

DS N° 2

Epreuve type B concours communs

A partir de l'exploitation des documents fournis et de vos connaissances, montrez

l'importance de la structure spatiale des protéines dans les interactions fonctionnelles avec leurs ligands.

Vous limiterez l'exposé aux thèmes abordés par les documents

Remarques importantes

1 - Le sujet comporte 3 figures, indexées de 1a à 1e, de 2a à 2b et de 3a à 3e, proposées dans un ordre quelconque.

2 - Seront prises en compte dans la notation : la clarté de la présentation, la précision de l'analyse des documents, les illustrations personnelles et la rigueur des interprétations et des raisonnements. Les informations strictement apportées par l'exploitation des figures seront clairement référencées et intégrées au développement du sujet.

3 - Certaines des figures pourront être jointes à la copie si le candidat considère que des annotations en surcharge constituent des éléments appréciables de réponse aux questions ; il devra alors les coller sur la copie, intégrés dans la progression.

4 - Si, au cours de l'épreuve, le candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale dans sa copie et poursuit sa composition en indiquant les initiatives qu'il est amené à prendre de ce fait.

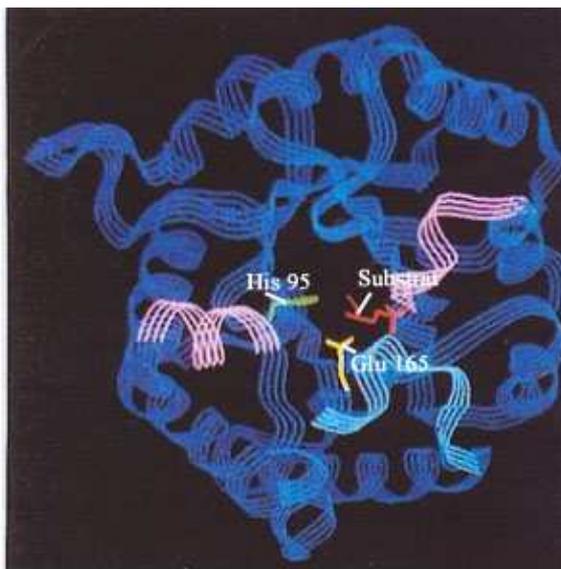
Figure 1

La triose phosphate isomérase catalyse la conversion de la dihydroxyacétone phosphate (DHAP) en glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP).

Cette enzyme est un dimère formé de deux protomères identiques, dont la conformation a été élucidée notamment par cristallographie aux rayons X.

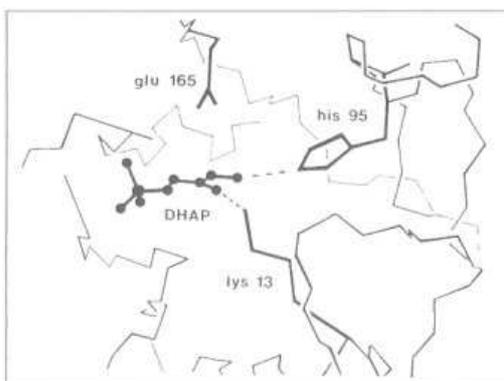
Figure 1a : Reconstitution tridimensionnelle d'un protomère de la triose phosphate isomérase.

La position du substrat est indiquée (gris foncé) ; deux acides aminés de la chaîne protéique ont été figurés, l'histidine 95 (en gris moyen) et le glutamate 165 (en gris clair).



KNOWLES J.R., *Nature*, 350,121-124,(1991)

