

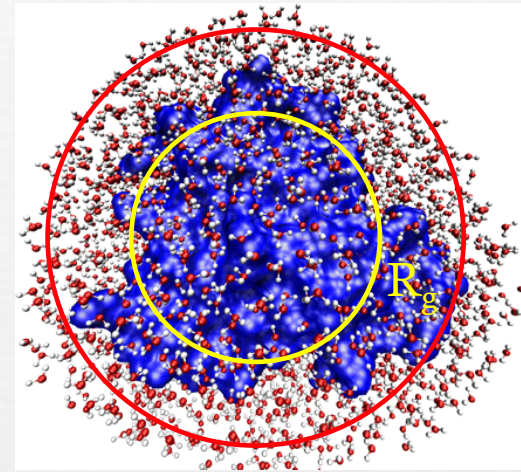
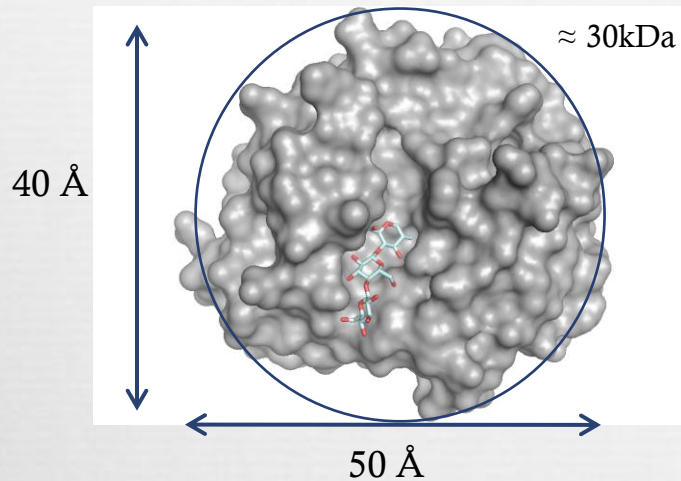
Partie 1 : Repliement et structure tertiaire

V/ La forme des protéines

Globules et fibrilles

- Les protéines membranaires
- Les protéines fibrillaires
- Le cytosquelette

Les protéines globulaires



Frauenfelder H. PNAS 2009

Le rayon de giration (R_g) : moyenne quadratique de l'ensemble des distances atomiques à partir du centre de gravité

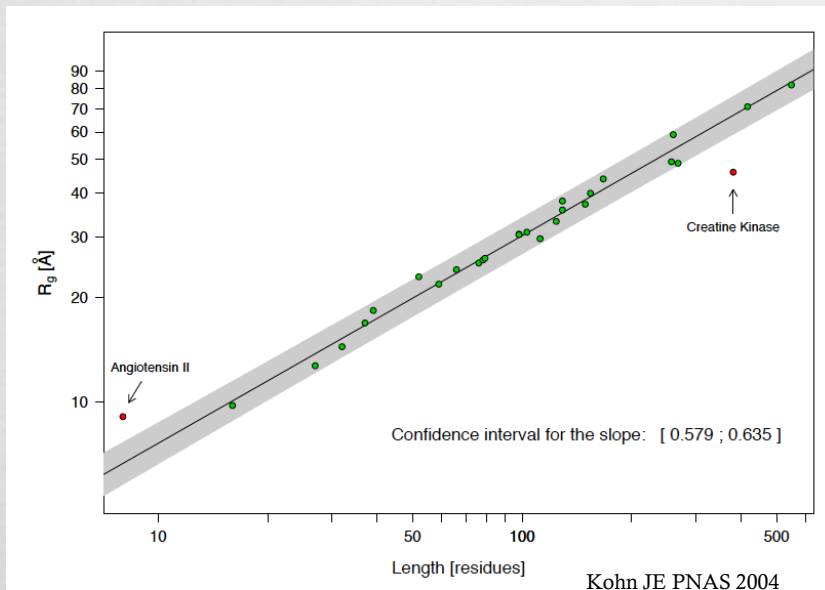
Couche d'hydratation : couche d'eau spécifique qui entoure la protéine

Le rayon d'hydrodynamique (R_H) : rayon de la protéine corrélé à sa diffusion

Rayon de Stokes-Einstein :

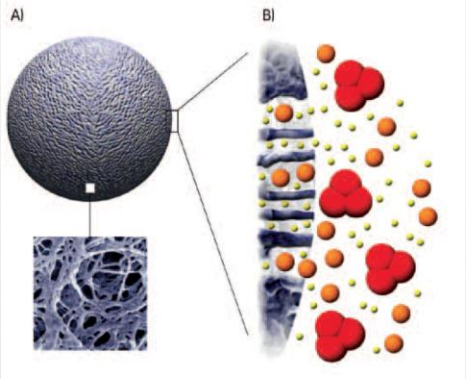
$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

Small Angle X-ray Scattering (SAXS)
Dynamic Light Scattering (DLS)



Conséquences expérimentales

Gel filtration (Size Exclusion Chromatography)



Columns: A) HiLoad 16/600 Superdex 75 prep grade

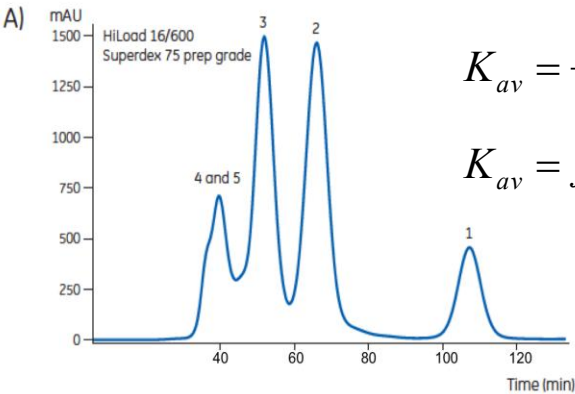
Sample:

- 1. Myoglobin, 1.5 mg/ml, M_r 17 000
- 2. Ovalbumin, 5 mg/ml, M_r 44 000
- 3. Albumin, human 5 mg/ml, M_r 66 000
- 4. IgG, 0.2 mg/ml, M_r 158 000
- 5. Ferritin, 0.24 mg/ml, M_r 440 000

Sample volume: 500 μ l

Buffer: 0.010 M phosphate buffer 0.14 M NaCl, 0.0027 M KCl, pH 7.4 (PBS)

Flow rate: 1 ml/min (30 cm/h)



$$K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$
$$K_{av} = f(\text{LogMW})$$

Ultracentrifugation Analytique (AUC)

Protein	Dimensions (nm)	Mass	S_{max}	S	S_{max}/S
Globular protein standards dimensions are from pdb files					
Phosphofructokinase	14×9×9	345,400	17.77	12.2	1.46
Catalase	9.7×9.2×6.7	230,000	13.6	11.3	1.20
Serum albumin	7.5×6.5×4.0	66,400	5.9	4.6	1.29
Hemoglobin	6×5×5	64,000	5.78	4.4	1.32
Ovalbumin	7.0×3.6×3.0	43,000	4.43	3.5	1.27
FtsZ	4.8×4×3	40,300	4.26	3.4	1.25
Elongated protein standards—tenascin fragments (27, 28); heat repeat (29, 30)					
TNfn1-5	14.7×1.7×2.8	50,400	4.94	3.0	1.65
TNfn1-8	24.6×1.7×2.8	78,900	6.64	3.6	1.85
TNfnALL	47.9×1.7×2.8	148,000	10.1	4.3	2.36
PR65/A HEAT repeat	17.2×3.5×2.0	60,000	5.53	3.6	1.54
Fibrinogen	46×3×6	390,000	19.3	7.9	2.44

$$S_{\text{Max}} = \frac{10^{13} M(1 - v_p \rho_s)}{N_0 f_{\text{min}}}$$
$$f_{\text{min}} = 6\pi\eta_s R_{\text{min}}$$

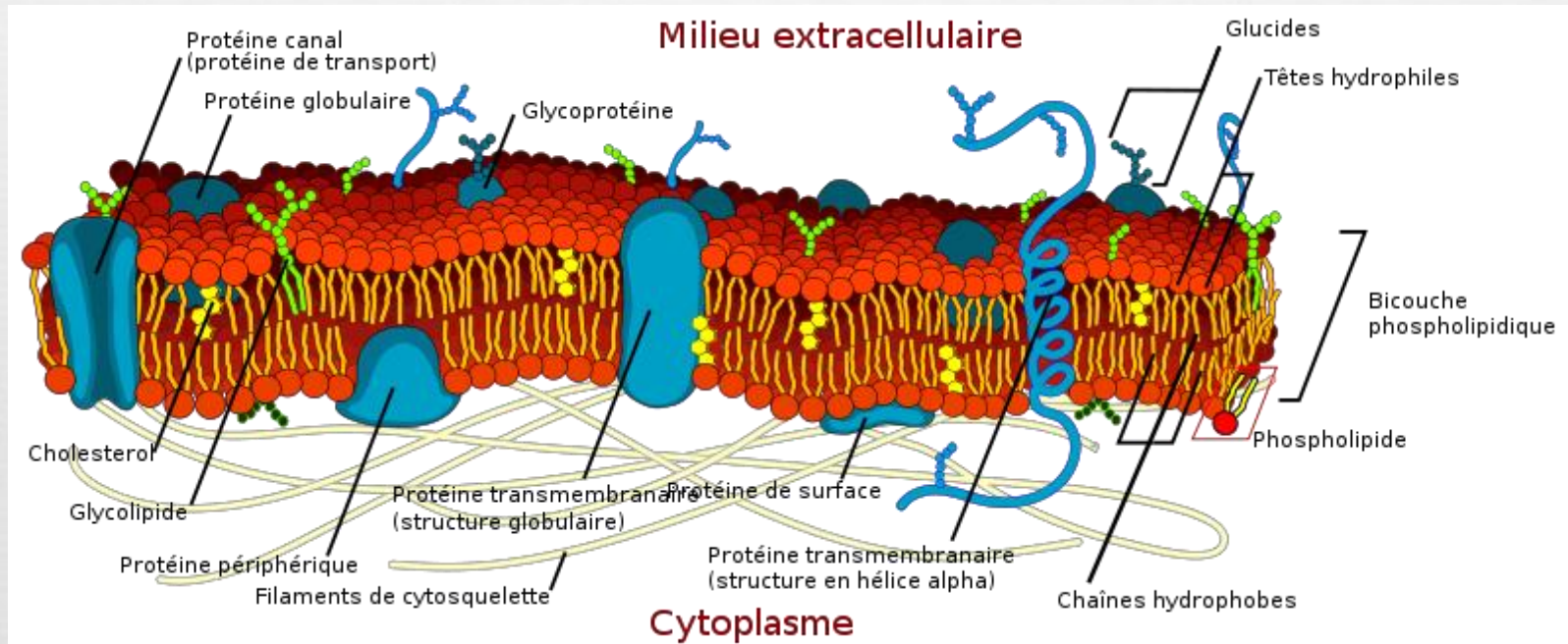
Partie 1 : Repliement et structure tertiaire

V/ La forme des protéines

Globules et fibrilles

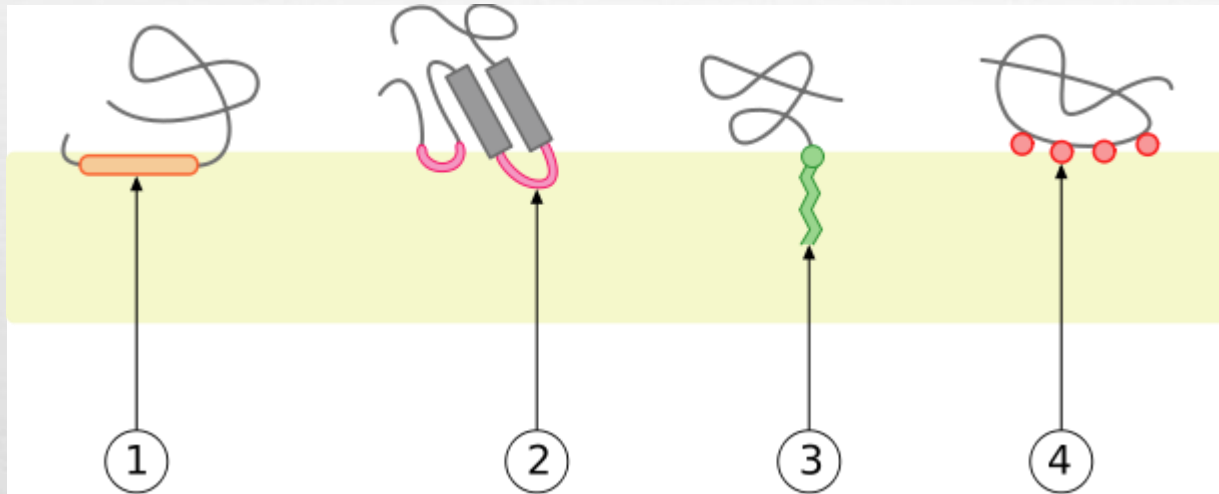
- Les protéines membranaires
- Les protéines fibrillaires
- Le cytosquelette

Les protéines membranaires



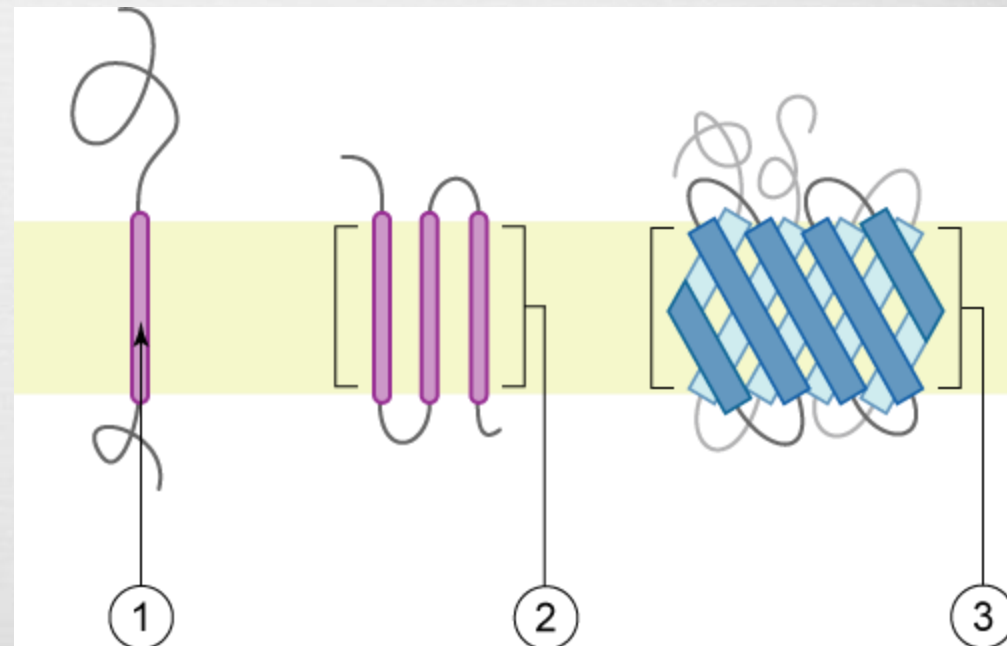
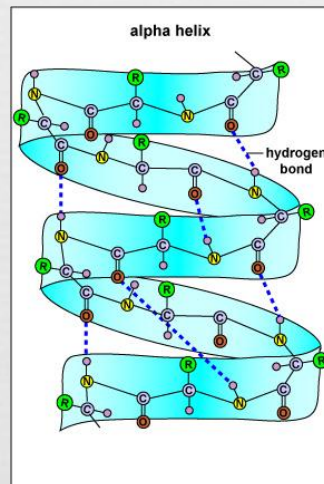
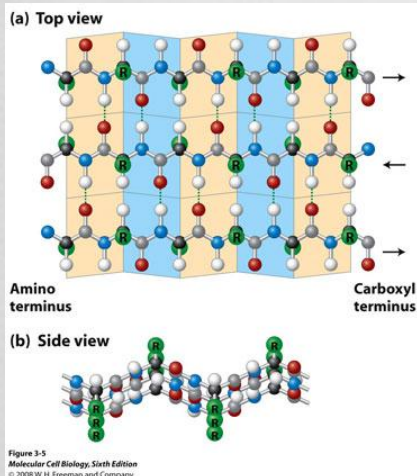
Quels sont les structures compatibles avec les protéines membranaires ?

Les protéines membranaires



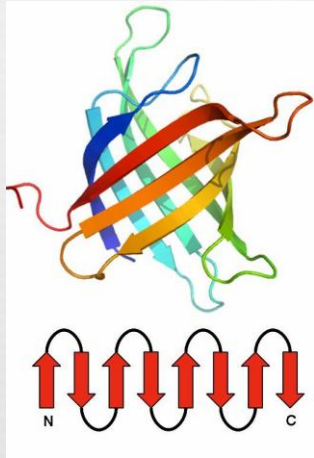
Protéines associées à la membrane

Protéines transmembranaires

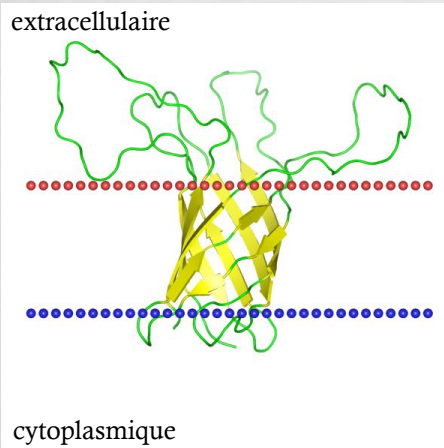


Les protéines transmembranaires

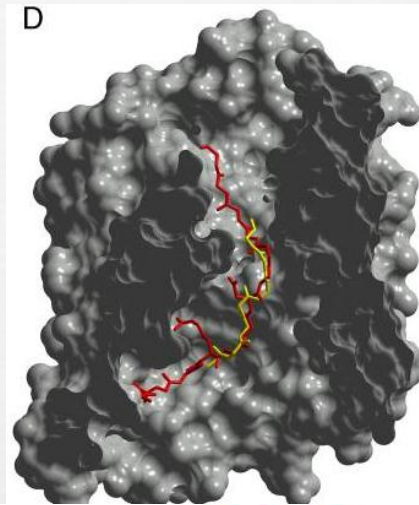
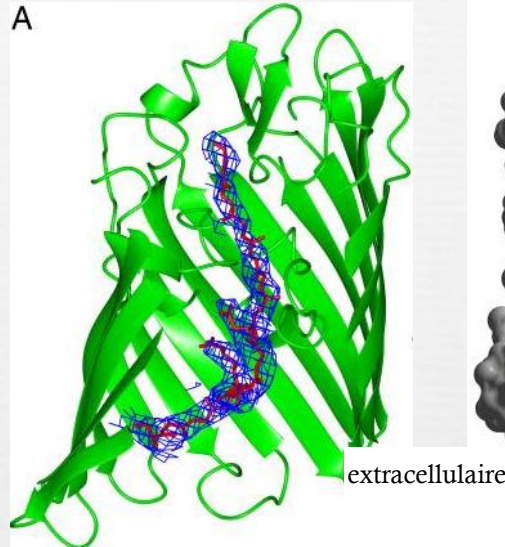
- Structure en β barrel



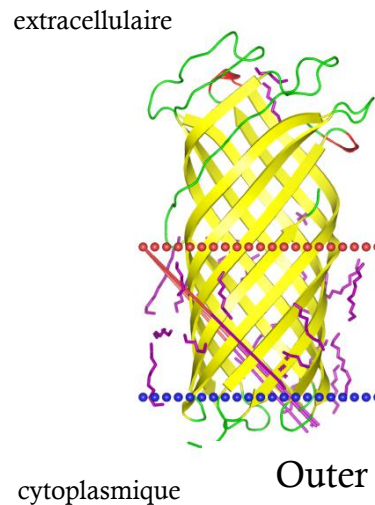
Outer Membrane Protein
(OprH)



