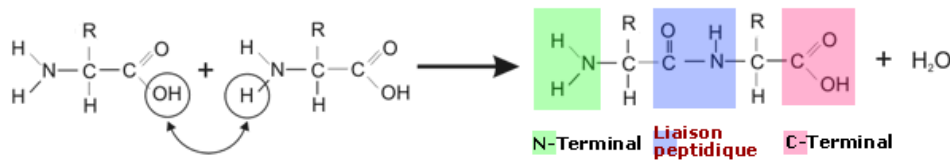


# Les protéines

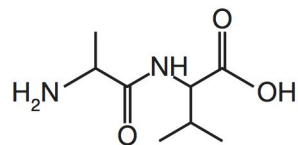
## Formation des protéines à partir de la condensation des acides aminés

Les AA vont se rattacher, à la suite, grâce à une **liaison peptidique (liaison amide)**, le ciment de base de toutes les structures protéiques, entre l'**ion carboxylate** d'un AA qui réagit avec l'**amine protoné** d'un autre AA en libérant une molécule d'eau.

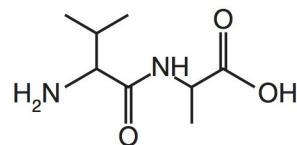


Dans une protéine, c'est la **séquence** qui est importante. La **diversité** est liée aux **enchaînements** réalisés à partir de **20 acides aminés**.

Par exemple, dans la liaison peptidique entre une Valine et une Alanine, dans le sens AV, le peptide est différent que le peptide VA. On lit une **séquence d'AA** du **N terminal** vers le **C terminal**.



ala-val



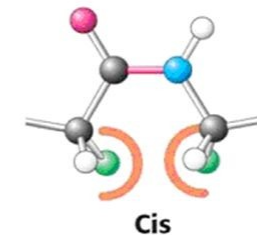
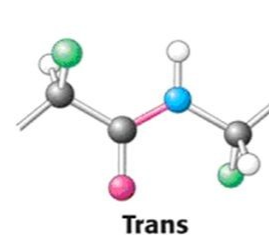
val-ala

Au niveau du **N terminal (groupement alpha amino)** et **C terminal (groupement alpha carboxyl)** les groupes COO et NH3 restent chargés (**charge nette**) contrairement aux groupements impliqués dans la **liaison peptidique** qui eux sont **polaires** mais **non chargés (charge partielle)**

On retrouve aussi d'autres **groupes chargés** qui sont les groupements ionisés des **chaînes latérales** des acides aminés du polypeptide.

La **liaison peptidique** ainsi que la **nature des acides aminés** vont imposer une **structure spatiale** à la protéine.

Elle se fait en **TRANS** (sauf pour la **proline** qui est en **CIS**), ce qui veut dire que le R de 2 AA voisins change de position comme schématisé ici :



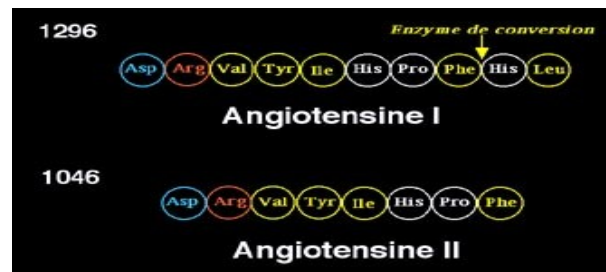
- n'a pas de **flexibilité possible** (une flexibilité est au contraire possible au niveau des terminaisons N et C terminales)
- est pratiquement une **liaison covalente**
- a une longueur bien définie de **1,32 Å** (angström)

## Structure tridimensionnelle des protéines

### structure primaire

La structure primaire correspond à l'**ordre** dans lequel les acides aminés sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Elle constitue le **squelette du peptide**, les chaînes latérales des acides aminés sont des substituants à cette épine dorsale.

