

## 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

Un venin de serpent est un mélange complexe de plus de mille protéines, dont la composition varie en fonction de la famille mais aussi de l'espèce, expliquant l'hétérogénéité des tableaux cliniques.

Elles remplissent deux objectifs : immobiliser rapidement la proie et commencer la digestion.

Ces protéines sont responsables de phénomènes inflammatoires, de nécrose, de phénomènes toxiques, de paralysie flasque (= molle)... Ce sujet explore l'action de deux toxines et d'un traitement anti-venin.

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

##### a) Structure de la crotamine

La crotamine est un peptide de 4,9 kDa dont la séquence est donnée ci-dessous en figure 1.

|          |    |    |           |
|----------|----|----|-----------|
| Nter – 1 | 10 | 20 | 30        |
|          |    |    |           |
|          |    |    | 42 – Cter |

Figure 1 – Séquence de la crotamine (Source : M. Coronado et al, Acta Crystallographica, 2013)

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.

La structure de ce peptide a été élucidée grâce à l'image de diffraction aux rayons X obtenue suite à sa cristallisation.

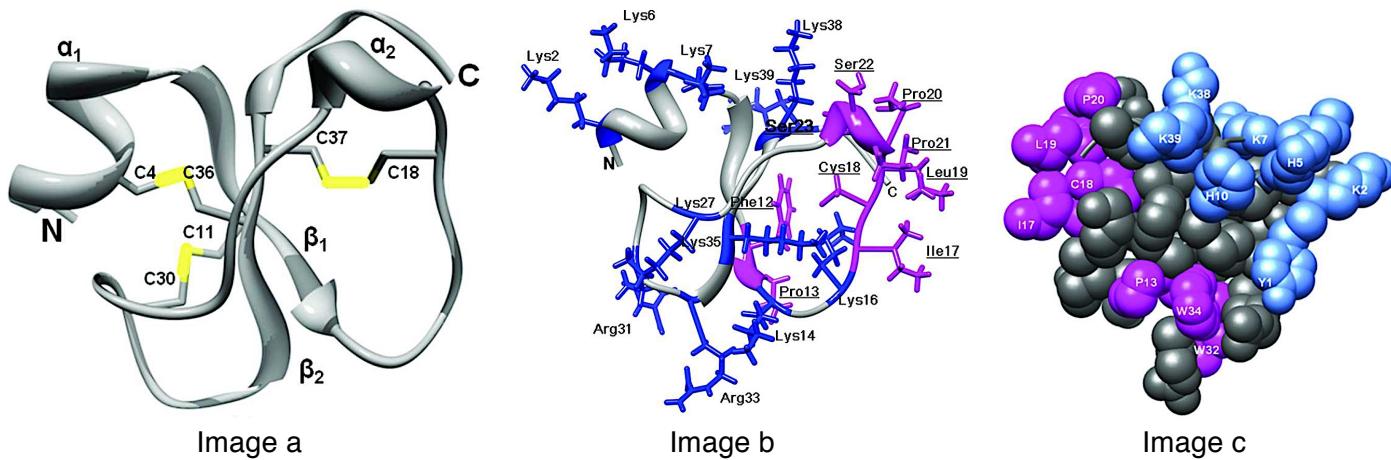


Figure 2 – Modèles tridimensionnels de la crotamine. Image a : structure tridimensionnelle. Image b : comportement de la crotamine vis-à-vis de l'eau : les acides aminés à résidus hydrophobes sont colorés en violet, les résidus chargés en bleu et les résidus neutres et peu polaires en gris. Image c, même modèle d'hydropathie mais simplifié et vu sous un autre angle. (Source : M. Coronado et al, Acta Crystallographica, 2013)

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.

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

### b) Effet de la crotamine sur les muscles

Le modèle de muscle utilisé est le diaphragme, muscle respiratoire de rat. La membrane des cellules musculaires étudiées a un potentiel de repos proche de  $-80$  mV.

Les chercheurs ont mesuré avec des électrodes le potentiel de repos en absence ou en présence de crotamine à des doses variables. Les cellules témoins sans crotamine ont un potentiel de repos qui reste stable à  $-78$  mV en moyenne.

