

# Chapitre 2 : Les protéines

## I. Introduction

Parmi les macromolécules élaborées par les cellules vivantes, les Protéine : (grec « prôtos » le premier)

- Les plus abondantes : 55% ou plus du poids sec de la cellule.
- Les plus universelles : présentes dans les virus, les bactéries, les plantes, les animaux supérieurs....
- Les plus variées : plusieurs milliers de protéines ont été caractérisées et isolées.

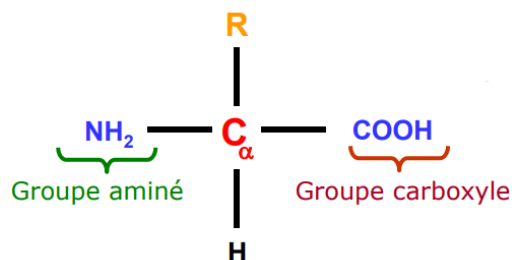
## II. Rôle essentiel :

- Molécules de structure pour la cellule et les tissus
- Fonctions essentielles dans la vie cellulaire :
  - Catalyse de réactions biochimiques : les enzymes
  - Transport de molécules et d'ions
  - Régulation de l'activité d'autres protéines
  - Signalisation cellulaire
  - Motricité des cellules et des organismes
  - Défense immunitaire : les anticorps
  - Contrôle de la croissance et de la différenciation cellulaire

## III. Les acides aminés

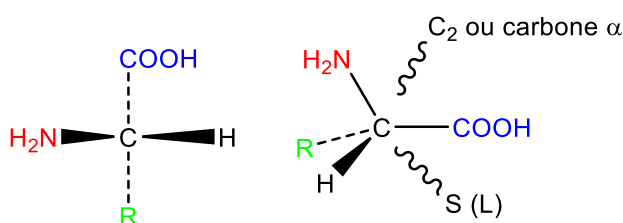
### III.1. La structure et les propriétés des acides aminés

Les acides aminés sont des carboxyliques porteurs d'un groupe amino. Ceux que l'on le plus couramment dans la nature sont les 2-aminoacides, encore appelés  $\alpha$ -aminoacide, qui répondent à la formule générale  $RCH(NH_2)COOH$  ; ainsi donc, la fonction amino est attaché au C2, c'est-à-dire au carbone  $\alpha$ . Le groupe R peut être un alkyle ou un aryle, lequel peut présenter une fonction hydroxyle, amino, mercapto, sulfure, voire carboxylique ou encore guanidino ou imidazolyle. A cause de la présence simultanée de la fonction amino et de la fonction carboxylique, les acides aminés se comportent à la fois comme des acides et comme des bases.

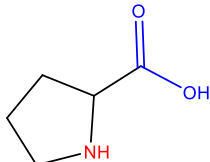
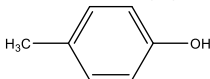
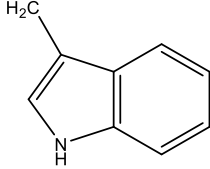
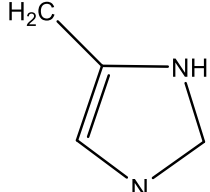


### Le stéréocentre de la plupart des 2-aminoacides a la configuration S

Les protéines de toutes les espèces, des bactéries aux êtres humains, sont essentiellement constitués de seulement 20 acides aminés différents. Les êtres humains adultes peuvent les synthétiser tous, excepté huit (et deux en quantité insuffisante), que l'on appelle **les acides aminés essentiels** parce que ceux-ci doivent être fournis par l'alimentation.



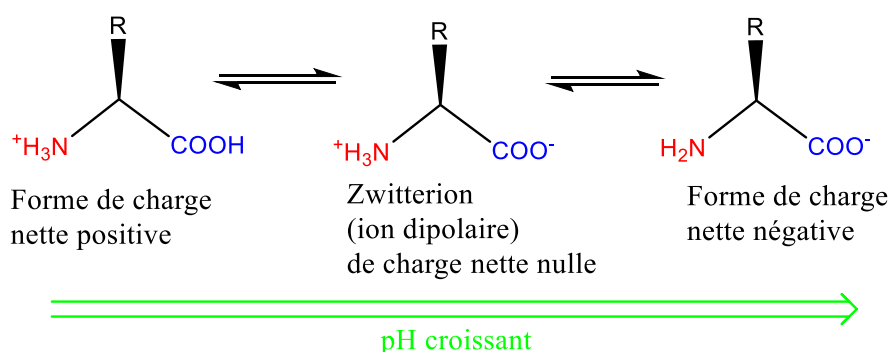
| <div style="text-align: center;"> </div>                  |               |                  |                   |             |                                          |                                 |                        |
|-----------------------------------------------------------|---------------|------------------|-------------------|-------------|------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| Les S-2- aminoacides naturels les plus courants           |               |                  |                   |             |                                          |                                 |                        |
| R                                                         | Nom           | Code à 3 lettres | Code à une lettre | pKa du COOH | pKa du NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> en α | Le pKa de la fonctionacide de R | Point isoélectrique pI |
| H<br><b>Groupe alkyle</b>                                 | Glycine       | Gly              | G                 | 2,3         | 9,6                                      |                                 | 6,0                    |
| CH <sub>3</sub>                                           | Alanine       | Ala              | A                 | 2,3         | 9,7                                      |                                 | 6,0                    |
| CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                         | valine        | Val              | V                 | 2,3         | 9,6                                      |                                 | 6,0                    |
| CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>         | Leucine       | Leu              | L                 | 2,4         | 9,6                                      |                                 | 6,0                    |
| CHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub><br> <br>CH <sub>3</sub> | Isoleucine    | Ile              | I                 | 2,4         | 9,6                                      |                                 | 6,0                    |
| (S)<br>H <sub>2</sub> C-                                  | Phénylalanine | Phe              | F                 | 1,8         | 9,1                                      |                                 | 5,5                    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                           |                                                                                                                               |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                             |                                                                                                                                       |                                                                                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p><b>Avec fonction hydroxyle</b><br/> <math>\text{CH}_2\text{OH}</math><br/> <math>\text{CHOH}</math><br/> <math>\text{CH}_3</math> (R)</p> <p></p> <p><b>Avec fonction amino</b></p> <p><math>\text{CH}_2\text{CNH}_2</math></p> <p><math>\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CNH}_2</math><br/> <math>(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2</math></p> <p><math>(\text{CH}_2)_3\text{NHCNH}_2</math></p> <p></p> <p></p> <p><b>Avec fonction mercapto ou sulfure</b><br/> <math>\text{CH}_2\text{SH}</math><br/> <math>\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3</math></p> <p><b>Avec fonction carboxylique</b><br/> <math>\text{CH}_2\text{COOH}</math><br/> <math>\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}</math></p> | <p>Proline</p> <p>Sérine</p> <p>Thréonine</p> <p>Tyrosine</p> <p>Asparagine</p> <p>Glutamine</p> <p>Lysine</p> <p>Arginine</p> <p>Tryptophane</p> <p>Histidine</p> <p>Cytéine</p> <p>Méthionine</p> <p>Acide aspartique</p> <p>Acide glutamique</p> | <p>Pro</p> <p>Ser</p> <p>Thr</p> <p>Tyr</p> <p>Asr</p> <p>Gln</p> <p>Lys</p> <p>Arg</p> <p>Trp</p> <p>His</p> <p>Cys</p> <p>Met</p> <p>Asp</p> <p>Glu</p> | <p>P</p> <p>S</p> <p>T</p> <p>Y</p> <p>N</p> <p>Q</p> <p>K</p> <p>R</p> <p>W</p> <p>H</p> <p>C</p> <p>M</p> <p>D</p> <p>E</p> | <p>2</p> <p>2,2</p> <p>2,1</p> <p>2,2</p> <p>2,0</p> <p>2,2</p> <p>2,2</p> <p>2,2</p> <p>2,8</p> <p>1,8</p> <p>2,0</p> <p>2,3</p> <p>1,9</p> <p>2,2</p> | <p>10,6</p> <p>9,2</p> <p>9,1</p> <p>9,1</p> <p>8,8</p> <p>9,1</p> <p>9,0</p> <p>9,0</p> <p>9,4</p> <p>9,2</p> <p>10,3</p> <p>9,2</p> <p>9,6</p> <p>9,7</p> | <p></p> <p></p> <p></p> <p></p> <p></p> <p></p> <p>10,5</p> <p>12,5</p> <p>-</p> <p>6,1</p> <p>8,2</p> <p>-</p> <p>3,7</p> <p>4,3</p> | <p>6,3</p> <p>5,7</p> <p>5,6</p> <p>5,7</p> <p>5,4</p> <p>5,7</p> <p>9,7</p> <p>10,8</p> <p>5,9</p> <p>7,6</p> <p>5,1</p> <p>5,7</p> <p>2,8</p> <p>3,2</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### III.2. Propriétés acido-basiques des acides aminés

