

**EXAMEN DE BIOCHIMIE STRUCTRALE**

**SESSION 1  
6 JANVIER 2011**

**LICENCE 2 SCIENCES DE LA VIE  
UNIVERSITÉ DU SUD TOULON VAR**

*Consigne : Ce sujet comporte deux parties que vous traiterez sur des copies SEPARÉES*

|                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Partie I : Structure des acides nucléiques et techniques de biochimie (Nadia RABAH)</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|

**I. Bases azotées et propriétés chimiques des acides nucléiques :**

**1. Questions à choix multiples (Entourer la ou les bonnes réponses) :**

A. Combien y a-t-il de fonctions alcool libres (c'est-à-dire non estérifiées) dans une molécule d'ADN double brin ?

- a. zéro
- b. une
- c. deux
- d. autant que d'atomes de phosphore
- e. autant que de molécules de pentose

B. Parmi les propositions suivantes, lesquelles sont justes :

- a. un nucléoside est formé d'une base et d'un sucre.
- b. les bases puriques sont composées d'un hétérocycle et les bases pyrimidiques de deux cycles juxtaposés.
- c. la base purique ou pyrimidique est liée au carbone 1' du sucre.
- d. l'adénine et l'uracile sont des bases puriques.

C. Lesquels de ces composés sont des nucléosides :

- a. cytosine
- b. désoxyguanosine.
- c. uracile.
- d. adénosine.
- e. thymine.

D. Parmi les propositions suivantes concernant l'ARN de transfert, lesquelles sont exactes :

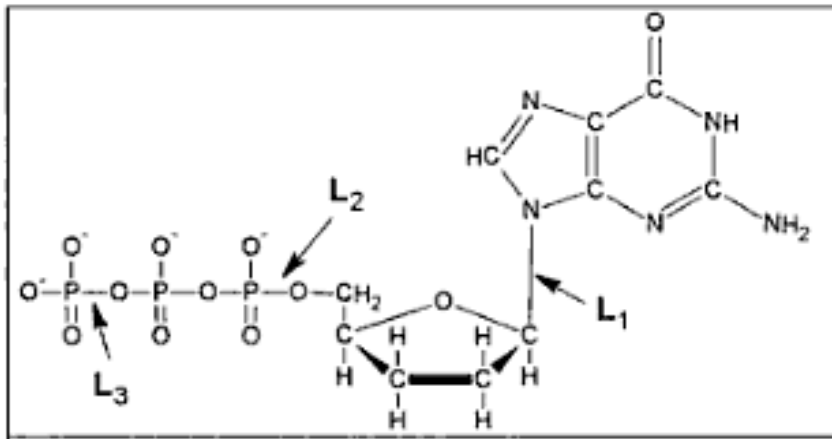
- a. ils sont formés d'une chaîne unique de 100 nucléotides environ.
- b. ils sont riches en nucléotides à bases non usuelles.
- c. ils lient leurs acides aminés sur un nucléotide 3' terminal.
- d. ils ont des structures doubles brins.
- e. ils possèdent une structure dite anticodon à leur extrémité 5' terminale.

E. Quels sont les qualificatifs classiques de la molécule d'ADN qui sont justes ?

- a. ses deux chaînes sont parallèles.
- b. ses deux chaînes sont complémentaires
- c. elle a une structure en double hélice.
- d. chacun de ses brins est un polymère de nucléotides.
- e. les brins d'ADN sont dits 'dégénérés'.

**2. Structure d'un nucléotide :**

Soit le nucléotide 'D' suivant : (Schéma1)



A. La base azotée constituant ce nucléotide est-elle de nature purique ou pyrimidique ?  
(Entourer ou souligner la bonne réponse)

Nommer cette base :

B. Quels sont les groupements de la bases capables d'établir des liaisons hydrogène ?  
Effectuer un schéma illustrant cet aspect.

