



LES PROTEINES

I. DEFINITIONS DES PROTEINES

Définition protéines : Macromolécule (polymère) constituée d'**acides aminés** unis entre eux par une liaison covalente : la liaison peptidique, donnant des séquences spécifiques. Elles représentent **16%** du poids corporel.

Les protéines ont **différentes fonctions** dans l'organisme :

- * Enzymes,
- * Récepteurs et hormones,
- * Canaux membranaires, structure de composés,
- * Anticorps, éléments moteurs du mouvement cellulaire.

| FONCTION STRUCTURALE | FONCTION METABOLIQUE |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ❖ collagène : protéine la plus abondante chez les vertébrés retrouvés dans la peau/tendon/os ❖ kératine : protéine dans les cheveux et les ongles. | <ul style="list-style-type: none"> ❖ transport d'O₂ avec l'<u>hémoglobine</u> dans le sang ❖ défense contre les infections avec les anticorps ❖ catalyse biologique (enzymes la plupart du temps) ❖ régulation métabolique |

II. ORGANISATION DES PROTEINES

A) LA LIAISON PEPTIDIQUE

La condensation de 2 AA ensemble se fait par une réaction simple: la formation d'une liaison peptidique.

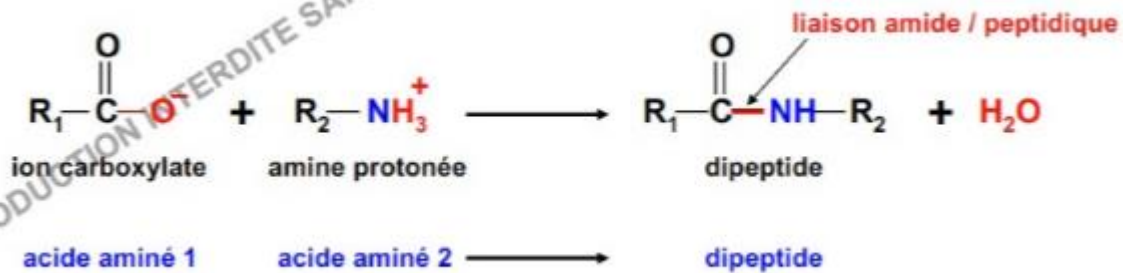
Caractéristiques :

- Liaison **amide** : formation entre le COO⁻ d'un AA et le NH₃⁺ d'un autre AA
- Relargue une molécule d'eau
- Pas **exactement une liaison covalente** mais y ressemble beaucoup (notamment à une double liaison)
- **Très rigide** : pas de mouvements possibles dans cette liaison sauf au niveau du carbone alpha
- Longueur figée : **1.32 Angström**



❖ Les groupements **CO** et **NH** de la liaison peptidique sont **POLAIRES** mais **PAS CHARGES** : ils participent à la formation de **liaisons H** pour stabiliser la protéine

❖ Les seules **charges** du peptide se trouvent au niveau des **chaines latérales** et des groupements **Nter** et **Cter**.

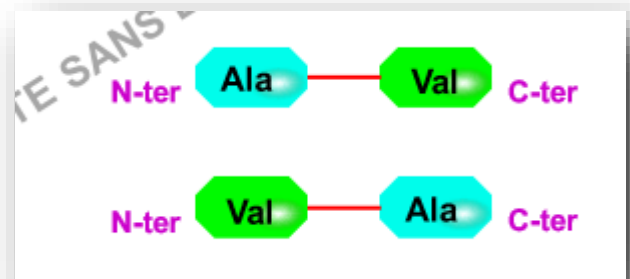


B) LECTURE D'UNE PROTEINE

Elle se fait toujours du **N-terminal** au **C-terminal**.

Aux extrémités de la protéine :

- une fonction **NH₃ libre** pour le premier acide aminé
- une fonction **COOH libre** pour le dernier acide aminé.



L'allongement d'une protéine se fait toujours du côté C-terminal.

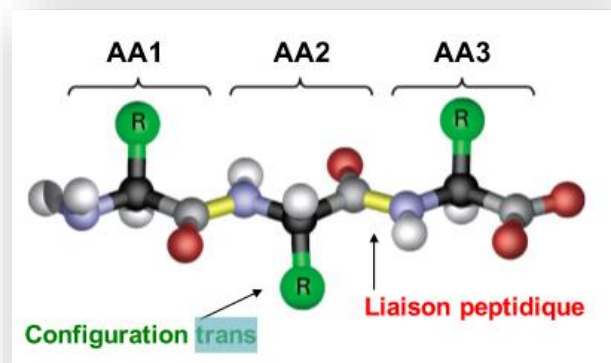
La fonction et les propriétés biologiques d'une protéine sont différentes selon l'ordre des AA.

