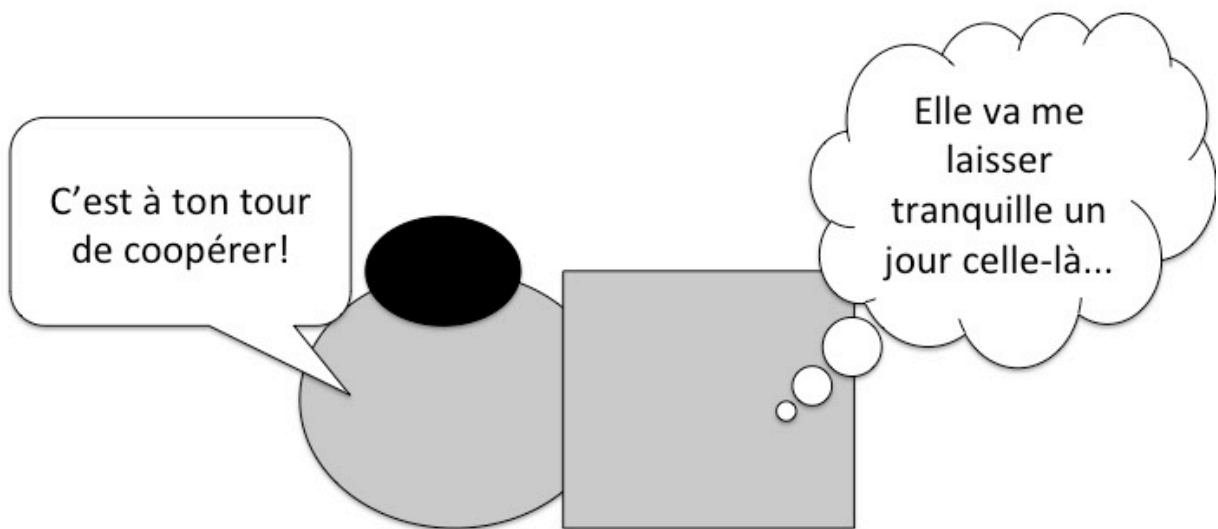


Nom _____

Numéro d'étudiant _____

Cet examen comporte 19 pages et 27 questions : votre signature confirme que vous avez vérifié que l'examen était complet.



Il est interdit de se servir de téléphones cellulaires, de dispositifs électroniques non autorisés ou de notes de cours (à moins qu'il s'agisse d'un examen à livre ouvert). Les téléphones et les dispositifs doivent être fermés et rangés dans votre sac : vous ne pouvez pas les laisser dans vos poches ou sur votre personne. Sinon, on pourrait vous demander de quitter l'examen immédiatement et des allégations de fraude scolaire pourraient être déposées dont le résultat pourrait être un 0 (zéro) pour l'examen.

En apposant votre signature, vous reconnaissez vous être assuré de respecter l'énoncé ci-dessus.

SIGNATURE : _____ DATE : _____

Questions à choix multiples (20 questions; 45 pts en tout). Utilisez le feuillet optique (scantron) pour indiquer la bonne réponse parmi les choix proposés.

1. Quelle(s) affirmation(s) est/sont vraie(s)?

- A. Certaines combinaisons d'angles Φ et Ψ sont rendues impossibles par l'encombrement stérique causé par les atomes de la chaîne latéral.
- B. La glycine adopte une plus grande diversité de combinaisons d'angles diédriques à cause de sa chaîne latérale minuscule.
- C. L'angle Φ correspond à l'angle diédrique entre le groupement amino ($>NH$) et le C-alpha d'un acide aminé.
- D. L'angle Ψ correspond à l'angle diédrique entre le groupement carbonyle ($>C=O$) et le C-alpha d'un acide aminé.
- E. Toutes ces réponses.**

2. Le(s)quel(s) des choix suivants correspond(ent) à certain(s) des facteurs interviennent presque uniquement dans la stabilisation de la structure native des protéines globulaires sécrétées:

- A. Les ponts disulfures**
- B. Les chaînes latérales hydrophobes
- C. Les liaisons hydrogènes
- D. Les énoncés B et C sont vrais.
- E. Les énoncés A, B et C sont vrais.

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



- A. Épingle-à-cheveux- β
- B. Épingle-à-couche- β
- C. Tour- β
- D. Motif clé grecque**
- E. Feuillet antiparallèle.

