Chapitre 3:

Structure et propriétés des amino-acides et des protéines

SOMMAIRE

- Les glucides
- Les lipides
- Les protéines
- Les acides nucléiques

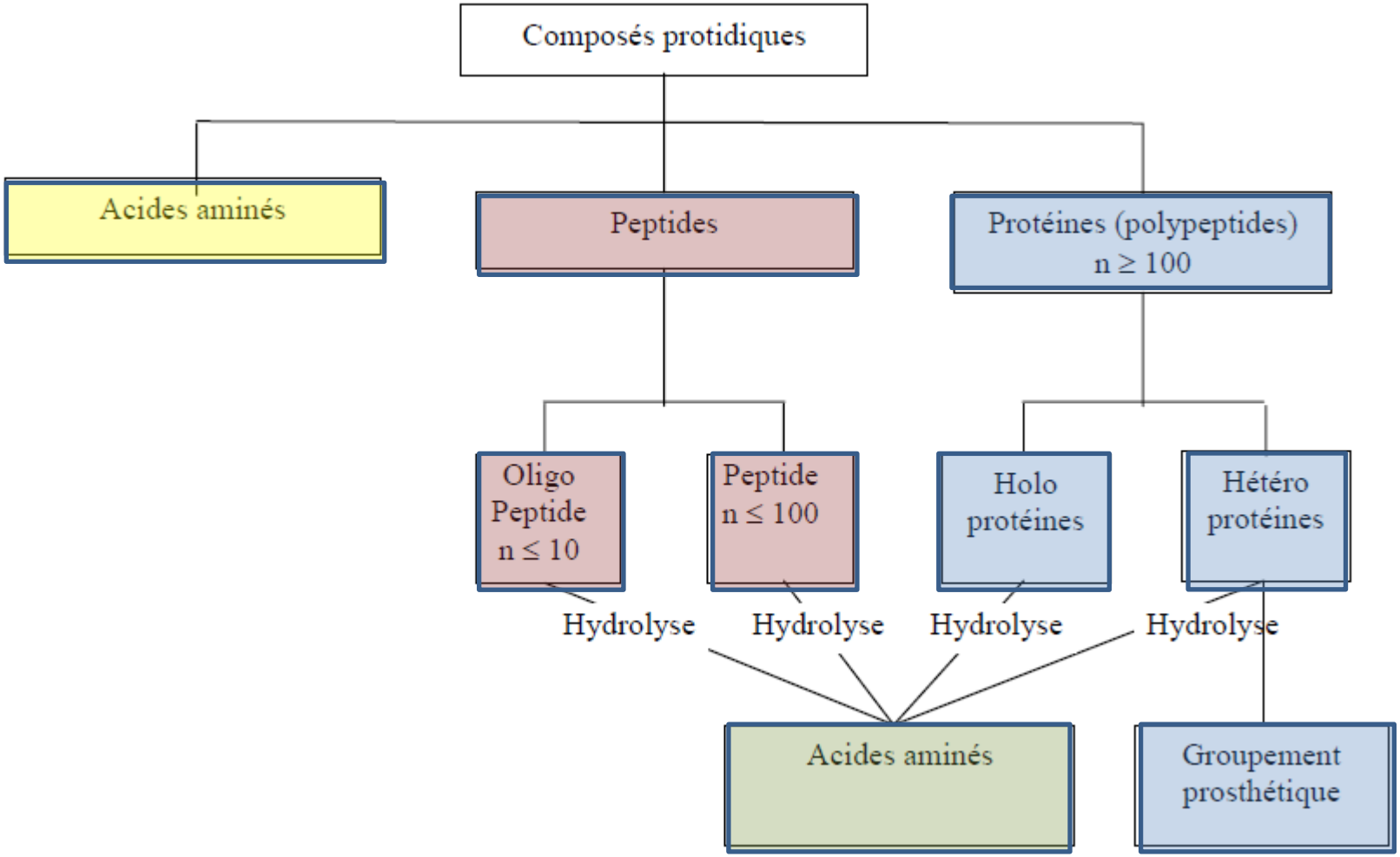
SOMMAIRE

- Aspect générale
- Propriétés des acides aminés
- Structure des protéines
- Hydrolyse de la liaison peptidique

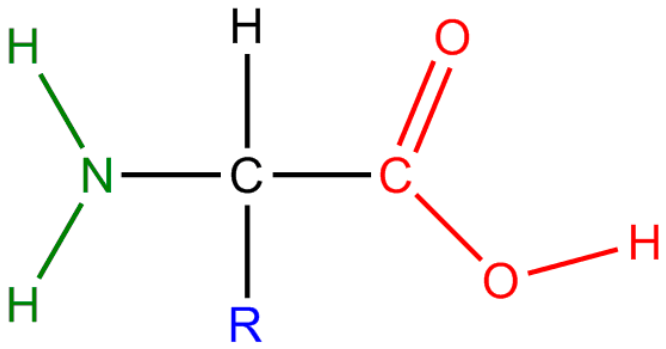
Aspect générale

Les protéines constituent le vivant. Elles se retrouvent donc chez tous les organismes vivants. On pourrait imaginer que toutes les protéines sont globalement identiques. Il n'en est rien. Toutes les protéines sont très différentes. Chaque protéine possède des propriétés spécifiques qui lui sont conférées par son arrangement spatial unique.

Contrairement aux acides nucléiques qui se ressemblent tous, les protéines sont variées. On ne peut donc pas leur appliquer des méthodes d'études globales. Il faut choisir sa méthode en fonction de la protéine que l'on étu

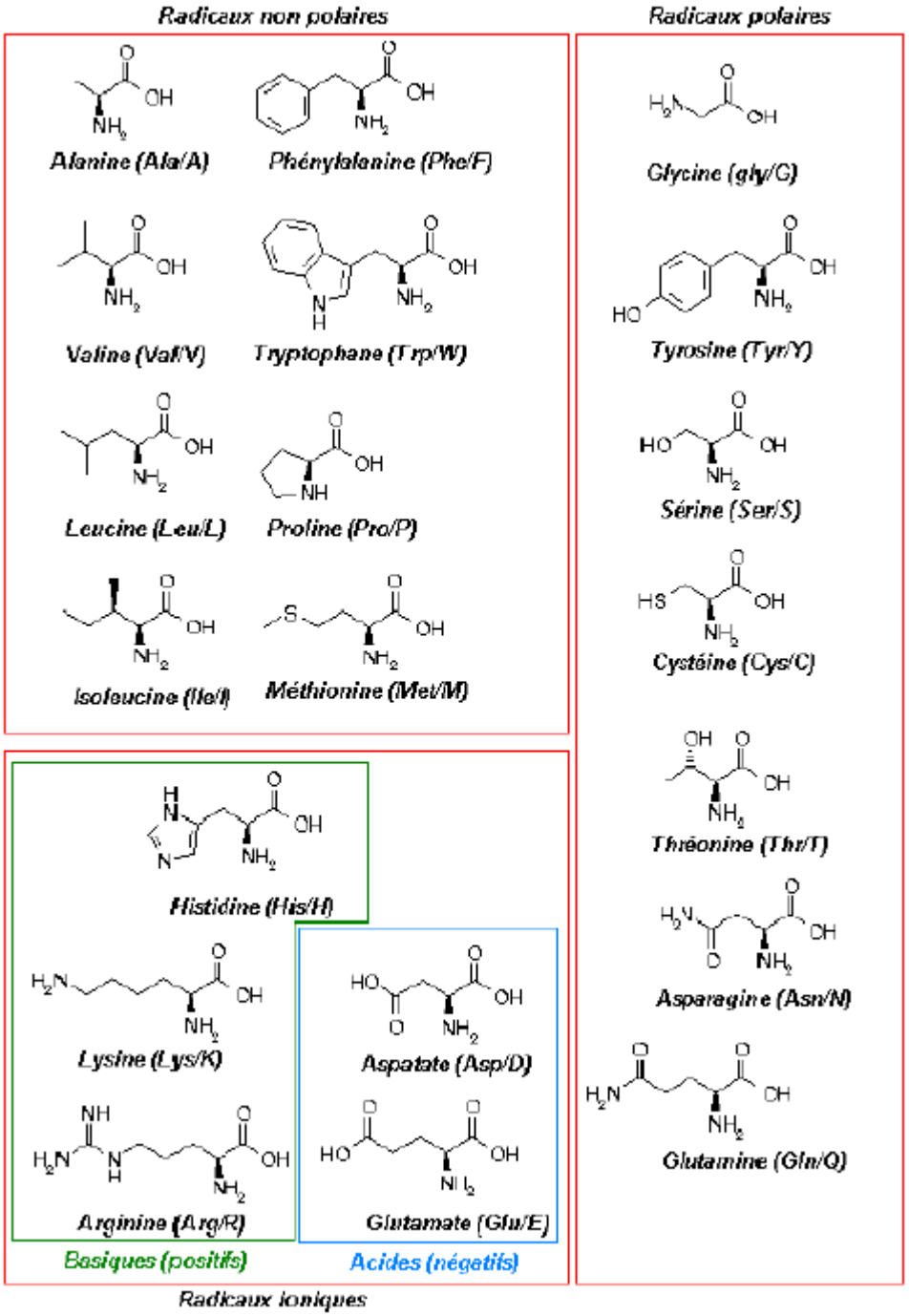


Un acide aminé ou aminoacide est un composé comportant toujours une chaîne carbonée plus ou moins longue, une fonction acide carboxylique (-COOH) et une amine qui, à une exception près, est une amine primaire (-NH^2). Dans les acides aminés naturels, qui constituent les peptides et protéines, ces deux fonctions sont supportées par le même carbone, noté carbone α, d'où le terme d'acides α aminés.



amine

acide carboxylique



SOMMAIRE

- Aspect générale
- Propriétés des acides aminés
- Structure des protéines
- Hydrolyse de la liaison peptidique

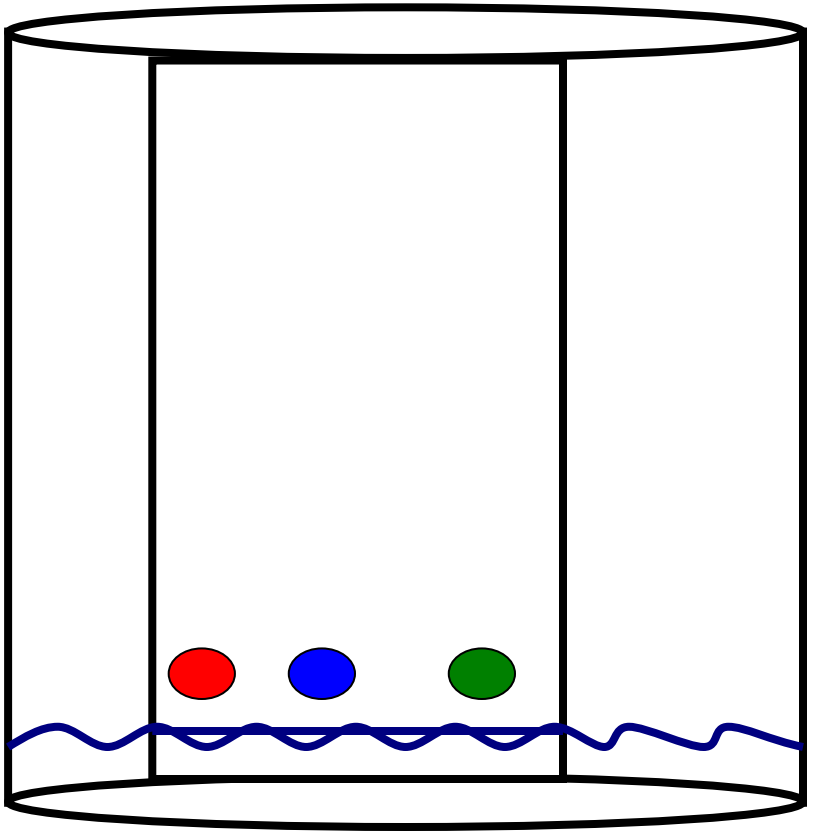
Propriétés des acides aminés

Propriétés physiques

Solubilité

Les AA sous forme solide sont en général des poudres blanches cristallisées. Ils ont une solubilité plus ou moindre dans l'eau et dans les solvants organiques selon la nature du radical R. Si R est polaire ou ionique la solubilité dans l'eau est importante, si R est apolaire la solubilité dans l'eau est plus faible.