Définition polypeptide = entre 10 et 50 AA et au delà c'est une protéine.

B) LES CONTRAINTES DANS L'ESPACE

Elles existent du fait de la position des **liaisons peptidiques** et des **chaines latérales**, en général en position **TRANS** (cad pas du même côté) sauf pour la **proline** qui est en position **CIS**.

Cette configuration limite au maximum **l'encombrement stérique** de la protéine.





La **proline** est extrêmement **rigide** et se met en **position CIS** lors des liaisons peptidiques, ce qui impose des contraintes particulières (surtout pour structures 2daies).

C) LES NIVEAUX D'ORGANISATION

Les protéines ont 4 niveaux d'organisations ou structures mais au **minimum 3**.

Structure primaire

Définition : ordre dans lequel les AA sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques, identiques entre tous les AA, **uniquement dicté par le génome**. Elle est **déterminante pour la structure tertiaire**.

Caractéristiques :

- linéaire
- ordonnée (=codée par le code génétique)
- non fonctionnelle
- non thermodynamiquement favorable



La structure primaire ne permet **pas de prédire la structure tridimensionnelle**. On peut retrouver une même séquence dans des structures secondaires et tertiaires différentes.

Elle peut **donner des indications sur les structures 2ndaires et 3taies** (présence de ponts dissulfures, par des AA chargés, non chargés, polaires....) mais ne permet pas de les prédire.

| Exemples : | Insuline | Aspartame | Glutathion | Angiotensine II |
|------------------|---|---|---|--|
| Structure | 2 chaînes (21et 30AA) | Dipeptide : acide aspartique et phénylalanine | Tripeptide : glutamate, glycine, cystéine | octapeptide |
| Caractéristiques | plusieurs cystéines sur la chaîne A ce qui permet de former 2 ponts S-S interchaines et 1 pont intrachaine . Seuls une 10zaine d'AA dans sa structure sont important pour sa fonction : sa configuration dans l'espace est très importante (les10AA doivent se regrouper) | pas de structure secondaire ou tertiaire. | | Obtenu en cascade à partir de l'angiotensine I (dipeptide) |
| Fonctions | seule hormone hypoglycémiante | Agent édulcorant | | ++régulation artérielle |

Structure secondaire

Définition : repliements de la structure primaire. Organisation **locale de motifs répétitifs** en hélice alpha ou en feuillets beta à l'intérieur de la structure tertiaire.

Caractéristiques :

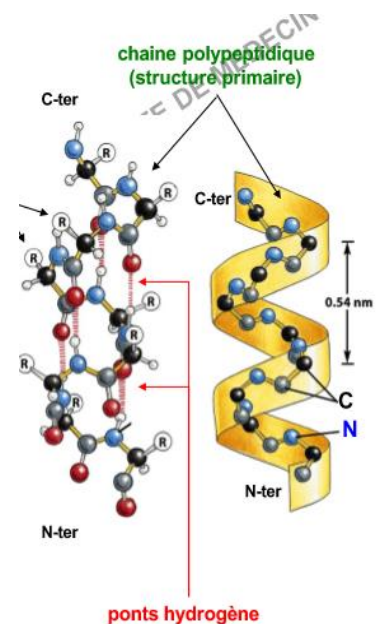
- stabilise la structure de la protéine
- niveau énergétique minimal
- Passage vers une structure organisée
- locale, non linéaire, thermodynamiquement plus stable.
- Les différents arrangements ont lieu dans le **cytoplasme**, impliquent des interactions spécifiques entre les différents acides aminés et peuvent impliquer des **protéines chaperonnes** (=protéines qui aident au repliement des protéines).
- Formation de nombreuses liaisons qui **stabilisent énormément** la protéine.

a) L'hélice alpha

Définition : **Enroulement** extensible de la chaîne polypeptidique. Un tour d'hélice équivaut à **3,6 AA** avec un pas à droite vers le C-Ter.

