

Résumé – Acides aminés et peptides

I. Généralités

Les acides aminés sont les éléments de base des **protéines** et le résultat de la traduction de codons (= triplets de nucléotides) présents dans les exons des ARNm. Il en existe **20 courants**. Par leurs propriétés chimiques, ils sont sources de **diversité** de formes et de fonctions pour les protéines.

Leur masse moléculaire **moyenne** est de **110 Da** (Dalton). Le plus léger de ces acides aminés est la glycine avec 57 Da et le plus lourd est le tryptophane avec 186 Da.

Chaque acide alpha aminé possède un carbone alpha central qui est lié à :

- Un groupement **amine primaire** basique ;
 - Un groupement **acide carboxylique** ;
- La présence de ces deux groupements définit un AA.



Une chaîne **latérale R** dont la nature **différencie les acides aminés entre eux**. La chaîne latérale R est **variable** :

- En **taille** ;
- En **charge** ;
- En **polarité** (= hydrophobicité) ;
- En **réactivité chimique** ;
- **Aliphatique** ou **aromatique**.

Les acides aminés sont divisés en **quatre** grandes familles :

- **Non polaire** : G, A, V, L, I, M, P, W, F ;
- **Polaires** : S, T, C, Y, N, Q ;
- **Chargés basiques** : K, R, H ;
- **Chargés acides** : D, E.

Nom	Abréviations		Nom	Abréviations	
Alanine	Ala	A	Leucine	Leu	L
Arginine	Arg	R	Lysine	Lys	K
Asparagine	Asn	N	Méthionine	Met	M
Acide aspartique	Asp	D	Phénylalanine	Phe	F
Cystéine	Cys	C	Proline	Pro	P
Acide glutamique	Glu	E	Sérine	Ser	S
Glutamine	Gln	Q	Thréonine	Thr	T
Glycine	Gly	G	Tryptophane	Trp	W
Histidine	His	H	Tyrosine	Tyr	Y
Isoleucine	Ile	I	Valine	Val	V

Remarque – Tous ont un carbone asymétrique qui est le carbone alpha sauf la glycine qui n'en a aucun et l'isoleucine et la thréonine qui en ont deux.

II. Les différents acides aminés

A. Les AA non polaires, hydrophobes

La plupart sont **aliphatiques** mais il en existe des **aromatiques** : **phénylalanine** et **tryptophane**. Les aromatiques **absorbent dans l'UV** à 280 nm.

Méthionine :

- **AA essentiel** ;
- **Soufre** dans sa chaîne carbonée.

Proline :

- Sa chaîne latérale se replie pour créer un **cycle avec la fonction amine secondaire** → structure rigide et plane ;
- Grand rôle dans la formation d'hélice de collagène ;
- Permet la **formation de coude** → changement de direction dans les protéines ;
- Si **hydroxylation** : **Proline + OH** → **4-hydroxyproline** :
 - rôles physiologiques dans le **collagène** de la MEC ;
 - senseur de **l'hypoxie** → active **HIF1alpha**.

B. Les AA polaires, hydrophiles

Tyrosine :

- **AA aromatique** ;
- Essentielle car précurseur de **neurotransmetteurs**.

Phénylalanine :

- **Précurseur de la tyrosine** par hydroxylation réalisée par la phénylalanine hydroxylase : phénylalanine + OH → tyrosine ;
- Déficit de cette hydroxylation : **phénylcétonurie** :
 - accumulation phénylalanine toxique ;

- maladie dépistée à la naissance par test de Guthrie.

Sérines, thréonines et tyrosines :

- **AA hydroxylées** ;
- peuvent être **phosphorylées** → mécanisme de **régulation**.

Cystéine :

- Fonction **thiol** qui permet de former des **ponts disulfures** par oxydation → **stabiliser** les protéines et permettre **les liaisons entre les chaînes peptidiques**.

Asparagine et Glutamine :

- Fonction **amide** :
 - chez **l'asparagine**, cette fonction peut subir un **N-glycosylation** au niveau de **réticulum**.

C. Les AA chargés acides

- Porteurs charge **négative** à pH = 7 ;
- Si ajout d'une fonction **amine** par transaminase :
 - aspartate + NH₂ = Asparagine ;
 - glutamate + NH₂ = Glutamine ;
- Permettent de participer à des **liaisons ioniques** ou des **interactions avec des protéines positives**.

