

# Devoir surveillé n°3

Samedi 29 novembre 2025

## PARTIE 1

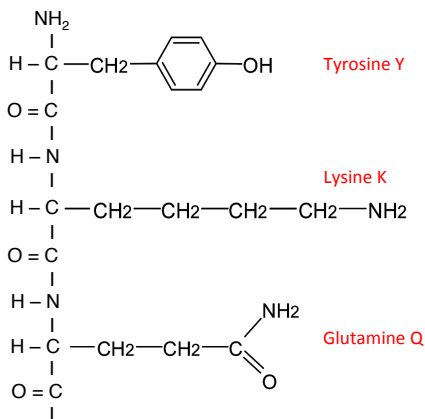
### Épreuve d'analyse de documents de biologie

durée : 2 heures

#### Thème 1 – Le venin des serpents, un mélange de toxines

##### 1.1. La crotamine, une myotoxine peptidique

Question 1 – À l'aide du formulaire, écrivez la formule semi-développée de la séquence correspondant aux 3 acides aminés numérotés 1 à 3 de la crotamine.



Question 2 – Décrivez la structure de la crotamine de l'image a en 2 ou 3 lignes, en expliquant notamment ce que sont les liaisons indiquées en jaune.

La crotamine est une protéine à structure tertiaire de forme globulaire présentant 2 courtes hélices  $\alpha$  et deux brins  $\beta$  qui semblent former un feuillet  $\beta$  antiparallèle. Elle est stabilisée par des ponts disulfures (liaisons indiquées en jaune) formés entre les cystéines de sa séquence : 4 – 36, 11 – 30, 18 – 37.

Question 3 – À partir des images b et c, caractérisez en un mot le comportement de la crotamine vis-à-vis des milieux hydratés. Citez un environnement cellulaire où elle puisse se retrouver.

La crotamine semble amphiphile. Elle pourrait se trouver associée à une membrane : la partie hydrophobe au cœur de la bicouche de phospholipides et la partie hydrophile tournée vers le milieu hydraté.

Question 4 – Analysez le graphique de façon à montrer l'effet de la crotamine sur le potentiel de membrane des cellules musculaires.

Sans crotamine, le potentiel de repos reste stable vers  $-78 \text{ mV}$ . Avec une dose de  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de crotamine, le potentiel de membrane monte jusqu'à environ  $-70 \text{ mV}$  en 10 minutes puis se stabilise sans montrer de variations durant toute l'expérience.

Pour des doses allant de  $0,5$  à  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de crotamine, le potentiel de membrane atteint environ  $-55 \text{ mV}$  au bout de 5 minutes puis oscille autour de cette valeur pendant au moins une heure.

Il n'y a pas de différences significatives entre les différentes doses, sauf au bout d'une heure où la dépolarisation semble la plus forte pour une teneur de  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (valeur de  $-48 \text{ mV}$ ), intermédiaire pour  $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (valeur de  $-52 \text{ mV}$ ) et la plus faible pour  $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (valeur de  $-57 \text{ mV}$  environ).

Bilan : la crotamine dépolarise la membrane, c'est-à-dire rapproche le potentiel de membrane de 0.

