

Biochimie des protéines et des enzymes

Docteur Marie-Hélène PACLET

Plan du cours

I. Biochimie des protéines

- Introduction
- La liaison peptidique
- Structure des protéines
- Implication des protéines dans l'ensemble des processus cellulaires
- Exemples de pathologies impliquant des protéines modifiées

II. Biochimie des Enzymes

- Définitions
- Nomenclature d'après le substrat et la réaction catalysée
- Activité enzymatique
- Notion d'isoenzymes
- Intérêt du dosage d'activité enzymatique en clinique

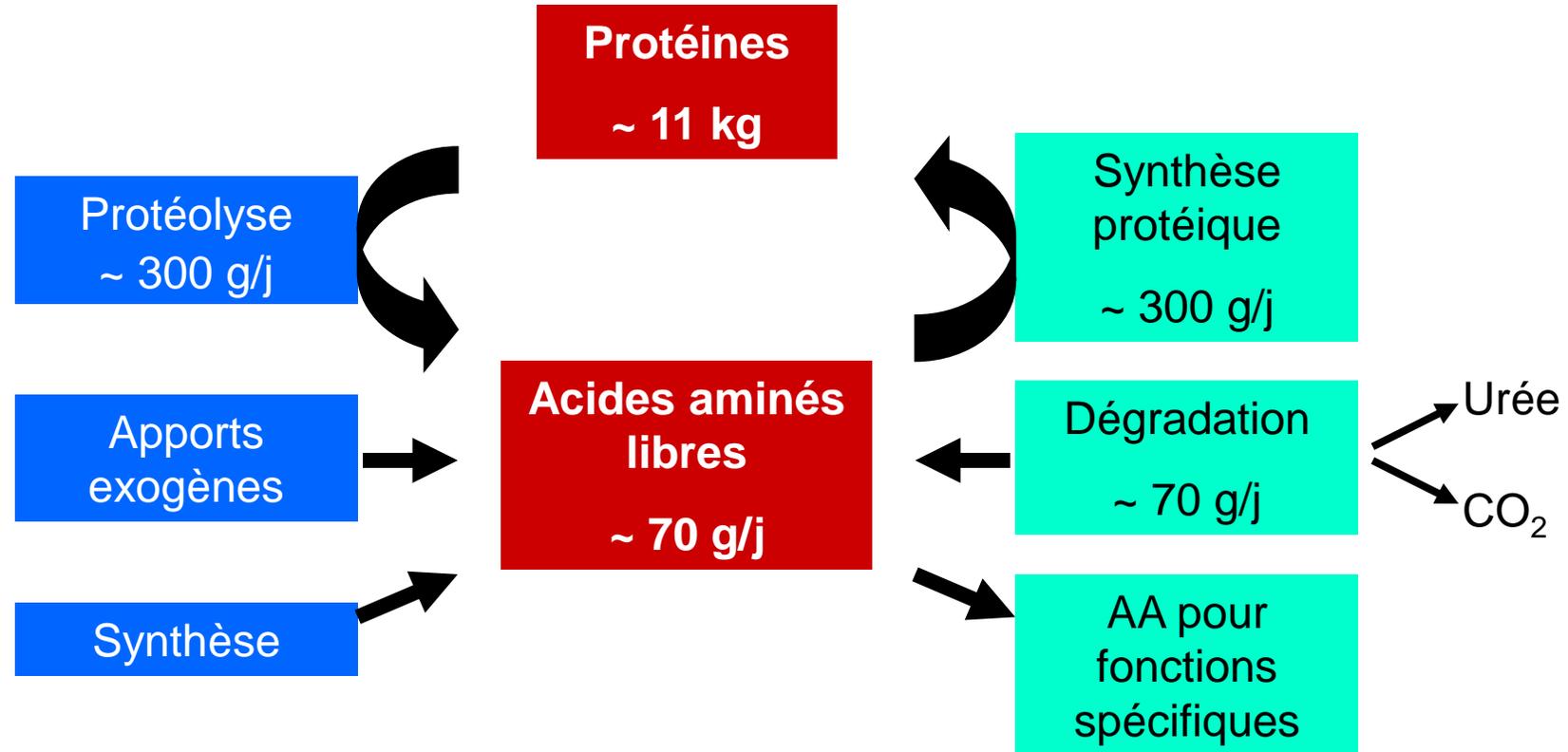
Biochimie des Protéines

Introduction

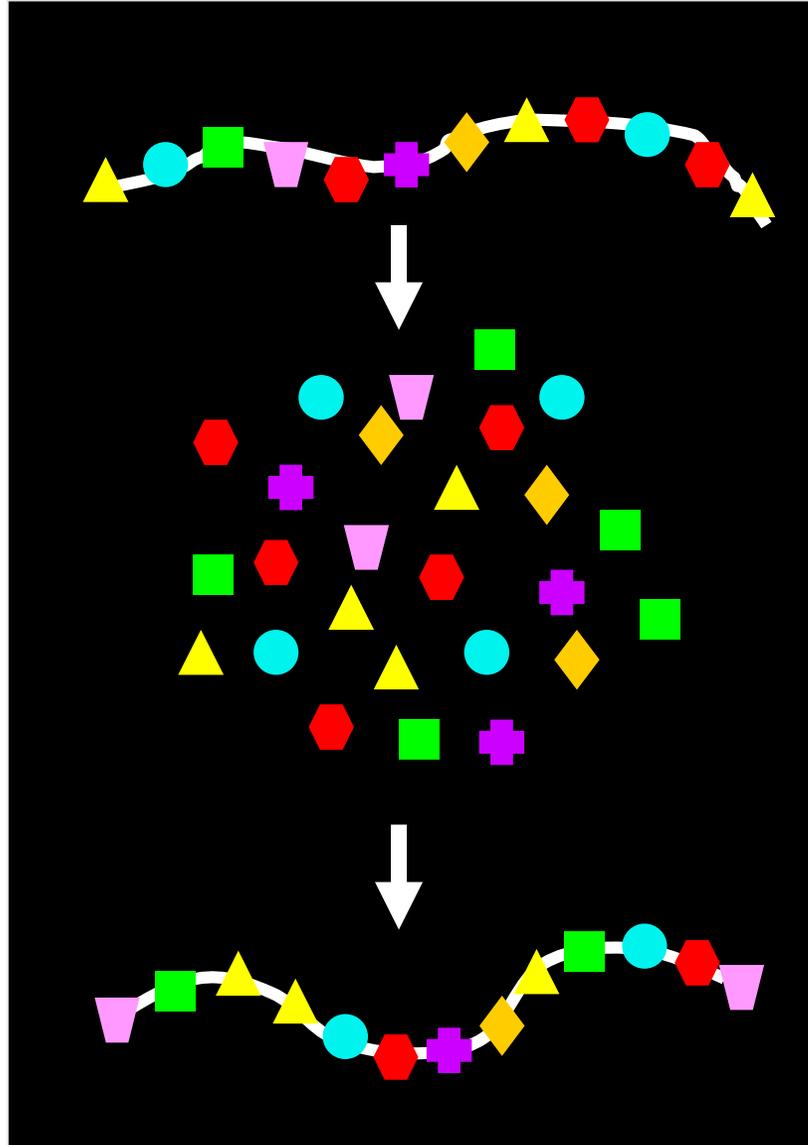
Protéines

- Molécules les plus variées et complexes du monde vivant
- ~ 100 000 protéines différentes synthétisées
- ~ 50 % poids sec d'un être vivant
- Chaînes d'acides aminés (> 50 acides aminés)

