

ACIDES AMINÉS

Les **protides** (ou **protéines**) ont un rôle central. Ils sont les constituants les plus abondants de l'organisme, dans les cellules, du point de vue qualitatif et quantitatif. Elles représentent en général plus de la moitié du poids sec des cellules.

- Les molécules les plus abondantes.
 - Les **AA** = acides aminés = aminoacides, au nombre de 20
 - Les **peptides** (*chaîne d'acides aminés*)
 - Les **protéines** = polypeptides = long peptides (*produit de l'expression des gènes*), *grande diversité, notamment grâce aux modifications post-traductionnelles.*
- **Grande diversité de structure** et donc de fonctions biologiques (*structure définit la fonction biologique*)

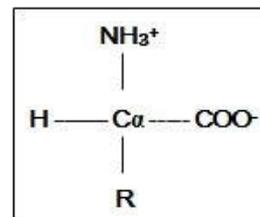
I. STRUCTURE DES AMINOACIDES

A. Définitions

Les **AA** possèdent **au moins** 1 fonction **acide carboxylique** et 1 **fonction amine**.
Les plus courants sont les **acides α -aminés** et nous ne parlerons que de cela.

Commun à tous les acides α -aminés :

- Une fonction acide-carboxylique
- Une fonction amine primaire
- Un groupement latéral R



NB : C_α = Carbone N°2 (*Carbone lié à la fonction*)

CLASSIFICATION :

Dans le vivant on distingue plusieurs centaines d'AA, pour les classer on distingue :

- **Constitutifs des protéines** :

On les rencontre dans les **protéines** et sous **forme libre** :

20 AA **standards** ou **primaires** : acides α -aminés de la série L **codés génétiquement et peuvent subir des modifications post traductionnelles**. **Le code génétique ne comprend que 20 AA**. Ils sont appelés protéinogènes car ils rentrent dans la composition des protéines.

- **Non constitutifs des protéines** (α ou non α) :

Ils peuvent être isolés comme la citrulline et l'ornithine qui entrent dans le métabolisme cellulaire.
 On a aussi des acides aminés qui vont constituer de petits peptides de micro-organismes ou de végétaux.
 ⇒ **On ne les trouve qu'à l'état libre.**

B. Les Acides α -aminés Constitutifs

a) Les 20 AA standards

Ce sont les seuls codés génétiquement.

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

Ils sont tous caractérisés par une amine primaire **SAUF LA PROLINE** qui possède une amine II° sur son C α :

→ C'est un acide **α -iminé**.

La proline reste un des vingt aminoacides standards.

Elle est peu fréquente dans les protéines et non-essentielle dans l'alimentation humaine.

On retrouve également un acide aminé qui est formé par oxydation du cycle : l'hydroxyproline qui se trouve en grande quantité dans certaines protéines comme le collagène. Elle est produite suite à une modification post-traductionnelle.

On retrouve aussi 2 acides α -aminés rares :

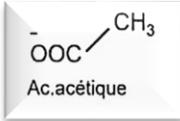
- **Sélénocystéine (notée Sec ou U)**, retrouvée chez les eucaryotes
- **Pyrrrolysine**, retrouvées chez des archéobactéries et certaines enzymes, cette dernière n'est **pas à retenir**.

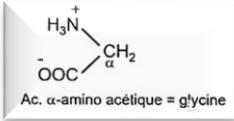
b) Nomenclature

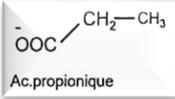
➤ La nomenclature officielle :

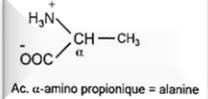
« acide α -amino » + nom de l'Acide organique

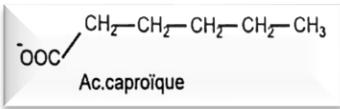
- Acide α -amino acétique = **glycine**

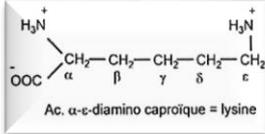


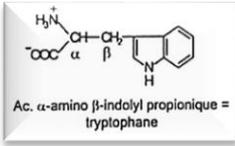

- Acide α -aminopropionique = **alanine**




- Acide α - ϵ -diamino caproïque = **lysine**




- Acide α -amino β -indolyl propionique = **tryptophane**



Exemple proline : acide pyrrolidine-2-carboxylique. Les noms officiels des AA ne sont pas à retenir.

➤ Dénominations communes :

- Nom commun d'usage : glycine, alanine...
- Système à 3 lettres
- Système à 1 lettre

c) Classification selon :

1) Le NOMBRE d'ATOME de C de chaque AA.

La glycine est le seul aminoacide à deux carbones. Tous les autres ont au moins 3 carbones.

- C₃ : Ala, Ser, Cys, ...
- C₄ : Thr, Asn, Asp, ...
- C₅ : Val, Met...
- C₆ : Leu, Ile, Lys...

Cette classification est peu utilisée, on utilise plutôt la classification selon la nature du groupement latéral R.

2) La NATURE CHIMIQUE du groupement latéral R

▪ Groupement latéral ALIPHATIQUE

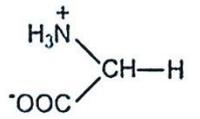
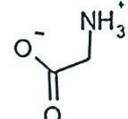
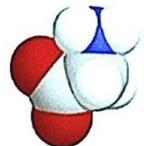
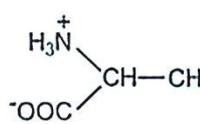
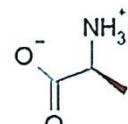
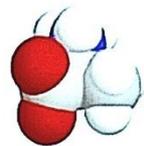
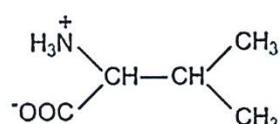
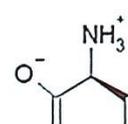
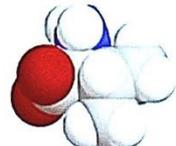
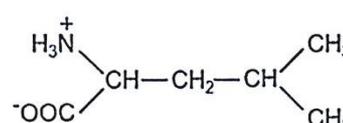
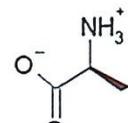
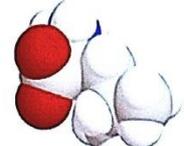
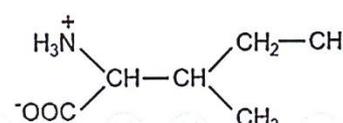
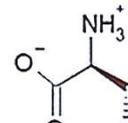
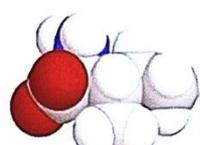
→ **Hydrocarboné :**

- Linéaire : **Gly, Ala**
- Ramifié : **Val, Leu, Ile** (isomère de la leucine : isoleucine)

➤ **Groupement latéral aliphatique**

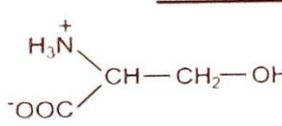
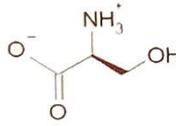
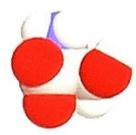
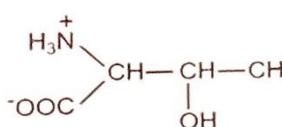
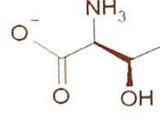
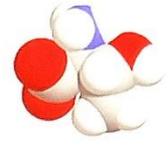
▪ hydrocarboné :

• linéaire :

	Glycine	Gly	G		
	Alanine	Ala	A		
• ramifié :					
	Valine	Val	V		
	Leucine	Leu	L		
	Isoleucine	Ile	I		

→ **A fonction alcool : Ser, Thr**

▪ à fonction alcool :

	Sérine	Ser	S		
	Thréonine	Thr	T		

Elles possèdent un groupement hydroxyle (OH) qui vont être la cible de différentes modifications post traductionnelles dont des phosphorylations par les kinases ou de glycosylation.

