

## CHAPITRE 1 - STRUCTURE DES PROTEINES

### 1- Acides aminés – structure chimique

Un patient a un défaut génétique dans la chaîne  $\beta$  de son hémoglobine. Un échantillon de cette hémoglobine et un échantillon d'hémoglobine normale sont soumis à un champ électrique dans une expérience d'électrophorèse à pH 8. On observe que l'hémoglobine du malade se dirige vers l'anode plus vite que l'hémoglobine normale. Lequel parmi les mutants décrits dans la table correspond-t-il à celui du malade ?

Hémoglobine mutante	Position de la substitution dans la chaîne $\beta$	Hémoglobine normale	Hémoglobine Mutante
<b>C</b>	6	Glu	Lys
<b>S</b>	6	Glu	Val
<b>G</b>	7	Glu	Gly
<b>E</b>	26	Glu	Lys
<b>M</b>	63	His	Tyr
<b>Z</b>	63	His	Arg
<b>Mi</b>	67	Val	Glu
<b>D</b>	121	Glu	Gln

### 2- Structure secondaire

Une protéine hypothétique a la séquence :

NH<sub>2</sub>-Ala-Arg-Val-Ser-Met-Lys-Ile-Glu-Ala-Lys-Gly-Asp-Trp-Thr-Gly-Gly-Gln-Met-Thr-Gly-Asp-Ala-Asn-Phe-Arg-Ala-Ser-Val-Glu-Leu-COOH

Cette protéine forme une structure secondaire très stable ; en solution, à haute concentration, elle forme un dimère. Le monomère isolé est hydrophobe ; il se fixe aux membranes (qui ont un caractère hydrophobe), par opposition au dimère. Proposer pour la protéine ci-dessus une structure secondaire et une structure quaternaire compatibles avec ces données.

### 3. Structure quaternaire

#### Exercice 1

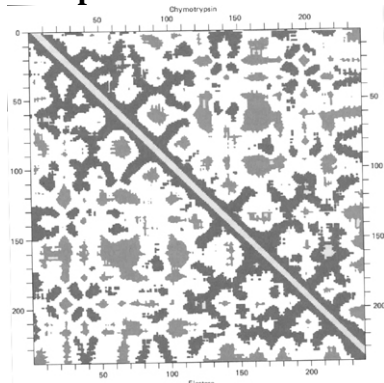
Les enveloppes protéiques des picornaviridæ (une classe de virus dont font partie, entre autres, les virus du rhume et de la polyomyélite) sont assimilables à une sphère de 30 nm de diamètre extérieur et de 3 nm d'épaisseur.

- 1) En supposant qu'elle soit exclusivement de nature peptidique (avec  $\rho=1,37\text{g/cm}^3$ ), quelle serait la masse d'une mole (c'est-à-dire de  $6,023 \times 10^{24}$  molécules) de cette enveloppe?
- 2) En supposant qu'elle soit constituée d'un polypeptide unique ou de polypeptides tous différents, quelle serait la taille minimale du génome viral (la masse moléculaire moyenne d'un résidu d'acide aminé est de 110g) ?
- 3) Le volume moyen occupé par un résidu nucléotide est de  $700 \text{ \AA}^3$ . Qu'en concluez vous ?

#### Exercice 2 : Assemblage de la capsid du virus HSV1 (Virus de l'Herpes Simplex de type 1).

La capsid du virus HSV1 présente une symétrie icosaédrique et est constituée de 162 capsomères (pouvant être des hexamères appelés aussi hexons ou des pentamères appelés parfois pentons). Sachant que la structure de la capsid respecte le principe de quasi-équivalence. Déterminez le nombre de triangulation T associé.