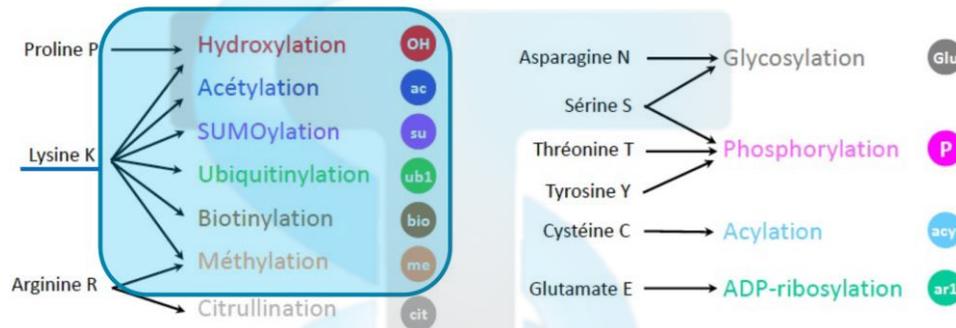
D. Les AA chargés basiques

- Porteurs charge **positive** à pH = 7 : captent un proton ;
- **Interaction avec structures chargées négativement** telles que **protéines ou ADN** pour créer des **liaisons ioniques** ;

L'ADN possède des phosphates : charge globale négative.

- **Arginine** : fonction **guanidyle** ;
- **Histidine** : fonction **imidazole** ;

- **Lysine :**
 - fonction **amine** ;
 - **AA extrêmement réactif** : mécanisme de régulation ;
 - très présentes dans les **queues d'histones** : régulation précise de l'expression de l'ADN selon le relâchement de la chromatine ;
 - présente dans de nombreux facteurs de transcription car chargée positivement ;



La lysine est un acide aminé très réactif.

E. Les AA essentiels

10 AA essentiels :

- Pas produits par l'organisme mais fournis par l'alimentation ;
- Méthionine, leucine, valine, lysine, isoleucine, phénylalanine, tryptophane, thréonine ;
- **Histidine et arginine** : essentiels seulement pendant l'enfance.

III. Les propriétés acido-basiques des AA

A. Acide-base

Acide : une molécule qui peut libérer un proton en milieu basique ;

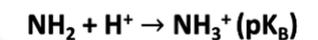
Base : molécule qui capte le proton ;

Base/acide = $\text{NH}_2/\text{NH}_3^+$.

Carboxyle : acide faible, régulé par pK_A .



Amine : base faible, régulée par pK_B .



La chaîne latérale R est :

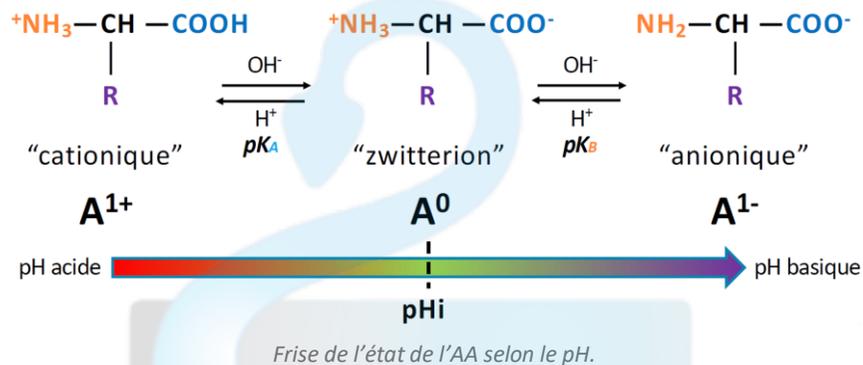
- Non ionisable ;
- Ionisable (pKR) :
 - acide : pour D et E ;
 - basique : pour K, R et H ;
 - autres : C et Y.

Remarque – il faut retenir DERCHKY.

-- +- +- -

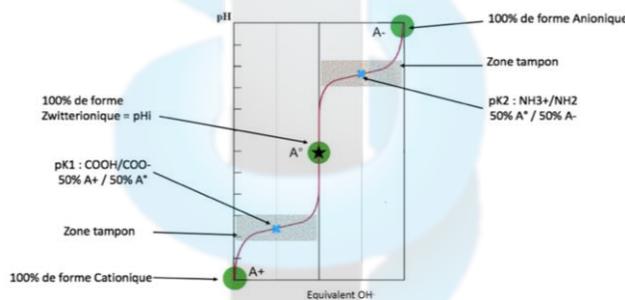
B. Ion amphotère

Le pH isoélectrique (pHi) : forme ionique de l'AA où la charge globale est nulle.