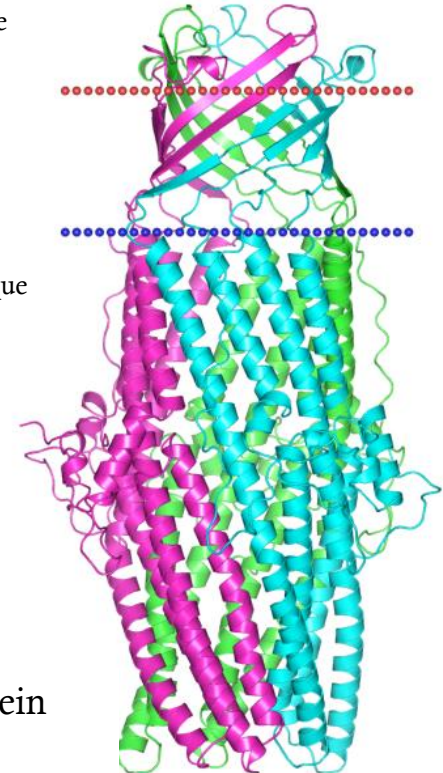
Porine (OmpF)



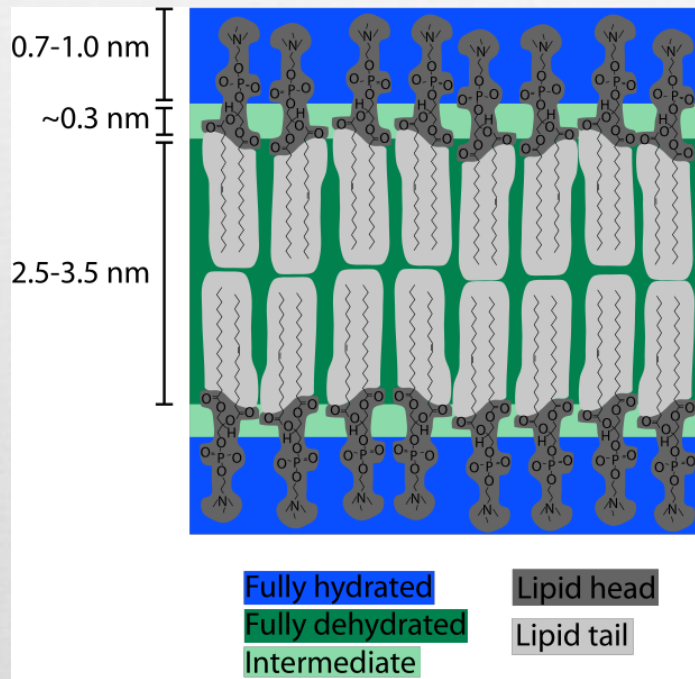
Plasminogen activator



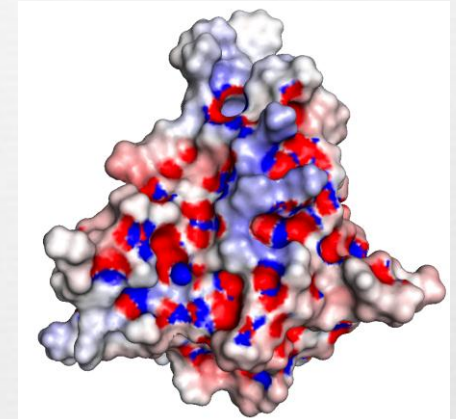
Outer Membrane Protein
(OprM)



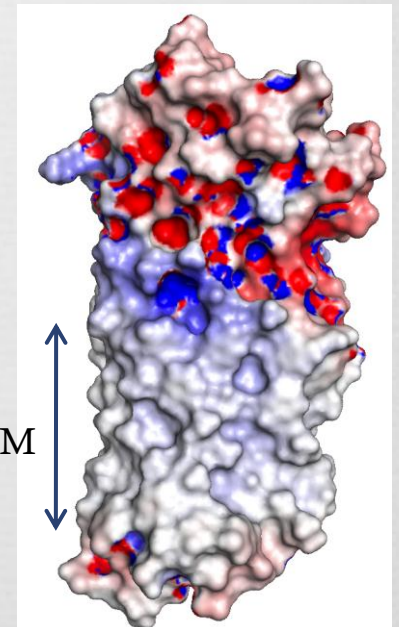
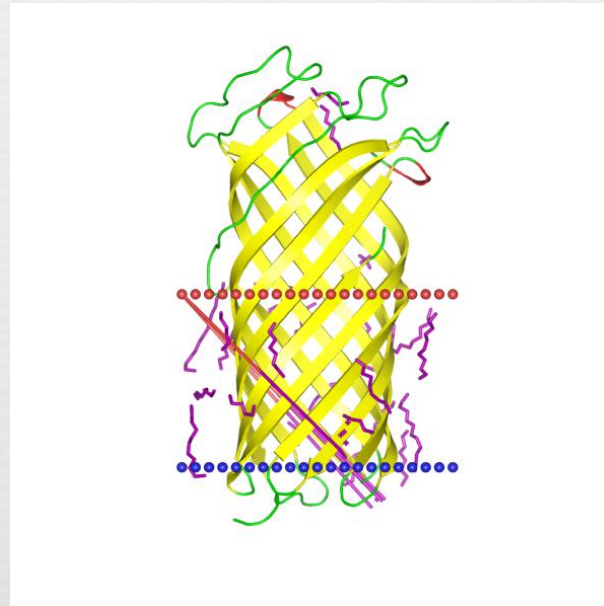
Les protéines membranaires



Retinol Binding Protein



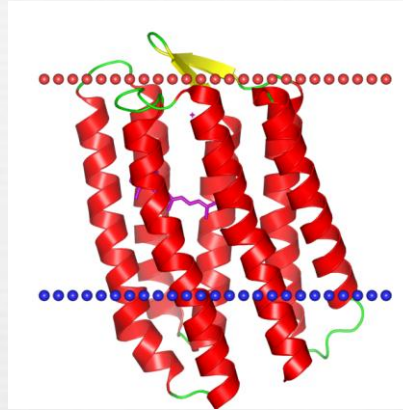
Plasminogen activator



Les protéines membranaires

- Structure en hélices α

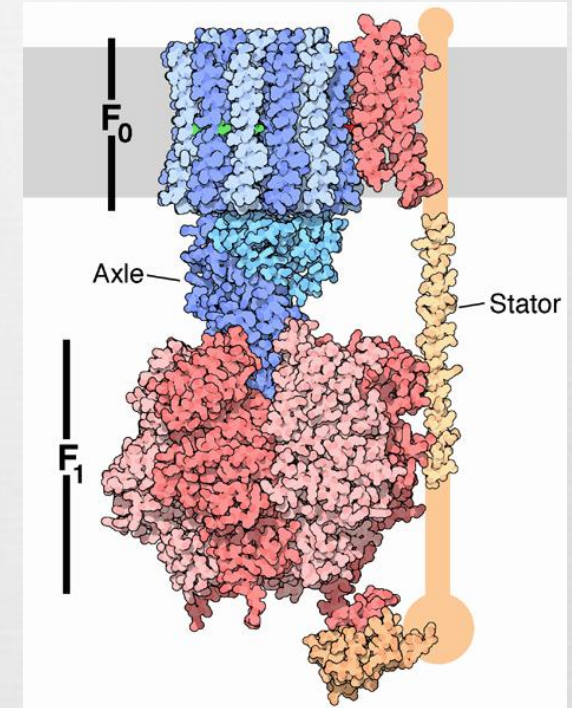
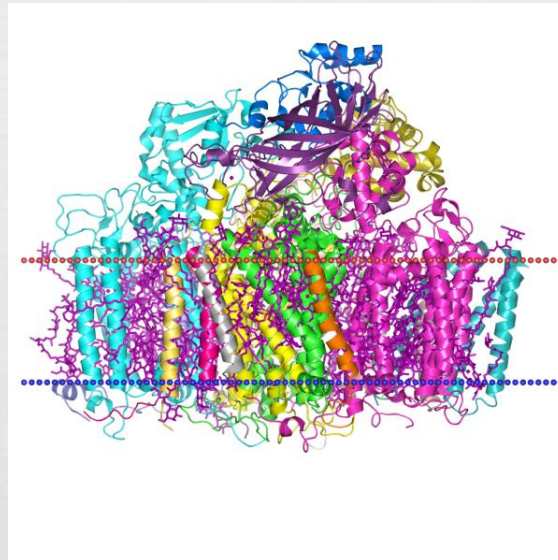
Rhodopsine



β adrénergique receptor



Photosystème II



ATPase

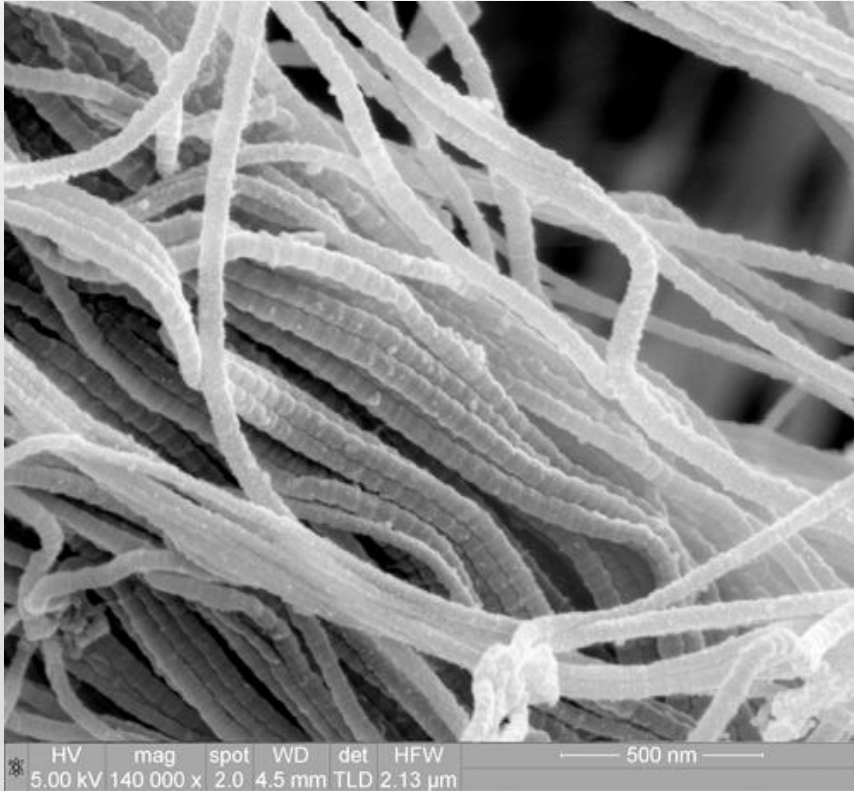
Partie 1 : Repliement et structure tertiaire

V/ La forme des protéines

Globules et fibrilles

- Les protéines membranaires
- Les protéines fibrillaires
- Le cytosquelette

Le collagène



- Constituant de la matrice extracellulaire responsable de la cohésion des tissus et des organes.
- Confère la résistance, la souplesse et l'élasticité aux différents tissus (Sa résistance à la traction est proche de celle de l'acier)
- Les altérations du collagène se répercutent sur le fonctionnement de nombreux tissus et organes.

23 types de collagènes à partir de 38 chaînes :

Le type I : le plus abondant, compose les ligaments, les tendons, les os

Le type II : représente plus de 50% des protéines du cartilage

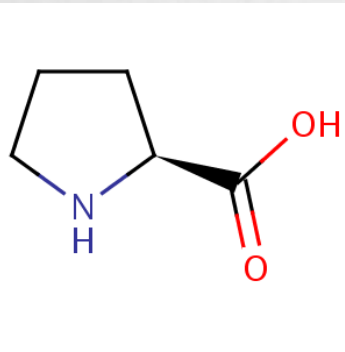
Le type III : renforce les parois des structures creuses comme le cœur, les artères, l'intestin et l'utérus

Le type IV : forme la membrane basale des épithéliums

Le collagène

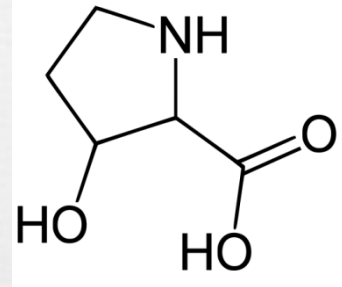
Le collagène est composé principalement de trois acides aminés : la glycine pour 35%, la proline pour 7 à 9 % et l'hydroxyproline pour 12 à 14% (selon les types de collagènes)

S-proline

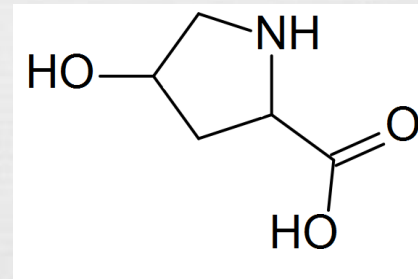


Prolyl hydroxylase

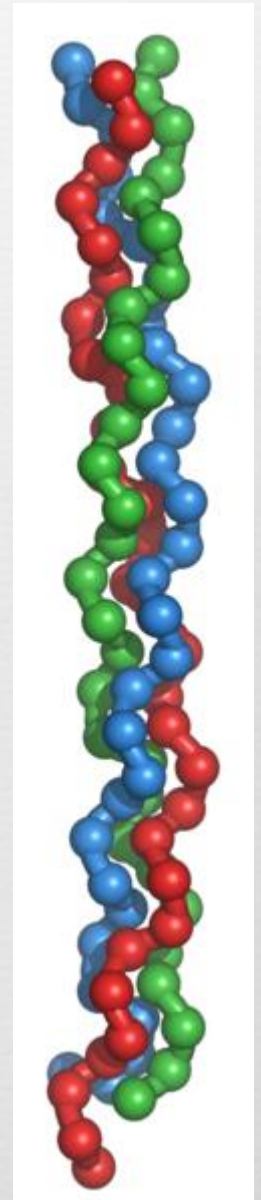
3- hydroxyproline



4-hydroxyproline

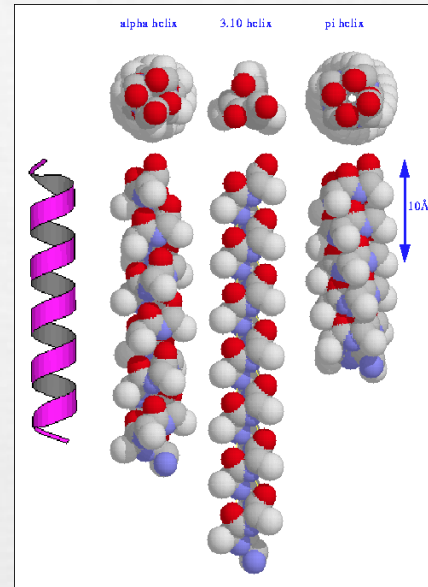
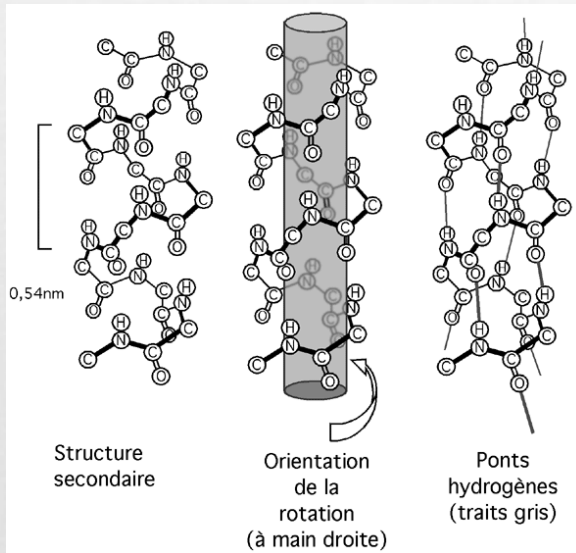


Augmente stabilité par création de liaisons covalentes (aldolisation)



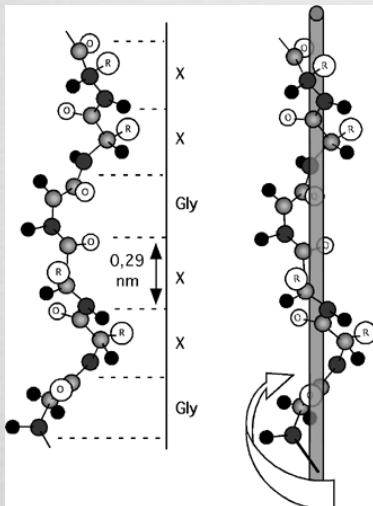
Le collagène

Quels sont les caractéristiques de l'hélice α ?

