

## **Acides amines, peptides et protéines.**

### **Plan**

#### **A- Les Acides amines**

Introduction

Définition des acides aminés

Structure des AA

Importance biologique

Classification: Les acides aminés naturels

Nomenclature des AA

Les AA essentiels

Les autres acides aminés

Propriétés physiques des AA

A- Solubilité

B- Stéréochimie des acides  $\alpha$  aminés (Notation D, L)

C- Pouvoir rotatoire des AA

D- Propriétés ioniques

E- Propriétés spectrales

Propriétés chimiques des AA

A- Propriétés de la fonction carboxylique

Estérification par un alcool

Formation d'amide (liaison peptidique)

Réaction de décarboxylation

B- Propriétés générales liées au groupe NH<sub>2</sub>

Formation d'imine « base de Schiff » : réaction avec un aldéhyde

N-Acylation

Action du 1-fluoro 2,4- dinitrobenzène

Action du phénylthiocyanate

Dansylation

Désamination, *transamination*

Réaction avec la ninhydrine : désamination oxydative

C- Propriétés des chaînes latérales.

Méthodes d'étude des AA

Méthodes basées sur la solubilité

Chromatographie sur Papier

Chromatographie sur Couche Mince

Chromatographie en phase gazeuse

Méthodes basées sur la charge

Electrophorèse

## Chromatographie échangeuse d'ion

### HPLC

#### **B- Les peptides**

- 1- Définition de la liaison peptidique
- 2- Caractéristiques de la liaison peptidique
- 3- Mode de représentation d'une séquence peptidique
- 4- Nomenclature des peptides
- 5- Propriétés physiques des peptides
- 6- Propriétés chimiques
- 7- Propriétés biologiques
- 8- Quelques exemples de peptides

#### **C- Les protéines**

- 1- Définition
- 2- Caractéristiques des protéines
- 3- Structure tridimensionnelle des protéines
  - 3-1- Structure primaire
  - 3-2- Structure secondaire
    - 3-2-1- Hélice  $\alpha$
    - 3-2-2- Feuillet plissé  $\beta$
    - 3-2-3- Coude  $\beta$
  - 3-3- Structure tertiaire
  - 3-4- Structure quaternaire
  - 3-5- Les différents types de liaisons ou forces impliquées dans la structuration des protéines
- 4- Quelques différences entre les différentes formes des protéines.
- 5- Exemples de protéines fibreuses
  - 5-1- Collagène
  - 5-2- Kératine
- 6- Techniques d'étude des structures des protéines
- 7- Propriétés physico-chimiques des protéines
  - 7-1- Masses molaires
  - 7-2- Caractère amphotère
  - 7-3- Solubilité
    - 7-3-1- En fonction de la force ionique
    - 7-3-2- En fonction du pH
  - 7-4- Stabilité thermique des protéines
  - 7-5- Autres propriétés
- 8- Détermination de la structure primaire des protéines
  - 1- Stratégie générale
  - 2- Techniques de séparation et de purification
    - 2-1- Ultracentrifugation
    - 2-2- Chromatographie d'exclusion
    - 2-3- Chromatographie d'affinité
    - 2-4- Electrophorèse en gel de polyacrylamide (PAGE) avec SDS
    - 2-5- Focalisation isoélectrique
  - 3- Fragmentation
    - 3-1- Détermination de la composition en AA (analyse)
      - 3-1-1- Hydrolyse chimique
        - 3-1-1-1- Hydrolyse acide
        - 3-1-1-2- Hydrolyse alcaline
      - 3-1-2- Hydrolyse enzymatique

- 3- 2- Rupture des ponts disulfures
- 3- 3- Coupures intra-chaine peptidique
  - 3- 3- 1- Coupures chimiques: CNBr, NBS
  - 3- 3- 2 Coupures enzymatiques
- 4- Séquençage
  - 4- 1- Détermination des extrémités C-terminal et N-terminal par voie enzymatique.
  - 4- 2- Détermination du C-terminal par méthode chimique
  - 4- 3- Détermination du N-terminal par méthode chimique
  - 4- 4- Dégradation d'Edman
- 5- Détermination de la séquence en AA

## **D- Métabolisme des Acides aminés**

- 1- Introduction
- 2- Catabolisme des Acides aminés
  - 2- 1- Élimination du NH<sub>2</sub> des AA
    - 2- 1- 1- Transamination
    - 2- 1- 2- Désamination oxydative
  - 2- 2- Décarboxylation
  - 2- 3- Catabolisme du squelette carboné
  - 2- 4- Synthèse de la glutamine (Glutaminogénèse)
  - 2- 5- Hydrolyse de la glutamine
  - 2- 6- L'ammoniogénèse
  - 2- 7- Le cycle de l'urée ou uréogénèse
- 3- Biosynthèse des AA
  - Voies de biosynthèse des AA

## A- Les Acides Aminés

### Introduction

Les Acides aminés sont les constituants fondamentaux des protéines. Plus de 300 acides aminés ont été inventoriés.

Les Aa sont Synthétisés par les animaux, les micro-organismes et les végétaux.

Source :

Exogène : apport alimentaire

Endogène : catabolisme des Protéines

On distingue deux catégories :

1. Les Aa naturels « standards »: 20 différents AA protéinogènes sont trouvés soit dans des petits peptides (<20 Acides aminés) soit formant des protéines.

2. Les autres Aa ; dont certains sont trouvés à l'état libre (ornithine et la citrulline).

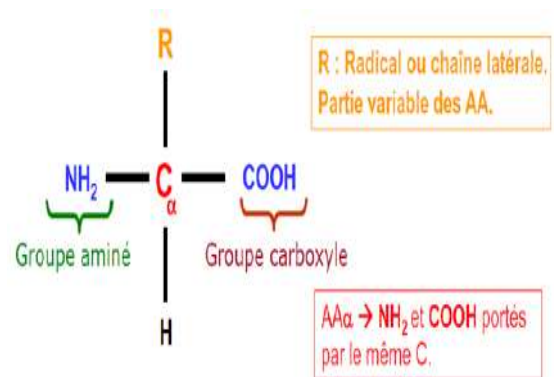
### Définition

Les acides aminés ou aminoacides sont des molécules chimiques, qui possèdent deux fonctions:

Une fonction acide carboxylique COOH et une fonction amine primaire NH<sub>2</sub>;

Ces deux fonctions sont portés par un même atome de carbone (noté α)

Les AA diffèrent par la nature de la chaîne latérale R.



### Structure d'un acide aminé

Les AA ont un motif structural commun

### Différents acides aminés

Les Aa naturels: 20 Aa qui sont incorporés dans les protéines lors de la traduction (Aa standards) et d'autres Aa, dont certains sont des Aa modifiés: hydroxyproline, hydroxylysine, phosphosérine et d'autres sont impliqués dans des voies métaboliques : méthyl-histidine, homocystéine, acide gamma hydroxybutyrique ...

### Rôle des acides aminés

Le rôle des acides aminés est multiple:

**Structurale** : monomères des protéines.

**Energétique** : substrats énergétiques.

**Métabolique** : précurseurs de molécules d'intérêt biologique ou intermédiaires métaboliques.

### Classification des acides aminés naturels

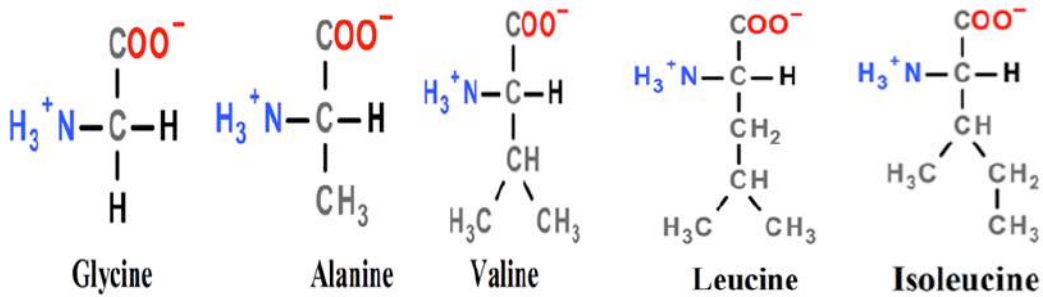
**Neutre**: un groupe amino, un groupe carboxyle et une chaîne latérale qui est :

Aliphatique, hydroxylée, souffrée, à noyau aromatique, cyclique

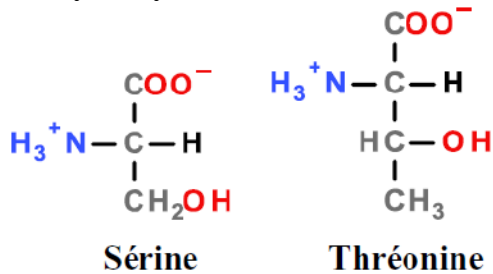
**Acide**: un groupe aminé, un groupe carboxylé et une chaîne latérale carboxylée

**Basique**: un groupe aminé, un groupe carboxylé et chaîne latérale basique

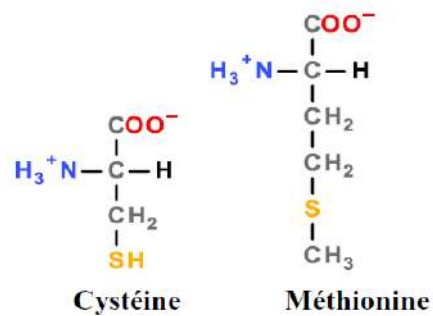
#### Aliphatique



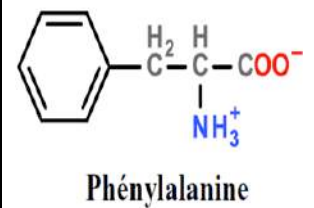
#### Aa Hydroxylés



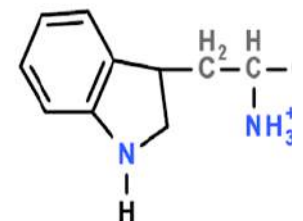
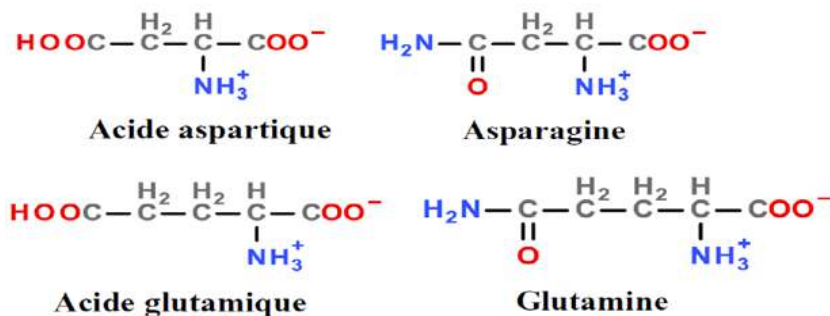
#### Aa souffrés



#### Aa aromatiques

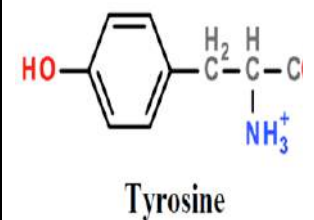
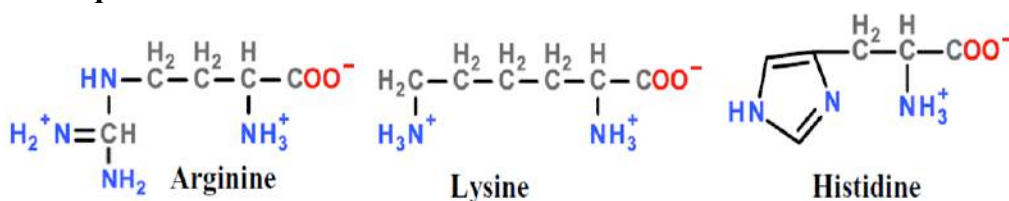


#### Aa diacides et leurs amides



Tryptophane

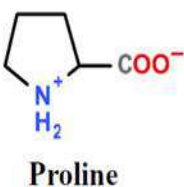
#### Aa basiques



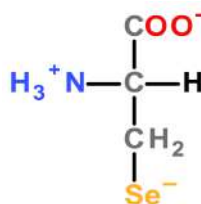
Tyrosine

#### Remarque

**1- Proline:** Acide iminé à chaîne latérale cyclique)



**2- Sélénocystéine:** Acide aminé avec du sélénium à la place du soufre; entre dans la constitution de certaines enzymes (glutathion peroxydase).



Classification selon la polarité de la chaîne latérale R à pH neutre

#### 1) Polaires

Non ionisables : **Non chargées à pH neutre**

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

**2) Non polaire : Non chargées à pH neutre (apolaire ou hydrophobe)**

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

**Nomenclature des acides aminés : Codage des AA.**

Pour nommer les acides aminés, on peut utiliser un code à 3 lettres ou un code à une lettre.

Nom	Code à 3 lettres	Code à 1 lettre	Nom	Code à 3 lettres	Code à 1 lettre
Alanine	Ala	A	Leucine	Leu	L
Arginine	Arg	R	Lysine	Lys	K
Asparagine	Asn	N	Méthionine	Met	M
Acide aspartique	Asp	D	Phénylalanine	Phe	F
Acide glutamique	Glu	E	Proline	Pro	P
Cystéine	Cys	C	Sérine	Ser	S
Glutamine	Gln	Q	Thréonine	Thr	T
Glycine	Gly	G	Tryptophane	Trp	W
Histidine	His	H	Tyrosine	Tyr	Y
Isoleucine	Ile	I	Valine	Val	V
			Sélenocystéine	Sec	U

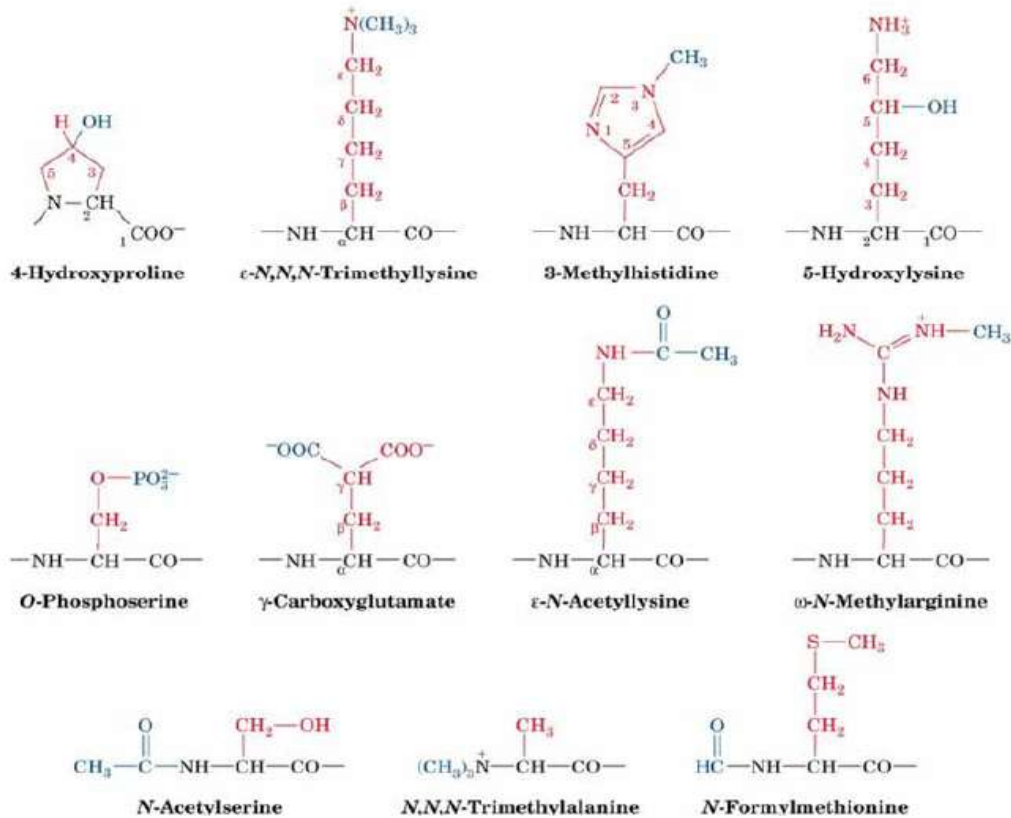
**Les acides aminés essentiels :**

Acide aminé essentiels: la valine, la leucine, l'isoleucine, la phénylalanine, le tryptophane, la lysine, la méthionine et la thréonine : **Lysine et Thréonine: Absolument essentiels.**

Acides aminés parfois essentiels, dans certaines conditions (grossesse, croissance) l'histidine et l'arginine deviennent essentielles ; (**Arg +++ = chez le Nourrisson**)

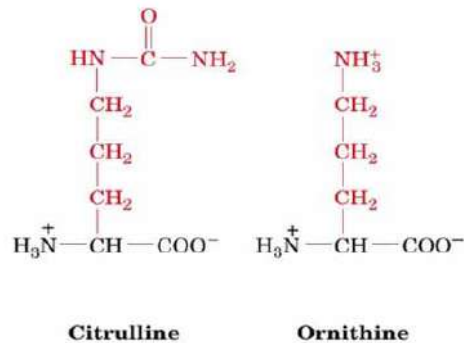
Les acides aminés qu'on peut appeler semi essentiels : tyrosine et la cystéine (phénylalanines et la méthionine)

**Aa modifiés après la traduction des protéines**



### Aa entrant dans des métabolismes :

Ces Aa ne sont pas utilisés pour produire des protéines, mais sont rencontrés dans des voies métaboliques.



## III) Propriétés physico chimiques des acides aminés

### 1) Propriétés physiques

#### A- Solubilité

Les AA sont solubles dans l'eau : Les plus solubles sont les plus petit (glycocolle) ou ceux qui portent des radicaux mouillables comme  $\text{NH}_2$ ,  $\text{COOH}$  ou  $\text{OH}$  (sérine).

