

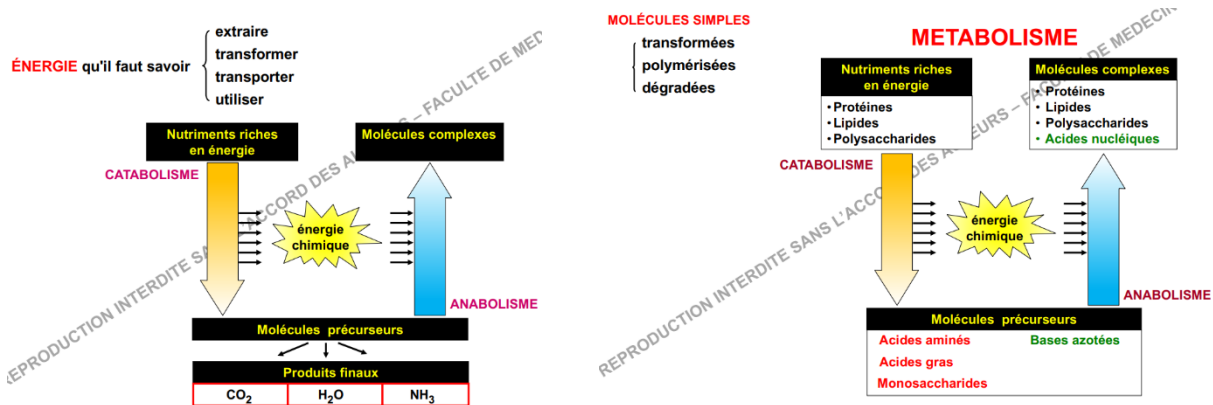


# INTRODUCTION, LES AA, LES PROTEINES

## INTRODUCTION A LA BIOCHIMIE

✓ La **biochimie** = Etude des **substances** (structure, conformation, transformation) et des **réactions chimiques** qui se produisent dans les organismes vivants.

- **Substances = molécules** : L'organisme transforme des **molécules complexes** (polysaccharides, lipides, protéines) en **molécules simples/précurseurs** (AA, AG, monosaccharides, bases azotées) pour obtenir de l'**énergie chimique** utilisée ensuite pour la synthèse d'autres molécules complexes (Acides nucléiques,...).
- **Réactions chimiques = voies métaboliques** : doivent être gérées de manière **séquentielles**, reproductibles et régulées par des enzymes pour maintenir un **état dynamique stable**.
  - **Catabolisme** : ensembles des réactions de **dégradations** des molécules complexes (aliments)
  - **Anabolisme** : ensemble des réactions de **synthèses** des composés nécessaires
  - **Métabolisme** = **catabolisme** + **anabolisme**
  - Le catabolisme n'est **pas** la voie reverse de l'anabolisme ! Et vice-versa !



**Petite histoire:** Vous mangez des nutriments riches en énergie. Votre organisme les dégrade #catabolisme en:

- molécule précurseur → réutilisé pour synthétiser des molécules complexe #anabolisme
- produits finaux ( CO2 H2O NH3) → éliminés

L'énergie produite lors du catabolisme est réutilisée pour l'anabolisme !

**Remarque** : Les **Acides Nucléiques** ne **produisent pas d'énergie**. ++

✓ Les **objectifs de la biochimie** sont d'étudier les substances au sein de l'organisme :

- **Détermination quantitative**
- Analyse de leur **structure**
- Détermination des **mécanismes** de synthèse et de dégradation
- Détermination de leur **rôle** dans le fonctionnement de l'organisme

La biochimie est une discipline distincte depuis le début du 20ème siècle, la biochimie est l'application de la chimie à l'étude des processus biologiques (échelle de la cellule → de l'organe → de l'organisme). Elle étudie :

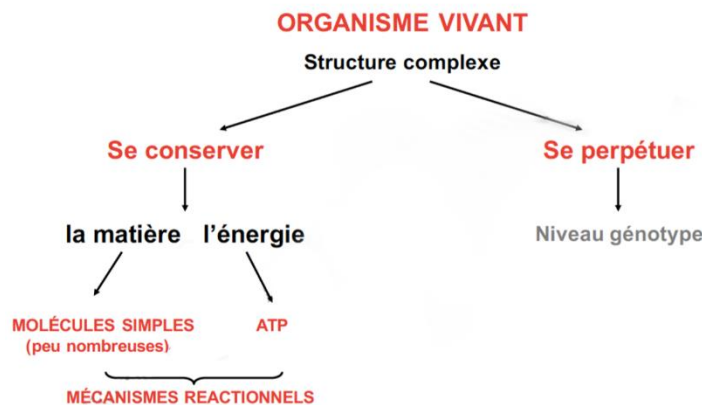
- Implication des molécules pour former des cellules, tissus, organismes
- Fonctionnement de la fabrication et utilisation de ces molécules par l'organisme.

Différence Chimie/Biochimie

Chimie	Biochimie
On se situe dans un tube, un système <b>fermé</b>	On se situe dans un organisme vivant, un système <b>ouvert</b>

Finalement l'organisme possède **2 missions** qu'on étudie avec **2 sciences différentes** :

Biochimie	Biologie moléculaire
On s'intéresse à comment l'organisme se conserve	On s'intéresse à comment l'organisme se perpétue



✓ La cellule : unité structurale de base des organismes vivants. Elle a besoin d'un apport **constant** en énergie. Les cellules de tous les organismes utilisent le **même type de molécules** : protéines, glucides, lipides et acides nucléiques (ADN, ARN,...)

✓ Composition du corps humain +++ :

- 60% d'eau (34% intracellulaire / 28% extracellulaire)
- 16% de protéines :
- 15 % de lipides
- 6% de sels minéraux
- 1% de glucides

💡 L'énergie est faiblement stockée sous forme de **glucides**  
 → majoritairement sous forme de **lipides**

LES PROTEINES

✓ **Les protéines** : (16% du poids du corps) sont composées **d'acides aminés**, et possèdent différentes structures, leurs permettant d'avoir plusieurs fonctions au sein de la cellule

1. LES STRUCTURES

Les protéines ont 4 niveaux de structure

Structure <b>primaire</b>	Enchaînement <b>linéaire</b> des acides aminés
Structure <b>secondaire</b>	Formation de structures <b>régulières, récurrentes et stabilisées</b> par des <b>liaisons hydrogènes</b>
Structure <b>tertiaire</b>	Ensemble des <b>conformations tridimensionnelles</b> de la protéine Acquisition de la <b>fonction</b> biologique
Structure <b>quaternaire</b>	<b>Association (facultative)</b> de plusieurs protéines entre elles

2. LES FONCTIONS

- **Structurales** : **Collagène** (++) chez les vertébrés) et **kératine** (ongle, cheveux)
- **Métaboliques** : **Transport** (hémoglobine), **régulation** (hormone, cytokine), **catalyse** (enzymes), **défense** (anticorps), récepteurs cellulaires, canaux membranaires, éléments moteurs du mouvement musculaire

LES ACIDES AMINES

Les Acides Aminés (AA) sont :

- les éléments constitutifs des **protéines**,
- unis pas des **liaisons covalentes/liaisons peptidiques**

- ♡ Chaque protéine possède une **séquence spécifique** d'AA différente déterminée par le **code génétique**.
- ♡ Chez l'homme, il existe **20 AA classiques** ( + le 21<sup>e</sup> AA rare : **Sélénocysteine**), **tous codés par le génome**.