Métabolisme protéique



Synthèse des protéines

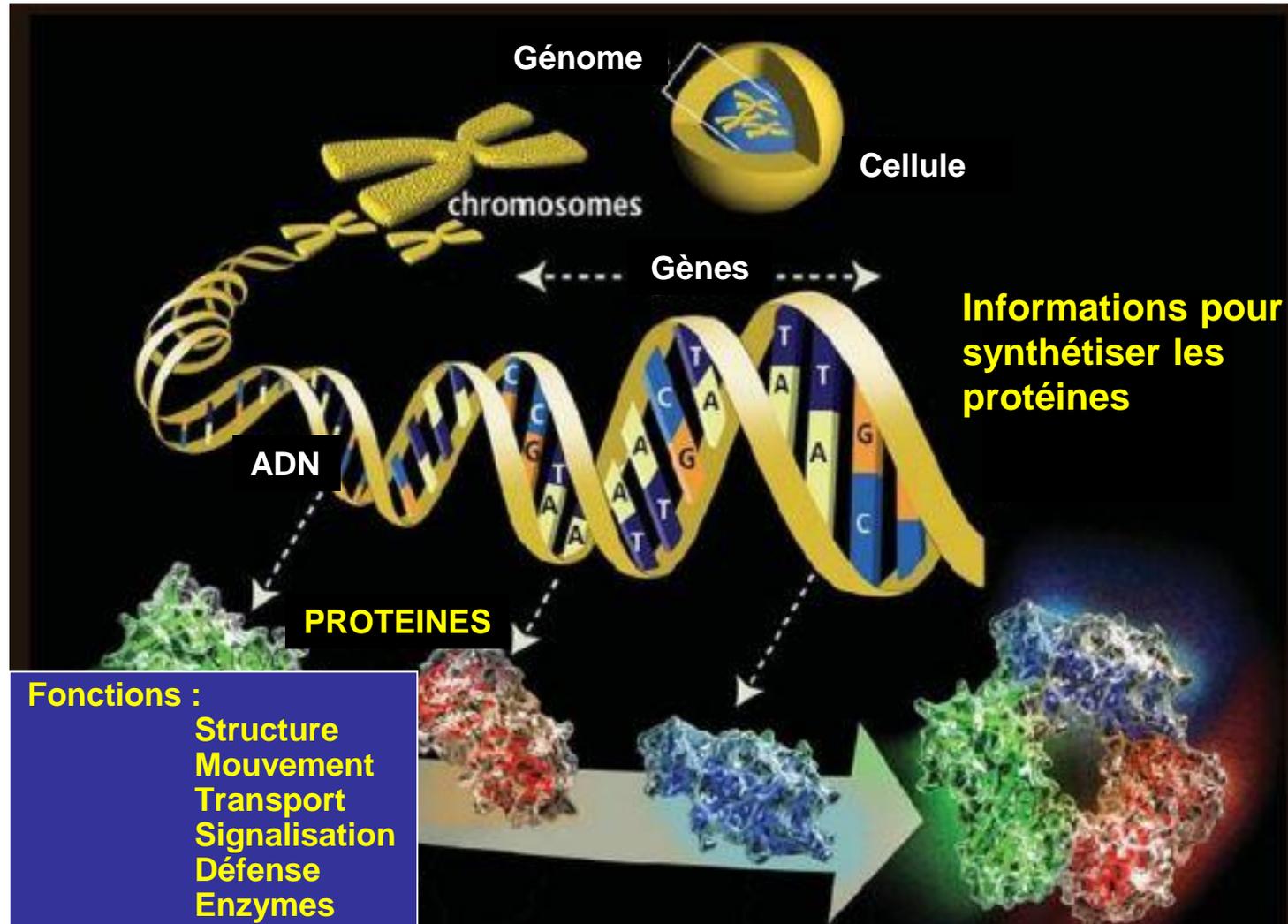


Protéines de l'alimentation
dégradées par les sucs digestifs

Acides aminés libres

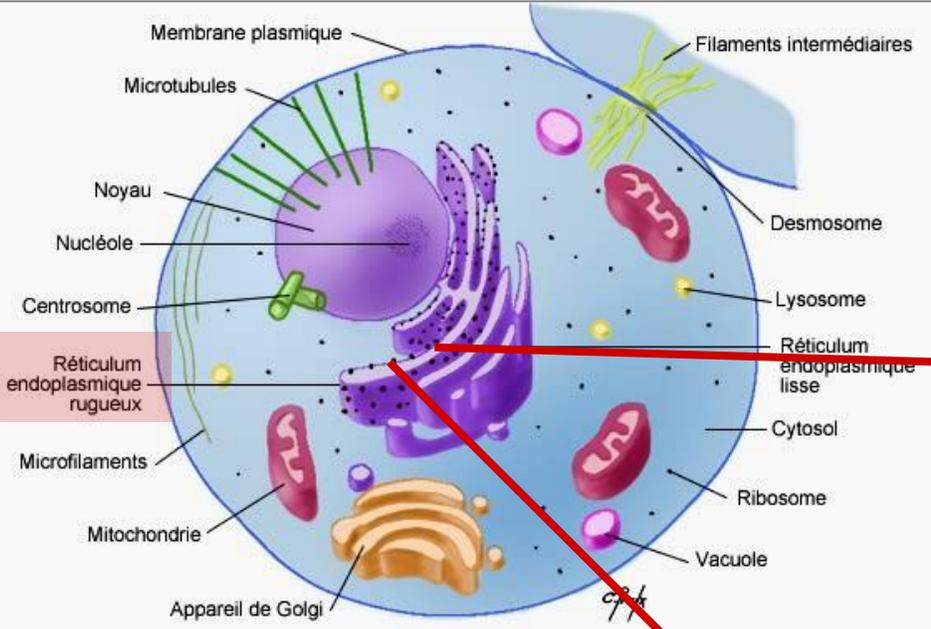
Acheminement vers les
cellules : synthèse de
nouvelles protéines

