

Des acides aminés aux peptides et protéines

Définition : **peptides et protéines** sont des polymères d'acides α -aminés reliés entre-eux par des liaisons peptidiques.

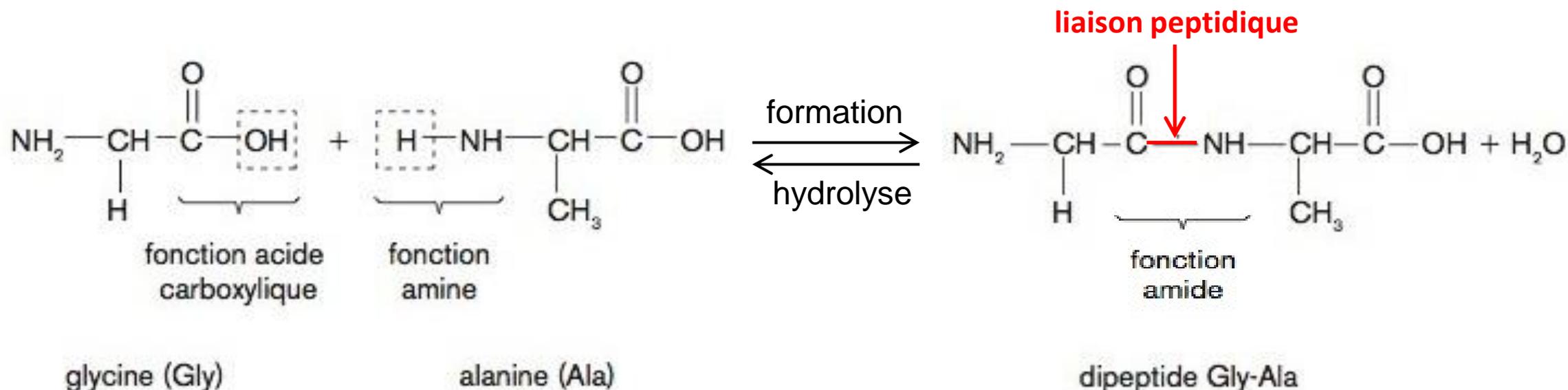
Les peptides et protéines possèdent plusieurs niveaux d'organisation structurale qui expliquent leur conformation spatiale.

1. Structure primaire des peptides et protéines

1.1. Polymérisation des acides α -aminés et formation de la liaison peptidique

1.1.1. Formation de la liaison peptidique

Q1. Écrire la formation d'une liaison peptidique entre la glycine (R = H) et l'alanine (R = CH₃)



Si $2 \leq \text{résidus d'acides aminés} \leq 10$ liés par des liaisons peptidiques \Rightarrow **oligopeptide** (ex : dipeptide, tripeptide, *etc.*)

Si $11 \leq \text{résidus d'acides aminés} \leq 99$ liés par des liaisons peptidiques \Rightarrow **polypeptide**

Si $\text{résidus d'acides aminés} \geq 100$ \Rightarrow **protéine**

1.1.2. Structure primaire

Définition : **structure primaire** = ordre d'assemblage des résidus d'acides α -aminés. On parle aussi de séquence.

Par convention d'écriture, la structure primaire débute par l'extrémité N-terminale (amino-terminale), pour se terminer par l'extrémité C-terminale (carboxy-terminale).

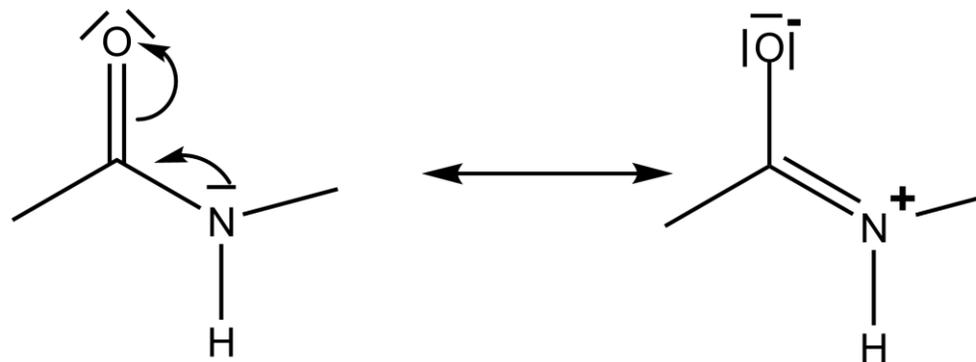
1.2. Caractéristiques de la liaison peptidique

Distance interatomique dans différentes liaisons C-N :

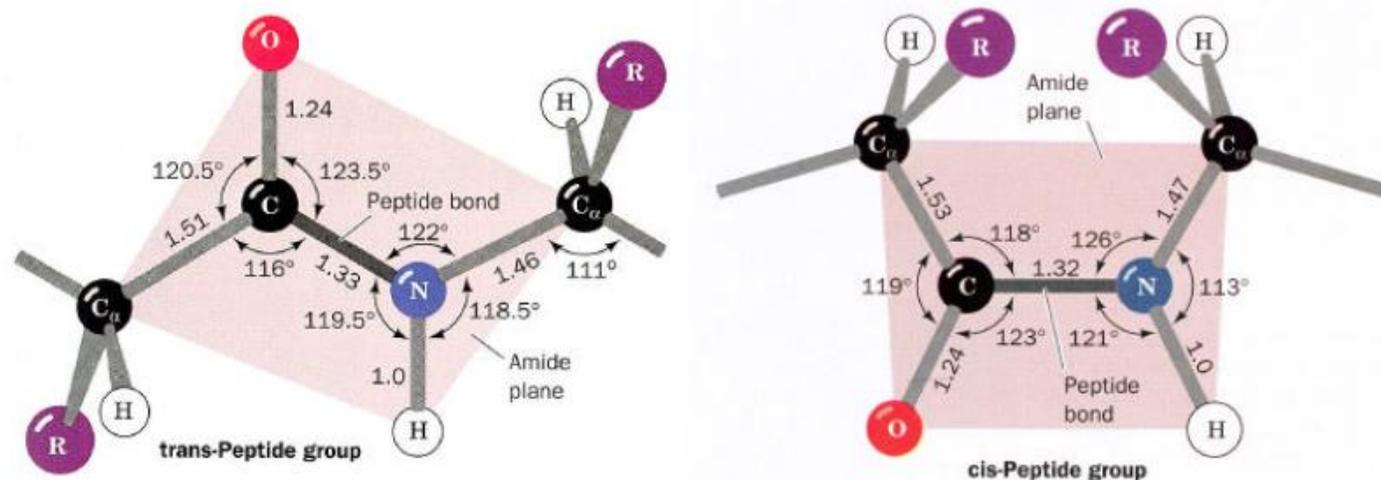
- liaison simple C–N : $1,46 \text{ \AA}$ ($= 1,46 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 0,146 \text{ nm}$)
- liaison double C=N : $1,27 \text{ \AA}$ ($= 1,27 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 0,127 \text{ nm}$)
- liaison amide CO–NH : $1,33 \text{ \AA}$ ($= 1,33 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 0,113 \text{ nm}$)

\Rightarrow Liaison peptidique (fonction amide) = distance intermédiaire entre simple et double liaison C-N.

