

## Biochimie 1

# Protéines

- I) Les Acides aminés
- II) Les peptides et protéines
  - a) Définitions
  - b) Les Structures
  - c) Structures et fonctions
  - d) Méthodes d' analyses



**Inserm**

## Importance des protéines

Présence universelle dans le monde vivant

Un individu est majoritairement constitué de protéines  
(Premier constituant après l' eau)

Les protéines assurent la quasi totalité des fonctions  
vitales d' une cellule et d' un organisme vivant  
(structurales et dynamiques)

Capacité codante du génome humain :  
De 60.000 à 100.000 peptides & protéines

**Protéines**

=

Macromolécules ou **polymères linéaires** constitués  
de l' assemblage de **monomères**

**Monomères**

=

**Acides aminés**



**Polymères**

=

**Peptides & Protéines**

## Un peu d' Histoire...



**1806**

**Vauquelin & Robinet**

Découverte du 1<sup>er</sup> acide aminé : l' asparagine  
(le dernier : la thréonine en 1935)



**1832**

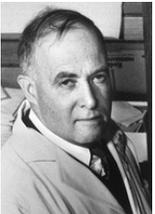
**Jöns Berzelius**

1<sup>ère</sup> apparition du nom « Protos-Protéios »  
(prééminence, au premier rang)  
La substance organique qui est présente dans toutes les parties du corps animal et  
du royaume végétal pourrait être appelée protéine.  
Gerardus Johannes Mulder *Journal für praktische Chemie* 16, 129 (1839)

**1902**

**Fischer & Hofmeister**

La liaison peptidique



**1926**

**James Sumner**

1<sup>ère</sup> cristallisation d' une protéine : l' uréase



**1958**

**Frédéric Sanger**

1<sup>ère</sup> séquence de protéine

**1950-60**

**La génomique**

Relation entre séquence nucléotidique et peptidique

**1990 - 2000**

**La protéomique**

Analyse systématique des protéines

## Les protéines interviennent dans tous les processus biologiques

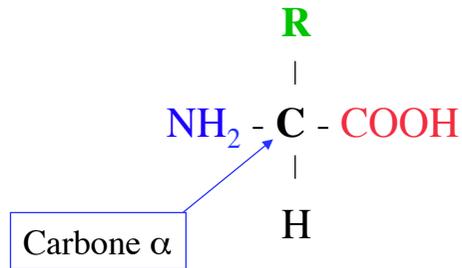
\*\*\* Exemples \*\*\*

- Enzymatique : \* Métabolisme, division cellulaire...
- Transport : \* Hémoglobine  
\* Lipoprotéines
- Stockage : \* Ferritine  
\* Ovalbumine
- Mouvements : \* Actine, Myosine  
/ contraction
- Structure : \* Protéines du cytosquelette  
\* Collagène  
\* Kératine
- Défense : \* Anticorps  
\* Thrombine (coagulation)  
\* Venins, toxines
- Régulation : \* Physiologique: Hormones  
\* Génique: Facteurs de transcription

## Un acide aminé Formule générale

Molécule bifonctionnelle portant sur un **carbone alpha**

1. un groupe amine primaire **NH<sub>2</sub>**
2. Un hydrogène **H**
3. un groupe carboxyle **COOH**
4. un résidu variable **R**



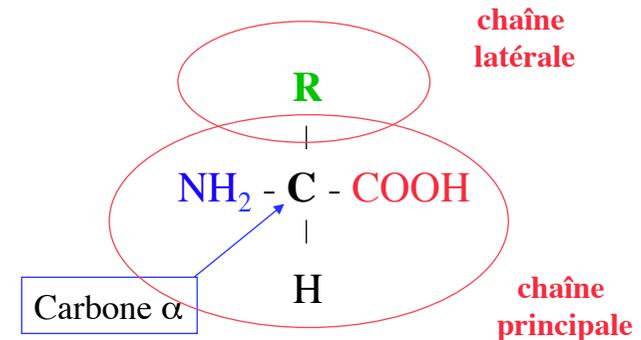
**Résidu variable R** caractérise l'acide aminé

1. dimension
2. forme
3. charge
4. capacité de former des interactions
  - Hydrogènes
  - Hydrophobes, Hydrophyles
  - Ioniques
  - Covalentes
5. réactivité chimique

## 20 Acides Aminés composent les protéines

Molécules indispensables devant être apportées par la ration alimentaire

Les 20 acides aminés sont discriminés par le résidu **R** constituant la chaîne latérale

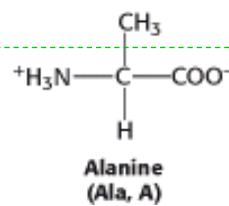
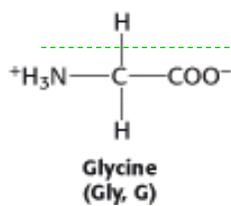
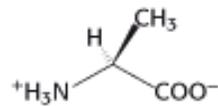
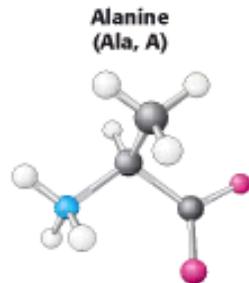
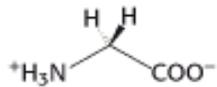
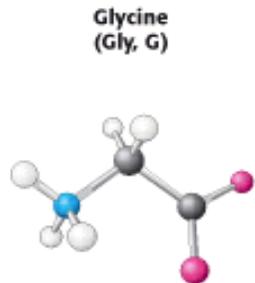


**La nature chimique du résidu R détermine les propriétés spécifiques de chaque acide aminé**

- Chaîne latérale aliphatique (Hydrogène et carbone)
- Chaîne latérale aromatique (Cycle aromatique)
- Chaîne latérale carboxylique ou amide (COOH ou CONH<sub>2</sub>)
- Chaîne latérale basique (NH<sub>3</sub><sup>+</sup> ou NH<sub>2</sub><sup>+</sup>)
- Chaîne latérale alcool (OH)
- Chaîne latérale avec un soufre (sulfhydryle: SH ou thioether: S-CH<sub>3</sub>)
- Chaîne latérale iminoacide (N secondaire ou imino)

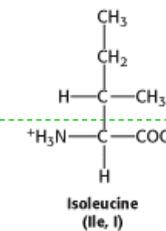
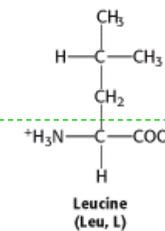
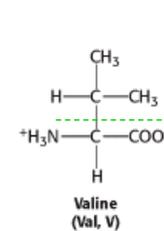
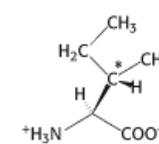
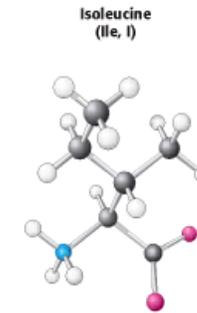
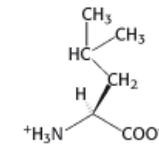
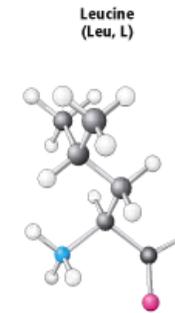
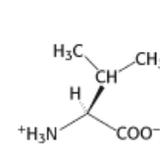
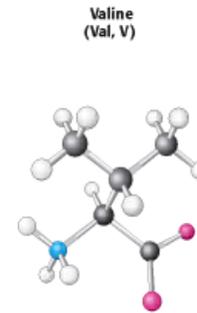
R est une chaîne latérale carbonée aliphatique linéaire ou ramifiée (Hydrogènes + carbones)

=> Acides aminés aliphatiques (1)



Groupement Méthyle

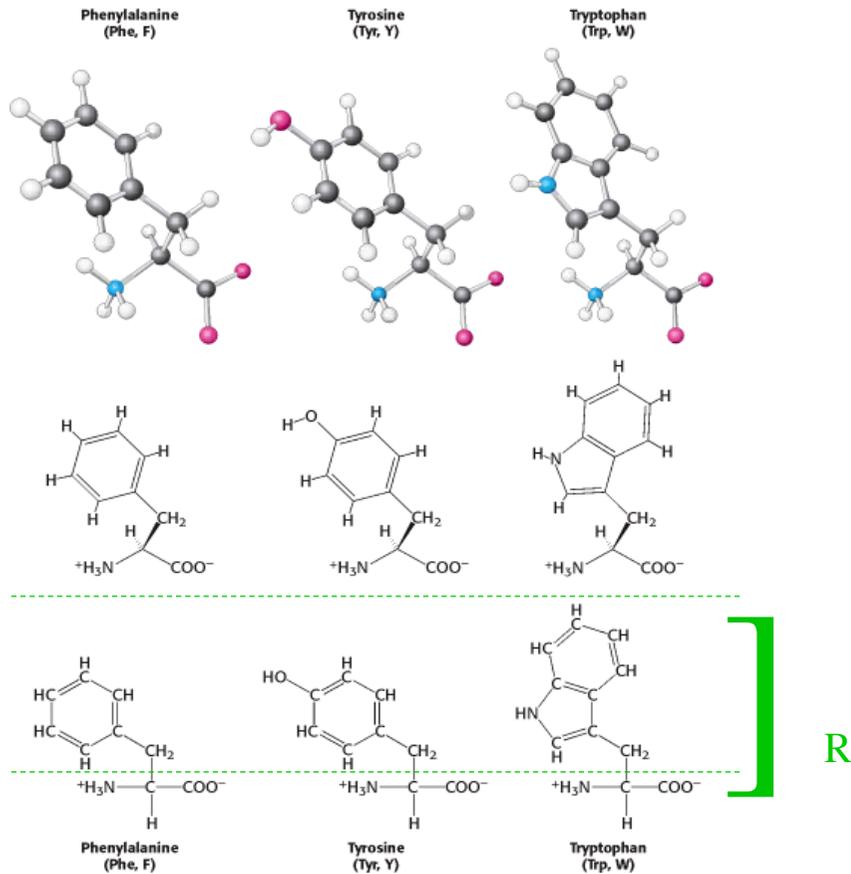
=> Acides aminés aliphatiques (2)



Groupement Isopropyle    Groupement Isobutyle    Groupement Butyle secondaire

R est une chaîne latérale contenant un groupe aromatique, structure cyclique à 6 électrons délocalisés

⇒ Acides aminés aromatiques

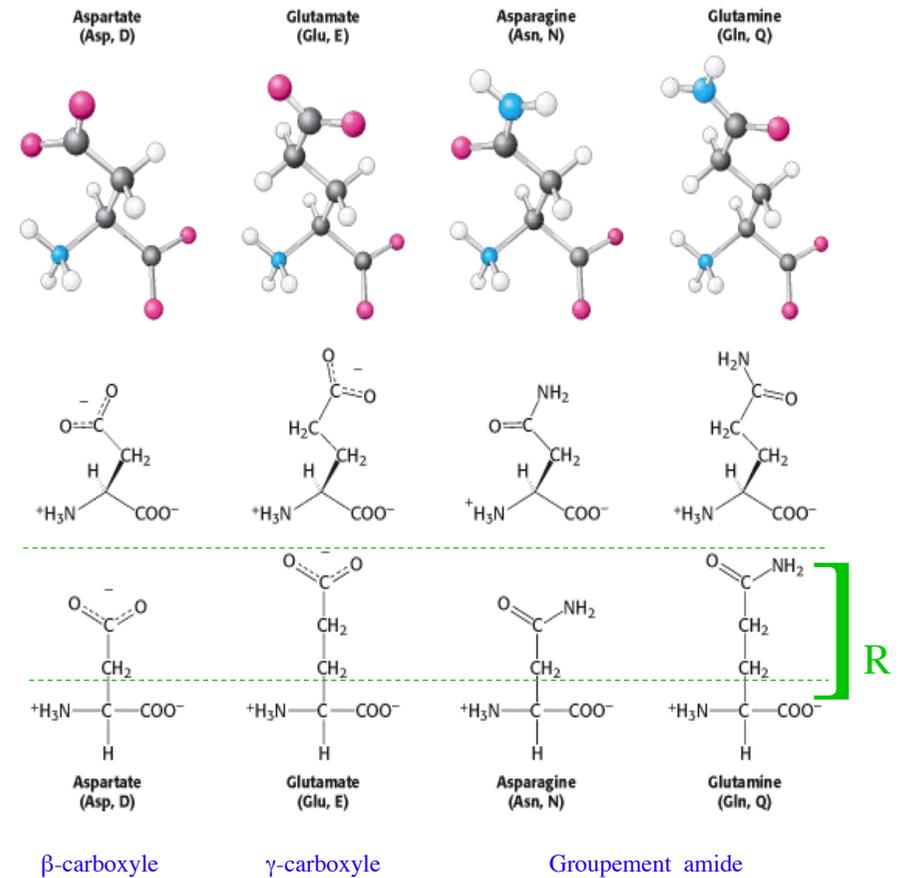


Groupement Phényle    Groupement Phénol    Groupement Indole

R

R est une chaîne latérale contenant un groupement carboxyle libre ou sous forme d'amide (NH<sub>2</sub>)

