

# BIOCHIMIE GÉNÉRALE ET MÉTABOLIQUE

## 1. Introduction.

### A. La matière vivante.

C'est un assemblage de différents organites complexes permettant la reproduction (introuvable dans la matière inerte sauf les cristaux en solution qui croissent tout seuls) et la gestion de l'énergie.

Il y a une dynamique d'échange entre les différents organites pour réguler l'ensemble du système. Cette coordination tend à la reproduction. Ces organites sont formés de macromolécules (protéines) constitués d'a-a. Ces macromolécules peuvent aussi être des polysaccharides donc formés de saccharides ou être des acides nucléiques formés de nucléotides.

### B. Liaisons.

#### a) Liaison covalente:

Deux atomes qui apporte chacun un électron de valence pour remplir sa dernière couche orbitale, polarisée ou symétrique.

El ou énergie de liaison est l'énergie nécessaire à la rupture de la liaison:

El= 300KJ/mol.

Rq: 1cal= 4,18J et 1J= 0,24cal.

#### b) Liaison non covalente:

-Liaison électrostatique (= saline= ionique): un atome va céder un électron à l'autre donc doublet sur le plus électronégatif.

Les ions sont rares à l'état isolés puisqu'ils s'empilent (réseau cristallin) en milieu solide, et s'associent à des molécules polaires telles que l'eau en milieu liquide.

El= 200 à 300KJ/mol.

-Liaison hydrogène: entre molécules polaires ou non. Il est plus fortement accroché au donneur.

Rq: Le donneur, l'accepteur et l'H doivent être alignés.

El= 30KJ/mol.

-Liaison de Van der Waals: force attractive non spécifique lorsque deux atomes sont à la distance  $d = 0,3$  à  $0,4$ nm. La distribution des électrons autour des atomes varie dans le temps d'où une possibilité d'attraction.

El= 10KJ/mol.

El faible mais elle devient significative lorsque de nombreux atomes sont en contact.

Rq: Si P augmente, la force de Van der Waals augmente.

Complexité du vivant: si un polypeptide compte 200 a-a, il y a  $10^{260}$  séquences possibles (car  $20^{200}$ ) c'est à dire >> au nombre d'atomes dans l'univers, qui est d'environ  $10^{130}$ .

C. L'importance de l'eau dans les interactions.

L'eau liquide contient des molécules de forte affinité mutuelle ce qui explique leur ordonnance. En effet, le degré d'ordonnance est proportionnel au nombre de liaisons H.

Une protéine en solution aqueuse doit affaiblir ses liaisons pour se solubiliser, donc au profit des liaisons H de l'eau.

Les gouttelettes d'huiles s'agrègent non pas par affinité mutuelle mais car l'eau sous jacente doit satisfaire ses liaisons H.

2. Les a-a.

Un a-a est une unité structurale de base des protéines, constitué d'une fonction acide carboxylique et amine, ainsi que d'un atome H et d'une chaîne latérale, liée à un carbone central (=  $C\alpha$ ).

Les a-a différents sont présents à l'état de zwitterion c'est à dire à pH 7 à la fois chargé + et -.

A. Formule.

a) Les a-a à chaîne latérale aliphatique hydrophobe:

-Glycine (= glycolle): a-a à chaîne souple non hydrophobe ou hydrophile. Son radical R est un H. Seul a-a symétrique.

-Alanine: à chaîne latérale méthyl donc hydrophobe car apolaire.

Rq: Plus la chaîne latérale est longue et plus l'a-a est hydrophobe (sauf si cette chaîne aliphatique contient une molécule polaire).

-Valine: avec 3 méthyl donc encore plus hydrophobe.

-Leucine: homologue > de valine (car un méthyl de plus).

-Isoleucine: isomère de la leucine car embranchement au  $C\beta$  au lieu du  $C\gamma$ . Il y a deux  $C^*$ .

-Méthionine: non hydrophobe. Les deux derniers C sont séparés par S ce qui confère un caractère polaire car susceptible de liaisons H.

-Proline: chaîne latérale sur  $C\alpha$  avec amine (inhabituel) donc amine secondaire c'est à dire imine. Ceci rend difficile les liaisons H avec d'autres a-a. Dans les chaînes polypeptidiques, l'incapacité de rotation de cet a-a justifie sa position dans les coudes de la chaîne protéique car de plus, cet a-a est très rigide.

-Cystéine: 2e a-a soufré, fonction thiol R-SH.

b) Chaîne latérale aromatique:

-Phénylalanine: seul a-a hydrophobe du groupe; c'est l'un des a-a les plus hydrophobes.

-Tyrosine: phénylalanine hydroxylée donc noyau phénol au lieu de phényl. Ainsi, elle n'est donc plus hydrophobe. Cet hydroxyde peut être phosphorylé. a-a fréquent dans le site actif des enzymes.

