

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.

-Force de Van der Waals: force attractive non spécifique lorsque deux atomes sont à la distance $d = 0,3 \text{ à } 0,4 \text{ nm}$. 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.

Rq: Pour savoir s'il y aura liaison ionique ou covalente on peut utiliser ces règles qui donnent une idée grossière de la liaison qu'on peut attendre.

Il y a liaison ionique entre deux éléments si l'un des deux appartient au bloc s (à l'exception de H et de Be).

Il y a liaison covalente si les deux éléments appartiennent au bloc p.
En termes de la différence d'électronégativité ΔX :
Il y a liaison ionique si ΔX est à peu près égal, ou supérieur à deux.
Il y a liaison covalente si ΔX est à peu près égal, ou inférieur à un.
Lorsque la valeur de ΔX est intermédiaire entre un et deux la liaison n'est pas clairement ionique, ni clairement covalente. Nous verrons plus tard comment interpréter cette liaison "intermédiaire".

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 (très faiblement).

Son radical R est un H. Seul a-a symétrique donc optiquement inactif. Neutre.

-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. C'est un aa branché.

-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^* . C'est le plus hydrophobe des aa.

-Méthionine: aa soufré, hydrophobe. Les deux derniers C sont séparés par S (moins réactif que dans cystéine) ce qui confère un caractère polaire car susceptible de liaisons H. 1e aa de séquence par la suite enlevé.

-Proline: seul aa à chaîne latérale sur $C\alpha$ avec amine II (inhabituel) c'est à dire imine (on devrait parler d'acide iminé et non aminé). 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. Noyau pyrrole.

-Cystéine: 2e a-a soufré, fonction thiol R-SH ou sulfhydrile. Cystéine/cystine est un couple redox. Dans cellule (milieu réducteur donc cystéine sous forme réduite c'est à dire sans ponts disulfure contrairement aux protéines extracellulaires).

b) Chaîne latérale aromatique (cycle plan):

-Phénylalanine: seul a-a hydrophobe du groupe (très hydrophobe); c'est l'un des aa les plus hydrophobes. Le moins réactif des aromatiques.

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

-Tryptophane: 2 noyaux alcoolés (cycle benzénique + pyrrole = noyau indole). a-a le plus rare dans les protéines donc de l'organisme. Plus réactif que phénylalanine mais moins que tyrosine.

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

-Arginine (+): basique, chaîne latérale à noyau guanidinium (= 1C entouré de 3 amines dont la charge totale du fait des électrons délocalisés est +). C'est l'a-a le plus polaire et le plus basique. Partie initiale de l'aa à caractère hydrophobe, partie finale (guanidinium) chargé +.

Le plus polaire et le plus chargé des aa.

Conditionnellement essentiel car chez l'enfant production par l'organisme insuffisante. Dégradé dans intestin. Précurseur de NO, proline,...

-Lysine (+): basique, toujours chargée +. Amphipatique.

-Histidine (+): basique, polaire (noyau imidazole). a-a fréquent dans le site actif des enzymes. Neutre ou chargé selon pH.

aa essentiel (synthétisé par les bactéries de l'intestin).

-Aspartate (-): acide aspartique mais à pH neutre, les fonctions sont ionisées donc on le nomme aspartate (1C + un carbonyle). Chaîne latérale toujours chargée moins. aa chargé très hydrophile.

-Glutamate (-): acide, homologue > de l'aspartate. a-a le plus fréquent dans l'organisme. aa le plus fréquent dans les protéines des organismes.

C'est le 5e goût: exhausteur de goût.

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

-Sérine: a-a alcool (OH; c'est une fonction polaire). Faiblement polaire, hydrophile.

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

-Asparagine: a-a à fonction CO-NH₂ donc amide (a-a polaire). Fonction amide (non ionisable à l'inverse des amines) mais confère un caractère polaire.

-Glutamine: a-a amidé, homologue > asparagine. Fonction amide. Très présent dans l'organisme au même titre que le glutamate.

