Biochimie – Acides aminés, peptides et protéines

Structures et principales protéines.

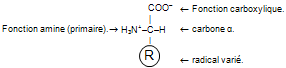
Ce sont des constituants extrêmement important au niveau quantitatif (plus de la moitié de la masse sec des cellules) et qualitatif avec l’importance des enzymes dans la cellule, et des hormones peptidiques

Protéine : c’est une macromolécule constituée d’un enchaînement d’acides aminés (ou aminoacides).

Des problèmes génétiques qui affecteraient le métabolisme des acides aminés, entraînent de très sévères pathologies.

Le code spécifie 20 acides aminés (formations variables de ces acides aminés dans les protéines). Les acides aminés inhabituels subissent une modification post-traductionelle (phosphorylation, hydrolysation,…).

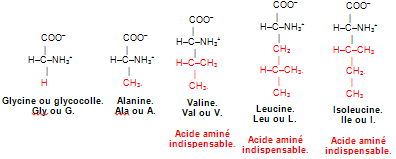
Formule générale des acides aminés (sauf proline) :



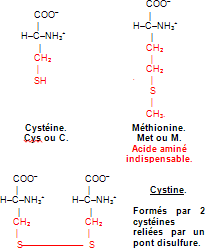
Classification des acides aminés.

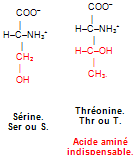
1) En fonction de leur nature chimique :

1.1) Les acides aminés à chaîne aliphatique :

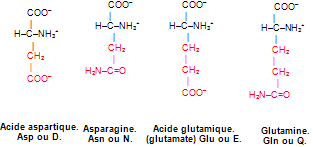


1.2) Les acides aminés hydroxylés : 1.3) Les acides aminés soufrés :

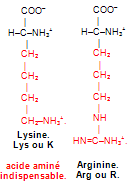




1.4) Les acides aminés dicarboxyliques et leurs amides :

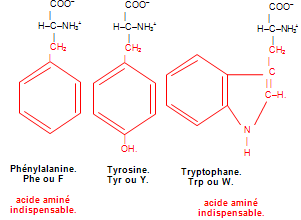


1.5) Les acides aminés dibasiques :

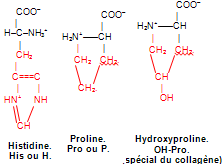


1.6) Les acides aminés cycliques :

*1.6.1) Les acides aminés aromatiques :*



1.6.2*) Les acides aminés hétérocycliques :*



Besoins en acides aminés chez l’Homme :

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Indispensables. |  | Non-indispensable. |
|  | Isoleucine. |  | Alanine. |
|  | Leucine. |  | Asparagine. |
|  | Lysine. |  | Aspartate. |
|  | Méthionine. |  | Cystéine. |
|  | Phénylalanine. |  | Glutamate. |
|  | Thréonine. |  | Glutamine. |
|  | Tryptophane. |  | Glycine. |
|  | Valine. |  | Proline. |
| Semi-indispensable, car synthétisé mais pas en quantité suffisante. | Arginine. |  | Sérine. |
| Histidine. |  | Tyrosine. |
|  |  |  |

Petit moyen mnémotechnique pour les acides aminés indispensables :

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Le | Très | Lyrique | Tristan | Fait | Vachement | Méditer | Iseult |
| Leu. | Thr. | Lys. | Trp. | Phe. | Val. | Met. | Ile. |

2) Selon le caractère hydrophile ou hydrophobe de leur chaîne latérale R :

2.1) Acides aminés non polaires ou hydrophobes : acides aminés à chaîne latérale exclusivement carboxyl, aliphatique ou aromatique : glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, phénylalanine, tryptophane, proline et méthionine.

2.2) Acides aminés polaires ou hydrophiles :

-acides aminés à chaîne aliphatique ou aromatique : sérine, thréonine, asparagine, glutamine, tyrosine et cystéine (à cause de liaisons ioniques).

-acides aminés basiques : lysine, arginine et histidine.

-acides aminés acides : aspartate et glutamate.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Acides aminés hydrophobes (apolaires) 9 | | Acides aminés hydrophiles (polaires) 11 | |
| Glycine. | Phénylalanine. | Sérine. | Lysine. |
| Alanine. | Tryptophane. | Thréonine. | Arginine. |
| Valine. | Proline. | Asparagine. | Histidine. |
| Leucine. | Méthionine. | Glutamine. | Aspartate. |
| Isoleucine. |  | Tyrosine. | Glutamate. |
|  |  | Cystéine. |  |

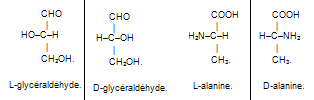
Propriétés physiques des acides aminés.

