

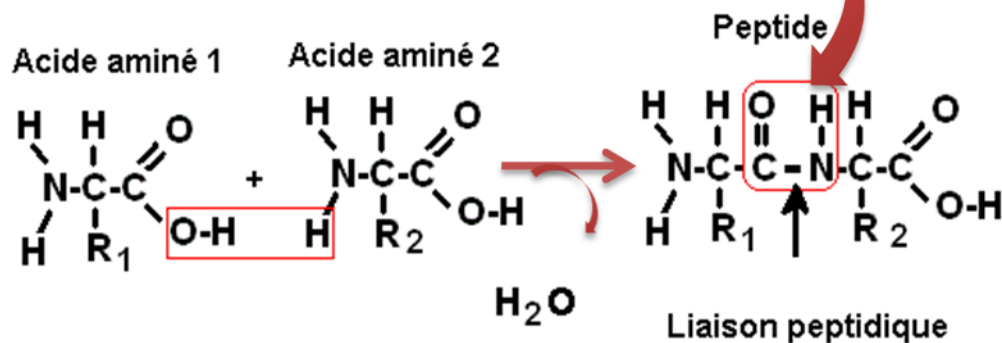
Protéines

Classes protides

C, H, O, N
souvent S,
parfois P, Zn, Fe, Cu.

1 ou plusieurs chaînes → une vingtaine d'acides aminés appartenant à la série L

liés entre eux par des liaisons amides : les liaisons peptidiques





• Protides non hydrolysables

Issus des protides hydrolysables dans des conditions bien définies (HCl 6N, 24 h ou plus, 110°C)

• Protides hydrolysables

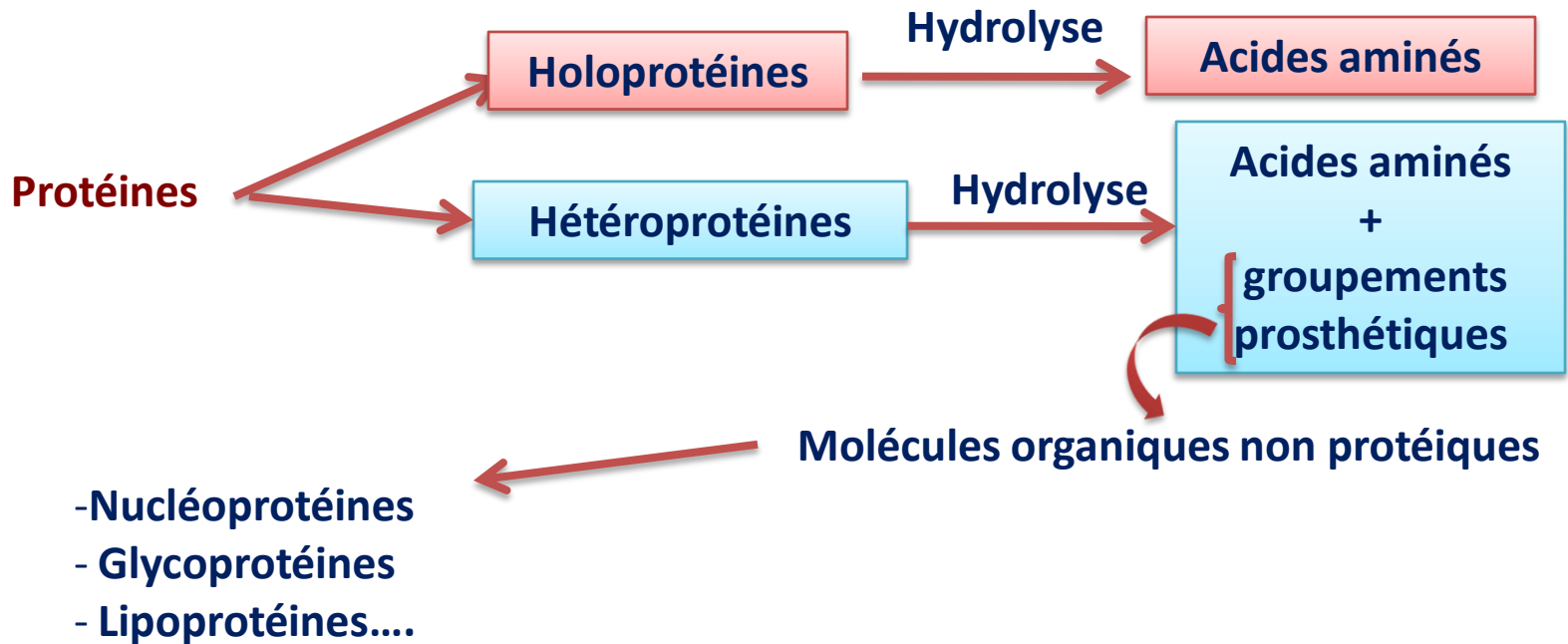
➤ Peptides



Polypeptides → >10 mais < 100 acides aminés

Certains sont cycliques (tyrocidine, gramicidine etc).

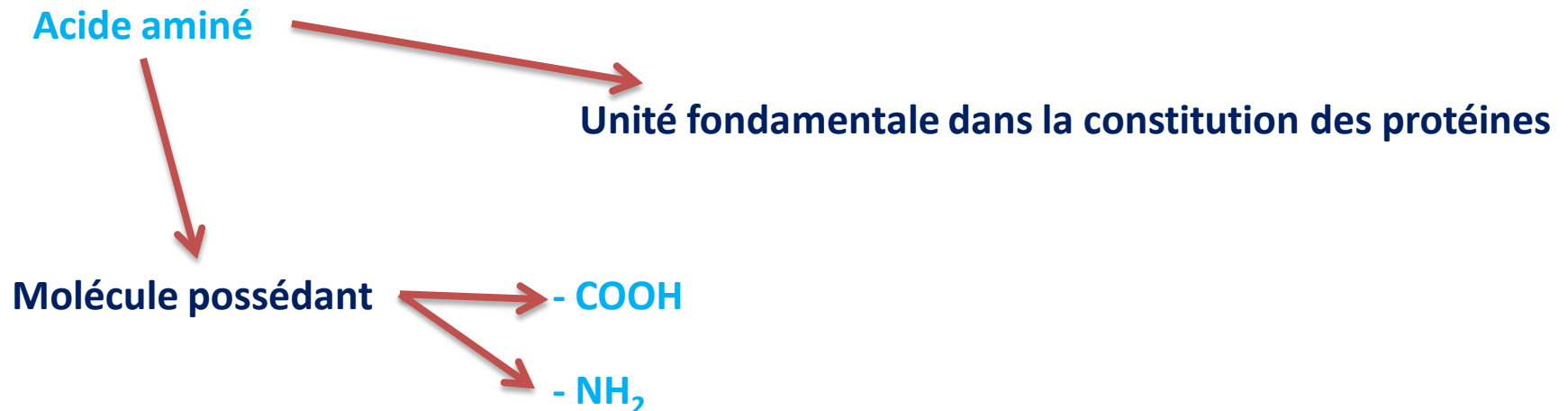
Protéines → >100 acides aminés



Fonctions des protéines

- Catalyse → Protéines enzymatiques → la + importante classe
- Réserve (ovalbumine de l'œuf)
- Structure (collagène de l'os...)
- Transport (albumine, hémoglobine...)
- Protection et défense (anticorps, , prots de coagulation...)
- Hormonale (insuline, glucagon...)

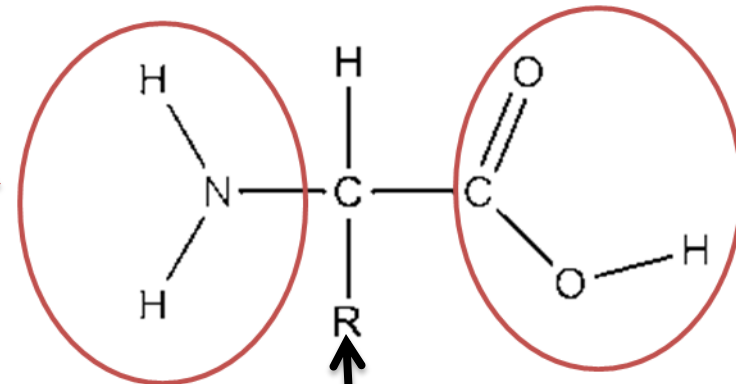
Acides aminés



Sont au nombre de 20

Glycine

Exemple: $R = H$

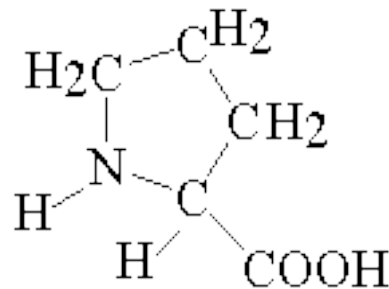


Fonction
amine

Fonction
carboxylique

se distinguent par leur chaîne latérale R
(chaîne aliphatique, cycle, hétérocycle)

