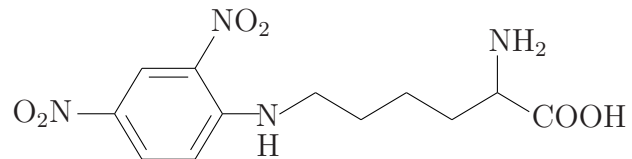
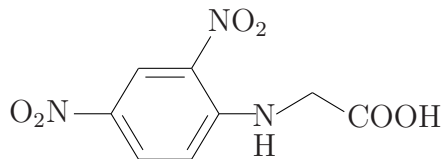


TD 2 : Protéines

Exercice 1 : Pentapeptide

L'hydrolyse acide totale d'un pentapeptide **A** a montré qu'il est composé de : glycine, aspartate, alanine, lysine, phénylalanine.

- Après traitement de **A** par le dinitrofluorobenzène (réactif de Sanger), puis hydrolyse acide, on isole les composés suivants :



- Après traitement de **A** par la *chymotrypsine*, on obtient un dipeptide et un tripeptide, dont les points isoélectriques sont proches de la neutralité.

- Après traitement de **A** par la *trypsine*, on isole un térapeptide dont le point isoélectrique est proche de la neutralité.

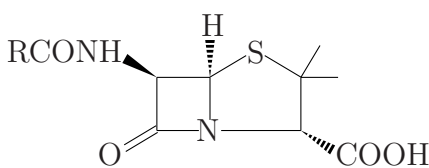
Quelle est la séquence du pentapeptide ?

Rappels :

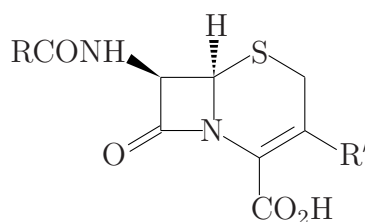
La *chymotrypsine* et la *trypsine* hydrolysent les liaisons peptidiques respectivement au niveau du carboxyle des aminoacides aromatiques et des aminoacides basiques.

Exercice 2 : β -lactamases

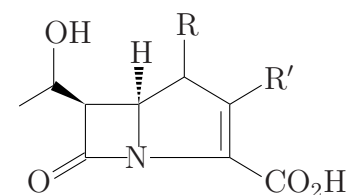
Les antibiotiques du type β -lactames représentent 50% du marché mondial. Ils ont un large spectre antibactérien et les effets secondaires sont réduits.



