

**UNIVERSITE DE NOUAKCHOTT
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**TRAVAUX DIRIGÉS
DE BIOCHIMIE STRUCTURALE
BG-2**

Elaboré par,

Ahmedou O. Houmeida :

Ali O. Med Salem O. El Boukhary :

Med Vall O. Kébir :

Glucides, protéines

Acides nucléiques

Lipides

Année universitaire 2007-2008

Cette série comprend 64 exercices de biochimie structurale, destinés aux étudiants de la deuxième année Biologie-Géologie (BG-2). Elle couvre les quatre chapitres suivants dispensés en cours :

Glucides

Acides aminés, peptides et protéines

Acides nucléiques

Lipides

Tous les exercices seront corrigés pendant les séances de travaux dirigées. Cependant, étant donné le nombre élevé d'exercices, les étudiants sont tenus de préparer les exercices avant chaque séance.

I. Les Glucides

Ex. 1 :

Dire si les couples suivants sont anomères, epimères, énantiomères, aldose-cétoses ou autre :
(D glucose, D-manose)
(D-glucose, D-fructose)
(α -D glucopyranose, β -D-glucopyranose)
(D-ribose, D-ribulose)
(D-xylose, L-xylulose)

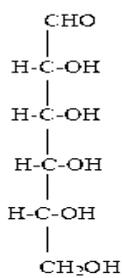
Ex. 2 :

Décrire brièvement (7lignes maximum) la relation entre les termes suivants :

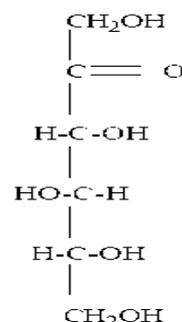
- carbone asymétrique
- stéréoisomères
- chirale
- pouvoir rotatoire

Ex.3 :

On donne les oses suivants selon Fisher:



D-Allose



D-Sorbose

Représenter selon Haworth la structure de l'anomère α -D furanose de l'aldose et de l'anomère β -D-pyranose du cétose.

Donner la structure selon Haworth et le nom du diholoside non réducteur formé par ces deux oses.

Numérotez les carbones sur chacune de ces structures.

On place un miroir en dessous du diholoside. Donner la structure et le nom du produit obtenu.

Précisez la numérotation des carbones sur cette structure.

Ex. 4 :

L'utilisation de la représentation de Haworth peut conduire à une impression erronée quant à la structure réelle des cycles pyraniques et furaniques .

a) Discutez brièvement ce point (8lignes maximum)

b) Donnez à l'équilibre les structures réelles du β -D-galactopyranose et leurs noms selon Reeves sachant que la forme minoritaire à cet équilibre possède tous ses hydroxyles en position axiale.

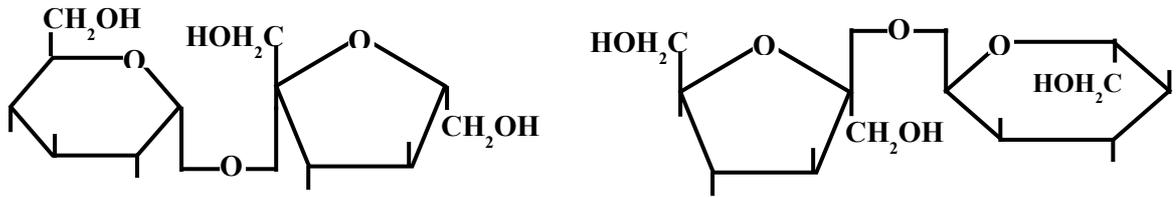
Ex. 5 :

Déduire des informations suivantes la structure de D-talose :

- le D-talose et le D-galactose donnent la même ozasone.
- Ces deux oses donnent après réduction deux polyalcools différents.

Ex. 6 :

On donne les deux diholosides suivants :



Montrez s'ils représentent le même sucre ou non.

Ex. 7 :

On donne une molécule d'amylopectine contenant 1000 résidus de glucose et possédant une ramification à chaque 25 résidus de glucose. Combien d'extrémités réductrices, cette molécule contient-elle ? Justifiez.

Ex. 8 :

Donnez la structure selon Haworth des composés suivants :

- 3-déoxy- α -D-glucopyranose
- 2-N-acétyl- β -D-manofuranose
- 1,3,4 tri-O-méthyl- α -D-fructofuranose.

Ex. 9 :

Un diholoside donne après perméthylation suivie d'hydrolyse acide les composés suivants :

3,4,6 tri-O-méthyl- α -D-glucose

1,3,4,6 tetra-O-méthyl- β -D-fructose

l'aldose est sous sa forme pyranose alors que le cétose est sous sa forme furanose.

En déduire le nom et la structure selon Haworth de ce diholoside . Est-t-il réducteur ou non? Justifiez.

Ex. 10 :

La perméthylation du diholoside A-B suivie d'hydrolyse acide douce a donné les composés suivants :

- 2,3,4 tri-O-méthyl α -D- pyranose
- 1,3,4 tri-O-méthyl β -D- psicofuranose.