Exception faite pour la proline



α iminoacide

proline

Les 20 acides aminés

Acide glutamique	Glu	E
Acide aspartique	Asp	D
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I

Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

Classification des acides aminés

1. Classification en fonction des groupements chimiques présents dans le R

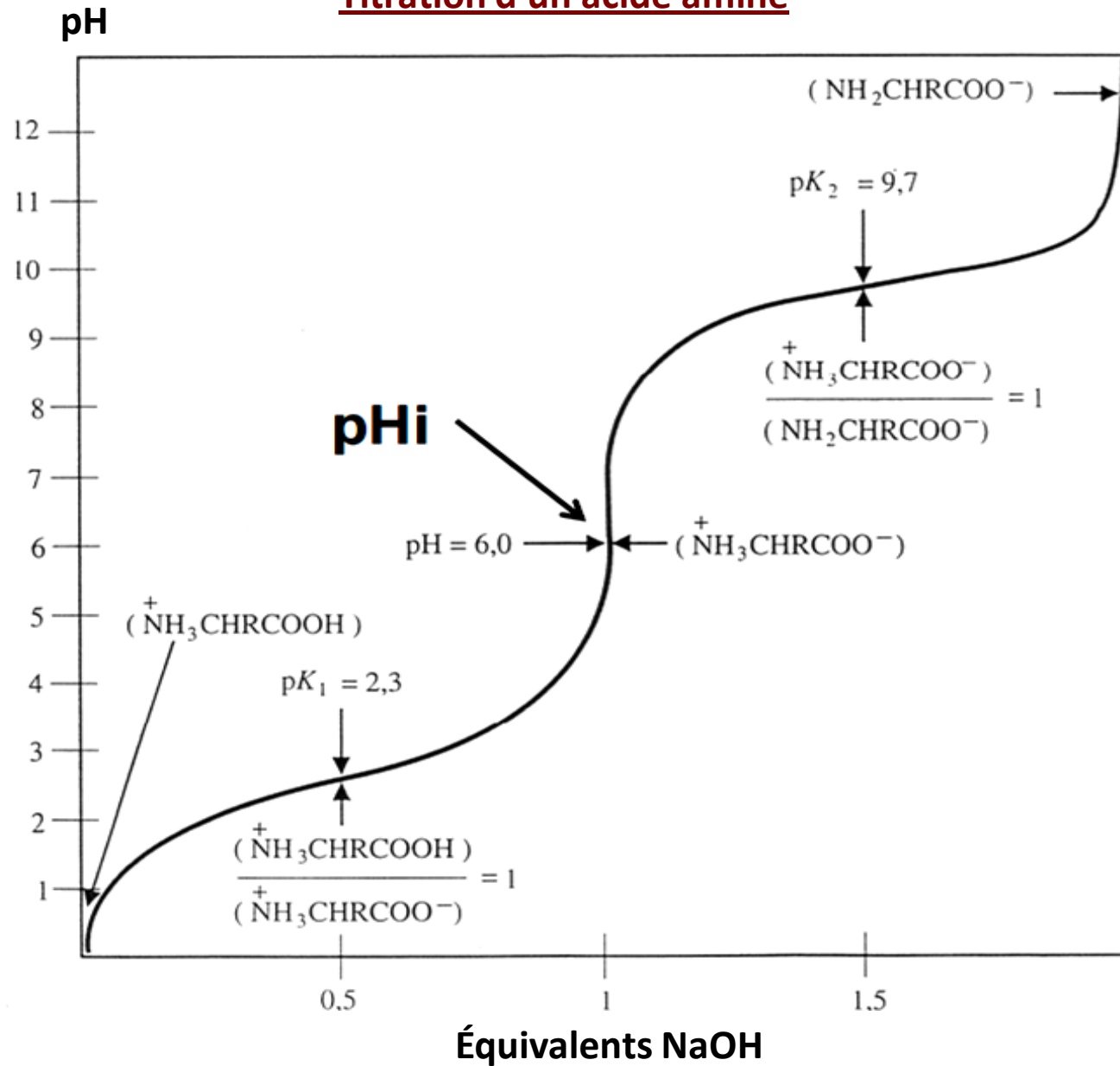
1. Acides aminés à chaîne aliphatique simple: **Gly, Ala, Val, Leu, Ile**
2. Acides aminés à chaîne aliphatique alcool: **Ser, Thr**
3. Acides aminés à chaîne aliphatique soufrées: **Cys, Met**
4. Acides aminés à chaîne aliphatique diacides et leurs amines: **Glu, Asp, Asn, Gln.**
5. Acides aminés à chaîne aliphatique diamines: **Lys, Arg.**
6. Acides aminés aromatiques: **Phé, Tyr, Trp**
7. Acides aminés hétérocycliques: **His, Pro.**

2. Classification en fonction des propriétés chimiques du R (caractère polaire)

1. Acides aminés à chaîne latérale non polaire hydrophobe
2. Acides aminés à chaîne latérale polaire non chargée
3. Acides aminés à chaîne latérale chargée positivement (aminoacides basiques)
4. Acides aminés à chaîne latérale chargée négativement (aminoacides acides)

<p>Cas à part</p> <p>Glycine (G, Gly)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$		<p>Sérine (S, Ser)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p>Hydroxyl-</p>	<p>Thréonine (T, Thr)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	<p>Asparagine (N, Asn)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$ <p>Amido-</p>	<p>Glutamine (Q, Gln)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	Polaires et non-chargés
<p>Acide glutamique (E, Glu)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$ <p>Négativement</p>	<p>Acide aspartique (D, Asp)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$	<p>Lysine (K, Lys)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ \end{array}$	<p>Arginine (R, Arg)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	<p>Histidine (H, His)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{NH} \\ \quad \\ \text{C}-\text{N}^+ \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$ <p>Positivement</p>	Polaires et chargés	
<p>Méthionine (M, Met)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Contenant du soufre</p>	<p>Cystéine (C, Cys)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$	<p>Tryptophane (W, Trp)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{CH} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{NH} \end{array}$	<p>Phénylalanine (F, Phe)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	<p>Tyrosine (Y, Tyr)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Aromatiques</p>	Non-polaires	
<p>Alanine (A, Ala)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Aliphatiques</p>	<p>Valine (V, Val)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	<p>Leucine (L, Leu)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	<p>Isoleucine (I, Ile)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ ^+\text{H}_3\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HC} \cdot \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	<p>Proline (P, Pro)</p> $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{HN}-\text{C}-\text{H} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \end{array}$	Non-polaires	

Titration d'un acide aminé



- Le point d'inflexion du premier segment correspond au pK_1 (dissociation du premier H^+ (à partir du groupement carboxylique): C'est le point de demi-titration de la première fonction acide de l'aa.
- Le point d'inflexion du deuxième segment correspond au pK_2 (dissociation du deuxième H^+ (à partir du groupement amine): C'est le point de demi-titration de la deuxième fonction acide de l'aa.

Remarque: Lorsque toutes les charges portées par un acide aminé s'équivalent il atteint son point isoélectrique (P_i ou pH_i) à ce pH il est le moins soluble

$$pH_i = (pK_1 + pK_2)/2$$

Ceci est vrai, quand l'aa ne possède aucun groupement acide ou amine supplémentaire dans son R

3. Classification des aa en fonction du système de transport à travers les membranes

Leur système d'incorporation nécessite 4 systèmes de transport = 4 classes d'Aa

1. Aa neutres

13 Aa: fonction NH_2 et COOH attachées au même C (nécessaire pour leur reconnaissance)

 Ala, Val, Leu, Ile, Phé, Trp, Met, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln

2. Aa dibasiques

3 Aa: 2 fonctions NH_2  Lys, Arg, His

3. Aa Hétérocycliques

Leur azote (N) du groupement NH_2 fait partie d'un cycle  Pro, HydroxyPro

4. Aa diacides

2 Aa: 2 fonctions COOH  Glu, Asp

Remarque

l'hydroxyproline et l'hydroxylysine de collagène sont également des Aa rares.

Chez l'homme 8 aa sont indispensables, mais il ne peut pas les synthétiser, sont apportés par l'alimentation: **Leu, Ile, Lys, Met, Phé, Thr, Trp et Val.**

Remarque

D'autres acides aminés sont rencontrés dans les cellules qui sont des dérivés de α aa, β aa, δ aa ou ϖ aa.