Synthèse des protéines : *du gène à la protéine*

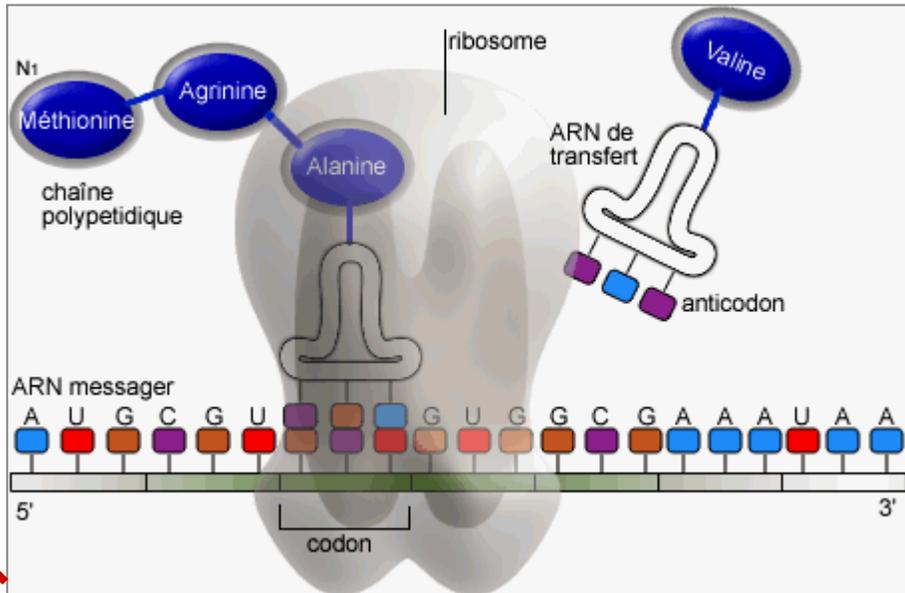


D'après : <http://www.orni.gov/hgmis/publicat/primer2001/>

Synthèse protéique



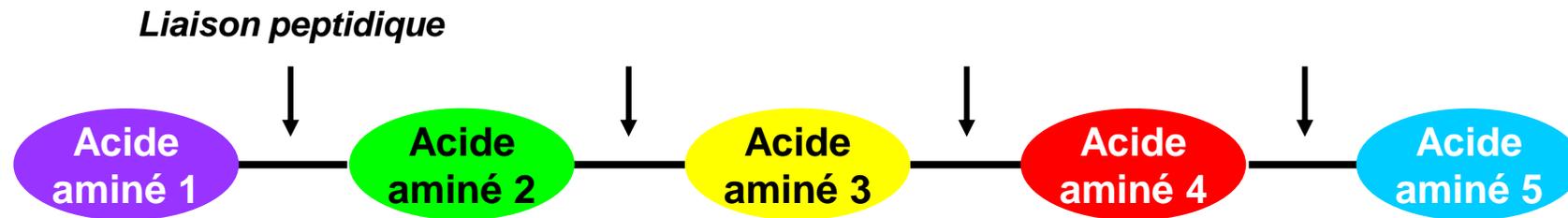
Ribosome



D'après : http://www.colvir.net/prof/chantal.proulx/701/chap3_contenu.htm

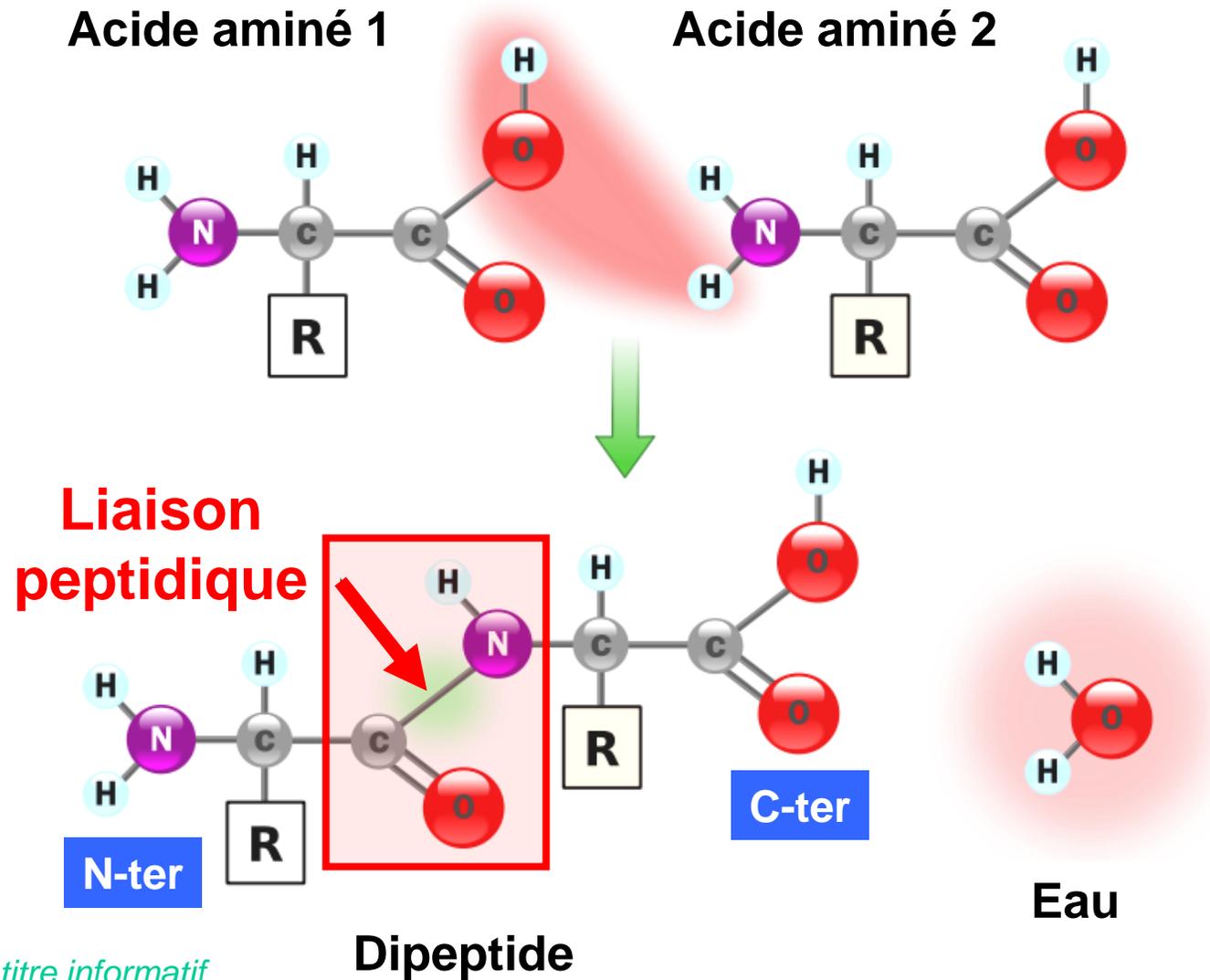
La liaison peptidique

Liaison particulière qui relie 2 acides aminés dans la chaîne polypeptidique





La liaison peptidique



Peptide

- 2 à 50 acides aminés reliés par une **liaison peptidique**

Dipeptide, tripeptide...polypeptide (> 10 AA)

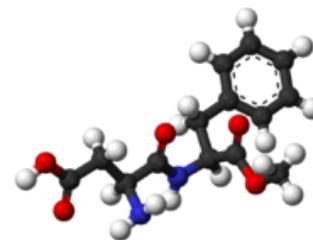
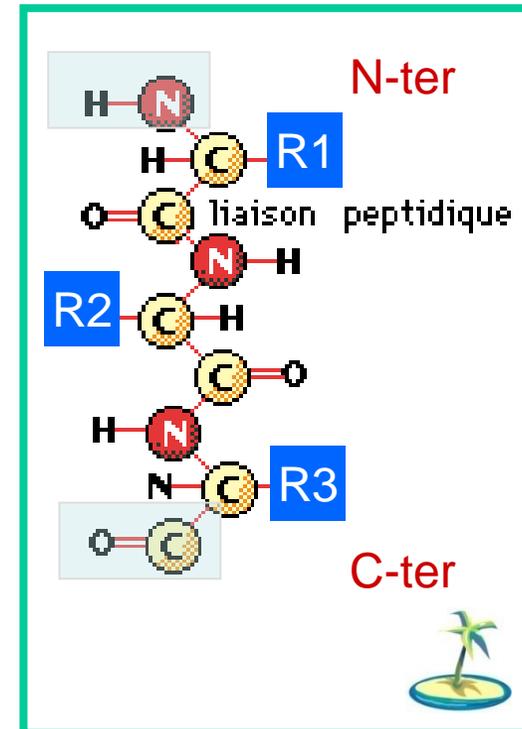
- **Nombreuses activités biologiques**

*ex : Hormones : glucagon (29 aa)
insuline (21 et 30 aa)*

- Exemple : Aspartame

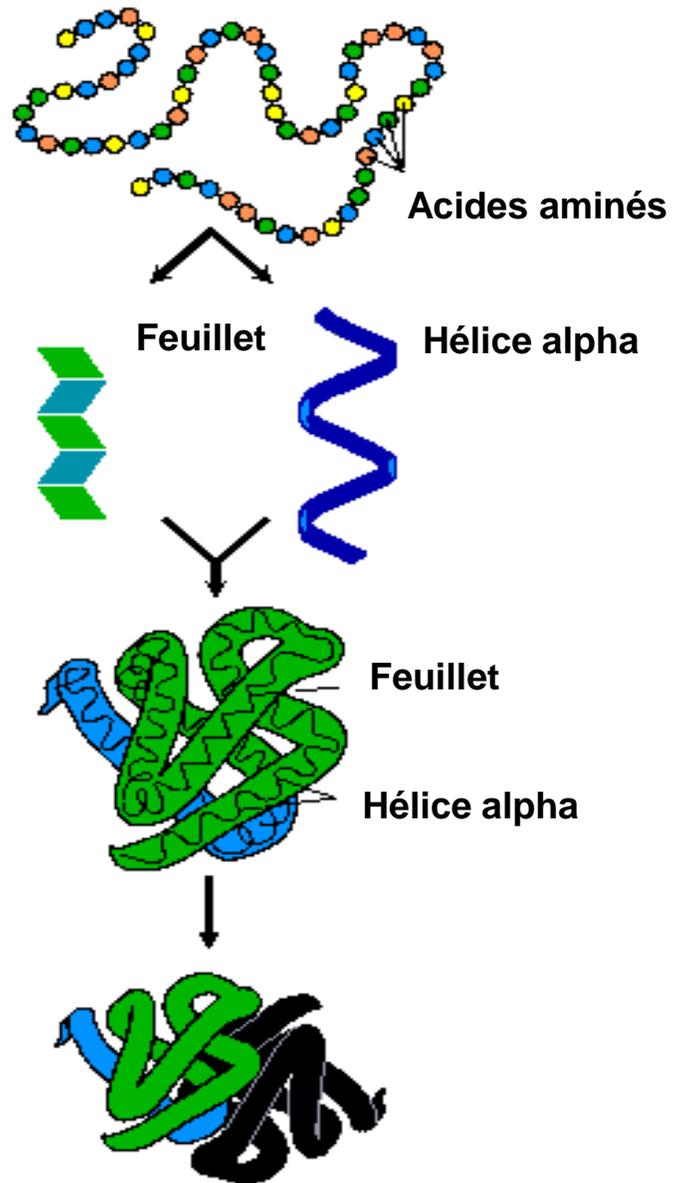
Dipeptide (Asp, Phe)

