

Acquisition et maintien de la structure fonctionnelle de l'hémoglobine (extrait de l'épreuve B Agro Vétô 2012)

Le fonctionnement de l'hémoglobine repose notamment sur l'acquisition de sa structure quaternaire.

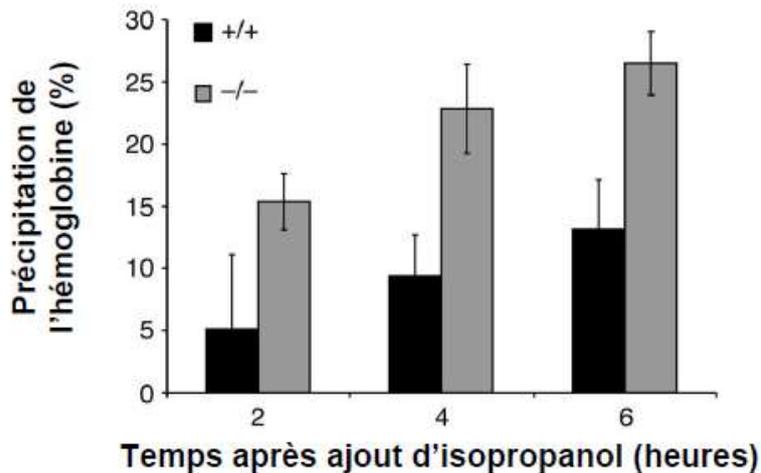
En 2002, on a isolé le gène *AHSP* au sein des érythroblastes (cellules nucléées et présentant des compartiments, précurseurs des hématies). L'expression du gène *AHSP* est corrélée à celle des gènes codant les globines α et β (sous-unités de l'hémoglobine A de type 22) et des gènes codant les enzymes de biosynthèse de l'hème.

Analysez les documents présentés dans ce thème afin de caractériser les relations structurales et fonctionnelles entre la protéine AHSP et les globines α et β . Vous résumerez vos interprétations sous la forme d'un schéma-bilan mettant en évidence le rôle de la protéine AHSP.

Document 1 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

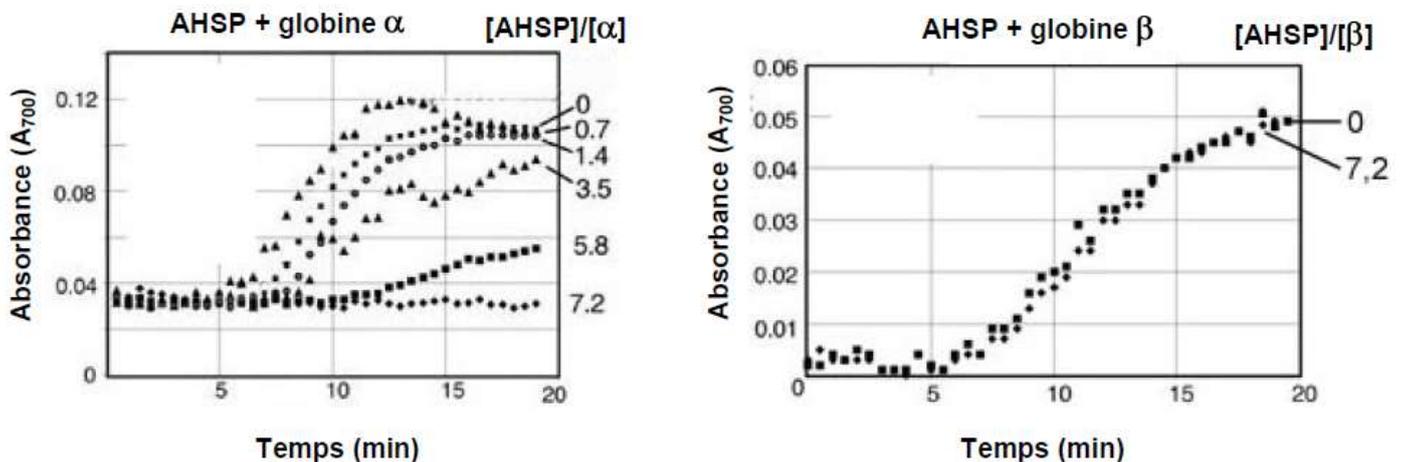
L'isopropanol, un solvant organique, favorise la précipitation des protéines lorsqu'elles sont dénaturées. Des lysats d'hématies frais sont incubés avec de l'isopropanol. La précipitation de l'hémoglobine est quantifiée au cours du temps pour les lysats extraits de souris sauvages (+/+) et de souris mutées (-/-) pour le gène *AHSP*. Elle est exprimée en % par rapport à la quantité d'hémoglobine totale présente.

