




-  M2 Ingénierie et Chimie des BioMolécules (ICBM)
-  M2 Chimie Organique (CO)
-  M2 Chimie Pharmaceutique (CP)

## UE SMFP : « STRUCTURES, MÉCANISMES ET FONCTIONS DES PROTÉINES »

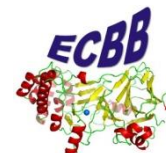
Coordinateur : Prof. Laurent Salmon

*Equipe de Chimie Bioorganique et Bioinorganique (ECBB)*

Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO)

UMR 8182 UPSay-CNRS

Faculté des Sciences d'Orsay, Université Paris-Saclay, bât. Henri Moissan, 91400 Orsay, France



[laurent.salmon@universite-paris-saclay.fr](mailto:laurent.salmon@universite-paris-saclay.fr)

- M2 Ingénierie et Chimie des BioMolécules (ICBM)
- M2 Chimie Organique (CO)
- M2 Chimie Pharmaceutique (CP)

## UE SMFP : « STRUCTURES, MÉCANISMES ET FONCTIONS DES PROTÉINES »

1-Mécanismes Enzymatique I  
(L. Salmon/F. Avenier)




2-Mécanismes Enzymatiques II  
(F. Avenier/F. Banse)

3-Inhibiteurs Enzymatiques  
(L. Salmon)

4-Biocatalyse en Synthèse  
Totale  
(A. Zapparucha)

5-Stress Oxydant  
(C. Sicard/M. Erard)

6-Etiquetage des Protéines  
(B. Vauzeilles/A. Alix)

-  M2 Ingénierie et Chimie des BioMolécules (ICBM)
-  M2 Chimie Organique (CO)
-  M2 Chimie Pharmaceutique (CP)

## UE SMFP : « STRUCTURES, MÉCANISMES ET FONCTIONS DES PROTÉINES »

1-Mécanismes Enzymatique I  
(L. Salmon/F. Avenier)

2-Mécanismes Enzymatiques II  
(F. Avenier/F. Banse)

3-Inhibiteurs Enzymatiques  
(L. Salmon)

- A. *Structure, catalyse et mécanismes enzymatiques*
- B. *Cinétique et inhibition des réactions enzymatiques*



# A. Structure, catalyse et mécanismes enzymatiques

## SOMMAIRE

...vus par un chimiste

### Les enzymes...

- ✓ sont des **protéines\***
- ✓ sont des **biocatalyseurs**

*\*sauf ARN catalytiques*



I. Structure des protéines (introduction ou rappels)



II. Catalyse enzymatique et mécanismes

1. *Généralités*
2. *Effecteurs de la catalyse enzymatique*
3. *Mécanismes enzymatiques sans co-enzymes*
4. *Mécanismes enzymatiques avec co-enzymes*

### La recherche en chimie enzymatique : une stratégie logique

✓ **Connaissance du mécanisme**



✓ **Synthèse d'inhibiteurs**



✓ Applications en synthèse organique



✓ Mise au point de nouveaux médicaments

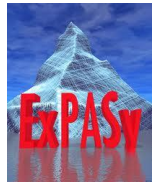
# Bibliographie générale

## Livres :

- L. Stryer : « Biochemistry » ( 3rd ed., Freeman)
- T. E. Creighton : « Proteins » (2nd ed., Freeman)
- C. Branden & J. Tooze ; « Introduction to Protein Structure » (Garland Publ.)
- D. Voet & J. G. Voet : « Biochimie » (2nd ed., DeBoeck Université)
- J. Pelmont : « Enzymes » (Coll. Grenoble Sciences, EDP Sciences)

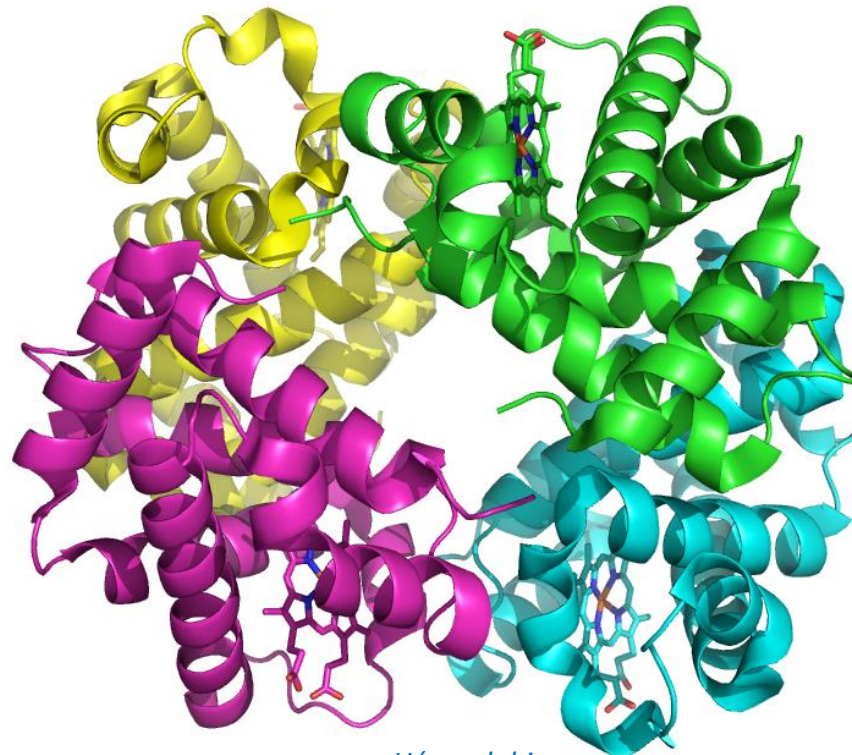
## Sites internet/Bases de données :

- Entrez-PubMed : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- Expasy : <http://www.expasy.ch/>
- Protein Data Bank : <http://www.rcsb.org/pdb/>
- Brenda : <http://www.brenda-enzymes.info/>
- EzCatDB : <http://ezcatdb.cbrc.jp/EzCatDB/>
- Enzyme Nomenclature : <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>
- Propka Web Interface : <http://propka.ki.ku.dk/>

PubMedRCSB PDB  
PROTEIN DATA BANKBRENDA  
The Comprehensive Enzyme Information SystemEzCatDBPropKa

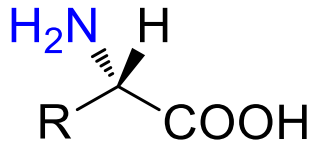
# I. Structures des protéines (rappels)

---



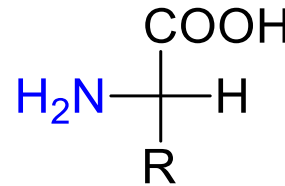
*Hémoglobine*

## Acides aminés des protéines



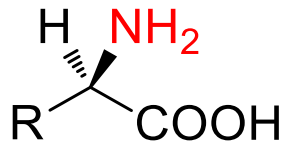
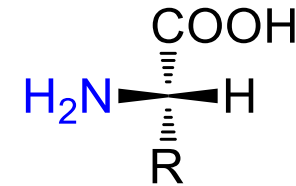
L-acide aminé

(représentation de *Cram*)



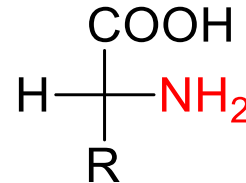
L-acide aminé

(projection de *Fisher* : NH<sub>2</sub> à gauche)



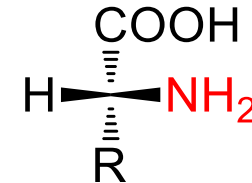
D-acide aminé

(représentation de *Cram*)



D-acide aminé

(projection de *Fisher* : NH<sub>2</sub> à droite)



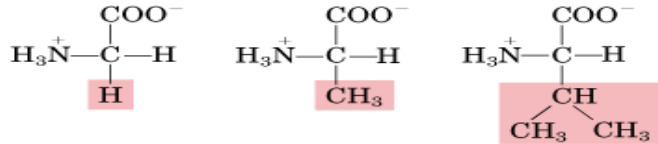
*Jamais présents dans les protéines, mais rôles importants  
(paroi cellulaire de certaines bactéries, μ-organismes,  
antibiotiques, agonistes dans le cerveau...)*

➤ 2 enzymes impliquées : aminoacid racemase & D-aminoacid oxidase

« An overview on D-amino acids » : Genchi G., *Amino Acids* (2017), 49 (9), 1521-1533

# Les acides aminés L standards (20)

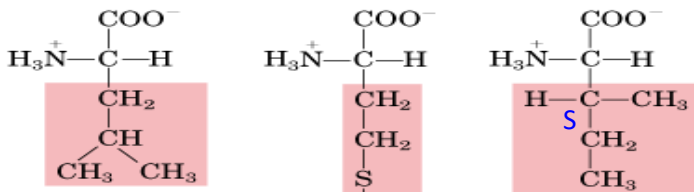
## groupes R aliphatiques non-polaires



Glycine

Alanine

Valine

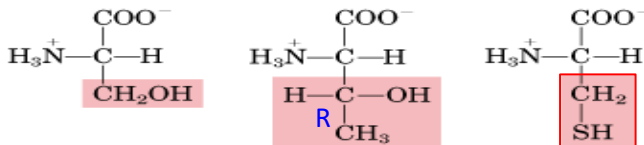


Leucine

Methionine

Isoleucine

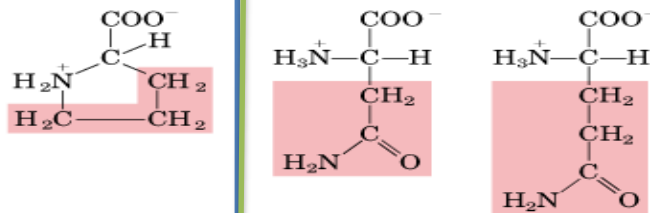
## groupes R non-chargés polaires



Serine

Threonine

Cysteine

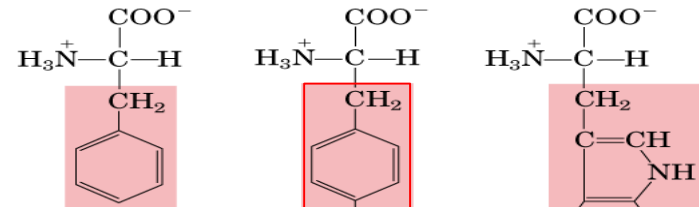


Proline

Asparagine

Glutamine

## groupes R aromatiques

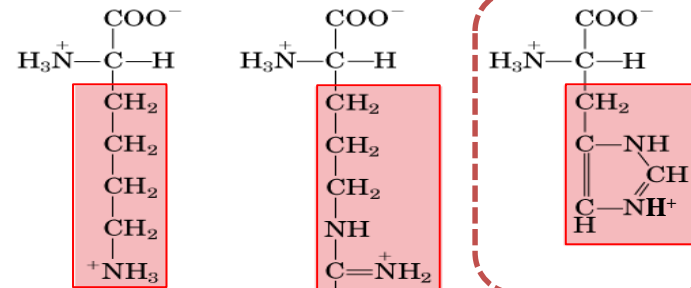


Phenylalanine

Tyrosine

Tryptophan

## groupes R chargés + (basiques)

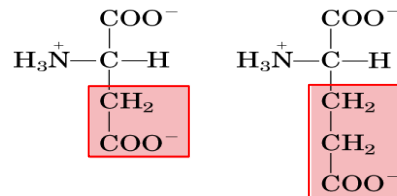


Lysine

Arginine

Histidine

## groupes R chargés - (acides)



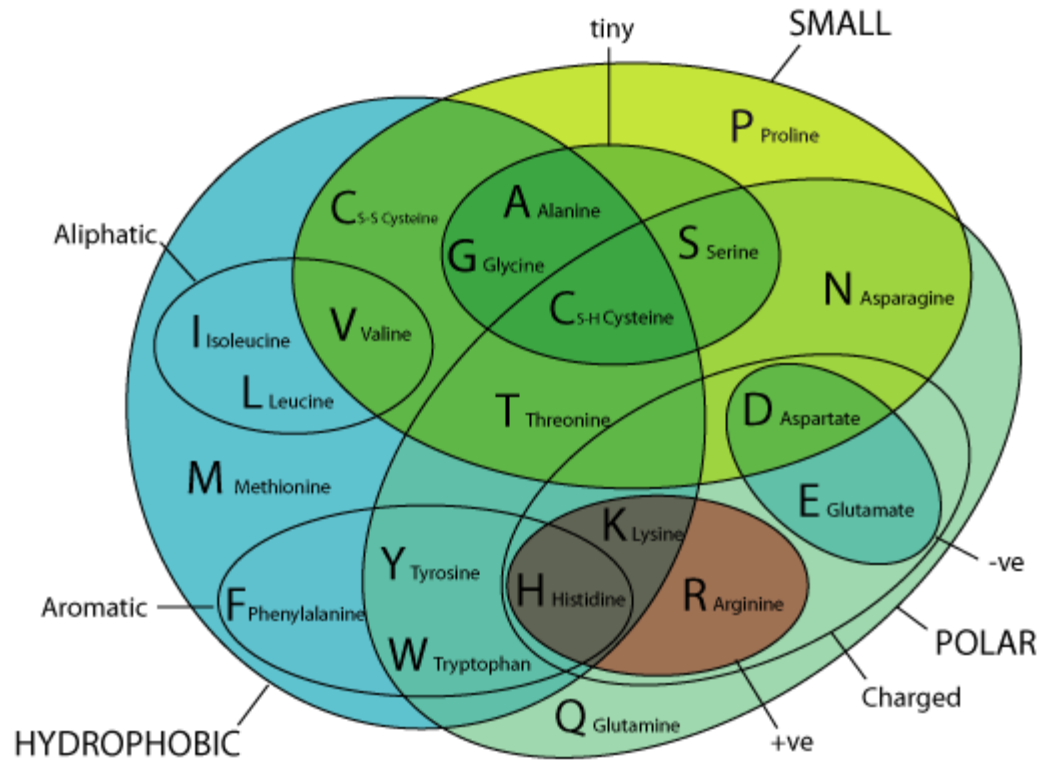
Aspartate

Glutamate

$\text{pK}_a = 6-7$  :  
amphotère



# Les acides aminés standards (20)



*Livingstone & Barton (1993)*

# Données caractéristiques des acides aminés standards

Amino Acid	Abbreviation		pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>R</sub>	pI
	3-Letters	1-Letter	-COOH	-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	R group	
Alanine	Ala	A	2.34	9.69	-	6.00
(*) Arginine	Arg	R	2.17	9.04	12.48	10.76
Asparagine	Asn	N	2.02	8.80	-	5.41
Aspartic Acid	Asp	D	1.88	9.60	3.65	2.77
Cysteine	Cys	C	1.96	10.128	8.18	5.07
Glutamic Acid	Glu	E	2.19	9.67	4.25	3.22
Glutamine	Gln	Q	2.17	9.13	-	5.65
Glycine	Gly	G	2.34	9.60	-	5.97
(*) Histidine	His	H	1.82	9.17	6.00	7.59
* Isoleucine	Ile	I	2.36	9.60	-	6.02
* Leucine	Leu	L	2.36	9.60	-	5.98
* Lysine	Lys	K	2.18	8.95	10.53	9.74
* Methionine	Met	M	2.28	9.21	-	5.74
* Phenylalanine	Phe	F	1.83	9.13	-	5.48
Proline	Pro	P	1.99	10.60	-	6.30
Serine	Ser	S	2.21	9.15	-	5.58
* Threonine	Thr	T	2.09	9.10	-	5.60
* Tryptophan	Trp	W	2.83	9.39	-	5.89
((*)) Tyrosine	Tyr	Y	2.20	9.11	10.07	5.66
* Valine	Val	V	2.32	9.62	-	5.96

-aa essentiel ?  
 -aa semi-essentiel ?  
 -phénylcétonurie ?