1. Fonctions

- Constitution des **protéines** et **phospholipides**
- Précurseurs de molécules non protéiques : **glucose, alpha céto-acide, nucléotide, hème, créatine**
- **Neurotransmetteurs** ( Glutamate, Aspartate)
- **Transport** de l'azote : Implication dans Uréogénèse
- **Métabolisme Energétique**

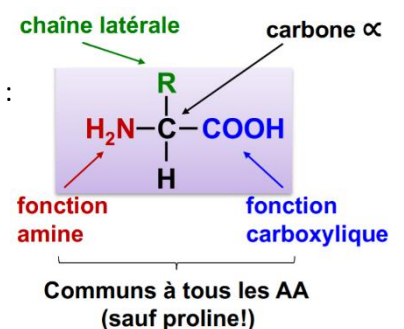
2. Structures

Tous les AA ont globalement la même masse moléculaire de **110Da**.

Ils possèdent une **structure commune** et une **chaîne latérale spécifique de l'AA** :

- En commun (Sauf la Proline) :
  - **Groupement carboxyle/carbonyle** : COOH/COO-
  - **Groupement amine** : NH3+/NH2
  - **Hydrogène** : H
- **Chaîne latérale** (notée R) qui donne à chaque AA sa spécificité

💡 Calculer la masse d'une protéine (Da)  
= Nombre d'AA x 110



- Les 4 groupements sont liés à un **Carbone central= Carbone alpha (C $\alpha$ )**. Pour tous les AA (sauf la Glycine) il s'agit d'un **C\* = Carbone asymétrique**, c'est-à-dire liés à 4 groupements **différents**.

⚠ Deux Exceptions ⚠

Proline	Glycine
Structure <b>cyclique</b>	Chaîne latérale : Hydrogène H → <b>Pas de carbone asymétrique</b>

### 3. Configuration des AA

Un AA avec un carbone asymétrique **C\*** s'exprime sous deux formes **L** ou **D**

→ On parle d'**Enantiomères** ou **Stéréo-isomères de configuration** (=deux configurations différentes d'une même molécule, elles sont images l'une de l'autre dans un miroir plan et non superposables)

\*comme tes mains\* 🙌

#### Série L ou série D ?

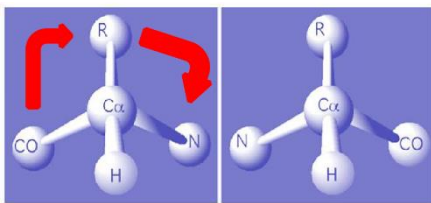
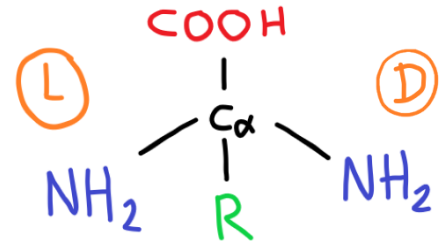
Les AA de **série L** sont **majoritaires** chez les mammifères.

Les AA de la **série D** sont **rare**s dans la nature, on les retrouve par **modification post-traductionnelle** (donc **non codés** par le génome), ils ne sont jamais inclus dans la structure primaire des protéines des mammifères mais peuvent être incorporés dans des petits peptides.

On possède 2 techniques pour déterminer la famille de l'AA :

#### PROJECTION DE FISHER

- Carboxylate** (COO-) en haut
  - Chaîne latérale R** en bas
- On regarde le groupement amine **NH<sub>3</sub>**: s'il est à gauche → **série L**  
s'il est à droite → **série D**



L-AA

D-AA

#### CONFIGURATION DE CORN

- Chaîne latérale R** en haut
  - Atome Hydrogène** en bas
- On regarde dans quel sens on lit « Corn »
- Lecture dans le sens des aiguilles d'une montre → **série L**
  - Lecture dans le sens inverse → **série D**

### 4. Propriété acide base des AA

Les AA sont des molécules **amphotères / ampholytes** = ils existent sous différentes formes ionisées, se comportent comme des acides ou des bases en fonction du pH. En solution aqueuse, les AA ne se dissocient pas totalement mais tendent vers un équilibre **AH  $\rightleftharpoons$  A<sup>-</sup> + H<sup>+</sup>**

A partir de la **constante d'ionisation**, on définit **l'équation d'Henderson-Hasselbalch** :

$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \quad \text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

- **pKa** : valeur du pH pour laquelle 50% des molécules sont ionisées et 50% sont non ionisées.
- **pHi** = point isoélectrique : valeur du pH pour laquelle la molécule n'a aucune charge / est électriquement neutre (charge nette=0 prédomine OU charge nette = -1 et 1 sont égale)

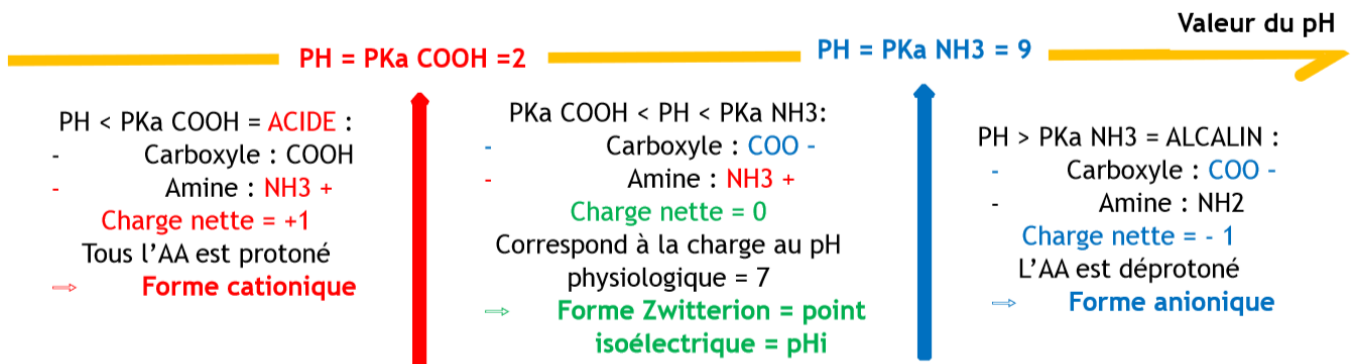
→ On parle de **forme Zwitterionique** de la molécule

$$pI = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$$

- Les **groupements ionisables** sont des groupements ayant des propriétés acide/base, qui peuvent donc céder (**acide**) ou recupérer (**base**) un proton selon la valeur du pH.
- Dans les AA ce sont les **groupements communs** COOH et NH3 et les **groupements de la chaîne latérale R**.

