

mini Manuel
de
biochimie

Tout le catalogue sur
www.dunod.com



mini Manuel de biochimie

Cours + Exos + QCM/QROC

Michel Guilloton

Professeur honoraire à l'université de Limoges

Bernadette Quintard

Maître de conférences honoraire à l'université de Limoges

Paul-François Gallet

Maître de conférences à l'université de Limoges

3^e édition

DUNOD

Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.

Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements

d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour

les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du

Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).



© Dunod, Paris, 2007, 2011, 2013
ISBN 978-2-10-059198-5

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2° et 3° a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

Table des matières

1	Protéines	1
	1.1 Introduction : diversité des protéines	1
	1.2 Acides aminés	3
	Constitution des acides aminés	3
	Isomérisation optique des aminoacides	7
	Propriétés liées aux chaînes latérales	9
	Propriétés dues aux fonctions amine et carboxyle	11
	1.3 Protéines	13
	La liaison peptidique	13
	Détermination de la composition en aminoacides	15
	Détermination de la structure primaire des polypeptides	15
	Structure secondaire des protéines	17
	Conformation des protéines globulaires (structure tertiaire)	23
	Structure quaternaire des protéines	26
	1.4 Propriétés des protéines	27
	Solubilité des protéines globulaires	27
	Purification des protéines	28
	Stabilité des protéines	28
	Points clefs	34
	Exercices	36
	Solutions	37
2	Enzymes	38
	2.1 Caractères généraux des enzymes	38
	Constitution des enzymes	38
	Classification des enzymes	39
	2.2 La catalyse enzymatique	41
	Notion de site actif	41

Caractères communs à tous les catalyseurs	41
Caractères spécifiques de la catalyse enzymatique	44
Un exemple de catalyse :	
l'hydrolyse de la liaison peptidique	46
2.3 Cinétique enzymatique michaelienne	49
Conditions expérimentales	50
Notion de « vitesse initiale »	50
Influence de la concentration d'enzyme sur la vitesse initiale	50
Influence de la concentration de substrat sur la vitesse initiale	52
Expression algébrique de la vitesse d'une réaction enzymatique	53
Interprétation des paramètres cinétiques	54
Détermination de K_m et V_{max}	58
Action des inhibiteurs sur les réactions enzymatiques	59
2.4 Contrôle de l'activité des enzymes	66
Changements de structure par protéolyse limitée	66
Modification covalente des résidus	67
Modifications non covalentes : régulation de l'activité des enzymes allostériques	67
Points clefs	79
Exercices	80
Solutions	84

3 Glucides	86
3.1 Introduction	86
3.2 Les oses	86
Dénomination des oses	86
Isomérisation des oses	87
Structure cyclique des oses	89
Conformation des oses	91
Osés modifiés	92
3.3 Les osides	96
Formation de la liaison osidique	96
Holosides	97
Hétérosides	105

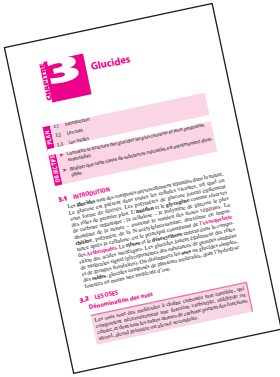
Points clefs	107
Exercices	107
Solutions	108
4 Lipides, membranes biologiques et transports	110
4.1 Les lipides réservoirs d'énergie	110
Les acides gras	110
Les triacylglycérols	117
4.2 Les lipides des membranes biologiques	119
Les phospholipides	119
Les sphingolipides	122
Le cholestérol	126
4.3 Les membranes biologiques	128
Propriétés des lipides membranaires	128
Les protéines membranaires	129
Les mouvements moléculaires dans la membrane	130
4.4 Le transport membranaire	131
Le transport passif facilité	132
Les canaux ioniques	134
Le transport actif	135
Points clefs	138
QCM/QROC	138
Solutions	139
5 Métabolisme énergétique	140
5.1 Vue d'ensemble du métabolisme énergétique	140
5.2 Glycolyse	142
Première partie : investissement d'énergie et formation des trioses phosphate	142
Seconde partie : récupération de l'énergie et formation du pyruvate	142
Bilan énergétique de la formation du pyruvate	143
Glycolyse aérobie et glycolyse anaérobie	143
Fermentations lactiques	147