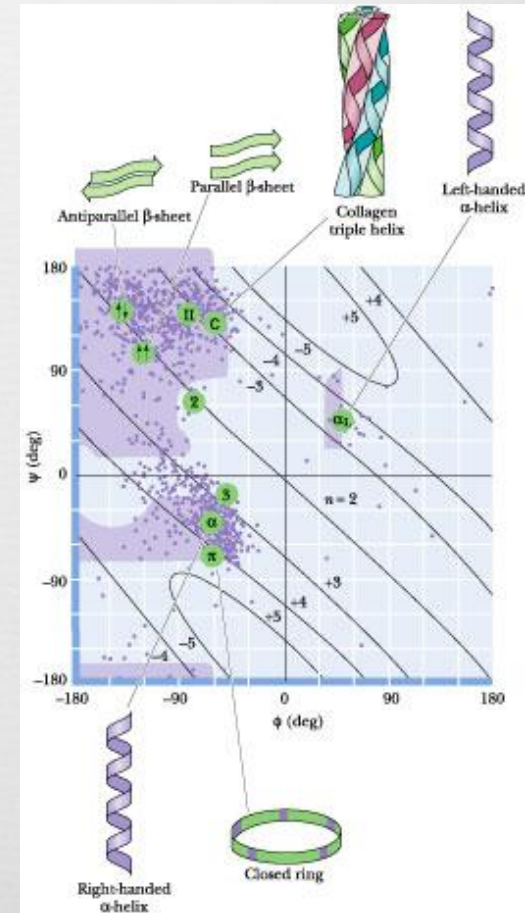


Hélice 3_{10} : 3 res/tour (0,2nm)
 Hélice π : 4,1 res/tour (0,115nm)

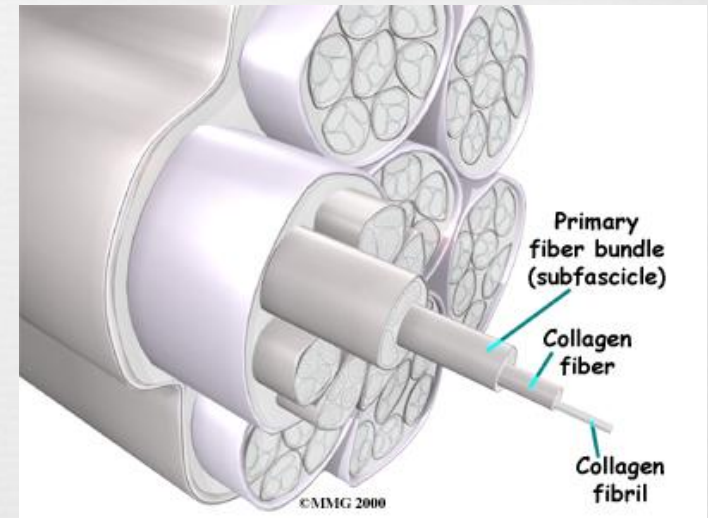
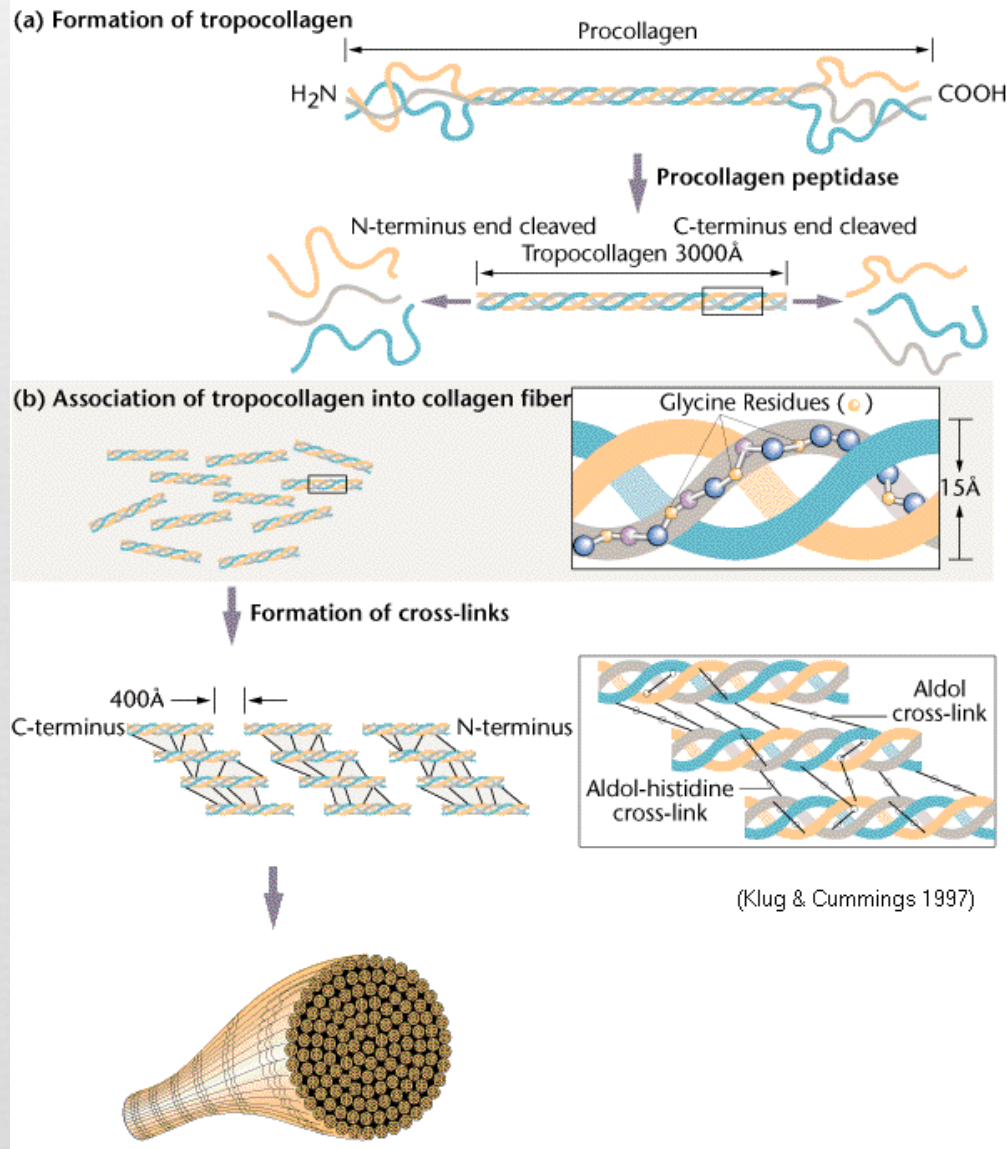
Hélice de collagène



- Hélice **gauche**
- s'élève de **0,29nm** par résidu
- compte un peu moins de **3 résidus par tour**
- Pas de liaisons hydrogènes



Le collagène



Les kératines

α kératines :

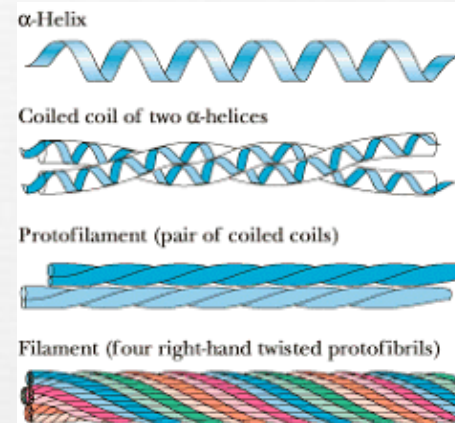
Peau, cornée, cheveux, ongles, sabots, cornes, poils

54 types de kératine (chez mammifères)

28 type I et 26 type II

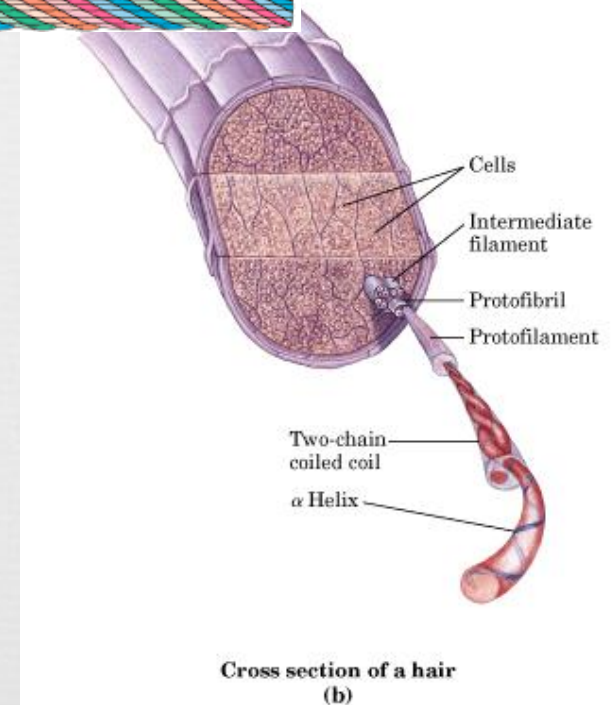
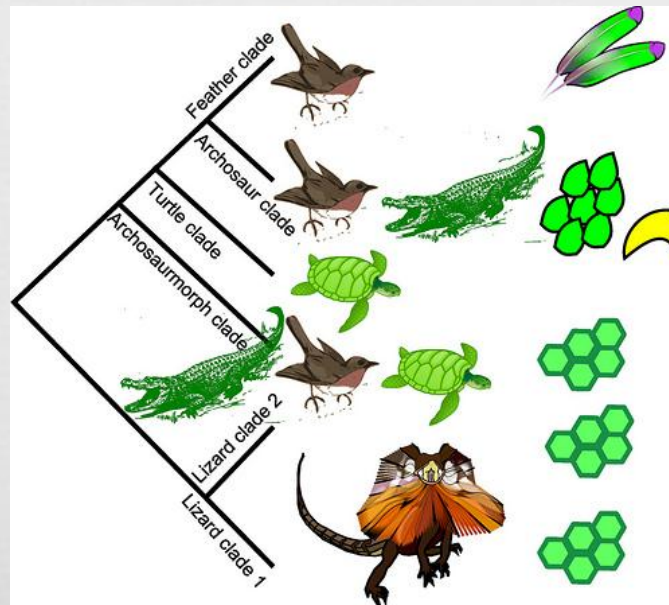
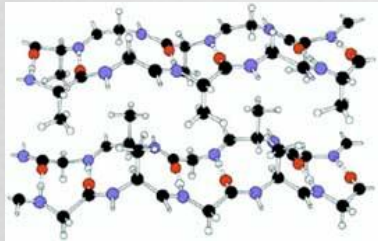
hélices α 3,5 res/tour

Riche en Ala, Val, Leu, Phe et Cys

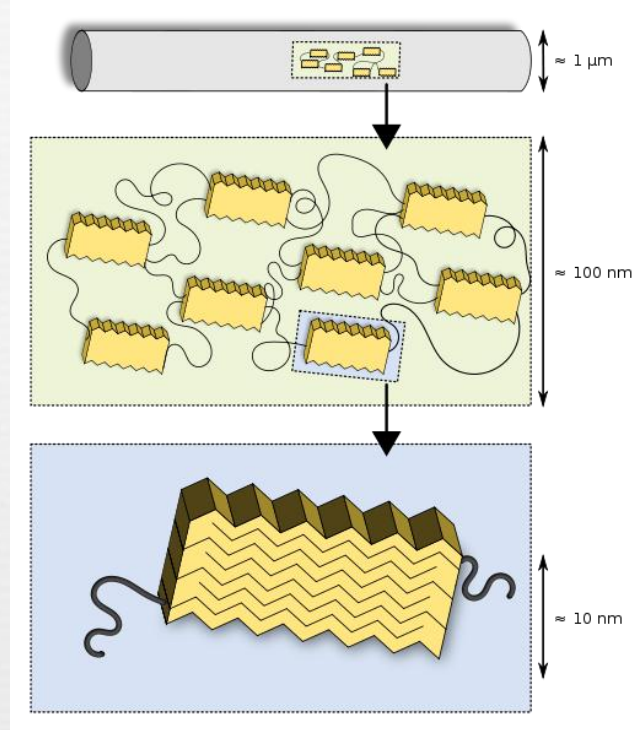
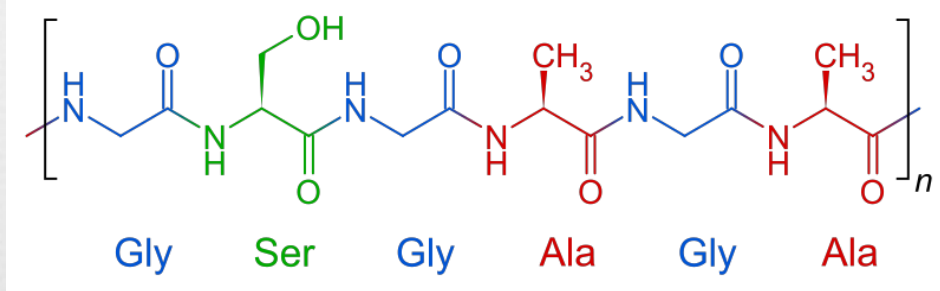


β kératines :

peau des reptiles, ongles, plumes, becs, griffes...



La fibroïne



Partie 1 : Repliement et structure tertiaire

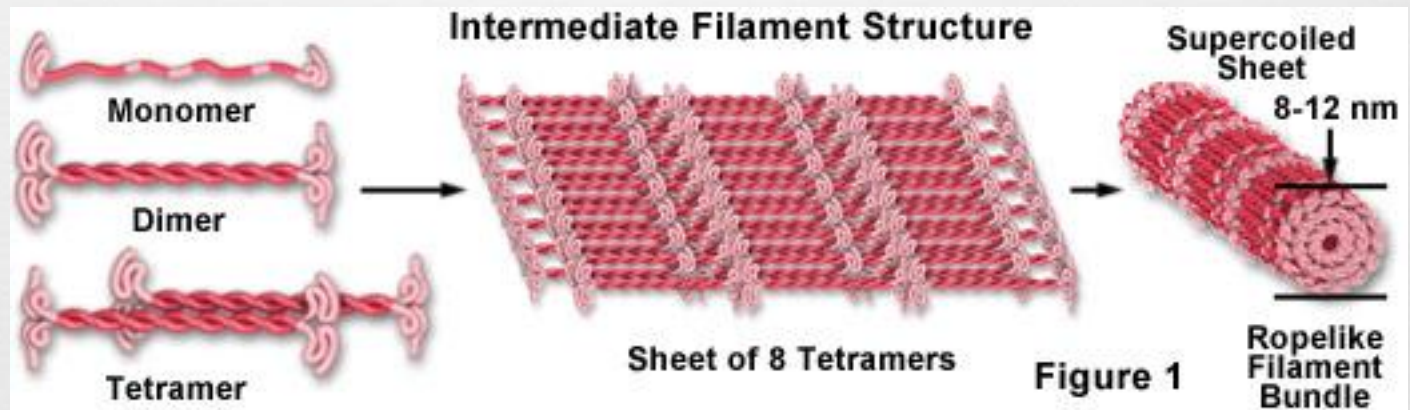
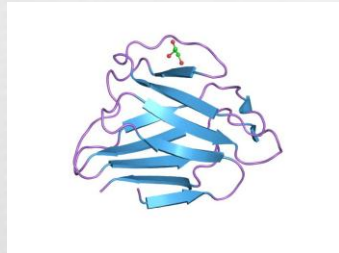
V/ La forme des protéines

Globules et fibrilles

- Les protéines membranaires
- Les protéines fibrillaires
- Le cytosquelette

Les filaments intermédiaires

Diamètre moyen de 10nm (entre diamètre de les filaments d'actine et microtubules)
Deux extrémités N-terminale et C-terminale globulaires reliées par longue hélice α
Association par « coil-coiled »



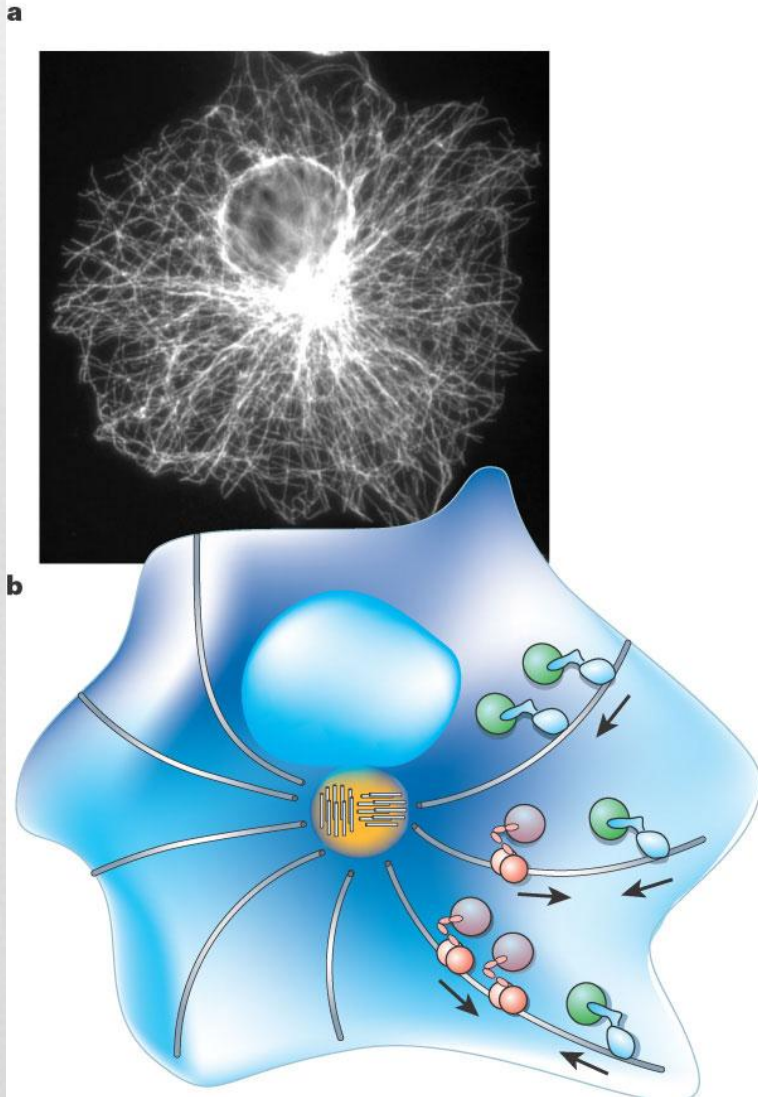
Plusieurs types de filaments intermédiaires selon le type cellulaire

Rôle structural important

- maintient la forme globale de la cellule
- l'ancrage des organites
- formations des extensions (axones)
- adhérence cellulaires (desmosomes)

Les microtubules

Diamètre 25nm/ longueur variable



tubuline

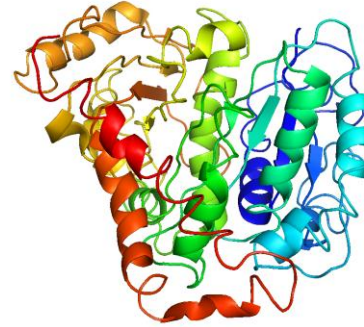
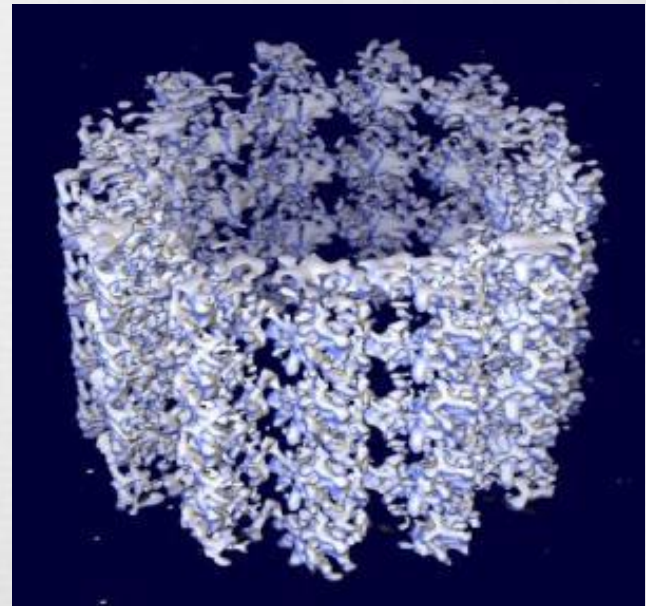


Image de microscopie électronique du MT



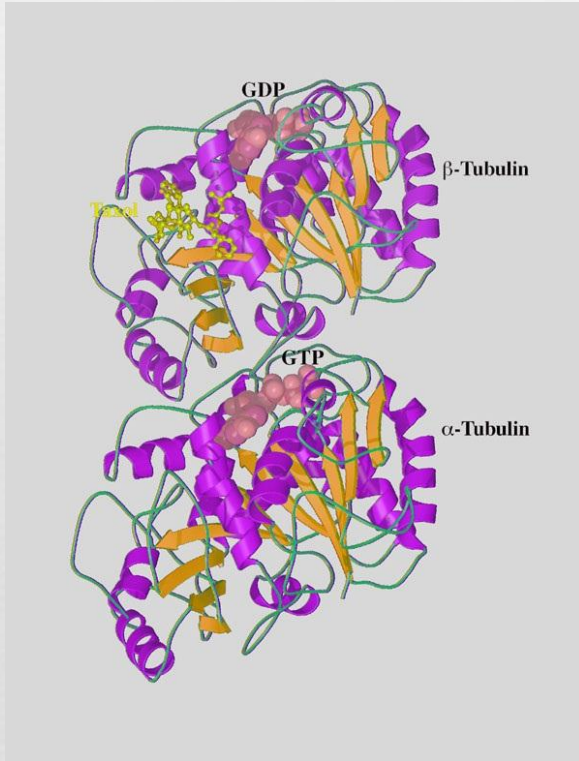
[Dynamics and mechanics of the microtubule plus end](#)

