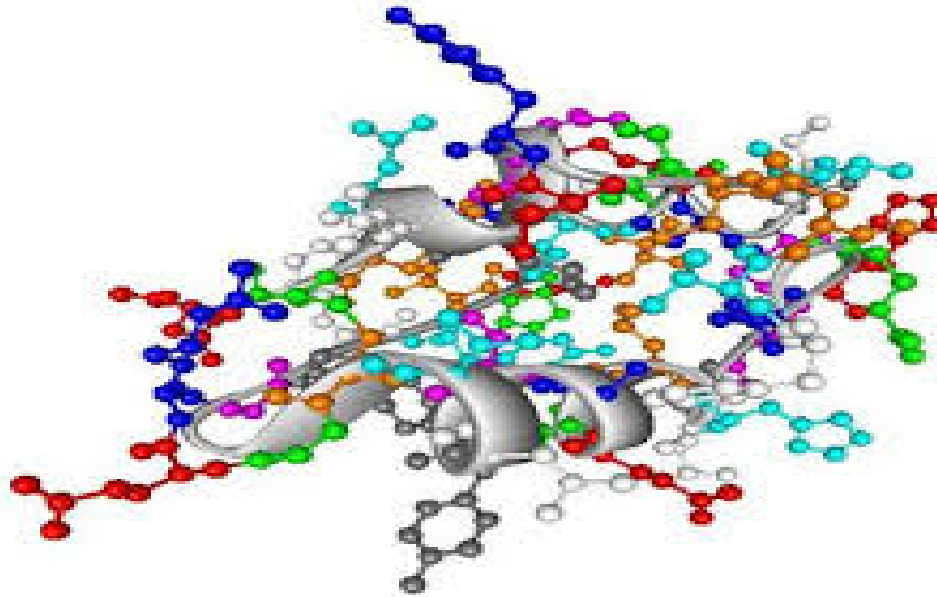


Structure et Métabolisme des Aminoacides et des Protéines



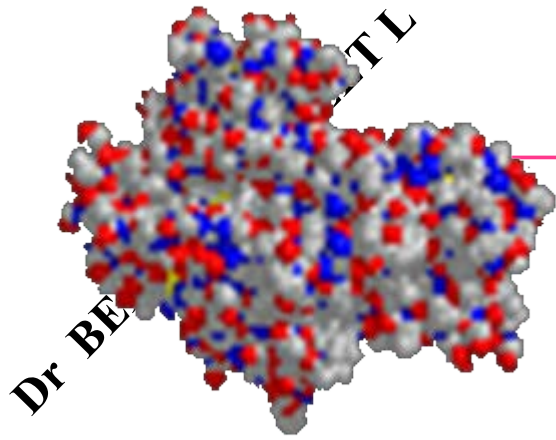
*Biochimie 2^{ème} année LMD, Université Oran1 Ahmed BENBELLA
Dr BENSAPHLA TALET L*

1. Les α -aminoacides

1.2. Généralités

- ⊙ Les protéines sont les biomolécules les plus abondantes car elles représentent 50 % du poids sec d'une cellule.

- ⊙ Elles sont aussi très diverses :
 - Catalyseurs et régulateurs: les enzymes
 - Hormones
 - Hémoglobine
 - Réponse immunitaires: les anticorps
 - Rôle de défense ou d'attaque: toxines
 - Rôle Nutritif

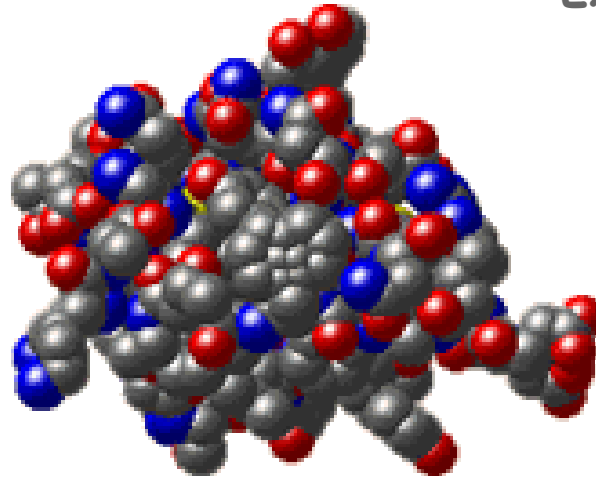


Dr BE

ET L

Hexokinase

Insulin
 $C_{254}H_{377}N_{65}O_{76}S_6$

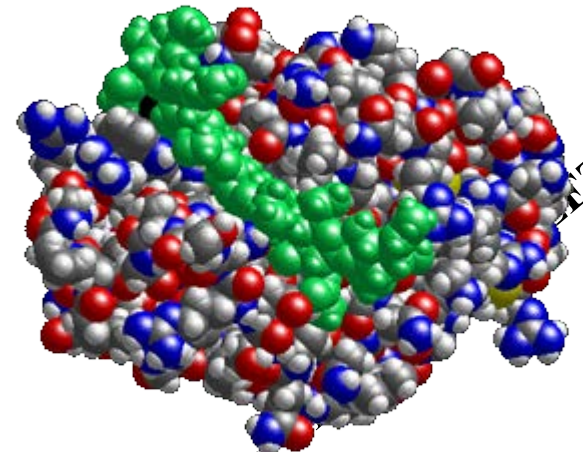


Insuline

EXEMPLES DE PROTÉINES

Rappels

Les protéines sont des macro-molécules



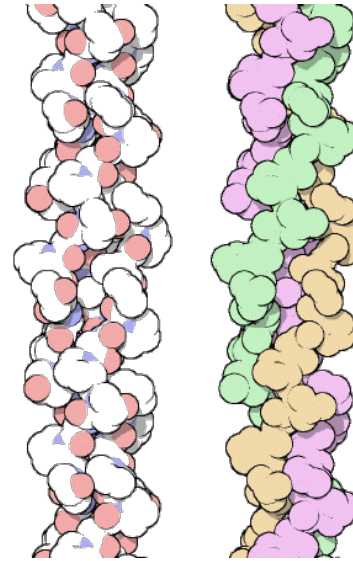
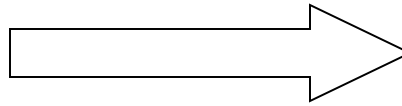
Dr
Lysosyme

ET L

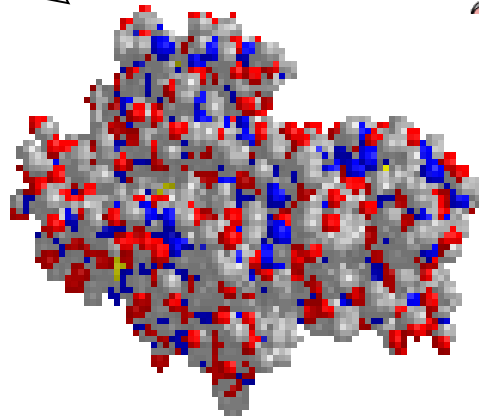
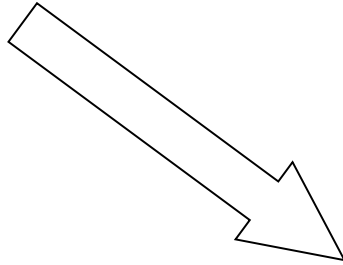
2- LA STRUCTURE FINALE D'UNE PROTÉINE PEUT ÊTRE :

Dr BENSAPHLA TALET

- soit fibreuse



- soit globulaire



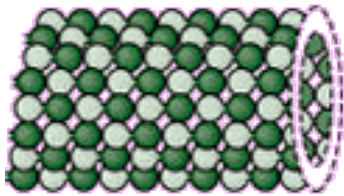
elles peuvent donc avoir des rôles différents dans l'organisme

Dr BENSAPHLA TALET

1. STRUCTURE

1. RÉGULATION
2. MOUVEMENT
3. TRANSPORT
4. IMMUNITÉ
5. RÉCEPTEUR ET TRANSPORTEUR MEMBRANAIRE
6. MÉTABOLISME

- Les protéines peuvent former des **fibres** ou des **tubes** qui peuvent s'assembler pour former des structures solides.



microtubule

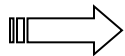


microfilament



intermediate filament

le collagène et la kératine



- Le collagène forme la peau (derme), les tendons, les ligaments, l'armature des os, etc. C'est la protéine la plus abondante de l'organisme.
- Kératine : forme les ongles, la couche cornée de la peau, les plumes, les écailles, les sabots, etc.

1. Les α -aminoacides

1.2. Généralités

Dr BENSABHA TAÏET

Plus 300 aminoacides différents ont été décrits dans la nature, seulement 20 ont été communément retrouvés en tant que constituants des protéines de mammifères. [les seuls codés génétiquement].

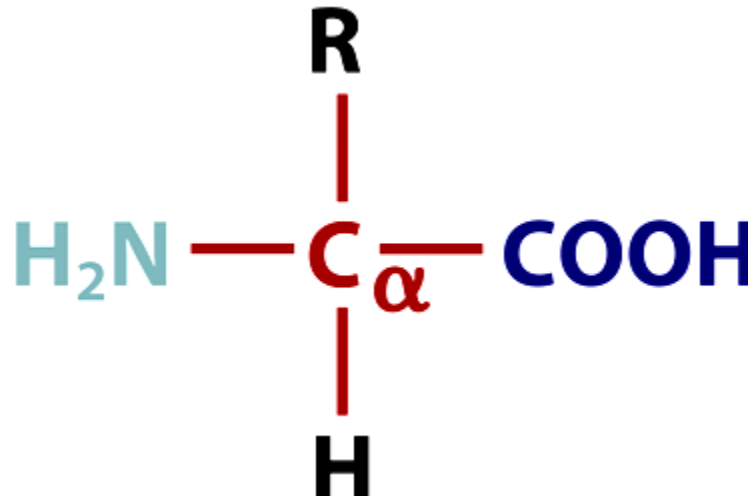
⊙ Toutes les protéines sont formées de 20 acides aminés standards. Ces derniers sont des α -aminoacides, car, à l'exception de la proline, ils présentent un groupement amine primaire et un groupement acide carboxylique substitués sur le même atome de carbone et une chaîne latérale distinctive (chaîne-R) liée au carbone α .

1. Les α -aminoacides

1.3. Définition

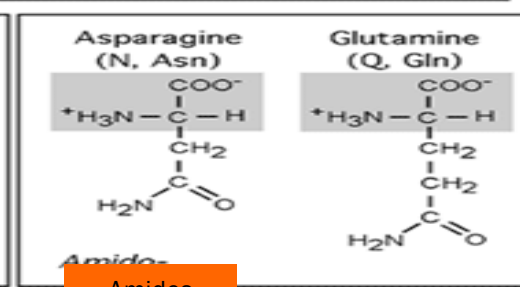
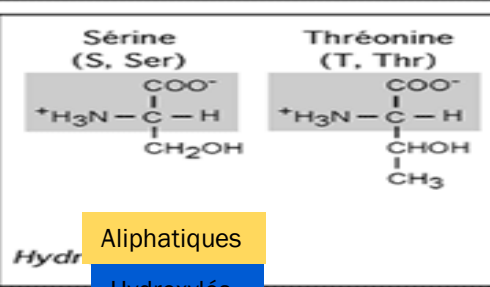
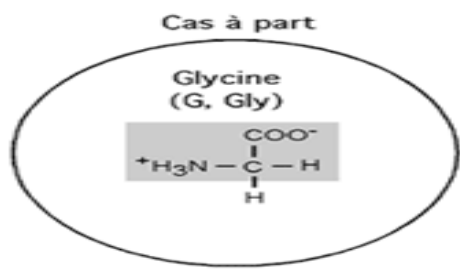
Dr BENSABHA TALET L

⊙ Formule générale

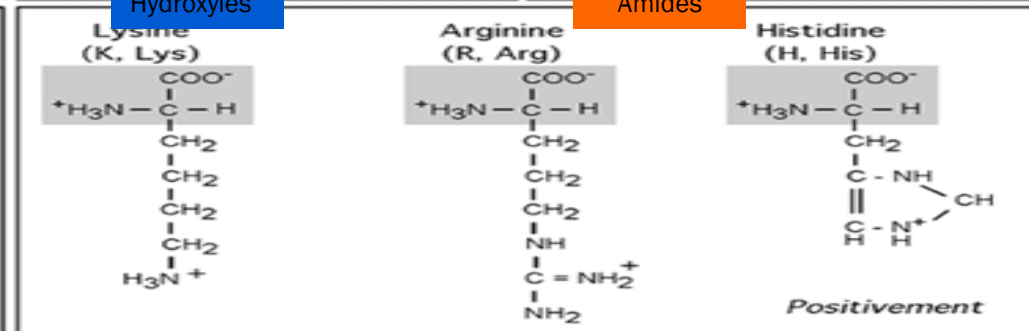
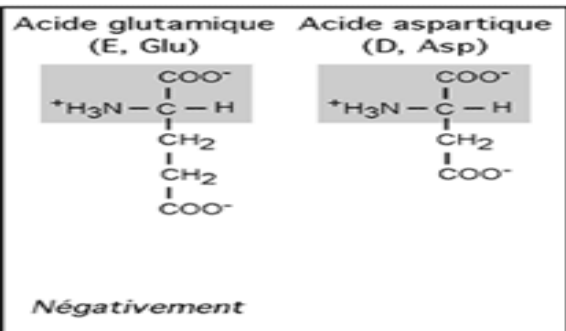


⊙ un carbone tétraédrique chiral $\mathbf{C_{\alpha}}$ est uni à un carboxyle $-\mathbf{COOH}$ (acide), une amine primaire $-\mathbf{NH_2}$ (base), un hydrogène $-\mathbf{H}$ et une chaîne latérale $-\mathbf{R}$ (*neutre et parfois chargé*) propre à chaque α -aminoacide

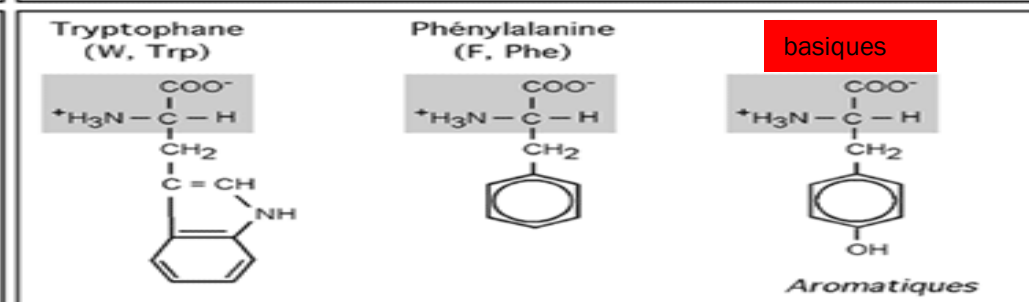
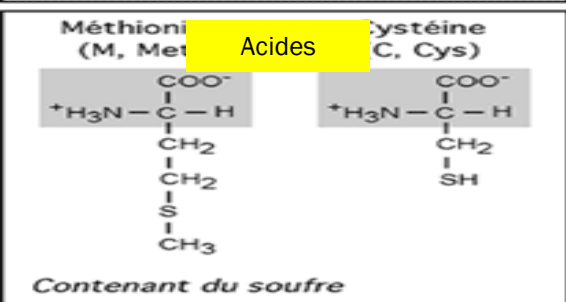
Dr BENSABHA TALET L



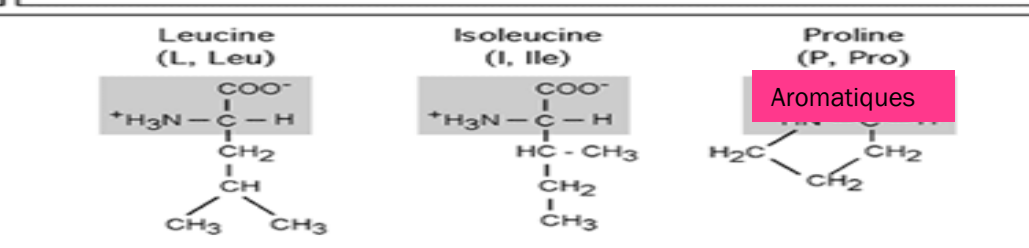
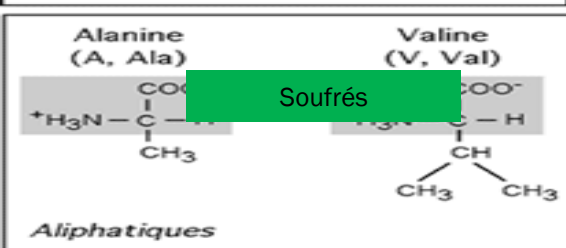
Polaires et non-chargés



Polaires et chargés



Non-polaires



Non-polaires

Important: la formule des AA est à apprendre car très utilisée en cours et en TD: **Surtout** Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Lys, Arg, Asp, Glu, Ser, Thr

Dr BENSABHA

1. Les α -aminoacides

1.3. Définition

⊙ Au pH physiologique (\approx pH 7,4), le groupement carboxylique est dissocié, formant ion carboxylate chargé négativement ($-\text{COO}^-$), et le groupement amine protoné ($-\text{NH}_3^+$).

