



# Les protéines Partie 2

*Dans ce cours on va détailler la partie sur la structure quaternaire, puis le III) de notre plan. J'espère que vous êtes chauds pour ce cours qui est assez compliqué. Soyez concentrés et si vous vous rendez compte que vous n'êtes plus productifs, n'hésitez pas à faire une pause ou continuer le cours une prochaine fois.*

## I) Liaison peptidique

## II) Structure tridimensionnelle des protéines

- 1) Peptides-polypeptides-protéines
- 2) Masse / poids moléculaire des peptides et protéines
- 3) Le protéome
- 4) Relation entre la structure et la fonction d'une protéine

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

## III) Structures supramoléculaires et assemblages macromoléculaires





C'est parti, on reprend la fin de de la partie 1...

## D) Structure quaternaire



On va tous les décrire ? Oui  
oui malheureusement

### De la structure à la fonction :

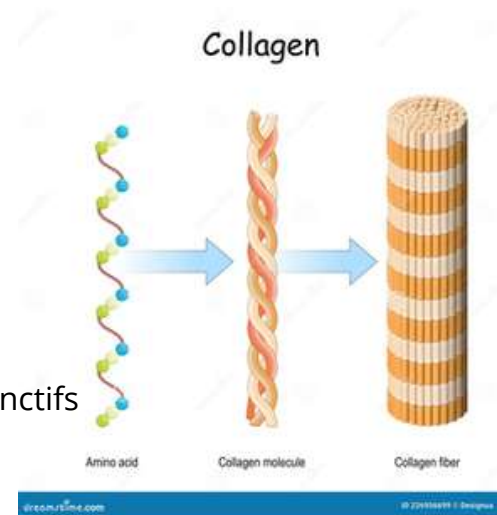
On va étudier **4 exemples de protéines** ayant des structures et fonctions différentes :

- 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%)**
- > présente dans la matrice extracellulaire des organismes animaux
- > caractérisée par une **grande résistance à la tension**
- > principalement produite par :
  - Les **fibroblastes** des tissus conjonctifs
  - Les **cellules musculaires lisses**
  - Les **cellules épithéliales**

*Coucou l'Histo*



On retrouve près de **27 types** de collagènes différents selon les chaînes alpha, codés par **43 gènes** et qui ont en commun certaines caractéristiques structurales comme :

- Il s'agit de **trimères** composés de **3 chaînes alpha** (*Attention: on parle de 3 chaînes et non de 3 hélices !*)
- Les 3 chaînes alpha forment une **triple hélice**. Les trimères s'alignent en rangée décalée
- La composition en AA : riches en **Proline**, en **4-hydroxyproline (HP)**, en **5-hydroxylysine** et en **Glycine** *Mes acides aminés, mes bébés. Eh oui il faut les connaître car on les utilise dans les autres cours*

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.

*Tout ça vous le connaissez déjà grâce au cours des AA. Si vous ne vous en rappelez plus, allez le revoir...*

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**





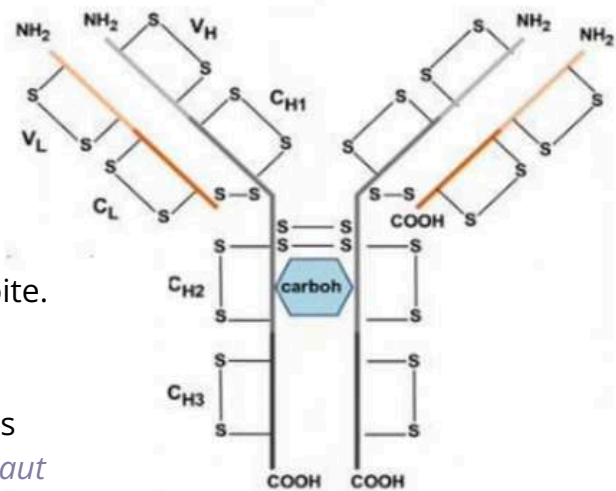
# • Les immunoglobulines (Ig) / Anticorps

- > Ce sont des **glyco**protéines
- > Existent sous forme **soluble** (*libre dans la circulation sanguine*) dans les liquides biologiques ou sous forme de **récepteurs membranaires exprimés à la surface des lymphocytes B ++**
- > Synthétisés par les lymphocytes B en réponse à l'exposition des protéines et autres molécules reconnues comme étrangères par l'organisme (=antigènes)
- > Fonction : **reconnaître + lier 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 (Mr = poids moléculaire = 150 000). Composés en majorité de protéines (82-96%) et une petite partie glucidique (4-18%) : *Suivez bien avec le schéma*

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

- **2 chaînes lourdes** identiques (H pour Heavy) (440-450 acides aminés / Mr 50 000) *les 2 grandes bleues en bas, et noires en haut*