Pénicillines

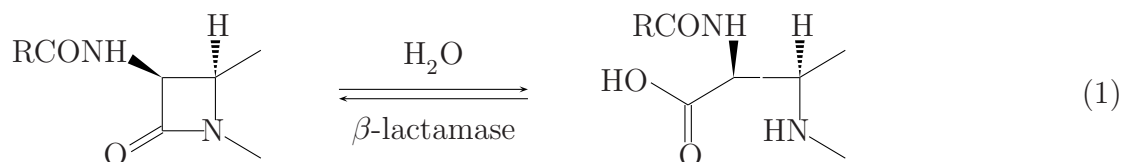


Céphalosporines



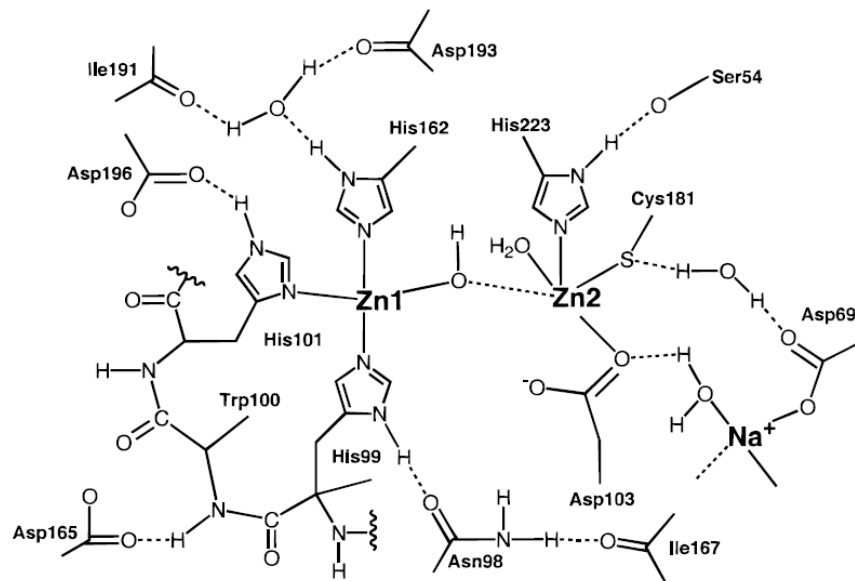
Carbapénems

Les bactéries ont développé des résistances de plus en plus fortes à ces antibiotiques au fur et à mesure de la production de molécules plus efficaces du type céphalosporine et carbapenem. Elles ont synthétisé des enzymes capables d'hydrolyser la fonction amide du cycle β -lactame, les β -lactamases.

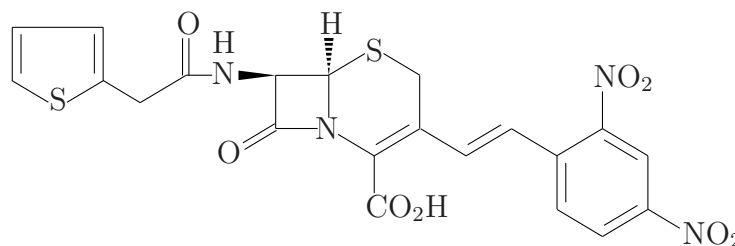


Il en existe différentes classes.

- les β -lactamases à sérine : la sérine active appartient à une triade Ser-130, Asp-131, Asn-132. Le blocage de la sérine par le di-isopropylfluorophosphate [(iPrO)₂F]P=O inactive l'enzyme.
- les β -lactamases à zinc mononucléaire : les protéines de cette classe possèdent un ion zinc coordonné à trois histidines His-86, His-88, His-149 et à une molécule d'eau. À proximité du site, il existe un aspartate Asp-90 très largement conservé. Le maximum d'activité de ces protéines se situe entre 5,6 et 9,5.
- les β -lactamases à zinc dinucléaires : les β -lactamases de cette classe sont les dernières connues. Les structures de trois protéines issues de *B. cereus*, *B. fragilis* et *S. maltophilia* ont été résolues entre 1995 et 1998. Les ligands du zinc sont conservés. Le site à zinc est présenté ci-dessous.



L'activité de l'enzyme dépend peu du pH entre 5,25 et 10. Des études menées en cinétique rapide (*stopped-flow*) avec la nitrocéfine comme substrat indiquent qu'il se forme un intermédiaire absorbant à 665nm dont la disparition est l'étape lente de la réaction d'hydrolyse de ce substrat.

