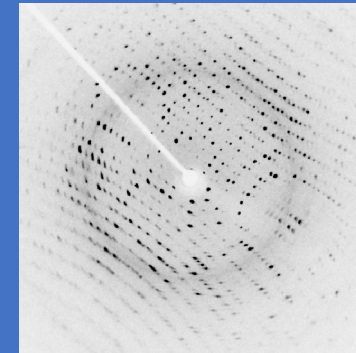
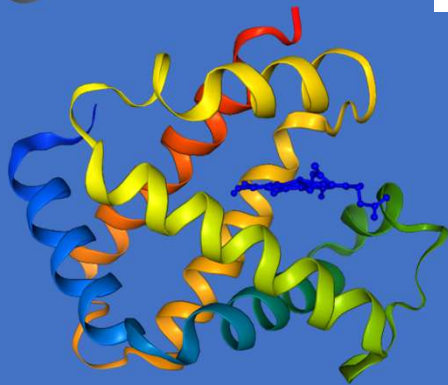
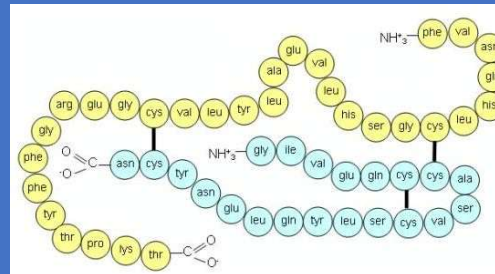
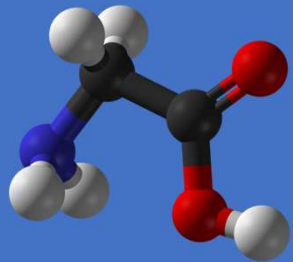


SV-D-2-4 ACIDES AMINÉS ET PROTÉINES

SV-D-2 LES GRANDES FAMILLES BIOLOGIQUES



OBJECTIFS D'APPRENTISSAGE

Connaissances clés à construire	Commentaires, capacités exigibles
<p>Les acides alpha-aminés possèdent une fonction acide carboxylique, une fonction amine et un radical de nature variable, reliés à un même carbone alpha. Leur état d'ionisation dépend du pH de la solution.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Regrouper les acides aminés selon leur radical et leurs principales propriétés associées - Interpréter un profil d'hydropathie
<p>Les protéines sont des polymères d'acides aminés. La liaison peptidique unit deux acides aminés selon une géométrie qui conditionne les structures d'ordre supérieur.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser une électrophorèse de protéines en conditions natives
<p>Les propriétés physico-chimiques de la liaison peptidique et des radicaux des acides aminés permettent aux protéines d'acquérir une structure tridimensionnelle secondaire, tertiaire et quaternaire.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Exploiter les résultats d'une électrophorèse en conditions natives ou dénaturantes. - Regrouper les acides aminés selon leur radical et leurs principales propriétés associées.
<p>La structure d'une protéine peut être étudiée par des méthodes physico-chimiques.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Interpréter un profil d'hydropathie
<p>La fonction d'une protéine dépend de son affinité et de sa spécificité pour un ligand au niveau d'un site d'interaction. L'affinité et la spécificité d'un site d'interaction sont liées à sa structure tridimensionnelle et à la nature des acides aminés constitutifs.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser une électrophorèse de protéines en conditions natives - Exploiter les résultats d'une électrophorèse en conditions natives ou dénaturantes. - Illustrer les notions d'affinité et de spécificité sur un exemple.
<p>La séquence en acides aminés et la structure tridimensionnelle des protéines peuvent leur conférer des propriétés mécaniques.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Relier la structure fibrillaire de certaines protéines vues par ailleurs dans le programme (protéines du cytosquelette, collagène) à leurs propriétés mécaniques
<p>Les macromolécules protéiques sont des structures dynamiques du fait de la labilité des interactions faibles, ce qui participe à leur fonction.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser des résultats expérimentaux utilisant des techniques d'extraction et de purification de protéines comme la chromatographie d'affinité.
<p>La coopérativité est permise par les changements conformationnels des protéines (allostérie).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser des données expérimentales sur les interactions entre une protéine et un ligand.
<p>Certaines protéines peuvent subir des modifications post-traductionnelles (glycosylation, phosphorylation).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Exploiter des données de modélisation moléculaire.
<p>Les connaissances sur l'affinité et la spécificité des interactions protéine-ligand ont permis de mettre au point des techniques de purification et d'en évaluer l'efficacité. D'autres approches expérimentales permettent de déterminer la localisation et la fonction d'une protéine.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Analyser et interpréter des résultats expérimentaux utilisant les techniques de western blot ou d'immunomarquage, de mutagenèse et de transgenèse.

INTRODUCTION

Protides

Acides aminés
Peptides et Protéines

Part des protides dans une cellule
(% masse de matière sèche)

	Protides
Bactérie	50
Mammifère	60

Où les trouve-t-on ?

Poissons et viandes (muscles)



Œuf (blanc)



Graines des légumineuses



Spiruline (bactérie)



SV-D-2-4 Acides aminés et protéines

I. Les protéines: des polymères d'acides α -aminés associés par une liaison peptidique

- A. Les acides α -aminés précurseurs des protéines
 - 1. Deux fonctions
 - 2. Chiralité et isomères
 - 3. Nomenclature
 - 4. Un carbone central portant un radical variable
 - 5. Une charge dépendant du pH
 - 6. Propriétés physiques des AA
 - 7. Réactivité chimique des AA
- B. Réaction de formation des liaisons peptidiques

II. Des polymères séquencés d'acides α -aminés ; notion de structure primaire

- A. Définition de la séquence primaire
- B. Un ordre déterminé génétiquement

III. Structure tridimensionnelle des protéines

- A. La structure secondaire
- B. La structure tertiaire
- C. La structure quaternaire
- D. Des modifications post-traductionnelles conditionnent la conformation et les propriétés des protéines

IV. Les protéines : des polymères a conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

- A. La conformation des protéines peut participer aux propriétés mécaniques des cellules et de leur environnement
- B. Les protéines participent aux échanges de matières entre la cellule et son environnement et entre compartiments cellulaires
- C. Les protéines participent à la communication et à la transduction cellulaire
- D. Les enzymes sont des protéines catalysant les réactions du vivant

I. Les protéines : des polymères d'acides aminés associés par une liaison peptidique

Acide aminé ou **amino-acide** (n.m.) :
Molécule quaternaire = constituée de C, H, O, N ($\pm S$) ;
Acide carboxylique portant une fonction amine.

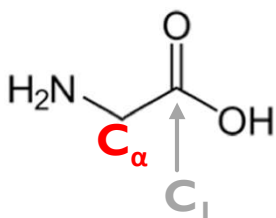
A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

I. Une fonction acide carboxylique et une fonction amine

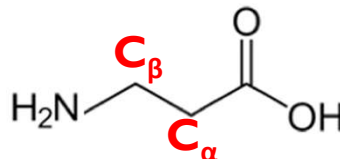
- On distingue 3 catégories d'acides aminés (AA), selon la position de la fonction amine :

Nom	Fonction amine	Diversité	Rôle
Acide α-aminé	$-NH_2$ sur le C_α	> 200	<ul style="list-style-type: none">Constitutifs des peptides et protéinesPrécurseurs de biomoléculesIntermédiaires du métabolisme
Acide β-aminé	$-NH_2$ sur le C_β	1	β-Alanine : <ul style="list-style-type: none">Constituant de dipeptides antioxydant (muscle, cerveau)Précurseur de provitamine B5
Acide γ-aminé	$-NH_2$ sur le C_γ	1	GABA (acide γ -aminobutyrique) : neurotransmetteur inhibiteur

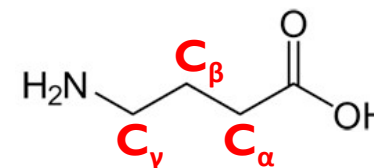
Acide α -aminé



Acide β -aminé



Acide γ -aminé

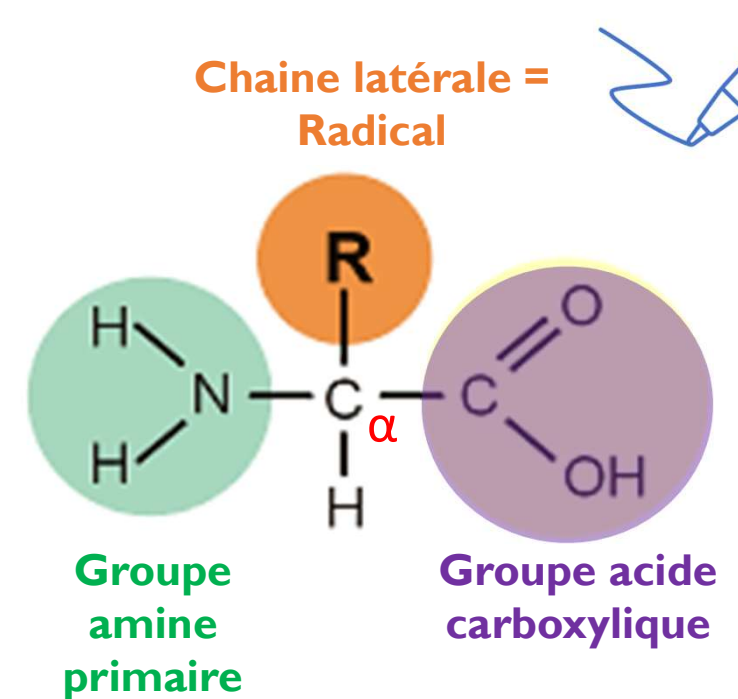


I. Les protéines : des polymères d'acides aminés associés par une liaison peptidique

A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

I. Une fonction acide carboxylique et une fonction amine

- Tous les acides α -aminés ont une **structure commune**.
- Le carbone alpha (C_{α}) est relié à :
 - 1 groupe **acide carboxylique**
 - 1 groupe **amine primaire**
 - 1 **chaîne latérale** (radical) variable
 - 1 atome d'hydrogène
- La **chaîne latérale** (le radical) **caractérise** l'AA et lui confère ses propriétés particulières.
 - 20 acides α -aminés différents dans les protéines



Structure générale d'un acide aminé

A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

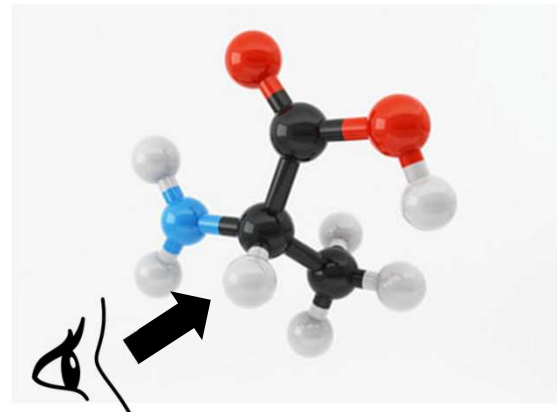
2. Chiralité et isomères

- C_{α} = **carbone asymétrique (*)**.
✓ *Exception : la Glycine où $R = -H$*
- Pour tous les acides α -aminés (*sauf la Glycine*) 2 énantiomères au niveau du C_{α}
 - **Formes D et L**
- Dans les protéines, uniquement AA de la **forme L**.
→ acides **L-aminés**
- L'énantiométrie a des conséquences importantes :
 - **Enzymologie** : Les enzymes reconnaissent spécifiquement soit la forme D soit la forme L.

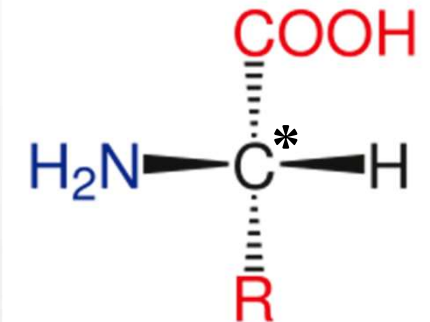


Méthode pour déterminer l'énantiométrie d'un AA

Modèle 3D
de l'Alanine



Représentation de
Cram
de l'Alanine

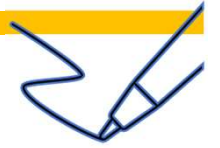


Convention

Dans la projection de Fischer quand :

- le groupe carboxyle (-COOH) est en haut, vers l'arrière
- le radical est en bas
 - Si -NH₂ est à **droite** → **forme D** (*dextro- = droite*)
 - Si -NH₂ est à **gauche** → **forme L** (*lévo- = gauche*)

A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

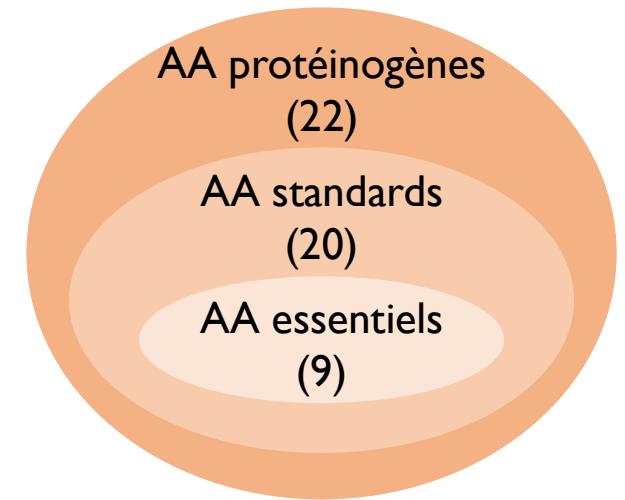


3. Nomenclature

- Parmi les acides α -aminés, **22** AA sont constitutifs des protéines
→ **AA protéinogènes***

↳ Parmi eux, 20 AA sont codés par le code génétique
→ **AA standards***
(les 2 autres sont rares : sélénocystéine et pyrrolysine)

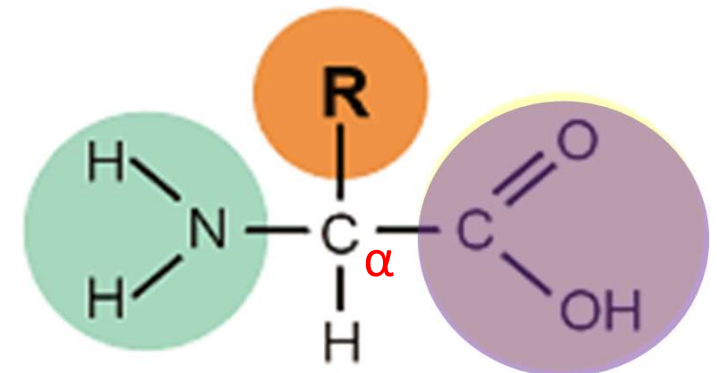
↳ Parmi eux, quelques AA (9 chez l'Homme) sont nécessairement fournis par l'alimentation
→ **AA essentiels***



- On les classe selon les **propriétés** de leur **chaîne latérale**

Cf. partie II

Chaîne latérale =
Radical



A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

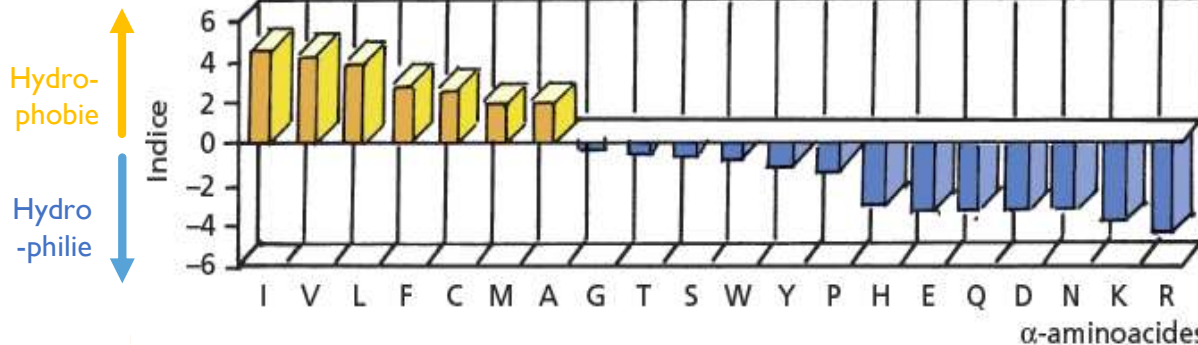
3. Nomenclature et classification des acides α aminés

- 20 AA protéinogènes symbolisés par un code à 1 ou 3 lettres
- Classés en fonction de leur « **hydropathie** »

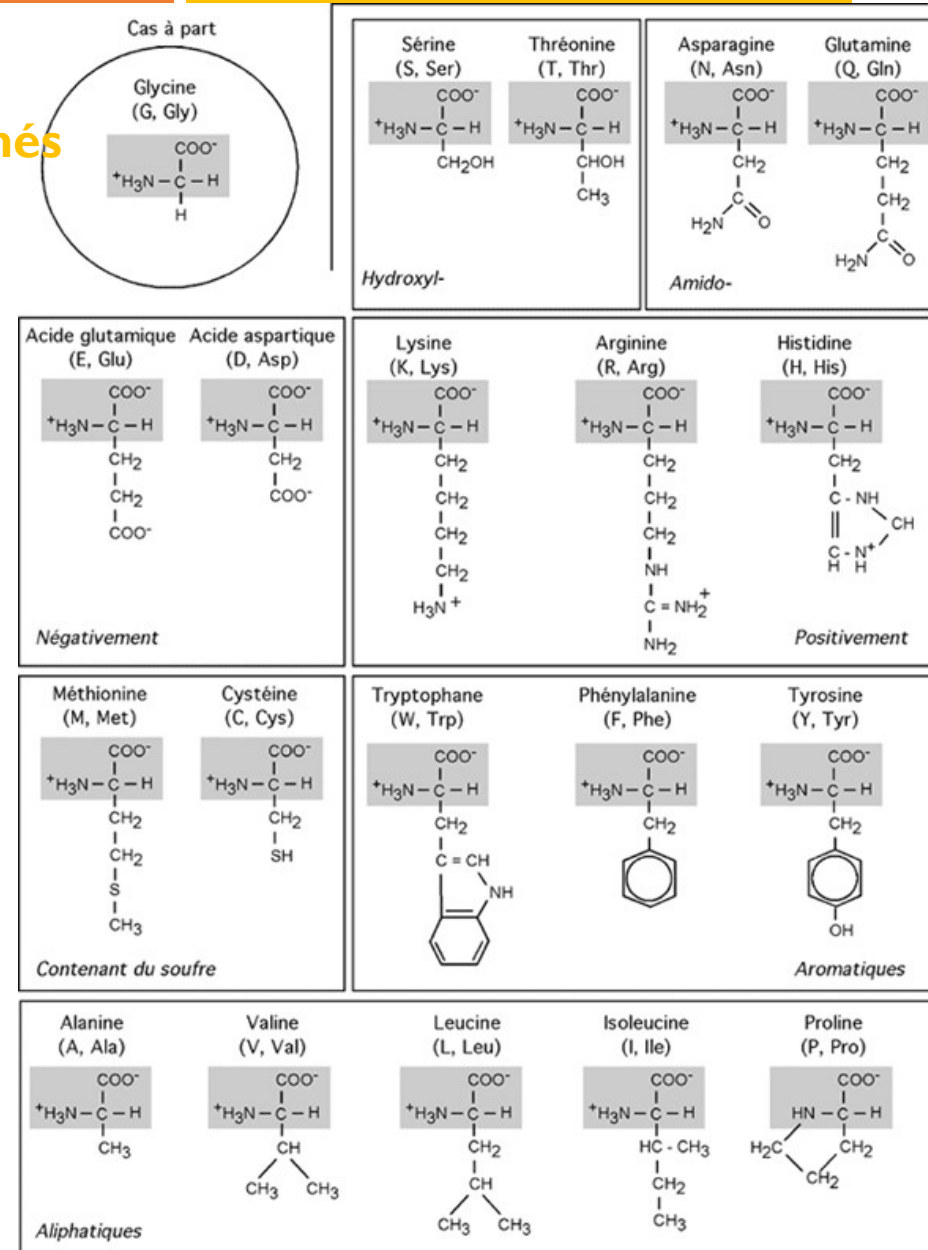


Acide glutamique	Glu	E	Leucine	Leu	L
Acide aspartique	Asp	D	Lysine	Lys	K
Alanine	Ala	A	Méthionine	Met	M
Arginine	Arg	R	Phénylalanine	Phe	F
Asparagine	Asn	N	Proline	Pro	P
Cystéine	Cys	C	Sérine	Ser	S
Glutamine	Gln	Q	Thréonine	Thr	T
Glycine	Gly	G	Tryptophane	Trp	W
Histidine	His	H	Tyrosine	Tyr	Y
Isoleucine	Ile	I	Valine	Val	V

Liste des 20 acides α -aminés et leurs abréviations



L'échelle d'hydrophobicité des radicaux des acides α -aminés selon Kyte & Doolittle



Représentation des 20 acides α -aminés

3. Nomenclature et classification des acides α aminés

Classification des AA en fonction des propriétés de leurs chaînes latérales

E AA essentiels (Homme adulte)

Polaire

Apolaire

Non chargé

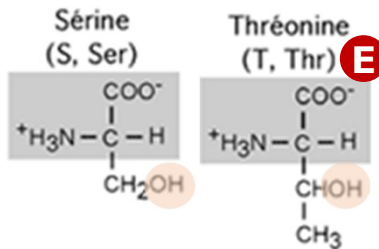
Chargé

Aliphatique

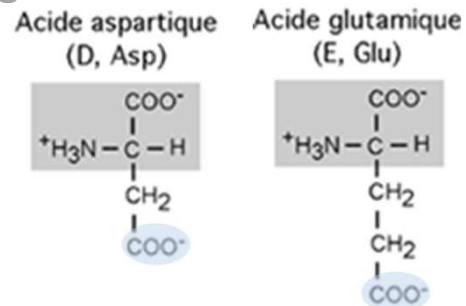
Aromatique

Soufré

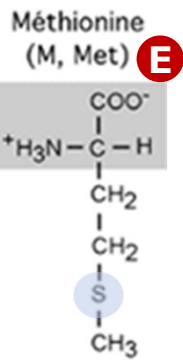
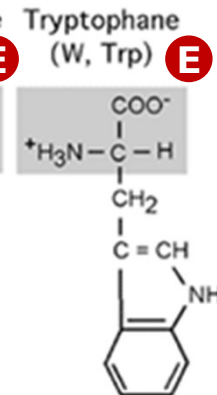
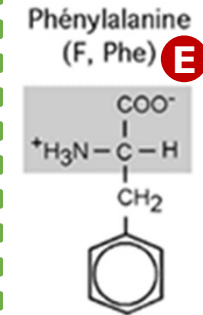
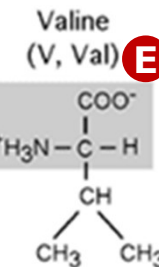
Hydroxyl (-OH)



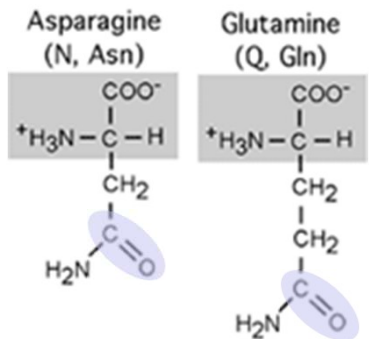
Charge -



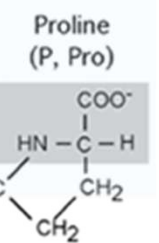
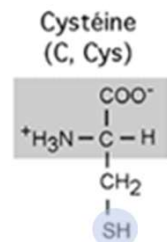
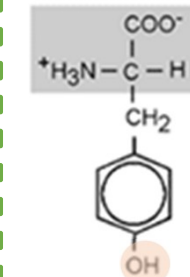
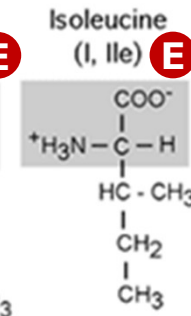
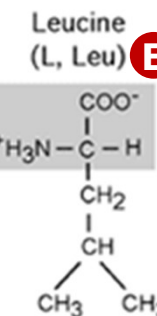
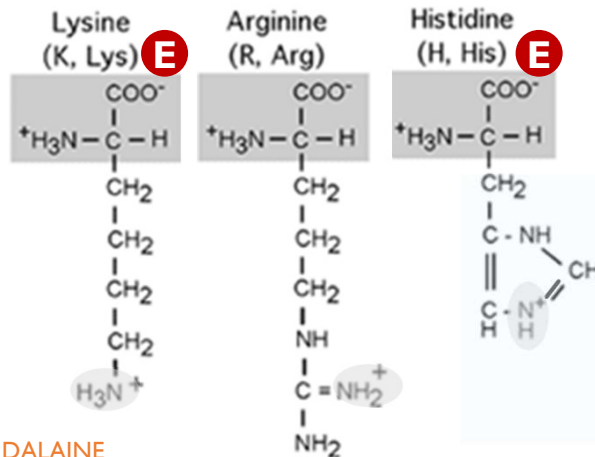
Alanine (A, Ala)

C(C)C(=O)[O-]


Amide (-N-C=O-)



Charge +



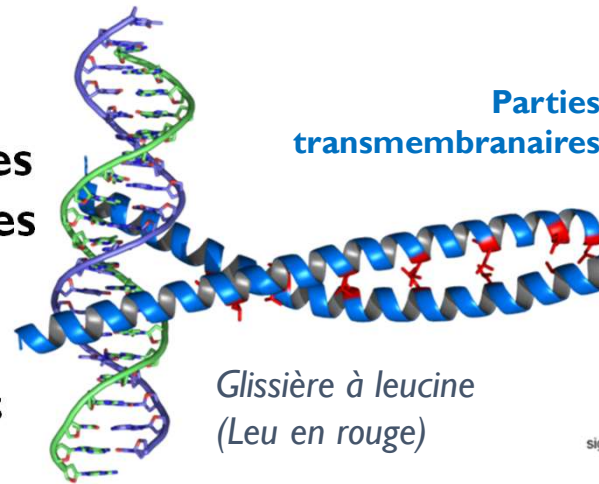
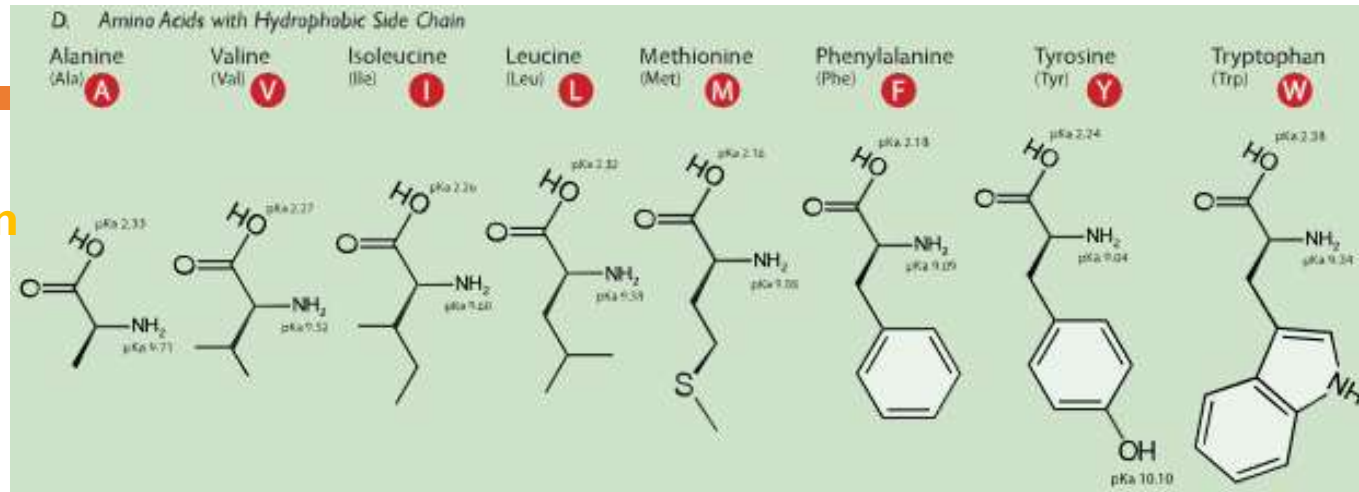
Cas particuliers

A. LES ACIDES α AMINÉS : PRÉCURSEURS DES PROTÉINES

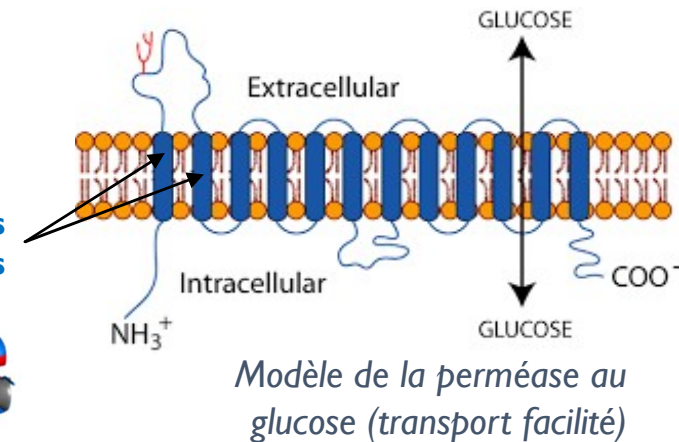
4. Un carbone central portant un radical variable

4.1. Acides α -aminés apolaires

- Chaînes latérales des AA apolaires **hydrophobes** mais à des niveaux variables
 - Met, Trp, Pro partiellement polaires
- Acides aminés apolaires
 - à l'intérieur des protéines solubles
 - dans les parties **transmembranaires** des protéines enchâssées dans la membrane.
- Longueurs et formes des chaînes latérales variables :
 - Ala, Val, Leu = petites chaînes latérales → structure compacte
 - ✓ Ex : Glissière à Leucine (Leu zipper) dans certains facteurs de transcription
 - Phe, Tyr, Trp = chaînes latérales encombrantes → structures volumineuses

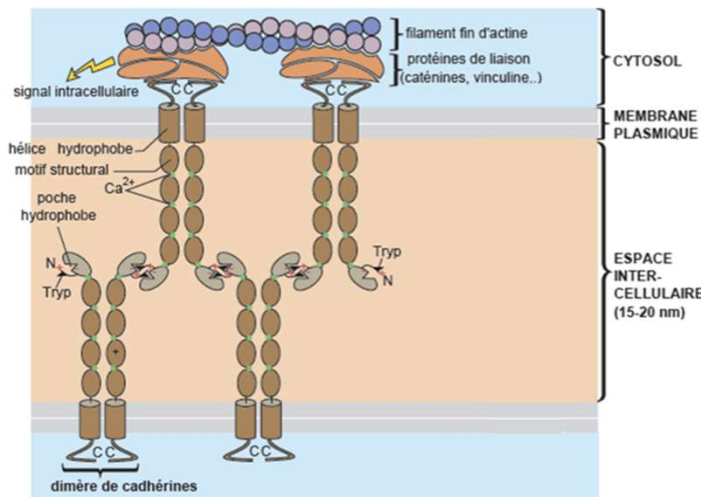


Parties transmembranaires



Cf SV-C-1

Constituants moléculaires d'une jonction adhérente



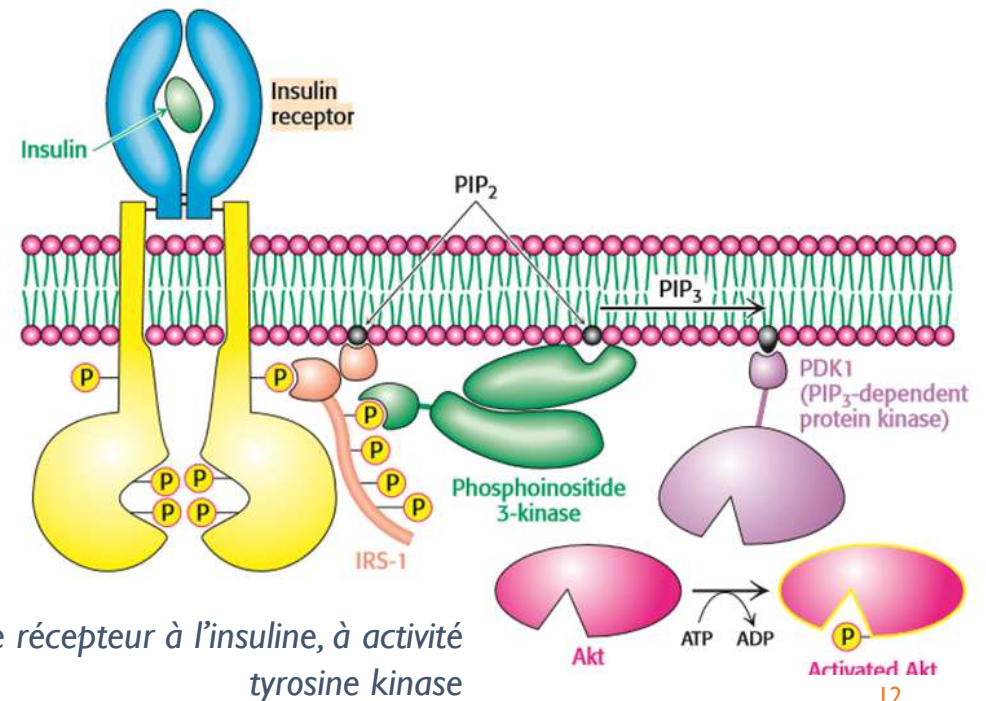
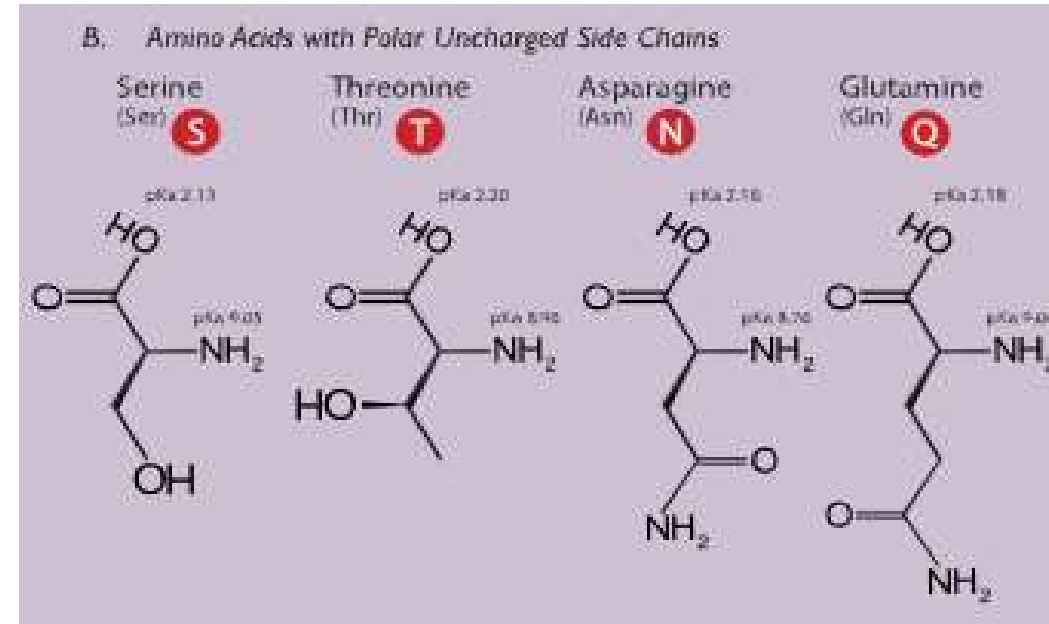
4. Un carbone central portant un radical variable

4.2. Acides α -aminés polaires

Les AA polaires non chargés



- Chaines latérales polaires non chargées impliquées dans des liaisons H
 - au sein des protéines
 - entre protéines et autres molécules
 - ✓ Ex : interaction entre lysozyme et son substrat
- Fonctions amine de Asn réactive et cible de **glycosylation**
 - **N-Glycosylation dans RER et Golgi sur radical Asn**
- Fonction hydroxyle de Ser et Tyr réactive et cible de **phosphorylation**
 - **Phosphorylation de maturation dans le Golgi**
 - **Phosphorylation d'activation (ou d'inhibition) dans une cascade de réaction**



III. LES CELLULES : DES SYSTÈMES THERMODYNAMIQUES OUVERTS TRAVERSÉS PAR DES FLUX

cf SV-C-I slide 134!

A. DES FLUX DE MATIÈRE

2. Les principales étapes du processus sécrétoire et la coopération inter compartiments

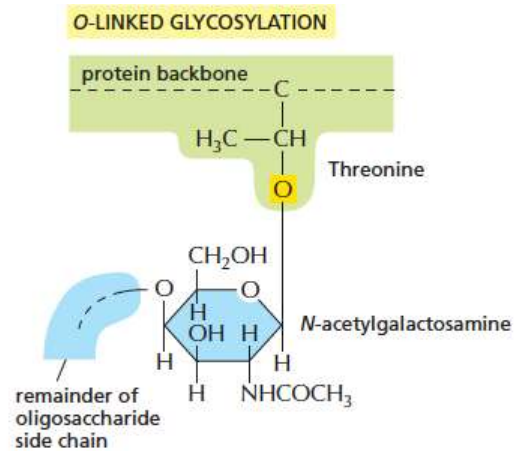
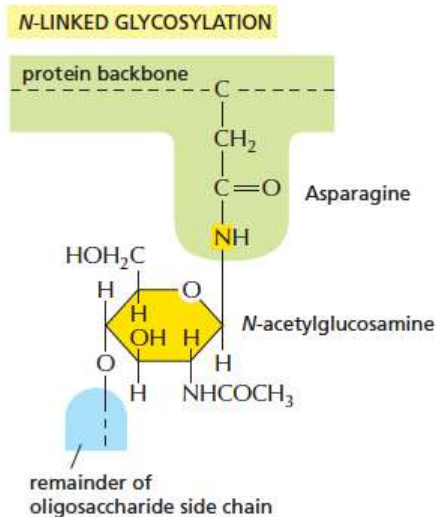
2.3. Focus sur la voie endomembranaire

2.3.3. Dans le Golgi: la maturation et l'adressage des protéines



Glycosylation : n.f. ajout de sucres sur une protéine par liaison covalente

- Types de glycosylation:
 - N-glycosylation → sur Asn
 - O-glycosylation → sur Ser, Thr



- Rôle des glycosylations :
 - Structuration même des protéines
 - Protection vis à vis du milieu extérieur :
Ex : protéines sécrétées dans l'intestin par la CAP → Protection contre l'action des protéases
 - Reconnaissance
Ex : groupes sanguins
Ex : ZP3 de la zone pellucide dont les oses sont reconnus par un récepteur du spermatozoïde
 - Adressage
Ex : étiquette de Mannose-6-P des protéines adressées au lysosome dans la voie endomembranaire

4. Un carbone central portant un radical variable

4.2. Acides α -aminés polaires

Les AA polaires chargés

- AA polaires dont la chaîne latérale ionisable :

- acides faibles \rightarrow Asp et Glu
- bases faibles \rightarrow Lys, Arg, His

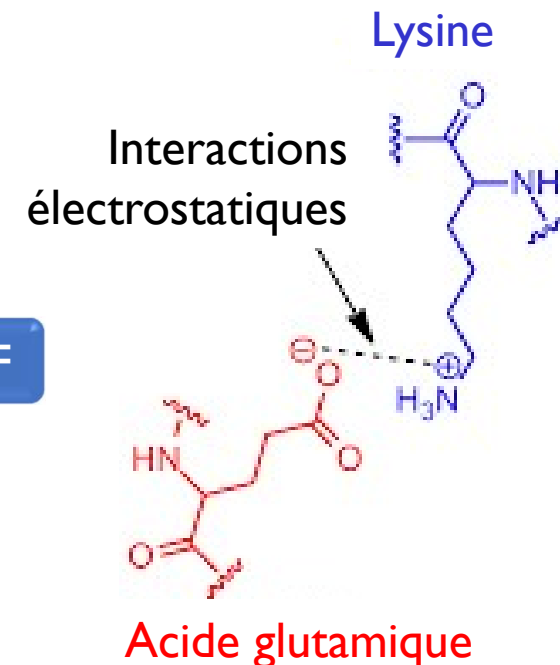
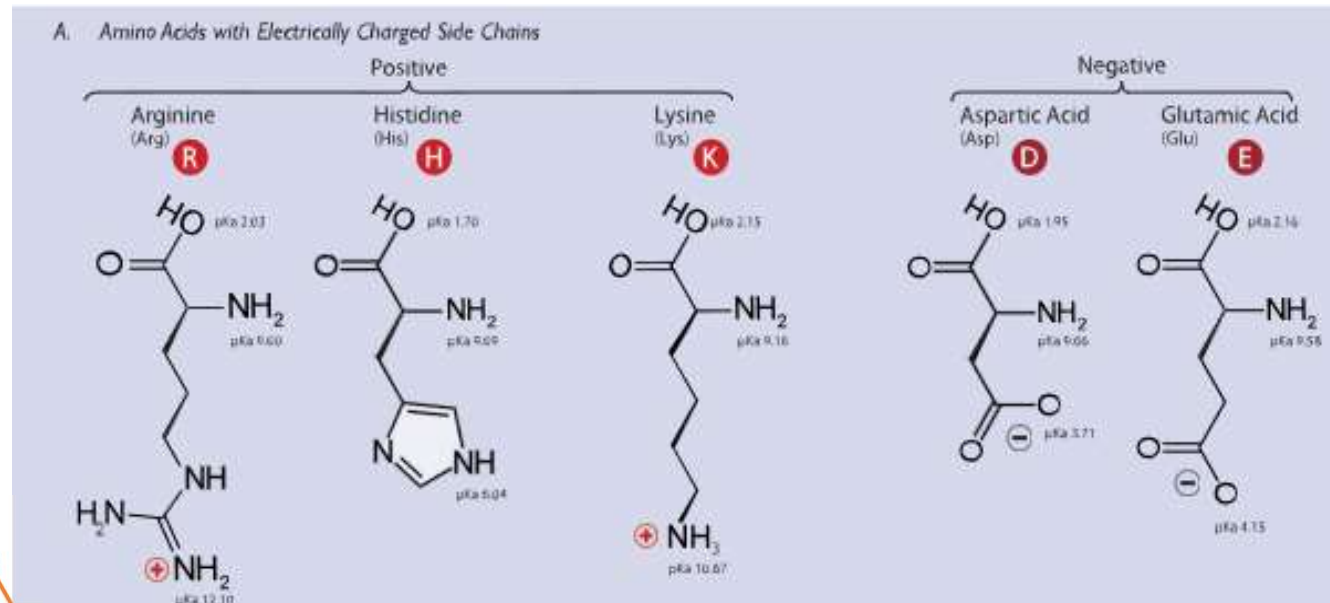


- Radicaux chargés souvent engagés dans des liaisons ioniques...
- au sein des protéines
- entre protéines et autres macromolécules comme les acides nucléiques

✓ Ex : interactions entre histones riches en lysine (+) et ADN (-)

Cf SV-F

Rem : Glu est responsable de la saveur umami (de umai, « délicieux », et -mi « goût ») très employée dans la cuisine japonaise.



4. Un carbone central portant un radical variable

4.3. Acides α -aminés particuliers

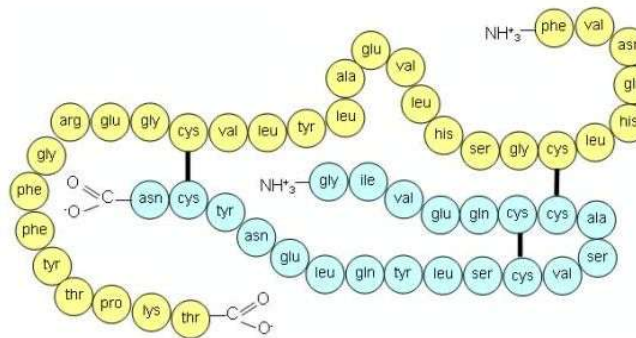
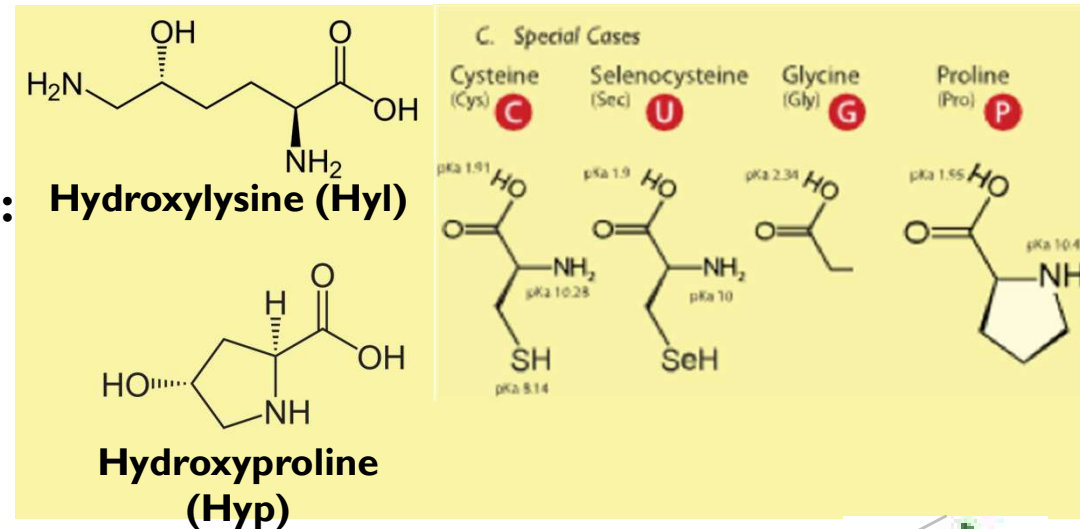


- **Cystéine (Cys)** \rightarrow formation de **ponts disulfures** :
 - au sein d'une même protéine – ex : insuline
 - entre sous-unités protéiques - ex : immunoglobulines

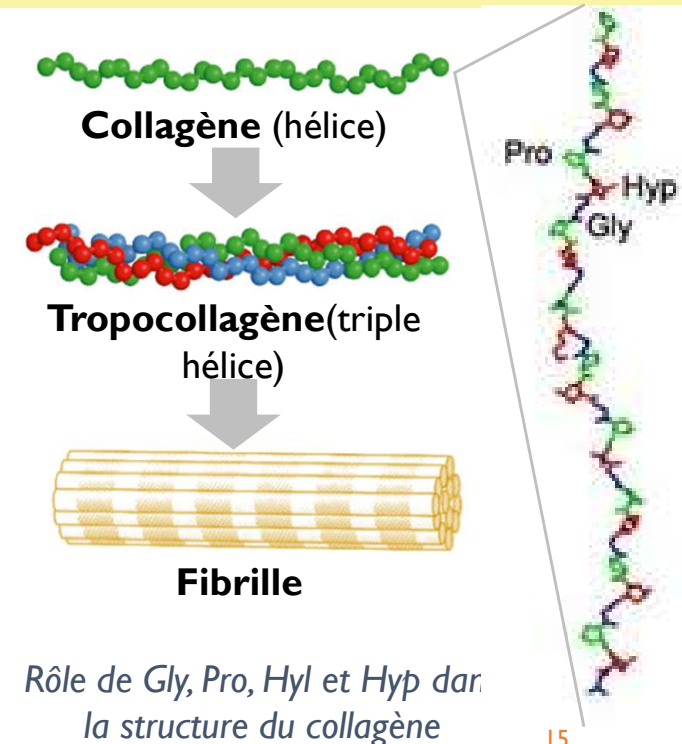
- **Glycine (Gly)** :
 - le plus petit des AA \rightarrow localisation à l'intérieur des protéines; dans les coudes
 - n'a pas de C* \rightarrow 1 seule stéréoisomère

- **Proline (Pro)** cyclique \rightarrow coudes dans les protéines

- AA atypiques, Hyp et Hyl, sont abondants dans le collagène
 - Liaisons H (via Hyl) qui stabilisent la fibrille
 - Liaisons osidiques



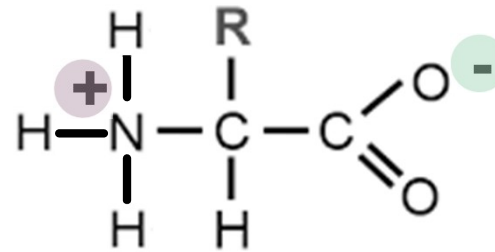
L'insuline et ses ponts disulfures



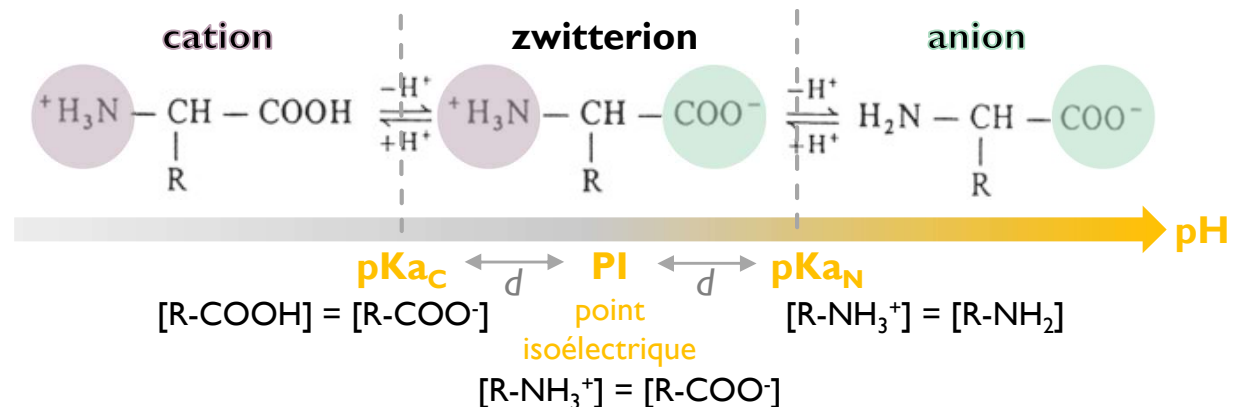
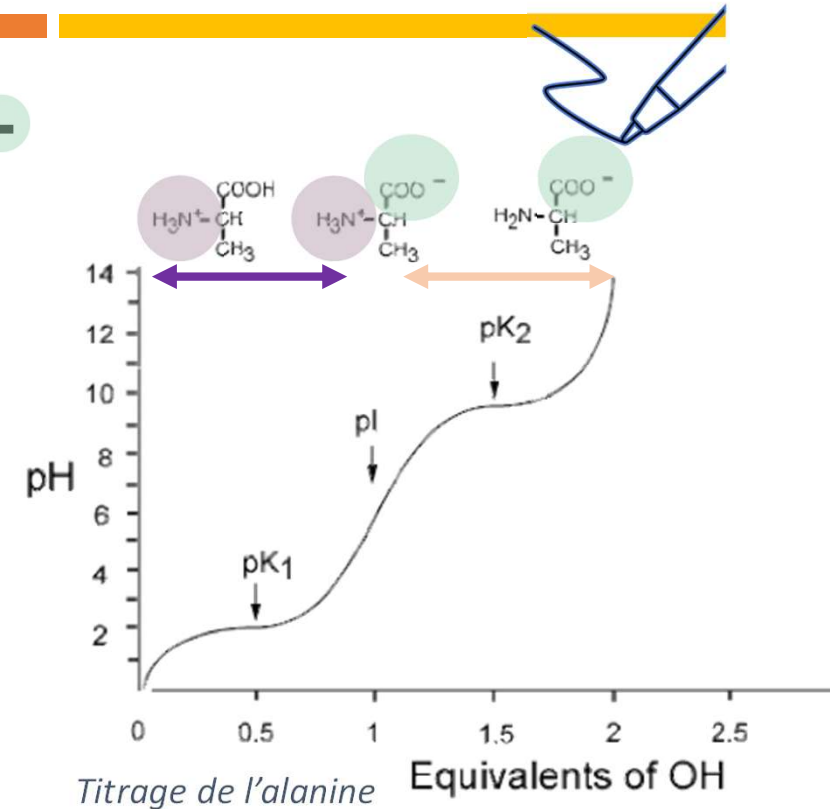
5. Une charge dépendant du pH