Donnez selon Haworth la structure et le nom du diholoside A-B

Quelle serait le résultat expérimental de la réaction de ce diholoside avec le réactif de Fehling? Qu'en déduisez vous ? Justifiez ?

Donnez de façon précise les noms des enzymes qui peuvent couper ce diholoside.

Ex. 11 :

On donne les pouvoirs rotatoires suivants :

α -D-glucopyranose : 112°

β -D-glucopyranose : $18,7^\circ$.

Calculez l'angle de déviation de la lumière polarisée d'une solution de α -D-glucopyranose 0,5 M dans un tube de longueur 100 mm.

Quand on dissout une quantité de α -D-glucopyranose dans de l'eau distillée on observe une diminution progressive du pouvoir rotatoire de 112° vers $52,7^\circ$. Expliquez la raison de cette diminution.

Mesurez les pourcentages des deux anomères α -D-glucopyranose et β -D-glucopyranose à l'équilibre.

N.B : PM du glucose est supposé connu.

Ex. 12 :

On ajoute 50 ml d'eau distillée à 25 ml d'une solution A d'un hexose (D-xylose) (pouvoir rotatoire = +19) de concentration inconnue. 5 ml de ce mélange sont alors placés dans un tube de polarimètre de longueur 10 cm. L'angle de déviation de la lumière polarisée mesurée dans ces conditions est de +3°.

Calculez la concentration de la solution A avant le mélange en g/l et en molarité.

20 ml de cette solution A sont additionnés à 20 ml d'une solution à 2,5% de fructose (pouvoir rotatoire = -92°). Calculez l'angle de déviation de la lumière polarisée par ce mélange (on utilise les mêmes conditions de mesure).

Ex. 13:

Donner la formule générale des oses.

Donner la formule qui permet de déterminer le nombre de stéréoisomères d'un ose.

Définir les termes suivants (2 lignes maximum par terme) :

- Enantiomères
- Epimères
- Diastérisomères
- Sucre réducteur

Ex. 14:

Après perméthylation d'un tétra-holoside branché suivie d'une hydrolyse acide, on obtient les composés suivants :

2,3,4,6 tetra-o-methy alpha-D-glucopyranose

2,3,4,6 tétra-o-methyl alpha -D-manopyranose

2,3 di-o-methyl- alpha-D galactopyranose

2,3,6 tri-o-methyl-alpha D- glucopyranose

Donner selon Haworth une structure de A qui satisfait le résultat ci-dessus. Dire si A est réducteur ou non. Justifier (2 lignes max.).

Ex. 15:

Après méthylation exhaustive suivie d'hydrolyse acide de 34 g d'amylopectine on a obtenu les quantités ci-dessous des produits suivants :

A: 16,6 mmole 2,3,4,6 tetra-o-methyl alpha-D- glucopyranose

B : 16,6 mmoles

C : x mmoles 2,3,6 tri-o-methy alpha-D-glucopyranose

Donner l'origine (position) de A dans la chaîne d'amylopectine.

Donner le nom générique de B.

Calculer la quantité x (en mmoles) de C.

*Note : PM d'un résidu glycosyl =162.

Ex. 16:

Le D-arabinose est un epimère en C2 du D-ribose

On donne selon Fisher la structure du L-arabinose :

En déduire la structure selon Haworth du bêta-D- ribofuranose.

Donner la structure spatiale réelle de cet ose sachant que les OH sur

les carbones C1, C3 sont en position équatoriale alors les groupements sur les deux autres carbones sont en position axiale. Numéroter les carbones sur cette structure.

On dissout 18 mmoles de D-ribose (pouvoir rotatoire $=12^\circ$) dans 15 ml d'eau distillée. On place 5 ml de cette solution dans un tube de polarimètre de longueur 30 cm. Calculer l'angle de déviation de la lumière polarisée par cette solution.

-

Ex. 18:

Donner la structure selon Haworth du tri saccharide suivant :

α -D-manofuranosyl-(1-1)- β -D-glucopyranosyl-(2-2)- β -D-psycopyrose

le psicose est l'épimère en C3 du fructose.

On place un miroir en dessous de ce tri saccharide. Donner la structure et le nom du produit obtenu.

Après perméthylation et hydrolyse acide, donner les noms et structures selon Haworth

Des produits obtenus.

II. Acides aminés et peptides

Ex. 1:

Donnez les noms et symboles de 10 acides aminés dont 2 sont aromatiques, 3 apolaires et 3 polaires.

Donner la structure ionique prédominante du peptide Ala-Asp-Cys-Leu aux pH: 1; 3 et 12.
Calculer la charge nette de ce peptide à ces pH.

Ex. 2:

On donne les acides aminés suivants : Val, Tyr, Lys, Asp.

a) Remplir le tableau suivant :

	Tyr	Val	Lys	Asp
Formule ionique majoritaire à pH2				
Formule ionique majoritaire à pH12				
pHi				
Lettre correspondant au nom				

b) Dire à partir de quel pH le groupement latéral de l'acide aminé aromatique commence à être majoritairement anionique.

c) Calculer la concentration de la forme ionisée du groupement latéral dans une solution de lysine 0,1M aux pH 10,5 et 12.

d) Donner l'ordre d'éluion des quatre acides aminés ci-dessus sur une chromatographie échangeuse d'anions. Justifier.

e) On synthétise un peptide P à partir de ces quatre a.a. Combien de térapeptides différents (sans répétition d'acides aminés) peut on former ?

f) Combien doit on peser (en μg) de ce térapeptide pour préparer 450 ml d'une solution 50nM.