Chromatographie de partage

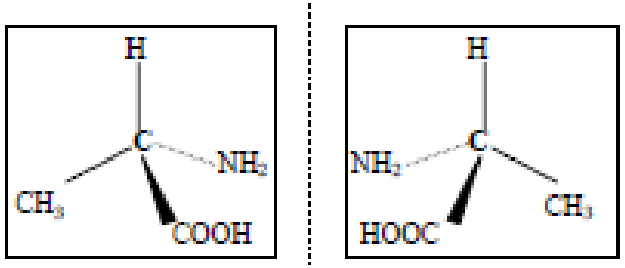


Propriétés optiques : le pouvoir rotatoire

Tous les acides aminés sauf le glycocolle possèdent au moins un carbone asymétrique C*, qui est le carbone α. Les acides aminés existent donc sous forme de plusieurs stéréoisomères, dont deux énantiomères symétriques l'un par rapport à l'autre.

$CH_3 - CH(NH_2) - COOH$

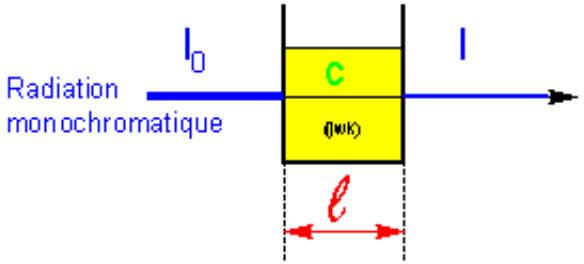
L'alanine



La plupart les acides aminés naturels sont de la série L.

Absorption lumineuse dans l'ultraviolet

Tous les acides aminés absorbent les radiations ultraviolettes à des longueurs d'ondes inférieures à 230 nm. Les acides aminés ayant un radical aromatique (Tyr, Trp, Phe) absorbent vers 280 nm.



$$A = \varepsilon \cdot \ell \cdot c = \text{Log} \frac{I_0}{I}$$

Loi de Beer-Lambert

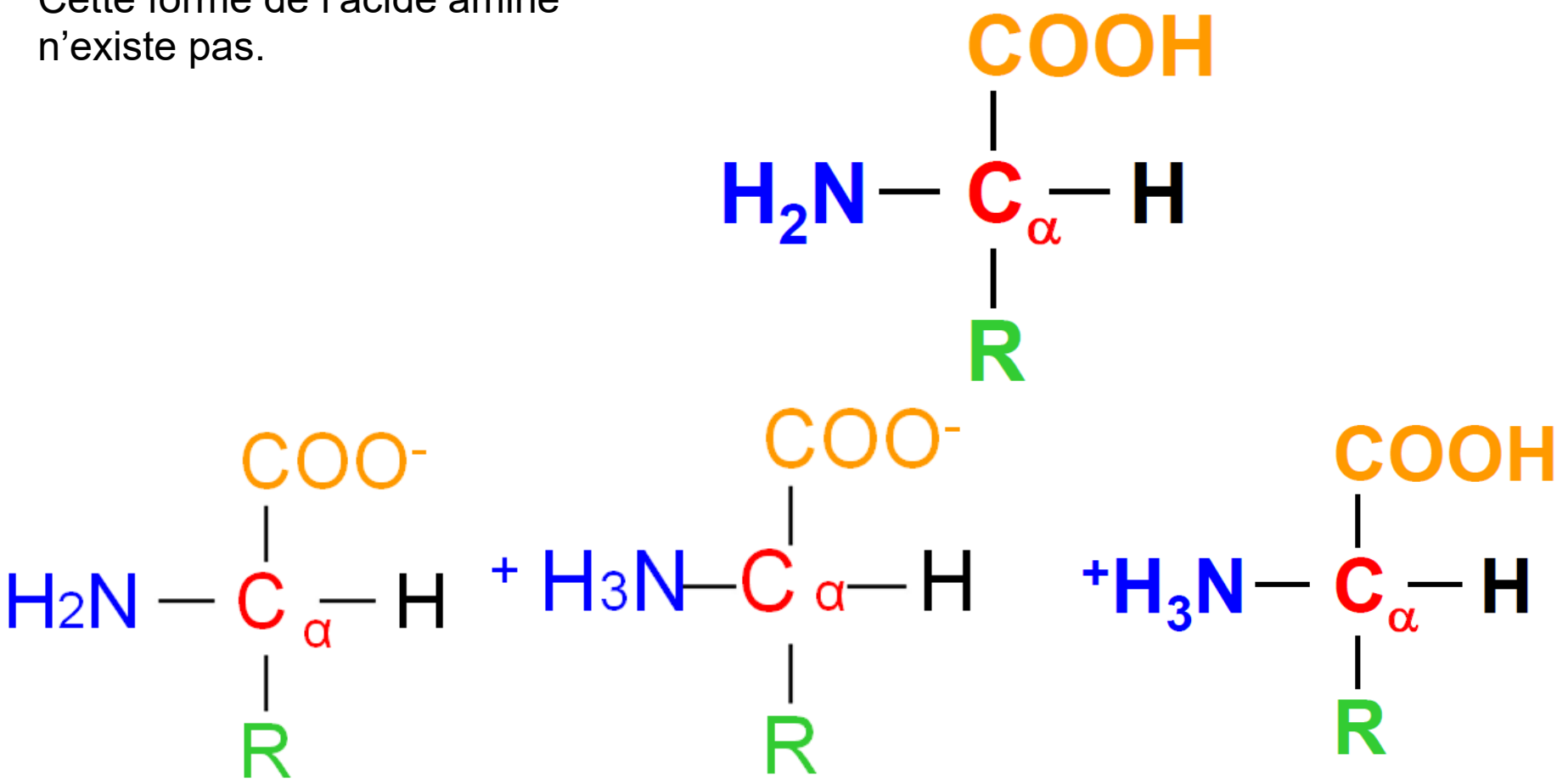
ℓ = longueur en cm

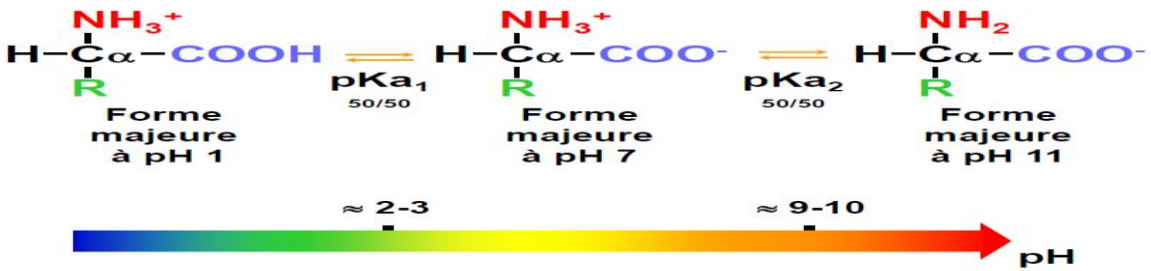
c = Concentration molaire

ε = Coefficient d'extinction molaire ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)

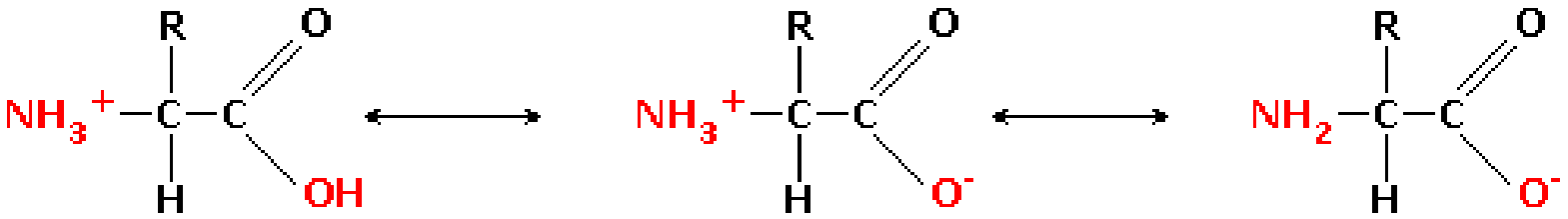
Propriétés ionique

Cette forme de l'acide aminé n'existe pas.





FORME ZWITTERIONIQUE



Le **pH isoélectrique** ou **point isoélectrique** (**PI**), est le pH où une molécule est sous sa forme **zwitterionique** (ion mixte), sa charge globale étant alors nulle. Si pH < **PI**, la charge globale est positive, car la molécule a tendance à conserver ses protons ou à en capter du milieu acide. Si pH > **PI**, la charge globale est négative, car la molécule a tendance à céder ses protons au milieu basique.

Les acides aminés sont aussi classés selon leur pH isoélectrique, et on distingue trois catégories :
Les **aminoacides acides** : **Asparagine** et **acide glutamique** (**glutamate**).
Les **aminoacides basiques** : **Lysine**, **arginine**, et **histidine**.
Les **aminoacides neutres** : les autres **aminoacides**.

Les fonctions acide carboxylique et amine libèrent ou fixent un proton selon le pH du milieu environnant.

fonction acide

$$COOH \rightleftharpoons COO^- + H^+$$

Constante d'équilibre

$$K_a = \frac{[H^+] \times [COO^-]}{[COOH]}$$

$$\frac{1}{[H^+]} = \frac{1}{K_a} \times \frac{[COO^-]}{[COOH]}$$

$$\log \frac{1}{[H^+]} = \log \frac{1}{K_a} + \log \frac{[COO^-]}{[COOH]}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[COO^-]}{[COOH]}$$

$$pH = pKa + \log \frac{[COO^-]}{[COOH]}$$

Équation d'Henderson- Hasselbalch

Il s'agit d'une fonction mathématique décrivant une sigmoïde.

Ceci est également valable pour la fonction α-amine.
Cette fonction est dite basique puisqu'elle ne libère son proton que pour des pH élevés.

fonction amine

$$NH_3^+ \rightleftharpoons NH_2 + H^+$$

Constante d'équilibre

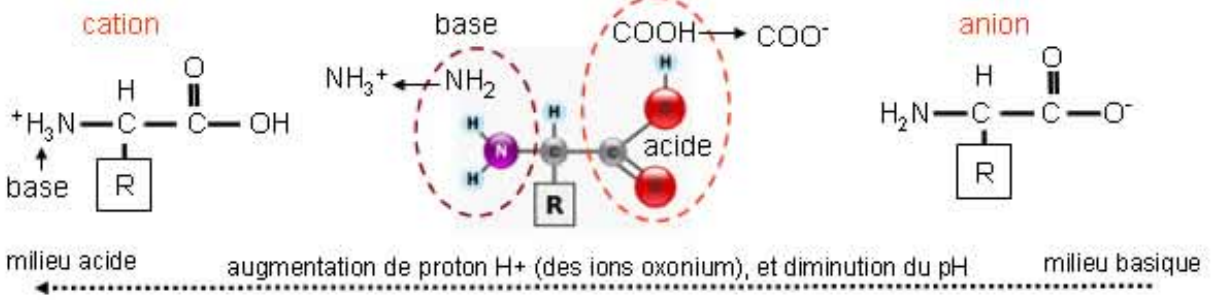
$$K_a = \frac{[H^+] \times [NH_2]}{[NH_3^+]}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[NH_2]}{[NH_3^+]}$$

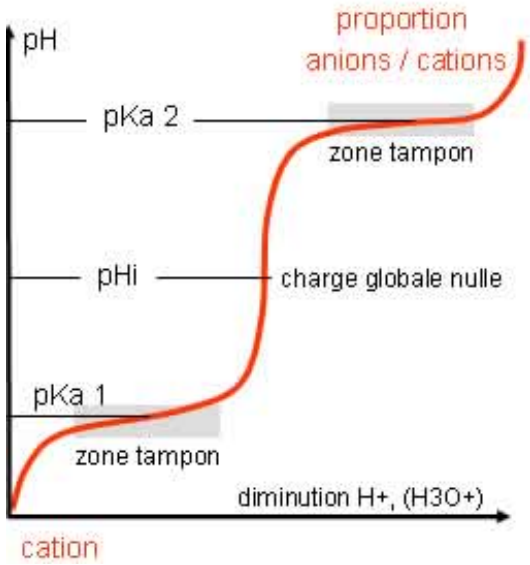
Équation d'Henderson- Hasselbalch

Le pKa est une constante **intrinsèque** d'une fonction chimique dans des conditions de températures standards qui renseigne sur la capacité de la fonction à rester protonée à un pH donné.

$$K_1 = \frac{[R - COO^-][H^+]}{R - COOH} \text{ et } K_2 = \frac{[R - NH_2][H^+]}{[R - NH_3^+]}$$



La figure représente la courbe de titrage d'un acide aminé :
- ne présentant pas de groupement ionisable sur sa chaîne latérale,
- comme un acide aminé est un ampholyte, deux pKA existent :



	pKa COOH	pKa NH_3	pKa R	pHi
A. Alanine	2,3	9,7		6
R. Arginine	2,2	9,0	12,5	11,15
N. Asparagine	2,0	8,8		5,41
D. A aspartique	2,1	9,8	3,9	2,77
C. cystéine	1,8	10,8	8,3	5,03
Q. Glutamine	2,2	9,1		5,65
.....				