⇒ Acides aminés dicarboxyliques et leurs amides



β-carboxyle

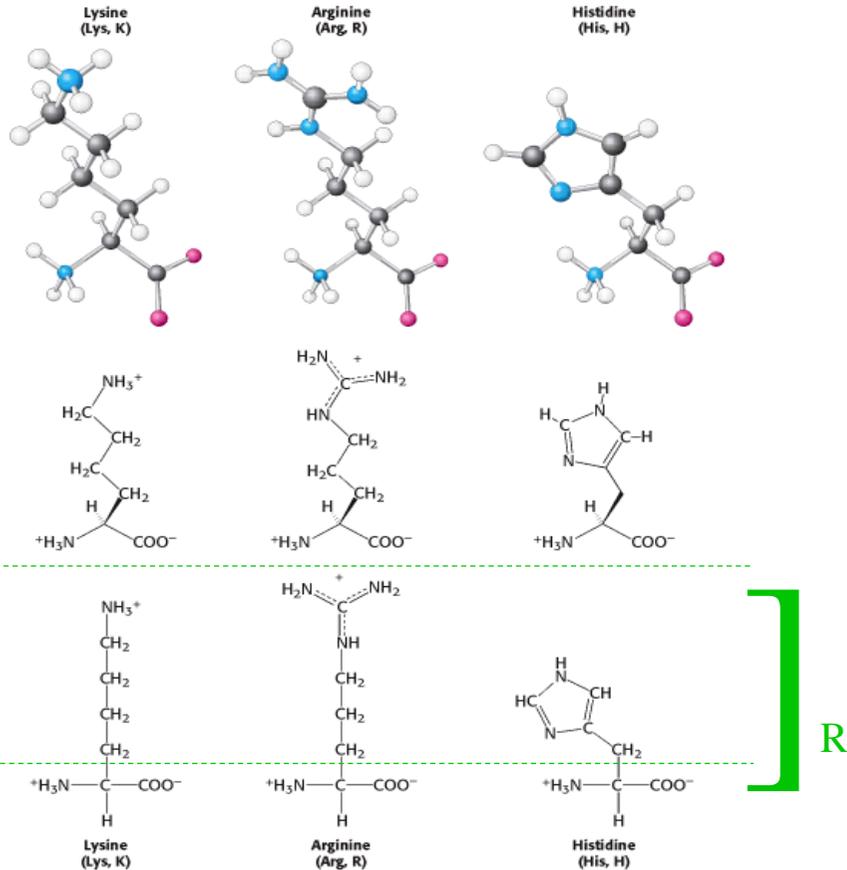
γ-carboxyle

Groupement amide

R

R est une chaîne latérale contenant une fonction amine (NH<sub>2</sub>) qui porte sous sa forme acide conjuguée une charge positive

⇒ Acides aminés dibasiques



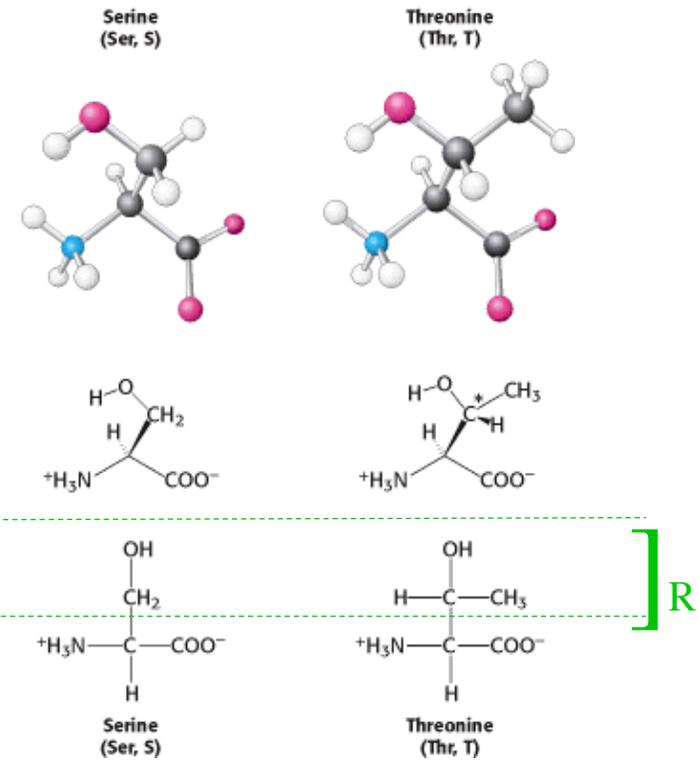
Groupement ε-amino

Groupement δ-guanidyle

Groupement imidazole

R est une chaîne latérale contenant une fonction alcool. Les groupes OH ne sont pas ionisables.

⇒ Acides aminés alcools



Groupement Alcool I<sup>aire</sup>

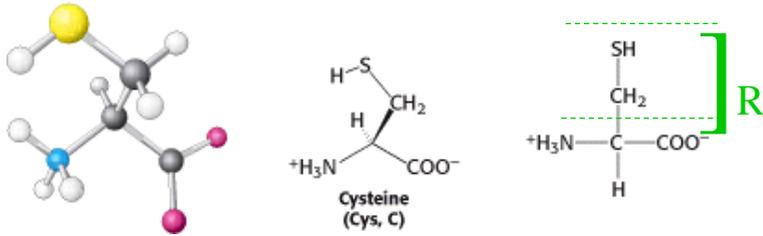
Groupement Alcool II<sup>aire</sup>

R

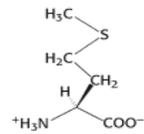
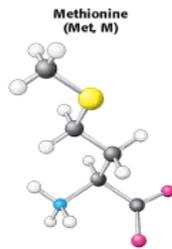
R

R est une chaîne latérale contenant un atome de soufre.

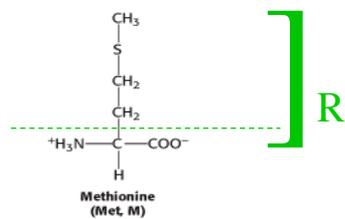
=> Acides aminés soufrés



Groupe thiol (SH) ou sulfidyle est un donneur de proton

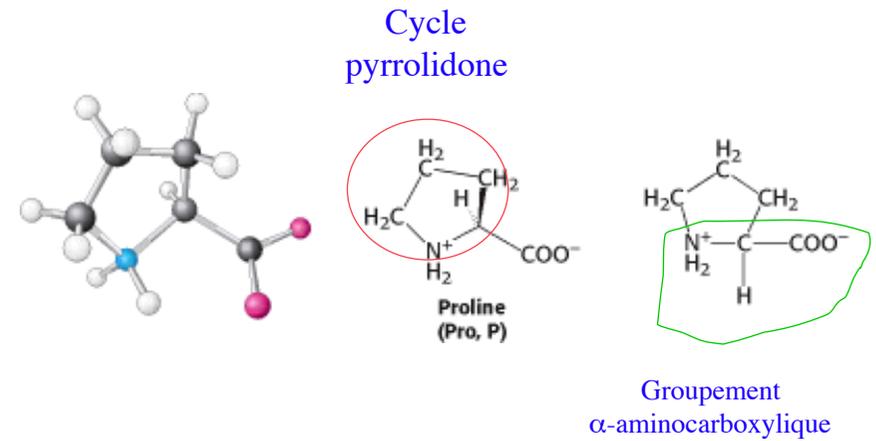


Groupe thioéther  
CH<sub>3</sub>-S-CH<sub>2</sub>-



R est une chaîne latérale contenant une amine secondaire (NH)

=> Acide aminé iminoacide



Le groupe  $\alpha$ -amino est engagé dans une structure cyclique

L' amine secondaire (azote présentant un doublet libre) est accepteur de proton.

## Récapitulatif: Les 20 acides aminés

NOM	Radical
Glycine	H
Alanine	CH <sub>3</sub>
Valine	$\begin{array}{c} \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
Leucine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
Isoleucine	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{C} \quad \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Phénylalanine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Cycle} \\ \text{Phényl} \end{array}$
Tyrosine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Cycle} \\ \text{Phénol} \\ \text{OH} \end{array}$
Tryptophane	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Cycle} \\ \text{Indole} \end{array}$
Lysine	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_4 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Arginine	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_3 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{CNH}_2^+ \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$

NOM	Radical
Histidine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Cycle} \\ \text{Imidazole} \end{array}$
Aspartate	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$
Glutamate	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_2 \\   \\ \text{COOH} \end{array}$
Asparagine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$
Glutamine	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$
Cystéine	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$
Méthionine	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Proline	Fonction amine secondaire
Sérine	CH <sub>2</sub> OH
Thréonine	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$

## Nomenclature

NOM	Code à 3 lettres	Code à 1 lettre
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Acide aspartique	Asp	D
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Acide glutamique	Glu	E
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V
Acide Aspartique ou asparagine	Asx	B
Acide glutamique ou glutamine	Glx	Z

## Propriétés physicochimiques des Acides Aminés :

Déterminées par :

- ⇒ Nature chimique commune à tous les Aas
- ⇒ Nature chimique spécifique de chaque résidu R de la chaîne latérale.

### 1/ Chiralité

### 2/ Absorption et Fluorescence

### 3/ Solubilité

### 4/ Propriétés ioniques

### 5/ Réactivité chimique

*Les propriétés spécifiques de chaque acide aminé sont utilisées  
à des fins d'analyses, de mesures, etc...*

Définition :

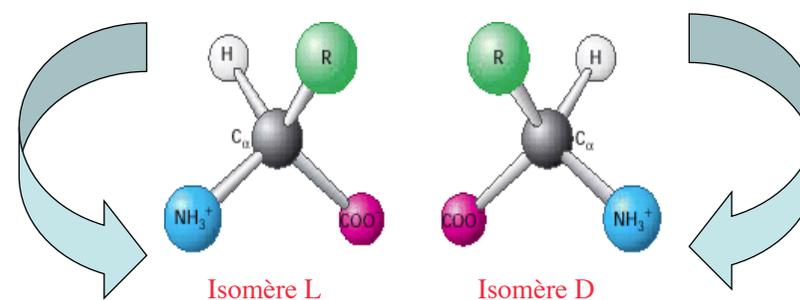
Un **carbone** portant **quatre** constituants **différents** est un centre **chiral** définissant des **stéréoisomères** ou **isomères optiques** à pouvoir rotatoire opposé lévogyre (L) ou dextrogyre (D).

