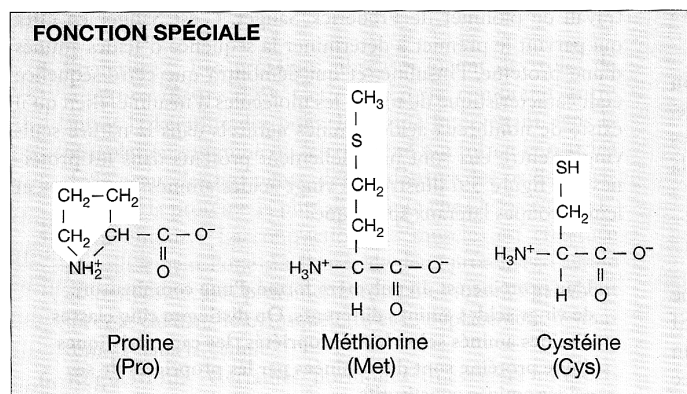
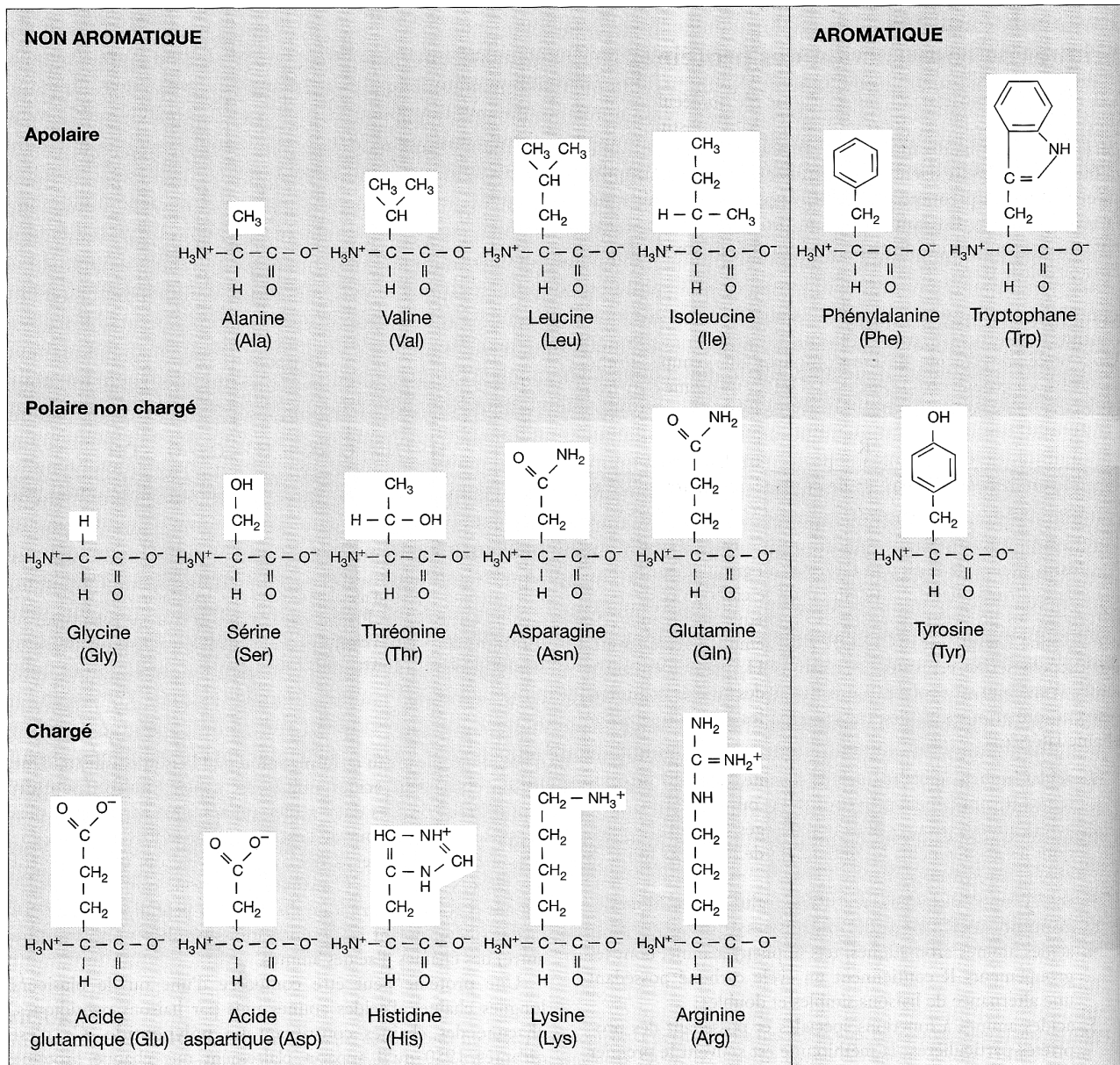
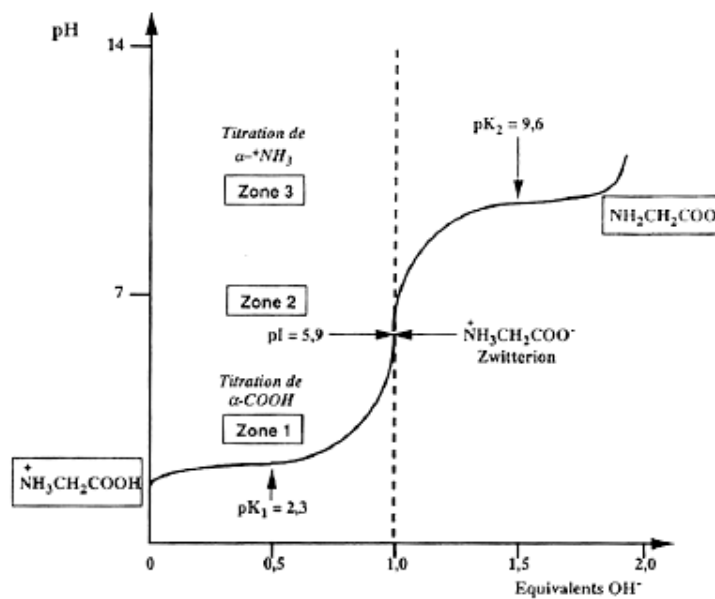


Figure 1 : Les 20 acides aminés des protéines
(in Raven De Boeck, 2007)

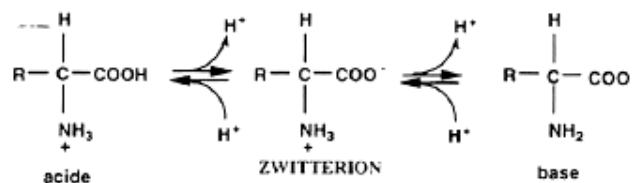


Les vingt acides aminés communs. Tous les acides aminés intervenant dans la constitution des protéines ont une structure de base commune; ils ne diffèrent que par leur groupement latéral R. Six de ces acides aminés sont apolaires parce que leur groupement R est composé essentiellement de $-\text{CH}_2$ et de $-\text{CH}_3$. Deux d'entre eux possèdent une structure cyclisée de type aromatique et sont particulièrement volumineux. Six autres acides aminés sont polaires car leur chaîne latérale comporte de l'oxygène ou seulement de l'hydrogène; ces acides aminés, qui ne sont pas chargés, diffèrent entre eux par leur degré de polarité. Cinq autres acides aminés polaires possèdent une extrémité acide ou basique et peuvent donc se charger en s'ionisant. Les trois derniers acides aminés ont des propriétés chimiques qui leur permettent de former des liens entre protéines ou d'assurer des repliements au sein d'une protéine.

Figure 2 : courbe de titration de la glycine
(in Guilloton et al., Dunod 1999)



Courbe de titration de la glycine. La forme entièrement protonée présente aux pH acides se transforme en forme dipolaire (ou zwitterion), majoritaire au pH isoélectrique (pI = 5,9) ; la neutralisation de cette dernière forme donne finalement la molécule entièrement déprotonée :



La courbe de neutralisation fait apparaître deux zones de faible pente (zones tampon) autour des pK caractérisant la fonction acide carboxylique (pK₁ = 2,3) et la fonction amine (pK₂ = 9,6).



Figure 3 : hydrophobicité des acides aminés
(in Augere B, Ellipses, 2001)

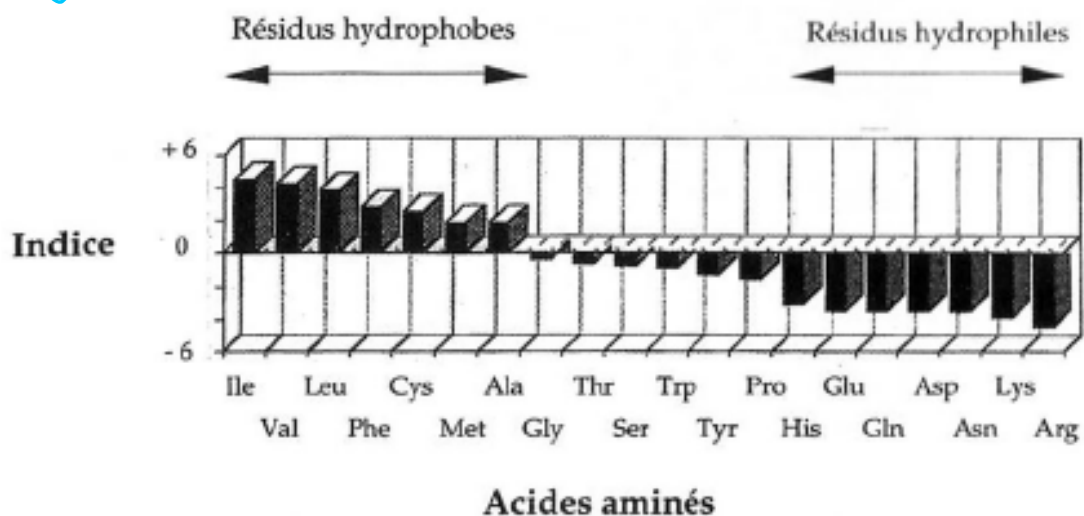


Figure 4 : Un polypeptide est une succession de plans dans lesquels s'inscrivent les liaisons peptidiques.

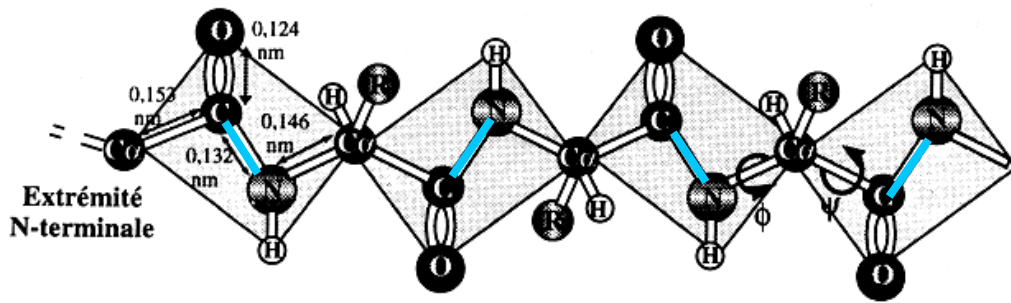


Figure 5 : la liaison peptidique est polaire

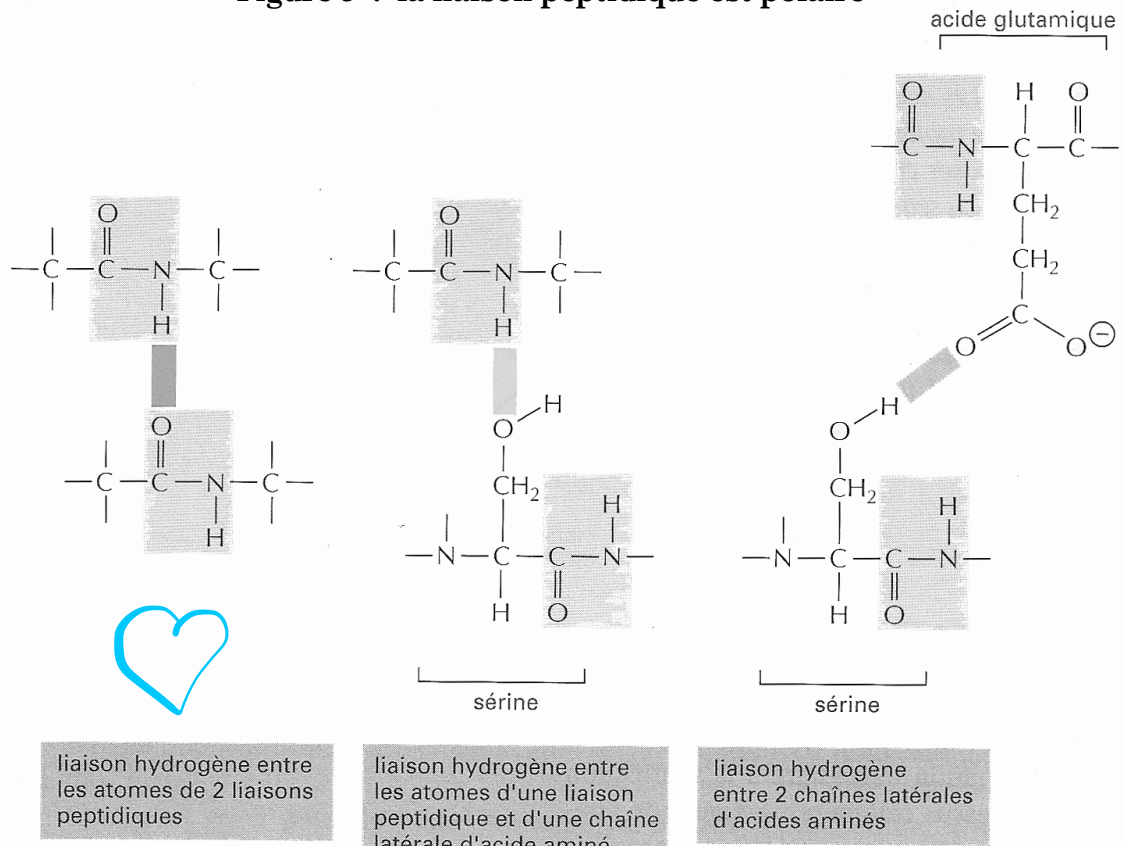
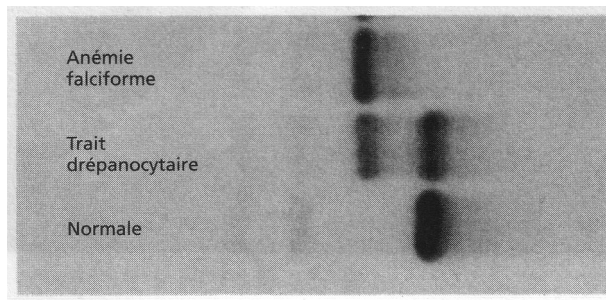


