

Université Mohammed V  
Faculté des sciences  
Département de Biologie  
Laboratoire de Biochimie Immunologie

## **Module M 21 d'Enzymologie et Métabolisme**

**Semestre 4**

**Exercices de Métabolisme  
Travaux – dirigés**

**Professeur : EL BOURY HOURIA**

## Travaux dirigés de Métabolisme avec corrections

### RADIOISOTOPIE

1. L'activité spécifique (AS) du  $^{14}\text{C}$  pur est de 60 Ci/atome.g.

Quelle est l'AS maximale (en Ci/mole) avec laquelle la L.phénylalanine- $^{14}\text{C}$  peut être uniformément marquée ? Calculer l'AS d'une préparation de phénylalanine si la proportion de molécules marquées est de 50 %

2. Une solution de L-lysine- $^{14}\text{C}$  uniformément marquée contient 2mCi et 0,33 mg de L-lysine par ml.

Quelle est l'AS de l'acide-amino en mCi/mg, mCi/mole, dpm/  $\mu\text{mole}$  et en cpm/  $\mu\text{mole}$ , sachant que le rendement de la méthode de comptage est de 65 % (PM lysine = 146) ?

3. Une solution de L-méthionine- $^{35}\text{S}$ , uniformément marquée contient 1 mCi/ml. Sachant que l'AS de l'acide-amino est de 300 Ci/mole. Calculer la concentration de méthionine dans la solution. Si le rendement est de 70 %, quelle est l'activité de la solution en cpm/ml ?

4. Un compteur, en présence de 1  $\mu\text{l}$  d'une solution d'ATP- $^{32}\text{P}$  enregistre 3020 coups en 10 minutes. Sachant que durant cette même période, le bruit de fond a été de 1900 coups et que le rendement du comptage est de 80 %, Calculer l'AS de la solution en  $\mu\text{Ci/ml}$  ?

### GLYCOLYSE ET FERMENTATION

5. Si on clive le D-[1 -  $^{14}\text{C}$ ] fructose 1 - 6 diphosphate par l'aldolase, Quel produit obtenu sera radioactif ? Où se situera la radioactivité ? Si l'AS de ce fructose est de 50 mCi/mole, quelle sera l'AS du produit radioactif ?
6. L'acide pyruvique est isolé, après incubation du D-(3-4- $^{14}\text{C}$ ) glucose avec un extrait brut de muscle squelettique. Comment sera-t-il marqué ?
7. La PFK est une enzyme de la glycolyse. Elle est inhibée par l'ATP qui est pourtant son substrat. Comment pouvez-vous expliquer cela ?
8. Le métabolisme du glucose est étudié sur un homogénat de foie. Quelle est la principale conséquence biochimique dans les cas suivants ? :
- Déficit en 3 P glycéraldéhyde déshydrogénase.
  - Introduction d'Iodo-acétate.
  - Introduction de fluorure.
9. Ecrire l'équation d'oxydation complète in vitro du glucose du pyruvate et du D. glycéraldéhyde.
10. Ecrire une équation équilibrée de la transformation du glucose en pyruvate. En établir le bilan énergétique.
11. En anaérobiose, quel processus utilise la levure de bière pour régénérer le  $\text{NAD}^+$  Donner les étapes de ce processus. Ce processus rappelle celui qui existe chez l'homme, dans certaines conditions. Quelles sont ces conditions et quel est ce processus ?
12. On soumet du pyruvate marqué en  $\text{C}_2$  à une fermentation alcoolique. Les produits obtenus seront-ils radioactifs ?  
Si oui, indiquer l'emplacement de la radioactivité ?  
Si l'AS du pyruvate est de 100 mCi/mole, quelle sera l'AS du produit radioactif?  
Répondre aussi dans le cas où le pyruvate est marqué sur le  $\text{C}_1$ , puis sur le  $\text{C}_3$ .
13. La levure peut vivre de glucose à la fois en anaérobiose et en aérobie. Pourquoi la vitesse de la consommation du glucose diminue-t-elle, dès qu'une levure, maintenue en anaérobiose, est mise en présence d'oxygène ?