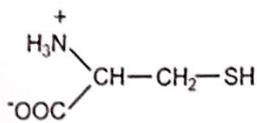
On parlera d'O-glycosylation pour ces acides aminés car les sucres sont ancrés sur l'oxygène du groupement hydroxyle.

La sérine est retrouvée dans des protéines en contact avec les solvants.

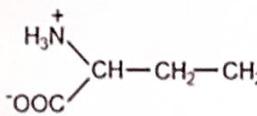
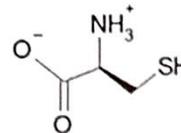
La thréonine possède 2 carbones asymétriques donc on peut avoir 4 stéréoisomères.

→ **Soufré** : Cys, Met

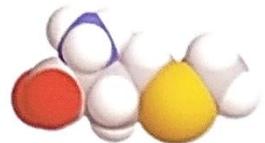
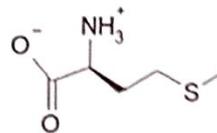
▪ **soufré** :



Cystéine Cys C



Méthionine Met M



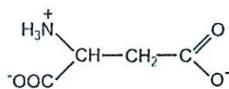
La cystéine est un acide aminé soufré avec un groupement sulfidre. Cette fonction peut être sollicitée pour former des ponts disulfures. Ce sont les liens les plus stables de la structure tertiaire et quaternaire des protéines.

La méthionine joue un rôle important dans les réactions cellulaires de méthylation. Elle joue un rôle spécifique dans **le complexe d'initiation de la biosynthèse des protéines** in vivo car elle constitue le premier acide aminé qui est ajouté. C'est un acide aminé essentiel dans l'alimentation humaine.

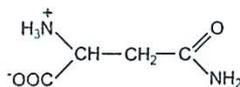
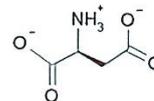
→ **A fonction acide** : Asp, Asn, Glu, Gln

Les amides correspondants sont souvent trouvés à la surface des protéines. On peut avoir une N-glycosylation sur l'asparagine. Importantes à la conformation de la protéine car elles fournissent des liaisons hydrogènes.

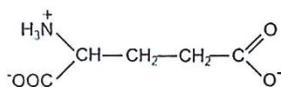
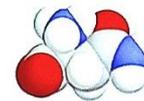
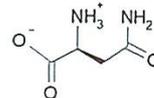
▪ **à fonction acide (et amide correspondante) :**



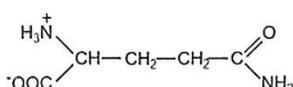
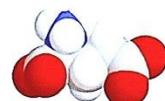
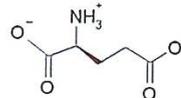
Aspartate Asp D
(ac. aspartique)



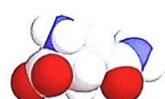
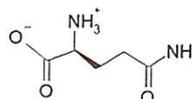
Asparagine Asn N



Glutamate Glu E
(ac. Glutamique)

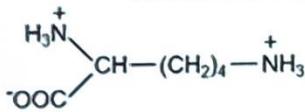


Glutamine Gln Q



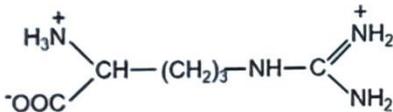
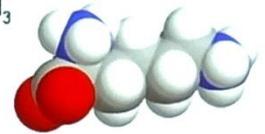
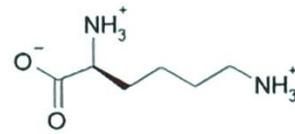
→ A fonction basique : Lys, Arg

▪ **à fonction basique:**



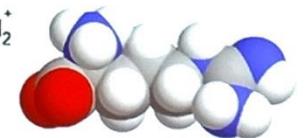
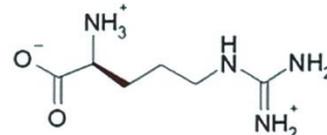
Lysine

Lys K



Arginine

Arg R



La lysine a un groupe epsilon-aminé ionisable à pH acide et va être la cible de plusieurs modifications post traductionnelles (ubiquitinylation, méthylation...) que l'on retrouvera entre autres au niveau des histones, la lysine permet donc la régulation de la transcription.

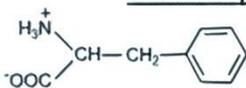
L'arginine est le plus polaire et le plus hydrophile de tous les radicaux d'acide aminés des protéines. Elle est impliquée dans le cycle de l'urée et dans le contrôle des composés azotés de l'organisme.

- Groupement latéral **CYCLIQUE**

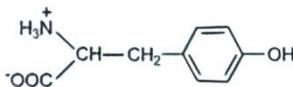
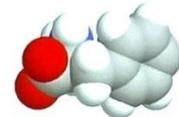
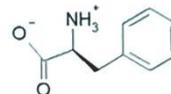
Classification selon la nature chimique du groupement latéral

➤ **Groupement latéral cyclique**

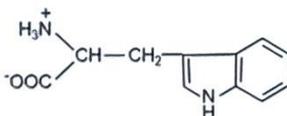
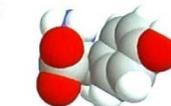
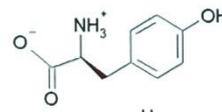
- **aromatique :**



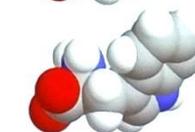
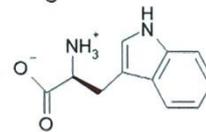
Phénylalanine Phe F



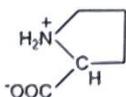
Tyrosine Tyr Y



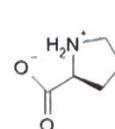
Tryptophane Trp W



- **acide α-iminé :**



Proline Pro P



- **Hétérocyclique :** Trp, His, Pro

→ **Aromatique** : Phe, Tyr, Trp

Ces 3 acides aminés absorbent la lumière UV. On les trouve à l'intérieur des protéines solubles dans l'eau et dans les hélices membranaires.

→ **A fonction basique** : His

L'histidine est un noyau aromatique. Sa chaîne latérale est légèrement acide pour un pH physiologique. Elles établissent des liaisons hydrogènes ou des ponts salins.

→ **Acide α -iminé** : Pro

→ **Hétérocyclique** : Trp, His, Pro.

Le tryptophane est impliqué dans la fabrication de la sérotonine, qui est un neuromédiateur.

3) La POLARITÉ du groupement latéral R

ATTENTION !

→ **Les notions de polarité et de non polarité se rapportent au groupement latéral.** Un AA libre (*en solution*) est toujours polaire par son amine et son groupement carboxyle. Ce n'est que dans une chaîne polypeptidique que l'on prendra en compte la polarité ou non du groupement latéral.

