

# LES PROTEINES.

CHO et N. + S ou P.

Macro-molécules soit de constitution (structure) soit de fonctionnement (enzymes)

Il résulte de la spécificité biologique (ambigües).

Ensemble de  $\pi$  diverses.

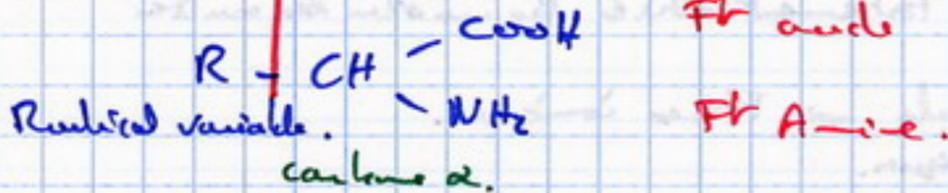
En masse de la  $\alpha$  animaux 60 à 80% de poids sec.

$\pi$   $\rightarrow$  exclusivement d'Acide Amino non ramifiés.  
linéaires

## I Les Acides Amino.

### A) Caractéristiques générales.

Partie variable. Partie fixe.

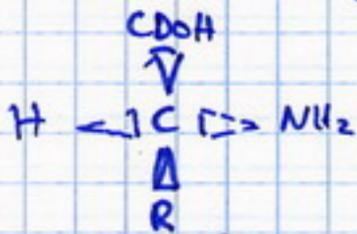


$\pm$  exception: la proline.

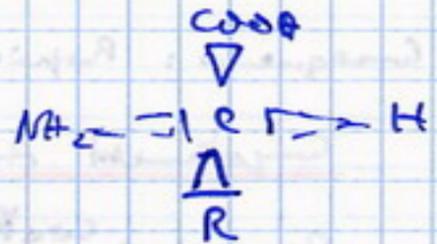
20 radicaux variables utilisés par la  $\alpha$

Conformation de la molécule.

Carbone  $\alpha$  asymétrique.



2 stéréoisomères de classe A.A.



Molécule  $\text{D}$   $\text{D}$   
Isomère  $\text{L}$   $\text{D}$

Isomère  $\text{L}$   $\text{L}$

De la nature seulement forme L

### B) Les 20 A.A. utilisés par la $\alpha$

#### 1) A.A. à chaîne latérale non chargée.

Non chargés: par la liaison H avec l'eau  $\rightarrow$  Radicaux hydrophobes.

#### 2) Les A.A. à chaîne latérale à charge faible.

Charge  $\text{S}^+$  ou  $\text{S}^- \rightarrow$  OH, SH,  $\text{NH}_2$ . Radicaux polaires:

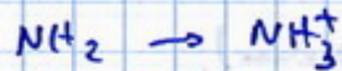
liaisons hydrogène avec l'eau  $\rightarrow$  hydrophiles.

3) les AA à double charge. charge nette

a) Radicaux chargés  $\ominus$  = a.a. acides.



b) Radicaux chargés  $\oplus$  = a.a. basiques



La charge nette dépend du pH.

charge  $\rightarrow$  soluble. Radical très réactif

Il existe d'autres AA de la II. Radicaux après incorporation.

c) Propriétés électriques de ces A.A.

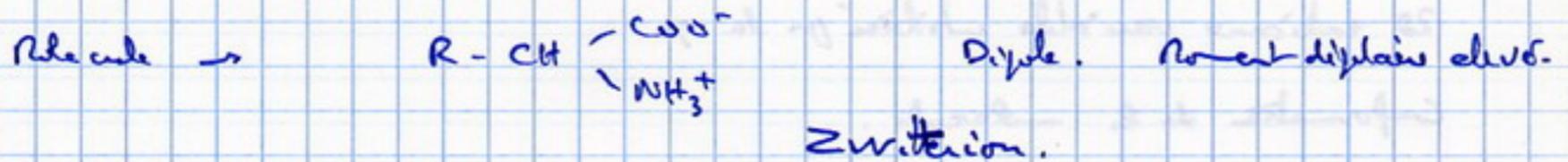
1) Les propriétés Acide - base des a.a.

Ces aa cristallisent à haut  $\mu$  de fusion très élevés. (+ de 200°)

$\rightarrow$  doublets très forts pour les reparer. Fortement attirés les uns vers les autres

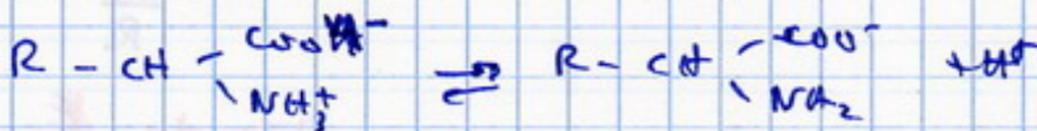
par des forces supérieures à Van der Waals  $\rightarrow$  Forces ioniques.  
gravimétriques.

Molécules très solubles dans l'eau.

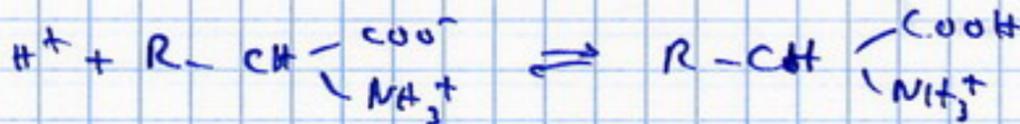


Conséquences: Propriétés Acide base.

Comportement Acide: libère un proton



Comportement basique

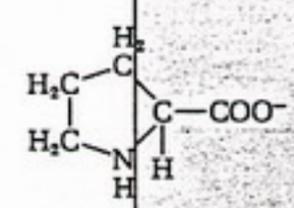
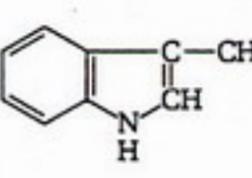


Corps amphotère  $\begin{cases} \text{acide} \\ \text{base} \end{cases}$ .

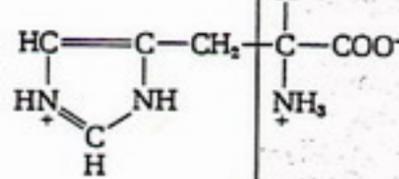
Aminoacides à chaînes latérales  
non polaires.

Aminoacides avec chaînes latérales  
polaires non chargées.

Aminoacides acides  
(chargés négativement à pH 6,0)

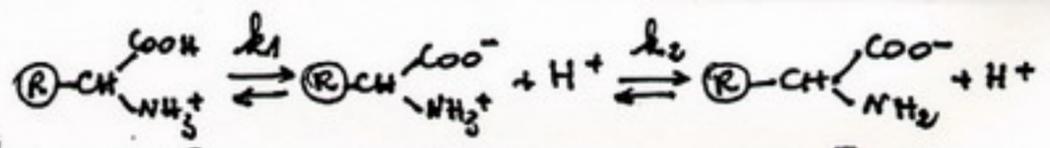
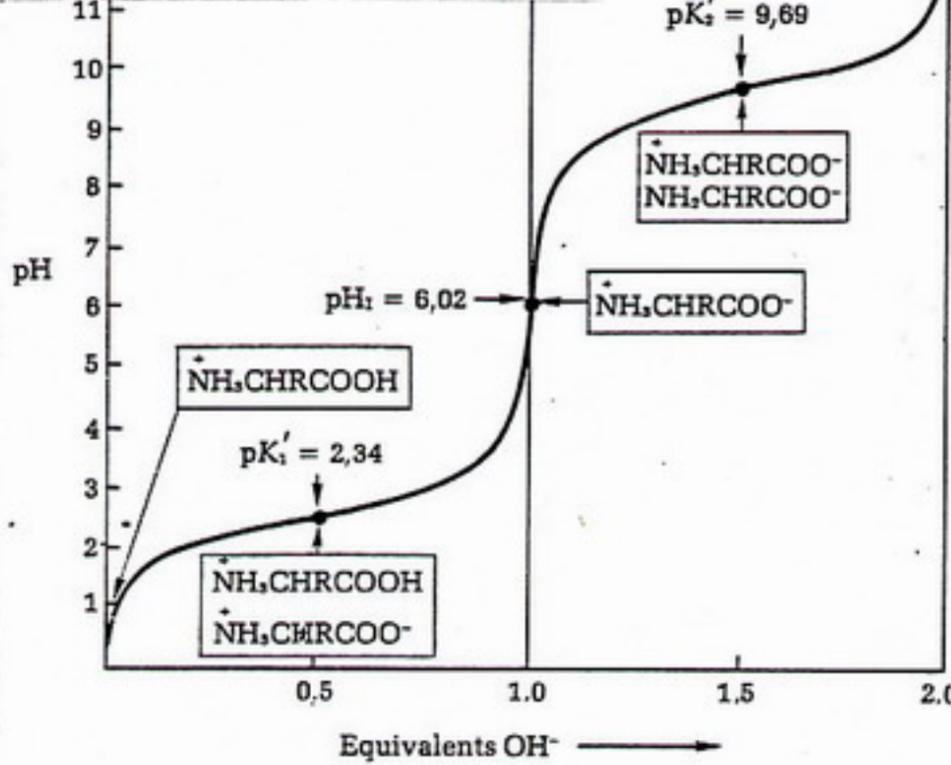
Chaînes latérales	
Alanine Ala A PM 89	$\text{CH}_3-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Valine Val V PM 117	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Leucine Leu L PM 131	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Isoleucine Ile I PM 131	$\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Proline Pro P PM 115	
Phénylalanine Phe F PM 165	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Tryptophane Trp W PM 204	
Méthionine Met M PM 149	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$

Chaînes latérales	
Glycocolle Gly G PM 75	$\text{H}-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Sérine Ser S PM 105	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Thréonine Thr T PM 119	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Cystéine Cys C PM 121	$\text{HS}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Tyrosine Tyr Y PM 181	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Asparagine Asn N PM 132	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Glutamine Gln Q PM 146	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$

Chaînes latérales	
Acide aspartique Asp D PM 133	$\text{O}=\text{C}(\text{O}^-)-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Acide glutamique Glu E PM 147	$\text{O}=\text{C}(\text{O}^-)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Aminoacides basiques (chargés positivement à pH 6,0)	
Chaînes latérales	
Lysine Lys K PM 146	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Arginine Arg R PM 174	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH}_2^+)-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$
Histidine (à pH 6,0) His H PM 155	

Les symboles à une ou trois lettres et les poids moléculaires (PM) sont aussi donnés. Les aminoacides sont représentés avec des groupements  $\alpha$ -aminés et  $\alpha$ -carboxylés ionisés, tels qu'ils apparaissent entre pH 6 et 7.

Courbe de titration de l'alanine. La forme ionique prédominante à chaque point de la titration est encadrée. R représente la fonction méthyle de l'alanine.