1) Solubilité :

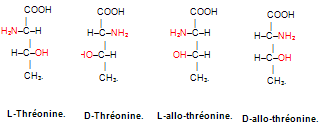
Ils se présentent sous la forme d’un solide blanc (dans le commerce) plus ou moins soluble dans l’eau, la solubilité baisse avec le nombre d’atome de carbone de la chaîne aliphatique. S’il y a présence d’un agent polaire, la solubilité augmente.

2) Isomérie optique :

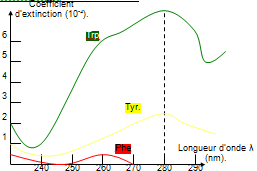
Tous les acides aminés possèdent un carbone asymétrique (sauf la glycine à cause des deux atomes d’hydrogènes sur le carbone α).



Dans certains peptides de médicaments, on trouvera des acides aminés sous la forme D ; néanmoins les protéines possèdent surtout la forme L.



absorption dans les U.V. :



Utilisé en diagnostic pour savoir si une protéine est présente dans la substance utilisée.

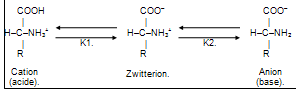
Ionisation.

Il existe 3 formes possibles pour un acide aminé neutre.

-cation NH3+: charge nette +1.

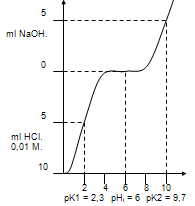
-anion COO–: charge nette –1.

-zwitterion NH3+ et COO–: charge nette 0.

pK1 = log 1/K1 = -log K1.

Au pK1, l’acide aminé est à 50% cationique et à 50% zwitterion.

pHi = (pK1 + pK2)/2 : c’est le point isoélectrique (tout sous forme de zwitterion).

pH = pK1 = 50% cation + 50% Z → 1 à 3.

= pK2 = 50% anion + 50% Z → 9 à 10.

COOH

⎪

H–C–NH3+

⎪

CH2

⎪

COOH

COO–

⎪

H–C–NH3+

⎪

CH2

⎪

COOH

COO–

⎪

H–C–NH3+

⎪

CH2

⎪

COO–

COO–

⎪

H–C–NH2

⎪

CH2

⎪

COO–

K1.

K2.

K3.

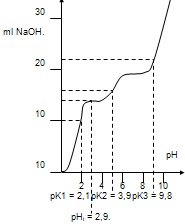
Zwitterion.

Cation.

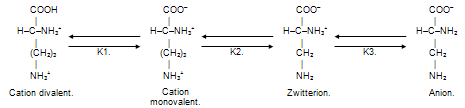
Anion monovalent.

Anion divalent.

pHi = (pK1 + pK2)/2.

Cas d’acide aminé dibasique : la lysine.

Cas de l’aspartate : un acide aminé dicarboxylique.



pHi = (pK2 + pK3)/2 = 9,7. pK1 = 2,2.

pK2 = 9.

pK3 = 10,5.

Il n’y a pas d’ionisation dans les protéines avec COOH et NH2 de la chaîne commune, les charges viennent des chaînes latérales R.

Propriétés chimiques des acides aminés.

1) dues à la présence du groupement carboxyle :

-formation de sels par action des bases dont le pH est supérieur au pHi.

-estérification : acide + alcool = ester + eau.

-décarboxylation : nombreuses réactions de décarboxylations enzymatiques..

2) dues au groupement amine :

-formation de sels : NH3+ Cl–.

-N-alkylation et N-arylation :

•dérivés N-méthylés, N-diméthylés et N-triméthylés (cf. métabolisme de la glycine).

•Dérivés dinitrophénylés.

-N-acylation : réaction avec un dérivé d’acide :

R’–C=O **+** COOH–CH–NH2

⎪ ⎪

X R

R’–C–NH–CH–COOH **+** XH

⎪⎪ ⎪

O  R

par exemple : dérivés N-acétyls et N-benzoylés de la glycine : processus de détoxification.

-désamination :

•Désamination nitreuse : en présence de NO2H

•désamination oxydative : voie enzymatique.

•transamination : transfert d’un groupement amine à un acide α-cétonique par une transaminase.

-réaction avec les aldéhydes : formation des bases de Schiff :

•réaction avec un ose : réaction de Maillard.

