

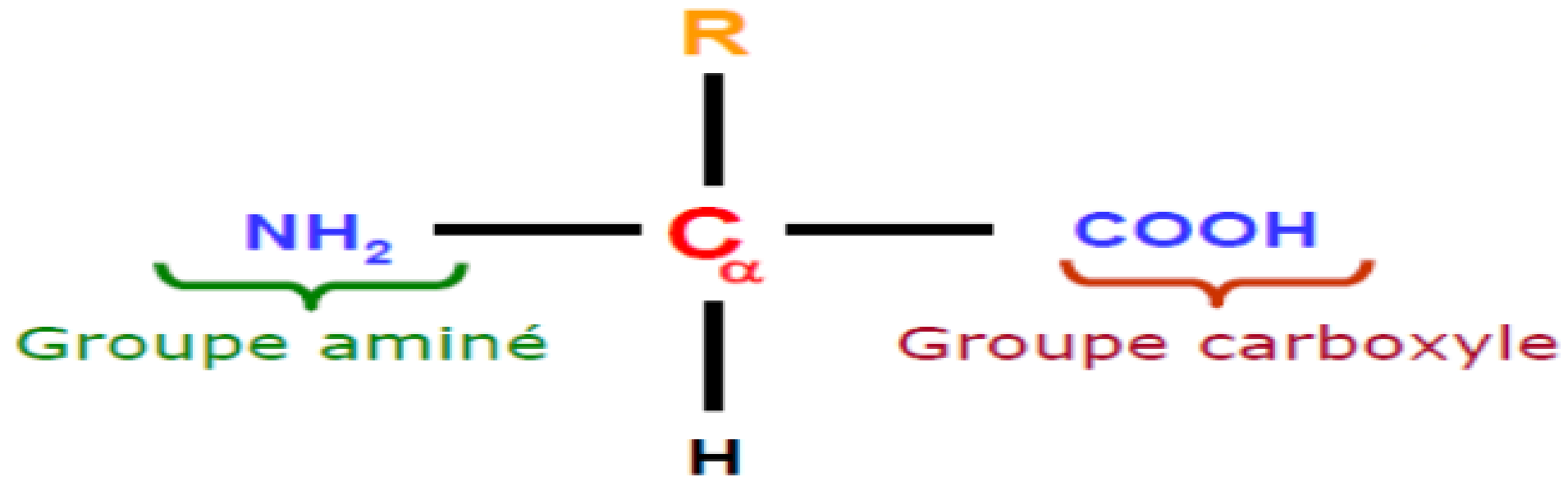
Les protéines

Structure et propriétés physico-chimiques des acide aminé, des peptides et protéines

Dr. SAMARI H

1. Les acides aminés

1.1. définition : Un acide aminé ou **amino-acide** est un composé organique comportant toujours une chaîne carbonée plus ou moins longue, une fonction acide carboxylique (**-COOH**) et une **fonction amine primaire (-NH₂)**. Dans les AA naturels, qui constituent les peptides et protéines, ces deux fonctions sont supportées par le même carbone, noté carbone **C α** , d'où le terme d'acides α aminés. La formule générale est donc :



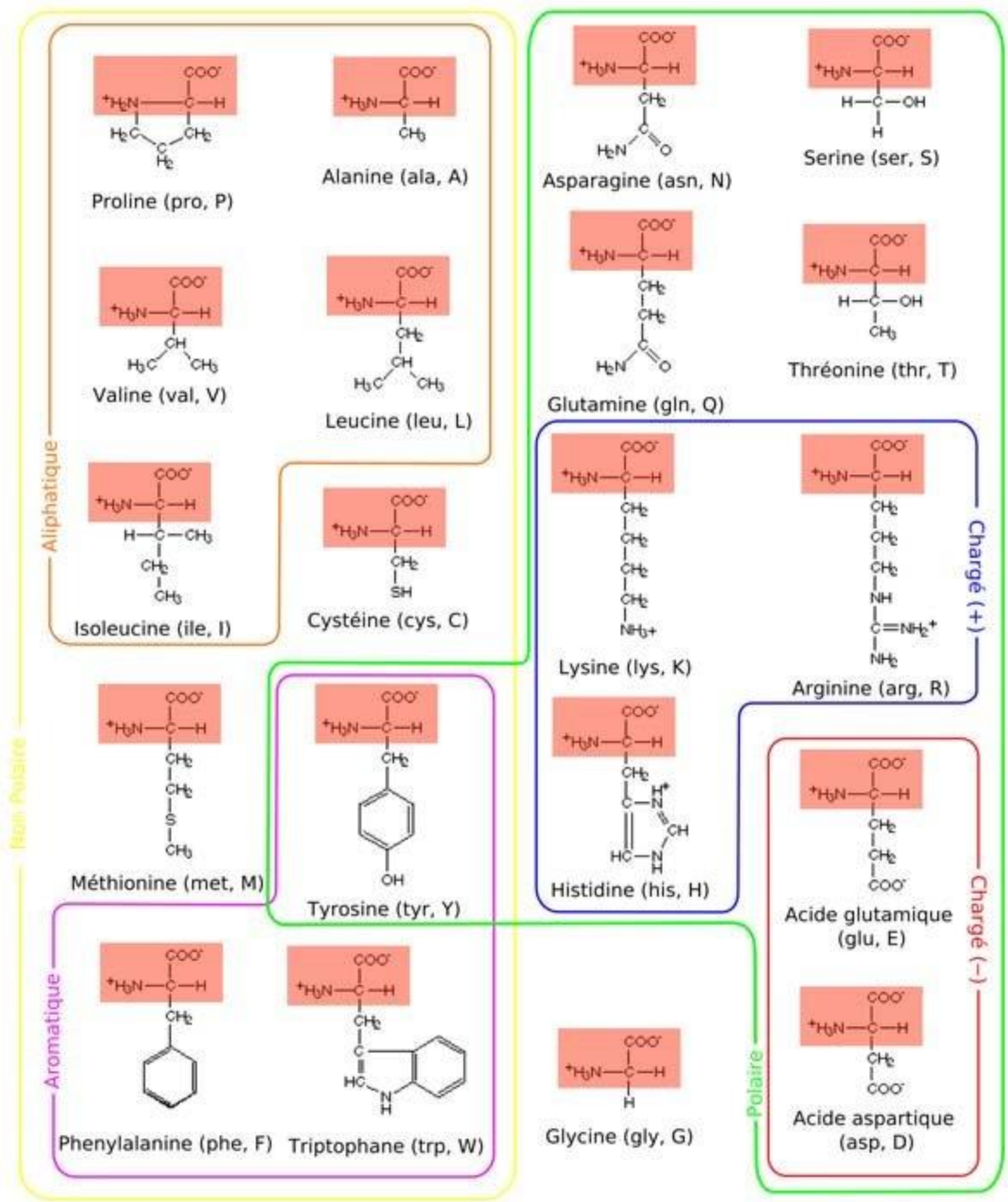
- Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés. On distingue :
 - Les 20 acides aminés constitutifs des protéines naturelles ou acides aminés standards. Ils sont codés dans l'ADN et incorporés dans la chaîne peptidique lors de la traduction de l'ARNm.
 - Les autres, que l'on trouve soit à l'état libre, soit dans des peptides synthétisés par des microorganismes ou des végétaux.

- Les 20 AA naturels se distinguent entre eux par la structure de R qui est nommé radical ou chaîne latérale. Le R peut être un radical purement hydrocarboné ou comporter un groupement fonctionnel.
- Les 20 AA sont symbolisés soit par un code à trois lettres (en général les trois premiers du nom) commençant par une majuscule, soit par un code à une seule lettre (voir tableau).
- Il est important de noter que 8 de ces acides aminés sont indispensables (Ind*) chez l'adulte et 9 chez l'enfant, ce sont : **histidine (enfant), leucine, isoleucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine.**

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

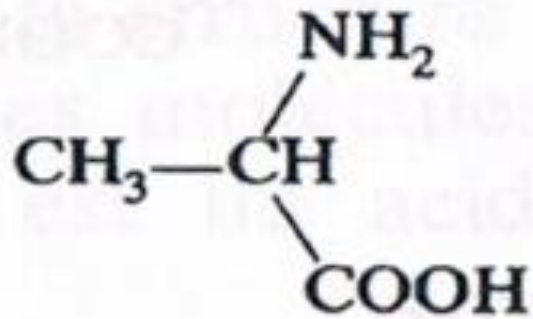


1.2. classification des acides aminés naturels

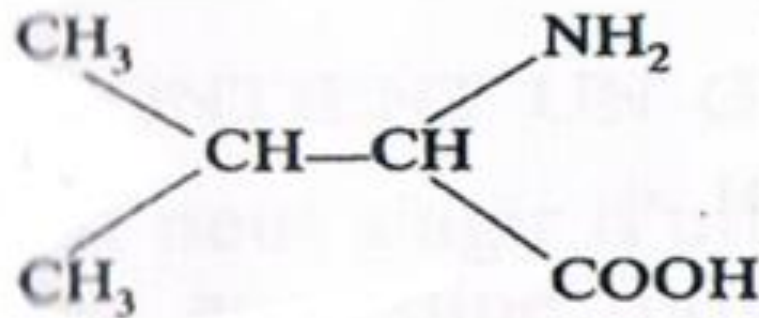
- Les acides aminés peuvent être classés d'après la structure et la complexité de leur chaîne latérale **R**. Parmi les différentes classifications possibles, l'une des plus intéressantes repose sur la polarité et les possibilités d'ionisation de cette chaîne.

a. Aminoacides avec une chaîne latérale R non polaire ou hydrophobe

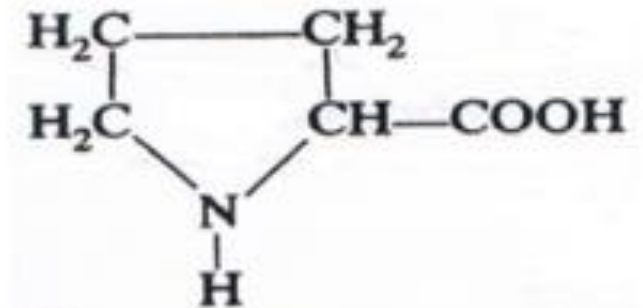
- Cette famille contient six aminoacides ayant une chaîne hydrocarbonée aliphatique : **Ala**, **Leu**, **Ile**, **Val**, **Gly** et **Pro**, deux possédant des noyaux aromatiques : **Phe** et **Trp** et un contenant du soufre: **Met**



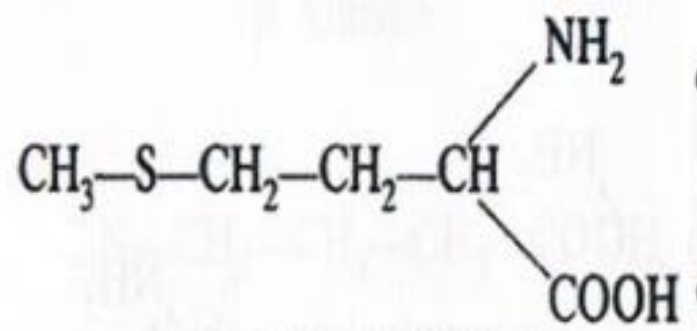
Alanine (Ala)



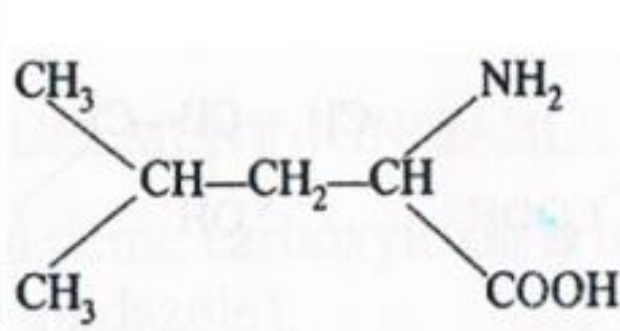
Valine (Val)



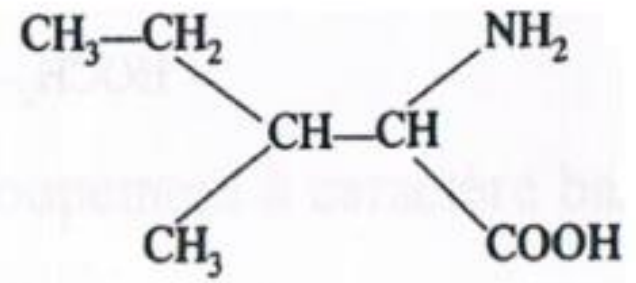
**Proline
(Pro en abrégé)**



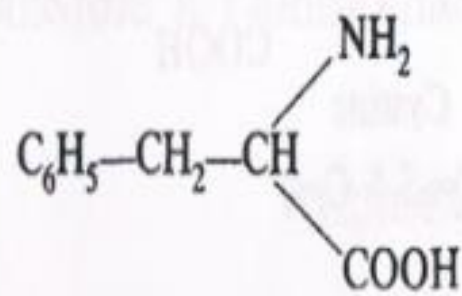
Méthionine (Met)