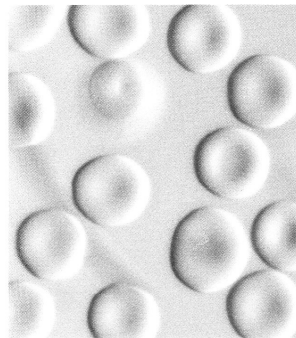
Figure 6 : la drépanocytose

Électrophorèse d'hémoglobine (chaîne β) e d'individu sain et d'individus atteints d'anémie falciforme (=drépanocytose) ou ayant le trait drépanocytaire

chaîne β normale (début de séquence) :
 ATGGTGCACCTGACTCCTG**A**GGA
 GAAGTCTGCCGTTA

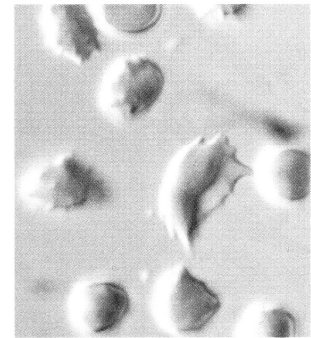
chaîne β mutée (début de séquence):
 ATGGTGCACCTGACTCCTG**T**GGA
 GAAGTCTGCCGTTA

hématies d'un individu sain



(a)

hématies d'un individu malade



(b)

10 μ m

Hémoglobine normale

Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	...	146
1	2	3	4	5	6	7	8		

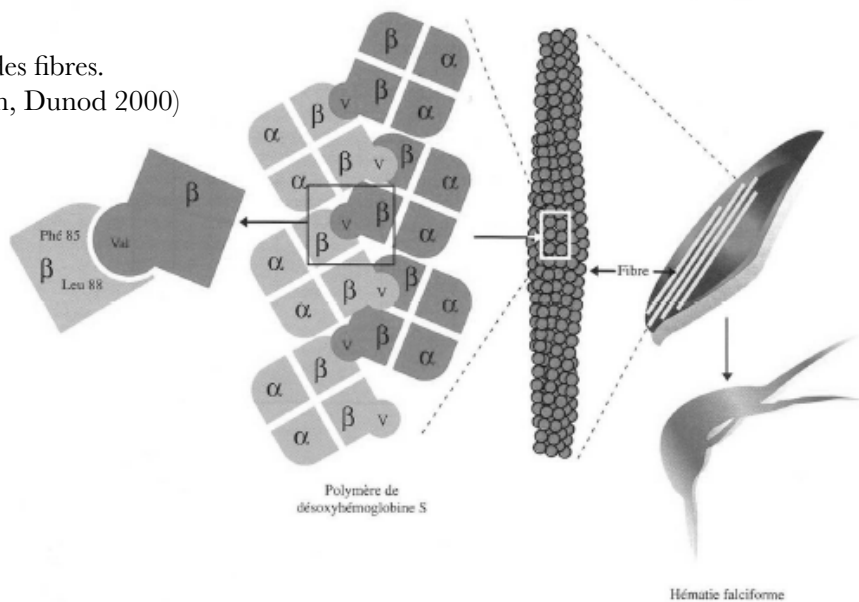
Hémoglobine de l'hématie falciforme

Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	...	146
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

(c)

Structure primaire de la chaîne β l'hémoglobine normale et de l'hémoglobine mutée de l'hématie falciforme

Formation des fibres.
 (in Weinmen, Dunod 2000)



A partir de l'ensemble des documents, expliquez l'origine du phénotype de la drépanocytose.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Schéma bilan sur la drépanocytose (Mme Bohn)

La drépanocytose, ou anémie falciforme : exemple d'une mutation et de ses conséquences aux différentes échelles.

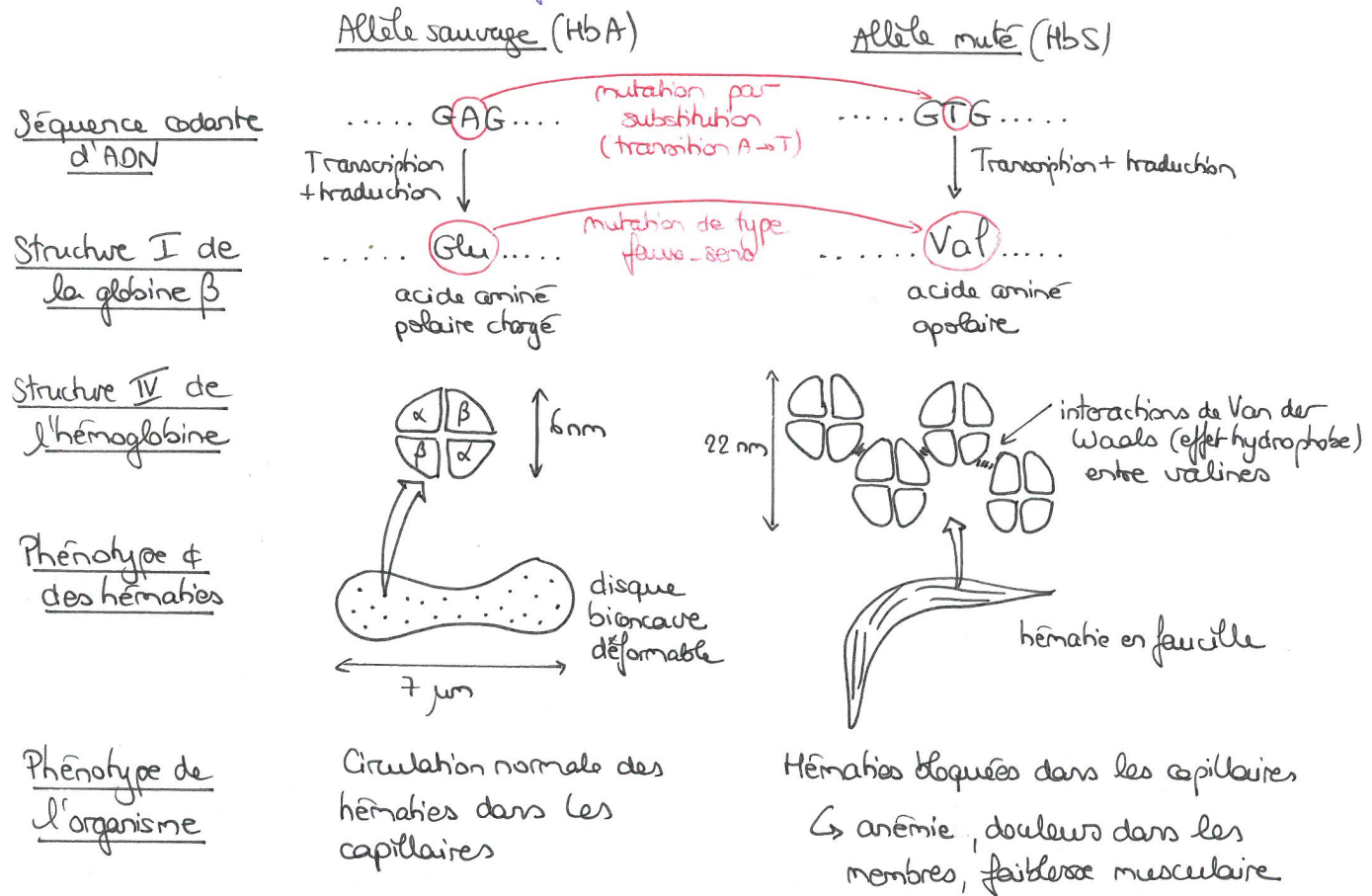
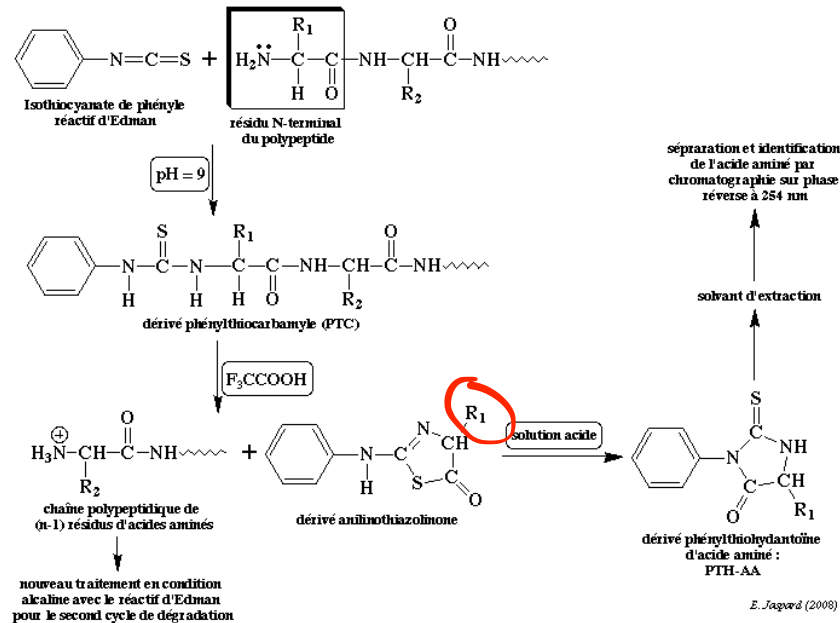


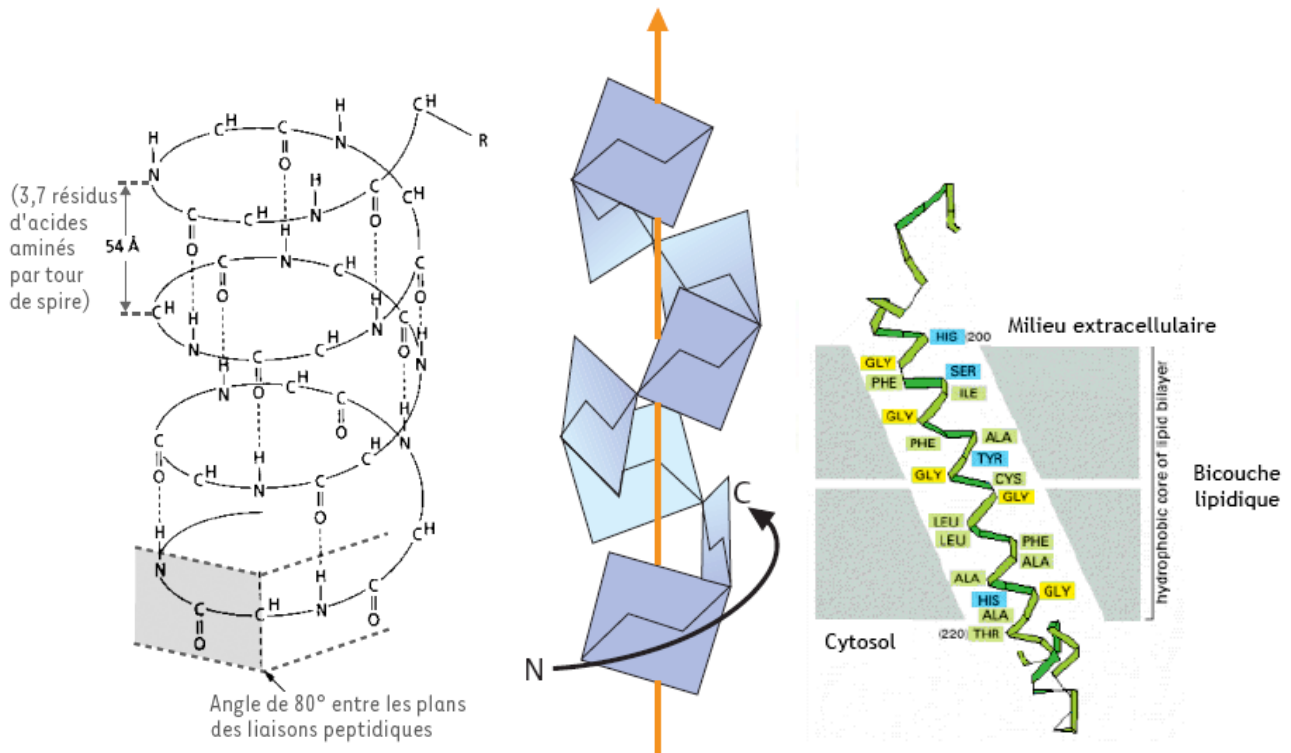
Figure 7 : Détermination de la séquence d'une protéine par la méthode d'Edman

Mise au point en 1949 puis automatisée en 1967.

Principe de la méthode : méthode récurrente dans laquelle on détermine la nature de l'acide aminé du côté N-terminal.

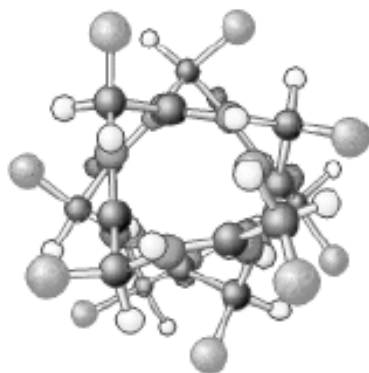


Schématisation de l'expérience

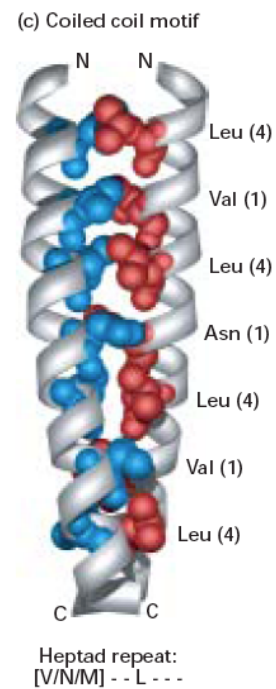
Figure 8 : les hélices alpha, une structure secondaire

Hélice alpha : une succession de plans en hélice dont sortent les chaînes latérales

Hélice alpha transmembranaire



Vue polaire



Structure coiled coil : deux hélices cytosoliques mettent en commun des acides aminés hydrophobes.