⇒ délocalisation des électrons par phénomène de résonance et de mésomérie :

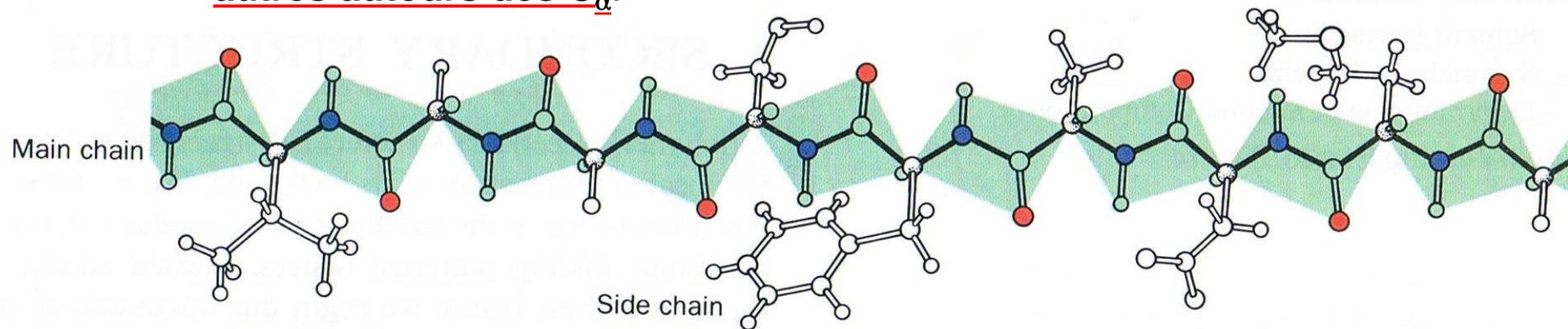


⇒ **la liaison peptidique est rigide et plane**, présentant deux configurations ; Z (*cis*) et E (*trans*) :



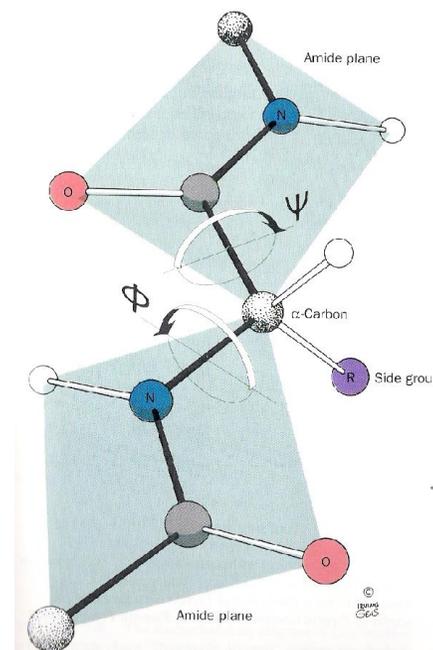
La configuration *trans* (E) est majoritaire dans les peptides et protéines (99,95 %)

La liaison peptidique étant plane, elle définit un **plan peptidique avec 6 atomes coplanaires $-\text{C}_\alpha-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_\alpha-$**
 ⇒ squelette protéique = **succession de plans peptidiques avec possibilité de rotation les uns par rapport aux autres autour des C_α** .



On caractérise les conformations possibles par **deux angles de rotation** :

- ϕ : angle de rotation autour de la liaison $\text{HN}-\text{C}_\alpha$
- ψ : angle de rotation autour de la liaison $\text{C}_\alpha-\text{CO}$



En théorie, ϕ et ψ peuvent prendre toutes les valeurs allant de -180° à $+180^\circ$.