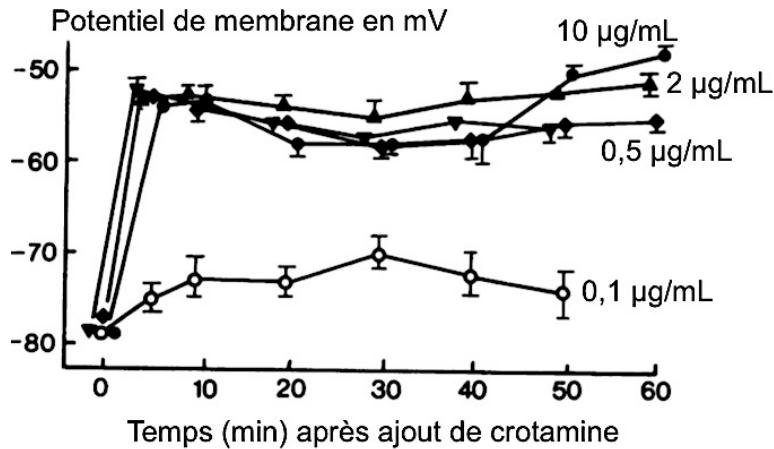


Figure 3 – Mesures de potentiel de membrane de cellules musculaires de diaphragme de rat avec ou sans ajout de crotamine dans le milieu. (source : C. Chiung Chang & K. Hong Tseng, British Journal of Pharmacology, 1978)

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

La contraction d'une cellule musculaire est déclenchée par une hausse de potentiel membranaire induite par l'entrée d'ions  $\text{Na}^+$  dans le cytosol : lorsque le potentiel dépasse la valeur seuil de  $-65$  mV, la contraction se déclenche. C'est le passage du seuil qui engendre la réponse.

Suspectant un lien entre crotamine et entrée des ions  $\text{Na}^+$ , les auteurs ont mesuré le potentiel membranaire en ajoutant, au bout d'une heure, un poison des canaux à  $\text{Na}^+$ , la tétrodotoxine (TTX), poison qui bloque les canaux sodiques dans leur conformation fermée. Ils ont enlevé par lavage la TTX après 30 minutes.

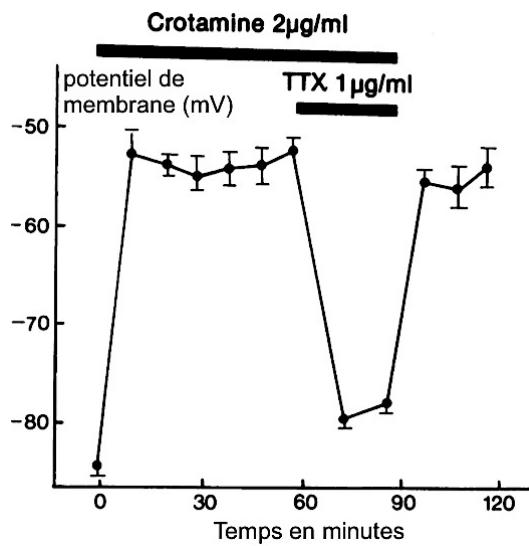


Figure 4 – Effet de la tétrodotoxine TTX sur l'action membranaire de la crotamine.

Question 5 – Analysez et interprétez les résultats.

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.

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

### a) Biochimie et activité des crotoxines

De nature protéique, la crotoxine a été purifiée à partir d'un venin de crotale *Bothrops moojeni* et analysée par électrophorèse. Le gel obtenu est le suivant.

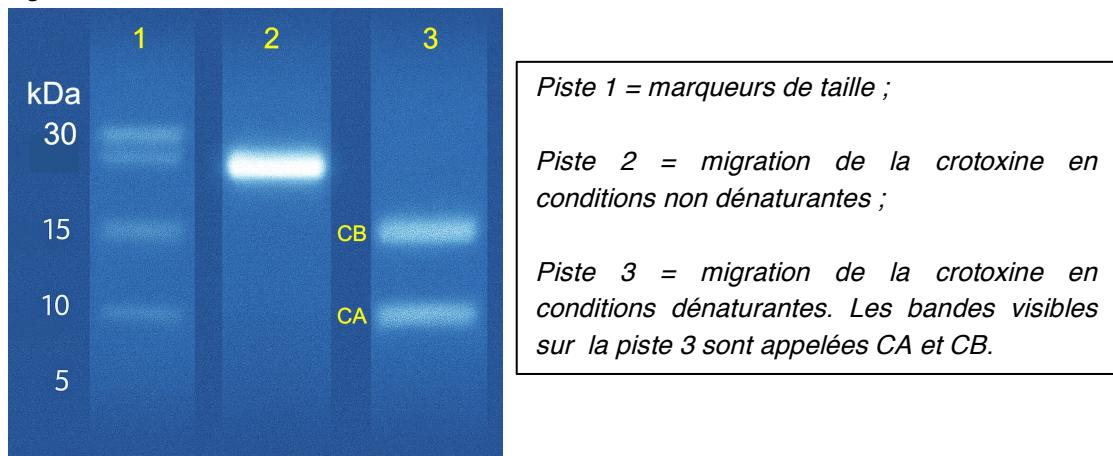


Figure 5 – Gel d'électrophorèse généré à partir des données des travaux de l'équipe de Giovana Pedro, publiés dans *Journal of Venom Animal Toxins* en 2024.