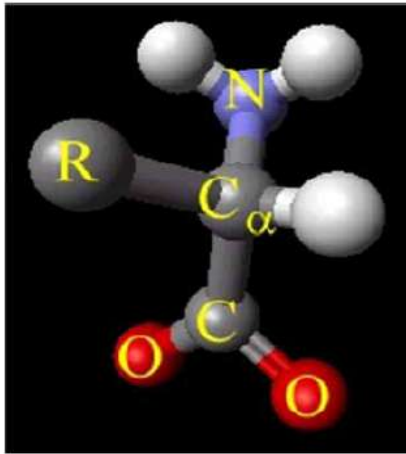
Les acides aminés à long chaine carbonée sont peu solubles dans l'eau.

Les Aa sont faiblement solubles dans l'alcool.

La solubilité dans les solvants apolaires dépend de la chaine latérale.

En présence de deux phases liquides (éthanol/eau), les aminoacides se répartissent dans les deux phases avec des coefficients de partage spécifique : cette propriété est utilisée pour les classer.

#### B- Stéréochimie des acides $\alpha$ aminés



Les acides aminés comprennent tous, 1 ou 2 carbones asymétriques: ce sont des **molécules chirales**, à l'exception de la glycine.

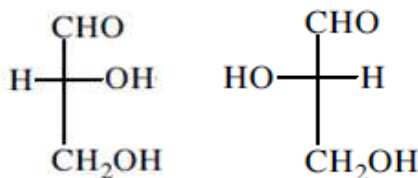
L'atome de carbone asymétriques appelé **centre de la chiralité** est lié à quatre substituant différents donc substitué asymétriquement.

Il existe 2 stéréo-isomères de configurations différentes

D-acide aminé et L-acide aminé

Ces stéréo-isomères sont appelées "**énantiomères**" (non superposables; images l'un de l'autre dans un miroir)

### Notation D, L

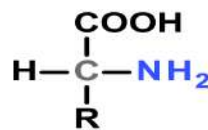


D-glycéraldéhyde    L-glycéraldéhyde

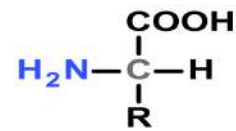
Les configurations absolues de toutes les molécules dérivées du carbone sont rapportées au D-glycéraldéhyde [isomère (+)] et L-glycéraldéhyde [isomère (-)].

### Notation D, L

En règle générale les acides aminés présents dans les protéines naturelles appartiennent à la série L.



D-Acide aminé

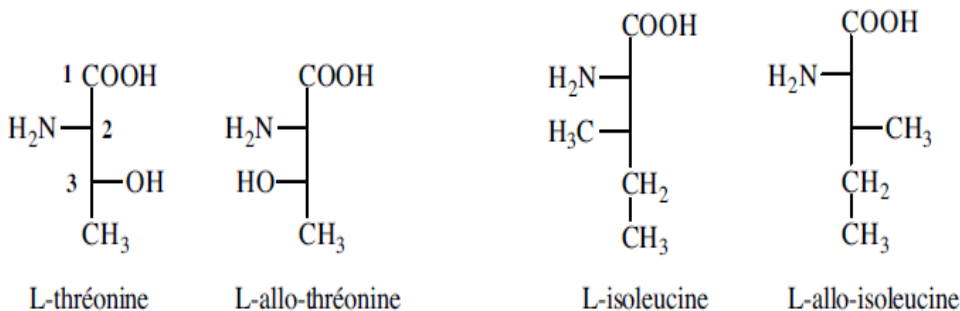


L-Acide aminé

Mais on peut trouver des acides aminés de configuration D dans certains produits naturels (antibiotiques peptidiques...)

Remarque :

Cas d'acides aminés ayant un deuxième centre chiral. Il y a  $2^n$  structures isomériques ( $n$  = nombre de centres chiraux), ce qui correspondent à 2 paires d'énantiomères



Le carbone 3 ( $\beta$ ) de la thréonine et de l'isoleucine est aussi un centre chiral

Leur énantiomère (L) existe sous deux formes épimères. On affecte le préfixe "**allo**" à l'épimère que l'on ne trouve pas dans les protéines :

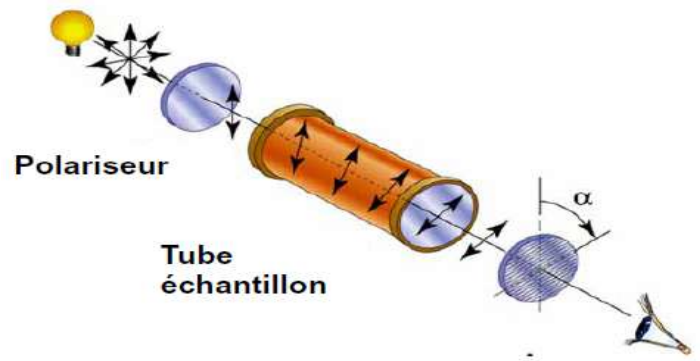
Des isomères qui ont le même enchaînement d'atomes, mais qui ne sont ni superposables, ni l'image l'une de l'autre dans un miroir sont des diastérisomères .

Des isomères qui diffèrent par un seul des centres asymétriques sont des épimères (diastérisomères).



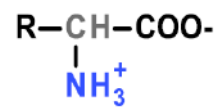
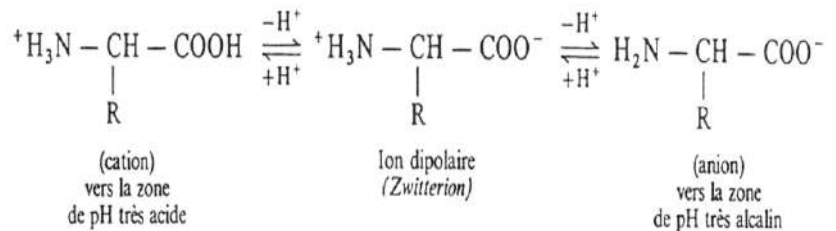
### C- Pouvoir rotatoire des AA

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** (-).



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

Les aminoacides possèdent deux groupements ionisables à PH convenable,  
1 fonction acide -COOH et 1 fonction basique -NH<sub>2</sub>.  
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<sup>+</sup>) sur  
le groupement (COO<sup>-</sup>);  
En milieu alcalin perdre un proton (H<sup>+</sup>) du  
groupement (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>).  
En allant du PH très acide à PH très alcalin,  
l'évolution des charges peut être  
schématisée comme suit:



### Point isoélectrique (pHi)= PI

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**).

Le zwitterion possède autant de charges positives qu'il  
a de charges négatives, par  
Le groupement carboxylique chargé  
négativement  
Le groupement aminé, chargé positivement  
Les groupements ionisables de leurs chaînes  
latérales.

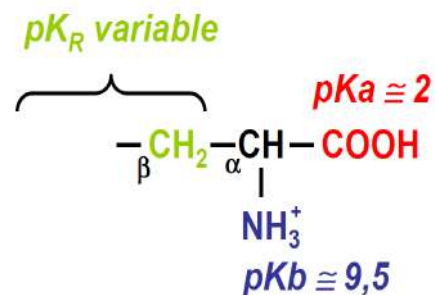
$$\text{PI} = \frac{\text{PKa (groupement carboxyl)} + \text{PKb (groupement amine)}}{2}$$

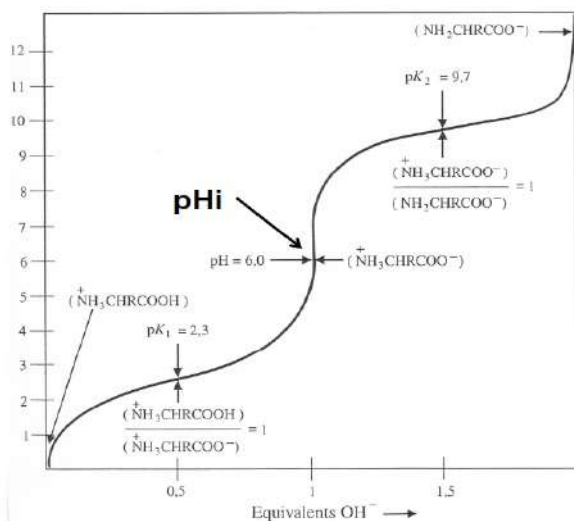
pK = pH de demi-dissociation = 50% du groupement est  
dissocié.

Ainsi une courbe de titration, peut être tracée et interprétée en  
fonction de la variation du PH pour les acides aminés

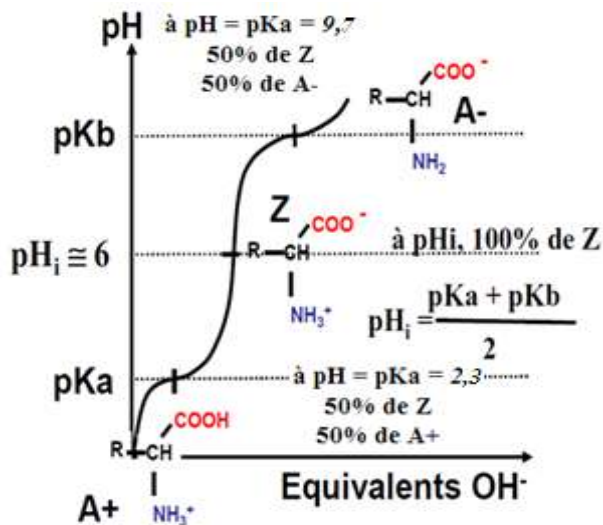
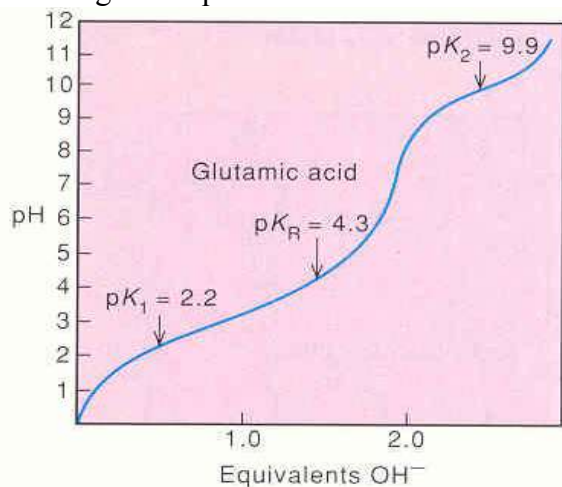
### Courbe de titration :

Alanine : acide aminé monoaminé et monocarboxylique.

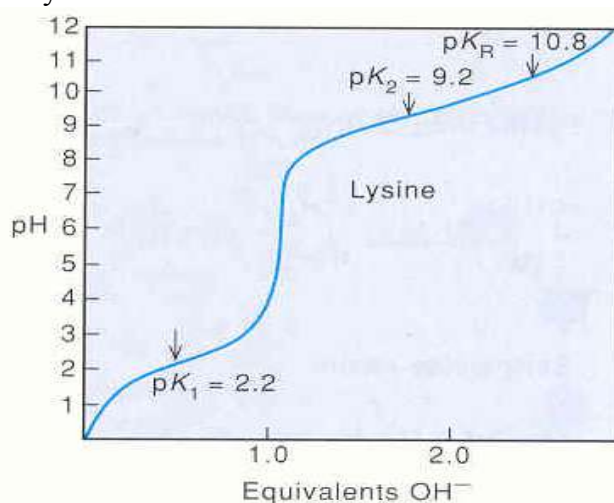




L'Acide glutamique



La lysine



## Récapitulatif

Le point isoélectrique (pHi) est le pH où un AA se trouve dans sa forme neutre.

A ce pH, l'AA existe presque exclusivement sous la forme dipolaire.

A un pH supérieur au point isoélectrique, les acides aminés forment des anions; au dessous de ce pH critique, ils fixent des protons et existent à l'état de cations.

Le pHi pour les acides aminés neutres va de pH 4,8 à 6,3.

Pour les acides aminés basiques, le pHi s'étend de 7,8 à 10,8

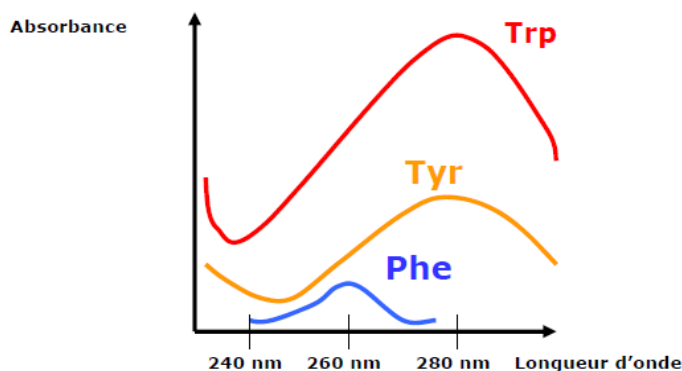
Pour les acides aminés acides, le pHi va de 2,7 à 3,2.

## E- Propriétés spectrales : Coloration et absorption de la lumière

Les solutions d'AA sont incolores, mais sont visibles en UV:  $\lambda < 230$  nm

Les AA aromatiques absorbent vers 280 nm.

Utile pour repérer la présence de protéines.



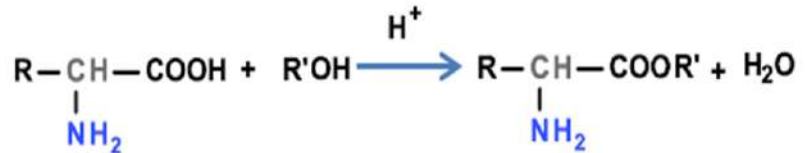
### III) Propriétés physico chimiques des acides aminés

#### 2) Propriétés chimiques :

##### A- Propriétés de la fonction carboxylique

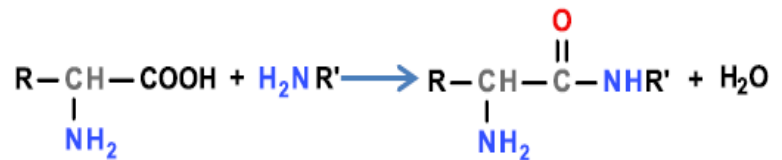
##### Estérification par un alcool : en présence d'un acide fort

Réaction utilisée pour séparer les aminoacides en phase gazeuse (et même en phase liquide) en produisant des dérivés esters butyliques



##### Formation d'amide (liaison peptidique):

synthèse peptidique (lier le carboxyle d'un aminoacide avec l'amine du suivant).



##### Réaction de décarboxylation : synthèse d'amine (ex : histamine)

Par voie chimique ou enzymatique



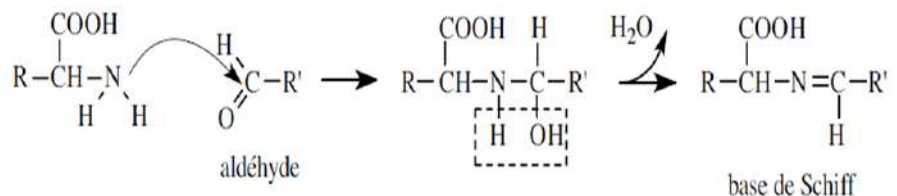
Exemple de formation d'amine (par décarboxylation):

- Sérine: donne éthanolamine (précurseur de la choline)
- Histidine donne l'histamine (vasodilatateur intervenant dans les réactions d'allergie ou d'inflammation)
- Acide glutamique : donne 4-aminobutanoïque ou "GABA" (neurotransmetteur).

##### B- Propriétés liées au groupe NH<sub>2</sub>

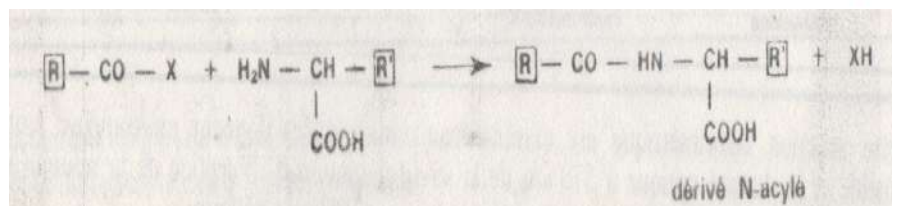
##### Formation d'imine « base de Schiff » : réaction avec aldéhyde: *Addition de carbonyle*

Sauf la proline qui contient une fonction amine secondaire



##### N-Acylation

Avec des composés tels que les anhydrides d'acides ou des chlorures d'acide, les acides aminés forment des dérivés N-acylés



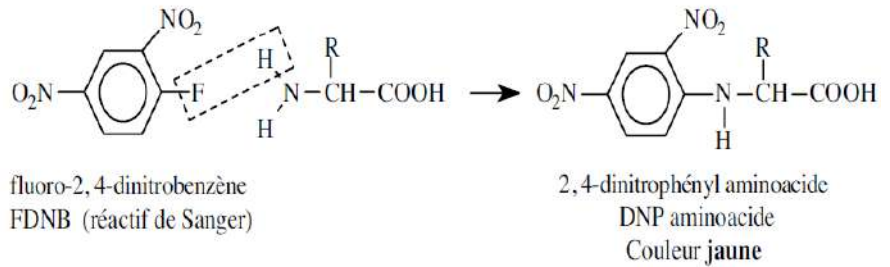
Réaction de Sanger

##### Action du 1-fluoro 2,4-dinitrobenzène

Le FDNB réagit facilement avec les fonctions aminées pour former un dérivé N-2,4- dinitrophénylé.

Ce composé jaune est facile à identifier par chromatographie et doser par spectrophotométrie à 360 nm.

Cette réaction a permis à Frederik SANGER (1953) d'établir la première structure primaire d'une protéine : l'insuline.



### Action du phénylisothiocyanate ou Carbamylation

La carbamylation avec le phénylisothiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne un dérivé phénylthiohydantoïne-aminoacide (PTH-aminoacide) qui absorbe dans l'UV et facilement séparable par chromatographie.

