

**L3 BIOINFORMATIQUE**

**STRUCTURE DES  
MACROMOLECLES**

**UFMC1**

**2020 – 2021**

**La biophysique :** est la discipline qui analyse les phénomènes biologiques (biomécanique, imagerie médicale, fonction des organes, ...) et la structure des macromolécules biologiques à l'aide de théories et de techniques de la physique. En biologie, structure et fonction vont de pair. La fonction d'une macromolécule est plus facile à saisir lorsqu'on comprend son architecture. C'est pourquoi nous étudierons d'abord comment les cellules arrivent à construire des molécules aussi complexes à partir de molécules beaucoup plus simples.

Les polymères sont de grosses molécules constituées par l'assemblage de petites molécules semblables appelées monomères, un peu comme un train (le polymère) est formé d'une chaîne de wagons (les monomères).

**Monomère--monomère—monomère—monomère—monomère = polymère**

Il est possible de créer une énorme variété de polymères seulement à partir d'un petit nombre de monomères. Les monomères s'assemblent telles les lettres de l'alphabet qui forment des mots dotés d'un sens propre lorsqu'elles sont assemblées de manière cohérente. Il ne suffit parfois que d'inverser une ou deux lettres pour que le mot prenne un tout autre sens !

**1- Quels mots pouvez-vous former à partir des cinq lettres suivantes :**

**C E H I N.**

→ chien, niche ... etc.

**2- Ont-ils tous la même signification ?**

Pourtant, ils sont formés à partir des mêmes lettres ...

On appelle **polymère** une grande molécule constituée d'unités fondamentales appelées **monomères** (ou **motifs monomères**) reliées par des liaisons covalentes.

**Un monomère** est un composé constitué de molécules simples pouvant réagir avec d'autres monomères pour donner un polymère.

Contrairement au polymère, un monomère a une faible masse moléculaire.

Le terme macromolécule est souvent utilisé à la place de polymère.

La polymérisation est la réaction qui, à partir des monomères, forme en les liants des composés de masse moléculaire plus élevée, les polymères ou macromolécules.

Les noyaux des monomères sont le plus souvent constitués d'un atome de carbone (molécules organiques).

### Rappelons la définition de quelques termes :

- **Monomère** : molécule de base (pouvant être par exemple non saturée ou cyclique ou encore comportant des fonctions réactives à ses extrémités), qui réagit par des réactions dites de polymérisation pour conduire à un polymère.
- **Unité monomère** : unité répétitive de la chaîne macromoléculaire. Elle ne peut avoir d'existence qu'au sein de cette chaîne.
- **Homopolymère** : macromolécule constituée à partir de monomères identiques.  
n A (A -A -A -A )
- **Copolymère** : macromolécule comportant des unités (ou motifs) monomères différents. Cela conduit à une très grande variété de structures dont on distingue principalement :

\* **le copolymère alterné** : A -B -A -B -A -B -A -B

\* **le copolymère à blocs** : A -A -A -B -B -B -B -B -A - A

• **le copolymère statistique** (**disposition au hasard**) : A- B- A -A -A -B -A -B

### Masse molaire des macromolécules

La masse moléculaire M d'un matériau polymère est calculée de deux façons :  
Mn ou Mm : est la masse moléculaire moyenne de toutes les macromolécules présentes dans le matériau

Mn : est la masse moléculaire majoritaire dans le mélange.

### Masse molaire moyenne en nombre

$$\bar{M}_n = \frac{\sum_i N_i \times M_i}{\sum_i N_i}$$

### Masse molaire moyenne en masse

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_i m_i \times M_i}{\sum_i m_i} = \frac{\sum_i N_i \times M_i^2}{\sum_i N_i \times M_i}$$

La dimensionnalité d'une macromolécule est une propriété structurale qui influence fortement ses propriétés physiques. Les macromolécules monodimensionnelles, les plus simples, présentent une architecture vermiculaire dont les anneaux successifs correspondent aux motifs constitutifs (ou unités monomères).

C'est la répétition de ces motifs qui engendre la macromolécule. La famille des macromolécules monodimensionnelles inclut toutes celles dont les dimensions moléculaires sont finies (masses molaires de quelques milliers à quelques millions de g.mol<sup>-1</sup>), qu'elles soient linéaires ou ramifiées.

Les macromolécules bidimensionnelles développent des liaisons covalentes qui unissent les motifs constitutifs dans deux dimensions de l'espace et forment ainsi des feuillets macromoléculaires.

