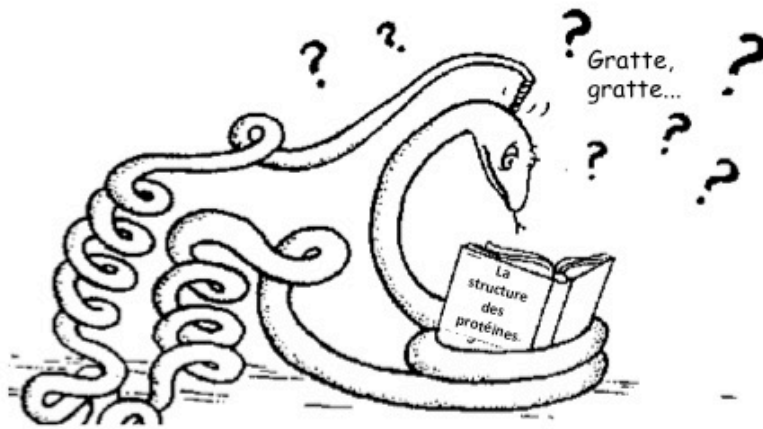


Nom \_\_\_\_\_

Numéro d'étudiant \_\_\_\_\_



Questions à choix multiples (3pts/question; 66 pts en tout). Notez qu'il peut y avoir plusieurs bonnes réponses. Encercler toutes les bonnes réponses. Lorsqu'il y a plusieurs réponses, une mauvaise réponse entraîne une pénalité (-1 pt) jusqu'à concurrence de 0, même si une ou plusieurs bonnes réponses ont également été choisies.

1. Parmi la liste de termes suivants lequel ou lesquels décrit(nt) le mieux la liaison peptidique?

- A. Elle forme un groupement amide
- B. Elle se dégrade spontanément à 25°C
- C. Elle a un caractère partiellement double
- D. Il y a libération d'un proton lors de sa formation

2. Quels angles diédriques sont les plus variables au sein de la chaîne principale des protéines?

- A. Phi ( $\Phi$ )
- B. Psi ( $\Psi$ )
- C. Omega ( $\omega$ )
- D. Alpha ( $\alpha$ )

3. Parmi les affirmations suivantes laquelle ou lesquelles sont vraies?

- A. Il peut être avantageux de cloner la séquence d'ADN codante d'une protéine en l'insérant dans un plasmide pour faciliter son expression et sa purification.
- B. La table de propensité de Kyte et Doolittle indique la fréquence de chaque acide aminé au sein des structures secondaires.
- C. Les polypeptides quelque soit leur structure primaire peuvent adopter n'importe quelle des structures secondaires les plus observées dans la nature.
- D. Les angles  $\Phi$  et  $\Psi$  dans un feuillet- $\beta$  varie d'environ  $-150^\circ$  à  $-100^\circ$  et de  $120^\circ$  à  $160^\circ$ , respectivement.
- E. Certains chaînes polypeptidiques identiques ou non interagissent ensemble pour former des structures quaternaires symétriques.

4. Quelle(s) affirmation(s) se rapportant aux angles  $\Phi$  et  $\Psi$  sont vraies?

- A. Certaines combinaisons d'angles  $\Phi$  et  $\Psi$  sont rendues impossibles par l'encombrement stérique**
- B. Tous les acides aminés adoptent les mêmes combinaisons d'angles  $\Phi$  et  $\Psi$
- C. L'angle  $\Phi$  correspond à l'angle diédrique entre le groupement amino ( $>NH$ ) et le C-alpha d'un acide aminé**
- D. L'angle  $\Psi$  correspond à l'angle diédrique entre le groupement carbonyle ( $>C=O$ ) et le C-alpha d'un acide aminé**
- E. Toutes ces réponses

5. Lequel ou lesquels des facteurs suivant joue(nt) un rôle primordial dans la stabilisation de la structure native des protéines globulaires non-sécrétées:

- A. Les ponts dissulfures
- B. Les interactions ioniques
- C. Les chaînes latérales hydrophobes**
- D. Les liaisons hydrogènes

6. Quel est le nom qui désigne le mieux le motif structural suivant?



- A. Epingle-à-cheveux- $\beta$
- B. Epingle-à-couche- $\beta$
- C. Tour- $\beta$
- D. Motif clé grecque**
- E. Feuillet antiparallèle

7. Parmi les choix suivant lequel ou lesquels caractérisent le mieux les facteurs intervenant dans le repliement des protéines?

