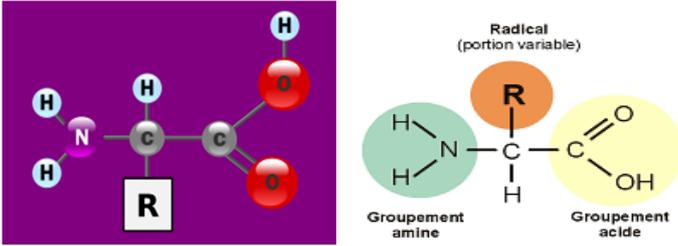


# LES ACIDES AMINES

## Définition:

Ce sont les principaux constituants des **protéines**. Ils contiennent en règle générale dans leur structure une fonction **acide** (**carboxylique**) et une fonction **amine** (**azotée**) d'où leur nom d'**acide aminé**

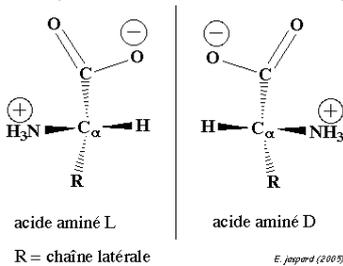


## Notions générales

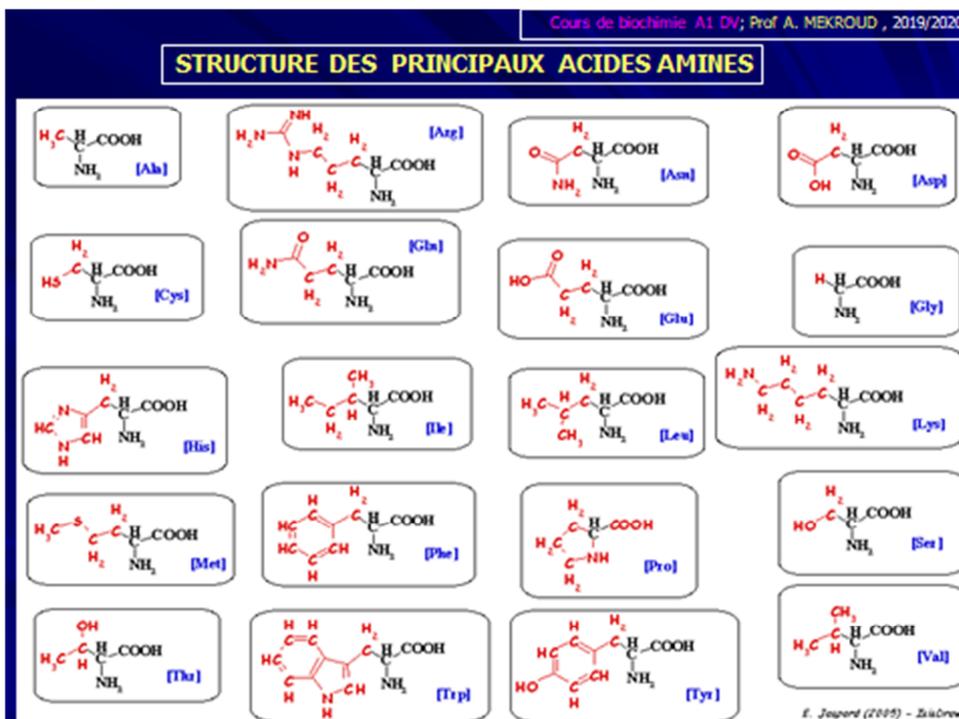
Les acides aminés naturels sont surtout des acides α-aminés répondant à la structure générale représentée dans la diapositive précédente. R est appelé radical ou chaîne principale, il est retrouvé dans tous les acides aminés. R représente une chaîne latérale caractéristique de chaque acide aminé. Les acides aminés sont en général classés selon les propriétés de la chaîne latérale en cinq groupes : **acide**, **basique**, **neutre**, **hydrophile** **polaire** (ou **hydrophobe**) **apolaire**.