Edulcorant



Donné à titre informatif

Structure des protéines



1. Structure primaire

Séquence d'acides aminés

2. Structure Secondaire

Repliement local des acides aminés en hélices alpha, feuillets bêta

3. Structure Tertiaire

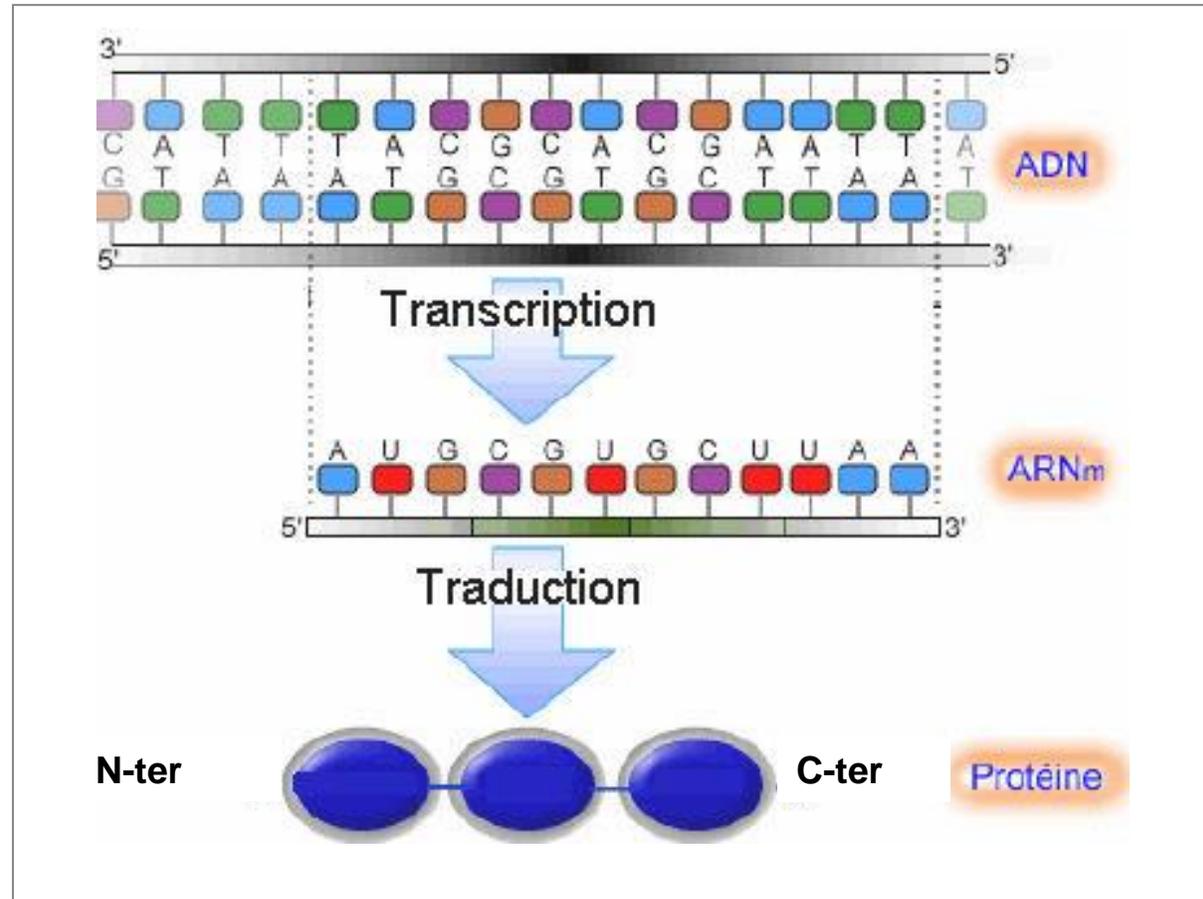
Conformation dans l'espace de ces feuillets et hélices

4. Structure Quaternaire

Agencement des sous-unités entre elles

Séquence primaire

Séquence linéaire unique des acides aminés déterminée par les gènes



Repliement des protéines dans l'espace

SEQUENCE =
linéaire

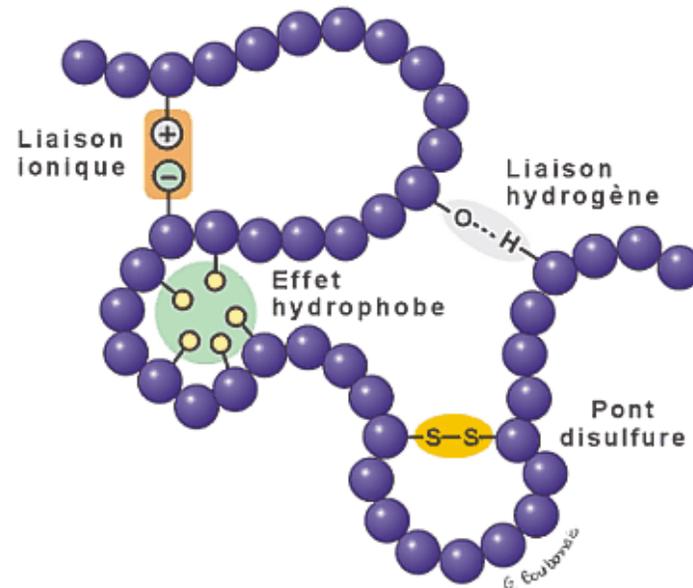


Liaisons entre acides aminés

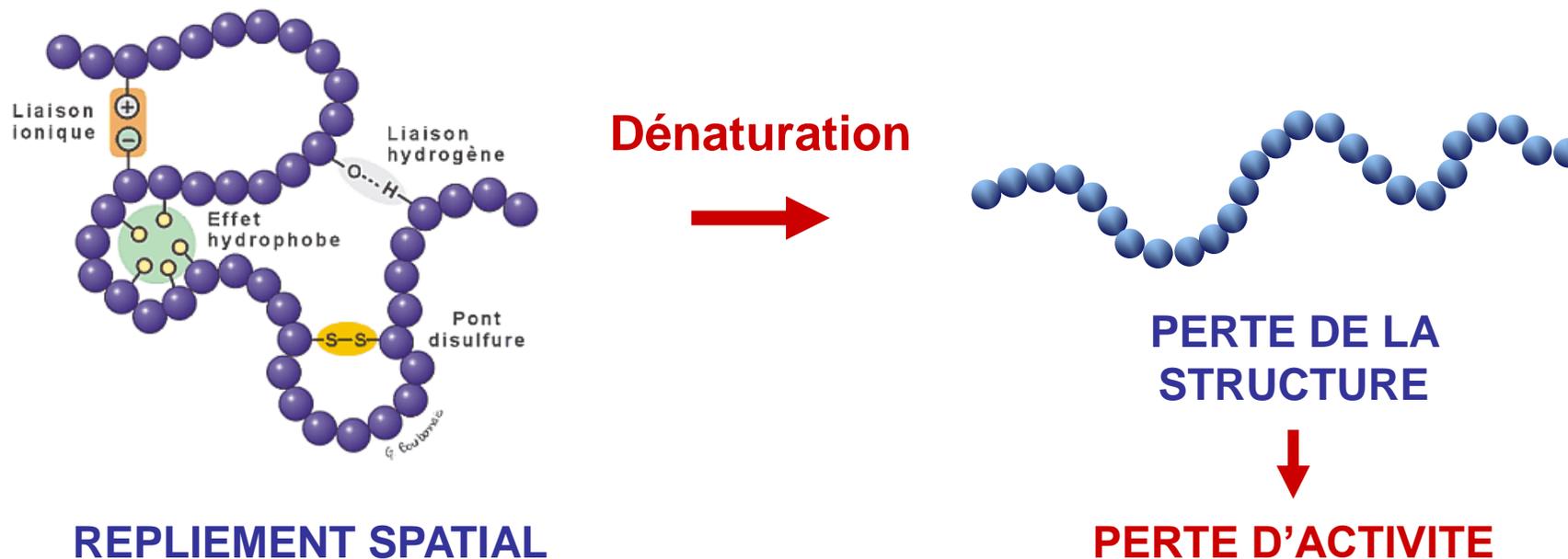
REPLIEMENT SPATIAL
« Forme »



ACTIVITE BIOLOGIQUE



Dénaturation des protéines



Facteurs provoquant la dénaturation des protéines :

- Chaleur (rupture des liaison H)
- pH très acide ou alcalin
- Concentration élevée en ions
- Certains détergents

Contrôle du repliement des protéines

- La structure d'une protéine ↔ sa fonction biologique
- *Protéines chaperonnes*
 - ❖ favorisent le bon repliement des protéines néosynthétisées
 - ❖ rôle dans la prévention des dommages protéiques causés par un stress

Modifications des protéines

Modifications post-traductionnelles :

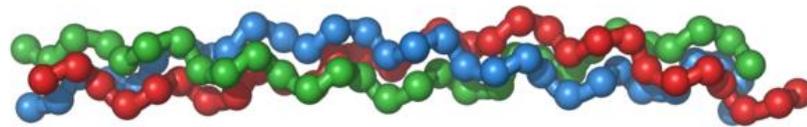
- Modifications qui ont lieu une fois la protéine synthétisée
- Liaison covalente de glucides à une protéine :
 - *glycosylation*
 - ✓ Plus résistantes à la protéolyse (dégradation)
 - ✓ Important dans la signalisation cellulaire (interaction entre protéines)
- Liaison covalente de lipides
 - ✓ Adressage des protéines à la membrane

Rôle des protéines dans l'organisme

Protéines de structure :

le collagène

- Protéine fibreuse la plus abondante de l'organisme
(~ 25% protéines totales)
- Constituant majeur de la peau et de l'os
- Confère une résistance aux tissus



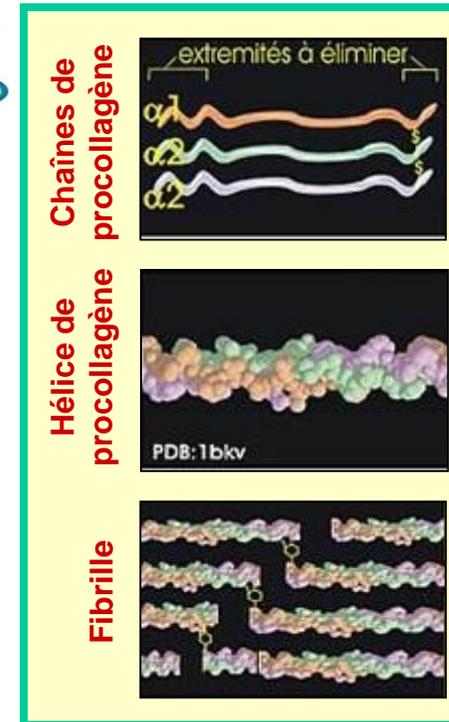
- Pathologies liées à un défaut de synthèse du collagène

1. Le scorbut : carence en vitamine C

- Défaut de synthèse des fibres de collagènes
- Dégénérescence articulaire et gingivale