Exemple



Propriétés physiques des acides aminés

1. Solubilité

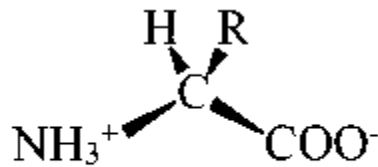
- Solubles dans l'eau (faiblement autour de leur pHi)
- Très soluble en milieu alcalin (formation de sels) et faiblement dans l'alcool
- Leur solubilité dans les solvants apolaire dépend de leur chaîne latérale

2. Spectre d'absorption

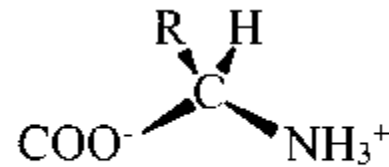
- La plus grande partie des acides aminés absorbent à une longueur d'onde inférieure à 230nm
- Les acides aminés aromatiques absorbent dans l'UV (vers 280nm) (critère utilisé pour repérer les protéines en solution)

3. Pouvoir rotatoire

- Les 20 aa possèdent un carbone asymétrique (exception faite pour la glycine)
- Doués de pouvoir rotatoire



Isomère L



Isomère D

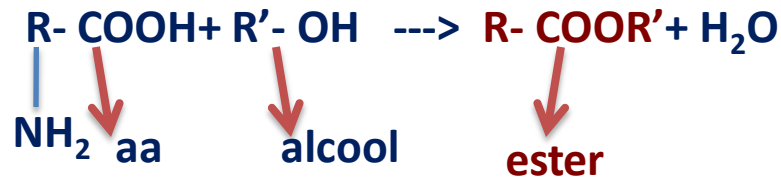
4. Point de fusion

Très élevé > 200°C

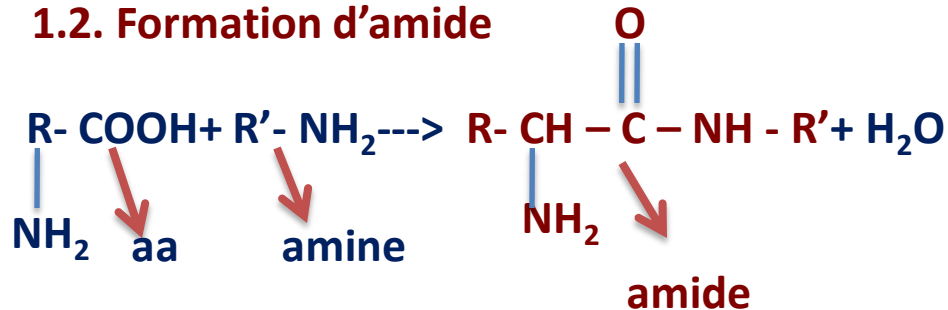
Dues à la présence des groupements COOH , NH_2 et R quand il comporte des groupements réactionnels.

1. Réactions dues à la présence de la fonction COOH

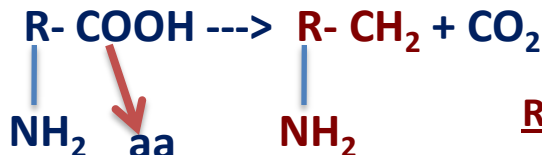
1.1. Formation d'ester



1.2. Formation d'amide



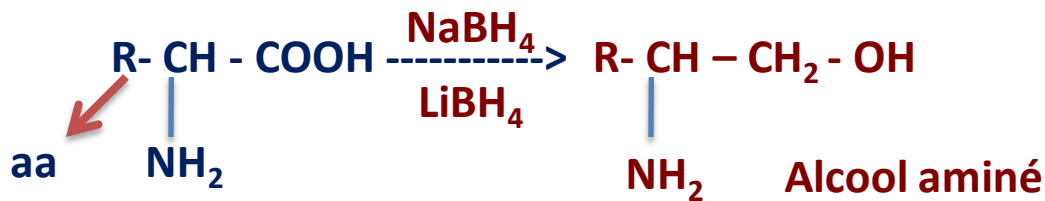
1.3. Formation d'amine (décarboxylation)



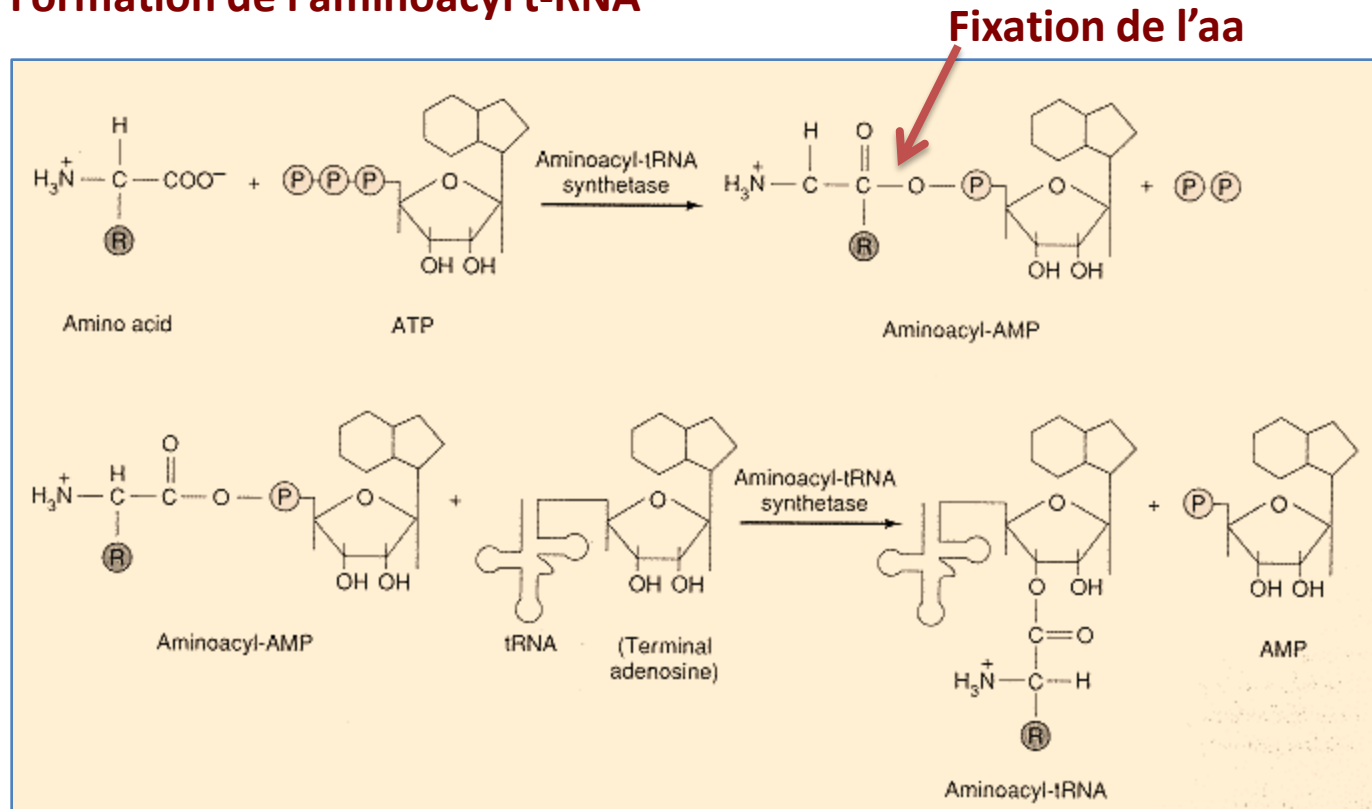
Réaction catalysée par les décarboxylases

