

# Les peptides et protéines

LAS 2023

Pr JL Carré



## Généralités – Définitions

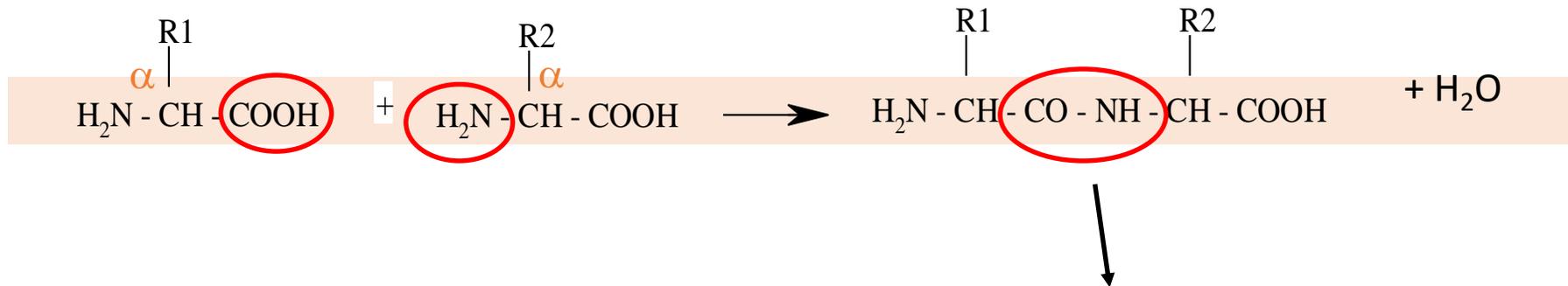
- Peptides et protéines = enchaînements d'AA par des liaisons peptidiques (AA = monomère, peptide = oligomère ou polymère, protéine = polymère d'AA (+ parfois une partie non peptidique))
- La frontière entre peptides (à partir de 2 AA) et protéines (jusqu'à plusieurs milliers d'AA) est imprécise (souvent 10 000 Da)
- Les peptides sont eux-mêmes classés en :
  - oligopeptides (quelques AA) ex. glutathion = tripeptide
  - polypeptides (nombre important d'AA)



## La liaison peptidique

C'est une déshydratation intermoléculaire entre 2 AA qui permet l'enchaînement des AA par des liaisons amides entre les C en  $\alpha$

Elle définit la **structure primaire** du peptide

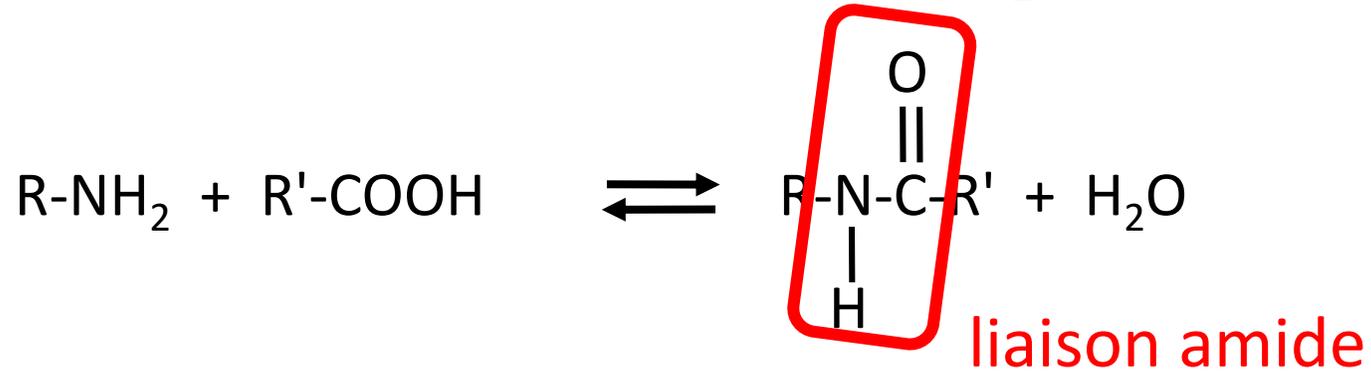


possibilité d'une nouvelle liaison peptidique avec un 3<sup>ème</sup> AA, etc...

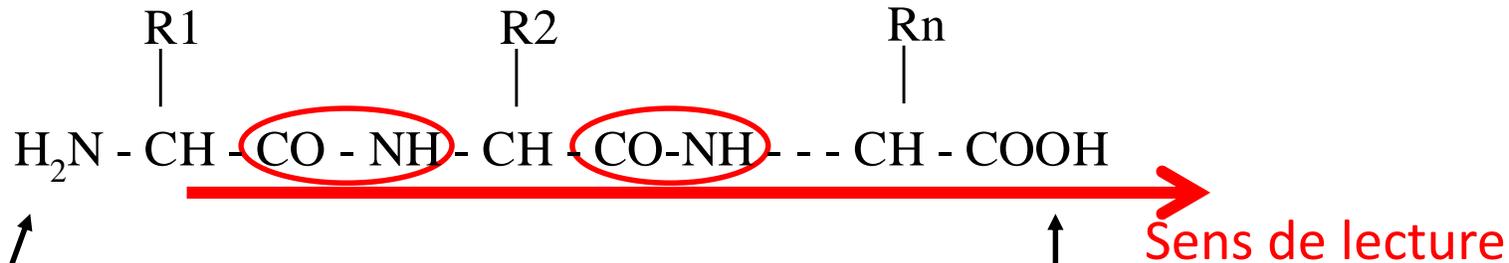
Obtention d'un peptide à n AA



La **liaison peptidique** est un cas particulier de liaison amide entre 2 AA voisins entre les fonctions COOH et NH<sub>2</sub> portés par les C<sub>α</sub> des 2 AA



**Par convention :**

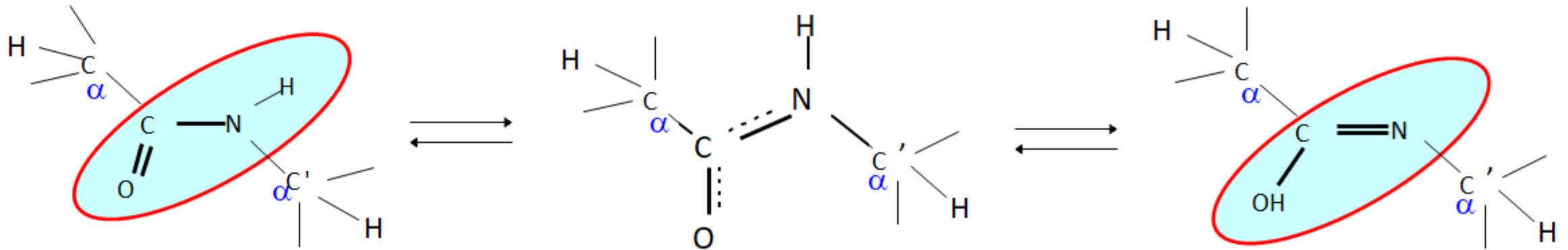


Extrêmité NH<sub>2</sub> placée à gauche par convention

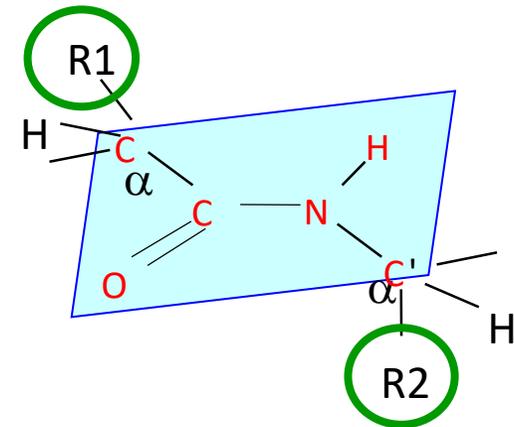
Extrêmité COOH placée à droite par convention



Particularité de la liaison peptidique : le doublet électronique de la liaison  $\Pi$  (C=O) entre en résonance avec le doublet libre de l'Azote, entraînant ainsi une délocalisation possible des  $e^-$  sur la liaison peptidique

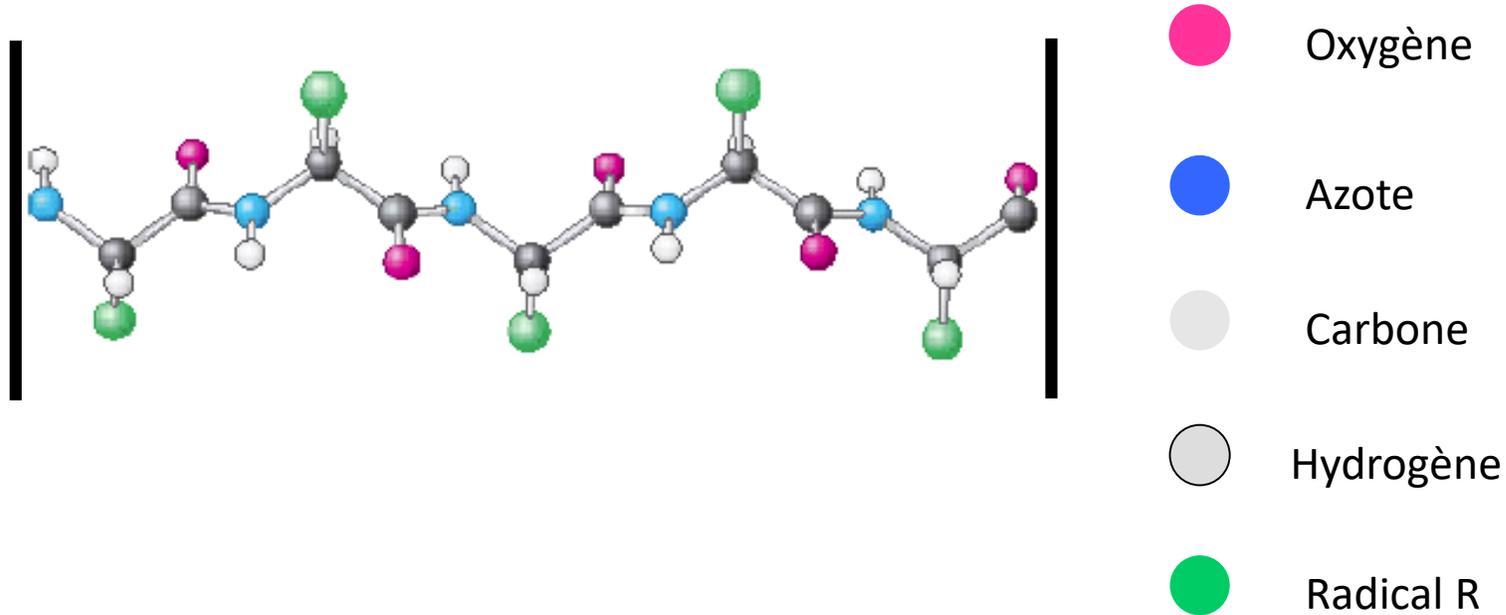


Les 6 atomes ( $\text{C}_\alpha$ , C, O, N, H et  $\text{C}'_\alpha$ ) sont donc dans le même plan