Les acides aminés ont des propriétés fortes remarquables qui les démarquent des acides carboxyliques et des amines dont ils sont issus. Ainsi, alors que l'acide éthanoïque et l'éthylamines ont respectivement des points de fusion de 16°C et de -81°C, la glycine, combinant les deux groupements fonctionnels, n'a toujours pas fondu à 233°C.

Cette différence de température est due à la présence simultanée de ces deux groupements fonctionnels rend l'acide aminé amphotérique, c'est-à-dire se comporte à la fois comme un acide et comme une base. Il se crée ainsi en solution une espèce particulière que l'on appelle un zwitterion ou sel interne, dans lequel le groupe amino est protoné et le groupe carboxyle a perdu son proton.



Pour chaque acide aminé, il existe toutefois un et un seul pH particulier et distinct, le point isoélectrique (pI), pour lequel on rencontre effectivement en solution que la forme « zwitterion ».

À ce pH, sa solubilité est minimale et il ne migre pas si on le place dans un champ électrique (contrairement au cation et à l'anion).

pH isoélectrique: défini par  $[A^+] = [A^-]$

$$pI = \frac{pK_a(\text{COOH}) + pK_a(\text{NH}_3^+)}{2}$$

#### III.1. 1. Variation de la charge nette d'un acide aminé en fonction du pH de la solution

Lorsque le pH de la solution correspond au point isoélectrique (pI) de l'acide aminé, celui-ci existe exclusivement sous la forme d'un zwitterion de charge nulle.

La situation est toutefois différente lorsqu'un acide aminé est placé dans une solution dont le pH ne correspond pas à son pI selon le tableau

Tableau 2 : Charge d'un acide aminé en fonction du pH de la solution

| pH                | Charge effective moyenne d'un acide aminé |
|-------------------|-------------------------------------------|
| <b>pH &lt; pI</b> | <b>+</b>                                  |
| <b>pH = pI</b>    | <b>0</b>                                  |
| <b>pH &gt; pI</b> | <b>-</b>                                  |

### III.1. 1.2. Titration : neutralisation des groupements fonctionnels par une base forte

Quand un AA cristallisé est dissous dans l'eau il peut agir à la fois comme acide : donneur de protons, soit comme une base : accepteur de protons selon la terminologie de BRONSTED-LOWRY :



On mesure la capacité d'un acide à céder des protons par la **constante de dissociation K**.

$$K = \frac{[\text{R-COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{R-COOH}]}$$

Quand la concentration de la forme acide  $[\text{R-COOH}]$  est égale à la concentration de sa base conjuguée  $[\text{R-COO}^-]$ , la concentration en proton  $\text{H}^+$  est égale à K.

$$K = [\text{H}^+]$$

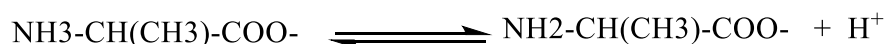
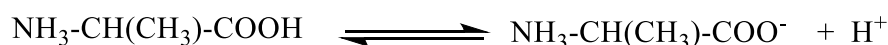
$$-\log K = -\log [\text{H}^+]$$

$$\text{pK} = \text{pH}$$

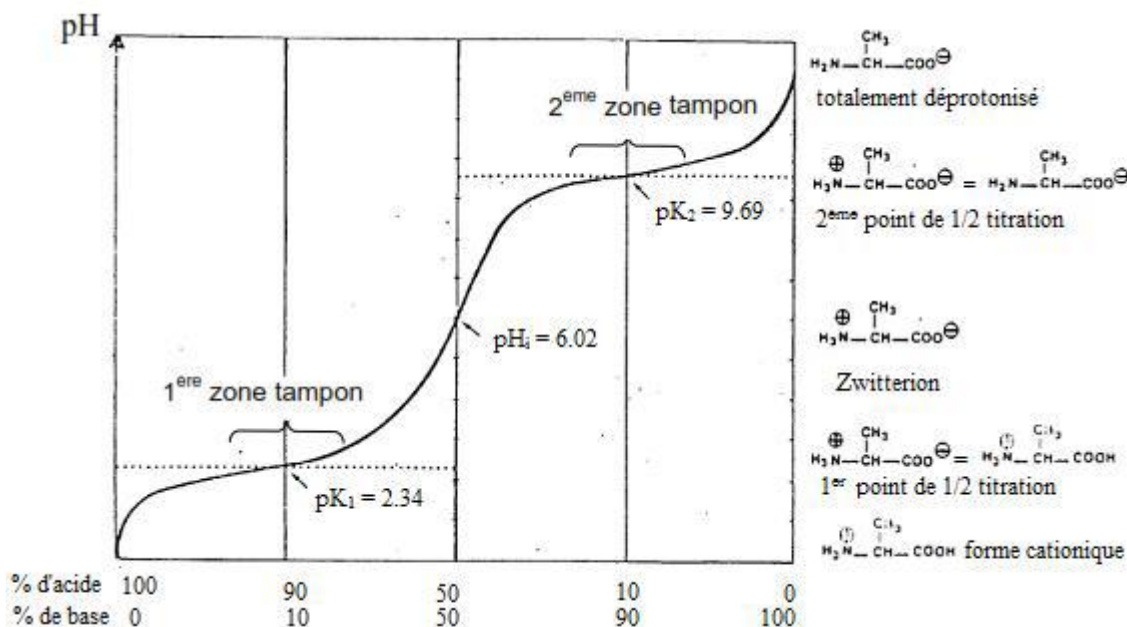
Le pK d'un groupement acide est le pH où la forme associée (R-COOH) et la forme dissociée (R-COO<sup>-</sup>) sont présentes en concentration égale.

#### Exemple de l'Alanine

L'Alanine est un acide aminé. C'est donc un diacide dans sa forme entièrement protonisée. Il peut libérer 2 protons durant sa titration complète avec une base. Cette titration en deux étapes est représentée par les équations suivantes :



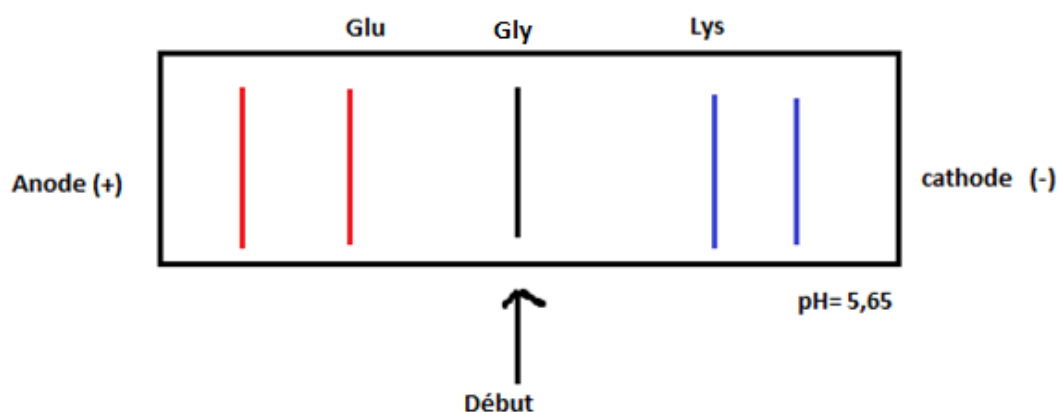
La titration de l'Alanine par la soude (NaOH) montre un tracé de segments de courbes séparés. Chaque segment correspond à une modification minimale de pH lorsque des petites quantités de NaOH sont ajoutées.