## Isomérisation

A part la **glycine**, où R = H, les acides aminés existent sous la forme de deux **énantiomères**, traditionnellement appelés D et L, selon que le groupe (-NH<sub>2</sub>) se trouve soit à droite soit à gauche dans la **projection de Fischer**. Ces énantiomères sont **optiquement actifs** : chaque isomère dévie la lumière et est dextrogyre ou lévogyre suivant que la rotation du plan de polarisation de la lumière suit un sens horaire ou antihoraire. Les acides aminés L représentent la quasi totalité des acides aminés qui se trouvent dans les **protéines**



## STRUCTURE GENERAL DES ACIDES AMINES

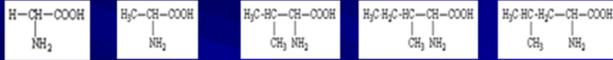


## 1. Les acides aminés aliphatiques

### Les acides aminés monocarboxyliques et monoaminés

#### La série non hydroxylée

Glycine Gly G, Alanine Ala A, Valine Val V, Isoleucine Ile I, Leucine Leu L



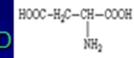
#### La série hydroxylée

Sérine Ser S, Thréonine Thr T

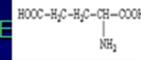


## Les acides monoaminés et dicarboxyliques et leurs amides.

Les acides monoaminés Acide aspartique Asp D

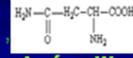


Acide glutamique Glu E

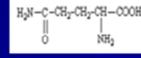


Leurs amides

Asparagine Asn N

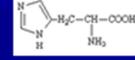
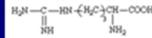
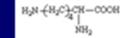


Glutamine Glu Q



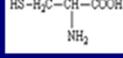
## Les acides aminés dibasiques (6 C)

Lysine Lys K, Arginine Arg R, Histidine His H

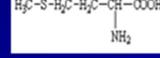


## Les acides aminés sulfurés

Cystéine

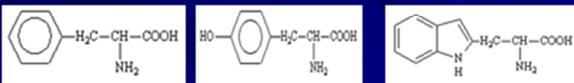


Méthionine Met M



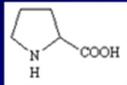
## 2. Les acides aminés aromatiques

Phénylalanine Phe F, Tyrosine Tyr Y, Tryptophane Trp W



## 3. Les iminoacides

Proline Pro P, Hydroxyproline



### Remarques sur les acides aminés naturels

Leur répartition : Les plus abondants sont les acides

Les moins abondants sont les sulfurés

Les acides aminés essentiels =

Non synthétisés par l'homme mais nécessaire au métabolisme

### LISTE DES PRINCIPAUX ACIDES AMINÉS

Nom	Code à 1 lettre	Code à 3 lettres	pHi
Alanine	A	Ala	6,11
Arginine	R	Arg	10,76
Asparagine	N	Asn	5,41
Aspartate	D	Asp	2,85
Cystéine	C	Cys	5,05
Glutamate	E	Glu	3,15
Glutamine	Q	Gln	5,65
Glycine	G	Gly	6,06
Histidine	H	His	7,60
Isoleucine	I	Ile	6,05
Leucine	L	Leu	6,01
Lysine	K	Lys	9,60
Méthionine	M	Met	5,74
Phénylalanine	F	Phe	5,49
Proline	P	Pro	6,30
Sérine	S	Ser	5,68
Thréonine	T	Thr	5,60
Tryptophane	W	Trp	5,89
Tyrosine	Y	Tyr	5,64
Valine	V	Val	6,00

## PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

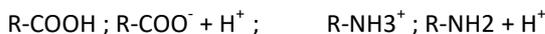
### Propriétés physiques:

#### \*Solubilité:

La plupart des acides aminés sont solubles dans l'eau et les solvants tels que l'alcool (les solvants polaires) (*surtout la proline et hydroxyproline*). D'autre part, les acides  $\alpha$ -aminés sont solubles, mais à moindre degré dans les solvants non polaires. Il faut retenir que cette solubilité est très dépendante des propriétés de la chaîne latérale: la solubilité diminue avec le nombre d'atomes de carbone du radical, mais inversement augmente si ce radical R est porteur de fonctions polaires ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{COOH}$ ) ou hydrophiles ( $\text{OH}$ ).

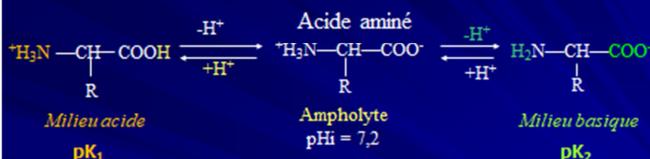
#### \*Ionisation:

Les acides aminés contiennent un groupement carboxyle acide et un groupement aminé basique. En solution, ces deux groupements existent sous deux formes, l'une chargée, l'autre neutre :



Les acides aminés sont appelés pour cette structure diionique amphotères. L'ionisation varie avec le pH : les acides aminés existent, en solution aqueuse, sous 3 formes possibles :