La chaîne peptidique s'organise de façon à alterner les résidus R1, R2, ...(en vert)

Meilleure occupation de l'espace et pas d'encombrement stérique



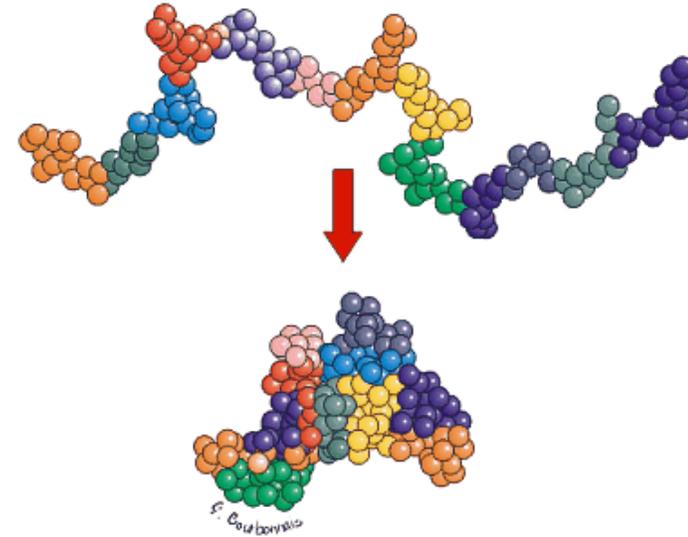
L'éloignement maximal explique la forme **trans** majoritaire



# Organisation structurale des peptides

Structure :

- primaire
- secondaire
- tertiaire
- quaternaire



Primaire

Met-Glu-Gly-Ala-Cys-  
Trp-Tyr-Trp-Leu-His-  
Cys-Ala-Asp-Phe-...

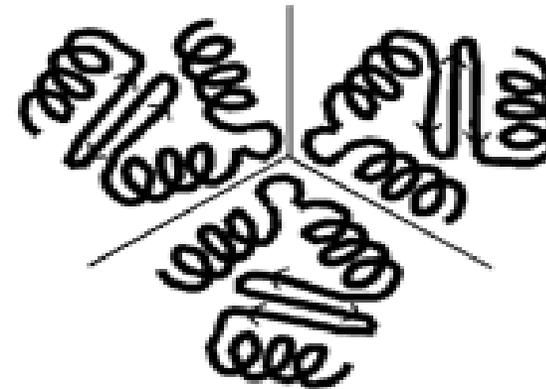
Secondaire



Tertiaire



Quaternaire



## A Structure primaire

= ordre dans lequel les AA sont liés les uns aux autres

= enchaînement de la séquence peptidique de  $\text{NH}_2$  (à gauche)  
vers  $\text{COOH}$  (à droite)

Elle est donnée par les noms des AA : Met-Glu-Gly-Ser-Phe ...

Ou M-E-G-S-F ...

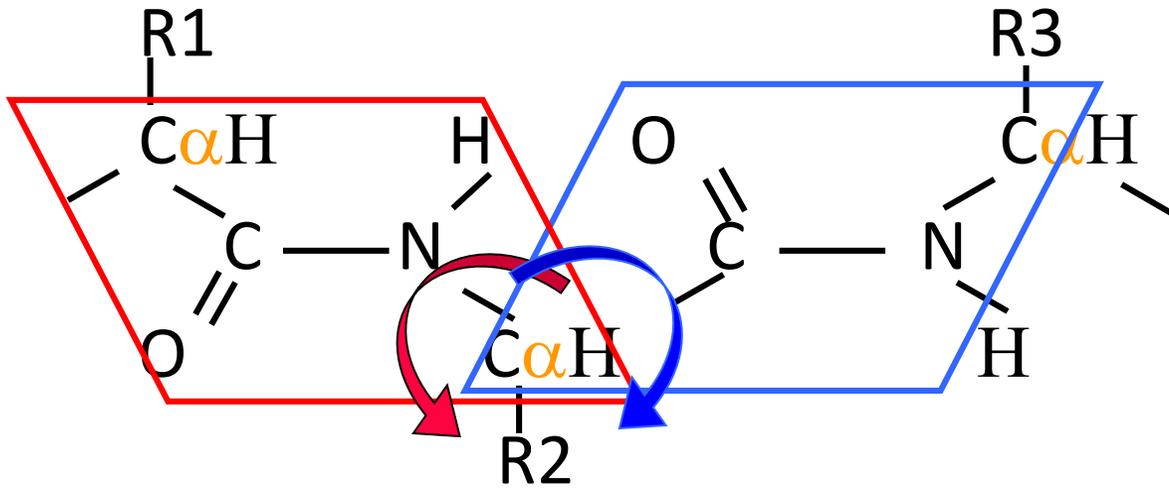


## B Structure secondaire

Elle concerne :

- le 1<sup>er</sup> niveau de structuration dans l'espace d'une chaîne peptidique
- la disposition spatiale des liaisons peptidiques entre elles
- l'orientation successive des différents plans des liaisons peptidiques
- la rotation des plans de chacune des liaisons peptidiques vis-à-vis de ses voisines





La structure secondaire dépend de la valeur de ces 2 angles

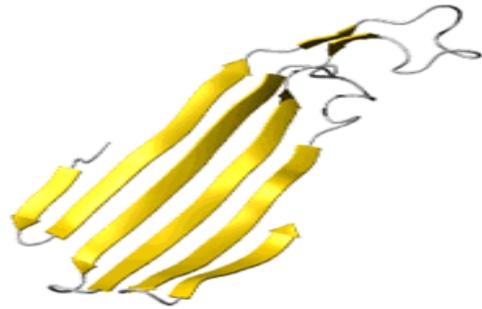
**En théorie**, toutes les combinaisons sont possibles.

**En pratique**, ce sont les encombrements des substituants des atomes de la "colonne vertébrale" de la chaîne peptidique qui permettent ou non ces différentes organisations



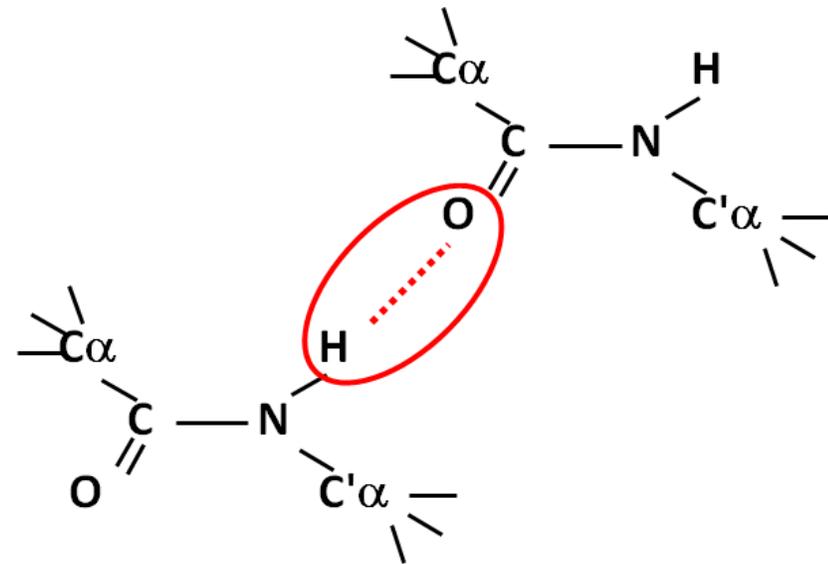
Ces repliements de la chaîne peptidique permettent différents types de structure secondaire :

- Le feuillet plissé ou feuillet  $\beta$
- Les coudes
- Les hélices



Feuillet plissé

Des liaisons Hydrogène s'établissent entre l'H d'un NH d'une liaison peptidique et l'O du CO d'une autre liaison peptidique