Un acide aminé est constitué

- 1 fonction AMINE
- 1 groupe CARBOXYLE
- 1 atome d' H
- 1 résidu R (chaîne latérale)

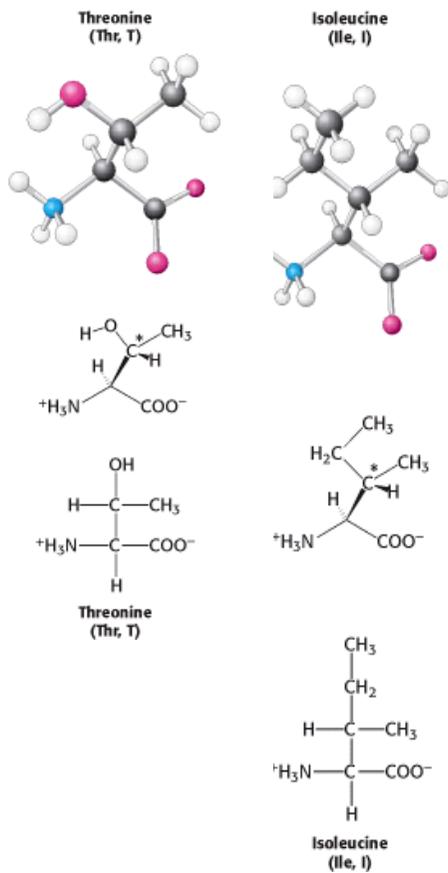
le tout relié à un carbone ( $C_{\alpha}$ )

La disposition des différents groupes autour du  $C_{\alpha}$  confère une activité optique aux AAs



**Seuls les isomères L sont des constituants  
des protéines.**

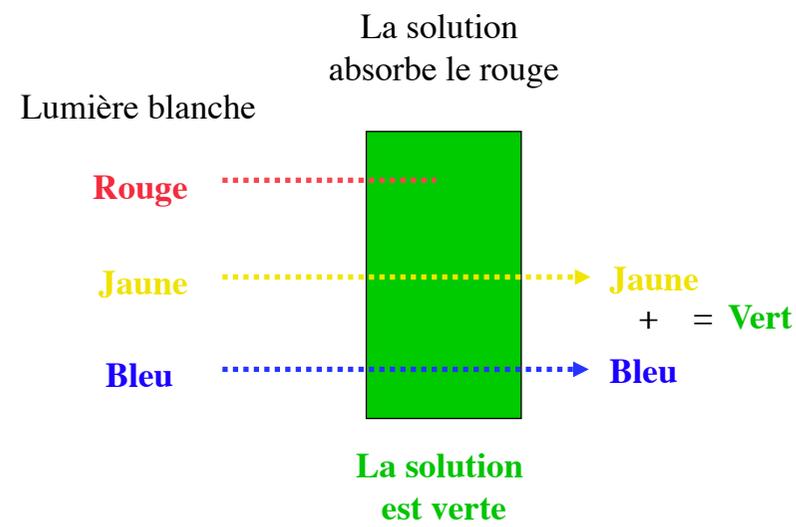
Certains acides aminés ont un deuxième centre chiral car ils présentent un deuxième carbone portant 4 constituants différents.



## Absorption des acides aminés

### Principe :

L'absorption d'une solution dépend de la capacité du soluté à capter toute ou partie de faisceaux de la lumière blanche (différentes longueur d'ondes).

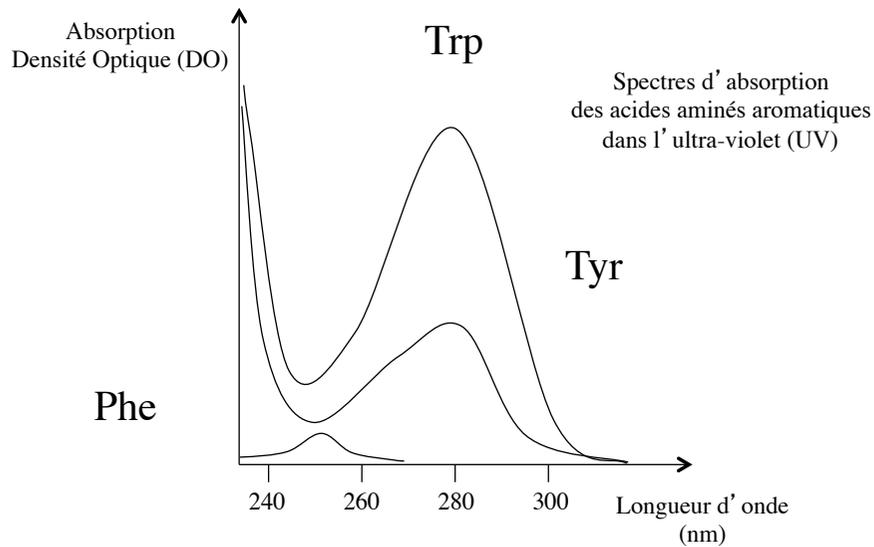


Un acide aminé peut absorber par l'intermédiaire de R

1/ les acides aminés n'absorbent pas la lumière visible  
⇒ Solution incolore

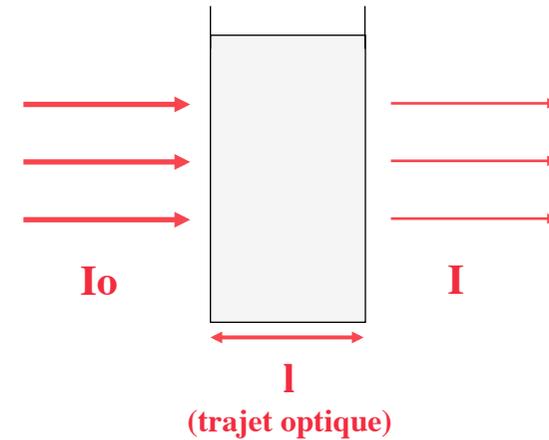
2/ les bandes d'absorption dans l'infrarouge sont caractéristiques de leurs chaînes latérales

3/ les chaînes latérales aromatiques ont des spectres d'absorption caractéristiques dans l'ultraviolet



Application de la Spectroscopie d'absorption (UV/Vis)

La loi de Beer-Lambert



Mesure de densité optique (DO) & Concentration (c)  
d'une solution protéique

$$DO = \log (I_0/I) = \epsilon \cdot l \cdot C$$

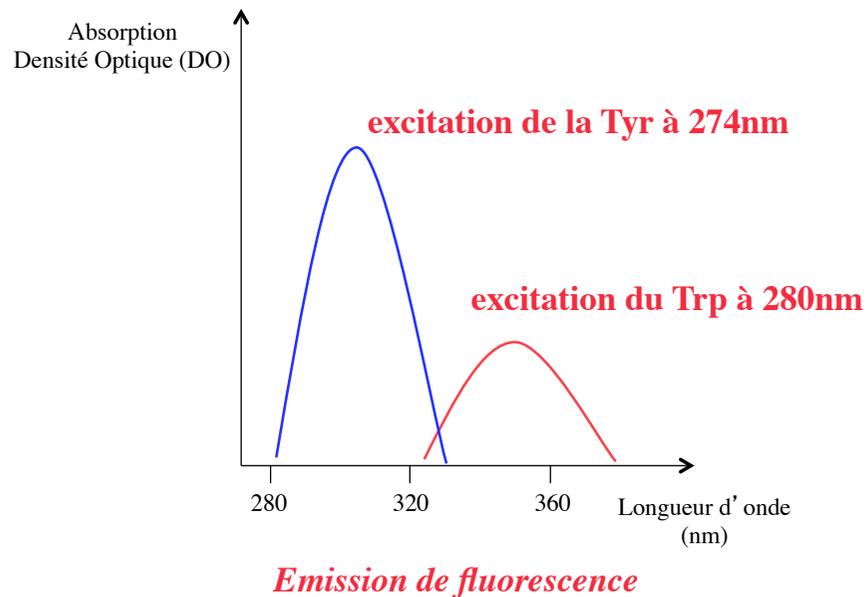
$\epsilon$  = Coefficient d'extinction molaire  
(Valeur de DO d'une solution molaire)

## Fluorescence des acides aminés :

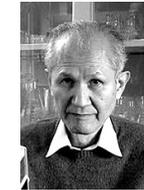
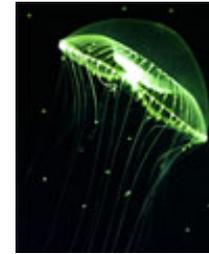
### Principe :

Certaines molécules excitées par une lumière incidente, à une longueur d'onde où elles absorbent, émettent une lumière de longueur d'onde plus grande appelée fluorescence.

*Rq : Cette émission, dépendante de l'environnement, permet des études de conformation et de structure.*

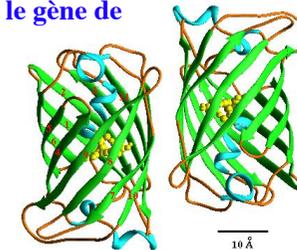


## La GFP (Green fluorescent protein)

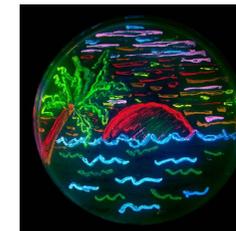


1962 Osamu Shimomura isole une Protéine fluorescente des méduses

1992 Martin Chalfie clone le gène de la GFP dans E. coli

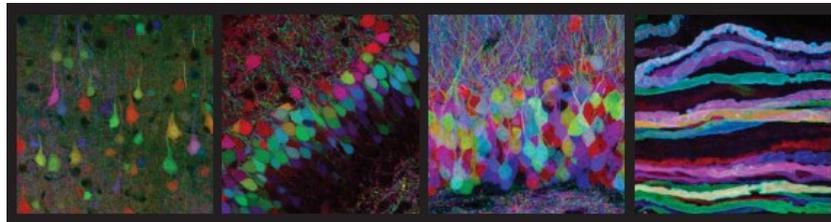
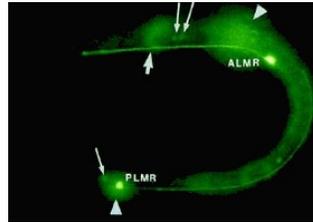


1994 Roger Tsien produit de nouvelles variantes par mutagenèse dirigée des 3 AAs responsables de la fluorescence



2008 Prix Nobel de chimie

1994 : visualisation des récepteurs  
neuronaux du toucher de *C. elegans*



2007 l'expérience du « brainbow » permet de suivre les projections  
des neurones dans un cerveau de souris

## Protéine GFP = Outil indispensable de la biologie moléculaire

- ⇒ Cartographie cellulaire
- ⇒ Transfert de gènes
- ⇒ Visualisation de cellules en mouvement
- ⇒ Etc...

## Principe :

La **solubilité** d'une molécule dépend de sa capacité à  
former des **interactions** avec le **solvant**.

