



Concours Biologie & Géologie Epreuve de Biochimie, biologie cellulaire et génétique

Date : Mardi 05 Juin 2018

Heure : 8 H

Durée : 2 H

Nbr pages : 7

Barème :

CORRECTION SUJET 1 CORRIGE DE L'EPREUVE DE BIOCHIMIE

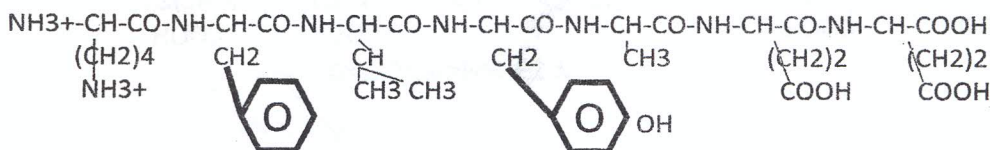
Exercice 1

Un peptide P issu de l'hydrolyse de protéines de thon est constitué de la séquence suivante :

Lys-Phe-Val-Tyr-Ala-Glu-Glu

Après hydrolyse par la chymotrypsine, une séparation des peptides est effectuée sur une colonne de chromatographie échangeuse d'anions, en utilisant un tampon de pH 5.9.

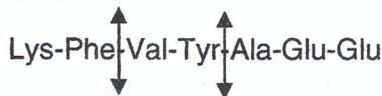
1. Donner la formule chimique développée du peptide P



2. a. Rappeler le rôle de la chymotrypsine

LA CHYMOTRYPSINE, EST UNE ENDOPEPTIDASE SYNTHETISEE DANS LE PANCREAS. LA FORME ACTIVE DE LA CHYMOTRYPSINE EST UNE PROTEASE A TRES LARGE SPECTRE : ELLE COUPE LE LIEN PEPTIDIQUE QUI SUIT LES ACIDES AMINES DOTES D'UNE GROSSE CHAINE LATERALE HYDROPHOBIQUE COMME TRP, TYR, OU PHE

PRODUITS DE L'ACTION DE LA CHYMOTRYPSINE

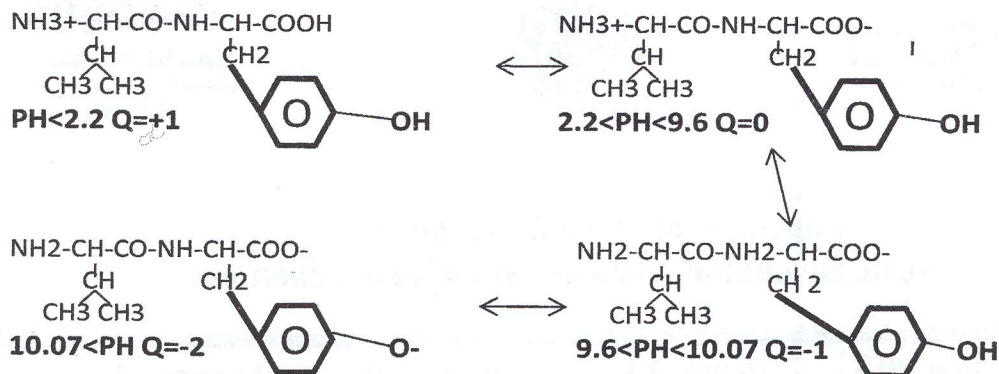


b. Les peptides obtenus sont :