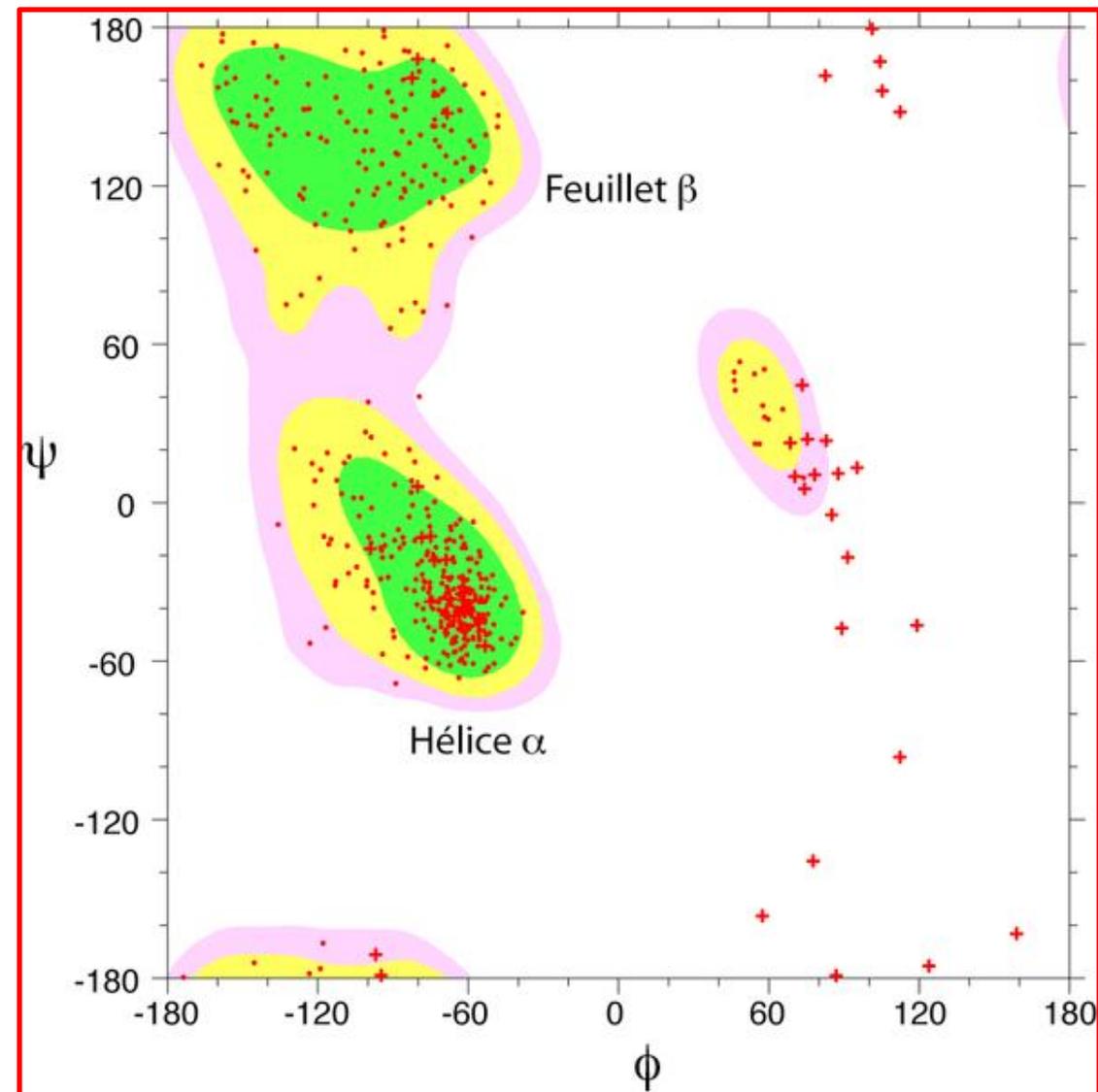
Mais, du fait de **l'encombrement stérique** des atomes **certaines conformations sont impossibles**.

Le **diagramme de Ramachandran** est une représentation graphique permettant d'analyser la conformation du squelette polypeptidique des peptides et protéines.

Toutes les valeurs des angles ϕ et ψ ne sont pas possibles car certaines conduisent à des contacts trop proches entre atomes qui sont énergétiquement très défavorables.

Le diagramme comporte **trois zones favorables**, colorées sur l'exemple représenté à droite dont une pour les **hélices α** et une autre pour les **feuillet β** . Lorsqu'on analyse les résidus d'acides aminés d'une protéine donnée, on observe que la majeure partie d'entre eux ont des combinaisons d'angles (ϕ ; ψ) qui s'inscrivent à l'intérieur de ces trois zones.

Les glycines, représentées par des croix ici, ont une plus grande liberté conformationnelle du fait de leur très petite chaîne latérale. Elles peuvent se trouver en dehors des **régions favorables** du diagramme.



2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.1. Liaisons stabilisatrices impliquées dans la structure tridimensionnelle des peptides et protéines = liaisons secondaires

2.1.1. Interactions faibles

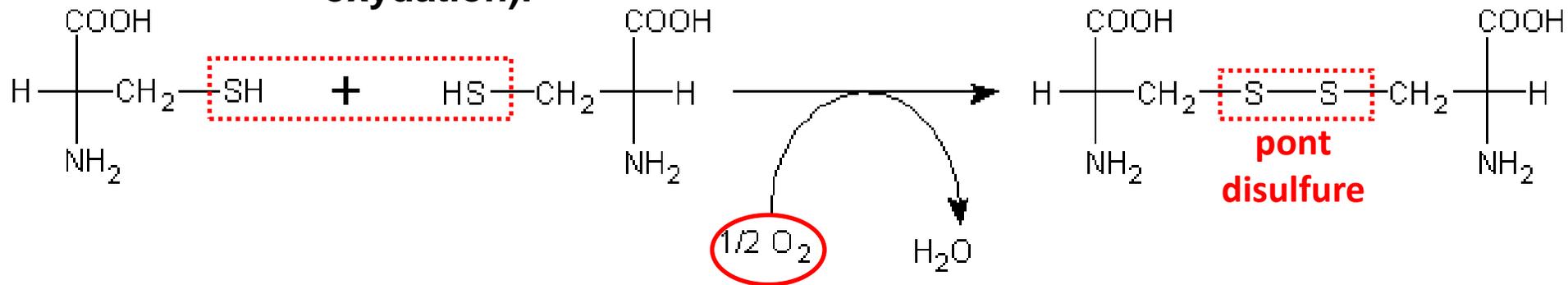
Nature	Définition	Énergie de dissociation	Intérêt au sein des peptides et protéines
Liaison ionique	Interaction entre deux groupes ionisés de charge opposée	40-80 kJ·mol ⁻¹	Contribue peu à la stabilité des protéines car solvation avec l'eau.
Liaison hydrogène	Liaison se formant entre un atome portant un doublet électronique libre (ex : O ou N) et un atome d'hydrogène relié de façon covalente à un atome plus électronégatif	20-40 kJ·mol ⁻¹	Essentielle pour la mise en place des structures secondaires.
Interactions de Van Der Waals	Association entre molécules électriquement neutres résultant d'interactions électrostatiques entre dipôles permanents et/ou induits	1-10 kJ·mol ⁻¹	Faiblement énergétique mais influence significative dans le repliement protéique car elles sont présentes en très grand nombre.
Interactions hydrophobes	Influence faisant que les molécules apolaires s'organisent de manière à minimiser leurs contacts avec l'eau	4-8 kJ·mol ⁻¹	Détermine de manière importante le repliement protéique.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.1. Liaisons stabilisatrices impliquées dans la structure tridimensionnelle des peptides et protéines = liaisons secondaires

2.1.2. Liaison covalente : le pont disulfure

Définition : **pont disulfure** = liaison entre les groupements sulhydriques des radicaux de deux résidus de cystéine lors du repliement de la chaîne polypeptidique (formation par oxydation).