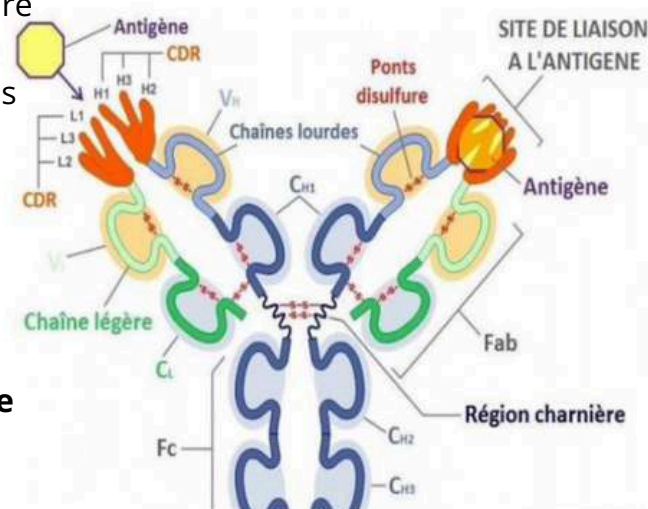


**Pour la structure fonctionnelle**, c'est une structure bipolaire

- 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 glycane** 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) :

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 :  $\lambda$  ou  $\kappa$
- Chaque chaîne contient 2 domaines : en N-term la région variable VL, en C-term la région constante CL

### La structure des chaînes lourdes (2 par Ig) :

Deux 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 ( $\mu$ ) / IgA ( $\alpha$ ) / IgG ( $\gamma$ ) / IgE ( $\epsilon$ ) / IgD ( $\delta$ )
- Chaque chaîne contient 4 domaines : en N-term la région variable VH, en C-term les 3 régions constantes CH

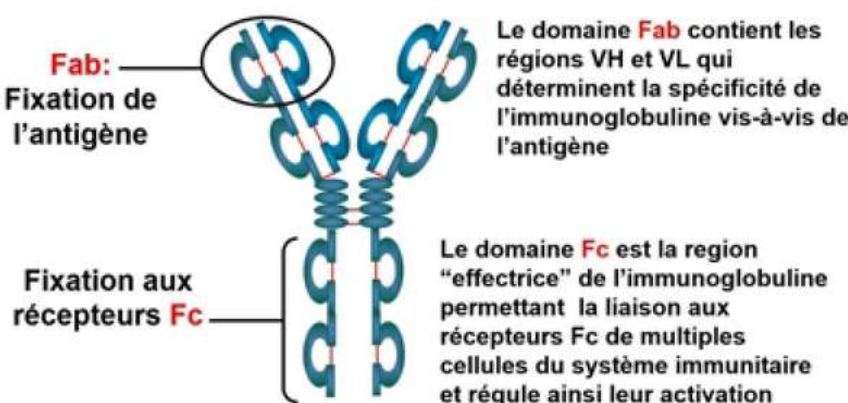
**Les sites de liaison de l'anticorps à l'antigène** : L'anticorps utilise son **paratope** pour se lier à l'**épitope** de son antigène. L'anticorps IgG a 2 domaines fonctionnels :

#### 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 hypervariables 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 :

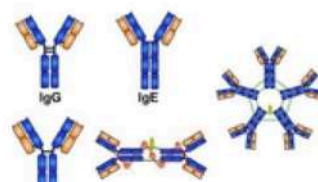
- Le domaine Fc est la région effectrice de l'Ig permettant la liaison aux récepteurs Fc de multiples cellules du système immunitaire (dont les phagocytes, les macrophages, les lymphocytes NK et B) et régule ainsi leur activation.



### Les 5 classes/isotypes d'immunoglobulines

IgG : chaîne lourde  $\gamma$  (gamma) : monomère  
 IgM : chaîne lourde  $\mu$  (mu) : pentamère  
 IgA : chaîne lourde  $\alpha$  (alpha) : mono ou dimère  
 IgD : chaîne lourde  $\delta$  (delta) : monomère  
 IgE : chaîne lourde  $\epsilon$  (epsilon) : monomère

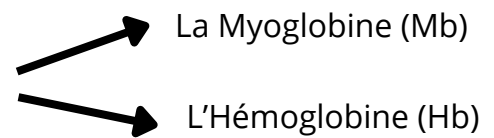
et chaîne légère  
 $\kappa$  (kappa) ou  $\lambda$  (lamda)



## Tut'Récap +++

- Une immunoglobuline est composée de : 2 chaînes lourdes identiques + 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 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)