Point de demi-titration  
 1<sup>o</sup> dissociation: autant de A que de B  
 $k_1 = \frac{[B][H^+]}{[A]} \Rightarrow [H^+] = k_1 \frac{[A]}{[B]}$   
 $\Rightarrow \log[H^+] = \log k_1 + \log \frac{[A]}{[B]}$   
 $\Rightarrow \text{pH} = \text{p}K_1 + \log \frac{[A]}{[B]}$   
 au point de demi-titration  $[A] = [B]$   
 donc  $\text{pH} = \text{p}K_1$  Zone tampon -  
 2<sup>o</sup> dissociation autant de B que de C  
 $k_2 = \frac{[C][H^+]}{[B]}$  soit  $\text{pH} = \text{p}K_2$  2<sup>o</sup> zone tampon

Point isoélectrique pHi.  
 C'est le moment de la titration où l'aa est en majorité sous forme de zwitterion et qu'il a autant de molécules chargées + que de molécules chargées -  
 ici  $[A] = [C]$

$$k_1 = \frac{[B][H^+]}{[A]} \quad k_2 = \frac{[C][H^+]}{[B]}$$

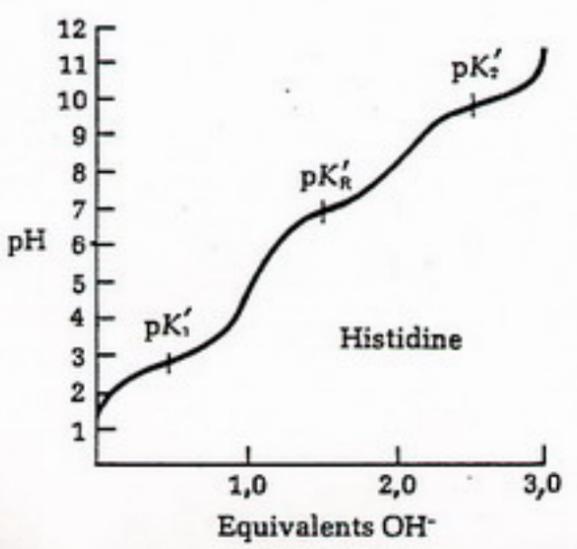
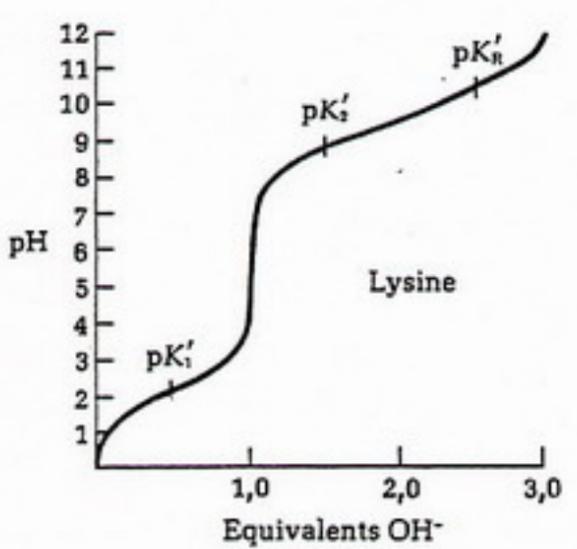
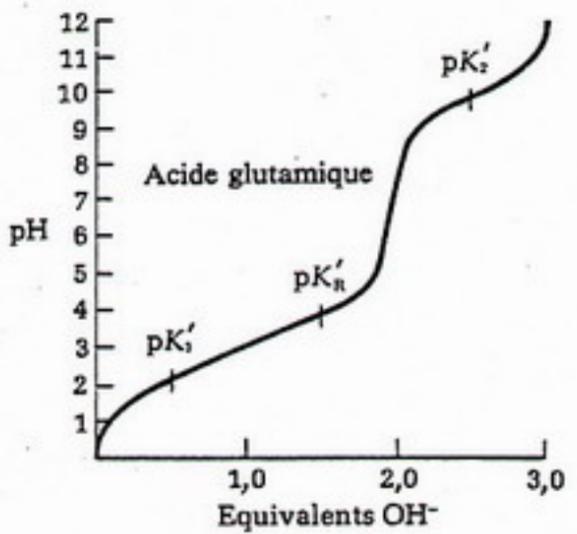
$$[A] = \frac{[B][H^+]}{k_1} \quad [C] = \frac{k_2[B]}{[H^+]}$$

Soit  $\frac{[B][H^+]}{k_1} = \frac{k_2[B]}{[H^+]}$

$$[H^+]^2 = k_1 \cdot k_2$$

soit  $[A] = [C^-]$  pour  $\text{pH} = \frac{1}{2}(\text{p}K_1 + \text{p}K_2)$   
 Ce pH est le point isoélectrique; le pHi

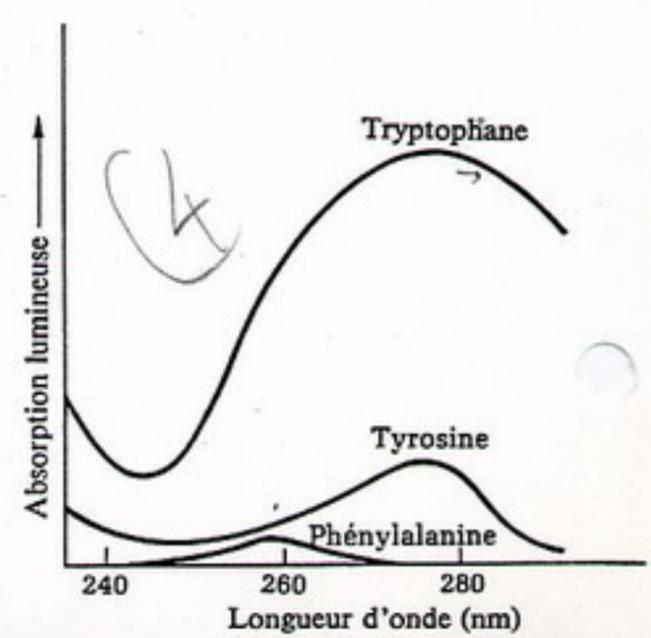
Courbes de titration de l'acide glutamique, de la lysine et de l'histidine. Dans chaque cas, le pK' de la chaîne latérale est désigné par pK'R.



Valeurs de pK' pour l'ionisation des fonctions de quelques aminoacides (25°C)

	pK' <sub>1</sub> α-COOH	pK' <sub>2</sub> α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	pK' <sub>R</sub> chaînes latérales
Glycocolle	2,34	9,6	
Alanine	2,34	9,69	
Leucine	2,36	9,60	
Sérine	2,21	9,15	
Thréonine	2,63	10,43	
Glutamine	2,17	9,13	
Acide aspartique	2,09	9,82	3,86
Acide glutamique	2,19	9,67	4,25
Histidine	1,82	9,17	6,0
Cystéine	1,71	10,78	8,33
Tyrosine	2,20	9,11	10,07
Lysine	2,18	8,95	10,53
Arginine	2,17	9,04	12,48

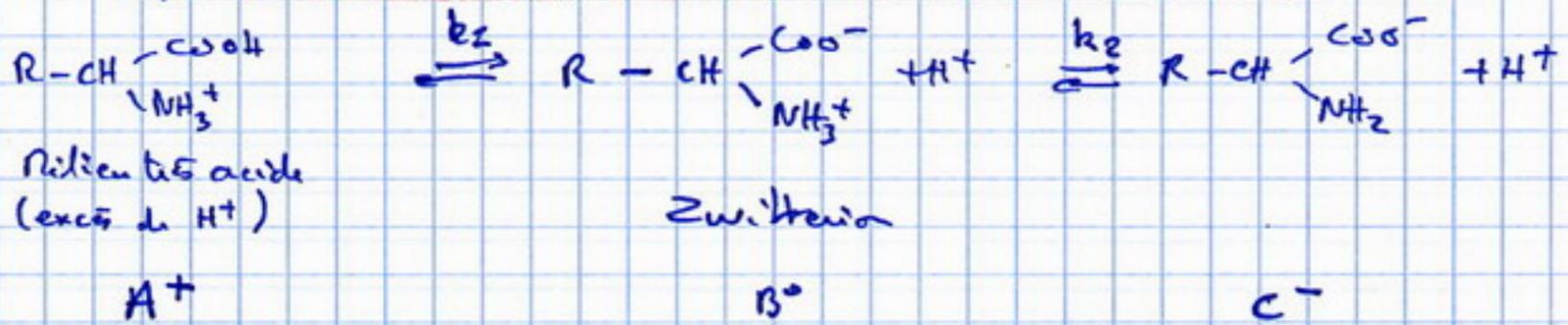
Specre d'absorption dans l'ultraviolet du tryptophane, de la tyrosine et de la phénylalanine.



## 2) État des a.a. fct des pH.

titrations des a.a.

a) l'alanine: a.a. à deux latéraux non ionisables.



k: constante d'équilibre.

Combe double. → diacide.

2 zones tampon: pH de demi-titration.

Equilibre  $[\text{A}^+] = [\text{B}^0]$

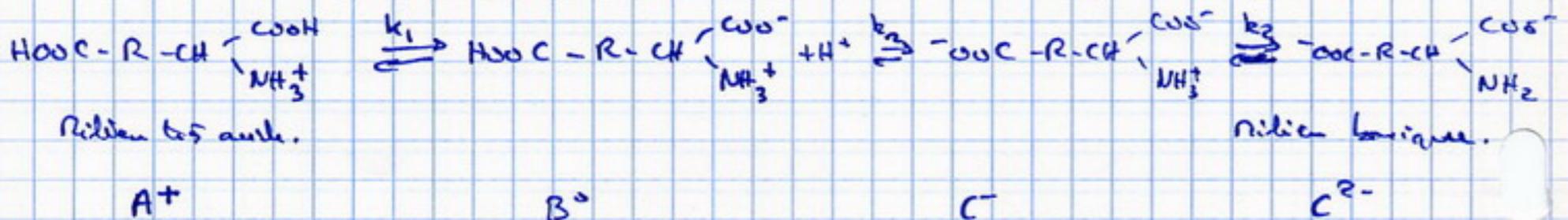
Zone tampon A.A. ≠ pH sang.

pH<sub>i</sub>: pKa électrolytique: valeur du pH → Rayon de Debye est non chargé Zwitterion

et  $[\text{A}^+] = [\text{C}^-]$

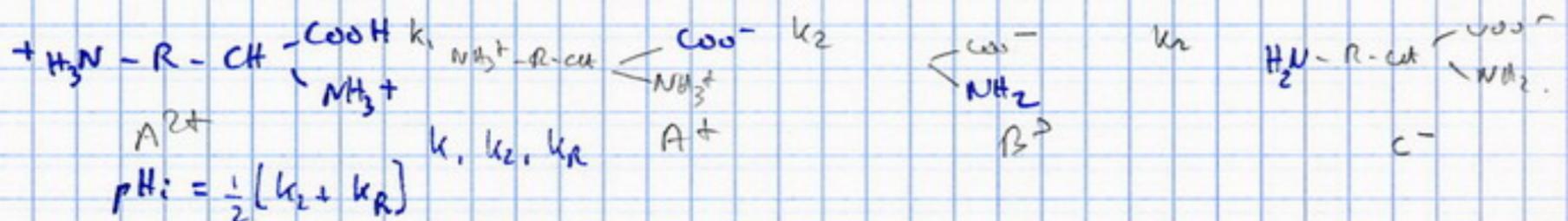
b) A.A. à deux latéraux chargés.

\* A.A. à deux latéraux acide: ex. Acide glutamique



$$\text{pH}_i = \frac{1}{2} [\text{p}k_1 + \text{p}k_2]$$

\* A.A. à deux latéraux basique. ex. Lysine.



