

PROTÉINES

I) Liaison peptidique

II) Structure tridimensionnelle des protéines

- A) Structure primaire
- B) Structure secondaire
- C) Structure tertiaire
- D) Structure quaternaire

III) Structures supramoléculaires et assemblages macromoléculaires



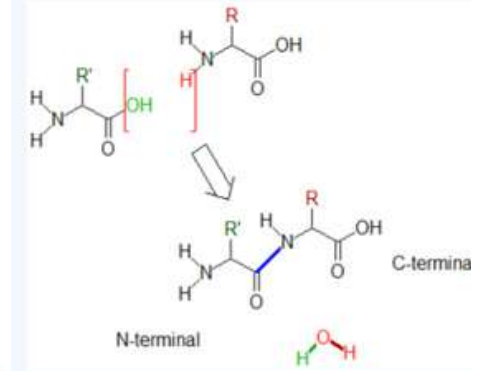
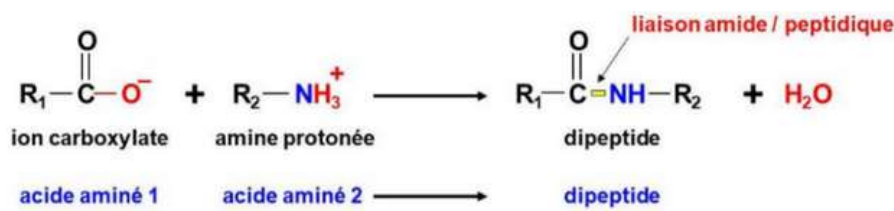
I) Liaison peptidique

Comme nous l'avons vu dans la fiche des acides aminés, les AA sont reliés entre eux par une **liaison peptidique**, pour former :

- des peptides : 2 à 9 AA
- des polypeptides : 10 à 50 AA
- des protéines : + de 50 AA

La condensation de 2 AA conduit à la formation d'un **dipeptide**. L'ion carboxylate (COO^-) d'un AA réagit avec l'amine protonée (NH_3^+) d'un second AA.

Formation d'une **liaison amide** appelée liaison peptidique entre le groupe carboxylate et le groupe amine. Lors de la réaction, on libère une molécule d'eau (H_2O) = déshydratation.



Exemple : condensation de l'Alanine avec la Valine : ils peuvent se mettre dans deux ordres différents :

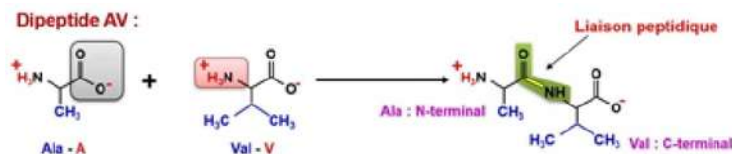
- Ala-Val (AV)
- Val-Ala (VA)



Sachant que la lecture et l'écriture du peptide s'effectue toujours à partir de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale, on peut donc obtenir 2 peptides différents à partir de 2 AA

Les deux dipeptides (AV \neq VA) formés sont des isomères de structure et possèdent des propriétés différentes. Chez le dipeptide A-V :

- Ala est appelé acide aminé N-terminal \rightarrow son groupement amine n'a pas été modifié, il est libre
- Val est appelé acide aminé C-terminal \rightarrow son groupement carboxylate n'a pas été modifié, il est libre



C'est grâce à la **cristallographie** que la structure de la liaison peptidique a été étudiée.



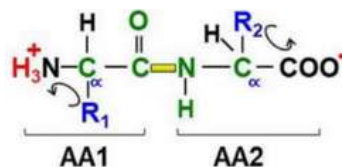
La liaison peptidique est toujours en **configuration TRANS**. C'est-à-dire que les chaînes latérales ne sont pas du même côté afin d'éviter un encombrement stérique, ce qui augmente la **stabilité** de la structure. *Vous voyez sur le schéma de droite représentant le dipeptide, que la chaîne latérale R1 pointe vers le haut alors que R2 pointe vers le bas, c'est bien TRANS*

Attention, la **proline est en CIS**.

Dans la configuration cis, les carbones alpha des deux acides aminés reliés par la liaison peptidique sont du même côté de la liaison ; et dans la configuration trans, les carbones alpha des deux acides aminés reliés par la liaison peptidique se trouvent sur les côtés opposés de la liaison.

Plusieurs particularités de la liaison peptidique :

- Possède les caractéristiques partielles d'une double liaison. Etat de résonnance entre 2 types de liaisons : une simple et une double. La liaison peptidique est plus courte ($=1,33 \text{ \AA}$) qu'une simple liaison ($=1,47 \text{ \AA}$), et plus longue qu'une vraie double liaison ($=1,30 \text{ \AA}$). L'oxygène du carbonyle étant partiellement négatif et le nitrogène (*=azote en anglais*) de l'amide partiellement positif, on a formé un **dipôle électrique**.
- **Rigidité** de la liaison peptidique. Les 6 atomes (C, N, $2C^\alpha$, O, H) du groupe peptide (*ceux en vert*) sont dans un **même plan** rigide. Les rotations sont possibles au niveau du N- C^α et du C^α -C et sont impossibles au niveau de la liaison peptidique C-N. Elle est « **bloquée** » au milieu.



- **Absence de charge mais la présence de polarité.** Les groupements C=O et NH de la liaison peptidique ne sont pas chargés, et ni libèrent ni acceptent de protons dans la zone de pH comprises entre 2 et 12. Donc les **groupements chargés des polypeptides et des protéines correspondent uniquement au groupement N-terminal** (alpha amine), **C-terminal** (alpha carboxyle) et **tout groupement ionisé des chaînes latérales** des AA du polypeptide. Cependant, les groupements C=O et NH de la liaison peptidique sont polaires et impliqués dans des liaisons hydrogènes (par exemple dans les hélices alpha et les feuillets bêta).

Résumé +++ sur les liaisons peptidiques :

- ont des caractéristiques partielles de double liaison et ont une configuration trans (en général)
- sont rigides avec les atomes dans le même plan
- sont non-chargées mais polaires

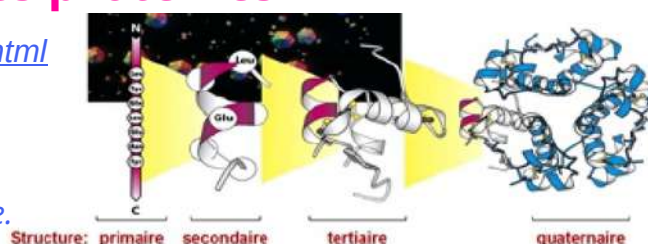
A retenir : les chaînes latérales jouent un rôle majeur dans la diversification des protéines. Elles sont responsables des propriétés spécifiques des protéines dont : la charge électrique, l'hydrophobicité, les modifications post-traductionnelles etc.

II) Structure tridimensionnelle des protéines

<http://sites.unice.fr/site/ffontaine/structurebio/co/chap3.html>

Je trouve que ce site explique très bien !

Regardez le schéma de la fiche des AA, qui fait un gros résumé de la structure tridimensionnelle d'une protéine. On va détailler chaque structure



Structure **primaire** : Séquence linéaire des AA reliés entre eux par des liaisons peptidiques.

Structure **secondaire** : C'est un premier degré de complexité dans l'espace. C'est une organisation tridimensionnelle locale de la chaîne peptidique. Ce sont des régions au sein des chaînes polypeptidiques avec des structures régulières, récurrentes et stabilisées par des liaisons hydrogènes entre certains acides aminés constitutifs.

Structure **tertiaire** : C'est l'ensemble des conformations tridimensionnelles d'une protéine. Permet d'acquérir la **fonction**.

Structure **quaternaire** : Conformation tridimensionnelle d'une protéine composée de plusieurs sous-unités polypeptidiques. **Toutes les protéines n'ont pas de structure quaternaire.**

- **Peptides-polypeptides-protéines**

Dipeptide : 2 AA reliés par 1 liaison peptidique

- Aspartame : acide aspartique + phénylalanine. Edulcorant artificiel
- Carnosine : Dipeptide naturel. Béta-alanine + histidine. Provient de la digestion du muscle

Tripeptide : 3 AA reliés par 2 liaisons peptidiques

- Glutathion (GSH) : glutamate + cystéine + glycine

Octapeptide : 8 AA reliés par 7 liaisons peptidiques

- Angiotensine 2 : Régulation de la pression artérielle chez l'homme

Polypeptide : De 10 à 50 AA

- Insuline : Hormone formée de 2 chaînes unies par 2 ponts disulfure inter-chaîne. Chaîne A 21 acides aminés, chaîne B 30 acides aminés. Seule hormone hypoglycémiante de l'organisme et joue un rôle majeur dans la régulation du métabolisme. *Ca fait au total 51 AA pour l'insuline, d'accord c'est plus que 50 donc on devrait plus la ranger dans protéine que dans polypeptide, mais franchement je pense pas que le prof aille chercher dans ce genre de piège*

Protéine : + de 50 AA

- **Masse / poids moléculaire des peptides et protéines**

La **masse moléculaire** est définie comme le **1/12 de la masse d'un atome de C12**. Exprimée en Dalton (D)

Le **poids moléculaire** est défini comme le **ratio de la masse d'une particule sur le 1/12ème de la masse d'un atome de C12**. *C'est en fait tout simplement la masse d'une particule divisée par la masse moléculaire*. Le symbole est « Mr » pour « relative molecular mass ». Pas d'unité

La masse moléculaire moyenne d'un acide aminé est de **113 D** (*ou Da*). Donc à partir de la masse moléculaire d'une protéine, on peut calculer le nombre d'AA qu'elle contient. *Ici, on va calculer la masse moléculaire de l'insuline :*

Exemple : L'Insuline comporte 51 AA (21 pour la chaîne A et 30 pour la chaîne B). Donc la masse moléculaire « théorique » est estimée à $113 \times 51 = 5\,763$ D. En réalité, la masse de l'insuline est de 6000 D.

- **Le protéome**

C'est l'ensemble des protéines (codées par les gènes + celles qui en dérivent) qui permettent l'organisation et le fonctionnement de la cellule.

Le protéome de la levure est constitué d'environ 6000 protéines (qui proviennent d'environ 6000 gènes) alors que le protéome de l'Homme se compose de plus de 30 000 protéines, sachant que l'Homme a environ 20 000 gènes codants.

- **Relation entre la structure et la fonction d'une protéine**

La structure détermine leur fonction : La fonction d'une protéine est dérivée de sa structure tridimensionnelle, qui elle, découle de sa structure primaire, qui a son tour est déterminée à partir de la séquence ADN du gène correspondant. *Ne l'oubliez jamais ça*

Pour rappel, les protéines ont une structure définie, ce qui leur permet d'exercer une fonction spécifique.

7 catégories fonctionnelles :

- Les protéines de **structure** : Fournissent une solidité structurelle aux cellules (par le biais du cytosquelette) et aux tissus (par le biais du collagène).
- Les **enzymes** : Catalysent les réactions chimiques dans la cellule et l'environnement cellulaire
- Les protéines **motrices** : Connectées au cytosquelette et qui permettent le mouvement des cellules et des tissus
- Les protéines de **transport** : Servent au transport de molécule à travers les membranes cellulaires
- Les protéines de **signalisation** : Pour la régulation de toutes les activités intra et extra-cellulaires
- Les **anticorps** : Impliqués dans les défenses immunitaires
- Les protéines de **transport et stockage d'oxygène**

A) Structure primaire

La structure primaire correspond à l'ordre dans lequel les AA sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques. *On le redit ++*

Elle constitue le squelette du peptide, les chaînes latérales des acides aminés sont des substituants à cette **épine dorsale**. Elle est :

- Linéaire
- Ordonnée, unique et dépend du code génétique
- Par convention elle est écrite de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale
- **Non fonctionnelle et non thermodynamiquement favorable**

ADN $\xrightarrow{\text{transcription}}$ ARN $\xrightarrow{\text{traduction}}$ Protéine

Impact de la structure primaire sur la structure finale de la protéine et sur sa fonction.