## Application aux acides aminés



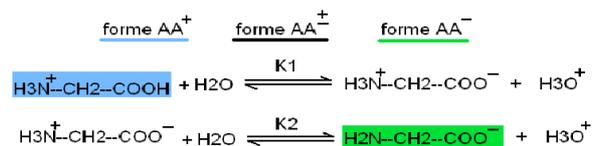
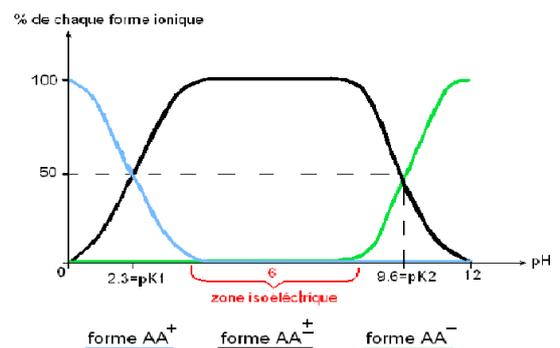
- En milieu acide ( $\text{pH} < \text{pHi}$ ): La fonction amine s'ionise en fixant un hydrogène (proton) et la dissociation du carboxyle est inhibée. L'acide aminé se trouve sous forme de **cation**.
- En milieu basique ( $\text{pH} > \text{pHi}$ ): La fonction acide s'ionise en se débarrassant d'un proton, la base du milieu inhibe l'ionisation du groupement amine. L'acide carboxylique se trouve sous forme d'**anion**.
- Le pH pour lequel les 2 dissociations s'effectuent est appelé point isoélectrique : ou pHi. À ce pH, on a un ion dipolaire ou zwitterion de charge nette nulle, donc ne migrant pas dans un champ électrique.

$$\text{pI} = \frac{1}{2}(\text{pK}_1 + \text{pK}_2)$$

**N.B.:** de part et d'autre du pHi, on définit des pH qui correspondent à une demi dissociation de  $\text{COOH}$  et de  $\text{NH}_3^+$ , ce sont les pKs. Il existe donc 2 pK.

Le point (ou pH) isoélectrique ou isoionique est égal à la demi somme des pKs. Le radical R, lorsqu'il renferme un groupe ionisable, participe à la valeur du point isoélectrique.

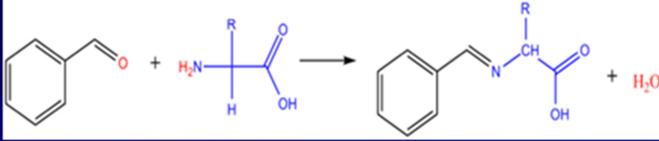
dissociation de la glycine en fonction du pH





**Réaction avec les aldéhydes**

Avec les aldéhydes aliphatiques: il se forme le dérivé diméthylol de l'acide aminé. Avec les aldéhydes aromatiques, on obtient des bases de Schiff.

**Arylation**

La substitution d'un H de la fonction NH2 par un groupement aryle aromatique (conduit à une fonction amine secondaire).

Par exemple avec le 2,4-dinitro-1-fluoro-benzène (réactif de Sanger) il se forme un dinitrophényl-acide aminé coloré, donc dosable.

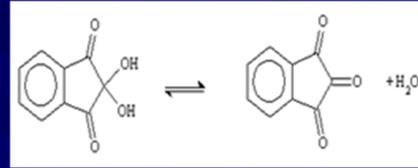
Cette réaction peut se produire lorsque l'acide aminé est incorporé dans une protéine.

Si l'on hydrolyse une protéine on libère des acides aminés et des DNP acides aminés correspondant aux acides aminés dont les groupes NH2 sont libres dans la protéine (terminaux).

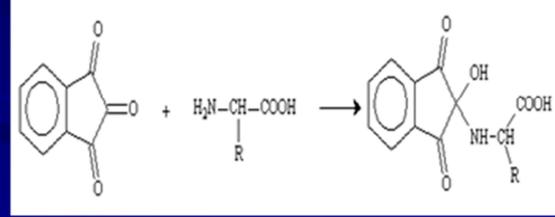
Cette réaction a permis à Frederick Sanger en 1953 d'établir la première structure primaire d'une protéine (l'insuline).