Joe Howard and Anthony A. Hyman

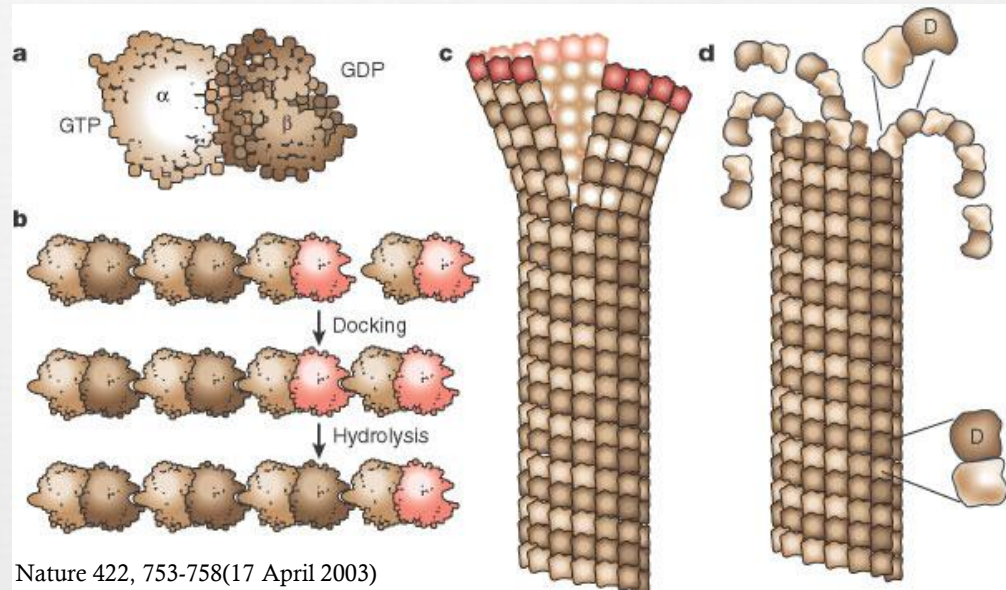
Nature 422, 753-758(17 April 2003)

Les microtubules

Polymérisation d'un hétérodimère

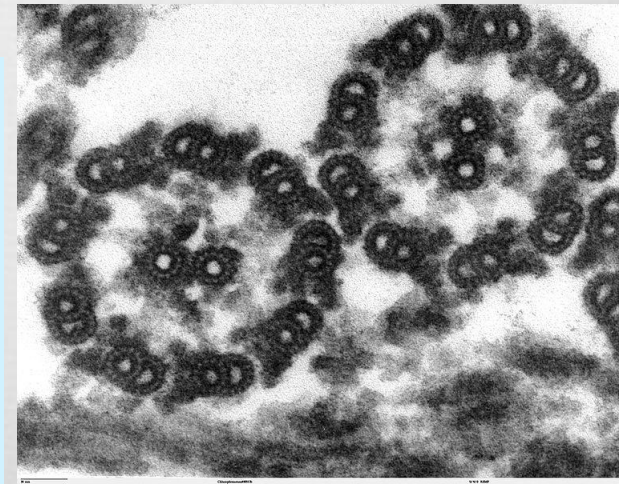
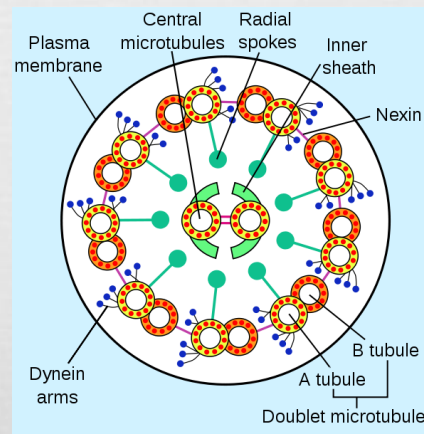


Le MT est constitué de 13 protofilaments



Nature 422, 753-758(17 April 2003)

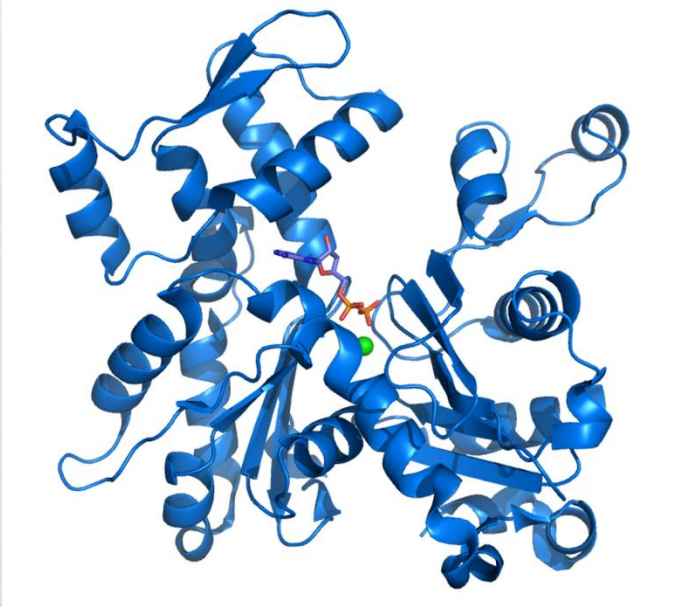
Axoneme



Polarité : extrémité (-) avec sous-unité α exposés
extrémité (+) avec sous-unité β exposée
Moteurs moléculaires : dyneïne (-), kinésine (+)

L'actine

- Actine G (globulaire)

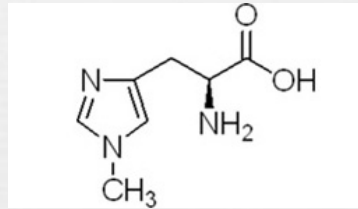


375 Acide Aminés

Diamètre >10 nm

Lie deux cofacteurs ion (Ca^{2+} ou Mg^{2+}) et nucléotide (ATP/ADP)

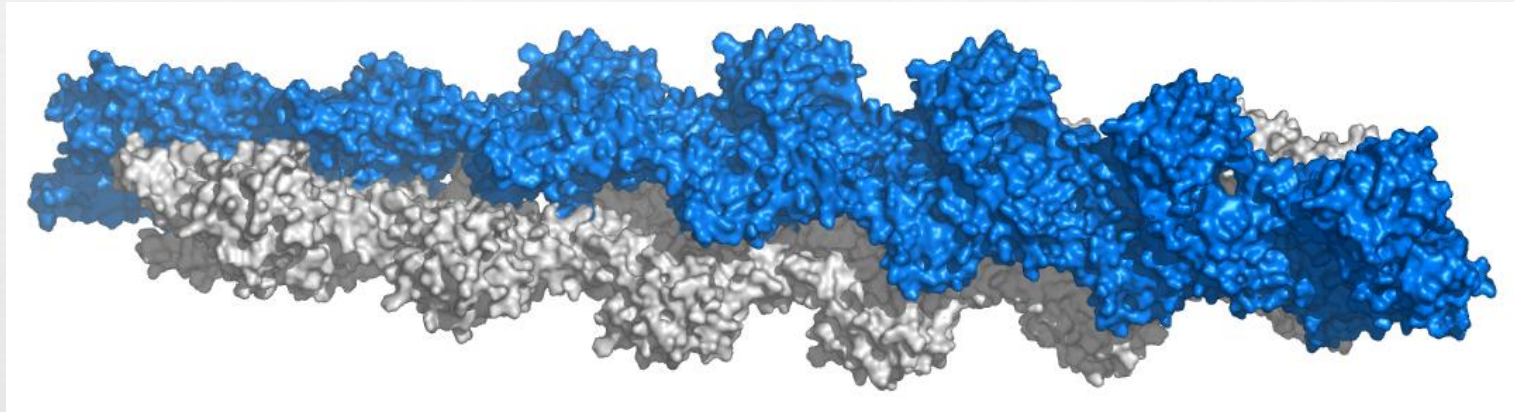
3-methylhistidine



- 4 isoformes d'actines alpha (présentes dans les muscles striés squelettiques et cardiaque et les muscles lisses),
- 2 isoformes d'actines gamma (présentes dans le muscle lisse entérique et dans les tissus non musculaires),
- 1 isoforme d'actine beta (non musculaire).

L'actine

- Actine F (filament) – microfilaments



Diamètre 7 nm

Longueur 17 μm (diamètre d'une cellule)

Polarité extrémité + (polymérisation rapide)
extrémité – (dépolymérisation)

hydrolyse de l'ATP

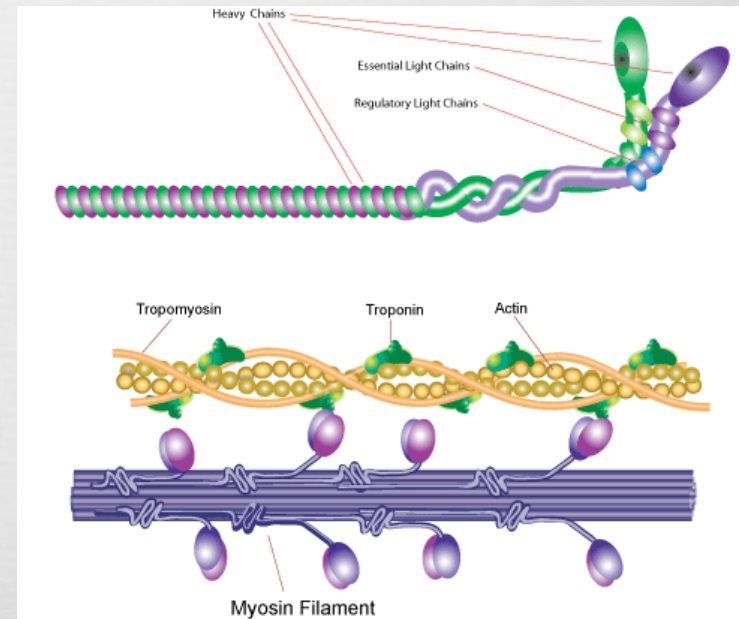
Système extrêmement dynamique : phénomène de tapis roulant

Quel est le rôle des filaments d'actine ?

Déplacement cellulaire (lamellipode)

Adhésions

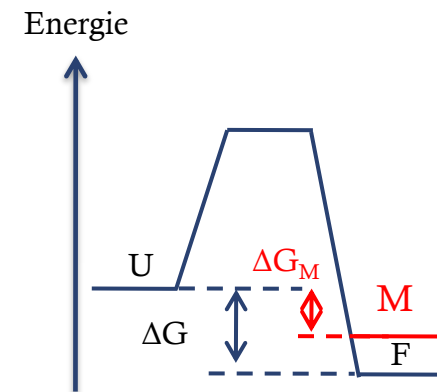
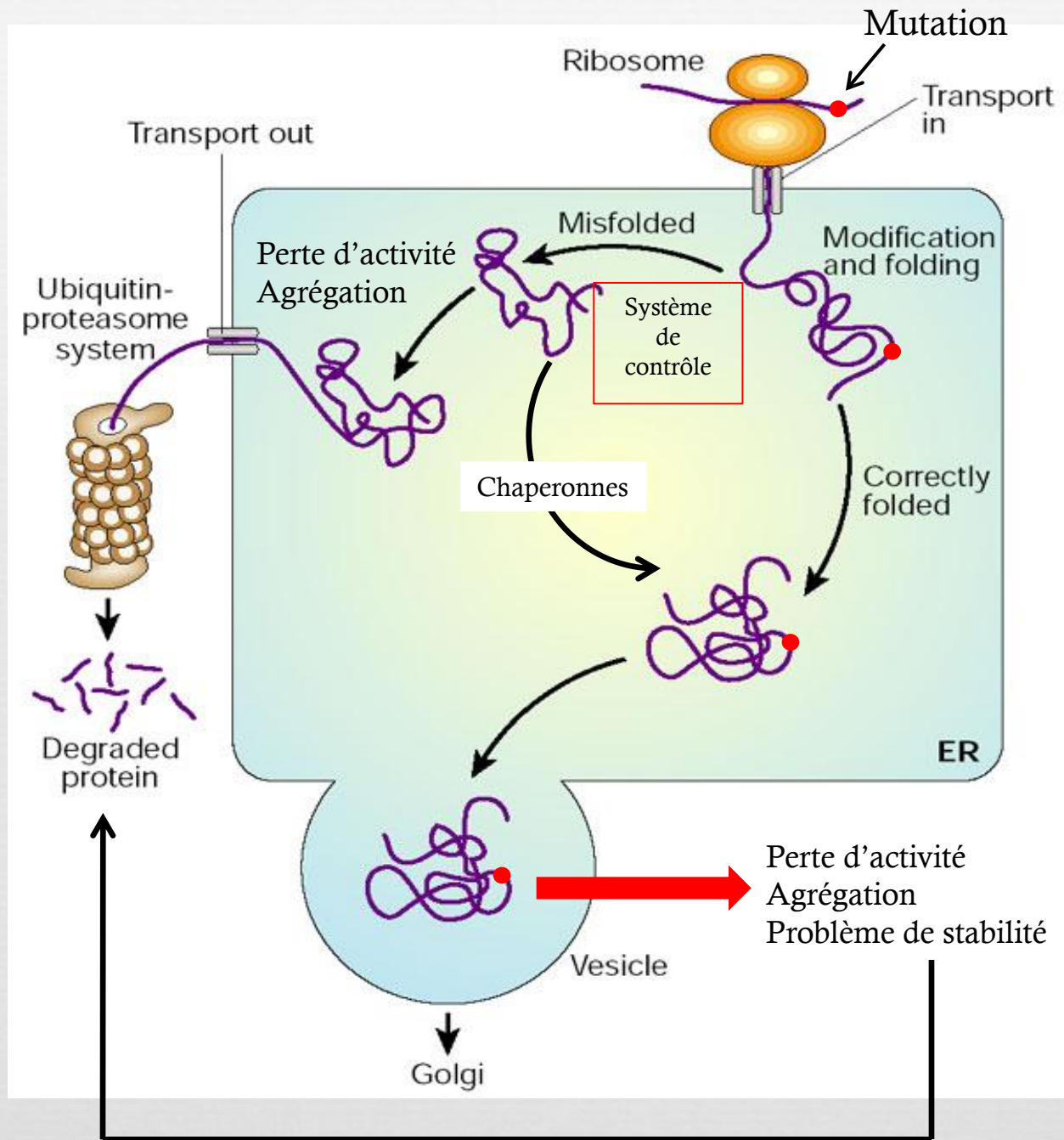
Contraction musculaire



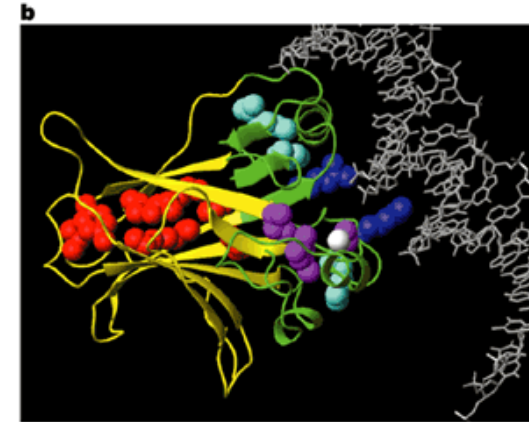
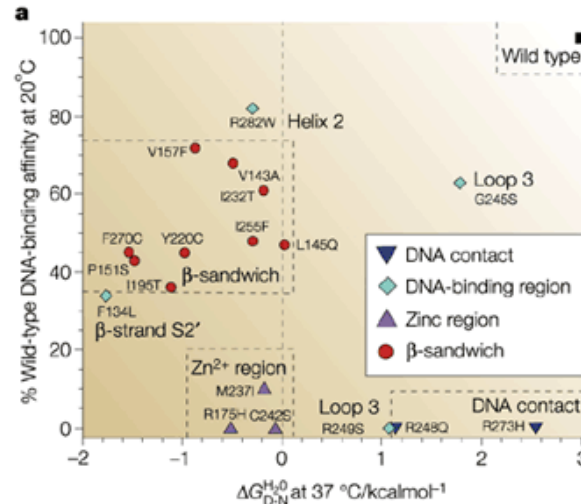
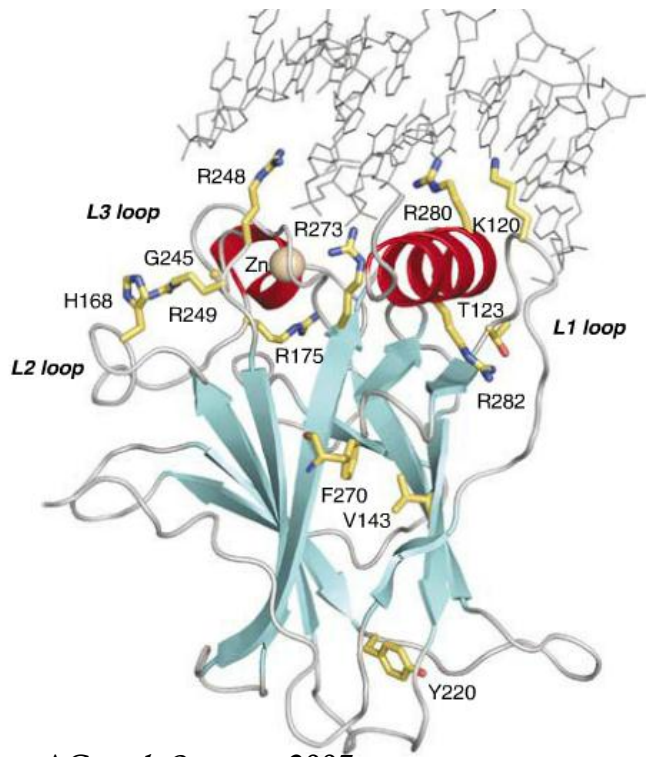
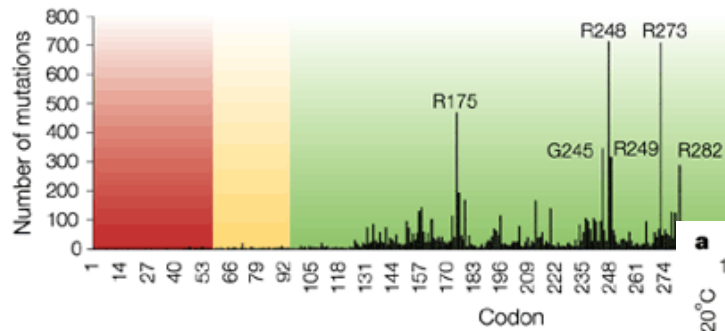
Partie 1 : Repliement et structure tertiaire

VI/ Structure et pathologie

Mutation, stabilité et fibres amyloïdes



Problème de stabilité : p53



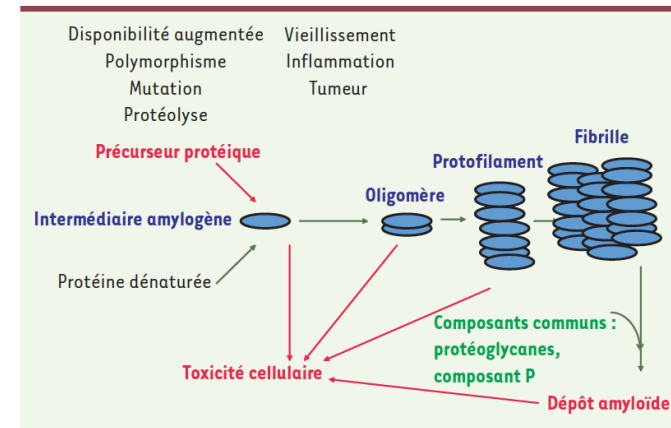
Class	Examples	Structural regions	$\Delta\Delta G_{D-N}^{H_2O}$ kcal/mol	%Folded (37°C)	Structure (37°C)	DNA binding	Rescue required	% p53 missense mutations
I	R273H	▼ DNA contact	≤ 0.5	≥ 98	Native	-	↑DNA binding	20
	R248Q		≤ 2.0	≥ 85	Distorted	-	↑stability and DNA binding	
II	R249S	◆ DNA-binding region	≤ 2.0	≥ 85	Distorted	-	↑stability and DNA binding	40
III	G245S	◆ DNA-binding region	≤ 2.0	≥ 85	Weakly destabilized	+	↑stability	
IV	R282W	◆ DNA-binding region	≥ 3.0	≤ 50	Globally denatured	+	↑stability	25
	V143A	● β-sandwich	≥ 3.0	≤ 50	Globally denatured	+	↑stability	
V	R175H C242S	▲ Zinc region	≥ 3.0	≤ 50	Globally denatured	-	↑stability and DNA binding	15