14. Ecrire une équation équilibrée de la transformation du glycérol en pyruvate. En établir le bilan énergétique.
15. Combien de moles d'ATP sont obtenues si 20 g de glucose sont oxydés dans l'organisme humain ? (PM glucose = 180)
16. Quel est le rendement en ATP, lorsque chacun des substrats ci-après est complètement oxydé par un homogénat cellulaire : glucose, DHA P pep, pyruvate.
17. Ecrire l'équation d'oxydation complète du pyruvate in vivo.

### **CYCLE DE KREBS**

18. Du pyruvate marqué sur ses carbones 1 et 2 est introduit dans le cycle tricarboxylique du foie ; en supposant que tout le pyruvate marqué est immédiatement transformé en citrate par l'intermédiaire de l'acetyl CoA. Déterminer la fraction de la radioactivité initiale perdue sous forme de \*CO<sub>2</sub> au cours du :
  - a) Premier tour.
  - b) Deuxième tour.
19. Quel est le devenir du marqueur radioactif, lorsque chacun des composés suivants est ajouté à un extrait cellulaire contenant les enzymes et les cofacteurs de la voie glycolytique, du cycle de l'acide citrique et du complexe pyruvate déshydrogénase (considérer un tour de cycle)
  - Pyruvate marqué au <sup>14</sup>C en C<sub>3</sub>
  - Pyruvate marqué au <sup>14</sup>C en C<sub>1</sub>
  - Pyruvate marqué au <sup>14</sup>C en C<sub>2</sub>
  - Acetyl CoA marqué au <sup>14</sup>C en C<sub>2</sub>
- Glucose 6 P marqué au <sup>14</sup>C en C<sub>1</sub>
20. Suivez le destin, sur un seul tour du cycle du citrate, du marqueur isotopique du [2-<sup>18</sup>O] pyruvate.
21. L'oxygène moléculaire ne participe pas directement au cycle de l'acide citrique. Pourquoi alors le cycle ne fonctionne que dans des conditions aérobies ?
22. Un système biologique est capable de réaliser les réactions du cycle de Krebs. On y ajoute de l'acide citrique marqué par du <sup>14</sup>C sur le carboxyle attaché au carbone porteur de la fonction alcool tertiaire, et de l'acide

malonique. Après incubation, on en extrait l'acide succinique. Où est-il marqué ?

**VOIE DES PENTOSE** 23. La quelle des 2 voies suivantes, glycolyse ou voie des pentoses **P**, fonctionne le plus dans le tissu adipeux et pourquoi ?

24. Du glucose marqué au  $^{14}\text{C}$  est ajouté à une solution contenant les enzymes et les cofacteurs de la branche oxydative de la voie des pentoses **P**. On obtient du ribulose 5 **P** marqué en  $\text{C}_5$ . Comment était marqué le glucose de départ ?

### **CHAINE RESPIRATOIRE**

25. Les mitochondries sont imperméables au NADH et  $\text{NAD}^+$ . Comment le NADH cytoplasmique est-il alors oxydé par la chaîne Respiratoire ?

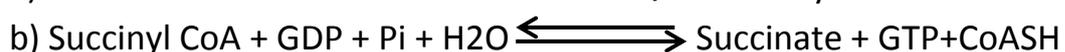
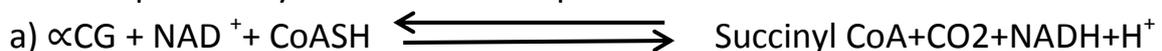
26. La réoxydation du NADH dans la cellule peut s'accompagner de la formation de 0 ou 2 ou 3 molécules d'ATP. Donner un exemple pour chacune de ces trois possibilités.

27. Voici 3 situations dans lesquelles on peut placer des cellules dégradant complètement le glucose : anaérobiose, aérobie, aérobie en présence de dinitrophénol. Pour chacune d'elle, donner le bilan en ATP.

28. Expliquer, à l'aide d'un schéma, pour quoi l'oxydation du NADH, à l'intérieur de la mitochondrie, fournit 3 ATP tandis que celle du  $\text{FADH}_2$  ne fournit que 2 ATP.