- les chaînes latérales se projettent à l'extérieur de l'hélice afin de ne pas encombrer la structure
- Des ponts hydrogènes stabilisent l'hélice et sont parallèles à l'axe de l'hélice.

Elles se forment de manière spécifique entre O du COOH et un H de NH₂ d'un autre AA **situé 4 AA en aval** dans la structure primaire.



La plupart des AA sont capables d'appartenir à une structure hélice alpha **SAUF** la **proline** qui est incompatible à cause de sa structure particulière (rigidité et cyclique).

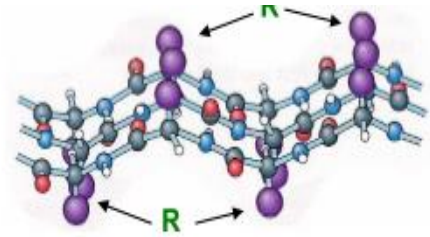
Glu, Asp, His, Lys, Arg altèrent la formation de l'hélice par formation de liaisons **ioniques** ou **électrostatiques** mais ils peuvent tout de même en faire parti.

b) Feuille-B

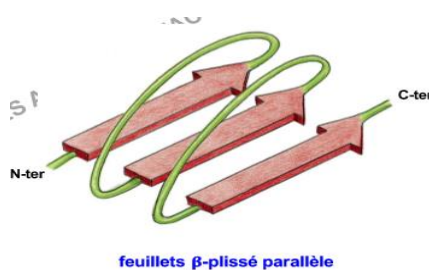
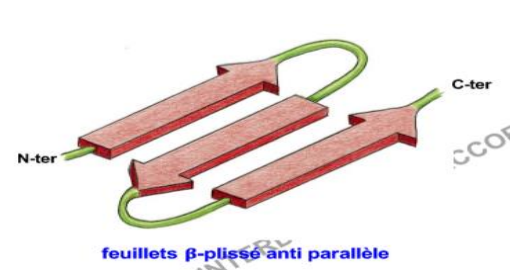
Définition : est constitué de segments qui s'alignent côte à côte. C'est une structure **plissée** et **étirée**. Elle implique des **prolines** pour faire des coudes bêta.

Le feuillet est stabilisé par des **liaisons hydrogènes** entre 2 segments adjacents (pas de nombre spécifique d'AA pour former le pont).

- Les chaînes latérales sont toujours au dessus ou en dessous
- Le feuillet B est typique des protéines fibreuses notamment la **kératine B**



Il en existe 2 types :

| Parallèle | Antiparallèle |
|---|--|
| → même sens et parallèles entre elles | → parallèles entre elles mais dans le sens inverse |
|  | → permettent le changement de direction |
| feuillets β -plissé parallèle |  |
| | → assez fréquent dans les protéines globulaires , très compactes (jusqu'à 1/3 des AA impliqués dans un coude) |

- Les **AA stabilisant** la structure sont la **Valine** et **Isoleucine**
- Les **AA déstabilisants** sont la **Lysine** (par sa taille minuscule) et la **proline** (rigidité) (ATTENTION : proline est exclue de la structure (mais pas des inter-domaines))

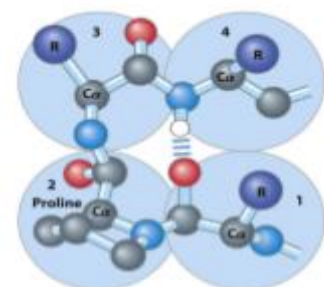
Remarque : généralement une protéine n'est pas formée uniquement de feuillets B ou d'hélice alpha mais un mélange des 2, même s'il existe des exceptions.

Le coude bêta

Définition : On les retrouve à la surface des protéines et ils impliquent une proline. Ils permettent la transition entre les hélices et les feuillets bêta.
Un coude beta est extrêmement **figé** et constitué d'un segment de **4 acides aminés**.

Structure :

- ✓ une **proline** en position 2 (permettant le changement de direction),
- ✓ une **glycine** en position 3 (petit et flexible)
- ✓ une **liaison hydrogène** entre les acides aminés **1 et 4**,
- ✓ une **liaison peptidique** en **CIS** à cause de la proline





Les liaisons peptidiques des **2 résidus centraux** ne participent **pas** à des liaisons **hydrogènes** inter-résidus.