C'est la capacité à engager des Liaisons H, surtout avec l'eau.

Ceci est important, car selon l'enchaînement des AA dans les protéines, on a différentes formes de la protéine. Elle prend une certaine forme car il y a des liaisons entre les groupements latéraux.

On se place à pH physiologique :

On a des AA :

- Non polaire, non ionisable, fortement hydrophobes
- **Polaires non chargés,**
- **Polaires chargés négativement**
- **Polaires chargés positivement.**

Une protéine est **soluble ou non** : beaucoup de groupement apolaire = hydrophobe et inversement.

→ La polarité est importante pour la **stabilisation** et pour les **interactions** avec l'extérieur.

GROUPEMENT LATÉRAL NON POLAIRE :

❖ AA à groupement latéral non polaire (9)

Ils sont plutôt hydrophobes. La glycine est avec l'alanine l'un des AA le plus répandu.

Glycine :

- Appelé également glycol
- Très répandu dans les protéines (gélatine ++)
- Il a la plus petite masse moléculaire
- Il est non essentiel dans l'alimentation humaine et est classé par défaut dans les aliphatiques
- AA très peu volumineux

- Très peu encombré stériquement
- Groupement latéral R : un hydrogène
- N'a pas de C asymétrique en alpha (seul AA à avoir cette caractéristique)

Alanine :

- Homologue supérieur de la glycine
- La structure des autres acides aminés dérive de celle de l'alanine par substitution de divers groupements par un hydrogène du radical
- Petit
- Peu encombré stériquement.

Valine, Leucine, Isoleucine :

Elles ont un groupement aliphatique ramifié. Permettent le repliement des protéines. Ils doivent être apportés par l'alimentation. On les trouvera généralement à l'intérieur des protéines solubles dans l'eau ou dans les hélices membranaires en contact avec les lipides.

Méthionine :

Présente un soufre dans la chaîne latérale substitué par un méthyl au bout (*donc très peu réactif*). Une de ses fonctions est de donner son méthyl. C'est un AA essentiel, nécessaire à l'organisme et fourni par l'alimentation.

⇒ **C'est un AA soufré**

Phénylalanine :

- AA cyclique aromatique.
- **Très apolaire.**
- C'est de l'alanine substitué par un cycle aromatique.
- Possède un groupement phényl, un des plus hydrophobe.

Tryptophane :

Son nom provient du fait qu'il a été découvert par hydrolyse de la trypsine

C'est le plus rare des acides aminés.

- Substitution par un groupement indol
- Le moins fréquent des AA
- Le plus encombrant
- Très apolaire
- W est dans la formule topologique.

Proline :

- Seul acide iminé
- Permet la plicature de la chaîne polypeptidique

Groupement Latéral POLAIRE : (+ il est ramifié, + il est polaire). Ils sont en majorité hydrophiles.

❖ Aminoacides à groupement latéral polaire non-chargé à pH neutre :**Sérine** et **Cystéine**

De la famille de l'alanine, substitués par un groupement OH ou SH.

Thréonine et **Tyrosine**, aussi hydroxylé.

Sérine, thréonine et tyrosine ont un site de phosphorylation.

❖ Aminoacide à groupement polaire chargé négativement à pH neutre :

L'acide aminé est qualifié d'**acide**

Aspartate à mettre en relation avec l'**asparagine**, chargé négativement au pH physiologique.

→ **Asparagine**, est l'amide de l'**aspartate**.

Glutamate, de même, en relation avec la **glutamine**, chargé négativement au pH physiologique.

→ **Glutamine**, est l'amide du **glutamate**.

La seule différence entre glutamate et aspartate est le nombre de carbone (plus nombreux dans le glutamate).

❖ Aminoacide à groupement polaire chargé positivement :

L'acide aminé est qualifié de **basique**. Ce sont des acides hydrophiles.

Lysine :

- Longue chaîne latérale
- Amine ionisée

Arginine :

- Groupement guanidium terminal
- Ion guanidium
- 3 carbones pour la chaîne latérale

Histidine :

- Avec un groupement imidazol
- Aromatique

Attention → Chaîne latérale de l'histidine a un pKa = 0.6

d) Acides aminés essentiels/indispensables

L'organisme n'est pas capable de les synthétiser toutefois il en a besoin, ils doivent donc être apportés par l'alimentation.

Le	Leucine
Très	Thréonine
Lyrique	Lysine
Tristan	Tryptophane
Fait	Phénylalanine
Vachement	Valine
Méditer	Méthionine
Iseult	Isoleucine

De plus on a l'Arginine et l'Histidine (AA semi essentiel : indispensable chez le nourrisson)= ne parviennent pas à être synthétisés par l'organisme que selon certaines conditions.

e) Les Acides α -Aminés Non Standards

A partir des 20 AA standards, il peut y avoir des transformations **post** traductionnelles(phosphorylation, glycosylation, coupures, ubiquitinylation, ...). Ils deviendront alors des AA non standards.

Ce sont des AA non-codés mais constitutifs des protéines.

Ils sont issus de transformations post-traductionnelles : les protéines subissent d'importantes modification avant et pendant leur synthèse. Ces modifications très variées vont de la simple protéolyse à l'ajout covalent de groupements énormes.

Plusieurs fonctions de ces modifications (non dit mais laissé pour la compréhension) :

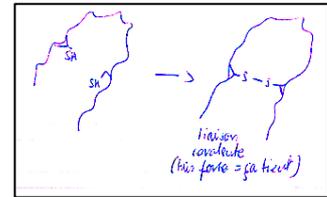
- Régulation de l'activité des protéines
- Etiquetage pour être retenu par des partenaires métaboliques
- Ancrage au niveau d'une membrane
- Participation aux cascades de signalisation
- Adressage pour qu'elles se trouvent au bon endroit
- Définir l'identité immunologique (ex : groupes sanguins)

➤ **4 exemples de modifications :**

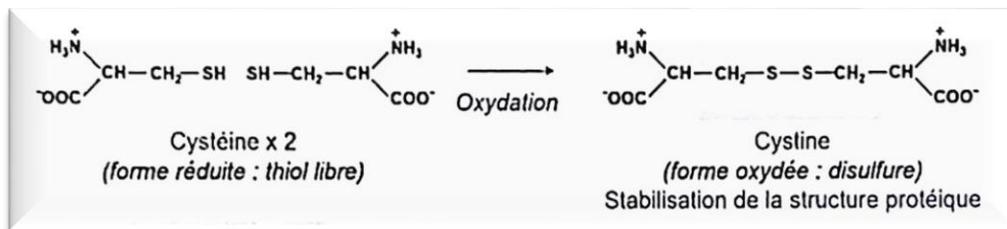
1. La cystine :

La cystéine possède un groupement thiol libre.

Dans les conditions nécessaires **2 cystéines** respectivement localisées sur 2 localisations de la protéine ou deux chaînes polypeptidiques différentes peuvent former **un pont disulfure** par oxydation qui aboutit à une liaison forte très difficile à rompre et permet la stabilisation des structures protéiques.

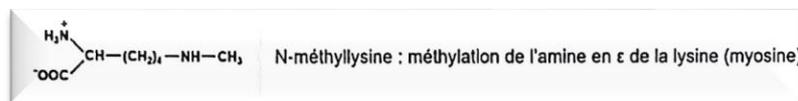


⇒ On aboutit à la formation d'une **cystine**. (Ne pas confondre cystine et cystéine !!)