Remarque : lorsque l’acide aminé qui subit la réaction appartient à l’hémoglobine, on obtient une hémoglobine glyquée.

CHO

⎪

(CHOH)4

⎪

CH2OH

Protéine.

Glucose.

H2O.

R

⎪

N

⎪⎪

CH

⎪

(CHOH)4

⎪

CH2OH

Base de Schiff.

Réarrangement d’Amadori.

R

⎪

N

⎪

CH2

⎪

H–C=O

⎪

(CHOH)3

⎪

CH2OH

Protéine glyquée.

R–NH2

Ceci est très important dans le dosage de la glycémie du diabète.

Quand le glucose reste dans le sang, il va se fixer à une amine de la lysine ⇒ hémoglobine glyquée.

Cette fixation dépend de la concentration du glucose dans le sang, donc de la glycémie (qui est importante chez les diabétiques).

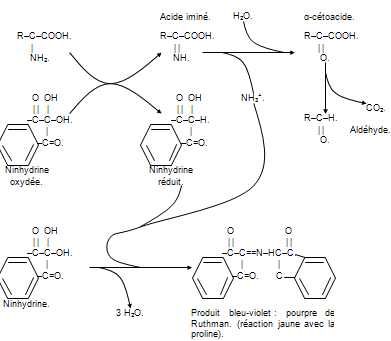
Normalement, seulement 4 à 5% de l’hémoglobine est glyquée. Chez un diabétique ce taux peut monter jusqu’à 10%.

La lenteur du phénomène peut renseigner sur la glycémie du patient des 6 à 8 semaines précédentes (du fait de la durée de demi-vie moyenne d’une hématie ≈ 60j).

3) Propriétés chimiques dues au groupement carboxyl et au groupement amine :

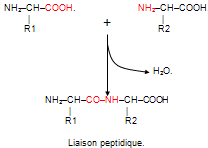
•groupement amine :

-réaction avec le ninhydrine (coloration) :



cette technique s’applique au dosage des acides aminés. La coloration obtenue est analysée par un spectromètre pour définir la quantité d’acides aminés présente.

-formation d’une liaison amide entre acides aminés :



4) Propriétés chimiques dues aux chaînes latérales :

-groupement hydroxylé : estérification par acide phosphorique (phosphosérine, thréonine ou tyrosine).

-noyau aromatique : réaction de substitution. Par exemple les dérivés iodés de la tyrosine dans les hormones thyroïdiennes.

-groupement thiol : réaction d’oxydation permettant la formation de pont disulfure :

2 R–SH → R–S~S–R (cf. cystine).

Techniques permettant l’identification des acides aminés.

-chromatographie sur couche mince.

-chromatographie échangeuse d’ions.

-chromatographie en phase gazeuse.

1) Chromatographie sur couche mince (technique qualitative) :

dans toutes ces techniques de chromatographie, il existe deux phases : une phase stationnaire, et une phase mobile :

-phase stationnaire : c’est une couche de cellulose (hydrophile) sur une plaque de verre.

-phase mobile : c’est un solvant saturé d’eau (hydrophobe).

Cette technique spécifie le caractère hydrophile ou hydrophobe des acides aminés. Plus il est hydrophobe, plus il sera attiré par le solvant (en migration) plus il se déplacera ″loin″ sur la plaque. En revanche plus il sera hydrophile, plus il aura une grande affinité pour la plaque, et moins il migrera.

2) Chromatographie échangeuse d’ions :

c’est une technique automatisée.

-phase stationnaire : elle est constituée d’une résine avec des groupements sulfoniques   
(SO3–) contenant des charges négatives.

Le pH est abaissé à 2, provoquant la protonation des acides aminés sous la forme NH3+ qui se fixent alors sur les SO3–.

-phase mobile : on ajoute une plaque mobile dont le pH augmente progressivement. Les acides aminés vont se décrocher 1 par 1 de la résine quand le pH de la phase mobile aura atteint leur pHi, ils passeront alors sous forme anionique et seront détachés de la résine et migreront alors avec la phase mobile. Les premiers acides aminés à se détacher seront acides, neutres et enfin basiques.

Cette technique peut servir à dépister un défaut de synthèse d’un acide aminé en particulier.

Le résultat sera obtenu sous forme de pic, chaque pic représentant un acide aminé et la surface de ce pic indiquera la quantité de cet acide aminé.

3) Chromatographie en phase gazeuse :

-phase stationnaire : il s’agit d’une colonne capillaire de 0,1 mm de diamètre (je n’suis pas sûr du chiffre) enduite d’un film liquide. Le tout est maintenu à 200°C dans un four (attention : le liquide reste liquide).