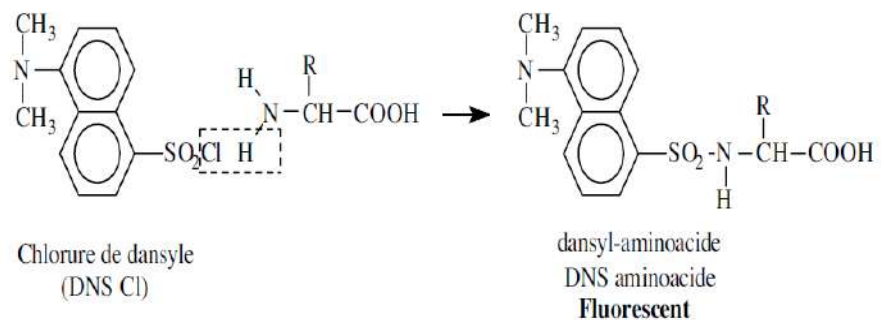
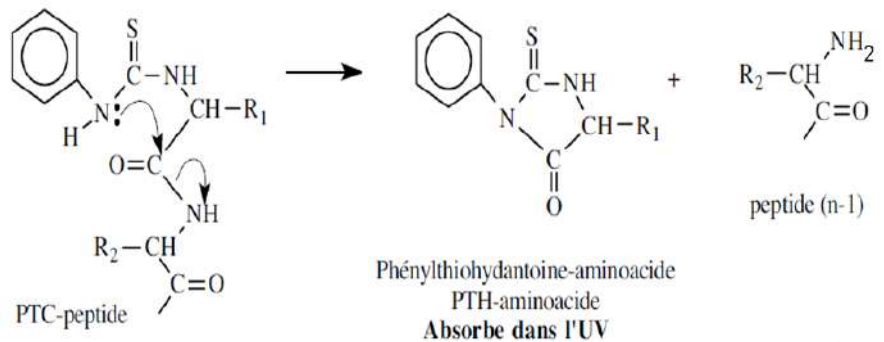
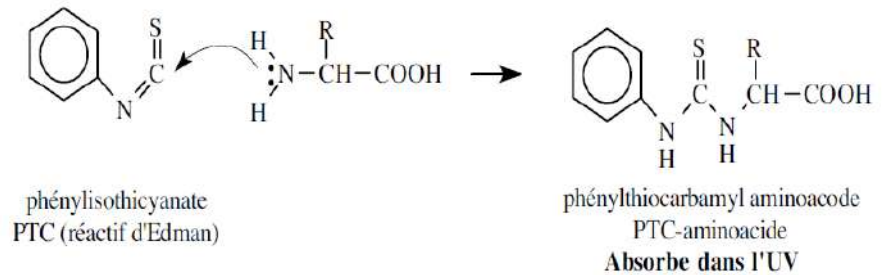
#### Carbamylation

La réaction avec l'AA terminal d'une protéine (**n** AA) libère un **PTH**-aminoacide et une protéine amputée de son AA N-terminal (**(n-1)** AA) aminoacides:

En répétant le processus, on peut déterminer la structure primaire de la protéine (**dégradation récurrente d'Edman**).

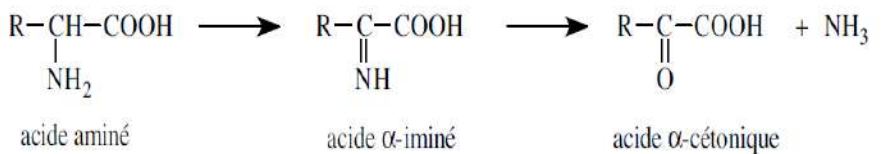
#### Dansylation

L'action du chlorure de dansyle (1-diméthyl-amino-naphtalène-5-sulfonyl) donne un DNS aminoacide stable et fluorescent

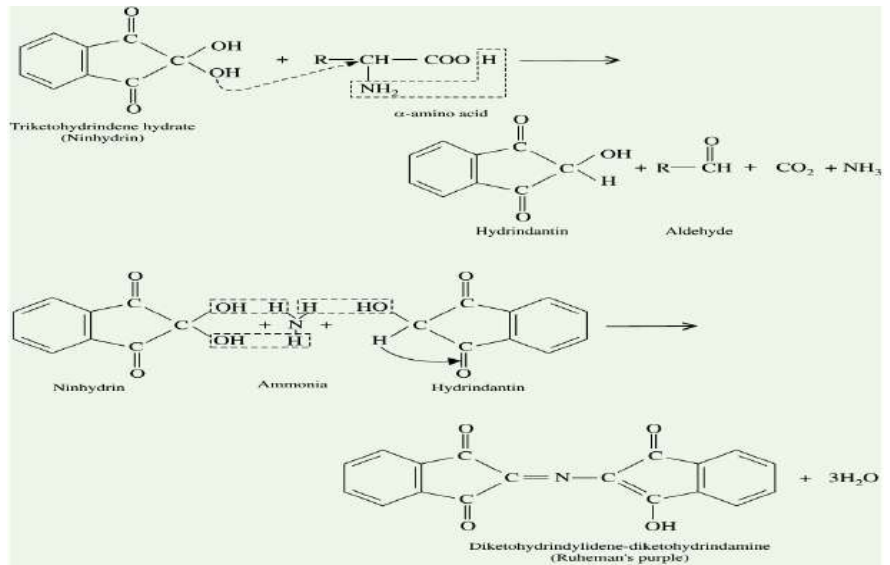


#### Désamination

Réaction au cours de laquelle, l'acide aminé perd son groupement sous forme de NH<sub>3</sub>.



La réaction avec la ninhydrine (++) connue et utilisée) donne un produit violet pour les amines primaires  
jaune pour les amines secondaires.



### C- Propriétés de la chaîne latérale

Groupe thiol

Oxydation des SH : formation de ponts disulfures La cystéine peut être oxydée en cystine.

Fonctions alcool de la sérine et la thréonine, la fonction phénol de la tyrosine aussi

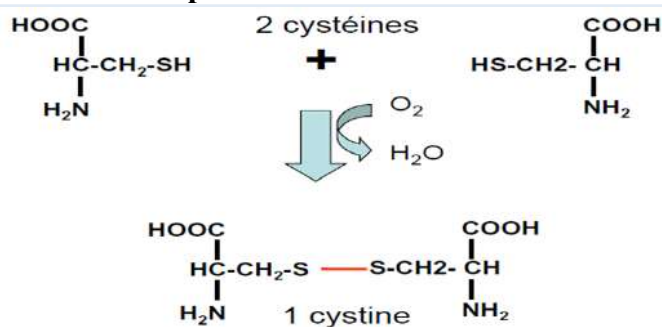
Phosphorylation par l'acide phosphorique: formation d'un ester phosphate

O-Glycosylation

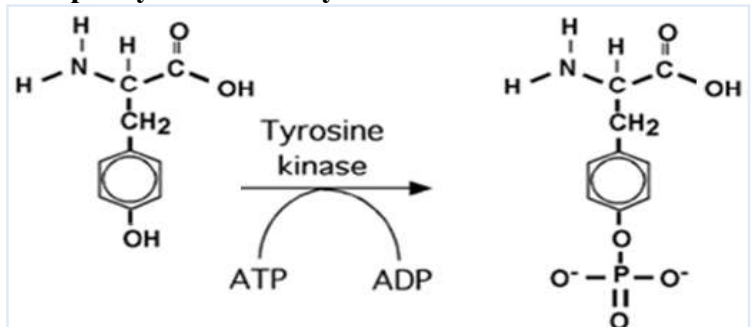
Fonctions amide

N-Glycosylation

#### Formation de pont disulfure

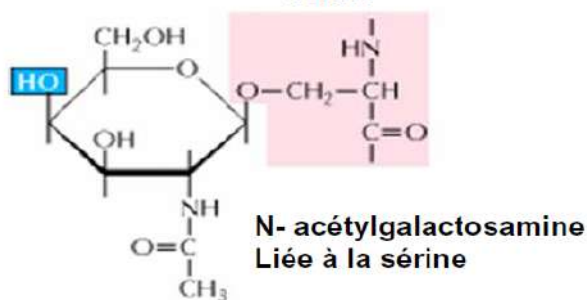


#### Phosphorylation de la tyrosine



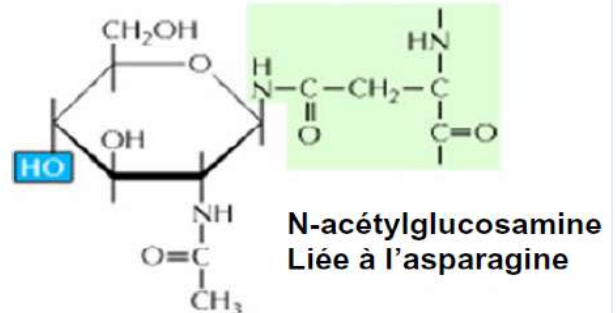
#### O-Glycosylation

##### Sérine



#### N-Glycosylation

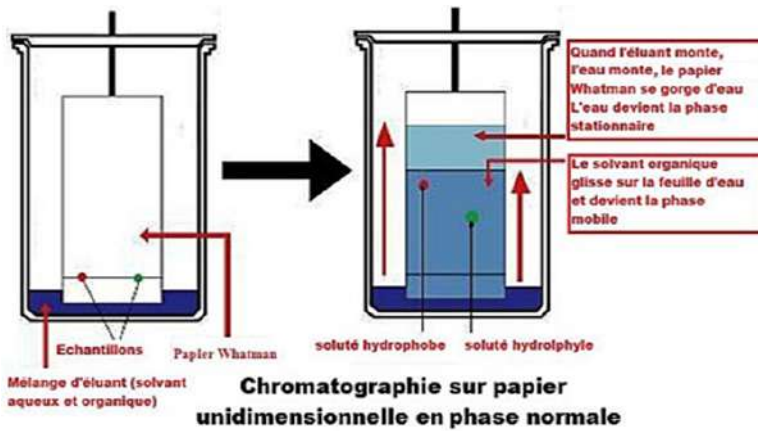
##### Asparagine



### Méthodes d'étude des Acides aminés

#### Chromatographie sur papier





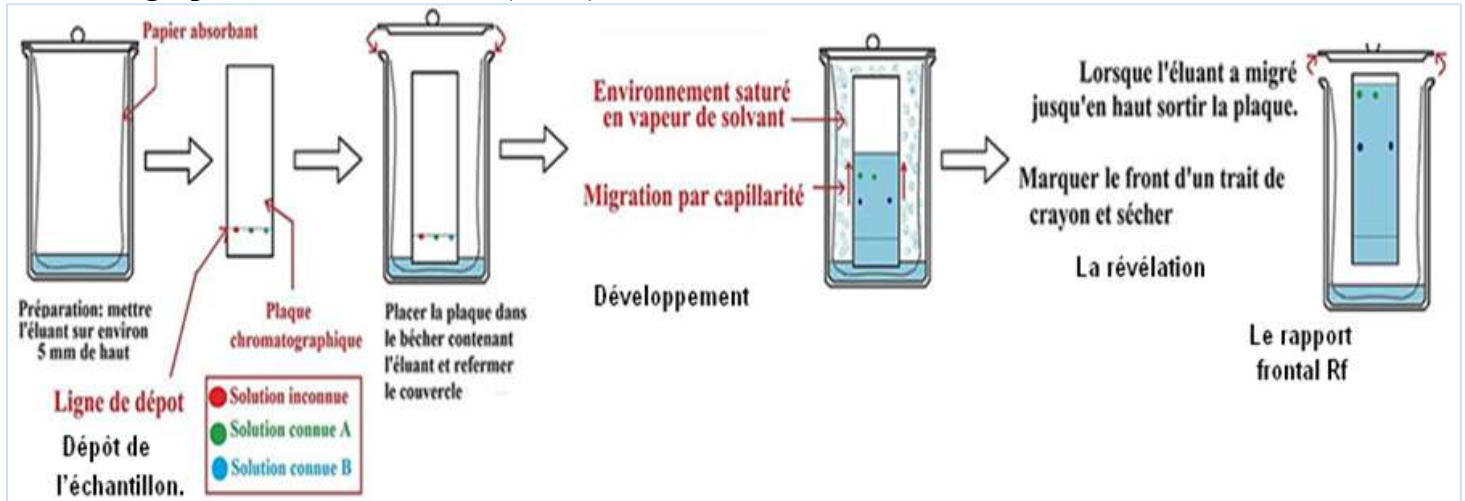
Partage entre «phase hydrophile» et « phase hydrophobe ».

Migration par capillarité: Les Aa hydrophobes migrent le plus

Coloration par la ninhydrine

L'identification des différents Aa du mélange se fait par comparaison avec des témoins, en calculant le  $R_f$  (rapport au front) de chaque soluté, ou le  $R_t$  (rapport à un témoin).

## Chromatographie sur couche mince (CCM)



Phase stationnaire: eau dans la couche mince de gel

Phase mobile: solvant

Pour caractériser les composés = rapport:

distance parcourue par le soluté / distance parcourue par le solvant.

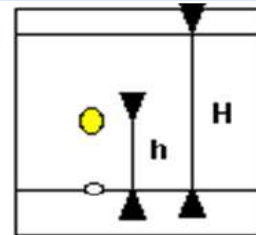
Si soluté soluble dans la phase stationnaire =  $R_f$  faible

Si soluté soluble dans la phase mobile =  $R_f$  vers 1.

front du solvant

$$R_f = h/H$$

ligne de dépôt



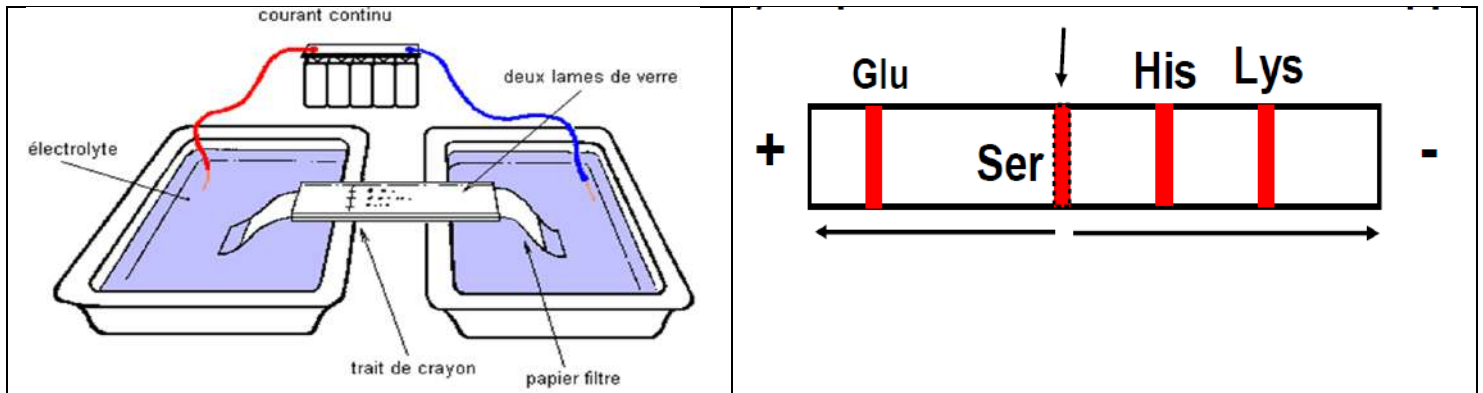
## Electrophorèse

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

Un dépôt de l'acide aminé est placé au milieu du papier absorbant 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.

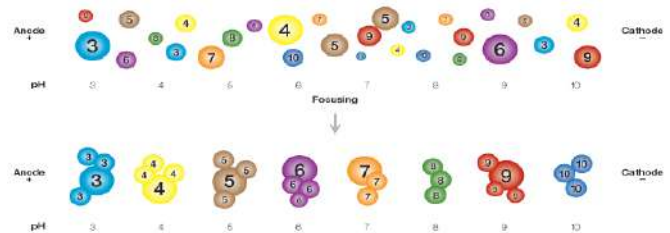


### Electrofocalisation (IEF - IsoElectric Focusing)

La migration est effectuée dans un gradient de pH; chaque Aa migre jusqu'à l'endroit où le pH est égal à son pHi.

Le gradient de pH est généré par des ampholytes, molécules amphotères de synthèse introduites dans le gel au moment de sa fabrication.

Ces molécules migrent rapidement dans le gel jusqu'à atteindre une zone où leur charge devient nulle. La chromatographie d'échange d'ions. Elles ont alors une distribution statistique telle qu'elles génèrent un gradient de pH sensiblement linéaire le long du gel.



### Chromatographie liquide sur colonne

#### Chromatographie en phase gazeuse

#### La chromatographie d'échange d'ions

Séparation basée sur la propriété d'échange d'ions,

La phase stationnaire (colonne) comporte des groupements ionisés (+ ou -) fixes.

Les ions retenus au voisinage des charges fixes sont échangeables avec les ions présents dans la phase mobile.

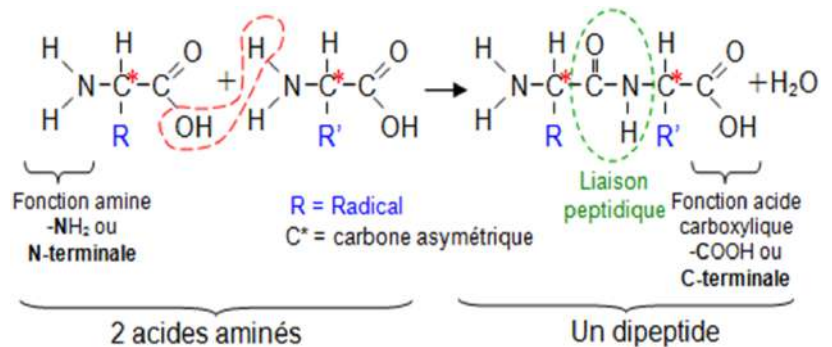
#### HPLC: High Performance liquid chromatography

## B- Les peptides

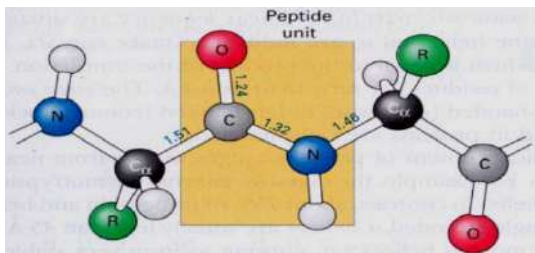
### 1- Définition de la liaison peptidique, généralités:

La réaction du groupe carboxylique d'un acide aminé avec le groupement aminé d'un acide aminé suivant, permet de former un amide secondaire avec élimination d'une molécule d'eau.

