

### 3.3. Structure tertiaire

Cette structure ne concerne que les protéines globulaires. En effet, les protéines fibreuses sont des molécules allongées, sans repliements spatiaux particuliers c.à.d. sans structure tertiaire. L'organisation des protéines fibreuses ne dépend que de leur structure secondaire. Par contre, les protéines globulaires se replient dans l'espace afin d'acquérir une conformation active dite structure tertiaire.

La structure tertiaire décrit la façon avec laquelle les motifs secondaires sont disposés entre eux. Autrement dit, c'est la structure représentant la protéine en 3D dans l'espace. Elle décrit aussi l'ensemble des forces qui s'établissent entre les éléments de la structure secondaire pour donner la structure tertiaire. Ces forces (liaison H, liaisons ioniques et Forces de Van der Waals) non covalentes et faibles deviennent efficaces et fortes par leurs grand nombre. On pense que la principale force qui assure le repliement des protéines est l'effet hydrophobe. Les acides aminés hydrophiles ont tendance à se répartir à la surface de la protéine, ils ont moins de tendance à former des structures secondaires. Les acides aminés hydrophobes vont s'agréger dans l'espace interne de la molécule de façon à ne laisser ni vide, ni espace, ni molécule d'eau à l'intérieur de la protéine, créant ainsi, l'état thermodynamique le plus stable de la molécule.

La formation de liaisons H au niveau des structures secondaires du cœur des protéines risque de neutraliser les charges résiduelles des groupements peptidiques ce qui augmente d'une façon importante l'hydrophobicité des structures internes de la protéine. Tout se passe comme si les protéines tendent à tout faire pour avoir la structure interne la plus hydrophobe possible.

Cette structure tertiaire compacte n'est pas rigide, elle est plutôt souple. Pratiquement, la fonction de très nombreuses protéines globulaires s'accompagne souvent de modifications conformationnelles plus ou moins importantes.

La compaction des protéines réduit énormément leur longueur, en effet, une protéine de 150 acides aminés a une longueur d'environ 50 nm, sous sa forme linéaire étirée, mais une fois sous sa forme globulaire (3D) son diamètre n'est que d'environ 4 nm, soit 8% seulement de sa longueur linéaire.

Pour comprendre la structure tertiaire, il est nécessaire de comprendre les éléments nécessaires de cette structure.

### 3.3.1. Boucles et coudes

#### a) Boucles

Les structures secondaires (hélices  $\alpha$  et feuillets  $\beta$ ) qui sont des structures régulières et répétitives, sont raccordées entre elles par des **boucles** (*coils*) dont la conformation est **non régulière, non répétitives** et de **longueur très variable** (5 à 20 résidus). Ces boucles permettent le changement de la direction de la chaîne polypeptidique, afin qu'elle puisse prendre une structure globulaire. Les boucles sont constituées de **résidus polaires, chargés et hydrophiles**, elles sont **situées à la surface** de la protéine et peuvent **établir des liaisons hydrogène** avec l'eau.

Les boucles peuvent faire le raccord entre 2 hélices  $\alpha$  ou entre 2 feuillets  $\beta$  ou entre une hélice  $\alpha$  et un feuillet  $\beta$ .

En fonction du nombre de résidus qu'elles contiennent on parle de :

**Boucle  $\alpha$** : 5 résidus aminés et 4 liaisons peptidiques

**Boucle  $\pi$** : 6 résidus aminés et 5 liaisons peptidiques

**Boucle  $\omega$** : plus de résidus aminés

#### b) Coudes $\beta$ ou Tours $\beta$

Lorsque le nombre de résidus dans la boucle est petit (2-4), on parle plutôt de coudes **ou** de tours et non pas de boucles. Les **coudes  $\delta$**  sont formés de 2 résidus seulement, stériquement, cette structure est peu probable. Les **coudes  $\gamma$**  sont formés de 3 résidus, dont celui du centre est le seul non impliqué dans une liaison H. Les **coudes  $\beta$**  sont formés de 4 résidus, le CO du C $\alpha$ 1 et le NH du C $\alpha$ 4 sont liés par une liaison H, les 2 autres aa n'y participent pas. Ces coudes  $\beta$  raccordent souvent 2 feuillets  $\beta$  antiparallèles adjacents, d'où leur nom  $\beta$ , ils sont aussi appelés **épingles à cheveux (Fig. 11)**.