Régulation de la glycolyse	147
Catabolisme du glycogène	149
Métabolisme énergétique des glucides autres que le glucose	151
5.3 Catabolisme du glucose par la voie des pentoses phosphate 153	
Rôles métaboliques de la voie des pentoses phosphate	153
Les deux parties de la voie des pentoses phosphate	153
Bilan de la voie des pentoses phosphate	154
5.4 Oxydation du pyruvate 156	
Organisation de l'oxydation complète du pyruvate	156
Décarboxylation oxydative du pyruvate	156
5.5 Cycle de l'acide citrique 160	
Réactions du cycle de l'acide citrique	160
Régulation du cycle de l'acide citrique	162
Bilan de l'oxydation de l'acide pyruvique	162
Rôles des intermédiaires du cycle, réactions anaplerotiques	163
5.6 Catabolisme des acides gras 164	
Activation des chaînes d'acides gras	164
β -oxydation des acyl-CoA	164
Bilan de la β -oxydation des acides gras	167
Rôle central de l'acétyl-CoA	167
Points clefs	169
Exercices	170
Solutions	171
6 Les oxydations phosphorylantes 175	
6.1 Localisation de la chaîne respiratoire 175	
6.2 Transporteurs d'électrons 177	
6.3 Cascade des transporteurs 179	
6.4 Couplage du transfert d'électrons avec l'établissement de la force proton-motrice 181	
Mise en évidence du couplage énergétique	181
Théorie chimio-osmotique de Mitchell	182
Propriétés et organisation de la membrane interne	182

Stœchiométries des transferts de protons	183
Calcul de la force proton-motrice	186
6.5 Utilisation de la force proton-motrice pour la production d'ATP	187
L'ATP synthase mitochondriale	187
Rendement de la production d'ATP	189
6.6 Régulation des oxydations phosphorylantes	192
Points clefs	195
Exercices	196
Solutions	198
7 Biosynthèses et mise en réserve de l'énergie	200
7.1 Vue d'ensemble des voies de biosynthèse	200
7.2 Biosynthèse des glucides	201
Caractères généraux de la néoglucogenèse	201
Réactions de la néoglucogenèse	201
Régulation de la néoglucogenèse	204
Synthèse du glycogène	205
Régulation de la synthèse du glycogène	207
Cycle de l'acide glyoxylique	207
7.3 Biosynthèse des acides gras	211
Caractères généraux de la synthèse des acides gras	211
Formation du malonyl-CoA	212
Les enzymes et les réactions de la synthèse des acides gras	212
Modifications des chaînes d'acides gras	218
Biosynthèse des triacylglycérols	218
Points clefs	220
Exercices	221
Solutions	222
Glossaire	225
Index	230

Comment utiliser le Mini-Manuel

La page d'entrée de chapitre



Elle donne le plan du cours, ainsi qu'un rappel des objectifs pédagogiques du chapitre

Le cours

Le cours, concis et structuré, expose les notions importantes du programme



Les rubriques



Une erreur à éviter



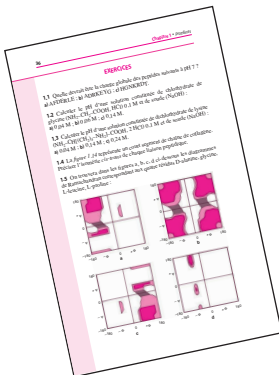
Un peu de méthode



Un exemple pour comprendre



Les points clés à retenir



Les exercices, QCM ou QROC

Ils sont proposés en fin de chapitre, avec leur solutions, pour se tester tout au long de l'année.

PLAN

- 1.1 Introduction : diversité des protéines
- 1.2 Acides aminés
- 1.3 Protéines
- 1.4 Propriétés des protéines

OBJECTIFS

- Structure et propriétés des acides aminés constituant les protéines
- Comprendre les principes de l'organisation structurale des protéines
- Connaître les propriétés générales des protéines
- Faire le lien entre leur relative stabilité et leurs rôles biologiques

1.1 INTRODUCTION : DIVERSITÉ DES PROTÉINES

Le terme **protéine** (du grec *prôtos*, de premier rang) fut proposé en 1839 par le chimiste suédois **Jöns Jakob Berzelius** pour souligner **l'importance quantitative** des composés organiques azotés dans la matière vivante. Les protéines représentent en effet plus de la moitié de la masse sèche des cellules animales. Toutefois, l'importance des protéines vient surtout de **l'extrême diversité** de leurs fonctions biologiques (*tableau 1.1*). Quelles sont les raisons d'une telle variété ?

