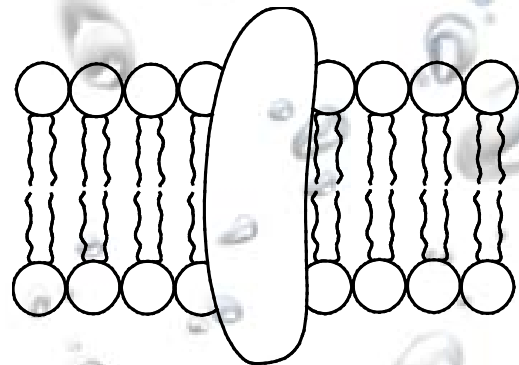
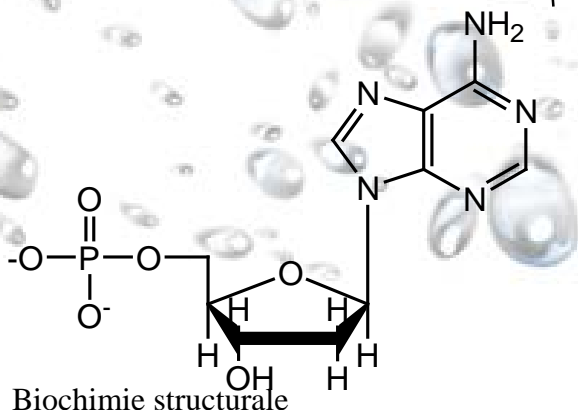
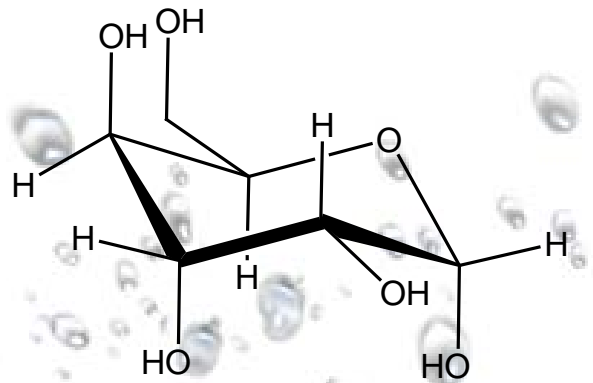
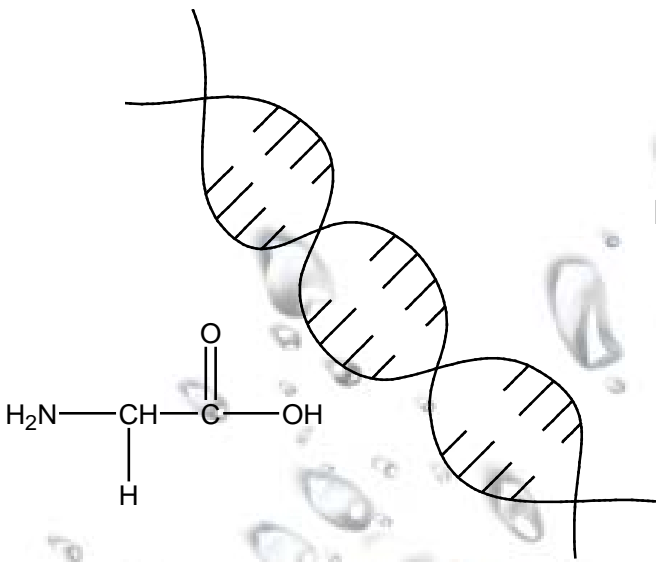


# Cours

## Biochimie structurale

### Structure et propriétés des amino-acides et des protéines



# LES ACIDES AMINES ET PROTEINES

## 1- Définition.

Les acides aminés sont les constituants de base des **peptides** et des **protéines**. Ils présentent trois intérêts :

- ce sont les briques de construction des protéines
- ils sont les précurseurs des médiateurs chimiques (locaux, neurotransmetteurs, hormones)
- ils participent au métabolisme et sont une source d'atomes (C, O, N) pour la cellule.

Les acides aminés (AA) sont apportés par les protéines nutritives exogènes dégradées en AA par la digestion. Notre organisme élabore alors ses propres protéines.

Bien qu'il existe quelque 300 acides aminés dénombrés dans la nature, seul 20 acides aminés qui compose les protéines vitales, bactérienne, végétales, animales...etc. ce sont leur nombre et ordre d'enchaînement (codés dans l'ADN génomique) qui vont déterminer la conformation individuelle de chaque protéine, et par la suite ses propriétés et sa fonction.

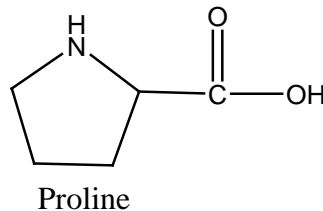
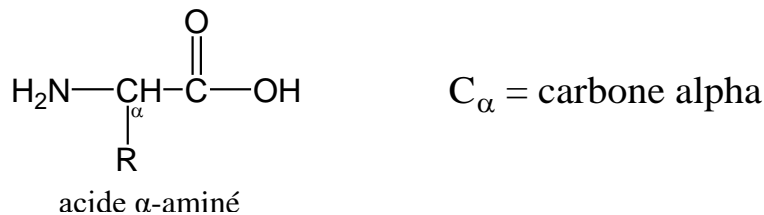
Si le nombre d'acides aminés est inférieur à 20, on parle de peptide, de 20 à 100 de polypeptide et au delà de 100 de protéines.

## 2- Les acides aminés standards des protéines.

### 2.1 Formules générales et particulière.

Les acides aminés ont en commun d'être des molécules bifonctionnelles portant un groupement **amine** (primaire) sur le carbone porteur du groupement **carboxyle**, dit carbone  $\alpha$ . La **fonction amine** est une **base** et la fonction **carboxyle** est un **acide** (fonctions ionisables).

Ce sont des acides  $\alpha$ -aminés (ou encore 2-amino-acides), à l'exception du proline qui a une amine secondaire (acide  $\alpha$ -iminé). Leur formule générique s'écrit :



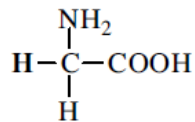
Le résidu R est un résidu variable qu'on appelle la chaîne latérale. On distingue :

- les R aliphatiques à
  - >chaîne carbonée de type carbure, linéaire ou branchée
  - >chaîne carbonée portant des groupements fonctionnels (acide, amide, alcool, thiol, amine, guanidine)
- les R cycliques :
  - >aromatiques
  - > hétérocycles à azote

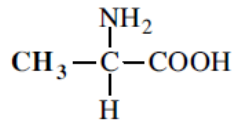
## 2.2 Acides aminés aliphatiques

La chaîne latérale est une chaîne carbonée aliphatique linéaire ou ramifiée.