Représentation schématique à connaître

diamètre = 0,54 nm

3,6 aa / tour

liaison H tous les 4 aa

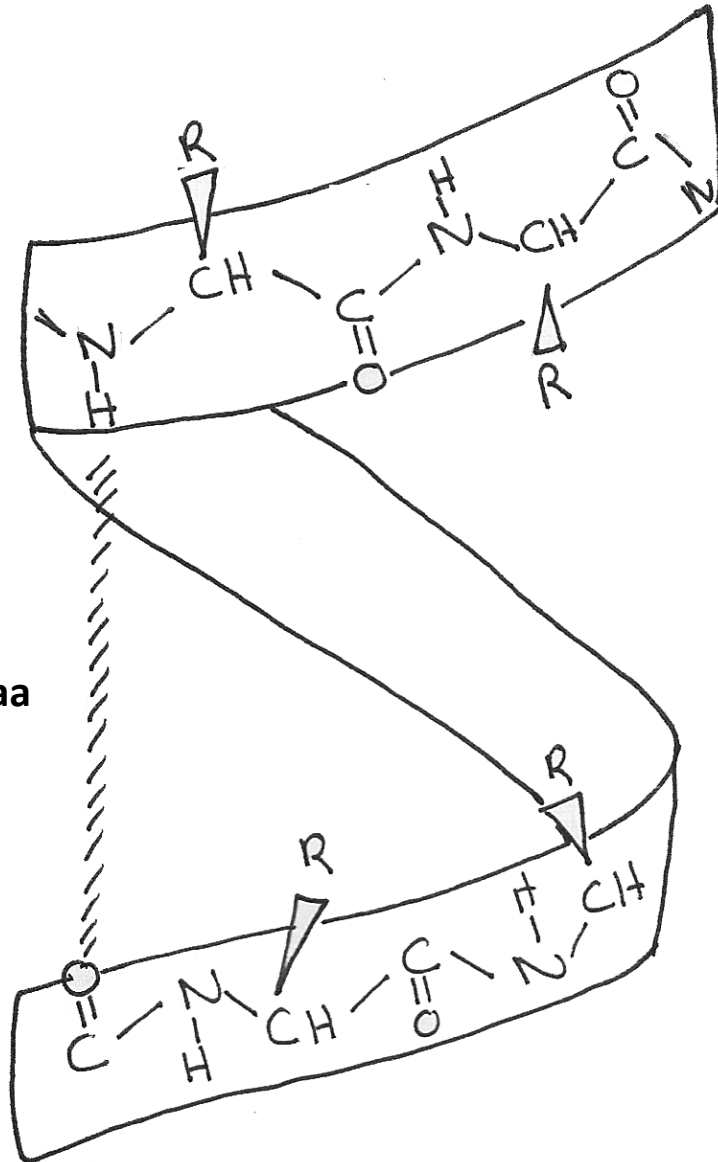
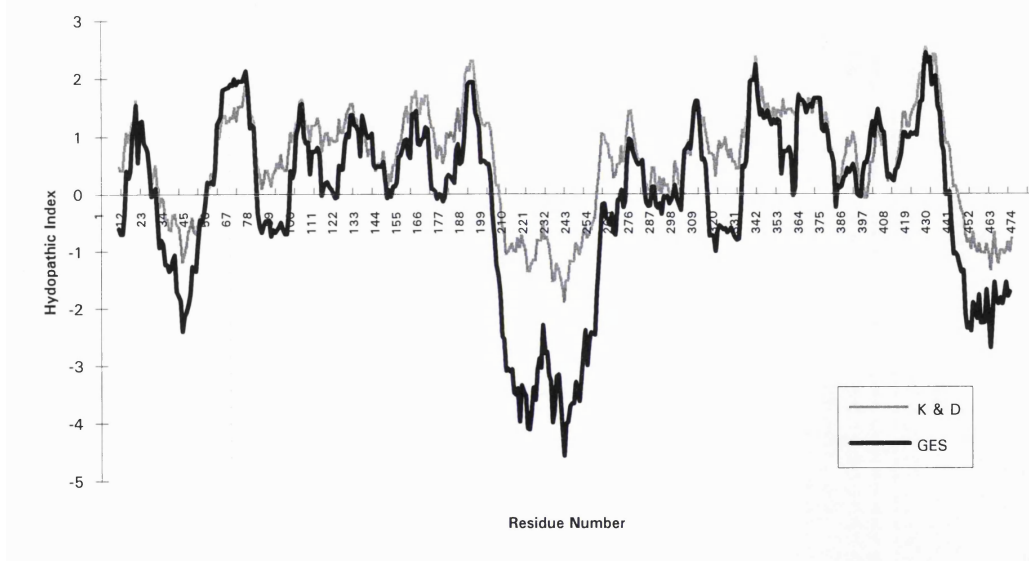
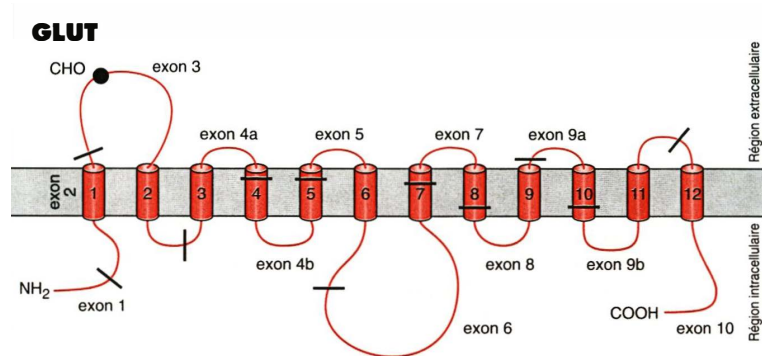


Figure 9 : structure du transporteur au glucose GLUT2
(in Richard et Preston, 1995 / in Medecine Sciences, 1995)

Profil d'hydrophobicité de la famille des transporteurs GLUT



Modèle de structure secondaire : 12 hélices transmembranaires



Modèle de structure tertiaire

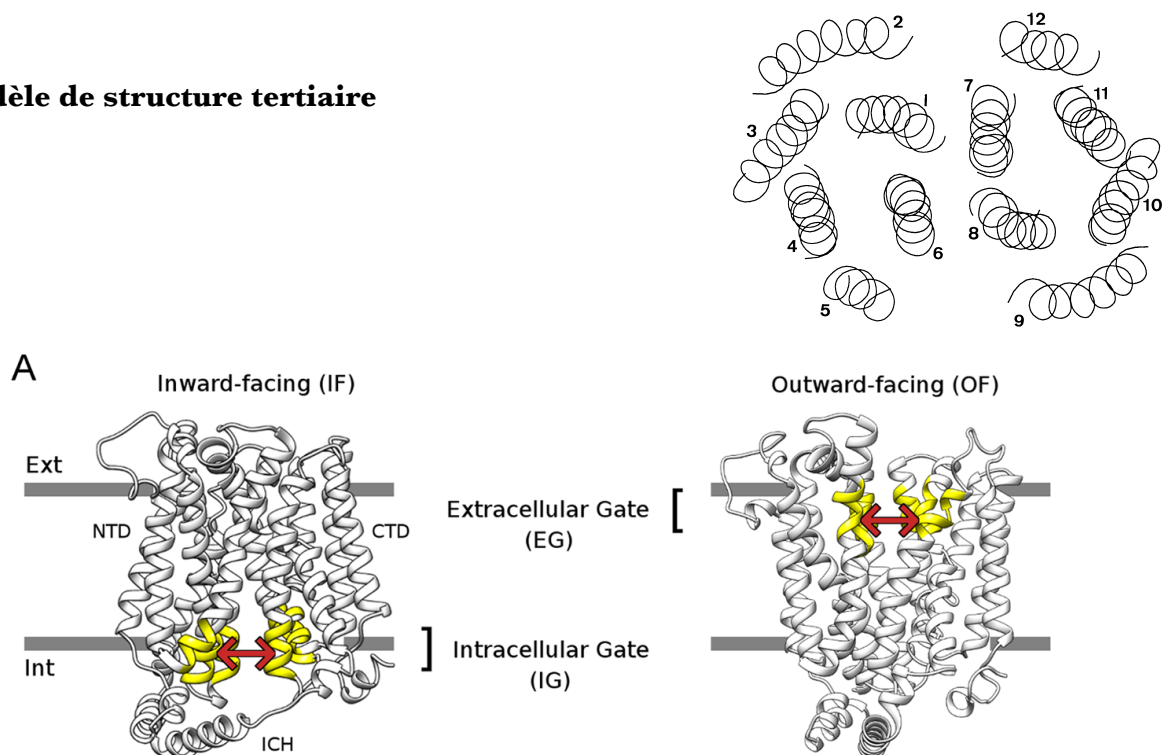
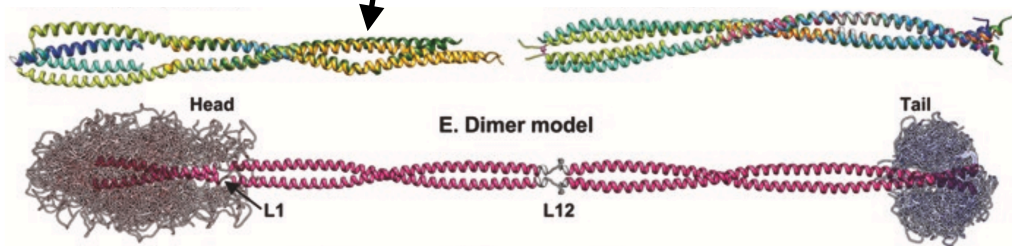
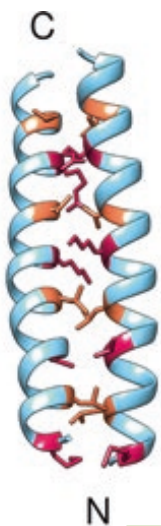
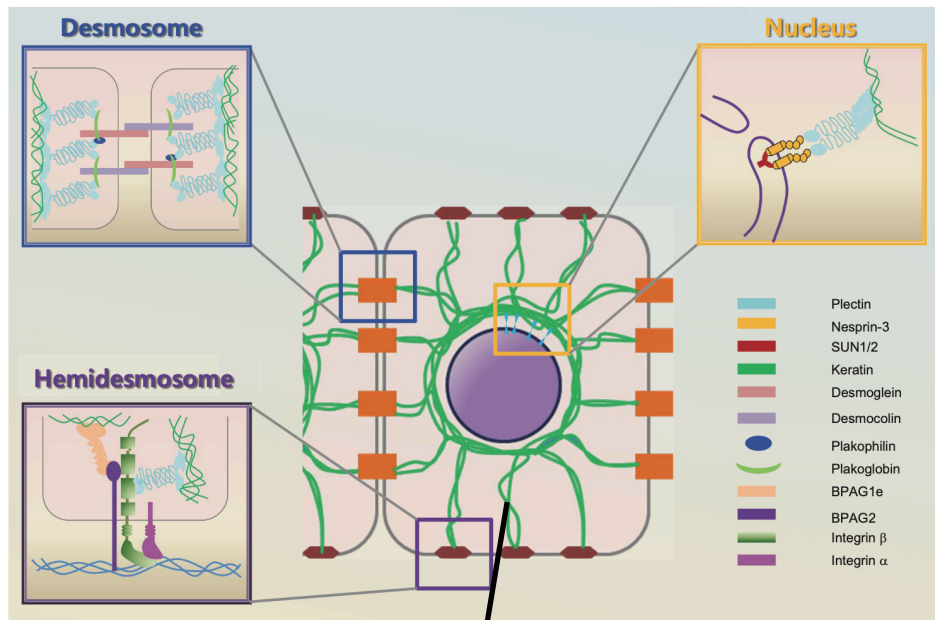


Figure 10 : structure des filaments intermédiaires

(in Kim et al., 2015 / in Guzenko et al., 2017)

Les filaments intermédiaires sont formés de protéines fibreuses (hélices alpha) qui s'associent par deux grâce à des hélices amphiphiles qui forment structures coiled coil. Les acides aminés hydrophobes s'associent par effet hydrophobe.



Noter l'importance de la nature des radicaux et l'importance des liaisons faibles (nombreuses donc structure stable).

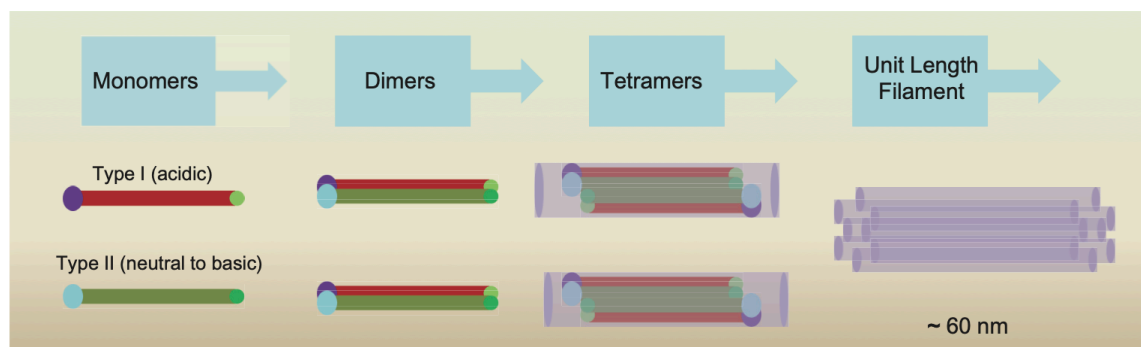


Figure 11 : structure de facteur de transcription à leucine zipper

Les protéines qui contrôlent l'expression de l'information génétique se fixent à l'ADN. Certaines de ces protéines se fixent sur l'ADN grâce à deux hélices amphiphiles (les acides aminés hydrophobes sont des leucines) : on parle de leucine zipper.