De telles architectures sont difficiles à synthétiser ; elles sont rares et structurellement imparfaites dans la famille des polymères organiques naturels. On les rencontre plus fréquemment parmi les polymères minéraux (talc, mica...).

Les macromolécules tridimensionnelles, comme les bidimensionnelles, résultent d'un lien de valence supérieur à 2 entre certains motifs constitutifs d'un ensemble macromoléculaire. Il en résulte la formation de **systèmes macromoléculaires** dont les dimensions sont celles de l'objet qu'ils constituent ; les masses molaires correspondantes peuvent être considérées comme infinies.

Deux mécanismes entièrement différents sont utilisés pour la synthèse de polymères lors de la polymérisation. Le premier type de réaction est appelé polymérisation par étape où la croissance des macromolécules est le résultat de réactions chimiques classiques entre les groupements fonctionnels réactifs des monomères. Une réaction de polycondensation avec libération d'un sous-produit

de la réaction, (souvent de l'eau...) est une réaction de polymérisation par étape. Le deuxième type de réaction est appelé polymérisation en chaîne et résulte de la formation d'un centre actif  $A^*$  qui fixe de façon successive de nombreuses molécules de monomère :  $A^* + M \rightarrow AM^*$  puis  $AM^* + nM \rightarrow AM^{*n+1}$  Le polymère obtenu présente un degré de polymérisation  $n+1$ . Une réaction de polyaddition sans libération de sous-produit est une réaction de polymérisation en chaîne. Dans ce cas, le mécanisme implique généralement l'ouverture d'une double liaison ( $C=C$ , par exemple) ou l'ouverture d'un cycle.

La chimie macromoléculaire peut se représenter de façon stylisée et schématique sous la forme d'un jeu de construction en deux ou trois dimensions où les macromolécules en présence sont représentées sous la forme de billes reliées les unes aux autres. Chacune des billes peut être liée à deux ou quatre autres, suivant sa constitution. Celles-ci possèdent des propriétés physico-chimiques intrinsèques pouvant également être schématisées. La bille peut être simple ou plus complexe en fonction de ses propriétés propres. Des groupements chimiques fonctionnels peuvent être représentés par de petits bras attachés sur la bille monomère et leur fonction spécifique peut être, elle aussi, représentée. Par exemple, un groupement fonctionnel acide sera représenté par un bras portant un signe négatif (-) à son extrémité.

Un amorceur de la réaction chimique peut être excité par la chaleur ou par la lumière. En odontologie, la photopolymérisation est fréquemment utilisée pour les matériaux composites dont la matrice est un polymère. Un photo-amorceur excité se transforme en un radical libre très instable qui va interagir avec la monomère le plus proche. Celui-ci est une molécule porteuse d'une double liaison réactive. Le radical libre va capter un électron d'un des doublets électroniques de la double liaison pour former une liaison covalente entre l'amorceur et le monomère. Cette réaction a consommé un électron du radical libre et un électron de la double liaison du monomère. L'autre électron de cette

double liaison va chercher très rapidement lui aussi à se lier et va ouvrir la double liaison d'un autre monomère... La molécule formée de l'amorceur et du monomère devient un radical libre qui va réagir avec un autre monomère proche, porteur d'une double liaison. C'est la propagation de la réaction de polymérisation radicalaire. Cette propagation se fait très rapidement dans le milieu réactionnel jusqu'à la terminaison pour aboutir à la formation de macromolécules d'un haut poids moléculaire.

Chaque monomère excité se lie, grâce à l'ouverture de sa double liaison, à un monomère adjacent qui peut être de l'acide acrylique ou de l'acide méthacrylique, aboutissant à la formation d'un copolymère.

Un polymère peut être caractérisé par son degré de polymérisation ou sa masse moléculaire. Le degré de polymérisation est le nombre total de monomères contenus dans une macromolécule. Lorsque ce degré de polymérisation (DP) est inférieur à 30, on parle d'oligomère et lorsqu'il est supérieur à 30, c'est un polymère. Lorsqu'on observe un polymère de synthèse ou un polymère naturel, il est souvent constitué d'un mélange de chaînes macromoléculaires de tailles différentes avec des degrés de polymérisation différents.

