

**Examen de Biochimie Structurale**  
Partiel du 12 octobre 2022 : Biochimie membranaire  
Durée 1h30

**1- Lipides membranaires (5 points)**

Les phospholipides sont une classe de lipides membranaires qui possède une ossature générale commune.

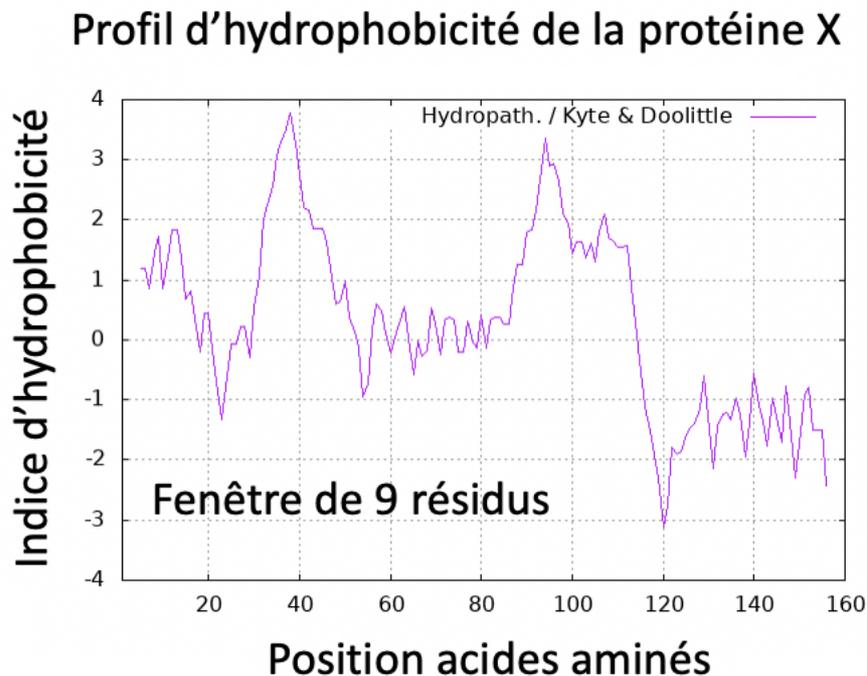
- a) Présenter sous la forme d'un schéma la formule « générique » d'un glycérophospholipide.
- b) Indiquez quelles parties peuvent être variables d'un glycérophospholipide à un autre.
- c) Indiquez le nom et le principe de la technique qui permet de les séparer des autres catégories de lipides comme les glycolipides ou le cholestérol ?

**2- Transport du glucose (5 points)**

- a) Comment peut-on déterminer expérimentalement le  $K_T$  et le  $V_{max}$  d'un transporteur ? Expliciter clairement les expériences qui doivent être réalisées et les graphiques qui seront tracés.
- b) Comment se différencient les  $K_T$  des transporteurs de glucose GluT du foie par rapport aux GluT des cellules du cerveau.
- c) Expliquez en quoi ces différences permettent de mieux répondre aux besoins physiologiques de ces deux tissus.

**Exercice I (5 points):**

La protéine X est une protéine membranaire de la membrane plasmique. Voici son profil d'hydrophobicité:



- 1) Sur la base de ce profil, proposez un ou plusieurs modèles topologiques. Justifiez votre réponse.
- 2) Afin de confirmer ce modèle et d'identifier les parties de la protéine X localisées à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule, on souhaite mettre en œuvre la technique de fusion de gènes vue en TD (utilisant la prolactine comme protéine rapportrice). Décrire le protocole que vous utiliseriez et en particulier précisez : quelles protéines de fusion seront construites ? Sur quel matériel biologique vous travaillerez (cellule, vésicules....) ? Par quel moyen vous testerez l'accessibilité de la prolactine ?
- 3) La protéine X est capable de former un canal. A votre avis, comment peut-on obtenir une structure de canal avec ce modèle ?

**Exercice II (5 points) :**

Le transporteur de glucose des myocytes a été purifié et reconstitué dans des liposomes en utilisant un extrait lipidique de cellules musculaires. Le taux de reconstitution est de  $3 \times 10^{-5}$  transporteurs par lipide. On considère que les protéoliposomes et liposomes formés sont unilamellaires et ont en moyenne un rayon externe de 17 nm. (on considèrera ici que l'épaisseur de la membrane est de 5 nm).

- 1) Calculer le nombre de lipides par protéoliposomes/liposomes si on considère que la protéine occupera une surface négligeable par rapport aux lipides au sein de ces protéoliposomes et qu'un lipide occupe en moyenne une surface de  $0,5 \text{ nm}^2$ .
- 2) En déduire le nombre de transporteurs présents en moyenne par liposome

Afin d'étudier le transport de glucose dans ces protéoliposomes, on les incube en présence de 4 mM de glucose et on suit l'évolution de la concentration interne de glucose au cours du temps. On admettra que la concentration externe de glucose ne varie pas au cours de l'expérience.

Sachant que la diffusion passive du glucose est négligeable au cours de cette expérience et que tous les transporteurs reconstitués sont actifs, estimez :

- a) La concentration de glucose (en Molaire) une fois l'équilibre atteint.
- b) Le volume de tous les protéoliposomes et liposomes contenus dans un échantillon contenant 1 mg de lipides.
- c) La quantité de glucose (en moles) à l'équilibre dans les protéoliposomes présents dans un échantillon contenant 1mg de lipides.

On donne :

- Masse moléculaire moyenne des lipides utilisés pour la reconstitution : 760 Da
- Nombre d'Avogadro =  $6,02 \cdot 10^{23}$
- Surface d'une sphère  $S=4\pi R^2$  / volume d'une sphère  $V= 4/3\pi R^3$