-Tryptophane: 2 noyaux alcoolés (benzène + pyrrole= noyau indol). a-a le plus rare dans les protéines donc de l'organisme.

c)  $\alpha$ -a polaires à chaîne latérale chargée + ou -:

-Arginine (+): chaîne latérale à noyau guanidinium (= 1C entouré de 3 amines dont une chargée +). C'est l' $\alpha$ -a le plus polaire et le plus basique.

-Lysine (+): toujours chargée +.

-Histidine (+): noyau imidazole.  $\alpha$ -a fréquent dans le site actif des enzymes.

-Aspartate (-): acide aspartique mais à pH neutre, les fonctions sont ionisées donc on le nomme aspartate (1C + un carbonyle).

-Glutamate (-): homologue > de l'aspartate.  $\alpha$ -a le plus fréquent dans l'organisme.

d)  $\alpha$ -a à chaîne latérale non chargée mais polaire:

-Sérine:  $\alpha$ -a alcool (OH; c'est une fonction polaire).

-Thréonine: 2C donc moins polaire et qui a 2C\* (le 2e  $\alpha$ -a à 2C\*).

-Asparagine:  $\alpha$ -a à fonction CO-NH<sub>2</sub> donc amide ( $\alpha$ -a polaire).

-Glutamine:  $\alpha$ -a amidé, homologue > asparagine.

e)  $\alpha$ -a non standard:

Ils proviennent de modifications post traductionnelles.

Cystéine dont le S est remplacé par Se= sélénocystéine.

etc.

B. Propriétés générales des  $\alpha$ -a.

a) L'hydrophobicité est synonyme d'apolarité.

b) Charges et propriétés acido-basiques:

Cf AcAm 7.

Sigmoïde:

-1e point d'inflexion: pK<sub>1</sub>.

-pH isoionique (= pHi).

-2e point d'inflexion: pK<sub>2</sub>.

De pK<sub>1</sub> à pK<sub>2</sub> il y a déprotonisation.

pK<sub>1</sub> est le pH auquel la moitié des formes acides est sous forme dissociée.

K est la constante d'équilibre de la réaction=  $\frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$ .

pK= -log K.

Les  $\alpha$ -a ionisables ont une sigmoïde présentant 3pK au lieu de 2.

c) Spectre d'absorption.

Les radicaux des  $\alpha$ -a à cycle aromatique ont la propriété d'absorber les UV.

Proline présente un pic d'absorption à 260nm, tyrosine a 280nm et tryptophane a 280nm aussi mais de manière beaucoup plus prononcée.

d) Mis à part la glycine, tous les  $\alpha$ -a ont un C\*.

Le nombre d'isomères optiques possibles (= énantiomères= stéréoisomères) est défini par 2 exposant: nb de C\*.

Nous avons à faire à la L-asparagine dans l'eau mais à la D-asparagine dans l'HCl. Sur Terre, il n'existe que des séries L. Mais de rares micro-organismes terrestre ou extra terrestre contiennent des a-a de série D.

e) Électrophorèse des a-a:

Sur un support poreux, l'on place des a-a avec une solution saline.

Si pH solution > pHi, les a-a anioniques migrent vers l'anode (+).

Si pH solution < pHi, les a-a cationiques migrent vers la cathode (-).

f) Propriétés chimiques liées au groupe:

Cf AcAm 8 à 15.

-Capacité à fixer un radical phosphate.

-Oxydation de la cystéine en cystine (= pont disulfure).

-Formation d'ester.

-Formation d'amide.

-Décarboxylation.

-Désamination.

-Formation d'imine.

-Formation de dérivés N-acylés.

3. Les protéines.

Une protéine est un assemblage d'a-a liés à la suite les uns des autres.

Polypeptides < 100 résidus < protéines.

A. Liaisons peptidiques.

Caractéristiques de la liaison:

-Mobilité des électrons entre O, C, amine et H.

-Rigidité entre C, N, H et O.

-Angle de rotation autour du C $\alpha$ .

-Présence éventuelle de boucles dues à un pont disulfure entre deux résidus cystéiniques. Le pont disulfure peut être sur une même chaîne (= intracaténaire) ou entre deux chaînes (= intercaténaire).

Rq: Le pont disulfure est une liaison covalente.

Propriétés physico-chimiques des protéines:

-Les protéines ont un poids moléculaire exprimé en Dalton (Da):

1Da= 1 masse d'H.

1a-a= 110.

-La solubilité varie en fonction du pH, (de la T) et de la force ionique.

Cf Prot 7.

Rq: les histones sont les seules solubles dans l'eau pure.

Si la force ionique est trop grande, il y a précipité (procédé de relargage).  
L'on parle de caractère amphotère lorsqu'à la fois basique et acide.

Cf Prot 13.

Le glutathion (= glutamate + cystéine + glycocolle =  $\gamma$  glutamil-cystéinyl-glycocolle) est le plus peptide, c'est un transporteur d'H, il peut exister sous forme réduite ou oxydée.

B. La structure primaire.

La structure primaire d'une peptide ou d'une protéine est l'ordre dans lequel est arrangé les a-a. Elle comprend les liaisons covalentes (et les ponts disulfures). Le NH<sub>2</sub> libre est l'extrémité N-terminal par opposition à l'extrémité C-terminal.