Chaque barre d'histogramme représente la moyenne des mesures réalisées sur 5 échantillons.



Document 2 : Relations fonctionnelles entre AHSP et les globines α et β

On incube la protéine AHSP avec la globine α ou la globine β pendant 60 minutes selon les rapports indiqués à droite des figures ($[AHSP]/[\alpha]$) ou $[AHSP]/[\beta]$). On ajoute à $t = 0$ min du ferrocyanure de potassium qui oxyde l'hème provoquant la dénaturation des globines et leur précipitation. Une augmentation d'absorbance traduit une augmentation de précipitation (mesure par spectrophotométrie à la longueur d'onde de 700 nm : A_{700})



Document 3 : Etude des interactions entre la protéine AHSP et les globines

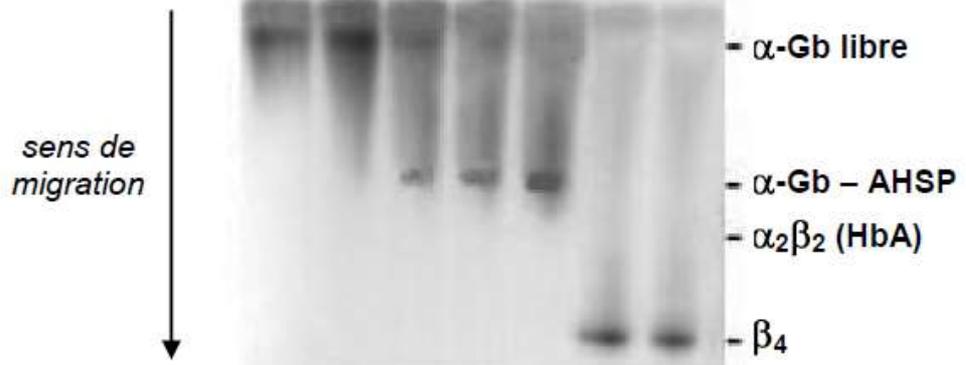
On incube la protéine AHSP avec des quantités variables de globine α et de globine β . Les interactions entre AHSP et les globines sont analysées par électrophorèse sur bande d'acétate de cellulose en conditions non dénaturantes. Une fois la migration achevée, les bandes sont colorées avec de la benzidine, un composé qui se fixe uniquement aux protéines contenant un hème, en l'occurrence aux globines α et β . Les concentrations en AHSP et en globines (α -Gb et β -Gb) sont indiquées au-dessus de chaque piste (exprimées en $\mu\text{mol.L}^{-1}$). Les indications portées à droite de chaque gel correspondent à l'identification de la position de migration de différentes combinaisons des protéines étudiées.

$\alpha_2\beta_2$ = tétramère formée de 2 globines α et de 2 globines β (Hémoglobine A)

β_4 = tétramère formée de 4 globines β

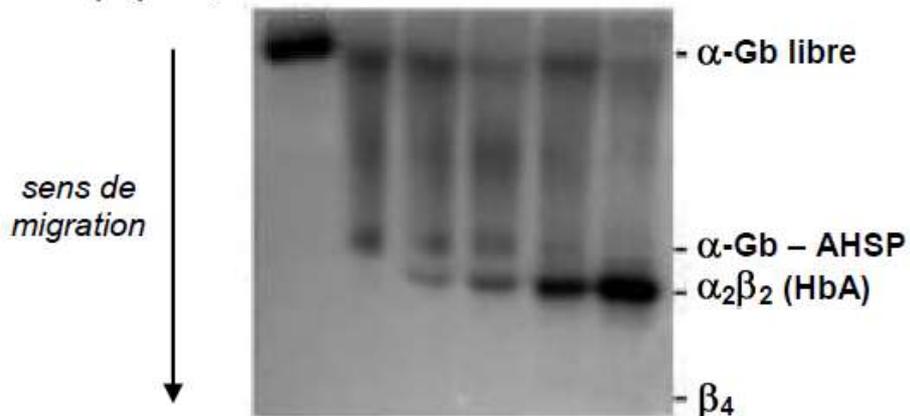
➤ **Gel 1**

| numéro de piste | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| AHSP | 0 | 5 | 10 | 15 | 30 | – | 30 |
| globine α (α -Gb) | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | – | – |
| globine β (β -Gb) | – | – | – | – | – | 30 | 30 |



