

Université Mohammed Seddik Benyahia -Jijel-

Département EF-SNV

2 ème Année Sciences Biologiques

Année universitaire : 2024-2025

Préparée par : Dr. AMIRAWIDAD

Structure et propriétés physico-chimiques des acides aminés, peptides et protéines

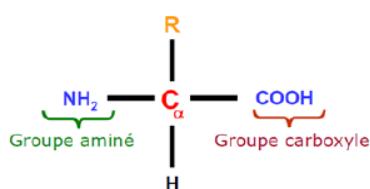
I- Acides aminés

I-1 Définition

- Les Acides aminés sont des molécules de composition élémentaire : C, H, O, N (S pour les acides aminés soufrés). Ce sont les constituants fondamentaux des protéines.
- Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés ; on distingue deux catégories :
 - Les Aa naturels « standards= α -aminés »: 20 différents AA protéinogènes sont trouvés soit dans des petits peptides soit formant des protéines. Ils sont codés dans l'ADN et incorporés dans la chaîne peptidique lors de la traduction de l'ARNm.
 - Les autres Aa (non standards); non codés génétiquement; dont certains sont trouvés à l'état libre (ornithine et la citrulline) et d'autres sont soit impliqués dans des voies métaboliques (méthyl-histidine, homocystéine, acide gamma hydroxybutyrique ...), soit provenant de la modification post-traductionnelles (l'hydroxyproline, hydroxylysine, phosphosérine).
- Les Aa sont synthétisés par les animaux, les micro-organismes et les végétaux. Ils ont une source exogène (apport alimentaire) ou endogène (catabolisme des protéines).

I-2 Structure des acides α -aminés

Les acides aminés ou aminoacides sont des composés organiques qui possèdent une fonction acide carboxylique (COOH) et une fonction amine (NH₂). Ces 2 fonctions sont portées par un même atome de carbone le carbone α .



- Les acides aminés diffèrent par la nature de la chaîne latérale R (radical).
- Une l'exception de la proline qui est un acide α iminé, sa fonction amine secondaire est incluse dans un cycle.

I-3 Classification des acides aminés

Les **acides aminés naturels** peuvent être classés :

I-3-1 En fonction des groupements chimiques de la chaîne latérale R

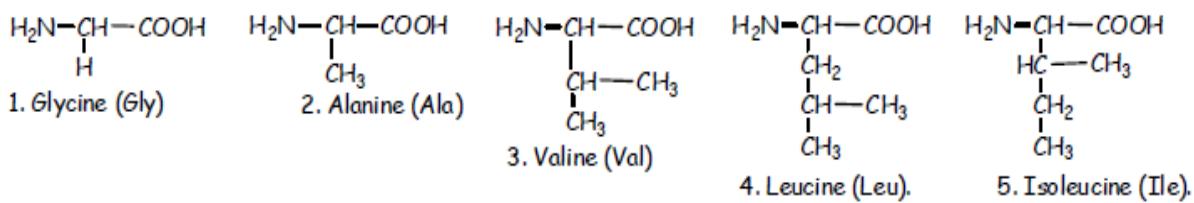
A- les acides aminés neutres : ils contiennent un groupe amine, un groupe carboxyle et une chaîne latérale qui est : Aliphatique, hydroxylée, soufrée, à noyau aromatique, cyclique.

A1- Les acides aminés aliphatique simple

Le radical R est uniquement constitué d'atomes de carbones et d'hydrogène

Glycine (Gly ou G), Lalanine (Ala ou A), Valine (Val ou V), la leucine (Leu ou L) et l'isoleucine (Ile ou I)

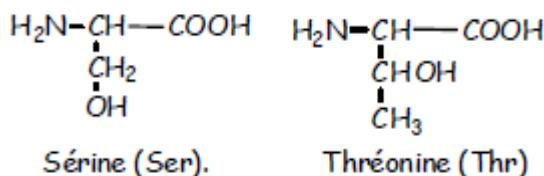
A. Aminoacides aliphatiques à chaîne hydrocarbonée.



A2- Acides aminés hydroxylés (alcools)

Il existe deux acides aminés standards présentant une fonction alcool au niveau de leur radical : la **sérine (Ser ou S)** et la **thréonine (Thr ou T)**. La fonction alcool rend leur chaîne latérale polaire, donc hydrophile.

B. Aminoacides hydroxylés.

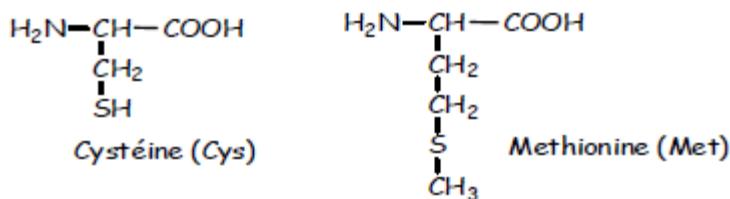


A3- Acides aminés soufrés

La **cystéine (Cys ou C)** présente une fonction thiol. Elle rend la chaîne latérale polaire donc hydrophile.

Le radical R La **méthionine (Met ou M)** est apolaire donc hydrophobe.

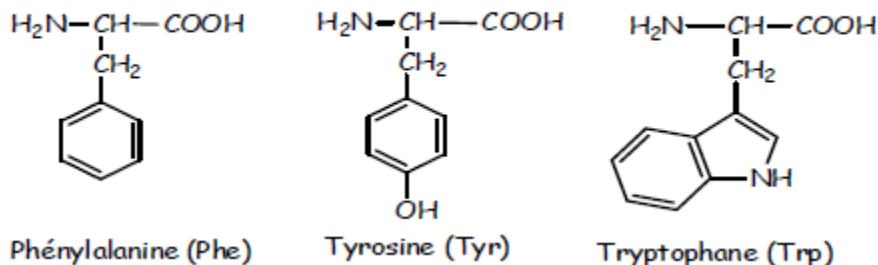
C. Aminoacides soufrés.



A4- Acides aminés aromatiques

La phénylalanine (Phe ou F), La tyrosine, tryptophane (Trp ou W).

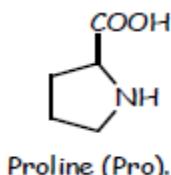
F. Aminoacides aromatiques cycliques



A5- Acides aminés à fonction amine secondaire (hétérocyclique)

La **proline** (Pro ou P) est un acide aminé atypique car la chaîne latérale forme un cycle pentagonal avec la fonction amine (qui devient secondaire).

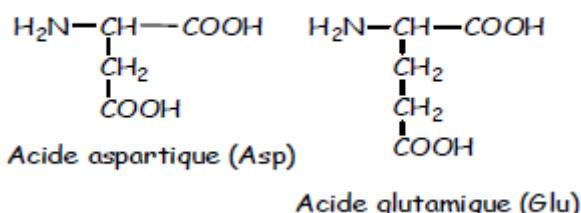
G. Aminoacide hétérocyclique



B- Acides aminés dicarboxyliques (acides) et leurs amides

Les acides aminés **dicarboxyliques** présentent une deuxième fonction acide au niveau du radical. Il s'agit de l'**acide aspartique (Asp ou D)** et de l'**acide glutamique (Glu ou G)**

D. Aminoacides dicarboxyliques .

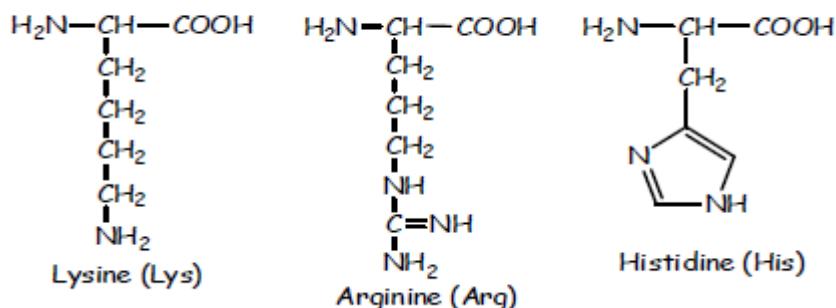


Leurs formes amines sont respectivement L'**asparagine (Asn ou N)** et la **glutamine (Gln ou Q)** (**Les acides aminés amides**) qui sont très proches des acides aminés dicarboxyliques, ils présentent néanmoins une fonction amide au niveau du radical. Non ionisable mais polaire ; la chaîne latérale a un comportement hydrophile.

C- Les acides aminés dibasiques : Ces acides aminés présentent une deuxième fonction amine au niveau du radical.

