

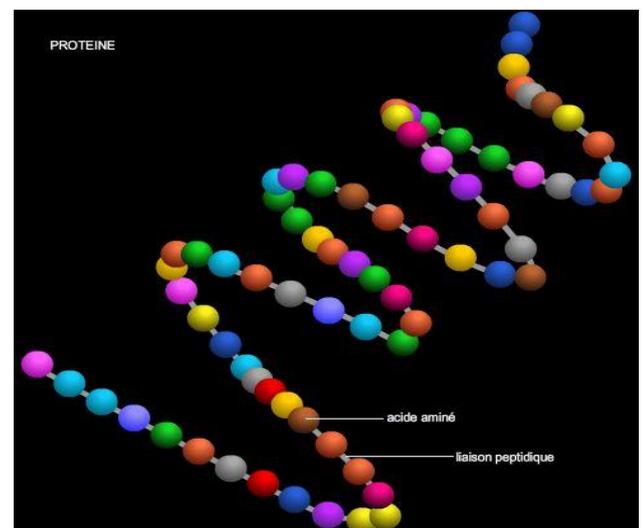
Université Badji-Mokhtar, Annaba
Faculté de Médecine
Département de Médecine
1^{ère} année

Biochimie structurale

CHAPITRE 3 LES PROTEINES

D^r Daroui- Mokaddem H.

Protéines, macromolécules cellulaires composées d'un enchainement linéaire d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques.



PARTIE A

LES ACIDES AMINES

Plan

Introduction

Définition

Rôles des Aa

Classification des Aa

Nomenclature des Aa

Dérivés d'Aa (Aa modifiés)

Propriétés physiques des Aa

Propriétés chimiques des Aa

Ionisation des Aa

Techniques de séparation des Aa

Introduction

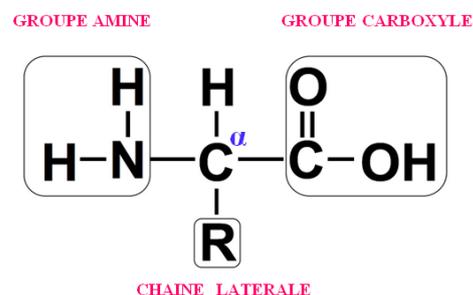
- Les acides aminés (Aa): Unités de base des protéines
- Apportés par l'alimentation (voie exogène), ou fournis par l'organisme suite à une dégradation des protéines (voie endogène).
- Plus de 300 Aa ont été inventoriés.
- 20 Aa constitutifs des protéines naturelles (protéinogènes) ou **acides aminés standards** quelques soient leurs origines, animales, végétales, virales ou bactériennes.
- Les autres se trouvent soit dans de petits peptides, soit à l'état libre (ornithine, citrulline...), mais à des concentrations très faibles.
- Les Aa présents dans les protéines naturelles appartiennent à la **série L**. On peut trouver des acides aminés de configuration D dans certains produits naturels (antibiotiques peptidiques...).

Rôles des acides aminés

- Monomères des protéines
- Substrats énergétiques
- Précurseurs de molécules douées d'activités biologiques ou intermédiaires métaboliques.

Définition

- Les Aa sont des molécules qui possèdent :
- une fonction **acide carboxylique**.
- une fonction **amine primaire** portée par un même atome de carbone alpha (Acides α -aminés).
- une chaîne **latérale (ou radical) R**.

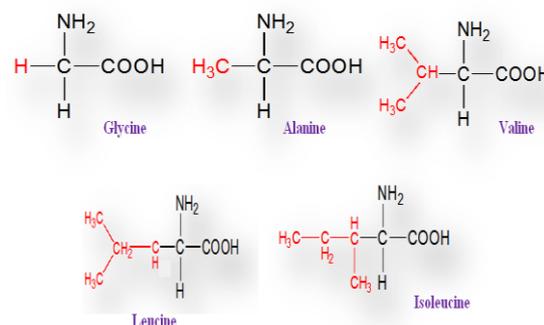


Classification:

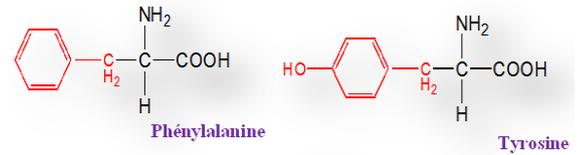
Les Aa peuvent être classés en fonction de la nature du radical R, selon la charge du Radical ou en fonction de leur polarité c'ad, leur tendance à s'interagir avec l'eau.

a- Classification Selon la nature du radical R :

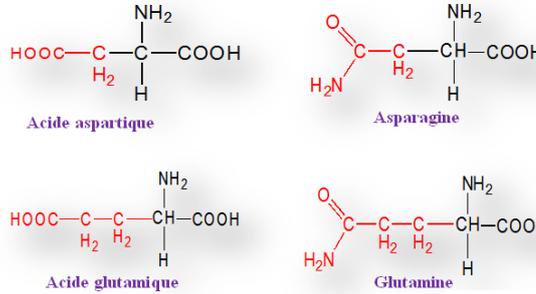
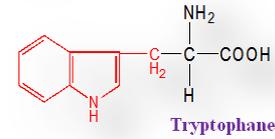
-Aa aliphatiques : glycine, alanine, valine, leucine et isoleucine.



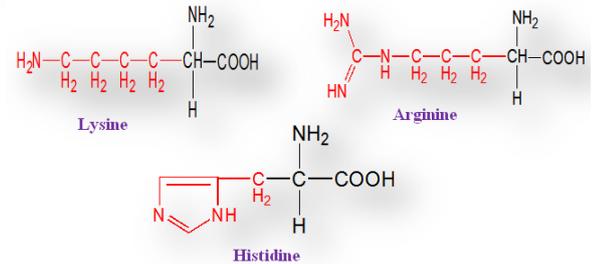
-Aa aromatiques: phénylalanine, tyrosine et tryptophane.



-Aa dicarboxyliques (acides) et leurs amides :
Acide aspartique, acide glutamique, asparagine et glutamine.



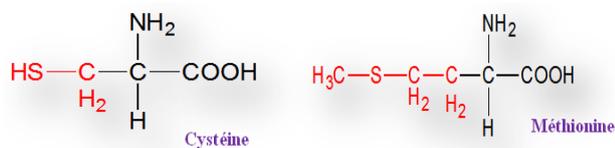
-Aa diamines (basiques) : Lysine, arginine et histidine.



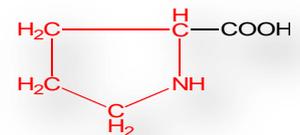
-Aa hydroxylés : Serine et thréonine.



-Aa soufrés : Cystéine et méthionine.



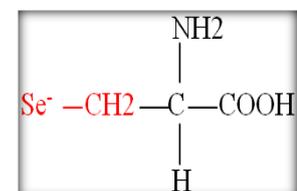
-Iminoacide : proline, son NH₂ n'est pas libre mais substitué par une partie par sa chaîne latérale.



-Sélénocystéine

Acide aminé avec du **sélénium** à la place du soufre.

Il entre dans la constitution de certaines enzymes (glutathion peroxydase).



b- Classification selon la charge du Radical :

-Aa neutres : Gly,Ala,Val, Leu, Ile, Ser,Thr, Cys, Met, Phe, Tyr,Trp, Gln, Asn et Pro.

Leur **pHi varie entre 5 et 7.**

-Aa acides : Asp et Glu. Leur **pHi < 4.**

c- Classification selon la polarité :

-Aa polaires ↗ **Non ionisables:** Gly, Ser, Thr, Asn, Gln, Cys et Tyr.
↘ **Ionisables:** Asp, Glu, Lys, Arg et His.

-Aa non polaires hydrophobes : Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Phe, Pro et Met.

Remarques

Chez l'Homme, on compte huit **Aa essentiels**: Le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine et l'isoleucine.

