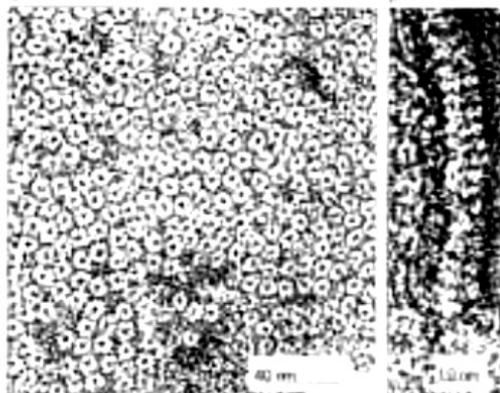


## Etude du récepteur nicotinique à Acétylcholine

### Document 1 : l'organe électrique du poisson torpille.

Des récepteurs à l'acétylcholine ont été mis en évidence au niveau de l'organe électrique du poisson torpille.

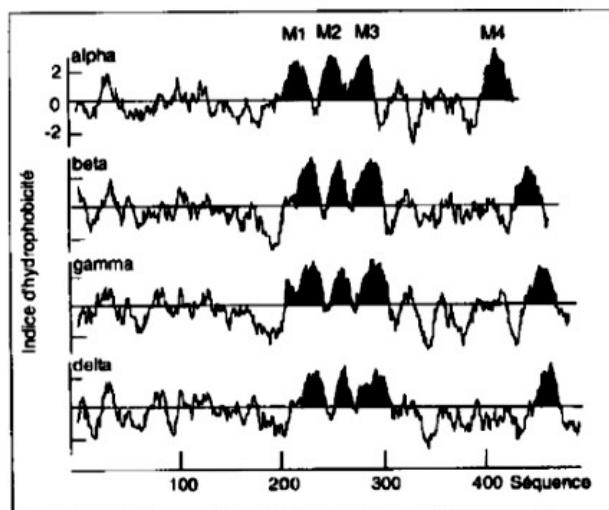


La photographie de gauche est une vue de dessus de la membrane après cryofracture et cryodécapage, la seconde est une vue en coupe de la membrane.

- 1.1. Rappelez le principe de la cryofracture
- 1.2. Commentez brièvement ces photographies.

### Document 2 : étude des sous-unités du récepteur

Une fois isolé, la biochimie de ce récepteur a été étudiée. Il est constitué de 5 sous-unités ( $\alpha_2 \beta \gamma \delta$ ). Une molécule d'acétylcholine peut se fixer sur chaque sous-unité  $\alpha$ . La séquence de chaque sous-unité a été déterminée et comprend environ 500 résidus. Les différentes sous-unités montrent des domaines homologues notés M (M1 à M4).

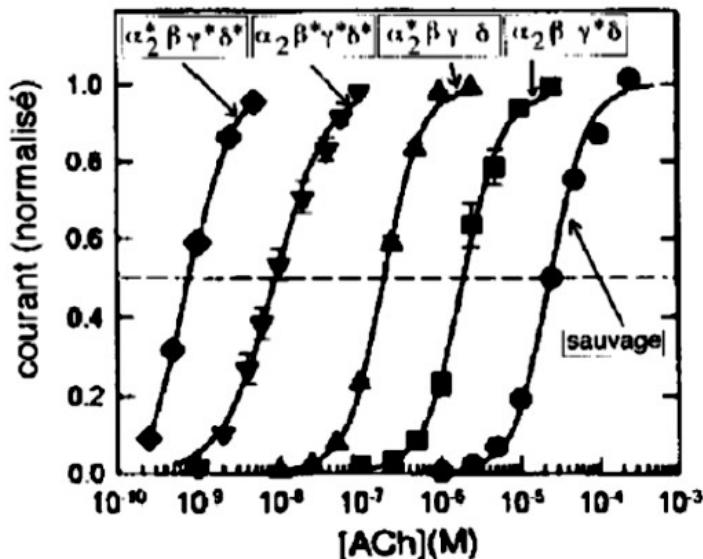


Profil d'hydrophobicité des sous-unités : on sait que, du fait de leurs chaînes latérales, les acides aminés peuvent avoir des propriétés plus hydrophiles ou au contraire plus hydrophobes. On attribue, d'après une échelle conventionnelle (échelle de Kyte et Doolittle), un indice d'hydrophobicité à chaque acide aminé. On détermine alors l'hydrophobicité moyenne de segments (ou « fenêtres ») de 11 acides successifs (longueur considérée comme significative), ce qui fournit alors les profils représentés ci-dessous.

2. Analysez ces profils et proposez un mode d'insertion dans la membrane pour ce récepteur

### Document 3 : Etude de mutants pour les gènes codant les sous-unités du récepteur

On étudie maintenant le fonctionnement de récepteurs dont une ou plusieurs sous unités présentent la même mutation, substitution d'une leucine par une sérine en position 251, dans le domaine M2.

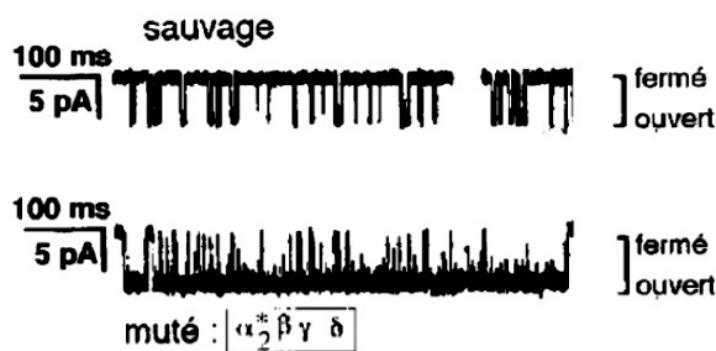


Par une technique de voltage imposé (-80 mV), on mesure sur la cellule entière les courants obtenus pour des concentrations différentes d'acétylcholine dans le cas de récepteurs sauvages et diversement mutés. Les sous-unités mutées sont repérées par un astérisque.