From Lehninger Principle of Biochemistry.

\* : 8 aa essentiels ; (\*) : aa semi-essentiels ; ((\*)) : Tyr essentielle si phénylcétonurie (*Phe 4-hydroxylase*) !

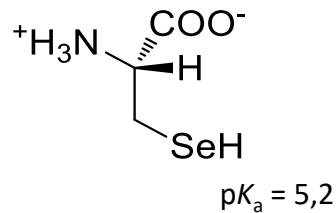


## Protéines complètes/incomplètes

- *Protéines complètes* (contiennent tous les aa essentiels) :
  - viande, poisson, lait, œufs
  
- *Protéines incomplètes* (dont au moins 1 aa est déficient) :
  - déficient en **Lys** : riz, maïs, blé
  - déficient en **Trp** : riz, maïs
  - déficient en **Thr** : riz
  - déficient en **Met** : pois, haricots et autres légumes

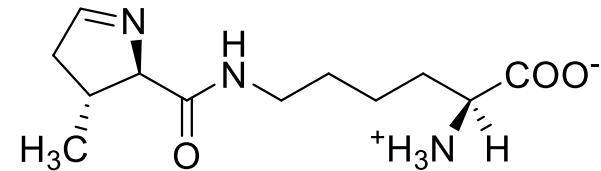
## Autres L-aminoacides $\alpha$ (rares)

### 1. L-aminoacides $\alpha$ protéinogènes non-standards (encodés génétiquement)



#### Sélénocystéine (Sec, U)

- le 21<sup>ème</sup> aa (incorporation co-translationnelle) !
- bactéries, archées, eucaryotes
- bactéries : Ser-tRNA  $\rightarrow$  Sec-tRNA par *sélénocystéine synthase (PLP)*
- enzymes (sélénoprotéines) :
  - thiorédoxine réductase
  - glutathion peroxidase
  - iodothyronine désiodases
  - glycine réductase
  - formiate déshydrogénase



#### Pyrrolysine (Pyl, O)

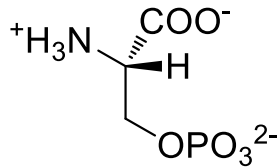
- le 22<sup>ème</sup> aa
- présent uniquement chez les archées méthanogènes

*Science* **2002**, 296, 1409-10

## Autres L-aminoacides $\alpha$ (rares)

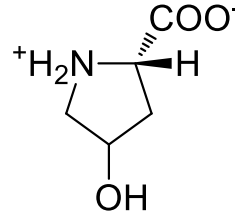
### 2. L-aminoacides $\alpha$ non-protéinogènes

(peuvent être présents dans les protéines après une *modification post-traductionnelle*)



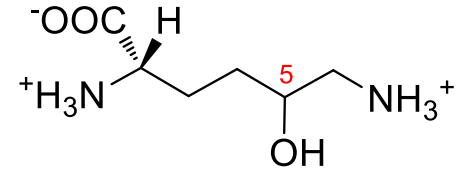
O-Phosphosérine

- protéines signales



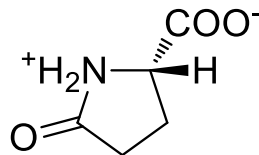
4-Hydroxyproline

- collagène



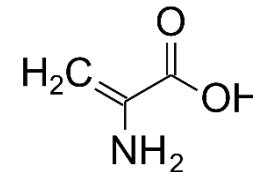
5-Hydroxylysine

- collagène



Acide pyroglutamique (Glp)

- acide pidolique/5-oxo-proline
- cyclisation Glu (Glu N-term)
- bacteriorhodopsine (archées)



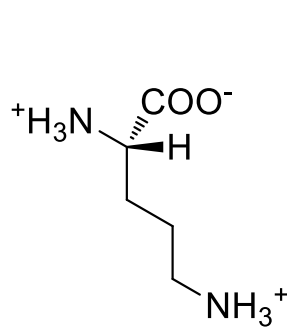
Déshydroalanine

- présent dans les microbes et la caséine après chauffage (déshydratation Ser)
- toxique alimentaire
- réagit avec Lys -> lysinoalanine, toxique vs reins

## Autres L-aminoacides $\alpha$ (rares)

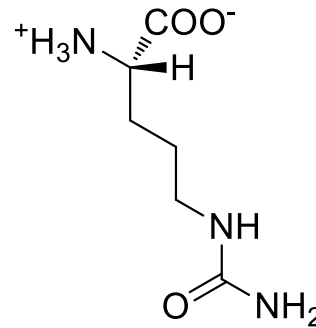
### 2. L-aminoacides $\alpha$ non-protéinogènes

(peuvent être présents dans les protéines après une *modification post-traductionnelle*)



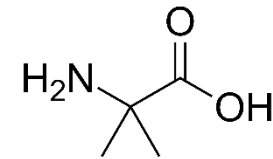
Ornithine (Orn)

- cycle de l'urée
- issu de L-Arg (animaux)



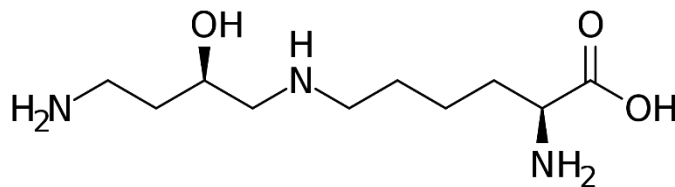
Citrulline

- intermédiaire métabolique
- issu de L-Orn ou L-Arg



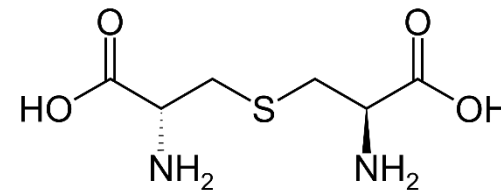
$\alpha, \alpha$ -Diméthylglycine

- peptides non ribosomiques et antibiotiques fongiques
- -> hélices  $\alpha$



Hypusine

- eucaryotes, archées (pas bactéries)
- présent dans facteur d'initiation eIF5A
- modif. post-trad. Lys + hydroxyputrescine



Lanthionine

- cheveux, plumes, lactalbumine...
- 2 Ala réticulés sur un S (thioéther)
- composant des lantipeptides bactériens (lantibiotiques)

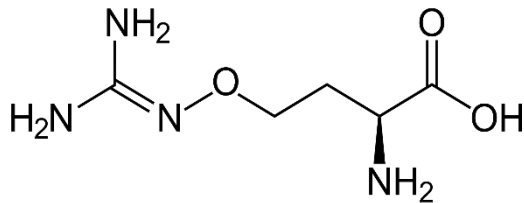
## Autres L-aminoacides $\alpha$ (rares)

### 2. L-aminoacides $\alpha$ non-protéinogènes

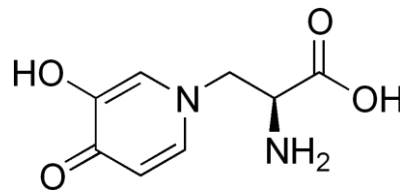
(peuvent être présents dans les protéines après une *modification post-traductionnelle*)

- dérivés méthylés des Lys des histones (**HKMT**)
- plus de 900 autres aa rares identifiés :
  - souvent issus de plantes, légumes, graines
  - peuvent être toxiques (*canavanine*, *mimosine*...)
- “Sans parler des  $\beta$ -aminoacides et autres aa !”

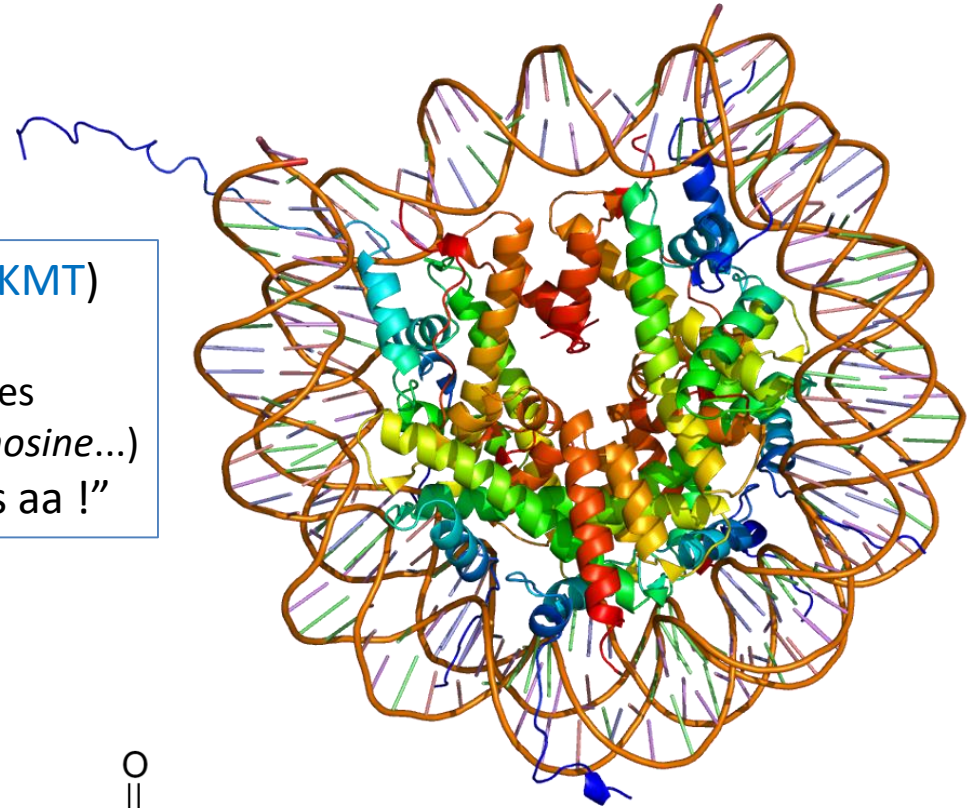
HKMT = Histone Lysine MéthylTransférase



*canavanine*



*mimosine*



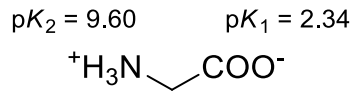
Complexe ADN-Histones  
H2A/H2B/H3/H4  
(PDB 1AOI)



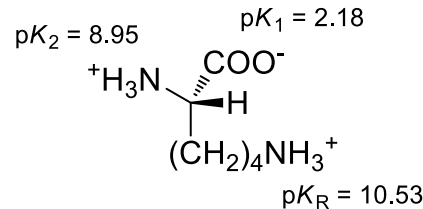
# Point isoélectrique : pI

➤  $pI = pH$  de neutralité électrique (aa, peptide, protéine) :

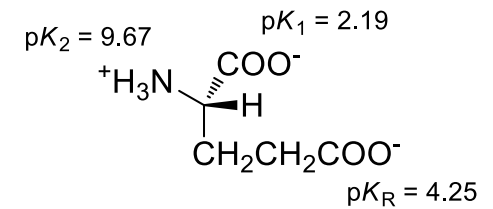
- Calcul :  $pI = \frac{1}{2} \sum$  des 2  $pK_a$  « situés de part et d'autre » de la forme neutre



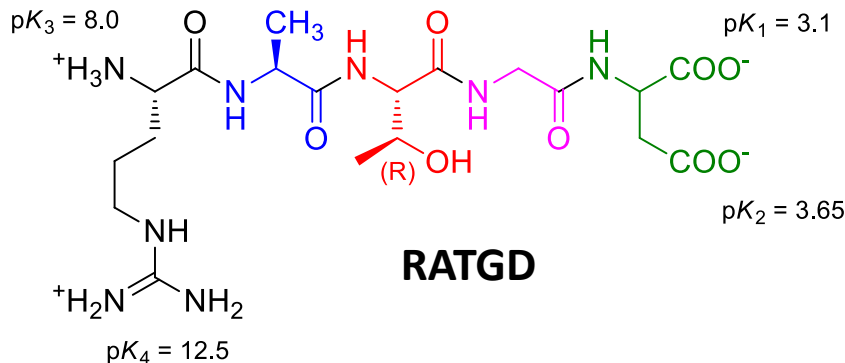
$$pI = (pK_1 + pK_2)/2 = 5.97$$



$$pI = (pK_2 + pK_R)/2 = 9.74$$



$$pI = (pK_1 + pK_R)/2 = 3.22$$



$$pI = (pK_2 + pK_3)/2 = 5.83$$

[http://web.expasy.org/compute\\_pi/](http://web.expasy.org/compute_pi/) :  $pI = 5.84$

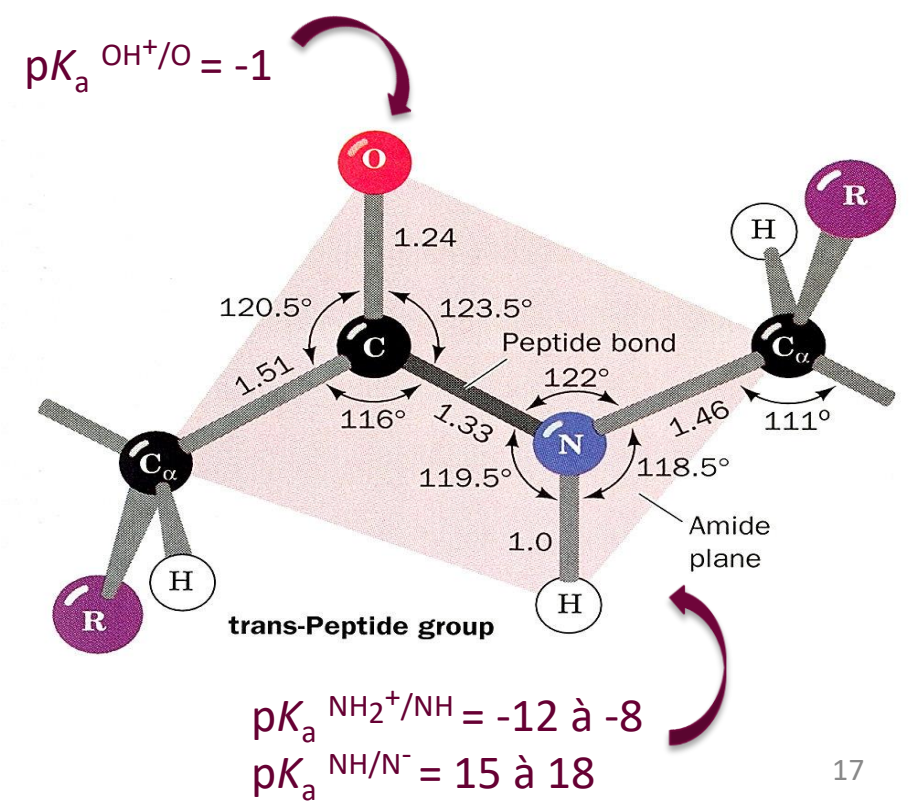
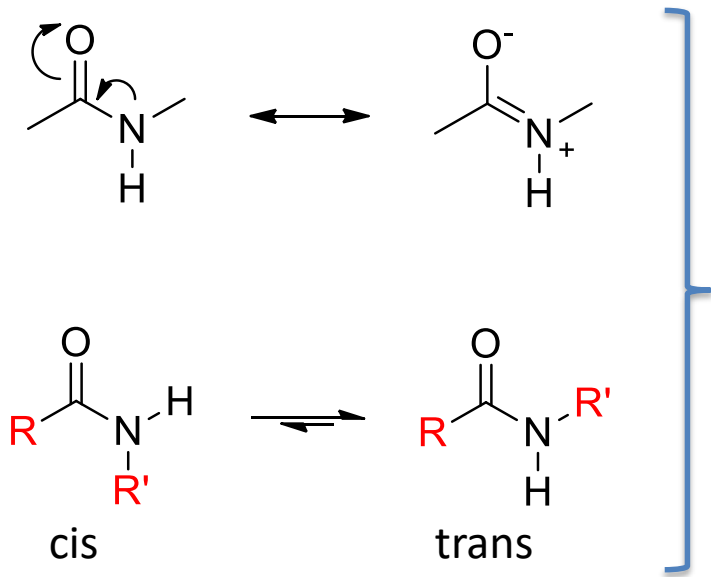
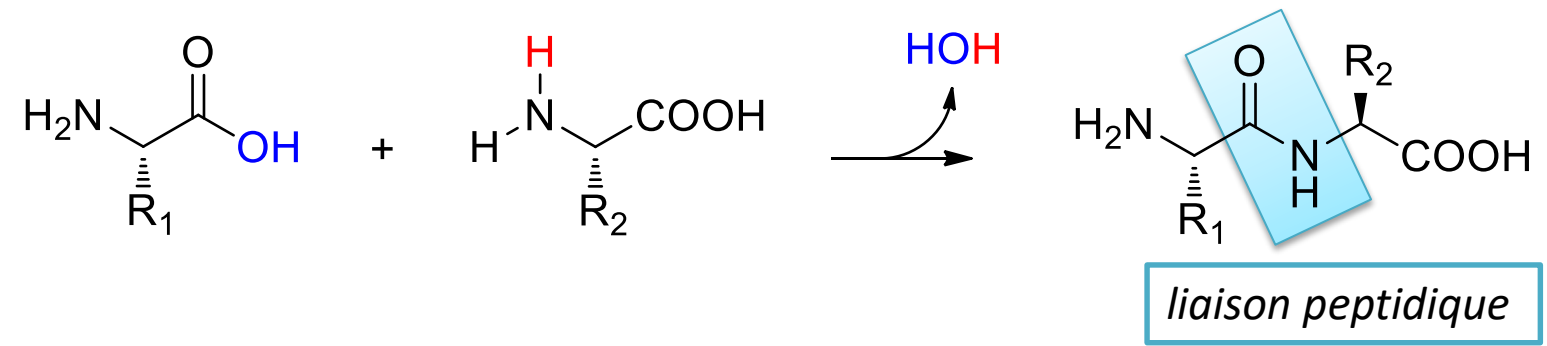
## *pI de quelques protéines*