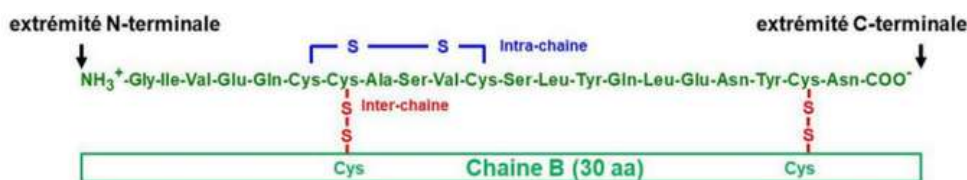
Les connaissances de la structure primaire permettent de **prévoir**, mais en partie seulement, la structure tridimensionnelle et les propriétés fonctionnelles des peptides et protéines.

Donc on dit que **la structure primaire détermine (partiellement) la structure finale de la protéine**.

Une disposition des mêmes AA mais dans un ordre différent crée un polypeptide ou une protéine n'ayant pas la même fonction.

Certaines protéines contiennent **plusieurs chaînes polypeptidiques** tenues par des liaisons covalentes ou non covalentes.

Exemple : Structure de l'insuline bovine. On en parle encore, donc apprenez bien la structure de l'insuline La chaîne A contient 21 AA et la B 30 AA, les chaînes prises séparément n'ont aucune fonction. Grâce aux 2 ponts disulfures, les 2 chaînes se lient et donnent l'insuline bovine. Ce sont des liaisons covalentes inter-chaînes. Le 3ème pont disulfure est intra-chaîne.



B) Structure secondaire

La structure secondaire d'un peptide ou d'une protéine correspond à son premier degré de complexité dans l'espace et concerne l'organisation tridimensionnelle locale de la chaîne peptidique.

Elle est :

- **Non Linéaire**
- Formée et stabilisée par des **liaisons hydrogènes**
- Décrit des **motifs répétitifs** de structure à l'intérieur de la structure tridimensionnelle d'une protéine (les plus courants sont l'hélice alpha et les feuillets bêta)
- **Thermodynamiquement favorable** (*on veut le niveau d'énergie le plus bas : on passe d'une molécule peu stable à une molécule plus stable*)

Les structures **répétitives** : hélices alpha et feuillets bêta (60% des protéines sont sous ces formes)

Les structures **non répétitives** : coudes et boucles

- **L' α -hélice**

Structure de forme **hélicoïdale**. Structure répétitive

Enroulement de la chaîne polypeptidique avec une projection vers l'extérieur des groupements des chaînes latérales des AA dans le but d'avoir le moins d'encombrement stérique.

Cette structure hélicoïdale est stabilisée par des **ponts hydrogène intra-chaînes**, placés de façon régulière. Le pont H existe entre l'H du groupement aminé de la liaison peptidique d'un AA et l'oxygène du groupement carbonyle de la liaison peptidique d'un autre AA situé à **4 AA** en aval dans la structure primaire (entre n et n +4).

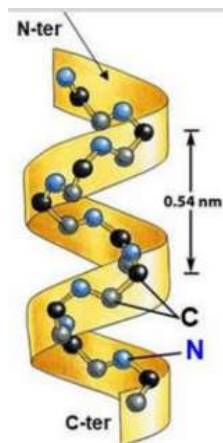
Ces ponts hydrogène sont **parallèles** à l'axe de l' α -hélice. L'hélice est extensible et élastique.

Chaque tour d'hélice contient 3,6 acides aminés.

Si on regarde l'hélice dans le sens de la séquence primaire, elle tourne dans le sens des aiguilles d'une montre. Le pas est à droite. On dit aussi hélice droitère. Les hélices alpha tournent presque toujours dans le sens de la main droite.

Certains AA perturbent la formation d' α -hélice : La présence d'un résidu **proline perturbe** l'organisation d'une α -hélice. Son groupement amine secondaire n'est pas compatible d'un point de vue géométrique avec la spirale à pas à droite. De plus, il insère un coude dans la chaîne.

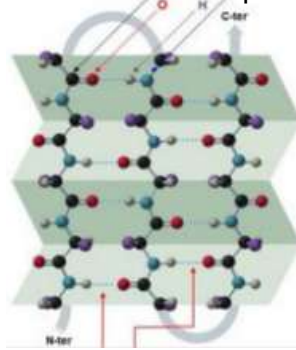
Certains **AA chargés** (Glu, Asp, His, Lys, Arg) **altèrent** l'organisation de l' α -hélice par formation de liaisons ioniques ou électrostatiques.



• Le feuillet β -plissé

Structure répétitive et **inextensible**, le feuillet β -**plissé** est une structure plus étirée que l' α -hélice. En effet, la distance projetée sur l'axe du brin entre 2 AA est plus grande que celle de l' α -hélice.

Il est constitué de segments de la chaîne peptidique qui s'alignent côte à côte pour former une structure en zigzag. Cette conformation a un aspect plissé étant donné que les plans des liaisons peptidiques se suivent en formant un pli avec les carbones alpha se trouvant sur les lignes de plicatures.



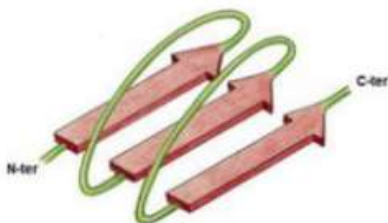
Les segments des chaînes peptidiques sont reliés entre eux par une liaison H entre l'H du NH d'un AA sur une chaîne et l'O du carbonyle d'un AA de la chaîne adjacente.

Il n'y a **pas de nombre particulier d'AA pour la liaison H** (différence avec l'hélice α). Contrairement à l'hélice alpha, dans le feuillet bêta, les **liaisons H ne sont pas entre AA à une distance définie**.

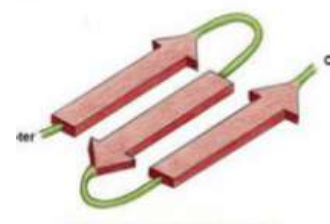
Les groupements des chaînes latérales d'un feuillet bêta-plissé s'étendent au-dessus et au-dessous du plan du feuillet.

Il existe 2 types de feuillet β -plissé :

Parallèles : (moins fréquents et moins stable ++). Les chaînes sont dans le même sens et parallèles entre elles

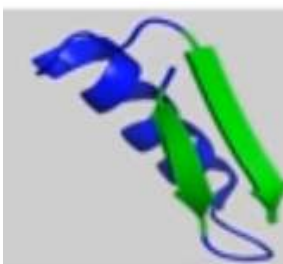


Anti parallèle : Les chaînes sont parallèles entre elles mais de sens opposés



Les AA fréquemment impliqués dans cette structure sont val et ile (VI). Les AA qui défavorisent cette structure sont pro et lys (PK).

En général une protéine n'est pas structurée uniquement en α -hélices ou feuillets β , mais en un mélange des deux : Organisation feuillet – hélice – feuillet (**Exemple d'un motif bêta alpha-bêta présent dans la structure de l'actine**).



en vert : 2 feuillets bêta parallèles
en bleu : hélice alpha

En moyenne, 60% d'une protéine sont sous forme d'hélices alpha et feuillets bêta.

• Coude bêta

Se retrouvent à la **surface** des protéines et des polypeptides. Ne sont pas des structures secondaires répétitives.

Rôle important : permettent les **changements de directions** dans les protéines.

On les retrouve souvent entre deux brins antiparallèles et entre un brin bêta et une hélice alpha.

Dans les protéines globulaires, qui sont compactes, **1/3 des AA constituent les coudes** permettant à la chaîne protéique de changer de direction et de produire ces structures très denses.

La structure du coude : il s'agit d'un court segment de 4 AA qui sont souvent :

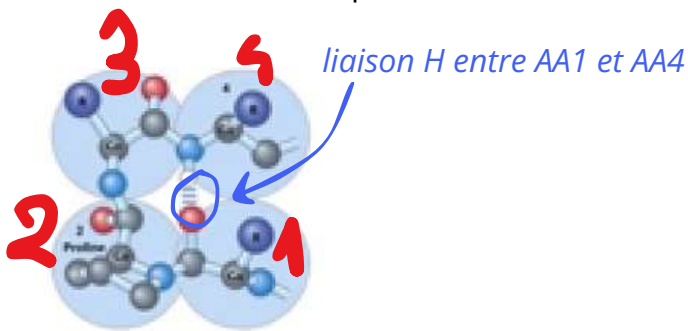
- **Position 3 : une glycine** (petit et flexible)
- **Position 2 : une proline** (non flexible, presque en angle droit) responsable du changement de direction (*là ça fait 40 000 fois qu'on le répète pour que ça rentre dans vos petits cerveaux*) et d'une liaison peptidique due à sa position en CIS.

La structure est stabilisée par une liaison H entre l'AA n°1 (oxygène du carbonyle) et l'AA n°4 (l'amide).

Les liaisons peptidiques des deux AA centraux ne participent pas à des liaisons H inter-résidus.

Rôle particulier de la proline

- dans les hélices alpha : la proline n'est pas fréquente à cause de son angle fixe qui perturbe la spirale.
- dans le feuillet bêta : la proline, à cause de son angle fixe peut perturber la configuration du feuillet bêta. Peu probable d'en retrouver.

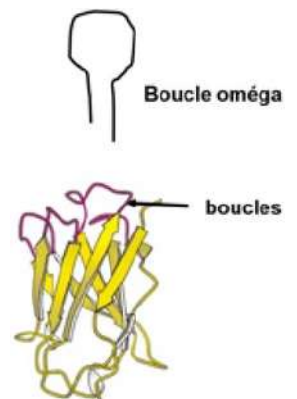


• Boucles (=omega loop)

Boucle, ou omega loop en anglais, pour sa ressemblance avec la lettre grec omega en capitale. Structure non répétitive.

Les boucles ressemblent aux coudes mais sont généralement **plus longues** (6 AA ou plus) avec des structures plus variées et moins bien définies que les coudes.

Les deux structures, coudes et boucles, se situent à la surface des protéines et ainsi participent souvent aux interactions des protéines avec d'autres protéines ou molécules.



Prévisions structurelles :

Pour l'étude des protéines, il est important de pouvoir faire des prévisions concernant la structure secondaire. Ces prédictions peuvent être basées sur la structure primaire, par la fréquence relative de certains AA dans les hélices alpha et les feuillets bêta. *En gros, à partir de notre séquence d'AA, on va essayer de deviner quelle pourrait être la structure secondaire formée. Hélice alpha ? Feuillet bêta ?*

Néanmoins ces prévisions de structure secondaire ont leurs limites car elles sont basées sur des séquences primaires de 6 ou moins d'AA. Elles sont seulement correctes de 60 à 70%.

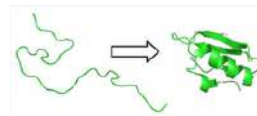
En fait, le contexte des autres interactions est critique, car la même séquence d'AA peut adopter soit une conformation d'hélice alpha soit de brin bêta, selon la configuration générale de la protéine.

C) Structure tertiaire

Elle correspond à la structure tridimensionnelle globale de la protéine qui résulte du repliement suite à des torsions et des pliages de la chaîne peptidique sur elle-même.

Cette organisation a pour but d'obtenir un **niveau énergétique le plus faible possible**. Relations spatiales non répétitives impliquant des AA non adjacents dans la séquence primaire.

Elle est :



- **Non linéaire**
- Mise en place et stabilisée par des interactions ou **liaisons non covalentes** ayant des niveaux d'énergie faible ou moyen
- Mise en place et stabilisée par des **liaisons covalentes** : ponts disulfures (niveau d'énergie élevé)
- **Indispensable pour que la protéine soit fonctionnelle.** (Cependant, certaines protéines existent sous forme quaternaire, ces protéines auront besoin de la structure quaternaire pour acquérir leur fonction.)

Au niveau de la structure tertiaire, deux types principaux de protéines existent : les protéines **fibreuses (= en bâtonnets)** (*kératine alpha, collagène*) et les protéines **globulaires** (*myoglobine*).

• Stabilisation de la structure tertiaire

Cette stabilisation se fait grâce à des liaisons ou à des interactions entre différentes molécules qui sont sur les chaînes peptidiques.