### Question 5 – Analysez et interprétez les résultats.

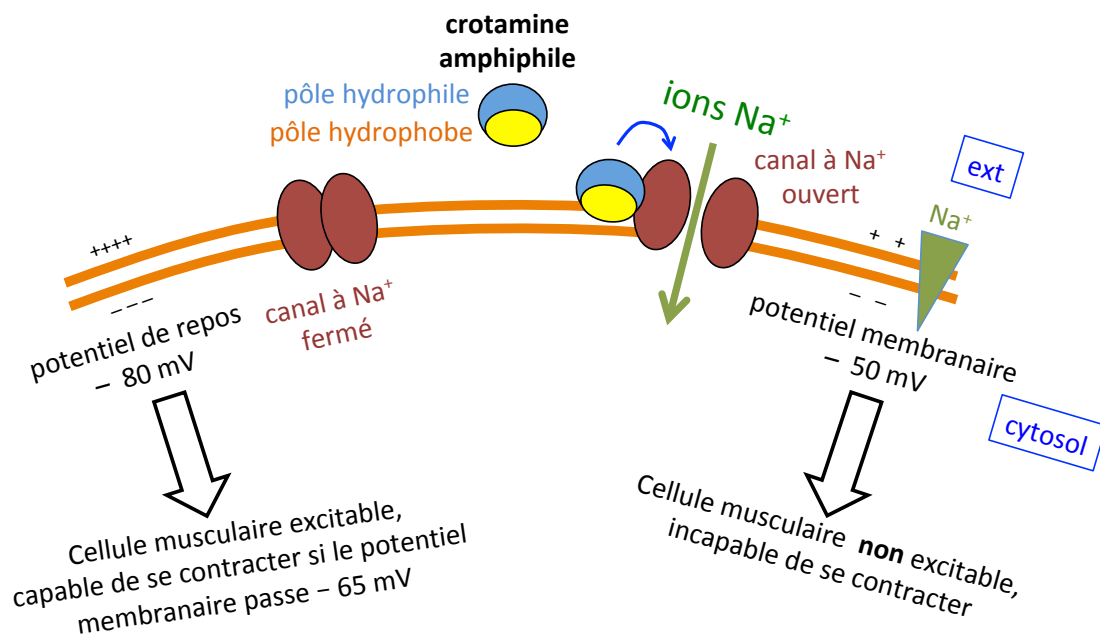
L'allure observée est similaire à celle de la figure 3 pour une concentration en crotamine de  $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Mais l'ajout de TTX, qui ferme les canaux à  $\text{Na}^+$ , ramène le potentiel de membrane à une valeur comparable au potentiel de repos (proche de  $-80 \text{ mV}$ ). En enlevant le TTX, la crotamine reprend son effet de dépolarisation. La crotamine a l'effet inverse de TTX : elle pourrait ouvrir les canaux à  $\text{Na}^+$ .

### Question 6 – Expliquez la paralysie flasque provoquée par la crotamine. Réalisez un schéma d'action de la crotamine utilisant toutes les données tirées des documents.

C'est le passage du potentiel de membrane de  $-80 \text{ mV}$  à  $-65 \text{ mV}$  qui provoque la contraction.

Il est possible de proposer que la crotamine, en se liant à la membrane du fait de son caractère amphiphile, pourrait forcer l'ouverture des canaux à  $\text{Na}^+$  et provoquer une hausse du potentiel de membrane. Ainsi, le potentiel membranaire des cellules musculaires est alors en permanence supérieur à  $-65 \text{ mV}$ . Même stimulé par un neurone moteur, la cellule musculaire ne va pas passer le seuil d'activation qui déclenche la contraction. Le muscle va donc rester relâché et incapable de se contracter : c'est la paralysie flasque.

Schéma :



## 1.2. Les crotoxines, une famille d'enzymes du venin des Vipéridés

### Question 7 – Analysez le gel de façon à proposer un modèle probable de la structure de la crotoxine.

En conditions non dénaturantes, les liaisons hydrogènes sont conservées. Le gel présente une bande unique de masse moléculaire d'environ  $25 \text{ kDa}$ . En conditions dénaturantes, les liaisons faibles sont rompues : la crotoxine montre deux chaînes d'acides aminés de  $10$  et  $15 \text{ kDa}$  environ. On peut alors proposer que la crotoxine est une protéine de  $25 \text{ kDa}$  à structure quaternaire composée de deux sous-unités, CA et CB, ayant respectivement  $10$  et  $15 \text{ kDa}$ .

### Question 8 – Indiquez la nature du substrat de l'enzyme CB. Quelle est sa localisation probable dans les cellules ?

Le substrat est un phospholipide, plus précisément un phosphoglycérolipide. Cette molécule est couramment retrouvée dans les membranes : elle fait partie de la bicouche membranaire.

### Question 9 – Décrivez la réaction chimique catalysée par CB. Identifiez la nature de l'acide arachidonique.

Même si la molécule d'eau n'est pas indiquée, il semble s'agir d'une hydrolyse : il y a rupture de la liaison ester liant le glycérol (au niveau du carbone C2) et un acide gras insaturé, l'acide arachidonique.

Question 10 – Sachant que la créatine kinase CK est une enzyme trouvée exclusivement dans le cytosol des cellules musculaires, proposez une explication possible au résultat de la figure 7 (utilisez la figure 6 !).

*La créatine kinase CK est quasiment absente du plasma des souris témoins, pour lesquelles seul du PBS a été injecté dans le muscle du mollet. Par contre, la CK est présente à raison de 8 000 U/L, soit plus de 20 fois plus que le témoin. La CK proviendrait du cytosol des cellules musculaires : sa présence dans le plasma indique que la membrane plasmique des cellules musculaires a perdu son intégrité.*

*La crotoxine a modifié les phospholipides membranaires de la cellule musculaire : n'ayant plus qu'un acide gras, les LysoPL, moins enchâssés dans la bicouche, ont pu déstabiliser la membrane, engendrant des fuites de cytosol.*

### 1.3. Un anti-venin contre les crotoxines, le CICS

Question 11 – Analysez les résultats. Le CICS est-il un bon candidat pour réaliser un anti-venin ? à quelle condition ?