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

La bande CB a été isolée et purifiée. Sa séquence, proche d'enzymes connues, a permis de découvrir ses capacités enzymatiques. Elle catalyse la réaction suivante :

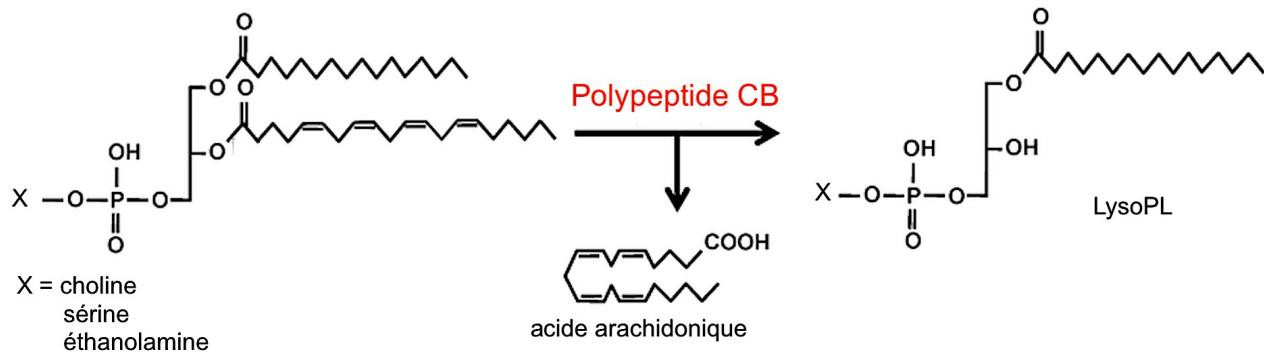


Figure 6 – Réaction catalysée par le polypeptide CB de la crotoxine

Question 8 – Identifiez le substrat de l'enzyme CB. Quelle est sa localisation probable dans les cellules ?

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

### b) Effets de la crotoxine de *Bothrops asper* sur les cellules musculaires

L'équipe de recherche de Diana Mora-Obando a cherché à connaître les conséquences de cette réaction chimique catalysée par la crotoxine. L'activité de la crotoxine a été testée sur des groupes de cinq souris CD-1 pesant entre 18 et 20 g, logées dans des cages avec nourriture et eau à volonté.

Protocole :

- injection par voie intramusculaire de 50 µL de solution saline PBS ou de 50 µL de solution saline PBS contenant 50 µg de crotoxine dans le muscle gastrocnémien du mollet des souris ;
- après 3 h, prélèvement de sang dans un capillaire à l'extrémité de la queue ;
- mesure de la quantité de créatine kinase (CK), exprimée en U/L, dans le plasma.

La figure 8 donne les résultats.

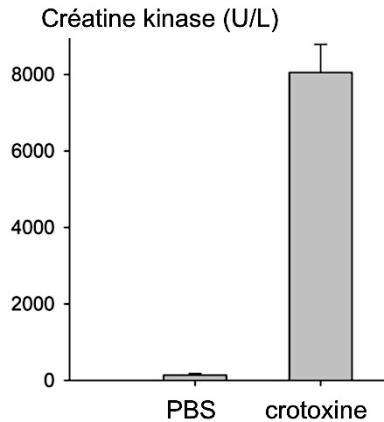


Figure 7 – Dosage de la créatine kinase CK dans le plasma de souris 3h après injection de tampon PBS seul ou additionné de crotoxine dans le muscle du mollet des souris. Les valeurs données sont les moyennes des 5 souris testées pour chaque lot. (Source : Diana Mora-Obando et al, Peer Journal, 2014)

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 !).

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

Le crotale est protégé contre ses propres toxines. En 1995 a été découvert que son plasma contient une substance, appelée CICS, qui semble être un inhibiteur naturel de la crotoxine. Des équipes de recherche ont étudié cette protéine de 130 kDa pour en tirer un anti-venin.