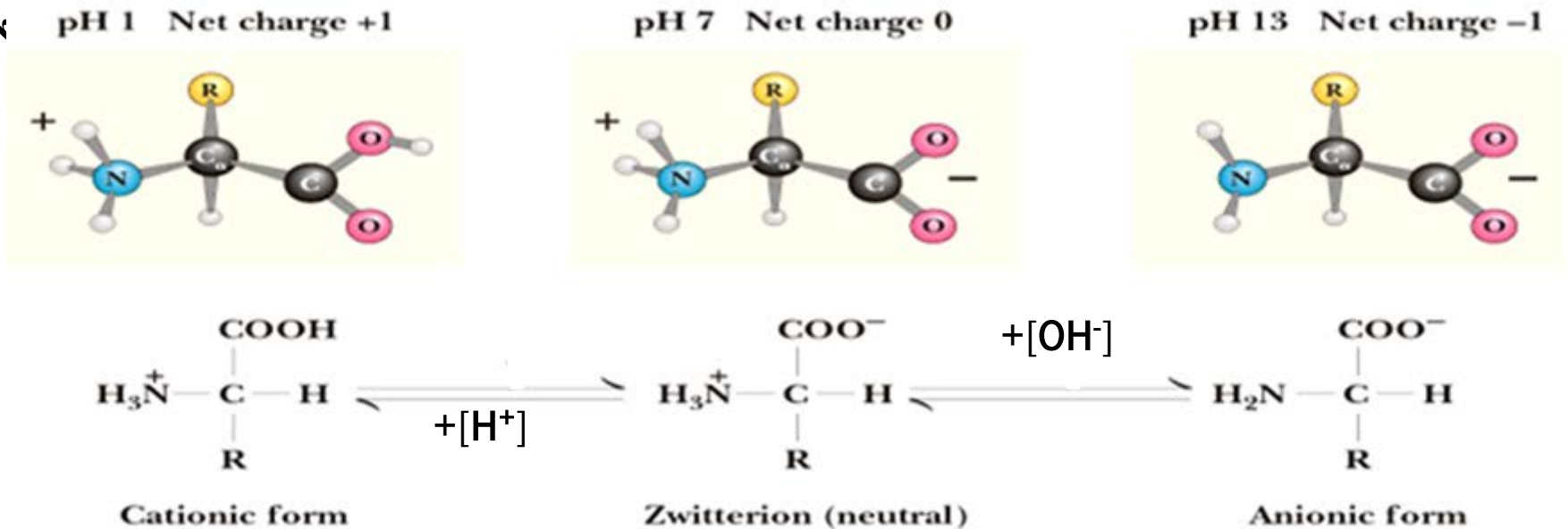
⊙ Dans les protéines, la majorité des groupements **carboxyle** et **amine** sont impliqués dans des liaisons **peptidiques**.

1. Les α -aminoacides

1.6. Ionisation, effet du pH

- Les acides aminés sont des molécules amphotères: Ils peuvent agir comme des acides et comme des bases.

Dr



- Ils existent à l'état de zwitterions (**charges positives** et **négatives** par leurs groupements carboxylique chargé négativement et aminé, chargé positivement et par les groupements ionisables de leurs chaînes latérales.

- le zwitterion est une forme neutre qui possède autant de charges positives que de charges négatives

Dr BENSARHA TALET

2. Protides et protéines

2.1. Définition

Dr BENSABLA TALET L

- ⊙ Enchaînement d'acides aminés

- ⊙ Chaque acide aminé est aussi appelé un résidu

- ⊙ 2 résidus = dipeptide, 3 résidus = tripeptide

- ⊙ Moins de 20 résidus = oligopeptide

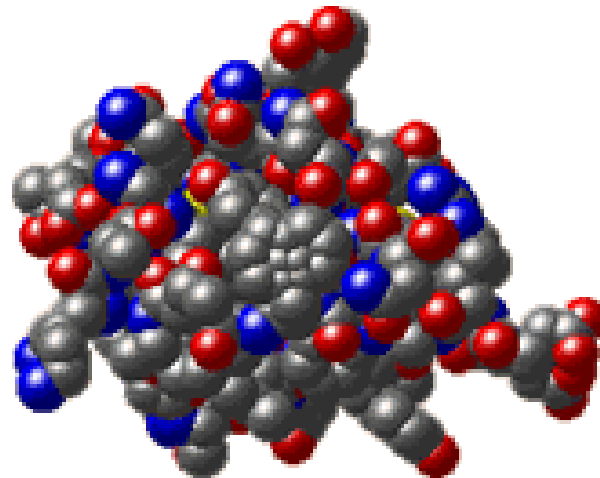
- ⊙ 20-100 résidus = polypeptide

- ⊙ au-delà de 100 = protéine

Dr BENSABLA TALET L

STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DES PROTEINES (3D)

Insulin
 $C_{254}H_{377}N_{65}O_{76}S_6$



2. Liaisons et interactions chimiques des protéines

2.1. Les liaisons de covalence

Ces liaisons solides résultent du partage d'électrons entre deux atomes. Il en existe 4 types différents.

1-La **liaison peptidique** -CO-NH- est la liaison responsable de la formation du squelette carboné, de la **structure primaire** des protéines. C'est une liaison amide formée entre la fonction α carboxylique d'un acide aminé et la fonction α aminée d'un autre aminoacide.

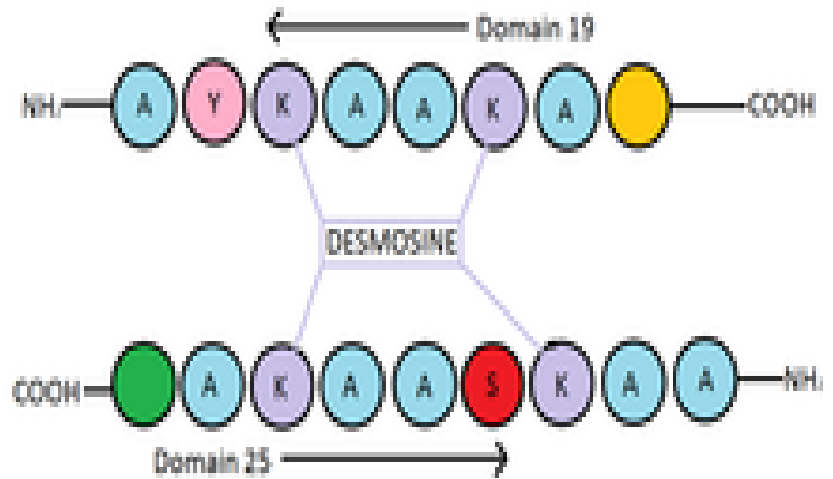
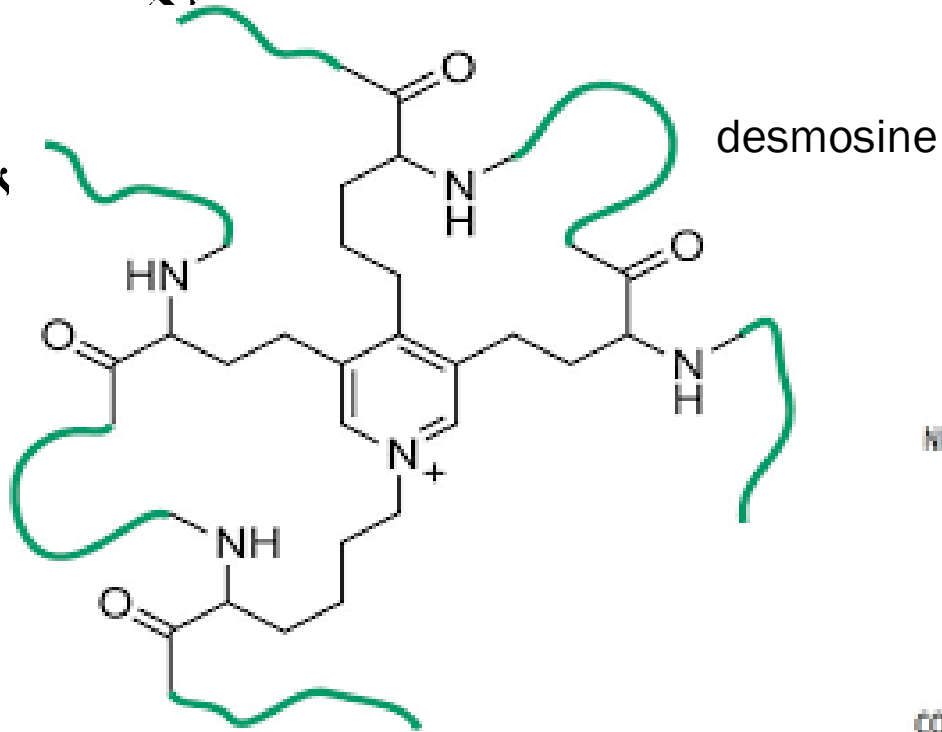
2-La **liaison carbone-carbone** -CH-CO existe en fait dans les acides aminés composant la protéine mais joue un rôle dans la formation du squelette.

3-Les **ponts disulfures** sont retrouvés en abondance dans les protéines et sont caractéristiques de la **structure tertiaire** des protéines globulaires. On les rencontre fréquemment dans les protéines fibreuses. Le pont s'établit (facultativement) entre deux cystéines et est rompu sous l'action du mercapto-éthanol.

4-Les **ponts desmosines** relient 4 molécules de **lysine**. Caractéristiques de l'élastine, ils se forment grâce à la lysyl-oxydase.

Dr. A. TALET L

Dr



K=Lysine

Dr. BENSÄHLA

L

2.2. Les liaisons ioniques

Les **liaisons ioniques** sont des *liaisons faibles* résultant de l'attraction entre deux groupes polaires de charges opposées. On rencontrera donc ces liaisons entre le groupe carboxylique d'un acide aminé acide (glutamate ou aspartate) et le groupe azoté d'un acide aminé basique (lysine, histidine, arginine). (exp: NH_3^+ COO^-)

Ces liaisons peuvent s'effectuer au sein d'une même chaîne, repliant le polypeptide. Ces liaisons sont les plus fortes après les liaisons covalentes. Elles dépendent du pH et des concentrations en sel. Elles ont une importance certaine dans les liaisons entre la protéine et d'autres molécules.

2.3. Les liaisons hydrogènes

Deux atomes électro-négatifs se partagent inégalement un atome d'hydrogène. Un atome est lié par covalence à l'H, c'est l'atome donneur. L'autre atome est l'atome accepteur.

Généralement on observe cette liaison entre les éléments de deux liaisons peptidiques. On les trouve également associant les radicaux des acides aminés polaires.

Elles sont faibles et instables mais ces défauts sont compensés par leur très grand nombre qui leur permet d'avoir un rôle essentiel dans le maintien de la structure secondo-tertiaire. Les liaisons hydrogènes gagnent en puissance quand les trois atomes sont alignés sur un même axe.

2.4. Forces de Van der Walls

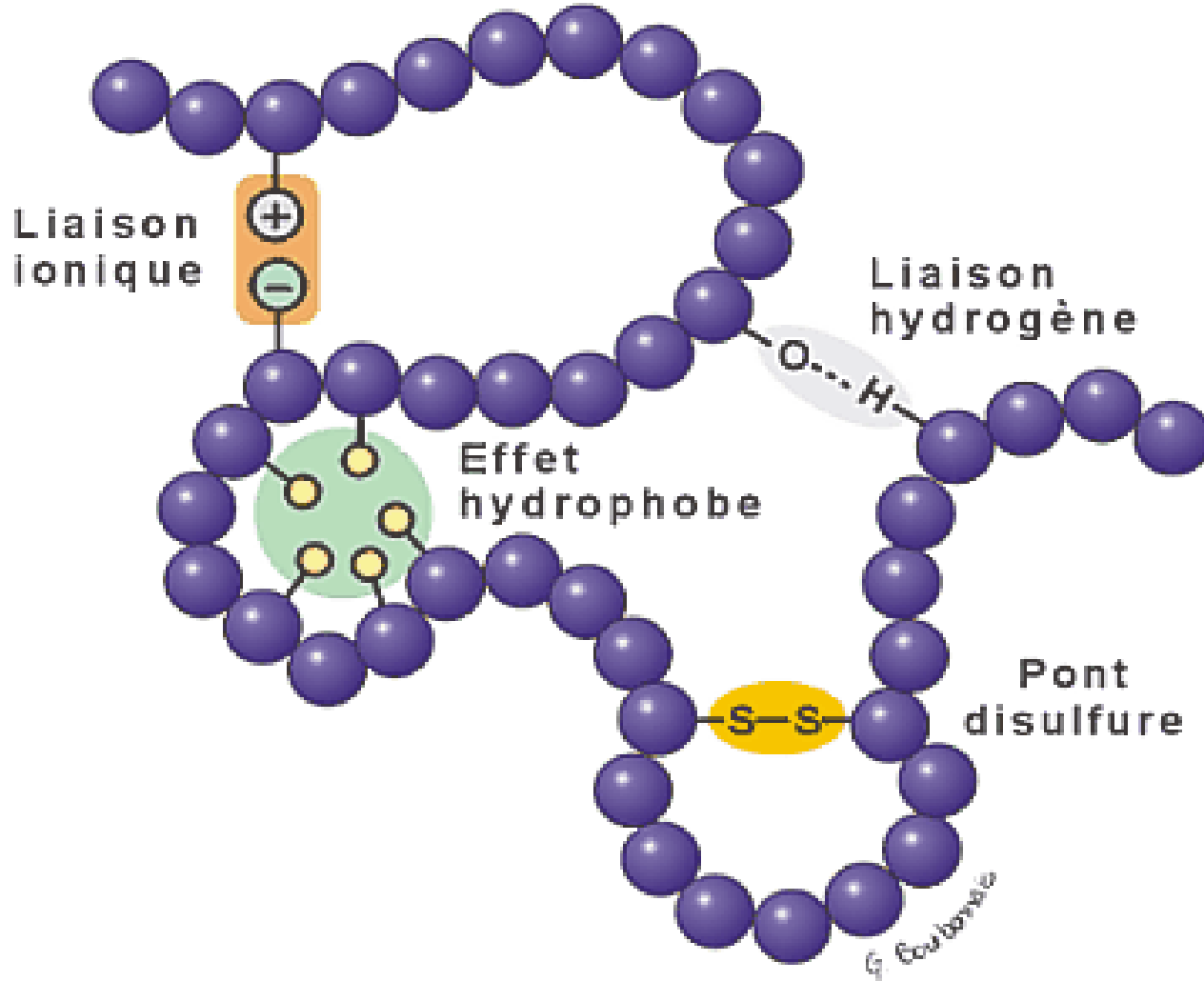
Cette liaison se fait pour n'importe quel atome mais nécessite une distance entre atomes faible : moins de 5 angström (10^{-10}m). Chaque atome présente des fluctuations électroniques temporaires faisant de lui un dipôle transitoire.

