

Biochimie-réactions cellulaires

L2 Biologie-parcours BC et BCB-S3

Responsables de l'UE: James Sturgis (AMU)-Marie-Jeanne Papandréou (P1)

Organisation de l'UE: 3 parties

- COURS 28h

1^{ère} partie: Protéines et stratégies d'études 10h; Isabelle Crenon

2^{ème} partie: Enzymologie 12h; Marie-Jeanne Papandréou

3^{ème} partie: Métabolisme 6h; José Luis

- TD 16h

3 TD Protéines/méthodologie; Isabelle Crenon et Myriam Brugna

3 TD Enzymologie; Myriam Brugna et Corinne Kreuzer

1 TD Métabolisme; Ludovic Leloup

1 partiel

- TP 2 jours

MCC: NF = 0,35*Partiel + 0,3*TP + 0,35*ET

1ère partie: Propriétés et stratégie d'étude des protéines

Isabelle Crenon

Introduction.

Chapitre I: Rappels

- 1.1. Les acides aminés
- 1.2. Structure covalente des protéines
- 1.3. Biosynthèse des protéines

Chapitre II: Stratégies pour l'étude des protéines

- 2.1. Isolement d'une protéine
- 2.2. Composition chimique d'une protéine

Chapitre III: Structure spatiale des protéines

- 3.1. Conformation des protéines
- 3.2. Différentes liaisons covalente et non covalentes
- 3.3. Les 4 niveaux d'organisation structurale
- 3.4. Les structures secondaires
- 3.5. Les structures super secondaires
- 3.6. Structure tertiaire et notion de domaine
- 3.7. La structure quaternaire

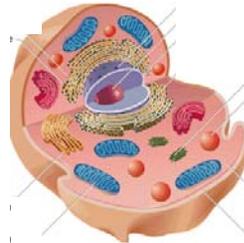
10 heures de cours - 6 heures de travaux dirigés -

Introduction

Protéine: vient de « prôtos » = qui occupe le premier rang
rôle prépondérant dans la plupart des processus biologiques
vaste domaine des fonctions biologiques

Architecture cellulaire et tissulaire

Des protéines de structure assurent soutien mécanique et forme des cellules, donc des tissus et des organismes



Motricité

Des protéines effectuent un travail mécanique tel mouvement des flagelles, contraction des muscles ou migration des chromosomes



Transport et stockage

-Des protéines fixent, transportent ou stockent d'autres molécules: O₂ et hémoglobine ou myoglobine; Fer et ferritine ou transferrine
-Transfert des électrons

Communication intra et extra cellulaire

-Hormones
-Récepteurs

Métabolisme

-Les enzymes catalysent l'essentiel des réactions chimiques du vivant
-Des protéines comme source d'énergie ou réserve d'acides aminés

Attaque et défense et de l'organisme

-Toxine
-Immunoglobulines
-Facteurs de coagulation

Expression des gènes

-Des protéines sont mobilisées pour décoder l'information génétique transcription, traduction
-Des protéines régulent l'expression génétique

Introduction

Protéine: polymères d'acides aminés (20 acides aminés constitutifs)

Nombre et ordre d'enchaînement (séquence) déterminés génétiquement



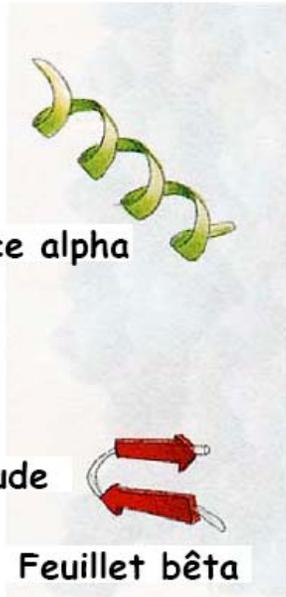
conformation et fonction de la protéine

Structure primaire : séquence des acides aminés liés par covalence

3 autres niveaux structuraux

Structure secondaire

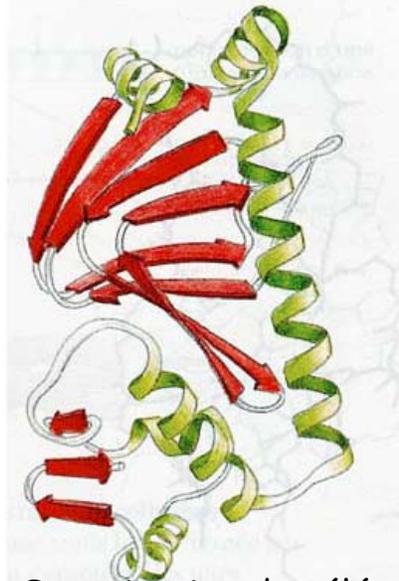
Conformation répétitive localisée



Motifs structuraux de base: hélice alpha, feuillet bêta, tours et coudes...

Structure tertiaire

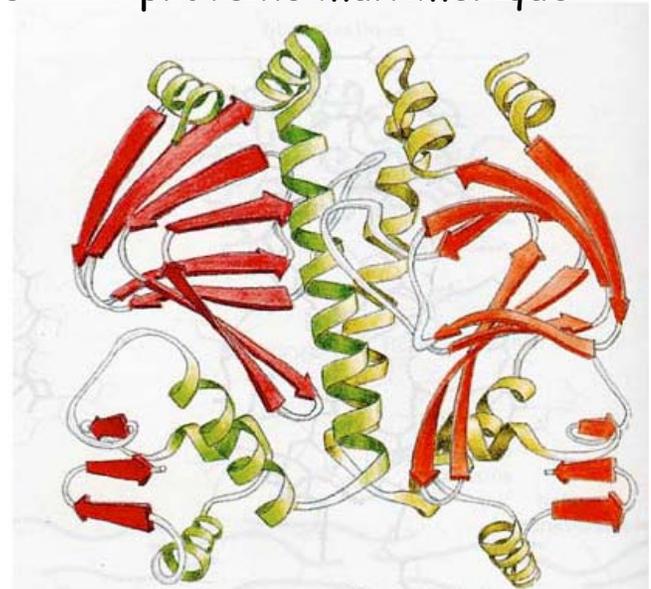
Repliement d'une chaîne peptidique dans l'espace



Organisation des éléments structuraux secondaires entre eux.

Structure quaternaire

Arrangement spatial d'une protéine multimérique



Association des sous-unités d'une protéine complexe (au moins dimérique):
homo- ou hétéro-oligomère

Les protéines peuvent être classées sur la base de

- leur solubilité dans des solutions salines (usage limité en biochimie clinique)
 - ➔ Albumines, globulines, histones
- leur forme
 - ➔ Protéines fibreuses, rayons axiaux >10
Protéines globulaires, compactes, rayons axiaux <10
- leur fonction biologique
 - ➔ Enzymes, protéines de stockage, protéines de régulation, protéines structurales
- leur structure 3D
 - ➔ Protéines avec motif de fixation à l'ADN
- leur mobilité électrophorétique ou leur coefficient de sédimentation
 - ➔ Lipoprotéines plasmatiques

2 grands groupes de protéines

Holoprotéines: constituées d'acides aminés exclusivement

Hétéroprotéines : portent un **groupement prosthétique**

Hétéroprotéines

Groupements

Glycoprotéine

oligosaccharide

Nucléoprotéine

acide nucléique

Chromoprotéine

dérivé tétrapyrolique complexant un métal

Phosphoprotéine

acide orthophosphorique

Métalloprotéines

chélate renfermant Fe, Cu, Zn, Ca, Mg, Mn, Ni

Lipoprotéines

lipide

Chapitre I: rappels

I. 1. Les éléments de base des protéines: les acides aminés

I.1.1. Structure

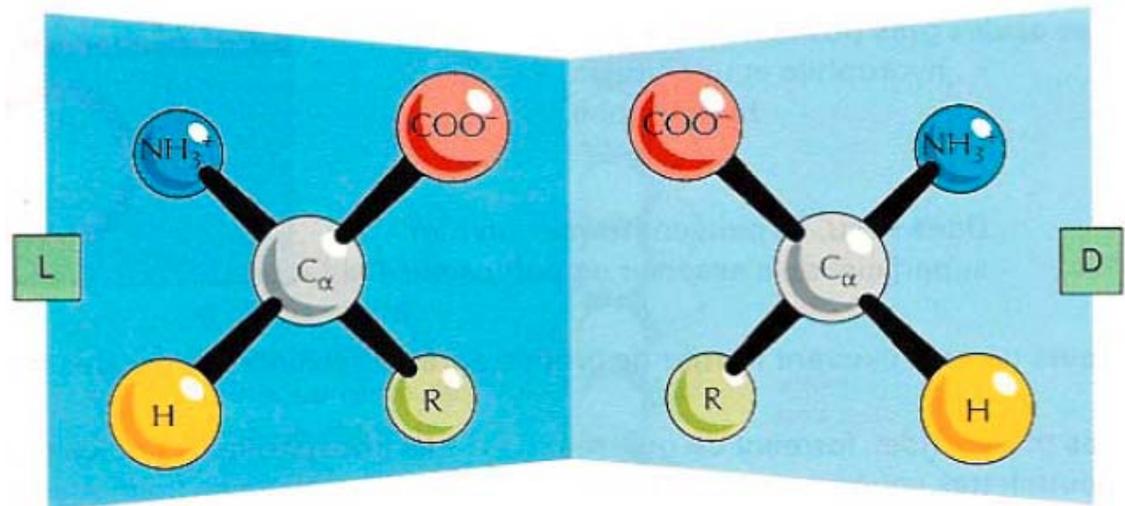
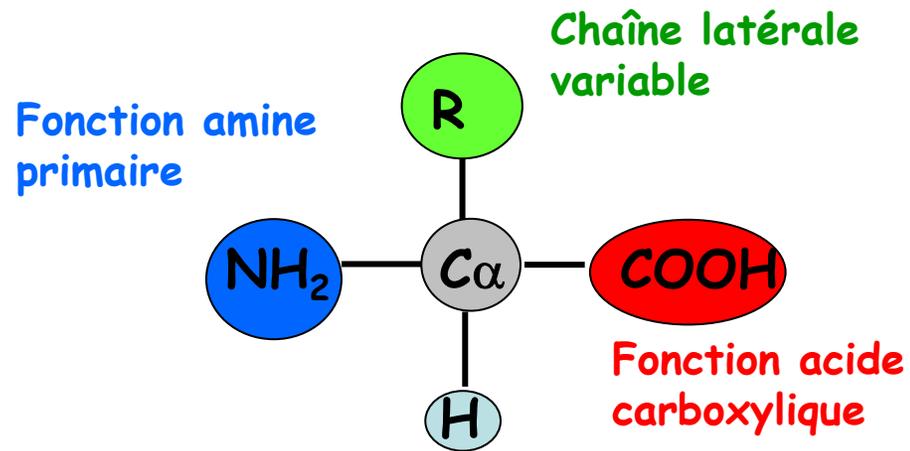
20 acides aminés utilisés

Masse moyenne 110 Da
(dépend de R)

➤ Carbone α asymétrique:

➔ 2 stéréoisomères
(sauf glycine)

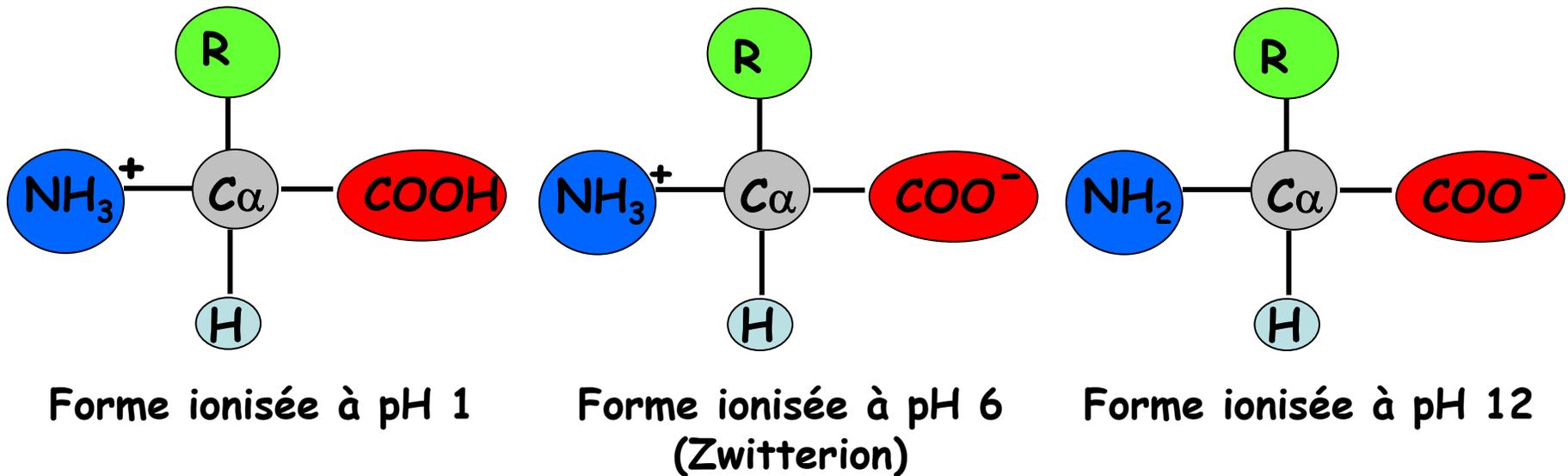
Protéines ne contiennent
que les L acides aminés



Chapitre I: rappels

I.1.2. État d'ionisation des acides aminés

En solution aqueuse, les acides aminés sont ionisés.
L'état d'ionisation dépend du pH environnant



pK des fonctions carboxyliques de 1,8 à 2,5

pK des fonctions amines de 8,7 à 10,7

Chapitre I: rappels

I.1.3. Classification des acides aminés

Acides aminés apolaires

à chaîne **aliphatique**: glycine, alanine, **valine, leucine, isoleucine, méthionine**, proline

à chaîne **aromatique**: **phénylalanine, tryptophane**

Acides aminés polaires neutres

à fonction **alcool**: sérine, **thréonine**, tyrosine

à fonction **thiol** : cystéine

à fonction **amide**: glutamine, asparagine

Acides aminés polaires ionisables

à fonction **acide**: acide glutamique, acide aspartique

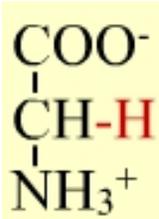
à fonction **basique**: **histidine, lysine, arginine**

Acide aminé essentiel = non synthétisé par l'homme

Chapitre I: rappels

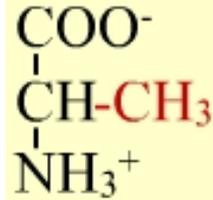
I.1.4. Propriétés spécifiques des acides aminés

A chaînes latérales aliphatiques

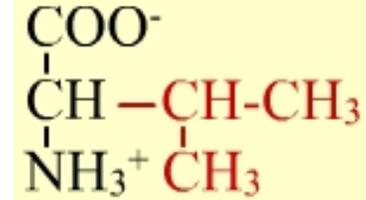


Glycine
Gly
G

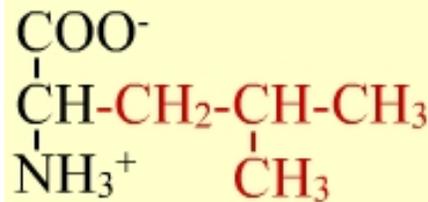
Pas de carbone
asymétrique



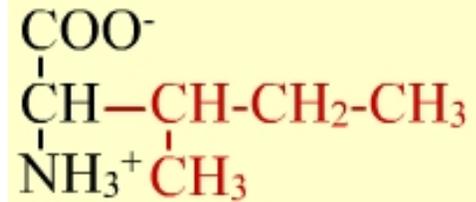
Alanine
Ala
A



Valine
Val
V



Leucine
Leu
L

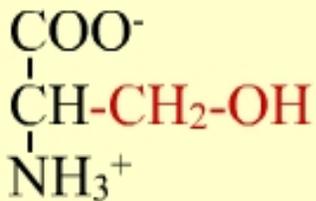


Isoleucine
Ile
I

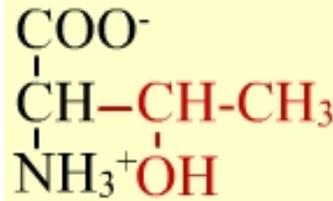
Chapitre I: rappels

I.1.4. Propriétés spécifiques des acides aminés

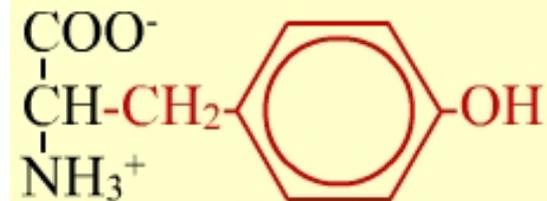
A chaînes latérales hydroxylées (groupe OH)