Protéine	pI
Pepsine	< 1.0
Albumine (oeuf)	4.6
Albumine (sérum)	4.9
Uréase	5.0
β-lactoglobuline	5.2
Myoglobine	6.8
Chymotrypsine	8.7
Cytochrome c	10.7
Lysozyme	11.0

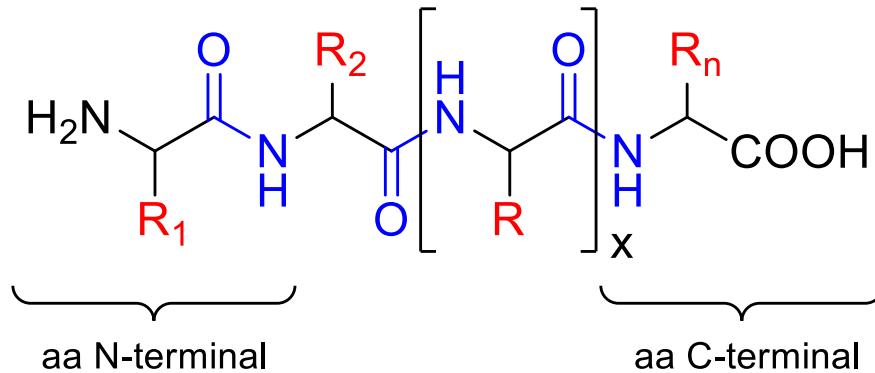
?



# La liaison peptidique

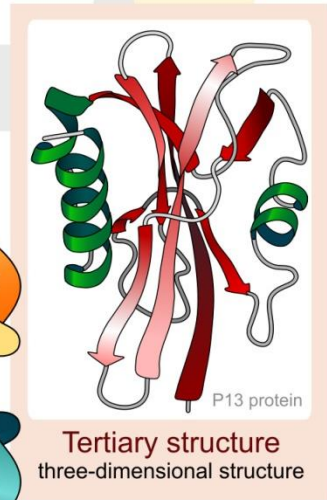
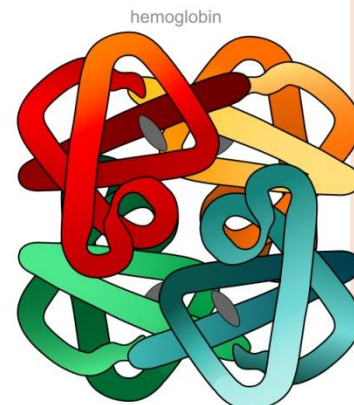
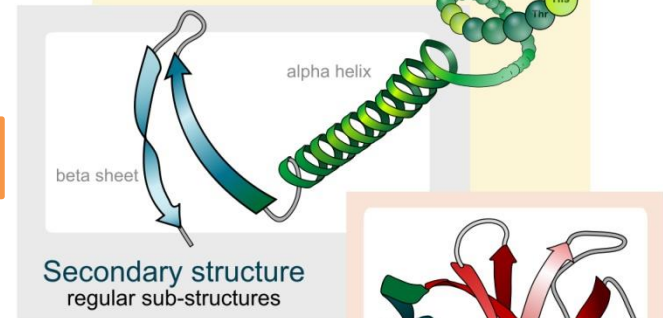
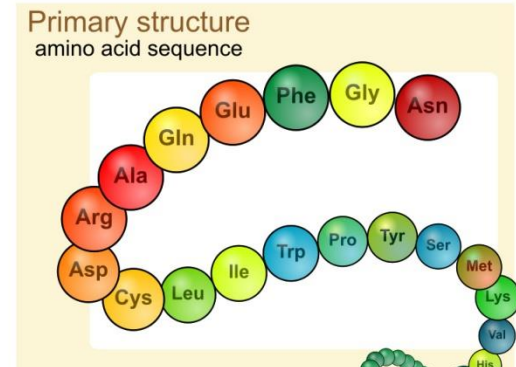


# La structure des protéines



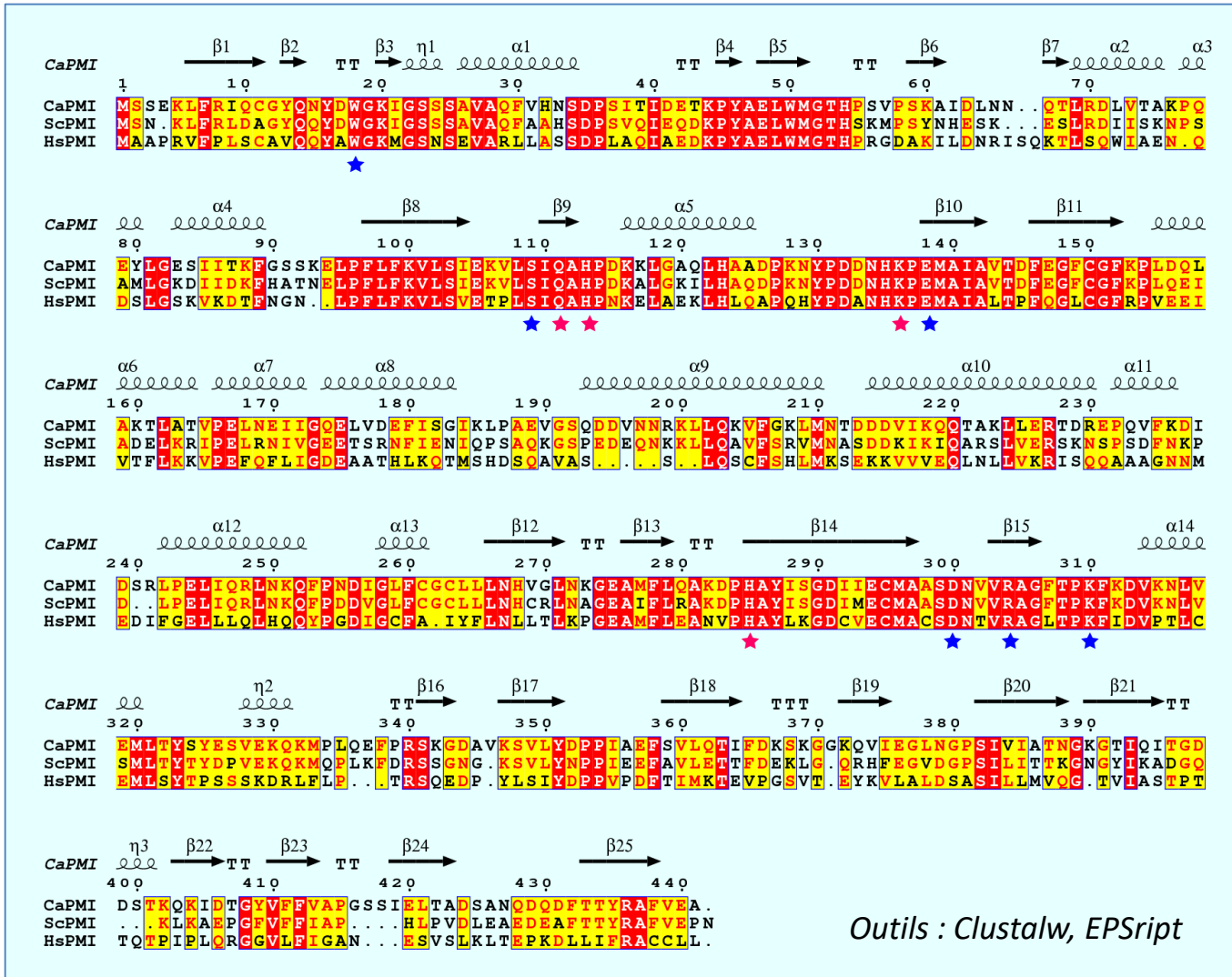
Dipeptide → Oligopeptide → Polypeptide → **PROTÉINE**

1. Structure **primaire** (séquence en amino-acides)
2. Structure **secondaire** : hélices, feuillets...
3. Structure **tertiaire** : arrangement tridimensionnel
4. Structure **quaternaire** : arrangement de plusieurs sous-unités (identiques ou différentes) entre elles



# Structure primaire / Alignement de séquences

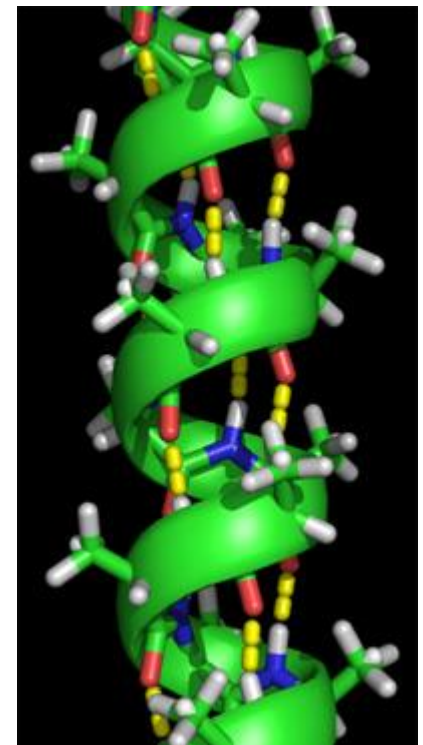
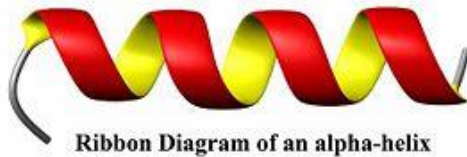
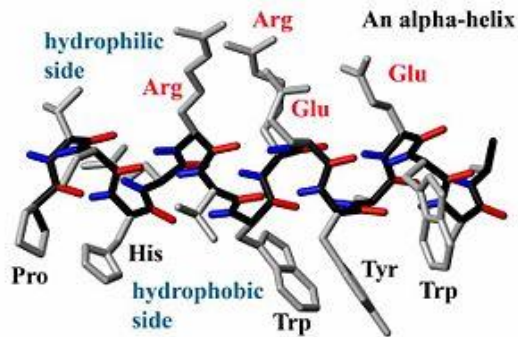
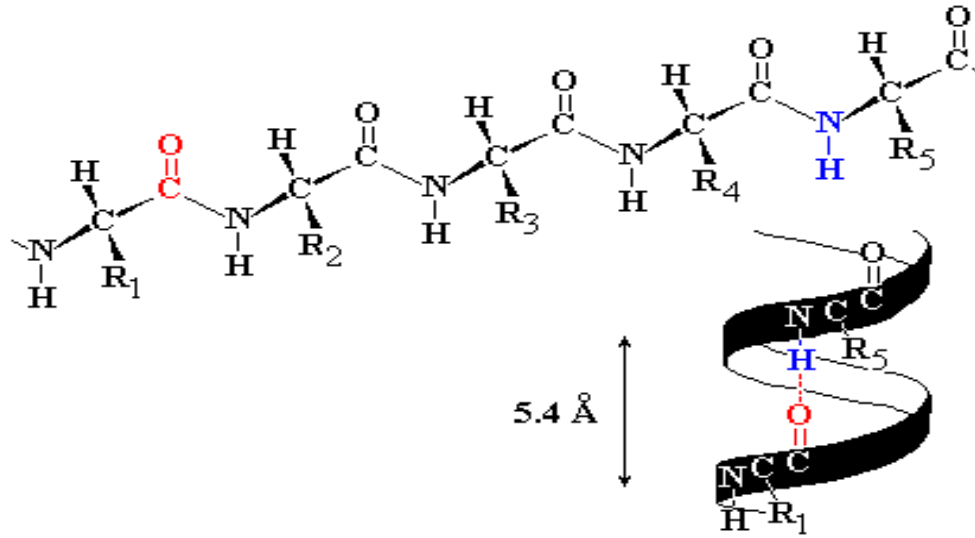
(PMI = phosphomannose isomérase)



