

EXAMEN DE CULTURE SCIENTIFIQUE
MINEURE CHIMIE

Adénosine triphosphate

I. Question préliminaires

1. Le numéro atomique du phosphore P est $Z=15$ et son isotope naturel le plus abondant est ^{31}P . Quelle est la composition en électrons, protons et neutrons du ^{31}P ?
2. Quelle est la configuration électronique de P dans son état fondamental ?

L'acide orthophosphorique H_3PO_4 a le phosphore P comme atome central, lié à trois groupes OH et à un oxygène O.

3. Dessiner la structure de Lewis de H_3PO_4 .
4. Le phosphore P satisfait-il la règle de l'octet ? Expliquer
Quel est le nombre d'oxydation du phosphore P dans H_3PO_4 ?

Les trois pK_a de l'acide orthophosphorique sont $\text{pK}_{a1} = 2.2$, $\text{pK}_{a2} = 7.2$ et $\text{pK}_{a3} = 12.3$.

5. Ecrire les trois équilibres de déprotonation correspondant aux acidités successives de H_3PO_4 et exprimer leur constante d'équilibre.
6. Quelle est la forme la plus abondante à pH neutre $\text{pH}=7$. Calculer le rapport des concentrations des autres espèces de H_3PO_4 .
7. La faible valeur de pK_a pour la première acidité de l'acide orthophosphorique est attribuée à la stabilité de l'anion H_2PO_4^- . Expliquer cette stabilité en utilisant la structure de Lewis de cet anion.

L'acide orthophosphorique est utilisé comme additif alimentaire, dans les sodas en particulier. La concentration limite pour la sécurité alimentaire est de $0.6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Un dosage d'un volume $V = 25 \text{ mL}$ de soda, duquel le CO_2 a préalablement été extrait, est réalisé. Pour cela, une solution aqueuse de NaOH à la concentration $C_B=2.0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ est utilisée. Seuls deux points d'équivalence E1 et E2 sont observés aux volumes $V_1 = 5.5 \text{ mL}$ et $V_2 = 14 \text{ mL}$ respectivement.

8. Pourquoi un troisième point d'équivalence n'est-il pas observé ?
9. Quelle valeur attendrait-on pour le rapport entre V_1 et V_2 ? Pouvez-vous justifier pourquoi cette valeur n'est-elle pas trouvée ?
10. Comment utiliseriez-vous alors les deux équivalences trouvées pour le dosage ?
11. Calculer la concentration C_A de l'acide orthophosphorique initialement présent dans le soda. Comparer cette concentration à la valeur limite.

II. Hydrolyse de l'adénosine triphosphate

L'adénosine triphosphate, noté ATP et sous la forme ATP^{4-} au pH considéré, est considéré comme la réserve d'énergie dans les systèmes vivants. La structure de l'ATP est donnée Fig. 1.

