



## Biochimie Structurale

# Structure et propriétés des amino-acides peptides et protéines

Génie Agrobiologie  
Semestre 2

Pr. F. FAHMI

---

Année universitaire 2019/2020

1

### Introduction

- **Les protéines sont des constituants très importants des cellules vivantes.**
- Protéine : terme grec « *prôtos* » signifiant 'première importance'
- Elles constituent plus de la moitié du poids sec des cellules.
- Elles sont présentes dans toutes les cellules et dans tous les compartiments cellulaires.
- **Les protéines assurent plusieurs rôles :**
  - La structure (Protéines de structures = scléroprotéines)
  - Le transport membranaire (Canaux protéiques)
  - Le transport de molécules dans le sang (cholestérol, le Fer...)
  - Le métabolisme (Enzymes : catalyseurs biologiques)
  - La régulation biologique (Hormones)
  - Défense immunitaire (Anticorps)
  - L'expression de l'information génétique (facteurs de transcription)

2

## Introduction

Les protéines sont des macromolécules formées par l'association d'un grand nombre (de 50 à plusieurs milliers) d'unités monomériques appelées : **acides aminés** ou **aminoacides**.

On distingue deux grands groupes de protéines :

Les holoprotéines : formées uniquement par des enchainements d'acides aminés.

Les hétéroprotéines : formées en plus des enchainements d'acides aminés d'un groupement non protéique (glycoprotéines, lipoprotéines).

3

## I- Les acides aminés

### 1- Définition et structure

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

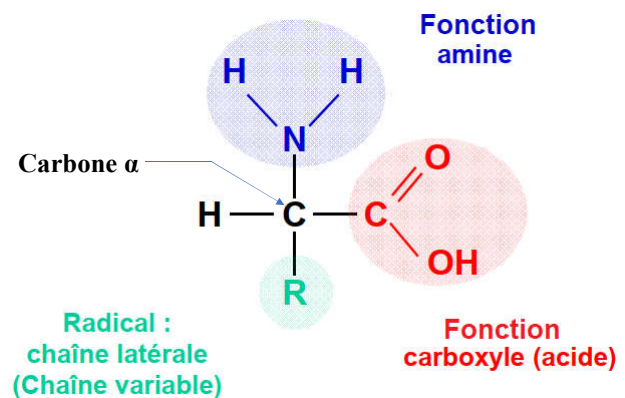
– Une fonction acide carboxylique  $\text{COOH}$ ;

– Une fonction amine primaire  $\text{NH}_2$ ;

La proline : le seul aa possédant une fonction amine secondaire

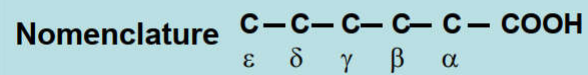
- Ces deux fonctions sont portées par un même atome de carbone (le carbone  $\alpha$ ).
- Les aminoacides sont également donc appelés : les acides  $\alpha$ -aminés.

**$\text{AA}_\alpha \rightarrow \text{NH}_2$  et  $\text{COOH}$  portés par le même C.**



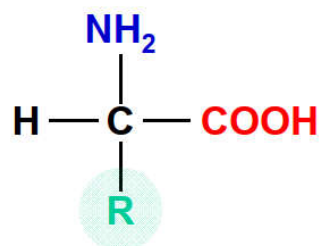
4

- Les aminoacides se distinguent par la nature de la chaîne latérale (ou radical) R.
- R étant une chaîne latérale pouvant ou non porter des groupements fonctionnels. Les carbones de cette chaîne peuvent être **en position :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , etc.**

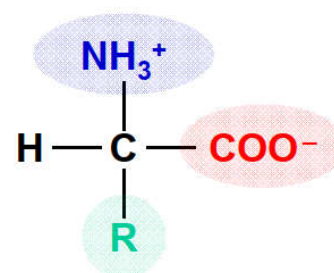


- Il existe 20 radicaux de nature différente = 20 aa

5



**Forme théorique :**  
N'existe pas en réalité



**Forme Zwitterion:**  
présente aux valeurs de pH  
physiologique

6

## 2- Nomenclature

Selon la propriété physicochimique du **radical R** :

- **aa non polaires (hydrophobes) :**

Ce groupe contient les aa à chaîne latérale hydrocarbonée, aliphatique ou aromatique.