Remarque : Le cytoplasme étant un environnement réducteur, les protéines cytoplasmiques sont généralement dépourvues de ponts disulfure.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

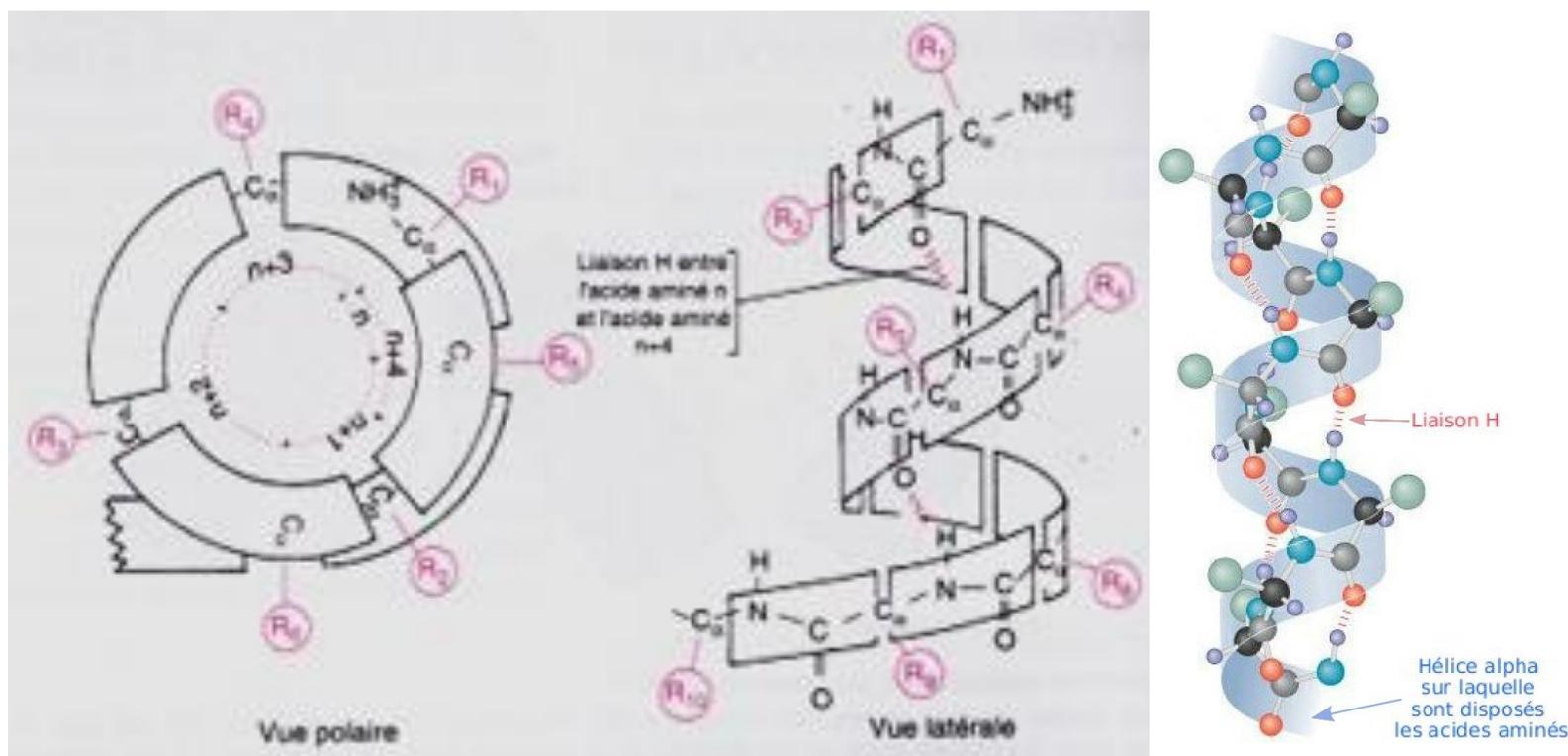
2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.1. Structures secondaires

Définition : **Structures secondaires** : repliements locaux de la chaîne polypeptidique résultant de liaisons hydrogène entre liaisons peptidique

