

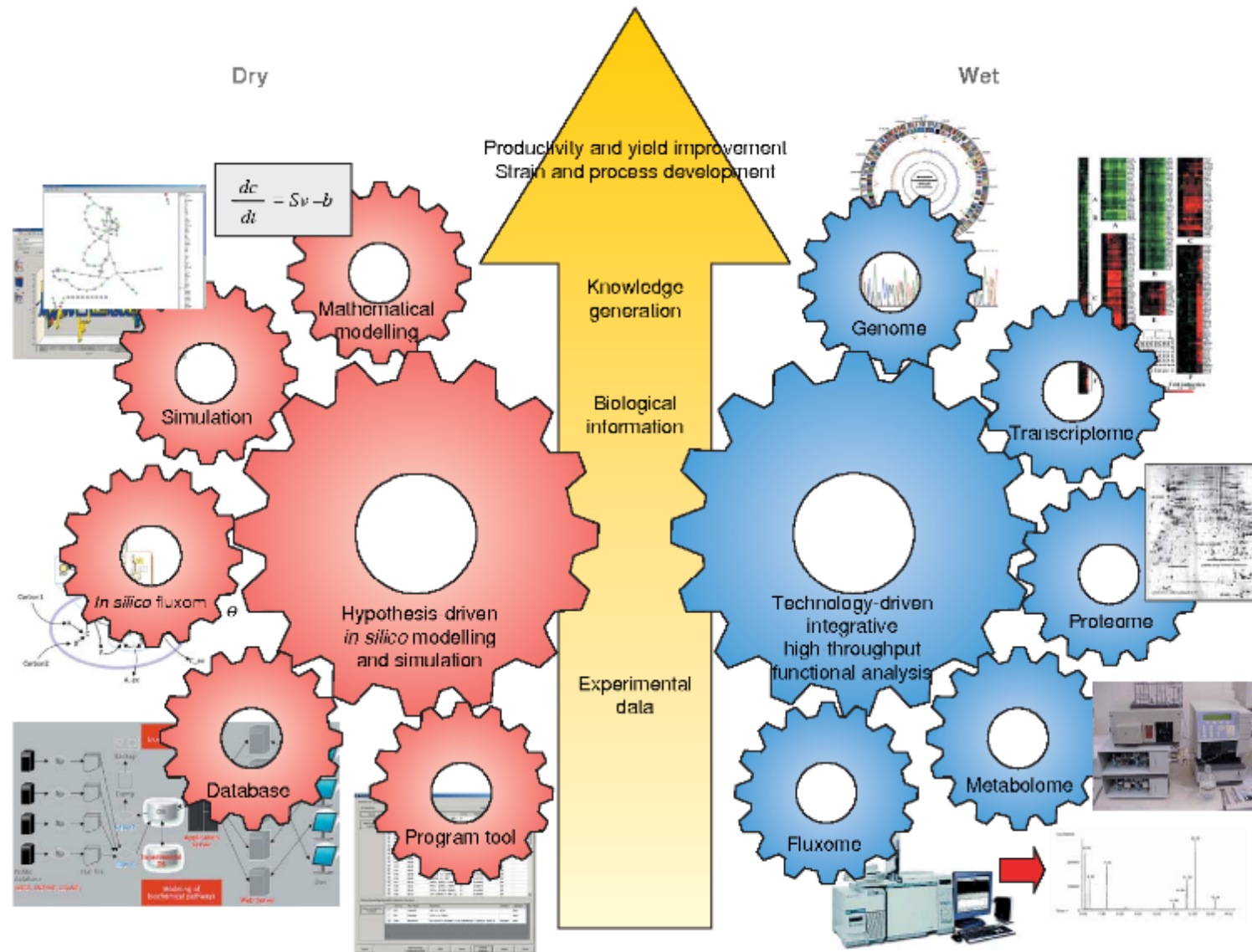
# **Bases de la protéomique**

**Principes et Applications**

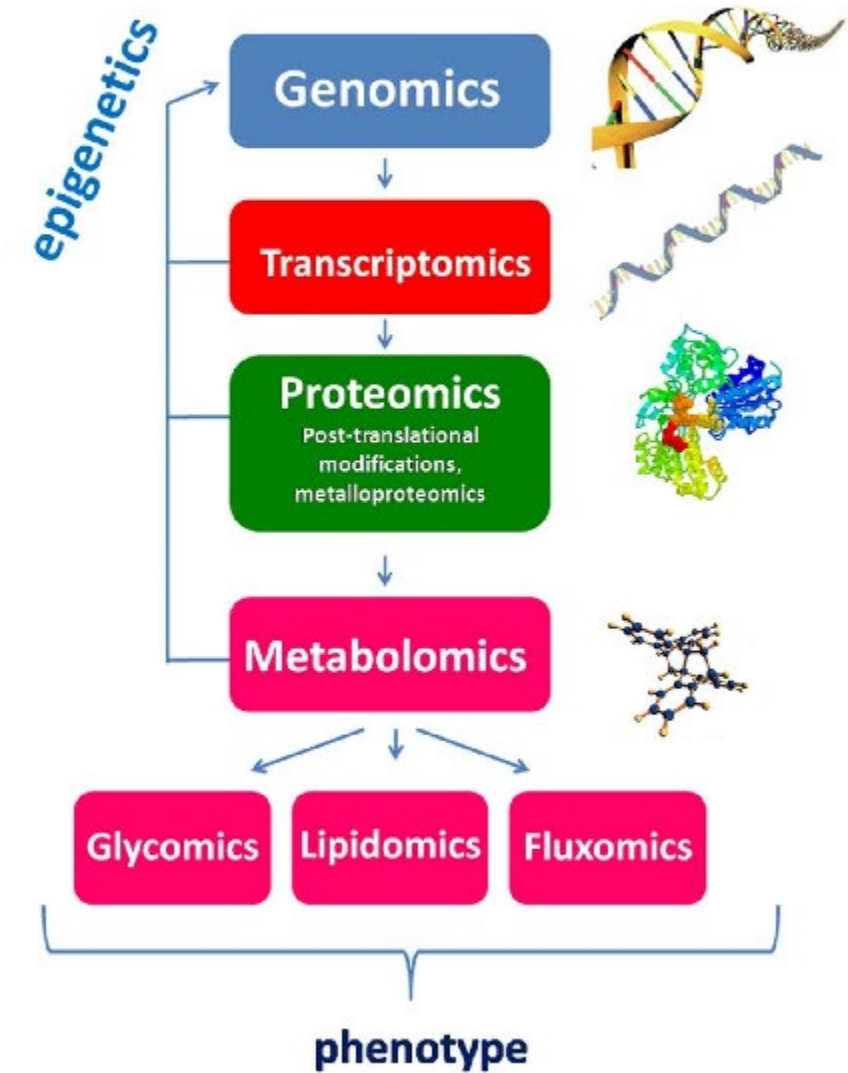
# **Introduction à la protéomique**

*Rappels*

# Biologie des systèmes et Omics



## The OMICS Cascade



TRENDS in Biotechnology

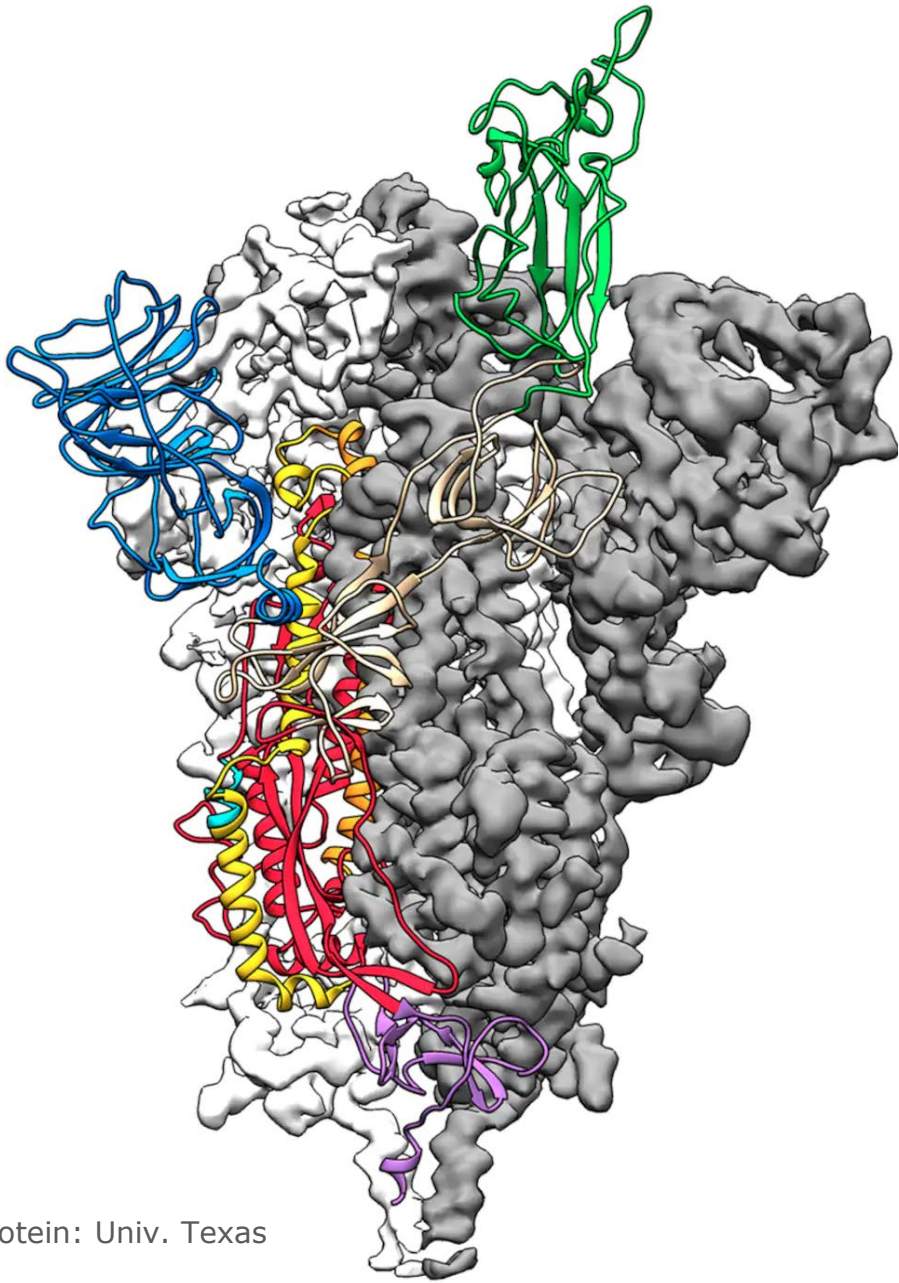
# Qu'est ce qu'une protéine ?

## Les protéines:

- Éléments fonctionnels du monde vivant
- Éléments de base: les acides aminés.
- Peptides (entre 10 et 100 a.a.), protéines (>100 a.a.).
- Relation structure-fonction unique.

## Quelques chiffres:

- Taille de quelques angströms (0,1 nanomètre, soit  $10^{-10}$  mètre)
- 20 000 gènes chez l'homme → 1 millions de protéines différentes (certainement plus)
- 1 cellule contient plus de 10.000 protéines différentes avec entre 1.000 et 10.000 exemplaires