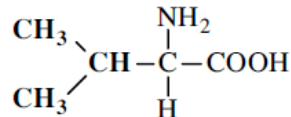
**Glycine (Gly, G) :**



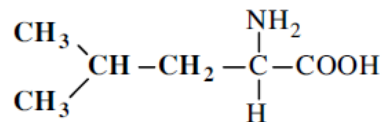
**Alanine (Ala, A) :** R est un groupement méthyle



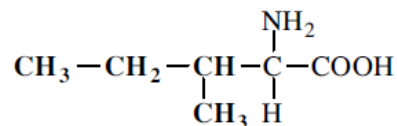
**Valine (Val, V) :** R est un groupement isopropyle



**Leucine (Leu, L) :** R est un groupement isobutyle



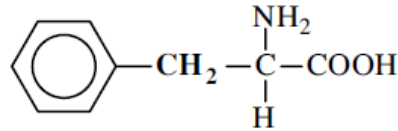
**Isoleucine (Ile, I) :** R est un groupement butyle secondaire



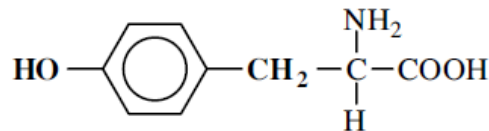
### 2.3 Acides aminés aromatiques

La chaîne latérale contient un groupe aromatique, structure cyclique à 6 électrons délocalisés.

**Phénylalanine (Phe, F)** : R est un groupement phényle

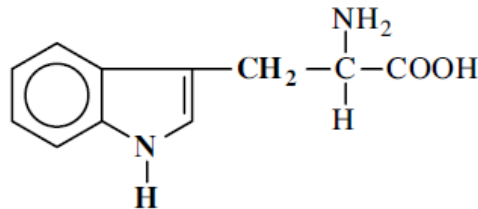


**Tyrosine (Tyr, Y)** : R est un groupement phénol



Les alcools aromatiques sont des acides très faibles dont la forme base conjuguée est un phénate.

**Tryptophane (Trp, W)** : R est un groupement indole

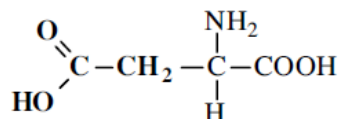


La délocalisation des électrons supprime les propriétés basiques de l'azote : le doublet électronique n'est plus un accepteur de protons.

### 2.4 Acides aminés dicarboxyliques et leurs amides

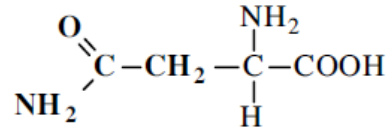
La chaîne latérale contient un groupement carbonyle libre ou sous forme d'amide.

**Acide aspartique (Asp, D)** : groupement β-carboxyle



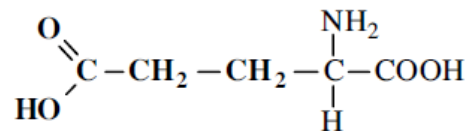
Le groupement  $\beta$ -carboxyle est ionisable. Il est chargé négativement à pH physiologique (forme base conjuguée).

**Asparagine (Asn, N)** : amide de l'acide aspartique



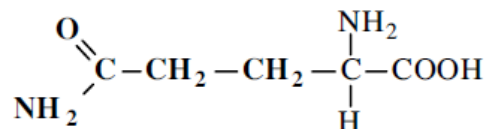
Le groupement amide n'est pas protonable : le doublet électronique de l'azote est délocalisé et engagé dans une orbitale hybride  $sp^2$  avec les atomes C et O.

**Acide glutamique (Glu, E)** : groupement  $\gamma$ -carboxyle



Le groupement  $\gamma$ -carboxyle est ionisable. Il est chargé négativement à pH physiologique (forme base conjuguée).

**Glutamine (Gln, Q)** : amide de l'acide glutamique

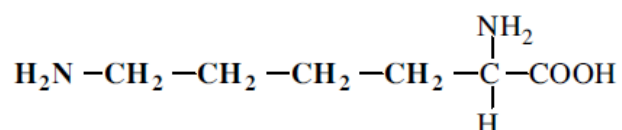


Le groupement amide n'est pas protonable (voir l'asparagine).

## 2.5 Acides aminés dibasiques

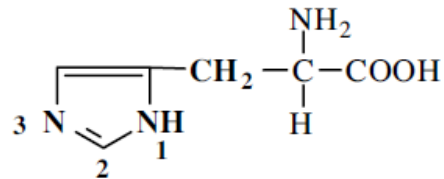
La chaîne latérale contient une fonction amine qui porte sous la forme acide conjuguée une charge positive.

**Lysine (Lys, K)** : groupement  $\epsilon$ -amino



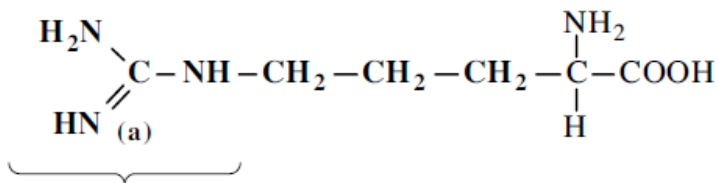
Le groupement  $\epsilon$ -amino est un accepteur de proton (forme acide conjugué : ion ammonium).

**Histidine (His, H) :** groupement imidazole



Le doublet libre de l'azote en position 3 est un accepteur de proton. Le doublet de l'azote en position 1 participe à la conjugaison des doubles liaisons et n'est pas disponible pour accepter un proton. Bien évidemment, les rôles des deux azotes peuvent être échangés (formes mésomères).

**Arginine (Arg, R) :** groupement  $\delta$ -guanidyle

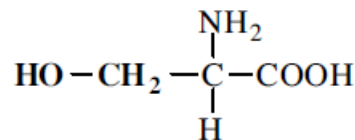


La double liaison de l'azote (a) et les doublets libres des deux autres azotes forment un hybride de résonance. Seul le doublet de l'azote (a) est libre et peut fixer un proton.

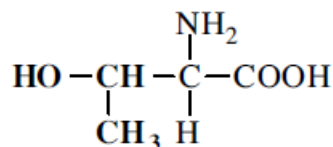
## 2.6 Acides aminés alcools

La chaîne latérale contient une fonction alcool. Les groupes OH ne sont pas ionisables.

**Sérine (Ser, S) :** alcool primaire



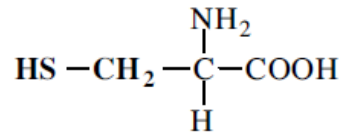
**Thréonine (Thr, T) :** alcool secondaire



### 2.7 Acides aminés soufrés

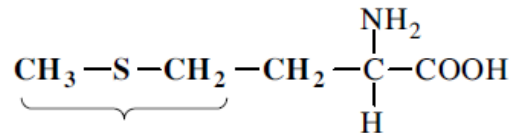
La chaîne latérale contient un atome de soufre.

**Cystéine (Cys, C)** : groupement thiol



Le groupement thiol (SH) ou sulfhydryle est un donneur de proton, c'est un acide très faible (forme base conjuguée : thiolate).

**Méthionine (Met, M)** : groupement thioéther

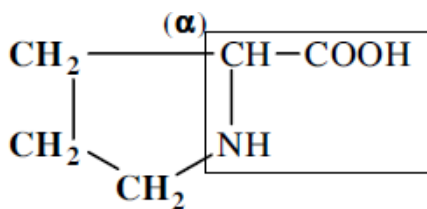


### 2.8 Iminoacide

L'amine de l'acide aminé est une amine secondaire (imine).