Val-Tyr ; Lys-Phe ; Ala-Glu-Glu

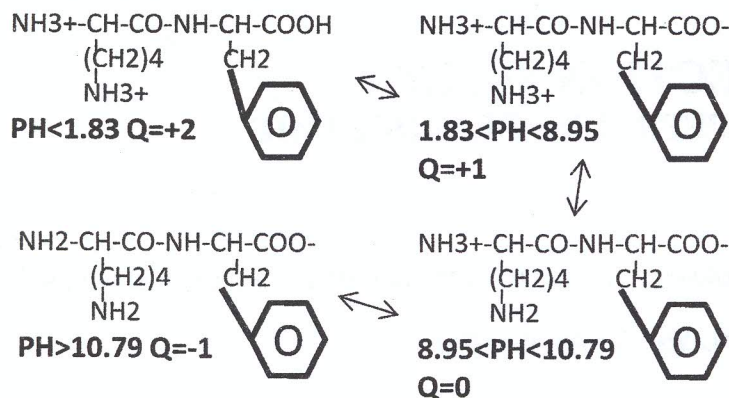
3. Ecrire les réactions d'ionisation des peptides obtenus sous l'action de la chymotrypsine sur le peptide P

PEPTIDE 1



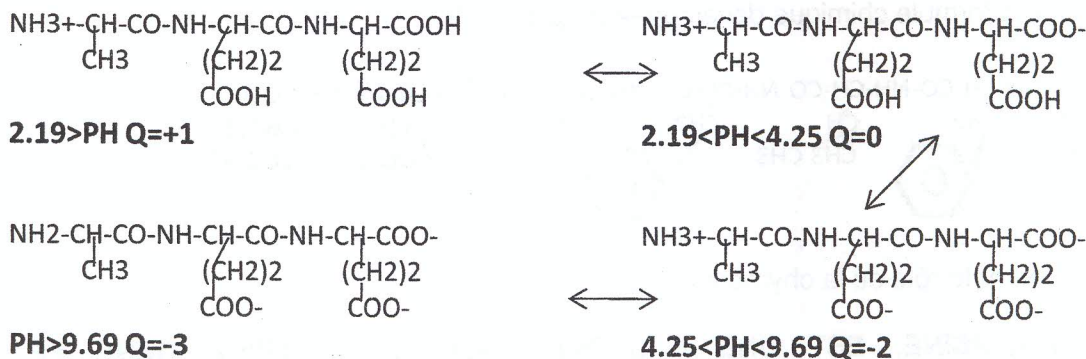
$\text{pHi} = (2.2 + 9.6)/2 = 5.9 = \text{pH}_{\text{tampon}}$ peptide neutre (pas chargé)

PEPTIDE 2



$\text{pHi} = 1.83 + 10.79/2 = 6.31 > 5.9$ chargé positivement

PEPTIDE 3



$\text{pHi} = 2.19 + 9.69/2 = 5.08 < 5.9$: chargé négativement

4. Dans quel ordre prédisez-vous l'élution des peptides obtenus ? Justifiez votre réponse.

COLONNE DE CHROMATOGRAPHIE ECHANGEUSE D'ANIONS, EN UTILISANT UN TAMPON DE PH = 5.9

$\text{PHI} = \text{PH}_{\text{TP}}$: PEPTIDE NEUTRE **PEPTIDE 1**

$\text{PHI} > \text{PH}_{\text{TP}}$: PEPTIDE CHARGÉ POSITIVEMENT **PEPTIDE 2**

$\text{PHI} < \text{PH}_{\text{TP}}$: PEPTIDE CHARGÉ NÉGATIVEMENT **PEPTIDE 3**

LA CHROMATOGRAPHIE ECHANGEUSE D'ANIONS ECHANGE REVERSIBLEMENT DES ANIONS. UNE RESINE ANIONIQUE EST CHARGÉE POSITIVEMENT. EN D'AUTRES TERMES, UNE COLONNE D'ECHANGE D'ANIONS CONSERVE DES ESPECES CHARGÉES NÉGATIVEMENT, ET LES ESPECES LES PLUS CHARGÉES DOIVENT ÊTRE CONSERVÉES PLUS LONGTEMPS.

A PH5.9 LES PEPTIDES NON CHARGES SERONT ELUES EN PREMIER (DANS LE LAVAGE), ENSEMBLE. A PH 5.9, LES PEPTIDES CHARGES DE FAÇON NEGATIVE; SERONT ELUES BIEN AVANT LES PEPTIDES FORTEMENT CHARGES A CE PH, SOIT PAR ORDRE D'ELUTION PEPTIDE 1 PUIS PEPTIDE 2 PUIS ENFIN PEPTIDE 3.

