

c) Réactions dues à la présence du groupement aminé et intérêts des réactions.	-Réaction de désamination par l'acide nitreux, réaction de transamination, action des aldéhydes (action du formol : Formol-titration de Sorénson), réaction de Sanger et réaction d'Edman (il faut montrer l'importance de ces deux dernières réactions dans l'identification et le dosage des acides aminés ainsi que dans la détermination de l'acide aminé N-terminale d'une chaîne peptidique).
d) Réactions nécessitant la présence simultanée d'un groupement α -carboxyle et d'un groupement α -aminé	-Réaction avec la ninhydrine (il faut montrer l'importance de cette réaction dans l'identification et le dosage des acides aminés, toutefois cette réaction n'est pas à retenir par les étudiants), formation de la liaison peptidique.
5. Séparation des acides aminés	
a) Chromatographie	-Chromatographie de partage, chromatographie sur couche mince, chromatographie d'exclusion chromatographie échangeuse d'ions (principe de chaque méthode et protocole expérimental).
b) Electrophorèse	
B. Les peptides et les protéines	
1. Définition	- La liaison peptidique : nature chimique et stabilisation par résonance (sans trop détailler les mécanismes chimiques)
2. Convention d'écriture et nomenclature	-Structure d'une chaîne peptidique : oligopeptide et polypeptide.
3. Représentation schématique.	
4. Propriétés physico-chimiques	-Aspect, ionisation, caractère amphotère, pouvoir rotatoire, absorption dans l'UV. -Exemple d'une réaction : Réaction de Biuret.
5. Etude de quelques peptides biologiquement actifs	-Exemples : ocytocine, vasopressine, insuline et glutathion.
6. Principaux types de protéines	-On cite les différents types de protéines et leurs rôles biologiques (enzymes, protéines de réserve, de transport).
7. Conformation ou organisation structurale des protéines	-Forces qui stabilisent la structure tridimensionnelle des protéines. - Décrire brièvement les structures primaire, secondaire (hélice α , feuillet β , pelote et coude), tertiaire et quaternaire (exemple hémoglobine). - Dénaturation des protéines (protéine native, protéine dénaturée)
8. Etude de la structure primaire des peptides et des	- Montrer que les réactions vues précédemment dans la partie « propriétés chimiques des acides aminés » nous permet de déterminer la séquence primaire d'un peptide

protéines	ou d'une protéine.
a) Détermination de la composition globale en acides aminés	-Hydrolyse des liaisons peptidiques par voie chimique et enzymatique.
b) Détermination de la séquence en acides aminés	-Méthodes permettant de déterminer les acides aminés N-terminaux (Sanger, Edmanet aminopeptidase) -Méthodes permettant de déterminer les acides aminés C-terminaux (hydrazinolyse et carboxypeptidase). -Hydrolyse des séquences peptidiques intra-chaîne, (BrCN, trypsine, chymotrypsine, pepsine).
5. Séparation des protéines	
a) Séparation selon la charge	-Electrophorèse dans les conditions natives, chromatographie échangeuses d'ions
b) Séparation selon la taille (poids moléculaire)	-Chromatographie d'exclusion moléculaire (gel filtration ; tamisage moléculaire), électrophorèse dans les conditions natives (SDS-PAGE). On montre que ces deux méthodes permettent de déterminer le poids moléculaire inconnu d'une protéine.
c) Séparation selon la capacité à se lier à d'autres biomolécules	-Chromatographie d'affinité (antigène-anticorps et enzyme-substrat).
II. LES GLUCIDES (10H + 4H TD)	
Définition générale : définition des glucides (glucides non hydrolysables et glucides hydrolysables) et rôles biologiques (source d'énergie, glucide de réserve et de structure)	
A. Monosaccharides ou oses ou sucres simples	
1. Structure linéaire	-Formule générale des oses (exception : désoxyribose) Classification des oses selon le nombre d'atomes de carbone et la fonction réductrice (cétone ou aldéhyde) On cite l'exemple d'aldose : glucose et cétose : fructose.
a) Isomérisie	-Présence de carbones asymétriques (à l'exception de la dihydroxyacétone), plusieurs stéréoisomères et pouvoir rotatoire. -Séries D et L (le glycéraldéhyde est la base de référence, réaction de synthèse de Kiliani-Fisher). -La filiation des aldoses (de C3 jusqu'à C6) -La filiation des cétoes (de C3 jusqu'à C6). -Les formules des oses à retenir par les étudiants (dihydroxyacétone, glycéraldéhyde, glucose, galactose, mannose, fructose, ribose, désoxyribose).
b) Épimérisie	-Définition de l'épimérisie (exemple glucose, mannose en C2, glucose et galactose en C4 ; fructose et psicose en C3).