**Réaction avec la Ninhydrine.**

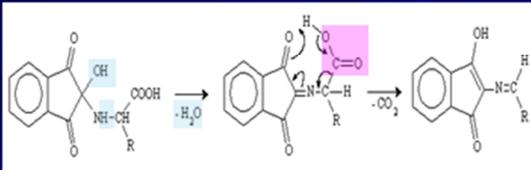
Très utilisée comme réactif révélateur des acides aminés en chromatographie. La ninhydrine est sous forme hydratée la 2,2-dihydroxyindan-1,3-dione, soit:



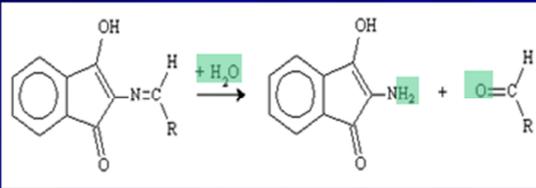
La fonction cétone centrale est très électrophile et réagit avec la fonction amine des acides aminés



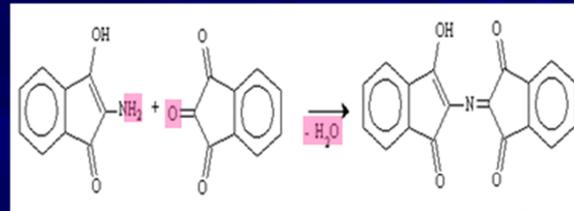
L'α aminoalcool perd une mole d'eau, puis une mole de CO<sub>2</sub>, en donnant une imine,



Cette imine est hydrolysée et libère un aldéhyde et une amine,

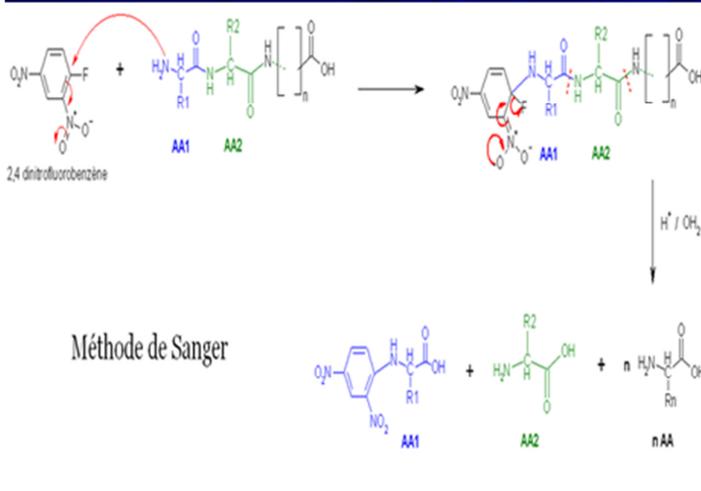


L'amine libérée réagit avec une autre mole de ninhydrine pour donner une nouvelle cétimine,



Ce composé fortement délocalisé est coloré, on le nomme **Pourpre de Ruheman**.

Il est à noter qu'il ne reste qu'un atome d'azote provenant de l'acide aminé initial dans le colorant final.

**LES PEPTIDES****1. Définition**

Les peptides sont des composés synthétiques ou naturels résultant de l'enchaînement limité d'acides aminés unis entre eux par des liaisons peptidiques entre -COOH du groupement fonctionnel et -NH2 du groupement fonctionnel de l'acide aminé qui suit.

**Par convention, on lit une séquence avec**

Le premier acide aminé porte -NH2 libre

Le dernier porte -COOH libre

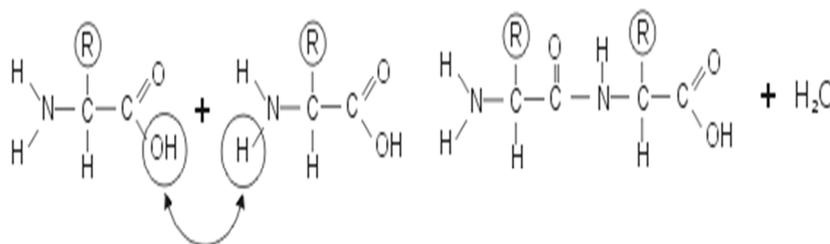
**Différents peptides**

Oligopeptides : nombre d'acides aminés < 10

Polypeptides : 10 < nombre d'acides aminés < 100

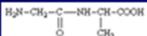
**La liaison peptidique**

Les acides aminés peuvent se lier les uns aux autres par une liaison peptidique. La liaison peptidique se fait entre le groupement acide (COOH) d'un acide aminé et le groupement amine (NH2) de l'autre. Au cours de la réaction, une molécule d'eau est éliminée. Il s'agit donc encore une fois d'une réaction de condensation.