DETERMINATION DE LA SEQUENCE DES ACIDES AMINES  
DANS UNE PROTEINE.

IV- IDENTIFICATION DES SEQUENCES EN ACIDES AMINES DES FRAGMENTS  
PEPTIDIQUES.

I- DETERMINATION DE LA COMPOSITION EN ACIDES AMINES.

On hydrolyse toutes les liaisons peptidiques et on analyse le mélange d'acides aminés obtenu, par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions.

On connaît alors le nombre de chacun des acides aminés présent dans la protéine, mais on ne sait pas leur ordre d'enchaînement dans cette protéine.

II- IDENTIFICATION DES RESIDUS N ET C TERMINAUX.

A- RESIDU N TERMINAL.

- On utilise le 1 fluoro 2-4 dinitrobenzène, qui se fixe sur l'extrémité N terminale de la protéine sous forme d'un dérivé jaune 2-4 dinitrophénol.

- La protéine est alors hydrolysée. Par chromatographie les acides aminés sont séparés. L'acide aminé coloré en jaune est facilement repéré, et sa position sur le chromatographe indique sa nature. (On peut le récupérer pour l'analyser).

B- RESIDU C TERMINAL.

On utilise une enzyme la carboxypeptidase qui n'hydrolyse que l'extrémité C terminale de la protéine. Il faut expérimenter rapidement pour déterminer quel est le premier acide aminé libéré

III - FRAGMENTATION DE LA CHAINE POLYPEPTIDIQUE.

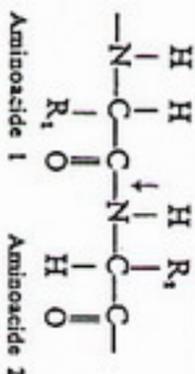
La protéine est fragmentée en petites séquences de 10 à 15 acides aminés, et on détermine ensuite la séquence en acides aminés de ces petits fragments.

Plusieurs procédés chimiques ou enzymatiques peuvent être utilisés pour fragmenter la protéine. Ils sont tous spécifiques dans leur action.

Ex : Fragmentation par la trypsinase qui n'hydrolyse que les liaisons peptidiques dans lesquelles les groupements carboxyles sont fournis soit par la lysine soit par l'arginine.

Les fragments sont ensuite séparés par chromatographie et on va essayer de déterminer la séquence de chacun d'eux.

Clivage spécifique des chaînes polypeptidiques



Méthode

Liaisons peptidiques scindées

Trypsine Aminoacide 1 = Lys ou Arg  
Chymotrypsine Aminoacide 1 = Phe Trp, ou Tyr  
Pepsine Aminoacide 1 = Phe, Trp, Tyr, autres  
Thermolysine Aminoacide 2 = Leu, Ile ou Val  
Bromure de cyanogène Aminoacide 1 = Met

On va établir la continuité des séquences des acides aminés en déterminant les zones de chevauchement entre les deux séries de polypeptides obtenus. Il s'agit là d'un exercice purement intellectuel (et ludique).

-R- Il est parfois nécessaire d'effectuer 3 clivages de la protéine initiale par trois procédés différents pour obtenir la succession des acides aminés dans la protéine.

Ex : Une protéine est constituée de 16 a.a.  
Le résidu N terminal est H.  
Le résidu C terminal est S.

Cette identification est faite par la méthode de dégradation d'EDMANN. Cette méthode permet, de marquer, et de ne retirer que le résidu N terminal du peptide, laissant toutes les autres liaisons intactes.

Le réactif utilisé (le phénylisocyanate) se combine à la fonction alpha amine libre du résidu N terminal. Le traitement à froid du peptide avec de l'acide dilué retire le résidu N terminal fixé au réactif. Ce complexe est isolé et l'acide aminé qui y participe est identifié.

Le reste de la chaîne qui est demeurée intacte réagit à nouveau avec le réactif et un nouveau cycle de manipulation est nécessaire pour isoler le nouvel acide aminé terminal.

Par éliminations successives du résidu N terminal on détermine l'ordre des acides aminés des petits polypeptides.

V- CLIVAGE DE LA PROTEINE D'ORIGINE PAR UN AUTRE PROCÉDE.

Par la manipulation précédente on connaît les séquences en acides aminés des petits polypeptides mais on ne connaît pas l'ordre d'enchaînement des polypeptides entre eux.

On recommence alors les opérations III et IV mais en utilisant un produit de coupure différent, coupant la protéine initiale en des points différents. On peut par exemple utiliser le bromure de cyanogène qui ne coupe que la liaison peptidique dont le groupement carboxyle impliqué est celui de la méthionine. On obtient une deuxième série de séquençage de polypeptides.

VI- DETERMINATION DE L'ORDRE DES ACIDES AMINES DANS LA PROTEINE PAR CHEVAUCHEMENT DES FRAGMENTS PEPTIDIQUES.

On va établir la continuité des séquences des acides aminés en déterminant les zones de chevauchement entre les deux séries de polypeptides obtenus. Il s'agit là d'un exercice purement intellectuel (et ludique).

-R- Il est parfois nécessaire d'effectuer 3 clivages de la protéine initiale par trois procédés différents pour obtenir la succession des acides aminés dans la protéine.

Ex : Une protéine est constituée de 16 a.a.  
Le résidu N terminal est H.  
Le résidu C terminal est S.

Un premier clivage donne 5 petits polypeptides dont on détermine la séquence :

PS  
EOVE  
RLA  
HOWT

Un deuxième clivage donne 5 petits polypeptides différents, de séquences :

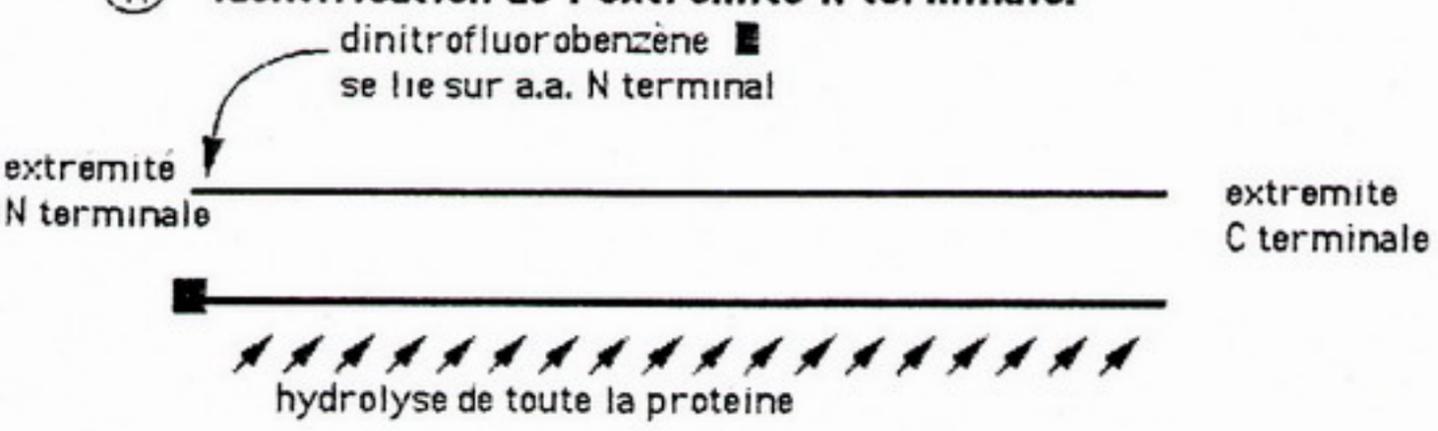
SEO  
MTOU  
VERL  
APS  
HO

Quelle est la séquence des a. a. constituant cette protéine ?

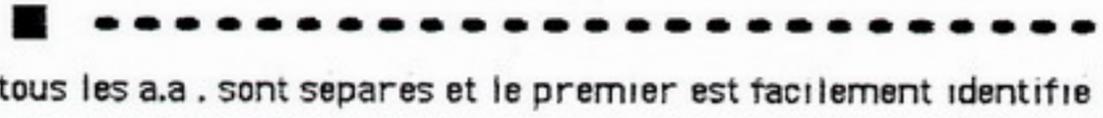
Tous se chevauchent

**II - détermination des a.a. des deux extrémités.**

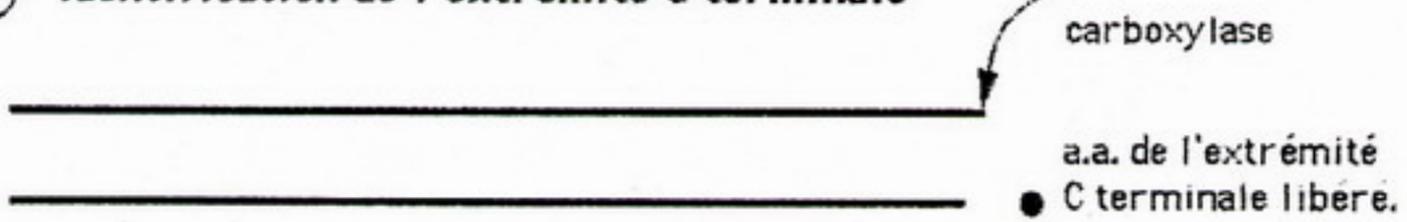
**(A) Identification de l'extrémité N terminale.**