Structure Tertiaire

Définition : c'est le support de la **fonction biologique** de la protéine. C'est ici uniquement que la fonction de la protéine apparaît. Organisation des **motifs répétitifs** (= organisation des structures secondaires).

Caractéristiques :

- structure la plus stable
- niveau énergétique le plus faible, et thermodynamiquement favorable.
- plus du tout linéaire, les charges et la polarité jouent un rôle très important.
- Indispensable pour que la protéine soit fonctionnelle.

Interactions stabilisants la structure tridimensionnelle :

Interactions non covalentes :

- **Hydrophobes** (indépendantes du pH)
- **Hydrophiles** (dépendantes du pH) : **liaisons hydrogènes** ou **ponts salins** : portées par les chaînes latérales des AA polaires
- **Liaisons ioniques** (entre un AA acide et un autre basique)

Interactions covalentes :

- **Ponts disulfures** (entre deux atomes de soufre de deux cystéines).

→ Cette structure n'est **pas obligatoirement impliquée** pour stabiliser la structure tridimensionnelle.

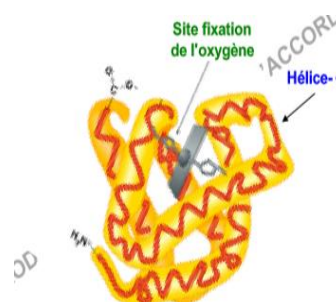
→ Leur formation nécessite l'intervention d'enzymes ou d'agents oxydants, ils restreignent la mobilité mais permettent une stabilisation extrême.

➔ Nécessite des agents très puissants pour briser cette liaison

protéines globulaires :

- très compactes et petites
- sphériques
- diverses fonctions comme la **synthèse**, le **transport** et le **métabolisme cellulaire** => permet de se déplacer facilement et rapidement dans le sang

→ ex : **myoglobine** : circule dans le sang et riche en hélice alpha : transporte l'O₂ au muscle et est responsable de sa couleur rouge.



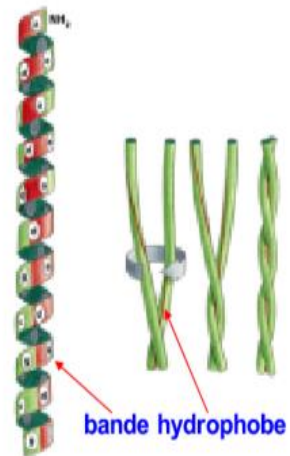
PATHO: Lors d'un infarctus du myocarde, la myoglobine s'échappe du Cœur vers le sang où on peut la doser pour confirmer le diagnostic de l'infarctus.

Protéines fibrillaires

- plutôt allongées et ressemblent à des **fibres**
- généralement **insolubles** dans l'eau et possèdent beaucoup d'AA apolaires
- formation de complexes supramoléculaires
- stabilisation par des **liaisons hydrophobes**

→ ex : **alpha kératine**: structure en hélice alpha, très rigide qui s'enroule pour former une fibre.

Les 7 AA qui la compose se trouvent dans une séquence répétitive. On a une importante stabilité notamment par les nombreuses cystéines présentes dans la structure.



Structure quaternaire

Définition : Association multimérique de plusieurs monomères de structures tertiaires identiques ou différentes.

C'est l'étape de la **Multimérisation = oligomérisation** (= assemblage de des ou plusieurs chaînes protéiques).

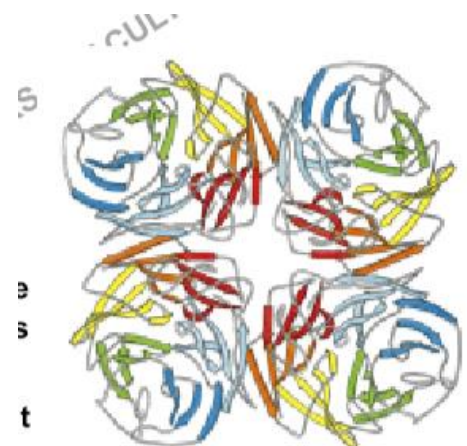
- **Homo-multimérisation** : association de 2 chaînes protéiques identiques de
- **Hétéro-multimérisation** : association de 2 chaînes protéiques différentes