Exercice 2

- I. En absence d'inhibiteur, les résultats expérimentaux ont permis de déduire l'équation Hanes-Woolf suivante : $y=41.8x+87.9$ (L'équation Hanes-Woolf met le rapport $[S] / v$ en fonction de $[S]$, où $[S]$ est la concentration du substrat et v est la vitesse initiale de réaction).

1. A partir de l'équation de Michaelis Menten, démontrer l'équation Hanes-Woolf.

ON SAIT QUE SELON LE MODELE DE MICHAELIS ET MENTEN, L'EQUATION DECRIVANT LA VITESSE STATIONNAIRE D'UNE REACTION ENZYMATIQUE EST LA SUIVANTE :

$$v_i = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

DONC POUR LA REPRESENTATION DE HANES-WOOLF, $[S] / v$ EN FONCTION DE $[S]$, ON A :

$$\frac{[S]}{v} = \frac{[S](K_m + [S])}{V_{max} [S]} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}}$$

D'OU :

$$\frac{[S]}{v} = \frac{1}{V_{max}} [S] + \frac{K_m}{V_{max}}$$

PAR CETTE METHODE, LA REPRESENTATION GRAPHIQUE DE $[S] / v$ EN FONCTION DE $[S]$ PERMET DE DETERMINER K_m / V_{max} (L'INTERCEPT A L'ORDONNEE) ET LA PENTE = $1 / V_{max}$ (ET $-K_m$ L'INTERCEPT A L'ABSCISSE),

2. Définir la constante de Michaelis K_m et la vitesse maximale V_{max} d'une enzyme.

K_m : LA CONSTANCE DE MICHAELIS (K_m) EST LA CONCENTRATION DU SUBSTRAT POUR LAQUELLE LA MOITIE DES SITES DE L'ENZYME SONT SATURES EN SUBSTRAT.

V_{max} : V_{max} EST LA VITESSE MAXIMALE QUE PEUT ATTEINDRE LA REACTION LORSQUE L'ENZYME EST SATUREE DE SUBSTRAT

3. Déterminer les valeurs du K_m et de V_{max} de l'enzyme RpiB.

$$y=41.8x+87.9$$

LA PENTE CORRESPOND A : $a = 1 / V_{max} = 41.8$ donc $V_{max} = 1/41.8 = 0.0239 \text{ mmole.min}^{-1} = 22.8 \text{ } \mu\text{moles.min}^{-1}$

L'INTERCEPT A L'ORDONNEE CORRESPOND A : $b = K_m / V_{max} = 87.9$;

$K_m = 0.0228 \times 87.9 = 2.10 \text{ mM}$

On étudie l'effet inhibiteur de 4PEH sur l'enzyme RpiB. Les résultats expérimentaux sont montrés dans le tableau suivant :

[4PEH] (mM)	Equation Hanes-Woolf
0	$y=41.8x+87.9$
0.01	$y=42.0x+118.4$
0.05	$y=43.9x+177.7$

1. Déterminez les paramètres cinétiques de la ribose-5-phosphate isomerase RpiB en présence de 4PEH.

PAR LA REPRESENTATION GRAPHIQUE DE $[S] / V$ EN FONCTION DE $[S]$ PERMET DE DETERMINER K_M / V_{MAX} (L'INTERCEPT A L'ORDONNEE) ET LA PENTE = $1 / V_{MAX}$

[4PEH] (mM)	Equation Hanes-Woolf	K_M ou K_M^{app} (mM)	V_M ou V_M^{app} ($\mu\text{moles.min}^{-1}$)
0	$y=41.8x+87.9$	2.10	23.9
0.01	$y=42.0x+118.4$	2.81	23.8
0.05	$y=43.9x+177.7$	4.04	22.7

2. Déterminer le type d'inhibition de 4 PEH sur l'enzyme RpiB. Justifier votre réponse.

K_M EST AUGMENTEE PAR CONSEQUENT L'AFFINITE DIMINUE, ET V_{MAX} N'EST PAS MODIFIEE : 4PEH EST DONC UN INHIBITEUR COMPETITIF.

