

Écrit de biologie

4489-A

44231
repère à reporter sur la copie

SESSION DE 2003

**concours externe
de recrutement de professeurs certifiés
et concours d'accès à des listes d'aptitude (CAFEP)**

**section :
sciences de la vie et de la Terre**

composition sur un sujet de biologie

Durée : 6 heures

Calculatrice de poche - y compris calculatrice programmable, alphanumérique ou à écran graphique - à fonctionnement autonome, non imprimante, autorisée conformément à la circulaire n° 99-186 du 16 novembre 1999.

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout autre matériel électronique est rigoureusement interdit.

Remarques importantes :

- 1 - Le sujet comporte 5 figures, indexées de 1 à 5, 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 apportées par l'exploitation des figures seront 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.
- 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.

- 2 -

SUJET

**L'IMPORTANCE FONCTIONNELLE DE LA STRUCTURE
SPATIALE DES PROTEINES**

En utilisant les informations tirées de l'exploitation des figures proposées et vos connaissances, montrez l'importance de la structure spatiale des protéines dans les interactions fonctionnelles avec leurs ligands.

Votre exposé se limitera à des protéines intervenant dans les grandes fonctions d'un organisme animal.

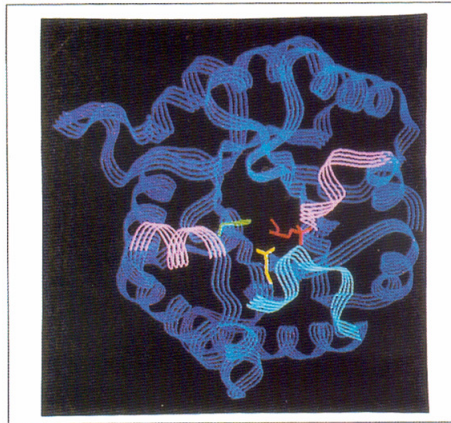
Tournez la page S.V.P.

Figure 1

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

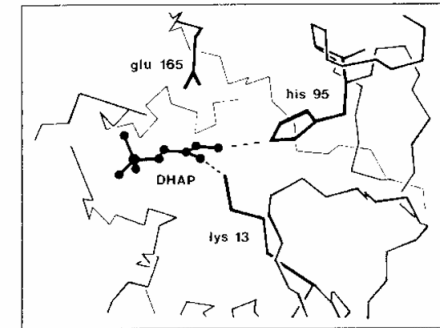
Cette enzyme est un dimère formé de deux protomères identiques, dont la conformation a été élucidée notamment par cristallographie aux rayons X.

Figure 1a : Reconstitution tridimensionnelle d'un protomère de la triose phosphate isomérase. Différentes parties de la molécule sont représentées en violet, bleu ciel et rose. Le substrat est en rouge ; deux acides aminés de la chaîne protéique ont été figurés, l'histidine 95 en vert et le glutamate 165 en jaune.



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

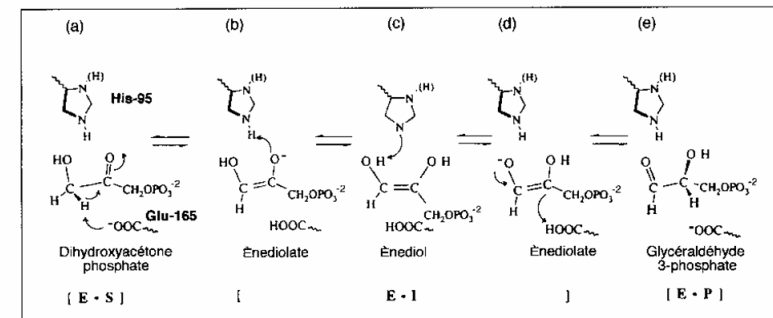
Figure 1b : Représentation du site actif de l'enzyme, la triose phosphate isomérase et de son substrat, la DHAP (dihydroxyacétone phosphate). Des portions du squelette de l'enzyme sont figurées avec les détails schématisés de trois radicaux intervenant dans le site actif, la lysine 13, l'histidine 95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



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

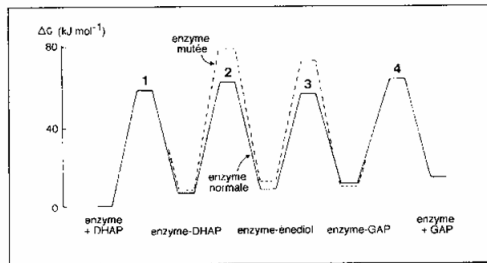
Figure 1c : Mécanisme hypothétique des étapes de l'isomérisation de la dihydroxyacétone phosphate (substrat S) en glycéraldéhyde 3-phosphate (produit P). La réaction fait intervenir deux acides aminés de l'enzyme (E), l'histidine 95 (His-95) et le glutamate 165 (Glu-165), dont les groupements actifs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