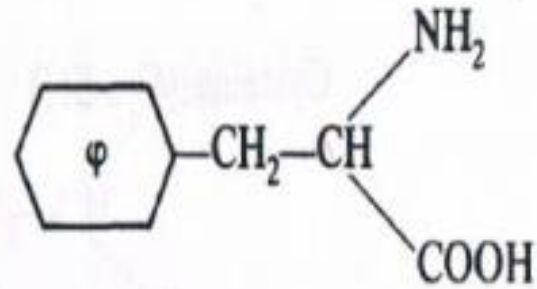
Leucine (Leu)



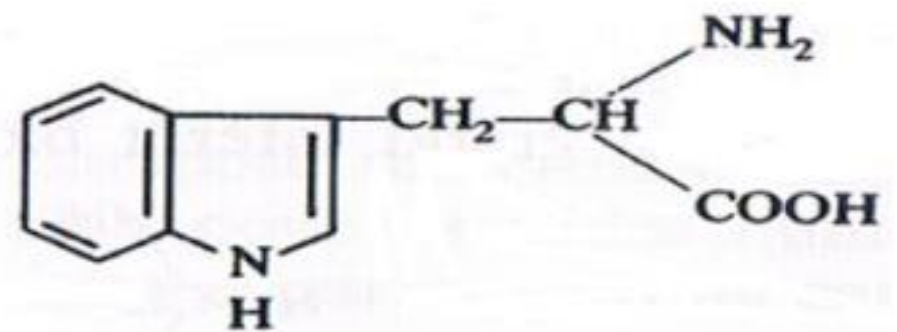
Isoleucine (Ile)



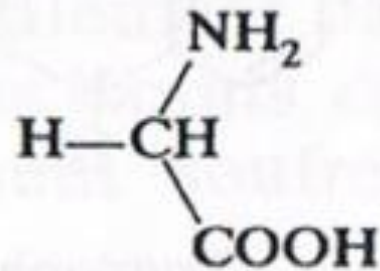
ou



Phénylalanine (Phé)



Tryptophane (Trn) (*)

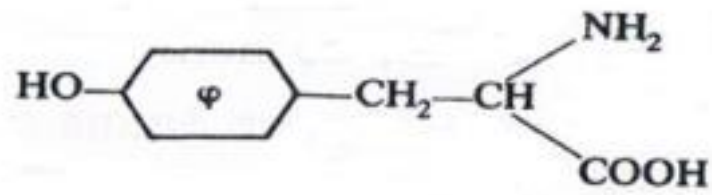


Glycine (Gly)

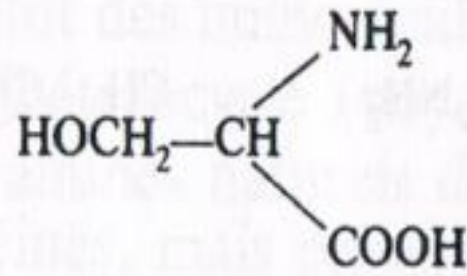
- Tous ces aminoacides sont moins solubles dans l'eau que ne le sont les aminoacides polaires.
- La proline diffère des autres aminoacides en ce sens que c'est un α -iminoacide.

b. Aminoacides avec une chaîne latérale R polaire non chargée

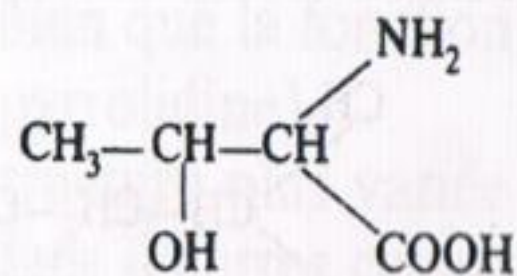
- Ces aminoacides sont plus solubles dans l'eau que ceux qui possèdent une chaîne latérale polaire. **Ser**, **Thr** et **Tyr** possèdent une fonction hydroxyle responsable de leur polarité. **Asn** et **Gln** doivent leur polarité à leur fonction amide et la **Cys** à sa fonction **thiol SH**



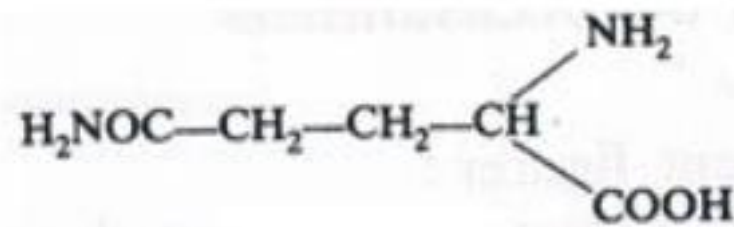
Tyrosine (Tyr)



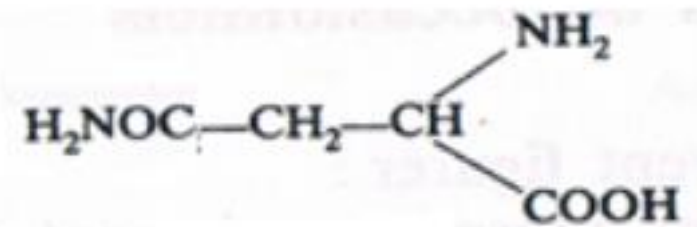
Sérine (Ser)



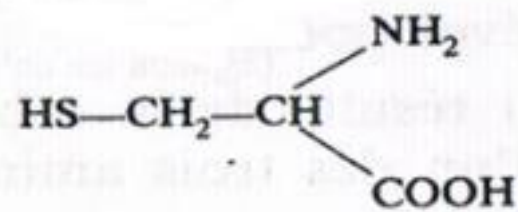
Thréonine (Thr)



Glutamine (Gln)



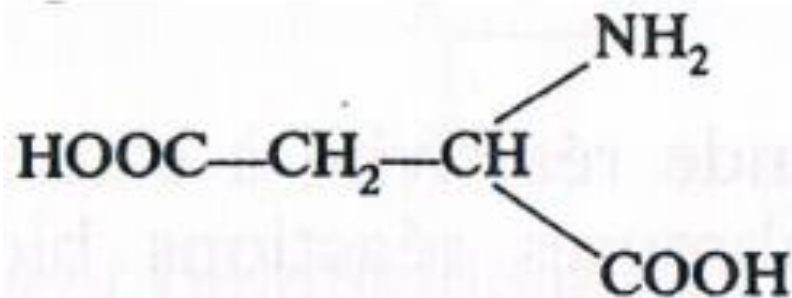
Asparagine (Asn)



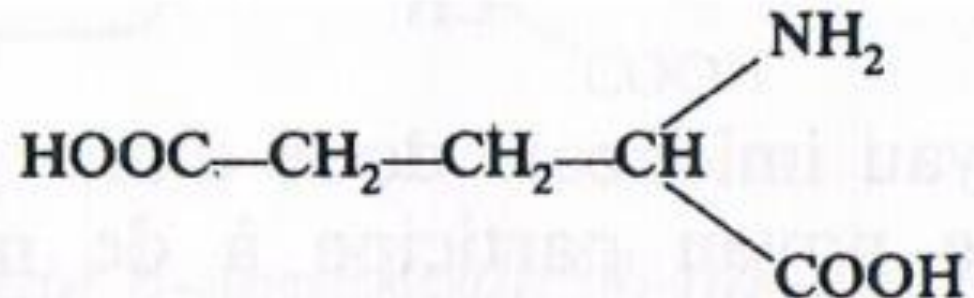
Cystéine (Cys-SH)

c. Aminoacides avec une chaîne latérale R chargée négativement (acides)

- Les représentants de cette catégorie ont une charge négative nette à pH 6-7; ce sont l'acide aspartique (**Asp**) et l'acide glutamique (**Glu**) qui possèdent une seconde fonction carboxylique.



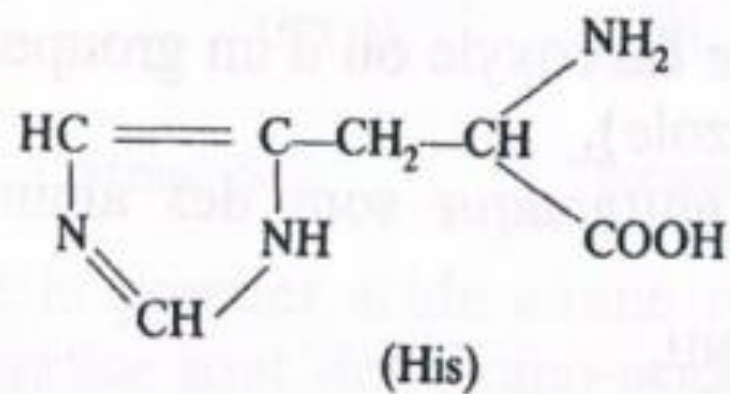
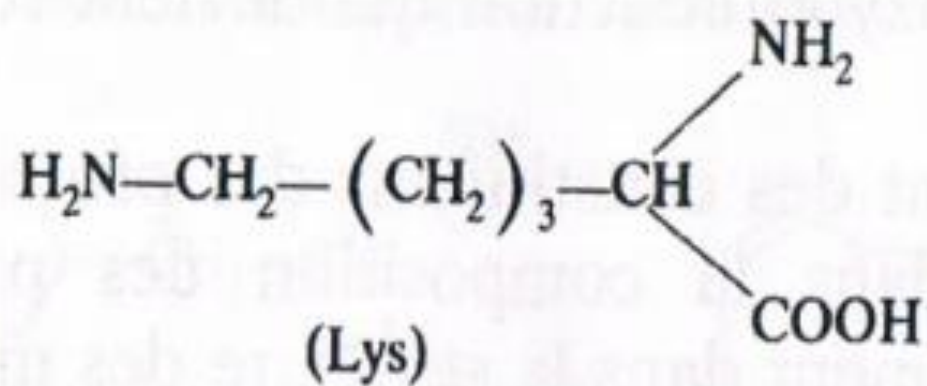
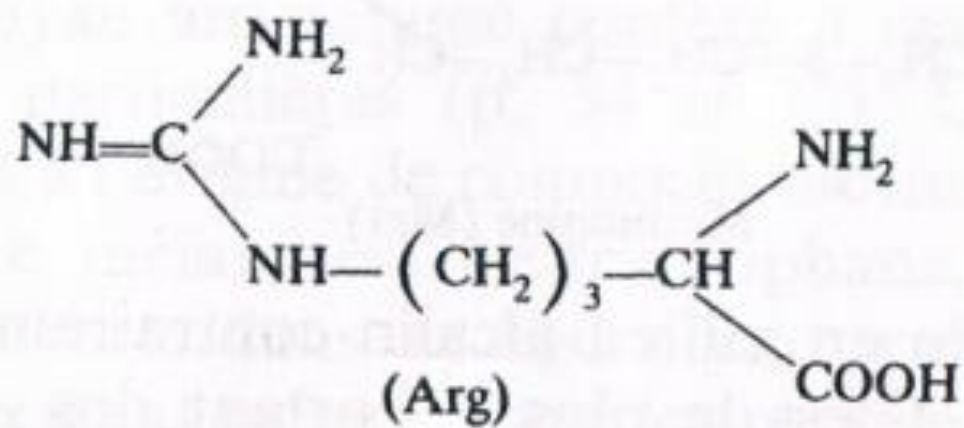
Acide aspartique (Asp)



Acide glutamique (Glu)

d. Aminoacides avec une charge latérale R chargée positivement (basiques)

- Les aminoacides basiques dont la chaîne latérale R présente une charge positive nette à pH=7 ont tous six atomes de carbone. La **Lys** possède une seconde fonction amine sur la chaîne aliphatique, et l'**Arg** possède un groupement guanidinium chargé positivement. L'**His**, qui contient la fonction imidazolium (C'est un cycle à cinq atomes contenant trois atomes de carbone) faiblement basique.



1.3. Propriétés physiques des aminoacides

a. Solubilité et point de fusion :

- Les AA sous forme solide sont en général des poudres blanches cristallisées. Ils ont une solubilité plus ou moins dans l'eau et dans les solvants organiques selon la nature du radical R :
 - Si R est polaire ou ionique la solubilité dans l'eau est importante,
 - Si R est apolaire la solubilité dans l'eau est plus faible.
- Les acides aminés ont un point de fusion élevé supérieur à 200 °C. Ce qui nécessite une somme d'énergie importante pour rompre les liaisons ioniques du réseau cristallin.