Ex. 3:

On donne l'oligopeptide suivant : Ala-Lys- Glu-Cys

Donner sa forme majoritaire et sa charge nette aux pH 1 et 12.

Calculer aux pH 9 et 3 les pourcentages des formes ionisées et non ionisées des groupements latéraux polaires de cet oligopeptide.

Ex. 4:

On donne la constante de dissociation du groupement SH de Cys ($pK=8,37$).

Calculer les pourcentages des formes ionisées et non ionisées de ce groupement à pH7.

Ex. 5:

Un protéine P (80 000 g/mole) a une coefficient d'absorption molaire de 20 000 $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ à 280 nm. Calculer la densité optique d'une solution de 1m/ml murée dans une cuve de spectrophotomètre de trajet optique (l) égal à 1 cm. En déduire le pourcentage de lumière transmise (I) à travers cette solution.

Quelle aurait été la D.O lue si la cuve de lecture avait un $l=5 \text{ mm}$. ?

Ex. 6:

a) 0.1 ml d'une solution de valine ($M_r = 99$) est ajouté à 4.9 ml d'eau. La concentration de la solution résultante est 20 mM. Quelle était la concentration (mM) de la solution initiale de valine.

Combien de mg de valine sont présents dans la solution finale.

b) Vous avez une solution stock (de départ) de tyrosine à 5 mg/ml. Vous voulez préparer 2.5 litres à une concentration finale de 40 nM. Combien de la solution stock, vous utiliserez ?

Quelle est la concentration de la forme ionisée du groupement latéral à pH 12 ($pK_r = 10,46$) dans la solution finale.

Ex. 7:

On donne une protéine P poids moléculaire 2832 et contenant une seul acide aminé basique. Le traitement de P par le DNFB donne DNB-leu seulement. De plus, pour 0,7 μg de P, on obtient 0,12 μg de Leu en position N-terminale.

L'action de la trypsine sur P suivie de la dégradation d'Edman sur le produits d'hydrolyse obtenus donne seulement le deux tripeptides suivants : Leu-Ser- X charge nette 0 à pH 12 et Ala-Gly-Met.

Déduire de ces informations la structure quaternaire et primaire de P.

NB. Le PM moyen d'un acide aminé est ici 118.

Ex. 8:

Un oligopeptide P composé de 12 acides aminés contient entre autre la lysine et l'aspartate comme seuls acides aminés polaires chargés. La composition en a.a. de P après hydrolyse acide ne montre aucun acide aminé aromatique.

L'action de la trypsine sur P donne dans l'ordre (à partir de l'extrémité N-ter) les fragments : T1 (3 a.a.) ; T2 (3 a.a.) ; T3 (5 a.a.).

La digestion de P par la chymotrypsine donne aussi dans l'ordre : CT1 (4 a.a.) ; CT2 (5 a.a.) et CT3 (3 a.a.).

le traitement au CNBr de P donne dans l'ordre : CN1 (5 a.a.) ; CN2 (3 a.a.) et CN3 (4 a.a.).

La dégradation d'Edman sur P donne un acide aminé puis PTA-Ala.

L'action du chlorure de Dansyl sur donne dansyl-Gly. Son traitement par la carboxypeptidase donne un acide aminé non chiral.

On donne les informations suivantes :

T1 et CT1 ont la même extrémité N-ter.

T3 et CT3 ont la même extrémité N-ter.

Déduire de cette donnée la séquence de P.

Ex. 9:

Tyr a un poids moléculaire de 163.

a) Combien de gr sont présents dans 45 micromoles de Tyr.

b) Combien de mg sont dans 250 ml d'une solution de tyrosine 10 μM .

c) Combien de nanomoles de tyrosine sont dissoutes dans un litre de tyrosine 30 μM .

d) Combien de μg sont présents dans 200 ml d'une solution de Tyr 0,02%.

e) On prépare 500 ml d'une solution de Tyr 10%. On enlève de cette solution 100 ml. Calculer la concentration molaire de la solution restante.

f) Déterminer le coefficient d'extinction molaire de la tyrosine sachant que l'absorbance de la solution en e) mesurée dans un spectrophotomètre de trajet optique 1 cm est 0.5.

Ex. 10:

On veut séparer les oligopeptides suivants ;

A: Ser-Phe-Met-Gly-Ile; B : Val-Trp-Glu-Ala-Cys-Leu; C: Gly-Pro-Glu-Asp-Ile-Val

Décrire brièvement la procédure de cette séparation par une chromatographie échangeuse d'anions à pH7 et donner l'ordre de sortie de ces oligopeptides.

Ex. 11 :

On donne la composition en acides aminés d'un peptide P:

1 Ile; 1 val; 1 Tyr; 1 Met; 1 Ser; 1 Glu; 1 Arg; 1 Gly; 1 Asp.

Le traitement de P par le réactif d'Edman a donné PTH-Ala et par la carboxypeptidase Glu.

