

# C. Les protéines

# 1. Généralités

Les **protéines** sont des **polymères** formés d'**enchainement d'acides aminés** liés par des liaisons peptidiques. Les **protéines** ont un rôle fondamental dans le fonctionnement de la cellule chez les organismes vivants.

Quelques grands groupes de protéines : Les enzymes - Les anticorps - Les protéines de stockage et de transport - certains hormones - Les histones (liées à l'ADN) - Les protéines de structure et de soutien.

En fonction de leur composition, on distingue :

- Les **holoprotéines** : contenant uniquement des acides aminés.
- Les **hétéroprotéines** : formées d'une chaîne polypeptidique associée à un groupement prosthétique, (composé non protéique : lipide, acide nucléique, glucide ect...).

Suivant leur structure on distingue :

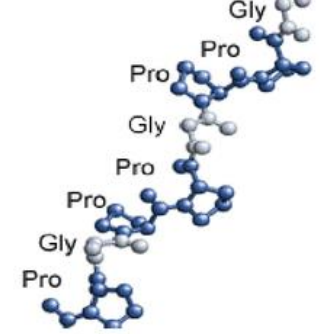
- Les **protéines fibreuses** : de forme allongée, peu solubles, très résistantes, elles entrent dans la composition des tissus de soutien.
- Les **protéines globulaires** : de forme compacte, solubles, elles jouent un rôle dynamique dans la cellule.

## 2. Structure des protéines

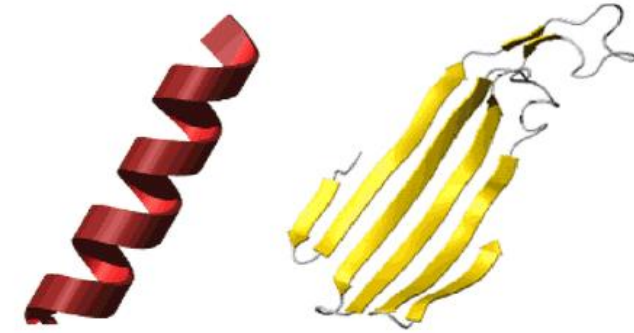
Les **protéines** ont 4 types de structures :

- Structure primaire,
- Structure secondaire,
- Structure tertiaire,
- Structure quaternaire.

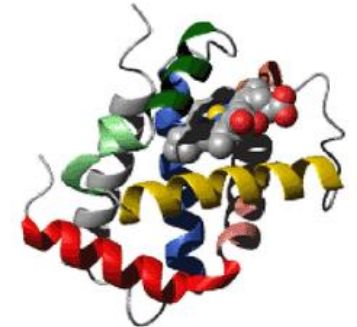
Structure primaire :  
assemblage des acides  
aminés



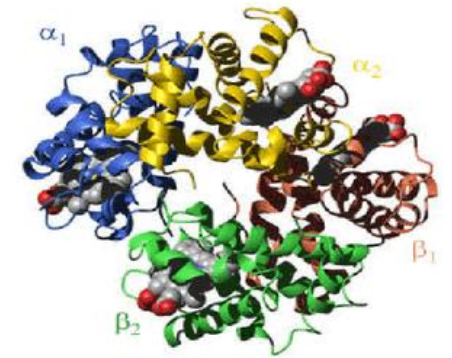
Structure secondaire :  
hélices  $\alpha$  et feuillets  $\beta$



Structure tertiaire :  
repliement de la  
protéine



Structure quaternaire :  
assemblage de  
plusieurs structures ter-  
tiaires

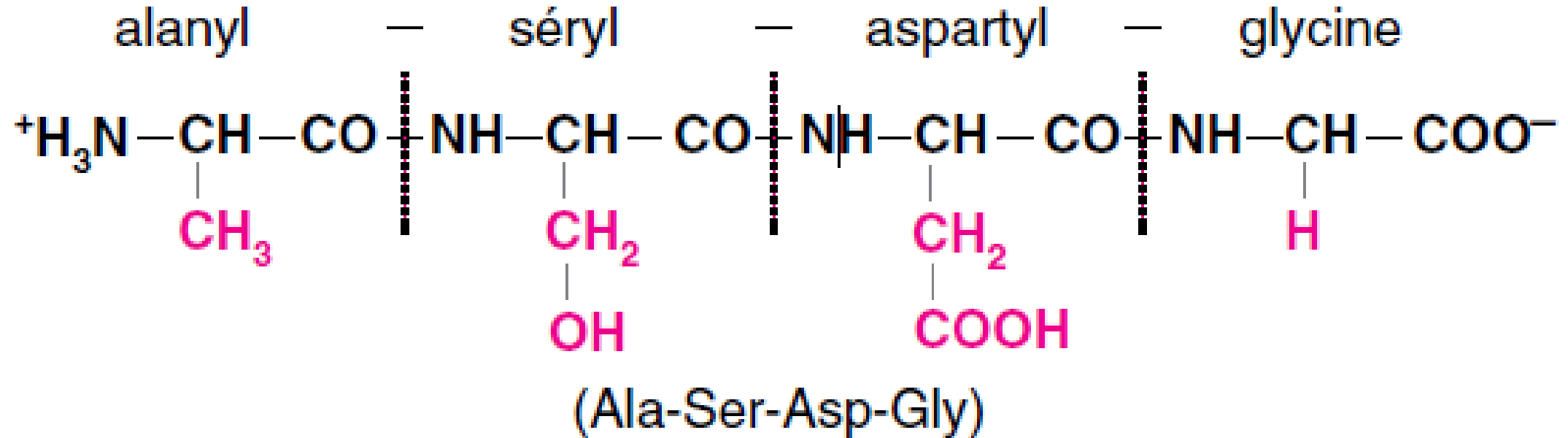


## a. Structure primaire

C'est un **enchainement d'acides aminés** liés entre eux par des liaisons peptidiques (**CO-NH**). Cette structure primaire constitue une séquence de la protéine.

Dans la **structure primaire**, chaque acide aminé **prend le nom de résidu** et seules les fonctions COOH et NH<sub>2</sub> sont impliquées dans les liaisons.

Exemple d'une structure primaire :



