

# Chapitre I – Les acides aminés

## I – Les amino-acides

Les AA sont des éléments constitutifs des peptides et protéines. Il existe 20 AA. Les origines sont les bactéries et les végétaux :

- la formation d'ammoniac (fixation d'azote) permet la synthèse d'acides aminés
- l'homme ne peut pas fixer l'azote et même en présence d'ammoniac, il ne peut pas synthétiser tous les acides aminés donc il y a des acides aminés indispensables (essentiels).

### 1 – Définition

Les acides aminés sont des acides carboxyliques possédant une fonction amine I<sup>aire</sup> sur le carbone  $\alpha$ .

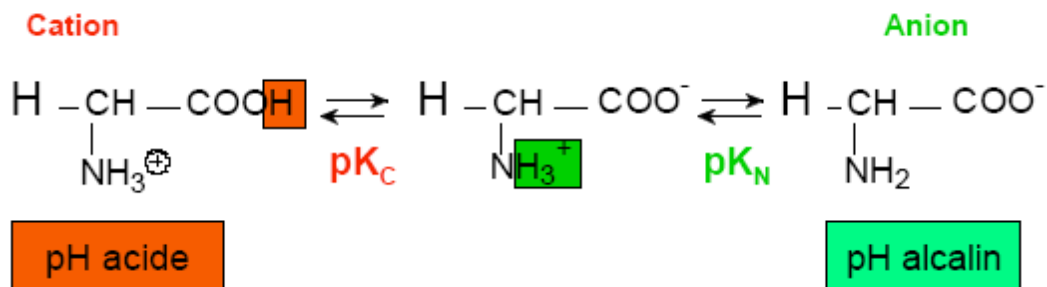
Deux exceptions : **proline** et **hydroxyproline** :

- fonction amine II<sup>aire</sup>, car incluse dans un noyau pyrole
- on parle alors de la classe des  $\alpha$  imino acides.

La chaîne R rend spécifique les acides aminés les uns par rapport aux autres. R est soit une chaîne carbonée aliphatique, soit un cycle ou un hétérocycle.

### 2 – Propriétés physicochimiques

#### a – Caractère amphotère



Il y a 2 groupements ionisables : COOH et NH<sub>2</sub>. Donc l'acide aminé se présente comme un ion dipolaire, ou zwitterion. En fonction du pH, l'acide aminé est capable d'accepter ou de perdre un proton :

1. en pH acide, la forme est COOH et NH<sub>3</sub><sup>+</sup>
2. en pH alcalin, la forme est COO<sup>-</sup> et NH<sub>2</sub>

Il y a donc 2 constantes de dissociation :

1. pK<sub>C</sub> = dissociation de la fonction acide : pH = 2-3
2. pK<sub>N</sub> = dissociation de la fonction ammonium : pH = 10

Le point isoélectrique est le point d'équilibre où les 2 dissociations sont équivalentes. Dans un champ électromagnétique, l'acide aminé aura un déplacement résultant nul, à son pH<sub>i</sub>.

Il peut exister une troisième constante de dissociation pour certains acides aminés qui correspond au radical R : pK<sub>R</sub>. Il s'agit de la tyrosine, de l'arginine, de l'acide aspartique, de la cystéine, de l'acide glutamique, de l'histidine et de la lysine.

## b – Stéréo-isomérisie : géométrie dans l'espace

Cette propriété est donnée par le carbone  $\alpha$  qui est un carbone asymétrique. Les acides aminés sont donc optiquement actifs. Il existe 2 isomères optiques pour chaque acide aminé, sauf pour la glycine. En fonction de la position de  $\text{NH}_2$ , deux configurations sont possibles : série L et série D.

Les énantiomères sont chacun des 2 stéréo-isomères dont l'un est l'image de l'autre dans un miroir.

**Les acides aminés des êtres vivants sont majoritairement de série L.**

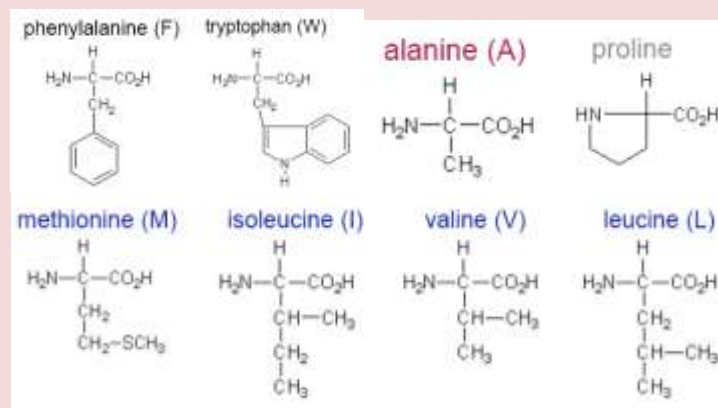
## c – Hydrophobicité

Hydrophile = soluble dans l'eau = acides aminés dibasiques et diacides

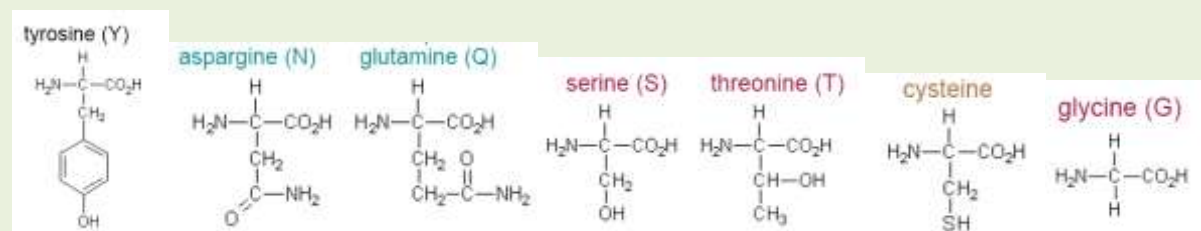
Hydrophobe = insoluble dans l'eau = acides aminés aliphatiques

Cette caractéristique va être définie en fonction de la polarité du radical R.

### Hydrophobes



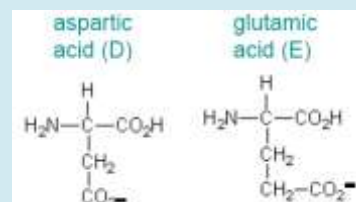
### Neutres



### Hydrophiles dibasiques



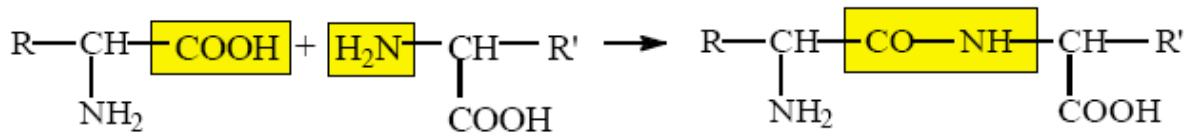
### Hydrophiles diacides



## d – Propriétés réactionnelles

Elles sont liées aux groupements carboxylique COOH et amine NH<sub>2</sub>. Elles donnent des réactions colorées ou des dégagements d'azote qui aident à l'identification par dosage.

Par exemple, deux acides aminés s'assemblent pour former une liaison amide entre le COOH d'un acide aminé et le NH<sub>2</sub> d'un autre acide aminé, ce qui forme la liaison peptidique.



## 3 – Principaux acides aminés

Il y a 20 acides aminés qui sont directement liés au code génétique. Parmi eux, 8 ne sont pas synthétisés par l'homme, ce sont les acides aminés indispensables ou essentiels :

- valine
- leucine
- isoleucine
- thréonine
- tryptophane
- phénylalanine
- méthionine
- lysine

Vu qu'ils ne sont pas synthétisés, ils doivent être fournis par l'alimentation.

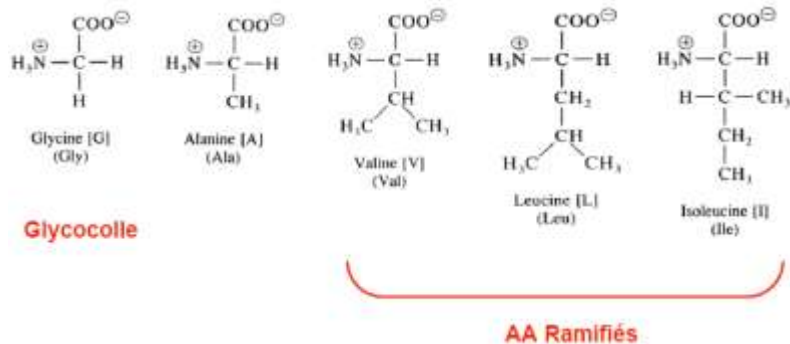
Il existe un code à 1 ou 3 lettres pour rendre compte de façon simple et compacte de la séquence d'une chaîne polypeptidique. Exemple : l'enképhaline, pentapeptide formé au niveau du SNC.

Le code à 1 lettre est efficace pour mettre en évidence des SNP (Single Nucleotid Polymorphism) ou des mutations. Exemple :

1. la mucoviscidose, à cause d'une anomalie au niveau du gène CFTR « Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator » sur le canal chlore : délétion de la phénylalanine en ΔF508.
2. les mélanomes, mutation d'une valine sur la protéine Braf en V600E remplacée par un acide glutamique.

Les acides aminés peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, de leur polarité... On peut ainsi définir 7 groupes en fonction de leur structure chimique :

### a – Acides aminés aliphatiques

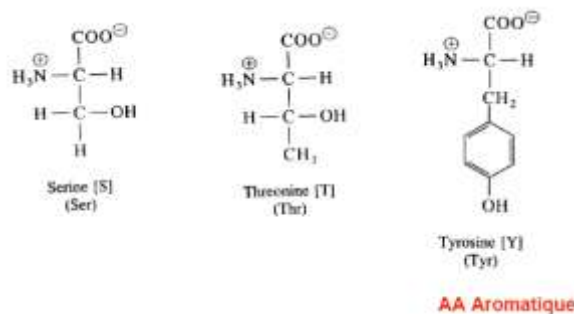


Glycine ou glycocolle : le plus petit acide aminé, il est neutre. C'est le seul dont le carbone  $\alpha$  n'est pas asymétrique.

Alanine  
 Valine  
 Leucine  
 Isoleucine

Ces 4 derniers ont une fonction R non polaire donc ils sont hydrophobes.

### b – Acides aminés hydroxyles



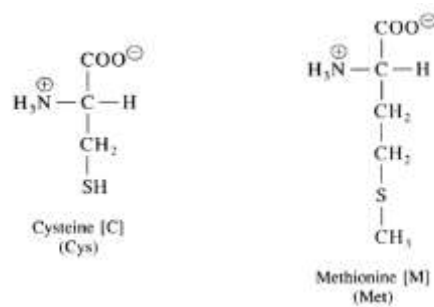
Tyrosine : puisque le OH est porté par un groupement cyclique, elle fait également parti des acides aminés aromatiques. Elle possède un  $pK_R$ .

Sérine

Thréonine

Ils sont neutres : la fonction OH a comme particularité de pouvoir être modifiée de façon post-traductionnelle par phosphorylation (grâce à une kinase, soit sérine-thréonine kinase, soit tyrosine kinase) ou O-glycosylation. Cette réaction de phosphorylation est réversible et peut conduire à une activation ou à une perte d'activité de la protéine.