4. Quelle(s) combinaison(s) d'énoncé(s) décrivent le plus exhaustivement la liaison peptidique?

- i. Elle forme un groupement amide.
 - ii. Elle se dégrade spontanément à 25°C.
 - iii. Elle a un caractère partiellement double.
 - iv. Il y a libération d'une molécule d'eau lors de sa formation.
 - v. Les atomes la composant peuvent former des liaisons hydrogène.
- A. i et ii
 - B. i, ii et iii
 - C. i, iii et v
 - D. iii, iv et v
 - E. i, iii, iv et v.**

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

- A. a une forme rigide.
- B. a une forme complémentaire au produit de la réaction.
- C. est dynamique, ce qui permet d'expliquer qu'une enzyme puisse reconnaître plusieurs substrats.
- D. stabilise l'état de transition.
- E. C et D sont vrais.**

6. Quel(s) angle(s) diédrique(s) est/sont le(s) plus variable(s) au sein de la chaîne principale des protéines?

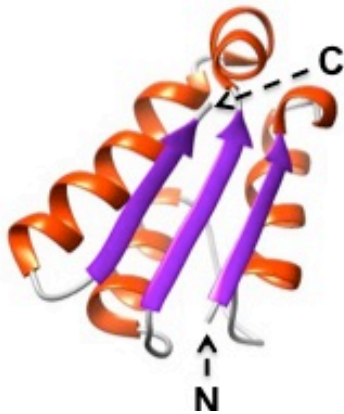
- A. Phi (Φ)
- B. Psi (Ψ)
- C. Omega (ω)
- D. Omega (ω) et Phi (Φ)
- E. Phi (Φ) et Psi (Ψ)**

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

- i. Elles ont une faible diversité d'acides aminés dans leur structure primaire.
- ii. Elles contiennent invariablement de nombreux ponts disulfures.
- iii. Elles jouent souvent un rôle structural grâce à leur propriété de résistance mécanique.
- iv. Les acides aminés à chaîne latérale hydrophobe jouent un rôle mineur dans la stabilisation de leur structure native.
- v. Leur monomère et/ou la structure quaternaire adoptée par ces derniers a/ont une forme allongée.

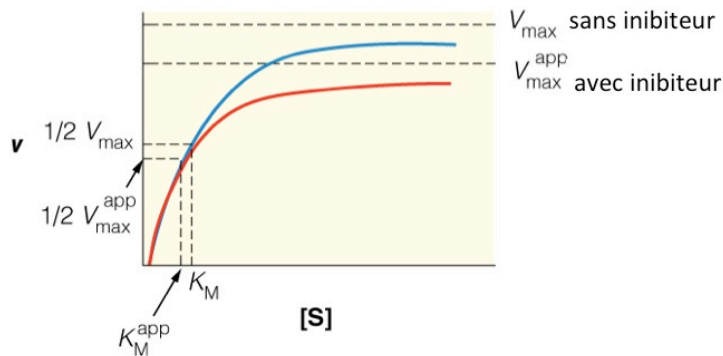
- A. i
- B. v
- C. i et iii
- D. i, iii et iv
- E. i, iii, iv et v

8. Quel(s) type(s) de motifs ou domaines est/sont présents dans la structure tertiaire de cette protéine? Pour faciliter votre repérage, les extrémités amino- (N) et carboxy-terminales (C) sont indiquées.



- A. Un feuillet- β mixte (brins- β parallèle et antiparallèles)
- B. Un motif épingle-à-cheveux- β
- C. Un domaine faisceaux d'hélice- α
- D. Un feuillet- β entièrement parallèle**
- E. Toutes ces réponses

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



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

10. Qu'est-ce que l'état stationnaire pour les enzymes?

- 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. La condition dans laquelle il ne faut surtout pas mesurer le taux d'une réaction enzymatique lorsque l'ont se sert de l'équation de Michaelis-Menten.
- E. L'état de stabilité réactionnelle caractéristique d'une enzyme qui est tirée d'affaire.

11. Quels types de structures secondaires ou de motifs les deux séquences suivantes ont-elles le plus de chance d'adopter?

i) VNIRVYLPNKQRVNVR; ii) SLHDALQKALKALG

- A. i) brin- β parallèle; ii) hélice gauche
- B. i) épingle-à-cheveux- β ; ii) hélice- α**
- C. i) brin- β antiparallèle; ii) hélice- α
- D. i) brin- β antiparallèle; ii) hélice-boucle-hélice
- E. Aucune de ces réponses.