En premier lieu, les protéines sont constituées d'enchaînements linéaires d'acides aminés ou aminoacides ; ces enchaînements sont de longueur variable – quelques dizaines à quelques milliers – et les acides aminés sont au nombre de vingt. Les possibilités de combinaison sont donc considérables (théoriquement, 20^n pour des chaînes constituées de n aminoacides).

En second lieu, ces protéines peuvent être modifiées après leur synthèse (**modifications post-traductionnelles**) ce qui multiplie encore la diversité potentielle des structures. Ces modifications pourront intéresser les chaînes latérales de certains résidus d'acides aminés, mais, très souvent, les protéines seront associées à d'autres types de molécules.

TABLEAU 1.1 DIVERSITÉ DE LA FONCTION DES PROTÉINES.

Catégorie	Fonction générale	Exemple	Rôle biologique
Enzymes	catalyse des réactions	anhydrase carbonique	accélération des échanges de CO ₂
Protéines de structure	organisation, consolidation ou protection des tissus	collagène	constituant des tendons, du cartilage, des os
Protéines de transport	faciliter le transport des ions/molécules à travers les membranes	lactose perméase	assure le passage et l'accumulation du lactose dans les bactéries (<i>Escherichia coli</i>)
Protéines de défense	reconnaissance et neutralisation des structures étrangères	immuno-globulines (anticorps)	fixent spécifiquement les structures étrangères (antigènes) et favorisent leur élimination
Protéines de réserve	nutrition des embryons	ovalbumine	source énergétique et protection de l'embryon
Moteurs moléculaires	conversion énergie chimique → énergie mécanique	myosine	contraction musculaire
Récepteurs	détection et transduction de signaux chimiques, électriques, mécaniques, lumineux	rhodopsine	captage des photons dans les disques rétiniens
Régulateurs de transcription	modulation de l'expression des gènes	Gcn4p	contrôle du métabolisme des molécules azotées chez la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Hormones	communication chimique entre les tissus et les organes	insuline	entrée et consommation du glucose dans les tissus des vertébrés

On distinguera donc les **holoprotéines** composées uniquement d'acides aminés, des **hétéroprotéines** comprenant également des molécules non protéiques (groupements prosthétiques), glucides, lipides, acides nucléiques, ions métalliques (*tableau 1.2*). Avant de commencer l'étude des protéines proprement dites, nous nous intéresserons à leurs constituants de base, les acides aminés.

TABLEAU 1.2 HÉTÉROPROTÉINES.

Classe	Groupe ment prosthétique (exemple)
Glycoprotéines	glucides (immunoglobulines)
Lipoprotéines	lipides (lipoprotéines du sang)
Phosphoprotéines	phosphate (caséine du lait)
Hémoprotéines	hème (hémoglobine)
Flavoprotéines	coenzymes flaviniques : FMN, FAD (succinate déshydrogénase)
Métalloprotéines	Fe^{II} (aconitase) Fe^{III} (transferrine) Cu^{II} (céruloplasmine) Ca^{II} (calmoduline) Zn^{II} (anhydrase carbonique) Mn^{II} (catalase) Ni^{II} (uréase) Mo^{VI} (nitrate réductase)

1.2 ACIDES AMINÉS

Constitution des acides aminés

Les protéines sont constituées de vingt acides aminés (ou aminoacides) ayant des caractères structuraux communs. Ils possèdent une fonction **amine primaire** (ou, dans le cas de la proline, une fonction **amine secondaire**) et une fonction carboxyle fixées sur le même carbone, le **carbone α** . Les aminoacides diffèrent les uns des autres par la nature de la chaîne latérale, appelée également radical (ou groupement) R. La nature de la chaîne latérale conditionne les propriétés physiques et chimiques de l'aminoacide, en particulier sa solubilité dans l'eau et sa charge à un pH donné. Les acides aminés décrits dans le *tableau 1.3* et la *figure 1.1* représentent les vingt molécules dont la succession dans les polypeptides est spécifiée par la reconnaissance des codons portés par les ARN messagers ; il faut ajouter à ces vingt molécules deux aminoacides rares, la **sélénocystéine** et la **pyrolysine** (*figure 1.2*). Dans le but de simplifier l'écriture de la formule des protéines, les acides aminés ont reçu des dénominations abrégées, de trois lettres et d'une lettre (*tableau 1.3*) ; l'écriture abrégée à une lettre est préférable lorsque l'on veut comparer entre elles de longues séquences de protéines, de préférence au moyen de logiciels.