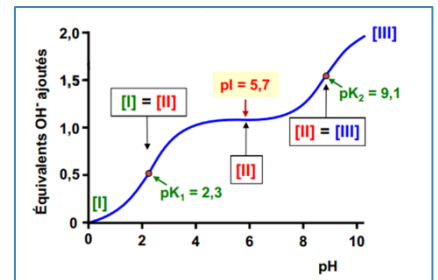
**PKa COOH = 2,3 = 2**                      **PKa NH3 = 9,1 = 9**  
**Quand pH < pKa : le groupement concerné est protoné.**

○ POUR LES AA SANS CHAINE LATERALE R IONISABLE



$pHi = \frac{2,3+9,1}{2} = 5,7$  → Pour ces AA, le pHi est d'environ 6

→ Graphiquement, les pKa sont les **points d'inflexion** de la courbe et le pHi est le **plateau**.

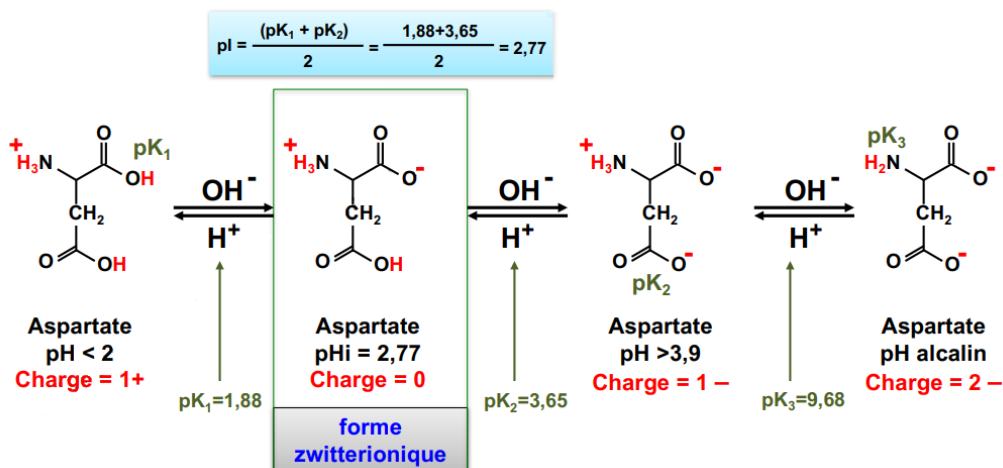


○ POUR LES AA AVEC CHAINE LATERALE R IONISABLE

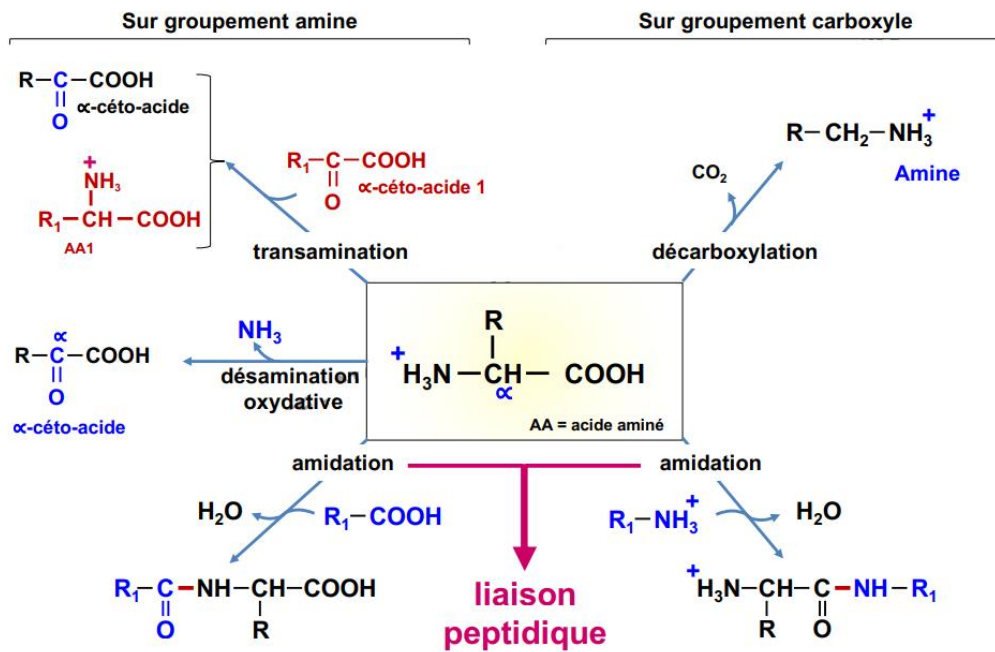
Il faut tenir compte du **groupement ionisable supplémentaire** → on calcule le pHi avec les 2 pKa entourant la forme zwitterion.

Exemple avec l'Aspartate : groupe carboxyle sur la chaîne latérale

Ex: le **point isoélectrique (pI)** de Asp correspond à une valeur de pH de 2,77



5. Réactions des acides aminés



6. Classification des AA codés génétiquement

Ils sont **protéinogènes** et au nombre de **21**. Ils sont dénommés par un code en 3 lettres ou en 1 lettre. Pour la classification, on utilise la **chaîne latérale** car elle est **spécifique** de chaque AA. On obtient ainsi 3 grands groupes d'AA codés selon leurs polarité:

- AA **polaire chargé** : 2AA<sup>-</sup> et 3AA<sup>+</sup> } **Extérieur** de la protéine/**hydrophiles**/en contact avec eau
- AA **polaire non chargé** : 6AA
- AA **non polaire** : 9AA } **Intérieur** de la protéine /**hydrophobes**