12. Parmi les énoncés suivants, lesquels sont vrais?

- i. Les structures quaternaires sont toujours obligatoires pour la formation de la structure tridimensionnelle native.
- ii. Les chaînes latérales autour du lien peptidique adoptent la plupart du temps une configuration trans.
- iii. Dans les réactions de repliement les intermédiaires peuvent être sur ou hors de la voie de repliement vers la structure native.
- iv. Certaines maladies dégénératives sont dues à des problèmes de repliement.
- v. Le lien peptidique entre n'importe quels acides aminés et la proline est le seul à adopter la conformation cis de manière significative.

A. ii

B. i et ii

C. i, ii, iii et iv

D. ii, iii, iv et v

E. Tous les énoncés (i à v) sont vrais.

13. Quel(s) énoncé(s) à propos de l'équation de Hill (ci-dessous), est/sont vraie(s)?

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

A. Si $h > 1$, le processus est coopératif

B. B. Le coefficient de Hill (h) est plus petit ou égal (\leq) au nombre de sites de liaison

C. θ 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

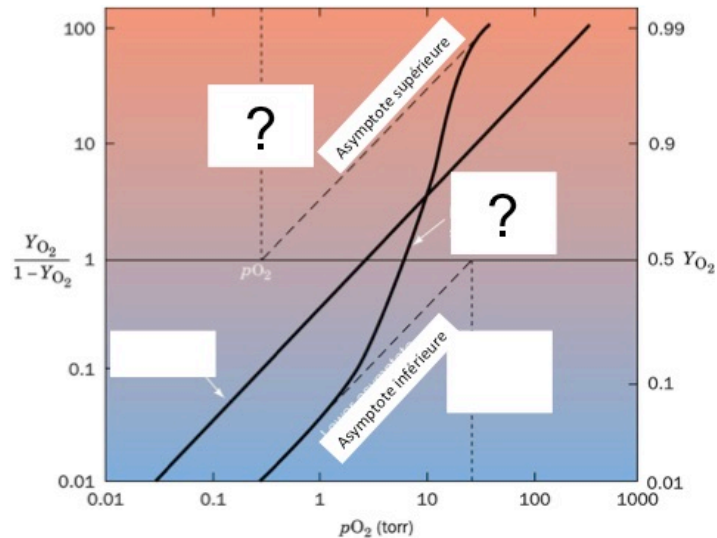
14. Si une mutation introduite dans le site de liaison d'une protéine augmente la constante de dissociation (K_d) de cette dernière pour son ligand, qu'est-ce que cela signifie?

- A. La protéine de type sauvage a une affinité plus faible pour le ligand que la protéine mutante.
- B. La protéine mutante liera son ligand de manière coopérative.
- C. La protéine mutante a une affinité plus faible pour le ligand que la protéine de type sauvage.**
- D. La formation de l'état de transition de la réaction est favorisée chez la protéine mutante.
- E. La dissociation du complexe protéine-ligand est plus favorable chez la protéine mutante que chez la protéine de type sauvage.

15. Parmi les énoncés suivants lesquels correspondent aux propriétés d'un inhibiteur mixte pour une réaction enzymatique donnée?

- i. V_{max}^{app} est diminuée.
 - ii. K_m^{app} peut-être égale, augmentée ou diminuée en fonction de la valeur de K_i et K_i' .
 - iii. Les inhibiteurs mixtes sont composés d'un mélange de deux molécules chimiques.
 - iv. Les inhibiteurs mixtes lient le complexe EP.
 - v. Les inhibiteurs mixtes se lient toujours dans le site de liaison du substrat.
- A. i
 - B. i et ii**
 - C. i, ii et iii
 - D. i, ii, iii et iv
 - E. Tous les énoncés (i à v) sont vrais.

16. Quelles sont les paramètres représentés par les points d'interrogation qui peuvent être extrapolés de ce graphique de la liaison de l'oxygène à l'hémoglobine (courbe sigmoïdale)?