Serine
Ser
S



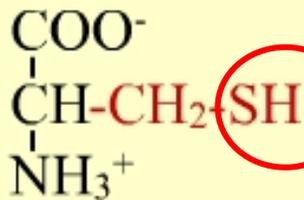
Thréonine
Thr
T



Tyrosine
Tyr
Y

Peuvent fixer un phosphate: phosphorylation des protéines $\text{pKa (R)} = 10,1$

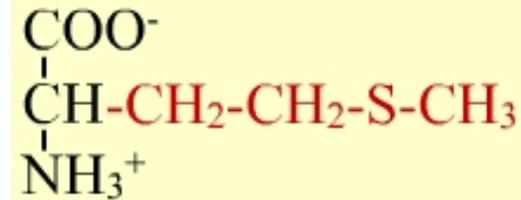
A chaîne latérale contenant des atomes de soufre



Cystéine
Cys
C

$\text{pKa (R)} = 8,3$

Cys-S-S-Cys
Liaison covalente
Pont disulfure

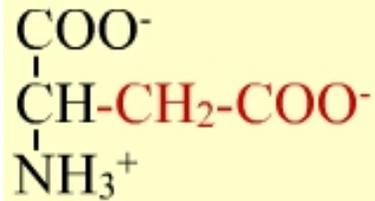


Méthionine
Met
M

Chapitre I: rappels

I.1.4. Propriétés spécifiques des acides aminés

A chaînes latérales contenant des groupements acides.....

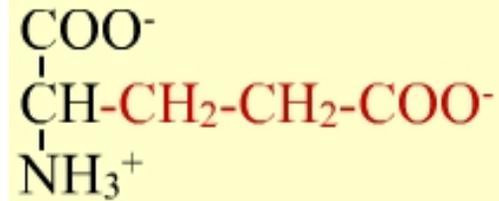


Acide aspartique

Asp

D

pKa (R) = 3,9



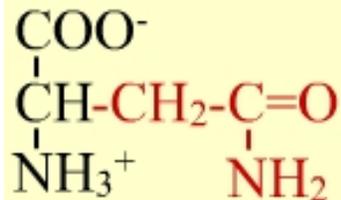
Acide glutamique

Glu

E

pKa (R) = 4,1

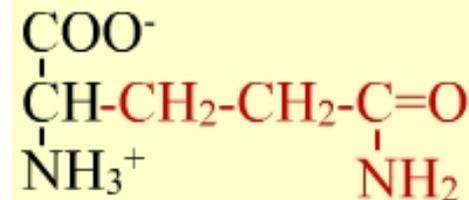
.....ou leurs amides



Asparagine

Asn

N



Glutamine

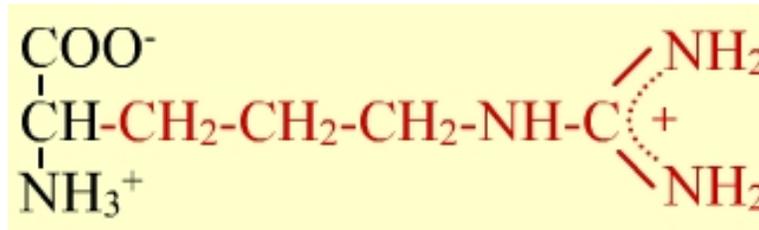
Gln

Q

Chapitre I: rappels

I.1.4. Propriétés spécifiques des acides aminés

A chaînes latérales basiques



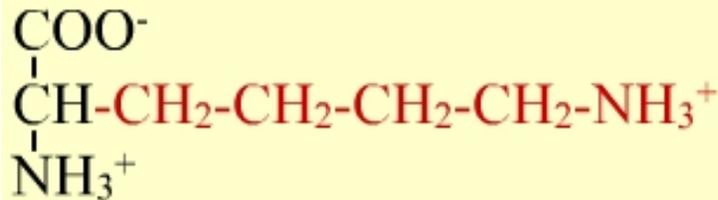
Fonction guanidium

Arginine

Arg

R

pKa (R) = 12,5

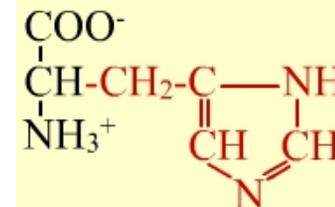


Lysine

Lys

K

pKa (R) = 10,5



Histidine

His

H

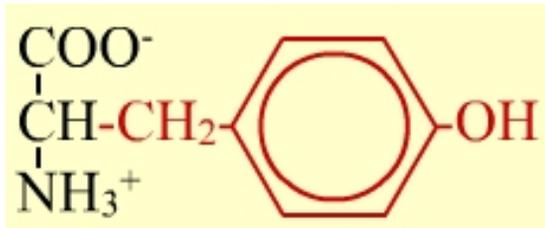
pKa (R) = 6

Chapitre I: rappels

I.1.4. Propriétés spécifiques des acides aminés

A chaînes latérales contenant des cycles aromatiques

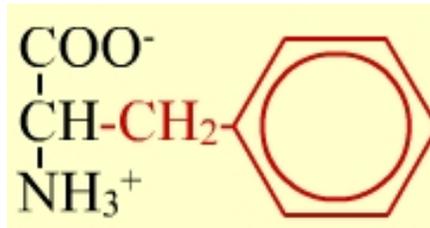
Cycle Phényl



Tyrosine

Tyr
Y

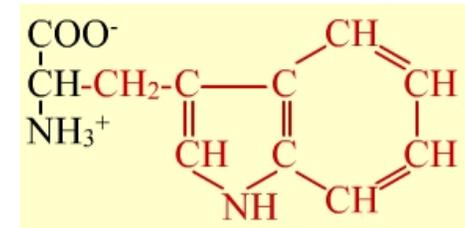
pKa (R) = 10,1



Phenylalanine

Phe
F

Groupe indol

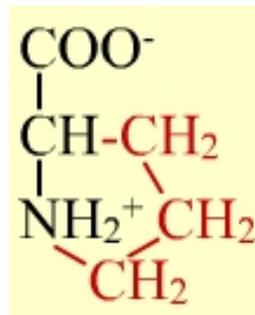


Tryptophane

Trp
W

Les cycles aromatiques contiennent des électrons π délocalisés qui absorbent fortement dans l'ultraviolet.

Et l'acide iminé

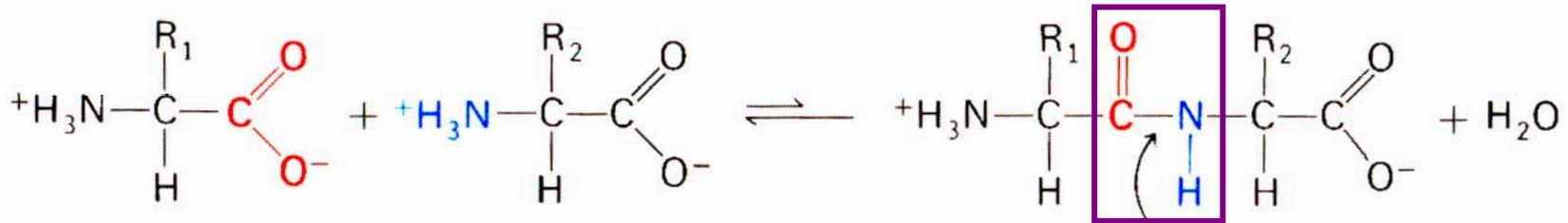


Proline

Pro
P

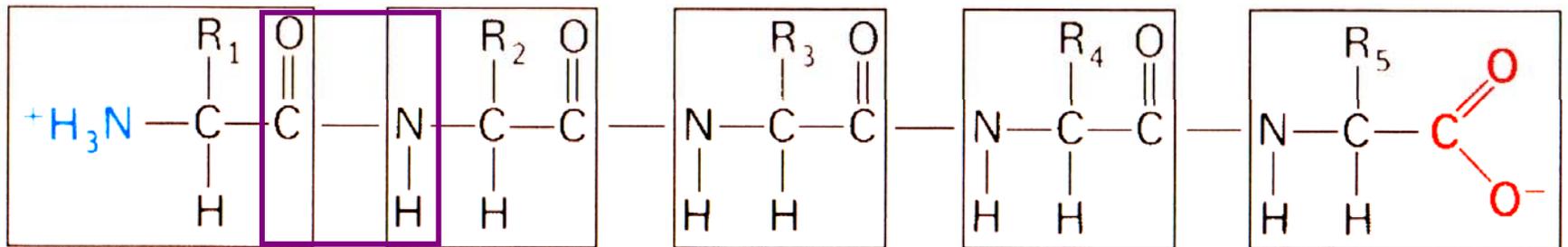
I. 2. Structure covalente des protéines: la liaison peptidique

Les acides aminés sont liés par condensation du groupe α -carboxyle d'un acide aminé avec le groupe α -aminé d'un autre acide aminé = **liaison peptidique**.



Liaison peptidique

Liaison peptidique



Résidu n°1
amino-terminal

Résidu n°2

Résidu n°3

Résidu
Carboxy-terminal

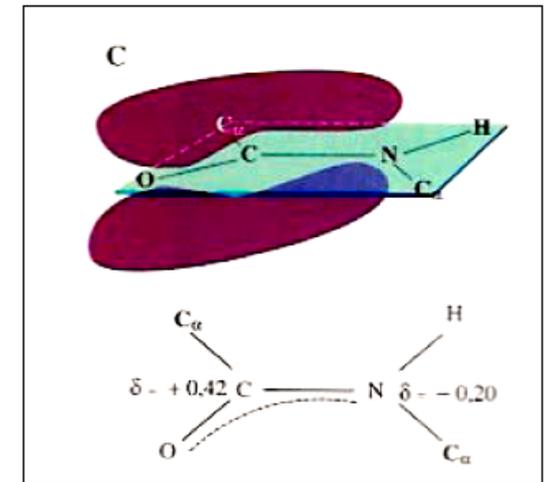
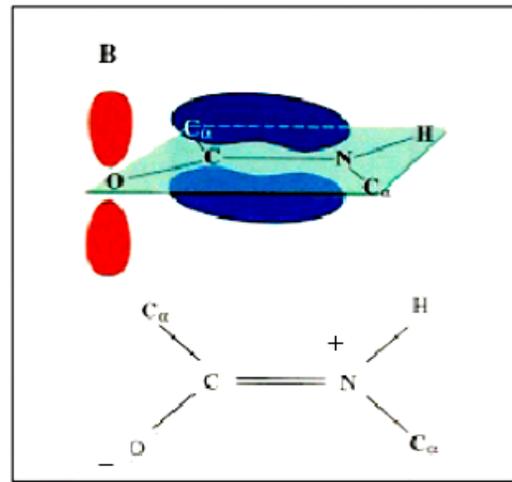
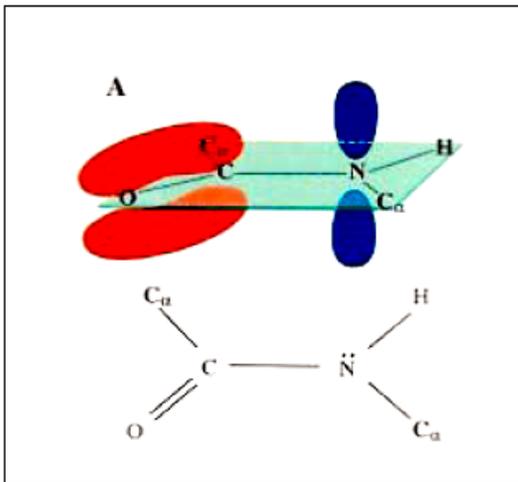
Chaîne polypeptidique

Chapitre I: rappels

I.2.1. La liaison peptidique est une liaison amide particulière

Dans la liaison peptidique, liaison C N = 1,32 Å
simple liaison C N = 1,49 Å et double liaison C N = 1,27 Å

Elle est un « hybride de résonance » entre 2 formes extrêmes



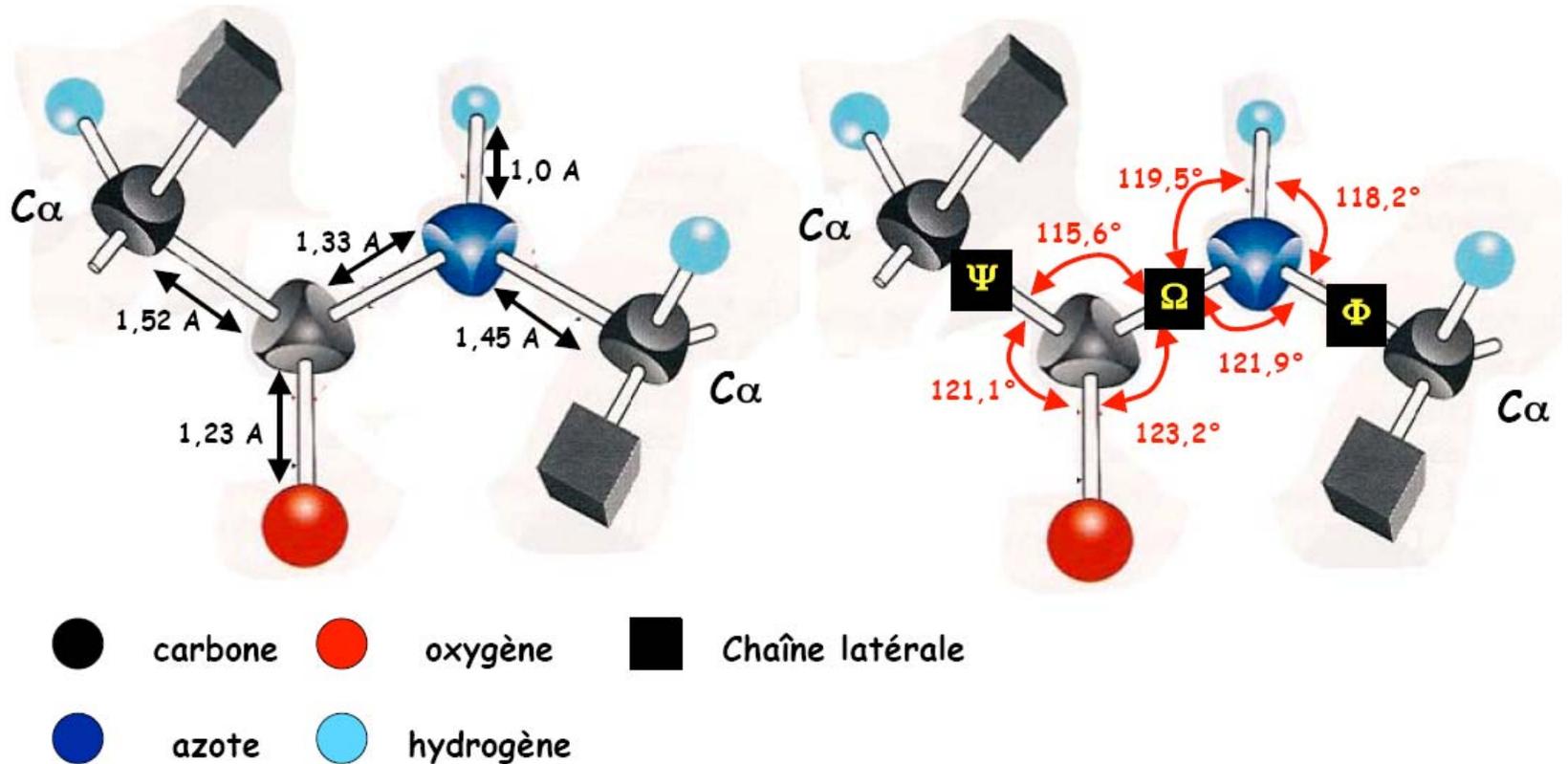
La liaison peptidique possède trois propriétés fondamentales