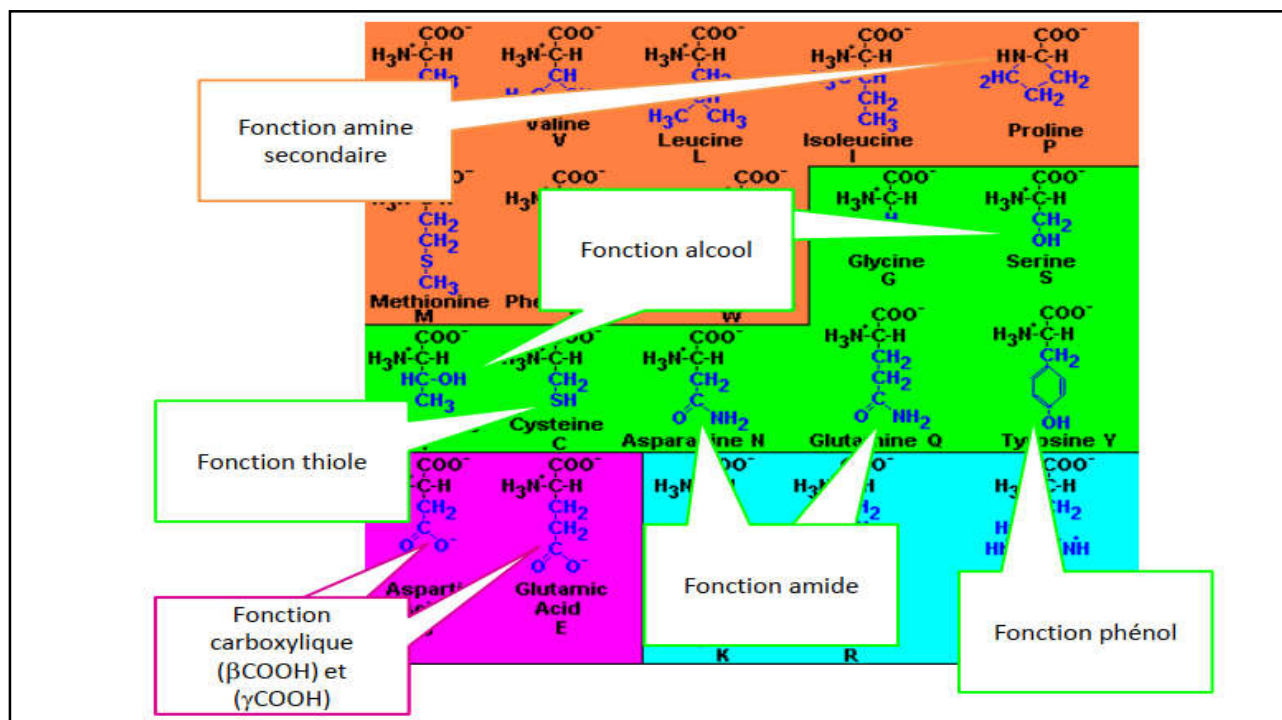
- **aa polaires (hydrophiles) :**

- à chaîne latérale hydrophile **neutre**
- à chaîne latérale hydrophile **basique**
- à chaîne latérale hydrophile **acide**

7

<div>aa non polaires (hydrophobes)</div> <div>aa polaires non chargés (neutres)</div> <div>aa polaires chargés négativement (acides)</div>	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ Alanine A	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$ Valine V	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$ Leucine L	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$ Isoleucine I	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{HN}-\text{C}-\text{H} \\   \\ 2\text{HC}-\text{CH}_2 \end{array}$ Proline P
	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ Methionine M	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ Phenylalanine F	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{H} \end{array}$ Tryptophan W	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$ Glycine G	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ Serine S
	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{HC}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ Threonine T	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$ Cysteine C	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{O}^- \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ Asparagine N	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{O}^- \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ Glutamine Q	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ Tyrosine Y
	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{O}^- \end{array}$ Aspartic Acid D	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{O}^- \end{array}$ Glutamic Acid E	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ Lysine K	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C} \\   \\ 2\text{HN}^+-\text{NH}_2 \end{array}$ Arginine R	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{HC}=\text{C} \\   \quad \quad   \\ \text{NH} \quad \quad \text{NH} \end{array}$ Histidine H
	aa polaires chargés positivement (basiques)				

8



9

CLASSIFICATION DES PRINCIPAUX ACIDES AMINES						
Acide aminé	Symboles	pK - COOH	pK - NH <sub>2</sub>	pK - R	Polarité	
Glycine	Gly G	2,35	9,78		polaire non chargé	
Alanine	Ala A	2,35	9,87		apolaire	
Leucine *	Leu L	2,33	9,74		apolaire	
Isoleucine *	Ile I	2,32	9,76		apolaire	
Valine *	Val V	2,29	9,74		apolaire	
Sérine	Ser S	2,19	9,21		polaire non chargé	
Thréonine *	Thr T	2,09	9,1		polaire non chargé	
Acide aspartique	Asp D	1,99	9,9	3,9	polaire chargé	
Asparagine	Asn N	2,14	8,72		polaire non chargé	
Acide glutamique	Glu E	2,1	9,47	4,07	polaire chargé	
Glutamine	Gln Q	2,17	9,13		polaire non chargé	
Arginine	Arg R	1,82	8,99	12,48	polaire chargé	
Lysine *	Lys K	2,16	9,06	10,54	polaire chargé	
Histidine	His H	1,8	9,33	6,04	polaire chargé	
Cystéine	Cys C	1,92	10,7	8,37	polaire non chargé	
Méthionine *	Met M	2,13	9,28		apolaire	
Phénylalanine*	Phe F	2,2	9,31		apolaire	
Tryptophane *	Trp W	2,46	9,41		apolaire	
Tyrosine	Tyr Y	2,2	9,21	10,46	polaire non chargé	
Proline	Pro P	1,95	10,64		apolaire	

