

1^{er} Sujet : noté sur 7 points

Master CHIMIE & BIOLOGIE

JUIN 2008

EXAMEN de CHIMIE BIOLOGIQUE THERAPEUTIQUE

Epreuve de **2 heures avec documents** qui comporte 3 sujets indépendants que vous voudrez bien rédiger sur des **feuilles séparées**.

Questions

1- Quel est l'effet du Zn^{2+} sur la catalase ?

2- Après l'ajout de Zn^{2+} à une solution de Zn^{2+} , quel est l'effet sur la catalase ?

3- Quel est l'effet du Zn^{2+} sur la catalase ? (à compléter avec les données de la catalase)

4- Soit la ligande L (voir schéma ci-dessous). Proposez un mécanisme de coordination de Zn^{2+} avec les ligands L et H_2O .

1^{er} Sujet : noté sur 7 points

La figure 1a montre des enregistrements électrophysiologiques obtenus en patch-clamp configuration « whole-cell » sur des cellules exprimant des récepteurs nicotiques $\alpha 4\beta 4$ de types sauvages ou mutés. Les différentes traces montrent les courants induits par l'acétylcholine (ACh) à une concentration avoisinant l' EC_{10} avant, pendant et après une co-application de 100 μM de Zinc (Zn^{2+}) sur le type sauvage et sur deux mutations, l'une réalisée sur la sous-unité $\beta 4$ (mutation cystéine [C] \rightarrow serine [S], $\alpha 4\beta 4C75S$) et l'autre sur la sous-unité $\alpha 4$ (mutation histidine [H] \rightarrow glycine [G], $\alpha 4H162G\beta 4$). Il est vous est également donné comme information que les mutations n'ont pas d'effet sur l' EC_{50} d'ACh.

La figure 1b illustre une vue agrandie de l'interface $\beta 4/\alpha 4$. Cette vue à été obtenue par la réalisation d'un modèle moléculaire en trois dimension (3D) du domaine extracellulaire du récepteur $\alpha 4\beta 4$ réalisé à partir des données cristallographiques de l'acetylcholine binding protein (AChBP). La sous-unité $\alpha 4$ est représentée en vert et la sous-unité $\beta 4$ en bleu. Sur de la position 3D, l'acide aminé $\alpha 4H162$ vous est indiqué ainsi qu'un autre résidu, l'acide aminé glutamate 59 ($\alpha 4E59$).

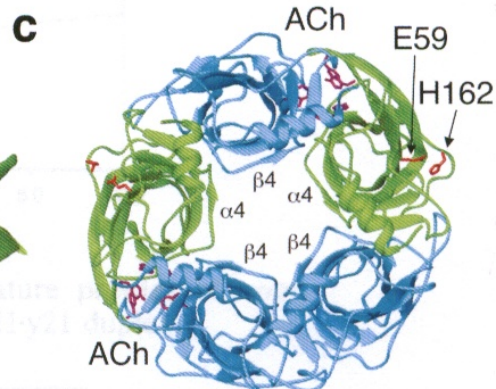
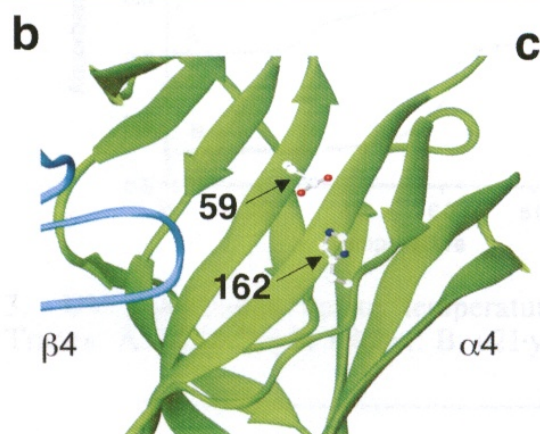
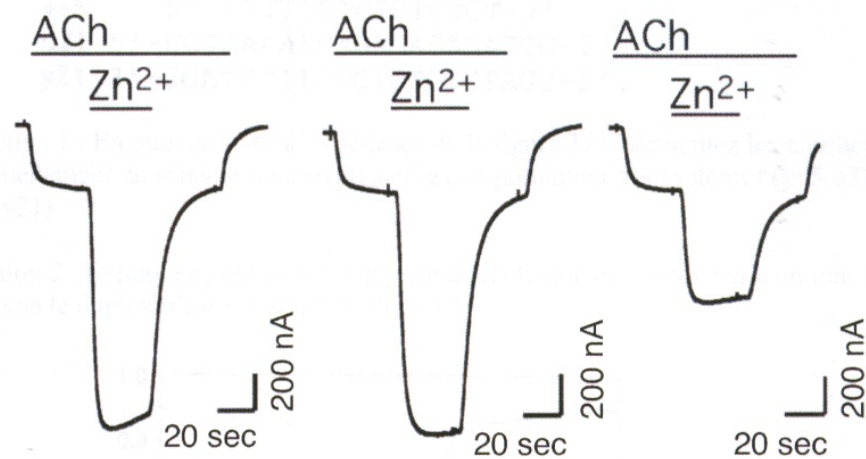
La figure 1c montre sur une vue de dessus les sites ACh et les positions E59 et H162.