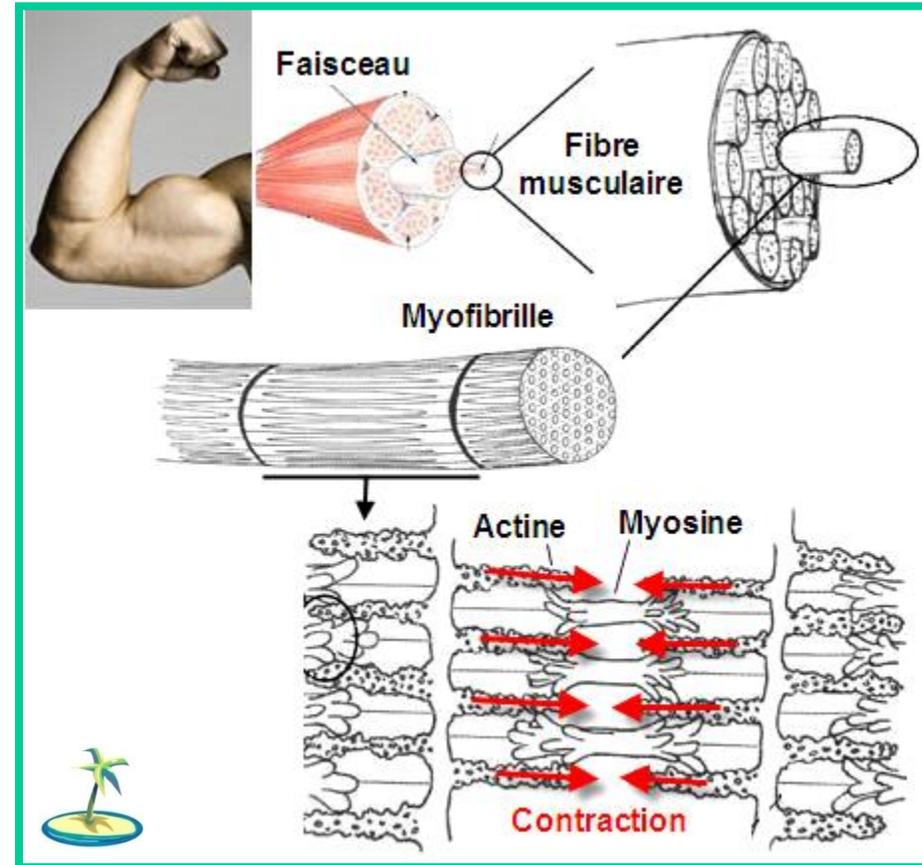
2. Maladie des « os de verre »

- Défaut congénital de synthèse du collagène
- Mutation au niveau d'un des gènes codant pour le procollagène



Protéines du mouvement : l'actine et la myosine

- **Mouvement** = contraction des cellules musculaires
 - Cause : interactions entre 2 protéines *actine et myosine*
 - *Filaments fins d'actine*
 - *Filaments épais de myosine*
- ➔ Raccourcissement du muscle



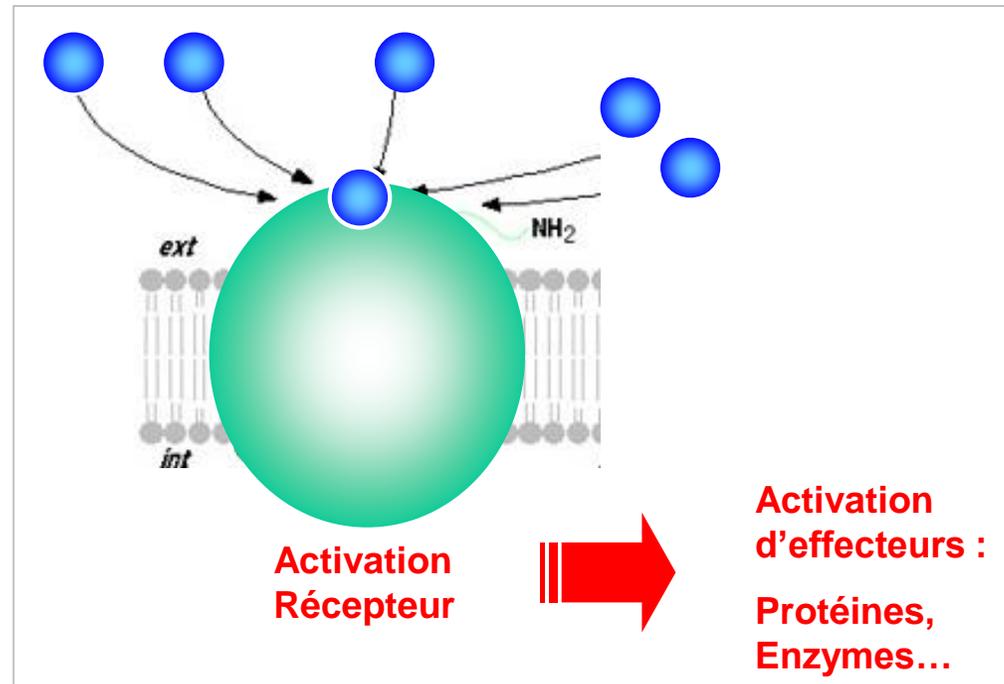
Protéines impliquées dans la signalisation

1. Hormone

- Messenger transporté par le sang qui agit à distance de son site de production par fixation sur des récepteurs spécifiques
- Hormones peptidiques : insuline, glucagon, hormone de croissance

2. Récepteurs membranaires

- Protéines transmembranaires
- Transmission d'un signal à l'intérieur d'une cellule
- Ex : Récepteur d'hormones, de facteurs de croissance...

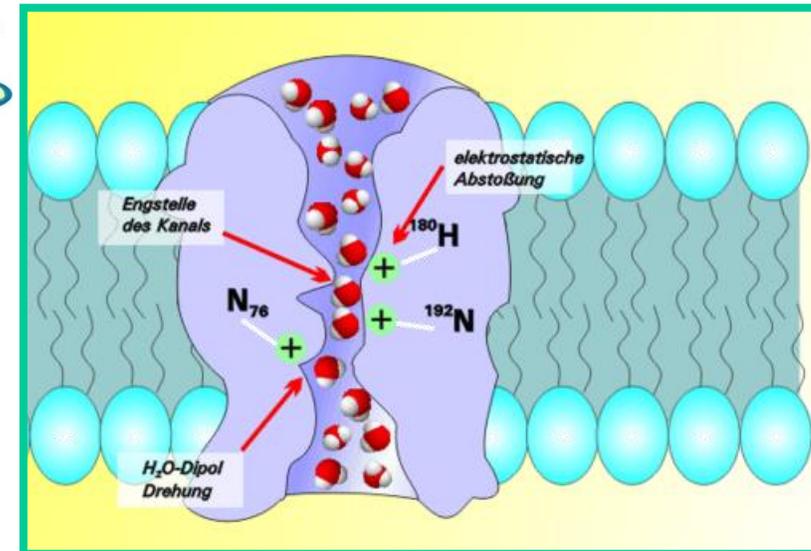


Protéines impliquées dans le transport de molécules

Protéine canal au niveau de la membrane plasmique :
ouverture et fermeture suite à des modifications de structure

Exemples :

Aquaporine : transfert actif de H_2O



D'après : Peter Wolber - <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:AQP-channel.png>

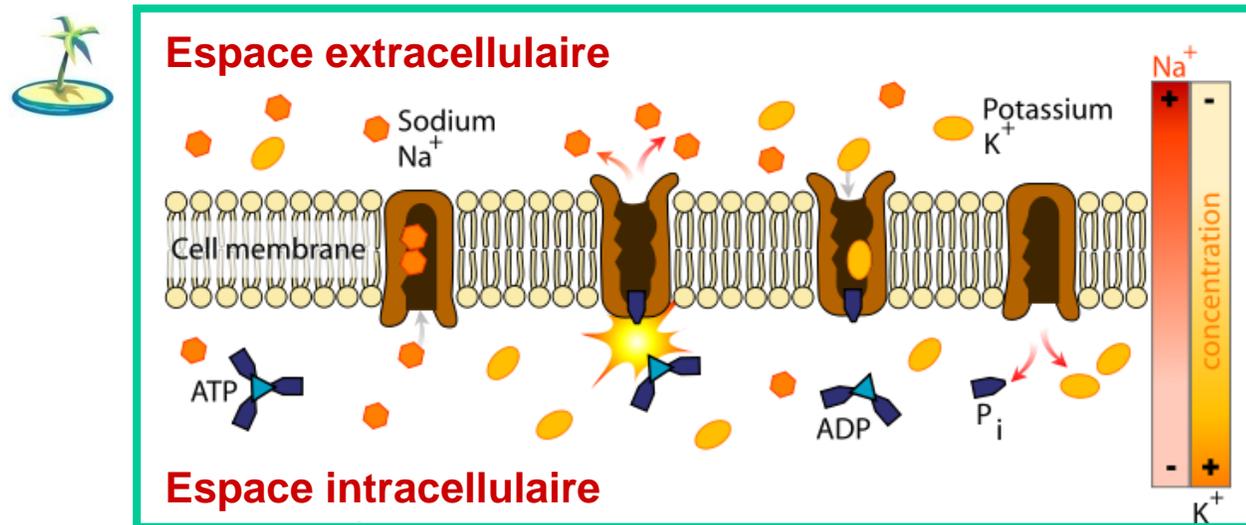


Donné à titre informatif

Protéines impliquées dans le transport de molécules

Canal ionique : transfert actif d'un ou plusieurs ion(s)