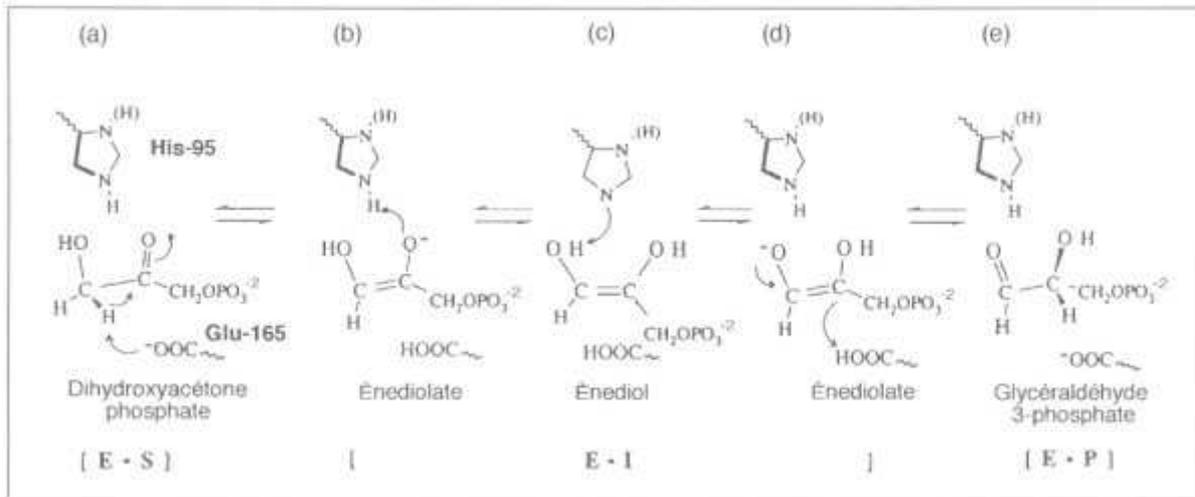
Figure 1b : Représentation du site actif de l'enzyme, la triose phosphate isomérase et de son substrat, la DHAP (dihydroxyacétone phosphate). Des portions du squelette de l'enzyme sont figurées avec les détails schématisés de trois radicaux intervenant dans le site actif, la lysine 13, l'histidine 95 et le glutamate 165.



RAINES R.T. et al., *Biochemistry*, 25, 7142 - 7154, (1986)

Figure 1c : Mécanisme hypothétique des étapes de l'isomérisation de la dihydroxyacétone phosphate (substrat S) en glycéraldéhyde 3-phosphate (produit P). La réaction fait intervenir deux acides aminés de l'enzyme (E), l'histidine 95 (His-95) et le glutamate 165 (Glu-165), dont les groupements actifs sont détaillés.

Le mécanisme catalytique se déroule en plusieurs étapes (de (a) à (e)) marquées par la formation d'intermédiaires (I) (ènediolate et ènediol).



D'après BASH P. A. et al., *Biochemistry*, 30, 5826 - 5832, 1991

Figure 1d : Formule semi-développée de deux acides aminés : acide aspartique et glutamique

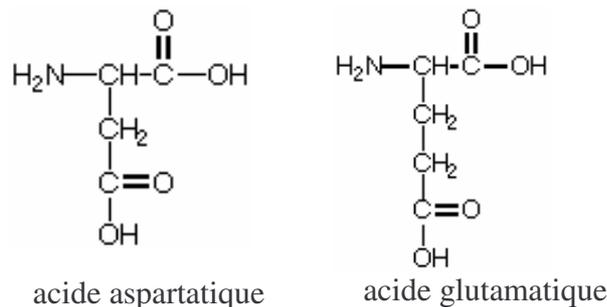
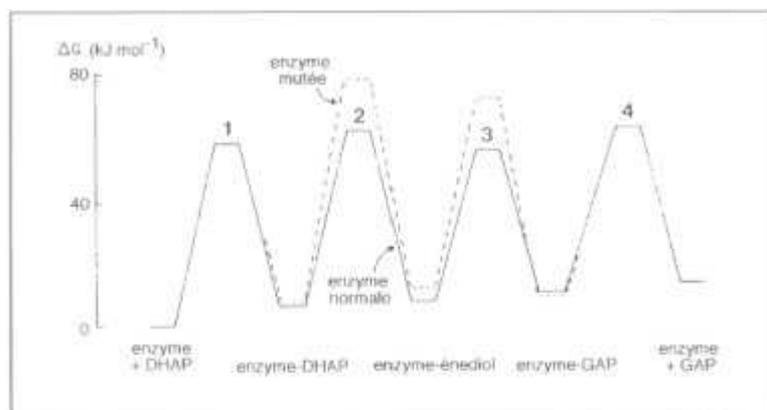