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



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

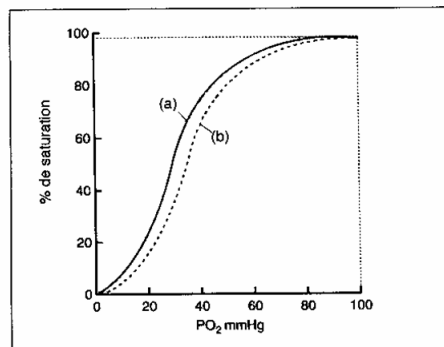
Figure 1d : Profil de l'énergie libre (ΔG) aux phases successives de la réaction de la triose phosphate isomérase (repérées par les numéros 1 à 4). La ligne en trait plein correspond à l'enzyme sauvage (non mutée) ; la ligne en tirets correspond à une enzyme mutée, dont le glutamate 165 est substitué par un aspartate. Du fait d'un radical plus court, le groupement carboxyle de l'acide aminé est éloigné du substrat de 0,1 nm. 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

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).



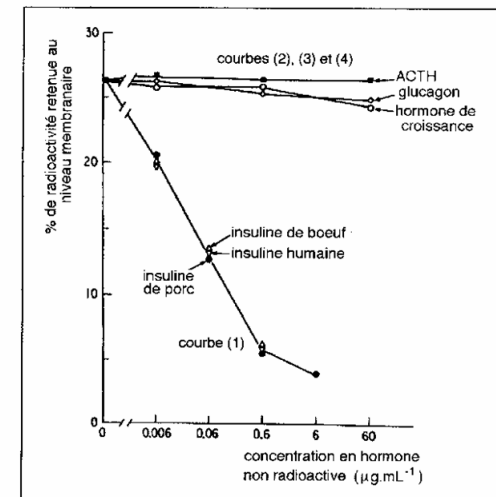
D'après GUÉNARD H. et al., *Physiologie humaine*, Pradel Ed., (1996)

Figure 3

De l'insuline de porc rendue radioactive, en concentration saturante, est mise au contact de membranes de cellules hépatiques de rat. On mesure le pourcentage de radioactivité retenue au niveau des membranes.

On ajoute en présence de cette insuline radioactive de l'insuline non radioactive à une concentration déterminée. On élimine par lavage l'insuline radioactive non fixée et on mesure le pourcentage de radioactivité retenue au niveau membranaire. L'expérience est répétée pour des concentrations croissantes d'insuline non radioactive ; les résultats sont indiqués par la courbe (1).

Selon le même protocole, on ajoute en présence d'insuline radioactive d'autres hormones non radioactives (ACTH, glucagon, hormone de croissance). On obtient les courbes (2), (3) et (4).

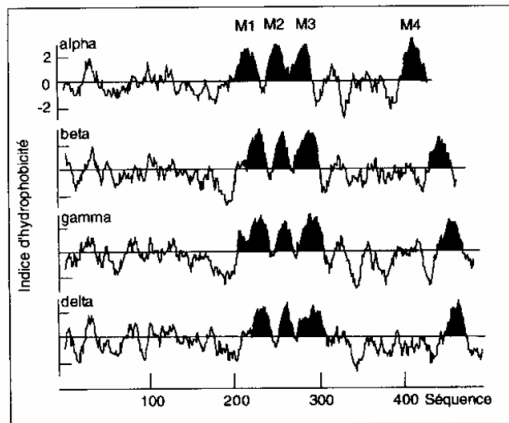


FREYCHET P. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 68, 8, 1833-1837, (1971)

Figure 4

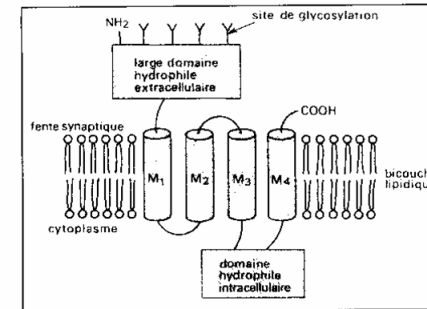
Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine a été isolé à partir de l'organe électrique du poisson torpille. Il est constitué de 5 sous-unités (2 sous-unités α notées α_2 , β , γ et δ). Une molécule d'acétylcholine se fixe par sous-unité α . La séquence de chaque sous-unité a été déterminée et comprend environ 500 résidus. Les différentes sous-unités montrent des domaines homologues notés M (M1 à M4).