## c – Acides aminés soufrés

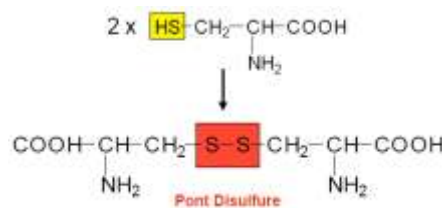


**Cystéine** : neutre, et qui possède un pK<sub>R</sub>. Elle a une fonction thiol.

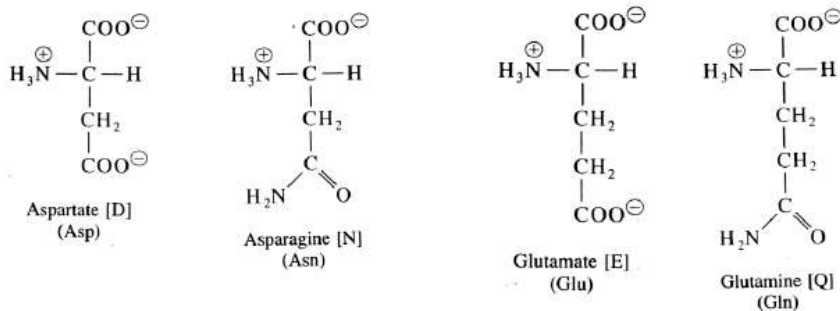
**Méthionine** : non polaire et hydrophobe. Il correspond toujours au premier acide aminé des protéines (il fait l'initiation de la traduction).

Il peut y avoir formation de ponts disulfure entre acides aminés soufrés. Elle pourra avoir lieu entre 2 acides aminés d'une même chaîne ou bien de 2 chaînes différentes.

De cette manière on peut obtenir une cystine qui est le produit de déshydrogénation de 2 cystéines.



## d – Acides aminés dicarboxyliques et leurs amides



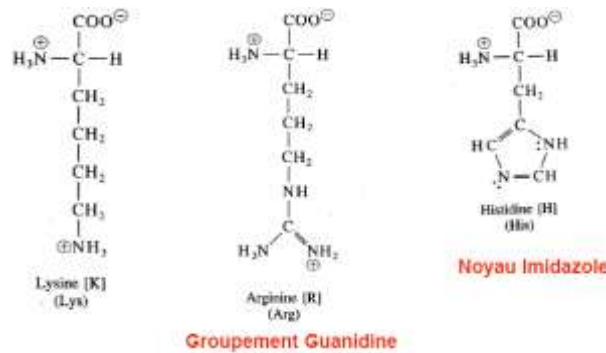
**Aspartate** et son amide **asparagine**

**Glutamate** et son amide **glutamine**

Pour l'**aspartate** et le **glutamate**, le R est acide donc ils sont polaires et hydrophiles. Ils ont 3 pK<sub>R</sub>.

L'**asparagine** et la **glutamine** sont neutres.

## e – Acides aminés dibasiques



Arginine : possède un groupement guanidine

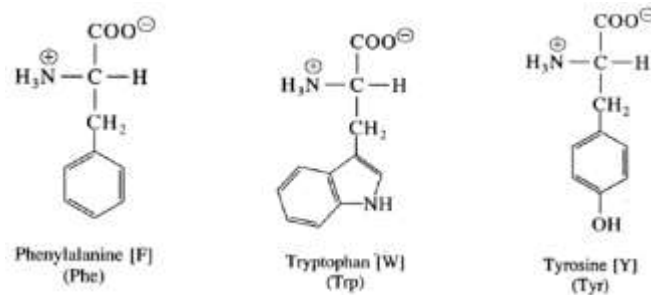
Histidine : possède un noyau imidazole

Lysine

Ils sont **polaires** et **hydrophiles** donc ils ont un  $pK_R$ .

La fonction amine  $NH_2$  peut engendrer des modifications post-traductionnelles comme l'acétylation ou la méthylation du groupement N.

## f – Acides aminés aromatiques



Phénylalanine

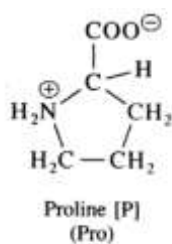
Tryptophane

Leur fonction R est **non polaire** donc ils sont **hydrophobes**

Tyrosine : acide aminé hydroxylé **neutre**, qui possède un  $pK_R$ .

Les **acides aminés aromatiques** absorbent la lumière UV à **280nm**. Leur dosage est donc possible selon la loi de Beer-Lambert.

## g – Imino acides



Proline

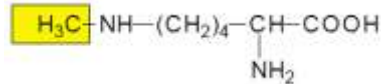
La fonction amine est engagée dans un cycle donc c'est une amine  $II^{aire}$ . C'est un acide aminé **non polaire hydrophobe**.

**Noyau Pyrrol**

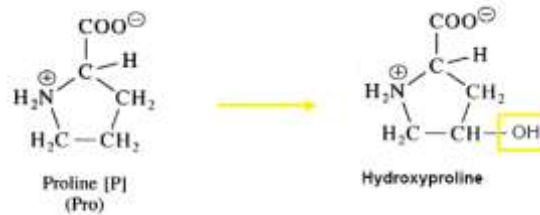
## 4 – Dérivés d'acides aminés et d'acides aminés rares

### a – Acides aminés rares constitutifs de quelques protéines :

N-méthyllysine : présente dans la myosine, elle permet la contraction musculaire :

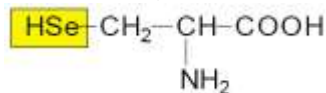


4-Hydroxyproline : présente dans le collagène :



Noyau Pyrrol

Sélénocystéine : présente dans quelques protéines, plus particulièrement dans le site actif de la glutathion peroxydase (rôle dans la détoxification).

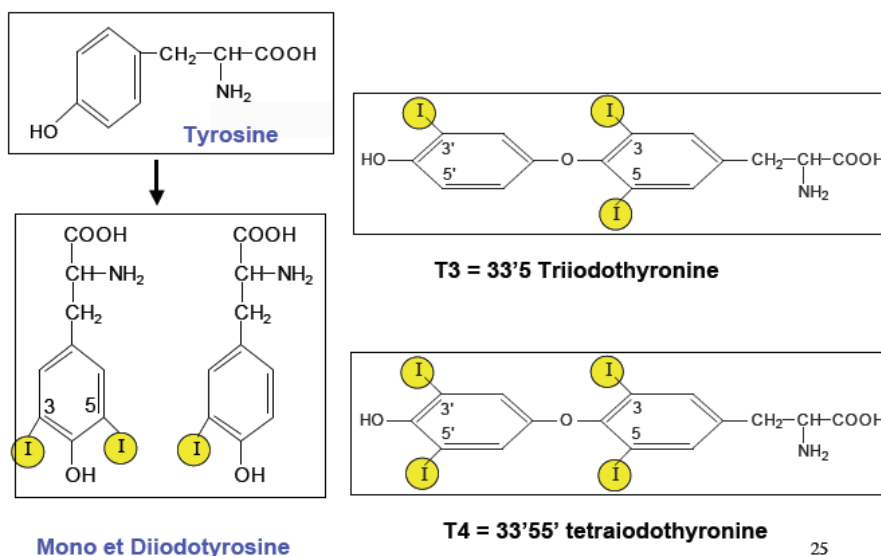


### b – Les acides aminés sont les précurseurs de molécules biologiquement actives

La **tyrosine** est le précurseur :

1. des mono et diiodotyrosine qui sont les précurseurs des hormones thyroïdiennes  $T_3$  et  $T_4$
2. des catécholamines qui sont des neurotransmetteurs produits au niveau du SNC et de la médullo-surrénale
3. de la mélanine

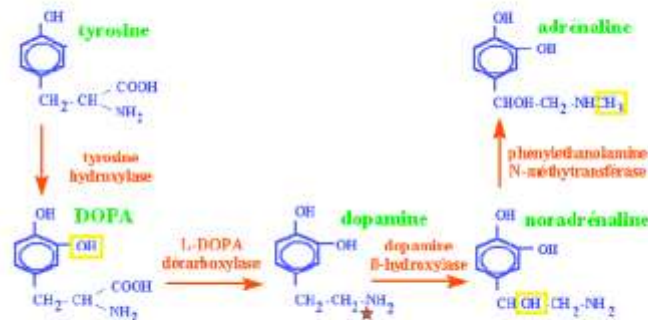
1 – En tant que précurseur des hormones thyroïdiennes



2 – En tant que précurseur des catécholamines

Tyrosine  $\Rightarrow$  Adrénaline

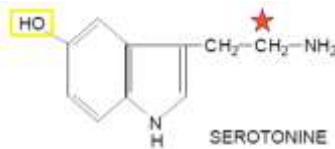
Poursuite de la Biosynthèse:  
Neurones Adrénérgiques  
Glandes Surrénales



Neurones Dopaminergiques:  
Arrêt au stade Dopamine

26

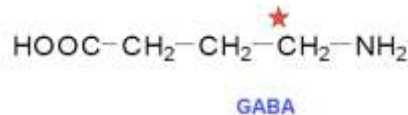
Le **tryptophane** est le précurseur de la sérotonine ou 5 hydroxy-tryptamine. C'est un neurotransmetteur, il y a une hydroxylation et une décarboxylation sur le carbone  $\alpha$ .



Noyau Indol

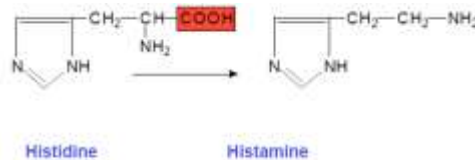
L'**acide glutamique** est le précurseur de l'acide gamma amino butyrique ou GABA. C'est un neurotransmetteur important du système nerveux central.

Il y a une décarboxylation sur le carbone  $\alpha$ .



GABA

L'**histidine** est le précurseur de l'histamine. C'est une molécule importante dans le processus allergique. Il y a une décarboxylation sur le carbone alfa.



Histidine

Histamine

Noyau Imidazol



# Chapitre II – La structure des peptides et des protéines

## I – Généralités

Les protéines et peptides sont les macromolécules biologiques les plus abondantes qui présentent une extrême diversité de structure et de fonction. Cette diversité est le reflet de notre patrimoine génétique.

Le génome humain est composé de 23 000 gènes de structure, mais il y a 100 000 transcrits ou ARNm et l'épissage successif entraîne la création de >> de 100 000 protéines différentes.

L'expression des gènes peut être tissu-spécifique ou temps-spécifique (entre la vie embryonnaire, fœtale, adulte...). Chaque type cellulaire n'exprime qu'une partie de l'information génétique. Elle est fonction du besoin de chaque cellule et des signaux de l'environnement.

Des milliers de séquences en acides aminés sont disponibles par exemple sur internet sous formes de bases de données. L'analyse et la comparaison des séquences ont mis en évidence des familles de protéines qui sont des caractéristiques structurales et fonctionnelles communes, qui sont issus de duplication de gènes ancestraux.

Exemples :

- famille des immunoglobulines
- famille des molécules HLA classe I
- famille des hémoglobines
- famille des récepteurs olfactifs (on parle aussi de sous-génome)

Les similitudes entre protéines peuvent impliquer la protéine entière ou des segments limités : on parle alors de **domaine**, correspondant à des propriétés fonctionnelles particulières.