12. Combien de carbones asymétriques y a-t-il dans l'ATP⁴⁻?

13. Quelle est la configuration absolue du carbone anomérique dans l'ATP ?

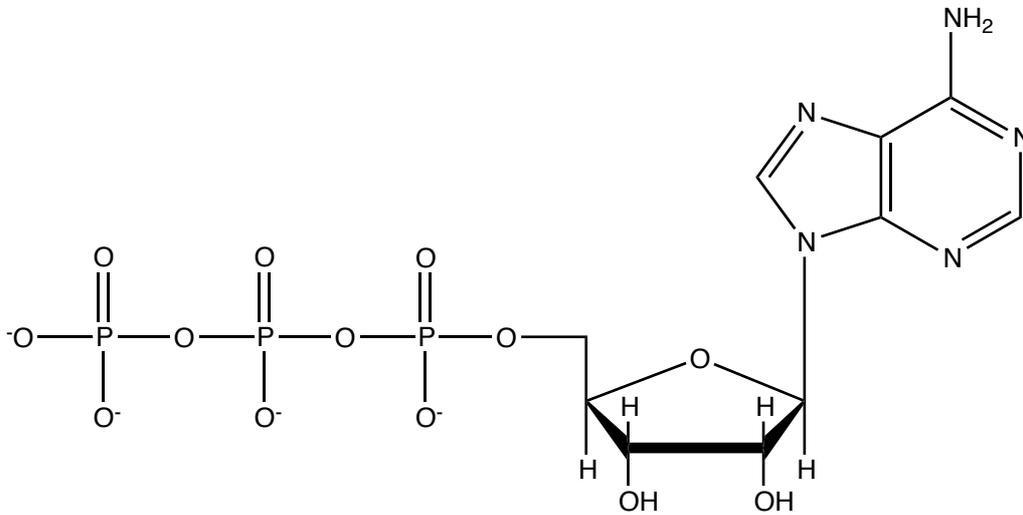


Fig. 1: Structure de l'ATP⁴⁻

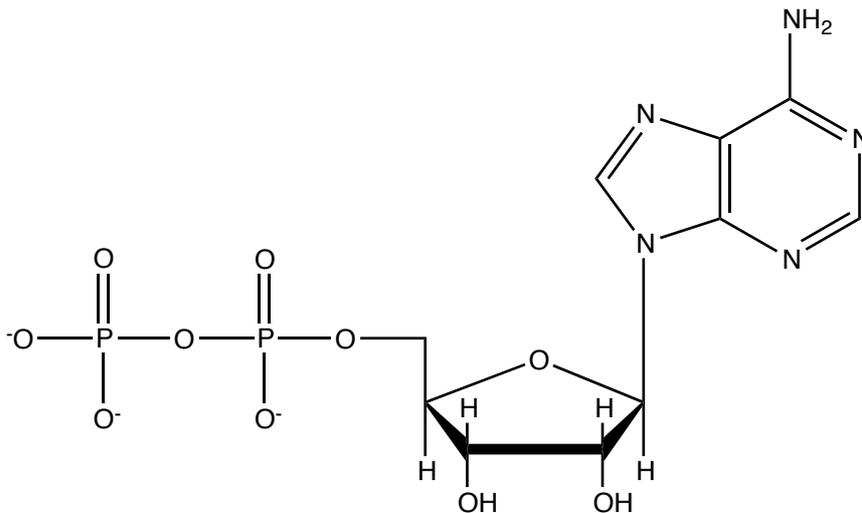
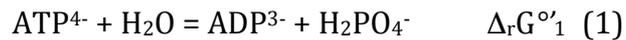


Fig. 2: Structure de l'ADP³⁻

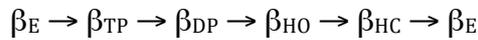
Chez les organismes vivants, l'ATP est hydrolysé en ADP, sous la forme ADP³⁻ au considéré, selon la réaction :



14. Proposer un mécanisme pour l'hydrolyse de l'ATP⁴⁻ en ADP³⁻.

L'hydrolyse de l'ATP en ADP est favorable thermodynamiquement mais défavorable cinétiquement et, chez de nombreux organismes, est catalysée par une enzyme transmembranaire se comportant comme un moteur moléculaire. Nous considérons ici l'enzyme F1-ATPase constituée par un assemblage alternatif de 3 sous-unités α et de 3 sous-unités β arrangés en hexagone et d'une sous-unité γ passant par le centre de cet hexagone. La sous-unité γ peut tourner et sa rotation induit des changements

conformationnels des 3 sous-unités β . Les différentes conformations des sites de liaison de l'ATP/ADP des 3 sous-unités β qui ont été identifiées sont les suivantes : β_E , pour laquelle le site de liaison est totalement ouvert ; β_{HO} , pour laquelle le site de liaison est semi-ouvert ; β_{HC} , pour laquelle le site de liaison est semi-fermé, et 2 conformations de liaisons β_{TP} et β_{DP} . A la rotation de la sous-unité γ , une des 3 sous-unités β subit le cycle suivant :



Ceci est résumé Fig. 3.

L'enthalpie libre standard $\Delta_r G^{\circ}_1$ de la réaction (1) a été déterminée par W. Yang et al. [Yang, W., Gao, Y. Q., Cui, Q., Ma, J. & Karplus, M. PNAS 100, 874–879 (2003)] en solution aqueuse et dans le site de liaison de la sous-unité β dans ses différentes conformations. Les valeurs sont données Table 1.

Site	$\Delta_r G^{\circ}_1$ (kJ/mol)
Solution aqueuse (en présence of Mg^{2+})	-29
β_{TP}	6.2
β_{DP}	-37.7
β_{HC}	-53.1

Table 1: enthalpie libre standard de la réaction (1) dans divers environnements

15. D'après la Table 1, identifier les conformations des sous-unités β qui sont favorables à la fixation de l'ATP et celles qui sont favorables à la fixation de l'ADP.
16. Résumer et rationaliser le couplage existant entre l'hydrolyse de l'ATP et la rotation de la sous-unité γ .