C. Courbe de titration

Pour les AA à chaîne latérale non ionisable, la courbe de titration est biphasique :



Courbes de titration d'un acide aminé à chaîne latérale non ionisable.

Remarque – Légende :

- **Les zones rondes** ● : **points d'équivalence** = 100% d'une seule forme (cationique, zwitterionique ou anionique) ;
- **L'étoile** ★ : **pHi** = forme zwitterionique ;
- **Les zones grisées** ■ : **régions tampons** ;
- **Les croix** ✕ : **points de demi-équivalence, mélange équimolaire** (50 % / 50 %) de 2 formes de l'AA.

$$\text{pHi} = \frac{1}{2} (\text{pKa} + \text{pKb})$$

Pour les AA à chaîne latérale ionisable, la courbe de titration est triphasique : pK₁, pK₂ et pK_r (chaîne latérale).

Pour calculer le pHi : $\text{pHi} = (\text{pK} + \text{pK}) / 2$, en choisissant les deux pKa qui encadrent la zone où l'AA est sous forme zwitterionique.

Pour les AA diacides :

$$\text{pHi} = \frac{1}{2} (\text{pKa} + \text{pKr}).$$

Pour les AA dibasiques :

$$\text{pHi} = \frac{1}{2} (\text{pKb} + \text{pKr}).$$

IV. Méthodes d'analyse des acides aminés

A. L'électrophorèse

Dans un champ électrique, les AA migrent vers l'électrode de polarité opposée :

- **Cathode** : attire les cations (chargés +) donc **négative** ;
- **Anode** : attire les anions (chargés -) donc **positive**.

$\text{pH} > \text{pHi}$ → charge globale de l'AA négatif (déficit de protons)
→ migre vers le + (anode) ;

$\text{pH} = \text{pHi}$ → charge globale neutre → ne migre pas (c'est la focalisation isoélectrique) ;

$\text{pH} < \text{pHi}$ → charge globale positive → migre vers le -(cathode).

B. La chromatographie

1. Échangeuse d'anions

- La chromatographie : chargée **positivement** ;
- Retient les anions ;
- Repousse les **cations** par les charges positives de la colonne ;
- Ordre de sortie de la colonne : cations puis AA neutres puis anions ;
- Pour un peptide digéré, l'élution de ces fragments se fait selon l'ordre croissant des pHi des fragments.

2. Échangeuse de cations

- La chromatographie : chargée **négativement** ;
- Retient les cations ;
- Repousse les **anions** par les charges négatives de la colonne ;
- Ordre de sortie de la colonne : anions puis AA neutres puis cations ;
- Pour un peptide digéré, l'élution de ces fragments se fait selon l'ordre décroissant des pHi des fragments.

V. Rôles biologiques des acides aminés

Les AA sont les précurseurs de nombreuses molécules :

- **Intermédiaires métaboliques** : créatine, citrulline, ornithine, etc. ;
- **Neurotransmetteurs du cerveau** : glycine ;
- **Hormones** : catécholamines, GABA, T3/T4, etc. ;
- **Coenzymes** : NAD ;
- **Nucléotides** : Asp et Gln ;
- **Substrats énergétiques**.

A. Acide glutamique précurseur du GABA

Glutamate – CO₂ → GABA

GABA :

- Obtenu après **décarboxylation du Glutamate** par la glutamate décarboxylase ;
- Principal **inhibiteur du système nerveux central** ;
- Signalisation modulée par benzodiazépines , barbituriques, alcool, antiépileptiques qui **activent le GABA** ;
- Dérégulé dans les épilepsies. Lors d'une crise d'épilepsie, le cerveau est surexcité et transmet des messages neuronaux abusifs → provoque des tremblements :
 - traitement : fournir du GABA qui va inhiber ces messages neuronaux.

B. Histidine, précurseur de l'histamine

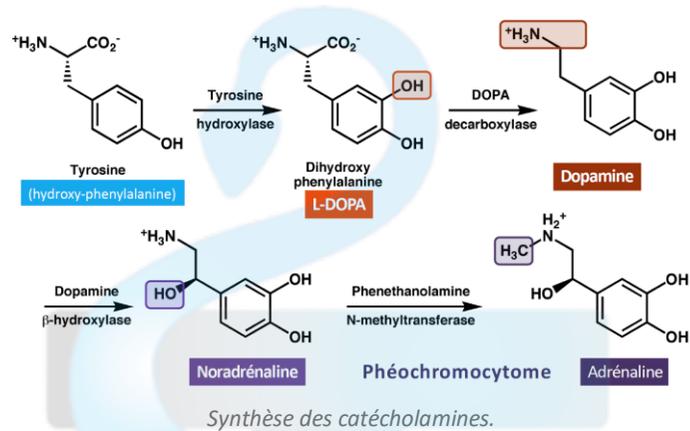
Histidine – CO₂ → Histamine

Histamine :