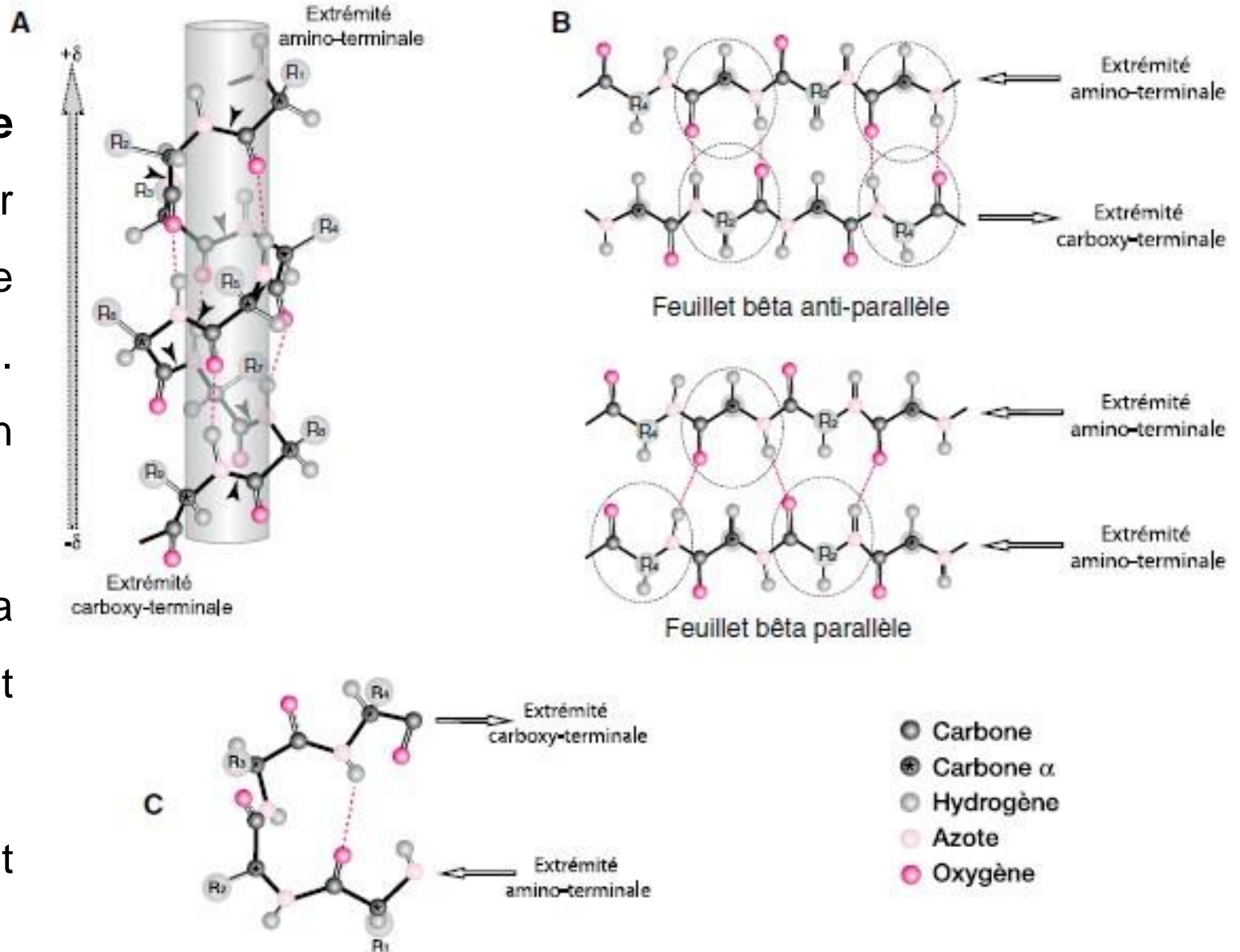
Une séquence en acides aminés est toujours écrite en partant du **résidu N-terminal**. Pour décrire la séquence des acides aminés, le suffixe «-yl» est ajouté à tous les résidus, sauf au **C-terminal**.

## b. Structure secondaire

C'est l'organisation de la **chaîne polypeptidique** dans l'espace par intervention des liaisons H entre éléments constitutifs proches. Cette structure due à la répétition d'un motif structural de base.

Deux principaux types de la structure secondaire sont distingués :

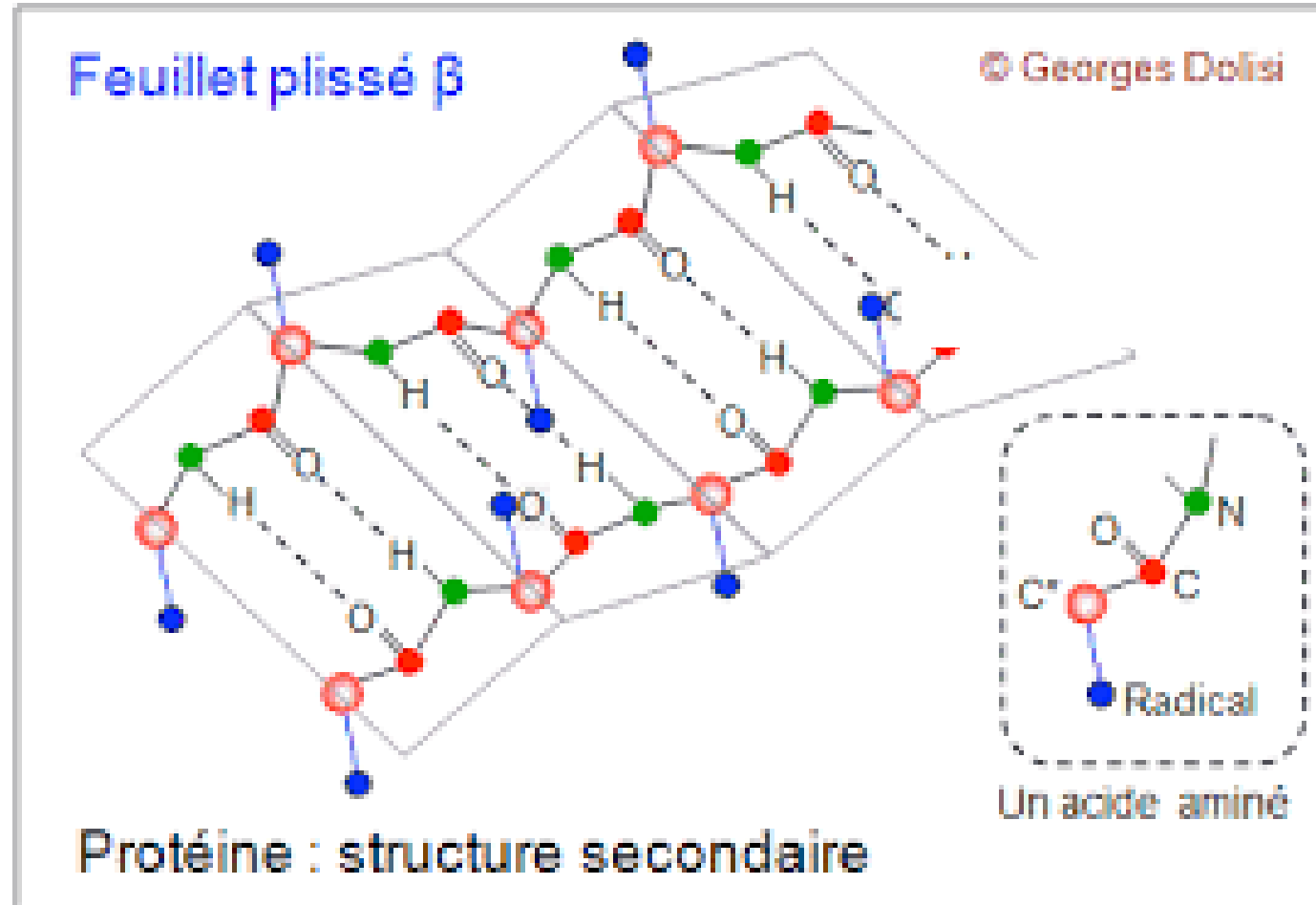
Etat étiré (**feuilletts plissés  $\beta$** ) et Etat hélicoïdal (**hélice  $\alpha$** ).