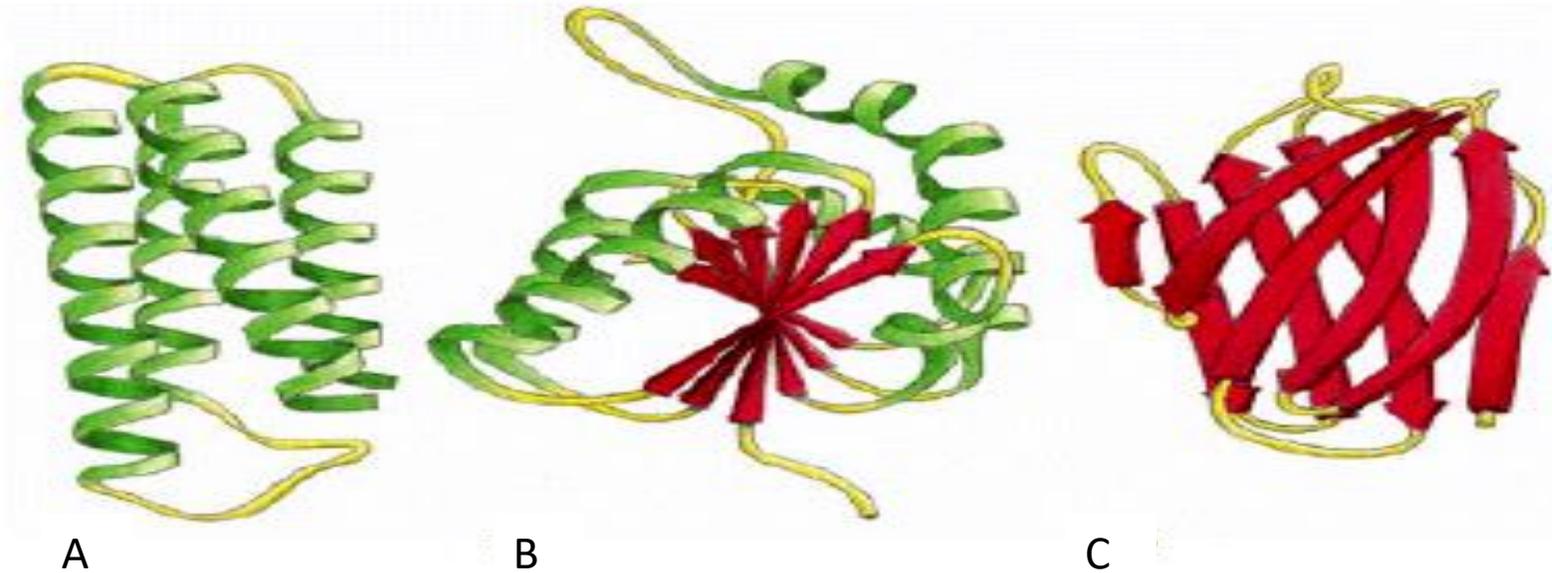
	Hélice $\alpha$	Feuillet $\beta$
Glu	1.59	0.52
Ala	1.41	0.72
Leu	1.34	1.22
Met	1.30	1.14
Gln	1.27	0.98
Lys	1.23	0.69
Arg	1.21	0.84
His	1.05	0.80
Val	0.90	1.87
Ile	1.09	1.67
Tyr	0.74	1.45
Cys	0.66	1.40
Trp	1.02	1.35
Phe	1.16	1.33
Thr	0.76	1.17
Gly	0.43	0.58
Asn	0.76	0.48
Pro	0.34	0.31
Ser	0.57	0.96
Asp	0.99	0.39



La nature des AA présents sur la chaîne peptidique favorise le type de structure secondaire



## C Structure super-secondaire : organisation en domaines



3 exemples de domaines :

- A : uniquement des hélices  $\alpha$  séparées par des boucles de longueur variable
- B : assemblage d'hélices  $\alpha$  et brins  $\beta$
- C : uniquement des feuillets  $\beta$  reliés par des boucles



## D Structure tertiaire

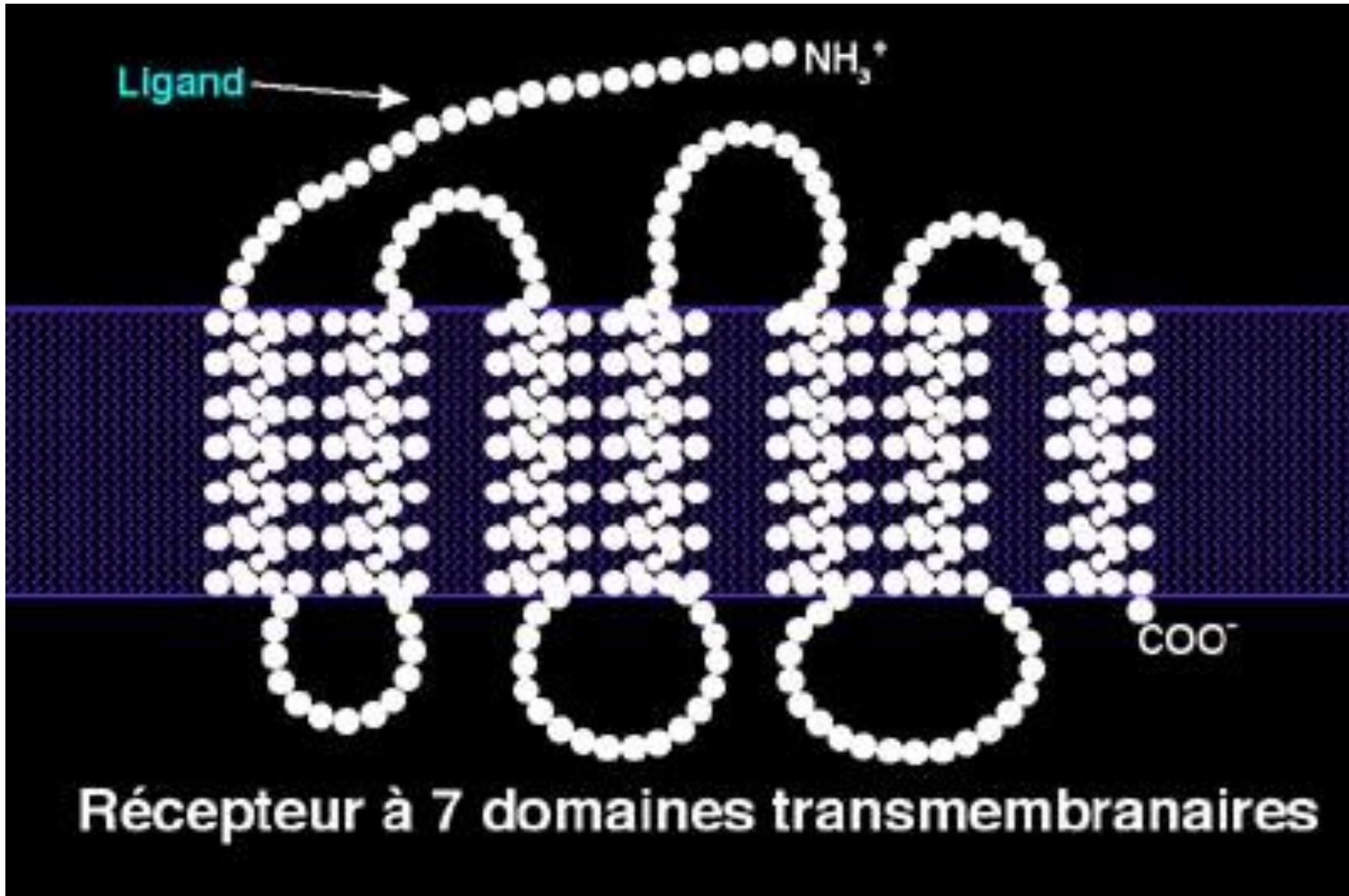
**structure tertiaire** = arrangement global de la chaîne polypeptidique dans l'espace

= arrangement des structures II et des résidus qui les relient.

apparition de **structures globulaires, fibreuses** (ou fibrillaires)...

existence de domaines dus au repliement protéique permettant à des AA éloignés dans la structure I de se rapprocher dans la structure III