#### a) Test *in vivo* de l'action anti-venin du CICS

Différentes solutions sont préparées en mélangeant de la crotoxine et du CICS en proportions variées. Après incubation 1 heure à 37°C, des fractions de 0,2 mL de ces mélanges sont injectées à des souris de 20 g. La survie des souris est dénombrée après 48h. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

| Rapport molaire CICS/venin | Nombre de survivantes pour 6 souris ayant reçu l'injection |
|----------------------------|--|
| 0                          | 0  |
| 8                          | 5  |
| 12                         | 6  |

Figure 8 – Tableau des résultats des essais d'utilisation de CICS en tant qu'anti-venin  
(source : Perales et al, European Journal of Biochemistry, 1995)

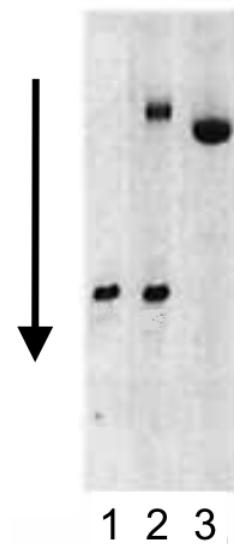
Question 11 – En vous appuyant sur l'étude de la figure 8, indiquez si le CICS est un bon candidat pour réaliser un anti-venin. Précisez à quelle condition.

#### b) Étude de l'interaction entre CICS et la crotoxine

Un mélange de 20 µg de crotoxine et 35 µg de CICS dans 40 µL est mis à incuber pendant 1 h à 37°C. À l'issue de cette incubation, une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes est lancée. Les bandes protéiques sont ensuite colorées au bleu de Coomassie. Le gel est présenté ci-contre.

Figure 9 – Piste 1 = 1 µL de solution de crotoxine seule  
Piste 2 = 1 µL du mélange de crotoxine + CICS  
Piste 3 = 1 µL de solution de CICS seule  
La flèche indique le sens de migration de l'électrophorèse.

(source : Perales et al, Journal of Biochemistry, 1995)



Question 12 – Indiquez l'objectif des chercheurs. Pourquoi avoir choisi un gel non dénaturant ?

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

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.

Parallèlement à l'électrophorèse, les chercheurs ont testé l'activité enzymatique de la crotoxine (totale ou seulement CB) en fonction de la dose de CICS ajoutée dans le milieu. La figure 11 donne les résultats.

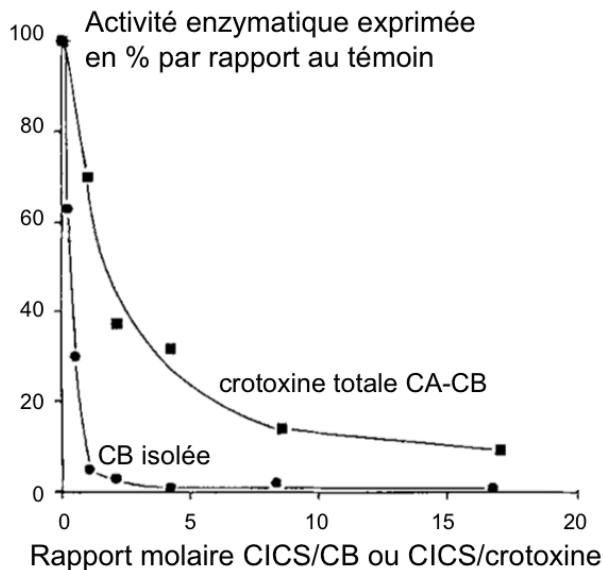


Figure 10 – Activité enzymatique normalisée de la crotoxine totale ou CB isolée en fonction de la quantité de CICS ajoutée au mélange (source : Perales et al, *Journal of Biochemistry*, 1995)

Question 14 – En vous appuyant sur la figure 10, précisez l'action de CICS sur la crotoxine.

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

inspiré de l'Agro 2025

Les Mammifères possèdent un développement incluant des soins importants aux jeunes : la lactation en est une étape particulière. Le sujet porte sur la synthèse du lait par les glandes mammaires de 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.

Les figures 1 à 3 résument les résultats d'analyses visant à montrer les effets du glucose sur la synthèse de lactose dans les cellules épithéliales mammaires. La synthèse de lactose est catalysée par l'enzyme  $\beta 4$ -Galactosidase, notée  $\beta 4\text{Gal}$ .