- **pKa 1** est lié à la **fonction acide (COOH)**,(2 = valeur moyenne du pKa de la fonction carboxyle)
- **pKa 2** est lié à la fonction base (NH_3) de l'acide aminé,(9 = valeur moyenne du pKa de la fonction amine)

- Les zones où le pH varie peu (zones où le mélange acide et base conjuguée stabilisent momentanément le pH), **sont appelées zones tampons**
- Le pH de passage d'une molécule d'un état acide à un état basique (et ne présentant donc une charge électrique nette neutre) est appelé son pH **isoélectrique (pHi)**

Si la chaîne latérale :
- n'est pas ionisable : **le pHi est la moyenne de pKa 1 et pka 2,**
- ionisable : le pHi est la moyenne des divers pKa.

pH isoélectrique

Le pHi est donné par la formule suivante :

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

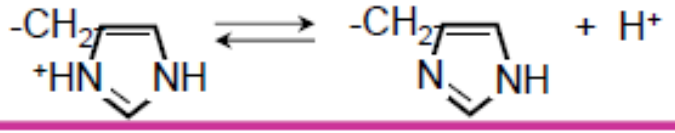
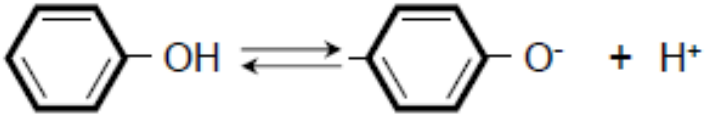
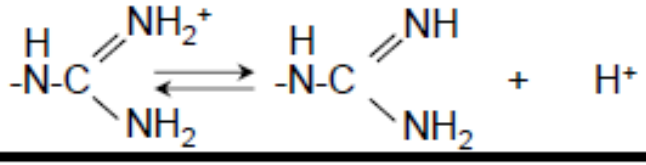
- La charge électrique d'un acide amine (positive, neutre ou négative) varie suivant le pH du milieu (pHm) auquel il est soumis.

* Si le pH du milieu est inferieur au pHi (pHm < pHi), l'aa est chargé positivement ; il est sous la forme cationique.

* Si le pH du milieu est supérieur au pHi (pHm > pHi), l'aa est chargé négativement ; il est sous la forme anionique.

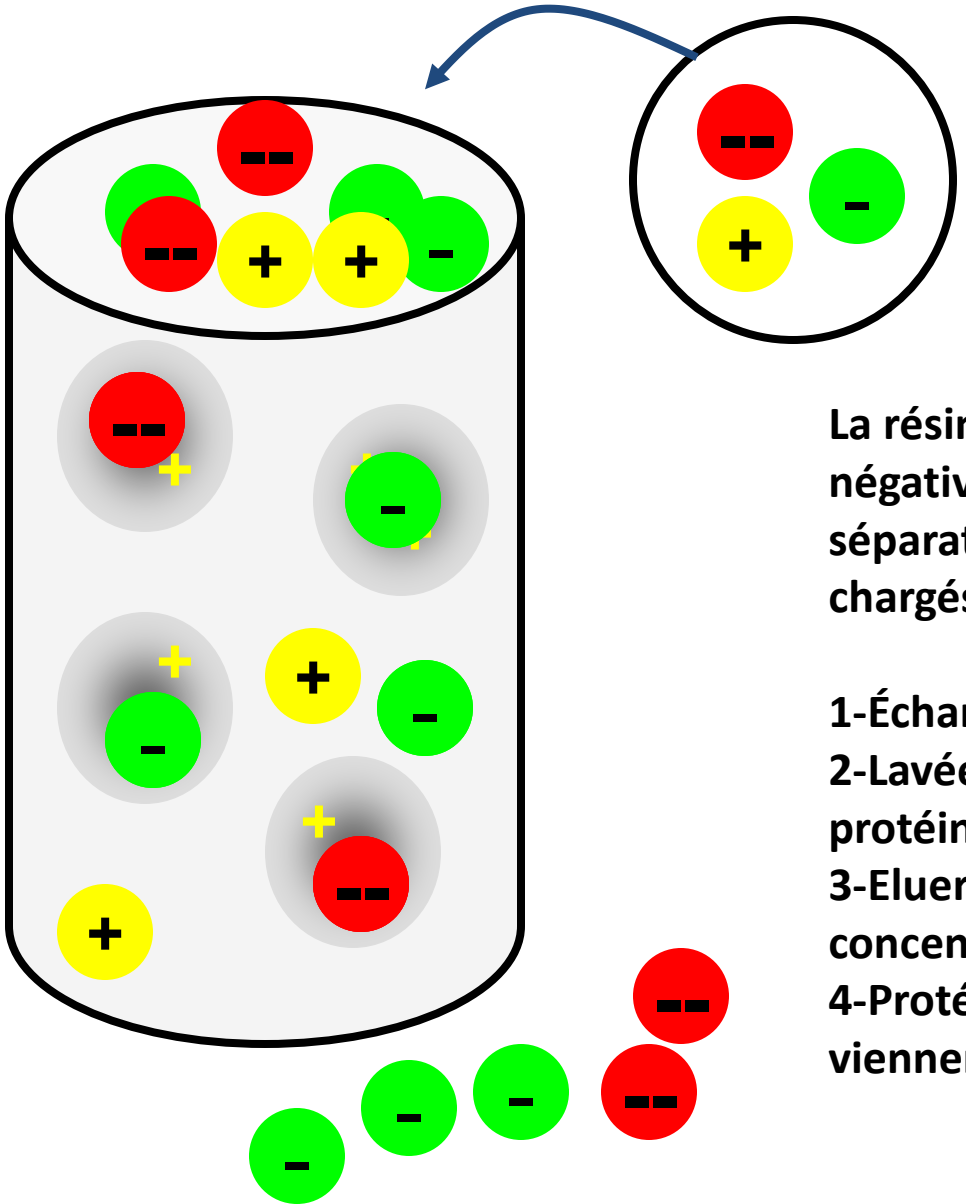
* Si le pH du milieu est égal au pHi (pHm = pHi), la charge électrique globale de l'acide aminé est nulle (il y a autant de charges positives que négatives) ; il est sous la forme Zwitterion

Remarque très importante : Pour le calcul du pHi des acides aminés acides et basiques, il faut tenir compte des fonctions acide et basique qui existent dans le radical: R

Groupe	acide ⇌ base + H^+	pKa
acide carboxylique terminal	-COOH ⇌ $-COO^-$ + H^+	2 - 3
acide glutamique et aspartique	-COOH ⇌ $-COO^-$ + H^+	3 - 4,5
histidine		6
amine terminale	$-NH_3^+$ ⇌ $-NH_2$ + H^+	8,5 - 9,5
cystéine	-SH ⇌ $-S^-$ + H^+	7 - 8,5
tyrosine		10 - 11
lysine	$-NH_3^+$ ⇌ $-NH_2$ + H^+	10 - 11
arginine		12

Dans une protéine, peut varier selon le microenvironnement entre 3 et 9

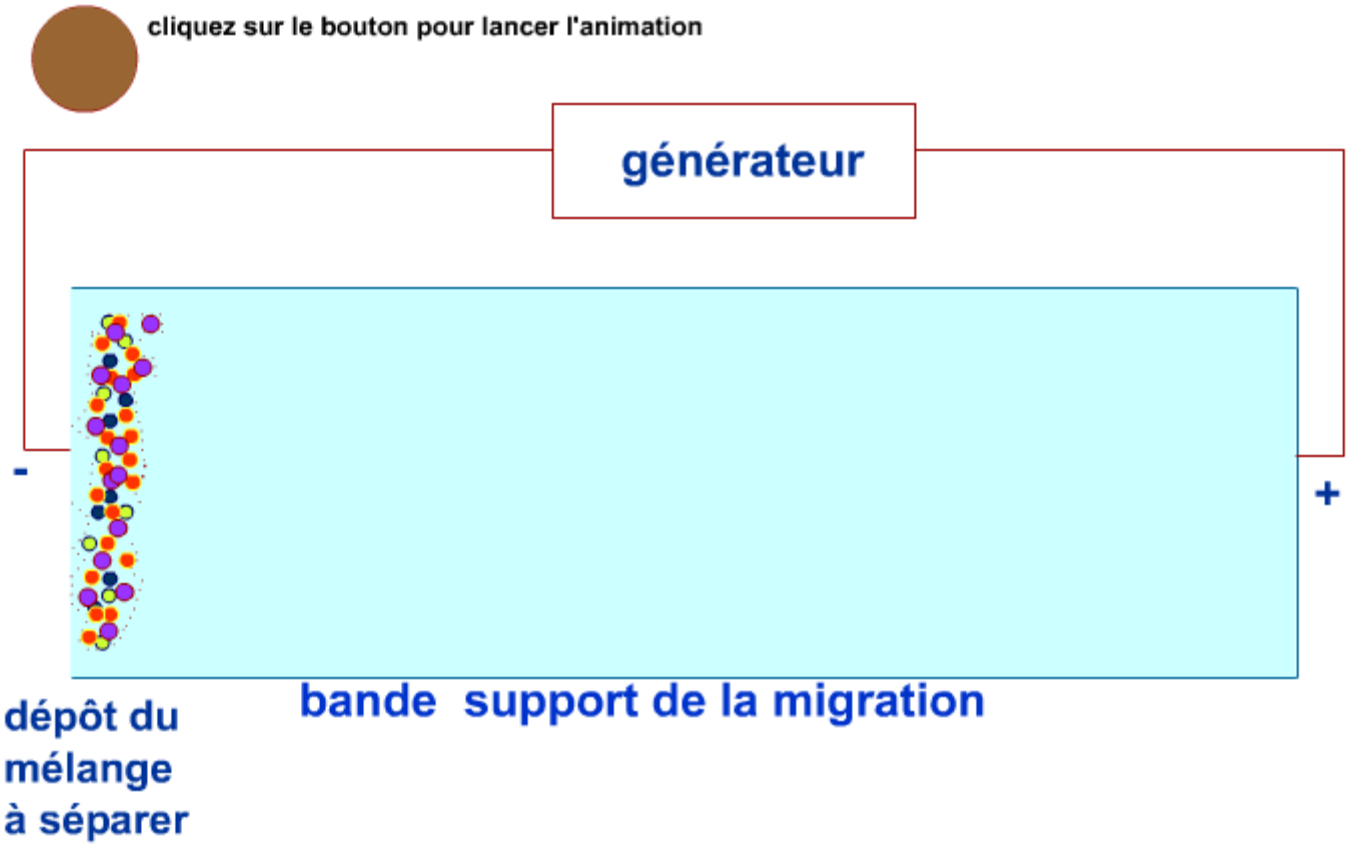
Chromatographie d'échange d'ions



La résine chargée positivement ou négativement peut-être utilisée pour la séparation de protéines ou acide aminés chargés positivement ou négativement.

1-Échantillon de protéines est ajouté.
2-Lavée avec un tampon pour éliminer les protéines non liées.
3-Eluer avec l'augmentation de la concentration de sel
4-Protéines avec la plus haute charge nette viennent dernièrement.

Électrophorèse



Propriétés chimique

Décarboxylation enzymatique

Cette réaction est présente dans les organismes vivants pour produire, à partir des acides aminés, des dérivés. Elle se réalise sous **l'action d'enzymes : les décarboxylases**.



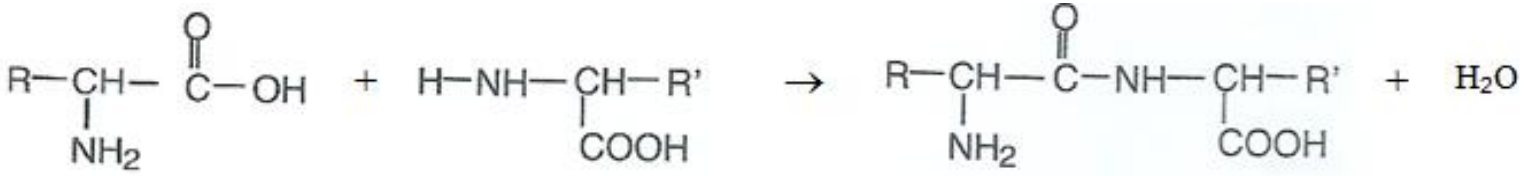
Certaines des amines produites sont douées d'activité physiologique ou pharmacodynamique, comme l'histamine provenant de l'histidine ou la tyramine provenant de la tyrosine.