### Technique de séparation des acides aminés : électrophorèse

L'électrophorèse est une méthode de séparation des acides aminés fondée sur leurs différences de charge dans une solution aqueuse, à un pH donné.

Au cours d'une électrophorèse, on place un mélange d'A.A sur un support solide par exemple du papier, et on plonge le support dans une solution aqueuse dans le pH est gardé constant. Le papier ensuite est soumis à un champ électrique. Les A.A dont la charge est positive à ce pH ( $pH < pI$ ) migrent vers la cathode, chargée négativement. Ceux dont la charge est négative ( $pH > pI$ ) se déplacent vers l'anode chargée positivement.

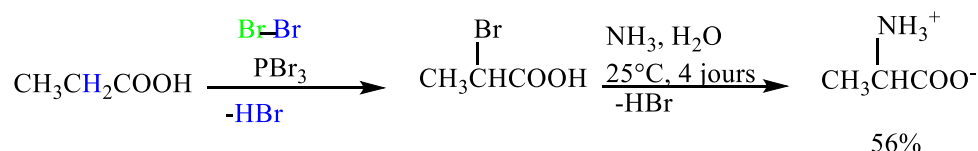


### III.2. Préparation des acides aminés

Les acides aminés racémiques peuvent être préparés de trois façons différentes : par substitution nucléophile sur un acide carboxylique  $\alpha$ -bromé, par synthèse de Gabriel sur le dérivé bromé d'un ester malonique et, enfin par l'action d'ions cyanures sur une imine suivie d'hydrolyse (synthèse de Strecker).

#### III.2.1. La Substitution nucléophile sur un acide carboxylique $\alpha$ -bromé

Le brome en position 2 de la fonction acide carboxylique peut être substitué par des nucléophiles tels que l'ammoniac.



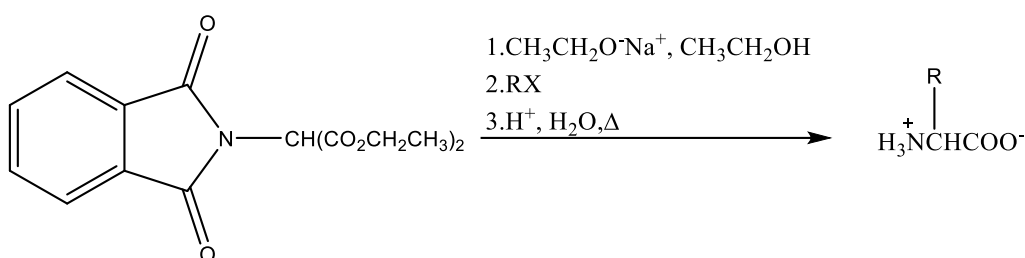
Malheureusement, ce procédé n'aboutit qu'à des rendements relativement médiocres.

#### III.2.2. La synthèse de Gabriel

Pour rappel, la N-alkylation de l'anion de l'imide benzène-1,2-dicarboxylique suivi d'une hydrolyse en milieu acide fournit des amines

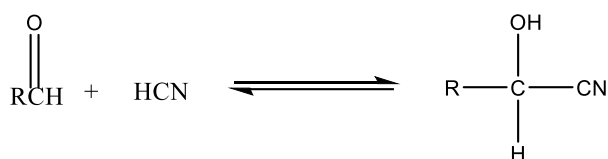
Si on veut obtenir un acide aminé, on peut faire réagir, dans la première étape de la séquence réactionnelle, du 2-bromopropanedioate de diéthyle. Cet agent alkylant est aisément disponible via la bromation du propanodiate (malonate). Une nouvelle hydrolyse du groupe imide donne finalement naissance à un acide aminé.

Un des avantages de cette méthode est la souplesse d'adaptation du propanedioate substitué en 2 qui est initialement formé, qui peut lui-même être alkylé, ce qui permet de préparer ainsi toute une variété d'acides aminés substitués

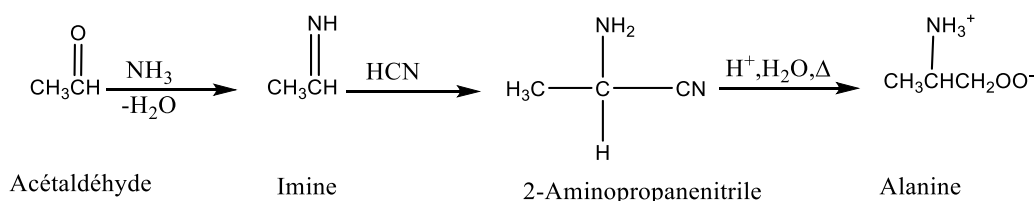


### III.2.3. Synthèse de Strecker

La synthèse de Strecker fait appel dans son étape déterminante, une variante de la formation des cyanhydrines à partir des aldéhydes et de cyanure d'hydrogène



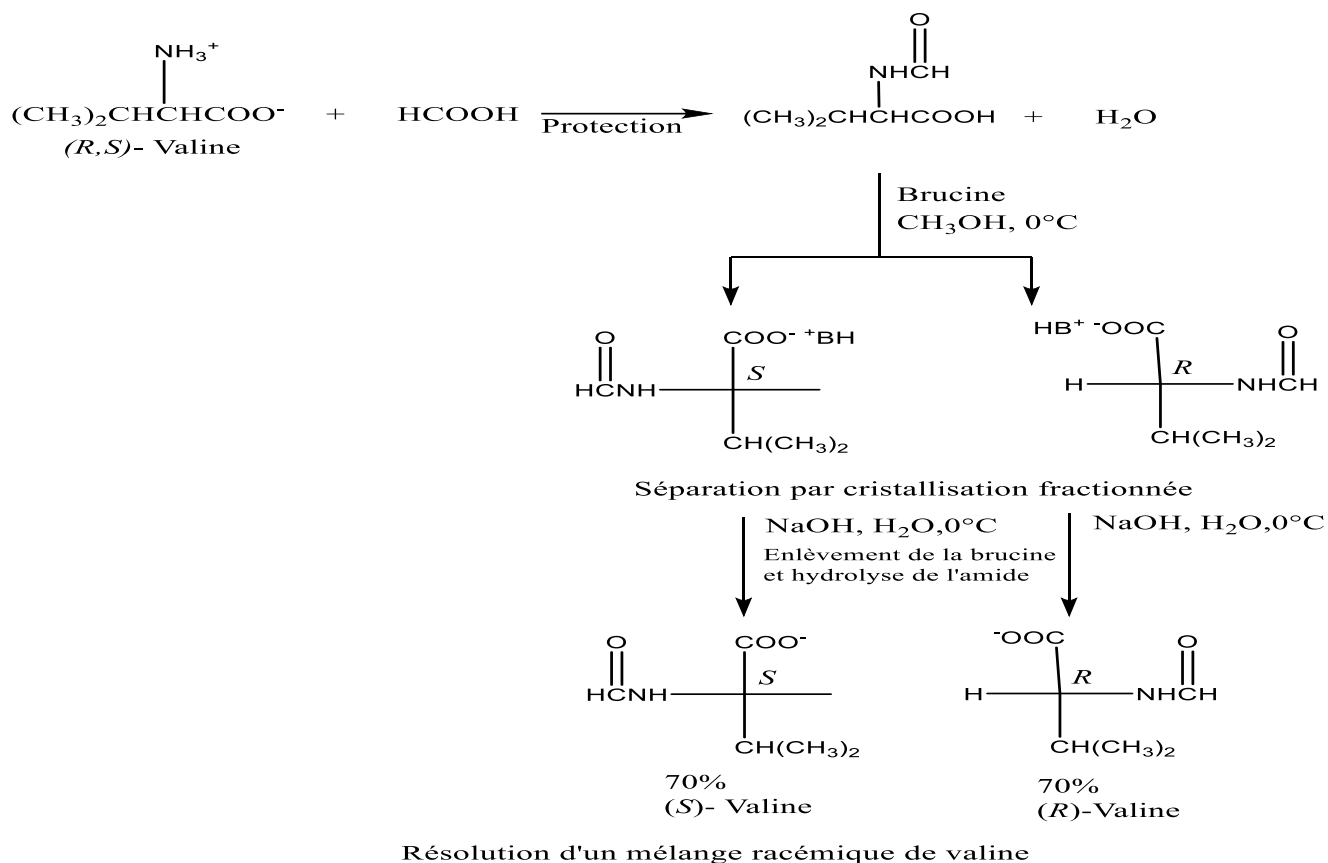
Lorsque la même réaction est effectuée en présence d'ammoniac, c'est l'imine intermédiaire qui subit l'addition du cyanure d'hydrogène, ce qui aboutit aux 2-aminonitriles correspondants. Une hydrolyse subséquente, en milieu acide ou basique, fournit alors les acides aminés désirés.