10

### 3- Propriétés physico-chimiques

#### *a- Solubilité*

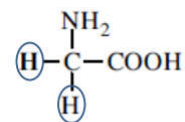
Les aa sont solubles dans l'eau, cependant:

- La solubilité diminue avec l'augmentation du nombre de carbones dans le radical R
- Elle augmente avec la présence de groupements polaires sur le radical R
- Elle varie en fonction du pH et de la force ionique (m)

11

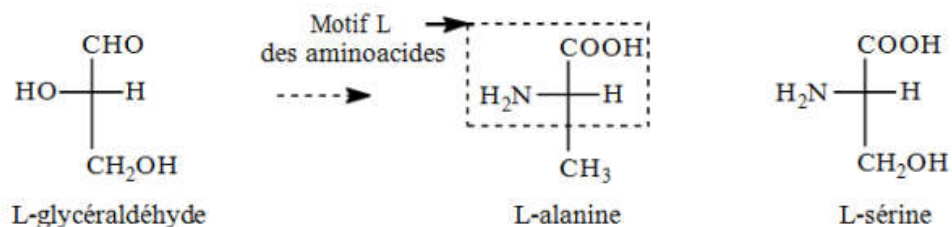
#### *b- Stéréochimie des acides α aminés*

A l'exception de la glycine, tous les aa présentent au moins un **carbone asymétrique** (le carbone a qui porte **4 substituants différents**).



Glycine (Gly, G)

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

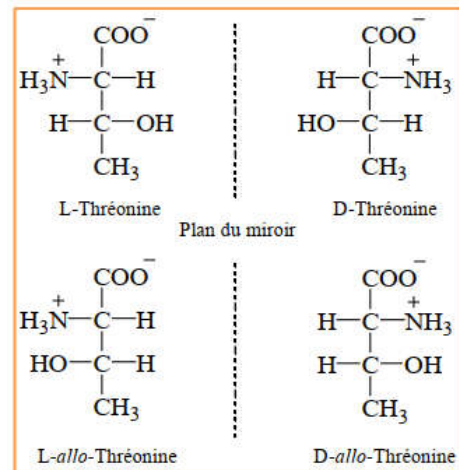


Les acides aminés des protéines appartiennent tous à la série L.

12

### Cas des acides aminés ayant un deuxième centre chiral :

Le carbone 3 ( $\beta$ ) de la thréonine et de l'isoleucine est aussi un centre chiral : leur énantiomère (L) existera sous deux formes épimères. On affecte le préfixe "**allo**" à l'épimère que l'on ne trouve pas dans les protéines.



13

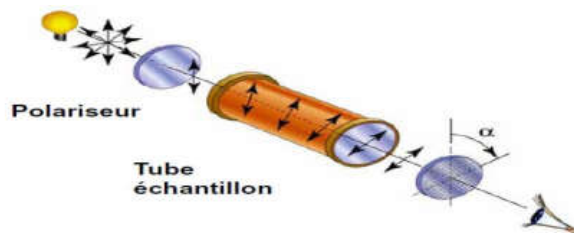
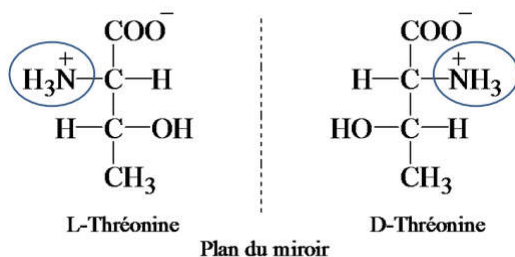
### *c- Pouvoir rotatoire*

- Les aa de la série D ou L sont dotés du **pouvoir rotatoire**. C'est à dire qu'ils peuvent dévier la lumière polarisée à droite ou à gauche. Ils sont :

**Detrogyre (+)** s'ils dévient le plan de polarisation sur la droite

**Levogyre (-)** s'ils dévient le plan de polarisation sur la gauche

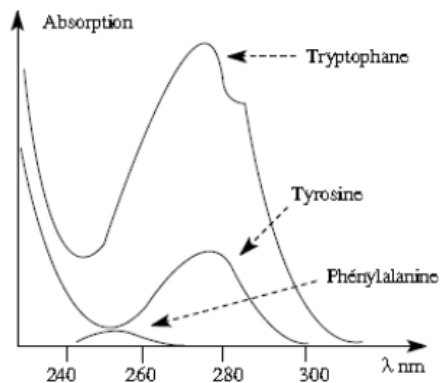
- Un mélange **racémique** (50% ; 50%) est optiquement inactif