1.4. Formation d'alcool α-aminé

Par réduction de la fonction carboxylique



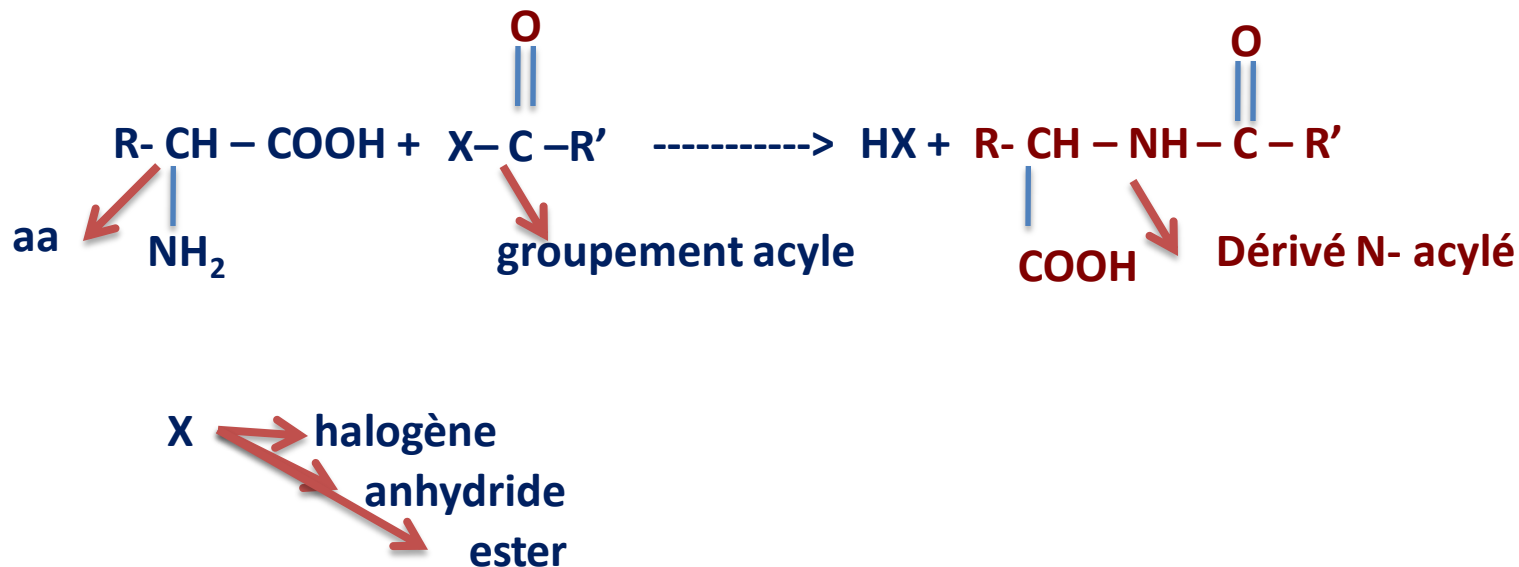
1.5. Formation de l'aminacyl t-RNA



2. Réactions dues à la présence de la fonction NH₂

2.1. N-acylation

Réalisé par les chlorures ou anhydrides d'acide carboxyliques.



Remarque:

Si dans une réaction similaire le CO est remplacé par un sulfonyl (SO₂) on obtient le chlorure de dansyl (Cl – SO₂ – R') utilisé pour l'identification des protéines et aa.

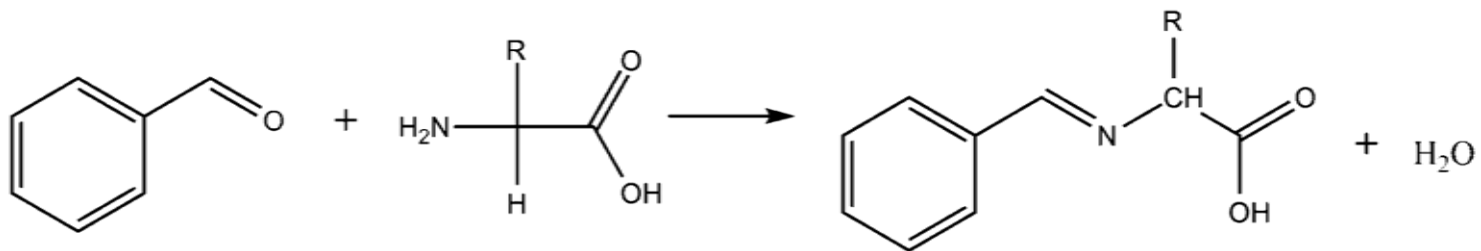
2.2. Désamination



Permet de doser les acides aminés en mesurant le taux de N_2 libéré par la réaction (Méthode de Van Slyke).

2.3. Réaction avec les aldéhydes

Permet d'obtenir des composés d'additions (imines appelées « bases de Schiff » avec les aa aromatiques)



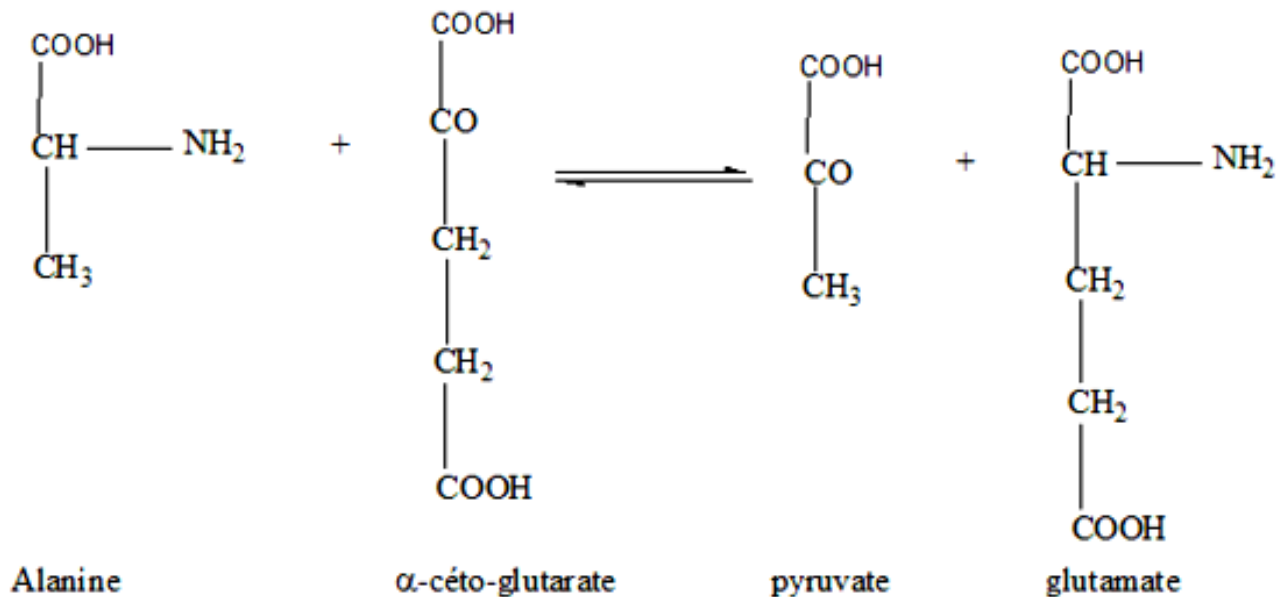
hydroxyméthyl de l'acide aminé.

2.4. Transamination

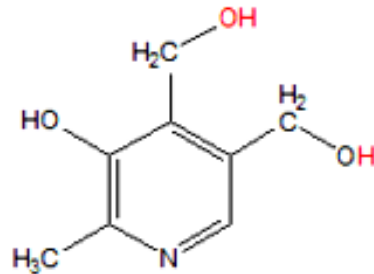
La transamination est une réaction de transfert catalysée par des aminotransférases (ou transamines).

le groupe accepteur est l' α -cétooglutarate : Acide aminé + α -cétooglutarate \rightarrow α -cétoacide + glutamate

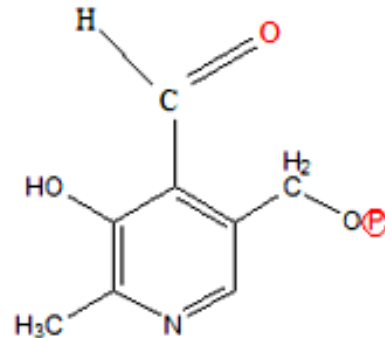
suivie d'une seconde transamination : Glutamate + oxaloacétate \rightarrow α -cétooglutarate + aspartate



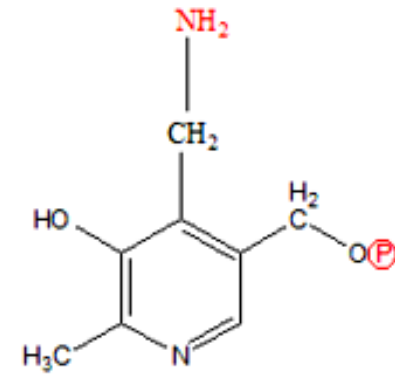
Les aminotransférases (AT) ne peuvent transférer le groupe aminé que par la participation, dans la réaction, du pyridoxal – 5' – phosphate (PLP), un dérivé de la vitamine B6, la pyridoxine.