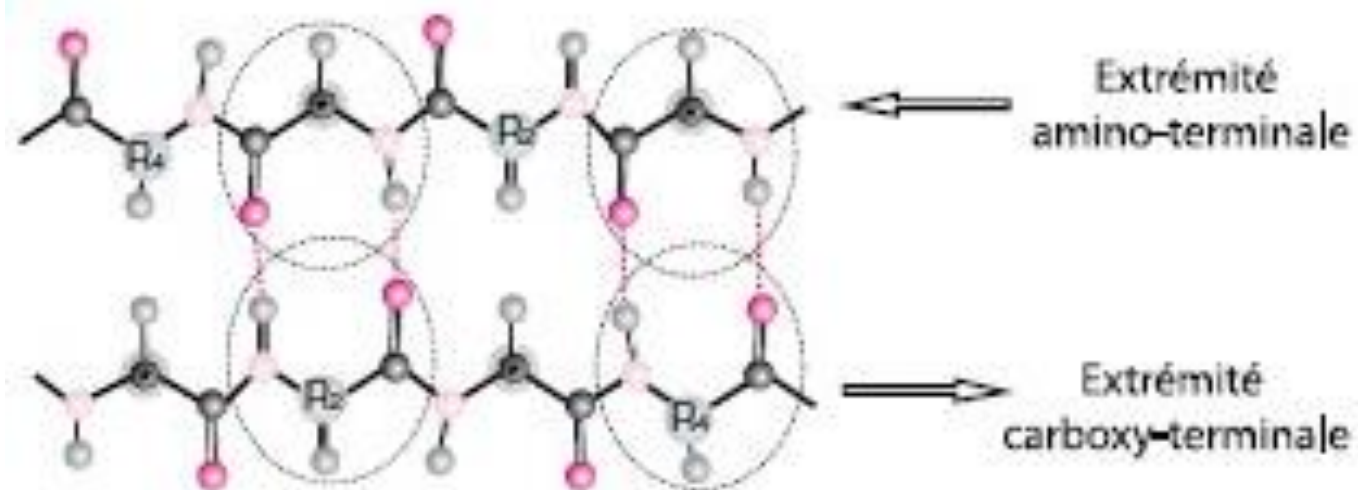


Structures secondaires des peptides et des protéines  
A : Hélice  $\alpha$  ; B : Feuillet  $\beta$  ; C : Coude  $\beta$ . Les flèches indiquent la position des liaisons amide ; les traits pointillés indiquent les liaisons hydrogène.

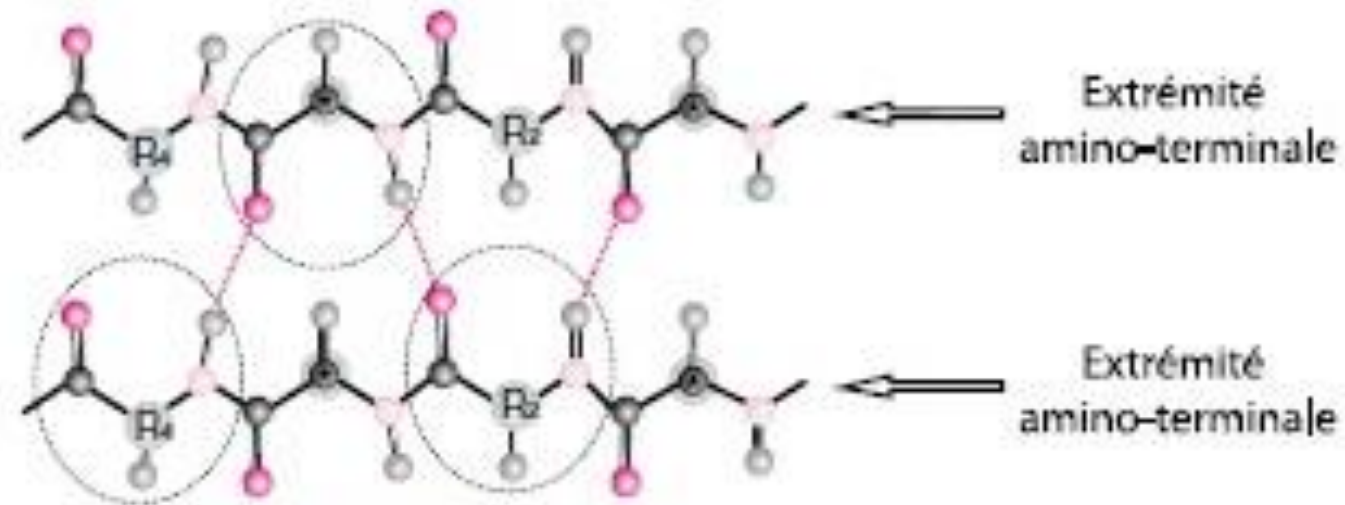
## - Structure en feuillets plissés $\beta$

Les protéines fibreuses possèdent ce type de conformation. Il y a 2 chaînes polypeptidiques antiparallèles, unies par des liaisons H. Les atomes de la liaison peptidique sont situés dans un même plan, mais les Carbones  $\alpha$  appartiennent simultanément à 2 plans différents.