Elle est **plane**

elle est **rigide**

elle est **polaire**

I.2.2. La liaison peptidique présente des dimensions fixes

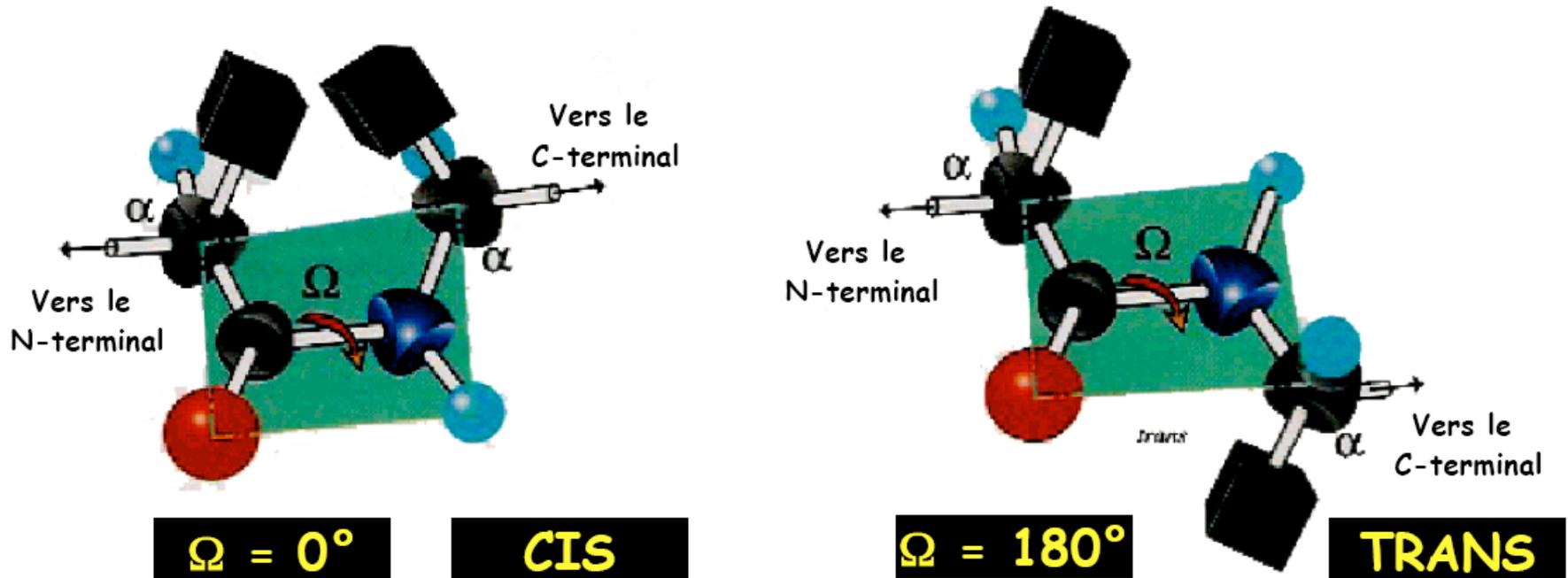


Il existe 3 angles de rotation qui peuvent prendre des valeurs variables

Ψ, Ω, Φ

I.2.3. La liaison peptidique et configuration trans

Ω , angle de torsion autour de la liaison C N.
Ne peut prendre que 2 valeurs

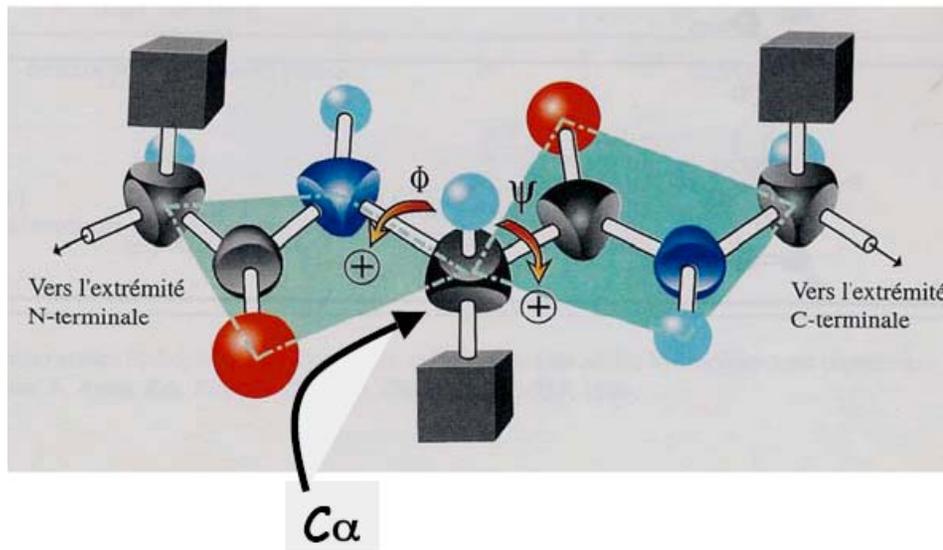


La liaison peptidique a presque toujours une configuration trans

Chapitre I: rappels

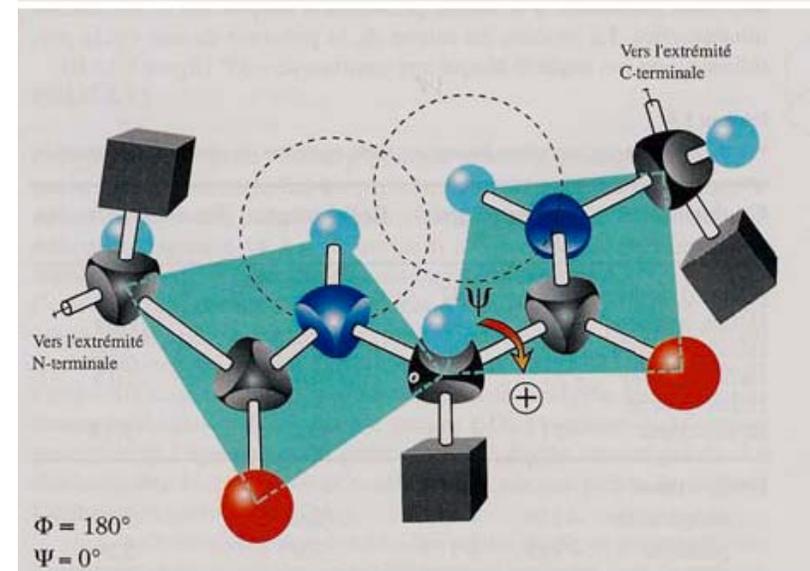
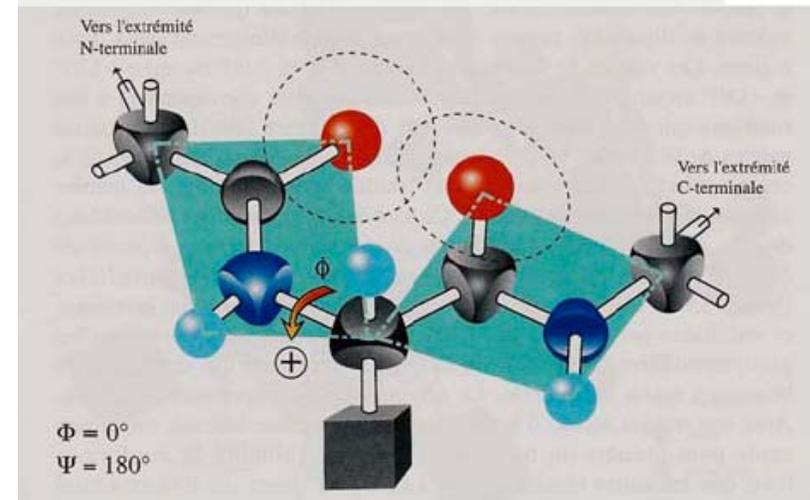
I.2.4. Libertés de rotation dans la chaîne polypeptidique

Deux types de liberté de rotation permettent de modifier la conformation spatiale.



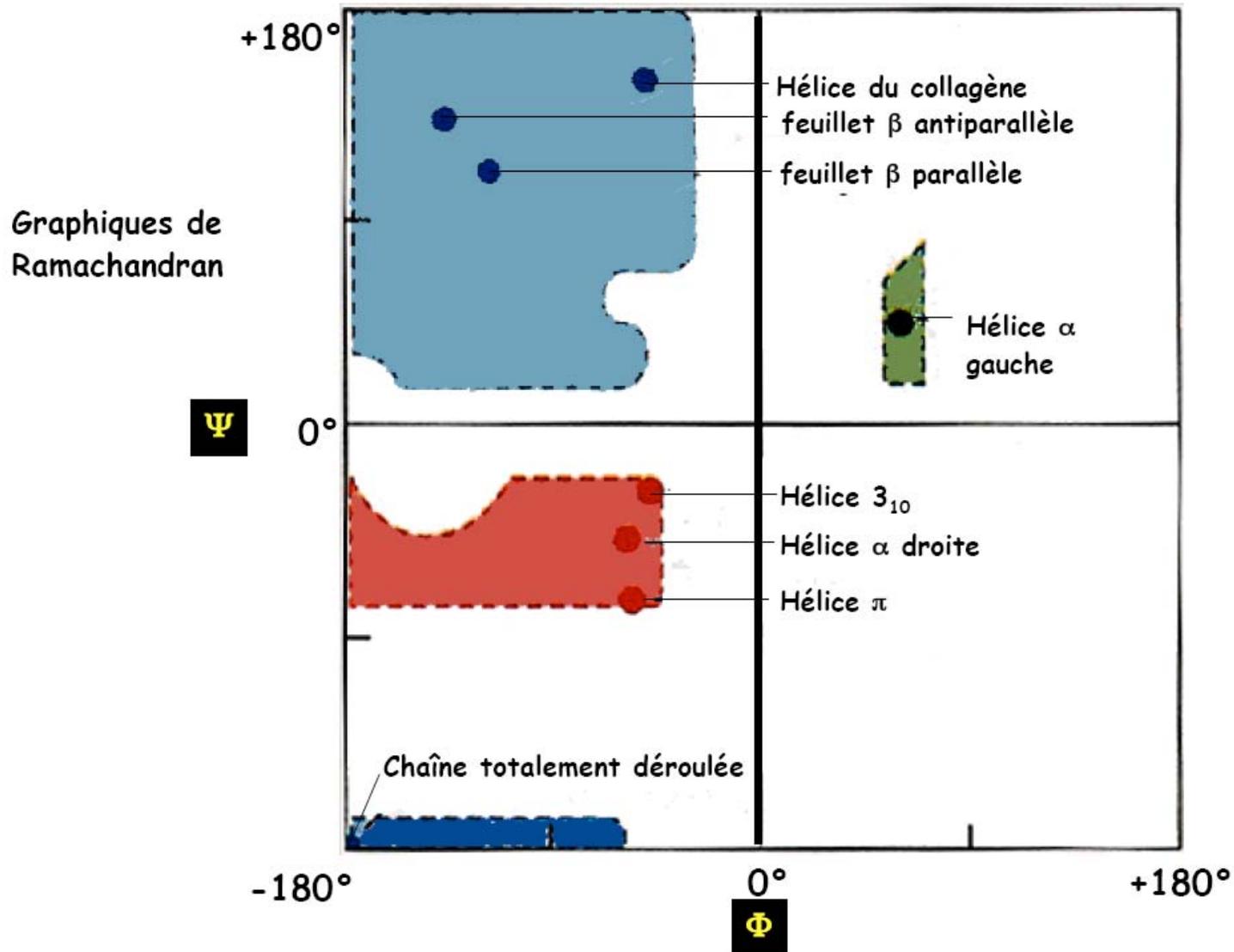
La liberté de rotation de l'angle phi autour de la liaison $C\alpha$ et l'azote amidique

La liberté de rotation de l'angle psi autour de la liaison $C\alpha$ et le groupe carbonyle



Chapitre I: rappels

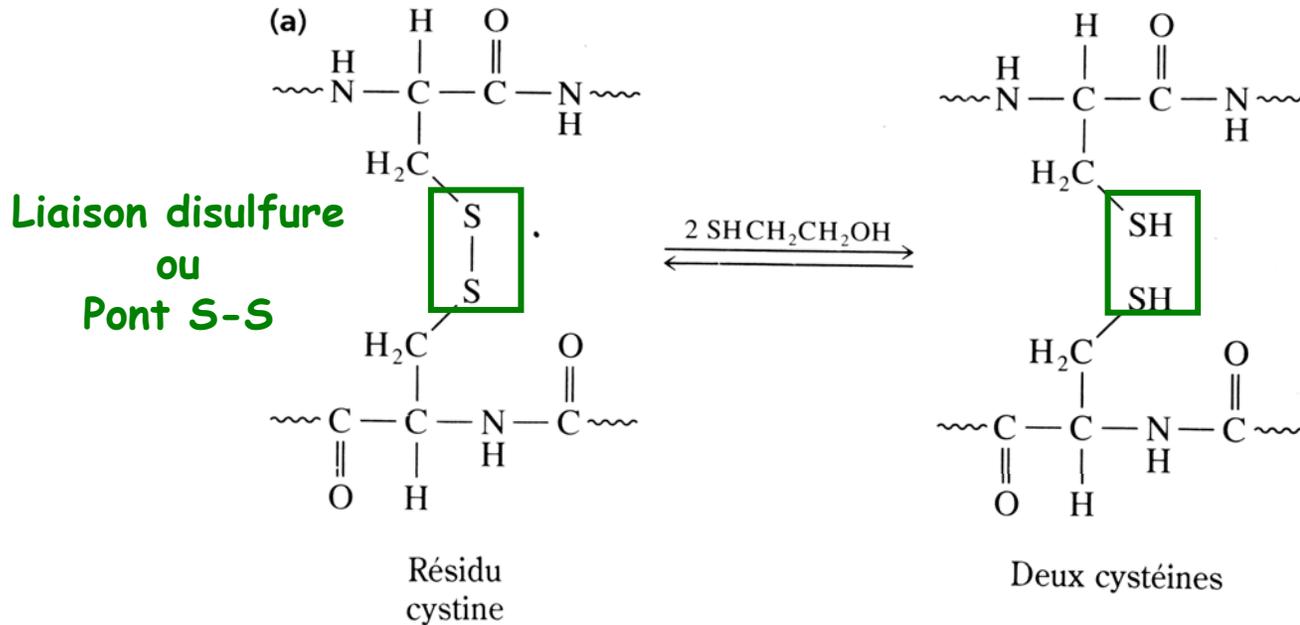
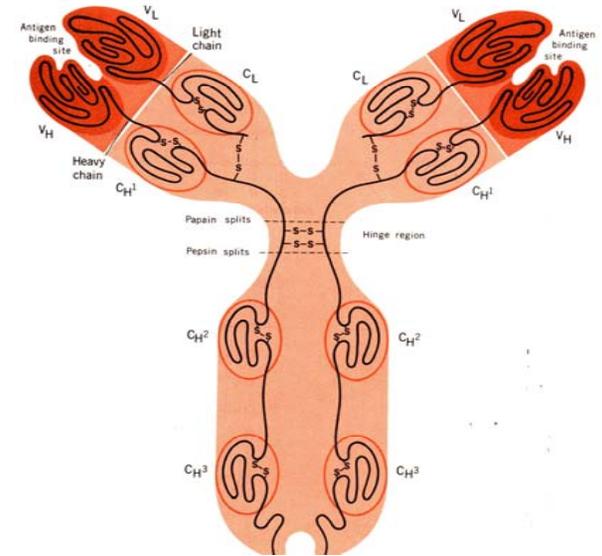
I.2.4. Libertés de rotation dans la chaîne polypeptidique