Il s'agit de La **lysine (Lys ou K)**, L'**arginine (Arg ou R)** et l'**histidine (His ou H)**.

E. Aminoacides basiques



1-3-2 En fonction de la polarité de la chaîne latérale

A- Polaires Cette polarité partielle (- □) ou totale (+ ou -) est liée à la présence de fonctions organiques contenant un hétéroatome d'électronégativité supérieure à celle du carbone et de l'hydrogène (O, S, N).

- **Non ionisables (Non chargées à pH neutre) :** Ces acides aminés qualifiés d'hydrophiles possèdent une chaîne latérale à groupement fonctionnel capable de former des liaisons hydrogène avec des molécules comme l'eau (hydratation) ou avec d'autres résidus polaires.

Sérine, thréonine, asparagine, glutamine, cystéine et tyrosine.

- **Ionisables**

- **Chargées négativement à pH neutre :** Acide aspartique, acide glutamique,
- **Chargées positivement à pH neutre :** Lysine, arginine et histidine.

B- Non polaire : Non chargées à pH neutre (apolaire ou hydrophobe)

Glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, méthionine, phénylalanine, tryptophane et proline.

1-3- 3 En fonction de l'essentialité de l'acide aminé

- Certains aminoacides ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme, et lui sont indispensables (essentiels), ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Chez l'être humain, il y a huit acides aminés essentiels (tryptophane, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine, leucine et isoleucine). L'histidine et l'arginine sont dits semi-essentiels car seuls les nourrissons ont besoin d'un apport exogène (trouvés dans le lait maternel).
- Les acides aminés non essentiels peuvent eux être produits de manière endogène par l'organisme.

I-4. Propriétés physico chimiques des acides aminés

I-4-1 Propriétés physiques

A- Solubilité

La plupart des acides aminés sont solubles dans l'eau et les solvants polaires tels que l'alcool. Cette solubilité est dépendante des propriétés de la chaîne latérale R.

- Elle diminue avec le nombre d'atomes de carbone du radical.
- Augmente si ce radical est porteur de fonction polaire NH₂, COOH ou OH.

Les acides aminés sont insolubles dans les solvants organiques non polaires (benzène, éther...)

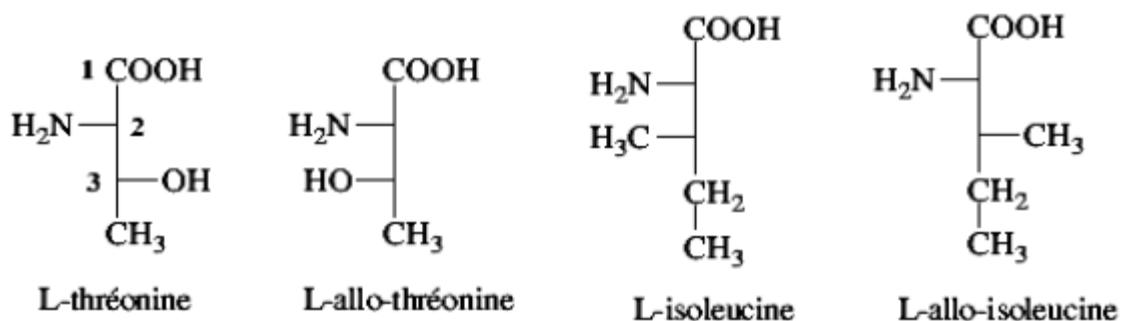
B- Stéréo-isomérie et pouvoir rotatoire des acides α aminés

- ❖ Tous les acides aminés ont au moins un carbones asymétriques (le carbone α : carbone lié à quatre substituant différents), à l'exception de la glycine qui ne comporte pas de carbone asymétrique (le carbone est lié à deux molécules d'hydrogènes).
 - L'atome de carbone asymétrique est appelé centre de chiralité.
- ❖ les acides aminés existent sous la forme de deux énantiomères (deux séries) D et L, selon que le groupe (-NH₂), porté par le carbone α , se trouve soit à droite soit à gauche dans la projection de Fischer (la chaîne carbonée est verticale et vue par sa convexité ; le -COOH, dont le niveau d'oxydation est le plus élevé, est placé vers le haut et le -NH₂ peut alors se situer soit à gauche soit à droite).

En règle générale les acides aminés présents dans les protéines naturelles appartiennent à la série L (Les acides aminés de la série D se rencontrent dans certaines protéines produites par des organismes exotiques (mollusques), peptidoglycane de la paroi bactérienne).

❖ Remarques

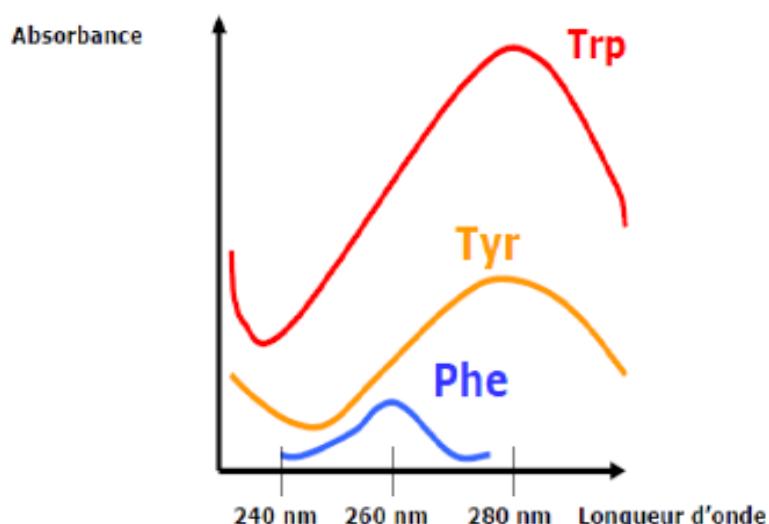
Certains acides aminés possèdent un deuxième carbone asymétrique (carbone 3 (β) de la thréonine et de l'isoleucine): leur énantiomère (L) existera sous deux formes épimères. On affecte le préfixe "**allo**" à l'épimère que l'on ne trouve pas dans les protéines :



- ❖ Les énantiomères possèdent une **activité optique (pouvoir rotatoire)**: c'est la propriété de dévier la lumière polarisée. Placés dans le faisceau d'une lumière polarisée plane, ils provoquent la rotation du plan de polarisation.
- Si la rotation s'effectue dans le sens des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est dextrogyre (d) (+).
- Si la rotation s'effectue dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est lévogyre (l) (-).
- Tous les A.A. sont optiquement actif sauf la glycine.

C- Propriétés spectrales

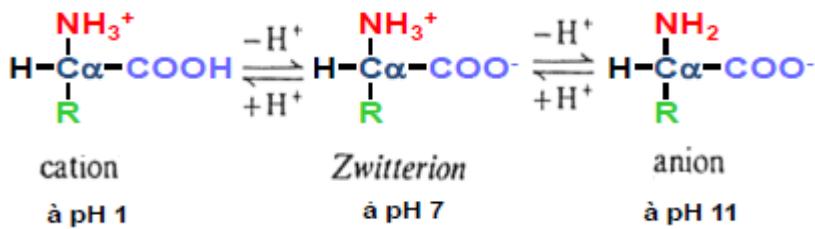
- Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible (400 à 750 nm), leurs solutions sont Incolores.
- Tous les acides aminés absorbent dans l'UV (longueurs d'onde inférieures à 230nm).
- Les acides aminés aromatiques (Phe, Tyr et Trp) ont la particularité d'absorber fortement les rayons ultraviolet (UV) (Trp 278-280nm, Tyr 275nm -280nm, Phe absorbe à 254-260 nm).



D- Propriétés ioniques (ou Propriétés acido basique des acides aminés)

D-1 Ionisation : Les acides aminés sont des molécules amphotères: Ils peuvent agir comme des acides et comme des bases, car tous les acides aminés possèdent au moins deux groupements ionisables : un groupement carboxyle COOH et un groupement amine NH₂.