Cette liaison, s'appelle liaison peptidique, permettant la formation d'un dipeptide, etc....  
Un peptide comprend au moins deux résidus d'Aa



### 2- Caractéristiques de la liaison peptidique

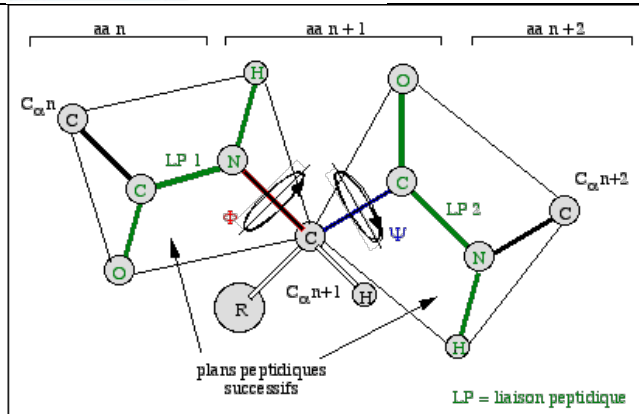
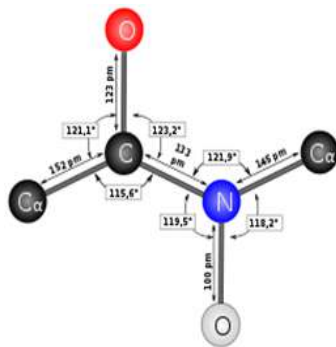
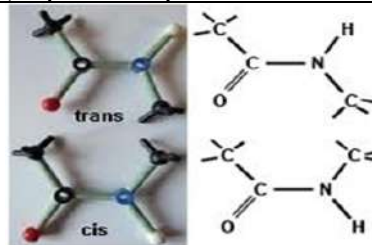


La liaison peptidique est une liaison qui a les caractéristiques d'une double liaison partielle, ce qui a trois conséquences (stable, rigide et plane).

La distance entre les atomes de C et de N sont plus petite que dans une liaison simple, mais plus grande que dans une vraie double liaison.

La libre rotation autour de la liaison C-N est impossible (importance pour la conformation des protéines).

Les atomes qui participent à cette liaison (les 6 atomes Cα, C, O, N, H et Cα) se trouvent dans un même plan avec une disposition trans.



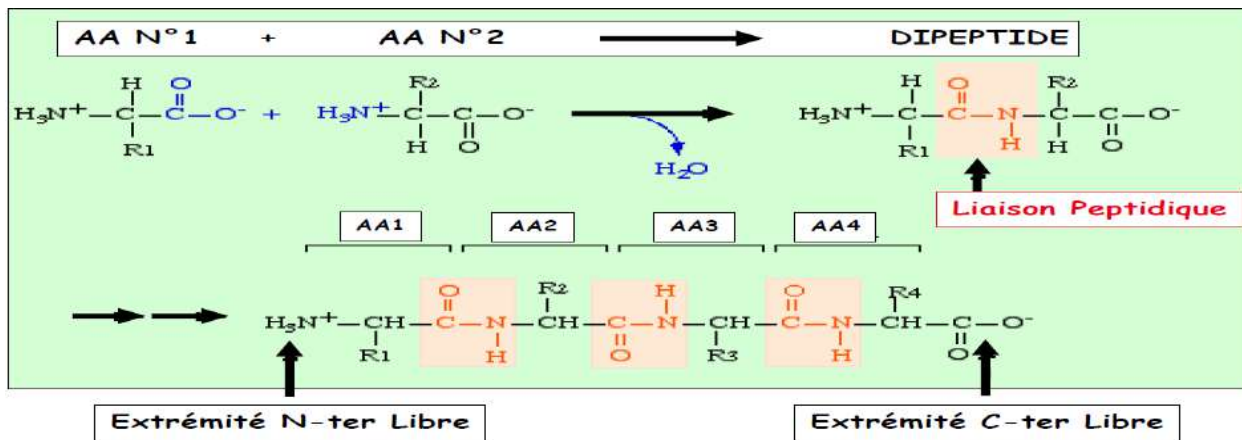
Chaque plan comprend six atomes. Les plans sont articulés entre eux autour des carbones alpha par libre rotation : angle phi (φ, Cα-N) et psi (ψ, Cα-C) du même aa.

### 3- Mode de représentation d'une séquence peptidique:

La chaîne qui comprend les liaisons amide est appelée la chaîne principale, alors que les substituants, R, constituent les chaînes latérales.

Les peptides ont toujours une extrémité amine libre ou *extrémité N-terminale*, et une extrémité carboxyle libre ou *extrémité C-terminale*.





#### 4-Nomenclature-Peptides

La liaison peptidique; permet la formation d'un dipeptide avec deux amino-acides, tripeptide avec trois, polypeptide avec plus de quatre amino-acides.

Une chaîne de 2 à 10 acides aminés est un oligopeptide (peptides contenant peu d'acides aminés).

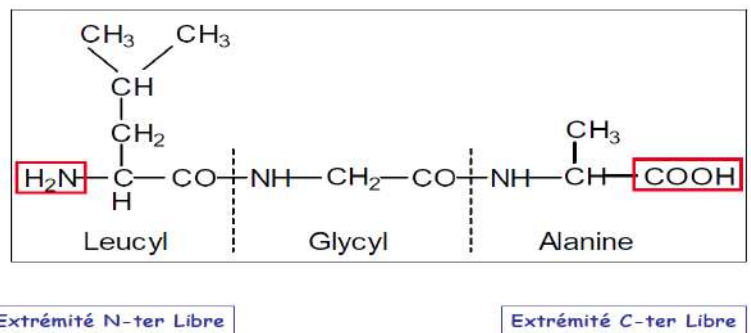
Des chaînes de 10 à 100 acides aminés : polypeptide.

Les chaînes encore plus longues sont désignées comme des protéines (au-delà de 100)

Deux ou plusieurs chaînes polypeptidiques peuvent être reliées par des ponts disulfure.

Par convention, le nom du peptide commence toujours par la gauche, c'est-à-dire par l'extrémité N terminale, chaque acide aminé étant affecté du suffixe -yl, sauf pour le dernier qui garde son nom complet, sans suffixe. L'adjectif peptidique se rapporte aux peptides et notamment les liaisons des acides aminés qui les constituent.

Exp: le *leucyl- glycyl- alanine*.



#### 5- Propriétés physiques des peptides

Les peptides sont d'autant plus solubles dans l'eau qu'ils sont plus petits et contiennent d'avantage d'acide aminé hydrophile. (Sérine, acide aspartique ....)

- Ils sont dialysable
- Ils sont chargés : ils contiennent un groupement NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (N-terminale) et un groupement COO<sup>-</sup> (C-terminal) et des groupements ionisables sur les chaînes latérales des résidus acides aminés
- Ils se comportent comme un ion dipolaire et peuvent migrer dans un champ électrique.
- Ils absorbent la lumière dans l'ultraviolet (λ: 220 à 230 nm ou à 280 nm s'ils contiennent un acide aminé aromatique)

#### 6- Propriétés chimiques :

Les peptides présentent les réactions chimiques de radicaux portés par les chaînes latérales des résidus d'acides aminés (les fonctions alcool peuvent être estérifiées par un phosphate ou un sulfate)

Si le peptide contient un résidu de cystéine il peut former une liaison S-S : pont disulfure.

Le plus petit peptide donne la même réaction que les acides aminés avec la ninhydrine.

Le réactif de coloration biuret réagit avec les peptides contenant plus de 4 acides aminés.

Hydrolyse de la liaison peptidique en présence d'HCl

#### 7- Propriétés biologiques

La plupart des peptides sont formés comme les protéines par le système de synthèse protéique.

*Certains peptides de petite taille se forment par réaction directe entre acides aminés grâce à la peptidyltransférase*

Hydrolyse enzymatique des peptides se fait par les peptidases (digestives).

Les rôles sont nombreux, mais on peut citer :

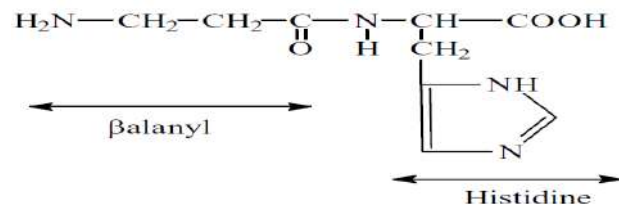
Les peptides hormonaux

Les peptides de structure

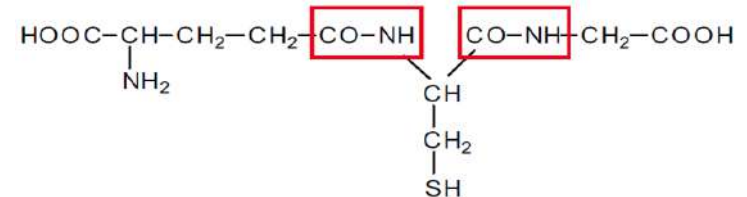
Les peptides antibiotiques : Tous les pénicillines contiennent la D penicillamine qui est le dérivé du diéthyle de la D- cystéine. Beaucoup d'antibiotiques utilisés en thérapeutique sont des peptides synthétisés en laboratoire.

## 8- Quelques exemples de peptides

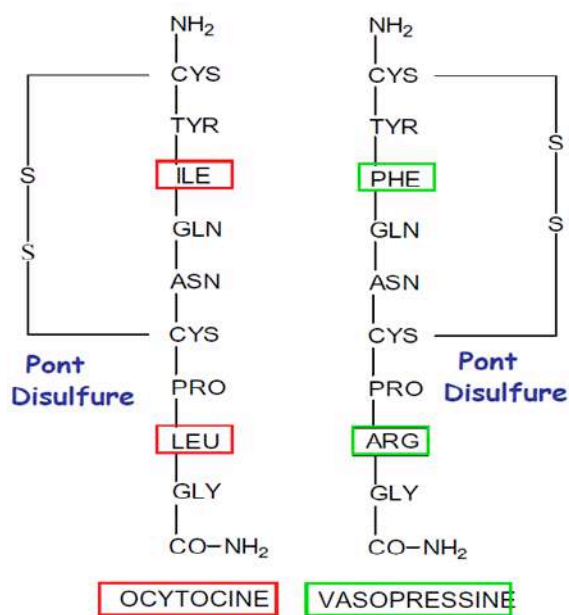
Dipeptide : Carnosine: (constituant du muscle) =  $\beta$  alanyl histidine



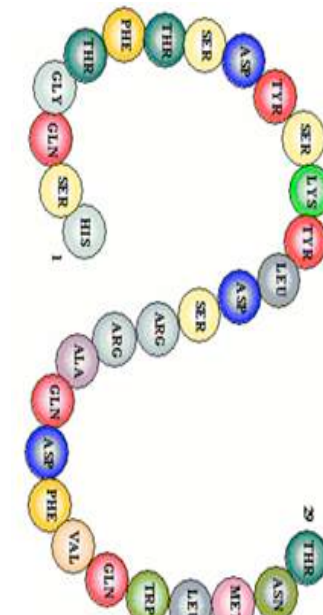
Tripeptide : Glutathion:  $\gamma$  glutamyl cystéinyl glycocolle. Liaison avec la fonction  $\gamma$  carboxylique.



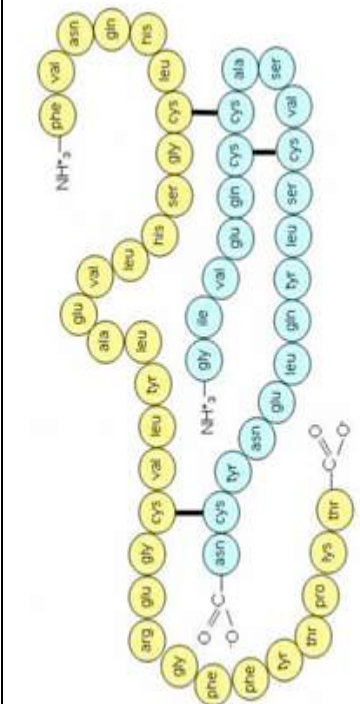
Hormones hypothalamiques: 9 AA  
L'AA C-ter est de la glycineamide :  
 $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2$ .



Glucagon: 29 AA. Hormone pancréatique: Chaîne monocaténaire



Insuline



## C- Les protéines

### 1- Définition

Les protéines sont une classe de molécules biologiques « de première importance » (du grec *proteios*).

Ce sont des macromolécules de type polymère composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés (chaînes polypeptidiques).

Les protéines (ou les protides) sont des éléments essentiels car elles ont des rôles très variés au sein d'une cellule et au sein d'un organisme:

Un rôle structurel (l'actine),

Un rôle catalytique (les enzymes),

Un rôle de régulation de l'expression des gènes (les facteurs de transcription), etc.

### 2- Caractéristiques des protéines

Chaque protéine, présente dans les cellules, a une structure qui est déterminée génétiquement et donc, possède une taille prédéfinie (modifiée parfois après traduction). Dans une cellule, chaque protéine joue un rôle particulier. Les protéines sont synthétisées et dégradées en permanence dans les cellules.

Une protéine est

Monomérique = une seule chaîne peptidique

Multimérique = plusieurs chaînes peptidiques.

Homomultimérique = plusieurs chaînes peptidiques identiques

Hétéromultimérique = plusieurs chaînes peptidiques différentes.

Une holoprotéine quand elle ne fournit que des acides aminés, après hydrolyse.

Une hétéroprotéine quand elle fournit des acides aminés et d'autres molécules différentes, après hydrolyse.

La partie protéique: apoprotéine

La partie non protéique: groupement prosthétiques

Les protéines peuvent être classées selon leur forme globale.

Les protéines globulaires: myoglobine

Les protéines fibreuses : fonctions structurales ou protectrices (kératine, collagène ...)

Les protéines peuvent être covalentement liées à d'autres molécules:

À un lipide; on parle de lipoprotéine,

À un glucide; on parle de glycoprotéine

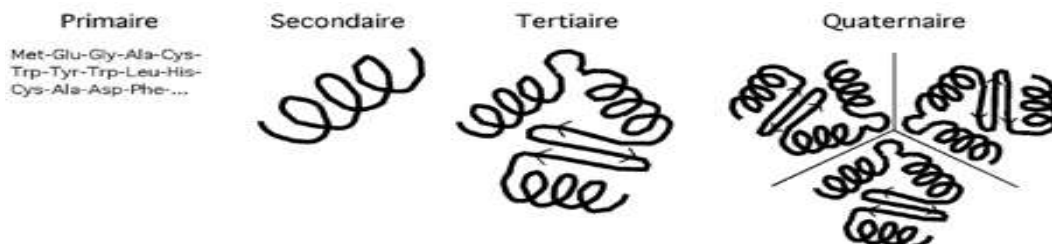
Si c'est à un métal; on parle de métalloprotéine

### 3- Structure tridimensionnelle des protéines

Les protéines diffèrent les unes des autres parce qu'elles ont un nombre distinct et une séquence distincte de résidus d'acides aminés. Une séquence donnée d'acides aminés s'enroule en une structure tridimensionnelle unique et complexe désigné sous le terme de conformation;

Cette conformation est réalisée grâce à l'établissement de liaisons *faibles*.

Cette conformation est classée par ordre de complexité croissante en structure primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire.



La structure tridimensionnelle des protéines renseigne sur le rôle qu'elles jouent dans la vie de la cellule (relation structure-activité).

La structure primaire est la structure chimique (covalente): quels acides aminés et dans quel ordre.

La structure secondaire correspond aux structures spatiales régulières (hélices  $\alpha$ , feuillets  $\beta$  etc....).

La structure tertiaire concerne l'arrangement dans l'espace de ces structures secondaires, c'est à dire la position dans l'espace de chaque atome.

La structure quaternaire est une association de structures tertiaires: certaines protéines existent sous forme de complexes comportant alors plusieurs sous-unités (exemple: l'hémoglobine).

### 3-1- Structure primaire

Décrit la séquence ou l'ordre d'enchaînement des acides aminés qui constituent la protéine.

Cette séquence est fixée et traduit l'information contenue dans le gène qui code cette protéine.

Les AA sont numérotés en allant du N-terminal vers le C-terminal.

La structure primaire s'écrit en utilisant le code à 1 lettre ou le code à 3 lettres.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
M	V	H	L	T	P	E	E	K	S	A	V	T	A	L	...
Met Val His Leu Thr Pro Glu Glu Lys Ser Ala Val Thr Ala Leu ...															
N-term <span style="float: right;">C-term</span>															

### 3-2- Structure secondaire:

1<sup>er</sup> stade de l'organisation dans l'espace d'une chaîne peptidique.

Une chaîne d'AA possède au niveau des liaisons peptidique de nombreux groupements –CO- et –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  $\alpha$ , le feuillet plissé  $\beta$  et les coudes  $\beta$ .

#### 3-2-1- L'hélice $\alpha$

La chaîne principale s'enroule en spirale, vers la droite.

La structure est stabilisée par des liaisons hydrogènes (intramoléculaires) entre les résidus n et n+4.

