

GLBP202 — DEVOIR

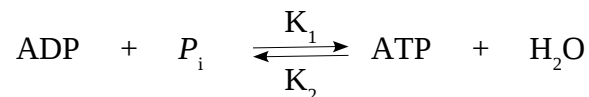
Date limite d'envoi : **ven 30 mars 2012 à 18h00**

Le devoir doit être :

- réalisé par équipes de 3 ou 4 étudiants faisant partie du même groupe TD (même enseignant TD);
- sauvegardé dans sa version définitive sous la forme d'un fichier PDF (d'autres formats ne seront pas acceptés);
- envoyé par e-mail uniquement à votre enseignant TD **avant la date et heure limite**.
(la liste d'adresses e-mail est disponible sur le polycopié des TD et sur l'espace pédagogique)

EXERCICE 1 – Thermodynamique

On souhaite étudier la réaction de phosphorylation de l'ADP à partir d'ADP et de phosphate inorganique (P_i) selon la réaction suivante :



- Q1** Écrivez la Constante d'équilibre de phosphorylation d'ADP.
- Q2** Calculez la valeur de la constante d'équilibre de *phosphorylation* de l'ADP sachant que la constante d'équilibre d'*hydrolyse* d'ATP est égale à $1,4 \cdot 10^5$ M à 37°C .
- Q3** Écrivez la variation d'énergie libre standard de cette réaction dans le sens de la phosphorylation de l'ADP. Calculez sa valeur. On donne : $R = 8,31 \text{ J }^\circ\text{K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $T = 37^\circ\text{C}$.
- Q4** Que pouvez-vous en déduire ?
- Q5** Que vaut la variation d'énergie libre standard de la réaction dans le sens de l'hydrolyse d'ATP ?

EXERCICE 2 – Cinétique

On considère la réaction *élémentaire* suivante :



- Q1** Écrivez la vitesse de cette réaction.
- Q2** Quel est l'ordre de cette réaction ?
- Q3** Intégrez la fonction de la question 1.

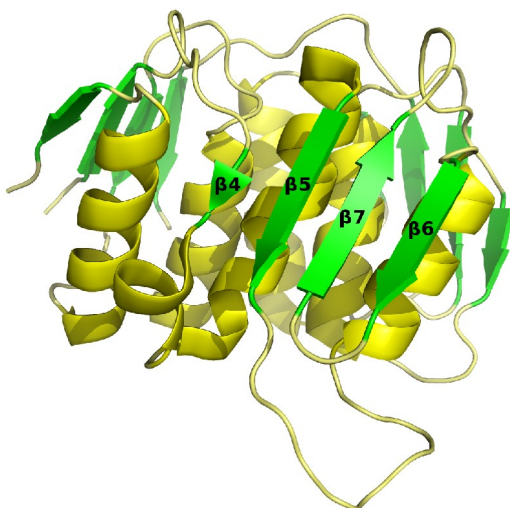
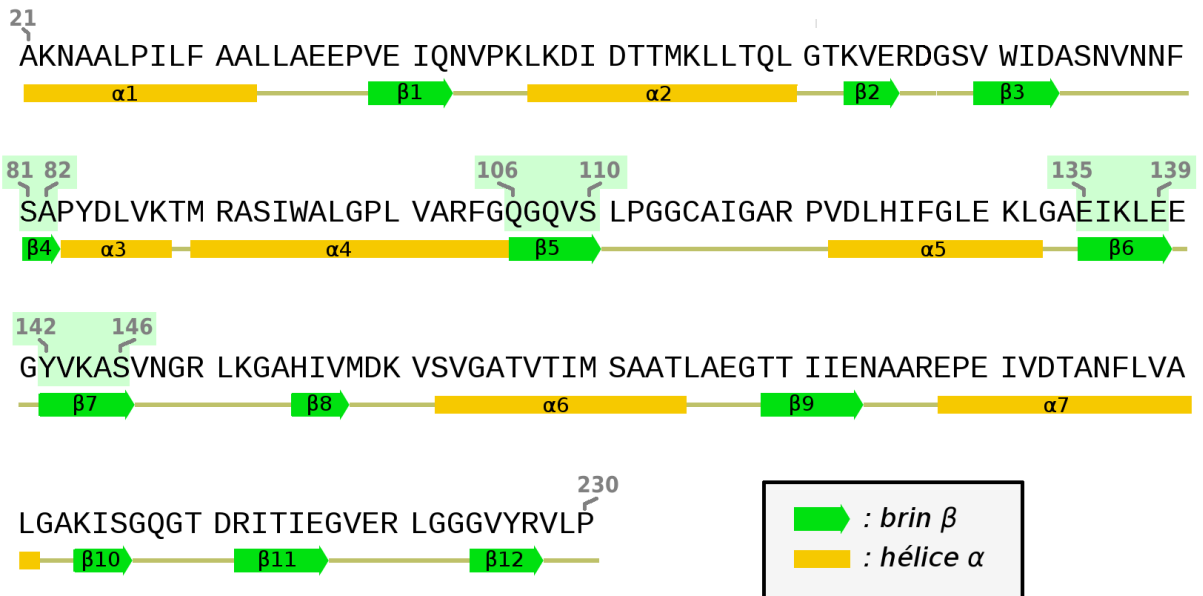
On donne les concentrations initiales suivantes :