Rq: Les aa branchés ne sont pas dans les hélices α .

e) a-a non standard:

-Ils proviennent de modifications post traductionnelles:

4 hydroxy proline (importante dans structure collagène).

N méthyl-lysine.

-Sélénocystéine: véritablement codé par un codon stop: UGA. C'est le 21^e aa.

La sélénocystéine est un acide aminé rare, qui entre dans la constitution de certaines protéines (glutathion peroxydase...) que l'on nomme sélénoprotéines. Contrairement à la plupart des acides aminés rares (n'appartenant pas à la série des 20 acides aminés communs aux polypeptides), la sélénocystéine n'est pas formée après la traduction de l'ARNm, mais intégré directement lors de la constitution de la chaîne polypeptidique. Il existe en effet un ARNt permettant l'intégration de cet acide aminé dans la chaîne polypeptidique en formation. Contrairement à ce que son nom laisse souvent penser la sélénocystéine est formée à partir de la sérine (et non de la cystéine), où l'atome d'oxygène de la chaîne latérale est remplacé par un atome de sélénium.

Pyrrolysine (codé par codon stop: UAG).

-aa artificiels: ce sont des acides γ aminés (NH₂ en position terminale) linéaire. Base en chimie des polyamides.

B. Propriétés générales des a-a.

a) L'hydrophobicité est synonyme d'apolarité.

b) Charges et propriétés acido-basiques:

Cf AcAm 7.

Sigmoïde:

-1^e point d'inflexion: pK₁ (pK du carboxyle (1/2 COOH, 1/2 COO⁻) entre pH 2 et 3.

-pH isoionique (= pHi): sous forme ionisée, neutre.

$pH_i = 1/2 (pK_i + pK_j)$.

Pour un aa monocarboxylique et monoaminé: $pK_i = pK_1$ et $pK_j = pK_2$.

aa dicarboxylique: $pK_i = pK_1$ mais $pK_j = pK_r$ (pK de la chaîne latérale R).

aa diaminé: $pK_i = pK_r$ et $pK_j = pK_2$.

Au pHi, majorité des aa sous forme de zwitterion, mais 5 aa sont ionisés:

aspartate (- et $pK_r = 3,6$), glutamate (- et $pK_r = 4,2$), lysine (+ et $pK_r = 10,5$), histidine ($pK_r = 6,0$), arginine (+ et $pK_r = 12,5$).

L'histidine a un rôle tampon important.

Les aa se comporte comme des acides et des bases = amphotères.

-2e point d'inflexion: pK2 (pK de l'amine entre pH 9 et 10).

De pK1 à pK2 il y a déprotonisation.

pK1 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 a-a ionisables ont une sigmoïde présentant 3pK au lieu de 2.

c) Spectre d'absorption (ou densité optique).

Les radicaux des a-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.

1 C* donne deux isomères optiques.

L'ensemble des possibilités = stéréoisomères.

Énantiomères (série D et L)= 2 isomères optiques en miroir.

Série D: amine à droite. Série L: amine à gauche (c'est le plus courant). La série varie en fonction des paramètres expérimentaux.

d) Mis à part la glycine, tous les a-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 α .

- 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 sans unités ou en Dalton (Da):

1Da = 1 masse d'H = 1 uma.

1 α -a = 110.

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

La force ionique est proportionnelle à la valence des ions.

Si μ est faible $\rightarrow$ faible concentration ionique.

μ_0 : force ionique nulle donc concerne l'eau pure.

À pHi, solubilité minimum pour une protéine considérée.

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. Le caractère amphotère des protéines est uniquement porté par la chaîne latérale.

Pour toute protéine, faible μ (différent de 0) $\rightarrow$ solubilité maximum.

Pour T = 37°C $\rightarrow$ solubilité normale.

Si T > 40°C $\rightarrow$ solubilité baisse.

Pour les protéines, si pH > pHi, charge nette -, et si pH < pHi, charge nette +.