Beaucoup de ces amines interviennent aussi dans les synthèses biochimiques. C'est le cas de l'éthanolamine résultant de la décarboxylation de la sérine.

Synthèse d'un dipeptide

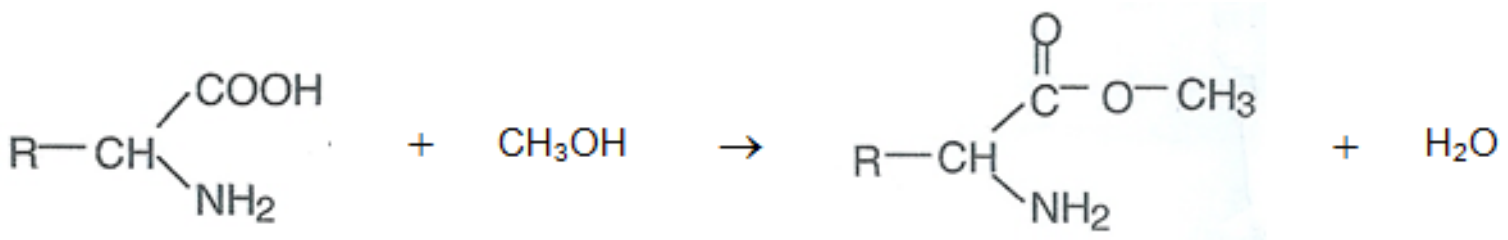
Le dipeptide, peptide le plus simple, est synthétisé à partir de deux acides aminés.

La synthèse d'un peptide est un véritable défi pour le chimiste organicien. En effet, celle-ci nécessite de bloquer des fonctions. Par exemple, dans la réaction dont l'équation est écrite ci-dessous, il faut bloquer la fonction amine d'un acide aminé et la fonction carboxyle de l'autre acide aminé.



La synthèse peptidique est très importante, car elle conduit à la formation des polypeptides, qui eux-mêmes servent à la synthèse des protéines, constituants de la matière vivante.

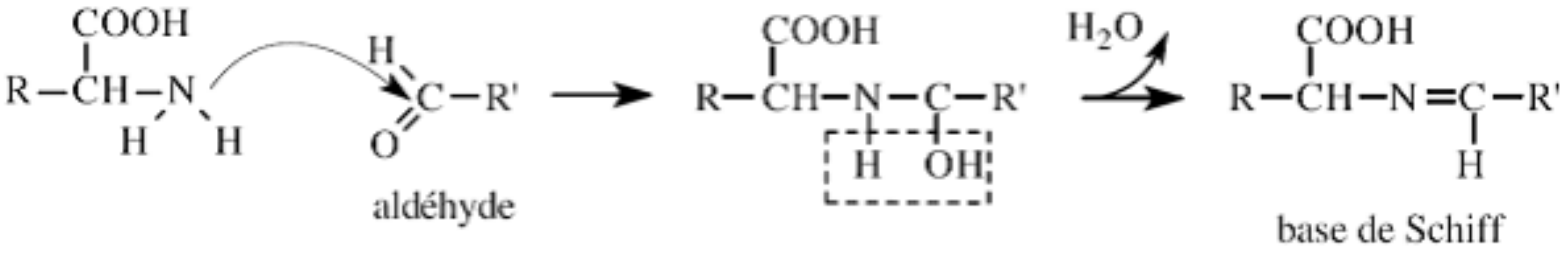
Estérification par les alcools



Les esters méthyliques sont volatils et utilisés pour la séparation des acides aminés par chromatographie en phase gazeuse ou pour protéger les groupes carboxyles au cours de la synthèse chimique des peptides,

Formation d'une « base de Schiff »

Les groupes –NH2 des acides aminés réagissent facilement avec les aldéhydes pour former des molécules appelées « bases de Schiff ». Un des moyens très sensibles de détection des acides aminés utilise cette réaction. Le produit est très fluorescent



Les 20 acides aminés

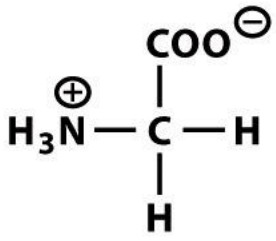
TABLE 2.2 Abbreviations for amino acids

Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation	Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation
Alanine	Ala	A	Methionine	Met	M
Arginine	Arg	R	Phenylalanine	Phe	F
Asparagine	Asn	N	Proline	Pro	P
Aspartic acid	Asp	D	Serine	Ser	S
Cysteine	Cys	C	Threonine	Thr	T
Glutamine	Gln	Q	Tryptophan	Trp	W
Glutamic acid	Glu	E	Tyrosine	Tyr	Y
Glycine	Gly	G	Valine	Val	V
Histidine	His	H			
Isoleucine	Ile	I			
Leucine	Leu	L			
Lysine	Lys	K			

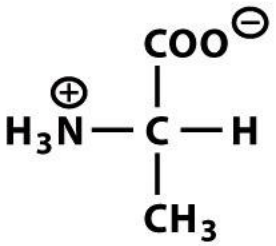
Table 2-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Structure des 20 acides aminés

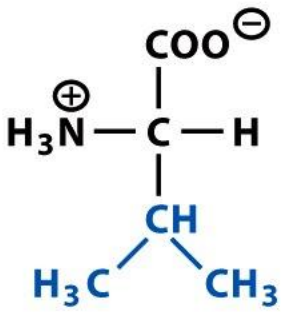
1. acides aminés hydrophobes



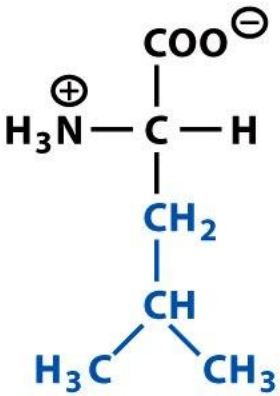
Glycine [G]
(Gly)



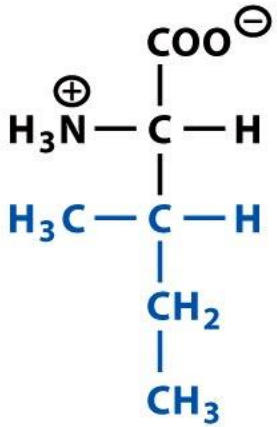
Alanine [A]
(Ala)



Valine [V]
(Val)



Leucine [L]
(Leu)



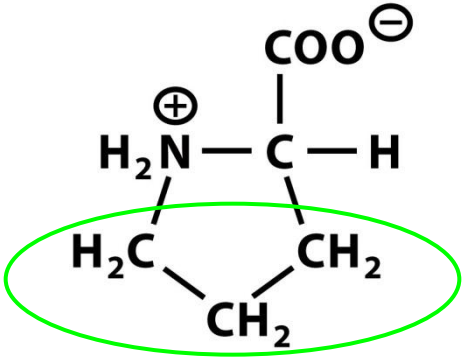
Isoleucine [I]
(Iso)

Unnumbered figure pg 57 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

- Tous ces acides aminés sont ***insoluble*** dans l'eau.
- Note: la glycine n'est ***pas*** optiquement active. Pourquoi?

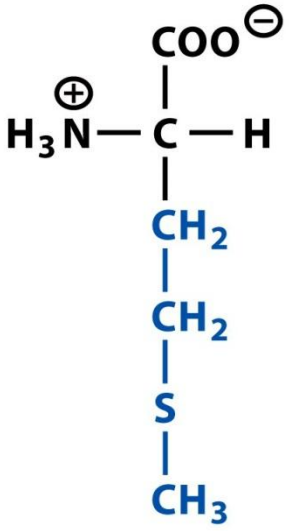
Structure des 20 acides aminés

1. acides aminés hydrophobes



Proline [P]
(Pro)

Unnumbered figure pg 58a Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



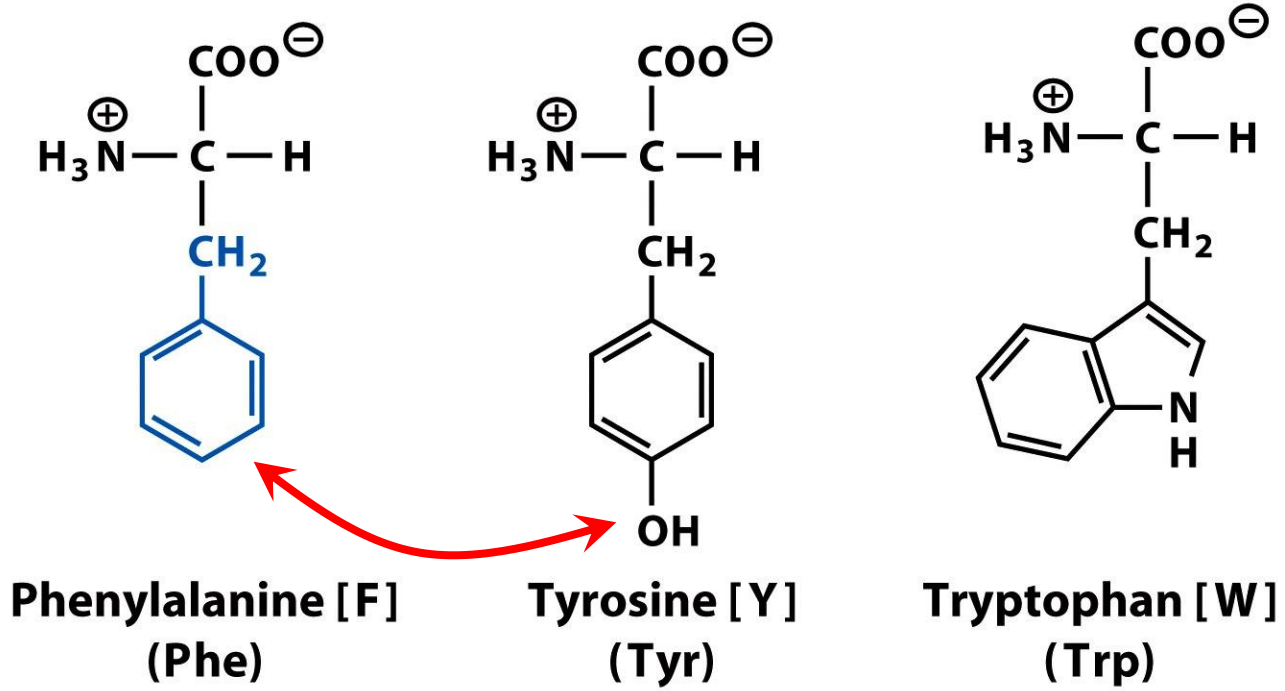
Methionine [M]
(Met)

Unnumbered figure pg 59a Principles of Biochemistry, 4
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

- Proline est le seul acide aminé à avoir une chaîne latérale cyclique;

Structure des 20 acides aminés

2. Acides aminés aromatiques



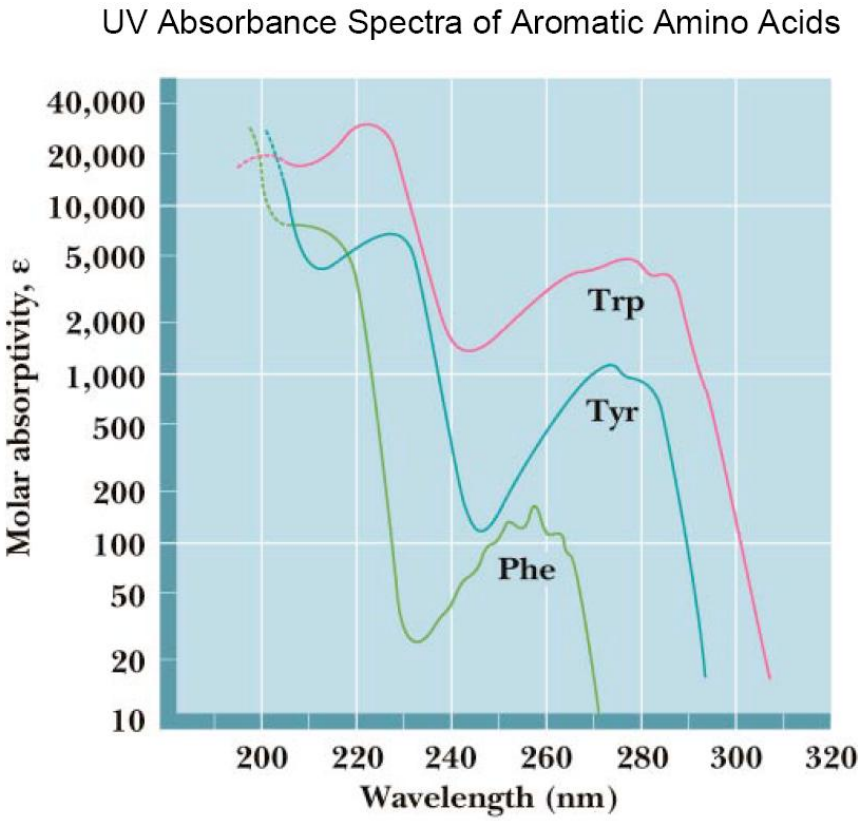
Unnumbered figure pg 58b Principles of Biochemistry, 4/e

© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Structure des 20 acides aminés *2.*

Acides aminés aromatiques

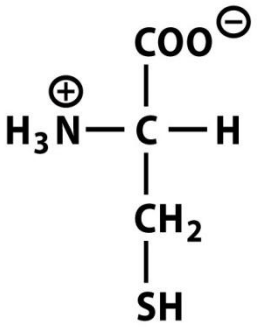
- Tyr, Trp et Phe sont très utiles:
  - Leur noyau aromatique absorbe l'UV à 260-280 nm.
  - Constitue la base de la détection des protéines à 280 nm.



