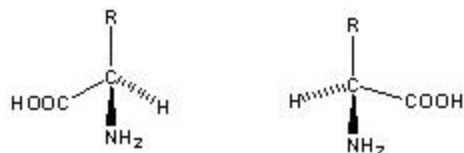


SV-D-2.4 poly 01

Grandes familles biochimiques : Acides aminés et protéines



D amino acid

L amino acid

Fig. 1. Structure générale d'un acide aminé. ★★★

C : carbone alpha
 COOH : groupe carboxyle
 NH₂ : groupe amine
 R : résidu variable

Les acides aminés présents dans les molécules biologiques sont les stéréoisomères L.

Fig. 2. Propriétés d'absorption des acides aminés et dosage des protéines (pour information) ★

Les acides aminés absorbent les longueurs d'onde (λ) inférieures à 230nm en général.

Cette propriété est utilisée par exemple pour réaliser des dosages spectrophotométrique des protéines. Un spectrophotomètre mesure l'absorbance A d'une solution, pour une λ ou une plage de λ :

$$A = -\log \frac{I}{I_0}$$

I intensité de la lumière sortant de la solution, I_0 intensité de la lumière entrante.

Si $\frac{I}{I_0} < 1$, alors A est positif (une partie de la lumière entrante est absorbée par la solution de protéine). A augmente quand la quantité de lumière absorbée est plus importante.

Or d'après la loi dite de Beer Lambert, A est lié à la concentration de la solution :

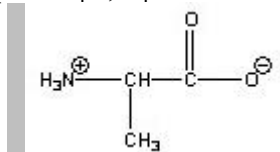
$$A = \epsilon \cdot L \cdot C \quad \Leftrightarrow \quad C = \frac{A}{\epsilon \cdot L}$$

ϵ coefficient d'absorbance, L longueur de la solution traversée, C concentration.

D'où la possibilité de dosage d'une protéine, à partir du moment où la valeur de ϵ est connue. Pour cela, on utilise en général une gamme étalon (= une série de protéines de concentrations connues).

Fig. 3. La notion de pHi et son calcul : l'état d'ionisation d'un acide aminé isolé. ★★★

Le **pHi**, ou **pH isoélectrique** est la valeur de pH pour laquelle le protide (acide aminé ou polypeptide) est sous forme de zwitterion, **électriquement neutre**. Placé dans un champ électrique, le protide ne se déplace pas si le pH du milieu est égal à son pHi.



Un exemple de zwitterion :
celui de l'acide aminé **alanine**

les charges (+) et (-) des groupements
acide et amine s'annulent.

Lorsque l'on étudie un acide aminé ne possédant pas de fonction acide ou basique au niveau de sa chaîne latérale, alors son pHi est égal à la **demi-somme des pKa** de ses fonctions acide et amine :

$$pHi = \frac{pK1 + pK2}{2}$$

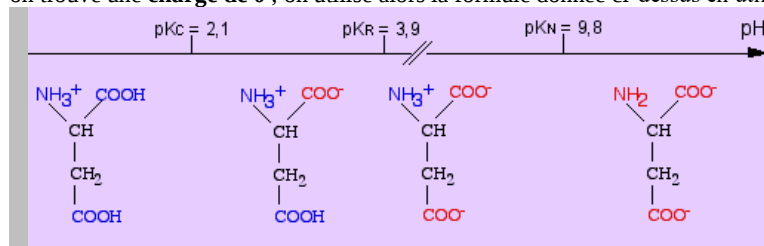
Dans le cas de l'**alanine** :

pK1 (fonction amine) = 9,7

pK2 (fonction acide carboxylique) : 2,3

Donc : pHi = 6,0

Toutefois, la situation est plus complexe si le protide considéré est un polypeptide (qui peut avoir des chaînes latérales chargées) ou un acide aminé avec une chaîne latérale chargée : dans ces cas de figure, le nombre de fonctions acido-basique à prendre en compte est d'au moins 3. Comment faire ? La technique consiste à construire un tableau, en plaçant tous les pKa connus (du -NH₂ terminal, du -COOH terminal, et des chaînes latérales chargées) ; pour chaque pKa, on indique que pour un pH inférieur la fonction est positivement (+1) alors que pour un pH inférieur, elle est chargée négativement (-1) ; dans tous les intervalles entre deux pKa, on peut donc déterminer la **charge globale de la molécule** : pour un intervalle, on trouve une **charge de 0** ; on utilise alors la formule donnée ci-dessus en utilisant les deux pKa encadrant l'intervalle où se trouve le zwitterion.



Exemple de l'**aspartate** :

Entre pH=0 et pH=2,1 : charge nette = +1

Entre 2,1 et 3,9 : charge nette = 0

Entre 3,9 et 9,8 : charge nette = -1

Plus de 9,8 : charge nette = -2

Le pHi est donc entre 2,1 et 3,9 :

pHi = (2,1+3,9)/2 = 3,0

Deux pages web sur les acides aminés et les pK, pHi, avec des animations : (pour information)

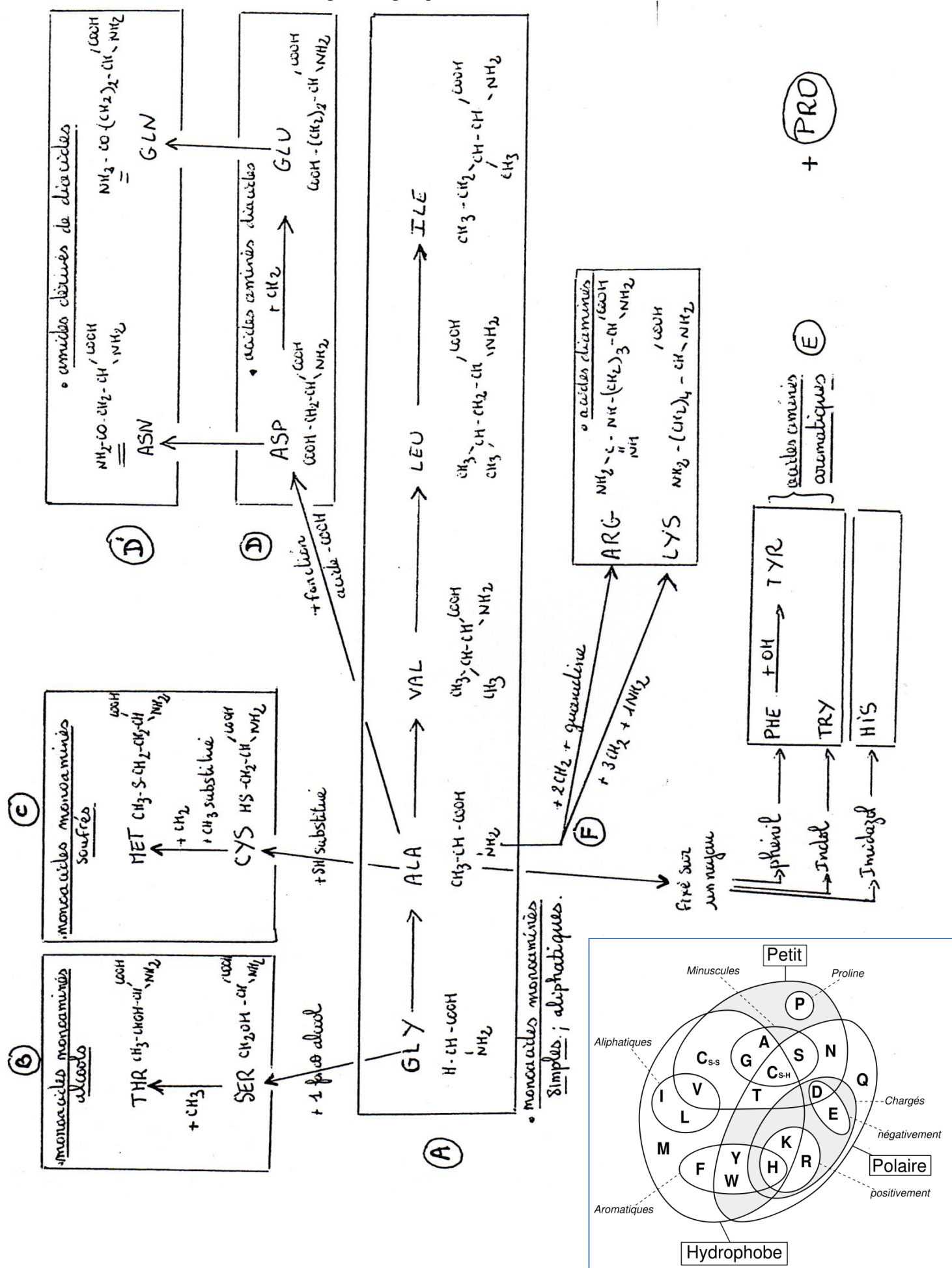
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/acideamine/acideamine.htm>