Exemples :

1. les récepteurs d'hormones stéroïdes comportent :
  - un domaine de fixation de l'hormone
  - un domaine de liaison à l'ADN
2. les facteurs de transcription comportent par exemple :
  - un domaine de liaison à l'ADN
  - un domaine de dimérisation

Certaines séquences en acides aminés peuvent servir de signaux :

- pour déterminer la localisation subcellulaire (la membrane, le noyau...)
- pour déterminer les sites de modification chimiques post-traductionnelles
- pour réguler la demi-vie d'une protéine (ex : l'ubiquitination qui entraînent les protéines vers les protéasomes pour être dégradées)

Exemples : le peptide signal :

- à l'extrémité N-Ter
- permet la traversée de la membrane du réticulum endoplasmique en vue de l'exportation hors de la cellule
- NLS : nuclear localisation signal.

**La comparaison inter-espèces est beaucoup plus simple avec les séquences protéiques qu'avec les séquences d'ADN.** La comparaison de protéines orthologues met en évidence des acides aminés

conservés, ce sont ceux avec une grande importance biologique : on les appelle les résidus invariants ; et des acides aminés non conservés : résidus variables.

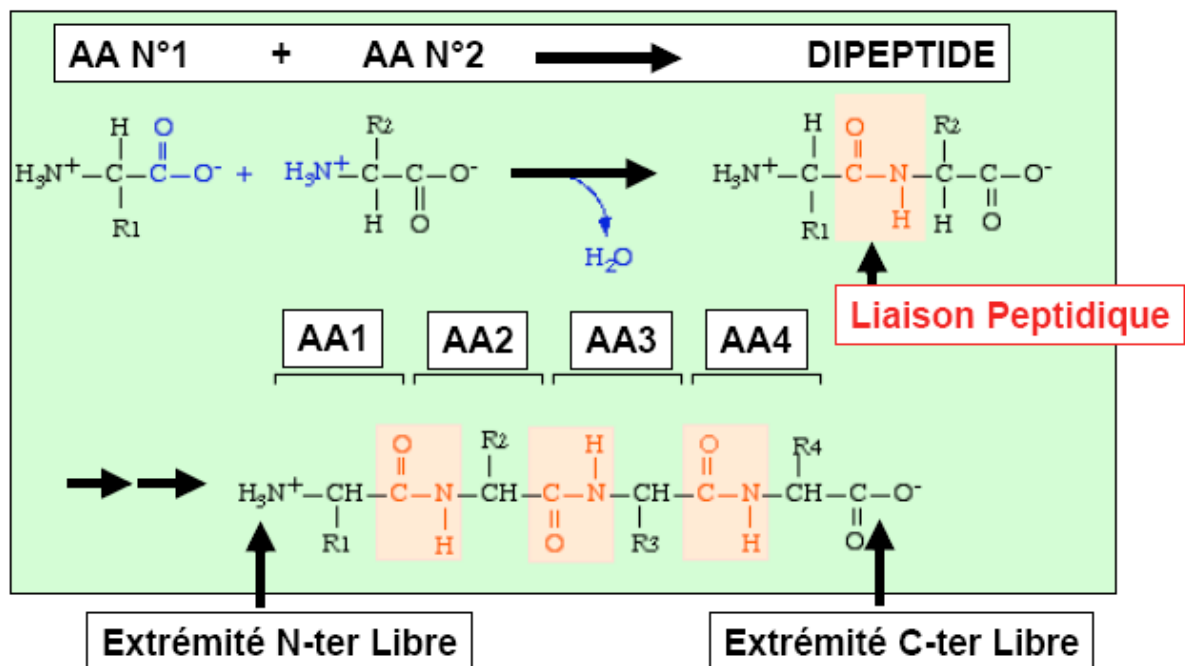
Ce constat est le résultat de la pression sélective : les résidus invariants sont ceux dont la mutation n'est pas supportable pour la conservation des propriétés fonctionnelles de la protéine. Certaines protéines montrent très peu de variations : il y a eu conservation au cours de l'évolution.

La comparaison de séquences protéiques dans plusieurs espèces permet de construire des arbres phylogénétiques sur la base des différences entre acides aminés. Ces arbres sont à la base de l'évolution moléculaire. De nombreuses protéines présentent 80 à 90% d'identité entre l'homme et le plus simple des eucaryotes, *saccharomyces cerevisiae*.

A l'intérieur d'une même espèce, la comparaison entre les séquences d'une même chaîne d'acides aminés peut parfois faire apparaître des petites différences entre acides aminés, c'est le polymorphisme génétique = SNP.

## II – Peptides et protéines

Les peptides et protéines sont un enchaînement d'acides aminés reliés par une liaison peptidique. On parle de peptide lorsque la séquence est < à 50 acides aminés, et de protéines lorsque la séquence est > à 50 acides aminés.



### Classification des protéines

Certaines protéines ne sont composées que d'acides aminés : protéines simples ou **holoprotéines**.

D'autres protéines sont constituées d'acides aminés et d'autres molécules non protidiques : protéines conjuguées ou **hétéroprotéines**. La partie non protidique est appelé **groupe prostétique**.

En fonction de la nature du groupement prosthétique, on peut classer les hétéroprotéines :

lipoprotéines	lipides
glycoprotéines	glucides
flavoprotéines	nucléosides flaviniques
hémoprotéines	groupes hémiques
métalloprotéines	métaux

On peut aussi classer les protéines en fonction de leur forme :

- les protéines globulaires ou sphéroprotéines (solubles)
- les protéines fibreuses ou fibrillaires (peu solubles)

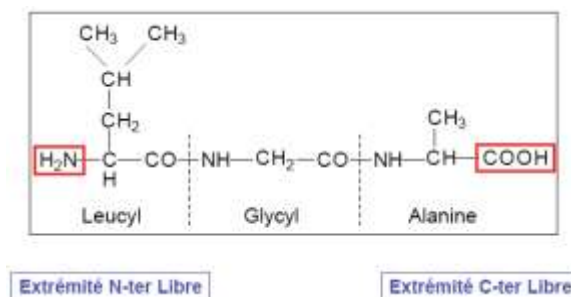
La structure des peptides et protéines possède une organisation hiérarchisée, de 1 à 4 niveaux.

### III – Structure primaire

La structure primaire est l'enchaînement successif des acides aminés. Il est obtenu par formation d'une liaison covalente, la liaison amide. On parle alors d'une liaison peptidique. Grâce à cette liaison il y a formation d'un peptide ou d'une protéine.

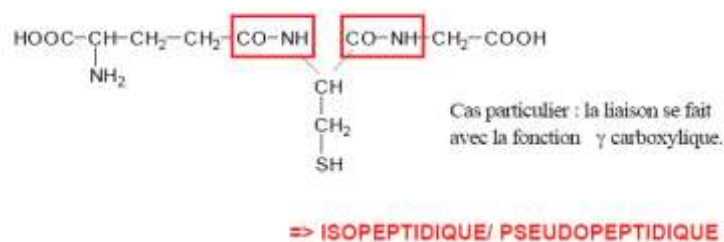
Résidu : acide aminé engagé dans la liaison peptidique. Son nom est le nom de l'acide aminé + le suffixe « yl » : tyrosine devient tyrosyl. L'acide aminé dont le groupe  $\alpha$  carboxylique est libre porte le nom de l'acide aminé sans modification

**L'orientation des protéines se fait de l'extrémité N-terminale libre vers l'extrémité C-terminale libre.**



Exemple :

**Glutathion :  $\gamma$  glutamyl cysteinyl glycine**



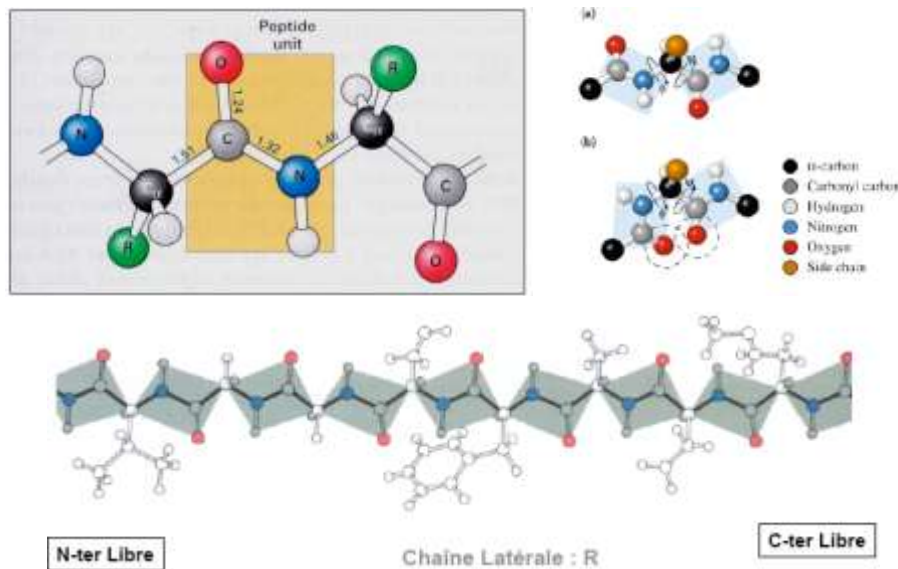
Cas particulier : la liaison peptidique se fait avec la fonction  $\gamma$  carboxylique, on parle donc d'un iso-peptide ou pseudo-peptide.

Il peut se trouver sous 2 formes :

- réduite G-SH
- oxydée G-S-S-G

Cette caractéristique lui confère un rôle très important de protection contre les oxydations cellulaires.

En termes de structure, la liaison peptidique entre les 2 carbones  $\alpha$  de 2 acides aminés est une liaison rigide et plane. En revanche, il peut y avoir des rotations dans les 2 sens autour des 2 carbones  $\alpha$  (positions trans ou cis).

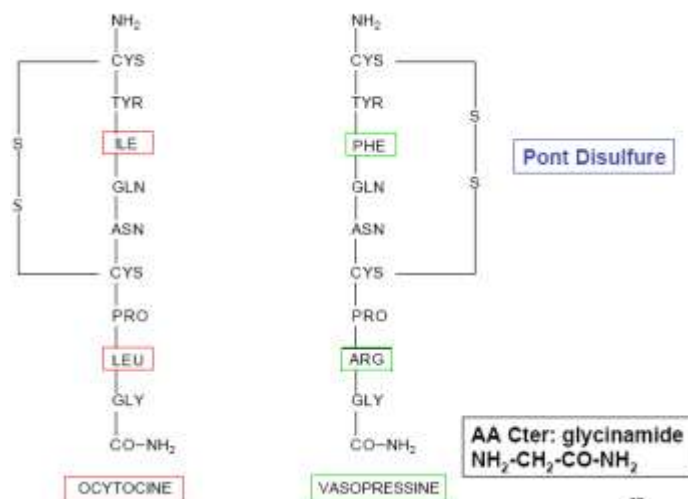


La séquence primaire permet d'anticiper en partie la structure et la fonction. Mais la modification de quelques acides aminés peut donner à des protéines des fonctions très différentes.

Exemple : deux hormones post-hypophysaires

- l'ocytocine : nonapeptide qui provoque la contraction de l'utérus et stimule la sécrétion de lait
- la vasopressine : nonapeptide qui stimule la réabsorption rénale de l'eau et augmente la pression artérielle

Leur région C-ter (glycine) est engagée dans une liaison avec une amine donc on parle de glycinamide.