La participation préférentielle des différents résidus à la formation des hélices  $\alpha$  et des feuillets  $\beta$  ou des boucles et coudes est très variable. La 1<sup>ère</sup> colonne du **tableau 1**, montre que les résidus **Met, Al, Leu, Glu, Lys et Gln** sont souvent trouvés dans l'hélice  $\alpha$ . La **Pro** est la moins trouvée dans l'hélice  $\alpha$  (la proline brise l'hélice alpha pour former des coudes) en plus de Gly et Ser. La 2<sup>ème</sup> colonne montre que la formation des feuillets  $\beta$  semble être favorisée par la présence des résidus: **Val, Ile, Tyr, Cys, Trp, Phe et Glu**. Cependant Pro, Asn et Gly sont moins présents dans cette structure. Les résidus **Gly, Asn, Pro, Ser et Asp** sont les plus rencontrés dans les boucles (**Tab.1**).

**Tab 1:** Préférences des résidus aminoacides pour les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  et les boucles

Résidu amino acide	Hélice $\alpha$ ( $P_\alpha$ )	Brin $\beta$ ( $P_\beta$ )	Boucle ( $P_b$ )
Glu	1,59	1,5	1,01
Ala	1,41	0,7	0,82
Leu	1,34	1,22	0,57
Met	1,30	1,14	0,52
Gln	1,27	0,98	0,84
Lys	1,23	0,69	1,07
Arg	1,21	0,84	0,90
His	1,05	0,80	0,81
Val	0,90	1,87	0,41
Ile	1,09	1,67	0,47
Tyr	0,74	1,45	0,76
Cys	0,66	1,40	0,54
Trp	1,02	1,35	0,65
Phe	1,16	1,33	0,59
Thr	0,76	0,17	0,90
Gly	0,43	0,58	1,77
Asn	0,76	0,48	1,34
Pro	0,34	0,31	1,32
Ser	0,57	0,96	1,22
Asp	0,99	0,39	1,24

La plupart des protéines globulaires ont autant de résidus dans les boucles et les coudes que dans les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$ .

La comparaison des séquences de protéines homologues d'espèces différentes montre que les différences qui sont bien sûr dues à des insertions et/ou à des délétions, se situent souvent au niveau des boucles.

En plus de leur rôle de connexion entre les structures secondaires, les boucles participent aussi à la formation des **sites de reconnaissance**, des **sites de liaison** et des **sites actifs** des protéines.

### 3.3.2. Motifs

Dans les protéines globulaires, les éléments de structure secondaire régulière (hélice  $\alpha$  et ou feuillets  $\beta$ ) peuvent s'associer selon une certaine distribution spatiale particulière en des structures super secondaires (super coils) appelés **motifs de repliement**. Il est évident qu'on ne peut avoir un motif de repliement qu'en présence d'interactions entre les structures secondaires d'une protéine. Naturellement, les hélices  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  s'associent selon une certaine géométrie spécifique en des motifs de repliements, qui peuvent avoir une fonction être simplement une partie d'une structure plus élaborée appelée domaine.

Les motifs sont en nombre réduit, et tous les éléments structuraux ne sont pas reconnaissables sous forme de motifs. Cependant, certains d'entre eux sont très représentés et dans des protéines très différentes.

Le motif le plus simple doué d'une fonction est formé de 2 hélices  $\alpha$  et un coude (hélice-tour-hélice soit hélice-coude-hélice) ou une boucle (hélice-boucle-hélice). Le motif hélice boucle hélice, appelé aussi **EF hand (Fig.11)** dont la boucle est le site de fixation du  $\text{Ca}^{2+}$  est régulièrement présent dans les protéines fixatrices du calcium. Le motif hélice tour hélice est très fréquemment répondu dans les protéines qui se fixent aux acides nucléiques, tels que les facteurs de transcription.

Les motifs des feuillets  $\beta$  sont représentés par **l'épingle à cheveux** et la **clé grecque (Fig.11)**. L'épingle à cheveux (**Fig.11**) est formée de 2 brins adjacents antiparallèles connectés par un coude en épingle à cheveux. Ce motif n'a pas en lui-même une fonction spécifique.

La clé grecque est constituée de 4 feuillets  $\beta$  où l'une des connexions n'est pas en épingle à cheveux (**Fig.11**). Ce motif très rencontré dans les protéines globulaires n'a pas en lui-même une fonction spécifique.