-phase mobile : c’est un gaz qui passe à travers la colonne.

Les acides aminés subissent une réaction d’estérification avec des dérivés halogènes : on les rend donc volatile puis on les injecte dans la colonne.

La discrimination se fait selon la solubilité (affinité) avec le film liquide. Les acides aminés sont entraînés plus ou moins vite par le gaz inerte. Leur temps de séquestration les caractérisent.

Le problème ici, est que je ne me souviens pas de quoi est fait le biofilm, apparemment, cette technique semble moins importante car finalement, je ne connais pas le critère de différenciation des acides aminés (selon taille, polarité,…).

Pour conclure, la chromatographie échangeuse d’ions est la plus utilisé et à savoir PAR CŒUR… à mon avis, ça tombe au concours…

Structure des protéines

Une protéine est un enchaînement d’acides aminés liés par une liaison peptidique : c’est la structure primaire.

En fonction du nombre d’acides aminés, on parle de protéine. Moins de 10 on emploie le nom peptide, de 10 à 100 polypeptide, ensuite seulement on parlera de protéines.

Le groupement amine NH3+ est à gauche et le carboxyl à droite lors de la représentation d’une protéine.

Résidus d’acides aminés : les acides aminés dont le groupement carboxyl participe à la liaison peptidique. On ajoute le suffixe yl : lysine → lysyl ; leucine → leucyl…

Détermination de la structure primaire des peptides.

1) Détermination du contenu en acides aminés : l’hydrolyse acide.

Comme les liaisons peptidiques sont très stables, le peptide est placé dans une solution d’HCl (6M) à pH très acides. L’hydrolyse s’effectue durant 24 heures avec une température de 100°C et sous vide. On effectue ensuite une chromatographie pour caractériser les différents acides aminés.

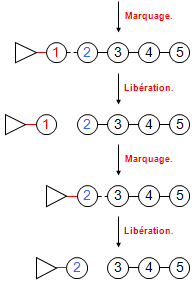
Les gros inconvénients de cette hydrolyse résident dans le fait que le tryptophane est dégrader par l’hydrolyse et que le glutamine et asparagine sont désaminés et se transforment en glutamate (= acide glutamique) et aspartate (= acide aspartique).

2) Détermination de l’extrémité N terminale :

a) Méthode du dinitrophényl-acide aminé de Sanger :

Sanger a été le premier a effectué le séquençage d’une protéine : l’insuline. Le dinitrophényl se fixe sur le N terminal, il y a alors formation du dinitrophényl-acide aminé.

La liaison ″fraîchement″ formée est plus forte que la liaison peptidique. On effectue une hydrolyse ″vachement″ balèze qui nique la gueule à la liaison peptidique mais pas à celle entre le dinitromachin et le N terminal. On se retrouve alors avec un acide aminé libre : l’acide aminé terminal du peptide.

b) Méthode d’Edman : Dégradation récurrente d’Edman avec l’isothiocyanate de phényle : avec cette technique, on peut réaliser un vrai séquençage du peptide.

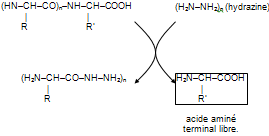
L’isothiocyanate de phényl se fixe sur le NH2 terminal grâce à son atome de soufre. Cette liaison va fragiliser la liaison peptidique entre le 1er et le 2ème acide aminé. On effectue ensuite une hydrolyse douce pour ne détruire que la liaison fragiliser afin, que le reste du peptide reste intact. On obtient alors par exemple un phényl-isothiolcyanate-alanine et une chaîne peptidique (n-1).

Cette méthode ne s’effectuer que sur des peptides dont la longueur ne dépasse pas 80 acides aminés.

c) aminopeptidase : hydrolyse de l’acide aminé terminal… c’est tout ce que la prof nous aurait dit là-dessus…

3) Détermination du C terminal :

a) hydrazine :

 on hydrolyse dans un premier temps toutes les liaisons peptidiques et on libère tous les acides aminés.

Tous les acides aminés vont se combiner avec l’hydrazine pour donner de l’hydrazide sauf l’acide aminé de l’extrémité C terminale (car c’est le seul en COOH et pas CO).

b) carboxypeptidase :

cette enzyme va hydrolyser la liaison des acides aminés du coté C terminal…

4) Coupures à l’intérieur de la chaîne peptidique :

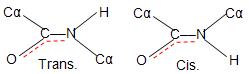
Comme on ne se sait pas étudier de grandes protéines, on utilise des enzymes digestives comme la pepsine, la chymotrypsine, la trypsine… elles vont couper la protéine en plein milieu. Par exemple, la trypsine coupe des résidus d’arginine ou de lysine du coté C-terminal9.