Chapitre I: rappels

I.2.5. Autre liaison covalente: la liaison disulfure

La liaison **disulfure**: formée par l'oxydation de résidus cystéine entre chaînes différentes ou entre régions d'une même chaîne



I. 3. Biosynthèse des protéines: la traduction

I.3.1. Généralités

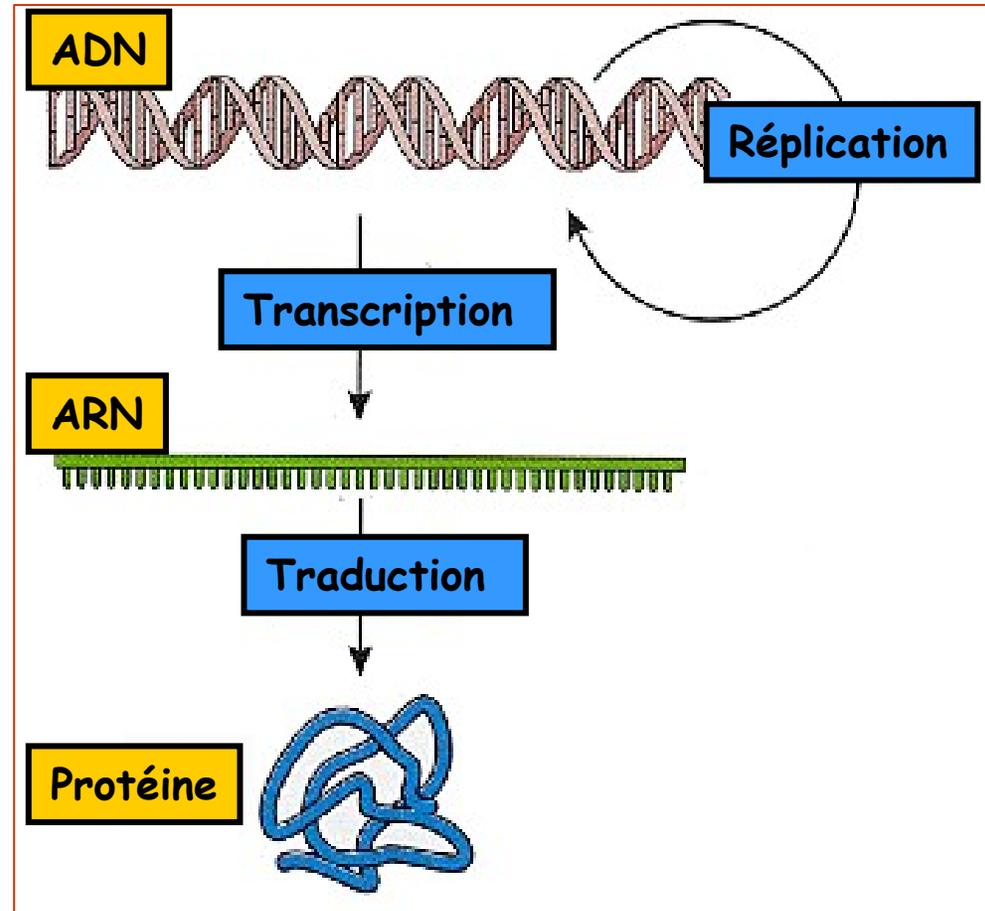
Information sous forme d'ADN transmis aux protéines par molécule ARN

Chez eucaryotes

Transcription: dans le noyau

Traduction: dans cytoplasme

Machinerie cellulaire complexe composée de différentes molécules d'ARN et de protéines.



Pour synthétiser une protéine, il faut:

- **Acides aminés** = pièces de construction
- **ARNm** (ARN messenger) = le message, l'information codée
- **ARNt** (ARN de transfert) = les traducteurs ou adaptateurs, molécules qui transportent les acides aminés
- **Des amino-acyl-ARNt-synthétases** = enzymes qui chargent les ARNt
- **Ribosomes** = machineries catalytiques, usines à assembler les acides aminés
- **Facteurs protéiques**

Chapitre I: rappels

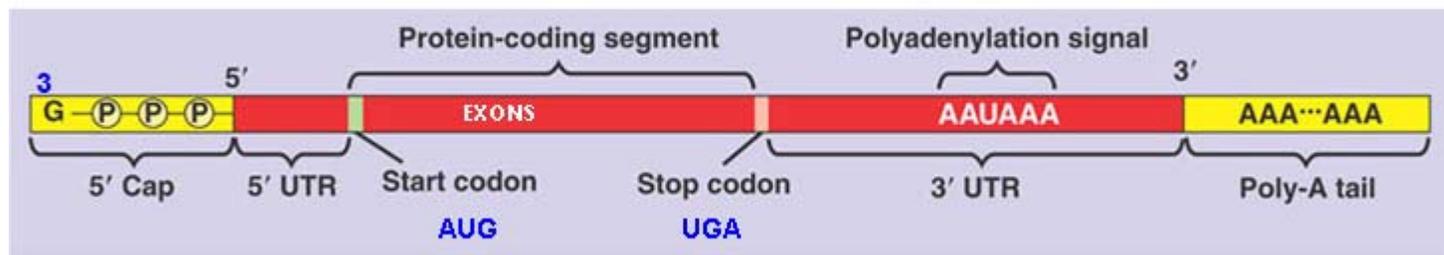
I.3.2. L'ARN messenger

(Chez eucaryotes)

- synthétisé dans **noyau** par **ARN polymérase de type II** sous forme d'un **pré-ARNm**
- **Coiffe en 5'** (7-methylguanosine)
- **Epissage du pré-ARNm** (élimination des introns et connexion des exons par le spliceosome)
- **Polyadénylation de l'extrémité 3'**



exportation dans le cytoplasme quand ARNm est mature.



Structure d'un ARN messenger eucaryote

Problème du codage: **Comment** l'information de la séquence linéaire nucléotidique de l'ARN est-elle traduite en une séquence linéaire d'acides aminés?

4 bases et 20 acides aminés

Lecture des bases 1 à 1 4 combinaisons

Lecture des bases 2 à 2 16 combinaisons

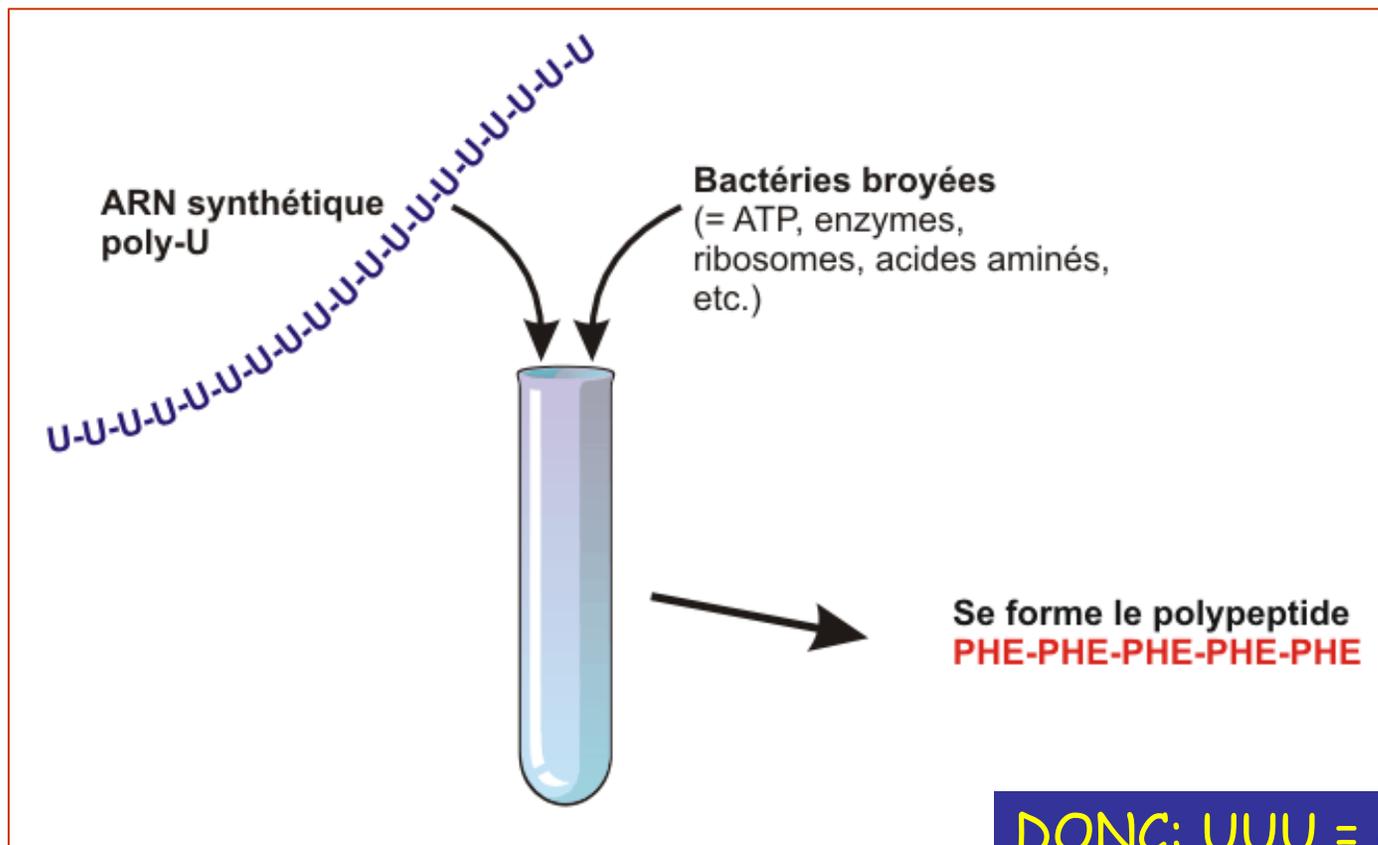
Lecture des bases 3 à 3 64 combinaisons

Mise en évidence expérimentale (Crick et Brenner)
Motif élémentaire de lecture : le **codon** formé par 3 nucléotides

I.3.3. Le code génétique

Code déchiffré entre 1961 et 1964

Expériences de Nirenberg et Khorana (Nobel 68)



DONC: UUU = PHE

Chapitre I: rappels

Code génétique non chevauchant

➤ **64 codons**
 61 codants
 3 non codants → codons **stop**

➤ **Code spécifique**
 1 codon → 1 AA

➤ **Code dégénéré**
 1 AA → 1 à 6 codons

➤ **AUG** met **codon initiateur**

➤ **code presque universel**

1 ^{ère} position (5')	2 ^{ème} position				3 ^{ème} position (3')
	U	C	A	G	
U	UUU } phe	UCU } ser	UAU } tyr	UGU } cys	U
U	UUC } phe	UCC } ser	UAC } tyr	UGC } cys	C
U	UUA } leu	UCA } ser	UAA } stop	UGA } stop	A
U	UUG } leu	UCG } ser	UAG } stop	UGG } trp	G
C	CUU } leu	CCU } pro	CAU } his	CGU } arg	U
C	CUC } leu	CCC } pro	CAC } his	CGC } arg	C
C	CUA } leu	CCA } pro	CAA } gln	CGA } arg	A
C	CUG } leu	CCG } pro	CAG } gln	CGG } arg	G
A	AUU } ile	ACU } thr	AAU } asn	AGU } ser	U
A	AUC } ile	ACC } thr	AAC } asn	AGC } ser	C
A	AUA } ile	ACA } thr	AAA } lys	AGA } arg	A
A	AUG } met	ACG } thr	AAG } lys	AGG } arg	G
G	GUU } val	GCU } ala	GAU } asp	GGU } gly	U
G	GUC } val	GCC } ala	GAC } asp	GGC } gly	C
G	GUA } val	GCA } ala	GAA } glu	GGA } gly	A
G	GUG } val	GCG } ala	GAG } glu	GGG } gly	G

I.3.4. les ARN de transfert ou ARNt

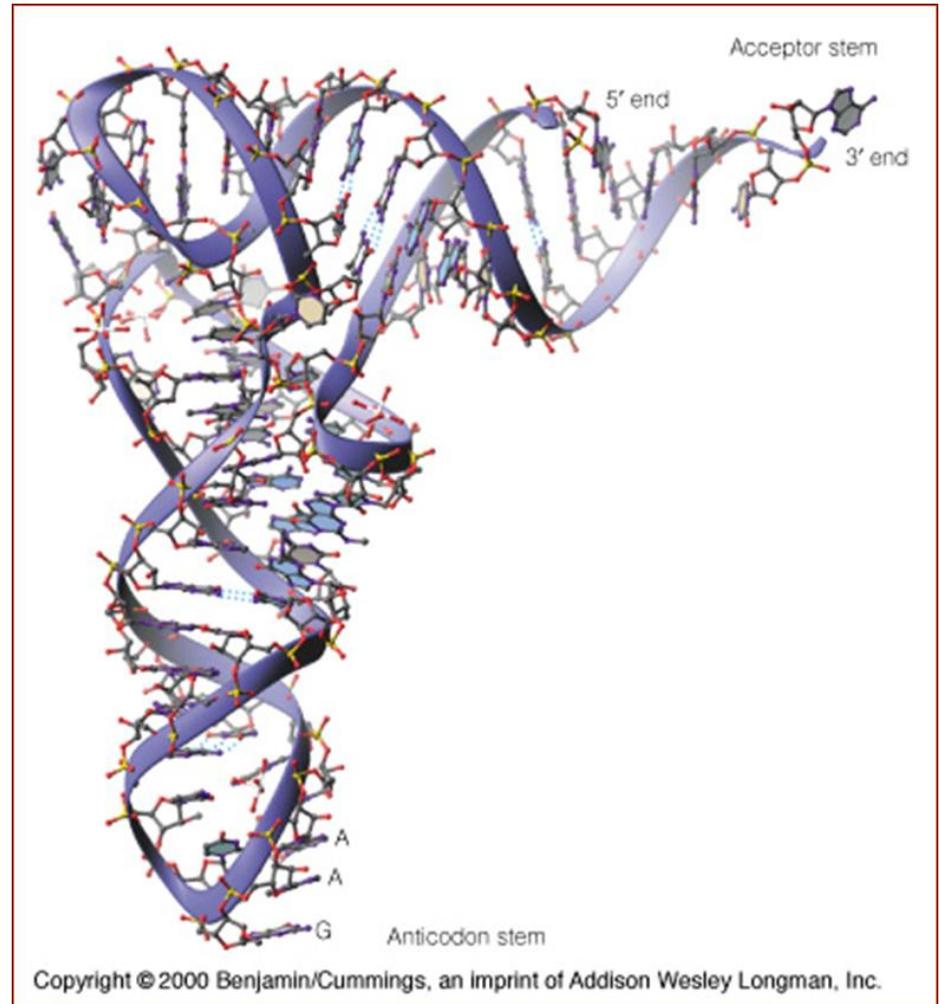
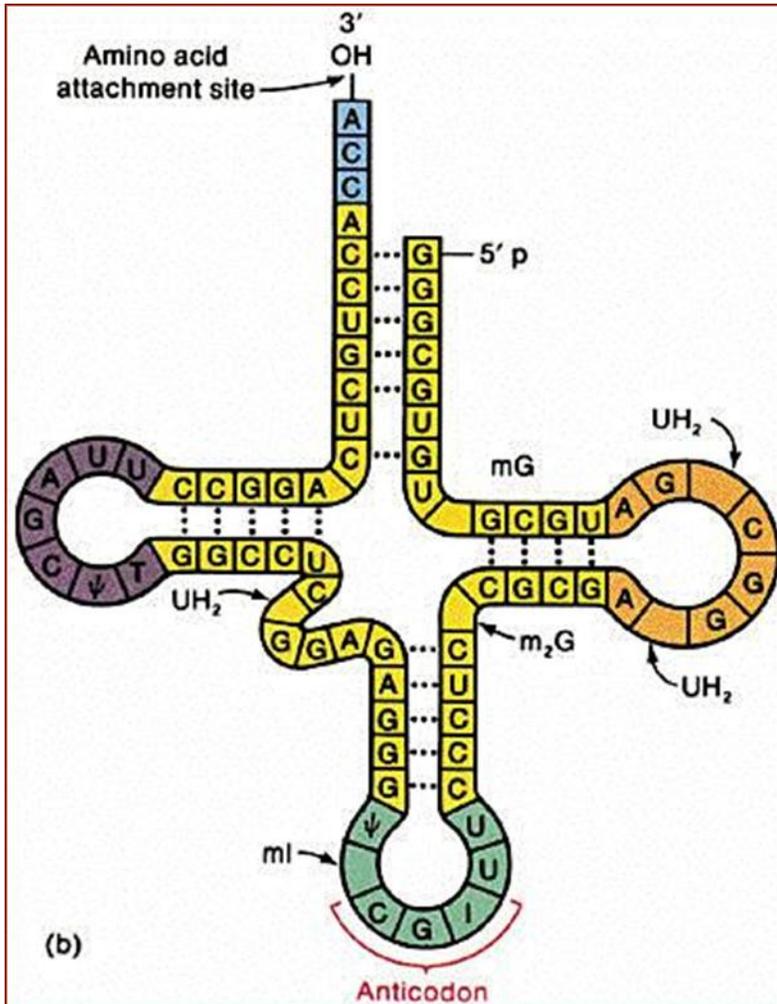
(chez eucaryotes)