**Proline (Pro, P)** :

Le groupe  $\alpha$ -amino est engagé dans une structure cyclique. L'amine est une amine secondaire (imine) dont l'azote présente un doublet libre, accepteur de proton : la fonction base d'un acide aminé est donc conservée.



groupe  $\alpha$ -aminocarboxylique

# Chapitre III : Structure et propriétés des amino-acides et des protéines

## Les acides aminés standards des protéines et leurs caractéristiques

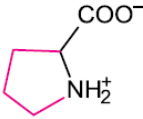
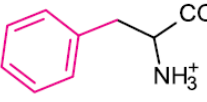
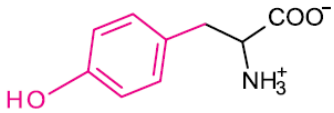
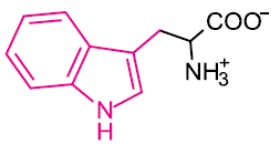
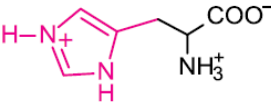
	Ala Glu Leu Ser	Arg Gln Lys Thr	Asn Gly Met Trp	Asp His Phe Tyr	Cys Ile Pro Val
Ala Arg Asn Asp Cys	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Alanine PHi= 6,02</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C}=\text{NH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Arginine PHi= 11,15</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Asparagine PHi= 5,41</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>acide aspartique PHi= 2,77</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$ <p>Cystéine PHi= 5,03</p>
Glu Gln Gly His Ile	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Acide glutamique PHi= 3,22</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Glutamine PHi= 5,65</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{H} \end{array}$ <p>Glycine PHi= 5,97</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \quad \quad \quad \text{NH} \end{array}$ <p>Histidine PHi= 7,47</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Isoleucine PHi= 5,94</p>
Leu Lys Met Phe Pro	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Leucine PHi= 9,98</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Lysine PHi= 9,59</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Méthionine PHi= 5,74</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ <p>Phénylalanine PHi= 5,48</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{HN} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \quad \quad \quad \text{C}_4\text{H}_7 \end{array}$ <p>Proline PHi= 6,30</p>
Ser Thr Trp Tyr Val	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Sérine PHi= 5,68</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Thréonine PHi= 5,64</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{Indole} \end{array}$ <p>Tryptophane PHi= 5,89</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Tyrosine PHi= 5,66</p>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Valine PHi= 5,96</p>



### Chapitre III : Structure et propriétés des amino-acides et des protéines

On peut également classer les acides aminés en fonction de la polarité de leur chaîne latérale

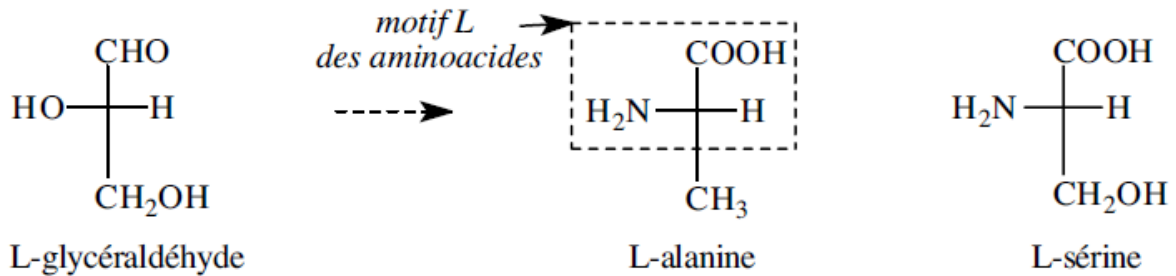
- 1- Apolaire
- 2- polaire non chargé à pH entre 6 et 7
- 3- polaire chargé positivement.
- 4- polaire chargé négativement

Nom	Codes		Formule (chaîne latérale en couleur)	Remarque
Glycine	Gly	G	$\text{H}-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	Non chiral
<b>Chaîne latérale (R) apolaire aliphatique</b>				
Alanine	Ala	A	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
Valine	Val	V	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
Leucine	Leu	L	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
Isoleucine	Ile	I	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	Carbone $\beta$ chiral
Proline	Pro	P		Acide aminé cyclique, fonction amine secondaire
Méthionine	Met	M	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\delta$ Méthyl thioéther
<b>Chaîne latérale (R) aromatique</b>				
Phénylalanine	Phe	F		$\beta$ Phényl
Tyrosine	Tyr	Y		$\beta$ <i>p</i> -Hydroxyphényl $\text{pK}_a = 10.6$
Tryptophane	Trp	W		$\beta$ Indolyl
<b>Chaîne latérale (R) polaire non chargée à pH 7</b>				
Sérine	Ser	S	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
Thréonine	Thr	T	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	Carbone $\beta$ chiral
Cystéine	Cys	C	$\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\beta$ Thiol $\text{pK}_a = 8,2$
Asparagine	Asn	N	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
Glutamine	Gln	Q	$\text{NH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	
<b>Chaîne latérale (R) chargée - à pH 7</b>				
Aspartate	Asp	D	$-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\beta$ Carboxyle $\text{pK}_a = 3,8$
Glutamate	Glu	E	$-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\gamma$ Carboxyle $\text{pK}_a = 4,2$
<b>Chaîne latérale (R) chargée + à pH 7</b>				
Lysine	Lys	K	$^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\epsilon$ Amine $\text{pK}_a = 10,6$
Arginine	Arg	R	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH}_2^+)-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$	$\delta$ Guanidino $\text{pK}_a = 12,5$
Histidine	His	H		$\beta$ Imidazole $\text{pK}_a = 6$

### 3- Propriétés physiques des acides aminés.

#### 3.1 La chiralité

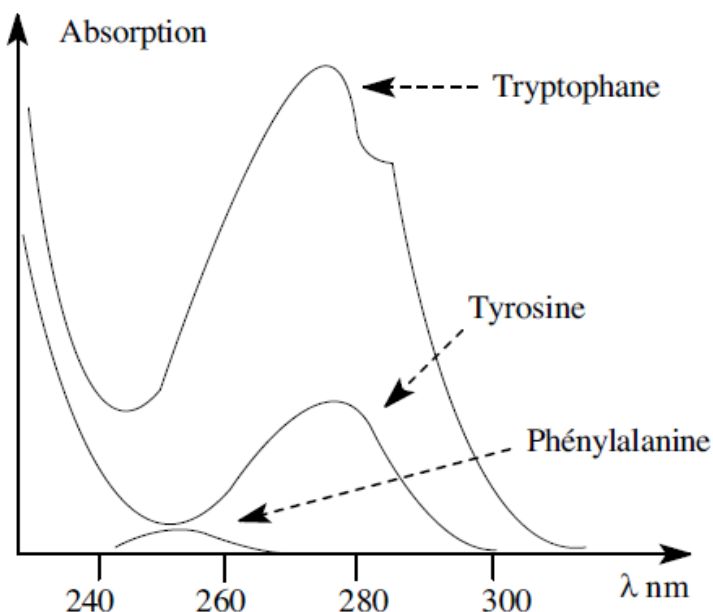
A l'exception de la glycine, le carbone  $\alpha$  porte quatre substituants différents : c'est donc un centre chiral dont la conformation définira les stéréoisomères, isomères optiques à pouvoir rotatoire spécifique opposé. Les deux énantiomères sont définis de la même manière que pour les oses en prenant le glycéraldéhyde comme référence dans la représentation de Fischer :



Les acides aminés des protéines appartiennent tous à la **série L**. Comme pour les oses, aucune prédiction du pouvoir rotatoire ne peut être faite : un aminoacide de la **série L** peut être lévogyre ou dextrogyre.

