

UNIVERSITÉ MOHAMED V
FACULTÉ DES SCIENCES RABAT
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE IMMUNOLOGIE

**EXAMENS ET
CORRECTIONS D'EXAMENS
DE TRAVAUX PRATIQUES**

Module M₁₅ de
Biochimie Structurale
semestre 3

Professeur : EL BOURY Houria

Nom :

Prénom :

Groupe TP :

Examen de TP 2015-2016

I Acides nucléiques

1) L'extraction de l'ADN d'oignon se déroule en 3 étapes. Citer ces étapes et leurs rôles (sans développer)

- a) broyage mécanique des tissus pour libérer l'ADN des noyaux.
- b) traitement du lysat avec du NaCl pour augmenter la force ionique.
- c) précipitation de l'ADN avec de l'éthanol à froid (-20°C) pour former une pelote.

2) Après extraction de l'ADN, comment peut-on vérifier sa pureté ?

On mesure la D.O de l'ADN à 260nm et à 280nm.

Si le rapport $\frac{DO_{260}}{DO_{280}}$ est proche de 2, la solution est riche en ADN.

Si le rapport est inférieur à 1,6, la solution est contaminée par les protéines.

3) Une solution d'ARN à 200 µg/ml a une pureté de 80%

a) Calculer la concentration réelle de cette solution

$$C_{réelle} = 200 \times \frac{80}{100} = 160 \mu\text{g/ml}$$

b) A partir de cette solution, on veut préparer 10ml d'une solution contenant 32µg/ml comment faire ?

$$C_i V_i = C_f V_f \Rightarrow V_i = \frac{C_f V_f}{C_i} = \frac{32 \times 10}{160} = 2 \text{ml}$$

On prélève donc 2ml de la solution à 160 µg/ml et on complète à 10ml en rajoutant 8ml H₂O

II Acides - aminés

1) Un mélange constitué de 3 acides aminés aa₁, aa₂ et aa₃ est soumis à une électrophorèse sur papier Whatman, avec un Tampon PH_i = 6,1

On donne :

	aa ₁	aa ₂	aa ₃
PH _i	2,87	3,22	10,76

Rappel

Cathode = pôle négatif

Anode = pôle positif

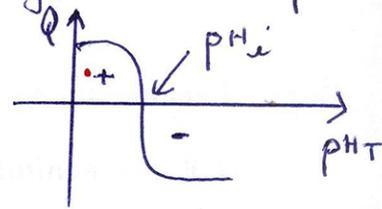
a) Expliquer le déplacement de chaque acide aminé en justifiant sa charge

Pour aa₁, PH_i < PH_T, donc aa₁ chargé -, migre vers ⊕

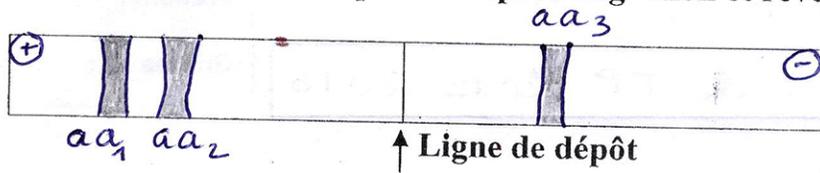
Pour aa₂, PH_i < PH_T, donc aa₂ chargé -, migre vers ⊕

Pour aa₃, PH_i > PH_T, donc aa₃ chargé +, migre vers ⊖

$pH_i aa_1 < pH_i aa_2$ donc aa_1 est chargé plus négativement que aa_2 donc se déplacera plus vers \ominus



b) Représenter la bande d'électrophorèse après migration et révélation



2) Après une chromatographie de partage sur papier Whatman, on doit calculer le R_f de chaque acide-aminé.

Que représente le R_f ?

R_f est le facteur de rétention $R_f = \frac{d}{D}$

d = distance parcourue par l'aa, du dépôt au centre de la tâche

D = distance parcourue par la phase mobile, du dépôt au front du solvant.

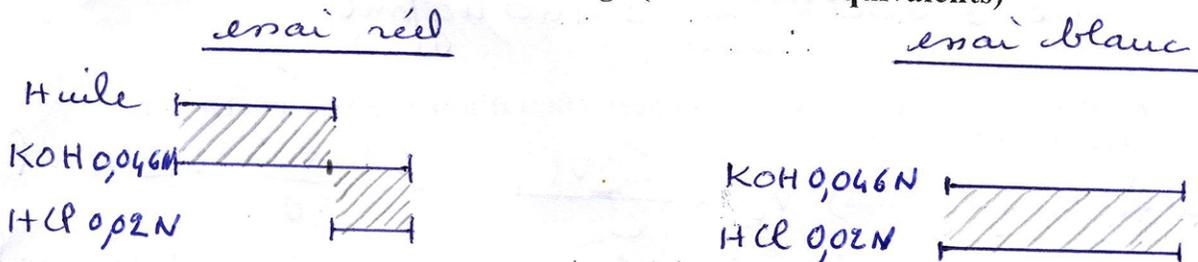
III Glucides Lipides

1) On veut déterminer l'indice d'acide d'une huile.

a) Comment doit on faire pour réaliser l'essai réel et l'essai blanc ? (les volumes ne sont pas demandés)

Dans un erlen "essai réel", on met en contact l'huile solubilisée dans du butanol avec un excès de KOH alcoolique (0,046 N)
 Dans un erlen "essai blanc", on met du butanol avec le même volume de KOH que l'essai réel. On effectue ensuite un dosage à l'HCl (0,02 N) en présence de phénolphthaléine jusqu'à décoloration. On note V_A et V_B .

b) Représenter le schéma du dosage (schéma des équivalents)



2) En industrie agroalimentaire, comment vérifier qu'une huile est comestible ?