- A. Diminution de l'entropie conformationnelle du polypeptide dans la structure native
- B. Augmentation de l'entropie du système, en particulier des molécules d'eau dû à l'enfouissement des chaînes latérales hydrophobes au centre de la structure native
- C. Différence d'enthalpie positive entre l'état natif et l'état dénaturé.
- D. Les protéines possèdent toutes une protéine chaperone spécifique essentielle à l'obtention de leur structure native.
- E. Toutes ces réponses.

8. Quelle(s) affirmation(s) à propos des propriétés générales des protéines fibreuses est ou sont vraie(s)?

- A. elles ont une faible diversité d'acides aminés dans leur structure primaire
- B. elles contiennent toutes de nombreux ponts dissulfures
- C. elles jouent souvent un rôle structural grâce à leur propriété de résistance mécanique
- D. les acides aminés à chaîne latérale hydrophobe jouent un rôle mineur dans la stabilisation de leur structure native
- E. Toutes ces réponses

9. Identifiez les définitions correctes parmi les suivantes :

- A. **Domaine** : sous-région de la structure primaire d'une protéine qui a la capacité de se replier de manière autonome.
- B. Hélice- $\alpha$  : structure secondaire hélicoïdale d'enroulement gauche observée dans des protéines natives
- C. **Structure quaternaire** : structure tridimensionnelle du niveau hiérarchique supérieur à la structure tertiaire et impliquant deux ou plusieurs chaînes polypeptidiques.
- D. Feuillet- $\beta$  mixte : alternance de deux brin- $\beta$  antiparallèle suivi de deux brin- $\beta$  parallèles et ainsi de suite au sein d'un seul et unique feuillet- $\beta$
- E. Toutes ces réponses.

F-X Campbell-Valois 2016-3-2 11:01

Comment [1]: Donner 2/3 pour la réponse E

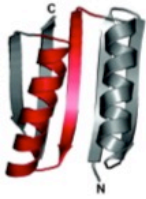
3/3 pour A, B et C.

10. Quels types de motifs ou des structures secondaires les deux séquences suivantes adopteront-elles?

i) SNTIRVYLPNKQRVNVR; ii) SLHDALQKALKALGL

- A. i) brin- $\beta$  parallèle; ii) hélice gauche
- B. i) épingle-à-cheveux  $\beta$ ; ii) hélice- $\alpha$**
- C. i) hélice- $\alpha$ ; ii) brin-  $\beta$  antiparallèle
- D. i) brin- $\beta$  antiparallèle; ii) hélice-boucle-hélice

11. Quel(s) type(s) de motifs est ou sont absents dans la structure tertiaire de cette protéine? Pour vous aide les extrémités amino- (N) et carboxy-terminales (C) ont été indiquées.



- A. un feuillet- $\beta$  antiparallèle
- B. deux hélices- $\alpha$
- C. un motif hélice-boucle-hélice**
- D. un feuillet- $\beta$  parallèle**

12. Parmi les affirmations suivantes sur les variables de l'équation de Hill, laquelle ou lesquelles est ou sont vraie(s)?

$$\theta = \frac{[L]^h}{(K_d)^h + [L]^h}$$

- A. si  $h > 1$ , le processus est anticoopératif
- B. h est le coefficient de Hill**
- C.  $\theta$  représente la fraction des sites de liaisons qui sont occupés par le ligand**
- D. si  $h = 1$ , le processus n'est pas coopératif**
- E. Toutes ces réponses

13. Si une mutation introduite dans le site de liaison du ligand d'une protéine augmente la constante de dissociation  $K_d$ , qu'est ce que cela signifie?