Exemple : *Pompe Sodium (Na^+) / Potassium (K^+)*
Transport contre le gradient de concentration



Pathologie liée au défaut d'un canal ionique : *mucoviscidose*

- Maladie génétique la plus fréquente : ~ 1/3000 naissances
- Cause : mutation du gène codant pour un canal à Cl^-

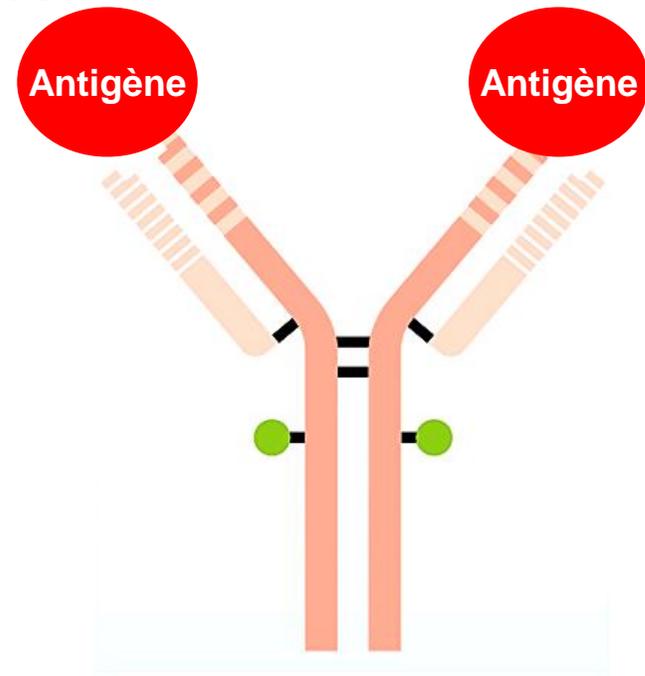


Donné à titre informatif

Protéines impliquées dans la défense immunitaire

Les anticorps

- Protéines du système immunitaire
(*immunoglobulines*)
- Association de 4 chaînes polypeptidiques
- *Rôle : détection et neutralisation*
des agents pathogènes
- Régions variables (spécificité)



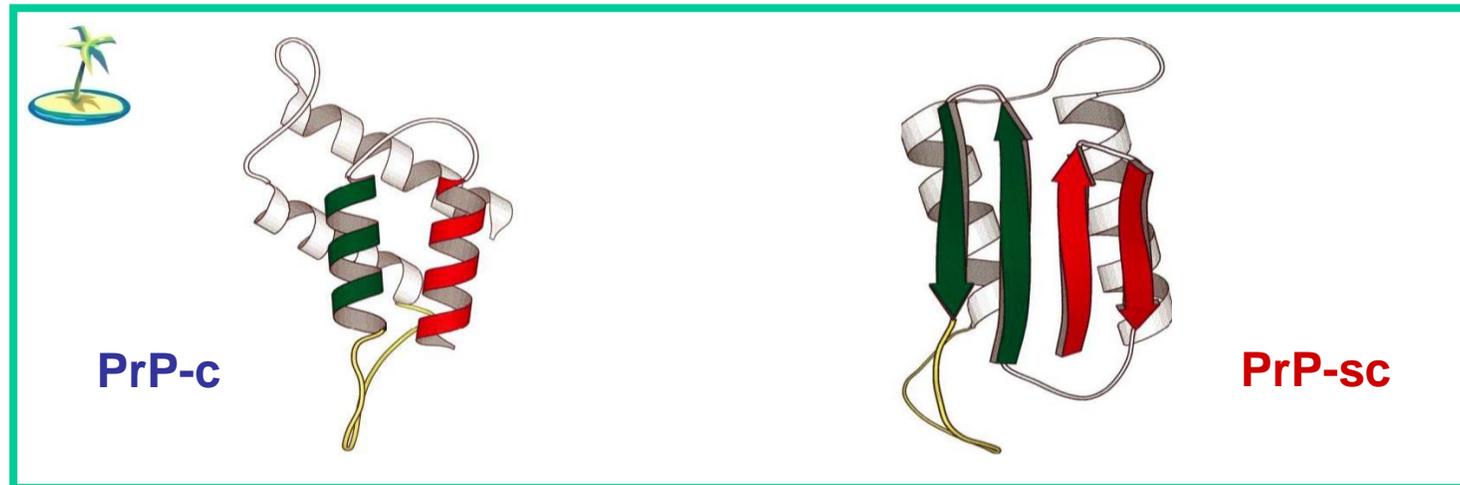
Pathologies impliquant des protéines modifiées

Maladie à prion

Exemple : Maladie de Creutzfeldt-Jakob

- Accumulation *forme anormale d'une protéine : prion*
 - Dégénérescence du système nerveux central
- Protéine normale **PrP-c** (cerveau, moelle épinière)
- Protéine **PrP-sc** : structure 3D modifiée

résistance aux protéases : accumulation



Modèle PrP-c et PrP-sc selon l'équipe de Stantley B. Prusiner

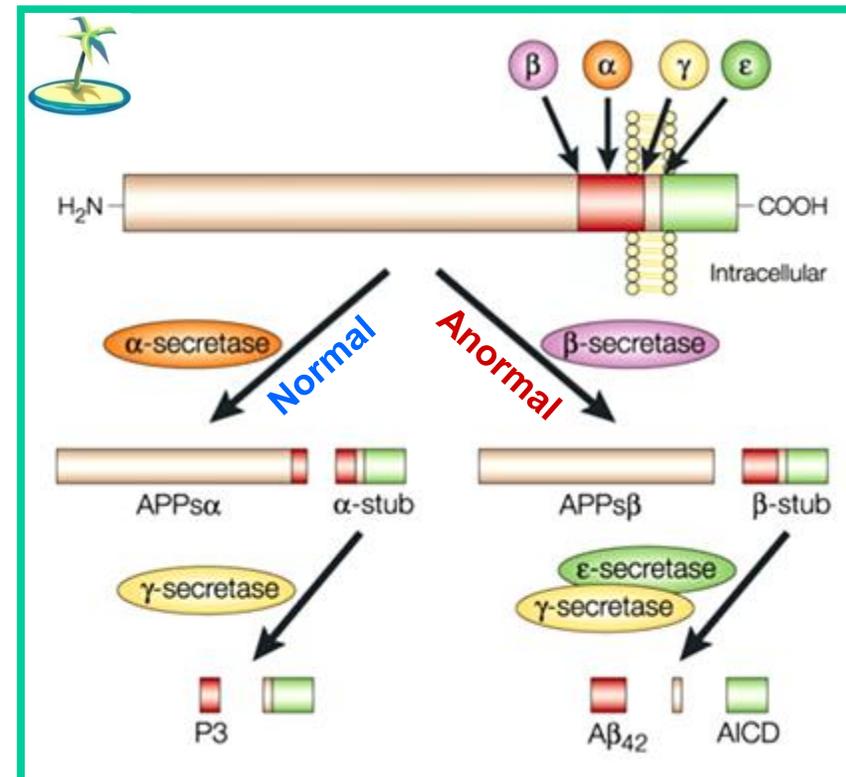


Donné à titre informatif

Maladie d'Alzheimer

- **Démence neurodégénérative** (Fréquence 5 % des plus de 65 ans)
- Accumulation d'un peptide amyloïde : plaque sénile
- **Origine** : *clivage anormal protéine APP* (protéine précurseur amyloïde)
 - Peptide β -amyloïde
 - Accumulation extracellulaire
 - Formation de plaques séniles

(LaFerla F. (2002) Nature Reviews Neuroscience 3, 862-872)