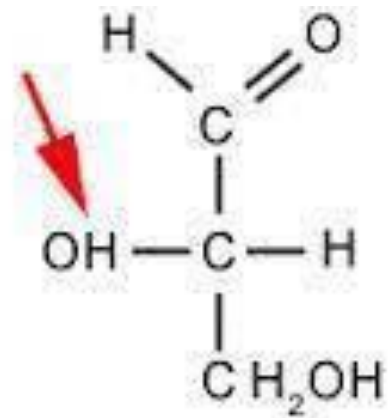
b. Propriétés optiques : le pouvoir rotatoire

- A l'exception de la glycine, le carbone α porte quatre substituants différents : c'est donc un centre **chiral** (asymétrique) dont la conformation définira les stéréo-isomères.
- Il existe 2 stéréo-isomères de configuration différentes:
D-acide aminé et L-acide aminé
- Ils sont appelées “**énantiomères**”

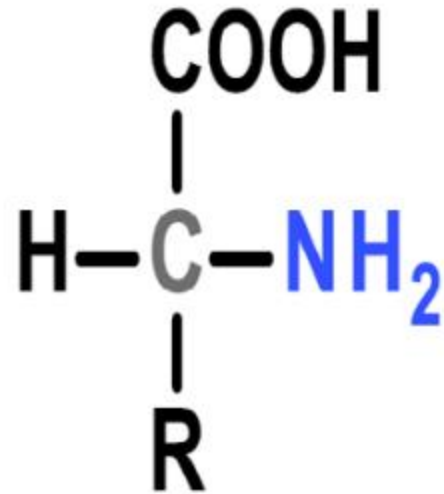
- Les deux énantiomères sont définis de la même manière que pour les oses en prenant le glycéraldéhyde comme référence dans la représentation de Fischer :



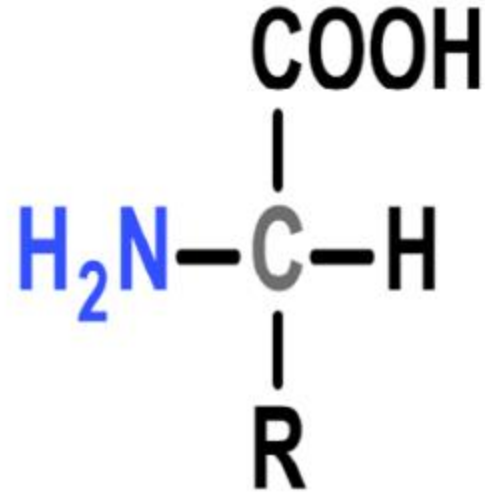
D-Glyceraldehyde



L-Glyceraldehyde



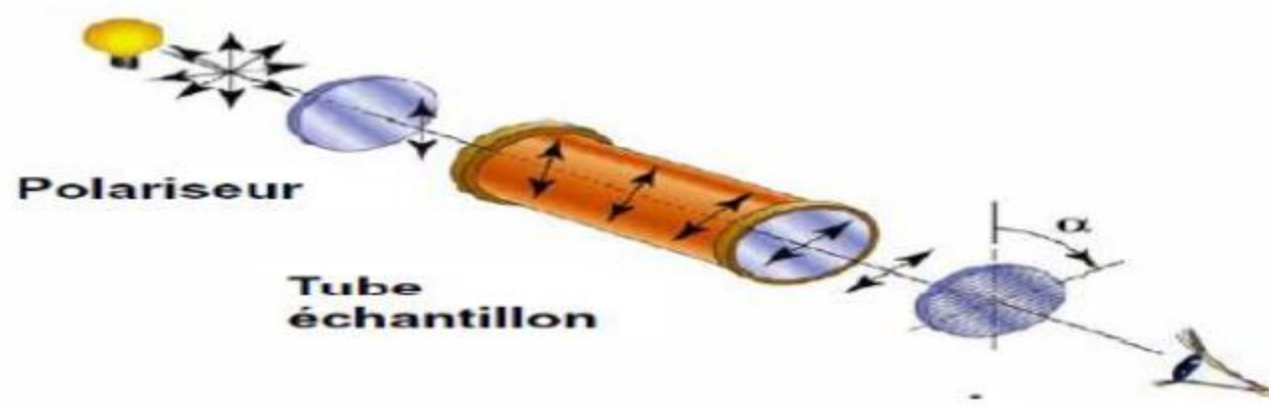
D-Acide aminé



L-Acide aminé

- Les acides aminés des protéines appartiennent tous à la **série L**.

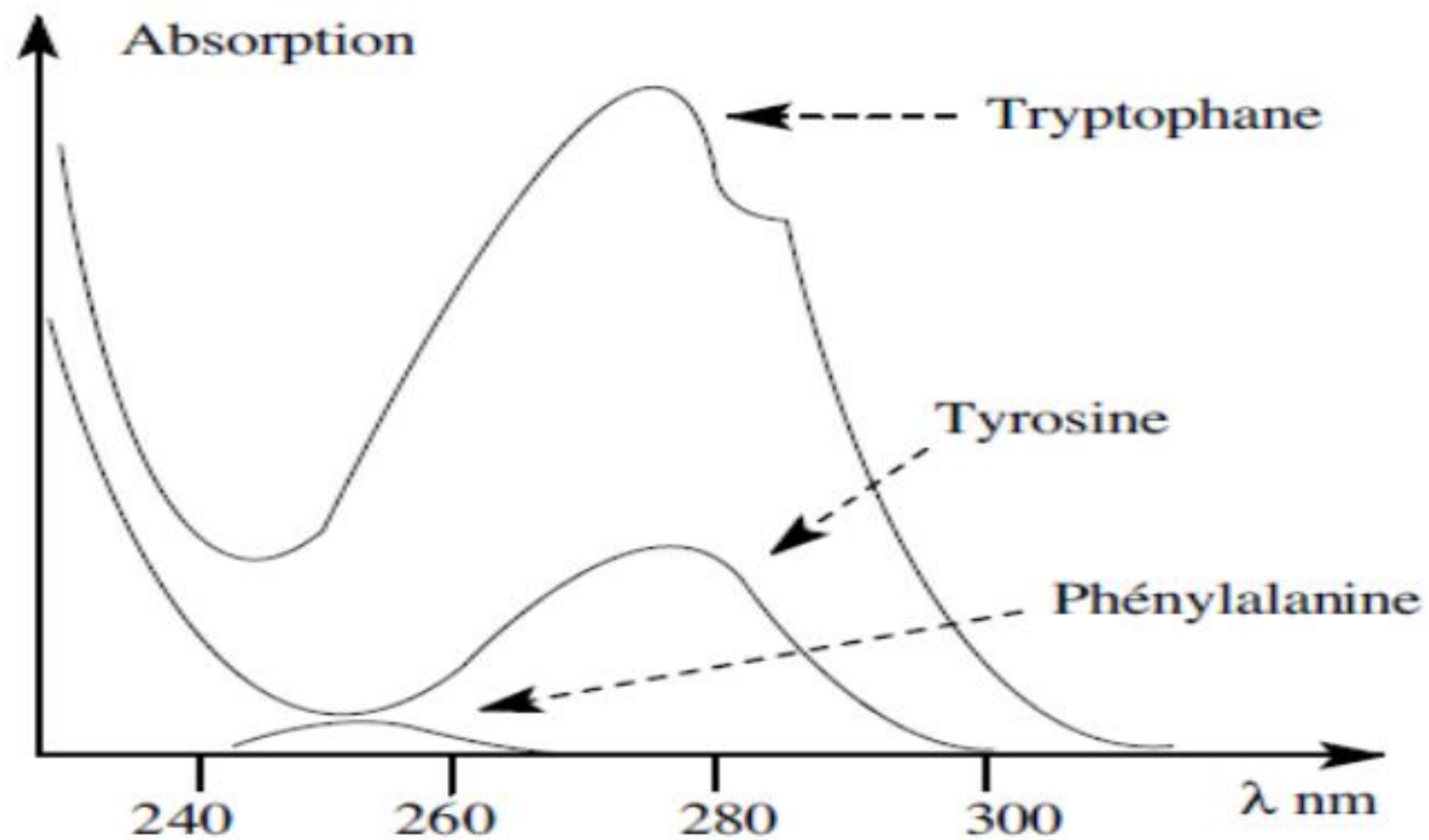
- Les énantiomères possèdent une **activité optique**: C'est la propriété de dévier la lumière polarisée; Placés dans le faisceau d'une lumière polarisée plane, ils provoquent la rotation du plan de polarisation.



- Si la rotation s'effectue dans le sens des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est **dextrogyre (+)**.
- Si la rotation s'effectue dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, on dit que la molécule est **lévogyre (-)**.

c. Absorption lumineuse dans l'ultraviolet :

- Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible, leurs solutions sont incolores.
- Les chaînes latérales aromatiques des aminoacides ont des spectres d'absorption caractéristiques dans l'ultraviolet moyen :



- La phénylalanine absorbe peu et le tryptophane est 4 fois plus absorbant que la tyrosine a un maximum d'absorption, proche de 280 nm. Cette propriété est très souvent utilisée pour le dosage des peptides et des protéines.

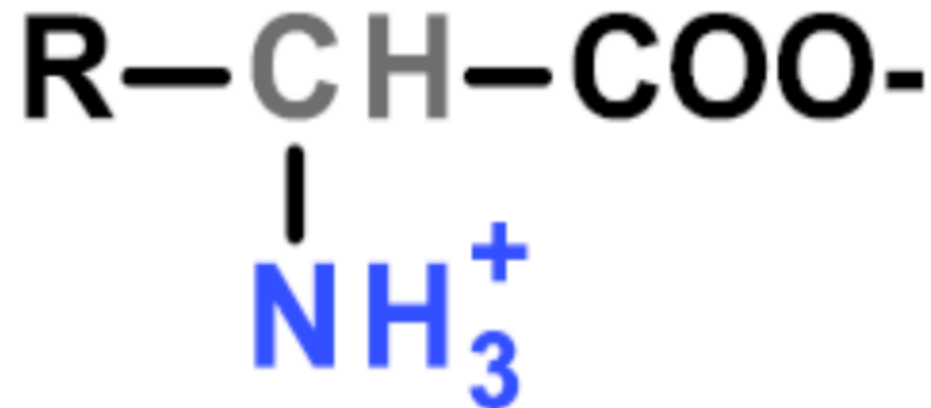
1.4. Propriétés chimiques des aminoacides

- Lorsque l'acide aminé est libre, il a au moins deux groupements fonctionnels sur le même carbone α et pour certains un troisième sur la chaîne latérale.

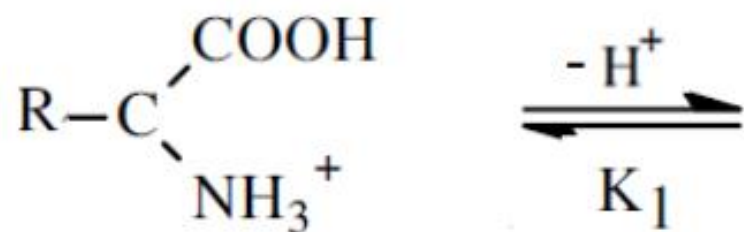
Propriétés d'ionisation

- Propriété essentielle car elle conditionne le comportement de l'AA en solution aqueuse selon le pH de cette solution.

- Les aminoacides possèdent deux groupements ionisables à PH convenable,
 - 1 fonction acide **-COOH**
 - 1 fonction basique **-NH₂**.
 - Ils prennent la forme dipolaire ou ion mixte, ce sont des **molécules amphotères**.
- Ils peuvent agir comme des acides et comme des bases.

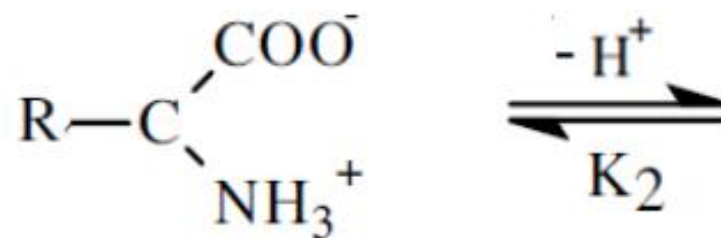


- La forme dipolaire peut,
 - **En milieu acide**, accepter un proton (H^+) sur le groupement (COO^-);
 - **En milieu alcalin** perdre un proton (H^+) du groupement (NH_3^+).
- En allant du PH très acide à PH très alcalin, l'évolution des charges peut être schématiser comme suit:



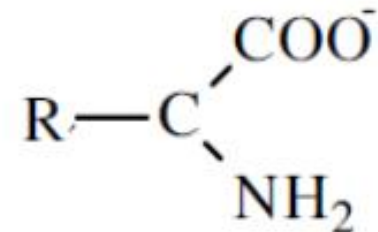
$[\text{A}^+]$

cation (à pH acide)
charge nette = +1



$[\text{A}^\ddagger]$

Zwitterion
charge nette = 0



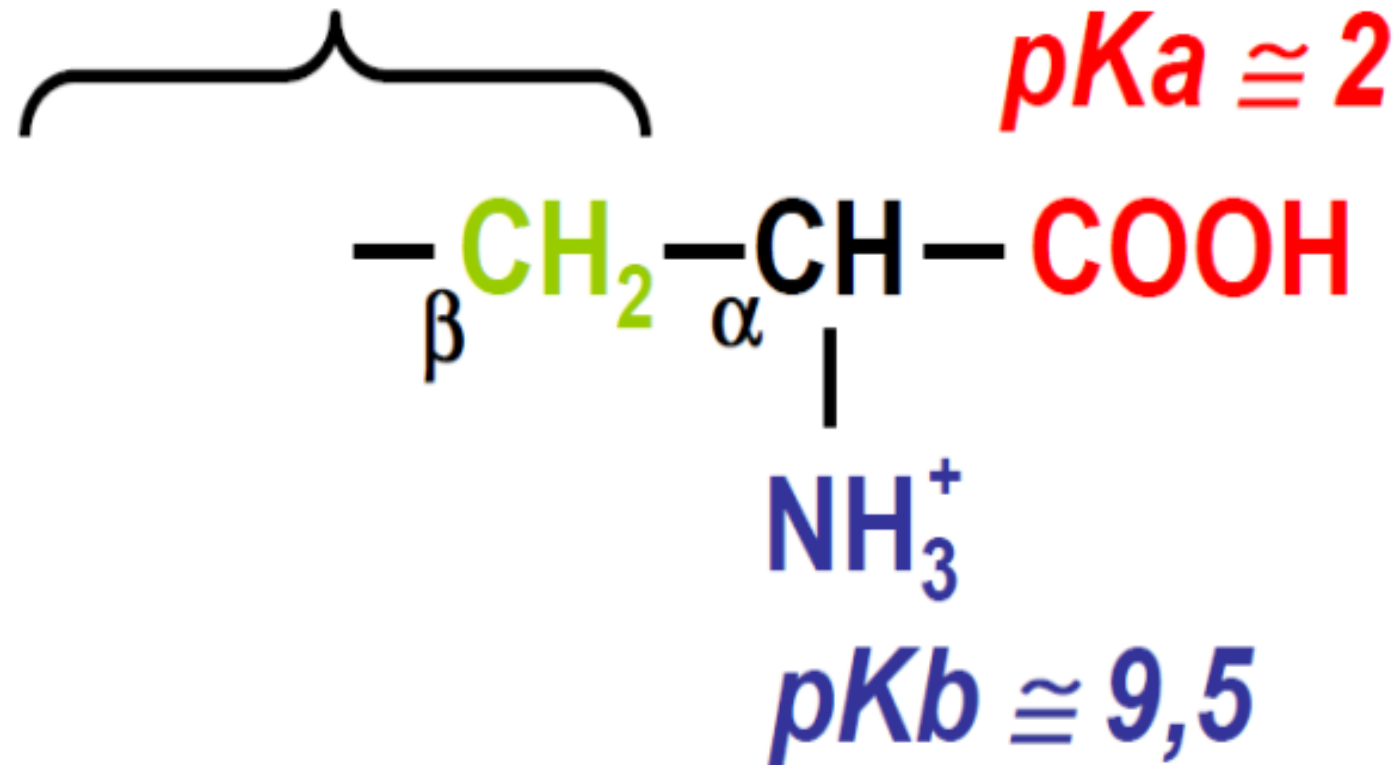
$[\text{A}^-]$

anion (à pH alcalin)
charge nette = -1

- **Point isoélectrique (pHi)** : Tous les acides aminés possèdent un point isoélectrique ou PI,
- $PI = pH$ pour lequel l'Aa en solution tamponnée a une charge nette nulle (somme des charges intramoléculaires est nulle).
- L'Aa apparaît à ce PH comme étant **neutre** (alors qu'il a au moins deux charges intra moléculaires réalisant un **zwitterion**).

$$PI = \frac{PKa (\text{groupement carboxyl}) + PKb (\text{groupement amine})}{2}$$

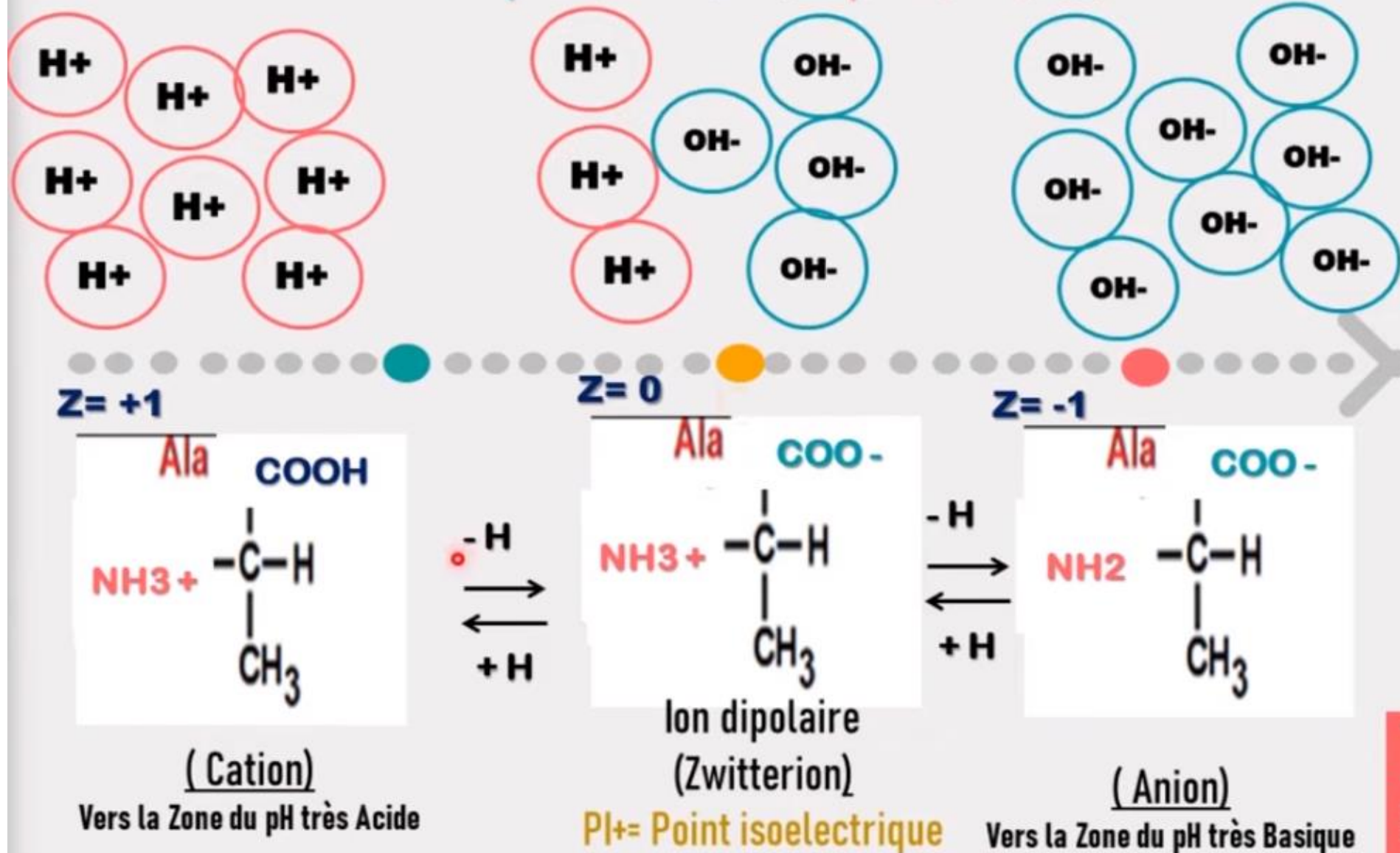
pK_R variable



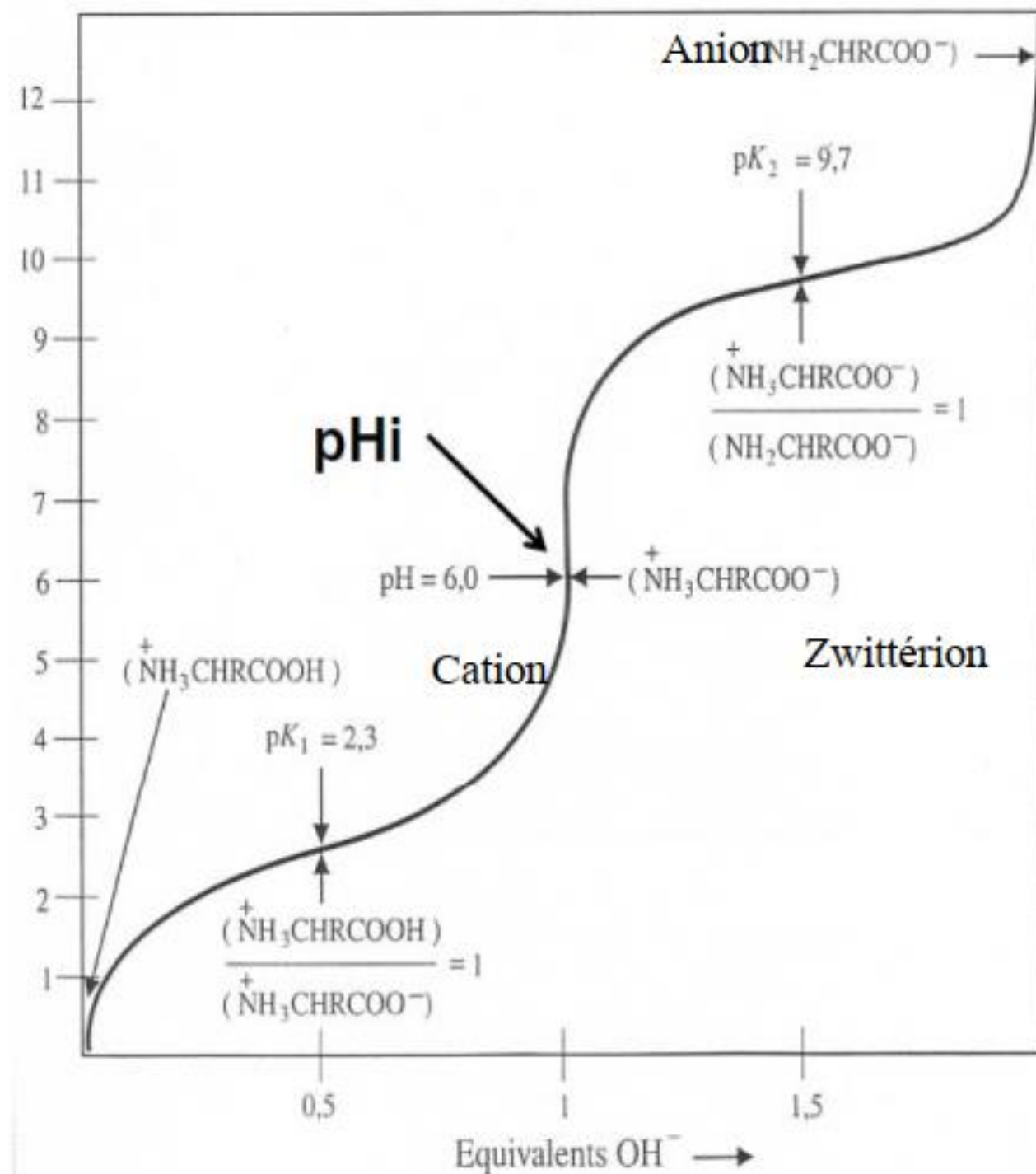
- **pK** = pH de demie-dissociation = 50% du groupement est dissocié.
- On peut aisément étudier la dissociation des différentes fonctions polaires d'un aminoacide, en ajoutant à la solution **HCl** ou **NaOH** et en mesurant le pH après chaque addition.
- On peut ainsi tracer des *courbes de titration*, dont l'aspect sera différent selon qu'il s'agit d'un aminoacide neutre, acide ou basique.
- Connaissant les valeurs des pKa, pHi, il est possible de tracer la courbe de neutralisation d'un acide aminé.

1) Réaction d'ionisation :

Alanine: $pK_{a1}(\text{COOH}) = 2,30$ / $pK_{a2}(\text{NH}_2) = 9,70$



- Exemple : courbe de titration de l'alanine



- Elle comporte deux étapes distinctes, chacune correspondant à l'élimination d'un proton de l'alanine :

→ **Au début: (en bas et à gauche du graphique) :**

- L'alanine a ses 2 fonctions acido-basique protonée et se trouvent sous une forme cationique avec une charge positive (**NH₃⁺-CH₂-COOH**),
- Lorsque l'on ajoute de la soude une partie des molécules subissent une dissociation Jusqu'à arriver à un point où il y a autant de molécules chargées positivement que de molécules neutres, à ce point le pH est égal au 1er pK (**Pk₁=2,3 pour Ala**).
- **pH=Pk₁ → 50% sous forme de NH₃⁺-CH₂-COOH**
50% sous forme de NH₃⁺-CH₂-COO-

- **La partie plate autour de ce pK**, correspond à une zone tampon, si on continue à ajouter de la soude, un point d'inflexion est atteint, ce pH correspond au pH isoélectrique ou pHi (pHi=6 pour Ala), toute l'Ala est sous une forme dipolaire avec 2 charges, une (+) et une (-) avec une charge globale nulle.