AA polaire (hydrophile, établit des liaisons ioniques) et chargé (charge complète)	
R polaire, chargée, <b>ACIDE</b> (donneur H <sup>+</sup> ) -	R polaire, chargée, <b>BASIQUE</b> (accepteur H <sup>+</sup> ) +
<p><b>Aspartate = Asp = D</b></p> <p><b>Aspartate Asp - D</b></p> <p>Fonction <b>acide carboxylique</b> ionisable</p>	<p><b>Histidine = His = H</b></p> <p><b>Histidine His - H</b> (Imidazole)</p> <p>Groupement <b>amine</b> ionisable</p>
<p><b>Glutamate = Glu = E</b></p> <p><b>Glutamate Glu - E</b></p> <p>Fonction <b>acide carboxylique</b> ionisable</p>	<p><b>Lysine = Lys = K</b></p> <p><b>Lysine Lys - K</b></p> <p>Groupement <b>amine</b> ionisable</p>
	<p><b>Arginine = Arg = R</b></p> <p><b>Arginine Arg - R</b></p> <p>Groupement <b>amine</b> ionisable</p>

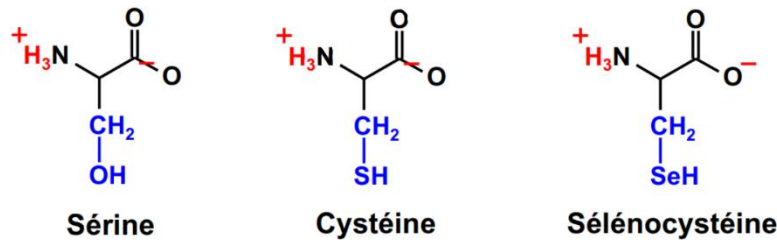


### 8. Sélénocystéine

Chez l'homme, 20 AA classiques composent la structure des protéines.

Il en existe un 21<sup>e</sup> : la **Sélénocystéine** :

- AA **rare** : incorporé dans uniquement **25** protéines chez l'homme
- Possède dans sa chaîne latérale R du **Sélénium**
- **Ressemble à une Cystéine** avec du Sélénium à la place du Souffre  
→ ne dérive pas de la Cystéine
- **Dérive de la Sérine** : l'Oxygène de la Sérine est remplacé par du Sélénium



- Introduit dans une protéine suite à une **reprogrammation du codon STOP UGA** → il n'existe **pas** de codon spécifique pour cette AA !

### 9. Classification des AA non codés génétiquement

En plus des 21 AA codés par le génome, il y en a environ **300** autres **non codés par le génome** mais retrouvés dans des cellules. Ils ont pour origine des **modifications post traductionnelles** ou la **formation de dérivés d'AA** = transformation de résidus d'AA (intermédiaires métaboliques). On retrouve les AA non codés par le génome inclus dans une protéine ou non inclus (= AA libre).

<p><b>Modifications post traductionnelles</b></p> <p>= AA <b>inclus</b> dans une protéine</p> <p>→ après la mise en place de la structure primaire et avant les repliements</p>	<p><b>Hydroxylation</b> (ajout d'un OH) : <b>irréversible</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Proline</b> → 4-Hydroxyproline</li> <li>- <b>Lysine</b> → 5-Hydroxylysine</li> </ul> <p>→ retrouvés dans le <u>collagène</u></p>
	<p><b>Carboxylation</b> (+ 1 COOH): <b>irréversible</b> : Glutamate → γ carboxyglutamate</p> <p>Par la <b>γ-glutamyl-carboxylase</b> (sur le carbone γ)</p> <p>Très présent dans :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>→ La matrice osseuse de <u>l'ostéocalcine</u> (permet de capter Ca<sup>2+</sup>)</li> <li>→ Les <u>facteurs de coagulation matures</u></li> </ul> <p><b>PATHO</b> : La vitamine K permet la maturation des facteurs de coagulation qui eux arrêtent le saignement mais dans certains cas forment des caillots. Pour lutter contre ces caillots/thrombose : Warfarine= Antivitamine K !</p>
	<p><b>Phosphorylation</b></p> <p>→ Mécanisme de <u>régulation</u> fondamentale des enzymes concernant 3 AA :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Ser</b> et <b>Thr</b> par une <b>kinase</b></li> <li>- <b>Tyr</b> par une enzyme spécifique: <b>Tyrosine kinase</b></li> </ul>
	<p><b>Acétylation</b> : souvent sur les <b>Lysines</b> des histones</p> <p>→ régulation de la structure de la <u>chromatine</u></p> <p><i>Plus d'une centaine de protéines cytoplasmiques possèdent un N-terminal acétylé</i></p>

	<p><b>Hormones thyroïdiennes</b></p> <p><b>La thyroglobuline</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- permet la production <b>d'hormone thyroïdienne</b></li> <li>- est une grosse molécule <b>dimérique</b> de 660kDa composé de <b>120</b> résidus tyrosines</li> </ul> <p>Les tyrosines (<i>dans la thyroglobuline</i>) peuvent <b>capturer de l'iode</b> en position :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 → <b>MIT</b> (mono iodotyrosine 3)</li> <li>• 3 et 5 → <b>DIT</b> (di-iodotyrosine 3,5)</li> </ul> <p>Ensuite des enzymes vont la <b>protéolyser</b> pour libérer des hormones :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>T3 (triiodotyrosine) = 1 MIT et 1 DIT</b></li> <li>- <b>T4 (thyroxine) = 2 DIT</b></li> </ul>
<p><b>Dérivés d'AA</b> = <b>non inclus</b> dans une protéine = AA libre</p>	<p><b>Déimination de l'Arginine</b> : perte <b>réversible</b> d'un NH<sub>2</sub> pour former de l'Ornithine ensuite transformée en citrulline par perte d'un autre NH<sub>2</sub></p> <p>→ Ornithine et Citrulline sont des intermédiaires métaboliques du <b>Cycle de l'Urée</b> et de la <b>Synthèses de l'Arginine</b></p> <p><b>Décarboxylation de L-Histidine</b></p> <p>Formation de <b>L-Histamine</b> à partir de la <b>L-Histidine</b> par perte de <b>CO<sub>2</sub></b> lors de <u>réactions inflammatoires</u> et <u>allergiques</u> grâce à son <u>action vasodilatatrice</u></p>

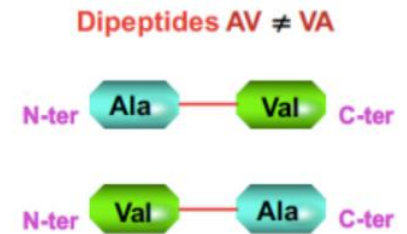
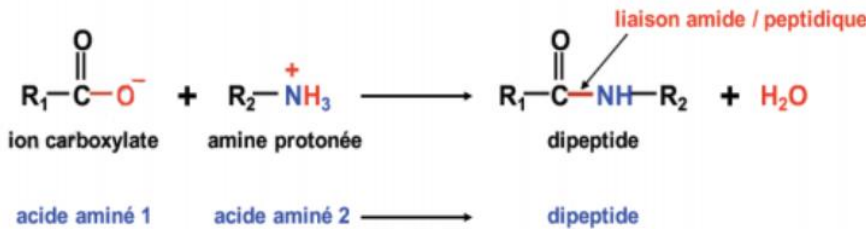
LES PROTEINES

