

# COURS DE BIOCHIMIE

## MODULE I

### FONCTIONS DES PROTEINES : BASES MOLECULAIRES

Pr François COURAUD

mai 2007

1

Introduction. De la fonction à la structure

Chapitre 1. Stratégies pour l'étude des protéines

Chapitre 2. Structure des protéines: de l'acide aminé à la macromolécule

Chapitre 3. L'exemple du transport de l'oxygène : myoglobine et hémoglobine

Chapitre 4. L'exemple de la reconnaissance du soi : les immunoglobulines

Chapitre 5. L'exemple des protéines motrices : actine, myosine et les autres...

Chapitre 6. L'exemple d'une protéine membranaire, le récepteur de l'acétylcholine

## Introduction. La démarche du cours : de la fonction à la structure

### Les protéines : premières actrices du monde vivant

- « protéine » vient de  $\pi\rho\omicron\tau\epsilon\iota\omicron\nu$  (proteion) = qui occupe le premier rang.
- Il n'existe pratiquement pas de processus biologique non régi par une/des protéine(s).
- Comprendre le fonctionnement d'une protéine, c'est donc comprendre *in fine* « la logique du vivant »

### Les protéines assurent l'ensemble des fonctions du vivant

#### Créer et maintenir une structure

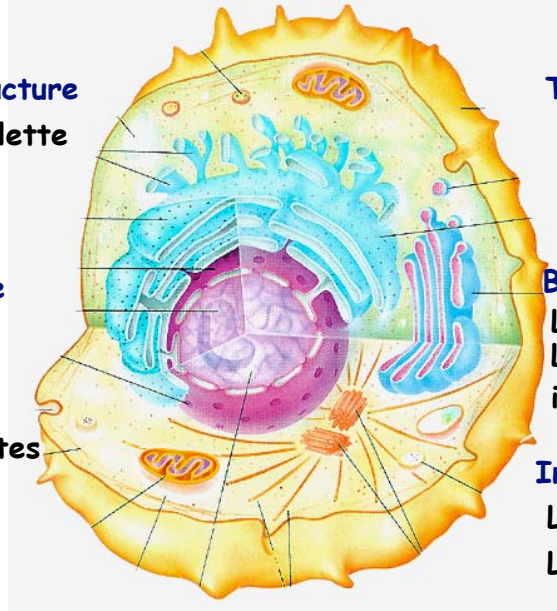
Les protéines du cytosquelette  
Les protéines des tissus de soutien

#### Reconnaître et se défendre

Les immunoglobulines

#### Transporter

Les transporteurs de petites molécules dont l'oxygène  
Les transporteurs trans-membranaires



#### Transformer

Les enzymes catalysent l'essentiel des réactions chimiques du vivant

#### Bouger-se déplacer

Les protéines à fonction motrice  
Les protéines des mouvements intracellulaires

#### Informé-signaler

Les récepteurs et leurs ligands  
Les « interrupteurs moléculaires »

## Introduction. La démarche du cours : de la fonction à la structure

Puisque les protéines sont les effectrices des fonctions biologiques, nous allons :

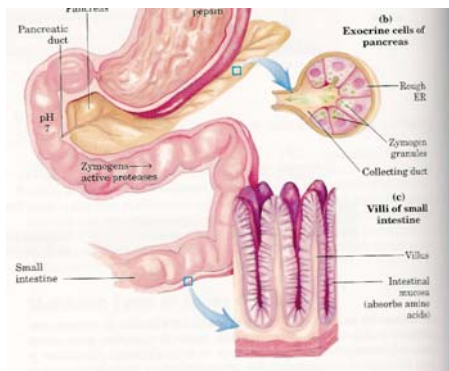
- survoler les fonctions biologiques essentielles,
- identifier les protéines qui sont responsables de l'exécution de fonctions spécifiques,
- analyser la structure de ces protéines pour
- comprendre les mécanismes moléculaires de leur fonctionnement
- modéliser et quantifier ces mécanismes.

## Chapitre 1. Stratégies pour l'étude des protéines

- 1.1. Isoler la/les protéine(s) responsable(s) d'une fonction
- 1.2. Analyser la composition chimique de la protéine
- 1.3. Découvrir la structure spatiale de la protéine
- 1.4. Corréler la structure à la fonction de la protéine

5

### 1.1. Isoler la/les protéine(s) responsable(s) d'une fonction



**Exemple** : on s'intéresse à la **chymotrypsine**, enzyme pancréatique sécrétée dans le tube digestif, responsable d'une étape de digestion des protéines alimentaires. On dispose d'une **méthode de mesure** de l'activité de l'enzyme qui va permettre de suivre l'ensemble du processus

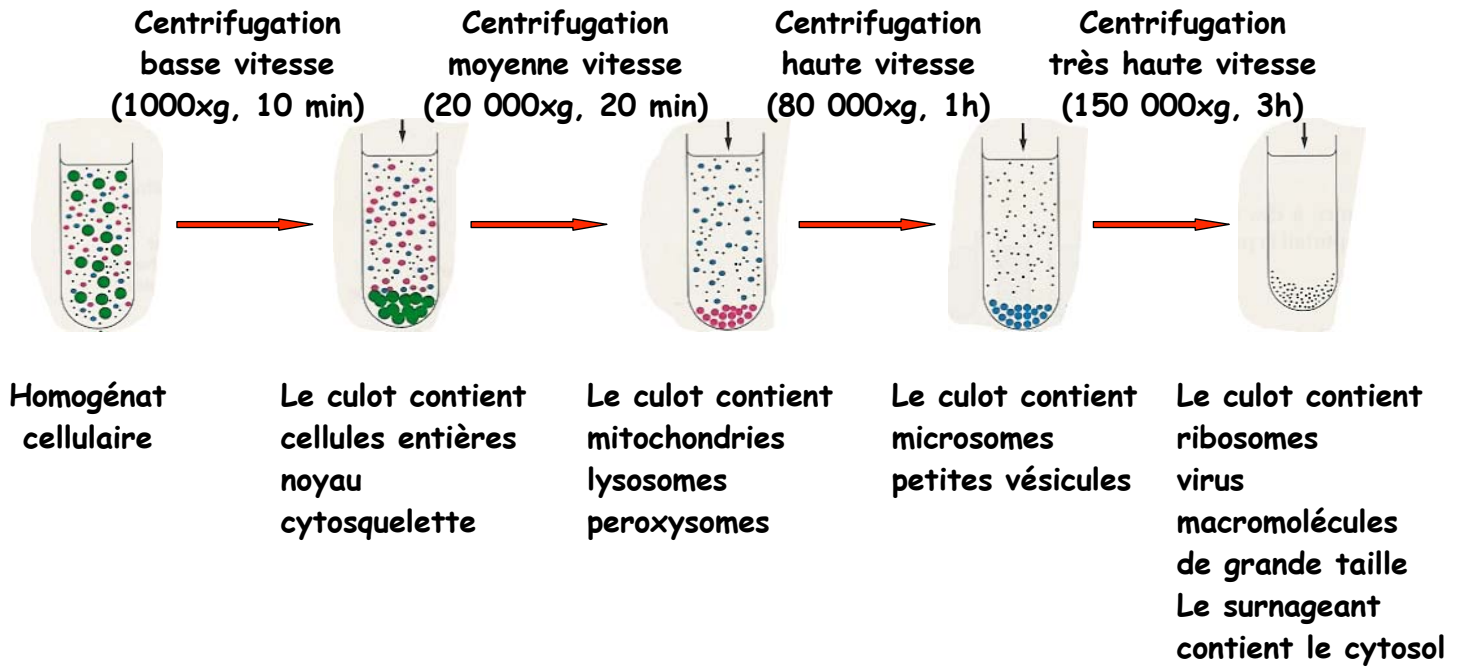
**Les étapes à suivre seront :**

- isoler le tissu pancréatique ou collecter les sécrétions
- isoler l'organite (RER) par centrifugations différentielles et ultracentrifugation
- extraire les protéines totales
- séparer les protéines par chromatographie et électrophorèse
- isoler et purifier l'enzyme par affinité
- découper la protéine en petites unités (peptides)
- analyser la composition chimique des peptides (acides aminés)
- déterminer la séquence de la protéine entière
- étudier la structure 3D de la protéine
- déduire son mécanisme d'action

6

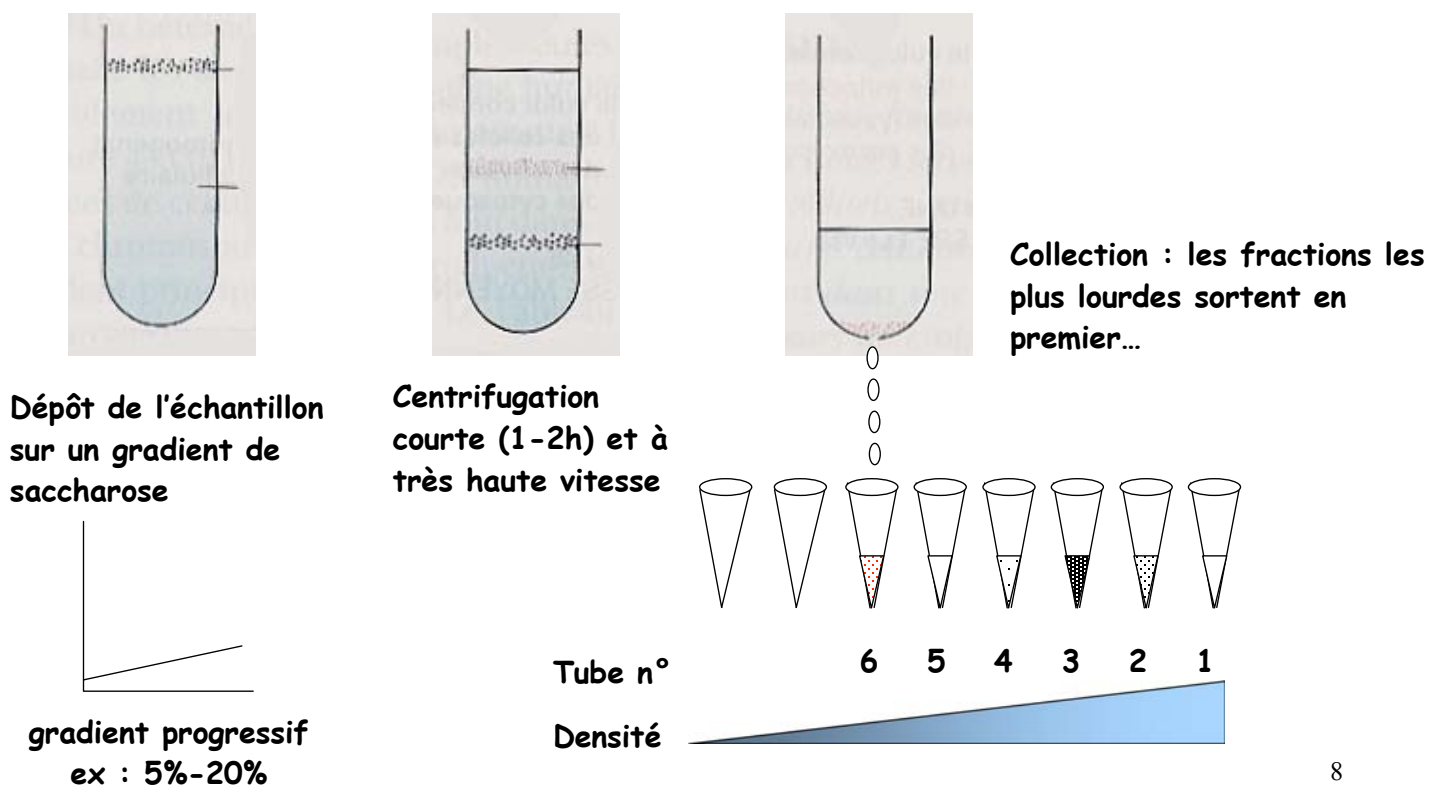
➤ isoler le tissu pancréatique ou collecter les sécrétions

➤ isoler l'organe (RER; Reticulum Endoplasmique) par centrifugation différentielle



7

➤ isoler l'organe (RER) par ultracentrifugation en gradient de densité



8



**Extraire** les protéines totales à partir de la fraction subcellulaire purifiée

L'extraction des protéines totales repose sur leur **propriétés d'insolubilité** dans des solutions salines

**Séparer** les protéines par **chromatographie** grâce à leur migration différentielle à travers un système composé de deux phases, une phase fixe et une phase mobile.

On peut ainsi séparer les protéines en utilisant leurs différences  
de taille,  
de charge  
d'adsorption spécifique

9

### Charge globale d'une protéine et point isoélectrique

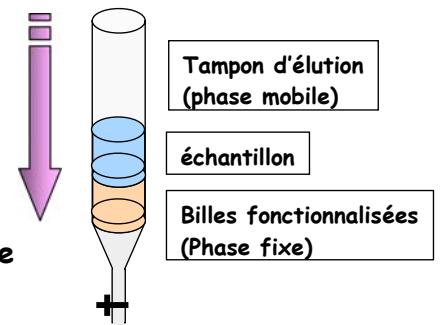
➤ Une protéine porte des charges positives et négatives au niveau des chaînes latérales des résidus d'acides aminés (voir chap. 2). Ces charges dépendent du pH de la solution et leur somme algébrique définit la **charge globale de la protéine**.

➤ Il existe toujours un pH pour lequel le nombre de charges positives portées par une protéine est égale au nombre de charges négatives: la charge globale est alors nulle. Ce pH s'appelle le **point isoélectrique de la protéine (pI)**. C'est la base de la séparation des protéines par **électrofocalisation** (voir électrophorèse bi-dimensionnelle)

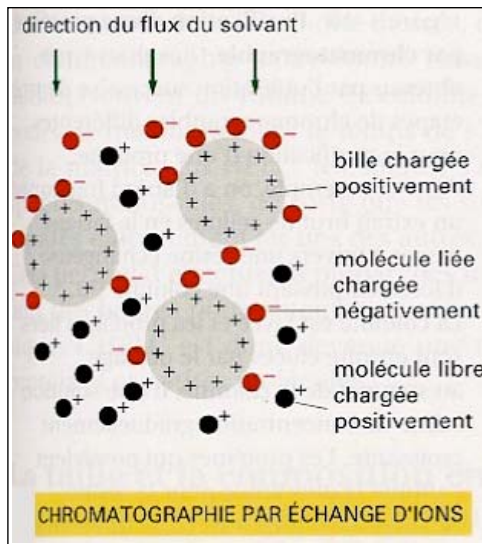
10

# Les trois grands types de chromatographie utilisés pour purifier les protéines

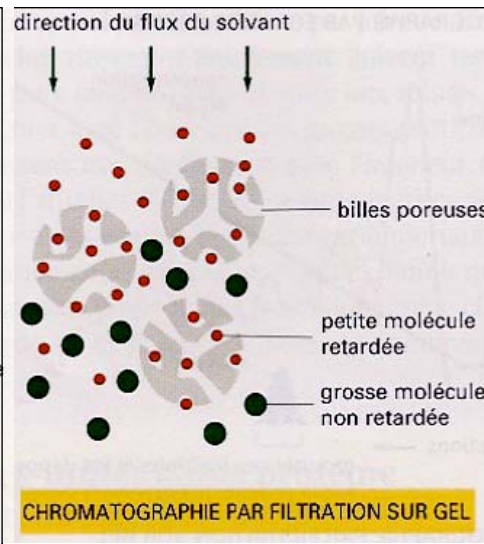
Colonne de chromatographie



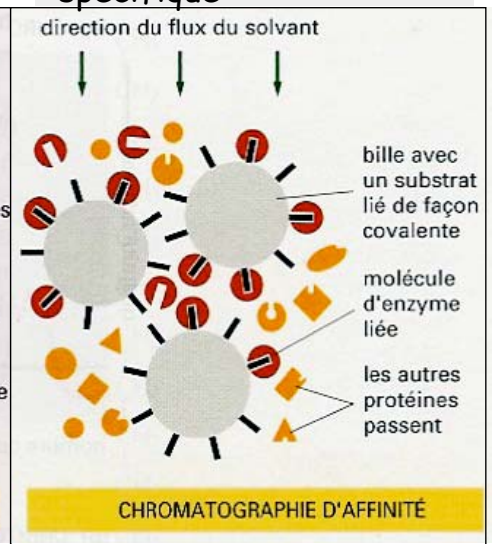
## Séparation selon la charge



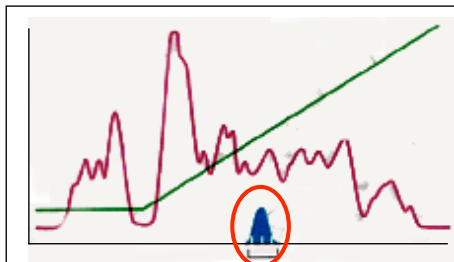
## Séparation selon la taille



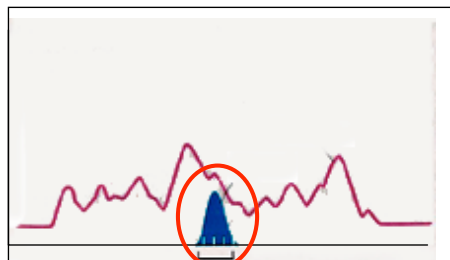
## Séparation par adsorption spécifique



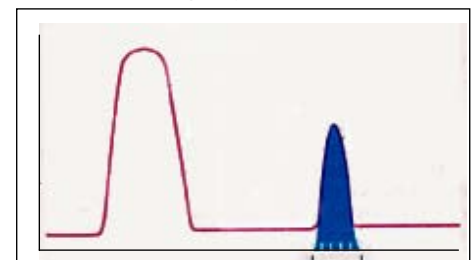
## Chromatographie échangeuse d'ions



## Chromatographie de filtration sur gel



## Chromatographie d'affinité



- Quantité de protéine dans les fractions
- Profil du gradient
- Activité enzymatique spécifique

# Électrophorèse (SDS-PAGE)

## Électrophorèse mono-dimensionnelle

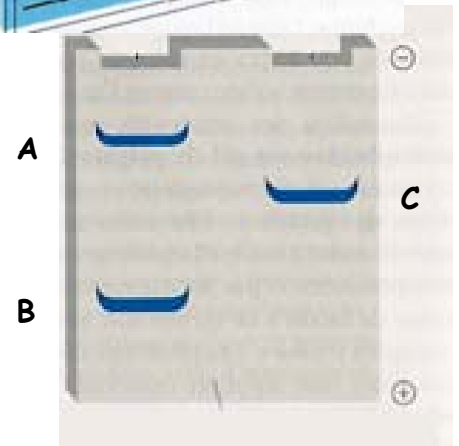
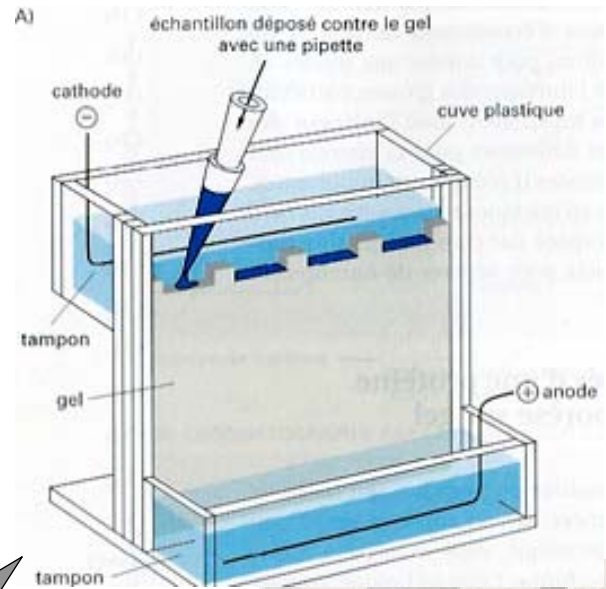
Protéine avec 2  
sous-unités (A et B)

Protéine simple (C)

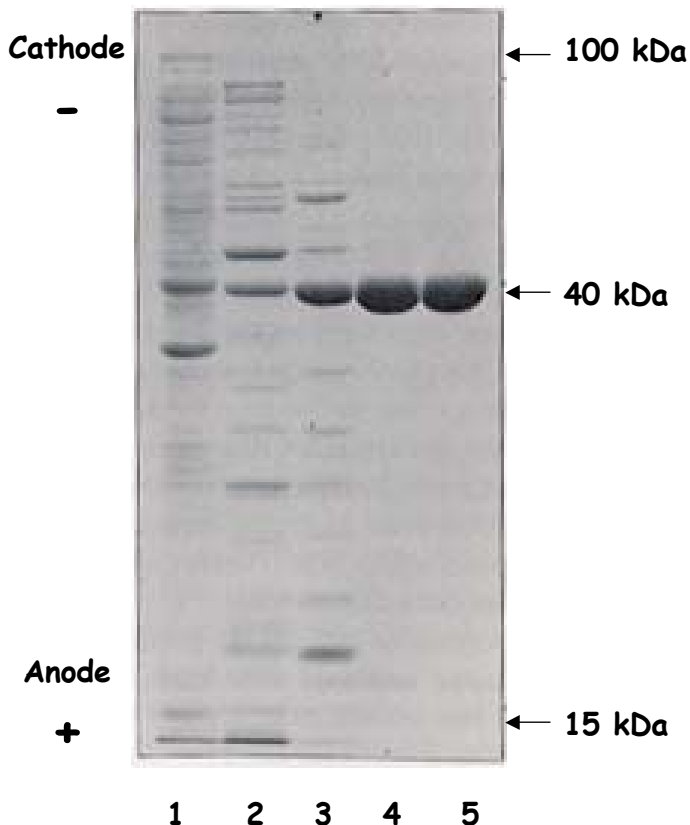


Coupage des ponts  
disulfure covalents  
( $\beta$ -mercapto-éthanol)

traitement par le SDS  
(sodium dodécyl sulfate)



## Électrophorèse mono-dimensionnelle



1 : homogénat cellulaire

2 : après ultracentrifugation

3 : après chromatographie échangeuse d'ions

4 : après chromatographie par filtration sur gel

5 : après chromatographie d'affinité

## Électrophorèse bi-dimensionnelle

voir et analyser TOUTES les protéines d'une cellule

Première dimension: électrofocalisation (pI)

gradient de pH

CHARGE



APPROCHE PROTEOMIQUE

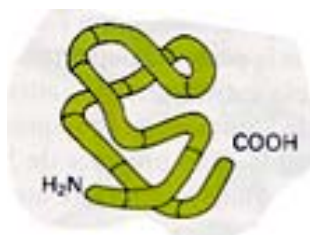
On peut isoler cette protéine et analyser directement sa composition par spectrométrie de masse.

...toutes les protéines d'une souche de E. Coli

### 1.2. Analyser la composition chimique d'une protéine

→ découper la protéine en petites unités (peptides)

Protéine « native »



Chaîne polypeptidique

Clivage enzymatique  
(trypsine...)

Clivage chimique  
(CNBr)

Protéine clivée

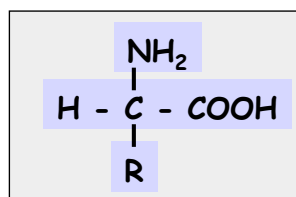


peptides



Acides aminés

NB : nous verrons la structure précise des acides aminés plus loin. Retenez simplement ici que la structure commune de (presque) tous les acides aminés peut s'écrire :



R = chaîne latérale  
COOH = fonction acide  
NH<sub>2</sub> = fonction amine

→ **Attention** : ne pas confondre la composition d'une protéine et sa séquence

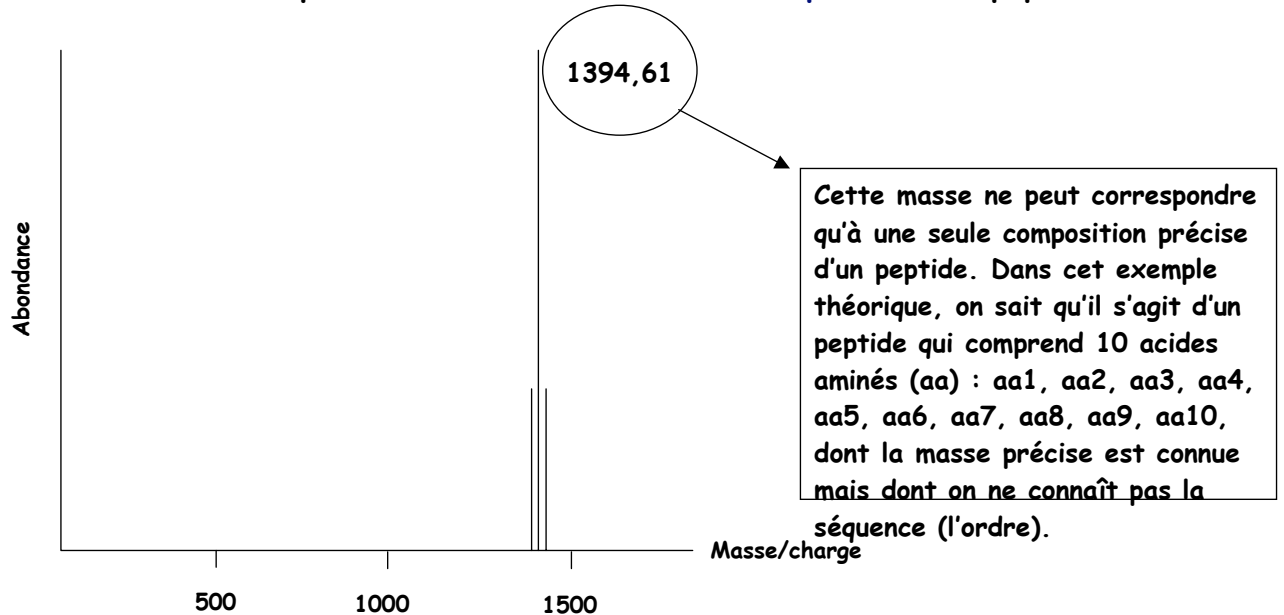
## 1.2. Analyser la composition chimique d'une protéine

découper la protéine en petites unités (**peptides**)

→ analyser la **composition chimique** des peptides (**acides aminés**) par **spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse renseigne sur la **masse précise** d'une molécule

La spectrométrie de masse permet la détermination de la **composition** des peptides



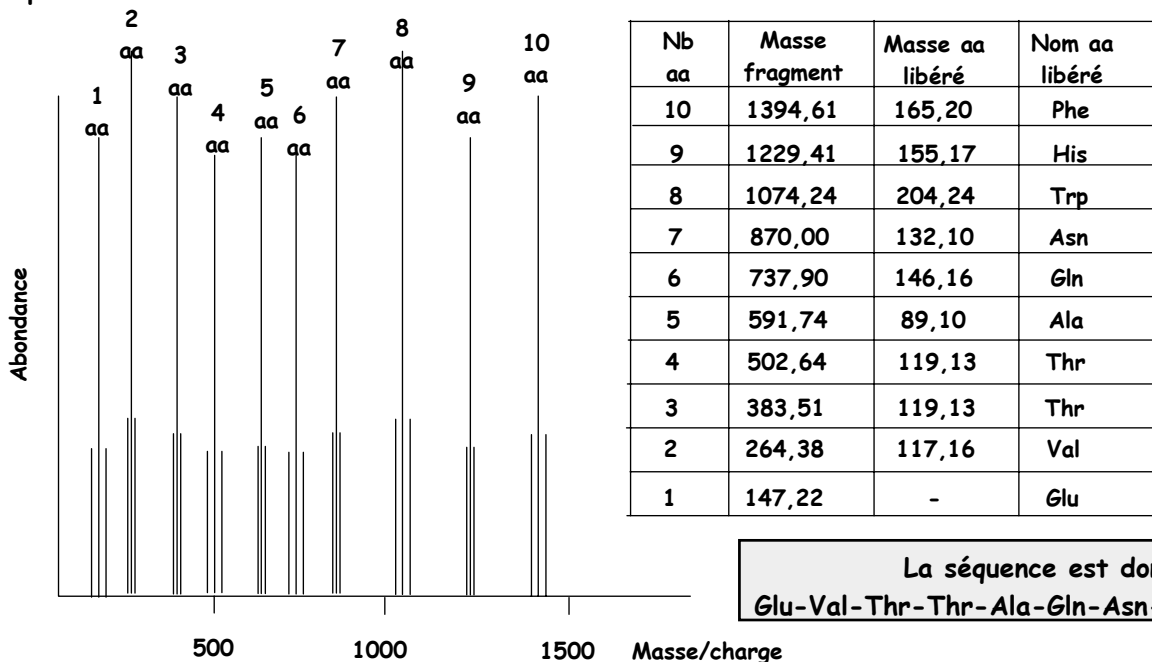
NB : le **Dalton** (Da) est l'unité de masse. La masse d'un Dalton correspond à la masse d'un atome d'hydrogène.<sup>17</sup>

## 1.2. Analyser la composition chimique d'une protéine

→ déterminer la **séquence** de la protéine entière

La spectrométrie de masse permet également la détermination de la **séquence (structure primaire)** des peptides par fragmentation.