- Obtenu après **décarboxylation** du groupement carboxyle du carbone alpha de l'**histidine** par l'histidine décarboxylase ;
- Amine **vasoactive** :
 - augmente la perméabilité des vaisseaux sanguins ;
- Fréquemment source d'allergies, d'anaphylaxie, d'urticaire ou d'inflammation ;
 - traitement : les **antihistaminiques** bloquent l'histidine décarboxylase et donc la production d'histamine.

C. Tyrosine, précurseur des catécholamines

La **tyrosine** va donner la **L-DOPA** sous l'action de la tyrosine hydroxylase. Ensuite, la DOPA décarboxylase permettra de créer la **dopamine**. Cette dernière va être hydroxylée pour produire de la **noradrénaline**. La noradrénaline peut ensuite être méthylée pour aboutir à de l'**adrénaline**.



Tyrosine :

- Précurseur des catécholamines ;
- **Phénylcétonurie** : très graves puisque tyrosine non produite par l'organisme ;
- **Phéochromocytomes** : cancers qui synthétisent en trop grande quantité des catécholamines.

Adrénaline : hormone du **stress** donnée en réanimation pour réveiller les patients.

Si les neurones dopaminergiques (**Parkinson**) sont détruits :

- Pas de dopamine qui permet de réguler les mouvements ;
- Traitement : **donner de la L-DOPA** pour **synthèse endogène de dopamine**.

D. Tyrosine, précurseur des hormones thyroïdiennes

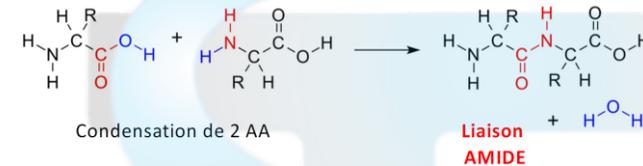
Tyrosine :

- Intervient dans formation des hormones thyroïdiennes **T3** (forme active) **et T4** ou encore la **reverse T3** ;
- Cancers de la thyroïde (goitre) → hyperthyroïdie ou hypothyroïdie.

VI. Les peptides

A. La liaison peptidique

- AA reliés par une liaison peptidique :
 - liaison amide covalente ;
 - obtenue par réaction de condensation ;



Formation de la liaison peptidique.

- **liaison peptidique amide rigide et plane** : limite la rotation de la molécule aux angles psi et phi des carbones alpha ;
- Peptide orienté du N-term avec un NH₂ libre au C-term avec un COOH libre.

B. Nomenclature

- AA pris dans la chaîne = **résidus** ;
- Suffixe « -yl » ajouté pour tous les AA **sauf pour le dernier** situé en C-term, qui garde son nom ;
- On commence par N-term et on termine par la C-term.

Oligopeptide : moins de 20 résidus.

Polypeptide : de 20 à 50 résidus.

Protéine : plus de 50 résidus.

Poids moléculaire = Nbre AA × 110 Da.

C. Exercice de charge peptidique

Pour connaître la **charge** (= **état d'ionisation**) d'un peptide à n'importe quelle valeur de pH :

- 1) Identifier les **groupements ionisables** de ce peptide ;
- 2) Pour chaque groupement trouver son pKa ;
- 3) Prendre pK_B de l'AA en N-Term ;
- 4) Prendre pK_A de l'AA en C-Term ;
- 5) Prendre pK_R des AA à chaîne latérale ionisable.

D. Détermination de la séquence de peptides

1. Séquençage d'Edman

Ce séquençage passe par une réaction entre l'**isothiocyanate de phényle** et la fonction amine libre de l'**AA en position N-term**. Il y aura ainsi libération du reste du peptide. On obtient du **phénylthiohydantoïne (PTH)**, molécule résultant de la fusion de l'**isothiocyanate de phényle** et de l'**AA N-terminal**.