- 42 millions de protéines dans une cellule de *Saccharomyces cerevisiae*
- 1 ribosome assemble 10 à 20 acides aminés par seconde



S protein: Univ. Texas



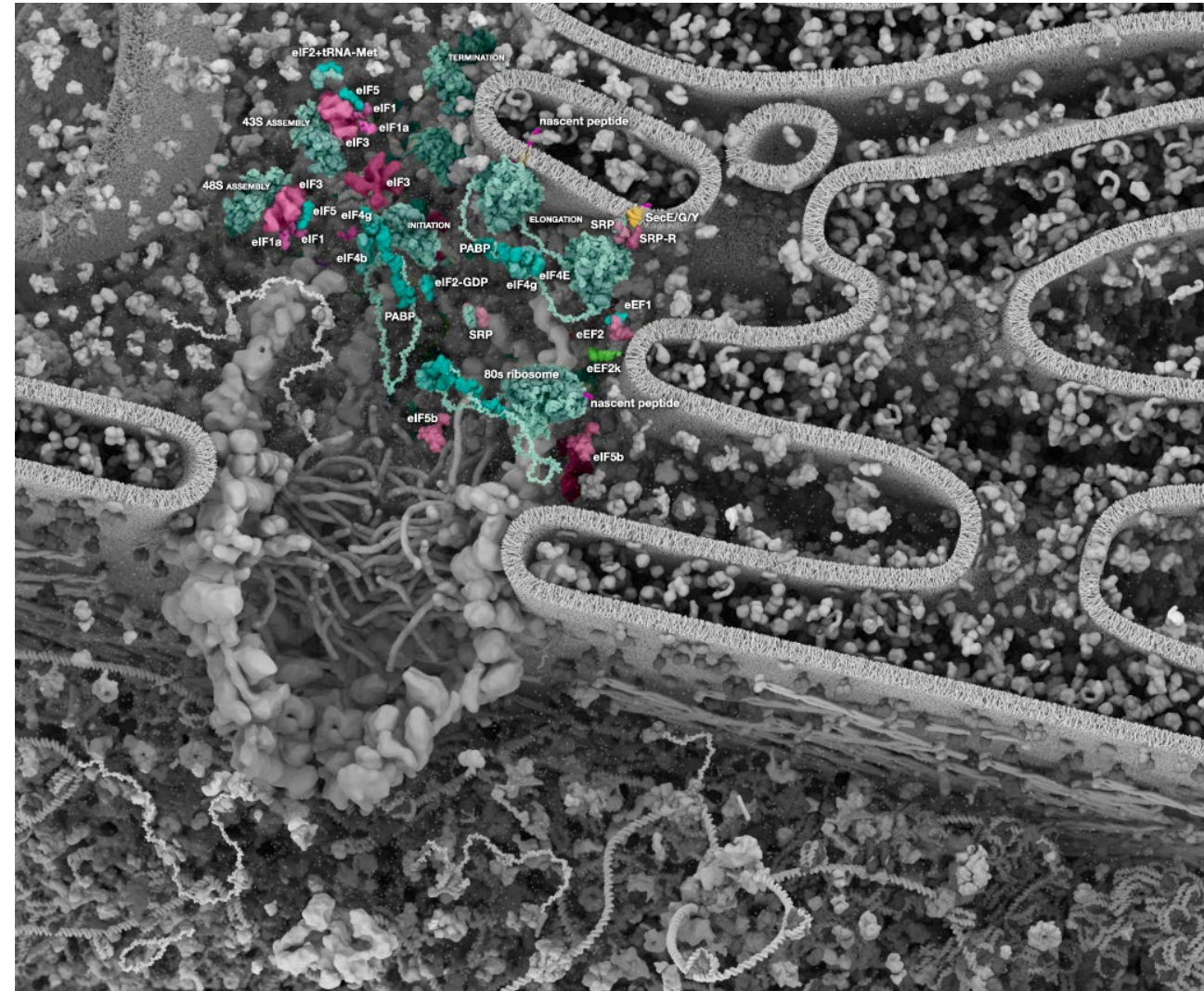
# Quelques définitions...

## Le protéome

- Définit par Wilkins et al., Biotechnol. Genet. Eng. Rev. (1995), 13, 19-50
- Ensemble des éléments fonctionnels issue des gènes à un **temps donné** pour un organisme vivant dans un **environnement défini**

## La protéomique

- Etude du protéome
- Apparaît pour la première fois en 1997 (P. James, « Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics. », Quarterly reviews of biophysics, vol. 30, no 4, 1997, p. 279-331)
- Regroupe l'identification, la quantification, l'étude des modifications, l'interaction... des protéines à grande échelle.