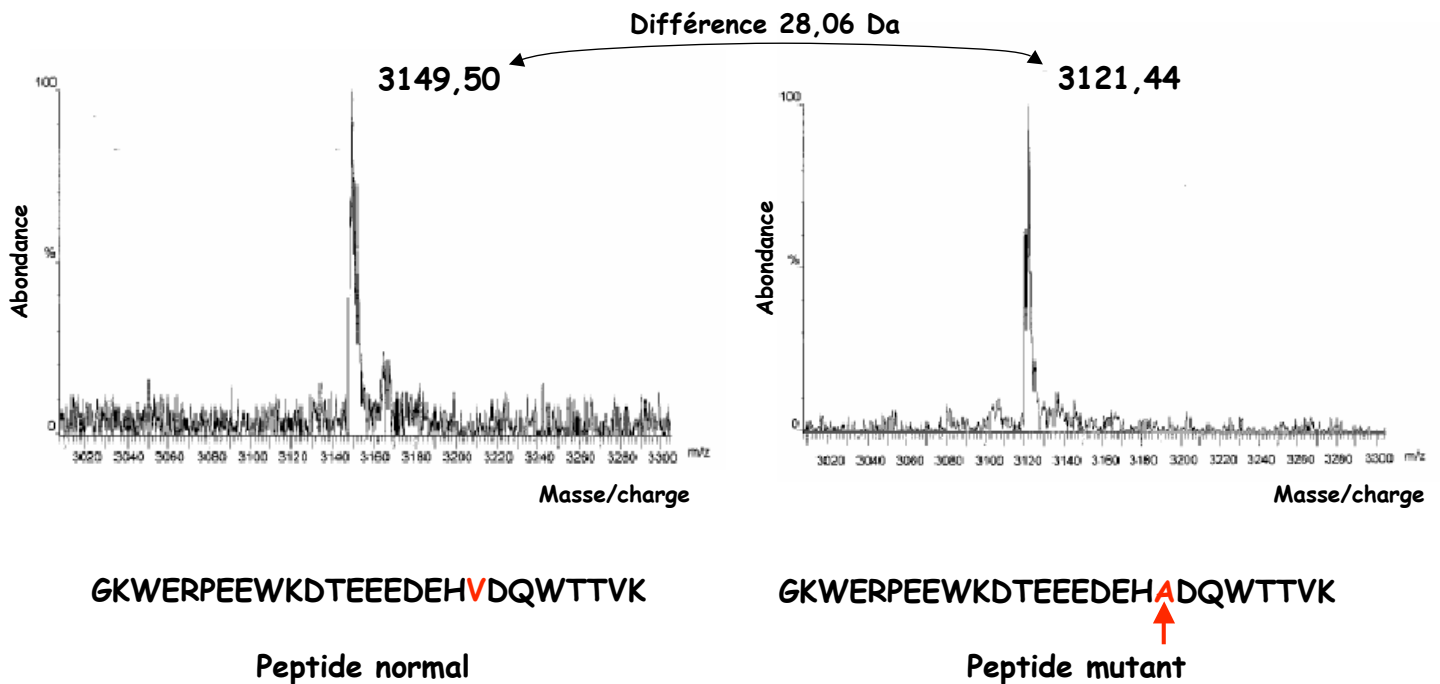
En prenant l'exemple du peptide de 10 aa, on obtient des fragments contenant 1, 2, 3, 4 5, 6, 7, 8 ou 9 acides aminés. Chaque fragment a une masse précise et la différence de masse entre deux fragments correspond à la masse d'un acide aminé.



La séquence est donc  
**Glu-Val-Thr-Thr-Ala-Gln-Asn-Trp-His-Phe**

## 1.2. Analyser la composition chimique d'une protéine

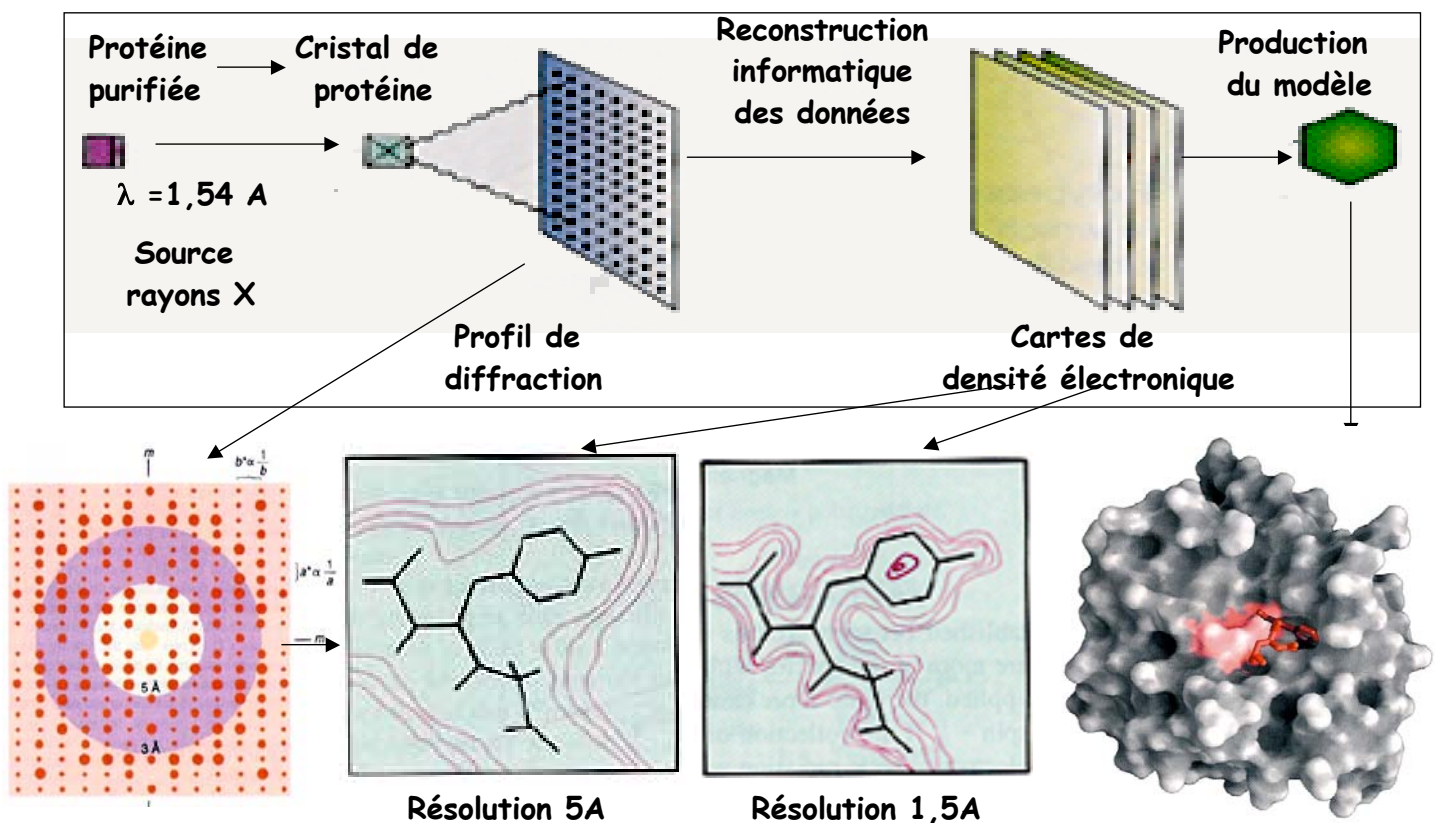
La spectrométrie de masse permet également d'identifier une modification de la **composition** d'un peptide due à une mutation associée à une pathologie



19

## 1.3. Découvrir la structure spatiale d'une protéine

### Diffraction des rayons X





#### 1.4. Corréler la structure à la fonction d'une protéine

Arrivé à ce stade, nous savons :

Que la plupart des fonctions biologiques sont réalisées par des protéines

Qu'il est possible d'isoler la/les protéine(s) responsable(s) d'une fonction

Que cette protéine est un enchaînement (**polypeptide**) d'unités de base (**acides aminés**)

Que les acides aminés se succèdent selon une **séquence spécifique**

Que cette séquence spécifique constitue la **structure primaire** de la protéine

Que la protéine adopte une **structure spatiale**, accessible par diffraction X

Nous sommes pratiquement prêts à entreprendre l'étude des mécanismes moléculaires du fonctionnement des protéines



## 2. Structure des protéines: de l'acide aminé à la macromolécule

### 2.1. Les forces impliquées dans la structure des protéines

- 2.1.1. Liaisons covalentes et non covalentes
- 2.1.2. L'eau est polaire, cohésive et solvate les molécules polaires
- 2.1.3. L'environnement aqueux génère 4 types de liaisons (forces) non covalentes qui sont centrales pour tous les processus biologiques
- 2.1.4. L'eau est légèrement ionisée et participe à l'équilibre acide-base

### 2.2. Les éléments de bases des protéines : les acides aminés

- 2.2.1. Caractéristiques générales
- 2.2.2. Etats d'ionisation des acides aminés
- 2.2.3. Classification des acides aminés
- 2.2.4. Propriétés spécifiques

### 2.3. La liaison peptidique

- 2.3.1. La liaison peptidique est le ciment de base de toutes les structures protéiques
- 2.3.2. La liaison peptidique et la nature des résidus amino-acides imposent des structures spatiales très particulières aux chaînes polypeptidiques
- 2.3.3. Les chaînes polypeptidiques sont constituées d'un nombre variable de résidus amino-acides et possèdent une structure spatiale spécifique

23

## 2. La structure des protéines, de l'acide aminé à la macromolécule

### 2.4. Les structures secondaires

- 2.3.1. L'hélice alpha et les autres hélices
- 2.3.2. Feuilletés bêta
- 2.3.3. Boucles et coudes
- 2.4.4. Les angles  $\Psi$  et  $\Phi$  caractérisent les structures secondaires
- 2.4.5. Prédiction de structure et bioinformatique

### 2.5. La notion de domaine fonctionnel

### 2.6. Structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire

### 2.7. Structure et pathologie... le mystère de la vache folle !

24

## 2.1. Les forces impliquées dans la structure des protéines

### 2.1.1. Liaisons covalentes et non covalentes

Une **liaison covalente** est formée par la mise en commun d'au moins une paire d'électrons entre deux atomes adjacents.

Les liaisons covalentes sont les liaisons les plus fortes :  
(en kcal/mole)

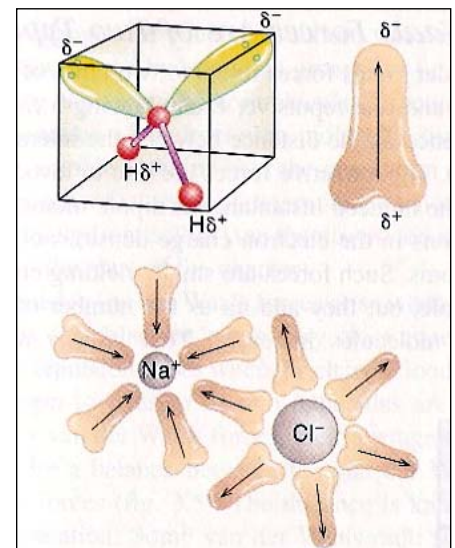
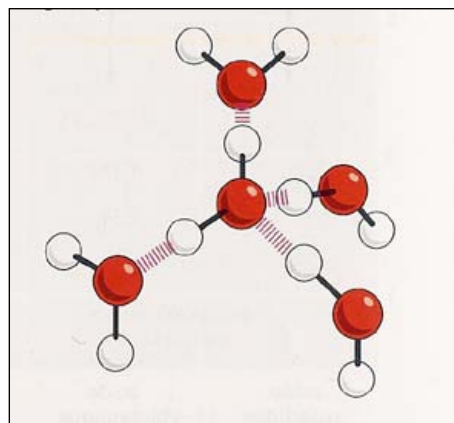
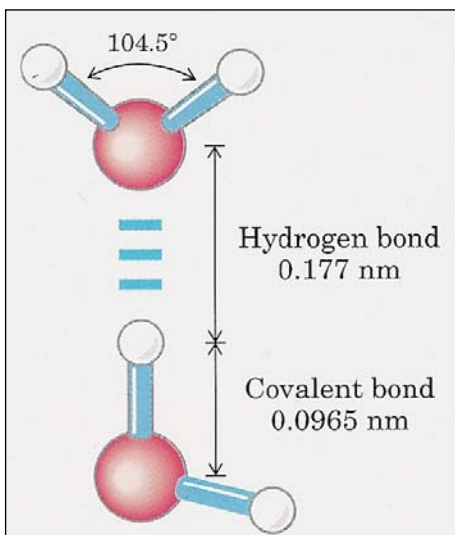
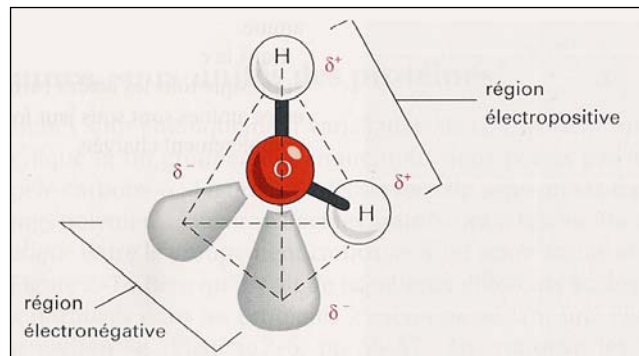
C-C	82	C-N	70
C-H	99	C-O	84
O-H	110	N-H	94

Ils existent dans les molécules biologiques des **interactions moléculaires non covalentes facilement réversibles**.

Ces liaisons sont considérablement affectées de façons différentes par la **présence de l'eau** dans les milieux biologiques

25

### 2.1.2. L'eau est polaire, cohésive et solvate les molécules polaires



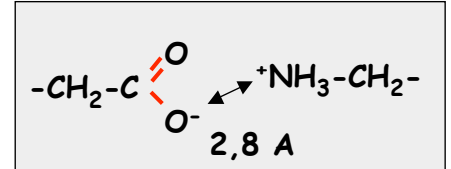
### 2.1.3. L'environnement aqueux génère 4 types de liaisons (forces) non covalentes qui sont centrales pour tous les processus biologiques

- Les liaisons électrostatiques (= ioniques, salines) se forment entre molécules chargées

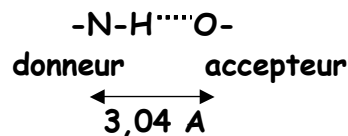
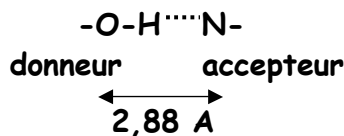
Loi de Coulomb :  $E = k \cdot q_1 q_2 / D r$

$E$  = énergie de liaison  $q$  = charge  $D$  = constante diélectrique  
 $r$  = distance entre les 2 atomes.

énergie de liaison = 1,4 kcal/mole



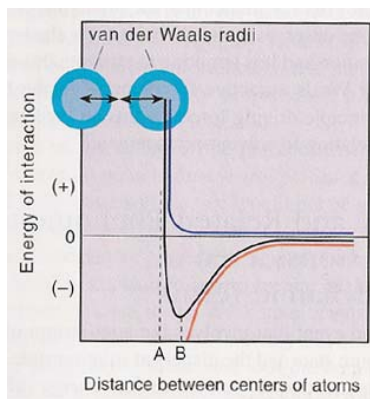
- Les liaisons hydrogènes se forment entre molécules polaires (chargées ou non)



énergie de liaison =  
 3 à 7 kcal/mole

27

- Les liaisons de van der Waals dépendent de la distance inter-atomique



Il existe des forces **répulsives** et **attractives**

Ces forces sont faibles : **0,5 à 1 kcal/mole**

Exemples de rayons de van de Waals (en Å) comparés aux rayons de liaison covalente.

Ces rayons définissent en pratique la distance minimale entre deux atomes.

B est la distance de contact de Van der Waals.

	vdW	cov.
H	1,2	0,3
C	2,0	0,8
N	1,5	0,7
O	1,4	0,7

- Les liaisons hydrophobes sont principalement dues à la forte affinité de l'eau pour elle-même

Les molécules apolaires interagissent entre elles pour laisser le plus de liaisons hydrogène possible entre les molécules d'eau (penser à deux gouttes d'huile dans de l'eau)

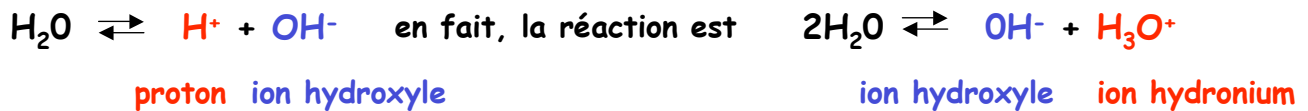
Dans un environnement biologique, les protéines exposent **leurs résidus hydrophiles à l'extérieur et les résidus hydrophobes à l'intérieur**

Cette règle est pratiquement générale, à l'exception notable des **protéines transmembranaires**, et constitue l'une des bases principales pour la mise en place de la structure tri-dimensionnelle des protéines

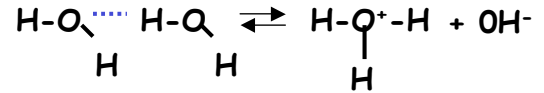
28

#### 2.1.4. L'eau est légèrement ionisée et participe à l'équilibre acide-base

##### Ionisation de l'eau



En raison des liaisons hydrogène,  
le proton est très mobile



La constante d'équilibre de cette dissociation est donnée par

$$K_{eq} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

La concentration de l'eau étant très grande (55,5M), elle est peu modifiée par l'ionisation, on peut simplifier

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

$K_w$  est le produit ionique de l'eau.  
 $K_w = 10^{-14}$  à 25°C

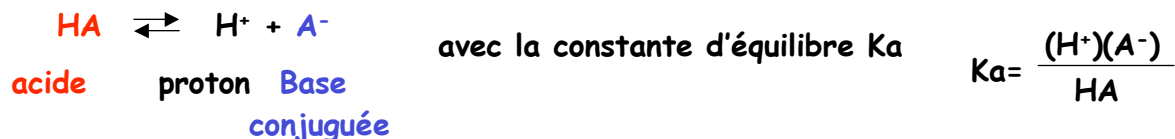
29

##### Equilibre acide-base

On définit le  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = \log_{10} 1/[\text{H}^+]$

Dans les milieux biologiques, il n'y a pas d'acide fort ou de base forte mais des acides et des bases faibles, c'est à dire qu'ils ne sont que partiellement ionisés dans la gamme des pH biologiques

Un **acide** est un **donneur** de proton, une **base** est un **accepteur** de proton



On définit le  $\text{pK} = -\log K_a = \log_{10} 1/K_a$

On peut tirer des équations précédentes une relation entre le pH et le pK

Équation de Henderson-Hasselbalch

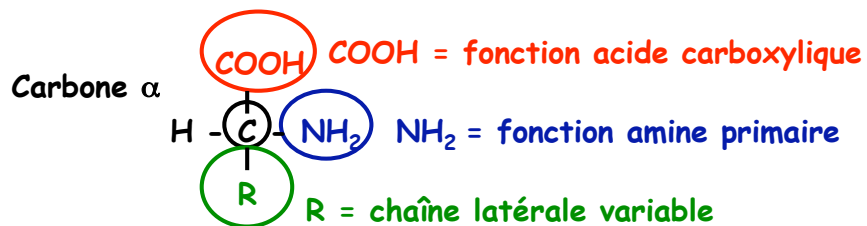
$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

30

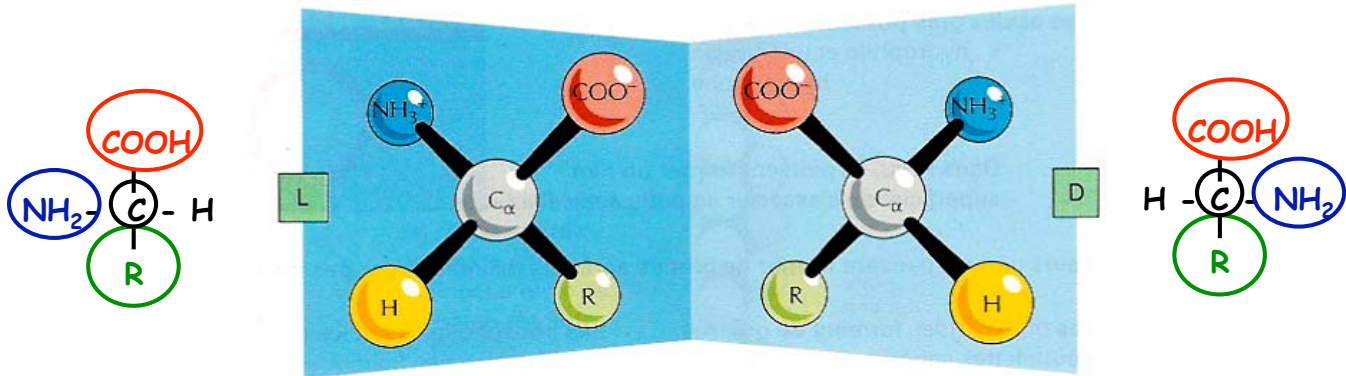
## 2.2. Les éléments de bases des protéines : les acides aminés

### 2.2.1. Caractéristiques générales

La structure commune de (presque) tous les acides aminés peut s'écrire :



Le carbone  $\alpha$  est **asymétrique**. Il existe donc deux **stéréoisomères**.

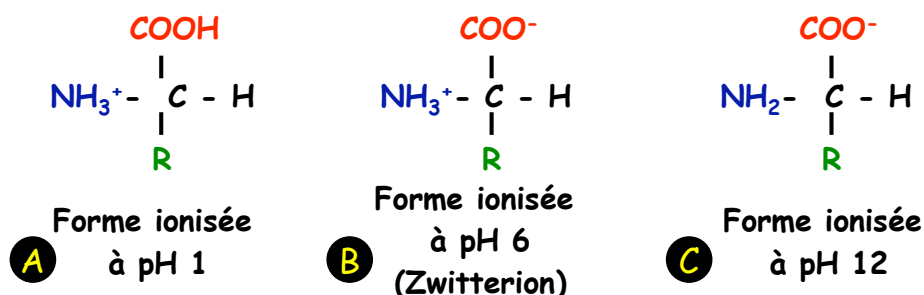


Les protéines ne contiennent que des **L acides aminés**.

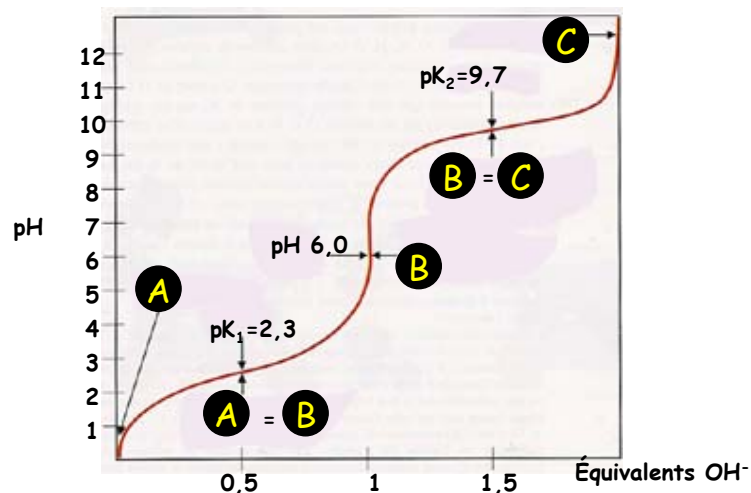
La masse de chaque aa dépend de la chaîne latérale. La masse moyenne est d'environ **120 Da**.

### 2.2.2. Etats d'ionisation des acides aminés

En solution **aqueuse** (=dans tout système biologique), les acides aminés sont **ionisés**.  
 L'état d'ionisation dépend du pH environnant



On peut titrer un acide aminé et déterminer les **pK** des fonctions carboxylique et amine



### 2.2.3. Classification des acides aminés

Il existe **20 acides aminés** naturels entrant dans la composition des protéines

On peut répartir les acides aminés selon la nature de leur **chaîne latérale** en 3 classes :

acides aminés <b>apolaires</b>	à <b>chaîne aliphatique</b> : glycine, alanine, <b>valine</b> , <b>leucine</b> , <b>isoleucine</b> , <b>méthionine</b> , proline
	à <b>chaîne aromatique</b> : <b>phénylalanine</b> , <b>tryptophane</b>
acides aminés <b>polaires neutres</b>	à fonction <b>alcool</b> : sérine, <b>thréonine</b> , tyrosine à fonction <b>soufrée</b> : cystéine à fonction <b>amide</b> : glutamine, asparagine
acides aminés <b>polaires ionisables</b>	à fonction <b>acide</b> : acide glutamique, acide aspartique à fonction <b>basique</b> : <b>histidine</b> , <b>lysine</b> , <b>arginine</b>

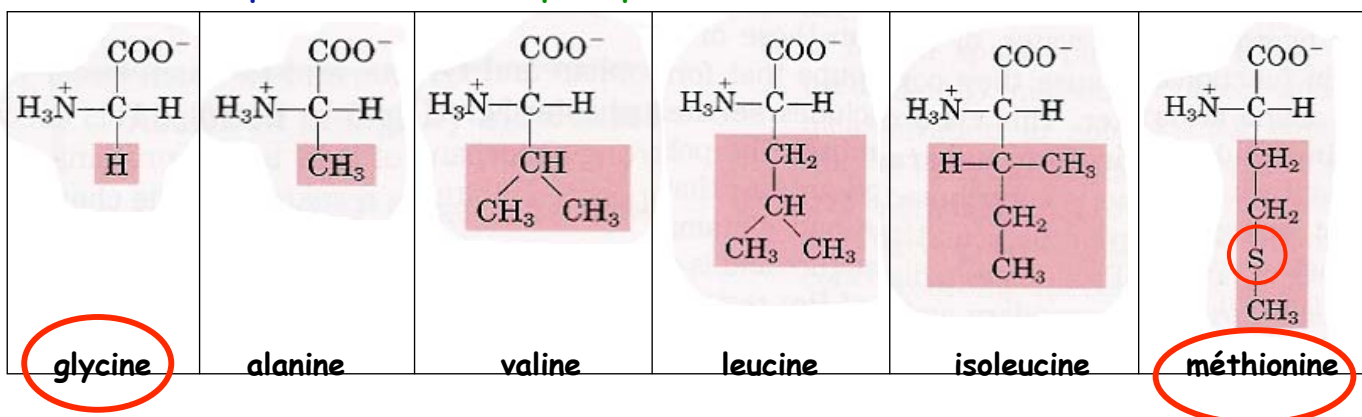
**Acide aminé essentiel = non synthétisé par l'homme**

Il existe des codes à **trois** ou **une** lettre extrêmement utilisés pour les séquences protéiques

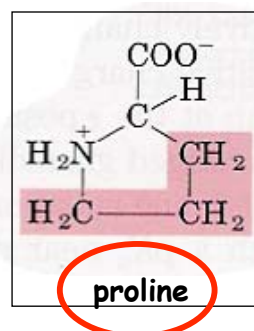
glycine, <b>Gly</b> , <b>G</b>	méthionine, <b>Met</b> , <b>M</b>	Cystéine, <b>Cys</b> , <b>C</b>	phénylalanine, <b>Phe</b> , <b>F</b>
alanine, <b>Ala</b> , <b>A</b>	Proline <b>Pro</b> , <b>P</b>	glutamine, <b>Gln</b> , <b>Q</b>	Tryptophane, <b>Trp</b> , <b>W</b>
valine, <b>Val</b> , <b>V</b>	sérine, <b>Ser</b> , <b>S</b>	Asparagine, <b>Asn</b> , <b>N</b>	histidine, <b>His</b> , <b>H</b>
leucine, <b>Leu</b> , <b>L</b>	thréonine, <b>Thr</b> , <b>T</b>	acide glutamique, <b>Glu</b> , <b>E</b>	lysine, <b>Lys</b> , <b>K</b>
isoleucine, <b>Ileu</b> , <b>I</b>	Tyrosine, <b>Tyr</b> , <b>Y</b>	acide aspartique, <b>Asp</b> , <b>D</b>	Arginine, <b>Arg</b> , <b>R</b>

### 2.2.4. Propriétés spécifiques

acides aminés **apolaires** à **chaîne aliphatique**



Pas de carbone asymétrique

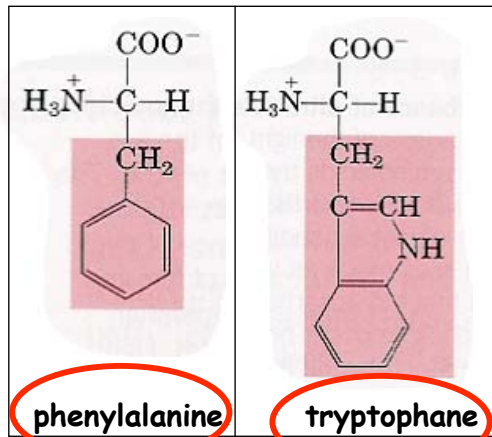


Chaîne latérale liée à la fois au carbone α et à l'azote

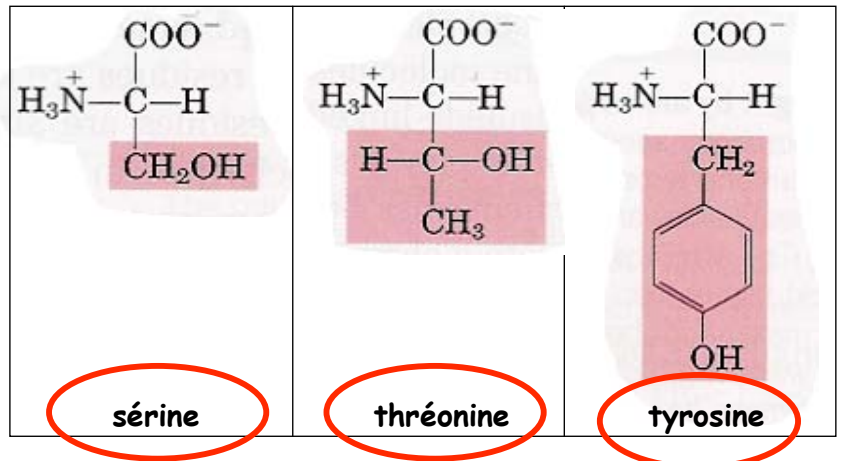


## 2.2.4. Propriétés spécifiques

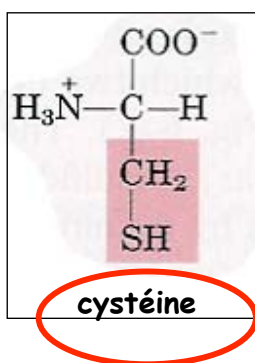
acides aminés **apolaires** à **chaîne aromatique**



acides aminés **polaires neutres** à fonction **alcool**

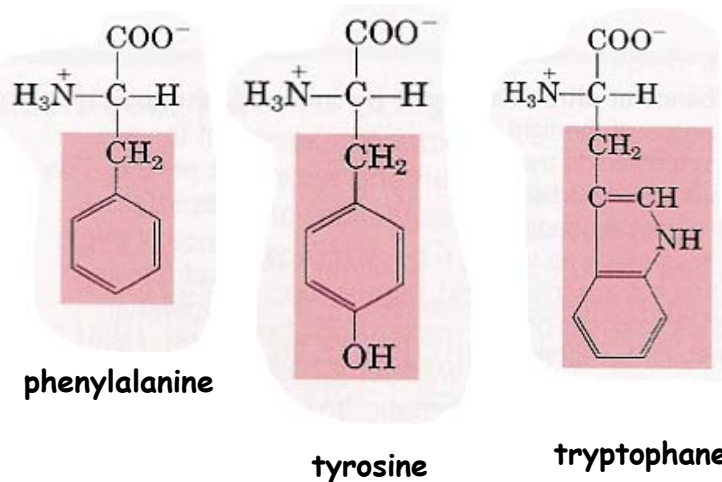


acide aminé **polaire neutre** à fonction **soufrée**



35

## Trois acides aminés à chaînes latérales aromatiques



**Cycle phényl**

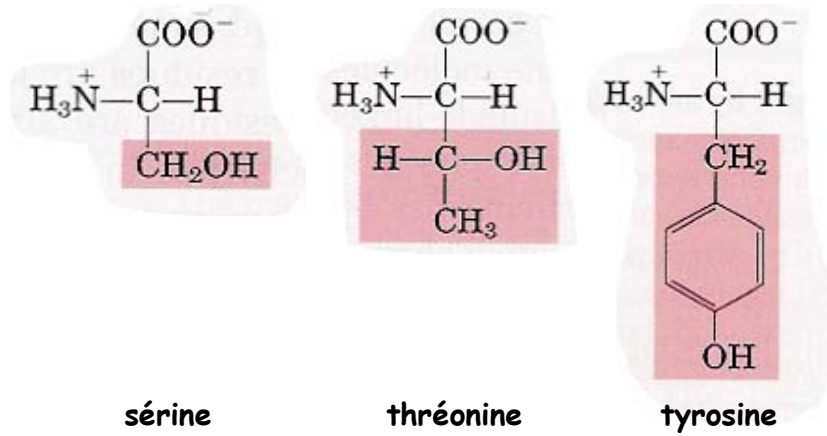
**Groupe indol**

Les cycles aromatiques contiennent des électrons  $\pi$  délocalisés qui absorbent fortement dans l'ultraviolet ce qui permet le dosage des protéines en solution.