- 2 AA : dipeptide
- 3 AA : tripeptide
- polypeptide < 50 aa
- protéine > 50 aa

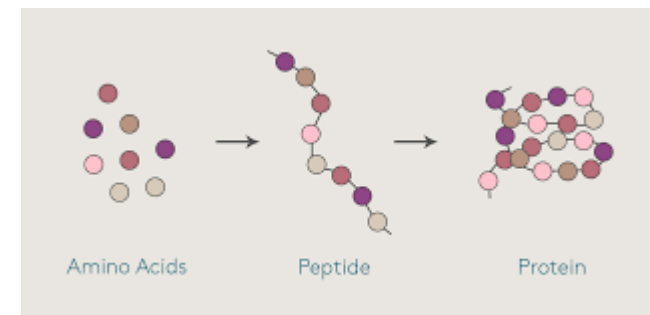


*exemple : l'angiotensine 2, hormone humaine impliquée dans la régulation de la pression artérielle*  
L'angiotensine 2 est composée de 8 aa reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Elle possède une structure simple mais joue malgré tout un rôle extrêmement important. Tout autre agencement des acides aminés de ce peptide entraîne une perte de l'activité biologique

### Caractéristiques de la structure primaire

- ✓ linéaire
- ✓ ordonnée (code génétique)
- ✓ constituée d'une succession d'aa unis par liaisons peptidiques écrite, par convention, de l'extrémité N term vers l'extrémité c terminal
- ✓ non fonctionnelle
- ✓ non thermodynamiquement favorable

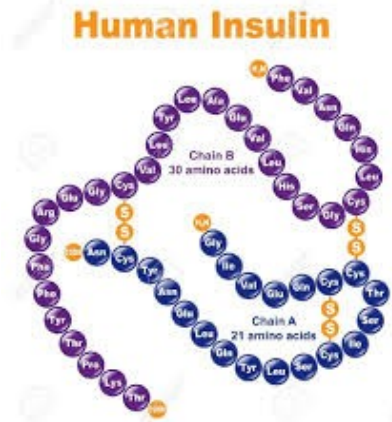
La structure primaire **détermine** la **structure finale** de la protéine. La séquence des aa dans une chaîne protéique est **déterminante** pour la **structure** et la **fonction** de la protéine. Une disposition des mêmes aa dans un ordre différent crée un polypeptide ou une protéine qui n'a plus la même fonction que la séquence initiale.



Exemple : l'**insuline**, hormone très importante dans la régulation de la glycémie (pathologie associée : le diabète) l'insuline est composée de deux chaînes d'aa : à partir de l'enchaînement linéaire visible ci-dessus, on peut déjà anticiper la formation de ponts disulfure grâce à la présence des cystéines

ces ponts disulfures peuvent être :

- intra chaîne
- inter chaîne



La **séquence** de l'enchaînement des aa est **unique** pour chaque protéine. Cette séquence est déterminée par le gène codant pour la protéine. ⚠ La structure primaire peut donner des **indications** sur les **structures secondaires et tertiaires** mais ne permet pas de définir la structure tridimensionnelle de la protéine. Une même séquence peut se retrouver dans des structures secondaires et tertiaires différentes. ⚠

La **nature** des aa présents dans la protéine peut également **suggérer** leur répartition future au sein de celle-ci .

La notion de **polarité** peut être associée à la notion d'hydrophilie et d'hydrophobie. En effet, un aa **polaire** sera **hydrophile** (qui aime l'eau,

minute français : phile = qui aime, hydro = eau) et principalement retrouvé à la **surface** de la protéine, contrairement à un aa **apolaire** qui sera **hydrophobe** et retrouvé au **centre** de la molécule.

La **répartition** des aa au sein d'une protéine peut donc dépendre de leur **charge** et de leur **polarité** : ces indices sont **déjà visibles** sur l'enchaînement linéaire de la **structure primaire**.