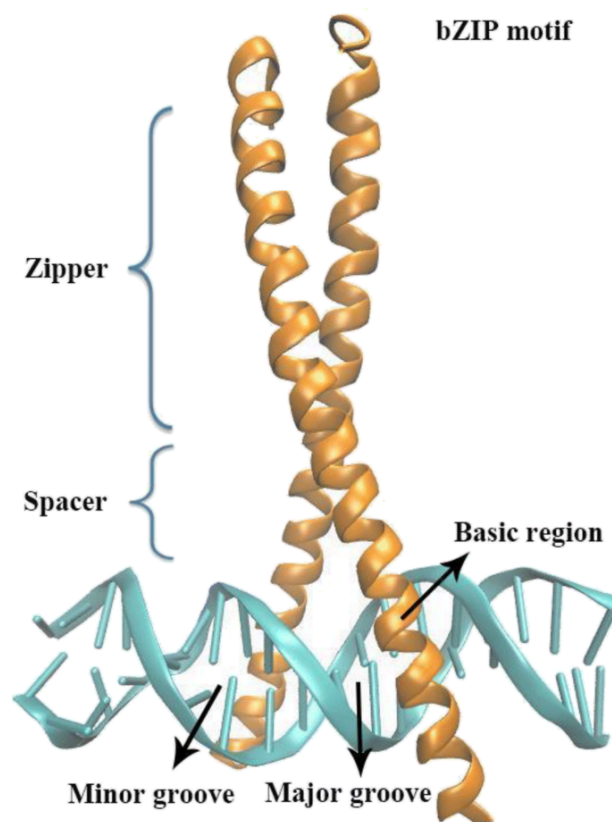
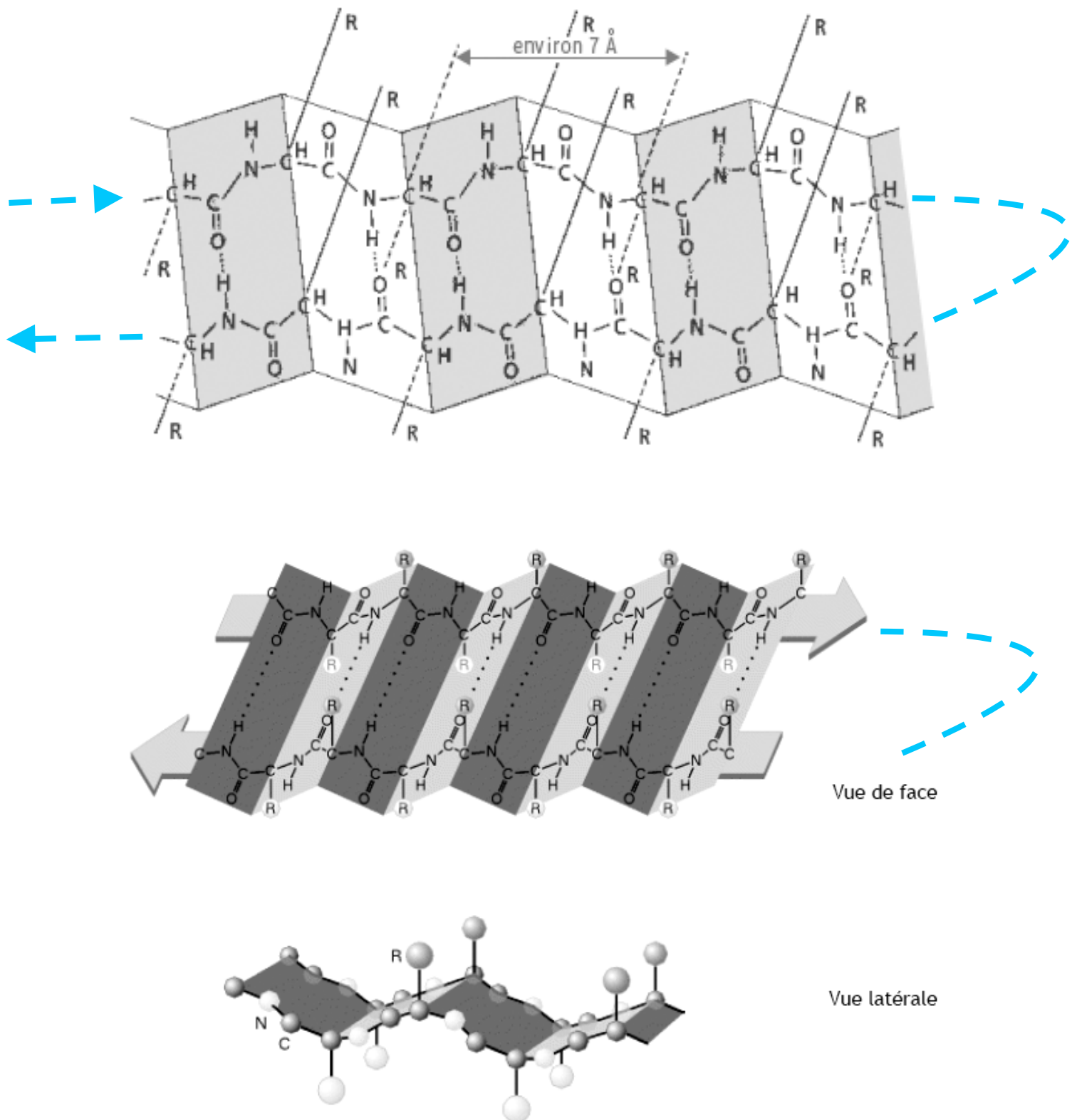
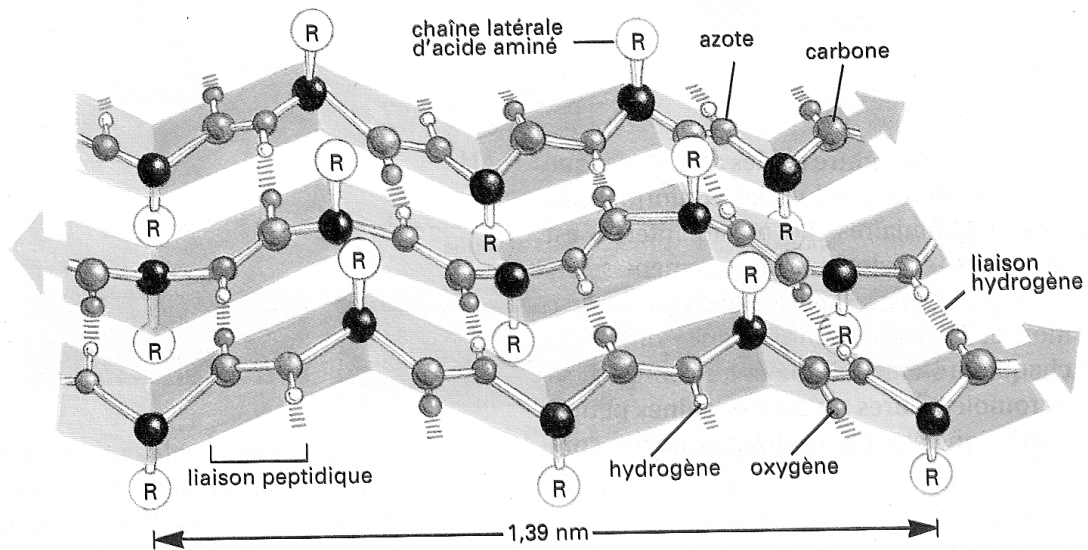
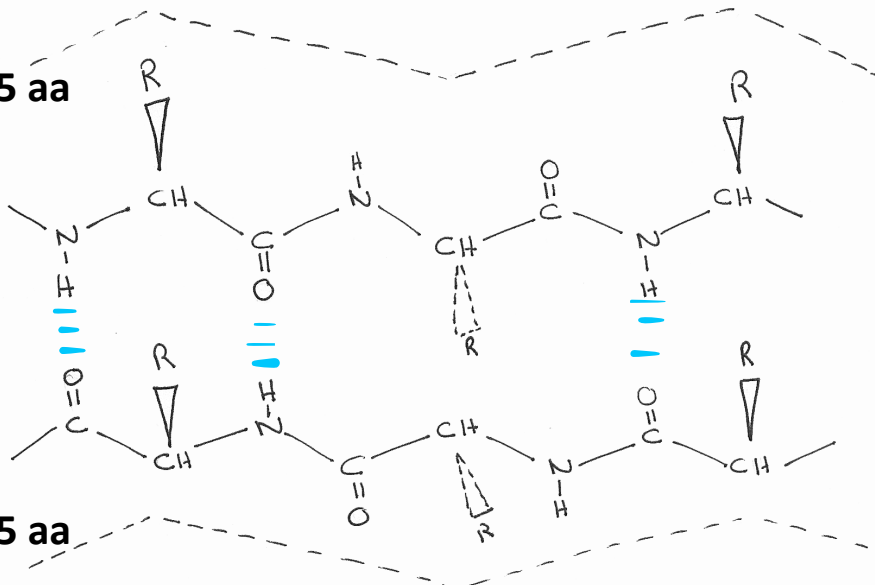


Figure 12 : les feuillets β , une structure secondaire formée de 2 brins β 



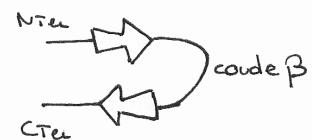
Représentation schématique

un brin = 4 à 5 aa



un brin = 4 à 5 aa

Brins antiparallèles



Brins parallèles

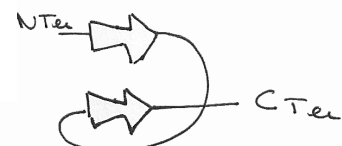
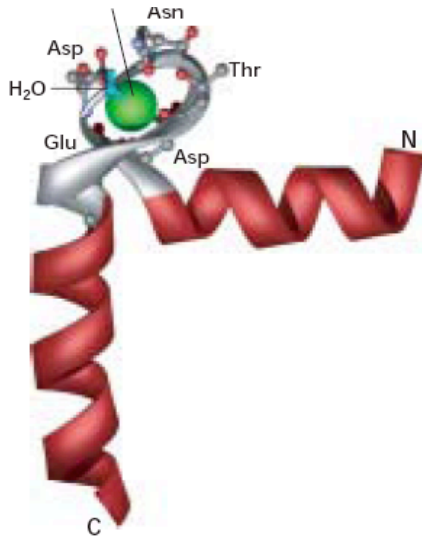


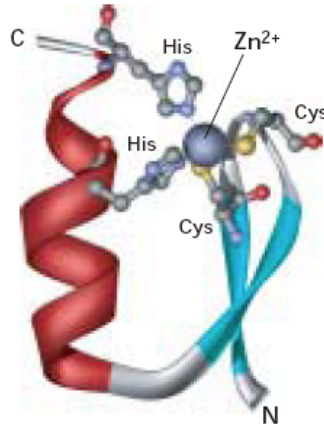
Figure 13 : associations des structures secondaires en motifs
(in Lodish)

(a) Hélice - boucle-hélice



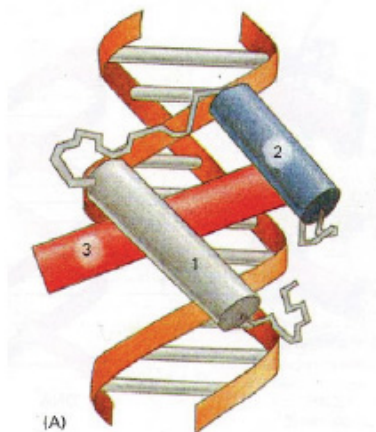
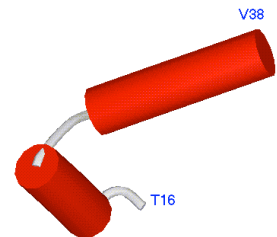
Deux hélice formant une boucle capable de fixer du calcium.
Exemple : calmoduline

(b) doigt de zinc

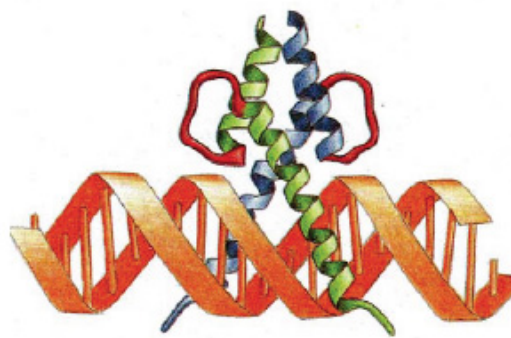


Une hélice associée à deux brins β antiparallèles
Exemple : facteurs de transcription

(c) Hélice - tour-hélice



Homéodomaine
Classe particulière de
protéines hélice-tour-
hélice



Hélice-boucle-hélice

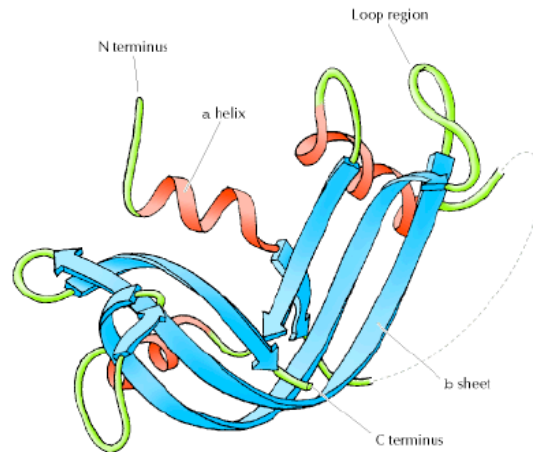
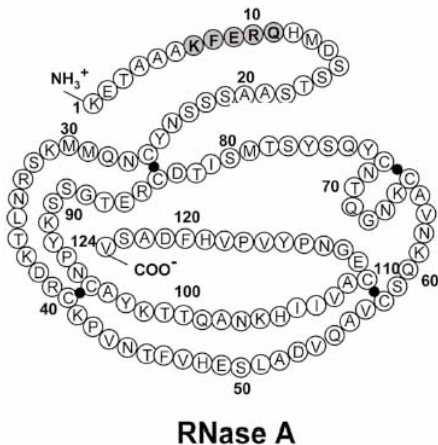
Figure 14 : expérience de dénaturation / renaturation de la ribonucléase A Anfinsen 1957

Matériel d'étude : une petite enzyme formée d'une chaîne repliée sur elle-même

La **ribonucléase A** est une petite enzyme formée d'une seule chaîne polypeptidique de 124 acides aminés possédant 4 ponts disulfure qui relient des portions différentes de la chaîne.

Intérêt :

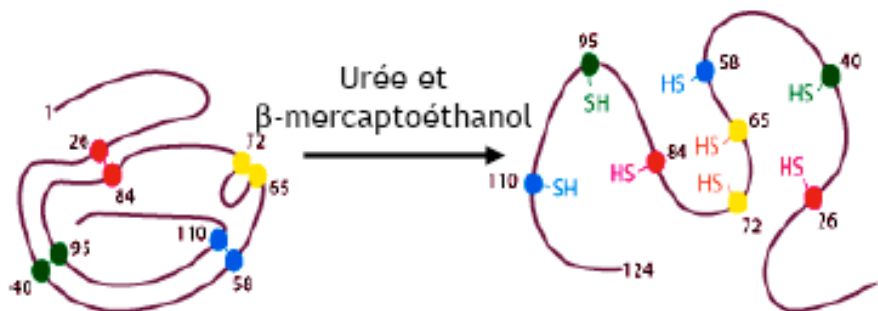
- une protéine de petite taille dont la structure est connue par cristallographie
- une activité facilement mesurable *in vitro* : cette enzyme a une activité estérase
- une structure III reposant sur des liaisons disulfure facilement rompues en présence d'un agent réducteur comme le mercaptoéthanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$).