Configuration spatiale de la liaison peptidique.

Elle est rigide et plane :

-plane : les 6 atomes sont compris dans un même plan, ils sont coplanaires.

-rigide : la liaison peptidique est dite rigide, sa longueur et comprise entre celle d’un simple et double liaison covalente : 132 anstreum entre N et C. ⇒ caractère partial de la double liaison (dans sa taille). Il n’y a pas de possibilité de rotation autour de cette liaison. Les doublets d’électrons occupent la même orbitale délocalisée :



Attention : on va dire qu’on n’a jamais fait de chimie, parce que d’après Kimny, comme le O est prioritaire sur le C, la forme de gauche devrait être Cis et l’autre Trans. Je pense qu’ici, ces deux formes décrivent plus la position de la chaîne peptidique (cers le Cα) que l’isomérie optique. A ce titre ces deux appellations ne sont donc pas fausses…

Cette liaison n’est pas vraiment une liaison libre à cause de l’encombrement stérique des molécules.

1) Structures secondaires :

C’est l’organisation dans l’espace de 10 à 20 acides aminés au sein d’une même chaîne peptidique : Hélice α.

Feuillet β.

1.1) Hélice α : les acides aminés sont enroulés en spirale et forment une hélice (ah ouais !!!) Selon deux pas : -hélice à droite (D) principalement.

-hélice à gauche.

Les radicaux R se retrouvent alors à l’extérieur de l’hélice. Elle est stabilisée par de nombreuses liaisons hydrogènes : –O–H---N–.

–O–H---O–.

–N–H---N–.

–N–H---O–. Ce sont des liaisons faibles, non-covalentes.

Cette liaison s’effectue entre le groupement carboxyle d’un acide aminé et le groupement amine d’un autre acide aminé situé 4 acides aminés plus loin. ⇒ Cela assure la stabilité de l’hélice α.

On compte 3,6 acides aminés par tour de spires. La composition des chaînes latérales des acides aminés jouera dans la stabilité.

Par exemple : on ne trouvera jamais plusieurs glutamate à la suite dans une hélice, dans la mesure où, à pH physiologique, le glutamate est sous forme anionique et de ce fait les acides aminés de glutamate se repousseraient et déstabiliseraient l’hélice α (idem pour la lysine sous forme cationique). L’encombrement stérique de l’acide aminé joue également un rôle dans cette stabilité.

Il peut parfois arriver que plusieurs hélice α s’associent en SUPER-HELICE ! comme la kératine des cheveux ou la tropomyosine qui subissent un enroulement super-hélicoïdal.

1.2) Feuillet β : ce sont des chaînes polypeptidiques en zig-zag.

Les groupements R sont tantôt au-dessous tantôt au-dessus. Il n’y a pas de liaisons hydrogènes dans un même feuillet β. Il peut en revanche se crée des liaisons hydrogènes intercathéners entre 2 feuillets (intracathéner pour l’hélice α).

Feuillets plissés : c’est l’association de 2 feuillets en chaîne parallèle ou anti-parallèle (forme la plus stable et la plus courante).

R aura ici aussi un rôle important notamment au niveau de l’encombrement stérique (souvent constitué d’acides aminés de petite taille).

⇒La soie et les toiles d’araignée par exemple auront cette configuration (mais alors qu’est c’qu’on s’en tape !!!).

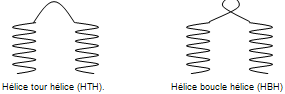
1.3) Coude β (β-turn) : Le premier et le dernier acides aminés de cette structure sont reliés par un pont hydrogéné. Cela permet à la chaîne de changer brusquement de trajet (et sans utiliser le frein à main !!!).

On y retrouve essentiellement la proline (elle forme les coudes car elle n’est pas trop rigide).

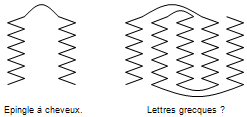
1.4) Pelote statistique (zone amorphe) : ce n’est pas une structure organisée, elle permet juste de faire le lien entres les autres formes secondaires.

2) Structures super-secondaires : c’est la succession de structures secondaires :

2.1) deux hélices consécutives :



2.2) feuillets β consécutifs :



2.3) mixte :

là, il faudrait faire un petit effort d’imagination pour visualiser un enchaînement d’hélices α et de feuillets β éventuellement reliés par des atomes de zinc pour former les structures en doigt de zinc.

