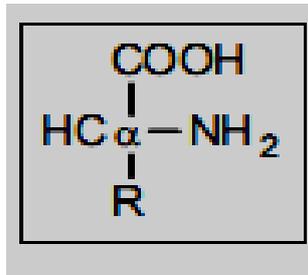


### Chapitre III : Acides aminés

---

#### 1. Formules générales :

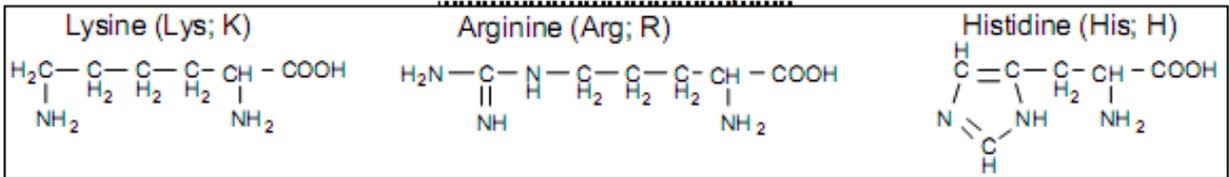
Les aminoacides ont en commun d'être des molécules bifonctionnelles portant un groupement amine (primaire) sur le carbone porteur du groupement carboxyle, dit carbone  $\alpha$ . La fonction amine est une base et la fonction carboxyle est un acide (fonctions ionisables). Ce sont des acides  $\alpha$ -aminés, exception pour la proline qui a une amine secondaire (acide  $\alpha$ -iminé). Leur formule générique s'écrit :



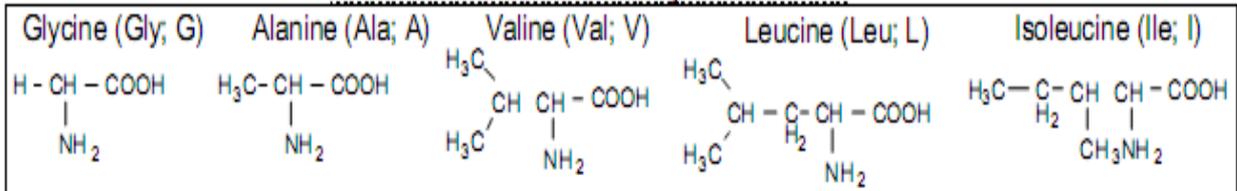
2. Classement : Chaque aa à une chaîne latérale caractérisant :

- ❖ sa dimension
  - ❖ sa forme
  - ❖ sa charge
- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| ❖ aa hydrocarbonée | aa hydroxylés      |
| ❖ aa soufrés       | aa dicarboxyliques |
| ❖ aa Basiques      | aa cycliques.      |

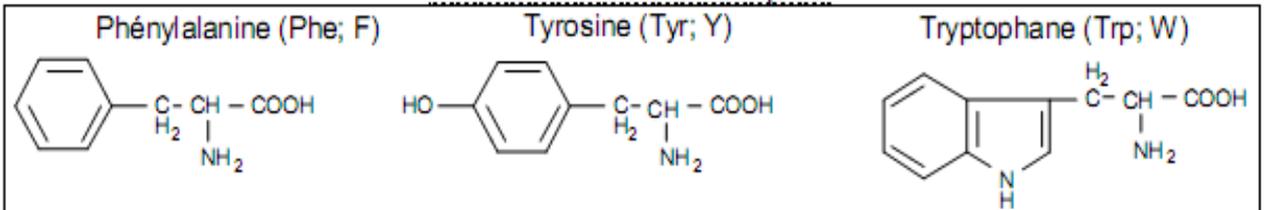
### Acides aminés basiques



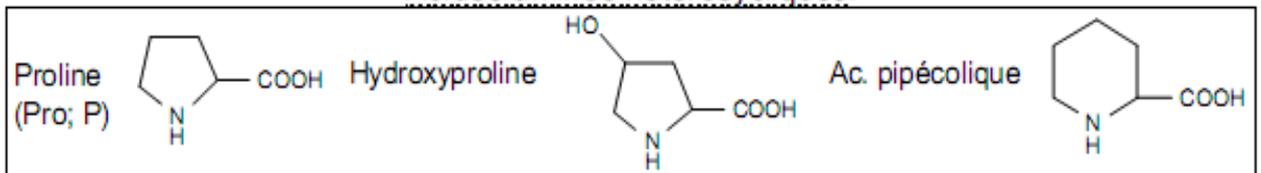
### Acides aminés à chaîne hydrocarbonée:



### Acides aminés aromatiques:

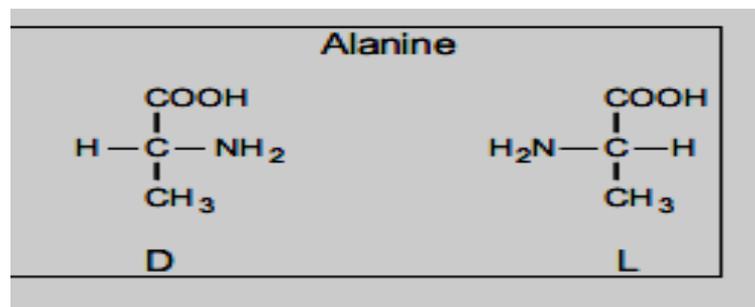


### Acides aminés hétérocycliques:



### 3. Carbone asymétrique :

A l'exception de la glycine, tous les acides aminés comportent au moins un carbone asymétrique. Comme dans le cas des glucides, on distinguera les deux séries, D et L, mais les acides aminés naturels sont de la série L (glucides de la série D).



#### 4. ionisation des acides aminés:

Les acides aminés sont des composés amphotères, les deux fonctions sont ionisables. En fonction du pH du milieu, les fonctions acides ou basiques se dissocient. en milieu acide, un excès de protons bloque la fonction carboxyle, qui ne se dissocie pas, tandis que la fonction amine peut accepter un proton supplémentaire

- Ils se comportent comme base dans un milieu acide et comme acide dans un milieu basique
- Dans un milieu basique (anion) :  $R-COOH \rightleftharpoons R-COO^- + H^+$
- Dans un milieu acide (cation) :  $R-NH_2 + H^+ \rightleftharpoons R-NH_3^+$

#### 5. le point isoélectrique pHi :

On définit le point isoélectrique ou pHi comme la valeur du pH pour laquelle on obtient une forme comportant les deux fonctions ionisées et appelée amphion. Le pHi est une valeur caractéristique de l'acide aminé.

$$pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

#### 6. Titration d'un acide aminé acide (Asp):

Pour les acides aminés avec une chaîne latérale ionisable (fonction acide ou amine):

**Acide :  $pH_i = pK_a + pK_r / 02$**

**(amine)  $pH_i = pK_b + pK_r / 02$**

#### 7. Propriétés chimiques des acides aminés

##### 7.1. Propriétés dues au groupement carboxyle

##### A-Estérification:

Résulte de la réaction avec un alcool



**R**

**R**

### **B-Amidation :**

Elle résulte de la réaction avec une amine. Lorsque l'amine provient d'un autre acide aminé cela conduit à une liaison peptidique.



### **C-Décarboxylation:**

La décarboxylation d'un acide aminé donne naissance à une amine (ex: histidine donne histamine, sérine donne éthanolamine). (voie chimique ou enzymatique)



## **7.2. Propriétés dues au groupement amine**

### A- amidation



## **7.3. Propriétés dues aux -COOH et NH<sub>2</sub> :**

La réaction de décarboxylation et de désamination avec la ninhydrine est l'une des plus connues et utilisée, elle aboutit à un produit violet, et un dérivé de couleur jaune pour la proline.

## **8. Séparation des acides aminés**

Il existe deux grandes techniques de fractionnement des acides aminés en solution :

- la chromatographie
- l'électrophorèse

**A- l'électrophorèse :** Cette technique sépare les aa selon leur charge électrique.

- Une solution aqueuse d'un mélange d'aa est placée sur un gel d'électrophorèse
- On applique un champ électrique de haut voltage à ce gel placé dans une solution tampon.

A cause de leur différent pHi, les aa migrent dans des directions et des vitesses différentes selon le pH du système tampon et le type de gel. Pour établir leur localisation caractéristique, des échantillons d'aa témoins sont traités dans les mêmes conditions.

**B-La chromatographie :** La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différentes affinités d'un ou plusieurs composés à l'égard de deux phases (stationnaire et mobile). L'échantillon est entraîné par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus ou moins les composés de l'échantillon à l'aide de différentes interactions. L'échantillon plus ou moins soluble dans la phase mobile.

### B-1. Types de chromatographies

Type	Critère de séparation
Adsorption	Polarité
Partage	Solubilité
Exclusion	Taille des molécules
Échangeuse d'ions	Charge ionique
Affinité	Structure des protéines

### 9. Dosage des acides aminés

Les aa peuvent être quantifiés par :

- Colorimétrie : les aa peuvent être identifiés grâce à des réactions colorées spécifiques des chaînes latérales.