1. FORMATION DES PROTEINES

A. La liaison peptidique

Les AA forment le squelette carboné des protéines par une réaction simple : la condensation de deux AA qui forment une **liaison peptidique = amide = amidation**

- Condensation du **COOH** d'un AA1 et d'un **NH2** d'un AA2
- Libération d'une molécule d'**eau**



La séquence des AA donne à la protéine sa **fonction** et ses **propriétés biologiques**, donc le changement d'un seul AA perturbe sa structure et son activité biologique.  
 → On lit un peptide de l'**extrémité Nter** vers l'**extrémité Cter**

💡 Un **polypeptide** = entre 10 et 50 AA, au-delà c'est une **protéine**. 💡

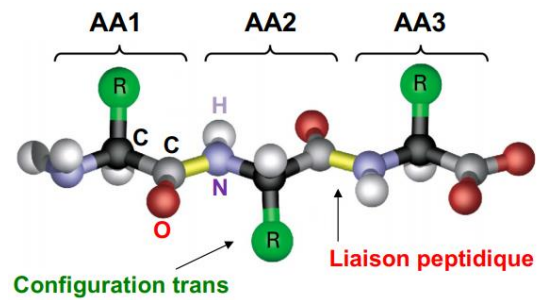
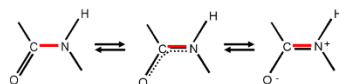
B. Contraintes dans l'espace

La liaison peptidique engendre des **contraintes de structure** particulières.

- les AA sont en configuration **TRANS** : opposition de oxygène/hydrogène & **chaîne latérale R** des 2 AA  
 Δ sauf la **Proline** qui est en configuration **CIS** Δ

La liaison peptidique à des **propriétés particulières** :

- longueur : **1,32 Å** (angstroms)
- **stable** même si elle peut être modifiée dans le temps
- *ressemble* à une **liaison covalente** (hybride de résonance avec mouvement d'électrons)
- **fixe**: pas de rotation
- **pas chargée**

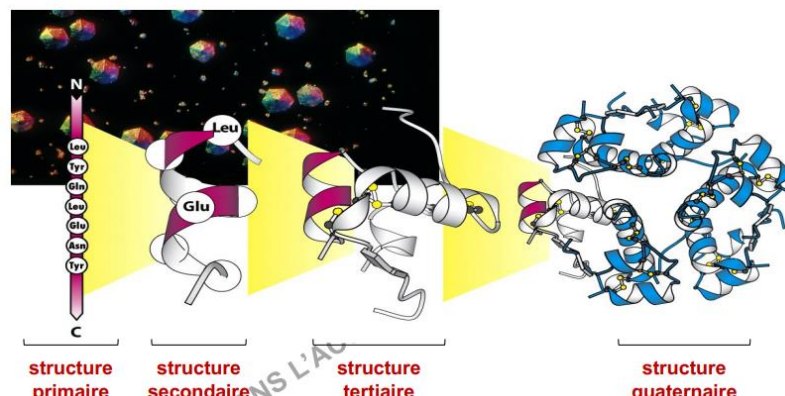


Donc dans une protéine,

- la **charge** est donnée par les **groupements latéraux** et les groupes des **Nter** et **Cter** libres
- les **Cα** et les **R** ont une **liberté de rotation**

2. NIVEAUX STRUCTURELS

Les protéines peuvent avoir **4** niveaux d'organisation/structure avec au minimum 3.





## 2. Exoprotéases

Elles coupent aux **extrémités** des protéines

- **Carboxypeptidases** en Cter
- **Aminopeptidases** en Nter

### B. Structure Secondaire

💡 Organisation locale !

La structure secondaire résulte de l'organisation dans l'espace de la séquence d'AA de la structure primaire.

Elle se déroule dans le *cytosol*, seule ou avec des protéines chaperonnes et résulte d'interaction entre les AA.

Elle permet d'obtenir

- une structure **non linéaire**
- une structure **thermodynamiquement stable** ( avec une énergie plus faible)
- des **motifs de structure répétitifs**

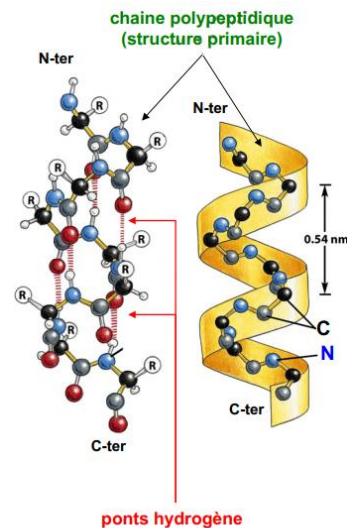
Dans une protéine on retrouve plusieurs motifs à la fois mélangés :

- Hélice  $\alpha$
- Feuillet  $\beta$
- Coude  $\beta$  pour passer d'un motif à l'autre

Exemple: **L'actine**, protéine impliquée dans la contraction musculaire, composée de feuillet  $\beta$ -hélice  $\alpha$ -feuillet  $\beta$  avec des feuillet  $\beta$  parallèles.

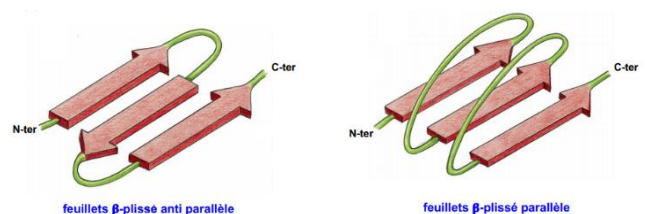
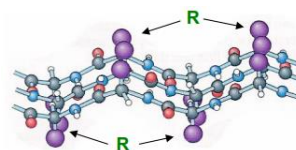
#### 1. Hélice $\alpha$

- Structure **hélicoïdale** / souple avec liberté de mouvement
- AA s'enroule sur elle même
- Pas à droite de Nter en Cter
- Tour d'hélice = **3,6 AA**
- Chaîne R projetée vers l'extérieur → **du gène stérique**
- Stabilisé par des **liaisons hydrogènes** entre
  - H d'une **amine**
  - O du **carboxyle**
  - **4 AA** en aval / amont
  - **Parallèle** à l'axe de hélice
- Déstabilisée par
  - **Proline** #CIS
  - **AA chargé** ( Aspartate, Glutamate, Histidine, Lysine, Arginine)
 → liaisons **électroniques + ioniques**