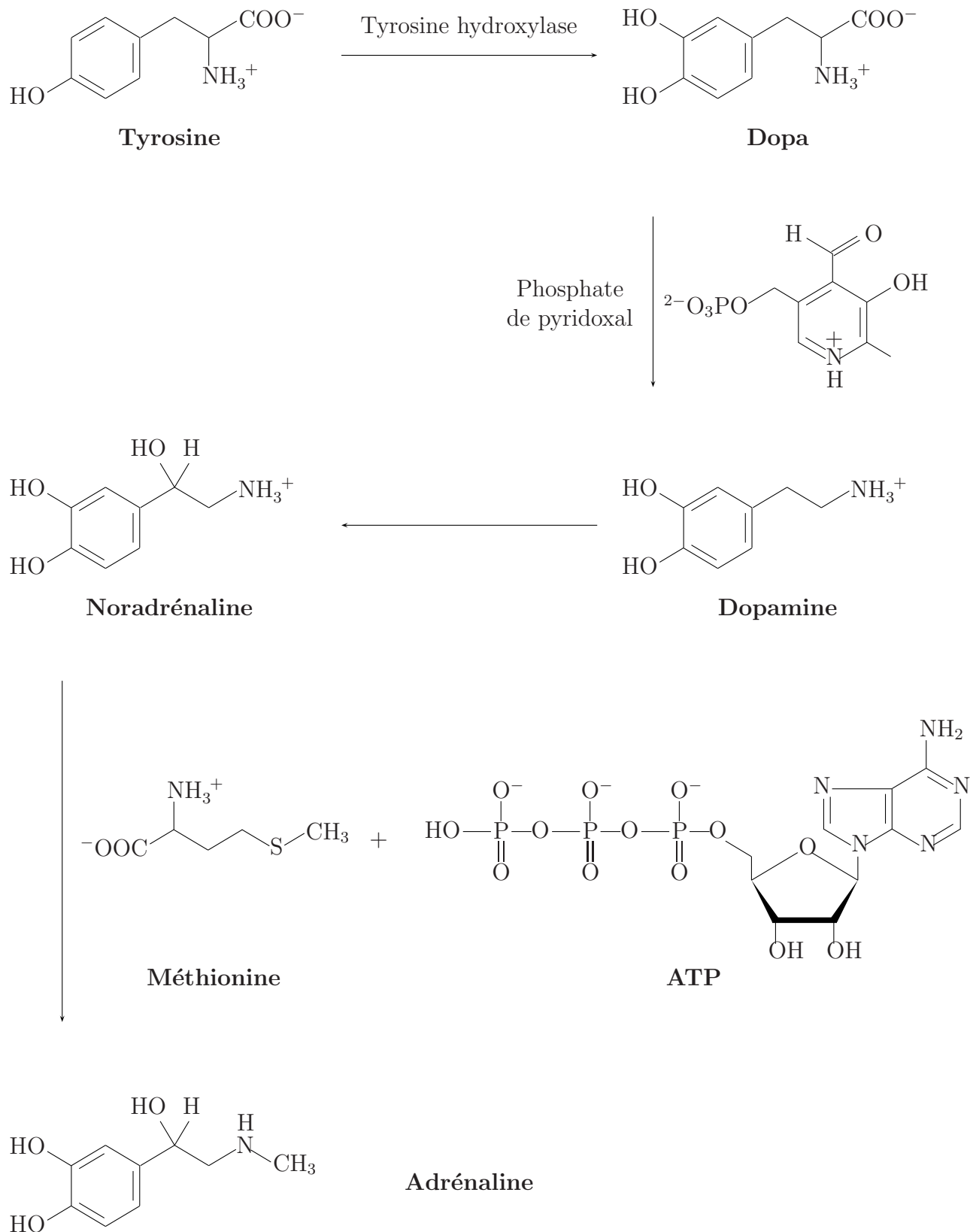


Nitrocéfine

Proposez pour chaque classe de β -lactamase un mécanisme d'hydrolyse du cycle β -lactame. En quoi l'évolution de ces enzymes traduit-elle une augmentation de la résistance des bactéries à ce type d'antibiotiques ?

Exercice 3 : Catécholamines

L'adrénaline (épinephrine) est produite dans l'organisme humain suivant le schéma réactionnel ci-dessous :



1. L'adrénaline possède-t-elle des sites hétérotopiques ? Si oui, sont-ils énantiotopiques ou diastérotopiques ?
2. Le passage de la dopa à la dopamine est réalisé grâce à la participation d'un cofacteur, le phosphate de pyridoxal (PLP). Proposez un mécanisme pour cette réaction.
3. La noradrénaline est obtenue par l'introduction stéréosélective d'un groupement hydroxyle en position 2'. Cette introduction a lieu par le remplacement du groupement pro-R de la dopamine. Donnez la stéréochimie de la noradrénaline.
4. Proposez un mécanisme pour la transformation de la noradrénaline en adrénaline. Quel est le rôle joué par la molécule d'ATP ?