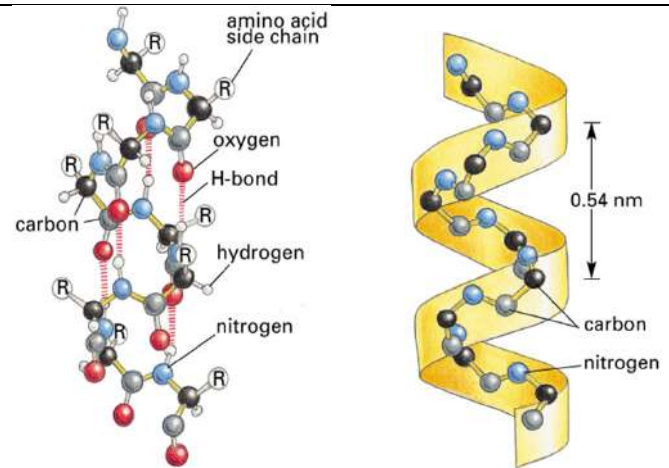
L'hélice  $\alpha$  s'élève de 0,54nm à chaque tour.

Elle compte 3,6 résidus par tour. .

Les plans des liaisons peptidiques sont parallèles à l'axe de l'hélice.

Les chaînes latérales R et liaisons C-H pointent vers l'extérieur.

La kératine de nos cheveux est une protéine en hélice  $\alpha$  qui forme une fibre allongée.



#### 3-2-1- Feuillet plissé $\beta$

La chaîne peptidique se trouve sous forme en zigzag.

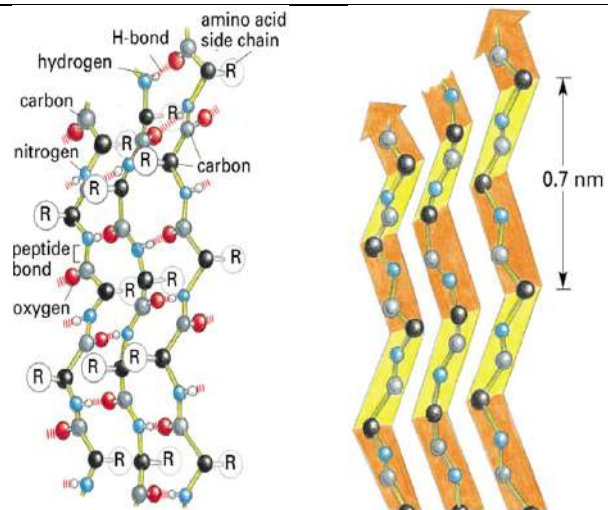
La chaîne principale est étirée et deux segments de la protéine se placent côte à côte, unis par des liaisons hydrogènes entre les groupements C=O et NH.

Si les segments sont orientés dans le même sens, on parle de feuillets parallèles.

Si les segments sont orientés dans le sens contraire, on parle de feuillets antiparallèles.

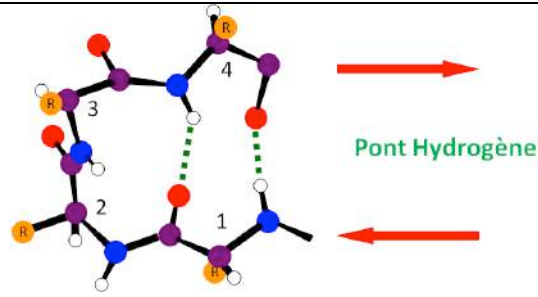
Les chaînes latérales, R, se dressent au sommet des arêtes.

La fibroïne est une protéine sécrétée par le ver à soie qui donnera le fil de soie. Cette protéine est constituée essentiellement de feuillets plissés  $\beta$ .



### 3-2-3- Le coude $\beta$

ou tour  $\beta$  est un coude serré impliquant 4 résidus et qui permet à la chaîne de changer de direction.  
La chaîne principale de la protéine fait un tour en U; retrouvé souvent à la jonction de deux segments de la chaîne formant un feuillet  $\beta$  antiparallèle.  
Ces coudes contiennent en général une glycine ou une proline.



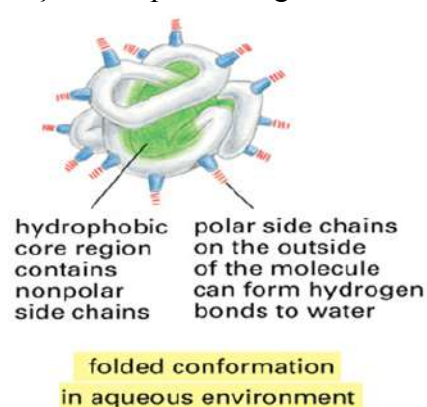
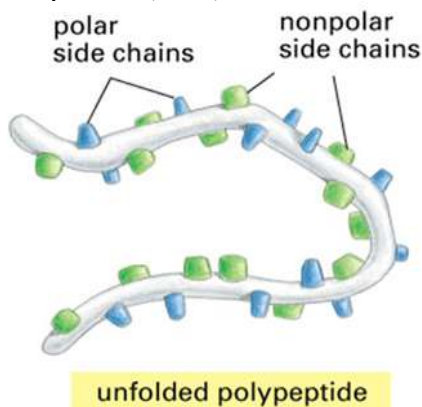
### 3-3- Structure tertiaire

La structure tertiaire consiste en une organisation des structures secondaires entre elles.  
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.  
Une structure tertiaire n'est pas une structure figée : elle peut se modifier (se tordre, se déformer) sous l'effet de la fixation d'une molécule (ligand) ou sous l'effet de la variation d'un paramètre physico-chimique (pH, température).

#### Structure tertiaire

Une protéine soluble (qui sera au contact de l'eau) va se replier de façon à ce que les résidus les plus polaires soient au contact du solvant.

Les résidus apolaires, eux, seront au cœur de la protéine de façon à ne pas interagir avec l'eau.



Une protéine hydrophobe (qui sera insérée dans des lipides) va se replier de façon à ce que les résidus les plus hydrophobes soient au contact des lipides qui l'entourent.

Les résidus polaires, eux, seront au cœur de la protéine de façon à ne pas interagir avec ces lipides.

### 3-4- Structure quaternaire:

C'est l'association de plusieurs chaînes peptidiques pour donner un complexe stable et actif.

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 chaînes se fait via des liaisons faibles et parfois aussi via des ponts disulfures.



Exemple:

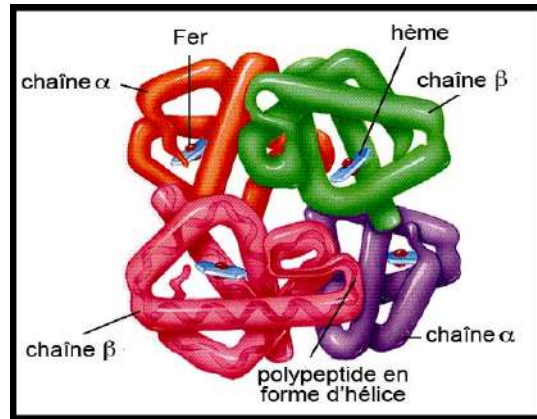
L'hémoglobine

Un transporteur d'oxygène,

Possède une structure quaternaire,

Formée de quatre sous-unités (2 et 2).

Structure 3D de l'hémoglobine:



### 3-5- Les différents types de liaisons ou forces impliquées dans la structuration des protéines

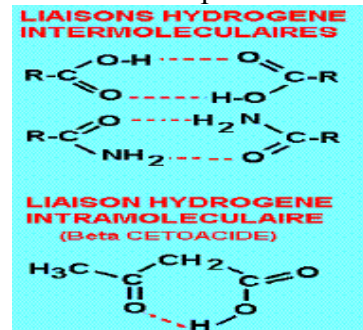
Structure primaire: liaisons peptidiques (covalentes), les ponts disulfure

Structures II, III et IV<sup>aires</sup> : liaisons faibles éventuellement covalentes

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

**Une liaison hydrogène** se forme lorsqu'un atome d'hydrogène déjà lié par covalence à un autre atome électronégatif subit l'attraction d'un autre atome électronégatif.

Dans les cellules, les atomes électronégatifs qui participent à des liaisons hydrogène sont le plus souvent l'oxygène et l'azote.



#### Liaison ionique

Un atome cède un ou plusieurs électrons pour former un ion chargé positivement (cation). Un autre atome capte ces électrons pour former un ion chargé négativement (anion).

Il y a donc transfert d'électrons entre les atomes.

(oxydation : l'atome perd des électrons et

réduction : l'atome gagne des électrons).

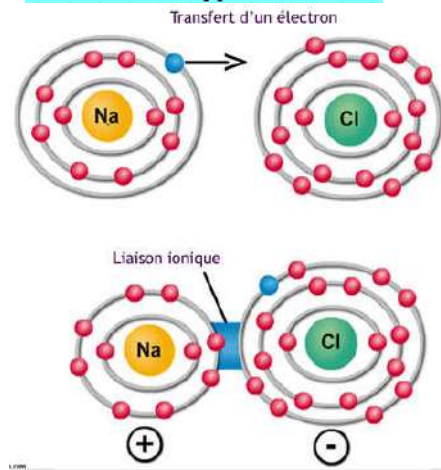
Les cations et les anions s'attirent l'un l'autre dans une liaison ionique (En raison de leurs charges opposées).

Par exemple, le chlorure de sodium (NaCl) ou sel de cuisine.

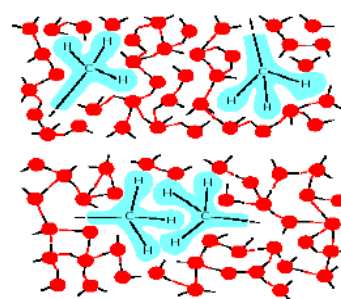
Forces hydrophobes

Comme les molécules non polaires ne peuvent pas réagir avec l'eau.

Elles tendent à créer entre elles des liaisons de type interactions hydrophobes



HYDROPHOBIC FORCES



## Les ponts disulfures

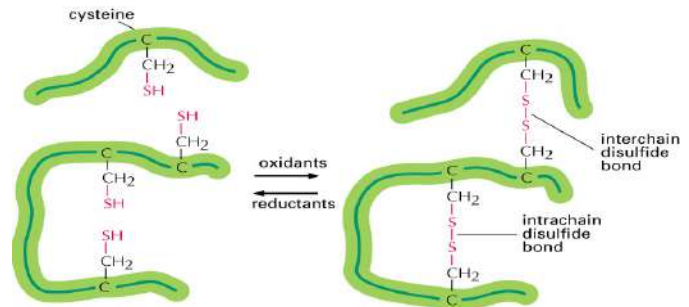
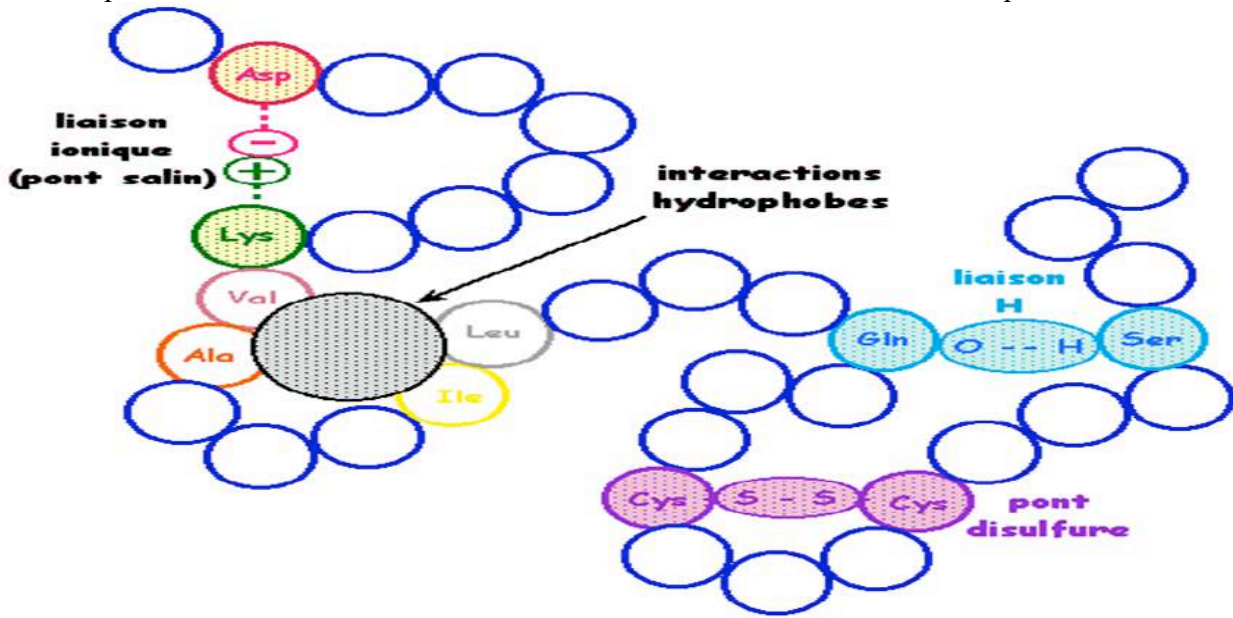


Schéma récapitulatif des différents liaisons faibles retrouvées dans la structure des protéines



## 4- Quelques différences entre les différentes formes des protéines

Protéines fibreuses	Protéines globulaires
Forme allongée et mince	Forme sphérique et compacte
Insolubles dans la cellule	Solubles dans le cytoplasme ou dans la phase lipidique des membranes cellulaires
Fonction mécanique et structurale	Agents principaux de l'activité biologique de la cellule
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\alpha</math>- kératines</li> <li>- fibroïne</li> <li>- collagène</li> <li>- élastine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- enzymes (catalyseur cellulaires)</li> <li>- transporteurs d'oxygène ou de lipides (sang)</li> <li>- hormones</li> <li>- récepteurs intégrés à la membrane et médiateurs d'effets hormonaux</li> <li>- Immunoglobulines (anticorps)</li> <li>- etc.</li> </ul>

## 5- Exemples de protéines fibreuses

## Collagène

Protéine extracellulaire insolubles très résistantes.

3 types: I (90%), II, III.

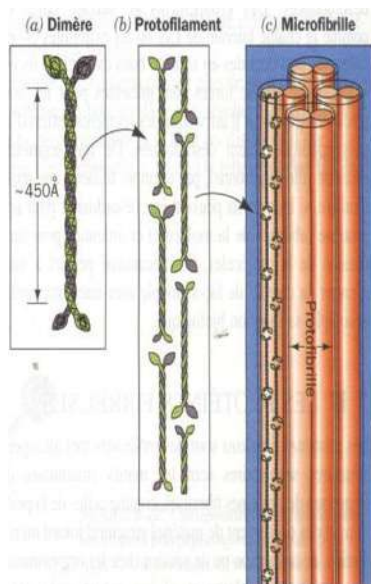
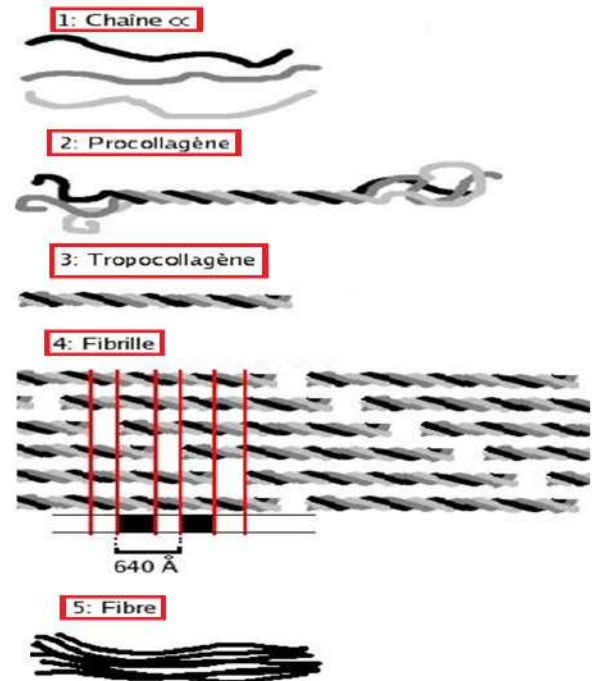
Retrouvé partout dans l'organisme dans l'os, le cartilage, les tendons, les ligaments, les vaisseaux, etc.

Structure en triple hélice  $\alpha$

1/3 des résidus d'AA= glycine (Gly-X-Y).

Présence d'hydroxyproline et d'hydroxylysine.

Contient des sucres (glucose, galactose).



## La kératine

Protéine insoluble dans l'eau; retrouvée dans la peau.

Cheveux : constituée de 14 % de cystéine (ponts disulfures) = rigidité.

2 types:

La kératine  $\alpha$ : formée d'hélice  $\alpha$  = mammifères (cheveux et ongles).

La kératine  $\beta$ : formée de feuillet  $\beta$  plissés antiparallèles = oiseaux (plumes)

Lors de la coiffure (permanente), il y a cassure des ponts disulfure et réassemblage.