36

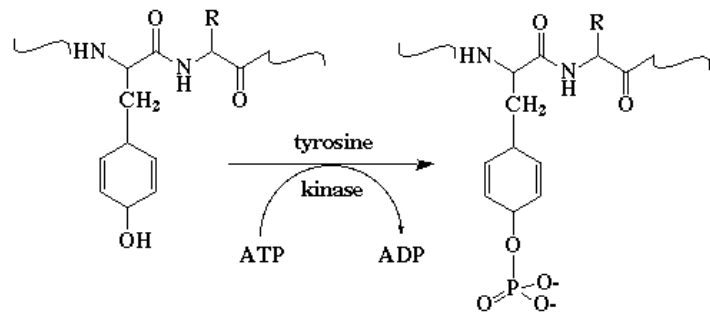


Trois acides aminés  
à fonction alcool

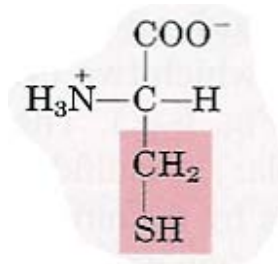


Chacune de ces trois fonctions alcool peut fixer un groupement phosphate.

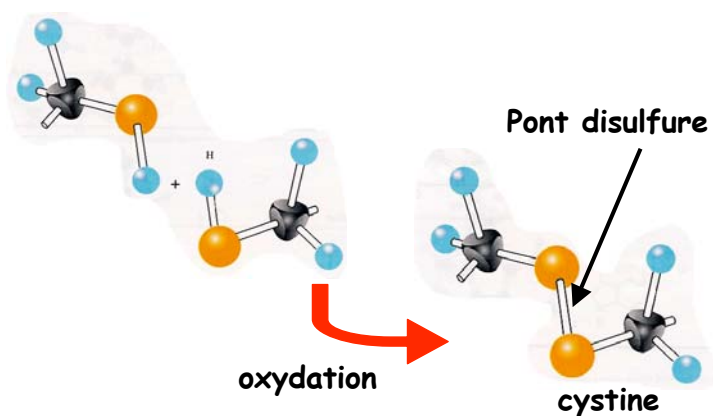
C'est le principe de la phosphorylation des protéines qui constitue l'un des modes les plus fréquents de la régulation de la fonction d'une protéine



37



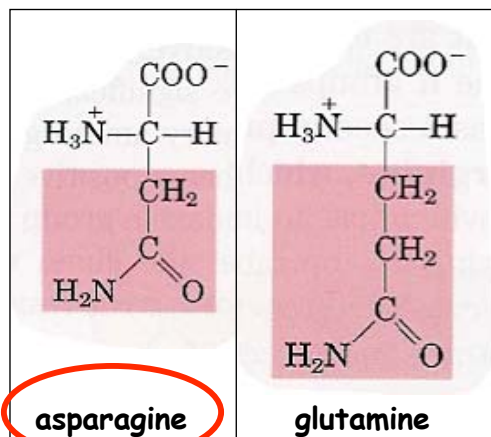
Cystéines et pont disulfure



38

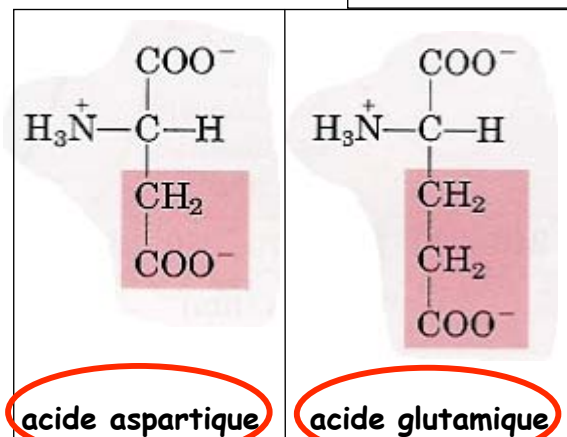
## 2.2.4. Propriétés spécifiques

acides aminés **polaires neutres**  
à fonction **amide**



acides aminés **polaires ionisables**  
à fonction **acide**

Etat d'ionisation à pH 7,0



pKa (R) = 3,9

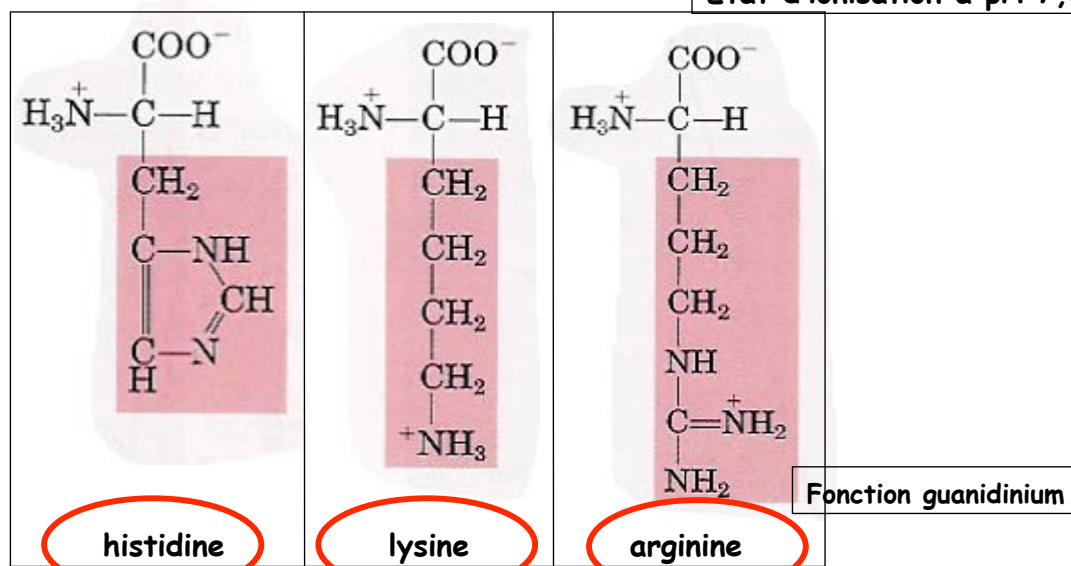
pKa (R) = 4,1

39

## 2.2.4. Propriétés spécifiques

acides aminés **polaires ionisables** à fonction **basique**

Etat d'ionisation à pH 7,0



Fonction guanidinium

pKa (R) = 6,0

pKa (R) = 10,5

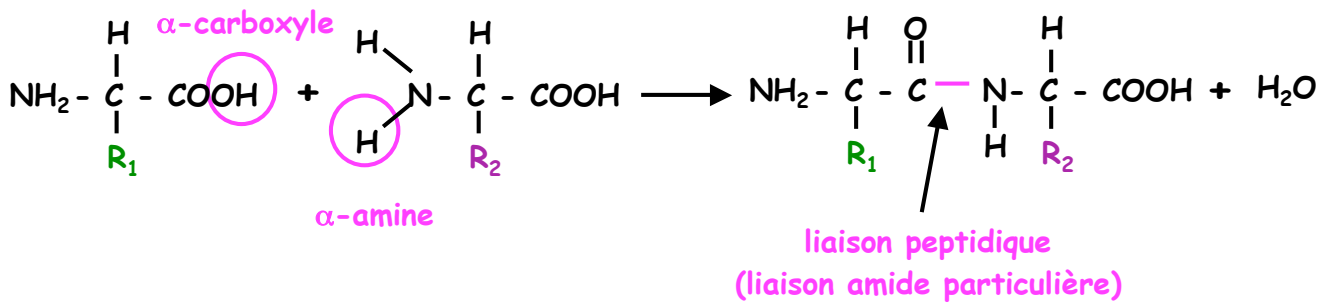
pKa (R) = 12,5

40

## 2.3. La liaison peptidique

### 2.3.1. La liaison peptidique est le ciment de base de toutes les structures protéiques

La **liaison peptidique** est une **liaison covalente** qui se forme par condensation du groupe  $\alpha$ -carboxyle (acide) d'un acide aminé avec le groupe  $\alpha$ -aminé d'un autre acide aminé et **élimination d'eau**

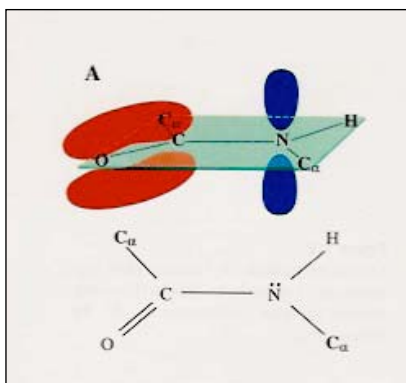


41

### 2.3.1. La liaison peptidique est le ciment de base de toutes les structures protéiques

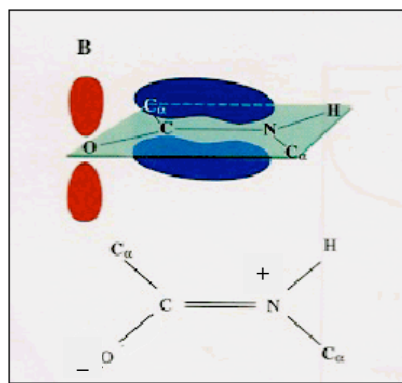
La liaison peptidique est une **liaison amide particulière**

Elle est un « **hybride de résonance** » entre deux formes extrêmes



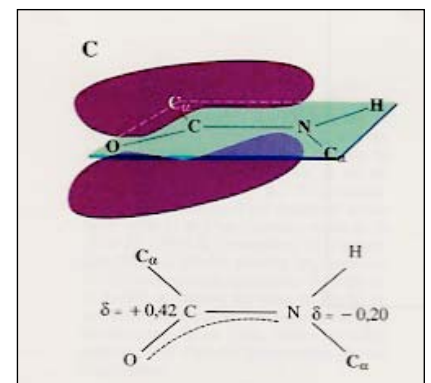
#### Première forme extrême

La liaison C O est une double liaison  
La liaison C N est une simple liaison  
L'azote de l'amide possède une paire d'électrons non partagés



#### Seconde forme extrême

La liaison C O est une simple liaison  
La liaison C N est une double liaison  
L'oxygène de l'acide possède une paire d'électrons non partagés



#### Forme hybride

Les électrons sont partagés entre les atomes O, C et N et sont distribués sur une **orbitale moléculaire  $\pi$**  qui recouvre les 3 atomes

En conséquence, la liaison peptidique possède trois propriétés fondamentales

Elle est **plane**

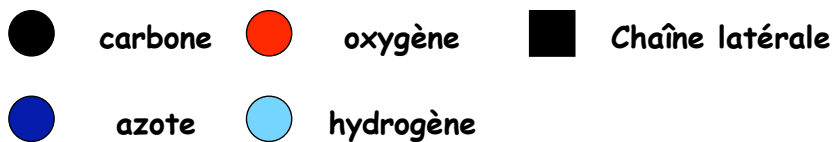
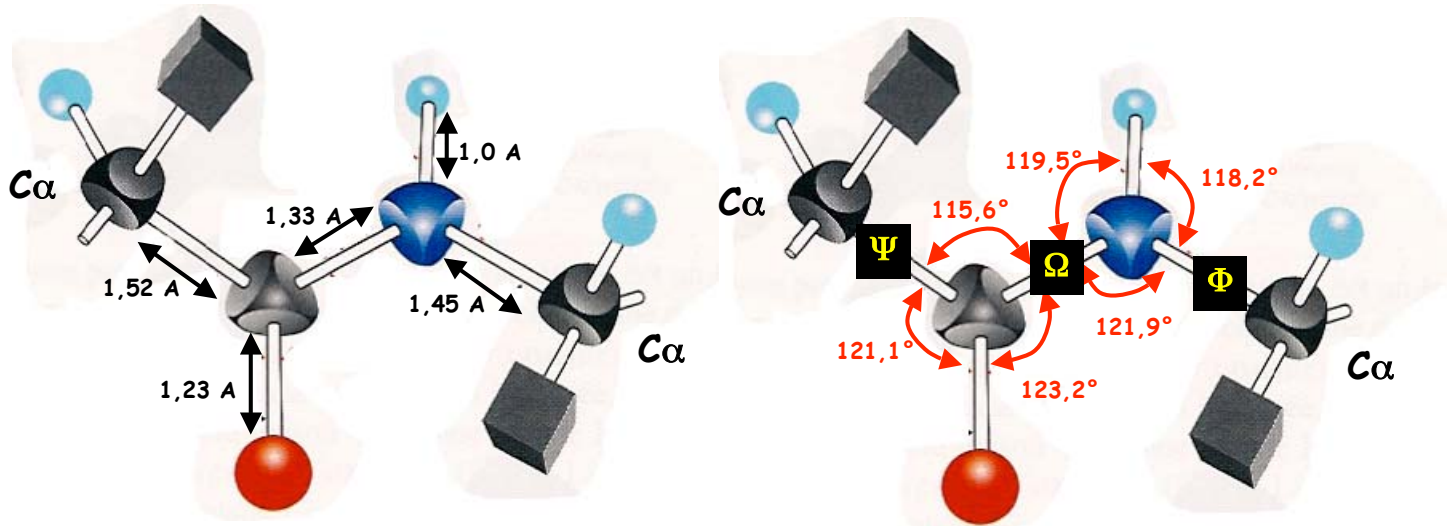
Elle est **rigide**

Elle est **polaire**

42

### 2.3.1. La liaison peptidique est le ciment de base de toutes les structures protéiques

La liaison peptidique présente des dimensions pratiquement fixes

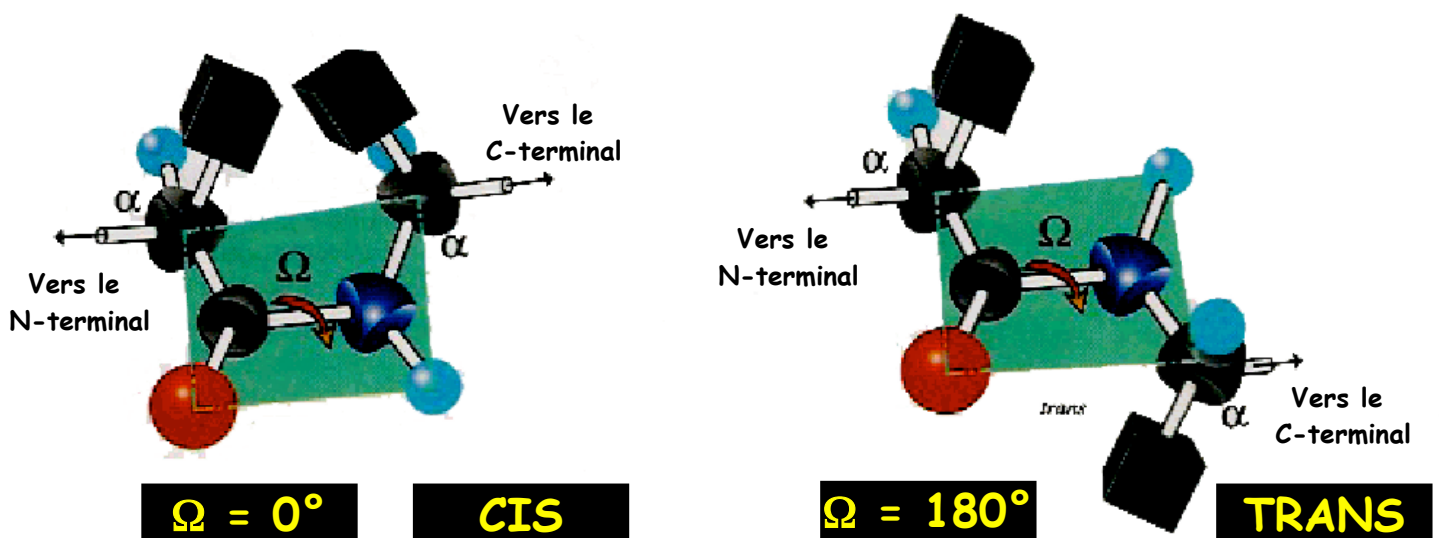


Il existe cependant 3 angles qui peuvent prendre des valeurs variables :  $\Omega$   $\Psi$   $\Phi$

43

### 2.3.2. La liaison peptidique et la nature des résidus amino-acides imposent des structures spatiales très particulières aux chaînes polypeptidiques

On définit  $\Omega$ , angle de torsion autour de la liaison C-N. Cet angle ne peut prendre que 2 valeurs

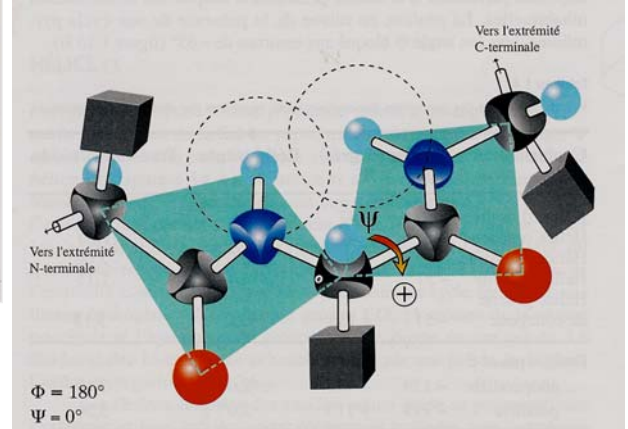
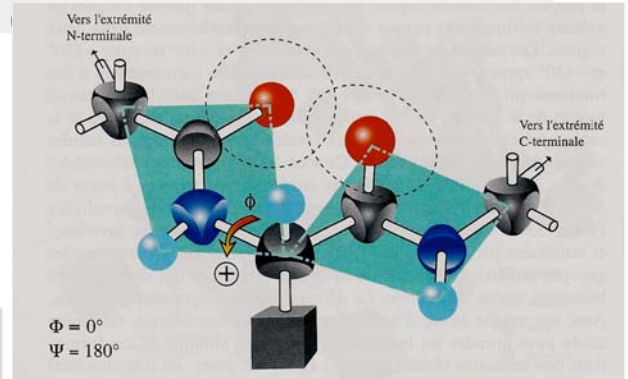
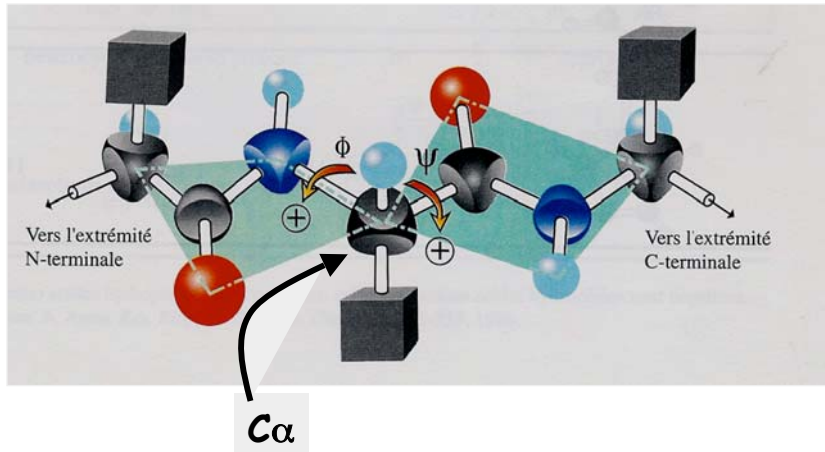


La liaison peptidique prend presque toujours une **configuration trans**, plus stable



### 2.3.2. La liaison peptidique et la nature des résidus amino-acides imposent des structures spatiales très particulières aux chaînes polypeptidiques

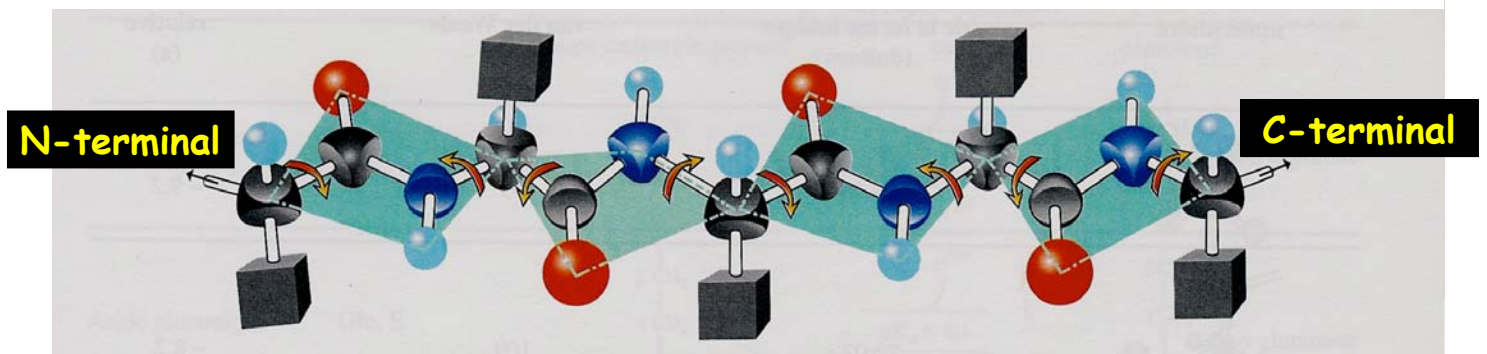
Dans une chaîne polypeptidique, il n'existe que **deux types de liberté de rotation** qui permettent de modifier la conformation spatiale



La liberté de rotation de l'angle  $\Phi$  (phi) autour de la liaison entre le  $C\alpha$  et l'azote amidique

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

### 2.3.3. Les chaînes polypeptidiques sont constituées d'un nombre variable de résidus amino-acides et possèdent une structure spatiale spécifique



Par définition une chaîne polypeptidique commence par l'acide aminé qui a sa fonction amine libre (**extrémité N-terminale**, que l'on place **à gauche**) et se termine par l'acide aminé qui a sa fonction acide carboxylique libre (**extrémité C-terminale**, que l'on place **à droite**.)

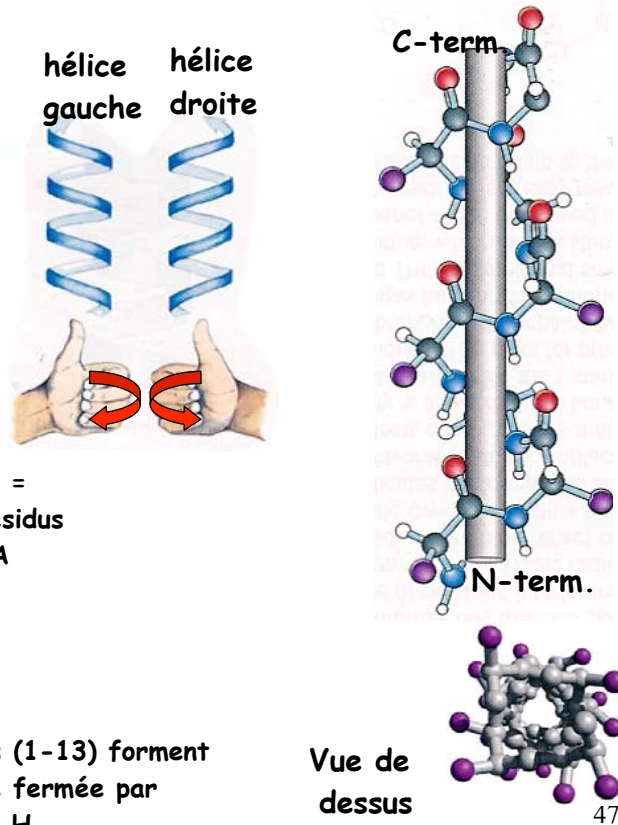
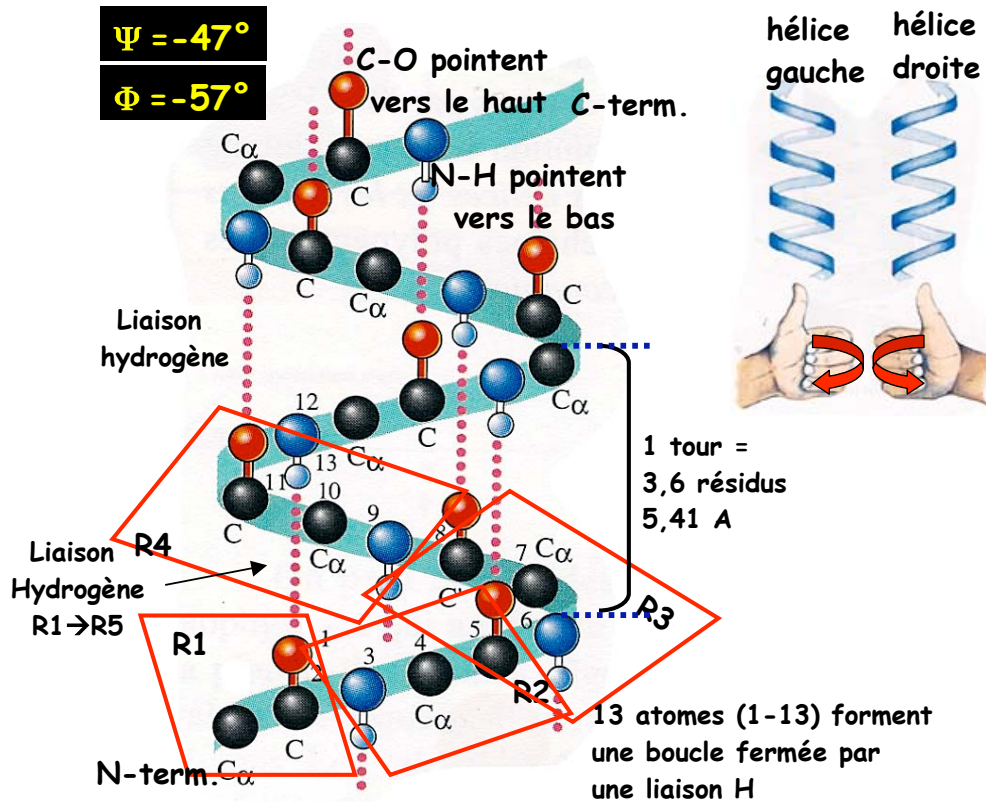
**NB :** Par définition on appelle un oligopeptide un enchaînement de quelques acides aminés (de 2 à une dizaine).

