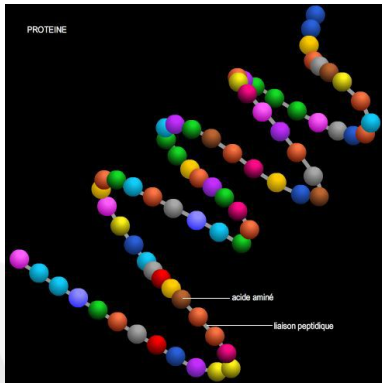


TD2 : structure des protéines



Université tlemcen SNV
BENDAOUD Asme

Dr BENDAOUD Asme

Université Abou Bakr Belkaid

Faculté de Science de Nature
et de Vie et Science de la
Terre et l'Univers

Département de Biologie

Email : *bendaoud.*
asma@yahoo.fr

1.0

29-02-2024

Table des matières

Introduction	3
I - Acides aminés	4
1. Définition	4
2. Classification en fonction de la nature de leur radical	4
3. Propriétés physico-chimique des acides aminés	5
4. Séparation et identification des différents AA	6
II - Peptides	7
1. Définition	7
2. Peptides d'intérêt biologique	7
3. La liaison peptidique	7
4. Détermination de la structure d'un peptide	7
III - Les protéines	9
1. Définition	9
2. Structure spatiale des peptides	9
2.1. Structure primaire	9
2.2. Structure secondaire	9
2.3. Structure tertiaire	10
2.4. Structure quaternaire	11
3. Propriétés des protéines	11
4. Dosage des peptides et des protéines	11
Glossaire	12
Abréviations	13
Références	14

Introduction

Les protéines sont composées principalement de **carbone**, d'**hydrogène**, d'**oxygène** et d'**azoté** ; elles peuvent également comporter du **soufre** et du **phosphore**. Elles sont constituées d'une séquence d'acides a-aminés, ou a-aminoacides. Selon la masse molaire de ces molécules, on distingue :

- Les peptides composés d'un nombre d' α -aminoacide inférieur à 100 ;
- les protéines, composées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques renfermant un grand nombre d' α -aminoacides.

Les protéines représentent le second constituant cellulaire après l'eau. Les fonctions biologiques des protéines sont extrêmement diverses ; elles assurent les fonctions physiologiques essentielles à la cellule et ont aussi un rôle structural.

I Acides aminés

1. Définition

Les acides α -aminés ont pour formule générale $R-CH(NH_2)-COOH$. Ils diffèrent par la nature du radical « R »* ou chaîne latérale et sont au nombre de vingt à entrer dans la composition des protéines. Ils possèdent une fonction amine primaire et une fonction carboxyle fixées sur le même carbone, le carbone α .

Par ailleurs, un certain nombre d'acides aminés naturels n'existe pas dans les protéines ; ce sont des β , γ , δ -aminoacides ou des dérivés des α -aminoacides.

AA NON essentiels chez les mammifères	AA essentiels chez les mammifères
alanine	histidine
arginine	isoleucine
asparagine	leucine
aspartate	lysine
cystéine	méthionine
glutamate	phénylalanine
glutamine	thréonine
glycine	tryptophane
proline	valine
sérine	
tyrosine	

tableau 1 :les acides aminés essentiels et non essentiels

2. Classification en fonction de la nature de leur radical

En fonction des propriétés de leur chaîne latérale, les 20 acides aminés sont regroupés en différentes classes. Ils présentent des propriétés physico-chimiques différentes liées à la nature de leur chaîne latérale. Les acides aminés sont classés en 2 catégories :

1. Les acides aminés non polaires ou hydrophobes

Cette famille contient les acides aminés à chaîne latérale exclusivement :

- Hydrocarbonée aliphatique : Glycine, Alanine, Valine, Leucine, Isoleucine et Proline.
- Aromatique : Phénylalanine et Tryptophane ;
- Contenant du soufre : Méthionine

2. Les acides aminés polaires ou hydrophiles

- Acides aminés neutre : Sérine, Thréonine, Asparagine, Glutamine, Cystéine et Tyrosine.
- Acides aminés basique : Lysine et Arginine, Histidine.
- Acides aminés hydrophile acide : Acide aspartique (ou Aspartate) et Acide glutamique (ou Glutamate)

3. Propriétés physico-chimique des acides aminés

Solubilité

Tous les acides aminés sont solubles dans l'eau mais pas dans les solvants organiques.