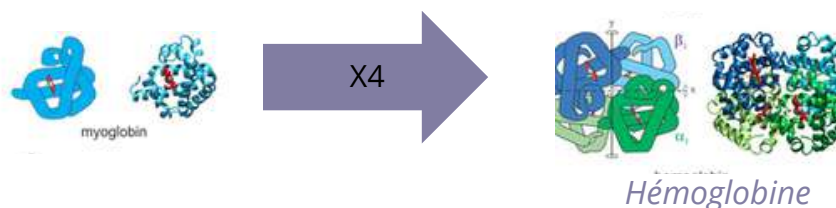
La fonction de ces protéines est :

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

*On fait bien attention : La Myoglobine ne fait que le stockage de l'oxygène et pas le transport. Alors que l'Hémoglobine fait les deux*

### Les caractéristiques structurales communes sont :

- Association de la partie protéique à un noyau organique polycyclique appelé « **hème** » comportant un atome de **Fer** (Fe<sup>2+</sup>). 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



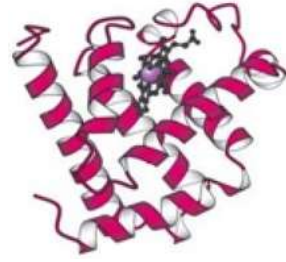
### Les caractéristiques structurales divergentes :

- **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 135 AA) composée à 78% de 8 hélices alpha connectées par des repliements
- 2) un groupe prosthétique (= molécule non-protéique liée à la protéine pour lui permettre de fonctionner) non-polypeptidique, l' "hème" , qui est responsable de la fixation de l'oxygène



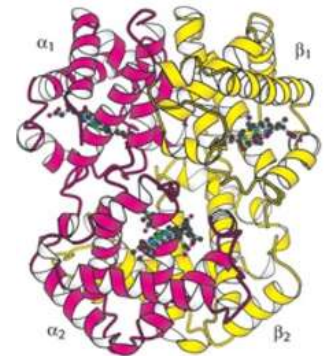
Le groupe prosthétique est maintenu dans la protéine au moyen de liaisons covalentes permanentes, ou de liaisons faibles par exemple les liaisons ioniques ou H.

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

- **Hémoglobine** :

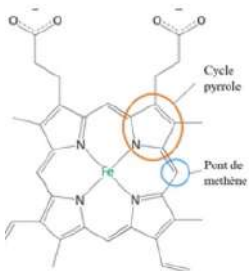
- Structure **tétramérique** liant à saturation **4 molécules d'oxygène**
- Stocke et transporte l'oxygène dans les **érythrocytes du sang** (des poumons vers les tissus)
- Sphère de diamètre 5,5nm. Structure quaternaire avec 2 sous-unités alpha identiques et 2 sous-unités bêta identiques qui sont liées par de fortes interactions hydrophobes impliquant plus de 30 AA. Les 4 sous-unités contiennent **chacune un groupe prosthétique hème, donc 4 hèmes par molécules d'Hb**. 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.

Bien que moins de la moitié des AA soit identique dans la sous unité alpha et bêta, leur structure 3D est similaire. De même leur structure tertiaire est similaire à celle de la myoglobine alors que les 3 polypeptidiques n'ont que dans 27 positions des AA identiques.

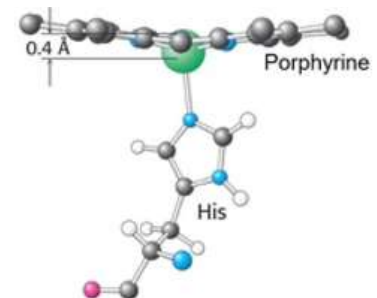


- **Hème** : permet à l'oxygène de se fixer à l'Hb

- 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.



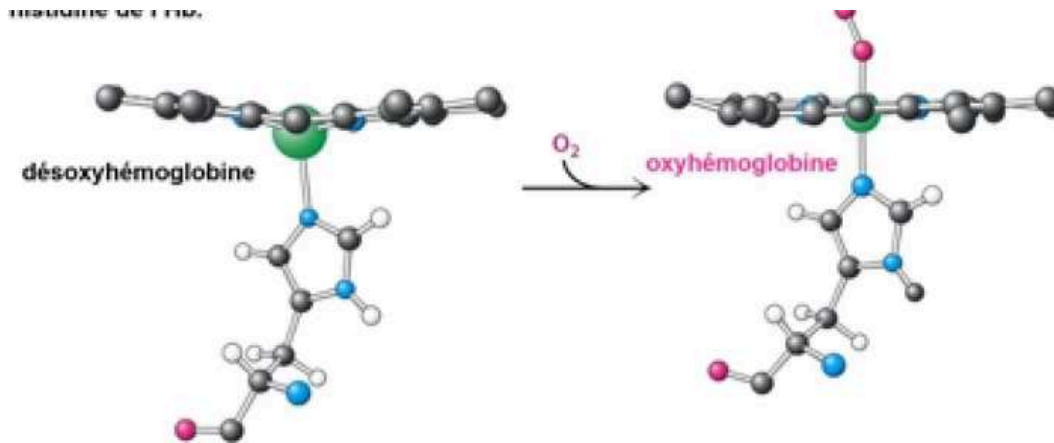
- Le Fer dans la **désoxyhémoglobine** peut former 2 autres liaisons de coordination, placées de chaque côté de l'anneau de Protoporphyrine. Une liaison relie l'atome de Fer à l'anneau imidazole d'un résidu histidine de la chaîne polypeptidique. (La liaison se fait sur un des azotes de l'histidine) **En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