Les motifs mixtes sont représentés par le motif  **$\beta\beta\alpha$**  et le motif  **$\beta\alpha\beta$** .

Dans le motif  **$\beta\alpha\beta$** , entre les feuillets  $\beta$  et l'hélice  $\alpha$ , il y'a 2 boucles de quelques résidus à plus de 100 résidus. La boucle qui relie l'extrémité C-terminale du brin  $\beta$  à l'extrémité N-terminale de l'hélice  $\alpha$  est souvent impliquée dans la formation d'un site de liaison ou d'un site actif (**Fig.11**) et possède des séquences d'acides aminés conservées dans les protéines homologues. La seconde boucle n'a aucune fonction connue.

Le motif  $\beta\beta\alpha$  est appelé **motif doigt de Zinc (fig.11)**. Il est constitué d'une épingle à cheveux suivi d'une hélice  $\alpha$ . Cette hélice  $\alpha$  s'adapte bien au sillon majeur du DNA, ce qui fait que le doigt de zinc soit le responsable de l'interaction entre la protéine et le DNA. Plusieurs facteurs de transcription possèdent plusieurs doigts de zinc répétitifs qui se disposent selon une hélice qui suit le sillon majeur du DNA et s'y insèrent.

Dans ce motif, un atome de zinc central établit quatre liaisons de coordinance avec 4 résidus Cys/His (C2H2, C4...) pour stabiliser le repliement de la protéine et donner une structure tridimensionnelle adaptable au sillon majeur du DNA où elle va se lier.

### 3.3.3. Domaines

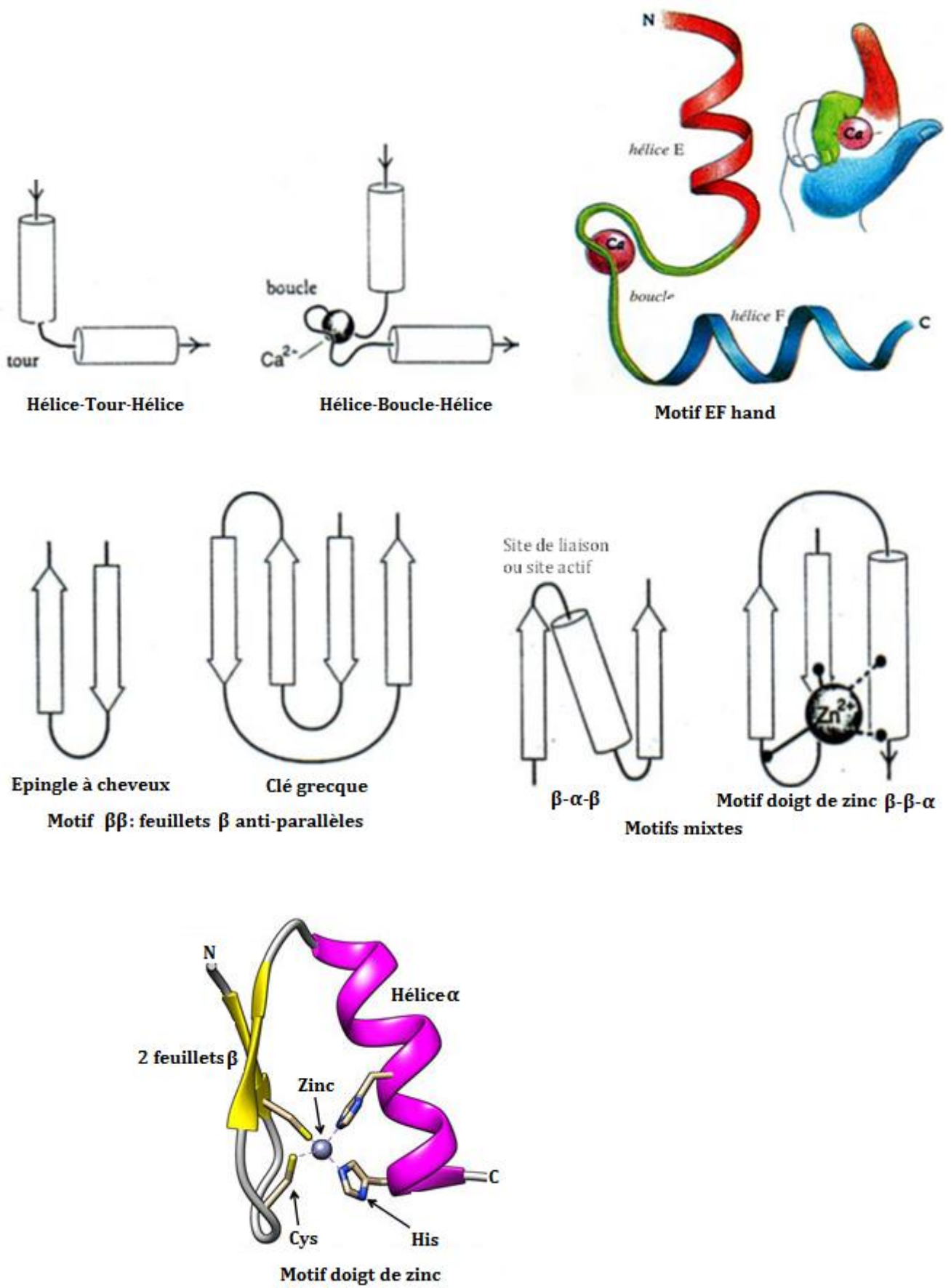
Les domaines peuvent être considérés comme des entités indépendantes qui maintiennent leur structure secondaire de manière autonome, même lorsqu'ils sont détachés du reste de la protéine. Ces domaines se replient de façon indépendante et constituent des unités structurales et fonctionnelles. Ils sont considérés comme des sous-ensembles distincts dans la structure tertiaire de la protéine.