*Sans CICS, aucune souris ne survit à la crotoxine. La présence de CICS diminue la mortalité des souris. Pour un rapport de 12, les souris survivent toutes à la morsure.*

*Le CICS est donc un bon anti-venin, à la condition de le fournir en forte quantité (12 fois plus que le venin).*

Question 12 – Indiquez l'objectif des chercheurs. Pourquoi le gel est-il non dénaturant ?

*Les chercheurs testent une éventuelle liaison entre le CICS et la crotoxine. Si ces deux molécules s'assemblent par des liaisons faibles, l'association CICS – crotoxine migrera moins loin dans le gel. Mais il faut alors que les liaisons faibles soient conservées, ce qui est rendu possible par la fabrication d'un gel non dénaturant. Une éventuelle coupure de la crotoxine sera également visible sur un tel gel.*

Question 13 – Analysez le gel obtenu et concluez sur l'action de CICS.

*La piste 1 indique la distance de migration de la crotoxine seule. La piste 3 indique la distance de migration de CICS seul : cette molécule est plus lourde que la crotoxine car elle migre moins loin.*

*La piste 2 est un mélange des deux protéines : elle présente 2 bandes :*

- *la bande de la crotoxine libre ;*
- *une bande plus lourde que la crotoxine, pouvant être interprétée comme une association crotoxine – CICS.*

*CICS pourrait agir en se liant à la crotoxine, empêchant probablement l'enzyme d'agir.*

Question bonus – Sachant que CICS pèse 130 kDa et la crotoxine 28 kDa, expliquez pourquoi la piste 2 ne montre pas de bande à la hauteur de CICS seule.

*D'après la piste 2, il y a encore des molécules de crotoxine isolées mais tout le CICS est associé à la crotoxine. Cela voudrait dire qu'on a chargé davantage de molécules de crotoxine que de CICS.*

*Or le mélange contient*

- *20 µg de crotoxine de 28 kDa, soit environ  $20 \cdot 10^{-6} \div 28 \cdot 10^{-3} \approx 0,7 \cdot 10^{-3}$  moles ;*
- *35 µg de CICS de 130 kDa, soit environ  $35 \cdot 10^{-6} \div 130 \cdot 10^{-3} \approx 0,25 \cdot 10^{-3}$  moles.*

*Il y a moins de molécules de CICS que de molécules de crotoxine dans le mélange. Il est donc « normal » que certaines molécules de crotoxine restent libres.*

Question 14 – En vous appuyant sur la figure 11, précisez l'action de CICS sur la crotoxine.

*Plus le rapport molaire CICS / venin est élevé, plus l'activité enzymatique est faible. La sous-unité CB a une activité enzymatique quasiment nulle dès un rapport CICS/CB = 4. La crotoxine totale semble moins inhibée par le CICS (encore 30 % d'activité pour le rapport de 4) mais l'activité enzymatique est de moins de 10% pour un rapport de 15.*

*=> CICS agit donc en se liant à la crotoxine, ce qui inhibe l'activité enzymatique de CB. CB aurait le site actif de l'enzyme.*

## Thème 2 – La production du lait chez les Mammifères

### 2.1. Les sucres du lait

Question 1 – Rappelez les constituants du lactose, sucre présent à raison de  $50 \text{ g.L}^{-1}$  dans le lait de la vache. La liaison osidique étant de nature  $\beta 1-4$ , précisez s'il est réducteur ou non, en le justifiant.

*Le lactose est un di-oside composé d'un glucose et d'un galactose. La liaison étant en  $\beta 1-4$ , le carbone anomérique du galactose n'est pas mis en jeu dans la liaison : restant « libre », le cycle peut s'ouvrir et faire apparaître la fonction aldéhyde donnant sa réactivité au sucre. Le lactose est donc un sucre réducteur.*

Question 2 – Analysez les résultats de la figure 1. Proposez 3 hypothèses permettant de les expliquer.