Le Tutorat est gratuit. Toute reproduction ou vente est interdite





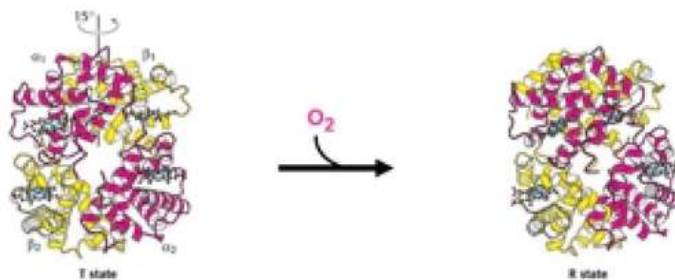
- Le Fer dans l'**oxyhémoglobine**, en présence d'oxygène, se lie au 6ème site de coordination du Fer. La liaison de l'oxygène produit un réarrangement des électrons de Fer, qui se déplacent à l'intérieur du plan de l'anneau de protoporphyrine « tirant avec lui » le résidu histidine de l'Hb.



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  $15^\circ$  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 déoxy -Hb	Correspond à l'oxy -Hb
Les 2 dimères $\alpha\beta$ sont <u>liés</u> par des interactions hydrophobes et polaires <b>limitant les mouvements</b> des polypeptides	La fixation de l'O <sub>2</sub> a <u>affaibli</u> certaines liaisons polaires entre les dimères <b>permettant des mouvements</b>
C'est la forme de l'Hb de <b>basse affinité</b> pour l'O <sub>2</sub> (mais elle reste capable de lier l'O <sub>2</sub> )	C'est la forme de l'Hb de <b>haute affinité</b> pour l'O <sub>2</sub>



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**.

*Bon vous allez voir qu'on détaille beaucoup cette coopérativité positive. C'est un peu dur à comprendre au début mais quand vous le comprendrez ça sera trop facile*





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



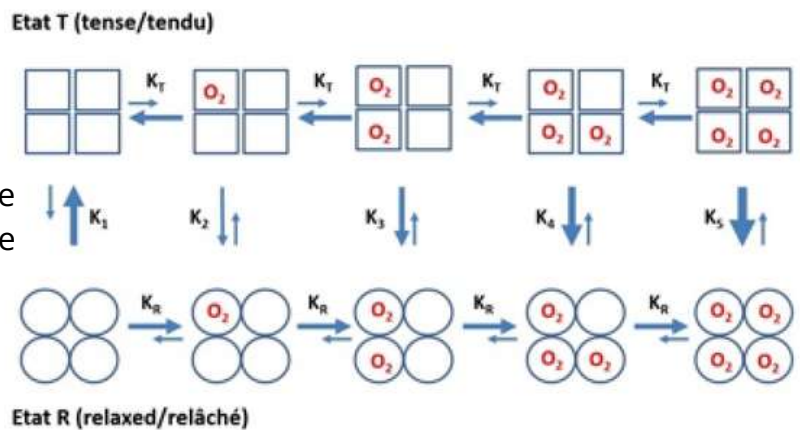
2 modèles ont été proposés pour expliquer la liaison coopérative :

- le modèle concerté avancé
- 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 formes 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'O<sub>2</sub>, l'équilibre se déplace vers la forme R (les cercles sur le schéma).

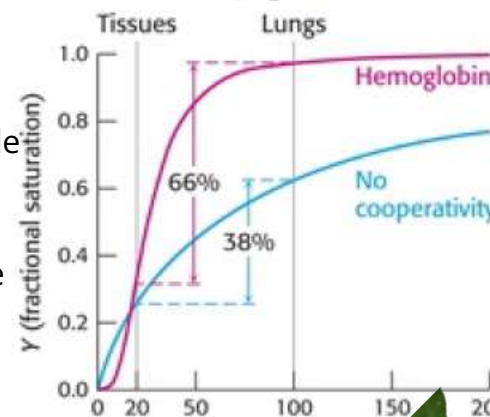
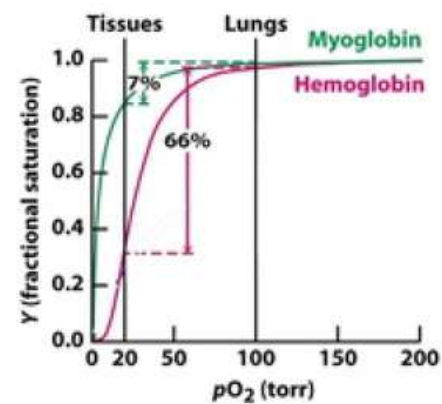
*Tut' rappel, T=tendu=pas d'oxygène  
R=relâché=présence oxygène*