#### 3.2 Absorption

- Les acides aminés n'absorbent pas la lumière visible, leurs solutions sont incolores ; des réactions chimiques sont nécessaires pour les révéler et les doser par colorimétrie.
- L'absorption dans l'UV lointain et techniquement difficile d'accès. Par contre des R aromatiques absorbent l'UV moyen. L'absorption UV est largement appliquée à la détection et au dosage de ces acides aminés et des peptides et des protéines qui les contiennent.

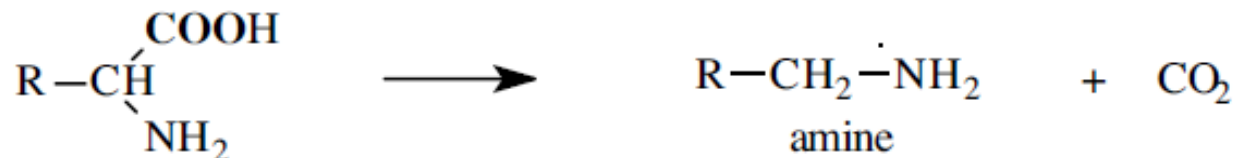


Spectres d'absorption des acides aminés aromatiques dans l'ultra-violet

#### 4- Propriétés chimiques des acides aminés.

##### 4.1 Décarboxylation

La décarboxylation d'un acide aminé peut se faire par voie chimique ou enzymatique. Cette réaction est présente dans les organismes vivants pour produire à partir des acides aminés des dérivés (amines) qui peuvent être des précurseurs d'autres molécules et ce par des décarboxylases.

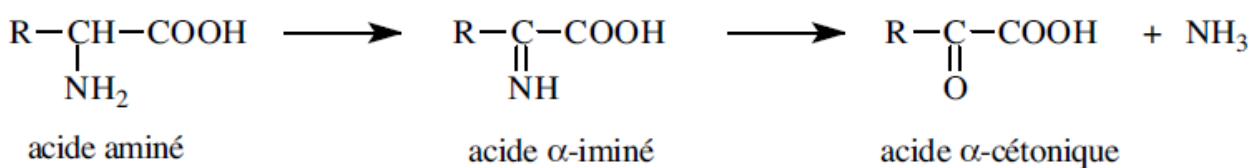


Quelques produits de décarboxylation d'acides aminés :

- **sérine** : produit de décarboxylation : éthanolamine qui est le précurseur de la choline des phospholipides
- **histidine** : produit de décarboxylation : histamine qui est un vasodilatateur intervenant dans les réactions d'allergie ou d'inflammation
- **acide glutamique** : produit de décarboxylation : 4-aminobutanoïque ou "GABA" qui est un neurotransmetteur.

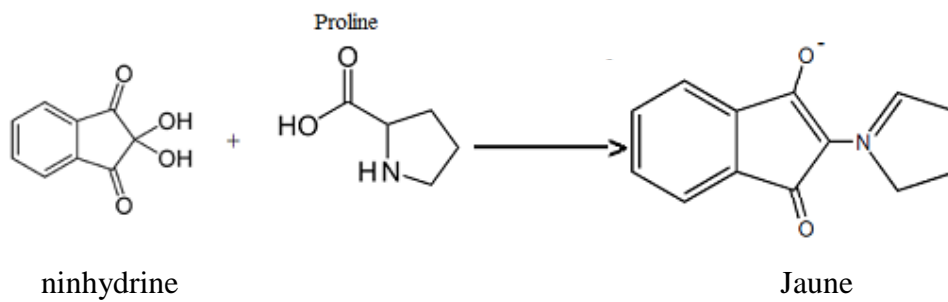
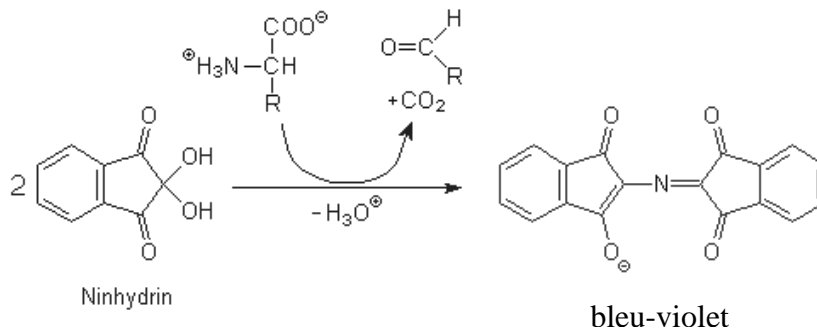
##### 4.2 Désamination

La désamination des acides aminés in vivo conduit à l'acide  $\alpha$ -cétonique.



##### 4.3 Désamination et décarboxylation

La réaction avec la ninhydrine est l'une des plus connues et utilisées, elle aboutit à un produit violet pour les amines primaires et à un autre dérivé de couleur jaune pour les amines secondaires. L'acide aminé est complètement dégradé par une réaction de désamination et de décarboxylation.

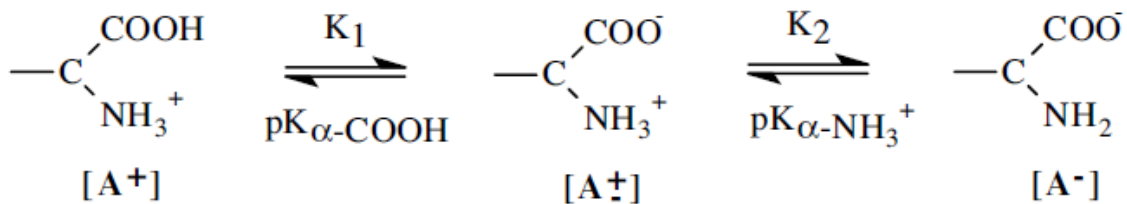


### 5- Propriétés ioniques des acides aminés

Lorsque l'acide aminé est libre, il a au moins deux groupements fonctionnels sur le même carbone  $\alpha$  et pour certains un troisième sur la chaîne latérale.

L'un des deux groupements est un acide (carboxylique) et l'autre est une base (amine). C'est une molécule bipolaire (**amphion ou zwitterion**).