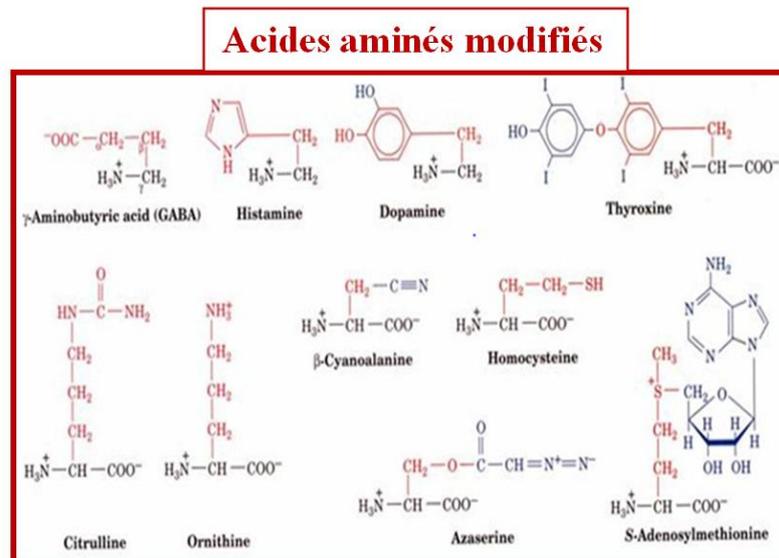
Deux autres, l'histidine et l'arginine, sont dits **semi-essentiels** car seuls les nourrissons ont besoin d'un apport exogène (on les trouve dans le lait maternel).

-Nomenclature des acides aminés

Nomenclature et code des acides aminés					
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

-Dérivés d'acides aminés (Acides aminés modifiés)

Ces Aa ne sont pas utilisés pour produire des protéines, mais entrent dans le métabolisme des acides aminés, cycle de l'urée ou comme neurotransmetteurs, médiateurs de réactions allergiques, hormones thyroïdiennes, coenzyme, antibiotique....



-Propriétés physiques :

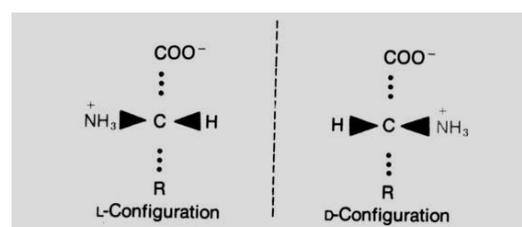
a- Pouvoir rotatoire :

Les Aa à l'exception du glycocole (Glycine) possèdent au moins un carbone asymétrique **C***, ils sont donc doués d'activité optique.

La thréonine et l'isoleucine possèdent deux carbones asymétriques.

On affecte le préfixe "**allo**" à l'épimère que l'on ne trouve pas dans les protéines.

b-Série : Il existe deux énantiomères: Le **L-Aa** et le **D-Aa**.



Par convention au **D** et **L** glycéraldéhyde.

Les Aa présents dans les molécules protéiques sont des **L-stéréo-isomères**.

c- Absorption lumineuse dans l'ultraviolet :

Tous les Aa absorbent dans l'UV lointain (< 230 nm), ce qui a peu d'intérêt.

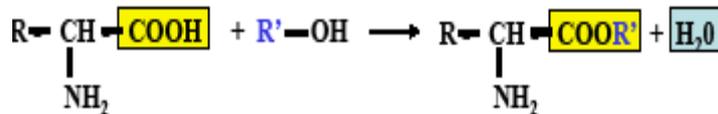
Le dimère de la cystéine, la cystéine absorbe à 240 nm ; la phénylalanine absorbe dans la bande des 260 nm ; la tyrosine et le tryptophane ont un maximum d'absorption caractéristique vers 280 nm.

Cette propriété intéressante est utilisée pour doser les protéines au spectrophotomètre.

-Propriétés chimiques

-Propriétés dues au COOH

- Estérification

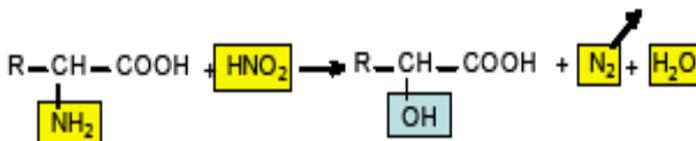


-Décarboxylation

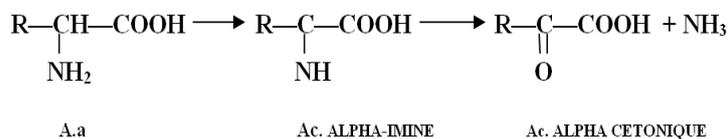


-Propriétés dues au NH2

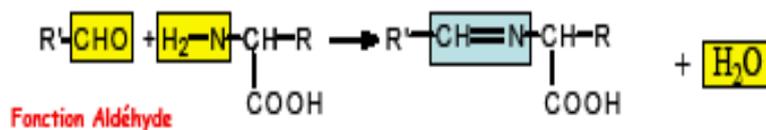
-Désamination par l'acide nitreux (In vitro)