- Liaisons non-covalentes : les liaisons non polaires (=hydrophobes)

Energie **moyenne**.

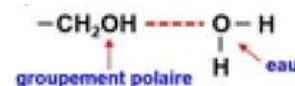
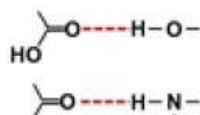
Indépendantes du pH.

Pour éviter le contact avec l'eau, les groupements des chaînes latérales des AA non polaires se mettent à l'intérieur de la protéine, loin de l'environnement aqueux. Cela crée un centre apolaire basé sur des interactions hydrophobes entre des groupements non polaires (de type alkyle ou aromatique).

- Liaisons non-covalentes : les liaisons polaires (=hydrophiles) et liaisons hydrogène

Faible énergie.

Dépendantes du pH.



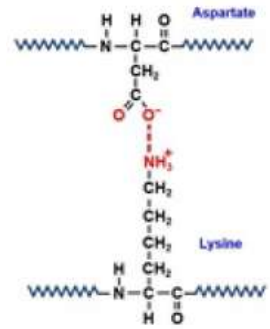
Se font entre un groupement polaire de deux AA ou entre de l'eau et un groupement polaire d'un AA à la surface de la protéine.

- Liaisons non-covalentes : les liaisons ioniques ou électrostatiques.

Faible énergie.

Dépendantes du pH.

Entre un groupement chargé négativement d'une chaîne latérale d'un AA (exemple aspartate) avec un groupement chargé positivement de la chaîne latérale d'un autre AA (exemple lysine).

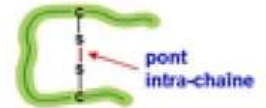


- Liaisons covalentes : les ponts disulfures

Forte énergie.

Formés entre les groupements (SH) de 2 cystéines d'une même chaîne polypeptidique (pont intra-chaîne) ou de 2 chaînes différentes (pont inter-chaîne).

Leur formation nécessite la présence d'enzymes ou d'agents oxydants. Ces liaisons fortes diminuent la flexibilité de la protéine.



- **Les motifs et les domaines de la structure tertiaire** *Accrochez vous pour cette partie pas facile*

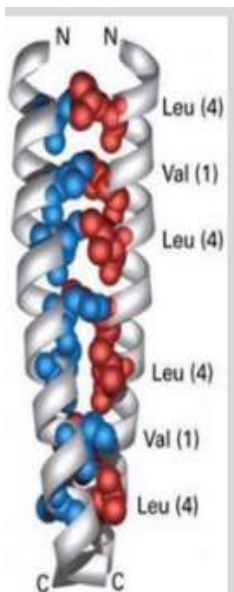
La structure tertiaire des protéines (ayant en général plus de 150-200 AA) peut contenir plusieurs régions distinctes appelées domaines, avec des caractéristiques structurales et fonctionnelles spécifiques, reliés par des **régions de liaison**. *Cette définition trouvée sur Internet me paraît plus claire : les **domaines** adoptent une conformation particulière, peuvent évoluer de façon indépendante du reste de la protéine et acquérir une fonction biologique particulière (fixation d'un ligand, ancrage membranaire, ...). Une protéine composée de plusieurs domaines structuraux peut posséder plusieurs fonctions. Dans certains domaines, la présence d'acides aminés très conservés dans la séquence de la protéine (lorsque l'on compare plusieurs séquences de protéines similaires) caractérise des **motifs** structuraux aux fonctions particulières*

Les domaines sont formés par la combinaison d'éléments structuraux super-secondaires que l'on nomme motifs.

Les motifs et les domaines peuvent donner une indication sur la fonction de la protéine (mais pas toujours).

En général un domaine est plus grand qu'un motif.

- Le motif coiled coil (hélices torsadées)



Se retrouve dans de nombreuses **protéines fibreuses structurales** qui s'auto-associent en oligomères grâce à ce motif.

Se retrouve aussi dans les **protéines qui lient l'ADN** (facteurs de transcription)

Chaque polypeptide contient une hélice α avec des répétitions de 7 AA (=répétitions « heptad ») de résidus hydrophobes dont :

- La Valine
- L'Alanine
- La Méthionine

Les résidus hydrophobes d'une hélice vont interagir avec les résidus des autres hélices \rightarrow formation de liaisons hydrophobes.

Les hélices α peuvent être amphipatiques (hydrophobes + hydrophiles) avec :

- Des AA hydrophiles faisant face sur l'extérieur
- Des AA hydrophobes situés à l'intérieur (poche hydrophobe)

- Le motif hélice-Boucle-hélice (=helix-loop-helix)

C'est l'association de 2 hélices α liées à une boucle formée d'une douzaine d'acides aminés. Il a la forme d'une **main**, appelé « **EF hand** » en anglais, dans laquelle l'**ion Ca^{2+}** se situerait dans la paume et les 2 hélices (E et F) formeraient le pouce et l'index relevés.

Présent dans de nombreuses **protéines qui fixent le calcium** et aussi dans certains **facteurs de transcription (liant l'ADN)**

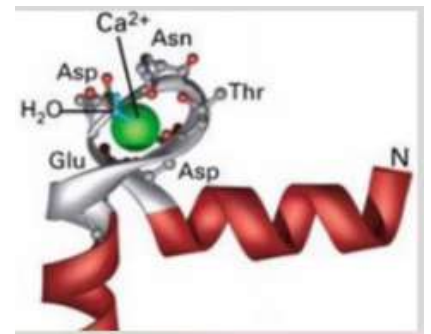
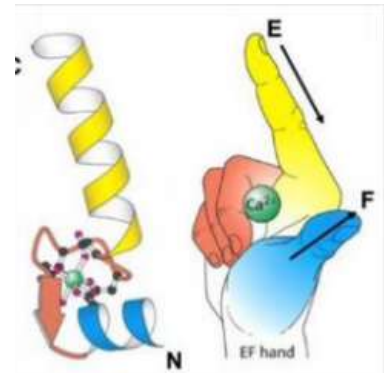
Ce motif de liaison au calcium (EF hand motif) est présent dans plus de 100 protéines de liaison au calcium.

Présence d'AA hydrophiles à des positions critiques dans la boucle. Thréonine, asparagine : AA polaires non chargés. Aspartate, glutamate : AA polaires et chargés

Les atomes d'oxygène de ces résidus d'AA et une molécule d'eau lient l'ion calcium.

Exemple d'une protéine : la calmoduline

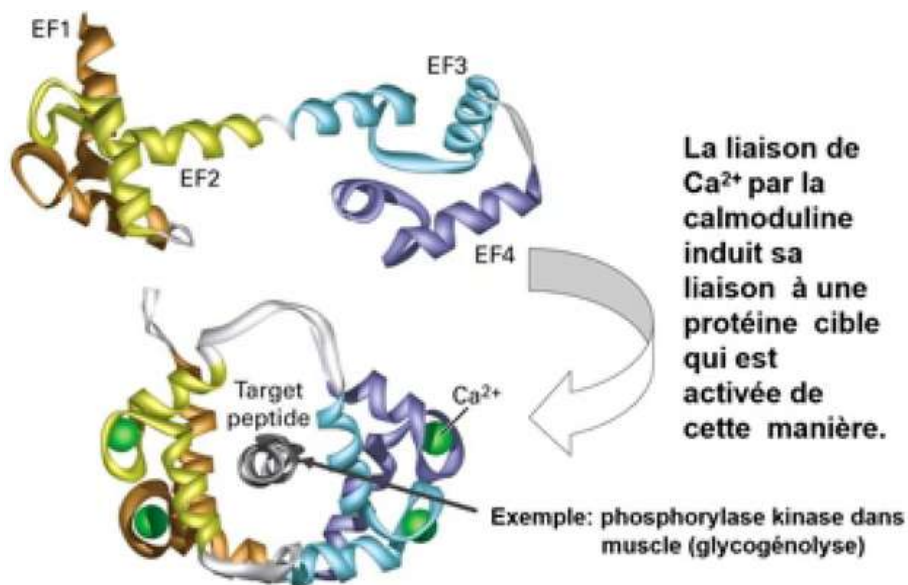
Composée de 4 motifs hélice-loop-hélice (EF1, EF2, EF3, EF4) et chaque motif peut lier un ion calcium. En tout, la calmoduline permet de fixer 4 molécules de Ca^{2+} .



Zoom sur la calmoduline :

C'est la liaison du calcium par la calmoduline qui va favoriser l'interaction du complexe calmoduline-calcium à une protéine cible. Cette interaction induit un changement de conformation dans la protéine cible, qui ainsi devient active.

Ce mécanisme explique l'activation de la phosphorylase kinase B en phosphorylase kinase A active. Cette enzyme est impliquée dans la glycogénolyse dans le muscle.



- Le motif hélice-coude-hélice (=helix-turn-helix)

Composé de 2 hélices α (chacune de 7 à 9 AA) reliées par un court segment protéique (2 à 6 AA) formant un « tournant » ou coude. Tout le motif comprend une 20aine d'AA.

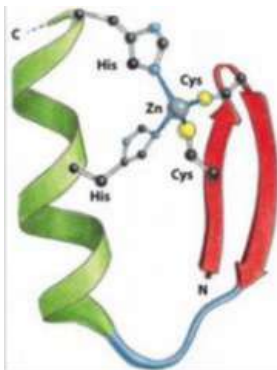
Rôle dans la **liaison à l'ADN** et il est aussi présent dans plusieurs facteurs de transcription.



Les 2 hélices n'ont pas le même rôle :

- Une **hélice de reconnaissance** (en rouge) de séquences spécifiques de l'ADN : se lie au grand sillon de l'ADN à travers une série de liaisons H et de Van der Waals avec les bases de l'ADN.
- La seconde hélice (en bleu), **stabilise** l'interaction entre la protéine et l'ADN par interaction hydrophobe avec l'hélice de reconnaissance.

ATTENTION, ne pas confondre les motifs Hélices-Coude-Hélices avec les motifs Hélices-Boucles-Hélices !



- Le motif à doigt de zinc (zinc finger)

Commun aux **protéines qui lient aussi bien l'ADN que l'ARN.**

Composé de 25 à 30 AA, avec une hélice α et 2 brins β .

Un ion de zinc est maintenu en position par 2 résidus cystéine et 2 résidus histidine ++

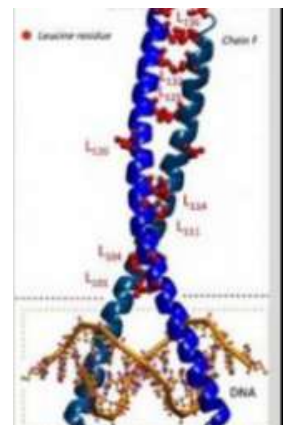
Remarque : L'ion de zinc n'interagit pas avec l'ADN mais stabilise la structure.

- Le domaine bZIP (basic leucine zipper) *attention, on parle bien de domaine, et pas de motif*

Se retrouve dans de nombreuses protéines eucaryotes de **liaison à l'ADN**.

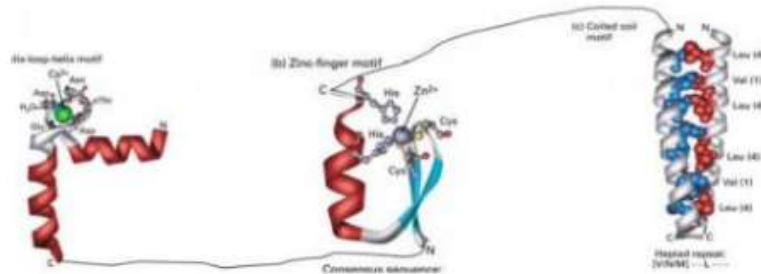
La partie basique et positive (riche en lysine/arginine) de la région N-terminale du domaine médie la liaison à des séquences spécifiques de l'ADN (DNA binding Domain).

La région C-terminale en hélice α contient la partie avec la **leucine zipper** (en rouge) ou « glissière à leucine ». Cette partie est nécessaire afin de maintenir ensemble (de dimériser) les deux chaînes (E et F) (en bleu et vert) du facteur de transcription.