#### 4. Représentation des domaines et des éléments de structure secondaire



Dans les deux triangles (inférieur et supérieur) ci-contre on a noté les distances entre C $\alpha$  pour l'élastase et la chymotrypsine, deux enzymes (la séquence de chaque protéine est en abscisse et ordonnée de chaque triangle). Un point noir (gris) correspond à 2 C $\alpha$  distants de moins de 15 Å (plus de 30 Å) dans l'une de ces protéines (elastase en bas, chymotrypsine en haut). Comparez ces deux structures. Quelle est votre conclusion ? Combien elastase et chymotrypsine ont-elles de domaines

-Comment est représentée une hélice  $\alpha$  ?

-comment sont représentés un feuillet  $\beta$  parallèle et un feuillet  $\beta$  antiparallèle ?

#### 5. Prédiction de structure secondaire

On incorpore un acide aminé X (qui peut être n'importe quel acide aminé) dans le peptide :



- Que peut-on à priori des structures secondaire et quaternaire de ce peptide et pourquoi ?

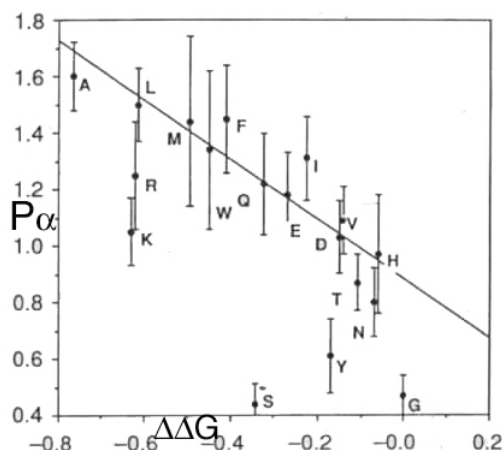
- Comment est calculée la droite de régression dans le graphe ci-dessous ? Y-a-t-il une corrélation (voir graphe) entre la propension des acides aminés à être dans une hélice  $\alpha$  lorsqu'ils sont incorporés comme ci-dessus dans la séquence du peptide modèle que l'on a utilisé (colonne de droite dans le tableau ci-dessous <sup>1</sup>) et la proportion de ces acides aminés qui se trouvent dans les hélices  $\alpha$  dans les protéines dont la structure a été déterminée (colonne de gauche dans le tableau ci-dessous <sup>2</sup>) ?

<sup>1</sup> : le chiffre, une énergie libre, correspond à la constante d'équilibre monomère-dimère d'un peptide en équilibre entre une forme monomérique sans structure secondaire définie et un dimère de 2 hélices  $\alpha$ .

<sup>2</sup> : le chiffre est la fraction des occurrences de chaque acide aminé dans une hélice  $\alpha$  divisée par la même fraction pour l'ensemble des 20 acides aminés.

Il n'y a pas d'explication complètement satisfaisante aux "outliers". Quelle est d'après vous l'hypothèse la plus vraisemblable ?

Amino acid residue	$\alpha$ -helix ( $P_\alpha$ )	Amino acid residue	Relative stabilization of $\alpha$ -helical conformation (kcal/mol)
Glu	1.59	Ala	-0.77
Ala	1.41	Arg	-0.68
Leu	1.34	Lys	-0.65
Met	1.30	Leu	-0.62
Gln	1.27	Met	-0.50
Lys	1.23	Trp	-0.45
Arg	1.21	Phe	-0.41
His	1.05	Ser	-0.35
Val	0.90	Gln	-0.33
Ile	1.09	Glu	-0.27
Tyr	0.74	Cys	-0.23
Cys	0.66	Ile	-0.23
Trp	1.02	Tyr	-0.17
Phe	1.16	Asp	-0.15
Thr	0.76	Val	-0.14
Gly	0.43	Thr	-0.11
Asn	0.76	Asn	-0.07
Pro	0.34	His	-0.06
Ser	0.57	Gly	0
Asp	0.99	Pro	$\approx 3$



Référence originale : O'Neil and DeGrado (1990) Science **250**, 646-651

## 6. Dynamique

L'analyse par RMN des protéines montre que les groupements Méthyle des chaînes latérales des acides aminés sont en rotation rapide. Malgré cela la diffraction des neutrons démontre que les atomes d'hydrogène de ces mêmes méthyles occupent des positions fixes. Ces deux observations sont-elles contradictoires et pourquoi ?