*La figure 1 montre une hausse de la quantité de lactose sécrété dans le milieu, de l'ordre de + 15 % lorsque le milieu est enrichi en glucose.*

*Il y a donc eu une plus forte sécrétion de lactose hors des cellules. Ceci pourrait être dû :*

- à une hausse de l'entrée du glucose dans les cellules sécrétrices, favorisant la synthèse de lactose ;
- à une stimulation de la synthèse de lactose : le glucose stimulerait l'enzyme de synthèse  $\beta 4\text{Gal}$  ;
- à une hausse de la sécrétion de lactose : le glucose pourrait stimuler la sécrétion (exocytose du lactose contenu dans les cellules).

Question 3 – Rappelez rapidement en quoi consiste un Western blot (3 courtes phrases maximum.) Pourquoi détecte-t-on l'actine sur le Western blot de la figure 2 ?

*Le Western-blot est une technique d'électrophorèse couplée à un marquage spécifique. Les protéines sont séparées par électrophorèse sur un gel SDS-PAGE puis transférées sur un buvard, alors mis à incuber avec des anticorps radioactifs ciblés contre les protéines recherchées. La révélation permet de ne visualiser que les protéines étudiées.*

*L'actine est une protéine présente dans toutes les cellules testées, en égale quantité. Sa présence en bandes d'intensités égales autorise la comparaison quantitative entre les pistes pour les autres protéines.*

Question 4 – Analysez et interprétez les résultats des figures 2 et 3. Précisez si ces conclusions permettent de valider les hypothèses faites en question 2.

*La figure 2 montre que le taux d'ARNm augmente de façon significative pour  $\text{GluT1}$  et  $\beta 4\text{Gal}$ , d'un facteur 1,4 environ, lorsque le milieu est enrichi en glucose. Le glucose n'a par contre pas d'impact sur la teneur en ARNm de  $\text{GluT4}$  et  $\text{GluT8}$ . Le glucose stimule donc de façon spécifique la transcription des gènes de la perméase  $\text{GluT1}$  et l'enzyme  $\beta 4\text{Gal}$ .*

*En parallèle, la figure 3 montre également que la quantité de protéine  $\text{GluT1}$  et  $\beta 4\text{Gal}$  est plus importante dans les cellules acineuses stimulées par le glucose.*

*La teneur en glucose dans le milieu de culture a donc augmenté*

- le nombre de perméases  $\text{GluT1}$ , ce qui augmente l'entrée de glucose, à l'origine de la synthèse de lactose ;
- le nombre d'enzymes  $\beta 4\text{Gal}$  et donc la capacité de synthèse de lactose.

*Les hypothèses 1 et 2 sont donc validées. La troisième ne peut pas être validée ou invalidée ici.*

### 2.2. Les lipides du lait

Question 5 – Rappelez en une phrase ce qu'est un triglycéride et représentez une molécule de triglycéride.

*Un triglycéride est un lipide de réserve formé par un glycérol dont les 3 carbones sont estérifiés par 3 acides gras.*

*dessin*

Question 6 – Précisez en quelques mots ce qu'est l'immunofluorescence.

L'immunofluorescence consiste en un marquage des claudines avec un anticorps couplé à un fluorochrome (ici la rhodamine rouge). L'observation est réalisée en deux temps : observation avec la longueur d'onde qui excite la rhodamine puis avec la longueur d'onde qui excite le DAPI. Les deux images obtenues sont alors superposées.

Question 7 – Démontrez avec rigueur que ce sont les globules gras qui sont impliqués dans l'abondance des claudines.

La seule différence entre le lait CTL et le lait MFGM est la présence des globules gras. Or la différence est nette : que ce soit sur les micrographies à épifluorescence ou sur la mesure de l'intensité de fluorescence, la différence est significative. D'après l'histogramme, la fluorescence est significativement différente : elle est divisée par 6 en cas d'absence de globules gras. Il y a donc 6 fois plus de claudines dans les épithéliums de rats ayant consommé des globules gras.

Les rats ayant consommé du lait maternel, naturellement riche en globules gras, présentent les mêmes résultats qu'avec le lait infantile supplémenté en globules gras. Cela conforte la conclusion précédente.

Question 8 – Analysez et interprétez les résultats. Reliez ces résultats avec l'étude de la figure 4 de façon à proposer un scénario d'action des globules gras sur l'intestin des jeunes rats.

L'inflammation induite par la présence de toxines bactériennes est significativement supérieure dans le cas d'un lait sans globules gras : le score est 20% plus élevé que pour le lait supplémenté MFGM et 50% plus élevé que pour le lait maternel MM.

Aucune différence significative n'est démontrée entre MM et MFGM car l'indice statistique est  $> 0,05$ .