## Les fonctions des protéines

- formation et maintien des structures
  - collagène
  - kératine
- transporteurs
  - hémoglobine
  - transporteurs transmembranaires
- catalyse par des enzymes
  - phosphatases, protéines kinases
- mouvement
  - actine/myosine
- défense/ protection
  - immunoglobuline gamma
- contrôle et régulation
  - insuline/glucagon

<b>dipeptide</b>	2 aa reliés par une liaison peptidique L'aspartame qui agit en tant qu'édulcorant utilisé en remplacement du sucre de canne, est composé de l'acide aspartique et du phénylalanine pas de structure tridimensionnelle
<b>tripeptide</b>	3 aa reliés par 2 liaisons peptidiques le glutathion (GSH) est formé à partir du glutamate, de la cystéine et de la glycine
<b>octapeptide</b>	8 aa reliés par 7 liaisons peptidiques L'angiotensine 2 est impliquée dans la régulation de la pression artérielle chez l'homme
<b>polypeptide</b>	Constitué de 10 à 50 aa l'insuline est formé de 2 chaînes unies par 2 ponts disulfures : une chaîne A de 21 aa et une chaîne B de 30 aa : c'est la seule hormone hypoglycémiante de l'organisme (revu en métabo)

## Action des enzymes protéolytiques

### Endoprotéases : attaquent le peptide à l'intérieur

En général ce sont des sérines protéases, attention cela ne veut pas dire qu'elles coupent au niveau d'une sérine mais qu'elles possèdent une sérine dans leur site actif. Elles reconnaissent et se lient à de courtes séquences spécifiques puis hydrolysent la liaison peptidique de façon plus ou moins spécifique.

☛ **Trypsine** : hydrolyse la liaison peptidique côté C term de la lysine et l'arginine (à droite de Lys et Arg)

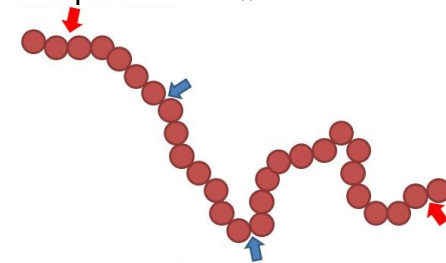
☛ **Chymotrypsine** : hydrolyse la liaison côté C term du phénylalanine, du tryptophane et de la tyrosine (à droite de Phe, Trp, Tyr)

### Exoprotéase : attaquent le peptide à partir de ses extrémités

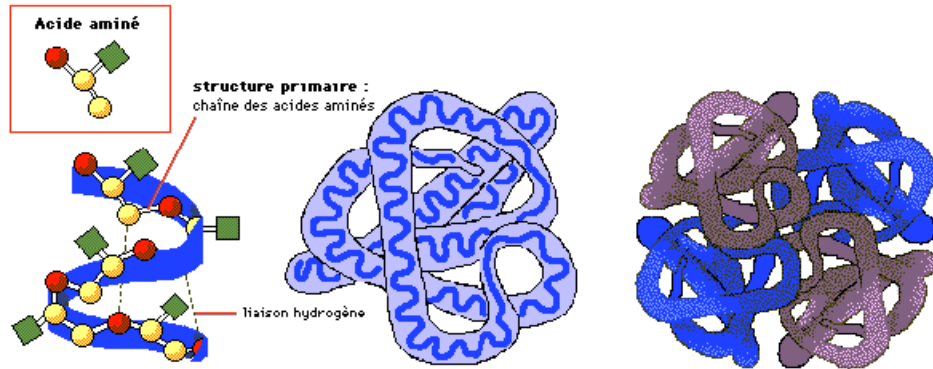
☛ **Aminopeptidase** : hydrolyse la liaison depuis l'extrémité N terminal

☛ **Carboxypeptidase** : hydrolyse la liaison depuis l'extrémité C term

⚠ Pour la plupart des protéines (endo et exo), la présence d'une proline (pro) en aval de la liaison peptidique réduit ou empêche son action. Par contre, il existe des protéases Proline spécifiques (aminopeptidase P/carboxypeptidase P)  
A noter que la présence d'une proline en amont de la liaison gêne en général moins. ⚠



## Repliement des protéines : structure tridimensionnelle



Le squelette polypeptidique n'assume pas à lui seul la structure tridimensionnelle de la protéine. Cette structure dépend d'arrangements d'acides aminés localisés **séquentiellement** dans la séquence primaire.