De nombreuses protéines peuvent être une mosaïque de différents motifs/domaines en séquence linéaire (qui reproduit la séquence dans le gène). Cela permet à la protéine de réaliser de multiples fonctions.

Exemple d'une protéine qui contient successivement un motif Hélice-Boucle-Hélice, un motif de doigt de Zinc et un domaine Coiled-Coil



La structure tertiaire des protéines supérieures à environ 150-200 AA résulte de plusieurs régions distinctes appelées « domaines » avec des spécificités structurales et fonctionnelles, reliés par des régions « de liaison » (domaine = structure super-secondaire).

Je suis désolée, cette partie n'est pas très claire..

• La dénaturation des protéines

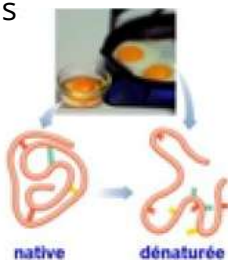
Processus physique qui détruit les structures secondaires, tertiaires et quaternaires de la protéine. La perte de cette organisation structurale induit la **perte de la fonction** de la protéine.

La structure primaire n'est pas altérée lors de la dénaturation (pas d'hydrolyse des liaisons peptidiques). ++

Ce processus peut être réversible après disparition des causes/agent dénaturant, mais la plupart des protéines une fois dénaturées, restent altérées. Les protéines dénaturées sont le plus souvent **insolubles** et **précipitent** dans la solution.

Une dénaturation peut être provoquée par :

- Un changement de pH (Bases/acides Fort) provoquant des modifications des capacités d'interactions ioniques (ponts salins, liaisons H) impliquées dans la stabilité de la structure de la protéine
- Des composés organiques (urée), détergents ou encore la chaleur qui peuvent rompre les liaisons H, en altérant les liaisons hydrophobes. ???
- Les ions des métaux lourds (Plomb) provoquent une perturbation des ponts salins et ponts disulfures



On voit à gauche, que dans l'œuf cru, la protéine étudiée est repliée, elle est fonctionnelle

A droite, lorsque l'œuf est cuit, la chaleur fait que les liaisons sont rompues, la protéine perd sa fonction

- **Altération de la structure tridimensionnelle des protéines**

Deux raisons principales sont à la base de la **conformation anormale** ou du **repliement erroné** des protéines :

- Anomalies de la structure primaire suite à la mutation d'un AA :

Peut modifier la structure et la fonction de la protéine qui peut se retrouver altérée.

Exemple : La drépanocytose.

Le glutamate en position 6 de la chaîne bêta de l'HbA (hémoglobine A) est muté en une Valine. *Glutamate-> Valine*. L'HbA est remplacé en HbS. Le problème c'est que l'HbS (forme désoxygénée de l'Hb polymérise facilement ce qui provoque une déformation des érythrocytes en faucille (HbS pour Sickle=faucille), les rendant fragiles et peut engendrer une obstruction des capillaires sanguins.

- Dysfonctionnement des protéines d'assemblage :

Dans de nombreuses maladies neurodégénératives, le cerveau contient des dépôts d'agrégats protéiques insolubles ou extracellulaire avec un rôle pathogène probable.

Exemples : Maladie d'Alzheimer : peptide A bêta

Maladie de Parkinson : alpha-synucléine

Maladie de Creutzfeld-Jacob : protéine à prion

Tous ces exemples permettent de montrer encore une fois le lien entre la structure de la protéine et sa fonction

D) Structure quaternaire

C'est le dernier niveau de structuration des protéines. C'est un assemblage ou oligomérisation de 2 ou plusieurs chaînes polypeptidiques. On considère chaque chaîne comme une sous-unité.

- Quand les chaînes sont identiques : **homo-oligomérisation**
- Quand les chaînes sont différentes : **hétéro-oligomérisation**

L'assemblage des protéines dans la cellule s'effectue par complémentarité et est stabilisé par différentes interactions :

- Des interactions électrostatiques : impliquent des groupements ioniques (liaisons H par exemple)
- Des liaisons hydrophobes
- Des ponts disulfures très rarement (liaison covalente)

Parmi les structures protéiques connues, **environ la moitié est sous forme quaternaire** dont :

- **2/3 sous forme homomère**
- **1/3 sous forme hétéromère**

Allez ! C'est la moitié ! Fais une pause et c'est reparti

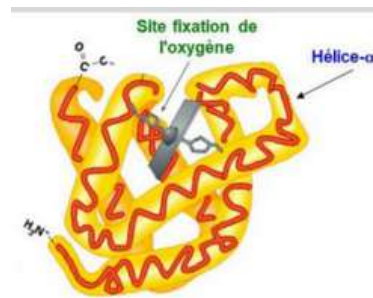
2 grandes familles de protéines : les protéines globulaires et les protéines fibrillaires

- Les protéines globulaires

Structure compacte et de forme sphérique.

Composition variable :

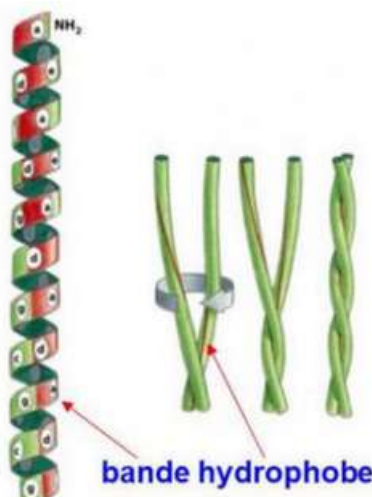
- Soit tout α
- Soit tout β
- Soit un mélange α et β qui alternent
- Soit α et β qui sont séparés



Le plus souvent les résidus hydrophiles sont à la surface de la protéine et les résidus hydrophobes sont plutôt à l'intérieur. *C'est toujours la même chose hein : ce qui est hydrophobe est au cœur de la protéine, ce qui est hydrophile est en surface en contact avec l'eau*

Fonctions de synthèse, de transport et impliquées dans le métabolisme cellulaire.

Exemple : la myoglobine est de structure compacte et riche en hélice alpha. Cette protéine est impliquée dans le stockage et la diffusion de l'oxygène au niveau des muscles squelettiques et cardiaques.



- Les protéines fibrillaires

Protéines de forme longue et semblables à des fibres.

Toutes les protéines fibrillaires sont insolubles dans l'eau en raison de leur fort pourcentage en AA apolaires à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de la chaîne polypeptidique. La présence de ces AA apolaires à la surface des protéines induit des associations entre elles pour former des superhélices et des complexes supramoléculaires.

Certaines protéines fibrillaires sont riches en hélice α , d'autres en feuillet β .

Exemple 1 : Les kératines α sont riches en hélices α . Composés essentiels des cheveux, de la peau et des ongles. Elles sont composées à partir de 7 AA hydrophobes en séquences répétitives (Ala, Val, Leu, Ile, Met et Phe).

Cette composition particulière va permettre à 2 hélices de s'enrouler l'une sur l'autre et d'être stabilisées par des interactions hydrophobes. De plus, ces hélices sont riches en Cys ce qui donne lieu à la formation de nombreux ponts disulfures qui stabilisent d'avantage la structure.

Exemple 2 : La protéine fibroïne de la soie est riche en feuillets β .

- **Quelques fonctions des protéines :**

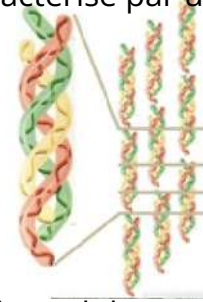
- Le collagène : protéine structurale
- Les anticorps : Défense immunitaire
- Myoglobine/Hémoglobine : Stockage et transport d'oxygène
- Récepteur à activité tyrosine kinase (=RTK) : signalisation par hormones / facteurs de croissance

- Le collagène

Protéine **la plus abondante chez les mammifères (25%)**. C'est une protéine structurale présente dans la matrice extracellulaire des organismes animaux. Caractérisé par une grande résistance à la tension.

Le collagène est principalement produit par :

- Les fibroblastes des tissus conjonctifs
- Les cellules musculaires lisses
- Les cellules épithéliales



On retrouve près de **27 types de collagènes différents** selon les chaînes alpha codées par **43 gènes**

- type I : présent dans l'os, les tendons, le derme
- type II : dans le cartilage
- type IV : dans la membrane basale des reins et vaisseaux
- type X : synthétisé par les chondrocytes

et qui ont en commun certaines caractéristiques structurales :

- Il s'agit de **trimères** composés de 3 chaînes alpha (identiques ou non) *en couleur différente sur le schéma*

attention, il s'agit bien de chaîne alpha, et pas de hélice alpha

- Les 3 chaînes alpha forment une triple hélice. Les trimères s'alignent en rangées décalées

- La composition en AA : riches en proline, en 4-hydroxyproline (HP), en 5-hydroxylysine et en Glycine.

Les chaînes alpha apparaissent comme un **poly-tripeptide GLY-PRO-HP**.

La petite taille de la glycine permet ici d'accommoder l'espace entre les chaînes alpha. L'hydroxylysine et l'hydroxyproline sont rares dans les protéines et sont produites à partir de modifications post-traductionnelles. La Pro/HP induisent des torsions dans les chaînes.

- La structure du collagène est renforcée par des liaisons covalentes entre la lysine et la 4-hydroxylysine, et entre des aldéhydes dérivés de la lysine et la 4-hydroxylysine.

- Des liaisons H entre la Glycine et l'HP stabilisent la triple hélice



Buvez un thé ou un café, et on attaque une partie par super drôle

Je vois vos têtes de là, vous devez en avoir tellement marre de ce foutu cours ! Pas de bol, c'est la deuxième année que ça fait partie du programme (du moins, depuis la création de la LAS)

- Les immunoglobulines (Ig) = Anticorps

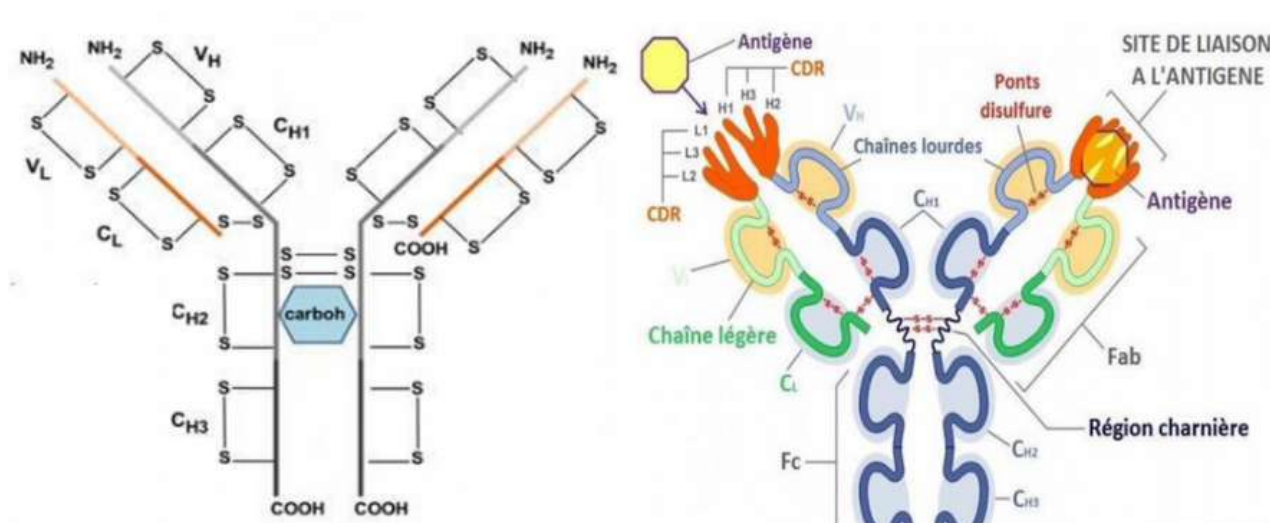
Les anticorps sont des immunoglobulines qui ont plusieurs caractéristiques :

- Ce sont des **glycoprotéines**

- Existents sous forme soluble dans les liquides biologiques ou sous forme de récepteurs membranaires exprimés à la surface des lymphocytes B *Important à retenir*

- Synthétisés par les lymphocytes B (immunité humorale) en réponse à l'exposition des protéines et autres molécules reconnues comme étrangères par l'organisme (=antigènes)

- Ils reconnaissent et lient l'antigène contre lequel ils ont été produits



Pour la structure globale, les anticorps sont des glycoprotéines ayant la même structure en Y comportant 4 chaînes polypeptidiques (M_r = poids moléculaire = 150 000). Composés en majorité de protéines (82-96%) et une petite partie glucidique (4-18%) : *Suivez la description de la structure au fur et à mesure en cherchant chaque élément sur les schémas*

- **2 chaînes légères** identiques (L pour Light) (200-220 acides aminés / M_r 25 000) les 2 petites vertes sur le schéma de droite. *Sur le schéma de gauche, ce sont les 2 oranges*

- **2 chaînes lourdes** identiques (H pour Heavy) (440-450 acides aminés / M_r 50 000) *les 2 grandes bleues à droite, et noires à gauche*

Pour la structure fonctionnelle, c'est une structure bipolaire :

- Région N-Terminale : **Domaines variables** (V) des 2 chaînes légères et des 2 lourdes. On a 2 **domaines hypervariables** pour la reconnaissance des antigènes c'est **Fab**.