La coupure par la trypsine a donné deux fragments A et B.

A contient un acide aminé alcool. Son traitement par la chymotrypsine a donné d'une part un dipeptide qui donne après hydrolyse acide Ala seulement et d'autre part un peptide I qui ne réagit pas avec la trypsine. Le traitement de I par le chlorure de dansyl a donné dansyl-Gly et par la carboxypeptidase successivement un acide aminé puis Val.

La coupure de B par le CNBr a donné d'une part un tripeptide qui absorbe la lumière à 280 nm et dont le traitement par le DNFB a donné DNF-Ile et d'autre part un peptide dont la charge nette à pH7 = -2.

Donner la séquence de P en montrant les différents fragments et les sites de coupure.

Ex. 12 :

Après hydrolyse acide sur un peptide P on a obtenu les acides aminés suivants:

1 Ala; 2 Asp; 2 Gln; 1 Ile; 1 Lys; 3 Met; 2 Phe.

Le traitement de P par la chymotrypsine suivie de la dégradation d'Edman sur les fragments libérés a donné:

Phe

NH₂-Asp-Met-Gln-Phe-COOH

NH₂-Lys-Gln-Met-Asp-COOH

NH₂-Ile-Ala-Met-Trp-COOH

La réaction au CNBr suivie de la dégradation d'Edman sur les fragments libérés a donné:

Asp

Asp-HSL

NH₂-Gln-Phe-Ile-Ala-HSL

NH₂-Trp-Phe-Lys-Gln-HSL

En déduire la séquence de P.

HSL = homosérine lactone (après la modification de Met par la réaction au CNBr)

Ex. 13:

La myoglobine est une protéine dans le muscle équivalente fonctionnellement à l'hémoglobine du sang. Elle a un Mr = 18000 et E = 15000 cm⁻¹ . M⁻¹ à 280 nm.

Calculer la concentration en % d'une solution de myoglobine qui a une absorbance A = 0,85 mesurée à 280 nm dans une cuve de trajet optique l = 1 cm.

Ex.14 :

La composition en acides aminés d'un peptide P a donné:

Gly 1; Cys 1; Lys 2; Ala 1; Met 2; Arg 1; Asx 1; Ser 1.

Le traitement de P par la chymotrypsine a donné dans l'ordre (de l'extrémité N-ter vers l'extrémité C-ter) CT1 (4 a.a); CT2 (5 a.a); CT3 (3 a.a).

L'action de la trypsine sur P a donné dans l'ordre T1(2 a.a); T2 (4 a.a); T3 (3 a.a); et T4(4 a.a)

L'action du CNBr sur P a donné dans l'ordre CN1(4 a.a) ; CN2 (4 a.a) et CN3 (5 a.a)

L'action de la carboxypeptidase sur P a libéré un a.a non chiral puis un a.a. portant un groupement thiol.

Le fragment T1 absorbe en UV.

La charge nette de CT3 à pH7 = 0.

T1 et T3 ont la même extrémité carboxylique
L'action du chlorure de dansyl sur T3 a libéré à radical alcool
Déduire de ces informations la séquence de P.

Ex. 15:

a) 0,1 ml d'une solution de valine ($M_r = 99$) est ajouté à 4,9 ml d'eau. La concentration de la solution résultante est $20 \mu\text{M}$. Quelle était la concentration (μM) de la solution initiale de valine.

Combien de mg de valine sont présents dans la solution finale.

b) Vous avez une solution stock (de départ) de tyrosine à 5 mg/ml. Vous voulez préparer 2,5 litres à une concentration finale de 40 nM. Combien de la solution stock, vous utiliserez.

Quelle est la concentration de la forme ionisée du groupement latéral à pH 12 ($pK_r = 10.46$) dans la solution finale.

III. Lipides

Ex.1

Ecrire la formule semi-développée d'un acide gras polyinsaturé possédant 20 atomes de C et quatre doubles liaisons dont la première est située entre les carbones 5 et 6. Donner sa nomenclature chimique et son symbole. A quelle série appartient-il

Ex.2

Cocher parmi les propriétés suivantes attribuées à l'acide stéarique les deux qui sont incompatibles : - Il possède 18 atomes de C, il est insoluble dans l'eau, il fixe de l'iode, il peut former des esters avec les alcools, il est saturé, il donne avec la soude des sels (savons) soluble dans l'eau.

Ex.3

Ecrire la réaction d'estérification conduisant au 1-palmityl 2-stéaryl 3-lauryl glycérol.

Données : acide palmitique C16 :0 ; acide stéarique C18 :0 ; acide laurique C12 :0.

Écrire sous forme semi-développée la réaction conduisant au triester du glycérol et de l'acide n-Dodécanoïque (C12:0).

Ex.4

Préciser en justifiant la réponse, le caractère hydrophile, lipophile (hydrophobe) ou amphiphile des composés suivants : un triglycéride (triacylglycérol), une lécithine (phospholipide), le cholestérol, un ester d'acide gras et de cholestérol.