3) Structures tertiaires :

La chaîne peptidique subit un repliement dans l’espace (myoglobine 90% d’hélices α). A l’intérieur se trouve les acides aminés hydrophobes, et à l’extérieur les hydrophiles, car le polypeptide se retrouve dans un milieu aqueux.

La structure est stabilisée par différents types de liaisons :

-le pont disulfure : 2 cystéines pouvant être très éloignées l’une de l’autre dans la structure primaire, se retrouvent proche grâce au repliement et peuvent former une cystine (pont disulfure).

-liaisons faibles : •hydrogènes, ioniques.

•hydrophobes : ce sont des liaisons non-spécifiques qui s’établissent suivant la distance entre les acides aminés : ce sont les liaisons de Van der Waals.

⇒tout cela organise la structure tridimensionnelle et le repliement de la protéine.

Une même protéine peut avoir 2 structures tridimensionnelles : par exemple le prion de la maladie de Creutzfeld Jacob existe dans notre corps sous 2 isoformes : la forme normale α et la forme anormale αβ qui agit sur la structure tridimensionnelle de la structure α et l’oblige à devenir anormal en passant sous l’isoforme αβ…

4) Structure quaternaire :

La structure quaternaire d’une protéine est l’association de plusieurs sous-unité (plusieurs chaînes polypeptidiques). Une protéine qui possède plusieurs sous-unités est un oligomère. Les sous-unités vont par paires soit : -identiques : homomérique.

-différentes : Hétéromérique.

Par exemple l’hémoglobine, possèdent 4 sous-unités : 2 sous-unités α et 2 β liées entre elle par des liaisons non-covalentes.

Double intérêt de cette configuration : l’association et la dissociation peuvent contrôler l’activité de la protéine, la protéine kinase A (cf. NEEL) qui est AMPc dépendante, est un tétramère qui possède 2 sous-unités régulatrices et 2 sous-unités catalytiques. La forme tétramère est inactive. Quand l’AMPc va se fixer sur les sous-unités régulatrice, elle va provoquer la dissociation des sous-unités régulatrices et catalytiques qui deviennent actives ⇒ l’enzyme est active.

Il existe donc une possibilité d’interaction entre les sous-unités, ceci explique les phénomènes de coopérativité (Cf. NEEL), par exemple principe de la fixation de l’oxygène sur l’hémoglobine.

On est capable de dénaturer ces protéines, on casse toutes les liaisons non-covalentes (hydrogène, hydrophobe, ionique). Le plus simple pour effectuer cette dénaturation est la chaleur ou encore la variation de pH.

⇒ Après cette dénaturation on perd toute activité de la protéine. Les 4 types de structures contribuent donc au bon fonctionnement de la protéine.

Méthode de séparation des protéines.

1) Basé sur les propriétés physico-chimiques : précipitation selon leur solubilité.

On utilise des sels qui vont faire précipiter certaines protéines et pas d’autres. On rajoute pour ceci, des sels qui vont entrer en compétition avec les protéines sur l’eau pour former des liaisons avec une plus grande affinité sur le milieu aqueux. Les protéines n’ont ″plus assez d’eau″ et précipitent. Par exemple à 50% de saturation en sel dans le plasma, la globuline précipite, mais pas l’albumine.

2) En fonction de la taille : gel de filtration.

Cette technique s’effectue à l’aide d’une colonne remplie de billes qui forment de réseaux très fins (réticulations plus ou moins importantes). On injecte les protéines par le dessus de la colonne et on regarde la distance qu’elles parcourent. Les petites protéines sont très vite capturer par les réseaux des billes et ne descendent que peu dans la colonne. Les moyennes protéines arriveront un peu plus bas avant de se perdre dans les réseaux des billes. Les grosses protéines en revanche seront trop grosses pour entrer dans les réseaux de billes, passeront entre les billes et se retrouveront en bas de la colonne.

3) Chromatographie échangeuse d’ions : c’est exactement le même principe que pour les acides aminés.

4) Electrophorèse : en fonction de la taille et de la charge.

Cette technique est donc fonction de la composition en acide aminé et de leur charge négative, positive ou nulle. Les protéines vont migrer vers la cathode (charge +) ou vers l’anode (charge –) ou ne pas migrer (charge nulle) sur un gel de polyacrylamide (merci M. CHAUFFERT), c’est un tamis dans lequel les grosses protéine auront du mal à migrer : le trajet est inversement proportionnel à la taille.