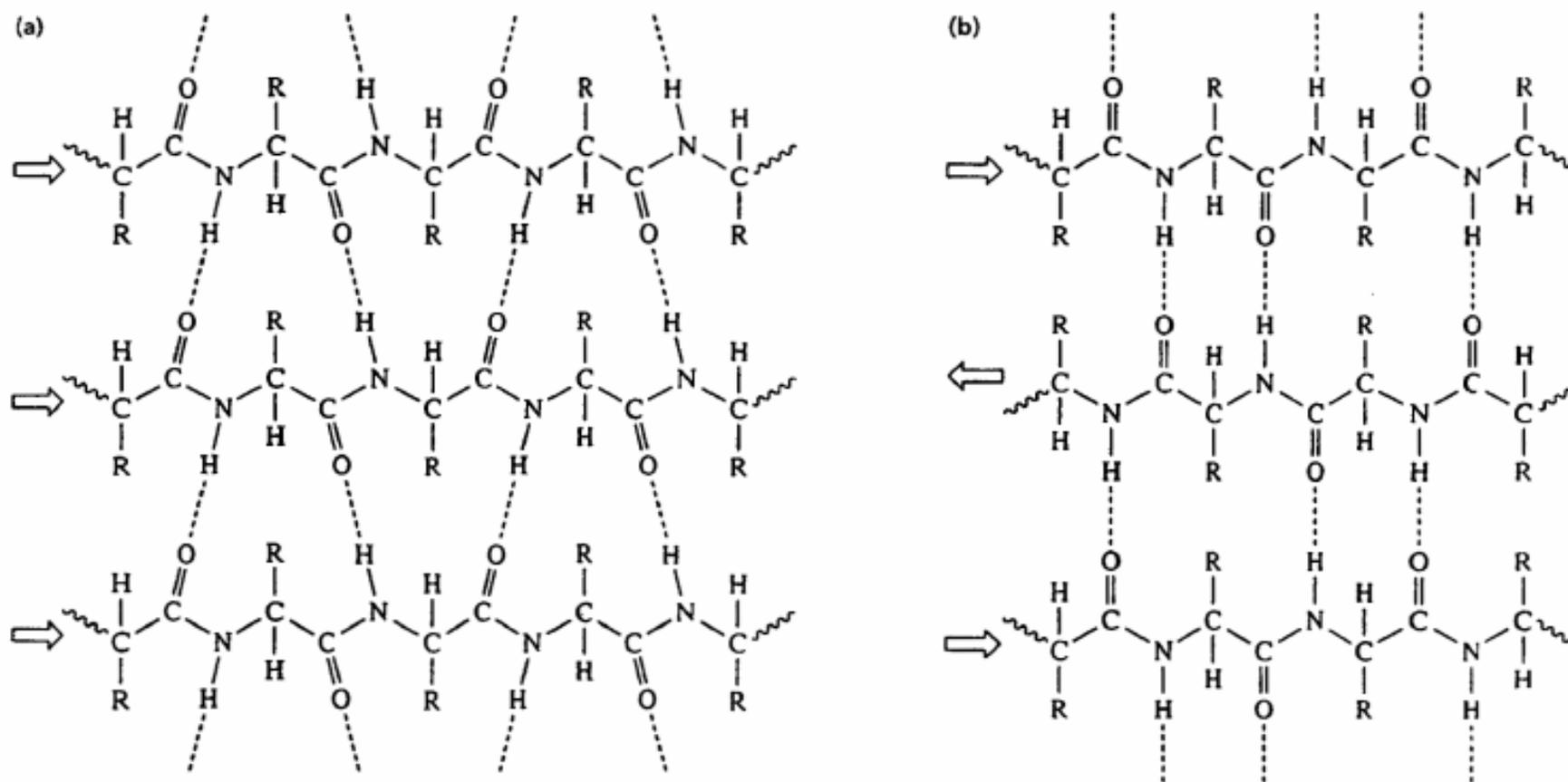
2.2.1.1. Structures secondaires simples

✓ **Hélice α** :



- Hélice de pas droit (s'enroule dans le sens des aiguilles d'une montre).
- Pas/tour de l'hélice α : 0,54 nm, soit 3,6 résidus par tour.
- liaisons hydrogène entre l'H du NH d'un acide α -aminé en position « n » et un doublet non liant du O du C=O de l'acide α -aminé en position « n+4 ». Ces liaisons hydrogène sont parallèles à l'axe de l'hélice.
- Les radicaux (R) sont rejetés vers l'extérieur de l'hélice α .
- Absence de proline dans les hélices α .

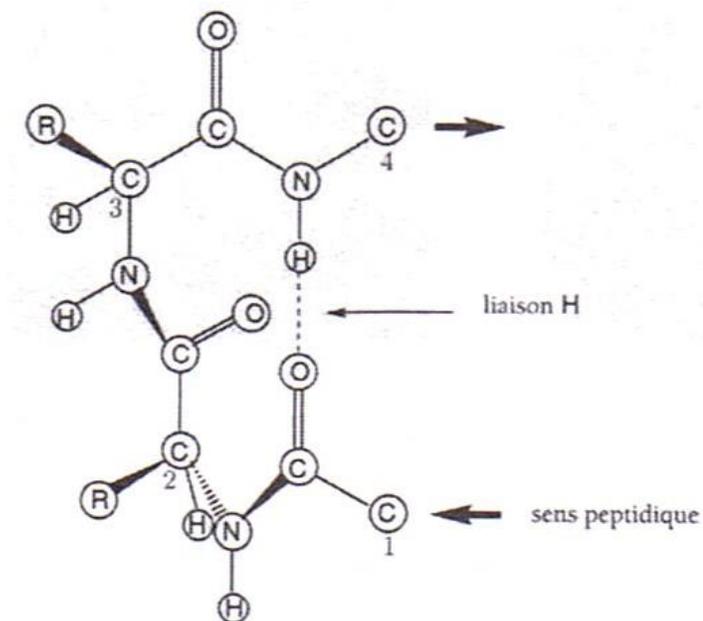
✓ **Feuillets β** :



- Structure formée de chaînes polypeptidiques étirées au maximum appelées les brins β .
- Alignement des brins sur un même plan permet la formation de liaisons H entre le O du C=O d'un brin et l'H du NH du brin voisin.
- Les chaînes latérales R sont rejetées alternativement vers le haut ou vers le bas du feuillet.
- Si les brins β d'un feuillet β sont orientés dans le même sens : feuillet β parallèle (a).
- Si les brins β d'un feuillet β sont orientés dans des sens opposés : feuillet β anti-parallèle (b).
- Les feuillets anti-parallèles sont plus stables car les liaisons hydrogène qui se forment entre les brins sont plus courtes, elles sont donc plus solides.

✓ **Coude et boucle β** :

- Discontinuité locale dans la structure d'un feuillet β .
- Souvent à la jonction de deux segments de la chaîne formant un feuillet β antiparallèle.
- La boucle β (ou épingle à cheveu) consiste également en un repli sur elle-même de la chaîne mais est plus étendue.



2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.1. Structures secondaires

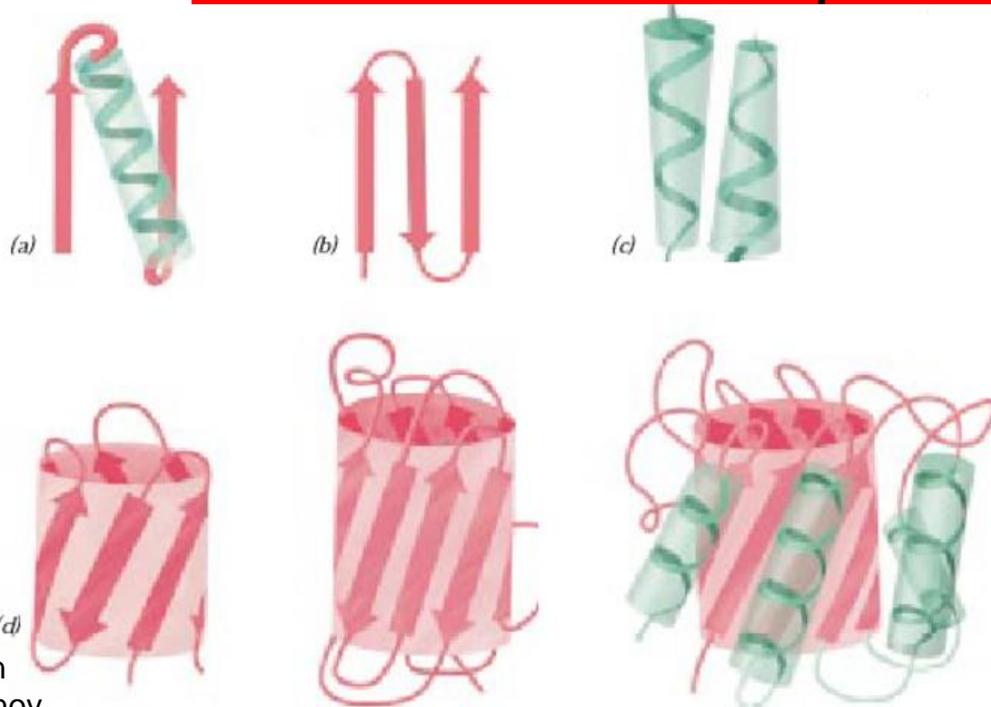
2.2.1.2. Notions de motif protéique

Le terme motif protéique désigne deux acceptions :

- **Motif structural (structure super secondaire) :**
Ensemble de structures secondaires contiguës.