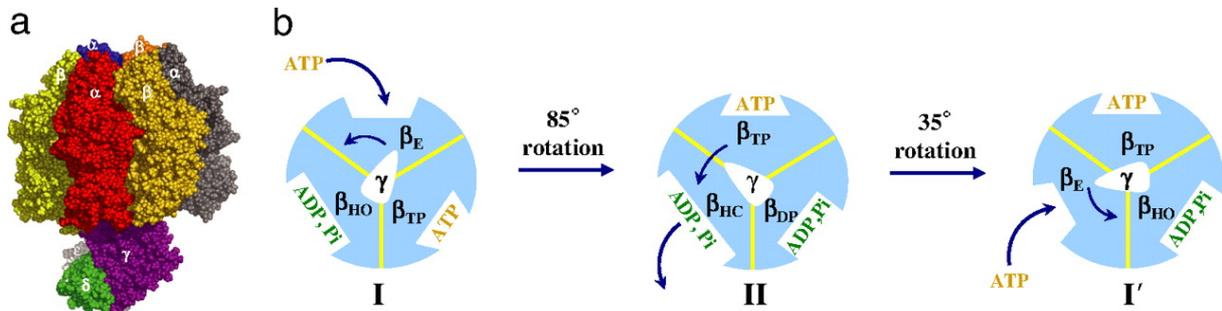


Fig. 3 : Cycle d'hydrolyse par la F1-ATPase. (a) Représentation moléculaire de la F1-ATPase mitochondriale ($\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$). (b) Cycle proposé du mécanisme tri-site d'hydrolyse de l'ATP. Le cycle démarre depuis un site d'ATP vacant, avec une sous-unité β totalement ouverte (β_E), la seconde sous-unité β semi-ouverte (β_{HO}), et la troisième sous-unité β fermée (β_{TP}); β_{TP} contient l'ATP lié dans le cycle précédent. La rotation calculée de 85° est causée par la liaison de l'ATP dans le site β_E et une ouverture coopérative de la sous-unité β_{HO} pour adopter la conformation semi-fermée (HC) en préparation à la libération du produit. La rotation qui suit, calculée à 35° est reliée à la libération du produit d'hydrolyse de la sous-unité β_{HC} et à l'expansion concomitante du site de fixation β_{DP} pour former β_{HO} . [From Jingzhi Pu, and Martin Karplus PNAS 2008;105:1192-1197]

17. La Figure 4 montre l'arrangement à l'échelle atomique de l'ATP ou de ADP + H₂PO₄⁻ dans la sous-unité β_{TP}. Un cation Mg²⁺ est localisé à proximité des groupements phosphodiester de l'ATP. Suggérer un rôle possible à ce cation.
18. Quelles autres interactions peuvent stabiliser les ligands, ATP ou ADP, dans les sites de fixation ?