Généralement, dans une protéine, un motif quelconque n'existe pas seul, il est toujours associé avec d'autres motifs (identiques ou différents) pour former un domaine. Les domaines sont constitués donc d'une combinaison hélices  $\alpha$ , feuillets  $\beta$  et motifs reliés par des boucles. Les domaines ont des tailles très variables allant d'une dizaine à quelques centaines de résidus (20 à 300).

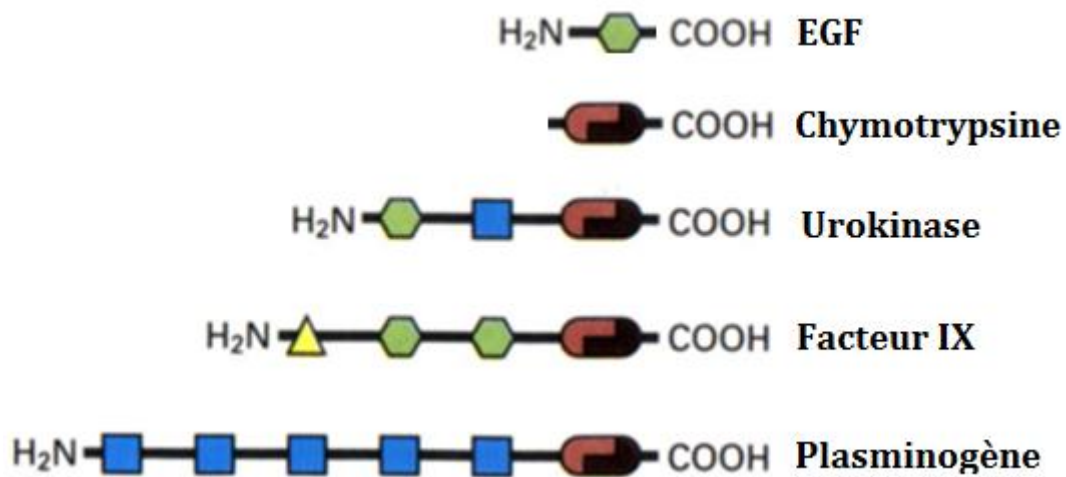
Les petites protéines globulaires comme EGF, ne comportent qu'un seul domaine, d'ailleurs appelé domaine EGF. D'autres protéines comme la chymotrypsine contiennent 2 domaines. Les grosses protéines globulaires, comme les protéines impliquées dans la coagulation du sang et la fibrinolyse (urokinase, facteur IX, plasminogène, prothrombine ...) sont souvent composées de plusieurs domaines comme domaine EGF, domaine sérine protéases, domaine kringle et domaines de fixation du calcium. (**Fig .12**)





Des domaines semblables peuvent être retrouvés dans des protéines différentes, avec des séquences en acides aminés différentes et des fonctions différentes.