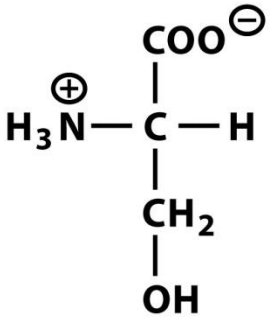
	Absorbance	
	λ_{max} (nm)	Molar Absorbance (M^{-1} cm^{-1})
Phenylalanine	257.4	197
Tyrosine	274.6	1420
Tryptophan	279.8	5690

Structure des 20 acides aminés

3. acides aminés polaires, non-chargés

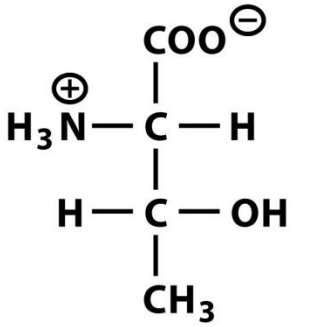


Cysteine [C]
(Cys)

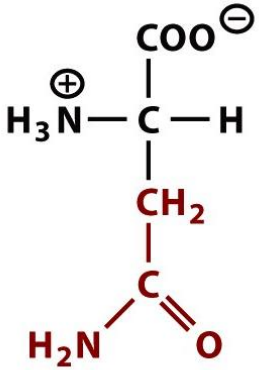


Serine [S]
(Ser)

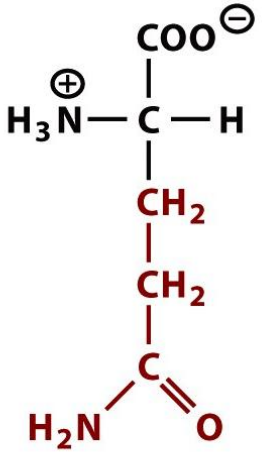
Unnumbered figure pg 59b Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



Threonine [T]
(Thr)



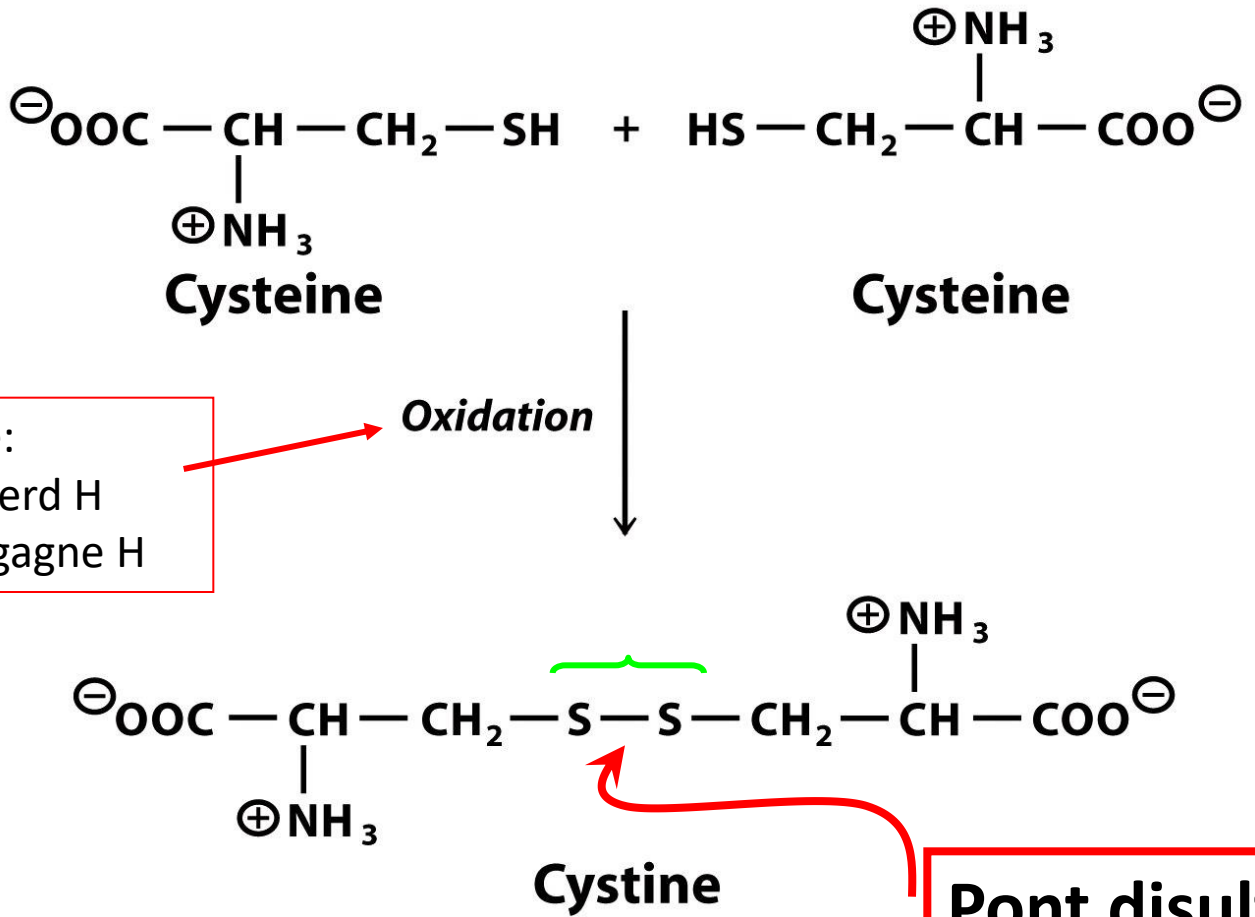
Aspargine [N]
(Asn)



Glutamine [Q]
(Gln)

Structure des 20 acides aminés

Cystéine et cystine

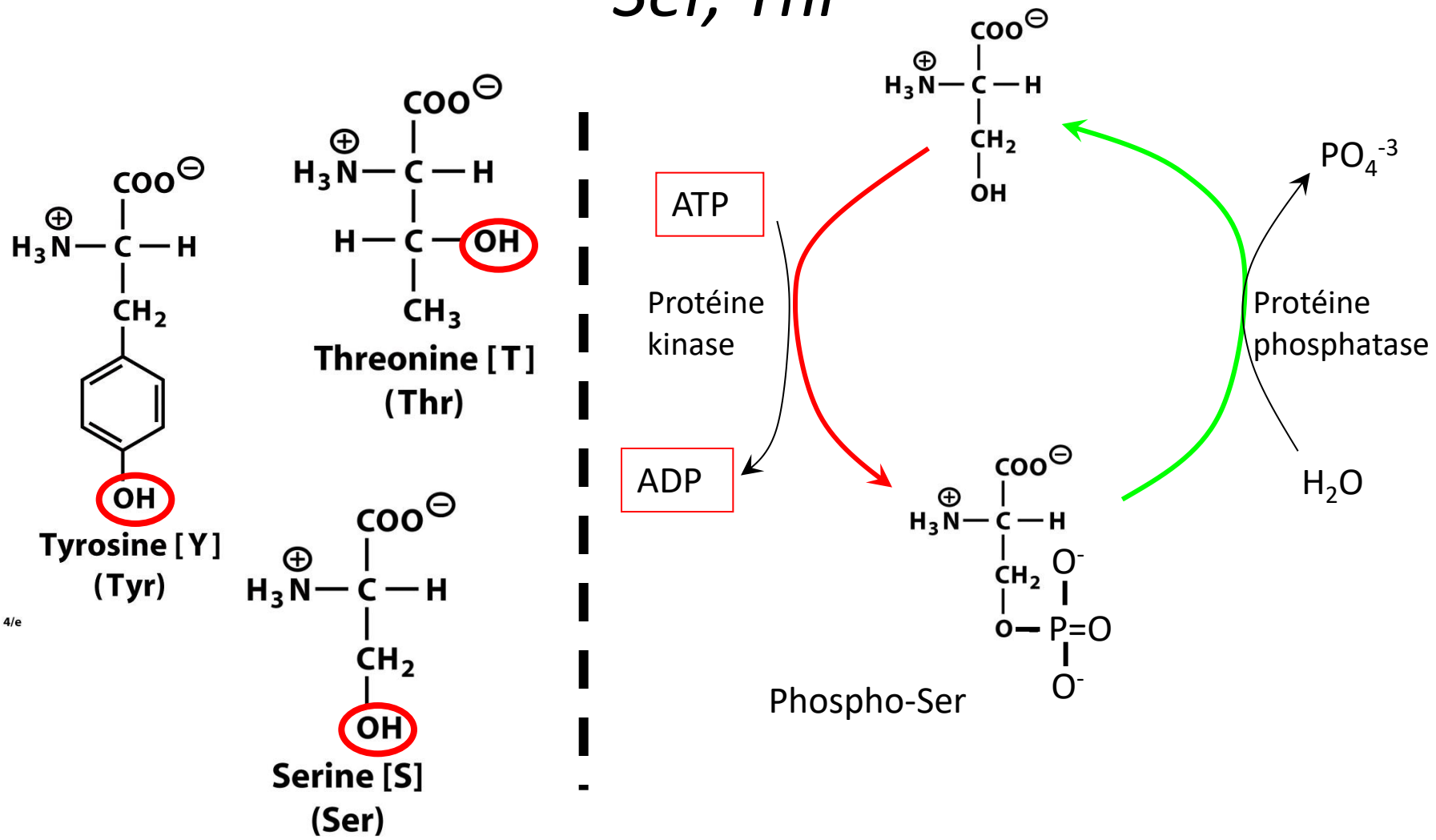


En biochimie:
-oxidation: perd H
-Réduction: gagne H

Pont disulfure

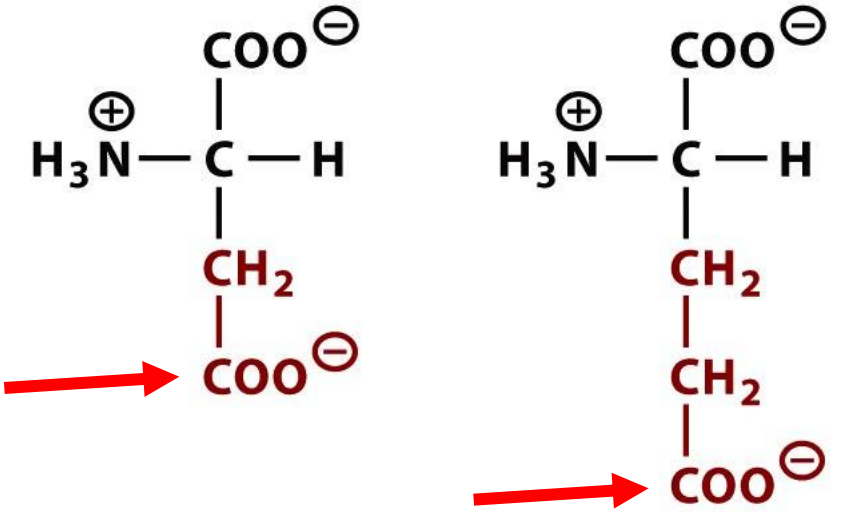
Figure 3-4 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Structure des 20 acides aminés *Tyr, Ser, Thr*