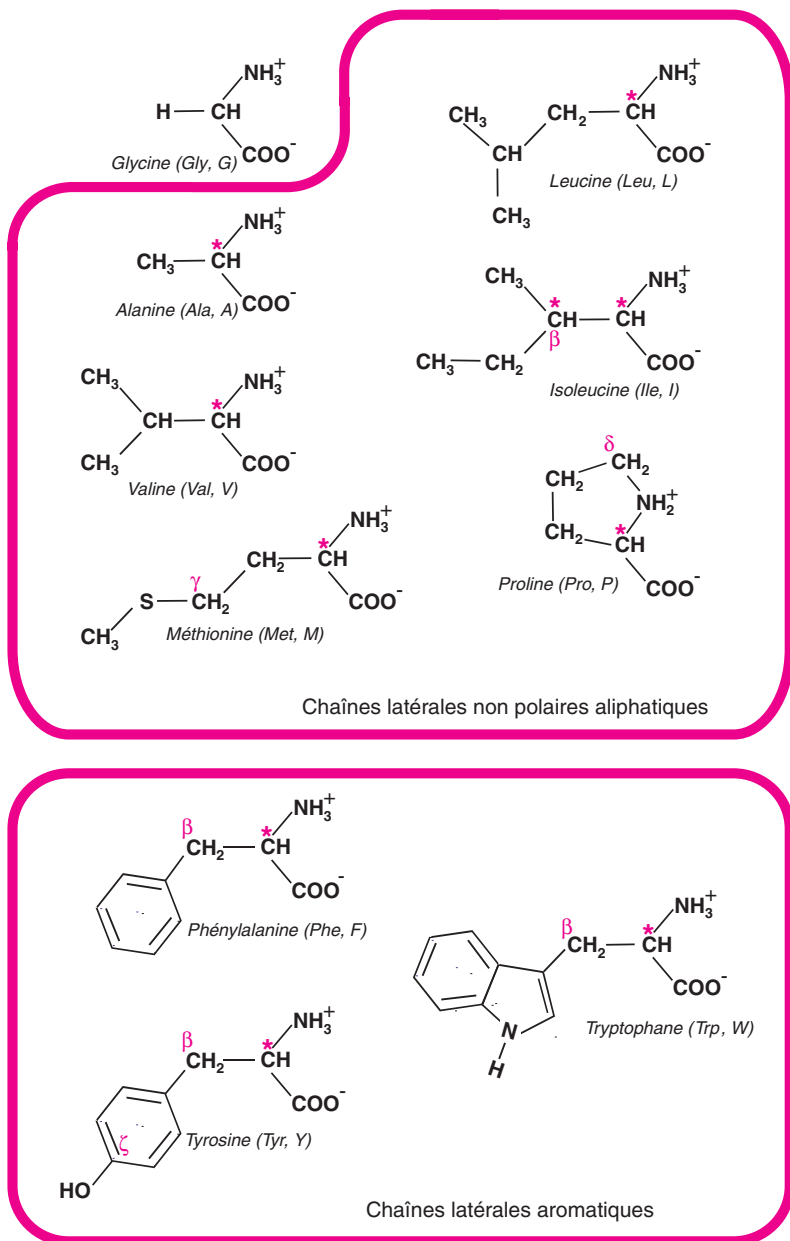


Figure 1.1 Formules développées des vingt acides aminés constituant les protéines. Les vingt acides aminés canoniques sont regroupés en fonction de la nature de leurs chaînes latérales (voir tableau 1.3). Les carbones asymétriques sont indiqués par un astérisque ; les lettres grecques désignent les atomes porteurs de fonctions particulières.