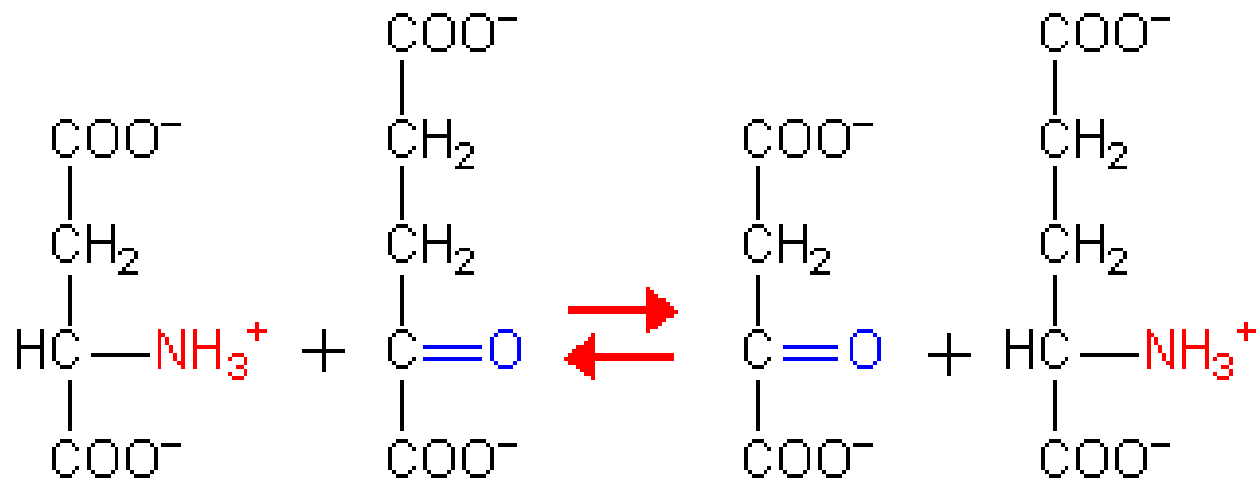
Pyridoxine



Pyridoxal - 5' - phosphate



Pyridoxamine - 5' - phosphate (PMP)



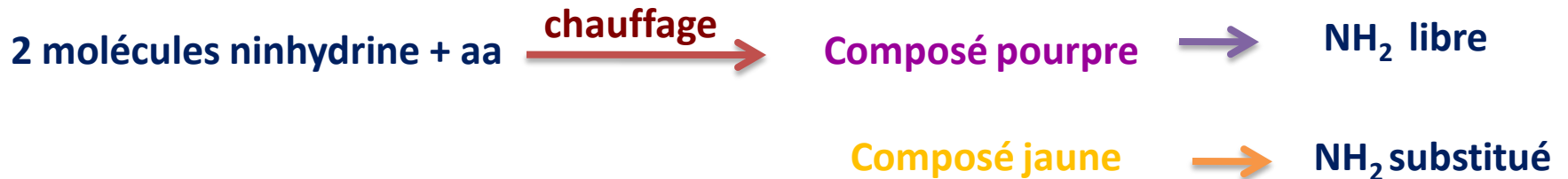
aspartate α -ketoglutarate oxaloacetate glutamate

Aminotransferase (Transaminase)

2. Réactions dues à la proximité des fonctions COOH et NH₂

• Réaction à la ninhydrine

Agent oxydant puissant

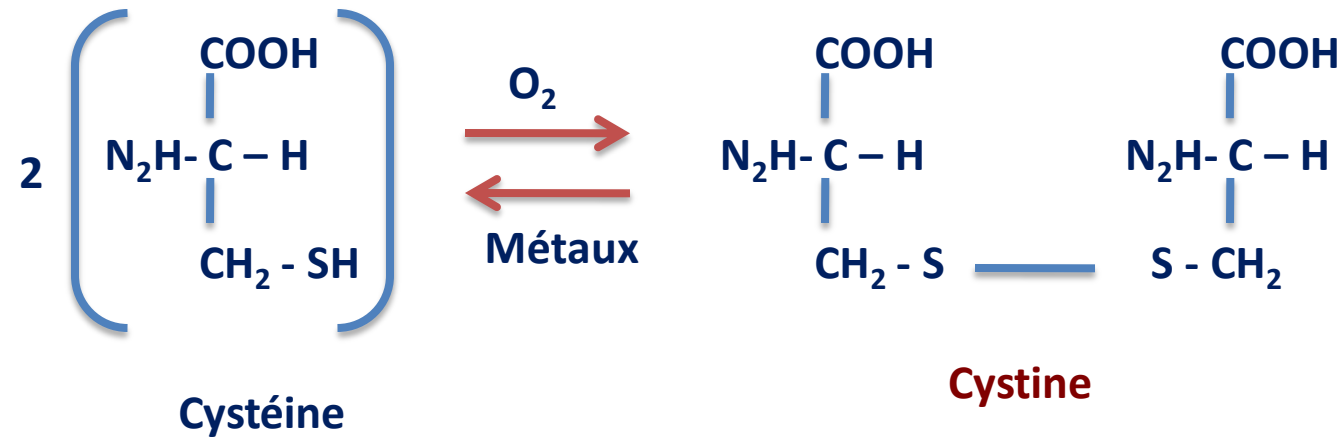


3. Réactions dues à la présence de R

- COOH de Asp et Glu
- NH₂ de Lys
- Imidazole de His
- Grpt Phénolique de Tyr
- Grpt guanidine de Arg
- Grpt thiol de Cys

Identiques à celles portés par Cα

Joue un rôle important dans la structure II et III des protéines



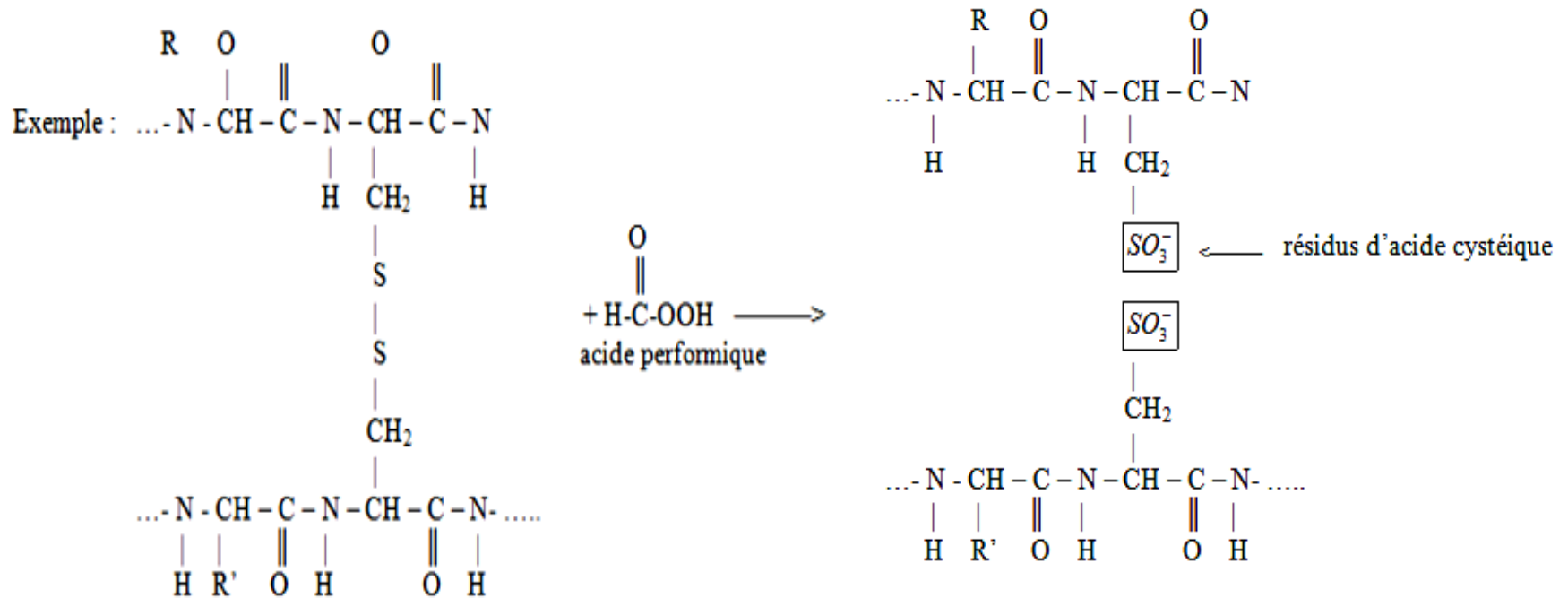
Certains réducteurs peuvent rompre les liaisons disulfures:

- Bêta-mercaptoéthanol
- SDS
- Ac. Performique

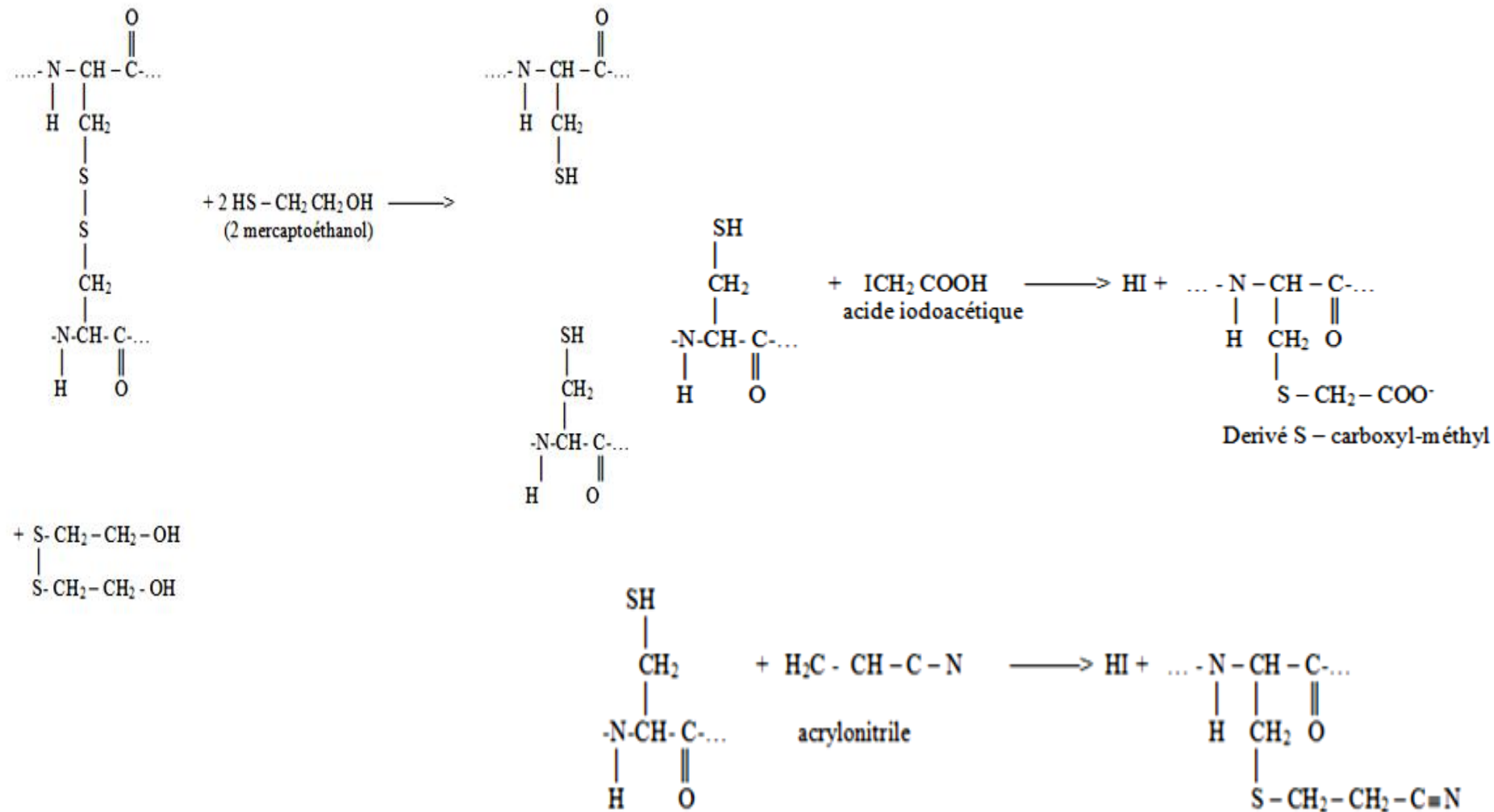


Remarque:

Le 2-β mercaptoéthanol réduit le pont disulfure pour régénérer les SH. Pour éviter la reformation d'un pont disulfure, on ajoute de l'iodoacétate ou de l'acrylonitrile qui vont modifier les groupements SH et empêcher la formation d'un pont disulfure.



Oxydation de la chaîne peptidique avec l'acide performique



Réduction et alkylation du disulfide

Peptides

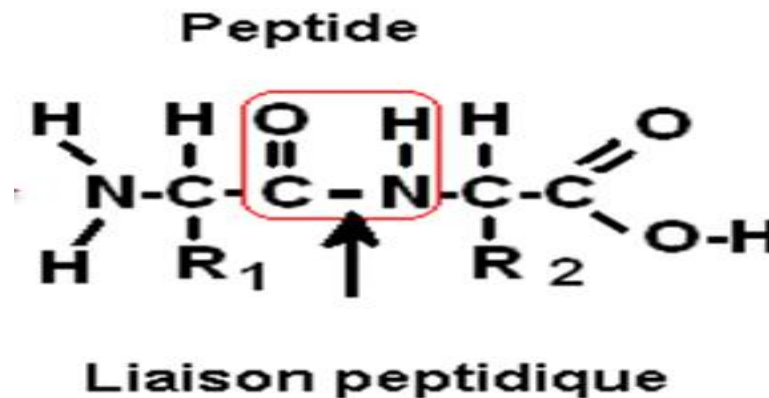
Ensemble d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques

Un aa engagé dans une liaison peptidique est appelé résidu

Exemple:

Met devient résidu Methionyl

Tyr devient résidu Tyrosyl



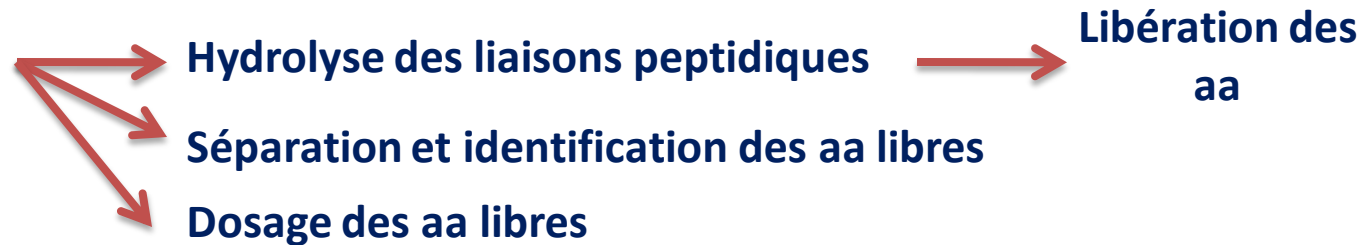
Propriétés acido-basique

Le comportement acido-basique des paptides dépend de son NH₂ et COOH terminaux et des groupement ionisables rencontrés dans les R, ce qui permet de définir un pK et un pH_i

Étude de la structure d'un peptide

• Détermination de la composition en aa (Structure I)

Se fait en 3 étapes:



1. Hydrolyse

1.1. Hydrolyse acide (acide fort)

➤ Gln et Asn → Glu et Asp + NH₃

➤ Destruction partiel de Ser et Thr

➤ Destruction total de Trp

Son dosage permet
l'estimation de Gln et Asn

1.2 Hydrolyse alcaline

- Dosage du Trp
- Racémisation des autres acides aminés
- Destruction de Cys, Ser et Thr

1.3. Hydrolyse enzymatique

Endopetidases (trypsine) ou peptidases bactérienne
Hydrolyse rarement complète

2. Séparation et identification

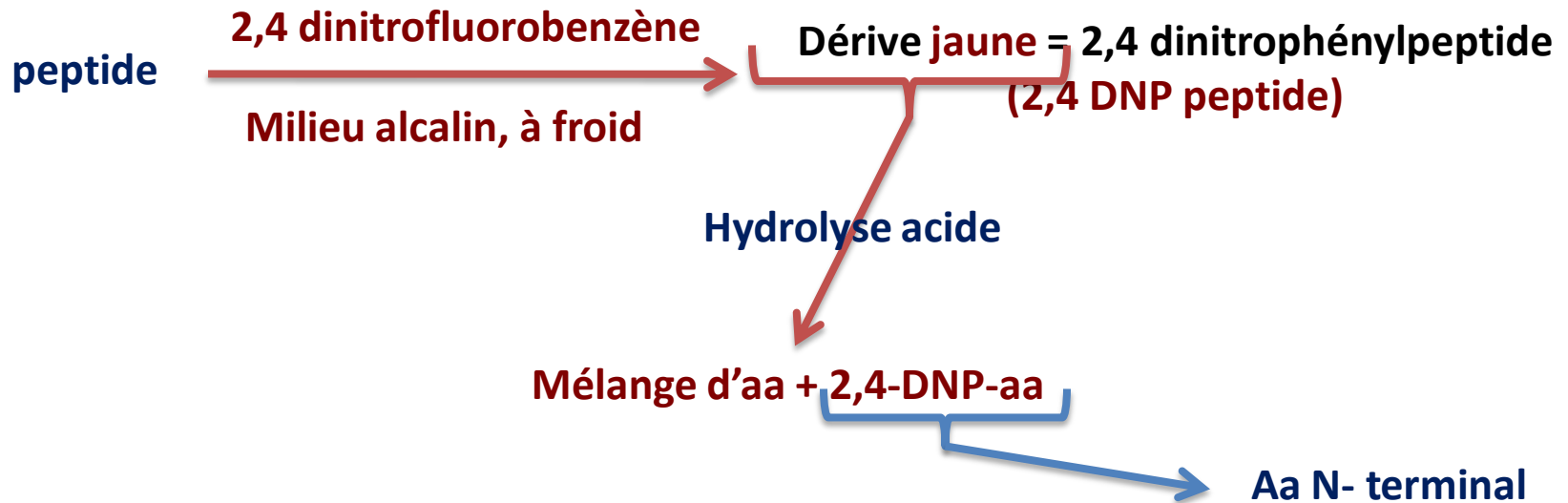
L'analyse qualitative de l'hydrolysate se fait par plusieurs techniques:

- ❖ Chromatographie de partage
- ❖ Chromatographie échangeuse d'ions
- ❖ Électrophorèse