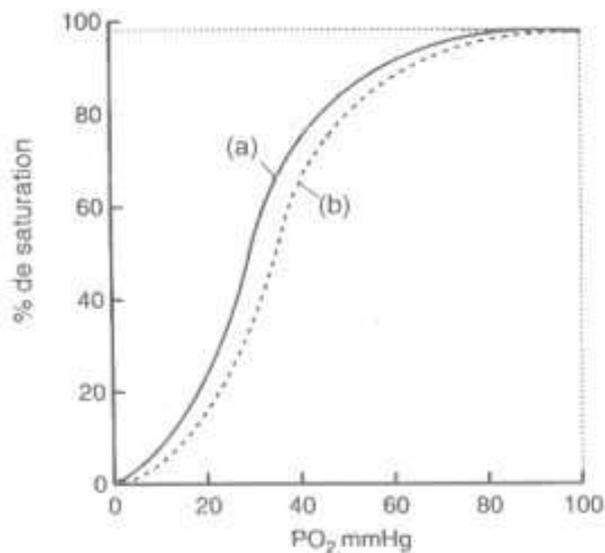
Figure 1e : Profil de l'énergie libre (AG) aux phases successives de la réaction de la triose phosphate isomérase (repérées par les numéros 1 à 4). La ligne en trait plein correspond à l'enzyme sauvage (non mutée) ; la ligne en tirets correspond à une enzyme mutée, dont le glutamate 165 est substitué par un aspartate. L'enzyme mutante est environ 1000 fois plus lente que l'enzyme normale.



D'après RAINES R.T. et al., *Biochemistry*, 25, 7142 - 7154, (1986)

Figure 2

Figure 2a : Courbes de saturation de l'hémoglobine en fonction de la pression partielle de dioxygène obtenues à partir de sang artériel de la circulation générale (a) et de sang veineux de la circulation générale (b).



D'après GUÉNARD H. et al., *Physiologie humaine*, Pradel Ed., (1996)

Figure 2b : Electrophorèse de l'hémoglobine de trois individus sains. (T - témoin - : électrophorèse de référence à partir de différentes hémoglobines).

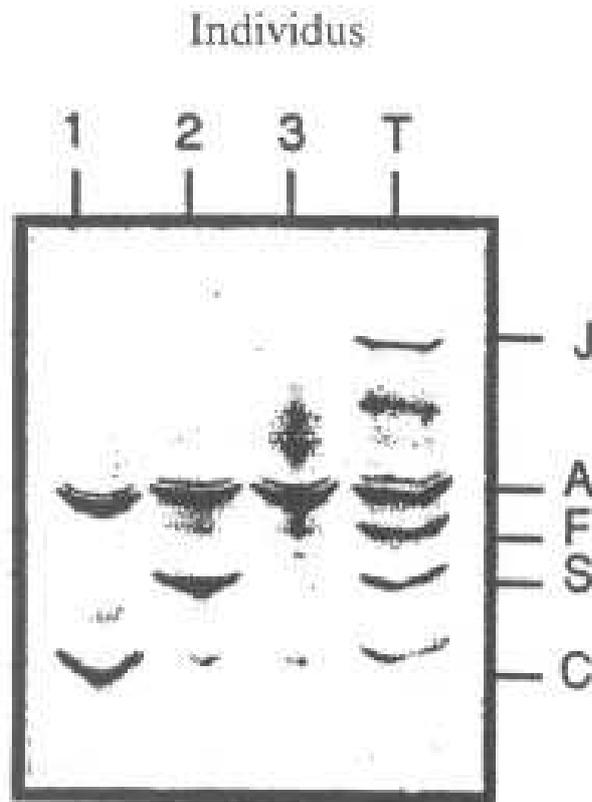


Figure 3

Figure 3a : Le transport transmembranaire est facilité ou activé grâce aux propriétés de protéines particulières transmembranaires. Les gènes humains (mais aussi d'autres mammifères) qui codent les unités constitutives de plusieurs des transporteurs du D-glucose ont été identifiés. Trois exemples de transporteurs au glucose (Glucose Transporteur : GLUT, Sodium dépendent Glucose Transporteur : SGLT) sont décrits dans le tableau n°1 suivant :