« Polypeptide » et « protéine » sont pratiquement équivalents. Cependant on réserve généralement le terme polypeptide à des structures de moins de **10 kDa**.

## 2.4. Les structures secondaires

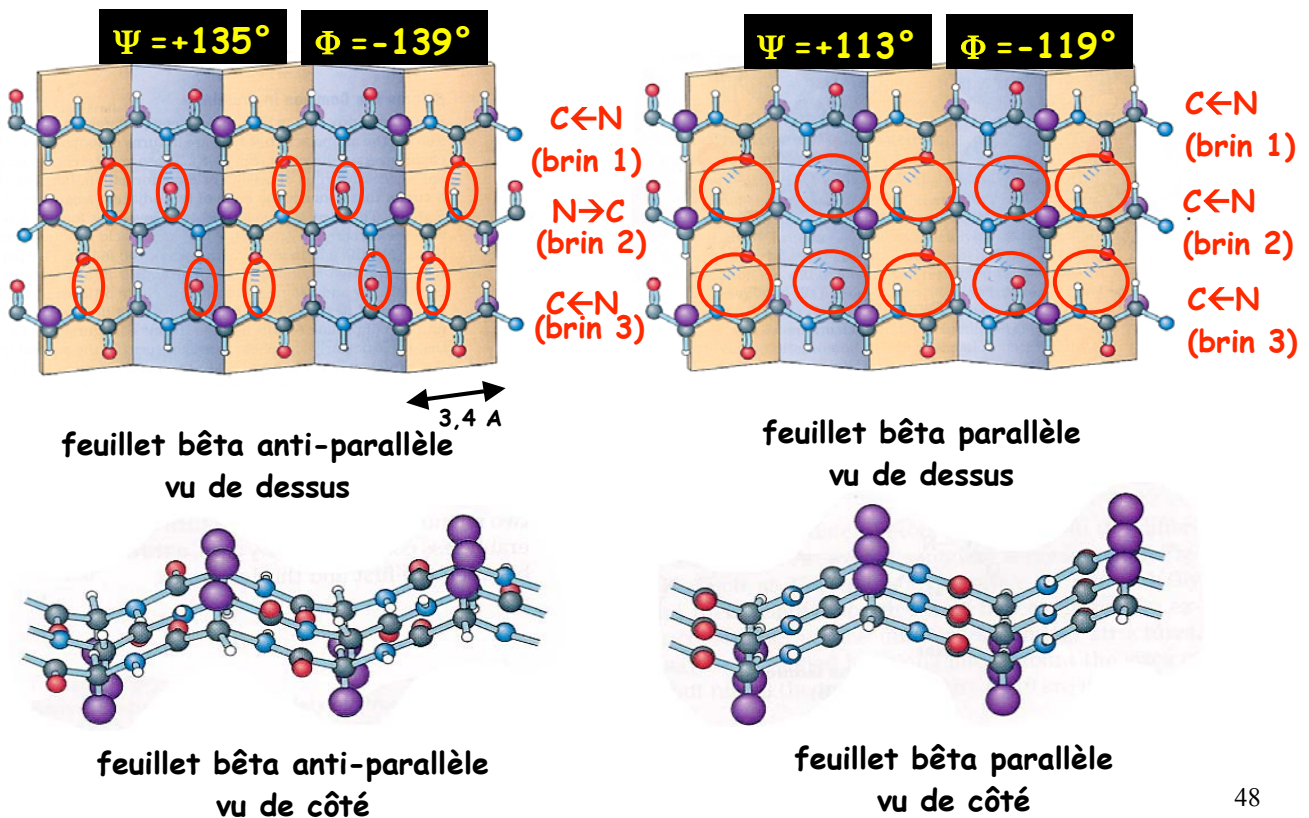
### 2.4.1 L'hélice alpha et les autres hélices

L'hélice alpha droite est la structure secondaire la plus fréquente



### 2.4.2 Feuillet bêta:

2 types de feuillet bêta: anti-parallèle (plus stable) et parallèle (moins stable).



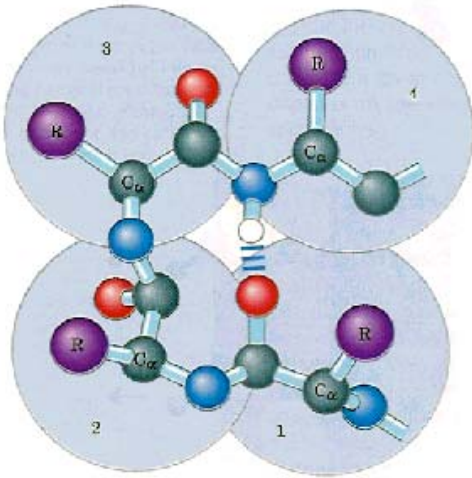


### 2.4.3 Boucles et coudes

Les boucles et les coudes sont des structures **non régulières**, **non répétitives** permettant des **connections** entre les structures secondaires.

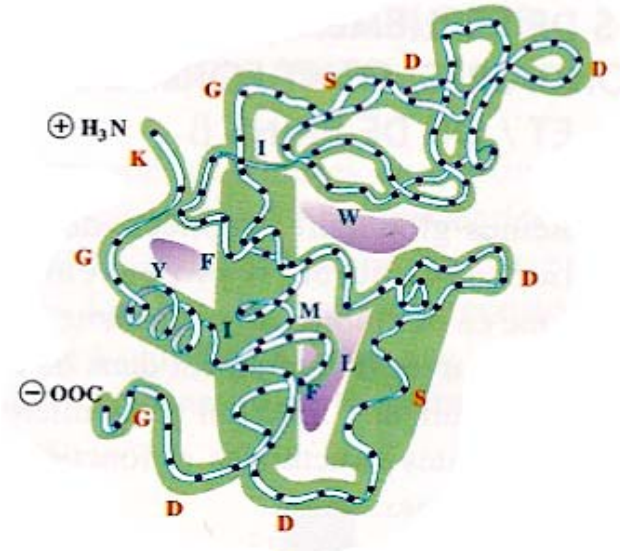
Les coudes ou tours ne possèdent que quelques résidus

Une boucle peut atteindre une vingtaine de résidus.



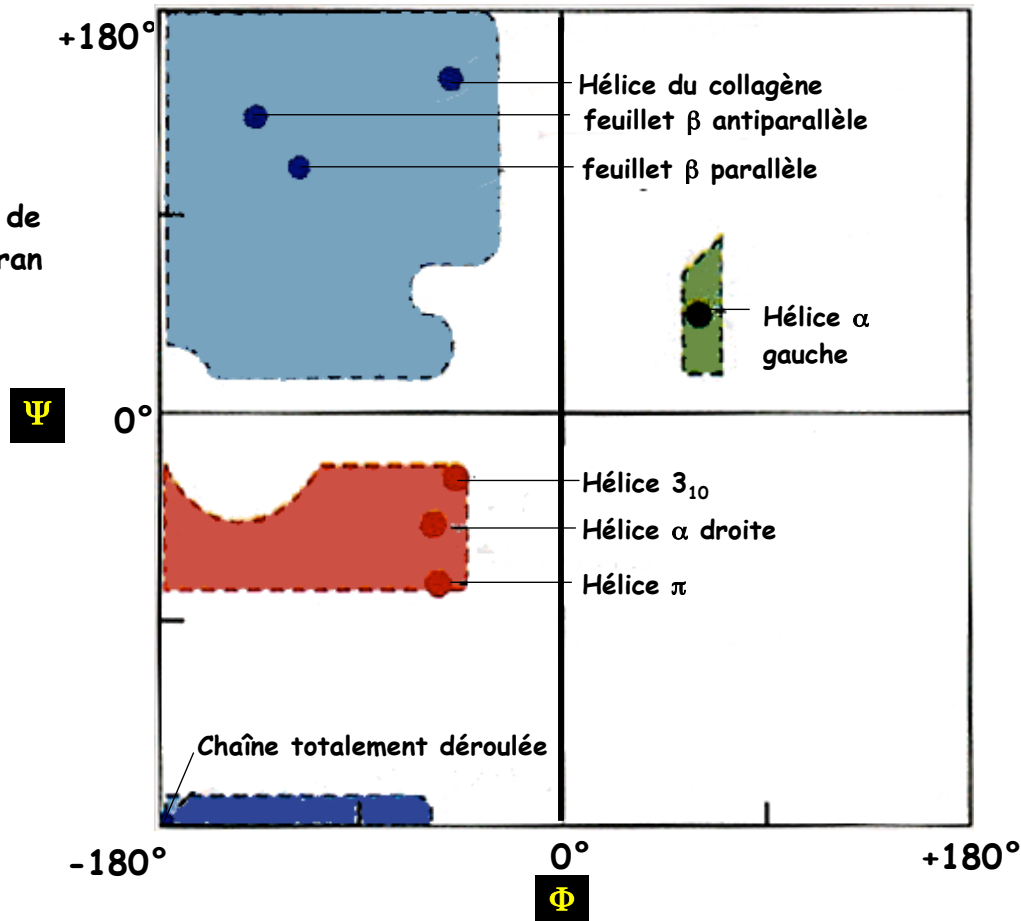
Exemple de coude  $\beta$  (type I)

Contrairement aux structures secondaires régulières, les boucles ont tendance à se situer vers l'extérieur des protéines et à engager des liaisons hydrogènes avec



### 2.4.4. Les angles $\Psi$ et $\Phi$ caractérisent les structures secondaires

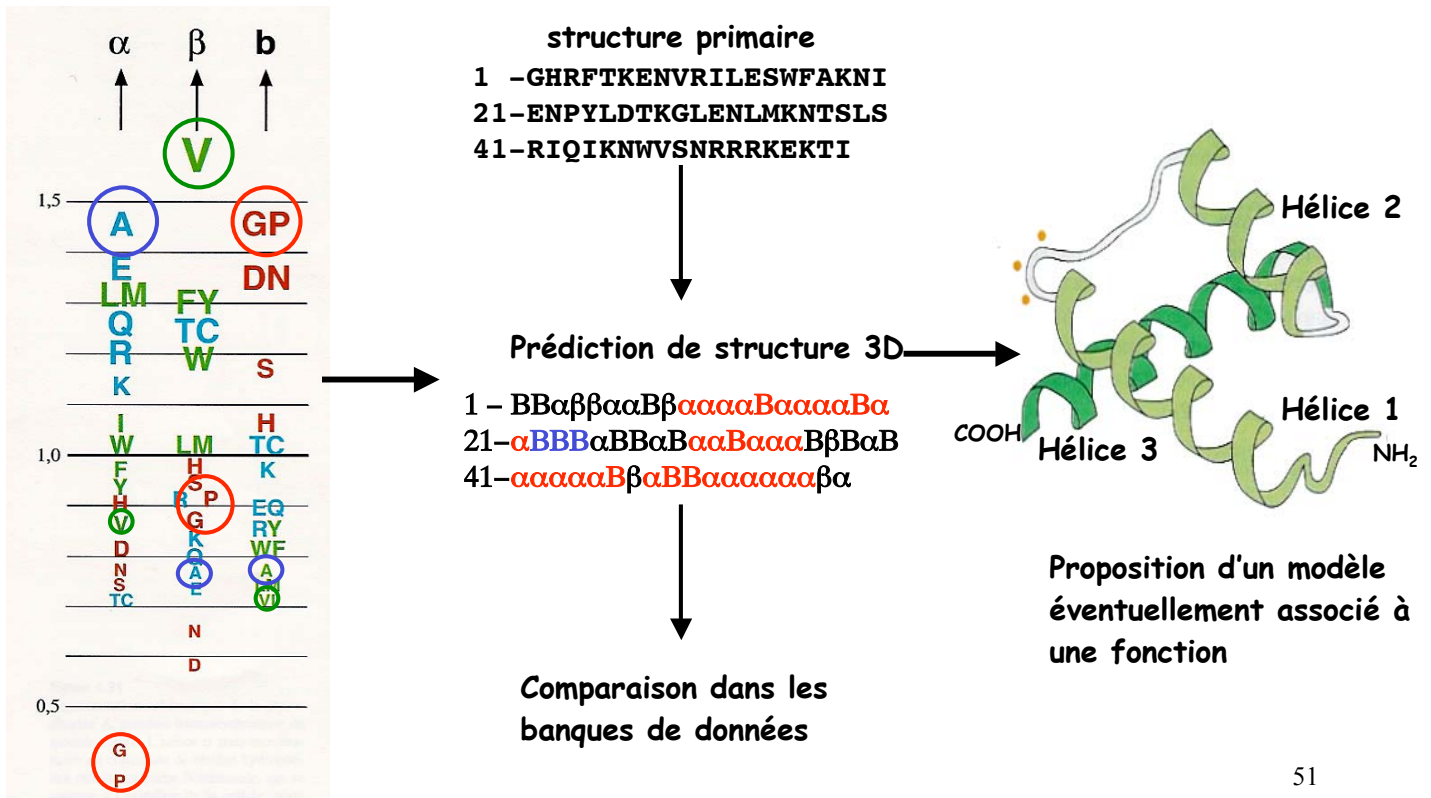
Graphiques de Ramachandran





## 2.4.5. Prédiction de structure et bioinformatique

Ces propriétés spécifiques font que chaque acide aminé préfère un environnement conformationnel donné. Les nouveaux outils bioinformatiques permettent de faire des prédictions

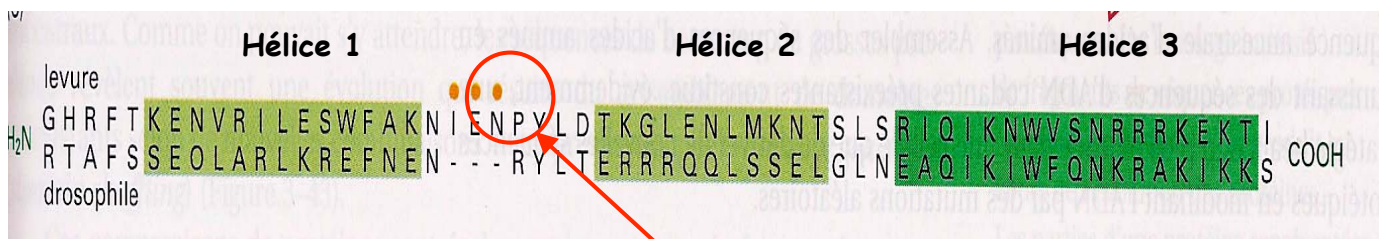


51

## 2.5 La notion de domaine fonctionnel

Au cours de l'évolution des structures essentielles pour la réalisation d'une fonction spécifique ont été conservées, même si les protéines ont divergé.

Exemple : séquences de deux protéines « homéobox » ayant divergé depuis un milliard d'années



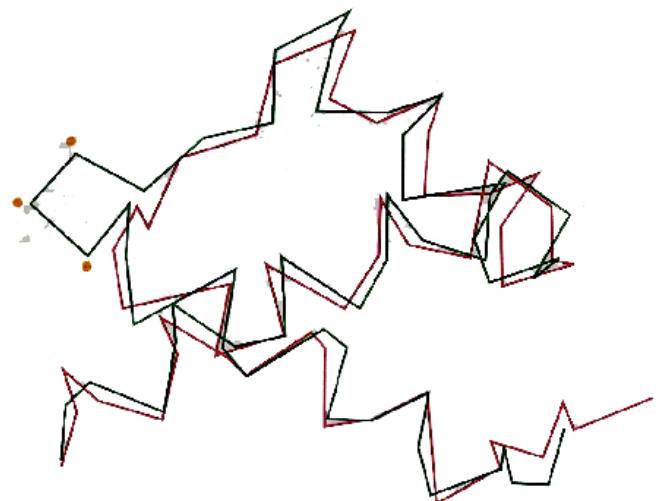
**Identité :** 17 aa conservés sur 60 = 20%

Ces deux protéines conservent cependant une structure spatiale proche.

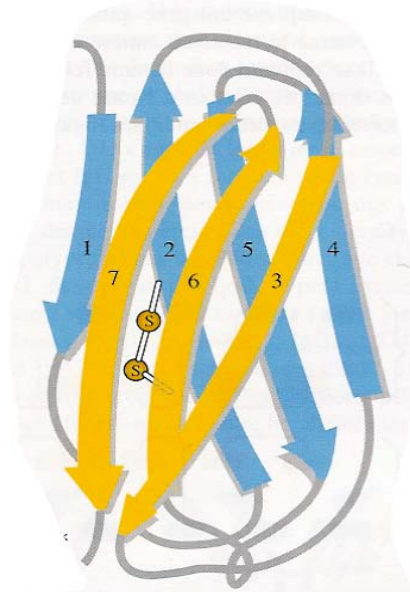
Les mutations n'ont pas affecté les résidus importants pour la structure spatiale

La délétion de certains résidus conduit à la suppression d'une boucle qui conduit à son tour à modifier les propriétés de la protéine d'une espèce par rapport à l'autre

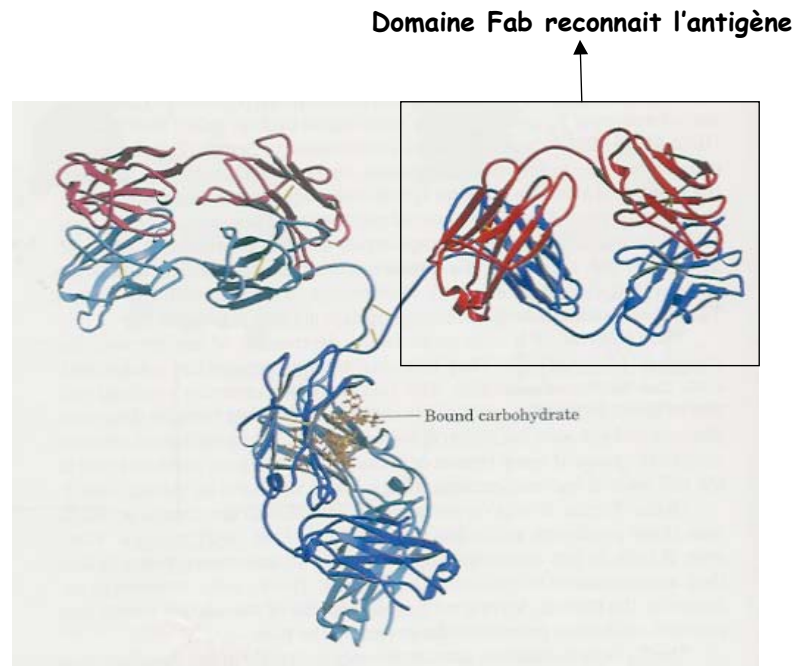
C'est la notion de **domaine fonctionnel**.



## 2.5. La notion de domaine fonctionnel



« motif » immunoglobulinique



53

## 2.6. Structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire

La séquence des acides aminés (structure primaire)  
détermine la structure tridimensionnelle

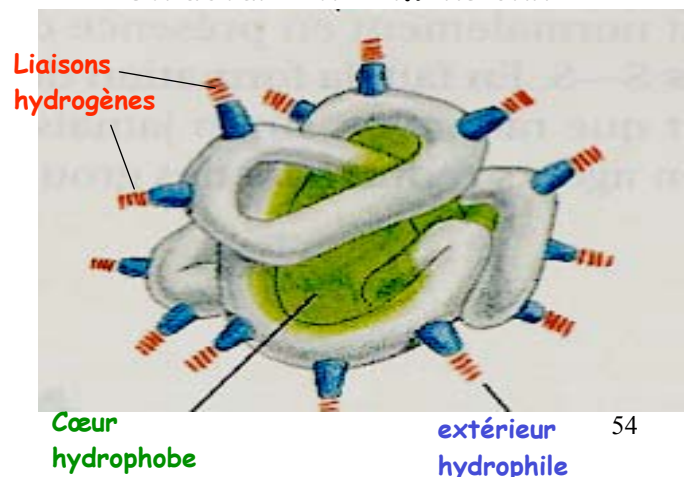
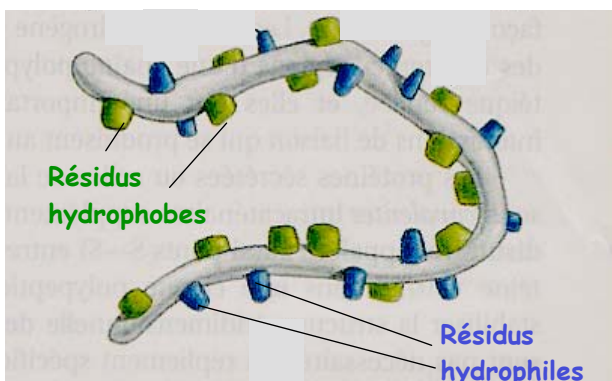
Une structure primaire donnée conduit à une  
structure tridimensionnelle donnée

La séquence des acides aminés (structure primaire)  
est déterminée par les gènes

structure primaire



structure tridimensionnelle



54

## 2.6. Structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire

On appelle

Structure **secondaire**

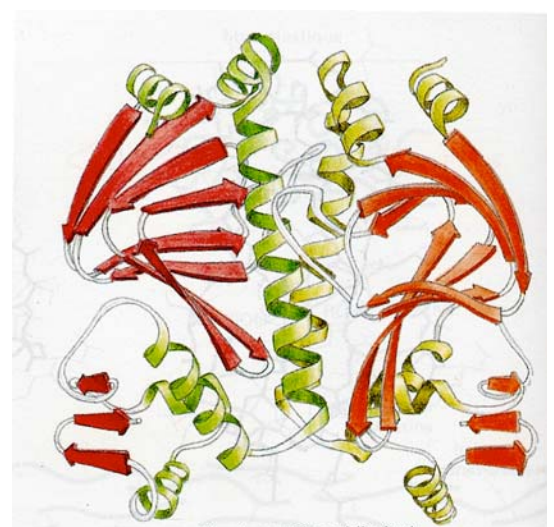
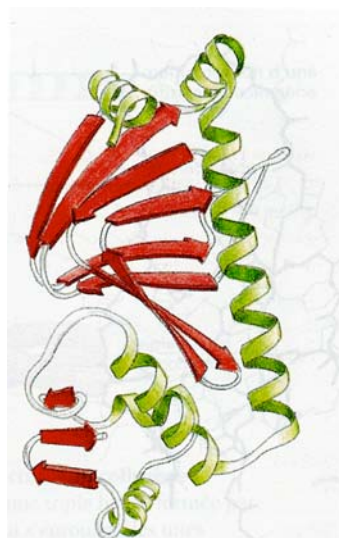
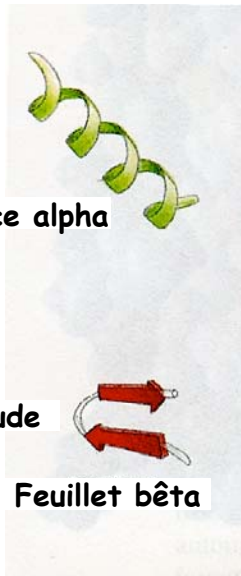
Structure **tertiaire**

Structure **quaternaire** ...

Hélice alpha

coude

Feuillet bêta



... les **motifs structuraux de base** :  
hélice alpha, feuillet bêta, tours et coudes

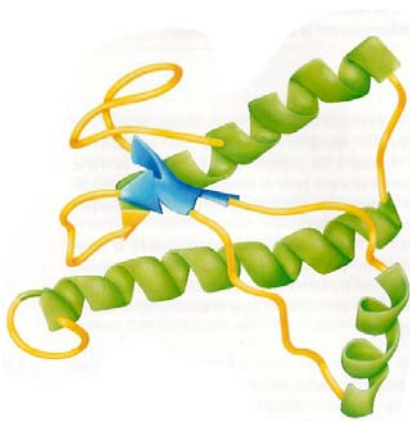
... l'**organisation interne** d'une protéine monomérique (ou d'une sous-unité)

... l'**organisation complexe** d'une protéine multimérique (au moins dimérique) :

55

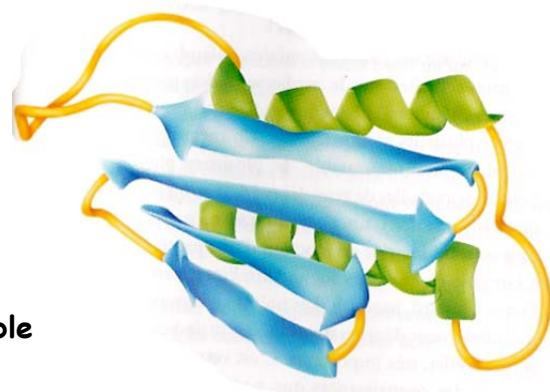
## 2.7. Structure et pathologie... le mystère de la vache folle !

La modification de la structure d'une protéine particulière, le **prion**, peut lui conférer un rôle pathologique



Protéine prion normale  
**PrP<sup>C</sup>**

→  
Conversion  
Auto-propageable



Protéine prion infectieuse  
« scrapie » **PrP<sup>Sc</sup>**

56



### 3. L'exemple du transport de l'oxygène : myoglobine et hémoglobine

#### 3.1. Introduction : place du transport de l'oxygène dans les processus biologiques

#### 3.2. Myoglobine

3.2.1. La myoglobine a une structure compacte et riche en hélice alpha

3.2.2. L'oxygène est fixé sur la myoglobine grâce à l'hème, un groupement prosthétique

3.2.3. La liaison de l'hème à la myoglobine dépend principalement de deux résidus histidine

3.2.4. La liaison de l'oxygène à la myoglobine suit une courbe hyperbolique

#### 3.3. Hémoglobine

3.3.1. L'hémoglobine est composée de 4 sous-unités de structure proche de celle de la myoglobine

3.3.2. L'hémoglobine adulte contient 2 chaînes alpha et deux chaînes bêta, identiques deux à deux. Cette structure confère à la molécule des caractéristiques de protéine allostérique

3.3.3. L'hémoglobine est parfaitement adaptée pour la captation, le transport et la libération de l'oxygène dans les tissus : modulations de l'affinité pour  $O_2$

3.3.4. L'analyse tridimensionnelle de l'hémoglobine permet de définir le mécanisme moléculaire de son fonctionnement

3.3.5. l'hémoglobine sert de modèle pour les protéines allostériques

3.3.6. l'hémoglobine sert de modèle pour l'étude des pathologies moléculaires

57

### 3. L'exemple du transport de l'oxygène : myoglobine et hémoglobine

#### 3.1. Introduction : place du transport de l'oxygène dans les processus biologiques

La création d'énergie disponible pour les processus biologiques est le premier impératif du vivant.

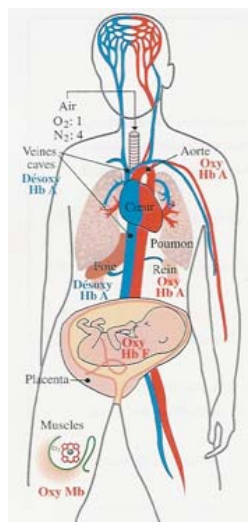
On extrait 18 fois plus d'énergie à partir du glucose en présence qu'en absence d'oxygène

Chez les vertébrés deux protéines sont chargées du transport de l'oxygène :

La myoglobine est une protéine simple et fixe l'oxygène avec une forte affinité

L'hémoglobine est une protéine complexe et fixe l'oxygène avec une affinité modulable

Le contexte biologique du transport de l'oxygène chez l'homme



58

## 3.2. La myoglobine

### 3.2.1. La myoglobine a une structure compacte et riche en hélice alpha

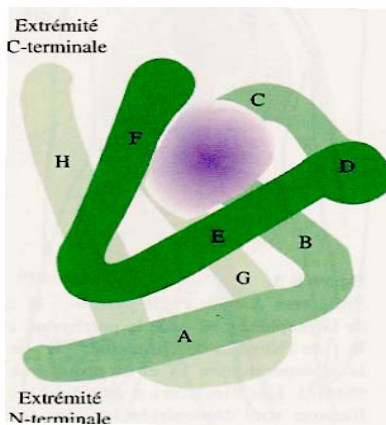
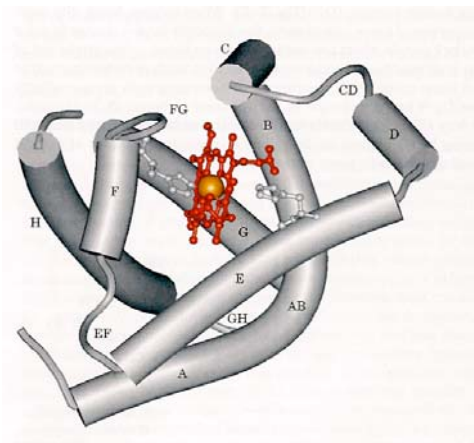
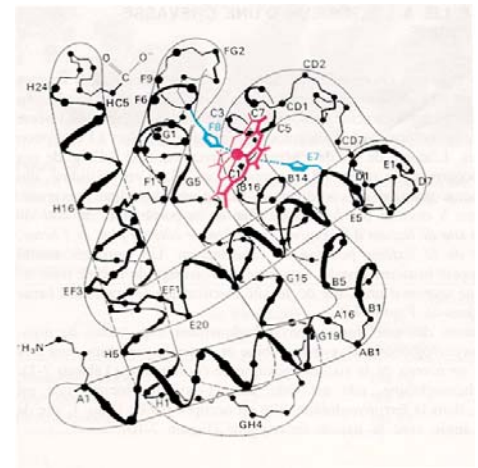


Schéma simplifié



Modèle en cylindre



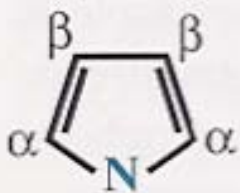
Modèle à haute résolution

Structure 3D de la myoglobine de cachalot par diffraction X

Protéine de 153 résidus, de forme globulaire (« sphérique ») de 45x35x25 Å.