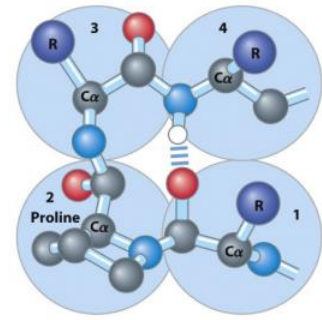
#### 2. Feuillet $\beta$

- Structure plus **allongée et plissée**
- Polypeptide s'alignent côte à côte en zigzag
- Chaîne R projetée en **dessus** et **dessous** du plan
- Stabilisés par des **liaisons hydrogènes**
  - pas de nombre spécifique entre les AA
- Deux types existent: **parallèle** & **antiparallèle**
- Favorisé par **Valine** et **Isoleucine** #VI
- Défavorisé par **Proline** et **Lysine** #PK



3. Coude β

- Permet un *changement de direction* dans la chaîne d'AA
  - **Feuillet β antiparallèle**
  - **Protéine globulaire** qui doivent être compact (Hémoglobine)
- Fragment de **4 AA**
  - **Position 2 : Proline #2P**
  - **Position 3 : Glycine #3G**
  - **Entre position 1 et 4 : Liaison hydrogène**  
→ AA1 et AA4 doivent être **polaire** !



💡 La **liaison peptique** des **deux résidus centraux** ne participe **pas** à des **liaisons hydrogènes inter-résidus**.

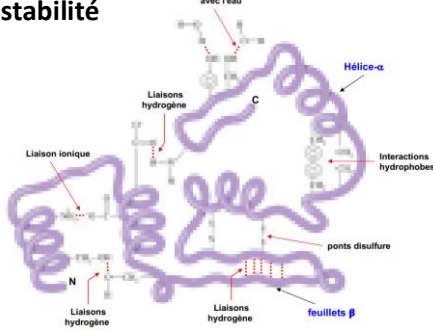
C. Structure Tertiaire

La structure tertiaire est le support de la fonction biologique

- **Thermodynamiquement favorable** (énergie la plus faible)
- La **plus stable**
- Organisation des motifs répétitifs/secondaire

La protéine se *replie encore sur elle-même* en fonction des **charges** et de la **polarité** des AA.

☆ Elle se stabilise par **différentes liaisons** :

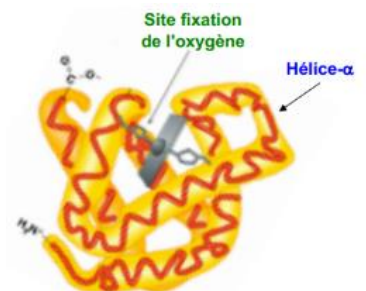
<p>1. Liaison non covalente (faible/moyenne) → formation spontanée</p>	<p>2. Liaisons covalentes (forte) → formation non-spontanée, intervention d'une enzyme ou d'un agent oxydant</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ <b>Liaison hydrophobe</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• à l'intérieur de la protéine</li> <li>• Indépendante du pH</li> <li>• au cœur de la protéine</li> </ul> </li> <li>◦ <b>Liaison hydrophile = liaison hydrogène</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• dépendante du pH</li> <li>• liaison entre <b>2 AA</b> OU entre <b>1AA</b> à la <b>surface de la protéine</b> et l'eau (++) → augmente la <b>solubilité</b> de la protéine</li> </ul> </li> <li>◦ <b>Liaison ionique = pont salin = électrostatique</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• entre une chaîne <b>acide</b> et <b>basique</b></li> <li>• dépendante du pH</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ <b>Pont disulfure</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Liaison entre <b>deux Soufre de 2 Cystéines</b></li> <li>• Pas obligatoire</li> <li>• Nécessite des agents oxydants ou des enzymes</li> <li>• <b>Restreignent la mobilité</b> mais <b>augmentent la stabilité</b></li> </ul> </li> </ul> 

☆ Au niveau tertiaire on peut classer les **protéines** en deux types

1. Globulaire

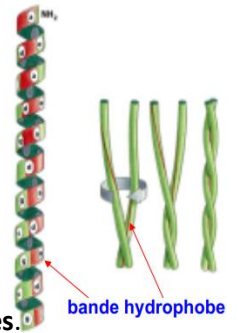
- **Sphérique et compacte**
  - Composée soit de hélice α soit de feuillets β mais le plus souvent des deux
  - Composés de nbrx coudes β ( 1/3 des AA)

Exemple: **Myoglobine**, impliqué dans le transport de l'oxygène au niveau du **muscle**. Riche en hélice α



2. Fibrillaire

- Allongée comme des fibres
- Insoluble dans l'eau car composée de bcp d'AA apolaires → liaison hydrophobe



Exemple : Voici deux protéines fibrillaires à ne pas confondre :

☆ La **kératine alpha α** est un composé essentiel des *cheveux*, de la *peau* et des *ongles* des *mammifères*. Riche en **hélice α**. Composée d'une répétition de **7 AA en séquences répétitives**.

**2 hélices α** peuvent s'enrouler l'une sur l'autre et être stabilisées par des **interactions hydrophobes**. Leur composition riche en **Cystéines** permet la formation de nombreux **Ponts Disulfures** → augmentant la **stabilité** de la protéine.

☆ La **kératine bêta β** se retrouve dans la *peau* et les *écailles des reptiles* car elle les rend très **rigide** et **étanche** (permet d'éviter la dessiccation) et chez les *oiseaux* (bec, griffe, écaille, plumes). Elle est très riche en **feuillets bêta β**.

→ Ce sont toutes les deux des **protéines fibrillaires** possédant une **structure et une fonction très différente**.

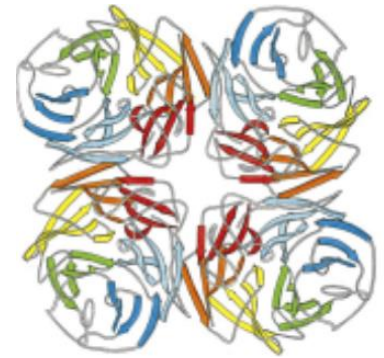
☆ La structure tertiaire donne à la protéine sa **fonction biologique** donc si elle est *perturbée* même de manière minime ça va engendrer une **perte de sa fonction**. Elle peut être modifiée par une mutation génétique ou un dysfonctionnement des protéines d'assemblage.