## 7. Faisceaux torsadés d'hélices

Les maladies à prion (dont font partie la maladie de la 'vache folle', la tremblante du mouton, et la maladie de Creutzfeldt-Jakob) sont associées à la conversion d'une protéine riche en hélice  $\alpha$  en une structure insoluble, riche en feuillets  $\beta$ , dont il est admis que c'est l'élément infectieux associé à la propagation de la maladie. On examine ici un peptide d'une vingtaine d'acides aminés qui est un modèle simple de ces transitions structurales.

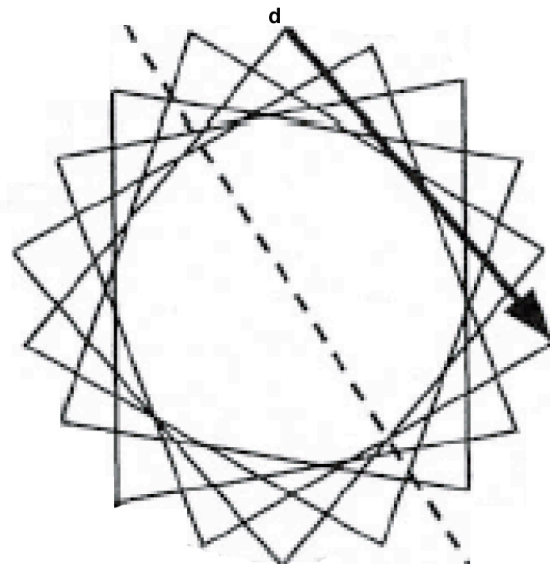
L'assemblage de plusieurs molécules d'un même peptide en un faisceau torsadé d'hélices est fortement favorisé lorsque la séquence du peptide contient une répétition d'heptades abcdefg avec en positions a et d une Leucine ou une Isoleucine. On dit que ces heptades sont canoniques. On a trouvé dans une série de protéines comportant des faisceaux torsadés d'hélices les séquences suivantes, en code à une lettre des acides aminés, les heptades ou parties d'heptades étant séparées par un trait d'union (Figure 1):

**MELEAR - LAKTEKD**  
**YHLENE - VARLKKL**  
**QWLENE - LNRWRNG**  
**SELEVR - LKKEEKS**

**KLLEEK - LKEAETR**  
**TQLEKK - LMEVEKE**  
**KELERK - LSDLEKK**

N-term ----- C-term

**Figure 1** : peptides de faisceaux torsadés d'hélices. Les extrémités N et C terminales sont indiquées.



**Figure 2** (démarrage de l'hélice en d, dans le sens de la flèche)

- Donner la séquence consensus de cette série de peptides en écrivant pour chaque résidu :
  - le code à une lettre de l'acide aminé, s'il est parfaitement conservé
  - h s'il s'agit toujours d'un résidu hydrophobe
  - c s'il s'agit toujours d'un résidu chargé
  - x si l'on ne peut rien dire de la nature du résidu
- Quelle est la séparation des résidus de ce consensus qui ont dans toutes les séquences des charges opposées ? Peuvent-ils former un pont salin entre acides aminés d'une hélice  $\alpha$  (on pourra s'aider de la Figure 2 -représentation des hélices  $\alpha$  vues de bout - pour raisonner) □ L'analyse radiocristallographique montre que ces résidus forment des ponts salins. Quel est le rôle de ces ponts salins dans la formation du faisceau torsadé d'hélices ?
- On conserve les résidus identifiés au 2) et on complète ce consensus pour faire un peptide de 14 acides aminés comprenant deux heptades complètes.
  - Quel acide aminé du consensus devez-vous remplacer et par quel(s) autre(s) acide(s) aminé(s) pour rendre la deuxième heptade canonique ?