Certains aa sont méthylé (méthyle, lysine) ou acétylé (lysine,...) suite à leur traduction.

Joue un rôle de régulation dans histones.

Phosphorylation: régulation de l'activité enzymatique.

Carboxylation sur aspartate, glutamate.

Hydroxylation.

Glycosylation: pour former glycoprotéine.

Cf Prot 13.

Le glutathion (= glutamate + cystéine + glycolle = γ glutamyl-cystéinyl-glycolle) est le plus petit peptide, c'est un transporteur d'H, il peut exister sous forme réduite ou oxydée.

Dans le glutathion, la cystéine sert de régulateur de l'état d'oxydation/réduction de la cellule.

Rq: la liaison glutamate-cystéine est une liaison avec carboxyle dans la chaîne latérale.

Naturellement sous forme réduite car la forme oxydée $\rightarrow$ ponts disulfures entre 2 glutathion.

Insuline:

Chaîne A (21 résidus).

Chaîne B (30 résidus).

Trois ponts disulfures dont 1 intracaténaire (en A) et 2 intercaténaire.

B. La structure primaire.

La structure primaire d'un peptide ou d'une protéine est l'ordre dans lequel sont arrangés les a-a. Elle comprend les liaisons covalentes (et une partie des ponts disulfures).

Le NH₂ libre est l'extrémité N-terminal, toujours écrit à gauche, par opposition à l'extrémité C-terminal, toujours écrit à droite.

Les liaisons peptidiques relient le C* α d'un aa avec C et N donc amidification.

Particularité:

Trois angles (Φ , Ψ et ω) dont un: entre N et O de 0° (cis) ou 180° (trans).

Forme cis ne concerne que 10% des prolines.

La structure I est rigide (ce qui assure la stabilité de la structure III).

Pont disulfure si environnement oxydant (se trouve plus facilement à l'extérieur de la cellule car dans la cellule se trouve le glutathion, molécule réductrice).

C. La structure secondaire.

Disposition régulière dans l'espace des a-a proches. Cette disposition est uniquement fonction des rotations autour du C α , dépendant de Φ et de Ψ (= angle de rotation de la première et deuxième liaison du C α autre qu'avec R et H) et ω , ainsi que des liaisons H (concerne des aa proches). Elle se trouve stabilisée par des liaisons covalentes.

La liaison H est de faible énergie de type électrostatique. Elle s'opère entre un proton et un atome nucléophile. Elle s'établit entre les chaînes latérales d'aa.

2 alcools entre eux, 2 acides entre eux ou 2 amines entre elles.

C'est une force directionnelle: il faut qu'accepteur, H et donneur soient alignés.

Il existe trois sortes de structure secondaire:

-Hélice α : avec un pas vers la droite de 3,6 aa mais parfois 3 comme dans le collagène. En laboratoire, il est possible d'obtenir des hélice α de pas à gauche. Les hélices α droites sont stabilisées par des liaisons H avec des a-a(n) et des a-a(n+4). Les angles Φ et Ψ sont bien déterminés. Si de N-term à C-term l'on tourne dans le sens horaire, il s'agit d'une hélice alpha D. Le centre de l'hélice est vide mais de faible diamètre. Stabilisé par des liaisons H. Concerne tous les aa sauf proline car pas d'amine pour liaison H et structure particulière.

Rq: les hélice alpha G sont moins stables donc moins fréquentes.

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 α . Ces dernières confèrent aux protéines fibrillaires leurs résistance à l'étirement, leur solubilité et leur dureté (flexibilité variable).

-Feuillet β (ou plissé): structure caractérisée par des repliements de chaînes: structure parallèle ou antiparallèle (comme dans l'ADN). Les structures en feuillets β antiparallèles sont plus stables donc 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 β .

C'est un enchaînement plutôt linéaire, instabilité des brins β mais stabilité du feuillet β (union de deux brins ou union de 2 segments du même brin).

-Coude β : relie deux feuillets β , antiparallèles via 3 aa (dont la glycine et la proline) nécessaires à la formation du coude β .