Propriétés optiques

Mis à part la glycine, les acides aminés possèdent un carbone asymétrique (C^*) en α de la fonction acide carboxylique est un carbone asymétrique* et sont donc optiquement actifs, avec une forme dextrogyre et une forme lévogyre. Comme pour les oses, il existe deux séries, L et D.

⚠ Attention

Tous les aminoacides constitutifs des protéines, sont de la série L, en sachant que certains micro-organismes tels que bactéries et levures utilisent parfois des acides aminés de la série D.

Propriétés acido-basiques des AA

Les acides α -aminés (AA)* possèdent à la fois des propriétés acides (fonction carboxyle) et basiques (fonction amine): ce sont donc ampholytes*. Ainsi, leur mise en solution entraîne la formation du **ZWITTERION*** [1]*.

En milieu acide, la fonction amine capte le proton et par contre en milieu basique, la fonction acide libère son proton.

Le Zwitterion représente l'espèce de charge globale nulle et constitue l'espèce majoritaire au pH isoélectrique (pHi). Pour les aminoacides possédant plusieurs groupes fonctionnels, on appelle pH isoélectrique celui pour lequel la charge globale est nulle [2]*.

Il est donc possible de doser les différents AA, comme on le ferait pour tout acide ou toute base, et l'analyse de ces courbes de titration peut renseigner sur la structure de l'AA dosé.

Propriétés spectrales

- Les acides aminés possèdent un noyau aromatique (Tyr, Trp et Phe) ont la propriété d'absorber les radiations ultraviolettes.
 1. Les acides aminés aromatiques ont un maximum d'absorption vers 280nm.
 2. Utilisation qualitative et quantitative :
 - Utilisation qualitative : identification de la présence d'acides aminés aromatiques à partir d'un pic d'absorption ayant maximum à 280 nm
 - Utilisation quantitative : dosage d'acides aminés aromatiques à partir d'une simple mesure d'absorbance à 280 nm

4. Séparation et identification des différents AA

La mise en évidence d'un α -aminoacide isolé s'effectue aisément par une réaction colorimétrique avec la **ninhydrine**, qui donne une coloration violette avec les amines primaires alors qu'elle donne une coloration jaune avec les amines secondaires.

L'analyse d'un mélange d'acides aminés nécessite la mise en œuvre de méthodes de séparation : la chromatographie ou l'électrophorèse.

Chromatographie sur résine échangeuse d'ions

Dans une chromatographie d'échange d'ions, les ions sont séparés selon leur charge électrique globale. Les résines utilisées sont des polymères comportant une fonction acide neutralisée sous forme de sel de sodium. En milieu acide ($\text{pH}=3$), l'aminoacide est sous forme cationique. L'échange de cations a lieu entre l'ion de sodium et l'aminoacide. L'étape finale est l'élution : elle consiste à déplacer l'ion déjà fixé par un autre ion de charge, de densité et de concentration plus élevées. Dans une troisième étape, on régénère la résine afin de la rendre de nouveau utilisable.

Chromatographie de partage

Cette technique permet de séparer et d'identifier les AA en fonction de leur degré d'hydrophilie (ou hydrophobie) entre la phase stationnaire et la phase mobile.

Couche mince : on effectue une chromatographie sur gel de silice (phase stationnaire hydrophyle) ou sur papier d'un mélange d'AA avec une phase mobile liquide. Les AA hydrophyles migreront peu, les hydrophobes migreront le plus.