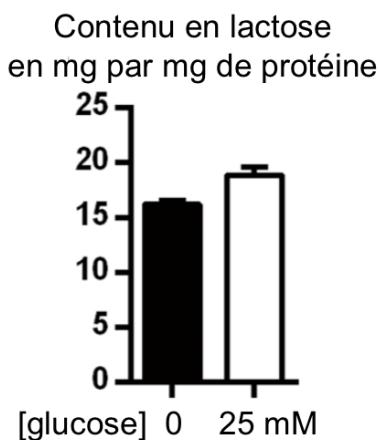


Figure 1

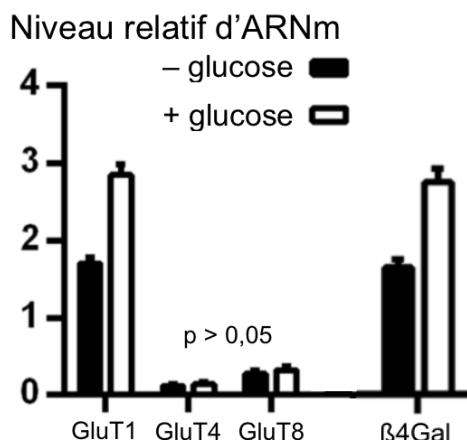


Figure 2

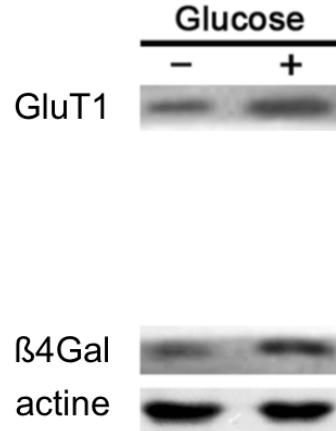


Figure 3

(source : Y. Lin & al, BMC Veterinary Research, 2016)

Figure 1 - Sécrétion de lactose par des cellules épithéliales mammaires de vaches laitières cultivées en absence de glucose ou avec  $25 \text{ mmol.L}^{-1}$  (mM) de glucose durant les 24 h qui précédent la mesure. La quantité de lactose dans le lait est évaluée en mg par mg de protéines du lait. Les données sont des moyennes obtenues sur 3 expériences  $\pm$  l'erreur standard de la moyenne.

Figure 2 – Niveaux relatifs d'ARNm des gènes codant 3 protéines de type perméases (GLUT 1, GLUT 4 et GLUT 8) et du gène codant l'enzyme  $\beta 4$ -Galactosidase ( $\beta 4\text{Gal}$ ), dans des cellules épithéliales mammaires de vaches laitières cultivées avec (+) ou sans (-) glucose. Les données sont des moyennes obtenues sur 3 expériences  $\pm$  l'erreur standard de la moyenne.

Figure 3 – Analyse par Western blot des protéines de cellules épithéliales mammaires de vaches laitières cultivées avec (+) ou sans (-) glucose.

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

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 ?

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.

## 2.2. Les lipides du lait

Les **lipides** du lait sont majoritairement des triglycérides. Synthétisés par le REL, ils sont sécrétés par les cellules acineuses : ils sont alors entourés par une bicoche de phospholipides issue de la membrane plasmique. Le tout (membrane + triglycérides) constitue un **globule gras**.

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

Diverses études ont montré l'importance de ces globules gras (et plus particulièrement de leur membrane) sur le développement des jeunes Mammifères nourris avec du lait maternel. Ces globules gras ne sont par contre pas présents dans la plupart des laits infantiles (= substituts du lait maternel donnés aux bébés humains qui ne sont pas allaités par leur mère). La figure 4 montre les résultats obtenus sur l'épithélium intestinal de trois lots de jeunes rats nourris pendant 2 semaines :

- avec une préparation de type lait infantile (sans globules gras) = lot CTL ;
- avec une préparation de type lait infantile enrichie en globules gras = lot MFGM ;
- avec le lait de leur mère = lot MM.

L'étude permet de visualiser les claudines des entérocytes, marquées en rouge par immunofluorescence.