Structure des 20 acides aminés

*4. Acides aminés chargés **négativement***



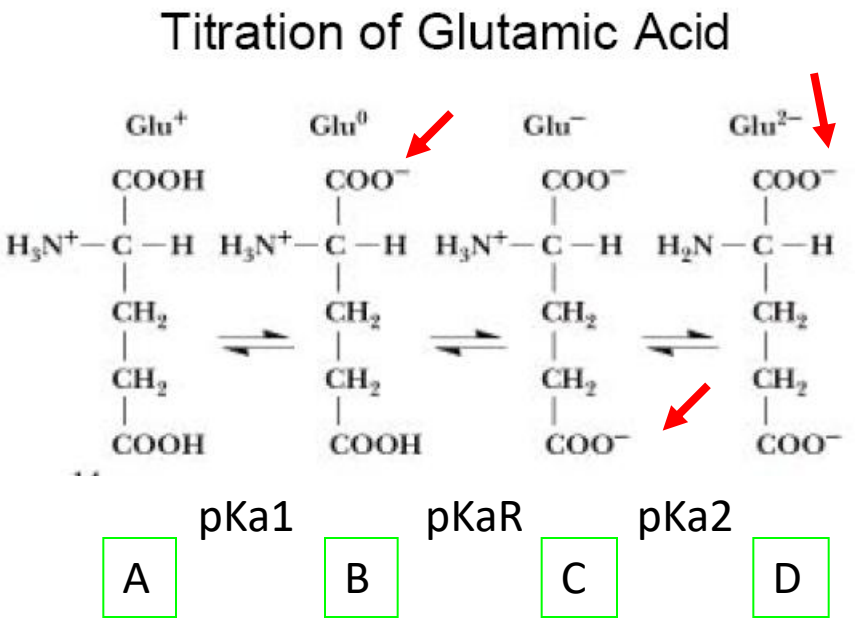
Aspartate [D] (Asp)

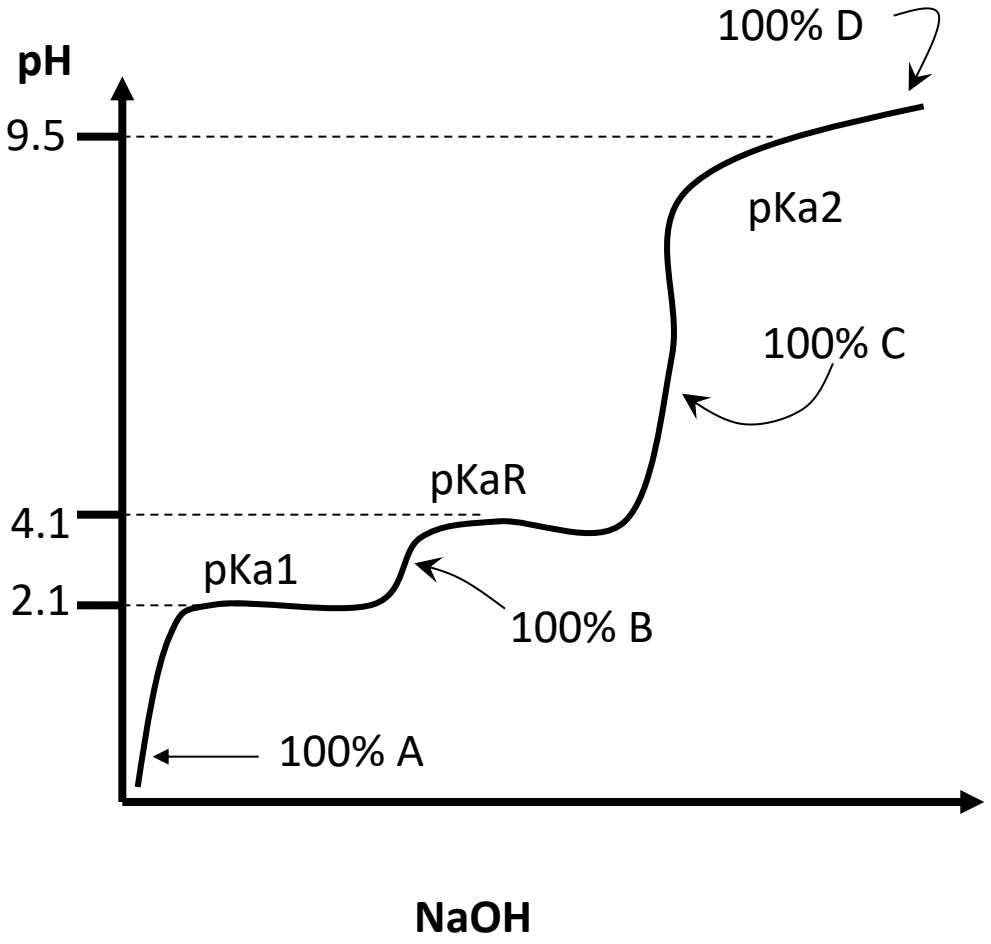
Glutamate [E] (Glu)

Unnumbered figure pg 60b Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Structure des 20 acides aminés

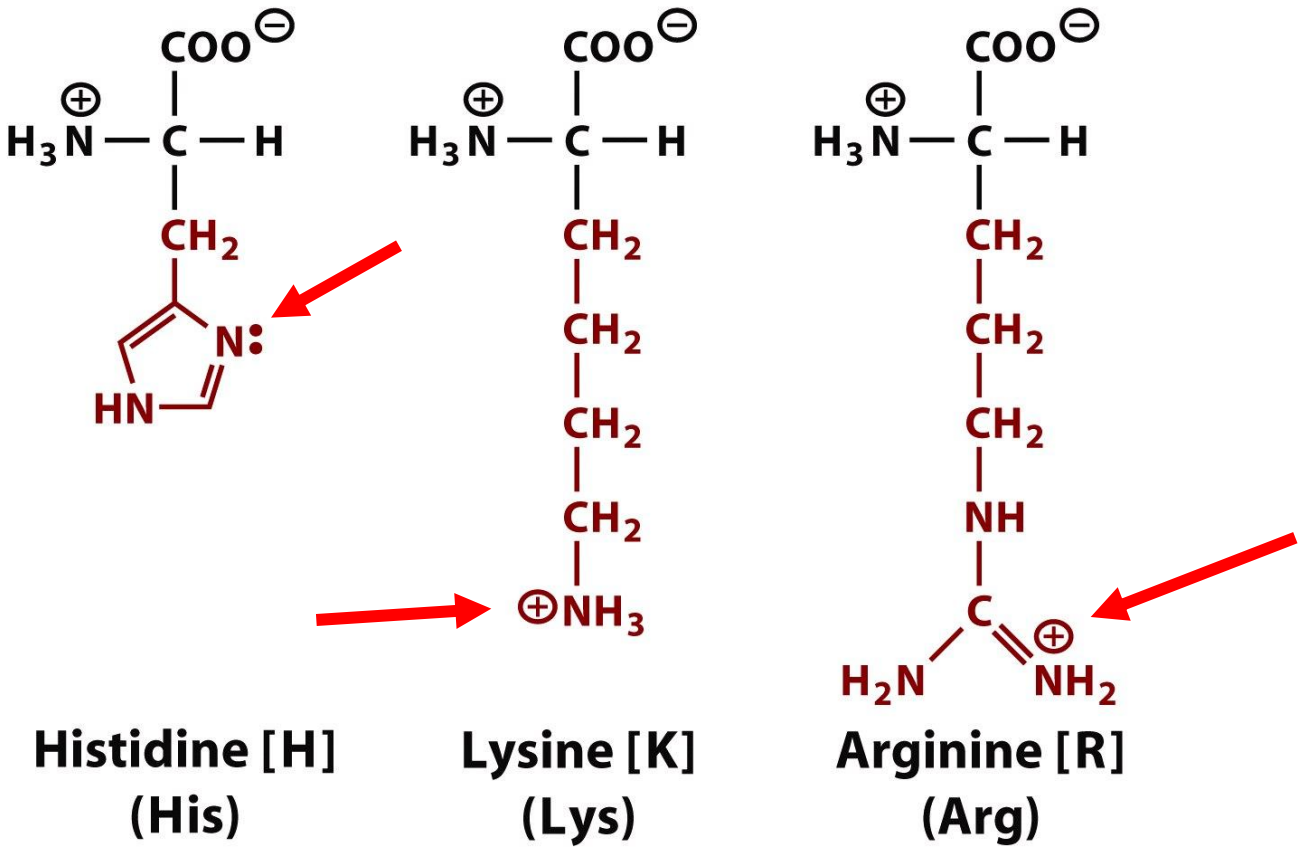
*4. Acides aminés chargés **négativement***





Structure des 20 acides aminés

*5. Acides aminés chargés **positivement***

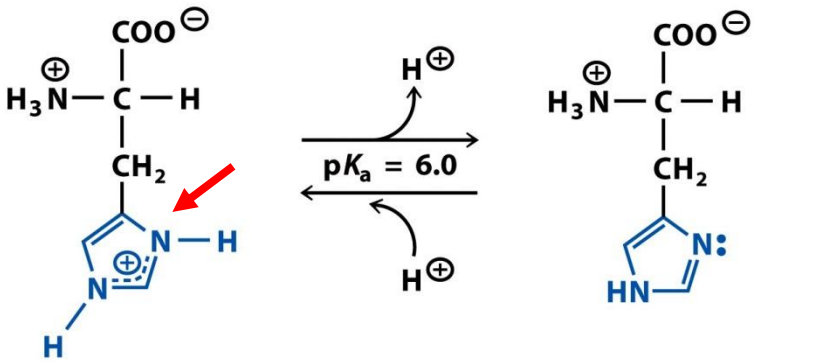


Histidine [H] (His) **Lysine [K] (Lys)** **Arginine [R] (Arg)**

Unnumbered figure pg 60a Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Structure des 20 acides aminés

*5. Acides aminés chargés **positivement**:His*



Imidazolium ion (protonated form) of histidine side chain

Imidazole (deprotonated form) of histidine side chain

Figure 3-7b Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

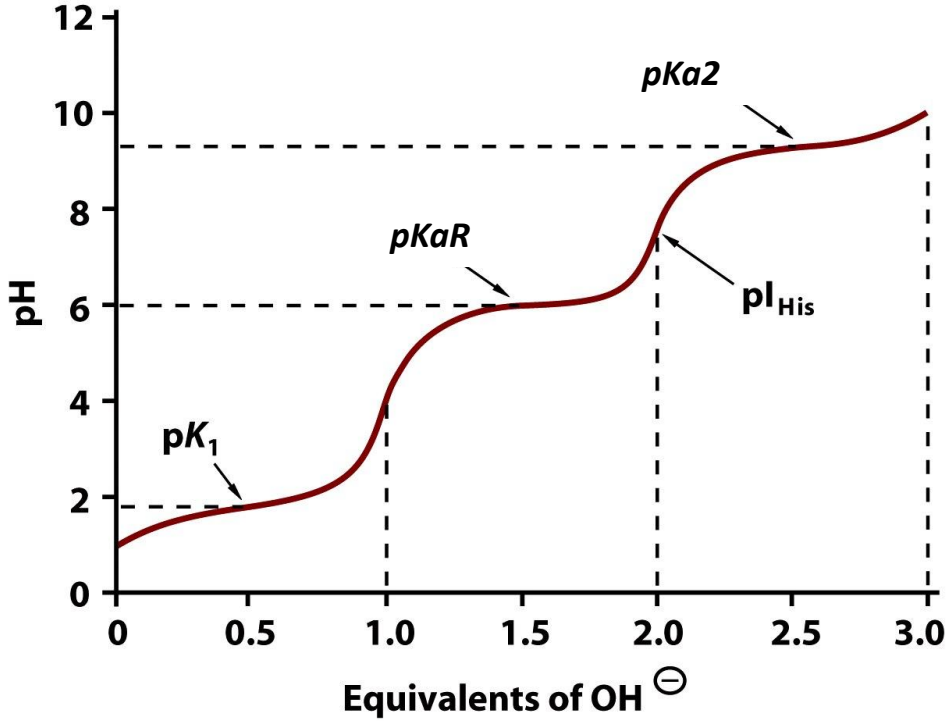


Figure 3-7a Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

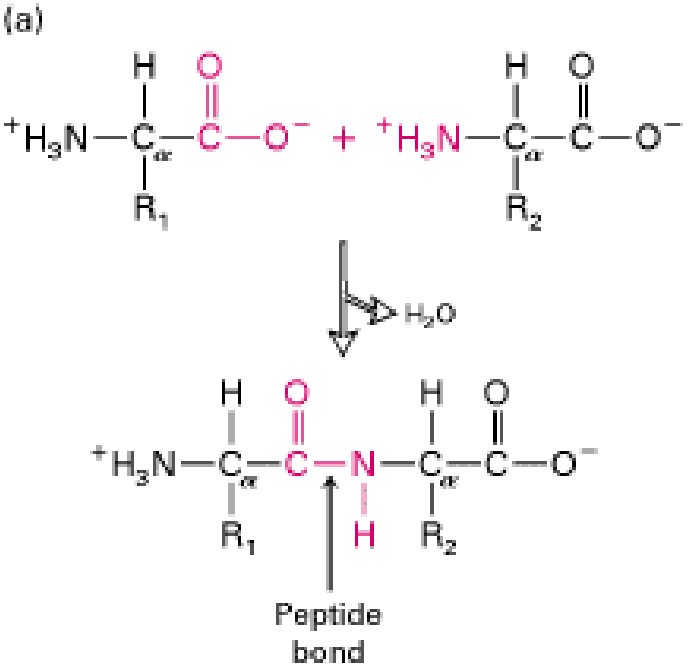
SOMMAIRE

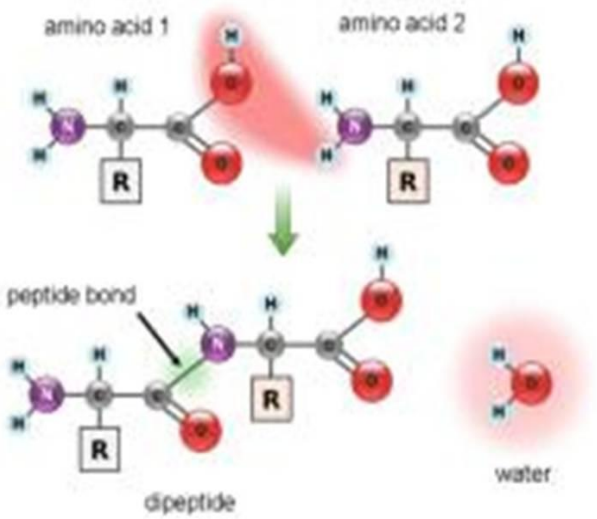
- Aspect générale
- Propriétés des acides aminés
- Structure des protéines
- Hydrolyse de la liaison peptidique