Questions :

- 1- Quel est l'effet du Zn^{2+} sur les courants ACh?
- 2- D'après les résultats de mutation, où serait localisé le site de liaison du Zn^{2+} ?
- 3- Quel rôle pourrait-on attribuer au résidu E59 ? A partir de votre réponse, quelle(s) mutation(s) feriez-vous afin de supprimer totalement l'effet du Zn^{2+} ?
- 4- Sur la figure 1c, localisez le site Zn^{2+} (vous pourrez joindre la figure à votre copie). Proposez un mécanisme moléculaire de l'effet du Zn^{2+} sur ces récepteurs, basé sur l'effet de la mutation H162G.

Figure 1

a $\alpha 4\beta 4$ $\alpha 4\beta 4C75S$ $\alpha 4H162G\beta 4$



2^{ème} sujet : noté sur 5 points

Plum et al (PNAS 1990 : 87, 9436) ont conçu une triple hélice (séquence ci-jointe).

y15 5'-TTTTTCTCTCTCTCT-3'
u21 5'-GCTAAAAAGAGAGAGATCG-3'
y21 3'-CGATTTTCTCTCTCTCTAGC-5'

Question 1 : En quoi consiste l'expérience de la figure 3? Commentez les courbes (faire éventuellement un schéma pour expliquer le comportement des systèmes (y15-u21-y21) et (u21-y21))

Question 2 : Expliquez pourquoi la température de fusion du triplex varie en fonction du pH alors que le duplex n'est pas sensible (figure 4)

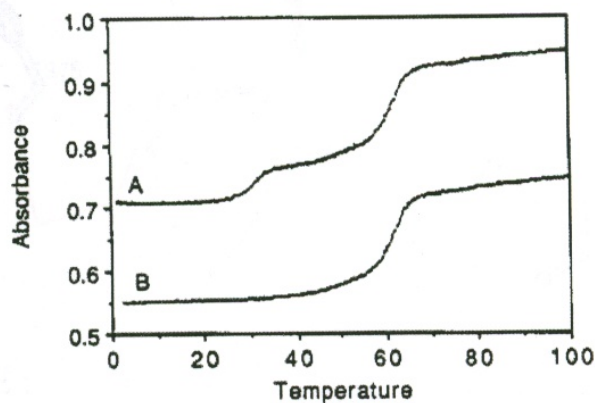


FIG. 3. UV absorbance versus temperature profiles of complexes. Traces: A, y15-u21-y21 triplex; B, u21-y21 duplex.

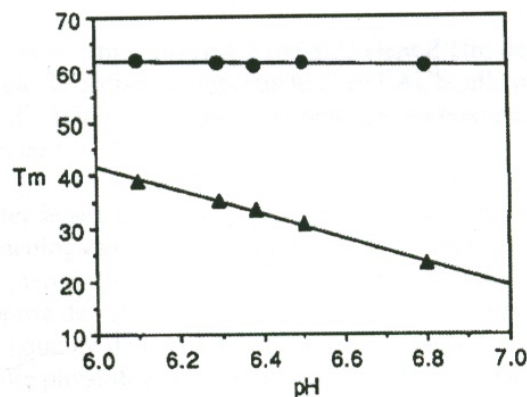


FIG. 4. Effects of pH on T_m . (▲) Triplex disruption (y15-u21-y21 \rightleftharpoons u21-y21 + y15). (●) Duplex disruption (u21-y21 + y15 \rightleftharpoons u21 + y21 + y15).