Agrégation : Les fibres amyloïdes

L'amylose : agrégation pathologique de protéines solubles due à un changement de conformation

- Environ 20 protéines
- Pas relation de structure ou de fonction
- Repliement amyloïde essentiellement en feuillets β plissés

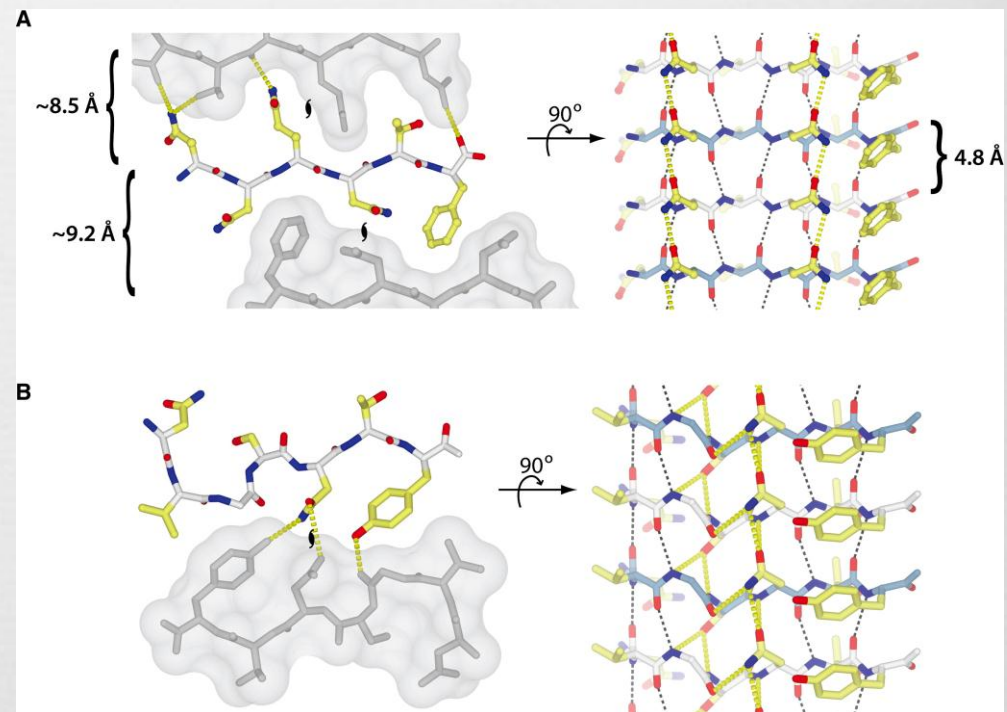
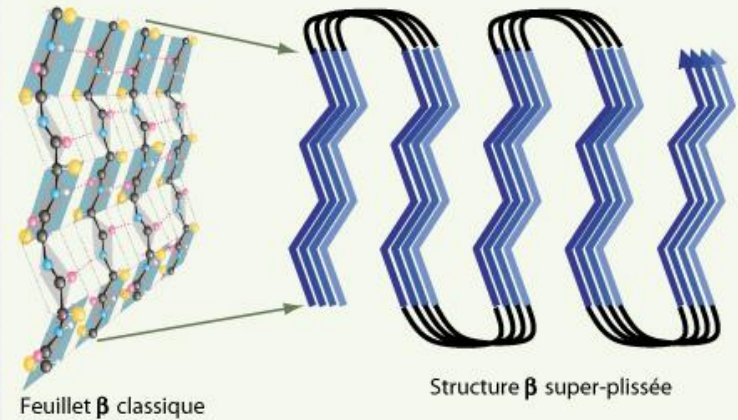
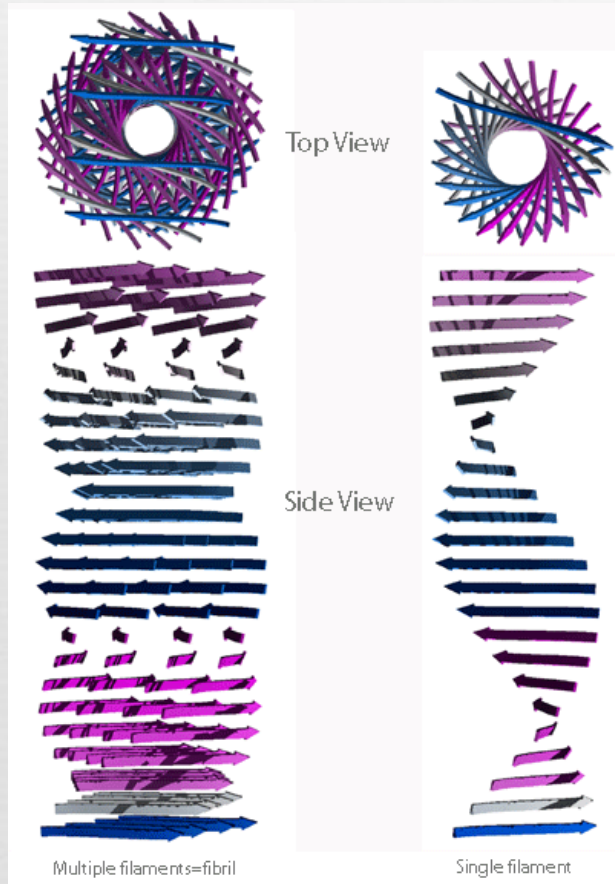
Protéine amyloïde	Précurseur	Diffusion	Syndromes ou tissus atteints
AL	Chaîne légère d'Ig (κ , λ)	G, L	(Primitive) isolée ou associée au myélome
AH	Chaîne lourde d'IgG (γ)	G, L	Isolée
AA	ApoSAA	G, L	(Secondaire) infection, inflammation chronique, tumeur
ATTR	Transthyrétine mutée	G	Héréditaire
	Transthyrétine normale	G	Sénile
A β 2M	β 2-microglobuline	G	Associée à l'insuffisance rénale chronique terminale
AApoAI	Apolipoprotéine AI	G	Héréditaire
		L	Aortique
AApoAII	Apolipoprotéine AII	G	Héréditaire
AApoAIV	Apolipoprotéine AIV	G	Sénile
AGel	Gelsoline	G	Héréditaire
ALys	Lysozyme	G	Héréditaire
AFib	Fibrinogène	G	Héréditaire
ACys	Cystatine C	L	Hémorragie cérébrale héréditaire
A β	A β PP	L	Maladie d'Alzheimer
APrPsc	PrPC	L	Encéphalopathies spongiformes
ACal	Procalcitonine	L	Cancer médullaire de la thyroïde
AANF	Facteur atrial natriurétique	L	Amylose auriculaire isolée
AIAPP	Amyline	L	Ilots de Langerhans du diabète de type 2, insulinome
AIns	Insuline	L	Iatrogénique
APro	Prolactine	L	Prolactinome, hypophyse sénile
ABri	BRI	L	Démence héréditaire britannique
A?	Kératoépithéline	L	Dystrophies cornéennes grillagées
A?	Lactoferrine	L	Dystrophie cornéenne sous-épithéliale
A?	Séménogéline 1	L	Vésicule séminale



G : amylose généralisée ; L : amylose localisée ; Préc : précurseur ; Nomenclature préliminaire.

Tableau I. Nomenclature et classification des amyloses.

Les fibres amyloïdes



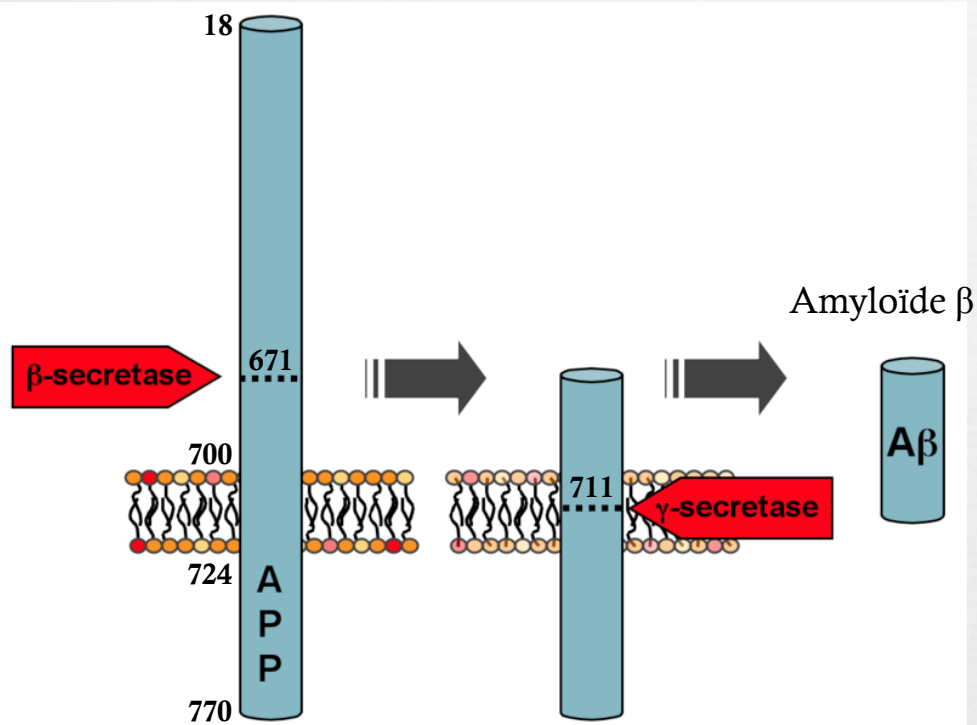
Structure. 2010 Oct 13;18(10):1244-60.
Biology of amyloid: structure, function, and regulation.
[Greenwald J](#), [Riek R](#).

Picture courtesy of Louise Serpell, Sussex University

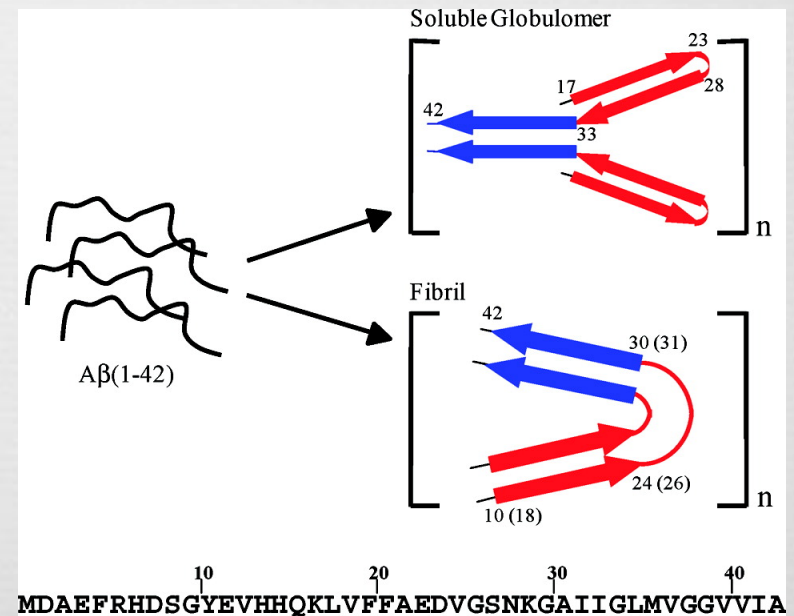
Les fibres amyloïdes : Alzheimer

Uniprot P05067

Amyloïde Precusor Protein



Signal peptide	1 – 17	17	Ref.16 Ref.17
Chain	18 – 770	753	Amyloid beta A4 protein
Chain	18 – 687	670	Soluble APP-alpha
Chain	18 – 671	654	Soluble APP-beta
Chain	18 – 286	269	N-APP
Chain	672 – 770	99	C99
Chain	672 – 713	42	Beta-amyloid protein 42
Chain	672 – 711	40	Beta-amyloid protein 40
Chain	688 – 770	83	C83
Peptide	688 – 713	26	P3(42)
Peptide	688 – 711	24	P3(40)
Chain	691 – 770	80	C80
Chain	712 – 770	59	Gamma-secretase C-terminal fragment 59
Chain	714 – 770	57	Gamma-secretase C-terminal fragment 57
Chain	721 – 770	50	Gamma-secretase C-terminal fragment 50
Chain	740 – 770	31	C31



Les fibres amyloïdes : Le lysozyme

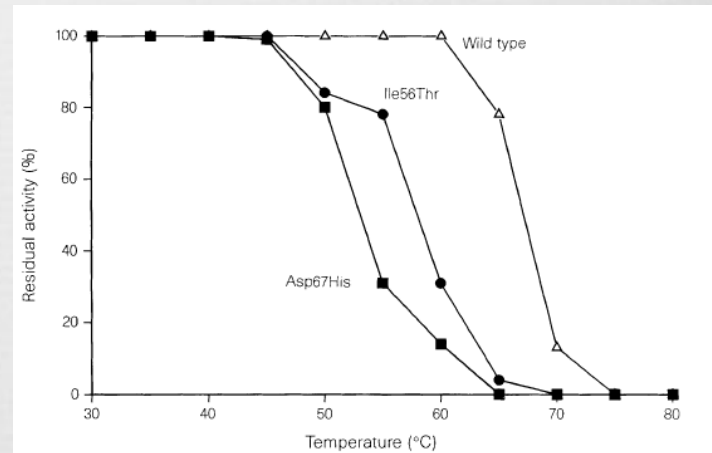
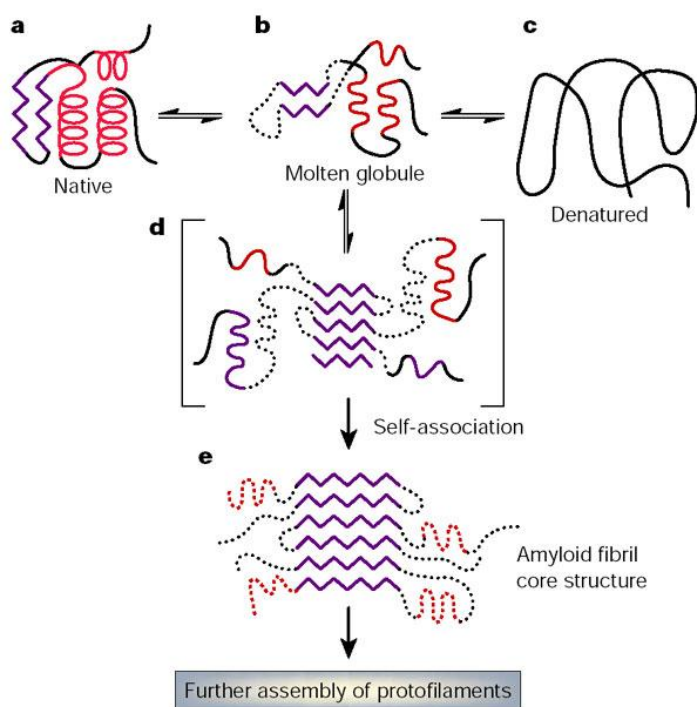
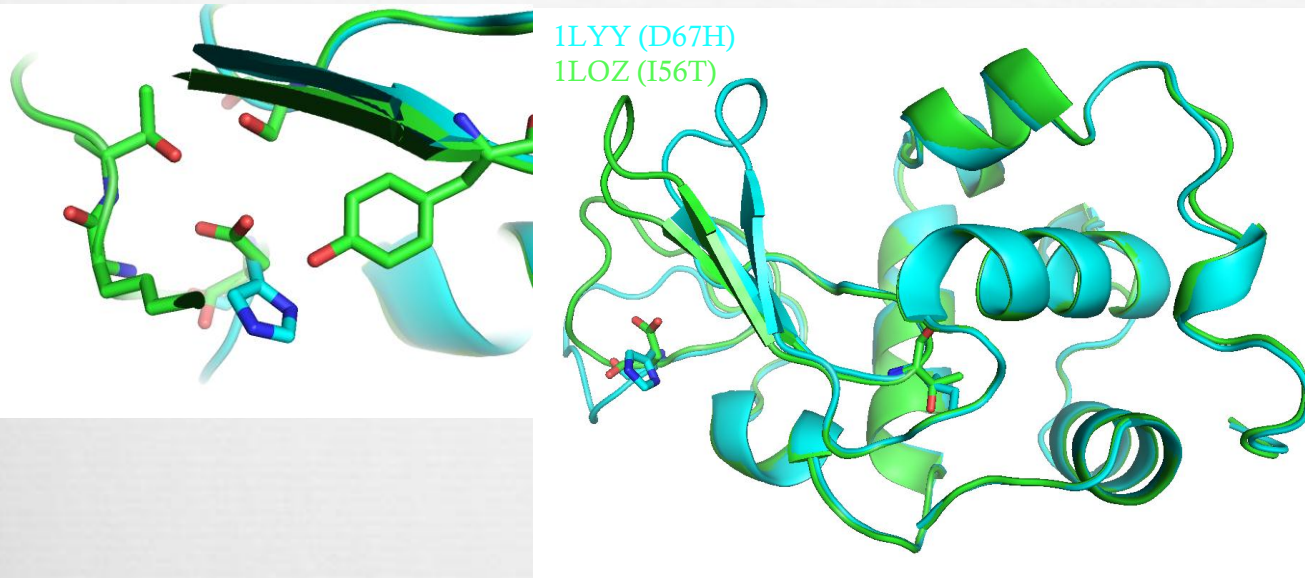
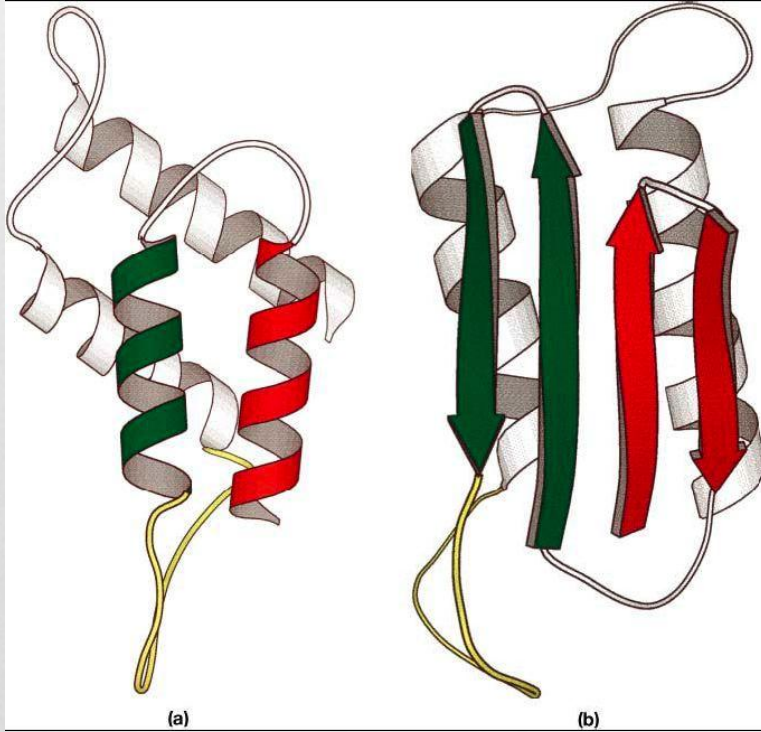


Figure 2 Melting temperatures of wild-type and amyloidogenic variant lysozymes.