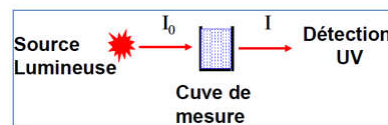
14

### d- Propriétés optiques

- Pour déterminer la quantité absorbée, on a recours à l'étude du spectre d'absorption.
- Les aminoacides n'absorbent pas la lumière visible, leurs solutions sont incolores.



- Les chaînes latérales aromatiques des aminoacides ont des spectres d'absorption caractéristiques dans l'ultraviolet moyen (280 nm)



- Cette propriété est très souvent utilisée pour le dosage des peptides et des protéines

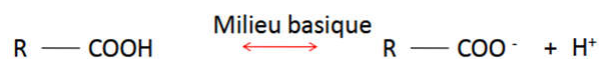
15

### e- L'ionisation et le pouvoir tampon

- Les acides aminés sont des molécules amphotères (fonction acide et base à la fois). La dissociation de ces deux fonctions est sous l'influence du pH.
- Ainsi dans un milieu acide c'est  $\text{NH}_2$  qui capte un  $\text{H}^+ \longrightarrow \text{NH}_3^+$



- Dans le milieu basique c'est  $\text{COOH}$  qui se dissocie en  $\text{COO}^-$  et  $\text{H}^+$

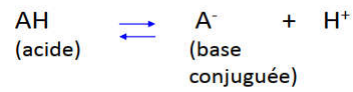


- Ces deux réactions correspondent à des réactions de dissociation.
- Les proportions d'acides aminés ionisés et non ionisés existant en solution vont dépendre de la concentration en ions  $\text{H}^+$  (du pH).

16



Les a.a. ne se dissocient pas complètement dans l'eau. Ce sont des acides faibles ou des bases faibles.



La constante d'ionisation étant  $K_a$  :

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]}$$

faisons sortir le paramètre intéressant,  $[\text{H}^+]$ :

$$[\text{H}^+] = \frac{K_a [\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{Log } [\text{H}^+] = \text{Log } K_a + \frac{\text{Log } [\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

où  $\text{Log } \frac{1}{[\text{H}^+]} = \text{Log } \frac{1}{K_a} + \text{Log } \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$

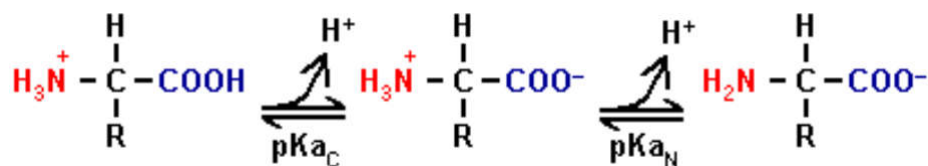
On a :  $\text{Log } \frac{1}{[\text{H}^+]} = \text{pH}$  Et par analogie :  $\text{Log } \frac{1}{K_a} = \text{p}K_a$

Nous avons donc :

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \frac{\text{Log } [\text{accepteur de proton}]}{[\text{donneur de proton}]}$$

17

Variations des équilibres entre les formes ionisées en fonction du pH



(cation) vers  
la zone de  
pH très  
acide

$\text{A}^+$

Ion  
dipolaire  
(zwitterion)

$\text{A}^0$

(Anion) zone  
de pH très  
alcalin

$\text{A}^-$

18

- Le pH auquel l'acide aminé possède une **charge nette neutre** (forme zwitterionique) est son **point isoélectrique (pHi)**:

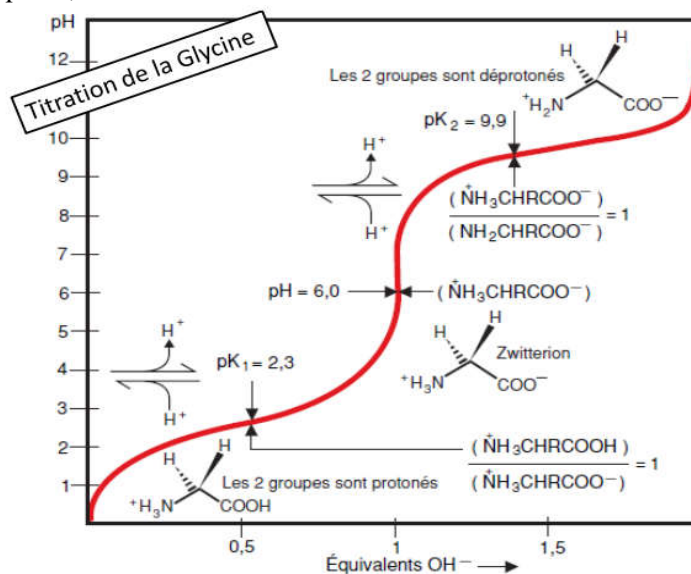
$$\text{pHi} = (\text{pK}_{\text{COOH}} + \text{pK}_{\text{NH}_2})/2$$