Première expérience : dénaturation

La **dénaturation** (déplie la molécule) est réalisée en présence d'urée concentrée ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$ agent dénaturant : déstabilise les interactions hydrophobes et hydrogènes) et de mercaptoéthanol (rupture des liaisons disulfure).

La protéine est totalement dépliée et elle ne présente **aucune activité** enzymatique.



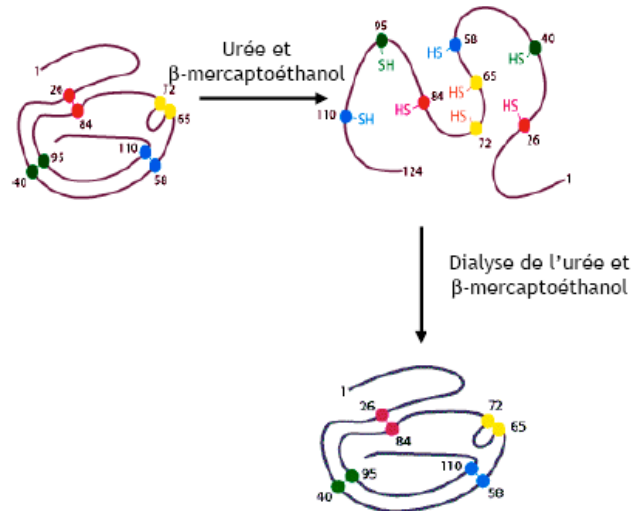
Interprétation :

Deuxième expérience : renaturation en absence d'urée et de mercaptoéthanol

La solution contenant l'enzyme dénaturée (expérience 1) est dialysée pour éliminer les agents dénaturants. On observe que la solution **recouvre** son **activité** estérase.

Ceci suggère donc que les ponts disulfure se sont reformés (par oxydation) et à des positions correctes.

Une étude minutieuse montre qu'il n'est pas possible de distinguer, ni par leur structure, ni par leur fonctionnement les enzymes actives formées à partir des enzymes dénaturées des enzymes correctement repliées (= protéines natives) présentes au début de l'expérience.

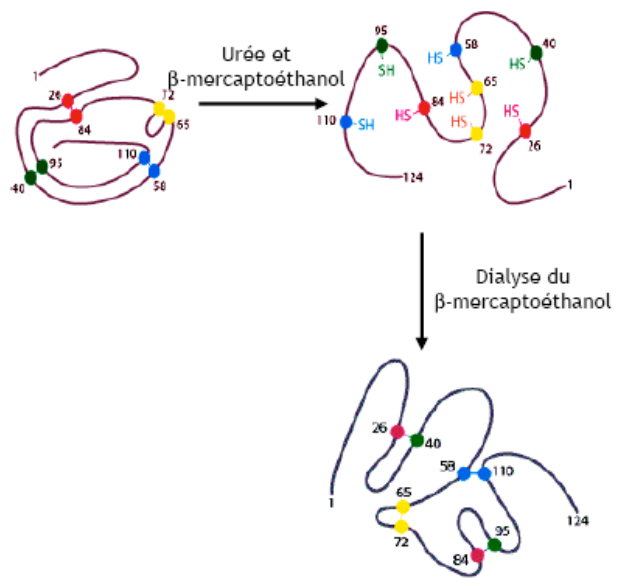


Bilan :

Troisième expérience : renaturation en présence d'urée

Lorsque l'urée n'est pas éliminée (et donc la protéine reste dénaturée), les ponts disulfure ne se forment pas correctement.

Interprétation :

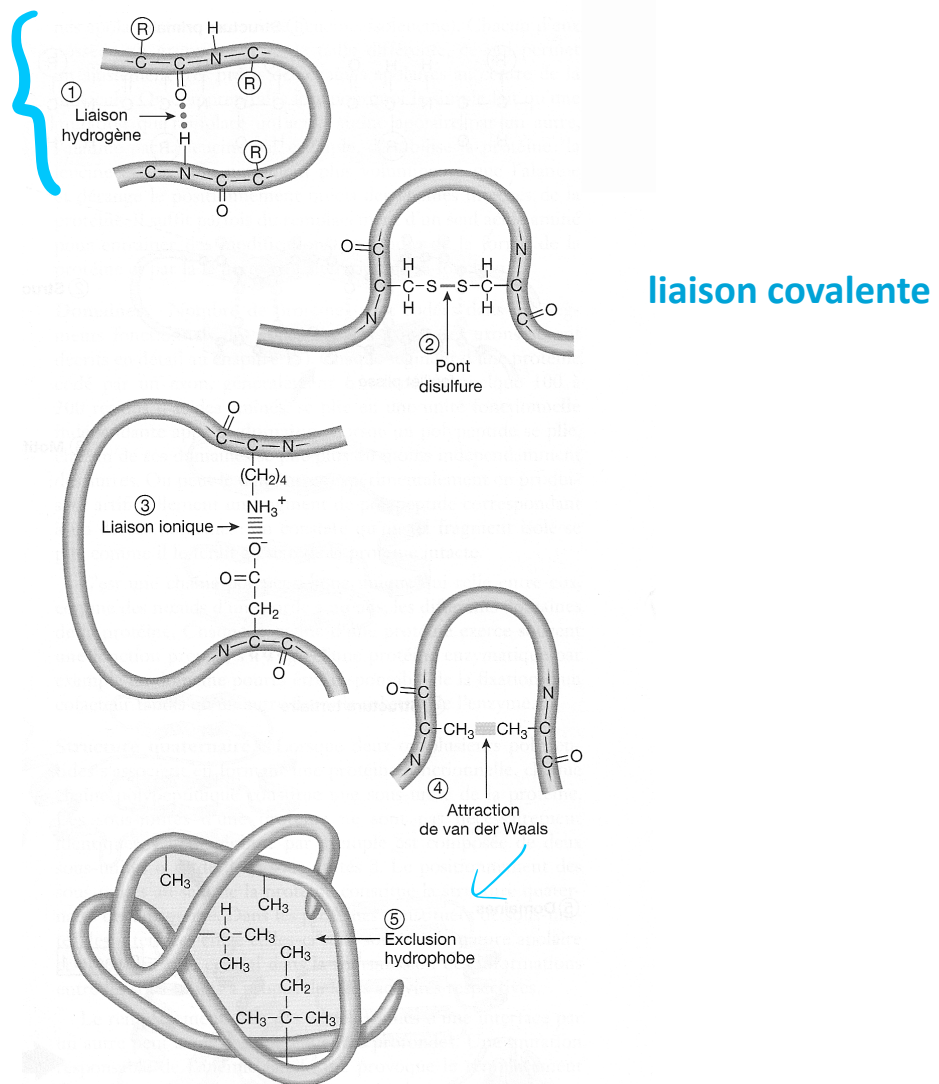


Bilan : Postulat d'Anfinsen

All the information necessary to achieve the native conformation of a protein in a given environment is contained in its amino acid sequence

Figure 15 : stabilisation de la structure III par différents types de liaisons
(in Raven, De Boeck, 2007)

pour hélice alpha et
feuillet bêta
surtout



Interactions au sein des protéines contribuant à leur conformation. Outre les liaisons entre acides aminés qui assurent la structure primaire de la protéine plusieurs autres forces, plus faibles, entrent en jeu pour déterminer la conformation de la protéine. (1) Des liaisons hydrogène peuvent se réaliser entre résidus d'acides aminés. (2) Des ponts disulfure, relativement forts, peuvent se former entre chaînes latérales d'acides aminés cystéine. (3) Des liaisons ioniques peuvent également se réaliser. (4) Des forces de van der Waals se développent; il s'agit d'attractions faibles entre atomes dont les nuages d'électrons sont inversement polarisés. (5) Des portions polaires de la protéine tendent à se disposer en périphérie de la protéine et à interagir avec l'eau, alors que les portions hydrophobes de la protéine, en ce compris les chaînes d'acides aminés apolaires s'orientent vers le centre.

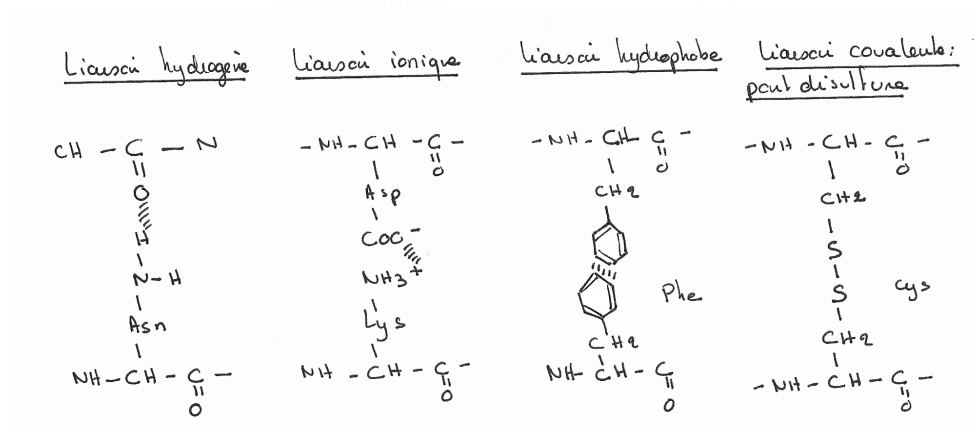


Figure 16 : scénario probable pour le repliement des protéines

(in Benhabiles et al., Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2000 4 (2), 71–81 /
in Medecine Science 2005)

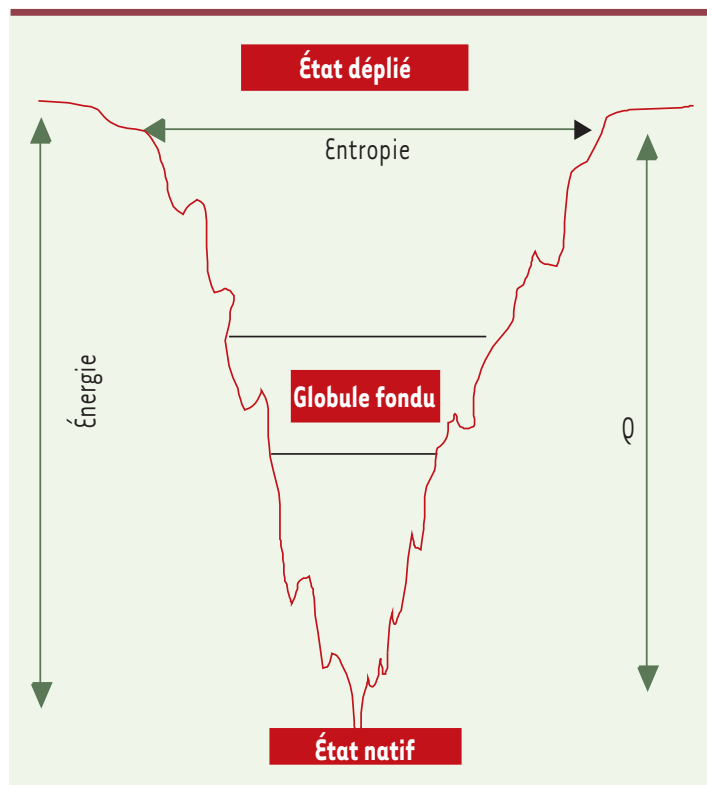
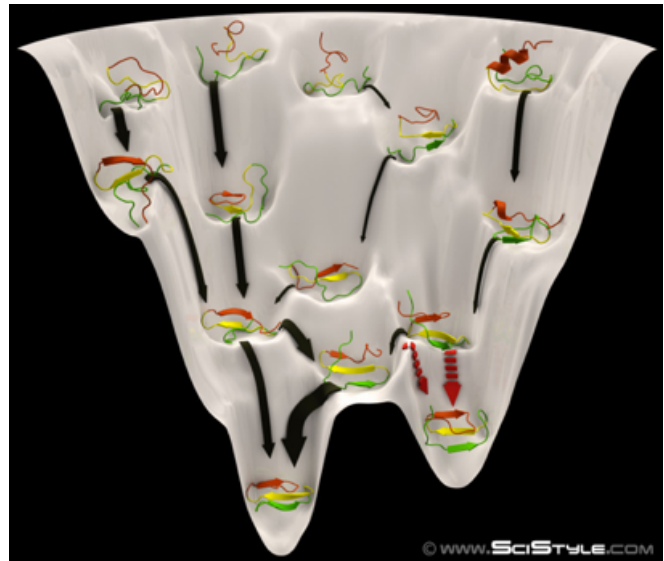
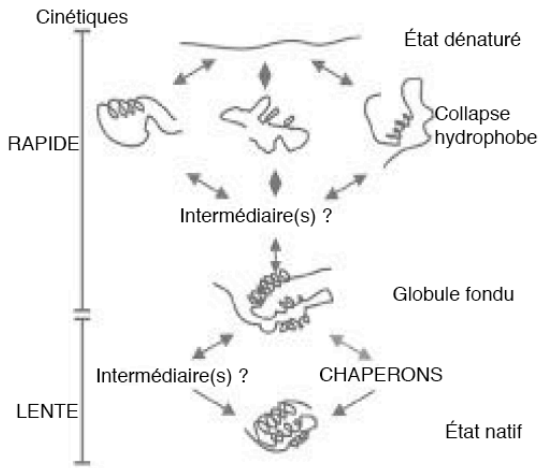
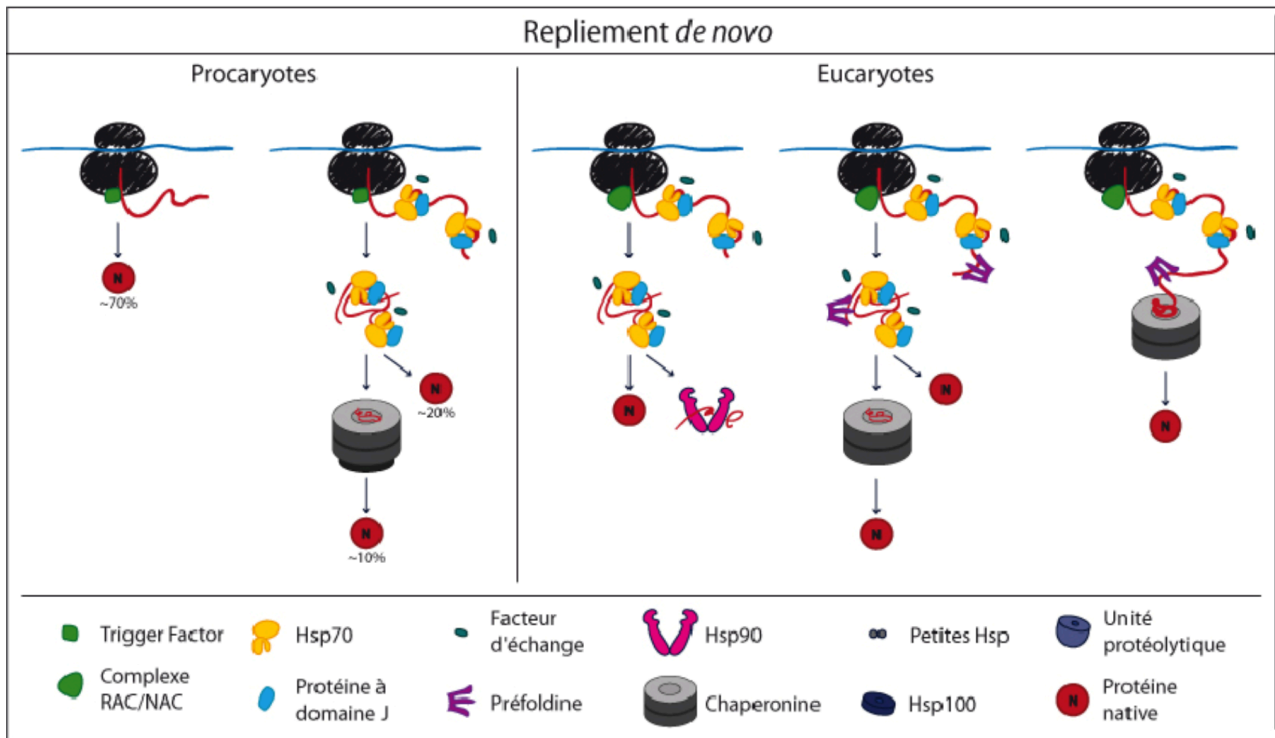
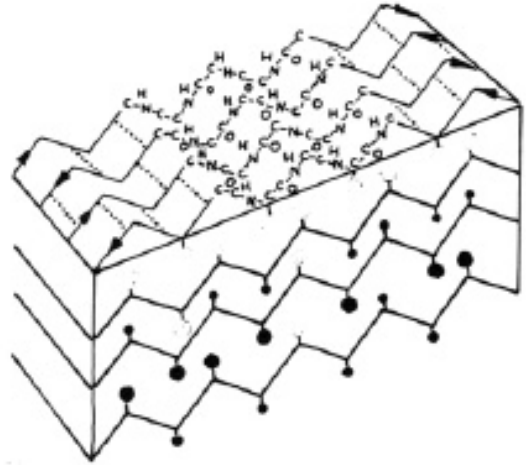
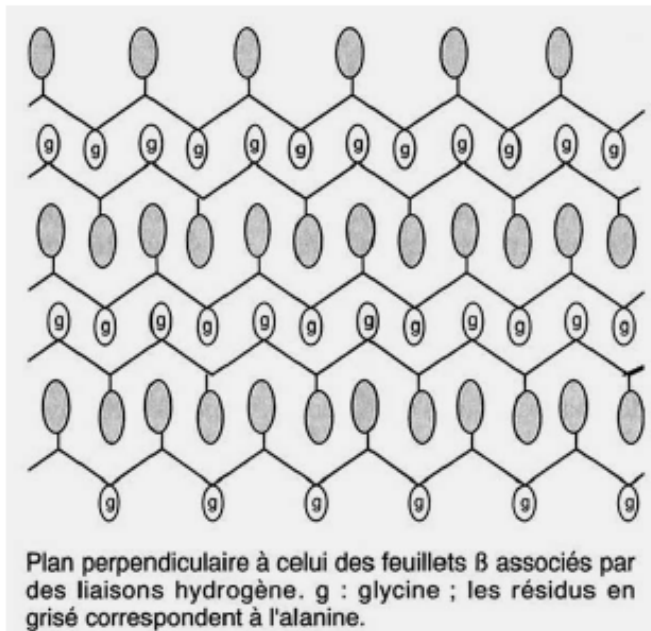