- spectrophotométrie : les aa aromatiques (Tyr, Phe, Trp) sont dosés à 280 nm.

- La méthode de Van Slyke : dosage du N<sub>2</sub> libéré

## II-Les peptides

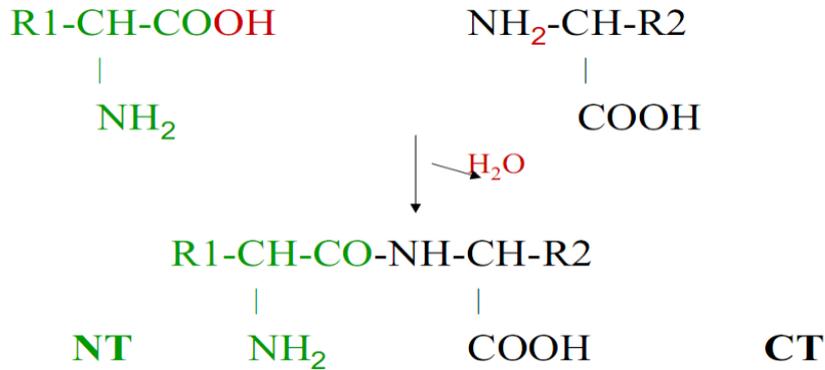
### 1- Définition :

- des polymères d'aa reliés entre eux par une liaison **peptidique**, (formation d'une amide entre la fonction acide d'un premier aa et la fonction amine d'un deuxième)
- liaison covalente, assure le maintien de la structure
- les peptides s'écrivent avec l'acide aminé N-terminal (qui a le groupement -NH<sub>2</sub> libre) à gauche et l'acide aminé C-terminal (qui a le groupe -COOH libre) à droite.
- Un AA engagé dans une chaîne peptidique s'appelle un résidu.(nom d'AA avec suffixe « yl »)

### 2- Nombre d'AA sur un peptide

- sont des protéines de faible dimension:

- Un oligopeptide: formé 2 à 10AA
- Un polypeptide : n<100
- Au de la de 100AA c'est une protéine



### 3-Détermination de la séquence peptidique

#### 1<sup>er</sup> étape: hydrolyse totale du peptide

- **Hydrolyse acide:** HCL 6N à 110° pendant 12 à 24h
- Hydrolyse alcalin par chauffage

#### 1<sup>er</sup> étape: identification de l'Aterminal

- **A-Identification de l'AA N-terminal**
- **A-1-Méthodes chimiques:** réactions de Sanger, Edman et Dansylation

**La dégradation de Sanger:** utilise le 1-Fluoro-2,4dinitrobenzène (FDNB) comme réactif.

Peptide + DNFB

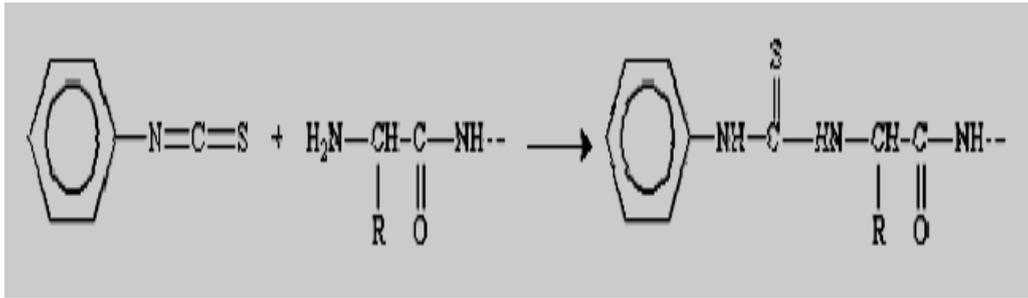
DNP-peptide

DNP-peptide + HCL

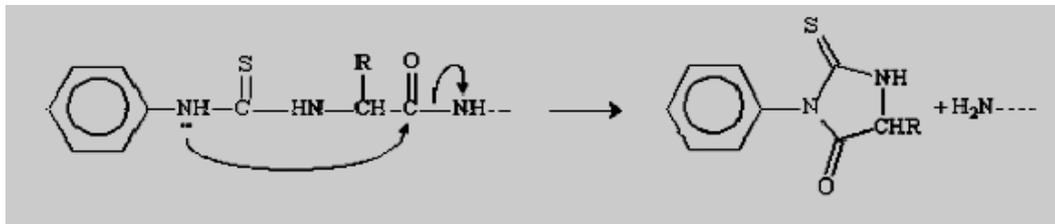
DNP-AANt + les autres AAlibres

**La dégradation d'Edman :** utilise un autre réactif l'isothiocyanate de phényle (PITC).

Dégradation séquentielle du peptide(libération l'un après l'autre des AA)