59

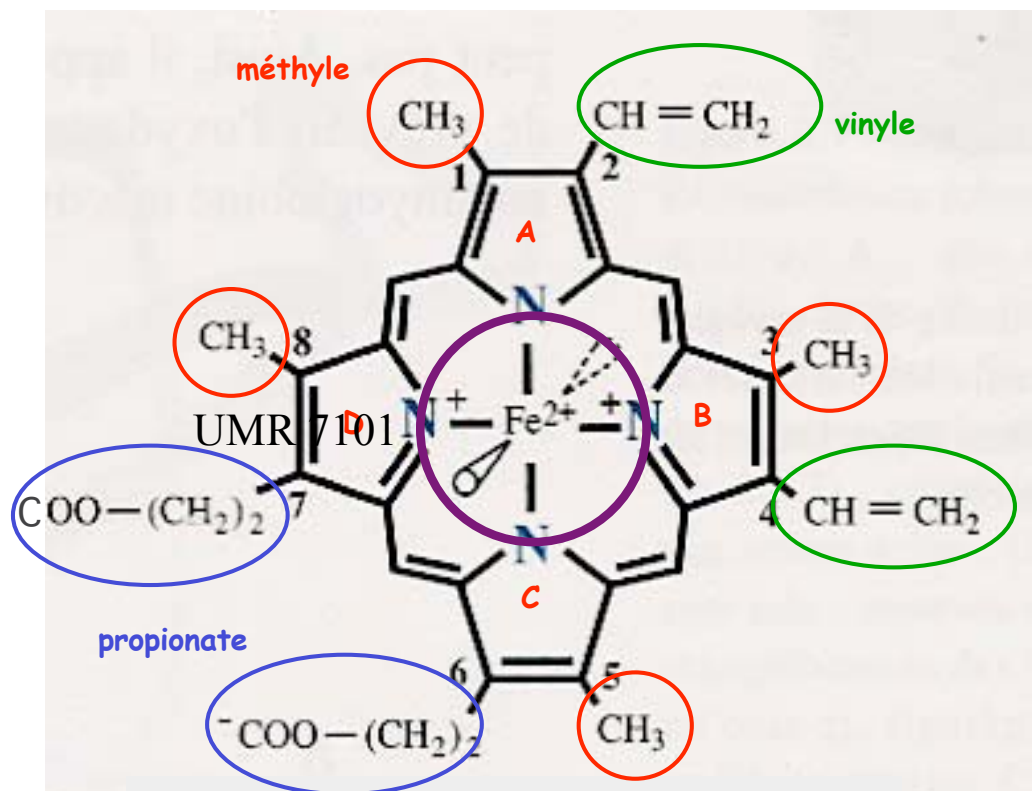
### 3.2.2. L'oxygène est fixé sur la myoglobine grâce à l'hème, un groupement prosthétique



Cycle pyrrole

Unité de base

**groupement prosthétique** =  
molécule non peptidique  
nécessaire à la fonction  
**apoprotéine** = protéine  
dépourvue de groupement  
prosthétique



HEME = protoporphirine IX + fer

Cette molécule est plane et polaire

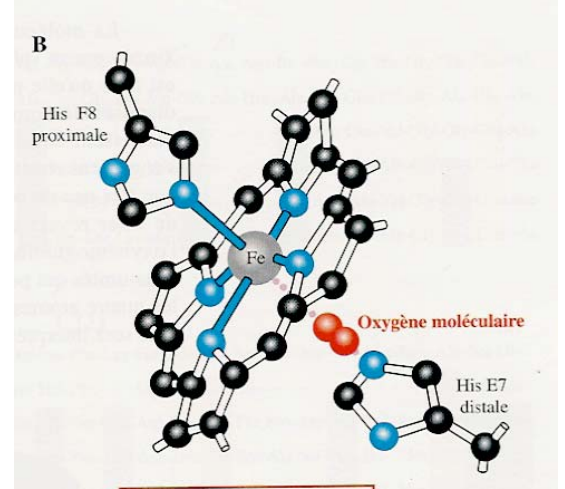
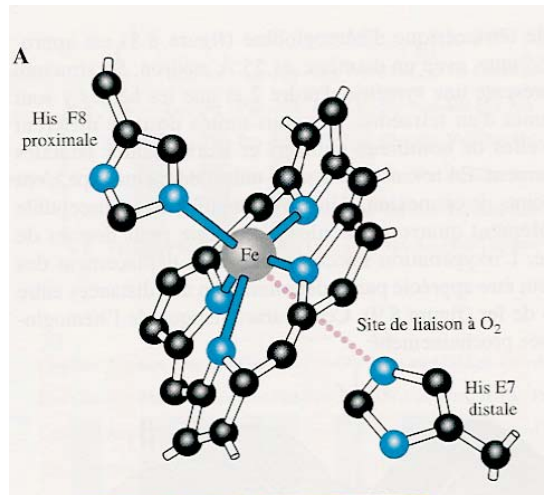
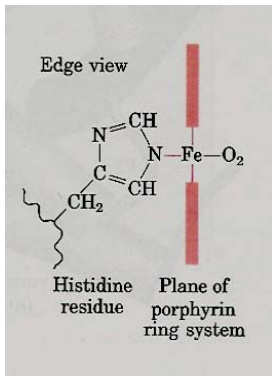
### 3.2.2. L'oxygène est fixé sur la myoglobine grâce à l'hème, un groupement prosthétique

Le fer joue un rôle majeur dans cette fixation

Le fer est sous forme **ferreuse**  $\text{Fe}^{2+}$  (ferromyoglobine) et dispose de **6 liaisons de coordination**

L'**oxydation** du fer en forme **ferrique**  $\text{Fe}^{3+}$  (ferrimyoglobine) rend la molécule **inactive**

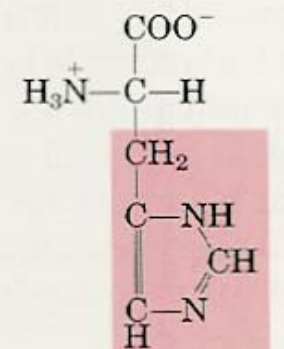
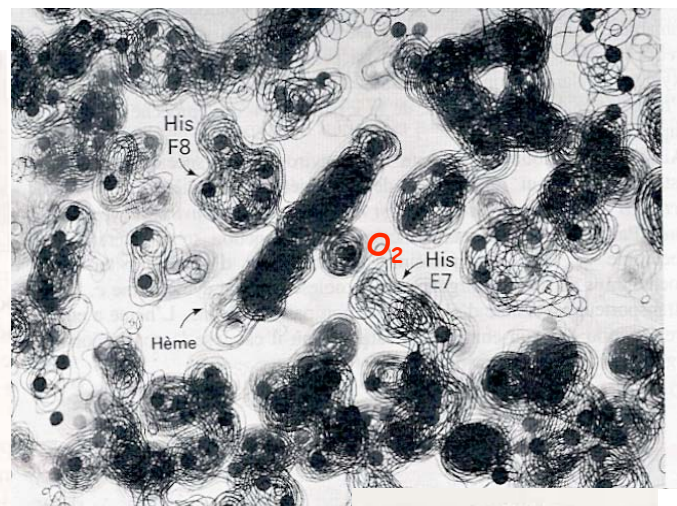
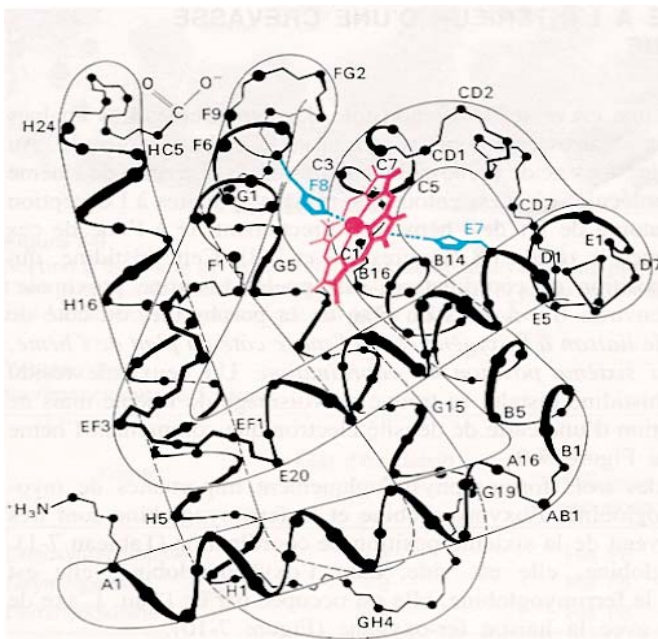
Dans le cas de l'hémoglobine ces formes s'appellent respectivement **ferrohémoglobine** ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et **ferrihémoglobine** ou **methémoglobine** ( $\text{Fe}^{3+}$ )



La fixation d'oxygène déplace l'atome de fer par rapport au plan de l'hème

61

### 3.2.3. La liaison de l'hème à la myoglobine dépend principalement de deux résidus histidine

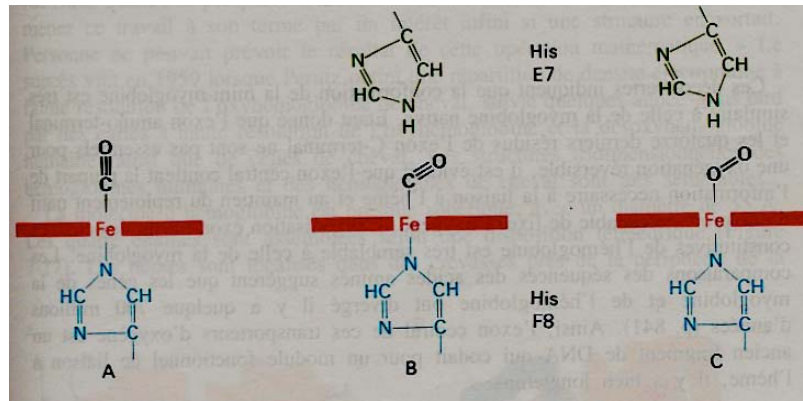


Noyau imidazole



### 3.2.3. La liaison de l'hème à la myoglobine dépend principalement de deux résidus histidine

Le monoxyde de carbone CO se lie au fer de façon compétitive avec l'O<sub>2</sub> avec une affinité beaucoup plus forte



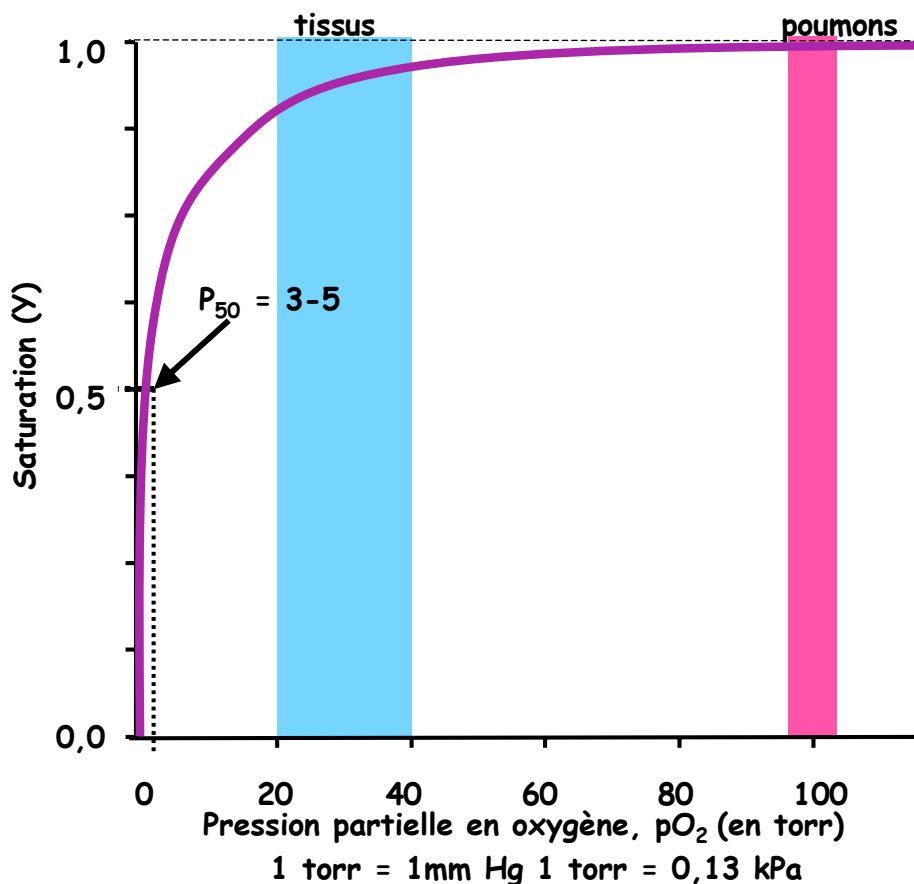
#### L'histidine distale limite la fixation du CO

Sur l'hème isolée (hors de la protéine), le CO a une affinité 25 000 fois plus forte que l'oxygène.

L'encombrement stérique dû à l'histidine distale E7 réduit cette différence à 200 fois.

63

### 3.2.4. La liaison de l'oxygène à la myoglobine suit une courbe hyperbolique Elle traduit la très haute affinité de la myoglobine pour l'oxygène

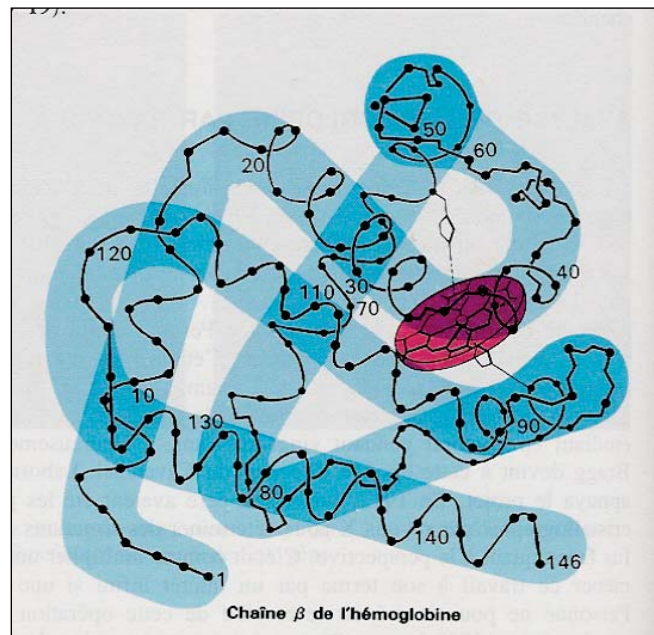
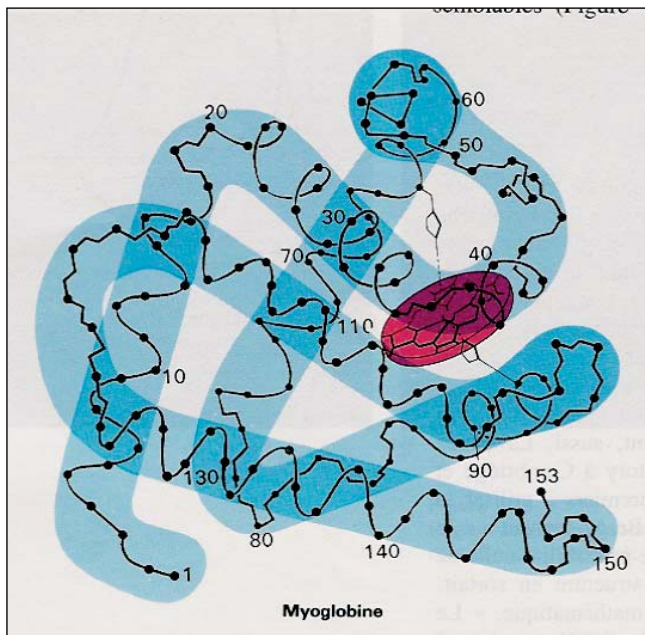


64



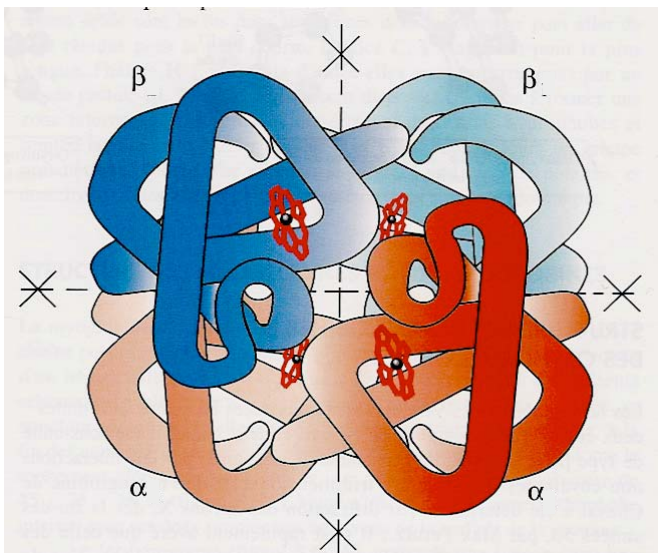
### 3.3. Hémoglobine

#### 3.3.1. L'hémoglobine est composée de 4 sous-unités de structure proche de celle de la myoglobine



65

#### 3.3.2. L'hémoglobine adulte contient 2 chaînes alpha et deux chaînes bêta, identiques deux à deux. Cette structure confère à la molécule des caractéristiques de protéine allostérique



Molécule d'hémoglobine avec 2 chaînes alpha et deux chaînes bêta maintenues par des interactions non covalentes. Chaque chaîne possède un hème et un site de liaison de l'O<sub>2</sub>

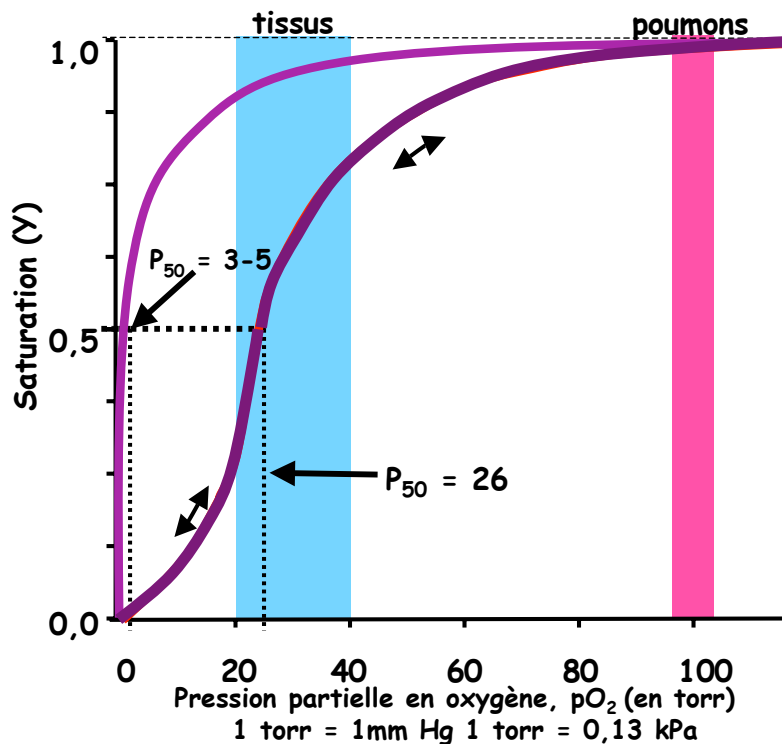
**protéine allostérique** = protéine, comportant généralement plusieurs sous-unités, possédant plusieurs sites de liaisons pour un/des ligands et telle que la liaison d'un ligand sur un site modifie la liaison des autres ligands

L'évolution de la myoglobine vers l'hémoglobine confère à cette dernière des propriétés remarquables :

- **coopérativité** de la liaison de O<sub>2</sub>
- possibilité de modulation physiologique de la fixation de l'oxygène : pH, CO<sub>2</sub>, BPG...

NB : on note l'hémoglobine adulte HbA  $\alpha_2\beta_2$ . Il existe de nombreuses autres chaînes possibles pour l'hémoglobine, comme par exemple l'hémoglobine fœtale HbF  $\alpha_2\gamma_2$

### 3.3.3. L'hémoglobine est parfaitement adaptée pour la captation, le transport et la libération de l'oxygène dans les tissus : l'effet coopératif

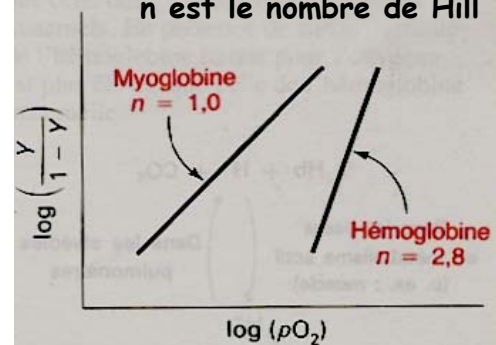


On peut quantifier l'effet coopératif grâce à l'équation de Hill. Cette équation exprime la relation entre la quantité de ligand lié (ou saturation, Y) en fonction de la quantité totale de ligand. Dans le cas de l'hémoglobine, le ligand est  $O_2$ .

Cette équation s'écrit :

$$\log \frac{Y}{1-Y} = n \log pO_2 - n \log P_{50}$$

n est le nombre de Hill



L'affinité de Hb pour  $O_2$  est plus faible que celle de Mb et modulable

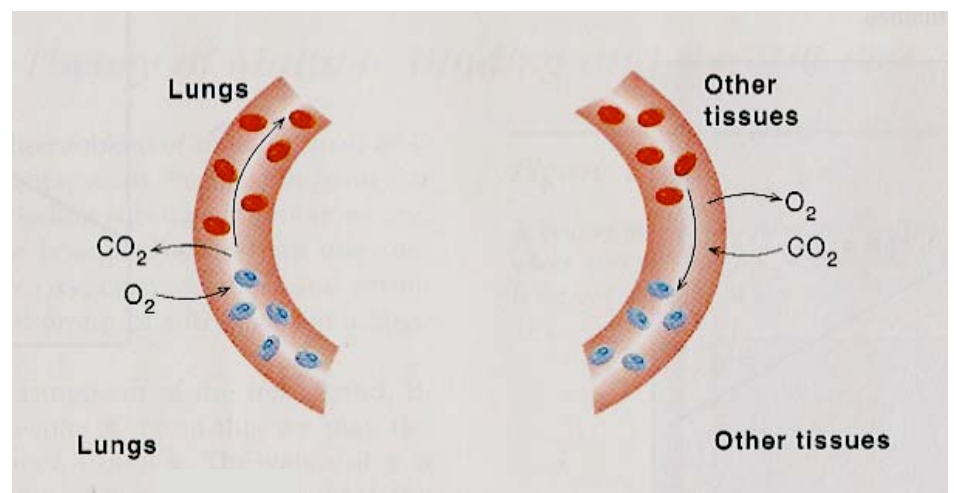
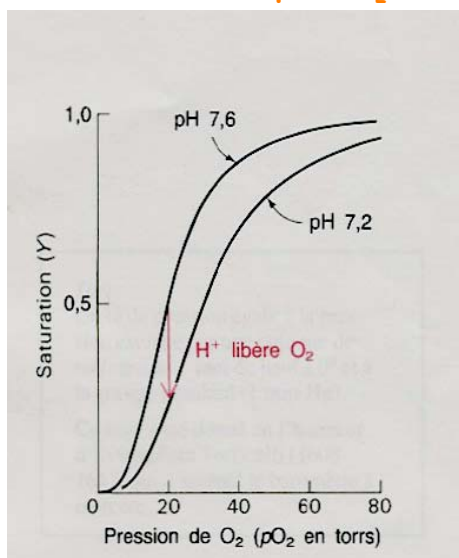
Cette courbe traduit un effet coopératif.

### 3.3.3. L'hémoglobine est parfaitement adaptée pour la captation, le transport et la libération de l'oxygène dans les tissus : modulations de l'affinité pour $O_2$

l'affinité de Hb pour  $O_2$  est diminuée par la diminution du pH (augmentation de  $[H^+]$ )

l'affinité de Hb pour  $O_2$  est diminuée par l'augmentation de  $CO_2$

Effet BOHR



Poumons, pH 7,4,  $pO_2$  100 torr

Muscles, pH 7,4,  $pO_2$  20 torr:

Muscles, pH 7,2,  $pO_2$  20 torr:

Muscles, pH 7,2,  $pO_2$  20 torr,  $pCO_2$  40 torr

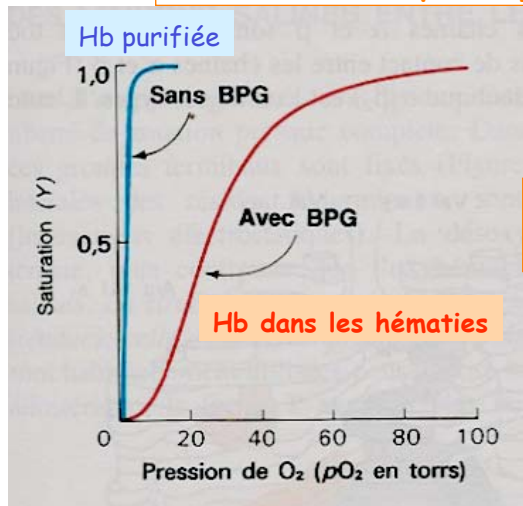
66% capacité libérée

77% capacité libérée

90% capacité libérée

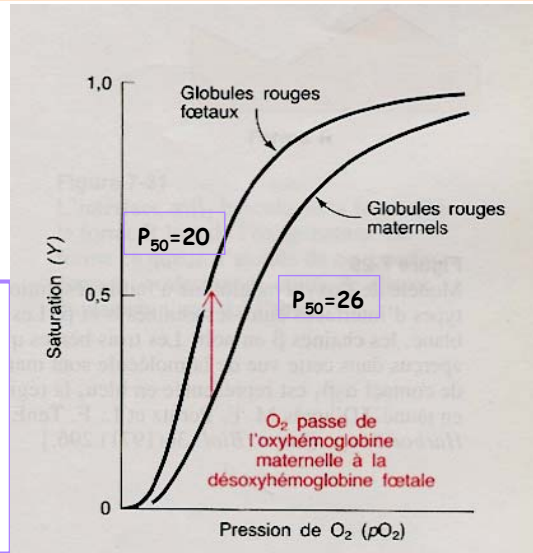
### 3.3.3. L'hémoglobine est parfaitement adaptée pour la captation, le transport et la libération de l'oxygène dans les tissus : modulations de l'affinité pour $O_2$

L'affinité de Hb pour  $O_2$  est diminuée par le 2,3 diphospho-glycérate (DPG)



Le DPG (= BPG: bis phosphoglycérate) est un intermédiaire de la glycolyse, libéré dans les tissus périphériques et présent dans les hématies à la même concentration que l'Hb (2 mM)

En absence de BPG, l'hémoglobine perd ses propriétés de coopérativité...



L'affinité de Hb fœtale ( $HbF = \alpha_2\gamma_2$ ) pour  $O_2$  est supérieure à celle de l'hémoglobine maternelle ( $HbA = \alpha_2\beta_2$ ).