La solubilité des acides aminés dans l'eau dépend  
essentiellement de deux facteurs :

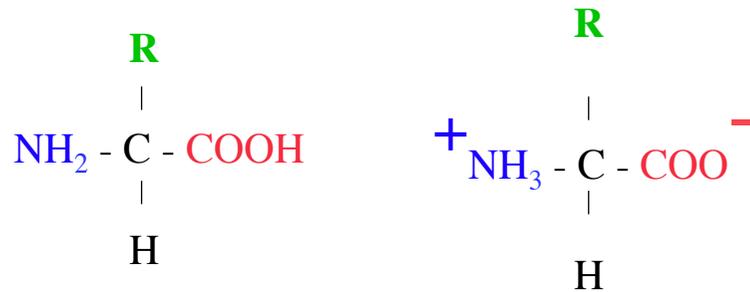
Les deux groupements fonctionnels communs à tous les  
Acides aminés (COOH et NH<sub>2</sub>) peuvent s'ioniser et  
donc favoriser la dissolution

la présence d'une chaîne latérale peut donner à l'Aa un  
caractère plus ou moins polaire

*La solubilité d'un AA dans l'eau  
peut aller de 1 à 100 g/l*

*La solubilité dans des solvants organiques est faible  
(quelques mg/l)*

**Propriétés ioniques des Acides Aminés :**



**Molécules amphotères**

**Acide aminé**

**=**

**association de deux charges à propriétés acides-bases**

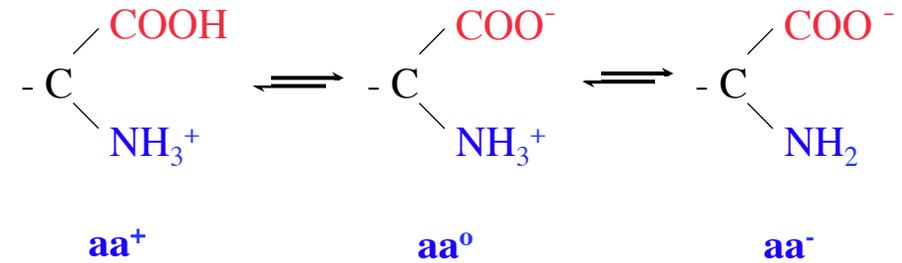
**Ion dipolaire ou Zwitterion**

**pH isoélectriques**

**=**

**Valeur du pH de la solution dans laquelle la charge totale nette moyenne de la molécule est nulle**

**Ion dipolaire (Zwitterion)**



**pH acide**

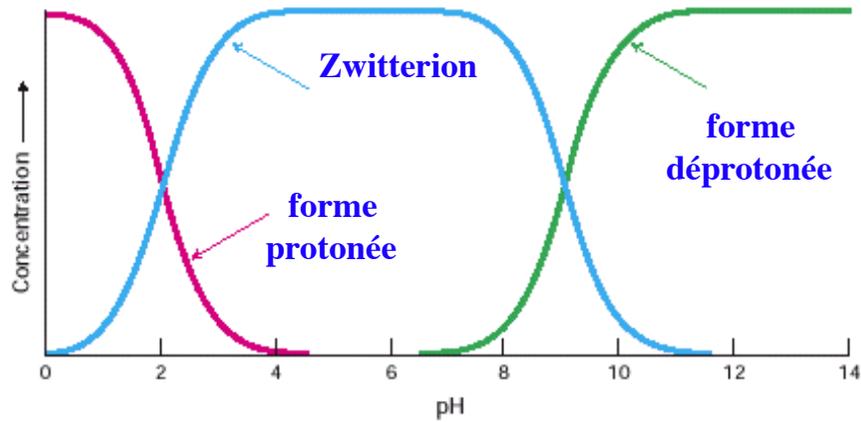
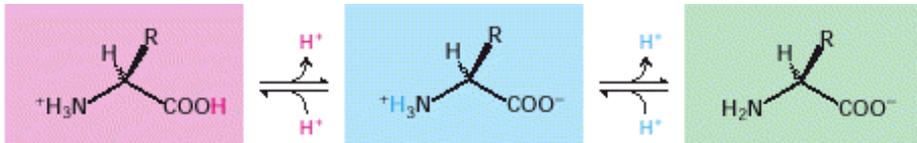
**pH isoélectrique**

**pH basique**

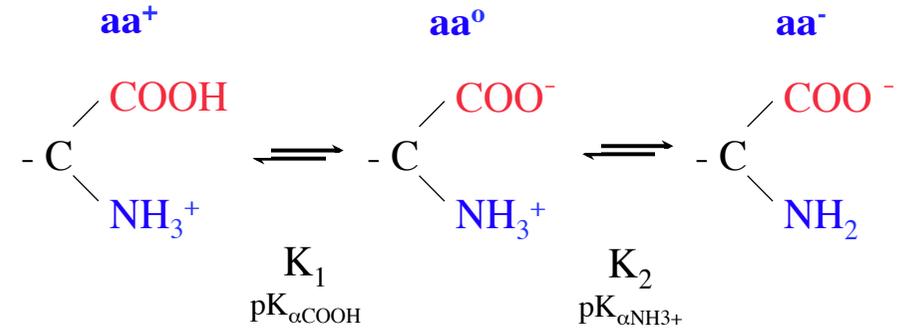
**\* pH < pI => la charge nette moyenne est positive**

**\* pH > pI => la charge nette moyenne est négative**

## Concentration des différentes formes & pH



## AA à chaîne latérale ne comportant pas de groupe ionisable

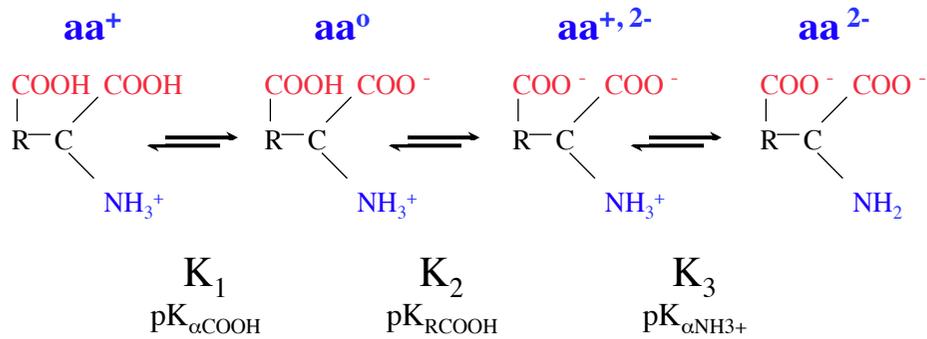


- \* **pK** des groupes  $\alpha\text{COOH}$  et  $\alpha\text{NH}_2$  sont très différents
- \* La forme à charge nulle est l'ion mixte (zwitterion)

$$\text{pHi} = \frac{(\text{pK}_{\alpha\text{COOH}} + \text{pK}_{\alpha\text{NH}_2})}{2}$$

## AA à chaîne latérale comportant une fonction acide (Asp et Glu)

$$pK_{\alpha\text{COOH}} < pK_{\text{RCOOH}} < pK_{\alpha\text{NH}_2}$$



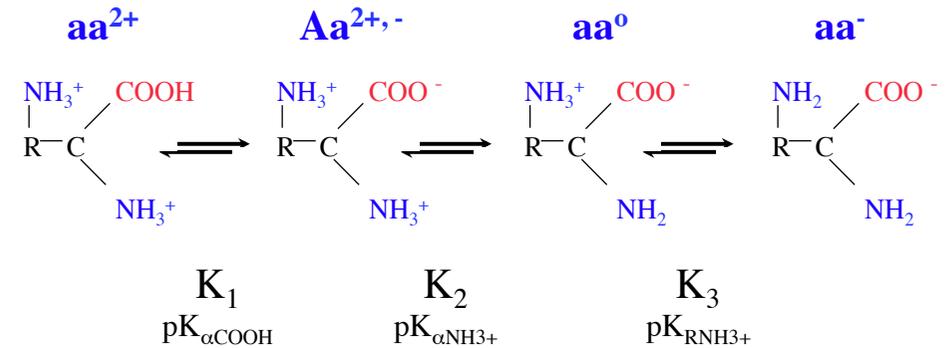
\* La forme à charge nulle est au centre des deux équilibres entre les deux fonctions carboxyliques

$$pHi = \frac{(pK_{\text{RCOOH}} + pK_{\alpha\text{COOH}})}{2}$$

Acides aminés	pK $\alpha$ -COOH	pK $\alpha$ -amine	pK R-acide	pI
<b>Glu</b>	<b>2,2</b>	<b>9,7</b>	<b>4,3</b>	<b>3,25</b>
<b>Asp</b>	<b>2,1</b>	<b>9,8</b>	<b>3,9</b>	<b>3,0</b>

## AA à chaîne latérale comportant une fonction basique (His, Lys et Arg)

$$pK_{\alpha\text{COOH}} < pK_{\alpha\text{NH}_2} < pK_{\text{RNH}_2}$$



\* La forme à charge nulle est au centre des deux équilibres entre les deux fonctions amines

$$pHi = \frac{(pK_{\text{RNH}_2} + pK_{\alpha\text{NH}_2})}{2}$$

Acides aminés	pK $\alpha$ -COOH	pK $\alpha$ -amine	pK R-amine	pI
<b>His</b>	<b>1,8</b>	<b>9,2</b>	<b>6</b>	<b>7,6</b>
<b>Lys</b>	<b>2,2</b>	<b>8,95</b>	<b>10,5</b>	<b>9,725</b>
<b>Arg</b>	<b>2,2</b>	<b>9,05</b>	<b>12,5</b>	<b>10,775</b>

## Cystéine (CH<sub>2</sub>-SH) et Tyrosine (Phénol) groupes acides

La cystéine :

\* La différence des pK est élevée, la forme à charge nulle est entre l'équilibre αCOOH et R acide

$$pHi = \frac{(pK_{\alpha COOH} + pK_{R\text{-acide}})}{2}$$

Acides aminés	pK α-COOH	pK α -amine	pK R-acide	pI
Cys	1,7	10,8	8,3	5,0

La tyrosine :

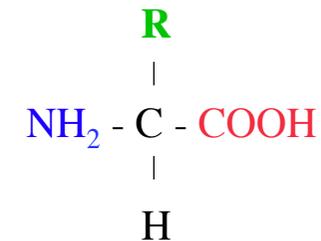
\* La forme à charge nulle est entre l'équilibre αCOOH et αNH<sub>2</sub>

$$pHi = \frac{(pK_{\alpha COOH} + pK_{\alpha\text{-amine}})}{2}$$

Acides aminés	pK α-COOH	pK α -amine	pK R-acide	pI
Tyr	2,2	9,1	10,1	5,65

## Propriétés chimiques des acide aminés

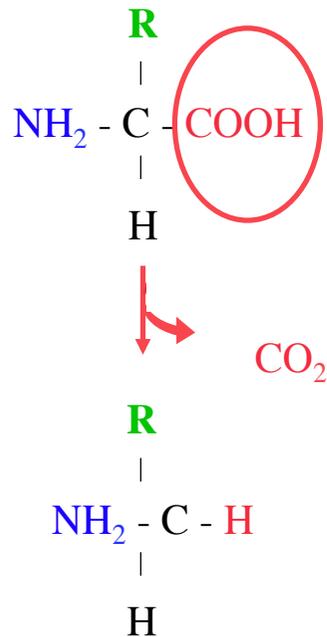
### Activités & Fonctions des protéines



### Réactivité chimique des groupements fonctionnels

Groupement carboxyle peu réactif à pH physiologique

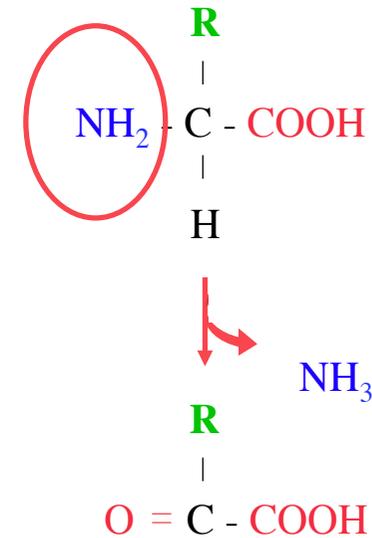
Décarboxylation



- Ser => Ethanolamine (précuseur de l'acétylcholine)
- His => Histamine (vasodilatateur; allergie et inflammation)
- Glu => 4-aminobutanoïque ou GABA (neurotransmetteur)

Groupement amine très réactif

Désamination avec oxydation

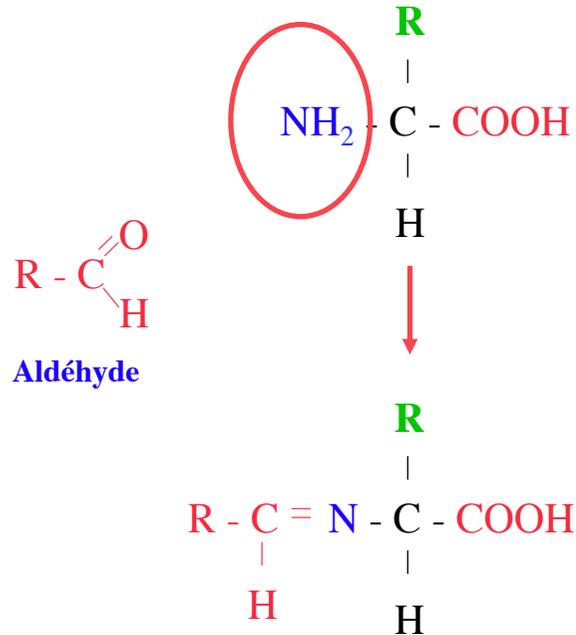


Obtention d'un acide  $\alpha$ -cétonique servant d'intermédiaire dans le métabolisme des acides aminés

