

# UE Biochimie Structurale et Fonctionnelle L3S5

## 1<sup>ère</sup> session – Décembre 2021

*Aucun document n'est autorisé, pour l'ensemble de l'épreuve.  
Durée totale de l'épreuve deux heures*

---

La protéine CapO (456 résidus) est une UDP-glucose déshydrogénase (UDPG-DH) impliquée dans la synthèse des exopolysaccharides de la capsule bactérienne. Elle catalyse la réaction suivante :



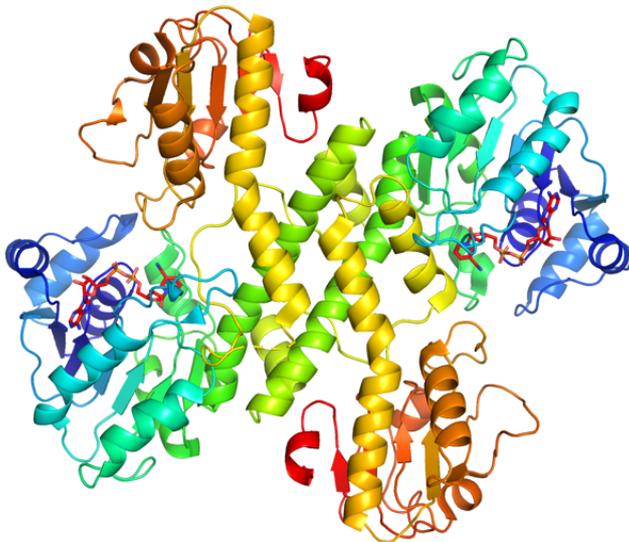
**Q1 :** A quelle grande famille appartient cette protéine selon la classification enzymatique?

**Q2 :** Proposez un test enzymatique qui permettrait de suivre l'activité de l'UDPG-DH.

**Q3 :** Quelles expériences doit-on réaliser et quelle courbe doit-on tracer pour déterminer si l'enzyme suit un mécanisme de type Michaélien ? Si l'enzyme est Michaélien, donnez l'écriture de l'équation de vitesse  $V_i = f(S_0]$

**Q4 :** Comment détermine-t-on les constantes enzymatiques  $k_{\text{cat}}$  et  $K_M$  à partir du traitement graphique de l'équation de Michaelis ? Justifiez par rapport à l'équation.

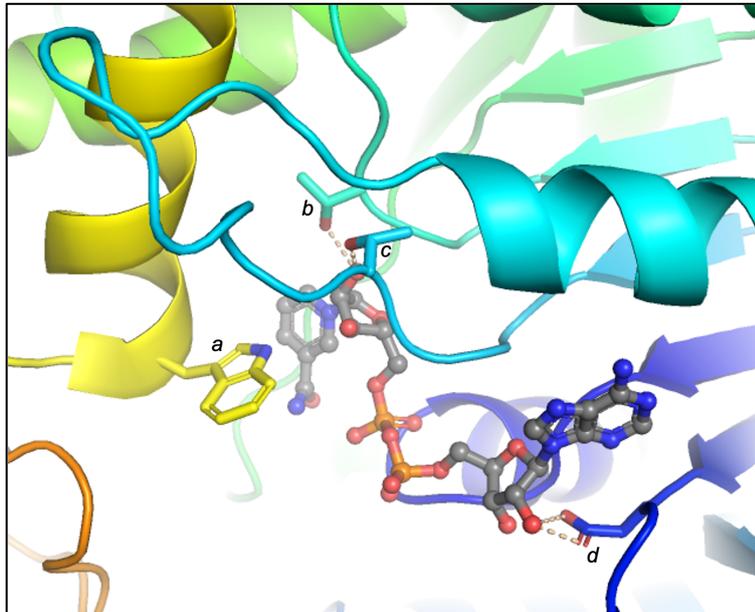
La figure ci-dessous représente la structure cristalline d'une UDPG-DH bactérienne.



**Q5 :** Décrivez-cette structure (nombre de chaînes et de domaines par chaîne). Expliquez le mode de représentation et de coloration.

