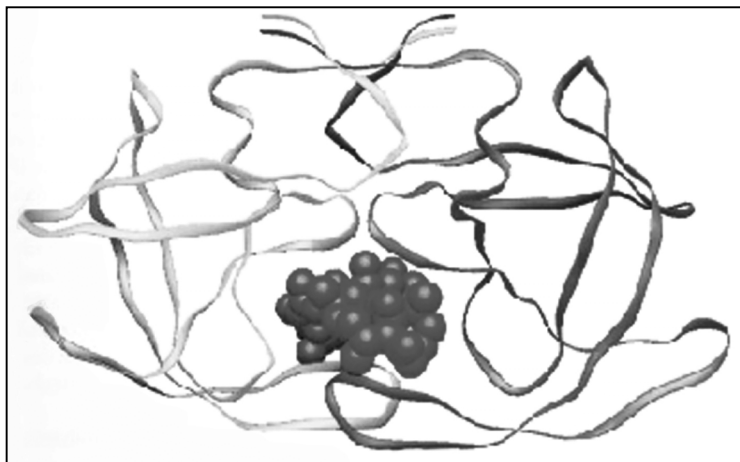


Peptides et protéines



Repliement des protéines

Les protéines (polypeptides) sont connues pour pouvoir prendre une grande variété de conformations du squelette carboné. Dans l'une d'entre elles, le squelette est dans un arrangement presque entièrement étendu (comme dans les feuillets β parallèles ou antiparallèles); dans une autre conformation, il est dans un arrangement très structuré (hélice α).

7.1 La distance d'une extrémité à l'autre d'un hexapeptide quand il est dans une conformation entièrement étirée est approximativement :

(a) 10 Å

(b) 15 Å

(c) 20 Å

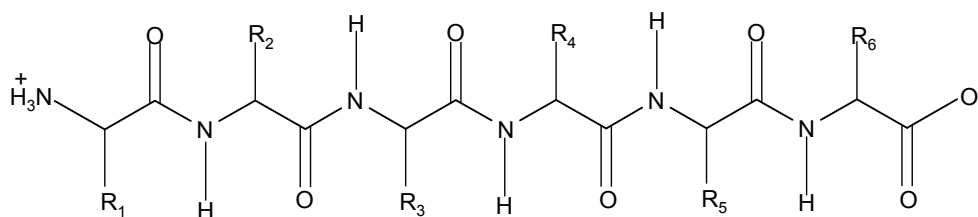
(d) 25 Å

[Cocher la case convenable]

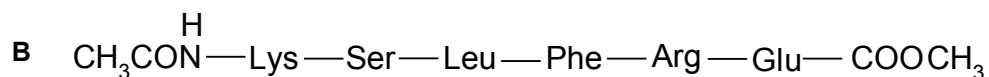
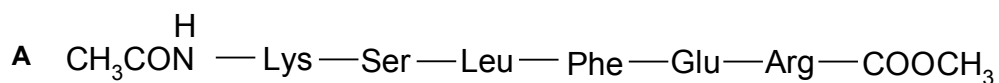
Tableau 7.1

Acide aminé	Structure	Masse moléculaire (Da)
Glu – Acide glutamique	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	147
Hms – Homosérine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	119
Leu – Leucine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} \begin{array}{l} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_3 \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$	131
Met – Méthionine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$	149
Lys – Lysine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$	146
Phe – Phénylalanine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{H} \end{array}$	165
Arg – Arginine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{C} \begin{array}{l} / \text{NH}_2 \\ \backslash \text{NH} \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$	174
Ser – Sérine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	105

7.2 En faisant l'hypothèse que l'hexapeptide suivant est dans la conformation hélice α , dessiner une flèche joignant un atome d'oxygène et l'atome d'hydrogène de l'amide NH auquel il est relié par une liaison hydrogène.



7.3 Les deux hexapeptides suivants (**A** et **B**) revêtent des conformations différentes dans l'eau à pH 7.0, particulièrement lorsque les groupements hydroxyle portés par leurs sérines sont phosphorylés. **A** est partiellement hélicoïdale et sa forme se rapproche de celle d'une hélice après phosphorylation de la sérine. **B** est faiblement hélicoïdal et devient complètement désordonné après phosphorylation de la sérine. Dessiner des flèches pour indiquer les interactions entre les résidus qui sont responsables de ces différences de comportement.