A. La protéine originale a une affinité réduite pour le ligand comparativement à la protéine mutante

B. La protéine mutante liera son ligand de manière coopérative

**C. La protéine mutante a une affinité réduite pour le ligand comparativement à la protéine originale**

D. La formation de l'état de transition de la réaction est favorisée chez la protéine mutante

14. Parmi les affirmations suivantes, qu'est ce qui caractérise le processus de liaison coopérative de l'oxygène par l'hémoglobine?

**A. Dans le modèle symétrie (MWC), les 4 sous-unités d'un tétramère d'hémoglobine passent de l'état de faible affinité (T) à l'état de haute affinité (R)**

B. La transition de l'état T vers l'état R est plus favorable en absence d'oxygène

C. La liaison de l'oxygène par l'hémoglobine est beaucoup moins coopérative que celle effectuée par la myoglobine

D. Le coefficient de Hill (h) de la myoglobine est de 1, alors que celui de l'hémoglobine est d'environ 13.

**E. un résidu histidyl impliqué dans la coordination de l'hème dans l'hémoglobine joue un rôle essentiel dans le processus coopératif**

15. En enzymologie, en quoi consiste l'état stationnaire?

**A. La fenêtre temporelle durant laquelle la concentration du complexe enzyme-substrat est relativement constante**

B. La fenêtre temporelle durant laquelle la réaction enzymatique est à l'équilibre

C. La fenêtre temporelle durant laquelle la concentration de substrat et de produit est constante

D. Les conditions dans lesquelles, il ne faut surtout pas mesurer le taux d'une réaction enzymatique lorsque l'on se sert de l'équation de Michaelis-Menten

16. Quelle est l'équation de Michaelis-Menten?

A.  $V_i = \frac{V_{max} [S][P]}{K_m + [S]}$

B.  $V_i = k_1 [A]^m + k_1 [B]^n$

C.  $V_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$

D.  $V_i = k_1 [A]^m + k_1 [B]^n - k_{-1}[C]$

17. Vous avez caractérisé trois protéines possédant la même fonction enzymatique provenant d'organismes différents. Voici les  $K_m$  et les  $k_{cat}$  que vous avez obtenu pour chacune d'elle :

Protéine 1 :  $k_{cat} = 1 \times 10^9$   $K_m = 1 \times 10^{-3}$  ; protéine 2 :  $k_{cat} = 1 \times 10^6$   $K_m = 1 \times 10^{-6}$  ; protéine 3 :  $k_{cat} = 1 \times 10^8$   $K_m = 1 \times 10^{-4}$ .

Quelle(s) affirmation(s) est ou sont vraie(s) à propos de leur efficacité catalytique ( $C_e$ ) respective?

A.  $C_e$  protéine 1 >  $C_e$  protéine 3 >  $C_e$  protéine 2

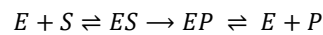
**B.  $C_e$  protéine 1 =  $C_e$  protéine 3 =  $C_e$  protéine 2 =  $1 \times 10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$**

C.  $C_e$  protéine 2 >  $C_e$  protéine 3 >  $C_e$  protéine 1

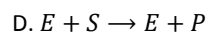
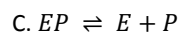
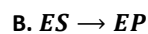
D.  $C_e$  protéine 1 >  $C_e$  protéine 2 >  $C_e$  protéine 3

E.  $C_e$  protéine 1 =  $C_e$  protéine 3 =  $C_e$  protéine 2 =  $1 \times 10^{-12}$

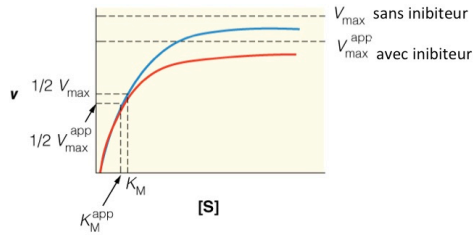
18. Dans la réaction enzymatique suivante



$k_{cat}$  représente le taux de quelle réaction?