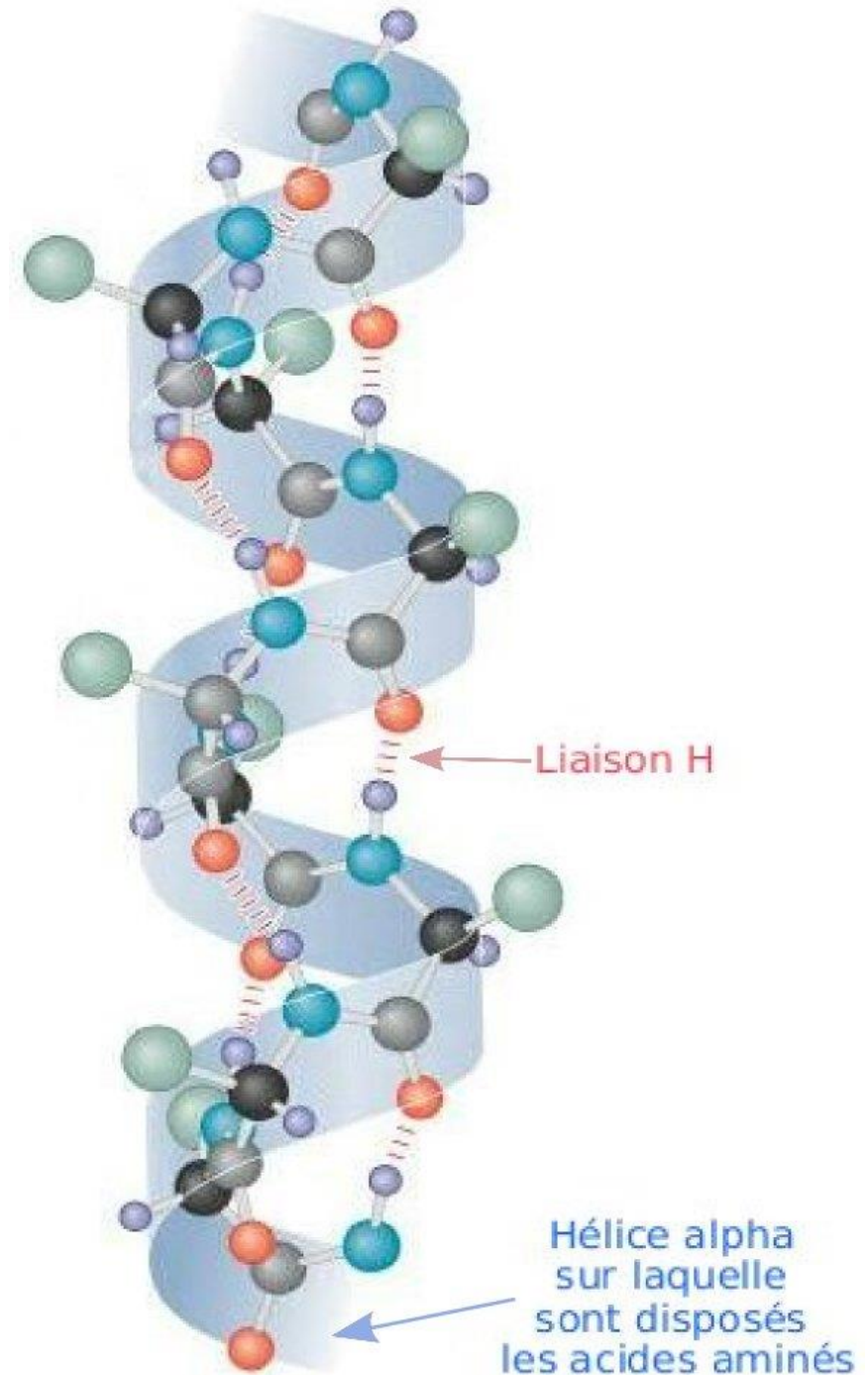
Feuillet bêta anti-parallèle



Feuillet bêta parallèle

## - Etat hélicoïdal ou hélice $\alpha$

La chaîne peptidique est maintenue dans cette configuration hélicoïdale grâce à des liaisons hydrogène intra-chaîne. L' **hélice  $\alpha$**  comporte (3,7 résidus d'acide aminé/tour de spire). Les liaisons peptidiques forment entre eux un angle de  $80^\circ$  environ. Les chaines latérales sont dirigées vers l'extérieur et peuvent réagir entre elles ou avec le milieu.



## c. Structure tertiaire

La **structure tertiaire** d'une protéine correspond à la conformation qu'adoptent les éléments de structure secondaire, dans l'espace. Appelé, aussi, structure tri-dimensionnelle (3D), elle dépend non seulement de la séquence en acides aminés, mais également des conditions du milieu.

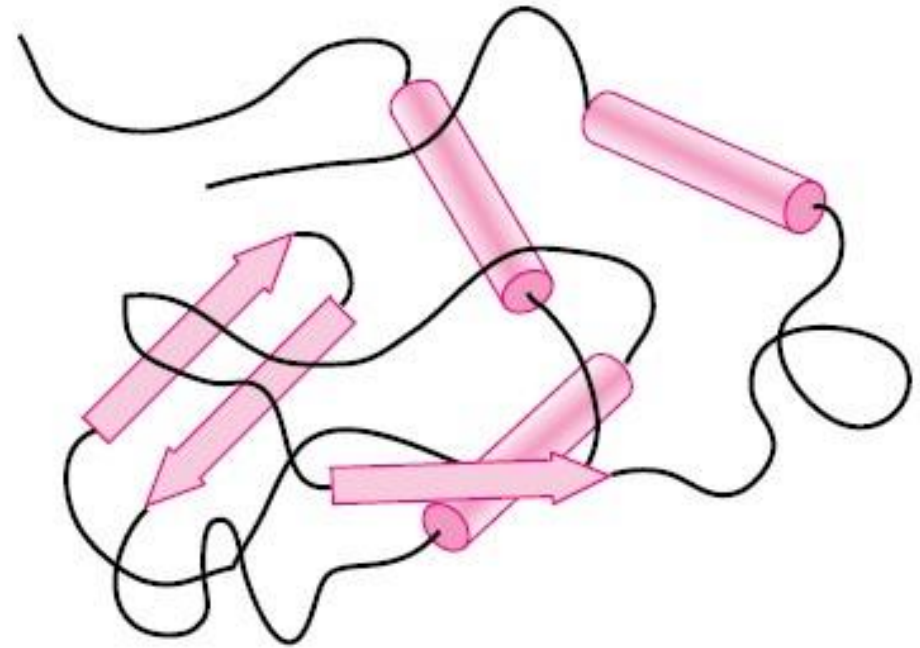


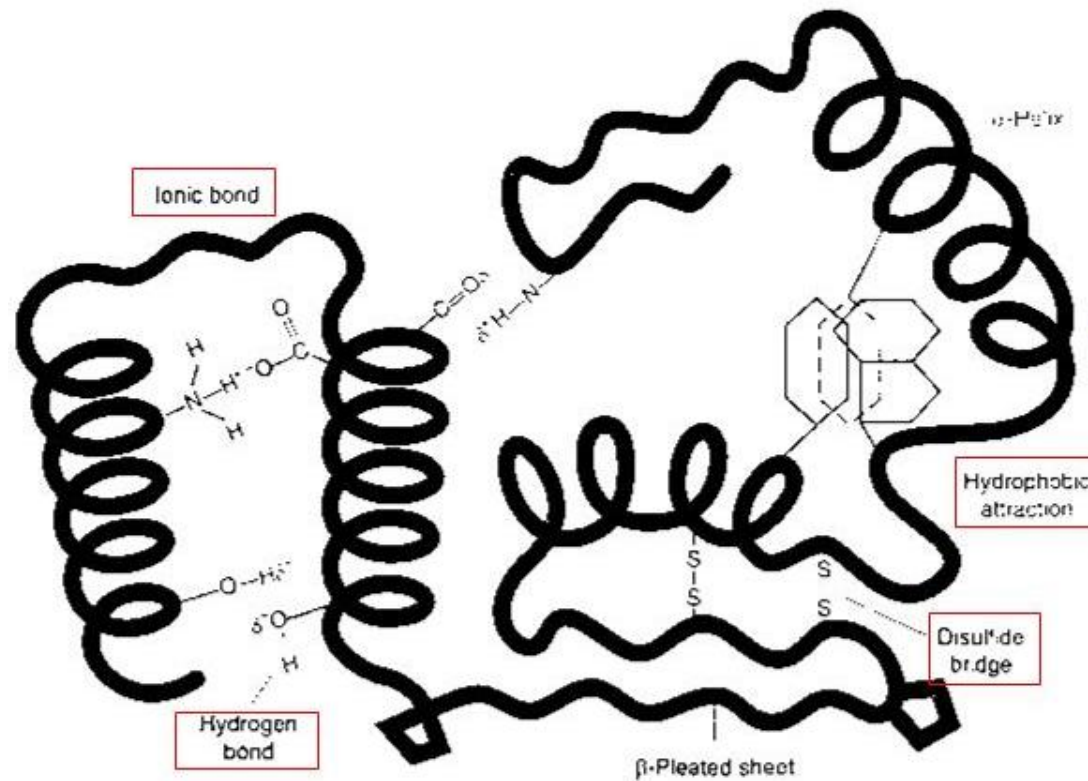
Illustration de l'organisation en structure tertiaire d'une protéine  
Les cylindres représentent des hélices  $\alpha$  ; les flèches des brins  $\beta$ ,  
la pointe indiquant l'extrémité carboxy-terminale.

Les **protéines globulaires** sont caractérisées par cette structure tertiaire. Cette structure s'obtient par enroulement de la chaîne peptidique sur elle-même. Le repliement entraîne la formation de différents types de liaisons : liaisons hydrogènes, ponts disulfures, liaisons hydrophobes et liaisons ioniques.

La structure tertiaire est une macromolécule compacte qui ne renferme que quelques molécules d'eau. Les groupements chargés ( $\text{COO}^-$  et  $\text{NH}_3^+$ ) sont orientés vers l'extérieur et les groupements apolaires (hydrophobes) sont orientés vers l'intérieur ([Voir schéma](#)).