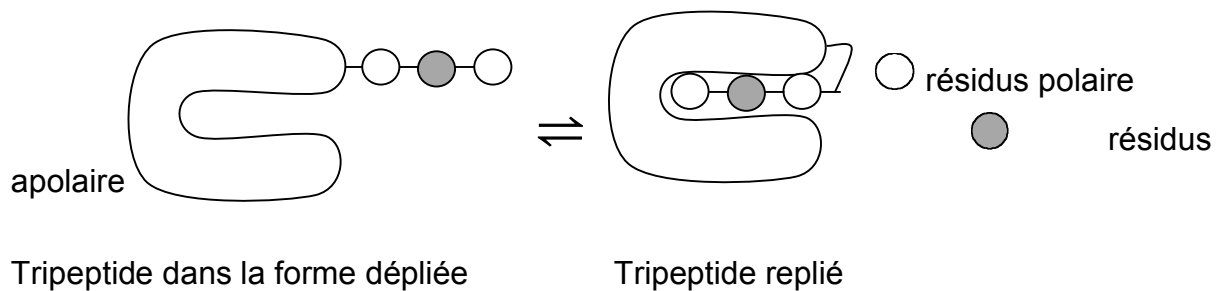


Considérons maintenant le processus de repliement / dépliement d'un tripeptide, segment d'une grande protéine. L'enthalpie libre de réaction ($\Delta_r G$) dépend de la valeur de l'interaction du tripeptide avec le solvant (eau) dans l'état déplié et avec le reste de la protéine dans l'état replié (voir ci-dessous).

On supposera que le tripeptide est composé d'un résidu apolaire (hydrophobe ; grisé sur la figure) et deux résidus polaires (hydrophiles ; en blanc sur la figure).

On prendra les valeurs approximatives suivantes pour les enthalpies libres de repliement :

- (a) résidu apolaire et solvant (eau)
 $\Delta_r G = +8 \text{ kJ mol}^{-1}$
- (b) résidu apolaire et le reste de la protéine
 $\Delta_r G = -4 \text{ kJ mol}^{-1}$
- (c) résidu polaire et solvant (eau)
 $\Delta_r G = -16 \text{ kJ mol}^{-1}$
- (d) résidu polaire et le reste de la protéine
 $\Delta_r G = -14 \text{ kJ mol}^{-1}$



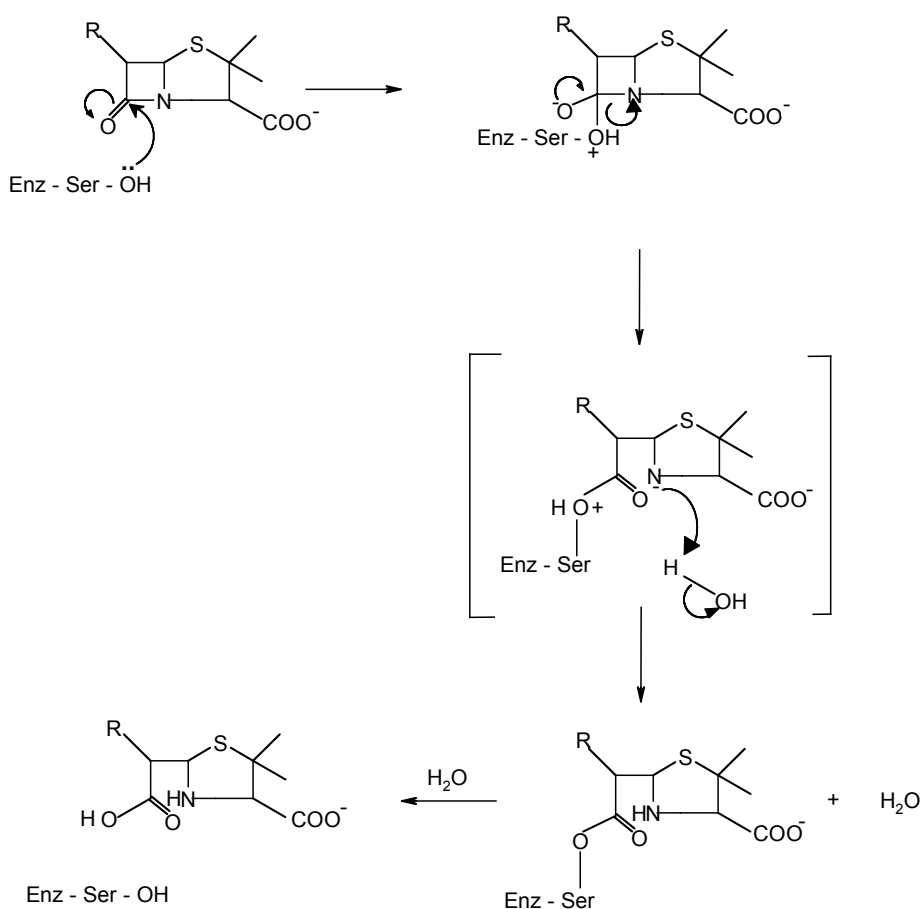
7.4 Calculer le $\Delta_r G$ pour le repliement du segment tripeptide.