Propriétés acido-basiques

- Dans la cellule (pH neutre), les AA libres sont ionisés → **zwitterion*** (~neutre)
- Les AA sont **amphotères** (acide et base)
- Notion de **pHi = point isoélectrique** : valeur de pH pour laquelle l'AA est globalement neutre.
 - Au pHi l'AA atteint le minimum de solubilité, de viscosité, de liaisons avec des électrolytes, de répulsion électrostatique minimum
- Certains AA possèdent en plus, sur leur chaîne latérale, un groupement ionisable → effet sur pHi (cf TPI Biomol)



Acide aminé sous forme zwitterion

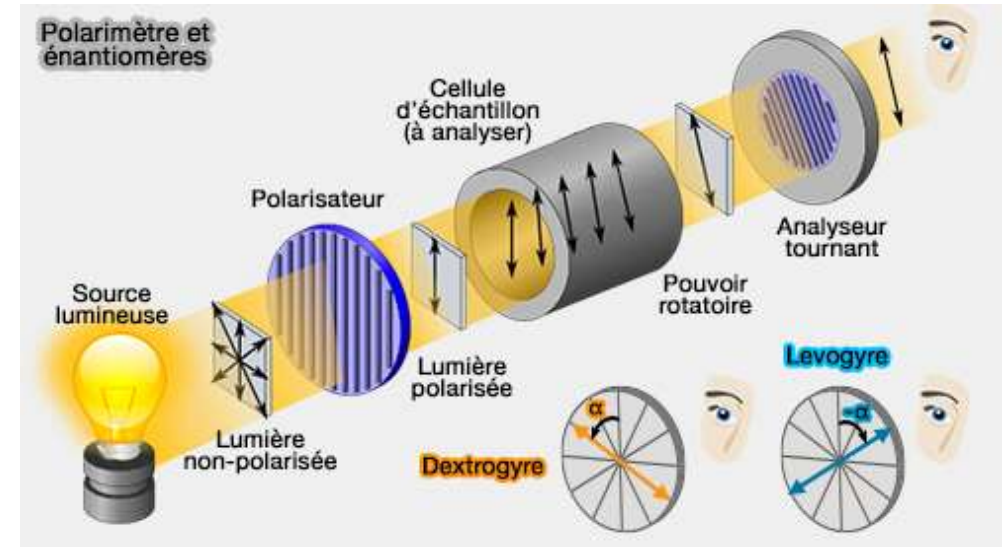
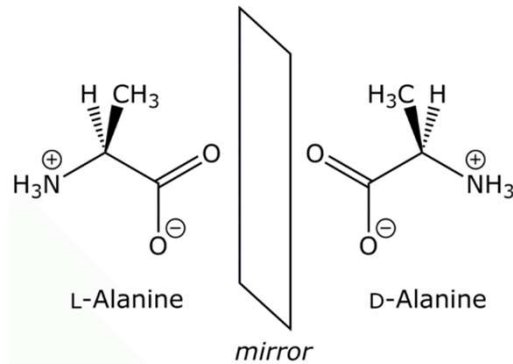


6. Propriétés physiques des acides aminés

■ Déviation de la lumière polarisée

- Les énantiomères L et D dévient différemment la lumière polarisée

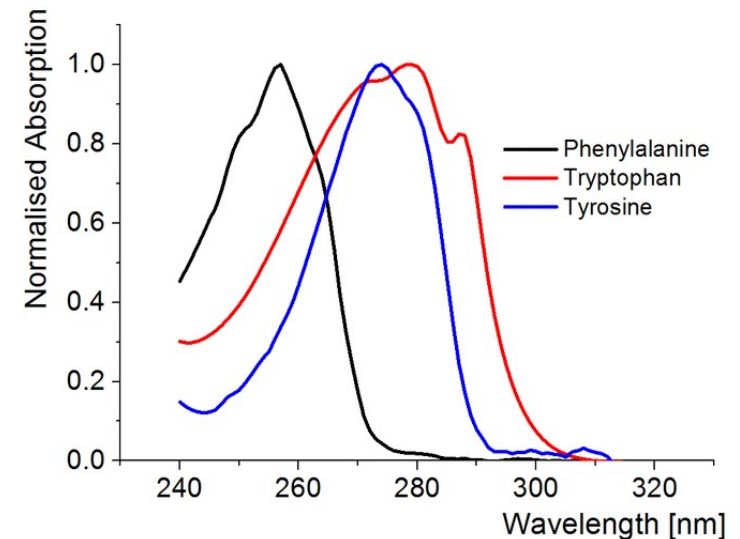
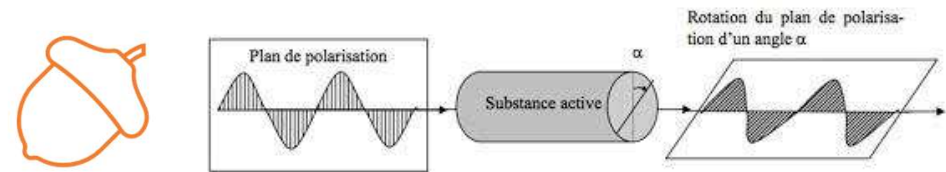
→ Application : dosage des AA au polarimètre



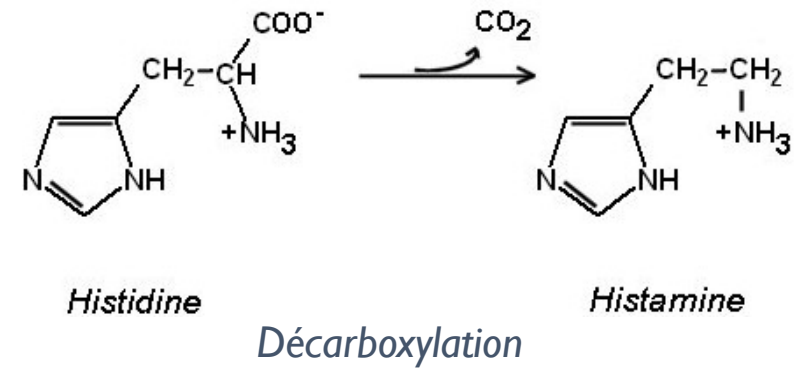
■ Absorption des UV

- Tous les AA absorbent la lumière pour $\lambda < 230$ nm
- Les AA aromatiques (Tyr, Phe, Trp) absorbent la lumière pour $\lambda = 250-280$ nm

→ Application : dosage par spectrophotométrie



7. Réactivité chimique des acides aminés



- Certains AA portent, sur leur chaîne latérale, des groupes fonctionnels réactifs :

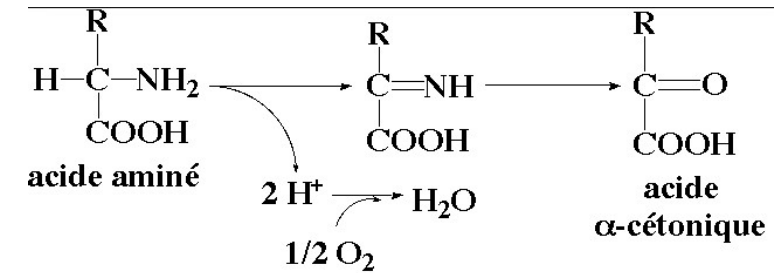
- Groupe acide carboxylique
 - ✓ Estérification
 - ✓ Décarboxylation
 - ex : histidine

- Groupe amine primaire
 - ✓ ex: désamination

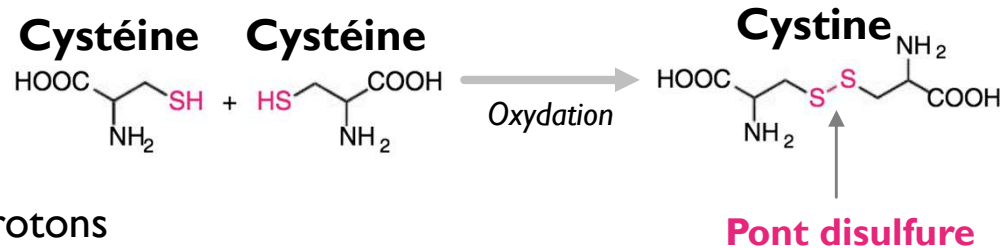
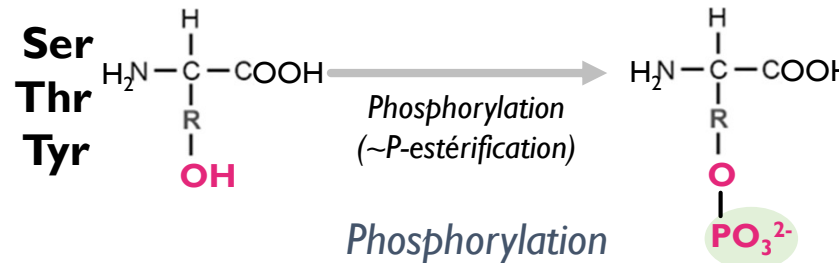
- Groupe hydroxyle
 - ✓ phosphorylation
 - ✓ Estérification

- Groupe sulfhydryle
 - ✓ ex : oxydation → ponts disulfures

- Noyau imidazol → échangeur de protons



Désamination des AA en lien avec le jeûne (catabolisme)



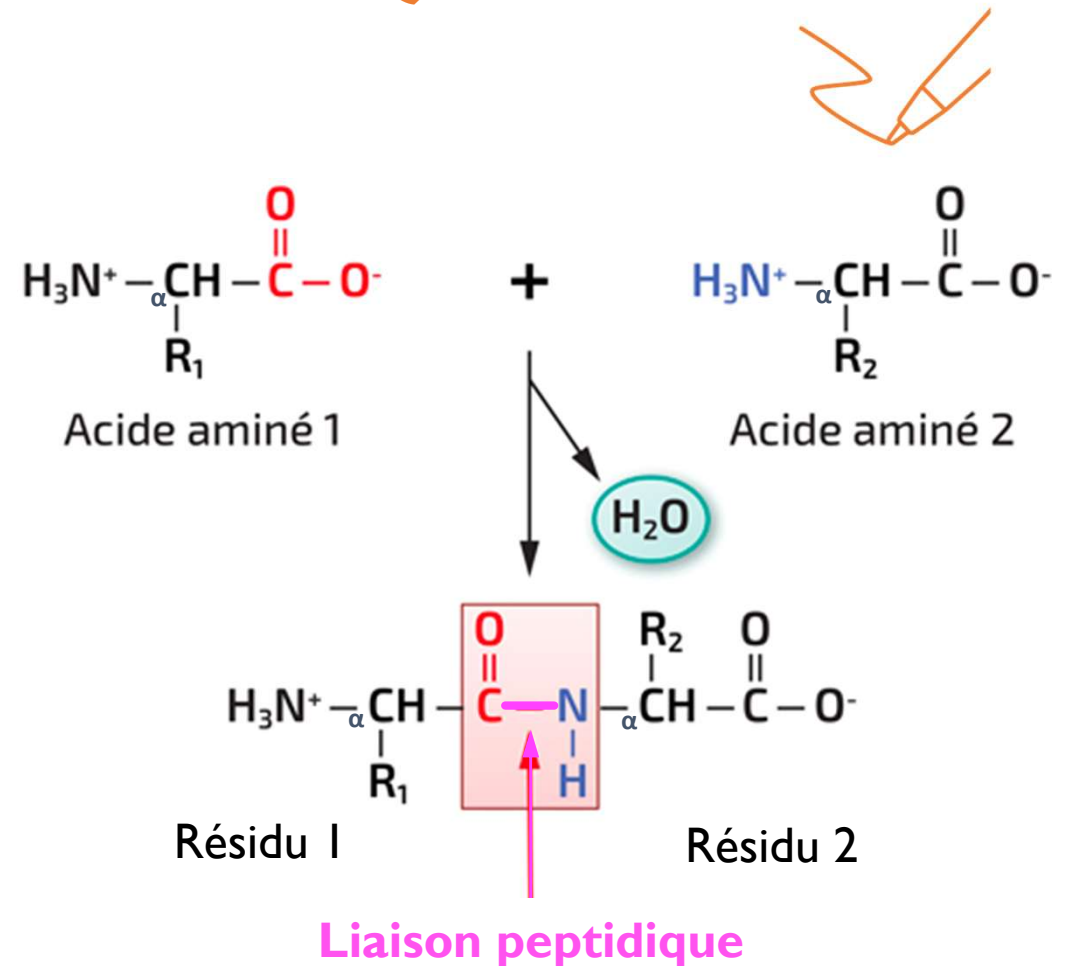
Oxydation et ponts disulfures

B. RÉACTION DE FORMATION DES LIAISONS PEPTIDIQUES

I. Principe



- Une liaison amide, dite **liaison peptidique**, peut se former entre :
 - l'**acide carboxylique** d'un AA
 - L'**amine primaire** d'un autre AA
- Plusieurs AA peuvent ainsi s'associer en polymères +/- longs :
 - **Oligopeptide** (< 10 AA)
 - ✓ Dipeptide (2 AA)
 - ✓ Tripeptide (3 AA)
 - ✓ Peptide (4-10 AA)
 - **Polypeptide** (10-50 AA)
 - **Protéine** (> 50 AA)

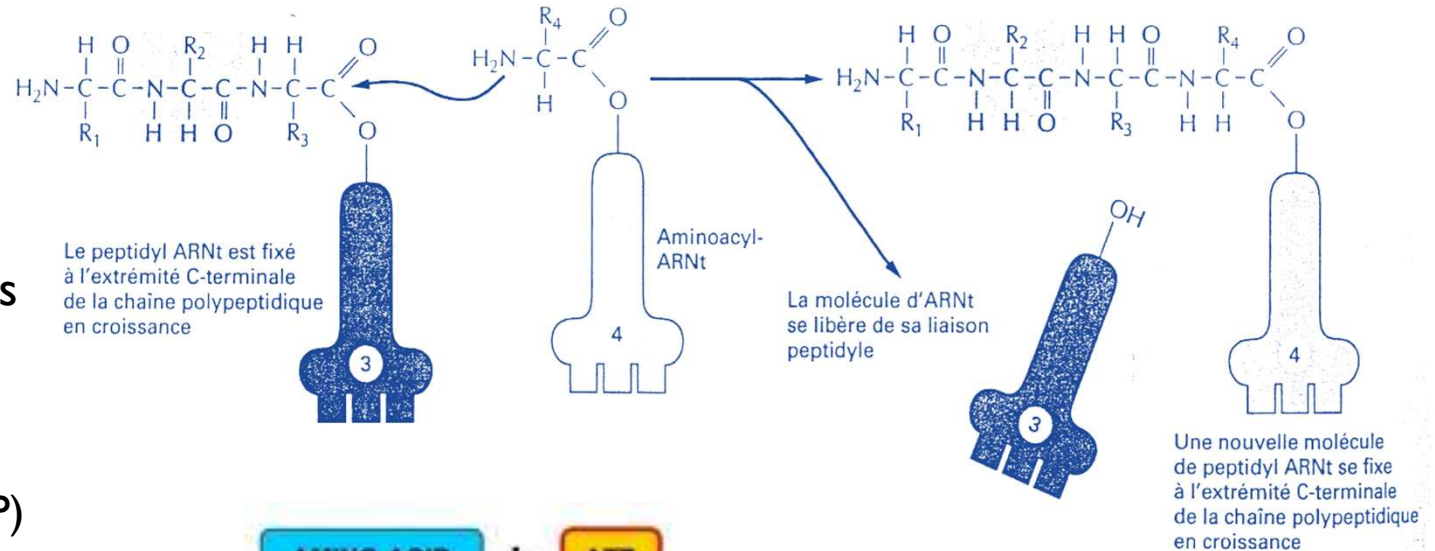


B. RÉACTION DE FORMATION DES LIAISONS PEPTIDIQUES

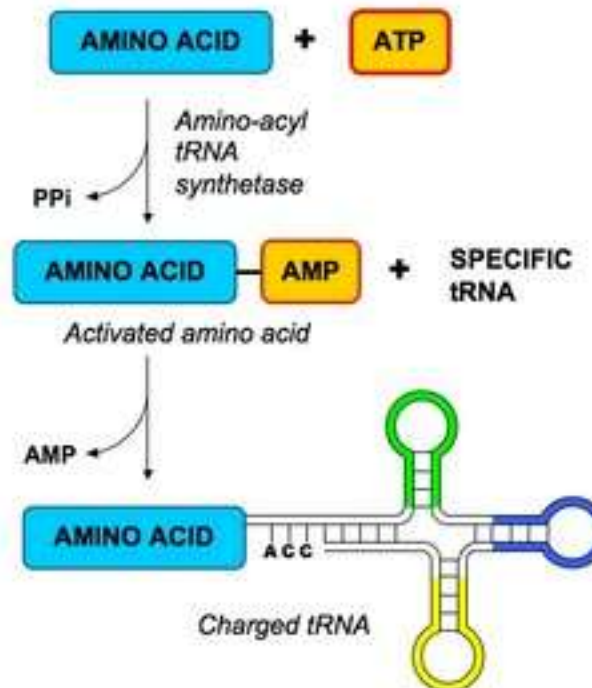
2. Formation *in vivo*

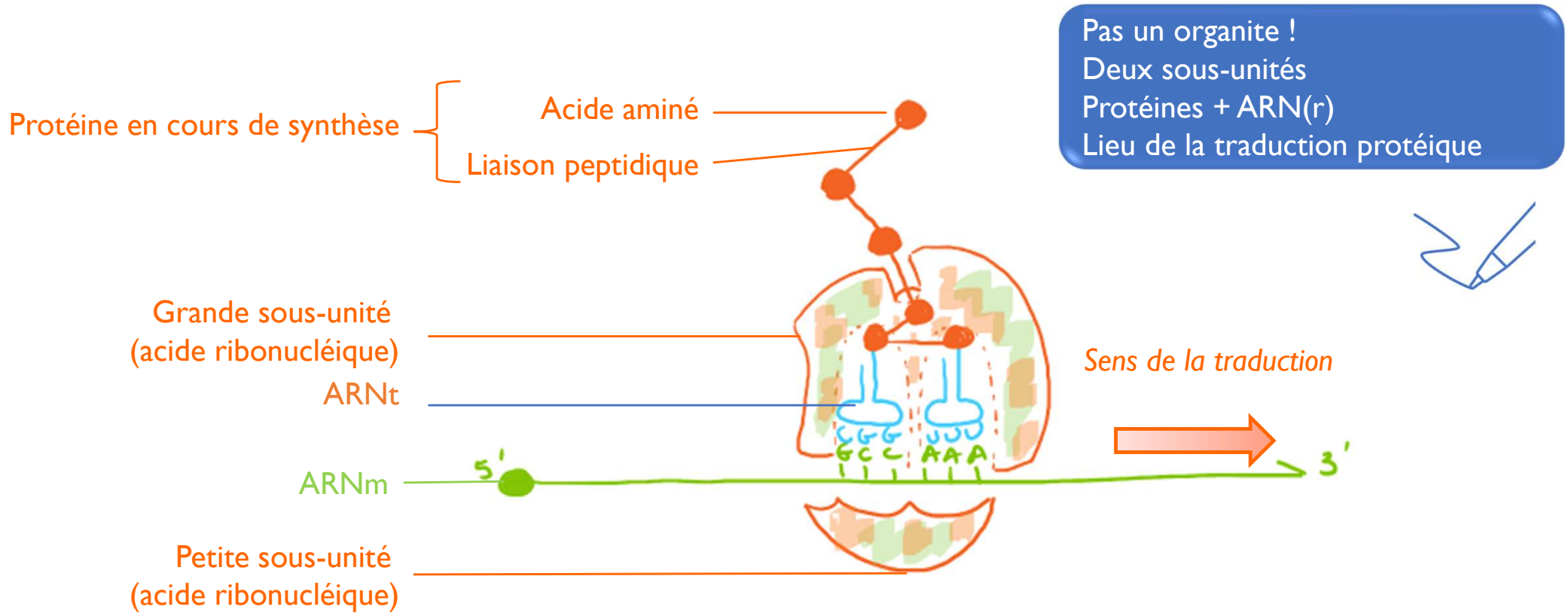


- C'est la réaction de **synthèse** des protéines (>10 AA)
 - pendant la TRADUCTION
 - au niveau des ribosomes
 - très coûteuse en énergie (ATP)
- Mais **in vivo**, il n'y a pas de libération d'eau, la réaction passe par la formation d'un **ARNt** « **activé** »
 - Réaction en 2 phases, dans le ribosome



Cf SV-F



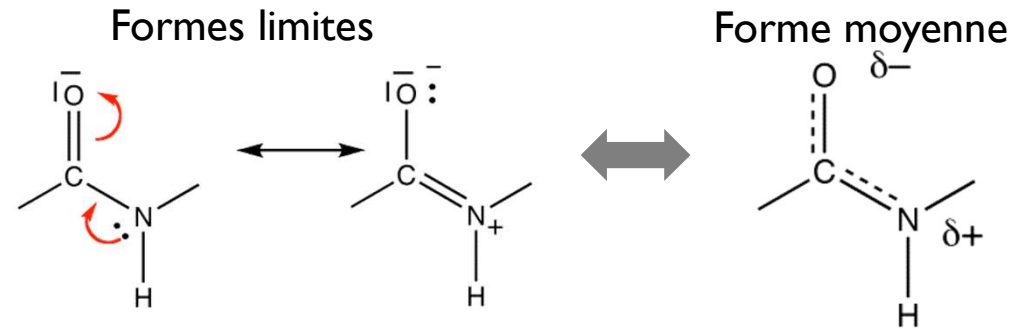


Le ribosome, tête de lecture, acteur de la traduction est composé d'acides ribonucléiques

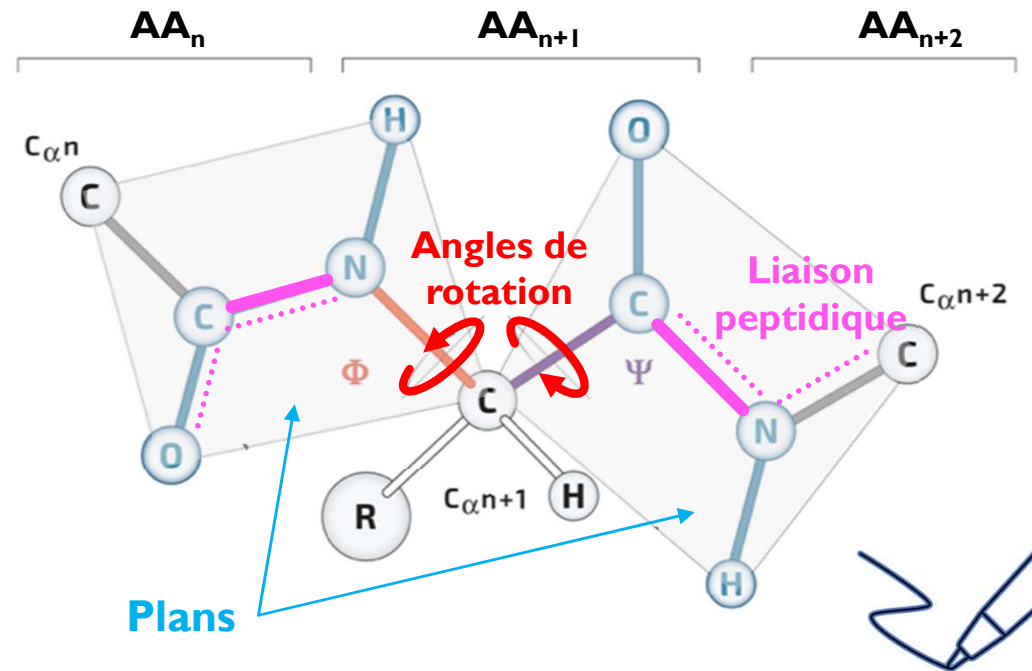
3. Propriétés de la liaison peptidique



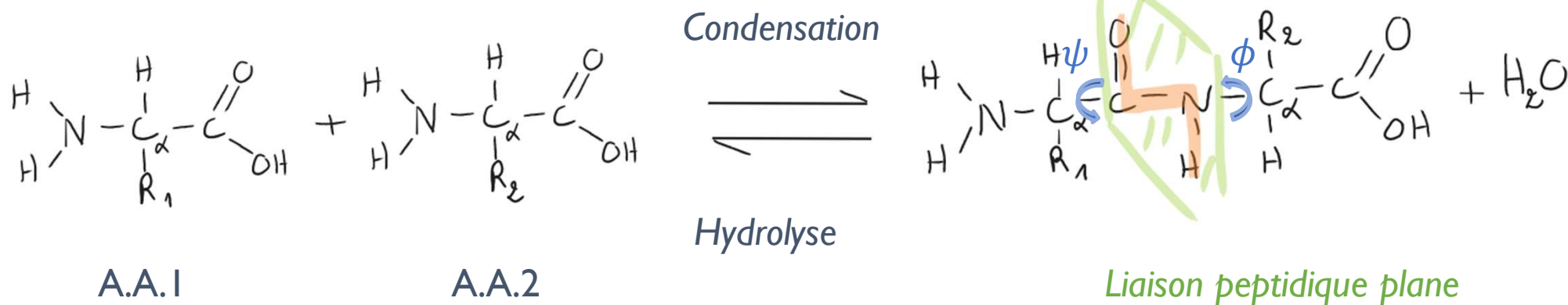
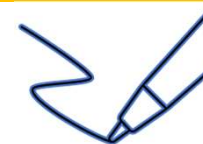
- La liaison peptidique est **covalente**
→ Similaire à une **double liaison** du fait de la délocalisation des électrons par **résonance**
- 1. Elle est **plane et rigide**.
 - Mais possibilité de **rotations** au niveau :
 - ✓ des C_α
 - ✓ des chaînes latérales (**R**)
 - ✓ → **Conséquences structurales** importantes
- 2. Configuration **trans (Z)** favorisée
→ Structure en zig-zag
- 3. La **liaison peptidique** est **orientée** ($C > N$)



Délocalisation des électrons par résonance: liaison peptidique **rigide et plane**



Rigidité et rotations de la liaison peptidique



L'établissement de la liaison peptidique: une réaction de condensation (in vitro)

SV-D-2-4 Acides aminés et protéines

I. Les protéines: des polymères d'acides α -aminés associés par une liaison peptidique

- A. Les acides α -aminés précurseurs des protéines
 - 1. Deux fonctions
 - 2. Chiralité et isomères
 - 3. Nomenclature
 - 4. Un carbone central portant un radical variable
 - 5. Une charge dépendant du pH
 - 6. Propriétés physiques des AA
 - 7. Réactivité chimique des AA
- B. Réaction de formation des liaisons peptidiques

II. Des polymères séquencés d'acides α -aminés ; notion de structure primaire

- A. Définition de la séquence primaire
- B. Un ordre déterminé génétiquement

III. Structure tridimensionnelle des protéines

- A. La structure secondaire
- B. La structure tertiaire
- C. La structure quaternaire
- D. Des modifications post-traductionnelles conditionnent la conformation et les propriétés des protéines

IV. Les protéines : des polymères à conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

- A. La conformation des protéines peut participer aux propriétés mécaniques des cellules et de leur environnement
- B. Les protéines participent aux échanges de matières entre la cellule et son environnement et entre compartiments cellulaires
- C. Les protéines participent à la communication et à la transduction cellulaire
- D. Les enzymes sont des protéines catalysant les réactions du vivant

INTRODUCTION

Protides

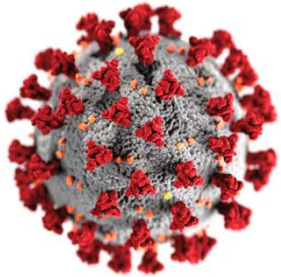
Part des protides dans
une cellule
(% masse de matière
sèche)

	Protides
Bactérie	50
Mammifère	60

Acides aminés
Peptides et Protéines

Structure ?

Coronavirus
Sars-cov2



Où les trouve-t-on ?

Poissons et
viandes
(muscles)



Œuf (blanc)



Graines des légumineuses



Fonctions ?

Structure
Réserve
Catalyse (enzyme)
Transport
Mouvement
Régulation
Signalisation
Défense

Spiruline (bactérie)

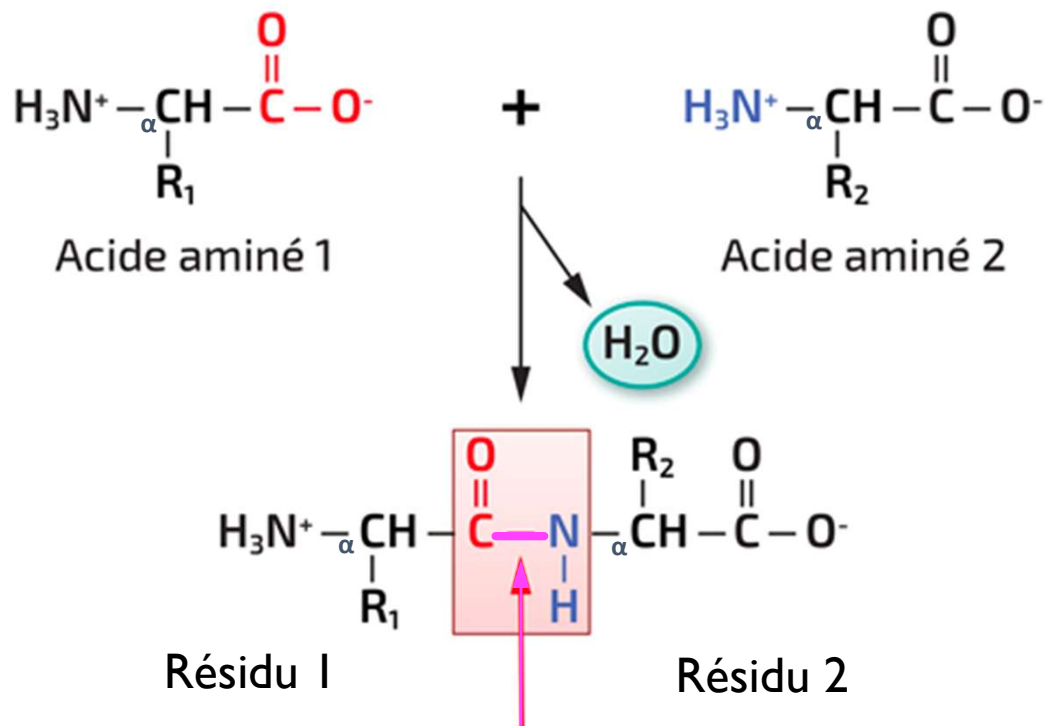


II. DES POLYMÈRES SÉQUENCÉS D'ACIDES AMINÉS ; NOTION DE STRUCTURE PRIMAIRE

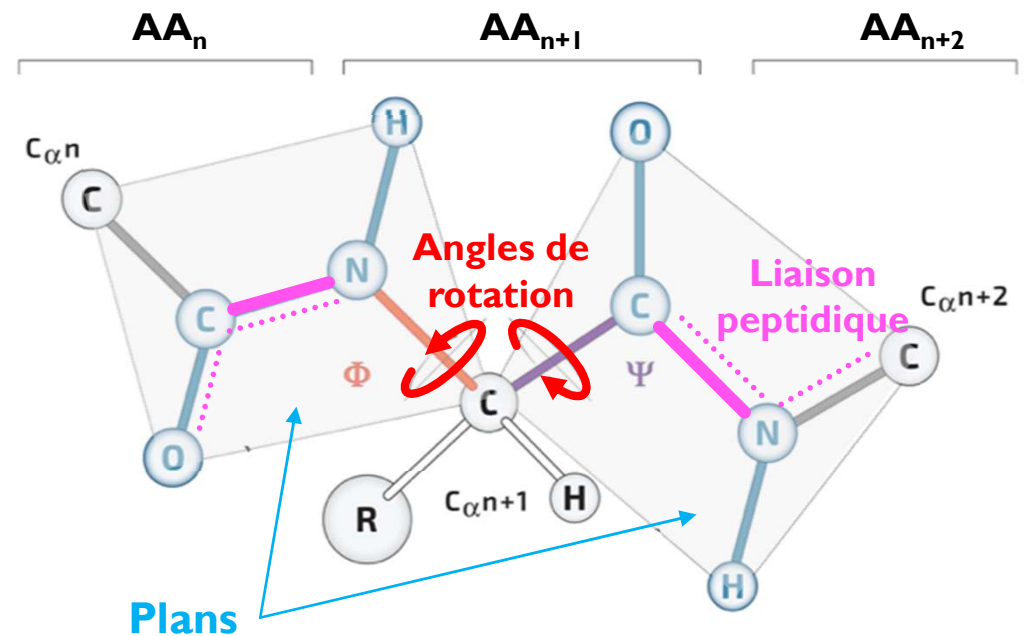
A. SÉQUENCE D'ACIDES α AMINÉS

I. Définition de la séquence primaire

- Protéines et peptides sont des **polymères d'acides aminés** liés par des **liaisons peptidiques**
- La liaison peptidique est **plane, rigide et orientée**



Liaison peptidique
Formation d'une liaison peptidique



Géométrie de la liaison peptidique

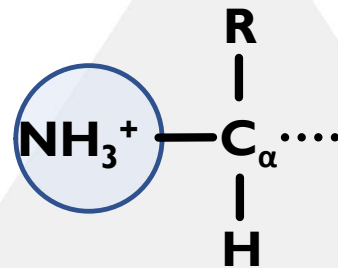
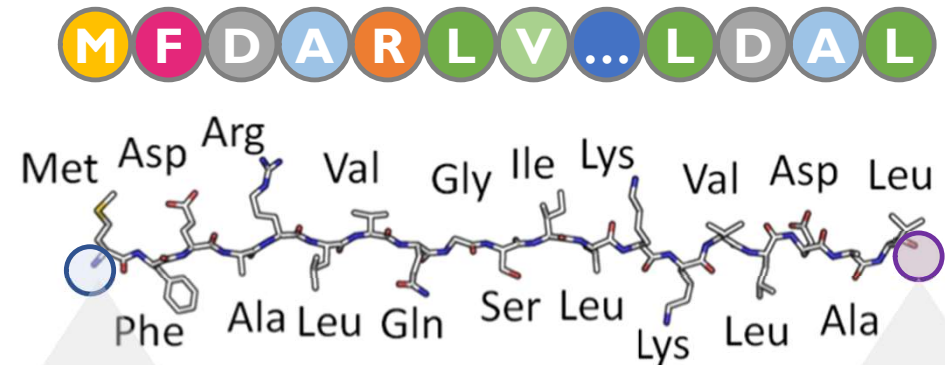
II. DES POLYMÈRES SÉQUENCÉS D'ACIDES AMINÉS ; NOTION DE STRUCTURE PRIMAIRE

A. SÉQUENCE D'ACIDES α AMINÉS

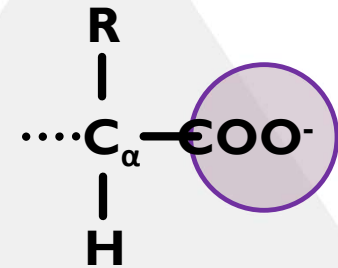
I. Définition de la séquence primaire

- C'est la séquence linéaire des AA
- Grande diversité de séquences possibles avec 20 AA
- Séquence spécifique de chaque protéine
- La chaîne polypeptidique est orientée : **N-terminal** > **C-terminal**

Séquence (n.f.) : ordre d'assemblage des différents monomères (nucléotides, acides aminés).



Extrémité N-terminale
(N-ter)



Extrémité C-terminale
(C-ter)

N-ter

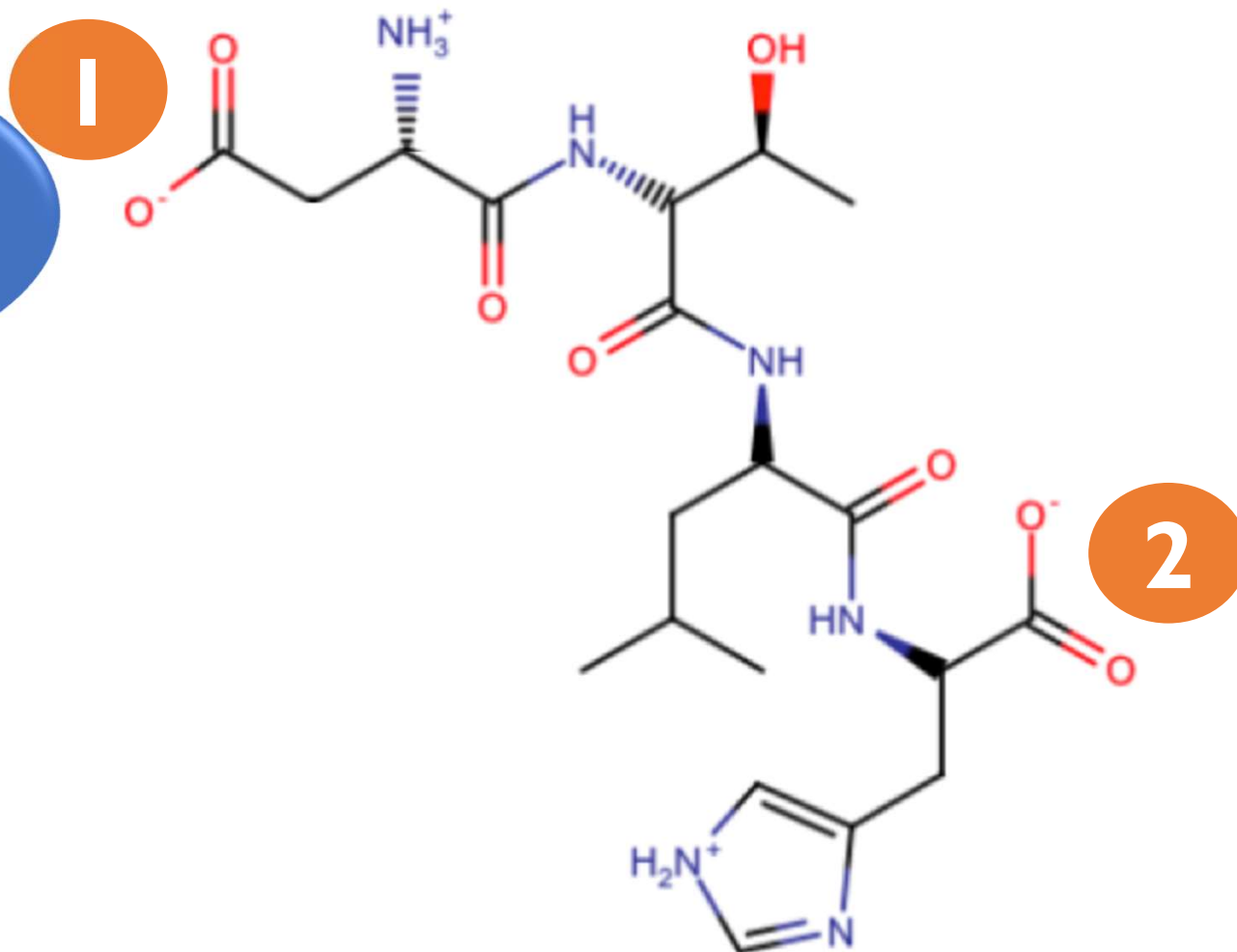
C-ter



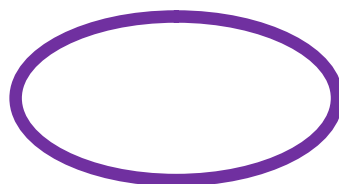
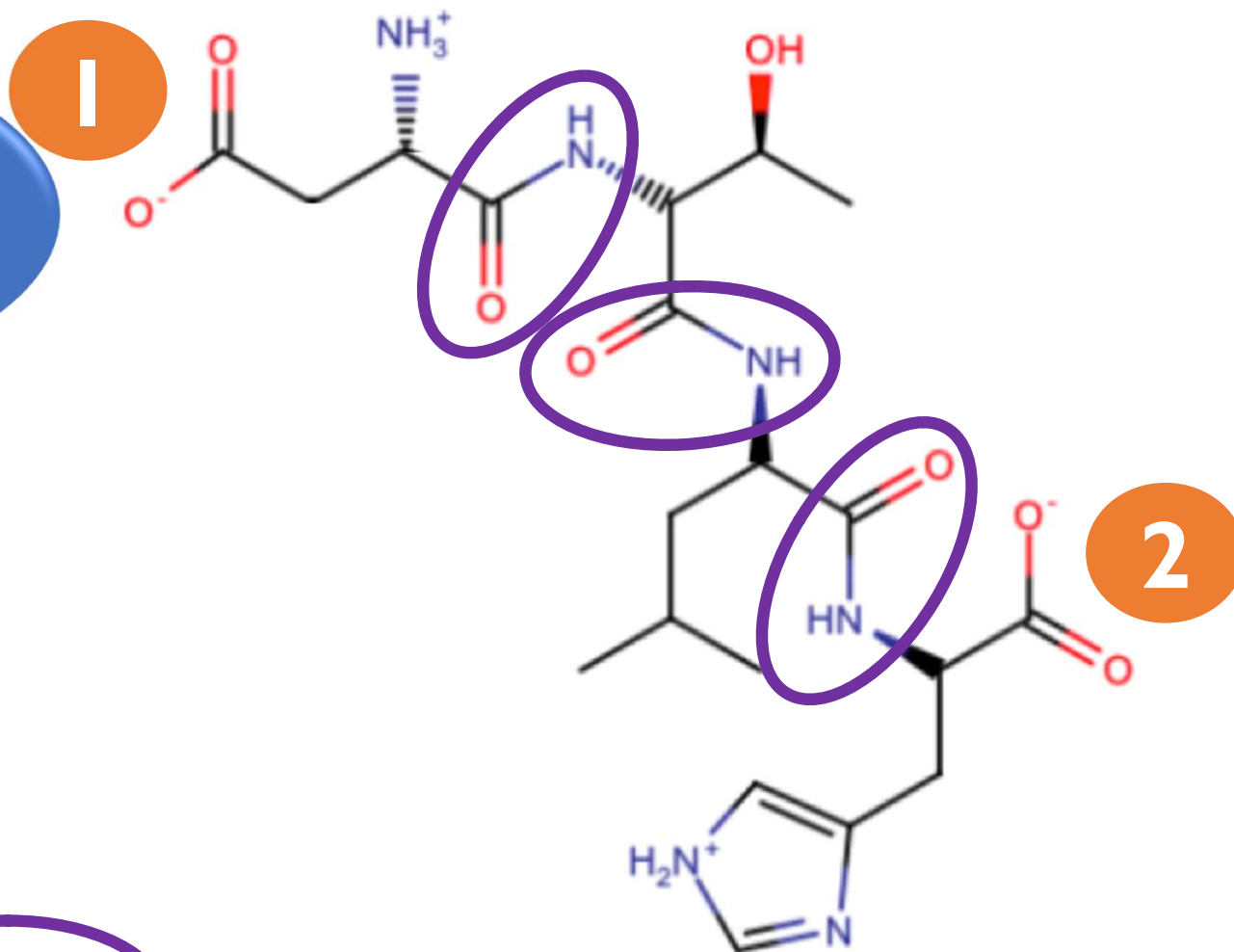
Convention

On représente les chaînes d'AA avec N-ter à gauche, C-ter à droite.

Où se situe
l'extrémité C-
terminale de ce
peptide ?



Où se situe
l'extrémité C-
terminale de ce
peptide ?



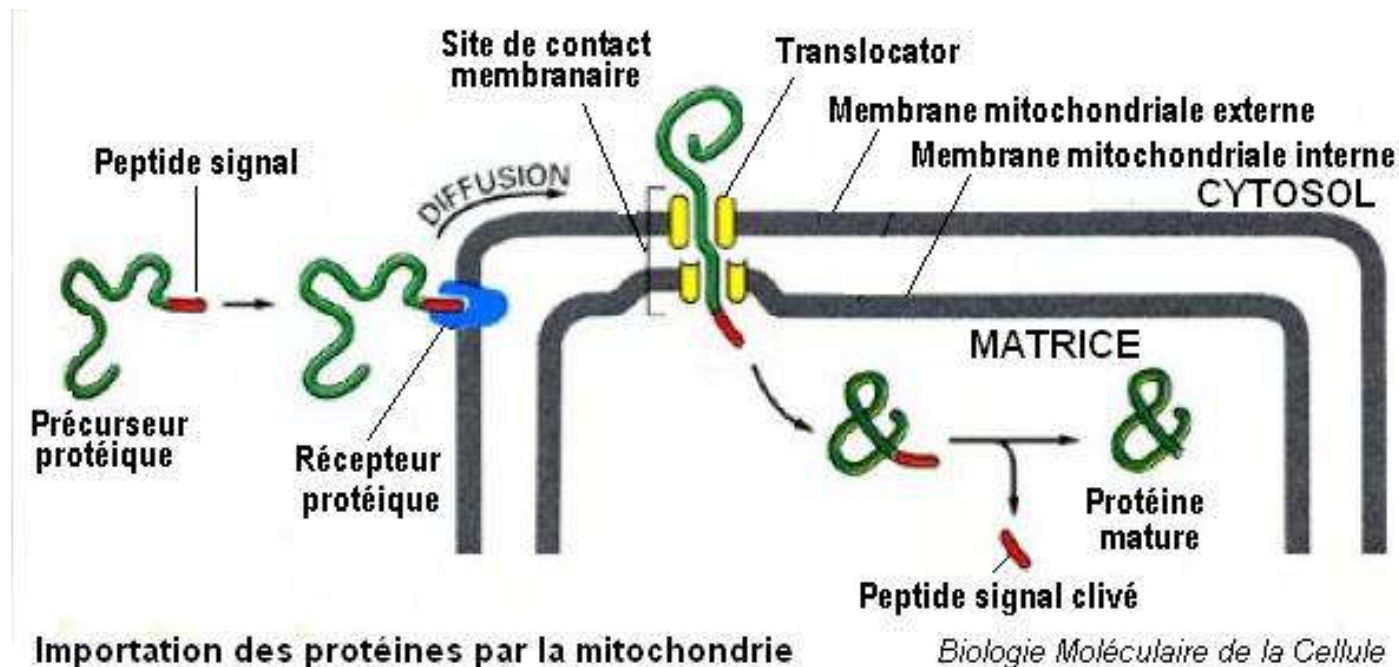
Liaison peptidique



A. SÉQUENCE D'ACIDES α AMINÉS

2. Séquence et fonction

- Certaines portions de la séquence protéique sont particulièrement importantes :
 - **Séquence de fonction** : indispensable au fonctionnement de la protéine
 - **Séquence spécifique** : caractéristique de l'espèce
 - **Séquence signal** : adressage, rétention, fixation



II. DES POLYMÈRES SÉQUENCÉS D'ACIDES AMINÉS ; NOTION DE STRUCTURE PRIMAIRE

A. SÉQUENCE D'ACIDES α AMINÉS

3. Séquençage

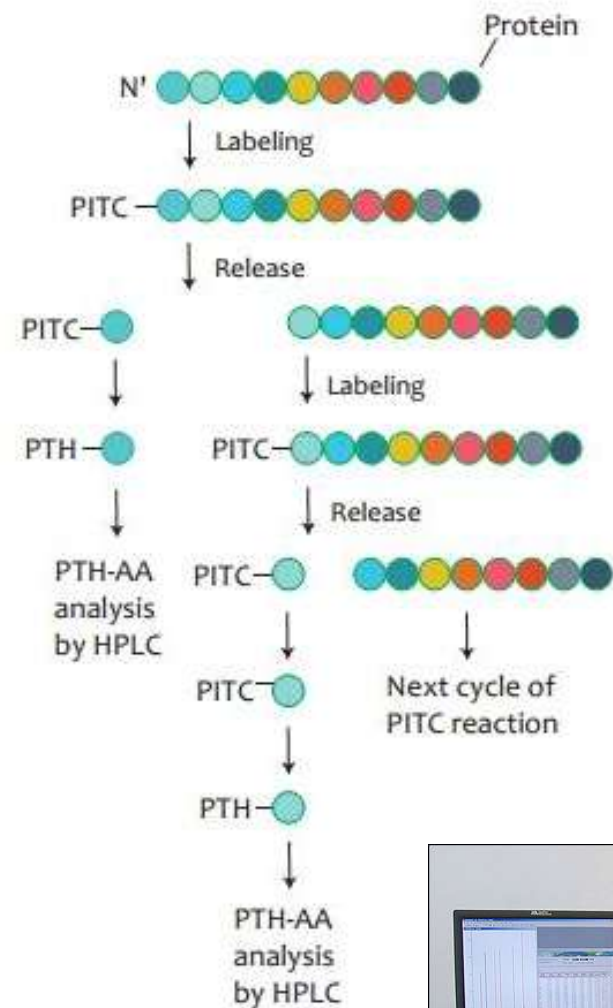
- 1955 : Premier séquençage de protéine réalisé par Frederick Sanger à partir de l'insuline → méthode chimique



Frederick Sanger
Prix Nobel de chimie (1958)



- D'autres techniques sont ensuite apparues :
 - Méthode physique – ex : dégradation d'Edman
- Aujourd'hui, on séquence très peu les protéines → séquençage de l'ADN ou ARN puis « traduction » en AA



Méthode classique pour séquencer les protéines : dégradation d'Edman

1. Marquage par PITC de l'AA en N-ter de la protéine
2. Clivage de l'AA marqué
3. Identification de l'AA par chromatographie (HPLC: Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance)