Variante : on dénature les protéines avec un détergent, le SDS (sodium dodécyl sulfate). Le SDS va ensuite se fixer aux protéines et les charger négativement.

Elles vont alors toutes migrer dans le même sens (vers l’anode). Le déplacement ne sera alors fonction que de la taille. Après coloration, on détermine le poids moléculaire de la protéine étudiée à l’aide d’une échelle pré-établie. ⇒ SDS-Page (encore merci Chauffert).

5) Propriétés d’affinité : chromatographie d’affinité.

Cette technique s’utilise par exemple, lorsque l’on se trouve en présence d’un mélange de protéines et que l’on veut n’en purifier qu’une seule : on utilise le principe d’affinité de la protéine.

Sur une résine ou sur des billes on fixe un substrat non métabolisable de l’enzyme (un inhibiteur compétitif). Lorsque l’on ajoute le mélange de protéines en le faisant passer dans la colonne, la seule à se fixer sera la protéine recherchée, les autres ne font que passer.

On fait ensuite varier le pH pour ″décrocher″ la protéine de son substrat, que l’on récupère : elle est purifiée (cf. cours de Teyssier sur la chromatographie d’affinité pour la détection des séquences polyA)..

Utilisation d’anticorps spécifiques : ils vont reconnaître spécifiquement la protéine pour permettre le dosage de celle-ci (réaction antigène-anticorps).

Hormones hypothalamiques :

-TRH (thyréolibérine) : 3 acides aminés, pyroGlu–His–Pro. Elle stimule la synthèse de la TSH (thyréostimuline).

-CRH (corticolibérine) : 41 acides aminés, elle stimule la libération d’ACTH (adrénocorticotropine).

-GnRH (gonadolibérine) : 10 acides aminés, elle stimule la sécrétions des gonadotrophines : FSH et LH.

⇒ En gros ce qu’il faut comprendre ici sur le plan biochimique, c’est : PETIT MAIS COSTAUD.

Hormones hypophysaires :

-Hormones anté-hypophysaires :

•*TSH (thyréostimuline)* : elle stimule la thyroïde et inuit la synthèse d’hormones thyroïdiennes.

•*FSH (folliculostimuline)*: elle stimule les cellules folliculaires de l’ovaire (maturation des follicules ovariens) et les cellules de Sertoli du testicule (maturation des spermatozoïdes).

•*LH (hormone lutéinisante)* : elle stimule la production de l’œstradiol et de la progestérone par les cellules de l’ovaire et la production de testostérone par les cellules de Leydig du testicule.

Point commun entre ces 3 hormones : elles sont toutes les 3 constituées de 2 sous-unités : α et β. α est identique dans les 3 cas. C’est β lui tout seul, qui leur donne leur spécificité, mais β n’est pas active tout seul, car les récepteurs ne reconnaissent que α et β ensembles.

Donc quand on veut doser ces hormones, faut pas se planter en utilisant des anticorps anti-α, mais plutôt des anticorps anti-β.

•*ACTH (adrénocorticotropine)* : 39 acides aminés. Elle stimule la synthèse et la sécrétion des hormones corticoïdes par les glandes corticosurrénales.

-Hormones post-hypophysaires :

•*Vasopressine ou ADH* : 9 acides aminés : elle favorise la réabsorption de l’eau au niveau des tubules rénaux distaux.

•*OOOOcytosine* : 9 acides aminés. Elle joue un rôle dans la contraction du muscle lisse de l’utérus lors de l’accouchement

ADH : Cys–Tyr–Phe–Gln–Asn–Cys–Pro–Arg–Gly–CO–NH2

Ocytosine : Cys–Tyr–Ile–Gln–Asn–Cys–Pro–Leu–Gly–CO–NH2

Hormones pancréatiques :

-Insuline : elle fut séquencée la première fois par Sanger. C’est l’association de 2 chaînes polypeptidiques de 30 et 21 acides aminés. Elle est la seule hormone hypoglycémiante.

-Glucagon : 29 acides aminés : hormone hyperglycémiante.

-Glutathion GSH : γ-glutamyl–cystéinyl–glycine. L’originalité de cette hormone, est le fait que son résidu glutamate soit relié par son deuxième carboxyl (celui de R) et non par le principal (relié à Cα) :

HOOC–αCH2–CH2–CO–NH–CH–CO–NH–CH2–COOH

⎪ ⎪

NH2 CH2

⎪

SH

**γ-glutamate.**

**Glycine.**

**Cystéine.**

2 GSH → GSSH.

réduit oxydé.