Désamination oxydative

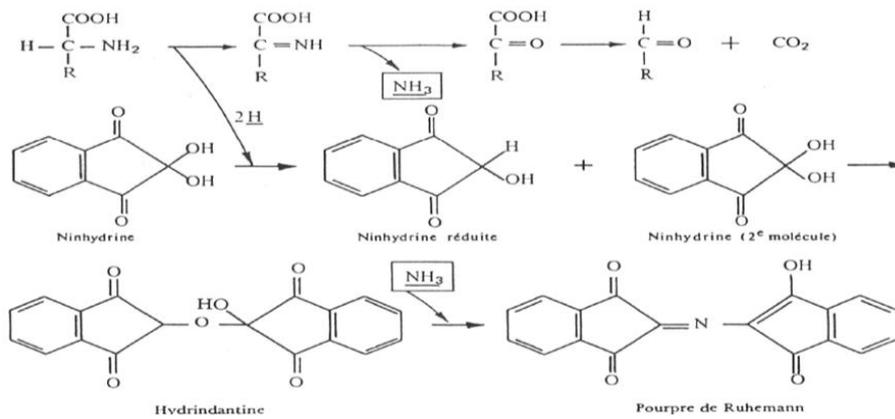


-Formation d'imines

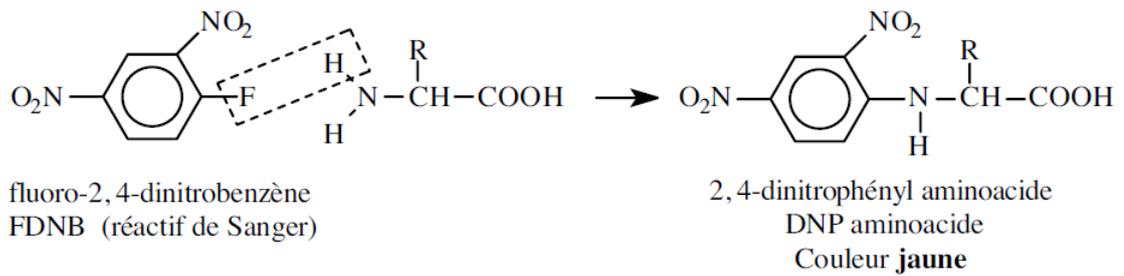


Remarque : Proline ne réagit pas.

