

5. A partir du triplet ainsi identifié si vous remplacez, pour le second nucléotide de l'ARN, l'adénosine par une uracile, quelle conséquence sur acide aminé obtenu ? Que vient-on de faire concrètement comme manipulation ?
6. A partir de votre fiche sur les familles des acides aminés, commentez ce résultat en termes de propriétés chimiques.
7. Dans libmol, chargez la **globine β ainsi substituée (drépanocytose, code 1HBS)** et comparez avec la globine native. Remarquez notamment la forme de la logette portant le noyau hème.
8. Faites de même avec les hémoglobines complètes après recherche dans le menu déroulant « fichiers »

L'hémoglobine ainsi obtenue, appelée HbS, va avoir tendance à polymériser (**interaction hydrophobe entre l'acide aminé leucine 88 d'une hémoglobine et l'acide aminé valine 6 de la voisine**). Montrez ces acides aminés sur une globine β . Conséquence (connue!) sur la forme finale des hématies ? Sur leur aptitude à circuler dans les capillaires ?

II La structure tertiaire donne sa fonction à la protéine.

A/ Mise en évidences

1. Chargez dans libmol, à partir de la Protein Data Bank, la structure de la ribonucléase pancréatique (**code 1FS3**)
2. Observez la **structure tertiaire et discutez l'hydrophilie d'ensemble** en passant la souris sur le cadre « eau ».
3. Dans le menu « séquence », **choisissez une cystéine au hasard et faites un clic droit pour voir les interactions** qu'elle réalise. Commentaire ?

Remarquez les ponts disulfure et leur nombre. Commentaire ?

B/ La structure tertiaire rapproche les acides aminés distants par de multiples interactions

Prenons toujours avec la ribonucléase : dans le menu « séquence » recherchez et colorez les acides aminés 12 (histidine), 119 (histidine) et 41 (lysine). Commentaire ?

On voit ainsi que les protéines peuvent acquérir diverses formes en rapport avec leur fonction en rapprochant des acides aminés distants sur la séquence : globulaire pour l'hémoglobine, fibrillaire pour la spectrine... etc.

Exemples : l'hémoglobine et la ribonucléase qui sont globalement globulaires et solubles, la **spectrine**, constituée exclusivement d'hélices α et qui est fibreuse (élément du cytosquelette, code 2SPC)

C/ Les interactions protéine-ligand

La ribonucléase pancréatique hydrolyse les ARN. Chargez à partir de la Protein Data Bank le **couple ribonucléase/ARN en choisissant le code 6AHR** pour visualiser le site hydrophobe. Pensez à utiliser la palette de couleurs pour bien différencier la ribonucléase de l'ARN.

La page 8 du mode d'emploi détaillé vous montre la procédure. On met ainsi en évidence le **modèle clé-serrure de l'interaction protéine-ligand** (attention, il s'agit plutôt d'un ajustement induit mutuel des formes des molécules lors de leur rencontre)

D/ Effet tridimensionnel de la fixation d'un ligand.

- Sur une globine β native vue au début, repérez les deux hélices α (numérotées conventionnellement E et F) formant un V et renfermant le noyau hème. Placez ce dernier de profil.

- Recherchez dans la séquence les histidines 63 et 92 qui lient le noyau hème et faites un clic droit pour voir leurs interactions : on remarque que **l'histidine 92 lie l'hème par son Fer et l'histidine 63 a une fonction d'encombrement** stérique empêchant de nombreux ligands de s'y substituer, comme CO (le menu déroulant « fichier » permet d'ailleurs de visualiser les interactions globine-CO. En chargeant la molécule de code 2QSS). Vous pouvez d'ailleurs colorer chaque chaîne de globine dans l'onglet « commandes »

- Mesurez la distance entre ces deux acides aminés à l'aide de la procédure décrite à la page 10.

- Chargez maintenant la globine β oxygénée et refaites la même mesure. Commentaire ?

On vient ici de mettre en évidence une particularité fondamentale des protéines : l'interaction protéine-ligand modifie la structure tertiaire : c'est un changement de conformation, nécessaire à la réalisation de la fonction.

IV La structure quaternaire

Plusieurs protéines peuvent interagir entre elles, en générale par des liaisons de basse énergie, formant ainsi plusieurs sous-unités d'une même entité moléculaire. L'exemple le plus évident est celui de l'hémoglobine. Exception : le collagène dont les sous-unités sont fixées entre elles par des ponts covalents.

Relisez la partie concernée sur la comparaison hémoglobine-globine dans le cours .