## 6- Techniques d'étude des structures des protéines

Les méthodes les plus importantes pour la détermination des 4 types de structures des protéines sont:

Structure	Méthode
<i>Primaire</i>	<i>Séquençage</i>
<i>Secondaire</i>	<i>Dichroïsme circulaire, RMN, Diffraction</i>
<i>Tertiaire</i>	<i>RMN, Diffraction des Rayons X</i>
<i>Quaternaire</i>	<i>Résonnance Magnétique Nucléaire, Diffraction</i>

## 7- Propriétés physico-chimiques des protéines

### 7-1- Masses molaires

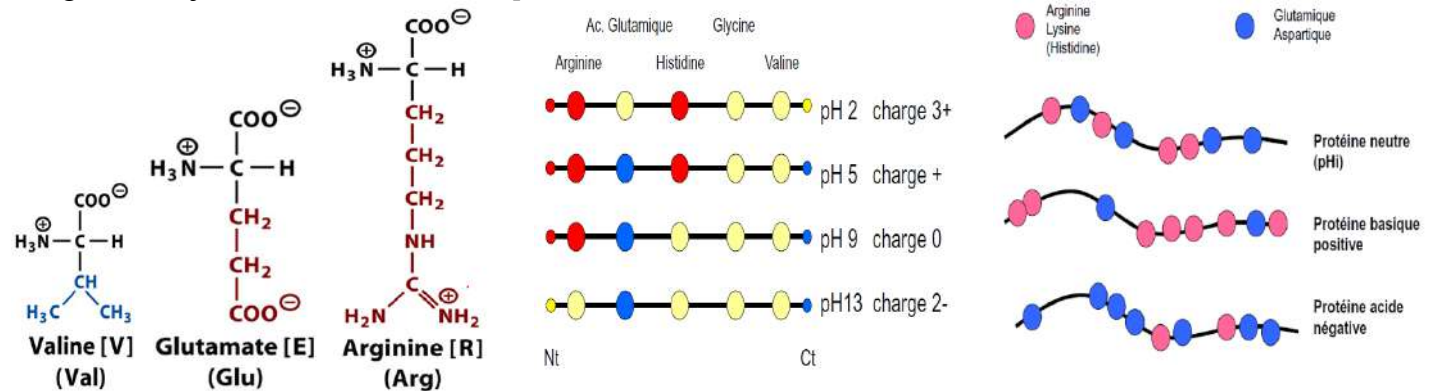


La masse moléculaire s'échelonne de 10KDa à plusieurs millions.  
 La masse moléculaire d'une protéine est souvent utilisée comme élément caractéristique servant à la définition ou à la nommer:  
 ex : P47 c'est une protéine de 47KDa

Protéine	Masse moléculaire (dalton)
Cytochrome c	12300
Myoglobine	17200
Anhydrase carbonique	30000
Ovalbumine	42700
Albumine	66250
Ovotransferrine	76-78000

### 7-2- Caractère amphotère des protéines

Caractère amphotère (comme AA), avec un degré de complexité plus élevé en raison du plus grand nombre de charge mis en jeu. Histidine: pouvoir tampon à pH neutre avec  $pH_i = 7,60$



### 7-3- La solubilité

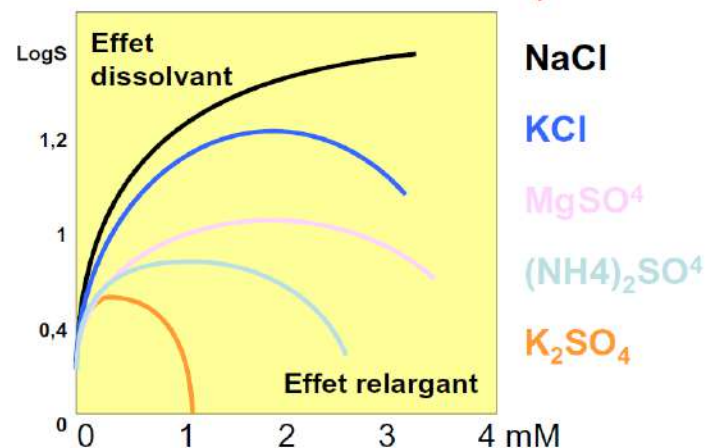
La solubilité d'un composé est la quantité maximale du composé qui peut se dissoudre dans un litre de solvant considéré.

La solubilité des protéines dépend de certains paramètres :

- Influence de la concentration en électrolytes de la solution.
- Influence du PH.
- Influence des solvants organiques: les alcools méthyliques, l'acétone précipitent les protéines.

#### 7-3-1- Evolution de la solubilité en fonction de la force ionique.

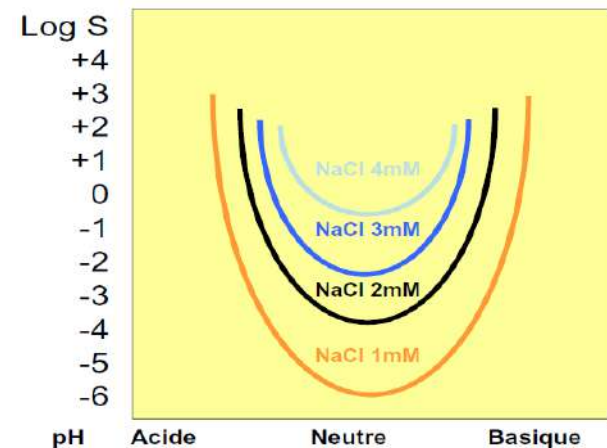
Importance de la détermination de la force ionique optimum



#### 7-3-2- Evolution de la solubilité en fonction du pH

La solubilité est minimum au pH isoélectrique (valeur de pH pour laquelle la somme des charges positives et négatives est égale à 0).

La solubilité augmente avec la force ionique



## 7-4- Stabilité thermique des protéines

Froid ou chaleur provoquent la dénaturation des protéines.

Dénaturation: modification de la structure tridimensionnelle sans modification de la structure primaire.

Perte d'activité biologique, modification des propriétés physico-chimiques.

## 7-5- Autres propriétés des protéines

Visible: les holoprotéines sont incolores

Absorption de la lumière en UV:

Absorption à 200 nm (liaison peptidique)

AA aromatiques (absorption à 280 nm)

### Coloration par fixation des colorants:

Les protéines fixent des colorants (Rouge Ponceau, noir d'amide, Bleu de coomassie...)

**Coloration par réaction:** permet le dosage des protéines : Réaction du biuret et Lowry.

## 1- Stratégie générale

La détermination de la séquence complète en AA d'une protéine et l'ordre de ces AA passe par les étapes suivantes:

- Extraire, séparer et purifier la protéine.
- Rompre les ponts disulfures (sous unités), fragmenter la protéine, et hydrolyser la protéine (analyse = composition en Aa).
- Séquençage de la protéine et identification des Aa aux extrémités Ct et Nt.
- Réarrangement de la séquence de la protéine.

## 2- Les techniques de séparation et de purification

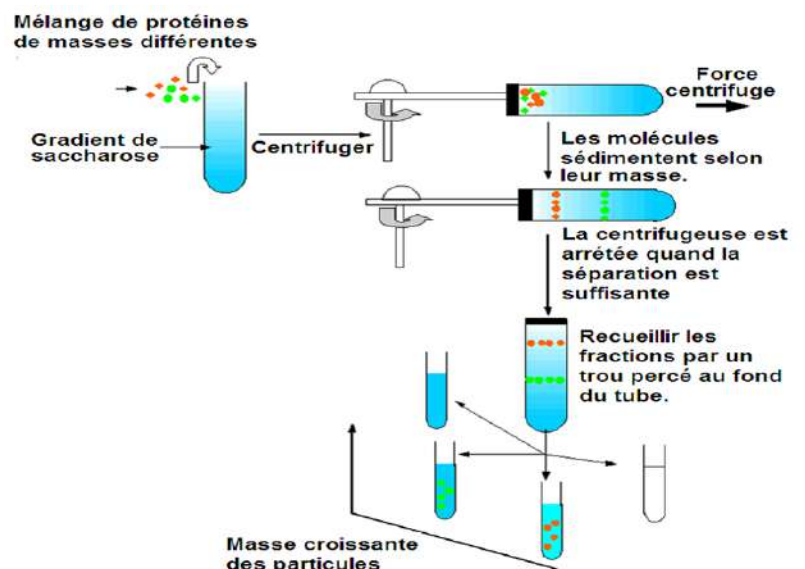
Les diverses techniques pour séparer les polypeptides se base sur sa taille, sa solubilité dans un solvant particulier, sa charge ou son aptitude à se lier à un support.

Paramètre	Technique
Densité	Ultracentrifugation
Solubilité	Précipitation au sulfate d'ammonium
Taille	Filtration sur gel
Charge	Chromatographie d'échange d'ions, électrophorèse, isofocalisation.
Affinité	Chromatographie d'affinité

### 2-1- Ultracentrifugation

Procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité en les soumettant à une force centrifuge.

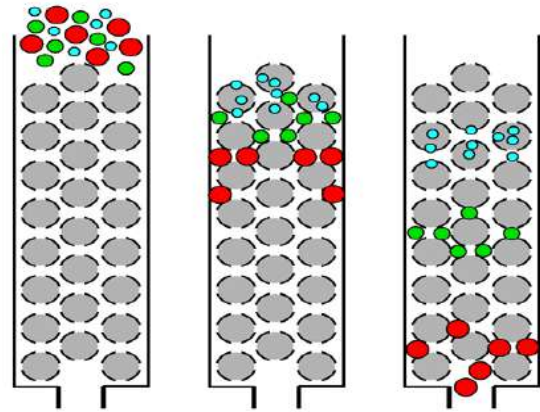
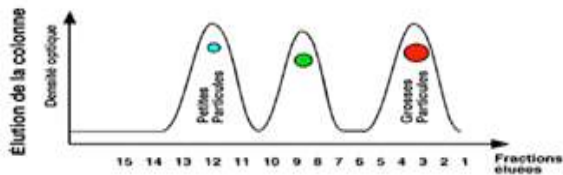
L'appareil utilisé est une machine tournante à grande vitesse appelée centrifugeuse.



## 2-2- Chromatographie d'exclusion

Ou chromatographie gel filtration: la séparation est basée sur la taille des protéines.

Le gel est composé de billes trouées avec des trous de différents diamètres; les petites molécules pénètrent dans les trous et sortent tardivement et les grandes sortent les premières.

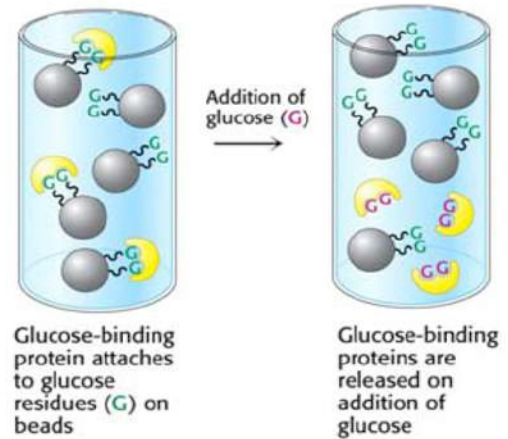


## 2-3- Chromatographie d'affinité

Nécessite la reconnaissance de la protéine par un ligand porté par la phase solide

Méthode plus efficace que la chromatographie par échange d'ions ou la chromatographie par gel filtration.

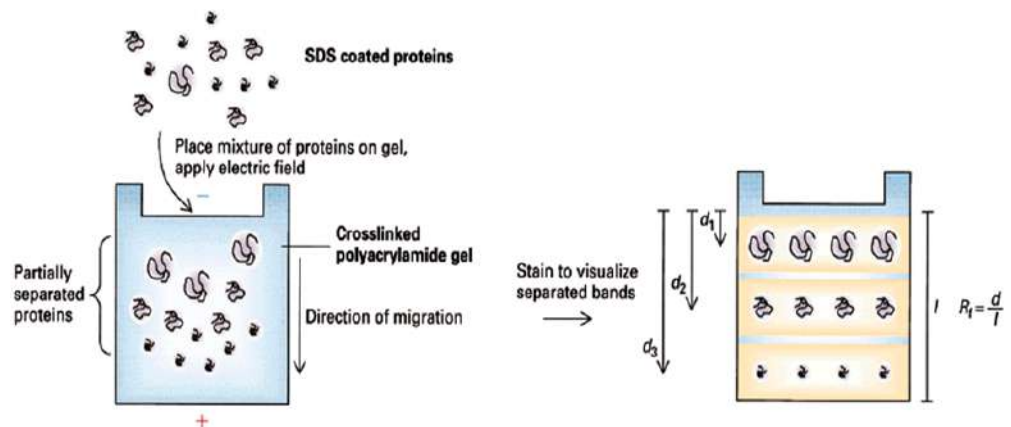
Condition: il faut avoir un ligand pour la protéine recherchée.



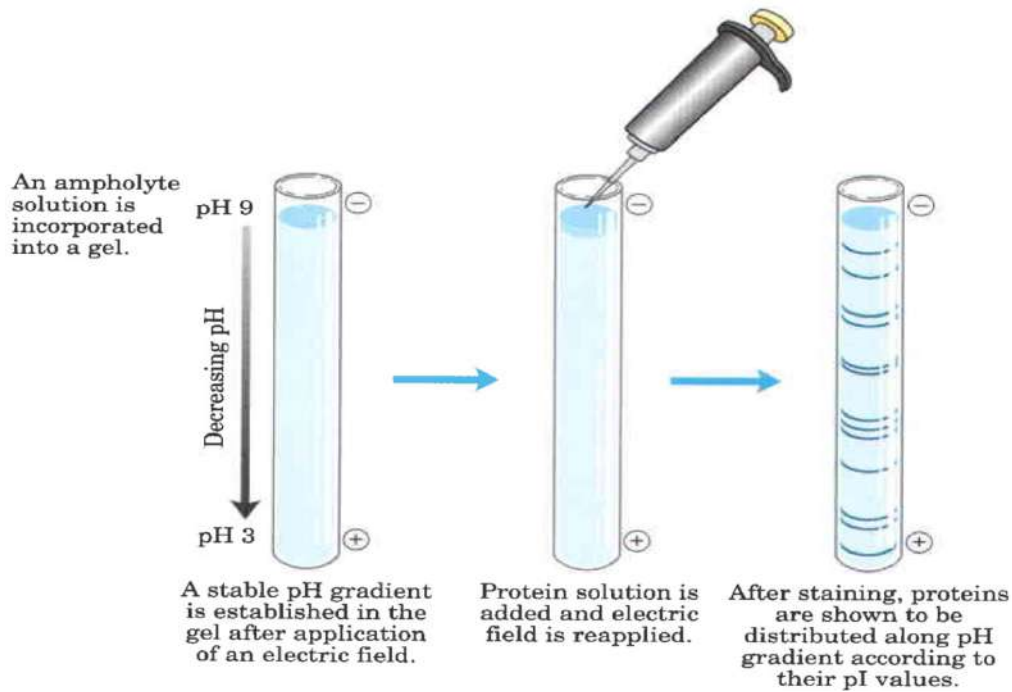
## 2-4- Electrophorèse en gel de polyacrylamide (PAGE) avec SDS

Le Sodium dodécylsulfate (SDS), dénature les protéines.

La séparation dans le PAGE avec SDS est fonction de la masse molaire car toutes les molécules sont chargées de la même façon.



## 2-5- Focalisation isoélectrique : Séparation basée sur le pHi des protéine.



## 3- Fragmentation

### 3-1- Détermination de la composition en acides aminés

Définition: c'est l'identification des acides aminés constitutifs d'une protéine ou d'un peptide

Cette étape comporte :

La rupture de la séquence peptidique par hydrolyse des liaisons peptidiques.

Hydrolyse chimique des liaisons peptidiques

Hydrolyse enzymatique

L'analyse qualitative et quantitative des acides aminés du mélange obtenu après hydrolyse.

#### 3-1-1- Hydrolyse chimique des liaisons peptidiques

##### 3-1-1-1- Hydrolyse totale acide

C'est une hydrolyse totale acide par l'acide chlorhydrique (HCl) à 6 Mol/L, à chaud (110°C), pendant 24 h environ.

Inconvénients : cette hydrolyse détruit le Tryptophane et transforme la Glutamine en Glutamate et l'Asparagine en Aspartate.

C'est la méthode la plus utilisée, mais, nécessite d'autres méthodes pour compléter les résultats de l'analyse.

##### 3-1-1-2- Hydrolyse totale alcaline

Elle se fait par de la soude (NaOH) à 4 Mol/L à chaud (110°C) pendant 4 à 8 heures environ.

Inconvénients: détruit la Sérine, l'Arginine, la Thréonine et la Cystéine,

Utilisation limitée à la détermination de la teneur en Tryptophane.

##### 3-1-2- Hydrolyse enzymatique

Protéolyse totale par la Pronase= mélange de protéases extrait de Streptomyces griseus.

Intérêt: Détermination de la teneur en Asparagine, en Glutamine et en Tryptophane d'un peptide, acides aminés (détruits par les méthodes chimiques plus sévères).

Inconvénient : risque de contamination par l'autodégradation des enzymes protéolytiques.

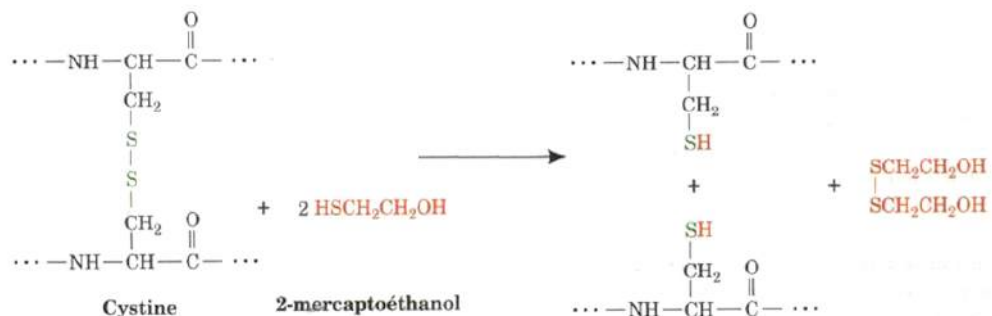
Analyse qualitative et quantitative des acides aminés du mélange obtenu après hydrolyse

Comporte une séparation des acides aminés 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 (Identification des acides aminés et de leur nombre).