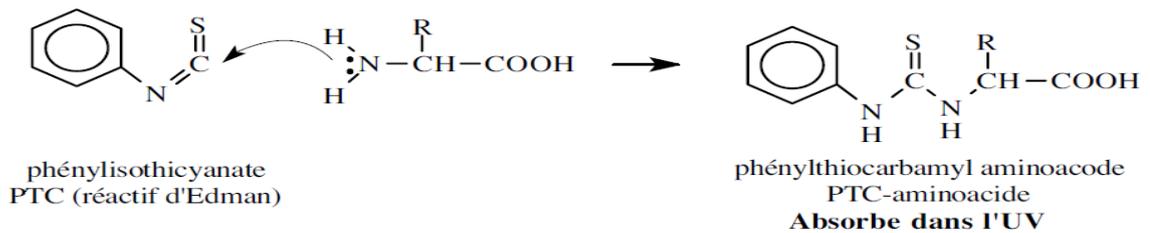
-Désamination par la ninhydrine



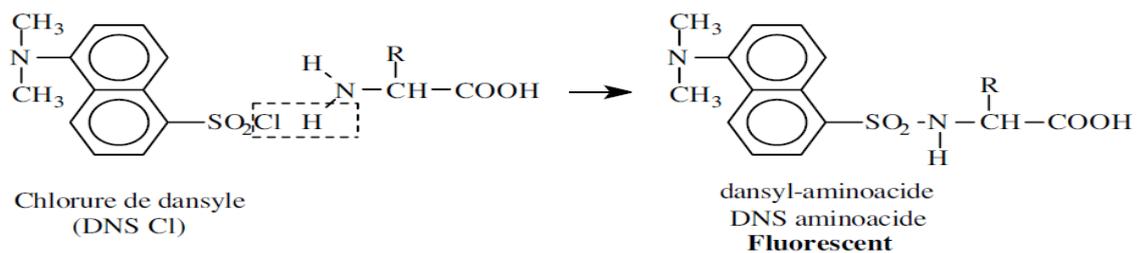
-Réaction de Sanger, qui fait intervenir un dérivé aromatique



-Réaction d'Edman, elle fait intervenir le phénylthio-cyanate.



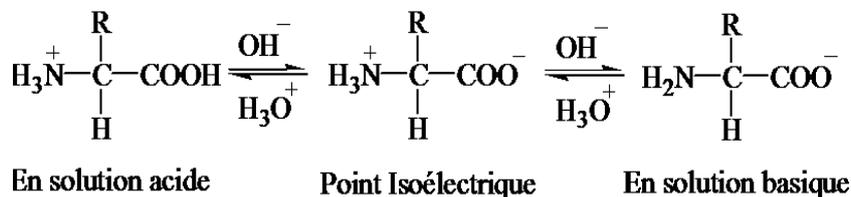
-Dansylation



-Ionisation des acides aminés

Les Aa sont **amphotères**, ils se comportent comme bases (accepteurs de protons) dans un milieu acide et comme acides (donneurs de protons) dans un milieu basique. Ils existent donc sous différentes formes ioniques :

1^{er} cas : Ionisation d'un Aa neutre

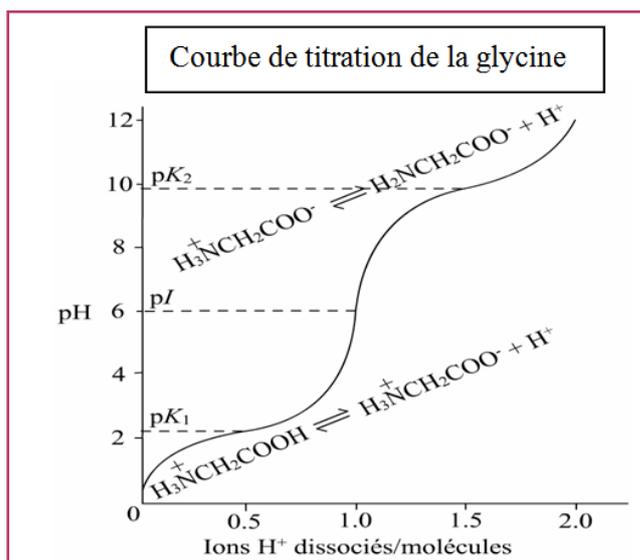


Chaque Aa se caractérise par 2 constantes d'ionisation :

-**PK_a** : constante de dissociation du groupement COOH, à cette valeur ce groupement se trouve à 50% sous forme COOH et 50% sous forme COO⁻.

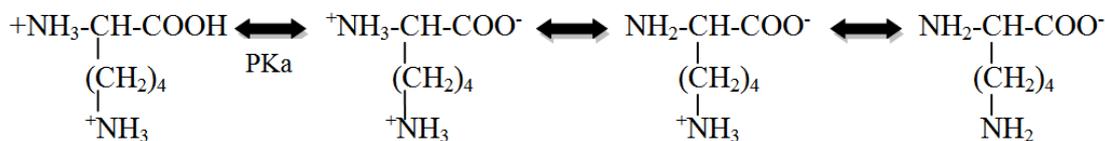
-**PK_b** : constante de dissociation du groupement ⁺NH₃, à cette valeur ce groupement se trouve à 50% sous forme ⁺NH₃ et 50% sous forme NH₂

-Entre ces 2 PK se trouve le pH isoélectrique (**pHi**) pour lequel les charges + et - sont en équilibre :