19. A quel type d'inhibiteur correspond cette courbe de Michaelis-Menten?



- A. Inhibiteur compétitif
- B. Inhibiteur mixte
- C. Inhibiteur incompétitif**
- D. Inhibiteur irréversible

20. Parmi les affirmations suivantes lesquelles correspondent aux propriétés des inhibiteurs mixtes pour une réaction enzymatique donnée?

- A.  $V_{max}^{app}$  est diminué
- B.  $K_m^{app}$  peut-être égale, augmentée ou diminuée en fonction de la valeur de  $K_i$  et  $K_i'$**
- C. les inhibiteurs mixtes sont composés d'un mélange de deux molécules chimiques
- D. les inhibiteurs mixtes lient le complexe EP
- E. les inhibiteurs mixtes se lient toujours dans le site de liaison du substrat

21. Selon le modèle d'ajustement induit, le site de liaison du substrat d'une enzyme...

- A. a une forme rigide comme une serrure pour sa clé
- B. a une forme complémentaire au produit de la réaction
- C. stabilise l'état de transition**
- D. est dynamique, ce qui permet d'expliquer qu'une enzyme puisse reconnaître plusieurs substrats**
- E. toutes ces réponses

F-X Campbell-Valois 2016-2-24 11:53

**Comment [2]:** Accepter comme bonne réponse  
A ou A+B

22. Parmi les affirmations suivantes lesquelles sont vraies?

1. Les enzymes sont stéréospécifiques quant à leur substrat grâce à la chiralité de leur structure.
2. Les hélices- $\alpha$  ont un enroulement droit.
3. Les chaînes latérales autour du lien peptidique adoptent la plupart du temps une configuration trans.
4. La structure de l'état de transition est toujours plus similaire au produit plutôt qu'au substrat d'une réaction enzymatique.
5. Dans les réactions de repliement les intermédiaires peuvent être sur ou hors de la voie de repliement vers la structure native.
6. Certaines maladies dégénératives sont dues à des problèmes de repliement.
7. Le lien peptidique entre n'importe quels acides aminés et la proline est le seul à adopter 75% du temps la conformation cis

Faites un seul choix parmi les combinaisons suivantes :

- A. 1, 2 et 6 sont vraies
- B. 1,2, 5, 6 et 7 sont vraies
- C. 1, 2, 3, 5 et 6 sont vraies**
- D. 1, 2, 3, 4, 5 et 6 sont vraies
- E. Toutes ces affirmations sont vraies

**Questions à réponses courtes (34 points+4points boni)**

**23. A.** (4 pts) Compléter le tableau suivant sur les caractéristiques des hélices- $\alpha$  et des feuillets- $\beta$  parallèle et antiparallèle. Les caractéristiques des deux types de feuillets- $\beta$  étant très similaires, les valeurs des deux types de feuillets seront acceptées.

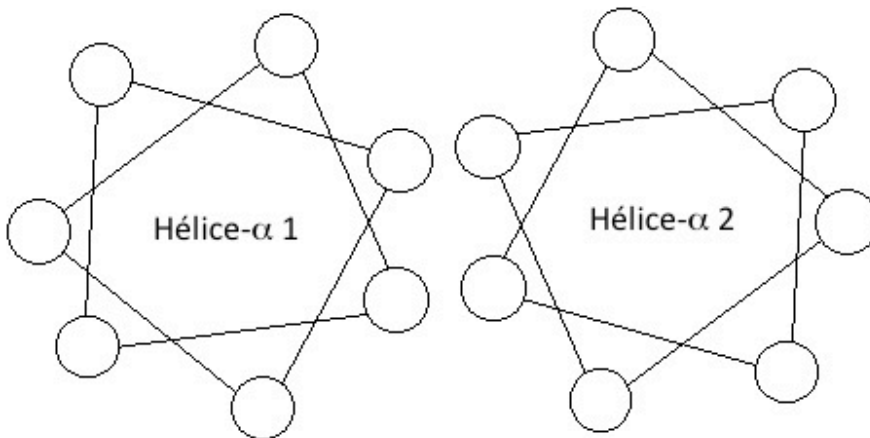
Type de structure	Nombre de résidus par tour	Pas/tour (Å)
Hélice- $\alpha$	3.6	5.4
Feuillet- $\beta$ parallèle et antiparallèle	2	6.4-6.8