Donc les acides aminés existent, en solution aqueuse, sous 3 formes possibles (L'ionisation varie avec le PH du milieu) en allant du pH acide au pH basique; on peut schématiser l'évolution des charges d'un acide aminé comme suit :



- **À pH acide (riche en protons H⁺):** le groupe carboxyle –COOH neutre et la fonction amine capte un proton et s'ionise sous forme de cation–NH₃⁺ chargé positivement, l'ensemble ayant une charge électrique globale +1 (l'acide aminé se trouve sous forme de cation).
 - **À pH basique (pauvre en protons H⁺):** le groupe carboxylate s'ionise en –COO⁻ chargé négativement en libérant un proton et un groupe amine NH₂ neutre, l'ensemble ayant une charge électrique globale –1 (l'acide aminé se trouve sous forme d'anion).
 - **À un pH proche du pHi:** le groupement carboxylique –COOH est chargé négativement et le groupement amine–NH₂ est chargé positivement, l'ensemble étant globalement neutre: ion dipolaire ou Zwitterion charge nette est nulle = 0.

D-2 Le pHi: pH isoélectrique ou point isoélectrique: c'est le pH pour lequel on a un ion dipolaire ou zwitterion de charge nulle; lorsqu'il est placé dans un champ électrique, il ne migre pas.

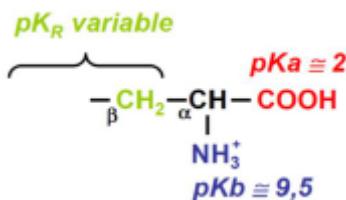
- pour un **pH inférieur à la valeur du pHi**, la charge nette moyenne de l'aminoacide est **positive** et il migre vers la **cathode**.
 - pour un **pH supérieur à la valeur du pHi**, la charge nette moyenne de l'aminoacide est **négative** et il migre vers la **anode**.

D-3 Le zwittérion: possède autant de charges positives que de charges négatives, par

- Le groupement carboxylique chargé négativement
 - Le groupement aminé, chargé positivement
 - Les groupements ionisables de leurs chaînes latérales.

Le pH_i se calcule en faisant la moyenne des pK autour de la forme zwitterion.

D-4 Le pK : de part et d'autre du pH_i on définit les pK qui sont les pH pour laquelle 50% des molécules ont un groupement dissocié et 50% ont un groupement non dissocié (50% d'une fonction d'un couple est sous forme acide et 50% sous forme basique).



Il existe deux Pk :

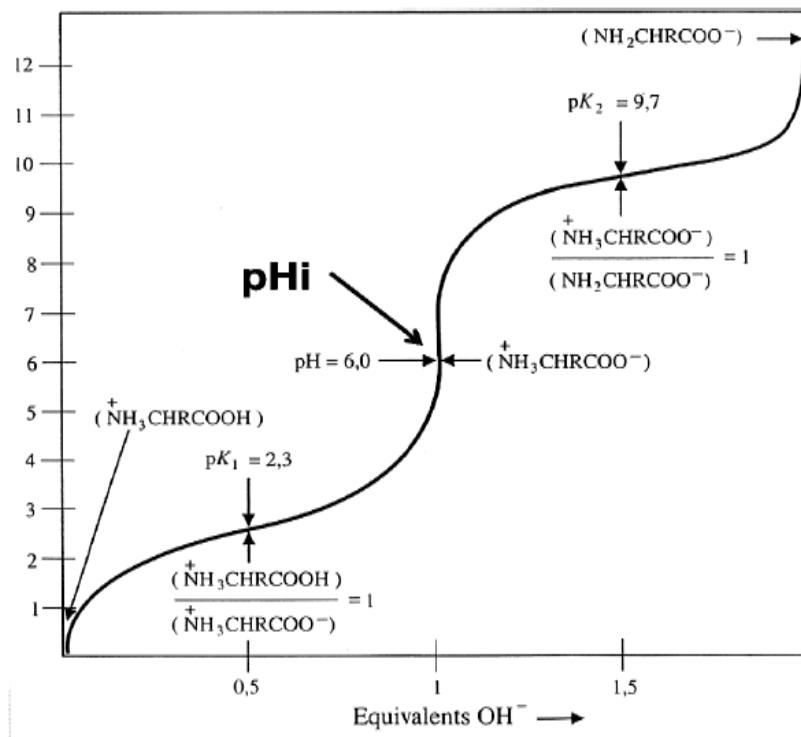
- **Le pka (pK1) ou pk cooH :** c'est le pH de demi-dissociation de la fonction acide R-COOH (50%) ; R-COO- (50%).
- **Le Pkb (pK2) ou PK NH2 :** c'est le pH de demi-dissociation de la fonction amine R-NH2 (50%) ; R-NH3+ (50%).

Le pH_i d'un aminoacide neutre (monoamine monoacide) est: $\text{pH}_i = (\text{pKa} + \text{pKb})/2$

Le pH_i d'un aminoacide acide (monoamine diacide) est : $\text{pH}_i = (\text{pKa} + \text{pKr})/2$

Le pH_i d'un aminoacide basique (diamine monoacide) est : $\text{pH}_i = (\text{pKb} + \text{pKr})/2$

- Une courbe de titration, peut être tracée et interprétée en fonction de la variation du PH pour les acides aminés (exemple de lalanine ; un acide aminé neutre).



- Les valeurs de pK des 20 α aminoacides des protéines sont données dans le Tableau.

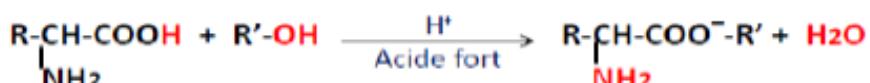
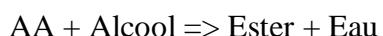
Nom	Code	pKa du COOH	pK _b du NH ₃	pK _R de la chaîne latérale
Alanine	ALA	2,3	9,7	-
Arginine	ARG	2,2	9,0	12,5
Asparagine	ASN	2,0	8,8	-
Acide Aspartique	ASP	2,1	9,8	3,9
Cystéine	CYS	1,8	10,8	8,3
Glutamine	GLN	2,2	9,1	-
Acide Glutamique	GLU	2,2	9,7	4,2
Glycine	GLY	2,3	9,6	-
Histidine	HIS	1,8	9,2	6,0
Isoleucine	ILE	2,4	9,7	-
Leucine	LEU	2,4	9,6	-
Lysine	LYS	2,2	9,0	10,0
Méthionine	MET	2,3	9,2	-
Phénylalanine	PHE	1,8	9,1	-
Proline	PRO	2,0	10,6	-
Sérine	SER	2,2	9,2	-
Thréonine	THR	2,6	10,4	-
Tryptophane	TRP	2,4	9,4	-
Tyrosine	TYR	2,2	9,1	10,1
Valine	VAL	2,3	9,6	-

I-4-2 Propriétés chimiques

A -Propriétés dues au groupement carboxylique COOH

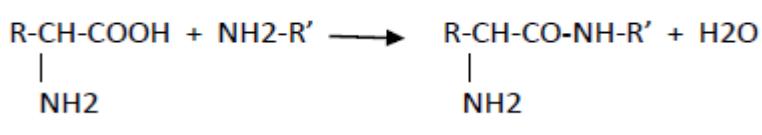
A1-Estérification par un alcool

La fonction acide peut être estérifiée par des alcools dans un milieu acide fort et donne des esters.



A2- Formation d'amide (liaison peptidique)

Réaction du groupement carboxylique d'un aminoacide avec NH₂ conduit à un amide (liaison CO—NH).



Acide aminé

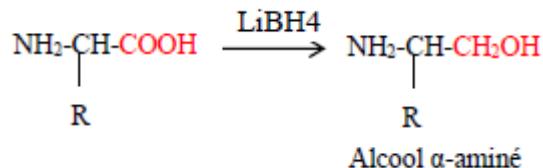
Amine

Amide

- Lorsque le groupement amine est fourni par un autre acide aminé, il se forme une **liaison peptidique**.

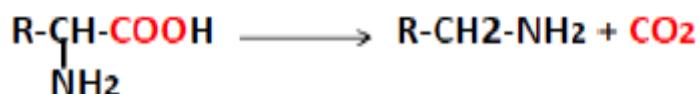
A3- Réduction

La fonction acide peut être réduite en fonction alcool, en présence de LiBH₄ ou NaBH₄ ou par voie enzymatique. Le produit obtenu est un alcool α -aminé.



A4- Décarboxylation

La décarboxylation, est une élimination du di-oxyde de carbone (CO₂) d'un acide aminé et formation d'amine.



Elle peut se faire par deux voies :

- **Chimique:** par chauffage en présence de Ba(OH)₂.
- **Enzymatique :** dans la cellule elle est catalysée par des **décarboxylases** cellulaires et conduisant ainsi à la formation des **amines** qualifiés de biogènes car doués d'une activité physiologique considérable comme ils peuvent être toxiques (lysine est dégradé par lysine décarboxylase et donne cadavérine; toxicité des viandes contaminées).