- A. La pente du segment central de la courbe : K_m/V_{max} ; l'abscisse à l'origine de l'asymptote inférieure : $-1/K_m$.
- B. La pente du segment central de la courbe : le coefficient de Hill; l'abscisse à l'origine de l'asymptote inférieure : l'affinité de la dernière molécule d'oxygène se liant à l'hémoglobine.
- C. La pente du segment central de la courbe : le coefficient de Hill; l'abscisse à l'origine de l'asymptote inférieure : l'affinité de la première molécule d'oxygène se liant à l'hémoglobine.**
- D. La pente du segment central de la courbe : le K_d moyen de O_2 pour l'hémoglobine; la pente de l'asymptote inférieure : le coefficient de Hill.
- E. La pente du segment central de la courbe : le coefficient de Hill; l'abscisse à l'origine de l'asymptote inférieure : l'affinité moyenne de l'oxygène pour l'hémoglobine.

17. Pour quelle réaction k_{cat} est-elle la constante de temps (E : enzyme; S : substrat et P : produit)?

- A. $E + S \rightleftharpoons ES$
- B. $ES \rightarrow EP$**
- C. $EP \rightleftharpoons E + P$
- D. $E + S \rightarrow E + P$
- E. Aucune de ces réponses

18. Voici les K_m et les k_{cat} que vous avez obtenues pour trois protéines :

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

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

- i. **Le clonage de la séquence d'ADN codante (gène) d'une protéine dans un plasmide peut faciliter son expression et sa purification.**
 - ii. **La table de propension de Chou et Fasman indique la fréquence de chaque acide aminé au sein des structures secondaires.**
 - iii. **Les polypeptides quelque soit la composition de leur structure primaire peuvent adopter n'importe laquelle des structures secondaires les plus observées dans la nature.**
 - iv. **Les angles Φ et Ψ dans un feuillet- β varient d'environ -150° à -100° et de 120° à 160° , respectivement.**
 - v. **Certaines chaînes polypeptidiques identiques ou non peuvent interagir ensemble pour former des structures quaternaires symétriques.**
- A. i et ii
 - B. i et iii
 - C. i, ii et iii
 - D. i, iii et iv
 - E. i, ii, iv et v**

20. 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 lors de son repliement
- B. Augmentation de l'entropie dans l'organisation des molécules d'eau autour de la chaîne polypeptidique au cours de son repliement
- C. Différence d'enthalpie négative lors du repliement de la protéine
- D. Les chaperons moléculaires interviennent dans le repliement de certaines protéines *in vivo*.
- E. Toutes ces réponses.**

Questions 21-27 : à réponse courte ou à développement (55 points)

21. (note totale 5 pts) Dessiner schématiquement la structure tertiaire d'une protéine composée des éléments de structure secondaire suivant:

brin- β 1—boucle—hélice- α 1—boucle—brin- β 2—tour—brin- β 3—boucle—hélice- α 2—
boucle—brin- β 4

sachant que :

- Les brins forment un feuillet mixte.
- Les brins- β 1 et - β 4 sont en bordure du feuillet et les brins- β 2 et β 3 sont centraux.
- Les brins- β 1/ β 2 sont parallèles; Les brins- β 3/ β 4 sont parallèles.
- L'hélice- α 1 et l'hélice- α 2 sont apposées sur le feuillet.
- Il n'est pas nécessaire de dessiner les liaisons hydrogènes

- **3 points pour le feuillet parfait**

(-1 s'il y a un seul problème de connexion mineur; -1.5 pts s'il y a deux fois le même problème de connexion)

(-1 si le tour n'est pas différenciable des boucles)

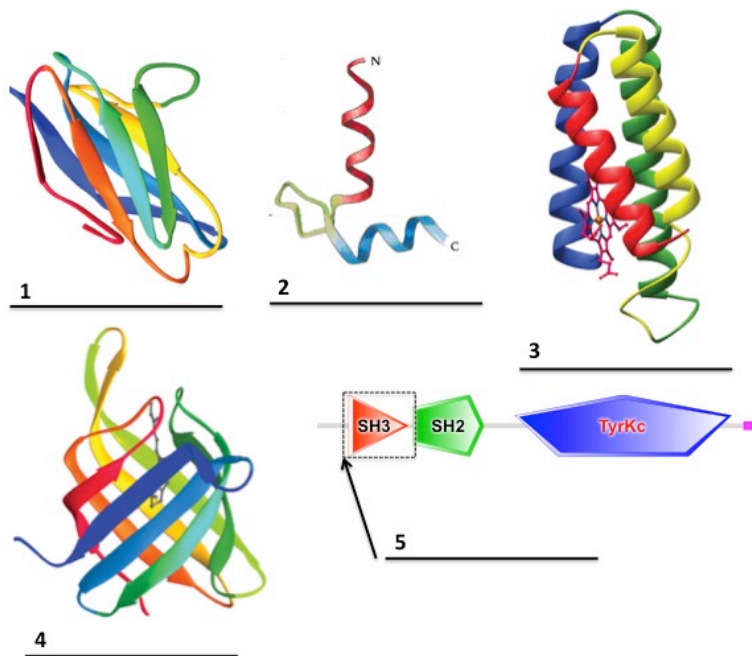
- **2 points pour les deux hélices bien apposée sur le feuillet)**