Transporteur	Gène	Cellules types (et domaines membranaires concernés)
uniport glucose (perméase)	GLUT-1	Hématie
uniport glucose (perméase)	GLUT-2	Hépatocyte (MBL) Entérocyte de l'intestin grêle (MBL) Cellule du tube contourné proximal du néphron (MBL) Cellule β des îlots de Langerhans
symport Na^+ /glucose	SGLT-1	Entérocyte de l'intestin grêle (MBB) Cellule du tube contourné proximal du néphron (MBB)

(d'après THORENS, 1993)

avec MBL : membrane plasmique basolatérale; MBB : membrane de la bordure en brosse (à microvillosités)

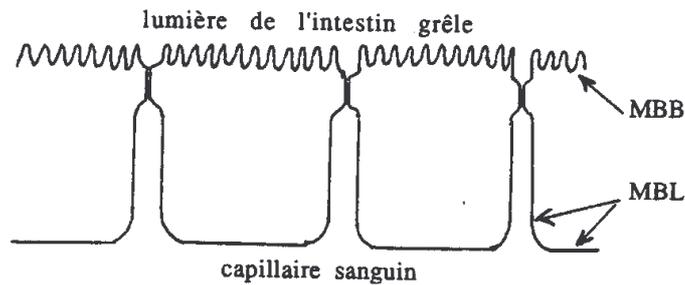


Figure 3b : Chacun de ces gènes identifiés (humain ou de rat) à été fonctionnellement exprimé dans des ovocytes de xénope (par microinjection d'ARNm).

Le tableau n°2 suivant décrit certaines caractéristiques déduites de l'expression fonctionnelle de GLUT-1 humaine dans l'ovocyte de xénope

Expression fonctionnelle de la protéine GLUT-1 humaine dans l'ovocyte de Xénope		
$e \longrightarrow i$ (D-glucose)		$i \longrightarrow e$ (2-DOG)
K_m (mmol.L ⁻¹)	V_{max} (mmol.min ⁻¹ .L ⁻¹)	K_m (mmol.L ⁻¹)
1 - 2	~ 8	20 - 30

avec e : milieu extracellulaire; i : milieu intracellulaire; 2-DOG : 2-désoxy-D-Glucose (analogue non métabolisable du D-Glucose)

Figure 3c : Le tableau n°3 suivant décrit certaines caractéristiques déduites de l'expression fonctionnelle de GLUT-2 de rat dans l'ovocyte de xénope.

Expression fonctionnelle de la protéine GLUT-2 de rat dans l'ovocyte de Xénope		
Origine cellulaire du transporteur	e → i (D-glucose)	i → e (3-O-MG)
	K_m (mmol.L ⁻¹)	K_m (mmol.L ⁻¹)
foie	15 - 20	~ 20
pancréas endocrine	~ 17 ($V_{max} = 32 \text{ mmol.min}^{-1}.L^{-1}$)	N.D.
intestin grêle	~ 18	~ 23

avec e: milieu extracellulaire; i : milieu intracellulaire; 3-OMG : 3-O-méthyl-D-Glucose (analogue peu métabolisable du D-Glucose); N.D. : non déterminé.

Figure 3d : Le tableau n°4 suivant décrit certaines caractéristiques déduites de l'expression fonctionnelle de SGLT-1 humaine dans l'ovocyte de xénope.

Expression fonctionnelle de la protéine SGLT-1 humaine dans l'ovocyte de Xénope	
Na^+_e (mmol.L ⁻¹)	K_m pour le D-glucose (mmol.L ⁻¹)
0	>> 10
100	< 1

avec Na^+_e : concentration de Na^+ extracellulaire.

On précise qu'en période digestive la concentration en Na^+ dans la lumière de l'intestin grêle peut augmenter au delà de 100 mmol. L⁻¹ et que la concentration de Na^+ intracellulaire dans un entérocyte humain est d'environ 10 mmol.L⁻¹.

Figure 3e : Analyse de l'hydrophobicité des séquences d'acides aminés du transporteur de glucose des érythrocytes humains. Le graphe a été obtenu en faisant la moyenne des valeurs d'hydrophobicité des résidus en prenant des fenêtres successives de 21 acides aminés et en portant ces valeurs moyennes par rapport à la position du résidu du milieu de la "fenêtre". Les nombres correspondent aux 12 régions prévues.

D'après Mueckler, M., et al., Science, 229, 944 (1985)