- Quel(s) acide(s) aminé(s) devez-vous ajouter et à quelle position pour former deux heptades complètes ?
- 4) On stabilise les hélices en favorisant la formation de ponts salins internes aux hélices. On ajoute donc des acides aminés chargés. Quelle contrainte sur la somme des charges doit-on respecter pour pouvoir former des assemblages stables avec les peptides résultants ?
- On veut établir un pont salin entre le glutamate qui suit la Leucine de la première heptade du consensus et un résidu qui le précède. Quel résidu faut-il substituer et à quelle position du consensus à laquelle l'acide aminé n'est pas défini ?
  - On met un acide aminé acide à la position chargée non appariée du consensus. Quel est le meilleur choix (on rappelle en Figure 3 les propensions des acides aminés à former des hélices  $\alpha$ ) ? Quel acide aminé faut-il incorporer à la position n+4 par rapport à ce résidu pour établir un pont salin interne à l'hélice ?
  - Pour assurer la solubilité maximale du peptide, on met un résidu chargé aux positions non encore définies et comprises entre un acide aminé hydrophile et un acide aminé hydrophobe. Quels sont les meilleurs choix possibles, sachant que l'on évite d'avoir dans la séquence deux résidus consécutifs de même charge et que l'on favorise la formation d'hélices  $\alpha$  ?
- 5) Pour coiffer le peptide ci-dessus on ajoute en N-terminal un résidu S et en C-terminal deux résidus, I et G. Avec le peptide résultant, on obtient le spectre de dichroïsme circulaire représenté sur la Figure 4 (courbe passant par les symboles pleins). Quelle est la structure secondaire du peptide résultant ?

Amino acid residue	$\alpha$ -helix ( $P_\alpha$ )	Amino acid residue	Relative stabilization of $\alpha$ -helical conformation (kcal/mol)
Glu	1.59	Ala	-0.77
Ala	1.41	Arg	-0.68
Leu	1.34	Lys	-0.65
Met	1.30	Leu	-0.62
Gln	1.27	Met	-0.50
Lys	1.23	Trp	-0.45
Arg	1.21	Phe	-0.41
His	1.05	Ser	-0.35
Val	0.90	Gln	-0.33
Ile	1.09	Glu	-0.27
Tyr	0.74	Cys	-0.23
Cys	0.66	Ile	-0.23
Trp	1.02	Tyr	-0.17
Phe	1.16	Asp	-0.15
Thr	0.76	Val	-0.14
Gly	0.43	Thr	-0.11
Asn	0.76	Asn	-0.07
Pro	0.34	His	-0.06
Ser	0.57	Gly	0
Asp	0.99	Pro	$\approx 3$

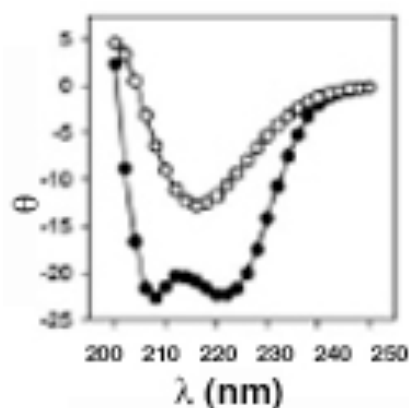


Figure 3

Figure 4

- 6) On voudrait synthétiser un peptide qui passe par une transition hélice  $\alpha \rightarrow$  feuillet  $\beta$ . Quelle séquence de résidus hydrophiles et hydrophobes favoriserait la structure en feuillet  $\beta$  ? Combien reste-t-il de positions sans acide aminé défini dans la séquence ? quels résidus proposeriez-vous d'insérer en ces positions ? A température ambiante, le peptide résultant forme bien une hélice  $\alpha$  mais, lorsqu'on le chauffe à 37°C pendant plusieurs heures, il adopte une structure secondaire caractérisée par le spectre de dichroïsme circulaire représenté sur la figure 4 (courbe en symboles creux). Que conclure ?