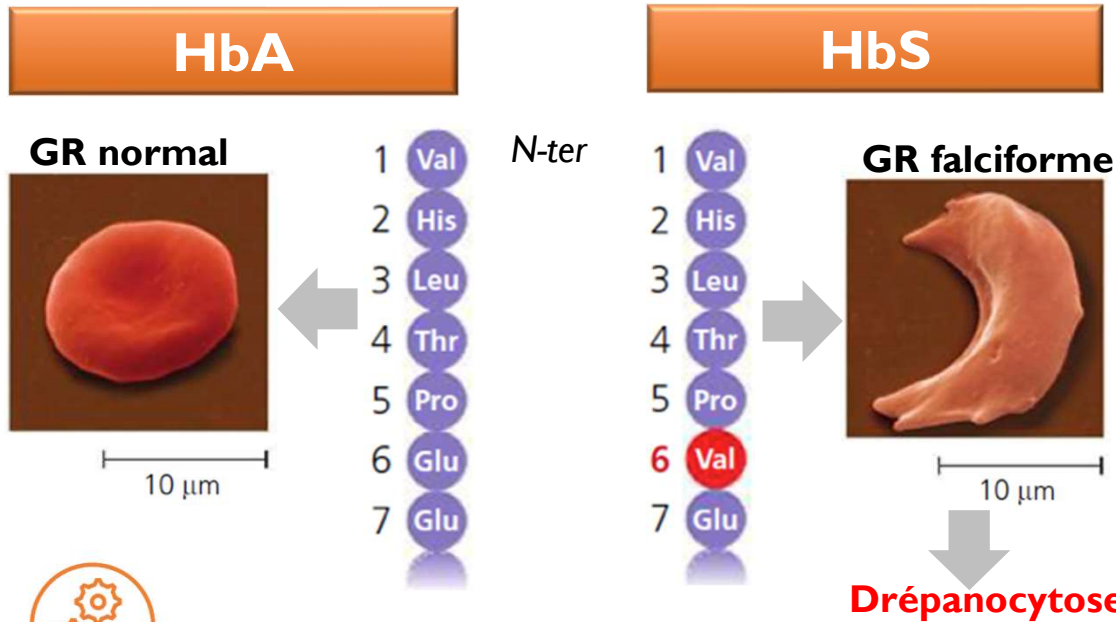
Séquenceur protéique₃₁

II. DES POLYMÈRES SÉQUENCÉS D'ACIDES AMINÉS ; NOTION DE STRUCTURE PRIMAIRE

B. UN ORDRE DÉTERMINÉ GÉNÉTIQUEMENT

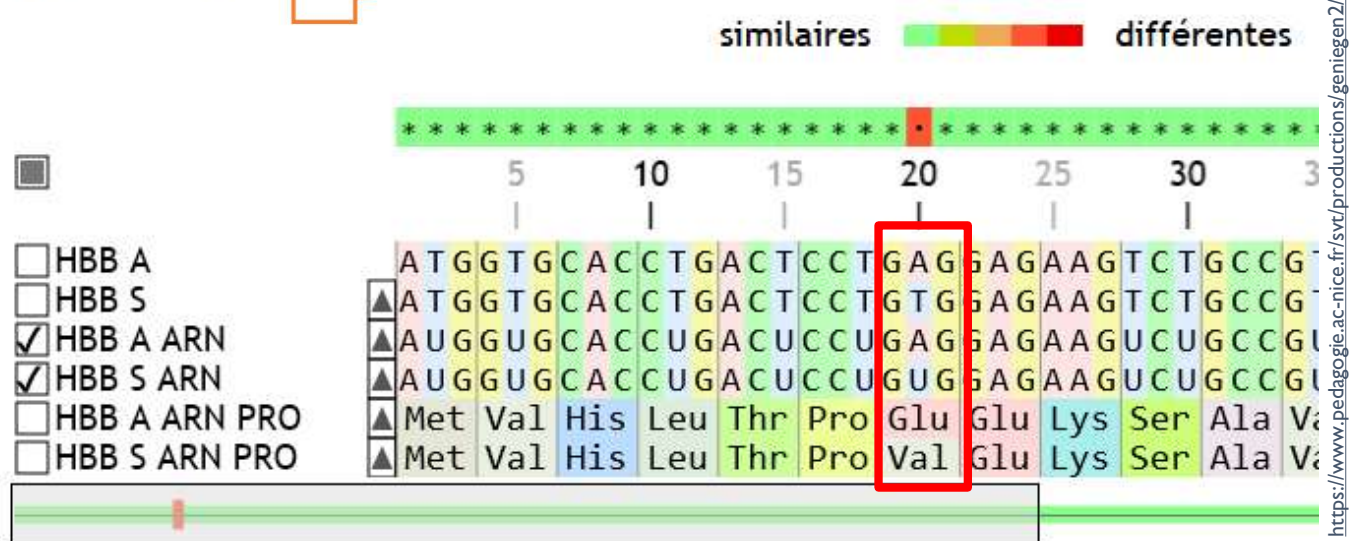
I. Etude de l'hémoglobine

- Hémoglobine (Hb) : protéine de transport d'O₂ dans le sang
- Assemblage de 4 chaînes polypeptidiques : 2 chaînes α (144 AA) + 2 chaînes β (146 AA)
- **Changement d'un nucléotide \Rightarrow changement d'un AA**
- **Graves conséquences fonctionnelles**



Geniegen 2
Ouvrir banque de séquences
Comparaison allèles Hb (drépanocytose)
Charger séquences

Sequence du gène
Séquence de l'ARNm
Séquence de la protéine



II. DES POLYMÈRES SÉQUENCÉS D'ACIDES AMINÉS ; NOTION DE STRUCTURE PRIMAIRE

B. UN ORDRE DÉTERMINÉ GÉNÉTIQUEMENT

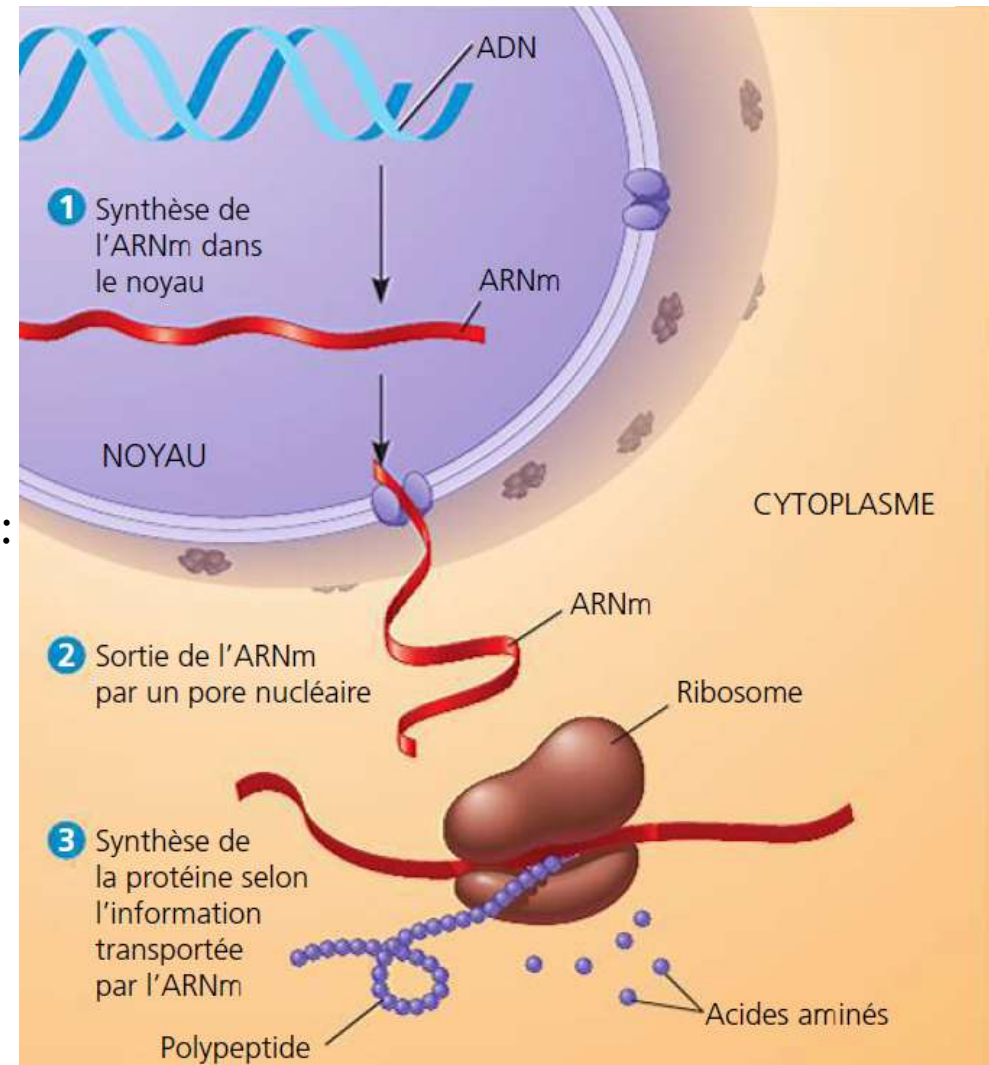


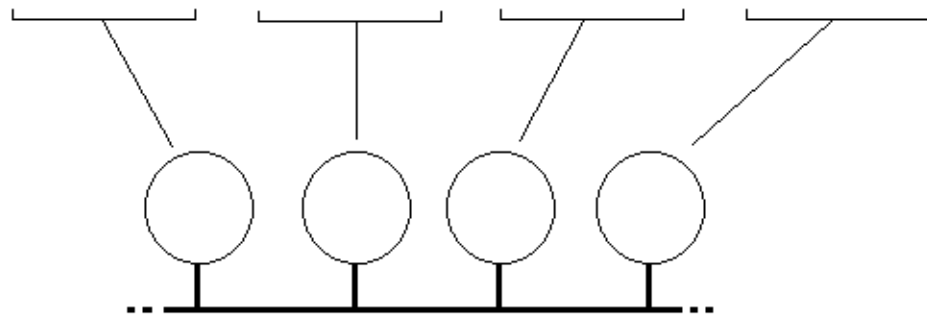
2. Généralisation

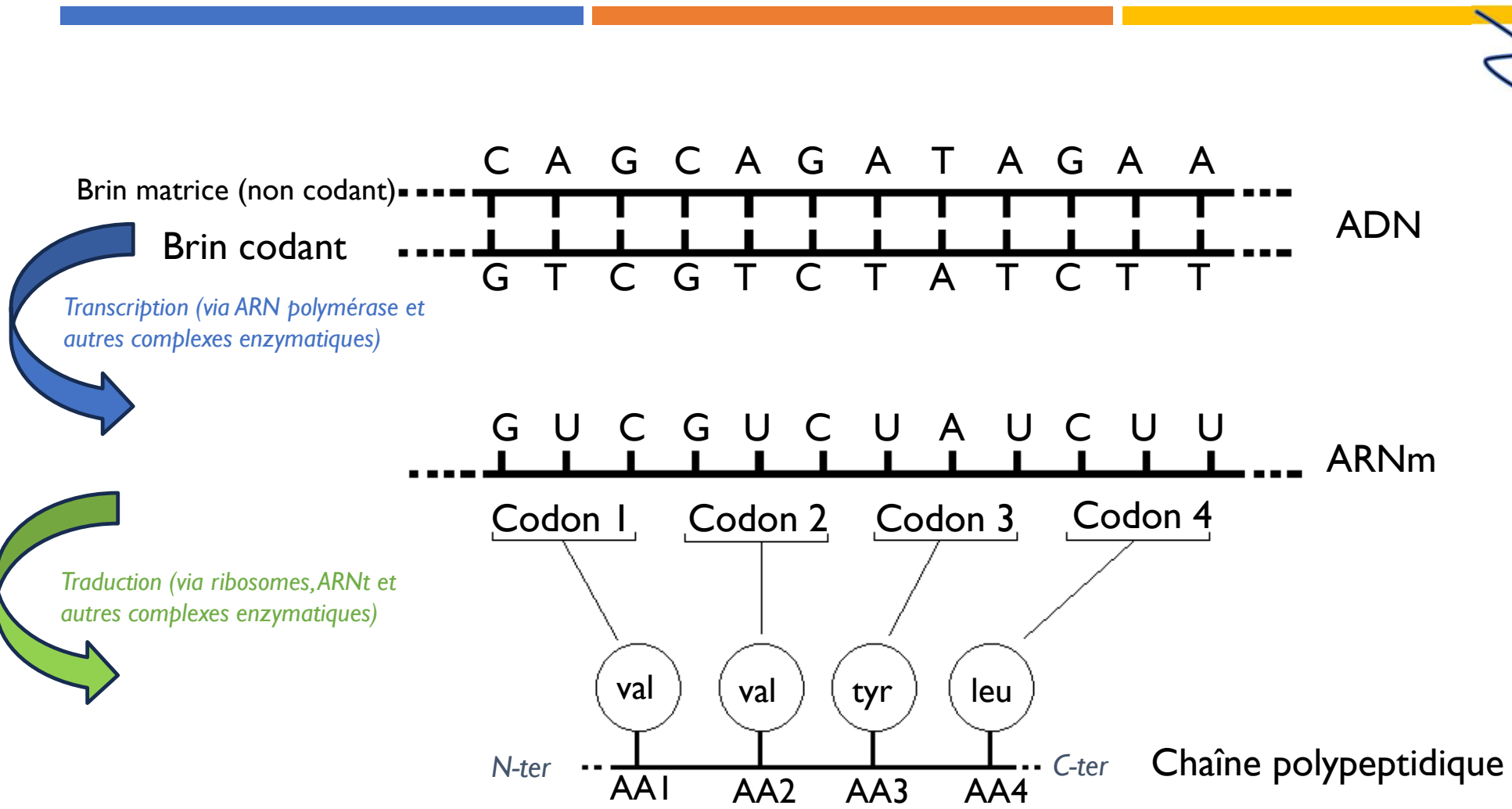
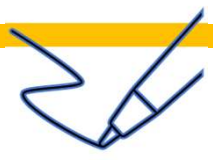
- Séquence d'une protéine déterminée par la séquence du gène correspondant
→ Transmission de l'information génétique de l'ADN à la protéine
- Une modification de la séquence du gène (mutation) a des conséquences variables sur la séquence protéique :
 - Aucun changement
 - Remplacement d'un AA par un autre
 - Ajout/perte d'AA

→ Conséquences fonctionnelles très variables
ex : HbA, HbS

Rem : Toute l'information contenue dans un gène n'est pas retrouvée dans la protéine (introns, 5' et 3'-UTR...)







Une protéine est un polypeptide séquencé, dont l'ordre des A.A. est déterminé par la séquence en codons de l'ARNm, transcrit du brin matrice de l'ADN bicaténaire

Peptide: < 10 aa
Polypeptide: 10 < < 50 aa
Protéine: > 50 aa

II. Des polymères séquencés d'acides aminés ; notion de structure primaire

B. UN ORDRE DÉTERMINÉ GÉNÉTIQUEMENT

3. Cas limites

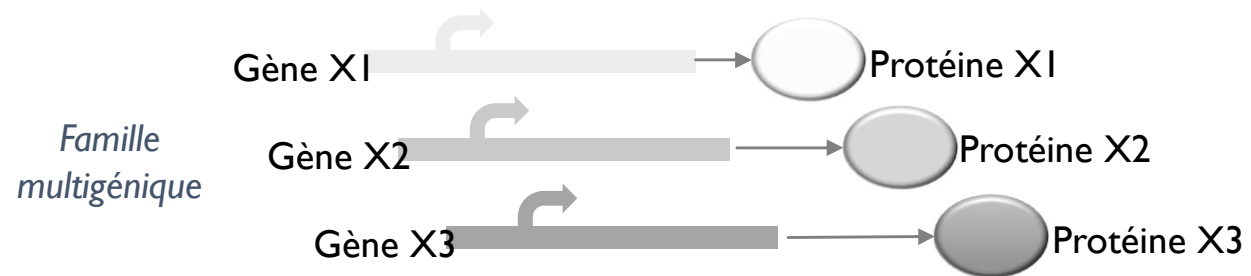
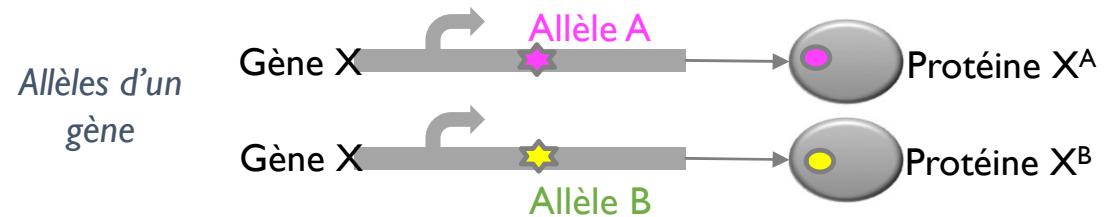
Isoformes : n.f. protéines ayant la même fonction mais des séquences légèrement différentes

- La relation entre gène et protéine ne se résume pas à « 1 gène = 1 protéine »

- Allèles d'un même gène → protéines de séquences \pm différentes
- ✓ Ex: HbA et HbS

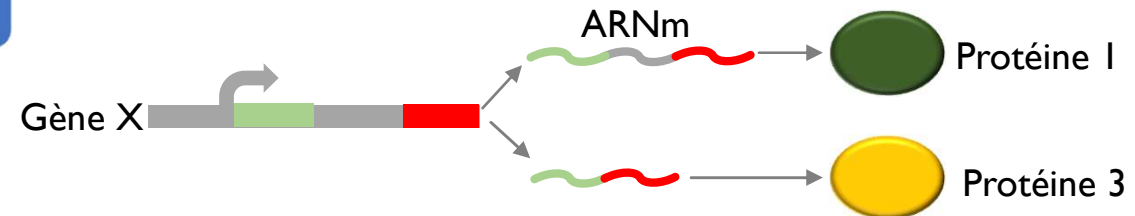
- Famille multigénique → isoformes
- ✓ Ex : opsines des cellules photoréceptrices de la rétine (cône) – vision des couleurs
- ✓ Ex : globines humaines alpha, bêta, gamma, zêta, delta, epsilon

- Epissage alternatif → protéines très différentes



Cf SV-F

Epissage alternatif



Un gène peut donner plusieurs protéines, mais une protéine donnée ne provient que d'un gène

SV-D-2-4 Acides aminés et protéines

I. Les protéines: des polymères d'acides α -aminés associés par une liaison peptidique

- A. Les acides α -aminés précurseurs des protéines
 - 1. Deux fonctions
 - 2. Chiralité et isomères
 - 3. Nomenclature
 - 4. Un carbone central portant un radical variable
 - 5. Une charge dépendant du pH
 - 6. Propriétés physiques des AA
 - 7. Réactivité chimique des AA
- B. Réaction de formation des liaisons peptidiques

II. Des polymères séquencés d'acides α -aminés ; notion de structure primaire

- A. Définition de la séquence primaire
- B. Un ordre déterminé génétiquement

III. Structure tridimensionnelle des protéines

- A. La structure secondaire
- B. La structure tertiaire
- C. La structure quaternaire
- D. Des modifications post-traductionnelles conditionnent la conformation et les propriétés des protéines
- E. La conformation des protéines dépend des conditions physico-chimiques de l'environnement

IV. Les protéines : des polymères à conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

- A. La conformation des protéines peut participer aux propriétés mécaniques des cellules et de leur environnement
- B. Les protéines participent aux échanges de matières entre la cellule et son environnement et entre compartiments cellulaires
- C. Les protéines participent à la communication et à la transduction cellulaire
- D. Les enzymes sont des protéines catalysant les réactions du vivant

III. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTÉINES

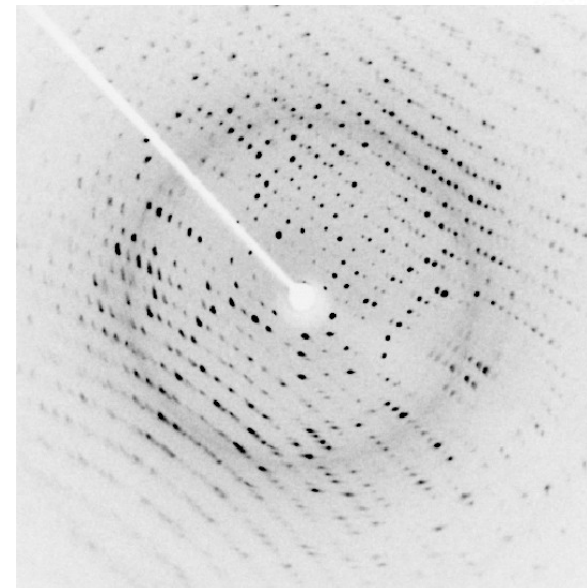
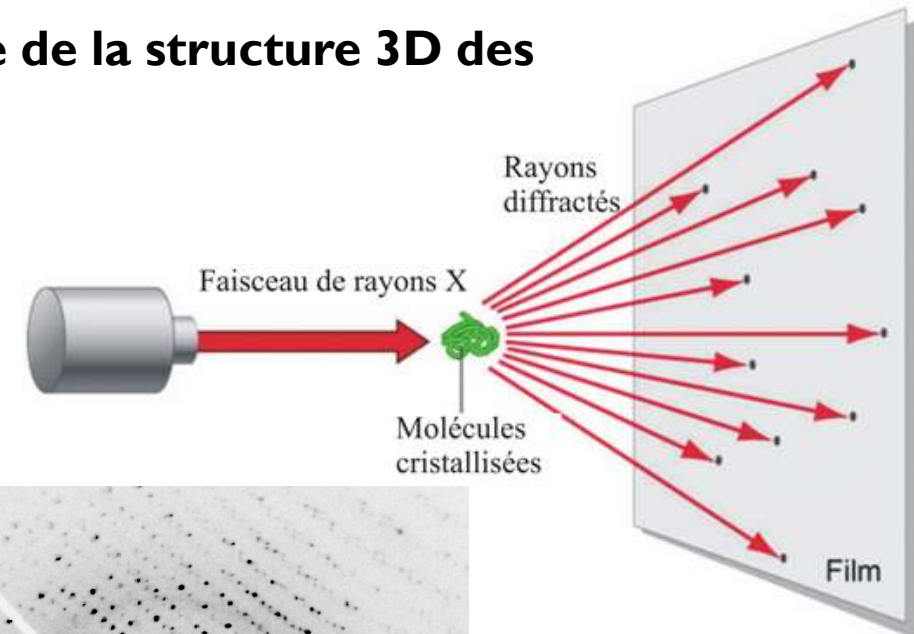


Introduction

- **La cristallographie aux rayons X : méthode d'étude de la structure 3D des protéines**
- Analyse cristallographique des protéines : mise en évidence de structures répétitives
→ notion de **structure secondaire**

Structure secondaire : repliement de la chaîne d'AA en structures répétitives, étirées et stabilisées par des **liaisons H**

- Elle découle du caractère plan de la liaison peptidique → C_{α} joue le rôle de charnière
- Seules quelques conformations possibles (stables) :
 - **hélices,**
 - **feuilletts plissés,**
 - **coudes**



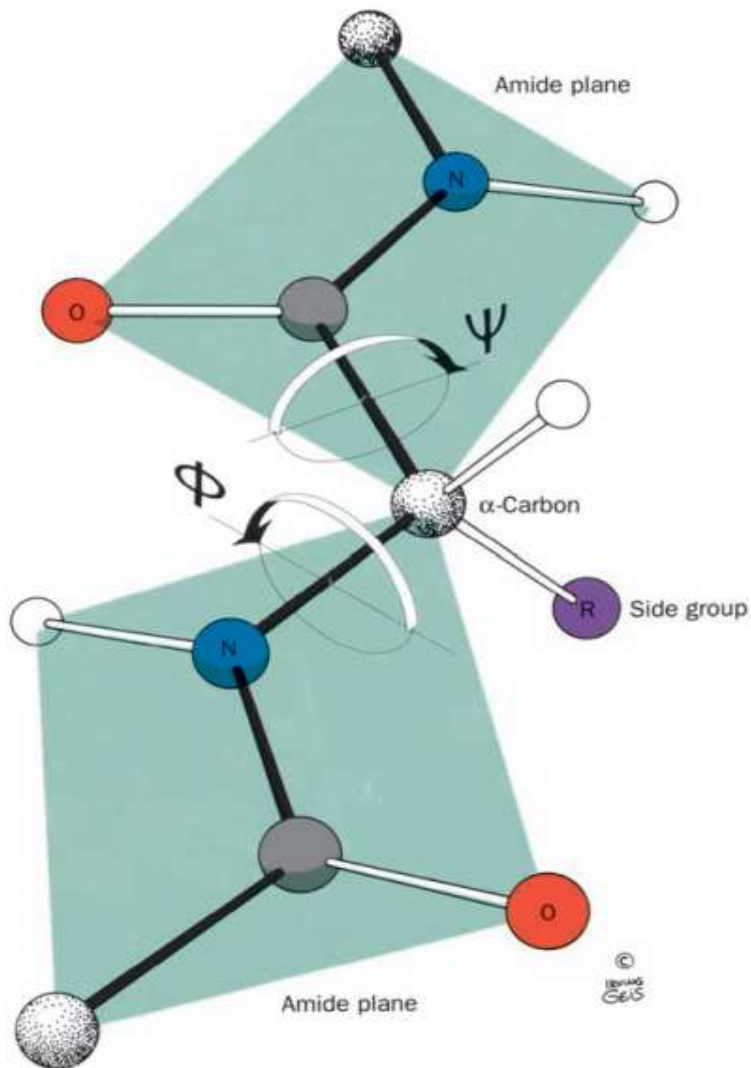



Figure 8-4 The torsional degrees of freedom in a peptide unit. The only reasonably free movements are rotations about the C_{α} -N bond (ϕ) and the C_{α} -C bond (ψ). The torsion angles are both 180° in the conformation shown and increase, as is indicated, in a clockwise manner when viewed from C_{α} . [Illustration, Irving Geis. Image from the Irving Geis Collection, Howard Hughes Medical Institute. Reprinted with permission.]  See Kinemage Exercise 3-1

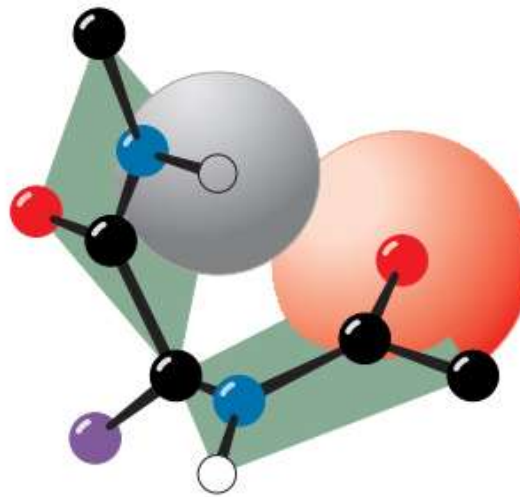



Figure 8-6 Steric interference between adjacent residues. The collision between a carbonyl oxygen and the following amide hydrogen prevents the conformation $\phi = -60^\circ$, $\psi = 30^\circ$. [Illustration, Irving Geis. Image from the Irving Geis Collection, Howard Hughes Medical Institute. Reprinted with permission.]  See Kinemage Exercise 3-1.

- Liaison peptidique plane (plan amide) → pas de rotation possible
- Seules certaines liaisons peuvent subir une rotation:
 - entre N_{Tail} et C_{α} , noté ϕ (phi)
 - entre C_{α} et le C_{Tail} noté ψ (Psi)
 - Analyse des différentes valeurs de ϕ et ψ : diagramme de Ramachandran.
 - **rotation des liaisons C-C et N-C va déterminer les mouvements de la chaîne**
 - ✓ rotation contrainte par l'encombrement stérique : **les radicaux limitent le nombre d'angles** possibles au niveau de ces liaisons
 - ✓ **deux conformations privilégiées : l'hélice alpha et le feuillet bêta.**

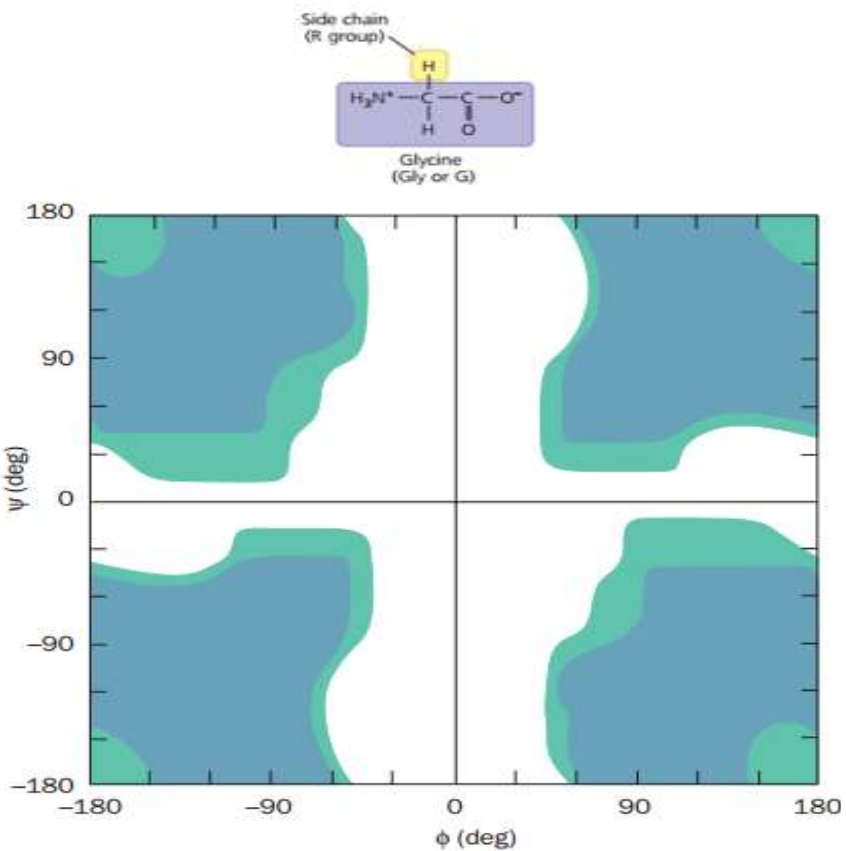


Figure 8-9 The Ramachandran diagram of **Gly** residues in a polypeptide chain. "Normally allowed" regions are shaded in blue

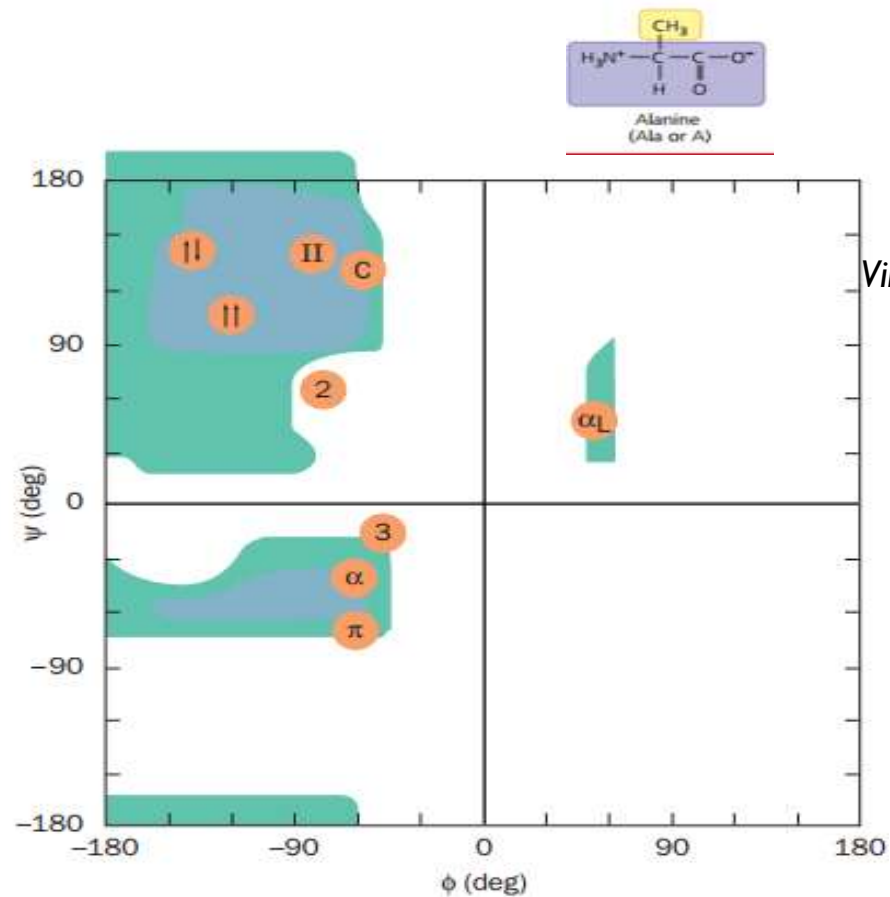
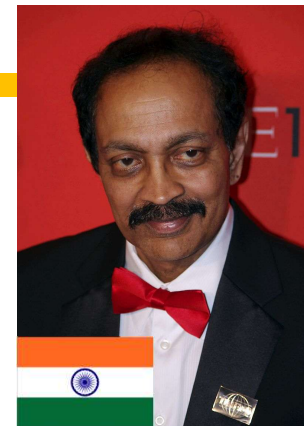


Figure 8-7 The Ramachandran diagram. It shows the sterically allowed ϕ and ψ angles for poly-**L-alanine** and was calculated using the van der Waals distances in Table 8-1. Regions of "normally allowed" ϕ and ψ angles are shaded in blue, whereas



Vilayanur S. Ramachandran

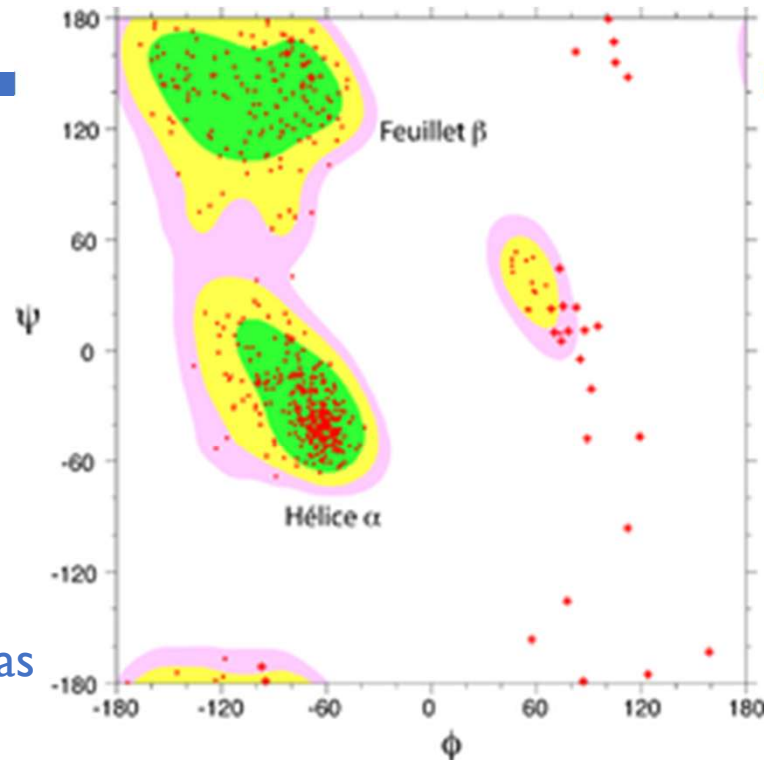
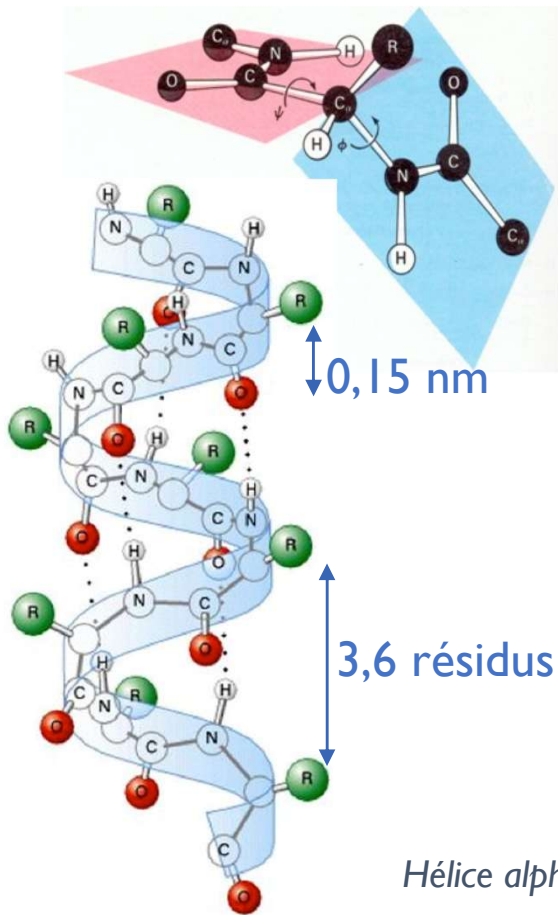
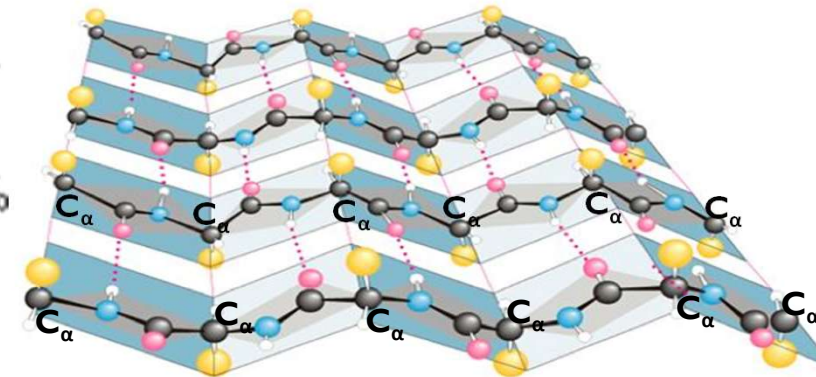


Diagramme de Ramachandran d'une protéine (chaque aa est représenté par un point; les croix correspondent à la glycine)

Les zones énergétiquement favorables sont représentées par des contours colorés



Feuille bêta

- Hélice alpha résulte de la succession d'angles ϕ de -57° et d'angles ψ de -47° .
 - Cette hélice est droite;
 - ✓ c'est à dire que si vous la saisissez dans votre main droite, elle tournerait dans le sens de vos doigts en montant dans la direction du pouce (comme la double hélice de l'ADN).
- L'hélice alpha s'élève de 0,15 nm par résidu et de 0,54nm à chaque tour. Elle compte 3,6 résidus par tour.

- Feuillet bêta constitué de plusieurs brins (parallèles vs anti parallèles)
 - résultat de la succession d'angles ϕ de -145° et d'angles ψ de $+145^\circ$
 - La distance entre chaque brin est de 0,7 nm.
- **Liaisons H sont entre brin et non au sein d'un brin contrairement à l'hélice alpha.**

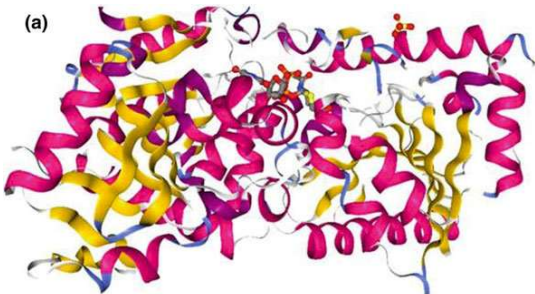
III. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTÉINES



A. STRUCTURE SECONDAIRE

I. Hélice alpha

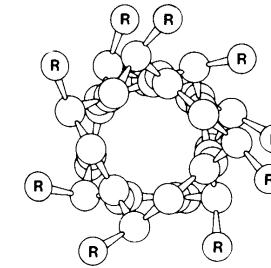
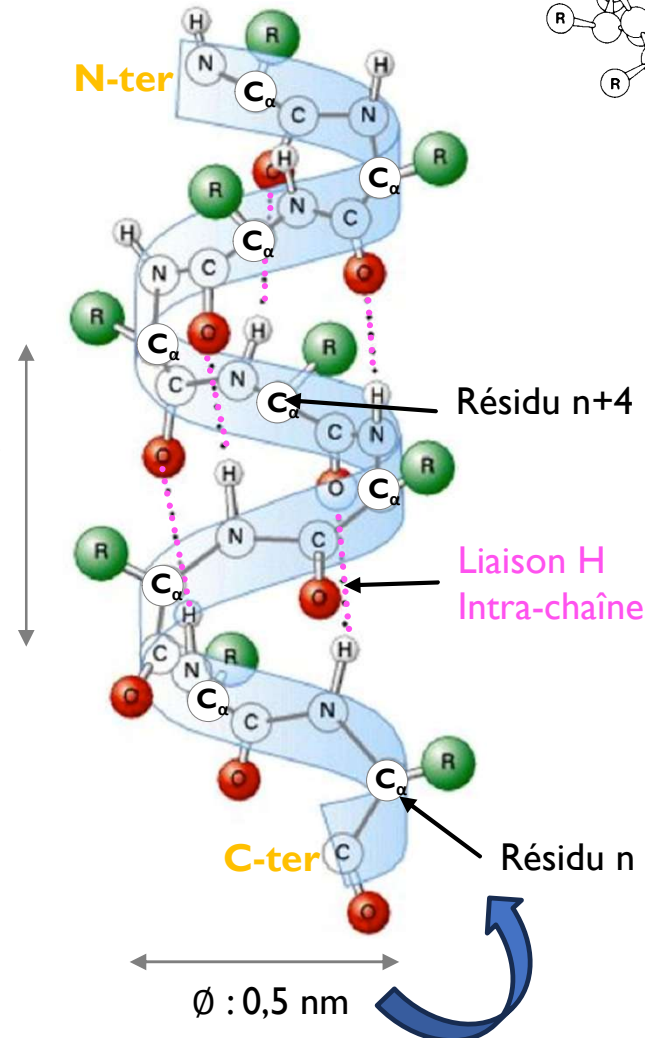
- Hélice dextre
- **Liaisons H** intra-chaînes entre -NH du résidu n et -C=O du résidu n+4
- **Chaînes latérales de l'AA** vers l'extérieur
- Riche en AA apolaires, avec chaînes latérales courtes
 - (Ex : Gly, Ala)



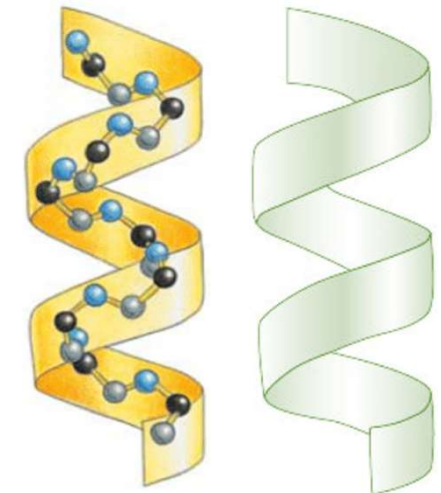
BCPST1 - ENCPB - STÉPHANIE DALAINE

Exemple de l'**alpha-kératine**, faite exclusivement d'hélices alpha

Hélice dextre



Structure d'une hélice alpha



Représentations simplifiées d'hélices alpha

III. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTÉINES

A. STRUCTURE SECONDAIRE

2. Feuillet bêta

- Feuillet plissé fait de plusieurs **brins bêta**, orientés (N-ter → C-ter) :

- parallèles
- antiparallèles

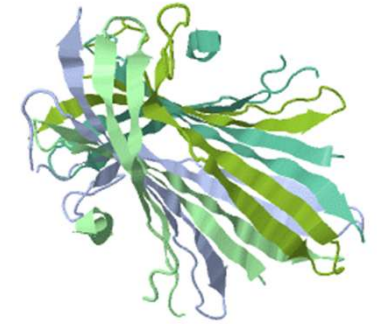
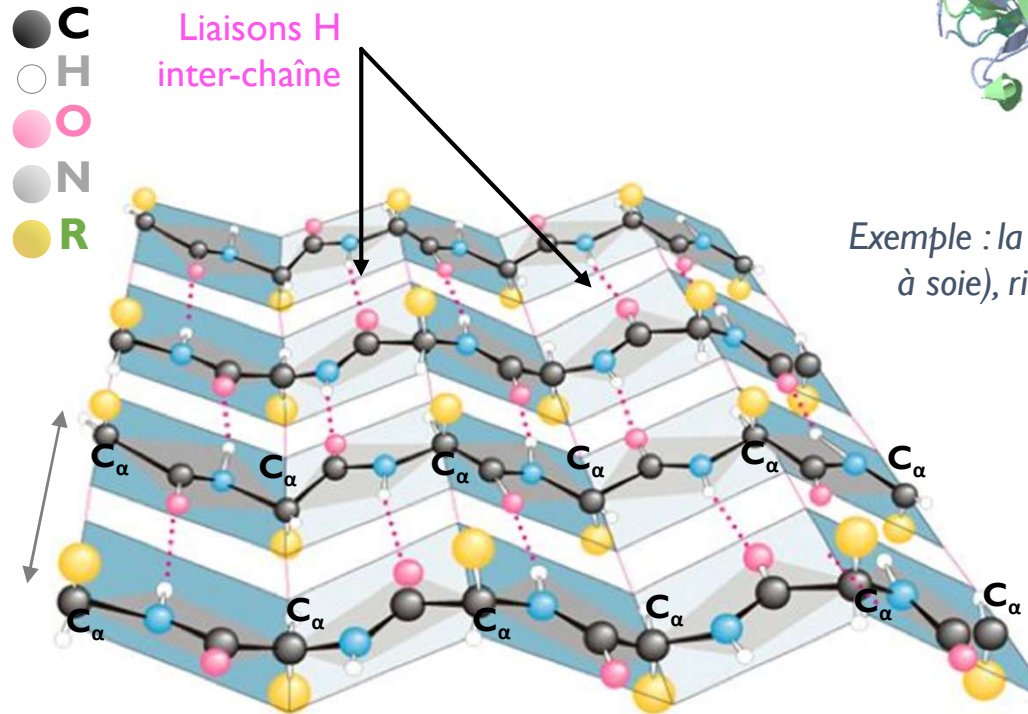


- Liaisons H inter-chaînes entre -C=O d'un résidu d'une chaîne et -NH d'un résidu d'une autre chaîne

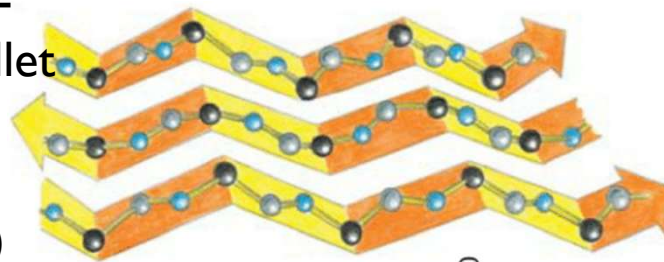
- Chaîne R alternativement au-dessus et au-dessous du feuillet

- Riches en AA apolaires (aromatiques et aliphatiques)

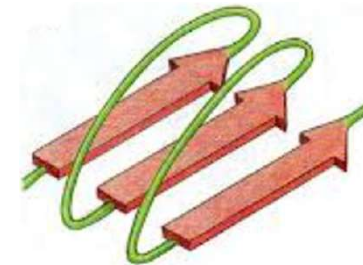
- Ex : Phe, Trp, Tyr / Ile, Val)



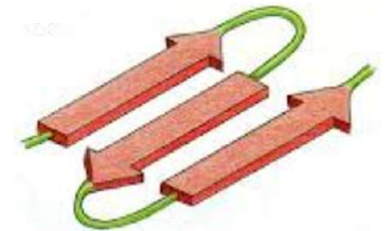
Exemple : la fibroïne de la soie (vers à soie), riche en feuillets beta



Feuillet antiparallèle



Feuillet parallèle



Feuilles antiparallèle

III. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTÉINES

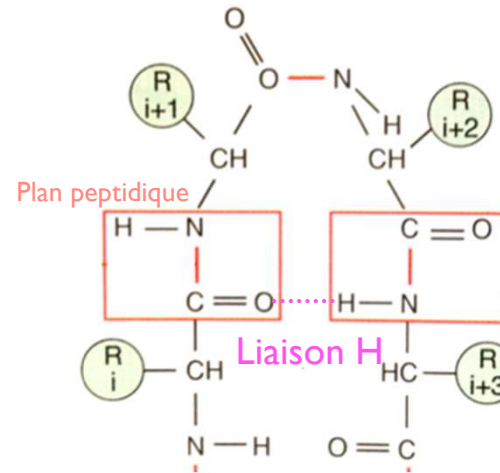
A. STRUCTURE SECONDAIRE

3. Boucles ou coudes

- Les **boucles** ou **coudes** servent de jonction entre les hélices et les feuilletts
 - stabilisé par des liaisons H
 - 2 à 4 résidus entre les 2 AA de la liaison H
 - Riches en Pro et Gly
- Formation de **superstructures secondaires** : combinaisons de structures II, reliées par des régions non structurées (mobiles et flexibles)

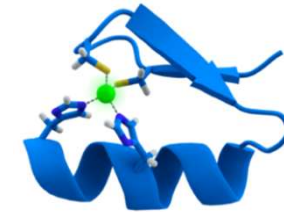
Motif : n.m. arrangement 3D d'au moins 2 structures II ayant une signification fonctionnelle ou faisant partie d'un domaine protéique

Domaine : n.m. sous-partie d'une protéine porteuse d'une **fonction particulière**, capable d'adopter sa structure de façon autonome du reste de la protéine
→ module autonome et indépendant

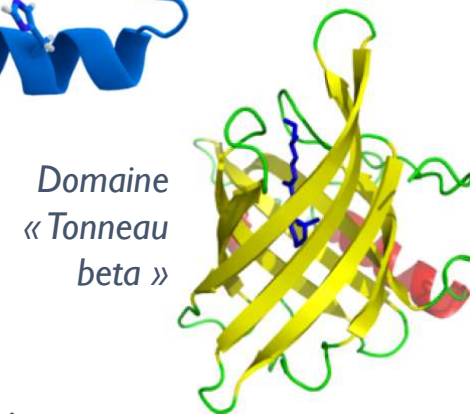


Le Coude β , un exemple de coude

Exemples de motifs

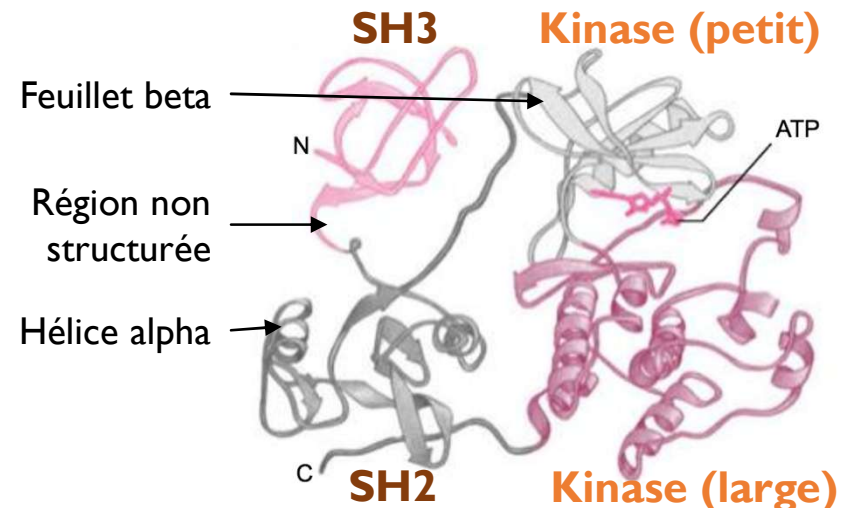


Motif « Doigt de zinc »



Domaine « Tonneau beta »

Exemples d'une protéine à plusieurs domaines : la protéine Src



En marron : noms des domaines
SH2 reconnaît Tyr phosphorylée et SH3 des peptides riches en Pro

III. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTÉINES

A. STRUCTURE SECONDAIRE

4. Application

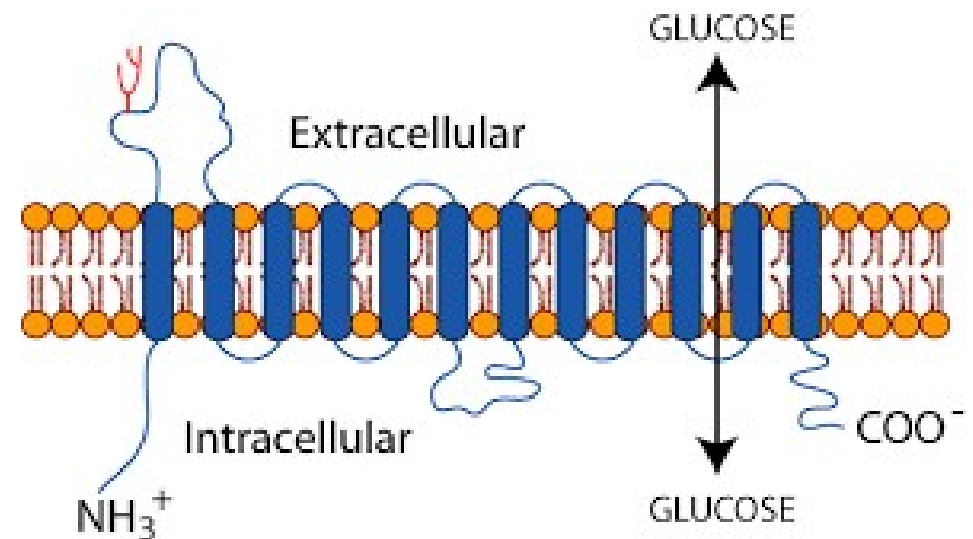
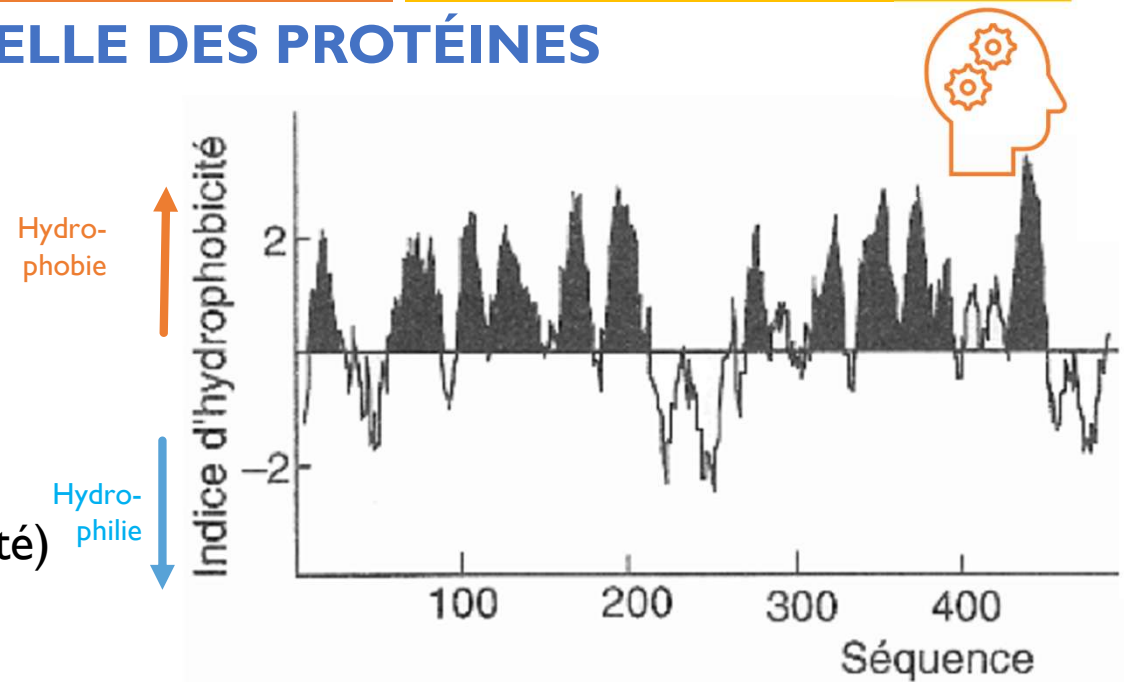
- **Prédiction d'hélices alpha par étude du profil d'hydrophobie des protéines**

- **Profil d'hydrophobie** (ou d'hydrophobicité)

= Représentation du niveau d'hydrophobie des AA le long de la séquence protéique

- ✓ Prédiction de régions hydrophobes
- ✓ Hélices alpha transmembranaires

- Interprétation : si **> 20 AA hydrophobes consécutifs** (rappel: 3,6 aa par pas de 0,54 nm et épaisseur hydrophobe de bicouche: 3 nm)
→ **hélices alpha transmembranaires**



Profil d'hydrophobicité du transporteur facilité de glucose et interprétation

STRUCTURE SECONDAIRE - BILAN



C'est le repliement de la chaîne d'AA en structures répétitives, étirées et stabilisées par des **liaisons H**

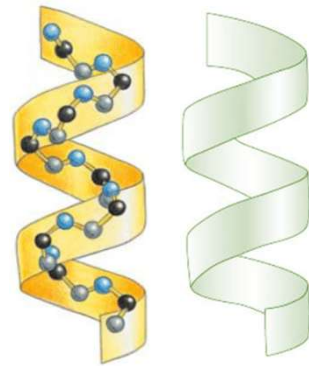
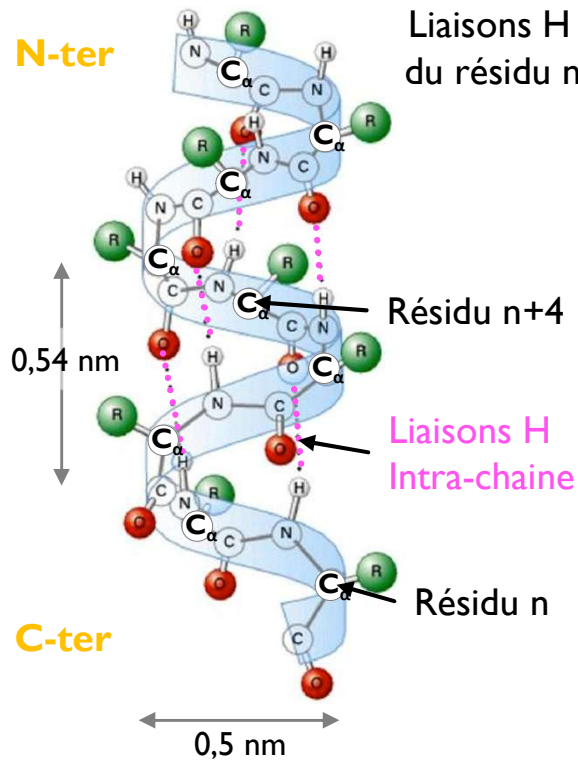
Hélice α

Hélice dextre

Hélice dextre

Liaisons H intra-chaines entre -NH du résidu n et -C=O du résidu n+4

Chaines R vers l'extérieur

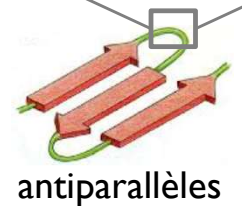
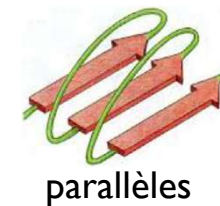
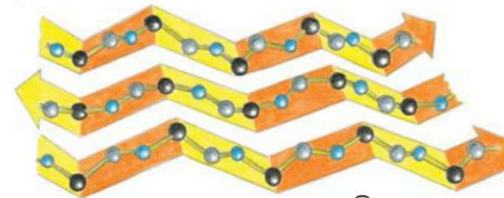
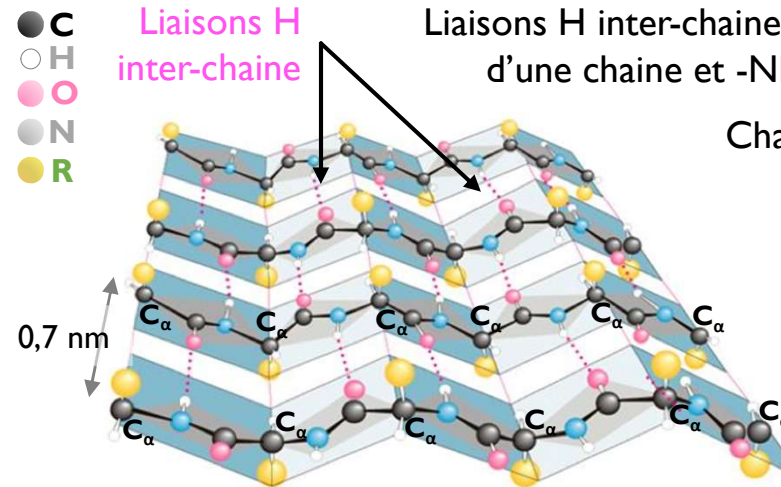


Feuillet β

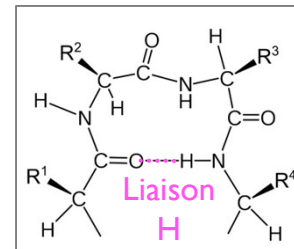
Feuillets plissés, parallèles ou antiparallèles

Liaisons H inter-chaines entre -C=O d'un résidu d'une chaîne et -NH d'un résidu d'une autre

Chaîne R alternativement au-dessus/dessous du feuillet



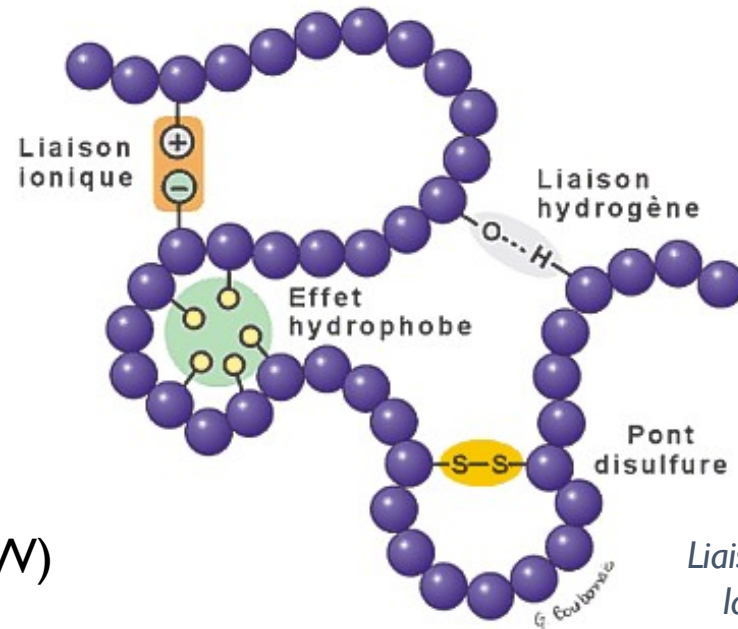
Coude β



B. STRUCTURE TERTIAIRE

I. Définition et généralités

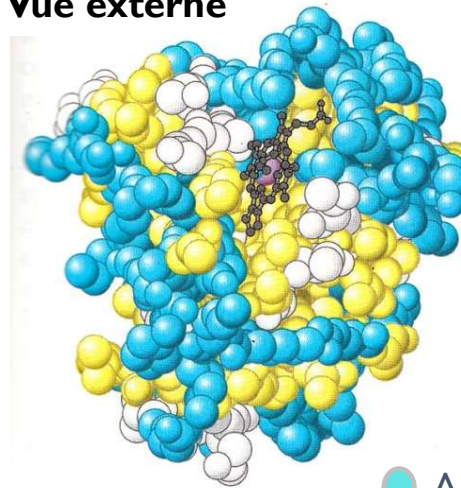
- C'est **forme 3D** de la protéine.
- Stabilisée par :
 - Des liaisons **faibles** (H, ioniques,VDW)
 - Des liaisons **covalentes** : **ponts disulfures** entre **2 Cys**, solides mais remodelables :
 - ✓ Oxydation → formation
 - ✓ Réduction → rupture
- La **forme 3D** adoptée par la protéine est **la plus stable** (~minimum de répulsion avec l'eau)
 - **AA polaires** → vers l'extérieur
 - **AA apolaires** → vers l'intérieur
- La position spatiale d'un AA est plus importante que sa position dans la séquence.



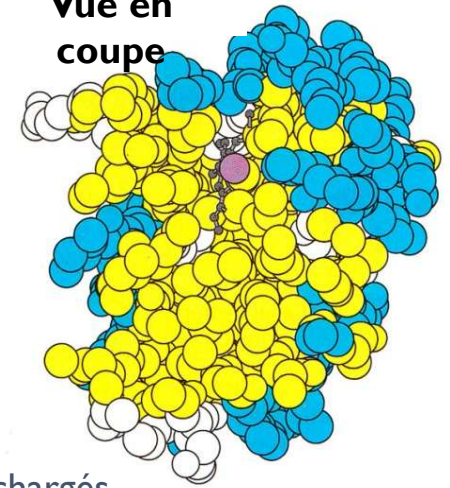
Liaisons stabilisatrices de la structure tertiaire



Vue externe

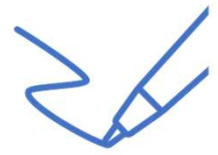


Vue en coupe



- AA chargés
- AA hydrophobes
- autres AA

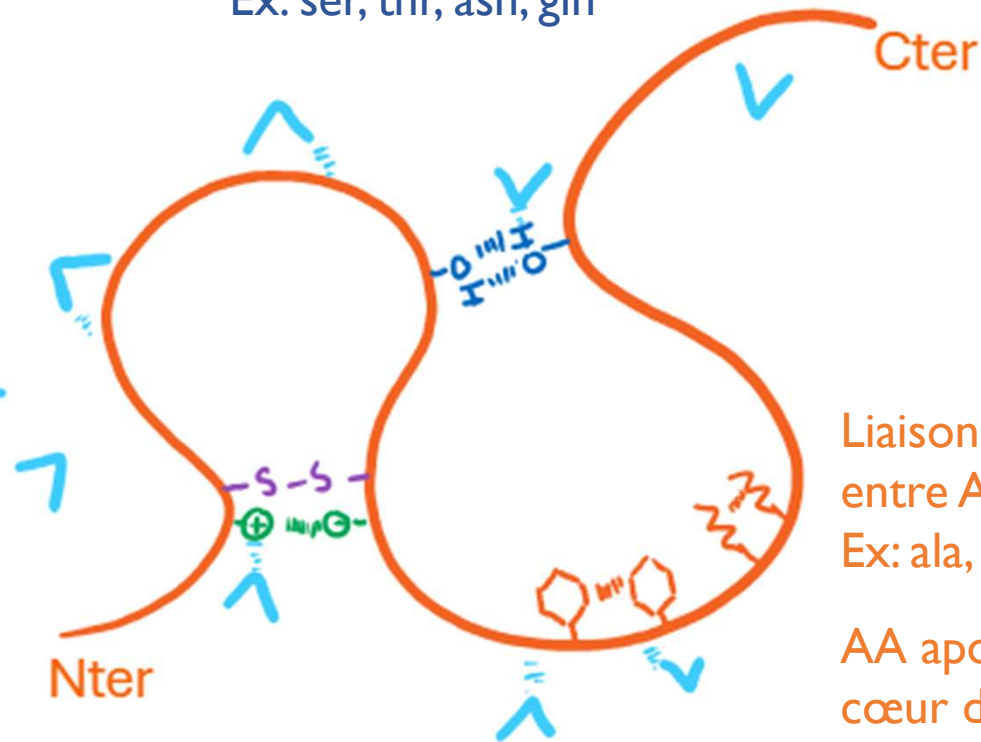
Localisation des AA dans une protéines selon leurs propriétés



Liaison H entre AA
polaires neutres
Ex: ser, thr, asn, gln

Pont disulfure (par
oxydation) entre AA
soufrés
Ex: cys

Liaison ionique entre AA
polaires chargés
Ex: asp, glu, his, arg, lys



Liaison Van der Waals (London)
entre AA apolaires
Ex: ala, phe, leu, iso

AA apolaires au
cœur de la protéine
soluble

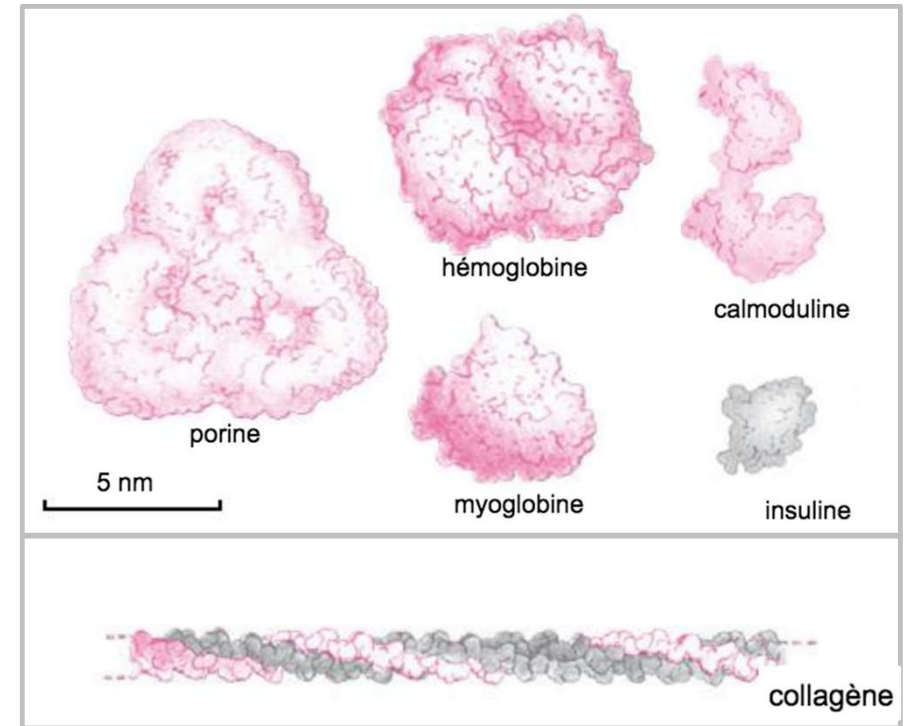
La conformation tertiaire d'une protéine repose sur des interactions de faible énergie entre les résidus des AA

B. STRUCTURE TERTIAIRE



I. Définition et généralités

- Grande diversité de tailles et de formes
→ 2 grandes catégories : protéines **globulaires** et **fibreuses**
- Protéine **native** = forme fonctionnelle, la plus stable qui est obtenue par les liaisons faibles/covalentes
- Protéine **dénaturée** = ayant perdu sa forme native (rupture des liaisons stabilisatrices)
→ Dénaturation par :
 - Changements de température
 - Changements de pH
 - Traitements chimiques
- La structure III est non figée
→ les **protéines « vibrent »** en permanence



Protéines globulaires	Protéines fibreuses
+/- sphériques	Longues chaînes
Peu stables	Stables
Solubles	Insolubles
~protéines d'interactions	~ protéines de structure
<i>Ex: Myoglobine, hémoglobine, laminine, calmoduline, insuline</i>	<i>Ex: collagène, kératine, spectrine</i>

B. STRUCTURE TERTIAIRE

I. Définition et généralités

SARS-CoV-2
(COVID-19)

B. STRUCTURE TERTIAIRE

2. Expérience historique d'Anfinsen

- **Ribonucléase** = enzyme qui hydrolyse les ARN

- 124 AA
- 4 ponts disulfures

- **Expérience :**

1. Mélange de ribonucléase + urée + β -mercaptoéthanol

→ dénaturation

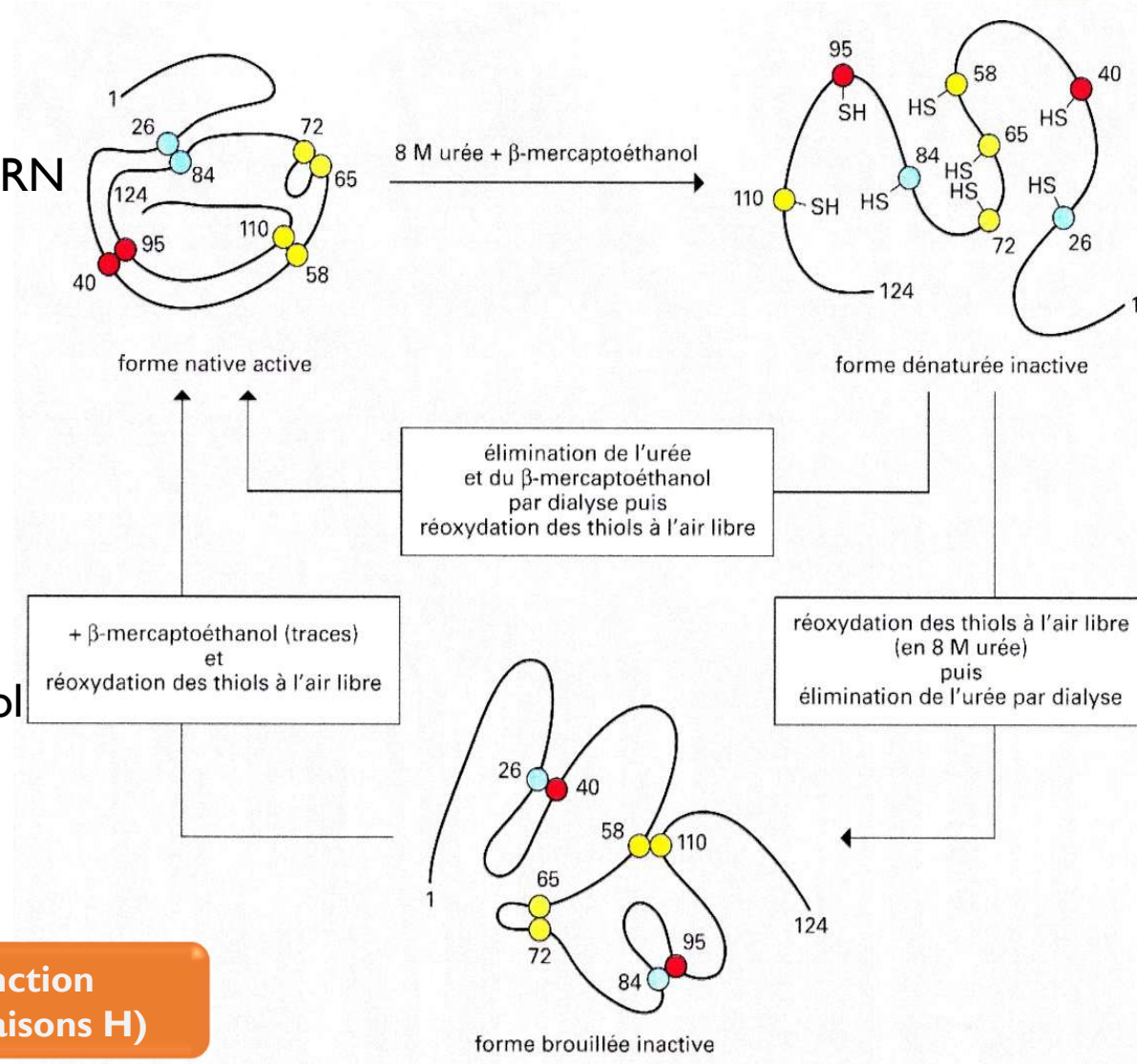
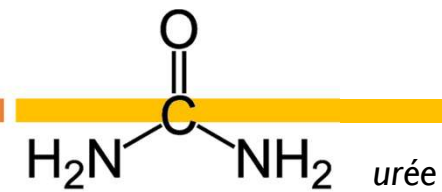
→ activité ribonucléase perdue

2. Extraction de l'urée et du β -mercaptoéthanol par dialyse

→ renaturation

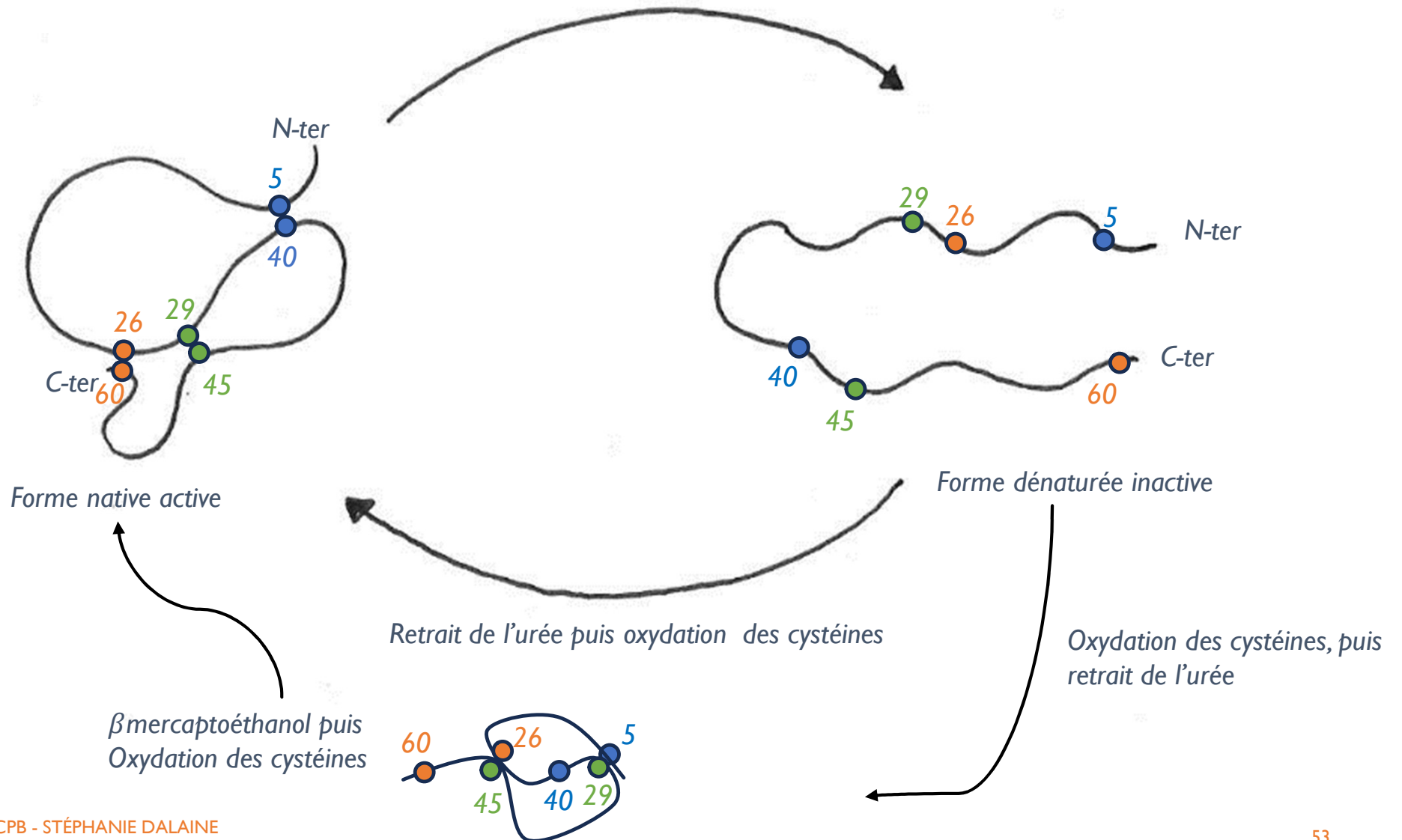
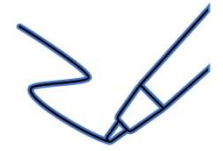
→ activité ribonucléase retrouvée

→ La forme de la protéine est étroitement liée à sa fonction
→ La molécule acquiert elle-même sa structure 3D (liaisons H)



Expérience d'Anfinsen et structure 3D de la ribonucléase

Urée (déstabilisation des liaisons H) +
 β mercaptoéthanol (agent réducteur=> destruction des ponts disulfures)



PONTAGES CHIMIQUES ET STRUCTURE TERTIAIRE



- On connaît de nombreuses enzymes contenant des **groupements sulfhydryles actifs** au niveau des résidus cystéine.
 - Ces groupements sont **facilement oxydés** par des ions métalliques lourds tels que le **Pb²⁺** ou **Hg²⁺**.
- De telles réactions **inhibent irréversiblement l'activité enzymatique** ce qui constitue la base biochimique de l'empoisonnement au plomb ou au mercure.
- Dans l'industrie des chapeaux en feutrine, on partait de fourrures en poils de lapin ou de lièvre que l'on transformait en feutrine avec **des sels de mercure**.
$$-SH + Hg^{2+} + HS- \rightarrow S-Hg-S + 2 H^+$$
 - Les sels de mercure provoquent la **rupture de la structure moléculaire** et les rendaient plus douces au toucher. L'air ambiant était contaminé par **les vapeurs de mercure à l'origine de pathologies nerveuses chez les ouvriers**.



Le chapelier fou d'Alice : un empoisonnement au plomb ?



B. STRUCTURE TERTIAIRE

3. Repliement (=folding)

- Toute **l'information** nécessaire pour déterminer la **forme native** d'une protéine se trouve dans sa **séquence**.

Paradoxe de Levinthal

En théorie : si une protéine devait tester, au hasard, toutes les positions possibles (rotations) pour trouver la forme la plus stable, cela prendrait un temps quasi-infini.

Or en général c'est < 1 sec.

→ Le repliement ne se fait pas au hasard

→ Processus **coopératif** : la mise en place de quelques motifs facilite le reste

Comment les protéines acquièrent-elles leur forme ?

B. STRUCTURE TERTIAIRE

3. Repliement (=folding)



dV5s6v2v8Q

B. STRUCTURE TERTIAIRE

3. Repliement (=folding)

Localisation des AA selon leur polarité
(cas des protéines globulaires hydrophiles)

AA apolaire > interne	Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp
AA polaire > externe	Asp, Glu, Asn, Gln, Lys, Arg, His,
AA modérément polaire > interne ou externe	Ser, Thr, Cys, Pro, Gly, Ala, Tyr

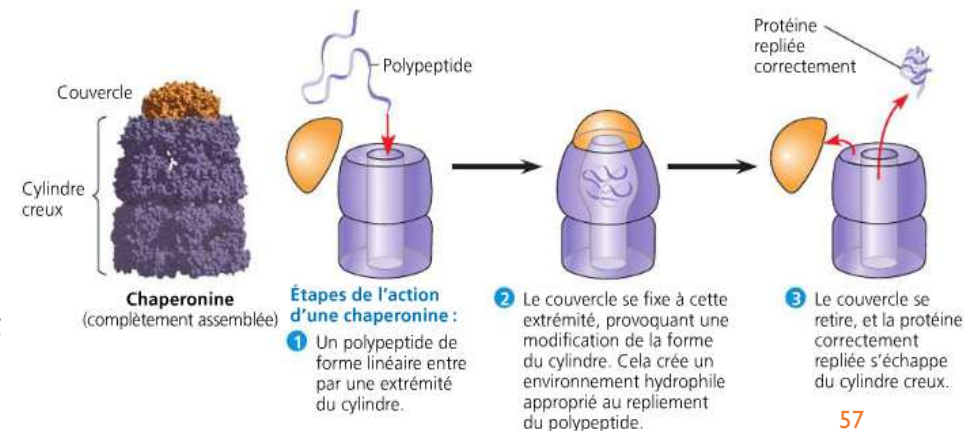
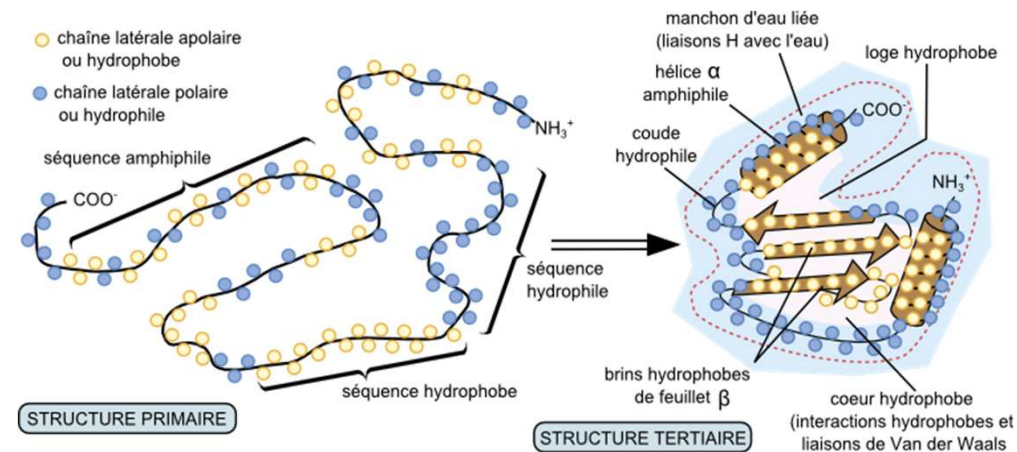
- Toute l'**information** nécessaire pour déterminer la **forme native** d'une protéine se trouve dans sa **séquence**.

- Le repliement est :

- séquentiel et coopératif
- contrôlé par les **interactions hydrophiles/hydrophobes** eau/AA ou AA/AA
 - moteur du repliement
- La position finale des AA dépend de leur **polarité**
- Obtention de la forme la **plus stable** (native)

- Rôle des protéines **chaperonnes** pour les grosses protéines

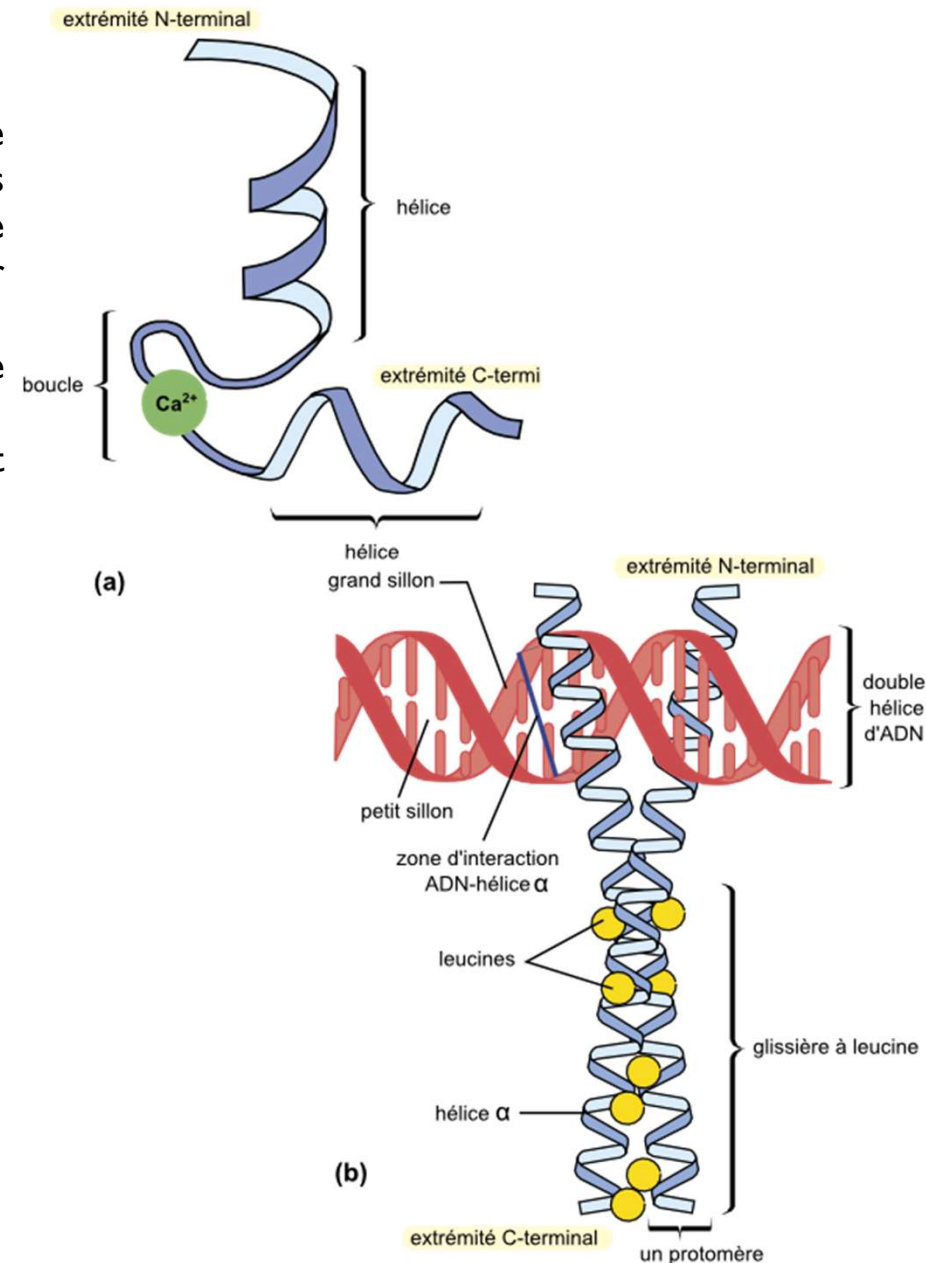
- Rôle de la **disulfure isomérase**



Les chaperonnes guident le repliement des grosses protéines

STRUCTURE TERTIAIRE - BILAN

- Structure III = structure adoptée dans l'espace par une chaîne polypeptidique lorsqu'on tient compte non seulement des **liaisons H** réalisées par les éléments de la liaison peptidique **mais aussi des liaisons de toute nature** que les radicaux peuvent établir entre eux et avec les molécules de leur environnement.
- Elle correspond à la **conformation tridimensionnelle globale biologiquement active** d'une protéine.
 - Les différentes unités relativement indépendantes d'une protéine sont appelées **domaines**.
- Les études structurales comparatives ont permis de constater que beaucoup de protéines étaient constituées de l'assemblage de motifs, portions de chaînes polypeptidiques de **20 à 3000 résidus** d'architecture déterminée et à la fonction précise. Ces structures appelées parfois supersecondaires sont au nombre de quelques centaines. Citons en exemples :
 - **motif hélice – boucle ou coude – hélice** : le plus simple. C'est un site de liaison des ions Ca^{2+} qui est commun à des protéines de régulation comme la calmoduline ou à des protéines impliquées dans le mouvement comme la troponine.
 - Le motif nommé « **glissière à leucine** » : le domaine en hélice α est bordé de résidus leucine. Il est présent chez certains facteurs de transcription qui se lient à l'ADN en des sites particuliers. Cette protéine agit à l'état de dimère par association de 2 hélices α grâce à des interactions hydrophobes.



Structures supersecondaires associant plusieurs motifs secondaires (J. Segarra)

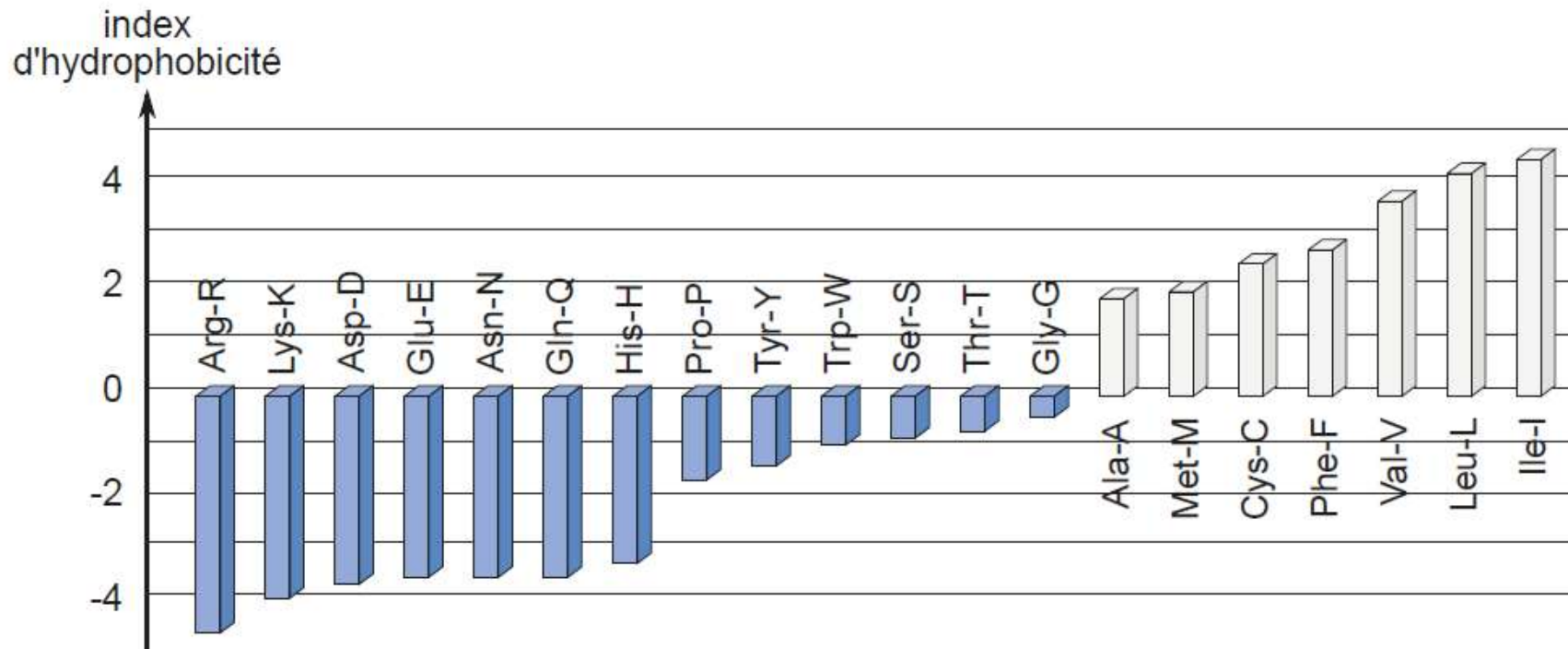
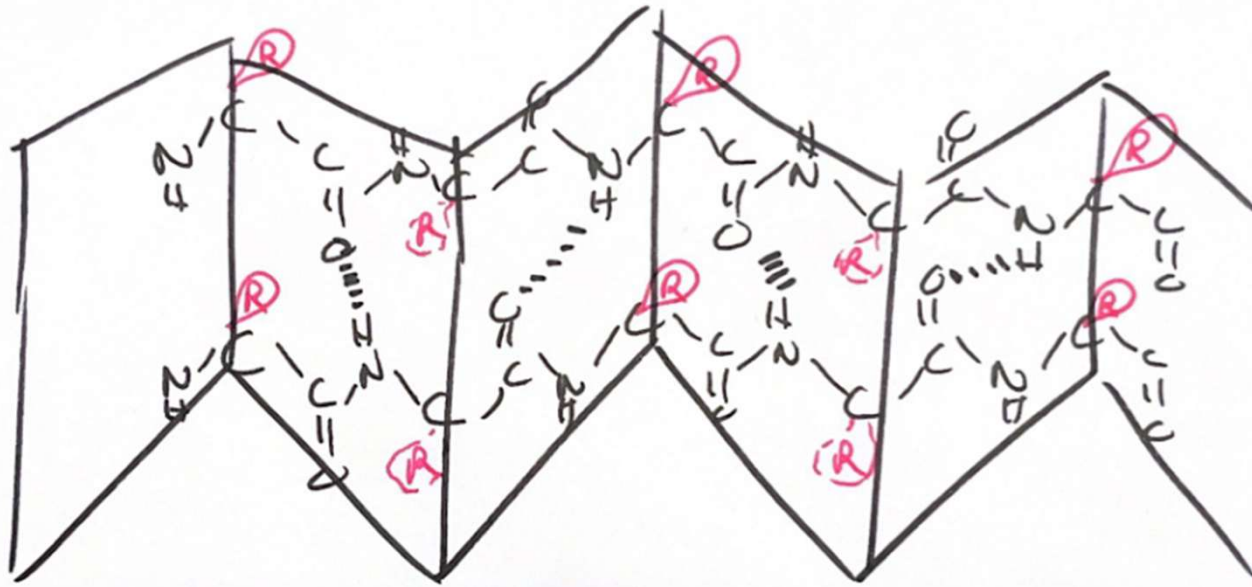
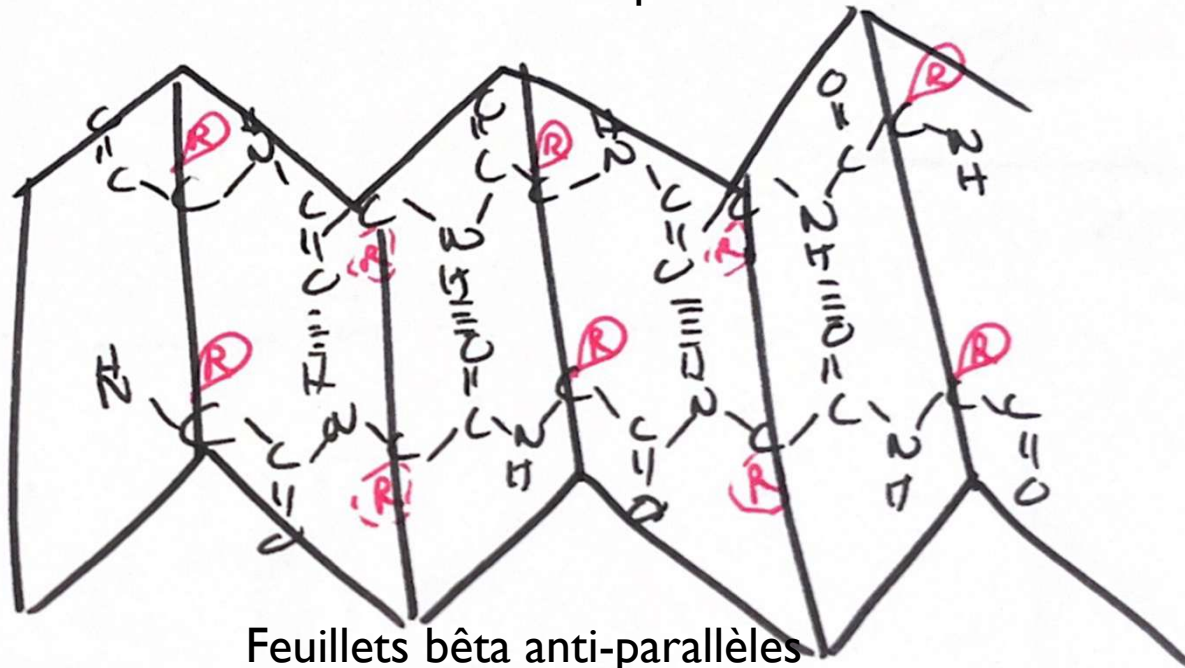


Figure 9.16 L'index d'hydrophobicité des vingt acides aminés.

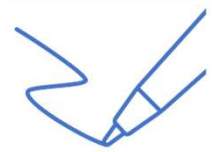
Les acides aminés sont identifiés par leur code à une lettre et à trois lettres (D'après Kyte et Doolittle).