2. N-méthyl lysine :

Méthylation de l'amine en ε de la lysine, retrouvé dans la myosine dans les muscles.



3. γ-carboxyglutamate :

Carboxylation d'un acide glutamique : le carbone en γ porte 2 COOH, retrouvé dans la prothrombine (facteur de coagulation).

Il y a alors une meilleure affinité pour les cations. La **vitamine K** rend possible ce mécanisme.

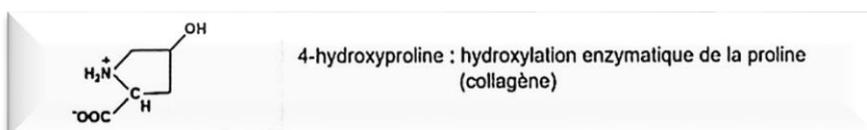


4. 4-hydroxyproline :

Hydroxylation enzymatique de la proline par la proline hydroxylase, beaucoup retrouvée dans le collagène.

Tout ça a des conséquences pratiques, médicales. C'est l'ajout d'un OH sur le carbone 4 de la proline.

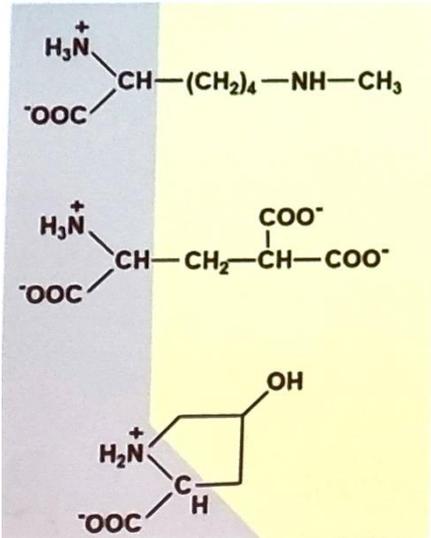
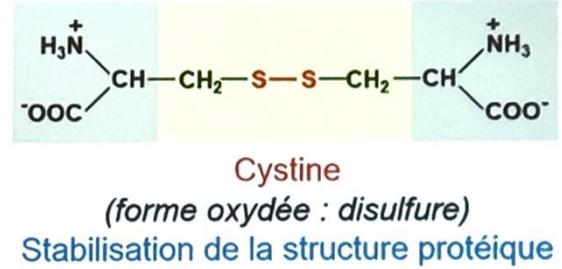
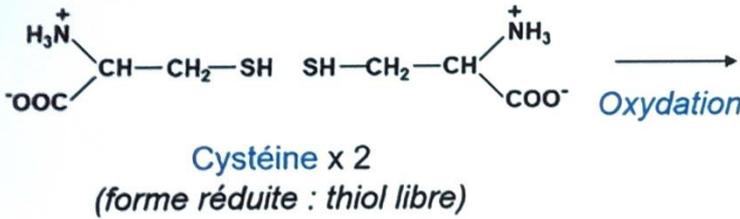
Les AA constitutifs sont ceux amenés par le code génétique et leurs transformations, on les retrouve dans les protéines.



Récapitulatif :

3. Les acides α-aminés non standards

⇒ AA constitutifs mais non codés (exemples)



N-méthyllisine : méthylation de l'amine en ε de la lysine (myosine)

γ-carboxyglutamate : le carbone en γ porte deux COOH (prothrombine)

4-hydroxyproline : hydroxylation enzymatique de la proline (collagène)

f) Les Acides Aminés NON CONSTITUTIFS

Ils ne sont jamais localisés dans les protéines.

On les trouve uniquement sous forme libre, soluble dans les cellules ou hors des cellules.

❖ AA α-aminés (exemples) :

Homocystéine, qui peut faire des liaisons disulfures mais uniquement en solution, produite par la déméthylation de la méthionine.

On parle d'homocystine après formation d'un pont S-S entre 2 homocystéines.



Ornithine :

Ressemble à la lysine, homologue inférieur de la lysine. Important dans la formation de l'urée, c'est-à-dire dans le métabolisme et l'élimination de l'azote de l'organisme.

g) Rôle Biologique des Acides Aminés

Ils peuvent être des **éléments constitutifs des protéines**.

✓ Structural

- Constituants fondamentaux des **peptides** et des **protéines ce sont donc des AA protéinogènes**
- Ordre d'enchaînement donne la **structure et la fonction des protéines**

✓ Énergétique

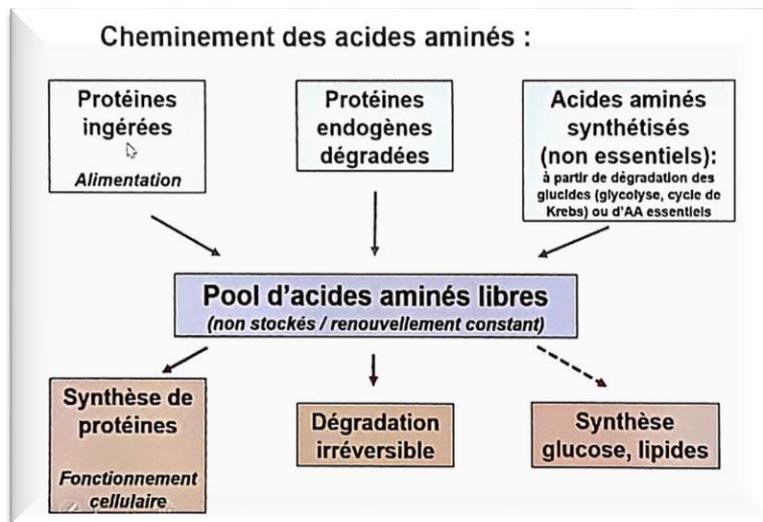
- La plupart des AA sont **des substrats énergétiques** car ils possèdent un pouvoir énergétique intrinsèque.
Le métabolisme est capable de récupérer les C et de les oxyder et récupérer de l'énergie.
La consommation de 1g de protéines = 4kcal d'énergie
Les protéines peuvent satisfaire entre 15 et 20% de nos besoins énergétiques.

✓ Métabolique : Précurseurs

- **His** → histamine (par décarboxylation de l'histidine) produit lors des réactions allergiques
- **Asp, Gly et Gln** → nucléotides puriques et pyrimidiques
- **Asp et Gln** → urée

✓ Fonctionnel : Activité Biologique Propre

- **Gln** → Intervient dans la transmission de l'influx nerveux (*neurotransmetteur*)



Les AA n'étant pas stockés, ils sont en renouvellement constants. Nous n'avons pas de stock d'AA libre dans l'organisme.

II. PROPRIETES PHYSICO – CHIMIQUE

A. Solubilité

Tous les AA sont polaires (*présence du carboxyle et de l'amine*).

- Tous les AA sont globalement **solubles dans les solvants polaires** (ex : l'eau)
- Tous les AA sont **insolubles dans les solvants apolaires**
- La solubilité des AA dépend **de sa chaîne latérale R et de son pH**
- Plus la chaîne apolaire est **longue, plus il est insoluble** : on a une augmentation de l'**hydrophobicité**
-

FIN COURS DU 15/09/2023

- Solubilité est influencée par la concentration ionique (concentration en ions dans la solution) Plus il y a d'ions, plus la solubilité sera diminuée.
- Les acides aminés à chaîne aliphatiques sont donc très peu solubles

Influence du groupement latéral R et du pH : un aminoacide sera alors plus ou moins soluble :

B. Configuration et Pouvoir Rotatoire

Tous les AA ont un **C asymétrique, le carbone α** à l'exception de la glycine.
Ils sont donc chiraux.