Ceci explique que deux atomes, même neutres, peuvent développer une interaction faible, la force d'attraction de Van der Walls. Leur faiblesse est compensée par leur nombre considérable, notamment lors de l'ajustement de deux surfaces macro-moléculaires.

2.5 Interactions hydrophobes

Elles s'effectuent entre deux molécules non polaires. En présence d'eau, celles-ci auront tendance à s'associer pour exclure l'eau.

Par exemple dans les protéines globulaires solubles, la **zone hydrophobe** (les groupements apolaires) est enfouie à l'intérieur de la molécule, excluant l'eau. Ce phénomène stabilise les structures tertiaires.



3. Structure de protéines

3.1. Structure primaire

Elles naissent toutes de la grosse sous-unité 60S d'un ribosome sous la forme d'un enchaînement linéaire d'acides aminés. C'est la structure primaire dûe aux liaisons peptidiques.

Par la diversité des forces attractives et répulsives des éléments de la chaîne, cette structure va évoluer en structure secondaire (aboutissement des protéines fibreuses),

en structure tertiaire (obligatoire pour les protéines globulaires), voire en structure quaternaire. *In fine*, cette évolution tridimensionnelle amène à une conformation spatiale spécifique : la protéine native.

Une protéine est une chaîne de plusieurs acides aminés.



3.1. Structure primaire

La **liaison peptidique**, forte, en est responsable. Elle présente des atomes adjacents dans un même plan d'où le fait qu'elle soit **coplanaire**. Elle possède un caractère de double liaison partielle par résonance entre deux formes. Ceci lui conféré une rigidité presque complète.

Les rotations sont absentes et il existe donc deux conformations possibles pour la liaison: **cis** ou **trans**. C'est la conformation **trans** qui est observée car favorisée énergétiquement.

On comprend donc aisément que le **squelette axial** est non spécifique d'une protéine mais que c'est une structure commune.

Ce qui confère son identité à une protéine est l'ensemble des chaînes latérales des **acides aminés protéinogènes** la composant. Cet ensemble constitue la signature de la protéine.

3.2. Structure secondaire

3.2.1. L'hélice α droite

Elle est présente aussi bien dans les **protéines fibreuses** que dans les **protéines globulaires**. Elle caractérise la kératine α ainsi que le **fibrinogène** et la **myosine**.

Cette **forme hélicoïdale** est le résultat de liaisons chimiques intra-moléculaires conduisant à cette structure d'escalier en spirale.

Cette forme hélicoïdale a un pas à droite de 0,54 nm. Sa stabilité est assurée par :

des liaisons hydrogène qui se constituent entre des groupements C=O et NH distants de 4 acides aminés. ces liaisons ont une inclinaison de 30°.

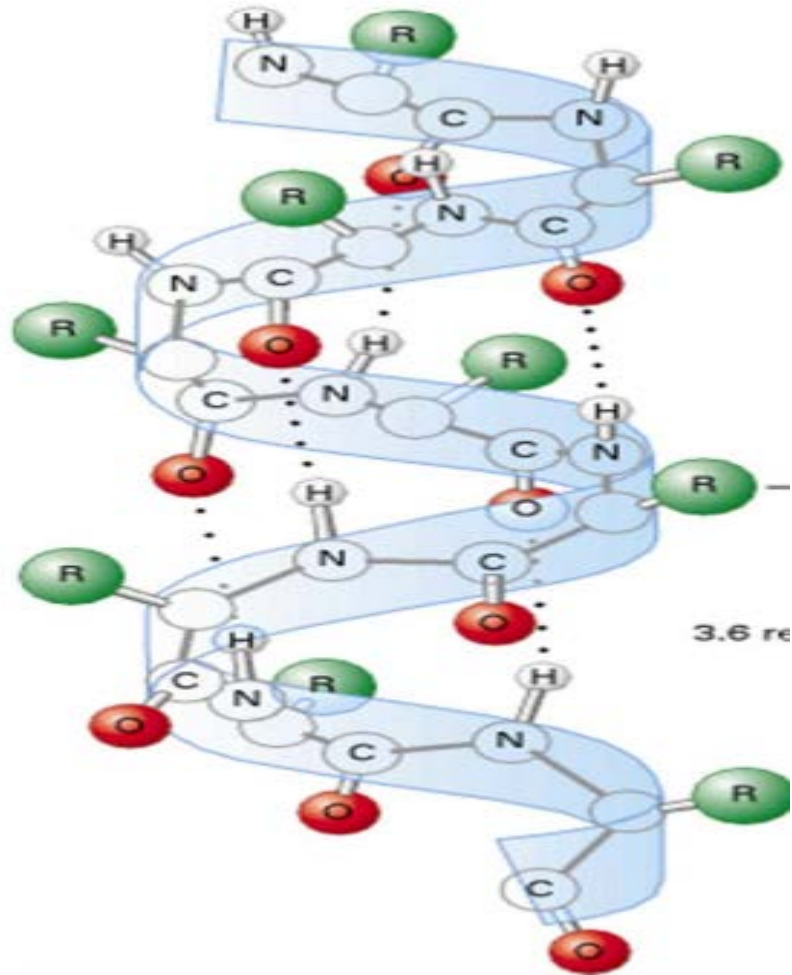
En un tour d'hélice on dénombre **3,66** aminocides soit **18** acides aminés en **5 tours**.

* une **hélice α** est constituée de **5** à plus de **40** acides aminés.

* Les acides aminés favorisant la formation d'hélice α sont **Ala, Glu, Leu, Met**.

* Les acides aminés mauvais formateurs sont **Pro, Gly, Tyr, Ser**.

* Les hélices α peuvent être **hydrophiles, amphipathique** ou encore **hydrophobe**. Cela dépend de la composition en acides aminés de l'hélice.



Ainsi, si l'hélice α ne comporte que des **aminoacides hydrophobes**, elle va se placer en contact avec des surfaces hydrophobes, comme la bicouche lipidique.

Si les résidus hydrophobes sont sur une face et les résidus hydrophiles sur l'autre face, l'hélice α sera amphipatique (ou **amphiphile**). C'est-à-dire qu'on le trouvera *à l'interface de zones hydrophiles et hydrophobes.*

3.2.2. Le feuillet plissé β

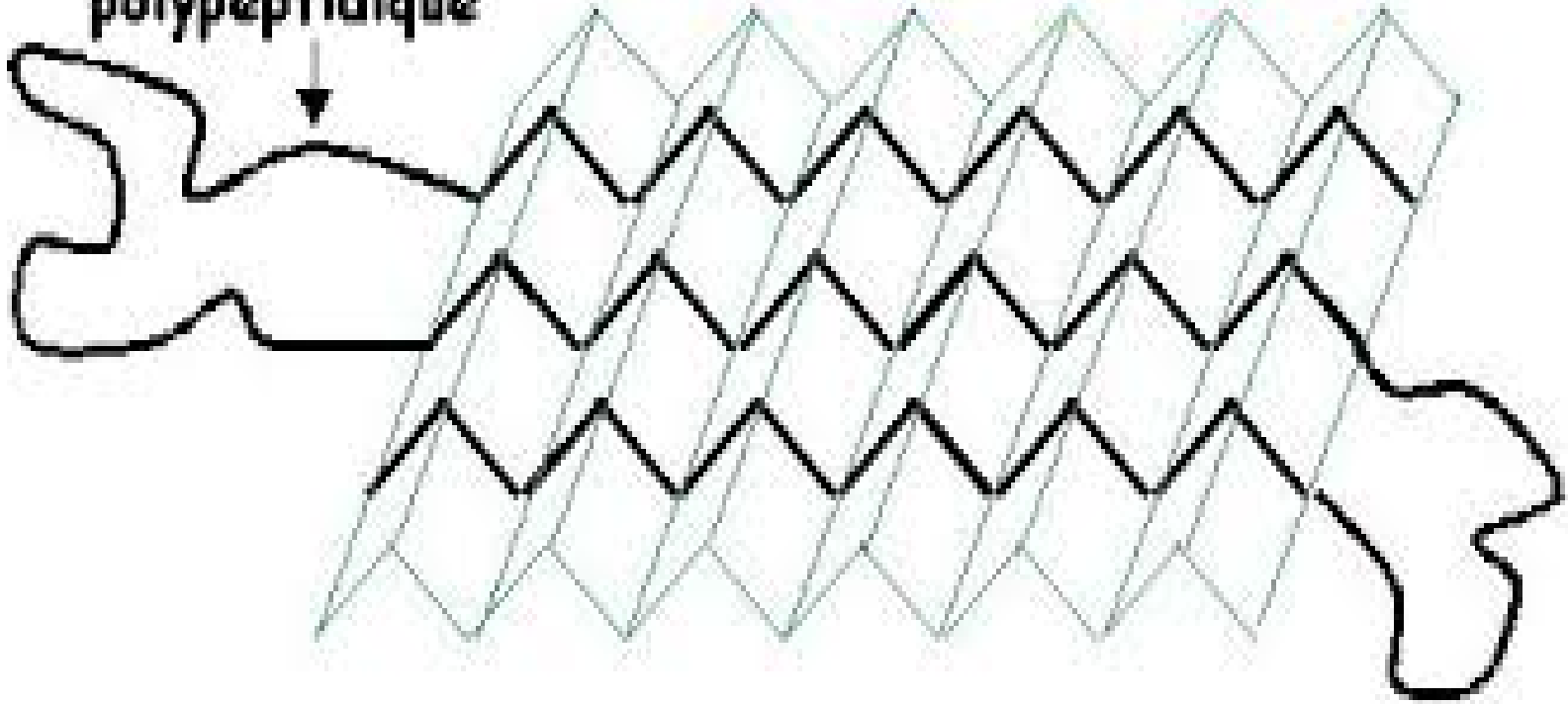
Il est constitué de la juxtaposition de brins β , chaîne de conformation très étirée. Les chaînes sont présentées en "feuillet plissé". Les liaisons peptidiques participent à cette réticulation et il existe de très nombreuses liaisons hydrogènes entre les brins.

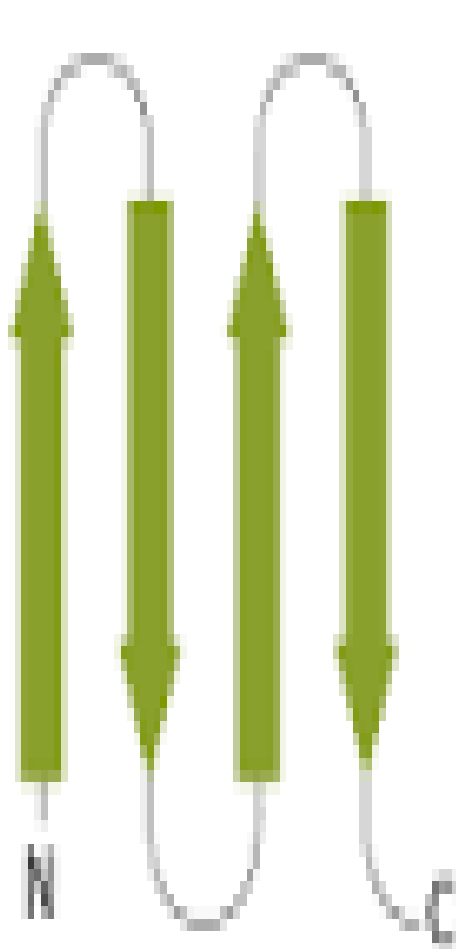
Les brins, au sein d'un feuillet, peuvent être **parallèles** ou **antiparallèles**. Ce dernier type de feuillet est plus stable car les liaisons hydrogènes sont dans un alignement parfait.

Sont très souvent présents dans les feuillets β : Gly, Val, Ile (3 acides aminés apolaires).

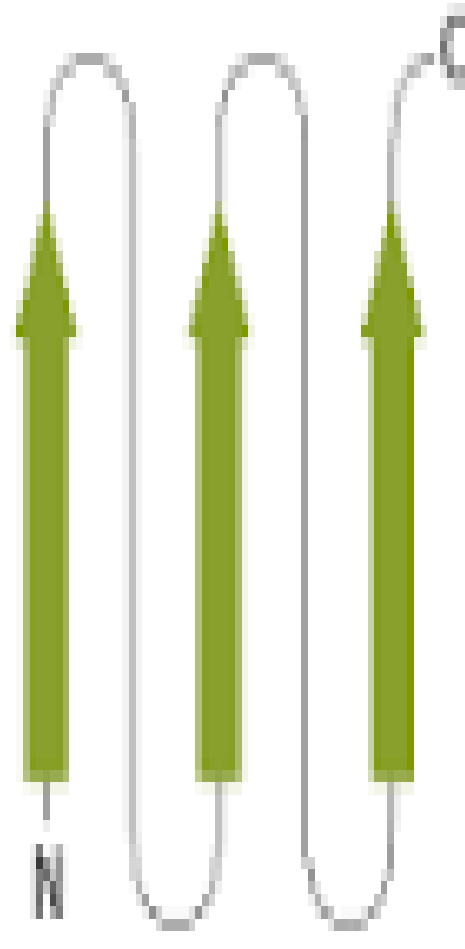
Chaîne polypeptidique

FEUILLETS Béta





Anti-Parallèles



Parallèles

3.2.3 Les boucles et les coudes (ou tours)

A peu près un tiers des acides aminés d'une protéine font partie de **boucles** ou **coudes** permettant les demi-tours de la chaîne peptidique. Les coudes lient généralement deux brins **β antiparallèles**. Ils comportent **2 à 4** aminoacides, sont donc courts. Pour les stabilisés, il peut y avoir un pont hydrogène entre le premier et le quatrième acide aminé. Les acides aminés bons formateurs de coudes sont **Gly** et **Pro**.