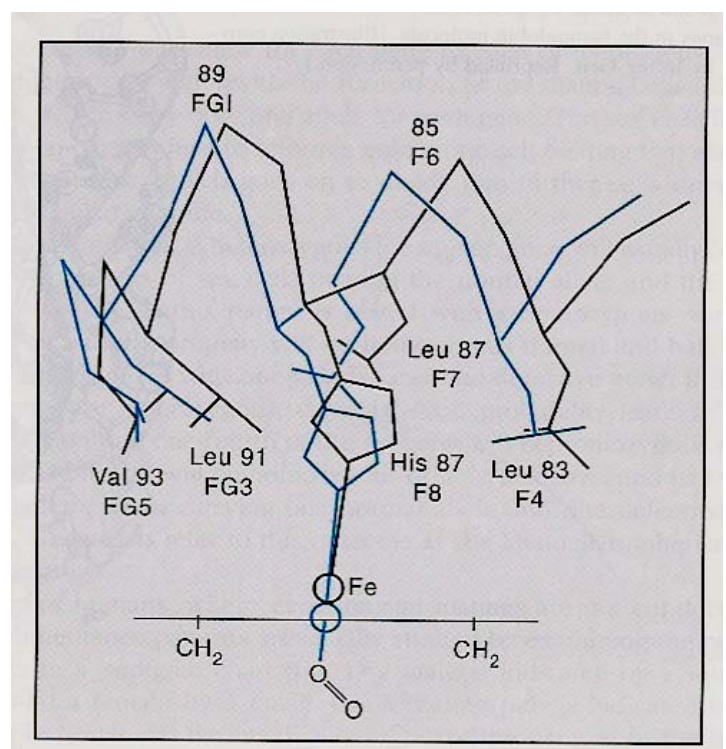
Cette différence d'affinité  $HbF > HbA$  est liée à la plus faible affinité de la chaîne  $\gamma$  de HbF pour le DPG comparée à la chaîne  $\beta$  de HbA

### 3.3.4. L'analyse tridimensionnelle de l'hémoglobine permet de définir le mécanisme moléculaire de son fonctionnement

#### 3.3.4.1. Lors de l'oxygénation, l'atome de fer se déplace vers le plan de l'hème

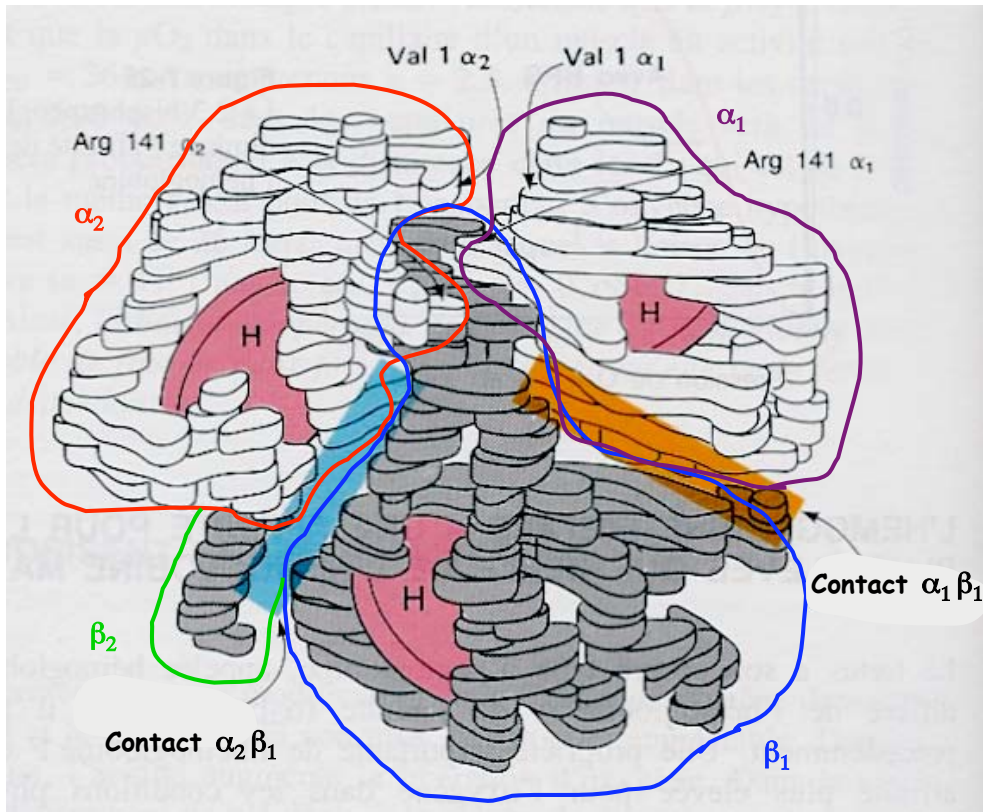
Ce mouvement est transmis à l'histidine proximale et à l'ensemble de la chaîne polypeptidique par déplacement de proche en proche

— En l'absence d ' $O_2$   
— Après fixation de  $O_2$





### 3.3.4.2. Les déplacements générés sur une sous-unité sont transmis à une sous-unité associée



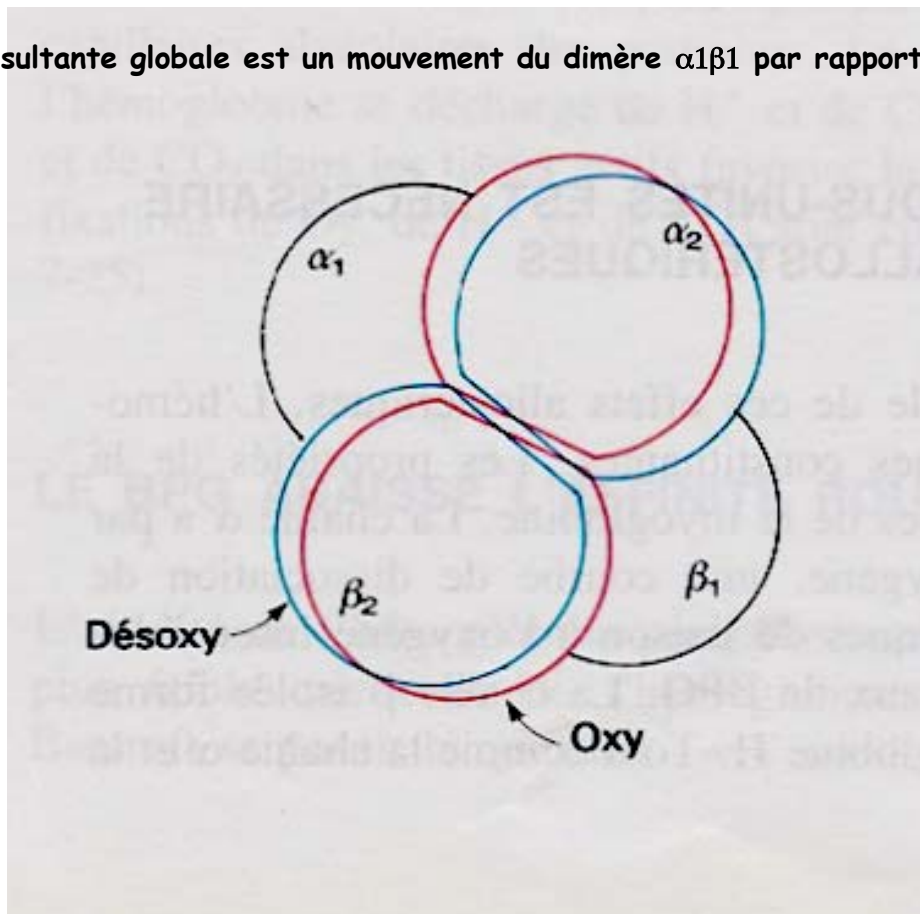
Les interactions entre chaînes adjacentes sont principalement réalisées par des **ponts salins** entre résidus chargés.

Modèle à basse résolution indiquant les zones de contact  $\alpha$ - $\beta$

71

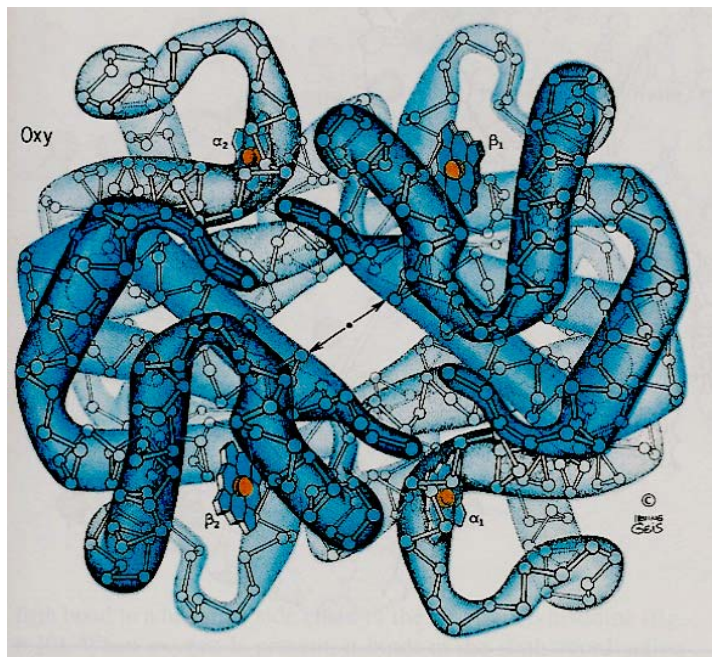
### 3.3.4.2. Les déplacements générés sur une sous-unité sont transmis à une sous-unité associée

La résultante globale est un mouvement du dimère  $\alpha_1\beta_1$  par rapport à  $\alpha_2\beta_2$

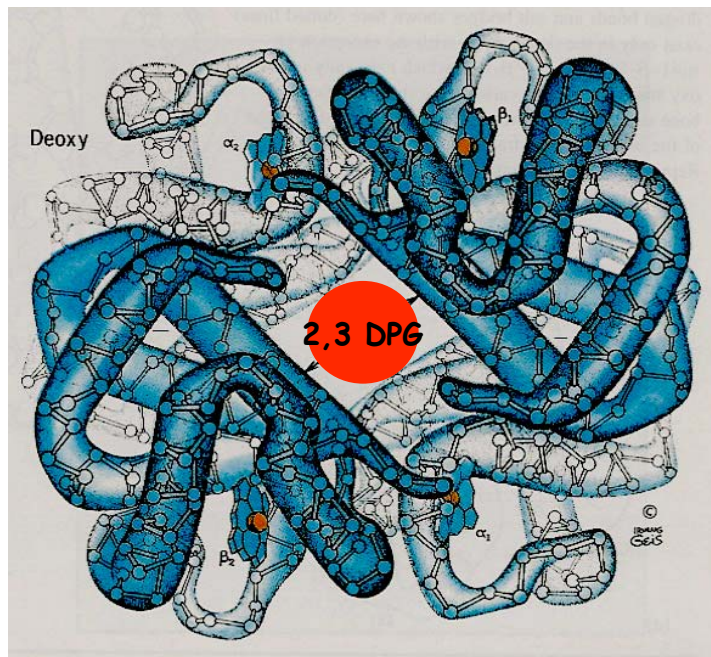


72

3.3.4.4. La comparaison des structures de l'oxyHb et de la desoxyHb indiquent l'existence de deux états moléculaires distincts.



Etat relâché R



Etat tendu T

Le 2,3 DPG bloque l'hémoglobine en position T en se fixant dans l'espace libre entre les 4 sous-unités. C'est pourquoi il **interfère avec la coopérativité**.

### 3.3.5. L'hémoglobine sert de modèle pour les protéines allostériques

Il existe deux modèles pour la « transition » allostérique de l'hémoglobine

Considérons pour simplifier deux états de l'hémoglobine

T

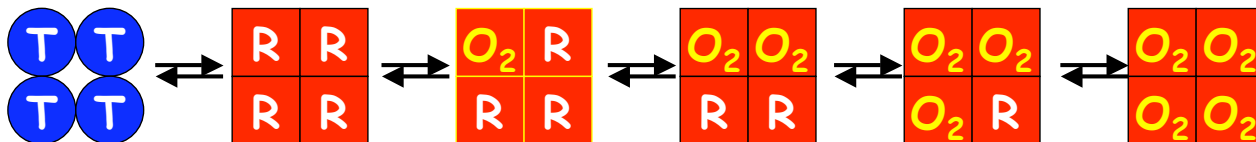
Etat tendu T

R

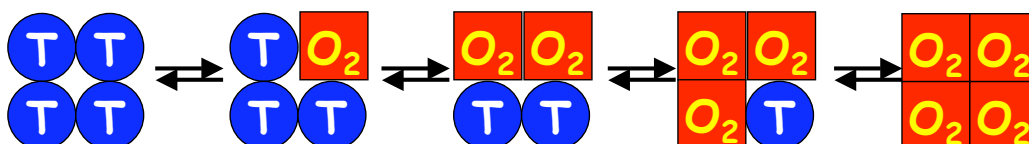
Etat relâché R

la « transition » allostérique peut suivre deux voies :

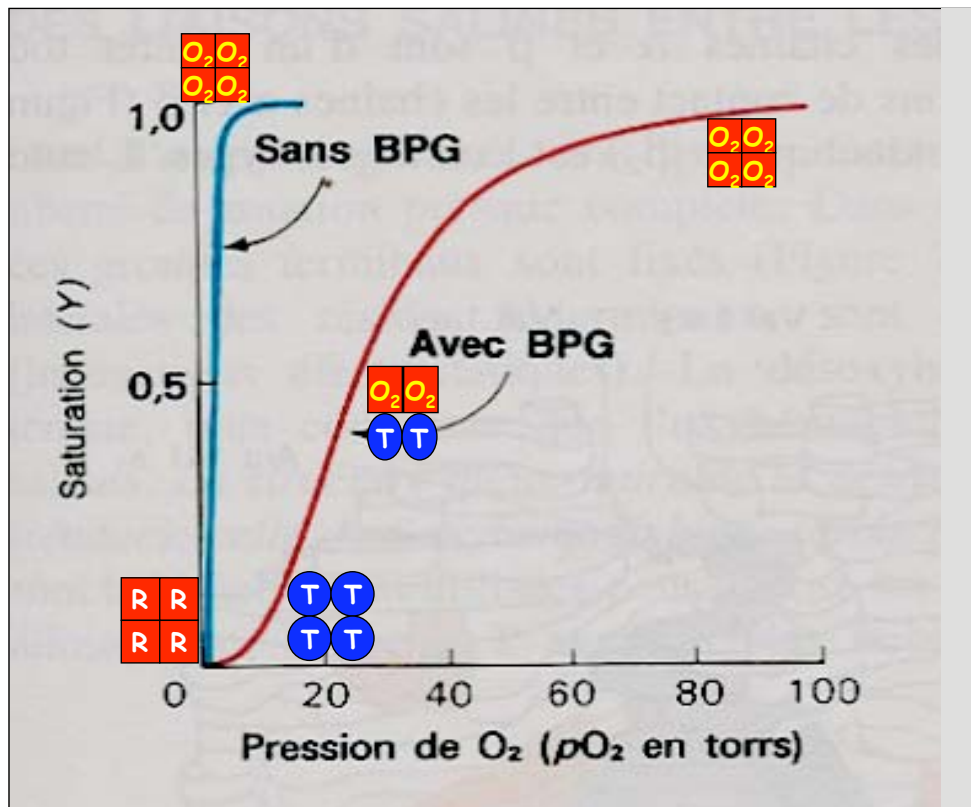
**Modèle du tout ou rien** ou modèle symétrique



**Modèle séquentiel**



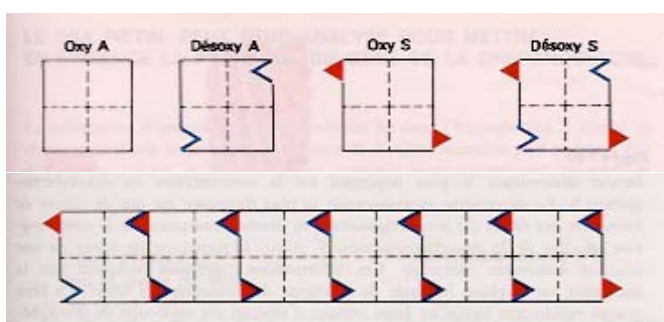
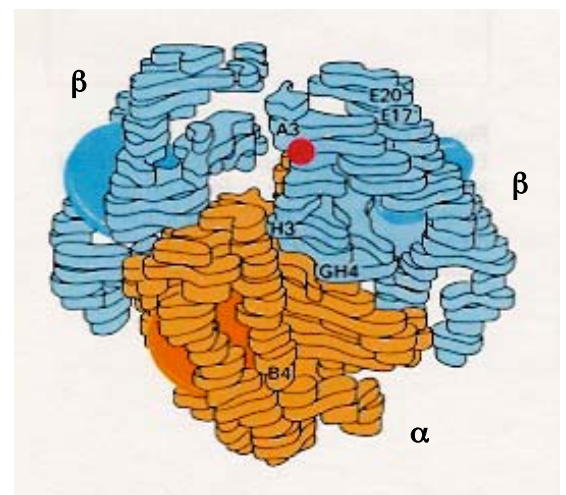
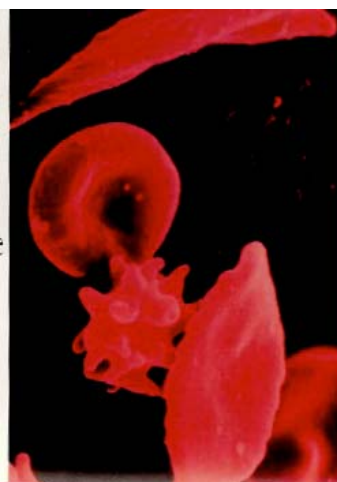
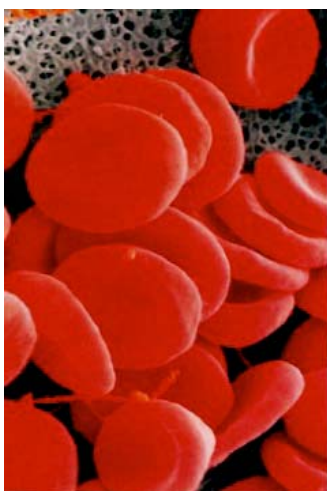




75

### 3.3.6. L'hémoglobine sert de modèle pour l'étude des pathologies moléculaires

L'exemple de la drépanocytose (anémie drépanocytaire, Sick cell anemia)



76

### 3.3.6. L'hémoglobine sert de modèle pour l'étude des pathologies moléculaires

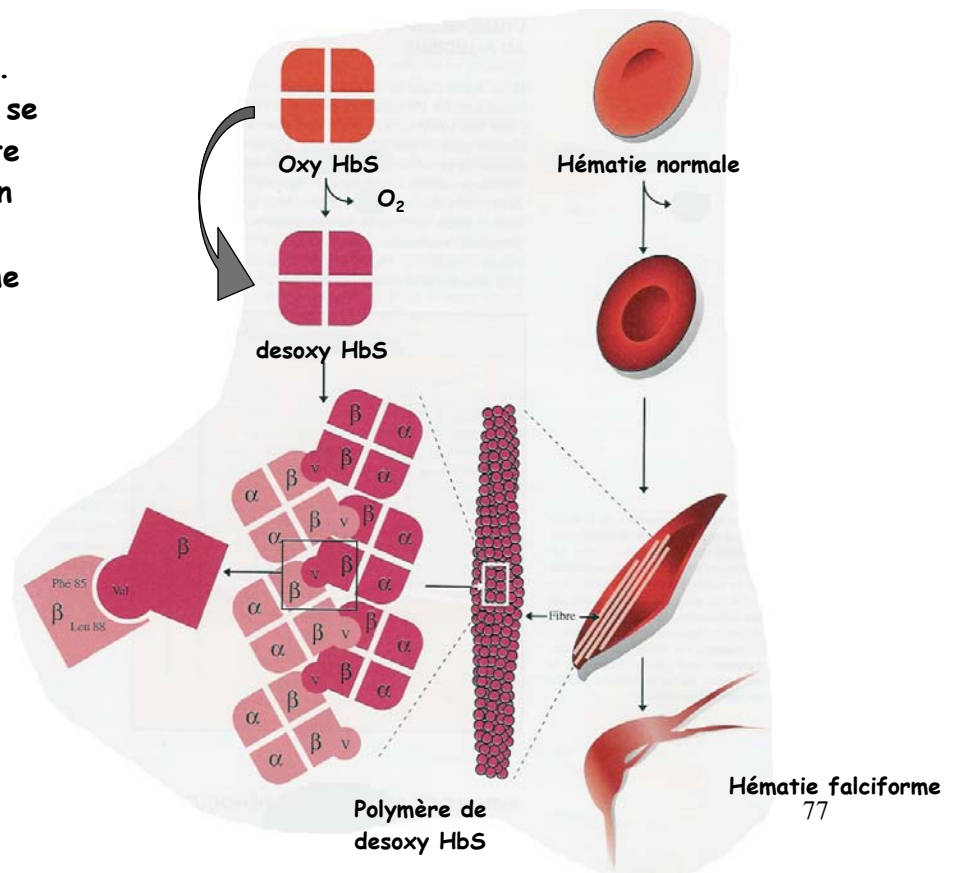
L'exemple de la drépanocytose (**anémie drépanocytaire**, Sick cell anemia)

Passage dans la microcirculation.  
Oxy HbS libère son oxygène et se transforme en desoxyHbS. Cette transformation est associée à un changement conformationnel qui favorise la formation d'une poche hydrophobe

Deux exemples  
de situations pathologiques:

CO :  
blocage du site actif de l'Hb

Drépanocytose:  
Pas d'atteinte du site actif

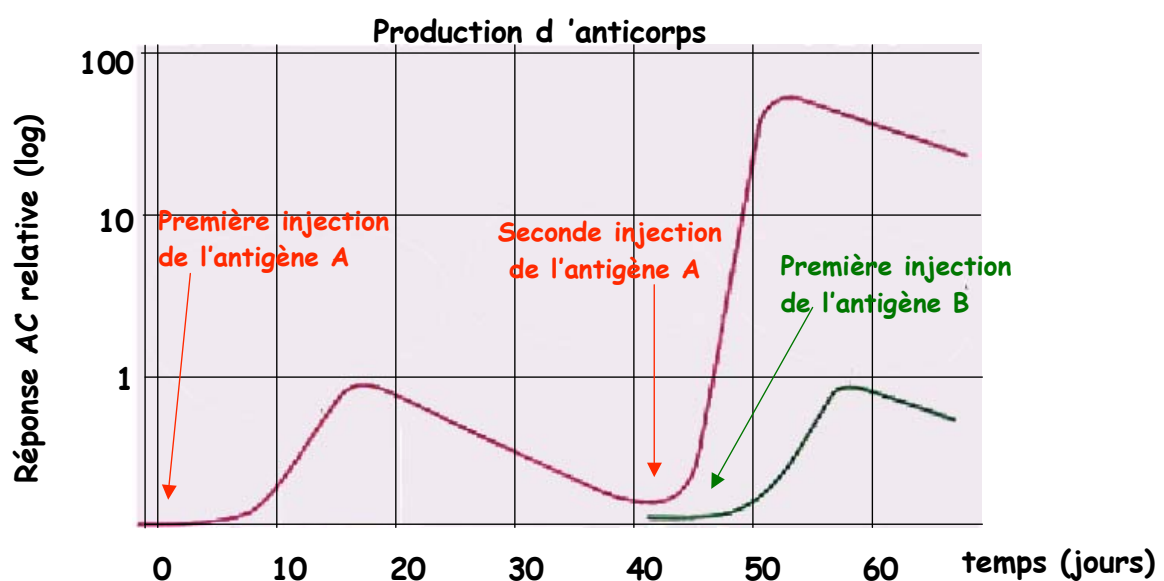


#### 4. L'exemple de la reconnaissance du soi : les immunoglobulines

- 4.1. Les immunoglobulines : un vaste répertoire de protéines capables de reconnaissance spécifique
- 4.2. De très nombreuses protéines participent à la défense contre les agressions
- 4.3. Les immunoglobulines ont toutes la même structure de base
- 4.4. Le motif de base, « immunoglobulinique » est principalement formé de feuilletés bêta
- 4.5. Les immunoglobulines comportent deux parties fonctionnelles distinctes
- 4.6. La spécificité de liaison dépend de la variabilité de composition de la séquence sur un très petit nombre de site des régions variables des chaînes lourdes et légères

79

#### 4.1. Les immunoglobulines : un vaste répertoire de protéines capables de reconnaissance spécifique

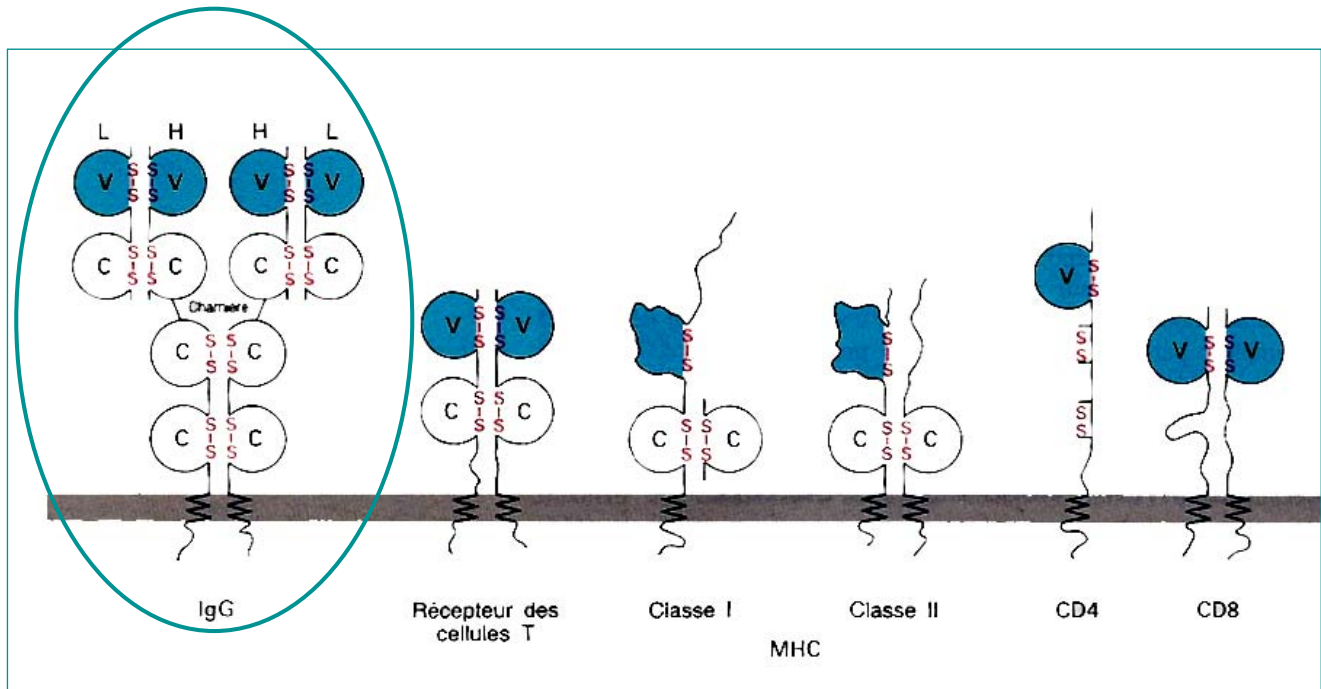


Toute molécule étrangère sera reconnue par un **anticorps**, une immunoglobuline.

