

SVD – Organisation fonctionnelle des molécules du vivant

Chapitre 5 – Les grandes familles biochimiques : acides aminés et protéines



Les protéines, constituants des êtres vivants

Pour 100 g	Eau	Glucides	Lipides	Protides
Moule	64,3	7,4	4,5	23,8
Radis	94,2	5	0,1	0,7
Courgette	94,4	4,1	0,3	1,2
Graine de Lentille	68,6	20,8	0,5	10,1
Muscle de poisson	71,9	0,1	10,0	18
Muscle de bœuf	76	1	3,0	20
Cerveau (veau)	78,3	0,6	9,6	11,5
Foie (veau)	69,4	1,6	4,0	25

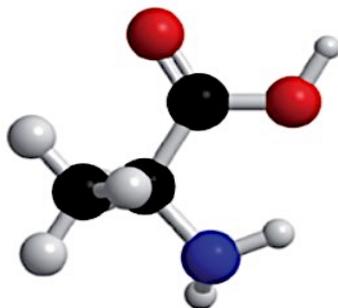
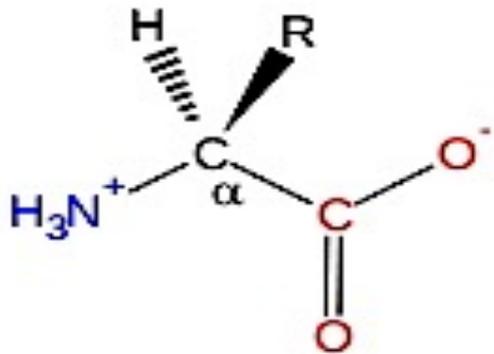
Les protéines sont plus abondantes dans les tissus animaux et certains organes de réserve des végétaux.

1. Les acides aminés, unités de base des protéines

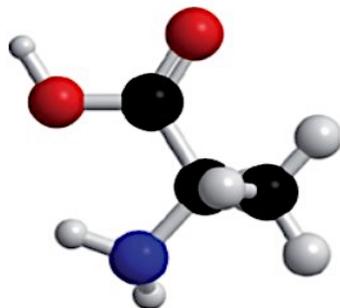
1.1. Une grande famille aux propriétés diverses

Les acides aminés, molécules azotées chirales

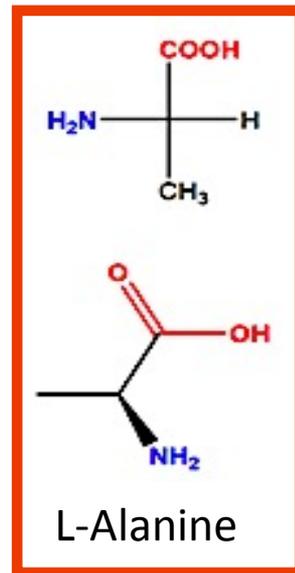
Formes L dans les cellules



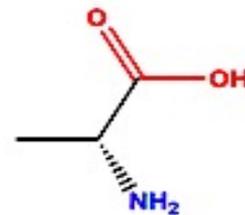
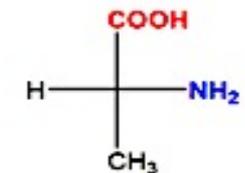
Isomère L



Isomère D



L-Alanine



D-Alanine

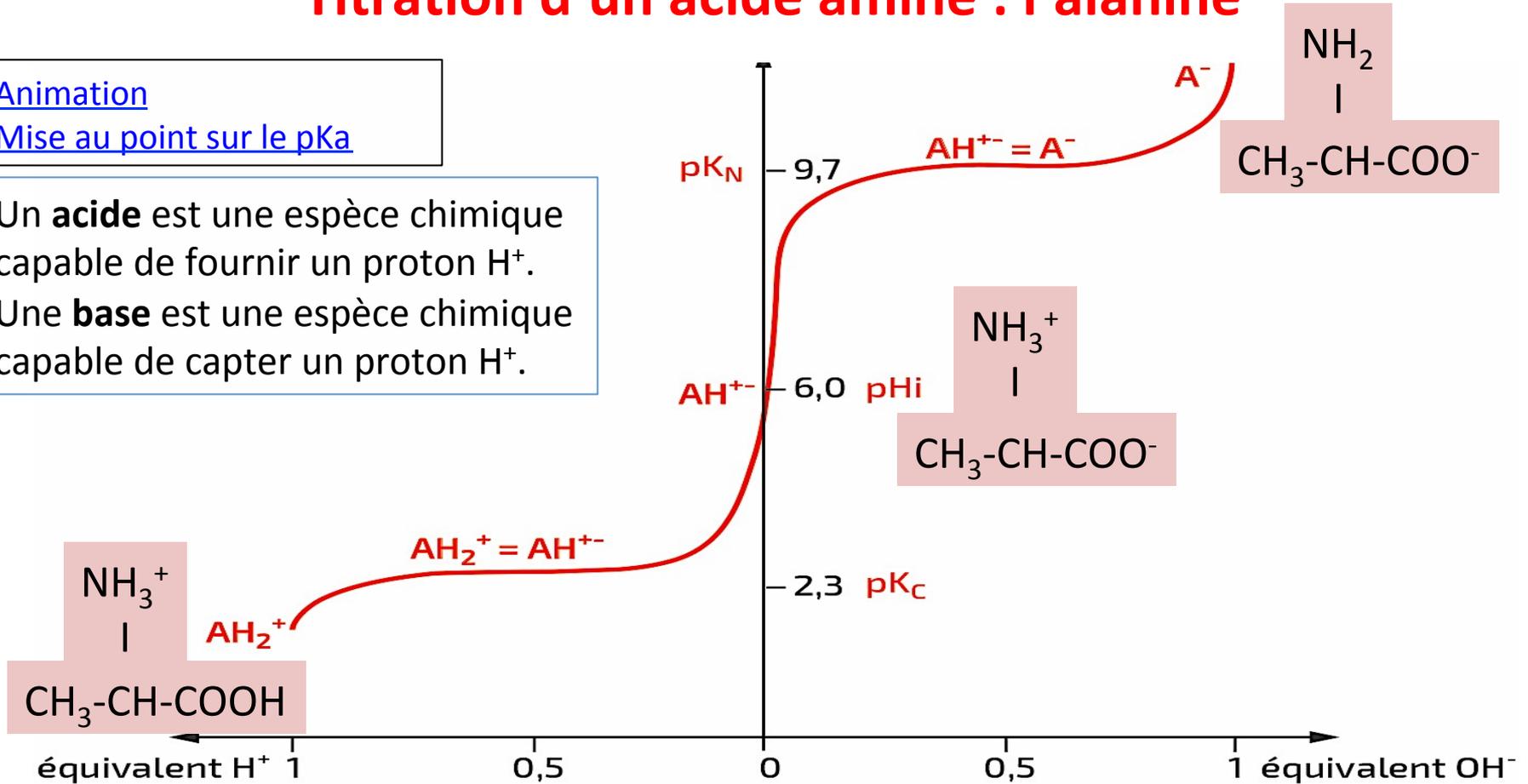
Titration d'un acide aminé : l'alanine

[Animation](#)

[Mise au point sur le pKa](#)

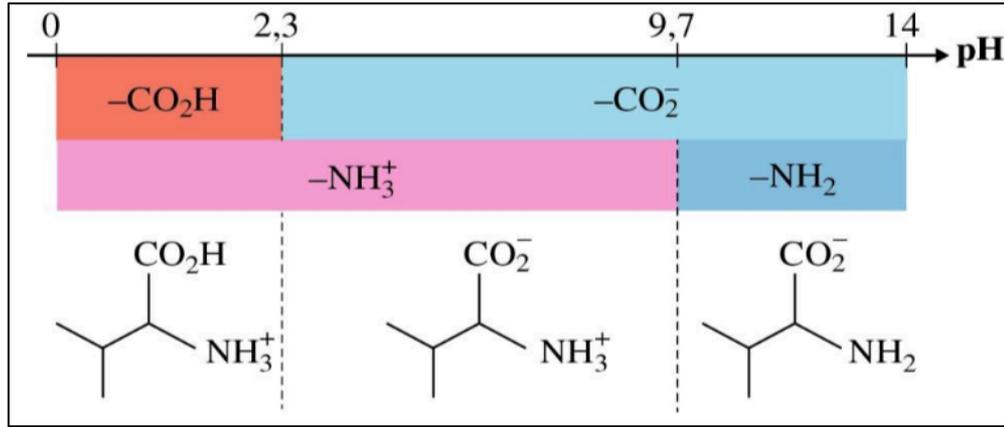
Un **acide** est une espèce chimique capable de fournir un proton H^+ .

Une **base** est une espèce chimique capable de capter un proton H^+ .

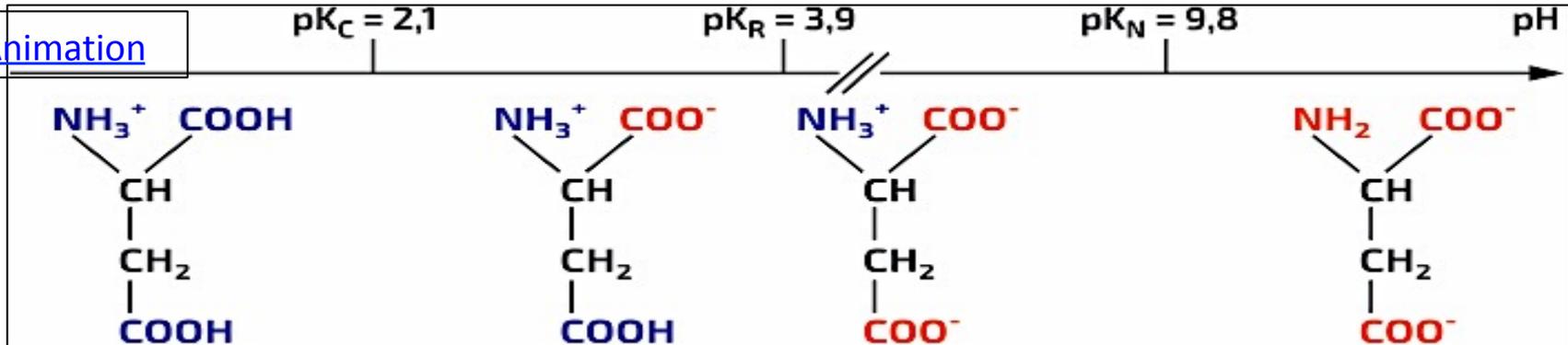


État d'ionisation des acides aminés

Valine



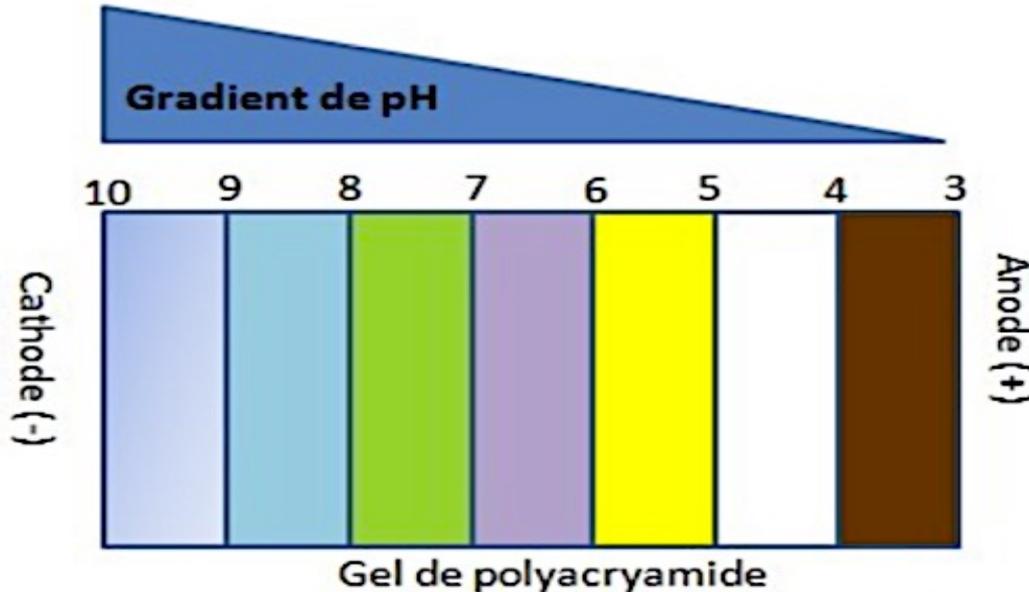
Animation



Acide aspartique

Une détermination du pHi par électrophorèse (1)

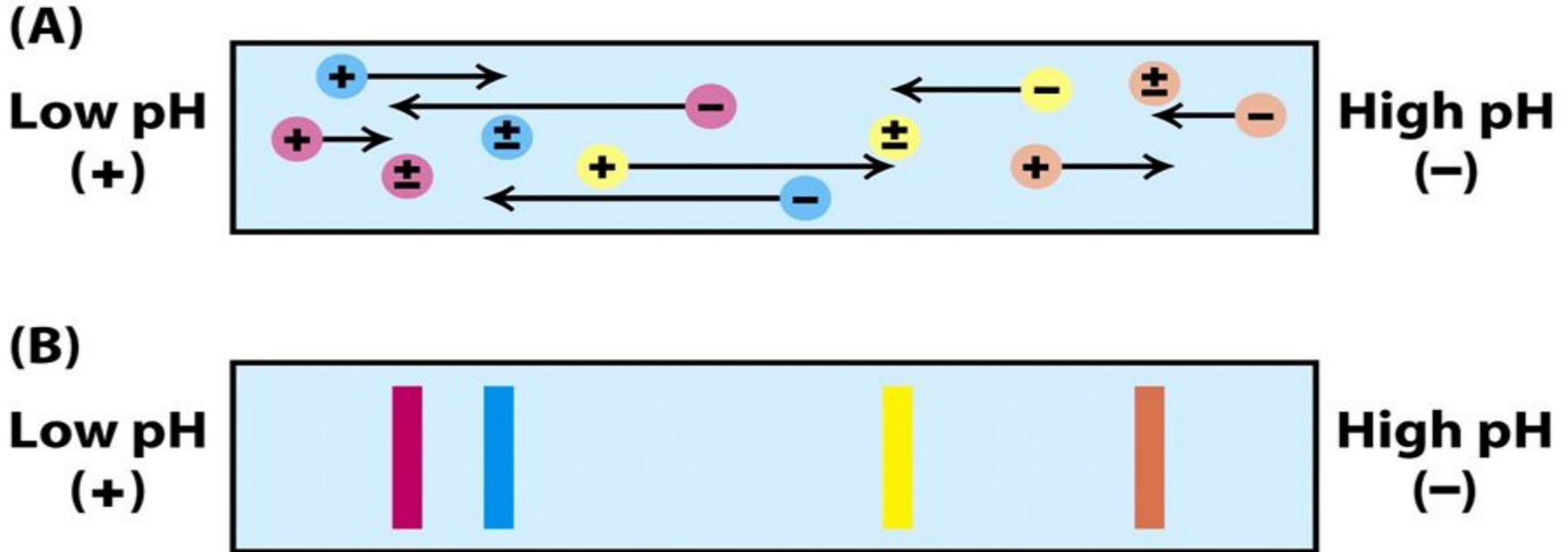
Gradient de pH réalisé par fixation d'ampholytes de pH donné sur un gel de polyacrylamide.



Ces ampholytes peut balayer un domaine de pH(gamme large: 3-10,

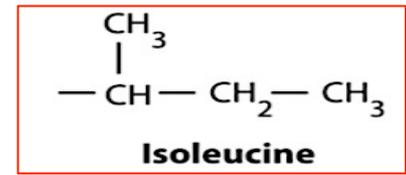
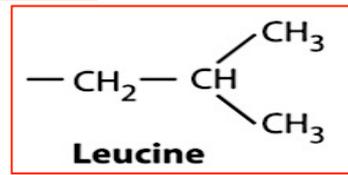
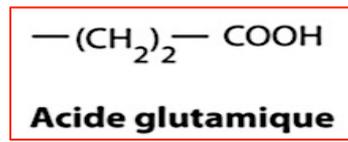
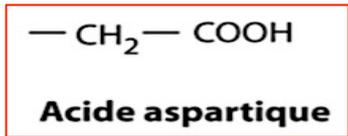
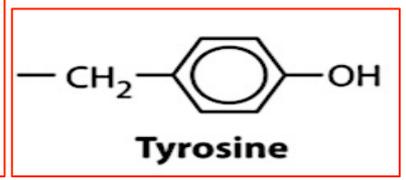
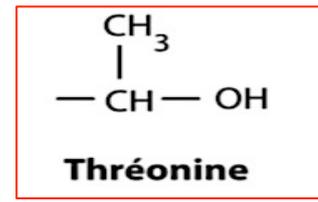
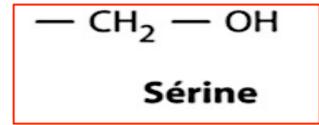
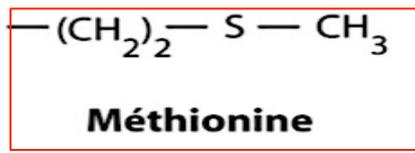
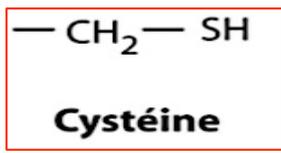
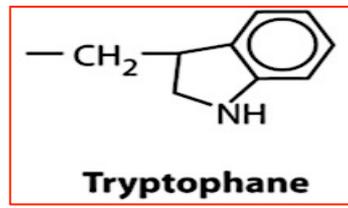
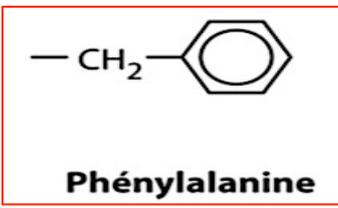
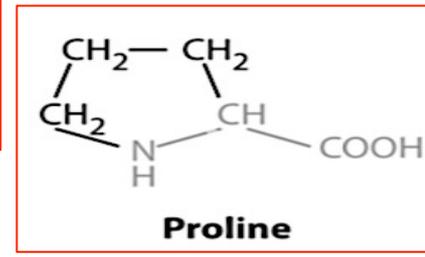
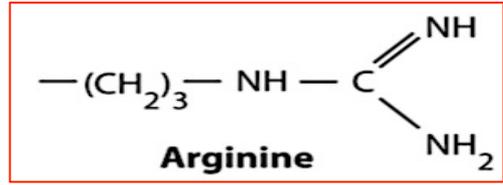
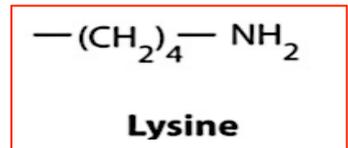
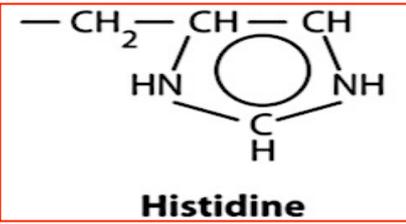
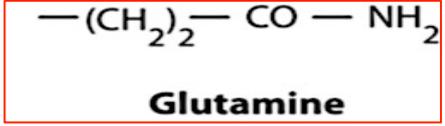
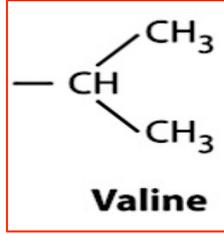
Une détermination du pHi par électrophorèse (2)

Migration du mélange d'acides aminés dans un champ électrique



Les acides aminés ont des pHi différents.

Des groupes d'acides aminés aux propriétés semblables



Hydrophobicité des acides aminés

résidu	B	C
Isoleucine	3,1	4,5
Phénylalanine	2,5	2,8
Valine	2,3	4,2
Leucine	2,2	3,8
Tryptophane	1,5	-0,9
Méthionine	1,1	1,9
Alanine	1,0	1,8
Glycine	0,67	-0,4
Cystéine	0,17	2,5
Tyrosine	0,08	-1,3
Proline	-0,29	-1,6
Thréonine	-0,75	-0,7
Sérine	-1,1	-0,8
Histidine	-1,7	-3,2
Asparagine	-2,7	-3,5
Acide glutamique	-2,6	-3,5
Glutamine	-2,9	-3,5
Acide aspartique	-3,0	-3,5
Lysine	-4,6	-3,9
Arginine	-7,5	-4,5

Plus le chiffre est élevé, plus l'acide aminé est hydrophobe

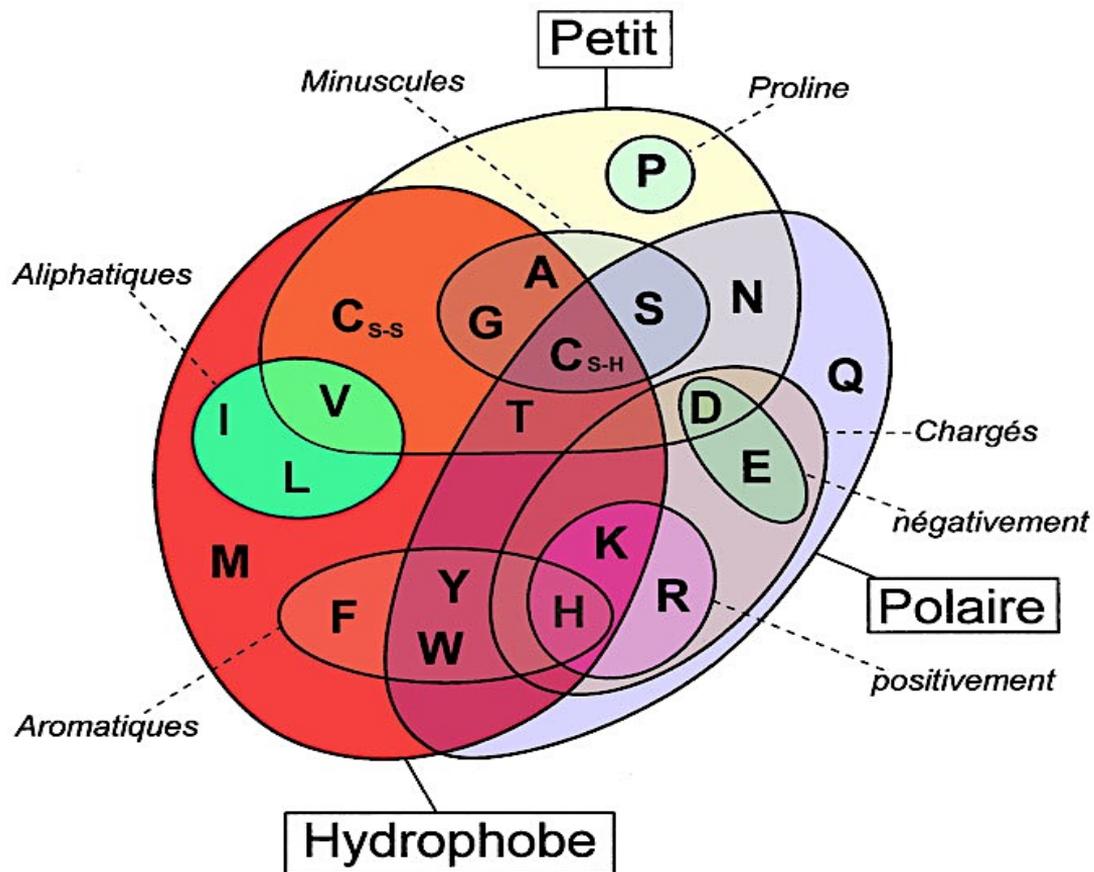
Colonne B Weiss et al. (1982)
Faraday Symp. Chem. Soc. 17: 109-120.

Les résultats sont présentés en $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ et représentent l'énergie requise pour passer de la phase organique à la phase aqueuse.

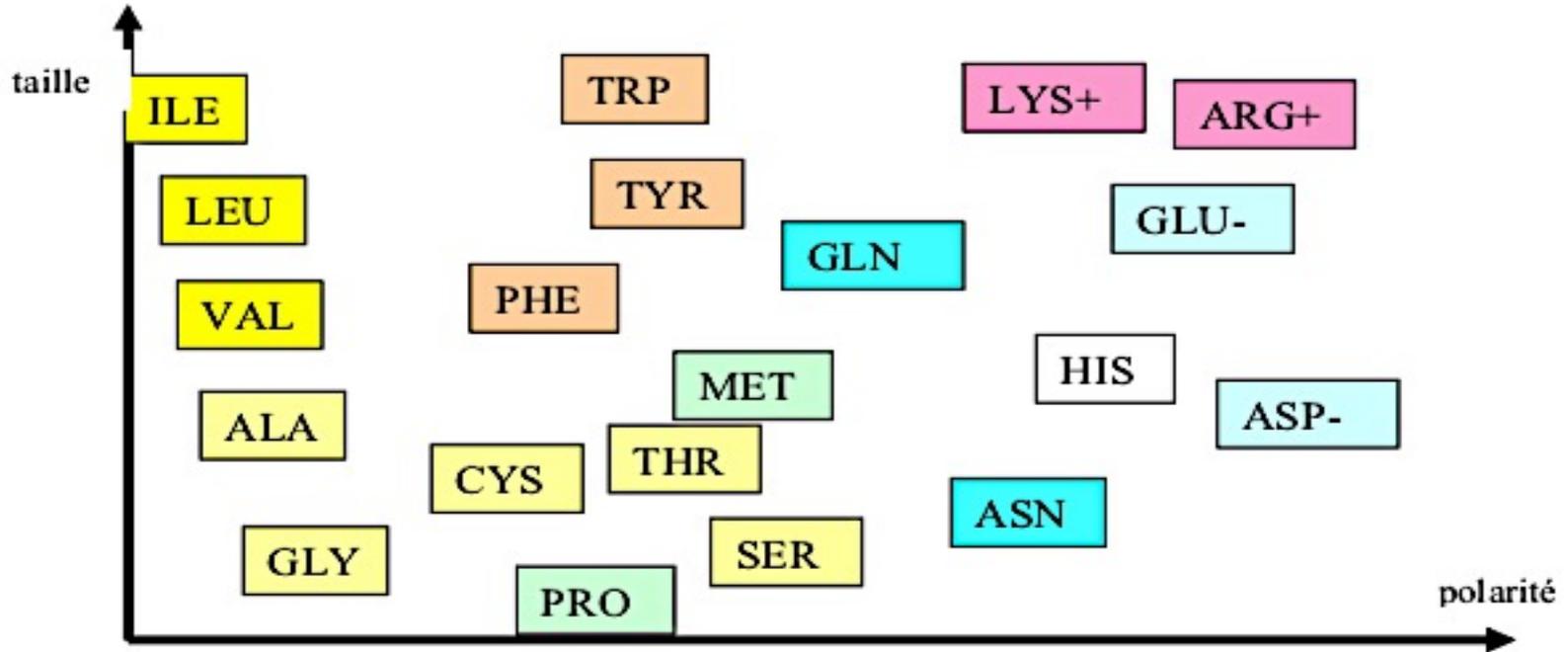
Colonne C : échelle de Kyte et Doolittle

(modèle informatique pesant les valeurs d'hydrophobicités de chaque espèce)

Le diagramme de Venn résume les propriétés physico-chimiques des acides aminés



Les 20 acides aminés se distinguent par leurs propriétés



La solubilité des acides aminés

Exemples de solubilité au pHi,
dans l'eau à 25°C

Alanine : 16,7 g.L⁻¹

Asparagine : 2,5 g.L⁻¹

Glycine : 24 g.L⁻¹

Leucine : 2,3 g.L⁻¹

Sérine : 25 g.L⁻¹

Proline : 162 g.L⁻¹

**La solubilité dépend de la
nature du radical :**
taille
charge
polarité
hydrophobicité
réactivité chimique
aromaticité...