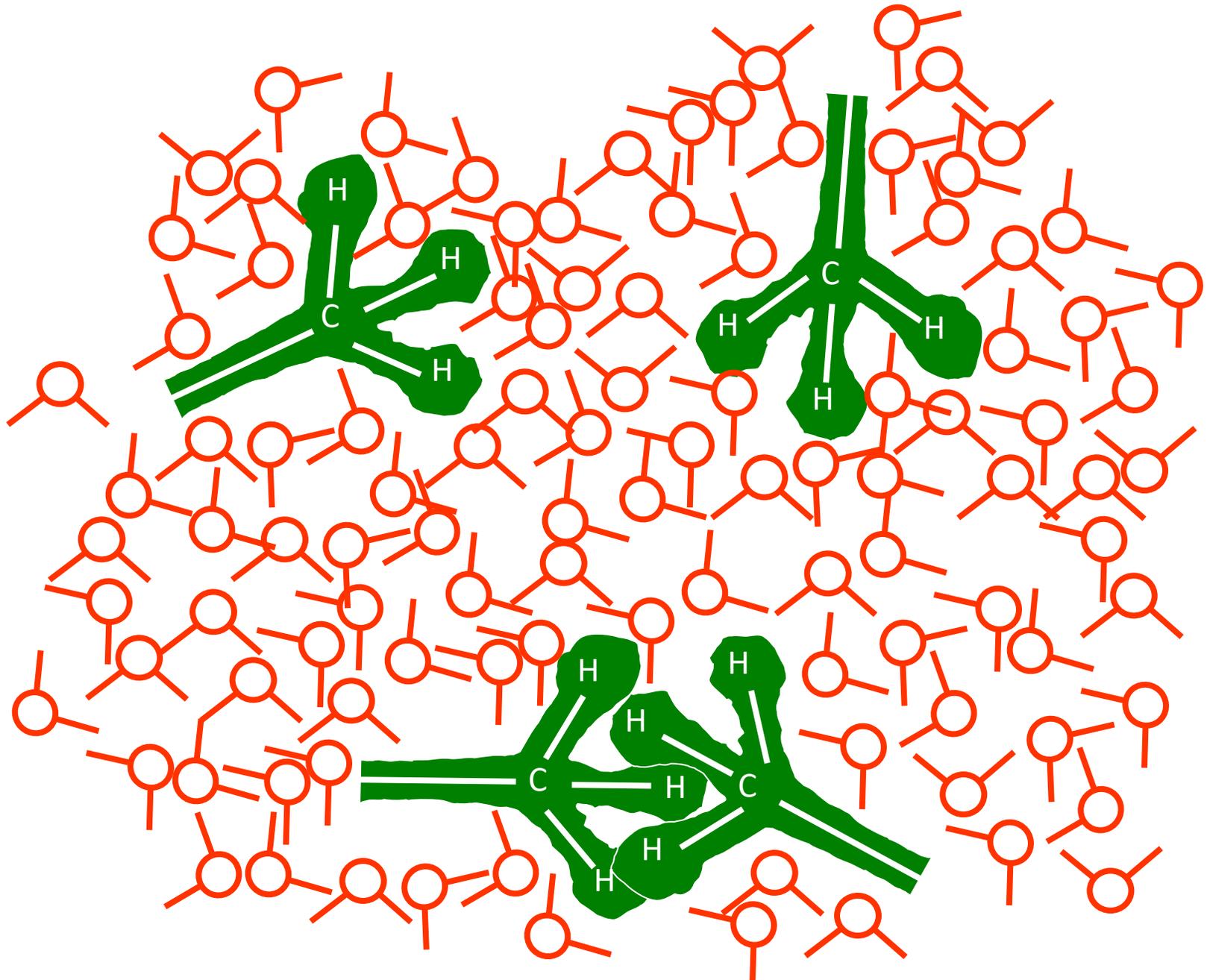
## D Structure tertiaire

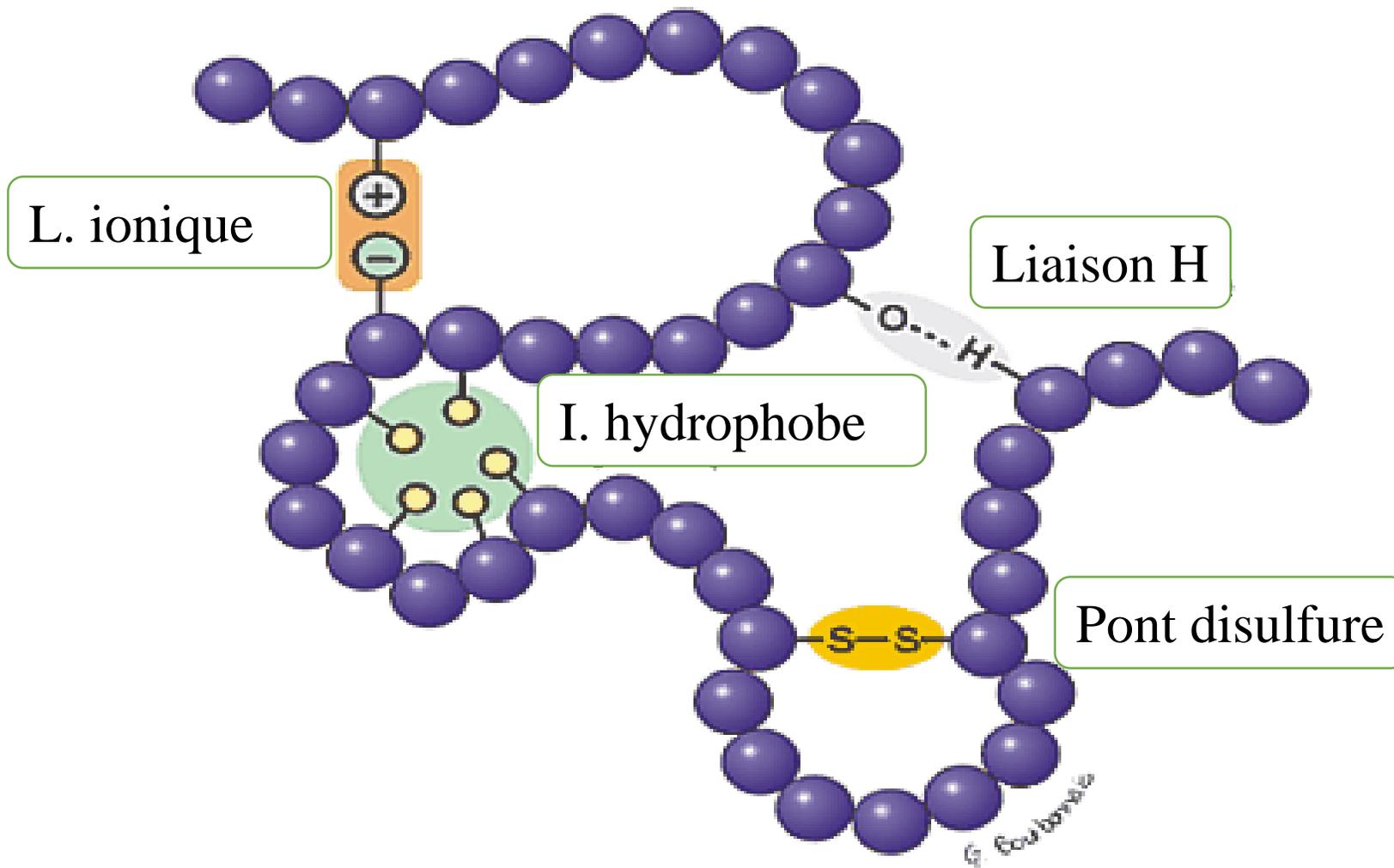
**structure tertiaire** = arrangement global de la chaîne polypeptidique dans l'espace

Stabilisation par des :

- liaisons électrostatiques (salines) stabilisent ces structures en surface
- interactions hydrophobes relient les résidus à l'intérieur
- Liaisons covalentes (ponts disulfures) entre résidus SH (résidu de Cys)
- Liaisons hydrogène : ici pas entre les liaisons peptidiques (comme dans la structure secondaire) mais entre radicaux (ou chaînes latérales)







## E Structure quaternaire

- Se définit par l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques, identiques ou non, dans une même protéine, et par l'organisation dans l'espace de ces différentes chaînes entre elles.
- Les liaisons qui stabilisent la structure quaternaire sont les mêmes que celles de la structure tertiaire :

covalentes :

pont disulfure

non covalentes :

liaisons hydrogènes

liaisons ioniques

interactions hydrophobes



# Propriétés biologiques des peptides et protéines

## A- Solubilité

- Les AA et peptides sont plus ou moins hydrosolubles en fonction du nombre et de la proportion d'AA polaires et apolaires
- Les protéines peuvent être
  - hydrosolubles : albumines, globines, ...
  - Insolubles dans l'eau : troponines, ...

La solubilité d'une protéine dépend :  
de sa séquence (proportion d'AA polaires et apolaires)  
et de sa structure spatiale

Elle est influencée par différents facteurs physiques et chimiques : pH, température, détergents, ...



## B- La masse moléculaire

Intérêt :

- Identification de la protéine
- Choix des techniques préparatives
- Modélisation de systèmes
- ...

Différentes techniques :

- PM minimal
- Ultracentrifugation
- Gel filtration
- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
- Spectrométrie de masse



- PM minimal

On ne prend en considération que l'un des composants qui a une faible représentation dans la composition de la protéine, et on imagine qu'il n'est présent qu'à 1 seul exemplaire dans cette protéine

Ex. **Fer** dans myoglobine ou hémoglobine



## Exemple : calcul du PM mini de Hb

le fer représente 0,34% du poids de l'Hb

M atome de fer = 56 Da

On considère qu'il n'existe qu'1 atome de fer par molécule d'Hb

On aura  $56 = 0,34\% \times \text{PM mini}$

D'où :  $\text{PM mini} = (56 / 0,34) \times 100 = 16\ 470$

il y a 4 atomes de fer par molécule d'Hb

$\text{PM réel} = 4 \times 16\ 470 = 65\ 880$

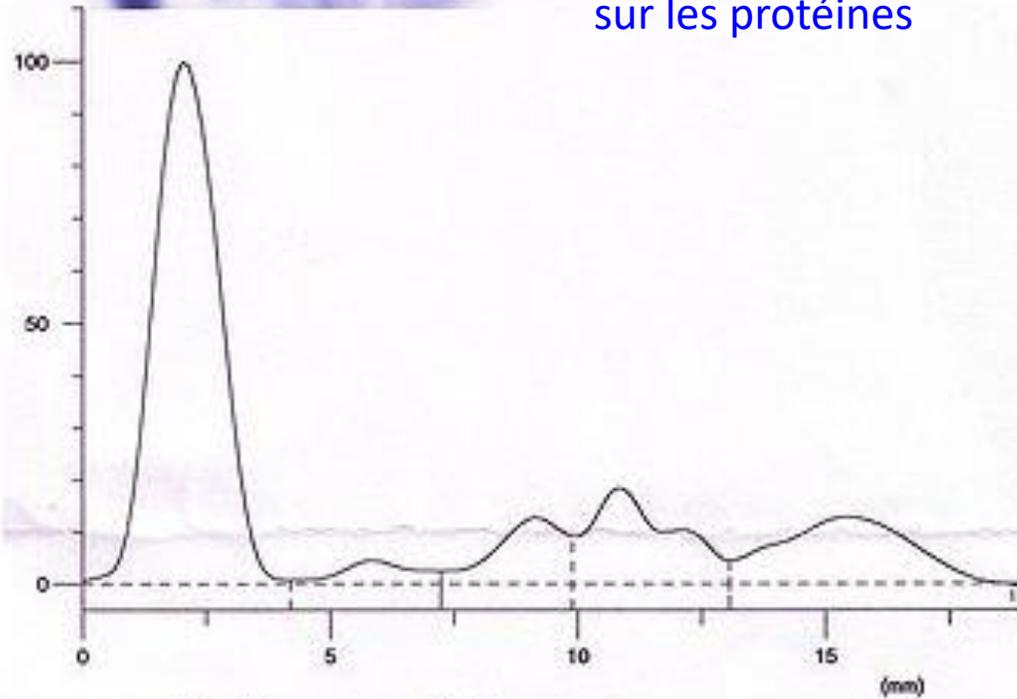


## C- Adsorption

- Du fait de leur taille, les protéines sont capables d'adsorber des molécules, et en particulier des colorants.
- En se fixant sur les protéines, ces colorants permettent de mettre en évidence la présence des protéines
- Il existe des colorants spécifiques des protéines, utilisés pour localiser les molécules après séparation (par ex. par électrophorèse)



colorant bleu qui se fixe sur les protéines



### Technique sur gel d'agarose

Index	Fraction	% Relatif	Conc. (g/l)	Normales (g/l)
1	Albumine	59.50%	39.86	35.00 ... 50.00
2	Alpha 1	2.98%	2.00	1.00 ... 4.00
3	Alpha 2	7.94%	5.32	5.00 ... 11.00
4	Beta	13.99%	9.37	6.00 ... 13.00
5	Gamma	15.60%	10.45	7.00 ... 16.00
Total			67.00	60.00...80.00