**Pénalité de 0.25 seulement pour valeur 5-6 (mais non 5.4) pour l'hélice**

**Pour le pas des feuillets acceptés plusieurs réponses soit, 6.4 ou 6.8 ou 6.4-6.8 ou 6.4 et 6.8**

**Pénalité de 0.25 pour valeur entre 6-6.3 et 6.9-7 pour les feuillets.**

**B.** (4 pts) Une fois purifié, deux hélices- $\alpha$  amphiphiles contenant des fermetures éclair de Leucine (leucine zipper) interagissent ensemble tel que c'est indiqué sur le schéma ci-dessous. Indiquer les positions où se trouvent les résidus non-polaires aliphatique (leucines) en indiquant dans les cercles correspondant un L.



Les 4 cercles du centre doivent avoir un L accordé 4 pts. Si deux cercles du centre ont un L accordé deux points.

**24.** Vous voulez purifier deux protéines homologues (Catniss et Peeta) ayant exactement la même masse moléculaire (25kDa) selon leur structure primaire, mais des  $pI$  très différents ( $pI=5.5$ ;  $pI=8.5$  pour Catniss et Peeta, respectivement). Heureusement vous pouvez cloner les deux protéines pour les exprimer séparément dans un système d'expression chez la bactérie *Escherichia coli*. Vous voulez purifier les protéines dans les mêmes conditions de pH à toutes les étapes de votre procédure de purification.

- A. (2 pt) Quel pH utiliseriez-vous pour purifier ces protéines par chromatographie ionique? Quelle serait la charge totale (négative ou positive) de chaque protéine à ce pH?

**pH= 7.25 (1 pt); on peut accorder les points pour une valeur raisonnablement proche de la moyenne des deux  $pI$**

**Catniss sera chargée négativement. (0.5 pt)**

**Peeta sera chargée positivement. (0.5 pt)**

- B. (2 pts) En vous servant des trois méthodes de chromatographie vues en classe, en quel ordre les utiliseriez-vous? Quel type de matrice utiliseriez-vous dans chaque cas pour la chromatographie ionique? Remplissez les deux colonnes de droite avec les informations requises.

	Catniss	Peeta
Étape1 :	Affinité	Affinité
Étape2 :	Ionique; échange d'anion	Ionique; échange de cation
Étape 3 :	Exclusion de taille	Exclusion de taille

**1 pt pour l'ordre dans les deux colonnes. -0.5 si une colonne est bonne au niveau de l'ordre, mais cela diffère dans l'autre..**

**Catniss 0.5 pt pour (échange) anionique**

**Peeta 0.5 pt pour (échange) cationique**

- C. (1 pt) Lorsque vous récupérez votre protéine de la colonne de chromatographie par exclusion de taille, Catniss éluée de la colonne dans une fraction correspondant à exactement 2 fois la masse moléculaire de sa structure primaire que vous aviez estimée à partir du brin codant de son gène. Quelle est l'explication la plus plausible?

**Catniss forme un homodimère ou une structure quaternaire homodimérique**

- D. (6 pts) Vous avez trouvé une région de la structure primaire entre les résidus numéros 65-75 qui est partiellement conservée en surface des protéines similaires à Catniss et Peeta.
- Quel résidu de cet alignement est le plus important fonctionnellement selon vous (1.5 pts)?
  - Discuter la mutation observée à la position la plus conservée (2 pts).
  - Quelle mutation introduiriez-vous dans Peeta pour tester l'importance du résidu le plus conservé (1 pt)?
  - Pour quelle raison avez-vous choisi cet acide aminé (1.5 pts).

