

## **BIOCHIMIE - BIOLOGIE**

### **Remarques préliminaires :**

1. Le sujet proposé a un caractère pluridisciplinaire. Le candidat devra veiller à répondre de manière concise aux questions posées afin de pouvoir traiter l'ensemble du sujet.
2. Il est suggéré de consacrer à chaque question un temps tenant compte du nombre de points attribués.

**INTERACTIONS PROTÉINES - LIGANDS :  
BASES MOLÉCULAIRES ET IMPORTANCE  
BIOLOGIQUE**

### **1 - STRUCTURE DES PROTÉINES ET INTERACTIONS PROTÉINES - LIGANDS (43 points).**

#### 1.1. Structure et synthèse des Protéines (18 points).

- 1.1.1. Préciser les différents niveaux d'organisation structurale d'une protéine. Dans chaque cas, nommer et définir les principales liaisons mises en jeu dans le maintien des niveaux d'organisation.
- 1.1.2. La chaîne polypeptidique est élaborée pendant la traduction au niveau du complexe ARN messager - ribosome.
  - 1.1.2.1. Nommer les différentes étapes de la traduction.
  - 1.1.2.2. Donner, à l'aide de schémas précis et annotés, le mécanisme de l'initiation de la traduction chez les procaryotes.
  - 1.1.2.3. Expliquer comment la chaîne polypeptidique naissante prend sa structure spatiale définitive.

#### 1.2. Interactions protéines - ligands (25 points).

L'activité des protéines est en général liée à la formation d'un complexe spécifique (transitoire) avec un ligand : "complexe protéine - ligand".

- 1.2.1. Quelles sont les différentes interactions intervenant dans la fixation du ligand ?
- 1.2.2. Le complexe protéine - ligand est caractérisé par sa spécificité et son affinité. Définir ces deux termes.

1.2.3. La mise en évidence du complexe spécifique est difficile. Cependant, dans certaines conditions, il est possible d'obtenir ce complexe. On utilise, par exemple, la technique dite de dialyse à l'équilibre qui répond à la relation de SCATCHARD (document 1).

1.2.3.1. Présenter cette technique de dialyse à l'équilibre.

1.2.3.2. Justifier la relation donnée dans le document 1.

Montrer comment cette relation permet de déterminer la constante d'association ( $K_a$ ) et le nombre de sites récepteurs par molécule de protéine ( $n$ ).

Quelle signification peut-on donner à la constante  $K_a$  ?

1.2.3.3. Application.

On étudie, par dialyse à l'équilibre, la liaison du colorant p-lac (p-lac = p [p-diméthylamino-benzène azo] -phényl lactoside) avec un anticorps de lapin nanti p-lac".

La concentration de l'anticorps dans le compartiment I d'un récipient à dialyse est de  $1,17 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Pour différentes concentrations initiales du colorant p-lac, on mesure à l'équilibre la concentration molaire de p-lac dans le compartiment I et dans le compartiment II.

Les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Compartiment I [p-lac] mol/dm <sup>3</sup>	Compartiment II [p-lac] mol/dm <sup>3</sup>
$1,277 \cdot 10^{-5}$	$0,359 \cdot 10^{-5}$
$1,620 \cdot 10^{-5}$	$0,514 \cdot 10^{-5}$
$1,920 \cdot 10^{-5}$	$0,677 \cdot 10^{-5}$
$2,248 \cdot 10^{-5}$	$0,871 \cdot 10^{-5}$
$3,040 \cdot 10^{-5}$	$1,450 \cdot 10^{-5}$

- Déterminer graphiquement (papier millimétré) la constante d'association du complexe p-lac - anti p-lac.
- Calculer le nombre  $n$  de sites récepteurs de l'anticorps anti p-lac pour le colorant p-lac.

Donnée : On considèrera que toute molécule d'anticorps peut lier le même nombre de molécules de colorant, avec la même affinité.

## 2. EXEMPLES D'INTERACTIONS ENZYMES - LIGANDS (29 points).

2.1. Le complexe enzyme - substrat. Relation de MICHAELIS - MENTEN (9 points).

2.1.1. Définir et décrire le site actif d'une enzyme.

2.1.2. Donner (sans la démontrer) l'équation de vitesse de la réaction enzymatique à un seul substrat. Définir les paramètres  $K_M$  et  $v_{\max}$  et indiquer leurs unités.

2.1.3. Simplifier l'équation précédente pour des concentrations de substrat très inférieures, puis pour des concentrations de substrat très supérieures à  $K_M$ .

2.2. Les isoenzymes et les voies métaboliques (20 points).

2.2.1. Définir et donner les principales caractéristiques des isoenzymes.

2.2.2. Ecrire la réaction catalysée par la LDH, lactate déshydrogénase (E.C. 1.1.1.27) - formules développées exigées.

2.2.3. La constante  $K_M$  de la LDH pour le pyruvate est beaucoup plus élevée dans le muscle cardiaque que dans le muscle squelettique. Commenter cette observation en terme d'affinité enzyme - substrat.

En montrer les conséquences physiologiques.

2.2.4. Grâce à des enzymes spécifiques, le pyruvate peut participer à d'autres réactions que celle catalysée par la LDH. Il est situé à un carrefour des voies métaboliques.