### 3- 2- Rupture des ponts disulfures

Permet la séparation des chaînes polypeptidiques si elles sont liées par ponts disulfure par le mercapto-éthanol  
Empêche la conformation native qui pourrait résister à l'action des agents protéolytiques



### 3- 3- Coupures intra-chaine peptidique

3- 3- 1- Coupures chimiques		3- 3- 2- Coupure enzymatique Endopeptidases	
Solution	Lieu de coupure	Enzyme	Lieu de coupure
Bromure de cyanogène (BrCN)	C-terminal des méthionines	Pepsine	Avant le N des AA aromatique: Phe, Trp, Tyr
N-bromosuccinimide (NBS)	Après Tyr et Trp	Asp N protéase	Avant le N de Asp, cystéine, parfois Glu
Hydroxylamine (NH <sub>2</sub> OH)	Liaisons Asparagine-Glycine	Trypsine	Après le C des AA basiques: Lys-Arg
		Chymotrypsine	Après le C des A.A. aromatiques: Phe, Tyr, Trp
		Endoprotéase V8	Après le C de Glu, parfois de Asp

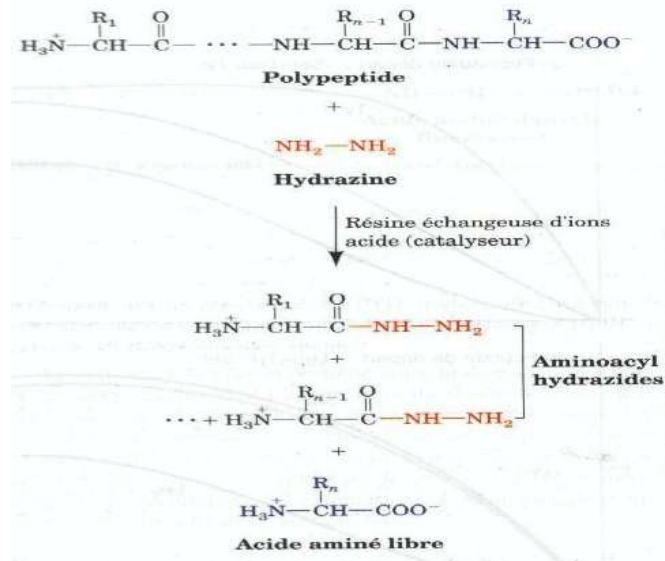
## 4- Séquençage

### 4-1- Détermination des extrémités C-terminal et N-terminal par voie enzymatique.

Exopeptidases	Extrémité attaquée	spécificité
Carboxypeptidase A	C-ter	Arg, Lys, Pro
Carboxypeptidase B	C-ter	Arg, Lys
Carboxypeptidase C	C-ter	Tous
Carboxypeptidase Y	C-ter	Tous sauf la gly
Leucine aminopeptidase	N-ter	Pro
Aminopeptidase	N-ter	Tous



## 4-2- Détermination du C-terminal par méthode chimique



Hydrazinolysé :  $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$

L'hydrazine à  $100^\circ\text{C}$  attaque toutes les liaisons peptidiques et donne des dérivés hydrazide d'acide sauf pour l'acide aminé C-terminal qui reste normal.

## 4-3- Détermination du N-terminal par méthode chimique

Méthode de Sanger (FDNB)

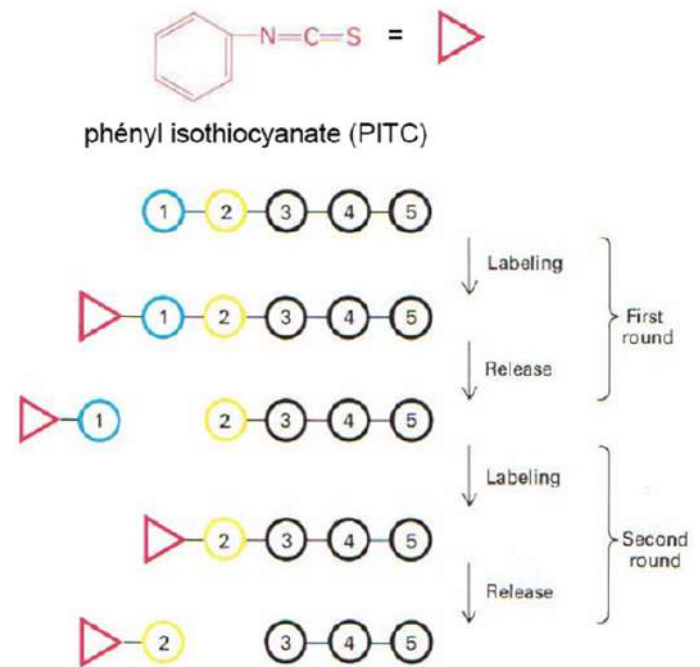
Méthode de dansylation

Méthode récurrente d'Edman

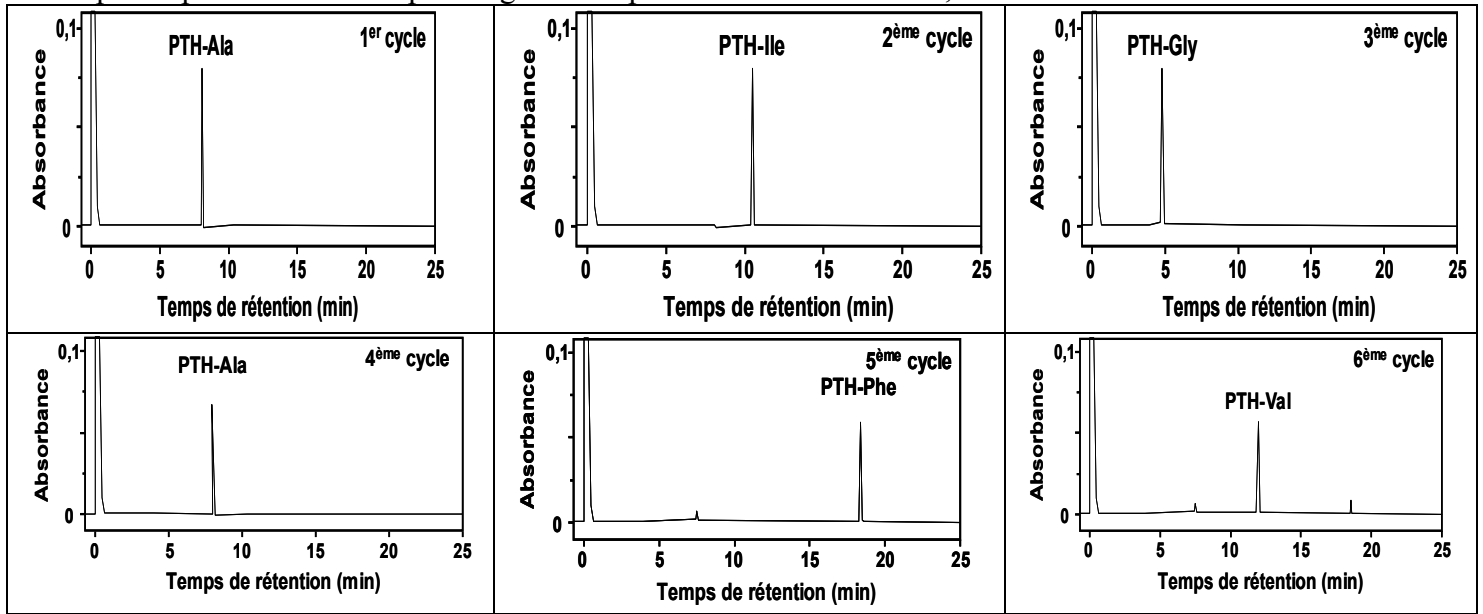
## 4-4- Dégradation d'Edman

Méthode récurrente d'Edman = analyse séquentielle. Cela permet le séquençage de peptides constitués de 40 à 60 résidus d'AA.

La libération des PTH-AA se fait cycle après cycle et leur détection se fait par HPLC



Exemple de profil d'HPLC : après dégradation par la méthode d'Edman, nous avons les résultats ci-dessous :



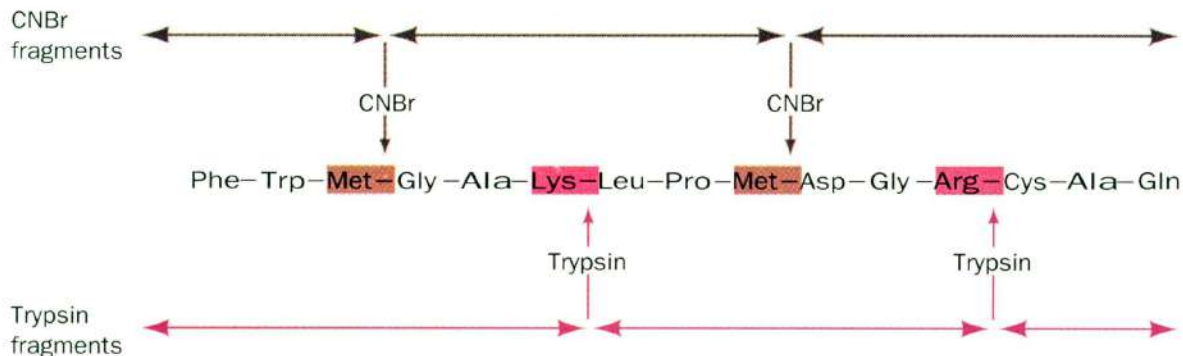
La séquence est: A – I – G – A – F – V

### 5- Détermination de la séquence en AA

C'est l'établissement de l'ordre dans lequel les AA sont liés.

Les fragments protéolytiques sont séparés par l'HPLC et séquencer ainsi l'un après l'autre par la méthode d'Edman après identification des extrémités C et N terminales.

La séquence du polypeptide original est obtenue en comparant les séquences en AA d'une série de fragments peptidiques avec celles d'une deuxième série dont les sites d'hydrolyse recouvrent ceux de la première série:



Exemple : un peptide de 14 AA. En N terminal=

Tyrosine Y, en C terminal = Lysine K

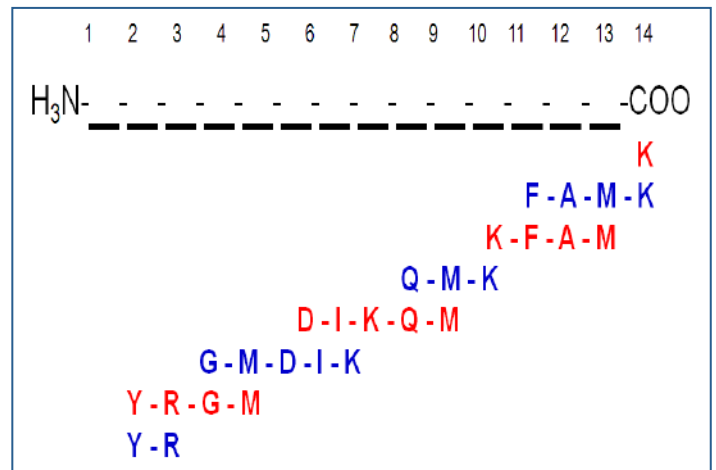
Après hydrolyse acide complète, les AA suivants ont été retrouvés: D;A ; G; I ; R; K; Y; Q ; M; F;

1- En utilise le CNBr qui hydrolyse spécifiquement après Met (M – X) et analyse séquentielle d'Edman: on obtient :

D - I - K - Q - M; K; K - F - A - M; Y - R - G - M

2- En utilise la trypsine qui hydrolyse les liaisons peptidiques après des résidus chargés positivement (K, R) et analyse séquentielle d'Edman :

Q - M - K; G - M - D - I - K; F - A - M - K; Y - R



Séquence peptidique = Y - R - G – M - D - I - K - Q - M - K - F - A - M - K

Tableau général des structures des acides aminés

$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$ <p><b>Glycine [G]</b> (Gly)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p><b>Alanine [A]</b> (Ala)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p><b>Valine [V]</b> (Val)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p><b>Leucine [L]</b> (Leu)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p><b>Isoleucine [I]</b> (Iso)</p>
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_2\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \backslash \quad / \\ \text{CH}_2 \end{array}$ <p><b>Proline [P]</b> (Pro)</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><b>Methionine [M]</b> (Met)</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><b>Phenylalanine [F]</b> (Phe)</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><b>Tyrosine [Y]</b> (Tyr)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N} \end{array}$ <p><b>Tryptophane [W]</b> (Trp)</p>
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$ <p><b>Cysteine [C]</b> (Cys)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p><b>Serine [S]</b> (Ser)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p><b>Threonine [T]</b> (Thr)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} = \text{O} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{O} \end{array}$ <p><b>Asparagine [N]</b> (Asn)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} = \text{O} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{O} \end{array}$ <p><b>Glutamine [Q]</b> (Gln)</p>
$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \end{array}$ <p><b>Aspartate [D]</b> (Asp)</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><b>Glutamate [E]</b> (Glu)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2^+ \end{array}$ <p><b>Histidine [H]</b> (His)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ <p><b>Lysine [K]</b> (Lys)</p>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p><b>Arginine [R]</b> (Arg)</p>



## D- Métabolisme des acides aminés

### 1- Introduction

Le métabolisme des AA comprend 02 processus complémentaires:

Le catabolisme (dégradation): qui a lieu en 02 temps:

Enlèvement du groupement aminé et son élimination sous forme d'urée (Foie) de  $\text{NH}_4^+$  (Rein)

Catabolisme du squelette carboné.

L'anabolisme: utilisant des intermédiaires métaboliques comme substrats de biosynthèse des AA.

Les AA sont utilisés pour la synthèse des protéines et comme précurseurs de molécules bioactives.

### 2- Catabolisme des Acides aminés

Le catabolisme ou dégradation des acides aminés s'accompagne toujours de l'enlèvement de l'azote aminé (c'est la 1<sup>ère</sup> réaction catabolique).

Le squelette carboné restant, appelé acide  $\alpha$ -cétonique (ce n'est pas un AA), est à son tour dégradé en intermédiaires.

On parle de dégradation irréversible.

Le catabolisme des AA permet de fournir:

De l'énergie à l'organisme à partir du squelette carboné (fourniture directe via le cycle de Krebs).

Du  $\text{NH}_2$  servant à la synthèse d'acides aminés ou à être éliminer.

#### 2- 1- Élimination du $\text{NH}_2$ des AA

L'enlèvement de l'azote aminé se fait soit par:

Transamination: commune à tous les AA sauf la lysine.

Désamination oxydative: le glutamate.

Désamination non oxydative: la sérine, cystéine et la thréonine.

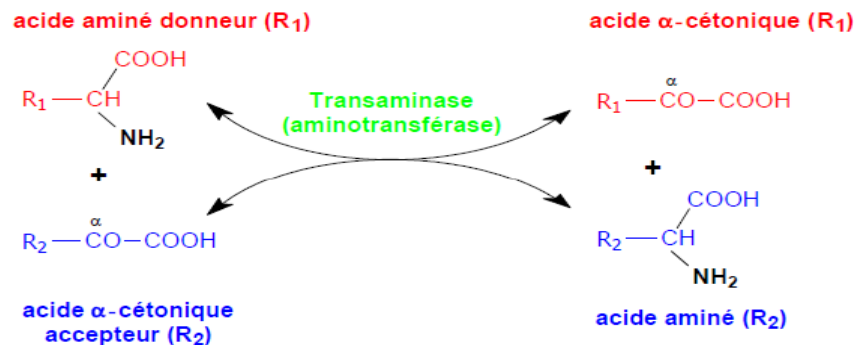
Cela conduit à la production d'un composé toxique pour le système nerveux central: l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ).

Celui-ci est éliminé (systèmes de détoxication) de l'organisme

Sous forme d'urée (uréogénèse= voie majeure hépatique qui représente 4/5 de l'azote éliminé) ou

Sous forme de  $\text{NH}_4^+$  (l'ammoniogénèse rénale= forme mineure: 1/5).

#### 2- 1- 1- Transamination



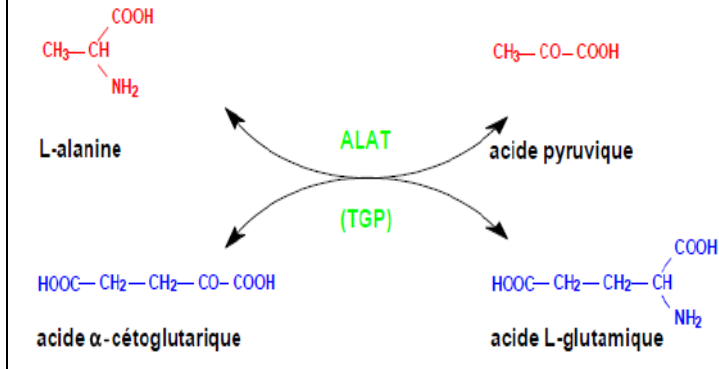
Définition:

C'est le transfert d'une fonction amine en position  $\alpha$  d'un acide aminé 1 sur une fonction cétone en position  $\alpha$  d'un Acide  $\alpha$  cétonique 2.

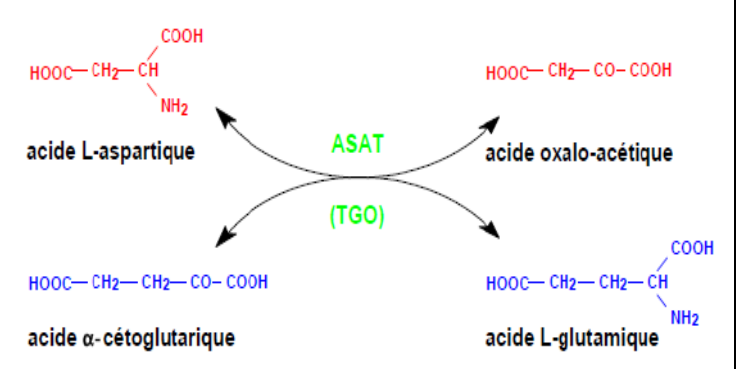
Ce transfert de groupements aminés va permettre la formation d'un acide aminé 2 et d'un acide  $\alpha$  cétonique 1.

Parmi les transaminases, 2 sont importantes:

Alanine aminotransférase (ALAT) ou Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP).