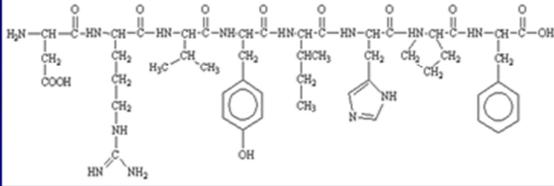
## ■ Représentation:

■ Par convention, les peptides s'écrivent avec l'acide aminé N-terminal (qui a le groupement -NH<sub>2</sub> libre) à gauche et l'acide aminé C-terminal (qui a le groupe -COOH libre) à droite.

■ Ainsi Gly-Ala signifie: 

■ On arrive ainsi à représenter des molécules assez complexes comme l'angiotensine II une hormone du sang qui régule la pression sanguine:

■ Asp---Arg---Val---Tyr---Ile---His---Pro---Phe

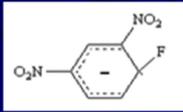


## Détermination de la structure.

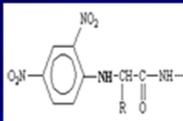
**Les Peptides:** Ce sont les plus simples à analyser car ils ne posent pas le problème de structure (taille relativement réduite). Il s'agit de déterminer d'abord la nature et la masse de chacun des acides aminés les composant. Ensuite il faut déterminer l'ordre (la séquence) dans lequel ces acides sont reliés.

Les peptides purifiés sont hydrolysés par une solution d'acide dilué (HCl 6N, 110°C, 24h). Les liaisons amides sont rompues et les acides aminés libérés. Ils sont analysés qualitativement et quantitativement par chromatographie liquide (telle que la chromatographie à échange d'ions, ou sur couches minces, ou sur papier)

Le second problème est plus délicat. Il a été résolu par Sanger en 1953 par la détermination de la structure de l'insuline (Nobel chimie 1958), et par Edman. La dégradation de Sanger utilise le 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzène comme réactif. Ce composé favorise une substitution aromatique par addition-élimination par le caractère fortement attracteur des substituants du benzène.



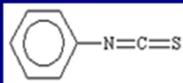
Sur un peptide, il réagit avec l'extrémité aminée libre en donnant



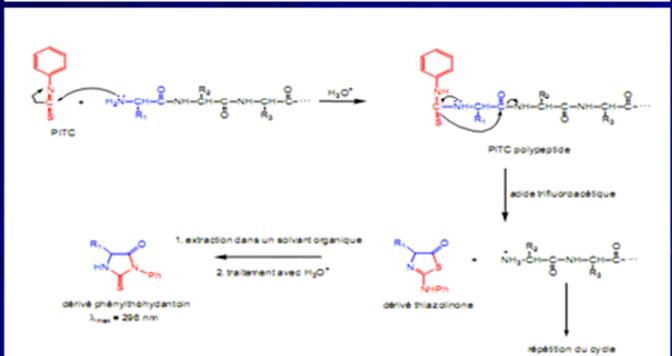
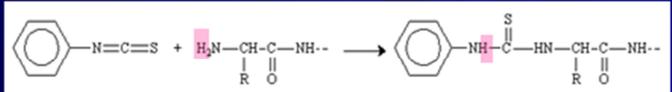
L'hydrolyse suivante coupe les liaisons peptidiques mais pas la liaison Cycle DNP-NH. On récupère ainsi l'acide aminé N-terminal de la chaîne. Cette réaction a ouvert la voie de l'analyse, mais le reste de la chaîne n'est plus relié et l'information sur sa structure est perdue.

La méthode suivante permet l'analyse de toute la séquence.

La dégradation d'Edman fait appel à un autre réactif l'isothiocyanate de phényle.



Cette fonction isothiocyanate très sensible aux nucléophiles conduit à une thiourée, par addition du NH sur la double liaison N=C.



## SEPARATION, EVALUATION QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES AMINO-ACIDES

Les méthodes sont nombreuses et se répartissent en différentes rubriques:

- séparation par contre-courant
- Méthodes chromatographiques
- Méthodes électrophorétiques

### SEQUENCAGE DES AMINO-ACIDES

Cela consiste à connaître l'ordre d'enchaînement des acides aminés. Ex: un tripeptide ABC. Il n'existe aucune règle dans les enchaînements des AA et toutes les probabilités sont possibles: ABC, ACB, BCA, BAC, CBA et CAB. Cet ordre de séquence est déterminée génétiquement, détermination des acides aminés terminaux. C'est en général par cette étape que l'on commence dans toute étude de séquence car cette détermination est souvent facile, mais aussi parce que le nombre de groupements terminaux permet d'avoir des informations sur la forme de la molécule polypeptidique et sur le nombre de chaînes polypeptidiques constituant la chaîne protéique.