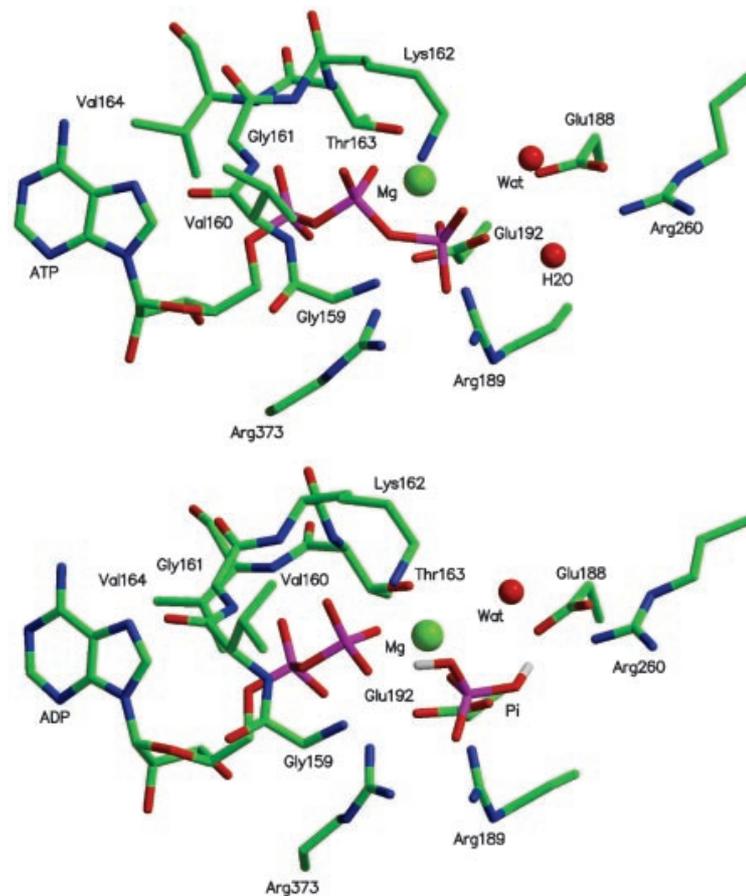


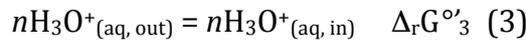
Fig 4: Représentation atomistique du site β_{TP} [From Yang, W., Gao, Y. Q., Cui, Q., Ma, J. & Karplus, M. PNAS 100, 874–879 (2003)]

La rotation de la sous-unité γ est couplée à une autre unité du complexe ATPase transmembranaire qui génère un flux de protons à travers la membrane, créant ainsi un gradient de pH à travers la surface. Une grandeur importante est donc le nombre de protons transférés à travers la membrane par molécule d'ATP hydrolysée par le complexe F1-ATPase. Afin de déterminer cette grandeur, Peter Gräber et ses collaborateurs [P. Turina, D. Samoray and P. Gräber EMBO 22, pp. 418-426, 2003] ont reconstitué des complexes ATPase dans des liposomes séparant une région interne d'un environnement extérieur, entre lesquels ils peuvent contrôler la différence de pH, voir Fig. 5.

Etant donné le haut pH du compartiment extérieur, la réaction d'hydrolyse considérée ici est :



où $\text{H}_3\text{O}^+_{(\text{aq, out})}$ désigne un cation $\text{H}_3\text{O}^+_{(\text{aq})}$ dans l'environnement extérieur. La réaction (2) est couplée au transfert de n protons de l'extérieur vers l'intérieur :



L'enthalpie libre standard pour la réaction de transfert de proton (3) est donnée par :

$$\Delta_r G'^{\circ}_3 = nF\Delta\varphi \quad (4)$$

où F est la constante de Faraday et $\Delta\varphi$ est la différence de potentiel électrique transmembranaire. Dans l'expérience de Gräber et al., $\Delta\varphi$ est maintenu constant égal à $\Delta\varphi = 15 \text{ mV}$.

19. Ecrire la réaction globale pour l'hydrolyse de l'ATP couplée au transfert de protons à travers la membrane.
20. Nous noterons $\Delta_r G'^{\circ}_{\text{global}}$ son enthalpie libre standard de réaction. Déterminer $\Delta_r G'^{\circ}_{\text{global}}$ en fonction de $\Delta_r G'^{\circ}_{2(\text{aq})}$ et de $\Delta\varphi$.

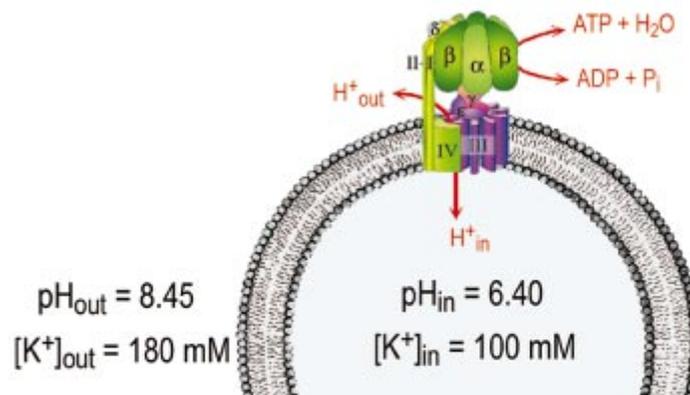


Fig 5: un complexe ATPase incorporé dans une membrane de liposome séparant une région interne d'un environnement extérieur. [from P. Turina, D. Samoray and P. Gräber EMBO 22, pp. 418-426, 2003]

21. On appelle Q le quotient de réaction de l'hydrolyse de l'ATP :

$$Q = \frac{[\text{ADP}^{3-}][\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{ATP}^{4-}]c^0} \quad (5)$$

où c^0 est la concentration standard. Montrer que ce rapport Q_{eq} à l'équilibre satisfait la relation :

$$RT \ln Q_{\text{eq}} = -\Delta_r G'^{\circ}_{\text{global}} + nRT \ln 10 \text{pH}_{\text{in}} - (n-1)RT \ln 10 \text{pH}_{\text{out}} \quad (6)$$

Le pH extérieur est maintenu à $\text{pH}_{\text{out}} = 8.45$ et le système est préparé à une valeur donnée de Q . Le système est à la température $T = 298 \text{ K}$ et la solution contient du MgCl_2 . Pour différentes valeurs de pH_{in} choisies, l'évolution de la concentration en ATP est

suivie avec le temps par un test luciférine/luciférase. La valeur de $\text{pH}_{\text{in}}(\text{eq})$ pour laquelle la valeur initiale de Q correspond à l'équilibre, $Q = Q_{\text{eq}}$ (pas d'évolution de la concentration en ATP), est alors rapportée et ces valeurs de $\text{pH}_{\text{in}}(\text{eq})$ pour différentes valeurs de Q sont résumées Table 2.