- Extrémités C-terminales : **Domaines constants** (C) des 2 chaînes lourdes forment un fragment **Fc** (fragment cristallisable). Sert à la reconnaissance de récepteurs spécifiques sur les cellules immunitaires et la **partie glycan** est au centre du Fc : rôle structural indispensable pour l'interaction du Fc avec les cellules immunitaires. *En gros, Fc permet à l'Ac de s'accrocher à la cellule immunitaire, qui va se balader jusqu'à rencontrer un Ag. La partie CDR permet à l'anticorps de fixer l'Ag.*

La structure des chaînes légères (2 par Ig) : *Je vous rappelle que Ig ça veut dire Immunoglobuline, et que c'est la même chose que anticorps (Ac)* La chaîne légère est associée à la chaîne lourde par un pont disulfure entre le C-terminal et la région correspondante de la chaîne lourde. Chaque chaîne contient 2 ponts S-S (= pont disulfure) intramoléculaires.

- 2 types de chaînes légères : λ ou κ
- Chaque chaîne contient 2 domaines : en N-term la région variable VL, en C-term la région variable CL

La structure des chaînes lourdes (2 par Ig) :
Deux 2 ponts S-S relient les 2 chaînes lourdes après les extrémités C terminales des chaînes légères. Cela crée une région flexible et une certaine mobilité des 2 branches de l'Y par rapport à la 3ème. Chaque chaîne contient 4 ponts S-S intramoléculaires.

- 5 types de chaînes lourdes : IgM (μ) / IgA (α) / IgG (γ) / IgE (ϵ) / IgD (δ)
- Chaque chaîne contient 4 domaines : en N-term la région variable VH, en C-term les 3 régions constantes CH

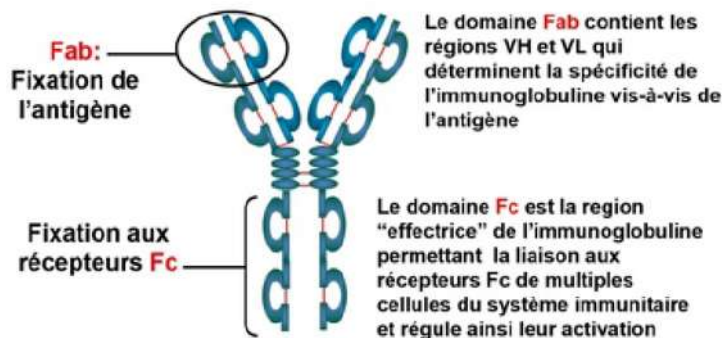
Les sites de liaison de l'anticorps à l'antigène : L'anticorps utilise son **paratope** pour se lier à l'**épitope** de son antigène. L'anticorps IgG a 2 domaines fonctionnels :

À l'extrémité d'un Fab, fixation de l'antigène :

- Les domaines N-terminaux des chaînes lourdes et légères, VH et VL, incluent 3 régions hypervariable CDR (Complementary Determining Region) : 3 de la chaîne lourde VH (H1, H2, H3) et 3 de la chaîne légère VL (L1, L2, L3).
- Le repliement des chaînes VH et VL induit le rapprochement des **6 CDR** permettant la formation du site de liaison de l'anticorps à l'antigène.

A l'extrémité Fc, fixation aux récepteurs :

- Le domaine Fc est la région effectrice de l'Ig permettant la liaison aux récepteurs Fc de multiples cellules du système immunitaire (dont les phagocytes, les macrophages, les lymphocytes NK et B) et régule ainsi leur activation.

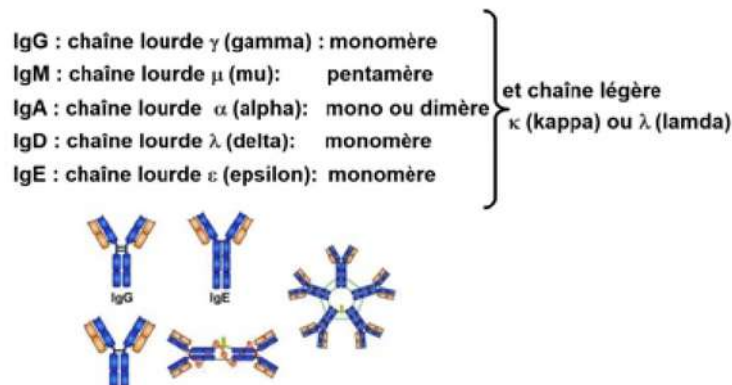


Pour résumer : +++

- Une immunoglobuline est composée de 2 chaînes lourdes identiques et de 2 chaînes légères identiques
- Chaque chaîne lourde et chaque chaîne légère est constituée de régions variables (V) et de régions constantes (C)
- Les régions variables de chaque chaîne présentent des régions hypervariables appelées CDR : fixation de l'antigène
- Il existe 5 classes d'immunoglobulines qui se caractérisent par des chaînes lourdes différentes : IgM, IgA, IgG, IgE et IgD



Les 5 classes/isotypes d'immunoglobulines



- Les globines qui lient l'oxygène

Chez les plantes, on retrouve aussi des globines liant l'oxygène : la **leghemoglobline**. Mais là on s'intéresse à :

Myoglobine (Mb) et l'hémoglobine (Hb)

La fonction de ces protéines est :

- Le **stockage de l'oxygène pour la Mb et l'Hb**
- Le **transport de l'oxygène pour l'Hb**

Les caractéristiques structurales communes sont :

- Association de la partie protéique à un noyau organique polycyclique appelé « **hème** » comportant un **atome de Fer (Fe^{2+})**. Le noyau de l'hème permettant de fixer l'oxygène.
- Chaque sous unité de l'Hb, les 2 alpha et les 2 bêta, a une structure tertiaire semblable à celle de la myoglobine : avec une chaîne polypeptidique faite principalement d'hélices alpha, et un groupe hème capable de lier l'oxygène

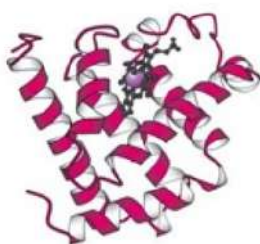
Les caractéristiques structurales divergentes :

Myoglobine :

- Structure **monomérique** liant à saturation **1 molécule d'oxygène**
- Activité restreinte au niveau du **muscle squelettique et cardiaque** : stocke et facilite la diffusion de l'oxygène.
- Présente dans le sang en cas de pathologie musculaire ou cardiaque

La myoglobine est composée de 2 parties:

- 1) une chaîne polypeptidique simple (de 153 acides aminés /Mr 16.700) composée à 78% de 8 hélices α connectées par des repliements
- 2) un groupe prosthétique non-polypeptidique, le « hème », qui est responsable de la fixation de l'oxygène



Rappel: groupe prosthétique: molécule non-protéique liée à protéine pour lui permettre de fonctionner

Le groupe prosthétique est maintenu dans la protéine au moyen de liaisons covalentes permanentes, ou de liaisons faibles par exemple les liaisons ioniques ou H

Les groupements prosthétiques appartiennent à plusieurs catégories moléculaires. L'apoprotéine est la partie protéique d'une molécule qui comporte une partie non-protéique.

Hémoglobine :

- Structure **tétramérique** liant à saturation **4 molécules d'oxygène**

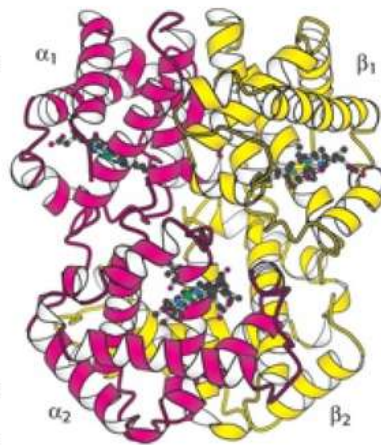
- Stocke et transporte l'oxygène dans les **érythrocytes du sang** (des poumons vers les tissus)

- Sphère de diamètre **5,5mm**. Structure quaternaire avec 2 sous-unités alpha identiques et 2 sous-unités bêta identiques qui sont liées par de fortes interactions hydrophobes impliquant plus de 30 AA. Les 4 sous-unités contiennent **chacune un groupe prosthétique hème**. Les 2 **dimères** ($\alpha_1\beta_1$ et $\alpha_2\beta_2$) sont liés entre eux par des interactions hydrophobes et par des liaisons polaires. Ces interactions impliquent 19 AA et sont moins fortes permettant des mouvements d'un dimère à l'autre.

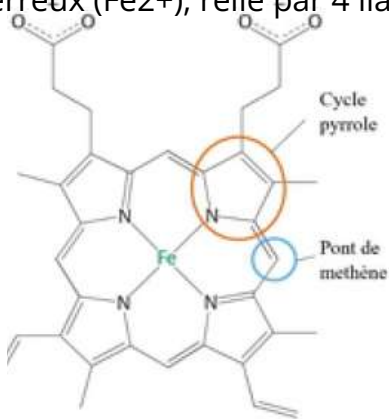
L'hémoglobine (Mr 64.500) apparaît comme une sphère ayant un diamètre d'environ 5,5 nm.
Sa structure quaternaire est un tétramère avec 2 sous-unités α (141 aa) identiques et 2 sous-unités β (146 aa) identiques.
Chez l'adulte: HbA $2\alpha 2\beta$.

Les 4 sous-unités (2α et 2β) contiennent chacune un groupe prosthétique hème, donc 4 hèmes par molécule de Hb.

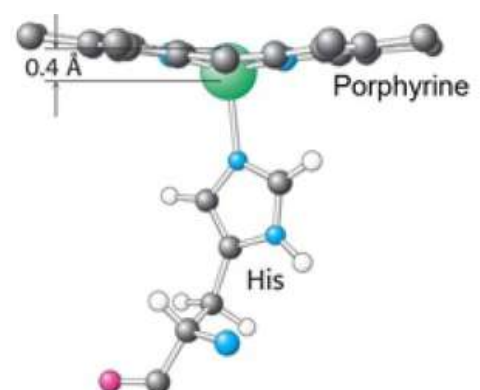
Bien que moins de la moitié des aa soit identique dans la sous-unité α et la β , leur structure 3D est très similaire. De même leur structure tertiaire est similaire à celle de la myoglobine alors que les 3 polypeptides n'ont que dans 27 positions des aa identiques.

**Hème :** *permet à l'oxygène de se fixer à l'Hb*

-Composé d'un **anneau de protoporphyrine (une structure cyclique composée de 4 anneaux de pyrrole reliés par des ponts de méthène)** et d'un **atome de Fer** (dans l'état ferreux (Fe^{2+}), relié par 4 liaisons de coordination aux azotes des anneaux de pyrrole).