Nommez dans toutes vos réponses les acides aminés par leur nom complet. Indiquez la mutation que vous insérez en utilisant également la nomenclature à une lettre vue en classe (par exemple pour une mutation de la sérine à la position 65 en thréonine, indiquez S65T).

Catniss	65	SQLNATKVHGL	75
<b>Peeta</b>	65	ANIQCTKIHPD	75
Homolog 1	65	AQLQASRVWGL	75
Homolog 2	65	TNVNSSKLYPE	75
Homolog 3	65	SNAQASKAWGK	75

- i. **Le résidu le plus conservé est la lysine en position 71 (1.5 pt). Position 71 est aussi ok si on mentionne qu'il y a soit une lysine (4/5) soit une arginine (1/5).**

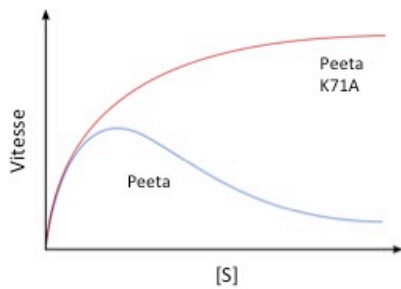
**Si le nom au long et le numéro du résidu est indiqué ou K71 (1 pt). Rajouter 0.5 si le nom lysine est également mentionné comme dans les instructions**

- ii. **La seule mutation tolérée est pour une arginine (0.5 pt) qui est elle aussi un acide aminé chargée positivement, il y a donc conservation de la propriété de la chaîne latérale (1.5 pt)**

iii. La mutation à insérer est une alanine à la place de la lysine à la position 71, soit K71A (1pt); bon résidu sans la nomenclature correcte (-0.5 pt). Si bien justifié on pourrait également tolérer la mutation K71M

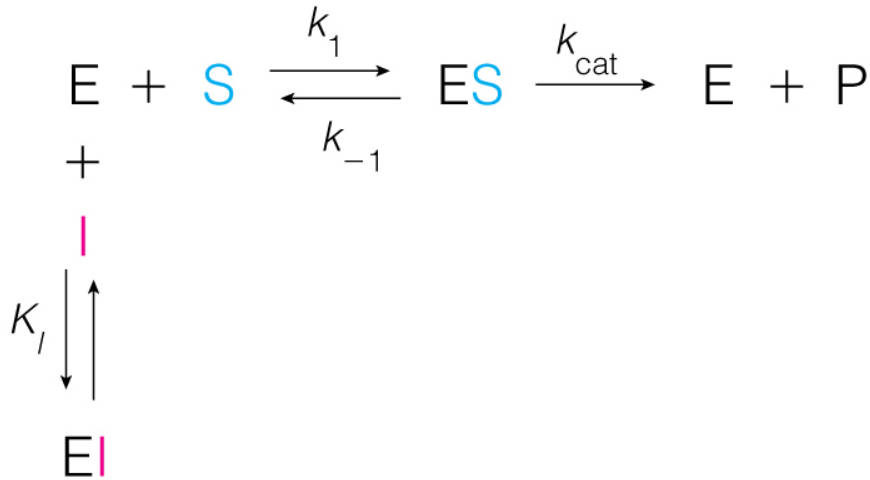
iv. Cette mutation permet de tester l'importance du groupe amino de la lysine (0.5), tout en évitant la formation d'interactions non-natives puisqu'on raccourcit la taille de la chaîne latérale (1 pt).

E. (4 pts boni) La vitesse de la réaction enzymatique de la protéine Peeta originale et du mutant K71A varie de la manière indiquée dans le graphe ci-dessous. Quel phénomène pourrait expliquer le résultat, sachant que le substrat est chargé négativement?



La protéine Peeta originale est inhibée par son substrat qui agit comme un inhibiteur allostérique (à un site autre que le site actif) (2 pt.). La mutation K71A détruit cette régulation allostérique en déstabilisant l'interaction avec le substrat au sein du site allostérique, ce qui permet de récupérer une courbe de Michaelis-Menten classique (2 pt.).