IL EST A NOTER QUE CE SONT DES DONNEES EXPERIMENTALES.

Exercice 1 : (12 points)

1- Interprétation des résultats :

Etude du caractère couleur de la fleur : (2,5 points)

[fleurs roses] x [fleurs blanches]

F1 : 100% [fleurs pourpres]

F2: 189 + 65 = 254 [fleurs roses] ; 373 + 120 = 493 [fleurs pourpres] ; 190 + 63 = 253 [fleurs blanches]

Hypothèse : ce caractère est contrôlé par un seul gène autosomal (A, a) avec une relation de codominance. **(0,5 point)**

La F1 est homogène avec un phénotype différent des parents.

La F2 est répartie selon les proportions $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$. **(0,5 point)**

Vérification avec le test χ^2 :

$$\chi^2_{\text{calculé}} = \sum ((o-c)^2/c) = ((254-250)^2/250 + (493-500)^2/500 + (253-250)^2/250) = 0.064 + 0.098 + 0.036 = 0.198$$

D'où le $\chi^2_{\text{calculé}} < \chi^2_{\text{théorique}} = 5.99$ pour $\alpha=0.05$ et ddl=2

Ainsi l'hypothèse est vérifiée. **(0,5 point)**

Génotypes : [fleurs roses] **(A/A)** x [fleurs blanches] **(a/a)** donne :

F1 : 100% [fleurs pourpres] **(A/a)** **(0,5 point)**

F2 : F1 x F1

Gamètes	A $\frac{1}{2}$	a $\frac{1}{2}$
A $\frac{1}{2}$	(A/A) [rose] $\frac{1}{4}$	(A/a) [pourpre] $\frac{1}{4}$
a $\frac{1}{2}$	(A/a) [pourpre] $\frac{1}{4}$	(a/a) [blanche] $\frac{1}{4}$

(0,5 point)

Ainsi la F2 donne : $\frac{1}{4}$ [fleurs roses], $\frac{1}{2}$ [fleurs pourpres] et $\frac{1}{4}$ [fleurs blanches]

Etude du caractère forme des pétales : (2,5 points)

[pétales arrondis] x [pétales allongés]

F1 : 100% [pétales arrondis]

F2: 189 + 373 + 190 = 752 [pétales arrondis]; 65 + 120 + 63 = 248 [pétales allongés]

Hypothèse : ce caractère est contrôlé par un seul gène autosomal (B, b) avec une relation de dominance absolue (B>b). **(0,5 point)**

La F1 est homogène avec un phénotype identique à l'un des parents.

La F2 est répartie selon les proportions $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{4}$. **(0,5 point)**

Vérification avec le test χ^2 :

$$\chi^2_{\text{calculé}} = \sum ((o-c)^2/c) = ((752-750)^2/750 + (248-250)^2/250) = 0.0053 + 0.016 = 0.0213$$

D'où le $\chi^2_{\text{calculé}} < \chi^2_{\text{théorique}} = 3.84$ pour $\alpha=0.05$ et ddl=1

Ainsi l'hypothèse est vérifiée. **(0,5 point)**

Génotypes : [pétales arrondis] **(B/B)** x [pétales allongés] **(b/b)** donne :

F1 : 100% [pétales arrondis] **(B/b)** **(0,5 point)**

F2 : F1 x F1

Gamètes	B $\frac{1}{2}$	b $\frac{1}{2}$
B $\frac{1}{2}$	B/B [arrondi] $\frac{1}{4}$	B/b [arrondi] $\frac{1}{4}$
b $\frac{1}{2}$	B/b [arrondi] $\frac{1}{4}$	b/b [allongé] $\frac{1}{4}$

(0,5 point)

Ainsi la F2 donne : $\frac{3}{4}$ [pétales arrondis] et $\frac{1}{4}$ [pétales allongés]

