

Partie 1

Notions de chimie

La liaison chimique

Dr Aida Elleuch

Objectifs

1. Énoncer et appliquer la règle de l'octet pour les principaux atomes constituant les molécules dans l'organisme
2. Expliquer la notion d'électron libre et du doublet électronique
3. Comprendre la différence d'électronégativité entre les atomes et ses conséquences
4. Reconnaître les liaisons chimiques fortes : liaison atomique covalente ou polaire et liaison ionique
5. Reconnaître les liaisons chimiques faibles

1. Introduction

La liaison chimique représente la manière dont les atomes sont liés entre eux dans une molécule.

En médecine, les principaux atomes sont au nombre de 6 : H, C, N, O, P, S.

Chaque atome a un noyau chargé positivement (protons) et une périphérie formée d'électrons (chargée négativement).

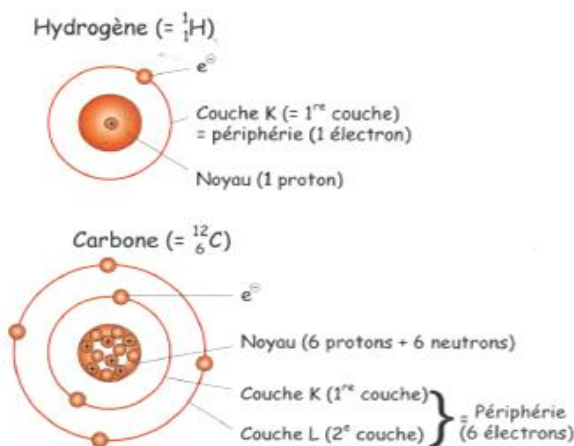


Figure 1 : structure d'un atome

Une liaison entre deux atomes s'établit grâce au besoin commun d'électron pour saturer la couche périphérique externe.

Les électrons de la couche externe représentent les électrons de valence (ou de liaison).

Deux principes de base expliquent le mécanisme de la liaison :

1. La règle de l'octet : chaque atome tend à saturer sa couche externe par 8 électrons.
2. Les électrons de liaisons tendent à se regrouper par deux et évitent d'être isolés.

2. Électron libre et doublet électronique±libre

Les électrons se trouvent dans des orbitales. Une orbitale peut loger deux électrons: doublet électronique (désigné par un trait -). Si une orbitale contient un seul électron : il est dit électron libre (désigné par un point)

Lorsque deux atomes ayant chacun un électron libre vont s'apparier (liaison), ces deux électrons sont dits doublet électronique de liaison.

Un atome ne peut proposer qu'un électron libre pour une liaison, les doublets sont déjà stables.

Dans la couche externe, on distingue les électrons libres, les doublets libres et les électrons formant un doublet de liaison.

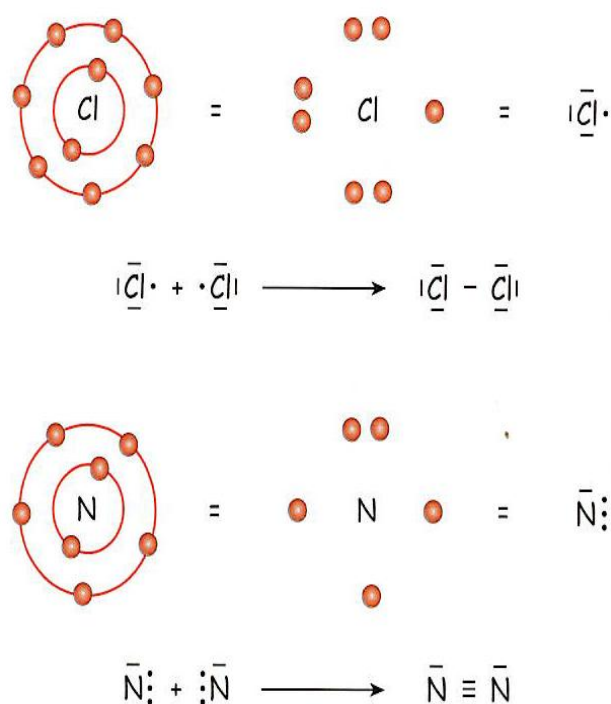


Figure 2 : schématisation d'électrons libres et de doublets de liaison

3. Règle de l'Octet

Selon cette règle, la couche externe ne peut pas excéder 8 électrons mais la première couche (orbitale K) fait l'exception car elle est déjà saturée par 2 électrons.

Chaque atome tend à saturer la couche externe par ses propres électrons ou ceux d'un autre atome (en effectuant une liaison).

La classification périodique des éléments nous informe sur le nombre d'électrons de la couche périphérique

1	Groupes principaux						8
H	2	3	4	5	6	7	He
Li	Be	B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
						I	Xe

H = Hydrogène O = Oxygène
 C = Carbone P = Phosphore
 N = Azote S = Soufre

Figure 3 : Classification périodique simplifiée et condensée

Le nombre de liaisons possibles par atome est déterminé par le nombre d'électrons de valence (de la couche périphérique externe).

3.1. Exemple de l'hydrogène

L'atome d'hydrogène possède un seul électron dans la couche K (la 1ère couche). Il ne peut admettre qu'un seul électron pour atteindre la configuration des gaz inertes (Helium).

Donc, il ne peut établir qu'une seule liaison.



Figure 4 : exemples de liaisons établies par un atome d'hydrogène

3.2. Exemple de l'oxygène

Il fait partie du groupe 6. Il lui manque donc 2 électrons pour atteindre la structure du Néon.

Dans sa couche périphérique, on trouve deux paires d'électrons et deux électrons solitaires ou libres.

Il doit donc établir deux liaisons soit avec 2 atomes différents ou par exemple une double liaison avec un même atome d'oxygène.

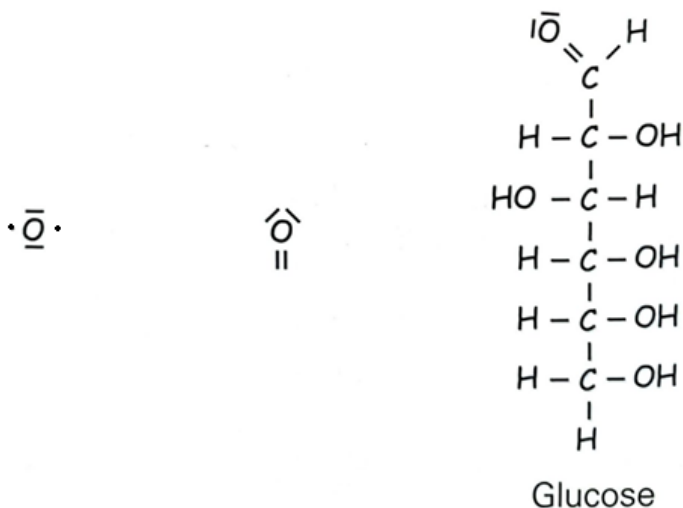


Figure 5 : exemples de liaisons établies par un atome d'oxygène

3.3. Exemple de l'azote

Il s'agit d'un atome du 5ème groupe. De ce fait, il lui manque 3 électrons pour atteindre la saturation. Il est donc trivalent (3 liaisons sont possibles)

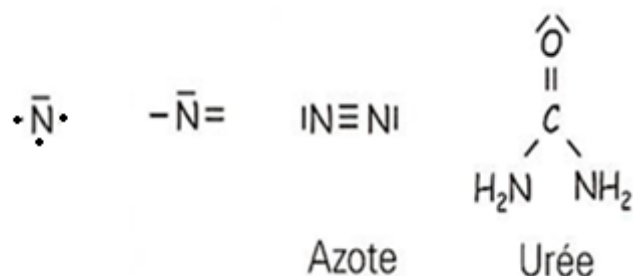


Figure 6 : exemples de liaisons établies par un atome d'azote

3.4. Exemple du carbone

Il s'agit de l'élément principal dans l'organisme. Il fait partie du groupe 4 donc il peut établir 4 liaisons.

La liaison carbone-carbone est très stable. Les atomes de carbones peuvent établir aussi des doubles ou des triples liaisons ou se disposer en cycle.

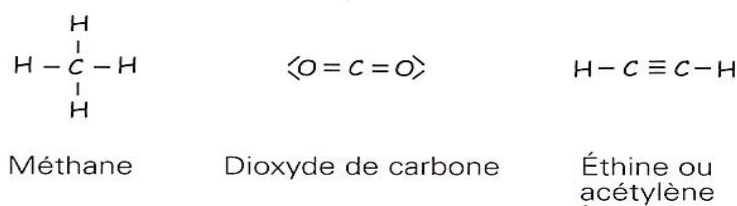


Figure 7 : exemples de liaisons établies par un atome de carbone

3.5. Exemple du soufre

C'est un atome ayant 3 couches d'électrons (K, L et M) donc il maintient les électrons périphériques de façon moins rigide car en s'éloignant du noyau, l'attraction diminue. La 3ème couche peut admettre plus que 4 paires d'électrons à la périphérie. Il a la même configuration que l'oxygène (groupe 6) mais possède une couche de plus.

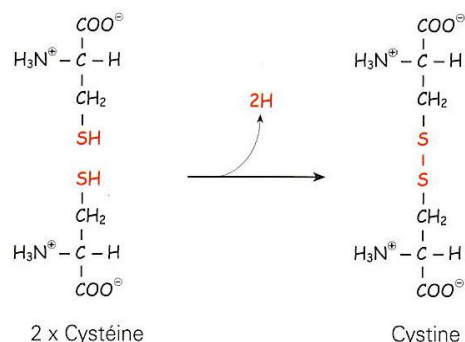
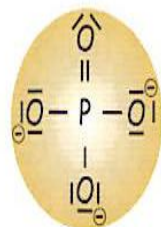


Figure 8 : exemples de liaisons établies par un atome de soufre

3.6. Exemple du phosphore

Le phosphore appartient au même groupe de l'azote (5) mais possède 1 couche de plus ce qui lui confère plus de possibilités de liaisons. En effet, la 3ème couche M peut admettre jusqu'à 18 électrons ($2n^2$) : 5 électrons de valence peuvent se disposer chacun dans une orbitale et donc chaque orbitale peut accepter un autre électron.



Phosphate

Figure 9 : exemples de liaisons établies par un atome de phosphore

3.7. Gaz rares

C'est le huitième groupe de la classification périodique des éléments. Leurs couches électroniques externes sont saturées, donc ils sont extrêmement stables et ne cherchent pas à établir des liaisons.

Tous les autres éléments ont tendance à atteindre la saturation des gaz rares

4. Notion d'électronégativité

Elle décrit la force avec laquelle deux atomes attirent le doublet de liaison. Sa valeur varie entre 1 et 4 (sans unité).

Elle prend en considération la densité électronique d'un atome, fonction du rayon atomique et du nombre de protons :

- Plus le nombre de protons dans le noyau est grand, plus il attire les électrons
- Plus le rayon est grand, plus le doublet sera loin du noyau d'où faible attraction

		Groupes principaux						
		1	2	3	4	5	6	7
Couches	1	H 2,2						
	2	Li			C 2,5	N 3,0	O 3,4	F 4,0
	3	Na	Mg			P 2,2	S 2,6	Cl
	4	K	Ca					Br
	5							I

Figure 10 : électronégativité des principaux éléments chimiques

5. Liaisons Fortes

Elles comprennent les liaisons atomiques (covalentes ou polaires) et les liaisons ioniques.

Lorsque deux atomes d'électronégativités identiques ou proches sont liés : il s'agit d'une liaison covalente.

S'il-y-a une forte différence d'électronégativité, le plus électronégatif attire les électrons de liaison. On aura donc une partie négative (anion) et une partie positive (cation): c'est la liaison ionique.

Ces deux liaisons sont des cas extrêmes.

Entre les deux on a la liaison atomique polaire : dans ce cas, l'atome le plus électronégatif attire un peu le doublet de liaison

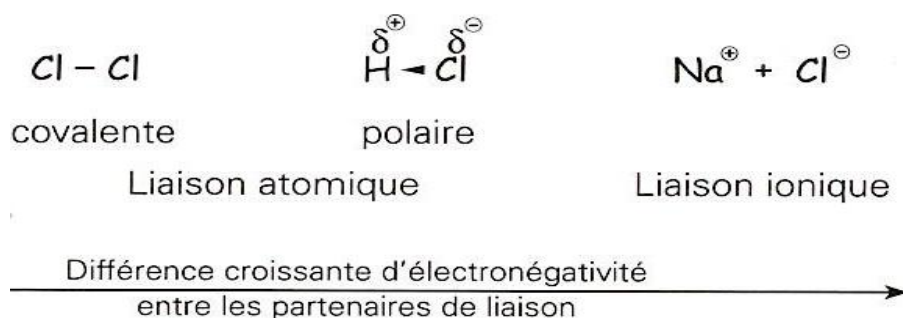


Figure 11 : liaisons fortes et effet de l'électronégativité

5.1. Liaison atomique polaire ou covalente

Les liaisons covalentes et atomiques polaires peuvent être simples, double ou triples.

Les doubles liaisons sont plus solides que les simples, les triples liaisons encore plus.

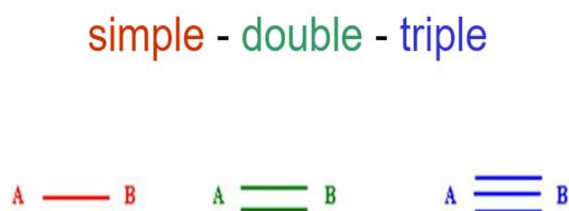


Figure 12 : types de liaisons covalentes

Une liaison forte est pauvre en énergie (facile à s'établir) mais il faut fournir beaucoup d'énergie pour la rompre : cette quantité d'énergie nécessaire pour sa rupture est dite l'énergie de liaison. Elle est de l'ordre de 400KJoules/mol pour les liaisons covalentes.

- Rupture des liaisons

Lors de la rupture d'une liaison covalente: chaque atome récupère son électron: il s'agit d'une rupture homolytique.

Cette rupture peut se faire sous l'action de la lumière (photolyse), des peroxydes ou la chaleur (thermolyse).

Ces radicaux libres sont très réactifs car ils ont tendance à rejoindre la structure des gaz rares.

Ils peuvent altérer la structure de l'ADN et être par conséquent cancérigènes.



Figure 13 : rupture homolytique

Une rupture de liaison atomique polaire donne une répartition inégale des électrons : il s'agit d'une rupture hétérolytique. Dans ce cas, un atome qui est le plus électronégatif va récupérer les électrons de liaisons en totalité et devient alors chargé négativement tandis que l'autre devient chargé positivement.

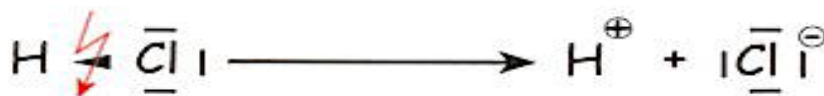


Figure 14 : rupture hétérolytique

5.2. Liaison ionique

A sec, les ions forment un cristal stable : c'est le sel (exemple NaCl).

Les forces de liaisons fortes entre le cation et l'anion sont de nature électrostatique.

L'énergie de liaison est de l'ordre de 400KJoules/mol.

- Formation des ions

Les atomes à faible nombre d'électrons de valence (1er et 2ème groupe) ont tendance à perdre des électrons : on obtient un cation à une charge positive (Na⁺) ou cation à 2 charges positives ou plus (ex Mg²⁺, Al³⁺). De même, les atomes du 7^{ème} groupe ont tendance à accepter un électron pour ressembler à la structure du gaz rare le plus proche (ex Cl⁻).

En présence d'eau comme dans l'organisme, les ions ne sont plus sous forme cristalline mais dissoute donc ils seront entourés d'une foule de

molécules d'eau et s'attirent les uns les autres que faiblement vu la distance qui les sépare.

De ce fait, dans l'organisme, les liaisons ioniques sont faibles, on les désigne par des forces d'interaction ionique.

- Réaction d'oxydoréduction

Les ions peuvent subir des réactions d'oxydoréduction. Il s'agit d'un échange d'électrons.

L'oxydation est la perte d'électron(s) (ex : Fe^{2+} devient Fe^{3+} quand il est oxydé).

La réduction est un gain d'électron. Ces réactions sont couplées d'où l'appellation oxydoréduction. L'agent oxydant est susceptible de capter des électrons et le réducteur est celui qui cède les électrons.

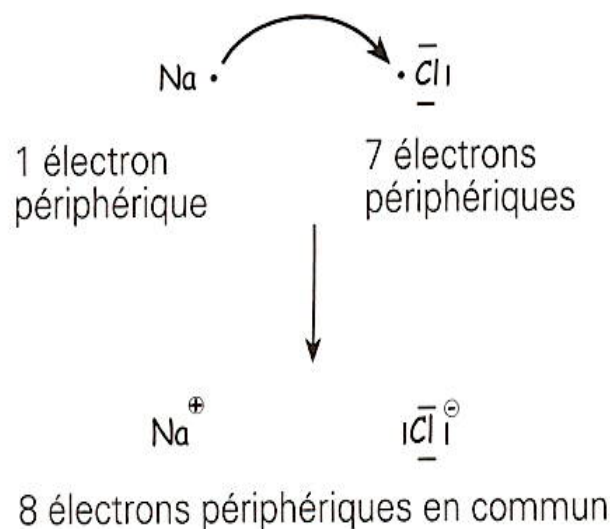


Figure 15 : formation des ions

6. Les liaisons faibles

Ce sont des liaisons faibles entre atomes mais déterminantes pour la structure des macromolécules: ex les protéines et acides nucléiques.

6.1. Liaison hydrogène

Elle est consécutive au caractère dipolaire d'une molécule d'eau, groupement OH ou NH.

L'oxygène et l'azote sont plus électronégatifs que l'hydrogène ce qui leur confère une charge négative partielle (δ^-) et à l'hydrogène une charge positive partielle (δ^+).

L'hydrogène au contact d'une charge négative d'un autre dipôle établit une liaison hydrogène d'une énergie de l'ordre de 40KJoules/mol.

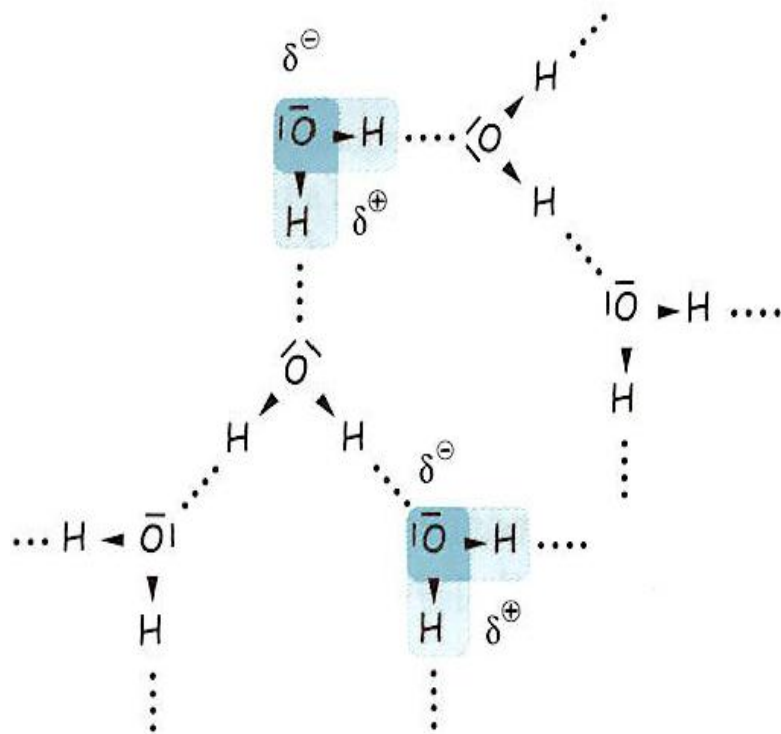


Figure 16 : exemples de liaisons hydrogène entre des molécules d'eau

La conséquence de ces liaisons hydrogène est la disposition en réseau des molécules d'eau et de ce fait, l'eau a un point d'ébullition élevé malgré sa faible masse moléculaire.

Cette liaison existe aussi entre les paires de bases de l'ADN.

6.2. Liaisons de Van Der Waals

Elle se crée entre les molécules hydrophobes par des charges électriques fluctuantes.

En effet, les électrons sont toujours en mouvement donc ils peuvent se concentrer d'un côté donnant une charge négative momentanée. L'autre côté devient dépourvu d'électrons ce qui lui confère une charge positive.

Cette fluctuation donne un dipôle momentané pouvant attirer une molécule voisine par exemple.

L'énergie de cette liaison est de 10KJoules/mol.