Ex.5

Quelle est la formule développée d'un triglycéride homogène du glycérol avec un acide gras saturé dont l'indice de saponification = 208,4 ? (KOH = 56).

Ex.6

Un triglycéride de poids moléculaire 800 présente un indice d'iode égal à 100. Sachant que le poids atomique de l'iode est égal à 127, que peut-on déduire sur la structure de ce triglycéride ?

Ex.7

L'oxydation permanganatique d'un acide gras polyinsaturé a conduit à la formation (par mole d'acides gras) : d'une mole d'acide caproïque (monoacide en C6), trois moles d'acides malonique (diacides carboxylique en C3) et une mole d'un diacide carboxylique en C5. Quel est la formule et le nom de cet acide gras ?.

Ex.8

Un acide gras possédant une double liaison est oxydé par le permanganate de potassium à chaud. L'analyse des produits obtenus montre qu'il y a 2 composés : un acide : C₉H₁₈O₂ et un diacide : C₉H₁₆O₄. Retrouver la formule développée de l'acide gras initial. Donner son nom ? (nom usuel ou nom systématique)

Ex.9

Quelle est la formule développée d'un acide gras à chaîne linéaire si on obtient les indices expérimentaux suivants :

Indice de saponification (IS) = 198,9 ; Indice d'iode (II) = 89,93

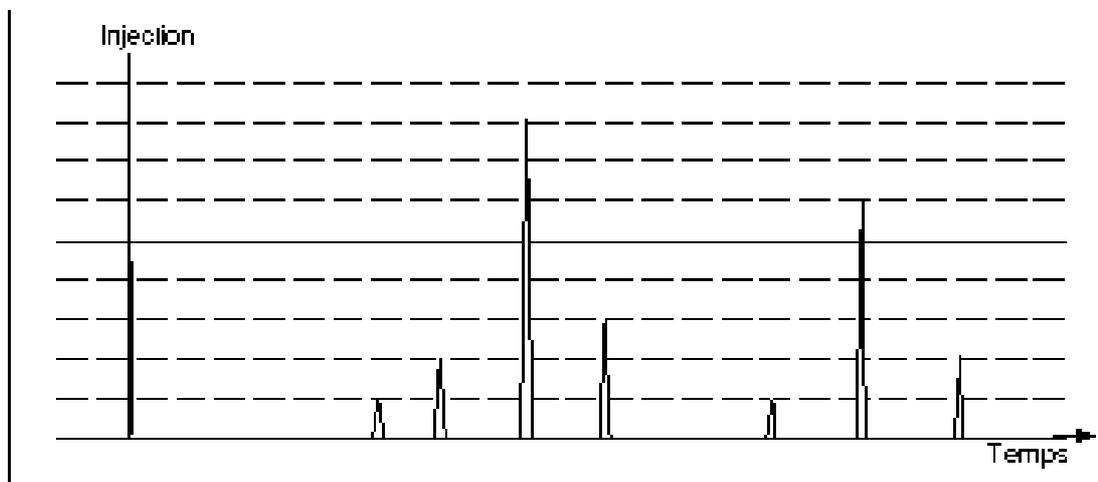
Par oxydation permanganatique, on obtient un monoacide A et un diacide B saturés et linéaires.

0,79 g de A sont neutralisés par 5 ml de soude 1N.

0,94 g de B sont neutralisés par 10 ml de soude 1N.

Ex.10

On soumet un extrait d'acides gras de triglycérides sériques à une estérification par le méthanol en présence de catalyseurs appropriés. Les esters méthyliques obtenus sont soumis à une chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur une colonne imprégnée de graisses siliconées (phase stationnaire apolaire). On obtient le chromatogramme suivant :



La référence par rapport à des acides gras étalons nous indique la présence d'acide laurylique (C12:0), d'acide myristique (C14:0), d'acide palmitique (C16:0), d'acide palmitoléique (C16:1), d'acide stéarique (C18:0), d'acide oléique (C18:1) et d'acide linoléique (C18:2).

1. Écrire la réaction de méthylation entre le méthanol et un des acides gras cités.
2. Reproduire le chromatogramme et situer les différents acides gras du mélange en justifiant votre réponse.
3. En utilisant les données du chromatogramme, indiquer en pourcentage la composition du triglycéride analysé en acides. Les pics étant très étroits on considérera que la concentration est proportionnelle à la hauteur.

Ex. 11

Les acides gras d'un mélange à analyser sont transformés en esters méthyliques et soumis à une chromatographie en phase gazeuse (CPG). On compare l'enregistrement obtenu (fig. 1) avec celui obtenu dans les mêmes conditions avec un mélange d'ester méthyliques d'acides gras témoins (fig. 2).