Glycine du fait de sa petitesse et proline du fait de sa forme.

D. La structure tertiaire.

Assemblage des formes cellulaires c'est à dire des structures II (hélice α , feuillets et coudes β) dans les trois directions de l'espace par pliage de chaînes. Stabilisé par l'ensemble des liaisons qui existe en biochimie (une partie des ponts disulfures, liaisons H, liaisons hydrophobes et liaisons électrovalente). Maintient de la structure: 300 KJ/mol (liaison covalente).

Liaison électrostatique (entre charges opposées: basique (lysine, histidine, arginine) et acides (aspartate, glutamate)).

Pont salin.

Liaison de Van der Waals: non spécifique, uniquement du à proximité de 2 atomes séparés par une distance idéale de 0,3 nm. Force importante quand complémentarité des formes.

Liaison hydrophobe: concerne aa hydrophobe (alanine, valine, leucine et isoleucine) + aa aromatique (phénylalanine et tyrosine).

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 α et des feuillets β , sont sujettes au compactage conféré par la structure tertiaire.

La structure tertiaire détermine le site actif.

Classification des protéines:

-protéines globulaires: très soluble, joue un rôle important dans métabolisme.

Tous les enzymes sont des protéines globulaires ($h\alpha$ et $f\beta$).

-protéines fibrillaires: protéines de structure riche en $h\alpha$ (au moins 55% mais peut aller jusqu'à 70%). Elles sont insoluble et résistante (ex: kératine).

La ribonucléase, enzyme qui clive l'ARN, comporte 124 résidus a-a et 4 ponts disulfures. Par adjonction d'urée et de β 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 β 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 chaperons pour se replier.

Structure III nécessite liaison H avant pont disulfure.

Dénaturation des protéines.

-Dénaturation thermique.

Engendre coagulation (emprisonnement des molécules d'eau).

-Dénaturation par pH.

Structure III disparaît.

-Dénaturation chimique.

Métaux lourds vont rompre ponts salins.

Détergents amphipatiques ($\rightarrow$ supprime liaison hydrophobe).

Le collagène:

1/4 de la masse protéique du corps.

Structure I: proline, hydroxyproline et glycine.

Hélice G à 3 résidus par tour donc plus compact qu'hélice α .

Pas stabilisé par pont H interne.

Fibrille de collagène: super hélice de 3 brins qui sont associées et tournent à D.

Stabilisation par liaison H interchaîne.

L'hydroxyproline est indispensable à cette structure. Proline hydroxylée en 4.

L'hydroxylation nécessite un cofacteur: la vit C.

La dénaturation thermique du collagène donne la gélatine.

La kératine:

C'est une protéine fibreuse. Structure en hélice α droite, stabilisée par liaisons hydrogènes dans même sens que la fibre ce qui permet des étirements (jusqu'à feuillet β).

Trois fibres en α s'entourent entre elles en hélice qui tourne à gauche. Ces fibres sont reliées par des ponts disulfures pour former une protofibrille.

E. La structure quaternaire.

Résultat de liaisons non covalentes (donc hydrogène ou électrostatique) entre α - α 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 sous unités.

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' α - α constituant 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).

Rq: protomère = monomère = chacune des parties équivalentes d'une structure répétitive (= polymère).

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

Oligomère < 6-8 sous unités < polymère.

Hb: 2 sous unités α et 2 sous unités β . C'est une association de deux protomères $\alpha\beta$ donc c'est un dimère.

Quand les sous unités sont toutes identiques, on parle d'homopolymère.

Quand les sous unités sont toutes différentes, on parle d'hétéromère.

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 $-OSO_3H$: sulfoprotéines.

-Groupements osidiques: glycoprotéines (ex: immunoglobuline).

-Molécules lipidiques: lipoprotéines.

- Atomes de métal: métalloprotéines.
- Pigment (substance colorée): chromoprotéines.
- Acide nucléique: nucléoprotéines (ribosomes).