Ils possèdent **2 stéréo-isomères** qui sont des **énantiomères** (*sauf la glycine*).

Les énantiomères possèdent des propriétés chimiques et physiques identiques mais des propriétés biologiques et pharmacologiques différentes

Ils sont l'image l'un de l'autre dans un miroir plan et ne sont pas superposables.

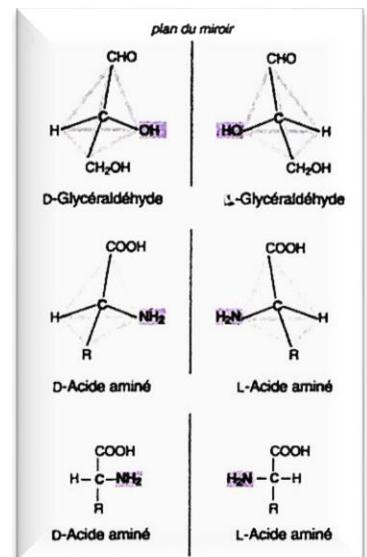
On distingue **les séries D et L**.

On sait que les molécules chirales sont dotées d'un pouvoir rotatoire et qu'il dévie la lumière polarisée.

- ❖ On parle de molécules dextrogyres (+) lorsque l'AA fait tourner dans le sens des aiguilles d'une montre.
- ❖ Et de molécules lévogyres (-) lorsque l'AA fait tourner dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.

Deux énantiomères ont des pouvoirs rotatoires opposés.

Un mélange racémique ne possède pas de pouvoir rotatoire.



C. Caractère Amphotère

Tous les AA ont 2 groupements ionisables (groupement carboxyle et aminé) ce qui leur confère à la fois un caractère acide et basique.

On dit que **les AA sont des espèces amphotères** (*acide et base*).

Amphotère : 2 caractères

Selon le pH, ils ont différentes formes ionisées.

NH₃⁺ est un acide beaucoup plus faible que COOH, il va donner son proton très difficilement.

COOH donnera lui facilement son proton.

- A pH acide (excès de H⁺ donc), les fonctions sont sous la forme COOH & NH₃⁺.
- A pH basique (alcalin), les fonctions sont sous la forme COO⁻ & NH₂.

Potentiel de dissociation : $pK = -\log K$ *par analogie à $pH = -\log[H^+]$*

❖ Constance de Dissociation des Fonctions Acides

$$K_1 = \frac{[COO^-][H^+]}{[COOH]} \qquad K_2 = \frac{[NH_2][H^+]}{[NH_3^+]}$$

Quand $[H^+] = K_1 \Leftrightarrow [COOH] = [COO^-]$

Potentiel de dissociation : $pK = -\log K$ (comme $pH = -\log [H^+]$)

➢ Lorsque le pH de la solution est égal à :

- pK_1 ($K_1 = [H^+]$) $\Leftrightarrow [COO^-] = [COOH]$
 \Leftrightarrow la moitié des COOH sont dissociées
- pK_2 ($K_2 = [H^+]$) $\Leftrightarrow [NH_2] = [NH_3^+]$
 \Leftrightarrow la moitié des NH₃⁺ sont dissociées

pK_1 et $pK_2 \Leftrightarrow$ pH de demi-dissociation

$pK_1 = 2,1 \pm 0,5$ pour COOH
 $pK_2 = 9,8 \pm 0,3$ pour NH₃⁺

(Connaître les valeurs de pK_1 aux environs, ordres de grandeurs)

Pour tous les AA le pK_1 et pK_2 sont à peu près les mêmes (bien qu'il varie légèrement en fonction du pH et de R).

La dissociation dépend du pH.

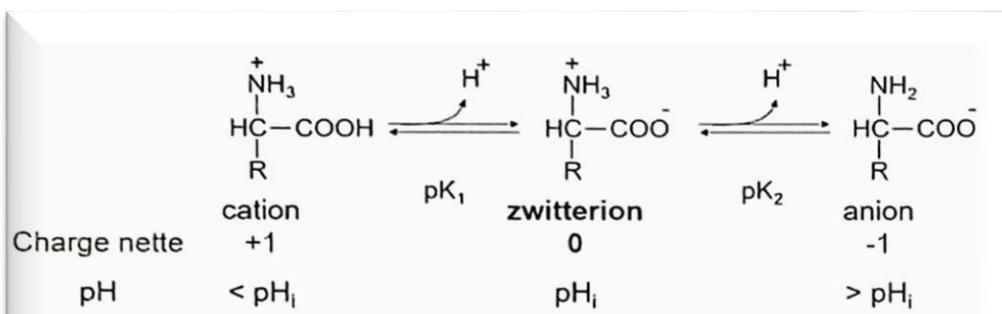
Ici :

Le pK_1 = pH de demi-dissociation de la fonction acide

Le pK_2 = pH de demi-dissociation de la fonction amine

Le pK_1 et pK_2 permettent de déterminer la force d'un acide et d'une base

Le potentiel de dissociation : $pK = -\log K$ (comme $pH = -\log (H^+)$).



L'AA en solution est toujours sous forme ionisé.

A gauche : $pH < pHi$ très **acide**, riche en protons : tout ce qui est protonable se protone, ainsi l'acide possède une charge **nette** de +1.

Augmentation du pH : l'acide aminé va donc céder ses protons progressivement, le groupement carboxyle se déprotone en premier puisque c'est l'acide le plus fort.

Tous les COOH ont perdus leurs protons mais les NH3+ ne sont pas encore dissociés : la charge **globale** de la protéine est **nulle** : on a un **zwitterion**.

On se trouve désormais à $pH = pHi$ c'est le pH isoélectrique.

Si on continue à retirer les protons du milieu, les NH3+ vont se déprotone à leur tour pour obtenir la dernière forme de droite de charge **nette** -1.

La règle : pour chaque fonction, possédant un pH de demi dissociation :

- Si $pH > pK$, alors la fonction est sous forme acide : cède les protons (COO-/NH2)
- Si $pH < pK$, alors la fonction est sous forme base : capte les protons (COOH/NH3+)

	CATION		ZWITERRION		ANION
<i>charge nette</i>	+1	$\nearrow pH$	0	$\nearrow pH$	-1
<i>pH</i>	$< pHi$		$= pHi$		$> pHi$
	Acide <i>(pH très bas)</i>		$pHi : pH$ isoélectrique <i>(autant de + que de -)</i> ou pH isotonique		Basique

Le pH acide ou basique est donné par rapport à la référence **pH**

Rappel :
$$pH_i = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$$

ATTENTION : le pH_i est spécifique à chaque AA, par exemple celui de la glycine est de **5,97**.

❖ **Courbe de Titration (exemple de la GLYCINE)**

Permet d'identifier un acide aminé en solution

Gauche → Droite

⇒ On enlève des protons

Gauche ← Droite

⇒ On gagne des protons

L'AA va enlever des protons si y'en a trop et en gagner s'il n'y'en a pas assez.