C. Nommer et numéroter (sur le Schéma 1) le pentose constituant ce nucléotide.

D. Nommer les liaisons :

L1 :

L2 :

L3 :

E. Est-il possible de synthétiser un polynucléotide polyD artificiel à l'aide d'une polymérase ? Justifier la réponse.

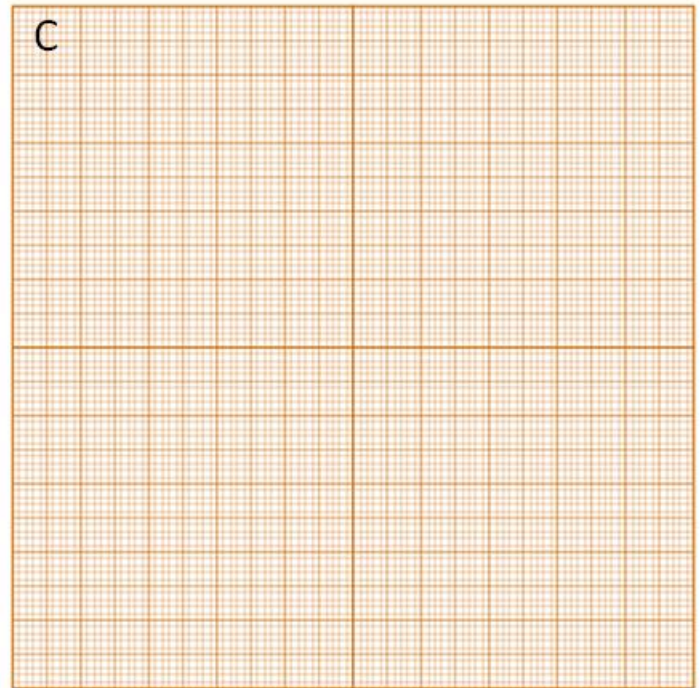
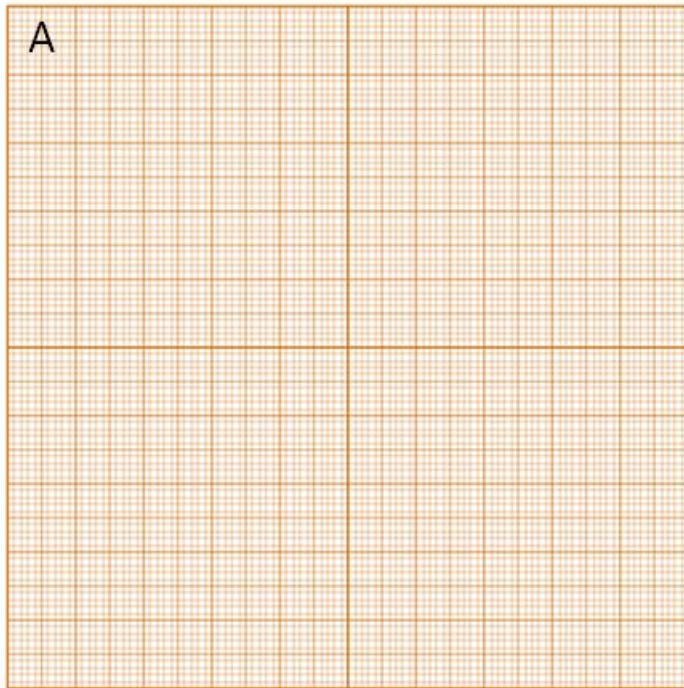
F. Dans quelle méthode d'analyse ce nucléotide pourrait être utilisé ? Expliquer.

### 3. Dénaturation thermique :

Un échantillon d'ADN bactérien purifié, en solution dans NaCl 0.2 mol/L est porté à différentes températures. On mesure l'évolution de l'absorbance à 260nm en fonction de la température  $\theta$  en °C. Les résultats expérimentaux obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous :

| $\theta$ en °C | 68    | 78    | 81    | 82    | 83    | 84    | 85    | 86    | 88    | 93    | 98    |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $A_{260nm}$    | 0.365 | 0.376 | 0.400 | 0.416 | 0.452 | 0.520 | 0.536 | 0.548 | 0.568 | 0.582 | 0.600 |