Un motif structural est **parfois relié à une fonction particulière.**

Exemples :



(a) motif $\beta\alpha\beta$

(b) épinglé à cheveux β

(c) motif $\alpha\alpha$

(d) tonneau β avec à droite un tonneau composé d'unités $\beta\alpha\beta$ chevauchantes appelé tonneau $\alpha\beta$

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.1. Structures secondaires

2.2.1.2. Notions de motif protéique

- Motif de séquence :

Séquence particulière de résidus d'acides α -aminés (pas nécessairement consécutifs) caractéristiques d'une fonction biochimique.

Exemple : doigt de Zn.

2.2.2. Structures tertiaires

Définition : **structure tertiaire** = organisation spatiale de l'ensemble de la chaîne peptidique ou protéique.

Elle résulte d'interactions au niveau des chaînes latérales de résidus d'acides aminés.

Cette organisation n'est pas figée : elle peut prendre plusieurs conformations.

Définition : **conformation native** = conformation la plus stable adoptée après sa synthèse.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.2. Structures tertiaires

2.2.2.1. Protéines globulaires et notion de domaine

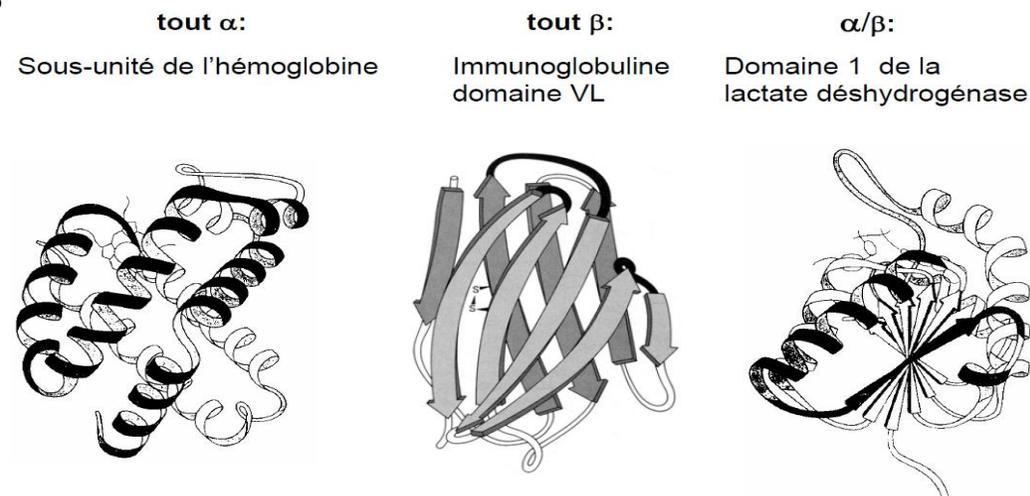
Définition : **protéine globulaire** = protéine de forme plus ou moins sphérique.

Pour les chaînes polypeptidiques de plus de 200 résidus d'acides aminés, on a souvent la présence de plusieurs globules ou **domaines**.

Définition : **domaine** = unité de structure protéique au repliement indépendant et ayant souvent une fonction spécifique.

Environ 100 résidus d'acides aminés en moyenne (mais diversité : 40 à 600 résidus)

Exemples : différents domaines protéiques



2. Structure tridimensionnelle des protéines

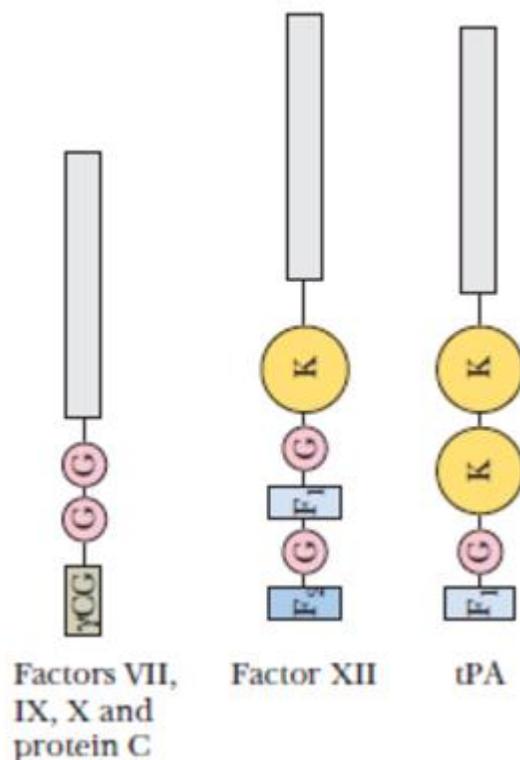
2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.2. Structures tertiaires

2.2.2.1. Protéines globulaires et notion de domaine

Les domaines sont des **zones de structure stable, conservées au cours de l'évolution.** Ils sont responsables de la **structure modulaire** des protéines globulaires.

Exemple : structure modulaire des trois protéines globulaires



Ci-contre, un échantillon de protéines formées d'un assemblage de modules (domaines et/ou motifs).