Feuillets bêta parallèles



Feuillets bêta anti-parallèles



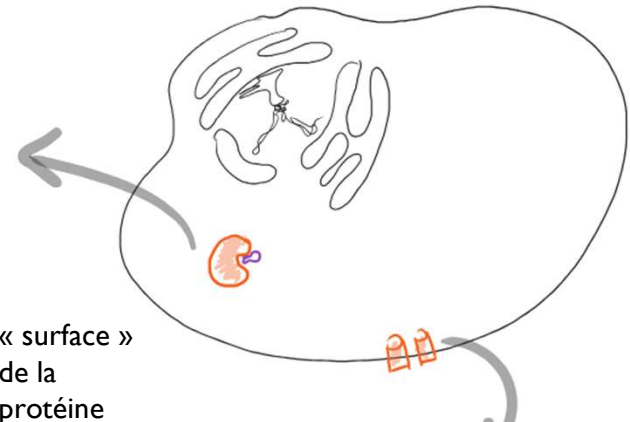
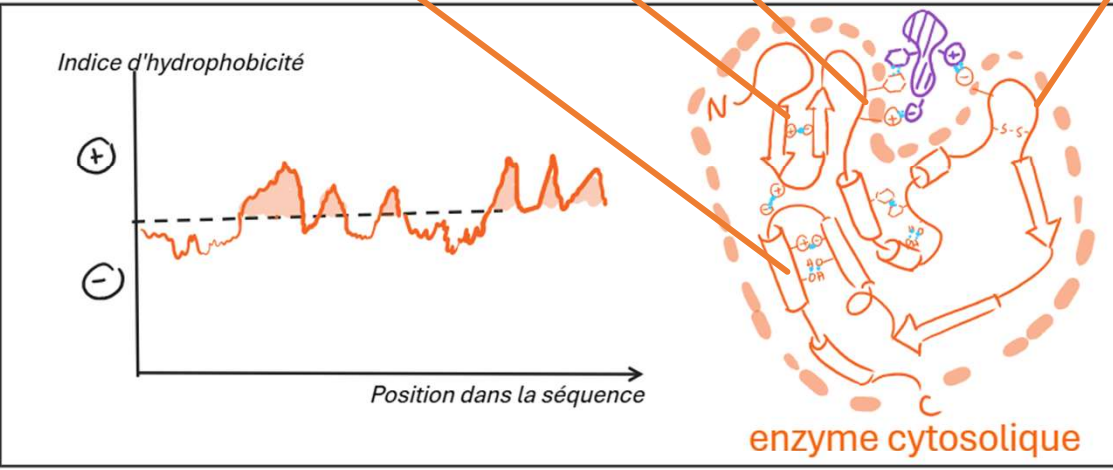
Interactions ioniques entre AA chargés

Liaisons VdW entre groupements hydrophobes

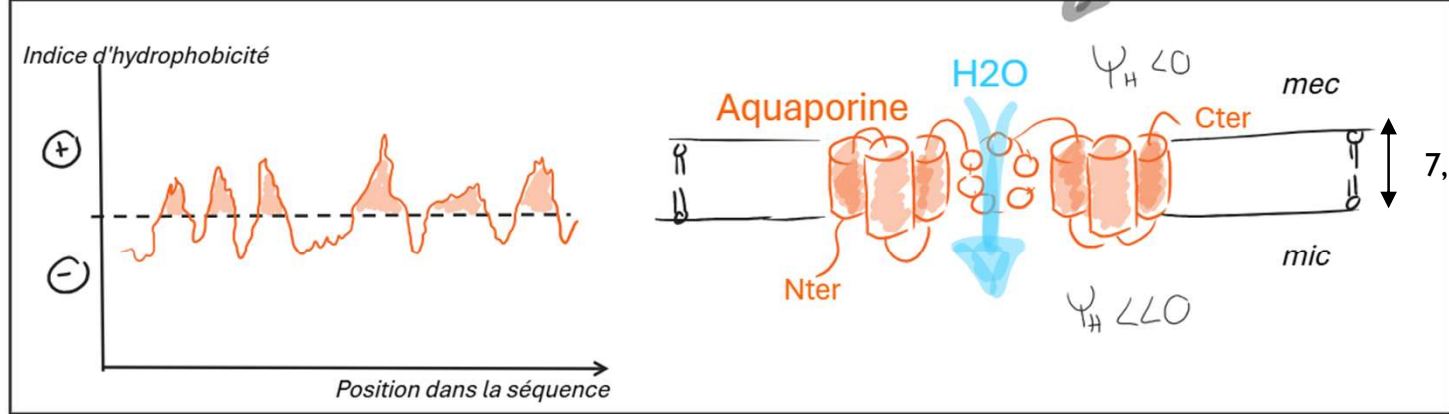
Liaisons H entre groupements polaires/ hydrophiles

Radical interagissant spécifiquement avec un ligand

S-S ponts disulfures entre AA soufrés



Étude des protéines membranaires par profil d'hydropathie



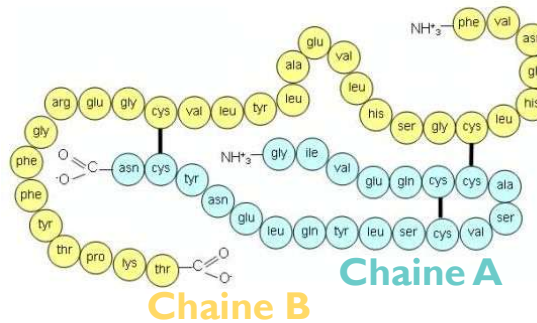
C. STRUCTURE QUATERNAIRE



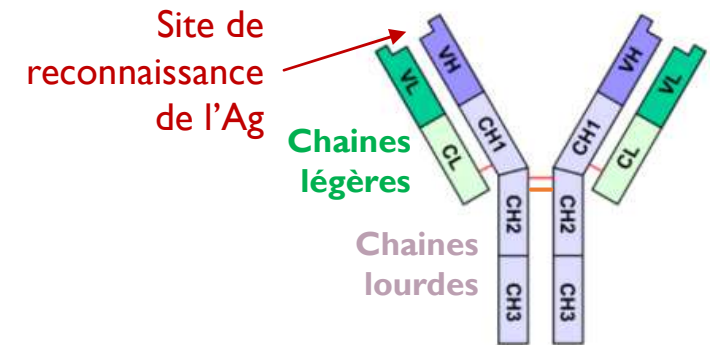
- C'est l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques : les sous-unités ou **monomères** ou protomères
 - Types de liaisons entre sous-unités :
 - souvent liaisons faibles
 - parfois des ponts disulfures
 - Structure dynamique
 - **transconformations** possibles, sous-tendues par des modifications de liaisons faibles
 - ✓ Ex : hémoglobine
- Émergence de nouvelles propriétés
- Structure – Ex : anticorps
 - Coopérativité – Ex : hémoglobine

Vocabulaire

Nombre de sous-unités :		Types de sous-unités :
Protéine oligomérique	• 2 → dimère • 3 → trimère	• Identiques : Homo- • Différentes : Hétéro-
Protéine polymérique ou multimérique	• 4 → tétramère • n → Complexe moléculaire	

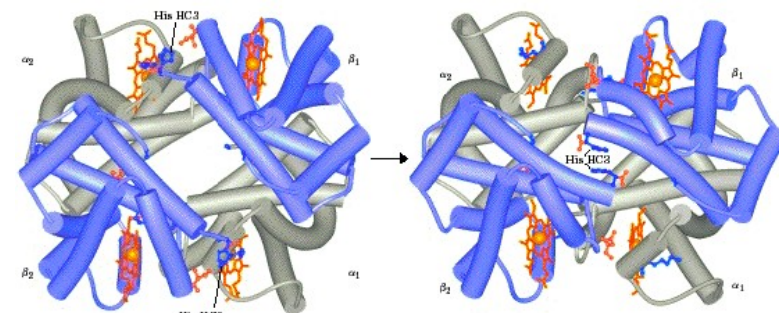


Ponts disulfures de l'insuline



Structure IV des anticorps

Structure IV de l'hémoglobine



→ Libération d'O₂

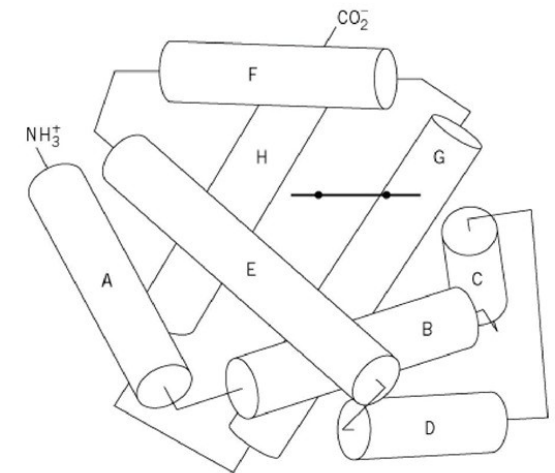
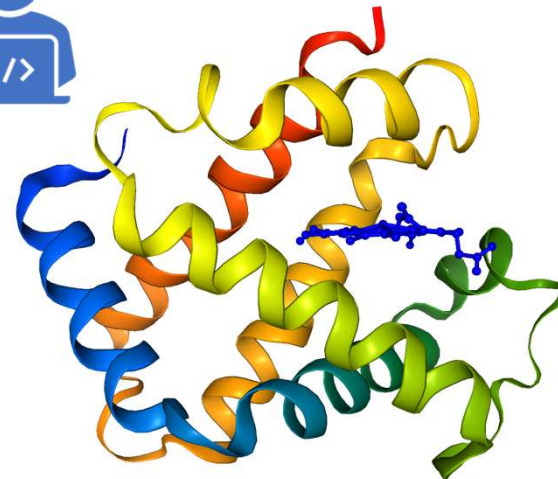
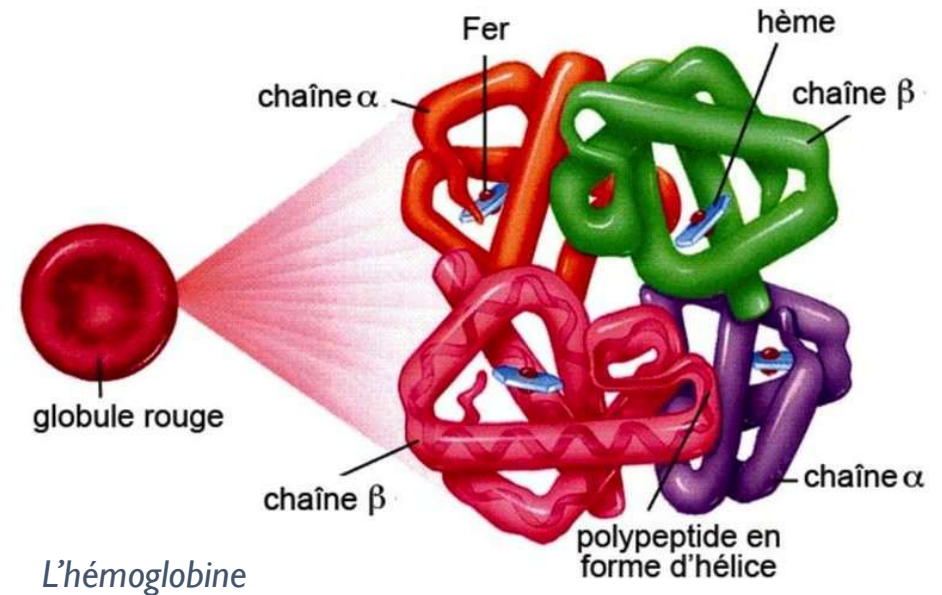
→ Fixation d'O₂

C. STRUCTURE QUATERNAIRE

I. Exemple : l'hémoglobine



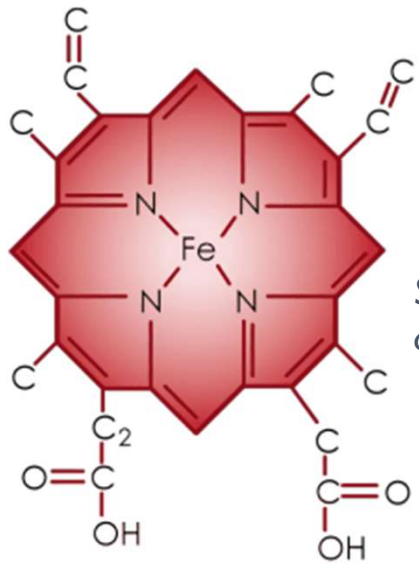
- **Rôle et localisation**
 - Hémoglobine (Hb) : protéine de transport d'O₂ présente dans les globules rouges (hématies) des vertébrés
- **Structure IV :**
 - 4 s.u. : 2 globines α (144 AA) et 2 globines β (146 AA)
- **Structure III :**
 - Globulaire (~ myoglobine)
 - Chaque s.u. est lié à un **hème** (groupement prosthétique)
- **Structure II :** 8 segments (A à F) faits d'hélices alpha, reliés par des coudes
- **Structure I :** α (144 AA) ; β (146 AA)



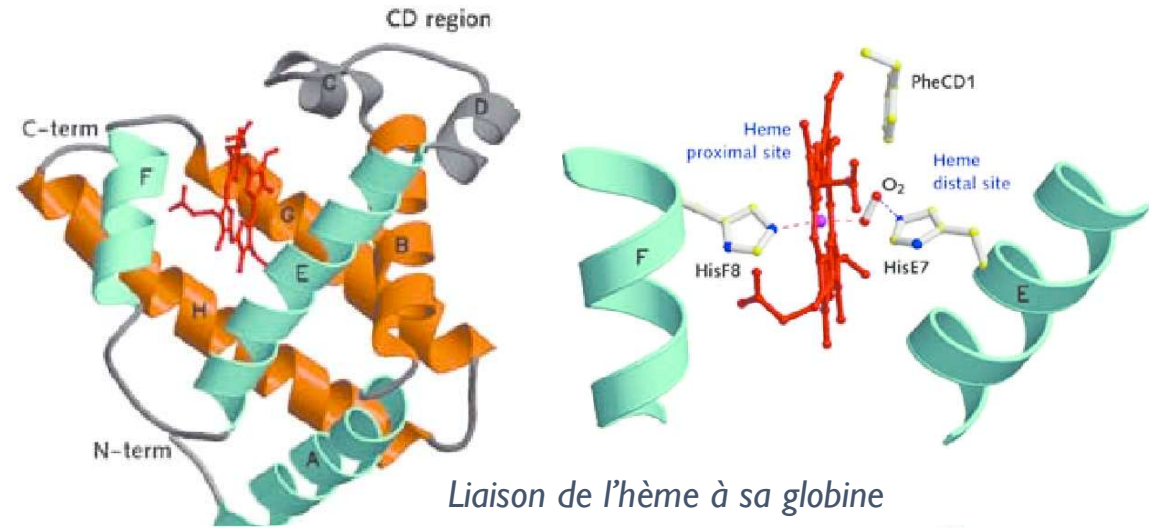
C. STRUCTURE QUATERNAIRE

I. Exemple : l'hémoglobine

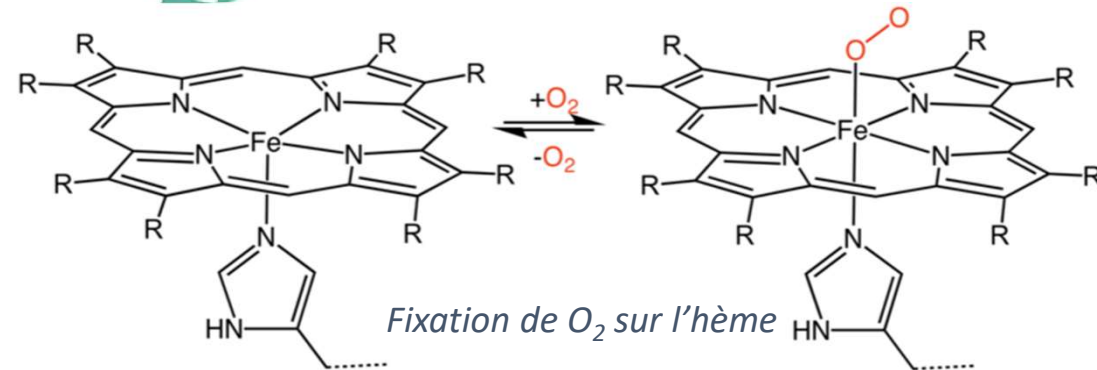
- Hème (groupement prosthétique) plan et possède un atome de fer (Fe) au centre
 → fixation réversible de 1 O₂



Structure de l'hème de l'hémoglobine



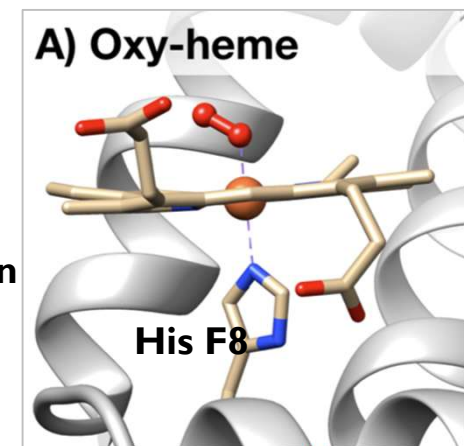
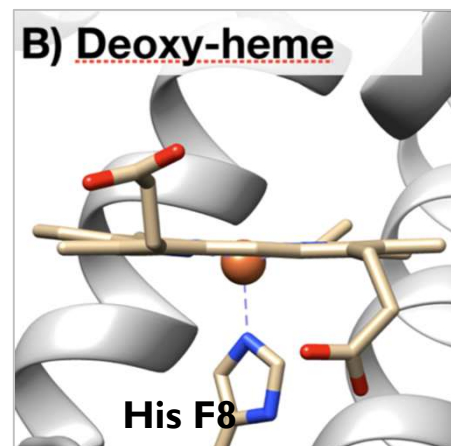
Liaison de l'hème à sa globine



Fixation de O₂ sur l'hème

- L'hème est relié aux segments E et F de la globine
- La fixation de O₂ par l'hème s'accompagne d'un **changement de conformation de la globine**

Déplacements d'atomes liés à l'oxygénation de l'hème (Murray, 2009)



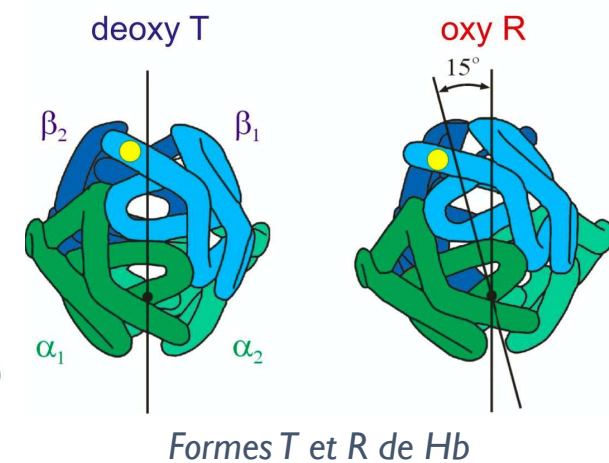
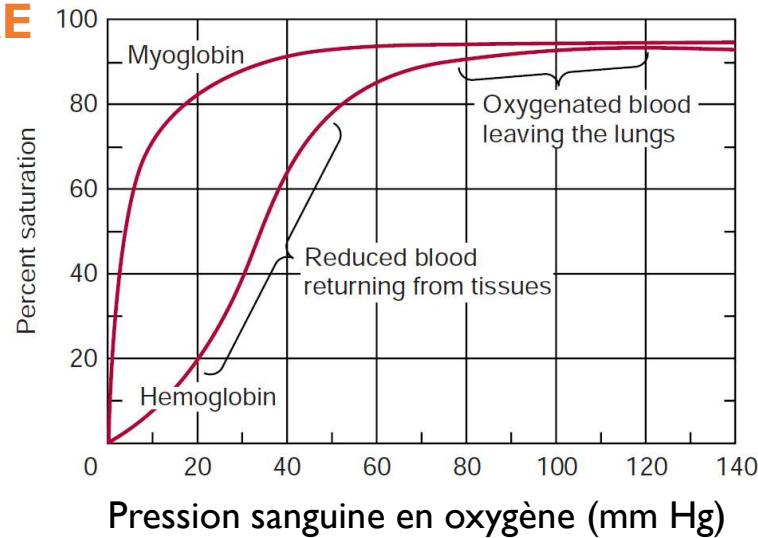
Fixation
 ←
 Dissociation



C. STRUCTURE QUATERNAIRE

I. Exemple : l'hémoglobine

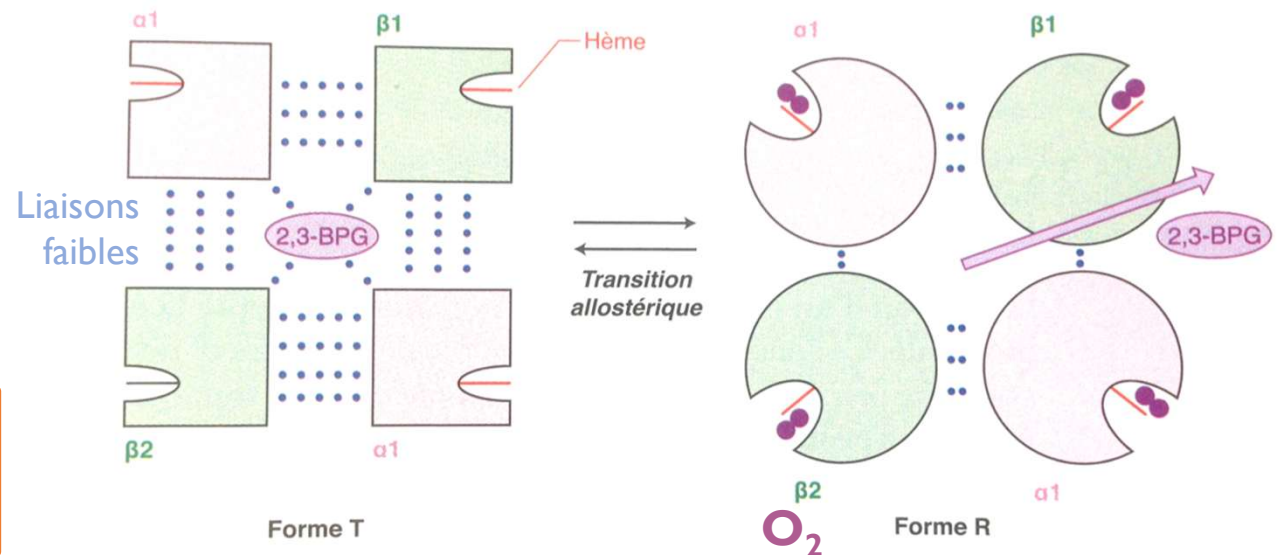
- Chaque globine peut fixer 1 O₂
→ Fixation de 4 O₂ par Hb
- Courbe de saturation en O₂ de Hb
→ sigmoïde
 - Transition allostérique
 - Régulation du fonctionnement



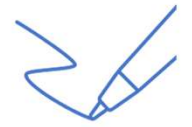
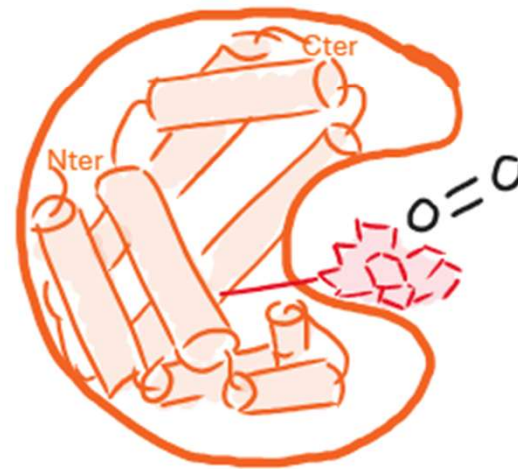
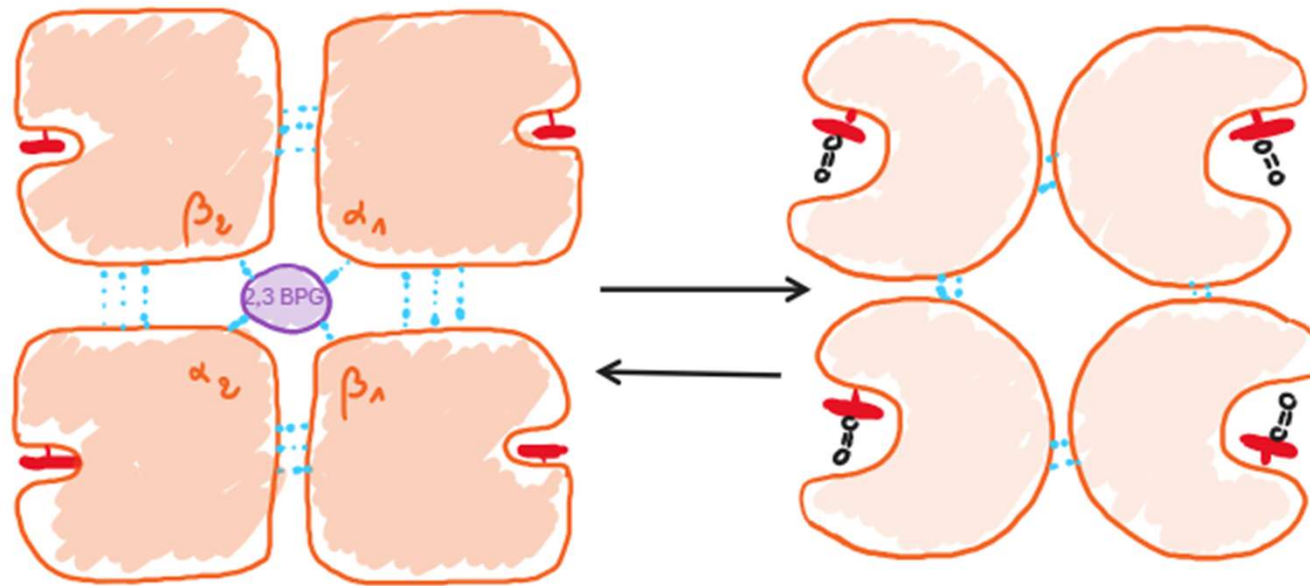
Courbe de saturation en O₂ de Hb et de la myoglobine
(Murray, 2009)

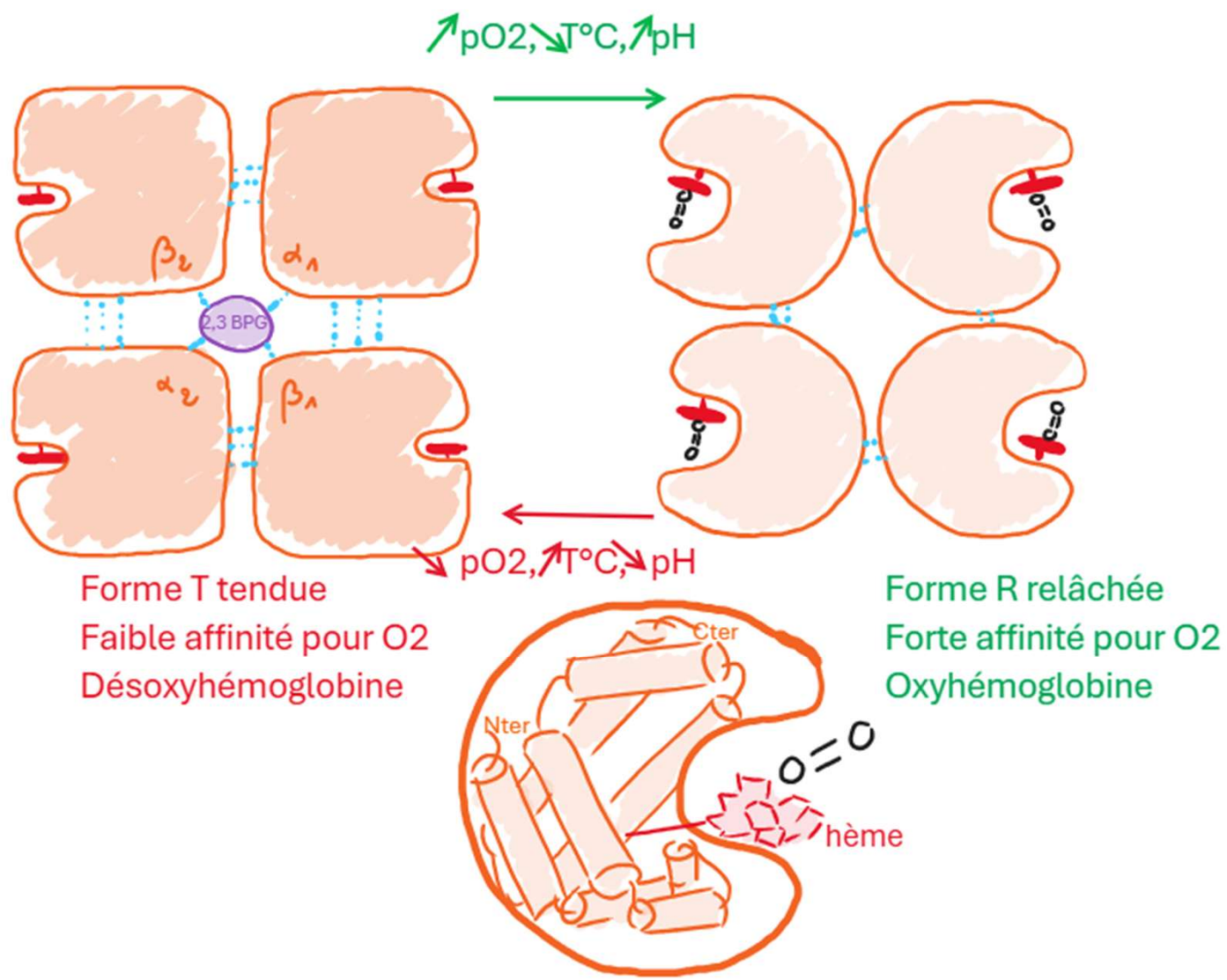
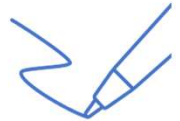
- **Coopération** entre sous-unités lors de la fixation d'O₂
 - Deux conformations de Hb :
 - ✓ R (relâché) - fixation O₂
 - ✓ T (tendu) - dissociation
- Si 1 globine passe en « R » → toutes les s.u. passent en R → ↑ affinité pour O₂

Allostérie (n.f.) : modification de la structure et de l'activité d'une protéine par fixation d'une autre molécule sur un site différent du site actif



Transition allostérique de l'hémoglobine durant l'oxygénation (d'après Peycrü, 2004)

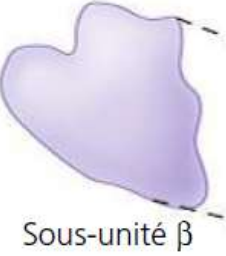
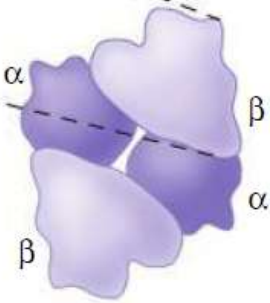
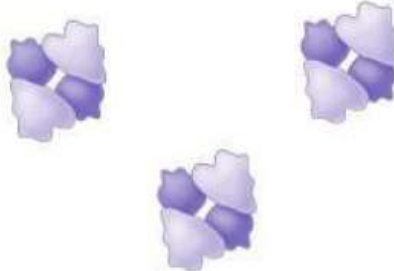
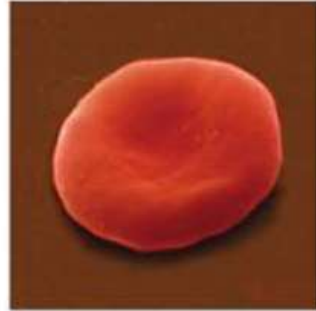
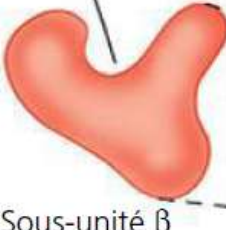
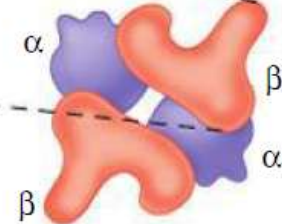
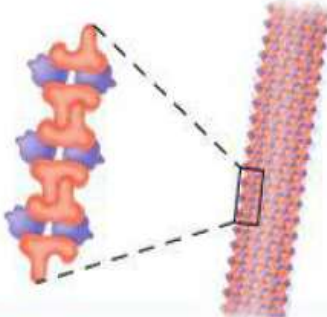





L'hémoglobine, une protéine allostérique

C. STRUCTURE QUATERNAIRE

I. Exemple : l'hémoglobine

	Structure primaire	Structures secondaire et tertiaire	Structure quaternaire	Fonction	Forme des globules rouges
Hémoglobine normale	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Glu 7 Glu	 <p>Sous-unité β</p>	Hémoglobine normale 	Les molécules ne s'associent pas ; chacune transporte le dioxygène. 	Les cellules normales sont remplies de molécules d'hémoglobine individuelles, chacune transportant du dioxygène.  <p>10 μm (2000 ×)</p>
Hémoglobine des hématies falciformes	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Val 7 Glu	Région hydrophobe  <p>Sous-unité β</p>	Hémoglobine des hématies falciformes 	Les molécules interagissent les unes avec les autres et cristallisent sous forme de fibres insolubles ; la capacité de transport du dioxygène est considérablement réduite. 	Les fibres insolubles de l'hémoglobine anormale entraînent une déformation caractéristique des globules rouges : ceux-ci ressemblent à des faucilles ou à des croissants.  <p>10 μm (2000 ×)</p>



Bilan sur la structure tridimensionnelle des protéines

Structure primaire

= Séquence des AA

Structure secondaire

= Structures répétitives stabilisées par des liaisons H

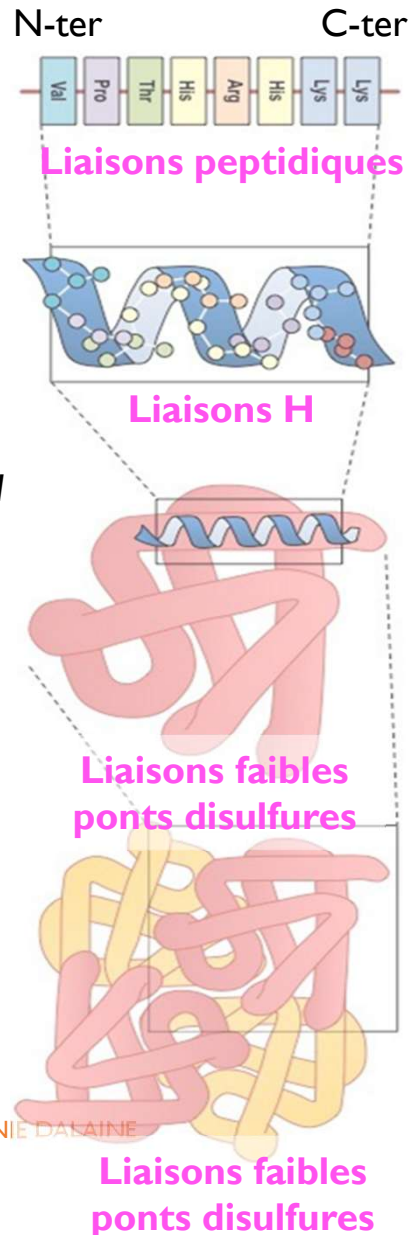
Structure tertiaire

= Forme 3D de la protéine

Structure quaternaire

= Association de plusieurs chaînes polypeptidiques

BCPST1- ENCPB - STÉPHANIE DALAINE



Chains d'AA

Hélices α
Feuillets β plissés
Coudes β

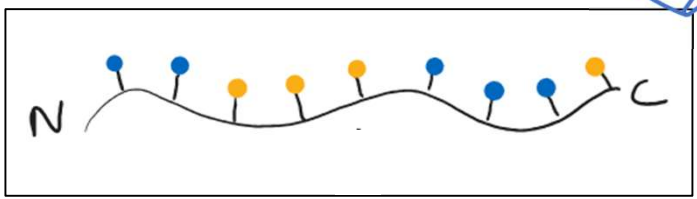
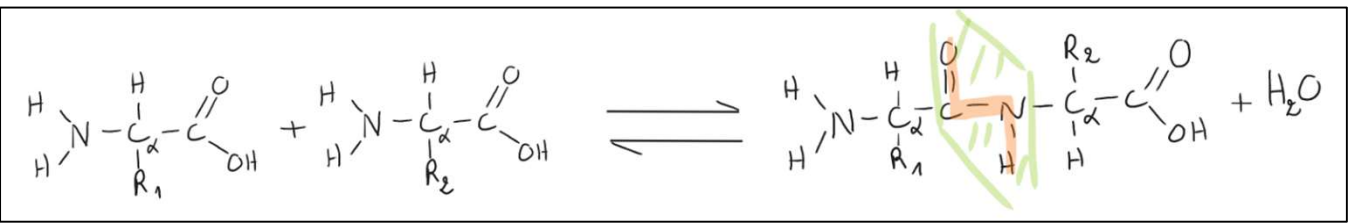
Motifs

Domaines

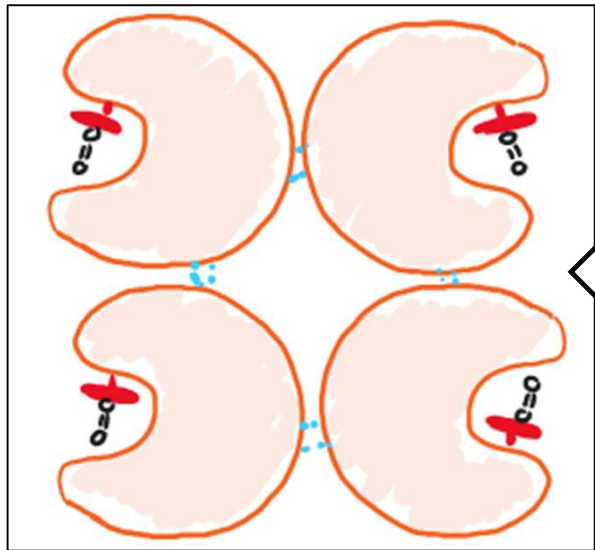
Forme 3D native

Multimères

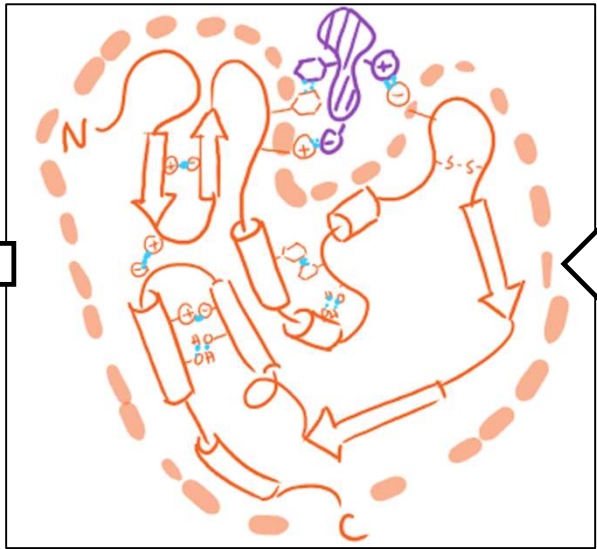
- La **forme** d'une protéine est déterminante pour sa **fonction**.
- On distingue 2 grands types de formes de protéines :
 - **globulaires** (solubles, fonctionnelles)
 - **fibreuses** (insolubles, structurales)
- La forme de la protéine est **dictée** par la **séquence** des AA → Toujours la même forme pour une séquence (gène) donnée.
- Elle résulte de la **combinaison d'éléments structuraux** de plus en plus grands, stabilisés par des **liaisons** covalentes et faibles.
- La structure des protéines est **modulaire** et **dynamique**.
- A chaque niveau d'organisation, de nouvelles propriétés apparaissent → Notion d'**émergence**



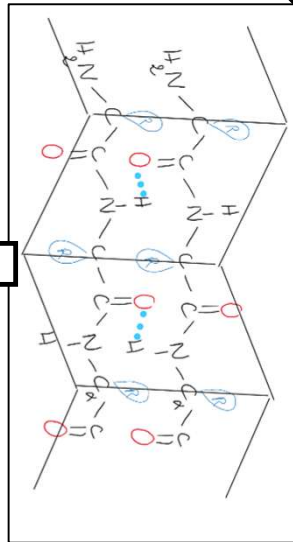
Réaction de condensation: mise en place de la liaison peptidique planaire



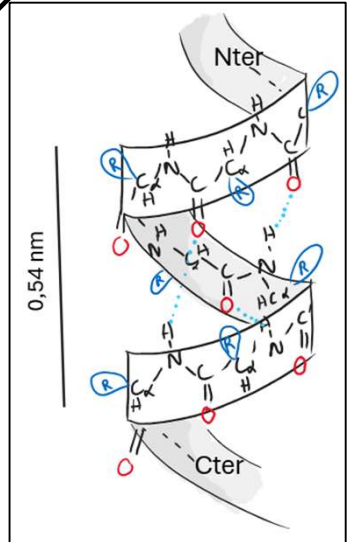
Structure quaternaire, modification de conformation accentuée par l'allostérie



Structure tertiaire séquence dépendante, liaisons faibles (H, ioniques, VdW) et fortes (ponts disulfures)



Structures secondaires associées aux résidus apolaires et **reposant sur des liaisons H**



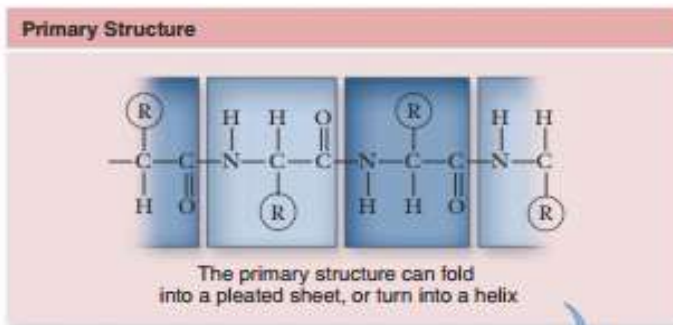
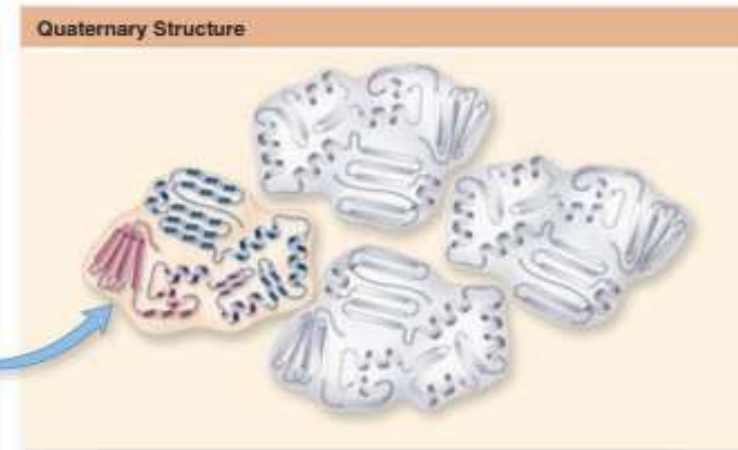
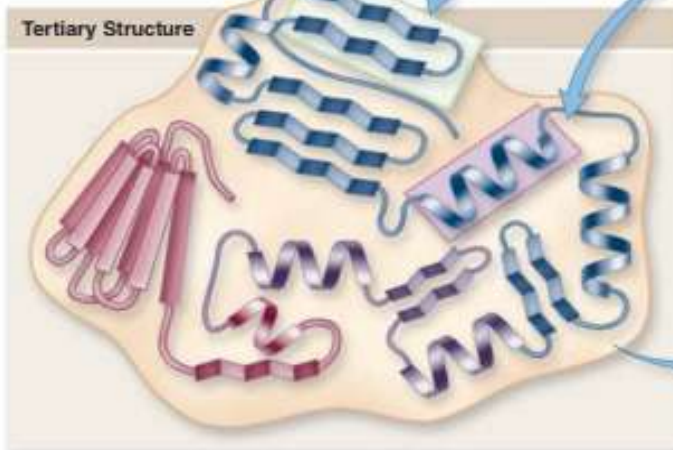
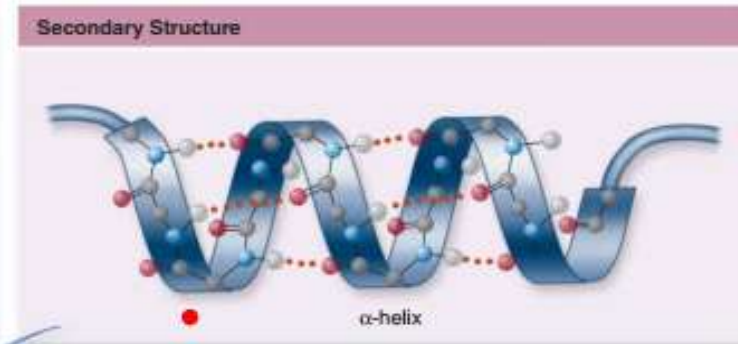
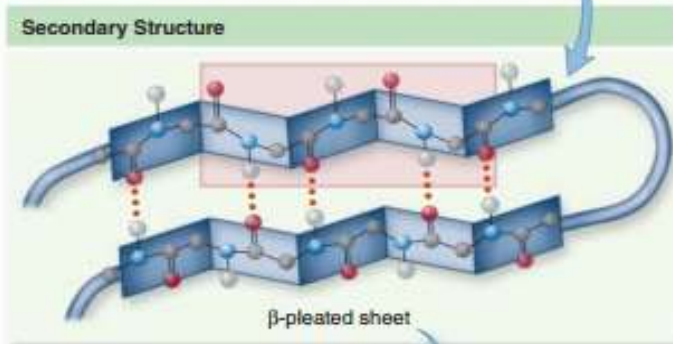


Figure 3.22 Levels of protein structure. The primary structure of a protein is its amino acid sequence. Secondary structure results from hydrogen bonds forming between nearby amino acids. This produces two different kinds of structures: beta (β) pleated sheets, and coils called alpha (α) helices. The tertiary structure is the final 3-D shape of the protein. This determines how regions of secondary structure are then further folded in space to form the final shape of the protein. Quaternary structure is only found in proteins with multiple polypeptides. In this case the final structure of the protein is the arrangement of the multiple polypeptides in space.



D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

I. Glycosylation

transfert d'un **oligomère glucidique** sur un acide aminé d'une protéine. → glycoprotéine.

pendant la traduction

souvent protéines membranaires ou sécrétées dans MEC

Deux types de glycosylation des protéines :

- **N-glycosylation (sur Asn) dans le REG (et Golgi)**
- **O-glycosylation (sur Ser, Thr) dans le Golgi**

ratio de masse protéine/glucide

- **protéine > glucide : glycoprotéine**
- **protéine < glucide : protéoglycane**

Principales conséquences biologiques des glycosylations des protéines

- Structuration de la protéine
- solubilisation des protéines transportées dans le milieu intérieur
- macromolécules hydrophiles formant un gel hydrate (protéoglycane)
- rôle protecteur par diminution de l'accessibilité aux protéases
- rôle important dans les mécanismes de reconnaissance cellulaire (glycocalyx)
- aide à la stabilisation de la structure III des protéines (reconnaissance par protéines chaperonnes).

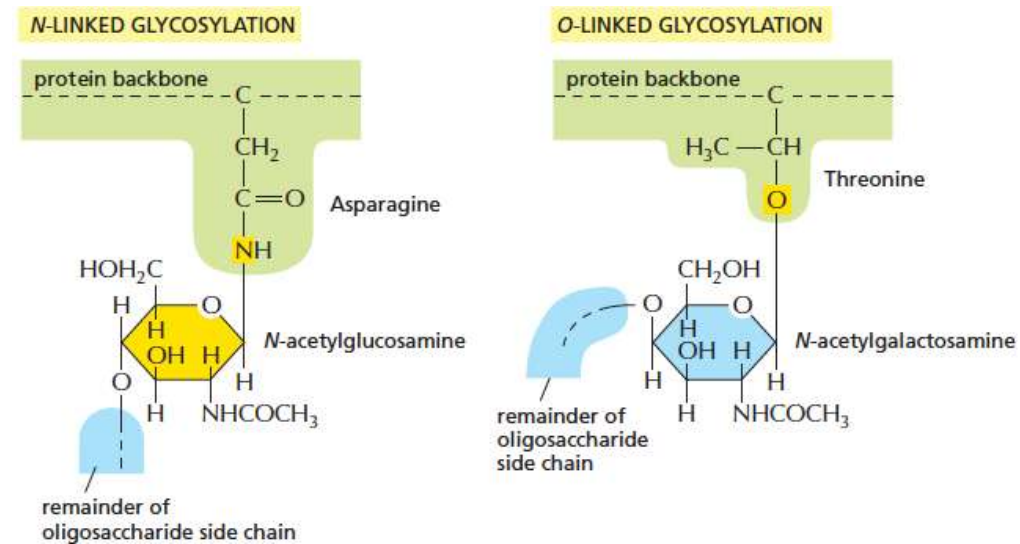
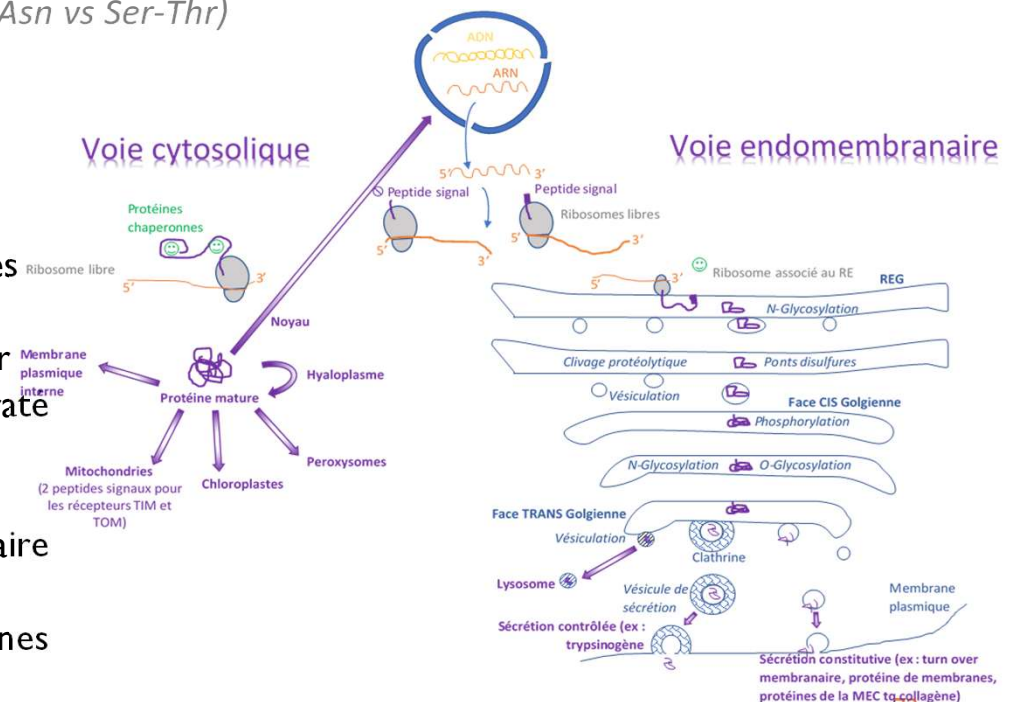


Figure 35 : les deux types de glycosylation selon les résidus (Asn vs Ser-Thr)



D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

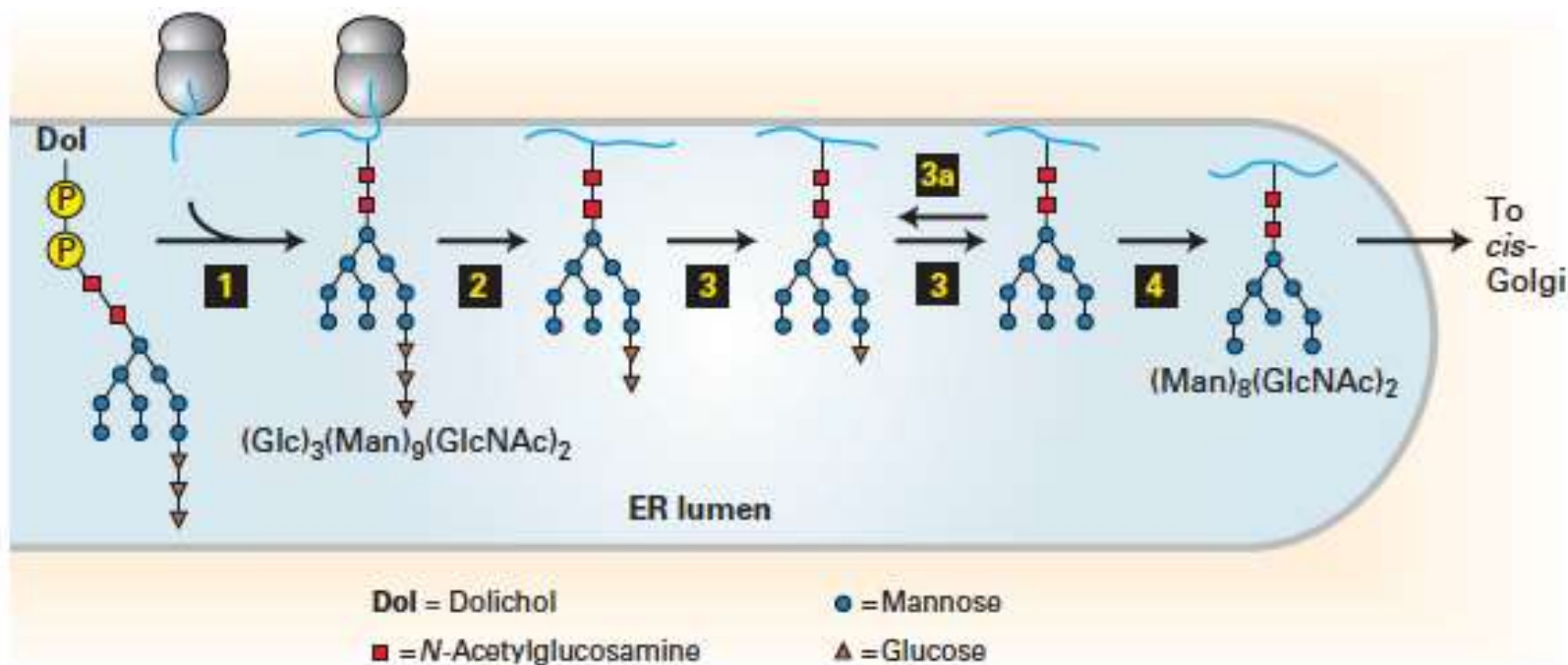
1. Glycosylation

Glycosylation dans le REG

1. N-glycosylation co-traductionnelle

Transfert oligo-saccharide (sucre) depuis le dolichol (terpénoïde, lipide) vers un **résidu Asn** de la protéine par la glycosyltransférase

2. Modification de l'oligosaccharide post-traductionnelle



Modifications post-traductionnelles des protéines : cas d'une N-Glycosylation (Lodish)

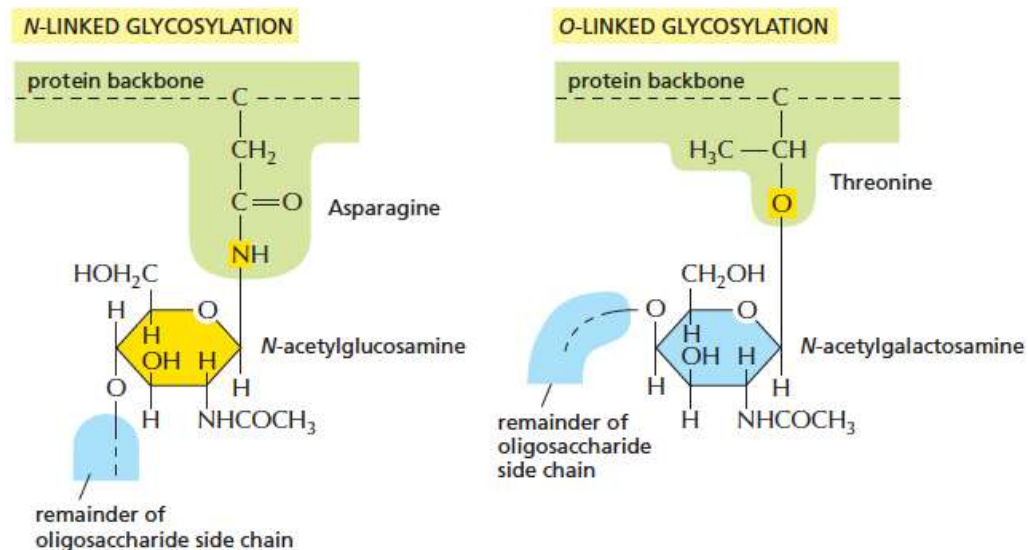
D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

1. Glycosylation

Glycosylation : n.f. ajout de sucres sur une protéine par liaison covalente

■ Types de glycosylation:

- N-glycosylation → sur Asn
- O-glycosylation → sur Ser, Thr



Rôle des glycosylations :

- **Structuration** même des protéines
- **Protection** vis à vis du milieu extérieur :
 - Ex : protéines sécrétées dans l'intestin par la CAP
→ Protection contre l'action des protéases
- **Reconnaissance**
 - Ex : groupes sanguins
 - Ex : ZP3 de la zone pellucide dont les oses sont reconnus par un récepteur du spermatozoïde
- **Adressage**
 - Ex : étiquette de Mannose-6-P des protéines adressées au lysosome dans la voie endomembranaire

D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

1. Glycosylation

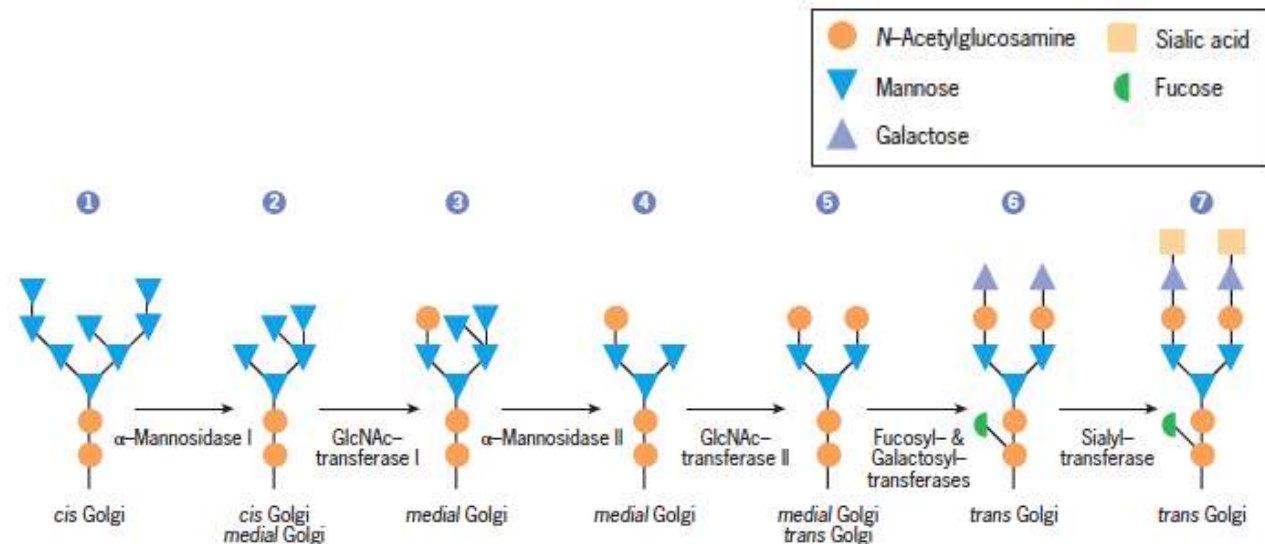
■ Glycosylation dans le Golgi

➤ Modifications de la **N-glycosylation** réalisée dans le RE :

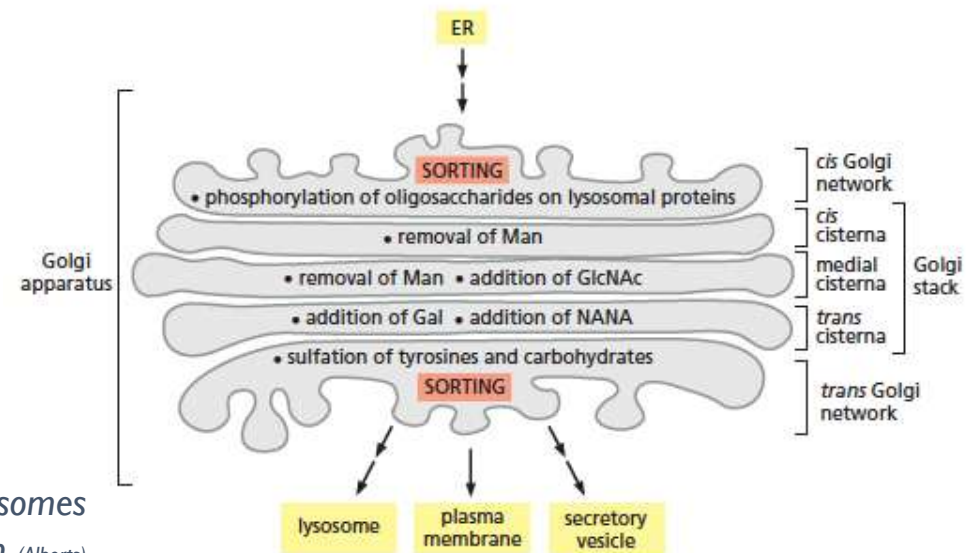
- ✓ → élimination d'oses = déglycosylation
- ✓ greffe de nouveaux oses grâce à l'action d'enzymes membranaires.