*Réaction avec la ninhydrine:  
Révélation et dosage des protéines*

## Groupement amine très réactif

### Addition de carbonyle



Obtention d'une base de Schiff  
Intermédiaire de réaction enzymatique avec des  
AA comme substrat

## Réactivité du groupement aminé & Séquençage des protéines

### Méthode de Sanger:

\* Arylation avec le Fluoro 2,4-dinitrobenzène (FDNB)



\* Acylation avec le Chlorure de Dansyle (DNS)

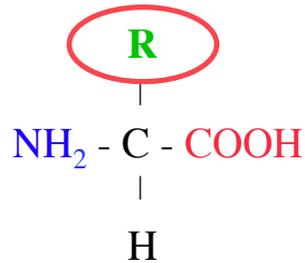


### Dégradation récurrente d'Edmann:

Carbamylation avec le phénylthiocyanate (PTC)



## Groupement R



## La réactivité de R &

### les modifications post-traductionnelles

- ⇒ Carboxyles et Amines des chaînes latérales :
  - Réactivité équivalente qu' en  $\alpha$
  - Lys et les liaisons covalentes du collagène
- ⇒ Thiol très réactif :
  - Cys et les ponts disulfures
- ⇒ Alcools et amides peu réactifs :
  - Ser catalyse de réaction enzymatique
  - Ser, Thr et Tyr : sites potentiels de phosphorylation (ATP)
  - Ser, Thr et Asn : sites potentiels de O et N-glycosylations
  - Tyr et iodation des hormones thyroïdiennes

## classifications des acides aminés

### En fonction des propriétés de la chaîne latérale:

#### R aliphatiques :

Gly, Ala, Val, Leu et Ile

#### R aromatiques :

Phe, Tyr et Trp

#### R dicarboxyliques et amides correspondants :

Asp et Asn ; Glu et Gln

#### R dibasiques :

Lys, His et Arg

#### R à fonction alcool :

Ser et Thr

#### R soufrés :

Cys et Met

#### R iminoacide :

Pro

## En fonction de la polarité de la chaîne latérale:

Tient compte des interactions possibles de l' AA avec son environnement (liaisons faibles de van der Waals, liaisons électrostatiques, hydrogènes ou interactions hydrophobes).

### **R apolaires (hydrophobes):**

Gly, Ala, Val, Pro, Met, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp

### **R polaires mais non chargés (hydrophile):**

Ser, Cys, Asn, Thr, Gln

### **R polaires et chargés (+ ou - hydrophile selon le pH):**

Asp, Glu, Lys, Arg

## En fonction du pHi de l' acide aminé :

Tient compte du pHi des groupement de la chaîne latérale

### **R acide :**

Asp et Glu

### **R basique :**

Lys, Arg, His

### **R neutre :**

Tous les autres

## Définitions :

### Peptides & Protéines

=

### Polymères d' acides aminés

**Peptide = enchaînement d' un nombre d' AA inférieur à 50**

\* si Nbre d' AA < 10      => Oligopeptide

\* si Nbre d' AA > 10      => Polypeptide

**Protéine = enchaînement d' un nombre d' AA au delà de 50**

### Holoprotéines

Uniquement constituées d' acides aminés

### Hétéroprotéines

Constituées d' acides aminés  
&

Groupe prosthétique  
(minéral, métallique ou organique)

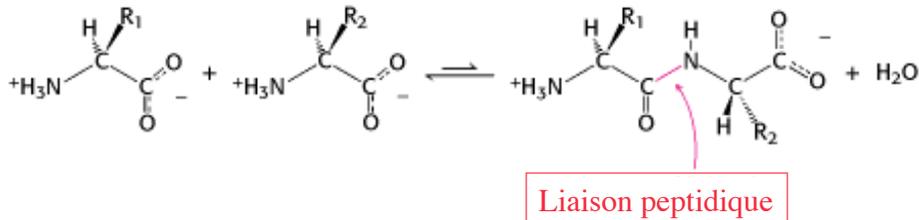
Glucides  
(partie glucidique - liaison covalente)  
*Glycoprotéines*

Lipides  
(partie lipidique - liaison covalente)  
*Lipoprotéines*

La brique = l'acide aminé

Le ciment = la liaison peptidique  
(1902 Fischer et Hofmeister)

Le groupe carboxyle d'un AA se lie à la fonction amine d'un autre AA avec élimination d'une molécule d' $H_2O$



Liaison peptidique = CONH

L'association des acides aminés par  
l'intermédiaire des liaisons peptidiques forme la  
chaîne protéique (polypeptidique)

## La chaîne peptidique

La chaîne peptidique est vectorisée :

=> Les Aas sont attachés par liaisons peptidiques dans un ordre spécifique (défini par le gène)

### CONVENTIONS

- une chaîne polypeptidique a un **sens** avec

=> une extrémité aminée, **N-terminal**

et

=> une extrémité carboxylique, **C-terminal**

- l'extrémité **N-terminal** est prise comme **origine** de la protéine (démarrage de la synthèse)

- la chaîne polypeptidique est formée

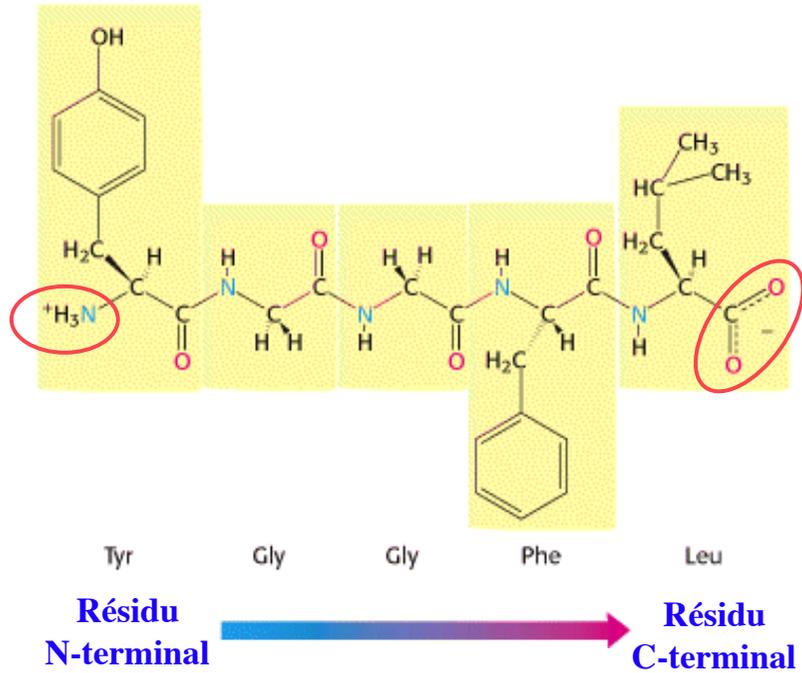
=> d'une chaîne **principale répétitive**

squelette (N - C<sub>α</sub> - C) (N) - C<sub>α</sub> - C)

et

=> d'une chaîne **latérale variable** (R)

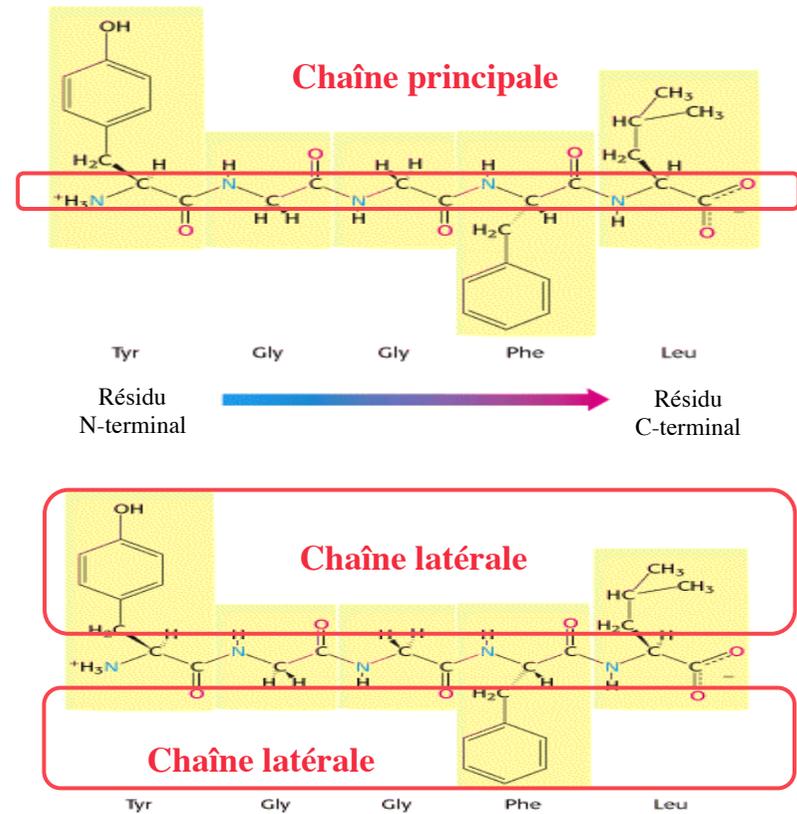
Sens d'une protéine  
 une extrémité aminée N-terminal  
 &  
 une extrémité carboxylique C-terminal



L'extrémité N terminal est prise comme  
 origine de la protéine

Séquence = Tyr Gly Gly Phe Leu  
 (Y G G F L)

la chaîne polypeptidique est formée d'une chaîne  
 principale répétitive (squelette ; N-C<sub>α</sub>-C)



(N - C<sub>α</sub> - C) (N - C<sub>α</sub> - C)

# Configuration et structure dimensionnelle

Caractéristiques spatiales d' une protéine  
Structure tridimensionnelle responsable de sa fonction

Plusieurs niveaux de définitions

## 1) Structure primaire:

*ordre des acides aminés*

M D G A C W etc...

le long de la chaîne polypeptidique.

## 2) Structure secondaire:

*organisation ou repliement local*  
d' acides aminés consécutifs.



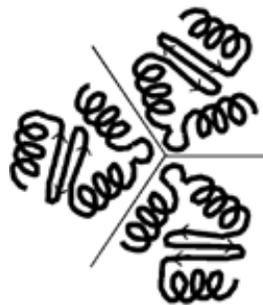
## 3) Structure tertiaire:

*agencement stable dans l'espace*  
des différents repliements locaux.



## 4) Structure quaternaire:

*agencement de sous-unités*  
entre elles, quand la protéine est  
constituée de plusieurs sous-unités  
indépendantes (ex: hémoglobine).