- Chaque acide aminé possède un pHi qui lui est propre
  - Aa basiques: pHi élevé (ex: pHi Lys = 9,8)
  - Aa acides: pHi bas (ex: pHi Asp = 3,05)

19

### La courbe de titration : le suivi de l'état d'ionisation d'un AA en fonction du pH

- La titration repose sur l'addition (ou l'élimination) graduelle de protons.
- En milieu aqueux, les aminoacides sont ionisés et l'état d'ionisation est fonction du pH.



20

## La courbe de titration : le suivi de l'état d'ionisation d'un AA en fonction du pH

### Effet tampon de AA:

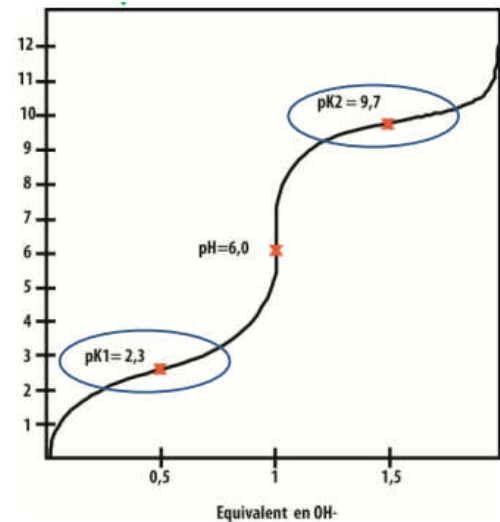
régions proches des pKa, où l'addition de NaOH ne provoque qu'une faible variation de pH

### Calcul du point isoélectrique

pI = pH pour lequel la charge globale de la molécule est nulle (le pHi)

$$pI = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

$$pI = \frac{1}{2} (2,3 + 9,7) = 6$$



21

## La courbe de titration : le suivi de l'état d'ionisation d'un AA en fonction du pH

Les acides aminés ont des courbes de titration caractéristiques.

La courbe de titration permet de:

- Mesurer le **pKa** de chaque groupement ionisable : pH pour lequel 50% des molécules ont un groupement dissocié et 50% ont un groupement non dissocié.
- Prédire la **charge électrique** des acides aminés à un pH donné.
- Définir les régions de **pouvoir tampon** de l'acide aminé.

22

## Cas des acides aminés ayant un radical ionisable

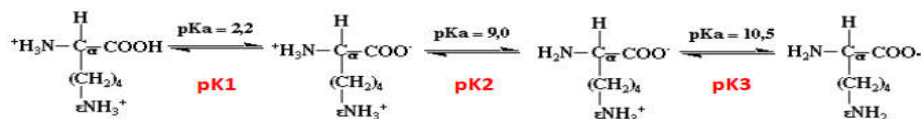
7 acides aminés :

- acide aspartique et acide glutamique : Groupement carboxylique
- Lysine : Groupement amine
- Arginine : Groupement guanidyle
- Histidine : Noyau imidazole
- Cystéine : Groupement thiol
- Tyrosine : Groupement phénol