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/aa/aa1.html>

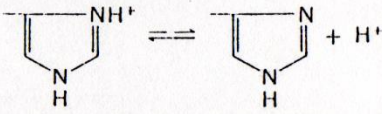
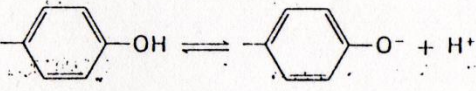
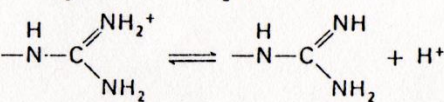
★★

Fig. 4. Les 20 acides aminés naturels.						polaire ?	hydrophobe ?	charge ?	
ALIPHATIQUES	SIMPLES	GLYCOCOLLE ou GLYCINE	GLY	$\text{H}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	G	Hydrophobes apolaires	X		
		ALANINE	ALA	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	A				
		VALINE	VAL	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}}-\text{CH}-\text{COOH}$	V				
		LEUCINE	LEU	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$	L				
		ISOLEUCINE	ILE	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{\text{CH}_3-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$	I				
		HYDROXYLÉS	SERINE	SER	$\text{CH}_2(\text{OH})-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	S	Hydrophiles polaires (OH)	X	
			THRÉONINE	THR	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{\text{CH}(\text{OH})}{\text{CH}}}-\text{CH}-\text{COOH}$	T			
		SOUFRÉS	CYSTÉINE	CYS	$(\text{HS})-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	C	Hydrophobes apolaires	X	
			MÉTHIONINE	MET	$\text{CH}_3-(\text{S})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	M			
		DIACIDES	ACIDE ASPARTIQUE aspartate	ASP	$(\text{COOH})-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	D	ionisables polaires hydrophiles		(-)
	ACIDE GLUTAMIQUE glutamate		GLU	$(\text{COOH})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	E				
	AMIDES	Asparagine	ASN	$\text{NH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	N	ionisables polaires hydrophiles	X		
		Glutamine	GLN	$\text{NH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Q				
	DIAMINES (basiques)	LYSINE	LYS	$(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	K	ionisables polaires hydrophiles		(+)	
		ARGININE	ARG	$\text{NH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	R				
	AROMATIQUES	PHENYLALANINE	PHE	$\text{C}_6\text{H}_5-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	F	Hydrophobes apolaires sans Tyr (-OH)	X		
TRYPTOPHANE		TRP	$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	W					
TYROSINE		TYR	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Y					
HÉTÉROCYCLIQUES	HISTIDINE	HIS	$\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	H	lipophile polaire	X	(+)		
	PROLINE	PRO	$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}-\text{COOH}$	P	lipophile	X			

Fig. 5. Les groupes d'acides aminés. ★★★



Valeurs des pK' des groupes ionisables des protéines.

Groupe	Acide $\rightleftharpoons$ Base + H^+	pK normal *
Carboxyle terminal	$-COOH \rightleftharpoons -COO^- + H^+$	3,1
Acide aspartique et acide glutamique	$-COOH \rightleftharpoons -COO^- + H^+$	4,4
Histidine	 $\rightleftharpoons$	6,5
Amine terminale	$-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$	8,0
Cystéine	$-SH \rightleftharpoons -S^- + H^+$	8,5
Tyrosine	 $\rightleftharpoons$	10,0
Lysine	$-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$	10,0
Arginine	 $\rightleftharpoons$	12,0

* Les valeurs des pK dépendent de la température, de la force ionique et du microenvironnement du groupe ionisable.

Fig. 6. Ionisation de quelques fonctions présentes dans les acides aminés (pour information). ★

Fig. 8. Formation d'une liaison peptidique, par réaction entre un groupement acide carboxylique et un groupement amine de deux acides aminés. ★★★

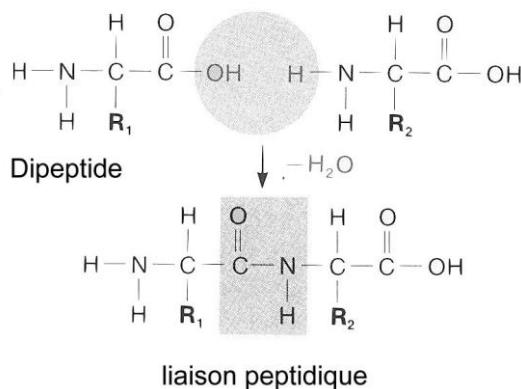


Fig. 9. Les quatre atomes de la liaison peptidique (C H O N) forment un plan rigide. ★★

Au niveau du squelette des protéines, les seuls degrés de liberté se situent donc au niveau des deux liaisons C-C et C-N établies par le C_α .

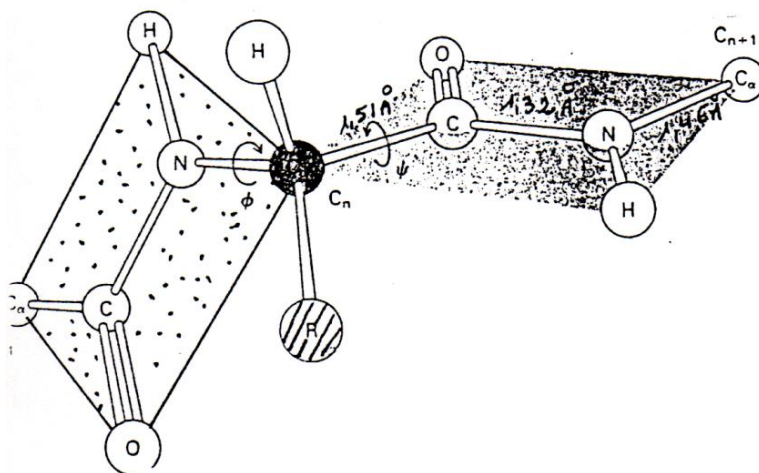
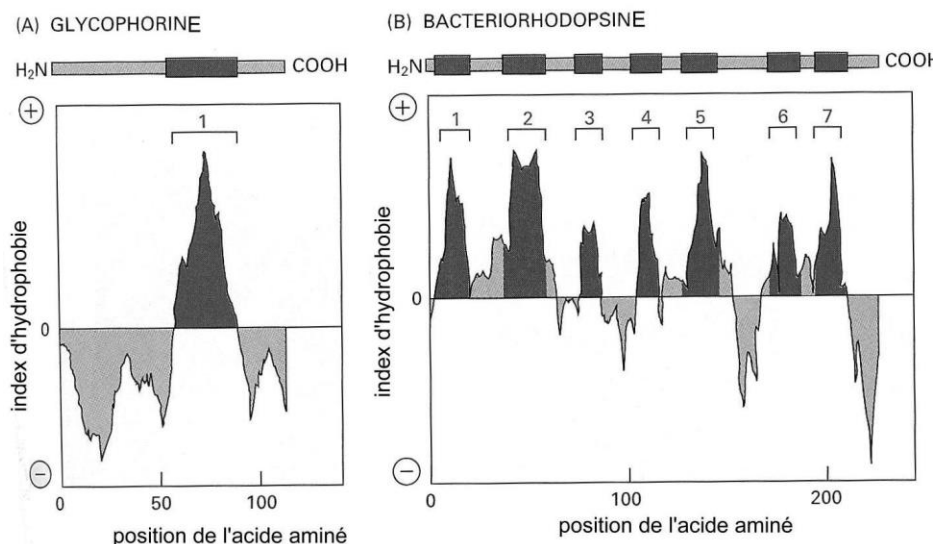


Fig. 10. Deux méthodes d'étude de la structure protéique. ★★★**[fig. 1-A] études cristallographiques**

Les protéines possèdent des structures tridimensionnelles. Elles sont explorées en particulier par **cristallographie aux rayons X** : la molécule à étudier est cristallisée, et bombardée par un faisceau de rayons X. L'étude de la manière dont ces rayons sont déviés renseigne sur la structure 3D de la molécule.

On utilise aussi actuellement les techniques de RMN, utilisant des spectres magnétiques issus de la mise en résonance d'atomes de la protéine.