# Structure tertiaire

## Forces d'interaction



- Pour les protéines présentes dans un milieu **aqueux**:
  - Les acides aminés hydrophobes sont **enfouis** à l'intérieur de la structure;
  - Les acides aminés hydrophiles sont **exposés** au solvant;
- À l'inverse, pour les protéines membranaires, qui sont exposées à un environnement **hydrophobe**:
  - Les acides aminés hydrophiles sont **enfouis** à l'intérieur de la structure;
  - Les acides aminés hydrophobes sont **exposés** au solvant;

Exemple d'une structure tertiaire:  
**myoglobine** (dans les muscles)

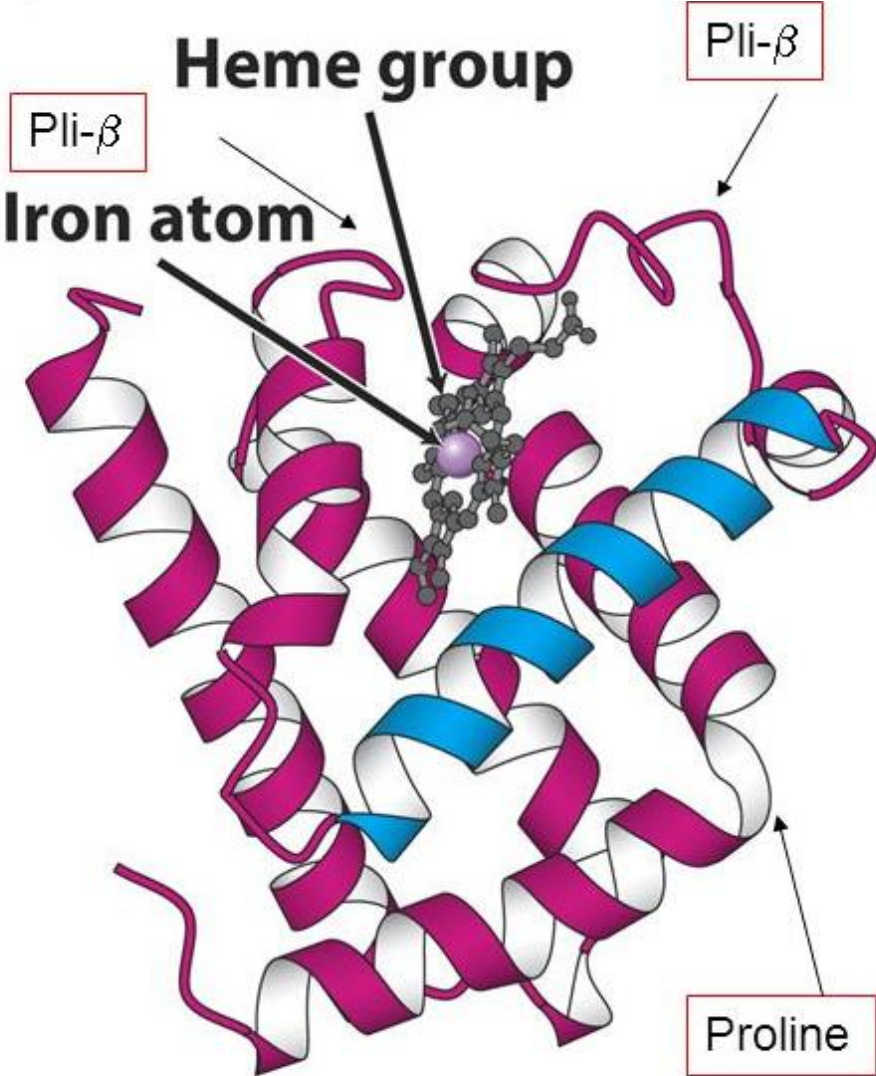
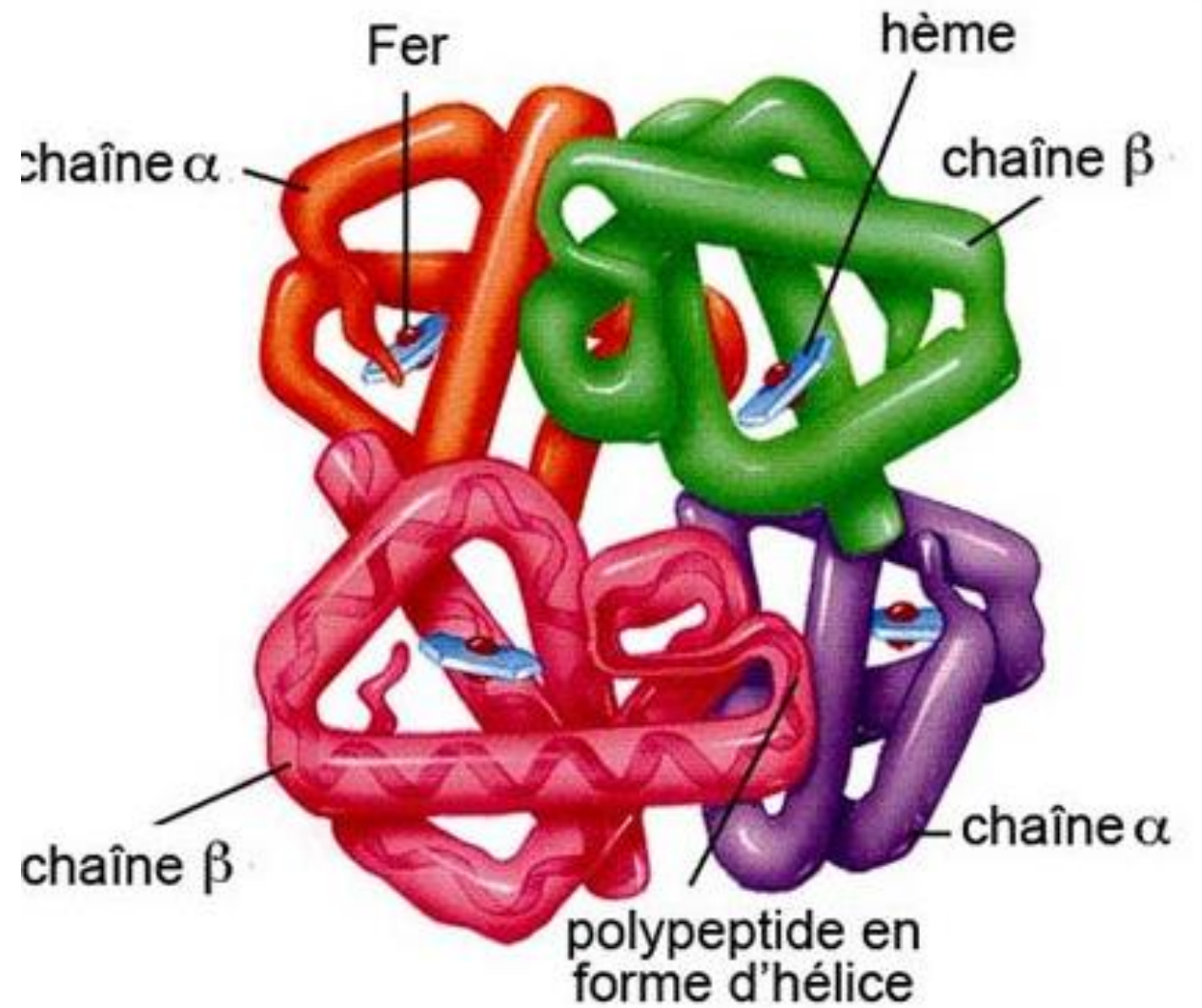


Figure 2-48a  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

## **d. Structure quaternaire**

- Structure spécifique des protéines à fonction particulière,
- C'est une association de plusieurs chaînes peptidiques,
- La molécule est polymérique et comporte un axe de symétrie,
- Les chaînes sont liées entre elles par des liaisons ioniques, hydrogènes ou hydrophobes, et jamais de liaisons covalentes.