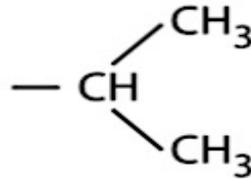
Les acides aminés apolaires



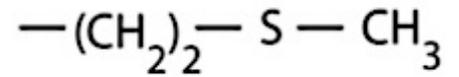
Glycine



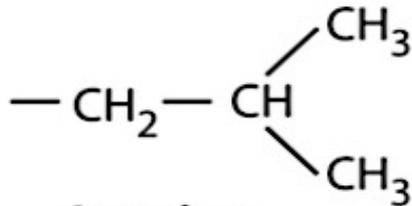
Alanine



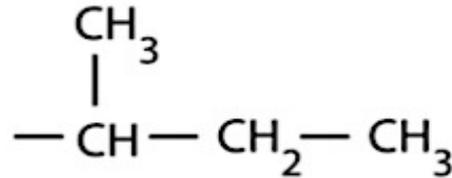
Valine



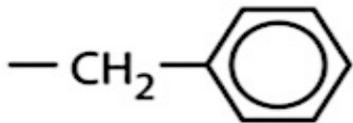
Méthionine



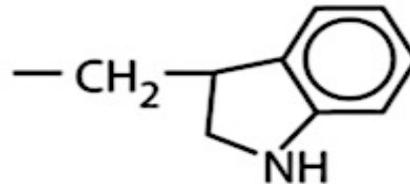
Leucine



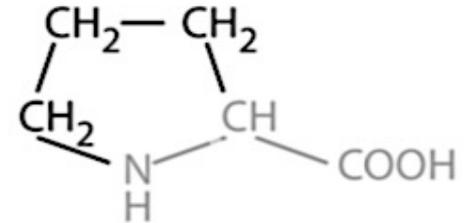
Isoleucine



Phénylalanine

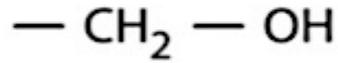


Tryptophane

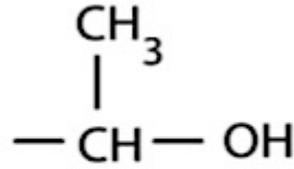


Proline

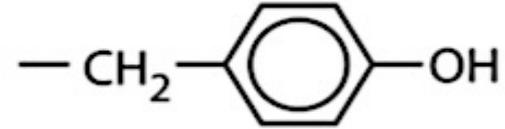
Acides aminés polaires neutres



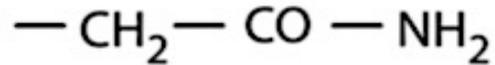
Sérine



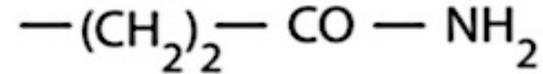
Thréonine



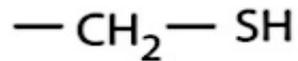
Tyrosine



Asparagine

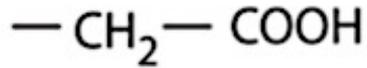


Glutamine

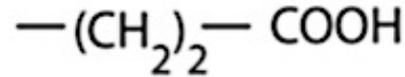


Cystéine

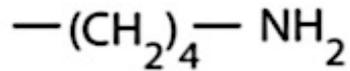
Acides aminés polaires chargés



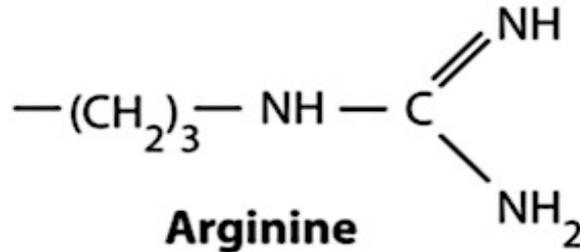
Acide aspartique



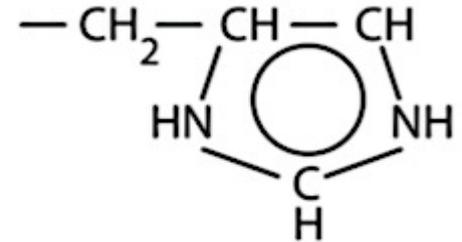
Acide glutamique



Lysine

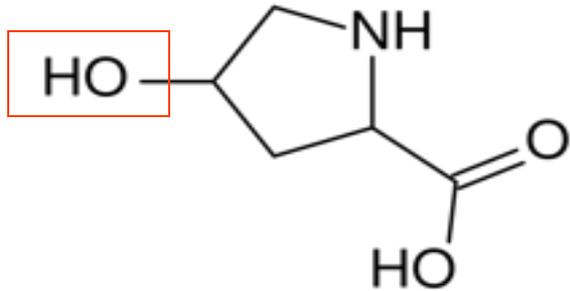


Arginine

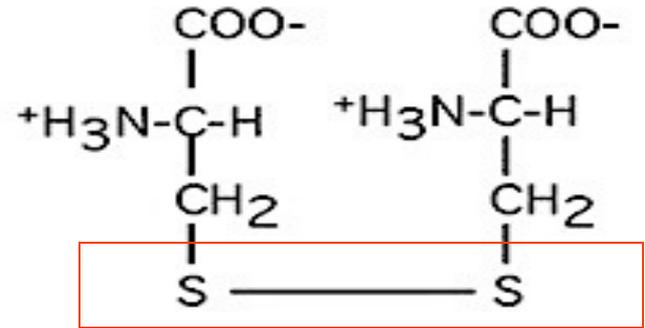


Histidine

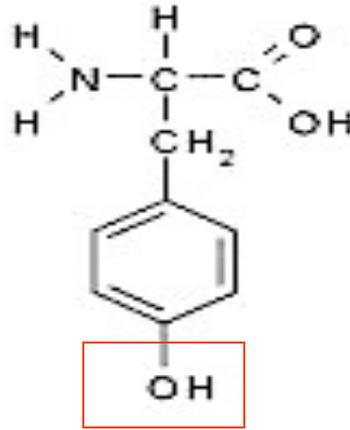
Des modifications possibles des acides aminés



Hydroxyproline



Pont disulfure

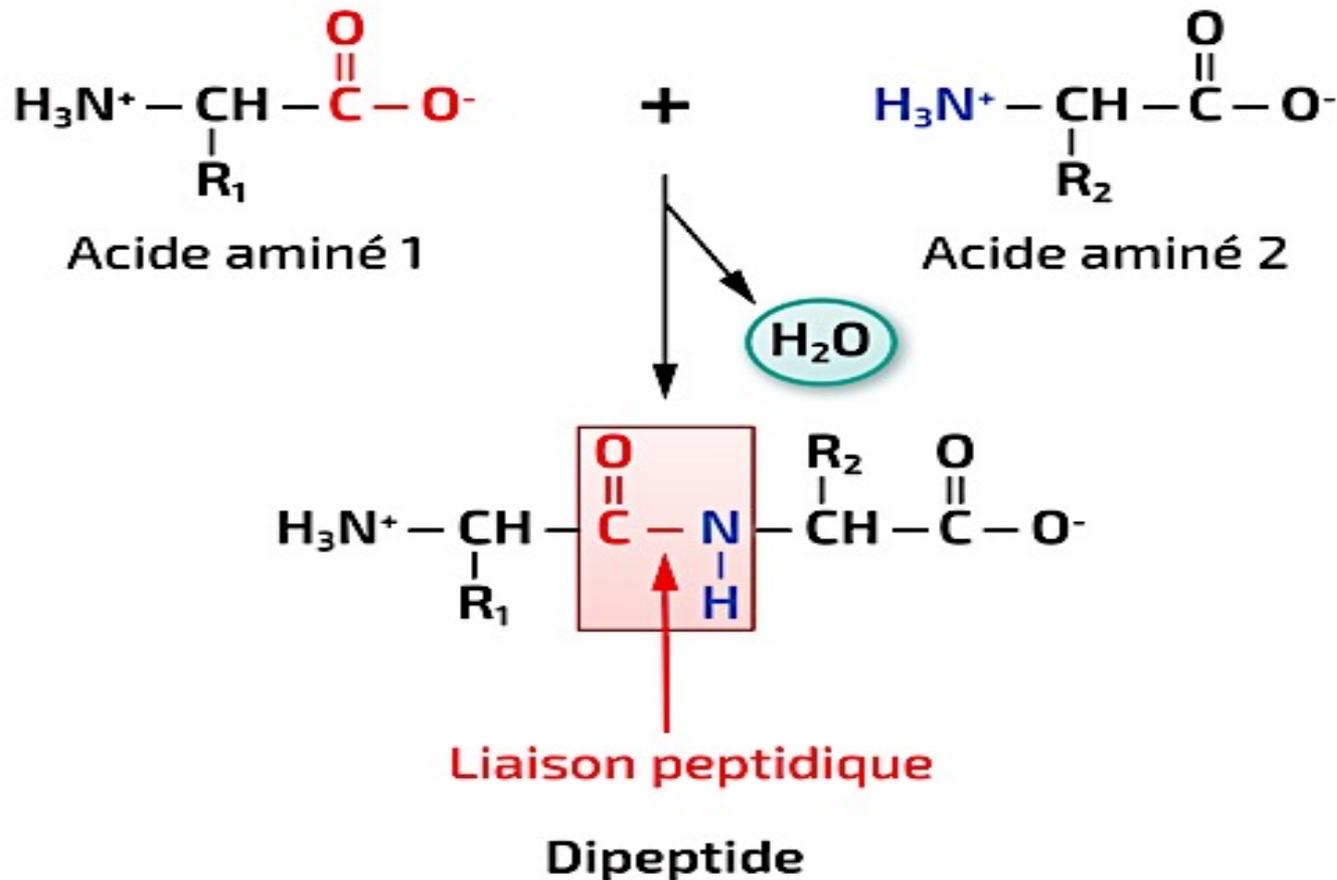


Phosphorylation/O-glycosylation

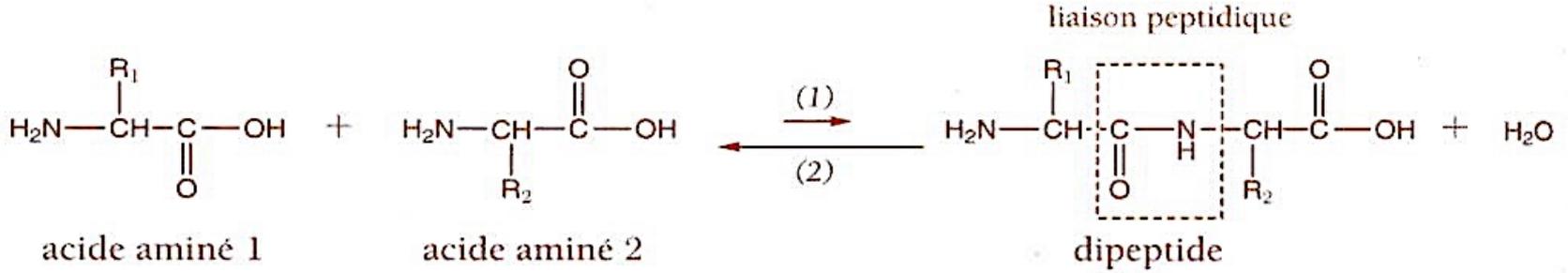
1. Les acides aminés, unités de base des protéines

1.2. La liaison peptidique, union des acides aminés

La liaison peptidique

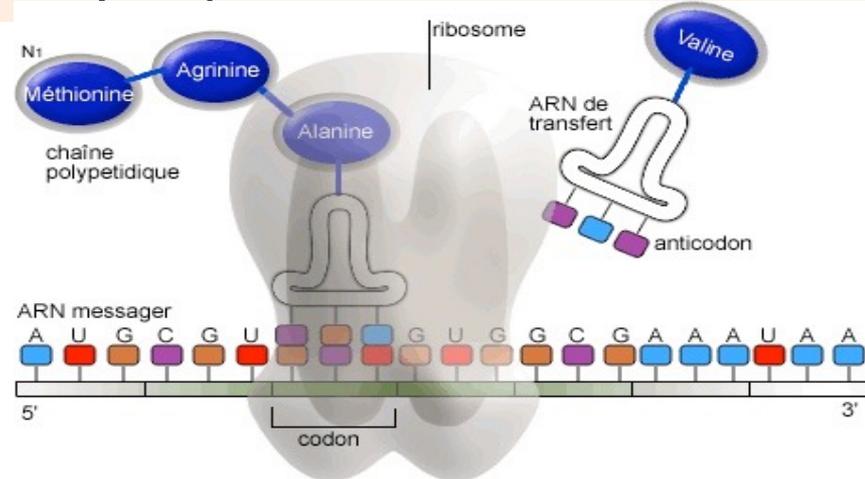


La liaison peptidique

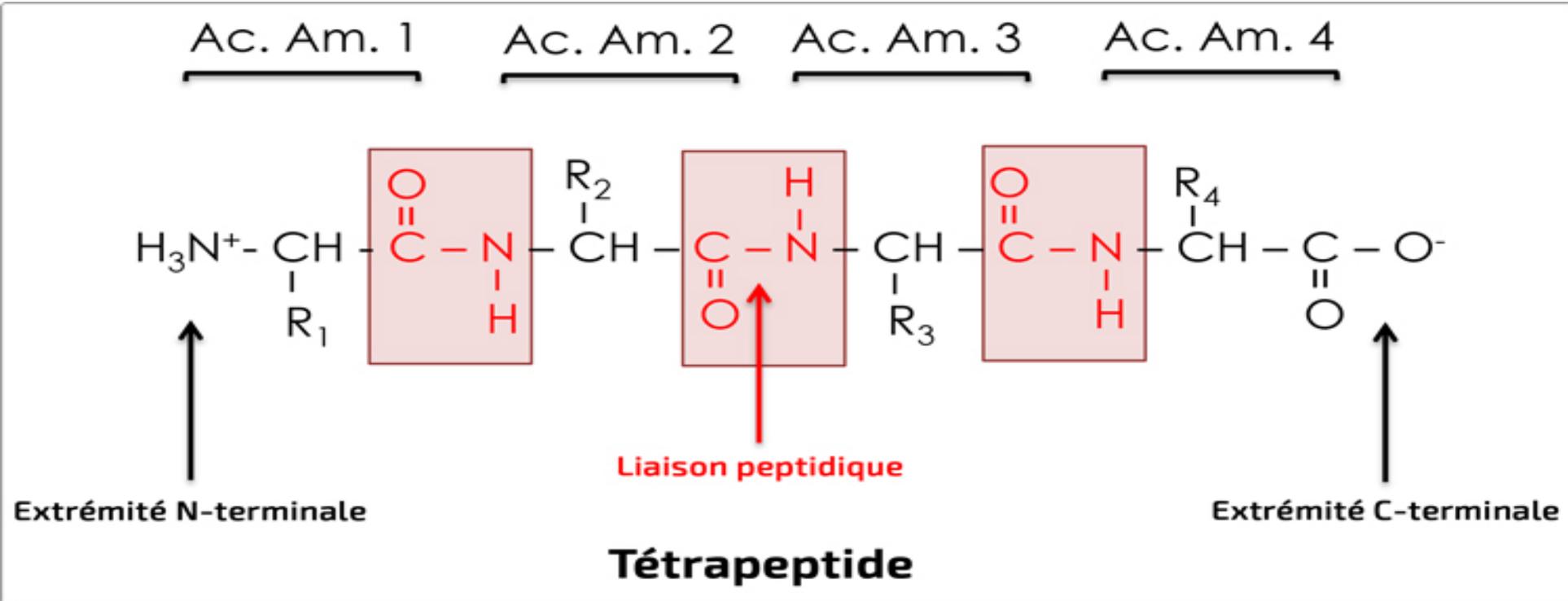


Réaction 1 = réaction de condensation se déroulant dans le ribosome, catalysée par la peptidyltransférase (ribozyme)

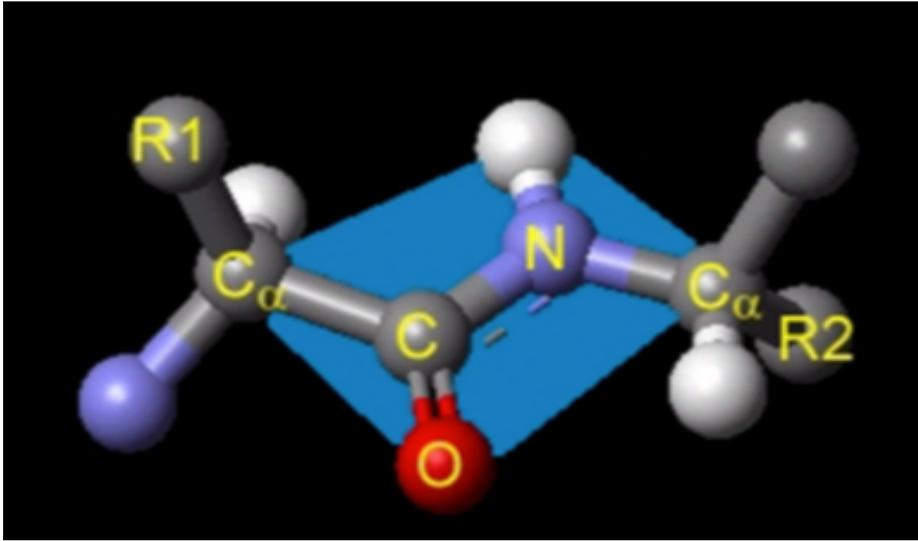
Réaction 2 = hydrolyse



Séquence d'acides aminés = structure primaire

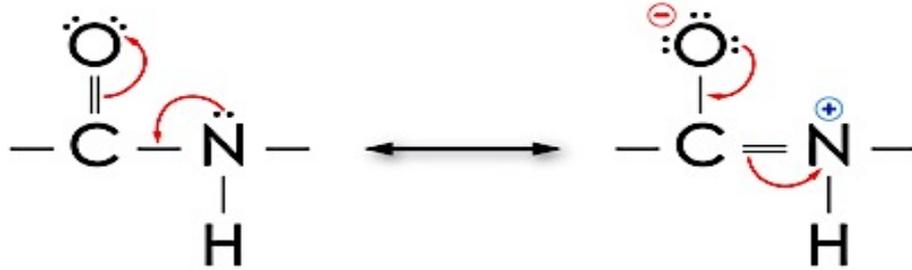


Géométrie de la liaison peptidique



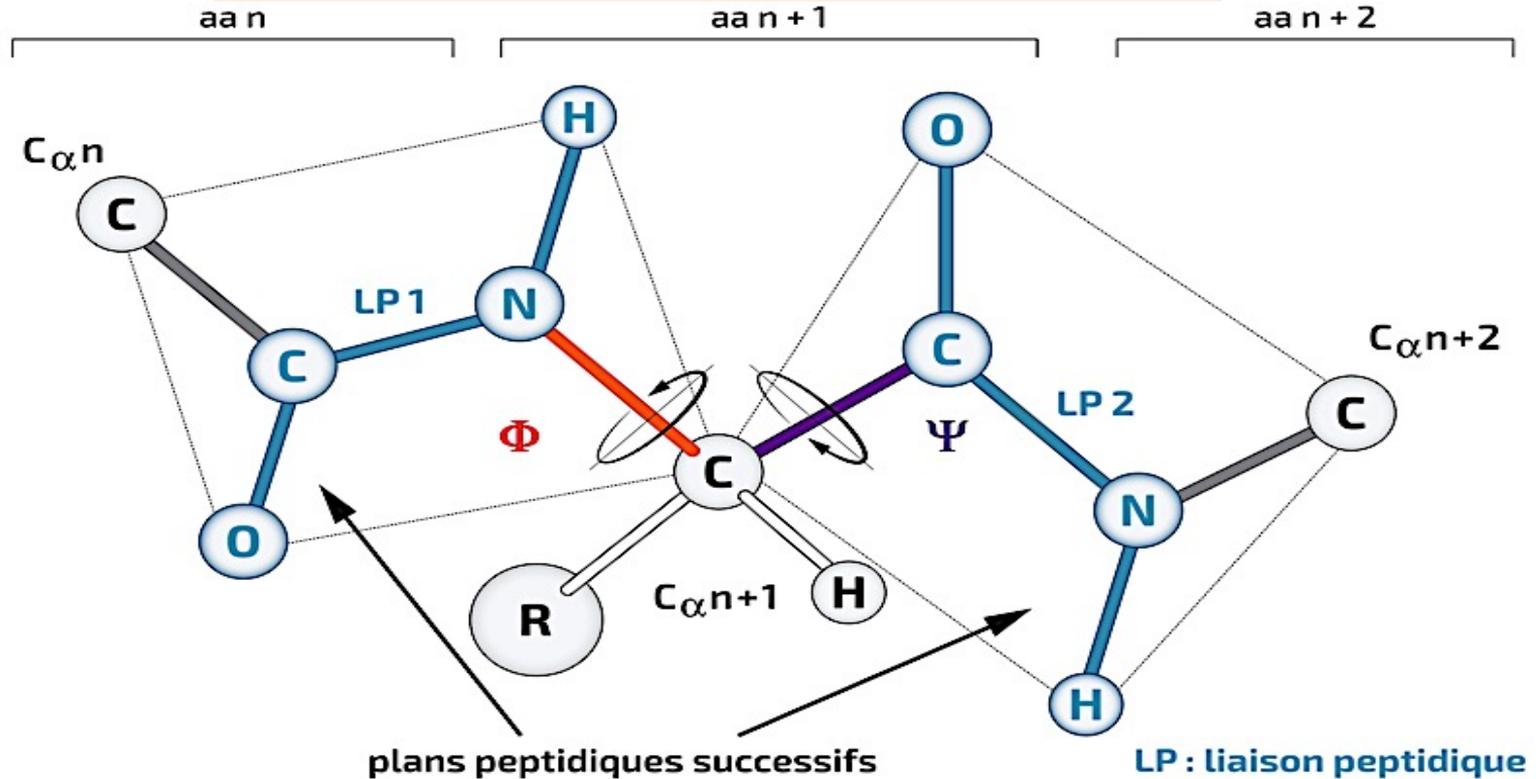
Les atomes C, O, N, et H sont **coplanaires**.

La liaison peptidique se comporte comme une double liaison en raison d'un équilibre entre deux formes mésomériques.



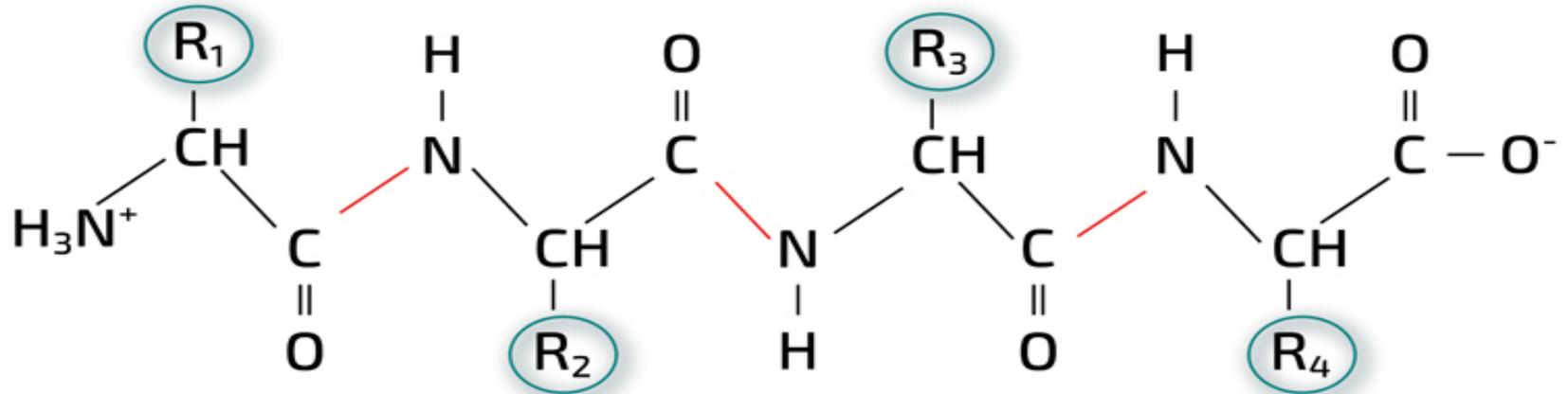
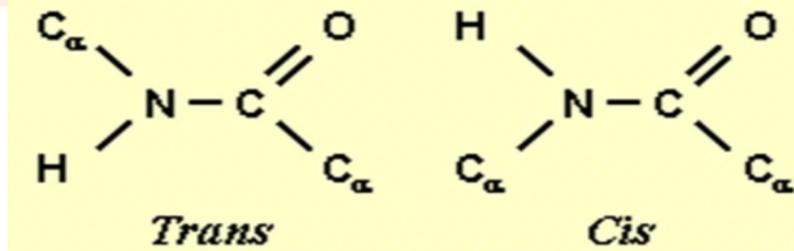
Conséquences de cette géométrie

Libre rotation autour des carbones α



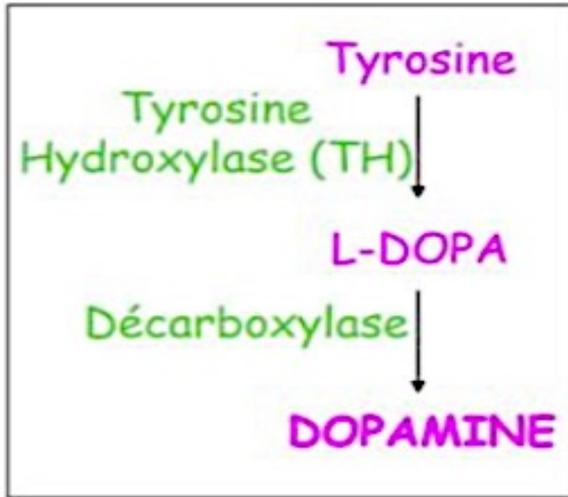
Conséquences de cette géométrie

Le plus souvent, l'enchaînement se fait en « trans ».