Fig.1

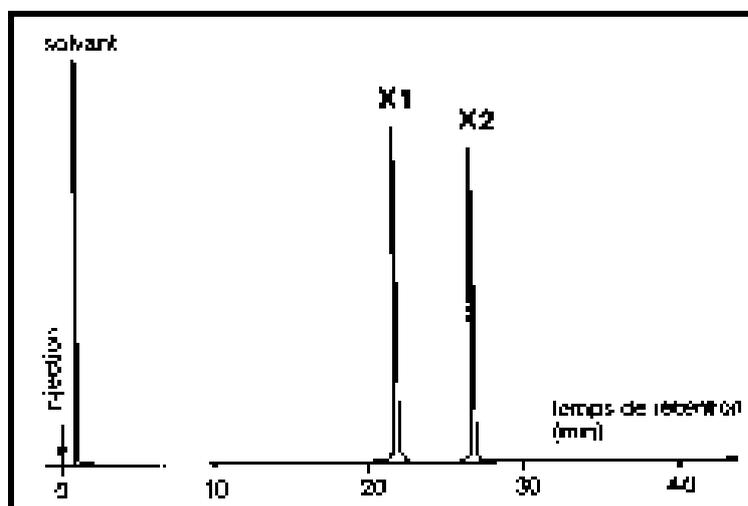
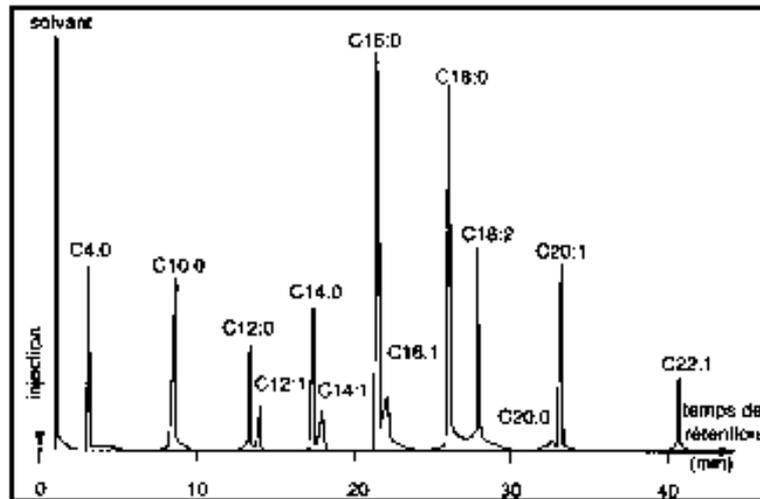


Fig.2



1. Quel est le rôle de la méthylation préalable des acides gras ?
2. Analyser l'enregistrement de la figure 2 et montrer l'influence de facteurs structuraux sur le temps de rétention des produits séparés.
3. Que peut-on déduire de la comparaison des chromatogrammes, quant à la structure des acides gras X1 et X2 ?
4. Les résultats suivants permettent de préciser la structure des 2 acides gras :
 - L'acide gras X1 a un indice d'iode nul ; l'acide X2 a un indice d'iode non nul.
 - L'oxydation de l'acide gras X2 par l'acide nitrique donne un monoacide A1 et un diacide A2, tous deux à chaîne linéaire saturée.
 - 2,37 g de A1 sont "neutralisés" par 15 mL de solution de soude à 1 mol.L⁻¹
 - 0,94 g de A2 sont "neutralisés" par 10 mL de la même soude.Déduire de ces données la structure des acides gras du mélange.

Ex. 12

L'hydrolyse d'un triglycéride par la phospholipase A1 donne un diglycéride et l'acide palmitique. Si l'on fait agir la phospholipase A2, on obtient un diglycéride et l'acide oléique. La saponification suivie d'une chromatographie nous permet d'identifier le glycérol et 3 acides gras différents : acides palmitique, oléique et stéarique. Écrire la formule semi-développée du triglycéride

Données : A. palmitique C₁₆H₃₂O₂ ; A. oléique C₁₈H₃₄O₂ ; A. stéarique C₁₈H₃₆O₂

Ex.13

Schématiser l'architecture d'une lipoprotéine, en supposant qu'elle a une forme sphérique. Préciser pour chaque constituant, s'il se trouve en position centrale ou périphérique ainsi que son orientation éventuelle. Indiquer la nature des liaisons unissant les différents substituants des lipoprotéines.

Citer les 4 classes de lipoprotéines, préciser la signification des acronymes utilisés.

Ex. 14

On considère un lipide L de structure inconnue et de masse molaire ML. Des analyses montrent qu'une molécule de lipide L contient une molécule d'acide gras A1 et une molécule d'acide gras A2 de masses molaires respectivement MA1 et MA2. On a isolé ces deux acides

gras et leurs indices de saponification (respectivement IS1 et IS2) et d'iode (respectivement II1 et II2) ont été déterminés:

pour A1 : IS1 = 197,2 et II1 = 0

pour A2 : IS2 = 184,2 et II2 = 334,2

1. Déterminez la nature des deux acides gras constitutifs.

D'autres analyses plus poussées du lipide L montre qu'il contient du carbone de l'hydrogène, de l'azote et du phosphore. Sa formule brute est $C_xH_yO_zNP$. Les dosages de l'azote et du phosphore contenus dans le lipide L donnent les résultats suivants:

- 17,28 mg d'azote pour 1 g de lipide L.

- 38,27 mg de phosphore pour 1 g de lipide.

2. Déterminez la masse molaire ML du lipide .

Enfin une molécule de lipide L contient une molécule de glycérol.