Outils : Clustalw, EPSript

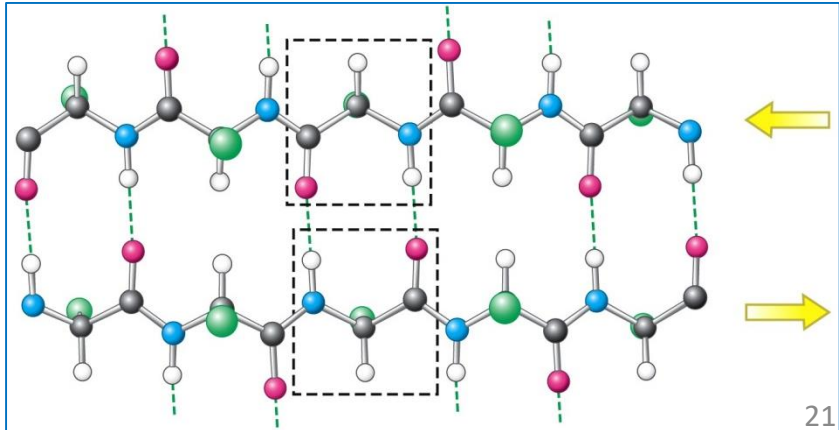
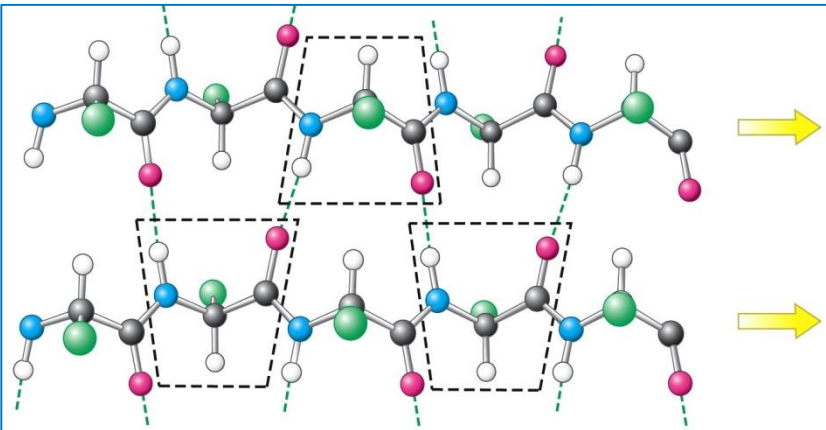
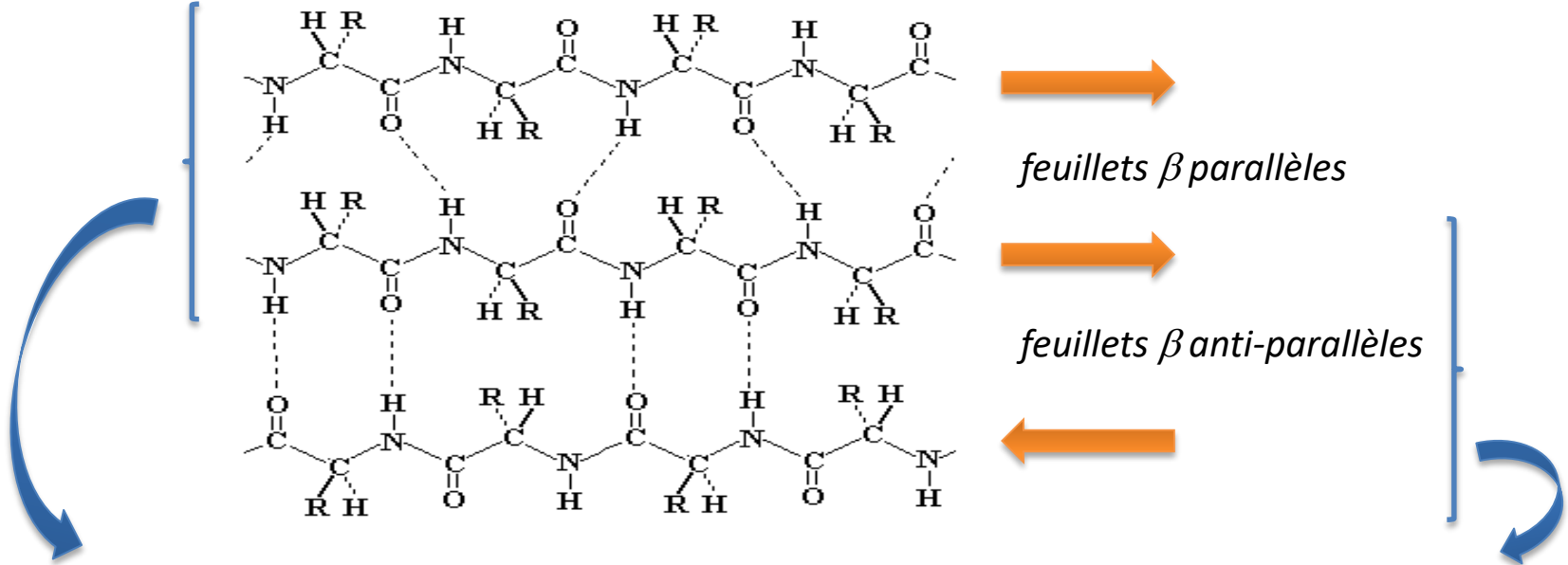
# Structures secondaires

## 1. Structure en hélice $\alpha$



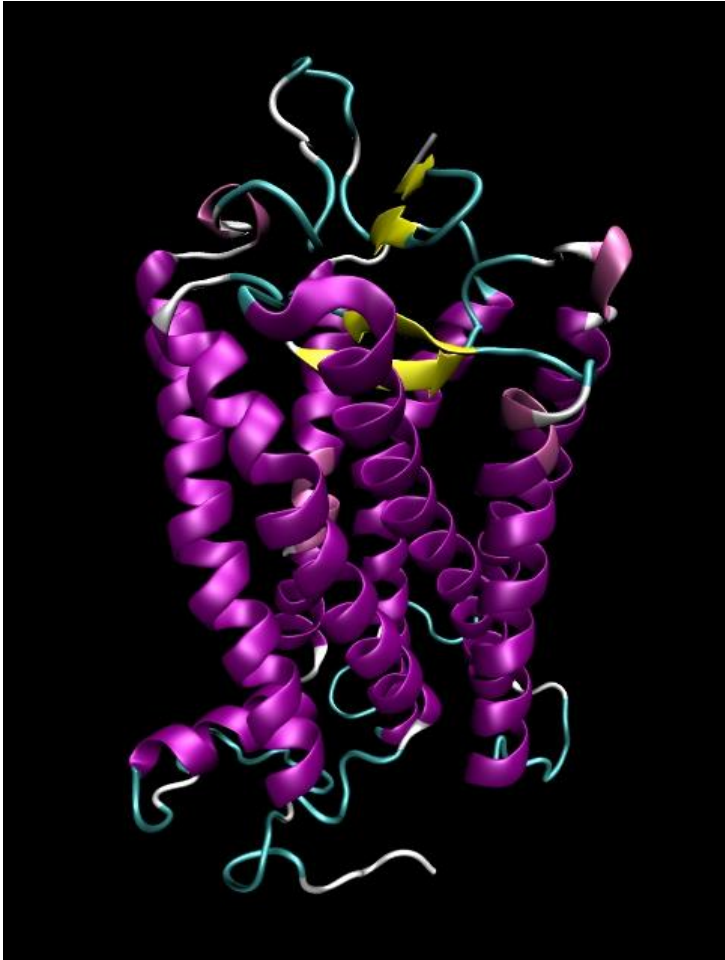
# Structures secondaires

## 2. Structure en feuillet $\beta$

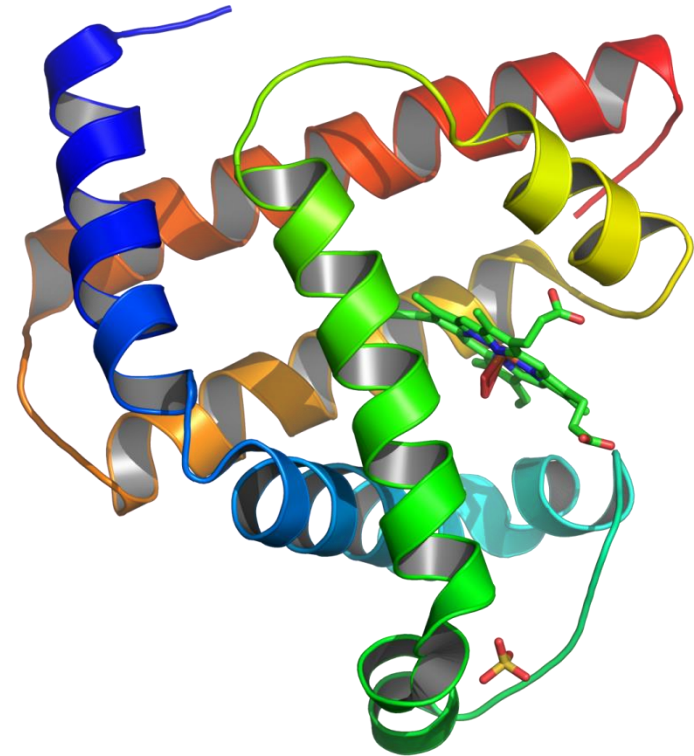


## Structures tertiaires (et quaternaires)

### 1. Protéines composées essentiellement d'éléments hélice $\alpha$



Protéine transmembranaire à 7  
hélices  $\alpha$   
-récepteurs couplés aux protéines G

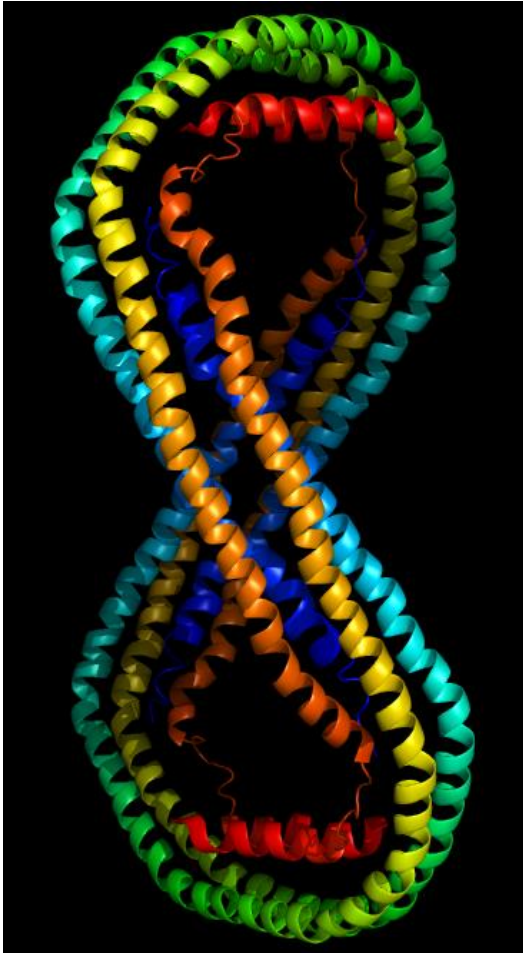


Myoglobine

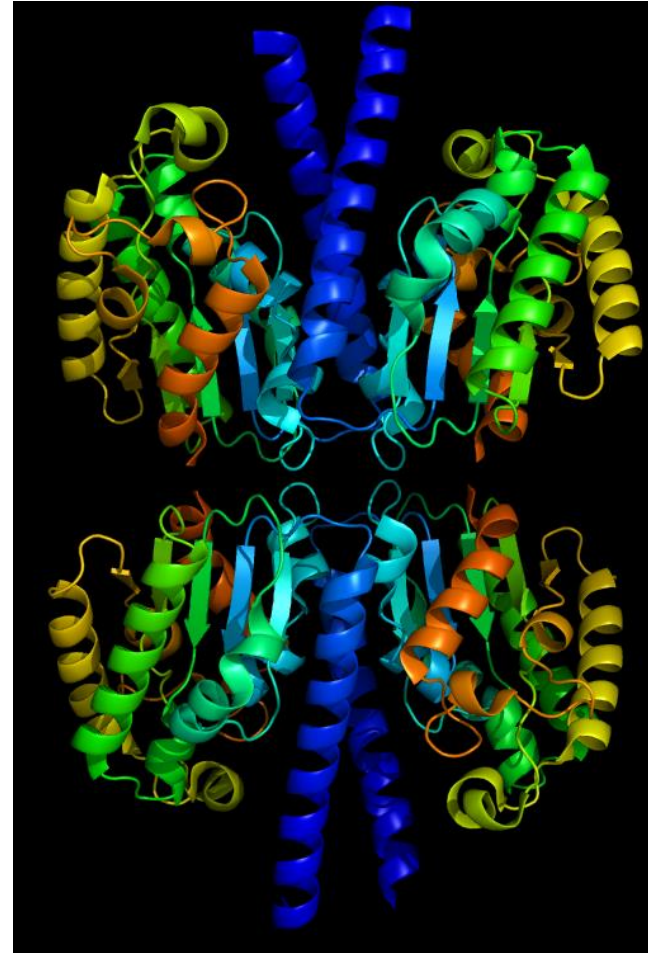
-stockage de  $O_2$  dans les muscles  
-1<sup>ère</sup> structure X d'une protéine  
(J. Kendrew, 1958)

## Structures tertiaires (et quaternaires)

### 1. Protéines composées essentiellement d'éléments hélice $\alpha$



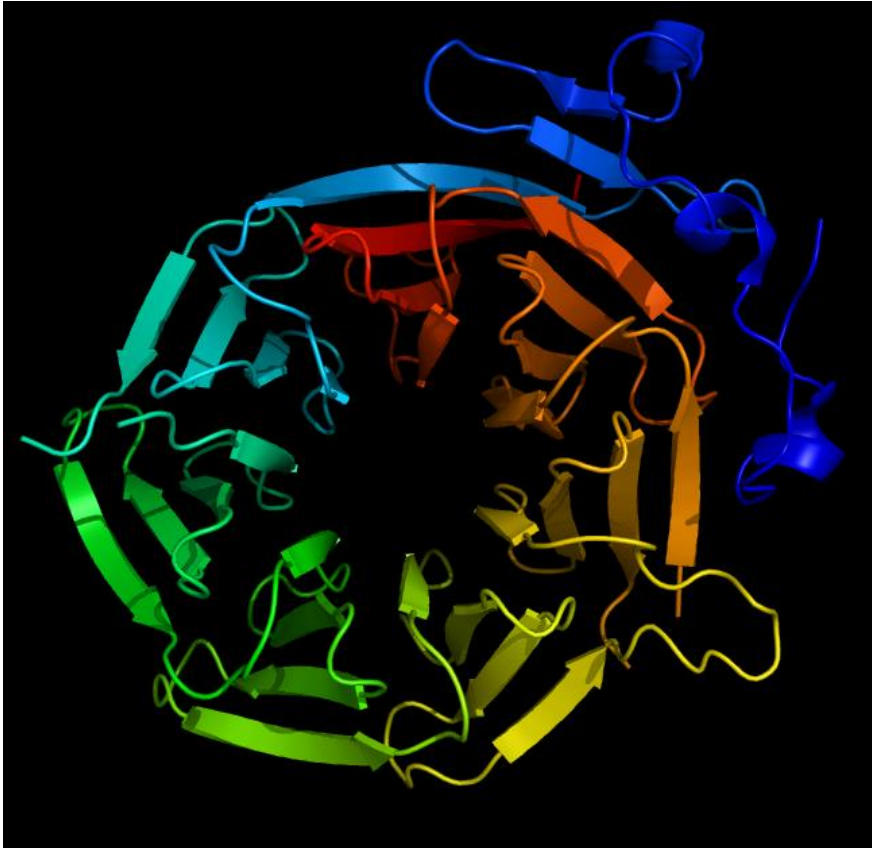
Apolipoprotéine A-1 humaine  
(tétramère)  
-métabolisme des lipides



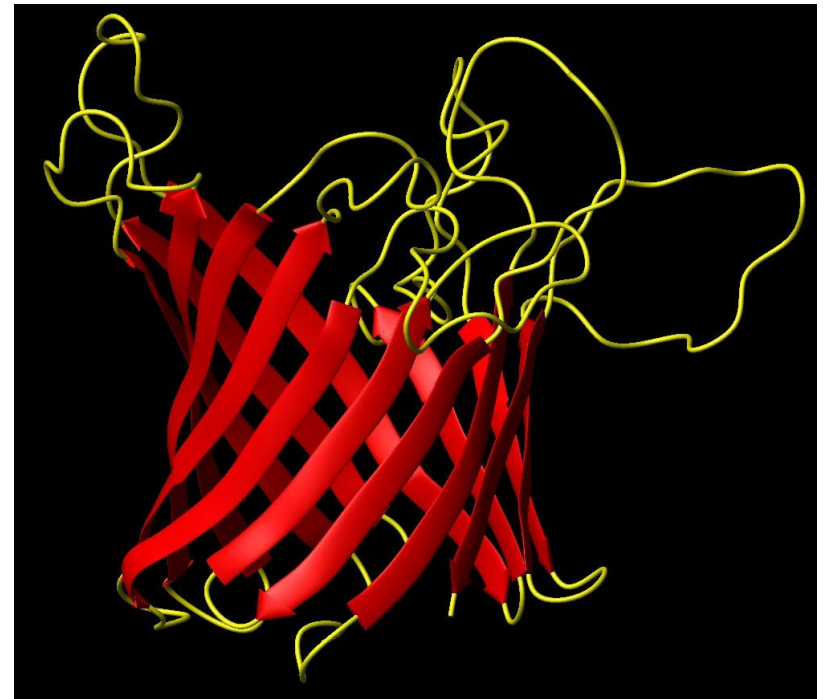
Récepteur du facteur d'activation des  
plaquettes (PAFR, tétramère)  
-*Streptococcus pneumonia*