### III.2.4. Synthèse d'acides aminés énantiomériquement purs

Il est possible d'obtenir les acides aminés sous forme d'énantiomères purs, par la résolution du mélange racémique.

Pour préparer les énantiomères purs des acides aminés, on peut suivre la méthode qui consiste à dédoubler leurs sels diastéro-isomères. D'abord, la fonction amine est protégée sous forme d'amide, puis le produit ainsi transformé est traité par une amine optiquement active.



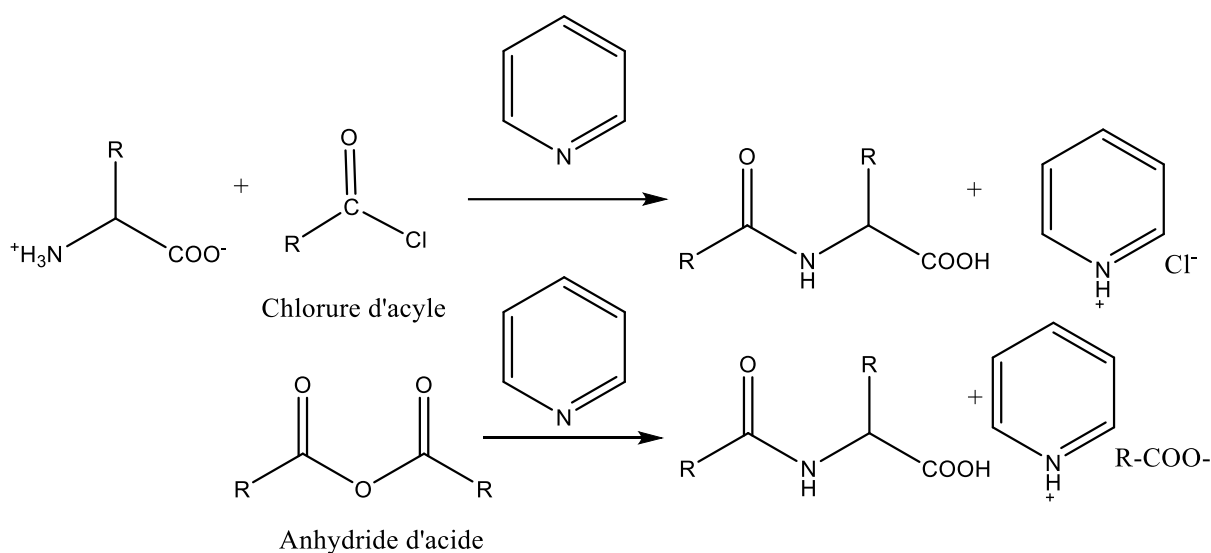
### III.3.Réactions des acides aminés

Non seulement les acides aminés se comportent comme des acides et des bases, mais ils subissent aussi d'autres réactions typiques des amines et des acides carboxyliques.

#### III.3.1.Réaction de la fonction amine

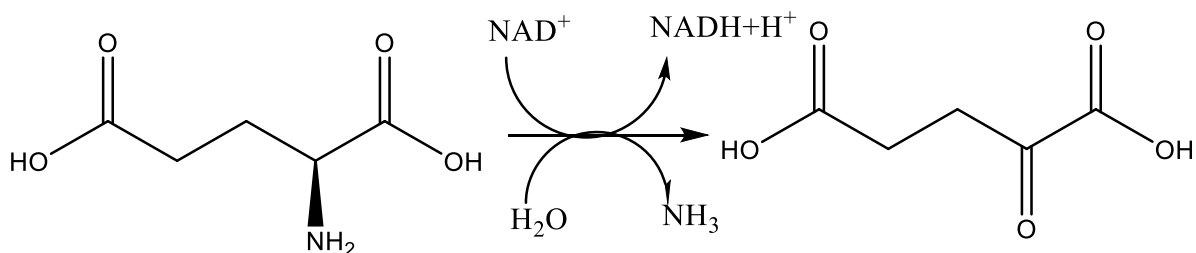
##### III.3.1.1.Formation d'amides

Le groupement fonctionnel amine peut être transformé en amide à l'aide d'un chlorure d'acyle ou d'un anhydride acide



### III.3.1.2. La désamination

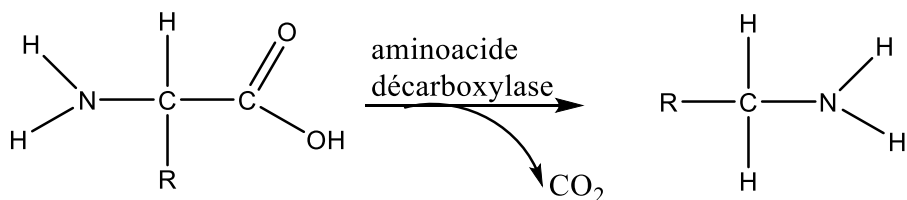
La désamination oxydatif transforme un acide aminé en céto-acide correspondant.



### III.3.2. Réactions de la fonction acide

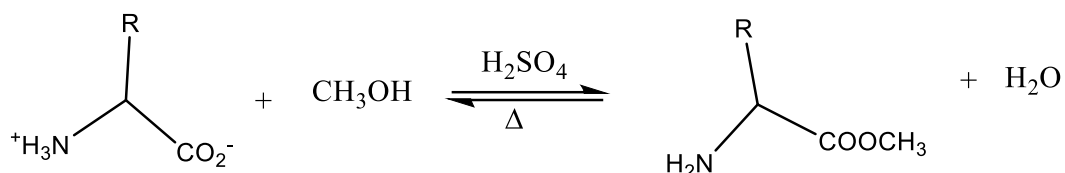
#### III.3.2.1. Décarboxylation

Par action des décarboxylase, cette réaction est présente dans les organismes vivants pour produire des dérivés amine qui peuvent être des précurseurs.