23

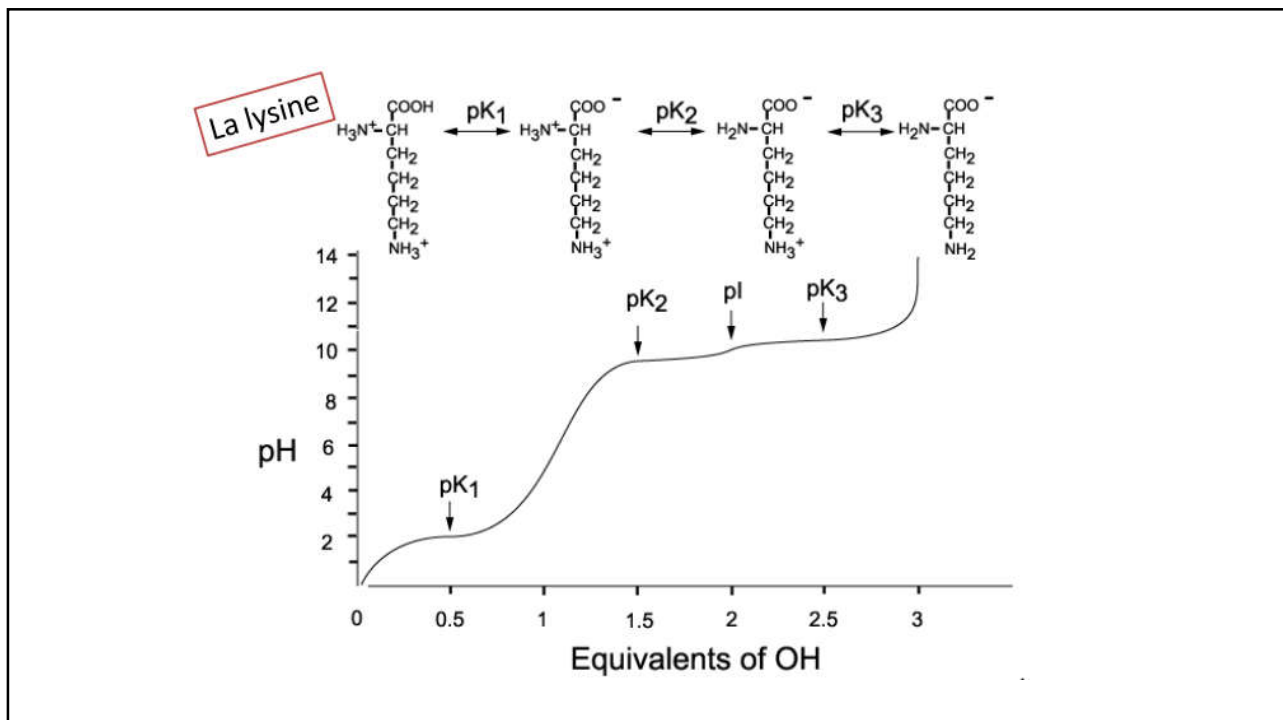
## Cas des acides aminés ayant un radical ionisable

### Les acides aminés basiques (exemple : la Lysine)

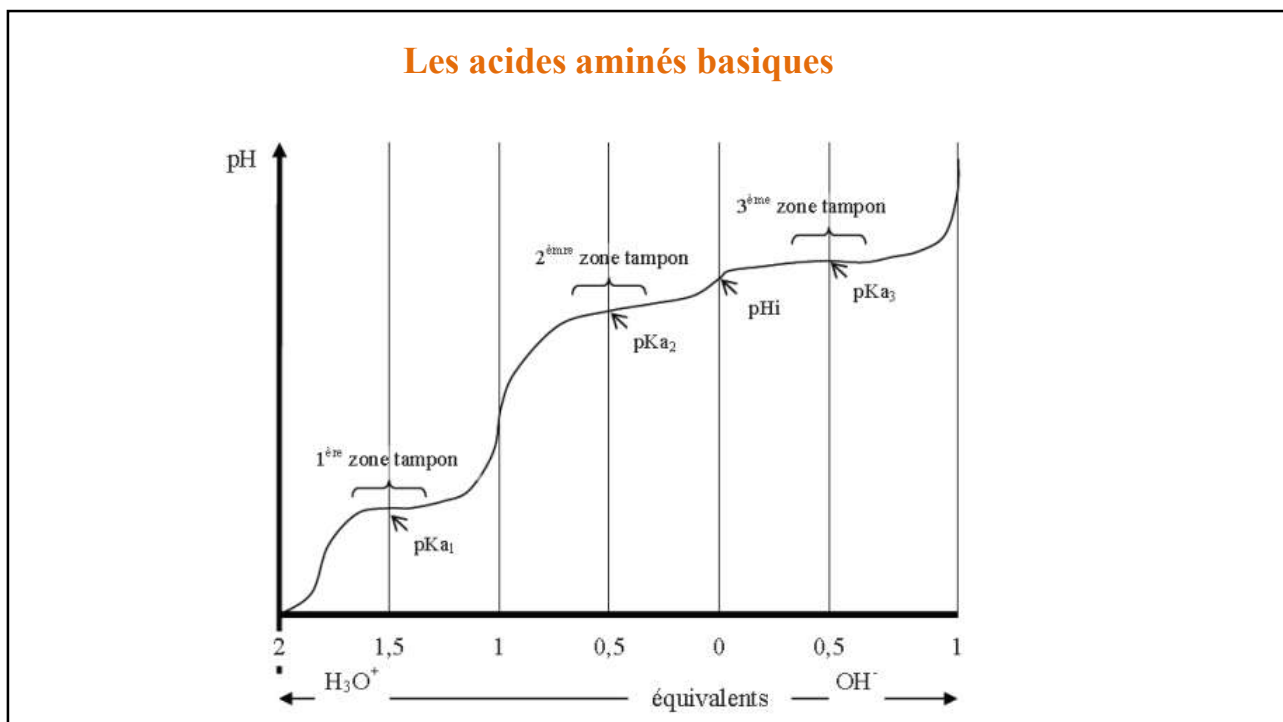


Formes	COOH	COOH 50% COO <sup>-</sup> 50%	COO <sup>-</sup>	COO <sup>-</sup>	COO <sup>-</sup>	COO <sup>-</sup>	COO <sup>-</sup>
	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> 50% NH <sub>2</sub> 50%	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup> 50% εNH <sub>2</sub> 50%	εNH <sub>2</sub>
Charge nette	2+	1,5+	1+	0,5+	0	0,5-	1-
pH	0	pKa (COOH) = 2,2	5,6	pKa(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) = 9	pI = (9+10,5)/2 = 9,8	pKa (εNH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) = 10,5	12,5