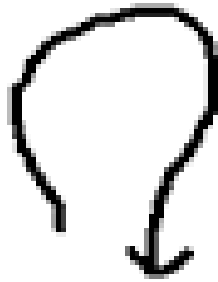
Les **boucles** sont plus longues et comportent donc plus de **4 acides aminés**. Elles permettent donc plus de conformations possibles. Tous les aminoacides des boucles ne participent pas à des liaisons hydrogène intramoléculaires. Généralement,

on trouve des boucles entre : des **hélices α** , des **hélices α** et des **brins β** , des **brins β parallèles** ou de **feuilletés différents**. Les *facteurs de transcription* comportent un motif très particulier : ***hélice-boucle-hélice***.

coude



boucle



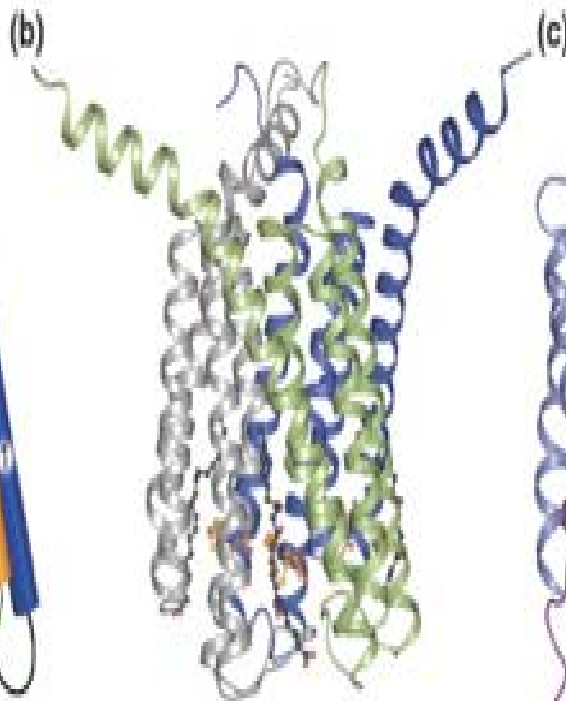
pelotte



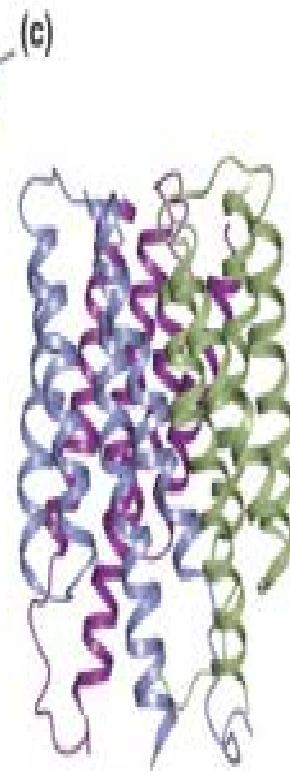
3.3. Structures super-secondaires

Elles ne concernent *facultativement* que les **protéines globulaires**. Celles-ci sont souples et possèdent des activités très diverses. Les **structures** (ou motifs) **super-secondaires** correspondent à des associations caractéristiques de feuillets et hélices fréquentes.

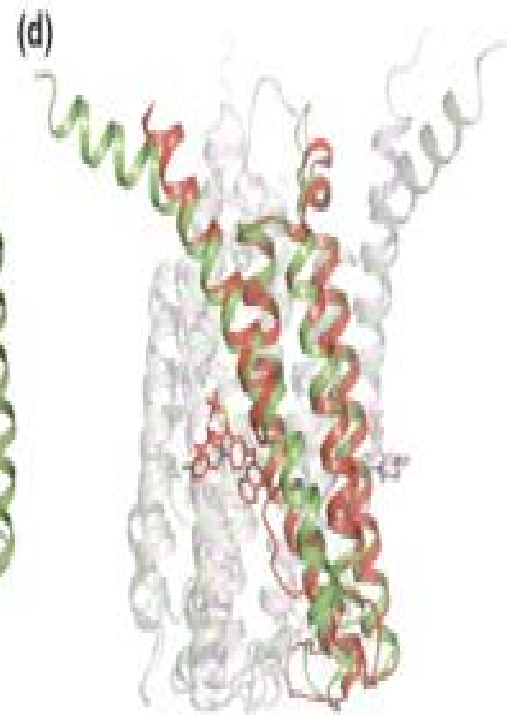
Le motif de "main EF" de la **calmoduline** est un motif supersecondaire hélice-boucle-hélice. La boucle va loger un atome de calcium. Certaines propriétés biologiques sont liées à ces structures. Citons également: le **motif de clé grecque** (4 brins β), la **fermeture éclair de Leucine** (2 hélices α), le motif **doigt de zinc** (1 boucle, un atome de zinc, 2 Cys + 2His ou 4 Cys), le motif **brin β - hélice α - brin β** .



LTC4 synthase



MGST1



FLAP

3.4. Structure tertiaire

Elle ne s'applique obligatoirement qu'aux protéines globulaires. Cette structure tridimensionnelle très compacte, enroulée comporte les structures secondaires précédemment vues et des segments sans structure secondaire. On retrouve donc également les **interactions ioniques**, les **interactions hydrophobes** (fortes au centre de la protéine), les liaisons hydrogènes stabilisant les repliements, les forces de Van der Waals, les ponts disulfures.

Ces derniers se créent après achèvement du repliement tridimensionnel de la protéine et ont un *rôle prépondérant dans le maintien de la structure tertiaire*. La structure tertiaire d'une protéine globulaire est sa conformation tridimensionnelle biologiquement active. Le repliement d'une protéine est ce qui relie le génome à la fonction

Ceci nous amène à définir la notion de **domaines**. Les domaines sont des sous-unités compactes. Elles sont liées par des séquences peptidiques généralement courtes et sans structure secondaire. Ces domaines sont presque "indépendants" du reste de la structure tertiaire de la protéine globulaire.

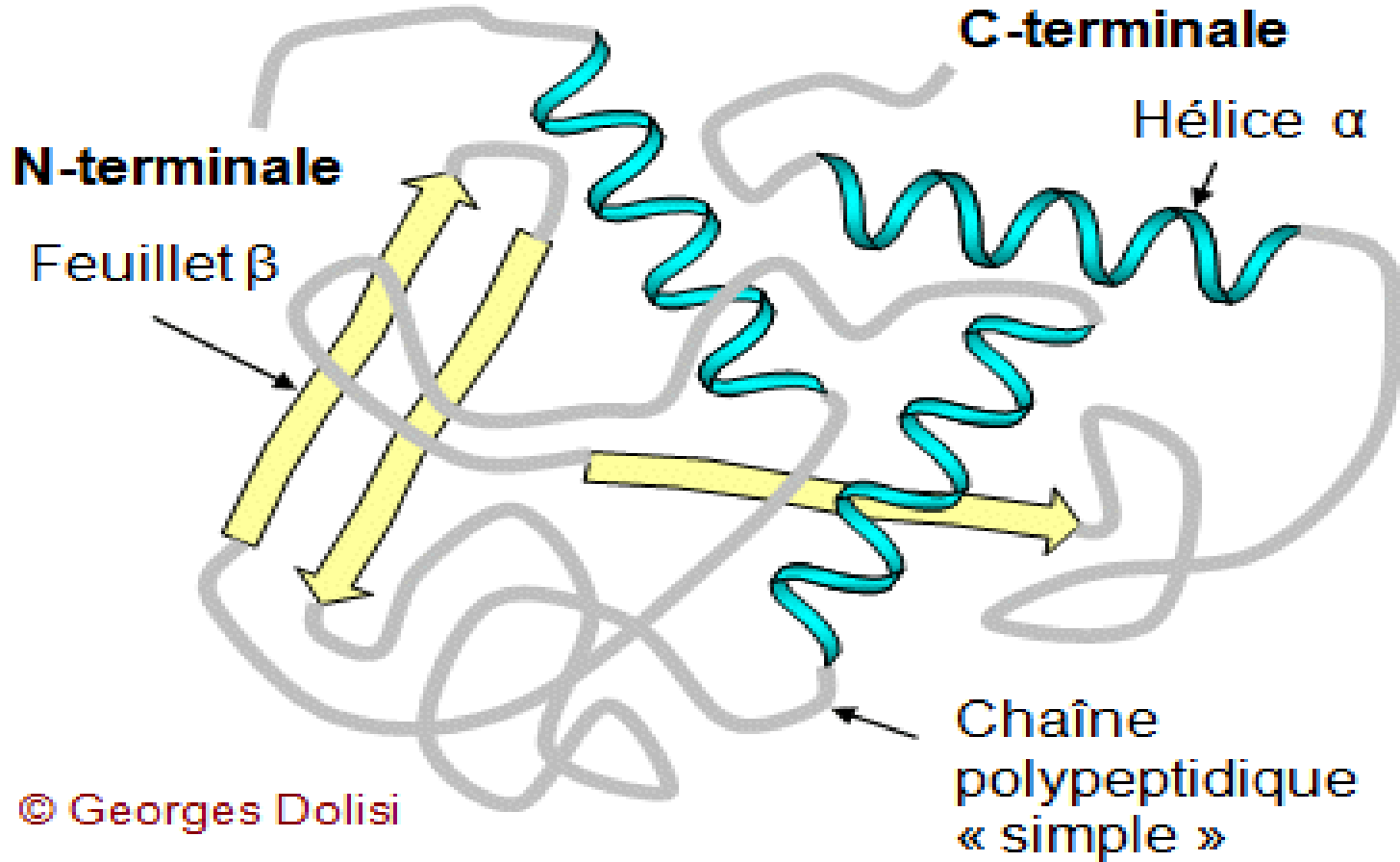
En effet ils ont leur propre structure tertiaire et sont stables indépendamment du reste de la chaîne polypeptidique. Leur correspond une fonction spécifique de la protéine.

Cela introduit la notion de **stéréospécificité**.

Ces domaines peuvent topographiquement se présenter comme des crevasses, des zones particulières. Cette configuration spatiale doit répondre à celles d'autres structures d'autres molécules.

Structure tridimensionnelle, stéréospécificité et rôle biologique sont donc nécessairement liés. C'est ce qui définit la notion de **site actif** : la conformation spatiale de protéine rapproche des acides aminés normalement éloignés et forme le site actif, *site actif souvent logé dans la crevasse*. On observera donc la **reconnaissance ligand-protéine**.

Cette reconnaissance s'effectue par complémentarité puis établissement de liaisons non covalentes ne nécessitant pas l'intervention d'un **catalyseur**.



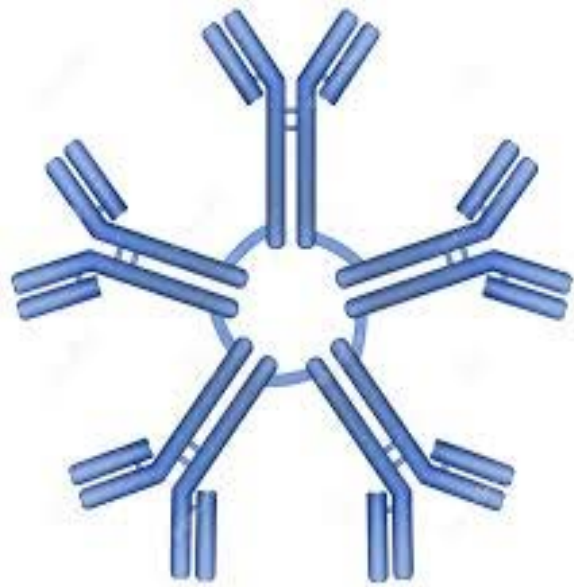
Protéine : structure tertiaire

3.5. Structure quaternaire

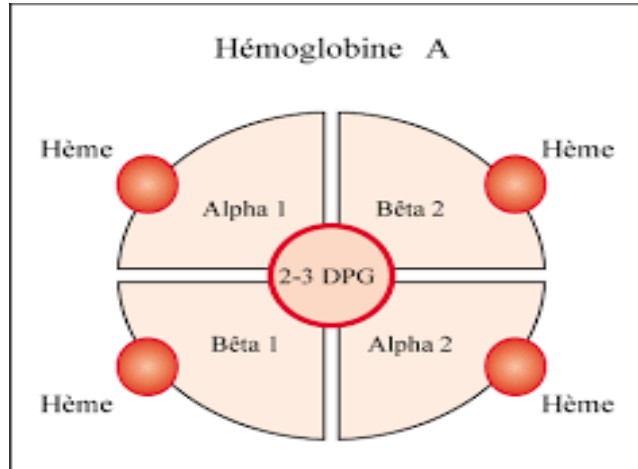
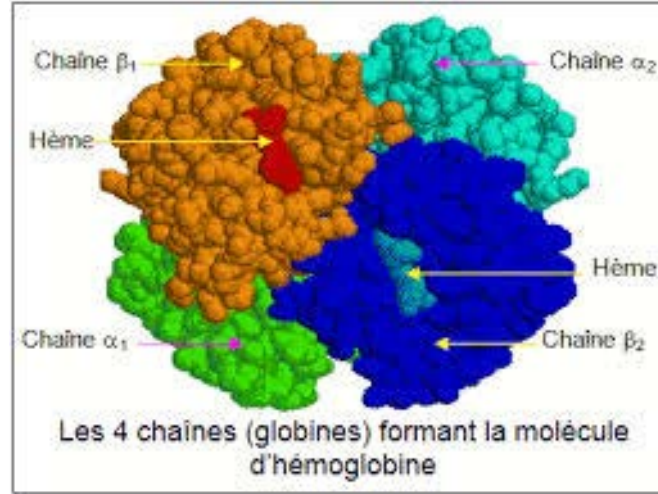
Ce type de structure ne concerne que facultativement les protéines globulaires. Il s'agit de l'association de sous-unités dans une même molécule protéique. Ces sous-unités sont **toujours reliées par des liaisons faibles et jamais par des liaisons covalentes.**

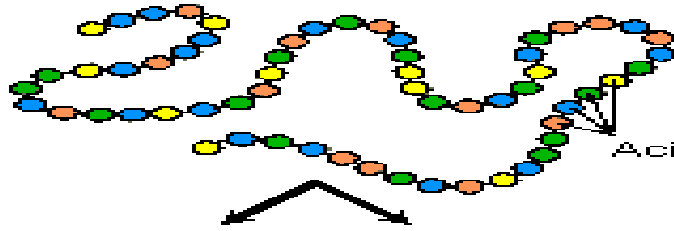
Une sous-unité à l'état libre est un **monomère**. La protéine est un **oligomère**. L'élément de symétrie se répétant n fois est un **protomère**. Si toutes les sous-unités sont identiques le protomère prend le nom du monomère (exemple : protéine α_4).

Si la protéine est constituée de 2 monomères α et 2 monomères β alors le protomère est [$\alpha\beta$] et la protéine contient 2 fois le protomère, elle est dite " $\alpha_2 \beta_2$ ". C'est par exemple le cas de l'**HÉMOGLOBINE**.