On calcule le degré d'acidité : $DA = \frac{IA}{IS} \times 100$

Si $DA < 1\%$ alors l'huile est comestible.

3) L'oxydation périodique d'un aldose nécessite 1 mole de périodate pour effectuer une coupure. L'oxydation d'un aldose X a nécessité 4,9 moles de périodate. Que pouvez-vous conclure sur X ?

L'oxydation de X a nécessité 4,9 moles de périodate ≈ 5 moles
 Il y a eu donc 5 coupures ce qui correspond à un aldose contenant 6 carbones (si n coupures donc $(n+2)$ carbones)
 Il s'agit d'un aldohexose.

Examen de TP 2016-2017

Nom :

Prénom :

Groupe TP

I - Acides nucléiques

1) On dispose d'une solution d'ARN commercial dont le pourcentage de pureté est de 70%. La concentration de cette solution est de 200 µg/ml.

a) Calculer la concentration réelle de cette solution.

$$C_{réelle} = 200 \times \frac{70}{100} = 140 \mu\text{g/ml}$$

b) On désire réaliser une gamme étalon d'ARN à partir de cette solution (initiale). Pour cela, on veut préparer un tube témoin T et 4 solutions de concentrations différentes suivant le tableau :

	T	1	2	3	4
Concentration en µg/ml	0	7	14	21	28
Volumes à prélever de la solution initiale	0	0,5	1	1,5	2
Volumes H ₂ O pour avoir un volume final de 10 ml	10	9,5	9	8,5	8

- Expliquer le calcul que vous allez faire (pour le tube 1 par exemple). Vous n'avez pas besoin de présenter les calculs pour tous les tubes.

Exemple tube 1 : $C_i V_i = C_f V_f \Rightarrow V_i = \frac{C_f V_f}{C_i} = \frac{7 \times 10}{140} = 0,5 \text{ mL}$

$$V_f = V_i + V_{H_2O} \Rightarrow V_{H_2O} = V_f - V_i = 10 - 0,5 = 9,5 \text{ mL}$$

- Remplir le tableau

- A quelle longueur d'onde doit-on faire la lecture des densités optiques ?

à 260 nm, ce qui correspond au pic d'absorption des acides nucléiques dans les UV.

2) Au cours de l'extraction de l'ADN d'oignon, l'ADN précipite sous une forme particulière, quelle est cette forme ?

sous forme de pelote (ou méduse)

3) Expliquez brièvement pourquoi la D.O de l'ADN extrait et chauffé, est supérieure à la D.O de l'ADN extrait sans chauffage ?

Après chauffage, les deux brins de l'ADN se séparent par rupture des liaisons hydrogène entre les bases, donc celles-ci absorbent plus la lumière et la D.O augmente. C'est l'effet hyperchrome ou hyperchromicité.

II Glucides Lipides

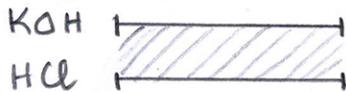
1) Quelle est la différence essentielle entre l'expérience de l'indice d'acide et celle de l'indice de saponification ?

C'est le chauffage au B.M, effectuée dans l'indice de saponification et pas dans l'indice d'acide.

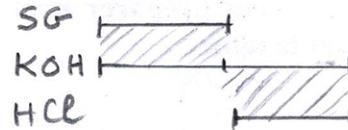
2) Dans l'indice d'acide, l'huile, solubilisée dans le butanol, est mise en contact avec KOH. L'excès de KOH est dosé avec HCL.

a) Tracer le schéma des équivalents pour l'essai blanc et l'essai réel (les concentrations ne sont pas demandées)

Essai blanc



essai réel



b) Au cours du dosage, quel indicateur coloré utilise-t-on ?

la phénolphtaléine

3) L'oxydation d'un aldose par le périodate nous indique que l'ose a subi 4 coupures. Quel est le nombre de carbones de cet ose ?

nombre de carbones = nombre de coupures + 1

⇒ 5 carbones

III Acides-Aminés

1) Dans la chromatographie de partage sur papier Whatman les a-a migrent en fonction de leur solubilité dans deux phases. Quelles sont ces deux phases ?

phase stationnaire aqueuse (H₂O)
phase mobile constitué de solvants organiques.

2) On fait migrer 4 acides-aminés au cours d'une électrophorèse sur papier Whatman, avec un tampon pH_T = 6,1. On obtient le résultat suivant :



Ala	phi = 6,02
His	phi = 7,58
Glu	phi = 3,22
Arg	phi = 10,76

a) Vers quel pôle doit migrer chaque aa ? (expliquer)

si $pH_i = pH_T$ pas de charge pas de migration (alanine)

si $pH_i > pH_T$ aa chargé + migre vers - (His et Arg)

si $pH_i < pH_T$ aa chargé - migre vers + (Glu)

$pH_i Arg > pH_i His$ donc Arg plus chargée, migre plus loin que His

b) Placer le pôle + et le pôle - en fonction de ces migrations et identifier chaque aa (écrire leurs noms sur la bande).