Exemple des amines biologiques actives:

- La **sériste** donne l'**éthanolamine** (précurseur de la choline)
 - L'**histidine** donne l'**histamine** (vasodilatateur de la réaction allergique ou inflammatoire).
 - L'**acide glutamique** donne l'**acide gamma-aminobutyrique "GABA"** (neurotransmetteur).
 - **Tryptophane 5hydroxy tryptophane** donne **sérotonine** (action sur la tension artérielle).
- Cette réaction permet le dosage des AA par mesure du CO₂ dégagé.

B-Propriétés dues au groupement amine NH₂

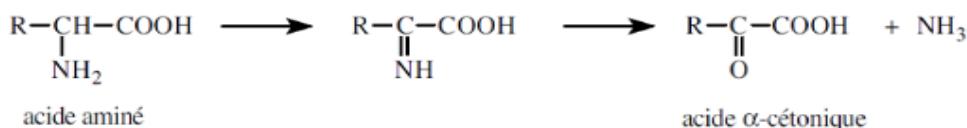
B1- Formation d'imine (base de Schiff)

Il s'agit d'une réaction entre la fonction amine et l'oxygène d'une fonction aldéhyde pour donner une imine.

La proline dotée d'une fonction amine secondaire ne réagit pas.

B2- Désamination

Réaction au cours de laquelle, l'acide aminé perd son groupement sous forme de NH₃. Elle peut être réalisée par voie chimique (acide nitreux HNO₂) ou enzymatique (L-glutamate déshydrogénase et l'acide aminé oxydase).

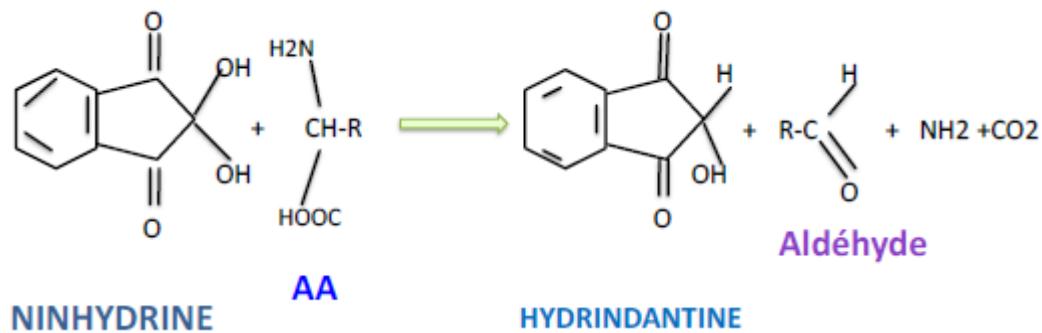


C- Réactions liées au groupe COOH et NH 2

C1- Réaction avec la ninhydrine

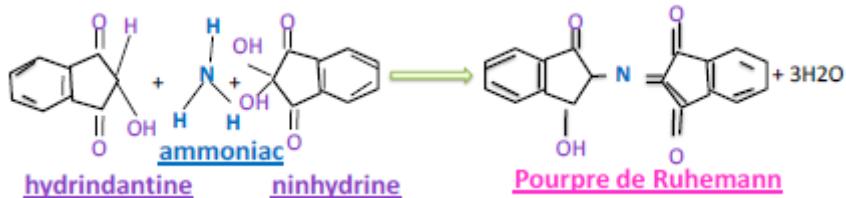
La **ninhydrine** est un **composé aromatique** et un puissant oxydant. En réagissant avec les amines primaires, elle génère une coloration pourpre et avec les amines secondaires (cas de la proline) une coloration jaune. La réaction comporte plusieurs étapes.

Dans un premier temps, La désamination oxydative des AA conduit à l'aldéhyde correspondant avec libération d'ammoniac, de CO₂ et formation de Ninhdrine réduite (Hydrindantine).



Dans un second temps l'ammoniac réagit avec l'hydrindantine et une autre molécule de ninhydrine pour donner un composé bleu violacé: pourpre de Ruhemann qui absorbe à 570 nm (réaction colorimétrique extrêmement sensible pour le dosage des AA).

- La réaction à la Ninhydrine se déroule à chaud. Il y'a consommation de deux molécules de ninhydrine. La réaction à la ninhydrine permet le dosage et l'identification des A.A.



Les imino acides donnent un composé jaune dont le maximum d'absorption de la solution se situe au voisinage de 440nm.

I-5 Méthodes d'études des acides aminés

Différentes méthodes sont utilisées pour la séparation et l'évaluation qualitative et quantitative des acides aminés.

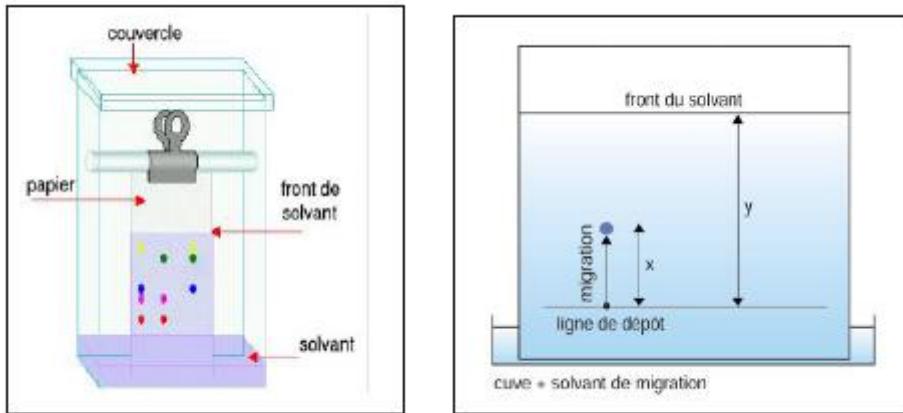
A- Chromatographie sur papier

Le principe général de cette technique est basé sur les différences de solubilité des acides aminés dans un solvant aqueux et le solvant organique. Le support de migration est une feuille de papier imprégnée d'eau : **phase stationnaire**. On dépose quelques gouttes d'une solution contenant le mélange d'A.A (composition inconnue) et des standards (composition connue) à environ 2cm de l'extrémité de la feuille de papier. Après séchage, cette extrémité du papier est plongée dans le solvant préparé à partir de composants aqueux et organiques (**phase mobile**).

Le solvant imprègne par capillarité le papier et va entraîner les A.A. du mélange à des vitesses différentes dépendantes de leur solubilité relative entre les deux solvants: plus l'A.A. est soluble dans la phase mobile, plus il migre plus loin. Enfin de migration, on fait la révélation des taches de l'échantillon (par la ninhydrine) et on caractérise chaque A.A. par le rapport de la distance parcourue par l'A.A. sur la distance parcourue par le solvant seul. Ce rapport est appelé: rapport frontale ou R_f . **$R_f = x/y$**

x : distance parcourue par l'A.A.

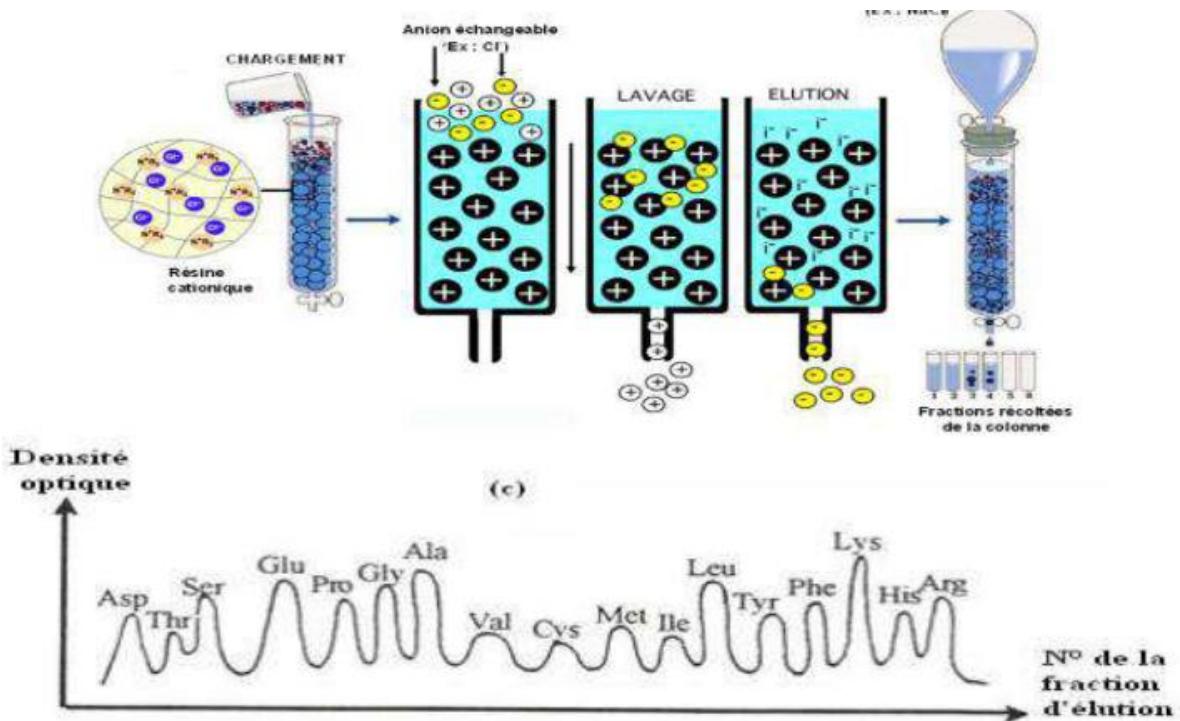
y: distance parcourue par le solvant.