Rapport A/G 1.47

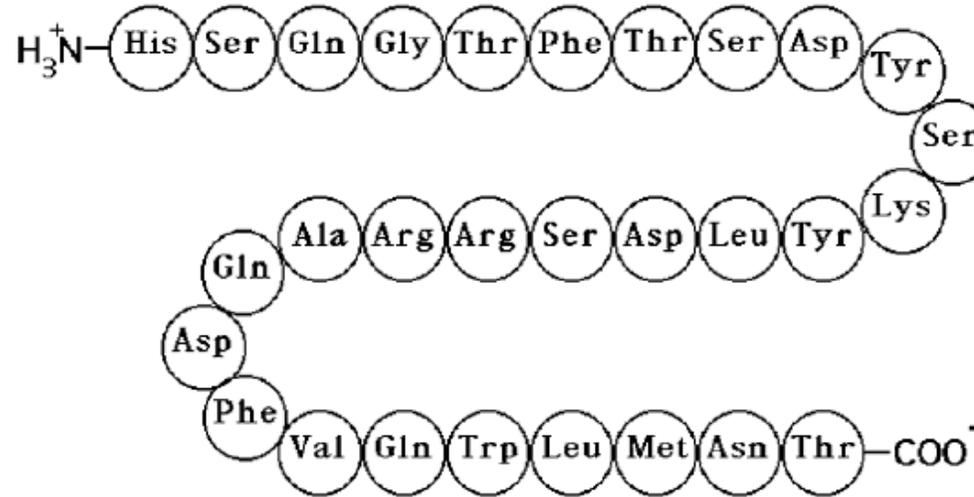


# Exemples de peptides

## 1- Glucagon

29 AA

Synthèse par le pancréas

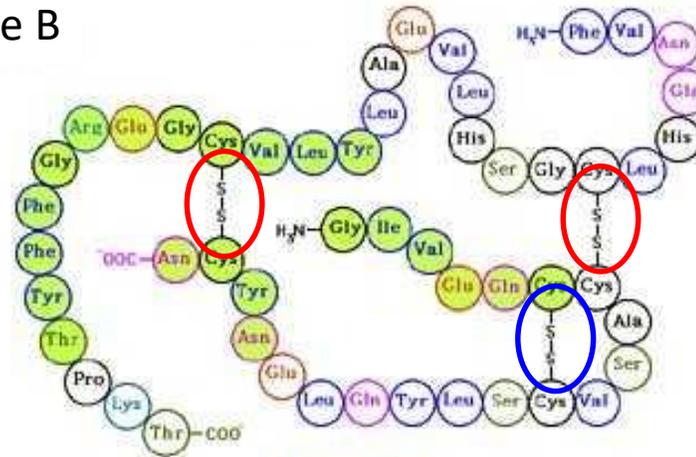


Rôle : hormone peptidique pancréatique  
hyperglycémiant



## 2- Insuline

Chaîne B



Insuline

Chaîne A

- 5807 Da
- Peptide à 2 chaînes A : 21 AA B : 30 AA
- 3 ponts disulfures entre les chaînes : **2 ponts inter-chaînes**  
1 pont intra-chaîne A
- Synthèse par le pancréas
- Insuline = hormone peptidique pancréatique hypoglycémiante
- si réduction des ponts S-S : perte de l'activité biologique



## VI- Exemples de protéines

Classification des protéines :

- selon la composition
- selon la forme
- selon la solubilité
- selon la fonction



- classification selon la composition :

- **Holoprotéines** = uniquement formées d'AA

- **Hétéroprotéines** = existence d'une partie non protéique, le groupement prosthétique, liée au peptide par une liaison covalente

- **Phosphoprotéines** : ester d'acide phosphorique sur des OH de sérine, thréonine et tyrosine

- **Glycoprotéines** : partie glucidique sur la protéine

- **Chromoprotéines** : très diverses dans leur composition, c'est la coloration qui leur a donné ce nom (Hb)

Attention : les lipoprotéines ne sont pas des molécules mais des des amas de lipides et de protéines



## Exemples de protéines : l'albumine

- 1 chaîne de 585 AA (M = 68 000) avec 17 ponts S-S
- représente 50-60% des protéines plasmatiques totales
- forme d'ellipse de 13 x 3 nm (protéine globulaire)

### Rôles de l'Albumine:

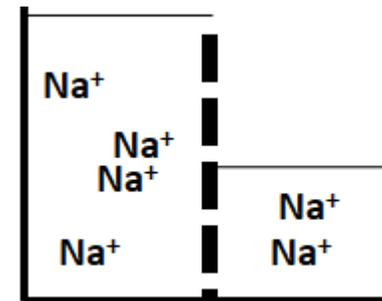
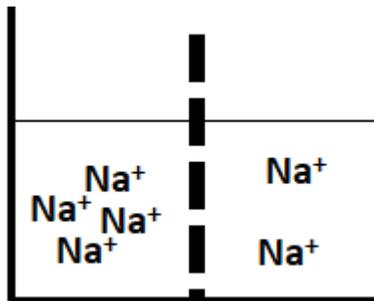
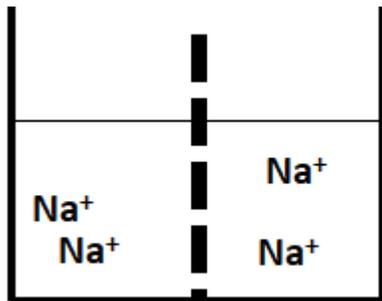
- maintien de la **pression oncotique** sanguine
- **transport** des minéraux, acides gras, bilirubine, médicaments, acides biliaires, hormones... (= protéine de **transport non spécifique**)



- Rappel de la pression osmotique :

Membranes cellulaires = membranes semi-perméables

- Pour maintenir des concentrations en sel identiques de part et d'autre de la membrane, c'est l'eau qui traverse : c'est la Pression osmotique du sel
- En ce qui concerne les membranes des vaisseaux, le sel traverse, mais pas l'albumine, qui joue le même rôle vis-à-vis de l'eau

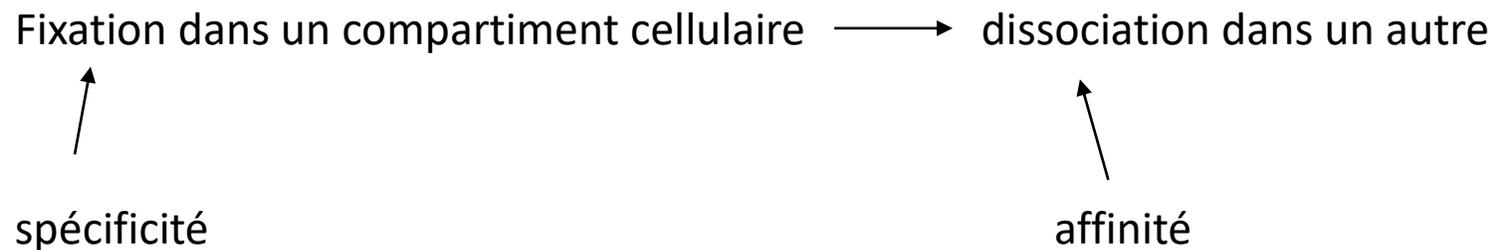


# Exemples de protéines : Myoglobine et Hémoglobine

protéines héminiques importantes pour leur rôle individuel

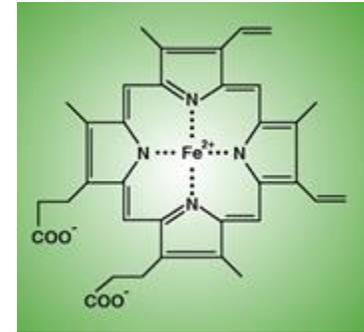
et importantes pour comprendre la relation structure/activité

- Importance biomédicale des protéines héminiques :  
transport  $O_2$  (et transport  $e^-$ )



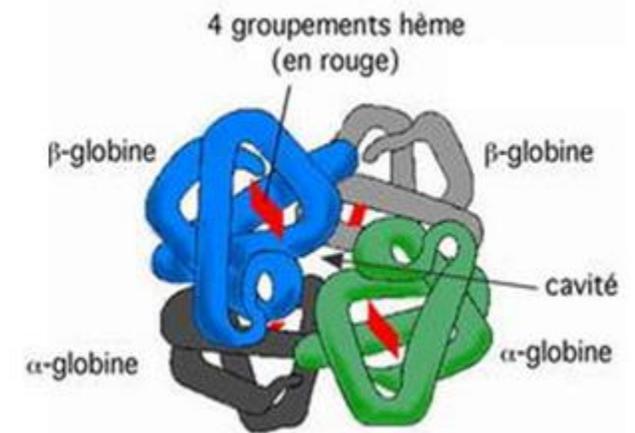
## La myoglobine

- 1 chaîne monomérique de 153 AA (MM # 17 000) (pas de structure IV)
- hétéroprotéine à hème = noyau tétrapyrrolique à  $\text{Fe}^{2+}$
- se pelotonne sur elle-même → protéine globulaire
- classée comme hétéroprotéine et chromoprotéine
- rôle = stocker  $\text{O}_2$  dans la cellule musculaire et le libérer en cas d'exercice intense pour synthétiser ATP