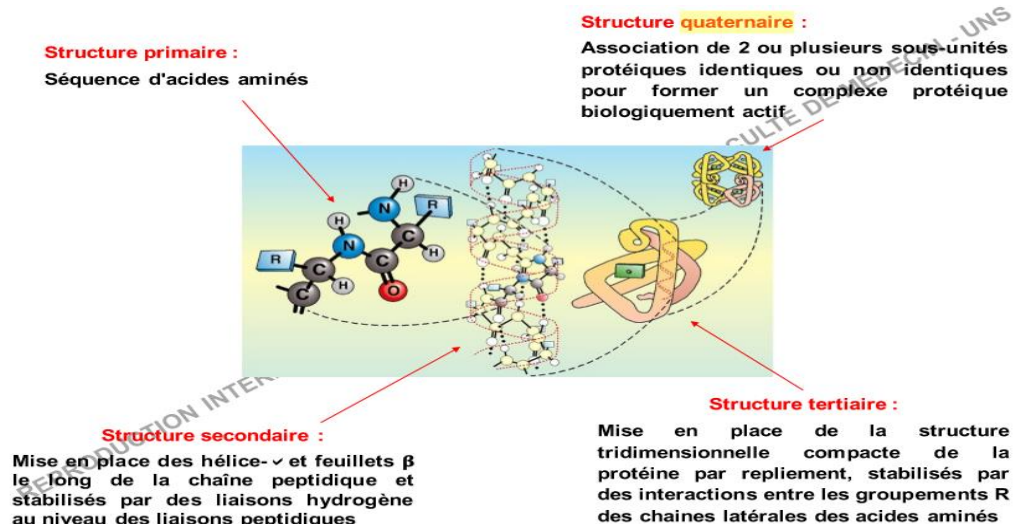
Interactions stabilisants la structure quaternaire :

- liaisons essentiellement **non covalentes** (électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes)
- très rarement des **liaisons covalentes** : **ponts disulfures**

Ce niveau d'organisation n'est **pas nécessaire**, certaines protéines sont fonctionnelles dès le niveau tertiaire. La moitié des formes protéiques est sous forme quaternaire : **2/3 homomères et 1/3 des hétéromères**.

Exemple : le **récepteur de l'insuline** composé de 2 sous unités alpha et 2 ssu beta, liées entre eux par des ponts dissulfures. Chacune de ces sous unités sont des chaînes polypeptidiques assemblées ensemble.





D) PROTEOLYSE

Dans la nature, les protéines sont catabolisées grâce à des **enzymes protéolytiques** qui les découpent en petits morceaux.

Certaines enzymes coupent à l'intérieur des protéines : ce sont les **endoprotéases**, alors que d'autres, les **exoprotéases** coupent à l'extrémité de la protéine (C term et N term).

Définition peptidases : enzymes qui ont la spécificité de dégrader des protéines : c'est l'**hydrolyse enzymatique**. Produites par le **pancréas** exocrine, elles dégradent les protéines en acides aminés (=protéolyse) dans la **lumière gastrique** afin de permettre l'absorption de ces derniers.

Elles sont aussi utilisées en laboratoire pour étudier les très grosses protéines.

Il y a deux types de peptidases :

Endoprotéases

Elles coupent à l'intérieur de la séquence protéique lorsqu'elles reconnaissent un acide aminé ou 2 de façon spécifique.

Trypsine : elle hydrolyse la liaison peptidique coté C term des **lysines** et des **arginines**. Utile dans la digestion des aliments.

Chymotrypsine : hydrolyse la liaison peptidique coté C term des **tyrosines**, **phénylalanine**, et **tryptophanes** (donc légèrement moins spécifique que la trypsine).



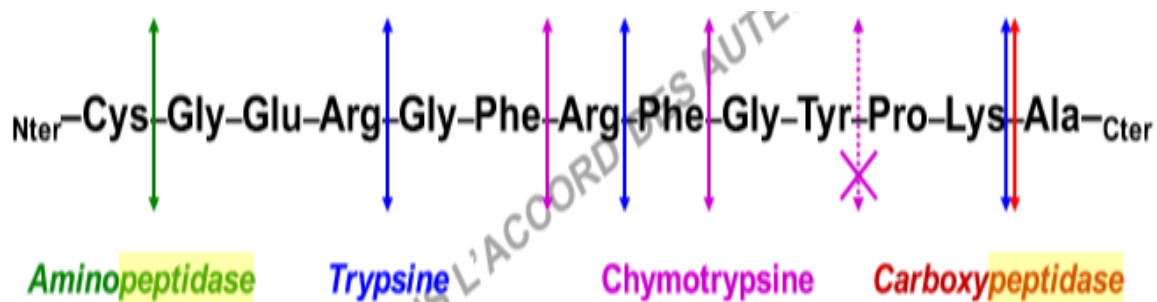
Une famille importante d'endoprotéase sont les **sérines protéases** : elles ne coupent pas au niveau d'une sérine mais possèdent une sérine dans leur site actif.