## Détermination directe par séquençage des protéines

\* Méthode de Sanger ou récurrente d' Edmann

\* Spectrométrie de Masse

## Détermination indirecte par les outils de bioinformatique

\* Bases de données informatiques disponibles

*Génomique : projet séquençage des Génomes*

```
LOCUS:      NP_035300 (254 aa)      linear      ROD 09-APR-2006
DEFINITION prion protein [Mus musculus].
ACCESSION  NP_035300
VERSION    NP_035300.1      GI:13173473      DBSOURCE
REFSEQ:    accession NM\_011170.1
KEYWORDS
SOURCE     Mus musculus (house mouse)
ORGANISM   Mus musculus Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata;
           Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria;
           Euarchontoglires; Glires; Rodentia; Sciurognathi;
           Muroidea; Muridae; Murinae; Mus.
REFERENCE  1 (residues 1 to 254)
AUTHORS    Asano,M., Mohri,S., Ironside,J.W., Ito,M.,
           Tamaoki,N. and Kitamoto,T.
TITLE      vCJD prion acquires altered virulence through
           trans-species infection
JOURNAL    Biochem. Biophys. Res. Commun. 342 (1), 293-299 (2006)
PUBMED     16480953

1
manlgywlla lfvtmwtdvg lckkrpkpgg wntggsrypg qgspggnryp pgggtwgqph
61
gggwgqphgg swgqphggs wqphggwgq gggthnqwnk pskpktlnkh vagaaaagav
121
vgglggymlg samsrpmihf gndwedryyr enmyrypnqv yyrpvdqysn qnnfvhdcvn
181
itikghtvt ttkgenftet dvkmmervve qmcvtqyqke sqayydgrrs sstvlfsspp
241
villisflif livg
```

## ETUDE des séquences primaires

Regroupement de protéines en famille moléculaires  
Information sur des fonctions potentielles

Evolution moléculaire  
Informations sur l'origine et l'évolution

			Signature sequence	
Archaeobacteria	<i>Halobacterium halobium</i>	I G H V D H G K S T M V G R	L L Y E T G S V P E H V	I E Q H
	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	I G H V D H G K S T L V G R	L L M D R G F I D E K T	V K E A
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	I G H V D S G K S T T T G H	L I Y K C G G I D K R T	I E K F
Eukaryotes	<i>Homo sapiens</i>	I G H V D S G K S T T T G H	L I Y K C G G I D K R T	I E K F
Gram-positive bacterium	<i>Bacillus subtilis</i>	I G H V D H G K S T M V G R		I T T V
Gram-negative bacterium	<i>Escherichia coli</i>	I G H V D H G K T T L T A A		I T T V

Détermination de signature spécifiques de protéines ayant une même fonction  
Informations sur les éléments moléculaires responsables des activités biologiques

## Structure secondaire

organisation ou repliement local d'acides aminés consécutifs

La structure secondaire est la résultante des contraintes stériques dues à la structure propre des acides aminés.

géométrie de la liaison peptidique      liaisons hydrogènes potentielles entre résidus

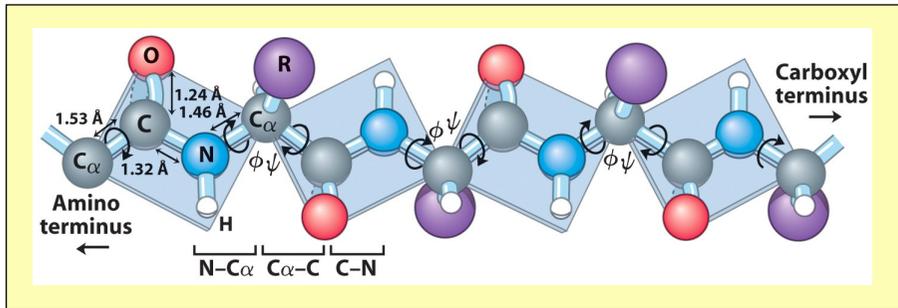
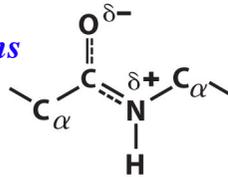
Impact sur la structure locale



## Modélisation de la liaison peptidique

L'atome d'oxygène à charge partielle **négative** forme un dipôle électrique avec l'amide à charge partielle **positive**

⇒ Configuration *trans*



- N, H, O et C de la liaison peptidique sont coplanaires  
\* Encombrement stérique minimisé

⇒ Rigidité de la liaison peptidique conduit à un squelette défini et stable

⇒ Les libertés de rotation des atomes aux extrémités de la liaison permettent l'adoption de différentes conformations dans l'espace

géométrie de la liaison peptidique

liaisons hydrogènes potentielles entre résidus

## Les différentes Structures secondaires

Hélices  $\alpha$

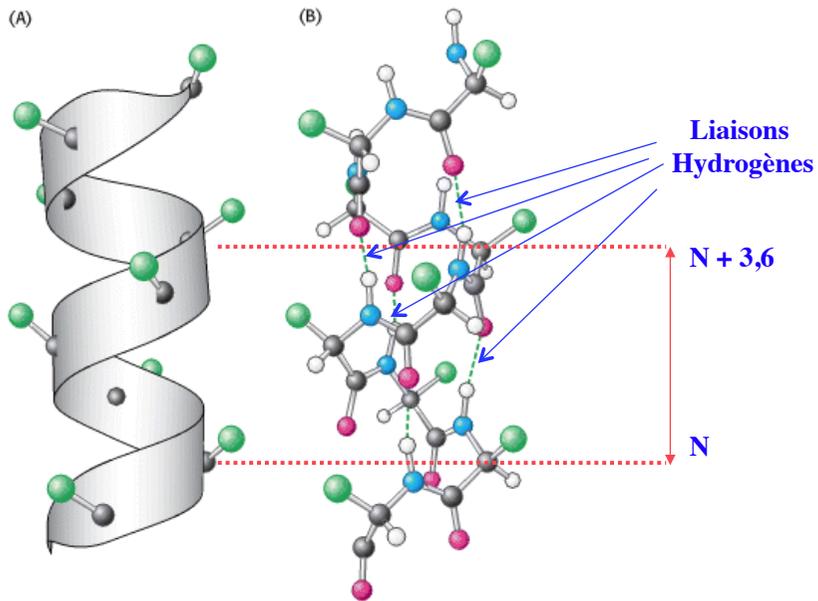
Feuillets  $\beta$

Coudes  $\beta$

Pelote statistique

# Hélices $\alpha$

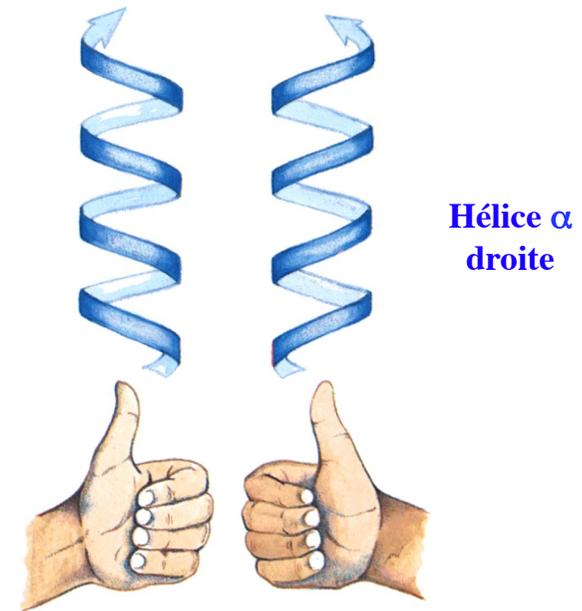
Interactions faibles entre les NH et CO sur un segment continu  
(résidus  $R_n$  et  $R_{n-(3,4)}$ )



## Caractéristiques d'une Hélice

- 3,6 résidus / tours
- pas d'hélice : 0,54 nm / tour
- la liaison H est // à l'axe
- longueur de la liaison H : 0,286 nm

⇒ Structure en forme de bâtonnet



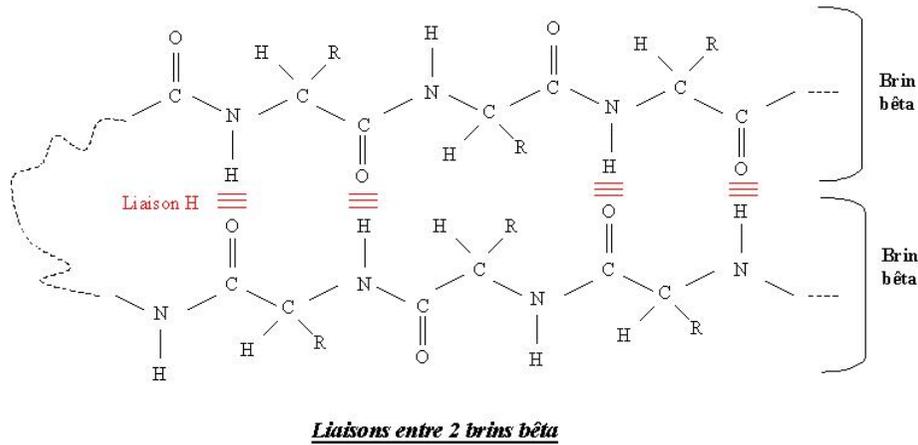
Les R sont à l'extérieur de l'hélice

⇒ Structure en hélice  $\alpha$  favorisée par des chaînes latérales ne portant pas de charge et dont l'encombrement stérique est faible

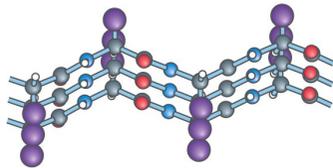
La configuration L des acides aminés privilégie un enroulement à droite de l'hélice

# Feuillets $\beta$

Interactions faibles entre les NH et CO de segments différents pouvant appartenir à la même chaîne ou à des chaînes différentes



=> Structure en forme de feuillet plissé

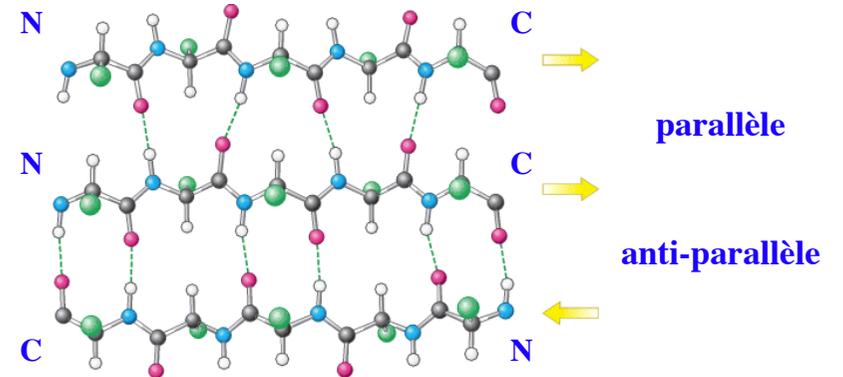


1 liaison peptidique sur 2 ne participe pas à une liaison H

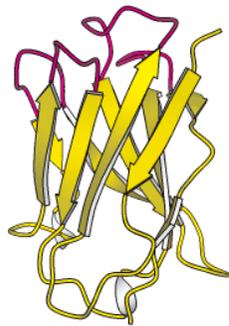
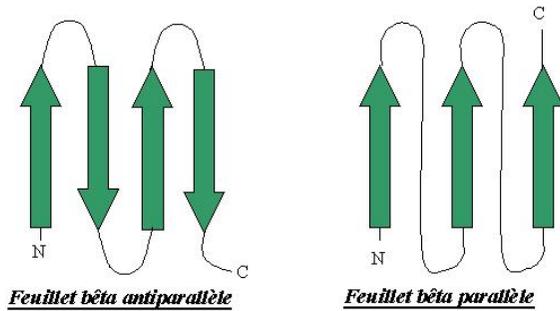
=> Association de plusieurs brins

Sens peptidique des brins adjacents peut être **identique** ou **contraire**

- => feuillet  $\beta$  **parallèle**
- => feuillet  $\beta$  **anti-parallèle**  
(+ stable car faible distorsion des liaisons H)



## Différentes représentation des feuillets $\beta$



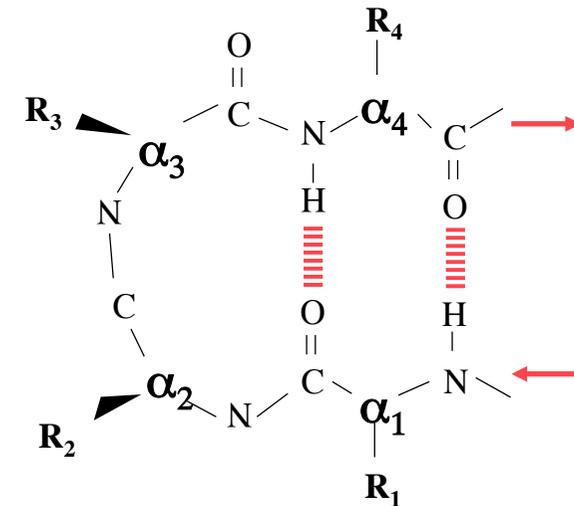
## Coudes ou tours $\beta$

(Conformations non répétitives à résidus polaires)

=> **Changement de direction de la chaîne peptidique**

*Indispensable pour la formation de feuillets de chaînes anti-parallèles ( $\beta$ )*

Court segment peptidique de 2 à 4 résidus avec possibilités de liaisons hydrogènes entre le premier et le dernier résidu du coude



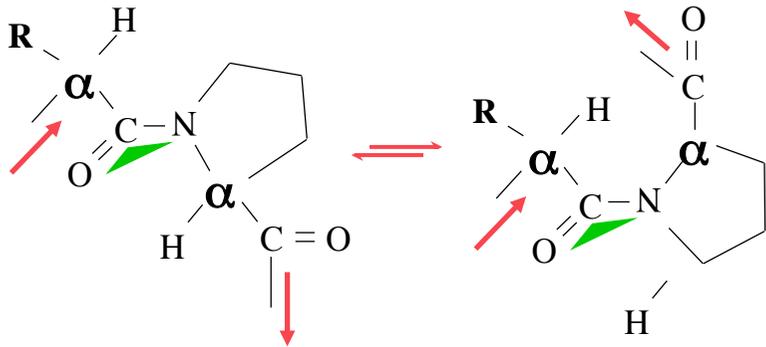
$R_2$  et  $R_3$  : chaînes latérales chargées

=> interactions avec  $H_2O$

$R_1$  et  $R_4$  : chaînes latérales de faible encombrement stérique

=> favorable aux contraintes

La configuration de la proline provoque le changement de direction de la chaîne peptidique



Conformation *trans*

Conformation *cis*

Stabilité identique des conformations *trans* et *cis*  
 ⇒ 6% d' isomères *cis* dans les protéines globulaires

La Proline est un point de rupture d' une Hélice  $\alpha$  :

- Absence de NH pour la liaison Hydrogène
- Cycle pyrrolidone rigide bloque la rotation et détruit la continuité de l' hélice

## Pelote statistique

Conformations non structurées dans des conformations périodiques

- ⇒ Forme irrégulière obéissant aux contraintes locales de voisinage
- ⇒ Résultante des réarrangements tertiaires et/ ou quaternaire

-----

## Acides aminés &

Prédiction de structure secondaire ?