➤ **O-glycosylation** (sur Ser et Thr) par des enzymes membranaires ou solubles.

➤ Le Golgi est une chaîne de montage ; chaque dictyosome est spécialisé dans un nombre d'étapes de déglycosylation et glycosylation.



N-glycosylation dans le Golgi (Karb)

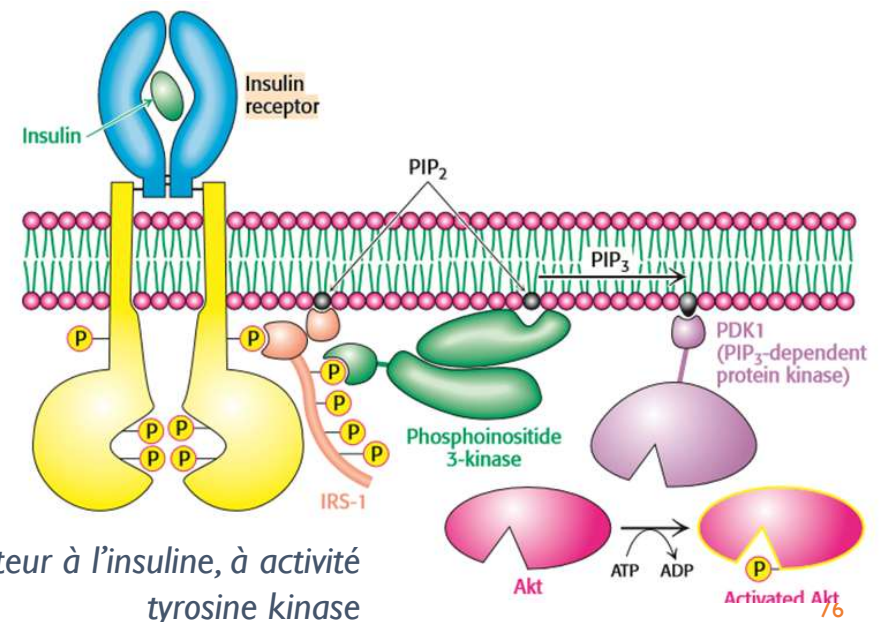
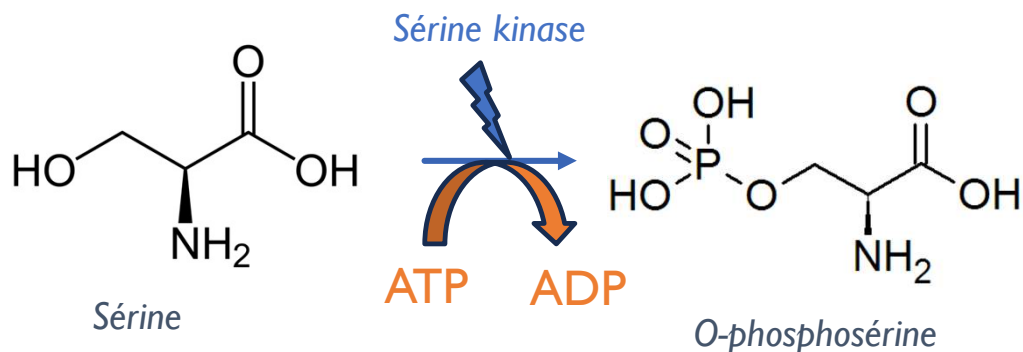
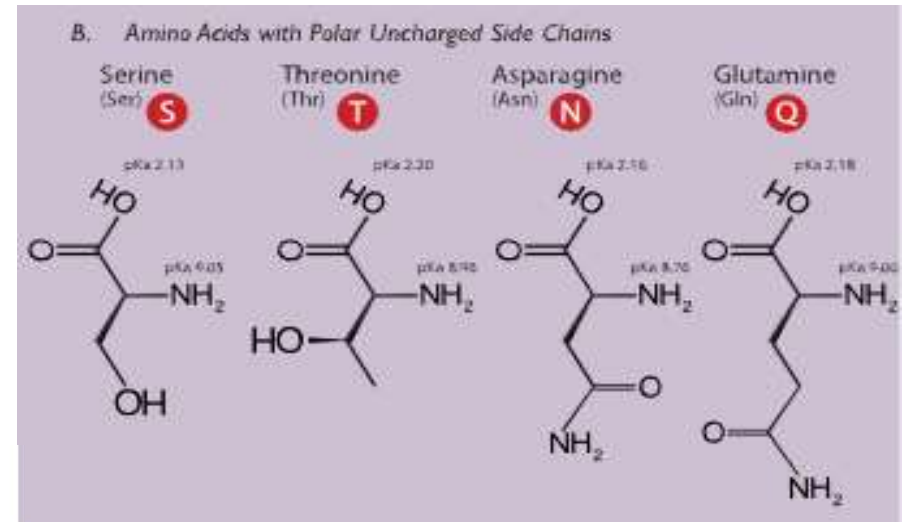


Rôle des différents dictyosomes dans la glycosylation (Alberts)

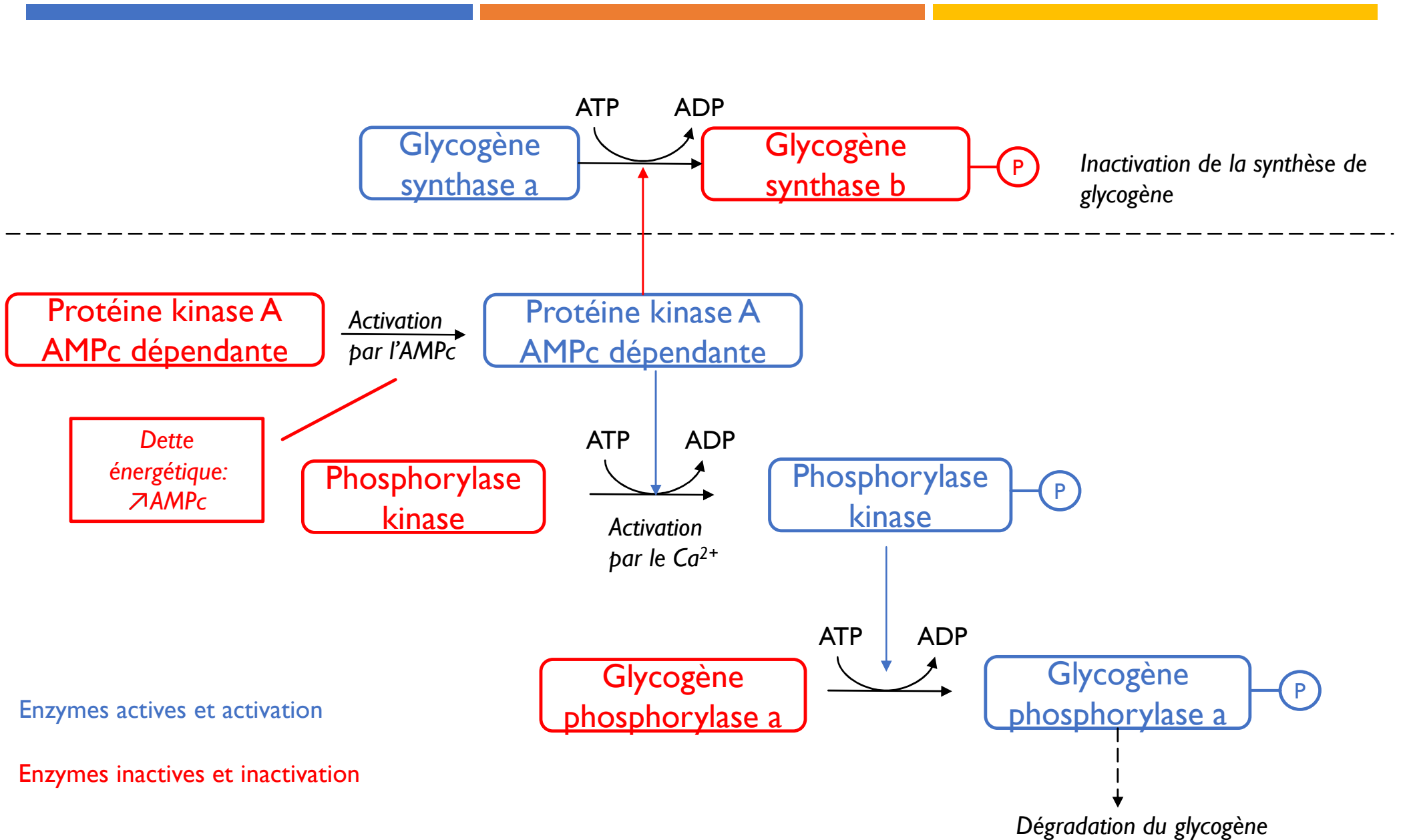
D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

2. Phosphorylation

- Les fonctions hydroxyle de Ser, Thr et Tyr sont réactives et cibles de phosphorylation
- sérine/thréonine protéine kinase** est une protéine kinase qui catalyse la phosphorylation de protéines sur certains de leurs résidus de sérine ou de thréonine
- La phosphorylation d'une protéine peut l'activer ou au contraire l'inhiber



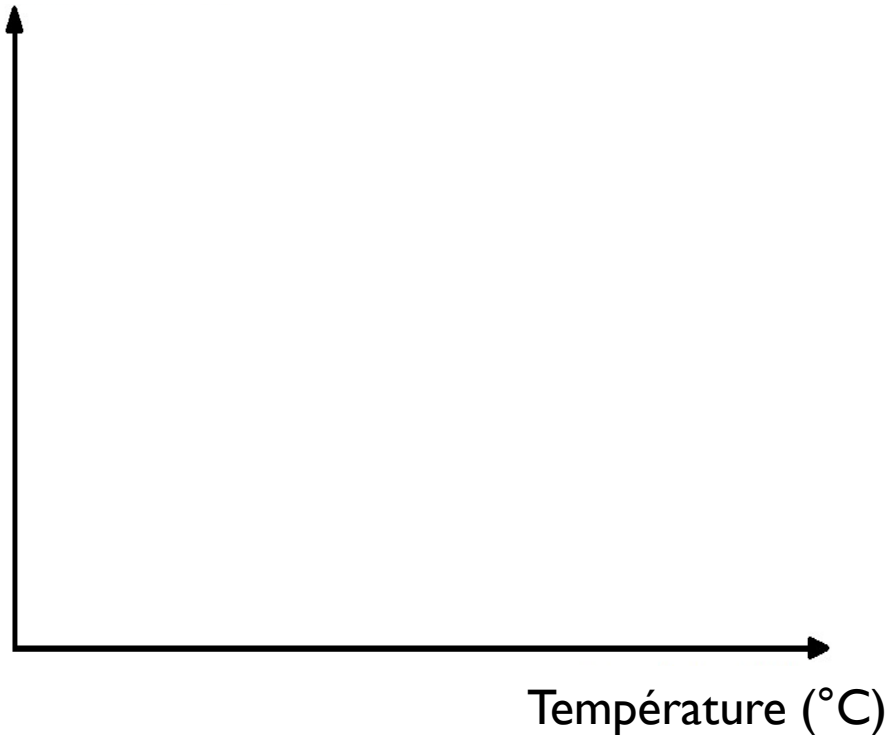
Le récepteur à l'insuline, à activité tyrosine kinase



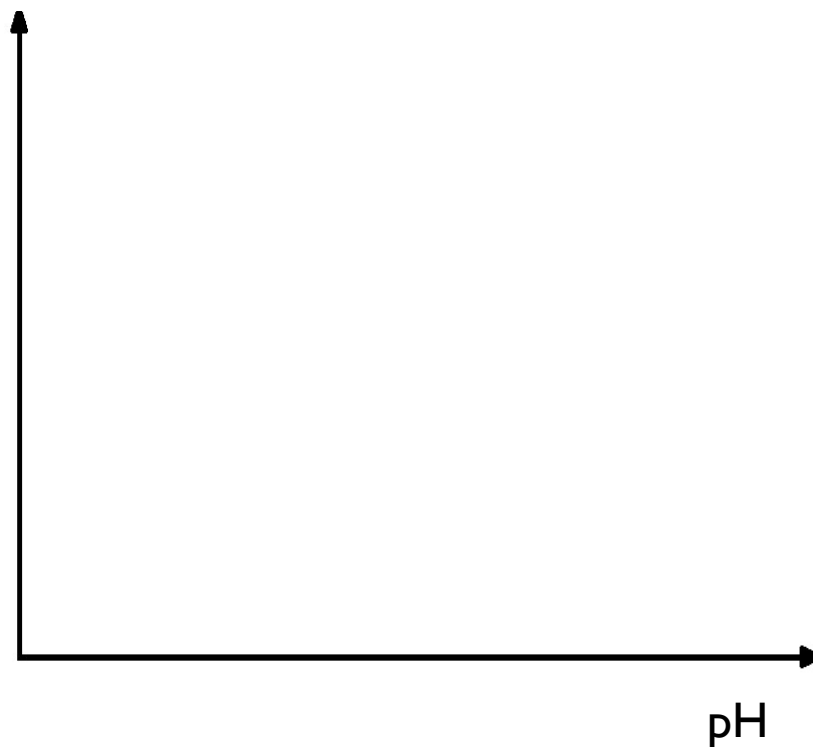
La phosphorylation d'une enzyme peut l'inhiber (ex: glycogène synthase) ou l'activer (Ex: glycogène phosphorylase)

E. LA CONFORMATION DES PROTÉINES DÉPEND DES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ENVIRONNEMENT

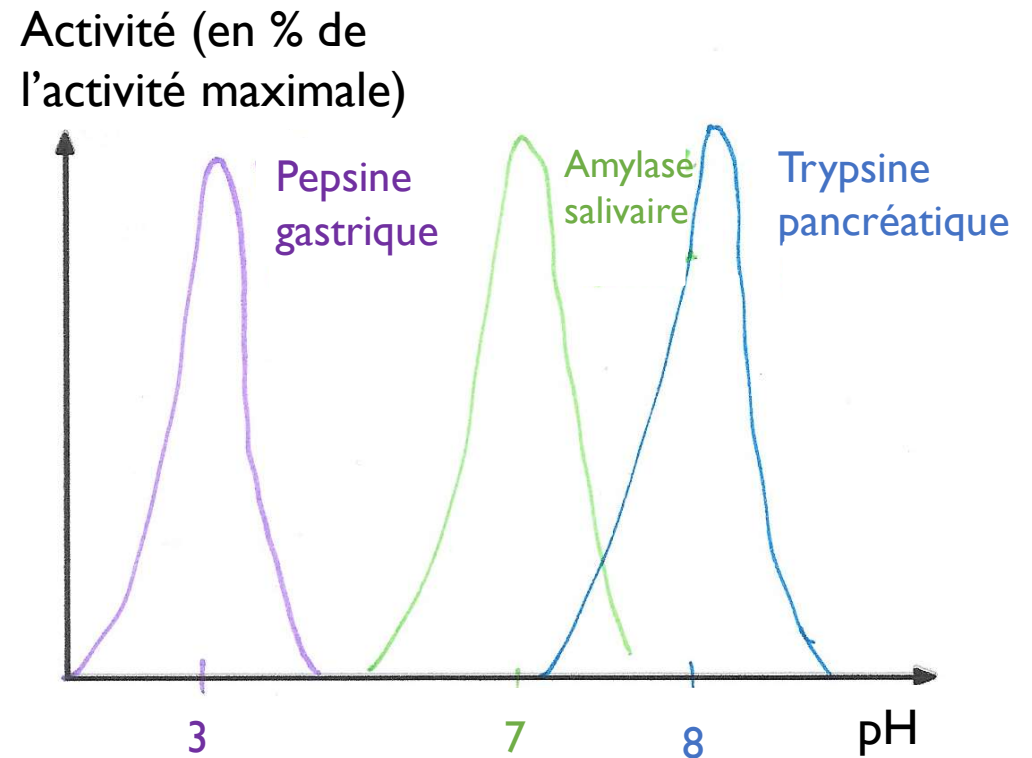
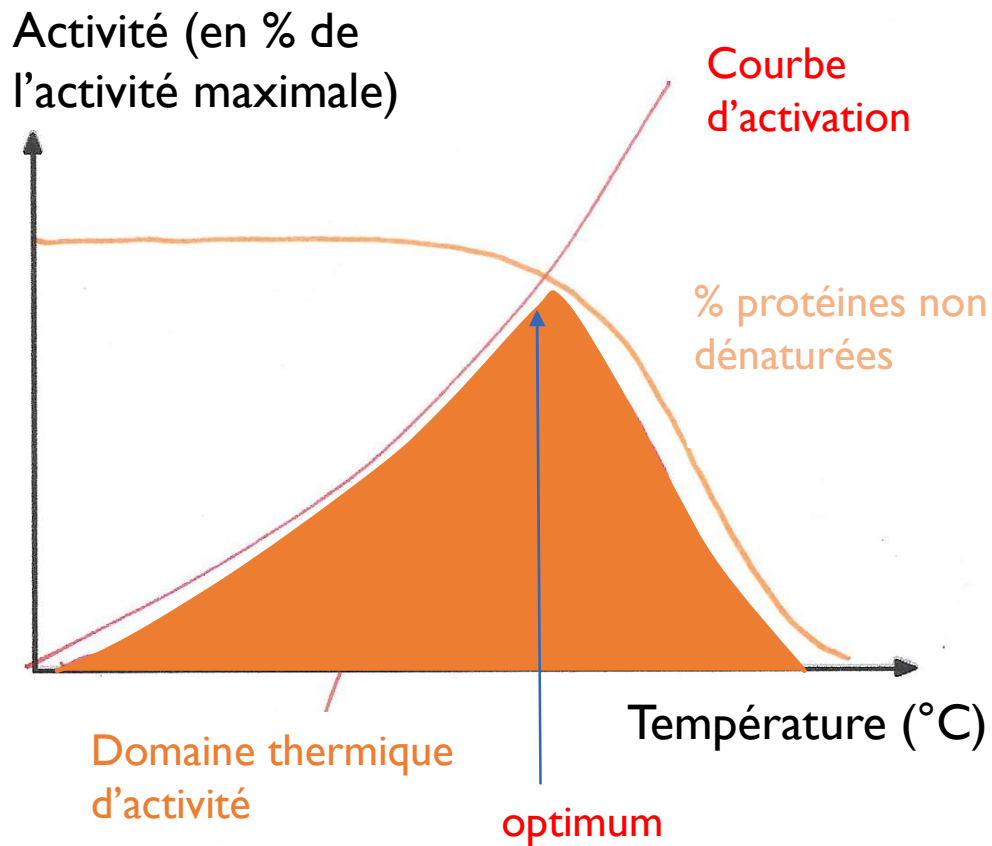
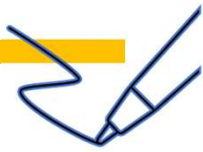
Activité (en % de l'activité maximale)



Activité (en % de l'activité maximale)



Influence de la température et du pH sur l'activité des protéines enzymatique



Influence de la température et du pH sur l'activité des protéines enzymatique

SV-D-2-4 Acides aminés et protéines

I. Les protéines: des polymères d'acides α -aminés associés par une liaison peptidique

- A. Les acides α -aminés précurseurs des protéines
 - 1. Deux fonctions
 - 2. Chiralité et isomères
 - 3. Nomenclature
 - 4. Un carbone central portant un radical variable
 - 5. Une charge dépendant du pH
 - 6. Propriétés physiques des AA
 - 7. Réactivité chimique des AA
- B. Réaction de formation des liaisons peptidiques

II. Des polymères séquencés d'acides α -aminés ; notion de structure primaire

- A. Définition de la séquence primaire
- B. Un ordre déterminé génétiquement

III. Structure tridimensionnelle des protéines

- A. La structure secondaire
- B. La structure tertiaire
- C. La structure quaternaire
- D. Des modifications post-traductionnelles conditionnent la conformation et les propriétés des protéines
- E. La conformation des protéines dépend des conditions physico-chimiques de l'environnement

IV. Les protéines : des polymères à conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

- A. La conformation des protéines peut participer aux propriétés mécaniques des cellules et de leur environnement
- B. Les protéines participent aux échanges de matières entre la cellule et son environnement et entre compartiments cellulaires
- C. Les protéines participent à la communication et à la transduction cellulaire
- D. Les enzymes sont des protéines catalysant les réactions du vivant

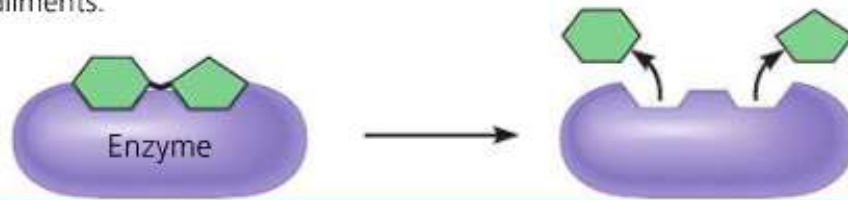


INTRODUCTION

Diversité des fonctions des protéines

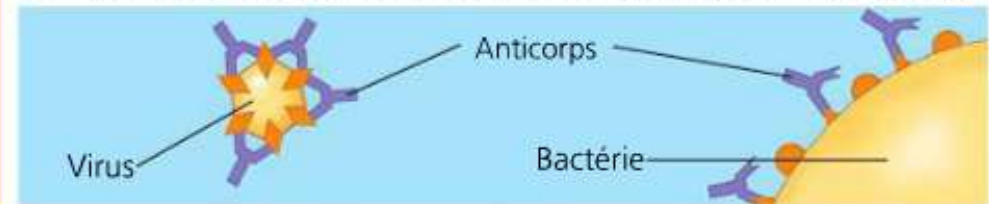
Protéines enzymatiques

Fonction : Accélération sélective de la vitesse des réactions chimiques
Exemple : Les enzymes digestives catalysent l'hydrolyse des liaisons dans les aliments.



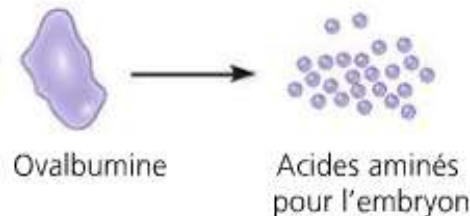
Protéines de défense

Fonction : Protection contre la maladie
Exemple : Les anticorps inactivent et aident à détruire les virus et les bactéries.



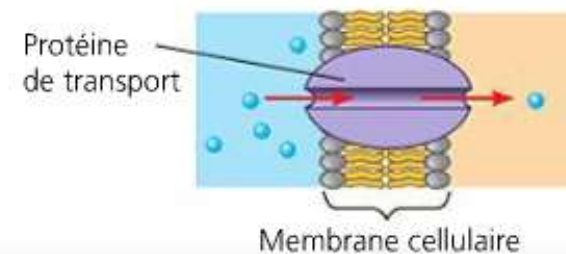
Protéines d'entreposage

Fonction : Mise en réserve d'acides aminés
Exemples : La caséine, une protéine du lait, constitue la principale source d'acides aminés des petits des Mammifères avant leur sevrage. Les Végétaux emmagasinent des protéines dans les graines. L'ovalbumine est la protéine du blanc d'œuf ; elle est employée comme source d'acides aminés par l'embryon de l'oiseau en développement.



Protéines de transport

Fonction : Transport de substances
Exemples : Chez les Vertébrés, l'hémoglobine, une protéine sanguine contenant du fer, transporte le dioxygène des poumons vers les différentes parties de l'organisme.





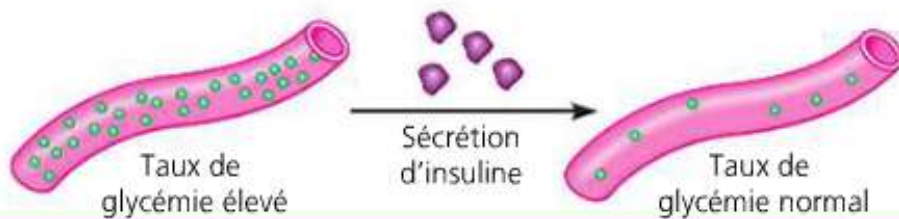
INTRODUCTION

Diversité des fonctions des protéines

Protéines hormonales

Fonction : Coordination des activités d'un organisme

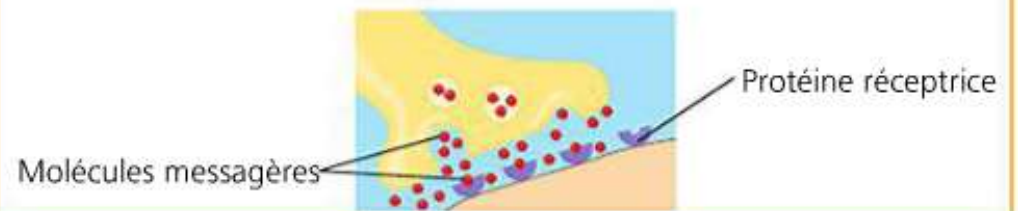
Exemple : L'insuline, une hormone sécrétée par le pancréas, provoque l'absorption de glucose par d'autres tissus, contribuant ainsi à la régulation de la concentration de glucose dans le sang.



Protéines réceptrices

Fonction : Réaction des cellules à des stimulus chimiques

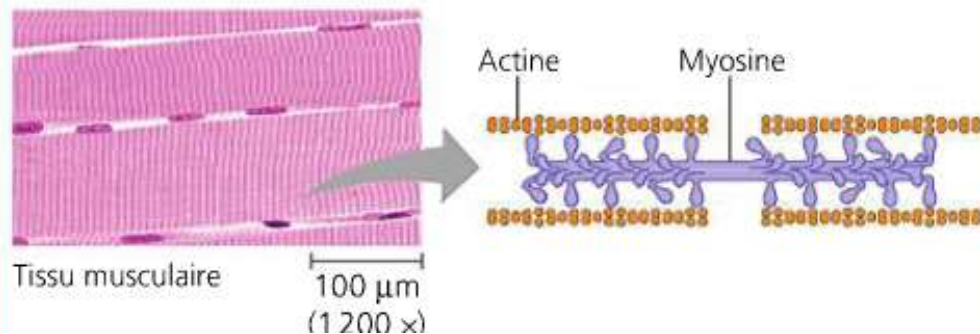
Exemple : Les protéines réceptrices intégrées à la membrane d'une cellule nerveuse détectent les molécules messagères émises par d'autres cellules nerveuses.



Protéines contractiles et motrices

Fonction : Mouvement

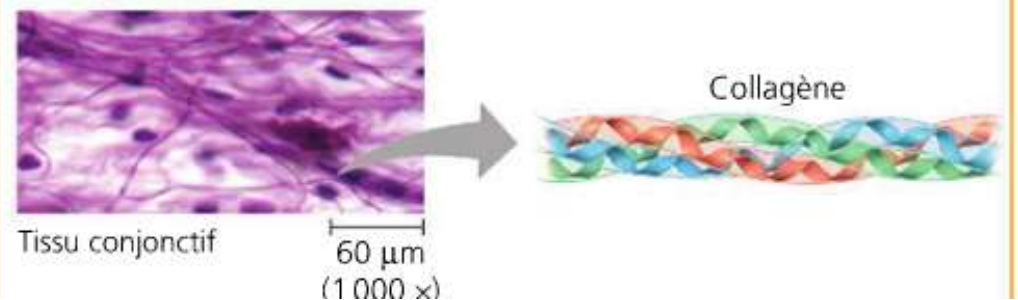
Exemples : Les protéines motrices permettent de faire onduler les cils et les flagelles propulsant de nombreuses cellules. L'actine et la myosine sont des protéines servant à la contraction des muscles.



Protéines structurales

Fonction : Soutien

Exemples : La kératine est la protéine des cheveux, des cornes, des plumes, des griffes, des écailles, etc. Certains insectes et la plupart des araignées utilisent des fibres de soie pour construire leur cocon et leur toile. Le collagène et l'élastine composent la structure fibreuse des tissus conjonctifs des Animaux.

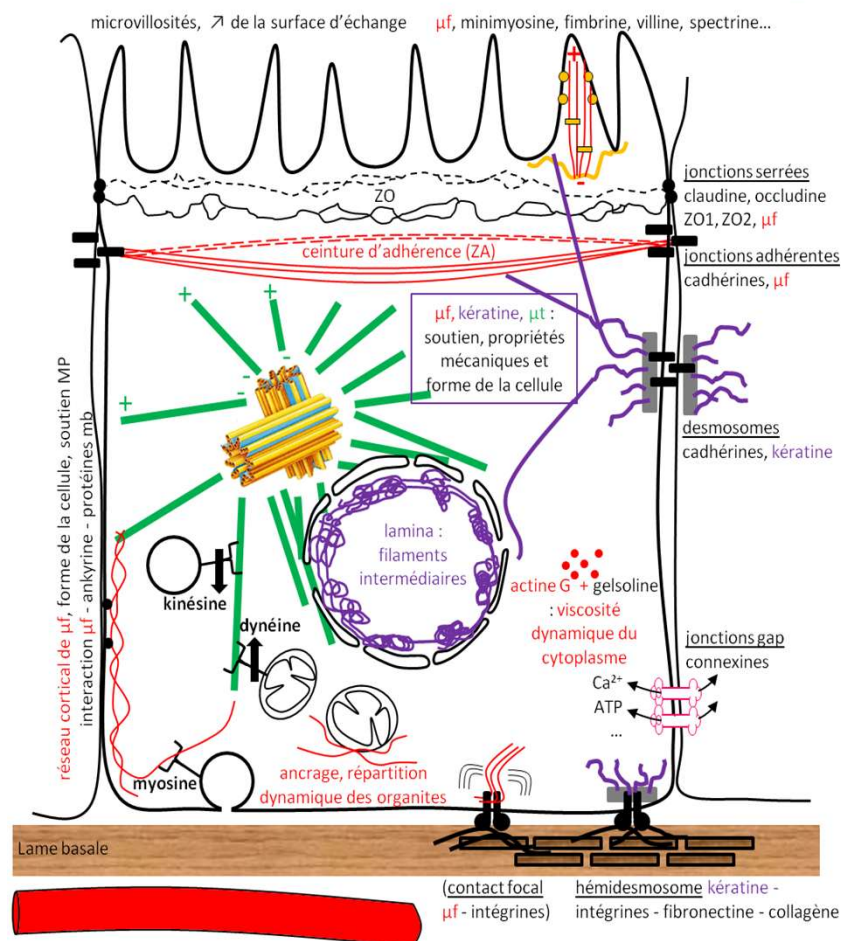


IV. LES PROTÉINES : DES POLYMÈRES À CONFORMATION DYNAMIQUE ESSENTIELLE À LEUR FONCTIONNEMENT

A. LA CONFORMATION DES PROTEINES PEUT PARTICIPER AUX PROPRIETES MECANIQUES DES CELLULES ET DE LEUR ENVIRONNEMENT

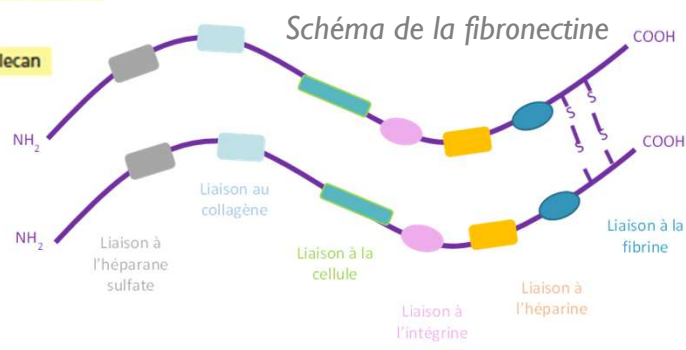
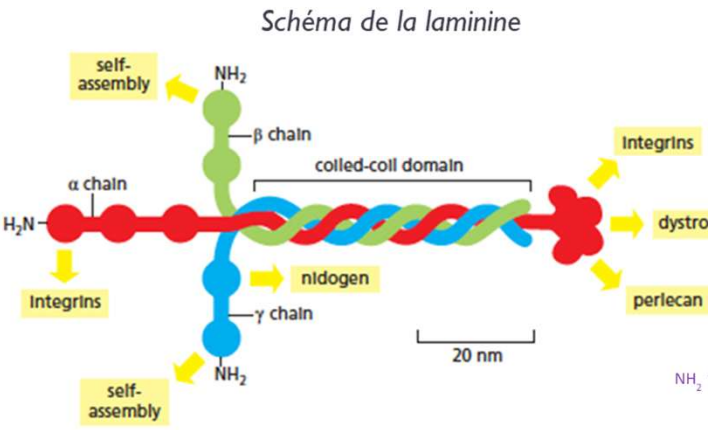
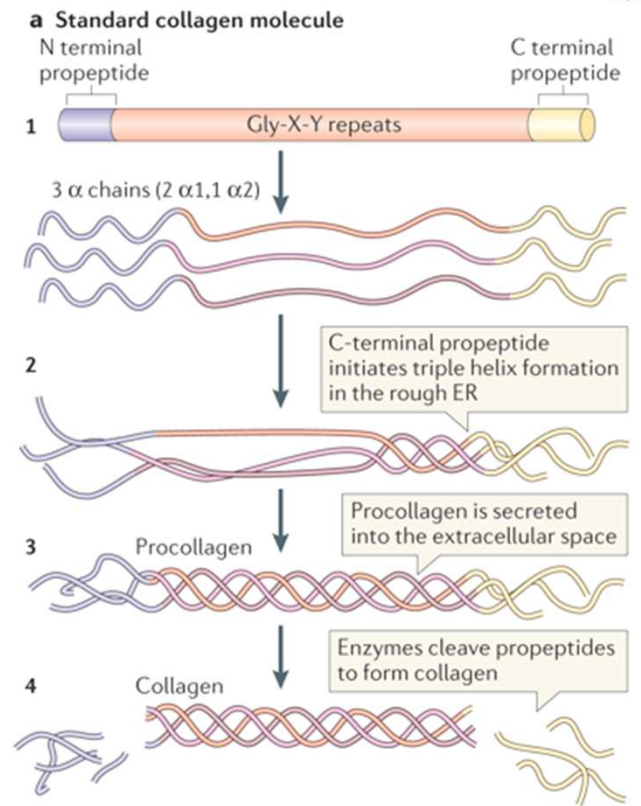
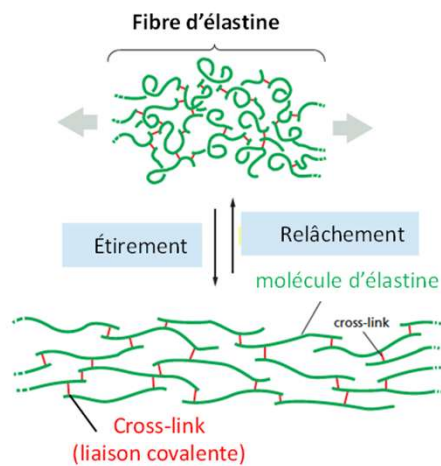
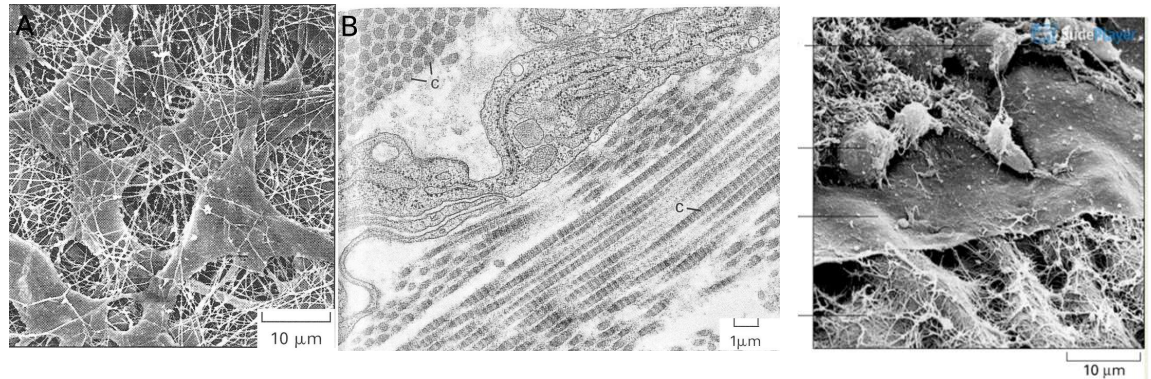
I. Conformation des fibres du cytosquelette et forme de la cellule

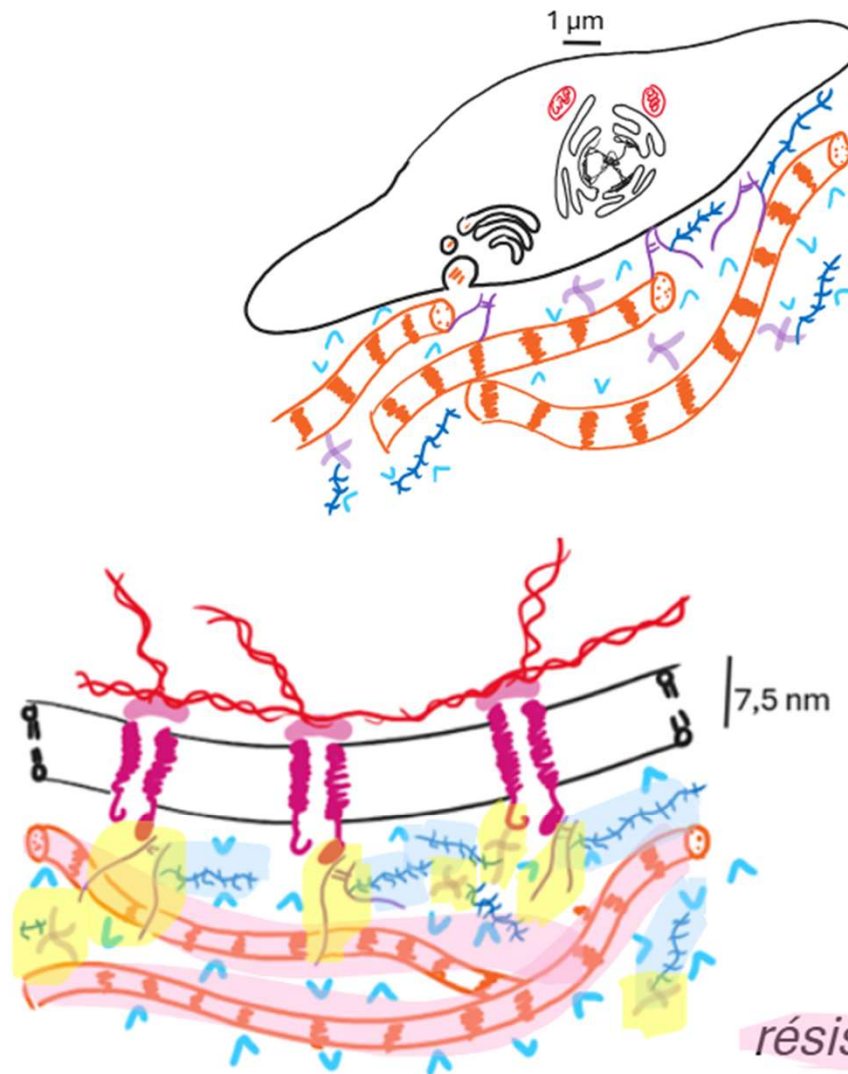
- Association dynamique des actines G formant des actines F, qui participe par exemple à la formation de prolongements cytoplasmiques.
- Lamelle, kératine des filaments intermédiaires
- Hétérodimères de tubulines α et β formant des filaments cylindriques et creux de microtubules (autoroutes cellulaires)
- Protéines motrices associées (kinésine et dynéine)
- Interaction actine-myosine et rôle dans la contraction de la fibre musculaire



2. Conformation du collagène et propriétés mécaniques des matrices extra-cellulaires

- Association dynamique des actines G formant des actines F, qui participe par exemple à la formation de prolongements cytoplasmiques.
- Protéine formant des réseaux : fibronectine de la MEC animale ; laminine de la MEC animale
- Protéine et élasticité de la MEC : élastine





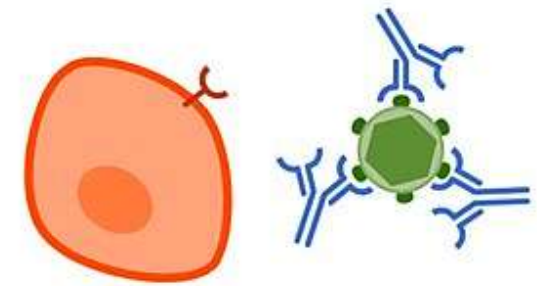
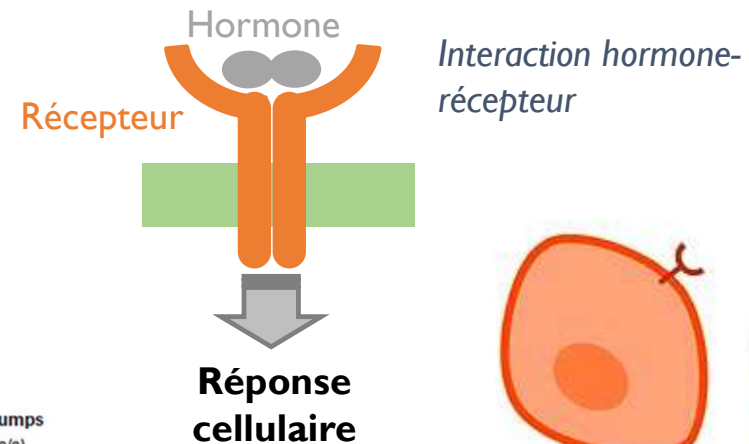
IV. LES PROTÉINES : DES POLYMÈRES À CONFORMATION DYNAMIQUE ESSENTIELLE À LEUR FONCTIONNEMENT



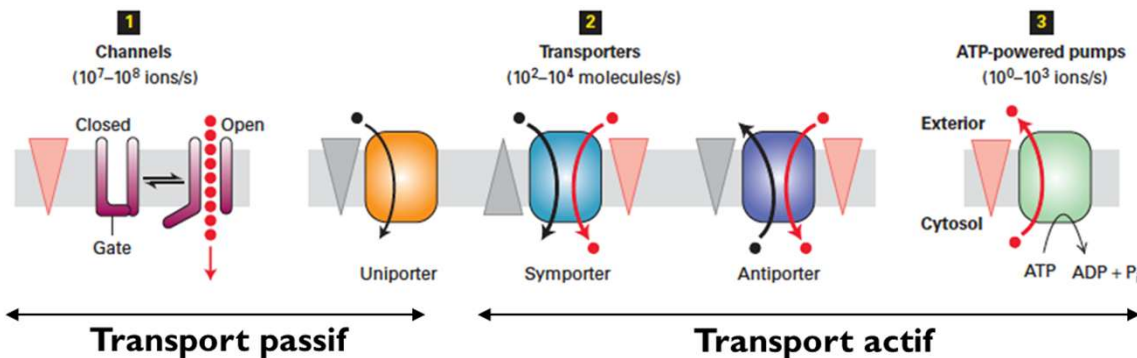
B. LES PROTEINES PARTICIPENT AUX ECHANGES DE MATIERES ENTRE LA CELLULE ET SON ENVIRONNEMENT ET ENTRE COMPARTIMENTS CELLULAIRES

- Comme la globine, de nombreuses protéines fonctionnent par **interaction** avec d'autres molécules = rapprochement physique impliquant des liaisons faibles (réversibles et temporaires)
- Les molécules qui interagissent avec les protéines sont souvent beaucoup plus petites ~ « **ligands** »
- Les protéines insérées** dans la membrane permettent une **perméabilité sélective** de cette dernière (**canal, transporteur = perméase, pompe**) et jouent un rôle **structural et informationnel** avec le milieu environnant (ex : intégrine et MEC)

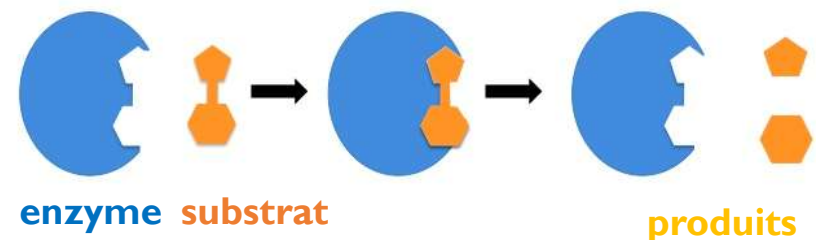
Ligand : n.m. molécule qui se fixe à la surface d'une protéine via des liaisons faibles



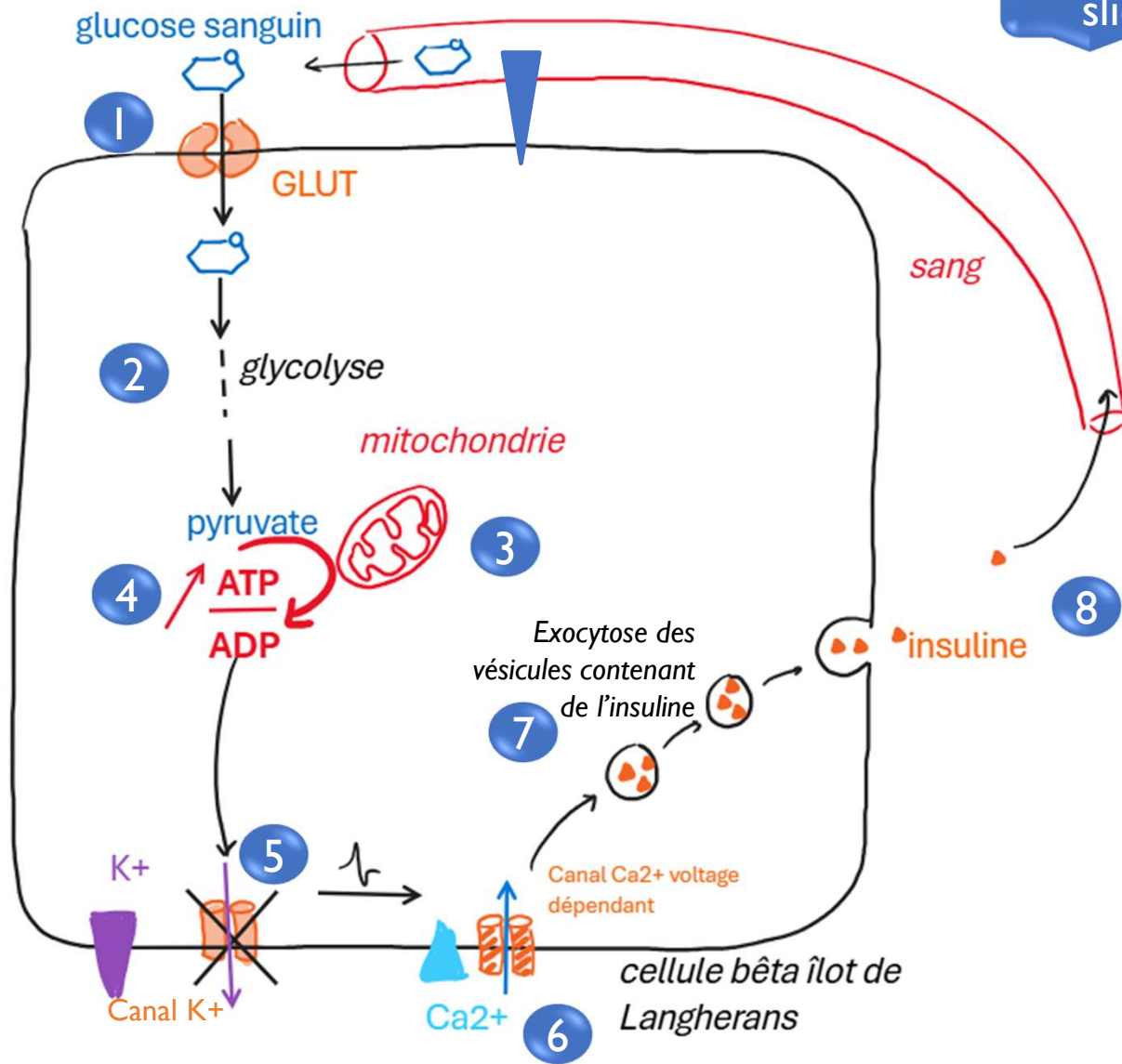
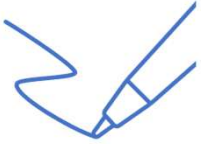
Interaction Ag-Ac neutralisant un virus (vert)



Protéine	Ligand
Récepteur	hormone
Anticorps	Antigène
Enzyme	Substrat



Interaction enzyme-substrat



Le rôle signal du glucose dans la sécrétion d'insuline (cellule bêta du pancréas)