Exemple d'une structure quaternaire :  
L'**hémoglobine** (transporteur de l'O<sub>2</sub>)



### 3. Dénaturation des protéines

- La **dénaturation** est une *désorganisation* de la structure interne (structures secondaire, tertiaire, quaternaire) des édifices protéiques sans rupture de liaison peptidique, ce qui la différencie de l'**hydrolyse**.
- Des **facteurs physiques ou chimiques** qui influencent ces interactions peuvent faire évoluer une protéine d'un état fonctionnel vers un état (**dénaturé**), **non fonctionnel**.

Parmi les facteurs importants qui peuvent influencer les protéines : **La température, le pH, et la présence éventuelle d'agents dénaturants.**

- La **chaleur** entraîne une perturbation des liaisons hydrogène et provoque la coagulation des protéines (Cas de l'ovalbumine lors de la cuisson du blanc d'oeuf). **La plupart des protéines sont dénaturées vers 45°C.**

- Un **pH très acide** ou **très alcalin** **dénature les protéines** par perturbation des liaisons ioniques. Exemple, l'acidité gastrique permet une dénaturation des protéines alimentaires, ce qui facilite leur digestion par la pepsine.
- Les *agents chaotropiques* comme l'urée ou le chlorure de guanidinium. Utilisés à des concentrations élevées (6 à 8 mol.L<sup>-1</sup>), ils désorganisent la structure de l'eau, disloquent les liaisons hydrogène, affaiblissent les interactions hydrophobes et augmentent la solubilité de tous les groupements, polaires ou apolaires.



## 4. Propriétés physico chimique des protéines

Solubilité : la solubilité des protéines dans l'eau dépend de leur composition et de leur structure. Des facteurs peuvent affectés cette solubilité tels que : *La température*. Une  $T$  ( $0 - 40^{\circ}\text{C}$ ) augmente la solubilité des protéines

*Le pH*. Un milieu très acide ou très basique dénature les protéines. La solubilité d'une protéine dans les solutions tampons diluées passe par un minimum pour un pH déterminé.

*Constante diélectrique du solvant*. Quand les protéines sont dissoutes dans un solvant, ce dernier influence les interactions électrostatiques entre les protéines, qui s'appelle *constante diélectrique*.

- Dans un milieu aqueux : Le nombre de molécules d'H<sub>2</sub>O est élevé, et les constantes diélectriques augmentent. Ce milieu tend à diminuer les interactions entre les charges opposées des protéines.

# **5. Les techniques fondamentales utilisées pour étudier les composés protéiques**

## **5.1. Chromatographie**

- a. Chromatographie par filtration sur gel
- b. Chromatographie par échange d'ions
- c. Chromatographie par interactions hydrophobes
- d. Chromatographie par affinité

## **5.2. Electrophorèse**

## 5.1. La chromatographie

La **chromatographie** est une méthode physique de séparation basée sur les différentes affinités d'un ou plusieurs composés à l'égard de deux phases (fixe et mobile).

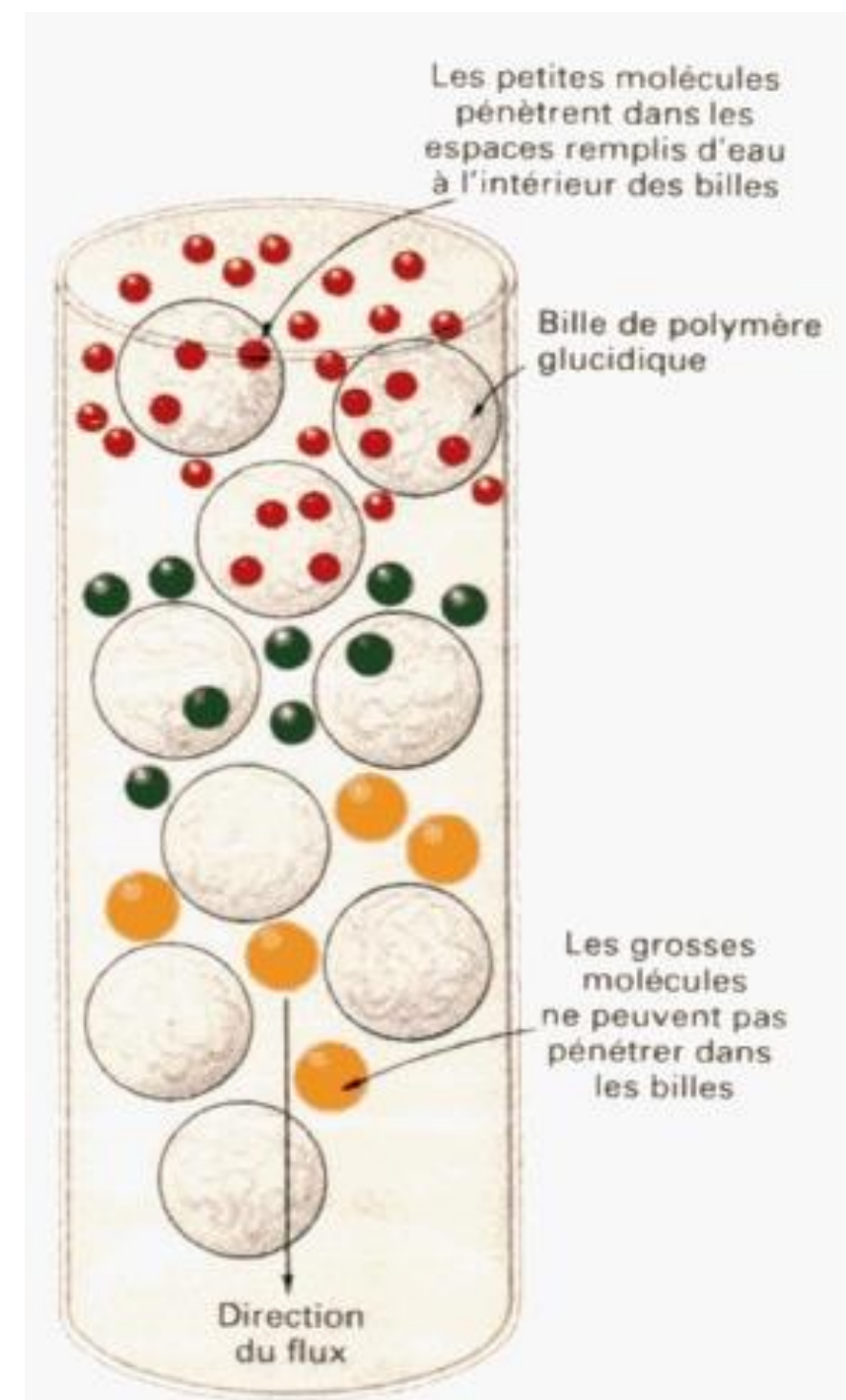
Le mécanisme général correspond à l'entraînement de ces constituants par une phase mobile (liquide) le long d'une phase fixe (solide : ex. gel de silice sur plaque aluminium) contenue dans une colonne.