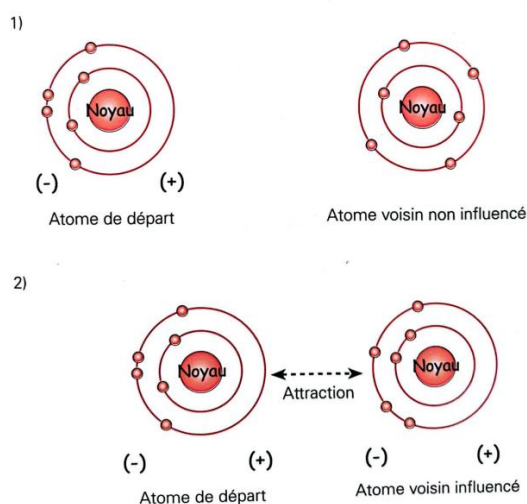


Figure 17 : Principe d'établissement des liaisons de van der waals

6.3. Notion d'hydrophobie et d'hydrophilie

Les composés hydrophobes présentent une structure mettant en jeu essentiellement des liaisons covalentes non polarisées ou faiblement polarisées ; ils se dissolvent dans les solvants apolaires (hexane, éther, toluène...) : on dit qu'ils sont liposolubles.

Ils sont donc insolubles dans l'eau. : Ils ont un caractère hydrophobe.

Ex: alcanes, les huiles, les graisses et les corps gras en général.

Les composés hydrophiles sont des composés ayant une affinité pour l'eau et tendance à s'y dissoudre. Ces composés peuvent développer des liaisons intermoléculaires avec l'eau (liaison Hydrogène). On dit qu'ils présentent un caractère hydrophile.

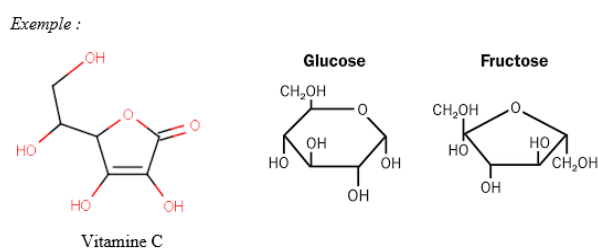


Figure 18 : exemples de composés hydrophiles

Il existe des molécules qui ont une partie hydrophobe et une partie hydrophile. Ces molécules sont dites « Amphiphiles ». Placées dans l'eau, les molécules d'eau attirent les parties hydrophiles et repoussent les parties apolaires (groupées à l'intérieur): réaction de rejet. Un exemple : les phospholipides des membranes biologiques (§ Structure des lipides)

Structure de la substance organique

Dr Aida Elleuch

Objectifs

1. Différencier entre formule brute et formule développée et calculer le nombre d'insaturations
2. Définir la notion de fonction chimique et classer les composés organiques en familles
3. Déterminer les différents types d'isoméries à partir d'exemples de composés organiques
4. Appliquer les règles conventionnelles de nomenclature des différents composés organiques

1. Introduction

Toute substance organique est caractérisée par sa formule brute (formule stœchiométrique), sa formule développée plane, sa formule spatiale, son nom systématique et éventuellement son nom usuel.

2. Formule brute - Formule développée

La formule brute d'un composé organique précise la nature et le nombre des atomes constitutifs de sa molécule établie par une analyse élémentaire qualitative et quantitative (nature des éléments chimiques, composition centésimale ou pourcentage et masse molaire).

Son intérêt est limité car une même formule brute peut être commune à deux ou plusieurs composés différents (groupe d'isomères). Deux isomères diffèrent entre eux par la façon dont les atomes sont liés les uns aux autres. Il est alors nécessaire de schématiser les différentes liaisons entre les atomes de la molécule : on obtient ainsi la formule développée plane.

Dans toute formule développée plane, les valences des atomes doivent être respectées. Pour rechercher les formules développées planes relatives à une formule brute donnée, il est intéressant de calculer le nombre d'insaturations en utilisant la règle empirique suivante

$$n = x - y/2 + z/2 + 1$$

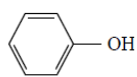
x est le nombre d'atomes de carbone y est le nombre d'atomes monovalents
z est le nombre d'atomes d'azote

Figure 1 : formule de calcul du nombre d'insaturations

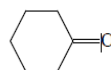
Ce nombre d'insaturations représente la somme des nombres de cycles et de double liaisons présents dans chaque isomère. La présence d'une double ou triple liaison correspond ainsi à une ou à deux insaturations respectivement. Pour $C_5H_{12}O_2$, par exemple, le nombre d'insaturations est nul donc tous les isomères ne possèdent dans leur structure ni cycle ni liaison multiple (double ou triple).

Par contre, pour $C_5H_{10}O$, le nombre d'insaturations est égal à un donc chaque isomère comporte obligatoirement dans sa structure soit un cycle soit une double liaison.

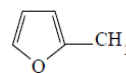
Remarque : Dans l'écriture des cycles on n'explicite pas les atomes de carbone ni d'hydrogène



phénol



cyclohexanone



sylvane

Figure 2 : exemples de composés organiques contenant un cycle

3. Isomérisation

3.1. Notion de fonction chimique

On peut distinguer dans la structure d'un composé organique simple deux parties : un squelette hydrocarboné et un groupe comportant au moins un hétéroatome (O, N, X, S...). C'est principalement ce groupe qui subit des modifications au cours des réactions chimiques, le squelette hydrocarboné étant le plus souvent inchangé. Ce groupe est désigné par groupe fonctionnel ou fonction chimique. Dans les hydrocarbures insaturés, les liaisons multiples peuvent être considérées comme étant des groupes fonctionnels.

Il est intéressant de regrouper les composés organiques ayant une même fonction chimique dans une même famille afin d'étudier de façon globale les différents types de transformations que peut subir cette fonction.

On définit ainsi la famille des acides carboxyliques ($R\text{-COOH}$), celle des esters ($R_1\text{-COOR}_2$), celle des alcools ($R\text{-OH}$), celle des aldéhydes ($R\text{-CHO}$) ...

3.2. Isomérisation de fonction

Des composés organiques ayant une même formule brute mais des fonctions chimiques différentes sont dits isomères de fonction.

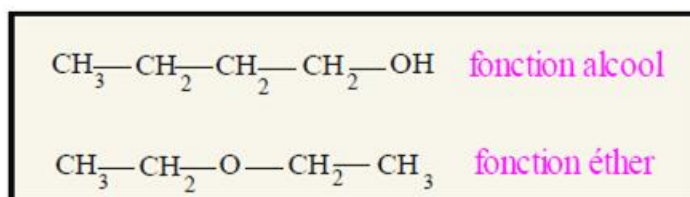


Figure 3: exemples d'isomères de fonction

3.3. Isomérisation de position

Deux isomères, ayant la même fonction chimique, mais la position de cette fonction sur les squelettes analogues est différente sont dits : isomères de position.

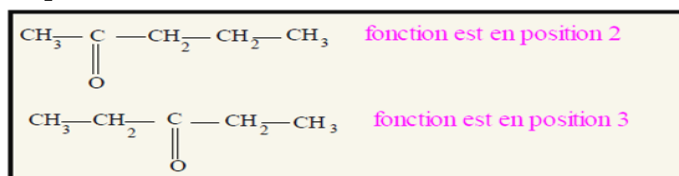


Figure 4: exemples d'isomères de position

3.4. Structure du squelette

Le squelette portant le groupe fonctionnel peut se présenter dans diverses formes.

- Dans les composés organiques **acycliques ou aliphatiques**, le squelette est constitué d'une chaîne hydrocarbonée linéaire (continue) ou ramifiée.

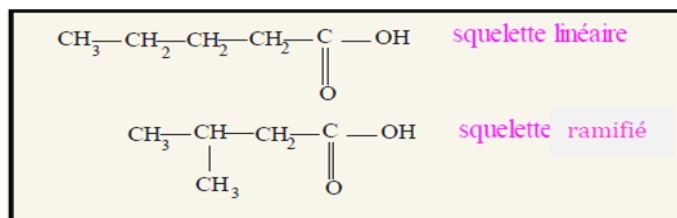


Figure 5: exemples de squelette linéaire et ramifié de deux acides carboxyliques

- Le squelette hydrocarboné peut se présenter dans une structure **cyclique ou acyclique**.

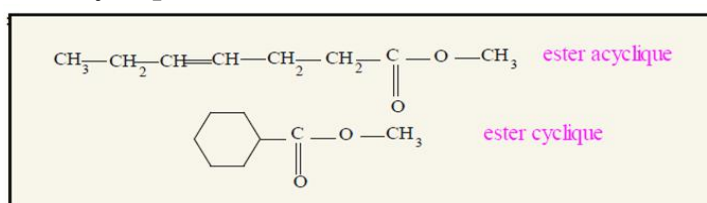


Figure 6: exemples de structure cyclique et acyclique

- Dans les composés hétérocycliques, la structure cyclique comporte un hétéroatome (O, N, S...).

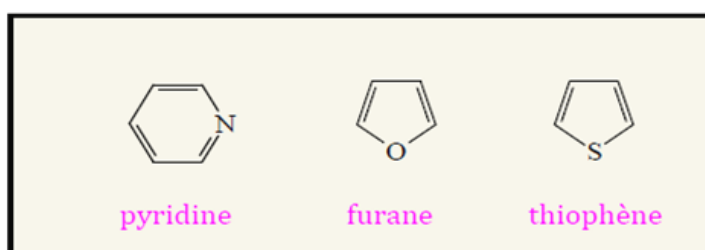


Figure 7: exemples de composés hétérocycliques

4. Nomenclature

On distingue deux types de nomenclature : la nomenclature **systématique** (ou officielle) et la nomenclature **usuelle** (ou triviale). Un nom systématique est formé d'un ensemble de syllabes et d'indices ayant des significations structurales bien précises. Ces syllabes et ces indices sont définis par les règles conventionnelles de l'IUPAC (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée).

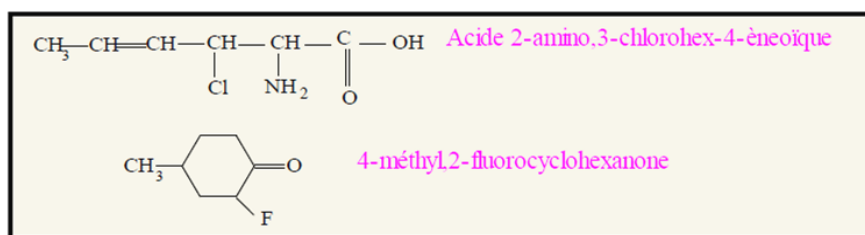


Figure 8: exemples de nomenclature systématique

Un nom usuel est un nom trivial habituellement utilisé mais il n'appartient pas, le plus souvent à un système logique.

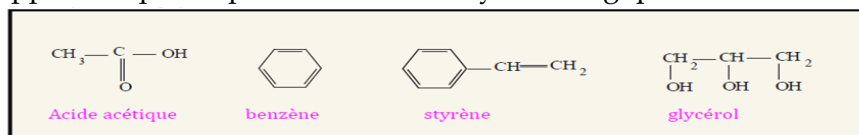


Figure 9: exemples de nomenclature usuelle

Le nom d'une molécule est divisé en trois parties :

- Un préfixe : nombre d'atomes de carbone de la partie linéaire de la molécule
- Un suffixe qui indique la famille de la molécule (à la fin)
- ± Un complément devant les deux parties précédentes (noms des ramifications)

Tableau 1: correspondances préfixe / nombre d'atomes de carbone

Nbre de C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Préfixe	méth	éth	prop	but	Pent	hex	hept	oct	non	déc

Tableau 2: correspondances suffixe/famille

Famille	Formule	Suffixe
Acide carboxylique	R-COOH	Acide -An- oïque
Anhydride d'acide	R-CO-O-CO-R	Exp : Anhydride acétique
Ester	R-CO-O-R'	An-oate de An
Halogénure d'acide	R-CO-X	Halogénure de An-oyle
Amide	R-CO-NH ₂	An-amide
Nitrile	R-CN	An-nitrile
Aldéhyde	R-CHO	anal
Cétone	R-CO-R'	An-x-one*
Alcool	R-OH	An-x-ol*
Amine	R-NH ₂	An-amine
Ether - oxyde	R-O-R'	Exp : Éther méthylique
Halogénure d'alkyle	R-X	Halogéno-An

Remarques :

- 1- *x représente le numéro de l'atome de carbone qui porte le groupement caractéristique OH (alcool) ou l'oxygène (cétone)
- 2- Le choix de la fonction prioritaire se fait en tenant compte de l'ordre de priorité décroissant décrit précédemment.

4.1. Les hydrocarbures

- **Les alcanes :** Les alcanes sont des hydrocarbures (C et H uniquement) saturés, car ils comportent un nombre maximum d'hydrogènes compte tenu de la tétravalence du carbone. Lesuffixe de la famille est -ane. Ils peuvent être linéaires, ou ramifiés (au moins un carbone relié à trois, voire 4 carbones).

Alcanes linéaires :

Leur nom = racine correspondant au nombre de carbones, suivi de ane

CH₄ Méthane / CH₃-CH₃ Ethane / CH₃-CH₂-CH₃ Propane

CH₃-(CH₂)₂-CH₃ Butane / CH₃-(CH₂)₃-CH₃ Pentane

CH₃-(CH₂)₄-CH₃ Hexane / CH₃-(CH₂)₅-CH₃ Heptane

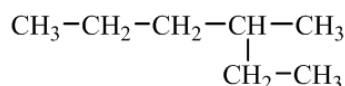
CH₃-(CH₂)₆-CH₃ Octane / CH₃-(CH₂)₇-CH₃ Nonane

CH₃-(CH₂)₈-CH₃ Décane

Alcanes ramifiés :

Leur nom est construit à partir de celui de l'alcane linéaire le plus lourd (= constitué du plus de carbones possible). Le nom de cet alcane linéaire donnera son nom principal au composé.

Exemple du composé A :



La chaîne linéaire de carbones la plus longue est de 6 carbones. Le composé A dérive donc de l'hexane (nom principal), auquel on a retiré un hydrogène pour lui substituer un groupement R (substituant).



Les substituants sont nommés en fonction du nom de l'alcane leur correspondant (alcane → alkyle).

Pour A, R = CH₃, A est donc le méthylhexane.

Remarque : on élimine le « e » final du nom des substituants. Cependant, la place exacte du méthyle sur la chaîne de carbone doit être spécifiée. Il faut donc numéroté la chaîne principale de carbone d'un bout à l'autre, le sens de numérotation étant choisi de façon à attribuer le plus petit chiffre possible au carbone portant le substituant. Dans le nom final, on affectera au substituant son indice de position (= numéro du carbone de rattachement). Ce numéro sera placé avant le nom du substituant et suivi d'un tiret.

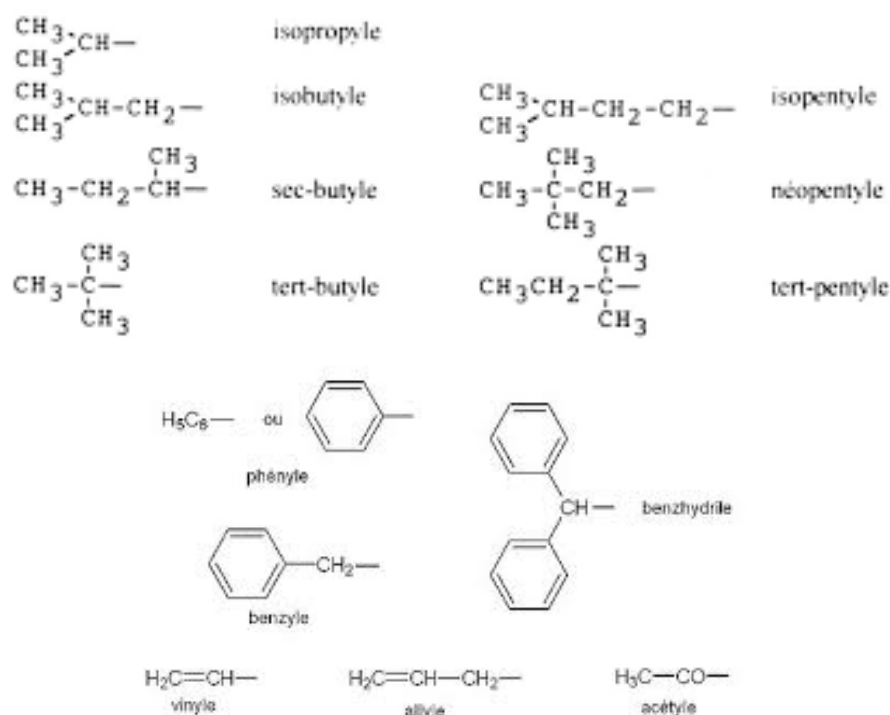


Figure 10 : principaux radicaux ramifiés

- **Les Alcènes :**

Ce sont des hydrocarbures avec une double liaison (= insaturés) Le suffixe de la famille est : -ène

Alcènes linéaires

Leur nom est formé de racine+ène. La chaîne est numérotée de bout en bout et l'indice de position du premier carbone (doublement lié) rencontré est indiqué dans le nom, juste devant -ène, précédé et suivi d'un tiret :

But-1ène : $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$

Alcènes ramifiés

Leur nom est bâti sur le même principe que celui des alcanes : préfixe-nom principal, avec le nom des substituants dans le préfixe. Le nom principal est issu de celui de la chaîne de carbone la plus longue contenant la double liaison. Cette chaîne est numérotée de bout en bout de façon à attribuer le plus petit chiffre au 1er carbone doublement lié rencontré, puis, si plusieurs possibilités subsistent, de façon à ce que l'ensemble des indices de position des substituants soit le plus faible possible (même règle que pour les alcanes).

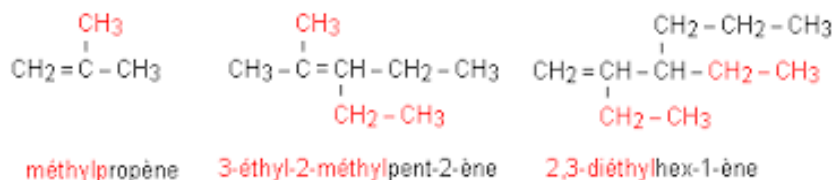


Figure 11 : exemple de nomenclature d'alcènes ramifiés

• Les Alcynes :

Les alcynes sont des hydrocarbures contenant une triple liaison.

Le suffixe de la famille est -yne. Leur nomenclature est calquée sur celle des alcènes (-yne remplaçant -ène). La chaîne principale est la chaîne linéaire comportant le plus de carbones et comprenant obligatoirement la triple liaison.

L'indice de position du 1er carbone triplement lié rencontré est placé entre tirets avant « yne », entre, le ou les, substituants et la triple liaison, c'est cette dernière qui a la priorité pour l'affectation du plus petit indice de position.

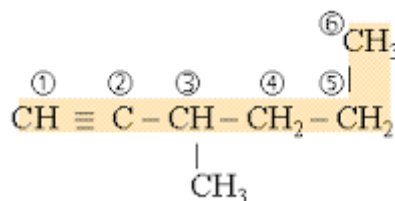


Figure 12 : exemple du 3-méthylhex-1-yne

4.2. Les acides carboxyliques

Le nom systématique est obtenu en ajoutant au mot acide l'adjectif dérivant du nom de l'hydrocarbure acyclique correspondant avec la terminaison : oïque

Exemples : H-COOH : Acide méthanoïque (acide formique) ;

$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$: acide butanoïque

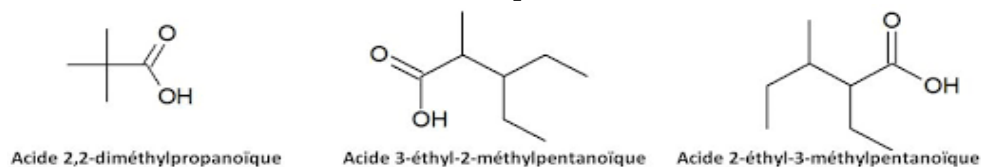


Figure 13 : exemples de nomenclature d'acides carboxyliques ramifiés

4.3. Les esters

Le suffixe ate remplace la terminaison ique dans le nom de l'acide dont dérive l'ester ; on enlève le mot acide et on fait suivre par le nom du groupe lié à l'atome d'oxygène.