Les polymères linéaires sont constitués de grandes chaînes de monomères reliés entre eux par des liaisons covalentes. Ces macromolécules sont liées entre elles par des liaisons secondaires qui assurent la stabilité du polymère. Ces liaisons secondaires sont des liaisons ou ponts hydrogène ou des liaisons de Van der Waals. Lorsque ces liaisons existent, le matériau devient rigide et présente un comportement de solide. Si la température s'élève, l'agitation moléculaire qui en résulte va rompre progressivement ces liaisons secondaires. Le matériau va pouvoir s'écouler sous son propre poids : il présente alors le comportement d'un liquide visqueux. La température à laquelle se produit cette évolution s'appelle la température de transition vitreuse. La transition vitreuse correspond à

l'apparition de mouvements de longs segments de chaîne et marque le passage de l'état vitreux à l'état caoutchoutique.

Les propriétés mécaniques des copolymères varient en fonction du type et de la disposition des monomères. Les rotations de la chaîne sont facilitées ou au contraire rendues plus difficiles en fonction de la nature, de la disposition et de l'encombrement de chacun des monomères.

Des chaînes homopolymériques ou copolymériques peuvent se greffer sur d'autres chaînes au cours de la polymérisation. Au-dessus de la température de transition vitreuse, ces matériaux présenteront un comportement visqueux plus marqué que les polymères linéaires.

La réticulation correspond à la formation de liaisons chimiques suivant les différentes directions de l'espace au cours d'une polymérisation, d'une polycondensation ou d'une polyaddition, et qui conduit à la formation d'un réseau

Les chaînes macromoléculaires peuvent être organisées de façon aléatoire dans l'espace et constituer ainsi une phase amorphe. La phase amorphe est, en théorie équivalente à un liquide « figé », sans ordre moléculaire à grande distance. Il existe néanmoins des orientations macromoléculaires préférentielles. Elles peuvent être rangées régulièrement avec la constitution d'un ordre responsable d'une propriété caractéristique de l'état cristallin : l'aptitude du matériau à diffracter les rayons X selon des angles définis. Ces structures peuvent aussi être objectivables en lumière polarisée. Dans un polymère, les deux états ordonnés et désordonnés peuvent exister dans un même matériau qui est alors de nature semi-cristalline.

Les polymères présentent des caractéristiques mécaniques propres. Ils présentent un comportement vitreux lorsqu'ils sont amorphes, des caractéristiques de fibres lorsqu'ils sont cristallisés mais également un comportement visco-élastique

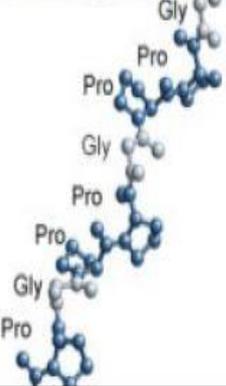
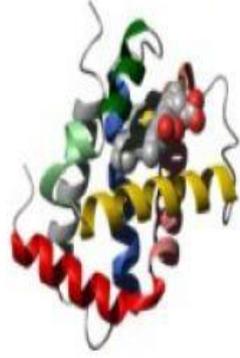
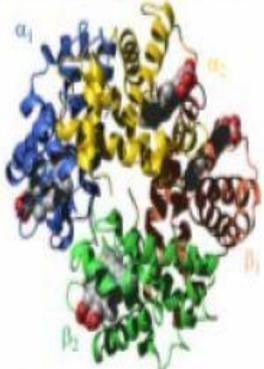
Ces différents états dépendent principalement de la nature chimique du polymère et de la température. La nature chimique des macromolécules est liée à leur origine qui est soit naturelle, soit synthétique. Leur structure, leur masse moléculaire, leur caractère linéaire ramifié ou non, réticulé ou non déterminent fortement leurs propriétés physico-chimiques. Le paradoxe des macromolécules est que des chaînes très différentes par leur composition chimique peuvent avoir des propriétés physiques analogues. Certains polyesters ou silicones présentent des propriétés viscoélastiques analogues à certains hydrocarbures insaturés. À l'inverse, des polymères à chaînes chimiquement identiques peuvent avoir des propriétés physiques totalement différentes. Un même composé peut être hautement élastique ou complètement amorphe en fonction de la température et de l'arrangement macromoléculaire.

**IL existe quatre niveaux de structure des protéines :**

- **la structure primaire :** c'est la séquence en acides aminés ou enchaînement polypeptidique
- **les structures secondaires :** c'est l'ensemble des structures locales spécifiques qu'adoptent certaines parties d'une protéine. C'est une étape du repliement des protéines
- **la structure tertiaire ou structure tridimensionnelle :** parmi les innombrables structures que peut adopter une protéine, c'est la seule structure qui lui confère sa fonction biologique
- **la structure quaternaire :** certaines protéines sont constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques (appelées sous-unités) identiques ou non.