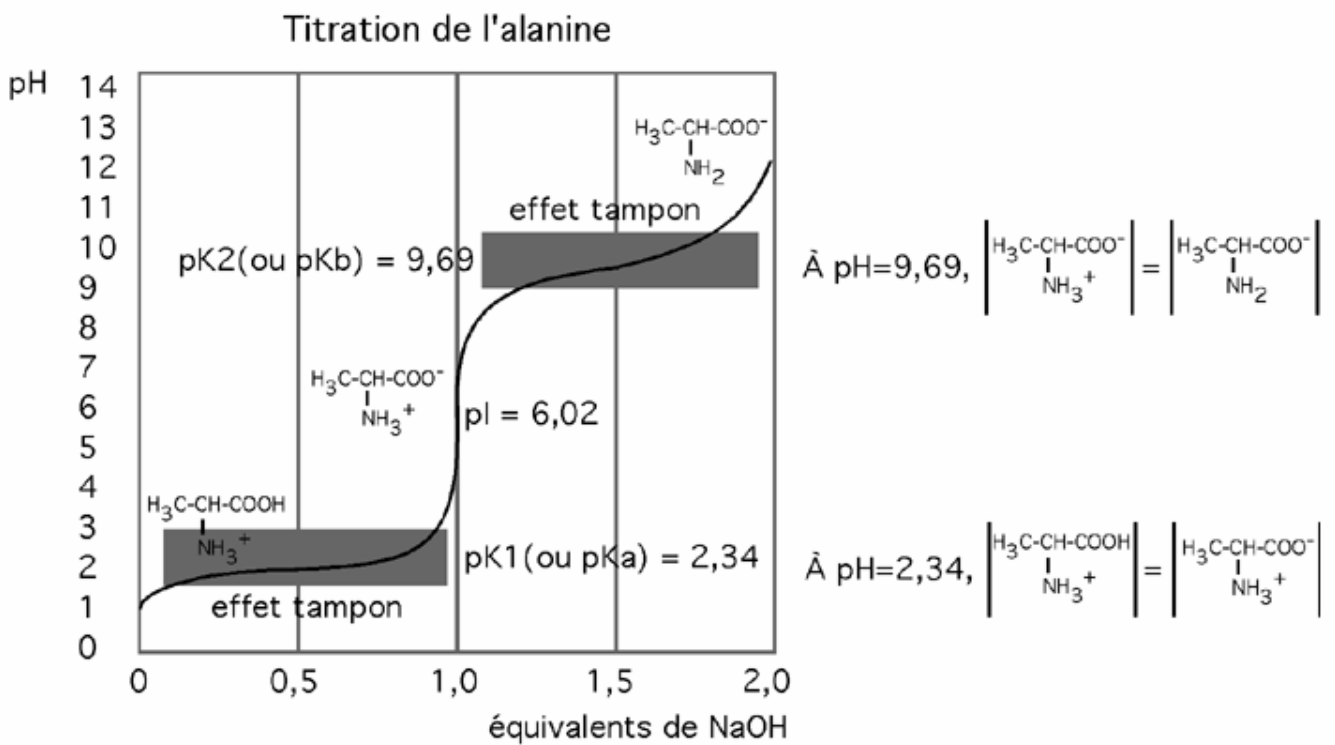
Les pK des groupes  $\alpha$ -COOH et  $\alpha$ -aminé sont très différents, celui correspondant à l'acide étant beaucoup plus faible. Les équilibres successifs de dissociation s'écrivent avec les constantes individuelles de dissociation (égales aux constantes successives dans ce cas) :



La forme qui porte une charge nette nulle est un ion mixte ou bipolaire ou encore **zwitterion**.

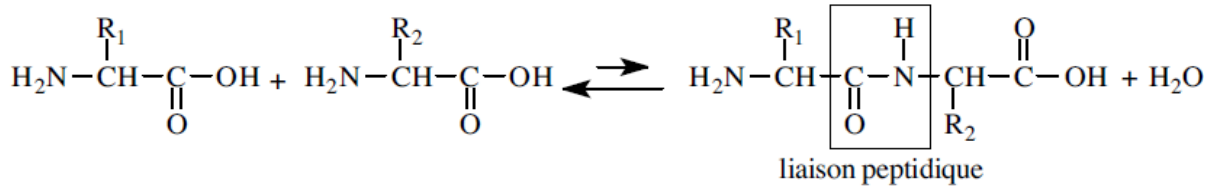
$$\left\{ \begin{array}{l} K_1 = \frac{[A^-][H^+]}{[A^+]} \\ K_2 = \frac{[A^-][H^+]}{[A_2^+]} \end{array} \right. \quad \text{d'où } [H^+]^2 = K_1 K_2 \text{ ou encore } \boxed{pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}}$$

$$[A^-] = [A^+]$$

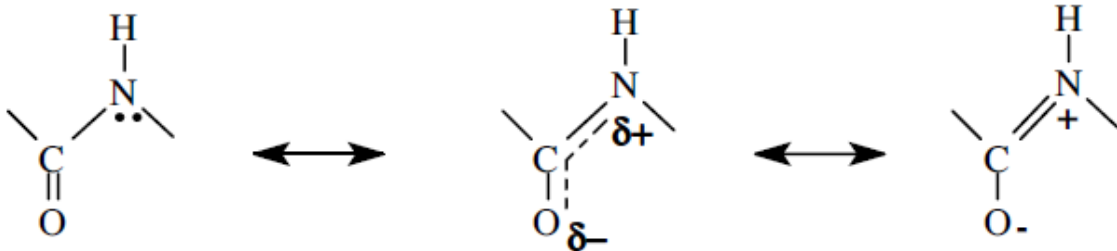


## 6- Liaison peptidique

La liaison est de type amide substituée : élimination d'eau entre les groupes  $\alpha$ -COOH et  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> de deux aminoacides. Cette liaison amide lie les deux carbones C $\alpha$  des deux aminoacides.

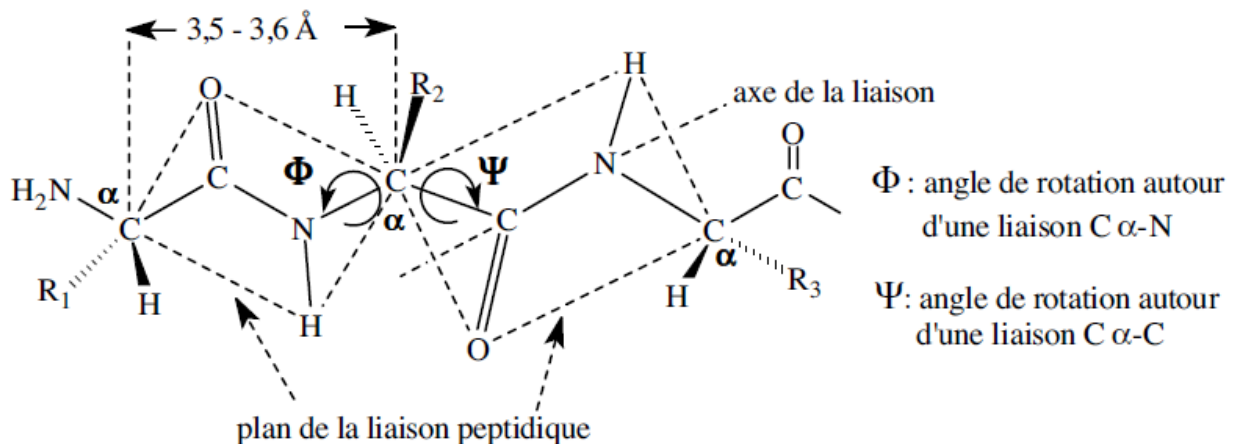


Les électrons  $\pi$  du groupe carbonyle et le doublet électronique libre de l'azote sont très proches. La résonance de ces électrons donne au groupe peptidique des structures intermédiaires entre deux formes mésomères.