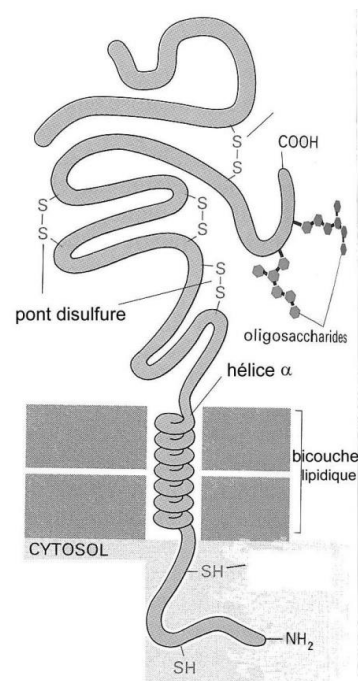
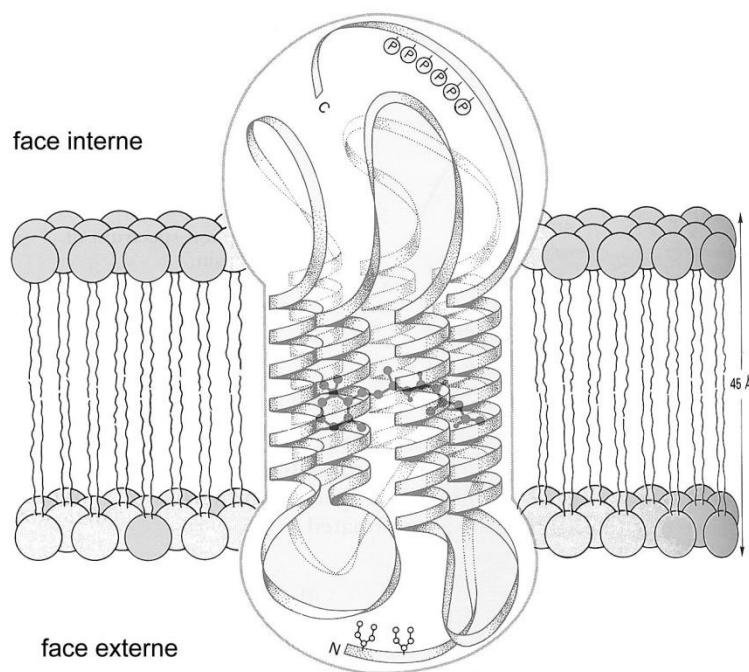
Le processus complet est complexe, et passe par l'édification de modèles de la structure étudiée. Techniques développées en particulier par **Linus Pauling** (double Nobel : 1954 de chimie pour découverte de la nature de la liaison chimique (et hélice α des protéines) ; 1962 de la Paix).

[fig. 1-B] profil hydrophatique (cf. TP SV-D1)**← Profils d'hydrophatie :**

Il est possible de déterminer un degré **d'hydrophilie** (et donc **d'hydrophatie** à l'inverse) de chaque chaîne latérale d'acide aminé : c'est l'index d'hydrophobie, qui a une valeur positive si l'acide aminé est hydrophobe. En représentant sur un même graphe les index d'hydrophobie des acides aminés successifs constitutifs d'une protéine, on obtient un profil d'hydrophatie. Les domaines fortement hydrophobes indiquent une forte probabilité d'existence d'une traversée transmembranaire.

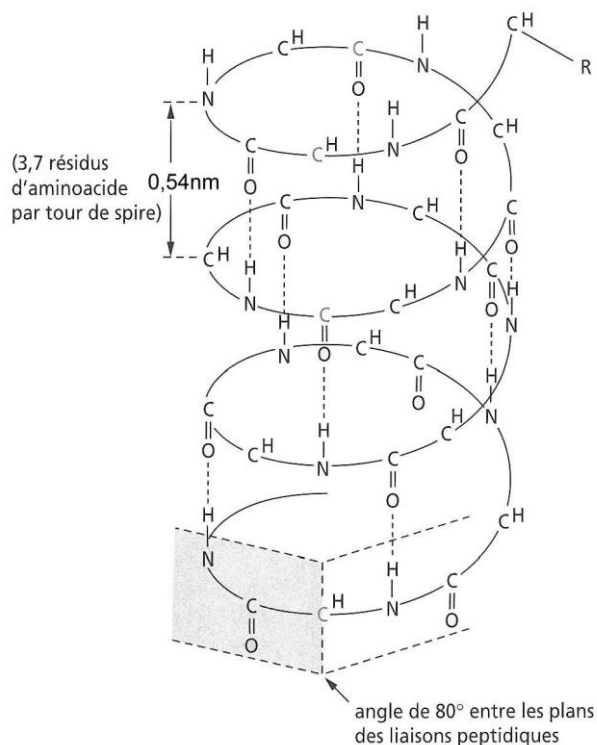
AA hydrophobes :

- Aliphatiques simples (GLY, ALA, VAL, LEU, ILE)
- Aliphatiques sulfurés (CYS, MET)
- PHE, TRP, HIS, PRO

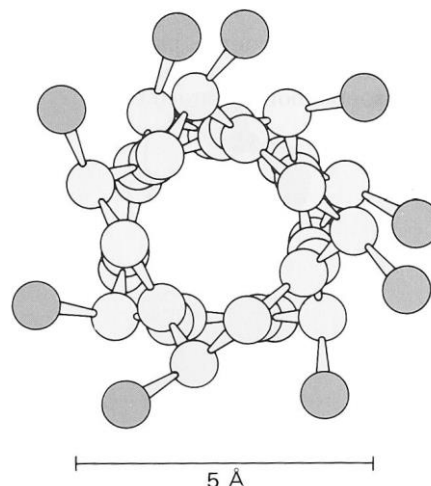
**Structure de la bactériorhodopsine (à gauche) et de la glycophorine (à droite)**

La bactériorhodopsine présente 7 traversées membranaires hydrophobes.

La glycophorine présente elle une unique hélice alpha transmembranaire. Elle présente aussi des ponts disulfures, uniquement du côté extracellulaire. Elle présente aussi des glycosylations, sous la forme de chaînes oligosaccharidiques. Là aussi, les glycosylations sont uniquement présentes du côté extracellulaire.

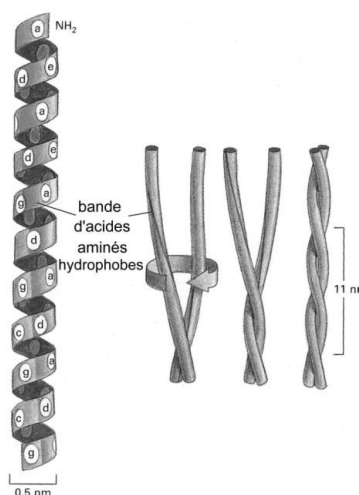
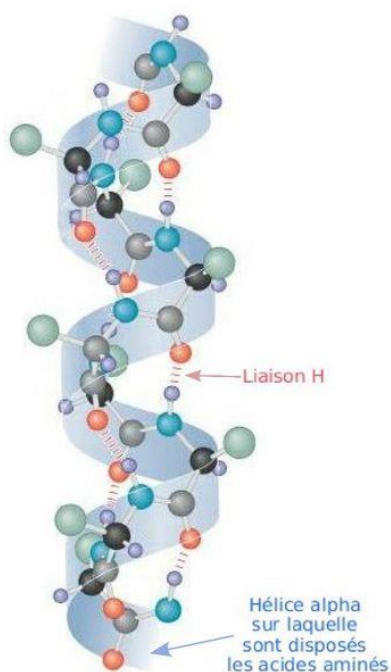


← Fig. 11. Représentation schématique d'une hélice α . ★★★
 Noter les liaisons hydrogènes entre un groupement C=O et le groupement N-H de la troisième liaison peptidique suivante.



↑ Fig. 12. Hélice alpha vue par le dessus, montrant la position des chaînes latérales (en gris). ★★

← Fig. 13. Autre représentation schématique d'une hélice alpha. ★★
 Il s'agit d'une **hélice droite** : noter le mouvement de la spirale, descendant de la droite vers la gauche au premier plan.



↑ Fig. 14. Association de deux hélices α par interaction hydrophobe (pour information). ★

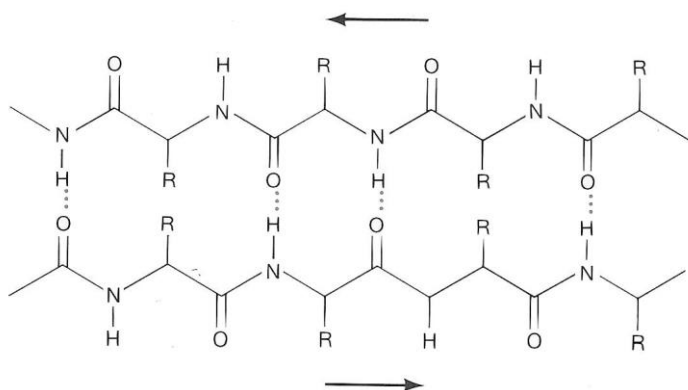


Fig. 15. Liaisons hydrogènes entre deux brins antiparallèles. ★★★

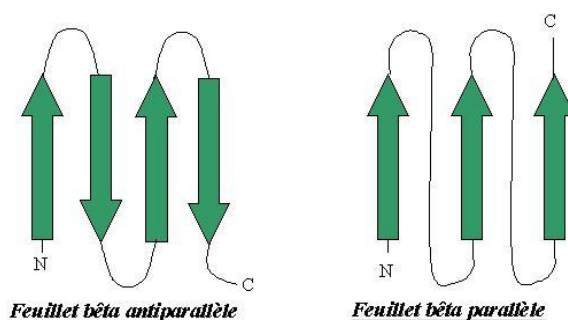


Fig. 16. Associations parallèles ou antiparallèles des chaînes d'acide aminés au sein d'un feuillet β . ★★