$$(\text{A})_0 = (\text{B})_0 = 0$$

$$(\text{X})_0 = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

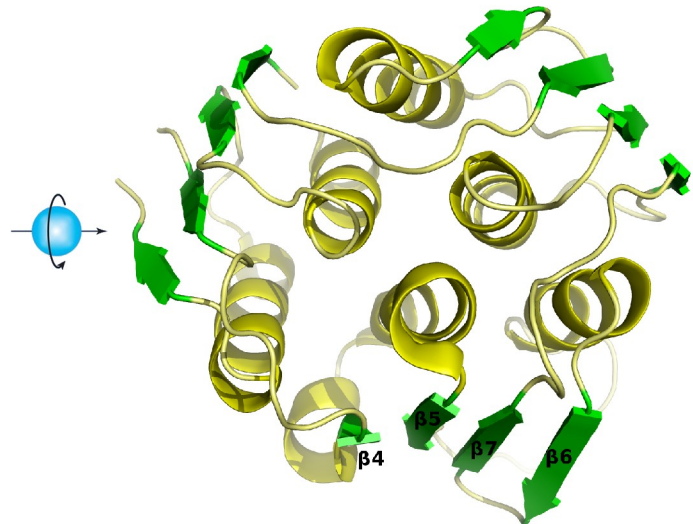
EXERCICE 3 – Protéines

La protéine MurA est une enzyme essentielle pour la synthèse du peptidoglycane (ou muréine, une substance constituant la paroi bactérienne). Chez la bactérie *Enterobacter cloacae*, la protéine MurA est constituée par 419 acides aminés formant deux domaines globulaires. On s'intéresse ici à un seul de ces domaines (celui formé par les résidus numéro 21 à 230). Par des techniques de génie génétique, on a produit une protéine constituée uniquement par ce domaine, dont la séquence et structure sont affichées ci dessous :