Cette liaison est intermédiaire entre une simple et une double liaison qui implique les propriétés suivantes :

- la structure du groupe peptidique est rigide : les 6 atomes sont coplanaires. Les angles des liaisons pour le carbone et pour l'azote avec leurs substituants sont de 120°.
- les 2 carbones C $\alpha$  se placent de part et d'autre du pont C-N dans la configuration trans la plus favorable thermodynamiquement
- de part et d'autre de cette structure rigide, les rotations des groupes des liaisons C $\alpha$ -N et C $\alpha$ -C sont libres et seulement limitées par l'encombrement stérique.



Les atomes d'oxygène et d'hydrogène d'une liaison peptidique sont d'excellents accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène.

## 7- Détermination de la structure d'un peptide

La détermination de la structure primaire d'un peptide est conduite en deux étapes :

- 1) détermination de la composition en aminoacides
- 2) détermination de l'ordre des enchaînements des résidus

Ces deux étapes ont comme point commun l'hydrolyse de la liaison peptidique.

### 7.1 Hydrolyse de la liaison peptidique

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

#### 7.1.1 Hydrolyse chimique

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

- l'acide aminoacide 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).

#### 7.1.2 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
- le 2-nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB) hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.

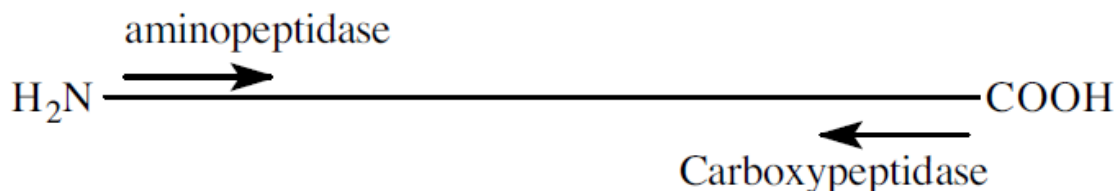
#### 7.1.3 Hydrolyse enzymatique

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 :

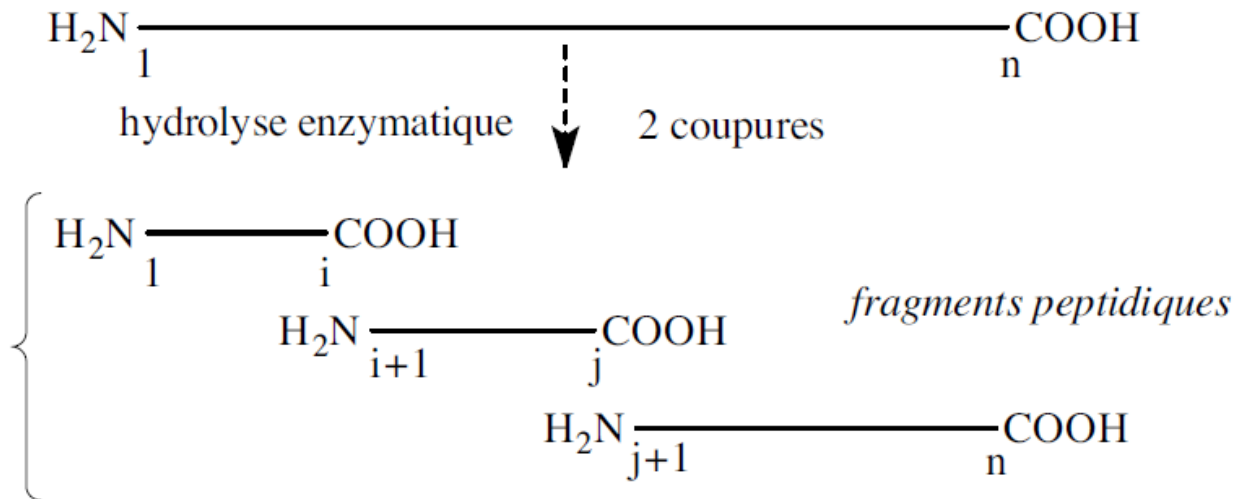
##### - exopeptidase

L'enzyme n'hydrolyse que la première liaison peptidique (aminopeptidase) ou la dernière liaison peptidique (carboxypeptidase) en libérant l'acide 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.



Enzyme	Source	résidu i	résidu (i+1)	particularité
trypsine	pancréas de boeuf	Arg, Lys		sauf (i+1) = Pro
chymotrypsine	pancréas de boeuf	Phe, Tyr, Trp		sauf (i+1) = Pro
Sa protéase	<i>Staphylococcus aureus</i>	Asp, Glu		
Fm protéase	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	Pro		
thermolysine	<i>Bacillus thermoprotéolyticus</i>		Ala, Val, Leu Ile, Met	

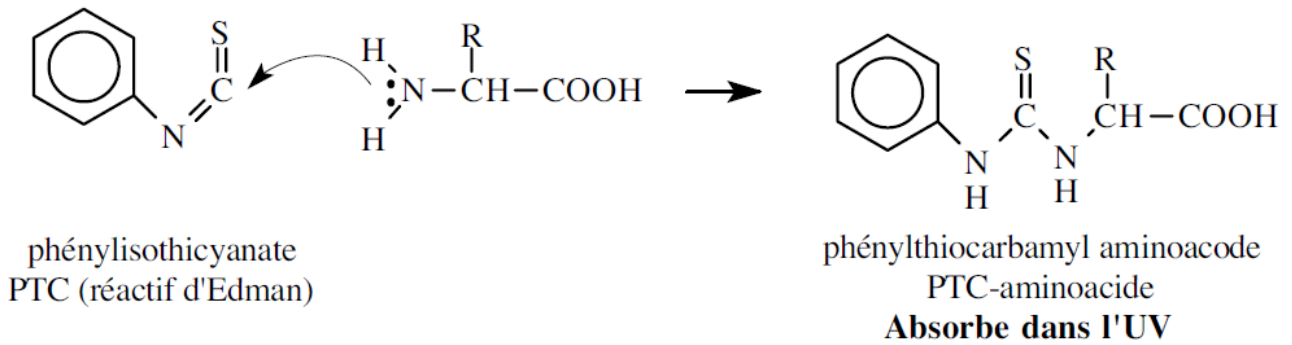
Remarque : on peut dire que la thermolysine est une endopeptidase spécifique des aminoacides Ala, Val, Leu, Ile, Met avec une coupure du côté amino de la liaison peptidique. Les autres enzymes sont spécifiques des aminoacides indiqués avec une coupure du côté carboxyle de la liaison peptidique.