La structure quaternaire est l'arrangement spatial de ces différentes sous-unités

\*illustrations des niveaux d'organisation structurale des Macromolécules.

Structure primaire	Structure secondaire	Structure tertiaire	Structure quaternaire
			
<p>La structure primaire est la séquence des acides aminés.</p>	<p>Les structures secondaires sont les motifs que forment les acides aminés. On reconnaît principalement les structures en hélice <math>\alpha</math> et en feuillet <math>\beta</math>.</p>	<p>La structure tertiaire se rapporte aux relations dans l'espace des différentes structures secondaires, hélices et feuillets.</p>	<p>Les protéines qui contiennent plus d'une chaîne polypeptidique présentent un niveau supplémentaire d'organisation : on parle de structure quaternaire.</p>

### Dénaturation des protéines

Les liaisons peptidiques, donc la structure primaire, ne sont pas atteintes par :

#### La dénaturation.

Les protéines fibreuses sont plus stables que les protéines globulaires. Celles-ci possédant plus de liaisons hydrogène, elles se défont plus facilement (les liaisons hydrogène ne sont pas particulièrement solides).

Leur fragilité rend les protéines vulnérables à de nombreux facteurs chimiques et physiques, comme l'acidité et la chaleur, qui peuvent les dénaturer ou en provoquer la rupture. La dénaturation d'une protéine comprend 2 étapes : quand

elle se déplie et perd sa forme spécifique, on dit qu'elle est déployée, la suppression de l'agent dénaturant permet sa renaturation. La deuxième étape de la dénaturation consiste en un passage de l'état déployé en un état dénaturé par établissement de liaisons secondaires non spécifiques. La dénaturation est alors un processus irréversible.

La dénaturation provoque les modifications suivantes :

- la perte des propriétés biologiques spécifiques : enzymatiques, hormonales, de transport et immunologiques.
- la diminution de la solubilité résulte de modifications dans la distribution des groupements polaires et apolaires. Elle est accompagnée d'une augmentation de la sensibilité aux attaques enzymatiques (cuisson).

## Agents dénaturants

### **Parmi les agents dénaturants, on peut citer :**

- les agents physiques : les radiations ultraviolettes, les ultrasons et la température. L'élévation de la température entraîne une agitation thermique (élève l'énergie de vibration et de rotation des liaisons entre atomes des molécules dissoutes) ce qui conduit à des mouvements intramoléculaires à l'origine de la rupture des interactions faibles qui stabilisent la conformation de la protéine.
- les agents chimiques : les variations du pH, les détergents anioniques et cationiques. A titre d'exemple, le détergent Sodium Dodécyl Sulfate (ou SDS dont la "queue hydrocarbonée" établie des interactions hydrophobes avec les chaînes latérales des résidus d'acides aminés apolaires) forme un complexe protéine-détergent ionisé en surface (groupement sulfate) dans lequel la chaîne polypeptidique est globalement déployée.

## Repliement des macromolécules :

Ce terme désigne le mécanisme par lequel une macromolécule linéaire (par macromolécule on entend un enchaînement linéaire de motifs moléculaires) acquiert une structure tridimensionnelle.

Un tel mécanisme est particulièrement important dans le domaine du vivant car une fois synthétisées c'est par ce processus que les protéines acquièrent la structure qui va leur permettre de remplir une fonction précise au sein de la cellule.

Ce mécanisme a attiré l'attention de nombreux chercheurs du fait de son importance cruciale en biologie mais aussi du fait du formidable problème computationnelle que représente la prédiction de la structure tridimensionnelle de ces objets à partir de leur structure chimique linéaire.

**Méthode biophysique pour l'étude des macromolécules :**

**La spectroscopie ultraviolet / visible - la spectroscopie infrarouge**

Les méthodes spectroscopiques sont utilisées pour analyser les macromolécules parce que ce sont des techniques d'analyse non destructrices.

**La fluorescence**

Une molécule fluorescente (fluorophore ou fluorochrome) possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (ou lumière d'excitation) et de la restituer rapidement ( $< 1$  nsec) sous forme de lumière fluorescente (ou lumière d'émission). **Cependant :**

- une partie de l'énergie de la lumière d'excitation est absorbée par d'autres molécules du milieu
- une autre partie de l'énergie est dissipée sous forme de chaleur

En conséquence, l'énergie de la lumière d'émission est plus faible que celle de la lumière d'excitation : la lumière d'émission (la fluorescence) a donc une longueur d'onde plus élevée.