B- Chromatographie échangeuse d'ions

Elle sépare les acides aminés en fonction de leur pHi ou en fonction de la force ionique.

- **La phase stationnaire:** est une colonne contenant des billes de résine :
 - Soit une **résine échangeuse de cations** (à charges négatives).
 - Soit une **résine échangeuse d'anions** (à charges positives).
- **La phase mobile:** Eluant (une solution) versée en haut de la colonne.
 - ❖ On remplit une colonne de verre avec la résine (anionique ou cationique). Le mélange d'A.A. à séparer est mis dans un tampon de pH acide ou basique (selon la nature de la résine). Le mélange est ensuite déposé au sommet de la colonne et entraîné par le tampon pour faciliter l'interaction entre les A.A. et les ions mobiles des groupements chargés de la résine.
 - Pour provoquer l'élution (libération) des A.A., on pratique une élution par gradient : la technique consiste à faire passer un liquide éluant. à chaque fois que le pHi d'un A.A., constituant le mélange, est atteint ce dernier détache de la résine et sort de la colonne.
 - Les acides aminés élués sont ensuite collectés à la sortie de la colonne, colorés à la ninhydrine, leur absorbance est mesurée, le chromatogramme se présente sous forme d'un graphe présentant des pics, chaque pic représentant un acide aminé et la surface de ce pic indiquera la quantité de cet acide aminé.



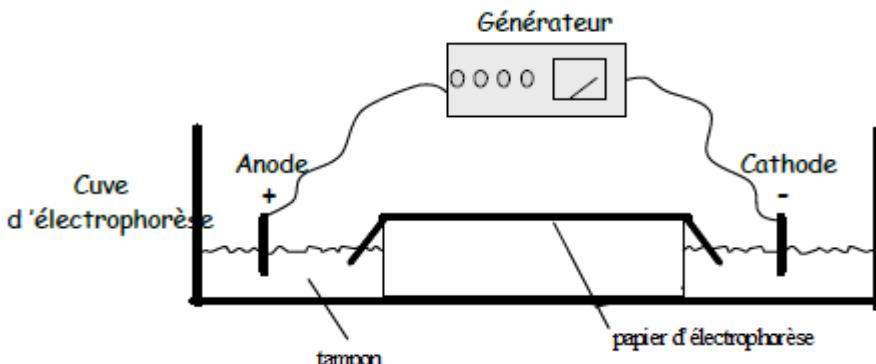
D- Electrophorèse sur papier

C'est une technique de séparation des acides aminés basée sur la différence de la charge électrique selon le pH du milieu.

À un pH donné, les AA chargées électriquement peuvent exister en solution comme cations (+) ou anions (-).

- ❖ La solution du mélange d'acides aminés est placée sur un papier d'électrophorèse spécial qui est humecté par une solution tampon. Le papier est connecté à deux électrodes. Lorsque le courant électrique est établi, les cations (chargés positivement) se déplacent vers l'électrode négative ou cathode (-) et les anions (chargés négativement) se déplacent vers l'électrode positive ou anode.
 - La vitesse de chaque espèce migrante dépend du pH de la solution tampon et du point isoélectrique de l'acide aminé.

Pour établir leur localisation caractéristique, des échantillons d'acides aminés témoins sont traités dans les mêmes conditions. Afin de localiser les acides aminés sur le support celui-ci est séché, reçoit une pulvérisation d'une solution de ninhydrine, puis est chauffé. Des spots bleus indiquant la présence d'un acide aminé sur le support.



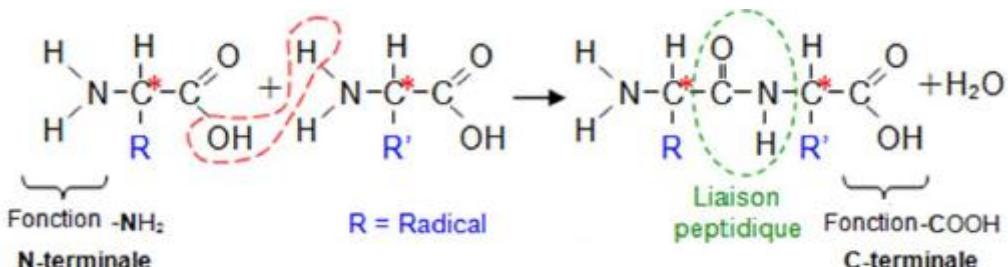
II- Les peptides

II-1 Définition

- Les chaînes peptidiques sont le produit de la polymérisation covalente des aminoacides par une **liaison peptidique**. Elles diffèrent par le nombre, la nature et l'ordre des aminoacides.
- On définit **peptide** : enchaînement d'un nombre d'aminoacide inférieur à 100. Parmi ceux-ci, on parle **d'oligopeptide** pour un nombre d'aminoacides inférieur à 10 et de **polypeptide** pour un nombre supérieur à 10. Au-delà de 100 résidus, ce n'est plus un polypeptide mais une protéine. Mais en générale, l'appellation de protéine est réservée aux peptides de masse moléculaire supérieure à 10000 Dalton.
- Deux ou plusieurs chaînes polypeptidiques peuvent être reliées par des ponts disulfures.

II-2 La liaison peptidique

Les acides amines peuvent se lier les uns aux autres par une liaison peptidique. La liaison peptidique se fait entre le groupement acide (COOH) d'un acide aminé et le groupement amine (NH_2) de l'autre (liaison de type amide). Au cours de la réaction, une molécule d'eau est éliminée (réaction de condensation).



II-3 Nomenclature des peptides

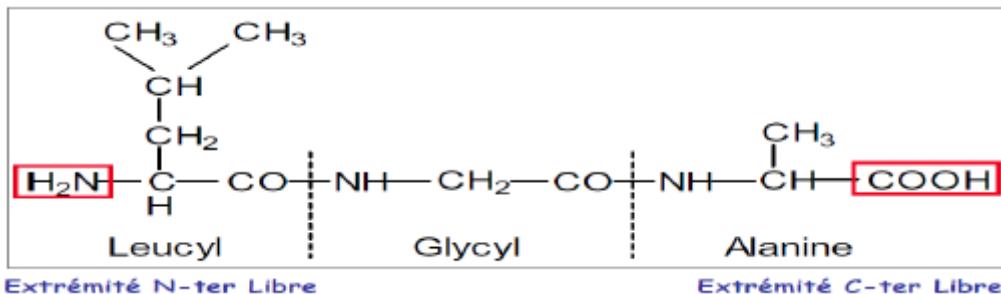
Un AA engagé dans une liaison peptidique est appelé un résidu, il porte le nom de l'AA dont il dérive additionné du suffixe **yl** : exemple lysyl, alanyl ...

Par convention on place à gauche l'AA de la chaîne qui a son groupement α -aminé libre ; cette extrémité est appelée extrémité N-terminale. Le dernier résidu, à droite, extrémité C-

terminale est donc celui qui possède son groupement α -carboxylique libre, il porte le nom de l'AA sans modification.

On numérote les aminoacides en écrivant l'enchaînement de gauche à droite à partir de l'extrémité N-terminal.