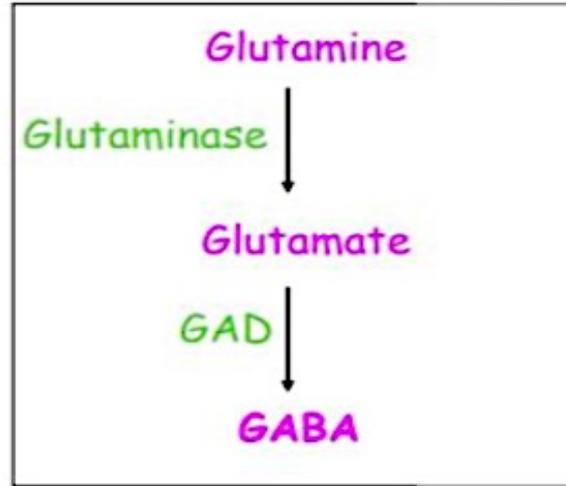


Sauf pour la proline qui forme une liaison « cis » => coude.

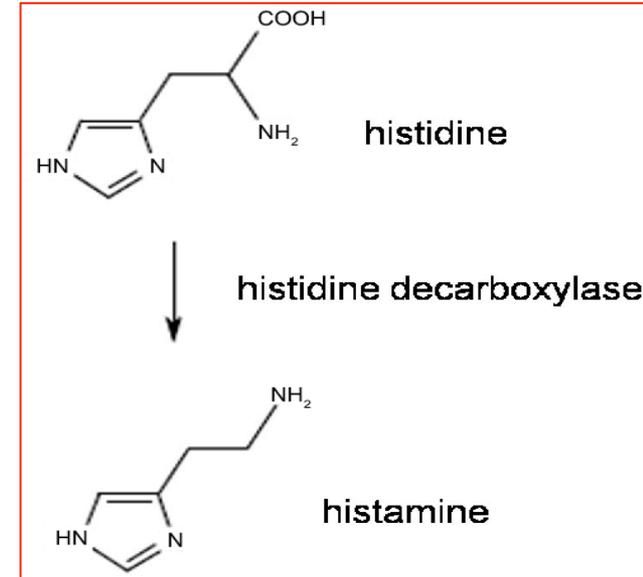
Des dérivés d'acides aminés



Synthèse de dopamine



Synthèse de GABA



Synthèse de l'histamine

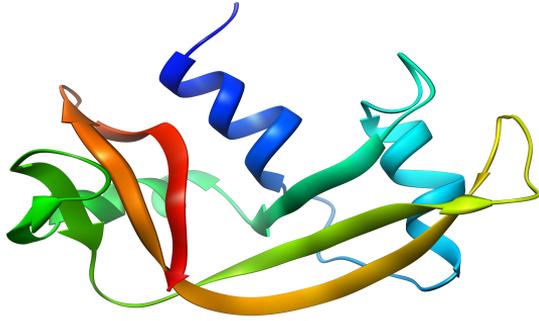
Les acides aminés essentiels

AA non essentiels	AA semi-essentiels	AA essentiels
Sérine		Thréonine
Glycine	Cystéine ←	Méthionine
Alanine		Isoleucine
Asparagine		Leucine
Aspartate		Valine
Glutamate		Tryptophane
Glutamine	Tyrosine ←	Phénylalanine
Proline		Histidine
		Lysine
		Arginine

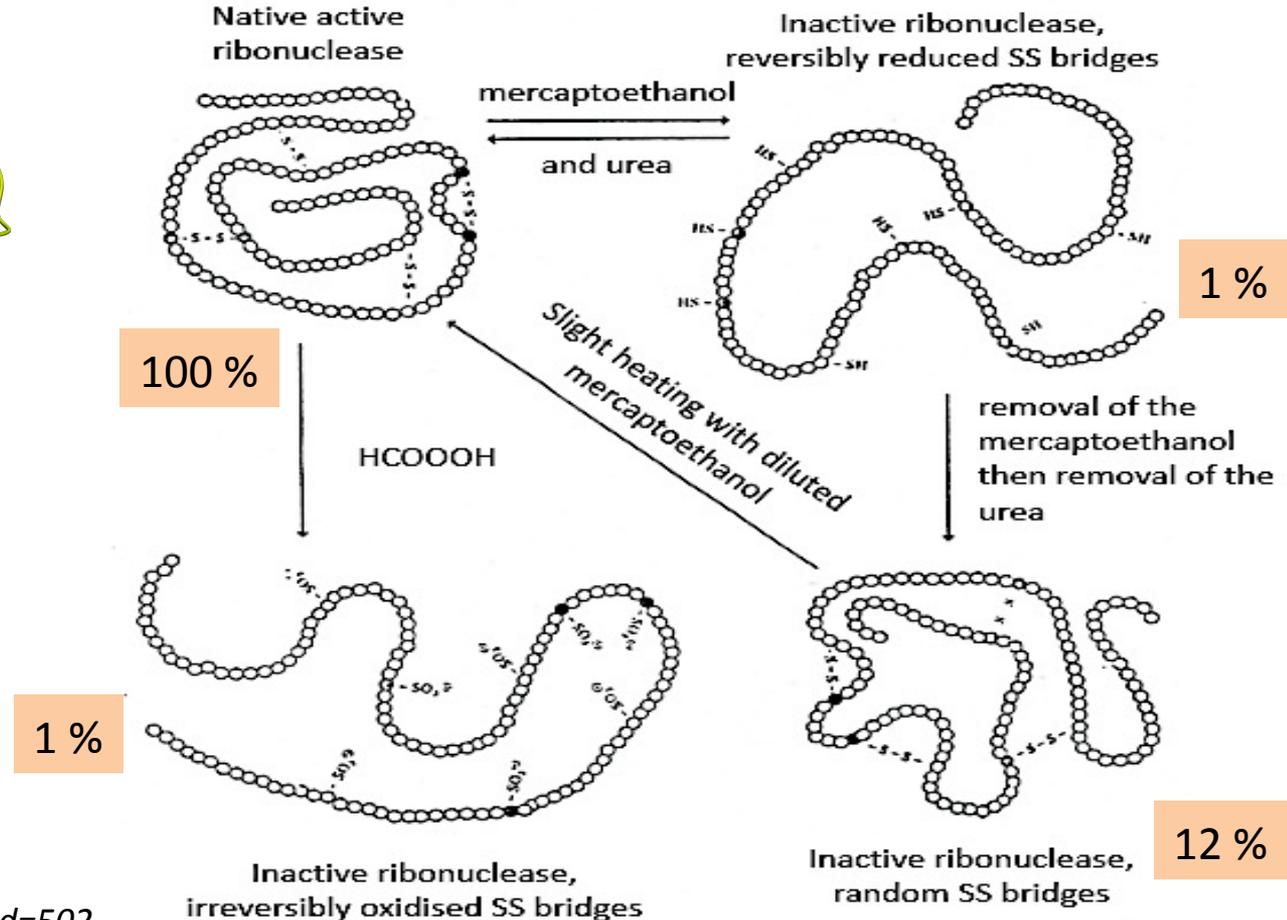
2. Les protéines, des hétéropolymères

L'expérience d'Anfinsen

Activité catalytique



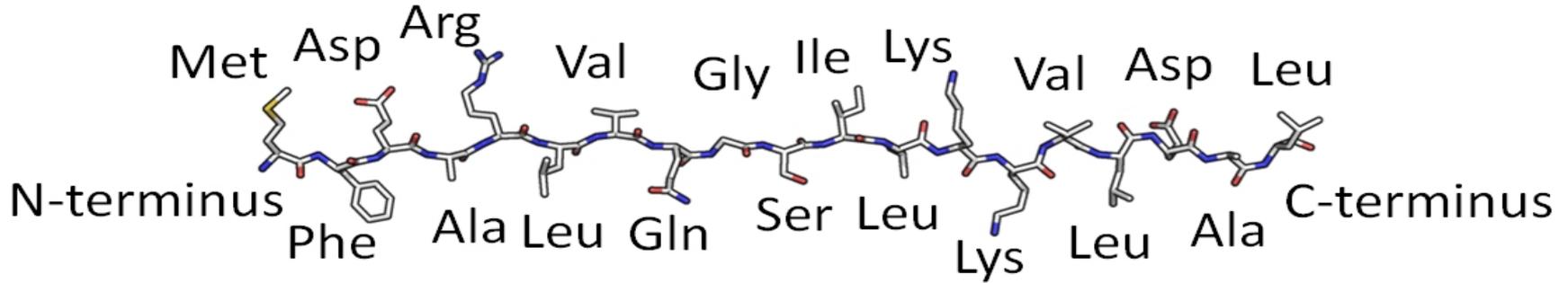
Structure tridimensionnelle de la ribonucléase



2. Les protéines, des hétéropolymères

2.1. Les différents niveaux structuraux des protéines et leurs conséquences fonctionnelles

La séquence, structure primaire



Source : <https://spcl.ac-montpellier.fr/moodle/mod/page/view.php?id=3946>

Structure des petits peptides

Met-enképhaline : endorphine (neuromédiateur de l'encéphale)

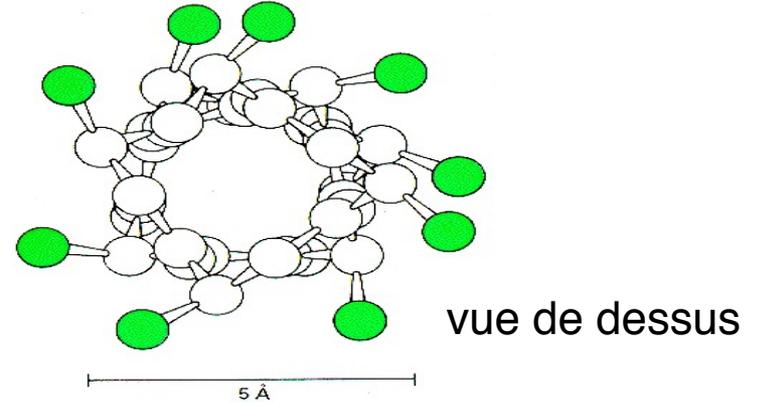
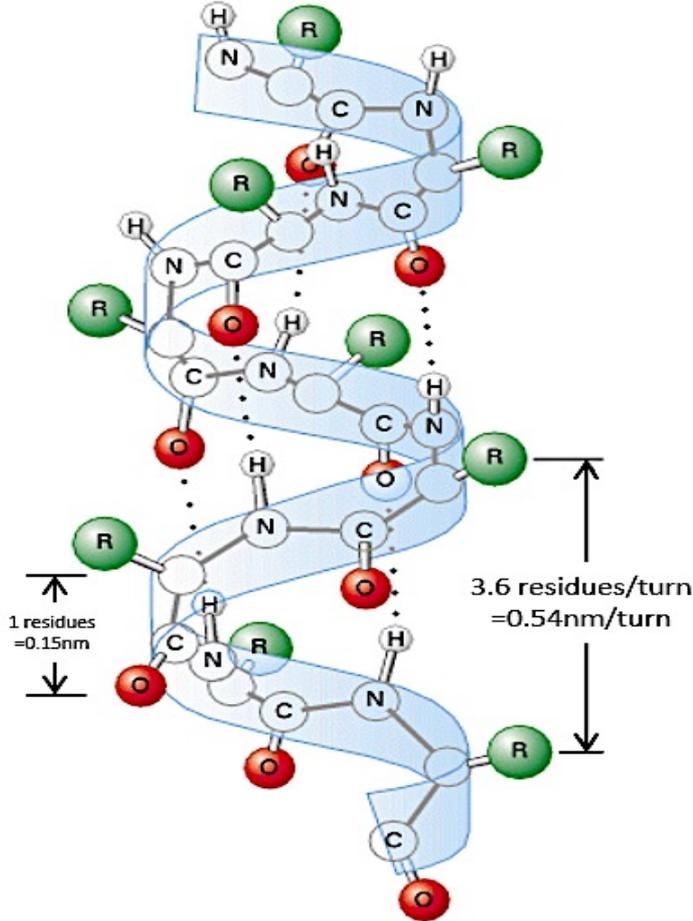
COOH – Tyr – Gly – Gly – Phe – Met – NH₂

MSH : hormone stimulant la synthèse de mélanine

COOH – Tyr – Val – Met – Gly – His – Phe – Arg – Trp – Asp – Arg – Phe – Gly – NH₂

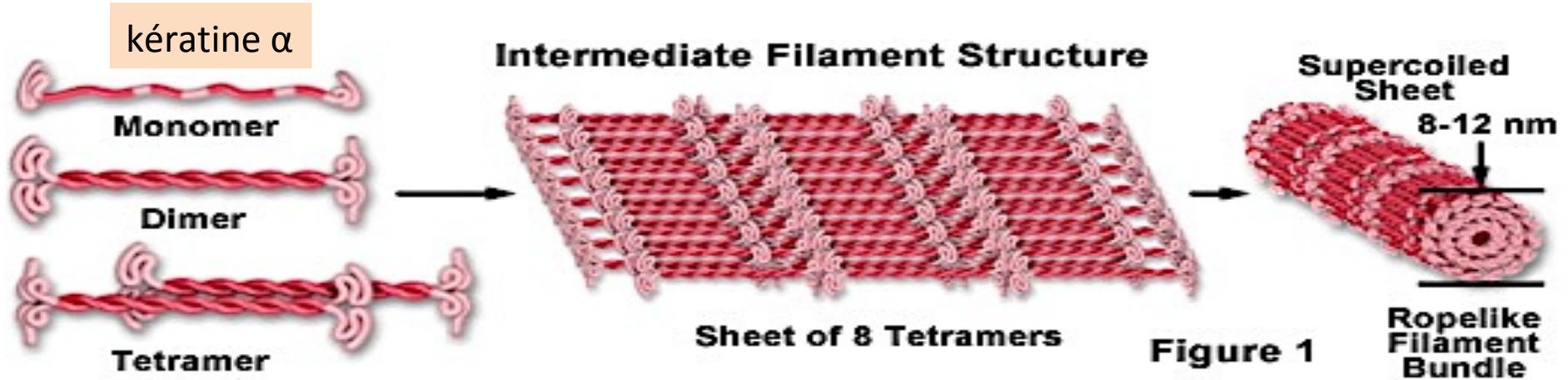
L'hélice α de la kératine α

Une hélice formée des liaisons peptidiques et des carbones anomériques.



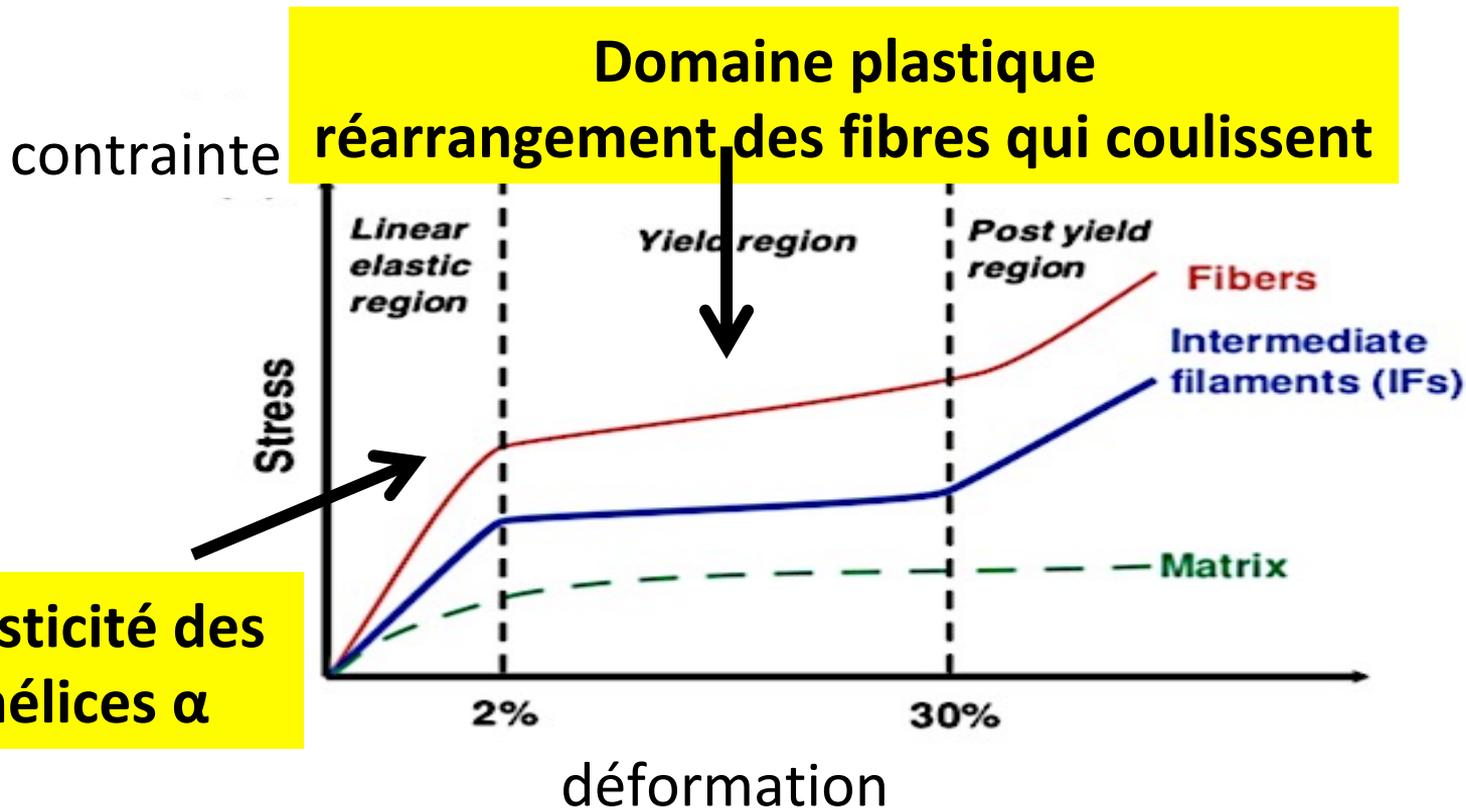
les résidus des acides aminés dépassent vers l'extérieur et ne sont pas impliqués dans la structure.

Kératine et filament intermédiaire



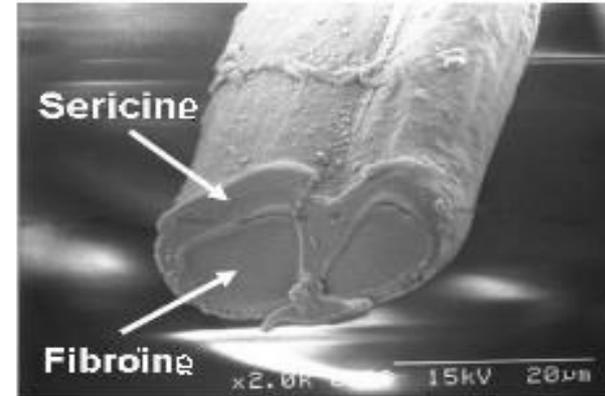
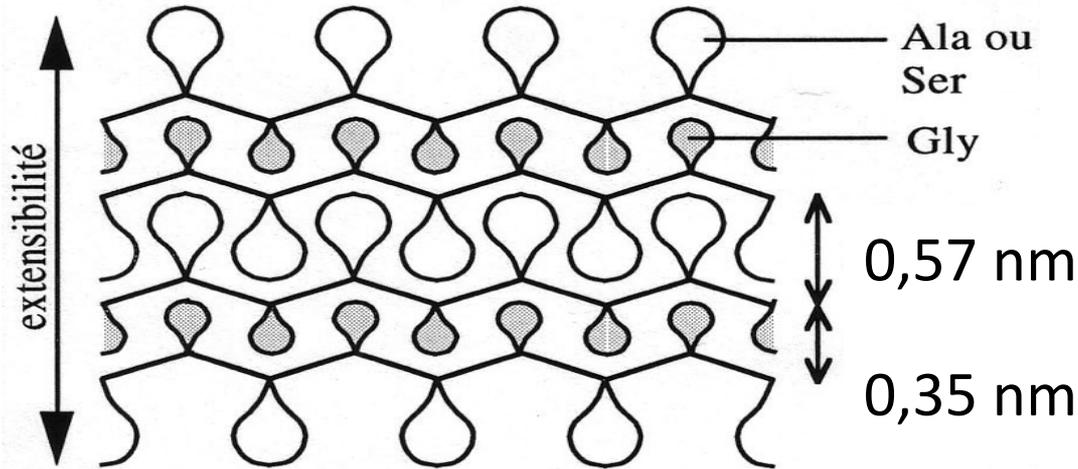
- kératine α de diamètre 0,5 nm
- 2 molécules de kératine α s'enroulent l'une autour de l'autre (dimère) et se lient par des ponts disulfures
- 2 dimères forment un tétramère
- 8 tétramères s'assemblent en long feuillet enroulé en filament intermédiaire de diamètre 8 à 12 nm de diamètre

Les propriétés mécaniques de la kératine



Séricine et fibroïne de la soie

Un motif régulier (Gly - Ala ou Ser)
en brins β qui se superposent



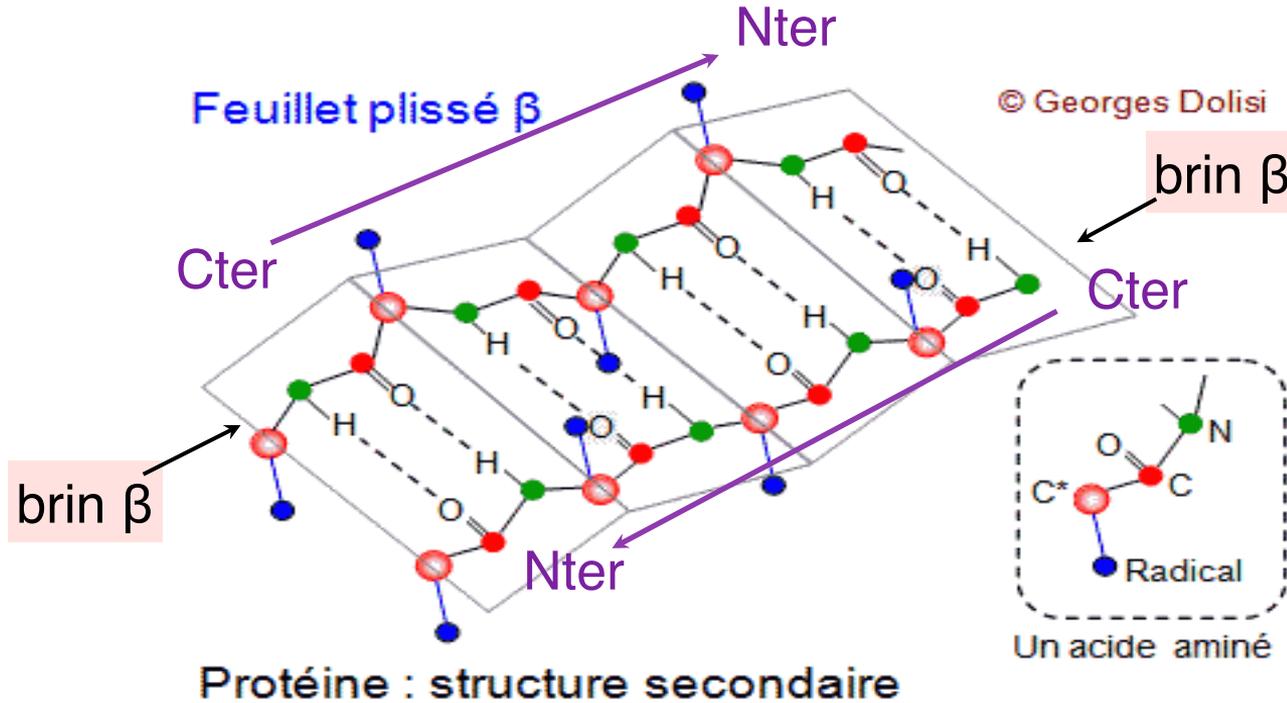
Fil d'araignée

Fibroïne

42,9 % de glycine
30 % d'alanine
12,2 % de sérine

Des propriétés mécaniques qui résultent de la structure en
brins β superposés : résistance + extensibilité