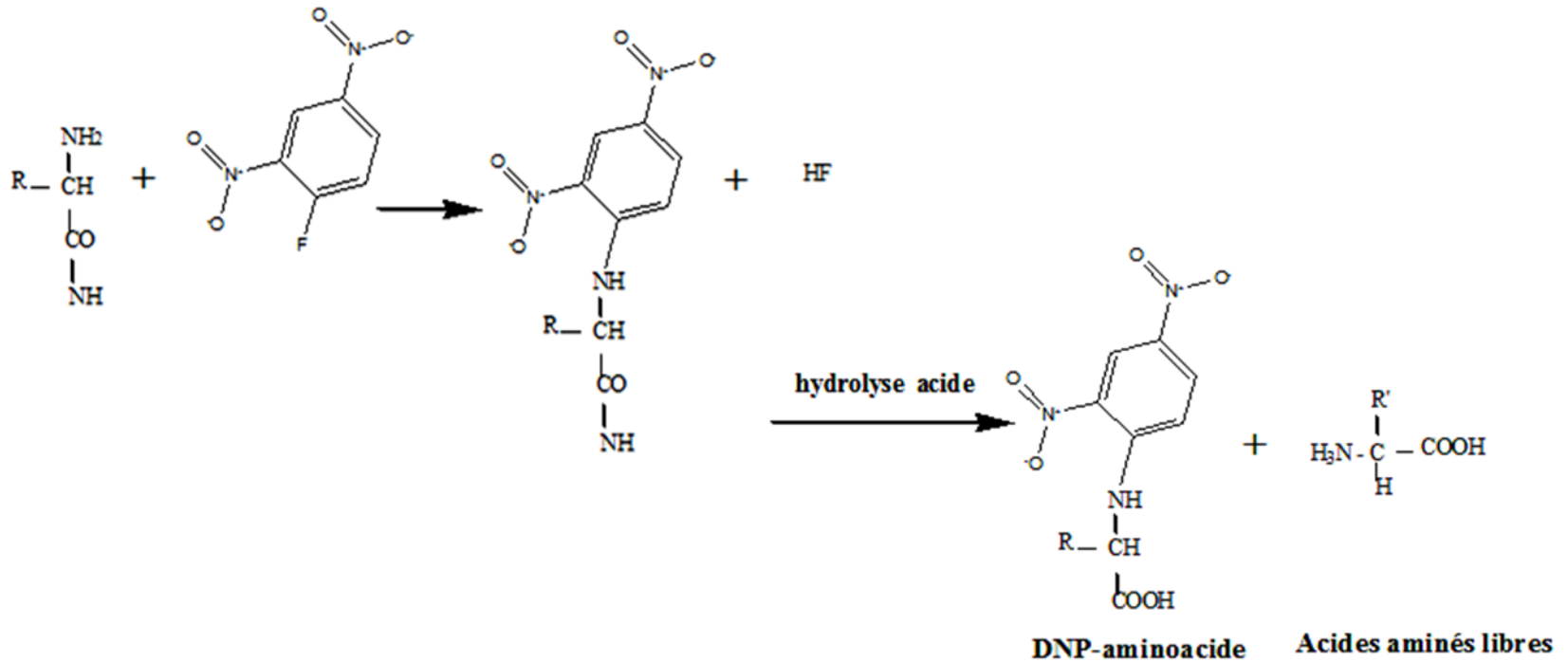
Séquence d'acides aminés

1. Détermination de l'acide aminé N-terminal

1.1. Méthode de Sanger: 2,4-DNFB (DiNitroFluoroBenzène)

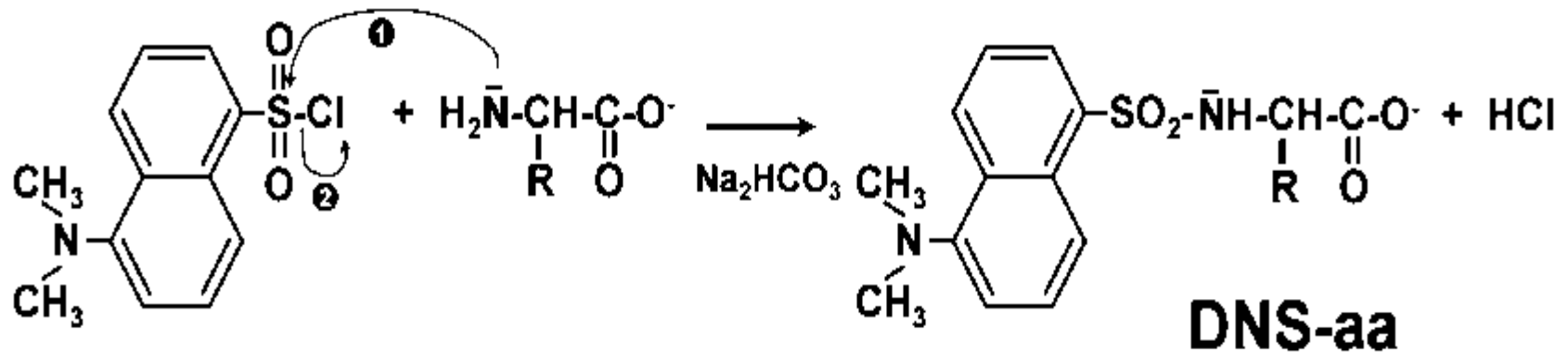


Méthode de Sanger



1.2. La dansylation

Chlorure de dansyl : marqueur de l'extrémité N-terminal

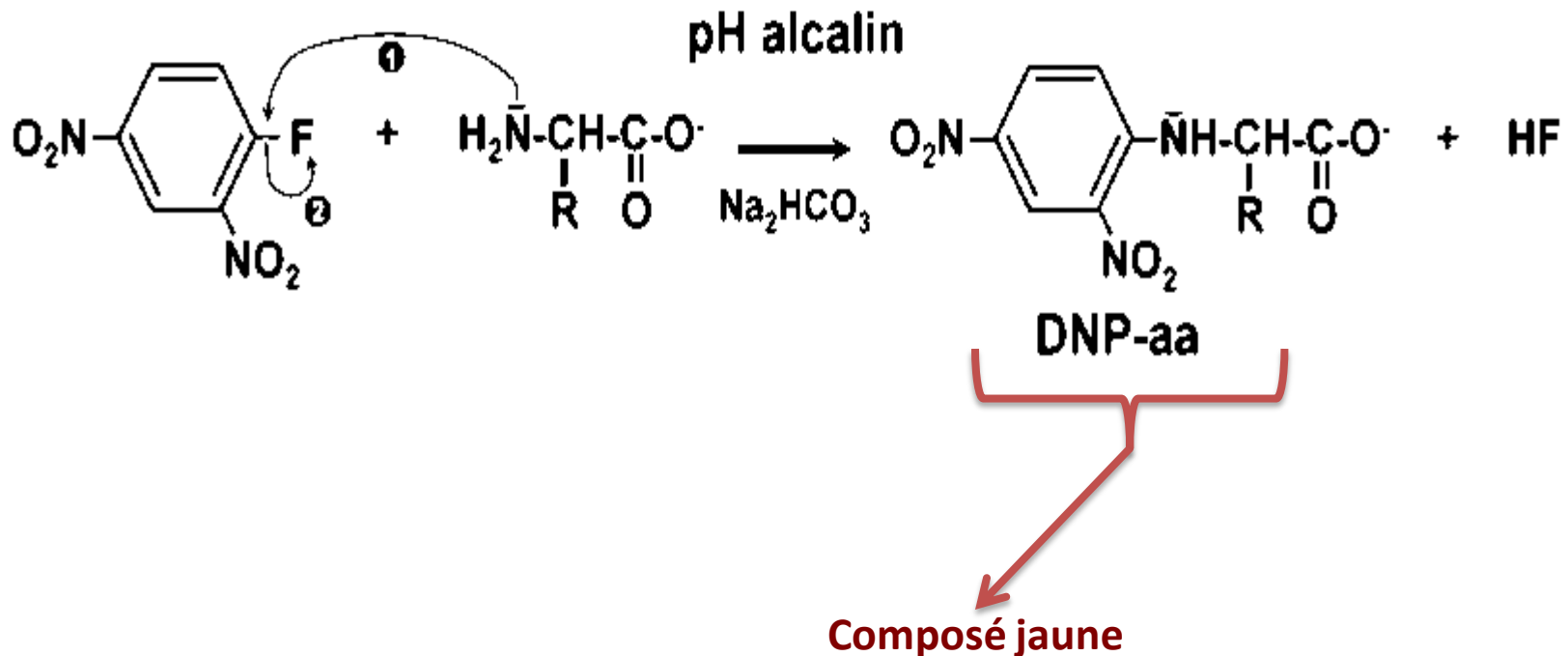


Le DNS-aa est un dérivé jaune clair non hydrolysable en milieu acide.
Le DNS-aa est fluorescent sous U.V. : détection sur plaque CCM.