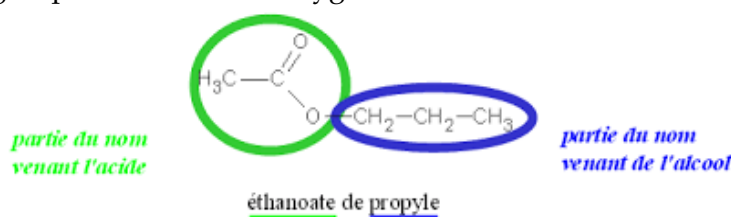


Figure 14 : exemple de nomenclature d'un ester

4.4. Les aldéhydes

On ajoute la terminaison al au nom de l'hydrocarbure correspondant :

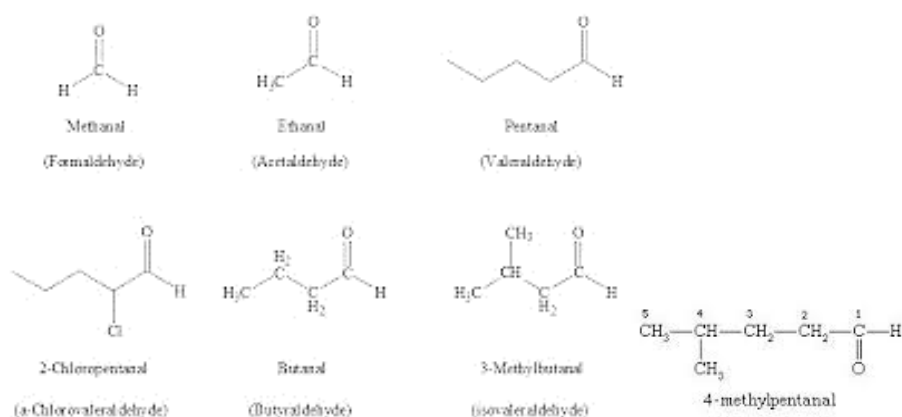


Figure 15 : exemples de nomenclature d'aldéhydes

4.5. Les cétones

Les noms systématiques des cétones dérivent de ceux des hydrocarbures correspondants en utilisant la terminaison one et en précisant la position de la fonction. L'indice doit être le plus bas possible. Il est écrit avant le suffixe one.

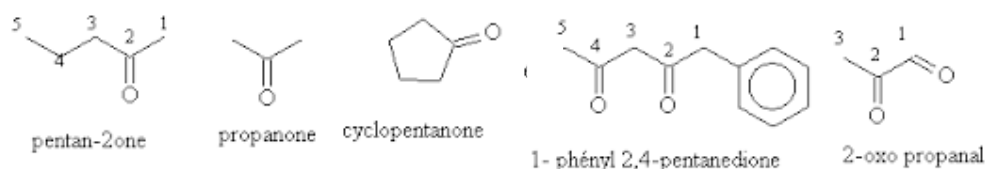


Figure 16 : exemples de nomenclature de cétones

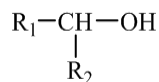
4.6. Les alcools

On distingue trois familles d'alcools :

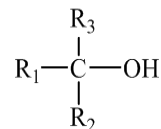
Alcools primaires



Alcools secondaires



Alcools tertiaires



La terminaison systématique est ol qu'il faut précéder de l'indice de position du carbone fonctionnel.

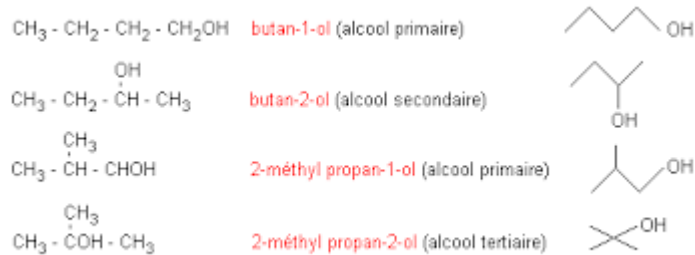
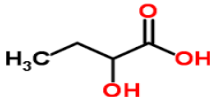


Figure 17 : exemples de nomenclature d'alcools

Si le groupe -OH ne constitue pas une fonction principale il sera désigné par hydroxy :

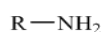


Acide 2-hydroxybutanoïque

4.7. Les amines

On distingue trois familles d'amines :

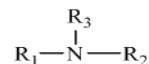
Amines primaires



Amines secondaires



Amines tertiaires



Pour les amines primaires on ajoute le suffixe amine au nom de l'hydrocarbure correspondant :

Structure de la substance organique

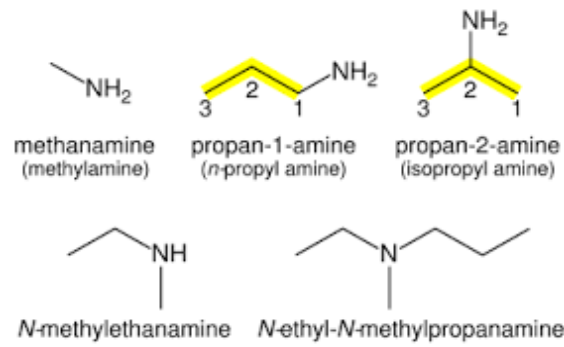
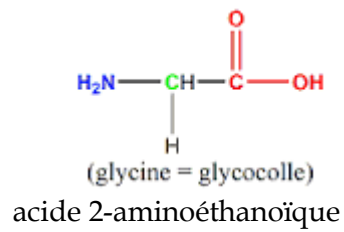


Figure 18 : exemples de nomenclature des amines

Si le groupe $-NH_2$ ne constitue pas une fonction principale, il sera désigné par amino :



Stéréochimie et activité optique

Spectrophotométrie

Dr Aida Elleuch

Objectifs

1. Définir les stéréoisomères
2. Classer les stéréoisomères éthyléniques selon les règles de Cahn, Ingold et Prelog
3. Définir la notion de chiralité et reconnaître les molécules chirales
4. Utiliser la convention de Cahn, Ingold et Prelog pour classer les énantiomères
5. Utiliser la projection de Fisher pour classer les stéréoisomères (D ou L)
6. Comprendre les principes de la spectrophotométrie

1. Introduction

La formule développée plane s'avère insuffisante pour caractériser un composé organique dans le cas où une même formule développée plane peut correspondre à deux ou plusieurs composés différents.

	Acide maléique	Acide fumarique
Formule brute	$C_4H_4O_4$	$C_4H_4O_4$
Formule développée	$HO-C(=O)-CH=CH-C(=O)-OH$	$HO-C(=O)-CH=CH-C(=O)-OH$
Pf	130°C	300°C
Pk_1 / pk_2	1.92 / 6.23	3.02 / 4.38

Figure 1 : exemple de l'acide maléique et l'acide fumarique

L'acide maléique et l'acide fumarique diffèrent entre eux par la disposition dans l'espace de certains atomes et groupes d'atomes : ils constituent un couple de stéréoisomères.

Les stéréoisomères : même formule développée plane mais configurations spatiales différentes.

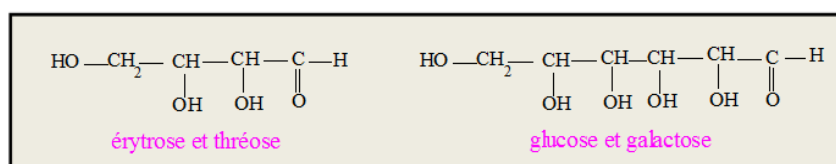


Figure 2 : exemples de stéréoisomères

2. Stéréoisomérisation éthylénique

La stéréoisomérisation éthylénique ou géométrique apparaît chez les composés éthyléniques répondant à la structure générale suivante :

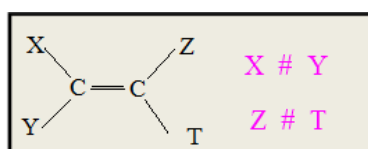


Figure 3 : structure générale des composés éthyléniques

Cette formule développée plane peut se présenter dans deux configurations spatiales différentes en raison de l'impossibilité de la rotation autour de la double liaison.

Elle est donc commune à deux composés différents qui constituent un couple de stéréoisomères éthyléniques ou géométriques.

Dans la nomenclature systématique, l'une des deux configurations est nommée Z (Zusammen: ensemble) et l'autre E (Entgegen: opposé). Pour déterminer le type de configuration, on classe les substituants de

chacun des deux carbones éthyléniques et on précise leurs dispositions relatives dans l'espace : si les deux atomes ou groupes d'atomes de même priorité sont ensemble du même côté du plan de la double liaison la configuration sera Z et dans le cas contraire elle sera E.

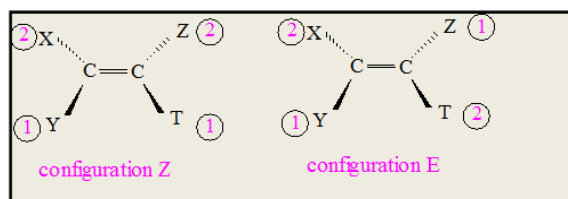


Figure 4 : configuration Z et E de deux stéréoisomères

Pour classer les substituants de chacun des deux carbones éthyléniques, on applique les règles de Cahn, Ingold et Prelog :

- On compare les numéros atomiques des atomes liés au carbone éthylénique et on donne la priorité à celui qui a le numéro atomique le plus élevé.

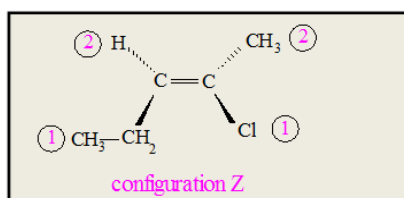


Figure 5 : exemple de configuration Z

- Si les deux atomes liés au carbone éthylénique sont identiques, la règle précédente sera appliquée aux atomes suivants.

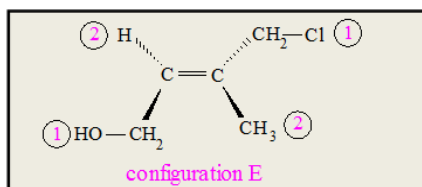


Figure 6: cas de deux atomes identiques liés au carbone éthylénique

- Si l'un des substituants des carbones éthyléniques présente une liaison multiple, celle-ci sera décomposée en liaisons simples

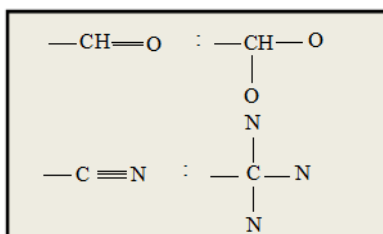


Figure 7: cas d'une liaison multiple de l'un des substituants

Le nom systématique d'un stéréoisomère éthylénique sera précédé du préfixe (nZ) ou (nE) selon sa configuration ; l'indice n précise la position de la double liaison.

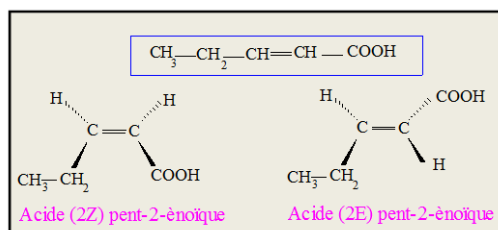


Figure 8 : nomenclature des stéréoisomères éthyléniques

3. Stéréoisomérisation optique

3.1. Chiralité-énantiomère

Certains objets ne sont pas superposables à leurs images à travers un miroir plan : ces objets sont dits chiraux. Les objets chiraux possèdent un point commun : ils n'admettent aucun plan de symétrie.

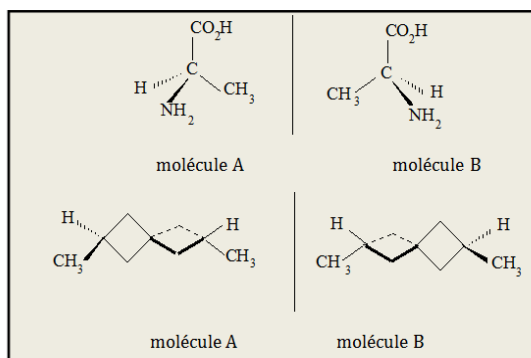


Figure 9 : exemples de molécules chirales

Les deux molécules A et B présentent des configurations différentes tout en ayant la même formule développée plane donc elles constituent un couple de stéréoisomères que l'on désigne par stéréoisomères optiques, inverses optiques ou énantiomères. Nous pouvons ainsi définir les énantiomères comme étant deux stéréoisomères images l'un de l'autre à travers un miroir plan.

Lorsqu'une molécule admet un plan de symétrie, elle est dite achirale et elle est superposable avec son image à travers un miroir plan.

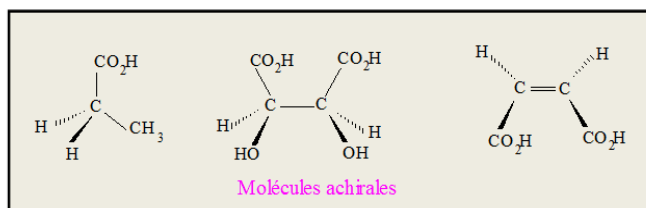


Figure 10 : exemples de molécules achirales

Contrairement aux stéréoisomères éthyléniques, les énantiomères présentent les mêmes propriétés physiques (températures de fusion et d'ébullition, solubilité, propriétés spectroscopiques...) à l'exception de leur action sur la lumière polarisée plane. Les énantiomères se comportent également de la même façon dans les réactions chimiques et ne se distinguent que par leur réactivité vis à vis de certaines molécules, elles aussi, chirales.

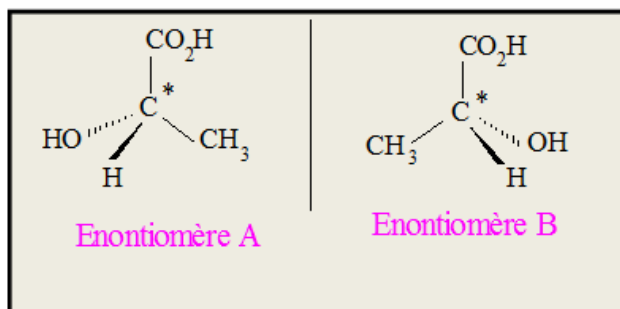


Figure 11 : exemples d'énantiomères

3.2. Activité optique

Considérons trois composés A, B et C, chacun étant dissous dans le même solvant S.

A et B constituent une paire d'énantiomères donc ils sont tous deux chiraux mais C est achiral car sa structure admet un plan de symétrie.

Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée plane traverse chacune de ces trois solutions, l'expérience montre que :

- dans le cas de la solution A / S, le plan de polarisation de la lumière émergente est dévié par rapport à celui de la lumière incidente d'un angle ($+\alpha$) c'est à dire que la déviation (ou rotation) se produit dans le sens du mouvement des aiguilles d'une montre (sens droit) ;
- dans le cas de la solution B / S, le plan de polarisation de la lumière émergente est également dévié mais d'un angle ($-\alpha$) (sens gauche) ;
- dans le cas de la solution C / S, le plan de polarisation de la lumière émergente est le même que celui de la lumière incidente c'est à dire qu'il ne subit aucune déviation ($\alpha=0$).

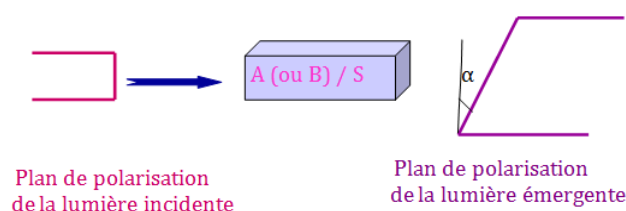


Figure 12 : déviation du plan de polarisation de la lumière par une molécule chirale en solution

On dit que A et B sont optiquement actifs c'est à dire qu'ils sont doués d'une activité optique alors que C est optiquement inactif. Le pouvoir rotatoire α est le même en valeur absolue pour les deux énantiomères mais il est positif pour A dit dextrogyre d (droit) et négatif pour B dit lévogyre l (gauche). Cette différence est la seule propriété physique qui permet de distinguer les deux composés d'une paire d'énantiomères. Le pouvoir rotatoire α est accessible expérimentalement ; c'est à l'aide d'un polarimètre que l'on peut mesurer sa valeur et déterminer également son signe.

$$\alpha = [\alpha] \cdot l \cdot c$$

$[\alpha]$: pouvoir rotatoire spécifique ; sa valeur dépend de la nature de la substance optiquement active, de la température de la solution et de la longueur d'onde de la lumière.

l : longueur du trajet optique ou longueur du tube du polarimètre exprimée en dm.

c : concentration de la solution de la substance optiquement active exprimée en g/cm³.

Figure 13 : détermination du pouvoir rotatoire α

Un mélange équimolaire de deux énantiomères est naturellement optiquement inactif par compensation : un tel mélange est dit racémique ; il est noté par dl. L'acide dl-lactique, par exemple, est le mélange constitué de 50% d'acide d-lactique et de 50% d'acide l-lactique.

4. Les composés chiraux

4.1. Molécules avec un seul carbone asymétrique

Un carbone est dit asymétrique lorsqu'il est lié à quatre atomes ou groupes d'atomes différents.

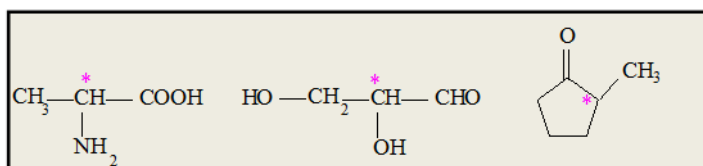


Figure 14 : exemples de molécules avec un seul carbone asymétrique

Tout composé ayant dans sa structure un seul carbone asymétrique ne peut jamais admettre un plan de symétrie et sera de ce fait chiral donc optiquement actif. On peut alors conclure qu'à toute formule développée plane montrant un seul carbone asymétrique, correspondent deux configurations spatiales différentes images l'une de l'autre à travers un miroir plan. Elle est donc commune à deux énantiomères. Le nom systématique de chacun de ces énantiomères sera précédé du préfixe (nR) ou (nS) selon la configuration absolue du carbone asymétrique ; l'indice n précise la position de ce carbone et la

lettre R (du latin Rectus : droit) ou S (du latin Sinister : gauche) indique sa configuration c'est à dire la façon dont sont disposés, dans l'espace, les atomes et groupes d'atomes auxquels il est lié.

Pour déterminer la configuration absolue d'un carbone asymétrique, on applique les règles suivantes :

- Les atomes et groupes d'atomes liés au carbone asymétrique sont classés selon la convention de Cahn, Ingold et Prélog.
- Un observateur occupant la position du groupe numéroté 1 précise le sens dans lequel il observe la rotation $2 \rightarrow 3 \rightarrow 4$: si cette rotation s'effectue dans le sens droit (celui du mouvement des aiguilles d'une montre), la configuration sera R et dans le cas contraire elle sera S.

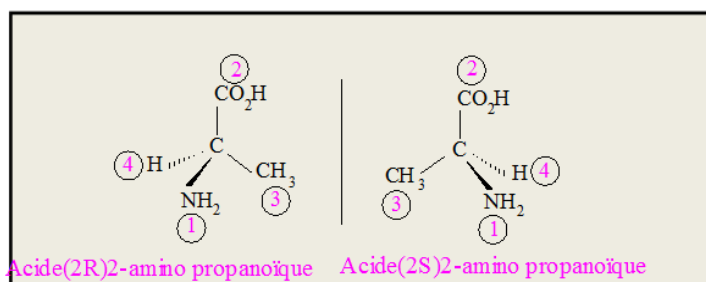


Figure 15: configuration absolue d'un composé à un seul carbone asymétrique

Il est à remarquer que l'image d'un carbone de configuration R est toujours un carbone de configuration S. De même, lorsqu'on réalise une permutation entre deux substituants d'un carbone asymétrique, la configuration de ce dernier sera inversée.

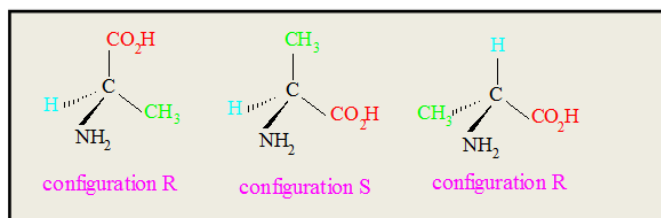


Figure 16 : configuration absolue en cas de permutation de deux substituants

Pour certains composés dont particulièrement les acides aminés et les monosaccharides, il est très commode de représenter les énantiomères en projection de Fisher.

Dans cette représentation, la chaîne principale est disposée verticalement, son extrémité la plus oxydée étant placée au sommet ; le carbone asymétrique n'est pas symbolisé. Pour obtenir la projection de Fisher d'un composé représenté dans l'espace, il est conseillé de procéder de la manière suivante :

Dans la représentation spatiale on fait apparaître la chaîne principale dans le plan de la feuille. Les liaisons représentées dans ce plan, se

projettent sur la verticale et les deux autres, dirigées nécessairement vers l'observateur, se projettent sur l'horizontale.

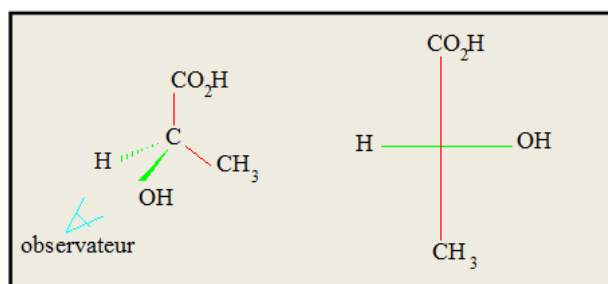


Figure 17: représentation de Fisher d'un monosaccharide

Un ancien système de nomenclature consiste à caractériser la configuration du carbone asymétrique à partir de la projection de Fisher.

Il apparaît en effet sur les deux projections représentées ci-dessous, par exemple, que le groupement hydroxyle du carbone asymétrique est placé dans un cas à droite et dans l'autre à gauche. La configuration de l'énantiomère ayant le groupe hydroxyle à droite est désignée par D et l'autre par L.