- γ CG : module contenant des résidus γ -carboxy-glutamate
- G : module EGF-like.
- K : domaine « kringle ».
- F : domaine fibronectine.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

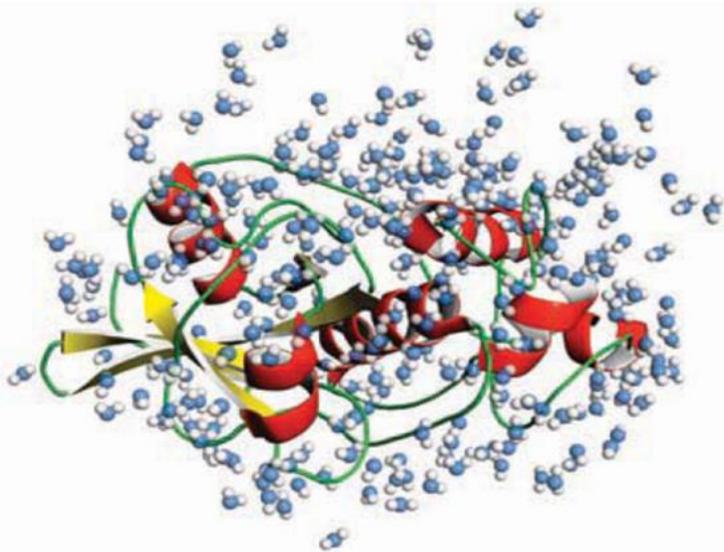
2.2.2. Structures tertiaires

2.2.2.1. Protéines globulaires et notion de domaine

La distribution spatiale des résidus d'acides aminés au sein d'une protéine globulaire dépend de leur polarité :

- acides α -aminés apolaires (Val Leu Ile Met Phe) à l'intérieur de la protéine (contact avec H_2O limité).
- acides α -aminés chargés à pH physiologique (Arg His Lys Asp Glu) en surface des protéines.
- acides α -aminés polaires non chargés à pH physiologique (Ser Thr Asn Gln Tyr) le plus souvent en surface (rôle dans la solvataion) mais aussi à l'intérieur où ils contractent des liaisons hydrogène

Solvataion de l'actinidine de kiwi :



Les résidus d'acides aminés de surface d'une protéine globulaire peuvent établir, grâce à leurs chaînes latérales polaires, de très nombreuses liaisons hydrogène avec des molécules d'eau. Se crée ainsi une **couche d'hydratation** autour de la protéine

2. Structure tridimensionnelle des protéines

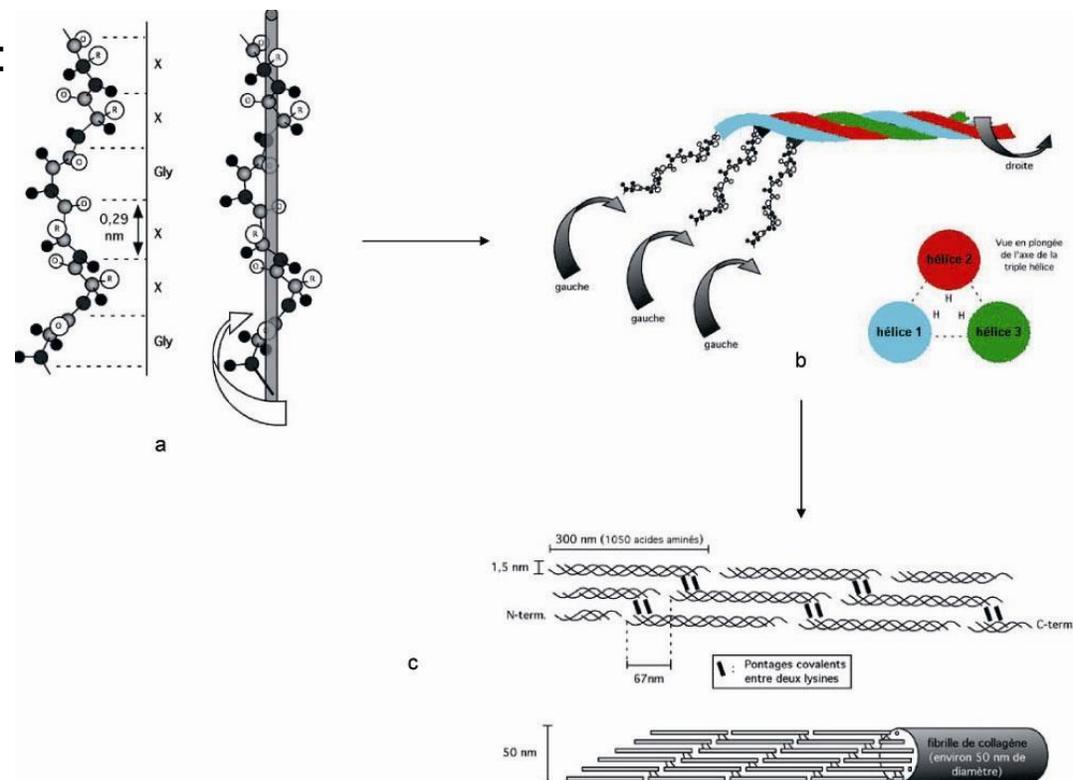
2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.2. Structures tertiaires

2.2.2.2. Scléroprotéines, ou protéines fibreuses

Définition : **protéine fibreuse** = protéine allongée formée de structure secondaire répétée
 ⇒ résistance
 ⇒ rôle structural (kératine, collagène, fibroïne) ou moteur (myosine)

Structure et organisation du collagène :



2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.2. Structures tertiaires

2.2.2.3. Les protéines membranaires

Définition : **protéine membranaire** = protéines membranaires incluses, au moins partiellement, dans la bicouche de phospholipides membranaires.

L'ancrage au niveau de la membrane se fait par des zones très riches en résidus d'acides aminés hydrophobes.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.2. Niveaux d'organisation structurale des peptides et protéines

2.2.2. Structure quaternaire

Définition : **structure quaternaire** = association de chaînes polypeptidiques (sous-unités, protomères, monomères) en une unité supérieure seule capable d'assurer les fonctions biologiques de la protéine.

Les sous-unités sont reliées par des interactions faibles, avec parfois présence de ponts disulfures interchaînes.

Il existe très souvent une symétrie au niveau de l'assemblage des protomères.

Les sous-unités polypeptidiques composant la protéine peuvent être :

- identiques : protéines homomultimériques,
- différentes : protéines hétéromultimériques.

2. Structure tridimensionnelle des protéines

2.3. Holoprotéine et hétéroprotéine

Définition : **holoprotéines** = protéines constituées uniquement de résidus d'acides aminés.

Définition : **hétéroprotéines** = protéines constituées d'une partie protéique, appelée apoprotéine, et d'une partie non protéique, appelé groupement prosthétique qui est un cofacteur fixé durablement.