Hélices  $\alpha$  :

Ala, Leu, Met, Glu

*Gly déstabilise une hélice (R trop petit)*

*Pro interrompt une hélice : pas de liberté de rotation*

Feuillets  $\beta$  :

Val, Ile, Tyr, Cys, Trp, Phe

*Pro déstabilise le feuillet*

Coudes et boucles:

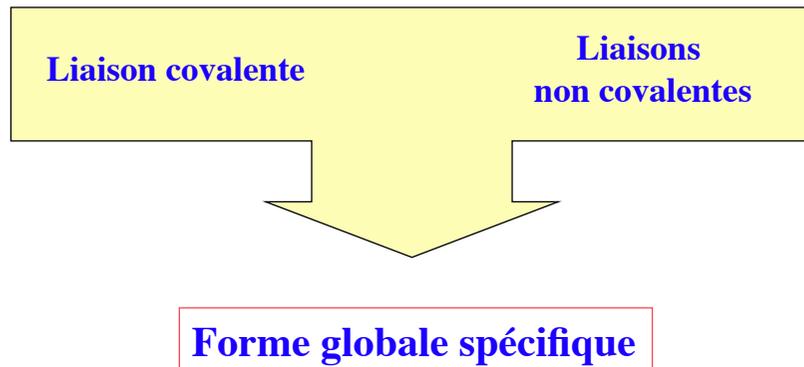
Gly, Asp, Ser, Asn et Pro

*souvent dans sites de liaison et/ou sites actifs des protéines*

## Structure tertiaire

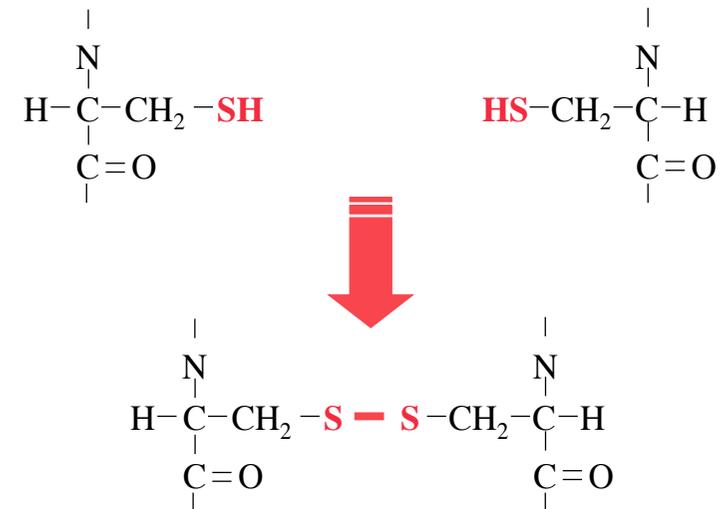
### Organisation spatiale des différentes structures locales

La structure tertiaire est la résultante des arrangements des structures secondaires entre elles aboutissant à la forme globale spécifique de la protéine.



## Liaisons covalentes => Ponts disulfures

Les cystéines peuvent créer des liaisons covalentes par l'intermédiaire de leurs atomes de soufre



\* Formation des ponts disulfures par oxydation

\* Rupture des ponts disulfures par des agents réducteurs  
(β-mercaptoéthanol)

## Liaisons non covalentes :

=> ponts salins :

Liaisons ioniques entre groupements chargés de signes opposés

=> liaisons hydrogènes :

Interactions électrostatiques entre dipôles

=> Forces de van Der Waals :

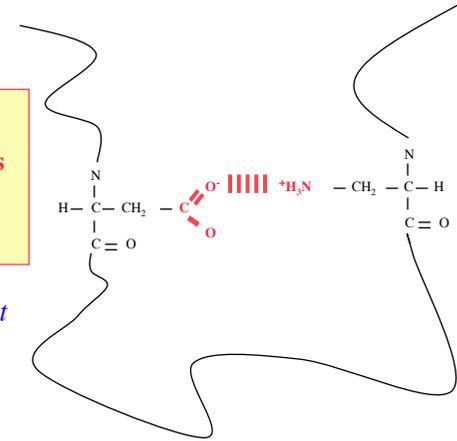
Attractions hydrophobes entre groupements apolaires

=> Interactions des chaînes latérales avec l'eau

- chaînes polaires exposées
- chaînes apolaires enfouies

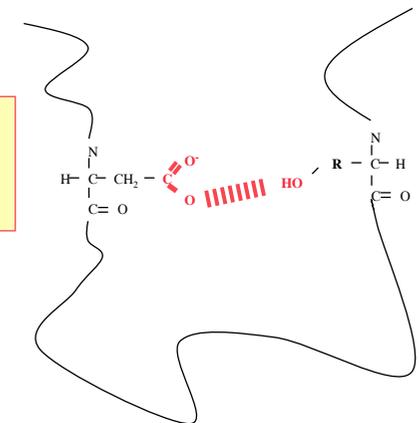
**Ponts salins = Liaisons ioniques entre groupements chargés de signes opposés**

*Les interactions ioniques sont sensibles au pH*



**Liaisons hydrogènes = Interactions électrostatiques entre dipôles**

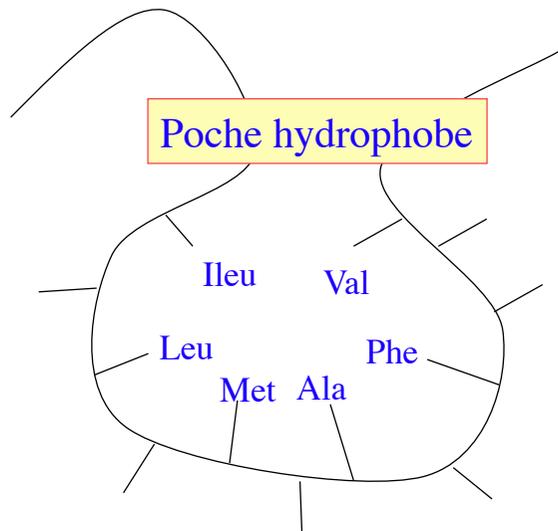
*Les liaisons hydrogènes sont sensibles à la température*



Forces de van Der Walls

=

Attractions hydrophobes entre groupements apolaires

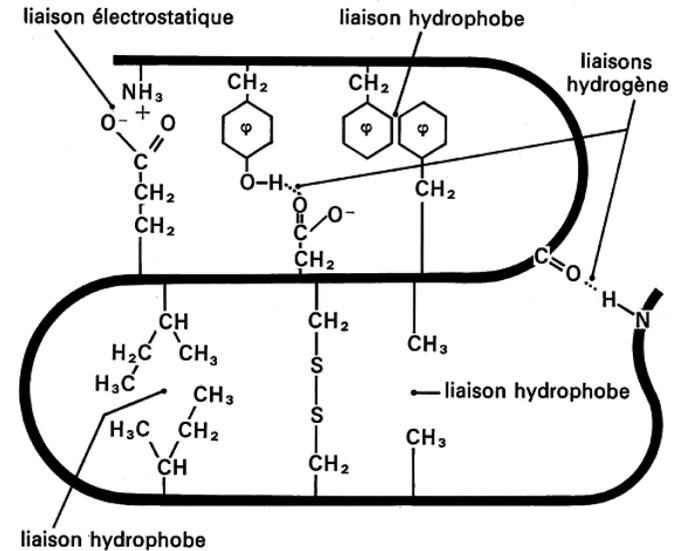


Interactions des chaînes latérales avec l'eau

chaînes polaires exposées

chaînes apolaires enfouies

Les interactions modulent la structure globale de la protéine



La Structure de la protéine subi l'influence du milieu sur les interactions dont elle dépend.

⇒ Nature du solvant

⇒ Température

⇒ pH du milieu

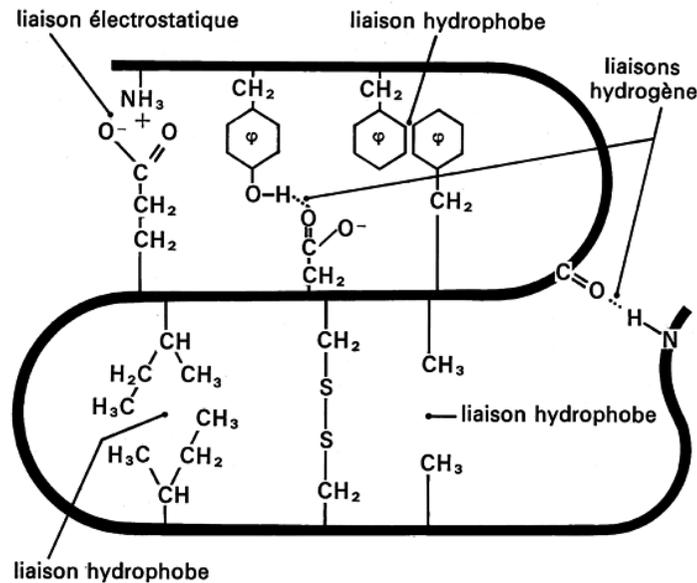
⇒ Force ionique

⇒ Présence d'agents oxydant, réducteurs, détergents...