Mode d'action probable :

- les globules gras stimulent la production des claudines qui constituent les jonctions étanches de l'épithélium intestinal des jeunes rats ;
- les jonctions étanches protègent le milieu intérieur de l'intrusion des toxines bactériennes.

## PARTIE 2

### questions de cours

(durée : 30 minutes)

1. Indiquer avec précision la nature des réactions chimiques numérotées 1, 2 et 3.

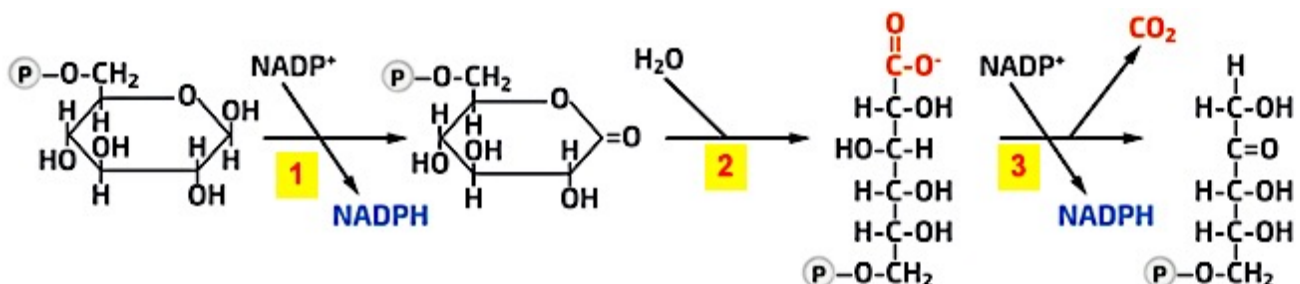
Réaction 1 = oxydation du glucose6P par le  $\text{NADP}^+$

Réaction 2 = hydrolyse : ouverture du cycle en acide gluconique

Réaction 3 = décarboxylation oxydative : l'acide gluconique est décarboxylé et oxydé en pentose (cétose)

2. Identifier la première molécule.

C'est un  $\beta$ -D-glucopyranose 6 phosphate

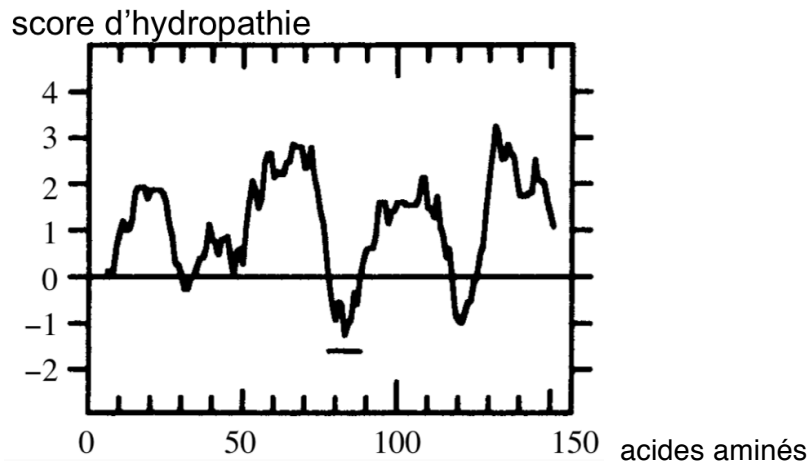


3. Réaliser un schéma fonctionnel riche et soigné illustrant le sujet « L'ADN, une molécule de stockage d'information »

4. Expliquer comment est obtenu ce profil d'hydropathie de la sous-unité c de la pompe à protons. Interpréter ce profil en proposant un modèle structural à cette protéine c.

*La séquence de la protéine est analysée de la façon suivante :*

- la valeur moyenne d'indice d'hydrophobicité des acides aminés d'une fenêtre de 11 acides aminés consécutifs est calculée et cette valeur moyenne est attribuée à l'acide aminé central ;
- la séquence est lue en partant de l'extrémité N-terminale et se décalant d'un acide aminé à chaque fois vers l'extrémité C-terminale ;
- les valeurs moyennes calculées sont placées sur un graphique ayant la séquence comme axe des abscisses.



*Analyse :*

*4 séquences présentent un score d'hydropathie très positif, c'est-à-dire hydrophobes.*

*Il est probable que ces domaines soient les séquences transmembranaires étant donné que la protéine appartient à la pompe à protons, un transporteur membranaire.*

*Les séquences sont en position approximative :*

- 15 – 30
- 55 – 70
- 90 – 110
- 125 – 145

*Il n'est pas possible d'orienter la membrane.*