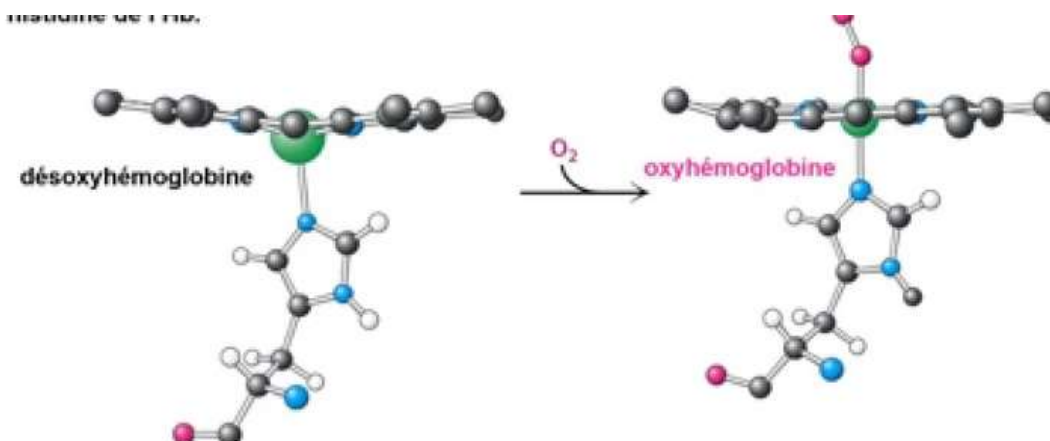


Au niveau de l'hème, le Fer peut avoir 6 liaisons de coordination dont 4 vers les azotes des anneaux de pyrrole et qui font partie des anneaux de porphyrine, et 2 perpendiculaires à l'anneau de porphyrine.



- Le Fer dans la **désoxyhémoglobine** peut former 2 autres liaisons de coordination, placées de chaque côté de l'anneau de Protoporphyrine. Une liaison relie l'atome de Fer à l'anneau imidazole d'un résidu histidine de la chaîne polypeptidique. (La liaison se fait sur un des azotes de l'histidine) **En l'absence d'oxygène, dans la désoxyhémoglobine, le Fer est légèrement en dehors du plan de l'anneau protoporphyrinique.**

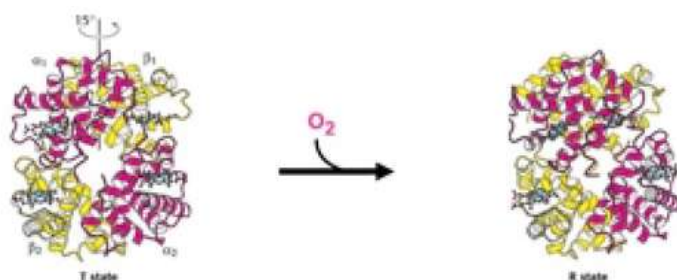
- Le Fer dans l'**oxyhémoglobine**, en présence d'oxygène : se lie au 6ème site de coordination du Fer. La liaison de l'oxygène produit un réarrangement des électrons de Fer, qui se déplace à l'intérieur du plan de l'anneau de protoporphyrine « tirant avec lui » le résidu histidine de l'Hb.



Cette liaison de l'oxygène à l'hème provoque un **changement général de la structure quaternaire de l'Hb**, avec un changement de conformation des chaînes polypeptidiques, et une rotation de 15° du dimère $\alpha_1\beta_1$ par rapport au dimère $\alpha_2\beta_2$.

On aboutit donc à deux formes de l'hémoglobine : T (tendu) et R (relâché)

Hb T (tendu)	Hb R (relâché)
Correspond à la désoxy -Hb	Correspond à l'oxy -Hb
Les 2 dimères $\alpha\beta$ sont <u>liés</u> par des interactions hydrophobes et polaires <u>limitant les mouvements</u> des polypeptides	La fixation de l'O ₂ a <u>affaibli</u> certaines liaisons polaires entre les dimères <u>permettant des mouvements</u>
C'est la forme de l'Hb de basse affinité pour l'O ₂ (mais elle reste capable de lier l'O ₂)	C'est la forme de l'Hb de haute affinité pour l'O ₂

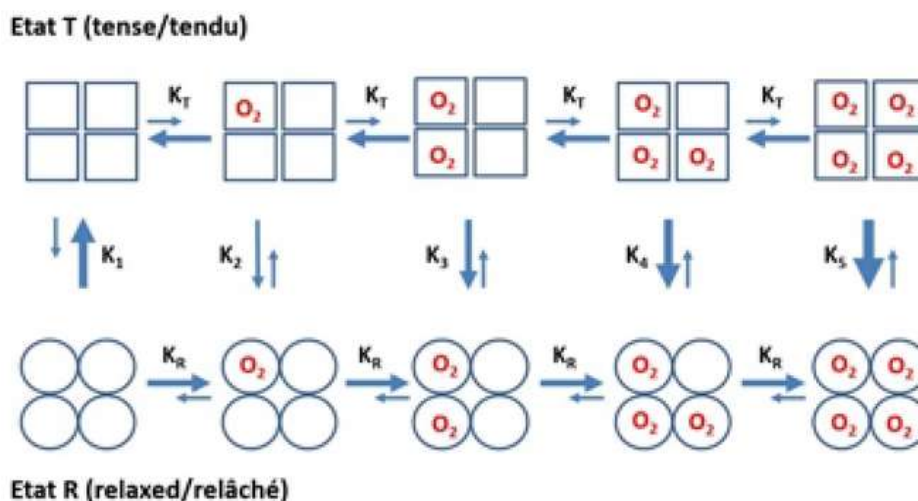


Les différents effets de la Mb et de l'Hb sur l'affinité de l'oxygène :

- L'affinité de la myoglobine (monomère) pour l'oxygène est **constante**
- L'affinité de l'hémoglobine (2 dimères) : **la liaison de l'oxygène favorise l'apparition des sous unités de haute affinité pour l'oxygène**. Ce phénomène est compatible avec un modèle de liaison ayant une **coopérativité positive**.

Qu'est-ce que c'est ??? La coopérativité positive ??

2 modèles ont été proposés pour expliquer la liaison coopérative : le modèle concerté avancé (par des français *mais désolée je ne comprends pas le nom quand le prof le dit*) et le modèle séquentiel (par l'américain Koshland). Aucun des 2 modèles n'est parfait mais pour illustrer l'hémoglobine on utilise plutôt le **modèle concerté avancé**.



Propriétés de ce modèle :

- Les sous-unités sont fonctionnellement identiques
 - Chaque sous unité peut exister sous 2 conformations qui sont à l'équilibre
 - **Toutes les sous unités vont d'une conformation à l'autre de façon simultanée**
- Pour l'Hb dont le ligand est l'oxygène qui peut se lier aux 2 conformations T et R mais avec une basse affinité pour T (sur le schéma c'est les carrées). La liaison de l'oxygène à la forme T stabilise la transition vers la forme R. Ainsi, suite à la liaison de la première molécule d'O₂, l'équilibre se déplace vers la forme R (les cercles sur le schéma).

Liaison non-coopérative versus coopérativité positive :

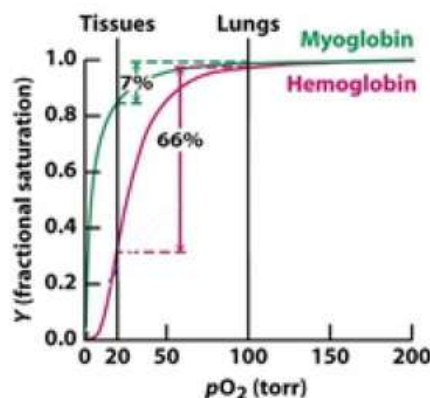
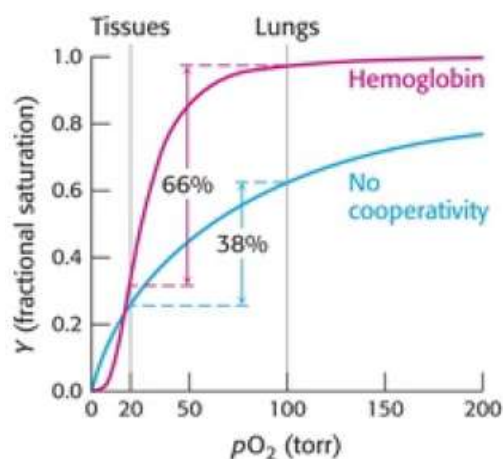
Concernant la liaison de l'oxygène dans une situation de variation de pression d'oxygène : *c'est ce qu'on va étudier là, encore une fois, je trouve que c'est vraiment compliqué*

On a un graphique avec en ordonnées la saturation fractionnaire de l'Hb en fonction de la Pression partielle en O₂ (=pO₂) en abscisses. (Sachant que la pression partielle est l'équivalent de la concentration des ces molécules dans le sang). *Donc là sur le graphique, comprenez que pO₂ c'est la concentration en oxygène dans le sang* La saturation fractionnaire va de 0 (aucun site occupé) à 1 (tous les sites occupés). On exprime pO₂ en mmHg (=millimètres de mercure) ou en Torr avec 1 Torr = 1mmHg. Pour rappel, dans les poumons, la pO₂ est environ de 100mmHg et dans les tissus elle est d'environ 20 à 40mmHg.

Si l'on compare la courbe de saturation de l'Hb avec une liaison ayant une coopérativité positive, avec la courbe hypothétique où il n'y a pas de coopérativité, on observe que la **courbe sigmoïdale** de l'Hb résulte en **un plus grand degré de saturation de l'Hb, surtout à des pressions élevées d'O₂**. En effet, sans coopérativité, il y a 38% d'augmentation de saturation. Alors qu'avec coopérativité, l'augmentation de saturation est de 66%.

Le dernier site de liaison ouvert de l'Hb, avec 3 sites déjà liés à l'O₂, a une affinité de liaison à l'O₂ au moins 20 fois supérieure à celle de l'Hb désoxygénée.

*Relisez ce passage pour essayer de bien comprendre
Je vous souhaite vraiment beaucoup de courage pour rester concentrés sur ce cours interminable*



lungs = poumons en anglais

Les avantages de la fixation coopérative de l'O₂ à l'Hb :

- Pour la **myoglobine** on a une **hyperbole** car pas de coopérativité positive
- Pour l'**Hémoglobine** a une **courbe sigmoïdale** car coopérativité positive

Leurs affinités varient en fonction des pressions partielles en l'oxygène

- Si la pO₂ est faible (comme dans le muscle (pO₂=20mmHg) et les tissus périphériques (pO₂<40mmHg), l'hémoglobine transfère mieux l'O₂ à la myoglobine (car la myoglobine a une plus forte affinité) *Il faut comprendre la logique et imaginer une histoire : vu que la myoglobine aime beaucoup l'oxygène (=forte affinité), l'Hb, qui est une protéine gentille va se débarrasser de l'oxygène pour lui donner (=transfère l'O₂ à la myoglobine)*

- Si la pO₂ est forte (comme dans les poumons (pO₂=100mmHg), la myoglobine transfère mieux l'O₂ à l'hémoglobine tétramérique et ses 4 chaînes permettent de fixer 4 molécules d'O₂ *Ici c'est l'inverse, on est dans une situation où il y a plein d'O₂ (=pO₂ forte), donc comme l'Hb peut fixer 4 atomes d'oxygène, c'est plutôt elle qui va avoir une forte affinité. Donc la myoglobine va transférer l'O₂ à l'Hb* L'Hb aura une affinité similaire ou supérieure à la myoglobine

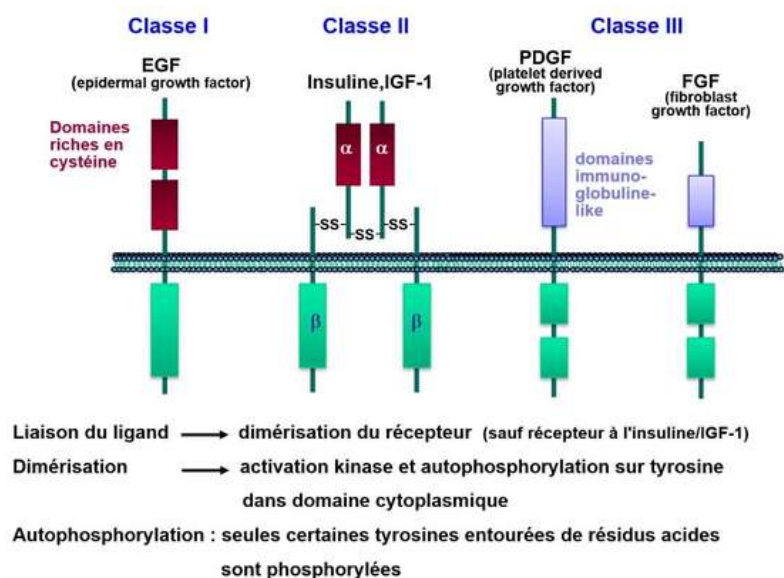
- Les récepteurs à activité tyrosine kinase

Activité tyrosine kinase, ça veut dire que le récepteur a la capacité de mettre un groupement phosphate sur une tyrosine d'une protéine. Vous verrez en biocell que ce mécanisme est à la base de la signalisation cellulaire. Pour faire passer un message à l'intérieur de la cellule, il va y avoir pleins de molécules qui vont tour à tour être phosphorylées.