## L'hémoglobine

- Hb = protéine globulaire, hydrosoluble
- classée comme hétéroprotéine et chromoprotéine
- existence d'une structure IV
- la partie protéique de l'hémoglobine est constituée de 4 chaînes :
  - 2 chaînes  $\alpha$  ( $\alpha_1$  et  $\alpha_2$ ) et 2 chaînes  $\beta$  ( $\beta_1$  et  $\beta_2$ )



spécificité de chaîne : : chez l'être humain adulte, il existe plusieurs types de globine au même moment

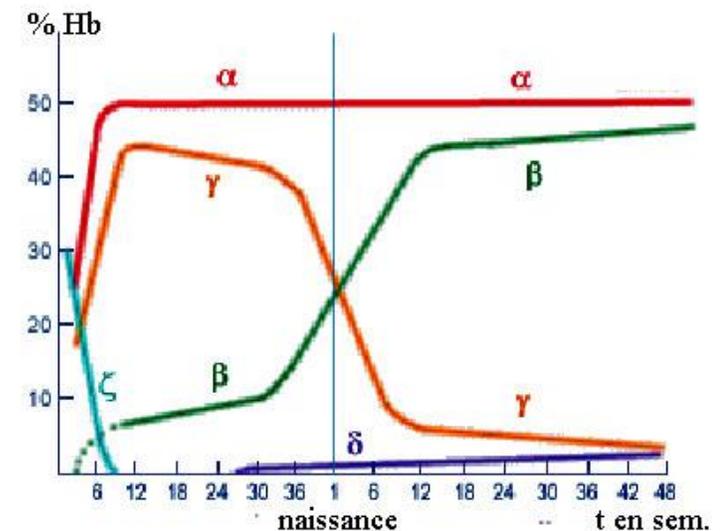
- Hb A1 :  $\alpha_2\beta_2$  plus de 95 % 2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\beta$
- Hb A2 :  $\alpha_2\delta_2$  moins de 3 % 2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\delta$
- Hb F :  $\alpha_2\gamma_2$  environ 1 % (traces)

spécificité de temps :

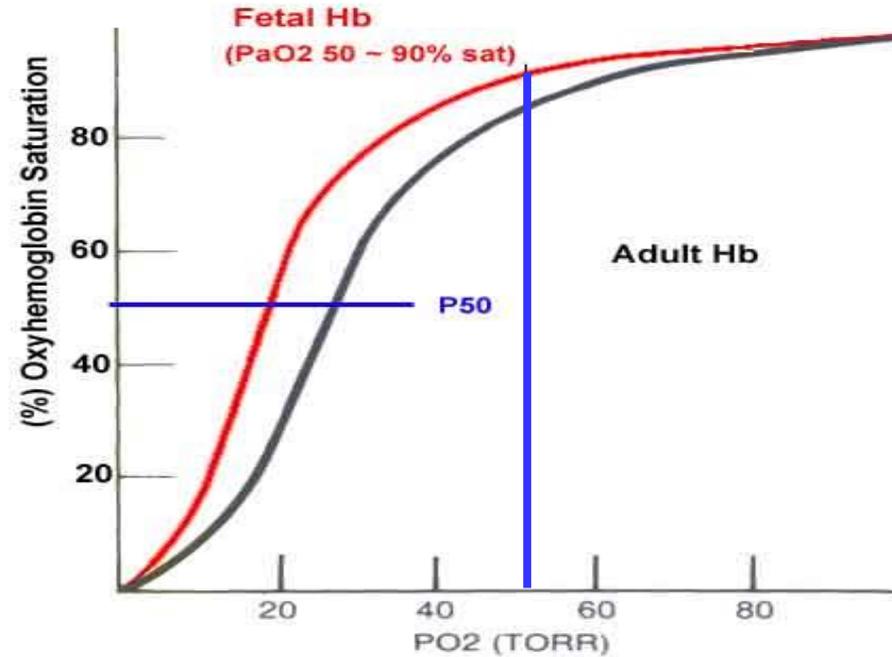
chez le foetus : Hb F :  $\alpha_2\gamma_2$  plus de 95 %

chez l'embryon : différents types

$\zeta_2\varepsilon_2$  ou  $\zeta_2\gamma_2$  ou  $\alpha_2\varepsilon_2$



## Différences entre HbA et HbF : Fixation de O<sub>2</sub>



- P<sub>50</sub> de HbF = 20 mm Hg      P<sub>50</sub> de HbA = 28 mm Hg

Cette différence permet à HbF de récupérer O<sub>2</sub> à partir de HbA du sang placentaire

- à pression partielle équivalente, HbF fixe plus O<sub>2</sub> que HbA

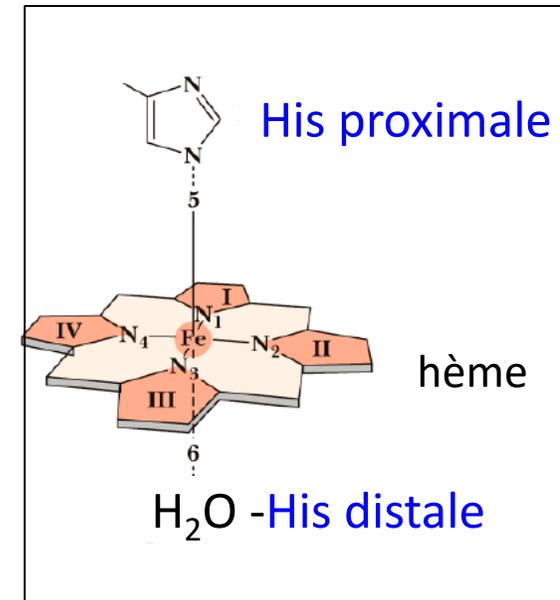
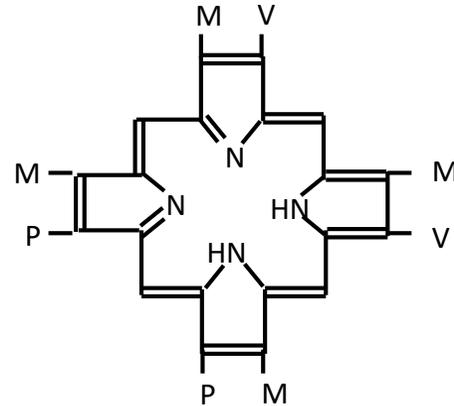
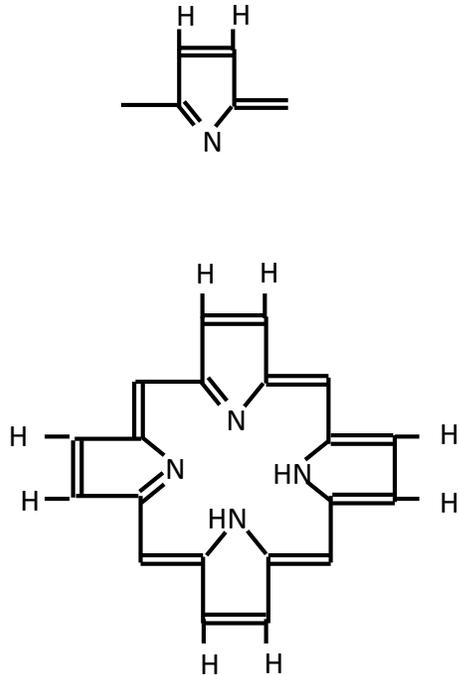
à 20 mm Hg : saturation HbF = 50% et HbA = 30%

à 50 mm Hg : saturation HbF = 90% et HbA = 80%



Le groupement prosthétique de l'Hb est formé de :

- un **noyau aromatique** = noyau tétrapyrrolique = la **protoporphyrine**
- un atome de **fer** : **Fe<sup>++</sup>**



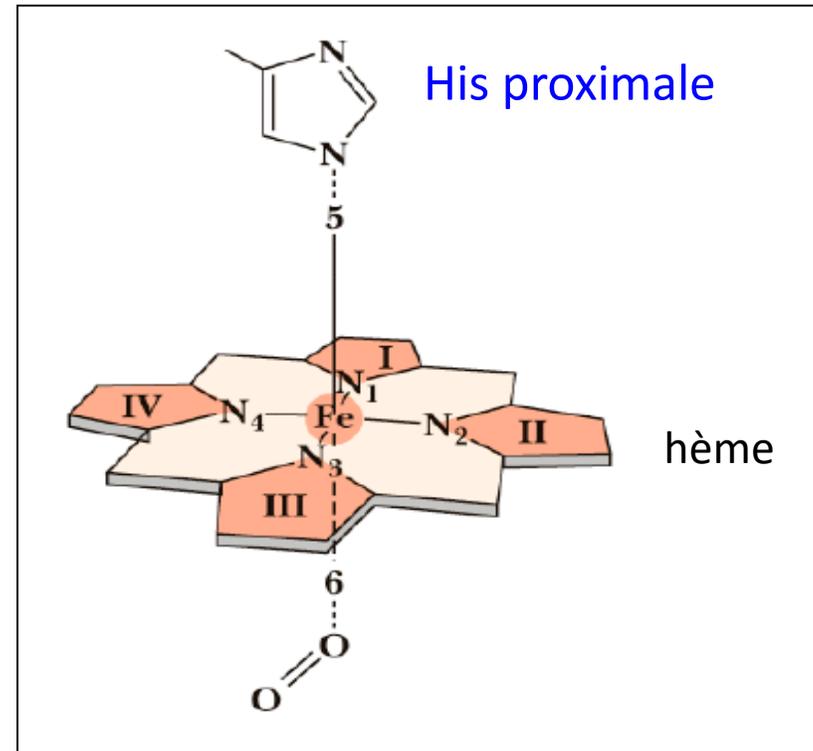
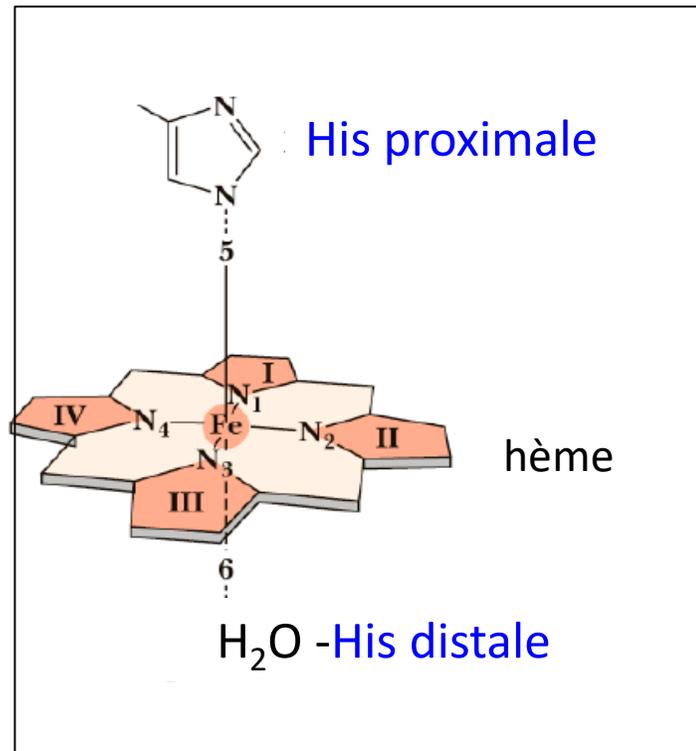
- Avec 2 substituants on obtient 4 isomères possibles → type III
- Avec 3 substituants, 15 isomères possibles → type IX