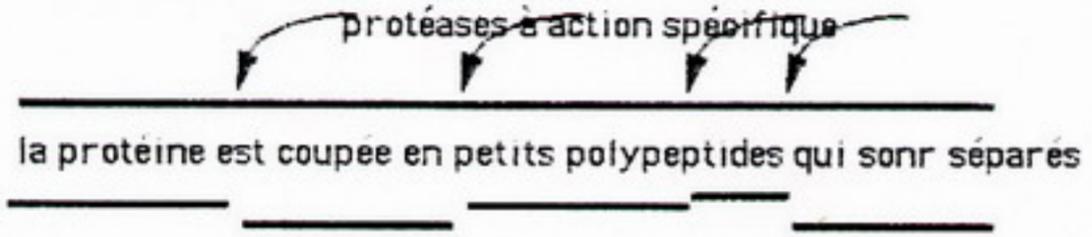
resultat



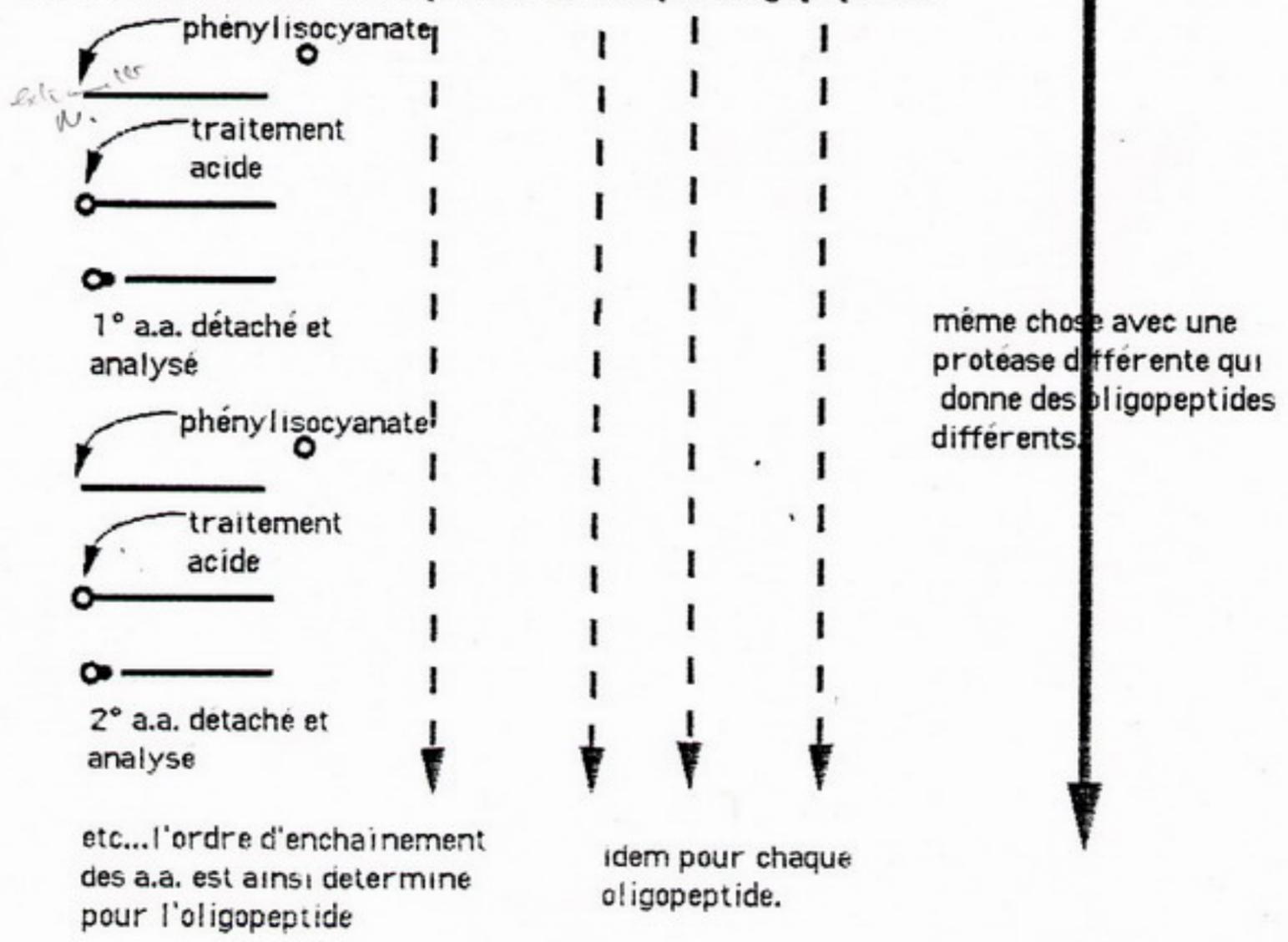
**(B) Identification de l'extrémité C terminale**



**III - découpage de la protéine en oligopeptides**



**IV - détermination de la séquence de chaque oligopeptide.**



### 3) Interact pratique du pHi

On peut connaître la charge de l'A.A. à pt du pH.

Si  $pH < pHi \rightarrow aa^+$  cation.

Si  $pH > pHi \rightarrow aa^-$  anion.

Si  $pH = pHi \rightarrow aa^0$

### e) Séparation des a.a.

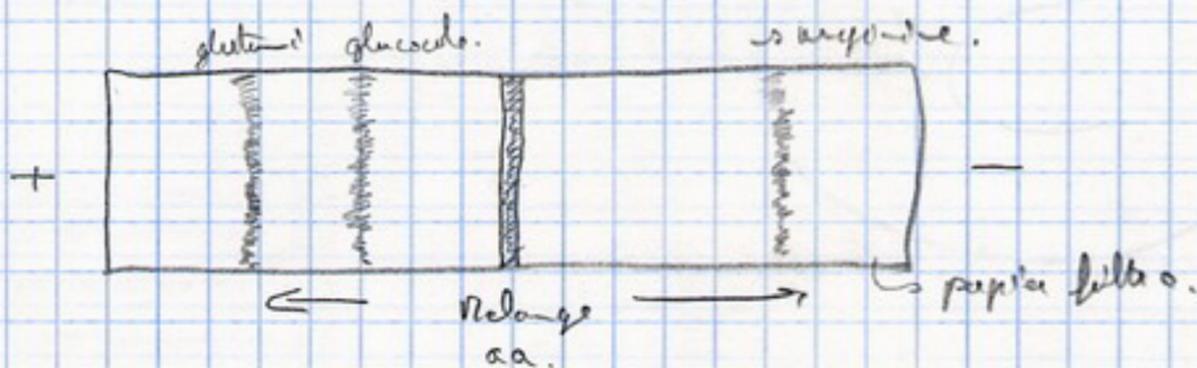
#### \* Par électrophorèse

ex. Solution d'a.a. à pH 8,6

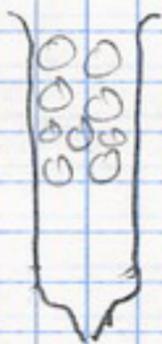
- glycocole  $pHi = 6,1$   $\ominus$

- glutamine  $pHi = 5,65$   $\ominus$

- arginine  $pHi = 10,28$   $\oplus$

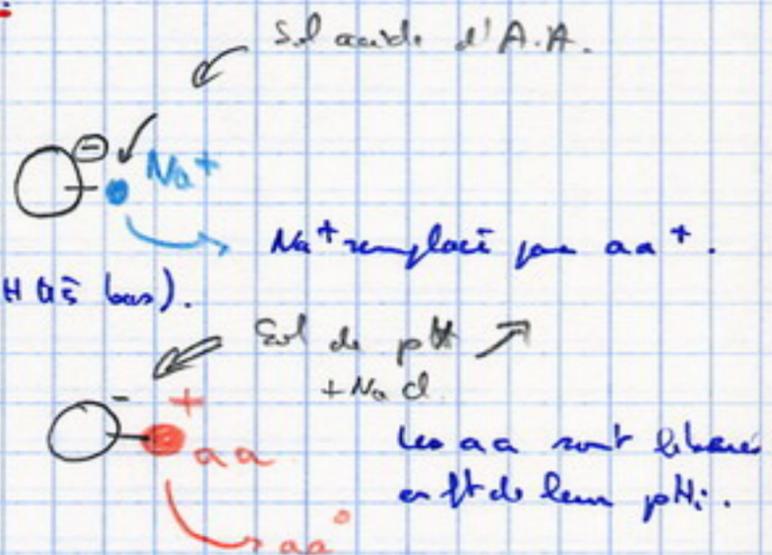


#### \* Par chromatographie échangeuse d'ions.



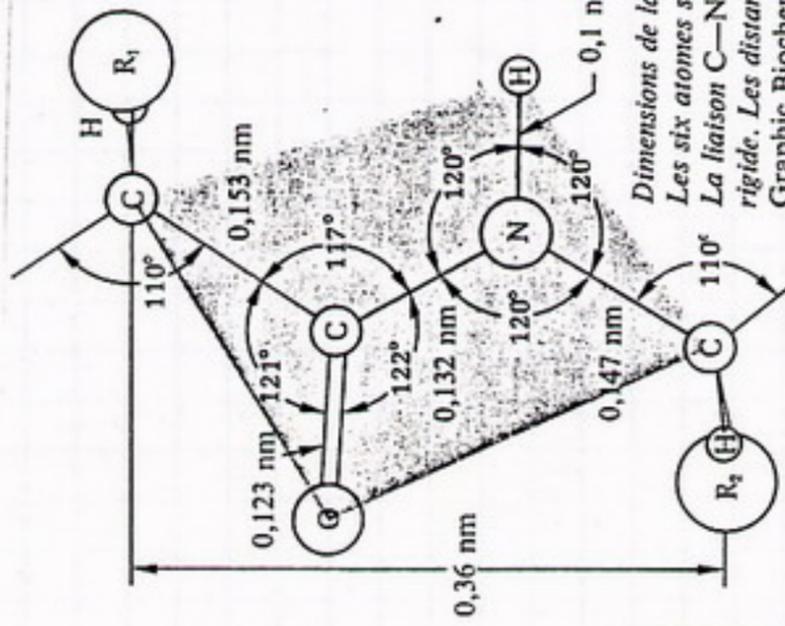
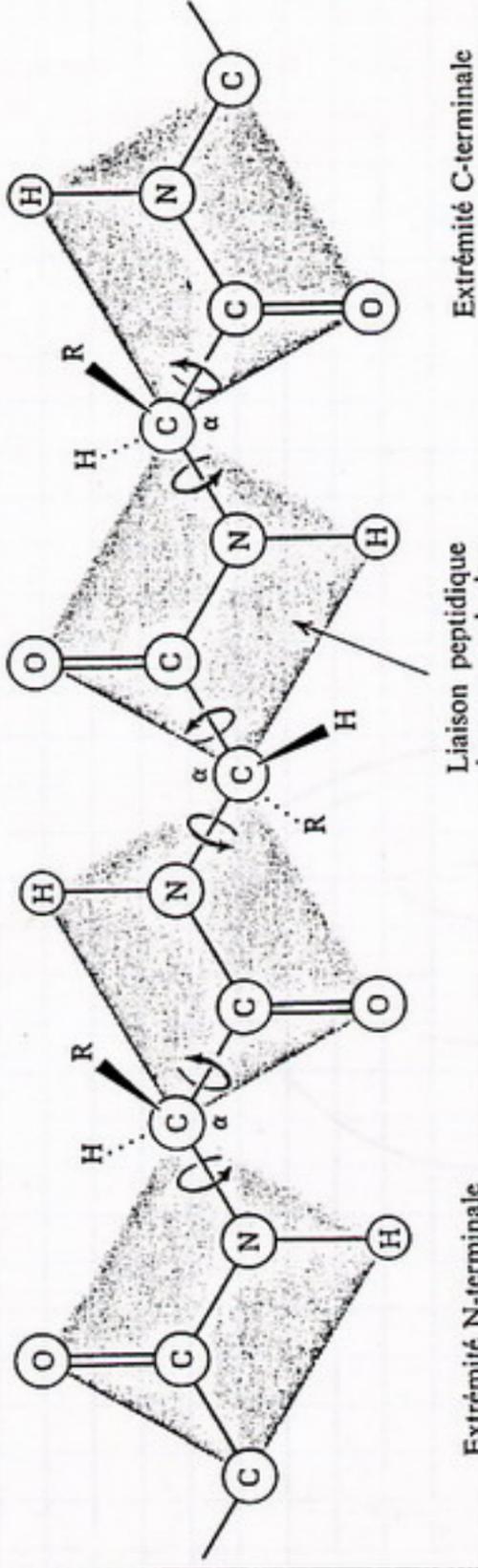
résine aliphatique sulfonée.  
équilibre par de  $NaOH$ .