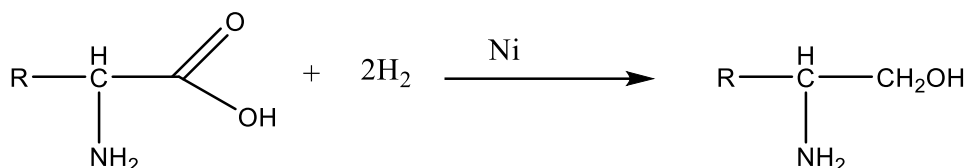
#### III.3.2.2. Formation d'esters

De la même façon, le groupement fonctionnel acide carboxylique de l'acide aminé peut être transformé en ester par estérification de Fischer. Cette réaction est utilisée pour la protection de la fonction acide lors de la synthèse des peptides.



### III.3.2.3. Réduction

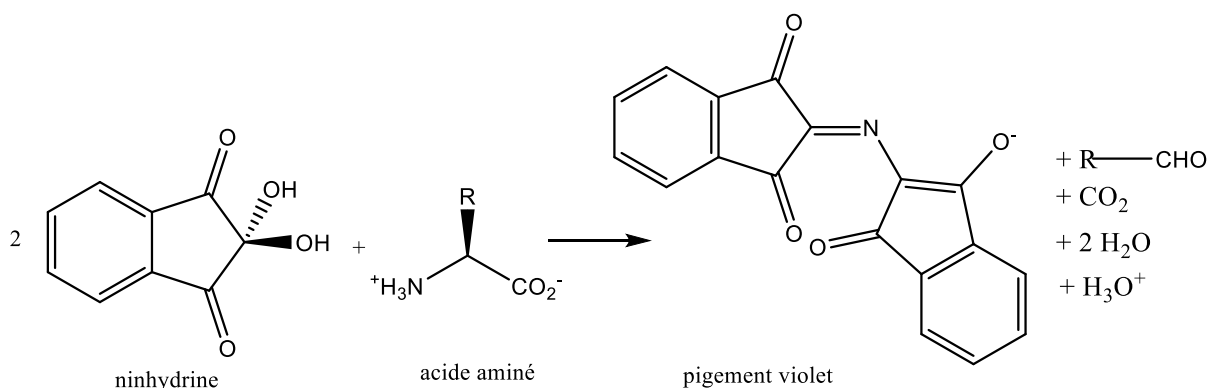
In vitro et en présence de Nickel, l'hydrogénation de la fonction carboxylique conduit à la formation d'un alcool.



### III.3.3. Réaction des deux fonctions acide et amine

#### Réaction avec la ninhydrine

La ninhydrine est un réactif pour la détection et la détermination quantitative de la concentration des acides aminés en solution.



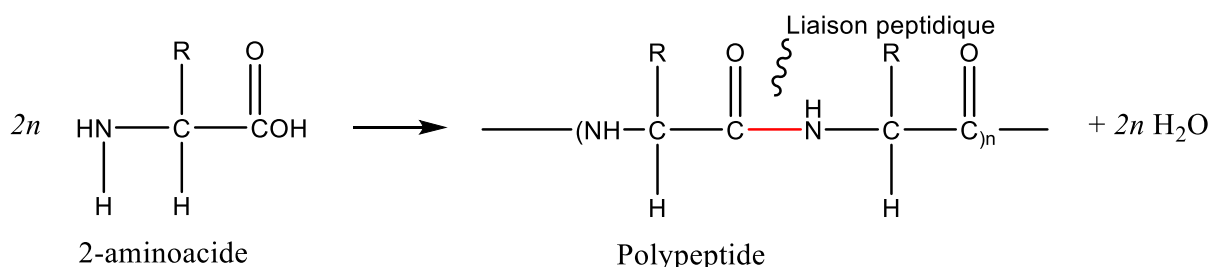
## V. Peptides et protéines : des oligomères et des polymères d'acides aminés

Les acides aminés donnent lieu à une grande diversité de combinaisons en biologie parce que ceux-ci peuvent se polymériser. On va décrire la structure et les propriétés de chaînes polypeptidiques. Ces chaînes s'entortillent et se replient de manière à former des structures tridimensionnelles très actives du point de vue biochimique qu'on appelle des protéines.

### V.1. Formation des liaisons peptidiques

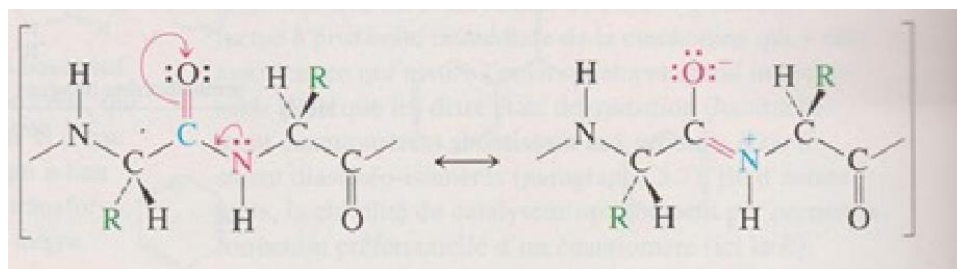
Les 2-aminoacides sont des entités monomères que l'on trouve dans les polypeptides. De tels polymères se forment à la suite de réactions répétées de la fonction acide carboxylique d'un

acide aminé avec le groupe amino d'un autre, ce qui aboutit à l'élaboration d'une chaîne amides. Le lien amide qui unit des acides aminés est également appelé une **liaison peptidique**.

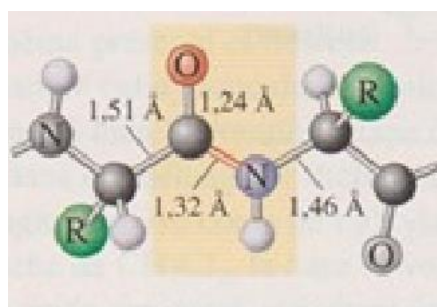


Les oligomères que l'on forme de la sorte en unissant des acides aminés sont appelés des peptides. Ainsi par exemple, deux acides aminés donnent lieu à la formation d'un dipeptide, trois d'un tripeptide et ainsi de suite. Les acides aminés individuels qui composent le peptide sont désignés sous le nom de restes.

Une caractéristique est très importante en ce qui concerne la structure des polypeptides : le fait que la liaison peptidique soit parfaitement rigide à la température ordinaire et, de surcroît, plane, en raison de la conjugaison de la paire électronique libre de l'azote de l'amide avec le groupement carbonyle.



L'hydrogène du N-H est presque toujours situé en trans vis-à-vis de l'oxygène carbonyles, et la rotation autour de la liaison C-N est lente parce que cette liaison possède un caractère partiel de double liaison. Ceci manifeste par une longueur de liaison relativement courte (1,32Å, se situant entre celle d'une liaison C-N simple pure (1,47Å) et celle d'une liaison C-N double pure (1,27Å). Par contre, les liaisons qui sont adjacentes à la fonction amide sont capables d'une libre rotation. C'est pourquoi, les polypeptides sont relativement rigides tout en gardant une mobilité suffisante pour adopter toute une variété de conformations. Ainsi, ils peuvent se relier selon des manières très différentes.



### V.2. La classification des peptides et des protéines

Bien que les peptides et les protéines soient différenciables par la séquence de leurs acides aminés, on les regroupe également selon leurs caractéristiques physiques, comme la nature (simple ou conjuguée) du protide lui-même, la forme globale de ses globales de ses molécules ou encore sa fonction biologique.