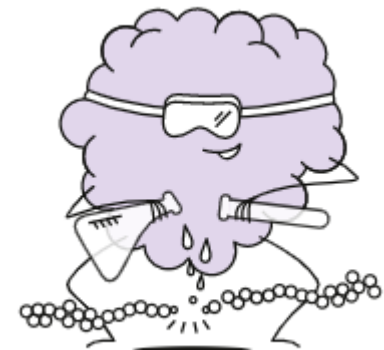
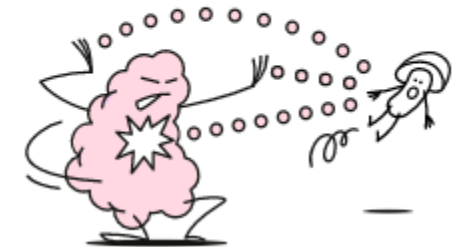
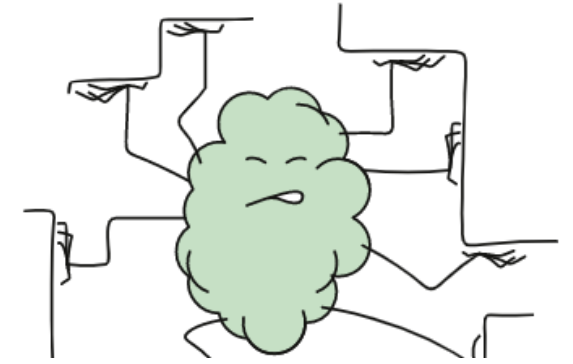
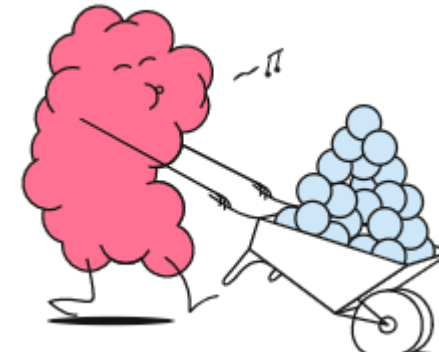


[https://www.digizyme.com/cst\\_landscapes.html](https://www.digizyme.com/cst_landscapes.html)

# Rôle des protéines

## Rôle des protéines:

- Transport: + de 2000 protéines avec des fonctions de transport (ex: hémoglobine)
- Soutien et structure permet l'établissement des éléments architecturaux (actine, collagène...)
- Signalisation et défense: récepteurs convertissent l'information, régulation des échanges par des canaux ou des transporteurs, éléments de défense (ex: Ac)
- Enzymes: permettent des réactions chimiques permettant la synthèse ou modification des protéines, métabolites, ADN, ARN ...
- ...



precisionmed.ch

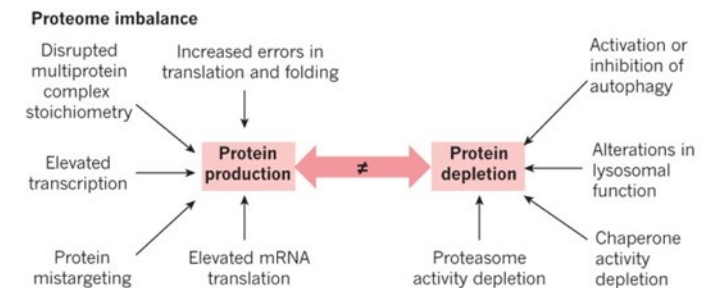
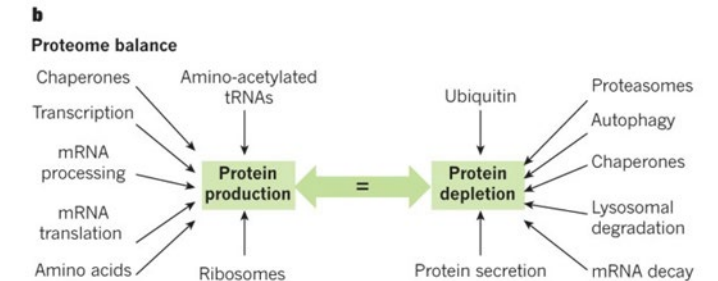
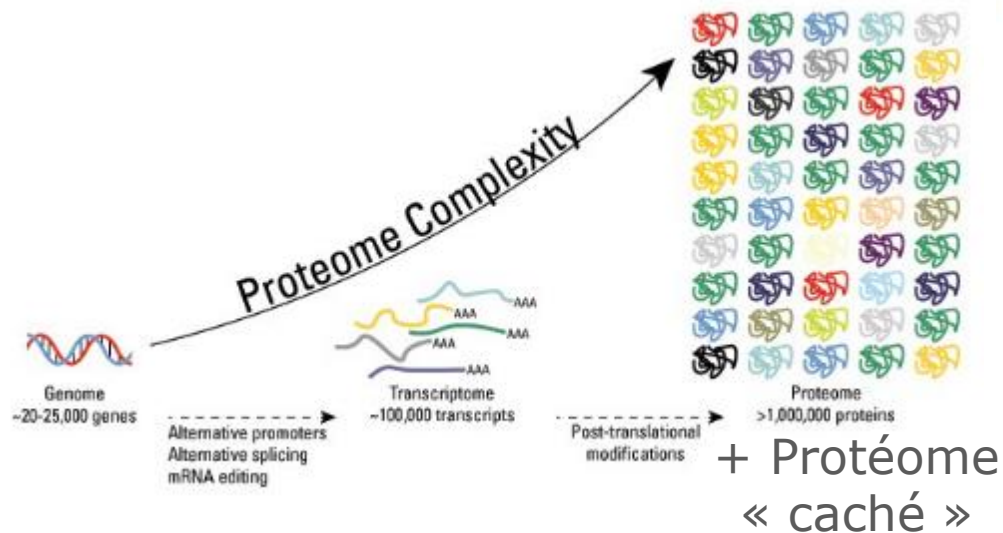
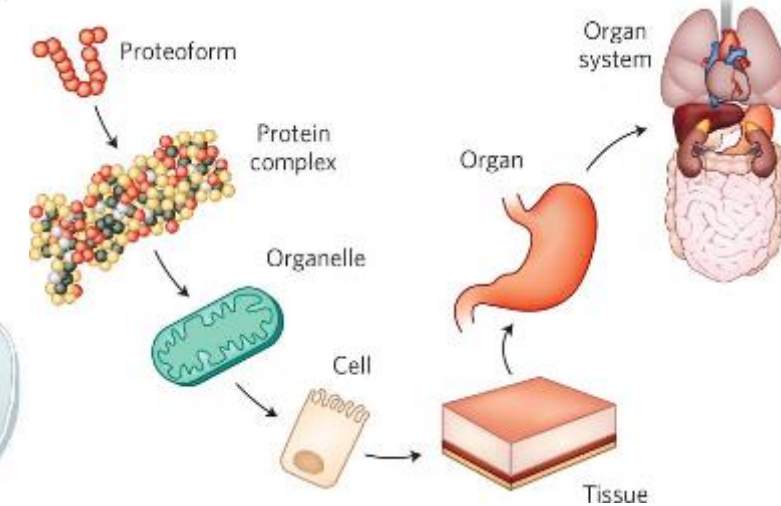
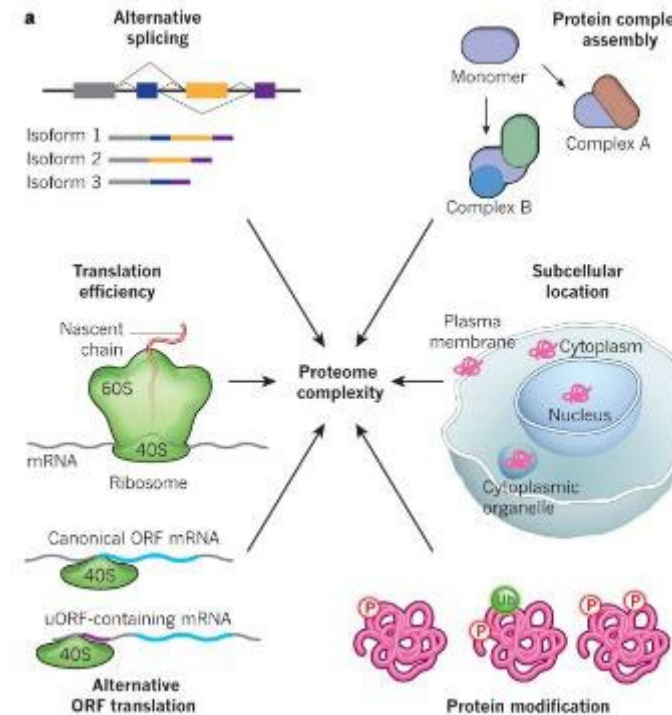


# Protéomique

L'étude des gènes/transcrits donne la séquence théorique des protéines.