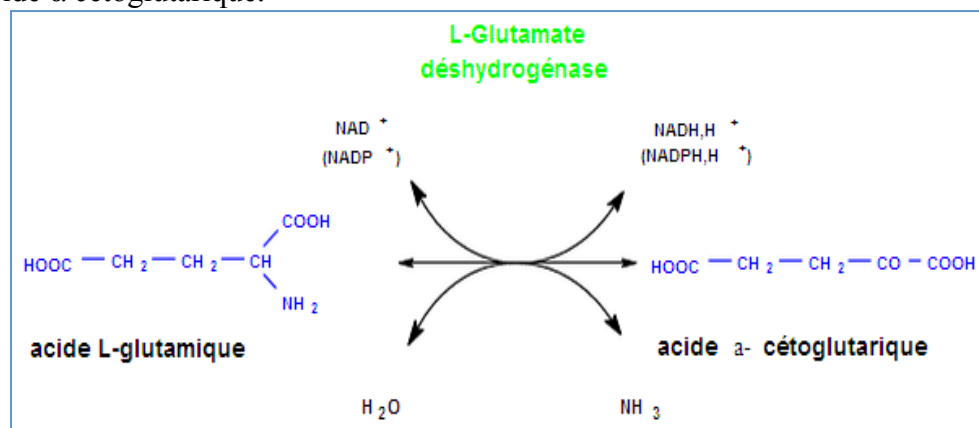


Aspartate amino-transférase (ASAT) ou Transaminase Glutamo-Oxalo-acétique (TGO).



## 2- 1- 2- Désamination oxydative

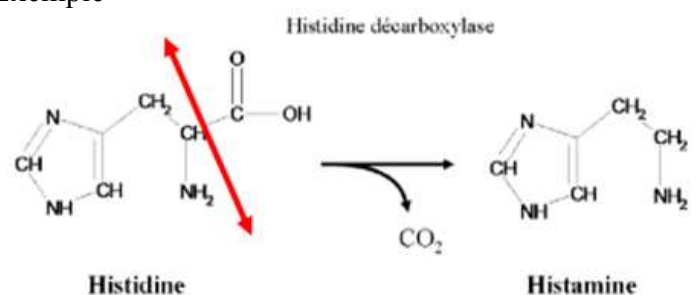
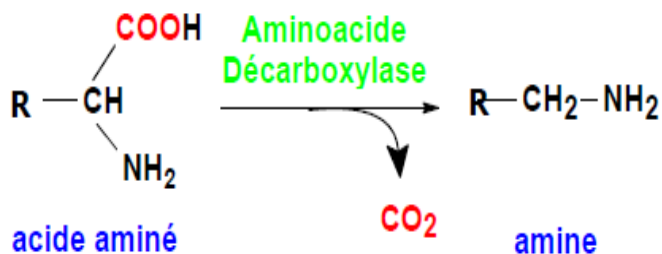
C'est la libération du groupement  $\text{NH}_3$  à partir du glutamate sous l'action de la Glutamate déshydrogénase avec formation de l'acide  $\alpha$  céto-glutarique.



## 2- 2- Décarboxylation

C'est la libération du  $\text{CO}_2$  par une décarboxylase, on obtient une amine

Exemple



## 2- 3- Catabolisme du squelette carboné

Conduit à la formation de 07 composés intermédiaires qui peuvent empruntés des voies métaboliques différentes.

1- l' $\alpha$ -cétooglutarate, l'oxaloacétate, le fumarate, le succinyl-CoA (Intermédiaire du cycle de Krebs) et le pyruvate.

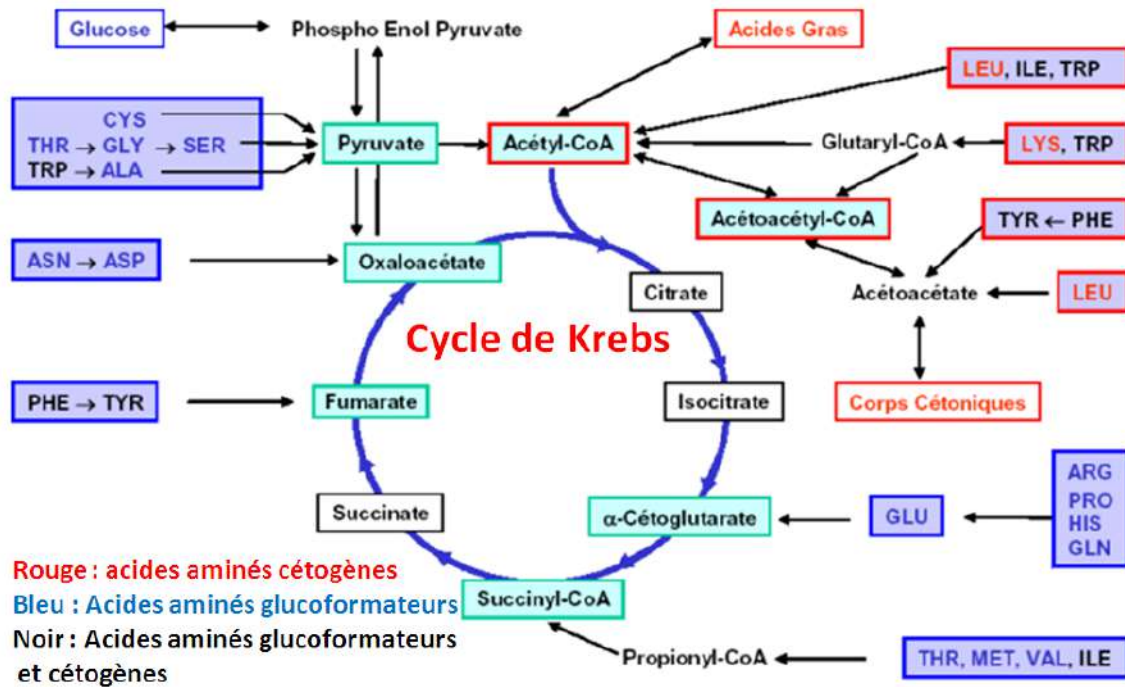
Ces composés peuvent être utilisés pour la synthèse du glucose et les AA qui leur donnent naissance sont dits glucoformateurs.

2- l'acétoacétyl- CoA et l'acétyl- CoA

Ces composés peuvent être utilisés pour la synthèse des corps cétoniques et les AA qui leur donnent naissance sont dits cétoènes.

Certains AA sont glucoformateurs et cétoènes car ils donnent naissance aux intermédiaires nécessaires à la synthèse du glucose et des corps cétoniques.

Acides Aminés glucoformateurs et cétoènes



#### Remarque :

L'ammoniac  $\text{NH}_3$  est un composé toxique. Il est formé dans les tissus périphériques (et le foie) à partir des AA par une série de réactions de transamination et de désamination. Il est également produit par les bactéries dans l'intestin.

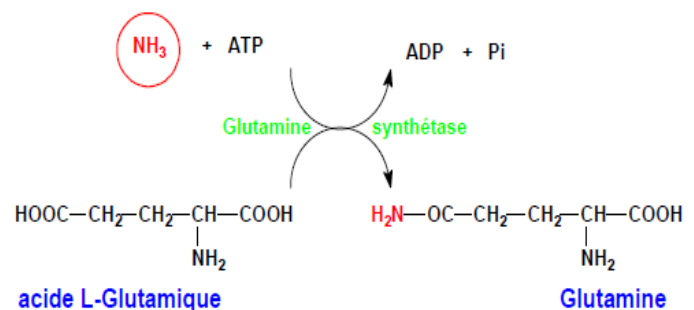
Il se déplace vers le foie et vers le rein, principalement sous la forme de glutamine (et d'alanine) pour être éliminé.

Le transporteur d'azote entre les différents organes = glutamine.

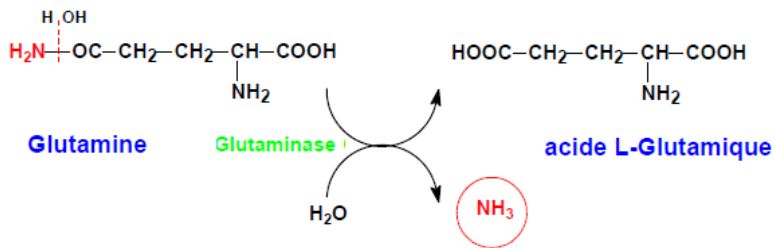
#### 2- 4- Synthèse de la glutamine (Glutaminogénèse)

Se déroule au niveau des tissus périphérique

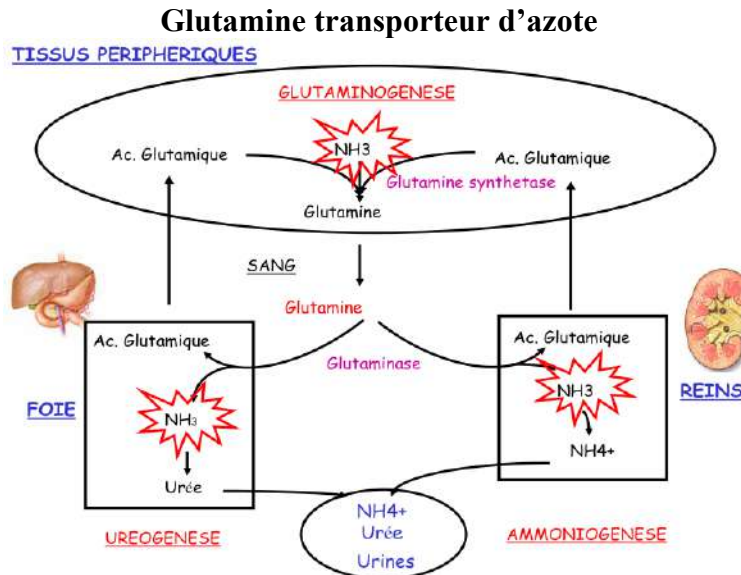
C'est la synthèse de la glutamine à partir du glutamate via la glutamine synthétase cytosolique



#### 2- 5- Hydrolyse de la glutamine

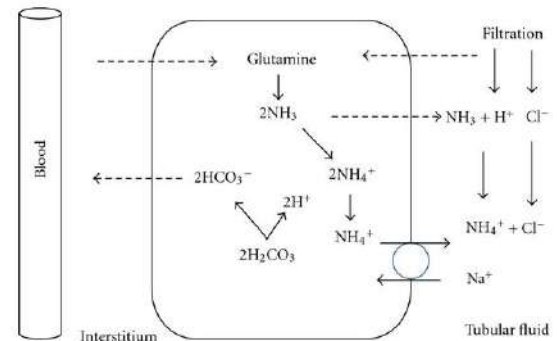


La glutamine formée passe dans la circulation sanguine et va dans les reins et le foie. Dans ces organes, il y a reformation du glutamate à partir de la glutamine, sous l'action de la glutaminase avec libération du  $\text{NH}_3$ .



## 2- 6- L'ammoniogénèse

Dans le rein, le  $\text{NH}_3$  libéré à partir de la glutamine va s'associer avec des  $\text{H}^+$  pour former l'ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) qui sera éliminé dans les urines.



## 2- 7- Le cycle de l'urée ou uréogénèse

Au niveau du foie, le  $\text{NH}_3$  libéré à partir de la glutamine est pris en charge par le cycle de l'urée = uréogénèse. Le cycle de l'urée est la voie préférentielle de l'élimination de l'azote en excès.

En effet, on retrouve deux atomes d'azote par molécules d'urée.

L'urée n'a aucune fonction physiologique.

Le cycle de l'urée est fortement consommateur en énergie.

C'est un cycle qui fait intervenir en particulier les AA suivants: Arginine, Ornithine, Citrulline et l'Argininosuccinate.

Dans la mitochondrie, le bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) réagit avec du  $\text{NH}_4^+$  et aboutit à la synthèse d'une molécule appelée le carbamylphosphate.

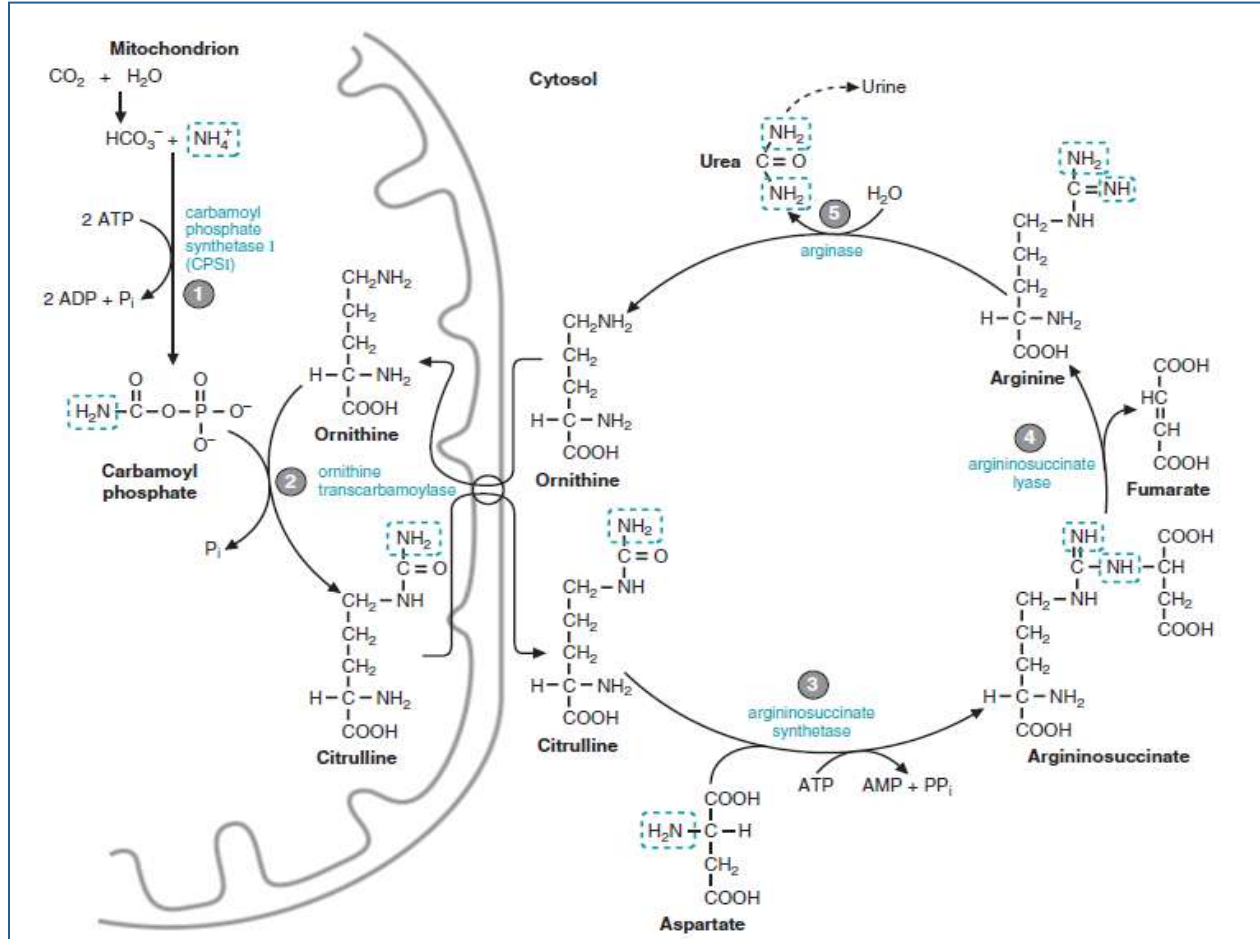
Cette réaction est effectuée par la carbamylphosphate synthétase et nécessite de l'énergie (consommation de 2 ATP).

Le carbamylphosphate en présence d'ornithine transcarbamylase va donner de la citrulline.

La citrulline sort de la mitochondrie.

Dans le cytoplasme, la citrulline interagit avec l'aspartate pour donner l'argininosuccinate sous l'action de l'argininosuccinate synthétase (avec consommation d'1 ATP).

L'argininosuccinate va être scindé en fumarate et arginine sous l'action de l'argininosuccinate lyase.  
L'arginine sous l'action de l'arginase et en présence d'H<sub>2</sub>O va aboutir à la synthèse d'ornithine et d'urée.



Bilan de la synthèse de l'urée.



L'urée est une molécule très hydrosoluble et facilement éliminable au niveau rénale.

On peut doser l'urée, comme indicateur de l'insuffisance rénale et non pas comme indicateur de fonctionnement du cycle de l'urée.

### 3- Biosynthèse des AA ou synthèse endogène des AA

L'homme ne peut pas synthétiser les AA dits indispensables et qui doivent être apportés par l'alimentation: Lys, Met, Thr, Ile, Val, Leu, Phe, Trp.

Les acides aminés non indispensables peuvent être synthétisés par l'organisme par des réactions simples en utilisant des précurseurs métaboliques:

Les voies de Biosynthèse des AA sont diverses cependant; elles ont un caractère commun important:

Le squelette carboné des AA provient des intermédiaires de la glycolyse, de la voie des pentoses phosphate ou du cycle de l'acide citrique.

Il ya seulement 06 familles biosynthétiques.

#### Les voies de biosynthèse des AA

1- L'α-cétoglutarate: précurseur du Glutamate, glutamine, proline et arginine \*

2- L'oxaloacétate précurseur de: l'aspartate, asparagine, méthionine\*, thréonine\*, lysine\*, Isoleucine\*.

3- Le 3-phosphoglycérate : précurseur de la: sérine, cystéine et glycine.

4- le pyruvate : précurseur de: l'alanine, valine\* et leucine\*.

5- Le phosphoénolpyruvate et l'érythrose -4-phosphate : précurseurs du: tryptophane\*, phénylalanine\*, tyrosine.

6- Le ribose 5 phosphate : précurseur de l'histidine\*.  
 (L'astérisque \* indique les acides aminés indispensables)

### Vue générale de la biosynthèse des AA