Le point au milieu est le **pH isoélectrique**

Au niveau de ce point l'effet tampon est plus faible

On fait augmenter le pH :

Au niveau du pK_1 on a beau ajouter de la soude, le pH n'augmente pas.

→ C'est l'**effet tampon** (capacité de la solution à s'opposer au changement de pH)

Il est maximum au niveau du pK_1 et du pK_2

Il est minimum au niveau du pH_i .

Pour $pH = pH_i$, les molécules vont s'associer entre elles et seront moins solubles

→ **Le pH_i est la demi-somme des pK_a .**

Récapitulatif :

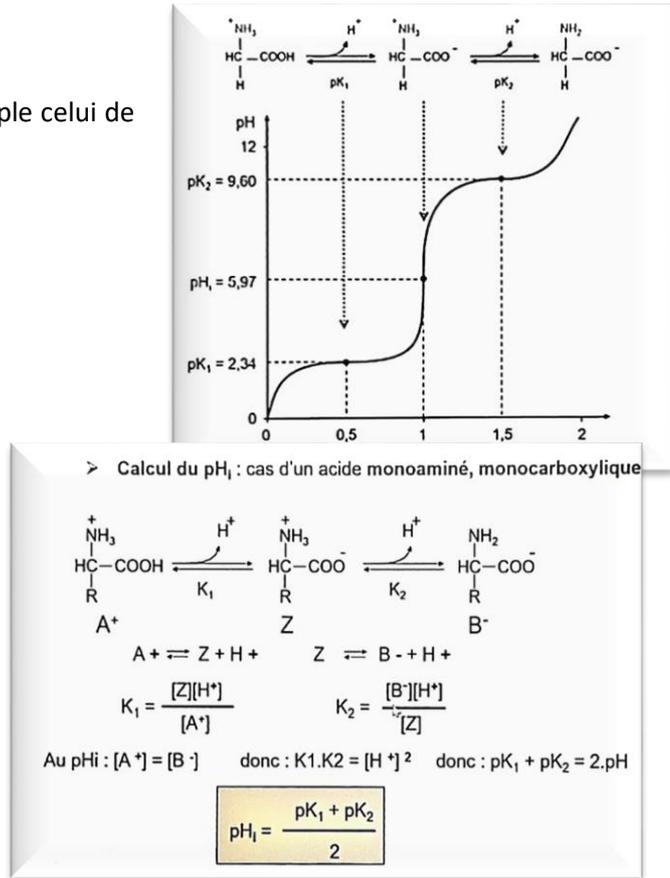
Le carboxyle se déprotone en premier : c'est l'acide le plus fort.

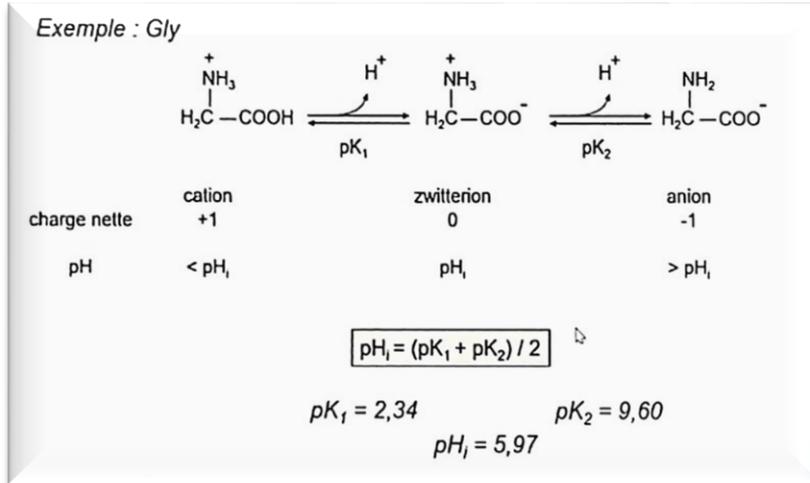
A un certain moment : toutes les fonctions carboxyles ont perdu leurs protons mais NH_3^+ n'a toujours pas perdu son proton. La charge est nulle, on parle de **zwitterion**.

On est alors à un $pH = pH_i$ dit pH isoélectrique. Sur la courbe, on observe 2 paliers :

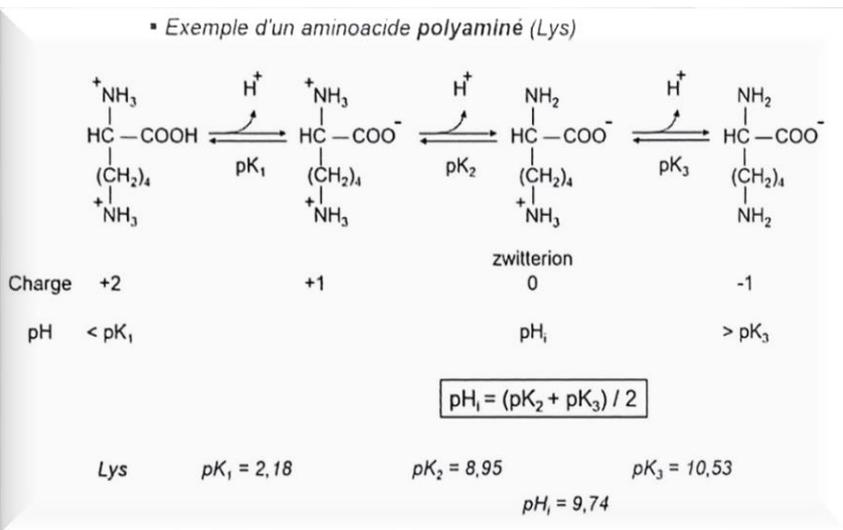
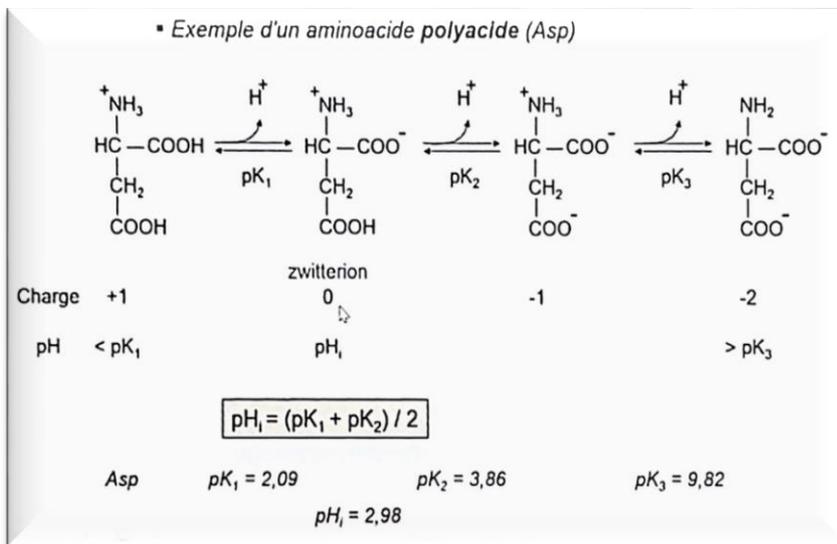
- Quand pH se rapproche de pK_1 car autant de forme $COOH$ que COO^-
- Quand pH se rapproche de pK_2 car autant de forme NH_3^+ que NH_2
- L'effet tampon est maximal au pK_1 et au pK_2
- Quand le pH est acide, l'AA est chargé +
- Quand le pH est basique, l'AA est chargé -
- Au pH_i , l'AA a une charge nulle.