Electrophorèse

L'électrophorèse est une méthode d'analyse qui permet de séparer, sous l'influence d'un champ électrique, des composés ionisés. On fait migrer les AA dans un gel sous l'action d'un champ électrique, et les AA se séparent en fonction de leur pH_i , donc de leur charge.

Remarque

L'électrode négative est parfois appelée cathode et l'électrode positive l'anode.

II Peptides

1. Définition

Un peptide est un enchaînement linéaire d'acides α -aminés associés par des liaisons peptidiques : une fonction amide est formée par réaction entre le groupe carboxyle d'un α -aminé et le groupe amine d'un second acide α -aminé avec une élimination d'une molécule d'eau.

Les chaînes peptidiques sont donc vectorisées et la position des α -aminoacide 1 est celui correspondant à l'extrémité N-terminale .

2. Peptides d'intérêt biologique

Les rôles sont nombreux, mais on peut citer :

- Rôle hormonal ;
- Rôle de messenger chimique local : parahormone ;
- Rôle dans le fonctionnement du système cardiovasculaire, du système nerveux, des fonctions digestives.

3. La liaison peptidique

Les protéines sont formées de l'enchaînement de plusieurs acides aminés. Ils sont liés les un aux autres par des liaisons peptidiques. Il s'agit d'une liaison amide(-CO-NH-) formée entre la fonction acide du premier acide aminé et la fonction amine de deuxième. Par convention, on écrit toujours l'acide aminé qui possède de groupement NH₂ libre à gauche et cet acide aminé portera le numéro 1 [3]*.

4. Détermination de la structure d'un peptide

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

- La détermination de la composition en acides aminés.
- La détermination de l'enchaînement de ces acides aminés.
 1. **Hydrolyse chimique complète** : c'est une hydrolyse acide à chaude (HCl 6M) pour séparer les différents AA constitutifs des peptides. L'hydrolyse acide aboutit à la coupure des liaisons peptidiques et détruit le tryptophane
 2. **Hydrolyse chimique spécifique** : certains réactifs hydrolysent une liaison peptidique avec une spécificité sur un des acides aminés participant à la liaison. Il s'agit de :
 - **Bromure de cyanogène (BrCN)** : hydrolyse la liaison peptidique du côté carboxyle de la méthionine
 - **2-nitro-5-thiocyanobenzoate (NTCB)** : hydrolyse la liaison peptidique du côté amine de la cystéine.
 - **Détermination de l'acide aminé N-terminal d'un peptide** :

1. DNFB ; se fixe sur l'acide aminé N-terminal qui porte la fonction NH₂ libre.
2. Méthode d'EDMAN : réagit avec la fonction aminée N-terminal pour donner un complexe qui après action d'un acide dans des conditions douces libère (PTH-AA).
- **Détermination du C-terminal d'un peptide** : généralement on utilise une dégradation limitée à l'aide des carboxypeptidases.

3. Hydrolyse enzymatique : L'hydrolyse des liaisons peptidiques peut être réalisée par des enzymes protéolytiques (ou protéases ou encore peptidases).

- Exopeptidase : enzyme n'hydrolyse que la première liaison peptidique (aminopeptidase) ou la dernière liaison peptidique (carboxypeptidase) en libérant l'acide aminé terminal.
- Endopeptidase : enzyme hydrolyse des liaisons peptidiques internes entre deux acides aminés 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 :

III Les protéines

1. Définition

Rappel

Les protéines sont des substances de masse molaire élevée qui ont des fonctions très diverses ; par exemple, un rôle structural, enzymatique, ou de messenger. On distingue les holoprotéines constituées uniquement d' α -aminoacides et les hétéroprotéines comprenant également des molécules non protéiques.