### La structure secondaire

Les **arrangements** ont lieu dans le **cytosol** et sont dû à des **interactions** spécifiques entre les aa de la structure primaire. Ils s'effectuent seuls ou grâce à l'intervention de protéines chaperonnes, qui ont pour fonction d'aider les protéines à s'organiser dans l'espace (piège : les protéines chaperonnes ne sont pas obligatoires, elles peuvent intervenir)

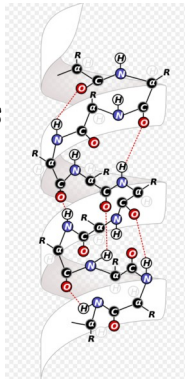


### Caractéristiques de la structure secondaire

- ✓ obtention d'un niveau **énergétique** plus bas : **augmentation** de la **stabilité**
- ✓ **non linéaire**
- ✓ formée et stabilisée par des **liaisons hydrogènes**
- ✓ présence de **motifs répétitifs** à l'intérieur de la structure tridimensionnelle d'une protéine
- ✓ La structure secondaire est déterminée par la présence de motifs tridimensionnels répétitifs : les **hélices alpha** et les **feuillets bêta**

### Les hélices alpha

- Il s'agit d'une structure **hélicoïdale** stabilisée par des **liaisons** (= pont) **hydrogènes**
- Ces liaisons hydrogènes se forment entre l'**oxygène** du groupement **aminé** de la **liaison peptidique** d'un autre aa. Le pont hydrogène a une longueur bien définie puisqu'il se forme entre un oxygène et un hydrogène obligatoirement séparés par **4 aa** (**liaison entre n et n+3**)
- Les chaînes latérales des aa sont dirigés vers l'**extérieur** de l'hélice afin de **ne pas encombrer** la protéine et de la **stabiliser** au maximum.
- Les groupement **carbonyles** et **amines** qui participent à la mise en place des ponts hydrogènes ne sont **pas ionisés** mais ils sont **polarisés**.





Les liaisons hydrogènes sont **parallèles** à l'hélice pour permettre sa **flexibilité**.

Chaque **tour d'hélice** contient environ **3,6 aa** (voir 4)

L'hélice possède un **pas** (un sens) : le pas est à **droite** c'est à dire que la séquence primaire de la protéine s'enroule dans le **sens des aiguilles d'une montre**.

La **proline** possède une **structure particulière, cyclique** et très **rigide** : son groupement **amino secondaire** n'est **pas compatible** d'un point de vue géométrique avec la **spirale à pas à droite**. De plus, il insère un **coude bêta** dans la chaîne et perturbe la formation des hélices alpha

D'autres aa (**glu asp his lys arg**) ne **favorisent pas** la formation des hélices de part leur charge : ils altèrent l'organisation de l'**hélice alpha** par création de **liaisons ioniques ou électrostatiques**.

## Les feuillets bêta



Il s'agit d'une structure **étirée, plissée**, composée de morceaux de polypeptides qui s'alignent les uns à côté des autres.

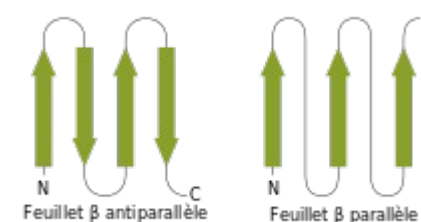
Des **ponts hydrogènes** stabilisent la structure, cependant contrairement à l'hélice alpha, l'**oxygène** et l'**hydrogène** impliqués dans la liaison n'ont **pas** à être séparés d'un **nombre précis** d'aa.

Les **chaînes latérales** des aa se placent **au dessus** ou **en dessous** du feuillet afin d'obtenir une **stabilité maximale**. Elles peuvent être **chargées** et ou **polaires** permettant d'autres interactions.