Les hélices doivent vraiment être apposée en travers du feuillet (être en contact avec le feuillet) pour obtenir le maximum des points (2 pts).

Sinon -1 pt

22. (note totale 5 pts) Associez un des termes ci-contre à chacune des structures représentées ci-dessous.

Liste de termes : pli SH2, pli Rossmann, motif hélice-boucle-hélice, domaine SH3, zipper de leucine, pli tonneau (baril) α/β parallèle, pli tonneau (baril) β -antiparallèle, pli SH3, pli immunoglobuline, domaine SH2, pli faisceau de quatre hélices ou hélice-tour-hélice.



- 1 : Pli immunoglobuline (ou Pli sandwich- β)
 2 : Motif hélice-boucle-hélice
 3 : Pli faisceau de quatre hélices
 4 : Pli tonneau (baril) β -antiparallèle
 5 : Domaine SH3

23. (note totale 10 pts)

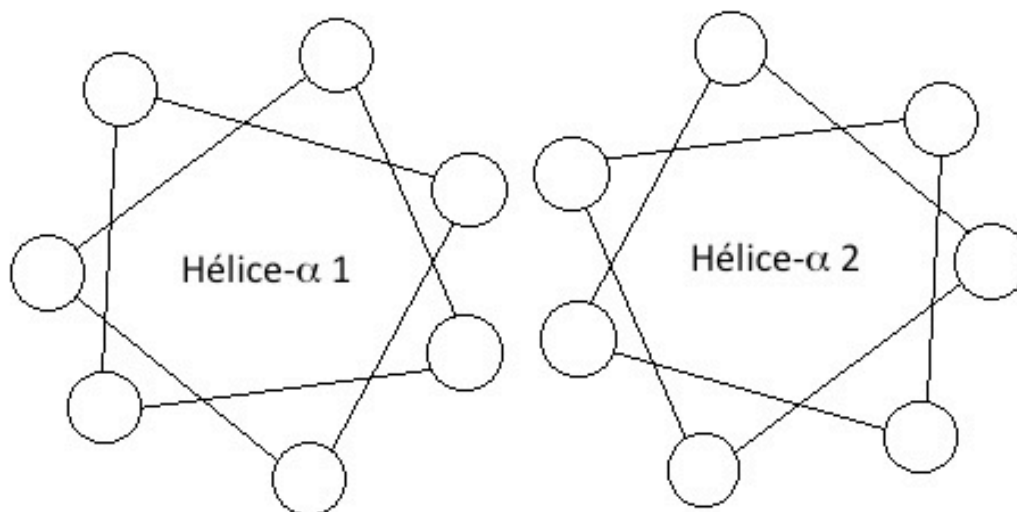
A. Compléter le tableau suivant sur les caractéristiques des hélices- α et des feuillets- β . Les caractéristiques des deux types de feuillets- β étant très similaires, les valeurs pour l'un ou l'autre des deux types de feuillets seront acceptées (**5 pts**).

Type de structure	Nombre de résidus par tour	Pas/tour (Å)
Hélice- α	3,6	5,4
Feuillet- β parallèle et antiparallèle	2	6,4 à 6,8

B. Deux hélices- α amphiphiles contenant des fermetures éclair de Leucine (leucine zipper) interagissent ensemble tel que c'est indiqué sur le schéma ci-dessous.

i) Indiquez les 4 positions où se trouvent les résidus non-polaires aliphatique (leucines) en indiquant dans les cercles correspondant un **L** (**3 pts**).

ii) Indiquez les 4 positions où se trouvent les résidus chargés (C) formant des liaisons ioniques en indiquant dans les cercles correspondant un **C** (**2 pts**).