Remarque: comme dans la méthode de Sanger, le polypeptide est détruit par hydrolyse.

1.3. Méthode d'Edman: phénylthiocyanate (PTH).

L'avantage de cette méthode est que le PTH-aminoacide est détectable sans hydrolyse, son identification se fait par chromatographie, ce qui permet d'identifier tous les autres aa de la chaîne de la même façon.



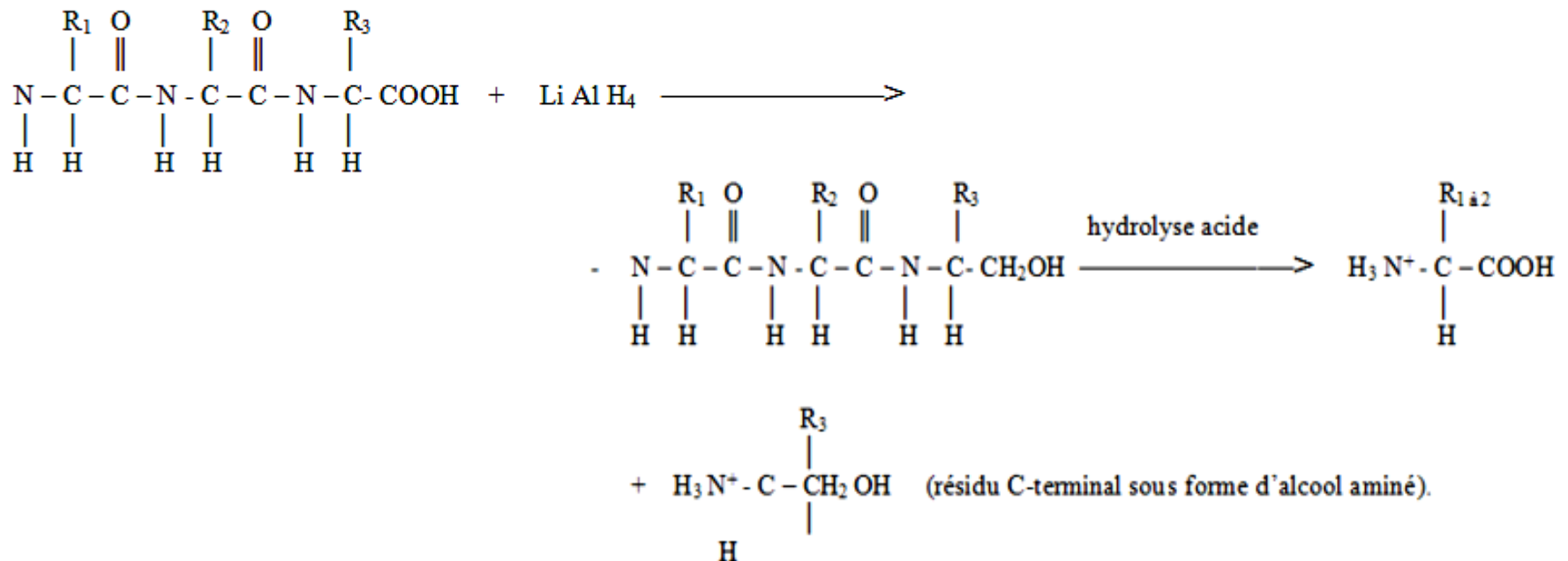
1.4. Méthode enzymatique

Exopeptidase comme la leucine aminopeptidase. Agit mieux si l'aa N-terminal est apolaire.

Remarque: Avec pro en position N-terminal il n'y a pas de réaction.

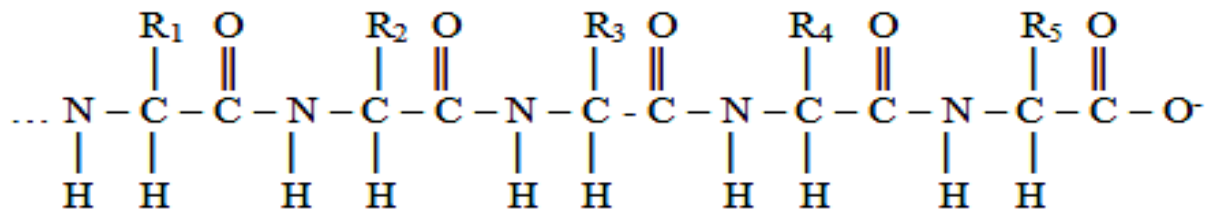
2. Détermination de l'acide aminé C-terminal

2.1. Réduction par LiBH_4 ou LiAlH_4

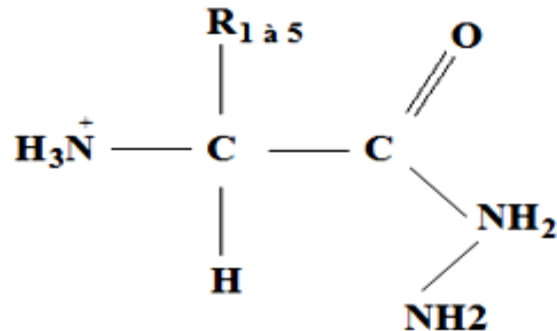


2.2. Hydrazynolyse

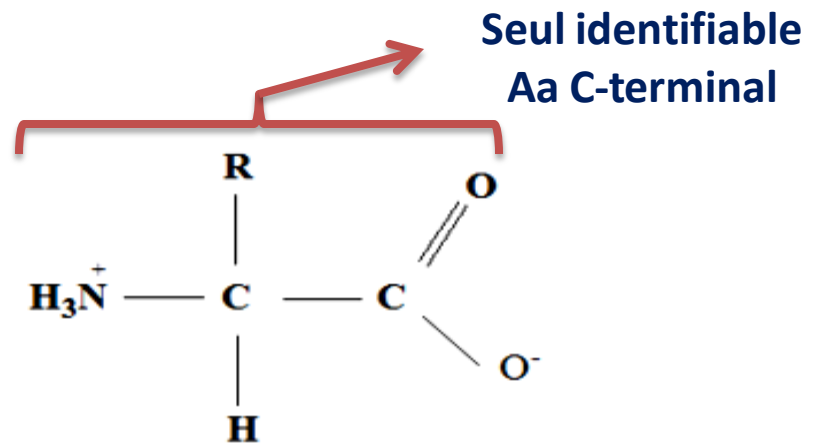
Toutes les liaisons peptidiques rompues, les aa convertis en dérivé hydrazide à l'exception du aa C-terminal (le seul qui pourra être identifié)



+



+



2.3. Méthode enzymatique

Carboxypeptidase (exopeptidases) spécifique des aa-C-terminaux (les détache les uns après les autres)

4 carboxypeptidases  A, B, C et Y.

- La carboxypeptidase A hydrolyse la liaison peptidique du côté C-terminal de tous les acides aminés à l'exception de : Pro, Arg et Lys.
- La carboxypeptidase B hydrolyse la liaison peptidique du côté C-terminal de l'arginine et la lysine uniquement.
- Les carboxypeptidases C et Y hydrolysent la liaison peptidique du côté C-terminal de tous les acides aminés.

2.4. Hydrolyse partielle des chaînes polypeptidiques

Après identification de l'aa N-terminal et de l'aa C-terminal, le polypeptide est coupé en peptides de quelques acides aminés par des enzymes spécifiques (**fragmentation**)
Les fragments peptidiques sont ensuite analysés par les méthodes mentionnés avant.

Cette hydrolyse peut être réalisée par voie chimique ou enzymatique

2.4.1. Voies chimiques

➤ acides dilués

Des liaisons peptidiques entre certains aa sont plus sensibles à cette hydrolyse.

➤ Bromure de cyanogène BrCN

Spécifique de la méthionine

2.4.2. Voies enzymatiques (endopeptidases)

➤ Coupure par la trypsine

La trypsine coupe arg et lys du côté C-terminal 

Fragments peptidiques ayant arg et lys de leur côté C-terminal

Trypsinolyse



nombre de peptides

=

nombre total d'arg et de lys dans le peptide

+

fragment peptidique C-terminal du peptide

➤ **Coupure par la chymotrypsine**

coupe les acides aminés aromatiques Phe, Tyr et Trp au niveau C-terminal

Aussi hydrolyse les liaisons amides d'autres acides aminés telles que la leucine et l'isoleucine

➤ **Pepsine du suc gastrique**

A une spécificité lâche

➤ **Thermolysine**

Protéase bactérienne hydrolyse les liaisons dans lesquelles la fonction amine est apportée par Leu, Ileu et Val

➤ **Coupure par la clostripaïne (protéase)**

 coupe au niveau du C-terminal de Arg

➤ **Coupure par la Staphylococcol protéase**

 coupe au niveau du C-terminal de Asp et Glu

Toutes ces méthodes sont suivies de méthodes de séparation telles que: les chromatographies et les électrophorèses.