## IV – Structure secondaire

Elle correspond au **premier degré de repliement** de la chaîne d'acides aminés :

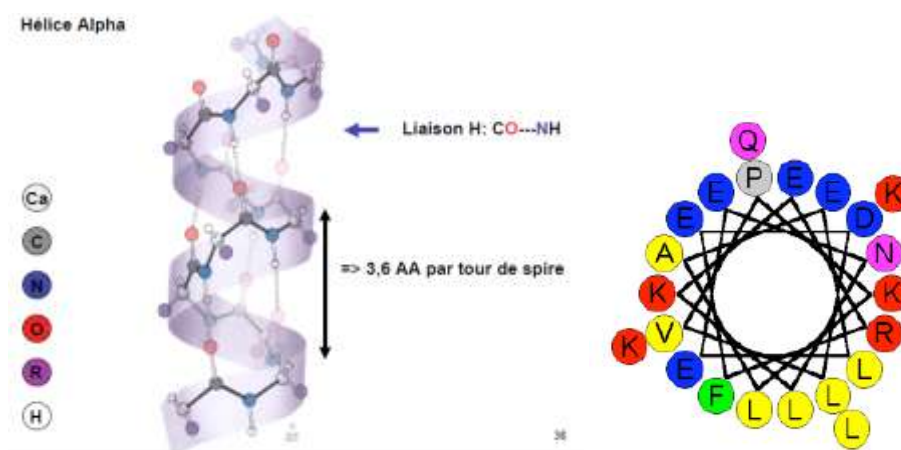
- disposition dans l'espace – locale
- répétition d'une orientation spécifique entre acides aminés successifs

Il existe un petit nombre de structures secondaires, les plus importantes sont les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  (proposées en 1951 par Pauling et Corey). Il existe également des coudes  $\beta$  et des boucles  $\beta$  qui sont des structures qui relient les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$ .

### 1 – L'hélice $\alpha$

C'est une structure en bâtonnet, la chaîne polypeptidique se présente sous forme de spires régulières. C'est une hélice droite : son sens d'enroulement est droit (sens des aiguilles d'une montre). Elle est stabilisée par des liaisons H presque parallèles à l'axe, et un acide aminé effectue une liaison H ( $\text{CO} \cdots \text{NH}$ ) avec 4 acides aminés en amont dans la séquence linéaire.

Le pas de l'hélice correspond à 3,6 acides aminés (pour un tour de spire), soit 18 acides aminés sur 5 tours qui feront 2,7 nm.



Au sein d'une protéine, la proportion d'hélice  $\alpha$  peut largement varier : pratiquement de 0 à 100% :

- la chymotrypsine : enzyme digestive quasiment dépourvu d'hélice  $\alpha$
- globine : environ 75% des acides aminés sont engagés dans des hélices  $\alpha$

Deux hélices  $\alpha$ , ou plus, peuvent s'enrouler l'une autour de l'autre

- pour former des structures très stables
- qui peuvent s'étendre sur une longueur de 1000 Å
- on les appelle les enroulements super hélicoïdaux
  - o ex : myosine et tropomyosine du muscle
  - o ex : tropocollagène

Visualiser une hélice  $\alpha$  (sous forme de roue), comme si on la regardait de dessus, permet de mettre en évidence ses propriétés chimiques, par exemple des côtés hydrophobes, qui donnent une propriété particulière à la protéine. Ces résidus hydrophobes créent des zones d'interaction avec des protéines identiques.

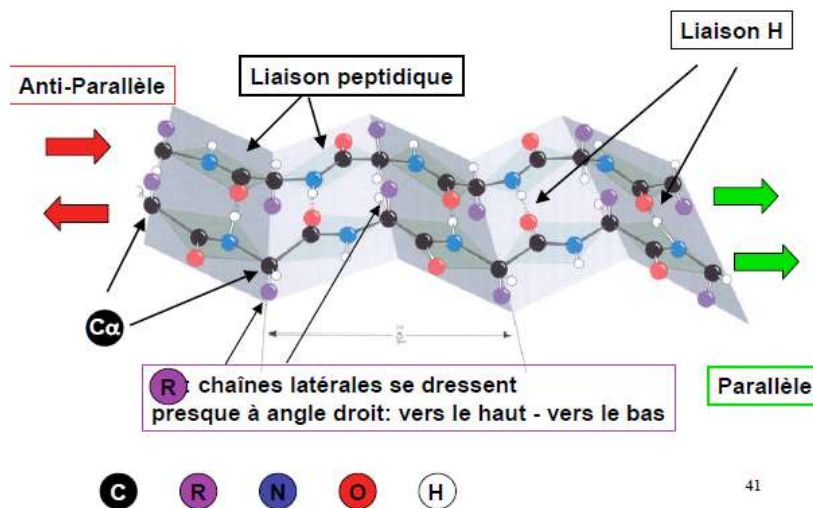


Les hélices  $\alpha$  amphipatiques sont à la fois hydrophiles et hydrophobes. Tous les acides aminés hydrophiles se trouvent d'un côté, et tous les acides aminés hydrophobes sont de l'autre. Cela permet l'ancrage de protéines au niveau de la surface membranaire.

## 2 – Le feuillet plissé $\beta$ (ou brin $\beta$ )

Ce feuillet plissé  $\beta$  donne une conformation étirée de la chaîne peptidique. Les plans de liaison peptidiques sont arrangés comme sur une feuille de papier pliée de façon régulière. Cette structure est stabilisée par des ponts hydrogène entre deux segments peptidiques.

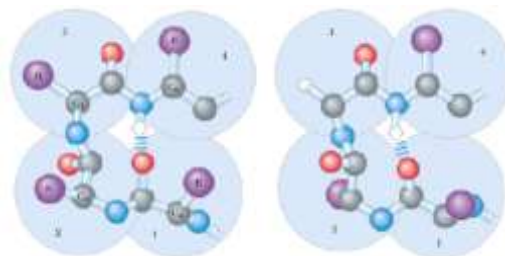
Si les 2 segments peptidiques ont la même direction, le feuillet plissé  $\beta$  est parallèle, si les 2 segments peptidiques ont des directions opposées, le feuillet plissé  $\beta$  est antiparallèle.



Le feuillet  $\beta$  peut être composé de 2 segments ou plus (3 ou 4).

## 3 – Le coude $\beta$

Le coude  $\beta$  comporte 4 acides aminés. C'est une structure stabilisée par des liaisons H. Ces coudes permettent de relier deux segments de feuillet plissé  $\beta$  antiparallèles.





## V – Structure tertiaire

C'est le **second degré de repliement** de la chaîne d'acides aminés. On obtient une structure tridimensionnelle dans l'espace. Elle dépend à la fois de la structure secondaire (hélice  $\alpha$  et feuillet  $\beta$ ) et de la nature des chaînes latérales des acides aminés. Elle peut former des ponts S-S entre 2 cystéines, ces ponts disulfure sont des liaisons covalentes qui stabilisent la structure.

**Mais la structure tertiaire est plus ou moins stable.**

Exemple : les protéines prions. Elles sont à l'origine de maladies neurologiques dégénératives :

- chez les ovins : la tremblante du mouton
- chez les bovins : la vache folle
- chez l'homme, plusieurs maladies : Creutzfeldt Jacob (mouvements anormaux, rigidité, démence, mort en 1 à 2 ans)

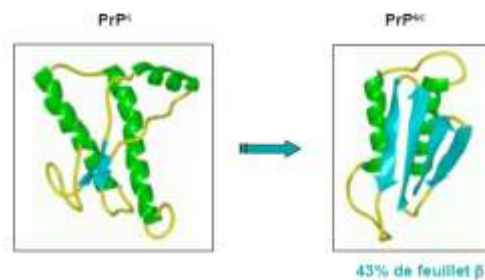
Origine : le changement conformationnel de la protéine PrP :

- PrP<sup>C</sup> : hélices  $\alpha$  + 3% de feuillet  $\beta$
- PrP<sup>Sc</sup> (scrapie) : hélices  $\alpha$  + 43% de feuillet  $\beta$

Causes : infectieuse / génique / sporadique (inconnue)

- mutation d'un asp 178 par un asn
- parfois pas de mutation mais mauvaise conformation : lorsqu'une protéine normale est en contact avec une protéine PrP<sup>Sc</sup>, elle change de conformation, c'est le cas chez l'homme ou chez les bovins qui lorsqu'ils ingèrent de la viande contaminée

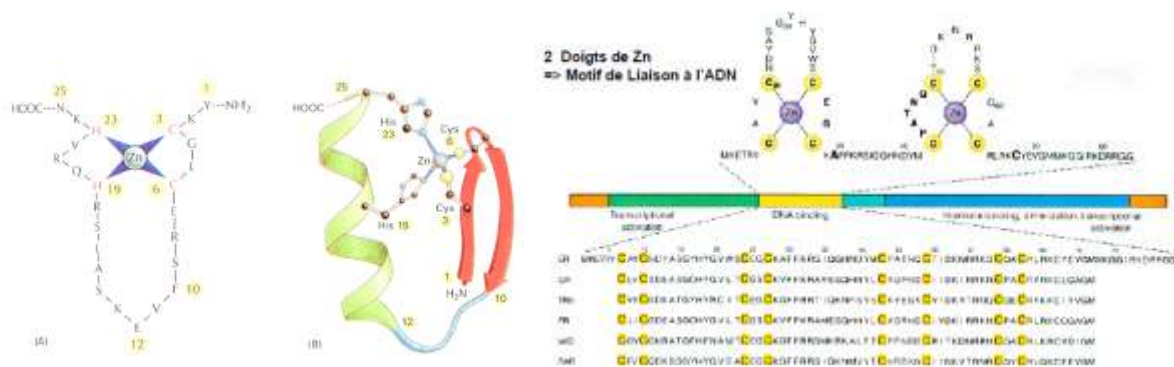
C'est donc la fin du dogme « une séquence l'aire conduit à une seule structure l'itaire ».



**La structure l'itaire définit des domaines (associés à des fonctions).**

Exemple : la structure en doigt de Zinc. Elle fait intervenir 25 acides aminés stabilisés par un ion  $Zn^{2+}$  relié avec soit 2 cystéines + 2 histidines, soit 4 cystéines. Au niveau n-ter elle comporte un feuillet  $\beta$  antiparallèle, suivi par une hélice  $\alpha$  jusqu'au coté c-ter. Ce sont des éléments répétitifs : il y a souvent 2 ou 3 doigts de Zinc à suivre. On trouve des doigts au niveau de protéines qui régulent les gènes : ces structures se lient à l'ADN.

Famille des Récepteurs Stéroïdiens : Motif commun de Liaison à l'ADN  
Estrogènes - Glucocorticoïdes - H. Thyroïdes - Progestérone - Vit D - Ac. Rétinoïques

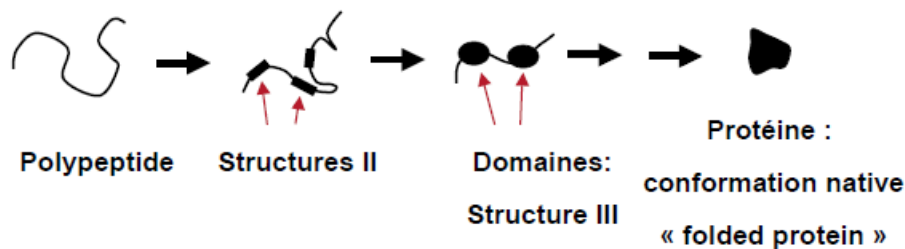


Exemple : la famille des récepteurs stéroïdiens. Tous ces récepteurs possèdent une zone de liaison à l'ADN qui comporte 2 structures en doigt de zinc.