## Structures tertiaires (et quaternaires)

### 2. Protéines composées essentiellement d'éléments feuilletés $\beta$



« 7-Bladed propeller fold »  
(monomère !)  
-neuraminidase du virus de la grippe

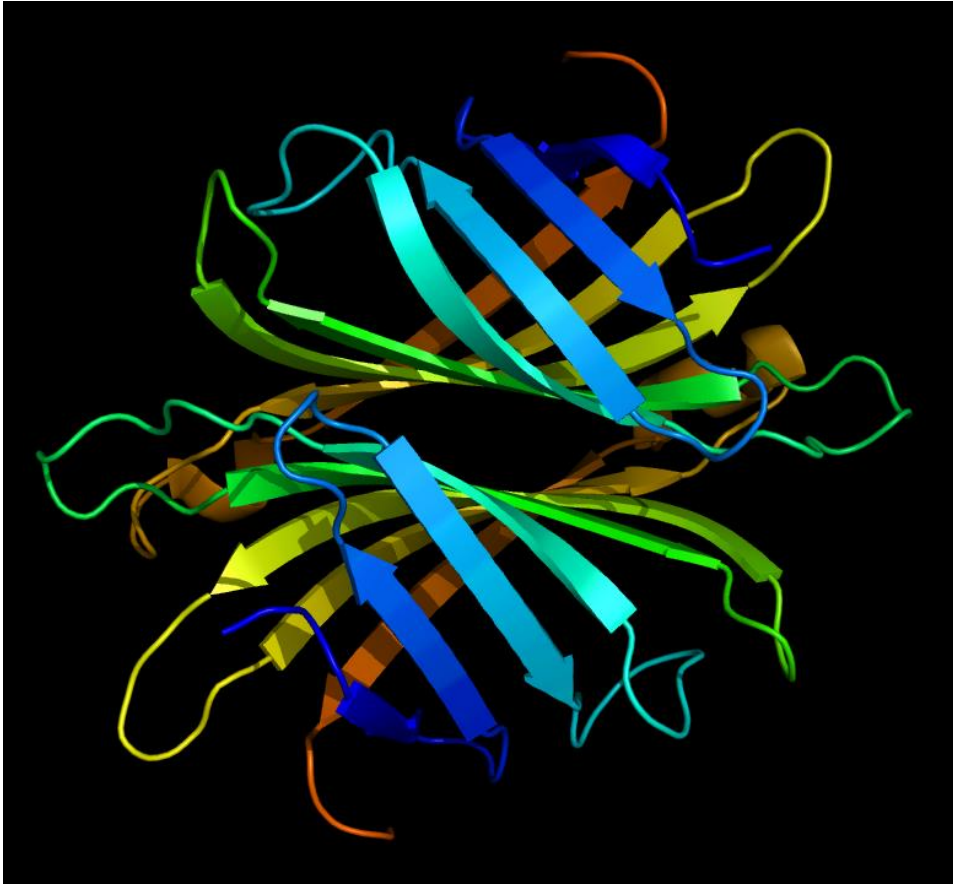


Outer membrane protein G (OMPG)  
-protéine membranaire (porine, 14 feuilletés, monomère !)  
-canal protéique de la paroi externe des bactéries Gram –  
-transport d'oligosaccharides ?

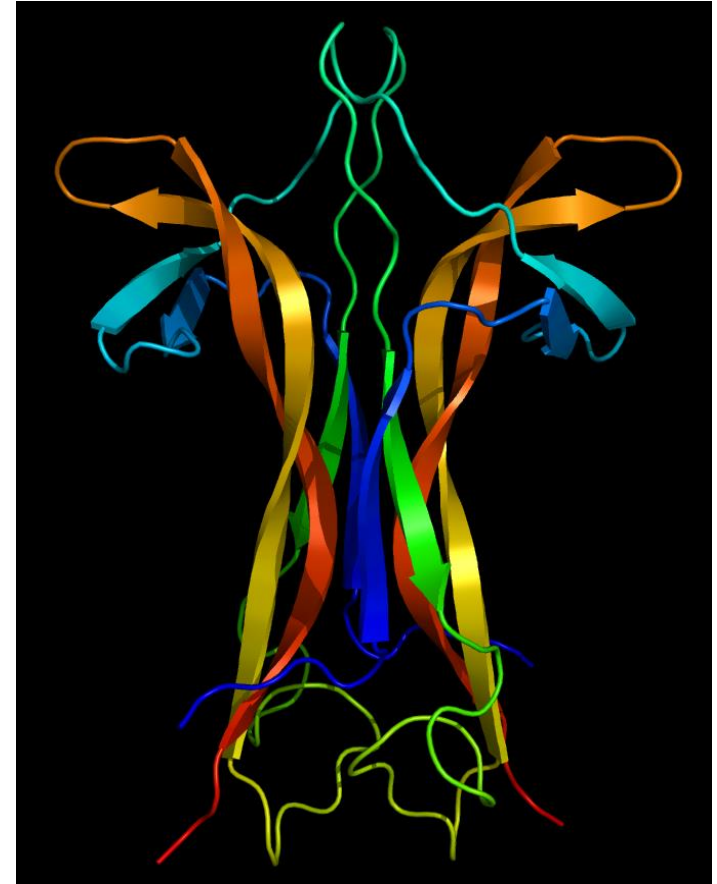


## Structures tertiaires (et quaternaires)

### 2. Protéines composées essentiellement d'éléments feuilletés $\beta$



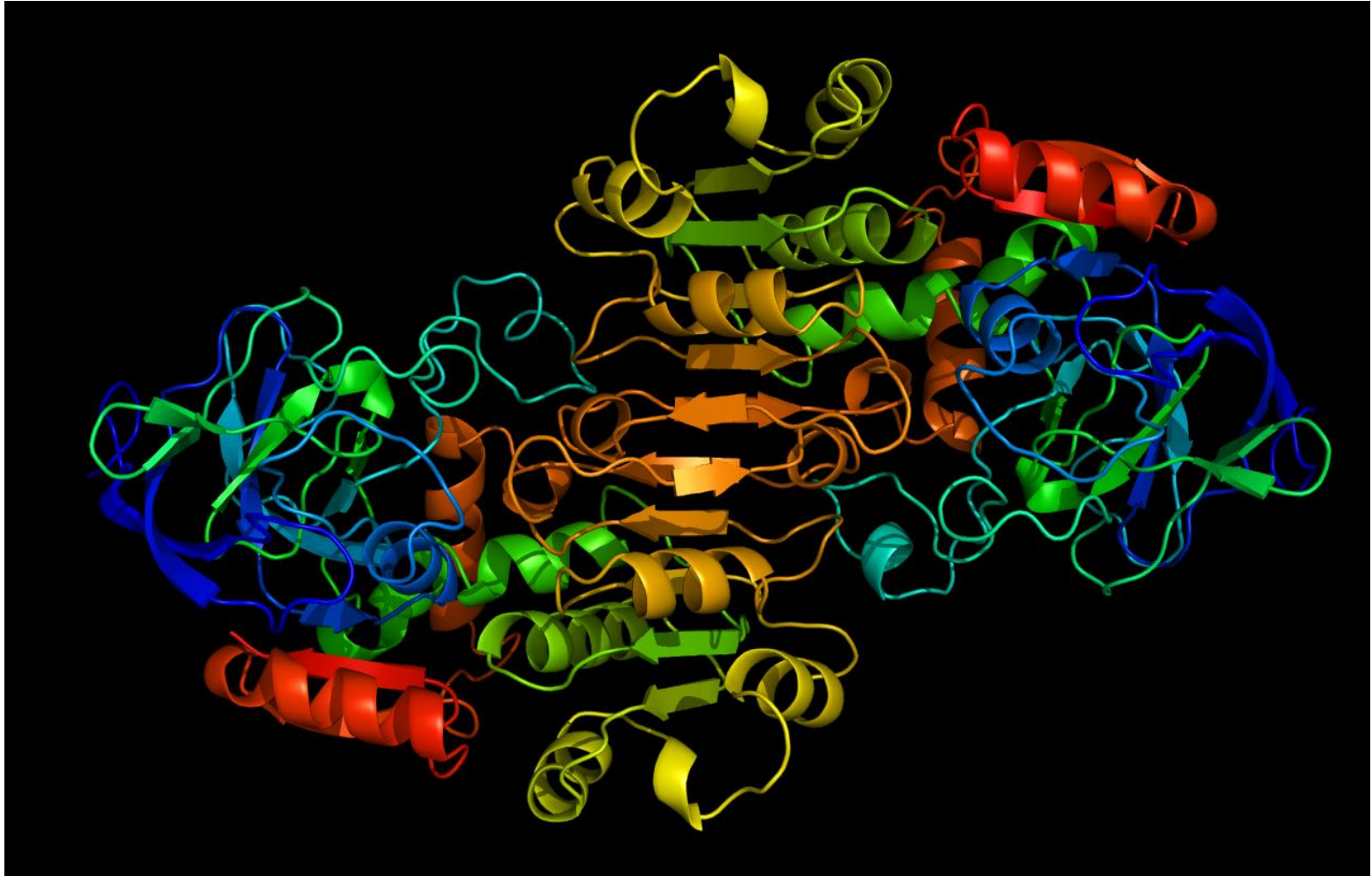
Traptavidine (dimère)  
-mutant de la streptavidine  
humaine (affinité vs biotine x 10 !)



Neurotrophine (NGF)  
-Nerve Growth Factor  
-protéine signal (neurotrophines)  
vs apoptose neurones

## Structures tertiaires (et quaternaires)

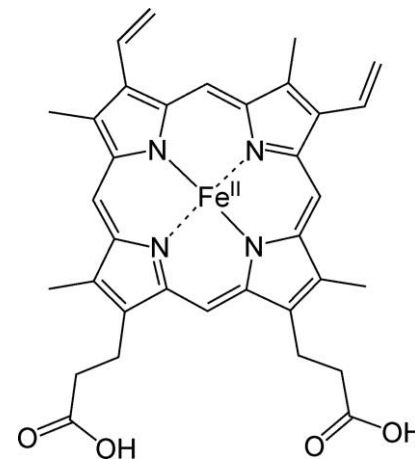
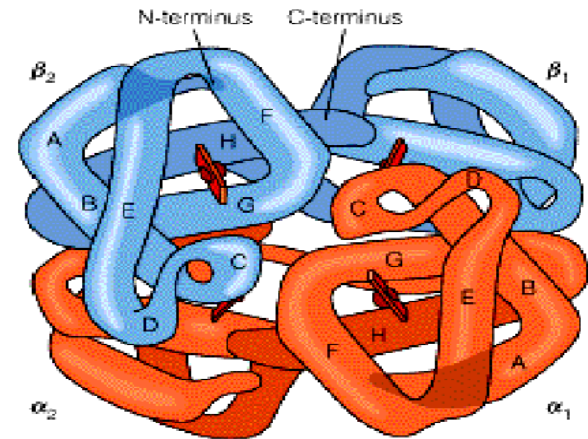
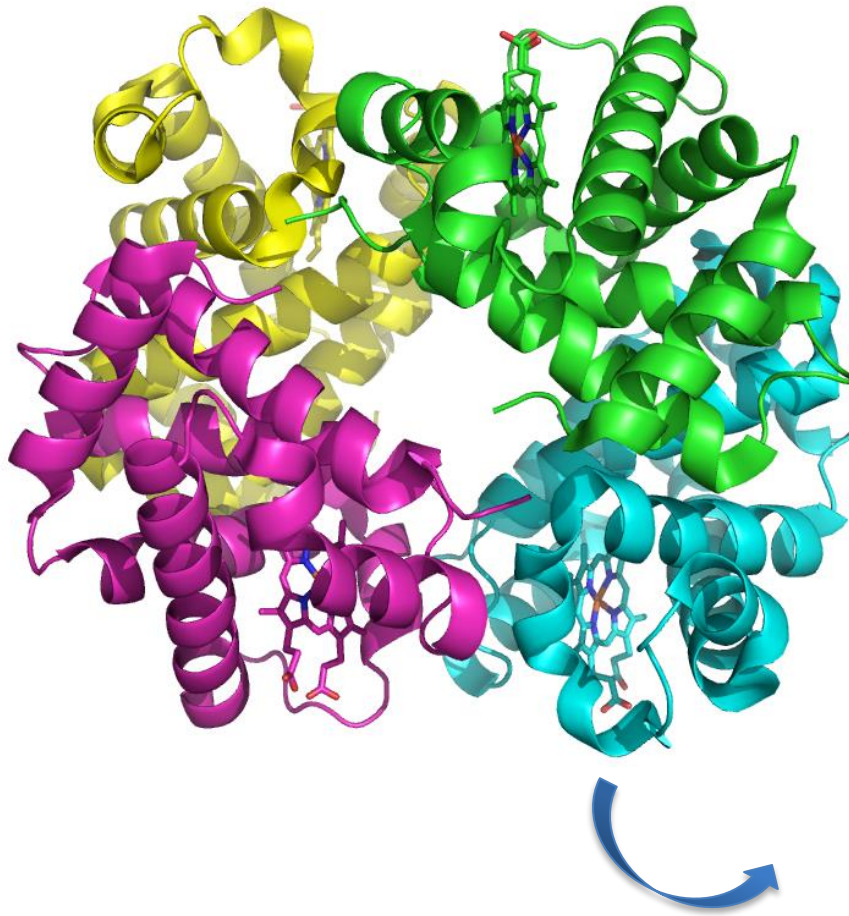
### 3. Alcool déshydrogénase humaine : homodimère



-détoxification des alcools (éthanol)