Documents issus du concours A TB 2020 (à analyser si vous en avez le temps) :

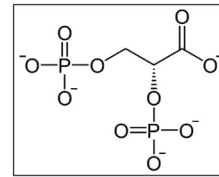
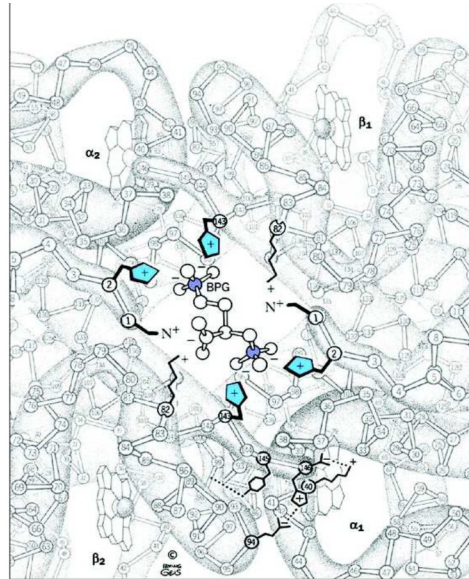
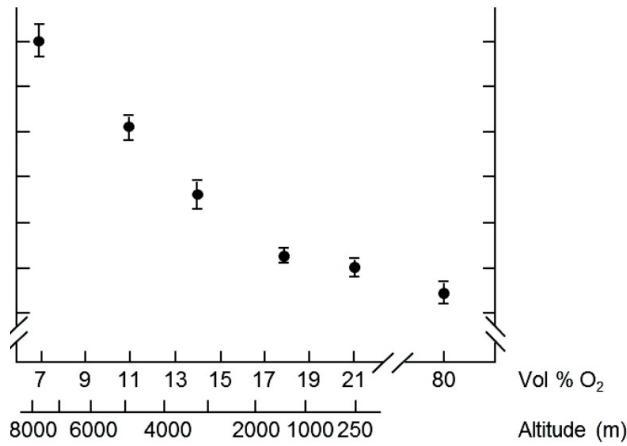


Figure 2 : association du 2,3-BPG à l'hémoglobine. Le 2,3-BPG (structure en encart, pas d'exploitation demandée) occupe une cavité au centre du tétramère $\alpha_2\beta_2$, où il établit notamment des liaisons avec des histidines des chaînes β (His 2 et His 143, sur les deux chaînes). Cette liaison stabilise la forme tendue de l'hémoglobine, de moindre affinité pour le dioxygène.

(© 2005 Brooks/Cole-Thomson)



concentration de 2,3-BPG dans les globules rouges chez des rats exposés pendant 24 des conditions hypoxiques (les altitudes correspondant aux concentrations en dioxygène ont précisées). Pour mimer la diminution de pression partielle en dioxygène avec l'altitude, un mélange de gaz contenant des proportions de dioxygène plus faibles que la proportion 21 % du volume de l'air).