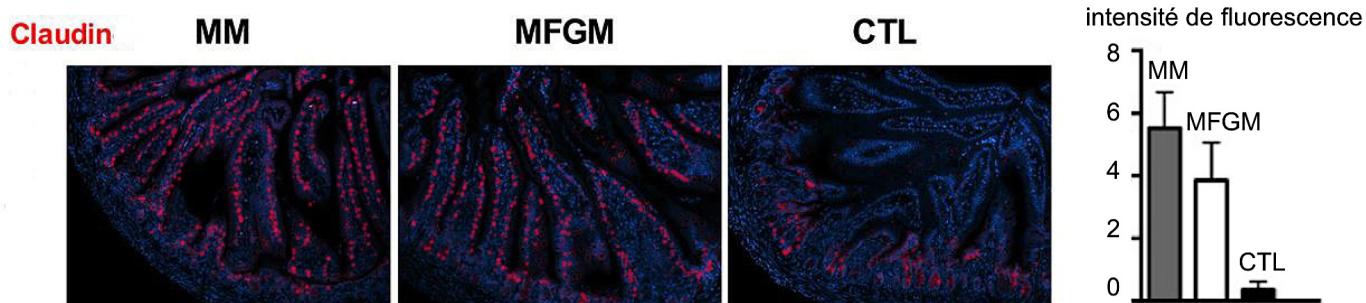


Figure 4 – à gauche : Coupes transversales d'intestins grêles de jeunes rats de 2 semaines, nourris avec du lait infantile (CTL), avec du lait infantile enrichi en globules gras (MFGM) ou avec du lait maternel (MM).

Les claudines ont été marquées en rouge par immunofluorescence (rhodamine rouge). L'ADN est lié au DAPI, qui fluoresce en bleu. À droite, intensité de la fluorescence des claudines au niveau des entérocytes.  
(source : G. Bhinder et al, Nature, 2016)

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

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

La figure 5 résume les résultats de travaux réalisés sur des lots de 7 rats dont l'intestin reçoit des toxines de bactéries pathogènes *Clostridium difficile*. Une dose de toxine est introduite dans le rectum de jeunes rats de 15 jours. Les dommages causés à l'épithélium intestinal des rats de chacun des trois lots sont quantifiés au bout de 2h après injection, et utilisés pour établir un score d'inflammation. Les données sont des moyennes ± l'erreur standard de la moyenne.

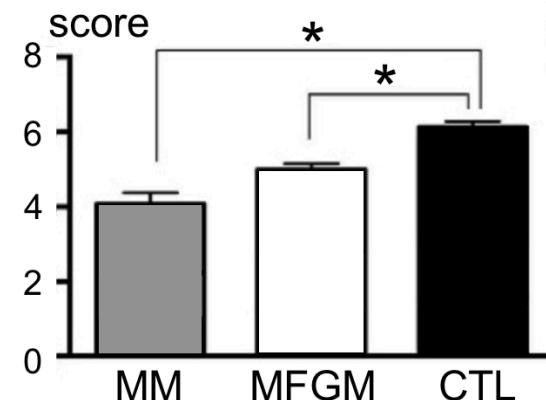


Figure 5 – Score d'inflammation d'épithéliums intestinaux 2 h après l'injection de toxines bactériennes. L'astérisque \* indique que les valeurs sont significativement différentes 2 à 2. Les tests statistiques indiquent une valeur de l'indice  $p = 0,09$  entre les valeurs MM et MFGM (source : G. Bhinder et al, Nature, 2016)

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.

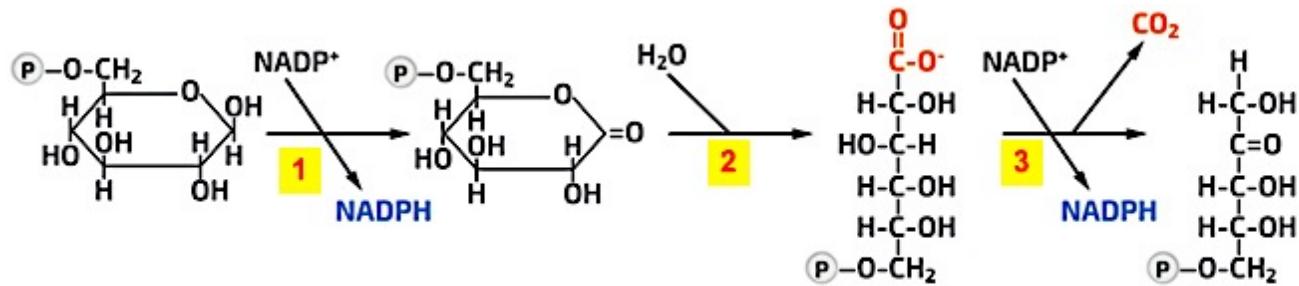
## PARTIE 2

### questions de cours

*(durée : 30 minutes)*

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

2. Identifier la première molécule. La nommer avec précision.



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.