❖ **Cas d'un AA à Groupement Latéral non ionisable**





❖ Cas d'un AA à Groupement Latéral ionisable

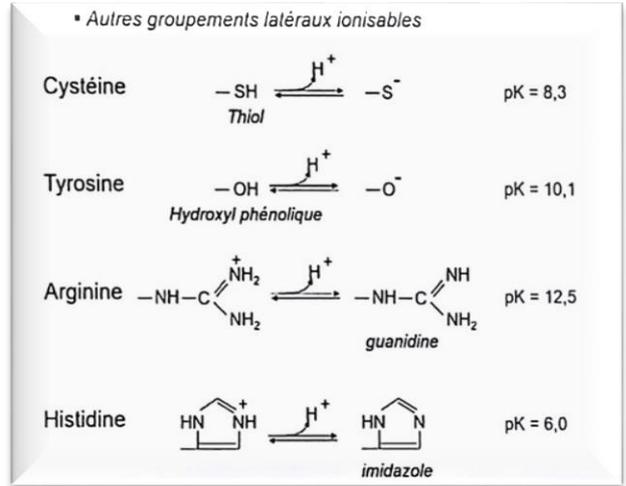


A pH très acide, on aura des groupements latéraux protonés, et en augmentant le pH, les groupements se dé-protonneront.

Il existe également d'autres groupements ionisables →

Il faut avoir une idée de l'ordre de grandeur des pK en revanche il est inutile d'apprendre les valeurs exactes par cœur.

Ce sont donc principalement les groupements ionisés des molécules ionisables qui conféreront la charge de la molécule.



❖ **IONOPHORÈSE :**

Méthode de séparation des AA en fonction de leur charge à un pH donné.

La solution contenant le mélange d'AA à séparer est déposée sur un papier filtre qui baigne dans un tampon dont le pH est fixé par l'expérimentateur et soumise à un champ électrique.

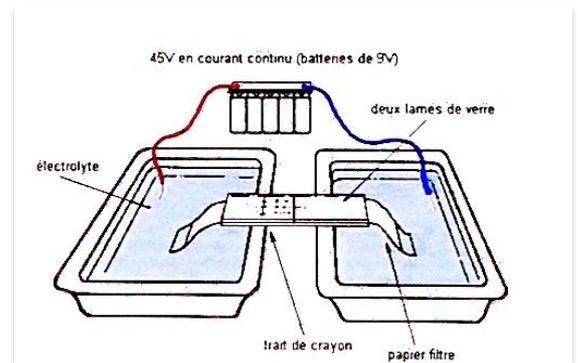
- Les anions (-) migrent vers l'**anode (+)**
- Les cations (+) migrent vers la **cathode (-)**

À la différence des piles...

Les AA migrent en fonction de la différence entre leur pH et leur pHi

Plus ils sont chargés, plus ils vont migrer vite.

Nouvelle diapo →



II. Propriétés physico-chimiques des AA

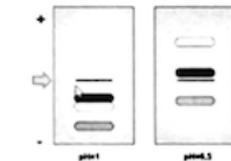
C. Caractère amphotère

➤ Ionophorèse

Exemple:

- Mélange Gly, Lys, Asp

Gly pHi = 5,97 Lys pHi = 9,74 Asp pHi = 2,94



- Mélange Asp (pHi 2,95), Glu (pHi 3,22)

Tampon pH 3,1 ⇔ Asp migre vers l'anode et Glu vers la cathode

Tampon pH 4 ⇔ les deux migrent vers l'anode (Asp plus rapidement)

pH du milieu de migration	Charge de l'AA	Sens de migration dans un champ électrique
pH > pHi	-	Anode / pôle +
pH < pHi	+	Cathode / pôle -

pH = pHi	0	Pas de migration
----------	---	------------------

Exemple :

- Mélange de Gly, Asp, Lys avec tampon pH=7
 - Gly → pH > pHi=5,97 → migration vers l'anode
 - Asp → pH > pHi=2,94 → migration vers l'anode plus rapide
 - Lys → pH < pHi=9,74 → migration vers la cathode

Si on a un tampon pH = 6, La Gly ne migre presque pas.

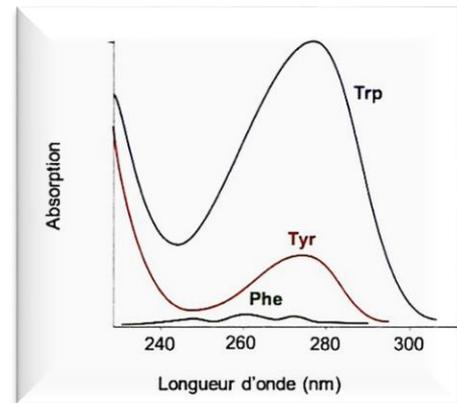
- Mélange Asp(pHi = 2,98), Glu (pHi= 3,22)
 - Tampon pH = 3,1 → Asp (2,94) migre vers l'anode et Glu 5,97 migre vers la cathode.
 - Tampon pH = 4 → Les deux AA migrent vers l'anode (Asp plus rapidement)

D. Absorption dans l'UV

Les AA en solution sont incolores, ils n'absorbent pas la lumière VIS.

Par contre tous les AA absorbent dans l'UV entre 230 nm et 240 nm

SAUF les AA aromatiques (Trp, Tyr, Phe) qui absorbent la lumière visible à 280 nm. Elle est due principalement au noyau phénol des tyrosines



III. DETECTION ET SEPARATION DES AA

A. Réaction à la Ninhydrine (la plus utilisée)

La ninhydrine est un composé aromatique utilisé comme révélateur des AA.

C'est une réaction qui se passe à chaud et qui peut être de façon non spécifique (amino-alcool, ammoniacque, ...).

La coloration est proportionnelle à la concentration en AA (et donc à la quantité d'AA présents en solution).

On a au départ de la ninhydrine oxydée qui va être réduite

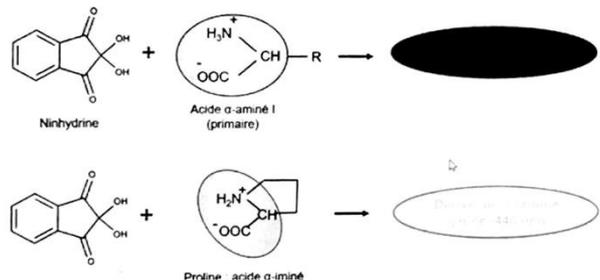
Parallèlement, il y a une désamination de l'AA pour obtenir de l'ammoniac NH₃