3. Déterminez la nature probable du composé azoté entrant dans la composition du lipide et déduisez en une structure probable du lipide. A quelle classe de lipide appartient-t-il?

Rappels : Masses molaires usuelles: $H=1\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ / $O=16\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ / $C=12\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ / $P=31\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ / $I=127\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ / $KOH=56\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

IV. Acides nucléiques

Ex. 1-

Donner la formule développée et le nom du trinuécléotide suivant : ApUpGp

Ex. 2-

Écrire la formule développée de l'ATP en solution à pH 7. En déduire sa charge globale à ce pH.

Ex. 3-

Calculer le poids moléculaire moyen d'un résidu nucléotidique dans l'ADN. On supposera que les quatre résidus nucléotidiques existent en quantités équimolaires.

Données : Guanine : 151 g/mol; Cytosine : 111 g/mol; Thymine : 126 g/mol; Adénine : 135 g/mol; Désoxyribose : 134 g/mol; Acide phosphorique : 98 g/mol

Ex. 4-

soit un ADN double brin de masse moléculaire $4,5 \cdot 10^6$ daltons. Calculer le nombre de paires de bases, la longueur, le nombre de tours d'hélice de cette molécule d'ADN. On donne : pas de l'hélice d'ADN = 3,4 nm ; nombre de pb par tours d'hélice = 10 ; masse moléculaire moyenne d'un nucléotide = 308 Da

Ex. 5-

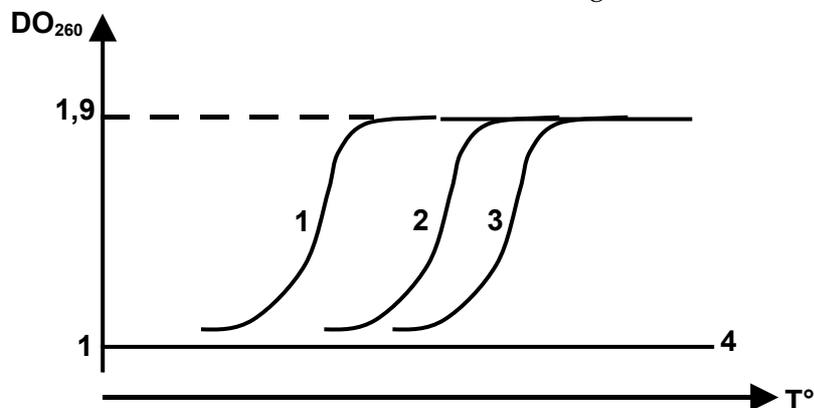
la composition, en bases, d'ADN d'origines différentes a été mesurée à 2% près.

ADN	%A	%C	%G	%T
A	21	28	29	22
B	23	24	28	35
C	18	31	32	19
D	33	17	18	32

a. calculer les rapports A/T et G/C pour chacun de ces ADN. Quelle remarque vous suggère les résultats obtenus ? Que peut-on en conclure quant à la structure des différents ADN ?

b. calculer le rapport (A+T)/(G+C) de chacun des ADN ci-dessous. Ce rapport est-il utilisable pour caractériser une espèce d'ADN parmi d'autres ?

c. Dans les mêmes conditions expérimentales, on prépare, pour chacun des ces ADN une solution dont la densité optique est de 1. Une dénaturation de ces différents ADN est réalisée par chauffage progressif et, en même temps la densité optique de chaque solution est mesurée, Les résultats obtenus sont consignés dans les courbes ci-dessous:



A quels ADN correspondent les courbes 1, 2, 3 et 4. Justifier votre réponse.

Ex. 6. Deux ADN extraits d'organismes supérieurs présentent les caractéristiques suivantes :

	ADN _I	ADN _{II}
A/G	1,5	
A/T		
A+T/G+C		0,8
A+G/T+C		
Poids moléculaire	9×10^{11}	12×10^{10}

- compléter le tableau
- quel est le rapport qui définit la spécificité de l'ADN ?
- Quel est le rapport qui définit la structure de l'ADN ?
- Sachant que le poids moléculaire moyen d'un nucléotide est de 309, quelle est la taille de chacun de ces ADN en nucléotides ?
- Si T_m de l'ADN_I est de 60°C, la T_m de l'ADN_{II} sera-t-elle plus élevée ou plus faible ? justifier votre réponse.

Ex. 7.

- Dans l'ADN d'une espèce donnée, la fraction molaire (G+C) est égale à 0,36. Calculer la fraction molaire de A.
- Si le rapport (A+G)/(T+C) est égal à 0,7 sur un brin d'ADN, quelle est la valeur de ce même rapport sur le brin complémentaire ?

Ex. 8

a. Soit la séquence du brin d'ADN suivant :

5' CCTATGACTTGTCACATCTAGACTCACGTAGTTG 3'

Ecrire la séquence du brin d'ADN complémentaire.

b. Parmi les trois brins ci-dessous, lequel est complémentaire de 5' AGCT 3'. En déduire deux caractéristiques principales des chaînes d'ADN.