Les 4 positions au centre de la zone de contact entre l'hélice- α 1 et l'hélice- α 2 correspondent à la position des résidus hydrophobes (L).

Les 4 positions autour des positions centrales correspondent à la position des résidus chargés (C).

24. (note totale 10 pts)

Vous voulez purifier deux protéines homologues nommées Catniss et Peeta ayant exactement la même masse moléculaire (25kDa), mais des pI très différents ($pI_{Peeta} = 5$; $pI_{Catniss} = 9$). Vous avez cloné les deux protéines ce qui vous permet de les exprimer et de les purifier séparément.

Vous voulez purifier ces deux protéines dans les mêmes conditions de pH, mais en utilisant des résines ioniques de charges opposées.

- A.** Quel pH utiliseriez-vous pour purifier ces protéines par chromatographie ionique (1.5 pt)?

pH= 7 (moyenne des deux pI)

Enlever 0.25 pt si c'est proche de pH= 7

- B.** A ce pH, quelle serait la charge totale (négative ou positive) sur Catniss et Peeta ainsi que la charge de la résine pour la chromatographie ionique que vous emploieriez dans chacun de ces cas (2 pts)?

Peeta : négative; résine positive

Catniss: positive; résine négative

- C.** En quel ordre utiliseriez-vous les trois méthodes de chromatographie vues en classe pour purifier les deux protéines (1.5 pts)?

Affinité

Ionique

Exclusion de taille

0,25 pt/technique de chromato= 0.75 pt en tout

0,75 pt pour l'ordre (0,75 pt ou 0)= 0,75 pt en tout

- D.** Lors de la purification, vous avez constaté que Catniss élue de la colonne de chromatographie par exclusion de taille dans une fraction correspondant à exactement 3 fois la masse moléculaire que vous aviez estimé à partir de sa structure primaire. Quelle est l'explication la plus plausible **(2 pts)**?

Catniss forme une structure quaternaire trimérique (1.5 pts) avec elle même (0.5 pt)

La réponse peut également être donnée sous forme d'un schéma.

- E. 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 (3 pts).

Catniss	65	S Q L N A T E V H G L	75
Peeta	65	R N I S C T E I K P D	75
Homolog #1	65	A Q L Q A C E V W G L	75
Homolog #2	65	T N V N S A D F Y A E	75
Homolog #3	65	S F T Q T S E A W G K	75

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.

- i. Quel résidu de cet alignement est le plus important fonctionnellement selon vous (0,75 pt)?

Le résidu glutamyl en position 71 (0,75 pt).

L'acide glutamique (ou glutamate) en position 71 (0,75 pt).

Accordez 0,25 pt si c'est seulement indiqué E71.

- ii. Discutez des propriétés de l'acide aminé le moins fréquent à la position la plus conservée (0,75 pt). Qu'est-ce que cela implique?

Il s'agit d'un acide aspartique (ou aspartate) dont la chaîne latérale est chargée négativement (ou acide) tout comme l'acide glutamique (ou glutamate) (0,5 pt).

- iii. Quelle mutation introduiriez-vous dans Peeta pour tester l'importance du résidu le plus conservé (0,75 pt)?

Je muterais l'acide glutamique (ou glutamate) en position 71 en alanine (0,5 pt) soit E71 (0, 25 pt).

Une glutamine pourrait obtenir des points si c'est bien justifié.

iv. Pour quelle raison avez-vous choisi cet acide aminé (0,75 pt)?

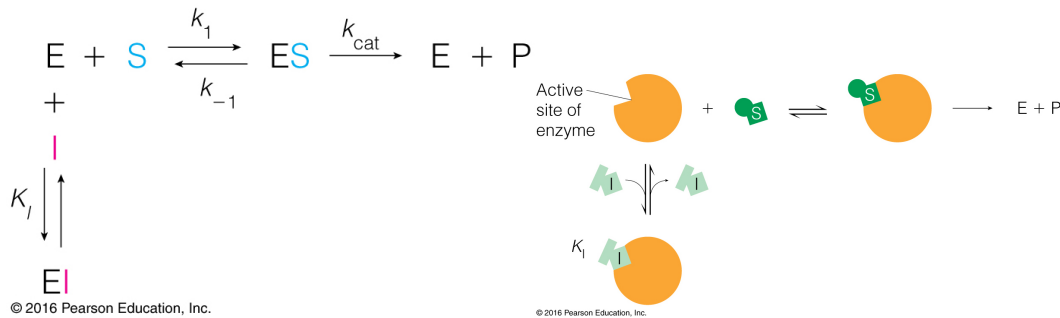
Cette mutation E71A (ou acide glutamique/glutamate 71 en alanine) permet de tester l'importance de la présence d'une chaîne latérale chargée négativement (ou basique) à cet endroit (0,25 pt)