- Synthétisés dans le **noyau** par **ARN polymérase III** sous forme de précurseurs
- Subissent un **épissage**
- Soumis à diverses **modifications chimiques**.
- Contiennent des bases modifiées comme **inosine**, importantes dans les fonctions de l'ARNt
- Petites molécules de 80 nucléotides avec **structure tridimensionnelle précise**
- Modifications ultérieures dans le cytoplasme: fixation à l'extrémité 3' d'une séquence **CCA** et fixation de l'acide aminé

La molécule d'ARNt

En feuille de trèfle

Structure 3D en forme de L

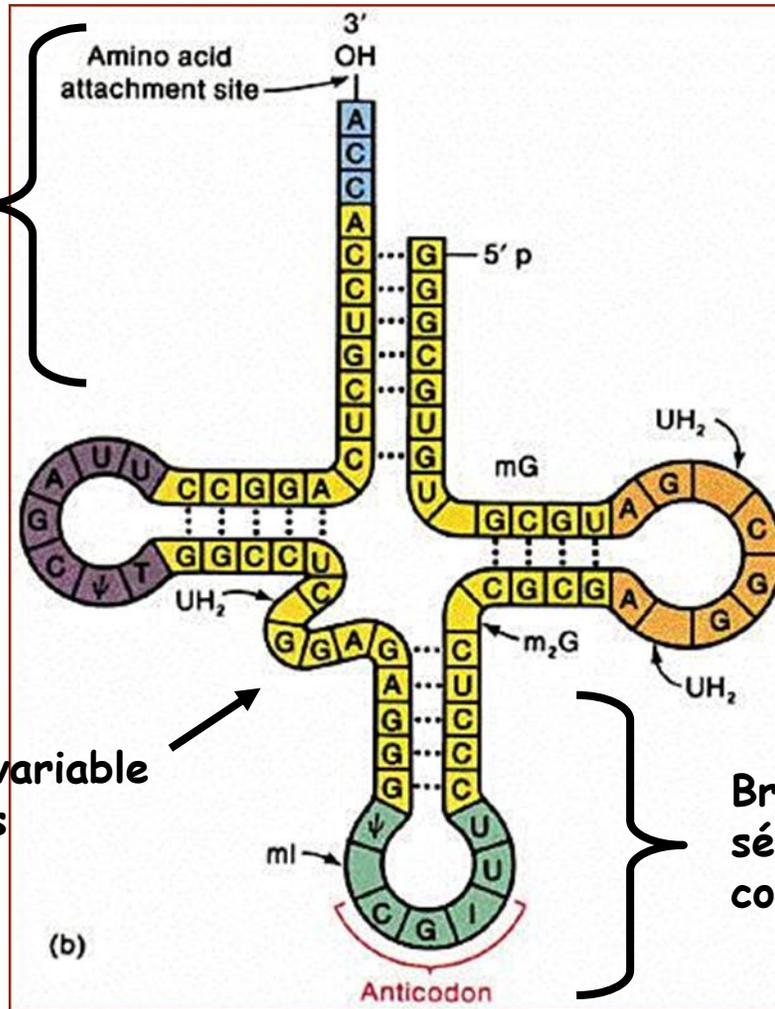


Chapitre I: rappels

Bras accepteur:
lie un AA à
l'extrémité CCA

Bras T-Ψ-C →

Bras supplémentaire variable
de 3 à 21 nucléotides



← **Bras D**

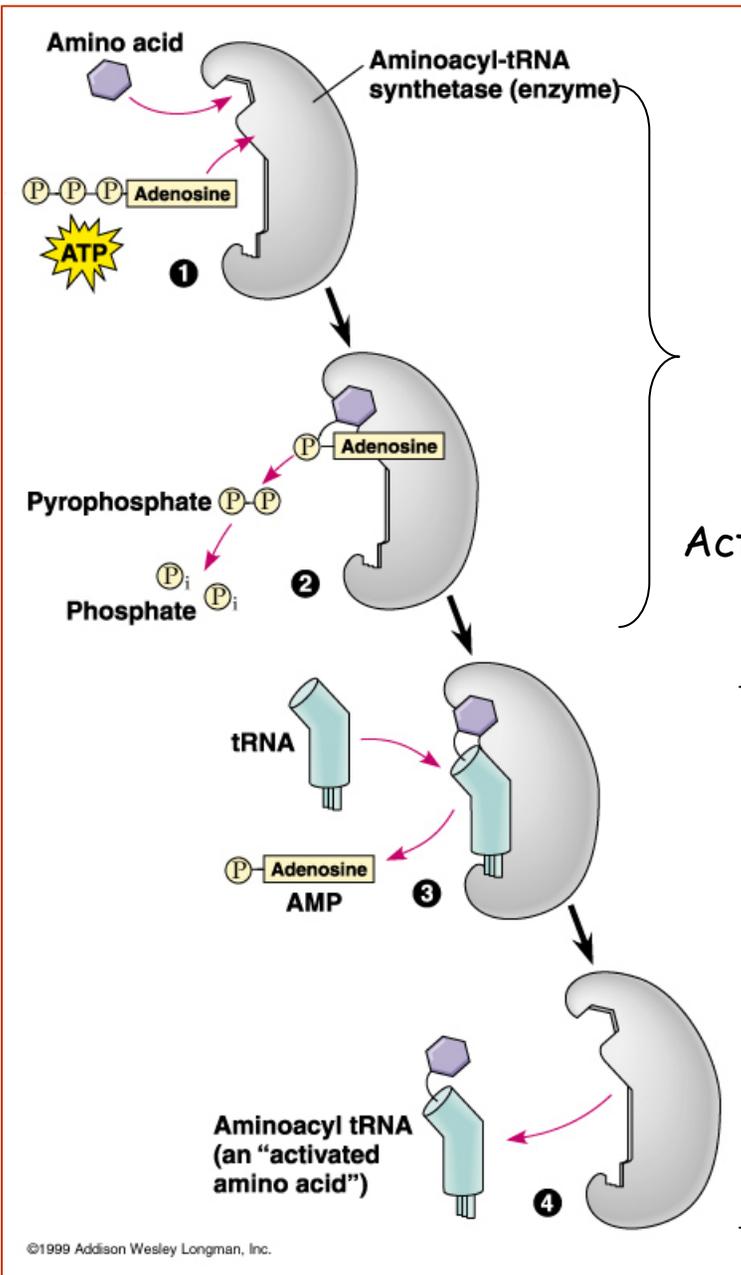
Bras de l'anticodon porte
séquence de 3 nucléotides
complémentaire du codon

ARN messager 5'- AUGCUG **GCU** CCGTU -3

GCA
GCC
GCG

codon

Chapitre I: rappels

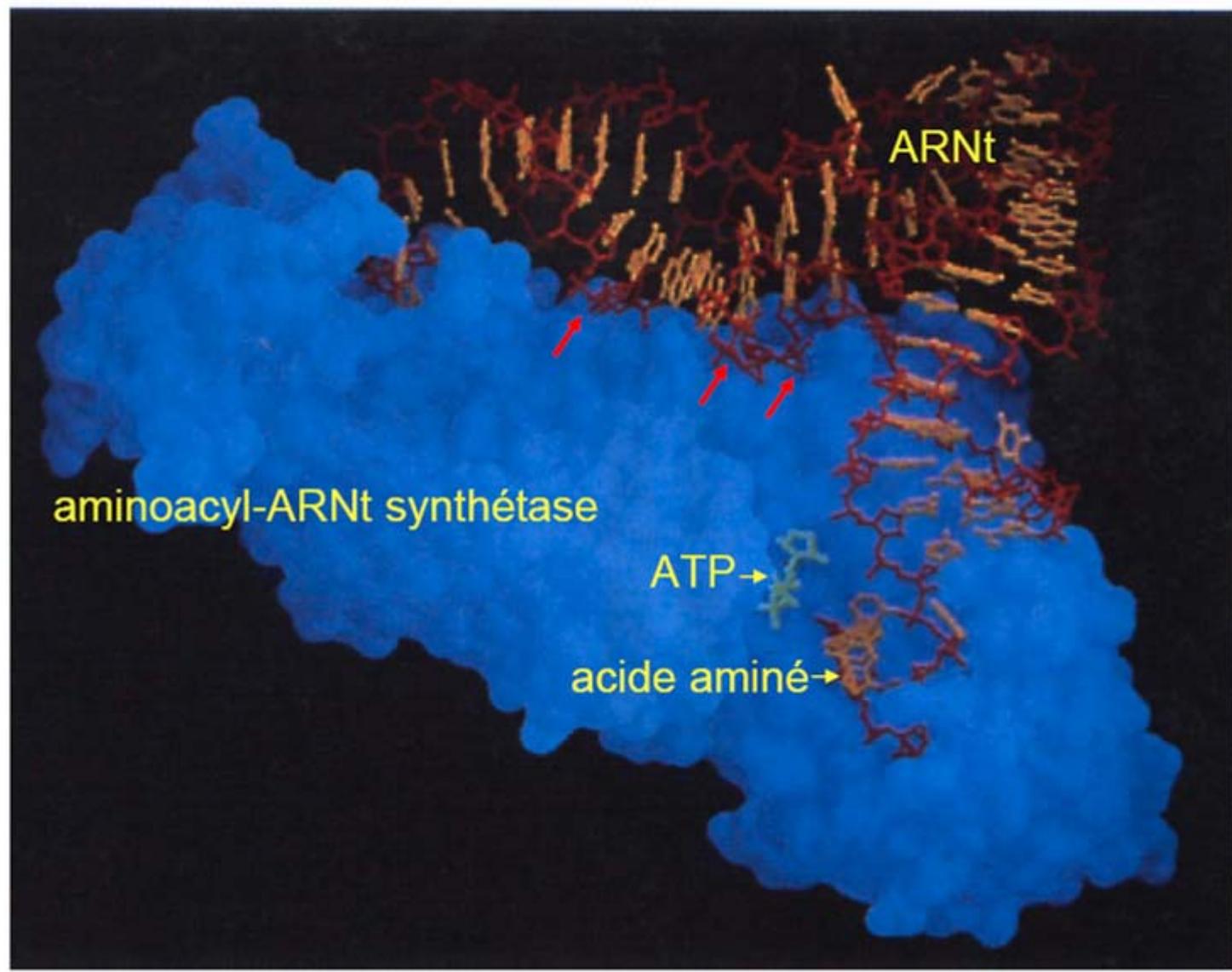


L'acide aminé porté par ARNt dépend de l'anticodon qui le caractérise

Les **amino-acyl-ARNt-synthétases** couplent chaque acide aminé à ARNt approprié

Le site actif de l'enzyme reconnaît:
un acide aminé particulier
et
un anticodon particulier