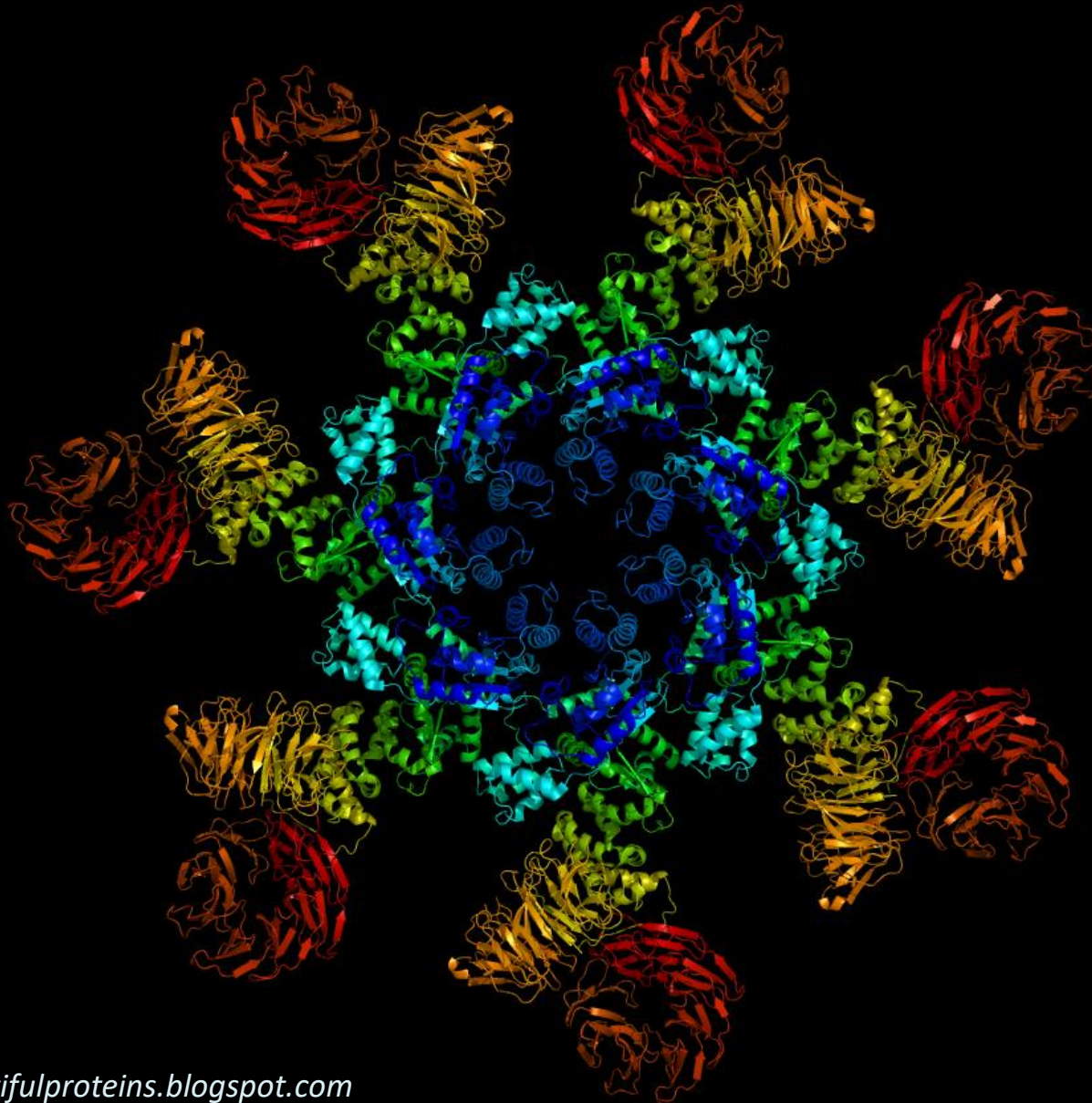
# Structures tertiaires (et quaternaires)

## 4. Hémoglobine humaine (hélices $\alpha$ ) : tétramère



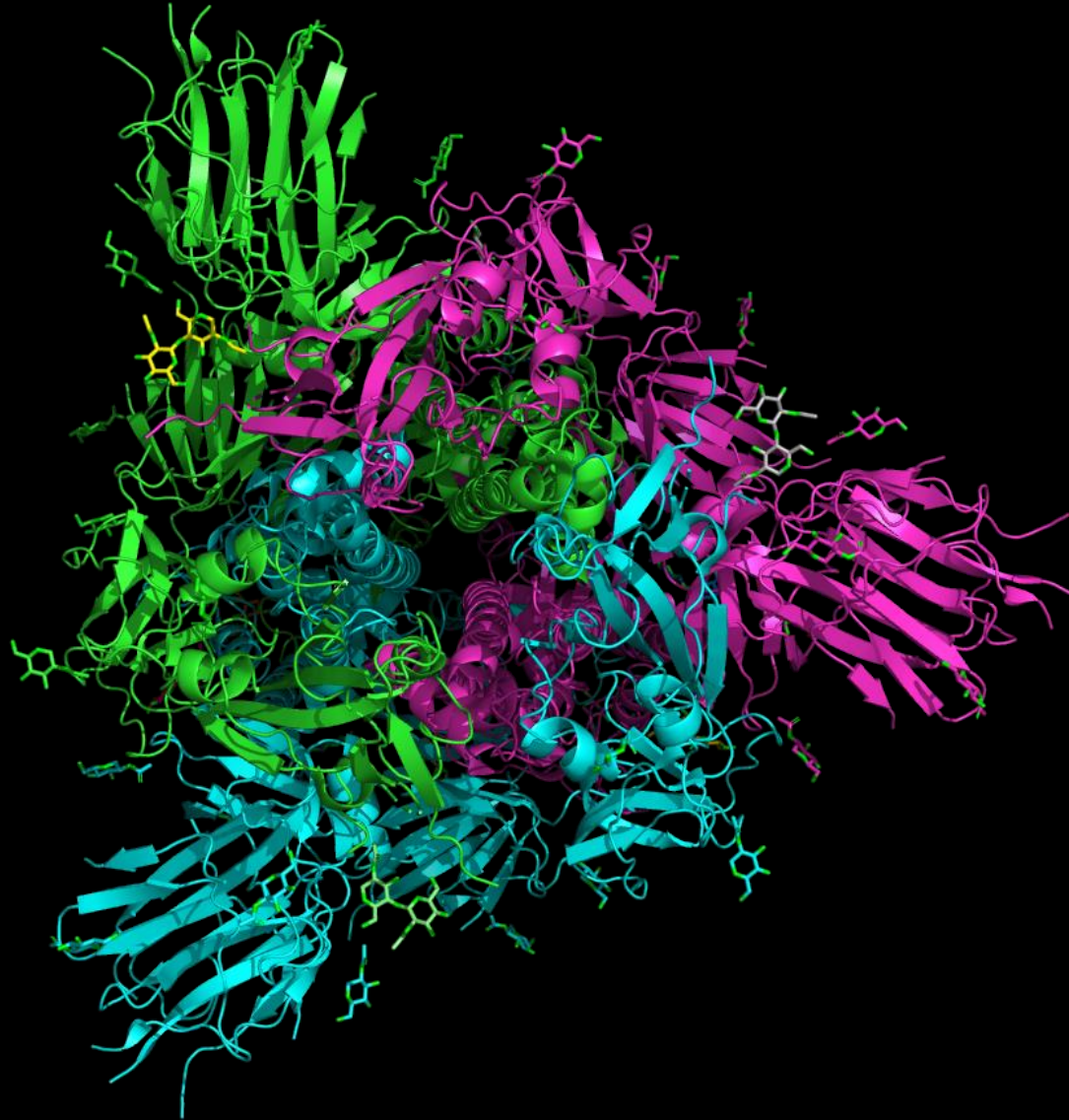
# Structures tertiaires (et quaternaires)

## 5. Apoptosome-Procaspase-9-CARD multimeric complex



# Structures tertiaires (et quaternaires)

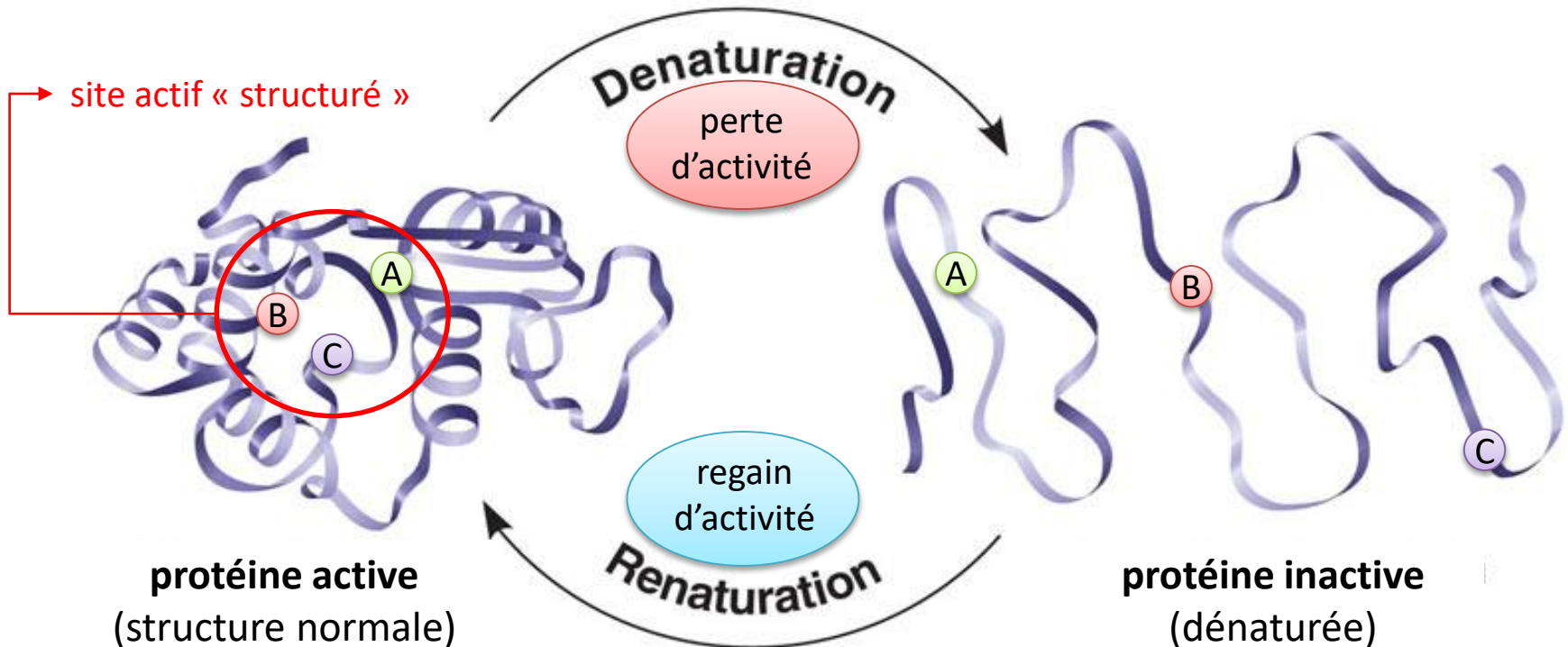
## 5. SARS-Cov2 Spike protein: homotrimère (Glycoprotéine)



# Repliement des protéines (*Protein folding*)

(structures 3D secondaires, tertiaires et quaternaires)

- L'*activité* d'une protéine est notamment due à sa *structure 3D* :
  - perte de structure 3D (dénaturation) = perte du site actif structuré = perte d'activité !



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

## Nature des interactions

- plusieurs *types d'interaction* contribuent à la stabilité de la structure 3D d'une protéine :

➤ liaisons *covalentes* (ex : 2 Cys-SH → Cys-S-S-Cys)

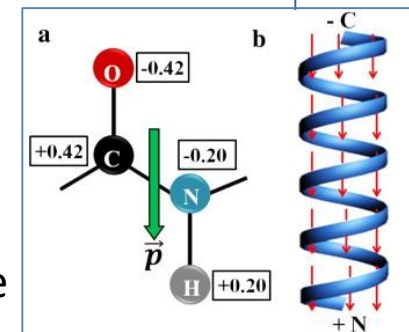
➤ interactions *ioniques* pures (-Lys-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>...<sup>-</sup>OOC-Asp<sup>-</sup>)

➤ interactions *dipolaires* (ex : liaison peptidique)

➤ liaisons *hydrogène* (-C=O...HN-) = interaction dipolaire forte

➤ interactions de *Van der Waals* (dipoles induits ; forces de dispersion)

➤ effets *hydrophobes* ( $\Delta S^{\text{total}} > 0$ )



interactions électrostatiques

- paramètres *physicochimiques* gouvernant le repliement des protéines :

➤ pH, température, force ionique, solvant, agitation, oxydation de certains aa, protéines chaperones...

# Repliement des protéines (*Protein folding*)

## Effets hydrophobes

$$\Delta S^{\text{total}} = \Delta S^{\text{système}} + \Delta S^{\text{extérieur}} > 0$$

protéine      eau

$$-\frac{\Delta H^{\text{système}}}{T}$$

*Deuxième principe de la thermodynamique :*  
-l'entropie totale du système considéré et du milieu extérieur augmente dans un processus spontané (repliement de la protéine)

$$\Delta S^{\text{protéine}} \downarrow, \text{ mais } \Delta S^{\text{eau}} \uparrow$$

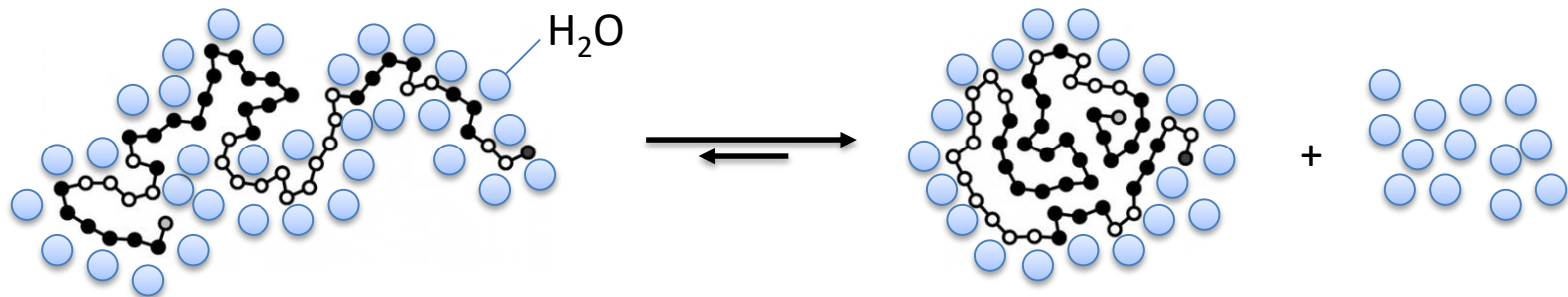


$$\Delta S^{\text{total}} > 0$$

$$\Delta S^{\text{total}} = \Delta S^{\text{système}} - \frac{\Delta H^{\text{système}}}{T} > 0$$



$$\Delta G^{\text{syst}} = -T\Delta S^{\text{total}} = \Delta H^{\text{syst}} - T\Delta S^{\text{syst}} < 0$$



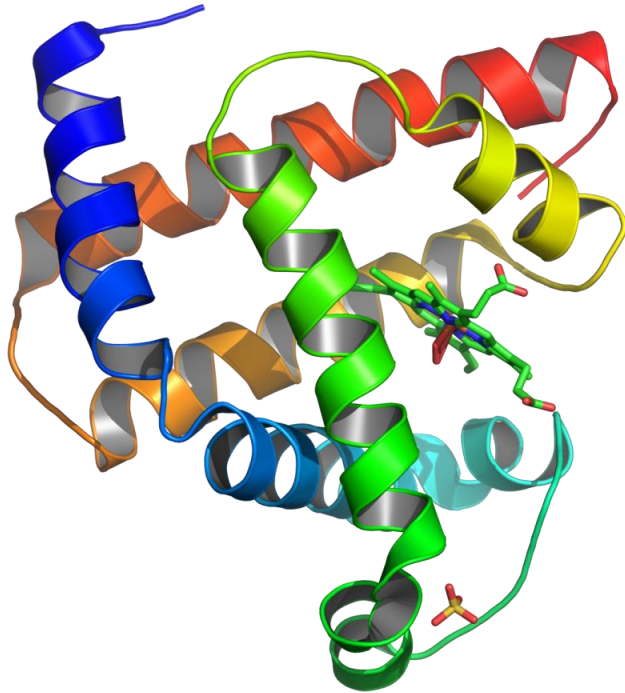
- : aa hydrophile
- : aa hydrophobe

Tout processus permettant de minimiser les interactions des molécules d'eau avec une surface apolaire induit une augmentation d'entropie de l'eau.