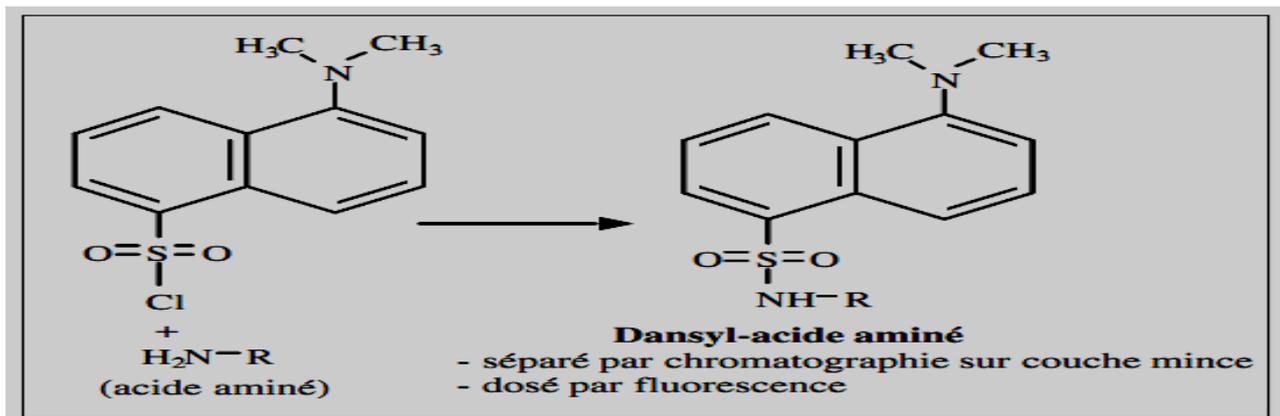
- Ce composé se cyclise en cycle à 5 éléments . Cela entraîne la rupture d'une seule liaison peptidique et permet de répéter l'opération, on peut former un PTH-aminoacide (phénylthiohydantoin) avec le 2<sup>ème</sup>, puis le 3<sup>ème</sup> en dégradant séquentiellement la protéine ou le polypeptide.



On peut déterminer la nature de tous les aa en partant de l'extrémité N terminale.

Peptide + PITC      PTC-peptide    cyclisation      PTH- aa + peptide

- **La méthode au chlorure de dansyle** (Chlorure de l'acide 1-diméthyl aminonaphtalène 5-sulfonique). Il se forme un dansyl-aminoacid



### A-2-Méthodes enzymatiques:

- Leucine aminopeptidase coupe tous les aa (série L) du côté N-terminal sauf proline.
- Proline aminopeptidase (iminopetidase) coupe proline du côté N-terminal.

- Aminopeptidase coupe tous les aa (série L) du côté N-terminal.

## **B-Acides aminés C-terminaux:**

### **B-1 méthode chimique**

**Hydrazinolyse:** L'hydrazine  $\text{NH}_2\text{-NH}_2$  coupe toutes les liaisons peptidiques en les transformant en :

hydrazides à l'exception de l'aa C-terminal qui reste sous forme libre.



### **B-2. méthodes enzymatiques**

Elles sont assurées par les carboxypeptidases . Il existe plusieurs carboxypeptidases dont 3 sont importantes : A B et C. (L'aa C-terminal doit être de la série L).

- l'action de la carboxypeptidase A:détache tous les AAAct sauf l'arginine, lysine ou proline
- Pour la carboxypeptidase B : détache la lysine, arginine comme aa C-terminal.
- L'action de A+B: détache tous les AAAct sauf la proline.
- L'action de carboxypaptidase C détache la proline en C-terminal

### **A. Méthodes chimiques**

**1. le bromure de cyanogène, CNBr,** coupe le polypeptide au niveau des carboxyles de la méthionine.(après met)

**2. l'acide performique,** le  $\beta$  mercaptoéthanol hydrolysent (coupe) les ponts disulfures.

### **B. Méthodes enzymatiques:**

**La trypsine:** coupe la molécule au niveau du carbonyle de la lysine et de l'arginine, sauf si aa à droite est une proline.

**la chymotrypsine:** coupe la molécule essentiellement au niveau du carbonyle d'un aa aromatique : phénylalanine, tyrosine ou tryptophane, sauf si a droite il y a une proline.

**La thermolysine:** coupe la molécule au niveau de l'extrémité N de l'aa (avant) : leucine, isoleucine ou valine, sauf si aa à gauche est une proline.