On retrouve **deux types de feuillets** selon leur disposition :

→ **Feuillet bêta parallèle** : les chaînes polypeptidiques sont parallèles entre elles et de **même sens**

→ **Feuillet bêta antiparallèle** : les chaînes polypeptidiques sont parallèles entre elles mais de **sens opposées**



Les aa qui **favorisent le feuillet bêta** sont la **valine** et l'**isoleucine**

Les aa qui **défavorisent** le feuillet sont la **proline** (de part sa structure rigide) et la **lysine** (de part sa taille car il est minuscule)

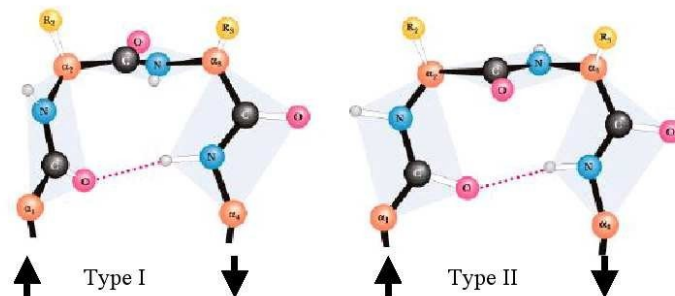
Les feuillets bêta sont beaucoup retrouvés dans les **protéines fibreuses kératine bêta**.

➡ La plupart des protéines ne sont pas formées exclusivement d'hélice alpha ou exclusivement de feuillet bêta mais d'une **combinaison des 2**

exemple : l'actine composée d'un motif bêta alpha bêta

➡ La structure qui permet la transition entre les **hélices** et les **feuilletés** s'appelle le **coude bêta**.

### Le coude bêta



➡ Il induit un **changement de direction** au sein d'une chaîne et permet à la protéine de se **plier** dans l'espace.

➡ Il est observé à la **surface** des protéines

Cette structure est très fréquente, surtout dans les protéines **globulaires** dans lesquelles on retrouve jusqu'à **1/3 des aa de la protéine impliqués dans la formation des coudes**. Ils sont également présents dans les **feuilletés bêta antiparallèles**.

➡ Il est composé de **4 aa** :

En **position 2**, on retrouve la **proline** : sa structure en **CIS** permet à la protéine de se plier en formant un angle droit.

En **position 3** on retrouve la **glycine** : il est **petit et flexible**.

Le coude est stabilisé par un **pont hydrogène** entre les aa **1 et 4**, toujours **polaires**

La liaison peptidique des deux **résidus centraux** ne participe pas à des **liaisons hydrogènes inter résidus**.

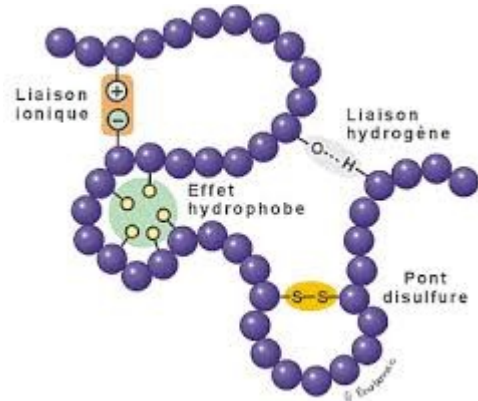
### La structure tertiaire

Elle correspond à l'organisation tridimensionnelle de la protéine. Elle résulte du **repliement** de la **chaîne polypeptidique sur elle même** (**torsions, pliages**) : elle est donc non linéaire.