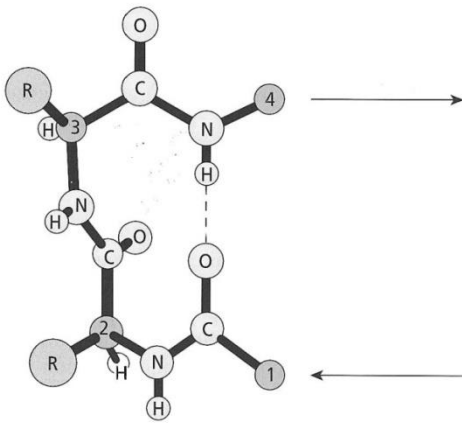


Fig. 17. Détail de l'association entre deux liaisons peptidiques dans un feuillet β . ★

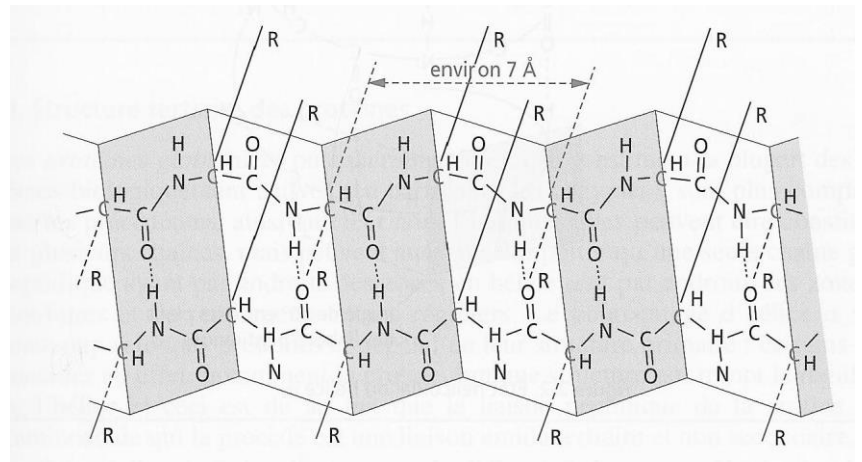


Fig. 18. Vue 3D d'un feuillet β . ★★★

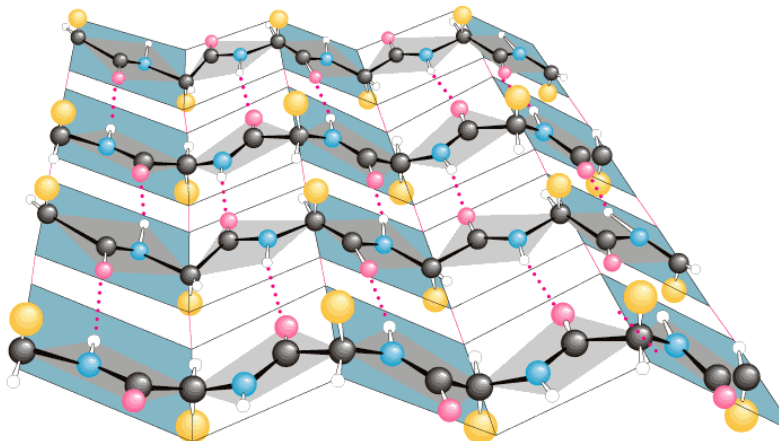


Fig. 19. Vue 3D générale d'un feuillet β . ★

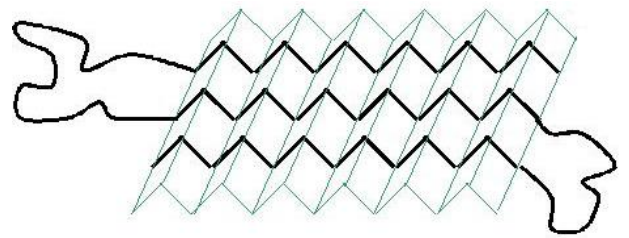


Fig. 20. Repliements de la chaîne polypeptidique et feuillet β . ★★

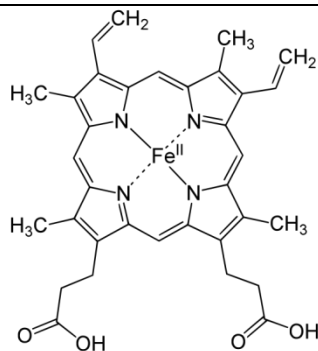


Fig. 21. L'hème ferreux de l'hémoglobine. ★★

Ci-dessus, structure de l'hème : noyau tétrapyrrolique, dont les azotes établissent des liaisons de coordination avec un ion Fe^{2+} (= ferreux).

A droite : l'ion Fe^{2+} est relié par une cinquième liaison de coordination avec l'histidine F8 (histidine n°8 de l'hélice α F de la globine). Le O_2 se place entre le Fe^{2+} (en établissant la 6^{ème} liaison de coordination de l'ion fer) et l'histidine E7.

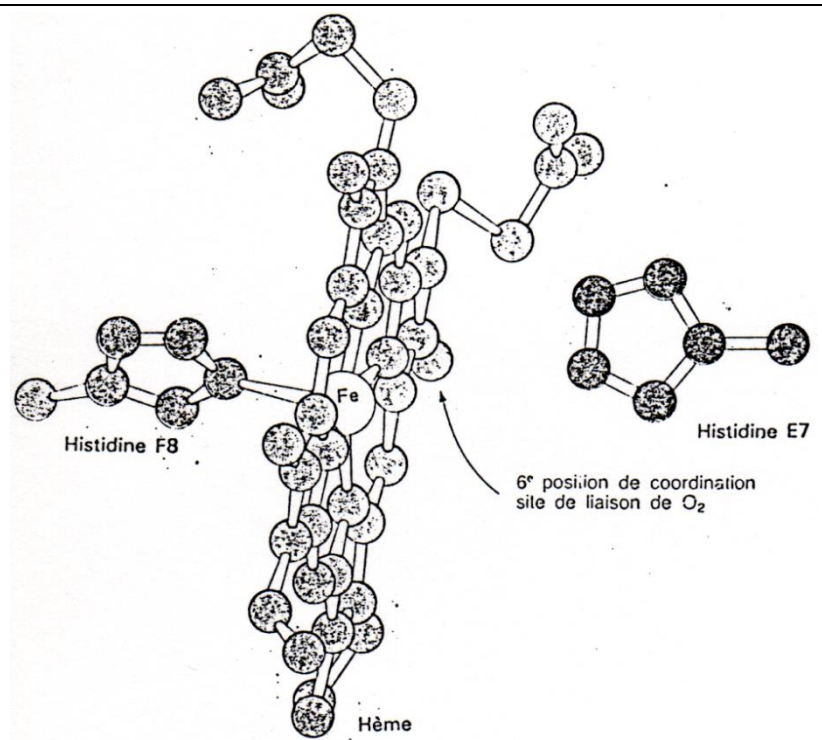
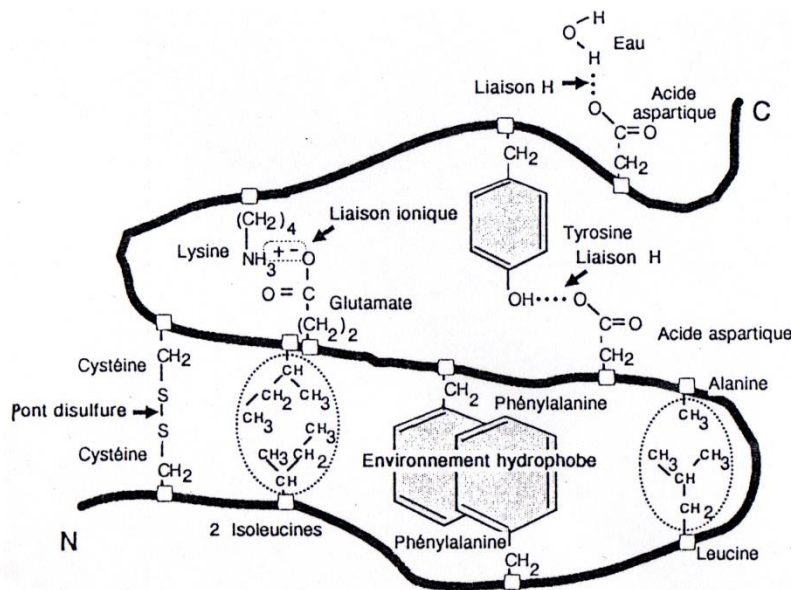
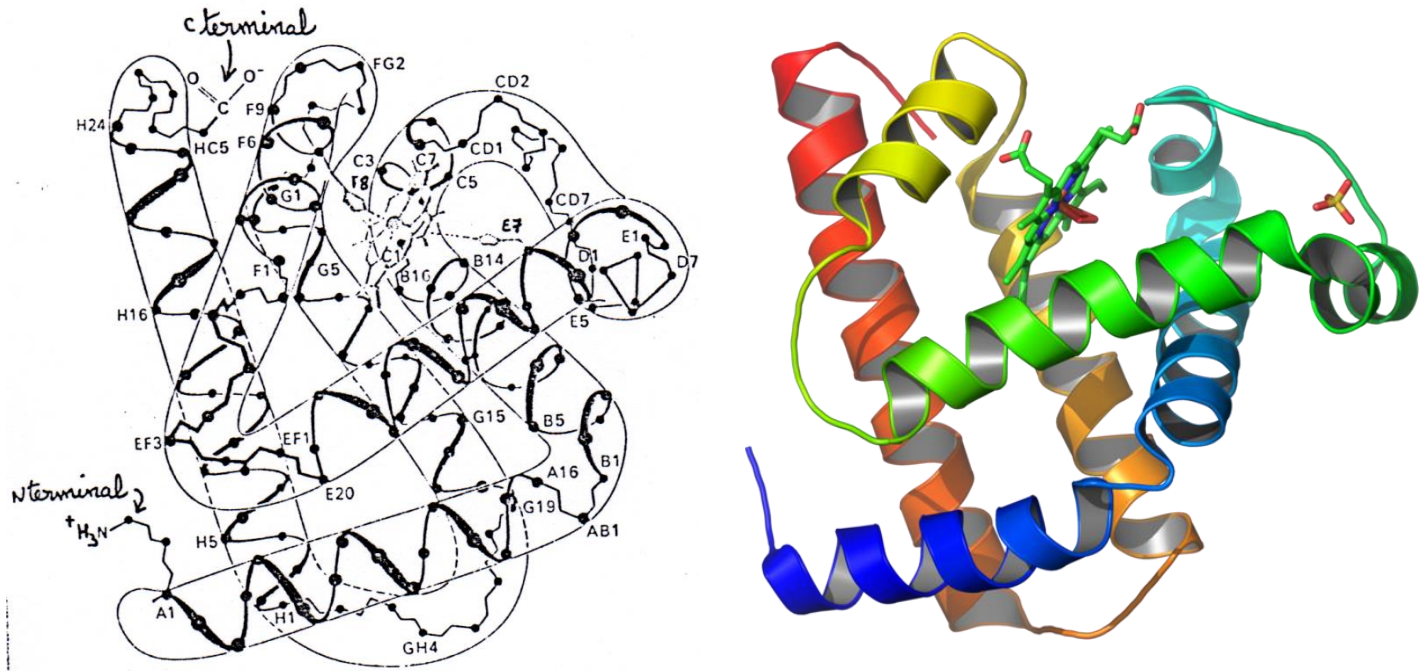