On verse une sol acide d'A.A. (pH très bas).  
 $\hookrightarrow aa^+$



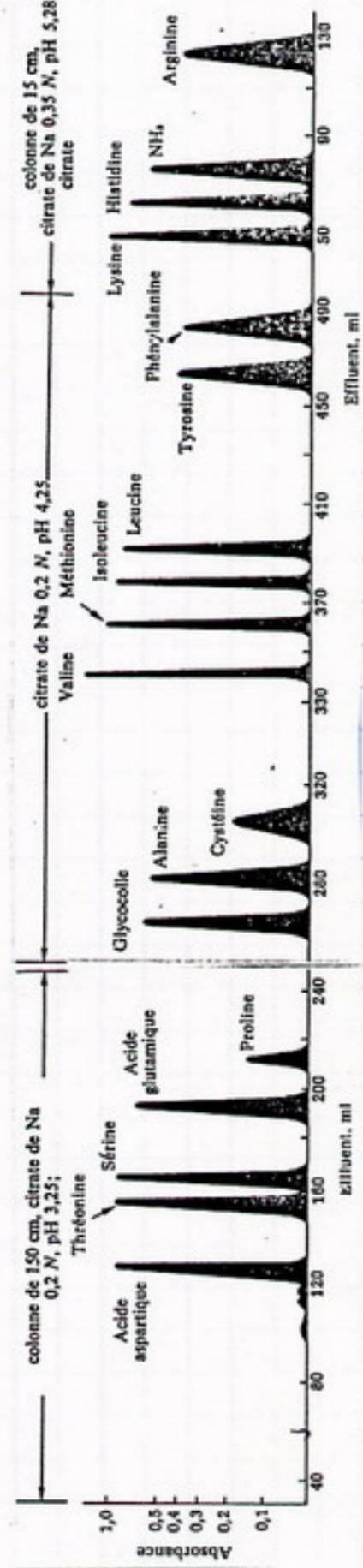
Ces procédés sont chimiquement automatisés : Sol  $\rightarrow$  composition donnée. | qualitative  
| quantitative.

Limitation de la rotation des liaisons simples de la chaîne polypeptidique.  
 Seules les liaisons simples des atomes de carbone  $\alpha$  peuvent tourner librement; les liaisons simples C-N dans le plan de la liaison peptidique sont rigides.



Dimensions de la liaison peptidique obtenues par des études aux rayons X.  
 Les six atomes situés dans la zone ombrée sont dans un même plan.  
 La liaison C-N ayant les caractères d'une double liaison, ce plan est rigide. Les distances sont données en nanomètres (d'après T. P. Bennett, Graphic Biochemistry, vol. 1, The Mac-Millan Company, New York, 1968).

Analyse automatique par chromatographie des aminoacides sur une résine échangeuse d'ions. L'élution est réalisée avec différents tampons de pH croissant. L'effluent est recueilli par petites fractions et le contenu en aminoacide de chaque tube est automatiquement analysé. La surface de chaque pic est proportionnelle à la concentration de chaque aminoacide dans le mélange. [D'après D.H. Spackman, W.H. Stein et S. Moore, Anal. Chem., 30 : 1190 (1958).]



## D) Autres propriétés des A.A.

→ Coloration à la ninhydrine. (oxydant fort → decarboxylation oxydative)  
coloration pompe intense si beaucoup a.a.  
essenti dosage par spectrophotométrie.  
Ry le maline - l'est pas coloré en pompe → coloration jaune.

### 2) Absorption de UV par acides a.a.

Donc ceux qui possèdent un noyau aromatique.

utilisé pour le dosage des  $\pi$ .

(K)

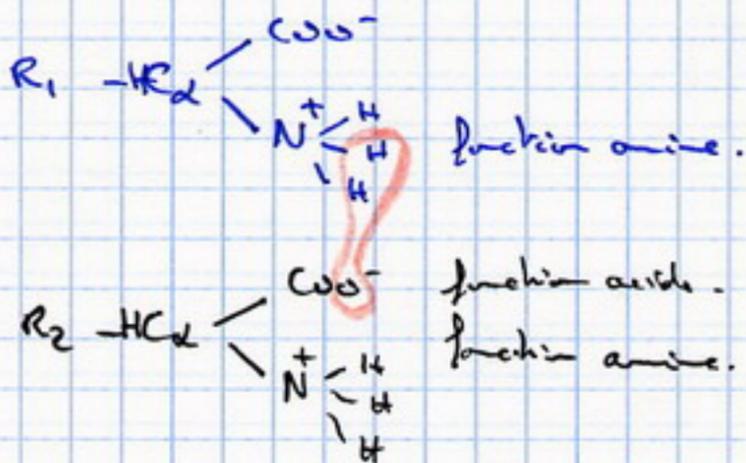
$\epsilon^+$  amine (acide).  
Rendement variable...

Zwitterion en solution.  $\text{charge} = f(\text{pH})$ .

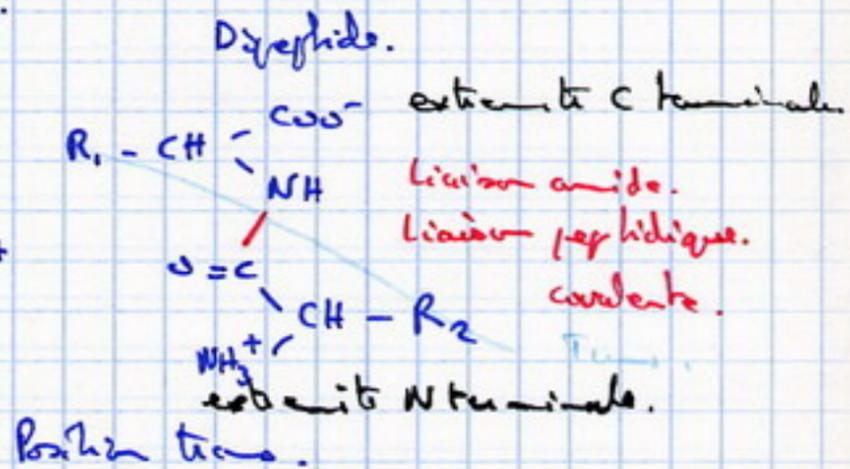
## II) Structure primaire des $\pi$ .

### A) l'endossement des a.a: liaison peptidique.

liaison entre  $\text{H}^+$  amide et  $\text{H}^-$  amine d'un autre.



$\Rightarrow \text{H}_2\text{O} +$



\* Caractéristiques de la liaison peptidique: Pauling et Corey.

Etude des molécules par diffraction au rayon X.

Principe: Sur les molécules on envoie des rayons X → déviés par les groupements atomiques  
cristallines  
on examine les images de diffraction → résolution des gpts atomiques des L/acides.

La liaison peptidique est plus courte qu'une liaison amide normale.

Interaction entre liaison simple et double (longueur).

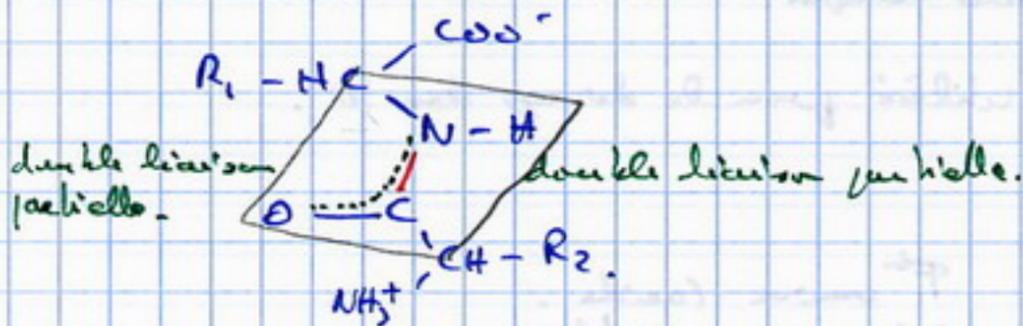
Liaison + stable qu'une liaison simple classique

Rayon  $X \rightarrow$   $\begin{matrix} N-H \\ \parallel \\ O=C \end{matrix}$  coplanaires.

Longueur de la liaison  $C=O$  + longue qu'une double liaison classique.

Liaison  $C=O$  et  $C-N$  caractérisées à la fois entre les 2 types. (Simple / double)

Les  $e^-$   $C=O$  délocalisés entre  $C$  et  $N$ .



\* Conséquences de cette structure.  $N-H$  ne peut plus s'ioniser.

Atomes coplanaires,  et la liaison entre  $C$  et  $N$  ne peut tourner.

$\pi \rightarrow$  amine,  $Cx$ , Amine, acide.

B) Représentation de la structure primaire d'une  $\alpha$ .

= ordre des A.A. de cette  $\alpha$ .

Structure linéaire ou ramifiée.

### III) Conformation tridimensionnelle des $\pi$ - Structures d'ordre supérieur.

#### A) Structure secondaire.

##### 1) Structure en hélice $\alpha$ .

2 Keratine  $\alpha$ . (deuxième) molécule de structure insoluble

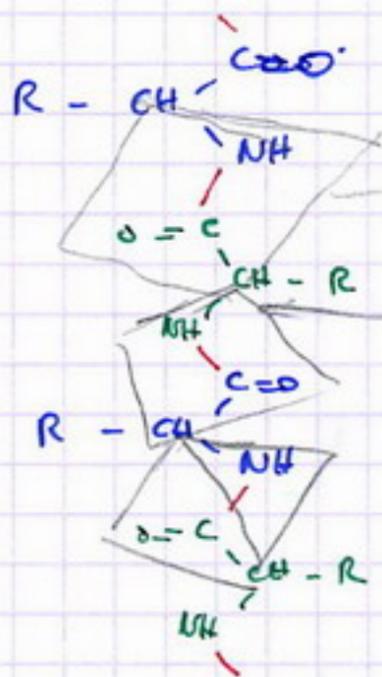
peu de beaucoup de système de SA.

##### a) Observation au rayon X.

Molécule chimie, linéaire. Périodicité de structure:  $\approx 5$  à  $0,55$  nm.

##### b) Modèle de Pauling et Corey

Intègre la périodicité et les caractéristiques de la liaison peptidique.