29. Donner deux exemples de réaction de phosphorylation au niveau du substrat.

30. Comparer la synthèse d'ATP couplée aux deux réactions suivantes :



### **NÉOGLUCOGENÈSE**

31. Parmi les trois étapes irréversibles de la glycolyse, quelle est celle qui nécessite le retour métabolique le plus important ?

**Professeur : EL BOURY HOURIA**

32. Du glucose est néosynthétisé à partir du pyruvate et de  $^{14}\text{CO}_2$ .  
Comment sera-t-il marqué ?

33. Au cours du jeûne, quels sont les deux principaux mécanismes qui permettent le maintien de la glycémie ?

34. Comparer les bilans énergétiques des voies métaboliques suivantes :  
Glucose  $\longrightarrow$  Pyruvate et pyruvate  $\longrightarrow$  glucose

### **GLYCOGENE**

35. Décrire le mode d'action de la glycogène-phosphorylase

36. Citer toutes les enzymes qui interviennent dans la dégradation complète du glycogène en glucose. Quel est le rôle de chacune de ces enzymes ?

37. On étudie la dégradation d'un glycogène normal et on évalue rapport :  
Glucose 1 P

\_\_\_\_\_ A combien doit-on s'attendre à ce qu'il soit égal ?

Glucose

Si ce rapport est égal à 100, que pouvez-vous conclure sur la structure du glycogène analysé ?

### **METABOLISME LIPIDIQUE**

38. Ecrire l'équation d'un cycle de  $\beta$ -oxydation d'un acide gras saturé à nombre pair ( $2n$ ) d'atomes de carbone, estérifié par le coenzyme A. Calculer le nombre d'ATP dont un cycle permet la synthèse.

39. a) Ecrire l'équation d'oxydation complète d'une molécule d'AG saturé à nombre pair ( $2n$ ) d'atomes de carbone in vitro.

b) Ecrire cette équation in vivo.

c) Calculer le nombre d'ATP formés par atomes de carbone lors de l'oxydation complète in vivo, de l'AG considéré.

d) Ecrire l'équation d'oxydation complète de l'acide palmitique.

40. a) Ecrire l'équation de conversion du nonanoyl CoA en propionyl CoA et en acétyl CoA

b) De quels atomes de carbone du nonanoyl CoA proviennent les atomes de carbone du propionyl CoA et de l'acétyl CoA ?

41. a) Ecrire l'équation de conversion du propionyl — ACP et du malonyl — ACP en nonanoyl—ACP

b) Quels atomes de carbone du nonanoyl-ACP proviennent du propionyl-ACP et du malonyl-ACP respectivement.

42. De l'acide [1-<sup>14</sup>C] palmitique est dégradé en acetyl CoA qui est à son tour oxydé dans le cycle de Krebs. Au cours du 1<sup>er</sup> tour de ce cycle, quels atomes de carbone de l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, succinique et oxaloacétique seront marqués.

43. Le linoléate (18 : cis  $\Delta^9 \Delta^{12}$ ) est complètement oxydé en CO<sub>2</sub>. Quel est le rendement en ATP ?

### **METABOLISME PROTEIQUE**

44. Donner un nom à l'acide  $\alpha$ -cétonique formé par transamination de chacun des a.a suivants : alanine, aspartate, glutamate.

45. Si l'on administre à un rat de la L-[2-<sup>14</sup>C] alanine, quels atomes de glucose et de l'acide palmitique seront marqués ?

46. Une souche d'E.coli est cultivée en fermenteur agité et oxygéné à 30° C en présence d'aspartate marqué au <sup>14</sup>C sur le C2 et le C3. Comment sera marqué le glucose néosynthétisé ?

Si l'A.S. de l'aspartate est de 1200 mCi/mmole, quelle sera l'AS du glucose néosynthétisé ?

47. On incube des sections de tissu hépatique en présence de L.[2-<sup>14</sup>C] alanine. Quels atomes de carbone des acides  $\alpha$ .cétoglutarique, succinique et oxaloacétique seront marqués, au cours du 1<sup>er</sup> tour du cycle de Krebs ?

48. Dans la mitochondrie, l'oxydation de l'acide L-glutamique peut conduire à l'acide succinique. Décrire cette voie et en établir le bilan énergétique.