## VI – Structure quaternaire

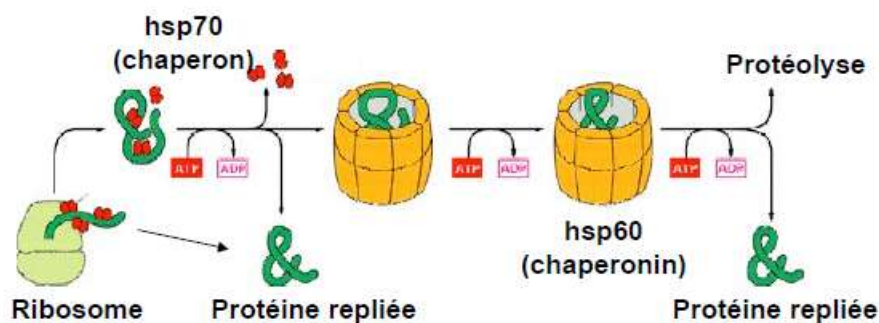
C'est le dernier stade d'assemblage protéique, pour former la protéine définitive. Cette structure est stabilisée par des liaisons ioniques (entre acides aminés basiques et acides), des liaisons H, et des ponts S-S inter chaînes (entre plusieurs segments polypeptidiques).

### Acquisition d'une structure III et IV: conformation native



### Rôle des protéines chaperon et chaperonin :

- facilitent l'acquisition de la conformation native des protéines
- permettent l'assemblage de la structure IV
- ont un rôle de protection vis-à-vis des protéases
- évitent des phénomènes d'agrégation



Selon la forme générale adoptée par la molécule, on distingue :

- les protéines globulaires (leurs trois dimensions dans l'espace sont du même ordre de grandeur)
- les protéines fibrillaires (l'un des axes est plus long d'un ordre de grandeur que les 2 autres, dans un rapport de mesure de 1 à 10).

### 1 - Protéines globulaires

Les protéines globulaires sont généralement solubles et ont des structures plus complexes que les protéines fibrillaires qui sont moins complexes et insolubles.

La structure dans l'espace est alors bien définie : c'est la conformation native. Mais elle peut être soumise à dénaturation et elle perdra alors sa conformation native tout en conservant la structure primaire.



La structure est stabilisée par :

- des ponts S-S
- des liaisons H
- la formation de complexes avec des ions métalliques : Zn, Ca...

La région hydrophobe est positionnée à l'intérieur de la structure, et les acides aminés polaires sont généralement à la surface.

## 2 - Protéines fibrillaires

Ce sont principalement des protéines de structure. Il y en a dans différents compartiments de la cellule :

- dans le compartiment intracellulaire il y a :
  - o des protéines du cytosquelette : tubuline
  - o des myofibrilles : actine, myosine, tropomyosine
  - o des flagellines : cils et flagelles
  - o des kératines : cellules de l'épiderme
- dans le compartiment extracellulaire il y a :
  - o les collagènes (protéines de soutien du tissu conjonctif)
  - o des fibronectines et laminines (protéines de structure du tissu conjonctif)
  - o de la séricine : protéines de la soie

### Caractères structuraux communs :

Leur structure primaire présente 2 particularités :

- elle est répétitive, les mêmes acides aminés se succèdent à plusieurs reprises dans le même ordre le long de la chaîne
- elle est riche en résidus glycine, proline, valine, alanine, d'où un caractère global hydrophobe

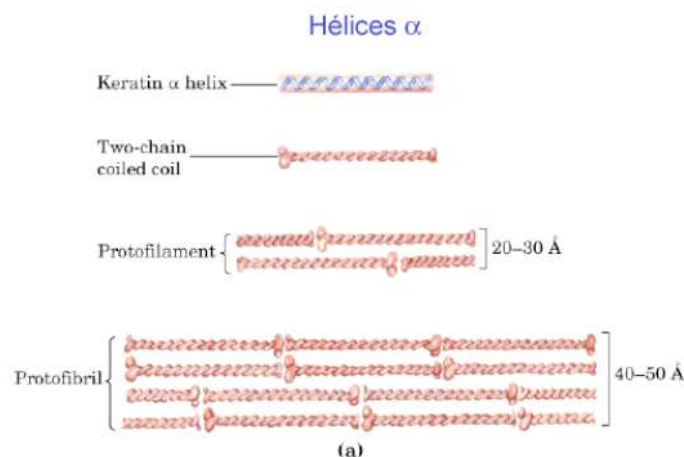
Leur structure secondaire comporte des zones en hélices  $\alpha$  et des zones en feuillets  $\beta$ , ce qui permet de maintenir leur structure quaternaire très particulière.

Leur structure tertiaire est assez simple, le monomère adopte le plus souvent une disposition cylindrique.

Leur structure quaternaire est particulièrement importante, elle résulte de la polymérisation du monomère

### a - Protéines fibrillaires intracellulaires

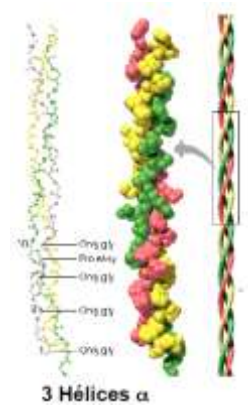
Exemple : la kératine



## b – Exemple de protéines fibrillaires extracellulaires

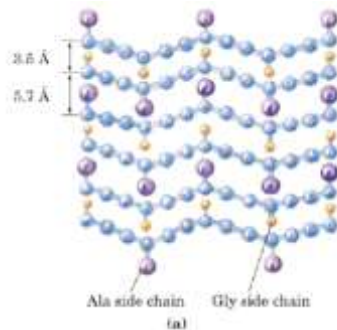
**Le collagène** : enroulements super hélicoïdaux. C'est la protéine la plus abondante chez les mammifères. Cela représente 25% de l'ensemble des protéines. C'est dû au fait qu'elle participe au tissu conjonctif. Il en existe 19 types différents, codés par des gènes différents. Elle a une composition inhabituelle en acides aminés, 1/3 est une glycine [Gly – X – Y]<sub>n</sub>.

3 hélices  $\alpha$  vont former une triple hélice  $\alpha$ , 3 molécules individuelles hélicoïdales de 300nm de longueur et 1,4 nm de diamètre.



**Les protéines de soie :** 

La structure de base est le feuillet  $\beta$ . Les acides aminés riches sont la glycine, l'alanine, la sérine.




## VI – Propriétés physico-chimiques des protéines

### 1 – Masse moléculaire en Dalton, ou kDa

On peut la déterminer de 2 façons. On peut la calculer, en additionnant la masse moléculaire de chaque acide aminé = masse moléculaire vraie. Mais on peut également la déterminer expérimentalement = masse moléculaire apparente. Ces 2 masses moléculaires ne sont pas toujours identiques car la masse moléculaire apparente prend en partie en compte la charge.

Les méthodes physico-chimiques pour déterminer cette masse utilisent les différences de masse, de taille, pour séparer les protéines (centrifugation, électrophorèse, chromatographie).

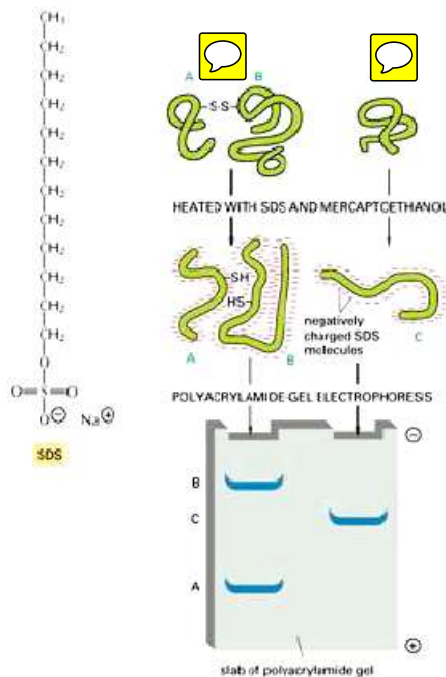
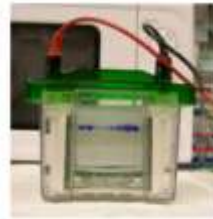
Deux notions :

- les liaisons peptidiques sont hydrolysables (elles peuvent être coupées) = perte de la structure primaire
  - in vitro :
    - hydrolyse totale par acide ou base forte
    - hydrolyse partielle et spécifique : enzymes
  - in vivo :
    - coupures par systèmes enzymatiques : peptidases ou protéases 

- **les protéines peuvent être dénaturées :**

- perte de l'architecture quaternaire, tertiaire et secondaire mais la structure primaire reste intacte.
- perte des propriétés biologiques spécifiques
  - ex : perte d'une activité catalytique pour une enzyme
- les protéines deviennent insolubles – « blanc de l'œuf »
- méthodes de dénaturation :
  - la chaleur
  - les agents réducteurs : DTT /  $\beta$ -mercaptoéthanol
  - les détergents : sodium dodécyl sulfate (SDS), triton

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS ou SDS PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis)



Les protéines en SDS PAGE sont entièrement chargées négativement par le SDS. Quand elles vont migrer dans un gel, elles vont migrer grâce à leur masse et non grâce à leur charge.

Polyacrylamide en %	Poids moléculaire en kDa
15-20	10-40
10-15	40-100
5-10	100-300
5	300-500
2-5	>500

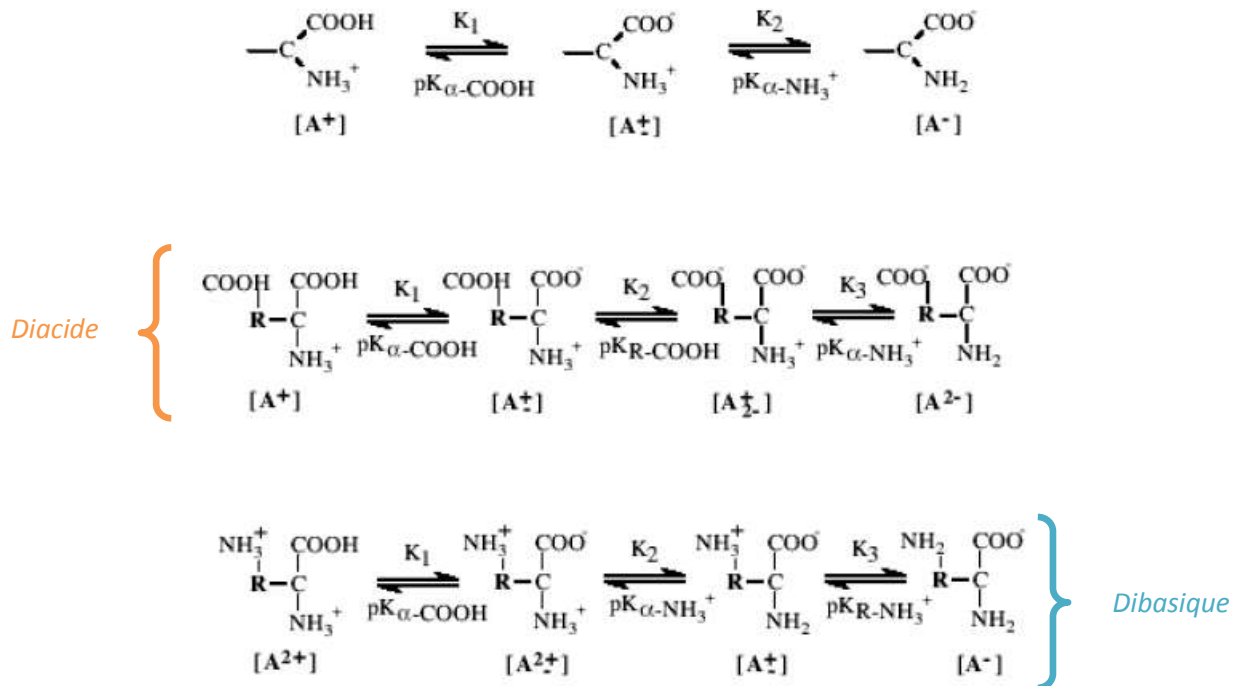
## 2 – Caractère amphotère des protéines : charge

De nombreux groupements chargés existent à la surface extérieure des protéines globulaires. Ce sont les chaînes latérales de résidus polaires, le plus souvent en surface.