Figure 2. L'entonnoir de repliement. La largeur de l'entonnoir représente l'entropie de la chaîne polypeptidique, la hauteur l'énergie. Q est la fraction de contacts natifs pour chaque collection d'états.

Figure 17 : rôle des chaperons
(in thèse de Céline Martineau 2010)



Repliement *de novo*. Chez les procaryotes, les chaînes naissantes interagissent avec le Trigger Factor à la sortie du ribosome. Environ 70% des protéines pourraient adopter leur conformation native sans assistance supplémentaire. Le système Hsp70 prend également en charge les chaînes naissantes. Il permet le repliement de 20% des protéines, les 10% restant nécessitant l'action des chaperonines GroEL/GroES. Chez les eucaryotes, les complexes RAC et NAC remplacent le Trigger factor. Le système Hsp70 permet le repliement d'une fraction des protéines, et peut transférer certaines chaînes aux Hsp90. Le repliement et le transfert des substrats aux chaperonines peuvent être assistés par la préfoldine.

Figure 18 : structure de la fibroïneUn “mille feuilles” de feuillets β **Figure 19 : mise en évidence d'une structure IV par SDS page**

La structure d'une enzyme (la dopamine- β -hydroxylase) est étudiée par électrophorèse.

- A : marqueurs de masse moléculaire
- B et C : SDS avec β -mercaptoéthanol
- D et E : SDS sans β -mercaptoéthanol
- C et D : enzyme humaine
- B et E : enzyme de rat

En comparant de manière judicieuse les résultats obtenus, déterminer si cette enzyme possède une structure IV.

Quel type d'électrophorèse permettrait d'affiner les résultats?

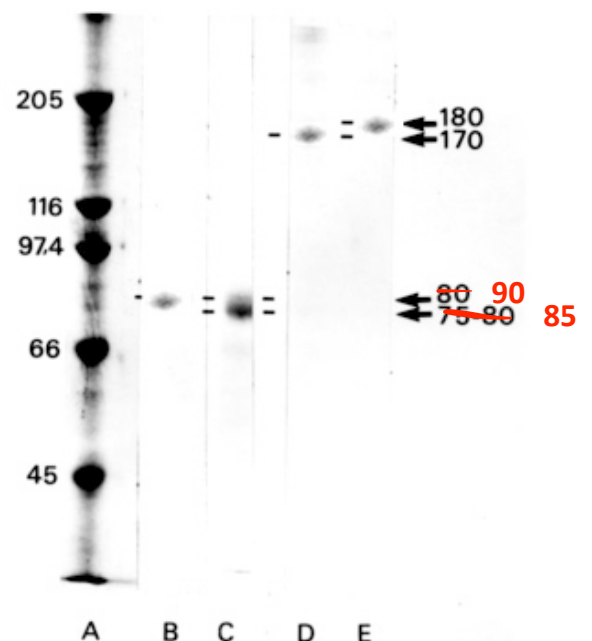
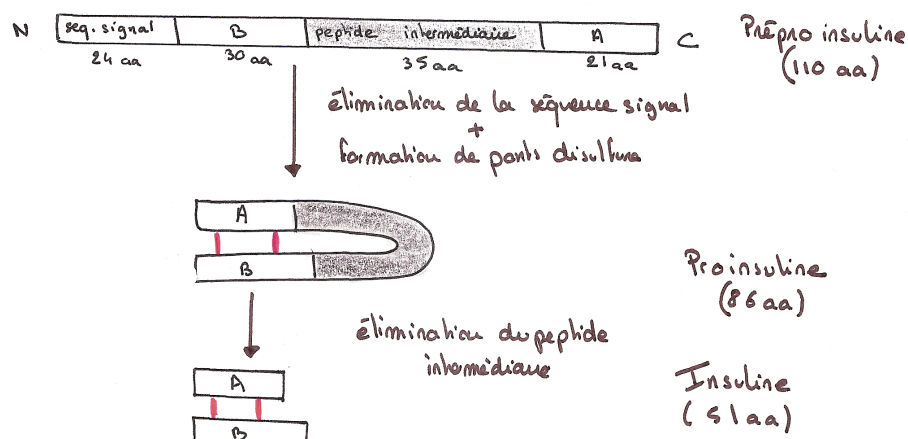
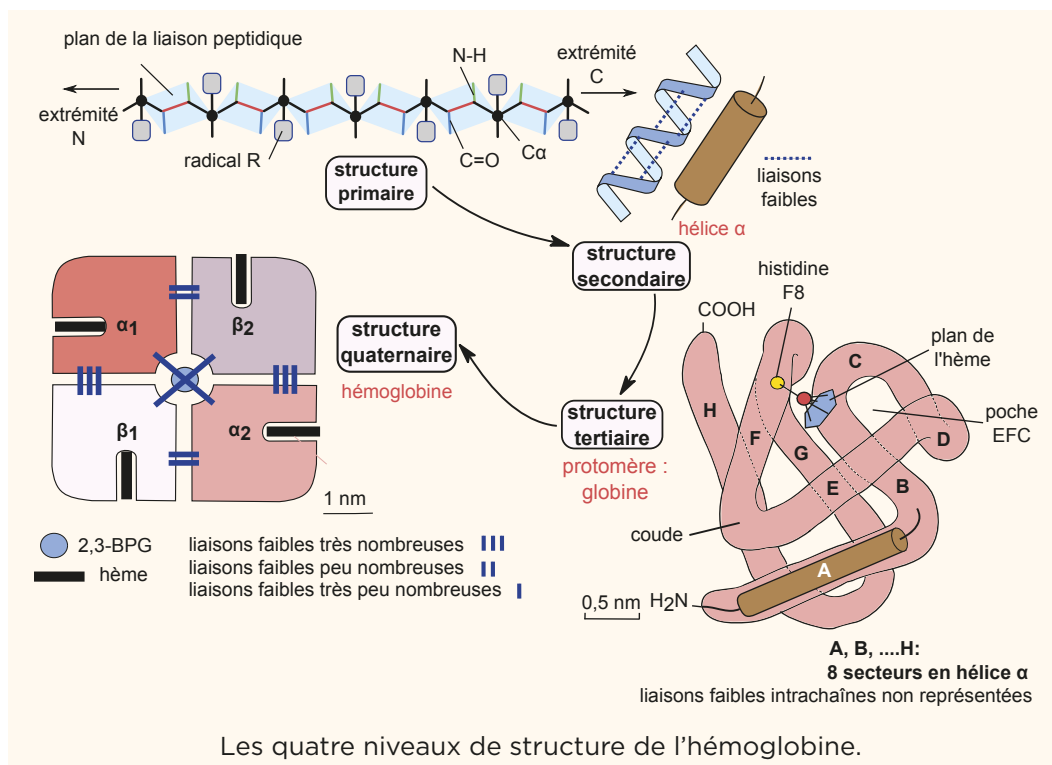


Figure 20 : Maturation de l'insulineNiveaux structuraux de l'insuline

L'insuline est formée de 2 chaînes polypeptidiques reliées entre elles par 2 ponts disulfures et 1 pont disulfure intrachaîne dans la chaîne A : une chaîne A de 21 acides aminés une chaîne B de 30 acides aminés. Les deux chaînes sont issues d'une même chaîne polypeptidique (= proinsuline) qui est ensuite clivée.

Figure 21: structure de l'hémoglobine
(in Dunod, 2021)

Les quatre niveaux de structure de l'hémoglobine.

Les différents niveaux structuraux des protéines

Structure IV : assemblage des sous-unités protéiques

Structure III : conformation tridimensionnelle biologiquement active = repliement de la molécule dans l'espace

→ liaisons H, hydrophobes, covalentes

Structure II : union de régions contigües dans la chaîne

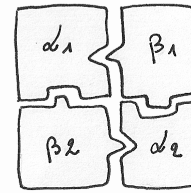
→ liaisons H
hélice α

Feuillet β

Structure I : séquence d'acides aminés

Exemple de l'hémoglobine

Hb = 2 chaînes α + 2 chaînes β

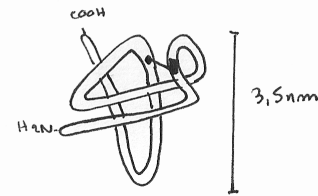


nombreuses liaisons H

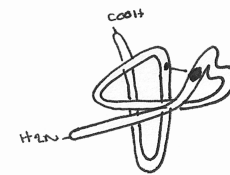
liaisons H très peu nombreuses

liaisons H peu nombreuses

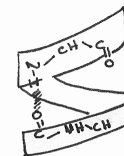
Chaîne α



Chaîne β



hélice α



pas = 0,5 nm
= 3,6 résidus / tour

pas de feuillet β

Figure 22 : schéma bilan structure de l'hémoglobine
(in Dumod, 2021)