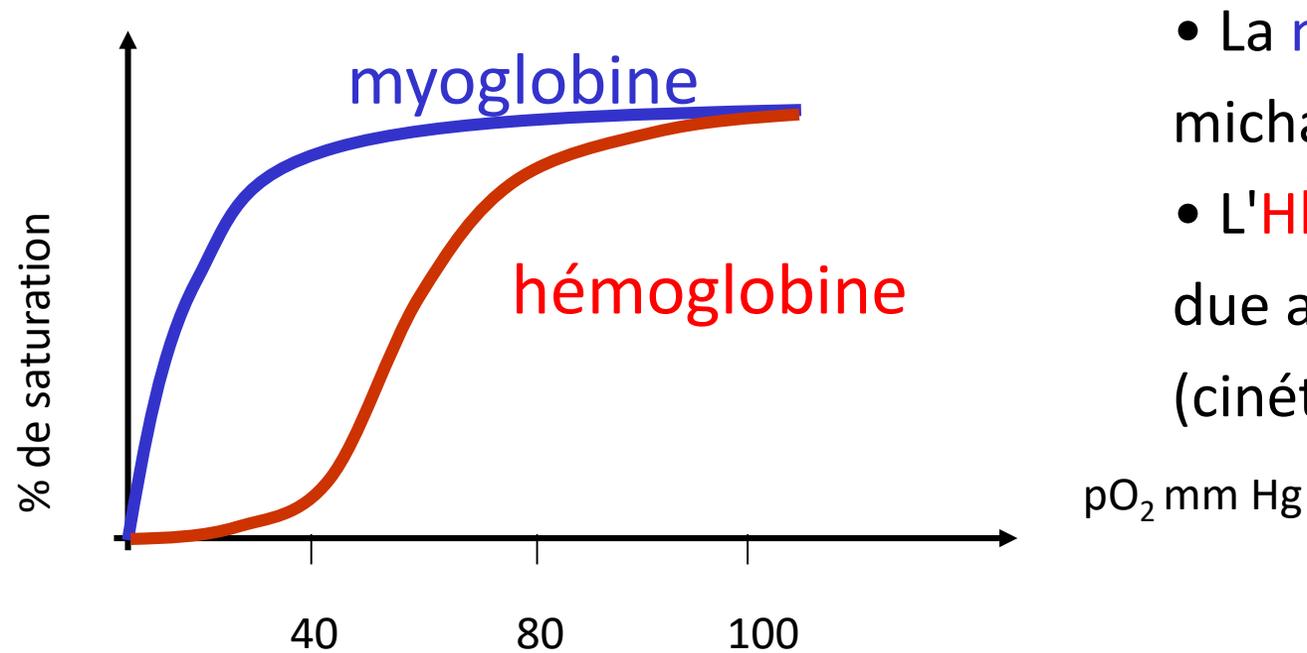
structure plane, du fait des doubles liaisons délocalisées → grosse orbitale moléculaire qui absorbe la lumière et rend l'Hb colorée

Dans l'Hb humaine, un atome de Fer est placé au centre du noyau tétrapyrrolique, à 6 liaisons



Quand  $pO_2$  augmente,  $O_2$  remplace  $H_2O$  par déplacement de l'His : on parle alors **d'oxyhémoglobine  $HbO_2$**  Il ne s'agit pas d'une oxydation de l'Hb mais d'une oxygénation





- La **myoglobine** a une cinétique michaelienne (hyperbole)
- L'**Hb** présente une courbe allostérique due aux interactions entre chaînes (cinétique de liaison coopérative)

c'est **l'effet allostérique** des sous-unités de Hb.

La chaîne  $\alpha$  a la plus grande affinité pour l'O<sub>2</sub>, elle est donc la 1<sup>ère</sup> à être oxygénée, elle subit ensuite une transconformation (redistribution de liaisons non covalentes).



Si 1 atome de fer fixe une molécule d'O<sub>2</sub>, comme il existe 4 atomes de fer par molécule d'Hb et que le PM de l'Hb est 68000 Da, alors 68 000 Da d'Hb fixent 4 molécules d'O<sub>2</sub>

Donc 68 000 g d'Hb fixent 4 moles d'O<sub>2</sub>

1 mole d'O<sub>2</sub> représente 22,4 L (Le volume molaire d'un gaz parfait est de 22,414 L·mol<sup>-1</sup>)

donc 68 000 g d'Hb fixent 4 moles d'O<sub>2</sub> x 22,414 L·mol<sup>-1</sup>

ou 1 g d'Hb fixe 4 x 22400 / 68000 soit 1,32 mL d'O<sub>2</sub>

A raison de 15 g Hb pour 100 mL de sang, la saturation maximale du sang en O<sub>2</sub> est de 15 x 1,32 = 19,8 mL soit près de 20 mL d'O<sub>2</sub> pour 100 mL de sang, **la fraction d'oxygène maximale théorique**

L'Hb se charge en O<sub>2</sub> dans les poumons et le libère dans les organes

La pression partielle en oxygène (ou pO<sub>2</sub>) chute de 100 mm de Hg (dans les artères) à 40 mm de Hg

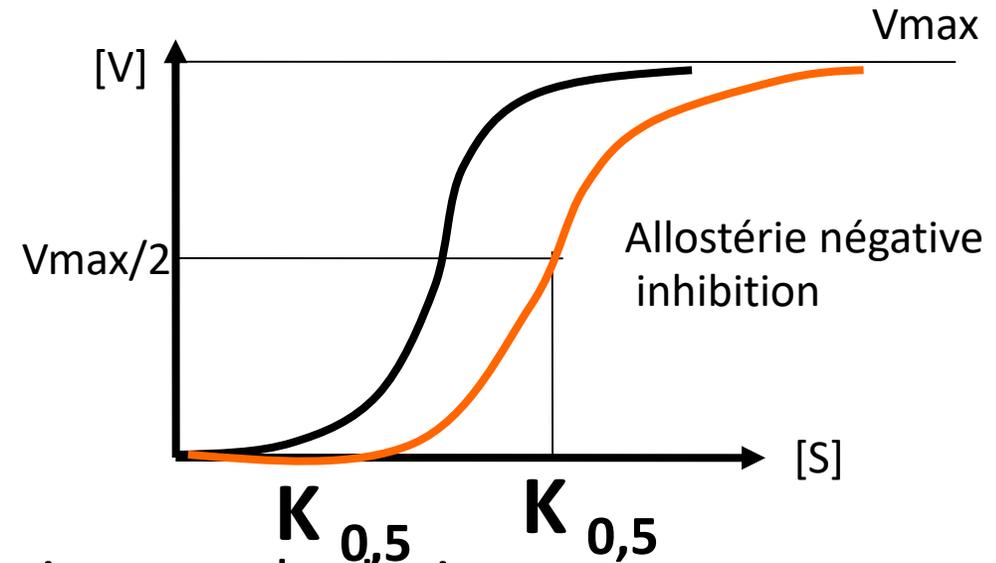
(dans les capillaires veineux) : un dL de sang libère entre 4 à 5 mL d'O<sub>2</sub> : **la fraction d'oxygène**

**physiologiquement utilisable**



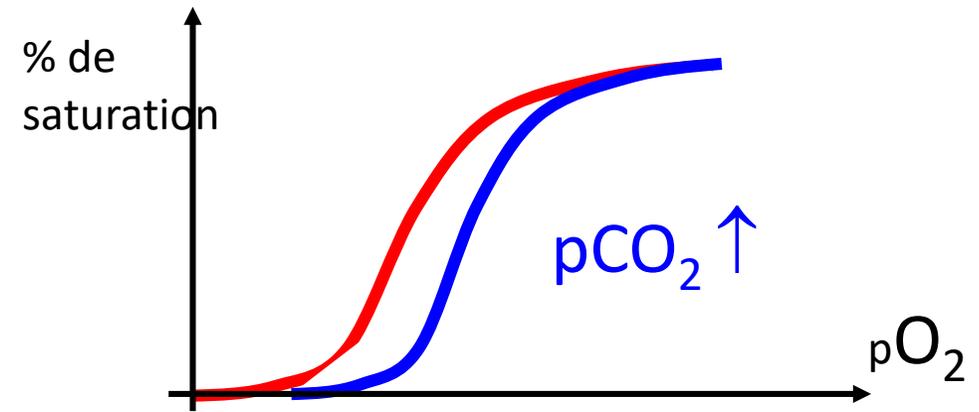
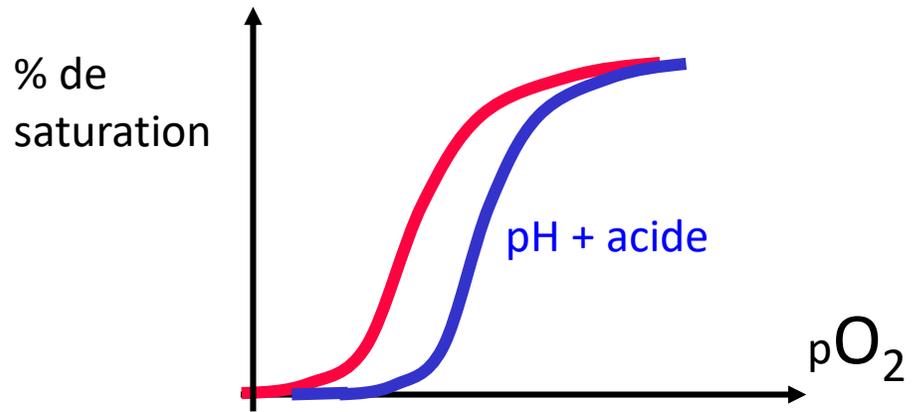
## Effecteurs allostériques = effecteurs négatifs