Exemple :

- COOH des acides aspartiques et glutamiques
- $\text{NH}_2$  de la lysine
- $\text{NH}_2$  et COOH des extrémités N et C terminales.

Les protéines se comportent donc comme de gros ions bipolaires, elles ont un caractère amphotère, comme pour celui des acides aminés.



### 3 – Solubilité

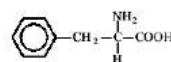
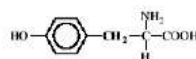
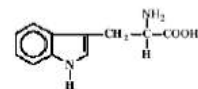
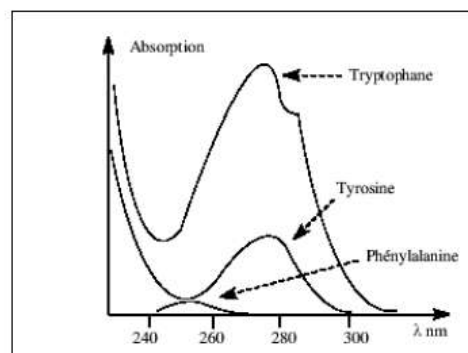
**Définition** : la solubilité d'un composé est la quantité maximale de ce composé qui peut se dissoudre dans un litre de solvant considéré. Dans le cas des protéines, le solvant est l'eau. Les facteurs qui modifient la solubilité sont le pH et la concentration en sels. Ces différences de solubilité sont à la base d'une classification « ancienne » des protéines :

- Protéines insolubles dans tous les solvants = protéines fibrillaires
- Protéines basiques solubles directement dans l'eau distillée = protamines et histones
- Protéines solubles dans une solution de NaCl à 9g/L (sérum physiologique).

**La notion de solubilité est dépendante du solvant.**

### 4 – Absorbance des protéines

**Les protéines absorbent dans les UVs à 220nm.** Cette absorbance est due à la liaison peptidique. Dans le cas des protéines qui contiennent des acides aminés qui comportent des noyaux aromatiques (tyrosine, phénylalanine, tryptophane), ces protéines absorbent également à 280nm.



## 5 – Réactions colorées des protéines


Les protéines fixent des colorants par des liaisons non-covalentes :

- noir amide
- bleu de bromophénol
- bleu de coomassie

Une fois que les protéines sont séparées par électrophorèse, on les colore pour les identifier ou les doser dans les liquides biologiques. Ces colorants ne sont pas spécifiques.

## 6 – Propriétés antigéniques des protéines

Lorsque l'on injecte une protéine à un animal d'une autre espèce, il y a formation d'un anticorps. Cet anticorps est la synthèse d'une immunoglobuline (par les lymphocytes B), capable de reconnaître et de se fixer spécifiquement sur la protéine.

La partie qui est reconnue par cette immunoglobuline est l'antigène = domaine protéique qui suscite la formation d'anticorps. Au niveau structural, on parle d'un motif antigénique ou épitope. Cela peut être la configuration de quelques acides aminés et de leur structure dans l'espace donc une protéine peut avoir plusieurs sites antigéniques. Ces sites conduisent à la formation de complexes antigènes-anticorps. 

Il est rare qu'une protéine ne contienne qu'un site antigénique. Habituellement elle en contient plusieurs. Comme chaque anticorps est spécifique d'un site antigénique, cela suscite la formation de plusieurs anticorps différents. Il y aura une reconnaissance spécifique entre les antigènes et les anticorps. L'ensemble des différentes immunoglobulines qui reconnaissent spécifiquement chacun des motifs antigéniques d'une même protéine forme les anticorps polyclonaux.

Il existe des moyens techniques pour produire des anticorps reconnaissant spécifiquement un seul site antigénique : lors de l'injection d'un peptide (toute petite séquence). On parle alors d'anticorps monoclonaux.

La production d'anticorps (poly ou mono clonaux) est à la base d'un développement technologique considérable qui permet de reconnaître, d'analyser et de doser les protéines de façon spécifique. Cela permet les immunothérapies.

# La relation structure/fonction des peptides et protéines

## I – Les hormones pancréatiques

Le pancréas a 2 fonctions principales :

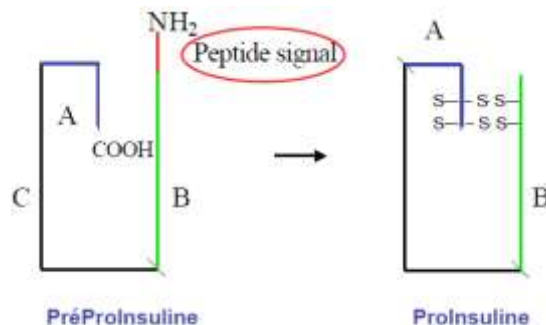
- ses cellules exocrines produisent des enzymes digestifs qui sont sécrétés dans l'intestin
- ses cellules endocrines produisent des hormones peptidiques responsables de la régulation du métabolisme énergétique

Ces hormones peptidiques sont le glucagon, l'insuline et la somatostatine, qui sont respectivement produites par les cellules  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$  des îlots de Langerhans.

### 1 – L'insuline

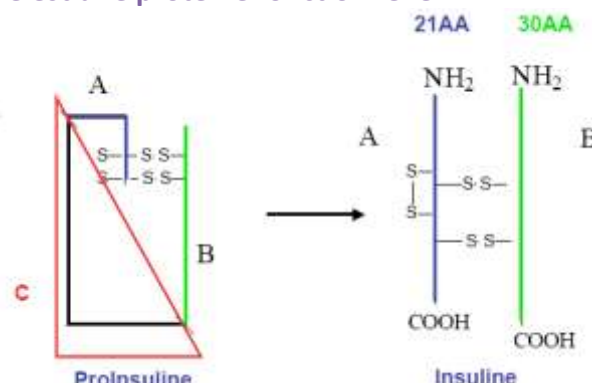
L'insuline est une **hormone pancréatique hypoglycémiante**. Son rôle est de **diminuer la concentration en sucres dans le sang en favorisant son absorption**. Elle est synthétisée sous forme d'une chaîne polypeptidique unique qui sera un précurseur de haut poids moléculaire : la prépro-insuline. Cette prépro-insuline comporte plusieurs segments : le peptide signal N-ter et les segments A et B reliés par le segment C. Ce précurseur va subir des digestions enzymatiques (hydrolyses) spécifiques.

La première étape est l'élimination des 23 acides aminés du peptide signal et la création de 3 ponts S-S : deux entre les segments A et B, et un au sein du segment A. Cela forme la pro-insuline.



La deuxième étape est la perte du segment C, grâce à 2 hydrolyses spécifiques. Elle libère l'insuline, on obtient 2 chaînes A et B reliées par deux ponts S-S interchaînes et un pont S-S intrachaîne au niveau de la chaîne A. La **chaîne A comporte 21 acides aminés**, la **chaîne B 30 acides aminés**.

**Seule l'insuline définitive est une protéine fonctionnelle.**



En terme de structure, on obtient une **structure tertiaire** composée de la chaîne A et de la chaîne B stabilisée par des liaisons S-S. On parle de structure tertiaire car ces 2 chaînes sont issues de la même chaîne originelle. Il y a **2 hélices  $\alpha$  dans la chaîne A** et **1 hélice  $\alpha$  dans la chaîne B**.



## 2 – Le glucagon

Il est composé d'**une seule chaîne polypeptidique de 29 acides aminés**, mais il dérive également de **précurseurs** à poids moléculaire plus élevé (**prépro-glucagon et pro-glucagon**). C'est une **hormone hyperglycémisante**.

## 3 – La somatostatine

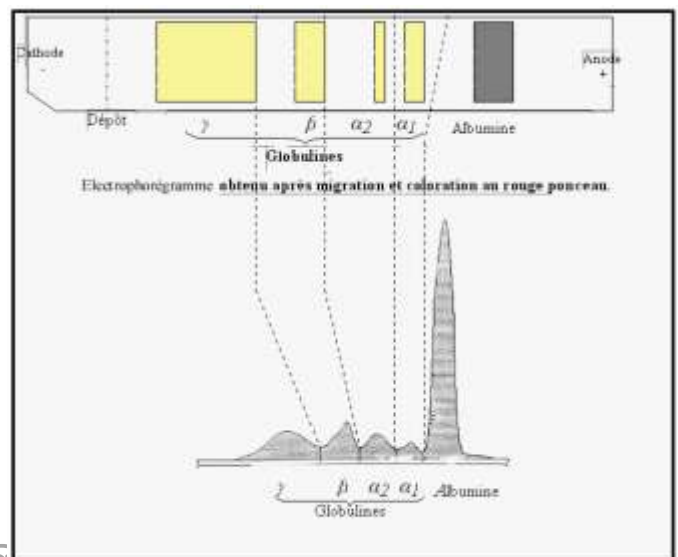
Elle est formée de **14 acides aminés**. Elle est **synthétisée par les cellules du pancréas mais aussi par l'hypothalamus et certaines cellules intestinales**. Son rôle est d'**inhiber la sécrétion d'insuline et de glucagon**.

## Les immunoglobulines (Ig)

Ce sont des **anticorps synthétisés par les lymphocytes B**. Il y a des fractions présentes au niveau du lymphocyte B et il y a des fractions libres : **les immunoglobulines libres sont plasmatiques**. Si on fait une électrophorèse des protéines du sérum, les **immunoglobulines plasmatiques correspondent à la fraction des  $\gamma$  et à une partie des  $\beta$  globulines**.