Figure 4a : Profil d'hydrophobicité des sous-unités : on sait que, du fait de leurs chaînes latérales, les acides aminés peuvent avoir des propriétés plus hydrophiles ou au contraire plus hydrophobes. On attribue, d'après une échelle conventionnelle (échelle de Kyte et Doolittle), un indice d'hydrophobicité à chaque acide aminé. On détermine alors l'hydrophobicité moyenne de segments (ou « fenêtres ») de 11 acides successifs (longueur considérée comme significative), ce qui fournit alors les profils représentés ci-dessous.



SHECHTER E., *Biochimie et biophysique des membranes*, Dunod (2000)

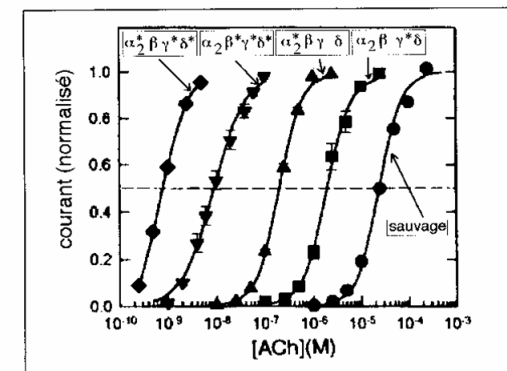
Figure 4b : Un ensemble d'arguments, dont certains sont extraits de l'étude précédente, ont permis d'établir le modèle d'organisation d'une sous-unité, lequel est représenté ci-dessous.



HAMMOND C. et TRITSCH D., *Neurobiologie cellulaire*, Doin, (1990)

Figure 4c : On étudie maintenant le fonctionnement de récepteurs dont une ou plusieurs sous-unités présentent la même mutation, substitution d'une leucine par une sérine en position 251, dans le domaine M2.

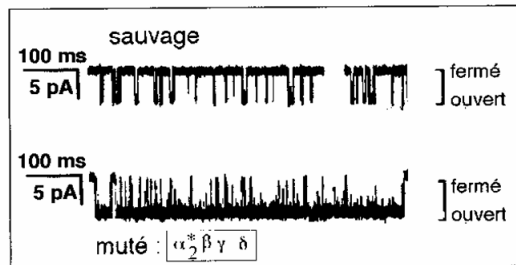
(1) : Par une technique de voltage imposé (-80 mV), on mesure sur la cellule entière les courants obtenus pour des concentrations différentes d'acétylcholine dans le cas de récepteurs sauvages et diversement mutés. Les sous-unités mutées sont repérées par un astérisque.



d'après LABARCA et al., *Nature*, 376, 514-516, (1995)

(2) : Les activités de deux récepteurs canaux isolés, sauvage ou muté (sur la sous-unité α , et noté α_2^* $\beta\gamma\delta$), sont comparées par des techniques de patch clamp (2), à un potentiel imposé de -100 mV pour une concentration d'acétylcholine de $25 \mu\text{M}$.

Le temps est lu horizontalement, la barre 100 millisecondes (100 ms) indiquant l'échelle. L'intensité des courants est lue verticalement, la barre 5 picoampères (5pA) indiquant l'échelle.

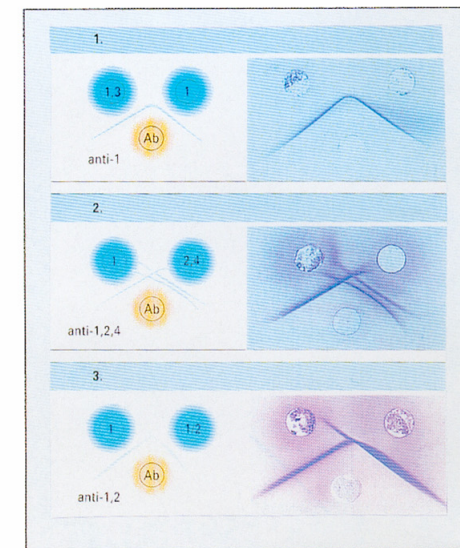


d'après LABARCA et al., *Nature*, 376, 514-516, (1995)

Figure 5

La technique d'immunodiffusion double (technique d'Ouchterlony) peut être utilisée pour étudier les relations entre les antigènes (en bleu) et un anticorps donné (en jaune). Des puits sont creusés dans des gels d'Agar et remplis d'antigènes (en haut) ou d'anticorps (en bas). Antigènes et anticorps peuvent diffuser; quand ils se rencontrent, ils se combinent et précipitent sous forme d'une ligne.

Les chiffres dans les puits bleus font référence aux épitopes présents sur l'antigène étudié.



ROITT I., BROSTOFF J. et MALE D., *Immunology*, Mosby Ed., (2001)