### Liaison non-coopérative VS coopérativité positive :

Concernant la liaison de l'oxygène dans une situation de variation de pression d'oxygène

On a un graphique avec en ordonnée la saturation fractionnaire de l'Hb en fonction de la Pression partielle en O<sub>2</sub> (=pO<sub>2</sub>) en abscisse. (Sachant que la pression partielle est l'équivalent de la concentration des ces molécules dans le sang). *Donc là sur le graphique, comprenez que pO<sub>2</sub> 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 pO<sub>2</sub> en mmHg ou en Torr, avec 1 Torr = 1 mmHg. Pour rappel, dans les poumons, la pO<sub>2</sub> est environ de 100 mmHg et dans les tissus elle est d'environ 20 à 40 mmHg.

Si 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'O<sub>2</sub>**. 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'O<sub>2</sub>, a une affinité de liaison à l'O<sub>2</sub> au moins 20 fois supérieure à celle de l'Hb désoxygénée.**





## Les avantages de la fixation coopérative de l'O<sub>2</sub> à l'Hb :

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

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

- Si la pO<sub>2</sub> est faible (comme dans le muscle (pO<sub>2</sub>=20mmHg) et les tissus périphériques (pO<sub>2</sub><40mmHg), l'hémoglobine transfère mieux l'O<sub>2</sub> 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'O<sub>2</sub> à la myoglobine)*
- Si la pO<sub>2</sub> est forte (comme dans les poumons (pO<sub>2</sub>=100mmHg), la myoglobine transfère mieux l'O<sub>2</sub> à l'hémoglobine tétramérique et ses 4 chaînes permettent de fixer 4 molécules d'O<sub>2</sub> *Ici c'est l'inverse, on est dans une situation où il y a plein d'O<sub>2</sub> (=pO<sub>2</sub> 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'O<sub>2</sub> 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 plein de molécules qui vont tour à tour être phosphorylées.

*On commence avec une déf pour comprendre de quoi on parle*

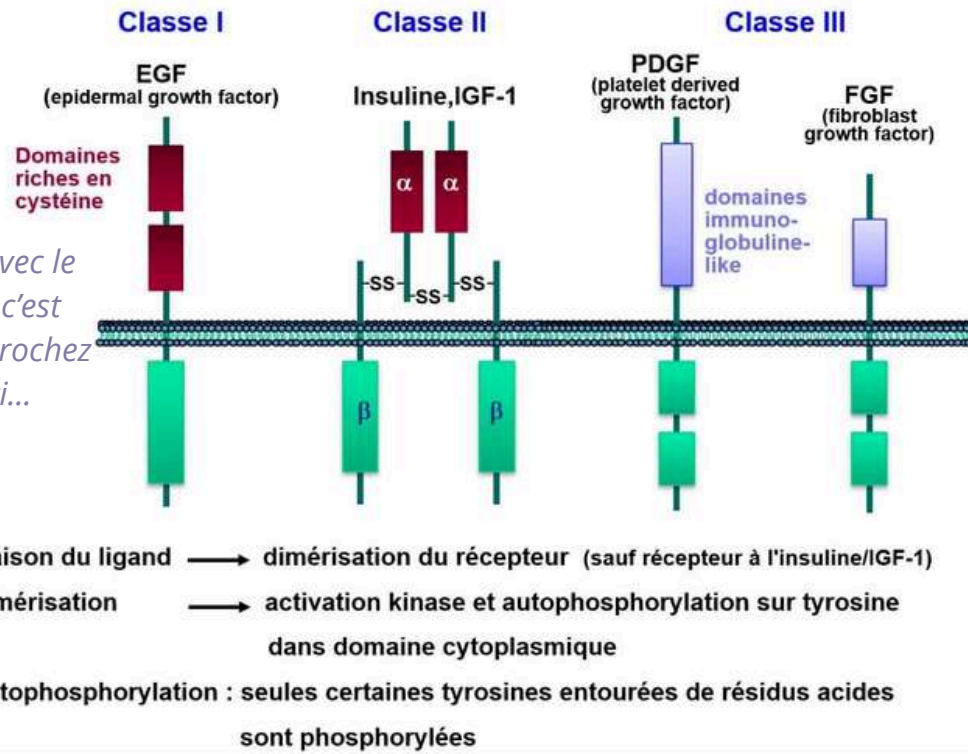
**Récepteur membranaire** = Protéine membranaire permettant la détection spécifique de molécules de signalisation extracellulaire (hormones, facteurs de croissance, ect) permettant la transduction de signaux intracellulaires.