Au sein d'une même protéine, chaque domaine a une fonction bien définie, par exemple, la lactate déshydrogénase (LDH) et la glycéraldéhyde phosphate (GAP) déshydrogénase sont formées de 2 domaines, l'un commun et sert à la fixation du NAD et l'autre différent et permet la fixation du substrat (lactate ou glycéraldéhyde). Il est évident que le domaine de fixation du substrat varie d'une enzyme à une autre.



**Fig. 11:** Principaux motifs de repliements des protéines (structures super secondaires)



**Fig. 12:**  Domaine EGF  Domaine de liaison au Ca  Domaine kringle  Domaine sérine protéases

La majorité des domaines ont des fonctions connues mais certains leurs fonctions restent inconnues.

Parmi les domaines les plus répandus dans les protéines on peut citer à titre d'exemple les domaines Kringle, les Domaines sérine protéases (chymotrypsine) et les domaines EGF ...etc.

**A compléter** (travail personnel) -- **Exemples structure de domaines**

**Voir 3<sup>ème</sup> série de TD**

### 3.3.4. Hélice Beta

L'hélice  $\alpha$  **droite** n'est pas la seule conformation hélicoïdale possible, effet, on a pu observer aussi bien des hélices droites que des hélices gauches. L'hélice gauche utilise les acides aminés de la série L.

Une **hélice  $\beta$**  est formée par l'association de feuillets  $\beta$  parallèles disposés de manière hélicoïdale autrement dit, c'est un feuillet qui se met sous forme d'hélice.

### 3.3.5. Facteurs de repliement

Le repliement des protéines globulaires **est assisté** in vivo par des isomérases et des chaperons.

**1\* isomérases**, c'est le cas des PDI et PPI:

**\*Protein Disulfure Isomérase (PDI)**: catalyse la formation des ponts S-S et leur bonne répartition entre les Cys de la chaîne polypeptidique, permettant à ces nouvelles protéines de trouver rapidement les appariements les plus stables thermodynamiquement.

**\*Peptidyl Propyl Isomérase (PPI)**: catalyse l'isomérisation Cis/Trans de la liaison peptidique au niveau de certains résidus Pro. L'isomérisation spontanée de cette liaison est lente mais la présence de la PPI l'active et permet ainsi un repliement plus rapide.

**2\* Protéines Chaperones** (chaperonines), on connaît actuellement 17 types, qui assurent le bon repliement des protéines, afin que la protéine native adopte la même conformation. En effet, les *Polypeptid Chain Binding Protein* (PCBP) se lient aux chaînes polypeptidiques, pour empêcher les interactions illicites entre des séquences qui appartiennent à des domaines différents.

**NB**: Les isomérases et les chaperons assistent les repliements des chaînes polypeptidiques, c.a.d qu'elles les facilitent et les activent, d'ailleurs, le repliement correct d'une protéine peut se faire aussi bien *in vivo* (en présence des facteurs de repliement) qu'*in vitro* en leur absence.

**3\* Conditions physico-chimiques** : pour assurer un repliement correct, certaines conditions (pH, température, force ionique) doivent être optimales.



### 3.4. Structure quaternaire

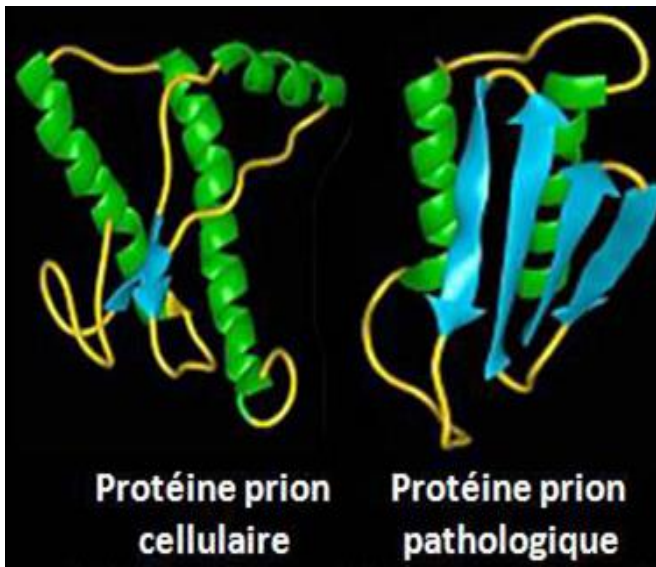
La structure quaternaire ne concerne que **certaines** protéines globulaires mais jamais les protéines en fibres. Cette structure constitue le niveau d'organisation protéique le plus élevé. Généralement ces protéines accomplissent des fonctions complexes qui ne peuvent être accomplies par une seule chaîne polypeptidique simple. Cette fonction n'est acquise que si toutes les sous-unités sont assemblées et dans le bon ordre. Le nombre de sous-unités varie d'une protéine à une autre. Les sous-unités d'une protéine peuvent être identiques donnant une homoprotéine ou différentes donnant une hétéroprotéine.