## 7.2 Détermination de la séquence

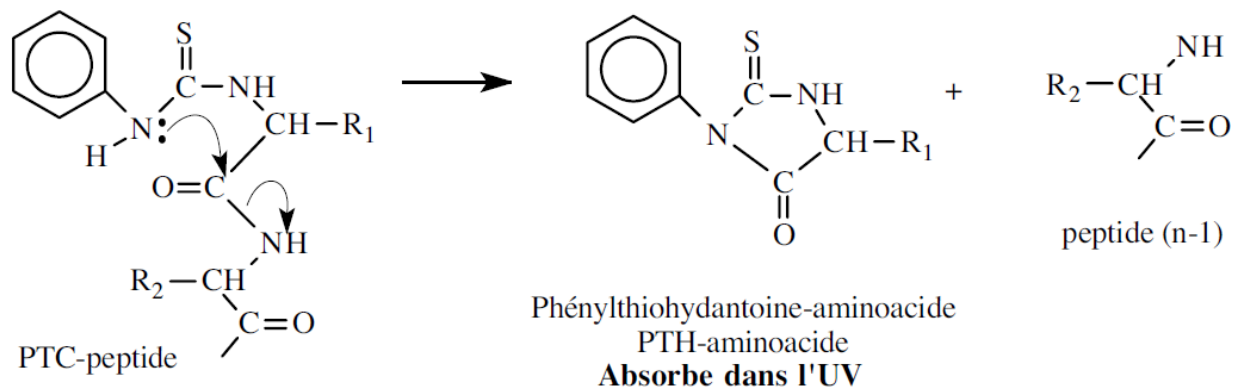
### - l'extrémité N

La carbamylation avec le phénylthiocyanate (PTC), à un pH basique de 9, donne des dérivés qui absorbent dans l'ultraviolet et facilement séparable par chromatographie. De plus la réaction avec l'acide aminé terminal d'une protéine libre le dérivé d'addition et une protéine amputée de son aminoacide N-terminal : en itérant le processus, la détermination de la structure primaire de la protéine sera possible (dégradation récurrente d'**Edman**).





Dans le cas d'un peptide de n aminoacides, le PTC-peptide va subir une cyclisation et une coupure à un pH légèrement acide, libérant un phénylthiohydantoïne-aminoacide identifiable (PTH-aminoacide), qui absorbe dans l'UV, et un peptide de (n-1) aminoacides



On a, à chaque cycle, la libération de l'acide aminé suivant dans la séquence du peptide original.

Des appareils (**séquenceur**) sont capables d'effectuer ces cycles automatiquement. Toutefois l'analyse est techniquement limitée à des séquences dont le nombre d'acides aminés est inférieur à 200.

### 8- Conformation tridimensionnelle des protéines.

La fonction des protéines est liée à leur structure dans l'espace :

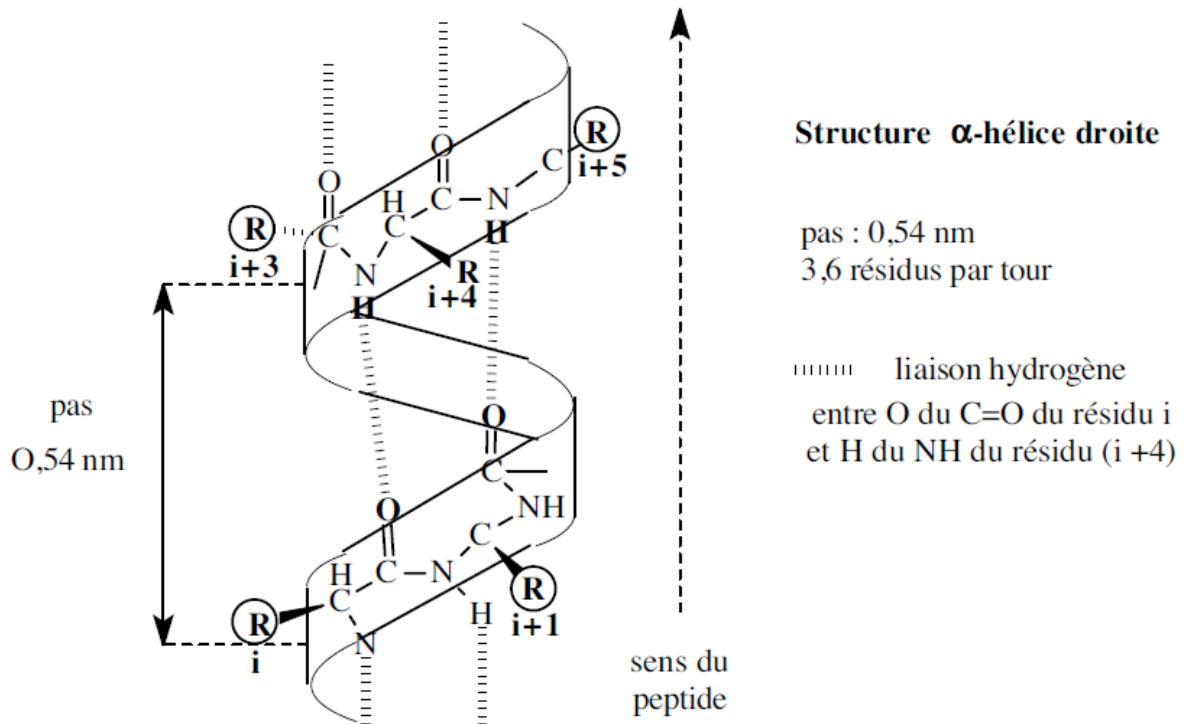
- structure primaire (enchaînement des acides aminés)
- structure secondaire (interaction entre acides aminés voisins)
- structure tertiaire (interaction entre acides aminés éloignés dans la séquence)
- structure quaternaire (interaction entre sous unités)

### 8.1 Structure secondaire

C'est l'arrangement, dans l'espace, de fragments courts de séquences en 4 grands types de forme. Les liaisons hydrogène potentielles que peuvent avoir les atomes d'oxygène (C=O) et d'hydrogène (N-H) d'une liaison peptidique et l'impact de la géométrie de la liaison peptidique sur la structure locale sont très importants.