Les brins et feuilletts β

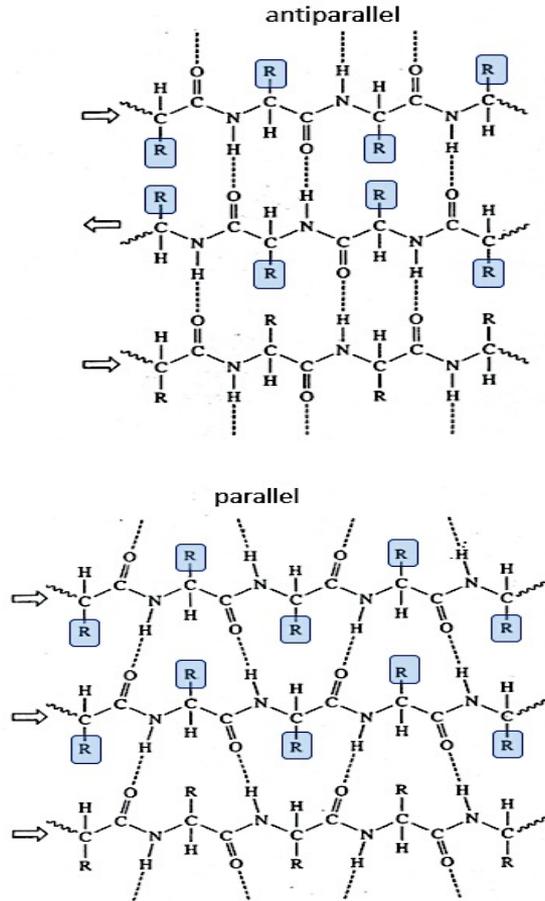


feuillet β
antiparallèle

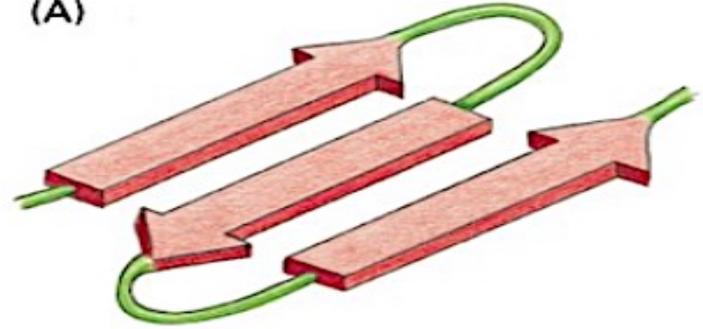
brin β en zig-zag formé des liaisons peptidiques et carbones anomériques

les résidus des acides aminés dépassent et ne sont pas impliqués dans la structure

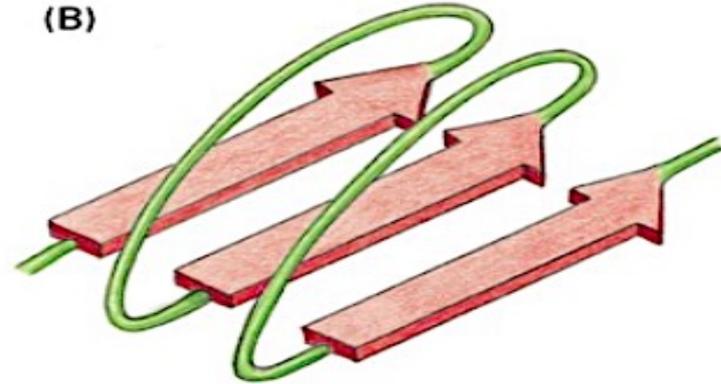
Des feuilletés orientés



(A)



(B)



Les préférences conformationnelles des acides aminés

Structure préférentielle	Acide aminé	hélice α	feuillet β	coude β
Hélice	Alanine	1,29	0,90	0,77
	Cystéine	1,11	0,74	0,81
	Leucine	1,30	1,02	0,58
	Méthionine	1,47	0,97	0,41
	Glutamate	1,44	0,75	0,99
	Glutamine	1,27	0,80	0,98
	Histidine	1,22	1,08	0,68
	Lysine	1,23	0,77	0,96
Feuillet	Valine	0,91	1,49	0,47
	Isoleucine	0,97	1,45	0,51
	Phénylalanine	1,07	1,32	0,59
	Tyrosine	0,72	1,25	1,05
	Tryptophane	0,79	1,14	0,76
	Thréonine	0,82	1,21	1,04
	Glycine	0,56	0,92	1,64
Coude	Sérine	0,82	0,95	1,32
	Aspartate	1,04	0,72	1,41
	Asparagine	0,90	0,976	1,28
	Proline	0,52	0,64	1,91
	Arginine	0,96	0,99	0,88

Tendance relative des divers acides aminés à se rencontrer au sein de la structure indiquée. Une valeur > 1 indique une tendance supérieure à la moyenne, donc une préférence. Ces données ont été calculées sur un échantillon de 66 protéines.

On remarquera le caractère *sui generis* de l'arginine, seul de tous les acides aminés à n'avoir pas de préférence marquée.

Adapté de Hider R.C. and Hodges S.J. (1984) *Biochem. Educ.*, 12, 19-28

Principe du profil d'hydropathie

Rappel : chaque acide aminé possède un indice d'hydropathie

Acide aminé	Acide aminé	Acide aminé	Acide aminé
Ala (A) : +1.8	Gln (Q) : -3.5	Leu (L) : +3.8	Ser (S) : -0.8
Arg (R) : -4.5	Glu (E) : -3.5	Lys (K) : -3.9	Thr (Y) : -0.7
Asn (N) : -3.5	Gly (G) : -0.4	Met (M) : +1.9	Trp (W) : -0.9
Asp (D) : -3.5	His (H) : -3.2	Phe (F) : +2.8	Tyr (T) : -1.3
Cys (C) : +2.5	Ile (I) : +4.5	Pro (P) : -1.6	Val (V) : +4.2

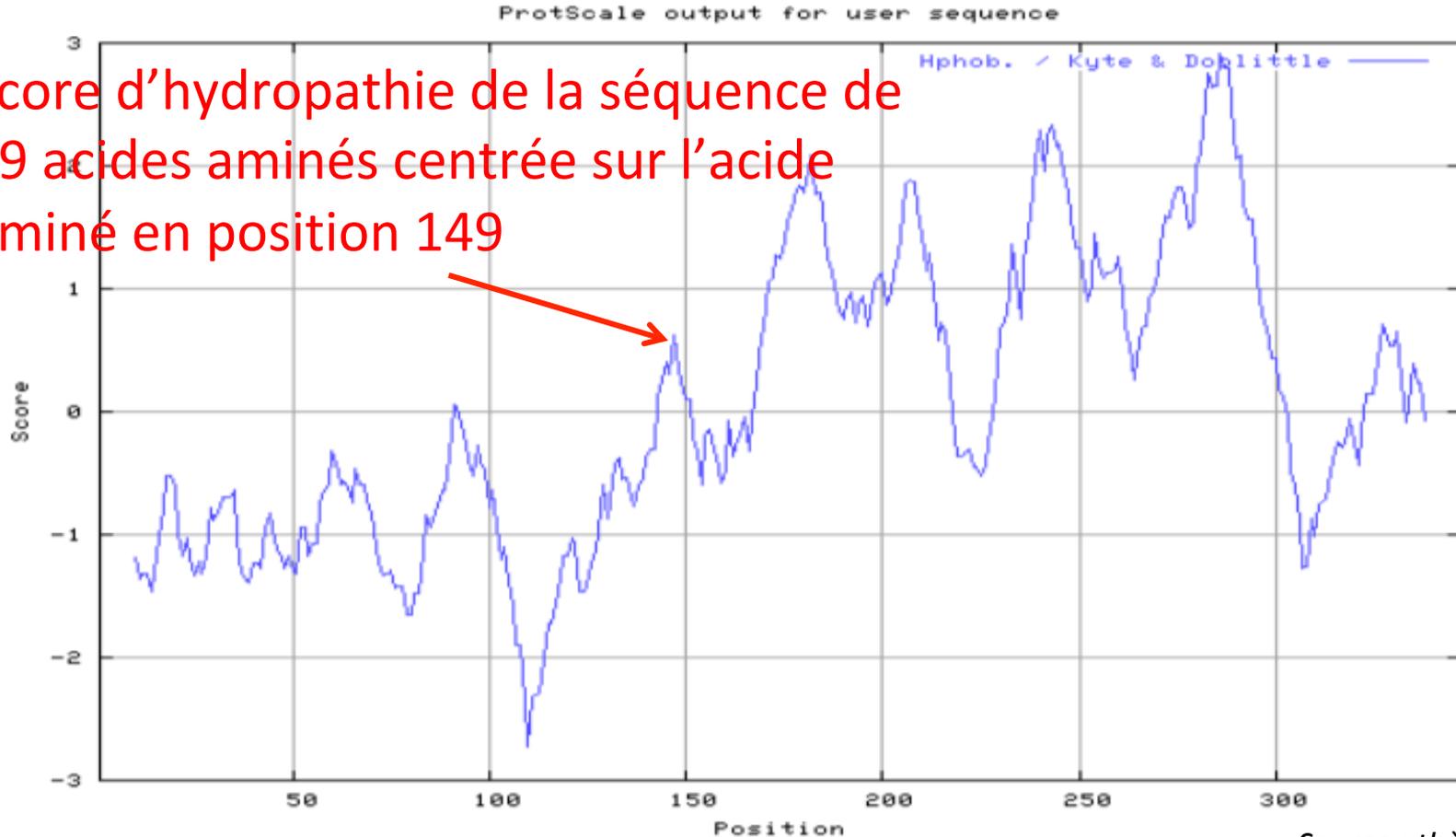
Échelle d'hydropathie de Kyle et Doolittle

Calcul de la moyenne d'hydropathie de séquences de 11 ou 19 acides Aminés.

Report de cette valeur sur l'acide aminé central

Principe du profil d'hydropathie

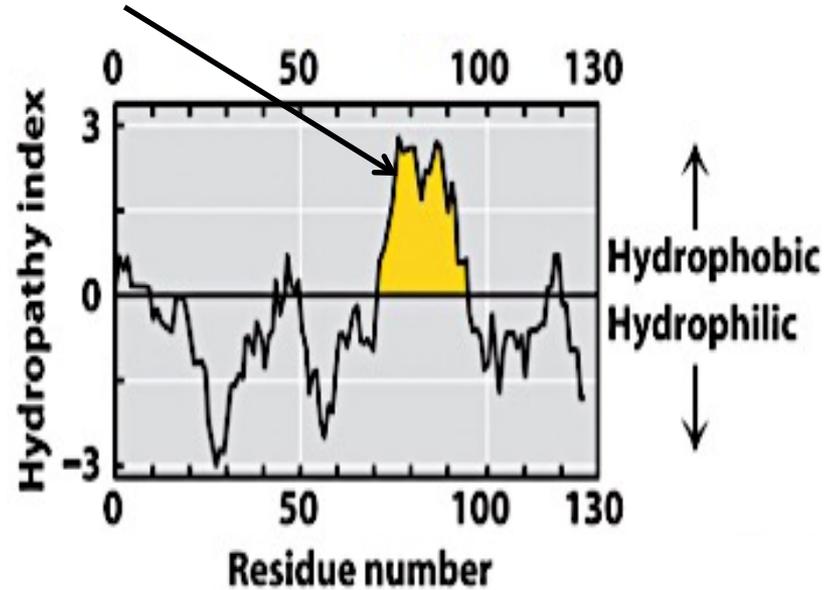
Score d'hydropathie de la séquence de 19 acides aminés centrée sur l'acide aminé en position 149



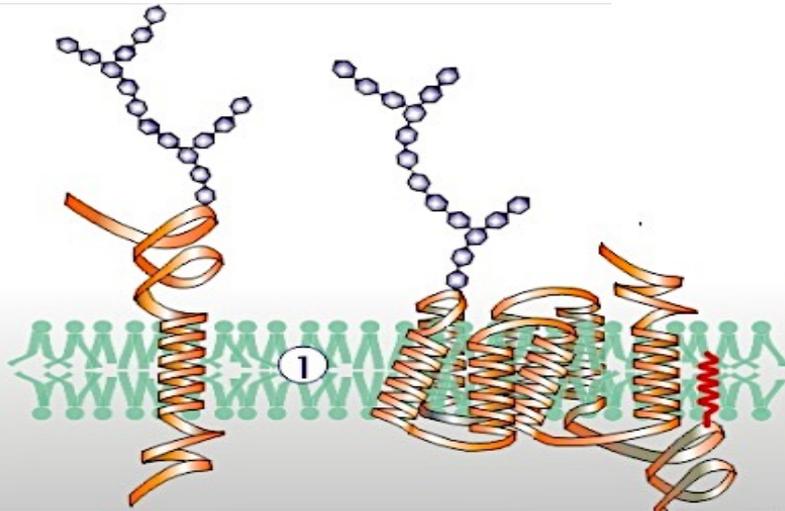
L'insertion des protéines membranaires

Une protéine transmembranaire possède au moins une hélice α d'environ 20 acides aminés **hydrophobes** (non polaires ou non chargés).

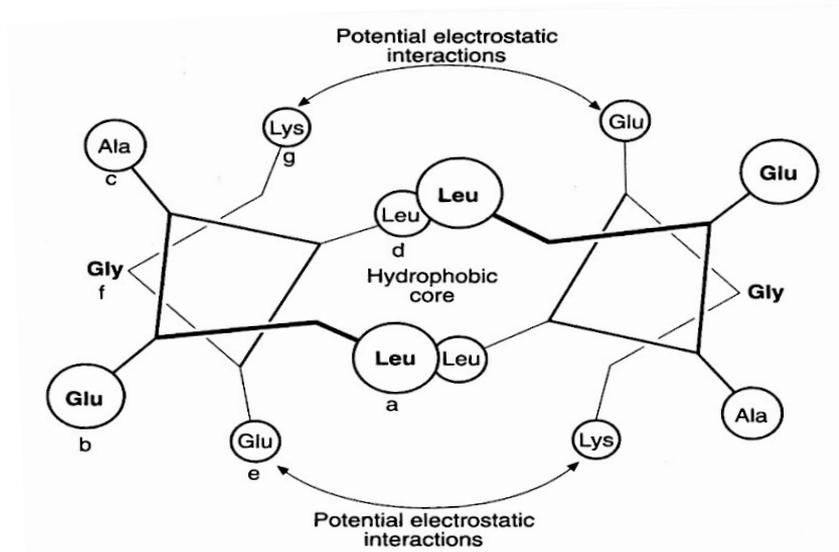
Séquence d'acides aminés à préférence conformationnelle en hélice α



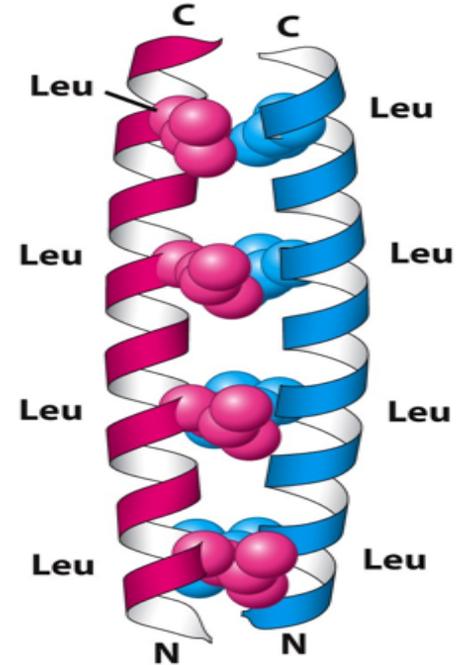
Glycophorine
une portion transmembranaire



Les « leucine-zipper »



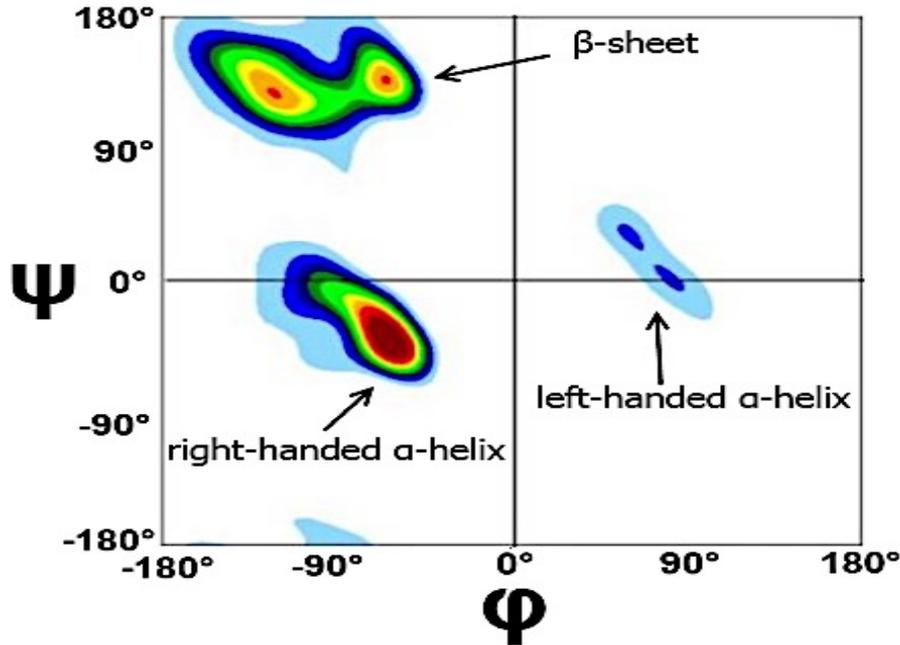
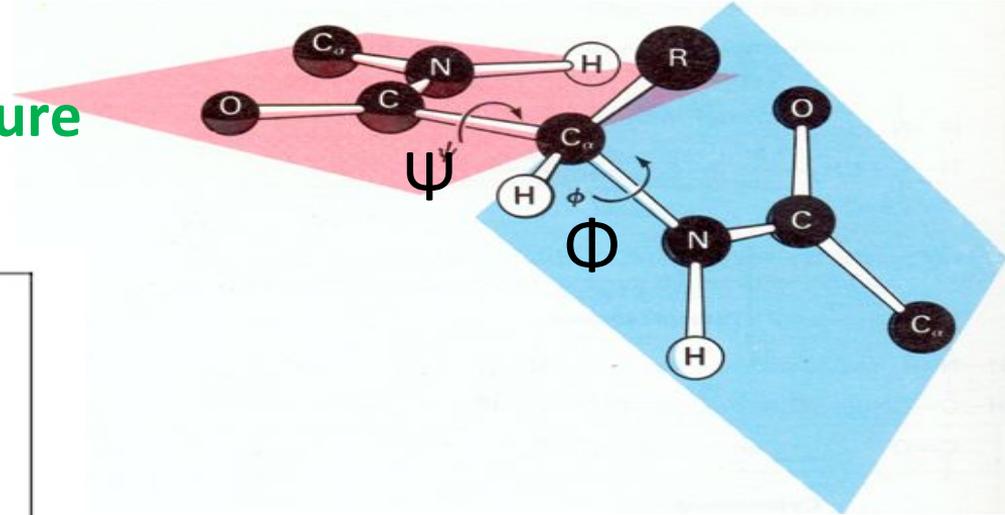
Hélices vues de dessus



Associations de 2 hélices présentant chacune dans leur séquence une Leucine tous les 4 acides aminés (donc sur une face).

Bilan : la structure secondaire

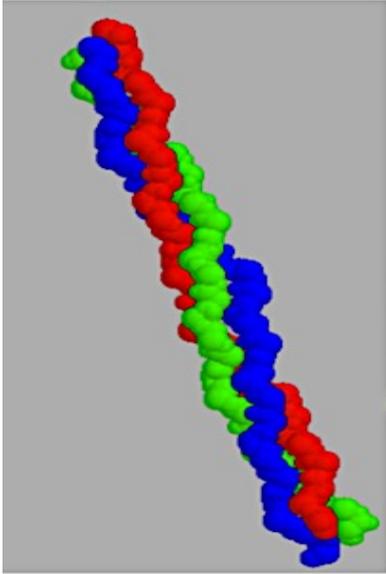
La géométrie de la **liaison peptidique** conditionne la **structure secondaire** de la protéine



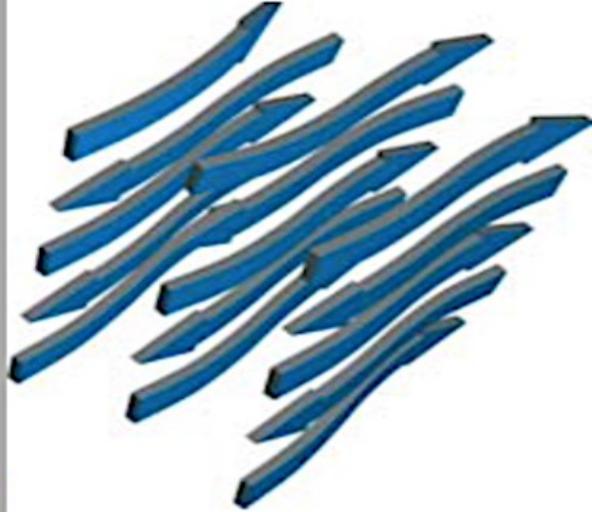
En fonction de la valeur des deux angles, deux motifs sont les plus probables : l'hélice α (droite le plus souvent) et le feuillet β

Quelques protéines fibrillaires

Collagen,
triple hélice

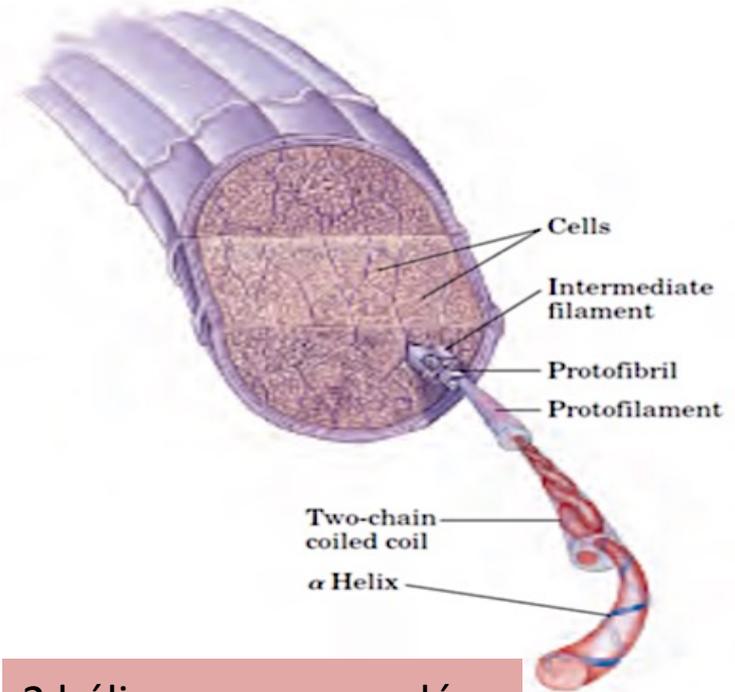


Soie, feuillet bêta
anti-parallèle



**Propriétés mécaniques de résistance
et +/- élasticité**

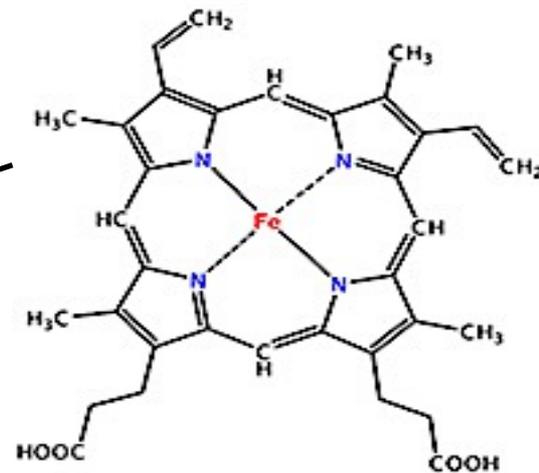
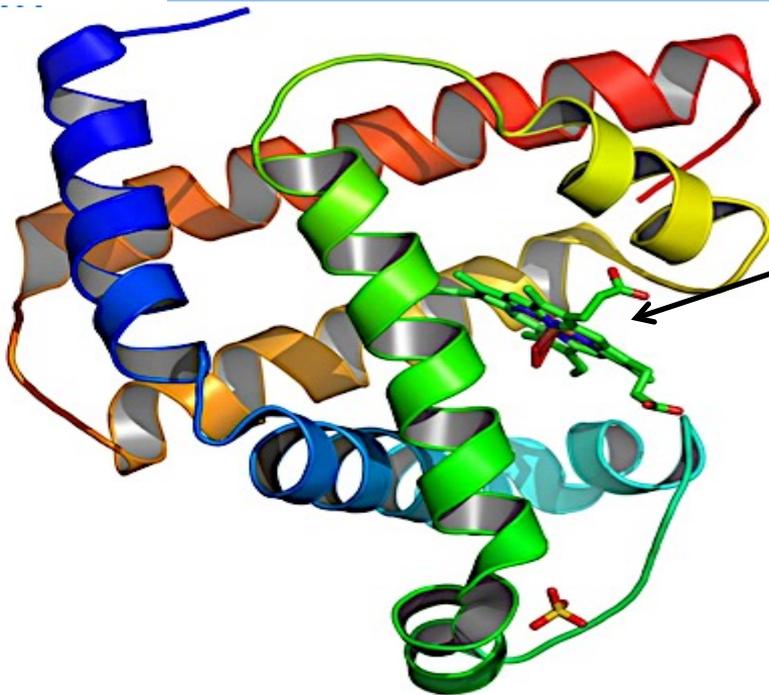
Cheveu, kératine, hélice α