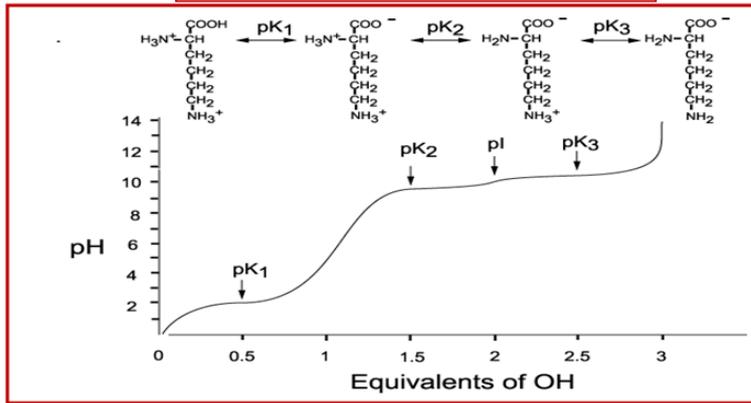


$$\text{pHi} = \frac{1}{2} (\text{PK}_a + \text{PK}_b)$$

2^{eme} cas : Ionisation d'un Aa basique : (Ex. Lysine)



Courbe de titration de la lysine



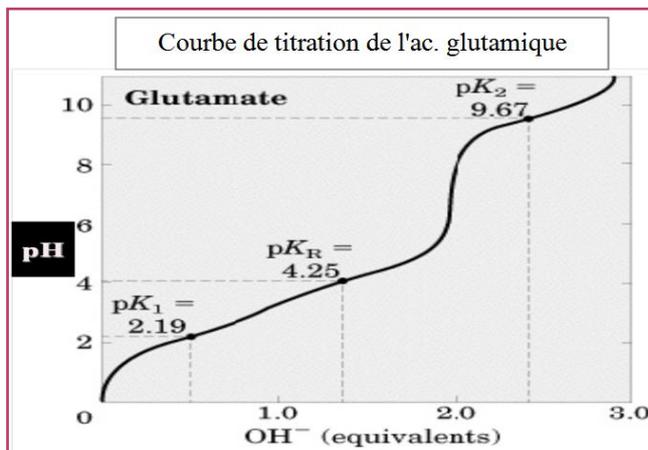
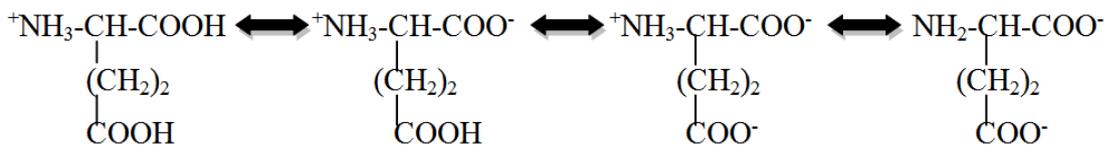
PK_a = constante de dissociation du COOH

PK_b = constante de dissociation du ⁺NH₃

PK_r = constante de dissociation du radical.

$$pHi = (pk_b + pk_r) / 2$$

3^{ème} cas : Ionisation d'un Aa acide : (Ex. ac. glutamique)



$$pHi = (pka + pk_r) / 2$$

Remarques:

1-Au pHi, la solubilité des molécules globalement neutres est minimale, tandis qu'à pH différent au pHi, elles sont chargées et leur répulsion les maintient en solution.

2-Aucun des acides aminés ne possède de capacité tampon importante dans la zone de pH physiologique, ils ont des capacités tampon dans les zones proches des valeurs de leur pK. Un seul acide aminé possède une capacité tampon entre pH 6 et 8 c'est l'Histidine.

3-La fonction thiol de la cystéine et hydroxyle de la tyrosine ne sont que très faiblement acides, à pH 7 la 1^{ère} est ionisée à environ 8% et la 2^{ème} à environ 0,01%

4-La fonction aminée de la lysine et la fonction guanidinium de l'arginine sont fortement basiques, elles ne perdent leurs protons qu'à des pH élevés.