A. Tracer la courbe  $A_{260} = f(\theta)$  et déterminer la température de fusion  $T_m$  de cet ADN. (Papier millimétré A)



- B. Commenter l'aspect de la courbe et expliquer le phénomène observé.  
 C. Quelle serait l'allure de la courbe si un ADN simple brin était soumis aux mêmes conditions (Papier millimétré C).  
 D. Préciser sous quelle forme se trouve cet ADN aux températures suivantes  $T_m$  ;  $T_m - 5^\circ\text{C}$  et  $T_m + 5^\circ\text{C}$ .  
 E. Quel est le pourcentage de G+C et de A+T de cet ADN sachant que  $T_m = 69.3 + 0.41 (\% \text{ G+C})$ .

## II. Biochimie moléculaire /Outils d'analyse des molécules biologiques

### 1. Questions à choix multiples (Entourer la ou les bonnes réponses) :

A. La quantité d'ADN dans un échantillon peut être appréciée par plusieurs méthodes lesquelles.

- a. PCR.
- b. Séquençage.
- c. Mesure spectrophotométrique à 280nm.
- d. Electrophorèse sur gel d'agarose.
- e. Mesure spectrophotométrique à 260nm.

B. Parmi les propositions suivantes concernant l'étude des ARN messager (ARNm) lesquelles sont vraies :

- a. Il est possible d'amplifier directement l'ARNm en utilisant la méthode PCR.
- b. La technique du Northern-blot permet de préciser la taille des ARNm.
- c. La technique du Northern-blot permet de préciser la quantité d'ARNm.
- d. Un ADNc est une copie double brin d'un ARNm.

e. Au cours du Northern-blot, il est nécessaire de dénaturer les acides nucléiques avant hybridation avec la sonde.

C. Quelles sont les affirmations justes concernant les RFLP ?

- a. Ils sont uniquement introniques.
- b. Ils sont identifiés par Southern-blot.
- c. La PCR peut être utile pour identifier un RFLP.
- d. Ils sont d'autant plus informatifs qu'un des allèles est plus fréquent.
- e. Ils correspondent toujours à une variation de séquence dans un site de restriction.

D. Parmi les propositions suivantes, concernant le séquençage de l'ADN par la méthode de Sanger, lesquelles sont exactes :

- a. Les réactions parallèles de séquençage ne diffèrent entre elles que par la nature du didéoxynucléotide.
- b. L'ADN à séquencer doit être sous forme double brin.
- c. Les réactions de séquence sont des réactions de polymérisation de l'ADN.
- d. Chacune des 4 réactions parallèles de séquence se fait en présence d'un seul nucléotide.
- e. La région séquencée est déterminée par la matrice de l'ADN et non l'amorce.

E. La méthode de Southern a des objectifs particuliers. Lesquels sont justes :

- a. Séparer des protéines.
- b. Mettre en évidence une séquence particulière d'ADN génomique.
- c. Définir la taille d'un gène.
- d. Caractériser les ARN d'un tissu.
- e. Identifier l'existence d'un gène unique pour une protéine donnée.

## **2. Identification d'un gène à partir d'une séquence protéique:**

Vous êtes jeune chercheur et vous venez d'être engagé dans le laboratoire du Dr. Smith pour travailler sur une maladie endocrinienne très rare. Le seul patient atteint de la maladie dans votre région décède peu avant votre arrivée dans le laboratoire. Heureusement, qu'un petit échantillon d'hypophyse a pu être récupéré de la morgue et a permis à votre prédécesseur d'identifier la portion N-terminale de la protéine X impliquée dans la maladie.