25. A. (3 pts) Indiquer les réactions à l'équilibre pour un inhibiteur compétitif en utilisant les différentes espèces (E : enzyme, S : substrat, I : inhibiteur et P : produit) et en indiquant les constantes sur les flèches de la réaction.



© 2016 Pearson Education, Inc.

1.5 pts pour la réaction.

0.5 pt pour chaque constante bien placé ( $K_i$ ;  $k_1$  et  $k_{-1}$ ;  $k_{\text{cat}}$ ).

Pas de pénalités pour une double flèche entre ES et E+P ou pour une espèce supplémentaire EI entre ES et E+P

B. (4 pts) Indiquer la formule à utiliser pour une courbe de Michaelis-Menten d'un inhibiteur compétitif et calculer la vitesse de la réaction enzymatique suivante :  $[S] = 4 \times 10^{-7} \text{ M}$ .  $V_{\text{max}} = 1000$  micromoles/minute;  $K_m = 1 \times 10^{-7} \text{ M}$ ;  $K_i = 1 \times 10^{-9} \text{ M}$  et  $[I] = 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ .

$$V_i = \frac{V_{\text{max}} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

$$\text{où } \alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i} = 1 + \frac{1 \times 10^{-8}}{1 \times 10^{-9}} = 1 + 10 = 11$$

donc

$$V_i = \frac{1000 \cdot 4 \times 10^{-7}}{11 \cdot 1 \times 10^{-7} + 4 \times 10^{-7}}$$

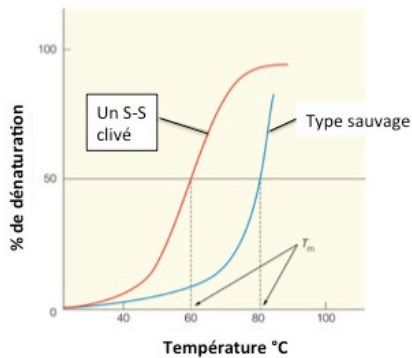
$V_i = 266.7$  micromole/minute

1 pt pour l'équation de Michaelis-Menten pour un inhibiteur compétitif

1 pt pour l'équation d' $\alpha$

Le reste des points pour la résolution du problème.

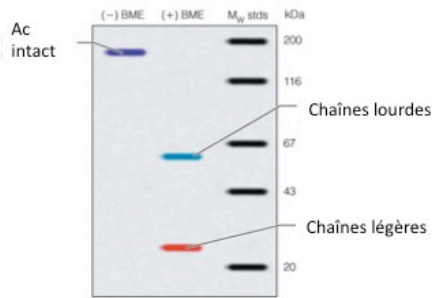
26. A. (4 pts) Une protéine que vous voulez étudier possède plusieurs ponts dissulfures. Vous avez déjà obtenu un mutant avec un pont dissulfure en moins. Voici la comparaison des courbes de dénaturation de ce mutant avec la protéine originale. Expliquez la différence entre les deux courbes. Qu'est ce qui produirait si vous créeriez un mutant avec un deuxième pont dissulfure en moins.



Le mutant se dénature à température plus faible car le pont dissulfure contribue à la stabilisation de la structure native (1.5 pts).

Enlever un deuxième pont dissulfure déstabiliserait un peu plus la structure native (2.5 pts).

B. (4 pts) Lorsqu'un anticorps est soumis à une électrophorèse avant ou après traitement avec un agent réducteur (- et + BME), voici le résultat obtenu. Expliquer le résultat et ce qu'il indique sur la structure quaternaire de l'anticorps.



L'anticorps est formé de plusieurs chaînes polypeptidiques qui sont unies par des ponts dissulfures. L'ajout de l'agent réducteur dégrade ce complexe quaternaire (3 pts).

La masse moléculaire des différentes espèces sur le gel indique que l'anticorps intact est composé de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères (1 pts).