C. La structure secondaire.

Disposition régulière dans l'espace des a-a proches. Cette disposition est fonction des rotations autour du C $\alpha$ , dépendant de  $\Phi$  et de  $\Psi$  (= angle de rotation de la première et deuxième liaison du C $\alpha$  autre qu'avec R et H). Elle se trouve stabilisée par des liaisons covalentes.

Il existe trois sortes de structure secondaire:

-Hélice  $\alpha$ : avec un pas vers la droite de 4 a-a mais parfois 3 comme dans le collagène. En laboratoire, il possible d'obtenir des hélice  $\alpha$  de pas à gauche. Les hélices  $\alpha$  droites sont stabilisées par des liaisons H avec des a-a(n) et des a-a(n+4).

Tous les CO et CH sont utilisés pour créer des liaisons H au sein de l'hélice.

Il existe des enroulement d'hélices sur elle-même ou entre-elles; l'on parle d'enchevêtrement. C'est le cas dans la myosine, la fibrine ou la kératine; il est intéressant de noter que les protéines fibrillaires ne contiennent que des hélices  $\alpha$ . Ces dernières confèrent aux protéines fibrillaires leurs résistance à l'étirement, leur solubilité et leur dureté (flexibilité variable).

-Feuillet  $\beta$ : structure caractérisée par des repliements de chaînes: structure parallèle ou antiparallèle (comme dans l'ADN). Les structures en feuillets  $\beta$  antiparallèles sont plus fréquents que celles en parallèles.

La fibroïne de la soie qui est une protéine fibreuse est la seule à ne comporter que des feuillets  $\beta$ .

-Coude  $\beta$ : relie deux feuillets  $\beta$ , antiparallèles via 4 a-a (dont la glycine et la proline) nécessaires à la formation du coude  $\beta$ .

D. La structure tertiaire.

Assemblage des formes cellulaires (hélice  $\alpha$ , feuillets et coudes  $\beta$ ) dans les trois directions de l'espace par pliage de chaînes.

C'est le résultat de liaisons qui ne sont jamais covalentes. Stabilisation de boucles en reliant des a-a voisins ou non, ce dernier cas étant d'ailleurs le plus fréquent.

Si les protéines fibrillaires n'ont qu'un seul type de structure (secondaire), ce n'est pas le cas des protéines globulaires qui, comportant des hélices  $\alpha$  et des feuillets  $\beta$ , sont sujettes au compactage conféré par la structure tertiaire. La structure tertiaire détermine le site actif.

La ribonucléase, enzyme qui clive l'ARN, comporte 124 résidus a-a et 4 ponts disulfures. Par adjonction d'urée et de  $\beta$  mercapto (signifie présence de soufre) éthanol, nous obtenons une pelote statistique c'est à dire sans activité enzymatique, du fait que les ponts disulfures ont été éliminés. Par dialyse, l'urée et le  $\beta$  mercapto éthanol sont rejetés pour redonner la ribonucléase. Toutefois, si l'on retire l'urée dans un premier temps, la molécule ne retrouvera que 1% de son activité enzymatique.

Le fait que la molécule se reconstitue si vite reste un mystère car à compter de  $10^{-13}$  s pour essayer une possibilité, le temps serait casi infini. L'on suppose que les structures secondaires participent grandement à l'accélération de la reconstitution.

Toutes les molécules ne se replient pas spontanément, elles sont guidées par des molécules chaperonnes pour se replier.

E. La structure quaternaire.

Résultat de liaisons non covalentes entre a-a de chaînes polypeptidiques séparées (= sous unités) donc structure quaternaire lorsqu'il y a agglomération de plusieurs sous unités ensemble.

L'hémoglobine comporte 4 sous unités, la pyruvate DH: 102,...

Les liaisons sont détruites par les agents dénaturants tels que l'urée,...

Les liaisons entre plusieurs sous unités impliquent une relation dans l'espace. Si une sous unité est modifiée, toute la structure est altérée.

Histones, constituants des nucléosomes sont associés en plusieurs sous unités.

Rappelons qu'une sous unité est une chaîne d'a-a constituants la structure quaternaire de la protéine.

Un polymère est un assemblage de protomères (quand les sous unités sont différentes) ou de monomères (quand les sous unités sont identiques).

Ces éléments s'associent par des surfaces complémentaires qui s'emboîtent.

Oligomère < 6-8 sous unités < polymère.

Groupement prosthétique + apoprotéine (= protéine mais c'est le terme approprié dans cette réaction)= hétéroprotéine.

-Groupements esters phosphate  $-OPO_3H_2$ : phosphoprotéines (protéines du lait= caséines).

- Groupements esters sulfate  $-\text{OSO}_3\text{H}$ : sulfoprotéines.
- Groupements osidiques: glycoprotéines.
- Molécules lipidiques: lipoprotéines.
- Atomes de métal: métalloprotéines.
- Pigment (substance colorée): chromoprotéines.
- Acide nucléique: nucléoprotéines (ribosomes).