1. Mutation génétique	2. Dysfonctionnement des protéines d'assemblage								
<p>Une <b>mutation génétique</b> → changement de codon → changement d'AA → perturbation de la structure <b>primaire ET tridimensionnelle</b> → <b>modification de fonction</b> → <b>maladie</b></p> <p>Δ On obtient alors une molécule</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>trop active</u>, c'est le cas des <b>oncogènes</b></li> <li>- <u>inactive</u></li> </ul> <p><b>Exemple: Drépanocytose</b> Mutation de <b>Glu → Val</b> en position 6 Formation de <b>HbS</b> au lieu de <b>HbA</b></p> <div data-bbox="252 1601 678 1881"> </div>	<p>Conformation en hélice <b>α</b> plutôt que feuillet <b>β</b> → structuration <b>anormale</b> → <b>maladie</b></p> <table border="1" data-bbox="767 1256 1447 1431"> <thead> <tr> <th>Maladies</th> <th>Protéines impliquées</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Maladie d'Alzheimer</td> <td>Peptide Aβ</td> </tr> <tr> <td>Maladie de Parkinson</td> <td>α-synucléine</td> </tr> <tr> <td>Maladie de Creutzfeld-Jacob</td> <td>Protéine à prion</td> </tr> </tbody> </table>	Maladies	Protéines impliquées	Maladie d'Alzheimer	Peptide Aβ	Maladie de Parkinson	α-synucléine	Maladie de Creutzfeld-Jacob	Protéine à prion
Maladies	Protéines impliquées								
Maladie d'Alzheimer	Peptide Aβ								
Maladie de Parkinson	α-synucléine								
Maladie de Creutzfeld-Jacob	Protéine à prion								

### D. Structure Quaternaire

C'est une **association multimérique de monomère**

- monomère *identique* → **homo**-oligomère
- monomère *différent* → **hétéro**-oligomère



C'est la dernière organisation possible pour une protéine qui n'est pas obligatoire. On la retrouve dans :

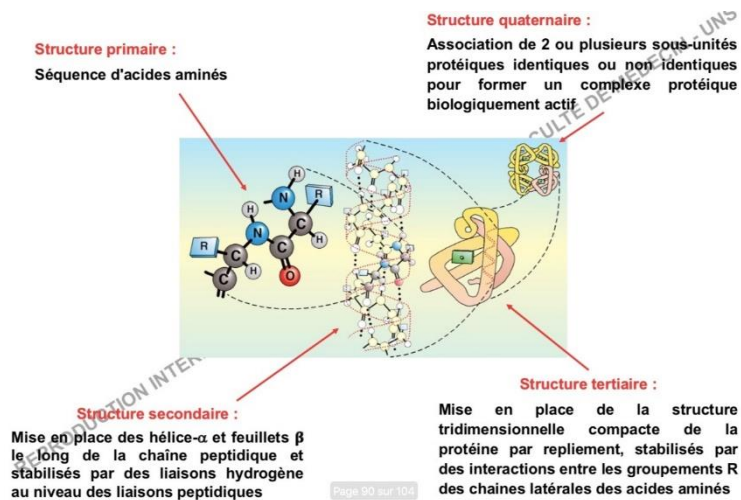
- **Enzyme à plusieurs sous unités**
- **Rc à insuline** : composé de **4 sous unités** :
  - 2 sous unités  $\alpha$  → qui reconnaissent l'insuline
  - 2 sous unités  $\beta$  → qui portent l'activité tyrosine kinase
 → reliées entre elles par des **ponts disulfures**. Elles forment un **récepteur qui permet la régulation de la glycémie**.

Elle est stabilisée par :

- **liaisons non covalentes** : hydrophobe, hydrophile = **liaison hydrogène, ionique**
- **liaisons covalentes** : **pont disulfure**

Parmi les protéines, la moitié possède des structures quaternaires, dont

- **2/3** sont des **homomères**
- **1/3** sont des **hétéromères**



### 3. DENATURATION

La dénaturation est une **déstructuration de la structure tertiaire** soit **une perte de la fonction biologique** mais **la structure primaire n'est pas altérée**.

La protéine devient **insoluble**

La dénaturation d'une protéine peut se faire selon différents mécanismes :

💡 Mécanisme **réversible** 💡

Mécanismes	Liaison cassées
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modification du pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ionique</li> <li>• Hydrophile = Hydrogène</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chaleur</li> <li>• Composé organique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrophobe</li> <li>• Hydrophile = Hydrogène</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Métaux lourds</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pont disulfure</li> <li>• Pont salin</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agitation mécanique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Liaison Peptidique</li> </ul>

### 4. METHODE D'ETUDES DES AA

Elles sont utilisées en *pathologies* et en *recherche* pour **identifier** et **quantifier** des protéines.

#### A. L'électrophorèse

Les protéines sont **séparées** selon leur **taille** et leur **charge**. (*go check the response of the prof for explanation*)

**Montage :** On crée un **champ électrique** entre une **cathode négative** et une **anode positive**.  
 On prend l'échantillon avec notre protéine inconnue, on la dénature avec des **agents**, on rajoute un **agent SDS** chargé négativement : *plus la protéine est grosse, plus la quantité de SDS qui s'y fixe sera importante*.  
 → La migration de l'échantillon de la cathode vers l'anode dépend donc de la **taille** de la protéine. → Les protéines les **plus petites** migreront le **plus loin** et inversement.

**Electrophorèse**

Electrophorèse

dépôts échantillons

cathode -

Anode +

sens migration

**Méthodes de séparation des protéines par électrophorèse**

Echantillon à analyser → dénaturation par SDS → échantillons dénaturés

PAGE: cathode, tampon migration, gel polyacrylamide, anode, tampon migration

sens migration

Protéines natives

Protéines chargées (SDS)

Charges (-) du SDS

Protéines dénaturées chimiquement (β-mercaptoéthanol pour rupture des ponts disulfures) et thermiquement

séparation selon les masses moléculaires décroissantes

SDS : sodium dodecyl sulfate / PAGE : polyacrylamide gel electrophoresis

#### B. Le Western Blot

Cette technologie est utilisée au sein des laboratoires de recherche en milieu hospitalier.

**Montage :** les protéines sont transférées sur une membrane sur laquelle on ajoute un **anticorps spécifique à une protéine**. Si l'anticorps se fixe sur la protéine c'est qu'il la reconnaît, et qu'il s'agit bien de la protéine recherchée.  
 → Cette méthode permet **l'identification de la protéine**.

1 échantillons séparés par SDS-PAGE

Courant électrique

gel polyacrylamide

membrane

Western Blot

2 Anticorps primaire

3 Anticorps secondaire

4 révélation

SDS : Sodium dodecyl sulfate  
 PAGE : polyacrylamide gel electrophoresis  
 MM : masse moléculaire

PS: Southern Blot (ADN) – Northern Blot (ARN)

#### C. Séparation en deux dimensions

Cette technologie fait appel au **pH** et au **point isoélectrique** de la protéine). Elle permet de **séparer** les protéines en fonction de leur **charge** et leur **taille**.

**Montage :** on sépare d'abord les protéines en fonction de leur **point isoélectrique**, donc de leur **charge**, puis on utilise **l'électrophorèse** pour les séparer en fonction de leur **taille**.