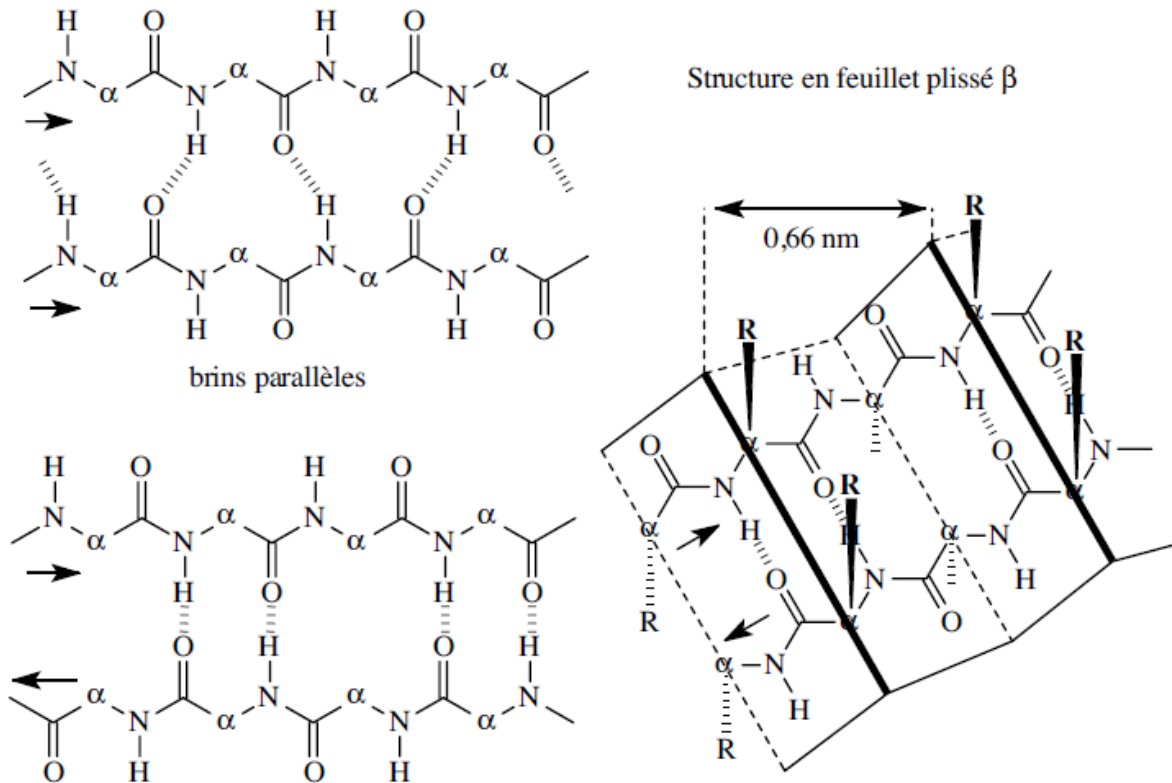
#### 8.1.1 $\alpha$ -hélice

C'est une structure locale répétitive et relativement compacte



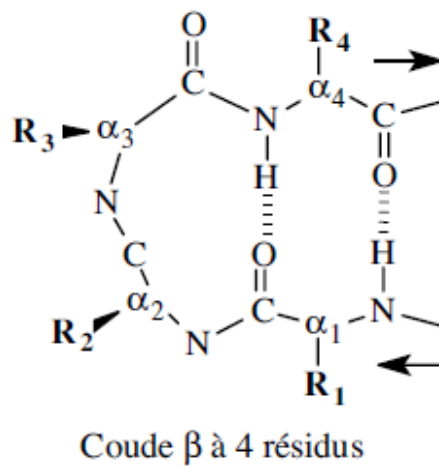
#### 8.1.2 Feuillet $\beta$

Les liaisons hydrogène des atomes d'oxygène (C=O) et d'hydrogène (N-H) d'une liaison peptidique se répètent non plus sur une portion continue de la chaîne peptidique mais entre des segments différents qui peuvent appartenir à la même chaîne ou à des chaînes différentes.



### 8.1.3 Le coude

Certaines régions protéiques ne sont pas structurées dans des conformations périodiques. Toutefois leurs structures sont semblables par le fait qu'elles imposent un changement brusque de direction de  $180^\circ$ : on les appelle coude



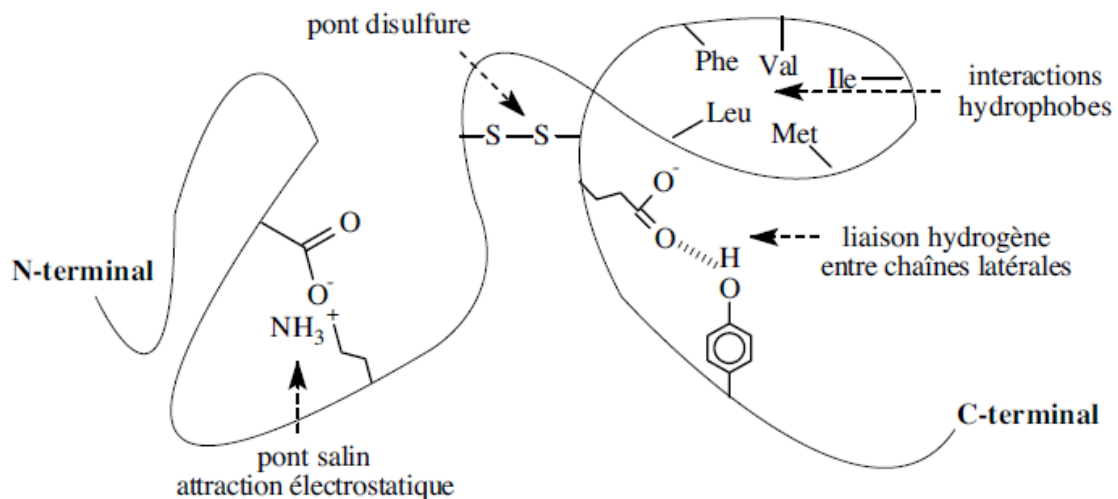
### 8.1.4 La pelote statistique

Certaines régions protéiques ne sont pas structurées dans des conformations périodiques comme l' $\alpha$ -hélice ou le feuillet plissé  $\beta$  : leur forme irrégulière est qualifiée de pelote statistique (random coil). Cette structure n'est pas pour autant inorganisée, elle obéit aux contraintes locales de voisinage.

### 8.2 Structure tertiaire

L'arrangement spatial des structures secondaires locales aboutit à une forme globale spécifique de la protéine maintenue par des interactions qui peuvent être de nature différente :

- liaison covalente : pont disulfure
- liaisons ioniques entre groupements chargés de signe opposé (pont salin)
- interactions électrostatiques entre dipôles permanents et groupements ionisés ou encore entre deux dipôles : les plus répandues sont les liaisons hydrogène
- attractions hydrophobes (force de Van der Waals entre groupes apolaires subissant des forces de répulsion par l'eau, ce qui favorise leur rapprochement)
- interactions des chaînes latérales des résidus avec le solvant : dans l'eau, les chaînes latérales polaires pourront être exposées au solvant, alors que les chaînes latérales apolaires auront tendance à "s'enfouir" dans des poches hydrophobes de la protéine.



Les liaisons ou interactions entre chaînes latérales des résidus, impliquées dans la structure tertiaire des protéines

### 8.3 Structure quaternaire

C'est l'organisation des protomères qui définit la structure quaternaire d'une protéine formée de multimères. De manière très succincte, indiquons que :

- l'association ou la dissociation des protomères permettent à ces protéines d'avoir des fonctions de signalisation ou de contrôle (l'enzyme protéine-kinase dépendante de l'AMP cyclique)
- l'interaction entre les protomères (sous-unités) est un moyen très précis de régulation : phénomène coopératif de fixation de ligands, enzymes allostériques, récepteurs membranaires
- les isoformes des protéines : elles ont les mêmes fonctions, toutefois leur structure est dépendante du tissu soit au niveau du nombre de protomères dans l'association soit une différence au niveau du protomère.