Structure des protéines

Liaison peptidique

Elle est liée à la présence des deux groupements qui peuvent réagir ensemble pour former une liaison peptidique

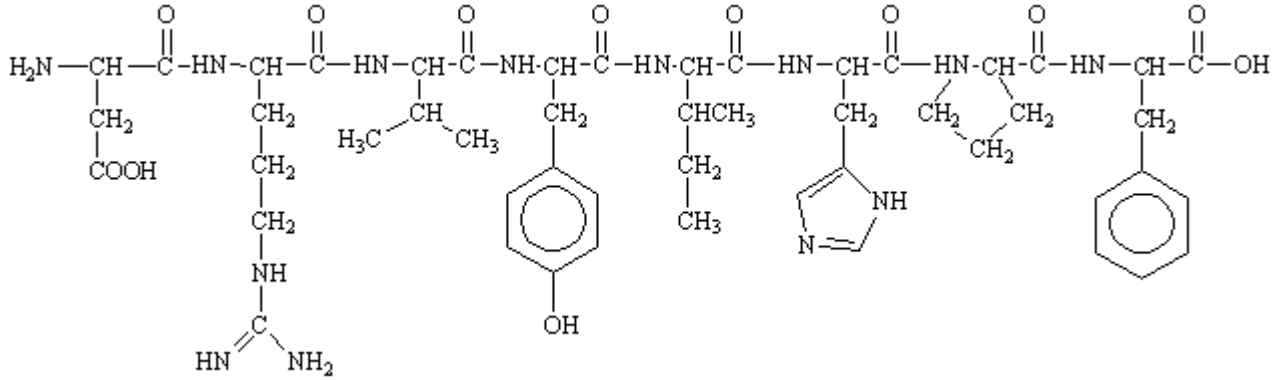




Principe de formation d'une liaison peptidique avec élimination d'une molécule d'eau

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

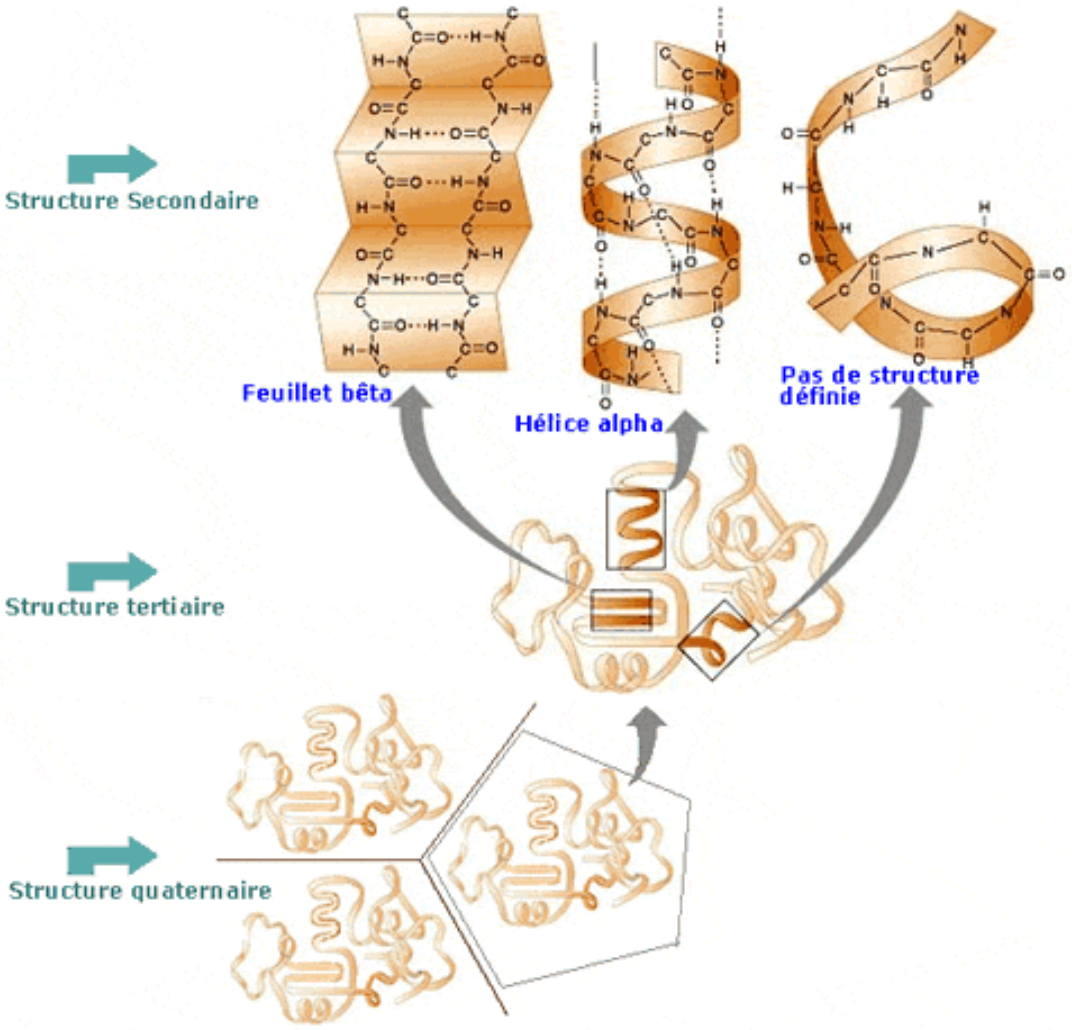
N-Terminale



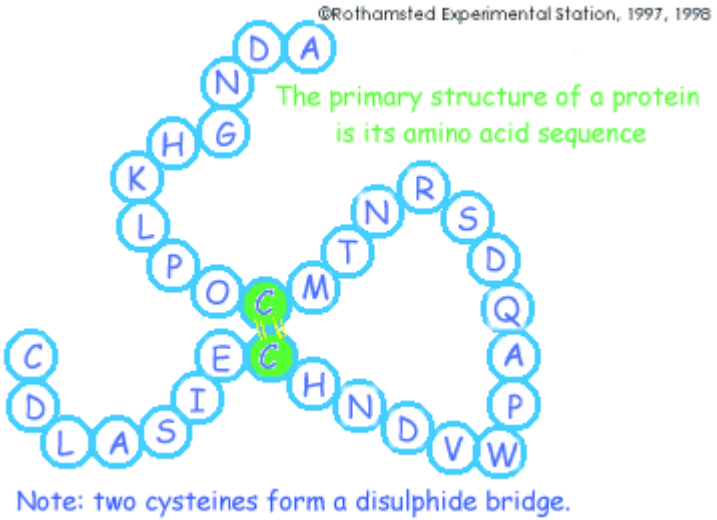
C-Terminale

Structure des protéines

Chaque **protéine** est formée d'une **séquence linéaire de plusieurs acides aminés**. Cette **séquence** (par exemple : Lys-Ala-Ile-Thr-...) détermine ce qu'on appelle «la **structure primaire**» de la protéine . Toutefois, une protéine ne garde jamais une forme strictement linéaire. L'énergie contenue dans les liaisons hydrogène, les ponts disulfures, l'attraction entre les charges positives et négatives, et les radicaux hydrophobes ou hydrophiles, imposent à la protéine une **structure secondaire**, principalement en **hélice** ou en **feuillet**. Les molécules deviennent encore plus compactes en adoptant une **structure tertiaire**. Lorsqu'une protéine est constituée de plus d'une **chaîne polypeptidique**, comme l'hémoglobine et certaines enzymes, on dit qu'elle a une **structure quaternaire**