**Méthodes de séparation des protéines par électrophorèse**

dépôts échantillons

1<sup>ère</sup> séparation : Par la charge

Focalisation Isoélectrique (FIE)

pH 4.0

pH 10.0

Fusion 1<sup>er</sup> gel avec le second

2<sup>ème</sup> séparation : Par la taille

SDS - PAGE

MM (kDa)

Plus les protéines migrent vers le pH alcalin plus elles sont chargées négativement

Plus les protéines migrent vers le pH acide plus elles sont chargées positivement

Arrêt de la migration à charge neutre

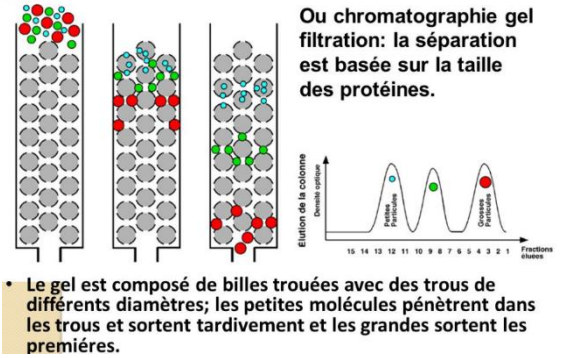
MM : masse moléculaire

### D. Chromatographie par exclusion de gel

Cette technique est basée sur la **taille** de la protéine.

**Montage :** on place des protéines solubles sur une **résine** (c'est un support constitué de billes trouées).

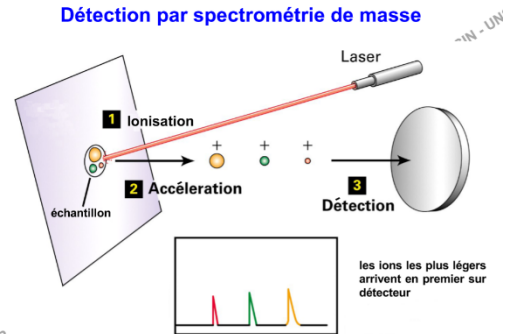
- Les **plus grosses protéines passent à travers** car elles ne rentrent pas dans les billes (à cause de leur taille)
- Alors que les **plus petites** sont **retenues par le support**.



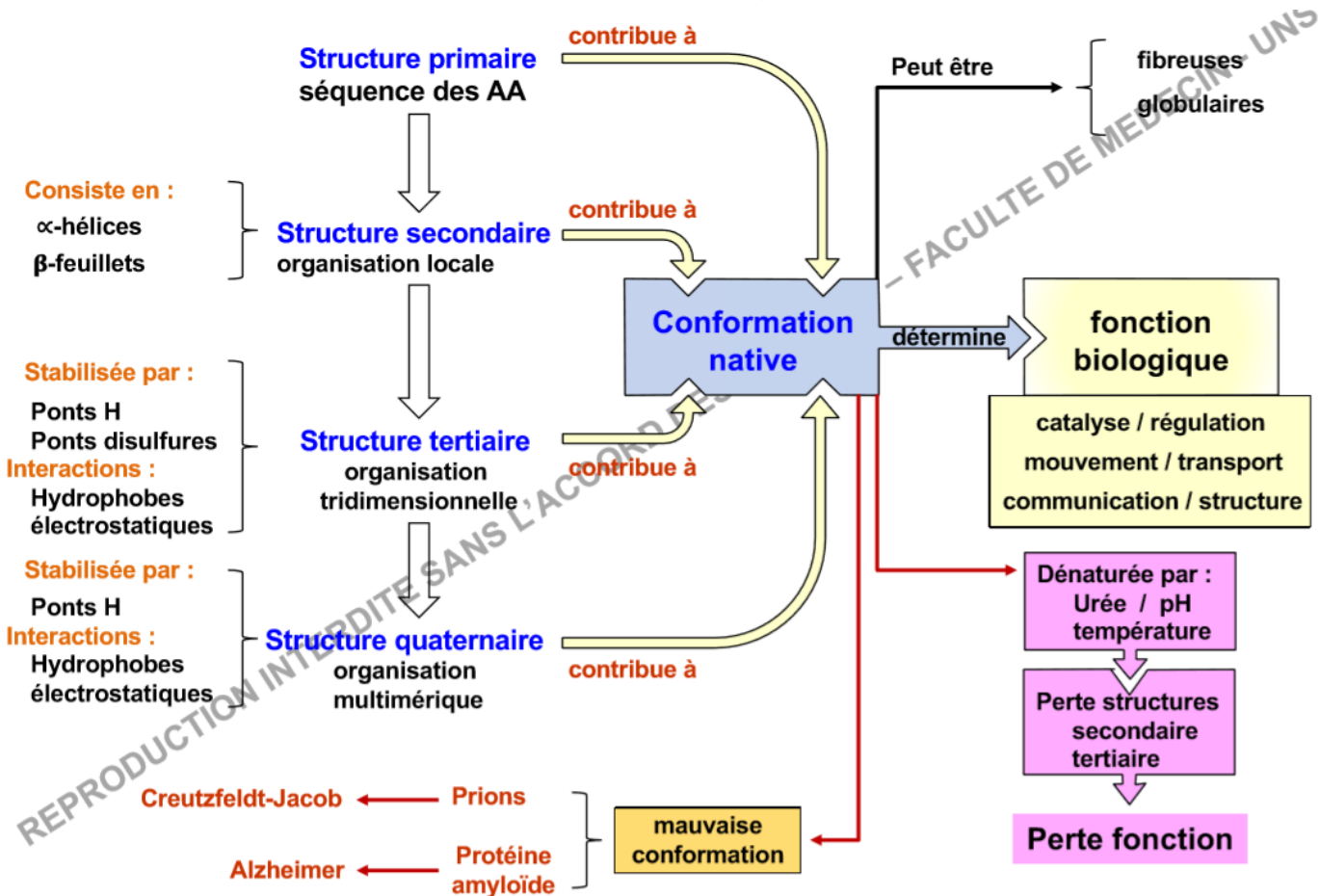
### E. Spectrométrie de masse

Cette méthode est très utilisée en laboratoire mais pas encore à l'hôpital car elle coûte très cher. Il s'agit de la technique la plus sophistiquée.

**Montage :** on bombarde un échantillon avec un **laser pour ioniser les protéines**. Elles sont ensuite **accélérées dans un champ magnétique** et **séparées** en fonction de leur **charge** et de leur **taille**.



### 5. GROS RECAP



Tu es un warrior d'être arrivé jusque-là, continue, lâche rien et crois en toi ! Si tu as des questions n'hésite pas → go forum !