Le tableau ci-dessous présente cinq clés de classification possibles

|                                                                                       |                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Nature des constituants</b><br>Simple                                              | <b>Conjuguée</b><br>Glycoconjuguée<br>Lipoconjuguée<br>Nucléoconjuguée<br>Autres |
| <b>Nature des chaines/cycles</b><br>Chaine                                            | Cycle                                                                            |
| <b>Nombre de chaines ou cycles</b><br>Monomériques                                    | Multimérique<br>Homomultimérique<br>Hétéromultimérique                           |
| <b>Forme des molécules</b><br>Fibreuse                                                | Globulaire                                                                       |
| <b>Fonction biologique</b><br>Adaptation<br>Enzymes<br>Motilité<br>Protection/défense | Régulation<br>Réserve<br>Structure<br>Transport                                  |

Par convention, les formules des peptides des protéines s'écrivent en présentant la liaison peptidique avec, à sa gauche, l'acide amine dont le groupe  $-\text{NH}_3^+$  est libre, et sa droite, l'acide aminé dont le groupe  $\text{COO}^-$  est libre. Ces AA sont désigner respectivement AA N-terminal et AA C-terminal, et la liaison peptidique est donc toujours représentée dans le sens  $-\text{CO}-\text{NH}-$ .

### V.3. Détermination de la séquence des polypeptides et des protéines

La détermination de la structure primaire d'une protéine est conduite en deux étapes :

- La détermination de la composition en aminoacide
- L'analyse séquentielle des acides aminés

#### V.3.1. La détermination de la composition en aminoacide

- **Hydrolyse chimique complète**

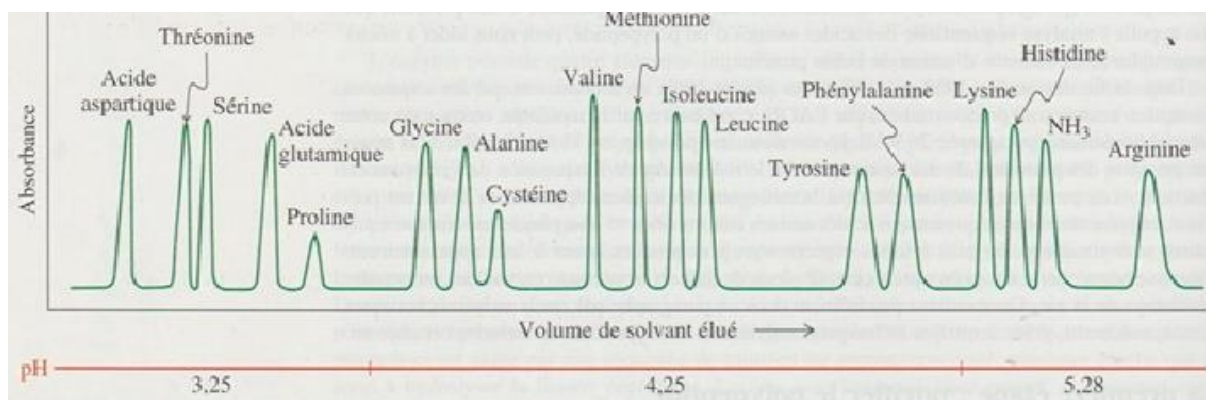
Le clivage par catalyse acide d'une protéine (acide chlorhydrique 6M, à l'abullition pendant 24 à 48 heures) aboutit à un hydrosat contenant un mélange de tout les acides aminés présents dans la protéine.

### - Analyse chromatographique

La composition du mélange des acides aminés est établie grâce à un appareil automatique appelé **analyseur d'acides aminés**.

L'élution des acides aminés se fait selon un ordre précis, en commençant par le plus acide et en terminant par le plus basique.

La détection est détecté en utilisant une méthode colorométrique.



#### V.3.2.L'analyse séquentielle des acides aminés

Une fois la composition brute d'un polypeptide est établie, il faut révéler l'ordre selon lequel les acides aminés sont liés les un aux autres. Il existe deux approches fournissant des informations supplémentaires

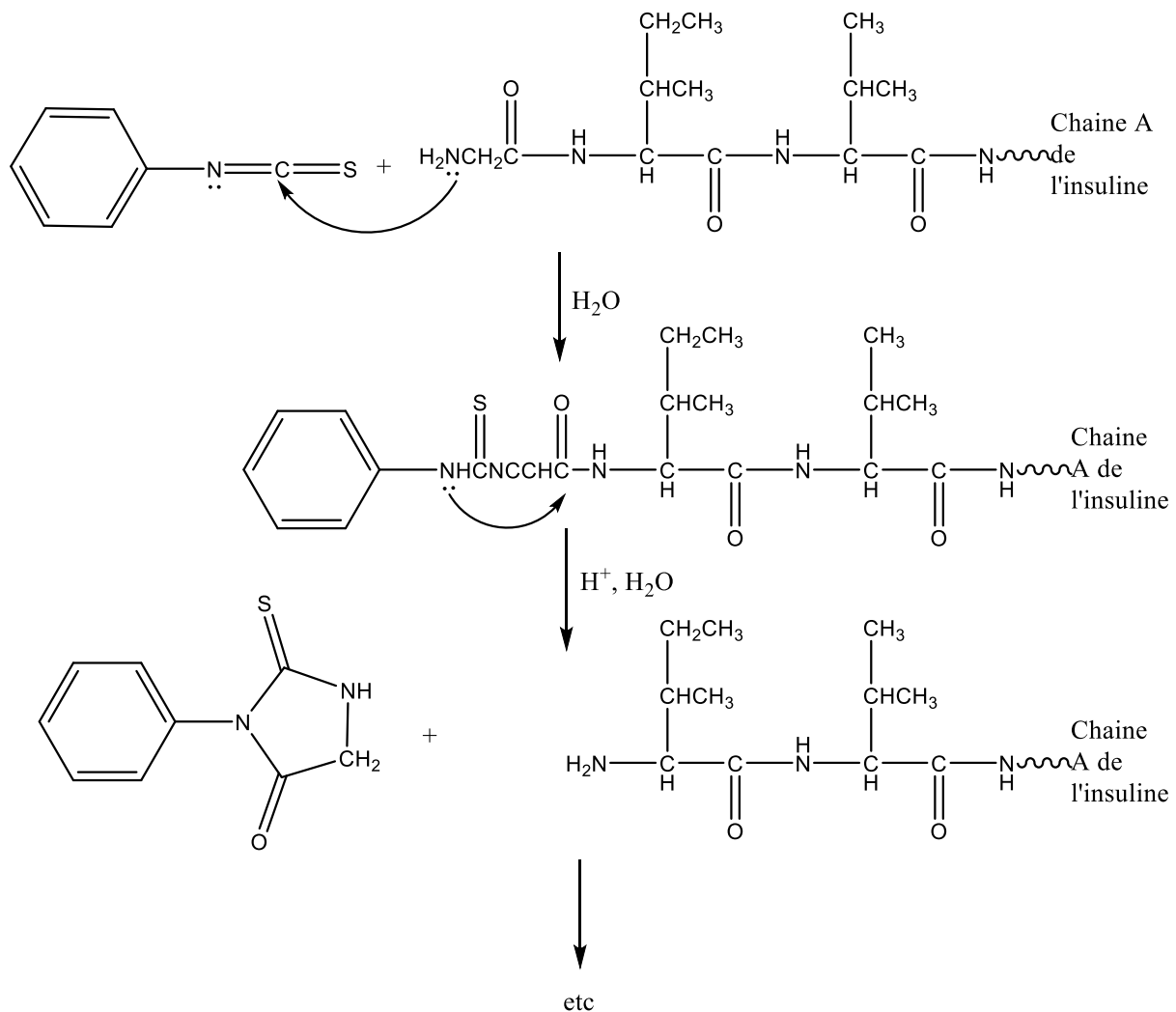
##### 1ere approche : analyse des groupes terminaux