Mais ...

- Fonction liée à la conformation et interactions
- Modifications pendant ou post-traduction



Harper, J., Bennett, E. Proteome complexity and the forces that drive proteome imbalance. *Nature* **537**, 328–338 (2016). <https://doi.org/10.1038/nature19947>

# Un génome, différents protéomes, différents phénotypes



**PROTEOME 1**  
Éclosion des oeufs



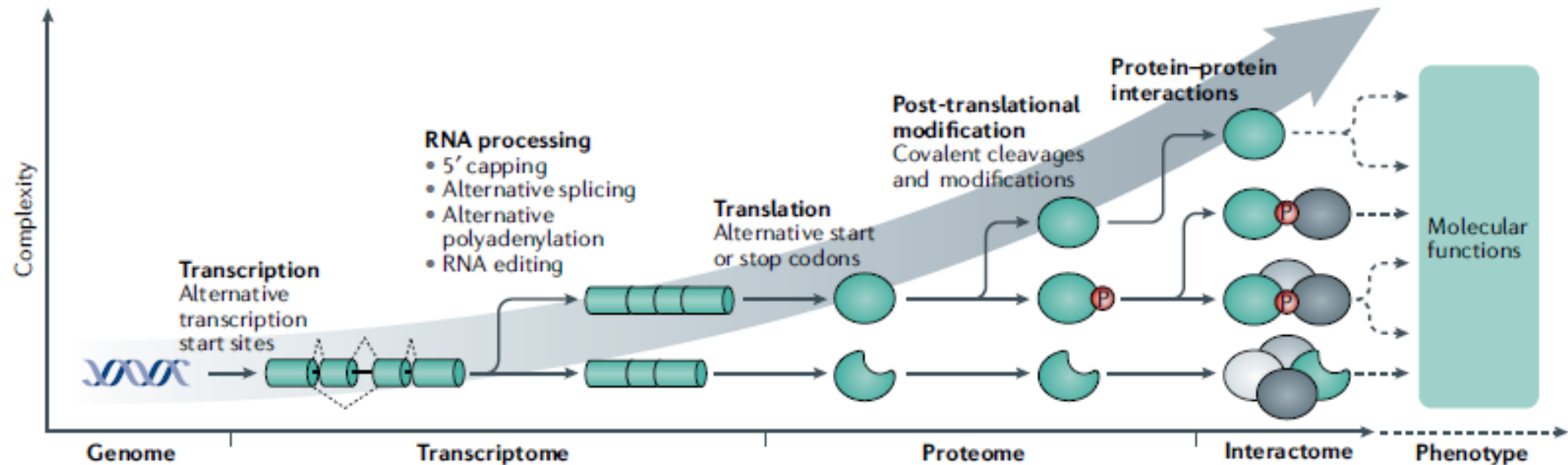
**PROTEOME 2**  
chenille



**PROTEOME 3**  
chrysalide



**PROTEOME 4**  
papillon

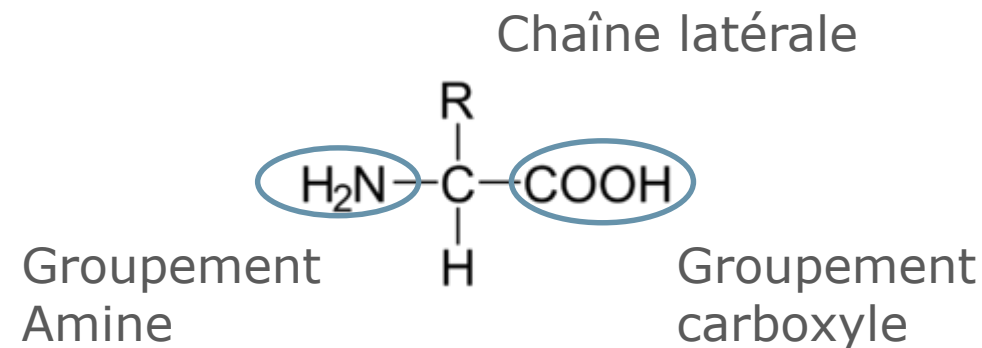




# Rappel: les acides aminés

- Blocs de base pour la formation des protéines = **acide aminé protéinogène**
- **20 standards** (+ **2 non standards**: sélénocystéine (eucaryote/procaryote) et pyrrolysine (procaryote)).
- Corps humain capable d'en synthétiser 12
- 9 dits essentiels dans l'alimentation :  
histidine, isoleucine, leucine, **lysine**, methionine, **phenylalanine**, threonine, **tryptophan**, valine  
(H, I, L, **K**, M, **F**, T, **W**, V)

## Structure générale d'un acide aminé



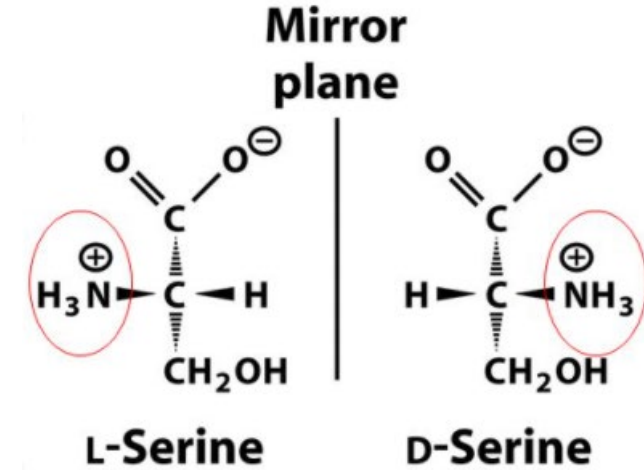
# Propriétés générales des acides aminés

- Stéréoisomérisation

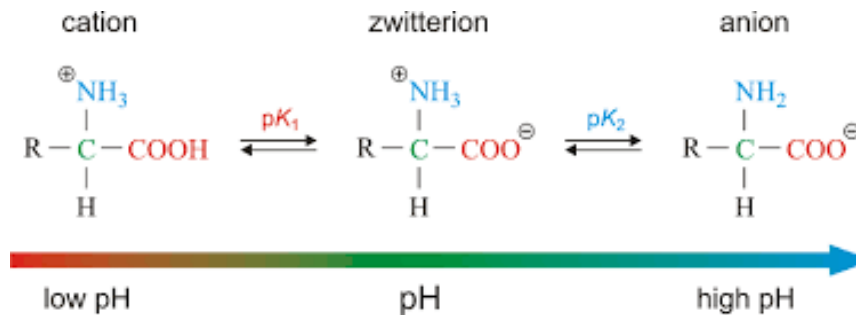
- Enantiomères D/L (position du groupe  $\text{-NH}_2$ ).
- **Acides aminés protéinogènes sont des énantiomères L.**
- Acides aminés **D** peuvent être présents **après PTM**

- Chaîne latérale

- Classement suivant les propriétés de la chaîne latérale
  - Apolaire (hydrophobe)
  - Polaire (hydrophile)
  - Acide
  - Basique