- 1) 5' AGCT 3' 2) 5' TCGA 3' 3) 5' GACT 3'

Ex. 9-

La densité optique (absorbance) d'une solution d'ATP à pH 7 mesurée dans une cuve de 1 cm est de 0,154 à 260 nm (maximum d'absorption de l'ATP). En déduire la concentration de la solution d'ATP sachant que le coefficient d'extinction molaire est $\epsilon_{260} = 15,4 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Ex. 10

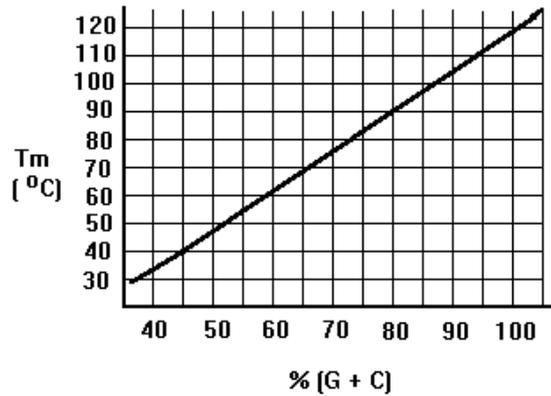
On dispose de 500 μl d'une solution d'ADN. Quatre μl de cette solution sont dilués avec 796 μl d'eau. On mesure l'absorbance de cette nouvelle solution à 260 nm, dans une cuve en quartz. La DO est de 0,1.

Calculer la concentration de la solution initiale et la quantité d'ADN total sachant que 1 unité de DO 260 correspond à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ d'ADN.

Ex.11-

on donne la courbe qui montre la relation entre la température de fusion T_m de différentes espèces d'ADN en fonction de leurs pourcentages respectifs en GC.

- utiliser cette courbe pour estimer la Température de fusion d'un ADN contenant 15% d'Adénine.
- Quel est le % en Thymine d'un ADN ayant une $T_m = 90^\circ\text{C}$



Ex.12-

On dispose de quatre tubes contenant chacun un fragment d'ADN double brin de taille identique. Grâce à la mesure de la DO à 260 nm, on détermine la température de fusion (T_m) de chaque échantillon.

Echantillon N° 1 : $T_m = 50\text{ °C}$

Echantillon N° 2 : $T_m = 57\text{ °C}$

Echantillon N° 3 : $T_m = 48\text{ °C}$

Echantillon N° 4 : $T_m = 60\text{ °C}$

Classez ces quatre molécules en fonction de leur contenu croissant en paire de base GC.

Ex. 13-

Soit un oligonucléotide dont la séquence est :



1) Quels seront les produits formés lorsque l'hydrolyse de l'oligonucléotide est réalisée en présence de :

- NaOH diluée
- RNase pancréatique
- RNase T1
- RNase T2
- Phosphodiesterase de venin de serpent
- Phosphodiesterase de rate de bœuf

Ex.14-

Dans le but de déterminer la structure primaire d'un oligoribonucléotide (court fragment d'ARN), on réalise les expériences suivantes :

a. l'hydrolyse d'un échantillon de cet ARN par la ribonucléase pancréatique aboutit à l'obtention de deux dinucléotides renfermant de l'adénine et de la guanine pour l'un d'entre eux, de la guanine de l'uracile pour l'autre et d'un mononucléotide contenant de la cytosine.

b. L'hydrolyse d'un autre échantillon de cet ARN par l'ARNase T1 permet d'obtenir un dinucléotide contenant de la cytosine et de la guanine et un trinucléotide contenant (A, G, U)

NB : spécificité d'hydrolyse des RNases

ARNase pancréatique : $\rightarrow Xp$ lorsque X = nucléotide pyrimidique

RNase T1 : $\rightarrow Xp$ lorsque X = G

Ex.15.

La séquence suivante : GAATTC représente le site de restriction d'*Eco* RI

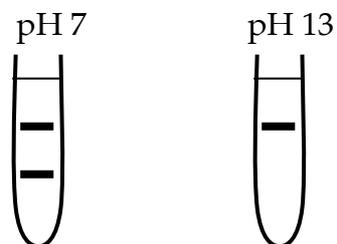
Donner les résultats de la digestion (coupure) du fragment d'ADN ci-dessus par l'enzyme *Eco* RI?

5'CTCGAATTCTACCCGGGAACTTTATGAGAATTCTCCAT 3'
3'GAGCTTAAGATGGGCCCTTGAAATACTCTTAAGAGGTA 5'

Ex.16

Soit un ADN de 3.10^6 kb. On le digère par *Eco*RI qui reconnaît et coupe la séquence GAATTC. Calculer la fréquence de coupure par cette enzyme, en déduire le nombre de fragments obtenus?

Ex.17. On soumet un mélange de deux acides nucléiques, l'ADN du phage T4 (250 Kpb et l'ARN du phage QB (120 nucléotides) à une centrifugation en gradient de densité de CsCl à pH 7 d'une part, à pH 13 d'autre part. Les résultats obtenus sont représentés sur le schéma suivant :



1. Attribuer chaque bande à l'acide nucléique convenable ; justifier votre réponse
2. pourquoi n'y a-t-il qu'une seule bande à pH 12 ?