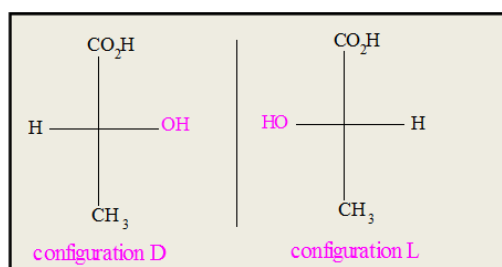


Figure 18 : détermination de la configuration D ou L selon la représentation de Fisher

Ce système reste très pratique dans la caractérisation des acides aminés et des monosaccharides.

Il importe de signaler que la connaissance de la configuration R ou S (D ou L) d'un composé optiquement actif, ne permet pas de préjuger du signe de son pouvoir rotatoire. C'est ainsi que l'acide D-lactique, par exemple, est lévogyre alors que son ester méthylique est dextrogyre bien que sa configuration soit D.

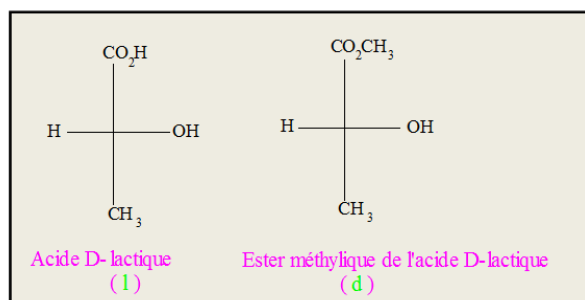


Figure 19: exemple de signes de pouvoir rotatoire (l ou d) différents avec la même configuration D

4.2. Molécules avec deux carbones asymétriques

Chacune des formules développées planes représentées ci-dessous montre la présence dans sa structure de deux carbones asymétriques.

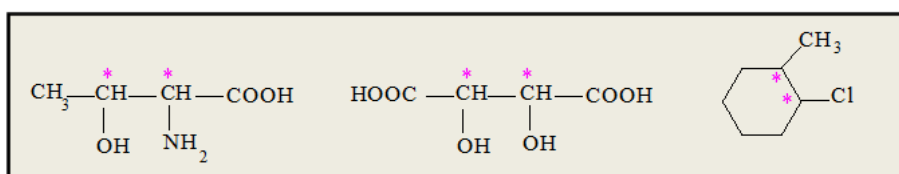


Figure 20: exemples de molécules avec deux carbones asymétriques

Dans le cas général, toute formule développée plane ayant dans sa structure deux carbones asymétriques peut avoir quatre (2²) configurations différentes correspondant à deux couples d'énantiomères

Stéréo-isomère	configuration
A	S S
B	R R
C	R S
D	S R

Figure 21: configurations possibles de molécules avec deux carbones asymétriques

Les stéréoisomères A et B constituent un couple d'énantiomères car ils sont images l'un de l'autre à travers un miroir plan.

Il en est de même pour les stéréoisomères C et D.

Par contre, (A/C), (A/D), (B/C) et (B/D) ne constituent pas des couples d'énantiomères : ce sont des couples de diastéréoisomères.

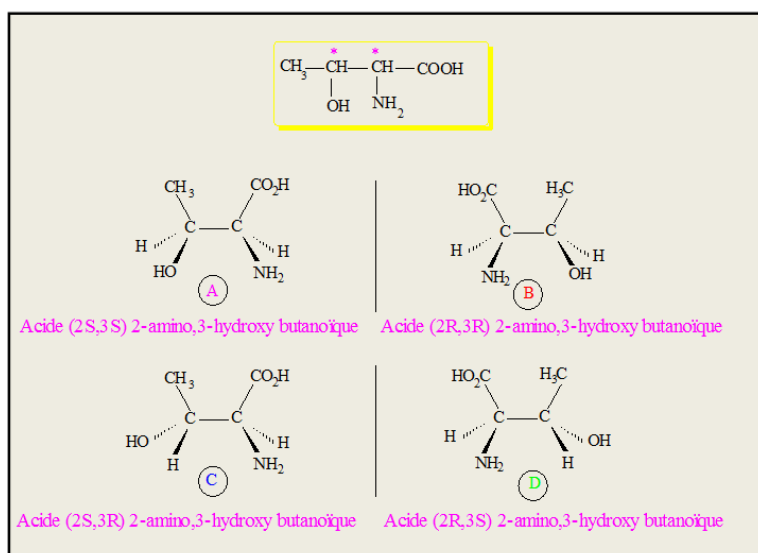


Figure 22 : exemples de stéréoisomères possibles d'une molécule avec deux carbones asymétriques

Ces quatre stéréoisomères peuvent être représentés également en projection de Fisher.

Dans le cas des acides aminés, selon la configuration D ou L du carbone aminé, chacun de ces stéréoisomères sera classé en série D ou L.

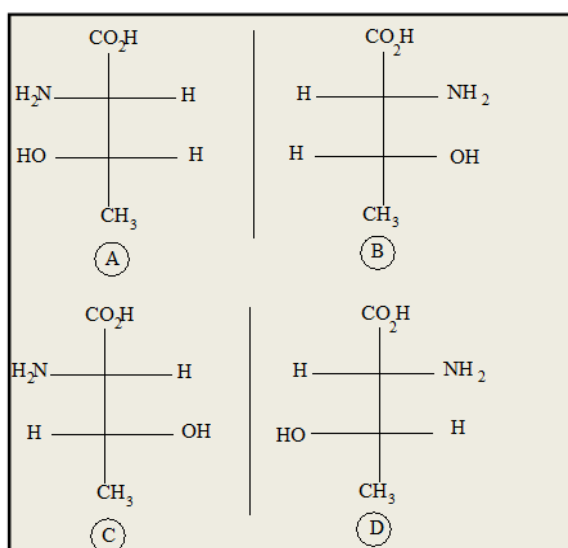


Figure 23 : représentation de Fisher des stéréoisomères possibles d'une molécule avec deux carbones asymétriques

Dans le cas des monosaccharides, on considère la configuration D ou L du carbone asymétrique le plus bas dans la projection de Fisher pour classer les stéréoisomères dans les séries D et L.

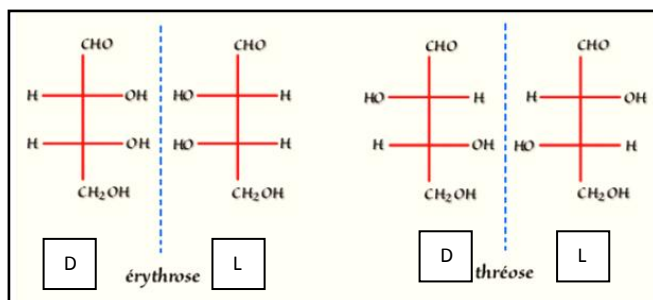


Figure 24: configuration D ou L selon la représentation de Fisher dans le cas des monosaccharides

4.3. Molécules avec plusieurs carbones asymétriques

Toute formule développée plane ayant dans sa structure n carbones asymétriques peut avoir, dans le cas général, 2^n configurations différentes correspondant à $2^n/2$ couples d'énantiomères. La formule développée plane ci-dessous, par exemple, possède 4 carbones asymétriques ; elle correspond à 16 (2^4) stéréoisomères parmi lesquels figurent le D (+) glucose, le D (+) mannose et le D (+) galactose qui existent à l'état naturel.

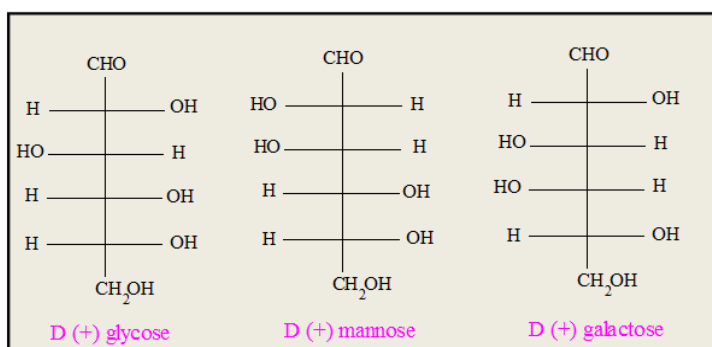


Figure 25 : exemples de stéréoisomères dans le cas de molécule à 4 carbones asymétriques

5. Spectrophotométrie

5.1. Interaction lumière-matière

La spectrophotométrie est l'étude quantitative des interactions entre la lumière et la matière. Lorsque la lumière traverse une substance, elle est en partie transmise et en partie absorbée. Si une substance absorbe dans le domaine visible ($400 \text{ nm} < \lambda_0 < 800 \text{ nm}$) ; alors elle est colorée. Éclairée par de la lumière blanche, elle prendra la couleur des radiations qui parviennent à traverser, couleurs complémentaires des couleurs absorbées.

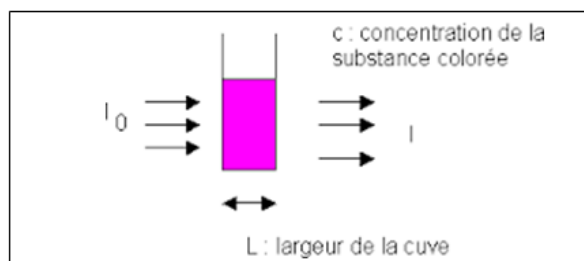


Figure 26: interaction d'une substance en solution avec la lumière incidente

La spectrophotométrie est donc une méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution, c'est-à-dire sa capacité à absorber la lumière qui la traverse. L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie.

La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

5.2. Loi de Beer-Lambert

L'absorbance est fonction de la concentration du soluté comme le montre la loi de Beer - Lambert :

$$A = \log (I_0/I) = \epsilon \cdot \lambda \cdot C$$

A = absorbance sans unité

I_0 = intensité lumineuse incidente

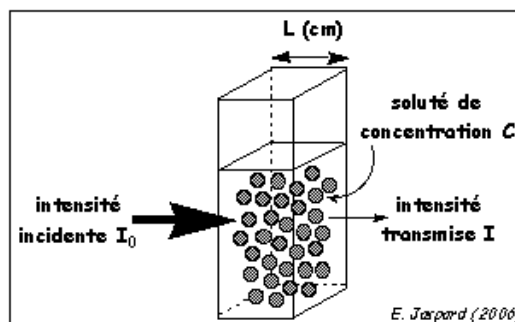
(avant interaction avec le soluté)

I = intensité lumineuse transmise

ϵ = coefficient d'extinction (qui dépend de la longueur d'onde)

λ = longueur du trajet optique (en cm)

C = concentration du soluté (l'unité dépend de celle du coefficient d'extinction)



- Si la concentration du soluté est en M (ou mol.L⁻¹), ϵ est en M⁻¹.cm⁻¹ et on l'appelle coefficient d'extinction molaire ;
- Si la concentration du soluté est en % (masse/volume), ϵ est en g⁻¹.L.cm⁻¹ et on l'appelle coefficient d'extinction pondéral

5.3. Spectrophotométrie

Un spectrophotomètre analyse l'énergie lumineuse réfléchie ou transmise d'une molécule.

Un spectrophotomètre possède un système qui sépare les différentes longueurs d'onde d'un faisceau lumineux : le monochromateur.

Il y a 2 types de monochromateur :

- dispersion de la lumière par un prisme
- diffraction de la lumière par un réseau ou par un cristal

Le spectre est reconstruit par un logiciel à partir des mesures effectuées à des intervalles de longueur d'onde fixés (exemple : mesures tous les 1, 3, 5 nm, ...).

Sources lumineuses :

- lampe à décharge au deutérium : domaine 190 à 400 nm (maximum d'émission à 652 nm)
- lampe à filament de tungstène : domaine 350 à 800 nm
- lampe à décharge au xénon (très énergétique) utilisée dans le domaine UV et visible. Elle fonctionne sous forme de flash, au moment de la mesure.

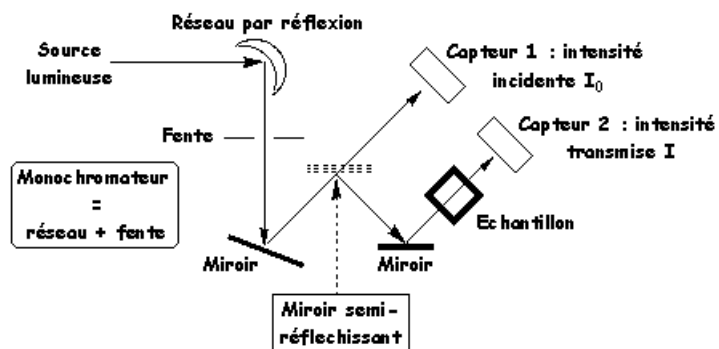


Figure 27 : schéma simplifié d'un spectrophotomètre monofaisceau

Réactivité des composés organiques

Dr Aida Elleuch

Objectifs

1. Classer les différents types d'alcools
2. Décrire les méthodes de synthèse des alcools et les réactions que peuvent établir
3. Décrire les réactions pouvant aboutir à la formation de cétones
4. Décrire la réactivité des aldéhydes et des cétones

1. Les alcools

Les alcools ont pour formule générale : R-OH où la fonction OH est portée par un carbone saturé. On distingue trois classes d'alcools :

- Un alcool est dit primaire si le carbone fonctionnel portant la fonction -OH est lié à un seul carbone
- Un alcool est dit secondaire si le carbone fonctionnel portant la fonction -OH est lié à deux carbones
- Un alcool est dit tertiaire si le carbone fonctionnel portant la fonction -OH est lié à trois carbones
- Dans le phénol la fonction alcool est liée à un groupement phényle (aromatique)

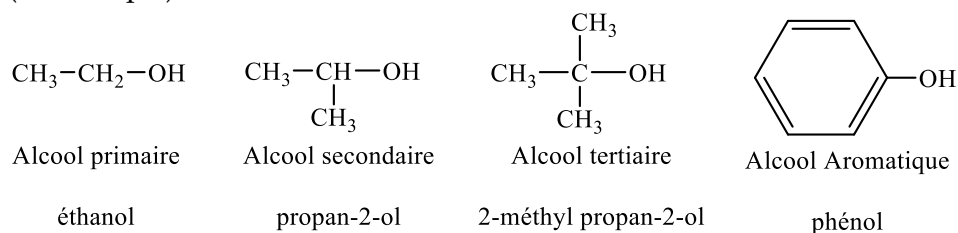


Figure 1 : exemples des différentes classes d'alcools

1.1. Principales méthodes de synthèse

Les alcools sont obtenus principalement par :

- Hydrolyse des halogénures d'alkyle

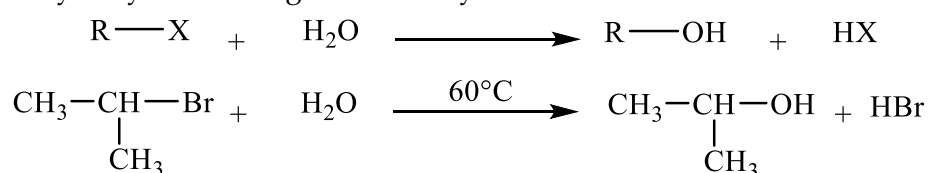


Figure 2 : exemple d'alcool obtenu par hydrolyse des halogénures d'alkyles

- Hydratation des alcènes

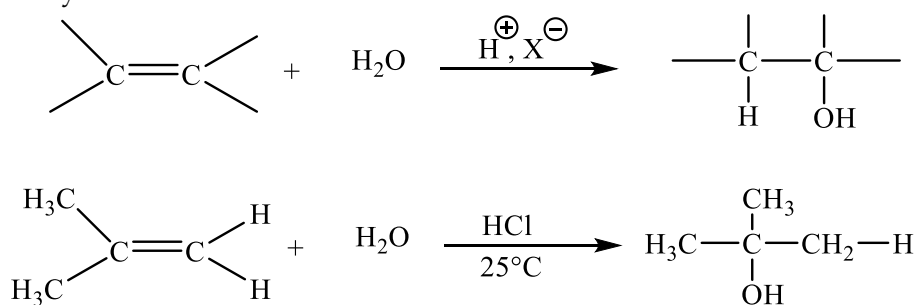


Figure 3 : exemple d'alcool obtenu par hydratation d'alcène

- Réduction des composés carbonylés par l'Hydruure de lithium et d'aluminium LiAlH_4

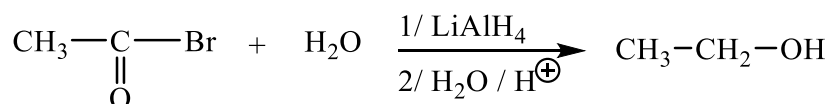


Figure 4 : exemple d'alcool obtenu par réduction de composé carbonylé

- Action des organomagnésiens sur les composés carbonylés

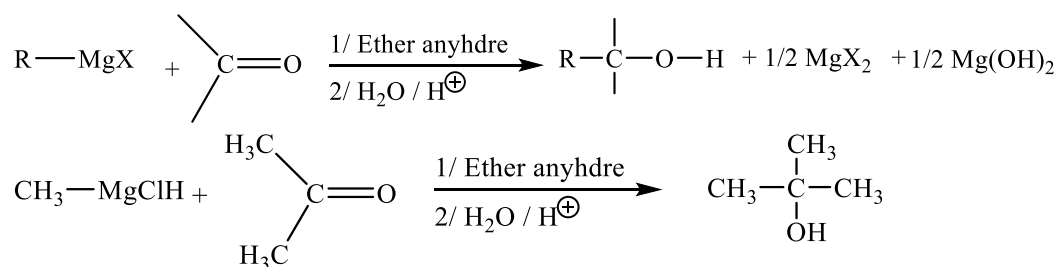


Figure 5 : exemple d'alcool obtenu par action des organomagnésiens sur un composé carbonylé

1.2. Réactivité

- Les alcools sont des acides faibles ; ils se dissocient dans l'eau en donnant des alcoolates :

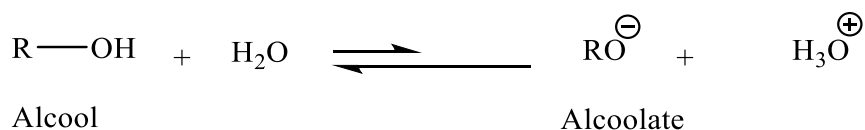


Figure 6 : réaction de dissociation de l'alcool dans l'eau

- Estérification des alcools : C'est une réaction réversible ayant lieu entre un alcool et un acide carboxylique ou phosphorique en présence de catalyseur acide minéral :

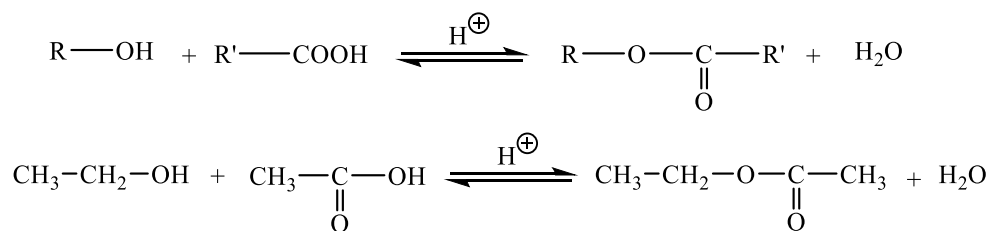


Figure 7 : Réaction d'estérification des alcools

●Oxydation des alcools : Les alcools primaires et secondaires peuvent être oxydés, quant aux alcools tertiaires, ils subissent une rupture de la chaîne carbonée en présence d'oxydants.

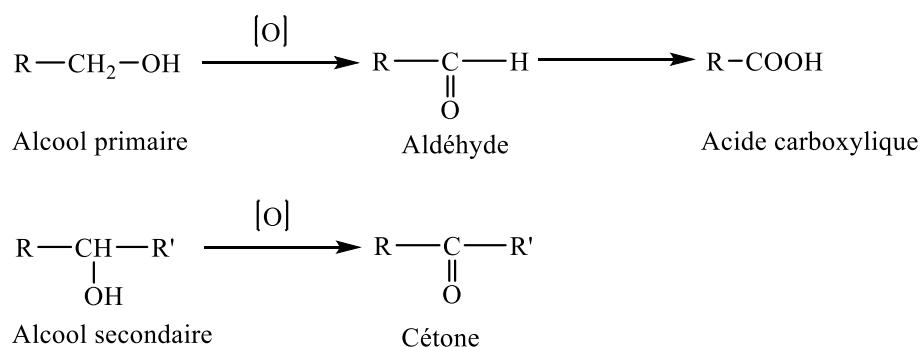


Figure 8 : Réactions d'oxydation des alcools

2. Les dérivés carbonylés

Un dérivé carbonylé possède une double liaison carbone oxygène. Sur le carbone du carbonyle on peut avoir soit des liaisons carbone-carbone, soit des liaisons carbone-hydrogène.



Figure 9 : exemples de composés carbonylés

Les aldéhydes et les cétones peuvent être obtenus par oxydation des alcools (paragraphe précédent).