Les récepteurs à activité tyrosine kinase ont beaucoup de points communs : +++

- 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-> coucou la pharmaco <3*
- **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



Il existe 3 grandes classes des récepteurs à activité tyrosine-kinase :



Bon là suivez bien avec le schéma parce que c'est assez compliqué. Accrochez-vous et c'est parti...

- 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 1 : 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**

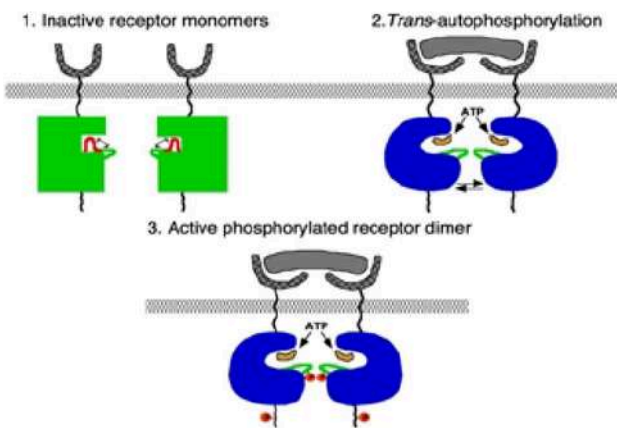


Dans les 2 cas → Rc dimérique qui est occupé par son ligand = activation de la tyrosine kinase = la kinase activée va phosphoryler des **tyrosines** dans la partie cytosolique du Rc lui-même (= **autophosphorylation**). Ces sites de phosphorylation sont des **sites d'ancrage** pour des molécules de **signalisation**.

- 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**

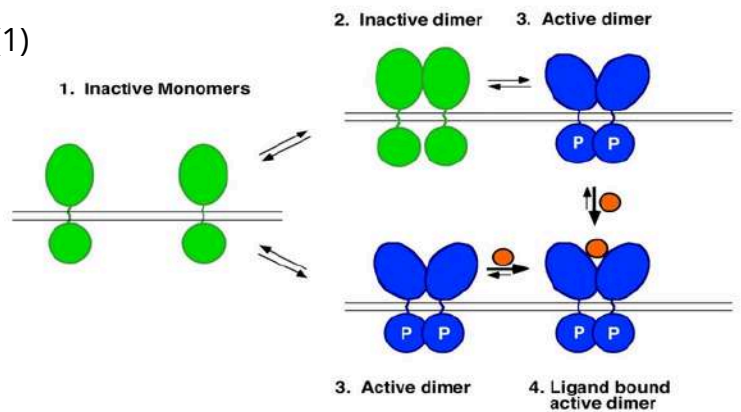
**Activation des récepteurs à activité tyrosine kinase : stabilisation de la dimérisation du récepteur par le ligand**

1 : 2 Rc monomériques inactifs en absence de ligand

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

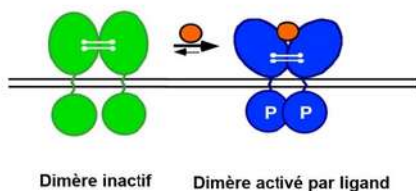
3 : dimère actif (on le voit avec le P pour phosphorylation) , en équilibre avec la situation (2).

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**



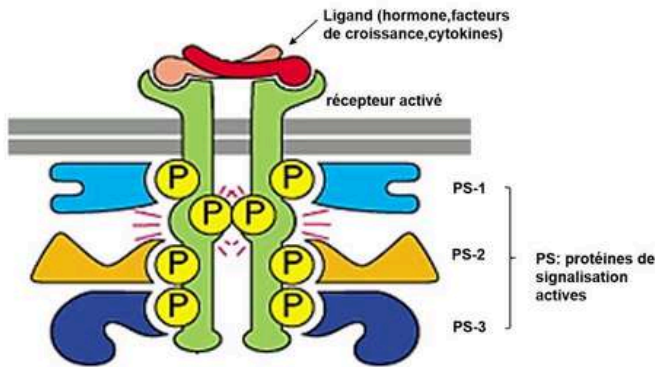
Rc dimérique en absence de ligand. La liaison du ligand entraîne un changement de conformation qui active la kinase, et résulte en la phosphorylation du Rc





## 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 les cercles 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

Je vous ai laissé les diapos du prof car il fait tomber ce qui a écrit dessus, donc lisez les !