- **pH = pHi** → 100 % sous forme $\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-COO}^-$ (ion Zwitterion)
→ L'ajout de soude provoque une nouvelle dissociation avec perte du proton de l'amine, à égalité de concentration des 2 espèces, le pH correspond au 2^{ème} pK (Pk2=9,7 pour Ala).
- **pH = PK2** → 50% sous forme de $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$
50% sous forme de $\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-COO}^-$
- La partie de la courbe relativement plate autour de ce pK correspond à une nouvelle zone tampon, un dernier ajout de soude va totalement déprotomer l'acide aminé qui va se retrouver sous une forme chargée négativement **$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$** .

$$\text{pHi} = \frac{\text{pKa} + \text{pKb}}{2}$$

pour un acide aminé non chargé

$$\text{pHi} = \frac{\text{pKa} + \text{pKr}}{2}$$

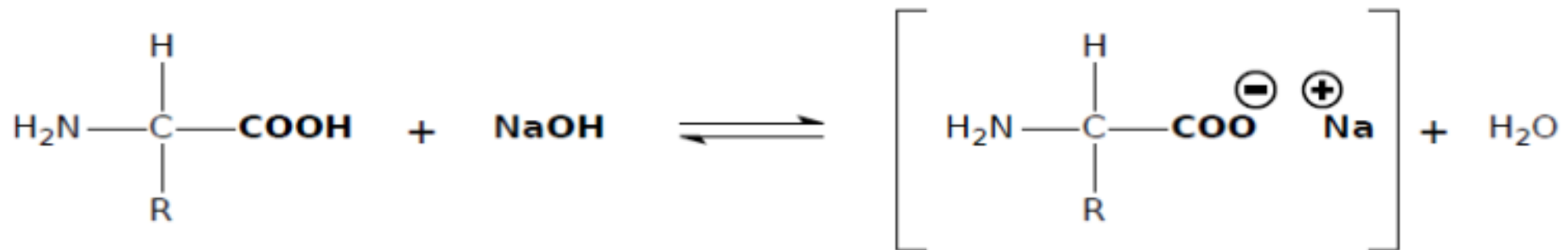
pour un acide aminé chargé négativement (acide)

$$\text{pHi} = \frac{\text{pKb} + \text{pKr}}{2}$$

pour un acide aminé chargé positivement (basique)

Propriétés dues à la fonction acide carboxylique COOH

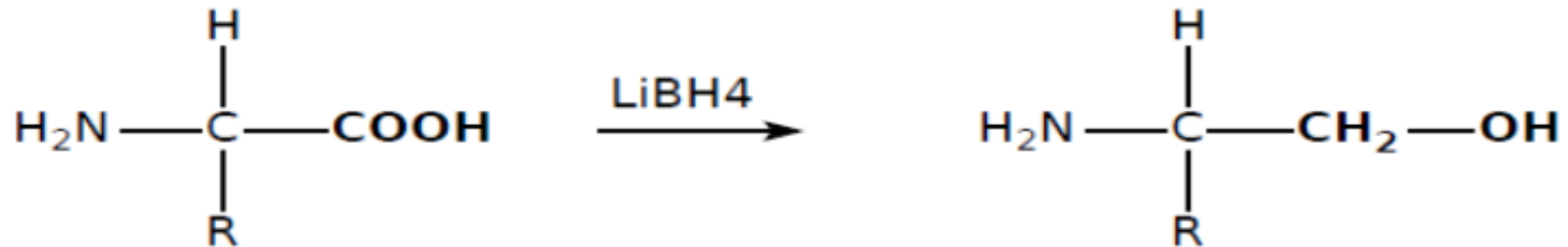
- **a. Formation de sels:** la formation de sels se fait généralement avec la soude (NaOH) ou la potasse (KOH).



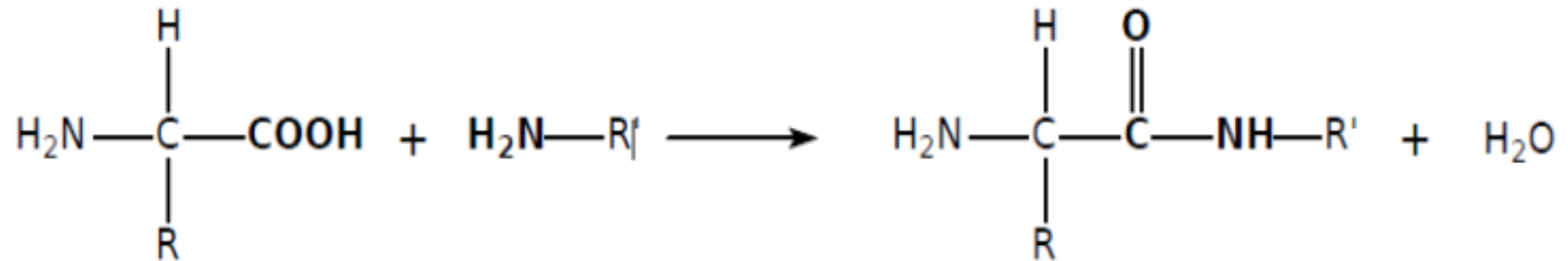
- **b. Estérification:** l'estérification se fait grâce à un alcool. On utilise souvent l'alcool n-butylique (Butan-1-ol) et on obtient des ester n-butyliques.



c. **Formation d'un alcool aminé** : elle se fait par réduction de la fonction carboxylique en utilisant le borohydrure de sodium **NaBH₄** ou le borohydrure de lithium **LiBH₄**, elle aboutit à la formation d'un alcool α -aminé.



d. Formation d'amide : cette formation est à la base de la liaison peptidique.



e. Décarboxylation: La fonction carboxylique (du carbone α) peut faire l'objet d'une réaction de décarboxylation conduisant à la formation d'amine, que l'on qualifie de biogène lorsqu'elle a un rôle biologique.



Propriétés dues à la fonction acide carboxylique NH₂

a. Salification ou formation de sels: Les AA réagissent avec les acides en formant des sels. Le groupement amine capte un proton.



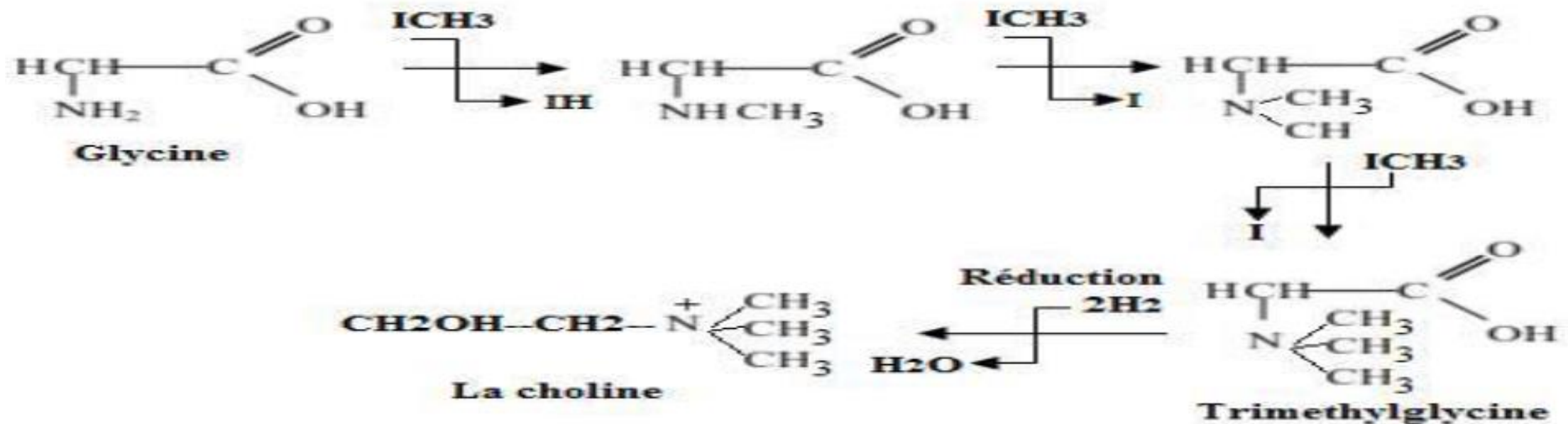
b. Réaction de substitution par un radical R:

Un hydrogène porté par la fonction amine peut être remplacé par un radical organique R'. R' peut être un radical :

- Aliphatique : c'est l'**alkylation**
- Aromatique : c'est l'**arylation**

b.1. Réaction d'alkylation (ou méthylation)

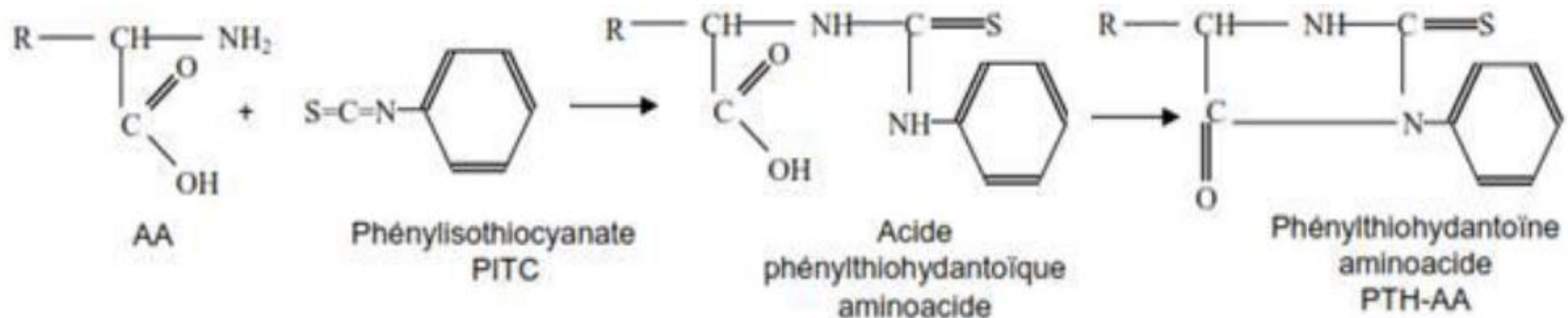
L'exemple le plus connu est la méthylation de la Glycine qui se fait dans les organismes vivants et *in vitro*. Dans certaines protéines végétales on rencontre du méthylglycine. La méthylation de la Glycine en triméthylgécycine, après réduction aboutit à la formation de la choline.



b.2. Réaction d'acylation

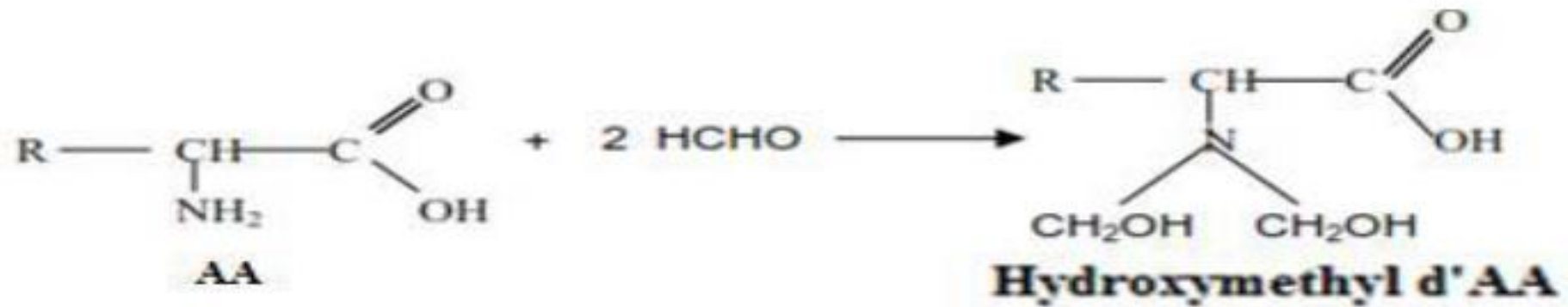
Substitution par le Phénylthiocyanate (PITC) : réaction d'EDMAN

Le PITC agit en milieu basique avec NH_2 terminal pour former l'acide Phénylthiohydantoïque aminoacide. Après une légère action acide le Phénylthiohydantoïque aminoacide est cyclisé en Phénylthiohydantoïne aminoacide (PTH-AA).



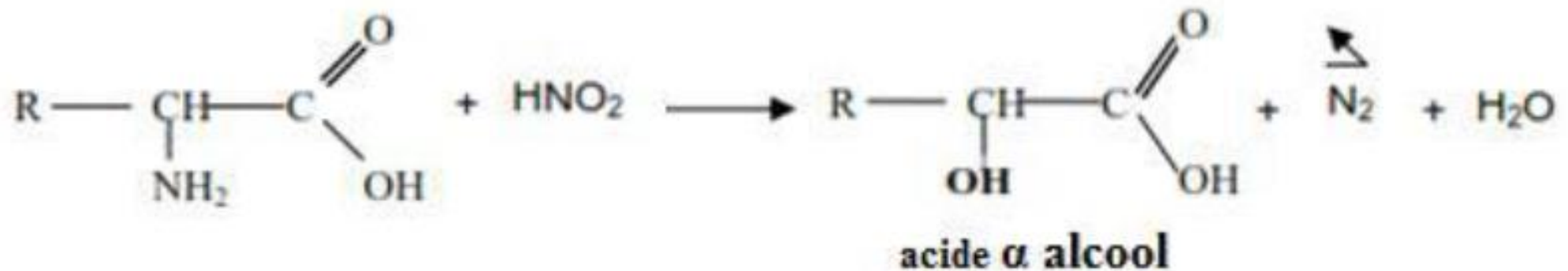
c. Réaction d'addition:

Exemple : action du formaldéhyde ou formol.