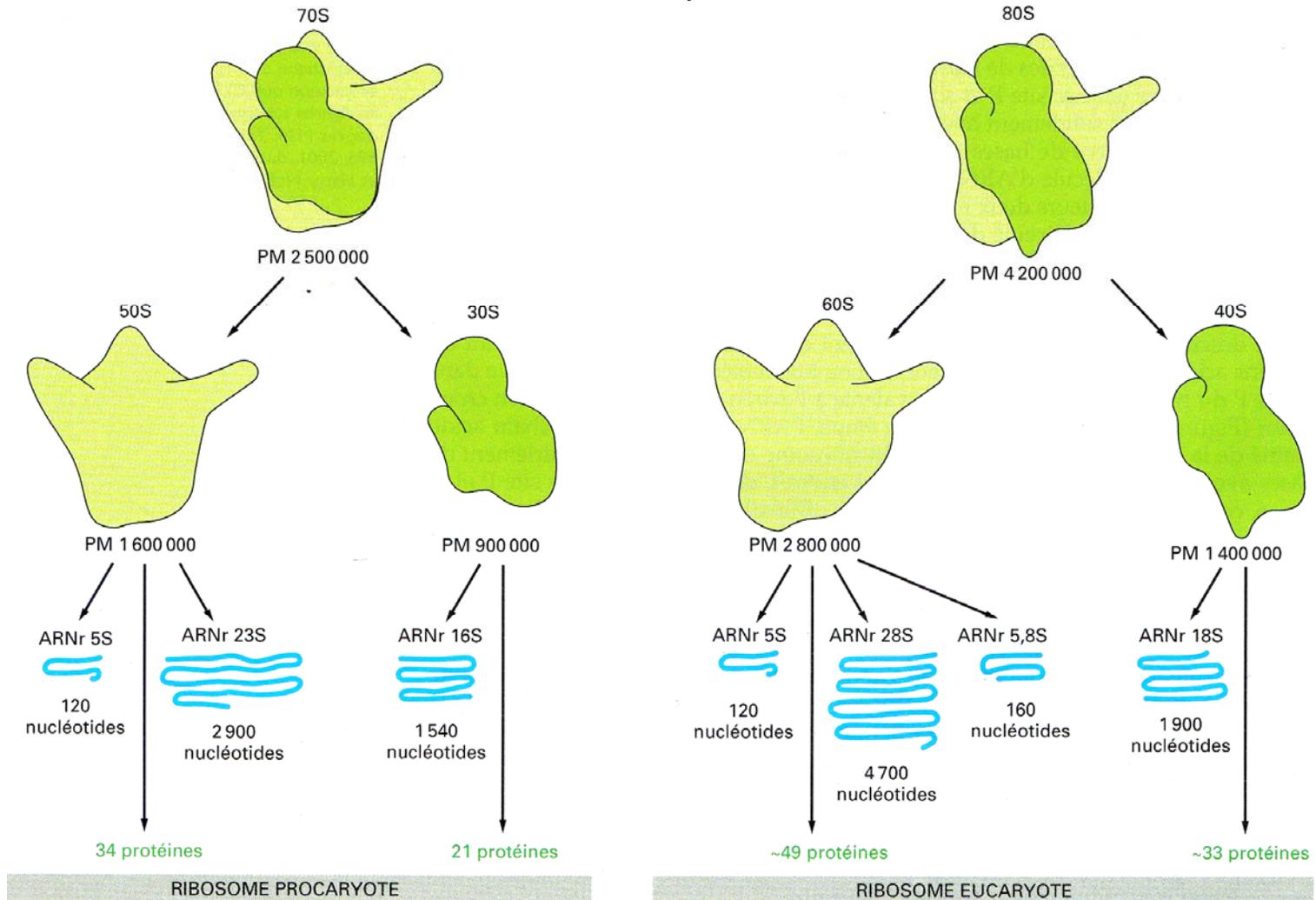
Chapitre I: rappels



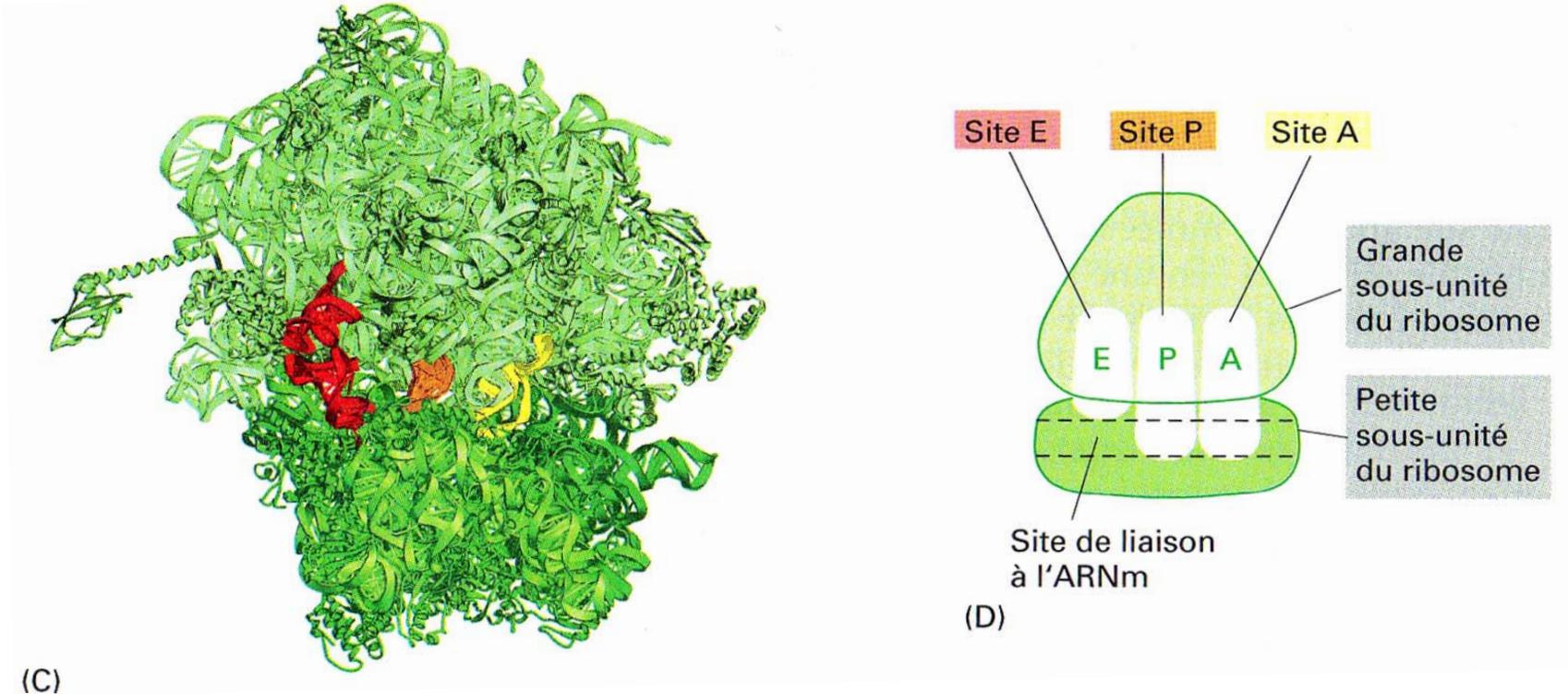
Chapitre I: rappels

I.3.5. Les ribosomes

Le nucléole est une usine de production de ribosomes



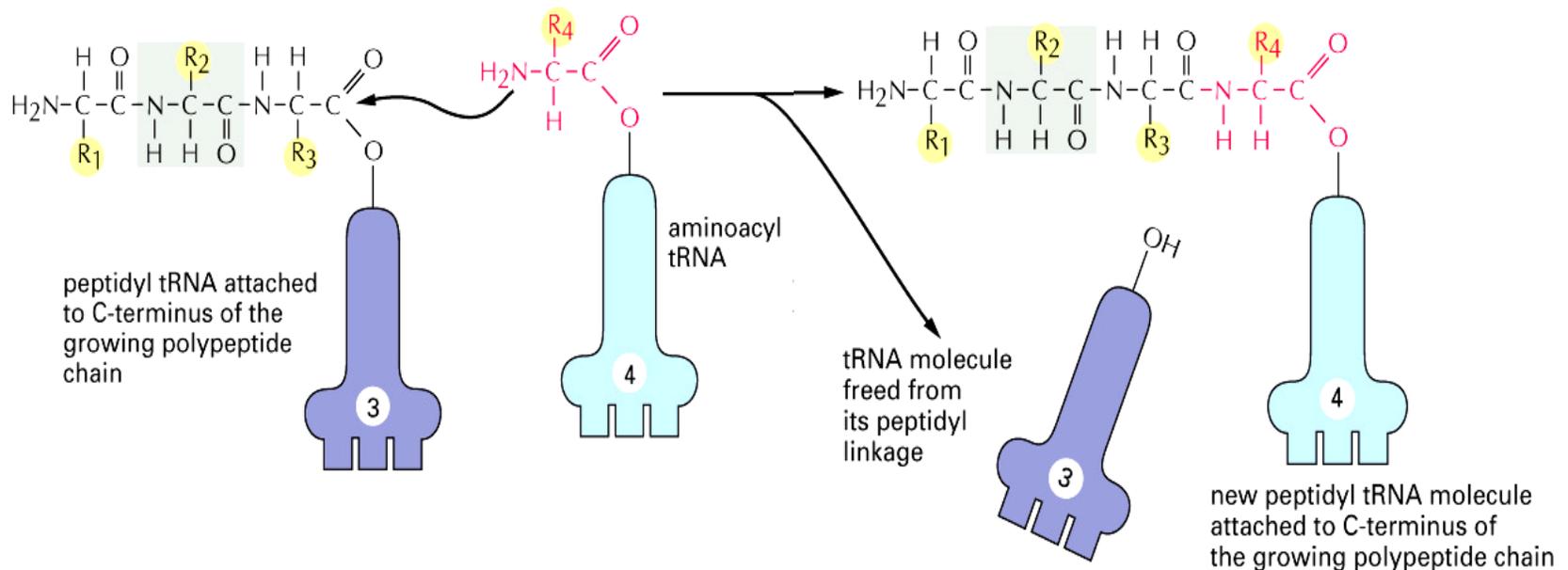
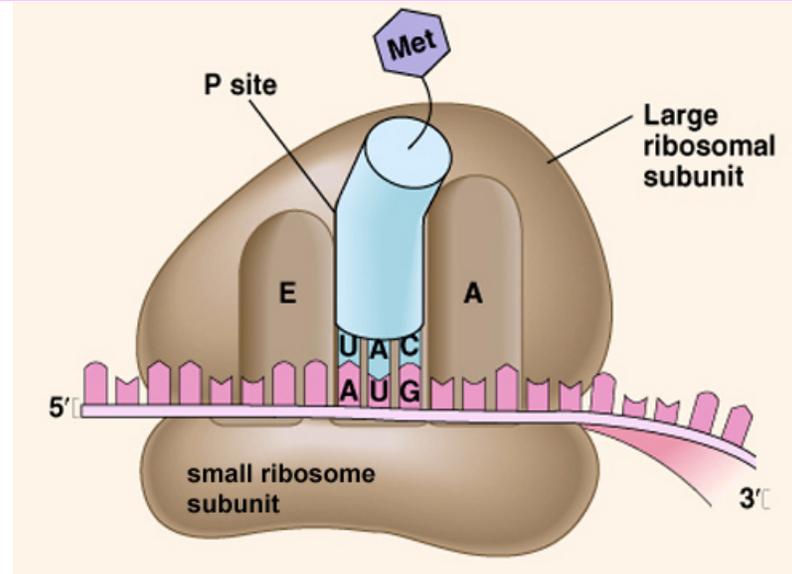
Chaque ribosome possède 4 sites de liaison à l'ARN



Structure d'un ribosome avec sa petite (vert foncé) et sa grosse (vert pâle) sous unité.

Site A: aminoacyl-ARNt
Site P: peptidyl-ARNt
Site E: sortie(exit)

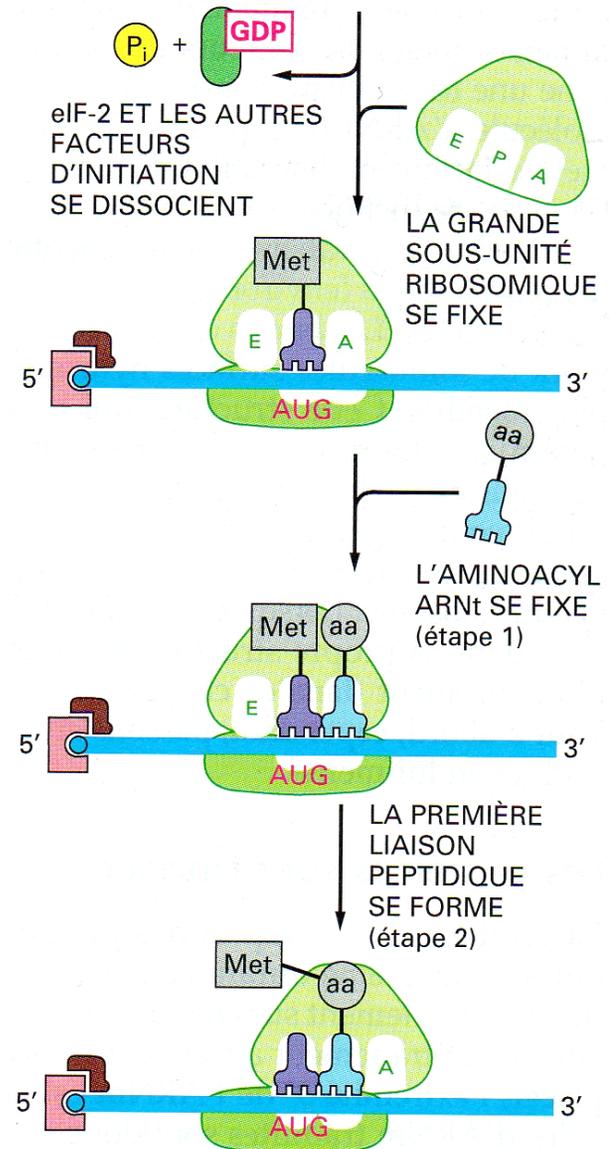
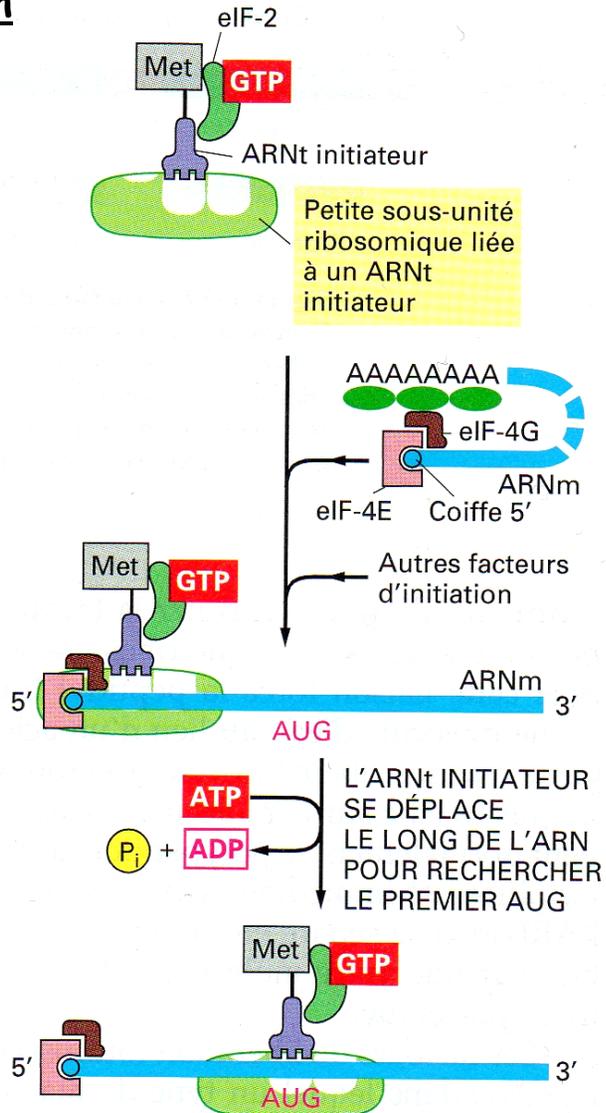
Chapitre I: rappels