Fig. 22. Structure tertiaire de la myoglobine. ★★



Différentes liaisons intervenant dans l'établissement de la structure tertiaire.

Fig. 23. Liaisons et structure tertiaire. ★★★

Fig. 24. Repliement théorique d'une protéine en fonction de la polarité ou non des chaînes latérales. ★★★ →

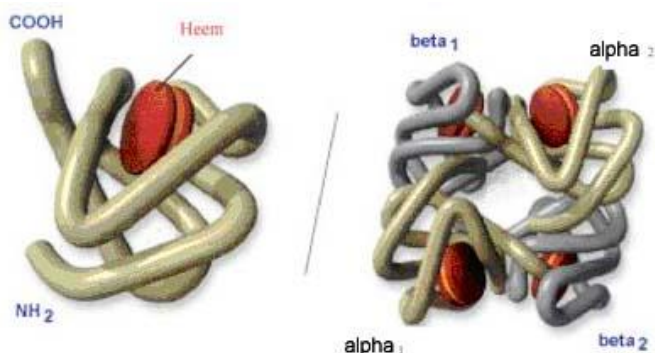
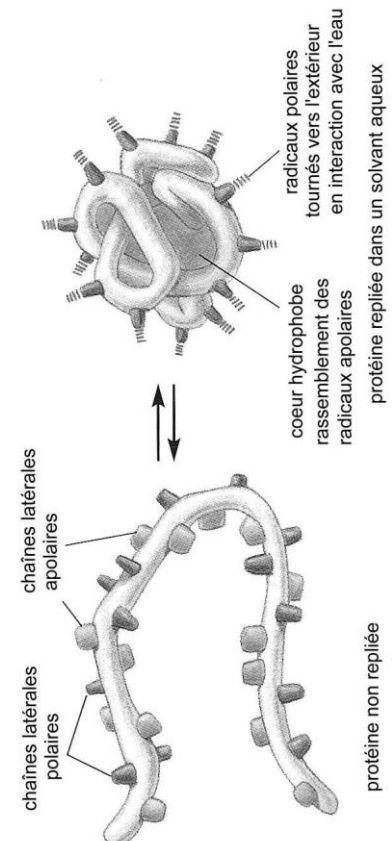
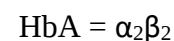


Fig. 25. L'hémoglobine (à droite) est formée de quatre globines :

L'hémoglobine A (forme majoritaire dans le sang) est constituée de deux globines alpha et deux globines bêta. ★★★



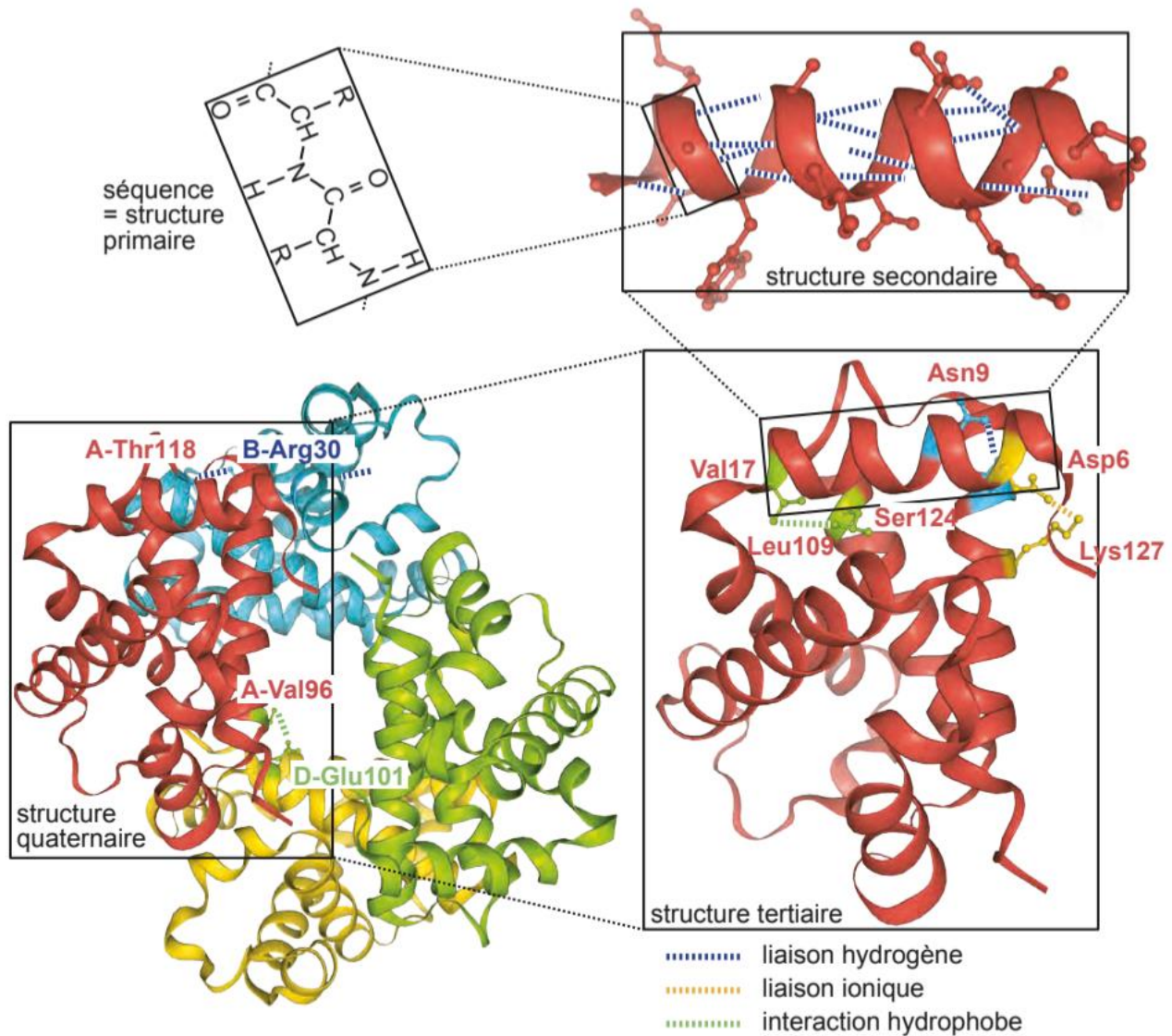
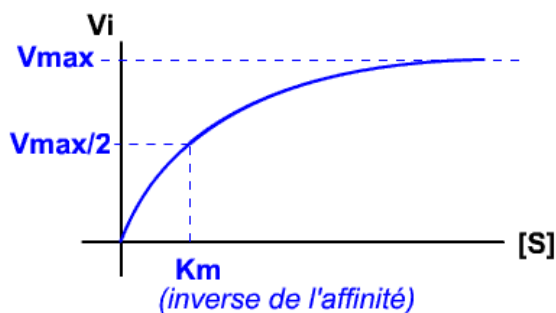