- PTB et SH2 sont des domaines qui reconnaissent des tyrosines
- Pour PTB, ce sont des AA à gauche qui participent à sa spécificité
- Pour SH2, ce sont des AA à droite de la phosphotyrosine
- Dans SH2, il y a une Arginine qui est extrêmement conservée
- PH permet d'amener des molécules de la signalisation vers la membrane plasmique

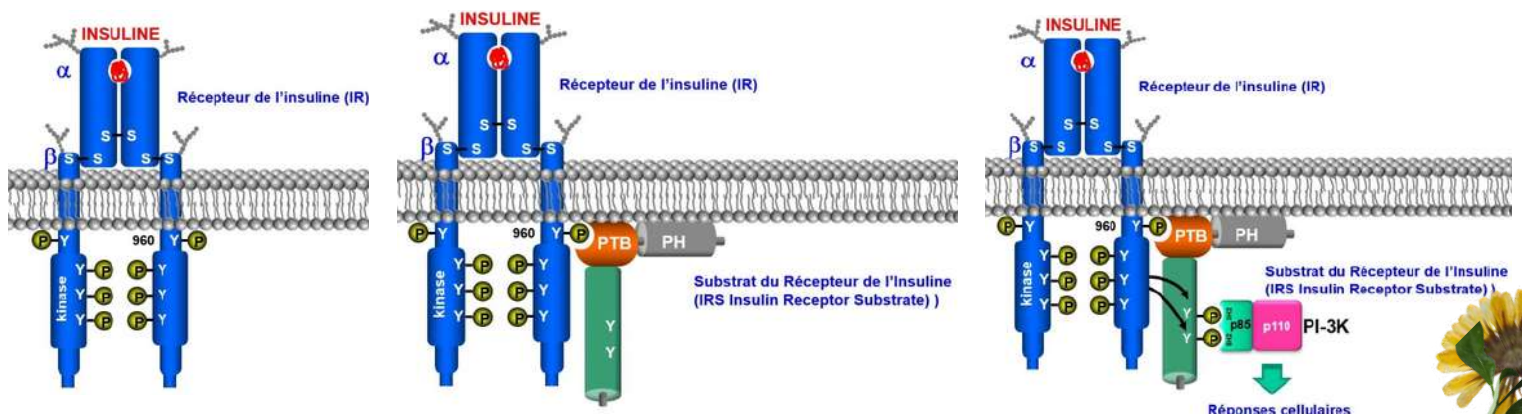
### Domaines d'interaction dans protéines de signalisation

- **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 pratiquement sur toutes les cellules. C'est un Rc oligomérique (-> on se souvient de protéine partie 1? = 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**+++



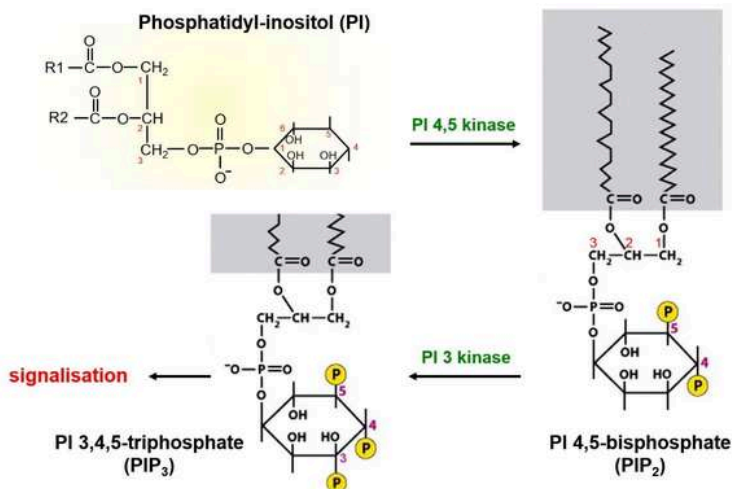
## Activation du Rc de l'insuline :

- Fixation de l'insuline 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 = phosphoinosityl 3 kinase) :

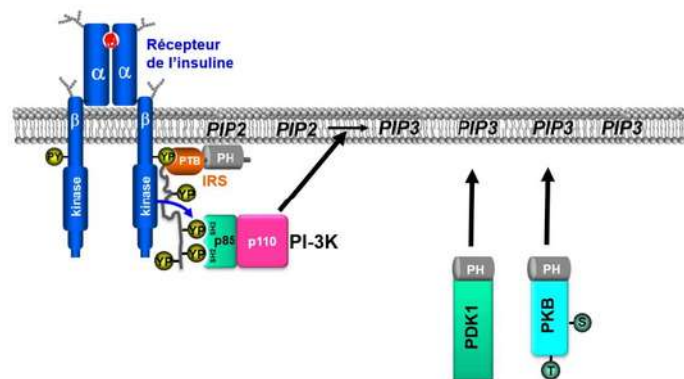


Relai important des signaux engendrés par de nombreux facteurs de croissance et hormones (comme l'insuline).