Parmi les hétéroprotéines on distingue :

- les protéines à ancrage lipidique, avec une partie lipidique permettant l'ancrage de la protéine aux membranes,
- les glycoprotéines, dont le groupement prosthétique est de nature glucidique (= hétéroside),
- les phosphoprotéines, ou protéines phosphorylées, dont le groupement prosthétique est un groupement phosphate,
- les nucléoprotéines, associée à un acide nucléique (ADN ou ARN),
- les métalloprotéines, dont le groupement prosthétique est un ion métallique,
- les chromoprotéines, avec un groupement prosthétique coloré (exemple : l'hémoglobine)

3. Dénaturation – renaturation des pptides et protéines

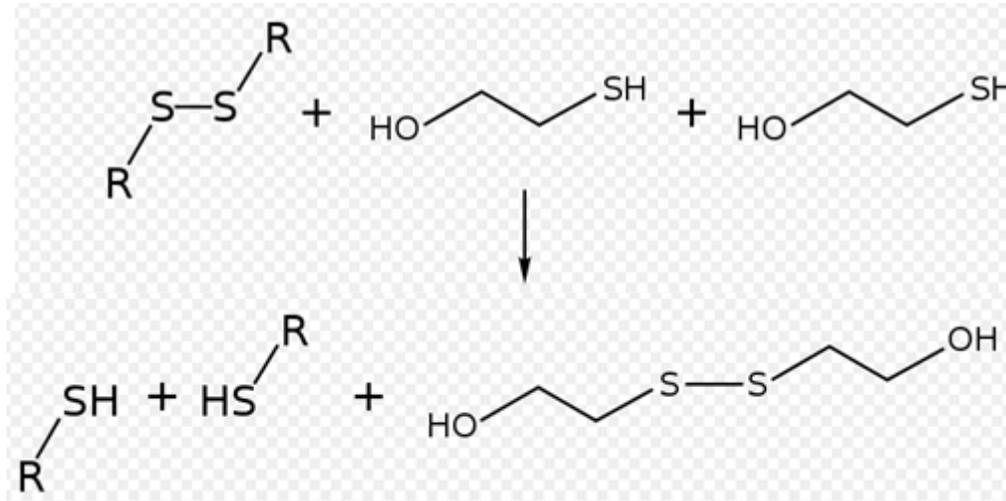
3.1. Dénaturation des peptides et protéines

Définition : **dénaturation** = désorganisation de la structure spatiale des protéines sans rupture des liaisons peptidiques.

La dénaturation est obtenue sous l'effet d'agents dénaturants qui altèrent les liaisons faibles ou les ponts disulfures qui maintiennent la conformation native.

agents dénaturants		liaisons ou interactions rompues	précipitation
<u>physiques</u>	chaleur	liaison hydrogène	+ (thermocoagulation)
	agitation, vibration	multiples	-
	mousses		
	rayonnements UV, ionisants		
<u>chimiques</u>	pH extrêmes	liaisons ioniques	+ : acide ; - : basique
	complexes de métaux lourds	liaisons ioniques	+
	urée	liaison hydrogène + interactions hydrophobes	-
	chlorure de guanidium	interactions hydrophobes + liaisons ioniques	
	détergents (ex ; SDS)		
	thiols (ex : β-mercaptoéthanol)	réduction des ponts disulfures	

Action du β -mercaptoéthanol (β -ME), agent réducteur des ponts disulfures :



La dénaturation s'accompagne :

- **toujours** d'une **perte d'activité** de la protéine.
- **parfois** d'un **changement des propriétés optiques** (absorbance, fluorescence, dichroïsme).
- **parfois** d'une **modification de la solubilité** (précipitation).

La dénaturation peut être **réversible** ou **irréversible**.

3. Dénaturation – renaturation des pptides et protéines

3.2. Renaturation des peptides et protéines

La séquence (structure primaire) d'une protéine est nécessaire et suffisante pour l'acquisition de sa structure spatiale.

Toutefois, *in vivo*, le repliement est assisté par diverses protéines :

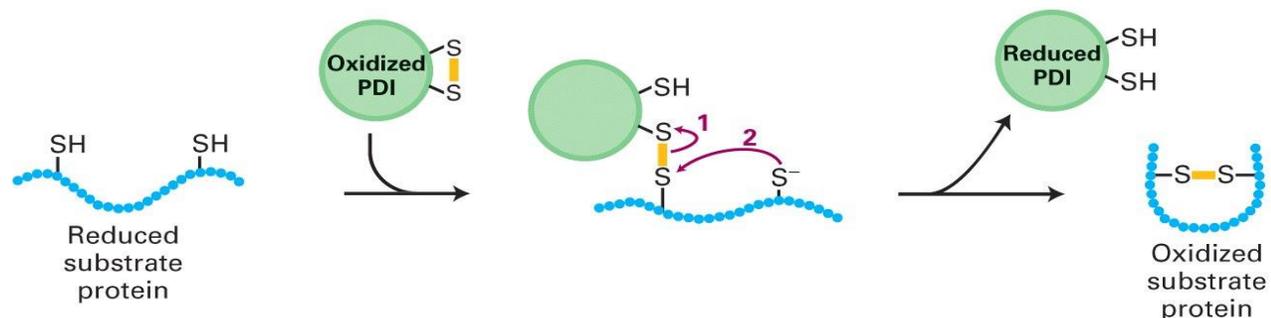
- **protéines chaperonnes** : empêchent les repliements incorrects et l'agrégation des protéines.
- **PPI (Peptidyl Prolyl *cis-trans* Isomérase)** : passage à la conformation *cis* de la liaison peptidique précédent une proline.
- **PDI (Protein Disulfide Isomérase)** : facilite la ruptures et la reformations de ponts disulfure.

Les protéines du cytosol et des organites qui sont synthétisées sur des ribosomes libres sont dépourvues de ponts disulfure car le cytoplasme est un milieu très réducteur et stabilisent leur structure par d'autres liaisons.

Les protéines possédant des ponts disulfure sont donc généralement des protéines sécrétés vers des environnements plus oxydants. La formation de leurs ponts disulfure a lieu dans la lumière du réticulum endoplasmique et dépend de la protéine disulfure isomérase (PDI), présente dans toutes les cellules eucaryotes.

Comme le montre la figure ci-après, le pont disulfure dans le site actif de PDI peut être facilement transféré à une protéine par deux réactions successives de transfert thiol-disulfure.

(a) Formation of a disulfide bond



(b) Rearrangement of disulfide bonds