Fig. 26. Bilan : les quatre niveaux structuraux des protéines, à partir de l'exemple de l'hémoglobine. ★★ [2]



$$v_i = v_{max} \frac{[S]}{Km + [S]}$$

$$Km = \frac{[E][S]}{[ES]} \qquad Kd = \frac{[P][L]}{[PL]}$$

Fig. 27. Cinétique d'une enzyme michaelienne. ★★★

Une cinétique enzymatique représente la vitesse initiale (V_i ; vitesse mesurée au tout début de la réaction) en fonction de la concentration en substrat.

E = enzyme ; S = substrat ; P = protéine ; L = ligand ; ES = complexe enzyme-substrat ; PL = complexe protéine-ligand

Enzyme	Substrat (ligand)	Km (mM)
Hexokinase III humaine	Glucose	0.034
Hexokinase I humaine	Glucose	0.032
	Fructose	11.4
	Mannose	0.1
	Glucosamine	0.6
	2-desoxyglucose	0.5

Fig. 28. Hexokinase et affinités : quelques valeurs expérimentales. ★ [3]

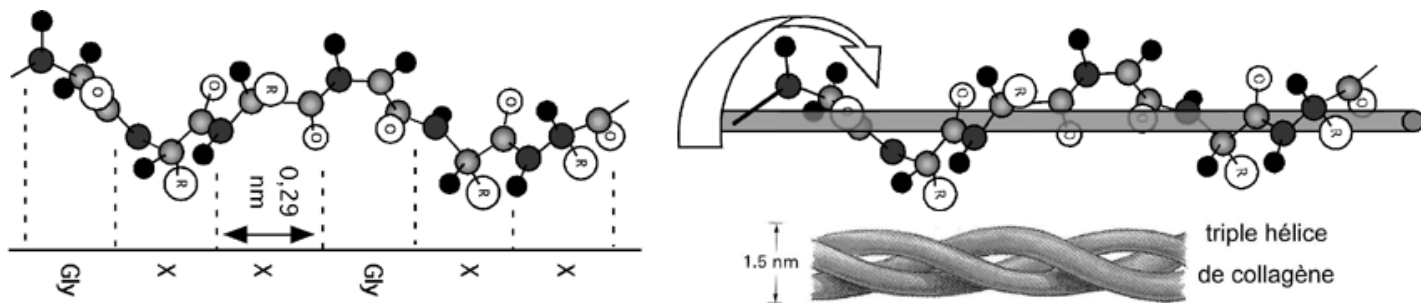


Fig. 29. Structure du collagène. ★★★

Le collagène (protéine de la matrice extracellulaire animale) est une protéine comportant un motif avec dans tous les cas une répétition des acides aminés Glycine (de très petite taille : R = -H) et Proline (limitant les structures possibles). Trois hélices gauches s'associent pour former une triple hélice.

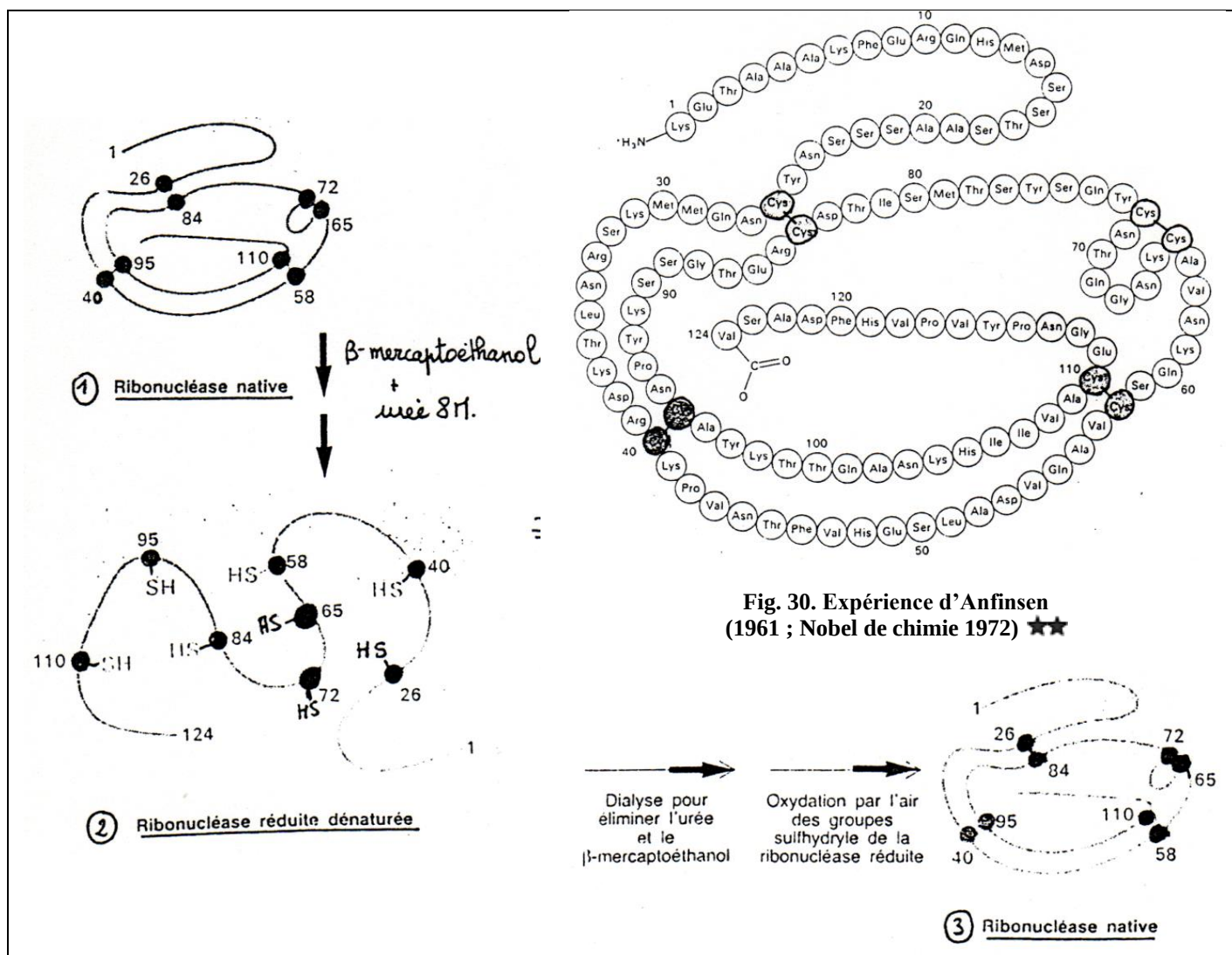


Fig. 30. Expérience d'Anfinsen (1961 ; Nobel de chimie 1972) ★★

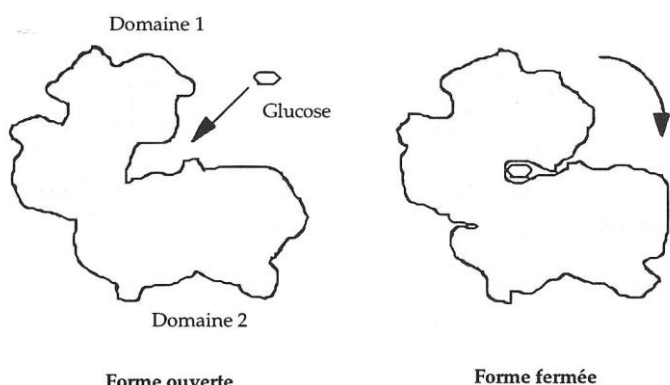


Fig. 31. Ajustement induit de l'hexokinase. ★★★

La fixation du substrat (glucose) au niveau du site actif s'accompagne d'une modification de la conformation tridimensionnelle de la protéine, avec un rapprochement de ses deux domaines.