Complément

Selon la nature du groupement prosthétique, différentes classes d'hétéroprotéines sont distinguées :

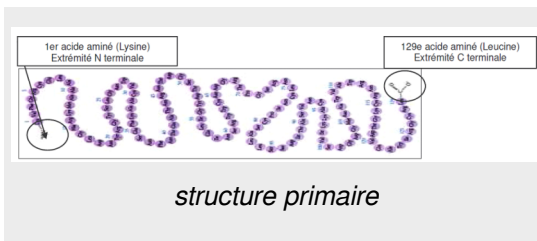
- Phosphoprotéines : qui sont des esters phosphoriques des protéines. Elles peuvent constituer des éléments de structure ou de contrôle, des substances de réserve
- Chromoprotéines : dont le groupement prosthétique renferme un ion métallique et qui sont colorées.
- Les principales sont les hémoglobines Lipoprotéines : dont les principales servent au transport des lipides dans le plasma.

2. Structure spatiale des peptides

Une protéine est un enchaînement linéaire d'acides α -aminés reliés par des liaisons peptidiques. La chaîne polypeptidique adopte une forme spécifique, un arrangement tridimensionnel, dans lequel interviennent trois ou quatre niveaux d'organisation.[4]*

2.1. Structure primaire

L'enchaînement linéaire par liaisons peptidiques des acides α -aminés constitue la structure primaire de la protéine. Chaque acide aminé est affecté d'un numéro d'ordre qui définit sa place dans la séquence à partir du N terminal.



2.2. Structure secondaire

Elle désigne l'arrangement spatial de la chaîne protéique. La formation de liaisons hydrogènes entre les groupes carbonyles $-CO-$ et les groupes $-NH-$ des liaisons peptidiques lui donne un aspect régulier.

⚠ Attention

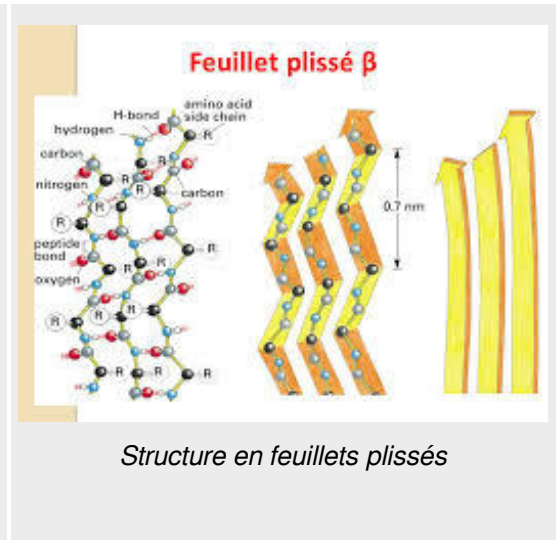
Bien qu'un grand nombre de possibilités s'offrent pour la formation des liaisons hydrogènes, seuls quelques types de structure secondaire sont rencontrés. Ils correspondent à des configurations préférentielles, ou les contraintes stériques sont les plus réduites.

2.2.1. Structure en feuillets plissés

Elle est encore nommée «configuration β » ou «structure étirée».

Il s'agit de la succession des plans peptidiques, qui constituent un feuillet plissé, la rendant comparable à un mètre d'architecte. Les liaisons hydrogènes sont intercaténaïres, permettant ainsi l'association des chaînes protéiques soit de façon parallèle, soit de façon antiparallèle.

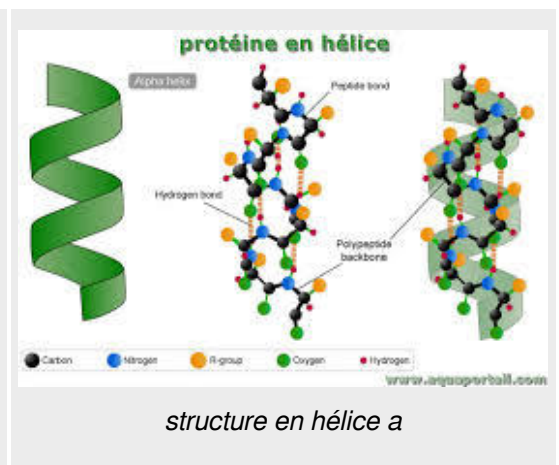
Dans le feuillet β parallèle, les chaînes sont dans le même sens et parallèles entre elles. Les liaisons hydrogènes sont alors déformées. Dans le feuillet β antiparallèle, les chaînes sont de sens opposé et parallèles entre elles. Cette structure est plus stable car les liaisons hydrogènes ne sont pas déformées.