tout en suivant la règle de la diminution de la taille de la chaîne latérale (0,25 pt), qui est essentielle pour tester l'importance du rôle d'un acide aminé dans la structure native tout en évitant d'introduire des interactions nouvelles (ou non-natives) (0,25 pt)

25. (note totale 10 pts)

A. Indiquez 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 **(5 pts)**.

Deux possibilités (pour celle de droite plus schématique, les constantes de temps indiquées à gauche doivent être également placées au bon endroit).



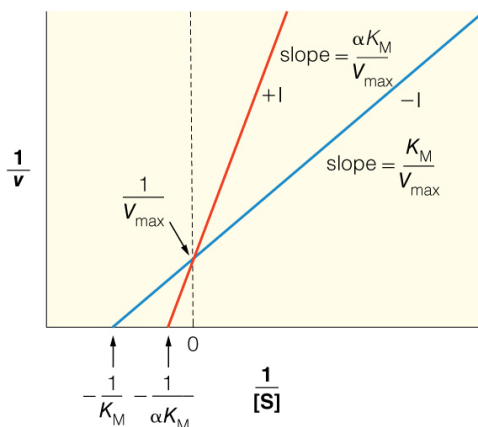
B. i) Indiquez (à gauche ci-dessous) la formule à utiliser pour la cinétique Michaelis-Menten d'une enzyme en présence d'un inhibiteur compétitif et illustrer cela sur un graphique de Lineweaver-Burk avec au moins deux droites : la première en absence de l'inhibiteur et la seconde en présence de l'inhibiteur **(3 pts)**.

ii) Calculez (en démontrant votre démarche à droite ci-dessous) la vitesse de la réaction enzymatique dans les condition suivantes:

$[S] = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$. $V_{max} = 2000 \text{ micromoles/minute}$; $K_m = 2 \times 10^{-7} \text{ M}$; $K_i = 4 \times 10^{-10} \text{ M}$;

$[I] = 2 \times 10^{-9} \text{ M}$ **(2 pts)**.

B) i)



0,25 pt/chacune pour les valeurs de l'ordonnée à l'origine, de l'abscisse à l'origine et de la pente.

2,25 pt pour le graphe avec la droite sans inhibiteur et avec inhibiteur bien indiqué;

-1 pt pour un graphe où le titre de l'axe des X et de l'axe des Y est manquant.

B) ii)

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

$$\frac{1}{V_i} = \frac{\alpha K_m}{V_{max}} * \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$\alpha = 1 + \frac{2 \times 10^{-9}}{4 \times 10^{-10}}$$

$$\alpha = 6$$

$$V_i = \frac{2000 * 1 \times 10^{-6}}{6 * 2 \times 10^{-7} + 1 \times 10^{-6}}$$

$$V_i = 909,1 \text{ micromoles/}$$

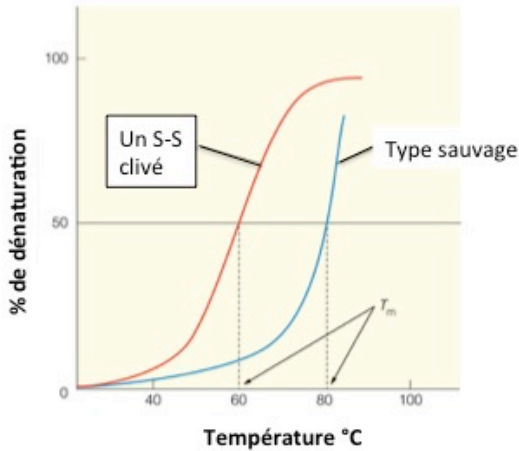
1,5 points pour une démarche correcte

(0,75 pts/chacune pour α et Michaelis-Menten en présence d'un inhibiteur compétitif)

0,5 pt pour la réponse correcte)

26. (note totale 7,5 pts)

Une protéine que vous voulez étudier possède plusieurs ponts disulfures. Vous avez déjà obtenu un mutant avec un pont disulfure en moins. Voici la comparaison des courbes de dénaturation de ce mutant avec la protéine originale.



i) Expliquez la différence entre les deux courbes (4 pts).