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

Initiation

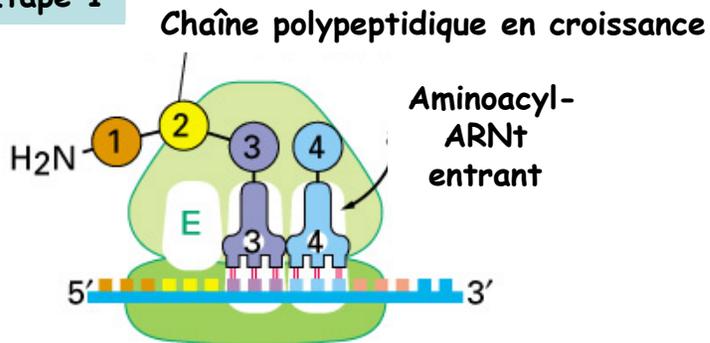


Chapitre I: rappels

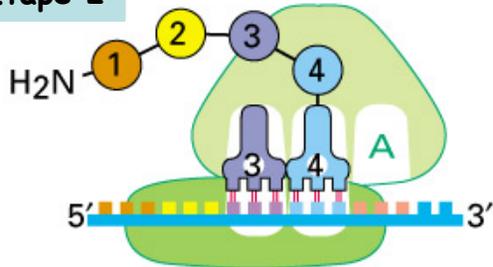
I.3.6. Le mécanisme de traduction

Élongation

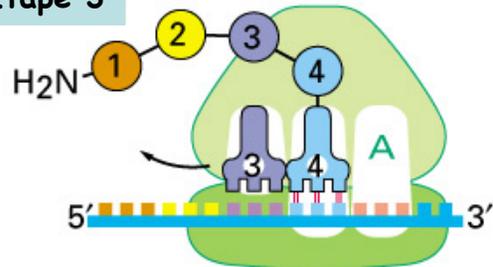
Étape 1



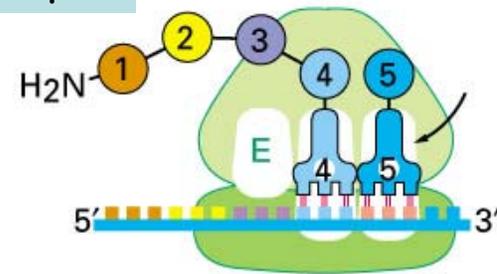
Étape 2



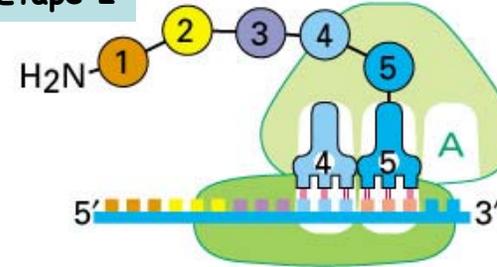
Étape 3



Étape 1



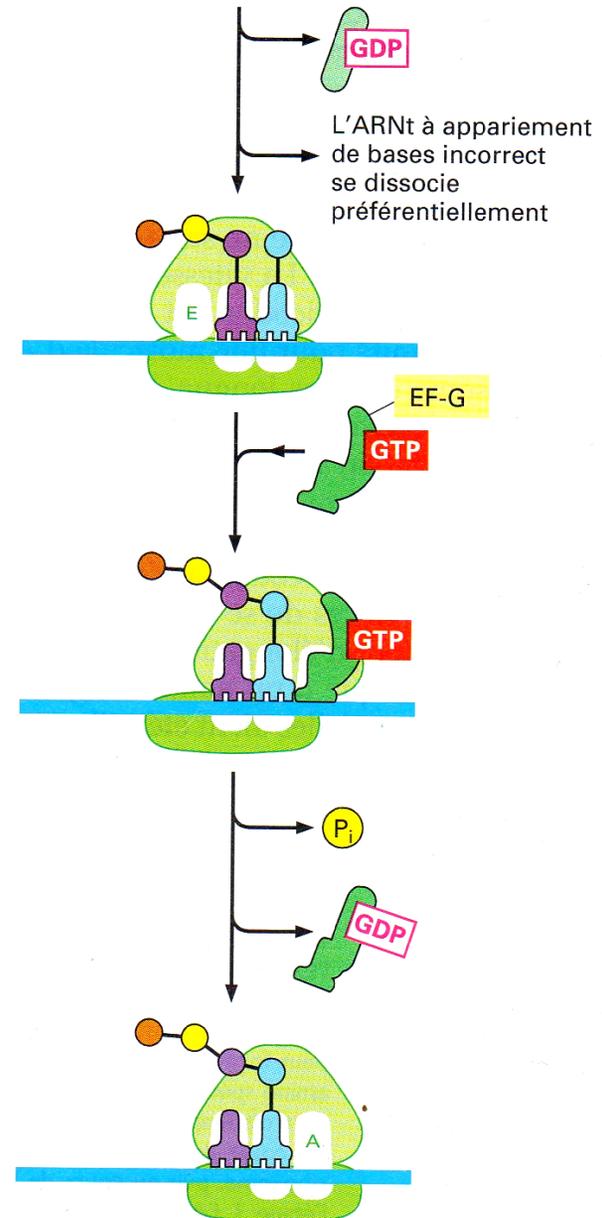
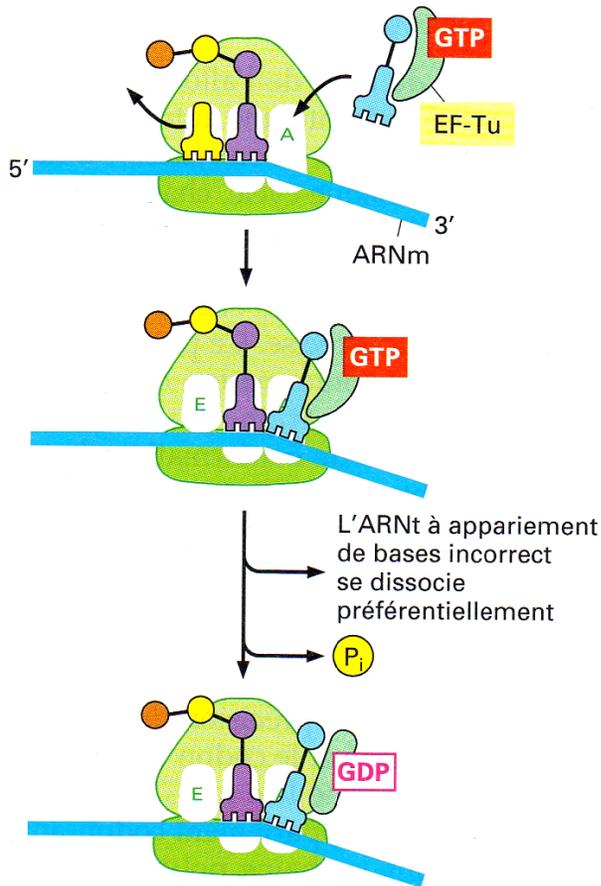
Étape 2



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

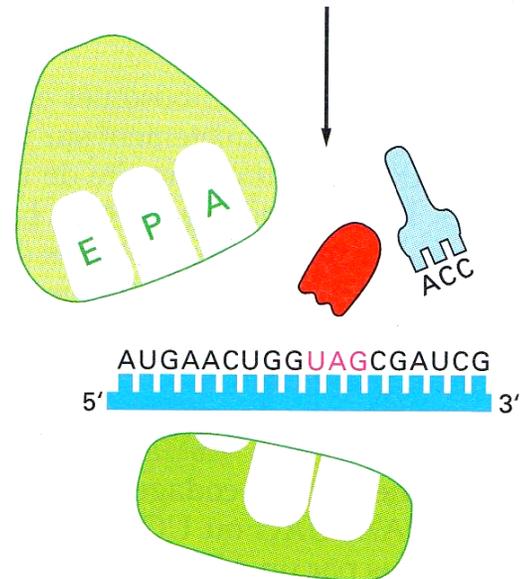
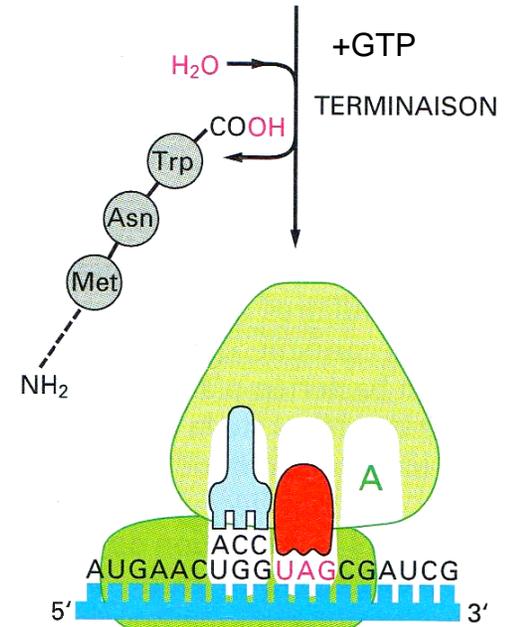
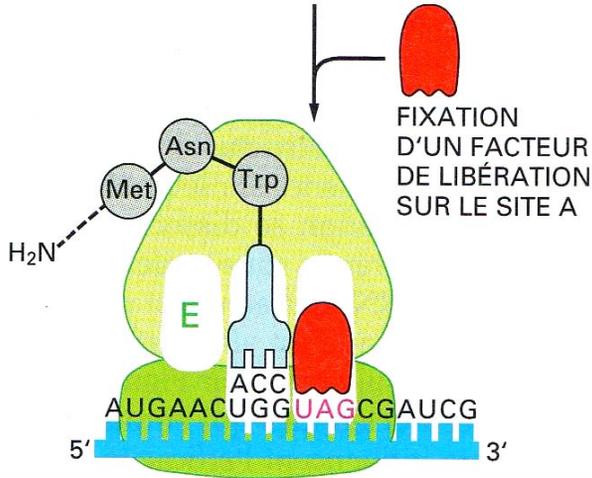
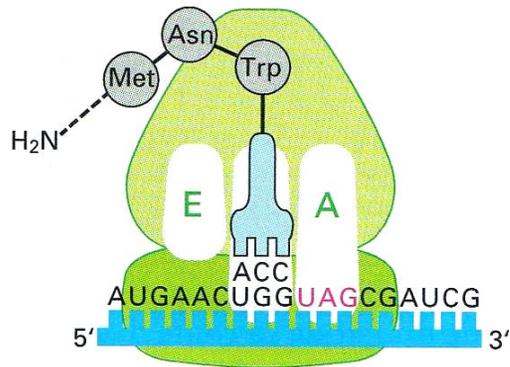
Élongation: rôle des facteurs d'élongation EF-1 (EF-Tu) et EF-2 (EF-G)



Chapitre I: rappels

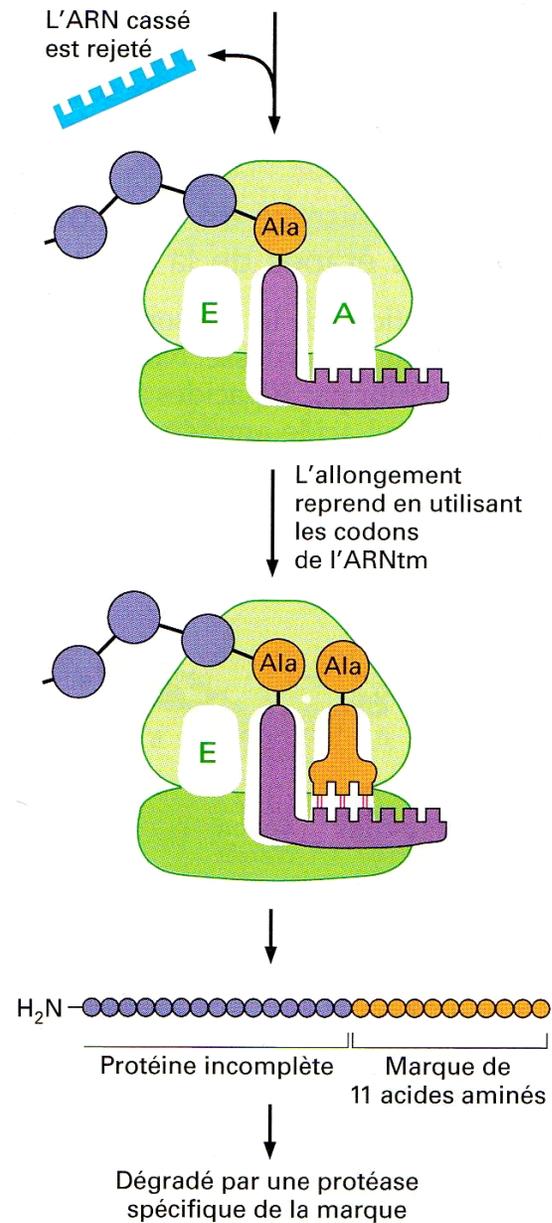
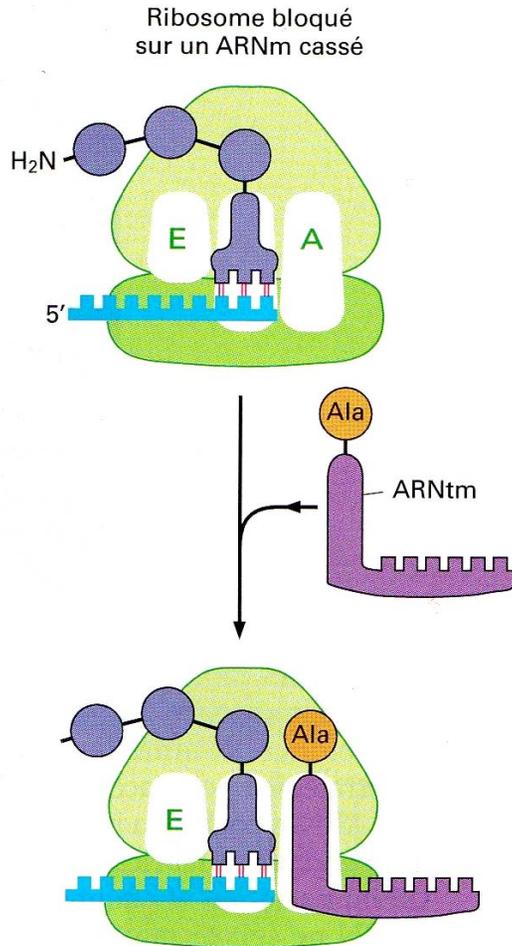
I.3.6. Le mécanisme de traduction

Terminaison



Chapitre I: rappels

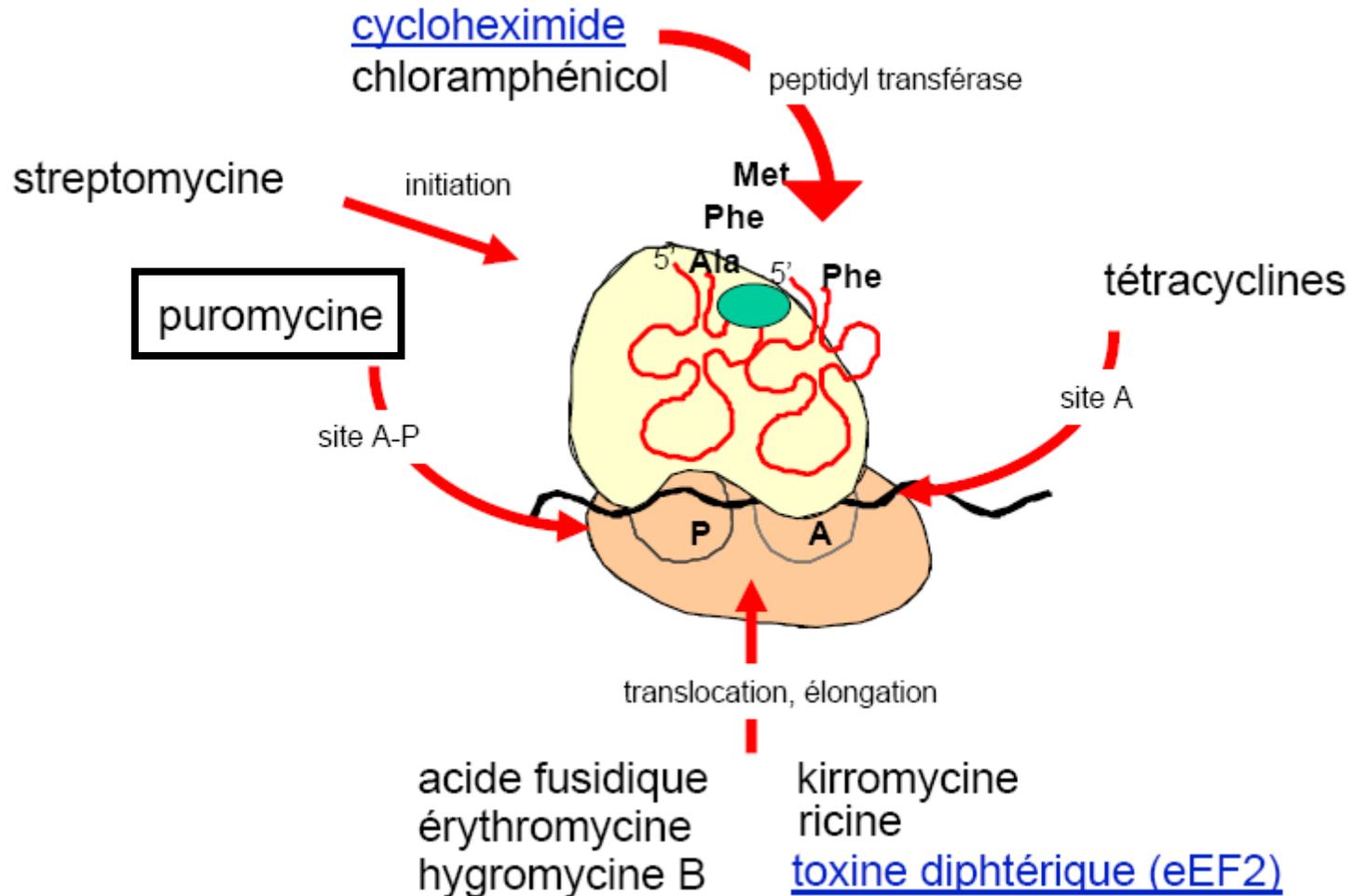
I.3.6. Le mécanisme de traduction Sauvetage (chez les procaryotes)