Exemple: Leucyl---glycyl-----alanine.
Leu—Gly—Ala



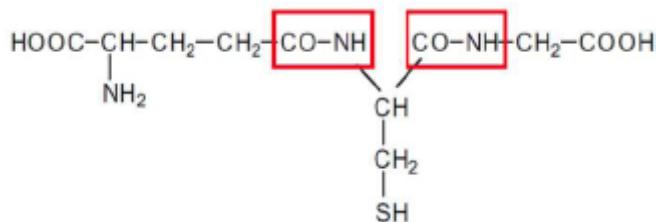
II-4 Comportement acido basique des peptides

Les peptides contiennent seulement une fonction α -amine libre et une fonction α -carboxylique libre au niveau de leur résidus terminaux, ces deux groupements sont ionisables, mais toutes les autres fonctions α -aminiques et α -carboxyliques engagées dans la liaison peptidique ne s'ionisent pas. Cependant les chaînes latérales de certains acides aminés peuvent s'ioniser.

Ainsi le comportement acido basique des peptides est due à la fonction NH₂ et COOH terminal et aux fonctions ionisables de la chaîne latérale R. Les peptides possèdent donc un pH_i.

II-5 Exemples de quelques peptides ayant une importance biologique

A- Le glutathion : Tri peptide glutamyl-cystéinyl-glycine, joue un rôle central dans la défense cellulaire contre le dioxygène et ses dérivés actifs. C'est un couple Réd-Ox (oxydoréduction) très efficace contre les peroxydes.



B- L'insuline : polypeptide formé de deux chaînes (une de 21 et une de 30 aminoacides) liée par des ponts disulfures, qui régule le métabolisme du glucose (hypoglycémie). Elle est sécrétée par les cellules b des îlots de Langerhans.

C- Le glucagon, peptide de 29 aminoacides, qui provoque une augmentation de la glycémie (hyperglycémie).

D- Ocytocine et la vasopressine : Hormones de structure très voisine, fabriquée par la post-hypophyse. L'ocytocine stimule la contraction du muscle utérin alors que la vasopressine augmente la pression sanguine et a une action antidiurétique.

E- Les peptides antibiotiques : Beaucoup d'antibiotiques utilisés en thérapeutique sont des peptides synthétisés en laboratoire. Ces peptides sont de puissants antibiotiques à large spectre qui présentent un potentiel en tant que nouveaux agents thérapeutiques. Toutes les pénicillines contiennent la D penicillamine qui est le dérivé du diéthyle de la D- cystéine.

II-6 Détermination de la structure des chaînes peptidiques

La détermination de la structure des chaînes peptidiques nécessite en premier lieu le clivage des liaisons covalentes puis la détermination de la composition en acides aminés, et enfin la détermination de la séquence des acides aminés (séquençage des acides aminés).

II-6-1 Clivage des liaisons covalentes

A- Rupture des ponts disulfures

Fréquemment les chaînes polypeptidiques sont unies entre elles par des points disulfures. Les liaisons disulfures sont scindées par des agents oxydants tels que l'acide performique ou des agents réducteurs tels que le β mercaptoéthanol.

B- Hydrolyse des liaisons peptidiques

La rupture des liaisons peptidiques qui permet d'obtenir les amino-acides à l'état libre, est réalisée par action chimique ou enzymatique.

B1- Hydrolyse totale acide

L'action de l'acide chlorhydrique (HCl) 6M sur un peptide, à chaud (110°C) pendant au moins 24 heures, aboutit à un **hydrolysat** contenant les aminoacides avec toutefois les restrictions suivantes :

- Par suite de la sensibilité aux acides du noyau indole, le tryptophane est entièrement détruit.
Son dosage nécessite une hydrolyse alcaline.
- les amides (Asn, Gln) sont hydrolysés en ammoniac et acides correspondants (Asp, Glu)
- certains aminoacides (Tyr, Ser, Thr) peuvent être partiellement détruits (un temps d'hydrolyse plus faible permet de résoudre le problème).

B2- Hydrolyse alcaline

Elle se fait en utilisant de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 mol/L à chaud (110°C) pendant 4 à 8h environ.

Inconvénient: L'hydrolyse totale alcaline détruit la sérine, la thréonine, la cystéine, l'Arginine. Cette hydrolyse est limitée à la détermination de la teneur en Tryptophane.

B3- Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes : les peptidases ou protéases bactériennes (un mélange d'endo et d'exopeptidases). Cette hydrolyse est lente et rarement complète. Elle est utilisée pour la détermination de la teneur en Asparagine, en Glutamine et en Tryptophane d'un peptide, (acides aminés détruits par les méthodes chimiques plus sévères).

II-6-2 Détermination de la composition en acides aminés

C'est l'identification des acides aminés constitutifs d'une protéine ou d'un peptide. Cette étape comporte une séparation des acides aminés, du mélange obtenu après hydrolyse totale, par chromatographie sur résines échangeuses d'ions, suivie du dosage de chaque acide aminé par la réaction colorée à la ninhydrine. Ceci donne la composition qualitative et quantitative du peptide (nature des acides aminés et de leur nombre).

II-6-3 Détermination de la séquence des acides aminés (séquençage des acides aminés)

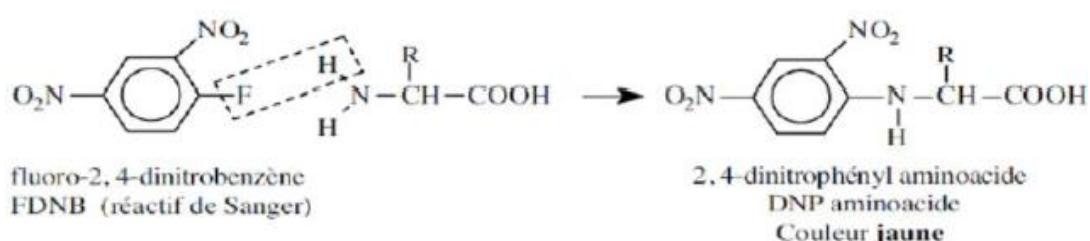
On détermine la séquence en AA en deux étapes :

II-6-3-1 Identification des acides aminés terminaux libres (N et C terminaux).

A- Identification de l'A.A. N-terminal : L'AA N-Terminal est mis en évidence par des méthodes chimiques et enzymatiques :

A1- Technique de Sanger au fluoro 2, 4-dinitrobenzène (FDNB)

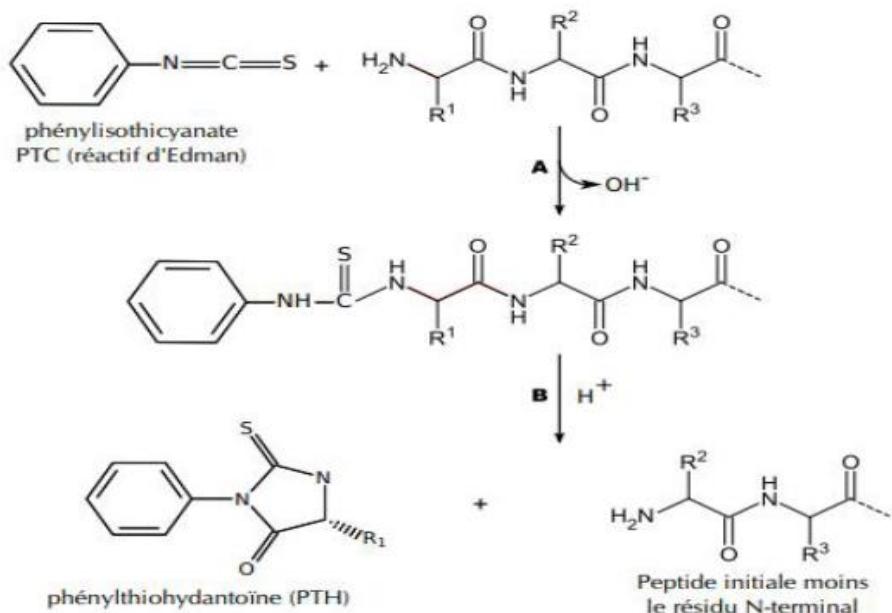
Le FDNB (dinitrofluorobenzene) réagit facilement en milieu alcalin à froid avec les fonctions amines libres pour former, après hydrolyse chimique complète du peptide, le DNP-Aminoacide terminal de coloration jaune est facile à identifier. DNFB + aa → DNP-aa