-le glutathion a un rôle très important dans le métabolisme xénobiotique R (médicaments, cancérogènes chimiques,…) :

GSH + R → RSG.

Réaction effectuée grâce à la glutathion-S-transférase.

C’est une protection, car il empêche ainsi les cancérigènes d’aller interagir avec l’ADN et la modifier ou la détruire.

-décomposition du peroxyde d’hydrogène H2O2.

H2O2 + 2 GSH → GSSG + 2H2O.

Glutathion peroxydase (Se).

Cette enzyme a besoin d’un atome de sélénium pour ″fonctionner″ correctement.

-réducteur intracellulaire important : il sert d’enzyme, et permet de garder les groupements thiol réduit, et les enzymes actives.

Classification des protéines.

1) Selon la forme :

-protéines globulaires : rapport des axes (longueur/largeur) < 10 : albumine, globuline, histones (constitués d’hélice α et de feuillets β reliés par des coudes β ou par des pelotes statistiques).

-protéines fibreuses : rapport des axes > 10 : collagène, élastine, kératine α et β.

2) Selon la fonction biologique :

-enzymes.

-protéines de structure : collagène, élastine, kératine.

-protéines de transport : lipoprotéines (lipides), hémoglobine.

-protéines contractiles : actine, myosine du muscle.

3) Selon leur composition :

-holoprotéine : que des acides aminés.

-hétéroprotéine : acides aminés + groupement prosthétique (non protéique lié de façon covalente) : chromoprotéines (hémoglobine), phosphoprotéine, glycoprotéine…

Relation structure / fonction.

Protéines fibreuses :

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Structure. | Caractéristique. | Exemple. |
| Hélice α. | Structures de protection résistantes, insolubles, de flexibilité et de dureté variable. | Kératine α des cheveux, ongles (3 hélices α gauches associées en super hélice droite).  Pont cystine détruit par un shampoing, rétablit par le sèche-cheveux ⇒ permanente. |
| Feuillet β. | Filaments mou flexibles. | Fibroïne de soie. |
| Triple hélice de collagène | Résistance très élevée à la tension.  Constitué de beaucoup de proline et d’OH-proline. | Collagène des tendons, matrice de l’os. |

Au niveau de l’hélice α, la proline fait prendre un pas gauche à l’hélice : ce qui est très rare.

Il arrive que 3 hélices α (droites) s’associent en super hélice (gauche). La résistance devient alors extrêmement élevée (modèle des câbles des ponts suspendus).

Pathologie :le scorbut est un déficit dans l’hydroxylation de la proline due à une carence en vitamine C. cette dernière permet un bon fonctionnement de la proline hydroxylase.

Il peut apparaître une perte des dents due à la déstabilisation de la triple hélice des ligaments dentaires et donc une fragilisation de ceux-ci.

Différence entre l’hémoglobine et la myoglobine :

|  |  |
| --- | --- |
| Hémoglobine. | Myoglobine. |
| Elle est constituée de 4 sous-unités ce qui permet de favoriser la coopérativité positive de ces sous-unités.  La régulation de la fixation de l’oxygène se fait par le CO2 et par le pH.  ⇒C’est un excellent transporteur d’O2. | Elle n’est constituée que d’une seule sous-unité. Elle est efficace pour le stockage de l’oxygène mais nulle pour son transport, car l’affinité entre la myoglobine et l’oxygène est trop élevé et ne libèrerait pas l’O2 arrivé sur le lieu d’utilisation.  Elle est donc punie et ne sert qu’au stockage de l’oxygène dans le muscle. |

Drépanocytose (ou anémie hémolytique chronique) : le globule rouge est en forme de faucille due à une anomalie de l’hémoglobine.

Il existe une mutation de l’ADN qui code anormalement une valine au lieu d’un glutamate. Ceci modifie complètement la structure tridimensionnelle de la protéine.

La valine est un acide aminé hydrophobe qui induit dans l’hémoglobine anormale, un site supplémentaire. Lorsque l’hémoglobine va se désoxygéner, elle va devenir insoluble et polymériser. D’où la forme caractéristique du globule rouge anormal.

La maladie est surtout présente dans la population du bassin méditerranéen, des D.O.M. et de l’afrique. C’est pourquoi, dans ces régions, que le dépistage à 3 jours de vie est systématique.

Il est amusant de signaler que le laboratoire d’analyse spécialiser dans cette maladie se situe à Lille, alors que la plupart des cas sont au Sud…