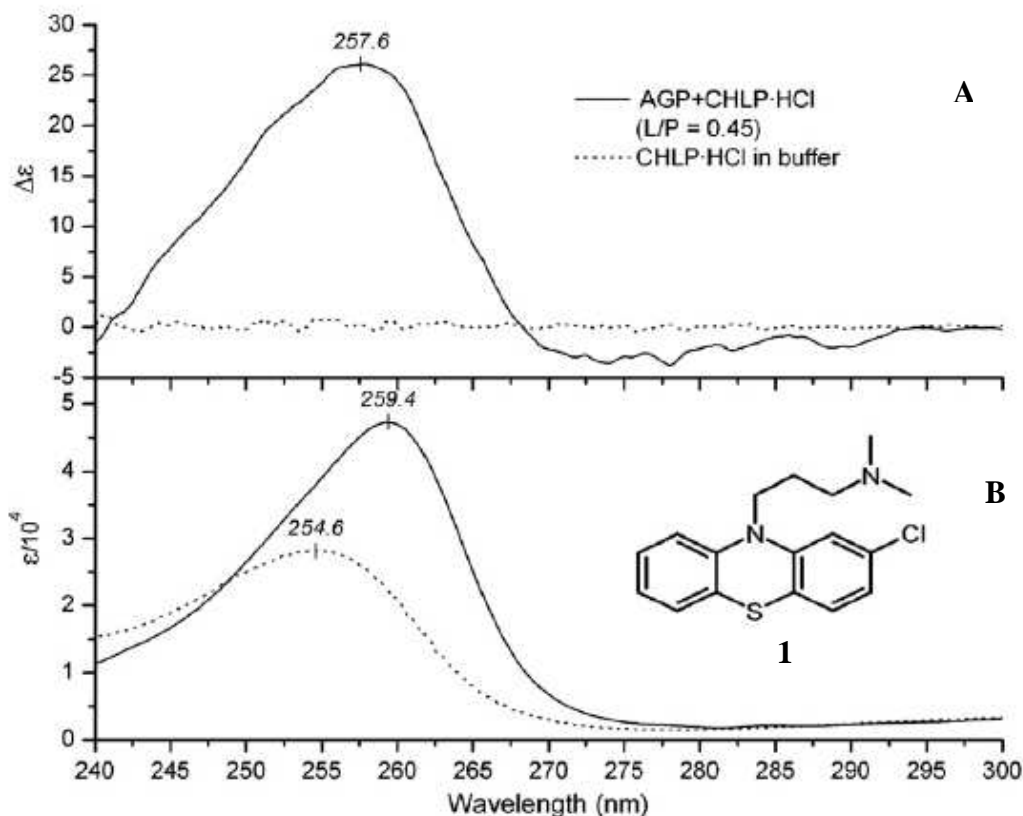


I

Voir les corrections des exercices II et III des TD.

II L'interaction entre l' α_1 -glycoprotéine acide (AGP) et la chlorpromazine **1** a été étudiée par DC et UV. La figure ci-dessous montre les spectres **A** et **B** obtenus. Sur chaque figure, les spectres en traits plein et en pointillés correspondent respectivement au complexe et au ligand libre en solution.



1- Préciser en justifiant à quelle spectroscopie (UV ou DC) correspondent les spectres **A** et **B**.

A : DC (en ordonnées $\Delta\epsilon$, donc nécessairement cette technique). Par ailleurs le ligand libre ne montre pas d'absorption en CD puisqu'il ne possède pas de centre asymétrique et ne présente donc pas d'activité optique.

Spectre **B** par conséquent spectre UV. La présence d'absorptions pour le ligand libre et le complexe est liée à la présence de chromophores dans les deux systèmes.

2- Indiquer le ou les chromophores exploitables de la chlorpromazine et la ou les transitions électroniques à l'origine du ou des massifs d'absorption éventuels.

La chlorpromazine présente essentiellement des chromophores aromatiques (deux cycles de type benzénique). Les transitions principales sont donc de type $\pi \rightarrow \pi^*$.