4. Propriétés physiques des oses	-Aspect, point de fusion, propriétés optiques (loi de Biot/Beer-Lambert).
5. Dérivés d'oses biologiques	- Dérivés amines d'oses biologiques : la glucosamine, la galactosamine, la N-acétylglucosamine ou la N-acétylgalactosamine - Dérivés acides d'oses biologiques : les acides aldoniques, les acides uroniques, l'acide sialique = acide N-acétylneuraminique (NANA) et l'acide ascorbique = vitamine C
B. Les osides	
1. Liaison glycosidique	-Définition de la liaison osidique
2. Les diholosides	
a) Les diholosides réducteurs	-Définition, exemples : maltose, cellobiose et lactose. (formules et noms).
b) Les diholosides non réducteurs	-Définition, exemples : saccharose et tréhalose (formules et noms).
3. Les triholosides	-Exemple : raffinose (formule et nom). - Introduire les osidases (spécificité de l'action de ces enzymes : exemples la bêta-galactosidase etc...).
4. les polysaccharides	-Origines, rôles et structures de ces polysaccharides.
a) L'amidon	
b) Le glycogène	
c) La cellulose	
III. LES LIPIDES (6HC + 2HTD)	
Définition générale : Le terme de lipide désigne une large classe de composés insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques tels que l'éther, le benzène, le chloroforme. La plupart des lipides sont amphiphiles. Les principales exceptions sont le cholestérol, les stéroïdes et les vitamines liposolubles. Nous pouvons classer les lipides sommairement en lipides simples (composés de C, H et O) et lipides complexes comportant en plus des atomes de soufre, de phosphore, d'azote (C, H, O, S, P, N)	
A- Les lipides simples	
1. Les glycérides ou acyl-glycérols	
a) Le Glycérol	
b) Les glycérides	
c) Les acides gras	les mono-acyl-glycérols, les di-acyl-glycérols, les tri-acyl-glycérol (on cite quelques exemples).

c.1. Définition	-Classification en acides gras saturés et insaturés. -Formule générale des acides gras saturés et nomenclature.
c.2. Classification	-Les acides gras saturés à nombre impaire d'atomes de carbone (exemples : acide propionique en C3, et acide valérique en C5).
c.2.1) Les acides gras saturés	-Les acides gras saturés à nombre paire d'atomes de carbone : les acides gras du C4 jusqu'à C24.
c.2.2) Les acides gras insaturés	-Les différents types d'acide gras insaturés : *Les acides gras mono-insaturés. *Les acides gras poly-insaturés indispensables. -Nomenclature biochimique et signification de la lettre ω . (Les étudiants doivent retenir les formules des acides gras insaturés suivants : Acide palmitoléique, acide oléique, acide linoléique, acide linolénique et acide arachidonique.
c.3. Propriétés physiques des acides gras	
c.3.1) Solubilité	-Degré d'hydrophobicité qui dépend de la longueur de la chaîne hydrocarbonée et le nombre d'insaturation.
c.3.2) Point de fusion	-Point de fusion qui dépend la longueur de la chaîne hydrocarbonée et le nombre d'insaturation.
c.4. Propriétés chimiques	
c.4.1) Propriétés dues à la présence de la fonction acide	-Formation des sels (saponification), formation d'ester (estérification avec le méthanol).
c.4.2) Propriétés dues à la présence de la double liaison	-Réaction d'addition (addition des halogènes, hydrogénation). -Réaction d'oxydation (oxydation ménagée, oxydation poussée par le permanganate de potassium).
c.5. Séparation et analyse des acides gras	-Chromatographie sur Couche Mince (CCM), -Chromatographie en phase gazeuse (principe, schéma).
c.6. Propriétés chimiques des glycérolipides:	
c.6.1) hydrolyse	-Hydrolyses chimique et enzymatique (les lipases).
c.6.2) saponification	-Formation des sels d'acides gras : savons.
c.6.3) Détermination des indices caractéristiques des Triglycérides	-Indice e saponification, indice d'ester et d'acidité, indice d'iode. Détermination de la masse molaire des glycérolipides.