24



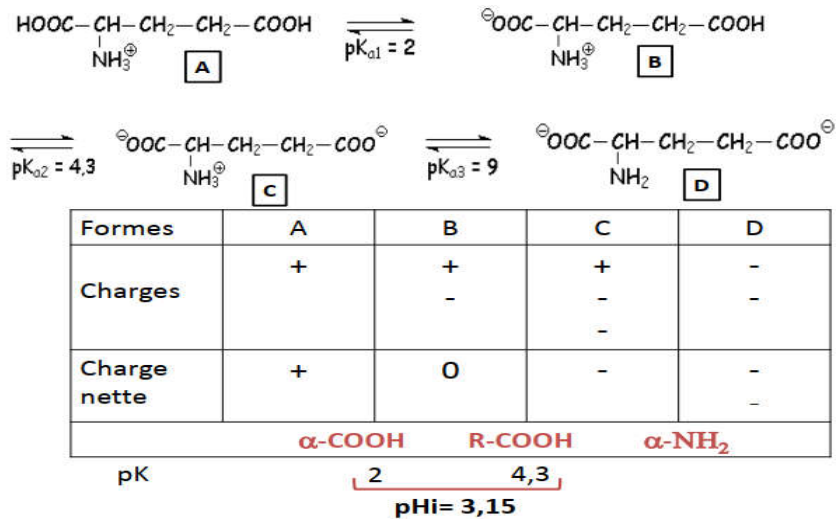
25



26

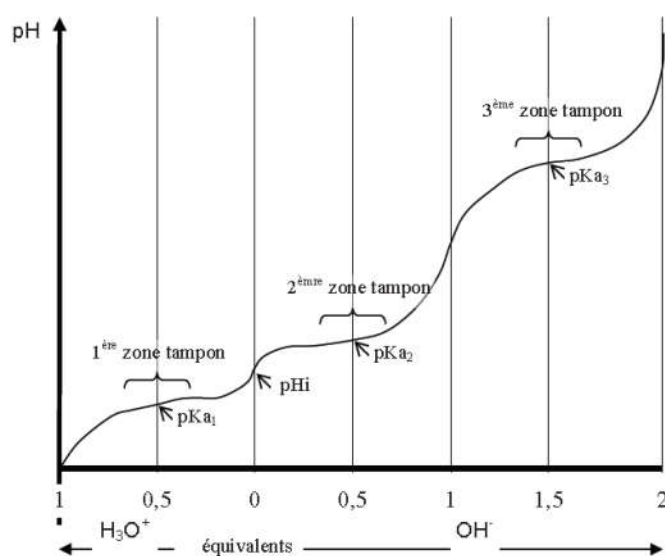
## Cas des acides aminés ayant un radical ionisable