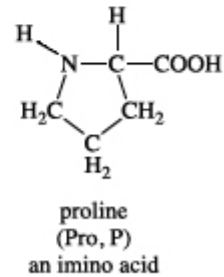
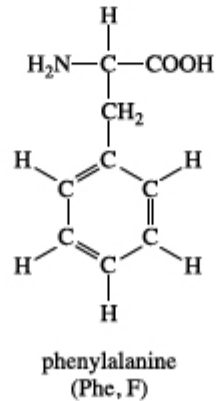
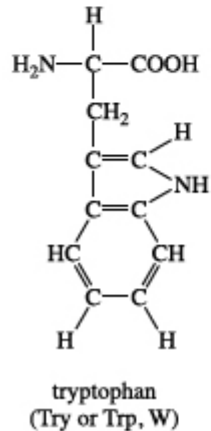
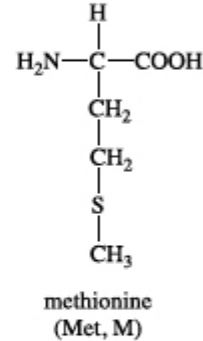
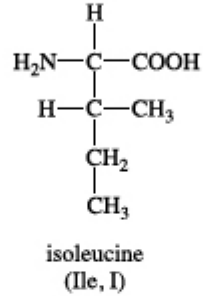
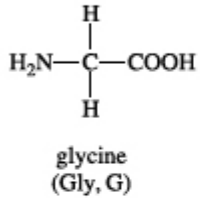
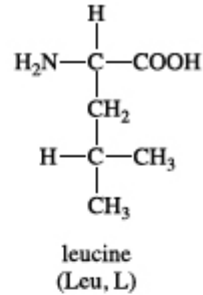
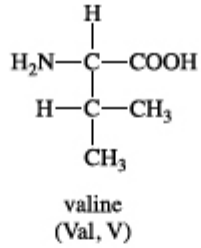
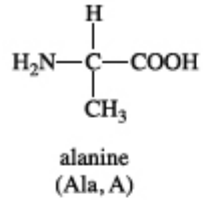
- Molécules amphotères possédant une forme **zwitterionique** dépendant du pH



# Acides Aminés *Apolaires*

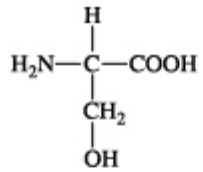
## Non chargés

- Simples : Gly (neuromédiateur) et Ala (très courant)
- Aromatiques: Phe et Trp (rôle dans la formation de liaison hydrophobe)
- Ramifiés: Val, Leu/Ile (très hydrophobes)
- Soufré: Met (commence toutes les protéines)
- Cyclique: Pro (forme les coudes dans les protéines)

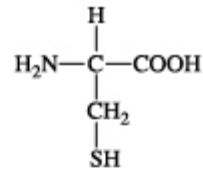




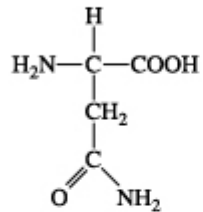
# Acides Aminés *Polaires*



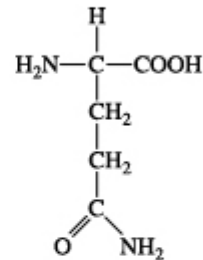
serine  
(Ser, S)



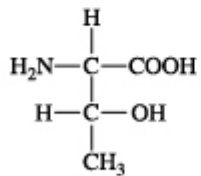
cysteine  
(CysH, C)



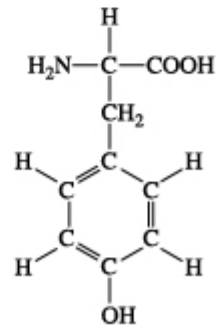
asparagine  
(AspNH<sub>2</sub> or Asn, N; Asx or B)



glutamine  
(GluNH<sub>2</sub>, GluN,  
or Gln, Q; Glx or Z)



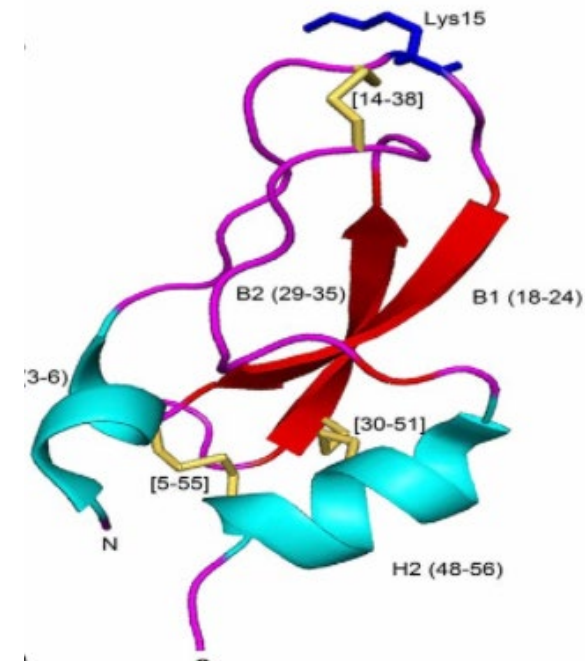
threonine  
(Thr, T)



tyrosine  
(Tyr, Y)

## Non chargés

- Phénol, aromatique: Tyr
- Thiol (soufré): Cys (pont disulfure)
- Amide (lié à la glycosylation): Asn et Gln
- Alcool (formation de glycoprotéines et phosphorylable): Ser et Thr

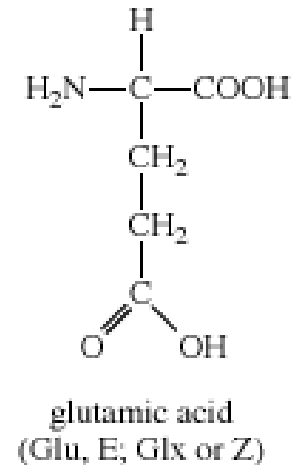
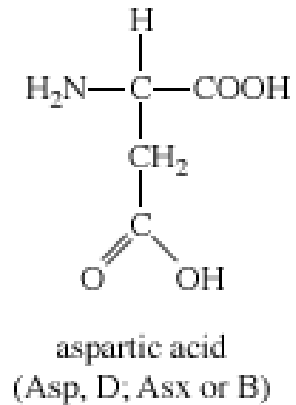


# Acides Aminés Acides ou Basiques

Acides Aminés **Acides**:

Chargés **négativement** pH7

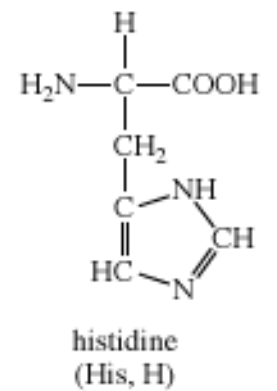
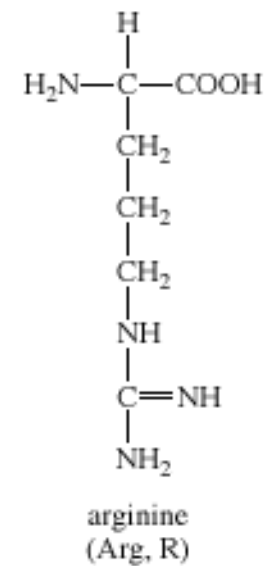
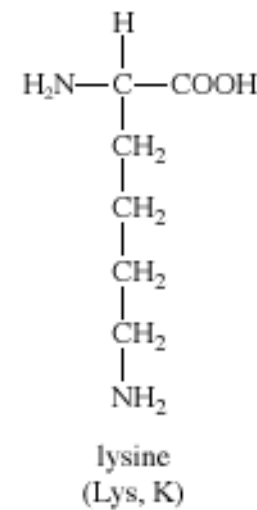
Asp et Glu



Acides Aminés **Basiques**:

Chargés **positivement** à pH7

Lys, His et Arg

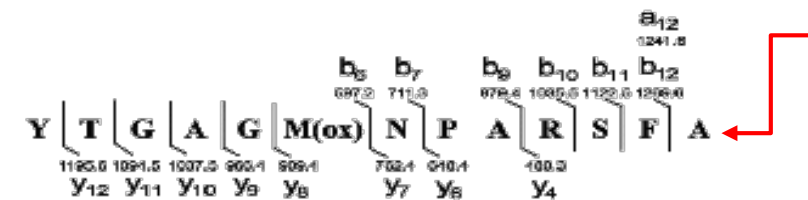


# Pourquoi les connaître ?

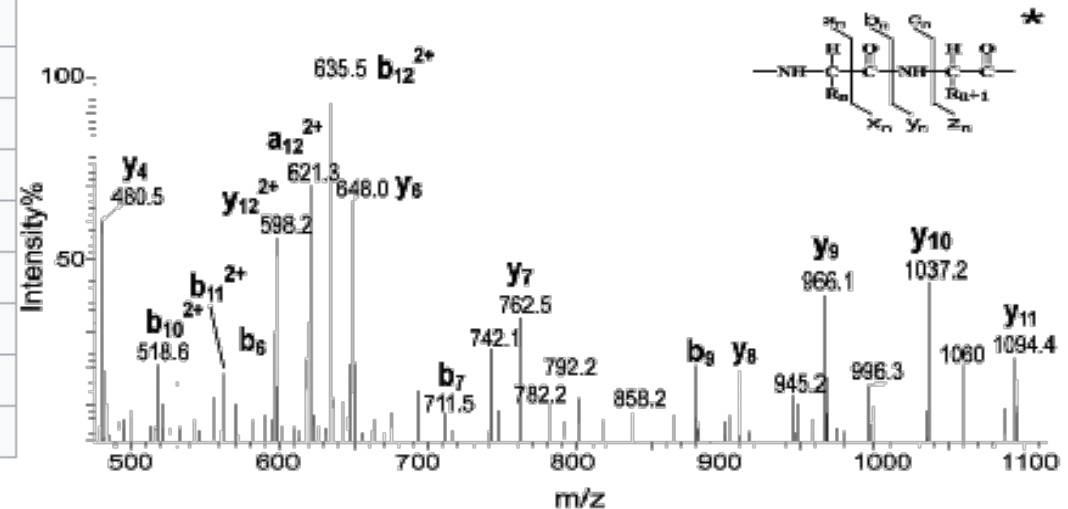
Amino acid ↕	Short ↕	Abbrev. ↕	Formula ↕	Mon. mass (Da) ↕	Avg. mass (Da) ↕
Alanine	A	Ala	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO	71.03711	71.0779
Cysteine	C	Cys	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NOS	103.00919	103.1429
Aspartic acid	D	Asp	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>3</sub>	115.02694	115.0874
Glutamic acid	E	Glu	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	129.04259	129.1140
Phenylalanine	F	Phe	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO	147.06841	147.1739
Glycine	G	Gly	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO	57.02146	57.0513
Histidine	H	His	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O	137.05891	137.1393
Isoleucine	I	Ile	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO	113.08406	113.1576
Lysine	K	Lys	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	128.09496	128.1723
Leucine	L	Leu	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO	113.08406	113.1576
Methionine	M	Met	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NOS	131.04049	131.1961
Asparagine	N	Asn	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	114.04293	114.1026
Pyrrolysine	O	Pyl	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	237.14773	237.2982
Proline	P	Pro	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO	97.05276	97.1152
Glutamine	Q	Gln	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	128.05858	128.1292
Arginine	R	Arg	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O	156.10111	156.1857
Serine	S	Ser	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	87.03203	87.0773
Threonine	T	Thr	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	101.04768	101.1039
Selenocysteine	U	Sec	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NOSe	150.95364	150.0489
Valine	V	Val	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	99.06841	99.1311
Tryptophan	W	Trp	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	186.07931	186.2099
Tyrosine	Y	Tyr	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	163.06333	163.1733

Connaissance de la structure en AA :

- Prédiction du poids de la molécule  
⇒ Adapter sa méthode d'analyse (MS, type de Gel...)
- Prédiction des structures 3D
- Prédiction des fonctions (domaine)
- Prédiction des interactions



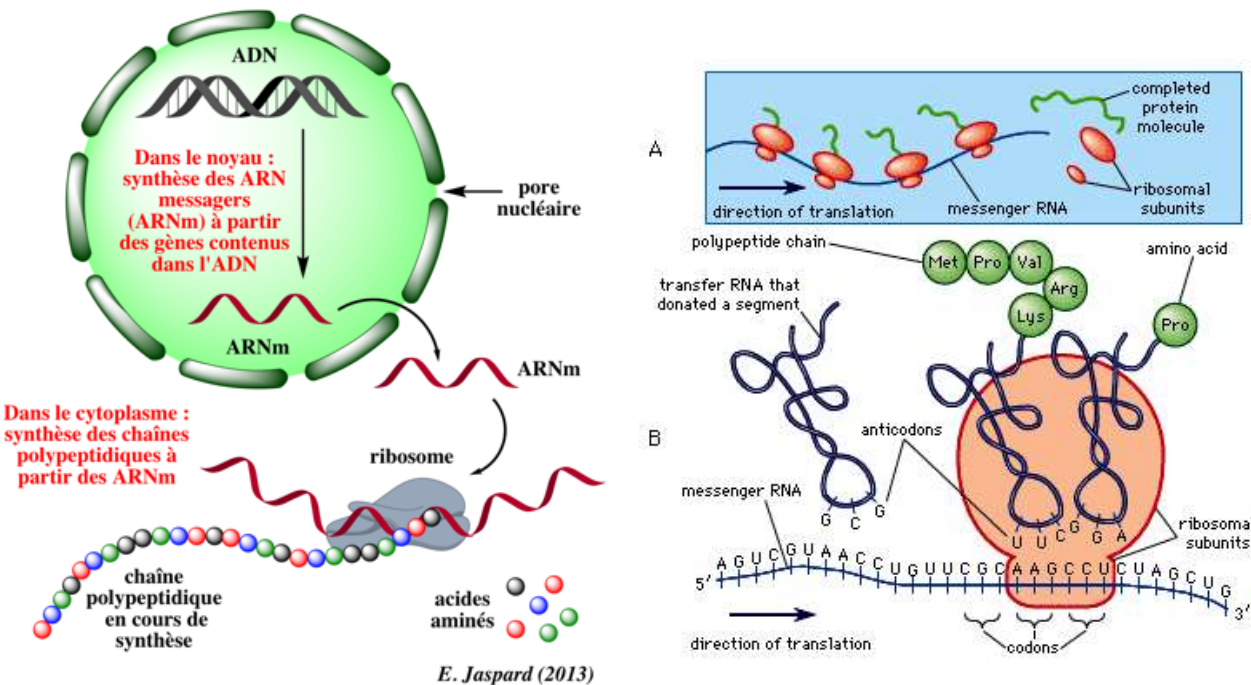
Code à une lettre en MS





# Assemblage des protéines

Traduction des ARNm maturés par des ribosomes et d'ARNt portant les acides aminés

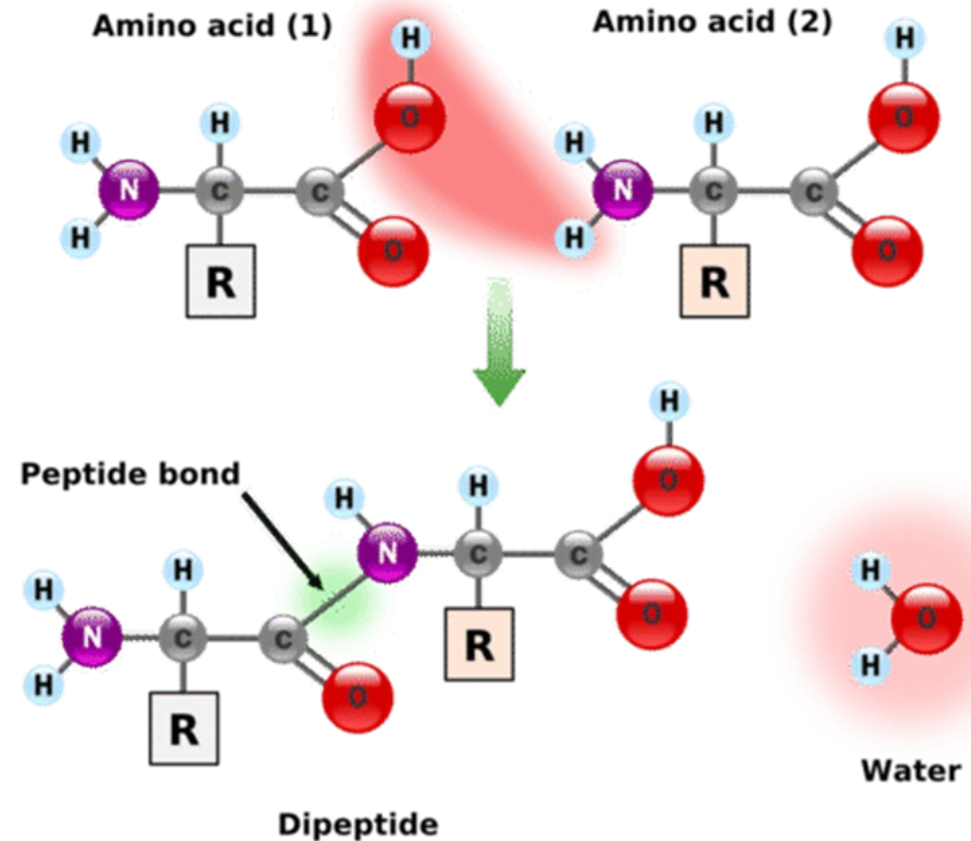


Cas particuliers de polypeptides assemblés sans ribosomes:  
Peptides NRPS (non-ribosomal peptide synthesis)  
Taille de 2 à 50 a.a.