### Détermination des groupements α aminés terminaux libres

Elles sont nombreuses, mais seules trois seront développées. deux chimiques et une enzymatiques

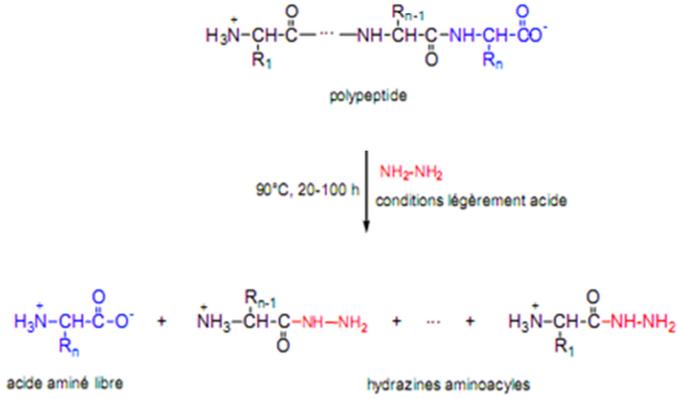
**Méthodes au Fluoro DiNitro Benzène (FDNB)**= Méthode de SANGER ; Cette méthode permet de protéger le N terminal pour ensuite récupérer le DNP-Aminoacide terminal (ex:DNP-alanine, .....).

**Méthode à la Phénylisothiocyanate (PITC) ou des phénylthiohydantoïne** = Réaction d'EDMAN

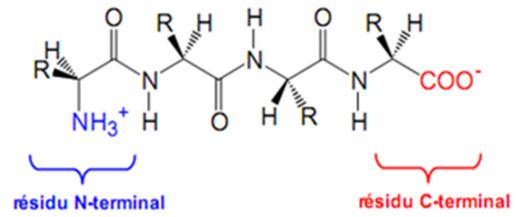
**Dégradation enzymatique par l'aminopeptidase** : Cette enzyme hydrolyse la liaison peptidique où est engagé l'acide aminé N-terminal. Après avoir détaché le premier aminoacide, elle va libérer le second qui se trouve à son tour porteur du NH<sub>2</sub> libre

# MARQUAGE CHIMIQUE DU C TERMINAL

❖ Réaction chimique (ex. hydrazinolyse):



## 7.2 Analyse des résidus terminaux



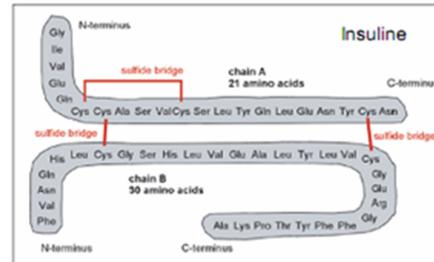
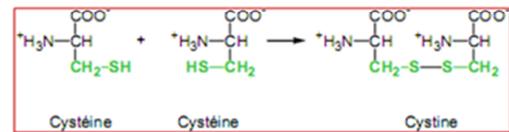
❖ Puisque chaque chaîne polypeptidique possède un résidu N-terminal et C-terminal, le nombre de sous-unités distinctes dans une protéine peut être déterminé en identifiant le nombre de chacun des résidus terminaux.

❖ Réaction enzymatique (exopeptidase):



L'utilité des aminopeptidases pour l'analyse des résidus N-terminal est limitée puisque ces enzymes agissent spécifiquement sur certains acides aminés et avec des vitesses de réaction différentes.

## 7.3 Coupeure des liens disulfures



Les liens disulfures doivent être coupés avant le séquençage pour séparer et déplier les sous-unités.

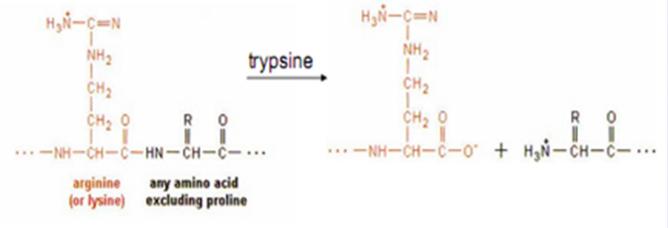
## 7.5 Coupeure spécifique des liens peptidiques