Séquence N-terminale de la protéine X :

NH<sub>2</sub>-Met-Trp-Phe-His-Tyr-Trp-Met-Cys-Tyr-Trp

A. A l'aide du code génétique (voir tableau ci-dessous), élaborer une sonde vous permettant d'identifier le gène d'intérêt.

|  |
|--|
|  |
|--|

| le code génétique         |   |                    |     |     |     |     |                      |     |      |                                                                                   |                            |   |
|---------------------------|---|--------------------|-----|-----|-----|-----|----------------------|-----|------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---|
|                           |   | Deuxième lettre    |     |     |     |     |                      |     |      |  |                            |   |
|                           |   | U                  |     | C   |     | A   |                      | G   |      |                                                                                   |                            |   |
| Première lettre (côté 5') | U | UUU                | Phe | UCU | Ser | UAU | Tyr                  | UGU | Cys  | U                                                                                 | Troisième lettre (côté 3') | U |
|                           |   | UUC                | Phe | UCC | Ser | UAC | Tyr                  | UGC | Cys  | C                                                                                 |                            | C |
|                           |   | UUA                | Leu | UCA | Ser | UAA | Stop                 | UGA | Stop | A                                                                                 |                            | A |
|                           |   | UUG                | Leu | UCG | Ser | UAG | Stop                 | UGG | Trp  | G                                                                                 |                            | G |
| C                         | C | CUU                | Leu | CCU | Pro | CAU | His                  | CGU | Arg  | U                                                                                 | G                          | U |
|                           |   | CUC                | Leu | CCC | Pro | CAC | His                  | CGC | Arg  | C                                                                                 |                            | C |
|                           |   | CUA                | Leu | CCA | Pro | CAA | Gln                  | CGA | Arg  | A                                                                                 |                            | A |
|                           |   | CUG                | Leu | CCG | Pro | CAG | Gln                  | CGG | Arg  | G                                                                                 |                            | G |
| A                         | A | AUU                | Ile | ACU | Thr | AAU | Asn                  | AGU | Ser  | U                                                                                 | G                          | U |
|                           |   | AUC                | Ile | ACC | Thr | AAC | Asn                  | AGC | Ser  | C                                                                                 |                            | C |
|                           |   | AUA                | Ile | ACA | Thr | AAA | Lys                  | AGA | Arg  | A                                                                                 |                            | A |
|                           |   | AUG                | Met | ACG | Thr | AAG | Lys                  | AGG | Arg  | G                                                                                 |                            | G |
| G                         | G | GUU                | Val | GCU | Ala | GAU | Asp                  | GGU | Gly  | U                                                                                 | G                          | U |
|                           |   | GUC                | Val | GCC | Ala | GAC | Asp                  | GGC | Gly  | C                                                                                 |                            | C |
|                           |   | GUA                | Val | GCA | Ala | GAA | Glu                  | GGA | Gly  | A                                                                                 |                            | A |
|                           |   | GUG                | Val | GCG | Ala | GAG | Glu                  | GGG | Gly  | G                                                                                 |                            | G |
|                           |   | codon d'initiation |     |     |     |     | codon de terminaison |     |      |                                                                                   |                            |   |

B. Vous désirez maintenant marquer votre sonde au phosphore 32 (P32). Comment procéder ?

Comment pourriez vous éviter de travailler avec de la radioactivité ?

C. Décrire le protocole expérimental permettant d'identifier la séquence complète du gène d'intérêt en utilisant votre sonde marquée.

D. Quelle technique permettrait d'étudier l'expression de votre gène d'intérêt et déterminer s'il y a des variants d'épissage ? Décrire brièvement les principes de la technique.

E. Maintenant que vous avez la séquence complète de votre gène vous décider de caractériser la protéine X recombinante. En plus de votre gène d'intérêt, quelles sont les séquences qui doivent être présentes au niveau de votre vecteur d'expression ? De quoi va dépendre le système d'expression utilisé (types de cellules) ?

F. Ayant conscience qu'une protéine n'agit jamais seule mais plutôt interagit avec d'autres pour assurer sa fonction, vous décider d'identifier le complexe protéique dont la protéine X fait partie. Décrivez un protocole expérimental vous permettant d'arriver à cette fin.

G. Parallèlement, à fin d'investiguer le rôle de votre gène d'intérêt vous décidez de recourir à la mutagenèse conduisant à la perte de fonction et la génération de souris Knock out (K.O). Malheureusement, ces expériences s'avèrent infructueuses et vous émettez l'hypothèse que l'absence de gène est létale. Décrivez la méthode alternative qui pourra être utilisée.