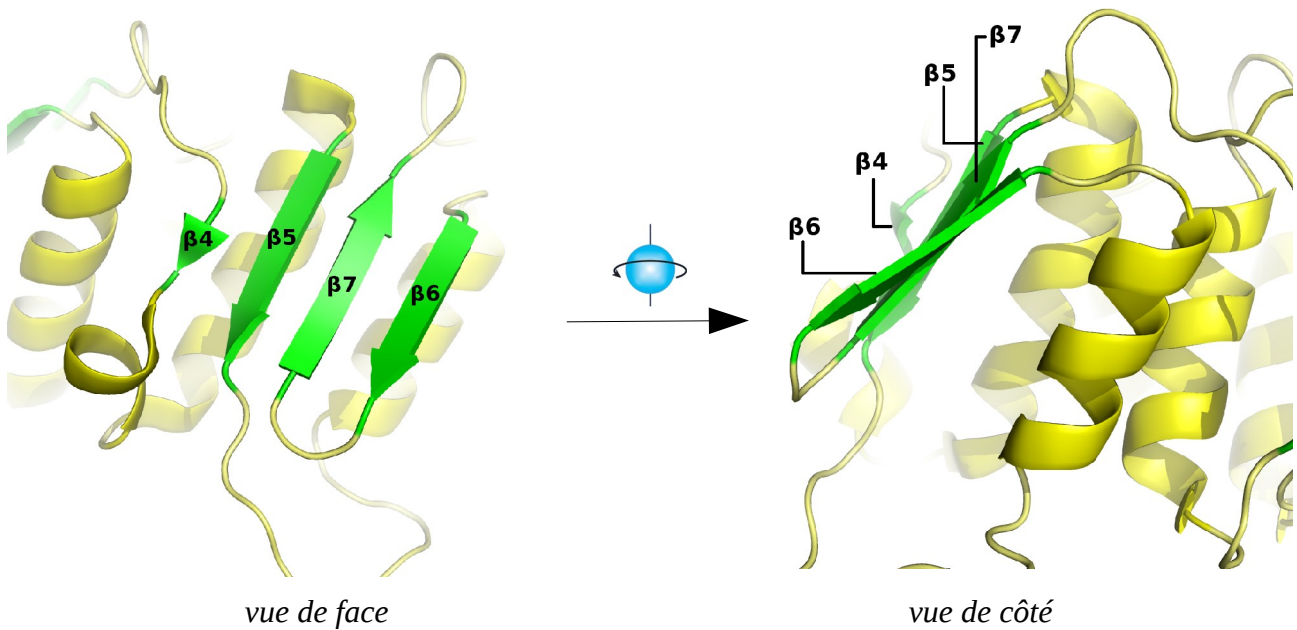
vue de face

le feuillet β formé par les brins 4, 5, 6 et 7 se trouve en premier plan



vue de dessus

Domaine 21–230 de la protéine MurA de *E. cloacae*. La structure est constituée par un cœur d'hélices α et trois feuillets β extérieurs (ces derniers sont disposés de manière à faire « adhérer » une de leurs faces au cœur de la structure). Le feuillet β formé par les brins 4, 5, 6 et 7 est indiqué explicitement dans la figure.



Deux vues rapprochées du feuillet β formé par les brins 4, 5, 6 et 7

QUESTIONS

(justifier toutes vos réponses)

- Q1** Écrire le nom et numéro des acides aminés dont les chaînes latérales se situent :
- sur la face extérieure du feuillet β formé par les brins 4,5,6,7 ;
 - sur la face intérieure de ce feuillet ;
 - en position intercalée entre les brins du feuillet.
- Q2** Quelle est, à pH 7, la charge nette présente globalement :
- sur la face extérieure du feuillet β formé par les brins 4,5,6,7 ?
 - sur la face intérieure du feuillet ?
- Q3** Quelles seraient, en revanche, les charges sur les deux faces du feuillet à pH 8,5 ?
(Remarque : on suppose ici que le changement de pH n'entraîne pas de changements dans la structure tertiaire de la protéine)
- Q4** Serait-il possible que, dans la protéine MurA, les acides aminés suivants établissent des liaisons hydrogène entre leurs chaînes latérales ?
- S₈₁ \cdots E₁₃₅ ;
 - V₁₄₃ \cdots A₁₄₅ ;
 - V₁₄₃ \cdots K₁₄₄.
- Q5** Quelles seraient (en termes de stabilité de la structure du domaine 21–230) les conséquences de l'ajout d'une quantité modérée de β -mercaptoéthanol à un échantillon de protéine MurA ?

- Q6** Faire une estimation approximée de la taille (en Å) du domaine 21–230 de la protéine MurA en calculant la longueur de l'hélice α la plus longue présente dans la structure.
- Q7** Serait-il possible d'obtenir (en utilisant un séquenceur automatique basé sur la méthode d'Edman) les séquences complètes de tous les fragments peptidiques obtenus suite au traitement de MurA avec du bromure de cyanogène ?
- Q8** Un échantillon du domaine 21–230 de la protéine MurA, purifié et concentré, est gardé dans un tampon à pH 7. Des mesures d'absorbance à 280 nm montrent que la densité optique de cet échantillon est égale à 0.610.
- calculer la concentration de la protéine présente dans l'échantillon en mol/L et mg/mL ;
 - calculer la masse de protéine (en μg) présente dans 5 μL d'échantillon ;
 - quelle serait la concentration de la protéine (en mol/L) si le pH était 8,5 (les autres conditions restant invariées) ?
 - quelle serait la densité optique du même échantillon après hydrolyse acide prolongée ? (en supposant que ce traitement ne dilue pas l'échantillon)

Pour réaliser les calculs tenir compte des considérations et approximations suivantes :

- la masse molaire moyenne d'un acide aminé dans une protéine est de 110 g/mol ;
- les mesures de densité optique (absorbance) sont réalisées en plaçant 1 mL d'échantillon dans une cuvette d'1 cm d'épaisseur ;
- les coefficients d'extinction molaire de F, Y et W sont :

$$\epsilon_{280 \text{ nm}}(\text{F}) = 200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{280 \text{ nm}}(\text{Y}) = 1400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{280 \text{ nm}}(\text{W}) = 5600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$
 on supposera que ces coefficients sont additifs et indépendants de l'environnement chimique de chaque acide aminé ;
- on supposera que le tampon de stockage utilisé et les autres acides aminés présents dans la protéine n'absorbent pas significativement la lumière UV à 280 nm.

EXERCICE 4 – Acides aminés

Un acide aminé a été isolé à partir d'un échantillon contenant du matériel biologique. L'analyse élémentaire montre que cet acide aminé a la composition suivante (pourcentages en masse) :

C	40,25 %
O	21,45 %
N	9,39 %
S	21,49 %
H	7,43 %

De quel acide aminé s'agit-il ? (*justifier votre réponse*)