### 7.5.1 Fragmentation enzymatique

**Endopeptidases:**  
Coupeure spécifique de liens peptidiques à l'intérieur d'une chaîne

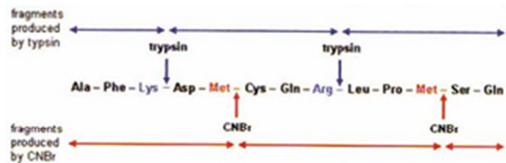
Enzyme	Specificity
<b>Endopeptidases</b>	
Trypsin	$R_{n-1} = \text{Arg, Lys}$ $R_n \neq \text{Pro}$
Pepsin	$R_n = \text{Leu, Phe, Trp, Tyr, Val}$ $R_{n-1} \neq \text{Pro}$
Chymotrypsin	$R_{n-1} = \text{Phe, Trp, Tyr}$ $R_n \neq \text{Pro}$
Endopeptidase GluC	$R_{n-1} = \text{Glu}$
<b>Exopeptidases</b>	
Leucine aminopeptidase	$R_1 \neq \text{Pro}$
Aminopeptidase M	all N-terminal residues
Carboxypeptidase A	$R_n \neq \text{Arg, Lys, Pro}$ $R_{n-1} \neq \text{Pro}$
Carboxypeptidase B	$R_n = \text{Arg, Lys}$ $R_{n-1} \neq \text{Pro}$
Carboxypeptidase C	all C-terminal residues

**Exopeptidases:**  
Coupeure d'un acide aminé N- ou C-terminal d'une chaîne peptidique



## 7.6 Détermination de l'ordre des fragments peptidiques

- ❖ La séquence des fragments peptidiques individuels est déterminé en établissant l'ordre dans lequel ils étaient connectés.
- ❖ La séquence des acides aminés dans un 1<sup>er</sup> set de fragments est comparé avec celui d'un 2<sup>e</sup> set de fragments pour lequel les points de coupure sont différents.



- ❖ Un recouvrement de quelques résidus est généralement suffisant pour identifier un point de connexion.

### EXEMPLES DE QUELQUES PEPTIDES

#### 1. Petits peptides

**Aspartame** Asp-Phe-O-CH<sub>3</sub>

Pouvoir sucrant 2x plus que le saccharose

#### 2. Peptides hormonaux

**Hormones post-hypophysaires** Ocytocine, Vasopressine

**Hormones pancréatiques** Glucagon, Insuline

#### 3. Peptides antibiotiques Tyrocidine A Pénicillines

## LES PROTEINES

### DEFINITION

Une **protéine**, aussi appelée **protide** est un assemblage d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques. On parle de protéine lorsque plus de 50 acides aminés sont liés au sein d'une chaîne d'acides aminés.

### FONCTIONS

Les protéines ont des fonctions très diverses

**Structure** : les fibres protéiques **Mouvement** : contraction musculaire **Transport** : de substances dans le sang

**Transport** : de substances à travers la membrane des cellules **Hormones** : insuline , glucagon, vasopressine,...

**Identification des cellules**: récepteurs **Défense** : les anticorps **Catalyse** : Enzymes

### 1. Modes de classification des protéines

#### 1.1. Selon leurs formes

##### 1.1.1. Protéines fibreuses

Les chaînes polypeptidiques sont allongées et enroulées autour d'un axe sous une **forme hélicoïdale**. Ce sont des protéines de structure. Elles peuvent être **extracellulaires** et seront alors insolubles dans l'eau et auront une fonction de protection :

**kératine α** des cheveux, **fibroïne** de la soie, **élastine** de la peau, **collagène** des tendons. Elles peuvent également être intracellulaires, citons par exemple la myosine et la tropomyosine des cellules musculaires.

##### 1.1.2. Protéines globulaires

Solubles dans l'eau, elles sont de **forme sphérique**. Elles ont une structure beaucoup plus complexe que les protéines fibreuses mais elles présentent une bien plus grande variété d'activités biologiques. Elles peuvent être membranaires et auront alors des rôles comme : **transporteur**, **récepteurs**, **canaux ioniques**, **protéines d'adhésion cellulaire** ...

Elles peuvent être solubles et donc être des protéines circulantes plasmatiques comme l'albumine, des hormones protéiques comme la LH, des protéines cytosoliques comme la **calmoduline**.

Les propriétés uniques de chaque protéine dépendent des types d'AA qui les composent et de leur séquence. On peut considérer les 20 AA comme un « alphabet » de 20 lettres, utilisé pour construire des « mots » (les protéines) Ainsi on peut changer le sens d'un mot en remplaçant une lettre par une autre. Ex: **Faire** ou **Foire**. Il est clair que le sens est différent et donc la protéine est aussi différente

# I. Propriétés des protéines

## 1. Propriétés physico-chimiques

### Solubilité des protéines globulaires

**Influence de la concentration en sel (force ionique  $\mu$ ):**

**Faible concentration :** augmentation de la solubilité des protéines = effet dissolvant

**Forte concentration :** précipitation des protéines = effet de relargage (réversible par dilution)

**Influence du pH :** Minimum de solubilité au pHi

**Influence de la température :** Dénaturation à Température élevée

**Influence de solvants organiques :** L'éthanol et l'acétone insolubilisent les protéines

**Propriétés électriques :** Les protéines, constituées d'acides aminés, sont porteuses de charges électriques variables en fonction du pH. Chaque protéine possède un pH isoélectrique pour lequel la mobilité dans un champ électrique est nulle : charge électrique globale nulle.