##### ➤ Détermination du NH<sub>2</sub> terminal d'un peptide

##### Méthodes chimiques

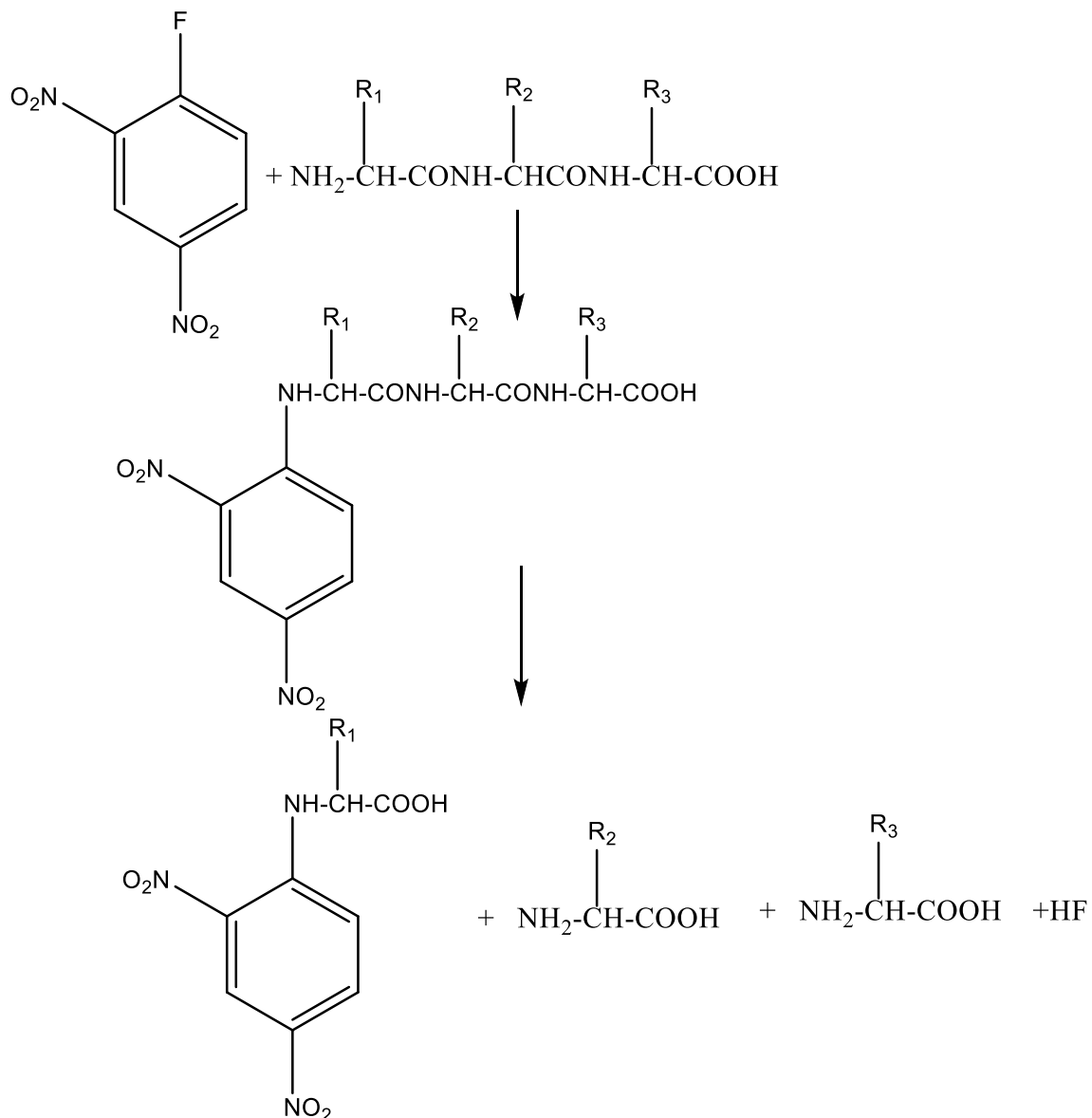
##### 1. Dégradation d'Edman

Elle fait intervenir l'isothiocyanate de phényle,  $C_6H_5N=C=S$ . Elle se produit par étapes, lors de l'hydrolyse acide du peptide marqué le reste de la chaîne n'est pas dégradé et l'opération peut se renouveler avec l'acide aminé terminal



Fragmentation à l'aide d'enzyme des longues chaînes polypeptidiques en des endroits bien précis.

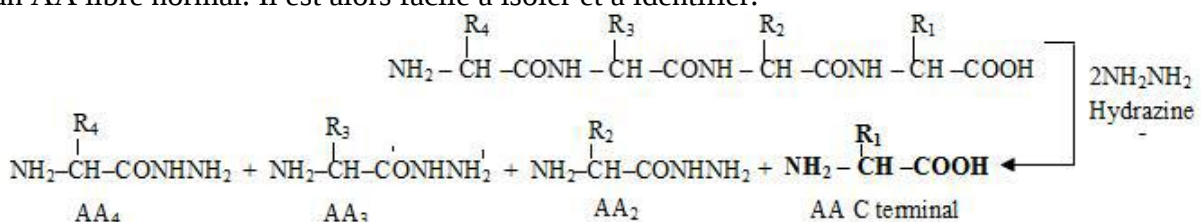
**Dégradation de SANGER** : qui utilise le 1-Fluoro-2,4 dinitrobenzène (DNFB) comme réactif. Sur un peptide, il forme avec l'extrémité aminée libre (N terminale) un dérivé avec libération d'acide fluorhydrique. L'hydrolyse du peptide coupe les liaisons peptidiques mais pas la liaison DNP-NH. Ainsi le premier acide aminé modifié qui présente des caractéristiques propres de coloration et de migration en chromatographie ou en électrophorèse est récupéré et identifié en comparant le résultat de l'analyse aux standards connue.



### ➤ Détermination du COOH terminal d'un peptide

#### Méthodes chimiques

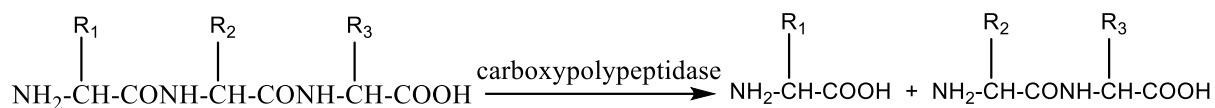
**hydrazynolyse (Akabori) :** un traitement à l'**hydrazine** à 100°C hydrolyse toutes les liaisons peptidiques, et libère des hydrazides de tous les AA sauf le C terminal, qui se présente comme un AA libre normal. Il est alors facile à isoler et à identifier.



#### Méthodes enzymatiques

Les carboxypolypeptidases (exopeptidases) rompent les liaisons de l'AA terminal COOH ; il existe deux enzymes : la carboxypolypeptidase A (rompt toutes les liaisons sauf celles du

glycocolle et celle des AA basiques) et la carboxypolypeptidases B (qui rompt les liaisons de la glycine et des AA et basiques) l'action de ces enzymes est récurrentes, en effet l'enzyme peut continuer à attaquer un nouvel AA devenu COOH terminal. Il convient donc de mesurer le temps d'hydrolyse.



## 2<sup>ème</sup> approche : Méthodes enzymatiques

Il s'agit des aminopolypeptidases qui attaquent aux liaisons NH<sub>2</sub> terminal. Leur fonctionnement est récurrent donc pour libérer seulement le premier AA, l'enzyme doit agir pendant un temps très court. L'AA libéré est identifié par chromatographie.

### IV.2.5.3. Fragmentation de la chaîne

Si le peptide à étudier comporte plus de 50 AA il sera réduit en peptides plus courts par coupures spécifiques avant d'être séquencé par la méthode d'EDMAN. Des endopeptidases ou des composés chimiques possédant des sites de coupure spécifique seront alors employés :

- **la trypsine** est une endopeptidase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé basique (Lys, Arg) engage sa fonction acide.
- **la chymotrypsine** qui est une endopeptidase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe ainsi que Met) engage sa fonction acide.
- **la pepsine** qui est une endopeptidase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe) engage sa fonction amine.

Certains réactifs hydrolysent une liaison peptidique avec une spécificité sur un des aminoacides participant à la liaison :

- **le bromure de cyanogène (BrCN)** hydrolyse la liaison peptidique du côté carboxyle de la méthionine : cette dernière devient alors un résidu C-terminal transformé en résidu homosérine lactone.
- **le 2-nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB)** hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.