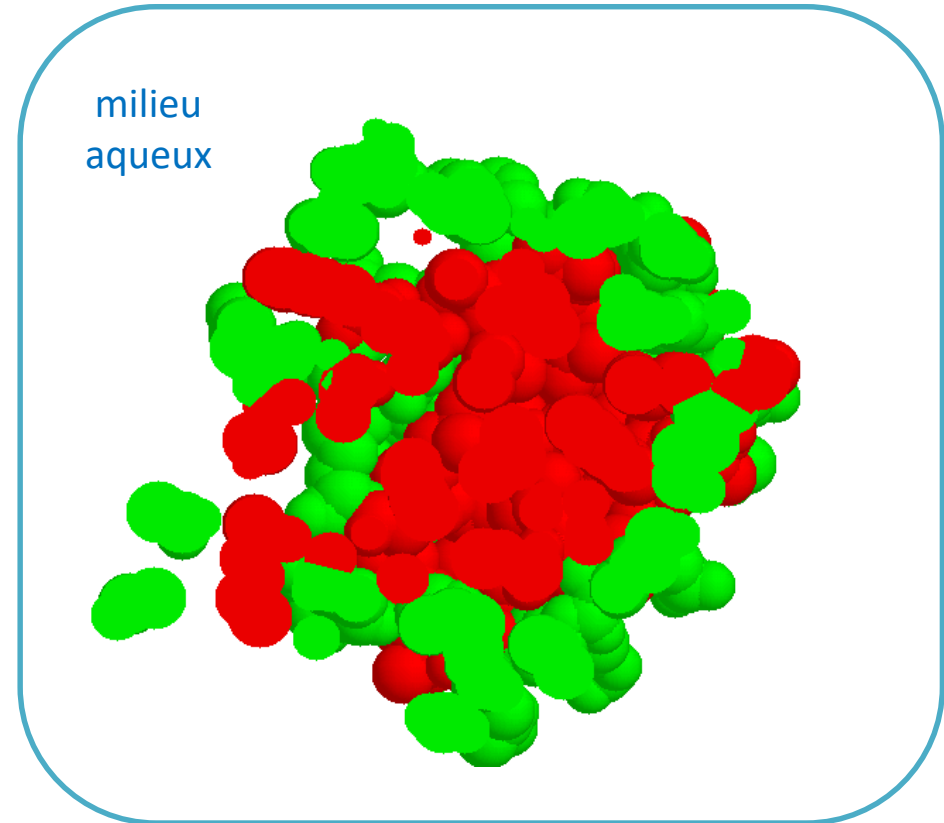


# Repliement des protéines (*Protein folding*)



## Effets hydrophobes



*Structure 3D de la myoglobine*

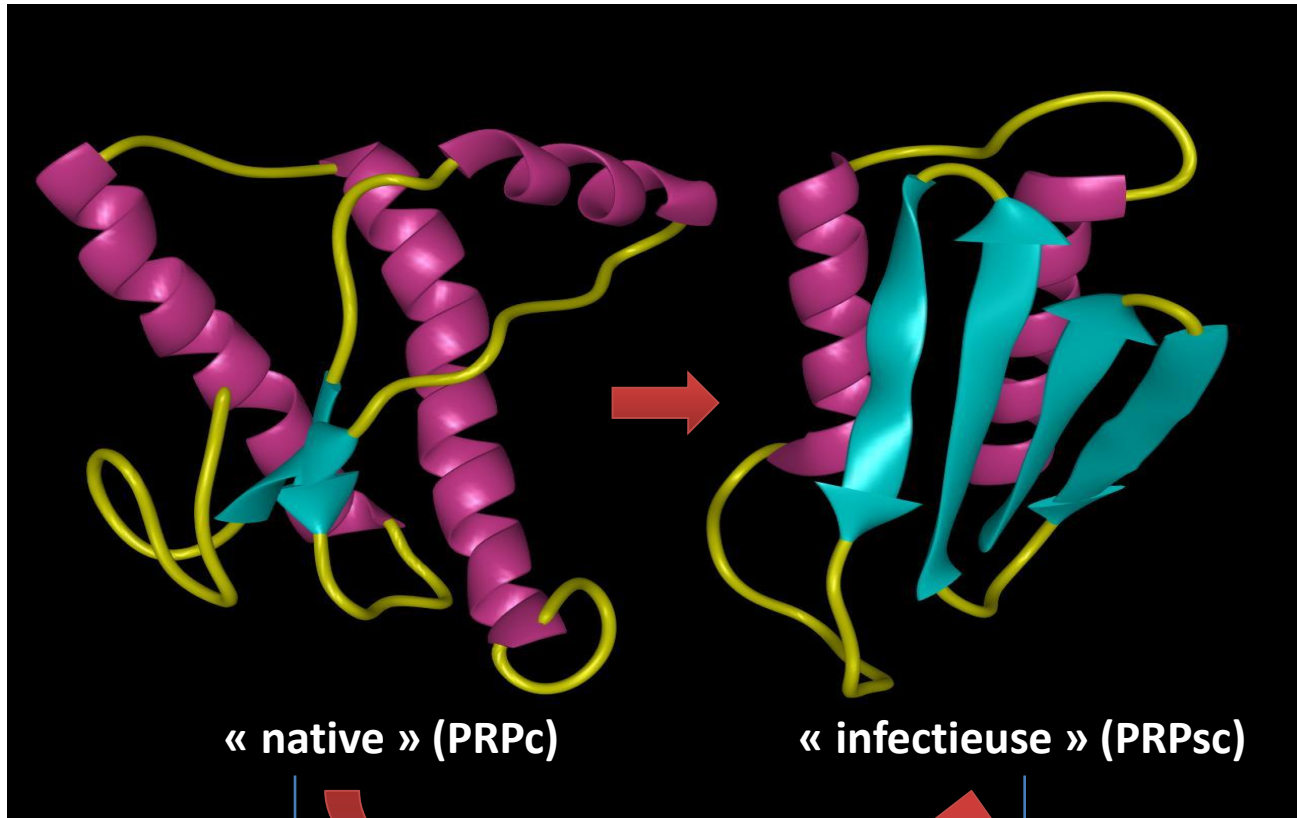


*Coupe verticale de la structure 3D de la myoglobine*

-  : aa hydrophiles (polaires)
-  : aa hydrophobes (apolaires)

# Repliement des protéines (*Protein folding*)

## La protéine PRION



-SNC, système immunitaire  
-survie + adhérence cellulaire  
-rôle clé en situation de stress

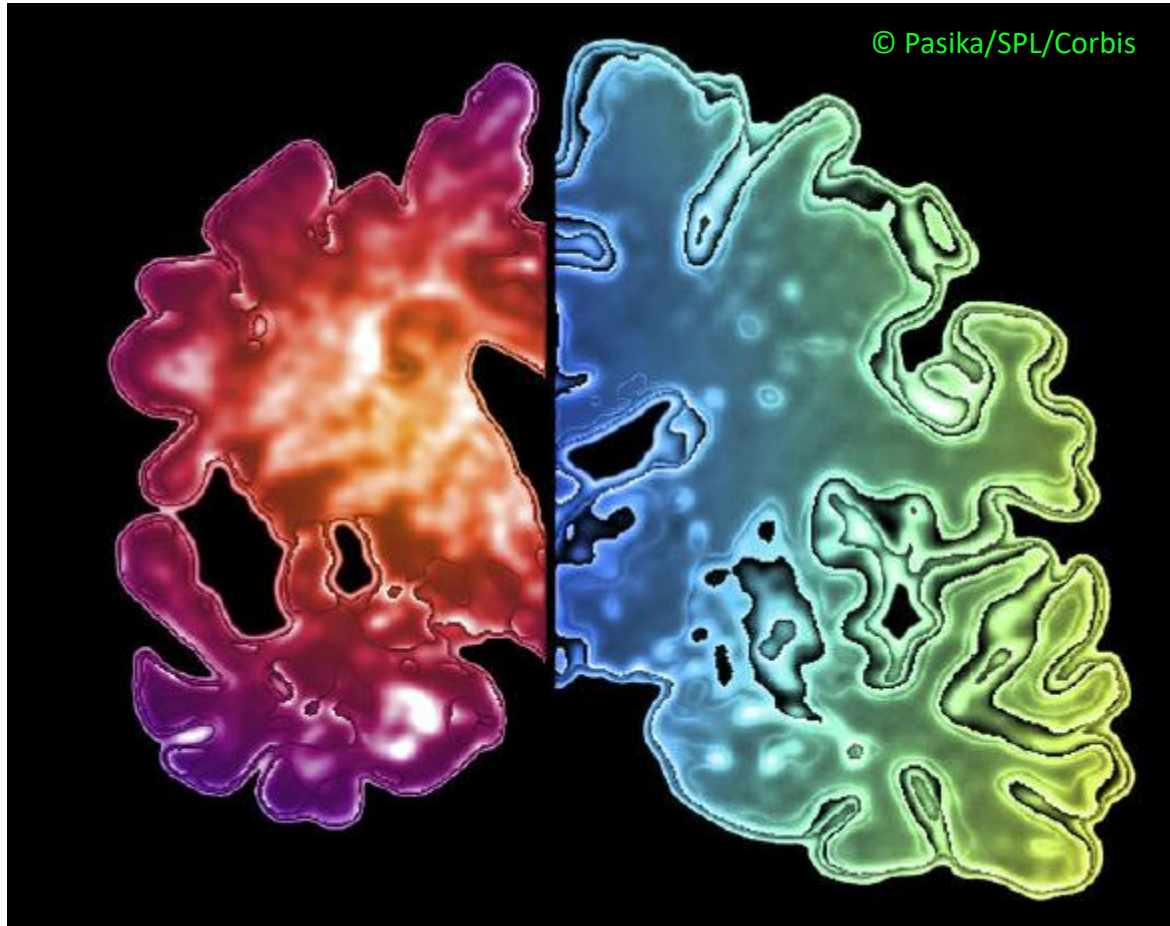
-résistante à la protéolyse  
-accumulation dans le SNC...  
-ESB, Creutzfeldt-Jakob

changement de structure 3D

changement d'activité !

# Repliement des protéines (*Protein folding*)

Accumulation de protéines « corrompues » dans le SNC



*Hémisphère cérébral  
atteint d'Alzheimer*

*Hémisphère cérébral sain*

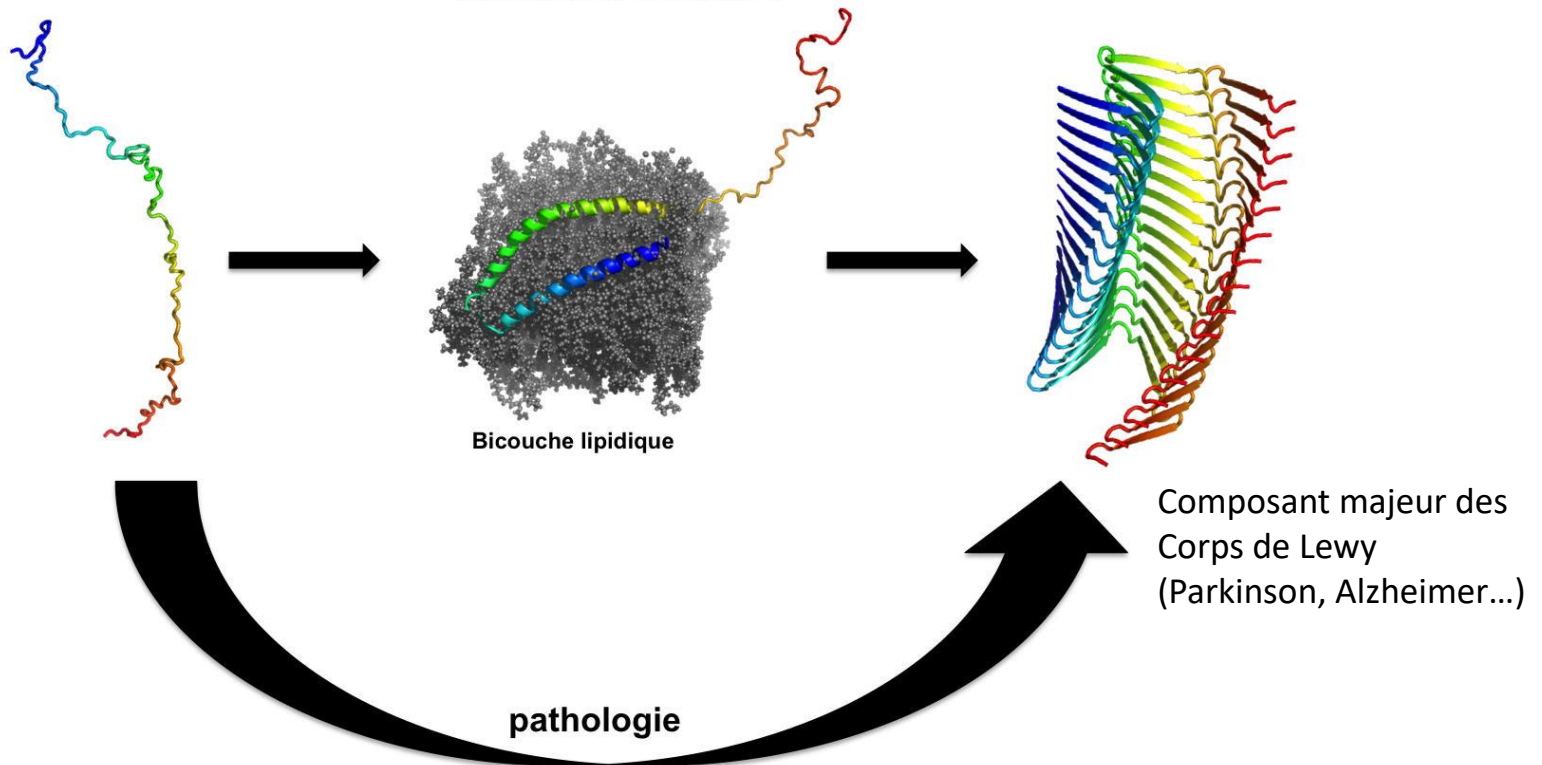
# Repliement des protéines (*Protein folding*)

Accumulation de protéines « corrompues » dans le SNC

alpha-synucléine  
déstructurée  
dans sa forme  
monomérique

alpha-synucléine dans une  
conformation riche en hélices  
alpha lors de son interaction  
avec la bicouche lipidique de la  
membrane cellulaire

alpha-synucléine  
dans sa forme  
fibrillaire riche en  
brins bêta



La formation de corps de Lewy est un processus pathologique



## Les trois principaux rôles des protéines

- a. **Protéines structurales** : rôle *structural* (collagène, kératine...)
- b. **Protéines fonctionnelles** :
  - i. rôle dans les phénomènes de *reconnaissance* :
    - récepteurs (des hormones, virus, etc)
    - reconnaissance antigènes – anticorps
  - ii. rôle *catalytique* (enzymes)

# a. Les protéines structurales : le collagène

Fabrication du collagène (composé essentiellement de Gly, HO-Pro et HO-Lys)