La structure quaternaire décrit l'arrangement des sous-unités d'une protéine dans l'espace avec toutes les interactions qui s'établissent entre ses différentes sous-unités. Les mêmes forces non covalentes que ceux de la structure tertiaire sont engagées dans cette structure. Cependant, des ponts disulfures entre les sous-unités peuvent renforcer la structure quaternaire de manière covalente.

### 3.5 Repliement incorrect des protéines et pathologies

Le mauvais repliement des protéines a une importance pathologique fondamentale dans de nombreuses maladies. Dans la maladie d'Alzheimer, on trouve des agrégats de protéines insolubles (appelés amyloïdes) dans le cerveau des patients. L'agrégation d'un peptide  $\beta$ -amyloïde en polymères insolubles riches en feuillet  $\beta$  aboutit à la formation de plaques amyloïdes. Les conditions dans lesquelles le peptide  $\beta$ -amyloïde s'agrège sont mal connues. Certaines maladies neurodégénératives comme la maladie de Creutzfeld-Jacob, la tremblante du mouton et la maladie de la vache folle (ESB) ont un rapport étroit avec le repliement incorrect des protéines et leur agrégation. La protéine prion PrP impliquée dans ces maladies comporte 219 acides aminés. Elle porte de nombreuses modifications, parmi lesquelles une ancre GPI (**GlycoPhosphatidylInositol**), qui maintient la protéine dans le feuillet extérieur à la membrane cellulaire. La protéine normale du prion (PrP<sup>c</sup>) est formée essentiellement d'hélice  $\alpha$ ; par contre une importante partie de la forme pathologique (PrP<sup>sc</sup>) est faite de feuillets  $\beta$  (**Fig. 19**), donnant des multimères insolubles, ayant des effets très toxiques. Au cours de ce processus, la PrP<sup>sc</sup> sert de moule pour la PrP<sup>c</sup> qui adopte la forme pathologique (PrP<sup>sc</sup>). Selon l'hypothèse prion, l'agent

infectieux ne serait plus des bactéries, des parasites et des virus, mais des protéines mal repliées.



**Fig. 19:** Représentation en rubans de la protéine prion. Noter le nombre d'hélices  $\alpha$  et de feuillets  $\beta$  dans la protéine normale et dans la protéine pathologique.

## \*\* Dénaturation des protéines

La fonction d'une protéine est très liée à sa forme, la modification de sa structure native peut entraîner une diminution ou une perte de ses activités. Dans ce cas, la protéine est dite **dénaturée**. Dans certaines conditions, les liens reliant les différents éléments de structure peuvent être rompus, la protéine est réversiblement ou irréversiblement dénaturée.

Les principaux facteurs pouvant provoqués la dénaturation d'une protéine sont :

- \* Température (60°C: rupture des liaisons non covalentes, 100°C: rupture des liaisons covalentes).
- \* pH la plupart des protéines se dénaturent en milieu trop acide ou trop alcalin.
- \* Charges ioniques
- \* Solvants organiques
- \* Substances chimiques capables de rompre les liaisons ioniques, les ponts disulfure et les liaisons peptidiques.

## \*\* Flexibilité conformationnelle des protéines

Toutes les macromolécules ne sont pas rigides y compris les protéines. En effet, leur structure fluctue autour de son état d'équilibre et par conséquent elle adopte plusieurs conformations dont certaines peuvent affecter la forme globale de la protéine.

Ces fluctuations jouent un rôle très important dans les propriétés fonctionnelles des protéines. Elles leur confèrent la possibilité de s'adapter à un changement du milieu,

de fixer un ligand de façon optimale, de réguler l'activité par passage de l'état actif à un état inactif ou l'inverse, de réguler l'affinité en passant d'un état de faible affinité à un état de haute affinité ou inversement.

**Prendre des exemples concrets dans la 4<sup>ème</sup> série de TD**

**Hémoglobine (+ globine), myoglobine ...**