**Synthétisés par des synthétases**

A.a. liés par une réaction de condensation (perte  $-OH$  du groupe carboxyle et d'un  $-H$  du groupe amine d'un second a.a.

Forme une **liaison peptidique**



# Polypeptides et protéines

**Oligopeptides = 2 à 10 a.a**

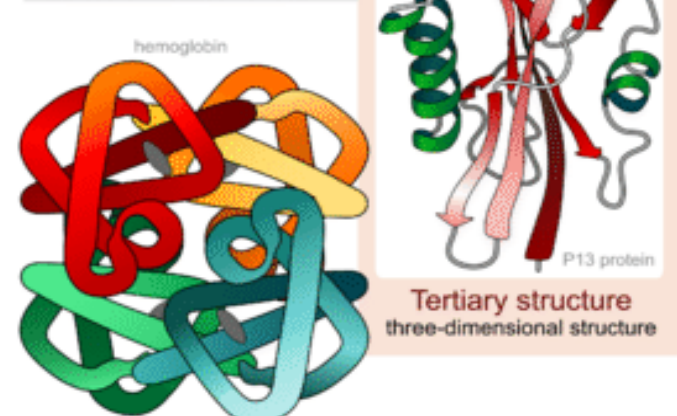
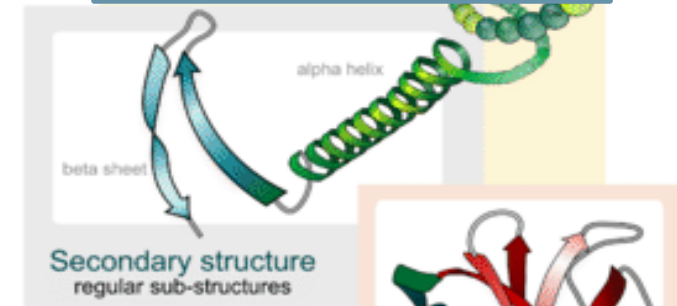
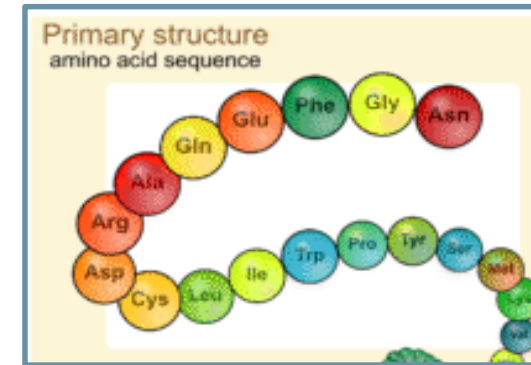
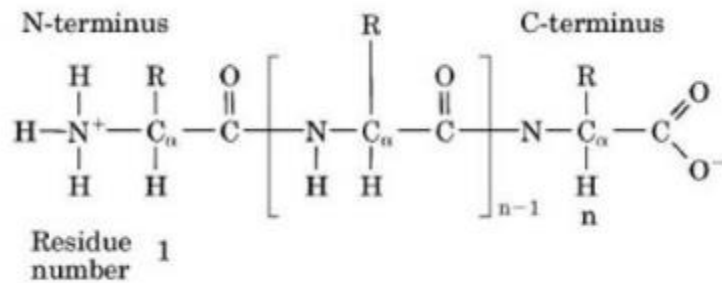
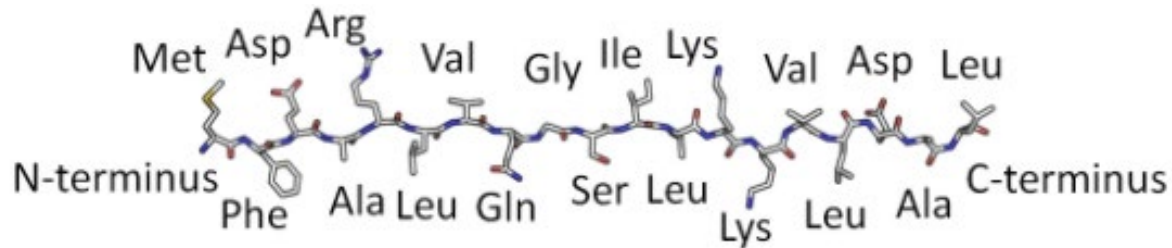
**Peptides = enchainement de 10 à 100 a.a**

**Protéines >100 a.a (MW 10 000 g/mol)**

**4 niveaux** de structuration

**Structure primaire** = enchainement d'a.a

Lecture de la séquence de **l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale**



# Structures des protéines

## Structure secondaire:

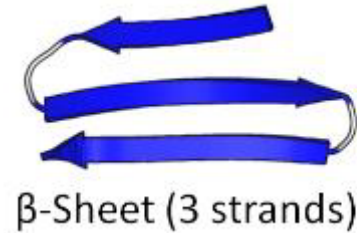
- attractions ou répulsion entre les résidus R par des **liaisons hydrogènes**.
- Formation de structures en **hélices Alpha** et **feuilletés plissés  $\beta$**

## Structure tertiaire:

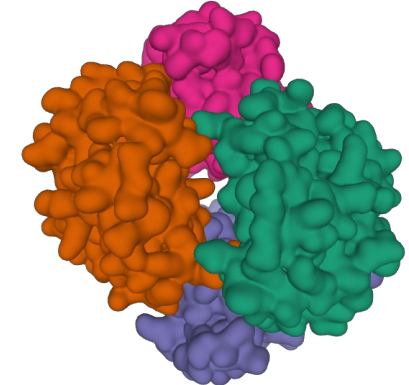
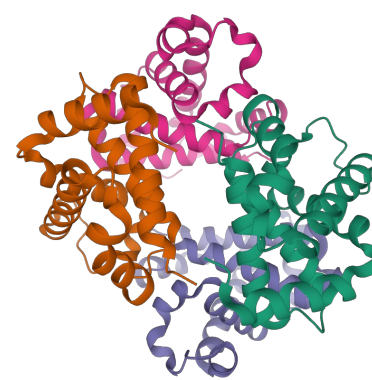
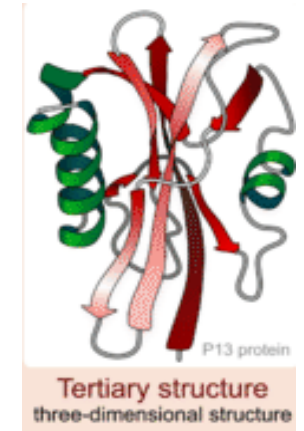
- Déterminée par l'assemblage dans l'espace des structures secondaires et l'interaction d'a.a. éloignés dans la structure primaire
- **Correspond à la structure 3D ou native**
- Différents types d'interactions: **interactions hydrophobes, ioniques, L. hydrogènes, ponts disulfures**

## Structure quaternaire:

- Interactions entre plusieurs chaînes polypeptidiques **identiques ou non formant une macromolécule**
- Exemple de l'hémoglobine formée de 4 sous-unités (tétramère)



$\alpha$ -helix



<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/2dn2>



# Modifications Post-traductionnelles

- Nécessaire pour l'activation ou la fonction de certaines protéines
- Augmente la complexité du protéome
- Doit être pris en compte pour l'analyse protéomique