Ai-je bien compris

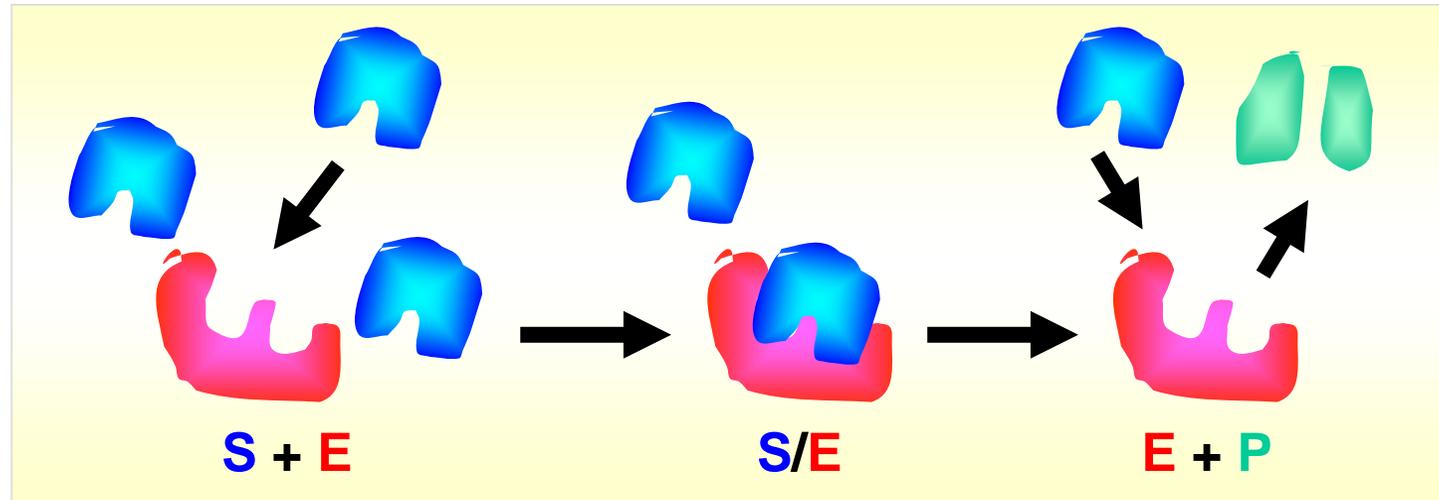
Autoévaluation Protéines

1. Quel type de liaison assemble deux acides aminés ?
2. A quoi correspond la structure primaire d'une protéine ?
3. Qu'est-ce qui détermine la structure primaire d'une protéine ?
4. Qu'est-ce qui est essentiel pour la fonction biologique d'une protéine ?
4. Quel est l'effet de la chaleur sur les protéines ?
5. A quoi servent les protéines dans l'organisme ?

Biochimie des Enzymes

Définitions

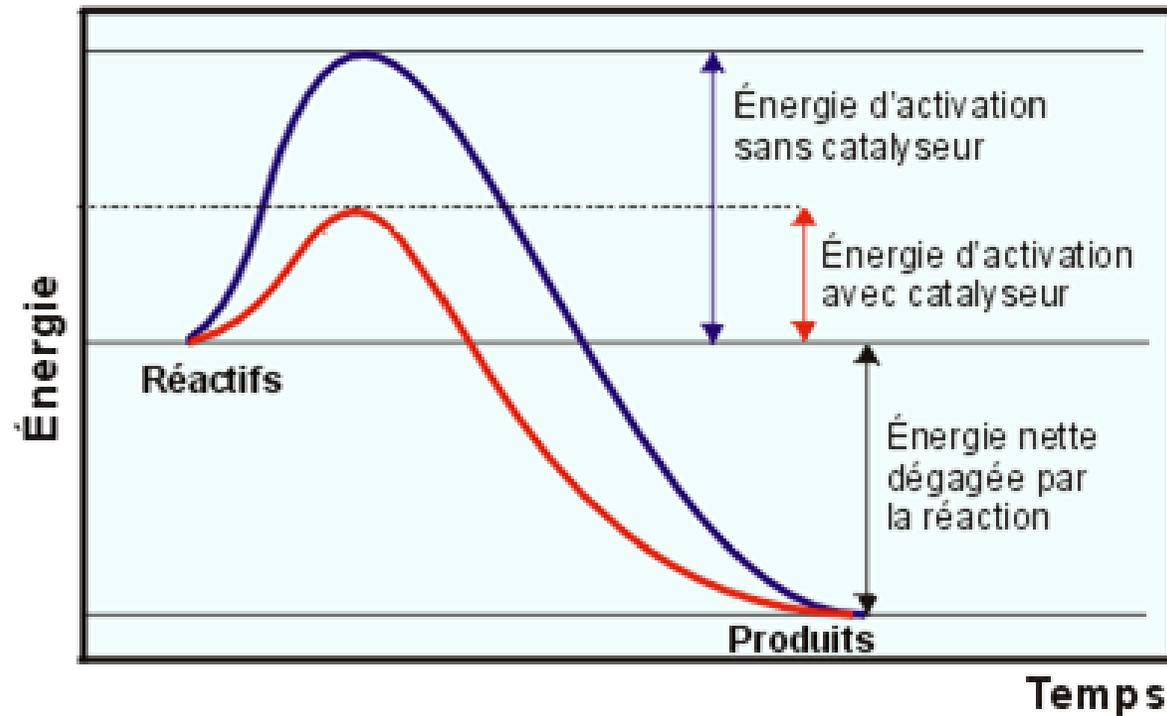
- Enzyme :**
- Catalyseur (accélérateur) de réactions biochimiques
 - Protéine (ou ARN)
 - Agit en petite quantité
 - Inchangée en fin de réaction



- Substrat**
- Molécule transformée au cours d'une réaction enzymatique
- Produit**
- Molécule résultante de la transformation d'un substrat au cours de la réaction enzymatique

Energie d'activation

- Quantité d'énergie à fournir pour initier une réaction chimique
- Enzyme : ↘ énergie d'activation d'une réaction



- Enzyme : catalyseur spécifique

Site actif

{ Site de reconnaissance du substrat
Site de catalyse enzymatique

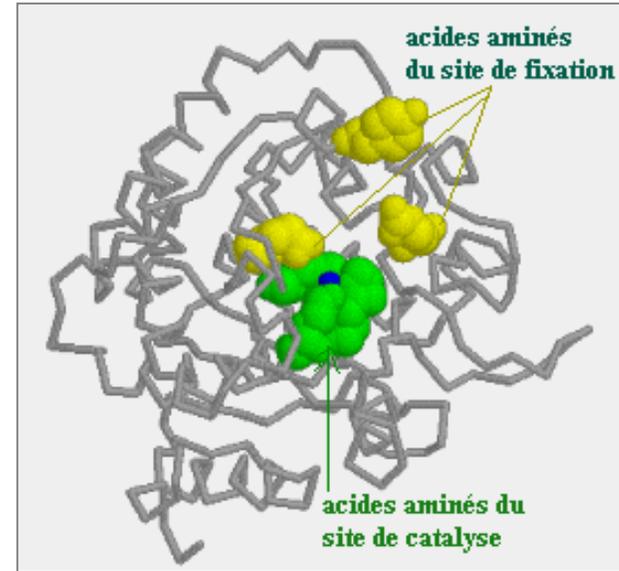
AA nécessaires :

Formation ou clivage liaisons

Reconnaissance de substrat(s) spécifique(s)

Cavité tri-dimensionnelle

1. Taille réduite / taille des enzymes
2. Fente ou cavité en général apolaire (hydrophobe)
➔ *liaison substrat*
4. Multiples interactions ES
 - *Liaisons H*
 - *Liaisons électrostatiques*
 - *Interactions hydrophobes*
 - *Liaisons covalentes*



Cofacteur enzymatique

Certaines enzymes sont exclusivement **protéiques**, d'autres ont besoin d'un **cofacteur** pour fonctionner

Cofacteur : Substance qui rend une enzyme active en s'y fixant

- *ions métalliques (Cuivre, zinc, manganèse)*
- *vitamine*
- ...

Liaison covalente ou liaison faible avec l'enzyme

Très important pour le choix du tube de prélèvement effectué dans le cadre d'un dosage d'activité enzymatique

Nomenclature

Le nom des enzymes se termine par le suffixe « ase »

Nomenclature fonctionnelle : la plus utilisée

- le nom du substrat
- le type de réaction catalysée

Exemple : glucose oxydase

Nomenclature officielle : EC $x_1.x_2.x_3.x_4$ (EC : commission des enzymes)

X_1 : indique le type de réactions (1 à 6)

1 : Oxydoréductases

2 : Transférases

3 : Hydrolases

4 : Lyases

5 : Isomérases

6 : Ligases

X_2 : sous-classe

X_3 : substrat spécifique ou coenzyme

X_4 : numéro d'ordre



Activité enzymatique

Vitesse de la réaction enzymatique : activité d'une enzyme

Exprimée en quantité de substrat transformé par unité de temps

1 Unité internationale (UI) : quantité d'enzyme nécessaire pour transformer 1 μmol substrat / minute

Dosage d'activité enzymatique : exprimé en UI/l

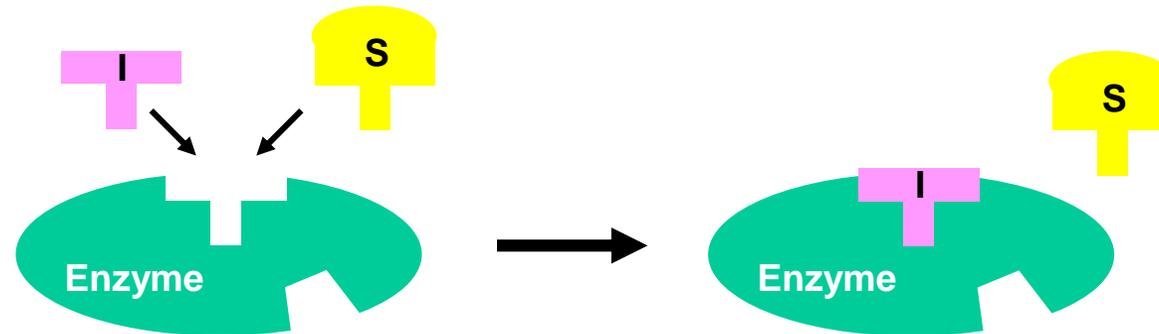
Facteurs influençant l'activité enzymatique