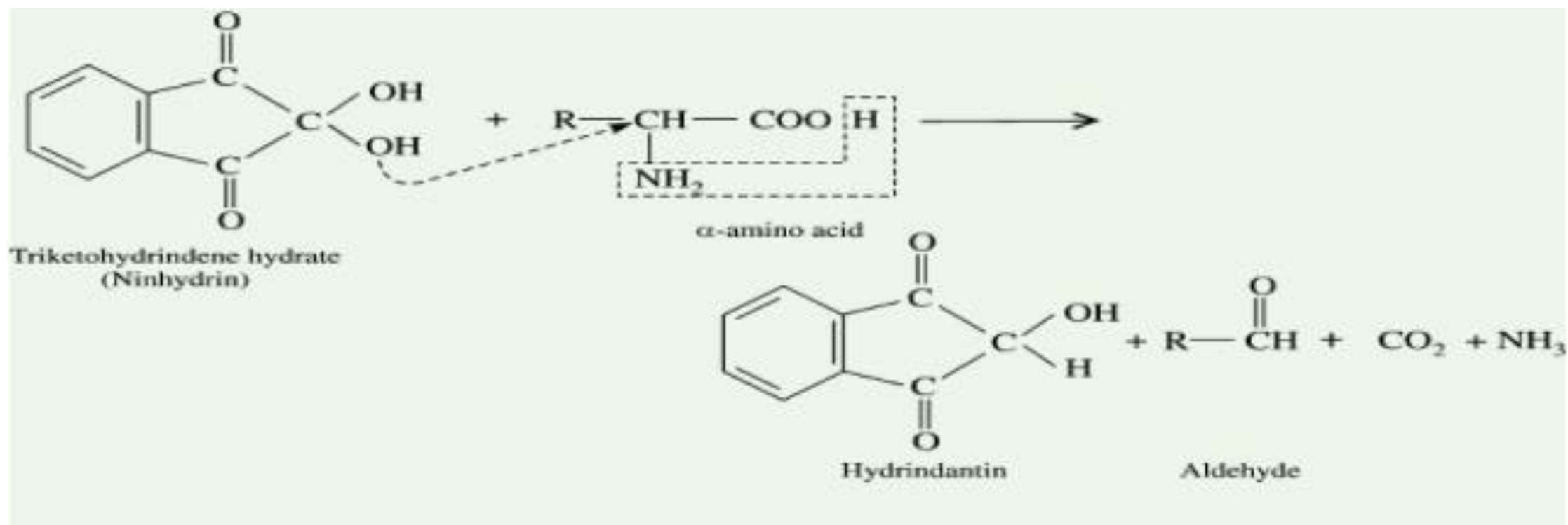
d. Désamination:

C'est une réaction importante d'un point de vue analytique (titration des AA). L'acide nitreux réagit sur les acides aminés en libérant du diazote qui peut être dosé. C'est la méthode gazométrique de **VANSLYKE**. L'azote dégagé provient a volume égal de l'AA et de l'acide nitreux.



Propriétés dues aux fonctions $-COOH$ et $-NH_2$ conjointes

- **Réaction avec la ninhydrine:** C'est une réaction fondamentale pour la détection et le dosage des acides aminés. La ninhydrine est un oxydant puissant qui par désamination oxydative des acides aminés, conduit à l'aldéhyde correspondant, avec libération d'ammoniac et de gaz carbonique et formation de ninhydrine réduite (hydrindantine). La **ninhydrine** réagit avec les acides aminés de désamination et de décarboxylation simultanée : la ninhydrine est toujours en excès.



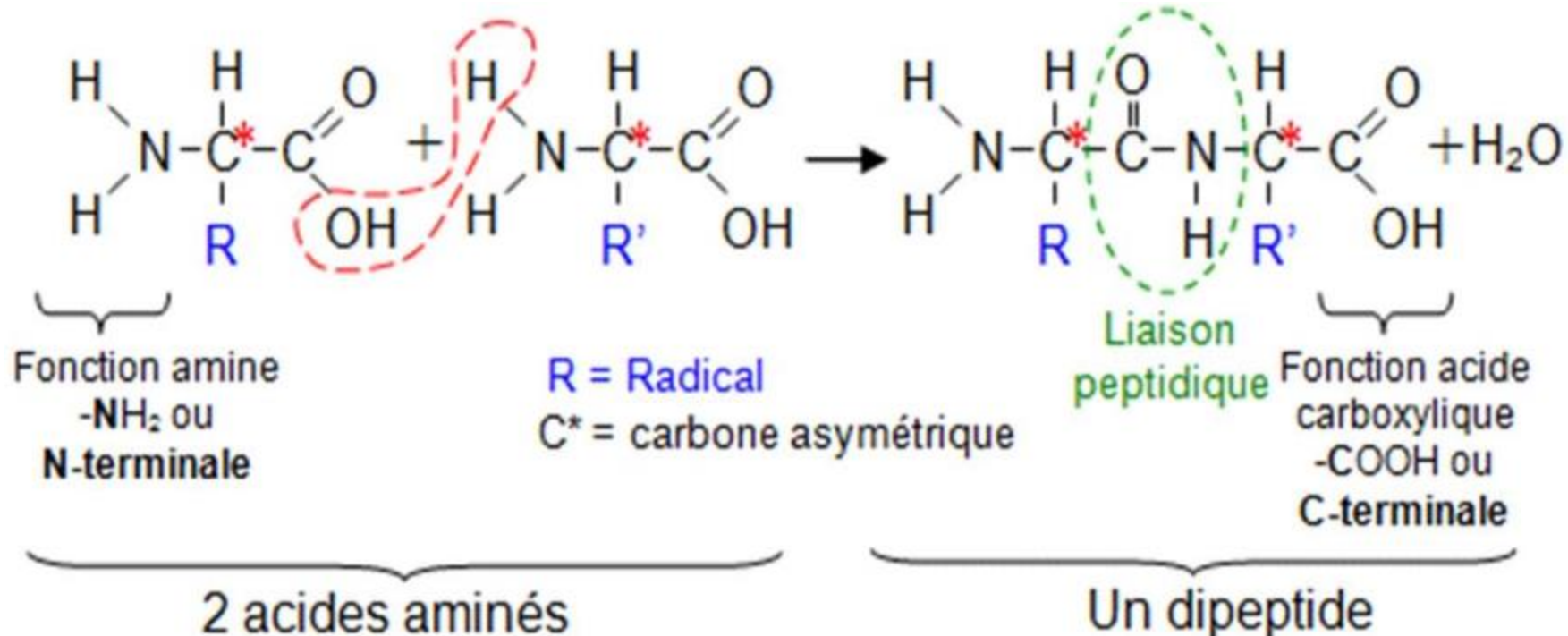
2. *Les peptides*

- 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 arbitrairement :
 - **Peptide** : enchaînement d'un nombre d'acide aminé inférieur à 50. Parmi ceux-ci, on parle d'**oligopeptide** pour un nombre d'acides aminés inférieur à 10 et de **polypeptide** pour un nombre supérieur à 10.

- **Les protéines**, qui sont des polypeptides, le nombre d'AA est supérieur à 100. Elles sont subdivisées en deux groupes :
- **les holopeptides**, composées uniquement de protéines ;
- **les hétéroprotéines** composées en plus des protéines de molécules non protéiques : glucides (glycoprotéines), lipides (lipoprotéines), acides nucléotidiques (nucléoprotéines), etc.
- protéine : enchaînement d'un nombre d'acides aminés au-delà de 50.

La liaison peptidique

1. **Type de liaison:** La liaison est de type amide substituée : élimination d'eau entre les groupes α -COOH et α -NH₂ de deux aminoacides. Cette liaison amide lie les deux carbones C α des deux aminoacides.

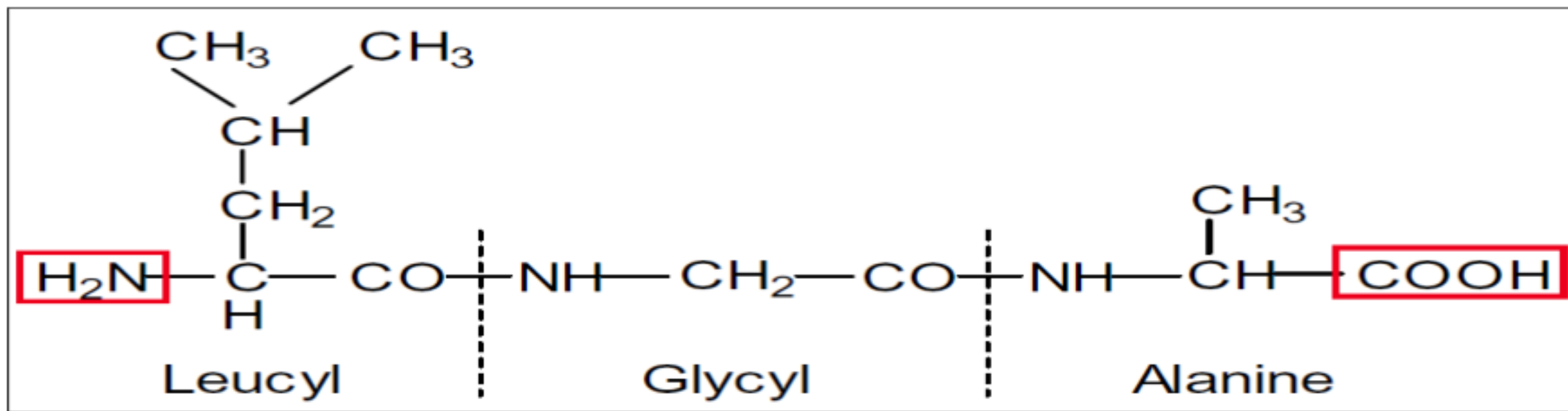


2. Les chaînes peptidiques et leur nomenclature :

Les chaînes peptidiques sont vectorisées : les liaisons peptidiques attachent les acides aminés dans un ordre spécifique. Les conventions sont les suivantes :

- les aminoacides engagés dans une chaîne peptidique sont appelés **résidus**.
Leur nom est celui de l'acide aminé auquel on ajoute le suffixe **yl**. **sauf pour le dernier qui garde son nom complet, sans suffixe.**
- **Exp: le *leucyl- glycyl- alanine*.**

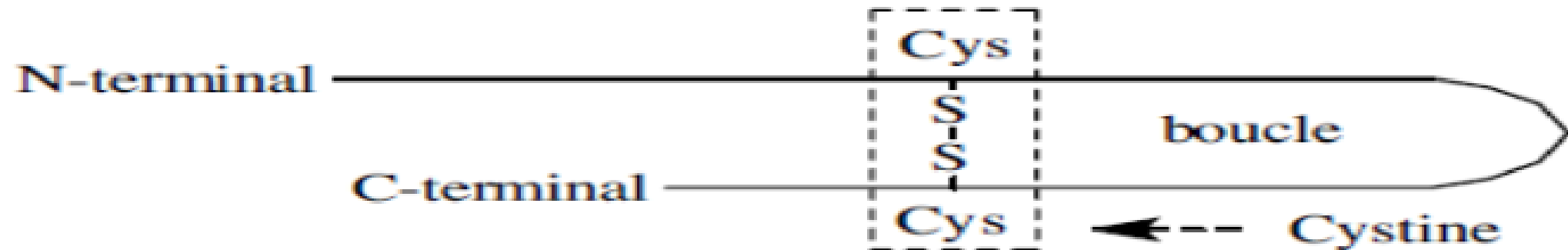
- les deux aminoacides aux extrémités de la chaîne sont appelés : **N-terminal** pour celui qui a sa fonction α -aminée libre et **C-terminal** pour celui qui a sa fonction α -COOH libre
- on numérote les aminoacides en écrivant l'enchaînement de gauche à droite à partir de l'extrémité N-terminal.



Extrémité N-ter Libre

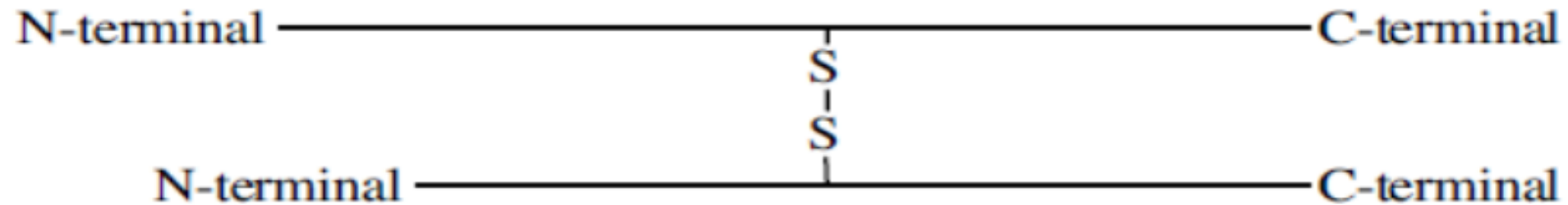
Extrémité C-ter Libre

- peptide formé d'une seule chaîne (monocaténaire) et cyclique



- Une liaison covalente (pont S-S) intra-chaîne est présente et réalisée par l'oxydation de deux fonctions thiol de deux cystéines

- peptide formé de plusieurs chaînes (polycaténaire)



- Une liaison covalente (pont S-S) inter-chaînes est présente et réalisée par l'oxydation de deux fonctions thiol de deux cystéines appartenant à deux chaînes peptidiques différentes.