Les Exoprotéases

Elles coupent aux extrémités des protéines. Si elles coupent en N term = **aminopeptidase** et en C term = **carboxypeptidase**.



La **proline** a un rôle important sur l'action des protéases. Une proline liée à un AA que l'on veut couper en **AVAL (droite) empêche l'action** des enzymes protéolytiques. Mais une proline en amont gêne moins : n'empêche pas l'hydrolyse enzymatique.



POURQUOI LES PROTEINES SE REPLIENT-ELLES ?

- raison **chimique** : conférer un niveau énergétique favorable et le plus thermodynamiquement favorable
- raison **biologique** : conférer sa fonction

→ Car la molécule majoritaire dans la cellule est l'eau. Les propriétés d'hydrophobie des molécules régissent donc leur interaction avec l'eau.

On a 2 types de Kératine :

- **alpha** : ++++ **hélice alpha** avec des structures très longues : peau, ongles, cheveux => **mammifères**
- **béta** : ++ **feuilletés bêta** très tassés : plumes, bec, écailles, griffes des oiseaux, peau des reptiles => **rigidité et étanchéité**.

III. ANOMALIES DES PROTEINES

La structure des protéines est codée génétiquement : il peut y avoir des **mutations**, ce qui implique soit :

- ❖ un changement de **codage** de la protéine
- ❖ un AA **supplémentaire ou absent**
- ❖ Mutation **ponctuelle** avec un seul AA différent

A) ANOMALIES DE STRUCTURE PRIMAIRE

☐ **Drépanocytose** due à une mutation ponctuelle de la **Glutamine** en position 6 remplacée par une **Valine** dans la séquence de l'hémoglobine => formation de l'hémoglobine de type S au lieu du type A (normale) qui cristallise en condition d'hypoxie.

B) DYSFONCTIONNEMENTS DES PROTEINES D'ASSEMBLAGE

☐ Maladie d'**Alzheimer** : peptide **A bêta** qui s'accumule

☐ Maladie de **Creutzfeldt-Jacob** (à prion) : la protéine change de structure par un mécanisme inconnu => forme transmissible sans agent infectieux.

☐ Maladie de **Parkinson** : protéine **alpha synucléine**.

C) DENATURATION

Définition : processus physique à l'origine de perte de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire, ce qui implique une perte de la fonction biologique. En général la structure primaire n'est pas altérée. La dénaturation peut se faire par différents mécanismes

- ✓ **modification du pH** : casse les liaisons **entre les AA** en modifiant les degrés **d'ionisation** de la protéine (ponts salins, liaisons H **donc perturbe la stabilité de la protéine**).
- ✓ **chaleur** : casse les liaisons **H ou hydrophobes**
- ✓ certains **composés organiques, et détergents**
- ✓ **métaux lourds** : casse les ponts **salins et dissulfures**
- ✓ **agitation** mécanique forte : liaisons **peptidiques**

Remarque : la seule façon d'altérer la structure primaire est d'hydrolyser ses liaisons peptidiques.

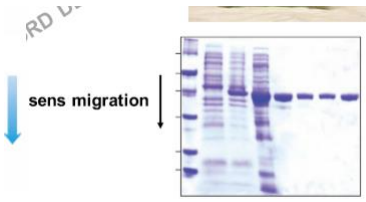
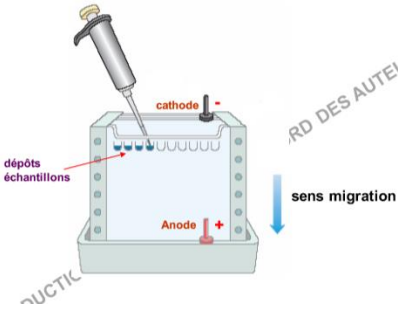


- ❖ Une protéine dénaturée devient **insoluble** : généralement elle sort de son milieu.
- ❖ Quand la dénaturation **n'est pas trop violente** et qu'on enlève l'agent responsable, la protéine peut garder une certaine fonctionnalité et la dénaturation peut être **en partie réversible**.