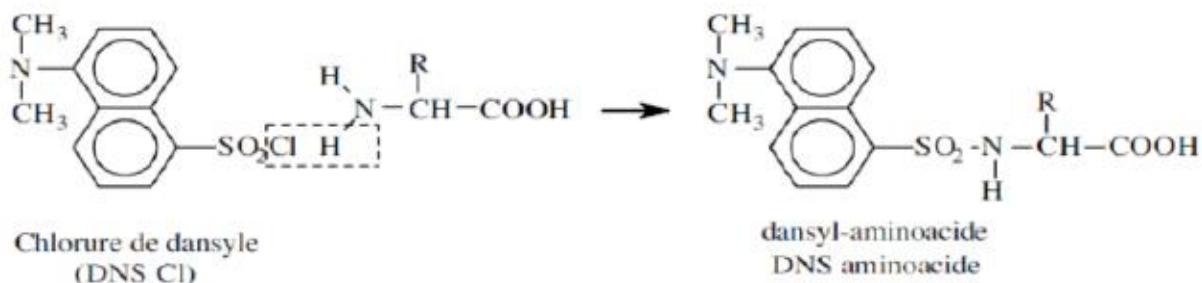
A2- Réaction d'Edman au phenylisothiocyanate: Le phénylisothiocyanate (PTC) réagit avec la fonction aminée (en milieu alcalin faible) N-terminal du peptide pour donner un complexe qui, après action d'un acide dans des conditions douces libère une phénylthiohydantoiné

(PTH-aa1). Seul l'A.A. N-terminal est détaché de la protéine, les autres A.A. restent lier entre eux.

Le grand avantage de la méthode d'Edman est que la chaîne polypeptidique reste intacte et peut être récupérée et soumise à un autre traitement avec le PITC.



A3- Méthode du chlorure de dansyle: le chlorure de dansyl réagit facilement avec le α -NH₂ de l'aa1 (NT) et après hydrolyse chimique complète du peptide, on identifie le dansyl-aminoacide. La présence de lysine dans le peptide va perturber cette méthode puisque la chaîne latérale de ce résidu porte un groupe -NH₂ qui réagira avec le DNS-Cl.



A4- Aminopeptidase: Exopeptidases qui hydrolysent les liaisons peptidiques au niveau du CO de tous les AA N-Terminal ayant un NH₂ libre.

Prolinase : Spécifique de la proline, libère celle-ci lorsqu'elle se trouve à l'extrémité N-terminale.

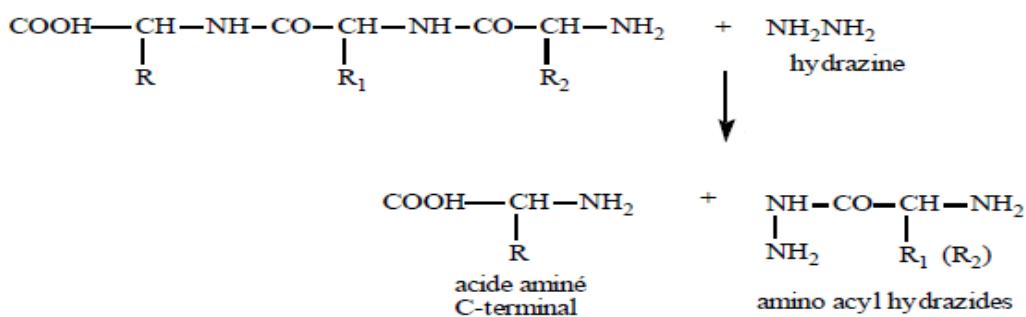
B- Identification de l'A.A. C-terminal

B-1- Traitement par LiBH4 (borohydrure de lithium)

Le LiBH4 réduit la fonction carboxylique terminale en fonction alcool primaire. Après hydrolyse acide, on obtient un mélange d'acides aminés libres et un dérivé d'alcool aminé qui sera facilement identifié par chromatographie.

B-2 Traitement par l'hydrazine (NH₂—NH₂)

L'hydrazinolyse consiste à traiter le peptide par l'hydrazine à 100°C, les liaisons peptidiques sont rompues et les acides aminés apparaissent sous forme d'acido acyl d'hydrazides sauf l'AA C-Terminal dont le groupement carboxylique libre n'est pas attaqué et qui peut alors identifié.



B3- Les carboxypeptidases hydrolysent les liaisons peptidiques à partir du résidu C-terminal.

II-6-3-2 Détermination des AA intra-chaines (Fragmentation des chaînes peptidique)

Si la chaîne peptidique est trop longue, il faut au préalable la fragmenter en chaînes plus courtes qui seront analysées séparément. Elle est réalisée par différentes méthodes :

A-Le bromure de cyanogène (CNBr): il provoque la rupture de la liaison peptidique lorsque le CO est attaché à la méthionine (coupe après MET).

B -le mercaptoéthanol : clive le pont disulfure.

C-Les endopeptidase

C1- La trypsine: Enzyme pancréatique qui coupe spécifiquement du côté CO de lysine ou arginine à condition qu'ils ne soient pas suivis d'une proline (Coupe après Lys et Arg).

C2- La chymotrypsine: Elle hydrolyse la liaison peptidique lorsque le CO est apporté par tyrosine, tryptophane et phénylalanine à condition qu'ils ne soient pas suivis d'une proline (Coupe après les acides aminés aromatiques).

C3- La thermolysine: Elle coupe la liaison peptidique lorsque le NH est apporté par leucine et isoleucine à condition qu'ils ne soient pas précédés d'une proline (coupe avant LEU et ILEU).

C4- Pepsine : (N) : coupe avant les acides aromatiques PHE, TRP, TYR (sauf si PRO à gauche).

III- Protéines

III-1 Définition

Les protéines sont des macromolécules de type polymère composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés (chaines polypeptidiques). Toutes les protéines sont construites à partir de 20 acides aminés, leurs séquences spécifiques sont codées par les gènes.

La séquence des acides aminés détermine la structure primaire de la protéine, la configuration de la chaîne peptidique dans l'espace détermine les structures secondaires et tertiaires, l'association de plusieurs chaînes peptidiques détermine la structure quaternaire.

III-2 Importance biologique

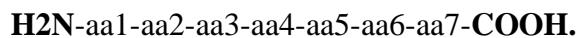
Les protéines sont des biomolécules de première importance :

- sur le plan quantitatif : elles représentent de 55 à 85% du poids sec de la cellule. C'est donc après l'eau le principal constituant de l'organisme ;
- sur le plan qualitatif : elles participent à presque toutes les fonctions cellulaires. Leurs rôles sont multiples :
 - . Rôle structural : elles soutiennent et protègent les structures biologiques, c'est le cas du collagène du tissu conjonctif, les protéines du cytosquelette (actine, tubuline) qui sont responsables de la forme des cellules.
 - . Rôle de catalyseur biochimique: les enzymes catalysent la quasi-totalité des réactions biochimiques.
 - . Rôle de transporteur : l'hémoglobine transporte le dioxygène des poumons vers les tissus et le CO₂ des tissus vers le poumon. Les protéines assurent également le transport membranaire des molécules, elles contrôlent les échanges entre la cellule et le milieu extracellulaire. C'est le cas des pompes Na⁺- K⁺ ATP-dépendantes.
 - . Rôle de régulation : Les protéines participent à la communication intra et intercellulaire qui permet la coordination du métabolisme au niveau de la cellule et entre les différents niveaux de l'organisme. C'est le cas des hormones et leurs récepteurs.
 - . Rôle de protection et de maintien de l'intégrité de l'organisme : les immunoglobulines jouent un rôle capital dans la défense immunitaire.
 - . Rôle de mouvement : l'actine et la myosine sont les protéines de la contraction musculaire.
 - .Rôle dans la production de l'énergie : en cas de besoin.

III-3- Niveaux d'organisation des protéines

Les caractéristiques spatiales des protéines sont la clé de leurs fonctions. La structure des protéines est définie à plusieurs niveaux :

1- Structure primaire : C'est une séquence linéaire qui résulte de l'enchaînement successif des acides aminés (dont le nombre est supérieur à 100) reliés entre eux de façon covalente par liaison peptidique (liaison amide) selon une séquence de codons d'ARNm suite à la traduction de l'information contenue dans le gène codant.