### Caractéristiques de la structure tertiaires

- ✓ niveau énergétique **le plus faible**
- ✓ thermodynamiquement **la plus favorable**
- ✓ indispensable pour que la protéine soit **fonctionnelle** et porteuse de la **fonction biologique**
- ✓ Sa **détérioration** est synonyme de **perte de la fonction biologique**
- ✓ Stabilisée par une série d'**interactions** impliquant des interactions covalentes (stables et fortes) et non covalente (de moindre énergie)

## Les interactions non covalentes



La formation des liaisons non covalentes se fait **spontanément**, sans nécessité d'intervention enzymatique

**Interactions polaires et ioniques (ponts salins) : niveau énergétique faible**

- Il s'agit d'associations à l'**intérieur** ou à l'**extérieur** de la protéine, entre des groupements polaires chargés d'aa et ou des molécules d'eau à la surface de la structure tertiaires
- Elles sont dépendantes du Ph
- 2 types d'interactions sont retrouvés :

☞ **La liaison hydrogène : polaire et hydrophile**

→ association entre les groupements **polaires** de deux aa

→ association entre les groupements **polaires** d'aa à la **surface** de la **protéine** et l'eau (augmente la solubilité de la protéine)

☞ **la liaison ionique/électrostatique**

→ interaction entre 2 groupements de **charges opposés**  
exemple : un aspartate chargé négativement se lie à une lysine chargée positivement au sein d'une même protéine

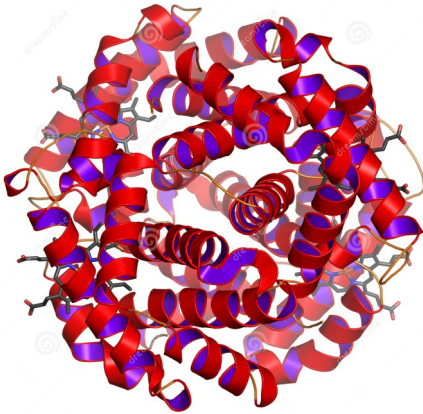
△ remarque : la plupart des groupes chargés à la surface d'une protéine interagissent avec l'eau plutôt qu'entre eux

## Les interactions covalentes

- ☞ Les ponts disulfures **intra chaînes** ou **inter chaînes** : niveau énergétique **élevé**
- ☞ La liaison se forme entre les fonctions **thiols** de deux **cystéines**
- ☞ Contrairement aux liaisons non covalentes, leur **formation** n'est **pas spontanée** : elle nécessite l'intervention d'une **enzyme** ou d'un **agent oxydant**.
- ☞ Les **ponts disulfures** restreignent la **flexibilité** de la protéine et sont **difficiles à casser**.



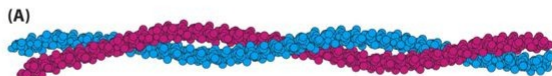
## Protéines globulaires



- Elles possèdent une structure **compacte** et une forme **sphérique**.
- Leur composition est variable : elles peuvent comporter soit des **hélices alpha**, soit des **feuilletés beta**, soit les deux .
- Le plus souvent les résidus **hydrophiles** sont positionnés à la **surface** et les **hydrophobes** à l'**intérieur** de la protéine.
- Les protéines globulaires sont impliquées dans des fonctions de **synthèse**, de **transport** et dans le **métabolisme cellulaire**.

*Exemple : la myoglobine, de structure compacte et riche en hélice alpha, participe au transport de l'oxygène au niveau des muscles.*

## Protéines fibrillaires



- Elles sont de formes **longitudinales** et semblables à des fibres.
- Toutes** les protéines fibrillaires sont **insolubles** dans l'eau en raison de leur fort pourcentage d'**acides aminés apolaires** à la fois à l'**intérieur** mais aussi à l'**extérieur** de la chaîne polypeptidique . La présence de ces aa apolaires à la surface induit des associations entre elles pour former des **complexes supramoléculaires**.
- Leur rôle est essentiellement **structurel**.