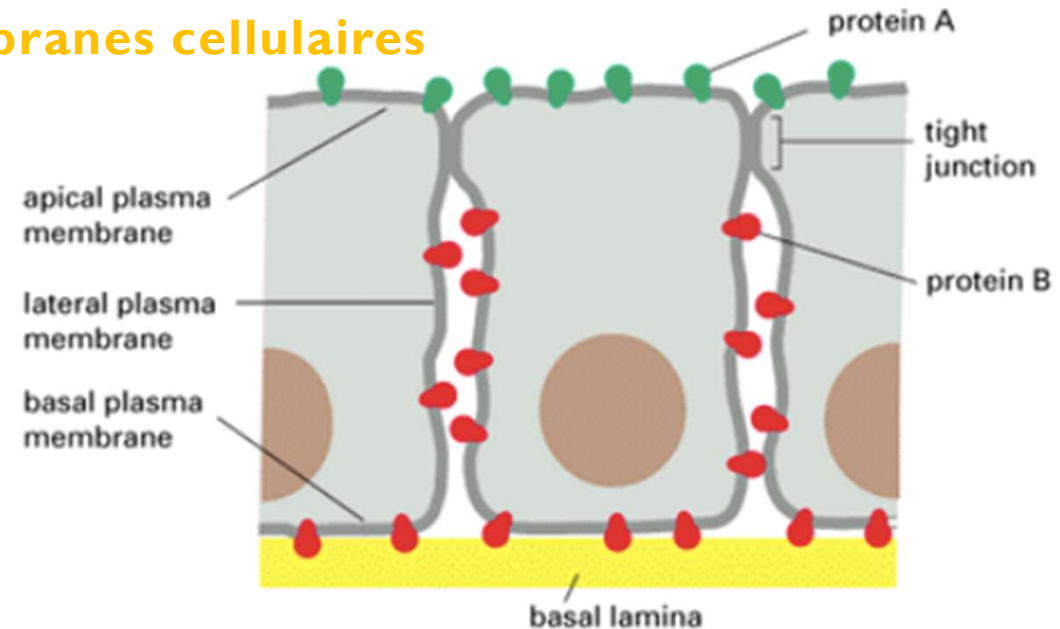
IV. Les protéines : des polymères à conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

B. LES PROTEINES PARTICIPENT AUX ECHANGES DE MATIERES ENTRE LA CELLULE ET SON ENVIRONNEMENT ET ENTRE COMPARTIMENTS CELLULAIRES

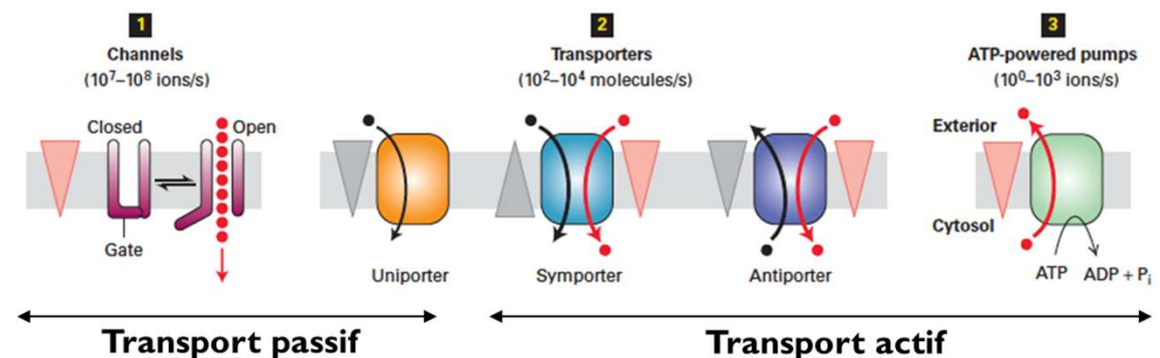


I. Des protéines insérées dans les membranes cellulaires

- De par sa nature lipidique au sein d'un milieu aqueux, la membrane est **une barrière**
- Cependant grâce aux protéines membranaires, c'est aussi et surtout :
 - Une **surface d'échanges**
 - Une structure apte à recevoir et à transmettre à la cellule des **messages** exogènes, nerveux et ou hormonaux
 - Une surface de **contact** intercellulaire et **d'adhérence**



Une barrière et une zone de contact



IV. LES PROTÉINES : DES POLYMÈRES À CONFORMATION DYNAMIQUE ESSENTIELLE À LEUR FONCTIONNEMENT

B. LES PROTÉINES PARTICIPENT AUX ECHANGES DE MATIERES ENTRE LA CELLULE ET SON ENVIRONNEMENT ET ENTRE COMPARTIMENTS CELLULAIRES

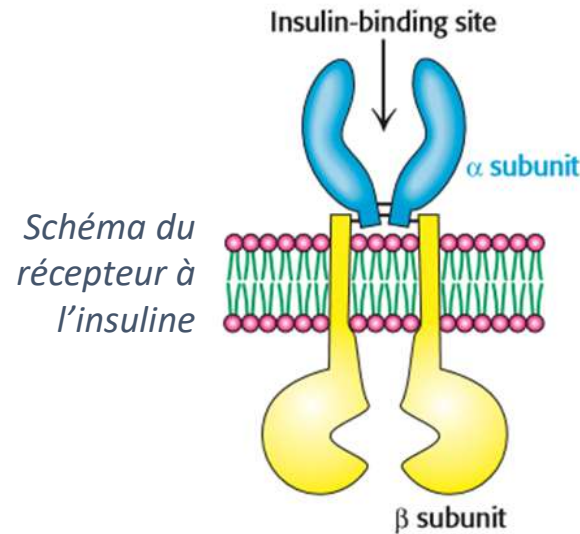
I. Des protéines insérées dans les membranes cellulaires

Voie de signalisation de l'insuline



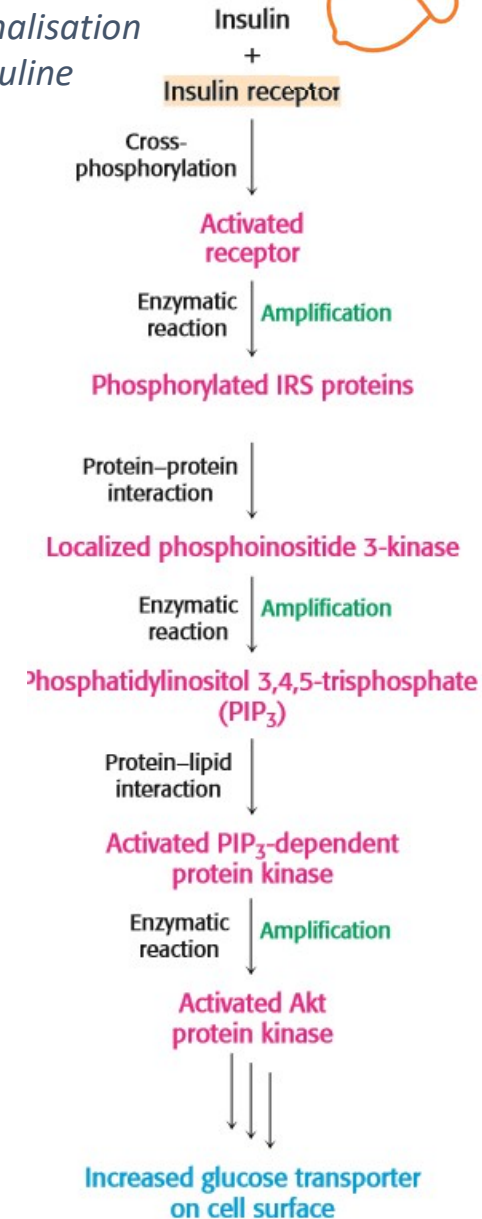
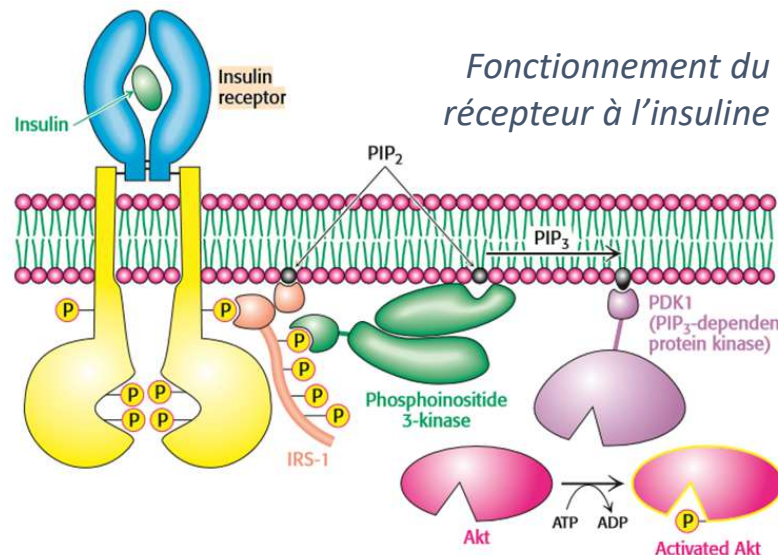
Récepteur à l'insuline

- **Insuline** : protéine, hormone hypoglycémiant
- **Structure**
 - Dimère lié par pont disulfure
 - 1 monomère = 2 s.u. (α et β)
 - α → fixation insuline
 - β → Activité Tyr kinase



■ Fonctionnement

- ✓ Fixation de l'insuline → phosphorylation croisée
- ✓ Les Tyr-P sont des sites de fixation pour les protéines cibles (IRS, puis reconnues par leur domaine SH2 par PI3K) → phosphorylation



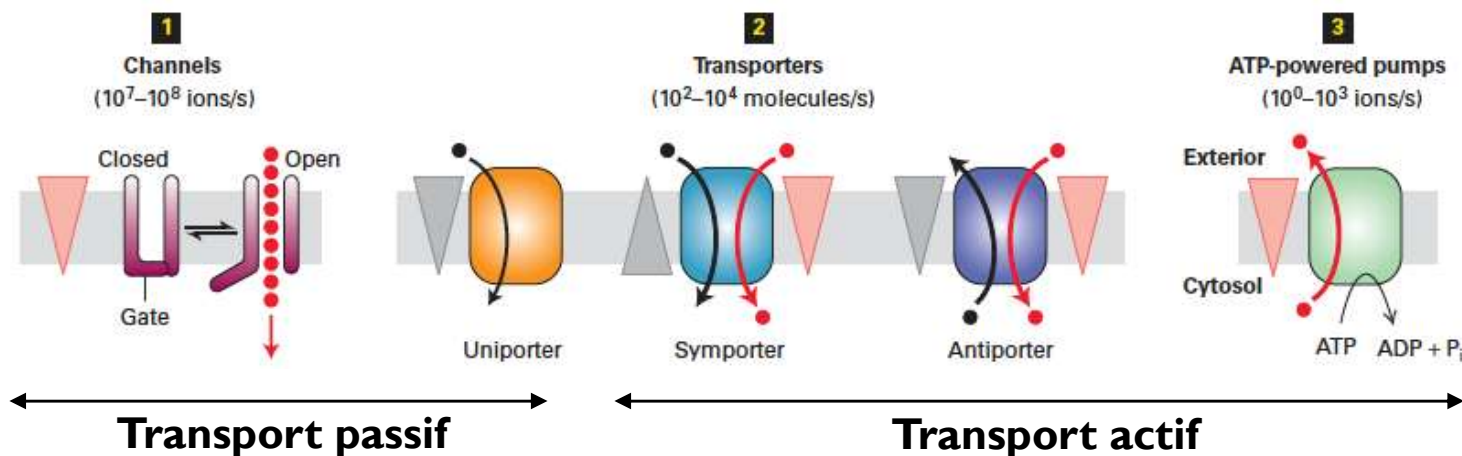
B. LES PROTEINES PARTICIPENT AUX ECHANGES DE MATIERES ENTRE LA CELLULE ET SON ENVIRONNEMENT ET ENTRE COMPARTIMENTS CELLULAIRES

2. Une diversité de flux conditionnés par les propriétés des protéines de transport



Transports passifs , ne nécessitant pas d'énergie (loi de Fick) $\Delta G' < 0$	Diffusion simple Diffusion facilitée par un canal Diffusion facilitée par un transporteur (perméase)	Eau (osmose) O_2 , CO_2 , glycérol Eau (osmose par AQP) Ions Glucose (perméase)
Transports actifs , nécessitant un couplage (énergie de réaction ou énergie potentielle de gradient) $\Delta G' > 0$	Transport actif primaire (couplage chimio-osmotique) Transport actif secondaire (couplage osmo-osmotique)	Pompe Na^+/K^+ Pompe Ca^{2+} Pompe H^+ Symport Na^+ /Glucose ou Na^+ /AA Symport H^+ /AA (bactéries)

Modes de transports individuels transmembranaires



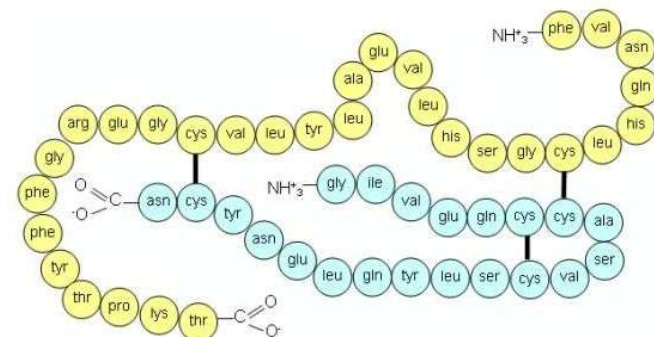
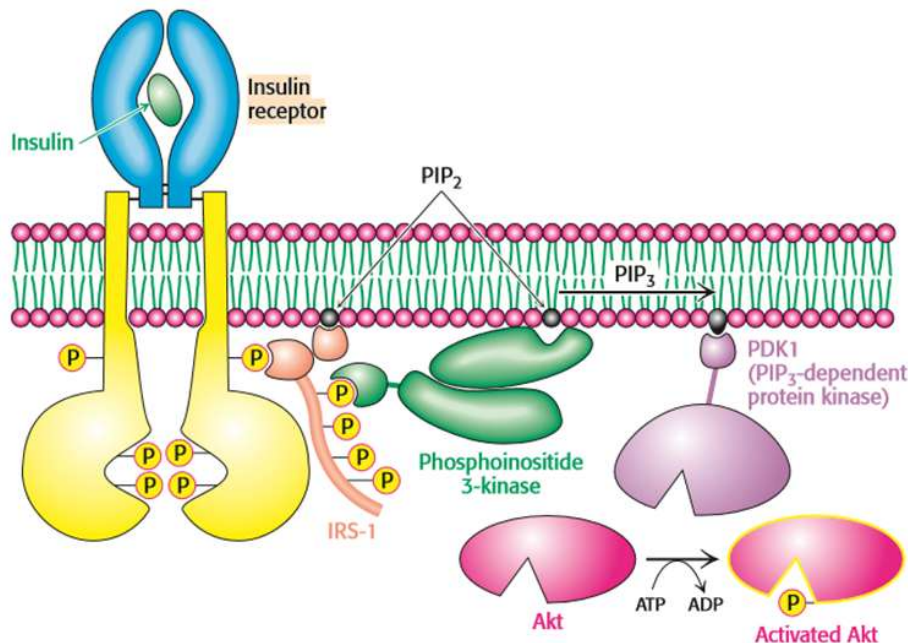
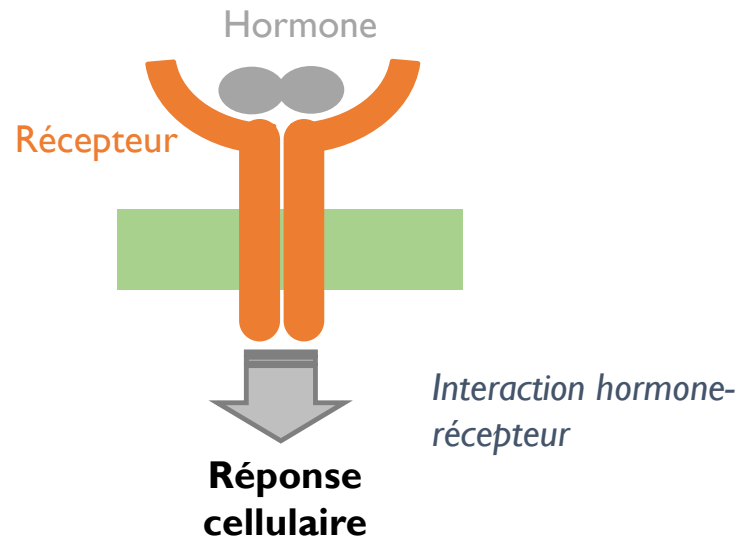


IV. LES PROTÉINES : DES POLYMÈRES À CONFORMATION DYNAMIQUE ESSENTIELLE À LEUR FONCTIONNEMENT

C. LES PROTEINES PARTICIPENT A LA COMMUNICATION ET A LA TRANSDUCTION CELLULAIRE

- Comme la globine, de nombreuses protéines fonctionnent par **interaction** avec d'autres molécules = rapprochement physique impliquant des liaisons faibles (réversibles et temporaires)
- Les molécules qui interagissent avec les protéines sont souvent beaucoup plus petites ~ « **ligands** »
 - Ex : **insuline, hormone hypoglycémiant**e synthétisée par le pancréas endocrine en cas d'hyperglycémie et transitant par voie sanguine dans tout l'organisme, capté par des cellules cibles

Ligand : n.m. molécule qui se fixe à la surface d'une protéine via des liaisons faibles



L'insuline et ses ponts disulfures

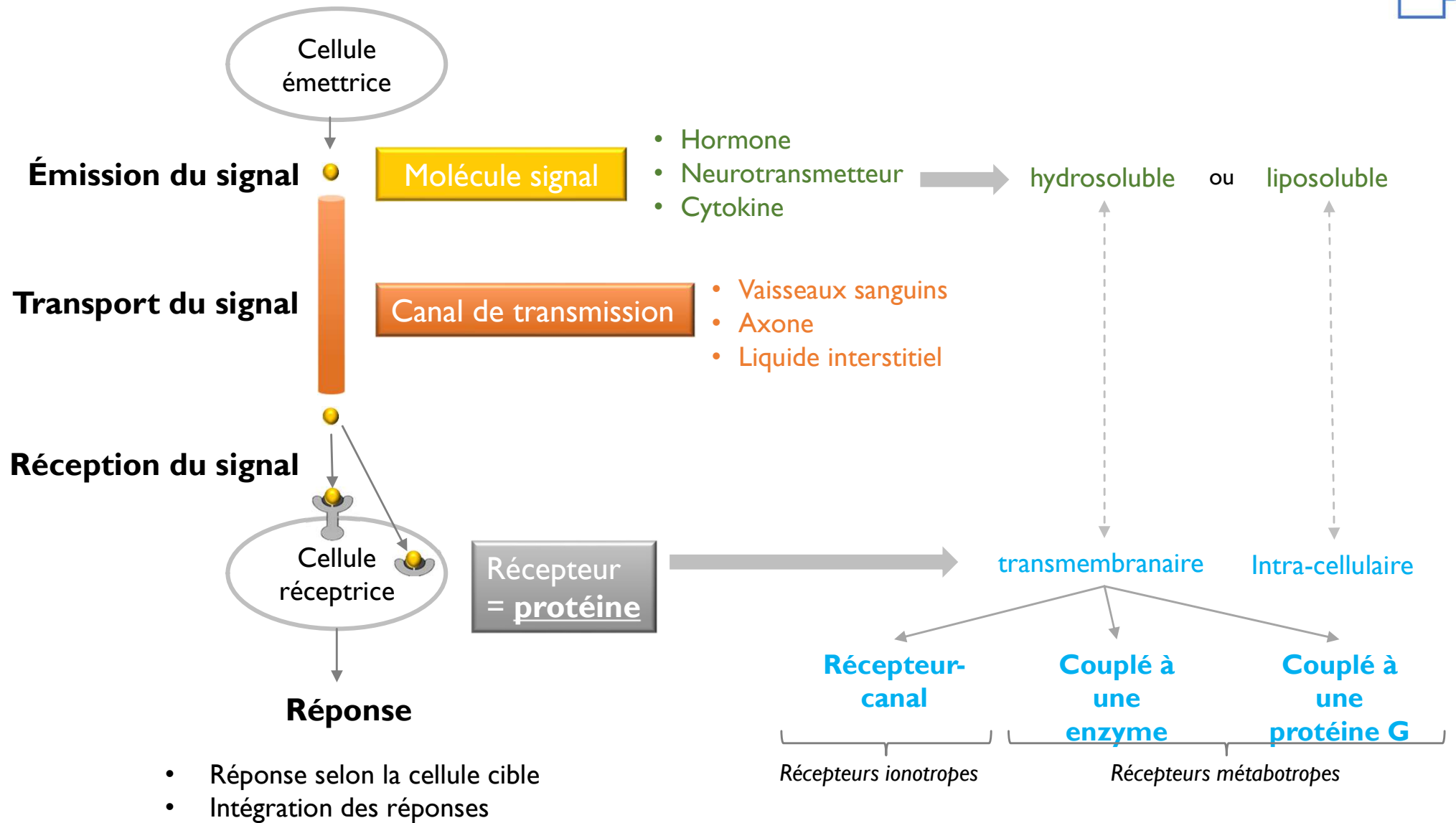


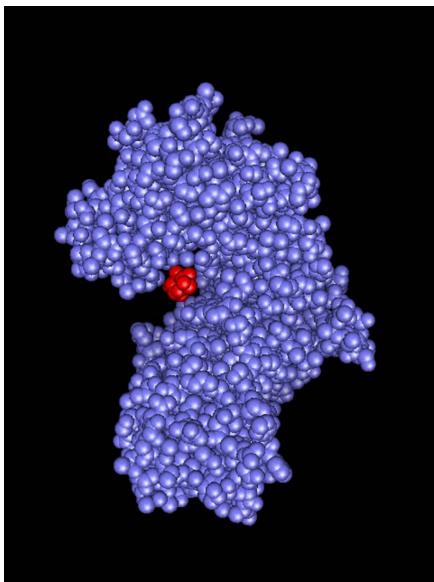
Schéma bilan des modalités de transduction d'un signal extracellulaire (E. Bouguyon)

IV. LES PROTÉINES : DES POLYMÈRES À CONFORMATION DYNAMIQUE ESSENTIELLE À LEUR FONCTIONNEMENT

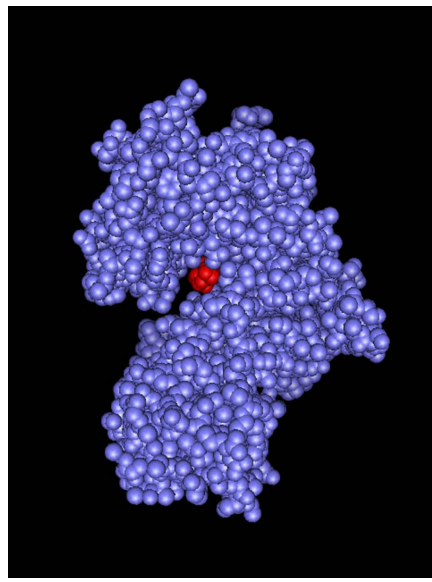
D. LES ENZYMES SONT DES PROTEINES CATALYSANT LES RÉACTIONS DU VIVANT

L'hexokinase

- Enzyme de la glycolyse (étape I) :



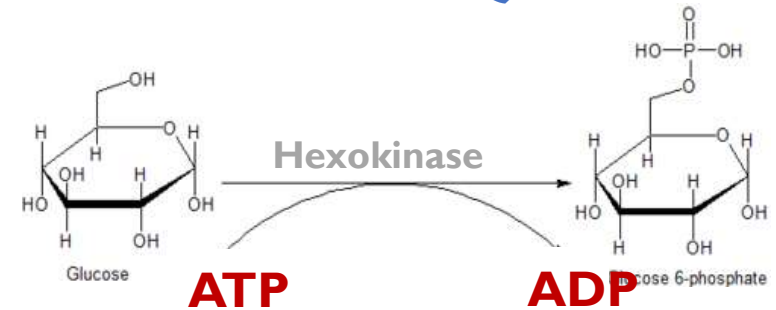
Conformation sans ligand



Conformation avec ligand

→ Changement de conformation suite à la fixation du ligand

→ **Ajustement induit**



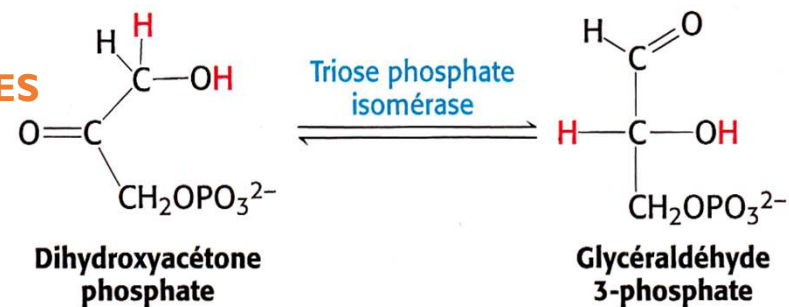
Réaction irréversible catalysée par l'hexokinase –
étape I de la glycolyse

- Enzyme: **biocatalyseur** (accélération d'une réaction chimique exergonique)
- Interaction d'une protéine avec son substrat** dans un site actif → importance de la conformation de la protéine.
- Interaction → changement de conformation qui place les réactifs (appelés substrats) dans une orientation 3D favorable au déroulement de la réaction.
- structure spécifiquement liée à la fonction:
 - techniques spectrophotométriques (diffraction aux rayons X, RMN) : structure 3D
 - double spécificité: de substrat et de réaction

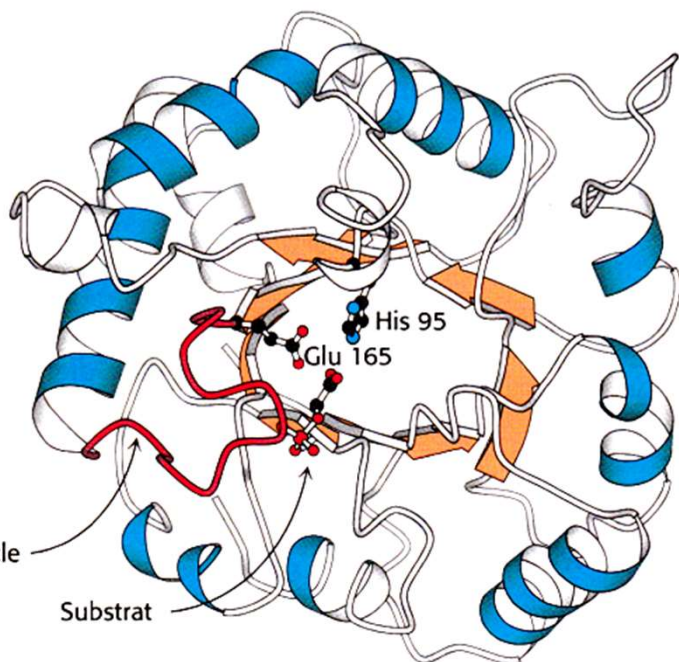
IV. Les protéines : des polymères à conformation dynamique essentielle à leur fonctionnement

D. LES ENZYMES SONT DES PROTEINES CATALYSANT LES RÉACTIONS DU VIVANT

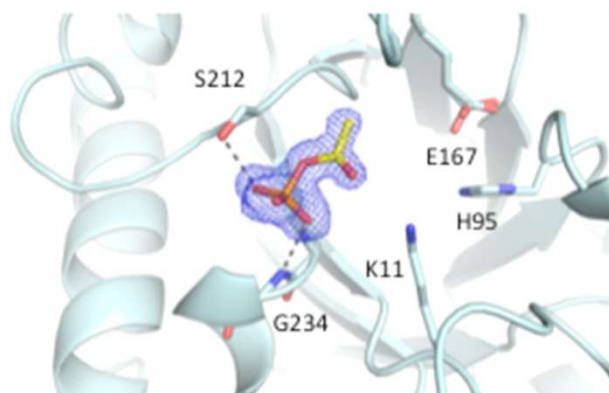
Triose phosphate isomérase (TPI ou TIM)



Réaction réversible (oxydoréduction intramoléculaire)
catalysée par la TPI - étape 5 de la glycolyse

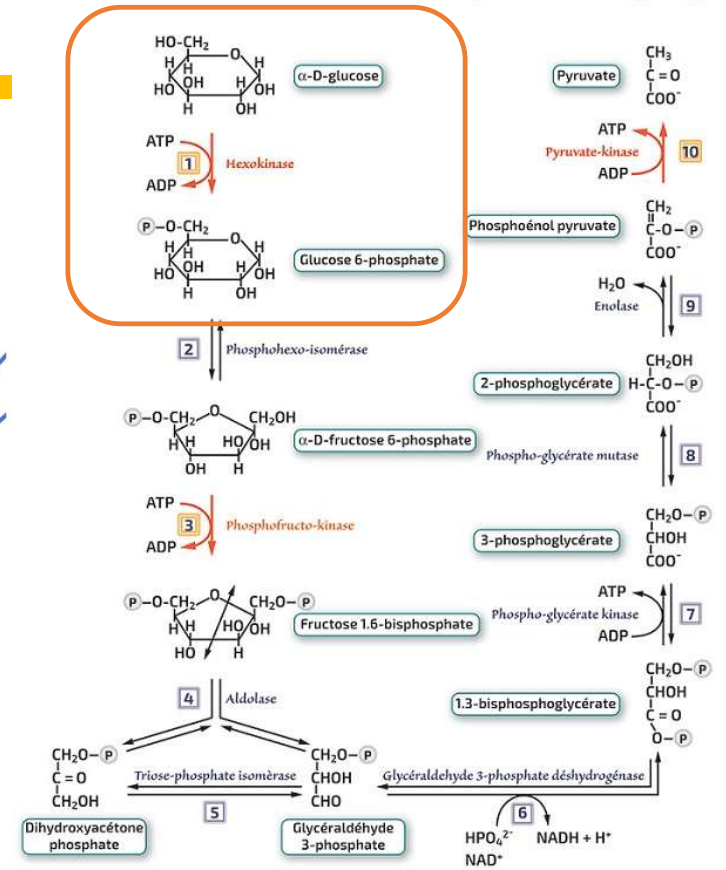


Modèle de la TPI

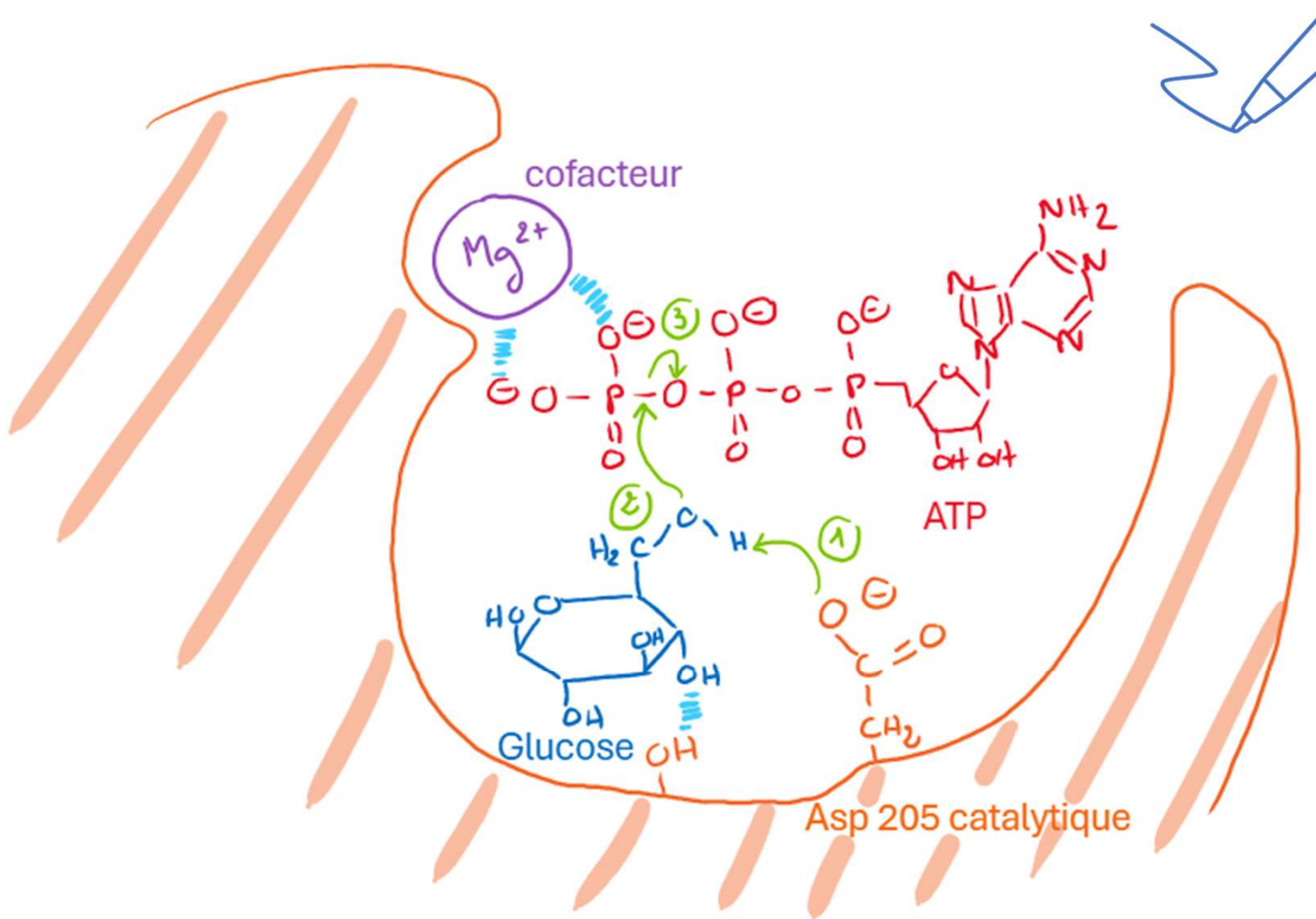


Fixation du ligand au site actif de la TPI

- enzyme = macromolécule protéique alors que le substrat = une petite molécule
- seule une petite partie de l'enzyme intervient dans la fixation du substrat = site
- Formation de **liaisons faibles entre enzyme et substrat**
- Généralisation sur le site actif:
 - Fente ou cavité tridimensionnelle
 - Part réduite du volume de l'enzyme
 - Liaison enzyme – substrat par des liaisons faibles
 - Formes complémentaires enzymes – substrat
 - Reconnaissance enzyme – substrat dynamique = adaptation induite



Mécanisme réactionnel



Mécanisme réactionnel au sein du site actif de l'hexokinase cytosolique

BILAN GÉNÉRAL

- Les protides sont la famille de biomolécules la **plus importante** du point de vue **quantitatif** et **fonctionnel**
- Les protides incluent :
 - Les acides aminés
 - Les peptides (oligo-, poly-)
 - Les protéines
- Les peptides et protéines exercent une grande diversité de fonctions au sein de la cellule ; ils sont **centraux** dans le **fonctionnement** cellulaire.
 - Ce sont des **polymères d'acides aminés**.
 - Leur structure est complexe, modulaire et dynamique.
 - Il y a 4 niveaux d'organisation; à chaque niveau, de nouvelles propriétés apparaissent (inexistantes au niveau inférieur).
→ Notion **d'émergence**

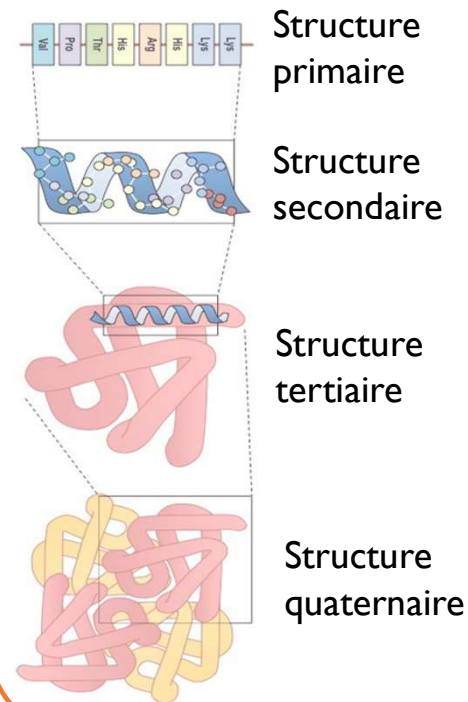
BCPST1 - ENCPB - STÉPHANIE DALAINE

<https://www.youtube.com/watch?v=qBRFIMcxZNM>

Les Protides



Structure des protéines



Fonctions des protéines

- Structure
- Réserve
- Catalyse (enzyme)
- Transport
- Mouvement
- Régulation
- Signalisation
- Défense

Les protéines

BILAN GÉNÉRAL

Rôle structural	Rôle fonctionnel (énergie, information)
Liaison à l'ADN (ex : histones)	Enzymes du métabolisme (ex : ATP synthase)
Composants du cytosquelette (actine, myosine)	Echanges transmembranaires (ex : aquaporine)
Jonctions cellulaires (ex : intégrines)	Récepteurs de molécules informationnelles (ex : récepteur à l'insuline)
Matrice extracellulaire (ex : collagène)	Molécules informationnelles (ex : insuline)
	Molécules de transport (ex : hémoglobine)

Place des protéines dans la cellule

DES PROTÉINES AU CŒUR DE L'ACTUALITÉ SCIENTIFIQUE: NOBEL 2024!

- David Baker: résolution du problème « inverse »: partir de la fonction recherchée d'une protéine pour retrouver la structure tertiaire et donc la séquence primaire et ainsi la synthétiser
 - Applications nombreuses: ex enzyme dégradant le plastique
- Demis Hassabis et John Jumper: développement du logiciel AlphaFold au sein de société Google Deepmind
 - Apprentissage automatique par réseaux de neurones artificiels:
 - ✓ 20 000 protéines dont la conformation est révélée par cristallographie aux rayons X
 - ✓ 200 millions de conformations proposées par AlphaFold par prédiction de structure



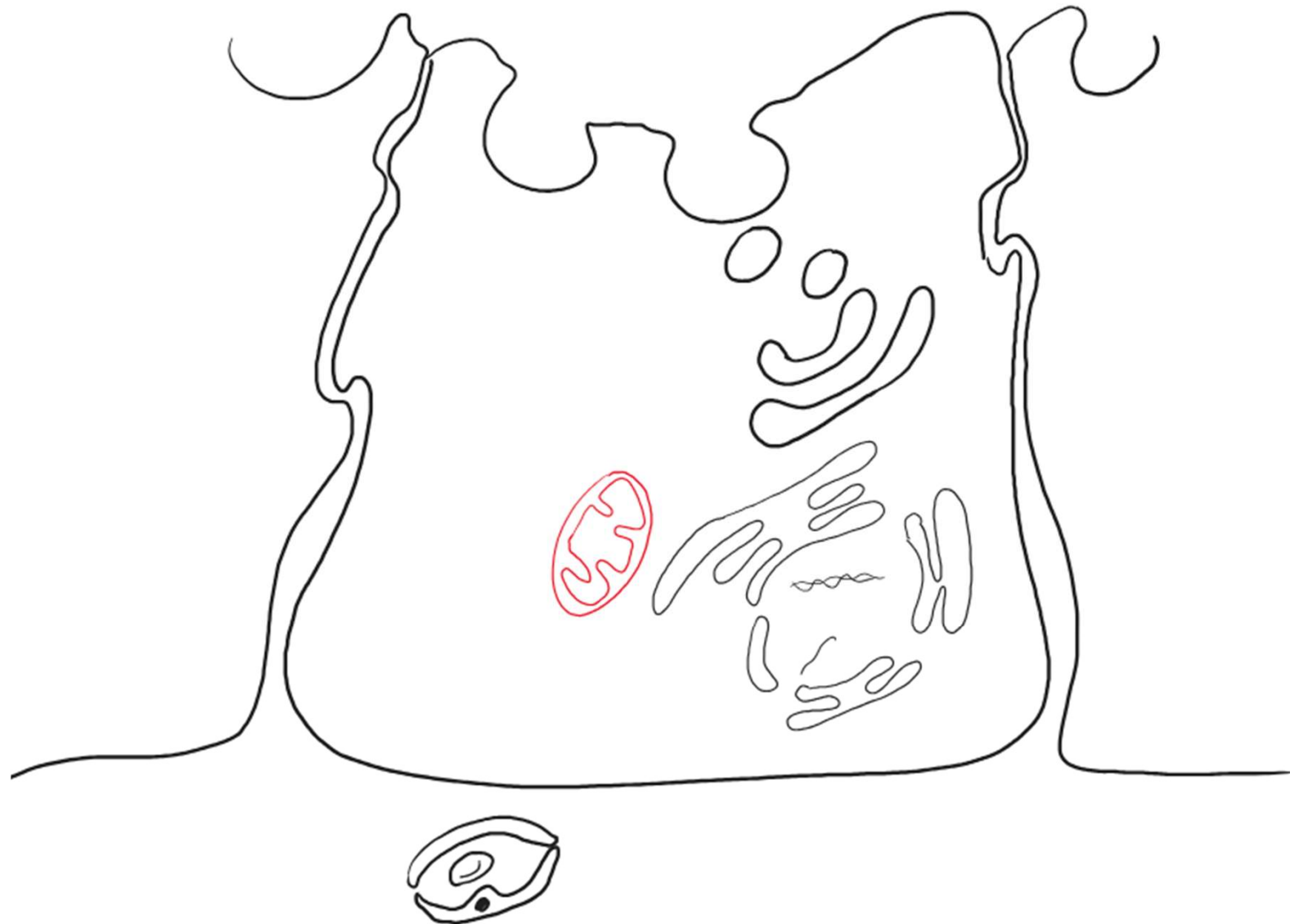
David Baker (1962-)



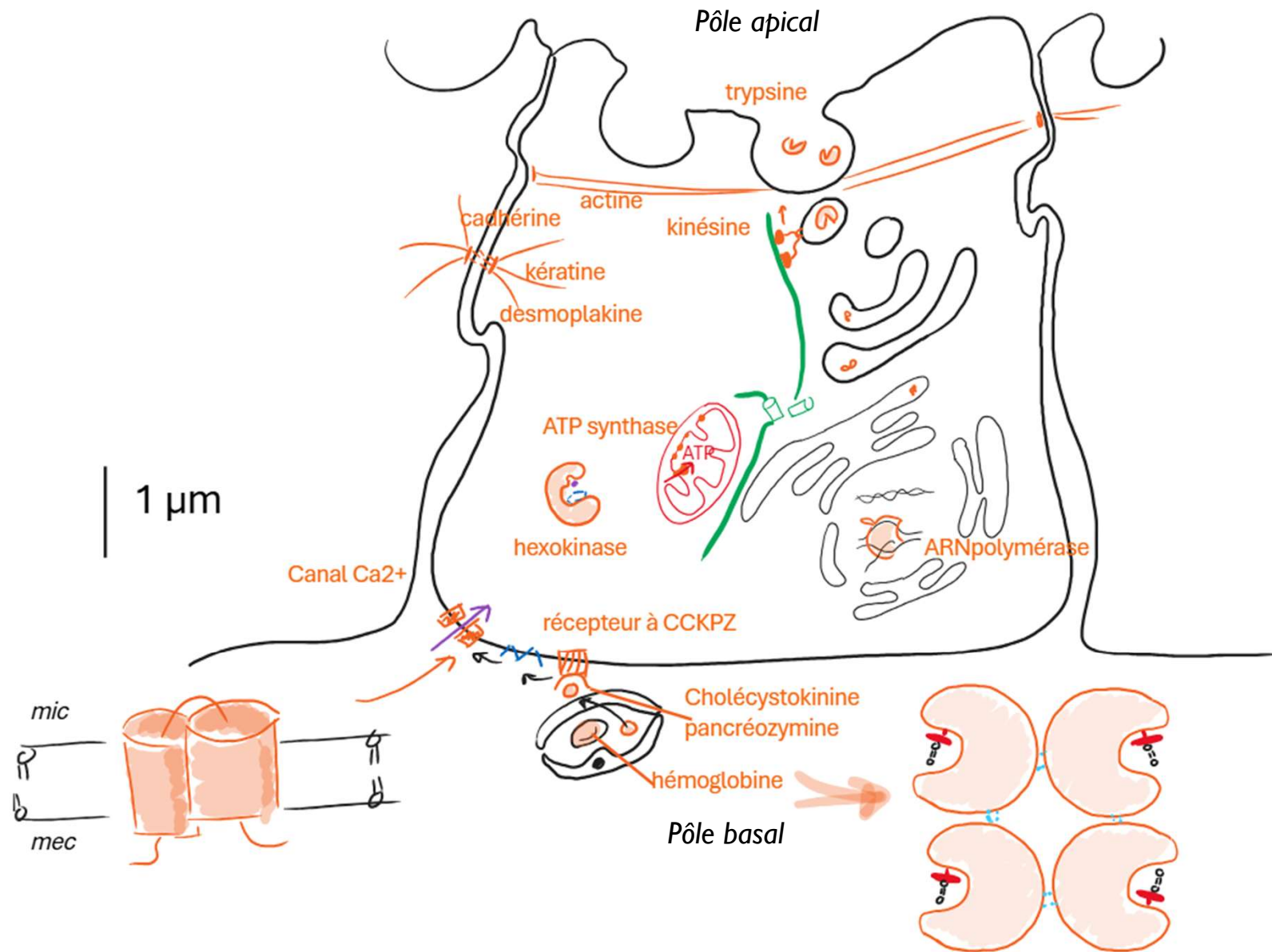
Demis Hassabis (1976-)



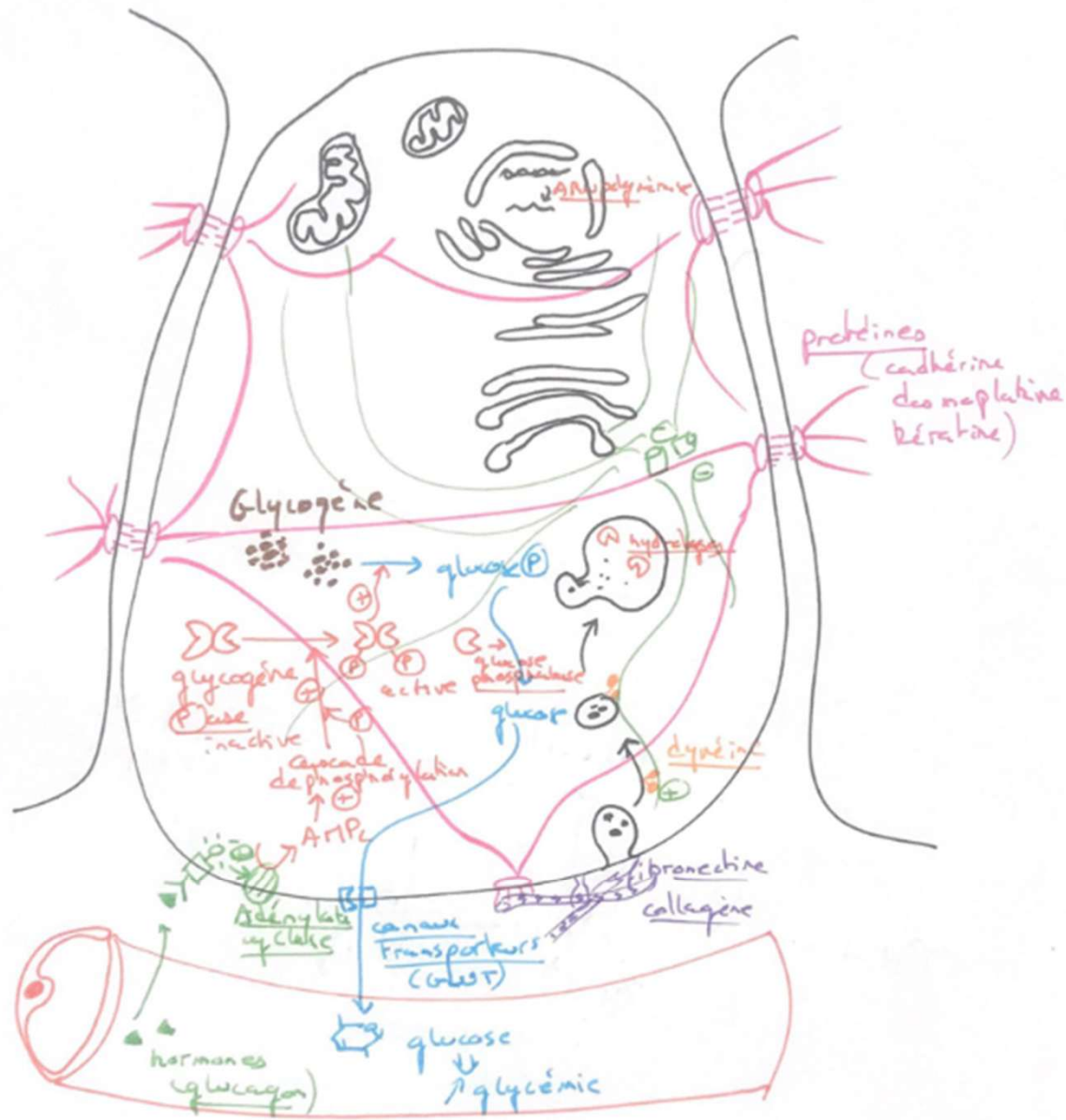
John Michael Jumper (1985-)



Les protéines dans une CAP

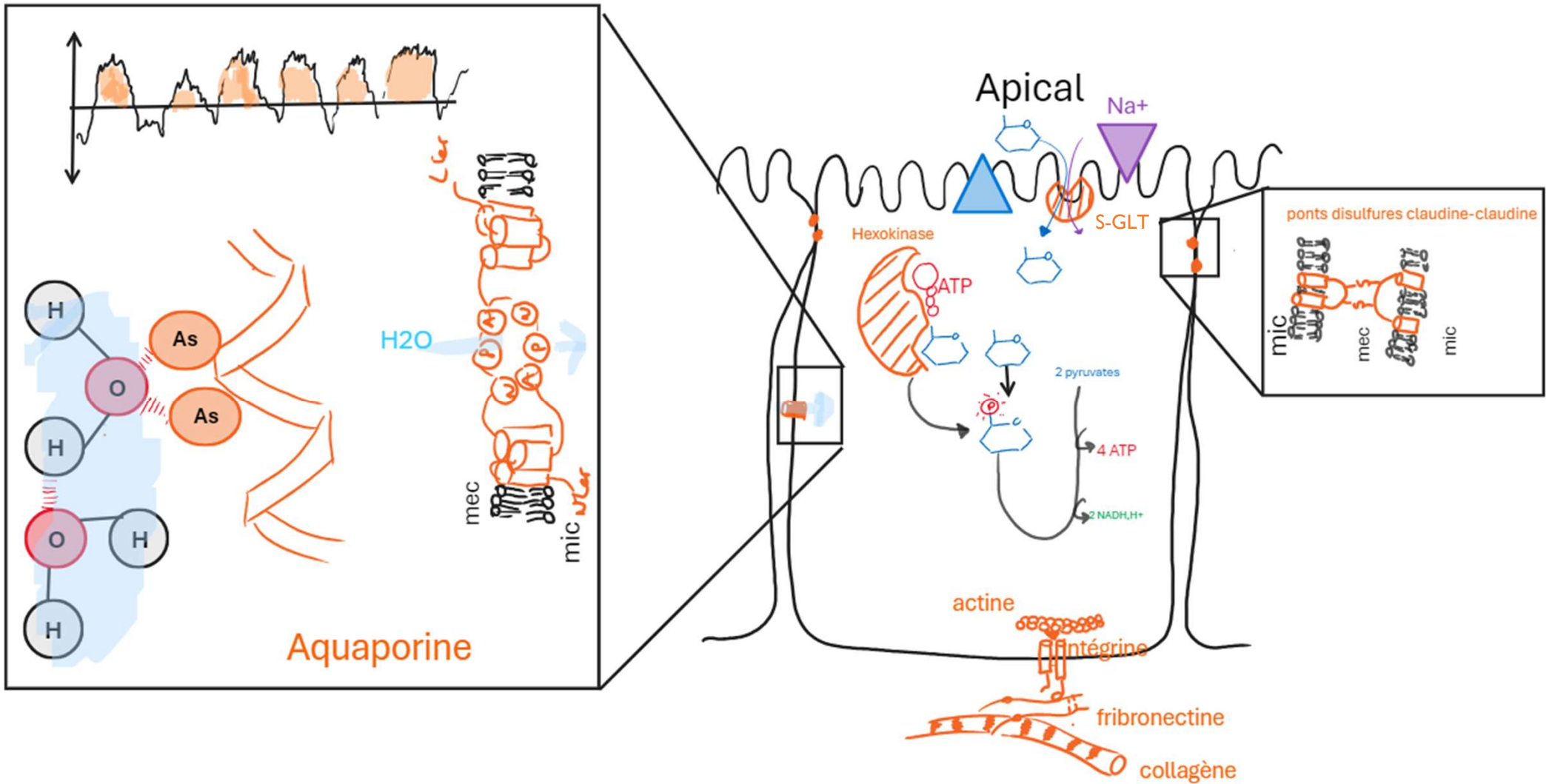


Les protéines dans une CAP



Légendes: enzymes
protéines

Les protéines dans un hépatocyte



Interactions et protéines dans un entérocyte

SUJETS D'ORAUX

- Les protéines des molécules dynamiques
- Les polymères séquencés
- Niveaux d'organisation des protéines
- Les interactions acides nucléiques – protéines
- Qu'est-ce qu'une protéine?
- La structure des protéines
- De la séquence à la fonction des protéines
- Des acides aminés à la protéine fonctionnelle
- La conformation des protéines: origine et conséquences
- Les changements de forme des protéines
- Les protéines et leurs ligands