## Phosphorylation:

Intervient sur sérine, thréonine, tyrosine  
Incrément de masse +79.9663

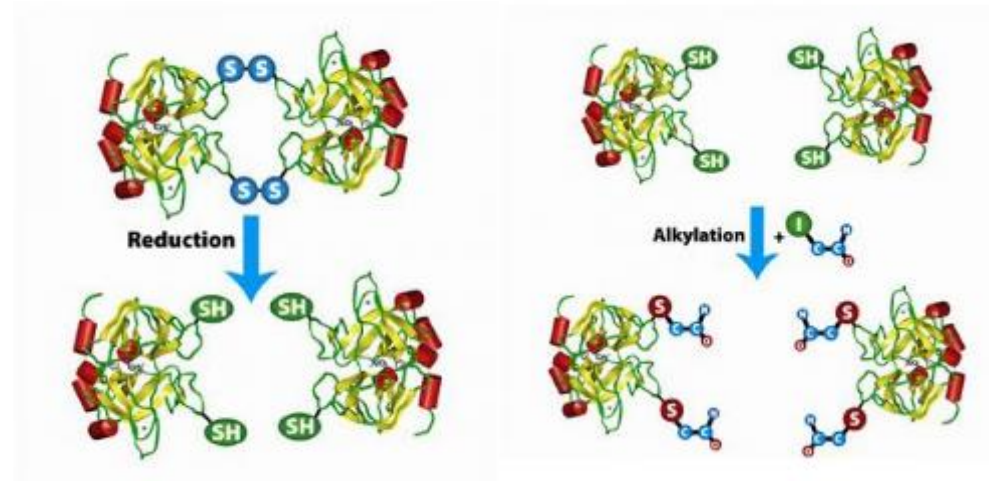
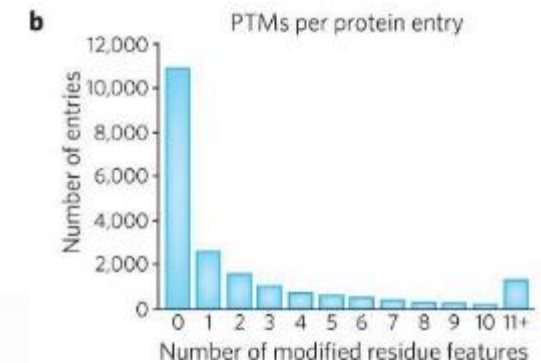
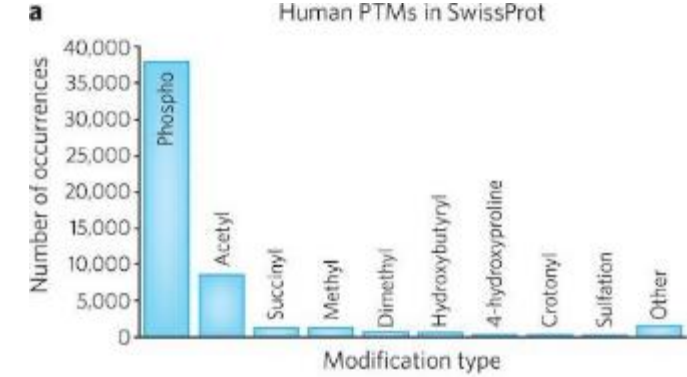
## Glycosylation:

Ajout de chaîne glycanique ayant des rôles de structures et de fonctions.

## Ubiquitination:

Régulation des protéines

Autres modifications:  
méthylation, acétylation,  
oxydation, **alkylation**...

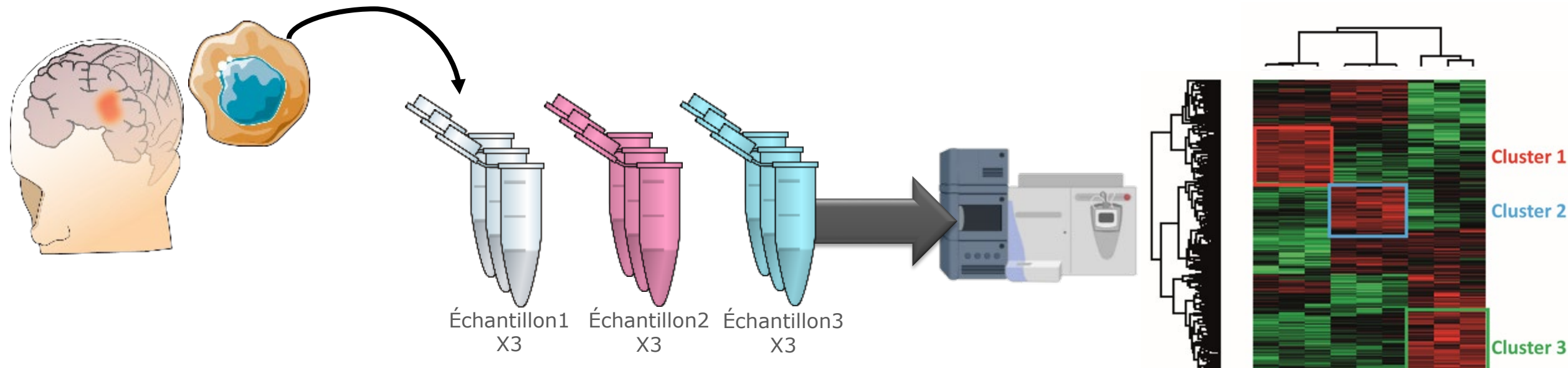


Modification induite par  
l'expérimentation

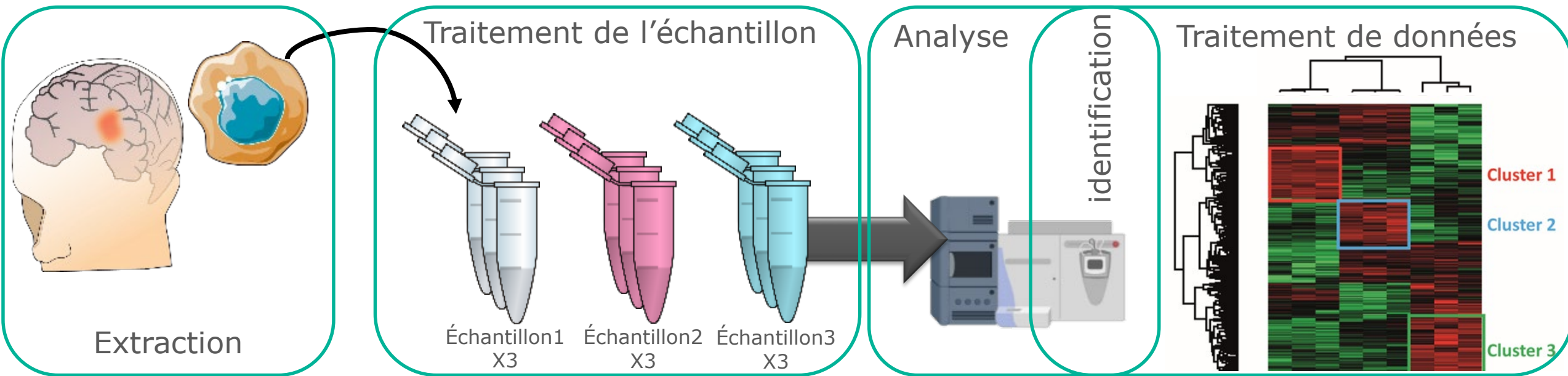
# Différents types de protéomique

## Protéomique fonctionnelle

- Etude de l'**expression des protéines** à large échelle
- Permet l'identification des **protéines principales** d'un échantillon
- La protéomique quantitative va permettre la quantification des protéines dans différents échantillons pour faire ressortir les **variations spécifiques entre différentes conditions**
- Possibilité de mettre en évidence des **biomarqueurs**
- Recherche des **modifications post-traductionnelles**
- Utilise principalement des techniques basées sur la séparation en gel ou la spectrométrie de masse



# Les étapes pour la protéomique



- **Extraction des protéines et purifications**

extraction des protéines à partir de cellules, tissus ou organelles intracellulaires

- **Séparation des protéines**

électrophorèse en gel, chromatographie... Possible de ne pas en réaliser

- **Identification**

le plus souvent utilisation de la spectrométrie de masse