Analyse des protéines du sérum par électrophorèse (en fonction de la charge des protéines) :

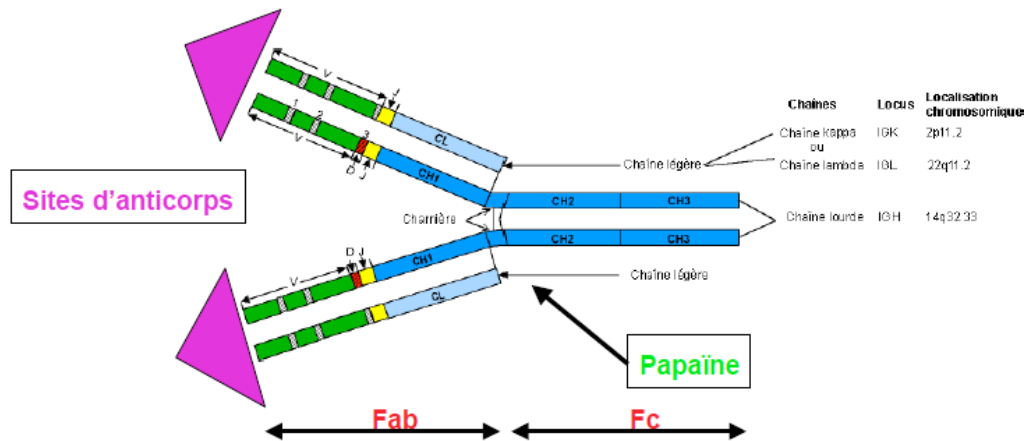
- sérum-albumine (ne contient que de l'albumine)
- $\alpha_1$  globuline
- $\alpha_2$  globuline
- $\beta$  globuline
- $\gamma$  globuline



Pourquoi faire une électrophorèse ? Lorsqu'il y a des pathologies qui affectent le foie, il n'est plus fonctionnel, il ne synthétise plus d'albumine, donc le pic d'albumine est très moindre. Dans des maladies hématologiques, un **pic d'immunoglobulines signale une infection**.

Chaque molécule d'immunoglobuline comporte :

- 2 chaînes légères identiques (PM = 23 000 Da) (L)
- 2 chaînes lourdes identiques (PM = 53 à 75 000 Da) (H)



Elles sont reliées par des ponts S-S intra et interchaînes. Cela forme un tétramère  $H_2L_2$ . Chaque chaîne peut être divisée en domaines fonctionnels :

- la chaîne légère L comporte :
  - o la moitié côté carboxylique : la région constante C
  - o l'autre moitié N-ter : la région variable V
- la chaîne lourde H comporte :
  - o les  $\frac{3}{4}$  côté C-ter : régions constantes  $C_1-C_2-C_3$
  - o le  $\frac{1}{4}$  côté N-ter : région variable V.

La **région variable sera spécifique de chaque immunoglobuline**. Les **chaînes lourdes sont glycosylées**. Les chaînes glycaniques (en nombre variable suivant la classe d'immunoglobuline) sont fixées par des liaisons N et O glycosidiques.

La portion de la molécule d'immunoglobuline qui se lie de façon spécifique à son antigène est représentée par les 2 régions variables des chaînes lourdes et légères. Cela correspond au site d'anticorps. Pour chaque molécule d'immunoglobuline, il y aura **2 sites anticorps identiques**.

La papaine (ou la trypsine) coupe la molécule d'immunoglobuline en libérant 2 fragments Fab et 1 fragment Fc.



Il existe deux types de chaînes légères : kappa ( $\kappa$ ) et lambda ( $\lambda$ ), qui sont présentes dans toutes les classes d'immunoglobulines.

Il y a par contre 5 types de chaînes lourdes définissant 5 classes d'Ig :

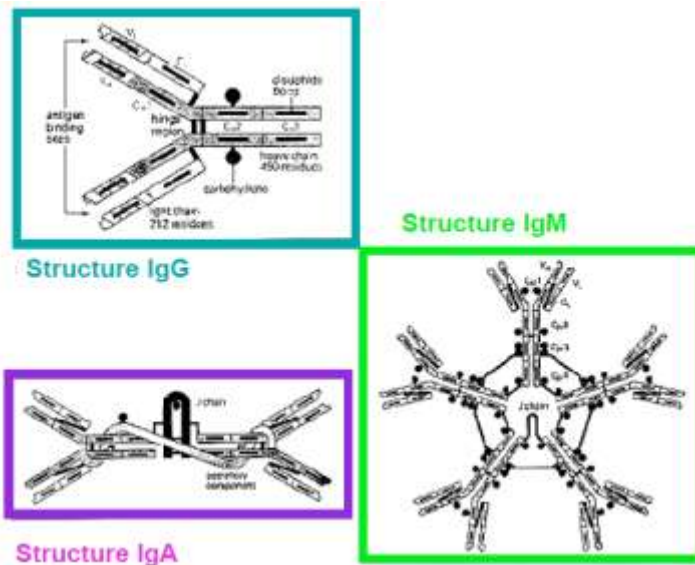
★	- $\gamma$	IgG	$\gamma_2\lambda_2$ et $\gamma_2\kappa_2$
	- $\alpha$	IgA	$\alpha_2\lambda_2$ et $\alpha_2\kappa_2$
	- $\mu$	IgM	$\mu_2\lambda_2$ et $\mu_2\kappa_2$
	- $\delta$	IgD	$\delta_2\lambda_2$ et $\delta_2\kappa_2$
	- $\epsilon$	IgE	$\epsilon_2\lambda_2$ et $\epsilon_2\kappa_2$

Les IgG sont des tétramères.



D'autres Ig peuvent exister sous forme de polymères d'un ordre plus élevé, comportant :

- 2 ou 3 unités tétramériques : IgA
- 5 unités tétramériques : IgM



## V – Les hémoglobines

Les hémoglobines sont des **hétéroprotéines** constituées :

- d'une **copule protéique** : la globine
- d'une **partie prosthétique** : le groupement hémique

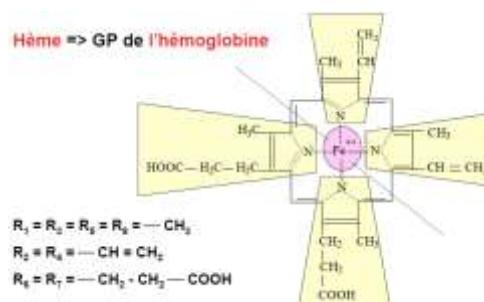
Ce sont des **molécules tétramériques** formées de **4 chaînes polypeptidiques identiques 2 à 2**, associée chacune à une **molécule d'hème**. Il y a différentes formes de chaînes de globines :

- chez l'adulte :
  - HbA<sub>1</sub> :  $\alpha_2 \beta_2$  qui représente plus de 97% de l'hémoglobine totale
  - HbA<sub>2</sub> :  $\alpha_2 \delta_2$  qui représente 1,5 à 3% de l'hémoglobine totale

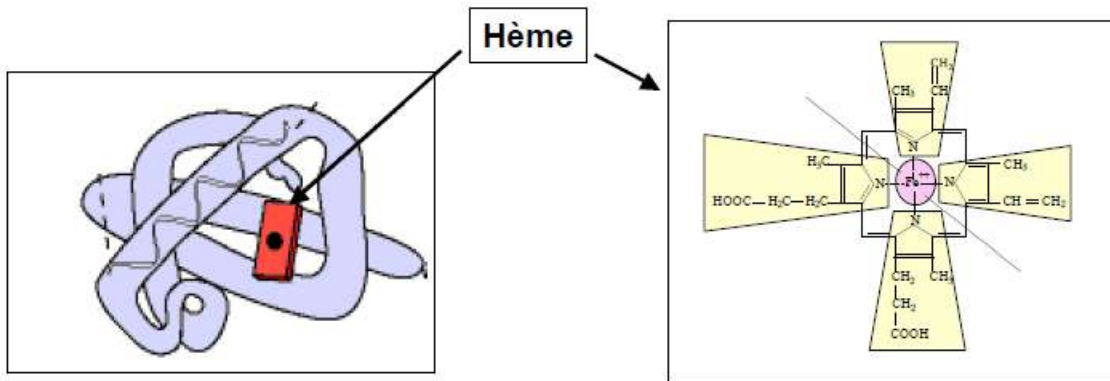
Les hémoglobines sont les **protéines majoritaires du globule rouge**. Leur **fonction principale** est le **transport d'oxygène**. Cette fonction n'est assurée que quand la protéine est sous forme tétramérique.

### 1 – Le groupement prosthétique : l'hème

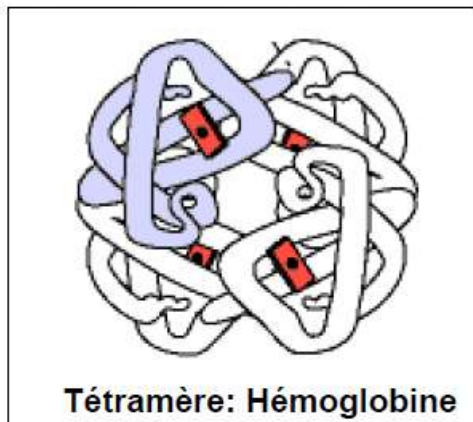
La structure de base des groupements hémiques sera le noyau pyrrole. **Quatre noyaux pyrroles s'associent pour former une structure cyclique = le noyau porphyrine**. Diverses substitutions (R1 à R8) donnent naissance au groupe des porphyrines. On passe des porphyrines aux **groupements hémiques** par introduction au centre du noyau tétra-pyrrolique d'un ion fer.



L'atome de fer à l'état ferreux,  $\text{Fe}^{++}$ , est au centre du plan défini par les noyaux pyrroles. Ce fer s'unit aux 4 atomes d'azote par des **liaisons de coordination**.



**Monomère: Globine (hélice  $\alpha$ ) + Hème**



**Tétramère: Hémoglobine**

**4 chaînes polypeptidiques  
identiques deux à deux<sup>66</sup>**

## 2 – Les globines

### a – La structure primaire

La chaîne  $\alpha$  est constituée de 141 acides aminés, les différentes chaînes  $\beta$ ,  $\delta$ , et  $\gamma$  de 146 acides aminés. En termes d'évolution :

- les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  diffèrent par 80 acides aminés
- les chaînes  $\beta$  et  $\gamma$  diffèrent par 40 acides aminés
- les chaînes  $\beta$  et  $\delta$  diffèrent simplement par 10 acides aminés

Ceci est dû à une évolution des gènes par duplication d'un gène commun.

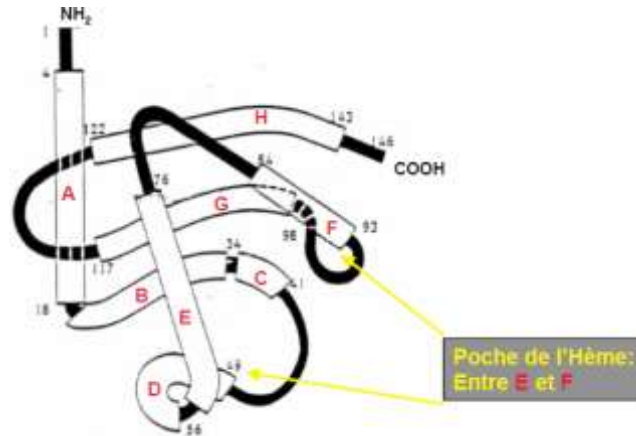
### b – La structure secondaire et tertiaire des chaînes $\alpha$ et $\beta$

La structure est en hélice  $\alpha$  sur 70% de leur longueur. Les chaînes  $\beta$  sont composées de 8 régions hélicoïdales désignées de A à H, tandis que la chaîne  $\alpha$  n'en a que 7 car il y a absence de l'hélice D.



Configuration spatiale de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine.

Les zones hélicoïdales et non-hélicoïdales conditionnent la structure tertiaire. La chaîne est repliée sur elle-même. Sa structure 3D est stabilisée par des liaisons H et par des forces de Van Der Waals ce qui forme une structure compacte. L'hème vient se positionner entre les segments E et F.