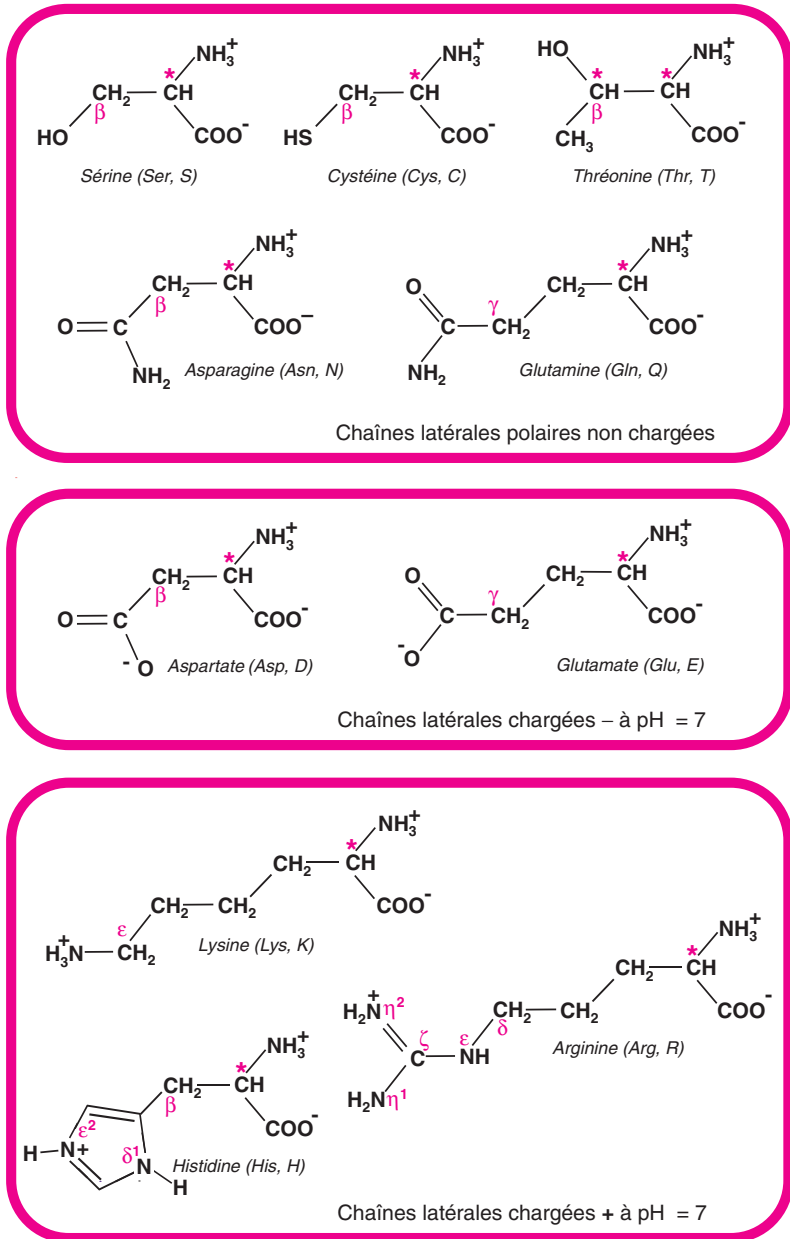


Figure 1.1 (suite) Formules développées des vingt acides aminés constituant les protéines.

TABLEAU 1.3 PROPRIÉTÉS DES VINGT AMINOACIDES CONSTITUTIFS DES PROTÉINES.