L'immunoglobuline **pré-existe** à l'antigène. L'organisme a produit un répertoire permettant de reconnaître plus de  **$10^8$  molécules différentes**

80

## 4.2. De très nombreuses protéines participent à la défense contre les agressions



81

## 4.3. Les immunoglobulines ont toutes la même structure de base

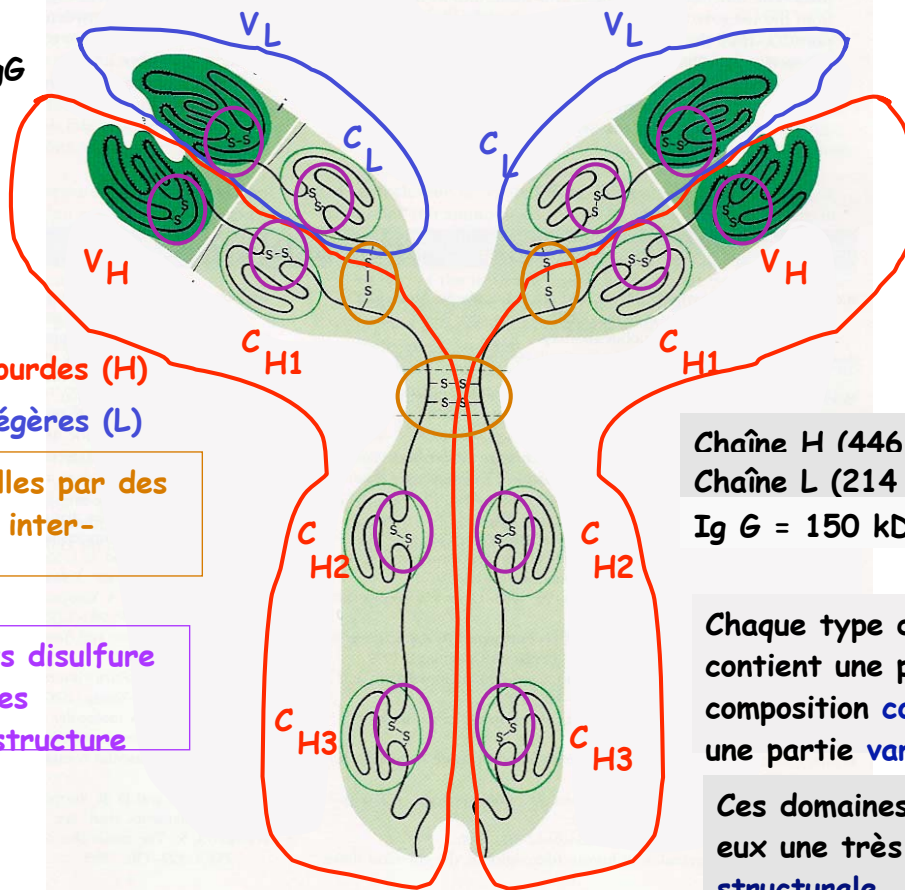
Exemple de l'IgG

Deux chaînes lourdes (H)

Deux chaînes légères (L)

reliées entre elles par des ponts disulfure inter-caténaires

D'autres ponts disulfure intra-caténaires stabilisent la structure



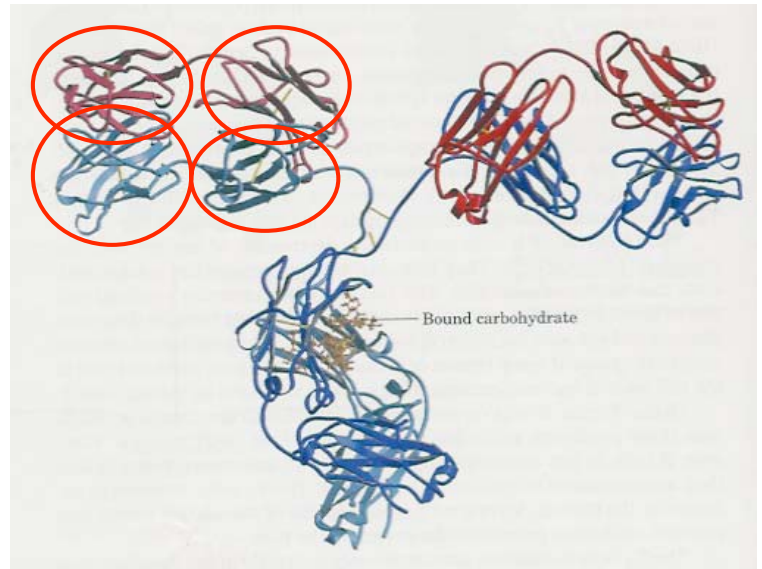
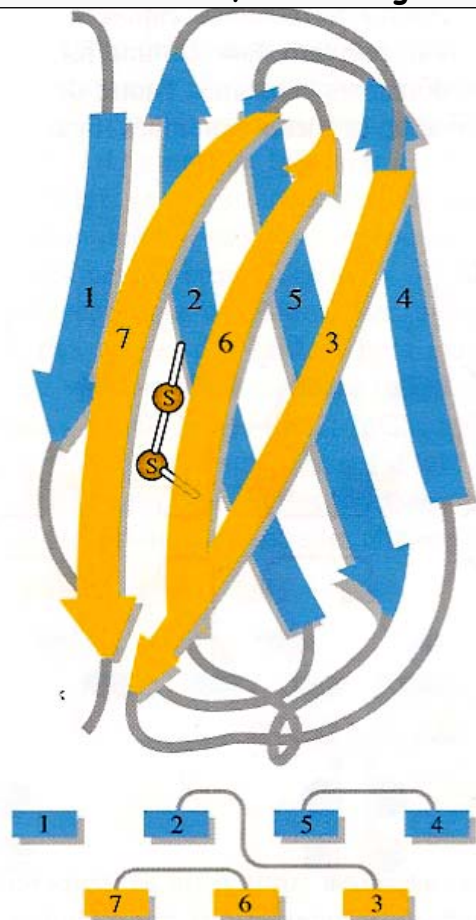
Chaîne H (446 résidus) = 50 kDa  
Chaîne L (214 résidus) = 25 kDa  
Ig G = 150 kDa

Chaque type de chaîne (H et L) contient une partie de composition **constante** (C) et une partie **variable** (V)

Ces domaines présentent entre eux une très forte **homologie structurale**



#### 4.4. Le motif de base, « immunoglobulinique » est principalement formé de feuillets bêta



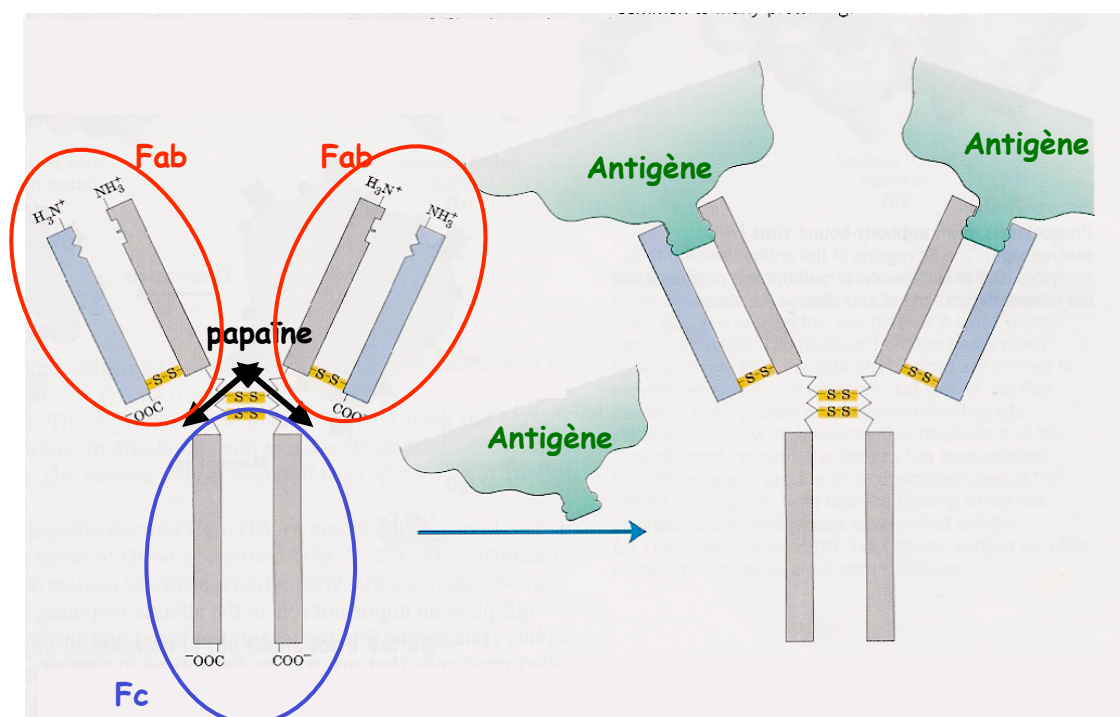
83

#### 4.5. Les immunoglobulines comportent deux parties fonctionnelles distinctes

Le clivage par la papaïne libère deux fragments Fab et un fragment Fc

Les fragments **Fab** présentent la capacité de **lier les antigènes**

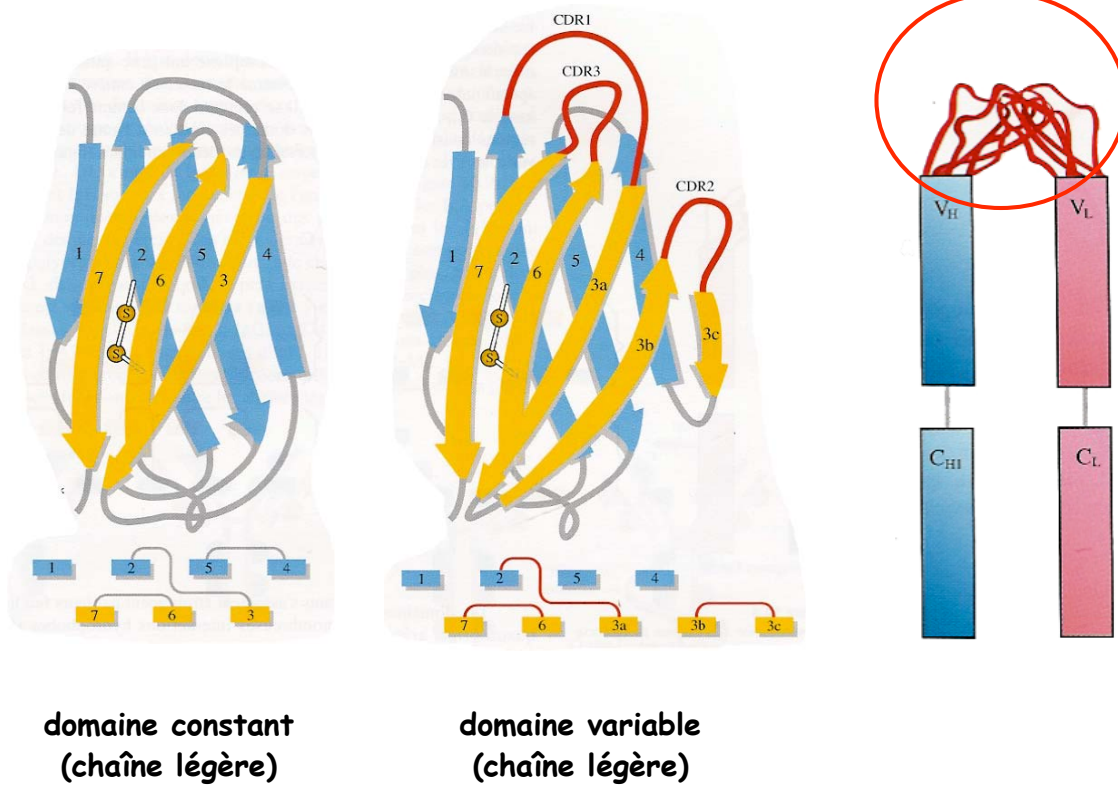
Le fragment **Fc** présente des fonctions « **effectrices** » (complément, etc...)



84



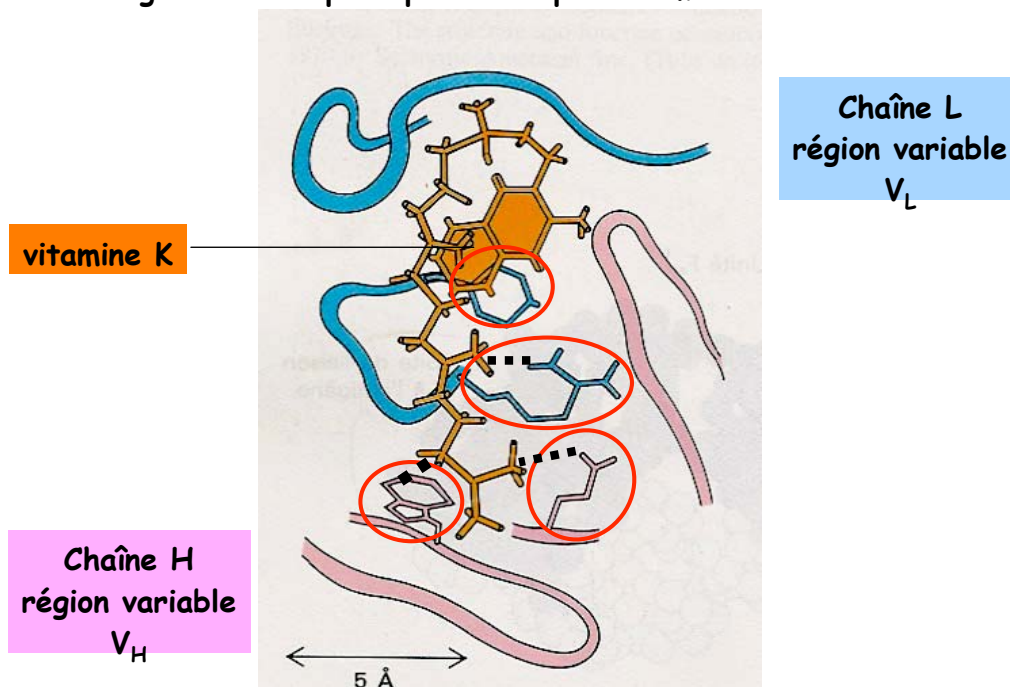
**4.6. La spécificité de liaison dépend de la variabilité de composition de la séquence sur un très petit nombre de sites des régions variables des chaînes lourdes et légères**



85

**4.6. La spécificité de liaison dépend de la variabilité de composition de la séquence sur un très petit nombre de sites des régions variables des chaînes lourdes et légères**

La reconnaissance antigène-anticorps dépend d'un petit nombre de liaisons non covalentes



Liaison d'un dérivé de la vitamine K à son AC spécifique

86

## 5. L 'exemple des protéines motrices : actine, myosine et les autres...

### 5.1. Corréler les structures anatomique et histologique à la composition biochimique

5.1.1 La structure d'un sarcomère en microscopie électronique montre l'existence de filaments fins et épais

5.1.2 Les filaments fins sont principalement composés d 'actine. Les filaments épais sont principalement composés de myosine

5.1.3 Un modèle simple permet de corréler les données anatomique et biochimique

### 5.2. Comprendre le mécanisme de transformation d'énergie chimique en énergie mécanique

5.2.1 Les filaments d 'actine (microfilaments) sont composés de polymères d'actine globulaire

5.2.2 La myosine est une protéine complexe de très grande taille

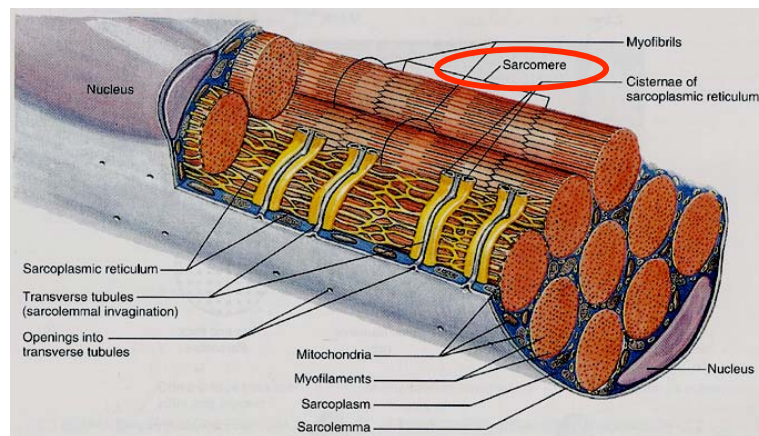
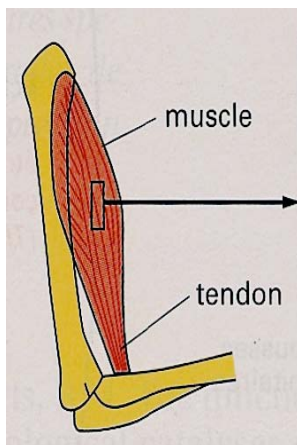
5.2.3 La « tête » de la myosine (S1) est responsable de l'activité motrice

5.2.4 L'interaction de la myosine (S1) avec l'actine est réversible et dépend de la fixation de l 'ATP et de l 'activité ATPase

### 5.3. Etudier un exemple de régulation de l'activité des protéines par leur environnement

87

## 5. L 'exemple des protéines motrices : actine, myosine et les autres



Corréler la structure anatomique à la composition biochimique

Comprendre le mécanisme de transformation d 'énergie chimique en énergie mécanique

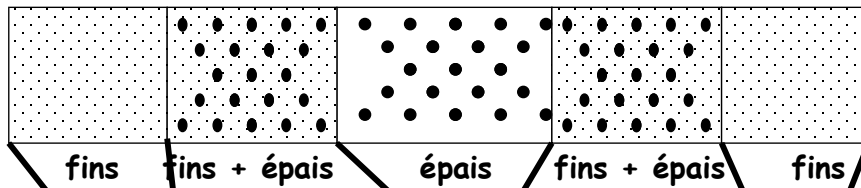
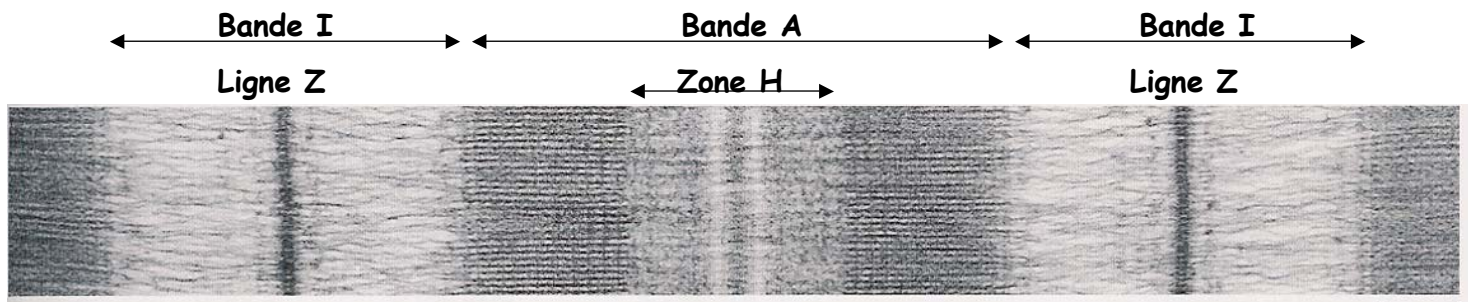
Etudier un exemple de régulation de l 'activité des protéines par leur environnement

88

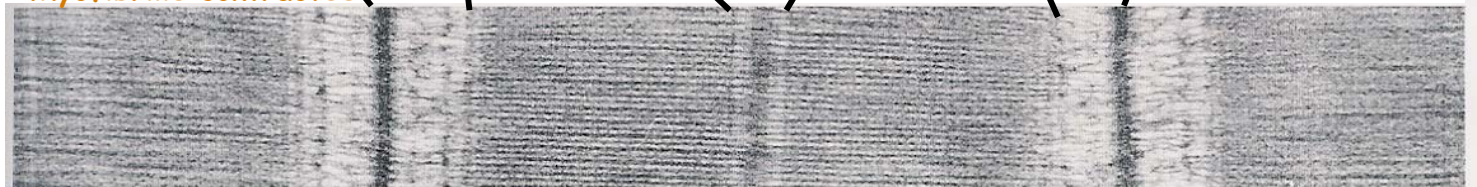
## 5.1. Corréler les structures anatomique et histologique à la composition biochimique

### 5.1.1 La structure d'un sarcomère en microscopie électronique montre l'existence de filaments fins et épais

#### Myofibrille au repos

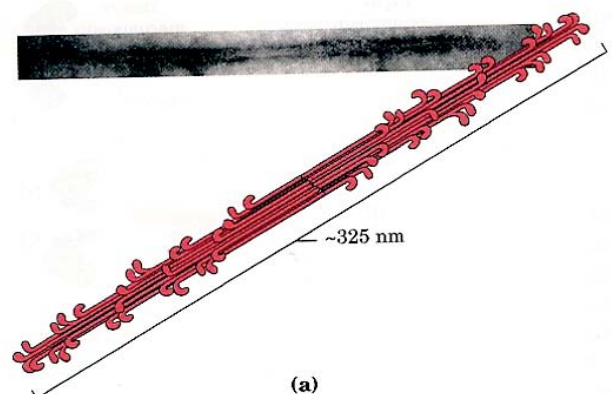
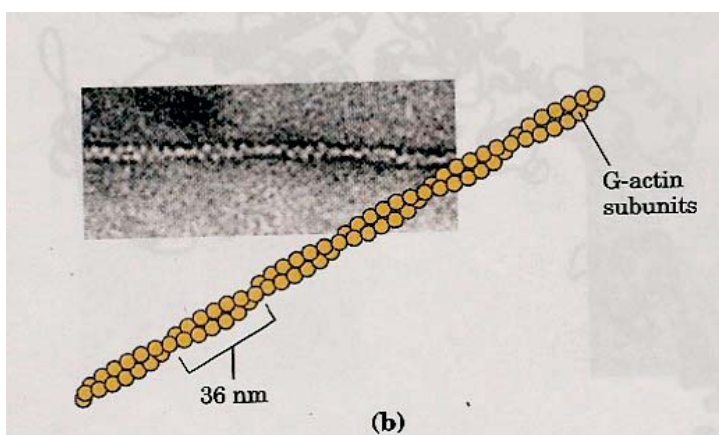


#### Myofibrille contractée



## 5.1. Corréler les structures anatomique et histologique à la composition biochimique

### 5.1.2. Les filaments fins sont principalement composés d'actine. Les filaments épais sont principalement composés de myosine



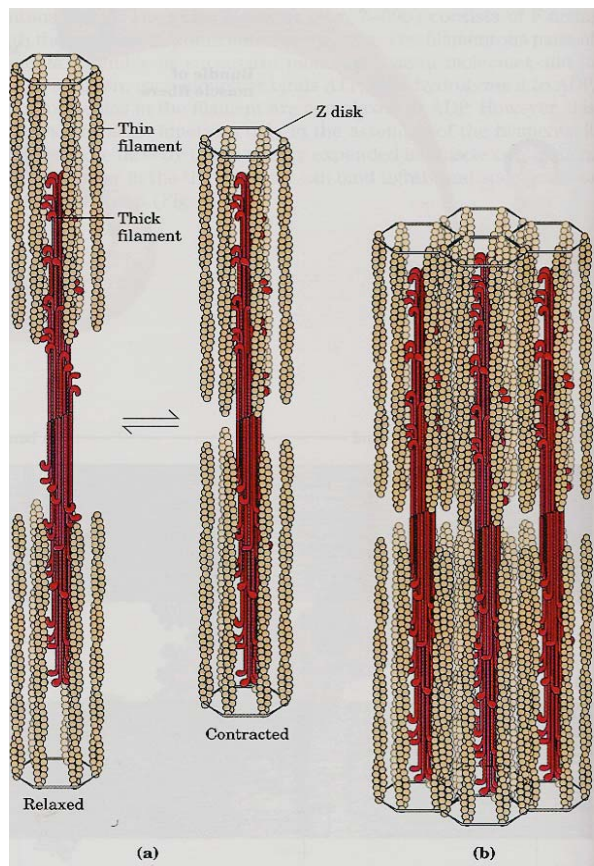
Un filament d'actine est un **polymère** constitué de sous unités (**monomère**)

Les molécules de myosine sont regroupées en faisceaux desquels émergent des « ponts »



## 5.1. Corréler les structures anatomique et histologique à la composition biochimique

### 5.1.3 Un modèle simple permet de corréler les données anatomique et biochimique



Les filaments fins d'actine  
« couissent » sur les filaments épais  
de myosine

Les lignes (disques) Z sont  
principalement composés d'une protéine  
particulière la myoméline

Dans le muscle, de très nombreuses  
unités (sarcomères) sont juxtaposées

91

## 5.2. Comprendre le mécanisme de transformation d'énergie chimique en énergie mécanique

### 5.2.1. Les filaments d'actine (microfilaments) sont composés de polymères d'actine globulaire

Le monomère d'actine, actine G (43 kDa)  
présente une polarité qui permet la  
formation du polymère

Le monomère d'actine est composé de  
deux domaines.

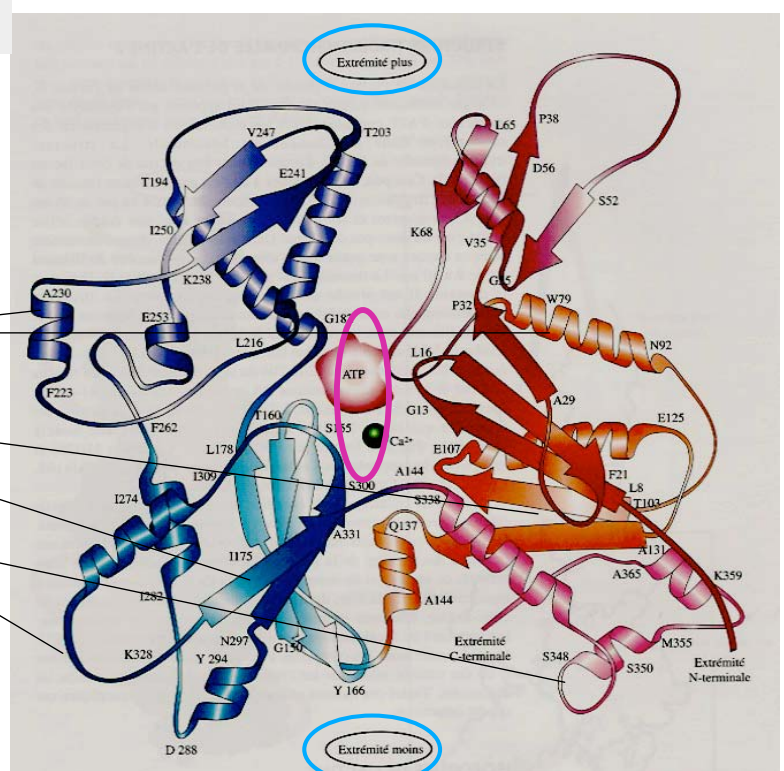
Chaque domaine présente plusieurs types  
de structures secondaires

hélices alpha

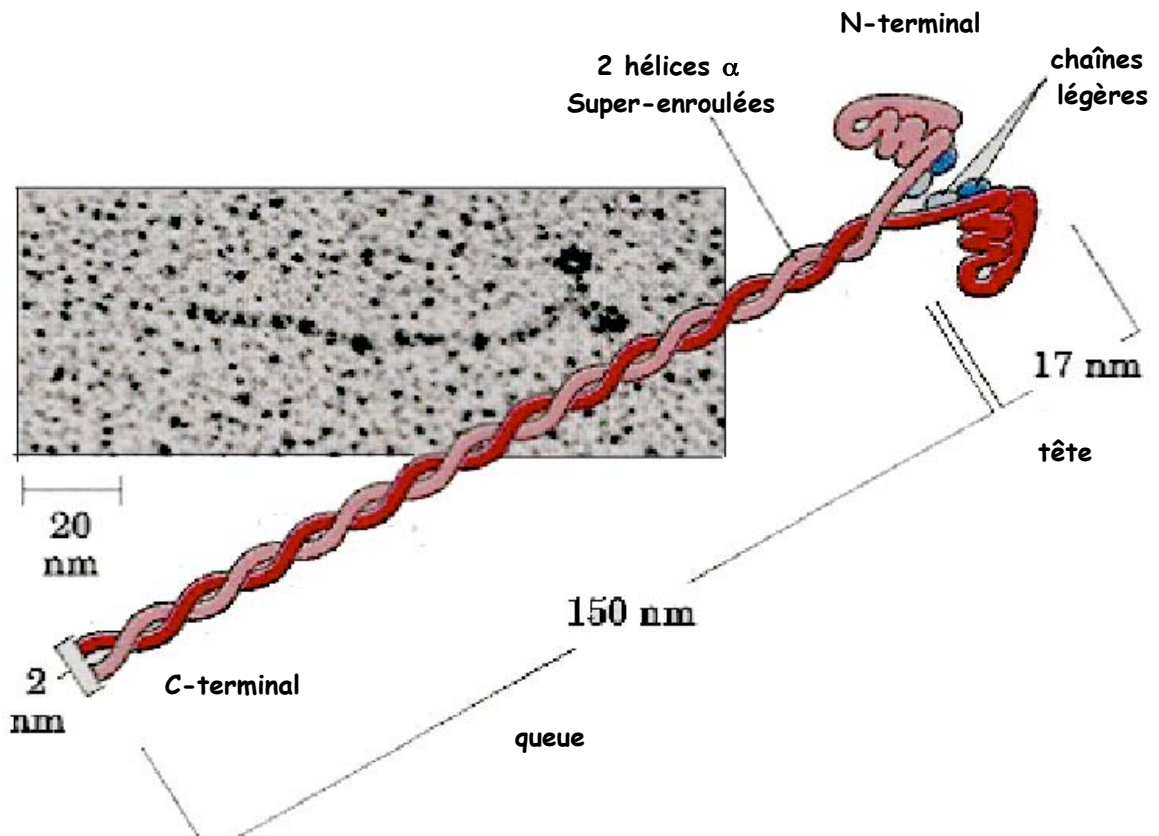
feuillets bêta

coudes et boucles

Chaque monomère contient une  
molécule d'ATP et un ion  $\text{Ca}^{2+}$ .