2.2.4.1. Dans un schéma général, montrer la participation du pyruvate au métabolisme glucidique (anabolisme et catabolisme oxydatif et fermentaire) chez les animaux. Donner le nom des enzymes qui catalysent les réactions impliquant le pyruvate.

2.2.4.2. Indiquer une voie (faisant intervenir le pyruvate) entre le métabolisme des glucides et le métabolisme des acides aminés.

3. **EXEMPLES D'INTERACTIONS PROTÉINES MEMBRANAIRES - LIGANDS (48 points).**

3.1. Exemples d'interactions dans la réponse immunitaire spécifique (14 points).

Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, sauf élimination par les défenses non spécifiques, il déclenche l'activation de cellules immunocompétentes qui lui sont spécifiques. Cette activation, qui fait intervenir une interaction antigène - récepteur à l'antigène, suit la théorie de la sélection clonale et conduit à une réponse polyclonale.

3.1.1. Préciser dans quel(s) tissu(s) ou organe(s) cette étape d'activation apparaît.

3.1.2. Expliquer, à l'aide de schémas détaillant les mécanismes et interactions mis en jeu, le déroulement de cette phase d'activation, en se limitant aux lymphocytes T.

3.1.3. Expliquer l'expression "sélection clonale" et justifier le caractère polyclonal de la réponse.

3.1.4. Représenter la structure quaternaire d'un récepteur à l'antigène, à la surface d'une cellule immunitaire au choix. Situer sur le schéma les sites de fixation de l'antigène.

3.2. Exemple d'interaction neurotransmetteur - récepteur membranaire : cas de l'acétylcholine (8 points).

Les neurotransmetteurs libérés par l'extrémité de fibres nerveuses assurent la transmission du message nerveux véhiculé par les fibres aux cellules cibles post-synaptiques.

3.2.1. Donner deux exemples de fibres nerveuses libérant de l'acétylcholine.

3.2.2. Dans le cas de cellules musculaires squelettiques, la fixation d'acétylcholine sur des récepteurs post-synaptiques entraîne localement une augmentation de la perméabilité au  $\text{Na}^+$  ; cette variation de perméabilité ionique peut ensuite déclencher l'apparition d'un potentiel d'action post-synaptique.

Représenter les deux variations du potentiel transmembranaire qui en résultent et détailler les mécanismes et mouvements ioniques mis en jeu.

3.3. Interaction antibiotique - cible : cas des bêtalactamines (12 points).

Les bêtalactamines sont des antibiotiques connus pour inhiber la synthèse du peptidoglycane bactérien.

Elles se fixent sur des protéines communément appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont les transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane.

3.3.1. Préciser le rôle naturel de ces transpeptidases.

3.3.2. Montrer comment les bêtalactamines peuvent se fixer spécifiquement sur leurs cibles.

Donnée : Formule d'une bêtalactamine (document 2).

3.3.3. Quelles sont les conséquences de la fixation des bêtalactamines sur les transpeptidases bactériennes ?

3.3.4. Certaines bactéries produisent des enzymes capables d'empêcher l'action des bêtalactamines. Nommer ces enzymes. Quel est leur rôle ?

3.3.5. Pour lutter contre la présence de ces enzymes, on peut associer deux bêtalactamines : l'une active, l'autre dépourvue d'activité antibactérienne (Exemple (respectivement) : amoxicilline + acide clavulanique).

Proposer une hypothèse pour expliquer l'efficacité d'une telle association.

3.4. Adsorption d'un virus sur sa cellule-cible (14 Points).

La fixation d'un virus sur sa cible résulte en général de deux phénomènes conjoints :

- attraction électrostatique entre des charges portées par les structures virales et des charges complémentaires de la membrane de la cellule-hôte ;
- affinité spécifique du virus pour une structure cellulaire qui joue le rôle de récepteur.

3.4.1. Définir la sensibilité et la permissivité d'une cellule vis-à-vis d'un virus.

3.4.2. Les virus appartenant à la famille des Retroviridae sont des virus à ARN de polarité positive, enveloppés, à symétrie hélicoïdale. Décrire le mode de pénétration d'un rétrovirus dans une cellule-cible. Représenter la stratégie utilisée par le virus pour réaliser son cycle de multiplication (schéma de synthèse souhaité).

3.4.3. Certains rétrovirus peuvent être à l'origine de la tumorigénèse des cellules infectées. Expliquer brièvement ce phénomène.

## DOCUMENT 1

### Relation de SCATCHARD

P = protéine

S = ligand

R = site récepteur de la protéine

n = nombre de sites récepteurs par molécule de protéine.

Formation du complexe protéine – ligand :



$$[R]_{\text{total}} = [RS] + [R]_{\text{libre}}$$

$$[R]_{\text{libre}} = [R]_{\text{total}} - [RS]$$

$$[R]_{\text{total}} = n [P]$$

On obtient la relation de Scatchard

$$\frac{[RS]}{[S]} = K_a \cdot n \cdot [P] - K_a \cdot [RS]$$

avec  $K_a$  = constante d'association du complexe.

## DOCUMENT 2

### Formule d'une bétalactamine (pénicilline)