Acide aminé	Codes		Mr	pK ₁ (α COOH)	pK ₂ (α NH ₃ ⁺)	pK ₃ (R)	pI
	3 lettres	1 lettre					
Glycine	Gly	G	75	2,3	9,6		5,9
Chaîne latérale (R) apolaire aliphatique							
Alanine	Ala	A	89	2,3	9,7		6,0
Valine	Val	V	117	2,3	9,6		5,9
Leucine	Leu	L	131	2,4	9,6		6,0
Isoleucine	Ile	I	131	2,4	9,7		6,0
Proline	Pro	P	115	2,0	11,0		6,5
Méthionine	Met	M	150	2,3	9,2		5,7
Chaîne latérale (R) aromatique							
Phénylalanine	Phe	F	165	1,8	9,1		5,4
Tyrosine	Tyr	Y	181	2,2	9,1	10,46	5,6
Tryptophane	Trp	W	204	2,4	9,4		5,9
Chaîne latérale (R) polaire non chargée à pH = 7							
Sérine	Ser	S	105	2,1	9,2	>13,0	5,6
Thréonine	Thr	T	119	2,1	9,6	>13,0	5,7
Cystéine	Cys	C	121	2,0	10,25	8,2	6,4
Asparagine	Asn	N	132	2,0	8,8		5,4
Glutamine	Gln	Q	146	2,2	9,1		5,6
Chaîne latérale (R) chargée - à pH = 7							
Aspartate	Asp	D	132	1,9	9,6	3,8	2,8
Glutamate	Glu	E	146	2,2	9,7	4,2	3,2
Chaîne latérale (R) chargée + à pH = 7							
Lysine	Lys	L	147	2,2	9,2	10,6	9,9
Arginine	Arg	R	175	2,2	9,0	12,5	10,7
Histidine	His	H	155	1,8	9,2	6,0	7,6

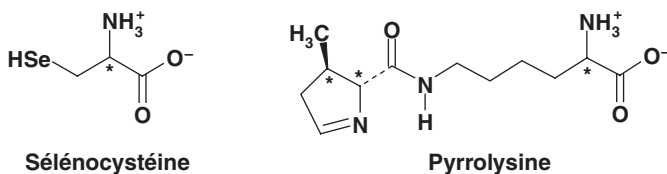


Figure 1.2 Sélocystéine et pyrrolysine.

On rencontre la sélocystéine dans le site actif d'un petit nombre d'enzymes, par exemple des enzymes responsables de la destruction des peroxydes chez les animaux et chez un petit nombre de bactéries ; la sélocystéine est inconnue dans les protéines des plantes ou des levures. La distribution de la pyrrolysine semble encore plus restreinte. Ce résidu fait partie du site actif d'enzymes produisant du méthane à partir de la méthylamine chez certaines **archéobactéries** méthanogènes du genre *Methanosarcina*. Portés chacun par un ARN de transfert spécifique, respectivement tARN^{Sec} et tARN^{Pyl}, ces deux aminoacides partagent un second point commun par le fait que l'anticodon de leur tARN reconnaît un codon stop sur l'ARN messenger, UGA pour tARN^{Sec} et UAG pour tARN^{Pyl}. Dans les deux cas, l'introduction du résidu nécessite tout à la fois des protéines spécifiques et une conformation particulière de l'ARN messenger en aval du codon stop.



D'autres acides aminés existent également dans la nature, et ils sont nombreux ; ce sont des produits intermédiaires ou terminaux de voies métaboliques, mais ils ne sont pas incorporés dans les protéines au cours de leur assemblage par les ribosomes. On retrouve dans certaines protéines des acides aminés non standards qui sont produits suite à des modifications « post-traductionnelles » de la protéine (**hydroxyproline**, **acétylsérine**, etc.).

Isomérisie optique des aminoacides

Dix-neuf aminoacides sur vingt possèdent quatre substituants différents sur le carbone α : la fonction α amine, la fonction α carboxyle, un atome d'hydrogène et la chaîne latérale. La glycine fait exception, avec deux atomes d'hydrogène sur le carbone α . Chez tous les autres aminoacides, le carbone α est un **centre chiral** ; on peut donc concevoir une molécule d'acide aminé comme, par exemple, l'alanine, de deux manières différentes, qui représenteront les deux isomères optiques ou **énantiomères** (fig. 1.3). On distingue la **L-alanine** et la **D-alanine**, images l'une de l'autre dans un miroir.