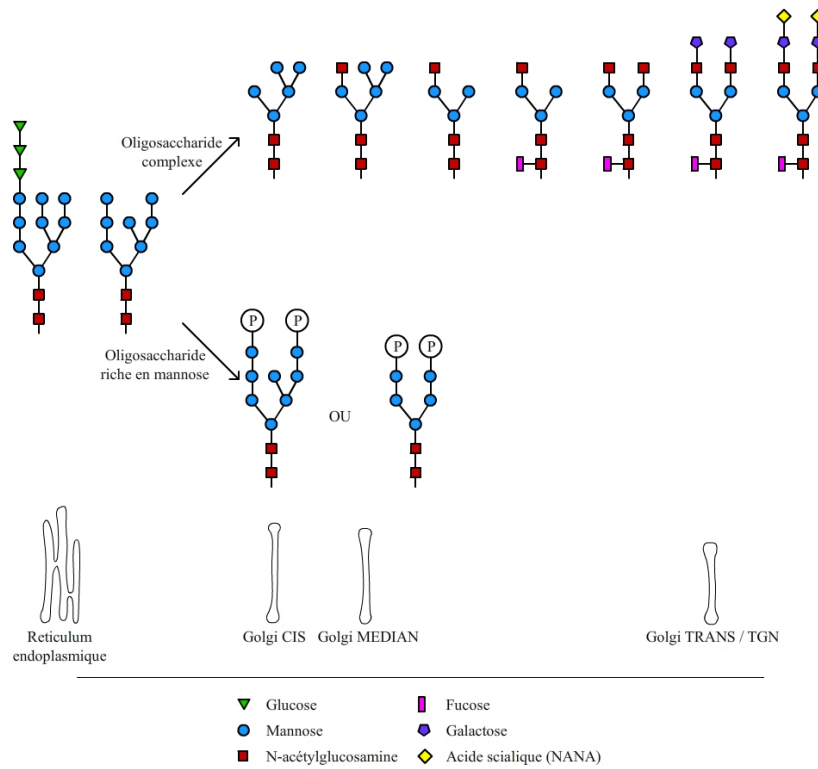
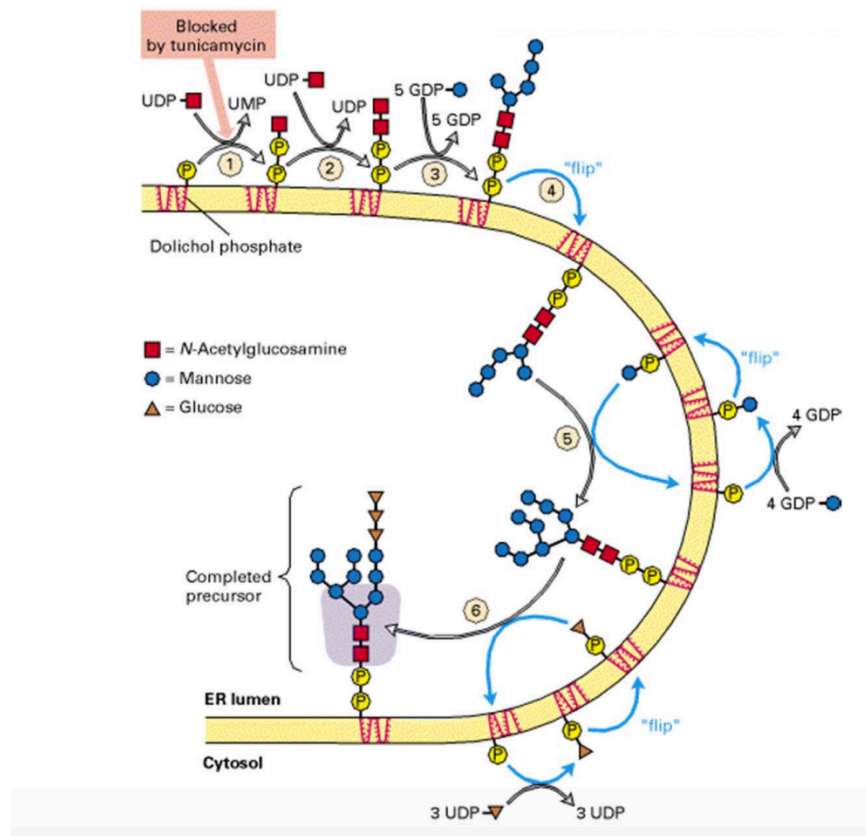
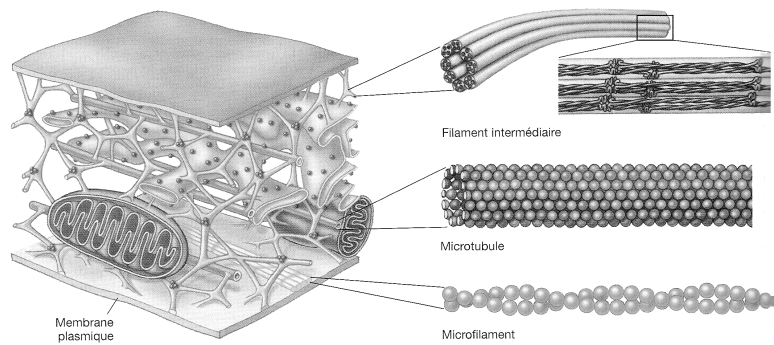
Figure 23 : glycosylation des protéines dans le RER et l'appareil de Golgi

Figure 24 : structure des filaments intermédiaires
(in Alberts 2002)



Les molécules constitutives du cytosquelette. *Microfilaments*: constitués de deux brins torsadés constitués chacun d'un chapelet d'une protéine globulaire, l'actine. On trouve des microfilaments un peu partout dans la cellule mais en particulier sous la membrane plasmique où ils sont regroupés en faisceaux dénommés fibres de tension, qui peuvent avoir une fonction contractile. *Microtubules*: les microtubules sont composés de sous-unités de tubuline, protéines disposées côte à côte pour former un tube. Il s'agit d'éléments relativement rigides du cytosquelette, impliqués dans l'organisation du métabolisme, le transport intracellulaire et la stabilisation de la structure cellulaire. *Filaments intermédiaires*: les filaments intermédiaires sont composés de tétramères imbriqués et décalés de protéines. Cette disposition confère une force mécanique énorme à la cellule.

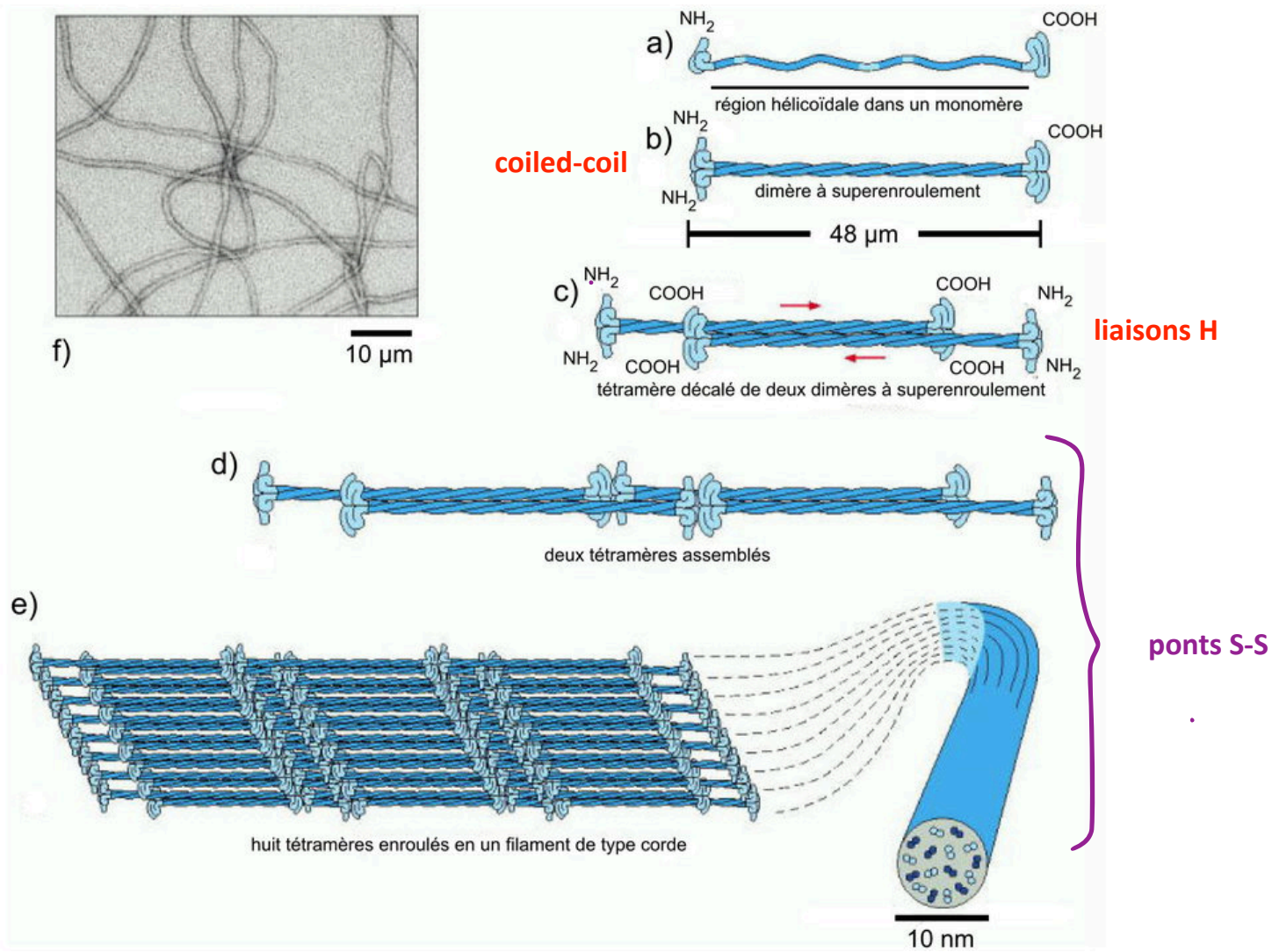
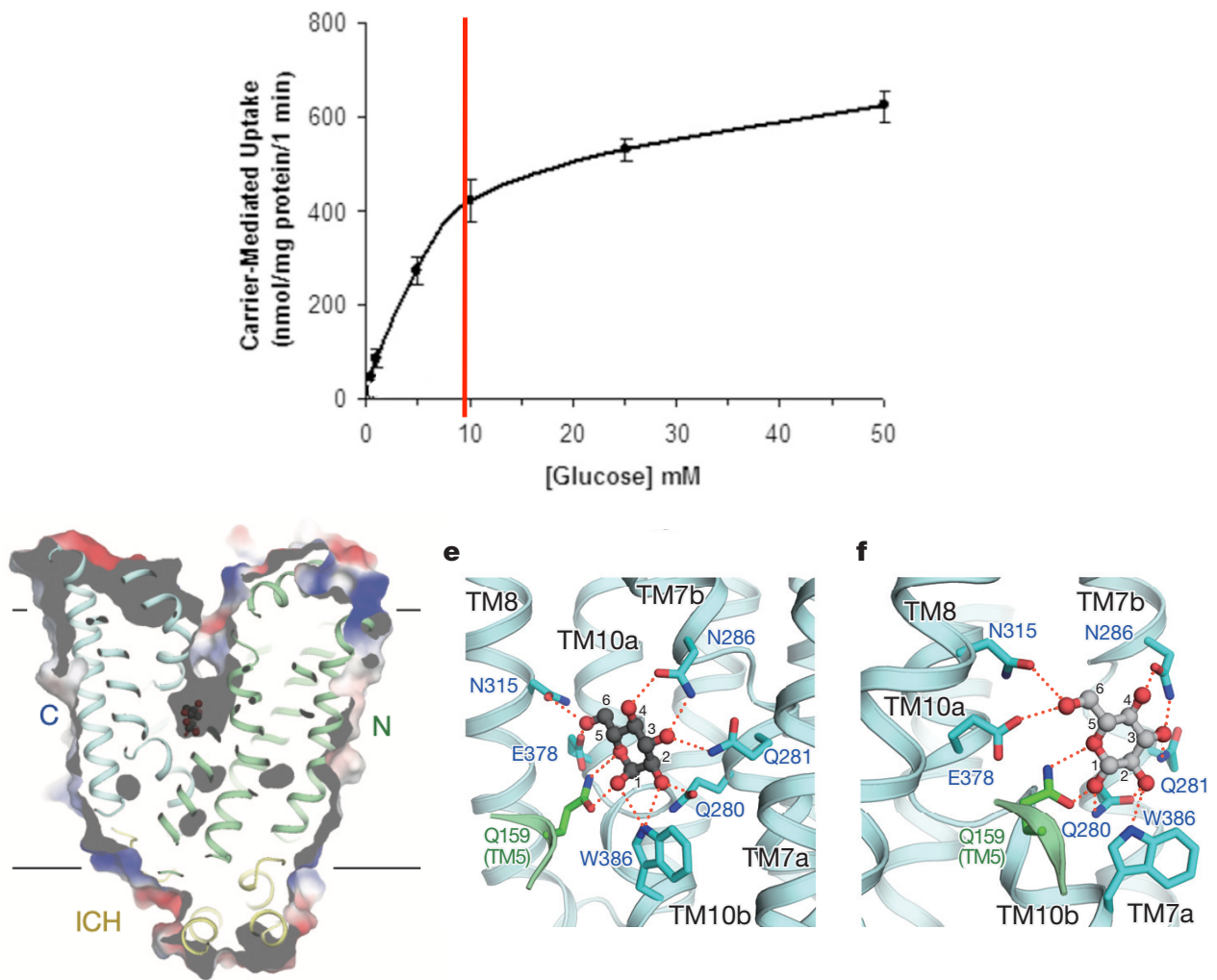


Figure 25 : courbe de saturation du récepteur GLUT2
(in Zheng et al., 2012)



The alpha- (**e**) and bêta- (**f**) anomers are coloured black and silver, respectively. Hydrogen bonds are represented by red dashed lines.

g, Coordination of glucose by GLUT3 through van der Waals interactions. The residues from the N-terminal and C-terminal domains are coloured green and cyan, respectively.

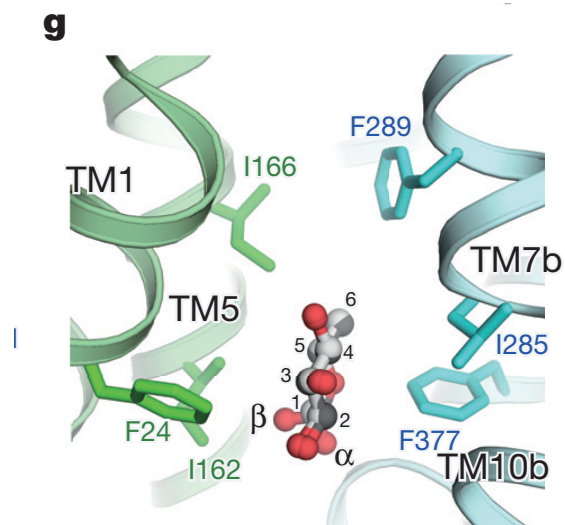
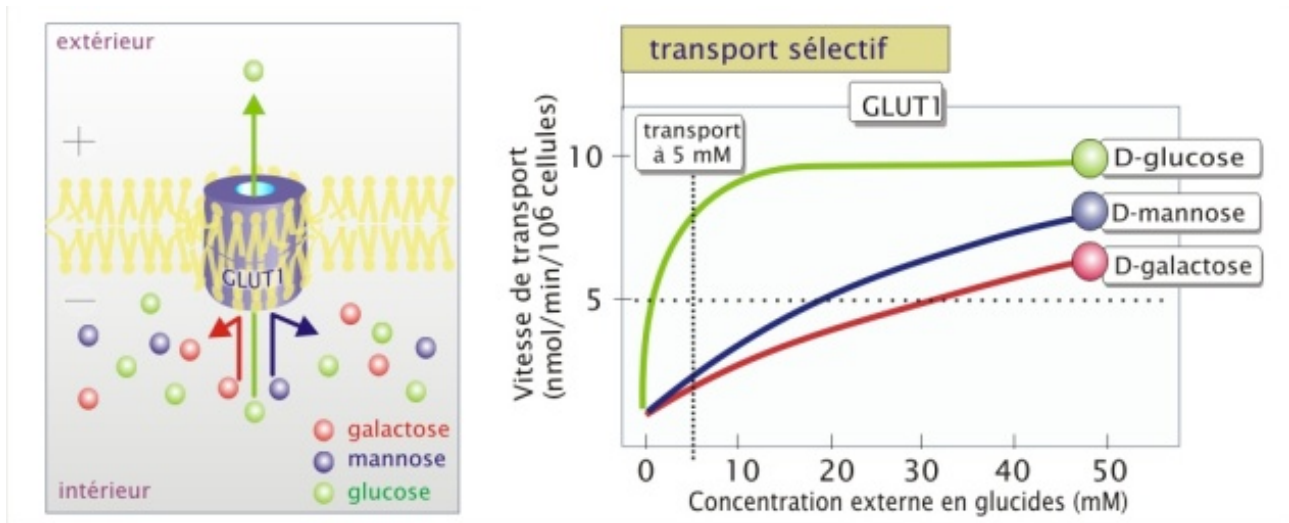
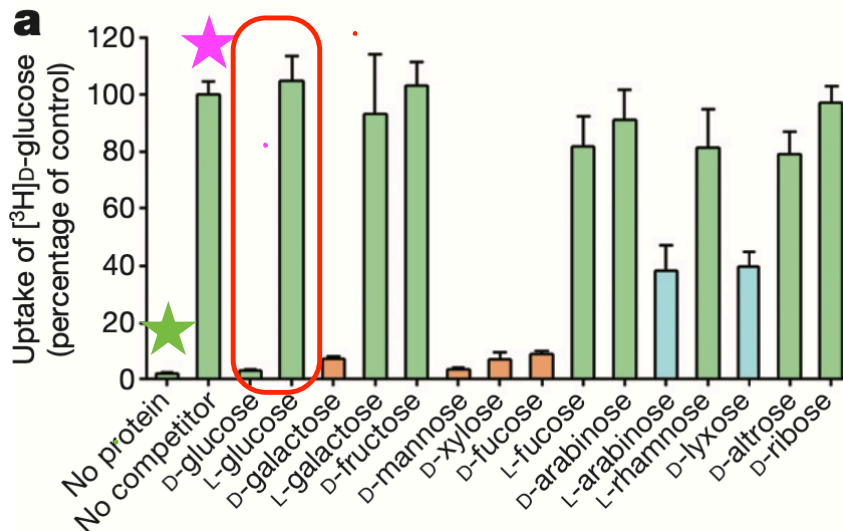