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 **PIP<sub>2</sub>** qui lui-même va être phosphorylé en **PIP<sub>3</sub>** 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**.

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.



IRS : Insulin Receptor Substrate

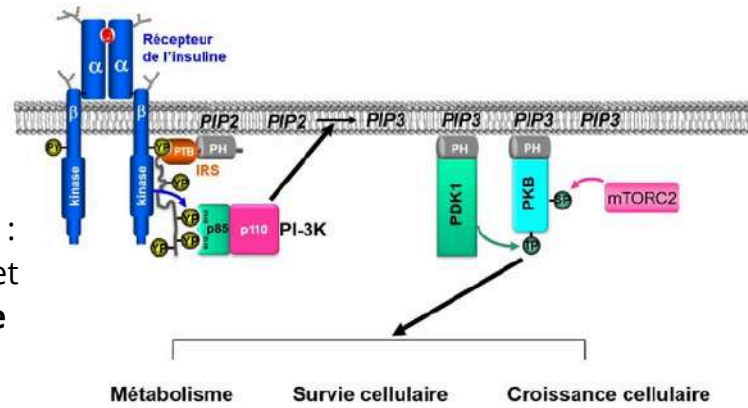
PDK1/PKB/mTORC2: S/T kinases (kinases phosphorylant sur sérine ou/et thréonine)

PDK1: Phosphoinositide Dependent Kinase-1

PKB: Protéine Kinase B



En effet, l'accrochage membranaire de **PKB** 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 totalelement active. Elle permet ainsi d'envoyer des **signaux métaboliques**, de **survie cellulaire** ou de **croissance cellulaire**, transmis par **l'insuline au tout début**.



mTORC2: mammalian Target Of Rapamycin Complex 2

### III) Structures supramoléculaires et assemblages macromoléculaires



*C'est la dernière partie et elle est super courte!! Courage<3*

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 polymérase. 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.



*Alors vous êtes comme le bonhomme à droite ou à gauche? A droite j'espère!*





## QCMs du prof !!! +++

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

- A) Les groupements  $-C=O$  et  $-NH$  de la liaison peptidique sont fortement chargés.
- B) Dans les protéines globulaires, les résidus hydrophiles sont le plus souvent à l'intérieur de ces protéines.
- C) 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).
- D) La plupart des liaisons peptidiques ont la configuration en Trans
- E) Les brins des feuilletés bêta correspondent à des structures moins « étirées » que les hélices alpha.
- F) Dans un feuilleté bêta plissé les liaisons hydrogène entre deux chaînes sont à des intervalles réguliers d'acides aminés.
- G) Pas toutes les protéines ont une structure quaternaire.

*On fait les dédiiiiis avant la correction :*

- *Dédi à vous d'avoir fini avec la structu ! Oui je sais que c'est le cours le plus compliqué et qu'il est pas cool à voir mais s'il vous plaît bossé le et faite pas comme si il n'existé pas, please !*
- *Dédi à la BU de Valrose, surtout l'étage. Eh oui c'est ma deuxième maison, j'ai bossé toute l'année là-bas. Si vous n'avez pas encore essayé de travailler à la BU, essayez au moins une fois. Chauffez vos amis à venir avec vous et passez une journée ensemble. Vous allez voir c'est trop bien. En plus vous voyez des gens, vous rentrez chez vous le soir et vous n'avez plus besoin de travailler. Ca vous sort et vous fait même un peu de sport!! C'est tout bénéf!! ( PS je vous jure que je ne suis pas payée pour faire la PUB de la BU, mdr)*
- *Dédi à mon appartement à Nice, juste parce qu'il est trop bien et trop beau*
- *Dédi à mes fillots : Marine, Axel, Alizé, Romain, Camille et Audrey ! Je suis sûre que vous allez tout déchirer, force à vous. L'année prochaine j'espère que vous serez tuteurs de Biochimie (nonnnnn je force pas du tout !)*
- *Dédi à mon co-parrain Sandro, grâce à lui et aux fillots, notre famille est géniale et vivante !*
- *Dédi à moi, (je vous jure que je ne suis pas imbu de moi même) mais là quand j'écris les dédis je suis coincée dans le train pour revenir sur Nice, on connait les galère du train! Y'a un feu sur la voie et je crois que je vais être coincée encore très longtemps. Force à moi! Au moins j'ai le temps de peaufiner cette fiche. Bon trêve de blabla : maintenant place aux Anti- dédis:*
- *Forcément, roulement de tambours .... Anti dédi à SNCF, toujours un problème !!!!!!!!!!!*

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 +++