2 hélices α surenroulées

La myoglobine, hétéroprotéine musculaire

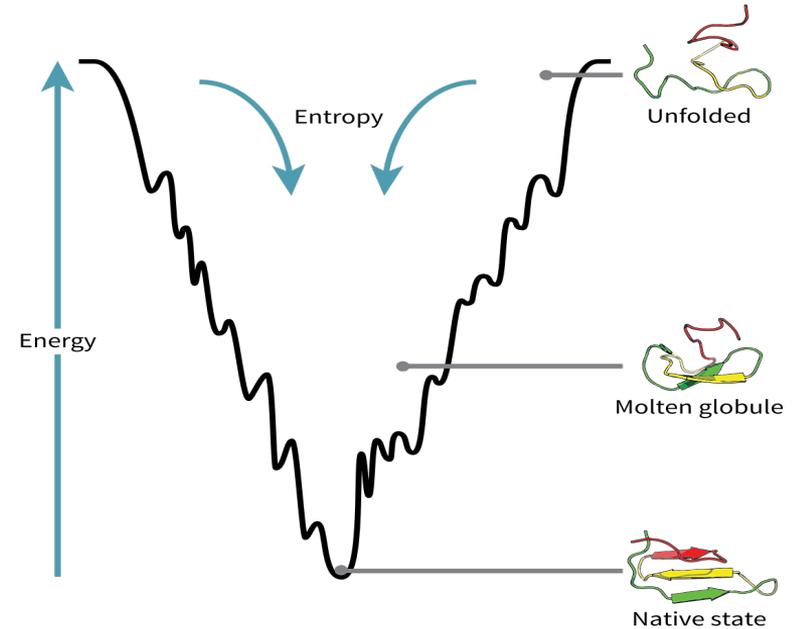
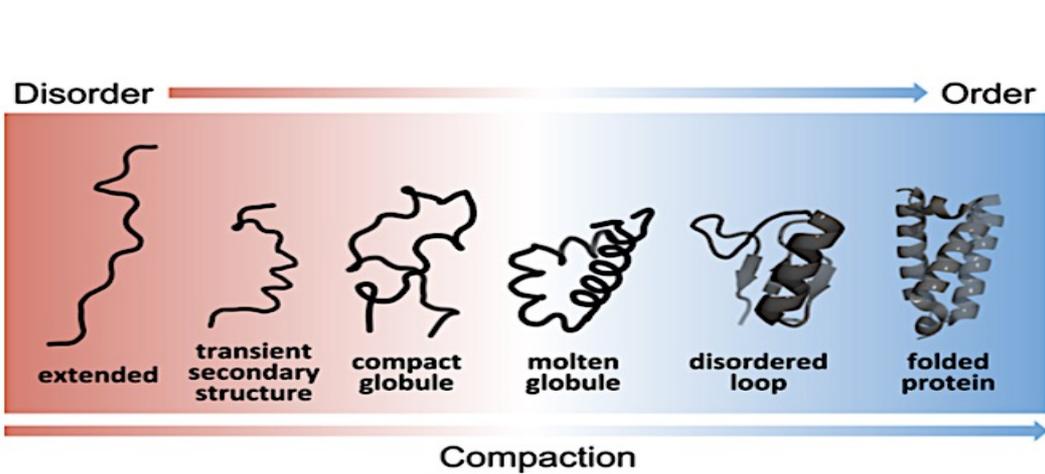
Structure tertiaire = repliement tridimensionnel



Hème à cœur de Fe²⁺

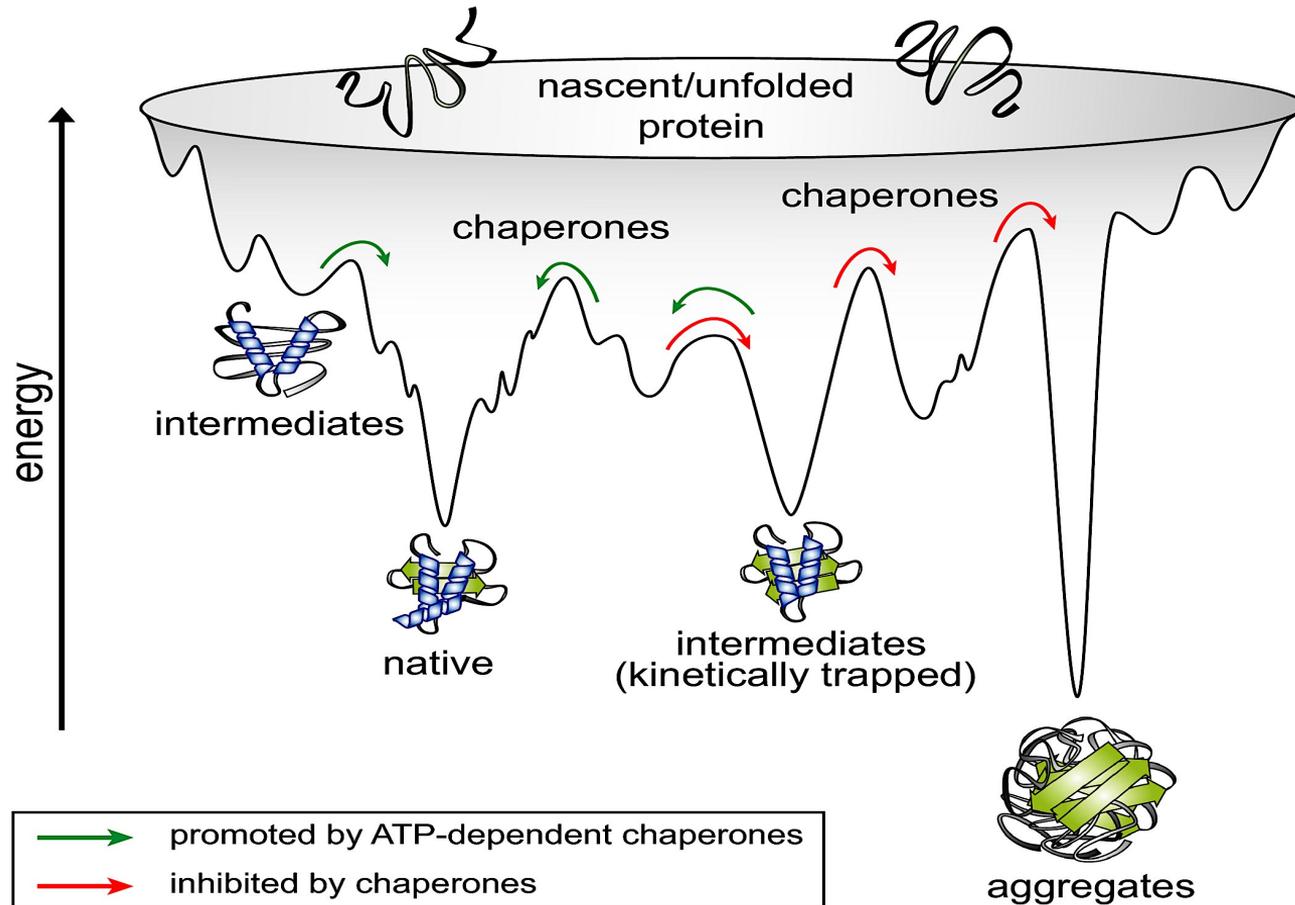
Protéine à 8 hélices α

Le repliement progressif

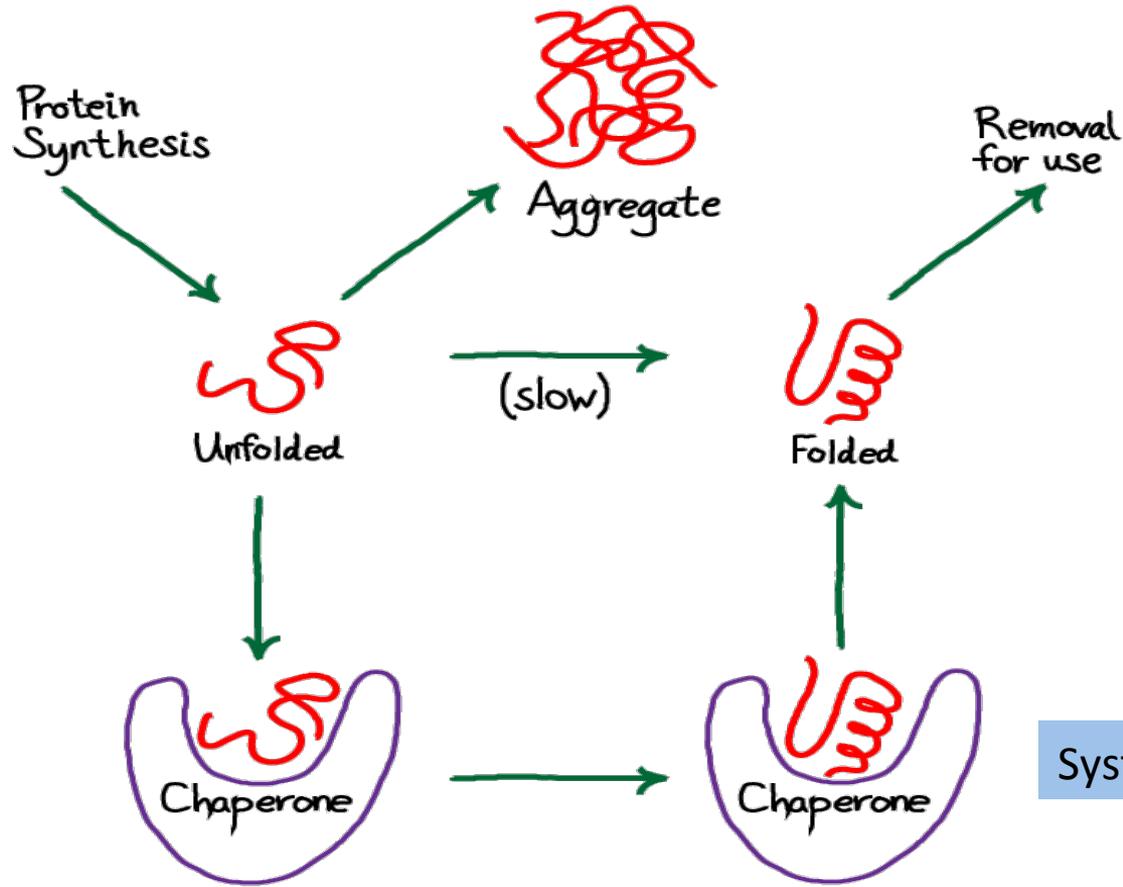


Le repliement conduit à la forme la plus stable, celle d'énergie interne minimale.

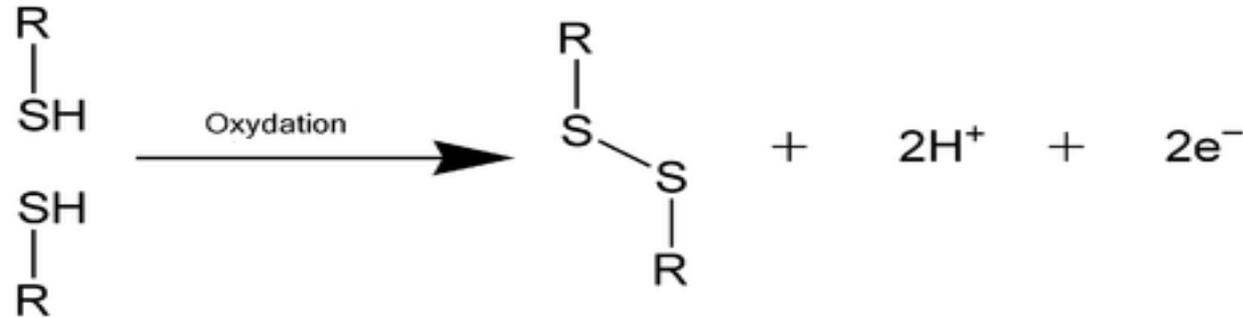
Les chaperonines favorisent le repliement



Les chaperonines catalysent le repliement

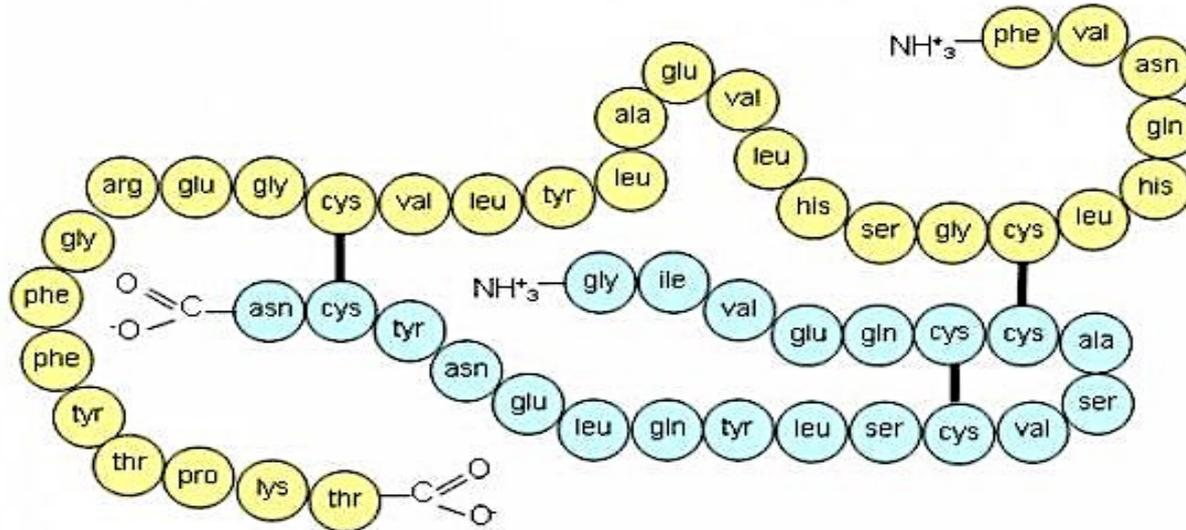


Les ponts disulfures



Réaction catalysée dans le REG

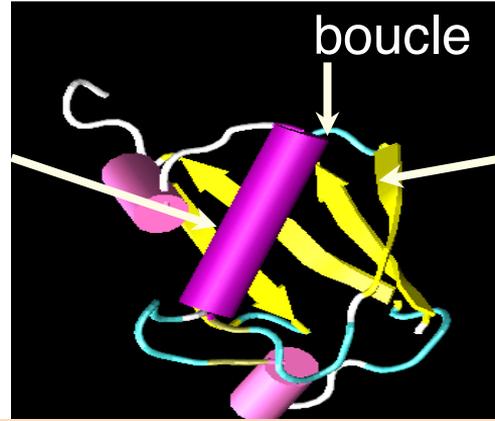
insuline



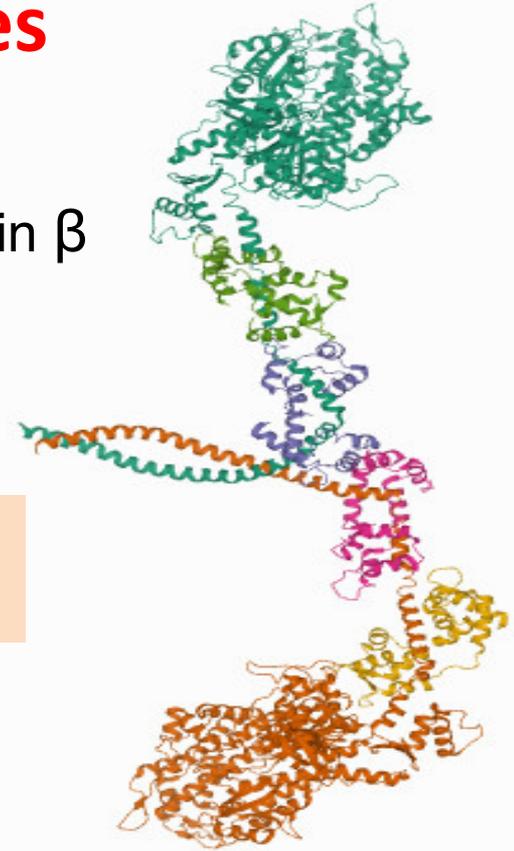
Des protéines à domaines



Fibronectine à 3 domaines globulaires



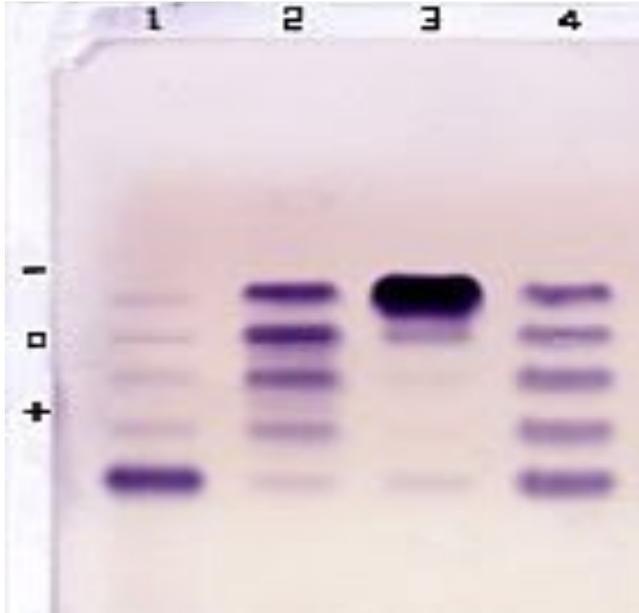
L'ubiquitine : association d'hélices et de feuillets



2 myosines : globulaires et fibrillaires

Les enzymes multimériques

Électrophorèse de la lactate déshydrogénase réalisée en **conditions non dénaturantes**



Pistes 1 : coeur

Pistes 2 : foie

Pistes 3 : muscle

Pistes 4 : rein

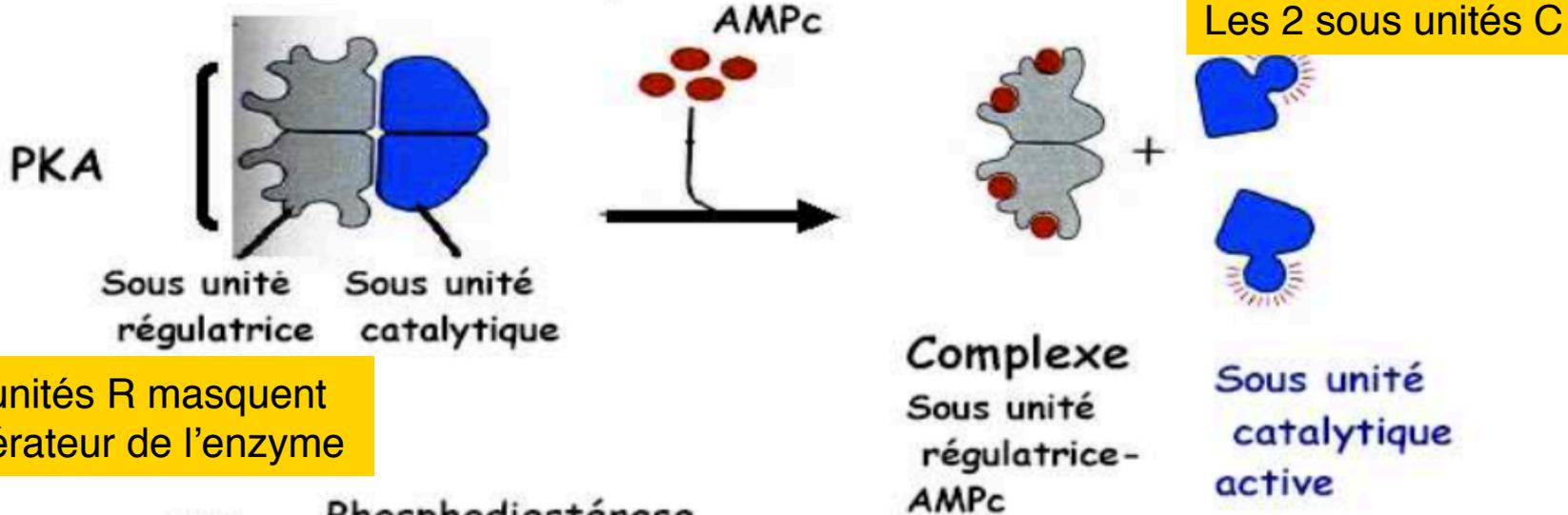
En conditions dénaturantes, deux bandes apparaissent, de masse moléculaire : 36,7 kDa et 36,9 kDa.

Gel à forte résolution

La dissociation de la structure IV

PKA = protéine kinase AMPc dépendante

L'AMPc se lie à la protéine kinase A

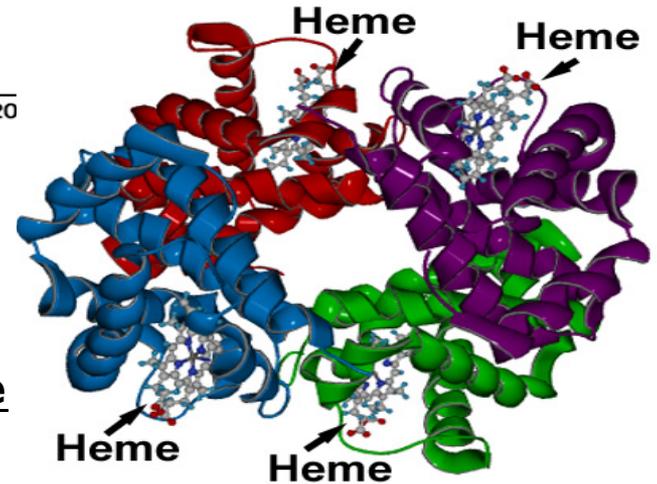
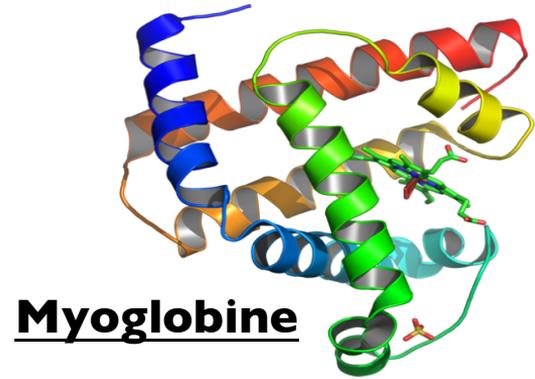
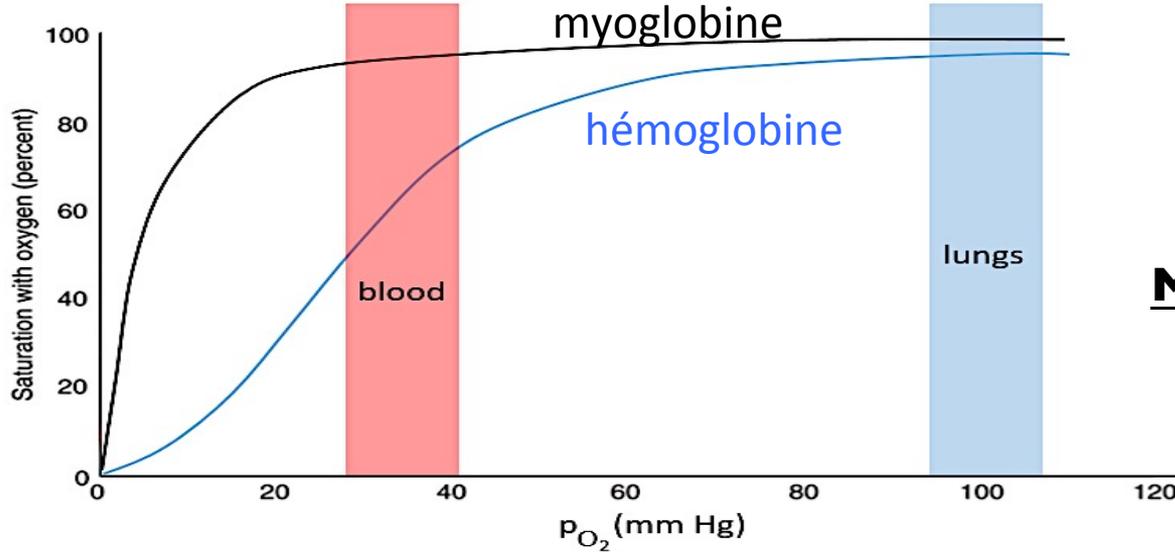


Les sous unités R masquent le site opérateur de l'enzyme

Effets multiples

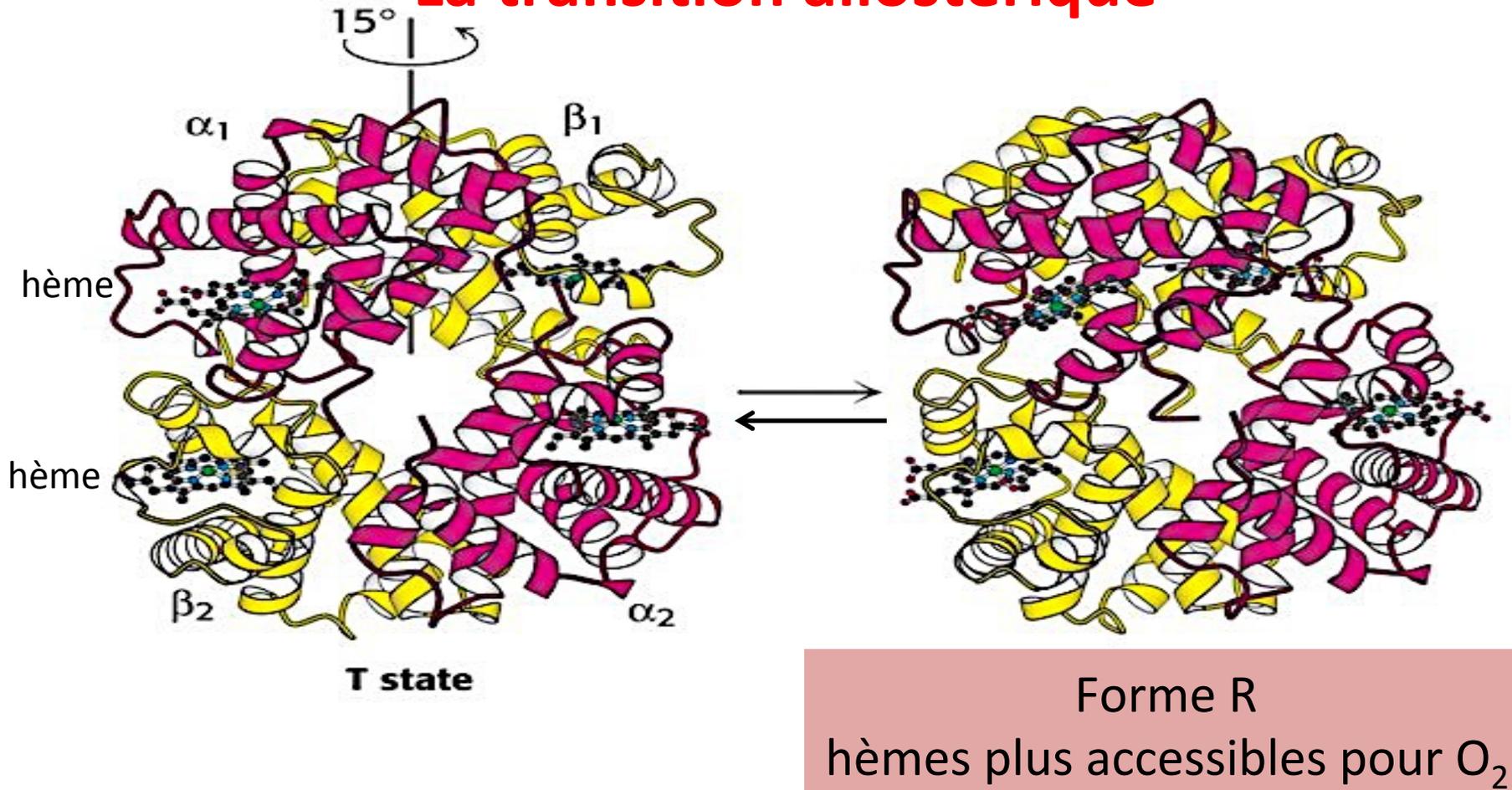
Il est rapidement dégradé en AMP, inactif