Figure 26 : affinité du récepteur GLUT 1

On mesure le transport de D-glucose marqué au tritium dans des membranes artificielles exprimant le transporteur GLUT3 dans différentes conditions :

- sans transporteur GLUT 3 (no protein) ★
- avec le transporteur GLUT 3 seul (no competitor) ★
- avec différents oses non marqués (D-Glucose, L-glucose etc...)

Le transport est présenté en % du contrôle.

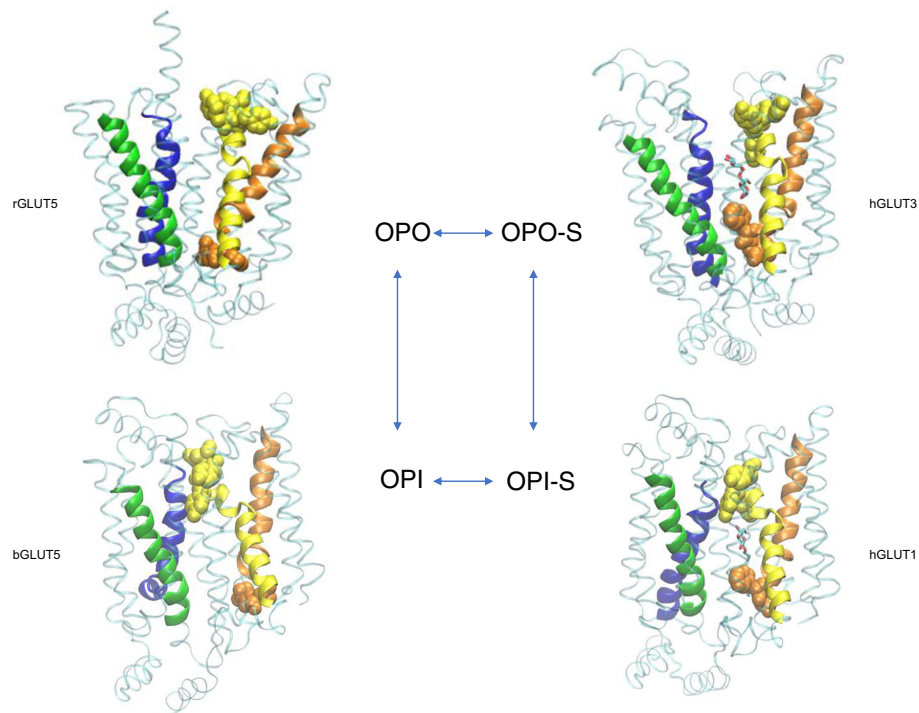


Identifier les témoins et expliquer leurs intérêts.

Présenter le PRINCIPE de l'expérience.

Interpréter les résultats.

Figure 27 : transport du glucose et changement de conformation
(in Holman, 2020/ in Sun et al., 2015)



La fixation du glucose sur le transporteur GLUT3 provoque un changement de conformation.

Modèle du ping pong : le transporteur passe successivement par 2 conformations (OPO et OPI)

- le transporteur est sans ligand et ouvert vers l'extérieur (OPO)
- le transporteur fixe le glucose et reste ouvert vers l'extérieur (OPO-S)
- la fixation du glucose provoque un changement de conformation : il s'ouvre vers l'intérieur (OPI-S)
- le transporteur libère le glucose dans la cellule (OPI)

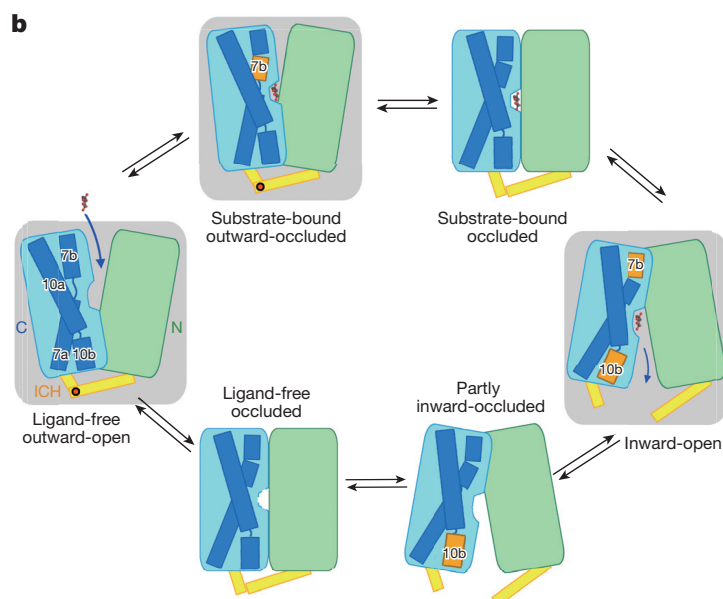


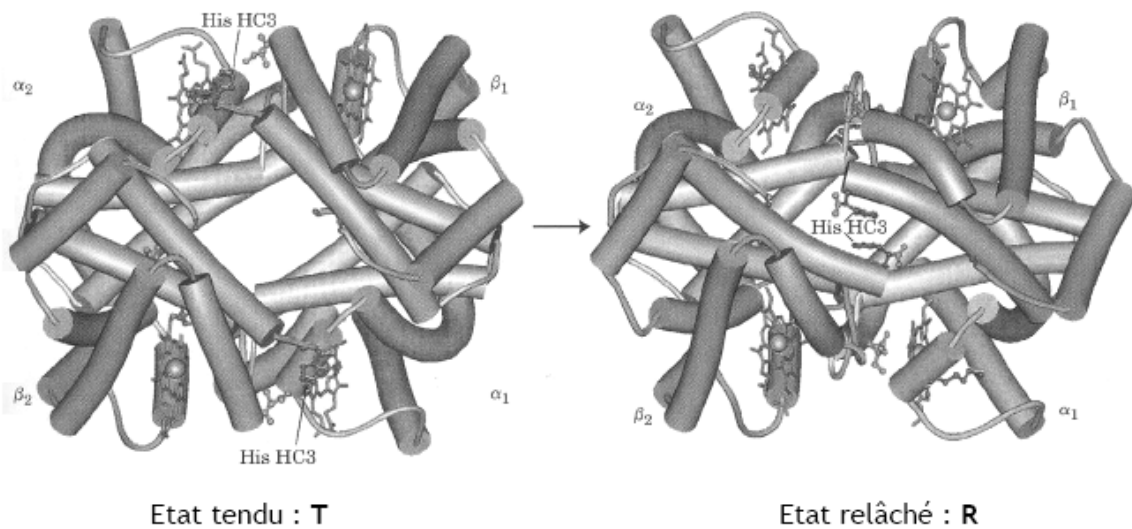
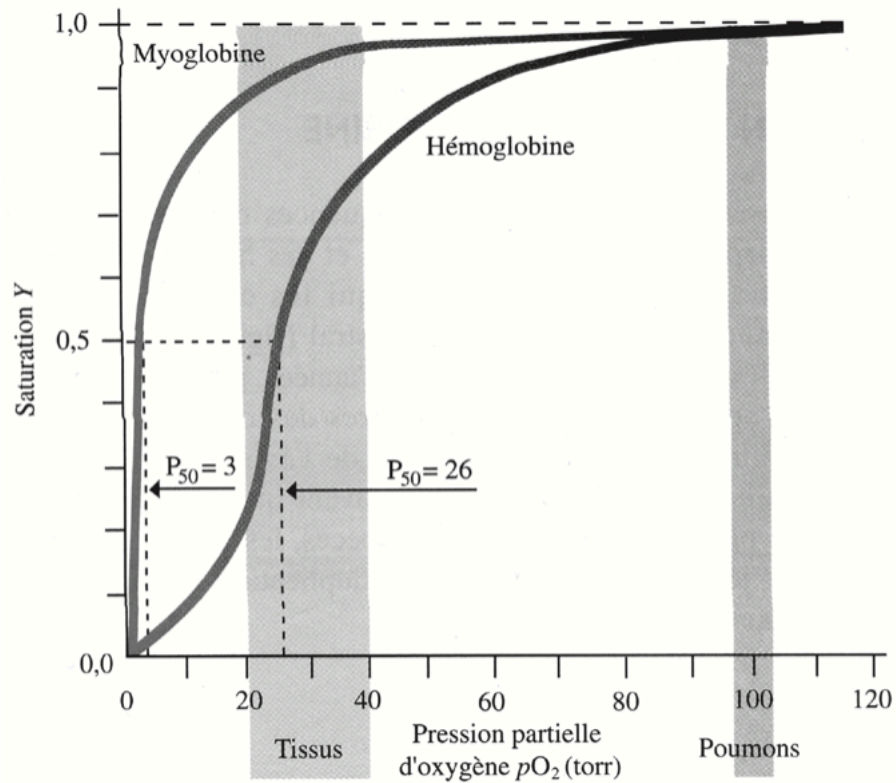
Figure 28 : conséquence de la fixation du dioxygène sur l'hémoglobine

Figure 29 : conséquence de la phosphorylation des lamines
(in Torvaldson et al., 2015)

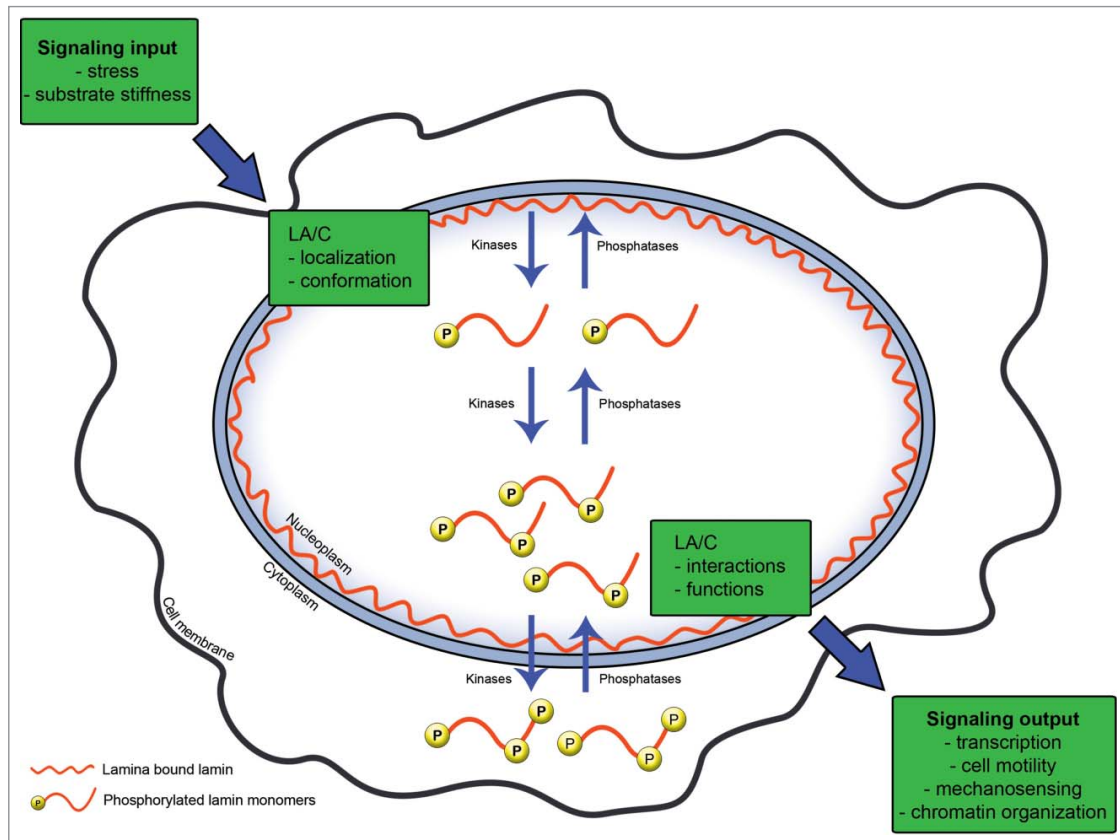


Figure 2. Lamin phosphorylation as a regulator of cell signaling. The information that a cell receives from its environment or from within itself is forwarded to the nucleus where it affects the localization and structure of lamin A/C. The physical distribution of lamin A/C can both be affected by phosphorylation and in itself affect the phosphorylation of lamin A/C. The localization, structure, and phosphorylation in turn regulate the functions of lamin A/C and will influence signaling output such as cell movement and mechanosensing.