2.2.2. Structure en hélice α

L'enroulement de la chaîne peptidique forme une spirale stabilisée par les liaisons hydrogènes intercaténaïres. Tous les radicaux sont alors dirigés vers l'extérieur de l'hélice, orientés radialement par rapport à l'axe de rotation, ce qui facilite les interactions avec les molécules d'eau environnantes.

Elle est stabilisée dans sa forme hélicoïdale par des ponts hydrogènes établis entre l'hydrogène d'un groupement aminé et l'oxygène d'un groupement carboxylique et situé quatre résidus plus loin (donc entre 1 AA et 5 AA).



2.3. Structure tertiaire

Dans une protéine, la structure tertiaire décrit l'arrangement tridimensionnel de tous les acides aminés situés dans la chaîne polypeptidique. Il s'agit d'une conformation native, maintenue par de multiples liaisons essentiellement non covalentes et principalement construites à partir des radicaux des aminoacides. Citons par ordre de stabilité décroissante :

- Des liaisons covalentes par pont disulfure entre 2 résidus cystéine.
- Des interactions électrostatiques entre groupements de charges opposées ($-\text{NH}_3^+$ et $-\text{COO}^-$),
- Des interactions de van der Waals entre radicaux hydrophobes.

pour voir la vidéo cliquer *ici*

2.4. Structure quaternaire

Certaines protéines sont des oligomères, c'est -à-dire formées par l'association de sous-unités appelées protomères. L'activité biologique est liée à cette association et elle disparaît si on la rompt.



structure quaternaire

3. Propriétés des protéines

- **Solubilité** : la solubilité des protéines dans leur solvant varie selon leur composition et leur structure. Elle peut être modifiée par l'influence de divers facteurs (température, pH, constante diélectrique, électrolytes)
- **Ionisation** : les protéines sont des amphotères. Elles sont séparables par chromatographie sur échangeurs d'ions et électrophorèse.
- **Absorption de la lumière** : quand on projette un faisceau lumineux très fin sur une solution, une partie de la lumière est diffusée dans toutes les directions. le rapport de l'intensité de la lumière est diffusée sur celle de la lumière incidente est d'autant plus grand que les particules dissoutes sont plus nombreuses et plus volumineuses. On peut donc calculer le poids moléculaires d'une protéine en solution[5]^{*}.

4. Dosage des peptides et des protéines

Méthodes spectrophotométrique

Absorbance caractéristique des protéines à 280 nm (acides aminés aromatiques). L'absorbance de protéines à 280 nm varie d'une protéine à l'autre en fonction du pourcentage d'acides aminés aromatiques.

Glossaire

ampholytes

Les acides aminés possèdent à la fois une fonction acide faible (COOH) et une fonction base faible (NH₂), ce sont des ampholytes ou molécules amphotères.

carbone asymétrique

un carbone est dit asymétrique, centre chiral, ou stéréocentre lorsque ses quatre substituants sont différents.

ZWITTERION

Un zwitterion est une molécule globalement neutre, qui comporte une charge positive et une charge négative

Abréviations

AA : Acide Aminé

R : Radical

Références

- 1 Norbert Latruffe, Françoise Bleicher-Bardelett, Bertrand DucloS et Joseph Vamecq, 2014- Biochimie. Ed. Dunod, Paris.
- 2 Branden. C, Tooze. J ; Introduction to protein structure, 2nd ed. ; Garland Publishing, 1999.
- 3 Petsko. G, Ringe. D ; Structure et fonction des protéines, 1st ed. ; De Boeck, 2009.
- 4 Cathérine Baratti-Elbaz et Pierre Le Maréchal, 2015- Biochimie. Ed. Dunod, Paris, 1
- 5 Bret Lydie et Delcamp Clément . Biochimie structurale. Ed. Ellipses, 2020