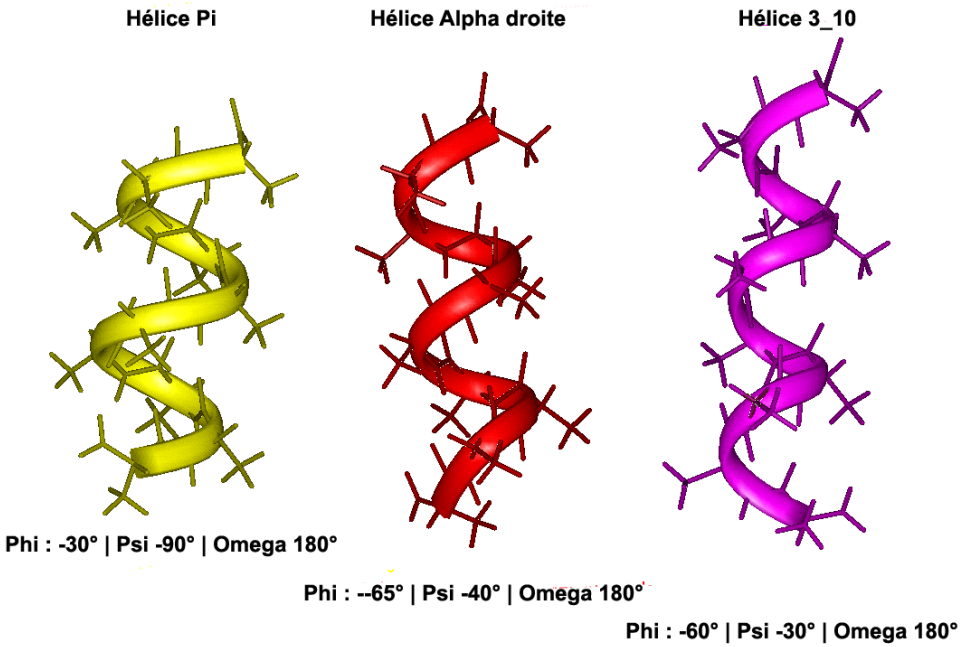


Structure primaire



Structure secondaire

Hélices α



Brins et feuillets β

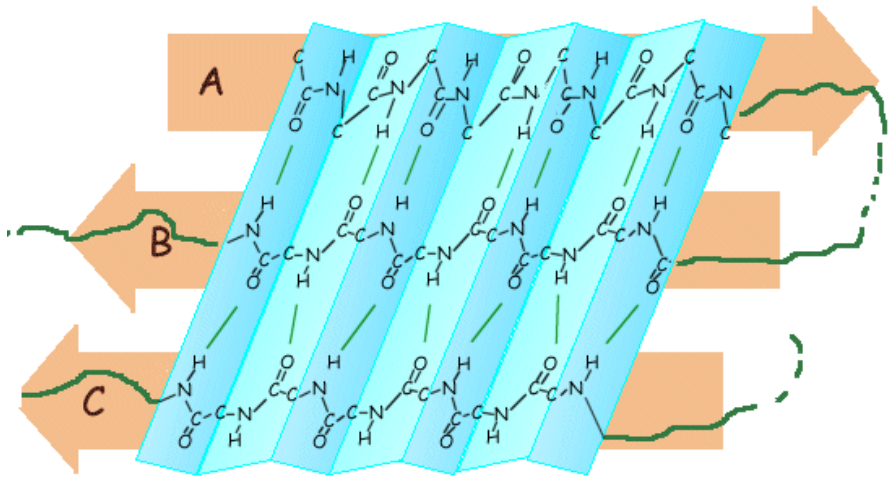
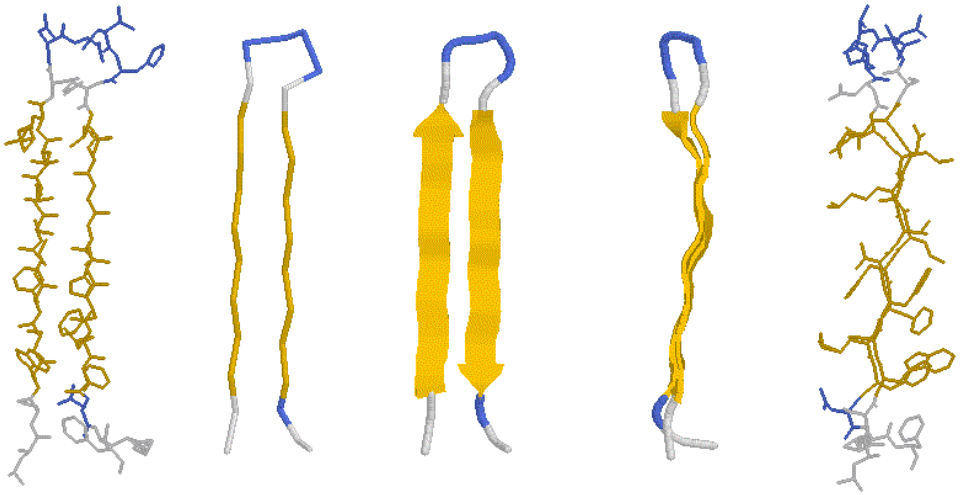
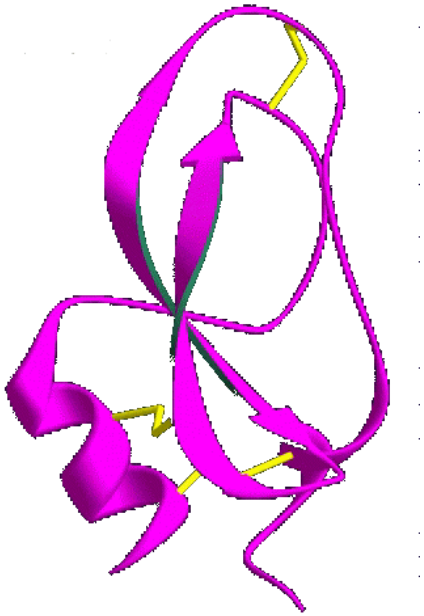


Diagram 1: Beta pleated sheet. The lateral groups (R) are not shown.



Structure tertiaire = le repliement



Quatre grands types d'interactions interviennent dans le repliement de la chaîne:

L'effet hydrophobe

Les acides aminés dont les radicaux sont hydrophobes ont plus d'affinité entre eux qu'avec les molécules d'eau entourant la protéine. La chaîne a donc tendance à se replier de façon à les regrouper entre eux au centre de la molécule, sans contact direct avec l'eau. Inversement, les acides aminés hydrophiles ont tendance à se disposer à la périphérie de façon à être en contact avec l'eau.

Les liaisons ioniques

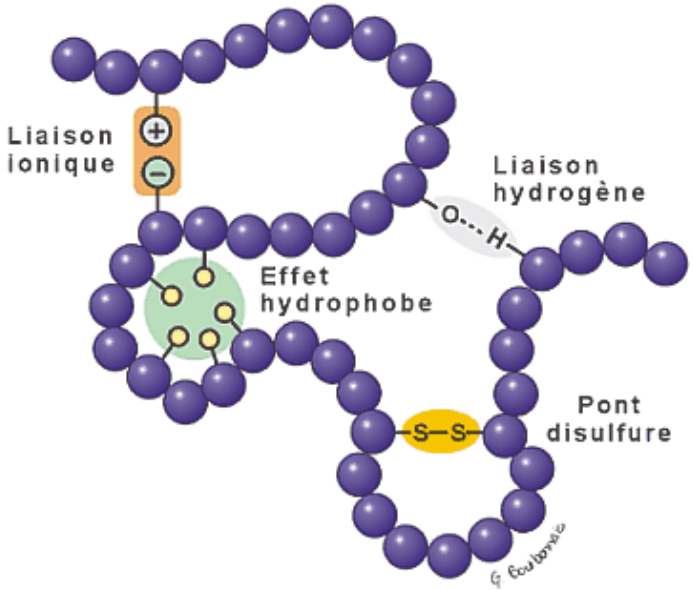
Les radicaux qui s'ionisent positivement forment des liaisons ioniques avec ceux qui s'ionisent négativement.

Les liaisons hydrogène

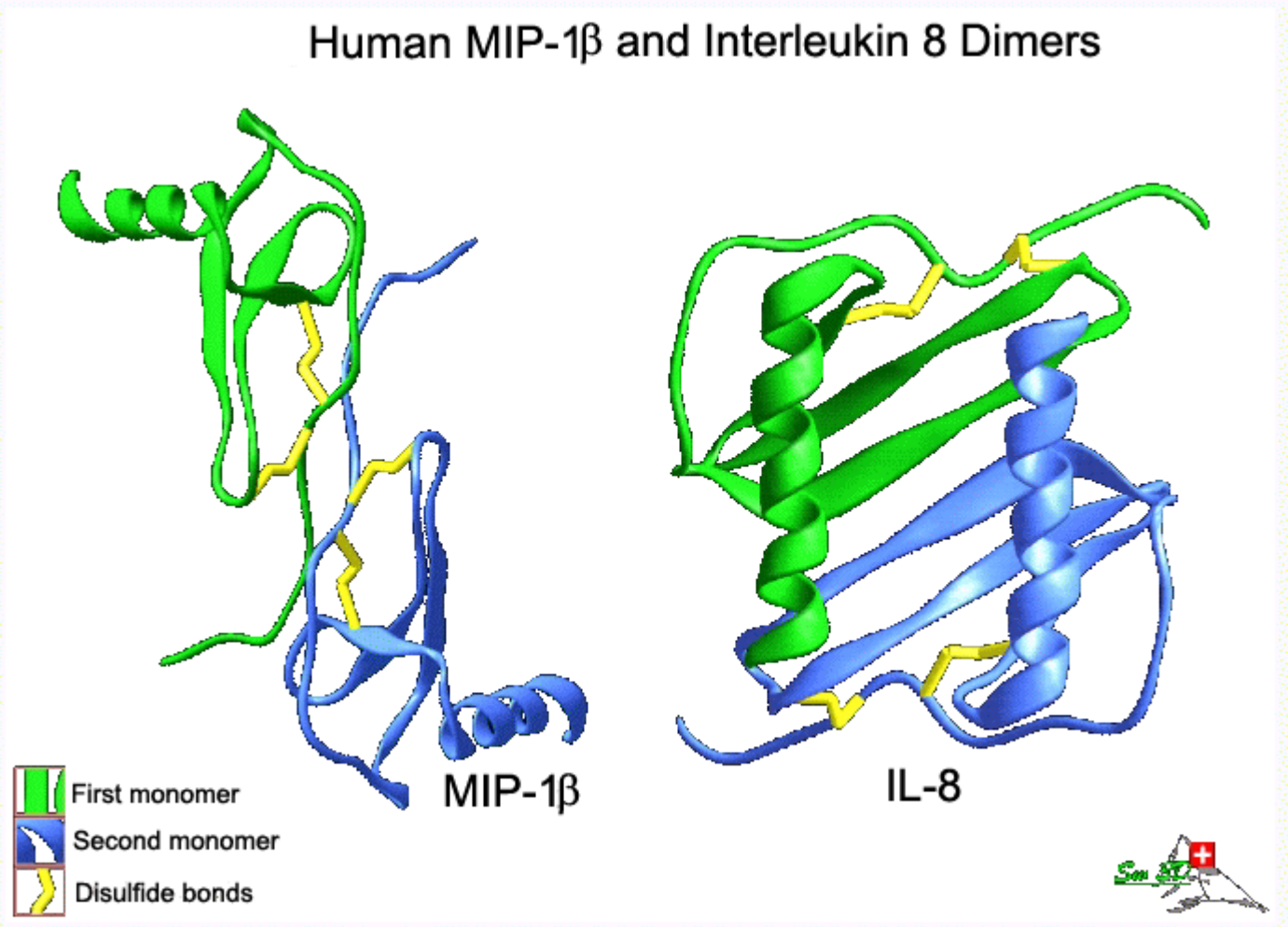
Vous n'avez quand même pas oublié ce qu'est une liaison H

Les ponts disulfure

Deux des 20 acides aminés ont des radicaux contenant un atome de **soufre**. C'est le cas de la **cystéine**. Deux cystéines peuvent former une liaison covalente entre elles par l'intermédiaire de l'atome de soufre de leur radical. Cette liaison covalente peut relier deux cystéines éloignées l'une de l'autre sur la chaîne



Structure quaternaire



SOMMAIRE

- Aspect générale
- Propriétés des acides aminés
- Structure des protéines
- Hydrolyse de la liaison peptidique

Hydrolyse de la liaison peptidique

La liaison peptidique est très stable, son hydrolyse spontanée est quasiment nulle.

Hydrolyse chimique

Hydrolyse chimique complète

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

- l'aminoacide acide tryptophane est entièrement détruit:
- les amides (Asn, Gln) sont hydrolysées en ammoniac et acides correspondants (Asp, Glu)
- certains aminoacides (Tyr, Ser, Thr) peuvent être partiellement détruits (un temps d'hydrolyse plus faible permet de résoudre le problème).

Hydrolyse chimique spécifique

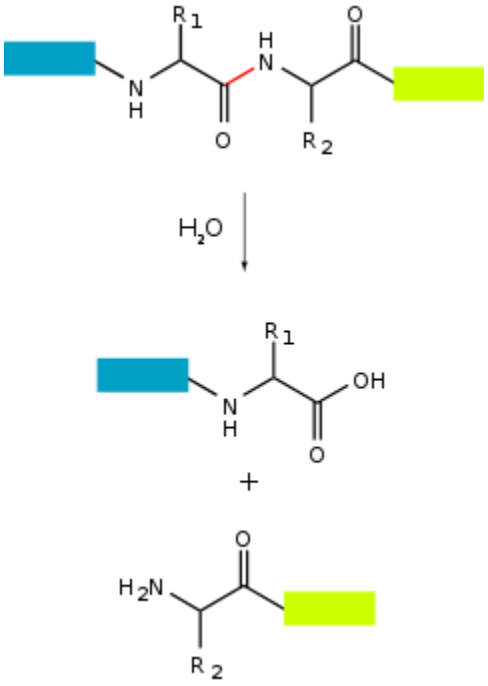
Certains réactifs hydrolysent une liaison peptidique avec une spécificité sur un des aminoacides participant à la liaison :

- le bromure de cyanogène (BrCN) hydrolyse la liaison peptidique du côté carboxyle de la méthionine : cette dernière devient alors un résidu C-terminal transformé en résidu homosérine lactone
- le 2-nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB) hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.

Hydrolyse enzymatique

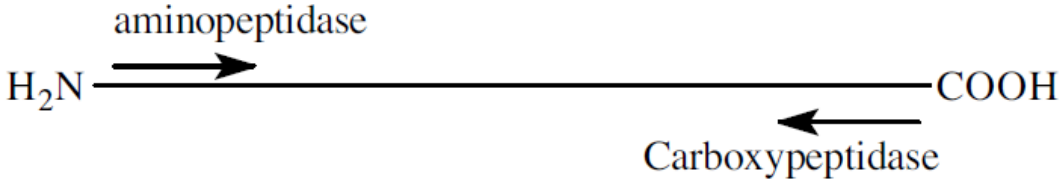
Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes protéolytiques (ou **protéases** ou encore peptidases) qui sont des hydrolases. La spécificité principale de ce groupe d'enzymes est l'hydrolyse des liaisons peptidiques.
Leur spécificité secondaire permet de les classer en deux groupes :



Exopeptidase

L'enzyme n'hydrolyse que la première liaison peptidique (**aminopeptidase**) ou la dernière liaison peptidique (**carboxypeptidase**) en libérant l'aminoacide terminal. Bien évidemment, le processus recommence sur le peptide amputé d'un aminoacide (un temps d'hydrolyse court permet de libérer un seul aminoacide).



Endopeptidase

L'enzyme hydrolyse des liaisons peptidiques internes entre deux aminoacides i, (i+1). Il peut être spécifique du résidu en position i ou (i+1). L'hydrolyse d'un peptide par une endopeptidase donnera plusieurs fragments peptidiques : si on a **m** coupures (m liaisons peptidiques hydrolysées), le peptide sera dégradé en (**m+1**) fragments peptidiques.