3^{ème} sujet : noté sur 8 points

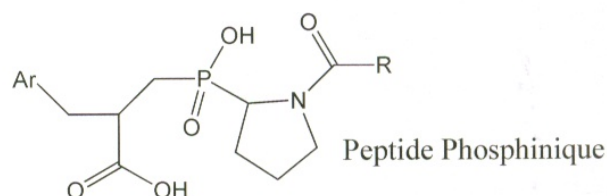
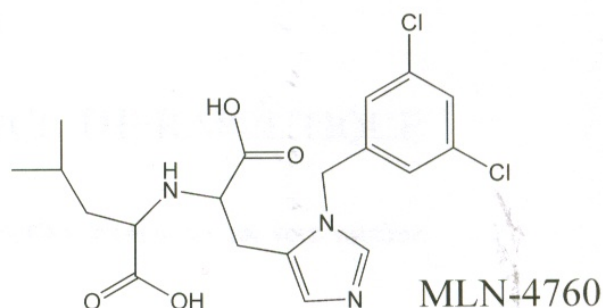
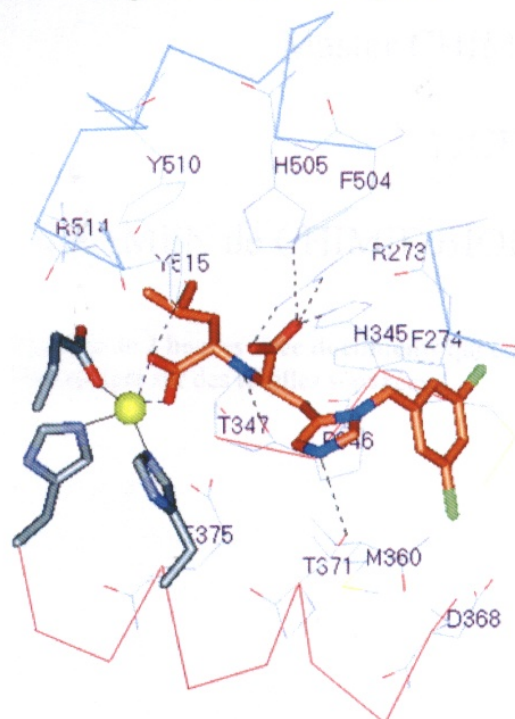


FIGURE :

Structure aux rayons X du composé MLN-4760 complexé dans le site actif de l'ACE2 :

Jaune = Zn ; Bleu = Azote ; Rouge = Oxygène ; Vert = Chlore

L'angiotensine convertant enzyme 2 (ACE2) vient d'être découverte récemment et en dépit d'une homologie de séquence importante avec l'ACE, elle possède une sélectivité de réaction très différente. L'ACE2 se comporte comme une carboxypeptidase à Zinc qui est insensible aux inhibiteurs de l'ACE.

Questions

- 1) Rappelez le site de coupure de l'ACE sur l'angiotensine I ainsi que les implications pharmacologiques d'une inhibition de cette enzyme:
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu (Angiotensine I)
- 2) A l'opposé de l'ACE, ACE2 est en mesure de cliver l'angiotensine II . Quel serait le site de coupure de l'ACE2 sur l'angiotensine II ?
- 3) Quel rôle physiologique pourrait-on attribuer à l'ACE2 ?
- 4) Le composé MLN-4760 est un inhibiteur puissant de l'ACE2 : En considérant la structure aux rayons X du complexe ACE2/MLN4760 , mettez en évidence les éléments structuraux qui caractérisent ACE2 comme une peptidase à Zinc.
- 5) Le peptide phosphiniquide dont la structure générale est représentée ci-dessus est également un puissant inhibiteur de l'ACE2. Quel rôle pourrait-on attribuer à la fonction dialkyle phosphinate dans l'inhibition de l'enzyme.