➤ **Gel 2**

| numéro de piste | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|
| AHSP | – | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| globine α (α -Gb) | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| globine β (β -Gb) | – | – | 3 | 5 | 10 | 30 |



ELEMENTS DE CORRECTION

Acquisition et maintien de la structure fonctionnelle de l'hémoglobine (extrait de l'épreuve B Agro Vétô 2012)

Document 1 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

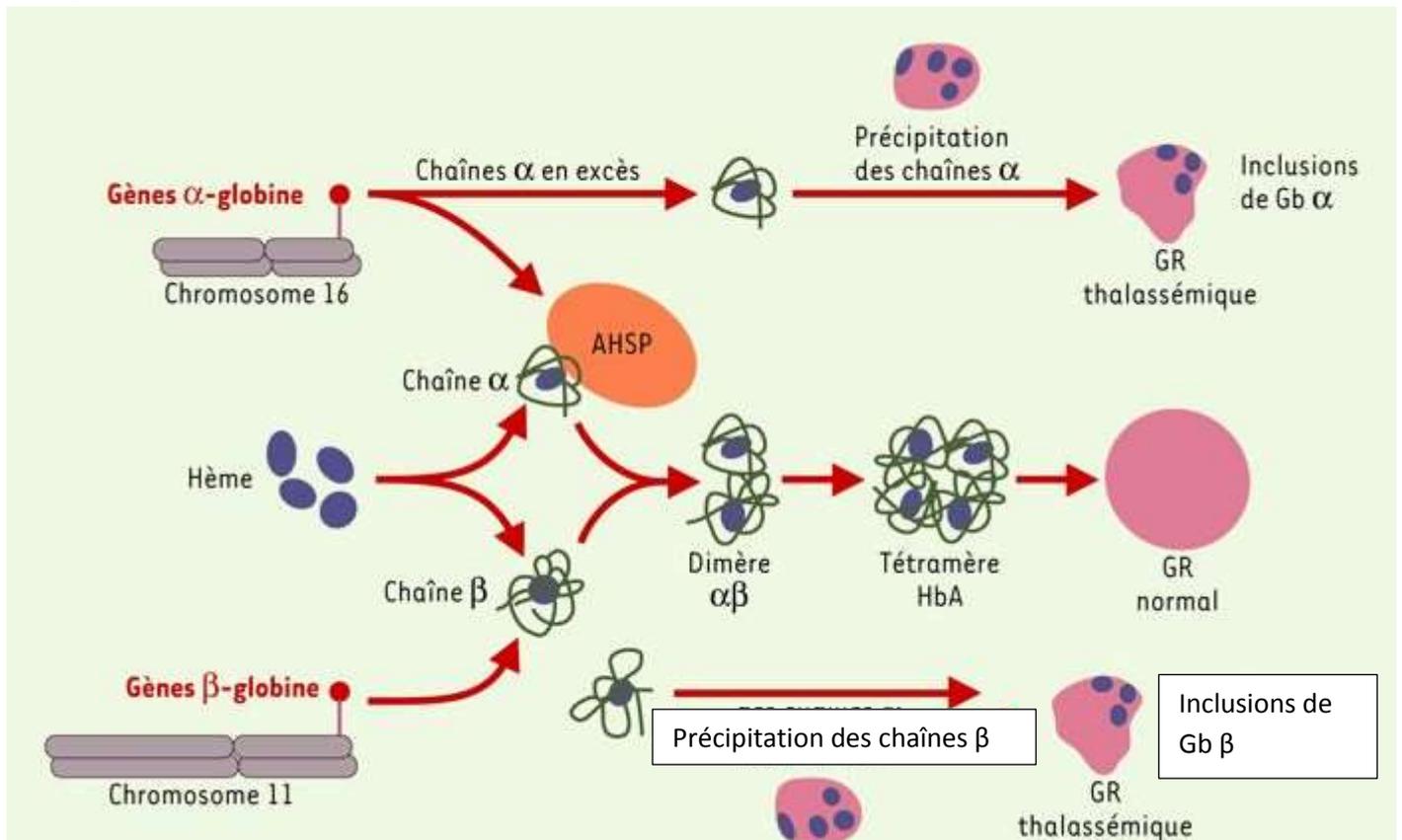
- Obs : plus le temps d'incubation d'isopropanol est important, plus la dénaturation est importante
- Int : cf. texte et rôle de dénaturation du solvant organique (élimination de l'eau et déstabilisation de la protéine).
- Obs : les individus mutés pour AHSP (-/-) ont toujours une dénaturation supérieure pour l'Hb (valeurs : 2 à 3 fois supérieures).
- Int : AHSP est donc une protéine qui stabilise l'Hb et lutte contre sa dénaturation par l'isopropanol (ou autre dénaturant).