Comparaison Myoglobine - Hémoglobine



Courbes de saturation comparées : Mb - Hb

La transition allostérique



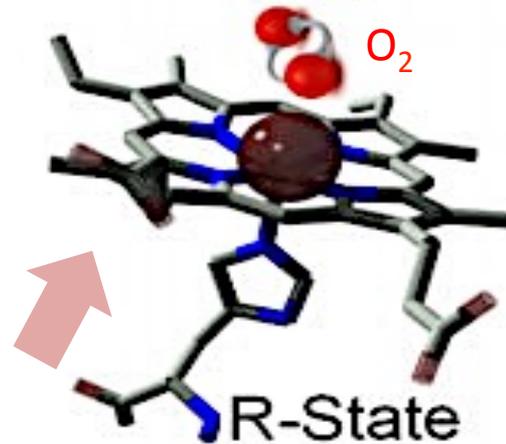
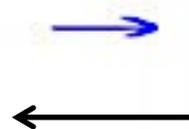
La liaison avec O_2 modifie la conformation de la chaîne d'acides aminés

Histidine distale

hème

Histidine proximale

T-State



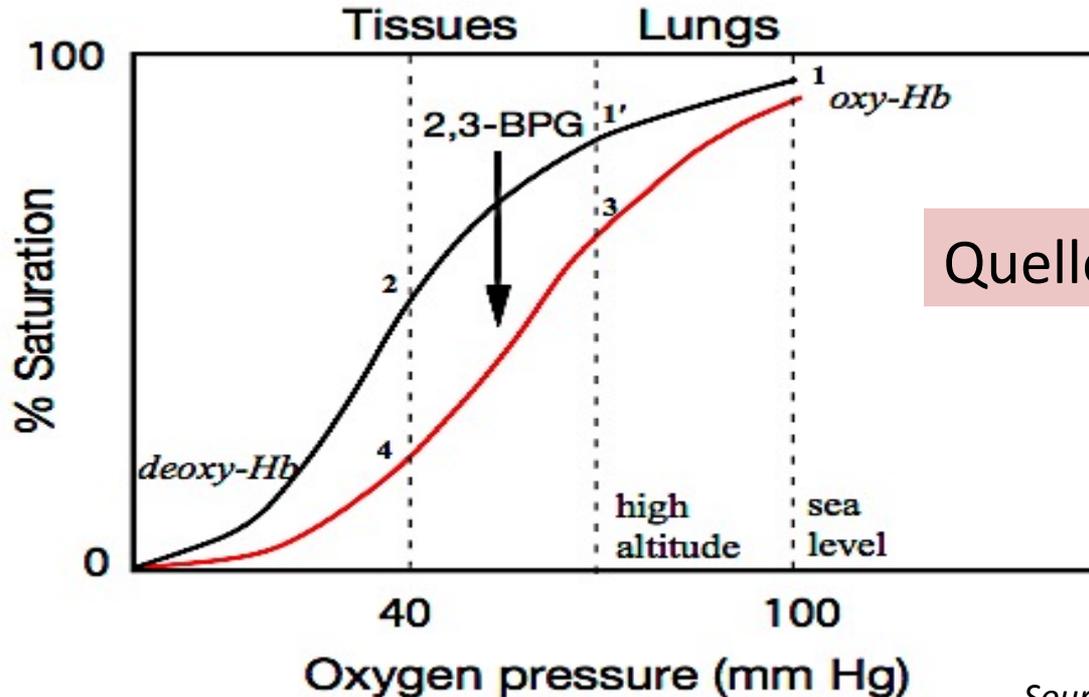
L'ion Fe^{2+} au cœur de l'hème est tiré sous le plan de l'hème par l'histidine proximale.

Le dioxygène se lie à l'ion Fe^{2+} qui est alors tiré dans le plan de l'hème, ce qui déplace l'histidine proximale.

L'affinité de l'hémoglobine peut varier

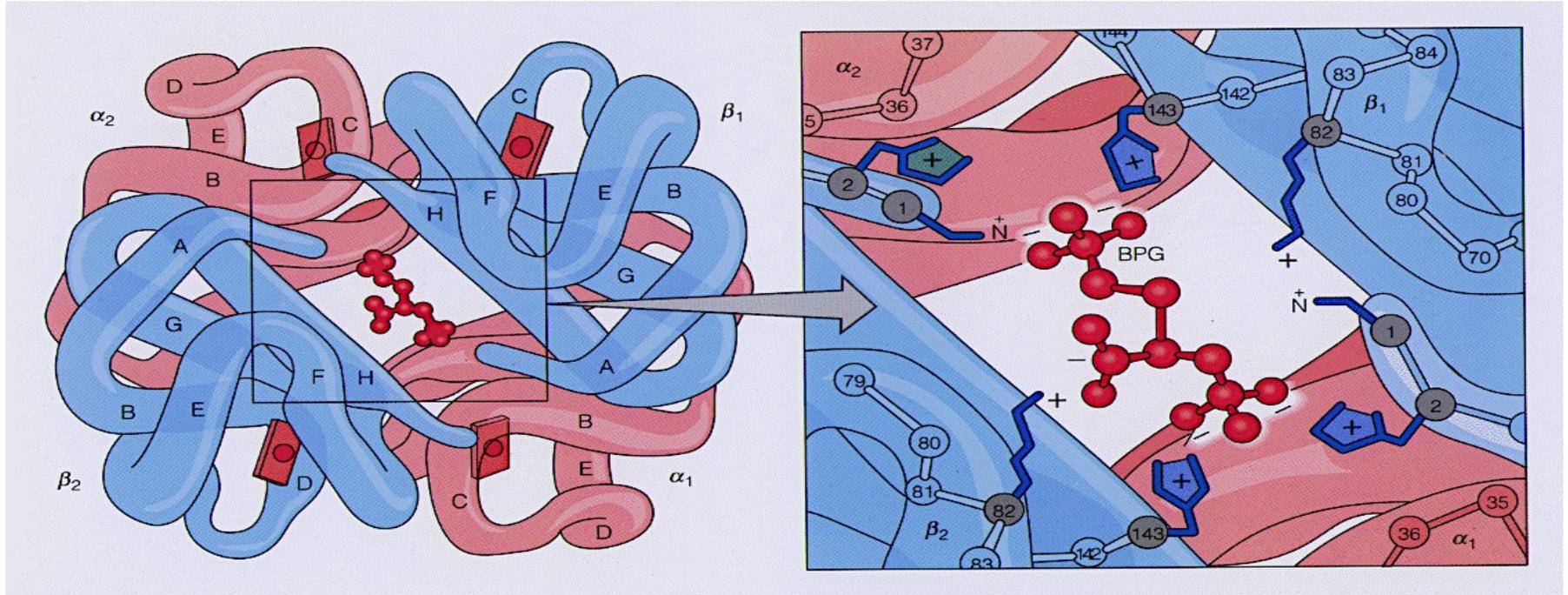
En altitude, nos hématies produisent du 2-3 BPG sous l'effet de la diminution de la PO_2 .

Observons l'effet de ce 2-3 BPG sur le comportement d'Hb.



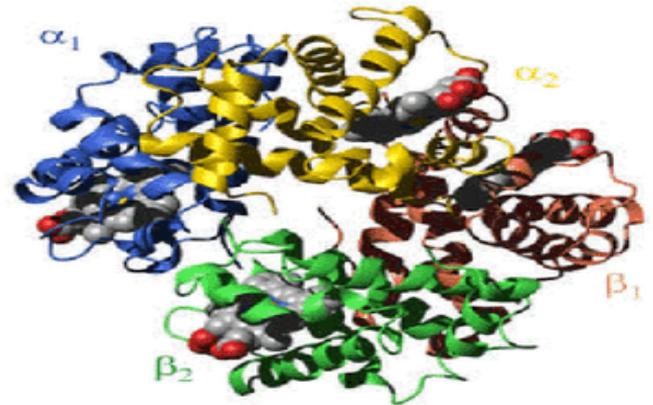
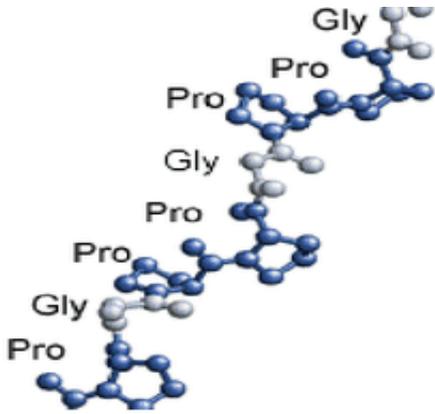
Quelle affinité ?

Fixation du 2-3 BPG au cœur de l'hémoglobine

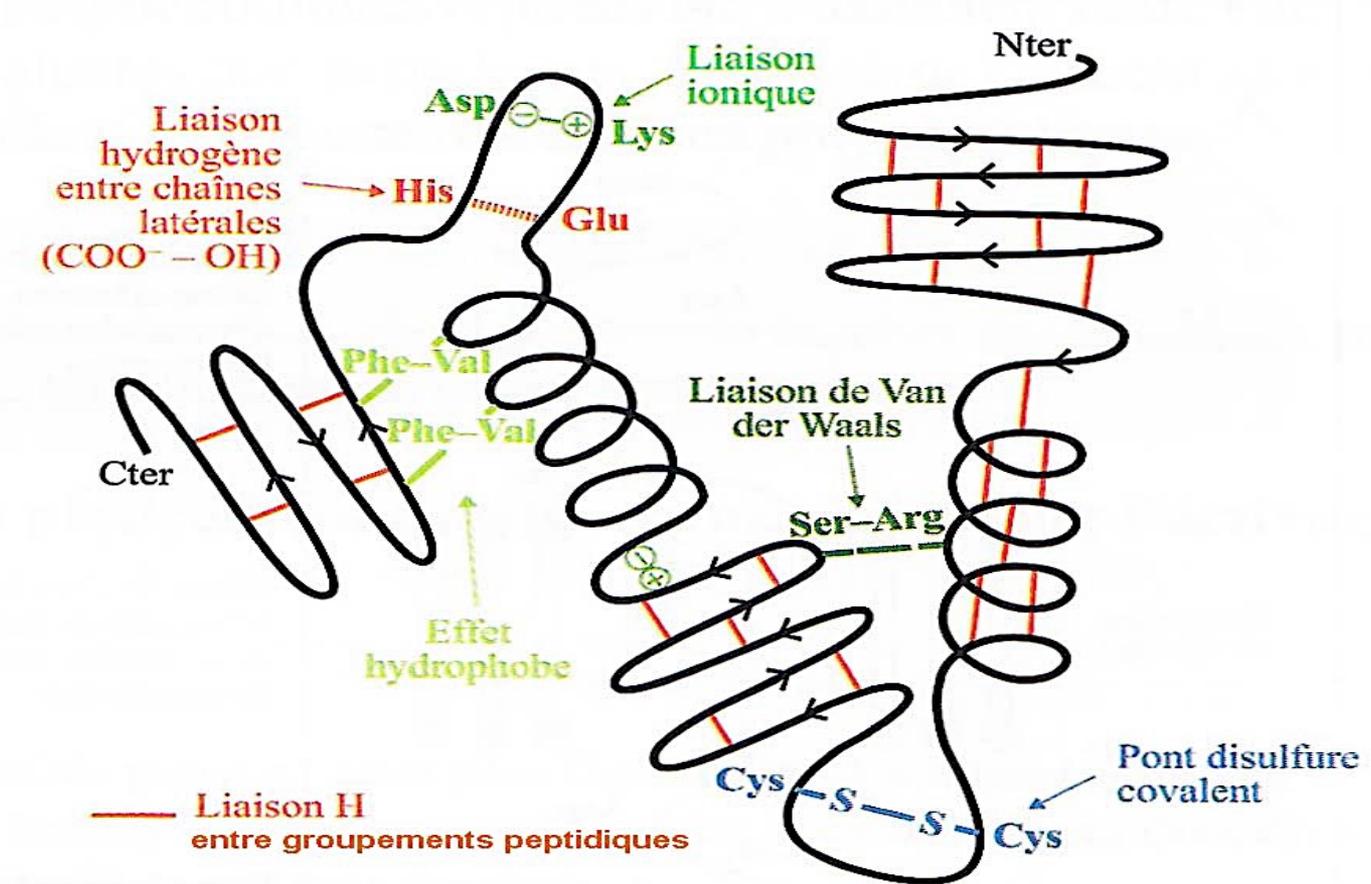


Stabilisation de la forme tendue

BILAN : les niveaux structuraux



BILAN : diversité des liaisons mises en jeu



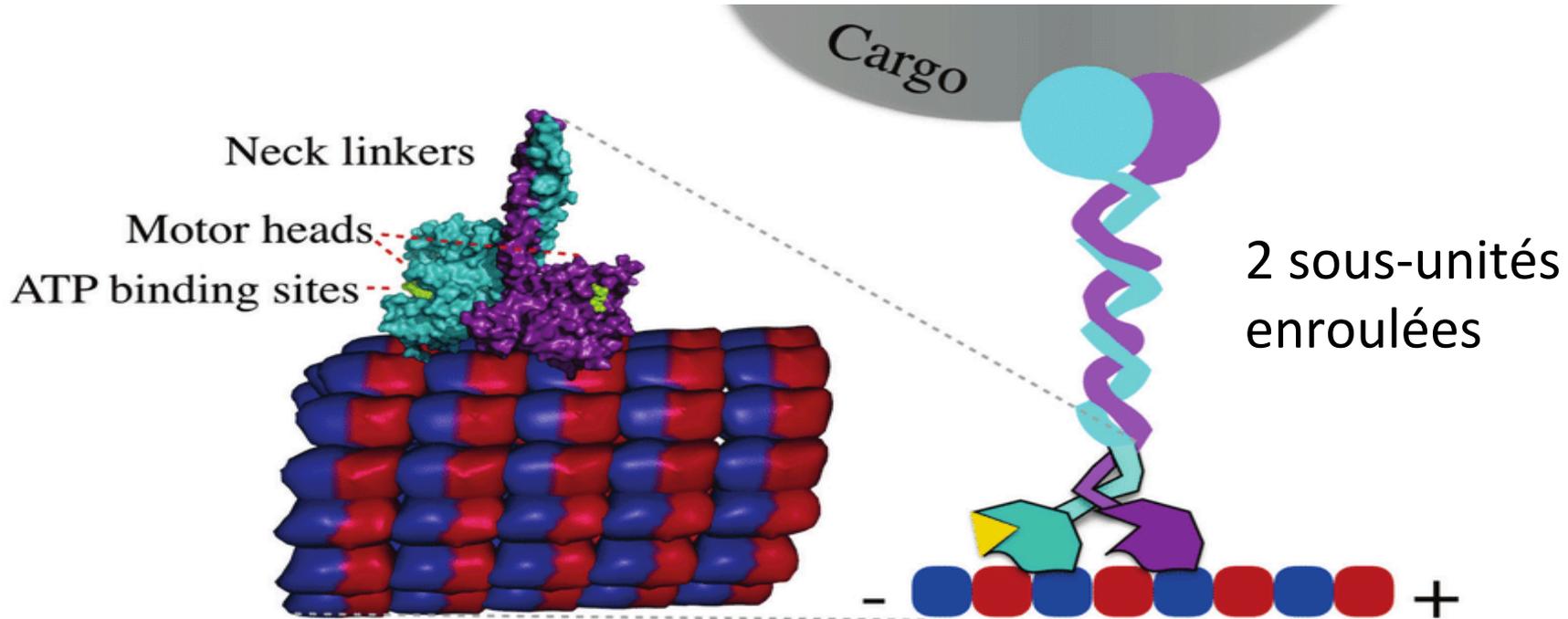
Source : Lelièvre, 2018

2. Les protéines, des hétéropolymères

2.2. Les protéines sont des édifices dynamiques

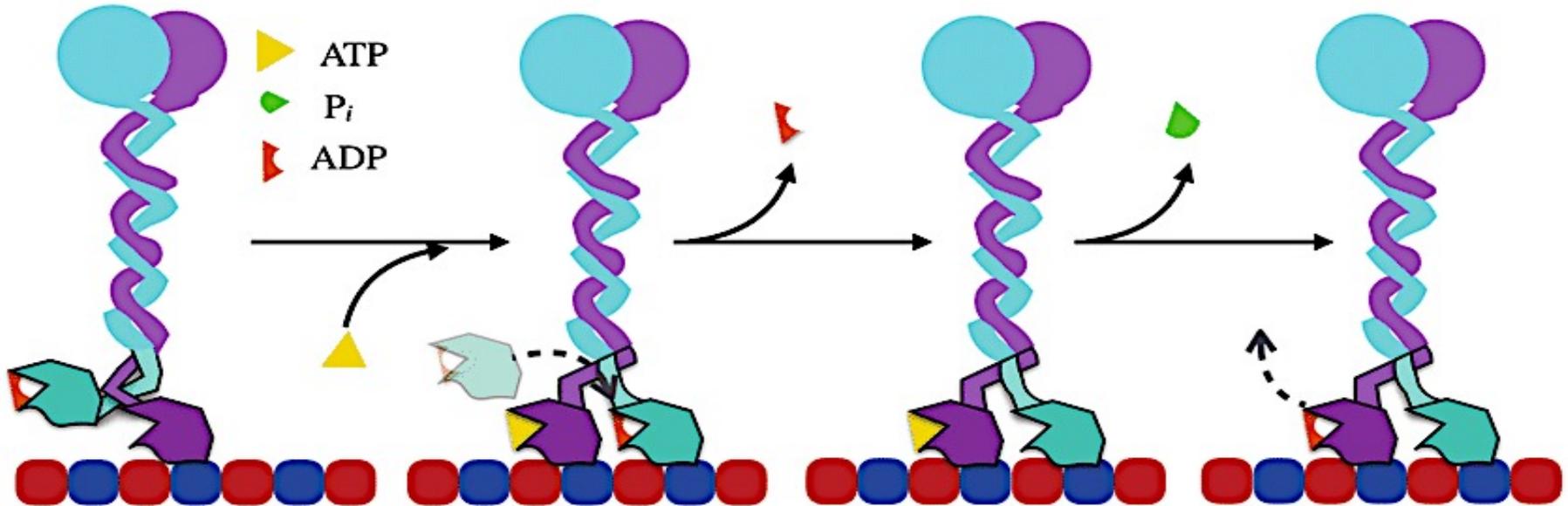
a) La kinésine, une protéine dynamique

Liaison transitoire avec une tubuline.
Rotation et déformation induite par une hydrolyse d'ATP.

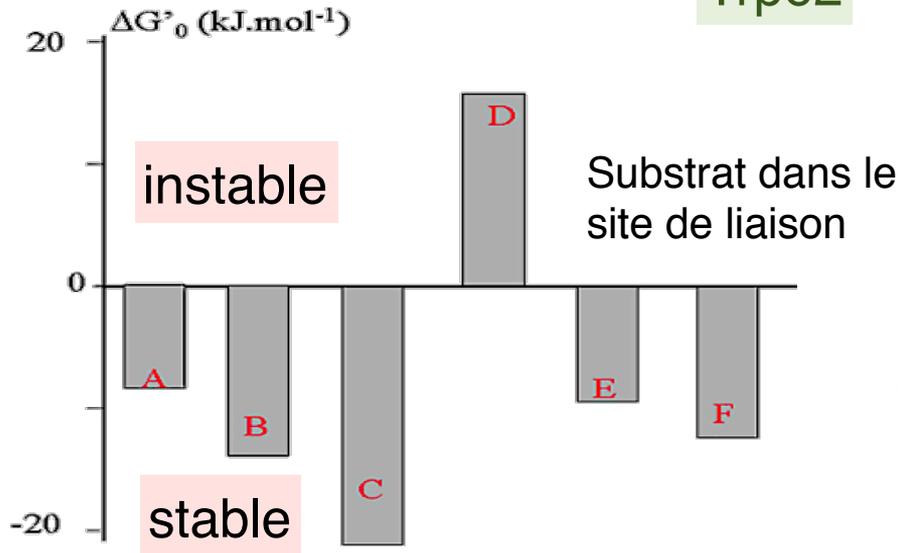
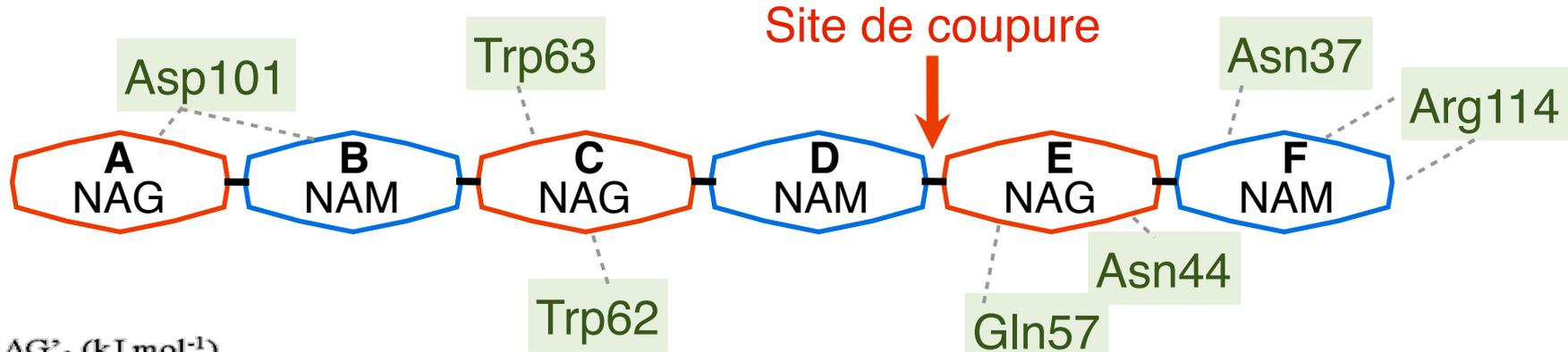


La kinésine, une protéine dynamique

Rotation et déformation induite par une hydrolyse d'ATP.
Séquence du mouvement.