**Remarque** : si l'émission de la lumière cesse dès l'arrêt de l'excitation c'est la fluorescence. Si la matière continue d'émettre de la lumière après avoir été éclairée, c'est la phosphorescence.

**Application** : la microscopie de fluorescence

Le principe général est d'associer des cellules ou des molécules non fluorescentes avec des fluorochromes pour les visualiser.

### Le dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire s'appuie sur la capacité des molécules qui ont une activité optique d'absorber différemment à droite et à gauche la lumière polarisée circulairement.

L'activité optique est la propriété que possède une structure chirale d'interagir avec un rayonnement électromagnétique.

L'activité optique est à l'origine :

- du dichroïsme circulaire
- du pouvoir rotatoire
- de la dispersion optique
- de la polarisation circulaire d'émission

Le dichroïsme circulaire est une technique qui permet d'analyser le contenu en structure secondaire des protéines ou des acides nucléiques.

Cette une technique non destructive qui permet d'étudier les changements de conformation des protéines dans différents environnements (pH, agents dénaturants, température).

### La résonance magnétique nucléaire (RMN)

### La cristallographie ou diffraction des rayons X

La cristallographie est la science qui se consacre à l'étude des substances cristallines à l'échelle atomique. L'état cristallin est défini par un caractère périodique et ordonné à l'échelle atomique ou moléculaire. Ce caractère

périodique est appelé la maille élémentaire. La cristallogénèse est la formation d'un cristal, soit en milieu naturel, soit de façon expérimentale.

C'est le passage d'un état désordonné liquide à un état ordonné solide, contrôlé par la température, la pression, le temps d'évaporation et des lois cinétiques complexes :

- **1ère phase** : la germination correspond à l'apparition d'une phase cristalline stable à partir d'un liquide surfondu ou d'une solution sursaturée.
- **2ème phase** : la croissance est le processus qui va suivre la germination et permettre l'augmentation de taille des germes pour conduire aux cristaux.

La plupart des substances minérales et des petites molécules organiques cristallisent facilement et les cristaux obtenus sont en général sans défaut.

En revanche les macromolécules biologiques, comme les protéines, sont souvent très difficiles à cristalliser.

C'est par cristallographie que *J. D. Watson*, *M. Wilkins*, *R. Franklin* et *F. Crick* ont pu déterminer la structure hélicoïdale de l'ADN en 1953.

### la spectrométrie de masse

Les protéines sont de grosses molécules biologiques. La spectrométrie de masse permet de les fractionner (actuellement jusqu'à 2 10<sup>5</sup> Daltons) en les ionisant, puis de déduire la masse de ces molécules (ou la masse de leurs fragments) selon leurs trajectoires.

Les fragments sont accélérés par un champ magnétique et/ou électrique et ils sont triés en fonction de leur rapport : masse/charge ( $M/z$ ).

L'une des principales applications de la spectrométrie de masse en biologie est la protéomique qui a pour but d'identifier (et de quantifier) l'ensemble des protéines synthétisées ou protéome, à un moment donné et dans des conditions données au sein d'un tissu, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire.

## La résonance paramagnétique électronique (RPE)

Un radical libre est un atome ou une molécule qui possède un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés).

Un électron célibataire engendre une grande instabilité de la molécule.

Les espèces radicalaires sont produites naturellement par phénomène d'oxydation et peuvent s'attaquer aux composés vitaux des cellules.

La résonance paramagnétique électronique est une méthode directe d'étude des phénomènes radicalaires.

Elle permet donc de mettre en évidence des composés possédant au moins un électron célibataire.

## La mécanique et la modélisation moléculaires

Ce type d'approche est complémentaire des techniques physiques qui précèdent.

Ces objectifs sont entre autres :

- la "visualisation" informatique des molécules à partir de données structurales (Cristallographiques, RMN, spectroscopiques, ...)
- l'obtention d'informations sur la dynamique et l'énergie des molécules
- calculer le champ de force pour déterminer les propriétés des molécules
- corrélérer ces propriétés à une structure moléculaire
- valider la structure moléculaire

Différents outils informatiques sont utilisés pour :

- visualiser la structure des molécules en 3 dimensions
- les "manipuler" (rotation, translation, changement de conformation)
- calculer les paramètres géométriques (distance inter atomique, angle, ...)