## Conformation native d'une protéine

=

Structure tertiaire de la protéine qui exprime sa fonction biologique dans des conditions physiologiques



## Purification d'une protéine native

=

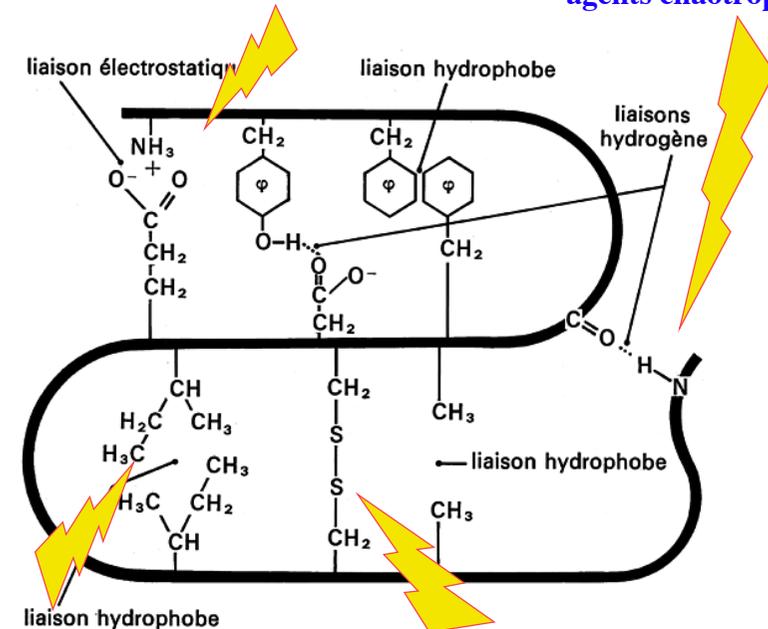
Obtention d'une protéine active et fonctionnelle (Possibilité d'études de fonction)

## Dénaturation d'une protéine

Action de toutes substances annulant les interactions

Variation de pH, sels

Temp °C, agents chaotropes



Détergents (SDS)

Agents réducteurs: ( $\beta$ -mercaptoéthanol)

## Purification d'une protéine dénaturée

=

Obtention d'une protéine inactive et non fonctionnelle (Possibilité d'études de paramètres physicochimiques)

## Deux grandes catégories de Protéines

### Protéines fibreuses

Agrégation d' une conformation unique :

Kératine = torsade de dimères d' hélices  $\alpha$

Fibroïne = empilement de feuillets  $\beta$

### Protéines globulaires

Structures variées très dépendants des interactions et du milieu

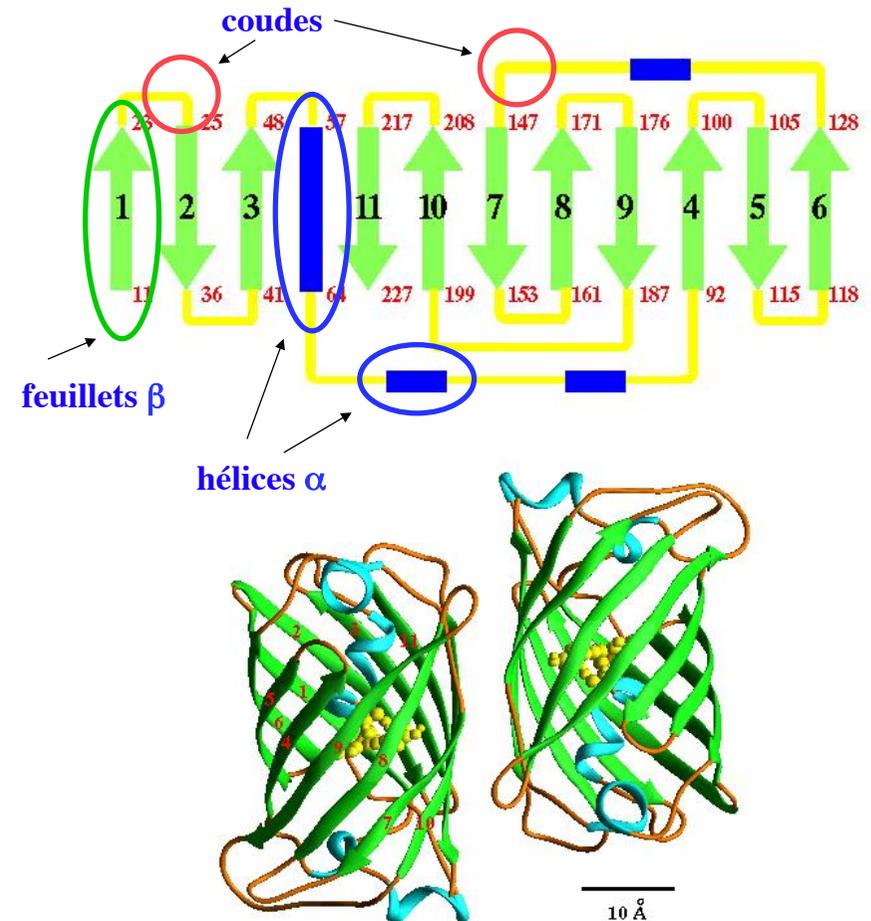
Peuvent comprendre des motifs de structures en hélices  $\alpha$  ou en feuillets  $\beta$  plissés

- Protéines à domaine  $\alpha$  dominant
- Protéines à domaine  $\beta$  dominant
- Protéines  $\alpha/\beta$  (les plus nombreuses)

### Structure tertiaire de la GFP (Green fluorescent protein)

=

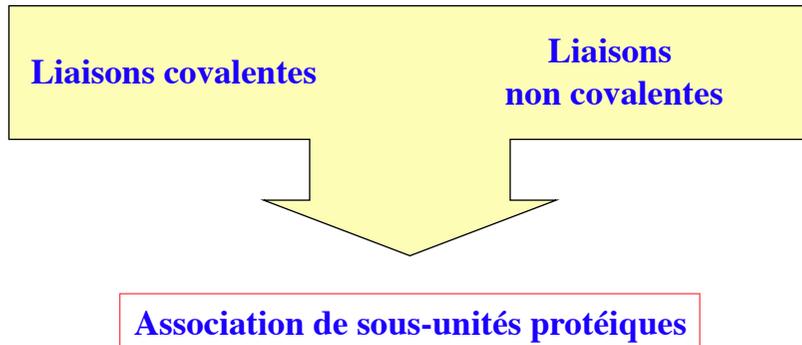
Enchaînement de feuillets  $\beta$ , de coudes et d' hélices  $\alpha$



## Structure Quaternaire

### Assemblage de protéines oligomériques

La structure quaternaire est la résultante de l'association de différentes protéines (sous-unités) aboutissant à un complexe protéique fonctionnel



Mêmes liaisons qui interviennent dans les structures tertiaires et quaternaires

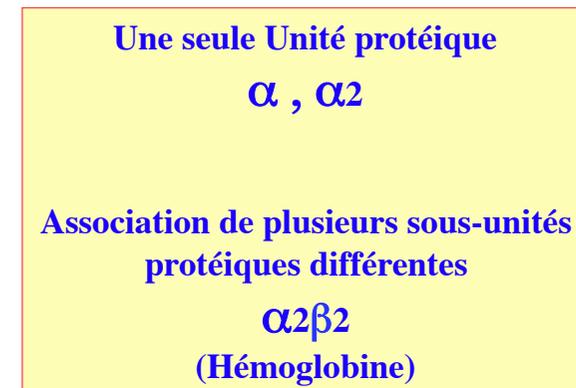
Ponts disulfures  
Liaisons hydrogènes  
Liaisons hydrophobes



## Organisation de protomères ou sous-unités



Association ou dissociation des sous-unités  
&  
Régulation fonctionnelle



Liaisons entre sous-unités  
non covalentes :

*types hydrophobes, ioniques, hydrogènes*

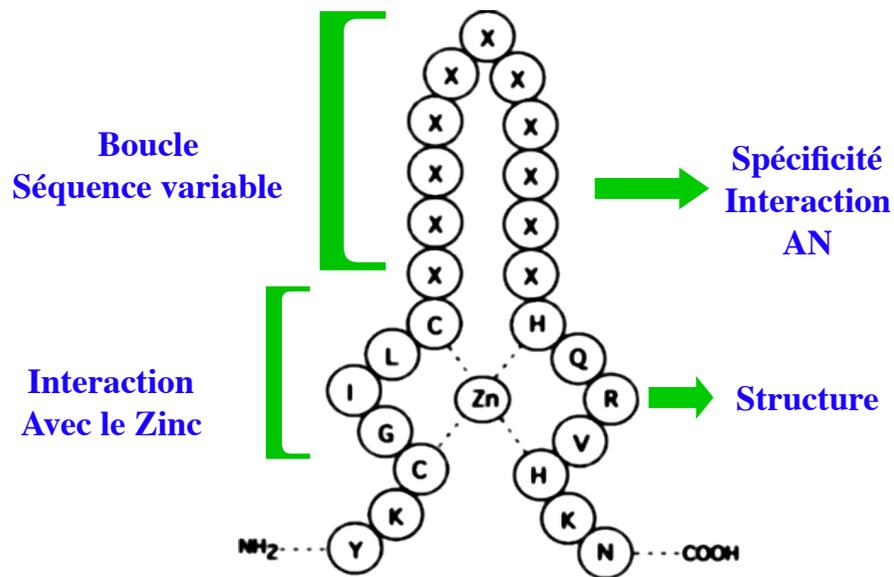
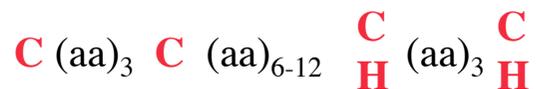
covalentes :

*ponts disulfures*

**Structure Primaire & Secondaire**  
**Séquences consensus & Sites de reconnaissances**  
**Associées à des fonctions précises**

**Le doigt de zinc**

*Séquence consensus contenant 4 cystéines (ou 2 Cystéines + 2 histidines) espacées de manières identiques.*



**Structure Tertiaire :**

**Organisation spatiale des structures locales**  
**Permettant le regroupement de plusieurs structures**  
**secondaires pour l'obtention d'une fonction**

**Structure tertiaire & pathologie**

**La protéine PRION**

**&**

**les Maladies à Prion**

(Vache folle, ESB, tremblante du mouton, Creutzfeld-Jacob)



D. Carleton Gajdusek  
 Prix Nobel 1976



Stanley Prusiner  
 Prix Nobel 1997

**Découverte des Prions:**  
**Nouveau mode d'infection par des protéines**

Mutation de la protéine prion Prp-p:  
Changement de **conformation** de la protéine qui favorise  
l'apparition d'agrégations amyloïdes dans les neurones



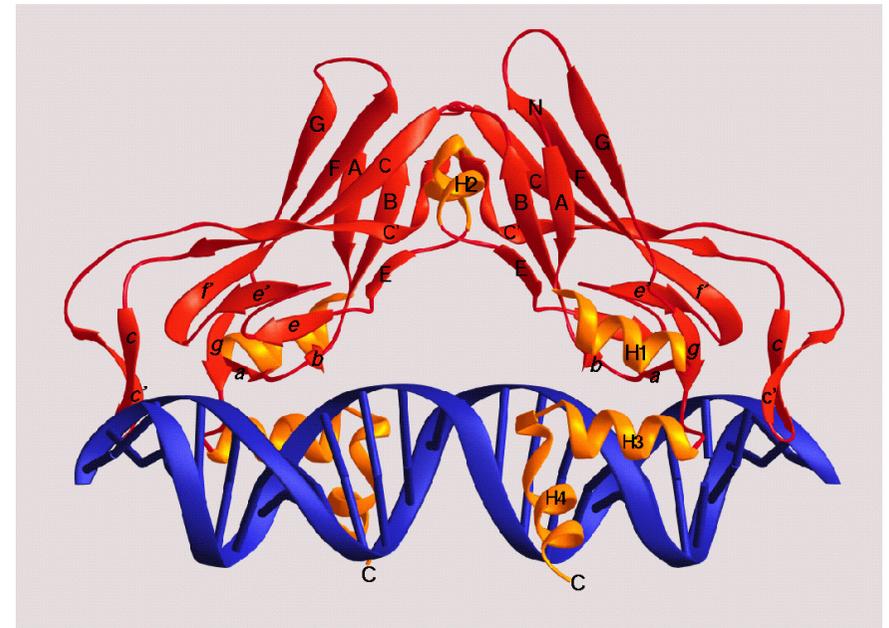
Structure normale saine  
(PrPc)  
**Forte proportion  
d'hélices  $\alpha$**

Structure pathologique  
(PrPsc : scrapie)  
**Forte augmentation  
des feuillets  $\beta$**

**Structure Quaternaire :**  
**Permet la régulation par l'interaction de protéines  
identiques ou différentes**

**Un exemple de structure dimérique de type  $\alpha 2$ :**  
**Le facteur TBX3 et sa cible ADN**

*Les gènes T-box codent pour une grande famille de facteurs de  
transcription ayant un rôle critique dans le développement des  
vertébrés et des invertébrés.*



**La structure dimérique permet la reconnaissance d'une séquence  
spécifique d'ADN par des interactions entre les hélices H3 et H4  
de chaque sous-unités avec les bases nucléotidiques**