Sa poche est orientée vers l'extérieur. Elle est composée d'acides aminés à chaînes latérales fortement hydrophobes. L'hème est ainsi maintenu dans un environnement hydrophobe indispensable pour que le fer reste à l'état ferreux, car au contact de l'eau, il deviendrait ferrique. Il doit rester à l'état bivalent,  $\text{Fe}^{2+}$  :

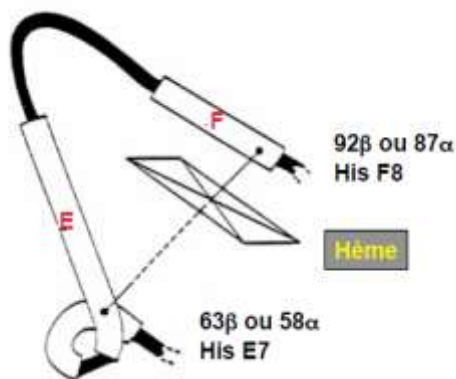
- pour pouvoir se coordonner à l'oxygène
- pour se protéger contre la met-hémoglobinisation c'est-à-dire contre son passage de ferreux à ferrique  $\text{Fe}^{3+}$

### c – Liaison de l'hème à la globine

2 des 6 valences du fer ferreux, perpendiculaires au plan de l'hème, vont se fixer

- aux parois latérales de la poche de l'hème
- à l'azote imidazole de 2 acides aminés histidine, situées en F8 et E7 (numérotation par domaine)

La liaison fer-histidine F8 est forte et proximale alors que la liaison en E7 est plus lâche et plus distale, afin d'admettre une molécule d'oxygène entre l'histidine E7 et l'anneau tétrapyrrolique (fer).

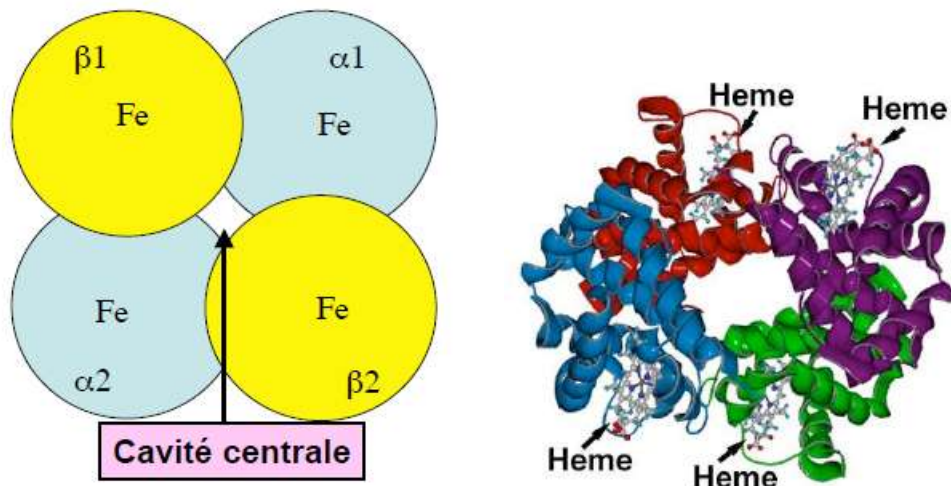


### d – Structure quaternaire

(Possibilité ou non d'insertion de l'oxygène)

L'hémoglobine est une molécule globulaire de 55 Å de diamètre environ. C'est un tétramère de 2 sous-unités  $\alpha$  et de 2 sous-unités  $\beta$  (Hg adulte  $\text{HbA}_1$ ) donc 4 hèmes et 4 Fer, donc il fixe 4  $\text{O}_2$ .

Les 4 sous-unités se situent aux 4 sommets d'un tétraèdre ménageant au centre de la molécule une cavité remplie d'eau. Les poches de l'hème sont en surface, ouvertes vers l'extérieur (et donc hydrophobes).



Les contacts entre chaînes sont :

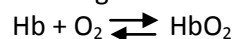
- importants entre chaînes non-identiques
- pratiquement inexistantes entre chaînes identiques

Les distances entre les 4 fers héminiques sont inégales : elles varient au cours de l'oxygénation/désoxygénation.

### 3 – Fonctions de l'hémoglobine

#### a – Fixation de l'oxygène à l'hémoglobine

La propriété physiologique essentielle de l'hémoglobine est de fixer réversiblement l'oxygène :



1 atome de fer fixe une molécule d'O<sub>2</sub>, donc potentiellement 4 molécules d'O<sub>2</sub> sont fixées par molécule d'hémoglobine.

#### b – Interprétation allostérique

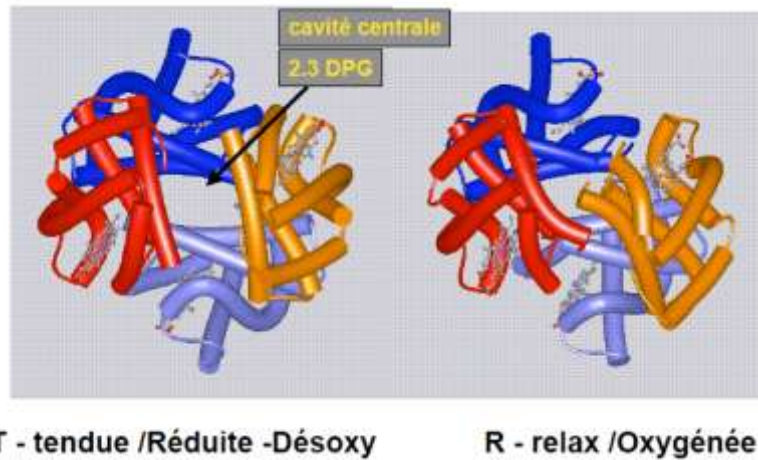
L'hémoglobine est le **siège de réarrangements structuraux**, elle est **soumise à des transitions allostériques**.

Dans sa **forme réduite**, l'hémoglobine est dans un **état T (tendu)**. Les extrémités des chaînes β sont reliées par une **molécule de 2,3 DPG (2,3 diphosphoglycerate)** qui **stabilise cette forme**. L'espace entre les 4 noyaux pyrroles de l'hème est alors insuffisant pour que l'atome de fer puisse s'y introduire complètement.

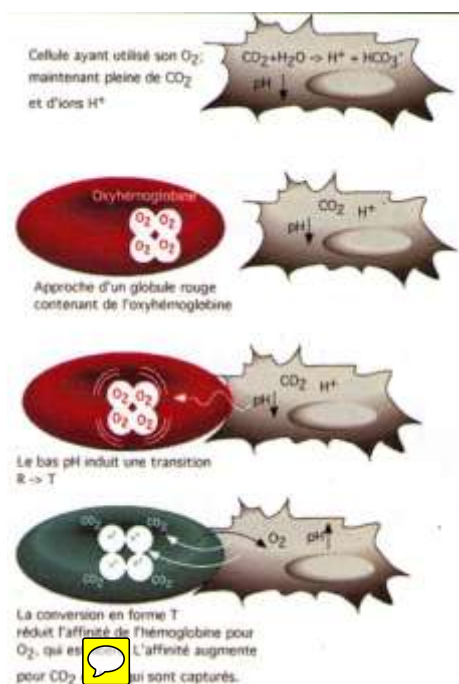
La fixation d'un premier atome d'O<sub>2</sub> entraîne :

- la rupture du pont salin entre le DPG et l'hème, et l'expulsion de ce DPG
- l'élargissement de l'espace entre les noyaux pyrroles
- l'élargissement des poches de l'hème
- le fer peut donc bien se positionner.

L'hémoglobine passe ainsi sous une **forme R (relâchée, relax)**, facilitant la fixation d'O<sub>2</sub> = **oxyhémoglobine**.



La transition allostérique et la fixation de l'O<sub>2</sub> **dépendent de l'environnement**. Si la cellule a utilisé tout son O<sub>2</sub>, elle est chargée en CO<sub>2</sub> et son pH est acide. Si l'oxyhémoglobine vient en contact avec cette cellule, le pH acide induit la transition pour relarguer l'oxygène, ce qui induit sa forme tendue. L'oxygène passe dans la cellule, et le CO<sub>2</sub> se fixe à l'hémoglobine.



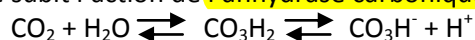
La liaison de l'O<sub>2</sub> par l'hémoglobine est coopérative et régulée par H<sup>+</sup>, le CO<sub>2</sub> et le 2,3-DPG.

#### Dynamique des protéines : protéines allostériques.

Un grand nombre de protéines existent sous 2 structures conformationnelles différentes (rigide qui change au contact avec un substrat, d'autres protéines...). L'une est biologiquement active, l'autre non. Il est possible de passer d'une forme à une autre par remaniements de la structure. Dans le cas de l'hémoglobine, c'est l'affinité pour l'O<sub>2</sub> qui change selon la forme. Exemple des enzymes : quand elles ont 2 sites de liaison pour 1 substrat, la liaison au premier modifie la conformation de l'enzyme pour faciliter la fixation au 2<sup>e</sup>.

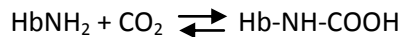
### c – Liaison de l'hémoglobine au CO<sub>2</sub>

Le CO<sub>2</sub> provenant des réactions de décarboxylation (cycle de Krebs) diffuse dans le plasma puis dans les globules rouges. Une partie subit l'action de **l'anhydrase carbonique** :



La majeure partie des bicarbonates formés retournent dans le plasma.

L'autre partie du  $\text{CO}_2$  se combine à l'hémoglobine, non avec l'hème, mais avec la globine : **réaction de carbamylation**, par condensation sur les fonctions  $\text{NH}_2$  terminales des 4 chaînes : acide aminé valine.



### d – Modification post-traductionnelle la plus importante

C'est la **condensation d'une molécule de glucose à l'extrémité Nter des chaînes  $\beta$** . L'hémoglobine **glycosylée est l'HbA<sub>1c</sub>**. C'est un phénomène spontané, non-enzymatique, qui ne dépend que de 2 facteurs : le temps et la concentration en glucose (glycémie). Le dosage de l'HbA<sub>1c</sub> est utilisé pour surveiller l'équilibre glycémique à long terme (3 dernières semaines) chez les diabétiques.



### e – Pathologies de l'hémoglobine et anomalies de structure

Les anomalies du génome des hémoglobines sont de trois ordres :

- les mutants structuraux
- les thalassémies
- les syndromes de persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale

#### Les mutants structuraux

Il existe plus de 500 variants structuraux. La plupart correspondent à des mutations ponctuelles (remplacement d'un acide aminé par un autre), et sont asymptomatiques. Quelques uns sont graves à l'état homozygote et répandus, comme l'HbS qui est la mutation d'une glutamine en  $\beta 6$  par une valine.

La forme homozygote de cette HbS est responsable de la drépanocytose ou anémie falciforme. Elle est surtout observée en Afrique noire. L'HbS a tendance à se polymériser et à précipiter sous sa forme désoxygénée, ce qui entraîne une déformation des globules rouges. De telles hématies en faucilles peuvent boucher les capillaires.

Les porteurs d'un seul allèle muté ne souffrent que d'une forme atténuée de la maladie. Ils gagnent même un avantage sélectif car leurs globules rouges sont moins sujets à être affectés par le vecteur de la malaria (palu) : plasmodium f. Grâce à l'HbS, certaines régions d'Afrique ont pu être peuplées. La mutation n'a pas été éliminée par l'évolution et se maintient dans les régions du monde où sévit la malaria.