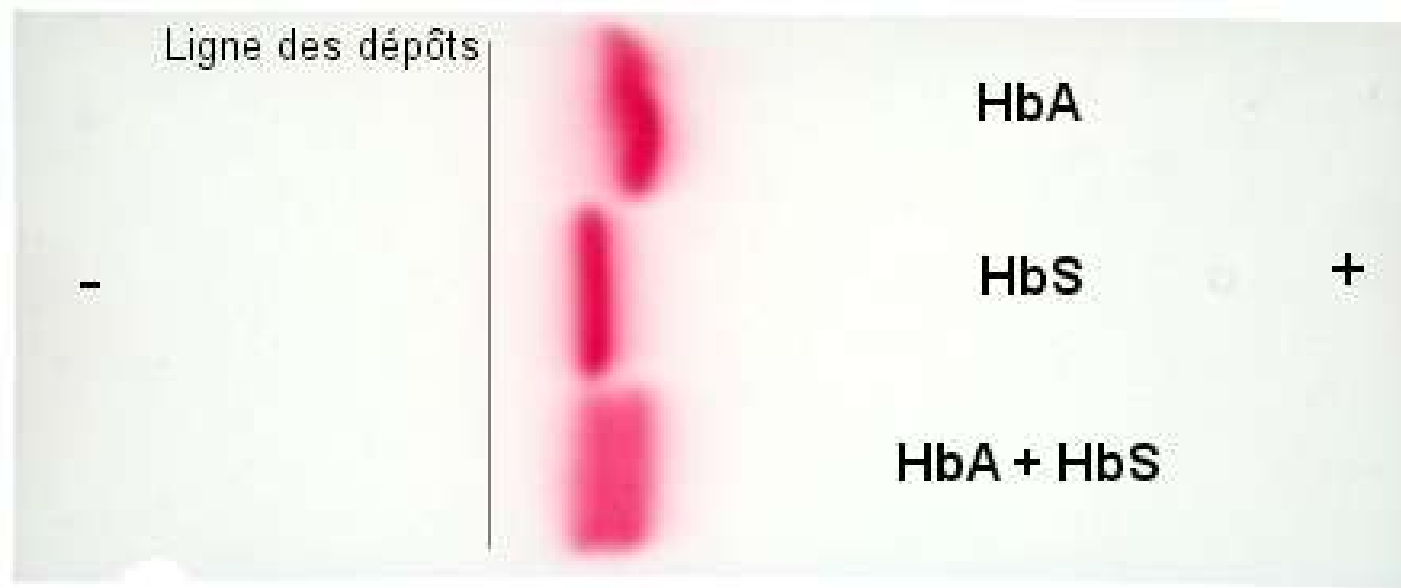




EXERCICES : ÉTUDE DES PROTÉINES



ELECTROPHORÈSE EN CONDITIONS NATIVES : HbA ET HbS



GLU → VAL

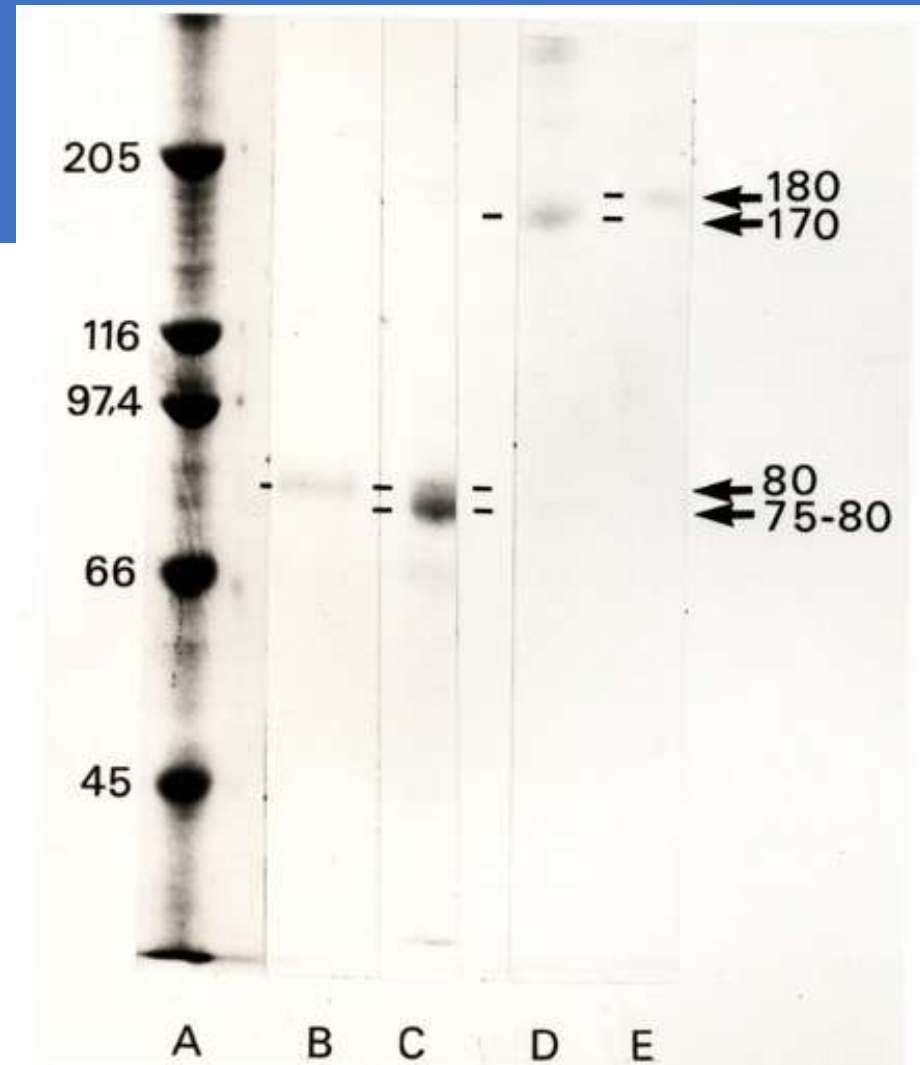
HbS est plus chargé négativement qu'HbA

ELECTROPHORÈSE EN CONDITIONS DÉNATURANTES

Analyse électrophorétique d'une molécule purifiée en présence ou en absence de β -mercaptoéthanol

Les mêmes échantillons ont été soumis à séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide (7,5 %)-bisacrylamide (0,2 %), après dénaturation par du SDS, en présence (A, B, C) ou en absence (D, E) de β -mercaptoéthanol. Le gel est coloré au bleu de Coomassie.

Colonne A : marqueurs de masse moléculaire ; colonnes B et E : DBH (dopamine- β -hydroxylase) purifiées à partir de phéochromocytomes de rat ; C et D : DBH purifiées à partir de phéochromocytomes humains.



Dr Caroline Benlot, service BioMédia

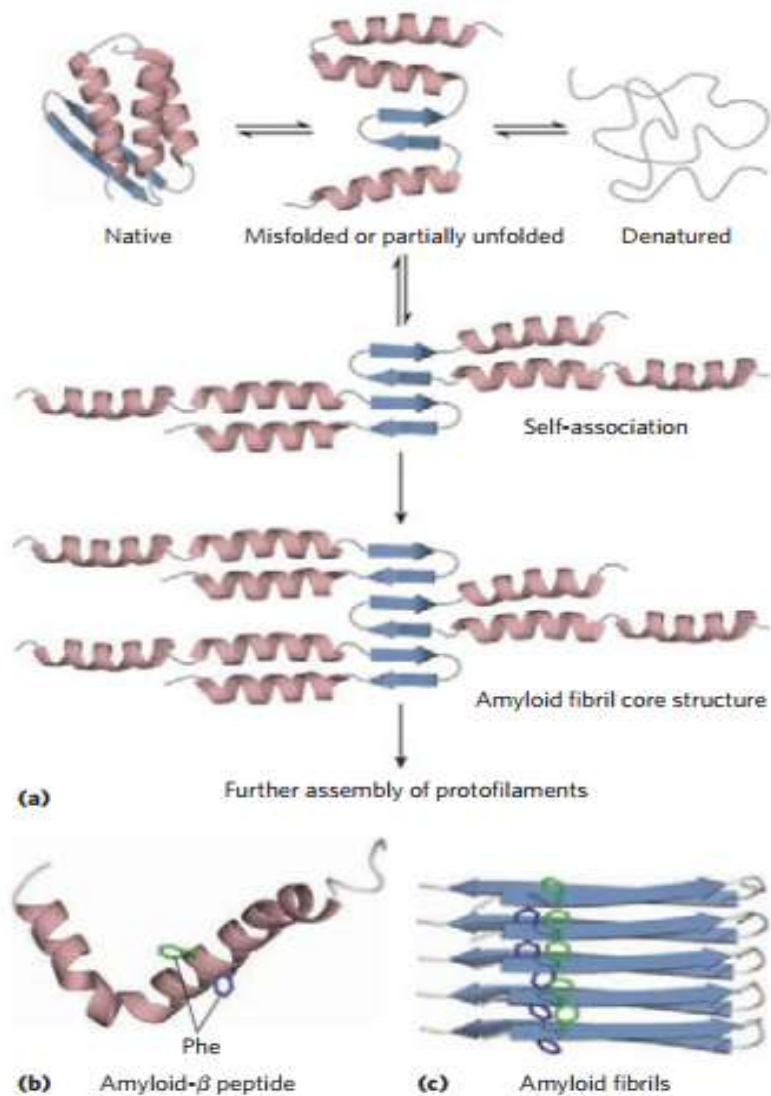
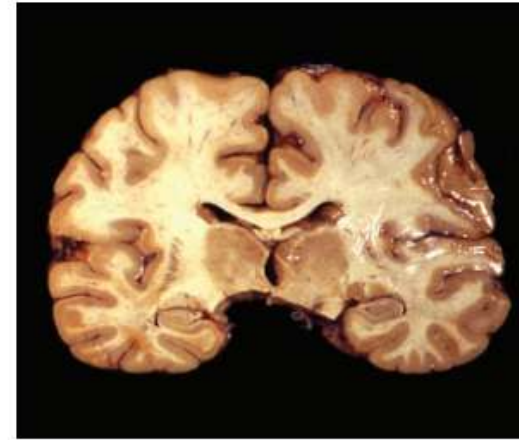


FIGURE 4-32 Formation of disease-causing amyloid fibrils. **(a)** Protein molecules whose normal structure includes regions of β sheet undergo partial folding. In a small number of the molecules, before folding is complete, the β -sheet regions of one polypeptide associate with the same region in another polypeptide, forming the nucleus of an amyloid. Additional protein molecules slowly associate with the amyloid and extend it to form a fibril. **(b)** The amyloid- β peptide begins as two α -helical segments of a larger protein. Proteolytic cleavage of this larger protein leaves the relatively unstable amyloid- β peptide, which loses its α -helical structure. It can then assemble slowly into amyloid fibrils **(c)**, which contribute to the characteristic plaques on the exterior of nervous tissue in people with Alzheimer disease. The aromatic side chains shown here play a significant role in stabilizing the amyloid structure. Amyloid is rich in β sheet, with the β strands arranged perpendicular to the axis of the amyloid fibril. Amyloid- β peptide takes the form of two layers of extended parallel β sheet. Some amyloid-forming peptides may fold to form left-handed β -helices (see Fig. 4-22).

Normal



Alzheimer disease



Figure 59–9 Overt pathological changes in the brain of individuals with Alzheimer disease. When compared to age-matched normal brains, the brain of an Alzheimer patient displays marked shrinkage and ventricular enlargement. (Whole

brain photos from P. Anderson, University of Alabama at Birmingham, Department of Pathology; brain slice photos from A. C. McKee; all reproduced with permission.)

II. Structure tridimensionnelle des protéines

B. STRUCTURE TERTIAIRE

3. Repliement (= folding)

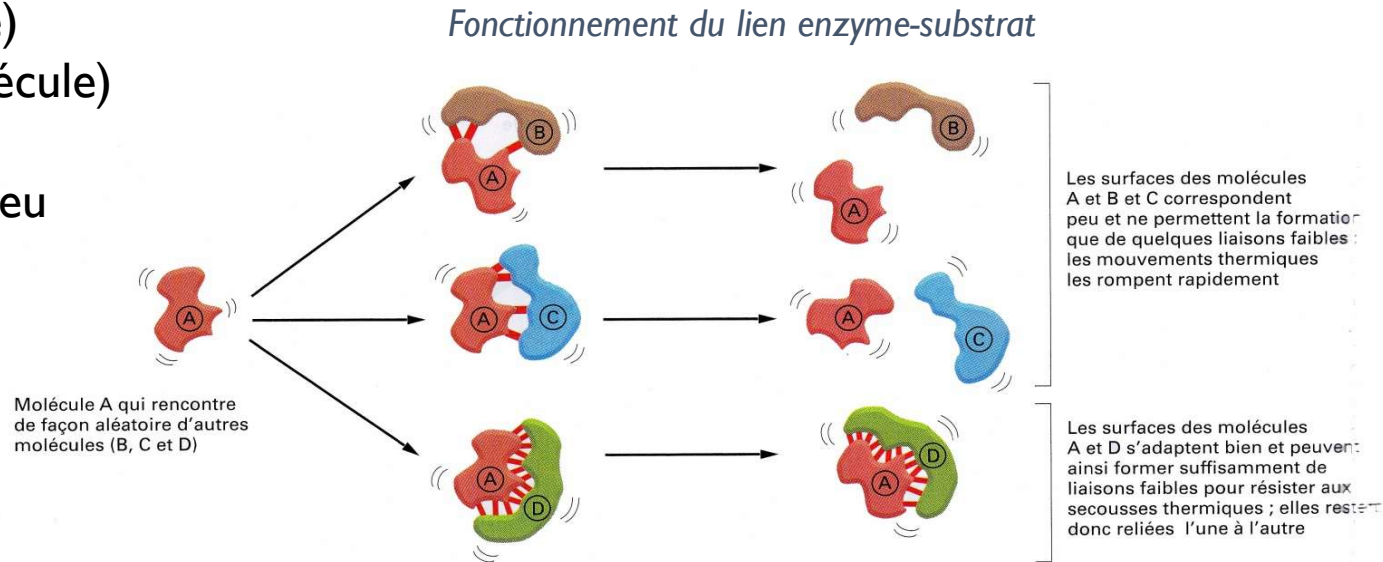
Diversité des interactions entre chaînes latérales des résidus d'une chaîne polypeptidique

Nature des acides aminés		Type d'interactions	Exemples d'acides aminés impliqués
Apolaires		Interactions hydrophobes et liaisons de van der Waals entre radicaux alkyl	Ala, Val, Leu, Ile, Phe
Polaires	Neutres ou non chargés	Ponts disulfures entre groupements sulfhydryle -SH	Cys
		Liaisons H entre fonctions hydroxyles -OH ou amine et fonctions cétone	Ser, Thr, Tyr Gln, Asn
	Chargés positivement (basiques)	Liaisons ioniques (charges opposées)	Lys, Arg, His
	Chargés négativement (acides)	ou Répulsions électrostatiques (charges de même signe)	Asp, Glu

III. Interactions des protéines avec d'autres biomolécules

3. Généralisation: la notion de site actif

- Pour agir, l'enzyme (grosse molécule) interagit avec son ligand (petite molécule)
- **Site actif** : zone de l'enzyme où a lieu l'interaction enzyme-ligand.
 - ✓ Cavité ou fentes **hydrophobes**
 - ✓ **Petite** taille
 - ✓ Deux parties :
 - I site de fixation
 - I site de catalyse
 - ✓ Faites d'AA éloignés dans la séquence

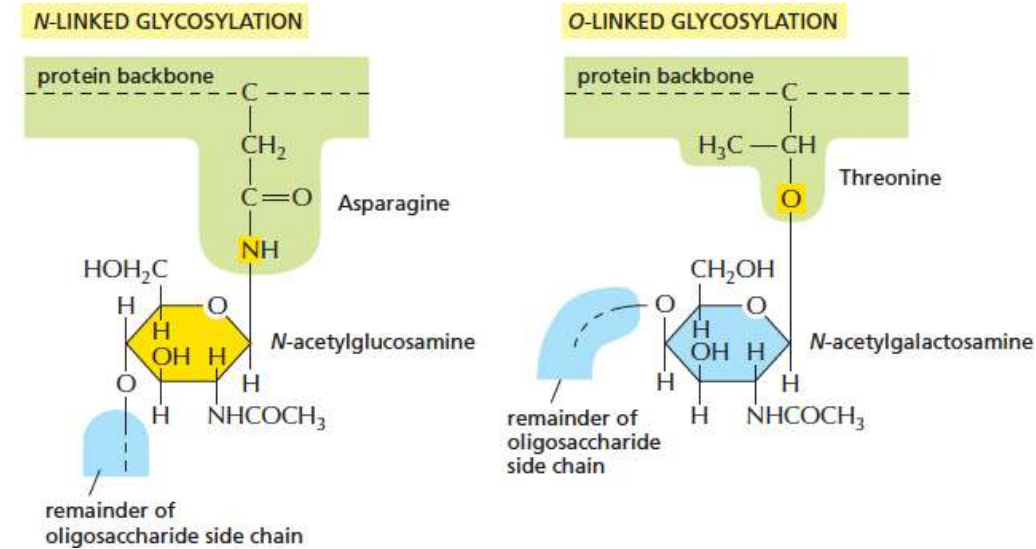


- L'interaction enzyme-ligand se fait via de multiples **liaisons faibles**
 - **Complémentarité**
 - **Spécificité**
- L'interaction enzyme-substrat est dynamique
 - **Ajustement induit**

III. Interactions des protéines avec d'autres biomolécules

B. PROTÉINES ET GLUCIDES

- **Glycosylation** : ajout d'une chaîne glucidique sur une protéine par liaison covalente
- Deux types de glycosylation des protéines :
 - ✓ N-glycosylation (sur Asn) dans le REG (et Golgi)
 - ✓ O-glycosylation (sur Ser, Thr) dans le Golgi
- Différents types de molécules obtenues selon le ratio de masse protéine/glucide
 - ✓ protéine > glucide → **glycoprotéine**
 - ✓ protéine < glucide → **protéoglycane**
- Rôle des glycosylations protéiques :
 - ✓ Structuration de la protéine
 - ✓ Solubilisation et/ou hydratation (gel)
 - ✓ Protection vis à vis du milieu extérieur
 - ✓ Reconnaissance



Diversité des rôles des protéines O-glycosylées

Caractéristiques	Rôles et propriétés biologiques des glycoprotéines
Caractère polaire des oses	Solubilisation des protéines transportées dans le milieu intérieur (sérumalbumine, hormones hypophysaires...)
Oligosides nombreux, en saillie	Lutte contre la déshydratation grâce au mucoprotéines du mucus (amphibiens, mollusques terrestres.)
Oligosides flexibles, occupant un gros volume	Macromolécules hydrophiles formant un gel hydraté : ex. collagène des matrices extracellulaires animales
Grande variabilité de composition et de degré de ramification des chaînes oligosidiques	Rôle protecteur par diminution de l'accessibilité aux protéases ; ex. : protéines des lysosomes
	Aide à la stabilisation de la structure III des protéines (reconnaissance par certaines chaperonines)
	Rôle important dans les mécanismes de reconnaissance cellulaire : molécule de type CAM, cadhérines
	Adressage intracellulaire

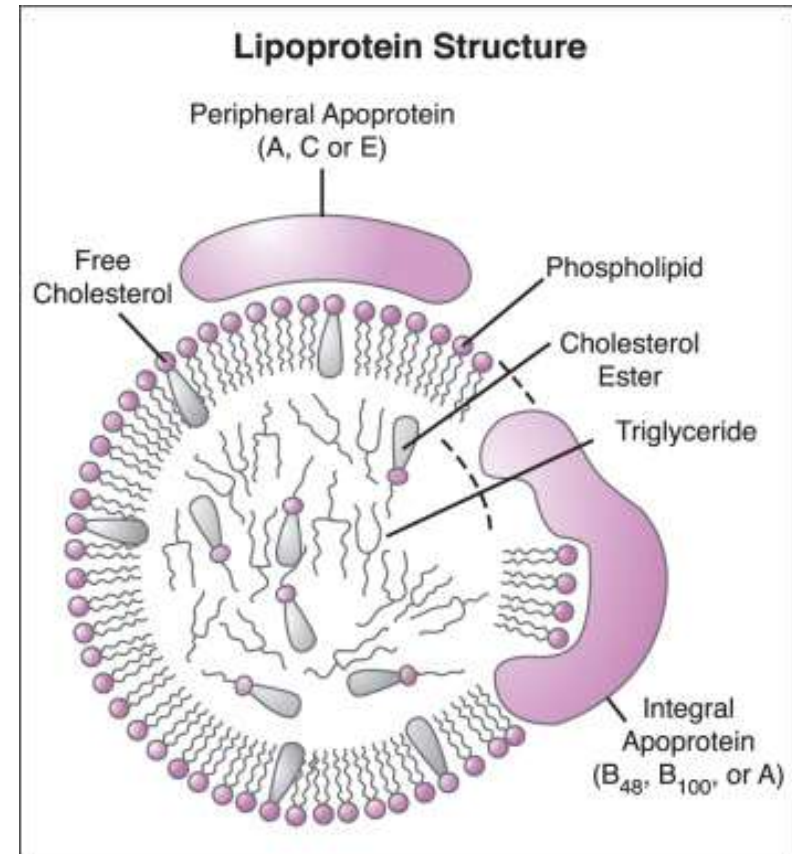
III. Interactions des protéines avec d'autres biomolécules

C. PROTÉINES ET LIPIDES

- Les protéines peuvent être associées à des lipides...
 - ✓ ... de la membrane plasmique via des ancres GPI
 - ✓ ... libres au sein de lipoprotéines

Cf. Membrane I

- Rôles des lipoprotéines
 - Transport des lipides (hydrophobes) dans le sang (hydrophile)
 - Adressage aux cellules
- Composition des lipoprotéines :
 - ✓ Acyl-glycérol (TAG, DAG, MAG)
 - ✓ Phospholipides
 - ✓ Cholestérol
 - ✓ Esters de cholestérol (stérides)
 - ✓ Apoprotéine (différents types)



Structure d'une lipoprotéine
Cœur hydrophobe (stérides, TAG)
Enveloppe de phospholipides + cholestérol
Apoprotéine structurale



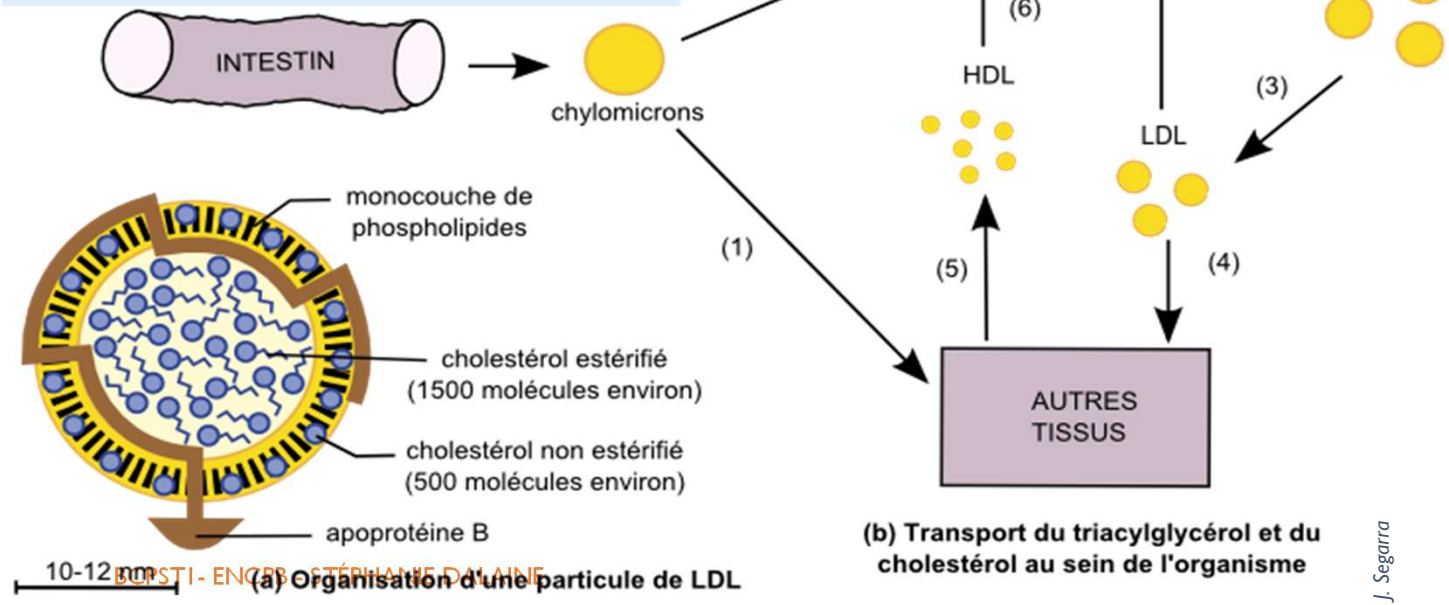
III. Interactions des protéines avec d'autres biomolécules

C. PROTÉINES ET LIPIDES

- Différents types de lipoprotéines et leurs rôles :

Types de lipoprotéines	Qté de prot	Qté de lipide
HDL (high densité LP)	+++ (70%)	+
LDL (low densité LP)	++	+++
VLDL (very low density LP)	+	+++
Chylomicrons	_ (1%)	+++

Transport des lipides alimentaires sous forme de chylomicrons vers le foie et les autres tissus (1). Le foie produit des VLDL (2) qui cèdent leurs triacylglycérols et deviennent des LDL (3) lors de la circulation entre les tissus. Ces derniers capturent les LDL (4). Les HDL retransportent le cholestérol des tissus (5) vers le foie (6).



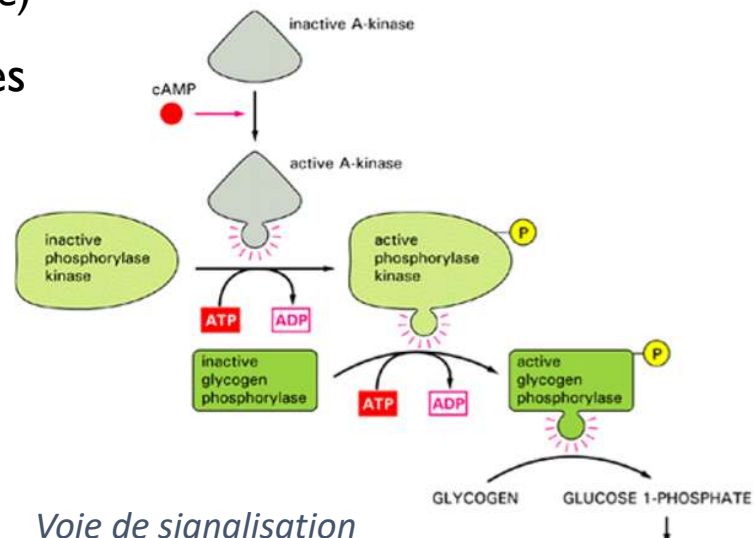
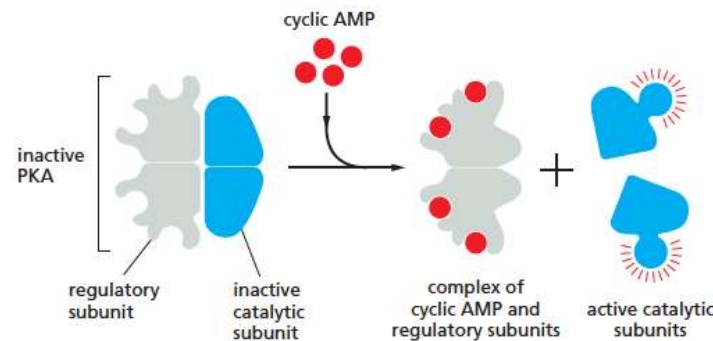
J. Segarra

Kinase : n.f. enzyme qui catalyse l'ajout de groupements phosphates (phosphorylation)

2. Protéines Gs

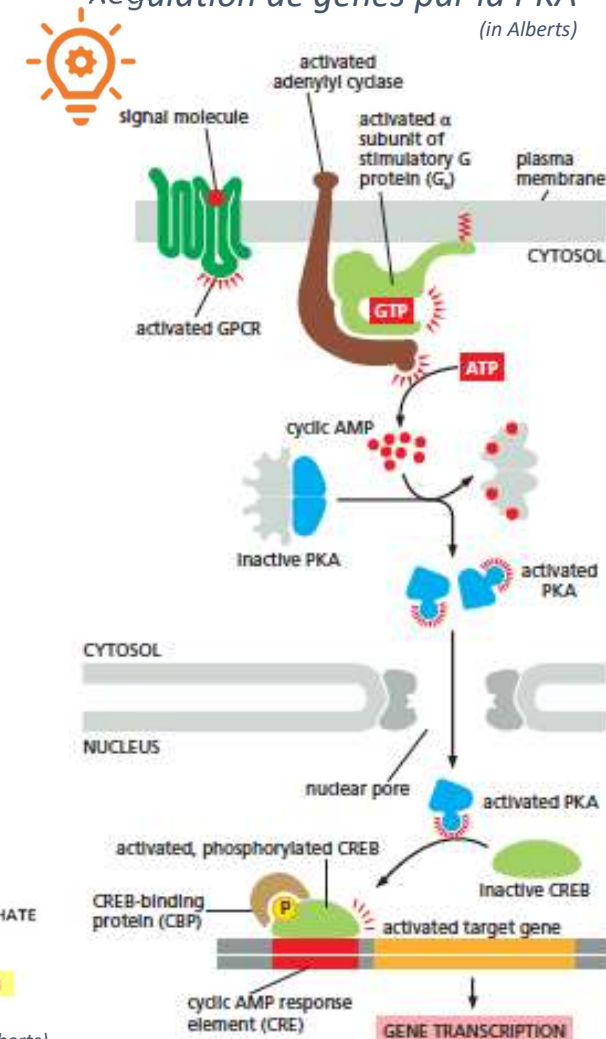
- **La PKA (Protéine Kinase A)** est un effecteur activé par l'AMPc (via phosphorylation de Ser/Thr)
- Structure :
 - ✓ 2 catalytiques (activité kinase)
 - ✓ 2 régulatrices (inhibent l'activité kinase)
- 4 AMPc se fixent sur les s.u. régulatrices
 → changement de conformation
 → libération des 2 s.u. catalytiques (activées)
- Les s.u. kinases activées peuvent agir :
 - ✓ dans le cytoplasme
 → cascade de phosphorylation
 - ✓ dans la noyau
 → régulation de l'expression des gènes

Structure et régulation de la PKA (in Alberts)



Voie de signalisation de la dégradation du glycogène dans les cellules du muscle squelettique (in Alberts)

Régulation de gènes par la PKA (in Alberts)



D. RÉCEPTEURS COUPLÉS À UNE ENZYME

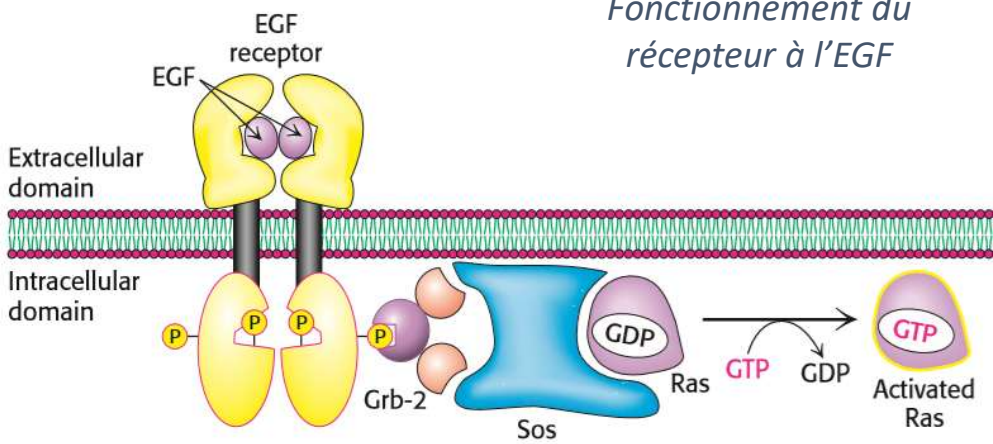
2. Exemples de récepteurs à activité Tyr kinase

Récepteur à l'EGF

- EGF (epidermal growth factor) : protéine, facteur de croissance

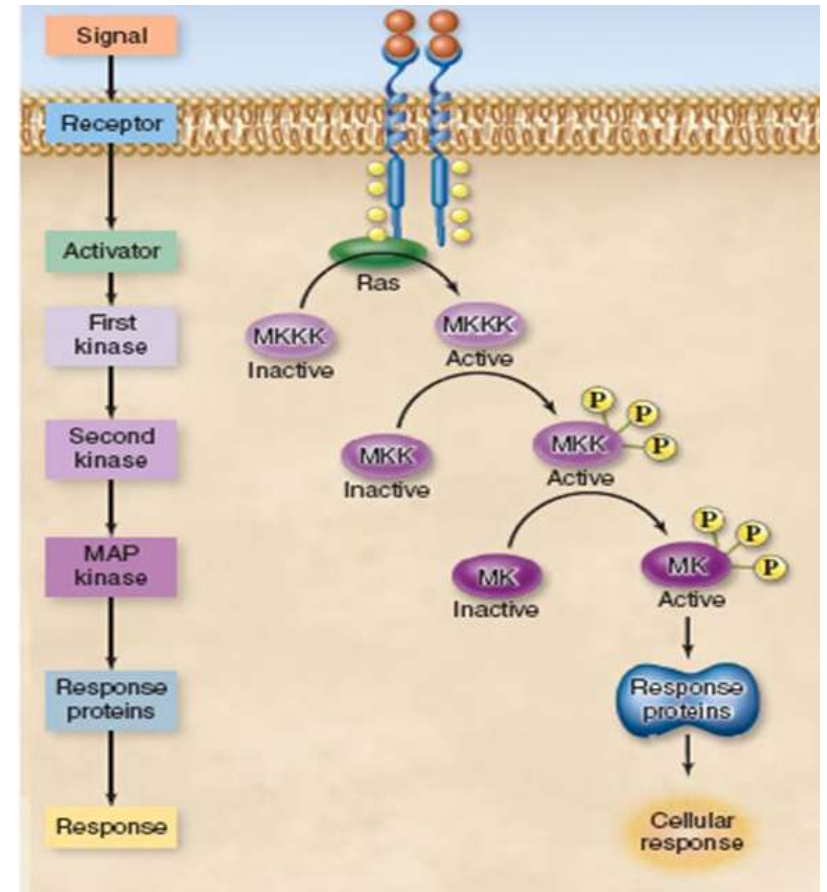
- Fonctionnement :
 - ✓ Liaison de EGF → dimérisation et phosphorylation croisée du récepteur
 - ✓ Fixation d'effecteurs sur Tyr-P qui active une petite protéine G cytosolique (Ras) → Cascade de phosphorylation

Fonctionnement du récepteur à l'EGF



Cascade de phosphorylation (voie des MAP kinase)

Voie des MAP kinase



D. RÉCEPTEURS COUPLÉS À UNE ENZYME

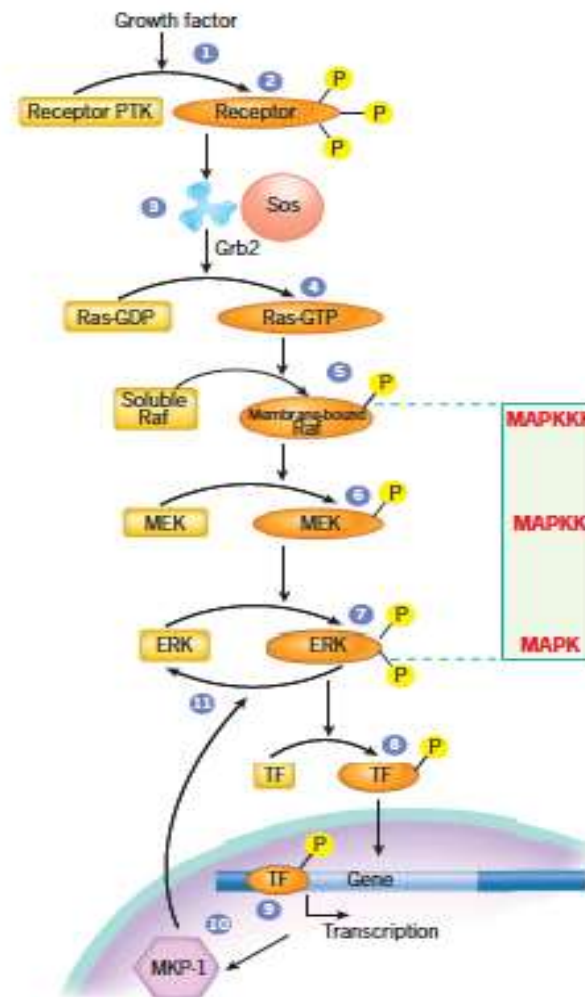
CLINICAL INSIGHT

Some Receptors Contain Tyrosine Kinase Domains Within Their Covalent Structures

Some growth factors and hormones—such as epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor, and insulin—bind to the extracellular domains of transmembrane receptors that have tyrosine kinase domains within their intracellular domains. These *receptor tyrosine kinases* (RTKs) signal by mechanisms quite similar to those described for the pathway initiated by the growth-hormone receptor discussed in the preceding subsection. Humans have 58 known genes encoding receptor tyrosine kinases. Mutations in these receptors cause a range of pathologies, including arteriosclerosis, cancer, inflammation, and type 2 diabetes.

Consider, for example, *epidermal growth factor*, a 6-kDa polypeptide that stimulates the growth of epidermal and epithelial cells by binding to the *epidermal-growth-factor receptor*, a single polypeptide chain consisting of an extracellular growth hormone binding domain, a helix that spans the membrane, and an intracellular kinase domain. The receptor is monomeric and enzymatically inactive in the absence of the growth factor. The binding of EGF to its extracellular domain causes the receptor to dimerize and undergo cross-phosphorylation and activation.

How is the signal transferred beyond the receptor tyrosine kinase? A key *adaptor protein*, called *Grb-2*, links the phosphorylation of the EGF receptor to the stimulation of cell growth through a chain of protein phosphorylations (Figure 13.15). On phosphorylation of the receptor, *Grb-2* binds to the phosphotyrosine residues of the receptor tyrosine kinase. *Grb-2* then recruits a protein called *Sos*. *Sos*, in turn, binds to *Ras* and activates it. *Ras* is a very prominent signal-transduction component that we will consider shortly. Finally, *Ras*, in its activated form, binds to other components of the molecular circuitry, leading to the activation of the specific protein kinases that phosphorylate specific targets that promote cell growth. We see here another example of how a signal-transduction pathway is constructed. Specific protein–protein interactions link the original ligand-binding event to the final result—the stimulation of cell growth.



Karp

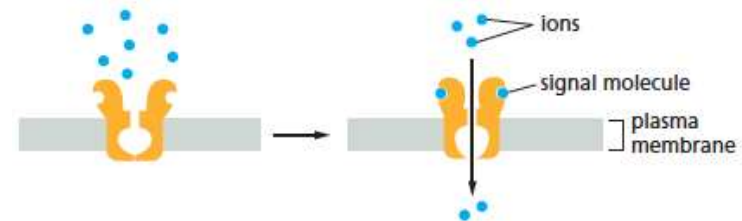
BILAN

- Il existe **3 types** de récepteurs membranaires :
 - ✓ Récepteur-canal
 - ✓ Récepteur couplé à une protéine G (Gs, Gq, Gi)
 - ✓ Récepteur couplé à une enzyme (intrinsèque ou extrinsèque)

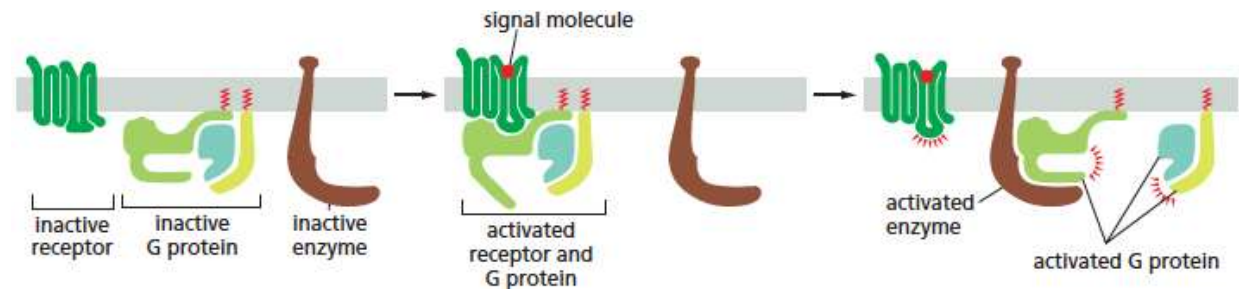
- Ces récepteurs réalisent la **transduction** du signal et induisent (en général) une **voie de signalisation** intracellulaire.

- Pour que le signal soit efficace, il doit être bref

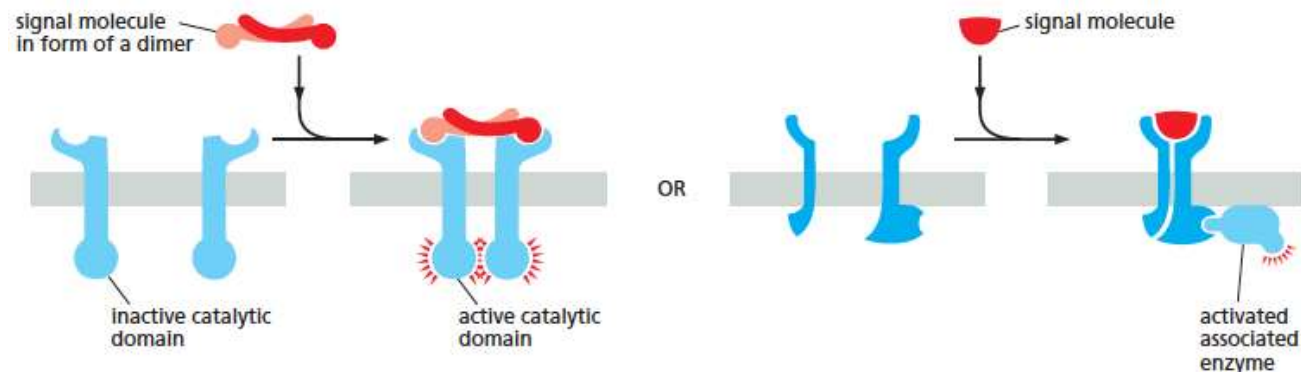
Récepteur-canal



Récepteur couplé à une protéine G



Récepteur couplé à une enzyme

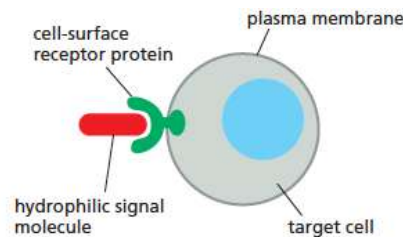


Récepteurs

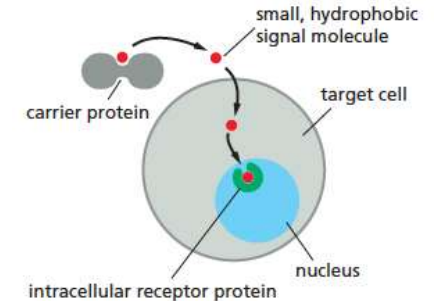
- Les récepteurs sont spécifiques de leurs **ligands** (molécule signal) car leurs **formes** sont **complémentaires**
- On distingue 2 grands **types de récepteurs**, selon la nature de la molécule signal :
 - ✓ Molécule hydrophile (hydrosoluble)
→ récepteur **transmembranaire**
 - ✓ Molécule lipophile (liposoluble)
→ récepteur **intra-cellulaire**
- Parmi les récepteurs transmembranaires, 3 grandes catégories :

Deux grands types de récepteurs
(in Alberts)

Récepteur transmembranaire

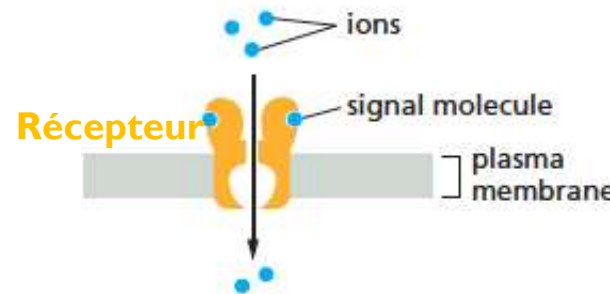


Récepteur intracellulaire

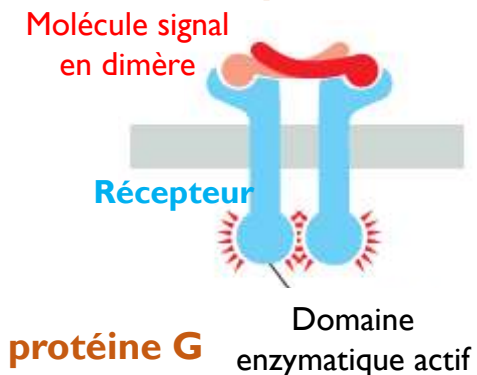


Trois catégories de récepteurs transmembranaires *(in Alberts)*

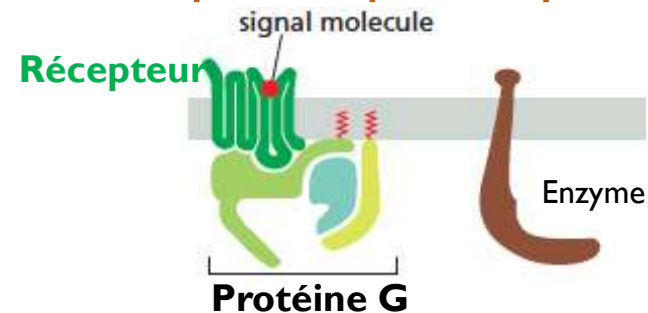
Récepteur-canal



Récepteur couplé à une enzyme



Récepteur couplé à une protéine G

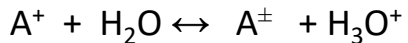


III. Les acides α-aminés ont des propriétés physico-chimiques diversifiées

B. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES (I/2)

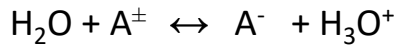
Propriétés acido-basiques

Les équilibres d'ionisation permettent de définir les pK, caractéristiques de chaque acide aminé.



$$(1) K_1 = [H_3O^+] [A^\pm] / [A^+]$$

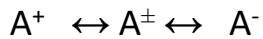
$$pK_1 = -\log K_1 \text{ (relatif à COOH)}$$



$$(1) K_2 = [H_3O^+] [A^-] / [A^\pm]$$

$$pK_2 = -\log K_2 \text{ (relatif à -NH}_2\text{)}$$

Exemple de l'alanine :



Zone isoélectrique

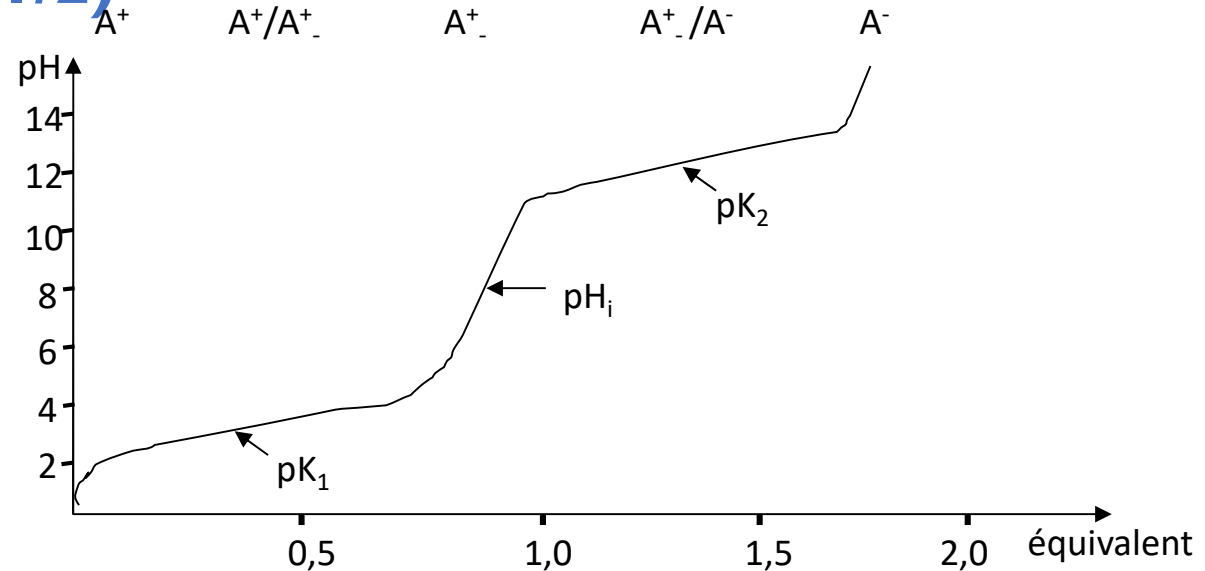
Lorsque la concentration en cations est égale à la concentration en anions, on peut alors écrire d'après les équations (1) et (2) : à écrire au tableau

$$(1) [A^+] = [A^\pm] [H_3O^+] / K_1$$

$$(2) [A^-] = K_2 [A^\pm] / [H_3O^+]$$

⇒ Dans ces conditions $[A^+] = [A^-]$ conduit à $[H_3O^+]^2 = K_1 K_2$

On définit alors le pH isoélectrique, $pH_i = (pK_1 + pK_2)/2$



AA	pK1	pK2
Gly	2.4	9.8
Val	2.3	9.6
Ser	2.1	9.2
Phe	1.8	9.1
Asp	2.0	10.0
Glu	2.2	9.7
His	1.8	9.2
Cys	1.8	10.8
Tyr	2.2	9.1
Lys	2.2	9.2
Arg	1.8	9.0