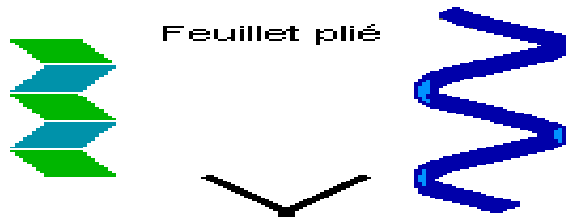


Downloaded from Oromedia.com

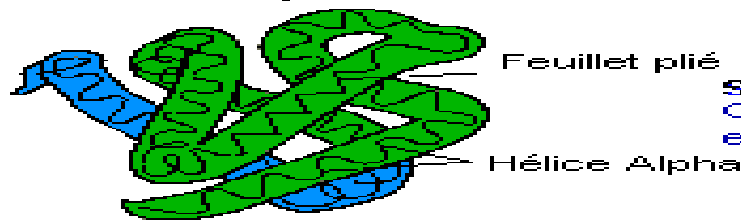




Structure primaire
Séquence chaînée d'acides aminés



Structure secondaire
La séquence d'acides aminés est reliée par des ponts Hydrogène



Structure tertiaire
Certaines attractions apparaissent entre les hélices alpha et les pliures

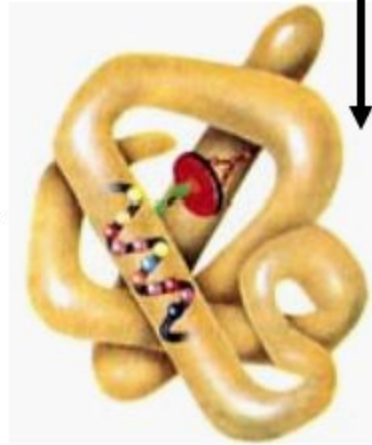


Structure quaternaire
Protéine constituée de plus d'une chaîne d'acides aminés

Les protéines présentent un maximum de quatre niveaux d'organisation structurale



La **conformation native** des protéines formées d'une seule chaîne polypeptidique est une structure tertiaire.



La **conformation native** des protéines formées de plusieurs chaînes polypeptidiques est une structure quaternaire.



Structure primaire

Séquence primaire des a.a.

Source

Structure secondaire

Premier repliement par des liaisons H à intervalle régulier

Structure tertiaire

Deuxième repliement par des liaisons diverses à intervalle irrégulier. La molécule prend la forme d'une boule.

Structure quaternaire

Interaction de diverses chaînes déjà en structure tertiaire. Par diverses liaisons à intervalle irrégulier.

Dr BENSAPHLA TALET L

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PROTEINES

DÉNATURATION (CHI ET PHY)

Dr BENSAPHLA TALET L

9. Dénaturation

Définition : **Perte d'activité biologique** d'une protéine due à une altération de sa conformation native.

La dénaturation n'altère pas la structure primaire de la protéine : les liaisons peptidiques sont conservées.

Si les modifications structurales sont discrètes, la dénaturation peut être réversible.

Si la protéine est incapable de reprendre la conformation native la dénaturation est irréversible.

3.9.1. Agents dénaturants chimiques

- **solvants organiques** (CCl_4)
- **réactifs rompant les ponts disulfures**
- **réversiblement** (réducteurs : **BME, DTT**)
- **Irréversiblement** (oxydants : **chlorates**)
- **urée**, chlorure de guanidinium.

petites molécules en solution concentrée => dénaturation réversible
(formation de liaisons H)

- **détergents** : dissociation des structures III_R et IV_R (effet réversible sans précipitation),

les acides forts (acide perchlorique, acide trichloracétique) : ils dénaturent irréversiblement les protéines en les précipitant suite à la rupture des liaisons salines.

détergents anioniques (Sodium-Dodecyl-Sulfate) : ils perturbent les liaisons ioniques dans un milieu dissociant, ce qui a pour fin de séparer les sous-unités des structures quaternaires. Leur action est réversible.

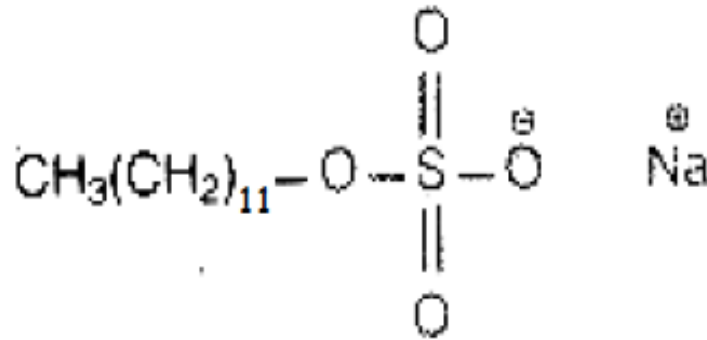
urée : comme le SDS, c'est un milieu dissociant à action réversible après élimination. Elle rompt les liaisons hydrogènes.

Dr

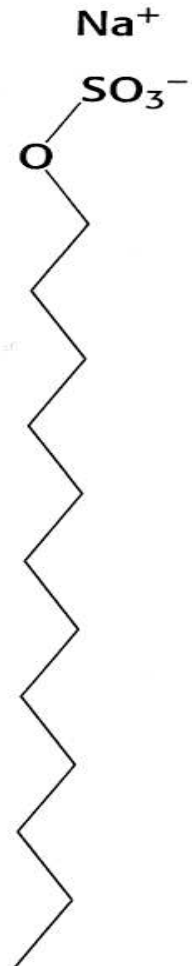
* Détergent anionique :

Dodécyl-sulfate de sodium (SDS) →

Assez dénaturant.



(dentifrice,
shampoing)

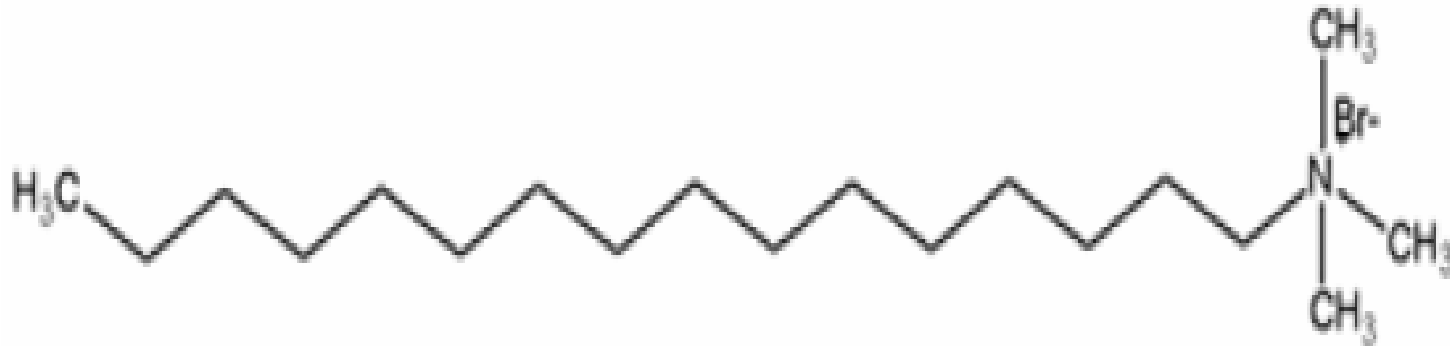


Dr BEN

L

* Détergent cationique :

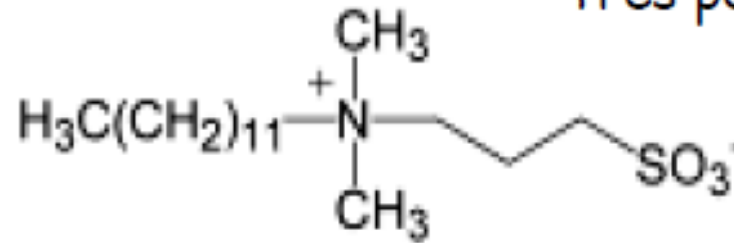
Bromure de cétrylméthylammonium (CTAB)



* Détergent zwitterionique :

Sulfobétaine

Très peu dénaturant



3.9.1. Agents dénaturants physiques

La rupture de liaisons secondaires stabilisant la conformation peut mener à une structure désordonnée caractérisant l'état dénaturé. La protéine est alors insoluble en milieu aqueux par perte de ses propriétés enzymatiques. Les liaisons peptidiques, donc la structure primaire, ne sont pas atteintes par la **dénaturation**.

3.9.1. Agents dénaturants physiques

- ✓ **la chaleur** : son action est irréversible à 100°C. Dès 60°C, beaucoup de protéines sensibles à la chaleur sont dénaturées.
- ✓ **élévation de la température** : rompt les liaisons hydrogène (cuisson, stérilisation, ...)
- ✓ **l'agitation mécanique** : irréversible, elle peut-être illustrée par les ultra sons.
- ✓ **radiations UV**: photolyse des ponts disulfures (radiations ionisantes)

Solubilité

La solubilité des protéines dans leur solvant naturel, solution saline isotonique, dépend de leur structure IIIIR.

La solubilité peut être influencée par divers facteurs. **Importance** +++ pour l'**extraction** et la **purification** d'une protéine.

- Température
- pH
- Force ionique

Les protéines riches en pelote statique sont donc a priori plus solubles que les structures hélicoïdales. Au niveau de la structure tertiaire, l'eau provoque l'orientation des chaînes et radicaux hydrophiles vers l'extérieur de la molécule, alors que les chaînes et radicaux hydrophobes ont tendance à réagir entre eux à l'intérieur de la molécule (cf. effet hydrophobe).

La solubilité des protéines dans une solution aqueuse contenant des sels dépend de deux effets antagonistes liés d'une part aux interactions électrostatiques ("salting in" ou effet dissolvant), et d'autre part aux interactions hydrophobes (*salting out* ou [effet relargant](#)).

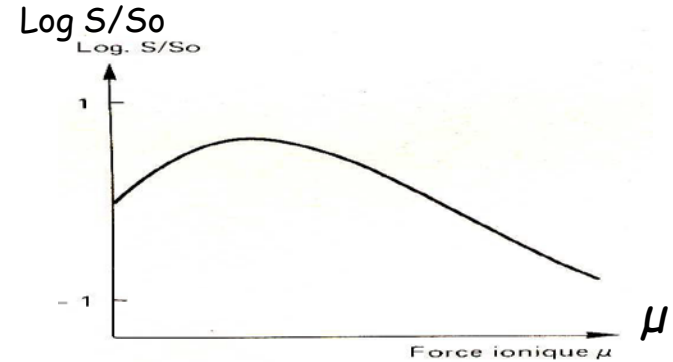
A basse force ionique, la solubilité des protéines augmente lorsque la concentration en sels croît, jusqu'à un certain seuil. Au delà, elle diminue avec l'addition de sels. L'augmentation de solubilité (*salting in*) est liée à l'action des forces électrostatiques la diminution de solubilité (*salting out*) est attribuée à différentes interactions rassemblées sous le nom "d'interactions hydrophobes", sans que ce terme implique un mécanisme précis.

Influence du pH : la solubilité est minimale au pH isoélectrique.

*** Force ionique**

L'effet des **sels neutres** sur la solubilité des protéines dépend de la **force ionique μ** de la solution, c.a.d. de la concentration et de la charge des ions.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i q_i^2$$



a) Force ionique faible => Solubilisation

L'extraction des protéines d'un lysat cellulaire est favorisée par l'utilisation d'une solution de chlorure de sodium à faible concentration (0,1 M ; $\mu = 0,1$) plutôt que d'eau pure.

b) Force ionique élevée => Insolubilisation (relargage par les sels)

Les fortes concentrations d'ions minéraux diminuent la disponibilité des molécules d'eau dans la solution, => diminution de l'hydratation des protéines et augmentation des interactions hydrophobes, => précipitation

=> application à la purification des protéines.

IV Propriétés physico-chimiques

IV.3. Poids et masse moléculaires

Le poids moléculaire ou masse moléculaire relative (symbole M_r) est sans dimension.

ex. : Albumine $M_r = 67\ 000$

La masse moléculaire (symbole m), doit être exprimée en daltons (symbole : Da).

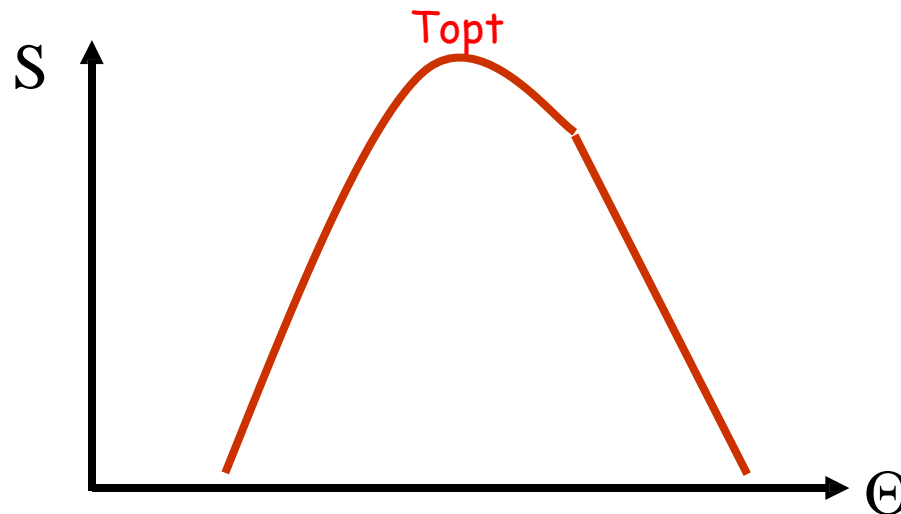
ex. : Albumine $m = 67\ 000\ \text{Da}$ (67 kDa)

Influence de la température.

Une élévation modérée (entre 0 et +40°C) augmente légèrement la solubilité.

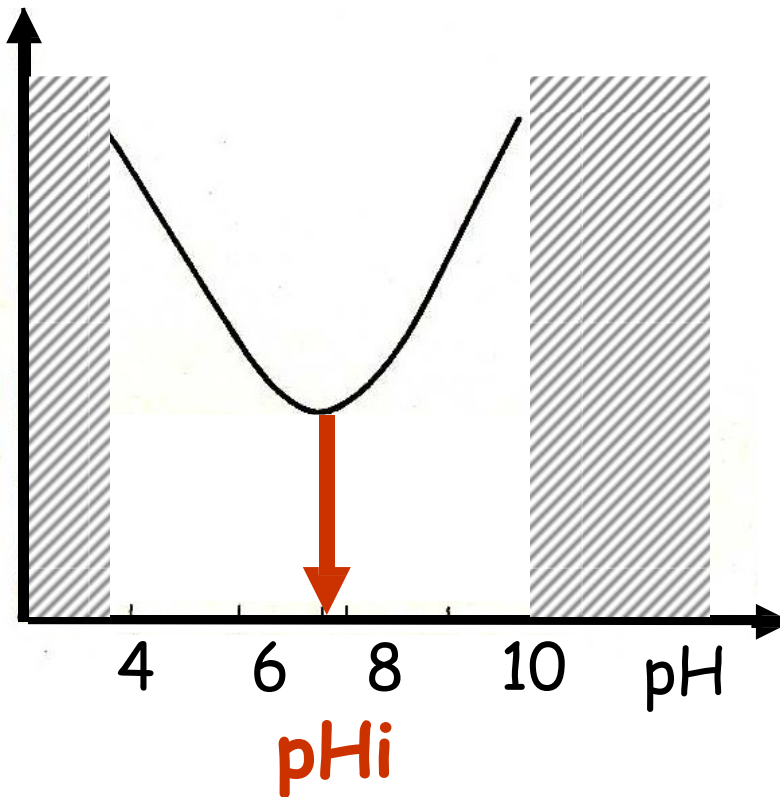
MAIS, une élévation plus forte de la température induit une dénaturation

(précipitation par thermo-coagulation)



* **Influence du pH**: solubilité minimale au point isoélectrique (en dehors des pH extrêmes).

Log. solubilité



L'absence de charge électrique supprime les forces de répulsions inter-moléculaires => formation d'agrégats insolubles.

Dr BENSAL TALET L

IV.2. Solubilité

Application du relargage par les sels :

fractionnement de mélanges protéiques

Toutes les protéines ne précipitent pas à la même force ionique.