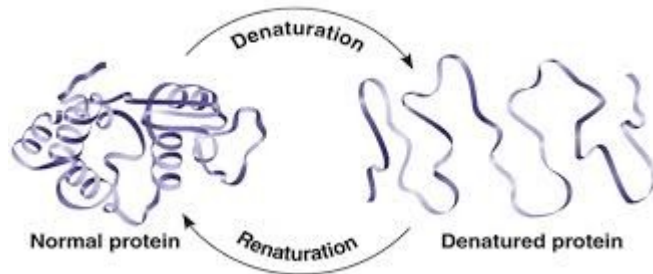
*Exemple : la kératine alpha est un composé essentiel des cheveux, de la peau et des ongles.*

*Elle présente une structure très riche en hélice alpha composée à partir de 7 acides aminés en séquences répétitives. Deux hélices peuvent s'enrouler l'une sur l'autre et être stabilisées par des interactions hydrophobes. Leur composition riche en cystéines permet la formation de nombreux ponts disulfures, permettant d'augmenter la stabilité des protéines.*

Attention à ne pas confondre la kératine **alpha** de la kératine **bêta** :

- La kératine **bêta** est très riche en **feuilletés bêta**. Elle se retrouve dans la **peau** et les **écailles** des reptiles car elle les rend très **rigide** et **étanche** (permet d'éviter la **dessiccation**) et chez les oiseaux (bec , griffe, écailles, plumes).
- La kératine alpha est très riche en **hélice alpha** Elle se retrouve dans la **peau**, les **cheveux** et les **ongles** des mammifères.
- Ce sont toutes les 2 des **protéines fibrillaires** possédant une **structure similaire** mais une **fonction différentes**

## Altération de la structure tridimensionnelle des protéines



### Anomalie de la structure primaire

Elle résulte de la **mutation ponctuelle** d'un acide aminé important pour la structure tridimensionnelle. Elle provoque donc l'altération de la structure primaire et de la structure tridimensionnelle. On obtient alors une **molécule** très (**trop**) **active**, c'est le cas des oncogènes ou une **molécule inactive**.

*Exemple : la drépanocytose*

*Le glutamate en position 6 est remplacé par une valine, induisant, la formation d'une hémoglobine HbS altérée. Elle se distingue de l'hémoglobine HbA originale par l'insolubilité de sa forme désoxygénée qui cristallise facilement (problème d'oxygénation des tissus)*

## Dysfonctionnement des protéines d'assemblage

☞ Ce dysfonctionnement provoque l'accumulation d'**agrégats**, physiologiquement présents en **très petite quantité**

Maladies	Protéines impliquées
Alzheimer	Peptide $\alpha\beta$
Parkinson	$\alpha$ -synucléine
Creutzfeld-Jacob	Protéine à prion

Elles n'ont **pas** une origine **génétique** et ne résultent **pas** d'une **mutation** : c'est **uniquement** un problème d'**assemblage**.

## Structure quaternaire

En résulte de l'**assemblage** (oligomérisation) de **deux** ou **plusieurs** chaînes polypeptidiques

- ➔ **Homo oligomérisation** : association de chaînes identiques
- ➔ **Hétéro oligomérisation** : association de chaînes différentes

- ☞ Chaque chaîne constitue une sous unité
- ☞ L'assemblage des protéines dans la cellule s'effectue par complémentarité et est stabilisé par diverses interactions électrostatiques impliquant des groupements ioniques
  - liaison hydrogène
  - hydrophobe
  - ponts disulfures

☞ Parmi les structures protéiques connues, environ la **moitié** est sous forme **quaternaire** dont **2/3** sous forme **homomère** et **1/3** sous forme **hétéromère**

☞ Ainsi, toutes les protéines ne possèdent pas de fonction quaternaire

*Exemple d'hétéro oligomère : le récepteur à l'insuline*  
 Il est composé de quatre sous unités : 2 sous unités alpha (qui reconnaissent l'insuline) et 2 sous unités bêta (qui portent l'activité tyrosine kinase), reliées entre elles par des ponts disulfures. Elles forment un récepteur qui permet la régulation de la glycémie

## Dénaturation des protéines

☞ La dénaturation est un **processus physique** qui détruit les structures secondaires, tertiaires et quaternaires de la protéine, induisant la **perte de la fonction biologique**.

☞ La **structure primaire** n'est **pas altérée** : la **seule façon** de la dénaturer est d'**hydrolyser** les **liaisons peptidiques**.