$\ln Q$	$\text{pH}_{\text{in}}(\text{eq})$
0.217	7.07
-1.54	6.91
-3.36	6.68
-5.44	6.46

Table 2: valeurs du pH interne pour lesquelles l'équilibre est trouvé pour différentes valeurs initiales du quotient de réaction Q

22. Pourquoi est-il important de maintenir fixe le pH dans l'environnement extérieur et de ne faire varier que le pH interne ?
23. Déterminer n , le nombre de protons transférés par molécule d'ATP hydrolysée, à partir des résultats donnés Table 2.
24. Déterminer, à partir de ces résultats, l'enthalpie libre standard de réaction $\Delta_r G^{\circ}_{2(\text{aq})}$ pour la réaction (2). Est-ce compatible avec l'enthalpie libre standard de réaction $\Delta_r G^{\circ}_{1(\text{aq})}$ pour la réaction (1) donnée en Table 1 ?

Constantes numériques

Constante de Faraday: $F = 96500 \text{ C/mol}$

Constante des gaz parfaits: $R = 8.314 \text{ J/K}$

$\ln 10 = 2.303$

CLASSIFICATION PERIODIQUE DES ELEMENTS

-----METAUX DE TRANSITION-----																			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		
1 H 1.0078	2 He 4.0026	3 Li 6.941	4 Be 9.0122	5 B 10.811	6 C 12.011	7 N 14.007	8 O 15.999	9 F 18.998	10 Ne 20.180	11 Na 22.990	12 Mg 24.305	13 Al 26.982	14 Si 28.086	15 P 30.974	16 S 32.066	17 Cl 35.453	18 Ar 39.948		
19 K 39.098	20 Ca 40.078	21 Sc 44.956	22 Ti 47.88	23 V 50.942	24 Cr 51.996	25 Mn 54.938	26 Fe 55.847	27 Co 58.933	28 Ni 58.69	29 Cu 63.546	30 Zn 65.39	31 Ga 69.723	32 Ge 72.61	33 As 74.922	34 Se 78.96	35 Br 79.904	36 Kr 83.80		
37 Rb 85.468	38 Sr 87.62	39 Y 88.906	40 Zr 91.224	41 Nb 92.906	42 Mo 95.94	43 Tc [98]	44 Ru 101.07	45 Rh 102.91	46 Pd 106.42	47 Ag 107.87	48 Cd 112.41	49 In 114.82	50 Sn 118.71	51 Sb 121.75	52 Te 127.60	53 I 126.90	54 Xe 131.29		
55 Cs 132.91	56 Ba 137.33	57 *La 138.91	72 Hf 178.49	73 Ta 180.95	74 W 183.85	75 Re 186.21	76 Os 190.2	77 Ir 192.22	78 Pt 195.08	79 Au 196.97	80 Hg 200.59	81 Tl 204.38	82 Pb 207.2	83 Bi 208.98	84 Po [209]	85 At [210]	86 Rn [222]		
87 Fr [223]	88 Ra 226.03	89 **Ac 227.03	104 Unq [261]	105 Unp [262]	106 Unh [263]	58 Ce 140.12	59 Pr 140.91	60 Nd 144.24	61 Pm [145]	62 Sm 150.36	63 Eu 151.97	64 Gd 157.25	65 Tb 158.93	66 Dy 162.50	67 Ho 164.93	68 Er 167.26	69 Tm 168.93	70 Yb 173.04	71 Lu 174.97
			90 Th 232.04	91 Pa 231.04	92 U 238.03	93 Np 237.05	94 Pu [244]	95 Am [243]	96 Cm [247]	97 Bk [247]	98 Cf [251]	99 Es [252]	100 Fm [257]	101 Md [259]	102 No [259]	103 Lr [262]			

* LANTHANIDES

** ACTINIDES

(masses atomiques basées sur ¹²C = 12)