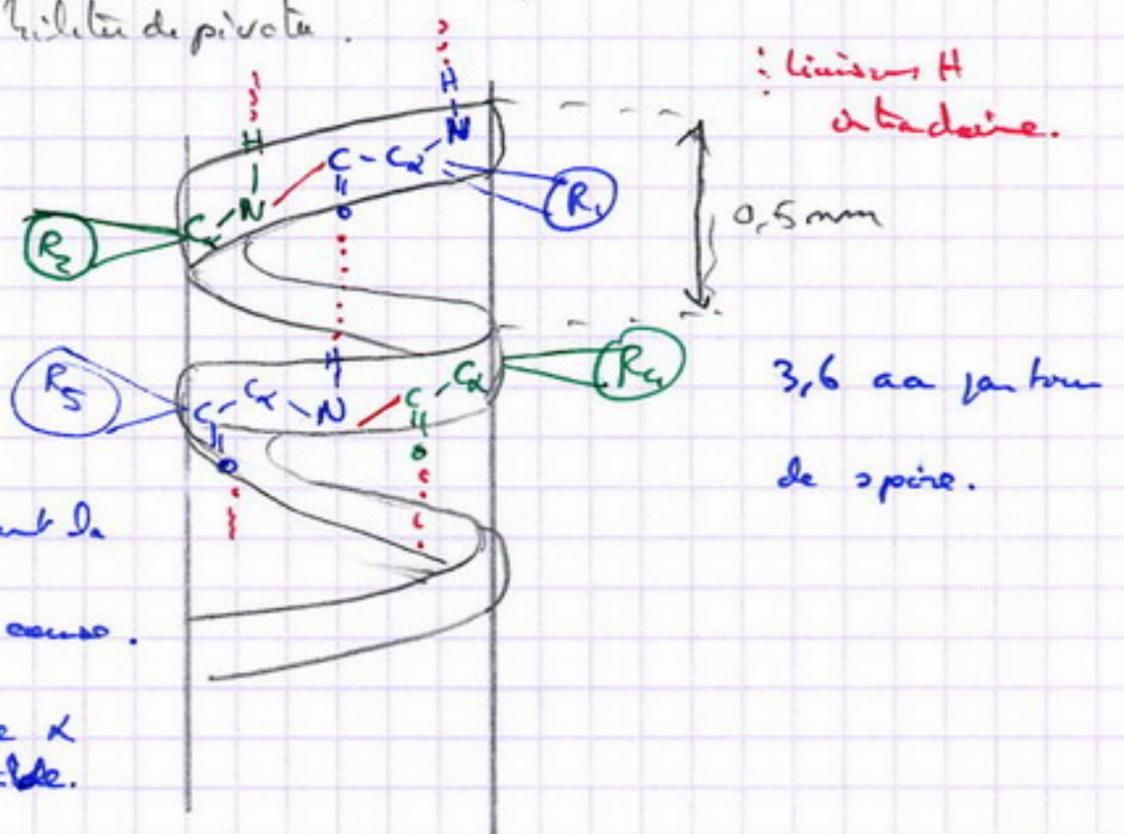


feuillets.

possibilité de pivoter.

Structure hélice  $\alpha$ .

Tous les plans tournés de la même sens.



liens H  
à l'intérieur.

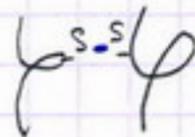
$0,5$  nm

$3,6$  aa par tour  
de spire.

les liaisons inter-dômes stabilisent la structure mais n'en sont pas la cause.

Facile à casser  $\rightarrow$  hélice  $\alpha$  stable.

Re Keratine  $\alpha$  : les molécules hélicoïdales sont groupées par 3 ou par 5, et sont liées entre elles par des liaisons pont disulfure.



C) Conditions de l'existence de l'hélice  $\alpha$ .

Seules ces tiges  $\pi$  sont en hélice  $\alpha$ .

La poline s'entrouve - est en hélice  $\alpha$ .

$\Rightarrow$  radicaux.

L'hélice  $\alpha$  ne peut exister si les radicaux sont trop volumineux ou s'il y a des interactions  $e^-$  entre les radicaux. ( $-$  charges).

Si ces radicaux sont hydrophiles les  $\alpha$  est soluble (Keratine).

Si il sont chargés  $\rightarrow$   $\alpha$  soluble.

Structure en hélice  $\alpha \rightarrow$  decoupe, - yozine.

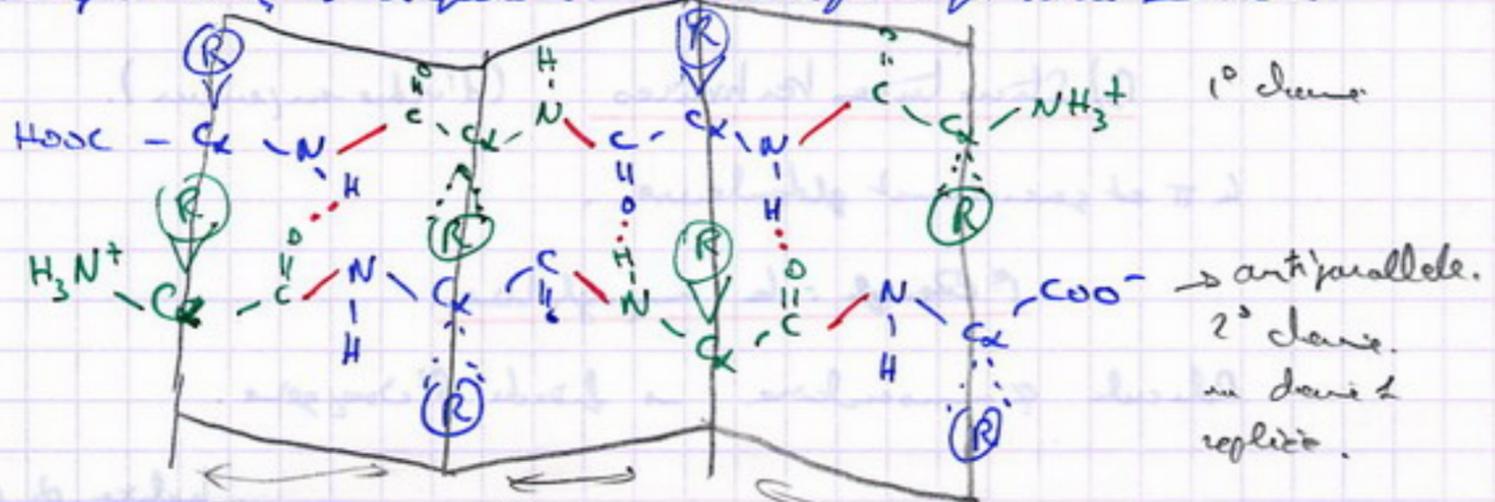
Il est très rare que la chaîne soit en hélice  $\alpha$ .  $\rightarrow$  parfois en hélice  $\alpha$ .

2) Structure en feuillet  $\beta$

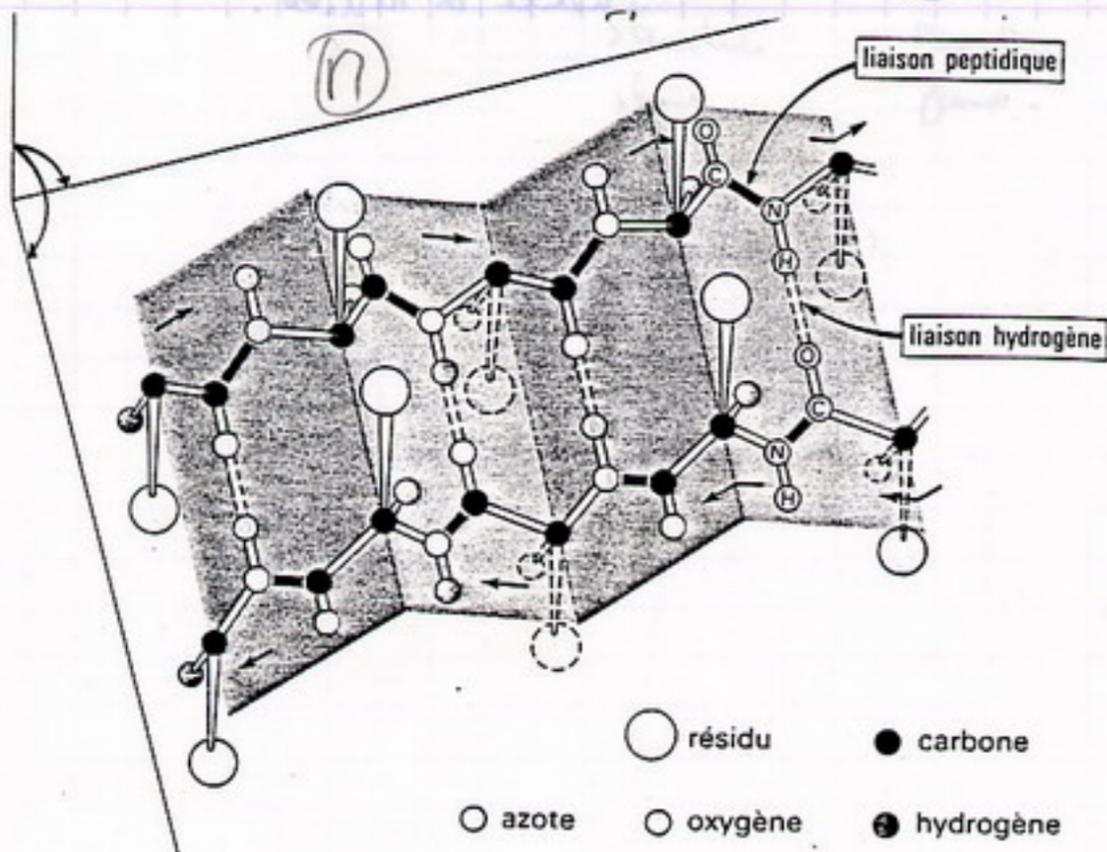
La Keratine  $\beta$  Soie

Au rayon X très  $\neq$ .

Modèle de Pauling et Corey : les feuillettes ne se replient pas de la  $\rightarrow$  sens.



... liaisons H.



Structure secondaire des protéines.

L'analyse des diagrammes de diffraction des rayons X donnés par certaines protéines fibreuses comme la fibroïne de la soie permet d'imaginer une structure dans laquelle deux polypeptides antiparallèles, admettant entre eux le plus grand nombre de liaisons hydrogène possible, s'inscrivent dans une forme en accordéon. Cette disposition tient compte de la coplanéité des atomes du groupement amide, les résidus R faisant saillie au-dessus et au-dessous de ces plans.

Structure en feuillet  $\beta$  est plus extensive que l' $\alpha$   
 les liaisons H stabilisent cette structure.

Condition d'existence:

- les radicaux doivent être tous positifs et pas de charge contraire.
- la chaîne  $\alpha$  peut passer sous forme de feuillet  $\beta$
- double et crée de les ponts HS-SH et de liaisons H.

3)

la structure primaire est telle que l'hélice  $\alpha$  et le feuillet  $\beta$  se peuvent se former  
 → petite stabilisation.

Ps une molécule: Succinyl  $\alpha$ ,  $\beta$  et petite stabilisation.

Tous les  $\pi$  exclusivement  $\alpha$  et  $\beta$  → fibres (travail angoumois)  
 Élastine, collagène → à la structure.