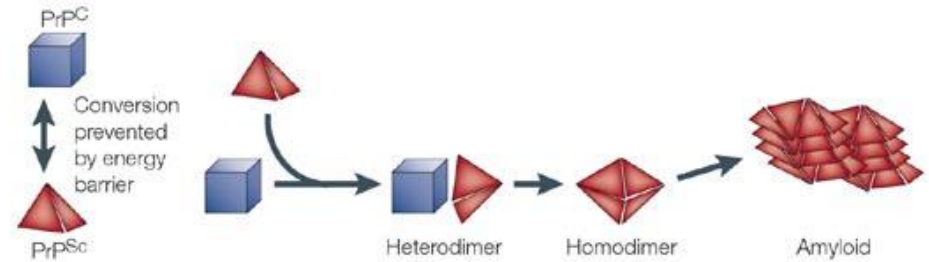
Les fibres amyloïdes : Les maladies à prion

PrP^c

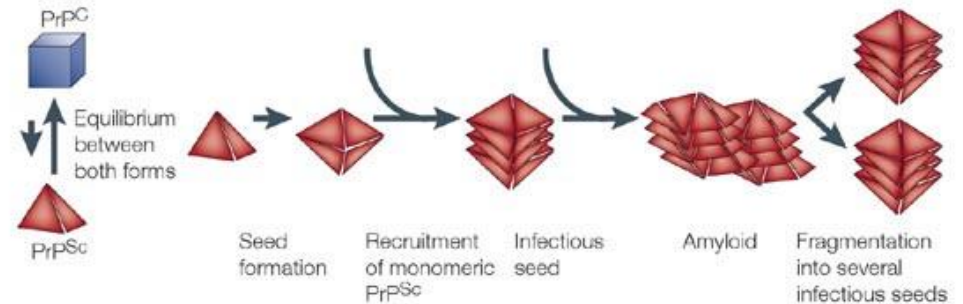
PrP^{Sc}



a 'Refolding' model



b 'Seeding' model



Structure et fonction des protéines

2012-2013

Partie 2 : Structure quaternaire

Nomenclature

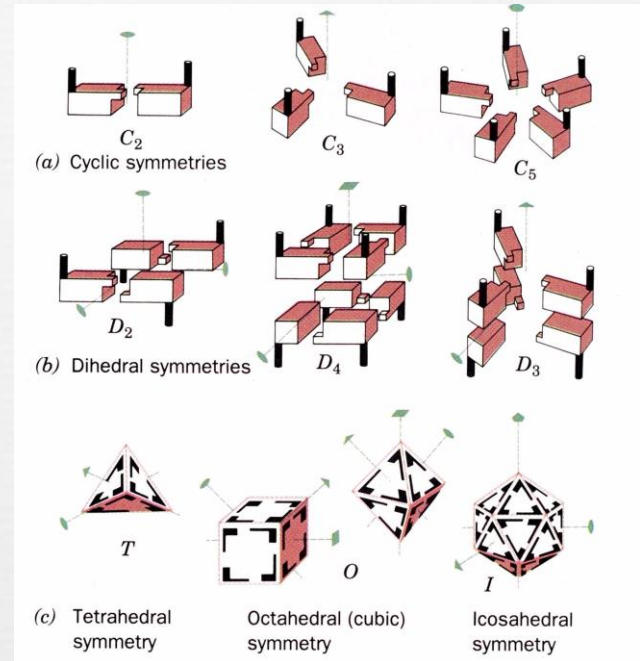
Homo- : même chaîne polypeptidique

Hétéro- : chaînes polypeptidiques différentes

• 1 = monomer	• 7 = heptamer	• 13 = tridecamer	• 19 = nonadecamer
• 2 = dimer	• 8 = octamer	• 14 = tetradecamer	• 20 = eicosamer
• 3 = trimer	• 9 = nonamer	• 15 = pentadecamer*	• 21-mer
• 4 = tetramer	• 10 = decamer	• 16 = hexadecamer	• 22-mer
• 5 = pentamer	• 11 = undecamer	• 17 = heptadecamer*	• 23-mer*
• 6 = hexamer	• 12 = dodecamer	• 18 = octadecamer	• etc.

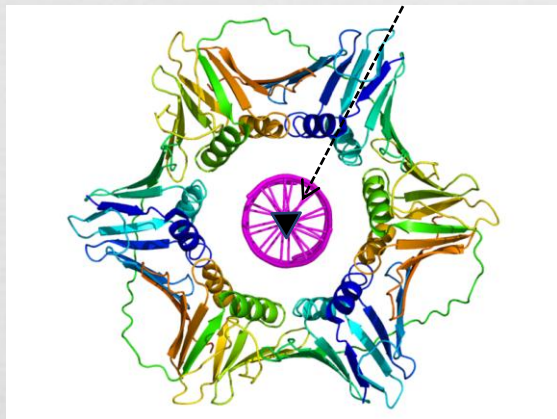
*No known examples

Certaines protéines ont besoin de leur structure quaternaire pour être fonctionnelle. On peut trouver des monomères ayant une activité indépendamment de la structure quaternaire



Homotrimer

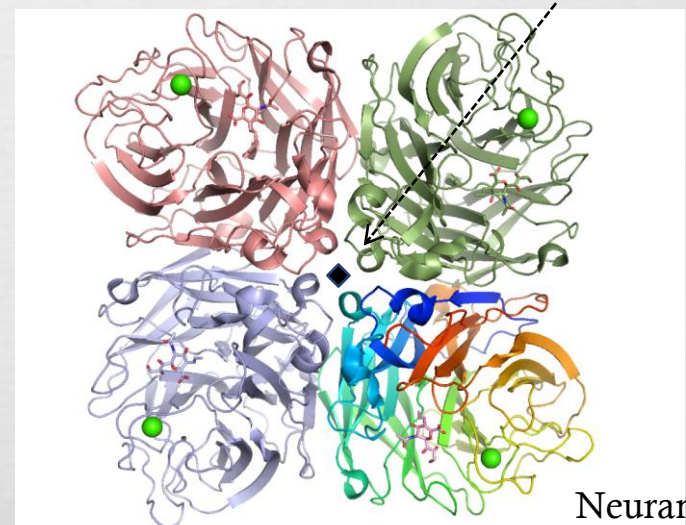
Axe de rotation d'ordre 3



DNA clamp

Homotetramère

Axe de rotation d'ordre 4



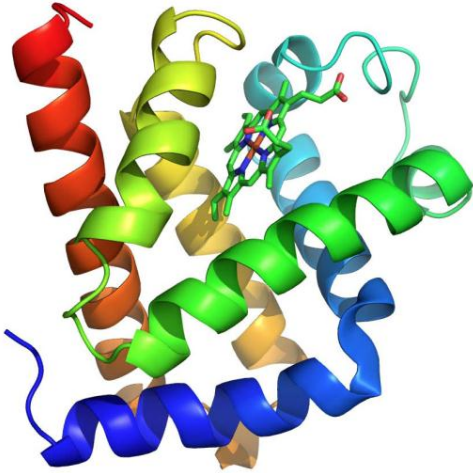
Neuraminidase

Partie 2 : Structure quaternaire

I/ Hémoglobine et drépanocytose

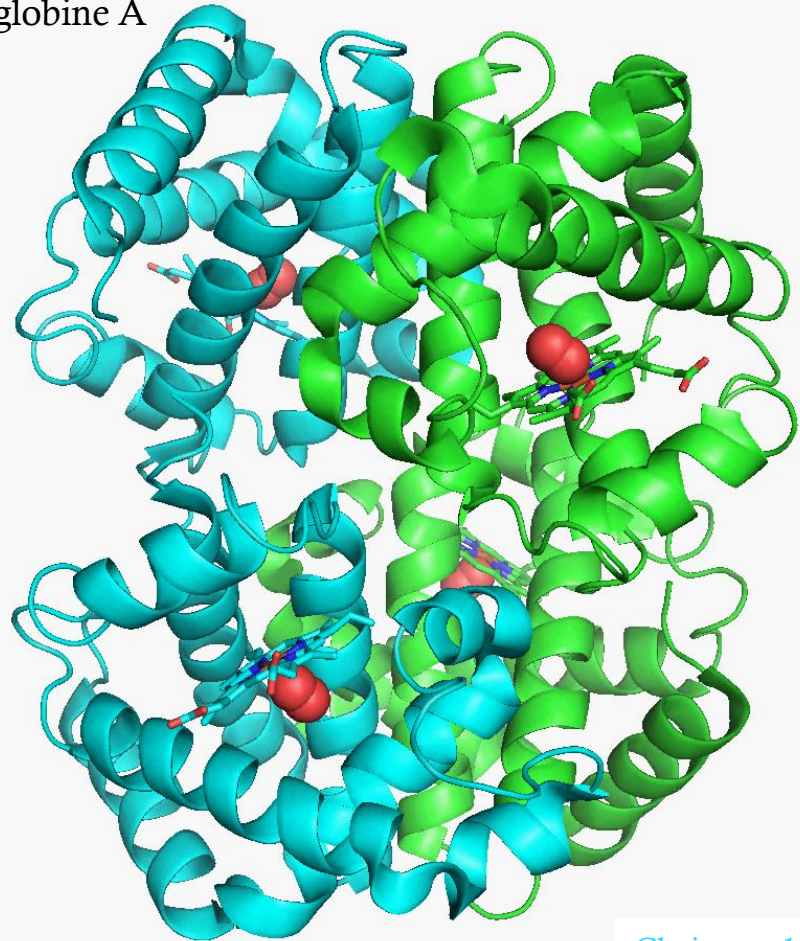
Les globines

myoglobine

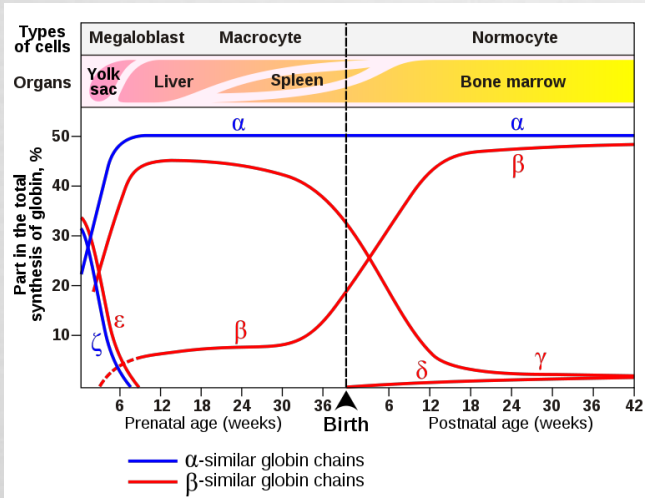


Première structure de protéine résolue en 1958 par Kendrew et Perutz

Hémoglobine A



Chaîne α : 142 AA
Chaîne β : 147 AA



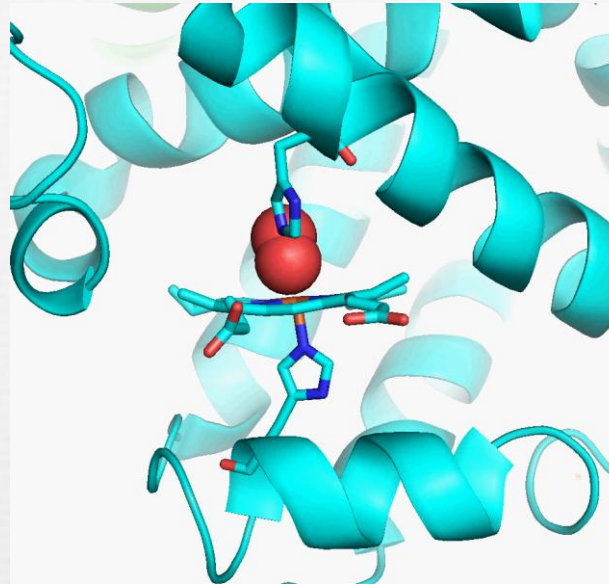
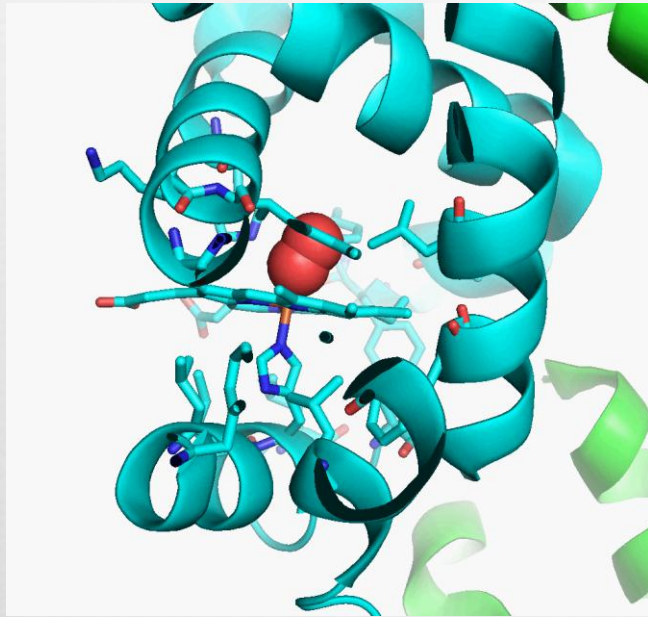
Hb embryonnaires (ζ_2/ϵ_2) (α_2/ϵ_2)

Hb foétale : Hb F (α_2/γ_2)

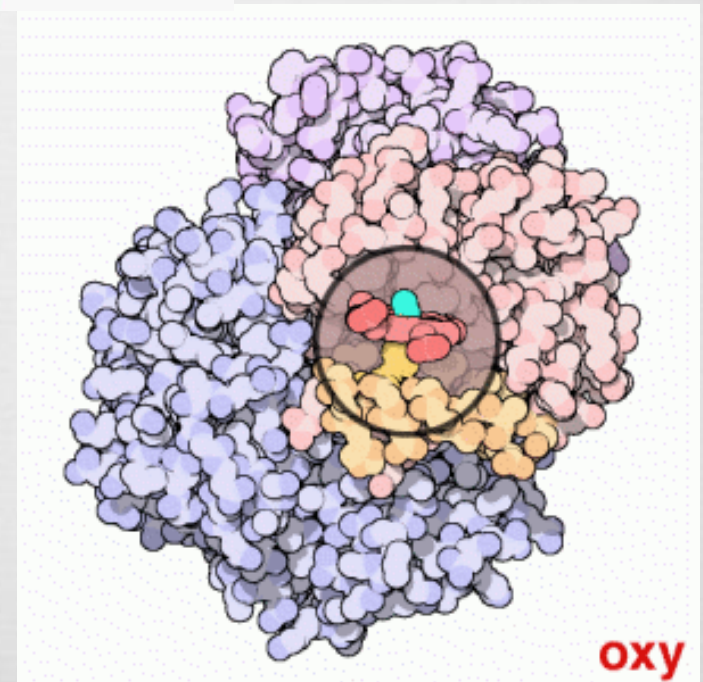
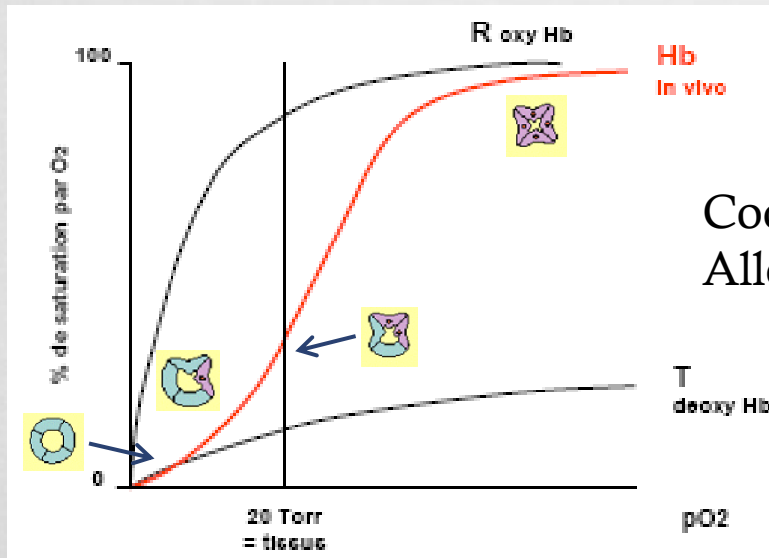
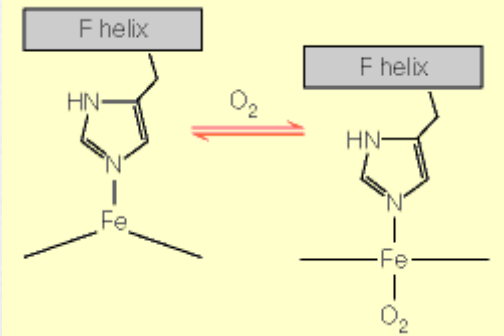
Hb A (α_2/β_2) > 90%

Hb A₂ (α_2/δ_2) 1-3%

L'hémoglobine

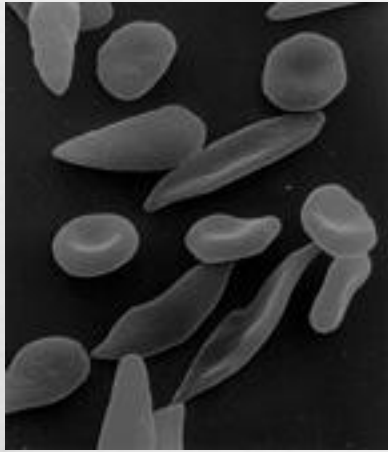


OxyHb : forme R (relaxed)
DeoxyHb : forme T (tense)