Différence de réactivité entre les aldéhydes et les cétones :

Les aldéhydes peuvent être oxydés mais les cétones ne peuvent pas être oxydées sans rupture de la liaison carbone-carbone.

En effet, dans une molécule, un carbone oxydé est un carbone qui a perdu des électrons.

Cette perte peut se faire de deux façons :

Les électrons peuvent disparaître de la molécule ou être transférés sur un autre atome à l'intérieur de la molécule.

On peut obtenir une perte d'électrons par

- Première possibilité : l'**insertion d'oxygène** qui est fortement électronégatif donc il attire les électrons de l'atome de carbone.

On peut obtenir la même réaction d'oxydation avec un autre atome électronégatif comme l'azote.

- La deuxième possibilité est **l'enlèvement d'hydrogène** de la molécule (un atome d'hydrogène est composé d'un proton et d'un électron).
- Réaction d'un aldéhyde avec un alcool
C'est l'exemple de la formation d'hémiacétal : étape importante dans la formation des glucides.
Un **hémiacétal** est un groupe chimique qui résulte d'une réaction entre un aldéhyde et un alcool (R-OH) liés au même atome de carbone.

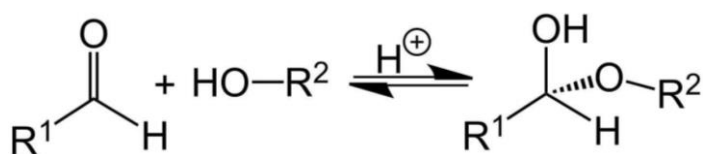


Figure 10 : formation d'hémiacétal

Dans cette réaction, l'oxygène de l'aldéhyde est plus électronégatif que le carbone donc il attire les doublets de liaisons. Le carbone a donc une charge partielle positive. L'oxygène de l'alcool peut ainsi s'attaquer au carbone d'où l'insertion de la fonction alcool sur le même carbone.

La même réaction peut s'établir avec une cétone et le produit sera l'hémikétal.

L'hémiacétal ou l'hémikétal sont instables, ils réagissent avec un groupement hydroxyle entraînant le départ d'une molécule d'eau. Le produit formé est l'acétal ou le kétal.

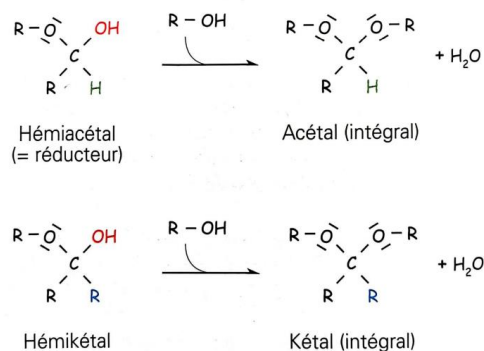


Figure 11 : transformation d'un hémiacétal ou hémikétal en acétal ou kétal

- Réaction de Schiff

La réaction de Schiff est une réaction de mise en évidence des aldéhydes qui fait intervenir le SO₂. Une coloration magenta ou pourpre apparaît si la réaction est positive.

Le point de départ est la fushine (oxydée, présente des insaturations, colorée). Dans la réaction avec le SO_2 et puisque N du groupement amine de la fushine est plus électronégatif que S (3 contre 2.6) donc il va gagner des électrons, la fushine sera réduite (devient incolore), elle ne présente plus d'insaturations. Elle devient oxydante (donneur d'électrons) et oxyde l'aldéhyde donc elle va perdre des électrons et devient oxydée. La molécule ainsi oxydée se recolor.

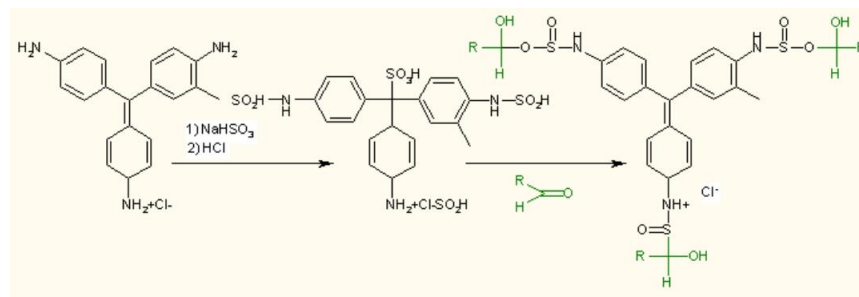


Figure 12 : Réaction de Schiff : mise en évidence des aldéhydes

- L'ozonolyse des alcènes conduit après hydrolyse acide à des dérivés carbonylés :

L'hydrolyse acide des alcynes réalisée en présence de sels mercuriques une méthode utilisée pour préparer des cétones :

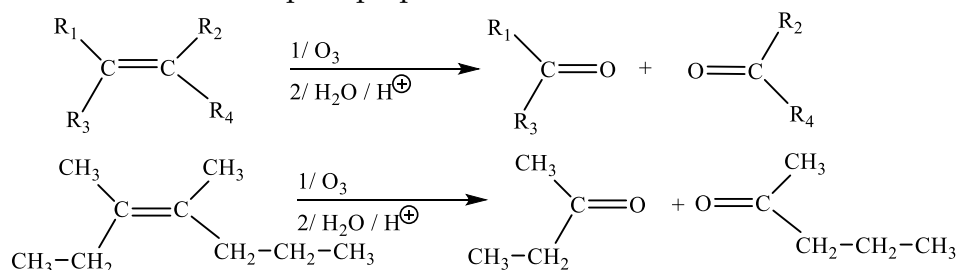


Figure 13 : exemple d'obtention de composé carbonylé par ozonolyse des alcènes

- L'acylation des dérivés benzéniques réalisée en présence de AlCl_3 permet d'obtenir des cétones aromatiques

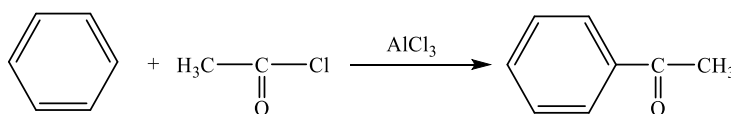


Figure 14 : exemple d'obtention de cétones aromatiques par acylation de dérivés benzéniques

Partie 2

Les protéines de la structure à la fonction

Acides aminés, Peptides et Protéines

Dr Mouna TURKI, Dr Fatma AYEDI

Objectifs

1. Définir et reconnaître la structure générale d'un acide aminé
2. Reconnaître un acide aminé en fonction des particularités structurales de sa chaîne latérale.
3. Définir et connaître le degré de polarité des acides aminés.
4. Définir l'état d'ionisation d'un acide aminé.
5. Savoir calculer le pHi d'un acide aminé ou d'un oligopeptide.
6. Décrire les principales propriétés chimiques des acides aminés dues à la présence des groupements amines et carboxyliques.
7. Définir une structure peptidique.
8. Décrire le rôle des différentes classes d'enzymes protéolytiques (endo et exo peptidases /amino et carboxy peptidases).
9. Enumérer les différents types de liaisons qui interviennent dans le maintien de la structure d'une protéine.
10. Définir les 4 niveaux de structure dans l'architecture protéique.
11. Décrire les structures tridimensionnelles des chromoprotéines myoglobine et hémoglobine.
12. Expliquer le rôle de la structure de ces protéines dans leur fonction.
13. Expliquer les effets allostériques de l'hémoglobine.
14. Dédire l'effet d'une modification de la structure de l'hémoglobine sur sa fonction, qu'elle soit physiologique (différents types d'hémoglobines) ou pathologique (hémoglobinopathies).

Les Acides aminés

1. Introduction

Les cellules vivantes produisent une grande variété de macromolécules : protéines, polysaccharides, acides nucléiques... ; qui servent de constituants structuraux, de dépositaires de l'information génétique, de catalyseurs, d'hormones... etc.

Ces macromolécules sont constituées de monomères ou unités de construction. Pour les A. nucléiques : ce sont les nucléotides

Pour les polysaccharides : ce sont les dérivés glucidiques

Pour les protéines : ce sont les acides aminés (AA) qui vont être reliés entre eux par des liaisons peptidiques.

2. Définition

Les AA sont les unités structurales de base des protéines.

Bien que la plupart des protéines contiennent des composés autres que les AA, cependant, leur structure tridimensionnelle et leurs propriétés dépendent surtout :

- des AA présents
- de l'ordre dans lequel ils sont unis
- du rapport des AA l'un par rapport à un autre.

3. Importance biomédicale

Les AA exercent plusieurs fonctions importantes :

- Ils constituent les maillons de base des protéines. 20 AA entrent dans la composition des protéines.
- Parmi ces 20 AA : 8 sont indispensables à l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation.

Les 8 Acides aminés indispensables

**Valine - Leucine - Isoleucine - Thréonine –
Méthionine – Lysine - Phénylalanine – Tryptophane**

- Certains AA interviennent dans la transmission de l'influx nerveux (Glycine et acide glutamique).
- Le métabolisme des AA donne naissance à plusieurs composés d'importance biomédicale. Exemple : la décarboxylation de certains AA produit les amines correspondantes, et quelques une d'entre elles / l'histamine et le gamma-amino- butyrate (GABA) exercent des fonctions biologiques importantes.
- Des anomalies du transport de certains AA dans les cellules sont

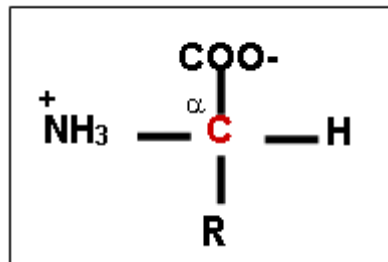
responsables d'un certain nombre de maladies.

- La présence de quantités élevées d'un ou de plusieurs AA dans l'urine est caractéristique de ces maladies. On les groupe sous le terme d'aminociduries.

4. Structure des acides aminés

L'acide aminé est une molécule organique possédant un squelette carboné et 2 groupements fonctionnels :

- Un groupement acide carboxylique (- COOH)
- Une fonction amine primaire (- NH₂)



- **Figure 1 : Structure générale d'un acide aminé**

- Dans un acide α aminé ces 2 groupements sont portés par le même carbone nommé α. Le radical R est la partie qui varie d'un AA à un autre.
 - Bien qu'il existe environ 300 AA différents dans la nature, 20 AA seulement entrent dans la composition de toutes les protéines provenant de toutes les formes de vie : animale, végétale ou microbienne (Tableau 1).
 - Le carbone α est lié à 4 groupements différents → c'est un carbone asymétrique pouvant se présenter sous forme de 2 isomères optiques L et D
- La majorité des AA présents dans la nature sont de la série L.

5. Etude des différents acides aminés entrant dans la composition des protéines.

20 Acides aminés entrent dans la composition de toutes les protéines. Ces 20 AA constituent « l'alphabet » des protéines.

On peut les diviser en 2 groupes :

- Les AA à chaîne latérale aliphatique
- Les AA à chaîne latérale cyclique.

Tableau 1 : Nomenclature des 20 acides aminés protéinogènes

Acide aminé	Code à 3 lettres	Code à 1 lettre	Poids (en g/mol)
Alanine	Ala	A	89,1
Arginine	Arg	R	174,2
Asparagine	Asn	N	132,1
Aspartate	Asp	D	133,1
Cystéine	Cys	C	121,2
Glutamate	Glu	E	147,1
Glutamine	Gln	Q	146,2
Glycine	Gly	G	75,1
Histidine	His	H	155,2
Isoleucine	Ile	I	131,2
Leucine	Leu	L	131,2
Lysine	Lys	K	146,2
Méthionine	Met	M	149,2
Phénylalanine	Phe	F	165,2
Proline	Pro	P	115,1
Sérine	Ser	S	105,1
Thréonine	Thr	T	119,1
Tryptophane	Trp	W	204,2
Tyrosine	Tyr	Y	181,2
Valine	Val	V	117,1

5.1. Acides aminés à chaîne latérale aliphatique**5.1.1. Chaîne latérale hydrocarbonée simple**

Glycine : (Gly) ou (G) ou glycolle : Le plus petit acide aminé : Sa chaîne latérale R est réduite à un atome d'H. Il n'y a pas d'isomère optiquement actif. La glycine est très abondante dans le collagène et l'élastine.

L. Alanine : (Ala) ou (A)

La L. Valine : (val) ou (V)

L. leucine (leu) ou (L)

L. Isoleucine (Ile) (I)

Val, leu et Ile appartiennent à la famille des AA essentiels.

5.1.2. Chaîne latérale hydroxylée contenant (-OH)

L. Serine (Ser) ou (S)

L. Thréonine (Thr) ou (T) : C'est un Acide aminé indispensable

5.1.3. Chaîne latérale contenant un atome de soufre

L. Cysteine (Cys) ou (C) : Caractérisée par la présence d'une fonction thiol (-SH) réactive. La cystine est formée par la condensation de 2 résidus cystéine avec formation d'un pont S-S. Elle est abondante dans les scléroprotéines des phanères.

L. méthionine (Met) ou (M) : C'est un AA indispensable. Considéré comme donneur de groupement Méthyle

5.1.4. Les AA dicarboxyliques et leurs amides

L'acide L. aspartique (Asp) (D). L'amide correspondant est **l'asparagine (Asn) (N)**

L'acide L. glutamique (Glu) (E). L'amide correspondant est la **L. Glutamine (Gln) (Q)**

- Ces 2 acides aminés dicarboxyliques et leurs amides sont très répandus dans les protéines et jouent un rôle dans les réactions de transamination.
- L'acide glutamique, véritable carrefour du métabolisme azoté, joue un rôle très important dans le métabolisme intermédiaire.
- La décarboxylation en α de l'acide glutamique donne l'acide gamma- aminobutyrique (GABA) amine biogène qui existe à l'état libre dans le cerveau.

5.1.5. Les Acides Aminés basiques :

La L. lysine (Lys) ou (K) : C'est un AA indispensable

La L. arginine (Arg) (R) : C'est l'AA le plus basique (porte sur sa chaîne latérale deux fonctions amine).

La L. histidine (His) (H) : La décarboxylation de l'Histidine $\rightarrow$ histamine (amine biogène) Stabilisation de l'Hémoglobine.

5.1.6. Les acides aminés aromatiques

La L. Histidine (Voir ci-dessus)

La L. Phenylalanine (Phe) (F) : Le noyau aromatique est responsable d'un Pic d'absorption en UV à 280 nm. C'est un AA indispensable chez l'homme.

La L. Tyrosine (Tyr) (Y) dérivé d'oxydation de la Phe. qui fait partie également des AA hydroxylés

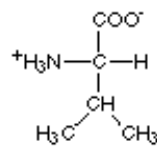
Le Tryptophane (Trp) (W) : c'est un AA indispensable

5.1.7. Un Acide Aminé hétérocyclique : La L. Proline (Pro) (P)

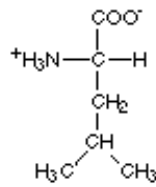
Contient une fonction amine secondaire : c'est un acide α -iminé.

La chaîne latérale de la proline est liée à la fois à la fonction aminé et au carbone α , ce qui entraîne une structure cyclique.

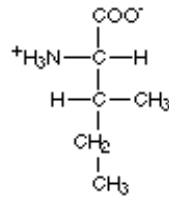
Amino acids with hydrophobic side groups



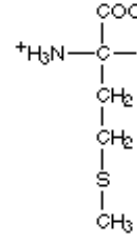
Valine
(val)



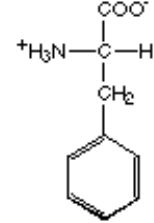
Leucine
(leu)



Isoleucine
(ile)

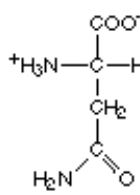


Methionine
(met)

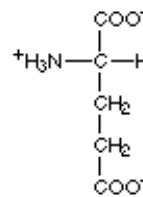


Phenylalanine
(phe)

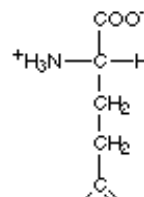
Amino acids with hydrophilic side groups



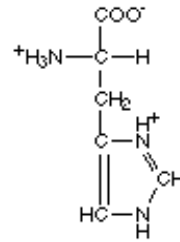
Asparagine
(asn)



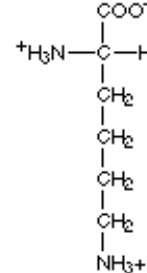
Glutamic acid
(glu)



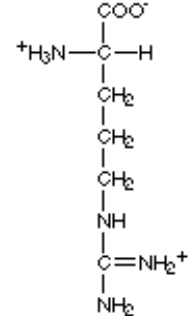
Glutamine
(gln)



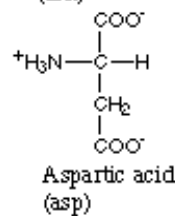
Histidine
(his)



Lysine
(lys)

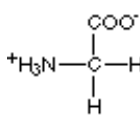


Arginine
(arg)

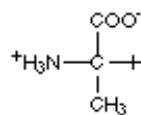


Aspartic acid
(asp)

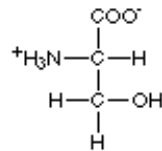
Amino acids that are in between



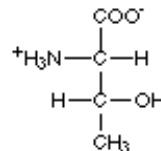
Glycine
(gly)



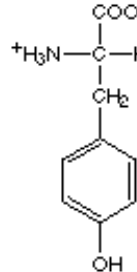
Alanine
(ala)



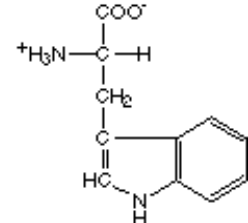
Serine
(ser)



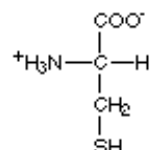
Threonine
(thr)



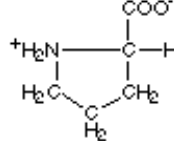
Tyrosine
(tyr)



Tryptophan
(trp)



Cysteine
(cys)



Proline
(pro)

Figure 2 : Formules développées des 20 acides aminés protéinogènes et leur classification selon la polarité

6. Propriétés physico-chimiques des acides aminés

6.1. Polarité

On peut classer les acides aminés en 2 grandes classes selon que les groupements attachés au carbone sont polaires ou non.

Un groupement non polaire est celui qui a peu ou pas de différence de charge d'une région à l'autre. Inversement, un groupement polaire présente des différences de charge relativement importantes dans les différentes régions.

Tableau 2 : Polarité des acides aminés

APOLAIRES (Hydrophobes)	POLAIRES (Hydrophiles)		
	Intermédiaires	Acides + Basiques	Neutres
Valine Leucine Isoleucine Méthionine Phénylalanine	Glycine Alanine Sérine Thréonine Tyrosine Tryptophane Cystéine Proline	A. Aspartique A. Glutamique Lysine Arginine Histidine	Asparagine Glutamine

6.2. Solubilité

La présence de plusieurs groupements ionisés sur les AA facilite leur solubilisation par les solvants polaires tels que l'eau et l'éthanol. Par contre ils sont insolubles dans les solvants non polaires tel que le benzène, l'hexane ou l'éther.

6.3. Stéréochimie

La majorité des AA présents dans la nature sont de la série L : ce sont des acides L α aminés. Cependant il existe environ 20 AA de la série D dans la nature. Ex. : D-Ala et D-Glu qui entrent dans la composition de la membrane cellulaire des bactéries.

Quelques AA de la série D entrent dans la composition des médicaments antibiotiques

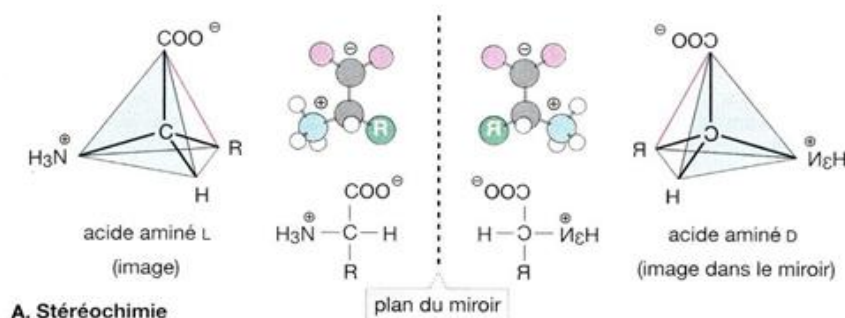


Figure 3 : isomères des acides aminés

6.4. Point de fusion

Très élevé > 200 ° C. Les AA sont thermostables 6.5.

6.5. Absorption dans l'ultraviolet

Les AA absorbent pour des longueurs d'ondes < 230 nm. Les AA aromatiques présentant un noyau phényle (Phe, Tyr) ou indole (Trp) absorbent dans le domaine Ultraviolet entre 250 et 300 nm. Cette propriété sert au dosage spectrophotométrique des protéines.