L'enzyme fixe un substrat (ligand) spécifique

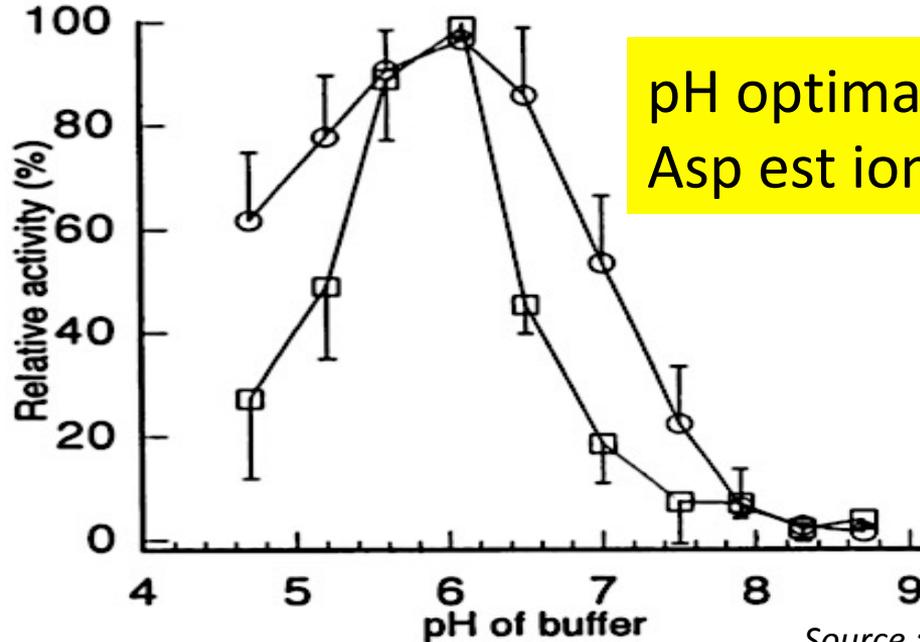
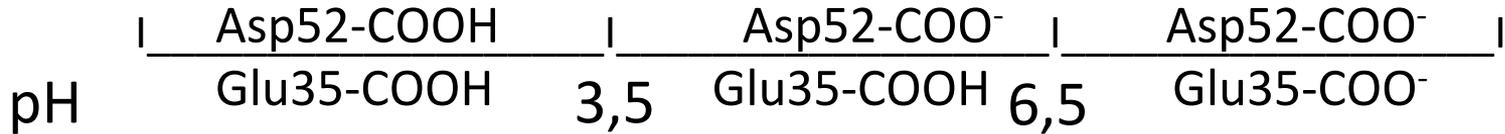


acide aminé impliqué dans une liaison faible avec le substrat

Dans le site de fixation, le 4^{ème} cycle n'est pas stable dans sa conformation chaise => il se tord en demi-chaise et devient alors réactif

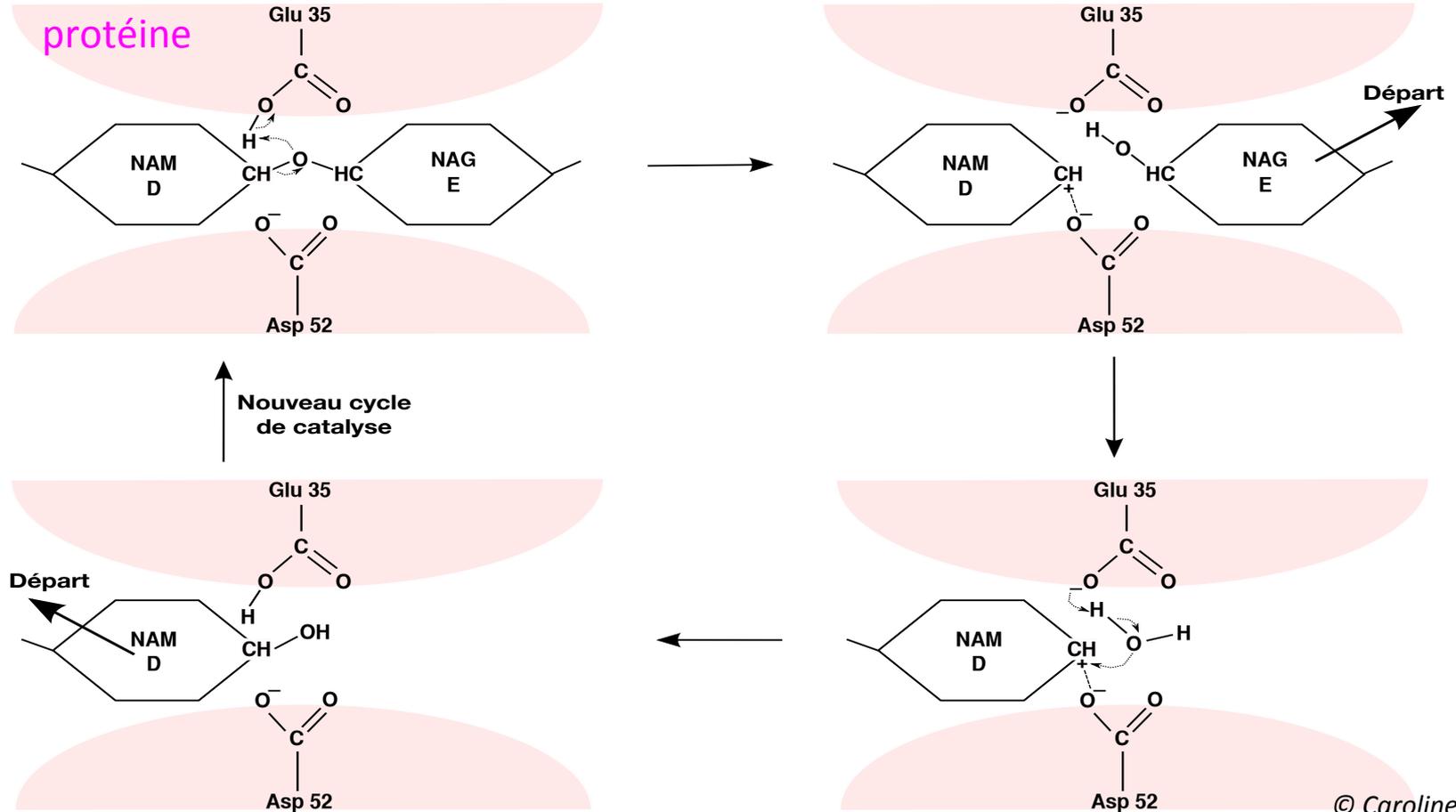
Action du pH sur l'activité du lysozyme

Asp52 a un pKa de 3,5 et Glu35 a un pKa de 6,5.

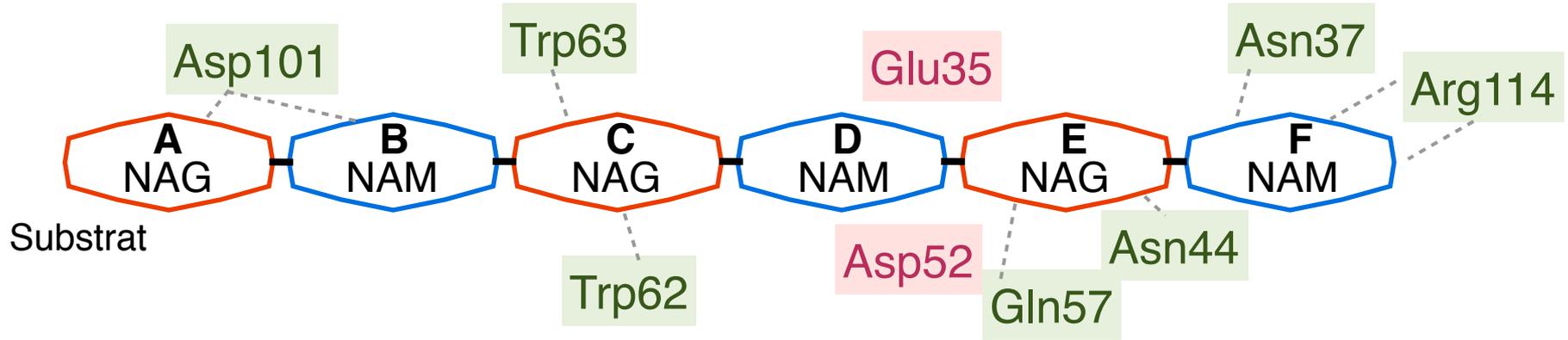


pH optimal = 6
Asp est ionisé mais pas Glu

Mécanisme réactionnel



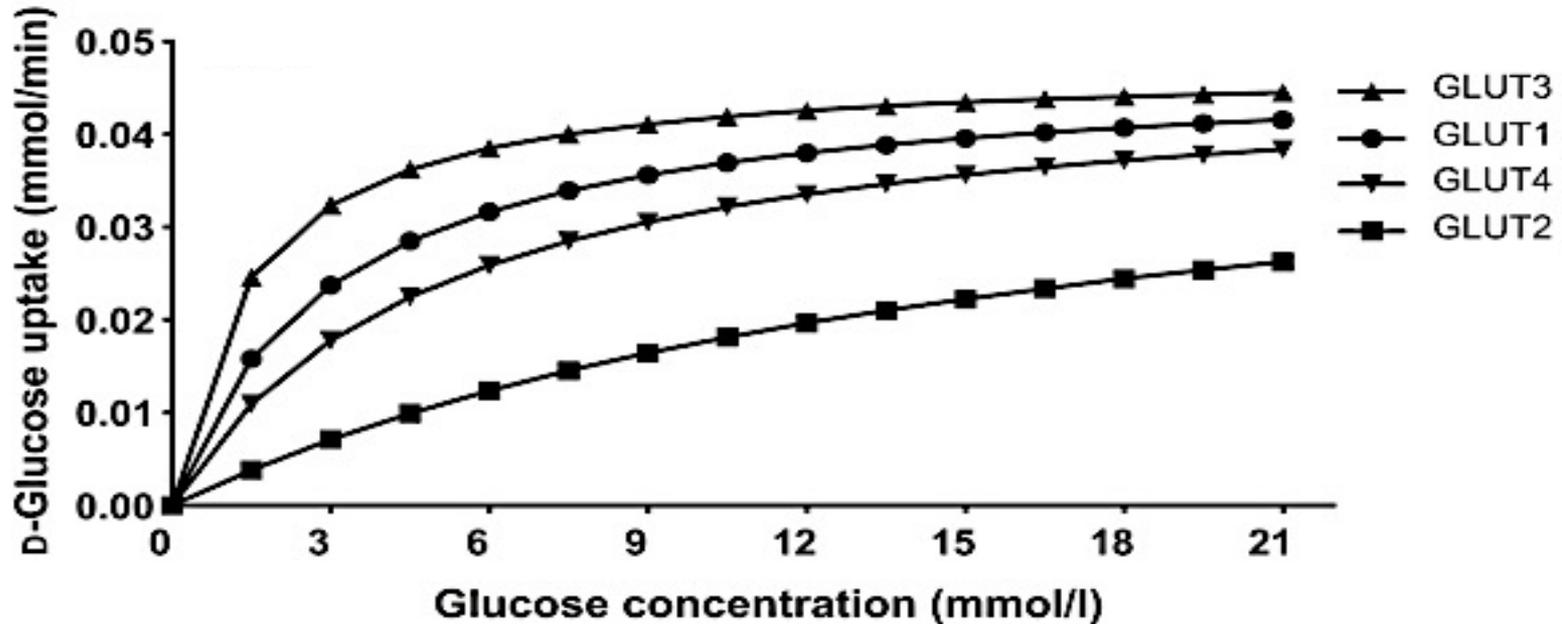
Le site actif



Site actif = site de liaison + site catalytique

La notion d'affinité

Les perméases à glucose : famille de 7 protéines nommées GluT1 à GluT7.

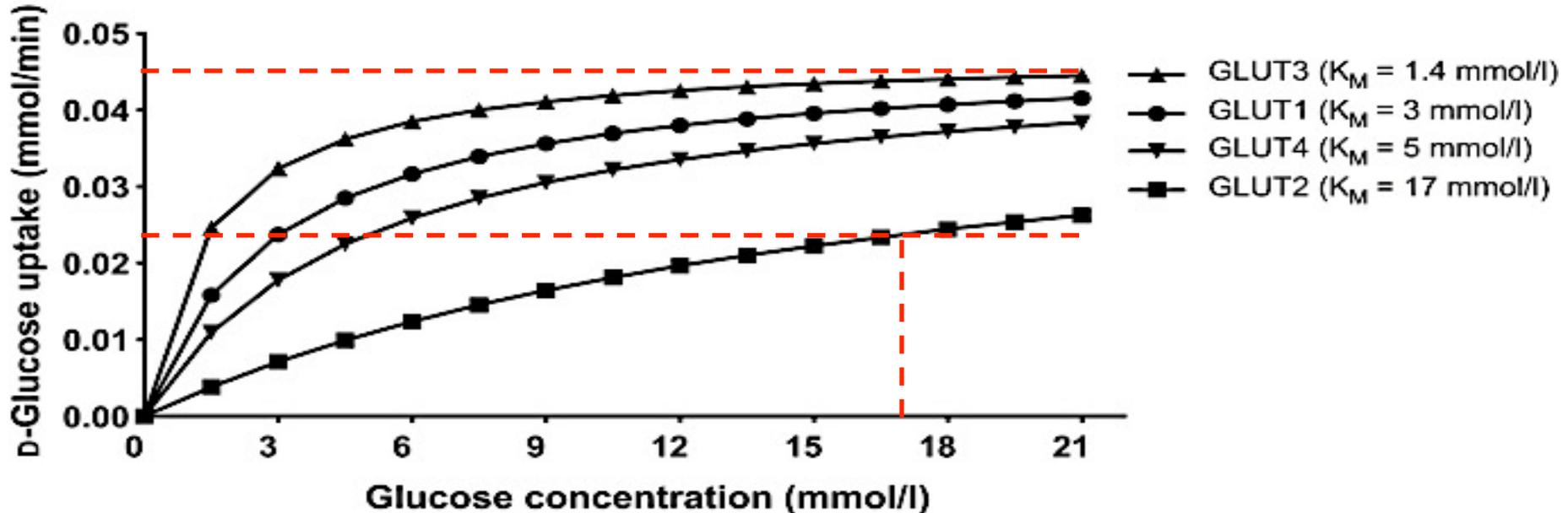


Toutes ces perméases ont une vitesse maximale de $0,44 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1}$.

La notion d'affinité

Affinité liée au K_M

K_M = concentration nécessaire pour une vitesse égale à la moitié de la vitesse maximale

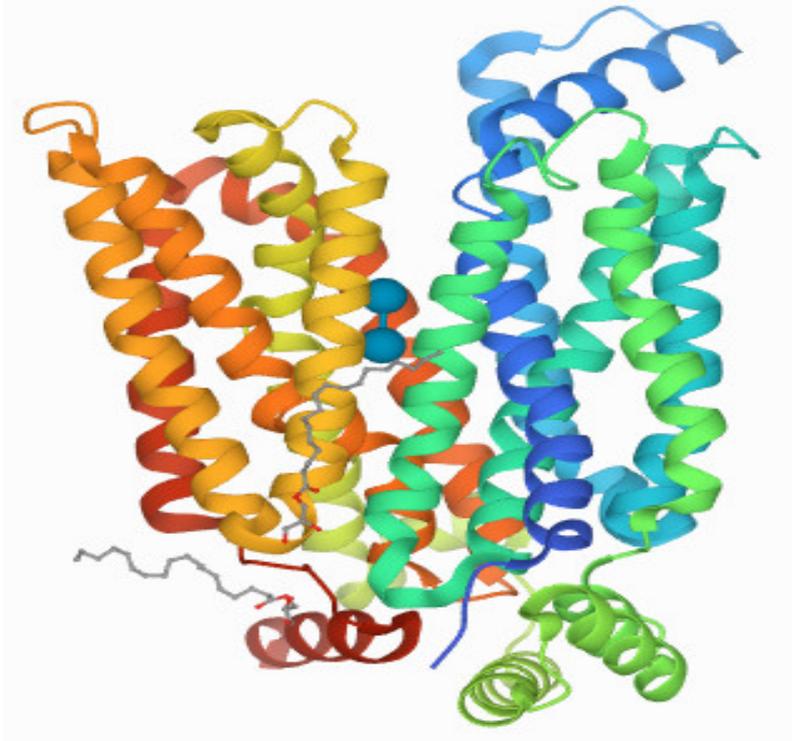


L'affinité est liée au tissu

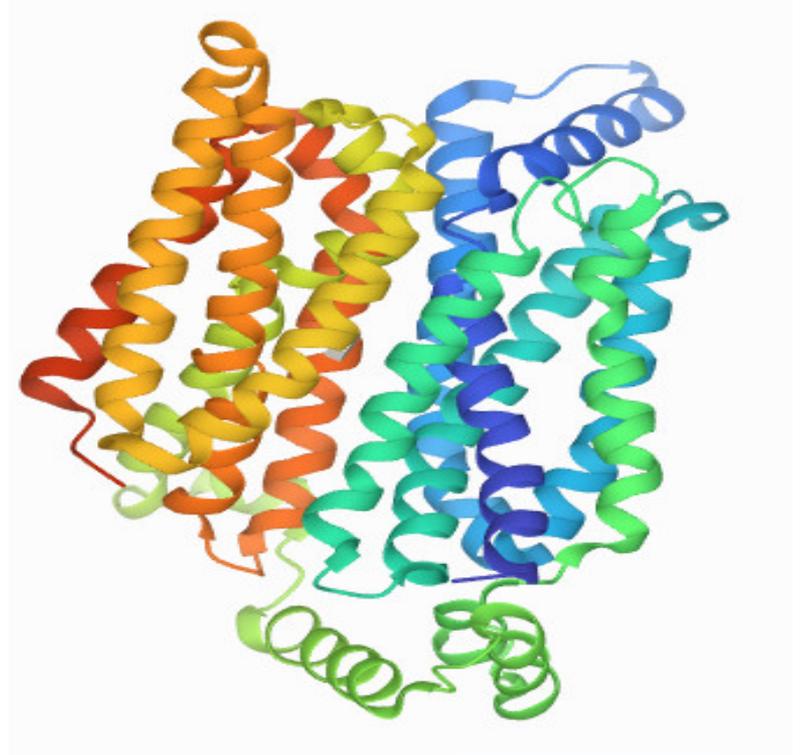
	Localisation	K_M en mmol.L ⁻¹
GluT1	Intestin, capillaire	3,0
GluT2	Foie, pancréas, intestin	17,0
GluT3	Encéphale	1,4
GluT4	Muscle, tissu adipeux	5,0

La glycémie est de 1 g.L⁻¹ soit 5,4 mmol.L⁻¹.

GluT1 et GluT3 : structure tridimensionnelle



GluT3 avec un maltose lié à la place du glucose

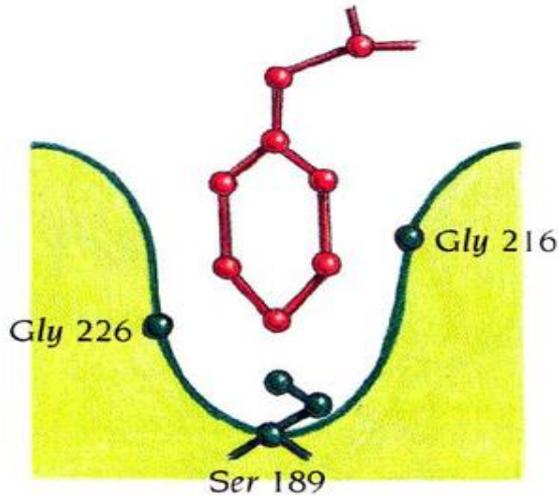


GluT1 seul

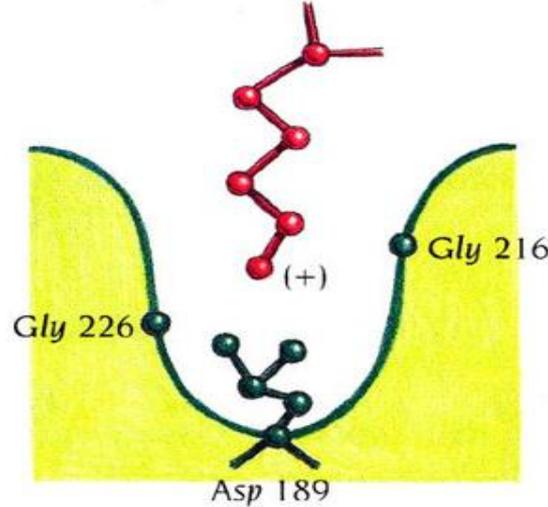
Une spécificité relative

	Localisation	Substrats liés en plus du glucose
GluT1	Intestin, capillaire	galactose
GluT2	Foie, pancréas, intestin	fructose et galactose
GluT3	Encéphale	galactose
GluT4	Muscle, tissu adipeux	-

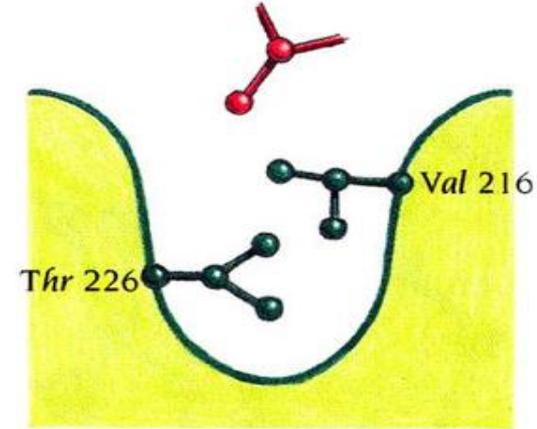
La spécificité des protéases à sérine



Chymotrypsine



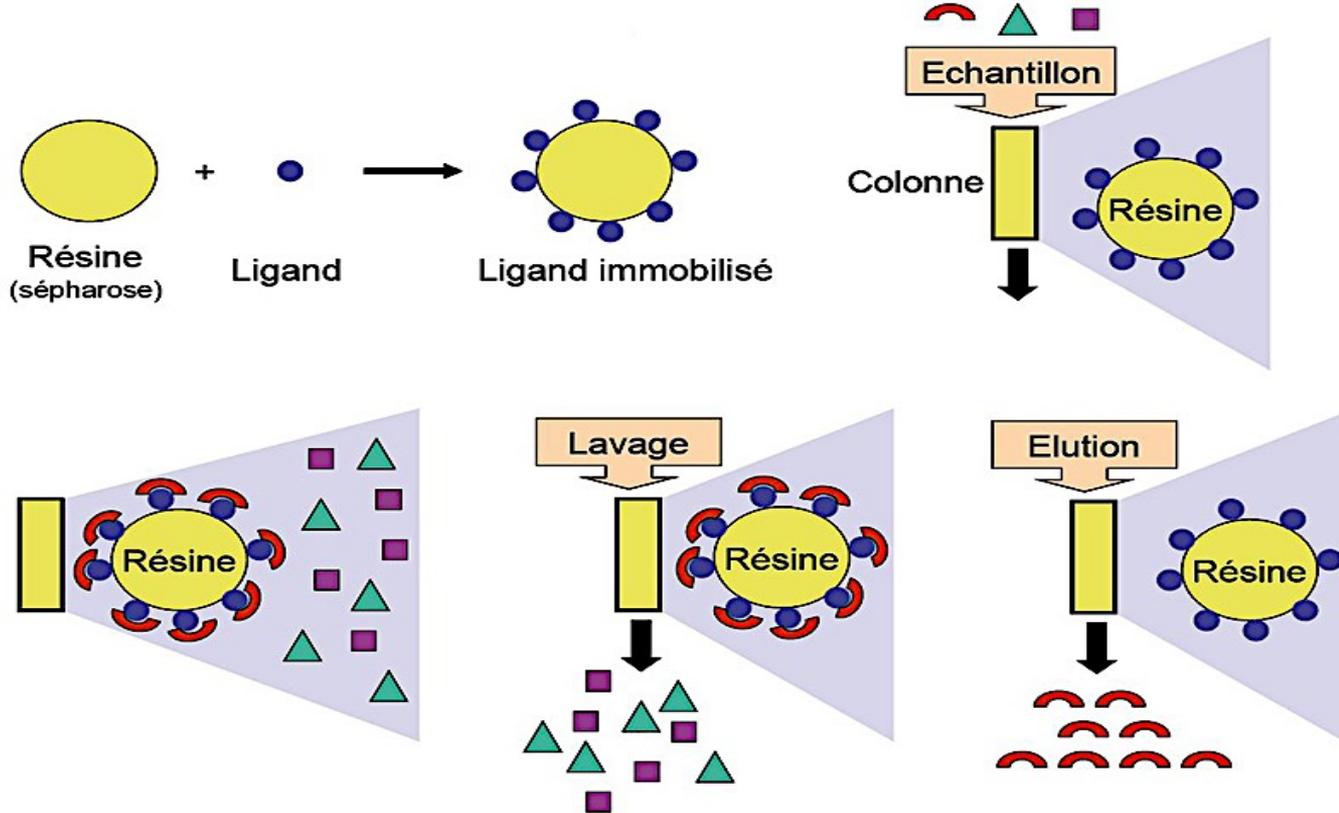
Trypsine



Élastase

La forme de la poche catalytique, ainsi que sa charge sont dues aux acides aminés du site de liaison et déterminent la spécificité de substrat.