Le **solvant de chromatographie** de la phase mobile déposé en haut de colonne va descendre par capillarité dans la phase stationnaire entraînant avec lui les composants protéiques. Selon leur hydrophilie, pHi ou encore selon leur Poids moléculaire, ils migreront (+) ou (–) vite dans la phase fixe.

## a. Chromatographie par filtration sur gel (par exclusion):

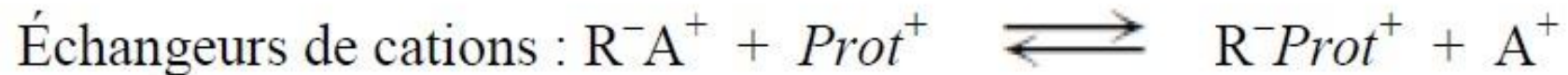
Consiste en **petites billes contenant des pores** d'une taille spécifique.

- Les protéines plus grosses que les pores, n'entrent pas dans les billes et vont éluer en premier,
- Les protéines plus petites que les pores vont pénétrer dans les billes et vont éluer en dernier.
- Les protéines sont séparées selon leur poids moléculaire
- Les billes possédant des pores de tailles différentes permet la sélection du matériel de chromatographie qui donne le meilleur résultat

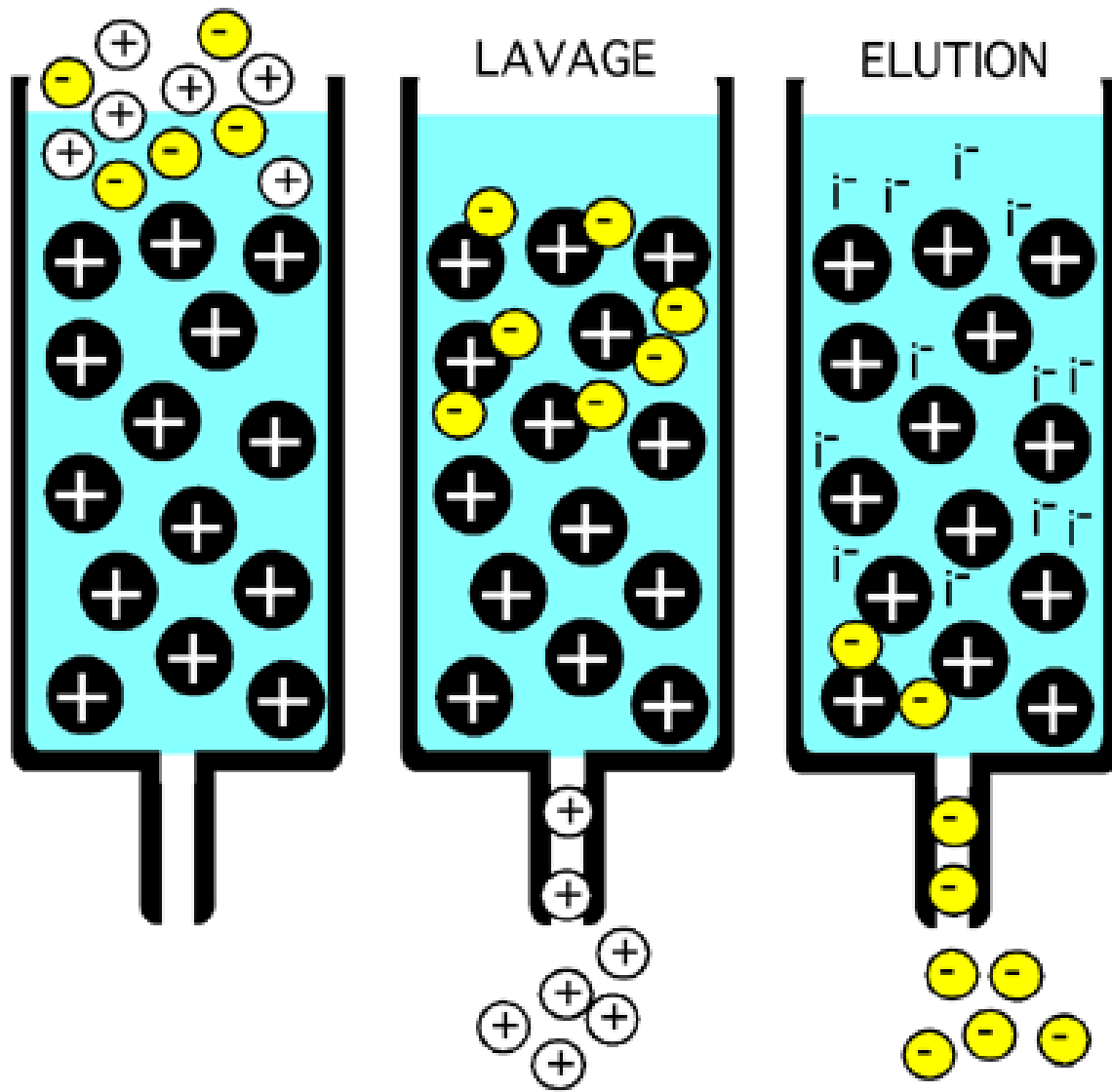


**b. Chromatographie par échange d'ions** : Séparation de molécules selon leurs charges.

- La matrice (cellulose, polystyrène, agarose, dextran) contient des groupes ionisés qui fixent des ions de charge opposée ( $A^+$ ,  $B^-$ ) présents dans la solution, ces ions pourront être échangés avec des protéines.



- Les protéines se fixent à la matrice en fonction de leur affinité pour les groupes ionisés.
- La colonne est ensuite lavée avec un tampon (tampon d'élution), qui entraîne en premier lieu les protéines les plus faiblement liées à l'échangeur. Les protéines les plus fortement liées seront libérées en dernier ou resteront fixées sur la matrice.
- Les protéines fixées sont libérées suite à une variation du pH du tampon d'élution ou une augmentation progressive de sa force ionique.

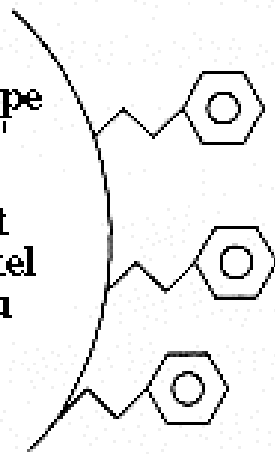


### c. Chromatographie par interactions hydrophobes

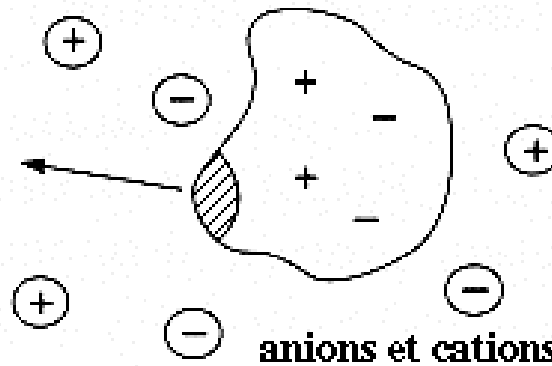
- Des **zones hydrophobes** discrètes se trouvent à la surface des **protéines**.
- La matrice contenue dans la colonne contient des **groupes apolaires (groupes phényl)** qui peuvent **retenir les protéines** en s'associant à leurs régions hydrophobes.
- Cette interaction est d'autant plus forte que la force ionique est élevée. Aussi, et à l'inverse de la chromatographie d'échange d'ions, la **colonne hydrophobe** est éluée par un tampon de force ionique décroissante, ce qui a pour effet d'affaiblir progressivement l'interaction hydrophobe entre les protéines et la matrice.
- En principe, les protéines contenant peu de zones hydrophobes à leur périphérie sont éluées en premier, les protéines les plus hydrophobes sont éluées en dernier