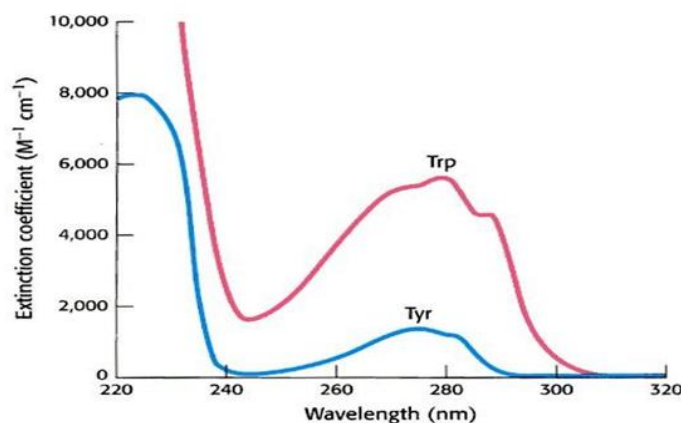
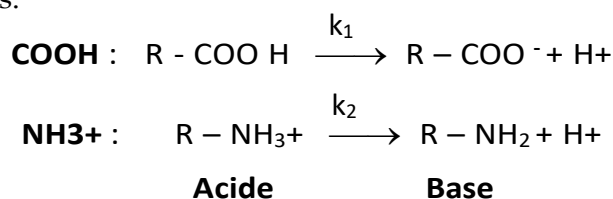


Figure 4 : Absorption dans l'UV des acides aminés

6.6. Formes ioniques des AA

Les AA contiennent au moins 2 groupements acides faiblement ionisables.



En solution ces groupements vont exister sous 2 formes : chargée et neutre, qui sont en équilibre protonique l'une par rapport à l'autre.

R - COOH et R - NH₃⁺ : sont les partenaires acides.

R - COO⁻ et R - NH₂ : sont les bases conjuguées.

Quoique R - COOH et R - HN₃⁺ soient des acides faibles, la fonction (R-COOH) est plus forte que (R - NH₃⁺).

On peut exprimer le pouvoir acide des acides faibles en terme de pK : qui est la constante de demi-dissociation de la fonction acide.

Lorsque le pH = pK, la moitié des fonctions acides est sous forme protonnée.

La charge nette de l'AA va dépendre du pH, ou de la concentration

(H⁺) de la solution ambiante.

Au pH physiologique du plasma (7,4) et du milieu intracellulaire (7,1), la fonction carboxyle est ionisée (COO⁻) et la fonction amine est protonnée (NH₃⁺)

La possibilité de modifier le pH, donc la charge des AA facilite leur séparation.

A une certaine valeur de pH appelée point isoélectrique la charge nette de l'AA va s'annuler et l'acide aminé ne peut plus se déplacer sous l'effet d'un champ électrique.

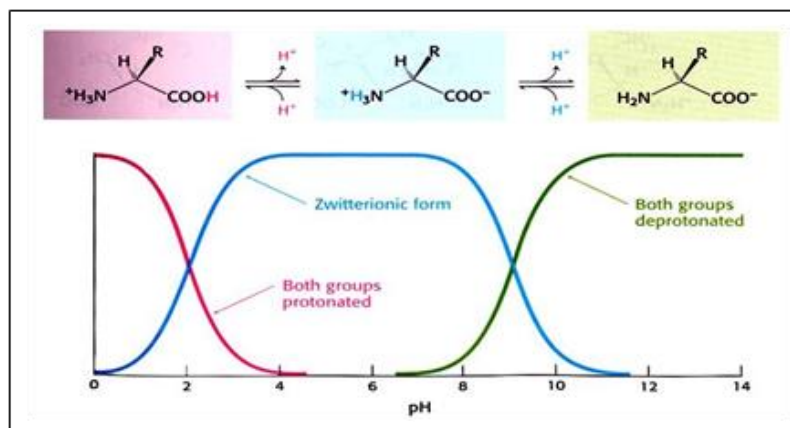


Figure 5 : états ioniques d'un acide aminé en fonction du pH

Le pH isoélectrique est le pH situé à mi-chemin entre les valeurs de pKa de chaque côté de la forme isoélectrique.

Tableau 3 : pK et pHi des 20 acides aminés protéinogènes

Acide aminé	pK1	pK2	pKr	pHi
Alanine	2,34	9,69		6,02
Asparagine	2,00	8,80		5,40
Glutamine	2,17	9,13		5,65
Glycine	2,34	9,60		5,97
Isoleucine	2,40	9,70		6,05
Leucine	2,36	9,60		5,98
Méthionine	2,30	9,20		5,75
Phénylalanine	1,80	9,10		5,45
Proline	2,00	10,60		6,30
Sérine	2,21	9,15		5,68
Thréonine	2,63	10,41		6,63
Tryptophane	2,40	9,40		5,90
Valine	2,30	9,60		5,95
Tyrosine	2,20	9,11	10,07	5,65
Acide aspartique	2,09	9,82	3,86	2,98
Acide glutamique	2,19	9,67	4,25	3,22
Cystéine	1,71	10,78	8,33	5,02
Lysine	2,18	8,95	10,53	9,74
Arginine	2,17	9,04	12,48	10,76
Histidine	1,82	9,17	6,00	7,59

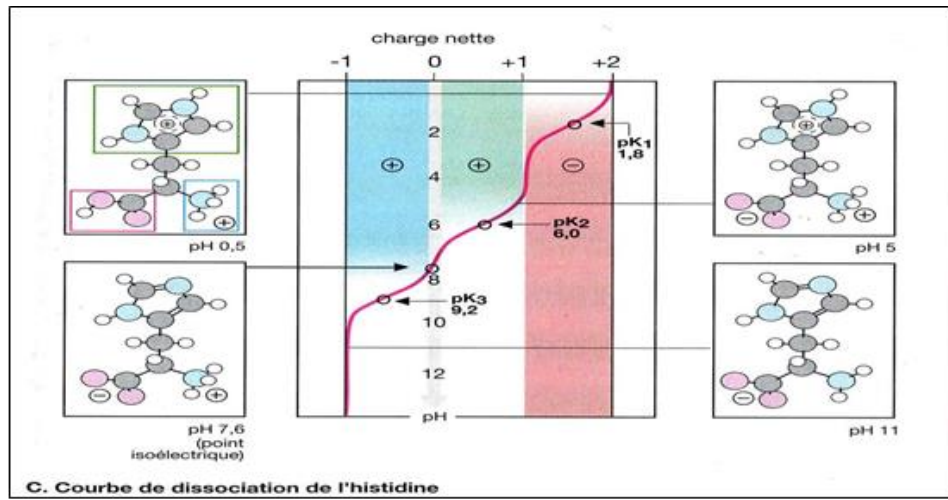


Figure 6 : courbe de dissociation de l'histidine

Pour les AA comportant d'autres groupements ionisables, le calcul du pHi est plus délicat. Une méthode efficace pour répondre à cette question est d'écrire toutes les structures ioniques possibles en passant d'un pH fortement acide à un pH basique. On identifie la forme Zwitterion et on calcule le pHi à partir des 2 valeurs de pKa qui l'encadrent

7. Réactions chimiques générales des acides aminés

7.1. Propriétés dues au (COOH)

- Formation de sels



Cette propriété peut être utilisée pour titrer un AA (déterminer son pHi).

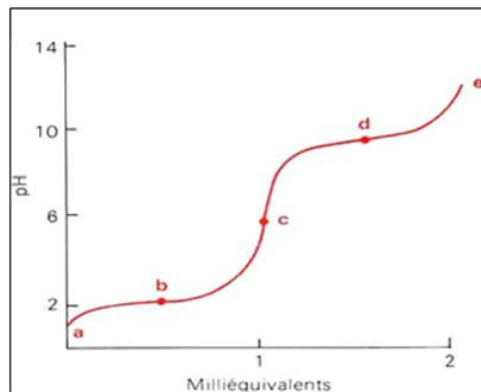


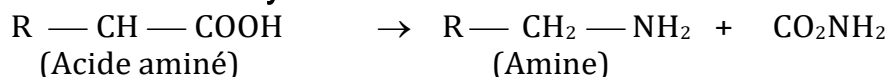
Figure 7 : titration d'un acide aminé

- **Estérification**



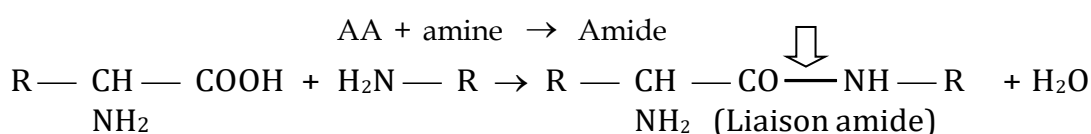
Cette propriété est utilisée pour protéger chimiquement (-COOH) lors de la synthèse peptidique (les esters sont en général liquides)

- **Décarboxylation**



Cette réaction est importante car elle conduit à la formation d'amines qui peuvent être douées d'activité biologique.

- **Formation d'amide**



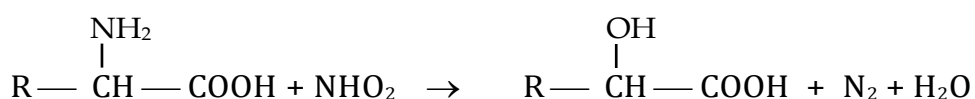
NB : Lorsque le groupement NH₂ qui réagit est celui d'un autre acide aminé, on obtient une liaison dite peptidique, c'est par ce mode de combinaison que les AA se lient les uns aux autres.

7.2. Propriétés dues à la présence du groupement (-NH₂)

- **Désamination chimique et enzymatique**

- Désamination chimique

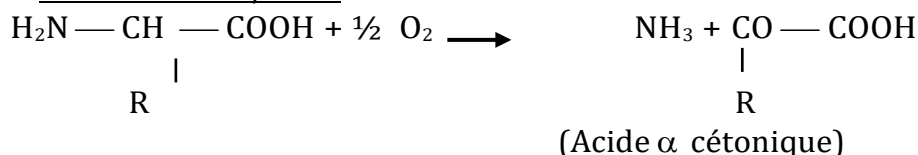
Par l'acide nitreux HNO₂ - connue sous le nom de méthode de Van Slyke.



Elle permet de déterminer les groupes (-NH₂) libre des AA, des peptides ou des protéines. Elle est utilisée également pour déterminer la balance azotée de l'organisme.

- Désamination enzymatique

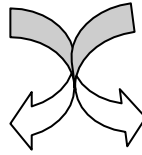
- * Désamination oxydative



* Transamination : C'est le transfert de groupement NH_2 d'un acide aminé sur un acide α cétonique

Acide aminé1

Acide α cétonique1



Acide α cétonique

Acide aminé2

- **Action du Fluoro 2,3 dinitrobenzène (FDNB)**

Le FDNB se lie à l'AA donnant le dinitrophényl-AA qui est identifié en chromatographie par sa coloration jaune, et dosé par spectrophotométrie. (Réaction de Sanger).

- **Action du phenylisothiocyanate (PITC).**

Se lie également à l'AA et coupe la liaison amide entre 2 AA donnant un produit coloré PTC aa qui peut être isolé par chromatographie est dosé par spectrophotométrie.

C'est la réaction d'Edman utilisée dans l'analyse automatisée des chaînes peptidiques.

- **Action du chlorure de Dansyl**

Se lie à la fonction amine de l'AA donnant un dérivé dansyl-AA fluorescent qui peut être dosé par fluorimétrie.

Cette réaction est très sensible.

7.3. Propriétés dues à la présence de $-\text{COOH}$ et $-\text{NH}_2$

- **Formation de liaisons peptidiques**

C'est la réaction la plus importante des acides aminés

- En principe, il y a, lors de la formation d'une liaison peptidique, élimination d'une molécule d'eau entre le groupement amine d'un AA et le groupement carboxyle du deuxième AA.
- Cependant, la réaction ne se passe pas telle qu'elle est décrite puisque la constante d'équilibre favorise fortement l'hydrolyse de la liaison peptidique.

En fait pour synthétiser une liaison peptidique entre 2 AA il faut d'abord activer le groupement carboxyle.

Chimiquement : grâce à une conversion en chlorure d'acide.

Biologiquement : l'activation implique une condensation initiale avec l'ATP.

- **Réaction colorée à la ninhydrine.**

La décarboxylation oxydative des A alpha amines peut se faire avec la ninhydrine.

Au cours de la réaction, il y a : désamination, décarboxylation et formation d'un aldéhyde ayant un atome de carbone de moins que l'AA dont il provient.

La ninhydrine réduite réagit alors avec l'ammoniac donnant une coloration bleue-violacée stable (pourpre de Ruhemann) qui absorbe au maximum la lumière de long d'onde 570 nm, sauf pour la proline et l'OH-proline (qui donnent un produit terminal de coloration jaune qui absorbe à 460 nm)

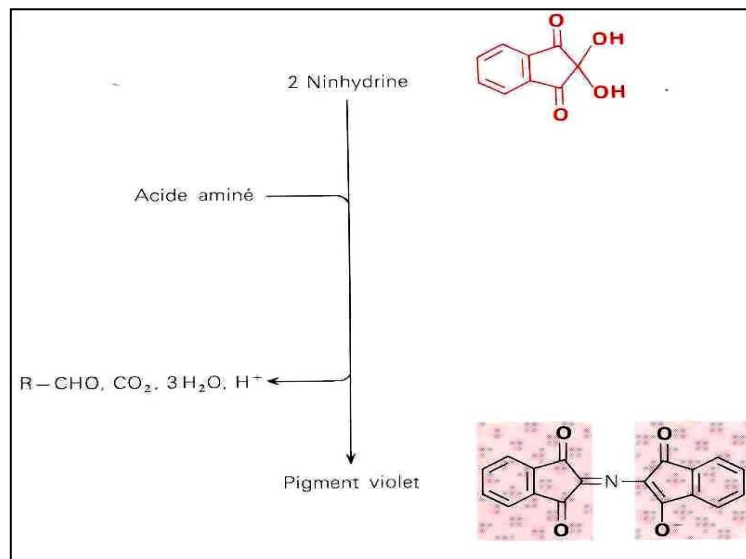


Figure 8 : Action de la ninhydrine

Cette réaction permet :

- l'identification des AA : elle est utilisée pour le repérage des AA en chromatographie de partage sur papier ou sur couche mince
- l'intensité de la coloration est à la base d'une méthode quantitative très utile pour doser les acides aminés. Elle permet de détecter 1 µg d'AA.

7.4 Propriétés liées au radical R

* **Glycine** : le plus petit AA

peut pénétrer dans les régions de la structure tridimensionnelle des protéines inaccessibles aux autres AA.

* **Les AA hydrophobes** (Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp)

Leur caractère hydrophobe a des conséquences importantes sur la disposition des molécules d'eau dans l'entourage des protéines.

* Les radicaux R chargés des AA **acides ou basiques** jouent un rôle important dans la stabilisation de la structure des protéines par la

formation de liaisons salines.

*

* Le groupement (-OH) de la sérine et (-SH) de la cystéine sont d'excellents nucléophiles . Ils peuvent agir au cours de la catalyse enzymatique.

(-OH) de la sérine participe à la régulation de l'activité de certaines enzymes clés du métabolisme (dont l'état d'activité dépend de la phosphorylation des résidus seryl - spécifiques).

* L'histidine occupe une place particulière dans la catalyse enzymatique puisque le pK de son proton de l'imidazole lui permet à pH 7 de fonctionner soit comme catalyseur basique, soit comme catalyseur acide.

* Les AA n'absorbent pas la lumière visible et à l'exception des AA aromatiques (Trp, Tyr, Phe et His), ils n'absorbent pas la lumière UV au dessus de 240 nm.

Au dessus de 240 nm, la plus grande partie de l'absorption UV des protéines découle de leur contenu en acides aminés aromatiques, surtout le Tryptophane.

Les peptides

1. Introduction

Quand les groupements aminés et les groupements carboxyle des acides aminés se combinent pour former des liaisons peptidiques, on appelle les acides aminés constitutifs résidus d'acides aminés.

Définition

Un peptide est composé d'un certain nombre d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.

On parle d'oligopeptide lorsque le nombre de résidus d'acides aminés est faible (2 - 3). On parle de polypeptide quand le nombre de résidus d'acides aminés > 10.

Importance biomédicale

Les peptides sont d'un immense intérêt biologique surtout en endocrinologie :

- Plusieurs hormones importantes de l'organisme sont des peptides. Exp: hormones hypophysaires, hormones pancréatiques (insuline et glucagon)
- Certains antibiotiques et agents antitumoraux sont des peptides.
- D'autres peptides viraux sont utilisés pour usage dans les vaccins.
- Fréquemment, l'administration d'hormone peptidique permet de corriger la déficience correspondante. Exemple : traitement des diabétiques par l'insuline
- Les nouvelles techniques permettant la synthèse rapide d'hormones peptidiques a facilité leur fabrication en quantité suffisante pour usage thérapeutique.

2. Structures peptidiques

2.1 La liaison peptidique

La liaison peptidique se forme entre La fonction (- COOH) d'un 1er acide aminé et la fonction (- NH₂) d'un 2ème acide aminé.

Elle présente les caractéristiques suivantes :

- 1) Les atomes C, N, H, O et les 2 C α se trouvent dans le même plan
- 2) Les carbones C α sont en position trans par rapport à la liaison C - N.
- 3) La forme O = C - NH est en perpétuelle résonance avec la forme O - C = NH.

La liaison peptidique a donc a un caractère partiellement double, elle ne peut donc pas subir de libre rotation.

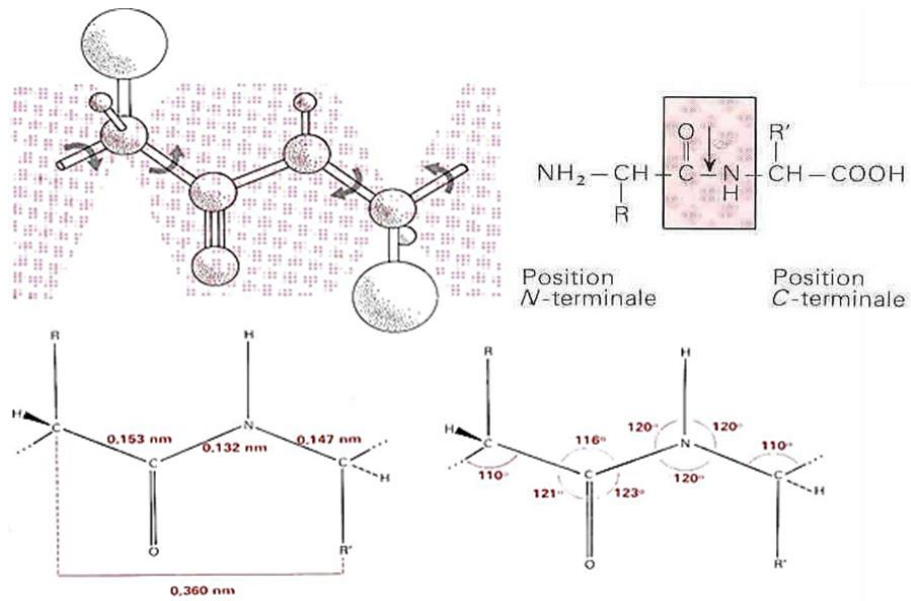


Figure 1 : Liaisons peptidiques

2.2 Représentation de la structure peptidique

Conventionnellement, on écrit toujours les structures peptidiques en inscrivant à gauche le résidu de l'AA N-terminal et à droite le résidu C-terminal

On désigne les peptides comme des dérivés de l'AA C-terminal

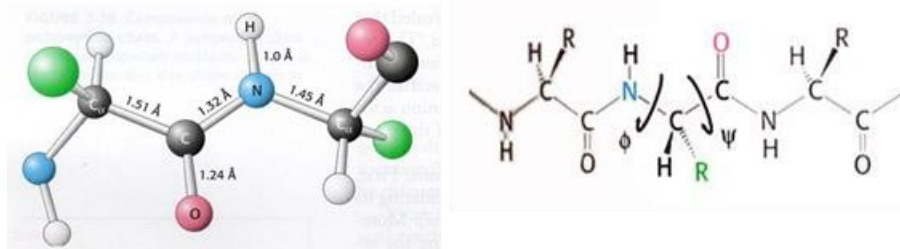


Figure 2 : géométrie de la liaison peptidique

2.3 Structure primaire des peptides

La séquence linéaire des résidus d'AA dans un polypeptide détermine sa structure primaire. Lorsqu'on connaît le nombre, la structure chimique et l'ordre de tous les résidus d'AA, on a déterminé la structure primaire.

Comme les polypeptides contiennent des centaines de résidus d'AA, On utilise les abréviations en une ou en 3 lettres des AA.

Exp : Glu - Ala - Lys - Gly - Tyr - Ala
E A K G Y A

* Abréviations en 3 lettres séparées par des lignes droites.

* Abréviations en 1 lettre sans traits

Quand l'ordre des résidus est incertain, les résidus d'AA correspondants sont mis entre parenthèses et séparés par des

virgules.

Exemple: Glu - Lys - (Ala, Gly, Tyr) - His - Ala

2.4 Peptides réguliers - peptides irréguliers

On désigne par peptide régulier un peptide dont l'hydrolyse libère des acides L α aminés usuels.