3- Interpréter les spectres UV et DC présentés sur la figure.

Spectre **A** : le ligand libre ne montre pas d'absorption en CD puisqu'il ne possède pas de centre asymétrique et ne présente donc pas d'activité optique. En revanche, en interaction avec l'AGP, il est placé dans un environnement asymétrique ce qui se traduit par la possibilité d'étudier la réaction de complexation AGP-CHLP par DC.

Spectre **B** : le ligand (CHLP) et le complexe (AGP-CHLP) montrent des maxima d'absorptions distincts liés au changement d'environnement dans les formes libre et complexée.

4- Quelles propriétés doivent présenter les systèmes biologiques pour être étudiables par DC ?

Ils doivent posséder un chromophore absorbant dans l'UV-visible et présenter une activité optique (donc posséder un centre asymétrique)

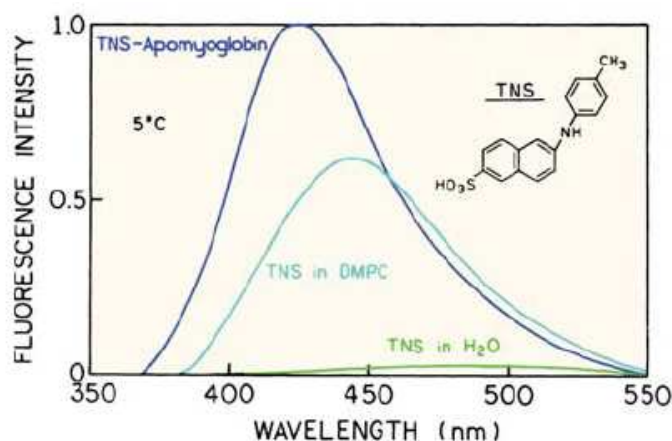
5- Pourquoi est-il nécessaire d'orienter les molécules dans les expériences de dichroïsme linéaire ?

S'il n'y a pas d'orientation préalable, on n'observe pas de signal de DL dans la mesure où on a une orientation aléatoire des dipôles de transition, qui se compensent, s'annulent mutuellement.

6- Quelles informations peut-on obtenir à travers cette technique ?

Obtention d'informations sur les orientations *relatives* des dipôles de transitions de chromophores de molécules d'intérêt biologique, donc des orientations relatives de différentes molécules lors d'un processus d'interaction.

III La figure ci-dessous montre le spectre de fluorescence d'une sonde synthétique, le TNS (6-(p-toluidinyl)naphthalene-2-sulfonate) en solution aqueuse, en présence de modèles membranaires (DMPC : dimyristoyl-L- α -phosphatidylcholine) et en interaction avec l'apomyoglobine.



1- Commenter et interpréter les modifications spectrales observées.

TNS H_2O : $\lambda_{max} \sim 470$ nm ; $F_{\lambda} \sim 0,05$

TNS DMPC : $\lambda_{max} \sim 445$ nm ; $F_{\lambda} \sim 0,5-0,6$

TNS-apomyoglobine : $\lambda_{max} \sim 410$ nm ; $F_{\lambda} \sim 1$

Les modifications observées de λ_{max} et F_{λ} traduisent les variations d'environnement du Trp d'un milieu polaire (solution aqueuse) à apolaire. D'après les résultats, cet environnement serait donc de plus en plus apolaire, protégé du solvant, en passant des modèles de membranes au site de reconnaissance de l'apomyoglobine. Les variations de longueur d'onde sont induites par les modifications de ΔE entre le niveau excité et fondamental (le ΔE augmente quand le milieu devient apolaire donc λ_{max} diminue). Les variations de F_{λ} sont liées au fait que plus le milieu est apolaire, plus la fluorescence est l'unique phénomène « dépeuplant » l'état excité.

2- Donner succinctement les avantages de la fluorescence par rapport à l'UV-visible et au DC.

Avantages : nature et type d'informations plus importantes (structurales, dynamiques, constantes de dissociation...) / sensibilité / applications in vivo possibles.