## VI. Protéines

### VI.1.Définition

Les protéines sont des constituants fondamentaux des organismes vivants, ce sont des polymères d'acides aminés (nombre d'AA < 100), de haut poids moléculaire pouvant atteindre 1 000 000 D, (la plupart entre 25 000 D et 200 000 D). Une protéine peut être formée d'une seule chaîne polypeptidique (monomère) ou de plusieurs (dimère, tétramère, ...)

## VI.2. Structure des protéines

Les caractéristiques spatiales des protéines sont la clé de leurs fonctions. Il existe quatre niveaux structuraux chez les protéines, de la structure primaire à la structure quaternaire.

### IV.2.1. Structure primaire

La structure primaire d'une protéine correspond à la séquence peptidique c'est-à-dire à l'ordre d'enchaînement des résidus d'AA entre eux.

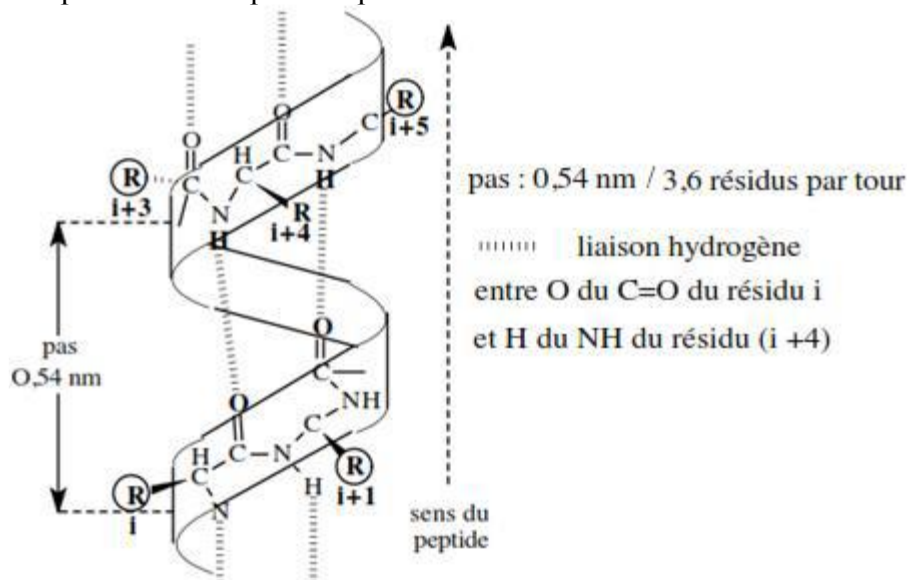
### IV.2.2. Structure secondaire

La structure secondaire d'une protéine correspond à l'arrangement dans l'espace de la chaîne protéique par repliement ou par enroulement. Le type le plus caractéristique est la conformation  $\beta$  en feuilles plissées ou la conformation  $\alpha$  hélice de PAULING et COREY ou conformation au hasard.

#### a. Conformation $\alpha$ (hélice de PAULING et COREY)

Cette conformation se forme lorsque le groupe CO contracte une liaison avec le groupe NH en formant des assemblages stables. La protéine se présente sous forme de spire régulière d'un pas de **0,54 nm** à chaque tour comptant **3,6 résidus**. Toutes les protéines ne se trouvent pas entièrement sous forme d'hélice. On parle alors de **taux d'hélicité** (18 % pour la ribonucléase et 80 % pour l'hémoglobine).

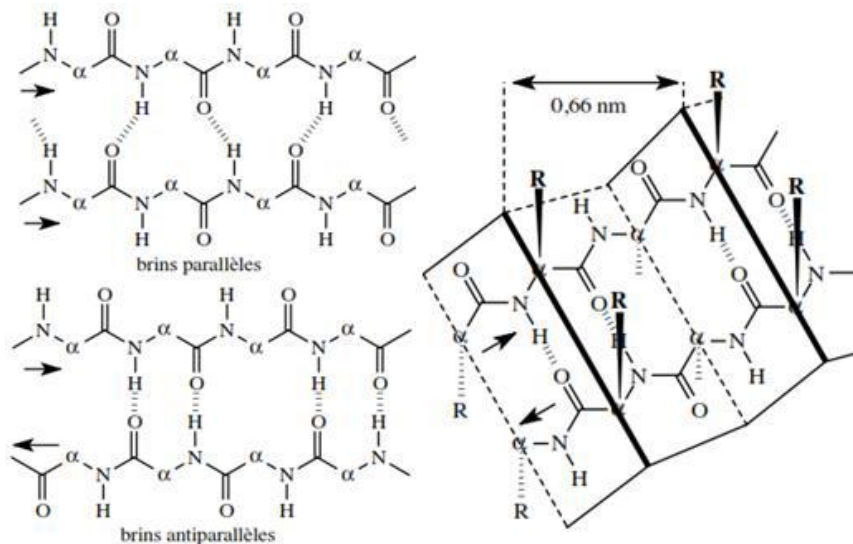
Ceci est dû à la présence de la proline qui entraîne une courbure de l'hélice.



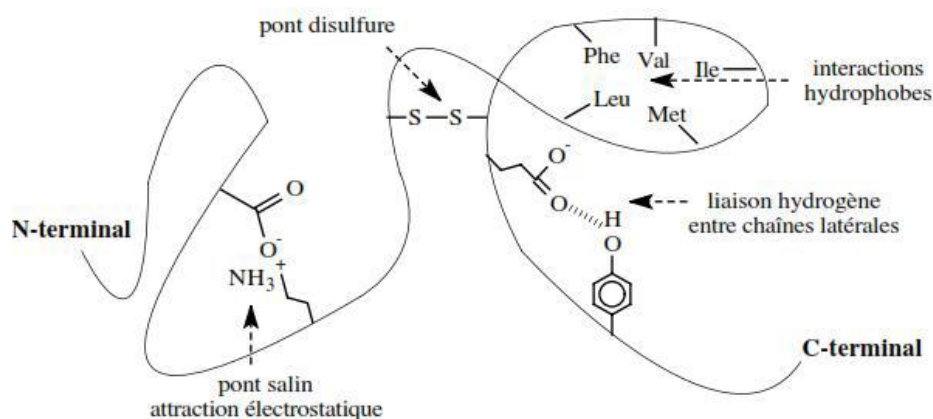
#### b. Feuillet $\beta$

Les feuillets  $\beta$  se forment quand des parties de la longue chaîne polypeptidique se replient et se longent l'une l'autre, côte à côte, en formant des ponts hydrogènes avec la voisine. La direction des angles alternés dans un feuillet  $\beta$  donne à la chaîne une allure en zigzag.

On parle de feuillets  $\beta$  parallèles quand les chaînes vont dans le même sens et d'antiparallèles quand elles vont dans des directions opposées. La distance entre deux résidus est de 0,335 nm; chaque chaîne est séparée de sa voisine de 0,465 nm.



**IV.2.3. La structure tertiaire** est la disposition ou l'assemblage tridimensionnel des structures secondaires et des chaînes latérales d'une protéine pour former le plus de liaisons possible pour accroître leur stabilité. La figure ci-dessous résume les différents types des liaisons chimiques qui maintiennent cette structure.



#### IV.2.4. Structure quaternaire (IV<sup>aire</sup>)

Deux ou plusieurs chaînes polypeptidiques peuvent être associées entre elles par des liaisons non covalentes (liaisons de faibles énergie : pont hydrogène ou liaisons entre AA acides et AA basiques) les protéines de ce type sont appelées des oligomères ; une sous unité est appelée un monomère. Ces protéines peuvent être sous forme de dimère, trimère ou tétramère. L'agregat est certainement stabilisé par des liaisons non covalentes autres que les forces hydrophobes.