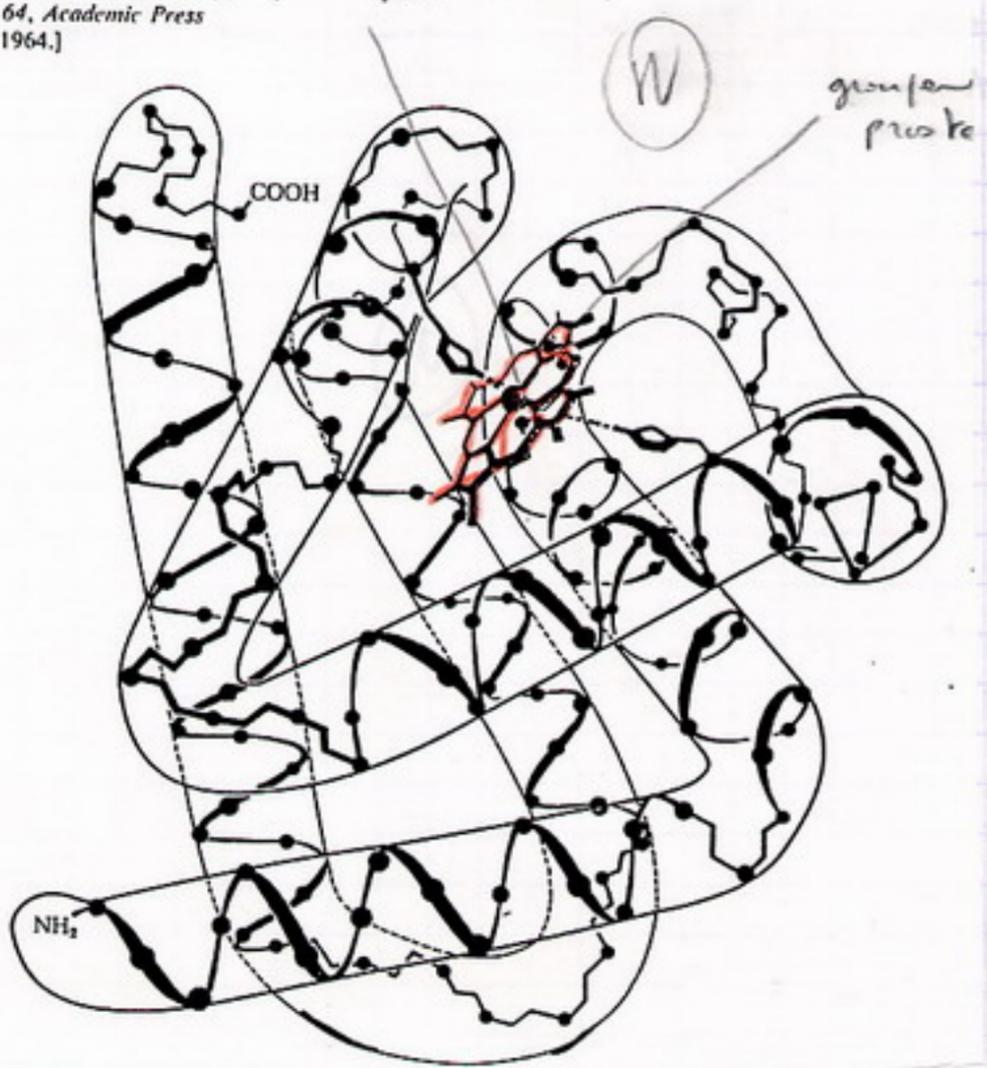
B) Structures tertiaires (d'ordre supérieur).

la  $\pi$  est généralement globulaire.

1<sup>er</sup> Exemple: la myoglobine.

Molécule  $\alpha$  musculaire → hélice l'oxygène.

Structure de la myoglobine, déduite des données de diffraction aux rayons X à résolution élevée (0.2 nm). [D'après R. E. Dickerson and H. Neurath (ed.), The Proteins, p. 64, Academic Press Inc., New York, 1964.]



hélice  $\alpha$  repliée.

Au centre : groupement prosthetique (non covalent)

Ce centre contient un atome de Fe.  $\rightarrow$  l'axe de l'hémoglobine.

hélice protéine  $\pi$  + groupement prosthetique

### 2) Exemple de Lysozyme.



Schéma de la structure tertiaire du lysozyme du blanc d'œuf de poule, limité à la représentation du trajet approximatif de la chaîne polypeptidique principale. Elle s'inscrit dans un volume réni-forme mesurant 40 Å dans sa plus grande dimension. Elle est visiblement partagée en deux parties par un sillon vertical médian. A sa droite on reconnaît des éléments de structure secondaire du type hélice  $\alpha$  tandis qu'à sa gauche s'observent deux ensembles plissés en accordéon. Quatre gros pointillés localisent les ponts disulfure. Les flèches indiquent le sens de lecture de la séquence, depuis l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale (d'après Phillips, 1965, modifiée).

hélices  $\alpha$  + feuillet  $\beta$  + autre zones indéfinissables.

Le tout replié  $\rightarrow$  structure globulaire.

Autre les liens ponts disulfures  $-(R)-S-S-(R)-$

Le + succèdent entre 2 résidues qui peuvent être liés chimiquement l'un de l'autre ou la chaîne.

### 3) La conformation tertiaire est stabilisée par des liaisons ou des interactions

intamoléculaires

Ces liaisons ne sont pas responsables de la conformation. Elle se forme et se stabilise une conformation existante.

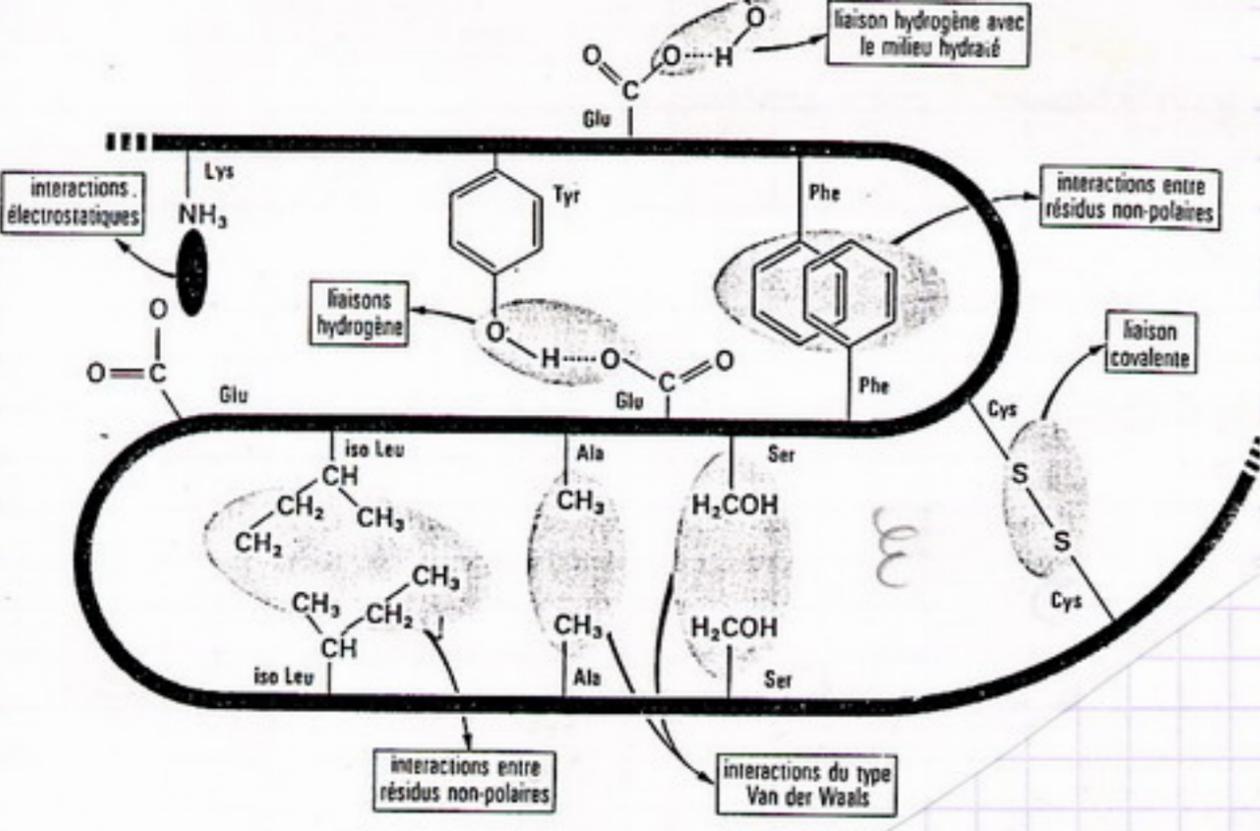


Schéma des principales liaisons non-covalentes qui participent à la stabilisation de la structure tertiaire des protéines (d'après Anfinsen, 1961).

Il peut y avoir des liaisons covalentes SH (cysteine).

hydrogène  $S^+ - S^-$

interactions hydrophobes.

de Van der Waals (gravimétriques faibles)

Résidus non polaires.

Cette structure tridimensionnelle est stable.

Importance de la liaison H.

en solution stabilisation de molécule.

Les interactions avec l'eau sont responsables de la conformation tridimensionnelle.

Forme de la molécule  $\rightarrow$  hydrophile (hydrophobe).

Hydrophile  $\rightarrow$  liaisons H avec l'eau

extérieurs en contact de l'eau

Hydrophobe  $\rightarrow$

$\rightarrow$  intérieurs rassemblés au cœur de la  $\alpha$ .

l'élaboration de la structure tertiaire  $\rightarrow$  requiert peu d'énergie de part de la  $\alpha$

et forme spontanée.

la structure primaire est responsable de la structure tertiaire. (disposition des radicaux).

Conformation tridimensionnelle fait apparaître des sites sur la  $\alpha$  (sites de repliement).

Conformations spatiales spécifiques  $\rightarrow$  zones réactionnelles  $\rightarrow$  interaction avec

d'autres molécules (ex Enzymes spécifiques).

Sites  $\rightarrow$  élaboration de structures supérieures. ex acides  $\alpha$

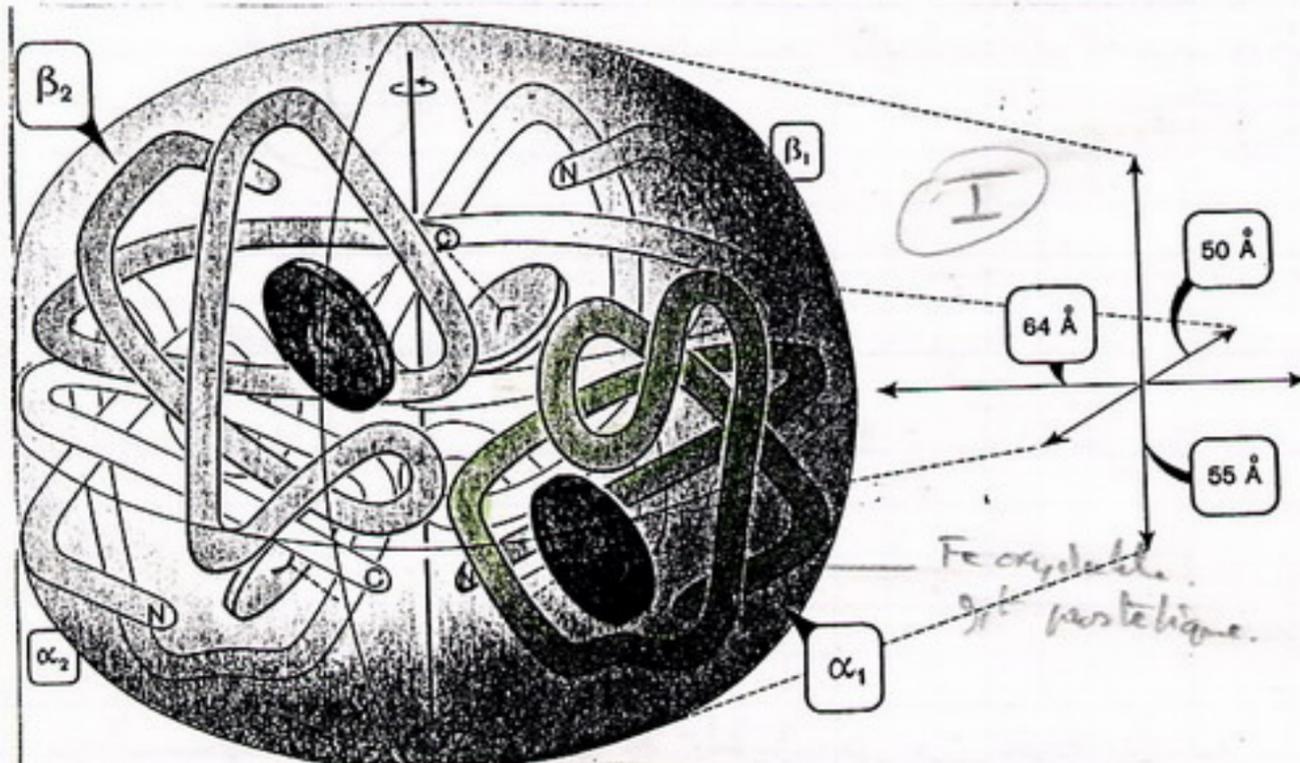
Complémentarité des sites.