Les lettres D et L font référence au **D-glyceraldéhyde** et au **L-glyceraldéhyde**, plus précisément aux positions des fonctions amine (dans l'alanine) et alcool secondaire (dans le glyceraldéhyde), les molécules étant représentées selon la projection de Fischer (fig. 1.3) : si la fonction prend place à droite de la chaîne carbonée, la molécule appartient à la série D ; si la fonction apparaît à gauche de la chaîne carbonée, le composé est de la série L. Les lettres D et L rappellent le sens de la déviation du plan de la lumière polarisée par les solutions de glyceraldéhyde : D pour dextrogyre (sens des aiguilles d'une montre), L pour lévogyre (sens inverse des aiguilles d'une montre). Les solutions d'acido-

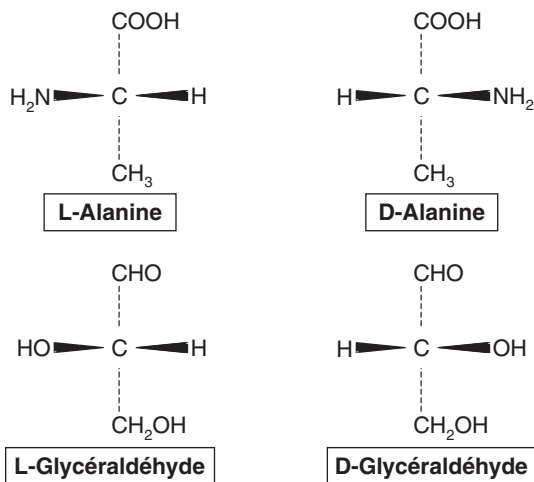


Figure 1.3 Configuration absolue des isomères optiques de l’alanine et du glycéraldéhyde.

acides dévient également le plan de la lumière polarisée, mais le sens et l’ampleur de la déviation sont différents pour chaque aminoacide et dépendent également du pH (en raison de la modification de l’ionisation des fonctions amine et carboxyle).



Tous les aminoacides constitutifs des protéines appartiennent à la série L. On trouve des aminoacides de la série D, par exemple dans des antibiotiques (gramicidine) ou dans les constituants des parois cellulaires bactériennes (peptidoglycane).

La **thréonine** et **isoleucine** possèdent deux carbones chiraux, et peuvent donc exister sous la forme de quatre **diastéréoisomères** ; en fait, et dans les deux cas, un seul isomère est représenté dans les protéines (fig. 1.4).

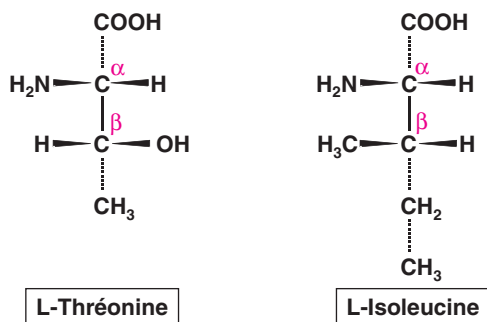


Figure 1.4 Configuration absolue de la L-thréonine et de la L-isoleucine.

Propriétés liées aux chaînes latérales

a) La glycine

La « chaîne latérale » de la glycine consiste en un simple atome d'hydrogène. En raison de ce faible encombrement les protéines présenteront une flexibilité importante au niveau de cet aminoacide ; on trouvera souvent la glycine au niveau des « **coudes** » ou **tournants** effectués par les chaînes polypeptidiques.

b) Chaînes latérales non polaires, aliphatiques

Cette classe d'acides aminés comprend l'**alanine**, la **valine**, la **leucine**, la **proline**, l'**isoleucine** et la **méthionine**. Les chaînes latérales de ces aminoacides interviendront pour maintenir la structure des protéines grâce à des **interactions hydrophobes** (voir *MaxiFiches de Biochimie*, fiche 9). La proline, avec une fonction amine secondaire incluse dans une structure cyclique rigide, imposera des contraintes conformationnelles aux chaînes polypeptidiques. Ces chaînes aliphatiques ne présentent aucune réactivité chimique si l'on excepte la fonction thioéther de la méthionine, par exemple sensible à l'oxygène (formation de sulfones) ; par ailleurs, la méthionine, sous forme d'acide aminé libre est à l'origine de la formation de la **S⁺ adénosyl méthionine**, substrat impliqué dans des réactions de méthylation.

c) Chaînes latérales aromatiques

Les protéines absorbent la lumière ultraviolette autour de 280 nm ; cette absorption est due à la présence de trois aminoacides aromatiques, la **phénylalanine**, la **tyrosine** et le **tryptophane**. En fait, l'absorption de la lumière par le tryptophane est, de loin, la plus importante (*fig. 1.5*). On utilise souvent l'absorbance à 280 nm pour déterminer la concentration des protéines dans une solution. Toutefois, comme la proportion de tryptophane est différente pour chaque protéine (en moyenne 1 tryptophane pour 100 aminoacides), cette mesure ne peut constituer une méthode générale de dosage, d'autant que certaines protéines sont dépourvues de tryptophane (insuline, ribonucléase A).