**forte concentration en sel**

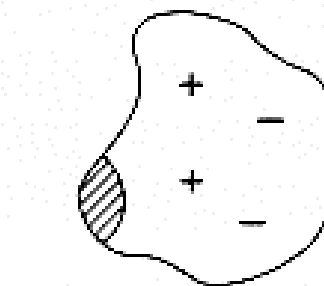
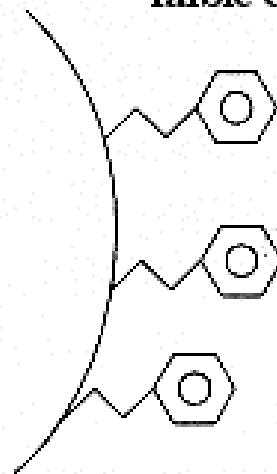
bille de gel type  
"Sephacrose"  
avec un  
groupement  
hydrophobe tel  
qu'un noyau  
phénol



**protéine**



**faible concentration en sel**



**la protéine  
n'interagit plus  
avec le gel et est  
éluée**

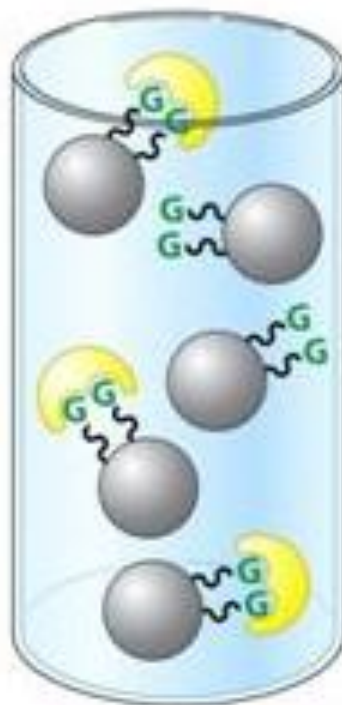
## d. Chromatographie d'affinité

- Les billes sont attachées à une molécule (**Ligand**), qui va lier seulement la protéine d'intérêt.

**Le ligand** : anticorps, substrat, métaux, ou autres macromolécules qui peut lier la protéine d'intérêt.

- Mélange de protéines filtré : seule la protéine d'intérêt sera retenue le reste sera élué.
- Technique très puissante avec limites importantes: milieux de séparation limités (pas à grand échelle) – billes liés aux ligand d'intérêt sont moins disponible et connaissance préalable du Ligand ce qui n'est pas le cas.

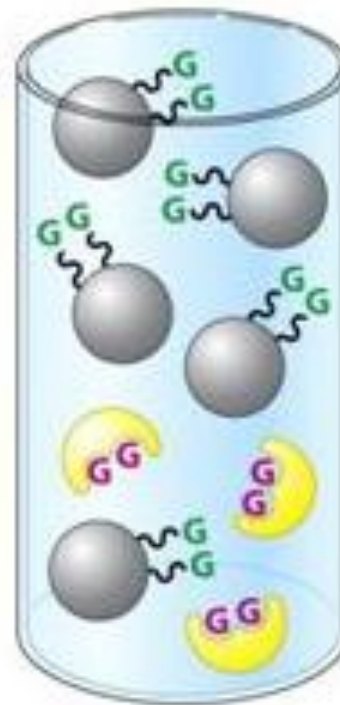
**Glucose-binding protein attaches to glucose residues (G) on beads**



**Addition of glucose (G)**



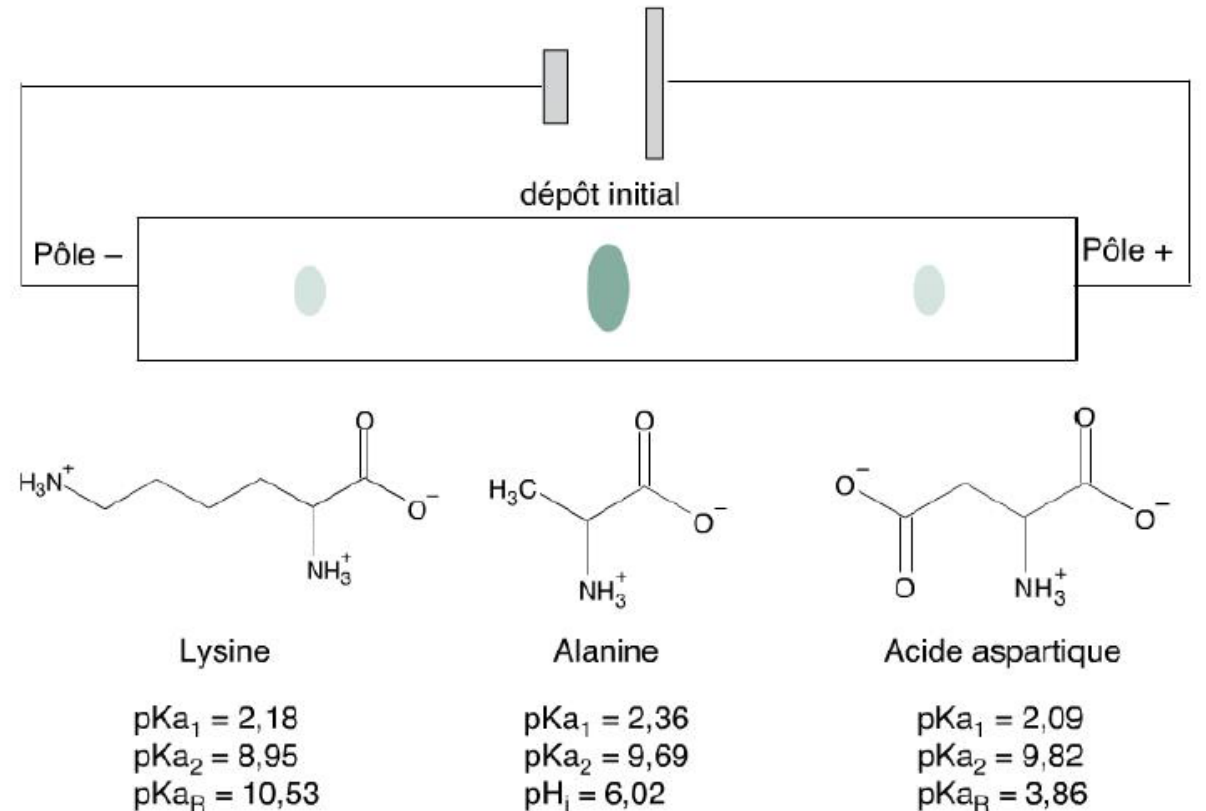
**Glucose-binding proteins are released on addition of glucose**



**Figure 3-5**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W. H. Freeman and Company

## 5.2. Electrophorèse

Les acides aminés en milieu aqueux sont présents sous forme d'espèces ioniques chargées différemment selon le pH du tampon dans lequel ils sont solubilisés. Si on dépose au milieu d'une bande de papier un mélange d'acides aminés et si on applique un champ électrique aux extrémités. Selon leurs charges, au pH du tampon considéré, ils migreront vers le pôle + ou vers le pôle –



Exemple de l'électrophorèse d'un mélange d'alanine, d'acide aspartique, et de lysine à pH6.