Techniques de séparation des acides aminés

Les principales techniques de séparation basées sur le pH_i sont :

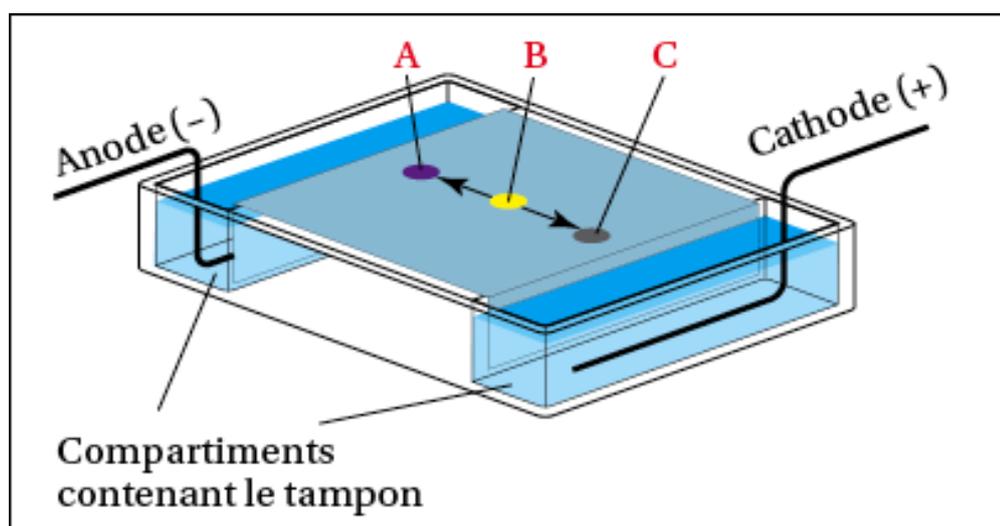
-Electrophorèse

Dans ce procédé, une goutte d'une solution d'un mélange d'acides aminés est déposée sur une feuille de papier filtre qui est ensuite humidifiée avec un tampon à pH donné. Les extrémités de la feuille sont placées dans des bacs contenant des électrodes et un champ électrique de haut voltage est appliqué. En raison de leurs valeurs différentes de pH_i , les aminoacides migrent dans des directions différentes.

-Lorsque le pH du milieu est supérieur au pH_i , l'Aa est chargé négativement et migrera vers l'anode.

-Lorsque le pH du milieu est inférieur au pH_i , l'Aa est chargé positivement et migrera vers la cathode.

-Si le pH du milieu est égal au pH_i , l'Aa n'est pas chargé et ne peut migrer dans un champ électrique.



-Chromatographie échangeuse d'ions

La chromatographie d'échange ionique est la méthode la plus largement utilisée pour séparer, identifier et quantifier chaque Aa dans un mélange, elle exploite également les différences de comportement acido-basiques des Aa.

Dans ce procédé, une colonne de chromatographie est remplie d'une résine synthétique contenant des groupements chargés. Il existe deux classes de résines échangeuses d'ions :

Les échangeuses de cations et les échangeuses d'anions.

-Colonne échangeuse de cations

Elle est constituée des groupements anioniques fixés (SO_3^-), sont d'abord chargés avec Na^+ .

- Une solution acide ($\text{pH}=3$) du mélange d'Aa à analyser est alors placée sur la colonne et la traverse lentement.

-A $\text{pH}= 3$, les Aa sont principalement sous forme de cations avec une charge positive nette, mais différent par leur degré d'ionisation.

Au fur et à mesure que la mixture passe dans la colonne les a.a chargés positivement déplaceront les ions Na^+ liés aux groupements SO_3^- , ceux qui ont :

-un pH_i très supérieur au pH du milieu, se fixent fortement.

-un pH_i intermédiaire au pH du milieu, se fixent moyennement.

-un pH_i proche du pH du milieu, se fixent faiblement.

Pour faire éluer les Aa. , on augmente le pH du milieu, dès que ce dernier dépasse le pH_i d'un Aa. donné, il se dissocie du SO_3^- et tombe, ainsi de suite jusqu'à élution totale de tous les Aa.

-Colonne échangeuse d'anions

C'est le même principe seulement, ce sont les Na^+ qui sont fixés sur la colonne et qui sont équilibrés par les SO_3^- et les Aa. doivent être chargés négativement.