d) Chaînes latérales polaires non chargées

La **sérine**, la **thréonine**, la **cystéine**, l'**asparagine** et la **glutamine** possèdent des groupements polaires qui pourront établir des liaisons hydrogène, soit avec les molécules d'eau du milieu, soit avec d'autres aminoacides de la chaîne protéique, soit avec les éventuels substrats ou ligands. Les **fonctions alcool** de la sérine et de la thréonine sont très peu réactives ; à l'opposé, lorsqu'elle est présente dans des sites actifs d'enzymes comme la trypsine ou la chymotrypsine (protéases à sérine), la fonction alcool de la sérine devient particulièrement

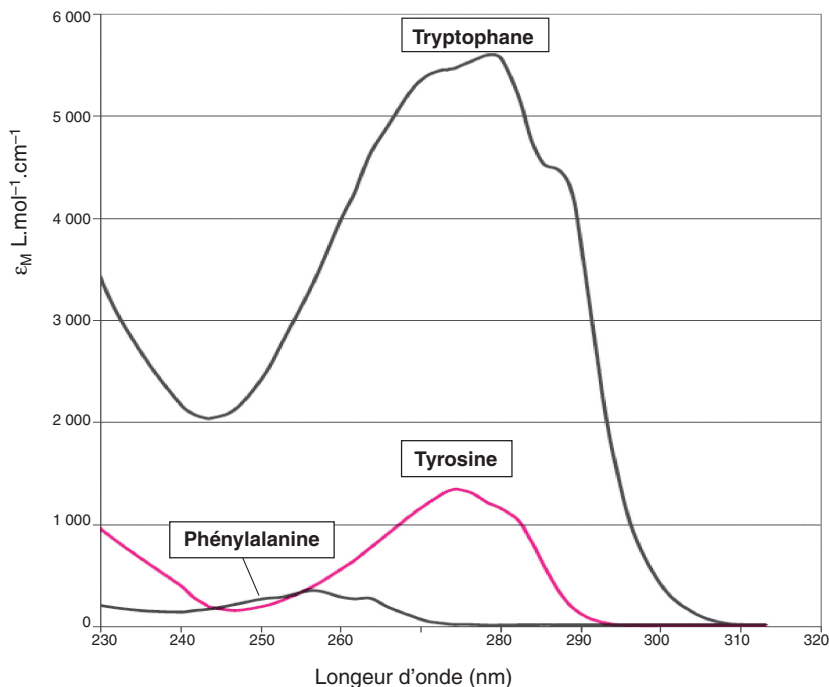


Figure 1.5 Spectres d'absorption des aminoacides aromatiques.

Les maximums d'absorption sont obtenus dans l'ultra-violet aux longueurs d'onde suivantes : phénylalanine, 257 nm ($\epsilon_M = 180 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) ; tyrosine, 275 nm ($\epsilon_M = 1\,350 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) ; tryptophane, 279 nm ($\epsilon_M = 5\,600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

réactive (voir chapitre 2, § 2.2 p. 46). La fonction thiol de la cystéine s'oxyde facilement au contact de l'oxygène dissous dans les solutions, deux molécules de cystéine forment alors un pont disulfure pour donner la **cystine**. On retrouve ce composé très peu soluble dans certains calculs des voies urinaires (d'où le nom cystine, du grec *kustos*, vessie). La formation de **ponts disulfure** entre résidus cystéine est, par ailleurs, un facteur important dans le maintien de la conformation des protéines ; on les rencontre essentiellement dans des protéines exposées à un environnement oxydant, soit, principalement, les protéines de surface exposées au milieu extra-cellulaire et les protéines excrétées (exemple, la **ribonucléase A**, enzyme pancréatique déversée dans l'intestin grêle au cours de la digestion).

e) Chaînes latérales chargées négativement à pH 7

L'**acide aspartique** et l'**acide glutamique** sont le plus souvent nommés, respectivement, **aspartate** et **glutamate** pour rappeler que leurs chaînes latérales comprennent une fonction carboxyle chargée négativement à