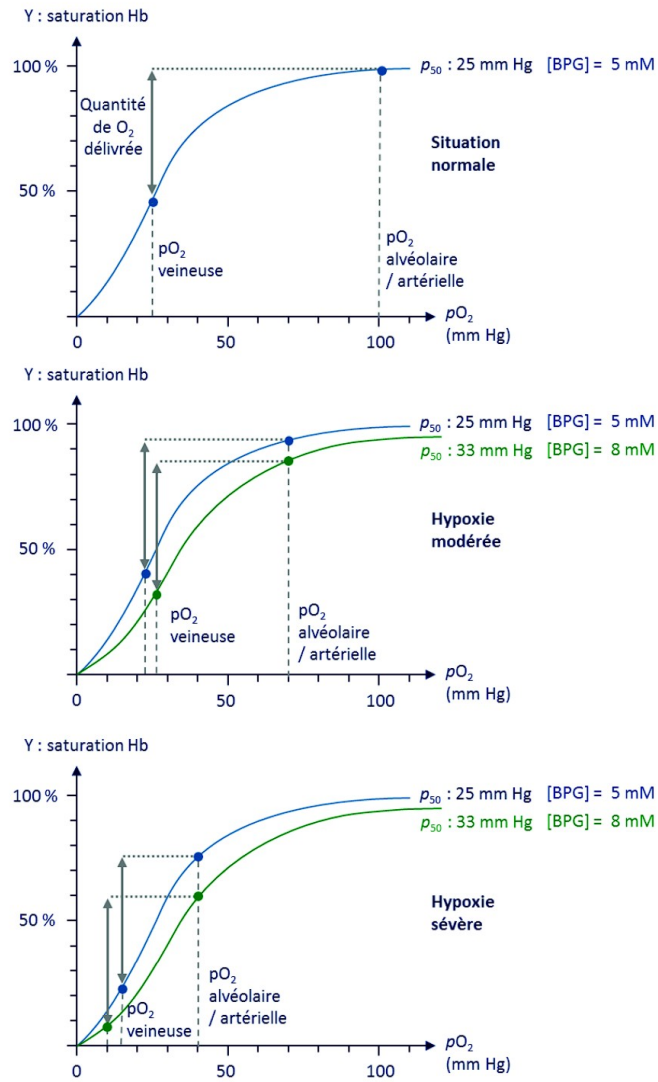


Figure 4 : effet théorique du déplacement de la courbe de saturation de l'hémoglobine humaine sur la pO₂ veineuse, pour deux situations d'hypoxie. On prédit la pO₂ veineuse pour une même distribution de O₂ aux organes (10 mL O₂/100 mL de sang) et une même capacité totale de O₂ (20 mL O₂/100 mL de sang). En haut, situation normale ; au milieu, hypoxie modérée ; en bas, hypoxie sévère.

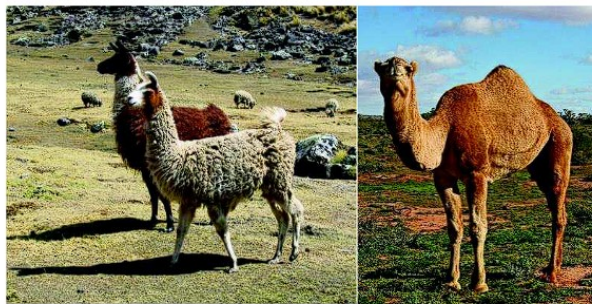
Partie 2- La vie en altitude : exemple d'adaptation chez les mammifères

Les espèces de mammifères et d'oiseaux natives des territoires de haute altitude sont exposées couramment à des conditions d'hypoxie sévères. Contrairement à ce qui se passe pour les animaux de plaine transportés en altitude, dont la p_{50} augmente, on trouve en général chez ces espèces montagnardes des valeurs de p_{50} plus faibles que chez les espèces apparentées vivant en plaine.

Question 7

Expliquez l'intérêt de ces p_{50} plus faibles grâce à la figure 4 (p. 5).

Les camélidés sud-américains (lama, alpaga, vigogne et guanaco) vivent en altitude. Par rapport au dromadaire, leur parent vivant près du niveau de la mer, et à la plupart des autres mammifères, ils partagent une même substitution sur la chaîne β de l'hémoglobine : l'histidine en position 2 est remplacée par l'asparagine (His2 β →Asn). Les globules rouges du lama et du dromadaire ont des concentrations comparables en 2,3-BPG.



Lamas (*Lama glama*) Dromadaire (*Camelus dromedarius*)

Question 8

À partir du tableau 1 (ci-dessous) et de la figure 2 (p. 4), comparez l'effet du 2,3-BPG sur les hémoglobines du lama et du dromadaire et expliquez les différences constatées.

Question 9

Indiquez la valeur adaptative de la substitution His→Asn dans la chaîne β chez les camélidés d'altitude.

Espèce	Résidu 2 chaîne β	Résidu 143 chaîne β	$p_{50}O_2$ (mmHg) sans 2,3-BPG	$p_{50}O_2$ (mmHg) + 5 mM 2,3-BPG
Lama	Asn	His	14,8	20,3
Dromadaire	His	His	12,0	21,5

Tableau 1 : différences de séquence significatives dans la chaîne β et valeurs de $p_{50}O_2$ en présence et en absence de 2,3-BPG pour les hémoglobines du lama et du dromadaire. Toutes les mesures sont faites à 37 °C et pH 7,2. Les données d'incertitude ne sont pas indiquées : on considèrera les différences significatives.

Pour aller plus loin :

- Les fichiers des protéines sont aussi visualisables sur le site www.rscb.org. Ce dernier est en anglais et très complet (mais vraiment trop complexe pour nous!). Par contre, l'utilisation de l'onglet « recherche » permet rapidement de connaître le code d'une protéine et de l'utiliser dans libmol.
- Vous pouvez visualiser si vous en avez le temps diverses protéines vues au cours de l'année : l'aquaporine, le canal potassique, la pompe Na/K...