Les deux caractères ensemble : (4,5 points)

Ainsi le croisement [fleurs roses, pétales arrondis] x [fleurs blanches, pétales allongés] donnera : F1 : 100% [fleurs pourpres, pétales arrondis]
F2 : F1 x F1

Caractères	Fleurs roses ¼	Fleurs pourpres ½	Fleurs blanches ¼
Pétales arrondies ¾	[rose, arrondi] 3/16	[pourpre, arrondi] 6/16	[blanche, arrondi] 3/16
Pétales allongées ¼	[rose, allongé] 1/16	[pourpre, allongé] 2/16	[blanche, allongé] 1/16

(0,5 point)

Vérification avec le test χ^2 :

$$\chi^2_{\text{calculé}} = \sum ((o-c)^2/c) = ((189-187.5)^2/187.5 + (373-375)^2/375 + (190-187.5)^2/187.5 + (65-62.5)^2/62.5 + (120-125)^2/125 + (63-62.5)^2/62.5 = 0.012 + 0.0106 + 0.033 + 0.1 + 0.2 + 0.004 = 0.3596 \text{ (0,5 point)}$$

D'où le $\chi^2_{\text{calculé}} < \chi^2_{\text{théorique}} = 11.07$ pour $\alpha=0.05$ et ddl=5

Ainsi l'hypothèse est vérifiée. (0,5 point)

Reprenons le croisement avec les génotypes :

[fleurs roses, pétales arrondis] (A/A B/B) (0,5 point) x [fleurs blanches, pétales allongés] (a/a b/b)

(0,5 point) donnera : F1 : 100% [fleurs pourpres, pétales arrondis] (A/a B/b) (0,5 point)

F2 : F1 (A/a B/b) x F1 (A/a B/b)

Chaque individu de la F1 donnera 4 gamètes équiprobables, d'où le tableau de rencontre des gamètes :

Gamètes	AB ¼	Ab ¼	aB ¼	ab ¼
AB ¼	(AB/AB) 1/16 [rose, arrondi]	(AB/Ab) 1/16 [rose, arrondi]	(AB/aB) 1/16 [pourpre, arrondi]	(AB/ab) 1/16 [pourpre, arrondi]
Ab ¼	(AB/Ab) 1/16 [rose, arrondi]	(Ab/Ab) 1/16 [rose, allongé]	(Ab/aB) 1/16 [pourpre, arrondi]	(Ab/ab) 1/16 [pourpre, allongé]
aB ¼	(AB/aB) 1/16 [pourpre, arrondi]	(Ab/aB) 1/16 [pourpre, arrondi]	(aB/aB) 1/16 [blanche, arrondi]	(aB/ab) 1/16 [blanche, arrondi]
ab ¼	(AB/ab) 1/16 [pourpre, arrondi]	(Ab/ab) 1/16 [pourpre, allongé]	(aB/ab) 1/16 [blanche, arrondi]	(ab/ab) 1/16 [blanche, allongé]

(1 point)

Ainsi, on aura :

3/16 [fleurs roses, pétales arrondis]

6/16 [fleurs pourpres, pétales arrondis]

3/16 [fleurs blanches, pétales arrondis]

1/16 [fleurs roses, pétales allongés]

2/16 [fleurs pourpres, pétales allongés]

1/16 [fleurs blanches, pétales allongés]

Conclusion : le caractère couleur de la fleur est contrôlé par un seul gène autosomal (A, a) avec une relation de codominance alors que le caractère forme des pétales est contrôlé par un gène autosomal (B, b) avec relation de dominance absolue (B>b) et les deux gènes sont génétiquement indépendants.