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

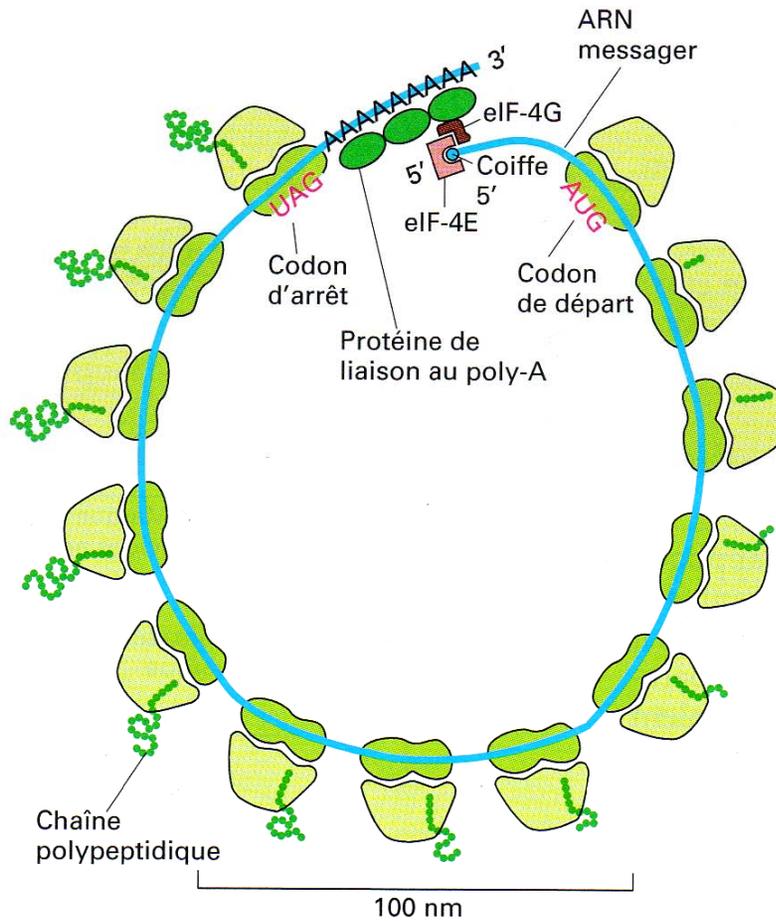
Inhibiteurs de la synthèse protéique



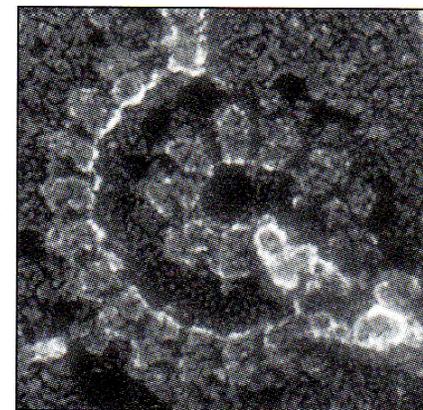
Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

Les polyribosomes



(A)



(B)

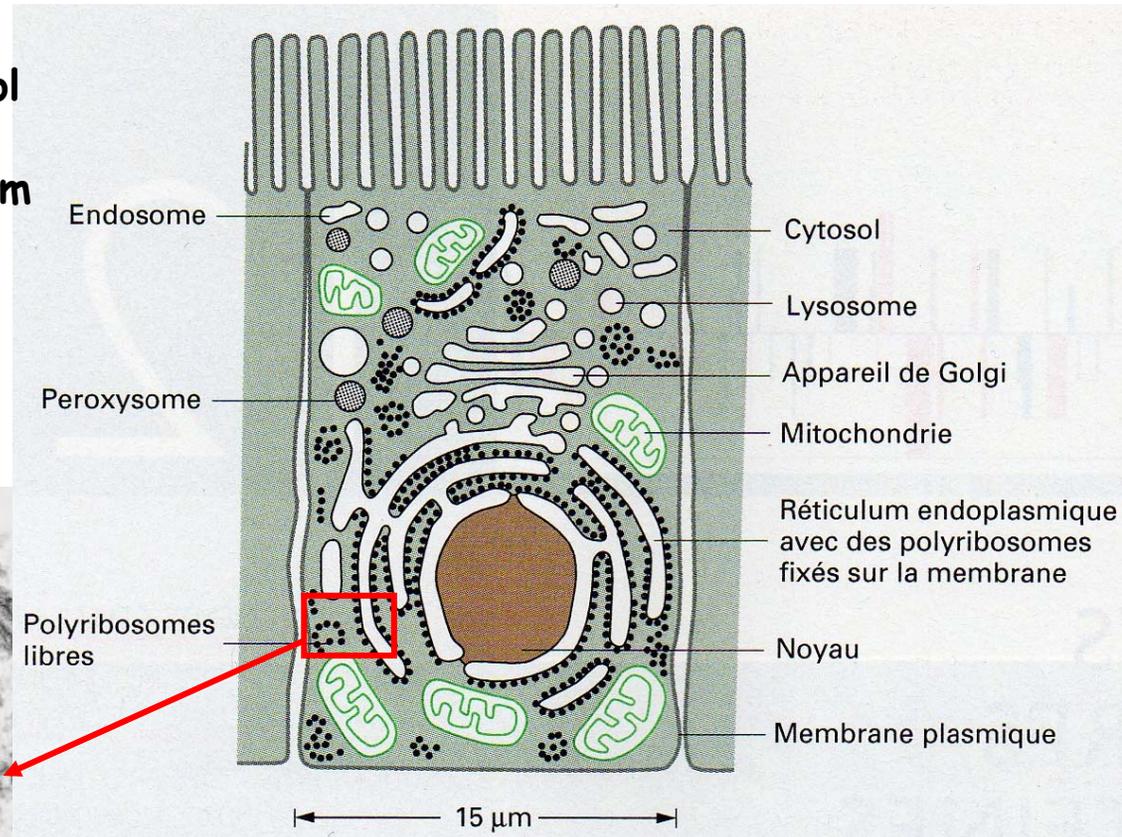
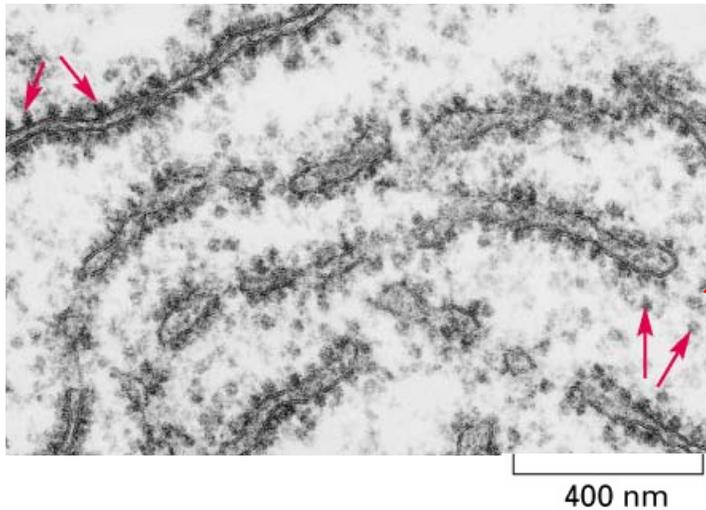
Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

Biosynthèse protéique et compartimentation cellulaire

Polyribosomes libres dans cytosol

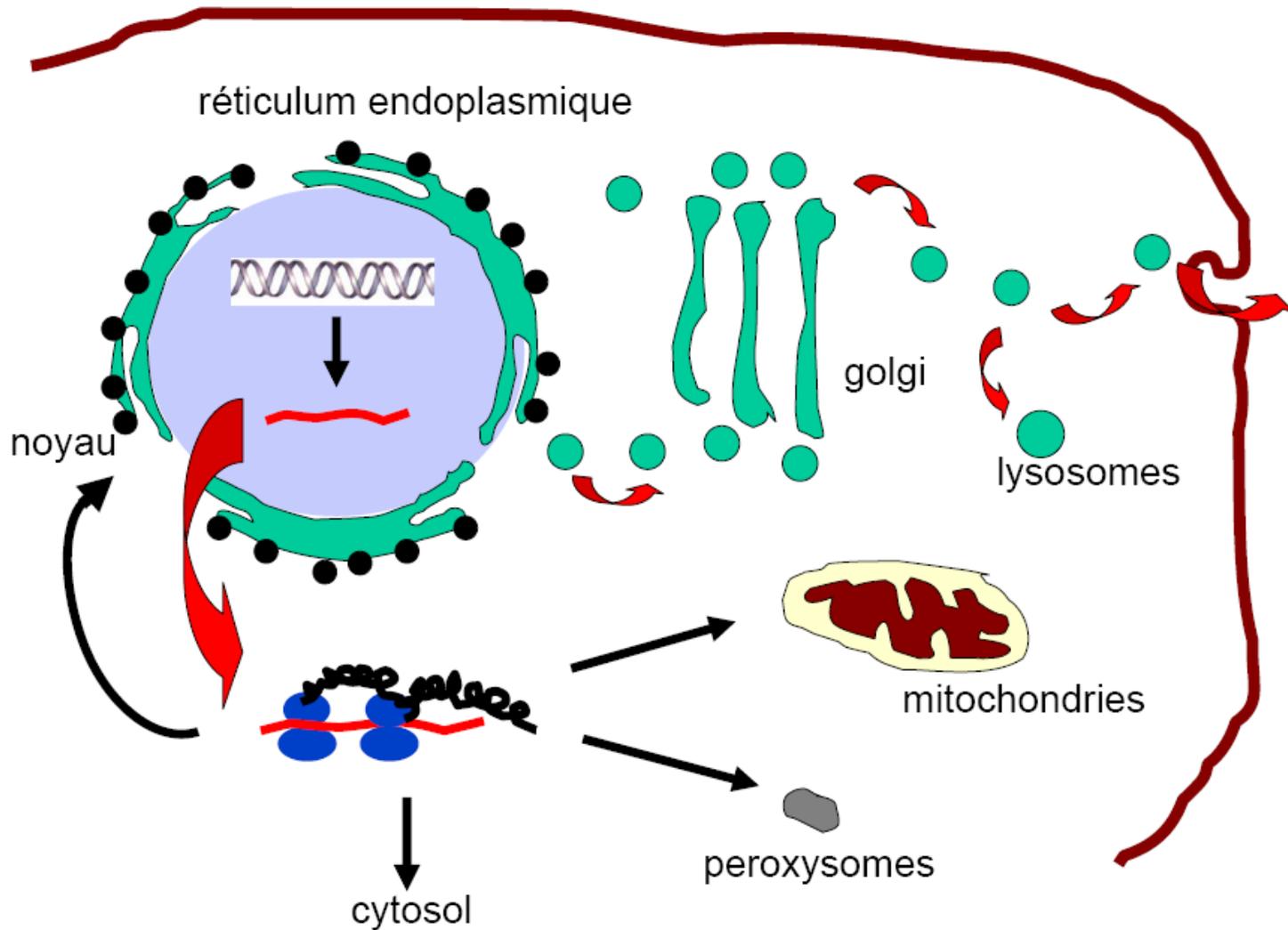
Polyribosomes liés au réticulum endoplasmique → RER



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

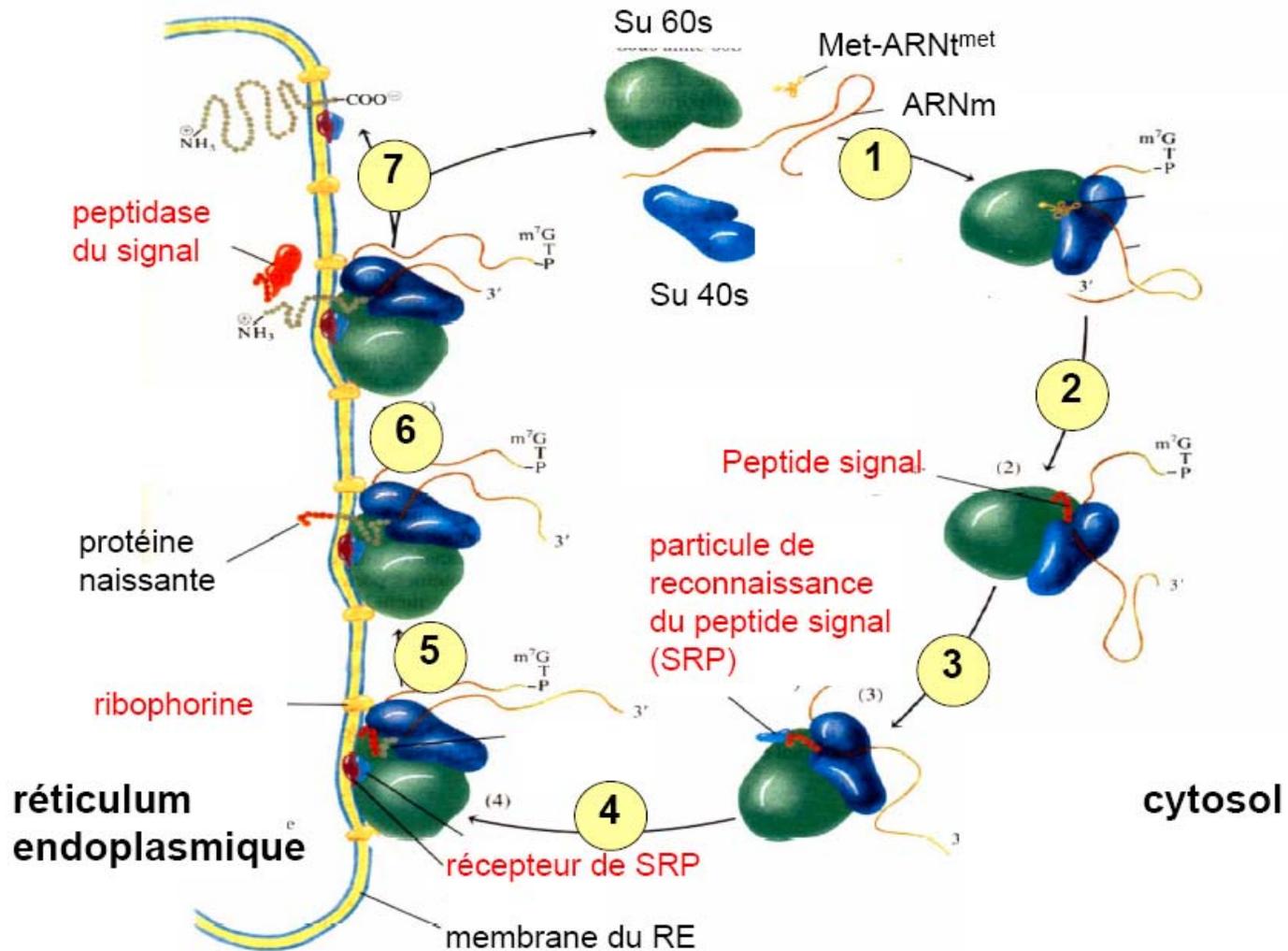
Tri des protéines: voies du cytosol et du réticulum endoplasmique rugueux



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

Voie du RER et peptide signal



Chapitre I: rappels

I.3.6. Le mécanisme de traduction

Devenir des produits issus du RER