=> **Fractionnement** de mélanges protéiques par **augmentation** progressive de la **force ionique**.

ex. Séparation des protéines du sérum sanguin en deux fractions :

- **globulines**, précipitées à 50% de la saturation,
- **albumine**, restant en solution.

3.6 Mode d'étude de la structure des protéines

La **crystallographie** aux rayons X est la première méthode d'étude à avoir permis la description de la structure d'une protéine. Cette technique est difficile car la première étape, l'obtention d'un cristal à partir d'une protéine pure, nécessite une quantité importante de protéines.

Le cristal obtenu est ensuite passé aux rayons X sous différents angles et donne des **spectres de diffraction**. On reconstitue une carte de densité électronique en 3D.

En parallèle, est réalisé le séquençage de la protéine pour avoir des résultats se complétant. La **résonance magnétique nucléaire (RMN)** étudie la structure de la protéine solubilisée.

3.8. Prédiction de la structure d'une protéine à partir de sa séquence

Deux méthodes pour prédire la structure d'une protéine séquencée :

la comparaison : actuellement la plus utilisée, compare le résultat du séquençage (séquences théoriques d'acides aminés et pourcentage : 10% d'Ala, 30% de Glu...) avec le contenu d'une banque de données de protéines connues et ayant un rapport avec celle étudiée. On obtient une homologie supérieure à 50%.

la modélisation mathématique pure : les séquences d'acides aminés sont traitées selon l'hypothèse thermodynamique. Elle est utilisée suite à une recherche par homologie infructueuse.

Exp: Détermination de la séquence peptidique de l'insuline

A chain	B chain	
Gly	Phe	1
Ile	Val	
Val	Asn	
Glu	Gln	
Gln	His	5
Cys	Leu	
Cys	Cys	
Ala	Gly	
Ser	Ser	
Val	His	10
Cys	Leu	
Ser	Val	
Leu	Glu	
Tyr	Ala	
Gln	Leu	15
Leu	Tyr	
Glu	Leu	
Asn	Val	
Tyr	Cys	
Cys	Gly	20
Asn	Glu	
	Arg	
	Gly	
	Phe	
	Phe	25
	Tyr	
	Thr	
	Pro	
	Lys	
	Ala	30

1. Définition

Les peptides sont des composés synthétiques ou naturels résultant de l'enchaînement limité d'acides aminés unis entre eux par des liaisons peptidiques entre α COOH du groupement fonctionnel et $-\alpha$ NH₂ du groupement fonctionnel de l'acide aminé qui suit.

Par convention, on lit une séquence avec

Le premier acide aminé porte – NH₂ libre

Le dernier porte – COOH libre

Différents peptides

Oligopeptides : nombre d'acides aminés < 10

Polypeptides : 10 < nombre d'acides aminés < 100

2. Nomenclature

Ala-Gly-Val.....(Alanyl-Glycyl-Valine)

II. Etude de la composition d'un peptide et d'une protéine

1. Détermination de la masse molaire

Méthode cryoscopique Pour les très petits peptides

Méthode chimique : Dosage de l'acide aminé en plus faible quantité dans le peptide ou au minimum d'un résidu

2. La nature et le nombre d'acides aminés présents

A-Hydrolyse totale par HCl à 6 mol/L

Destruction des liaisons peptidiques, **Trp** détruit ; **Asn** à **Asp** ; **Gln** à **Glu**

B-Identification et dosage des acides aminés libérés

Chromatographie échangeuse d'ions **HPLC**

Dr BENSALF

3. Etude de la séquence

Méthodes	Identification N-terminal	Identification C-terminal
Méthode chimique	Méthode de Sanger DNFB (Di Nitro Benzène Fluoro)	Hydrazinolyse (dérivés hydrazides)
	Méthode d'Edman (PhénylIsoThioCyanate PITC)	
	Chlorure de dansyl (Dérivé dansylé)	
Méthode enzymatique	Aminopeptidase N-terminal	Carboxypeptidase C-terminal
	Hydrolyse partielle	
	Trypsine	Lys / Arg (et/ou)
	Chymotrypsine	Phe / Trp / Tyr (et/ou)
	Pepsine	Phe / Trp / Tyr (et/ou)
	Thermolysine	Leu / Ile / Val (et/ou)

3. Etude de la séquence

Dr BENSAPHLA TALET L

3. Etude de la séquence

Méthode	
Méthode chimique	<p>HCL 6M</p> <p>Coupure de toutes les liaison peptidiques avec:</p> <ul style="list-style-type: none">-Asn transformé en Asp-Gln transformé en Glu-Donc Ax et Glx
	<p>NaOH</p> <p>Coupure de toutes les liaison peptidiques</p>
	<p>CnBr (Bromure de Cyanogene)</p> <p>Coupure du coté n' terminal de la méthionine (Met)</p>
	<p>B Mercatoethanol</p> <p>Coupure des ponts disulfure (S-S)</p>

Dr BENSAPHLA TALET L

IV. Exemples de quelques peptides

1. Petits peptides

Aspartame

Asp-Phe-O-CH₃

Pouvoir sucrant 2x plus que le saccharose

2. Peptides hormonaux

Hormones post-hypophysaires

Ocytocine

Vasopressine

Hormones pancréatiques

Glucagon

Insuline

3. Peptides antibiotiques

Tyrocidine A

Pénicillines

A chain	B chain	
Gly	Phe	1
Ile	Val	
Val	Asn	
Glu	Gln	
Gln	His	5
Cys	Leu	
Cys	Cys	
Ala	Gly	
Ser	Ser	
Val	His	10
Cys	Leu	
Ser	Val	
Leu	Glu	
Tyr	Ala	
Gln	Leu	15
Leu	Tyr	
Glu	Leu	
Asn	Val	
Tyr	Cys	
Cys	Gly	20
Asn	Glu	
	Arg	
	Gly	
	Phe	
	Phe	25
	Tyr	
	Thr	
	Pro	
	Lys	
	Ala	30

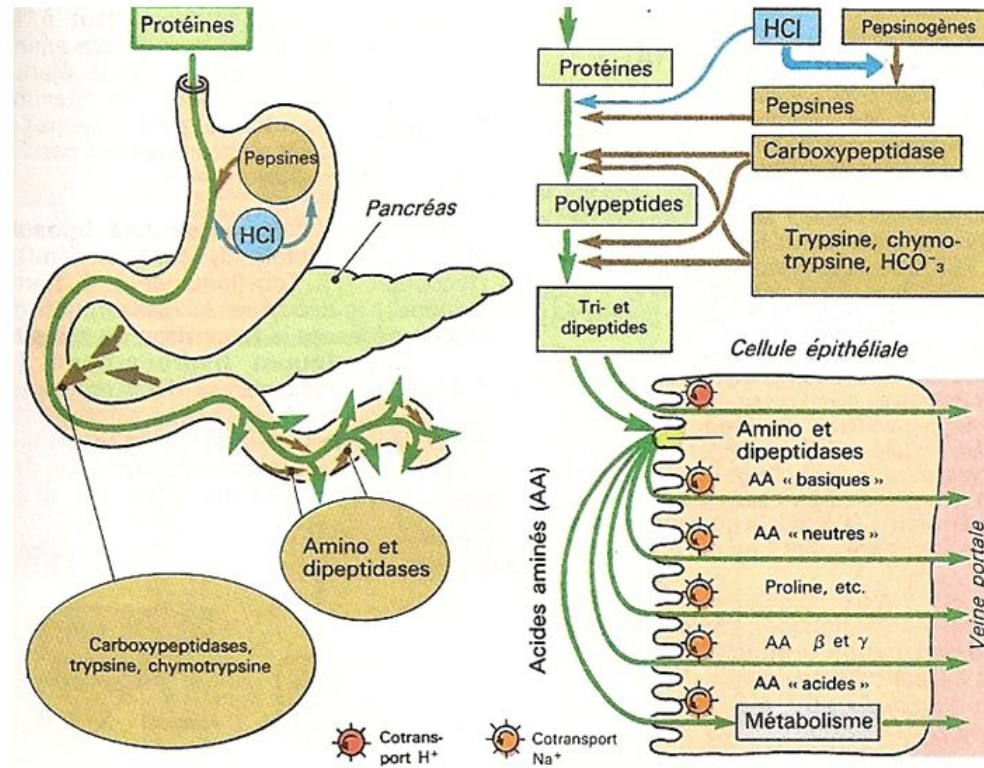
Digestion et absorption des protéines

Catabolisme des amino-acides : réactions générales

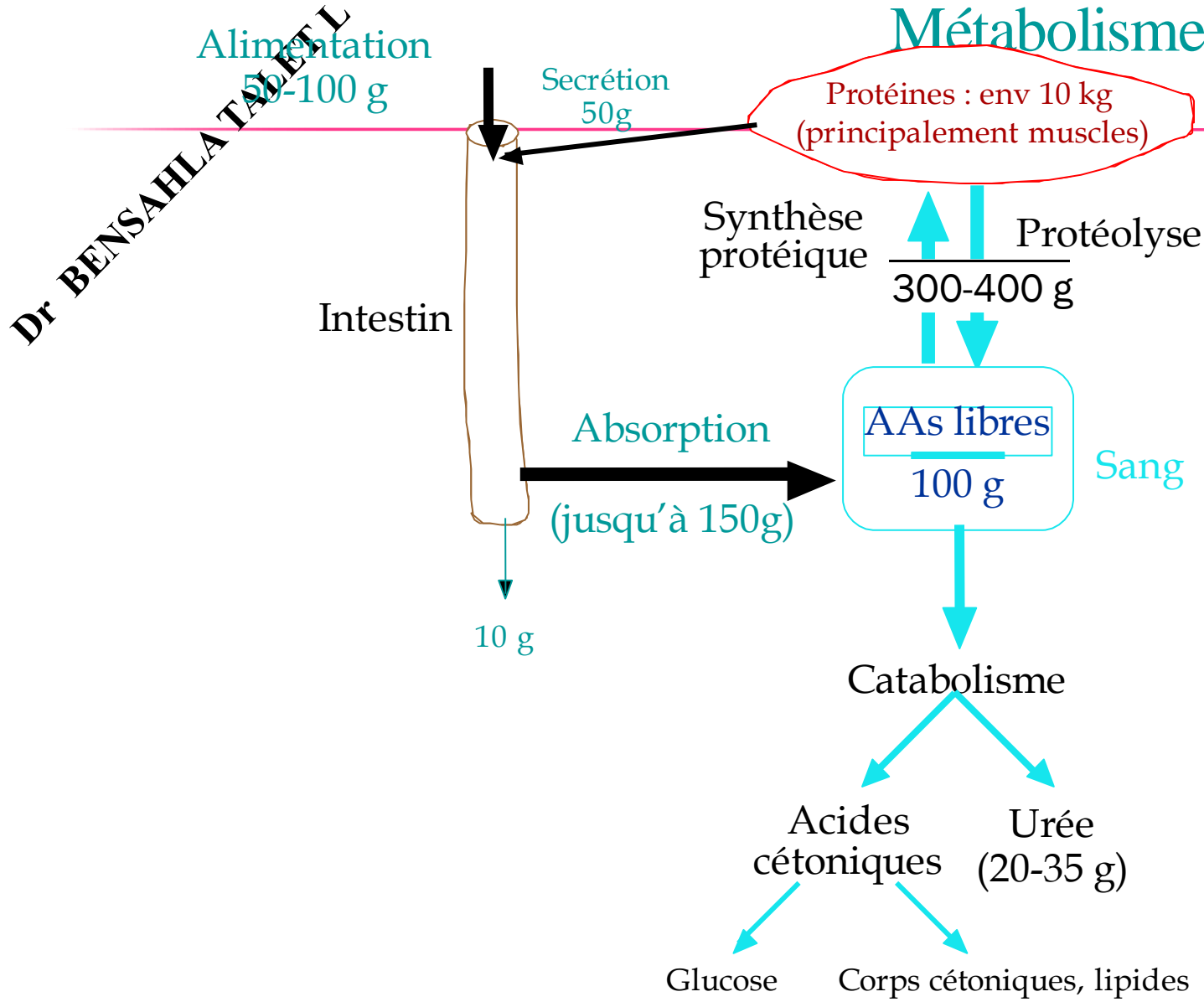
- **Décarboxylation**
- **Désamination, Transamination**
- **Cycle de l'urée**
- **Ammoniogenèse**
- **AAs cétogènes et glucoformateurs**

Biosynthèse des AA

Digestion des protéines et absorption des acides aminés et des oligopeptides



Métabolisme des protéines



Dr BENSAPHLA TALET L

Dr BENSAPHLA TALET L

AAS « NON-INDISPENSABLES »

Peuvent être synthétisés dans les tissus humains mais elle est insuffisante pour couvrir les besoins de l'organisme

- **Ala** : transamination de l'ac pyruvique
- **Asn** : synthèse à partir de l'aspartate
- **Asp** : transamination de l'ac oxaloacétique
- **Arg** : produite au cours du cycle de l'urée (indisp. chez l'enfant)
- **Cys** : synthèse à partir de la méthionine
- **Glu** : transamination de l'ac α -céto glutarique ; désamination de la glutamine
- **Glu** : transfert de NH_3 sur l'ac glutamique
- **Gly** : synthèse à partir de la sérine (interconversion) ; transamination de l'ac glyoxylique
- **His** (indisp. chez l'enfant)
- **Pro** : synthèse à partir de l'ac glutamique
- **Sér** : synthèse à partir de la glycine (interconversion) transamination de l'ac phospho-3-hydroxypyruvique
- **Tyr** : hydroxylation de la phénylalanine
- **Hydroxyproline et Hydroxyllysine** (non nécessaires à la synthèse protéique, formés au cours de la maturation post-traductionnelle du collagène)

AAS « INDISPENSABLES »

Ne peuvent pas être synthétisés dans les tissus humains

- Val,
- Leu,
- Ile,
- Met,
- Phe,
- Trp,
- Thr



Alimentation

AMINES BIOGÈNES

AA

AMINE

FONCTION

Trp

Sérotonine

Neuromédiateur

Glu

γ -amino butyrate

Neuromédiateur

His

Histamine

Neuromédiateur, médiateur immunitaire

Tyr

Dopamine,
Noradrénaline,
Adrénaline

Neuromédiateurs,
hormone

Asp

β -alanine

Composant du coenzyme A

Cys

Cystéamine

Composant du coenzyme A

Ser

Ethanolamine

Composant des phospholipides

Thr

Amino-propanol

Composant de la vitamine B12

Dr BENSABLA TALET L

Dr BENSABLA TALET L

1. Catabolisme des amino-acides

1 Décarboxylation

Dr BENSABHA TALET L



MÉTABOLISME DE LA CHAÎNE CARBONÉE :