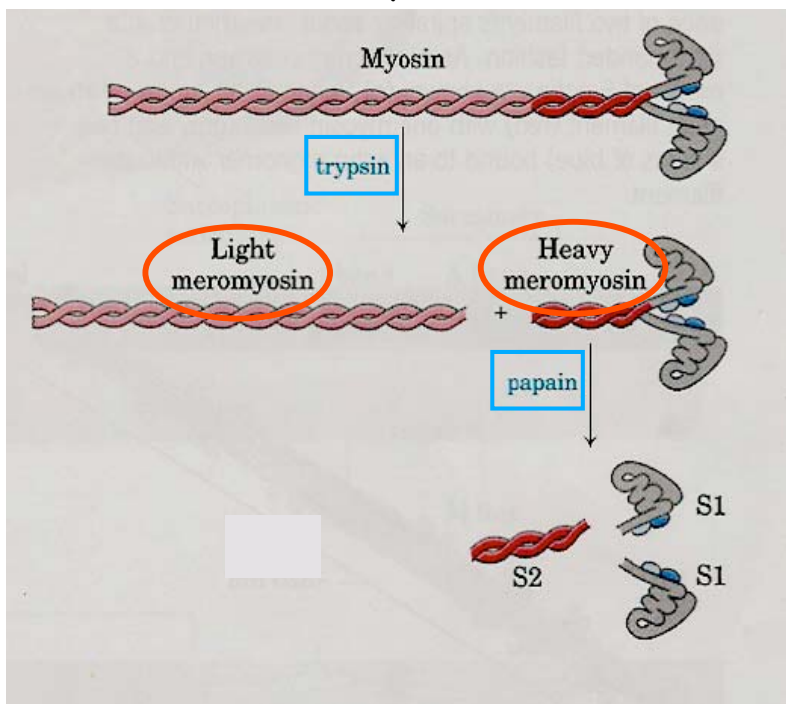
### 5.2.2. La myosine musculaire est une protéine complexe de très grande taille



### 5.2.2. La myosine est une protéine complexe de très grande taille

La myosine (520 kDa) est une **protéine polymérique** composée de **deux chaînes lourdes** (220 kDa) et de **deux paires de chaînes légères** (20 kDa chacune)

La digestion enzymatique de la myosine génère des **fragments** qui permettent l'étude de sa structure et de ses fonctions



La **méromyosine légère** isolée est capable de former des **filaments** mais ne se combine pas à l'actine

La **méromyosine lourde** isolée est capable de se **lier** à l'actine, d'**hydrolyser** l'ATP, mais pas de former des **filaments**

La **méromyosine lourde** est clivée en deux fragments par la papaine S2 et S1 ou tête de la myosine

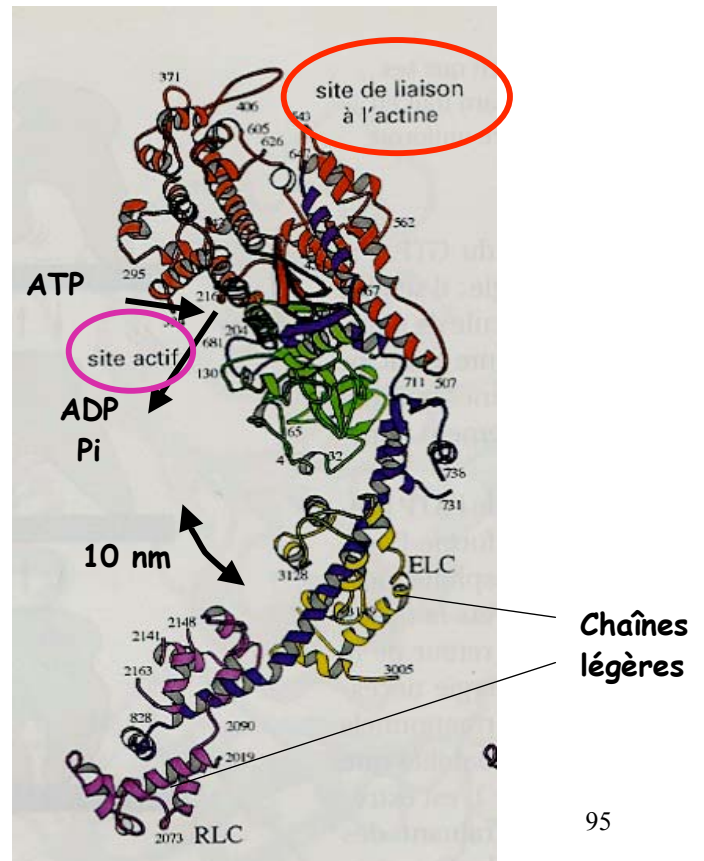


### 5.2.3. La « tête » de la myosine (S1) est responsable de l'activité motrice

La **myosine** est une **ATPase** qui catalyse la réaction qui produit de l'**énergie** :

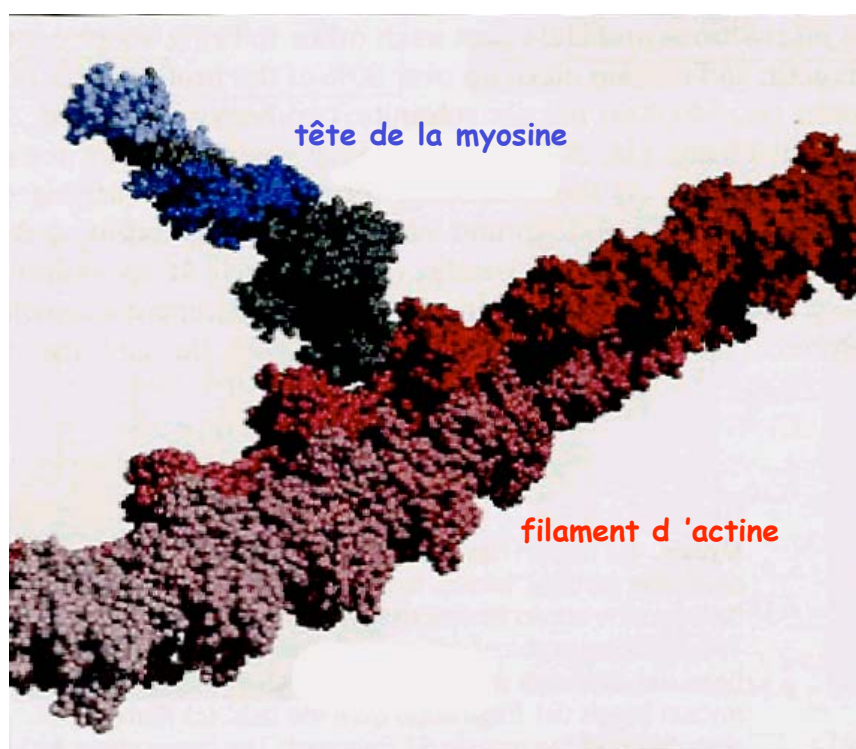


L'hydrolyse de l'ATP entraîne un **changement conformationnel** (bras de levier)

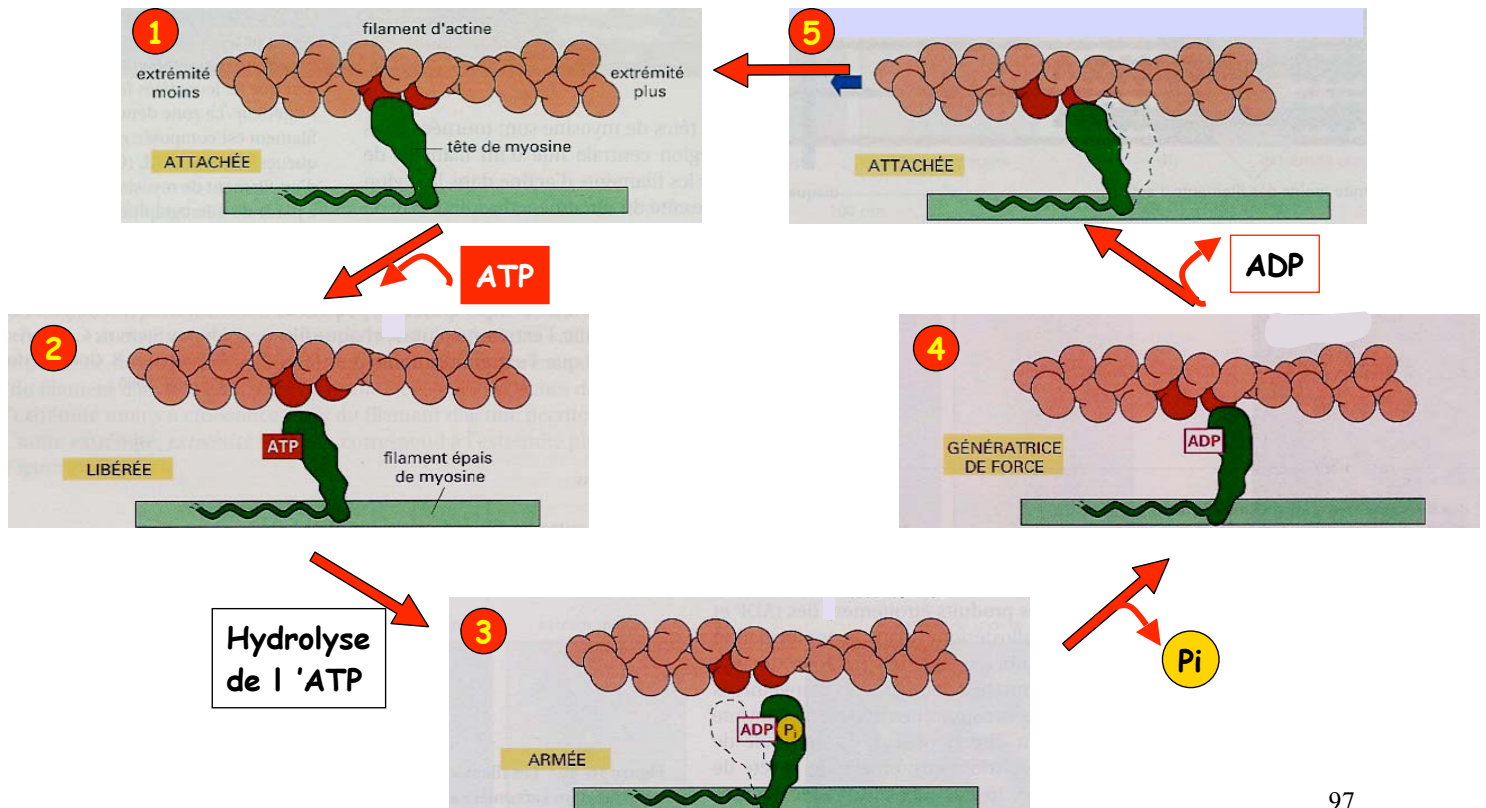


### 5.2.4. L'interaction de la myosine (S1) avec l'actine est réversible et dépend de la fixation de l'ATP et de l'activité ATPase

Le mouvement de **bras de levier** de la tête de la myosine peut être transmis au filament d'actine



### 5.2.5. La coordination de l'hydrolyse de l'ATP, du changement conformationnel et de la fixation à l'actine permet le mouvement : le cycle actine-myosine est une superbe mécanique



97

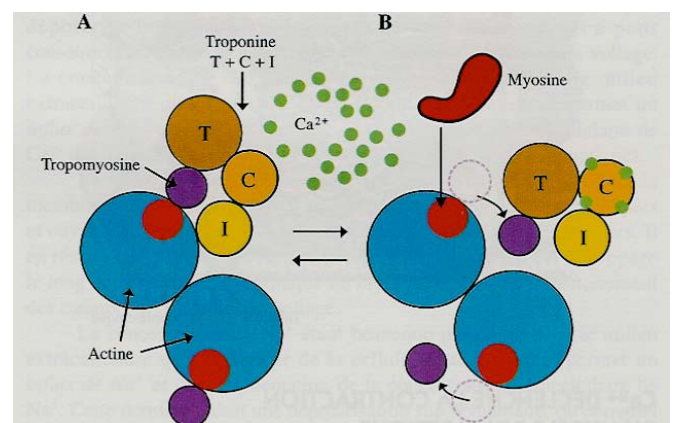
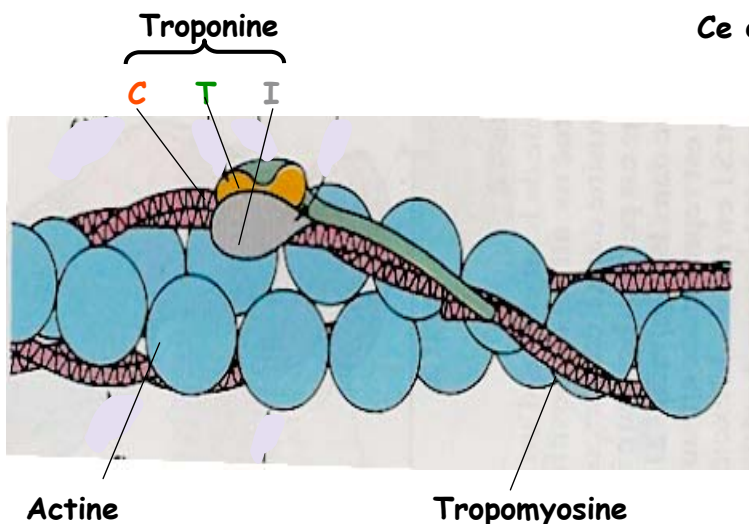
### 5.3. Etudier un exemple de régulation de l'activité des protéines par leur environnement

#### Comment contrôler la contraction musculaire ?

Il existe un complexe de **protéines régulatrices** : la **troponine** et la **tropomyosine** fixé sur les filaments d'actine : notion d'**édifice macromoléculaire**

la troponine est une **protéine sensible aux ions  $Ca^{2+}$** . Elle change de **conformation** en présence de  $Ca^{2+}$  et la tropomyosine est **déplacée**.

Ce déplacement permet la **fixation** de la myosine



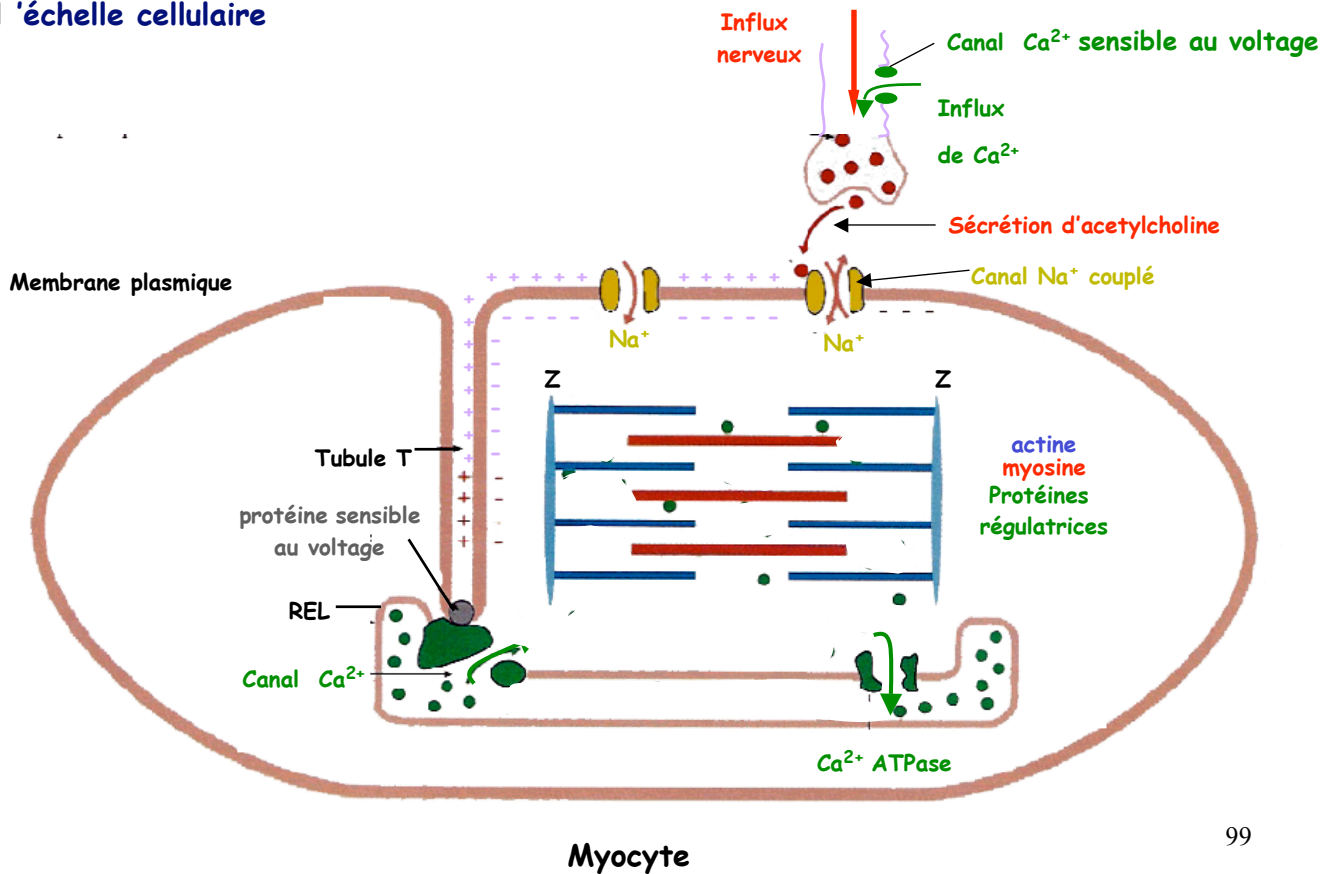
**C** = calcium binding **T** = tropomyosin binding **I** = inhibitory

La contraction musculaire est donc sous le contrôle direct de la concentration en **ions  $Ca^{2+}$**

98

### 5.3. Etudier un exemple de régulation de l'activité des protéines par leur environnement

La **mécanique moléculaire** de la contraction musculaire est hautement contrôlée à l'échelle cellulaire



99

## 6. Un exemple de protéine membranaire, le récepteur nicotinique de l'acétylcholine

6.1. C'est une protéine intégrale de la membrane plasmique

6.2. C'est un canal cationique régulé

6.3 C'est une protéine pentamérique

6.4 C'est la structure du pore qui détermine la sélectivité ionique

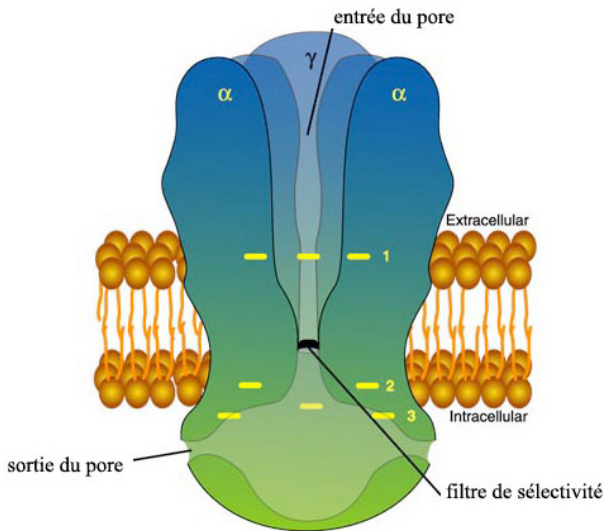
6.5. Ce canal ionique est aussi un récepteur: il lie spécifiquement un neuromédiateur, l'acétylcholine

6.6. La fixation de deux molécules d'acétylcholine induit l'ouverture du pore



## 6. Un exemple de protéine membranaire: le récepteur nicotinique de l'acétylcholine

### 6.1. C'est une protéine intégrale de la membrane plasmique



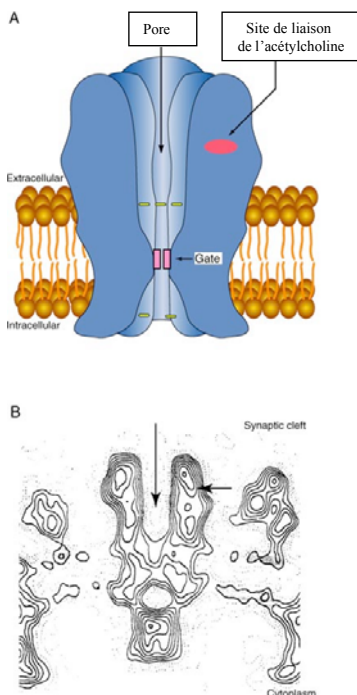
c'est-à-dire une protéine immergée dans la bicouche lipidique et entrant largement en interaction avec les chaînes hydrocarbonées et hydrophobes des lipides.

**C'est une protéine transmembranaire comprenant 3 domaines**

- 1 domaine extracellulaire,
- 1 domaine intramembranaire
- 1 domaine cytoplasmique (intracellulaire).

101

### 6.2. C'est un canal cationique régulé



Structure tridimensionnelle du récepteur nicotinique

**C'est une protéine contenant un pore** réalisant un pont aqueux entre les faces intra- et extra-cellulaires de la membrane plasmique.

**C'est une protéine-canal** ou plus simplement un **canal**.

Le pore laisse passer les molécules d'eau et **certaines ions**. On parle de **canal ionique**.

Le récepteur de l'acétylcholine est sélectif pour les **cations**,

**Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> et K<sup>+</sup>**.

**C'est un canal cationique**.

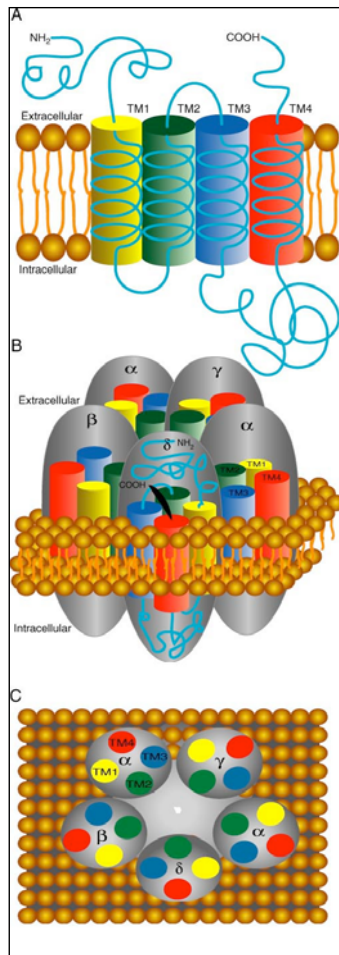
Le pore peut exister dans au moins deux conformations,

une conformation **fermée**

une conformation **ouverte**

Le passage d'une conformation à l'autre est sous le contrôle de la fixation d'un **ligand**, l'acétylcholine, sur un site spécifique





### 6.3 C'est une protéine pentamérique

Le récepteur nicotinique est constitué de 5 sous-unités (monomères) dont deux sont identiques (sous-unités  $\alpha$ )

$2\alpha, 1\beta, 1\gamma, 1\delta$

Les cinq sous-unités présentent une organisation générale commune;

Chaque sous-unité contient 4 hélices (ou segments) transmembranaires. Ces hélices ne sont pas des hélices  $\alpha$ ;

Le récepteur nicotinique contient donc au total 20 hélices transmembranaires.

Les 20 hélices constituent la région transmembranaire qui forme le pore à travers la double couche de lipides

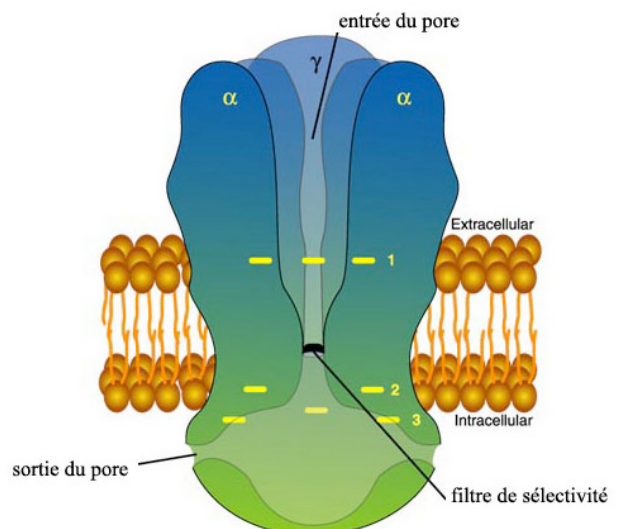
- Les régions des hélices qui sont en contact avec les chaînes lipidiques sont riches en résidus hydrophobes.
- Les régions des hélices qui constituent la paroi du pore sont hydrophiles.

103

### 6.4 C'est la structure du pore qui détermine la sélectivité ionique

Deux paramètres contrôlent la sélectivité pour les cations:

- Le diamètre du pore dans sa partie la plus étroite appelée « filtre de sélectivité » : 9-10 Angströms
- Les 5 hélices M2 qui forment la paroi interne du pore contiennent des acides aminés dont les chaînes latérales portent des charges négatives: ces charges repoussent les anions et permettent au contraire le passage des cations. Il y a trois anneaux de charges négatives.



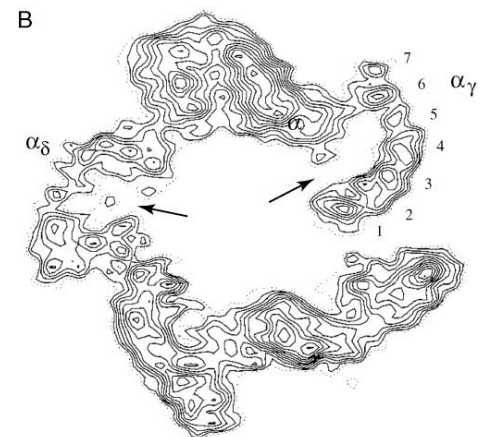
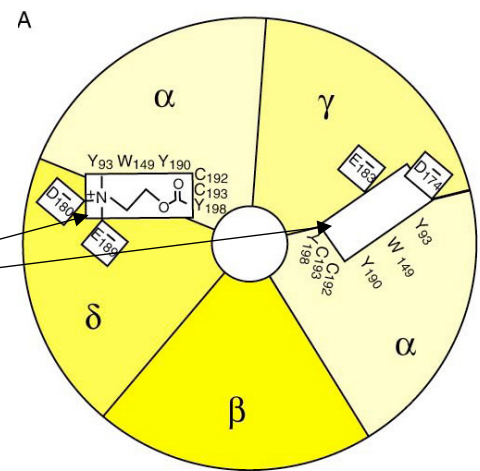
104

6.5. Ce canal ionique est aussi un récepteur: il lie spécifiquement un neuromédiateur, l'acétylcholine

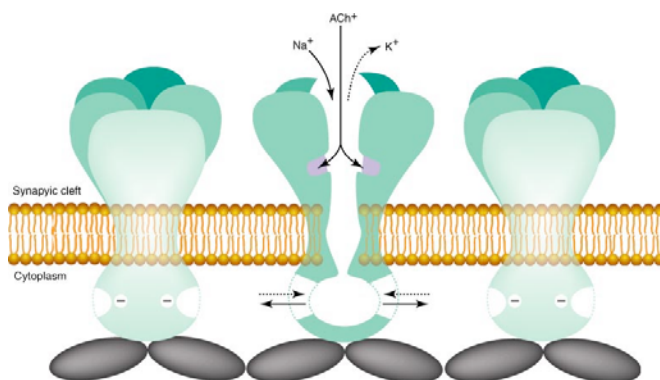
Il porte **deux sites de liaison**, un sur chaque sous-unité  $\alpha$

Chaque site est situé sur la face interne de l'entrée du pore et constitue une sorte de **poche** où vient se fixer la molécule d'acétylcholine

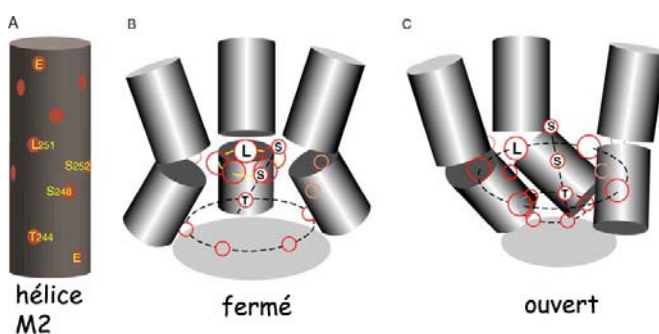
L'acétylcholine est libérée par la terminaison du motoneurone dans la **fente synaptique**



6.6. La fixation de deux molécules d'acétylcholine induit l'ouverture du pore



La fixation de 2 molécules d'acétylcholine sur les 2 sites de liaison induit un **changement conformationnel** de la protéine qui se traduit par une ouverture du pore à la fois au niveau de la région transmembranaire et au niveau du domaine cytoplasmique (sortie du pore).



L'ouverture du pore dans le domaine intra-membranaire est le résultat d'une **rotation des hélices M2** qui forment la paroi interne du pore. Chaque hélice a la forme d'un coude.

## Conclusions:

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine assure 3 fonctions:

1. La **réception** d'un signal spécifique porté par la molécule d'acétylcholine
2. Le **transport** passif et sélectif de cations à travers la membrane de la cellule
3. La **régulation** de ce transport par l'acétylcholine à travers un **changement conformationnel**

Chacune de ces fonctions est assurée par des régions précises et limitées au sein du récepteur-canal.

Les mécanismes élémentaires responsables de ces trois fonctions se retrouvent dans de très nombreuses autres protéines membranaires.

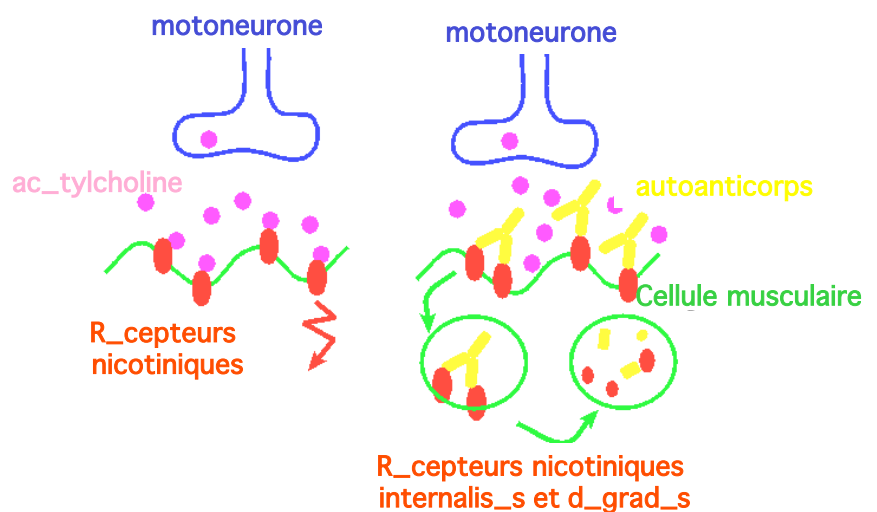
107

## Une pathologie humaine touchant le récepteur nicotinique, *la myasthénie*

### Une maladie neuromusculaire

- Se traduit sur le plan clinique par une fatigabilité musculaire
- Production d'auto-anticorps anti-récepteur nicotinique (maladie auto-immune)
- Blocage et internalisation des récepteurs
- Diminution de la transmission neuromusculaire

### Blocage du récepteur par des auto-anticorps



108