Document 2 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

- Obs/Int 1 : plus le temps augmente, plus l'absorbance (dénaturation de l'Hb) augmente. Cela signifie que les protéines sont dégradées naturellement.
- Obs/Int 2 : Plus la quantité d'AHSP est importante par rapport à la globine alpha, plus la dénaturation est réduite au cours du temps. Cela confirme le pouvoir protecteur de AHSP (protéine chaperonne) et précise son action : elle agit sur la globine alpha.
- Obs/Int 3 : La présence de AHSP dans une solution de globine bêta ne permet pas de réduire l'augmentation d'absorbance au cours du temps. On peut donc dire que AHSP n'est pas une chaperonne de la globine bêta.

Document 3 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

- Obs/Int 1 (Gel 1) : Les mélanges Globine alpha et AHSP montrent que plus la quantité d'AHSP augmente, moins les globines libres sont présentes et plus les dimères globines alpha AHSP sont présents. Ainsi, on explique la capacité de chaperonne d'AHSP : elle se fixe à la globine alpha et évite sa dénaturation.
- Obs/Int 2 (Gel 1) : Les mélanges globines bêta et AHSP montrent qu'il n'y a pas d'interaction entre ces 2 protéines, c'est ce qui explique l'absence d'effet protecteur vu dans le doc2.
- Obs/Int 3 (Gel 2) : Les mélanges Globines alpha, globine bêta et AHSP montrent que la présence du dimère globine alpha-AHSP permet par la suite la constitution d'un tétramère d'Hb A. Ainsi, même si AHSP n'a pas d'effet protecteur sur la globine bêta, il favorise néanmoins la formation et le maintien des HbA.



ELEMENTS DE CORRECTION

Acquisition et maintien de la structure fonctionnelle de l'hémoglobine (extrait de l'épreuve B Agro Vétô 2012)

Document 1 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

- Obs : plus le temps d'incubation d'isopropanol est important, plus la dénaturation est importante
- Int : cf. texte et rôle de dénaturation du solvant organique (élimination de l'eau et déstabilisation de la protéine).
- Obs : les individus mutés pour AHSP (-/-) ont toujours une dénaturation supérieure pour l'Hb (valeurs : 2 à 3 fois supérieures).
- Int : AHSP est donc une protéine qui stabilise l'Hb et lutte contre sa dénaturation par l'isopropanol (ou autre dénaturant).

Document 2 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

- Obs/Int 1 : plus le temps augmente, plus l'absorbance (dénaturation de l'Hb) augmente. Cela signifie que les protéines sont dégradées naturellement.
- Obs/Int 2 : Plus la quantité d'AHSP est importante par rapport à la globine alpha, plus la dénaturation est réduite au cours du temps. Cela confirme le pouvoir protecteur de AHSP (protéine chaperonne) et précise son action : elle agit sur la globine alpha.
- Obs/Int 3 : La présence de AHSP dans une solution de globine bêta ne permet pas de réduire l'augmentation d'absorbance au cours du temps. On peut donc dire que AHSP n'est pas une chaperonne de la globine bêta.

Document 3 : Comparaison de la stabilité des hémoglobines

- Obs/Int 1 (Gel 1) : Les mélanges Globine alpha et AHSP montrent que plus la quantité d'AHSP augmente, moins les globines libres sont présentes et plus les dimères globines alpha AHSP sont présents. Ainsi, on explique la capacité de chaperonne d'AHSP : elle se fixe à la globine alpha et évite sa dénaturation.
- Obs/Int 2 (Gel 1) : Les mélanges globines bêta et AHSP montrent qu'il n'y a pas d'interaction entre ces 2 protéines, c'est ce qui explique l'absence d'effet protecteur vu dans le doc2.
- Obs/Int 3 (Gel 2) : Les mélanges Globines alpha, globine bêta et AHSP montrent que la présence du dimère globine alpha-AHSP permet par la suite la constitution d'un tétramère d'Hb A. Ainsi, même si AHSP n'a pas d'effet protecteur sur la globine bêta, il favorise néanmoins la formation et le maintien des HbA.