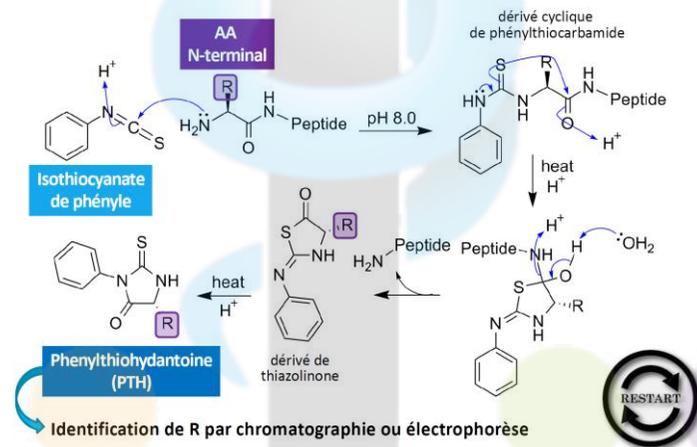


Schéma du PTH, avec R la chaîne carbonée de l'AA détaché du peptide.

Le PTH sera analysé par **chromatographie ou électrophorèse** pour identifier la nature de la chaîne R de ce premier AA séparé du peptide. On peut recommencer cette réaction avec le reste du peptide, pour séquencer tout le reste de la molécule.

2. Clivages spécifiques

Outils chimiques :

- **Bromure de cyanogène (KCN)** : coupe après M ;
- **Acide 2-nitro-5-thiocyanobenzoïque (NTCB)** : coupe avant une C ;
- **Hydroxylamine** : coupe entre N et G.

Outils enzymatiques :

- **Amino- et carboxy-exopeptidases** : coupent respectivement **après l'AA en N-term** et **avant l'AA en C-term** ;
- **Trypsine** : coupe **après K ou R sauf si P derrière +++** ;
- **Chymotrypsine** : coupe **après les AA aromatiques = F, Y ou W sauf si P derrière**.

3. Carte peptidique massique

Méthode qui permet d'identifier une protéine en **mesurant la masse exacte de ses peptides**, issus d'une digestion trypsique, en les passant dans un spectromètre de masse, puis en les comparant à des séquences de protéines existant dans la base de données de l'ordinateur.

Les spectroscopes de masse **mesurent le rapport m/Z des peptides ionisés**. Les fragments **les plus gros avancent** ainsi **moins vite** dans le tube que ceux plus légers. À la fin du tube se trouve un détecteur très précis qui va mesurer la masse de chaque peptide. On obtient une liste de **masses expérimentales** très précises. On va les comparer à des séquences protéiques théoriques présentes dans les banques de données, et ainsi l'ordinateur va indiquer quelle protéine semble être à l'origine de ces peptides (**probabilités**).

V. Peptidase, protéase et maturation des protéines

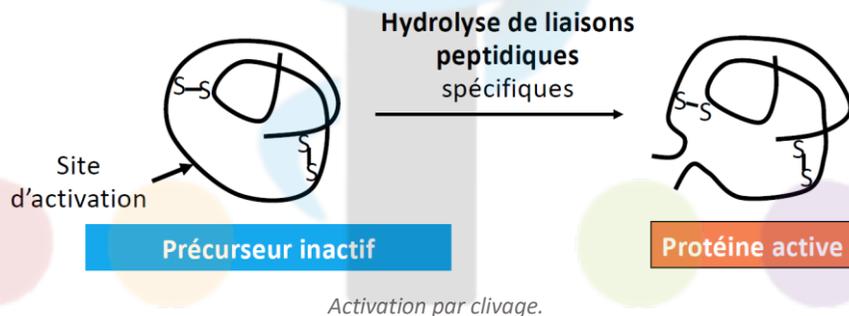
A. Clivage du peptide signal

Le peptide signal :

- Petite **séquence peptidique** de **16 à 30 AA**, située en N-term de la protéine ;
- Synthétisé dans une pro-protéine par un ribosome ;
- Clivé pour donner la protéine mature ;
- Permet l'adressage pour des protéines résidentes de certains organelles, sécrétées par la cellule, voire insérées dans les membranes cellulaires ;
- Séquence composée d'une **région hydrophobe entourée de deux régions N- et C-terminales**.

B. Maturation par clivage

- Protéine activée par **protéolyse partielle** qui donne à la protéine sa forme fonctionnelle ;
- Protéolyse réalisée par des protéases.