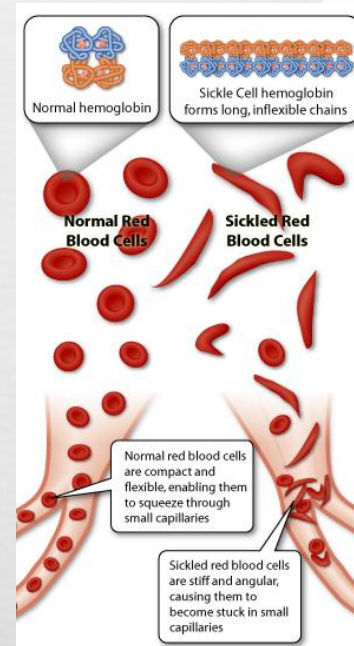
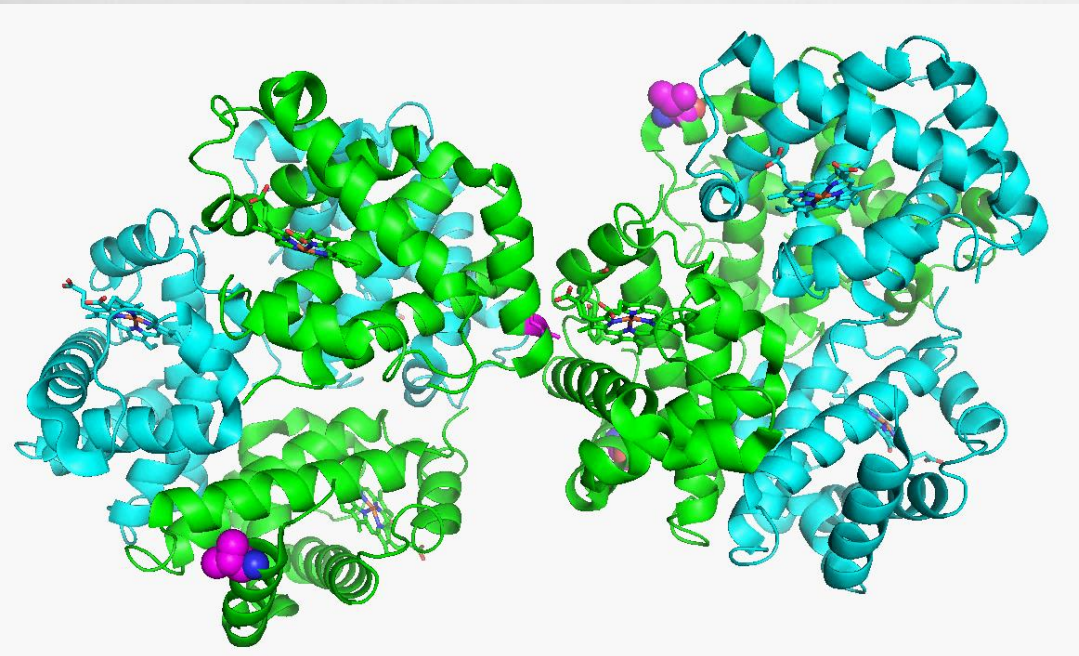
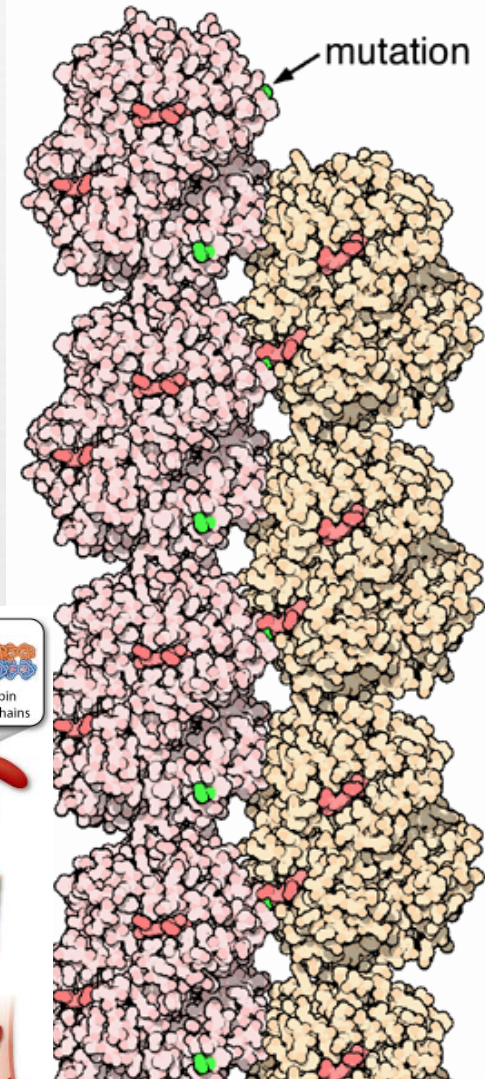
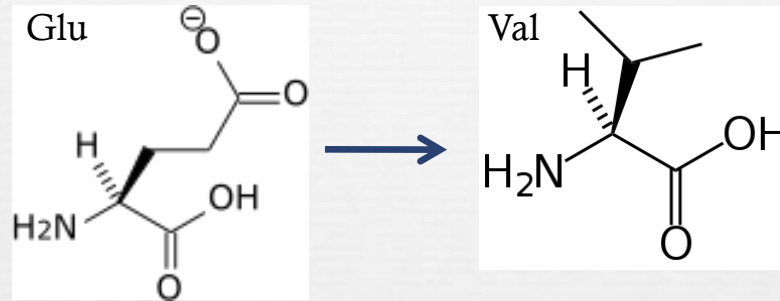


L'hémoglobine pathologique

La drépanocytose (anémie falciforme)



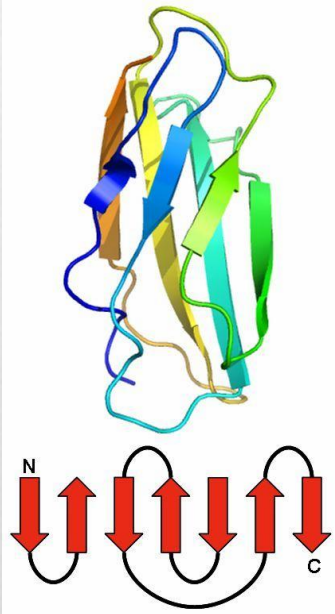
Une **seule** mutation sur l'acide aminé n° 6 de la chaîne β



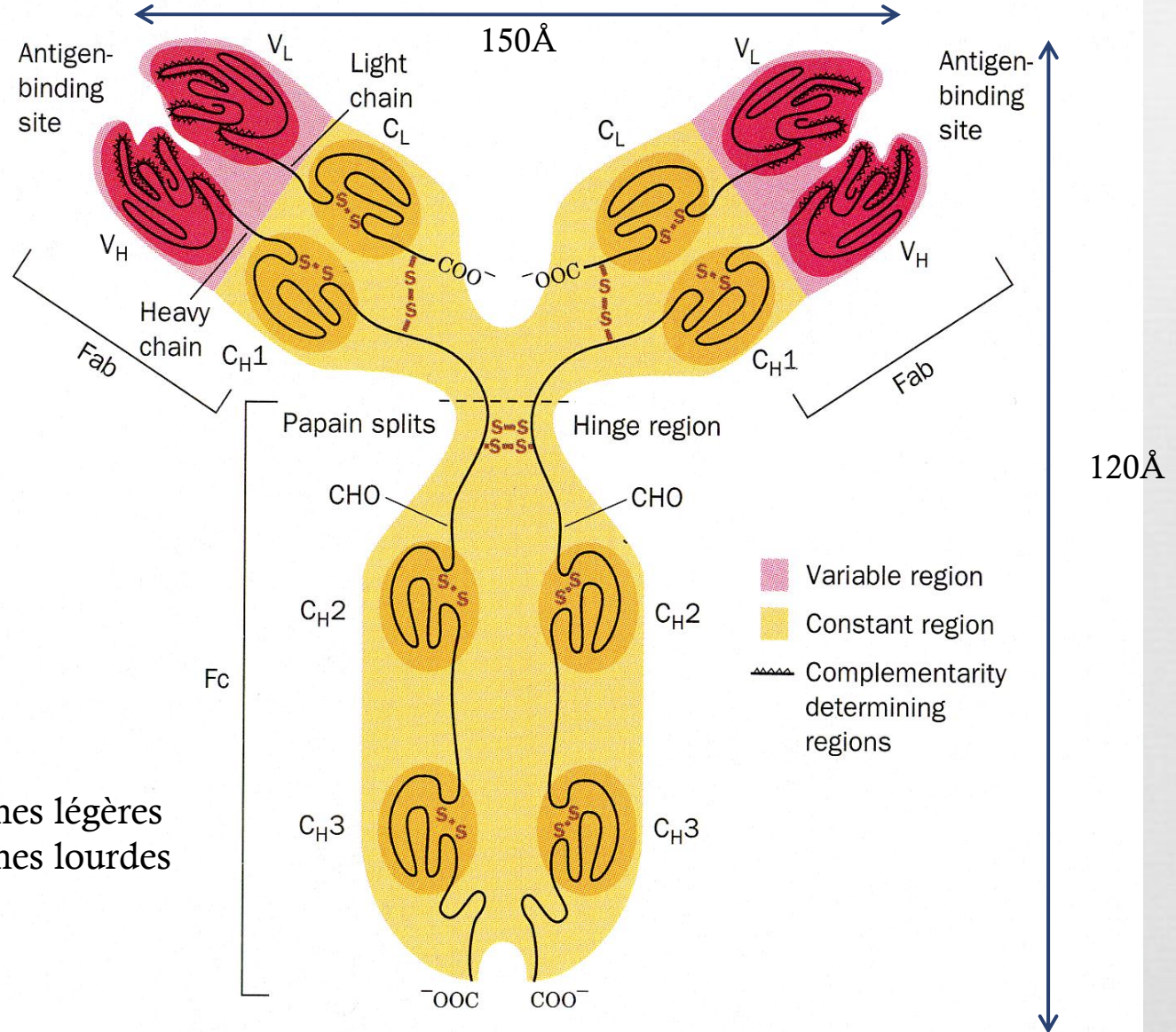
Partie 2 : Structure quaternaire

II/ Antigène et anticorps

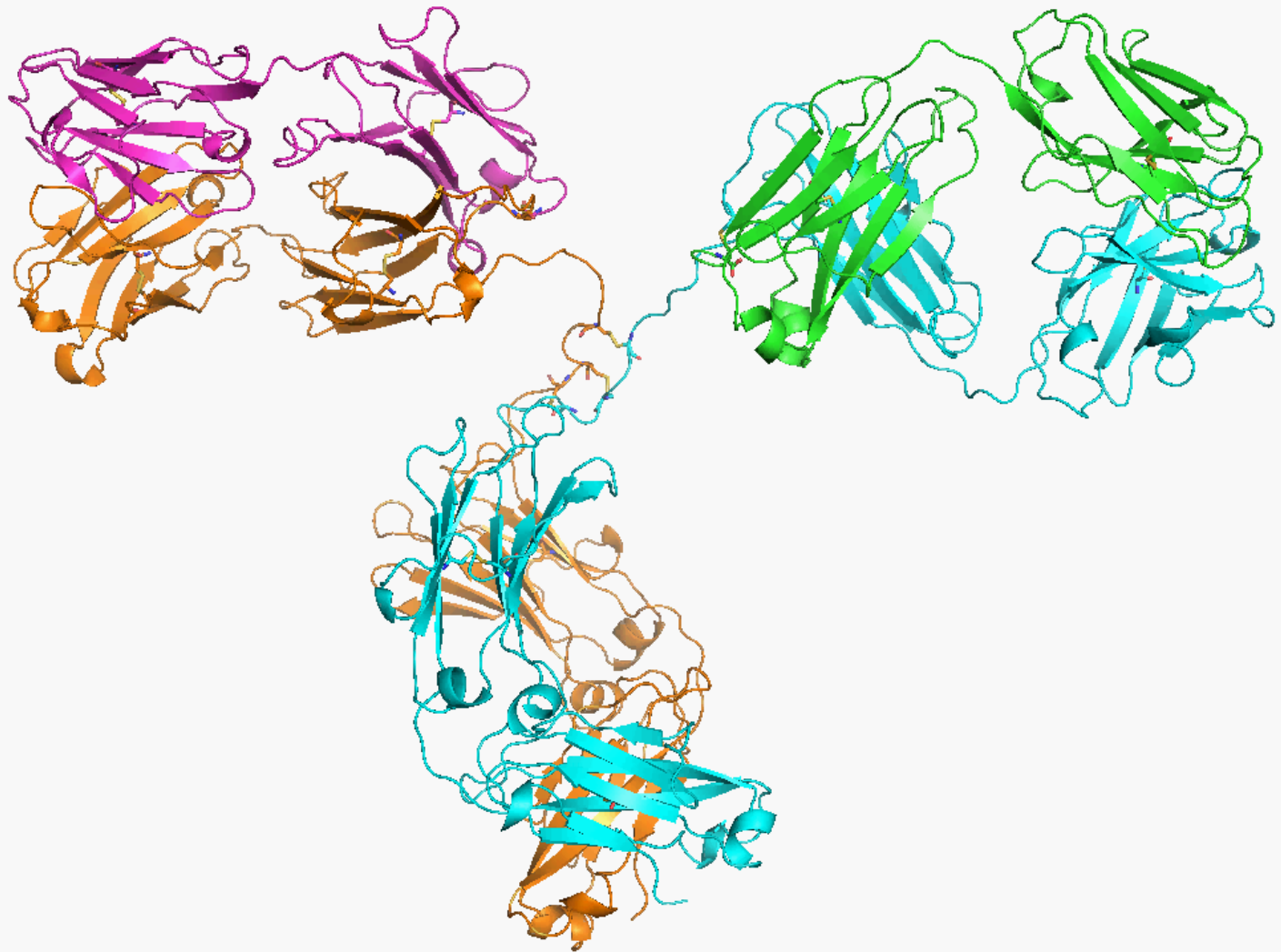
Les Immunoglobulines



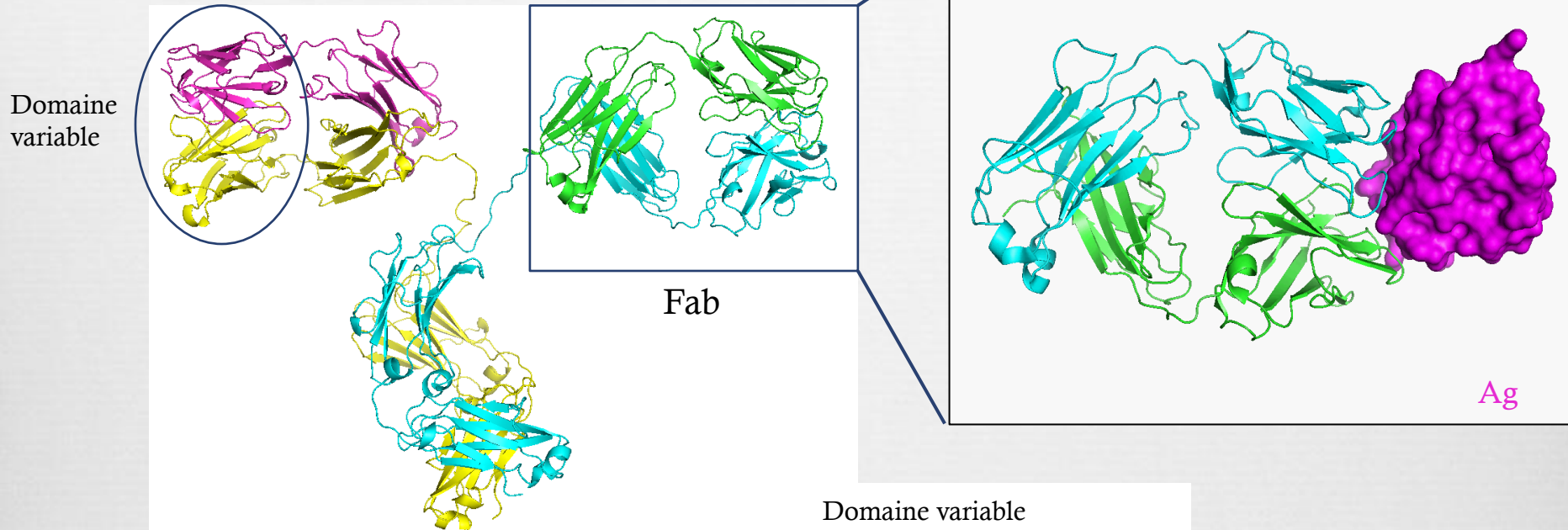
2 chaînes légères
2 chaînes lourdes



Les Immunoglobulines



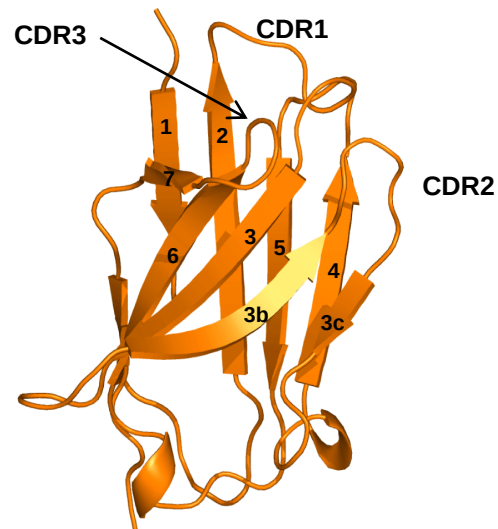
Les Immunoglobulines



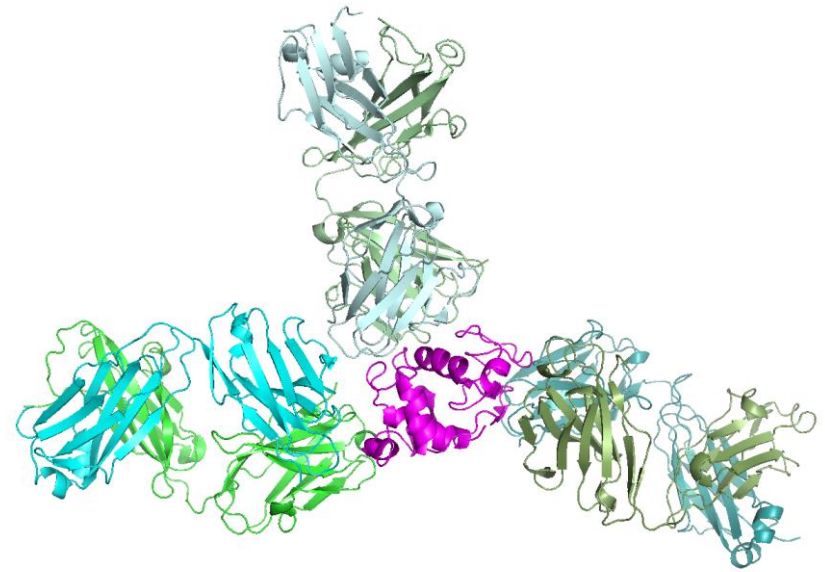
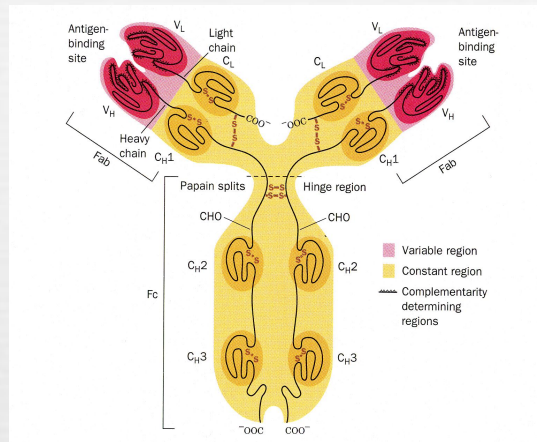
Domaine constant



Domaine variable



Les Immunoglobulines



3 Anticorps de souris (Fab)
 Chaines Lourdes
 Chaines légères
 1 Antigène (lysozyme)

	10	20	30	40	50	60
3HFMHx0	DVQLQESG	PSLVKPSQ	TLSTCSVT	DSITS	SDYWSWIRK	PGNRLEYMGYS-YSGSTYY
1FDLHx1	QVQLKESG	PGLVAPSQ	SLISITCTVS	GFSLTGYGVN	VRQPPGKGLEWLGMIW-GDGN	TDY
1YQVHx2	EVQLQESG	AEIMKPGAS	VKISCKAS	CYTFSDY	LEWVKQRPCHGLEWIGET	LPGSGSTNY
Prim.cons.	3VQLQESGP	3LVKPSQSL	3SITC3VSG3	3S3T3Y333	3WVRQ3PG3	3GLEW3G3I3PGSGST3Y