AA Glucoformateurs

AA Cétogènes

Transamination
Désamination

Ammoniogenèse
Glutaminogenèse
Cycle de l'urée

Dr BENSABHA TALET L

1.1. DÉCARBOXYLATION DES AAS

Dr BENSABHLA TALET L

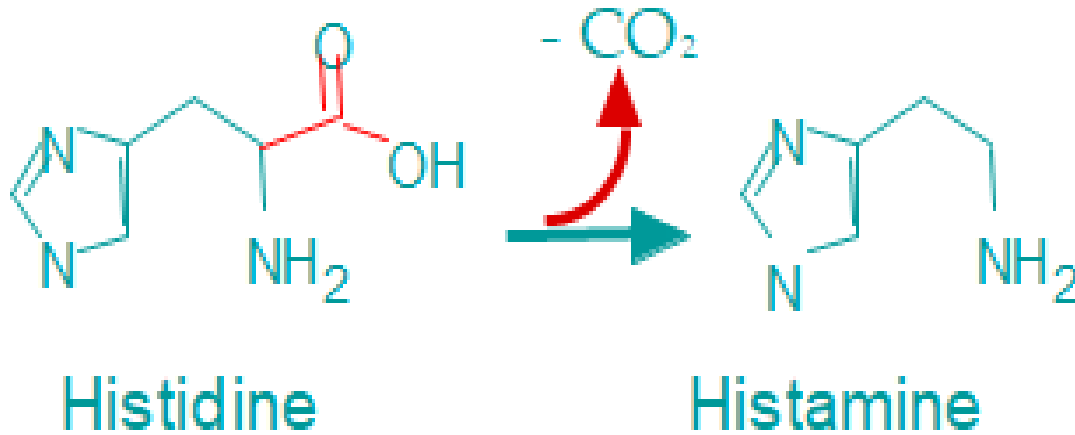
Réaction irréversible



Dr BENSABHLA TALET L

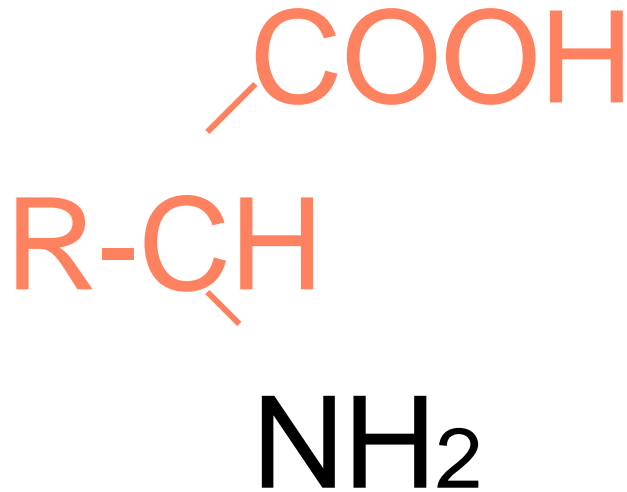
Intérêt physiologique : synthèse des amines biogènes

1) Synthèse directe par décarboxylation



1.2. CATABOLISME DU GROUPEMENT AZOTÉ

Dr BENSAPHLA TALET L



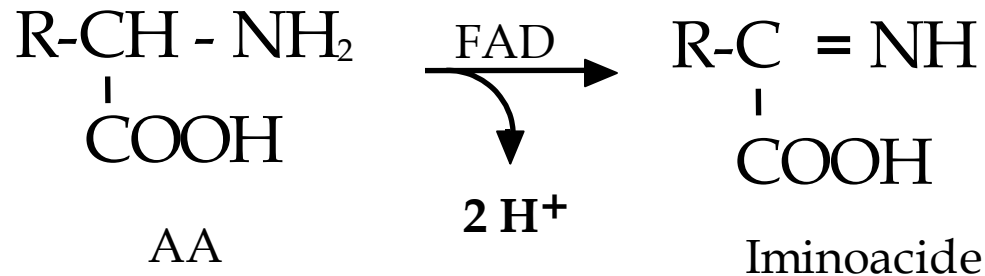
Désamination oxydative
Transamination

Dr BENSAPHLA TALET L

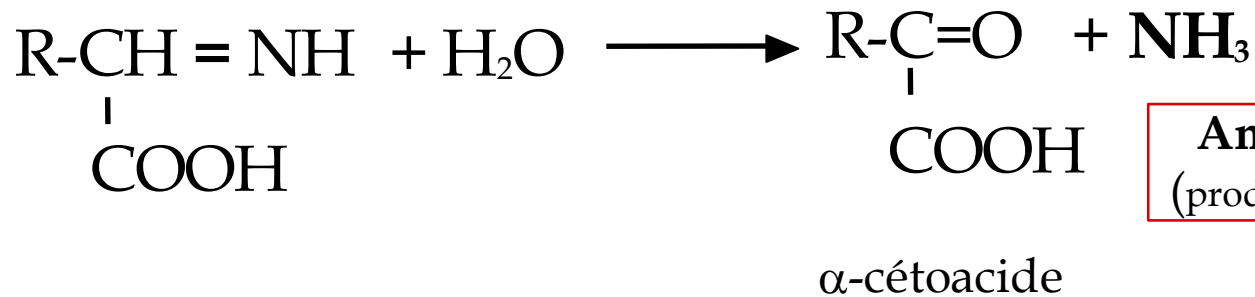
DÉSAMINATION OXYDATIVE

Processus en 2 étapes :

1) Oxydation par une AA-oxydase (stéréospécifique) :



2) Hydrolyse spontanée de l'iminoacide :



Ammoniaque
(produit très toxique)

DÉSAMINATION OXYDATIVE (SUITE)

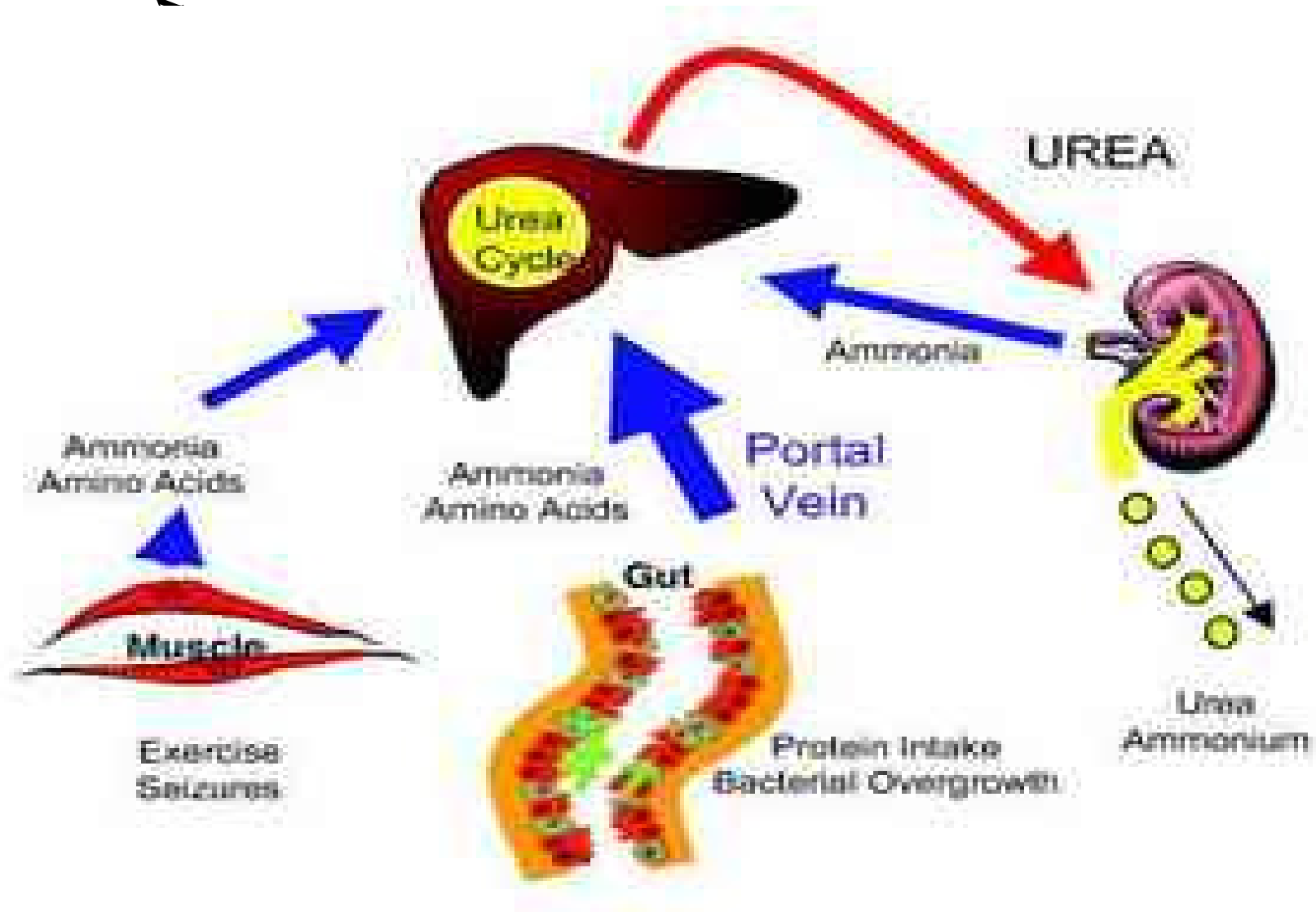
Dr BENSABHLA TALET L

- × Le NH_3 produit est toxique.
- × Il est pris en charge par le glutamate :
 - × *Glutamine synthétase*
- × $\text{Ac Glutamique} + \text{NH}_3 + \text{ATP} \Rightarrow \text{Glutamine} + \text{ADP} + \text{Pi}$

La Glutamine est la principale forme de transport de NH_3 dans l'organisme

Dr BENSABHLA TALET L

TALET L



TALET L

Dr

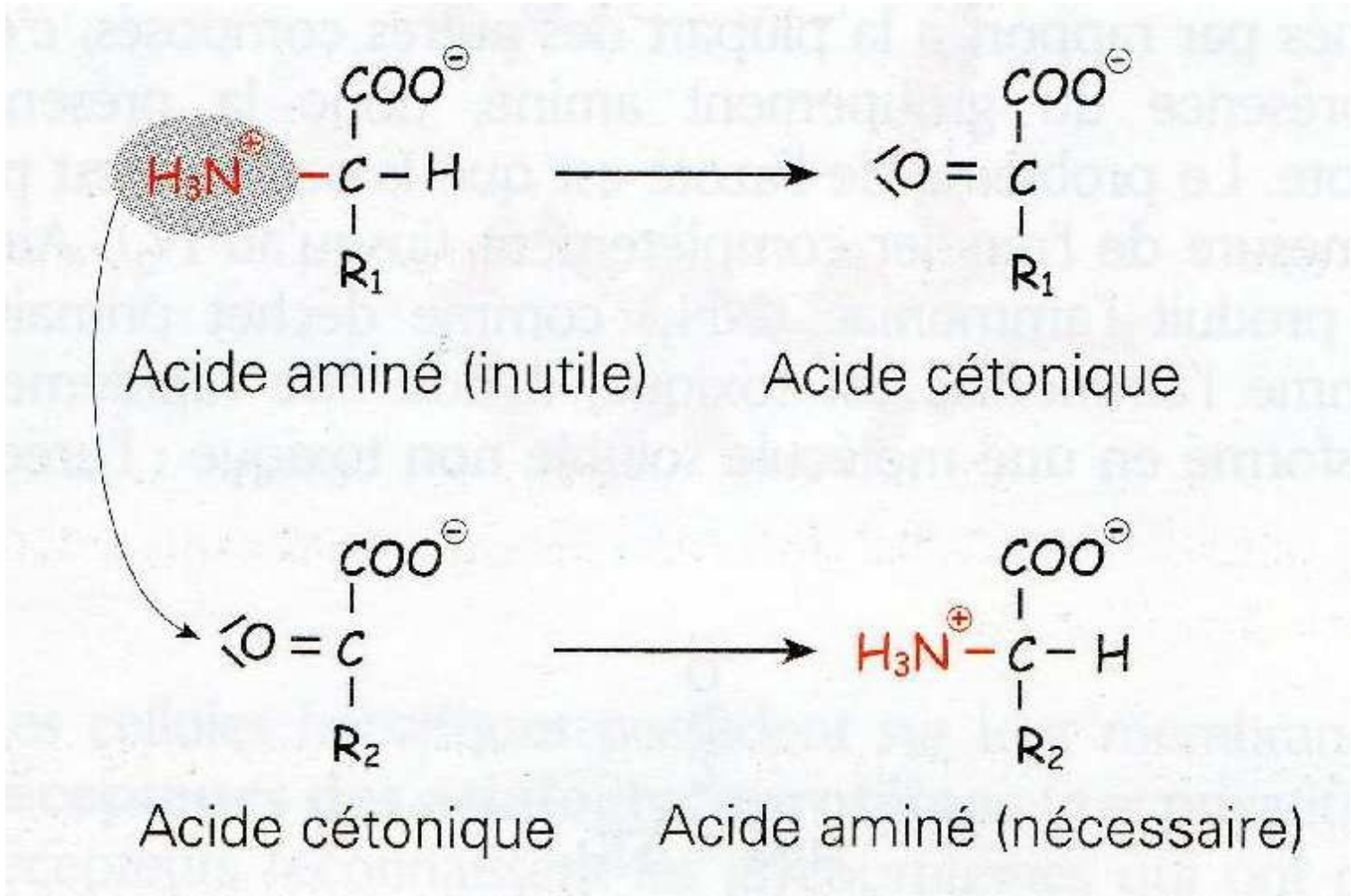
Désamination des acides aminés

➤ Transamination :

transfert catalysé par des aminotransférases

➤ Désamination oxydative :

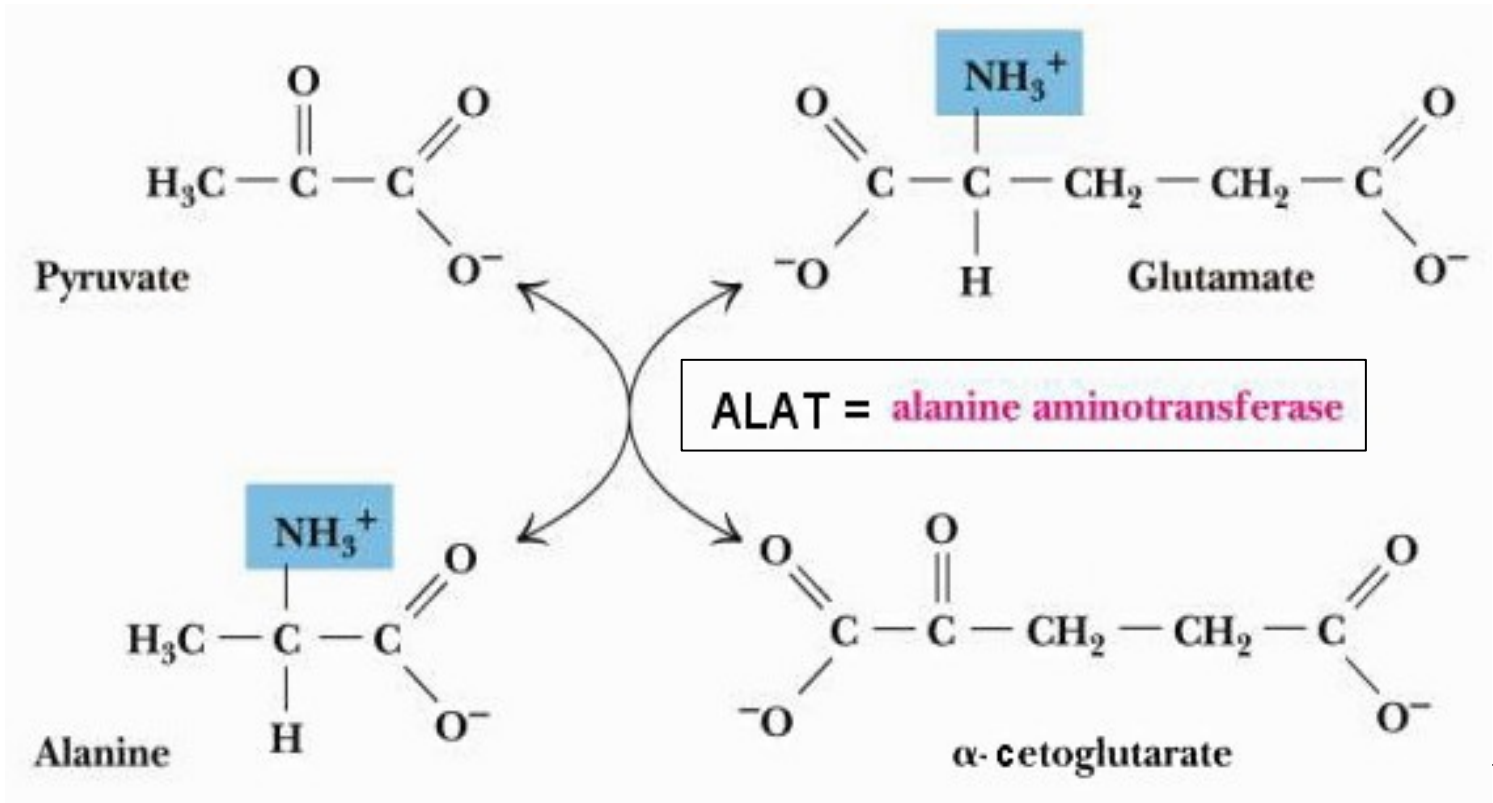
catalysée par la glutamate déshydrogénase