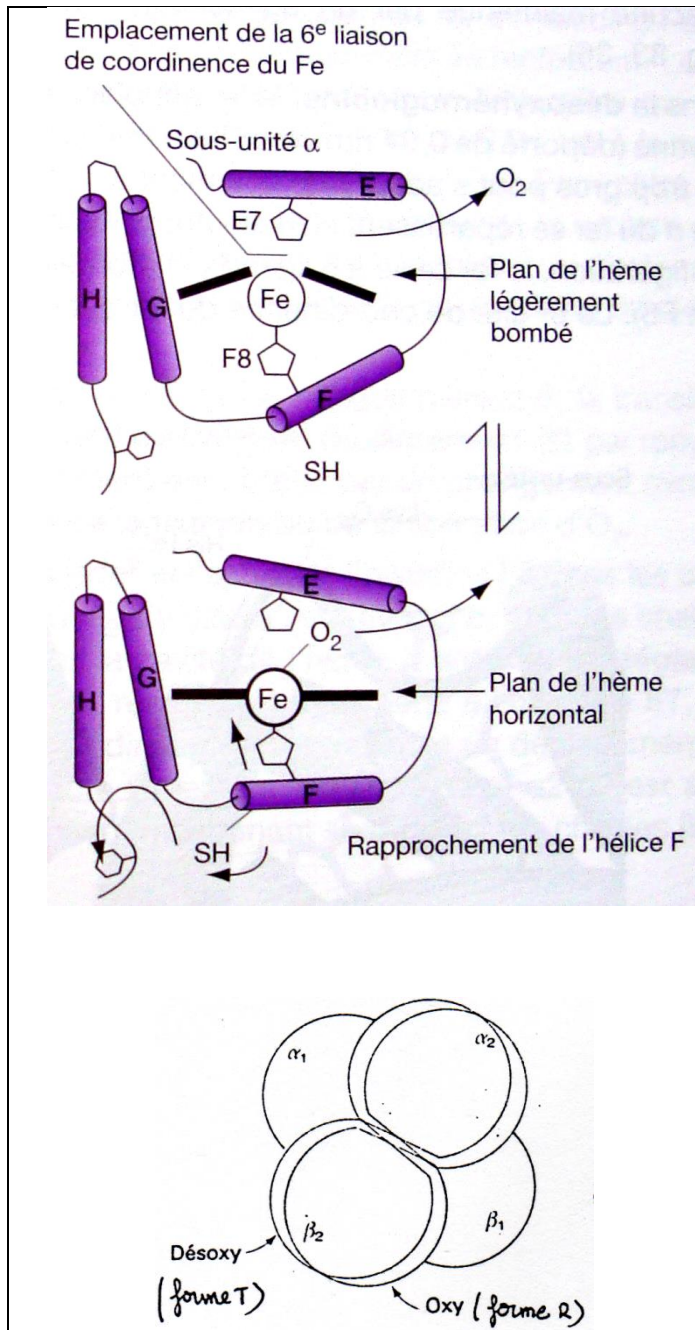


Fig. 32. Conséquences de la fixation du dioxygène sur l'hème.

★★★

En absence de dioxygène, le plan de l'hème est légèrement bombé et le Fer est situé en dehors de ce plan.

Le Fer établit 6 liaisons : 4 liaisons (2 covalentes + 2 de coordination) avec les azotes du noyau tétrapyrrolique fermé de l'hème), une liaison de coordination avec l'histidine F8 (histidine **distale**), et une liaison reste libre.

En présence de dioxygène, le rayon atomique du Fer est légèrement réduit par l'établissement de la liaison de coordination $\text{Fe}^{2+} - \text{O}_2$. Le Fer peut alors se placer dans le plan de l'hème, qui adopte alors une forme plane.

Ceci correspond à un très léger mouvement de l'atome de Fer, qui « tire » alors sur l'histidine distale, déplaçant l'ensemble du barreau F (sixième hélice α de la globine). La structure 3D de la globine étant due à de nombreuses interactions entre les radicaux des acides aminés la composant, ce léger déplacement se propage à l'ensemble de la sous-unité (qui acquiert une conformation légèrement plus compacte).

Remarque : le monoxyde de carbone CO

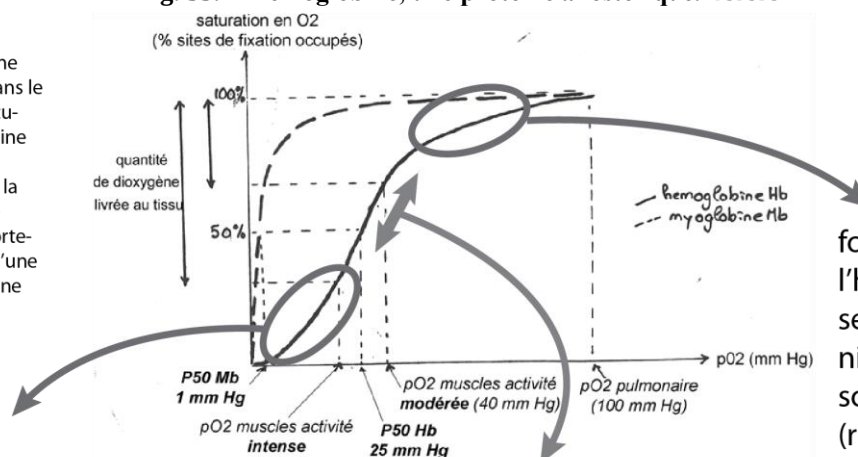
Fe^{2+} peut établir une liaison réversible avec O_2 , mais aussi une liaison irréversible avec CO. L'affinité de l'hème est 200 fois supérieure pour CO, par rapport à O_2 : de faibles pourcentages de CO dans l'air sont ainsi toxiques et peuvent conduire à la mort (défaut d'approvisionnement des cellules, en particulier des neurones, en O_2). La partie polypeptidique de la globine permet de créer un microenvironnement qui limite les possibilités de fixation du CO (noter en particulier l'histidine proximale E7, qui provoque une gêne stérique pour le CO), et qui permet d'éviter l'oxydation de Fe^{2+} en Fe^{3+} (qui ne peut plus fixer O_2 ; le sang séché a une couleur foncée due à cette oxydation par l'eau ; la globine crée une poche hydrophobe autour de l'hème, maintenant le Fer à l'état ferreux Fe^{2+}).

Une des manifestations « visibles » de la transition allostérique peut être observée au niveau de l'agencement relatif des deux dimères $\alpha\beta$ formant l'hémoglobine : on observe une rotation de 15° d'un de ces dimères par rapport à l'autre lors de la transition allostérique (ce qui correspond à un déplacement 0,08 nm).

Fig. 33. L'hémoglobine, une protéine allostérique.

★★★

La myoglobine (courbe pointillée) est une protéine fixant le dioxygène O_2 dans le cytosol des cellules musculaires striées. Cette protéine est formée d'une unique chaîne polypeptidique, de la famille des globines : elle présente donc un comportement semblable à celui d'une sous-unité de l'hémoglobine isolée.



fortes teneurs en O_2 : l'hémoglobine présente une forte affinité pour l' O_2 , elle est sous forme R (relâchée)

faibles teneurs en O_2 : l'hémoglobine présente une faible affinité pour l' O_2 , elle est sous forme T (tendue).

transition allostérique : passage de la forme T à la forme R (ou vice-versa)

(suite de la Fig. 33)

L'allostérie correspond à un changement de conformation d'une protéine à structure quaternaire suite à la fixation d'un ligand au niveau d'une sous-unité, qui modifie l'affinité des autres sous-unités vis-à-vis du ligand de la protéine.

Dans le cas de l'hémoglobine, cette protéine est capable de fixer 4 O_2 , un par globine : la fixation d'une première molécule de O_2 est difficile (la protéine présente une faible affinité pour le O_2 : elle est sous conformation T, tendue). La première fixation d'un O_2 entraîne (voir figure 25 page suivante) un changement de conformation de la sous-unité ayant fixé ce dioxygène. Ce changement de conformation d'une première globine provoque la rupture de liaisons électrostatiques (les « ponts salins ») présents entre les globines d'une même hémoglobine : ceci a pour conséquence d'induire un changement de conformation de l'ensemble de la protéine.

L'hémoglobine passe ainsi sous une autre conformation, la conformation R, relâchée. Cette conformation présente une affinité élevée pour le O_2 , et il est ainsi « plus facile de fixer les dioxygènes suivants ».