**Q6 :** Proposez une expérience permettant de déterminer le degré d'oligomérisation de la protéine en solution.

Un zoom sur le site actif de la structure permet d'y voir un de ses ligands (en balls and sticks) et les résidus impliqués dans sa fixation (résidus 30, 82, 119 et 257, en sticks), colorés par type d'atome:

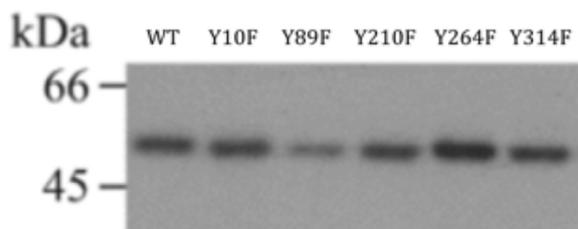


**Q7 :** Quel est ce ligand ? Dans quel domaine de la protéine se fixe-t-il ? Justifiez.

**Q8 :** Donnez le nom (entier et code à 1 lettre) et le numéro des 4 résidus (*a*, *b*, *c*, *d*) représentés en sticks.

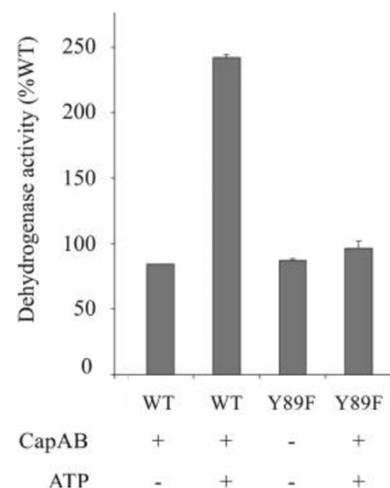
**Q9 :** Quelle méthode la présence du résidu *a* dans le site actif suggère-t-elle d'utiliser pour déterminer le  $K_D$  de ce complexe ? Rappelez la définition de cette constante.

Il a été montré que la protéine CapO est phosphorylée par la tyrosine kinase CapAB. La protéine sauvage CapO (WT) et différents mutants ont été incubés avec la kinase en présence de  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ . Chaque échantillon a été analysé sur SDS-PAGE et la figure ci-dessous à gauche en montre l'autoradiogramme. La figure de droite montre les résultats de tests d'activité réalisés sur la protéine CapO sauvage (WT) et un de ces mutants:

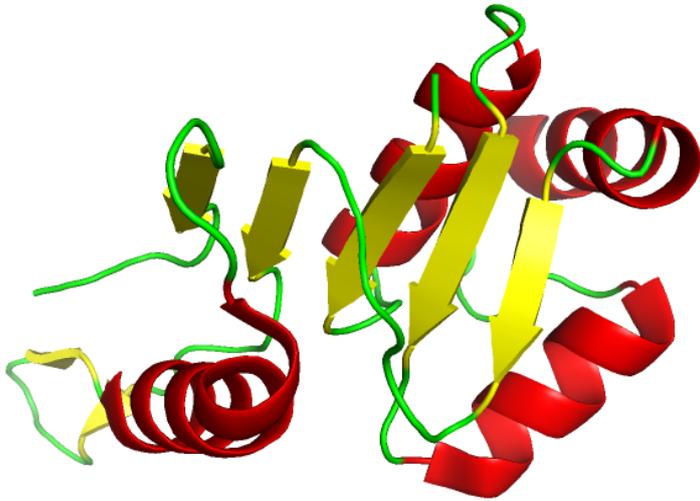


**Q10 :** Analysez ces résultats

**Q11 :** Quelle autre technique pourrait-on utiliser pour déterminer le site de phosphorylation de CapO ?



La figure ci-dessous représente une partie de la protéine.



**Q12** : Faites-en le diagramme topologique en représentant les brins  $\beta$  par des triangles et les hélices  $\alpha$  par des cercles. Indiquez les extrémités N- et C-terminales. Numérotez séparément les brins et les hélices dans l'ordre d'occurrence le long de la chaîne polypeptidique