### C) Structure quaternaire.

Plusieurs  $\pi$  à structure 3<sup>e</sup> peuvent s'associer pour donner une  $\pi$  à structure quaternaire.

Le  $\pi$  est constituée de plusieurs polypeptides. Chaque sous-unité est appelée hème.

Exemple: l'hémoglobine.



Schématisation du tétramère de l'hémoglobine, où l'axe de symétrie est représenté dans un plan vertical. Noter les distances considérables qui séparent les hèmes.

Constitution de 4 chaînes associées :

2 chaînes  $\alpha$  + 2 chaînes  $\beta$   
 141 aa.      146 aa.      574 aa.

Chaque chaîne est le tiers poléique  $\pi$  + postélique  $\gamma$ pt.

Les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  sont liées latéralement et les liaisons entre ces chaînes sont des liaisons inter chaîne  $\gamma$  et  $\delta$ .

Ces chaînes sont associées car présentent de profondes tridimensionnelles angulaires.

Cette structure 4<sup>e</sup> est conditionnée par la structure 1<sup>e</sup>.

est la dyspanocytose. Anémie falciforme.

globule rouge déformé au molécule d'hémoglobine altérée de sa structure

le  $\neq$  entre l'hémoglobine normale et falciforme.  $\rightarrow \neq$  de 4 aa.

l'aa 6 de la chaîne  $\beta$  par le  $\gamma$ . Au lieu d'acide glutamique  $\rightarrow$  Valine  
 hydrophile      hydrophobe

la structure 3<sup>e</sup> est une modification ( $\gamma$ ) de la structure quaternaire est elle  $\neq$  modifiée.

D) les structures d'ordre supracellulaire peuvent se modifier.

Transition allostérique

"pompes membranaires" constituées de  $\pi$ . Le changement de conformation  $\rightarrow$  réaction de pompe.

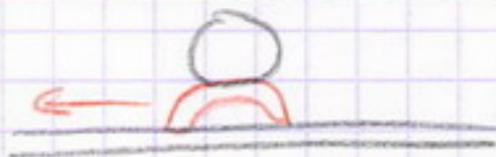
changement = transition allostérique provoquée (ATP = énergie)

la conformation spontanée adoptée par une  $\pi$  est la + stable, ne requiert pas d'énergie pour se maintenir.

\* Modification de conformation de la myosine : transition allostérique (ATP)

\* Modifications cils et flagelles de la microtubule. (ATP)

\* Déplacement des vésicules à la surface d'une microtubule (ATP)



la structure n'est pas fixée  $\rightarrow$  possibilité de changement de conformation  $\rightarrow$   $\rightarrow$  vt intra ou extra cellulaire.

#### IV Les différents types de $\pi$ d'un pt de vue fonctionnel.

Les enzymes ont des  $\pi$  qui amènent les réactions métaboliques.

Les  $\pi$  de transport des ions des membranes (pompes).

gazo (hémoglobine)

lipides liés  $\rightarrow$  autres organes.  
les non solubles /  $\pi$  solubles.

Les  $\pi$  nutritives de réserve : ovalbumine, caseine

Les  $\pi$  motrices ou contractiles Actine, myosine

Les  $\pi$  de structure keratine, collagène, élastine.

Les  $\pi$  de défense immunoglobulines. immunoglobulines : anticorps, le fibrinogène (causé des hémorragies)

Les  $\pi$  régulateurs : hormones.

Tous les diversités de pt biologiques pour les  $\pi$

$\rightarrow$  Infinité de  $\pi$  possibles et de conformation tridimensionnelles possibles.

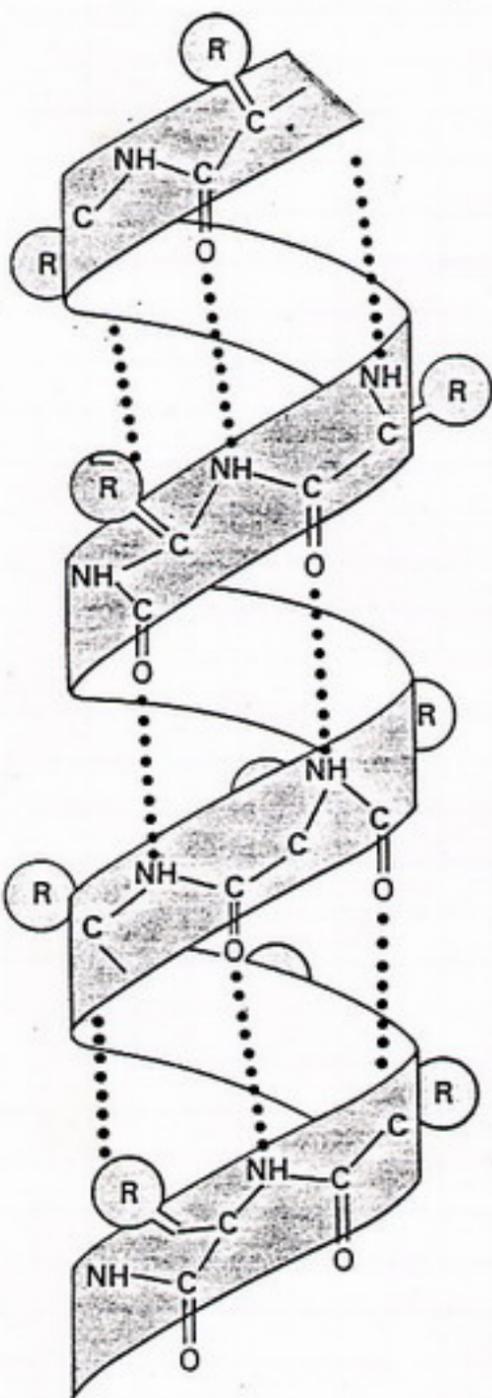
seule les  $\pi$  de structure ont une structure 2<sup>e</sup>

les autres ont une structure 3<sup>e</sup> voire 4<sup>e</sup>.

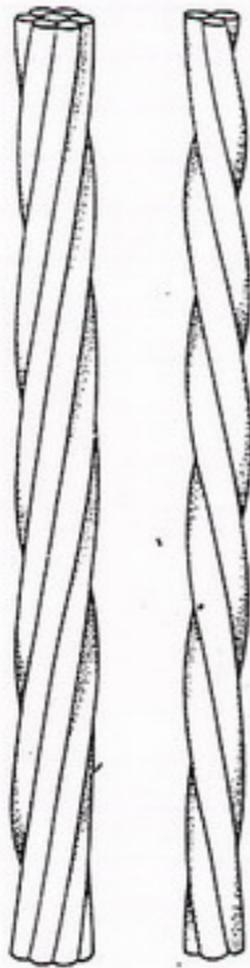
la pt biologique n'est pas seulement due à la structure primaire mais aussi à la structure tertiaire.

Changement de structure  $\rightarrow$  propriétés  $\neq$ .

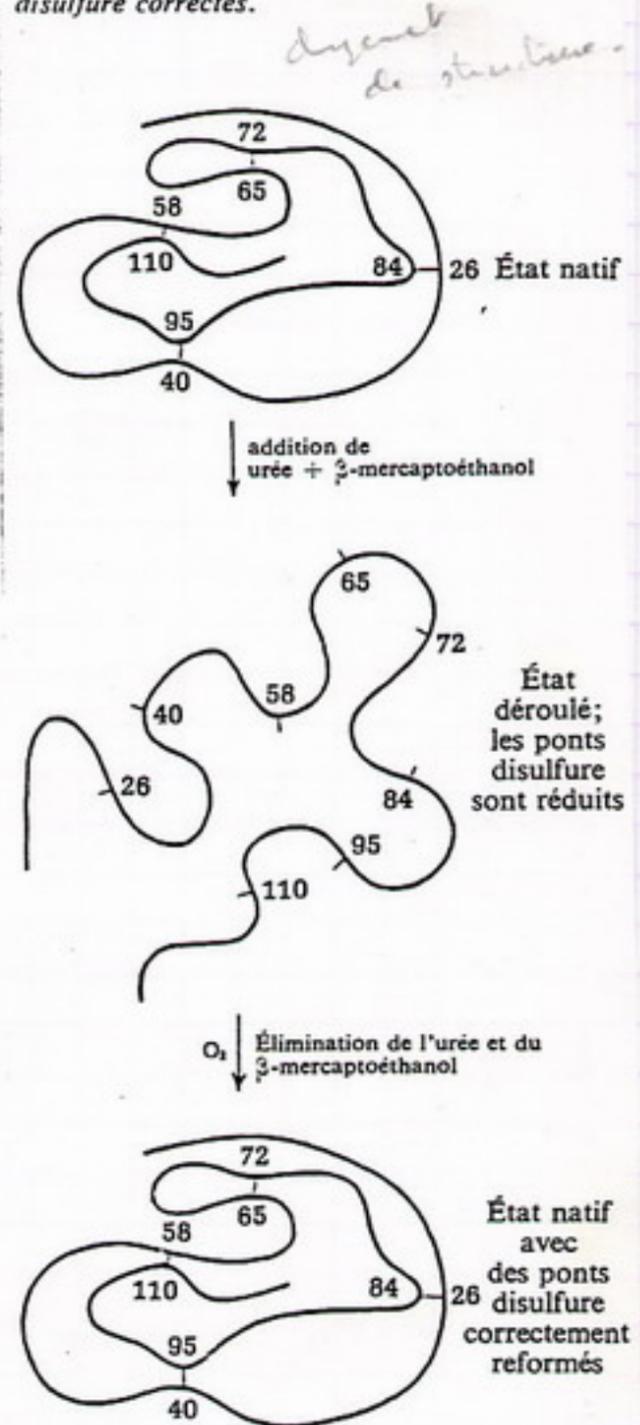
Retour à la conformation d'origine  $\rightarrow$  retour des propriétés.



Super-enroulement des hélices  $\alpha$  dans les kératines des cheveux et de la laine.



Renaturation de la ribonucléase réduite, déroulée, avec rétablissement des liaisons disulfure correctes.



Structure secondaire des protéines.

représentation de l'hélice de type  $\alpha$  de Pauling. C'est sous cet aspect que se présentent d'importants secteurs des chaînes polypeptidiques dans les protéines globulaires. Comme dans la figure précédente, on voit que ce modèle admet le plus grand nombre de liaisons hydrogène possible, et que les résidus R qui font saillie à l'extérieur de la spirale ne posent pas de problèmes d'encombrement stérique.