2- Résultats attendus du croisement [fleurs pourpres, pétales arrondis] x [fleurs blanches, pétales allongés] prises à partir de la F2. (2,5 points)

Les plantes [fleurs pourpres, pétales arrondis] de la F2 peuvent avoir 2 génotypes possibles : (A/a B/B) (0,5 point) ou (A/a B/b) (0,5 point) alors que les plantes [fleurs blanches, pétales allongés] ne peuvent avoir qu'un seul génotype : (a/a b/b). (0,5 point)

Ainsi, 2 croisements sont possibles :

Gamètes	AB ½	aB ½
ab	(AB/ab) ½ [pourpre, arrondi]	(aB/ab) ½ [blanche, arrondi]

(0,5 point)

Donc ce croisement donnera 50% de plantes [fleurs pourpres, pétales arrondis] et 50% de plantes [fleurs blanches, pétales arrondis]

- [fleurs pourpres, pétales arrondis] (A/a B/b) x [fleurs blanches, pétales allongés] (a/a b/b)

Gamètes	AB ¼	Ab ¼	aB ¼	ab ¼
ab	(AB/ab) ¼ [pourpre, arrondi]	(Ab/ab) ¼ [pourpre, allongé]	(aB/ab) ¼ [blanche, arrondi]	(ab/ab) ¼ [blanche, allongé]

(0,5 point)

Donc ce croisement donnera 25% de plantes [fleurs pourpres, pétales arrondis], 25% de plantes [fleurs pourpres, pétales allongés], 25% de plantes [fleurs blanches, pétales arrondis] et 25% de plantes [fleurs blanches, pétales allongés].

Exercice 2 : (8 points)

- 1- Brin d'ADN complémentaire : 3'....CGTCCTTGCAAGCGAGTCAAAATCAAGGTACG...5' (0,5 point)

Brin d'ARNm : 3'.....CGUCCUUGCAAGCGAGUCAAAAUCAAGGUACG.....5' (0,5 point)

ARNm : 5'.....GCAUGGAACUAAAACUGAGCGAACGUUCCUGC.....3'

(sens de lecture 5' vers 3' de droite à gauche pour faciliter l'analyse)

- 2- Le 1^{er} cadre de lecture donne un codon stop UAA au 4^{ème} codon (0,5 point)

Le 2^{ème} cadre de lecture ne donne pas le codon initiateur AUG (0,5 point)

C'est le 3^{ème} cadre qui donne le codon initiateur AUG codant pour Met et c'est donc lui le cadre de lecture ouvert (0,5 point)

ARNm : 5'.....GC AUG GAA CUA AAA CUG AGC GAA CGU UCC UGC3'

Protéine : NH₂-Met-Glu-Leu-Lys-Leu-Ser-Glu-Arg-Ser-Cys-.....COOH (1,5 points)

- 3- Analyse des mutants :

Mutant m1: L'enzyme E ne comporte que les 5 premiers acides aminés.

La mutation a lieu au niveau du codon n°6: il s'agit d'une addition de U au niveau de l'ARNm (addition de A au niveau du brin transcrit de l'ADN) qui provoque l'apparition d'un codon non sens UAG.

Codon n°6 : Ser AGC → UAG C codon non sens (1 point)

ARNm du mutant m1: 5'.....GCAUGGAACUAAAACUGUAGCGAACGUUCCUGC.....3' (0,5 point)

Mutant m2 : la séquence de la bêta-lactamase est modifiée à partir de l'acide aminé n°5.

La mutation a provoqué un décalage du cadre de lecture donc il s'agit d'une mutation de type Frame Shift par soustraction de U au niveau de l'ARNm (soustraction de A au niveau du brin transcrit de l'ADN) qui a lieu au niveau du codon n°5. (1 point)

Protéine m2 : NH₂-Met-Glu-Leu-Lys- Arg- Ala- Asn- Val- Pro- Ala-.....COOH

ARNm : 5'.....AUG GAA CUA AAA CGU GCU AAU GUU CCU GCX3'

CGC GCC AAC GUC CCC

(1 point)

CGA GCA GUA CCA

CGG GCG GUG CCG

AGA

AGG

ARNm du mutant m2: 5'..... AUGGAACUAAAACGAGCGAACGUUCCUGCX3' (0,5 points)