- Température
- pH
- Concentration en substrat
- Concentration en enzymes
- Présence de cofacteurs
- Effecteurs : Activateurs / Inhibiteurs

Inhibition de l'activité enzymatique

1. Compétition enzyme / Substrat : inhibition **compétitive**

L'inhibiteur se lie au niveau du site de fixation du substrat



Exemple :

Certains poisons : **exemple du cyanure**

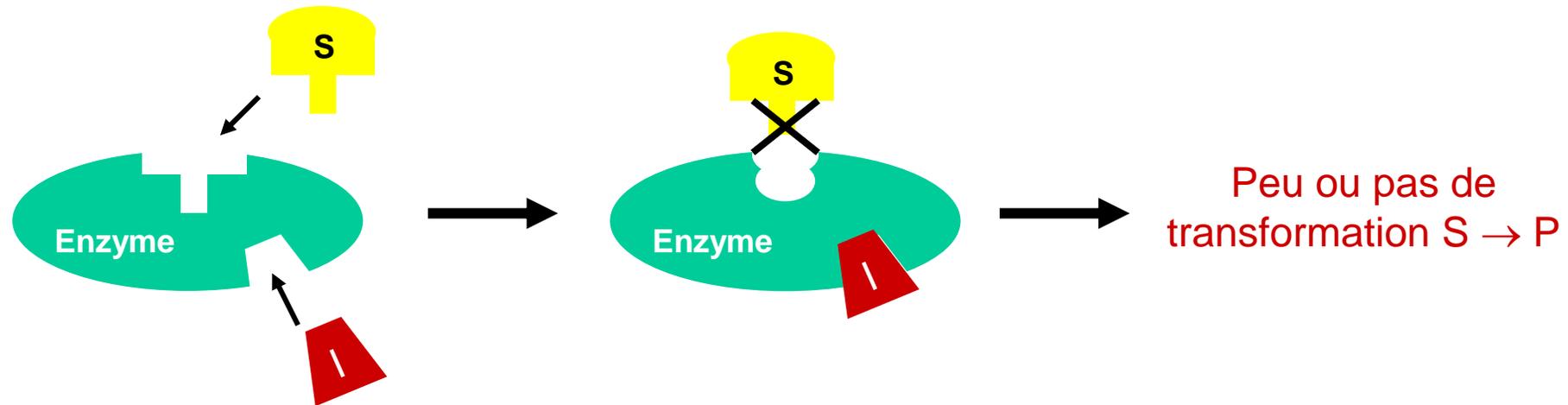
Inhibiteur compétitif de la cytochrome oxydase

Inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale → Mort

Inhibition de l'activité enzymatique

2. Absence de compétition inhibiteur / substrat :

L'inhibiteur se lie au niveau d'un site différent de celui du substrat



Exemple :

Effet de la pénicilline

Inhibe la croissance bactérienne en bloquant une enzyme

Adaptation de l'organisme : *les isoenzymes*

Définition Enzymes catalysant une même réaction mais
codées par des gènes différents
(*séquence différente*)

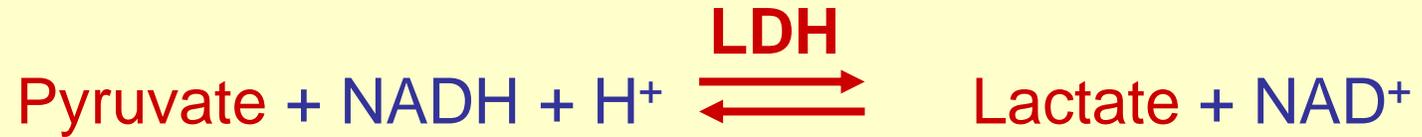
Propriétés Activité différente
Régulations différentes

***Meilleure adaptation au métabolisme :
réponse aux besoins d'un tissu ou d'un stade de
développement particulier.***



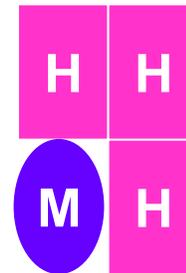
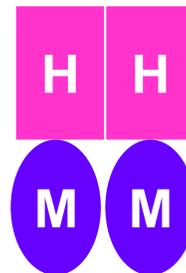
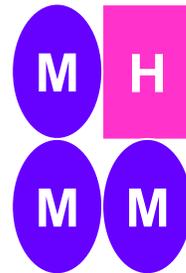
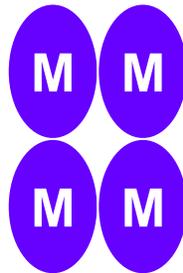
Isoenzymes

la lactate déshydrogénase

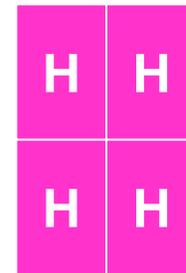


- LDH = formée de 4 sous-unités de 2 types
H (cœur) et M (muscle)

Muscle



Coeur



Isoenzymes



Intérêt du dosage des activités enzymatiques en clinique

Physiologiquement, des enzymes sont libérées dans le sérum

Renouvellement, sécrétion

Bilan enzymatique du sérum

Si lésion d'un organe : augmentation des enzymes provenant de cet organe dans le sérum

Concentration et cinétique d'apparition et disparition

Ex : *Enzymes cardiaques*

Transaminase ASAT

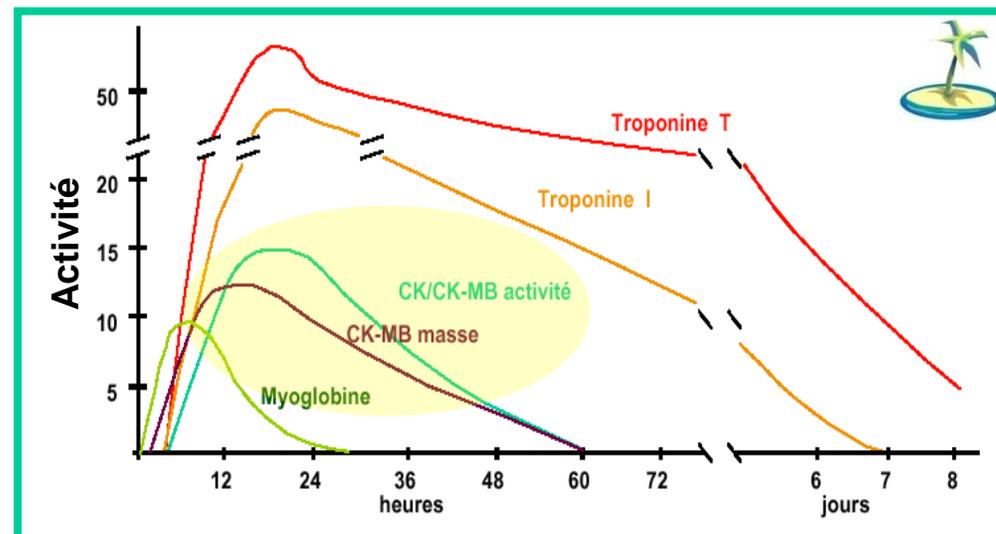
Isoenzyme cardiaque de LDH

Créatine Phospho Kinase (CPK)

Isoenzyme cardiaque CPK - MB



Donné à titre informatif



Enzymopathie

Enzymopathie : maladie héréditaire due à un déficit enzymatique

Ex : la galactosémie congénitale



- Maladie héréditaire très rare (1/ 62 000) (nourrisson)
- Déficit en enzymes dégradant le galactose (2)
- Nourrisson asymptomatique à la naissance
- Passage de galactose dans le sang et les urines, puis accumulation dans le foie, le système nerveux et le cristallin → toxique → → mort
- **Diagnostic :**
 - ↘ **activité enzyme 2**
 - ↗ *concentration galactose 1-phosphate érythrocytaire*



Donné à titre informatif

Ai-je bien compris

Autoévaluation Enzymes

1. Qu'est-ce qu'une enzyme ?
2. A quoi correspond le site actif d'une enzyme ?
3. Qu'est-ce que l'activité enzymatique ?
4. Qu'est-ce qu'un cofacteur ?
5. Quel est l'intérêt de doser des activités enzymatiques en clinique ?
6. Qu'est-ce qu'une enzymopathie ?

Mentions légales

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées aux Instituts de Formation en Soins Infirmiers de la région Rhône-Alpes.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits dans les Instituts de Formation en Soins Infirmiers de la région Rhône-Alpes, et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.