Récepteur membranaire = Protéine membranaire permettant la détection spécifique de molécules de signalisation extracellulaire (hormones, facteurs de croissance, ect) permettant la transduction de signaux intracellulaires. *C'est un peu comme un portail (=le récepteur) : quand votre frère (=une hormone) arrive à la maison (=la cellule) et sonne au portail, ça sonne même dans la maison (=transmission du signal). Ouais, je sais pas si vous avez compris mon image..*

Les récepteurs à activité tyrosine kinase ont beaucoup de points communs : *ça je pense que c'est la base pour comprendre la suite, donc +++*

- Possèdent un **domaine extracellulaire** liant le ligand (hormone, facteur de croissance, cytokines) *un ligand, c'est une molécule qui va venir se lier à son récepteur*
- **Un seul domaine transmembranaire** (hélice alpha) (20-30 AA hydrophobes)
- **Domaine intracellulaire** portant sur l'activité tyrosine kinase
- Structure du récepteur sans ligand : **monomérique**, sauf récepteurs de l'insuline/IGF-1 qui sont **dimériques**
- Les récepteurs monomériques se dimérisent pour être actifs
- Activation de la tyrosine kinase suite à un changement de conformation induit par le ligand



3 grandes classes des récepteurs à activité tyrosine-kinase : *Suivez sur le schéma en même temps que vous lisez, pour visualiser toutes les différentes parties des Rc*

- **Classe 1** : Récepteur monomérique en l'absence du ligand. Récepteur de l'EGF avec 2 domaines extracellulaires riches en cystéine (*en brun sur le schéma*). Possède un domaine kinase (*en vert*) monobloc.

- **Classe 2** : Deux récepteurs dimériques en l'absence du ligand. Exemple du récepteur à l'insuline et le Rc (=récepteur) à l'IGF-1 (facteur de croissance). Il s'agit d'un tétramère avec 2 sous unités Alpha (non transmembranaires et riches en cystéine) et 2 sous unités bêta (transmembranaires) qui portent l'activité tyrosine kinase. Les différentes sous-unités sont reliées entre elles via des ponts S-S.

- **Classe 3** : Récepteur monomérique en l'absence du ligand. Rc PDGF et FGF, ils présentent 2 différences avec la classe I : Domaine extra-cellulaire (*en bleu*) ressemblant aux immunoglobulines et un domaine kinase intra-cellulaire séparé par un insert (*on voit bien les 2 blocs verts à l'intérieur de la cellule*).

Sans ligand, les Rc monomériques ont bien 1 seul domaine transmembranaire. Alors que les Rc à l'insuline ou à IGF-1, qui sont dimériques en absence de ligand, ont 2 sous unités bêta, et chacune a un domaine transmembranaire

Activation des Rc tyrosine kinase :

Rc monomériques en l'absence de ligand :

- soit activation par dimérisation de 2 Rc qui est induite par liaison de ligands dimériques. Rc PDGF et VEGF *cas 1*
- soit le ligand va stabiliser la dimérisation induite par les Rc eux-mêmes -> activation. Rc EGF *cas 2*

Rc dimériques en l'absence de ligand :

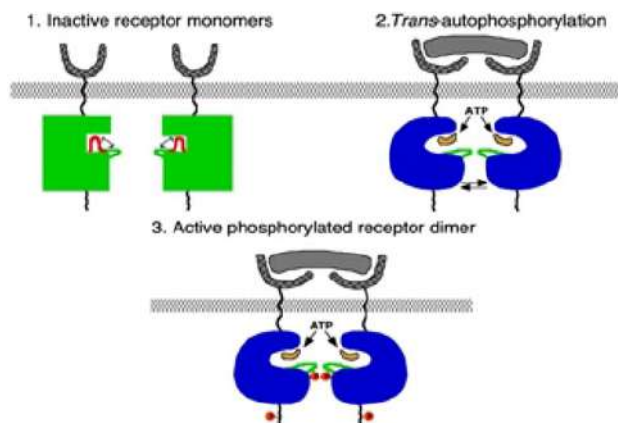
- Activation par changement de conformation induit par la liaison de l'hormone au récepteur préexistant comme dimère *L'hormone se lie au Rc qui est déjà sous forme de dimère -> changement de conformation -> activation tyrosine kinase Rc à l'insuline, Rc IGF-1 cas 3*

Dans les 2 cas , on a un Rc dimérique qui est occupé par son ligand -> activation de la tyrosine kinase -> la kinase activée va phosphoryler des **tyrosines** dans la partie cytosolique du Rc lui-même (=autophosphorylation). Ces sites de phosphorylation sont des **sites d'ancrage** pour des molécules de **signalisation**.

- Phase inactive, en attente du ligand
- Ligand arrive, dimérisation du Rc avec une trans-autophosphorylation
- Rc activé et prêt à envoyer le message en intra-cellulaire

cas 1

Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase: dimérisation du récepteur par ligand dimérique



1 : 2 Rc monomériques inactifs en absence de ligand. La boucle rouge représente une partie de la kinase inactive. La boucle verte est sa position future quand elle sera activée

2 : Le ligand dimérique (=qui se lie à 2 Rc) induit la dimérisation des Rc (*ils se rapprochent comme le montrent les flèches noires*) -> activation des Rc avec la boucle verte. Il y aura **trans-phosphorylation** des 2 Rc (= chaque Rc phosphoryle l'autre)

3 : Les petites boules rouges sont les tyrosines phosphorylées

cas 2

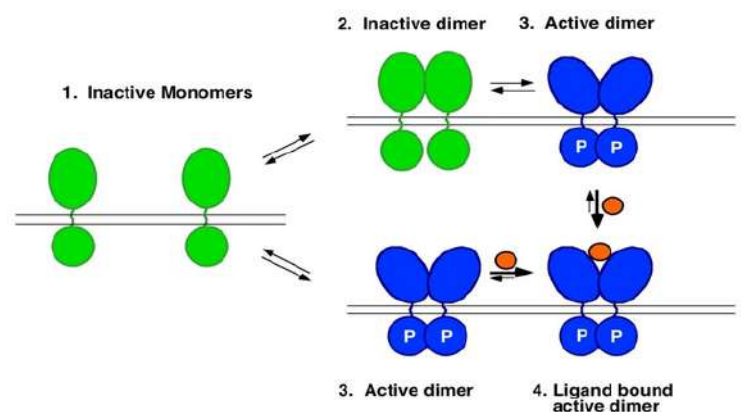
Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase : stabilisation de la dimérisation du récepteur par le ligand

1 : 2 Rc monomériques inactifs en absence de ligand

2 : dimère inactif, en équilibre avec la situation (1)

3 : dimère actif (on le voit avec le P pour phosphorylation) , en équilibre avec la situation (2).

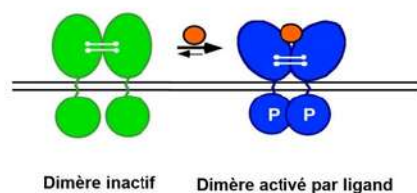
4 : la liaison du ligand (sphère rouge) déplace l'équilibre de (3) à (4)



cas 3

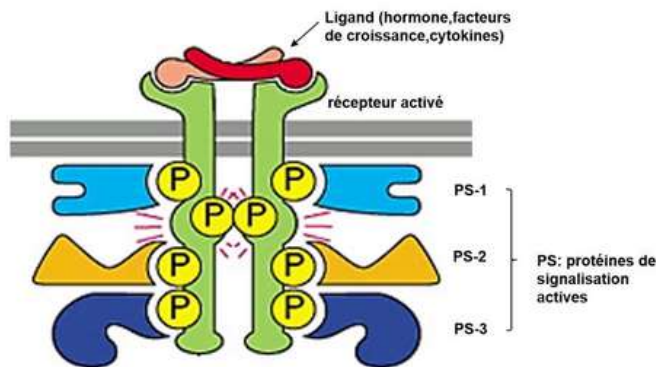
Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase: liaison du ligand induit changement conformationnel activant kinase du récepteur dimère pré-existant

Rc dimérique en absence de ligand. La liaison du ligand entraîne un changement de conformation qui active la kinase, et résulte en la phosphorylation du Rc



Signalisation par les récepteurs tyrosine kinase

Les tyrosines phosphorylées servent de point d'ancrage pour des protéines de signalisation possédant un ou plusieurs domaine(s) SH2 ou PTB



Donc là, les P dans des cerces jaunes sont les points d'autophosphorylation, qui vont permettre à des protéines de signalisation possédant un ou plusieurs domaines SH2 ou PTB de s'ancrer

Lisez bien les diapos car ça peut aussi tomber à l'exam !

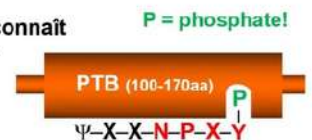
PTB et SH2 sont des domaines qui reconnaissent des tyrosines
N = asparagine
P = proline
Y = tyrosine (+P pour phosphorylée)
Pour PTB, ce sont des AA à gauche qui participent à sa spécificité
Pour SH2, ce sont des AA à droite de la phospho-tyrosine
Dans SH2, il y a une Arginine qui est extrêmement conservée

PH permet d'amener des molécules de la signalisation vers la membrane plasmique

Domaines d'interaction dans protéines de signalisation

- PTB (PhosphoTyrosine Binding) reconnaît **N-P-X-Y(P)** dans protéine/récepteur

X : n'importe quel acide aminé
Ψ : acide aminé hydrophobe



- SH2 (Src Homology 2) reconnaît **Y(P)-X-X-Ψ** dans protéine/récepteur

X : n'importe quel acide aminé
Ψ : acide aminé hydrophobe (fréquemment M)



- PH (Pleckstrin homology) permet liaison des protéines aux phosphoinositides (PIP) de la membrane plasmique

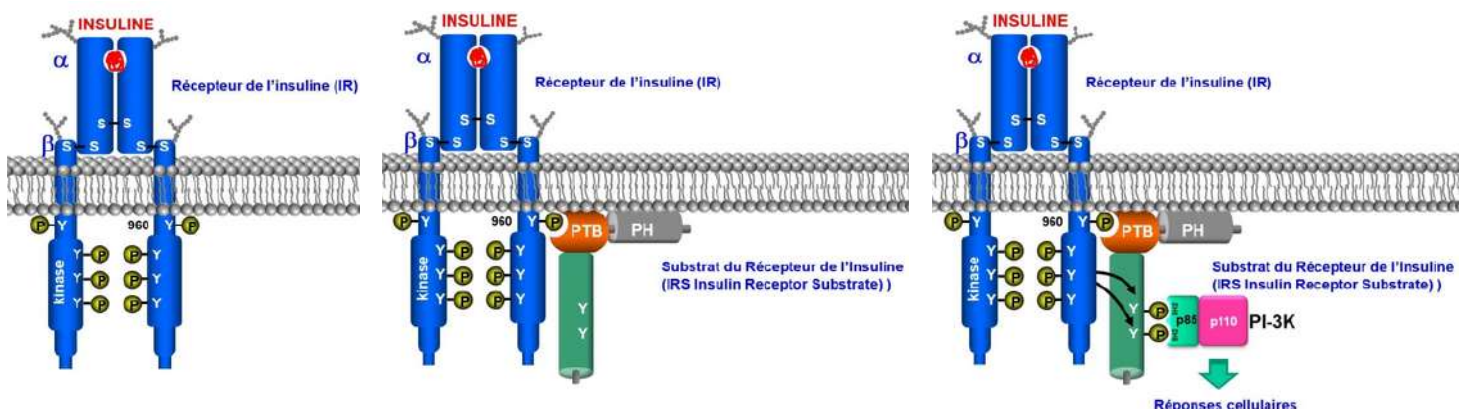


Rc de l'insuline :