### Les acides aminés acides (ex. : l'Acide Glutamique)



27

## Les acides aminés acides

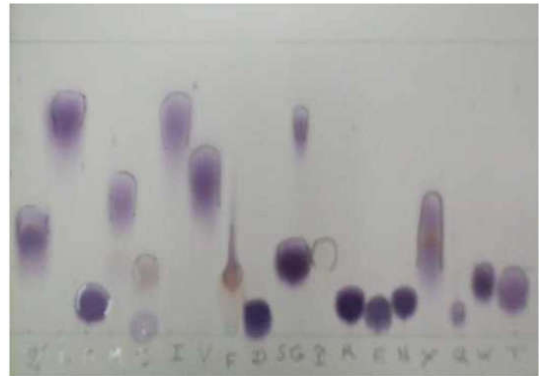


28

#### 4- Méthodes d'étude des Acides aminés

##### Séparation des Aa par chromatographie sur couche mince (CCM)

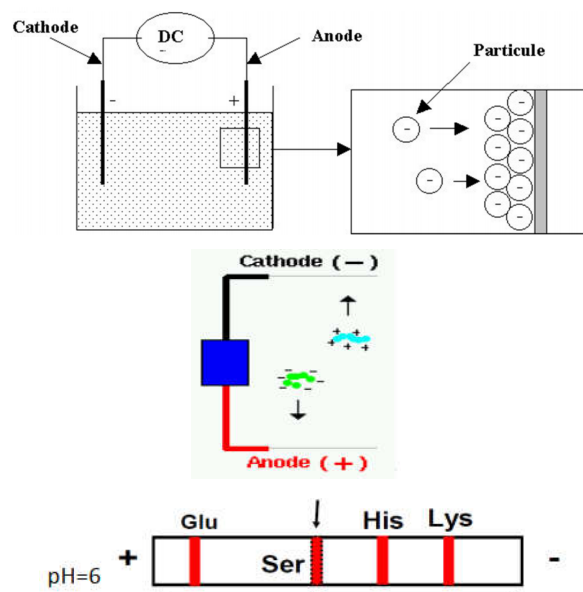
- Migration par capillarité: Les Aa hydrophobes migrent le plus
- Coloration par la ninhydrine
- L'identification des différents Aa du mélange se fait par comparaison avec des témoins, en calculant le  $R_f$  (rapport au front) de chaque soluté, ou le  $R_t$  (rapport à un témoin).



29

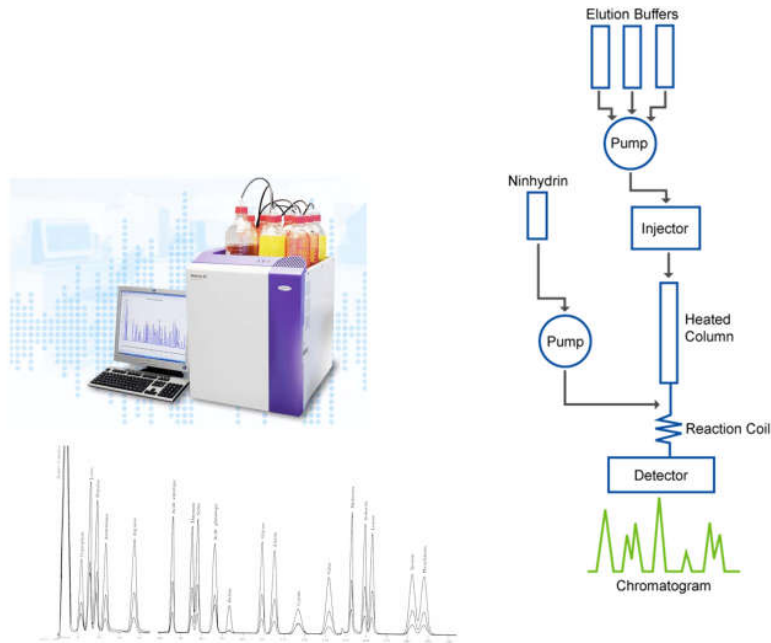
##### Séparation des Aa par électrophorèse

- À un pH donné, les Aa chargées électriquement peuvent exister en solution comme cations (+) ou anions (-).
- Un dépôt de l'Aa est placé au milieu du papier absorbant (humecté par une solution tampon).
- Le papier est connecté à deux électrodes (- et +).
- Lorsque le courant électrique est établi,
- Les cations se déplacent vers la cathode (-) et les anions se déplacent vers l'anode (+).
- La vitesse de chaque espèce migrante dépend, du pH de la solution tampon et du point isoélectrique de l'acide aminé.
- Coloration (ninhydrine)



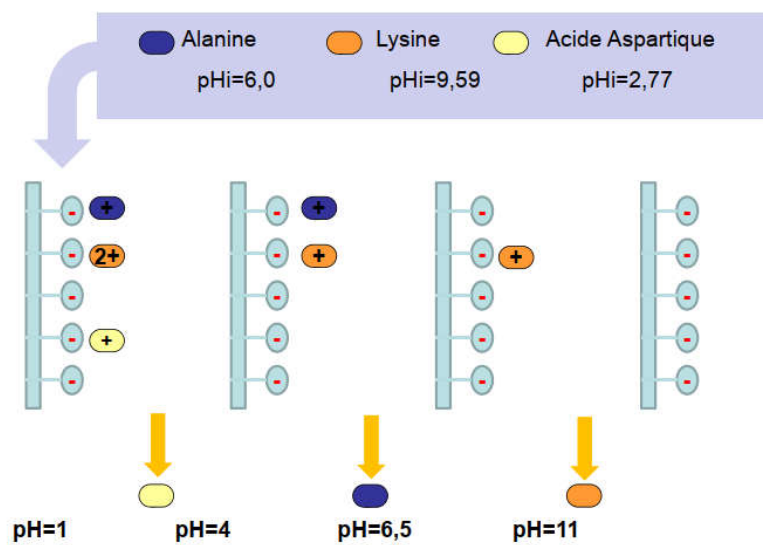
30

## Séparation des Aa par chromatographie



31

## Séparation d'un mélange Lys, Ala, Asp sur colonne d'échange de cations



32