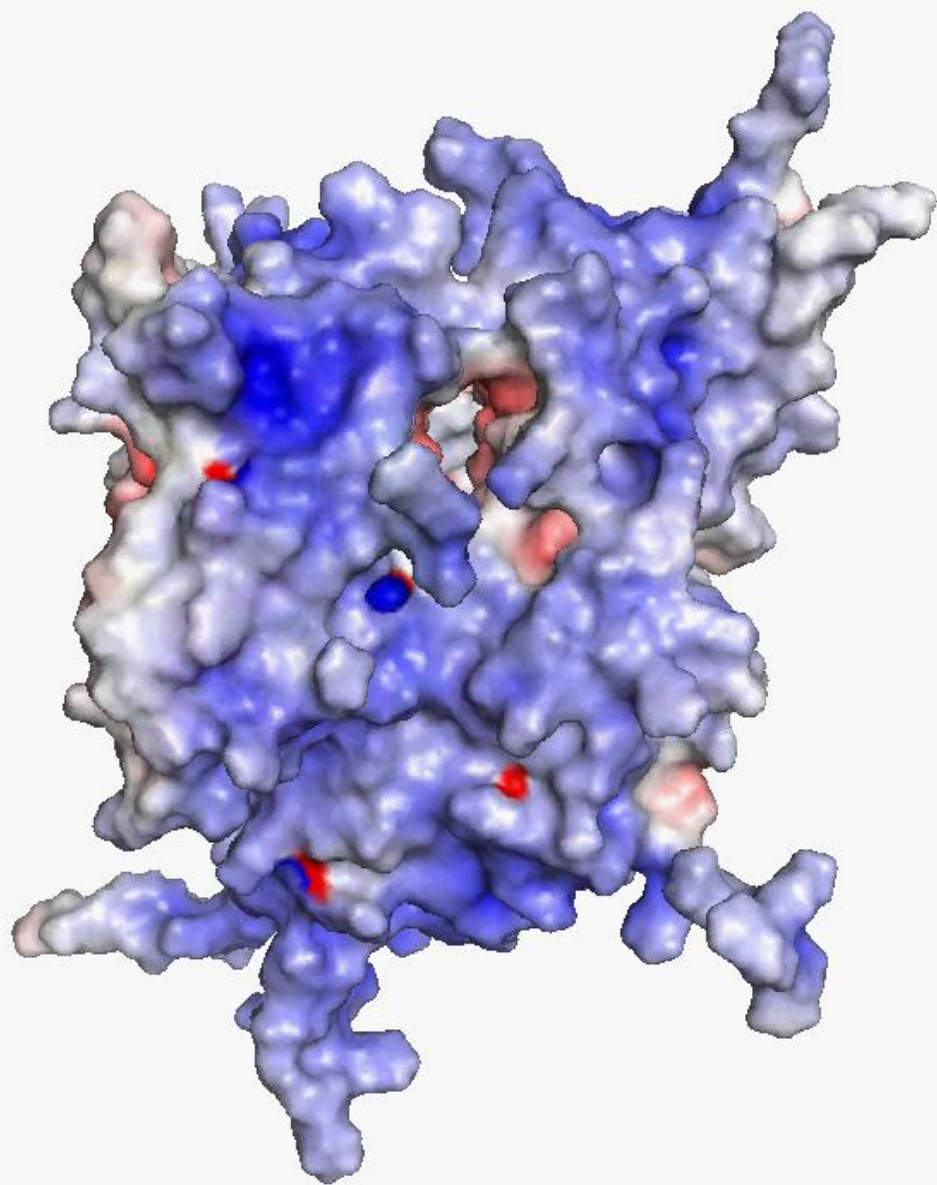
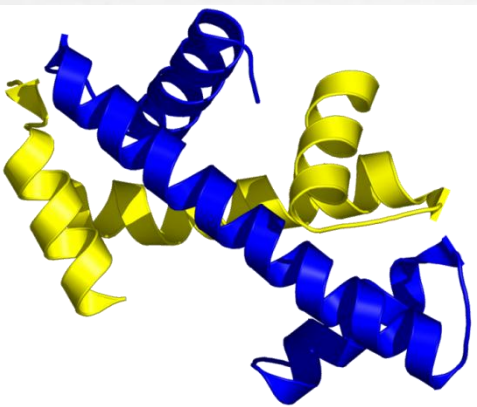
	70	80	90	100	110	120
3HFMHx0	NPSLKSRIS	ITRDTSKN	QYYLDLNS	VTTEDTATYYCA	N---WDG	YWGQGTTLTVSSAKT
1FDLHx1	NSALKSRIS	ISKDNSKS	QVFLKMNS	LHTDDTARYYCA	LRERDYRLD	YWGQGTTLTVSSAST
1YQVHx2	HERFKGKAT	FTADTSST	AYMQLNSLT	SEDSGVYYCL	EG-NYDFD	GWGQGTTLTVSSAKT
Prim.cons.	N33LKS	3R3SIT3D	TSKSQ3YL3	LNLSLTTE	DTA3YYCA3	2R2YD3DYWGQGTTLTVSSAKT

	130	140	150	160	170	180
3HFMHx0	TPPSVYPL	APGSAQAQ	TNSMVT	LGCLVKGY	FPEPVT	TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
1FDLHx1	TPPSVYPL	APGSAQAQ	TNSMVT	LGCLVKGY	FPEPVT	TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
1YQVHx2	TPPSVYPL	APGSAQAQ	TNSMVT	LGCLVKGY	FPEPVT	TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT
Prim.cons.	TPPSVYPL	APGSAQAQ	TNSMVT	LGCLVKGY	FPEPVT	TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYT

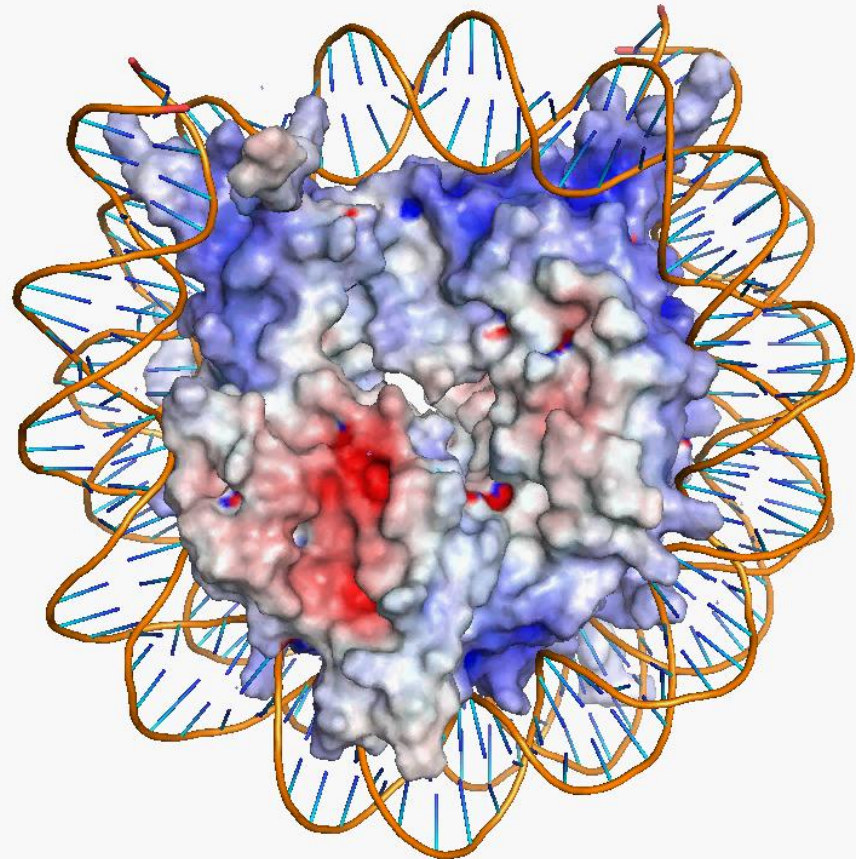
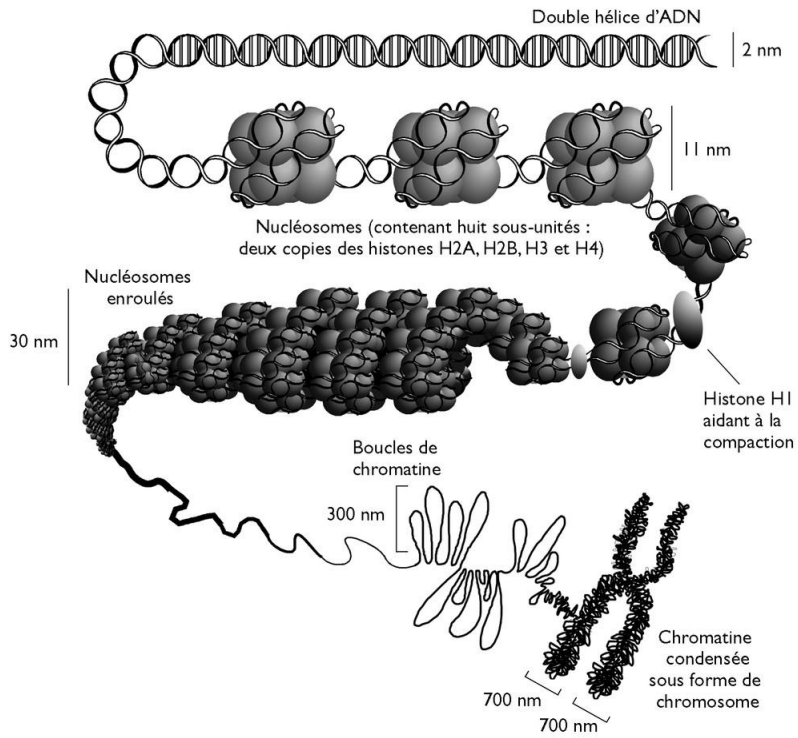
	190	200	210
3HFMHx0	LSSSVTPSS	PRPSETV	TNCNVAHPASSTKV
1FDLHx1	LSSSVTPSS	PRPSETV	TNCNVAHPASSTKV
1YQVHx2	LSSSVTPSS	TPSETV	TNCNVAHPASSTKV
Prim.cons.	LSSSVTPSS	PRPSETV	TNCNVAHPASSTKV

Partie 2 : Structure quaternaire

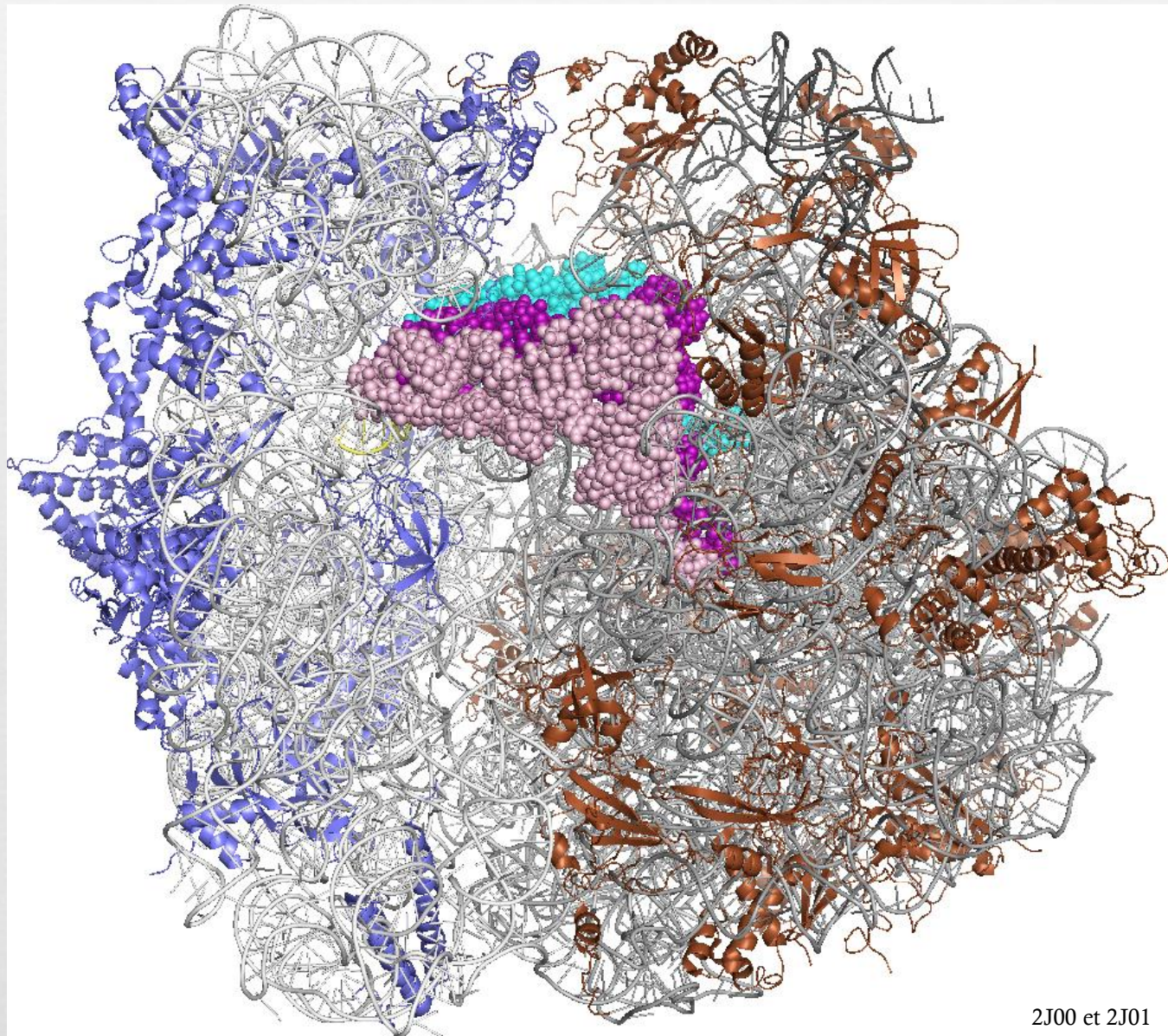
III/ Les supers complexes



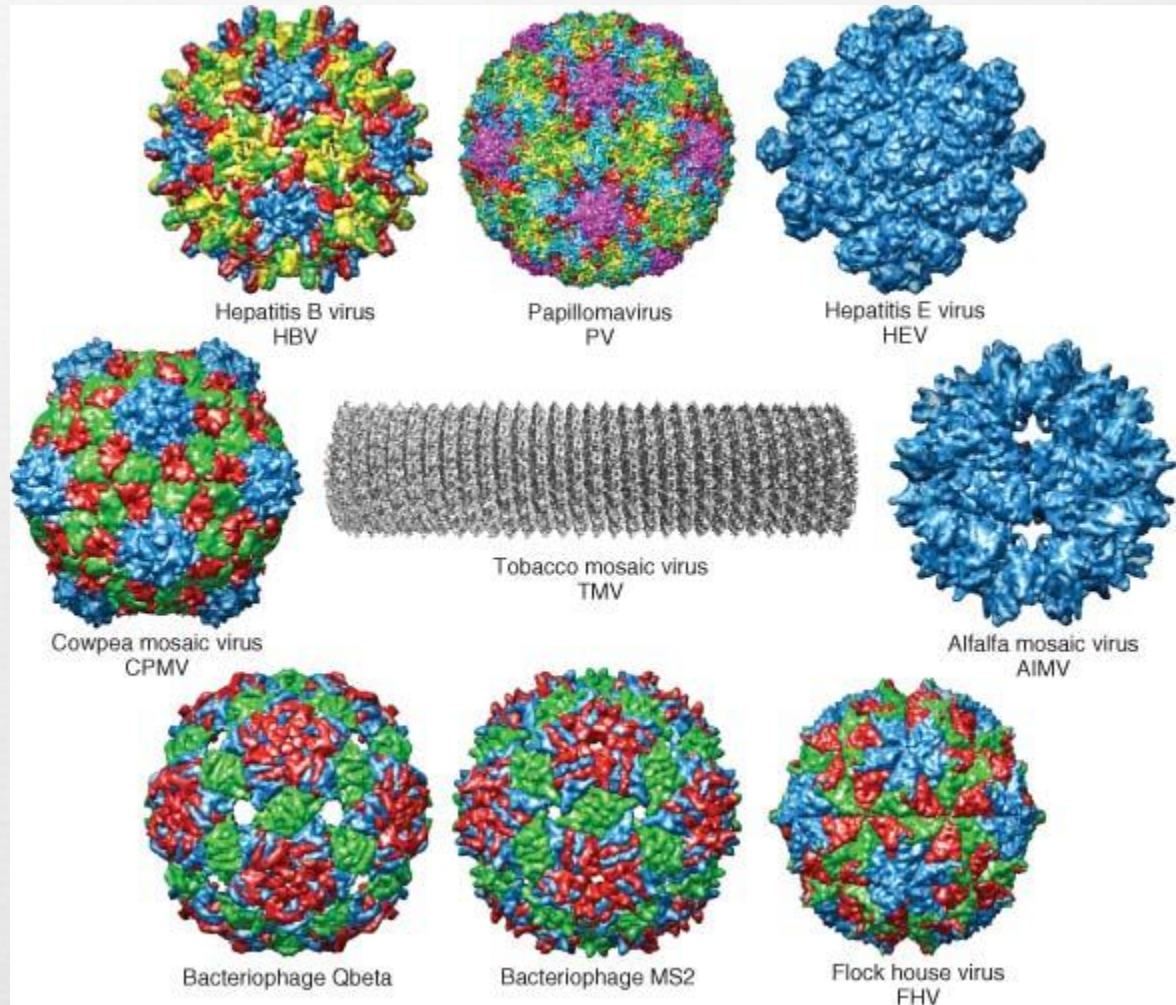
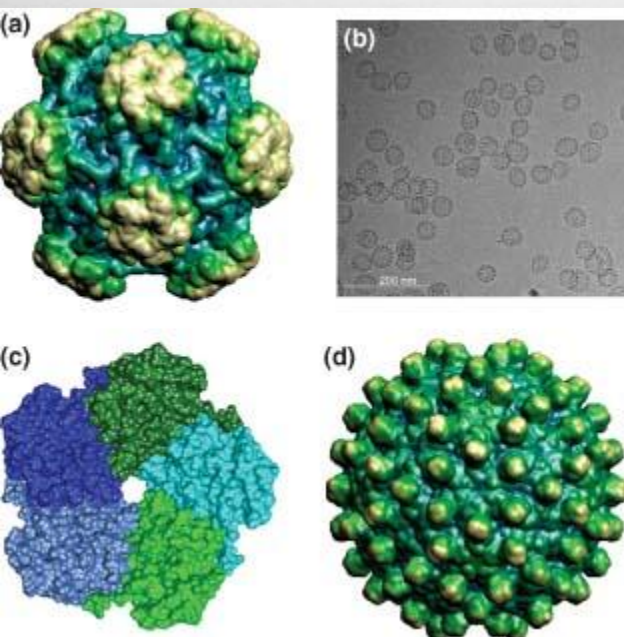
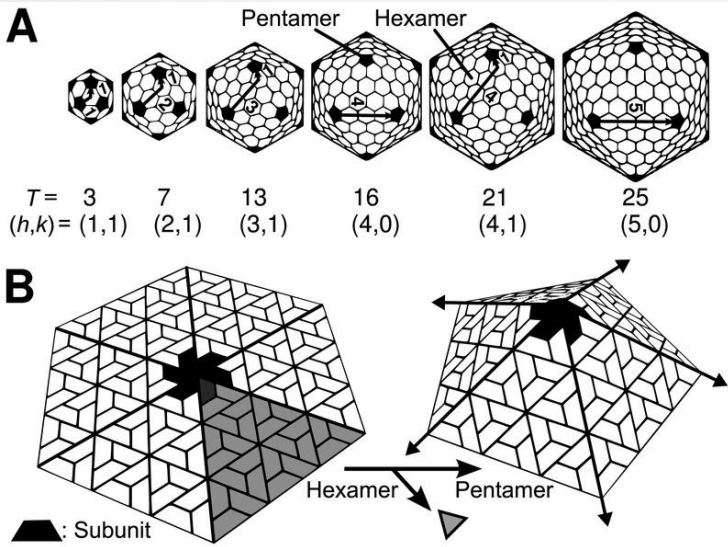
Le nucléosome



Le ribosome



Les capsides virales



Viral nanoparticles and virus-like particles: platforms for contemporary vaccine design

Emily M. Plummer, Marianne Manchester

Nanomedicine and Nanobiotechnology

Volume 3, Issue 2, pages 174–196, March/April 2011