Appartient à la famille des Rc membranaires à activité tyrosine kinase. Chez l'Homme, il se trouve sur pratiquement sur toutes les cellules. C'est un Rc oligomérique (= contient plusieurs sous-unités) de 350kDa ayant 2 sous-unités alpha et 2 sous-unités bêta :

- **Sous unités Alpha** : Glycoprotéines extracellulaires de 130kDa liées entre elles et aux sous unités bêta par ponts S-S. Elles **portent le domaine de liaison pour l'insuline** +++

- **Sous unités bêta** : Glycoprotéines transmembranaires (un seul domaine transmembranaire par sous-unité bêta ; 23 AA hydrophobes) de 95kDa liées aux sous unités alpha par ponts S-S. Elles portent l'**activité tyrosine kinase** et le **sites d'autophosphorylation sur tyrosine** +++



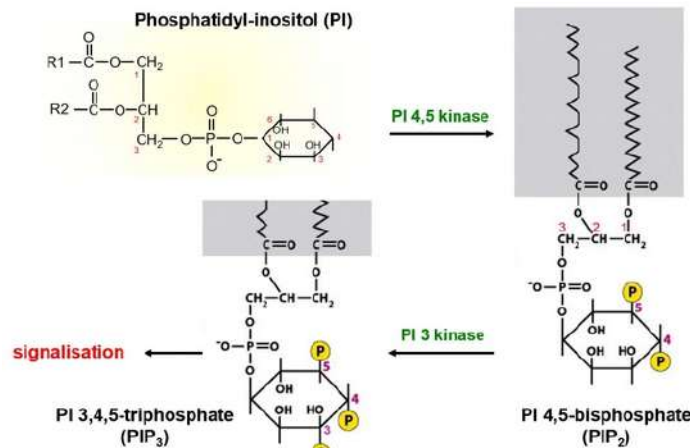
Activation du Rc de l'insuline :

- Fixation de l'insuline (petit spaghetti rouge sur le schéma) sur la sous unité alpha du Rc
- Activation des sous-unités bêta (activité tyrosine kinase) qui s'auto phosphorylent sur la tyrosine **960** juxtamembranaire, ce qui crée un site d'ancrage : **IRS** (=substrat du Rc de l'insuline) s'accroche sur son récepteur. IRS s'accroche au Rc grâce à son domaine **PTB**, et IRS s'accroche aussi à la membrane cellulaire par son domaine **PH**.
- Grâce à cet ancrage, le Rc à l'insuline va phosphoryler IRS sur des tyrosines. Cela permet de recruter des molécules de signalisation dont la **PI-3Kinase** qui se lie aux IRS par le biais de ses 2 domaines SH2.

Zoom sur la PI-3Kinase (= phosphatidylinositol 3 kinase = phosphoinositide 3 kinase) :

Relai important des signaux engendrés par de nombreux facteurs de croissance et hormones (comme l'insuline).

Il existe plusieurs isoformes de cette enzyme. Les mieux connus ont 2 sous-unités de 85kDa (*en vert clair sur le schéma*) et de 110kDa (*en rose*) : **p85** et **p110**. p85 est la sous-unité adaptatrice, se fixe par ses 2 domaines SH2 à IRS-1. Cette liaison active la PI-3 kinase dont le domaine catalytique est p110. C'est le début de la **cascade de signalisation**.



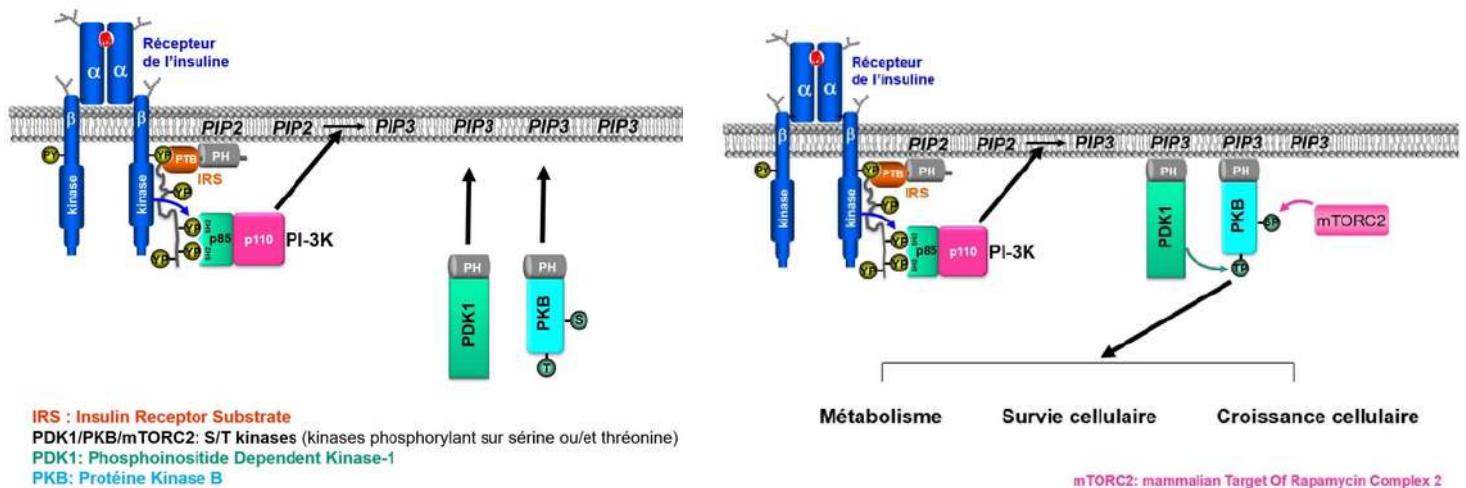
Le **PI** va être phosphorylé pour devenir **PIP2** qui lui-même va être phosphorylé en **PIP3** via la **PI3-K**. Celui-ci va s'accumuler au niveau membranaire et ce qui favorise le recrutement de molécules contenant un domaine PH comme les sérine kinases **PDK1** et **PKB**. (les sérine et thréonine kinases phosphorylent leur substrat sur des sérines ou thréonines) *voir schéma de la page suivante*

Ces deux kinases possèdent un domaine PH et sont normalement cytosoliques mais l'apparition des produits générés par la PI-3K (les PIP-3 au niveau de la membrane cellulaire) donne lieu à des signaux qui vont attirer la PDK1 et la PKB vers la membrane.

Cela provoque donc la translocation de ces kinases du cytosol vers la membrane cellulaire permettant leur accrochage à la celle-ci via leur domaine PH. De cette façon, un réseau de signalisation est formé.

En effet, l'accrochage membranaire de PDK1 stimule son activité kinase, et va phosphoryler la PKB sur une thréonine qui sera donc active partiellement.

On aura ensuite la phosphorylation sur la Sérine de PKB, qui sera permise par une autre thréonine kinase : **mTORC2**. PKB sera donc totalement active. Elle permet ainsi d'envoyer des **signaux métaboliques**, de **survie cellulaire** ou de **croissance cellulaire**, **transmis par l'insuline au tout début**. *N'oubliez jamais de voir les détails dans leur globalité, tout ce qu'on vient de décrire, c'est comment le message porté par l'insuline est passé à l'intérieur de la cellule pour avoir l'effet attendu*



III) Structures supramoléculaires et assemblages macromoléculaires

Ce sont des grands assemblages macromoléculaires de nombreuses protéines et d'autres éléments (acides nucléiques, lipides...). Ces super structures sont souvent supérieures à 1 Méga Dalton et entre 30 et 300nm en taille. Machines moléculaires :

- Le **complexe d'initiation de la transcription** qui comprend plusieurs protéines dont des hélicases, des facteurs de transcription, des ARN polymérases. Se trouve dans le noyau. Il permet la synthèse d'ARN.
- Les **ribosomes** contiennent plus de 50 protéines et sont localisés dans le cytoplasme et la membrane du réticulum endoplasmique et permet la synthèse protéique.
- Le **sarcomère** comprend plusieurs types de filaments (myosine/actine) situés dans le cytoplasme des cellules musculaires et permet la contraction des muscles.

Les 2 caractéristiques majeures de ces structures supramoléculaires :

- Leurs molécules individuelles ont des sites de liaison spécifiques et de haute affinité pour leur partenaire.
- Dans la cellule, ces molécules s'assemblent spontanément pour former des complexes fonctionnels.

QCMs du prof !!! +++

Concernant les protéines, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- Les groupements $-C=O$ et $-NH$ de la liaison peptidique sont fortement chargés.
- Dans les protéines globulaires, les résidus hydrophiles sont le plus souvent à l'intérieur de ces protéines.
- Les ponts disulfures peuvent se former à l'intérieur d'une chaîne polypeptidique (intra-chaîne) ou entre deux chaînes polypeptidiques de la protéine (inter-chaîne).
- La plupart des liaisons peptidiques ont la configuration en Trans
- Les brins des feuillets bêta correspondent à des structures moins « étirées » que les hélices alpha.
- Dans un feuillet bêta plissé les liaisons hydrogène entre deux chaînes sont à des intervalles réguliers d'acides aminés.
- Pas toutes les protéines ont une structure quaternaire.

Réponse : CDG

- A) Faux : ils ne sont pas chargés mais sont polaires +++
- B) Faux : à l'extérieur ! en effet, l'eau est à l'extérieur de la protéine donc les résidus hydrophiles sont surtout à l'extérieur +++
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux, c'est l'inverse
- F) Faux, ça c'est pour l'hélice alpha
- G) Vrai +++

Bravoooo ! Vous êtes trop forts d'avoir terminé cette interminable fiche ! Il y a beaaaaucooooooup d'infos, mais je suis sûre qu'en la lisant plusieurs fois, vous retiendrez tout. Si c'est la première fois que vous lisez ce cours, ne vous inquiétez pas si vous avez l'impression de n'avoir rien retenu. C'est normal de prendre plusieurs heures pour lire le cours et bien l'intégrer. Mieux vaut prendre le temps maintenant de tout comprendre pour ne pas avoir à le faire 1 semaine avant l'examen. Relisez ce cours régulièrement même si vous le détestez, au fur et à mesure, vous allez voir que votre cerveau retient de plus en plus d'infos.

PS : Faites attention pour la ronéo 2022-2023 de ce cours, il manque beaucoup d'infos et de schémas

Après ces belles paroles, place aux dédis

A vous les P1, que vous soyez en LAS 1 ou LAS 2/3, vous avez bien du courage de lire des cours de 29 pages.. Restez motivés et ne perdez jamais de vue vos objectifs. Pour la moindre question -> forum (pas Discord, je sais pas trop utiliser l'appli)

A tous les tuteurs que j'ai rencontrés cette année

A mes co-tuts en particulier

A la bioch, s'il vous plaît, ne partez pas avec une fausse idée de la bioch, si vous la travaillez régulièrement, tout se passera bien. Ceux qui impassent, JE VOUS VOIS

Au tutorat, car franchement, c'est une super ambiance

A mes amis

A moi, qui viens de finir cette fiche, sincèrement, y'a pleins de choses que j'avais lues sans vraiment me poser dessus, j'aurais dû, ça m'aurait évité d'apprendre des trucs bêtement sans comprendre. Je peux vous dire qu'après avoir passé des heures et des heures à faire cette fiche, je connais tout par coeur, comme vous j'en suis sûre :)