B. Les lipides complexes <u>Définition</u> : deux grandes familles des lipides complexes qui sont les phospholipides et les sphingolipides. Les lipides complexes sont amphiphiles. 1. Les glycérophosphatides ou phosphoglycérolipides ou phosphoglycérides. a) Les acides phosphatidiques b) Les phosphoaminolipides c) Les inositides ou inositophosphatides ou phosphatidylinositol 2. Glycosyldiglycérides 3. Les sphingolipides a) Les céramides b) Les phosphosphingolipides c) Les glycosphingolipides IV. ENZYMOLOGIE (12HC + 4HTD) Définition générale : les enzymes sont des biocatalyseurs de nature protéique agissant à des concentrations salines, des pH et des températures optimales, et qui sont élaborées par les organismes sous l'impulsion de divers effecteurs de la synthèse protéique. A. Enzymes et catalyse enzymatique 1. Catalyse a) La notion d'énergie d'activation b) Les principales propriétés d'un catalyseur 2. Structure des enzymes 3. Spécificité de l'action enzymatique a) Spécificité liée à la réaction b) Spécificité liée au substrat	-On donne les structures et les noms de ces lipides. -On donne l'origine de ces lipides et quelques propriétés physiques : * Lipides amphiphiles (ils possèdent une partie hydrophile et partie hydrophobe). -On cite les différents types des phospholipases avec les sites de coupure (A1, A2, B, C, D). -On donne les structures et les noms de ces lipides. -On donne l'origine de ces lipides et quelques propriétés physiques : * Lipides amphiphiles (ils possèdent une partie hydrophile et une partie hydrophobe). -L'enzyme accélère la réaction chimique en diminuant l'énergie d'activation -diminution de l'énergie d'activation, action à faible dose, spécificité... -Structure tridimensionnelle, site actif, holoenzyme (apoenzyme et cofacteur), isoenzyme. -L'enzyme catalyse seulement une seule réaction telle que estérification, oxydation... -Spécificité liée à la nature de la liaison, spécificité de groupe, spécificité absolue pour un seul substrat et spécificité Stéréochimique.
--	---

B. Classification des enzymes	-On Cite les six classes d'enzymes (on prend un exemple de réaction pour chaque classe). *Nomenclature EC (Enzyme Commission number).
C. La cinétique enzymatique homogène	-Vitesse et ordre de réaction. Notion de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique du premier ordre.
1. Mise en évidence du complexe ES par dialyse à l'équilibre et cinétique	-Description de l'expérience de dialyse à l'équilibre et établissement de l'équation de Scatchard. -Détermination de la constante de dissociation du complexe ES et le nombre de récepteurs stéréospécifiques portés par l'enzyme.
2. Cinétique de la réaction enzymatique	-Effet de la concentration en enzyme sur la vitesse initiale de la réaction enzymatique -Une relation linéaire directe entre la vitesse de la réaction et la concentration de l'enzyme. - -Mécanisme de Michaelis-Menten. -Notion de la vitesse maximale initiale. -Notion de K_M
3. La cinétique Michaélienne et les différentes représentations graphiques	
a) Equation de Michaelis-Menten	-Etablissement de l'équation de Michaelis-Menten
b) Représentations graphiques	-Représentations de : Michaelis-Menten, de Lineweaver-Burk (représentation des doubles inverses), d'Eadie-Hofstee, de Hans-woolf et de Robert Eisenthal- Athel Cornish-Bowden.
c) Effet de la concentration de l'enzyme	
d) Définition de l'activité enzymatique	-Les différentes expressions de l'activité enzymatique : *l'activité enzymatique totale (exprimée en $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$), *l'unité internationale UI (exprimée en $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$ et en katal), *l'activité spécifique AS (exprimée en $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de protéines totales), on montre que ce paramètre augmente au fur et à mesure de la purification de la protéine enzymatique en prenant un exemple expérimental de purification d'un extrait enzymatique, à travers cet exemple, on introduit la définition du rendement et facteur d'une étape de purification. *l'activité moléculaire spécifique ou « turnover number » AMS ou Kcat exprimée en s^{-1}.
4. Significations du K_M , V_{max} et Kcat.	-V_{max} :vitesse de réaction à saturation en substrat $V_{\text{max}} = K_{\text{cat}} [E_T]$, $[E_T]$: concentration totale en enzyme. K_{cat}(AMS) est la constante de vitesse de la réaction de catalyse, c'est un paramètre intrinsèque de l'enzyme. -K_M : constante de Michaelis : correspond à la concentration de substrat qui permet d'atteindre la moitié de la vitesse maximale. -K_M représente la constante de dissociation apparente du