Détermination de la séquence d'un peptide

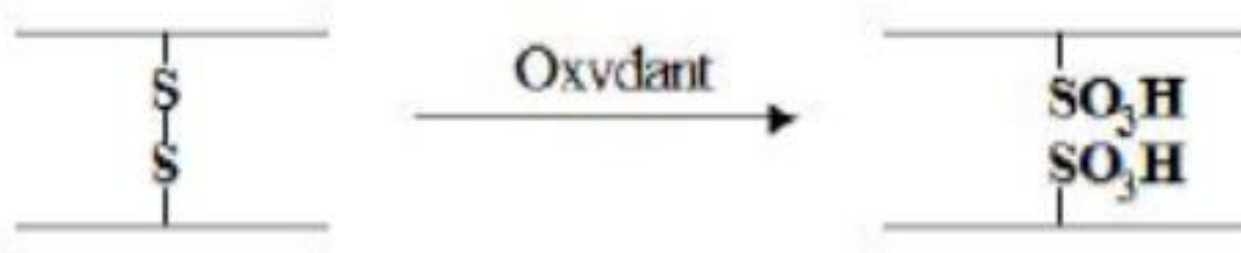
- Pour déterminer la structure d'un peptide, il faut connaître **sa composition brute en acides aminés**, puis en déterminer **sa séquence** (l'ordre d'enchaînement des résidus d'AA dans la macromolécule).

1. Détermination de la composition brute en AA d'un peptide

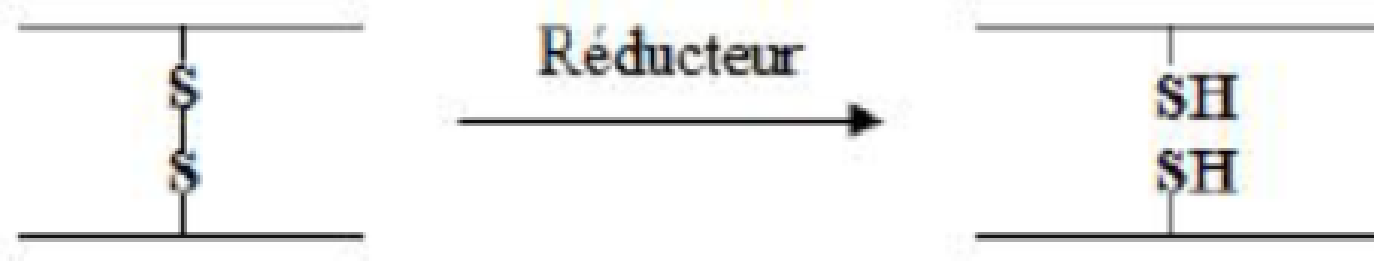
- La première étape consiste à séparer les différentes chaînes polypeptidiques s'il y en a plusieurs on rompt les ponts disulfures.

Ceci est possible de deux façons :

- soit avec un agent oxydant :



- soit par un agent réducteur, le 2-mercaptoéthanol qui transforme la cystine en deux cystéines.

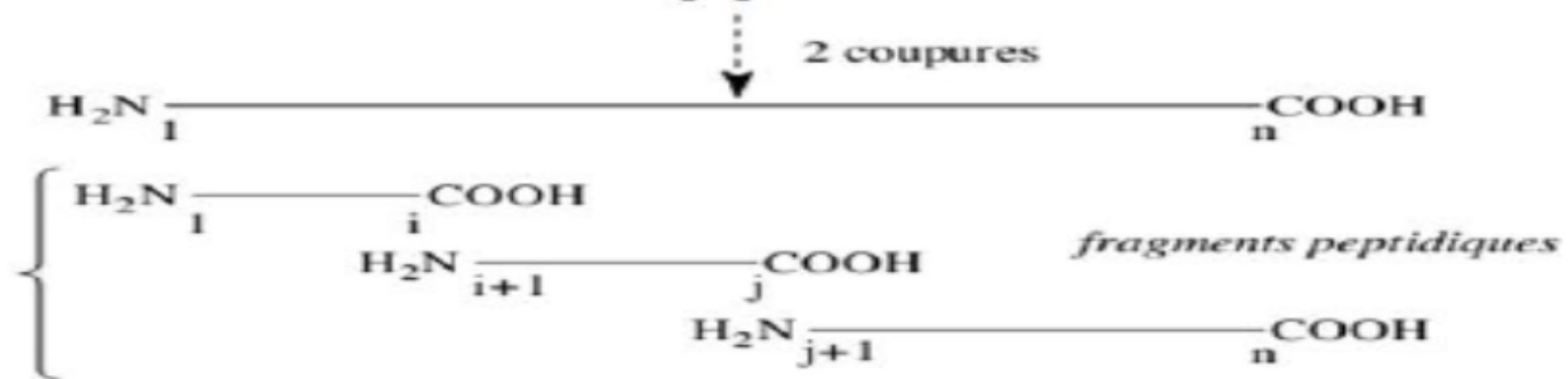


- La deuxième étape consiste à faire une hydrolyse chimique ou enzymatique pour couper les liaisons peptidiques:
- **a. Hydrolyse chimique acide:** Elle est conduite avec l'HCl 6N (mol/l) pendant 24 h à 72 h en chauffant jusqu'à 120°C et présente les inconvénients suivants :
 - elle est lente car elle nécessite plusieurs jours pour hydrolyser totalement les polypeptides ;
 - conduit à la destruction totale du tryptophane ;
 - la glutamine et l'asparagine sont transformées en acide glutamique et acide aspartique.
- **b. Hydrolyse basique:** Elle est conduite avec le KOH 4N à 100°C pendant 6 à 10 heures.

c. Hydrolyse enzymatique (protéases ou encore peptidases): Elle utilise deux types de peptidases :

- **les exopeptidases** qui s'attaquent aux extrémités de la chaîne pour la raccourcir. Il existe :
 - **les carboxypolypeptidases** qui attaquent la chaîne par le bout $-\text{COOH}$;
 - **les aminopolypeptidases** qui attaquent par le bout $-\text{NH}_2$.
- **les endopeptidases** qui rompent les liaisons peptidiques situées à l'intérieur de la chaîne.

Endopeptidases



Quelques peptides d'intérêt biologique ou alimentaire

- **Peptides hormonaux:** De nombreuses hormones synthétisées par diverses glandes sont de nature peptidique:
 - ✓ **La Vasopressine** : synthétisée par l'hypophyse, est une hormone diurétique, dont l'extrémité se termine par une fonction amide -CO-NH₂ sur la glycine et non par un acide libre -COOH.
 - ✓ **L'angiotensine II** : une hormone du sang d'origine hépatique qui régule la pression sanguine :
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe
 - ✓ **Le glucagon** : une hormone pancréatique hyperglycémiante comportant 29 AA.
 - ✓ **L'insuline** : une hormone pancréatique hypoglycémiante comportant 51 AA en deux chaînes unies par deux ponts disulfures (5A-5B et 20A-19B).

3. Les Protéines

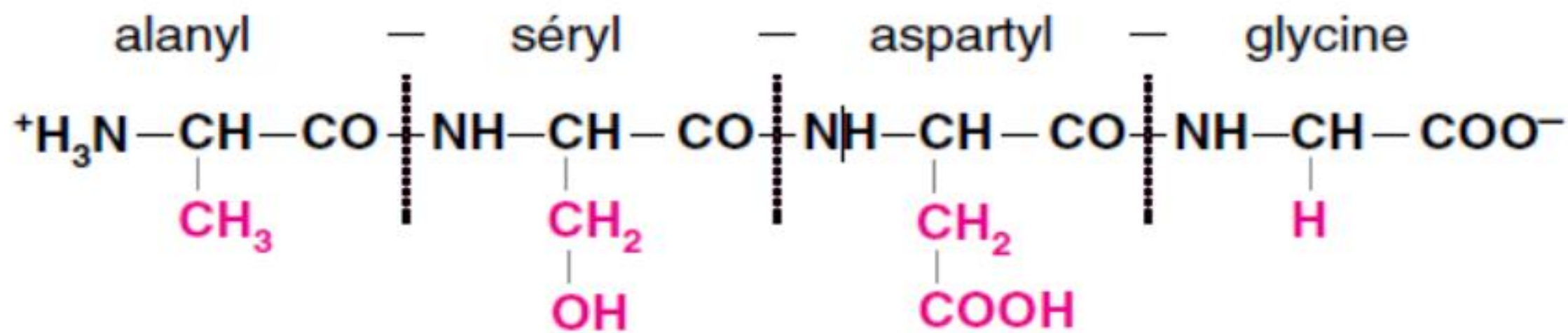
- Les protéines, peptides de plus de 50-100 aminoacides, sont classées en deux groupes principaux :
 - les **holoprotéines** qui ne sont constituées que d'aminoacides
 - les **hétéroprotéines** qui contiennent :
 - un **groupe prosthétique** minéral, métallique ou organique
 - une partie glucidique liée de manière covalente : **glycoprotéines**
 - une partie lipidique liée de manière covalente : **lipoprotéines**

3.1. Structure des protéines

- On définit quatre niveaux d'organisation : primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire (dans le cas de protéines à plusieurs sous-unités).

Structure primaire

- L'enchaînement successif des acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique constitue la structure primaire ou séquence de la protéine.
- Dans cette structure chaque acide aminé prend le nom de résidu. Une séquence en acides aminés est toujours écrite en partant du résidu N-terminal.
- Pour décrire la séquence des acides aminés, le suffixe « -yl » est ajouté à tous les résidus, sauf au C-terminal.



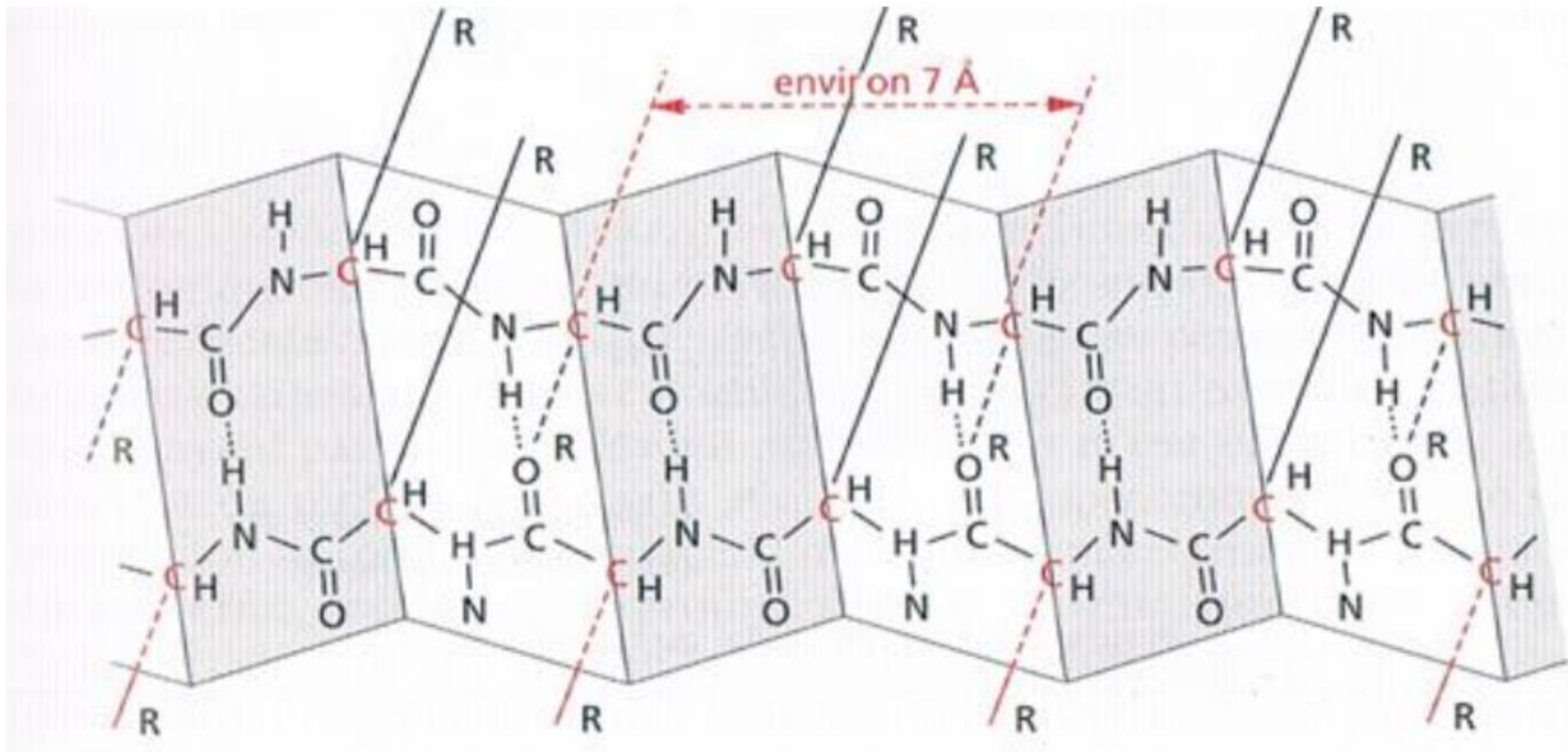
(Ala-Ser-Asp-Gly)

Structure secondaire

- C'est l'organisation de la chaîne polypeptidique dans l'espace par intervention des liaisons Hydrogène entre éléments constitutifs proches. Cette structure due à la répétition d'un motif structural de base.
- On distingue en générale deux types principaux de structure secondaire : l'état étiré (feuilletts plissés β) et l'état hélicoïdal (hélice α).

a. ETAT étiré ou structure en feuillets plissés β :

Les protéines fibreuses possèdent ce type de conformation. On voit deux chaînes polypeptidiques antiparallèles, unies par des liaisons hydrogène interchaînes. Les atomes de la liaison peptidique sont situés dans un même plan, mais les carbones α appartiennent simultanément à deux plans différents.



b. Etat hélicoïdal ou hélice α :

On voit que la chaîne peptidique est maintenue dans cette configuration hélicoïdale grâce à des liaisons hydrogène intrachaîne.