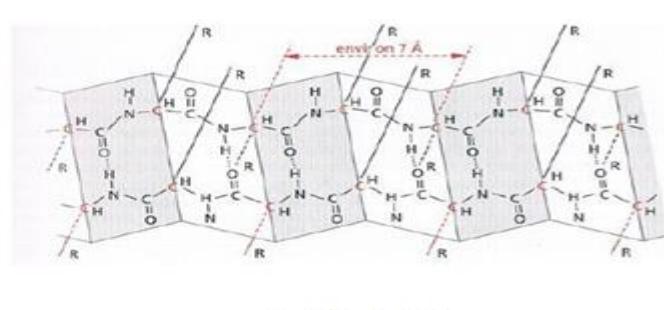
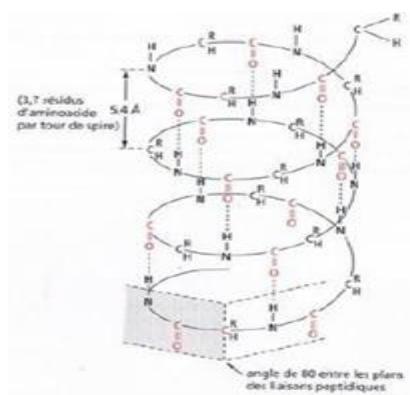
2- Structure secondaire

Premier stade de l'organisation dans l'espace d'une chaîne peptidique.

Une chaîne d'AA possède au niveau des liaisons peptidique de nombreux groupements $-\text{CO}-$ et $-\text{NH}-$ ceux-ci peuvent établir en eux dans l'espace des liaisons hydrogène et former une structure secondaire.

Les structures secondaires (stables) les plus fréquentes sont l'hélice α , le feuillet plissé β .

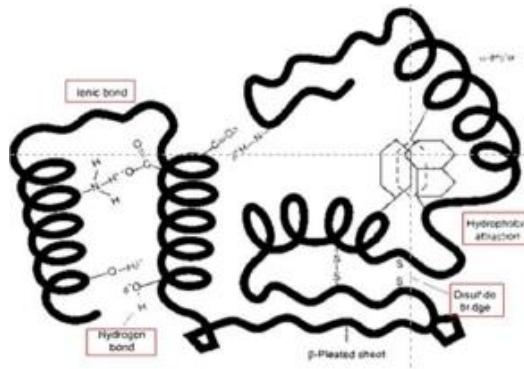
- Dans l'hélice alpha, la chaîne primaire s'enroule sur elle-même puis est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ.
- Le feuillet plissé bêta (β) est une autre structure secondaire, où les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante. Dans ce type de structure secondaire, les liaisons hydrogène peuvent unir différentes parties d'une même chaîne qui s'est repliée sur elle-même en accordéon ou encore différentes chaînes polypeptidiques.



3- Structure tertiaire

La structure tertiaire consiste en une organisation des structures secondaires entre elles dans les trois dimensions. Cela implique l'apparition de liaisons hydrogène, ioniques, de forces hydrophobes et parfois de ponts disulfure.

La structure tertiaire correspond à la structure tridimensionnelle de la protéine.



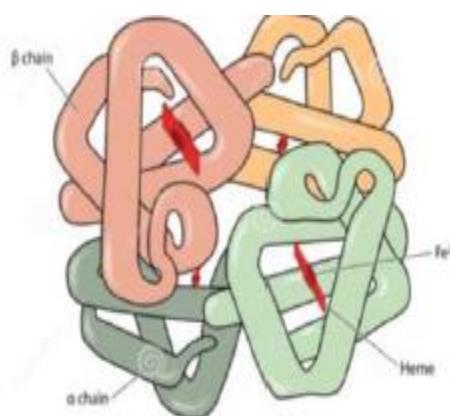
4- Structure quaternaire

Plusieurs sous-unités tridimensionnelles (structures tertiaires) s'assemblent pour former des unités fonctionnelles beaucoup plus grandes (enzymes, ribosomes et des fibres protéiques).

- Les chaînes qui constituent ce complexe sont des protomères ou sous-unités, chacune ayant une structure tertiaire définie.
- L'association des différentes sous-unités se fait via des liaisons faibles et parfois aussi via des ponts disulfures.

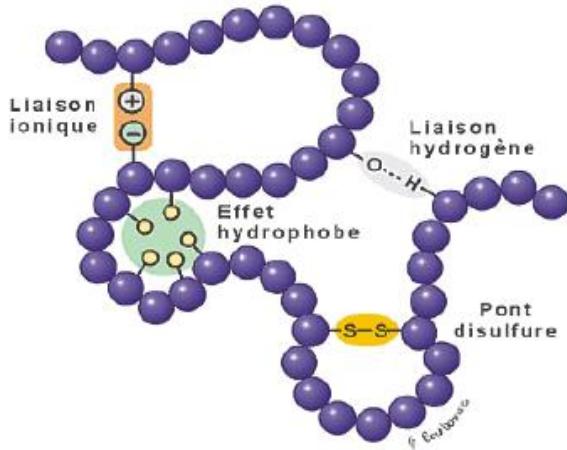
Exemple : l'hémoglobine

L'hémoglobine est une protéine à structure quaternaire, elle contient quatre sous-unités polypeptidiques, deux alpha et deux bêta, qui travaillent ensemble pour transporter l'oxygène vers les poumons et les tissus. Chaque sous unité est associée à un groupe hémique. Ces groupes sont constitués de fer, ce qui donne au sang sa couleur rouge.



❖ Les différents types de liaisons ou forces impliquées dans la structuration des protéines

- **Structure primaire:** liaisons peptidiques (covalentes), les ponts disulfure.
- **Structures II, III et IVaires :** liaisons faibles éventuellement covalentes. Les liaisons hydrogène, les liaisons ioniques, les forces hydrophobes et les ponts disulfures.



III-4 Classification des protéines

A- Classification selon la composition

Les protéines sont classées selon leur composition en :

- **holoprotéines :** constituées uniquement d'acides aminés ;
- **hétéroprotéines :** dont la molécule comporte en plus de la partie protéique (apoprotéine), une partie non protéique (appelée groupements prosthétiques) qui peut être de nature :
 - Glucidique → glycoprotéine ;
 - Lipidique → lipoprotéine ;
 - Ion métallique → métalloprotéine ;
 - Pigment → chromoprotéine.

B- Classification selon la forme tridimensionnelle

Les protéines sont classées selon leur forme tridimensionnelle en : Protéines globulaires et Protéines fibreuses.

B1- Protéines globulaires : sont formées de chaînes polypeptidiques étroitement enroulées en une structure compacte, sphérique ou globulaire.

A cette catégorie appartiennent les enzymes, les hormones, les anticorps, protéines de transport (hémoglobine) ...etc.

B2- Protéines fibreuses : Les chaînes polypeptidiques sont allongées et enroulées autour d'un axe sous une forme hélicoïdale.

La plus part des protéines fibreuses ont un rôle structural ou de protection. Parmi les protéines fibreuses deux catégories prédominent : La kératine et Le collagène.

La kératine : c'est une protéine résistante retrouvée chez les vertébrés supérieurs, constituant principal de la couche cornée externe de l'épiderme, ongles, cheveux, cornes et plumes.

Le collagène : Le collagène est très répandu dans le règne animal. C'est la principale protéine des tissus conjonctifs (tendons, cartilage et la cornée de l'œil) et du squelette des vertébrés.

III-5 Dénaturation des protéines

- La dénaturation est une désorganisation de la structure interne (structures secondaire, tertiaire, quaternaire) des édifices protéique sans rupture de liaison peptidique, ce qui la différencie de l'hydrolyse.
- Le maintien des structures secondaire, tertiaire, quaternaire des protéines est responsable de leur activité biologique, il est assuré par des liaisons de faible énergie. Si ces liaisons sont rompues, la protéine va perdre son activité et certaines propriétés: elle est dénaturée.
- La dénaturation peut être provoquée par toute une variété d'agents physiques ou chimiques: chaleur, radiations ultra-violettes et ionisantes, les variations de pH, les détergents, les solutions d'urée, les solvants organiques. La dénaturation est parfois irréversible, parfois réversible après élimination de l'agent dénaturant.
 - la chaleur entraîne une perturbation des liaisons hydrogène et provoque la coagulation des protéines (c'est le cas de l'ovalbumine lors de la cuisson du blanc d'œuf). La plupart des protéines sont dénaturées vers 45°C.
 - un pH très acide ou très alcalin dénature les protéines par perturbation des liaisons ioniques. L'acidité gastrique permet une dénaturation des protéines alimentaires, ce qui facilite leur digestion par la pepsine.