☞ Elle peut être **réversible** après disparition de la cause/ de l'agent dénaturant mais la plupart des protéines une fois dénaturées restent **altérées** et deviennent **insolubles** (elles précipitent en solution)

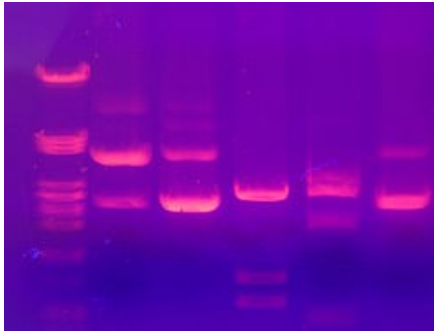
## Les différents facteurs pouvant être à l'origine de la dénaturation

- ✓ Le **changement de pH** (bases/acides forts) : modifie les capacités d'interactions ioniques (**ponts salins, liaisons hydrogènes**) impliquées dans la stabilité de la structure de la protéines
- ✓ Les **composés organiques** (urée, détergent, chaleur) : causent la rupture des **liaisons hydrogènes** et l'altération des **liaisons hydrophobes**
- ✓ Les **ions de métaux lourds** (plomb) : perturbent les **ponts salins** et les **ponts disulfures**

## Les différentes techniques d'analyse

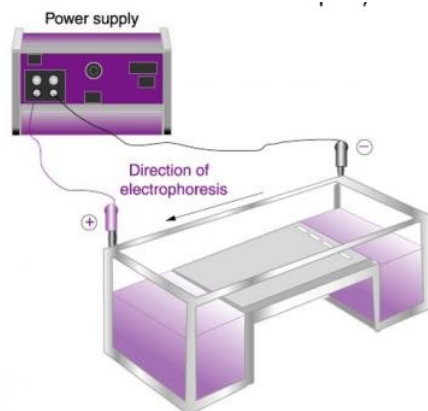
Elles sont utilisées en **pathologie** et en **recherche** pour **identifier** et **quantifier** des protéines

## ■ L'électrophorèse

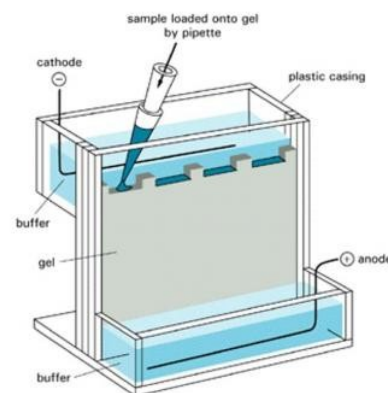


Les protéines sont séparées selon leur taille et leur charge

**Montage** : on crée un champ électrique entre une cathode négative et une anode positive. On prend un échantillon comportant une protéine inconnue et on y ajoute des agents pour la dénaturer/ débobiner. On ajoute un agent appelé SDS chargé négativement : plus la protéine est grosse, plus la quantité de SDS qui s'y fixe sera importante. La migration de l'échantillon de la cathode vers l'anode dépend donc indirectement de la taille de la protéine.



Électrophorèse horizontale  
(gel d'agarose)



Électrophorèse verticale  
(gel de polyacrylamide)

## ■ Western Blot

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

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

## ■ Séparation en deux dimensions

Cette technologie fait appel au Ph et au PI point isoélectrique de la protéine (pH pour lequel elle est neutre). Elle permet une séparation plus fine.

**Montage** : on sépare d'abord les protéines en fonction de leur point isoélectrique puis on utilise l'électrophorèse. L'étude se fait selon la charge et la taille de la protéine

## ■ Chromatographie par exclusion de gel

☞ Cette technique est basée sur la taille des protéines

**Montage** : on place des protéines solubles sur une résine ( c'est un support constitué de billes trouées). Les plus grosses protéines passent à travers car elles ne rentrent pas dans les billes (à cause de leur taille) , tandis que les plus petites sont retenues par le support

## ■ Spectrométrie de masse

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

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