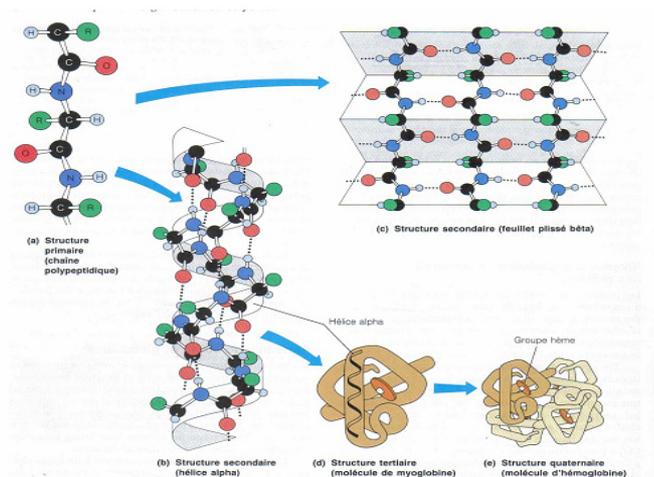
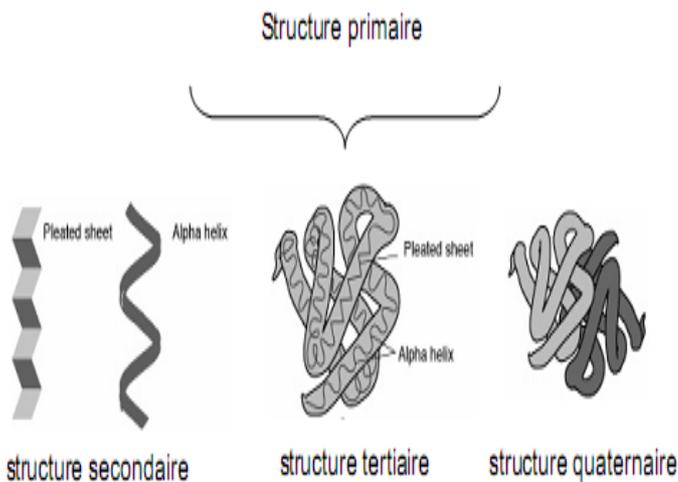
## ORGANISATION TRIDIMENTIONNELLE

**la structure primaire**, qui est la séquence linéaire des acides aminés dans la protéine.

**la structure secondaire**, qui rend compte de l'organisation de groupes d'acides aminés en éléments structuraux simples : hélices alpha, feuillets et tours beta, autres structures.

**la structure tertiaire**, qui correspond au repliement de la protéine dans l'espace tridimensionnel (on parle aussi de structure tridimensionnelle décrite par les coordonnées des atomes dans l'espace). Cette structure rend compte de l'organisation entre eux des éléments de structure secondaire.

**la structure quaternaire**, qui définit l'association (multimérisation) entre des protéines de structures primaires identiques (homoassociation) ou distinctes (hétéroassociation).



## Dénaturation des protéines

Les **protéines** sont très sensibles aux changements de **température** et de **pH**. Ces changements peuvent entraîner une modification de la structure tertiaire ce qui affecte grandement les fonctions des **protéines** surtout lorsque le site actif est affecté. Le site actif est l'endroit où le **substrat** de l'enzyme vient se fixer. Plusieurs conditions peuvent causer la **dénaturation** des **protéines** :

**Chaleur :** l'agitation thermique peut provoquer la **rupture des liaisons hydrogène** responsables de la structure de la protéine.

**pH :** l'acidité ou l'alcalinité extrême vont perturber les **interactions ioniques** qui stabilisent les protéines.

**Solvant :** le changement du solvant peut modifier la **structure tertiaire** des protéines. Par exemple, une chaîne polypeptidique se modifie pour présenter ses parties hydrophobes vers l'extérieur si on place une protéine dans un solvant hydrophobe.

**Présence de détergents :** la présence de détergents peut interférer avec les interactions protéine-solvant.