On désigne par peptide irrégulier un peptide contenant l'un des composés suivants :

- Un acide aminé de la série D
- Glu N terminal cyclisé
- Glu N terminal lié par son carboxyle de la chaîne latérale
Fonction méthyle $-CH_3$ sur His ou Cys
- Fonction Formyl $-CHO$ sur Gly ou Met
Fonction acétyl sur l'acide aminé N terminal.

3. Propriétés physico-chimiques des peptides :

3.1 Propriétés physiques :

- La solubilité des peptides augmente en fonction de leur richesse en acides aminés hydrophiles et plus le nombre de résidus est réduit.
- Ionisation : les peptides se comportent, comme leurs acides aminés constitutifs, en ions dipolaires. Ils possèdent un pHi caractéristique.
- Les peptides absorbent dans l'UV à 220 - 230 nm, et à 280nm s'ils contiennent des acides aminés aromatiques.

3.2 Propriétés chimiques :

Propriétés des chaînes latérales des acides aminés :

- Le groupement $-OH$ de la serine peut être estérifié par le sulfate SO_4^{2-} ou phosphate PO_4^{3-} .
- Le groupement thiol $-SH$ de la cystéine peut réagir avec celui d'un deuxième résidu Cys pour former un pont disulfure S-S.
- La tyrosine réagit avec l'acide nitrique donnant une coloration jaune (coloration xanthoprotéique des protéines)
- Les oligopeptides de moins de 5 acides aminés réagissent avec la ninhydrine (comme les acides aminés) donnant une coloration violette.

Réaction de Biuret :

Cette réaction colorée est obtenue avec tout polypeptide de plus de 4 acides aminés.

En présence d'ions cuivriques Cu^{++} , les peptides

donnent une réaction colorée violacée, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de liaisons peptidiques. Cette propriété est utilisée pour le dosage colorimétrique des protéines.

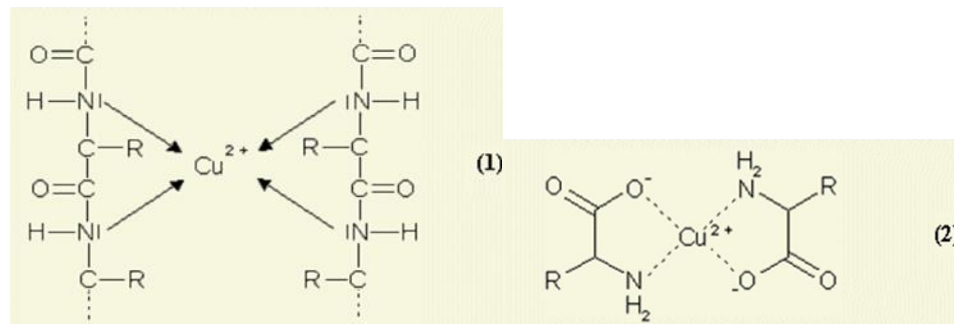


Figure 3: réaction de Biuret

4. Détermination de la structure d'un peptide :

Connaître la structure d'un peptide correspond à :

- * déterminer sa composition en AA (nombre et nature).
- * puis déterminer l'ordre d'enchaînement (ou séquence des AA).

4.1 Composition en acides aminés d'un peptide :

Les liaisons peptidiques sont rompues par hydrolyse pour séparer les AA et les identifier.

Plusieurs moyens sont disponibles :

L'hydrolyse chimique

Nécessite un catalyseur acide ou basique.

- l'hydrolyse acide en présence d'HCl 6N à 110° : est la méthode de choix ; elle libère tous les AA à l'exception du tryptophane qui est complètement dégradé.
- Pour étudier le tryptophane, on utilise une hydrolyse basique. Après l'hydrolyse, on établit la composition en AA par la chromatographie échangeuse d'ions automatisée.

L'hydrolyse ou catalyse enzymatique

Ne convient pas à l'hydrolyse complète des peptides mais elle est plus spécifique. On distingue plusieurs types de protéases :

- **Les exopeptidases** : sont des enzymes qui exercent leur action à l'extrémité des peptides en décrochant l'AA N-terminal.
- **Les endopeptidases** coupent les liaisons peptidiques à l'intérieur des chaînes. Certaines sont spécifiques.

Exemple :

La pepsine coupe les liaisons peptidiques avant un AA aromatique Phe, Trp, Tyr.

La trypsine coupe du coté (-COOH) de lys et Arg

La chymotrypsine coupe du coté (-COOH) des AA aromatiques Tyr, Trp et Phe

Détermination de la séquence en acides aminés :

La première séquence d'AA étudié était celle de l'insuline en 1955 par Sanger.

Sanger séparait dans un premier temps les deux chaînes polypeptidiques de l'insuline (A et B) puis les transformait en peptides plus petits par clivage à l'aide d'enzymes spécifiques. Certaines régions de ces peptides présentaient des séquences chevauchantes.

En utilisant le réactif 1 fluoro 2-4 dinitrobenzène, il enlevait et identifiait les AA N- terminaux de ces peptides.

En comparant les séquences chevauchantes, il était capable de déduire la structure primaire des 2 chaînes A et B.

La détermination de la structure primaire des polypeptides a été révolutionnée par l'introduction d'une méthode d'enlèvement séquentiel et d'identification des résidus N-terminaux sous forme de dérivés de la phénylhydantoïne.

Cette technique, ou **réaction d'Edman** comporte plusieurs étapes

- 1- Résolution en polypeptides linéaires.
- 2- Coupure en fragments convenant à l'analyse séquentielle.
- 3- Purification par filtration sur gel.
- 4- La réaction d'Edman.
- 5- Déduction de la structure primaire par comparaison des séquences chevauchantes.

1. Résolution en polypeptides linéaires :

- En utilisant des agents dénaturants / Urée ou le chlorure de guanidine, qui coupent les liaisons non covalentes (liaisons hydrogène, hydrophobes, salines).
- Les agents oxydants et les agents réducteurs coupent les ponts disulfures. Les polypeptides obtenus sont séparés par chromatographie

2. Coupure en fragments convenables à l'analyse séquentielle

Les séquenceurs automatiques opèrent au mieux sur des polypeptides de 20 à 60 AA. Ceci va donc influencer le choix des méthodes pour la coupure des peptides: le but était de produire

un petit nombre de gros fragments .

On désire donc couper une liaison peptidique de façon totale et hautement spécifique. Ceci peut être obtenu par :

Le bromure de cyanogène CNBr: Coupe spécifiquement du côté (-COOH) de la méthionine qui est relativement rare dans les peptides.



L'o- iodosobenzène : Coupe spécifiquement les résidus Trp X qui sont relativement rares dans les peptides.

3. Purification des fragments :

La purification des fragments obtenus après coupure se fait par une méthode de séparation adaptée (filtration sur gel ou chromatographie échangeuse d'ions).

4. La réaction d'Edman

Permet d'enlever les résidus N - terminaux des peptides un à un par le phénylisothiocyanate (PTC) ou réactif d'Edman donnant ainsi leur dérivé de la phénylhydantoïne qui sont séparés et identifiés au fur et à mesure que la réaction se déroule : C'est la dégradation par récurrence d'Edman.

5. Déduction de la structure primaire complète par comparaison des résidus dans les séquences chevauchantes des peptides :

Il est nécessaire d'avoir des fragments de peptides obtenus par des techniques de digestion différentes produisant des coupures à différents niveau

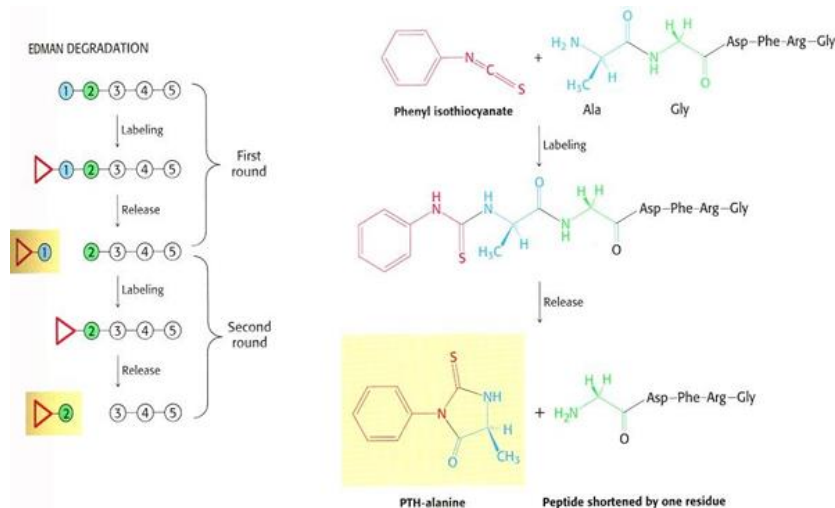


Figure 4 : dégradation par récurrence d'Edman

5. Peptides physiologiquement actifs

5.1 Bradykinine et Kallidine

Bradykinine 9 AA

Kallidine 10 AA

Ces courts polypeptides sont de puissants agents hypotenseurs des muscles lisses. Ils sont détachés des protéines plasmatiques par protéolyse → donc ne sont constitués que par les 20 AA présents dans les protéines

5.2 Le Glutathion :

C'est un tripeptide (glutamyl-cystinyl-glycine) Glu-Cys-Gly, présent dans toutes les formes de vie.

Le glutathion est requis pour l'action de diverses enzymes. (Cofacteur).

5.3 Les hormones post hypophysaires :

L'ocytocyne et la vasopressine (9AA).

Leur structure chimique est très proche mais leur action est différente :

- L'ocytocyne agit sur la contraction du muscle utérin.
- La vasopressine a une action hypertensive

5.4 Les hormones hypophysaires :

- **ATCH** (39 AA) stimule la production d'hormones stéroïdes. Elle est sécrétée par le cortex surrénalien.
- **MSH** : stimule la pigmentation de la peau (13 AA)

5.5 Les hormones pancréatiques :

- **L'insuline** : hormone polypeptidique (51 AA) formée de 2 chaînes A (21) et B (30) reliées par des ponts disulfures.
L'insuline est une hormone hypoglycémiante qui régule la glycémie en stimulant la pénétration du glucose dans les cellules.
- **Le glucagon** : hormone polypeptidique du pancréas formée par 29 AA. C'est une hormone hyperglycémiante.

Les protéines

1. Introduction

Les protéines sont des polypeptides de poids moléculaire élevé. Bien qu'arbitraire, la ligne de démarcation entre gros polypeptide et protéine est habituellement entre les PM de 8 000 à 10 000 daltons.

On distingue :

- **Les protéines simples** : formées uniquement par des AA.
- **Les protéines complexes** : renfermant des composés additionnels :

Lipide	→	Lipoprotéine
Glucide	→	Glycoprotéine
Chromogène	→	Chromoprotéine

2. Importance biomédicale

Les protéines jouent un rôle central dans **la fonction et la structure** cellulaires. Parmi les principales fonctions des protéines, nous citons :

- rôle catalytique : Enzymes
- rôle de contraction : Actine et myosine
- rôle de régulation génique : par les histones
- rôle hormonal (ex. l'insuline)
- rôle de protection (les immunoglobulines)
- rôle de régulation (ex. : la calmoduline)
- rôle structural (collagène, élastine, kératines)
- rôle de transport ex.
 - Albumine (transporte divers composés dans le sang),
 - Hémoglobine (transporte l'oxygène),
 - Lipoprotéines (transportent les lipides),
 - Transferrine (transporte le fer)

L'analyse de certaines protéines et enzymes sert couramment à des fins diagnostiques ainsi :

- L'analyse électrophorétique des protéines plasmatiques et la détermination du rapport (albumine/globuline) fait partie intégrante de la recherche diagnostique des maladies du foie.
- L'étude des lipoprotéines et des immunoglobulines sert au diagnostic respectif des types spécifiques d'hyperlipoprotéinémies ou des maladies immunitaires.
- L'urine humaine ne contient pas de protéines décelables à l'état

normal. Aussi, la découverte d'une protéinurie est généralement l'indice de maladies rénales.

3. Principales propriétés des protéines

3.1. Solubilité des protéines

On peut classer les protéines en fonction de leur solubilité en 5 groupes :

- Les albumines : solubles dans l'eau et dans les solutions salines.
- Les globulines : solubles dans les solutions saline.
- Les prolamines : solubles dans l'éthanol 70-80 %, insolubles dans l'eau et l'alcool absolu. Elles sont riches en Arginine.
- Les histones : solubles dans les solutions salines.
- Les scléroprotéines : insolubles dans l'eau ou solution salines, Riches en Gly-Ala-Pro-

Le degré de solubilité des protéines peut être influencé par plusieurs facteurs :

- Influence des électrolytes :
 - A faible force ionique (concentration basse en électrolytes), la solubilité des protéines est augmentée : c'est l'effet dissolvant.
 - Par contre une forte concentration saline entraîne une précipitation des protéines : c'est l'effet de relargage.
- Influence du pH :
La solubilité d'une protéine est généralement minimale au voisinage de son pH_i.
- Influence de la température :
L'élévation thermique (au dessus de 40 °C) est un facteur de dénaturation des protéines ce qui les rend insolubles.
- Influence des solvants organiques :
Certains solvants organiques, (éthanol, acétone, méthanol), lorsqu'ils sont rajoutés dans certaines proportions peuvent augmenter la solubilité de certaines protéines. Cependant, ils peuvent entraîner une dénaturation des protéines. Ils doivent donc être utilisés avec précaution (pourcentage précis et à 4 °C).

3.2. Poids moléculaire

Le PM est une caractéristique fondamentale des protéines. Il peut être déterminé par plusieurs techniques :

- L'électrophorèse en gel de polyacrylamide PAGE.
- La mesure de la pression osmotique de la solution.
- L'ultracentrifugation.

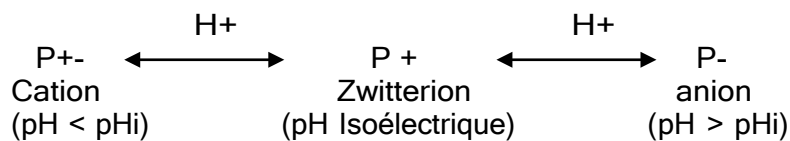
3.3. Forme globale

On peut distinguer 2 grandes classes de protéines en se basant sur leurs rapports axiaux (longueur/largeur) :

- **Les protéines globulaires :**
Elles ont des rapports axiaux inférieurs à 10 ne dépassant généralement pas 3 à 4).
Elles se caractérisent par la présence de chaînes polypeptidiques repliées et compactes. Ex. : Insuline - les albumines - les globulines plasmatiques - et plusieurs enzymes.
- **Les protéines fibreuses :**
Elles ont des rapports axiaux supérieurs à 10.
Elles sont généralement formées par plusieurs chaînes peptidiques disposées en spirale ou hélice, et reliées entre elles par des liaisons hydrogène.
Exemple : Kératine, Myosine, Collagène, Fibrine.

3.4. Caractère amphotère des protéines

Les chaînes latérales des AA constituant les protéines présentent des groupements ionisables, dont la charge varie en fonction du pH de la solution, ceci confère un caractère amphotère aux protéines : En fonction du pH, elles peuvent se présenter sous différentes formes :



Le pH isoélectrique varie d'une protéine à l'autre.
Les protéines ont donc un grand pouvoir tampon dans les milieux biologiques.

4. Structure tridimensionnelle des protéines

Une caractéristique frappante des protéines est leur structure tridimensionnelle bien définie. Une chaîne polypeptidique étirée ou disposée au hasard est dépourvue d'activité biologique. La fonction des protéines vient de leur conformation, qui est l'arrangement tridimensionnel des atomes au sein d'une structure.

4.1. Liaisons responsables de la structure protéique :

Les structures protéiques sont généralement stabilisées par 2 classes de liaisons fortes (peptidiques et disulfure) et 3 classes de liaisons faibles (hydrogène, hydrophobe, électrostatique ou salines).

4.1.1. Rigidité de la liaison peptidique

Nous représentons les peptides avec une liaison simple reliant les atomes α - carboxyle et α - aminé.

Mais en fait, la liaison carbone-azote possède le caractère d'une double liaison partielle. Il n'existe pas de liberté de rotation autour de la liaison qui réunit C et N et les 4 atomes CO-NH se trouvent dans le même plan.

Par contre, il existe une grande liberté de rotation autour des liaisons restantes de l'ossature polypeptidique.

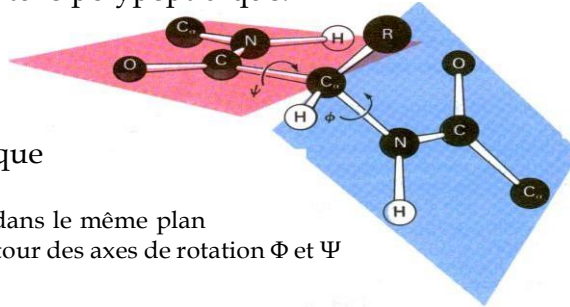


Figure 1 : Liaison peptidique

2 C α , CO et NH dans le même plan
Grande liberté autour des axes de rotation Φ et Ψ

4.1.2. Les liaisons disulfures

La liaison disulfure, formée entre 2 résidus de cystéine, réunit 2 portions de chaîne polypeptidique par l'intermédiaire des groupements thiols (-SH) des 2 cystéines.

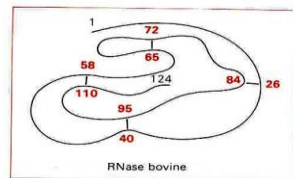


Figure 4.15
Formation d'une liaison disulfure.
Deux restes de cystéine s'oxydent en un reste de cystine. Encart : liaisons disulfures de la RNase bovine.

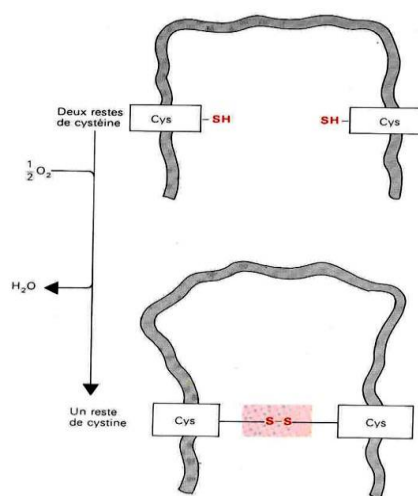


Figure 2 : Liaisons disulfures

Cette liaison cystéine relativement stable est résistante aux conditions habituelles de dénaturation des protéines.

L'acide performique, qui oxyde les liaisons S-S et le β -

mercapto-ethanol, qui réduit les liaisons S-S avec production de 2 résidus cystéine, peuvent servir à séparer les chaînes polypeptidiques reliées par des ponts S-S sans affecter la structure primaire.

4.1.3. Les liaisons hydrogène

Les liaisons hydrogènes sont formées :

- Entre les chaînes latérales des AA composant les peptides
- Entre les atomes d'hydrogène et d'oxygène des liaisons peptidiques.
- Entre des résidus polaires des AA et l'eau

4.1.4. Les interactions hydrophobes

Les chaînes latérales non polaires des AA neutres ont tendance à s'associer dans les protéines. Il ne s'agit pas de véritables liaisons, mais ces interactions jouent cependant un rôle important dans le maintien des structures protéiques.

4.1.5. Les liaisons électrostatiques

Ce sont des liaisons salines formées entre des groupements de charges opposées dans les chaînes latérales des AA. Exemple : à pH physiologique :

- Le groupement amine de la lysine est porteur d'une charge nette de (+1).
- Le groupement COO⁻ de Asp ou Glu portent 1 charge nette de (-1)

→ Ils peuvent donc réagir électrostatiquement pour stabiliser une structure protéique. Au cours d'une dénaturation douce par des réactifs tels que l'urée, ou le dodécylsulfate de sodium (SDS), Les liaisons hydrogène, hydrophobe et électrostatiques sont rompues. Par contre, les liaisons peptidiques et disulfure ne sont pas affectées.

4.2. Conformations ordonnées des chaînes polypeptidiques :

La découverte que les chaînes polypeptidiques peuvent exister selon des conformations hautement ordonnées, stabilisées par des liaisons hydrogène a constitué un pas énorme vers la compréhension de la structure protéique.

En se basant sur les angles et les distances des liaisons observées pour les AA et les petits peptides, Paulin et Corey ont proposé en 1951 deux modèles de structures périodiques qui furent confirmées ultérieurement par l'analyse cristallographique aux rayons X: Ce sont l'**Hélice α** et le **feuillet plissé β** .

4.2.1. L'Hélice α

Présente une structure en bâtonnet : la chaîne polypeptidique principale forme la partie interne. Les chaînes latérales sont disposées à l'extérieur.

Il y a 3,6 résidus d'AA par tour de spire et la distance d'un tour est de 0,54 nm.