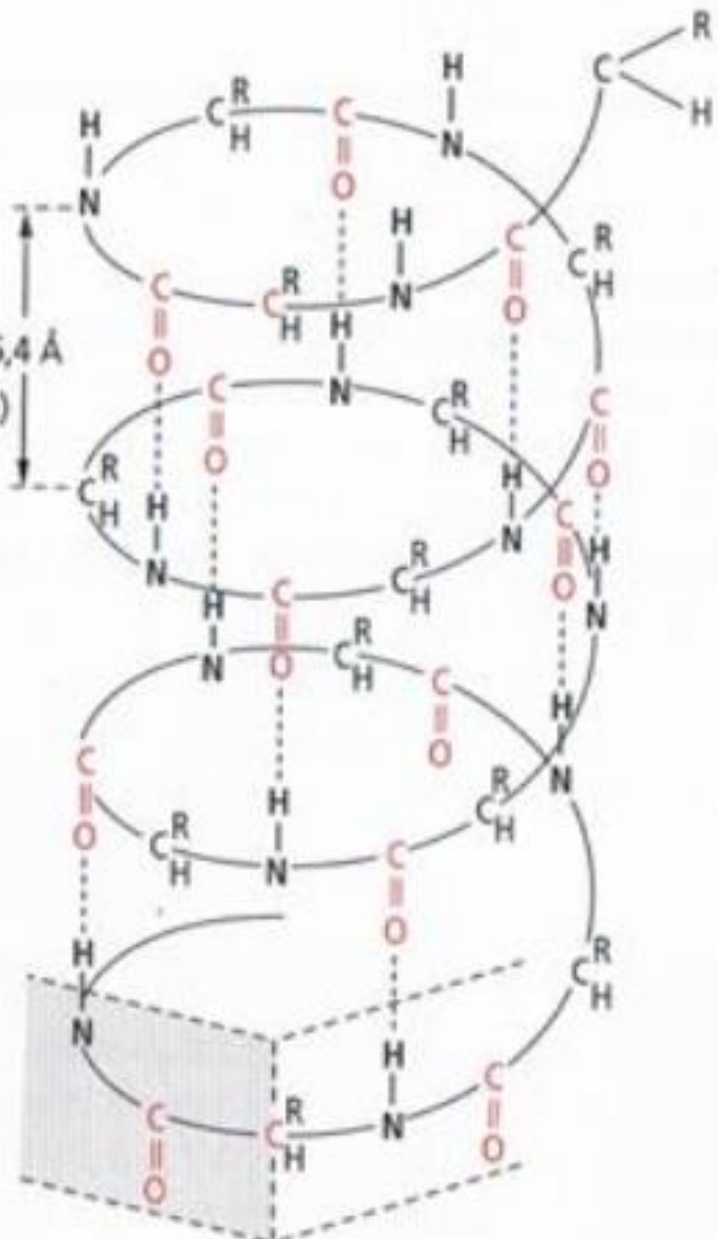
L'hélice comporte 3,7 résidus d'acide aminé par tour de spire.

Les liaisons peptidiques forment entre eux un angle de 80° environ.

Les chaînes latérales sont dirigées vers l'extérieur et peuvent réagir entre elles ou avec le milieu.

(3,7 résidus
d'acide
par tour de spire)

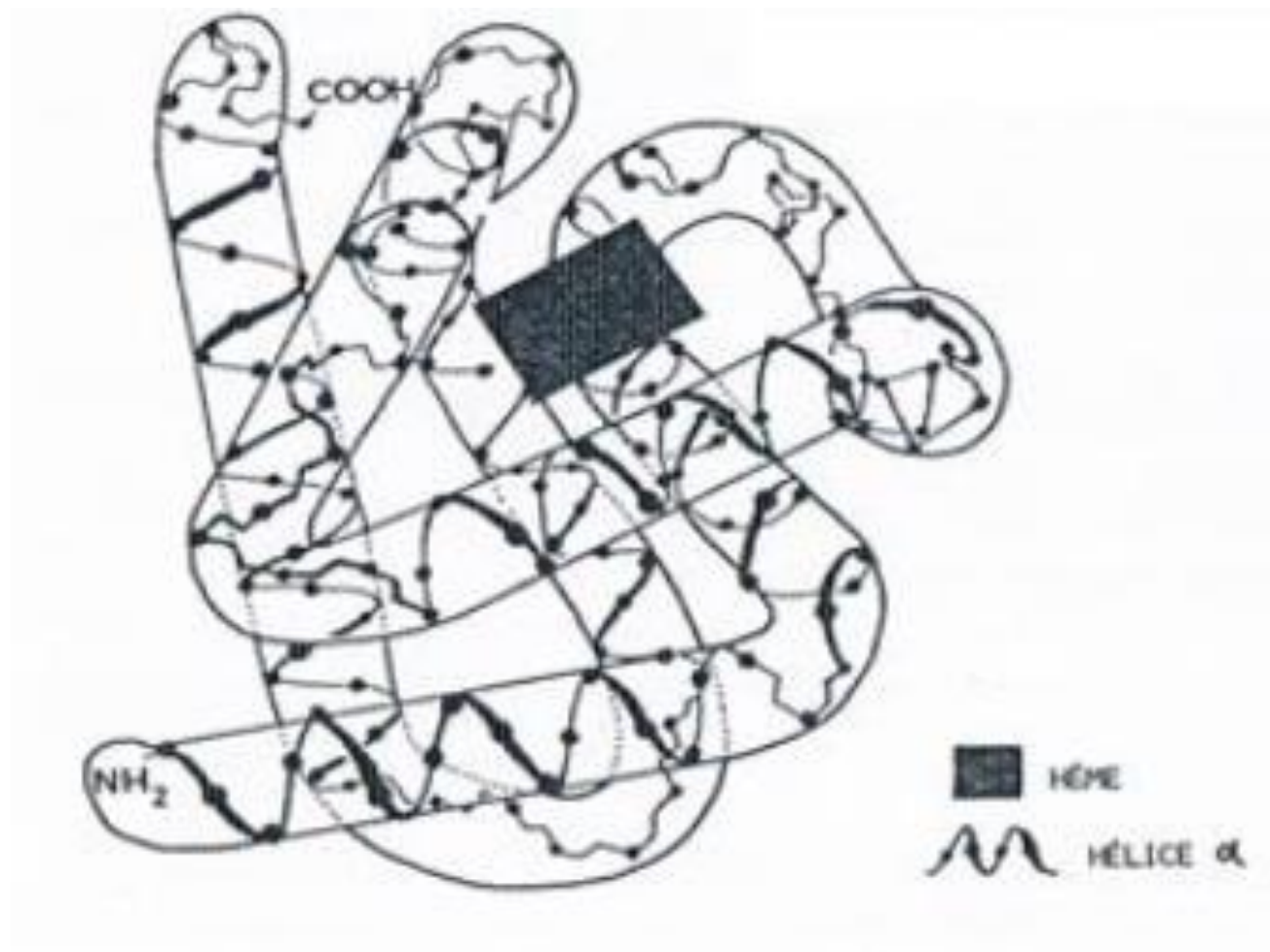
5,4 Å



angle de 80 entre les plans
des liaisons peptidiques

Structure tertiaire

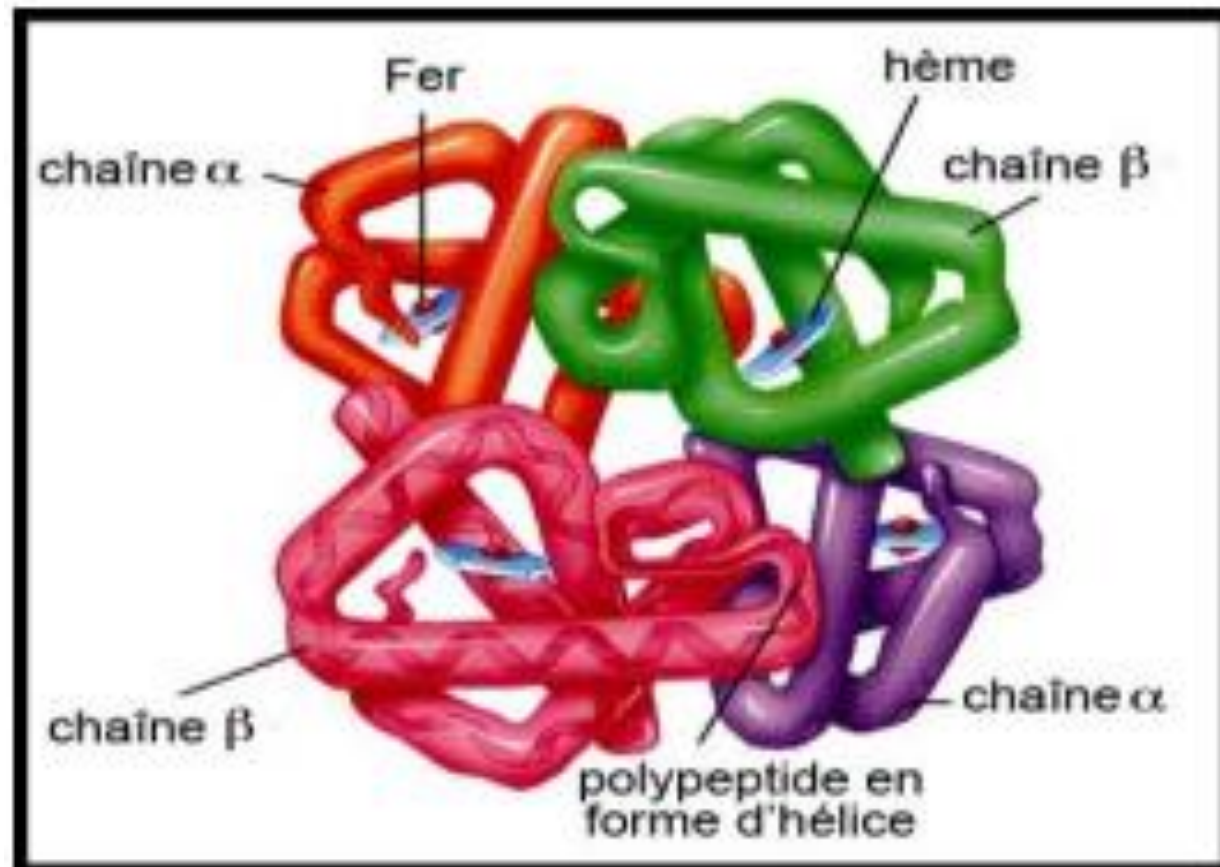
- C'est une structure tridimensionnelle compacte due au repliement et à l'enroulement de la chaîne polypeptidique sur elle-même par suite d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène, hydrophobes ou covalentes (ponts disulfures). Les chaînes latérales polaires des acides aminés se trouveront à la surface et hydratées, alors que les chaînes latérales non polaires (hydrophobes) seront dirigées vers l'intérieur, protégées du contact de l'eau.



Structure quaternaire

Dans le cas de protéines formées de plusieurs sous unités:

- C'est l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques stabilisées par des liaisons de faible énergie (liaisons électrostatique, hydrogène ou hydrophobes) ou plus rarement des liaisons covalentes (ponts disulfures).



Structure quaternaire de l'hémoglobine, tétramère formée de 2 sous-unités α et de 2 sous-unités β .