TRANSAMINASES À INTÉRÊT CLINIQUE (DIAGNOSTIC DES CYTOLYSES)

Dr BENSABLA TALET L

ALAT

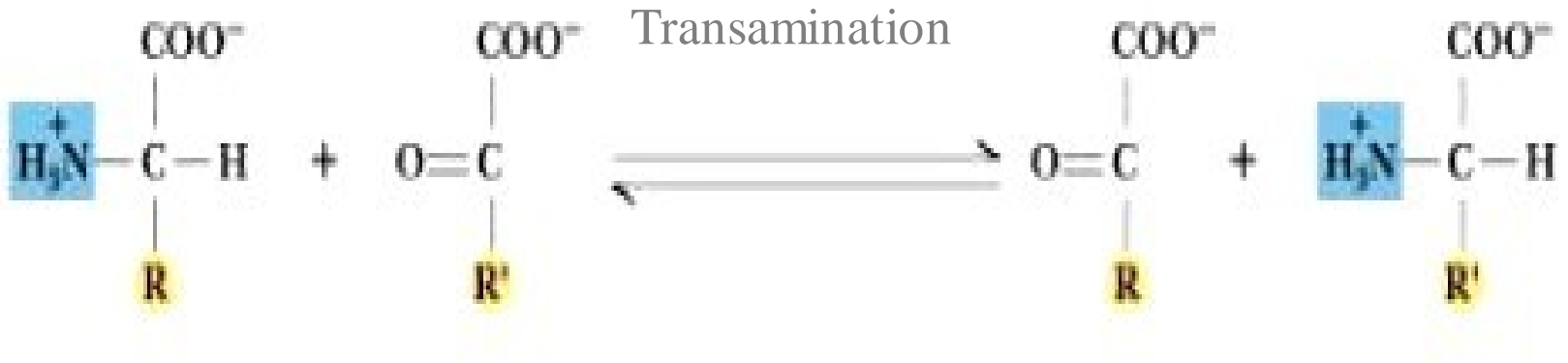


ASAT : Ac Aspartique \longleftrightarrow Ac Oxaloacétique

Dr BENSABLA TALET L

1.3. TRANSAMINATION

Réaction générale :



AA + Ac α-cétoglutarique <-----> α-cétoacide + Ac Glutamique

ELIMINATION DU GROUPEMENT AZOTÉ

Dr BENSAPHLA TALET L

Les groupements NH_2 sont transportés par l'ac glutamique ou par la glutamine.

Ces AAs peuvent être localement désaminés, (Gln : *glutaminase* ; Glu : *L-glutamate deshydrogénase*) libérant du NH_3 qui est alors éliminé :

- soit par le cycle de l'urée (**foie**)
- soit directement au niveau **rénal** (ammoniogenèse)

L'élimination par le cycle de l'urée >> ammoniogenèse

Dr BENSAPHLA TALET L

BILAN DU CYCLE DE L'URÉE

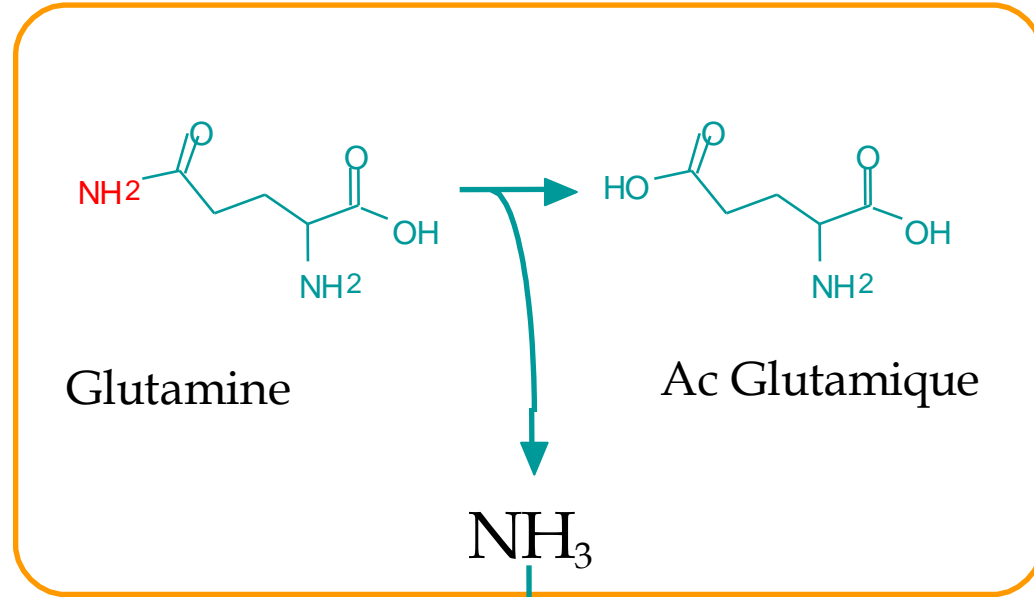
$\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + \text{Aspartate} \Rightarrow \text{Fumarate} + \text{Urée}$

Consommation de 3 ATP \Rightarrow 2 ADP + AMP

Coût énergétique : 4 liaisons riches en énergie

1.5. AMMONIOGENÈSE

Excrétion directe des ions ammonium au niveau des cellules épithéliales du tubule **rénal**



Tube rénal



ELIMINATION DU GROUPEMENT AMINÉ : BILAN

Dr. PENSAHLA TALET L
Catabolisme de la chaîne carbonée



Désamination
-1 ATP

Glutamine

Glutaminase

AMMONIOGENESE (rein)

Urine

Transamination

Ac glutamique

Glutamate
Déshydrogénase

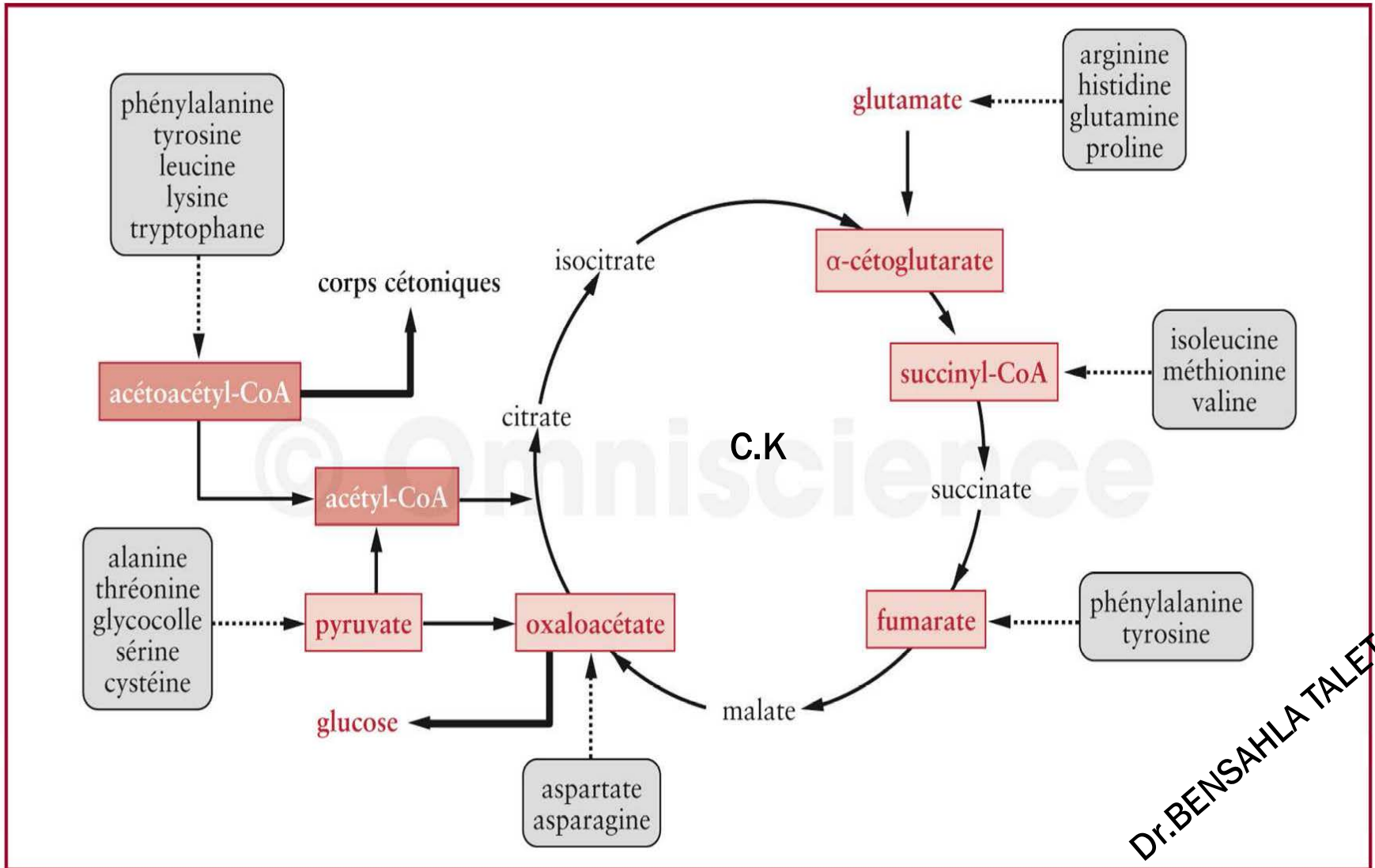
UREOGENESE (foie)

- 3 ATP

Sang puis Urine

DEVENIR DU SQUELETTE CARBONÉ DES AA

Dr. BENSARH LA TALET L



Dr. BENSARH LA TALET L

2. BIOSYNTHÈSE DES AA

Transamination : Transfert d'un groupement NH_2 sur un α -céto acide, **Donneur de NH_2** = acide glutamique ; **enzyme** = transaminase



Conversion : synthèse d'un AA à partir d'un autre AA réversible : Glycine \longleftrightarrow Sérine

non réversibles :

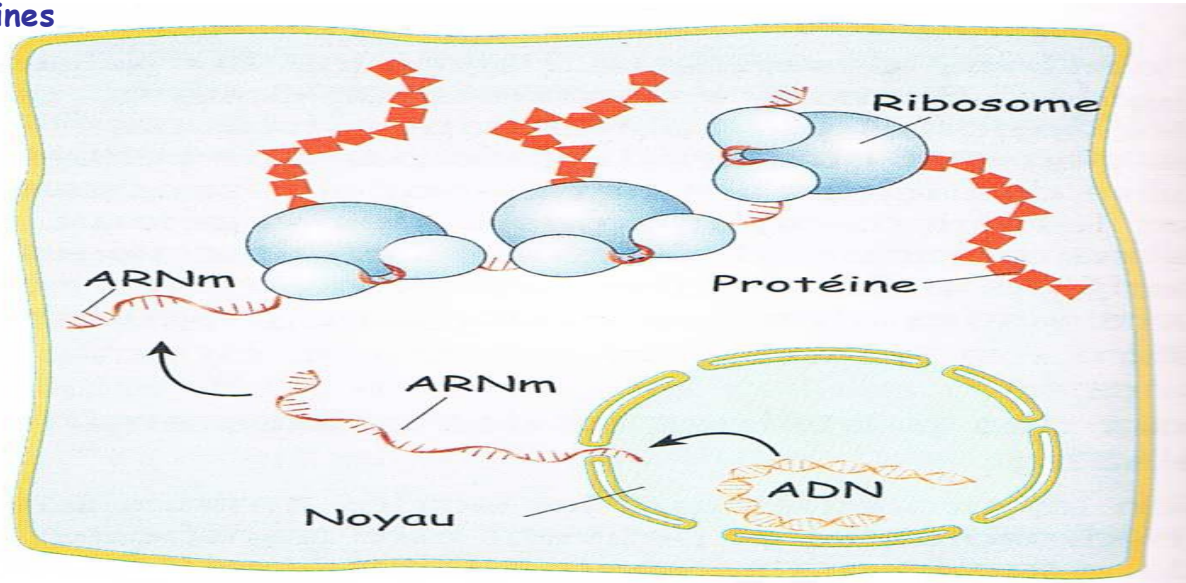
Méthionine \Rightarrow Cysteine (transsulfuration d'homocystéine)
Phénylalanine \Rightarrow Tyrosine (hydroxylation)
Aspartate \Rightarrow Alanine (décarboxylation)
Glutamate \Rightarrow Proline (cyclisation)

Autres :

Arginine : produite au cours du cycle de l'urée

Synthèse des protéines

Dr.BENSAHLA TALET L



Biochimie humaine. Ed. Flammarion

Biosynthèse des acides aminés

👉 Les AA essentiels :

- ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme
- doivent être apportés par l'alimentation

👉 Les AA non essentiels :

- peuvent être synthétisés à partir d'intermédiaires du cycle de Krebs ou par modification de d'autres AA

Dr.BENSAHLA TALET L

-Biosynthèse des acides aminés

Les précurseurs des **AA** constituent les **α -cétoacides** directement utilisables pour la transamination ou permettent de les synthétiser. Ils sont générés dans les processus de dégradations dont les principaux sont la **glycolyse** et le cycle **tricarboxylique**. Les glucides sont les principaux fournisseurs du carbone, rencontrés dans les acides aminés. Un squelette carboné peut être à l'origine de la synthèse de plusieurs acides aminés. On parle alors de famille.

- **α -cétoglutarate** conduit à la famille de glutamate : **Glu, Gln, Pro, Arg et Lys.**
- **oxaloacétate** donne la famille de l'aspartate : **Asp, Asn, Met, Thr et Ile.**
- **glycérate-3-phosphate** mène à la famille de la séine : **Ser, Gly, Cys.**
- **pyruvate** fournit la famille de l'alanine : **Ala, Val et Leu.**
- **Phosphoénolpyruvate** et **erythrose-4-phosphate** sont le point de départ de la **Phe, Tyr et Trp.**
- **Ribose-5-phosphate** est le précurseur de l'**His.**