C. Maturation de l'insuline

Insuline :

- **Molécule hypoglycémiante**, synthétisée par les **cellules β du pancréas** ;
- Subit différentes étapes de maturation au sein du RE avant d'atteindre sa forme active, libérée dans le sang ;
- Maturation insuline : Pré-pro-insuline :
 - 1) Clivage du **peptide signal** N-term par la **signal peptidase** \rightarrow pro-insuline ;
 - 2) Formation de **trois ponts disulfures intra-caténaux** ;
 - 3) Clivage du **peptide C** par la **pro-convertase 1** ;
 - 4) Maturation finale de la **chaîne B** par la **carboxypeptidase E** ;
- Pathologie : **Diabète** : défaut de synthèse ou de fonctionnement de l'insuline \rightarrow hyperglycémie :
 - due à la destruction des cellules du pancréas : Type 1 ;
 - due à une résistance anormale à l'effet de l'insuline : Type 2 ;
 - traitement : production artificielle d'insuline.

VI. Rôle biologique de peptides : exemples

Nombreux peptides biologiquement actifs :

- Hormones ;
- Neuropeptides : ocytocine, vasopressine ;
- Inflammation : bradykinine ;
- Immunité : peptides antimicrobiens, pénicillines ;
- Équilibre redox : glutathion ;
- Toxines : venins de serpent.

A. Hormones

Glucagon :

- Molécule hyperglycémiant de 29AA ;
- Produite dans les cellules α du pancréas par clivage du pro-glucagon qui relargue des molécules responsables de la satiété.

LH (hormone lutéinisante) et FSH (hormone folliculo-stimulante) :

- **Glycoprotéines** composées d'une **chaîne polypeptidique α chacune (identique)** et d'une **chaîne polypeptidique β (différentes)** : fonctions biologiques propres ;
- Action périphérique sur le testicule et l'ovaire. Chez la femme :
 - pic de **FSH** pendant la maturation du **follicule** ;
 - pic de **LH** pendant l'**ovulation** ;
 - dosées dans les tests d'ovulation, les bilans de stérilité, et en PMA/FIV ;
- **Gonadotrophines hypophysaires** synthétisées en réponse au **GnRH** par l'antéhypophyse.

B. Neuropeptides

Ocytocine :

- **Polypeptide** de **9 AA**, comportant un **pont disulfure** ;
- Excrétée par le **neurohypophyse** ;
- Action sur les **muscles lisses de l'utérus** et des **glandes mammaires**.

Vasopressine = hormone anti-diurétique = ADH :

- **Polypeptide** de **9 AA**, comportant un **pont disulfure** ;
- Libérée par le **neurohypophyse** si **diminution de la volémie** et **d'augmentation de l'osmolarité** ;
- Provoque une **réabsorption d'eau** par augmentation de l'expression d'aquaporines à la surface des tubules rénaux : baisse ainsi la quantité d'urine.

C. Inflammation et immunité

Bradykinine :

- **Nonapeptide** ;
- Rôle important dans la **vasodilatation** et l'**augmentation de la perméabilité vasculaire** pendant l'inflammation ;
- **Kininogène** est converti par la **kallibréine** en **bradykinine** ;
- **Inhibiteurs de l'ACE = enzyme de conversion de l'angiotensine**= bloquent la dégradation de la bradykinine :
 - utilisé pour diminuer la pression artérielle.

Peptides antimicrobiens (PAM) :

- Entre **12 et 50 AA** ;
- Riches en résidus Arg/Lys (chargés +) ;
- > 50 % d'AA hydrophobes ;
- Présence de charges et d'AA apolaires = « **amphiphile** » ;
- Produits par les **PNN, les macrophages**, les cellules épithéliales, ou même les glandes sous-muqueuses ;
- **Puissants antibiotiques** : **réponse immunitaire innée** non spécifique.

D. Oxydo-réduction

Gluthation = γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine :

- Peptide qui possède une cystéine avec une **fonction thiol sous forme oxydée ou réduite** ;
- Régulateur majeur du **potentiel redox cytoplasmique** de par ses propriétés anti-oxydantes ;
- Détoxifie la cellule par l'élimination d'espèces réactives de l' O_2 ;
- Traitement pour l'overdose de paracétamol.

E. Toxines

Venins de serpents :

- **Mélanges** complexes de **toxines peptidiques** (> 1 000) avec activité biologique propre ;
- Sources importantes de **molécules pharmacologiquement actives** ;
- Venins de serpent anticholinergiques bloquent ou stimulent la fonction neuromusculaire ;
- Principales classes de neurotoxines :
 - **cardiotoxines** ;
 - **hémotoxines** (anti-coagulante) ;
 - **myotoxines** (effet paralysant) ;
 - **neurotoxines** ;
 - **toxines vasoactives**.