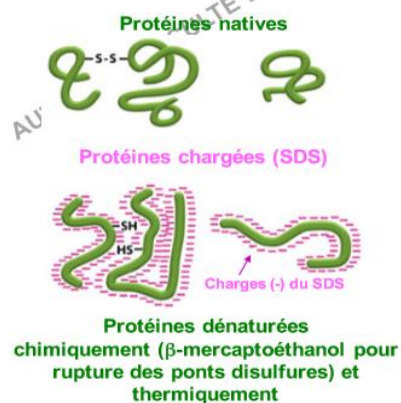
IV. TECHNIQUES D'ANALYSE

Rôles : identifier et quantifier les protéines selon leurs particularités.

A) ELECTROPHORESE

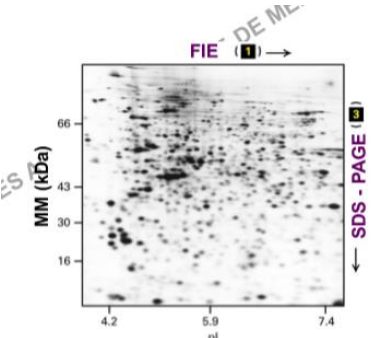
| Critères de séparation: | Matériel | Etapes |
|---|---|--|
| <p>taille et charge</p>  <p>(selon les masses moléculaires décroissantes)</p> | <ul style="list-style-type: none"> – Gel qui est le polyacrylamide (PAGE) avec plusieurs petits trous – champ électrique avec une cathode (moins) en haut et une anode (plus) en bas  | <ol style="list-style-type: none"> 1. ajoute le SDS (sodium dodecyl sulfate) qui a une charge négative, se mettant tout autour de la protéine * 2. on ajoute un agent qui casse les ponts dissulfures (le bêta mercaptoéthanol) 3. On dépose la protéine dans la cuve et elle va migrer vers l'anode 4. western blot : on les transfère sur une <u>membrane</u> + <u>anticorps</u> spécifique de la protéine qui va se fixer dessus pour identifier la bonne protéine. |

* plus elle est grande plus il y a de SDS dessus.
Et plus elles sont chargées plus elles auront de SDS autour
plus grosses migreront plus lentement



donc les

B) SEPARATION EN 2 DIMENSIONS

| Critère de séparation | Etapes | But |
|--|--|-------------------------------------|
| <p>point isoélectrique = pH pour lequel la molécule ne bouge plus parce que les charges sont neutralisées</p>  | <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>1ere dimension</u> : on sépare selon le pI (donc les charges) : on fait la technique du SDS page : les protéines s'arrêtent à ce niveau la. * 2. <u>2eme dimension</u> selon leurs tailles. | purifier une molécule particulière. |

* a charge neutre : les molécules s'arrêtent. Plus elles migrent vers le pH alcalin plus elles sont chargées négativement, plus elles migrent vers le pH acide, plus elles sont chargées positivement.

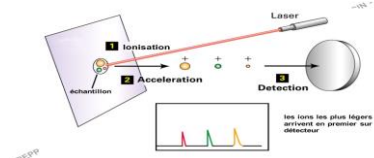
C) TECHNIQUE DE LA CHROMATOGRAPHIE PAR EXCLUSION D'UN GEL

| Critères de séparation | Matériel | Etapes |
|------------------------|--|---|
| taille | résine qui est constituée de billes trouées | les protéines solubles sont mises dans la résine : les plus grosses protéines ne rentrent pas dans les billes trouées mais les petites oui. |

D) CHROMATOGRAPHIE PAR ECHANGEUR D'IONS

| Critères de sélection | Matériel | Etapes |
|-----------------------|--|--|
| charge | Une <u>résine</u> chargée positivement ou négativement | on met les protéines dans la résine et selon leurs charges elles seront retenues ou non. |

E) SPECTROMETRIE DE MASSE

| Critères de séparation | Etapes | Inconvénients |
|--|--|---|
| <p>charge et taille</p>  | <ol style="list-style-type: none"> 1. on bombarde l'échantillon avec un laser 2. ionisation des protéines 3. accélération dans un champ magnétique | très sophistiqué, équipement lourd et onéreux |