Fig. 34. Transition allostérique de l'hémoglobine et fixation coopérative du dioxygène ★★ [4]

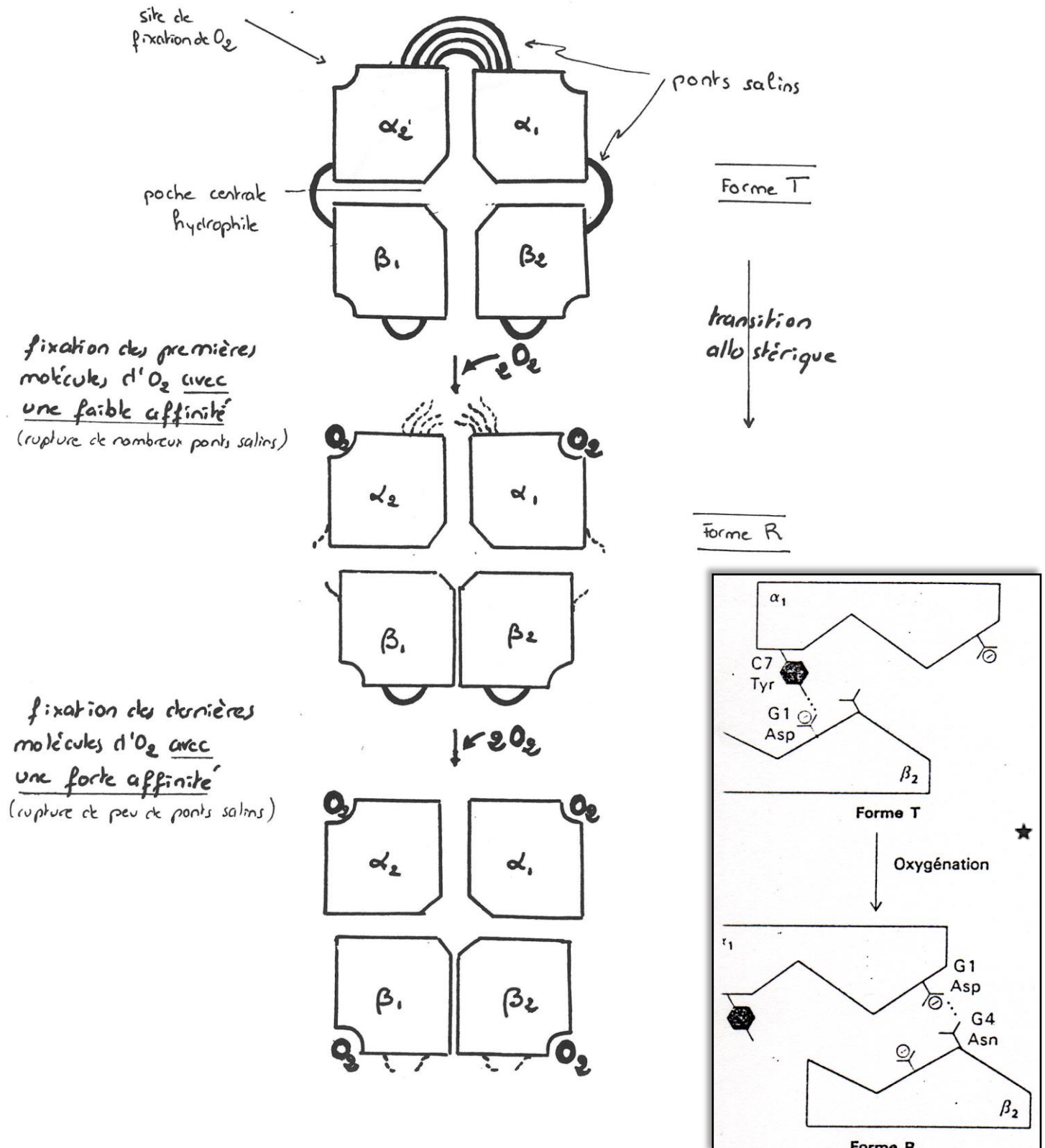


Fig. 35. La glycosylation des protéines. ★★

La glycosylation des protéines **début** dans le **réticulum endoplasmique**, dès la synthèse de la protéine. Elle est réalisée par des enzymes du réticulum, qui transfèrent, dans la majorité des cas, un ensemble de **14 oses** sur un résidu asparagine en une fois.

Après transfert des protéines dans l'**appareil de Golgi**, plusieurs événements peuvent se produire, selon les protéines :

- Le motif de 14 oses peut être **modifié** (les 5 premiers oses étant conservés ; Fig. 35.A).
- Une **nouvelle-glycosylation** peut être réalisée sur un résidu sérine ou thréonine.
- Un **mannose-6-phosphate** peut être fixé sur un résidu asparagine.

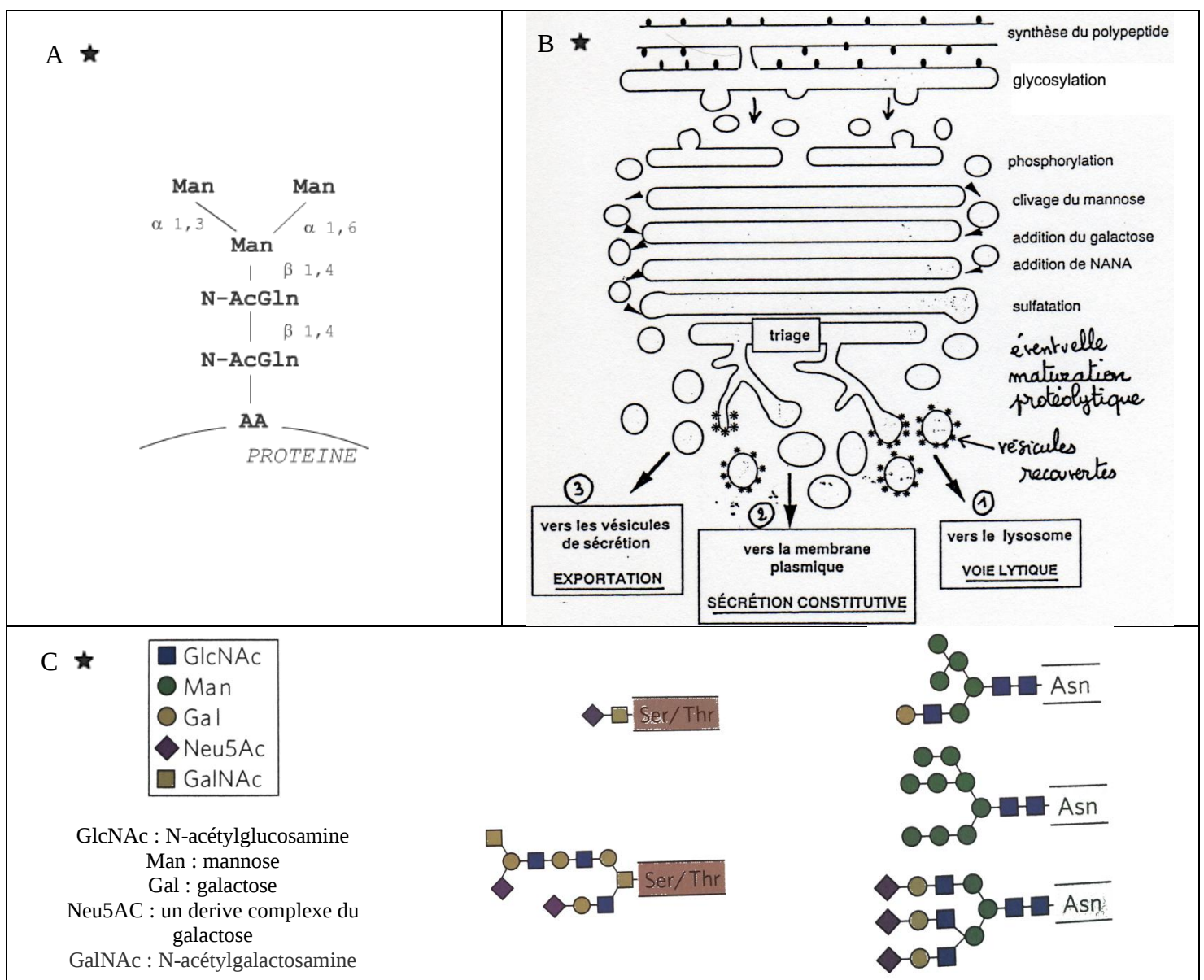
Exemples de motifs glucidiques : Fig. 35.B

Les **ponts disulfures** sont, eux, mis en place dans le réticulum endoplasmique.

Les protéines à destination des **lysosomes** sont « étiquetées » par du mannos-6-phosphate : ceci permet leur regroupement dans des vésicules à destination des lysosomes. Fig. 35.C

Les autres protéines passant par l'appareil de Golgi sont destinées soit à être sécrétées hors de la cellule, soit à être intégrées à la membrane plasmique.

Les autres protéines (cytosoliques, nucléaires, etc.) ne sont pas synthétisées au niveau du réticulum, mais au niveau de ribosomes libres du cytosol.



Références

- [1] ou absence de numéro : Ouvrage ou page Internet non précisé
- [2] C. Perrier *et al.* Biologie BCPST1 tout-en-un. Dunod
- [3] <https://www.brenda-enzymes.org/> (BRENDA enzymes database)
- [4] cours BCPST, Daniel Breton