II. Propriétés physico-chimiques des AA

E. Détection et séparation des acides aminés

1. Réaction à la ninhydrine

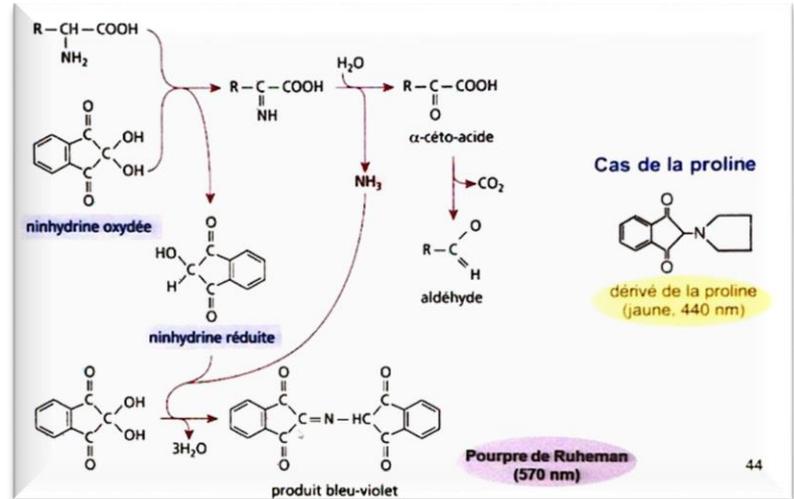
- A chaud (étuve), non spécifique (amino-alcool, ammoniacque, ...)
- Coloration proportionnelle à la concentration pour un AA donné



Ce dernier permettre la formation du produit de condensation de cette ninhydrine réduite

- Elle réagit avec les **amines I°** pour former un produit (*Pourpre de Ruheman* - 570 nm) de **couleur bleu-violet pour tous les aminoacides.**
- Elle réagit avec l'**amine II° de la proline** pour former un produit de **couleur jaune.**
- **Cette réaction est couramment utilisée par la police scientifique pour le relevé d'empreintes digitales**

Schéma réactionnel,
à comprendre et
non à apprendre.



B. Méthode de Marquage des Amines

Ces techniques permettent de déterminer la **nature de l'acide aminé en position N-terminale** d'un peptide. Répétées, elles permettent le séquençage du peptide.

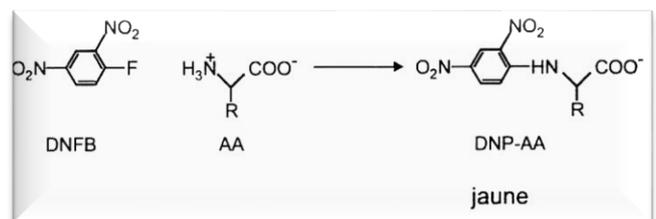
a) Méthode de Sanger au DNFB (2,4-dinitrofluorobenzène)

(Sanger a été le 1^{er} à séquencer les protéines (insuline) puis l'ADN ce qui lui a valu 2 prix Nobel)

Le DNFB se fixe de façon covalente sur la fonction α-amino de l'AA.

Le peptide est hydrolysé : seul le dernier AA est marqué (*le N-terminal*) en jaune.

Isolé, il peut être identifié facilement.



Cette méthode marche bien, et il y a un intérêt historique car c'est grâce à elle que Sanger a obtenu le séquençage de l'insuline.

L'intensité de la coloration sera proportionnelle à la quantité d'AA dans la solution.

C'est une réaction d'arylation avec comme réactif le DNFB (réactif de Sanger) il se forme un dinitro-phényl acide qui est coloré en jaune et observé à 420nm. Cette réaction peut s'observer quand l'acide aminé est incorporé dans une protéine

Cette réaction a permis a Sanger d'établir la première structure primaire d'une protéine.

b) Marquages Fluorescents : Chlorure de Dansyl(halogéné et fluorescent)

(La sensibilité est 100 fois plus puissante)

Cette technique permet également de déterminer l'extrémité N-terminale d'un peptide.

Le chlorure de Dansyl réagit avec la fonction α-amine de l'AA pour donner un composé **fluorescent**.

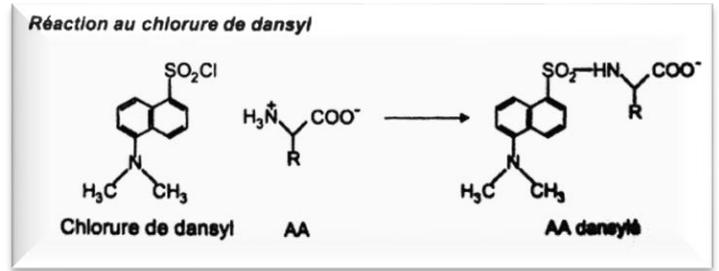
Réaction du chlorure sur l'amine de l'AA: il y a élimination de HCl et formation d'un produit de condensation.

On a marqué l'AA avec une molécule détectable.

L'AA dansylé est fluorescent.

→ On a un marquage de l'amine.

Cette méthode est beaucoup plus sensible et donc plus sensible aux interférences.



C. Chromatographie : Séparation d'AA dans un Mélange

a) Chromatographie par Échange d'ion

→ C'est la méthode de **Stein et Moore**

On dispose d'une phase fixe constituée de résine échangeuse de cation (résine = poudre) car cette résine porte des **charges négatives**.

La résine est faite de polystyrènes sur lesquels on a greffé des groupements sulfonyle.

→ Le polystyrène possède donc des groupements chargés (-).

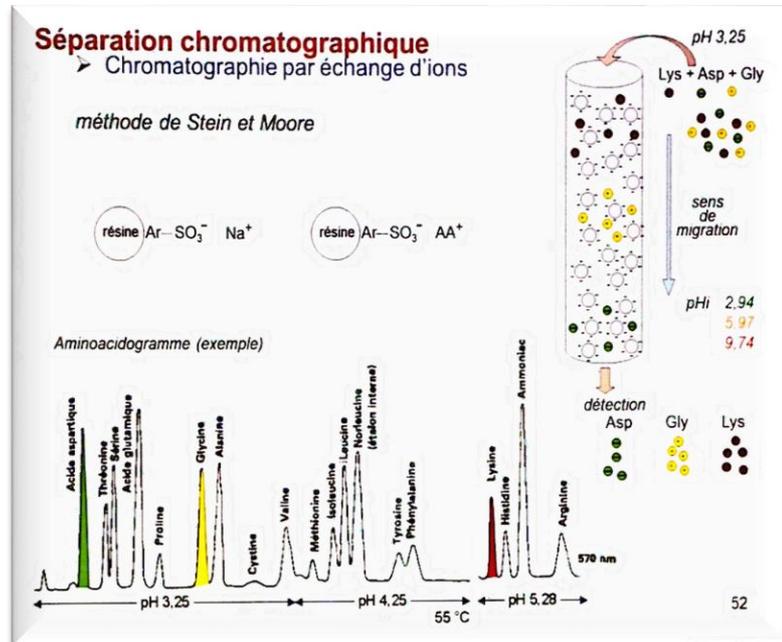
Cette charge négative est équilibrée soit par des ions Na⁺ soit des AA chargés (+).

→ Elle va donc retenir les AA chargés positivement.

La phase mobile est un **tampon acide** dont le pH augmente progressivement au cours de l'expérimentation ce qui permet de détacher progressivement des AA et de les récupérer les uns après les autres en sortie de colonne.

La phase mobile entraîne les AA chargés négativement.

Le mélange d'AA est versé en haut de colonne à **pH fixé**.



Exemple avec Lys, Asp et Gly

- **Asp pHi < pH** : migre avec le solvant, anionique, migre vite.
- **Gly pHi = 6** : pH > pHi → cationique, elle descend le long de la colonne.

Elle descend d'autant plus lentement qu'elle est fortement accrochée, donc plus lentement que Asp, cationique

- **Lys pHi = 9,74** : elle migre très lentement, cationique