1: Chaîne  $\alpha$



2: Procollagène

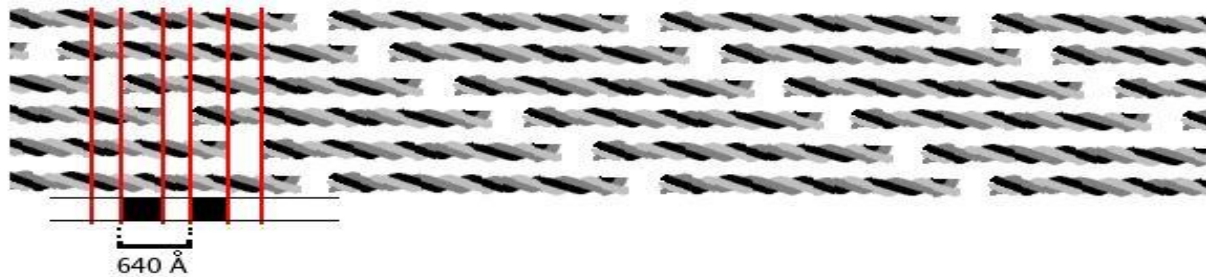


3: Tropocollagène



triple hélice  $\alpha$

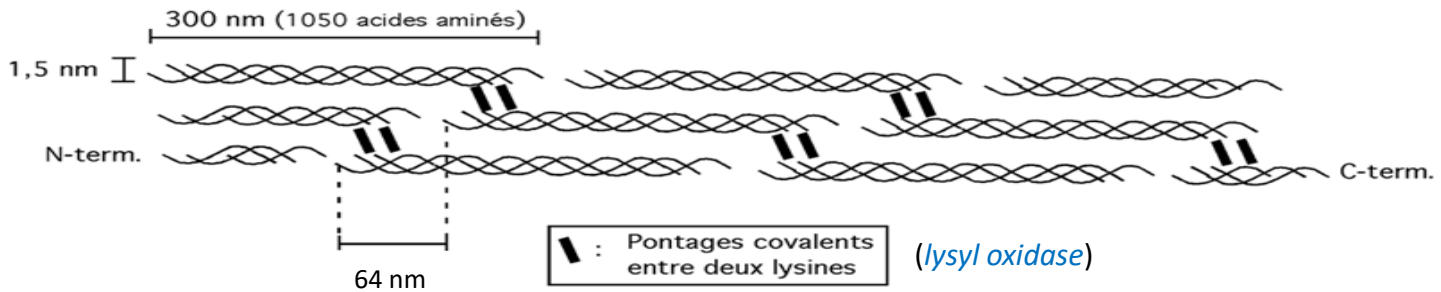
4: Fibrille



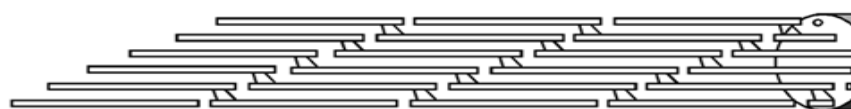
5: Fibre



peau, os, cornée, tendons,  
cartilages, muscles, ligaments...

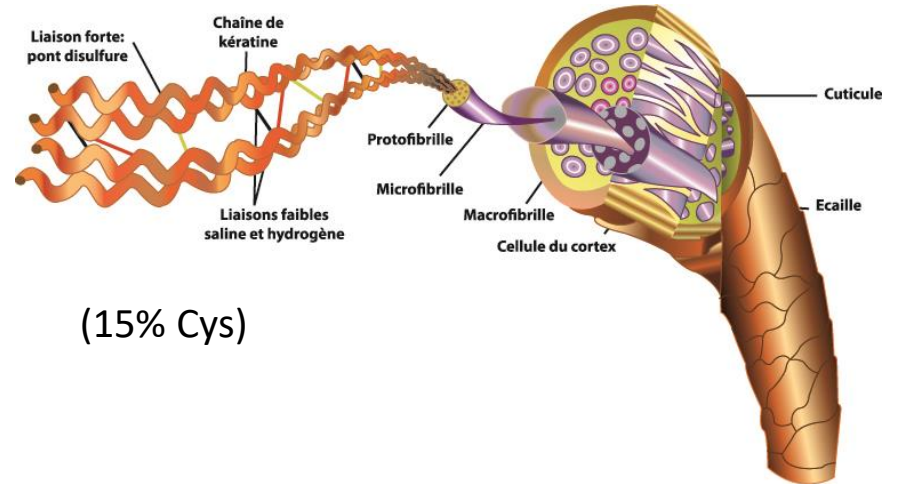
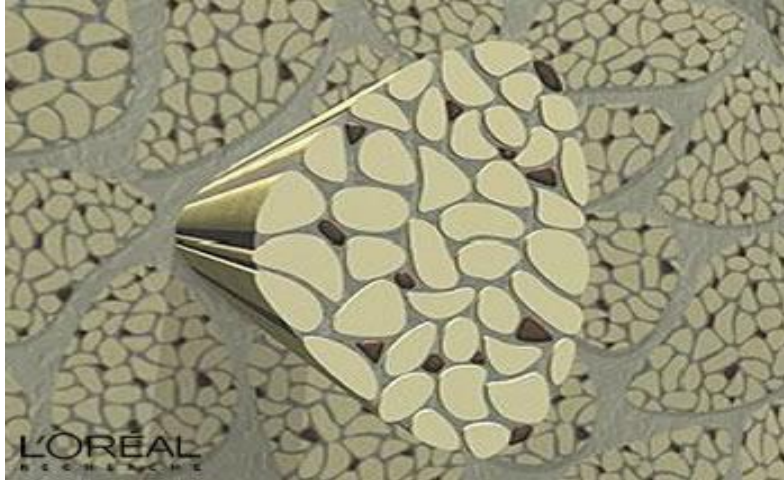


50 nm

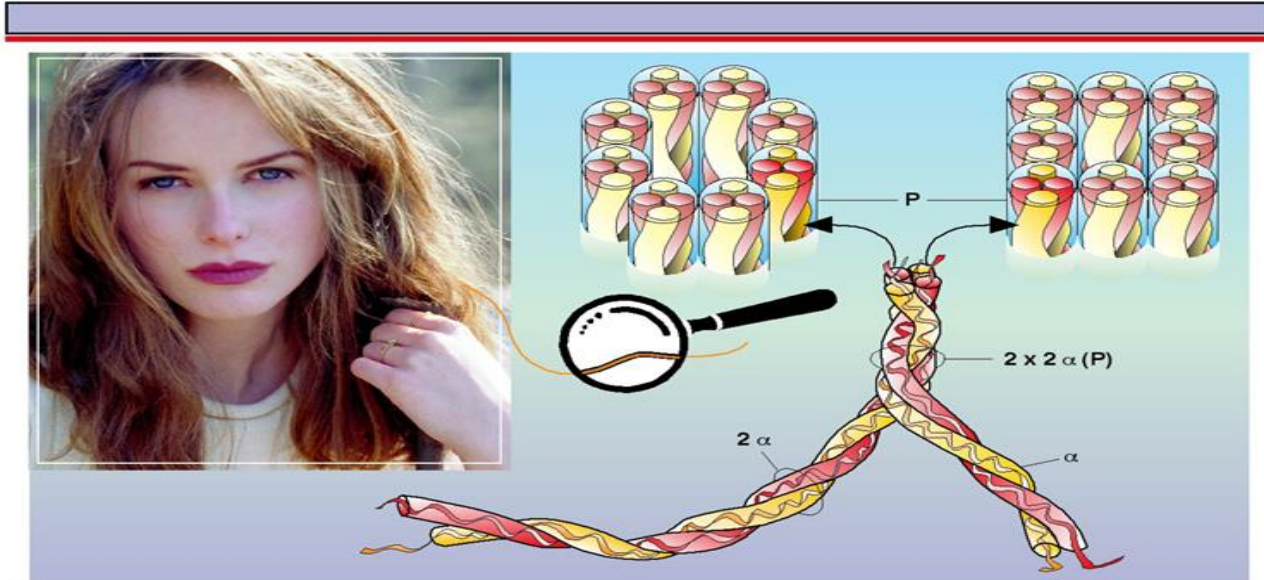


fibrille de collagène  
(environ 50 nm de diamètre)

# a. Les protéines structurales : la kératine



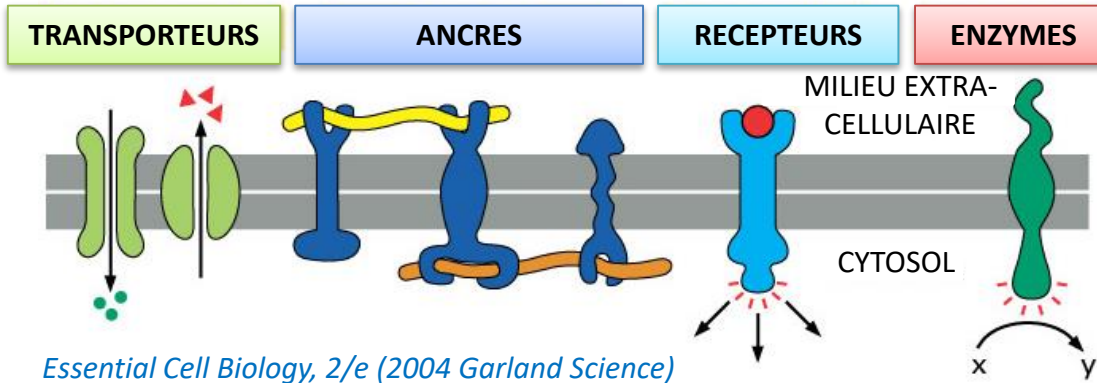
(15% Cys)



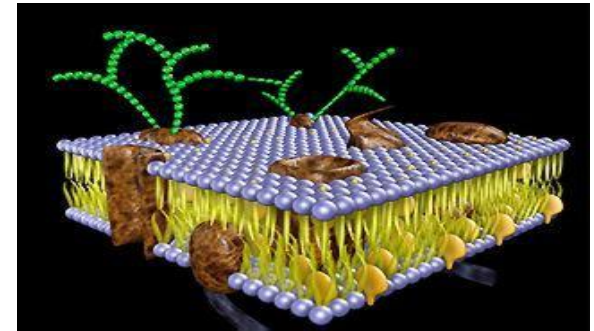
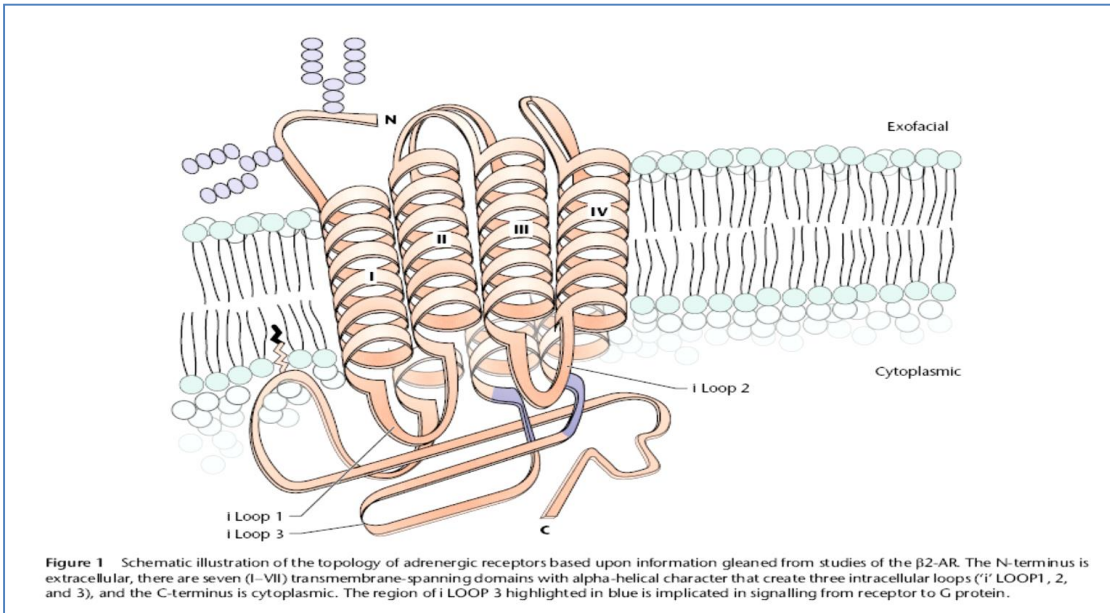
peau, muqueuses,  
phanères (ongles,  
cheveu, cil, poil)

## b. Les protéines fonctionnelles

### i) Phénomènes de reconnaissance (protéines membranaires)



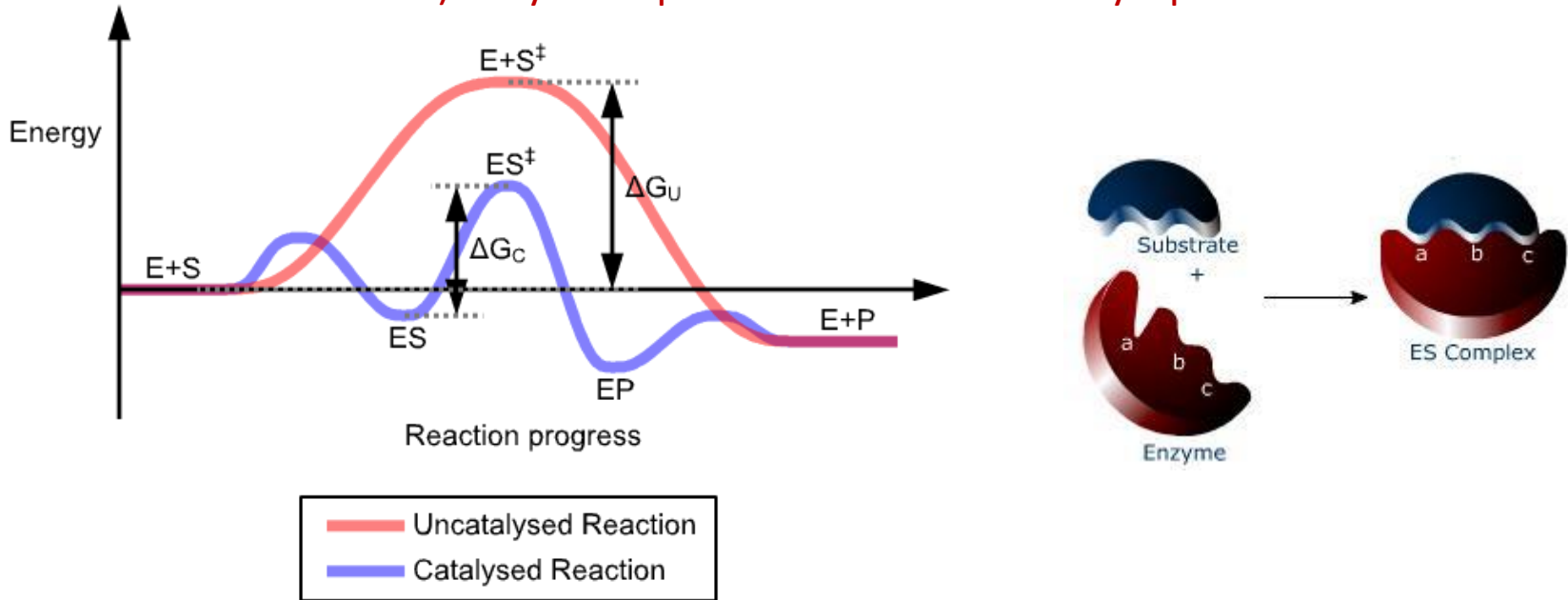
- virus
- toxines
- hormones
- cellules
- anticorps...





## b. Les protéines fonctionnelles

### ii) Enzymes : protéines à activité catalytique



## Visualisation graphique des protéines

1. Swiss pdb Viewer : <http://spdbv.vital-it.ch/>  
 •Pov Ray : <http://www.povray.org/>
2. PyMol : <http://pymol.org/>
3. Discovery Studio : <http://accelrys.com>
4. Protein explorer in Jmol : <http://jmol.proteinexplorer.org>
5. Chimera : <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>