7.5 Calculer le $\Delta_r G$ pour le repliement du segment tripeptide si les trois résidus sont polaires.

β – lactamase et résistance aux médicaments

Les pénicillines sont des médicaments efficaces dans la lutte contre les infections bactériennes. Au cours des dernières années, on a constaté l'apparition très inquiétante de bactéries résistantes aux antibiotiques. La résistance à la Pénicilline est due à la sécrétion par les bactéries d'une enzyme appelée la β -lactamase (ou pénicillinase), qui inactive la pénicilline en ouvrant le cycle β -lactame.

Le mécanisme de cette ouverture du cycle β -lactame met en œuvre une attaque nucléophile par le groupe -OH de la sérine du site actif de l'enzyme, selon le schéma ci-dessous :



Une expérience a été réalisée en vue de caractériser la β -lactamase du *Staphylocoque doré*. Après traitement de l'enzyme pure par un agent phosphorylant marqué au [³²P], seule la sérine du site actif a été marquée. L'analyse montre que cette sérine {de masse moléculaire= 105 unités de masse (Da)} constitue 0,35% en masse de la β -lactamase.

7.6 Estimer la masse moléculaire minimale de cette β -lactamase.

7.7 Le nombre approximatif d'acides aminés présents dans une protéine de cette taille est de :

(a) 100

(b) 150

(c) 275

(d) 375

[Cocher la case convenable]

7.8 Pour dresser une carte du site actif de cette enzyme, la β -lactamase a été hydrolysée par la trypsine, une enzyme spécifique.

Un hexapeptide P1, contenant la sérine du site actif, a ainsi été obtenu. Une analyse des acides aminés présents dans P1 a prouvé la présence, en quantités équimolaires, de : Glu, Leu, Lys, Met, Phé et Sér.

Le traitement de P1 par le réactif d'Edman (isothiocyanate de phényle) a donné un peptide P2 et le thiohydantoïne de phényle (PTH), dérivé de la phénylalanine.

Le traitement de P1 par le cyanure de brome (CNBr) a donné un térapeptide acide P3 et un dipeptide P4.

Le traitement de P2 par le 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène, suivi d'une hydrolyse totale, a donné le composé suivant : N-2,4-dinitrophényl-Glu.

P1, P2, et P3 contiennent la sérine du site actif.

A partir des informations ci-dessus, donner la séquence des acides aminés constituant P1, P2, P3 et P4.

- 7.9 Calculer la masse moléculaire de P3 en unités de masse (Da) à partir des informations données dans le tableau 7.1.

- 7.10 Le site actif de la β -lactamase crée un micro-environnement unique autour du site actif qui donne au groupe $-OH$ catalytique de la sérine une réactivité nucléophile inhabituelle. La constante de vitesse pour la réaction du premier ordre catalysée par la β -lactamase vaut 350 s^{-1} . Pour l'hydrolyse de la pénicilline par le groupe $-OH$ de la sérine libre (à 1M) en solution, on trouve une constante de réaction de pseudo ordre 1 valant : 0.5 s^{-1} .

A l'aide des informations ci-dessus, calculer la concentration apparente de ce nucléophile dans le site actif de l'enzyme.

- 7.11 Une molécule entrant en compétition avec la pénicilline pour la liaison avec le site actif de la β -lactamase peut inhiber cette enzyme. Les constantes de dissociation (K_D) du complexe {inhibiteur – lactamase} pour trois différents inhibiteurs sont données ci-dessous :

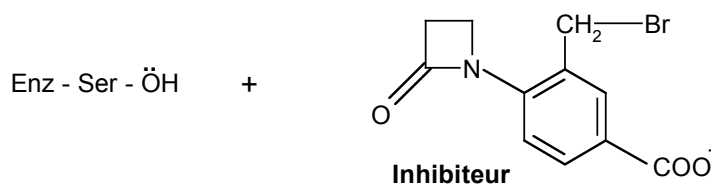
Inhibiteur	Constante de dissociation (K_D)
A	$2,0 \times 10^{-3}$
B	$1,0 \times 10^{-6}$
C	$5,0 \times 10^{-9}$

Indiquer lequel de ces inhibiteurs est le plus efficace pour protéger la pénicilline contre la β -lactamase. [Cocher la case convenable].

- A.
- B.
- C.

Un inhibiteur de la β -lactamase a été conçu de manière rationnelle. Lors de la fixation sur le site actif de l'enzyme, une attaque nucléophile par le groupe -OH de la sérine provoque l'ouverture du motif β -lactame de l'inhibiteur, ainsi que l'élimination de Br^- . Un électrophile réactif ainsi engendré capture un résidu X du site actif de l'enzyme, ce qui inactive l'enzyme.

7.12 A partir des informations ci-dessus, identifier l'électrophile (A) engendré, ainsi que le produit final (B) formé lors de l'inactivation de l'enzyme par l'inhibiteur indiqué ci-dessous.



A



B