- 3.1. Rappelez quel peut être l'effet d'imposer un voltage de -80 mV
- 3.2. Analysez ces données. Quelles sous-unités mutées semblent modifier le plus le fonctionnement du canal ?

### Document 4 : mesure des courants par patch-clamp

Les activités de deux récepteurs canaux isolés, sauvage ou muté (sur la sous-unité  $\alpha$ , et noté  $\alpha 2^* \beta \gamma \delta$ ), sont comparées par des techniques de patch clamp, à un potentiel imposé de -100 mV pour une concentration d'acétylcholine de 25  $\mu$ M.

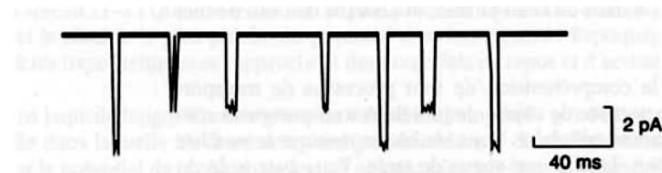


Le temps est lu horizontalement, la barre 100 millisecondes (100 ms) indiquant l'échelle. L'intensité des courants est lue verticalement, la barre 5 picoampères (5pA) indiquant l'échelle.

- 4.1. Pourquoi ce choix de mutant ?
- 4.2. Que dire de la valeur des courants ?
- 4.3. Comparez ces deux canaux et concluez en faisant le lien avec le document précédent.

## Document 5 : Etude de deux types de canaux chez le rat

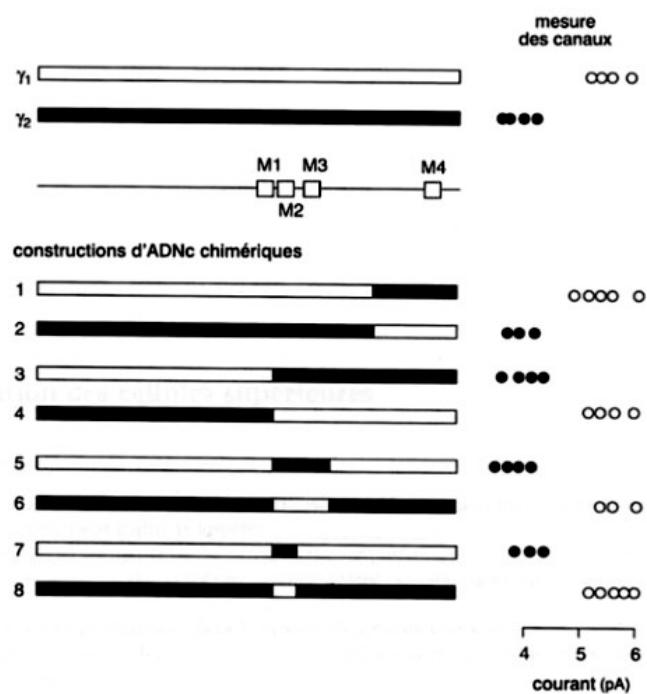
Des mesures de patch clamp dans des muscles de jeunes rats montrent l'existence de 2 sortes de canaux sensibles à l'acétylcholine.



### 5.1. Commentez brièvement le tracé obtenu

L'étude biochimique montre que les 2 types de canaux diffèrent par leur sous-unité  $\gamma$ .

Afin de déterminer quels domaines des sous-unités  $\gamma_1$  et  $\gamma_2$  sont responsables des différences de conductance, des ADN chimères sont construits dans lesquels différentes portions d'ADN de  $\gamma_1$  et  $\gamma_2$  ont été échangées. Chaque type de chimères est mélangé aux ARN m des sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$  puis le mélange est injecté dans des ovocytes d'Amphibien. Après expression, on mesure par patch clamp, le courant à travers des canaux individuels. Les résultats sont récapitulés dans le document 5.



Les différentes chimères sont schématisées et le courant passant à travers les différents canaux est indiqué à droite. Les cercles blancs indiquent des canaux de conductance identique à celle produite avec la sous-unité  $\gamma_1$  et les cercles noirs indiquent des canaux de conductance identique à celle produite avec la sous-unité  $\gamma_2$ .

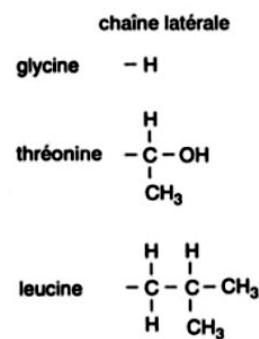
### 5.2. En vous référant aux résultats précédents, analysez le comportement de chacun des canaux chimériques construits

### 5.3. En déduire quelle portion des sous-unités $\gamma$ semble responsable de la différence de comportement

Il a été montré par ailleurs qu la substitution d'un seul résidu d'acide aminé à un niveau donné d'un domaine M modifiait la conductance du canal :

Une glycine substituée à une thréonine l'augmente.

Une leucine substituée à la même thréonine la diminue.



Chaînes latérales des 3 acides aminés

5.4. D'après vos connaissances sur les propriétés des chaînes latérales des acides aminés, proposez une explication pour la différence de comportement des canaux possédant les sous-unités  $\gamma 1$  ou  $\gamma 2$ .