Ions  $H^+$   
 $CO_2$   
2,3-BPG  
température



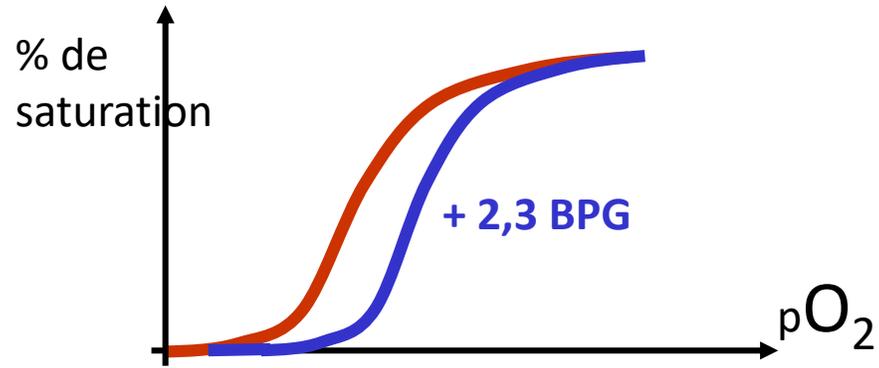
- déplacent la courbe de saturation vers la droite
- favorisent la libération d' $O_2$  dans les tissus périphériques
- tendent à réduire la coopération
- rôle physiologique important



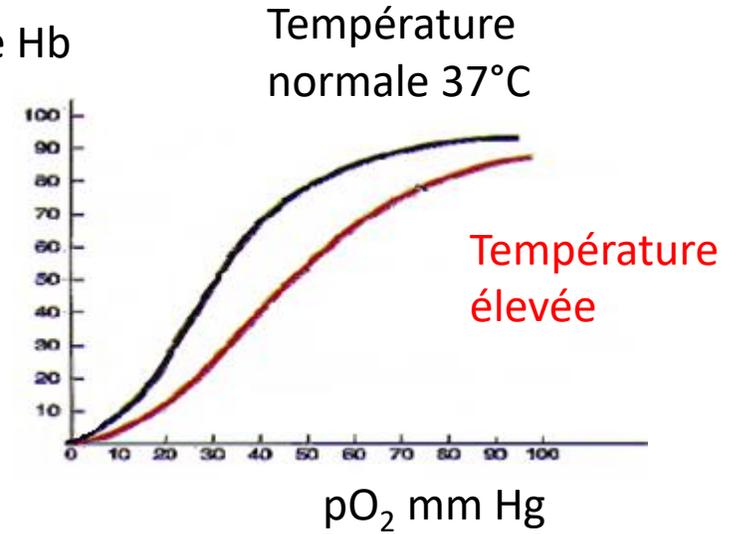


C'est l'effet Bohr : la  $pCO_2$  influe sur la fixation d' $O_2$  sur Hb : le  $CO_2$  se lie aux globines





% saturation de Hb



Le 2,3 bi phosphoglycérate est un important intermédiaire métabolique de la glycolyse.

Présence naturelle de 2,3-BPG dans les GR :

1 mole BPG / mole Hb

Quantité augmente avec l'altitude : adaptation à la diminution de pO<sub>2</sub>



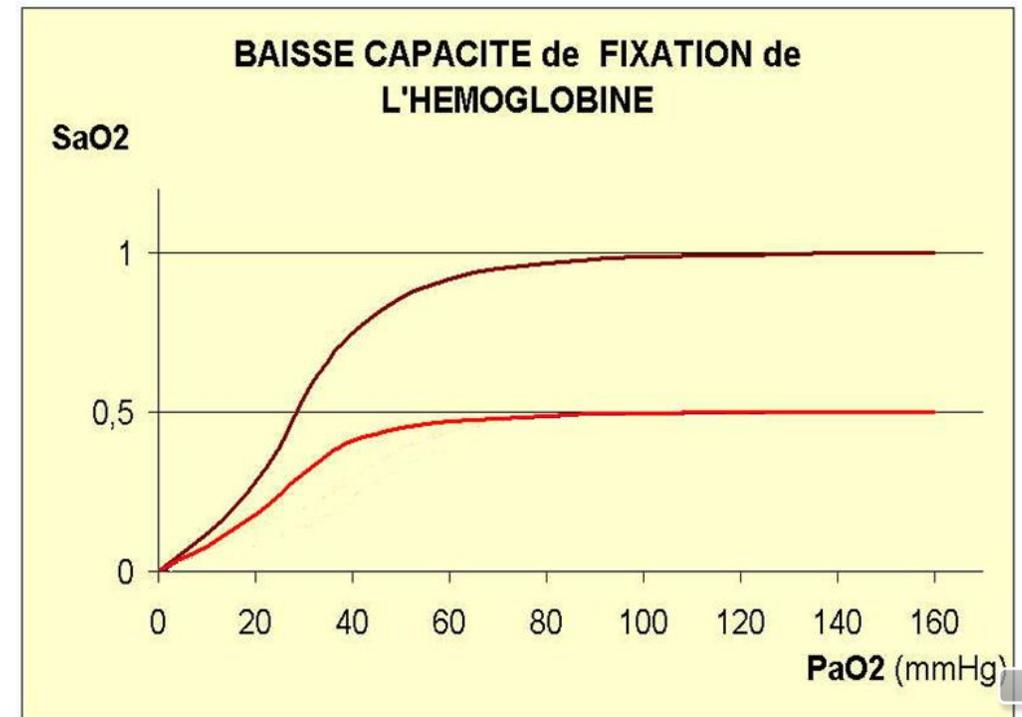
Les causes de déviation à gauche de la courbe de dissociation :

- baisse de la  $p\text{CO}_2$ , augmentation du  $\text{pH}$
- Baisse de température
- Baisse de production du 2,3-BPG
- Présence d'hémoglobine F (foétale), ayant une plus forte affinité pour l'oxygène que la forme A.



Certaines situations abaissent la capacité de fixation

- **anémie**
- **methémoglobinémie** : fer de l'hème =  $Fe^{3+}$ , ne fixe plus  $O_2$
- **hémoglobinose S** (drépanocytose)
- **CO** : Même fixation sur le fer que l' $O_2$ , mais avec une affinité 200 fois supérieure. Le transport de  $O_2$  n'est plus assuré par la **carboxyhémoglobine = HbCO**



## Valeurs normales

taux < 1.6 % (en % Hb totale)

## Variations pathologiques

- Chez un fumeur : 3 à 5% voire > 5 %

## Intoxication à l'oxyde de carbone (gaz incolore, inodore, insipide)

- Premiers symptômes d'intoxication pour des taux > 20 - 30 % :  
céphalées, nausées, vertiges

- 40 à 50 % : syncopes, accélération du rythme respiratoire...

- 50 à 60 % : convulsions

- Coma si taux > 60 - 70 % avec évolution mortelle possible



**Analyseur**

Modèle : GEM® Premier 5000  
 Service : LAB  
 Nom : GEM 5000-2  
 N°S : 20116443

**Résultats**

Crit. Référence Crit.  
 Bas Bas Haut Haut

**Mesuré (37.0°C)**

pH	<b>7.40</b>		7.20	7.35	7.45	7.60]
pCO <sub>2</sub>	<b>37</b>	mmHg	20	35	48	70 ]
pO <sub>2</sub>	<b>83</b>	mmHg	40	83	108	500 ]
Na	<b>138</b>	mmol/L	120	136	145	160 ]
K <sup>+</sup>	<b>3.7</b>	mmol/L	[ 2.5	3.5	5.1	5.5 ]
Cl <sup>-</sup>	↑ <b>109</b>	mmol/L	[ 80	98	107	120 ]
Ca <sup>++</sup>	<b>1.19</b>	mmol/L	[0.75	1.15	1.33	1.60]
Hct	↓ <b>34</b>	%	[ 18	37	50	60 ]

**CO-Oxymétrie**

tHb	↓ <b>11.7</b>	g/dL	[ --	12.0	17.0	-- ]
O <sub>2</sub> Hb	↓ <b>94.0</b>	%	[ --	95.0	98.0	-- ]
COHb	↑ <b>1.9</b>	%	[ --	0.0	1.5	10.0]
MetHb	<b>1.0</b>	%	[ --	0.0	1.5	-- ]
HHb	<b>3.0</b>	%	[ --	1.0	5.0	-- ]
sO <sub>2</sub>	<b>96.9</b>	%	[ --	94.0	98.0	-- ]

**Calculé**

TCO <sub>2</sub>	<b>24.0</b>	mmol/L	[ --	20.0	28.0	-- ]
BE(B)	<b>-1.6</b>	mmol/L	[ --	-2.0	3.0	-- ]
CaO <sub>2</sub>	<b>15.5</b>	Vol%	[ --	--	--	-- ]
O <sub>2</sub> cap	<b>15.8</b>	Vol%	[ --	--	--	-- ]