	complexe Enzyme – substrat, K_M donne une indication approximative sur l'affinité de l'enzyme pour le substrat, plus K_M est élevé, plus l'affinité de l'enzyme pour le substrat est faible, K_M est un paramètre intrinsèque de l'enzyme.
5. Facteurs qui influencent la réaction enzymatique	
a) Effet du pH	-On montre l'effet du pH sur l'ionisation du substrat et la protéine enzymatique. -On présente la courbe théorique $v = f(\text{pH})$.
b) Effet de la température	-On montre l'effet de la température sur l'activation de la réaction et la dénaturation de la protéine enzymatique. -On présente la courbe théorique $v = f(\text{température})$.
7. Les effecteurs de l'activité enzymatique	
a) Inhibition compétitive	Pour les différents types d'inhibiteurs : * on décrit le mode d'action, *on définit la constante d'inhibition K_I, *on rétablit l'équation de Michaelis-Menten, *On donne l'expression de V_{max} apparente et K_M apparente en fonction de K_I et la concentration de l'inhibiteur $[I]$. *On trace les représentations graphiques de : Michaelis-Menten, Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee et de Hans-woolf en absence et en présence de l'inhibiteur.
b) Inhibition non compétitive absolue	
c) Inhibition incompétitive	

Travaux Pratiques De Biologie Cellulaire

12 h de travaux pratiques (une note de TP)

TP1 :

* pHmétrie (Titration d'un acide aminé),

* Chromatographie en couche mince d'un mélange d'acides aminés et/ou Electrophorèse d'un mélange protéique tel que le blanc d'œuf.

* Dosage protéique par la méthode de Bradford ou Biuret

TP2 :

Propriétés et réactions caractéristiques des glucides

- réactions des produits de déshydratation des oses avec certaines amines aromatiques et certains phénols : réaction de Molish, réaction de Seliwanof (Resorcinol), réaction de Bial (Orcinol) et réaction de Dische (Diphénylamine).

TP3 :

Détermination des indices caractéristiques d'acide gras (Indice d'acide, de saponification, d'ester et d'iode d'une huile vierge et d'une huile partiellement dégradée (relation entre les indices et le structure).

TP4 :

Enzymologie : activité enzymatique en fonction du temps, en fonction de la concentration du substrat, en fonction de la concentration en enzyme avec la détermination de K_m et V_{max} . Un Exemple d'enzyme ça peut être l'invertase ou la β -galactosidase

Matériel nécessaire pour les TP de Biochimie

La liste du matériel suivant est nécessaire pour la réalisation du TP de Biochimie

- Spectrophotomètre (2 par salle de TP)
- pHmètre (1 par binôme)
- Appareil d'électrophorèse avec générateur (2 cuves et 1 générateur pour 4 étudiants)
- Verrerie pour les TP de Glucide
- Verrerie et Chauffe ballon pour les TP des lipides
- Réactifs chimiques et enzyme (Béta-galactosidase ou invertase)