La protéine mutante avec un pont disulfure clivé (en moins/détruit) se dénature à une température inférieure à la protéine de type sauvage (2,5 pts)

Le pont disulfure détruit joue donc un rôle important dans la stabilisation de la structure native de cette protéine (1,5 pts).

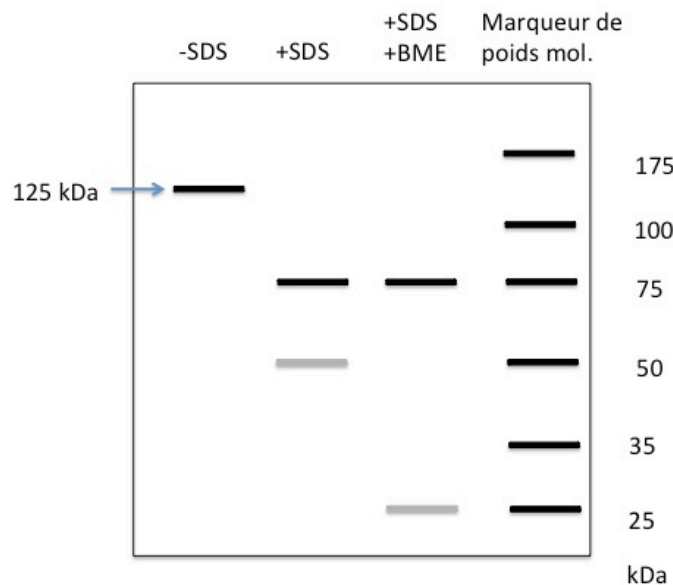
ii) Qu'est ce qui produirait si vous créeriez un mutant avec un deuxième pont disulfure en moins (3,5 pts)?

Le mutant avec un deuxième pont disulfure clivé (en moins/détruit) aura une température de dénaturation inférieures au au mutant avec un seul pont disulfure clivé (1,5 pts),

ce qui signifie que ce mutant avec deux ponts disulfures clivés sera encore plus déstabilisé que le mutant avec un seul pont disulfure (2 pts).

27. (note totale 7,5 pts)

Lorsqu'une protéine extrêmement pure (sans aucune espèce contaminante) est soumise à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence ou non du détergent fort tel le sodium docécyl sulfate (-SDS: colonne 1 ou + SDS : colonne 2) et en présence de SDS et d'un agent réducteur (+SDS, + BME : colonne 3) et que vous comparez les poids moléculaires des bandes observées sur le gel à un marqueur de poids moléculaire (colonne 4), voici le résultat obtenu. Répondez aux questions **i)** et **ii)** ci-dessous :



i) Analysez le gel en discutant des masses moléculaires approximatives observées sur le gel. Utilisez des schémas et du texte en vous référant également au gel au besoin **(4 pts)**.

Le SDS est un détergent qui détruit les interactions non-covalentes (0,25 pt).

Le BME est un agent réducteur qui détruit les ponts disulfures (0,25 pt).

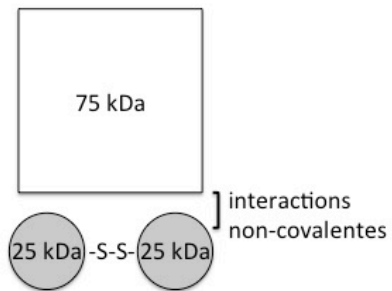
Le premier puit (-SDS) indique que la protéine a une masse moléculaire

(MM) totale de 125 kDa (1 pt).

Le deuxième puit (+SDS) indique que la protéine est composée d'au moins deux sous-unités de MM de 75 kDa et 50 kDa, respectivement (1 pt).

Le troisième puit (+SDS/+BME) indique que la bande de 50 kDa du deuxième puit correspond à deux sous-unités identiques de 25 kDa réunies par au moins un pont disulfure entre elle (1,5 pts).

ii) Concluez sur ce que cela signifie à propos de la structure quaternaire de cette protéine en représentant schématiquement sa structure (3,5 pts).



Sous-unités correctes (2 pts)

Ponts disulfures (1 pt)

Interactions non-covalentes (0,5 pt)