c) Outils de biochimie : la chromatographie d'affinité

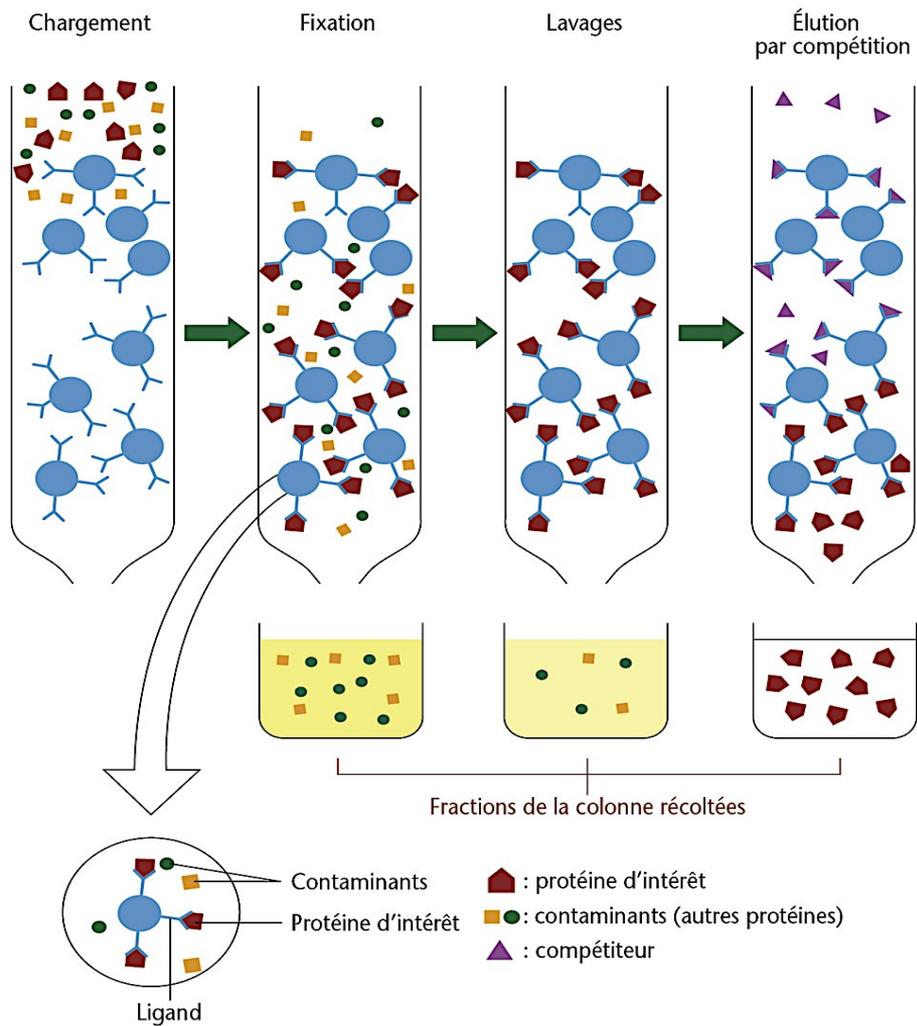


Trois types d'affinités sont utilisées

affinité enzyme-substrat

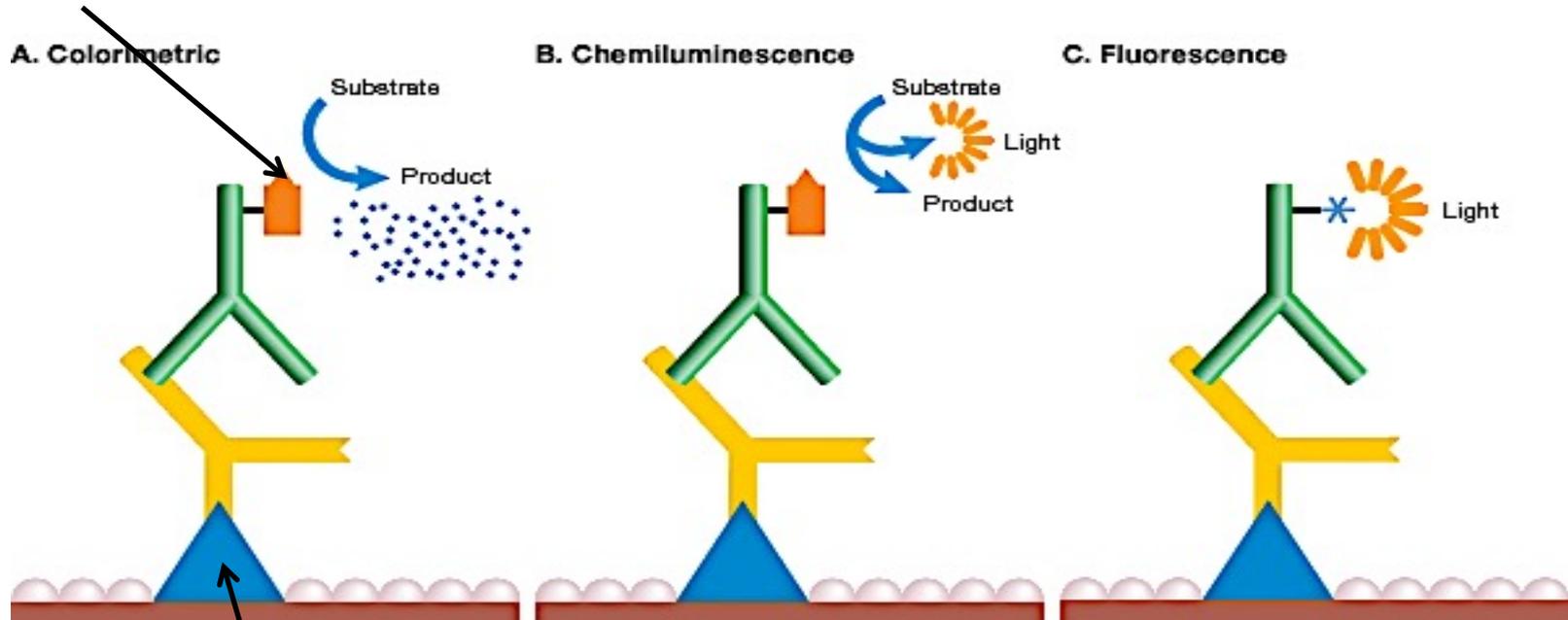
affinité ligand-récepteur

affinité antigène-anticorps



c) Outils de biochimie : l'immunodétection

Enzyme couplée à l'anticorps

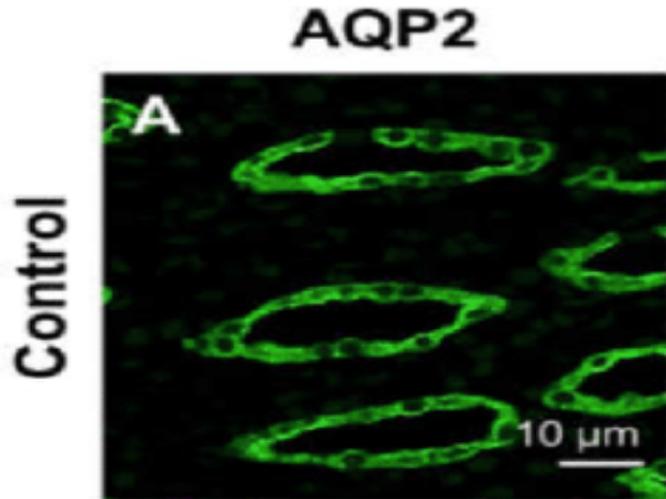


Protéine à détecter

Utilisations de l'immunodétection

Sur des tissus

Anticorps fluorescents

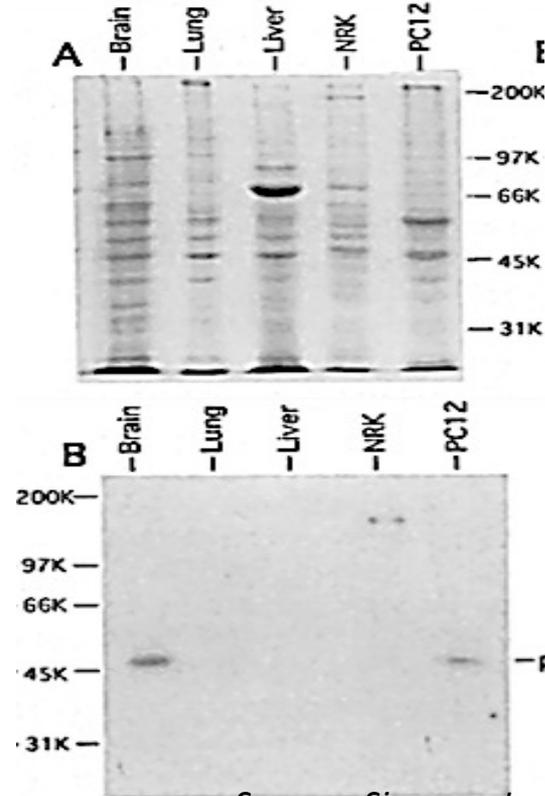


Anticorps couplés à un fluoro-
chrome rose ciblé contre
l'aquaporine dans des tubes
collecteurs du rein.

Source : Choi et al., Cells, 2020

Sur des gels d'électrophorèse

Western blot



Gel avec
révélation de
toutes les
protéines

Western blot
avec anticorps
radioactifs anti-
protéine p47

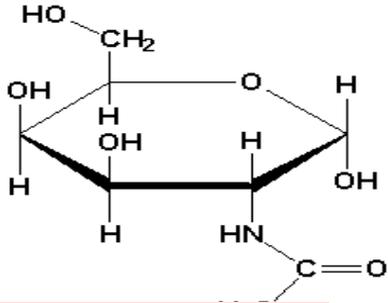
Source : Simpson Journal of Cell Biology, 1996

2. Les protéines, des hétéropolymères

2.3. Les modifications post-traductionnelles

a) Les glycoprotéines : la glycosylation

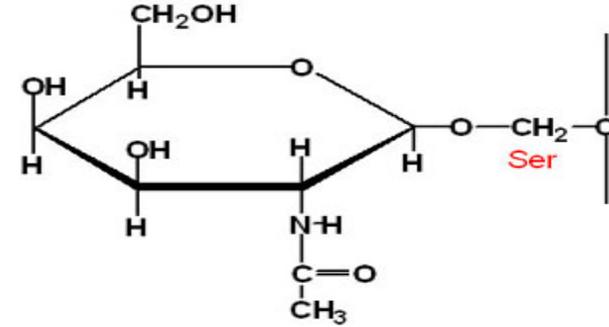
chaîne d'acides
aminés



N-acétyl-
galactosamine
activé



O-glycosylation



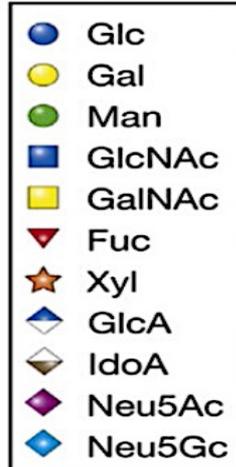
ENZYME = glycosyl- transférase
localisation : appareil de Golgi

O-glycosylation des protéoglycanes

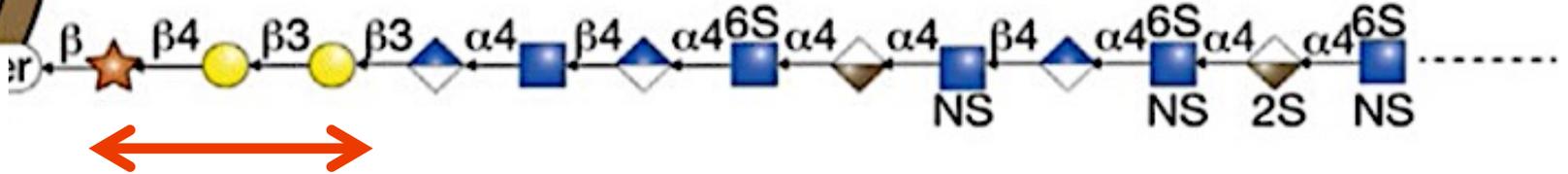
Proteoglycan

Longue chaîne de sucres
fixée dans l'appareil de Golgi

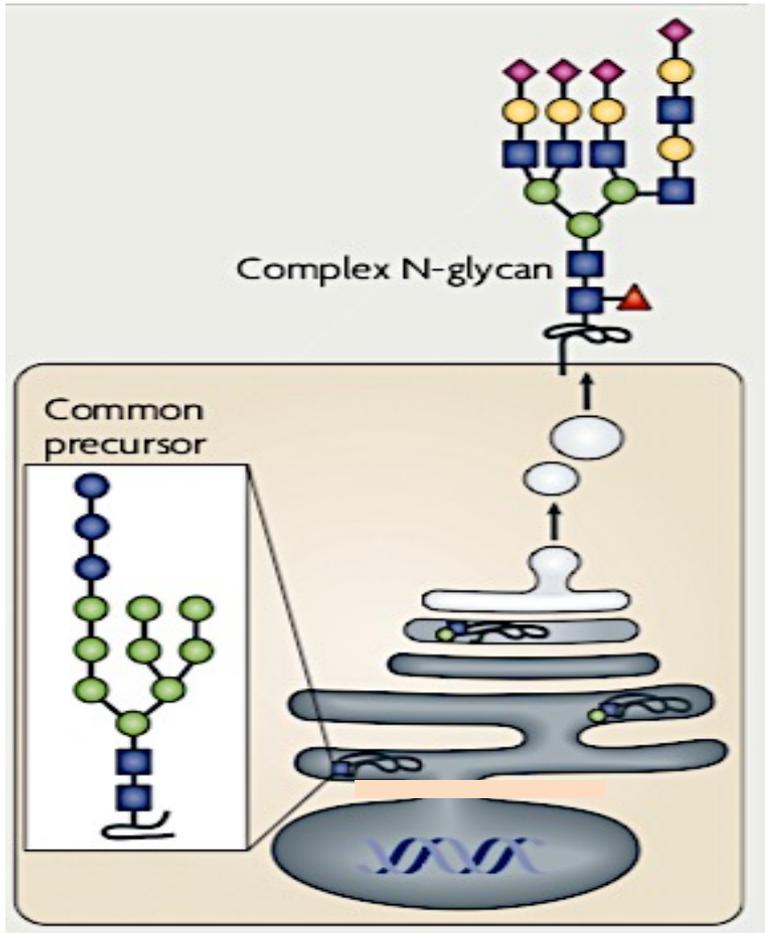
Glycosaminoglycan



Motif Xyl-Gal-Gal
fixé dans le REG



Les N-glycosylations



◆ Sialic acid	▲ Fucose
● Galactose	● Glucose
■ N-acetylglucosamine	● Mannose

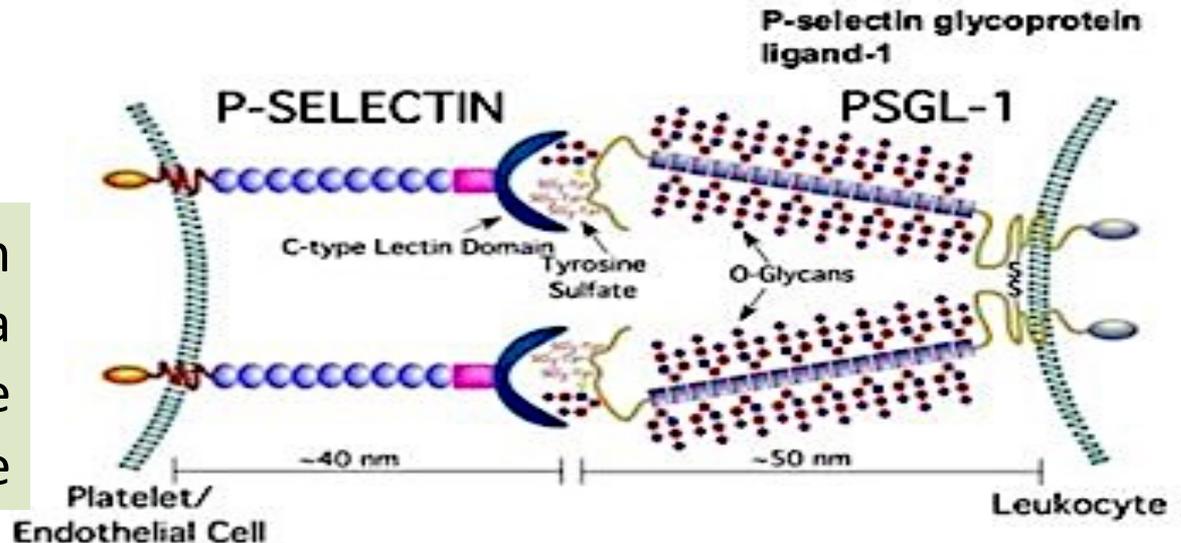
2) L'appareil de Golgi remanie spécifiquement, de façon séquentielle, les chaînes de sucres

1) Le REG fixe une chaîne de sucres sur les sites à glycosyler

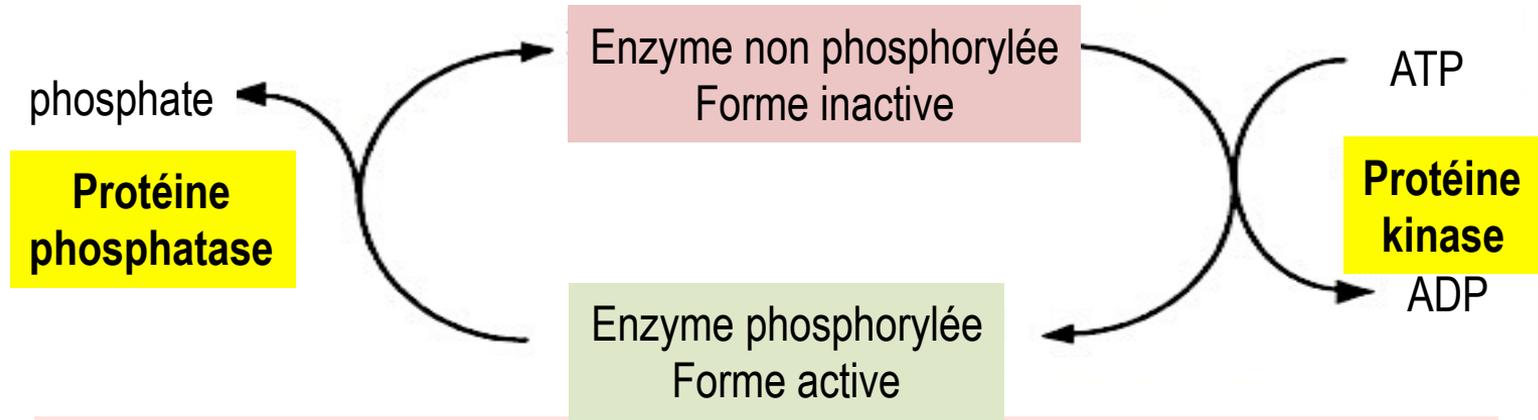
Rôles de la glycosylation

- participe au repliement et à la maturation des protéines ;
- renforce la résistance à la protéolyse ;
- permet la reconnaissance entre cellules ;
- permet l'adhérence cellulaire ;
- permet l'hydratation (rôle de protection) ;

Reconnaissance d'un globule blanc sur la surface d'un capillaire avant une diapédèse



b) La phosphorylation des protéines

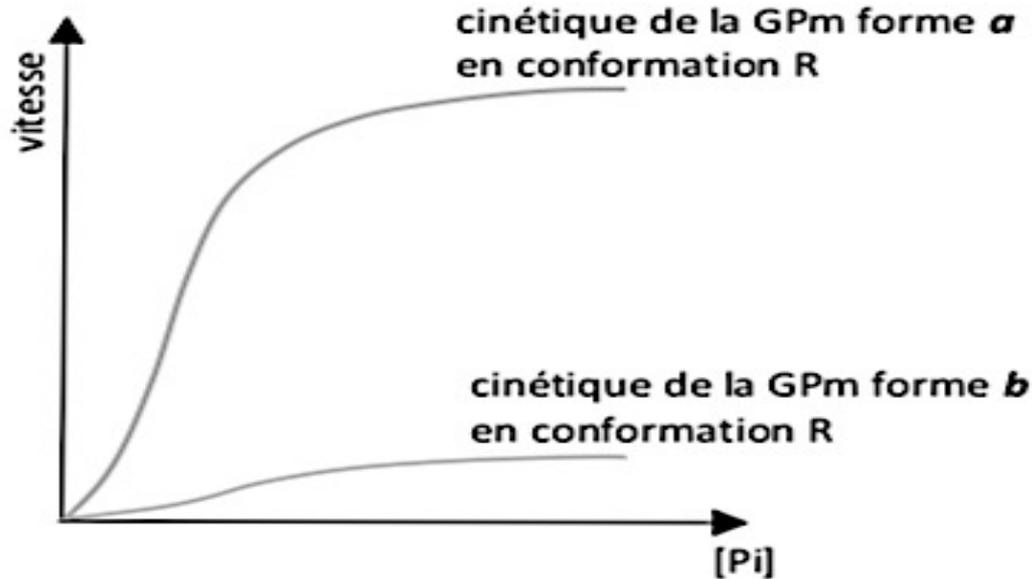


La phosphorylation augmente l'efficacité enzymatique d'un facteur 100.

Exemples : la glycogène phosphorylase, les kinases...

Les effets de la phosphorylation sur la cinétique

Glycogène phosphorylase de forme **a**
phosphorylée

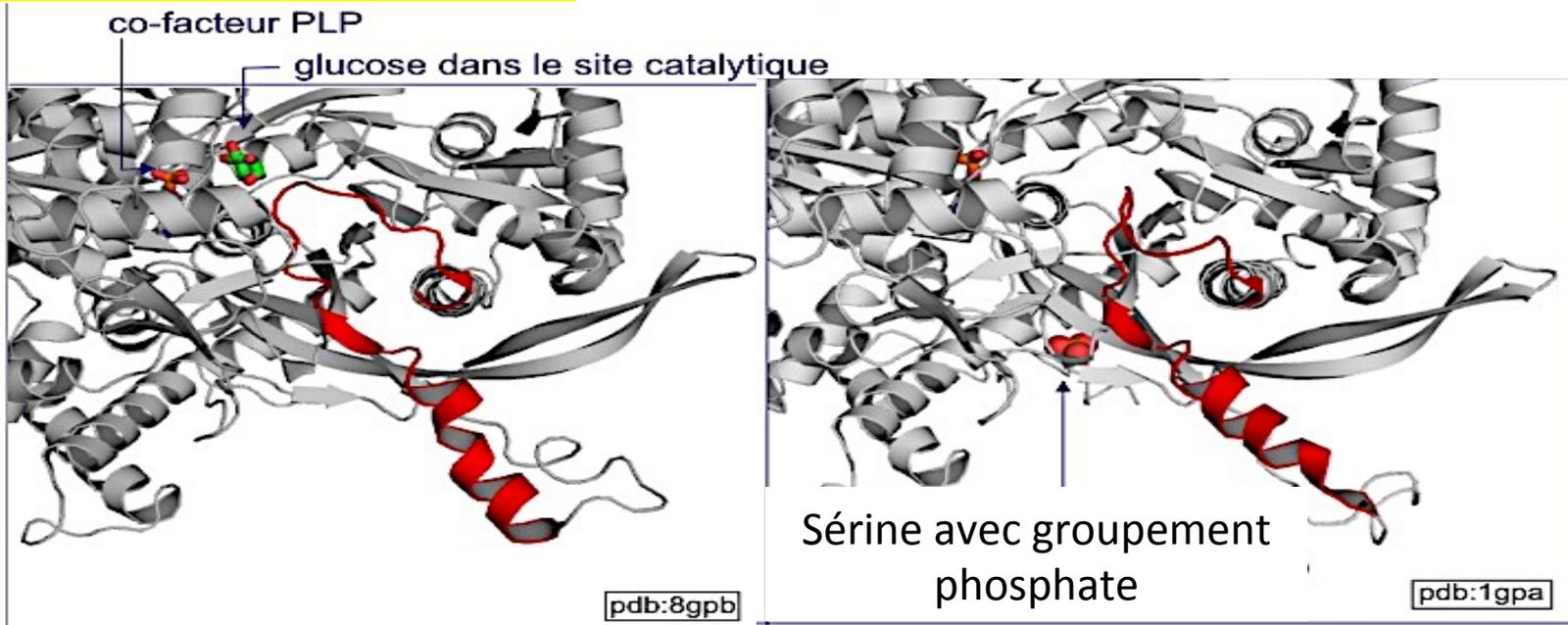


Glycogène phosphorylase de forme **b**
non phosphorylée

La phosphorylation des protéines change leur forme

Glycogène phosphorylase

... souvent par effet de charge



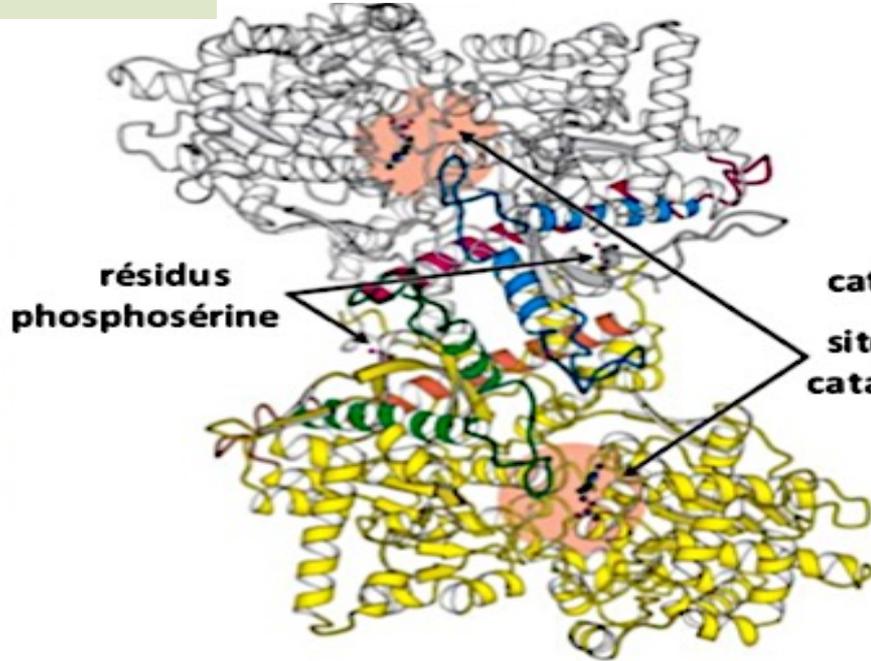
Forme b - PEU ACTIVE
Forme tendue favorisée

Forme a - ACTIVE
Forme relâchée favorisée

La phosphorylation des protéines change leur forme

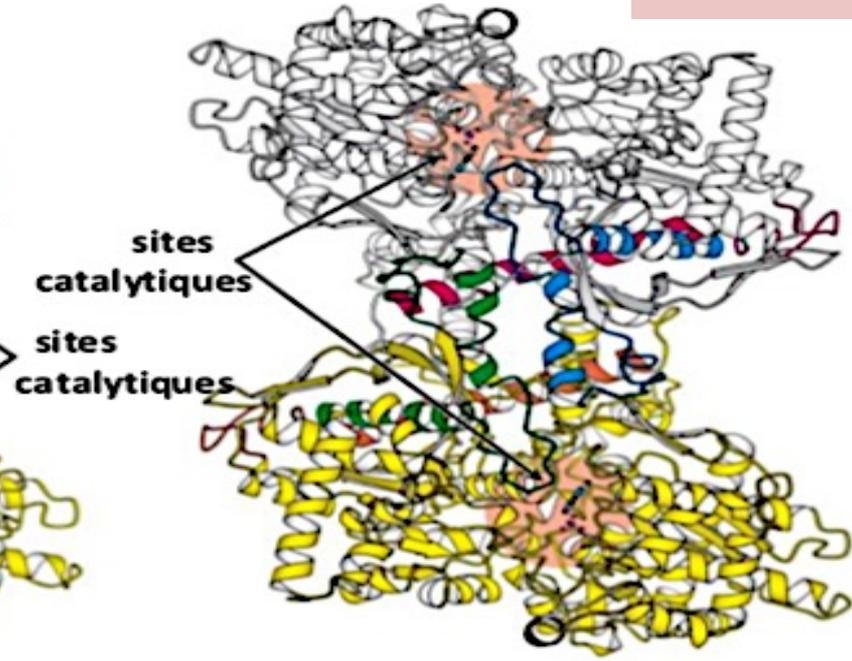
Forme a
ACTIVE

Forme b
PEU ACTIVE



Phosphorylase a

état R, sites catalytiques très disponibles



Phosphorylase b

état T, sites catalytiques très peu disponibles

CONCLUSION

Relation structure-fonction des protéines

- Grande diversité de protéines liée à la combinaison des 20 acides aminés de propriétés physico-chimiques différentes.
- Diversité des formes liées à la géométrie des liaisons, elle-même fonction des acides aminés mis en jeu. Ces formes déterminent une spécificité d'association entre molécules.

Il existe :

- des formes stables avec de nombreuses liaisons internes
- des protéines fibrillaires s'associant en structures stables
- des protéines dont la dynamique repose sur la capacité des liaisons faibles à se former ou se rompre