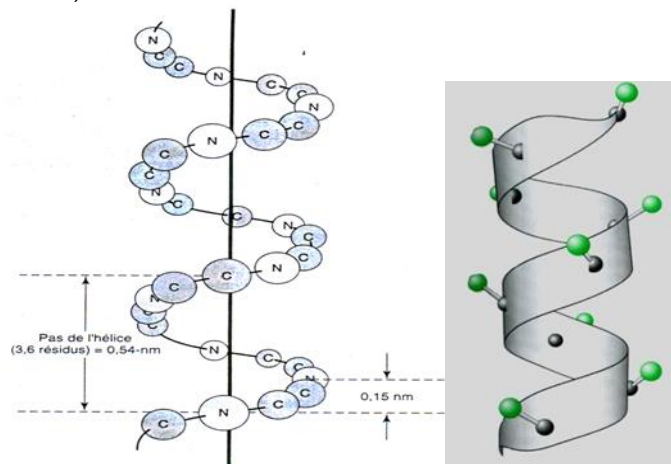


Figure 3 : l'hélice α

L'Hélice α présente les caractéristiques suivantes :

- * Elle est stabilisée par des liaisons hydrogène développées entre les (H) d'un groupe (-NH) et (O) du groupement carboxyle (-CO) situé 4 résidus plus loin dans la séquence linéaire. Ainsi tous les groupements CO et NH de la chaîne principale sont unis par des liaisons hydrogène, ce qui augmente la nature hydrophobe de la région hélicoïdale.
- * L'Hélice α se forme spontanément car elle constitue la structure énergétique la plus faible. C'est donc la conformation la plus stable pour une chaîne polypeptidique.
- * L'Hélice α peut être droite ou gauche. L'hélice droite rencontrée dans les protéines est plus stable que l'hélice gauche.
- * Certains AA ont tendance à briser l' α hélice. C'est le cas de la proline et des AA portant une chaîne latérale chargée ou très volumineuse.

- La proportion d'hélices α dans les protéines est très variable.
- Certaines sont très riches en hélice α (ex: Hb, myoglobine) d'autres sont pratiquement dépourvues d'hélice (chymotrypsine).
- L'hélice α isolée est généralement sous forme d'un petit bâtonnet de 4nm.
- Plusieurs hélices peuvent s'enrouler pour former des structures plus longues allant jusqu'à 100 nm.

Ces structures sont rencontrées dans différentes protéines/ Kératine des

cheveux, Myosine et tropomyosine (muscle) ; Kératine de la peau, Fibrine du caillot sanguin.

Ces câbles hélicoïdaux jouent un rôle mécanique en formant des faisceaux rigides de fibres.

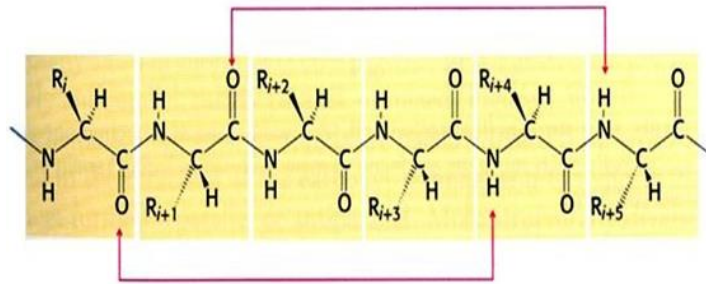


Figure 4 : structure de l'Hélice α

4.2.2. Le feuillet plissé β

Dans ce modèle de structure, la chaîne polypeptidique est presque entièrement étalée.

Le feuillet plissé β est stabilisé par des liaisons hydrogène entre les groupements CO et NH de brins polypeptidiques différents.

Selon que les chaînes polypeptidiques adjacentes vont dans le même sens ou en sens contraire, on parle respectivement de feuillet parallèle, ou de feuillet antiparallèle.

Des régions de structure en feuillet plissé β parallèle et antiparallèle sont présentées dans beaucoup de protéines. De 2 à 5 brins adjacents du polypeptide peuvent se combiner pour former ces structures.

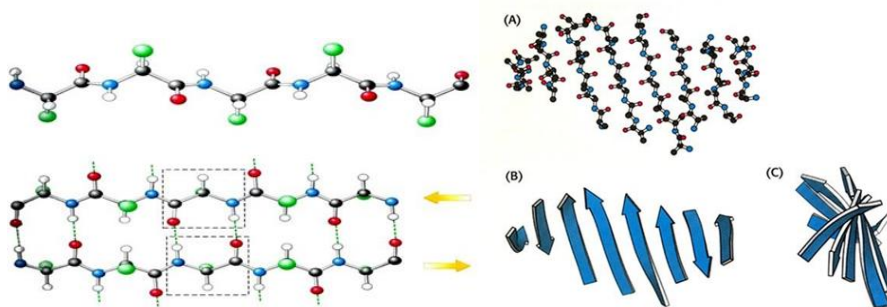


Figure 5 : structure du feuillet β

4.2.3. Les chaînes polypeptidiques peuvent changer de direction en formant un coude β

Cette structure est stabilisée par une liaison hydrogène développée entre le groupement CO d'un résidu (n) et le

groupement NH du résidu ($n+3$).

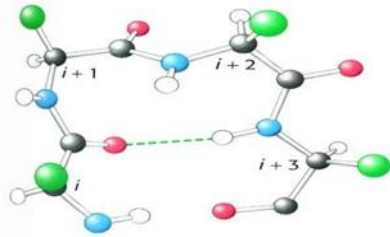


Figure 6 : un coude β .

4.2.4. Enroulement au hasard

Les régions des protéines non organisées en hélice ou en feuillets plissés sont dites présentes selon un enroulement au hasard.

Ces régions sont cependant d'une importance égale à celle des hélices α ou des feuillets plissés β .

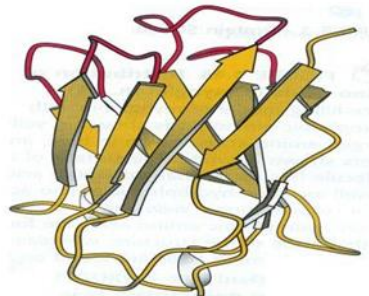


Figure 7 : Structure en feuillets plissés et en coudes

4.3. Niveaux de structure dans l'architecture protéique :

4.3.1. La structure primaire

Désigne la séquence linéaire des acides aminés dans la ou les chaînes polypeptidiques et la localisation des liaisons disulfure, si elles sont présentes.

4.3.2. La structure secondaire

Correspond aux relations dans l'espace des résidus d'AA proches les uns des autres dans la séquence linéaire.

Les structures secondaires peuvent être ordonnées (ex. hélice α , feuillet plissé β) ou présenter peu de régularité (enroulement au hasard).

4.3.3. La structure tertiaire

Correspond à l'arrangement global de la protéine et les relations mutuelles entre les différentes régions ou domaines et les résidus d'AA individuels d'une même chaîne polypeptidique. La limite entre structure II^{aire} et III^{aire} n'est pas nette mais la structure III^{aire}

concerne la relation stérique des résidus d'AA qui sont en général fort éloignés dans la structure I^{aire}.

4.3.4. La structure quaternaire

La structure quaternaire des protéines regroupe l'association d'au moins deux chaînes polypeptidiques - identiques ou différentes - par des liaisons non covalentes, liaisons dites faibles (liaison H, liaison ionique, interactions hydrophobes et force de Van der Waals), mais rarement par des ponts disulfures, qui ont pour rôle de créer les liaisons inter chaîne. L'effet hydrophobe est un facteur prépondérant dans l'assemblage des éléments structuraux, y compris dans l'association des sous-unités.

Chacune de ces chaînes est appelée monomère (protomère ; ou sous-unité) et l'ensemble oligomère ou protéine multimérique. L'hémoglobine est un exemple de structure quaternaire ; elle est constituée de 4 sous-unités : 2 sous-unités α (de 141 acides aminés) et 2 sous-unités β (de 146 acides aminés). Les oligomères les plus fréquents sont :

- Les dimères formés de 2 sous unités
- Les tétramères formés de 4 sous unités.

La structure quaternaire est retrouvée fréquemment dans les protéines ayant une activité de régulation intracellulaire car les protomères peuvent prendre différentes orientations l'un par rapport à l'autre occasionnant des changements des propriétés de la protéine (ex. Certaines enzymes oligomériques passent d'un état inactif $\rightarrow$ état actif, en changeant légèrement de conformation).

4.4. Rôle de la structure primaire dans la détermination des niveaux plus élevés de la structure protéique :

Les structures secondaires et tertiaires d'une protéine sont, elles même, déterminées par la structure primaire de la chaîne polypeptidique. La chaîne une fois formée, les groupements chimiques qui se déploient au delà des carbones dirigent le repliement spécifique (structure II^{aire}) et l'agrégation spécifique des régions (structure III^{aire}).

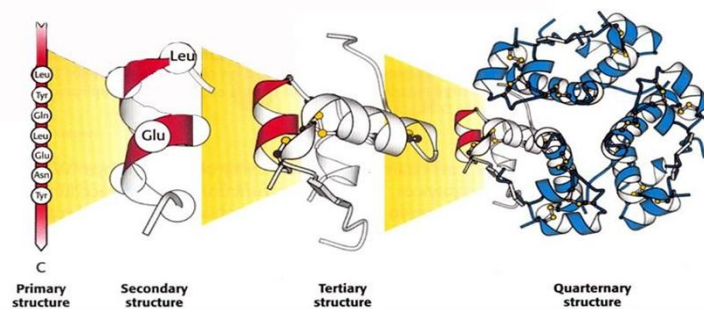


Figure 8 : Rôle de la structure I^{aire} dans la détermination des niveaux plus élevés de la structure protéique

Mise en evidence : Expérience avec la ribonucléase :

Incubation avec le β mercaptoethanol (agent réducteur qui coupe les ponts S-S) et un agent dénaturant (urée ou guanidine) l'inactive puisqu'elle perd sa conformation (structure III aire). L'enlèvement lent de l'agent dénaturant et la réoxydation douce pour reformer les liaisons S-S entraîne une réactivation presque complète de l'enzyme.

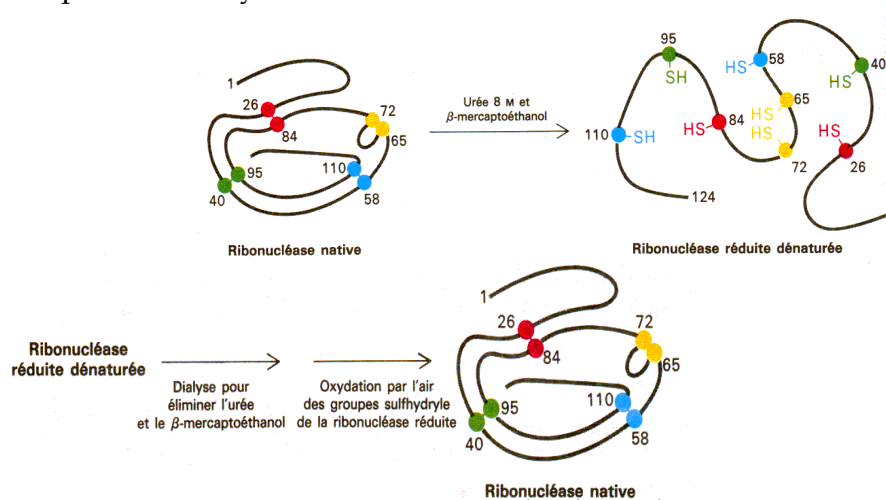


Figure 9 : Expérience avec la ribonucléase

4.5. Dénaturation :

Les forces non covalentes responsables du maintien de la structure protéique peuvent être rompues par une variété de manipulations. On appelle dénaturation la rupture de la structure native d'une protéine. Elle correspond en fait à une perte de la structure II et III sans affecter la structure I.

Les acides et bases fortes, la chaleur, les détergents ioniques, les agents chaotropiques/ l'urée est la guanidine, et les solvants organiques détruisent l'activité biologique de la plupart des protéines. Les protéines dénaturées sont moins solubles que les protéines natives, ce qui provoque leur précipitation.

On utilise cette propriété dans les laboratoires cliniques pour les échantillons sériques servant au dosage de petites molécules (glucose, acide urique ou médicaments).

Ces échantillons sont préalablement traités par l'acide trichloracétique pour précipiter les protéines avant d'utiliser le surnageant pour le dosage.

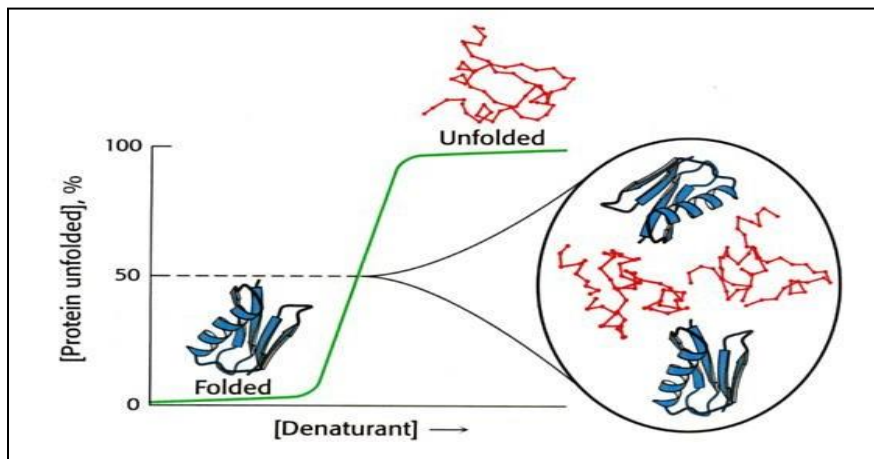


Figure 10 : dénaturation des protéines

4.6. La forme de la protéine dicte sa fonction :

L'examen poussé des protéines illustre non seulement l'existence de structures particulières qui ont évolué pour assurer des fonctions biologiques spécifiques, mais également un lien étroit entre structure protéique et fonction biologique.

La plupart des protéines fibreuses remplissent des fonctions de structure dans la peau, le tissu conjonctif, ou les fibres comme les cheveux, la soie ou la laine.

Les séquences atypiques de protéines fibreuses déterminent des structures secondaires et tertiaires spécifiques qui confèrent des propriétés mécaniques particulières :

4.6.1. Le collagène :

Constitue jusqu'à 25% de la totalité des protéines de mammifère.

Existe sous différentes formes en fonction de sa localisation et de sa fonction :

- Le collagène des tendons forme des structures de forte résistance à la tension.
- Le collagène de la peau forme des fibres beaucoup plus souples et flexibles
- Le collagène des dents et des os contiennent un polymère de phosphate de Ca : l'hydroxyapatite
- Le collagène de la cornée est ordonné de manière quasi cristalline (transparent).

L'unité structurale du collagène est la triple hélice : **le tropocollagène**, riche en glycine, proline et hydroxyproline.

Chaque chaîne polypeptidique est organisée en structure en **hélice non α gauche : l'hélice du collagène**.

3 hélices gauches s'associent pour former la triple hélice droite ou superenroulement stabilisé par des **liaisons hydrogène interchaines**

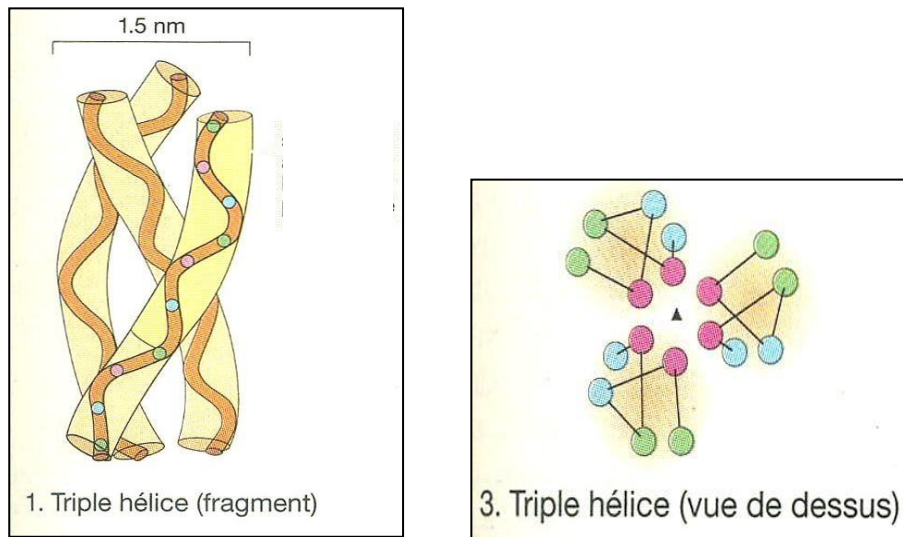


Figure 11 structure du collagène

Dans la structure primaire du collagène : un résidu sur trois est une glycine (radical R suffisamment petit pour se placer au cœur de la superhélice) : Motif Gly-X-Y, où les positions X et Y sont fréquemment occupées par Proline et hydroxyproline. La répulsion mutuelle entre ces résidus force le polypeptide à former une hélice gauche étendue.

Ces résidus de conformation rigide confèrent la rigidité de l'ensemble.

En fonction de la localisation tissulaire et de la fonction, les chaînes de tropocollagène vont s'associer pour former des structures supérieures plus volumineuses : microfibrilles, fibrilles, ou faisceau

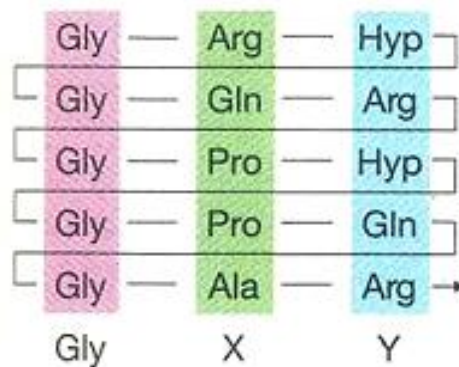


Figure 12 : le collagène : séquence typique et organisation en simple hélice (vue du dessus)

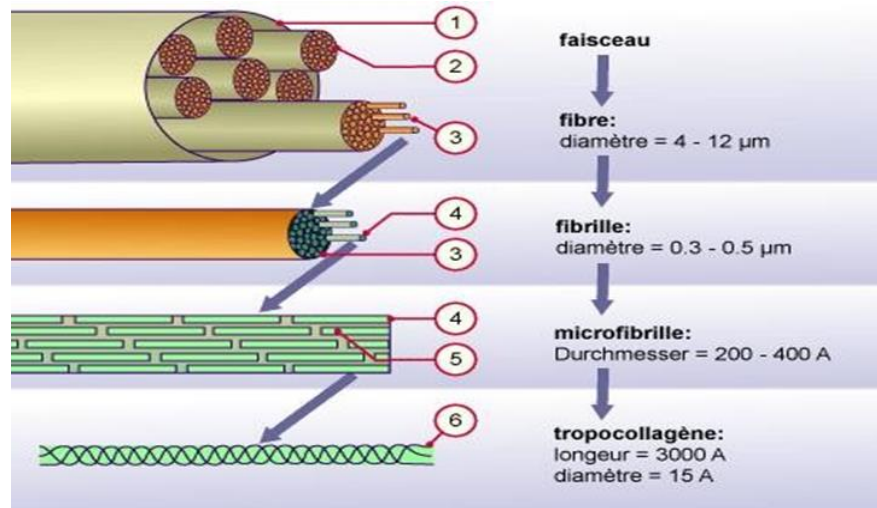


Figure 13 : structure des myofibrilles

4.6.2. La kératine :

Protéine de structure de la peau et des phanères (cheveux, poils et ongles)

La structure primaire est formée par des polypeptides d'environ 300 acides aminés, enroulés en structure secondaire type hélice α

2 hélices α s'enroulent en superhélice gauche donnant un protofilament.

8 protofilaments s'associent en empilage circulaire ou carré, donnant les filaments intermédiaires.

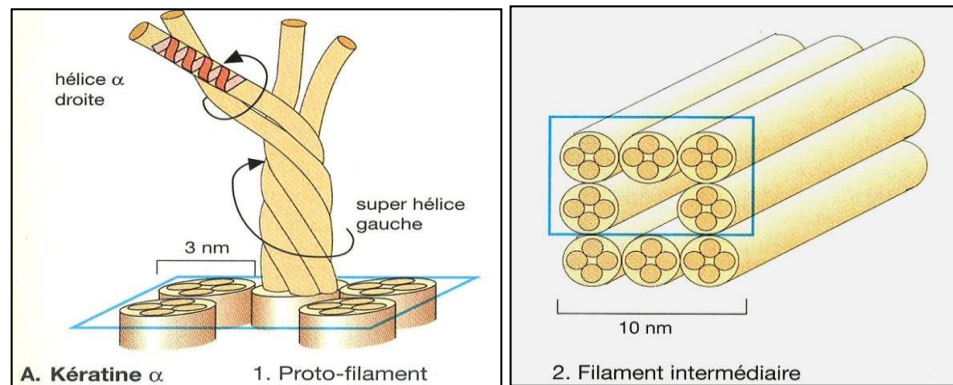


Figure 14 : structure de la kératine

L' α kératine possède une teneur élevée en cystéine, qui forme des ponts S-S, qui stabilisent la structure.

La chevelure humaine est constituée à environ 14% de cystéine.

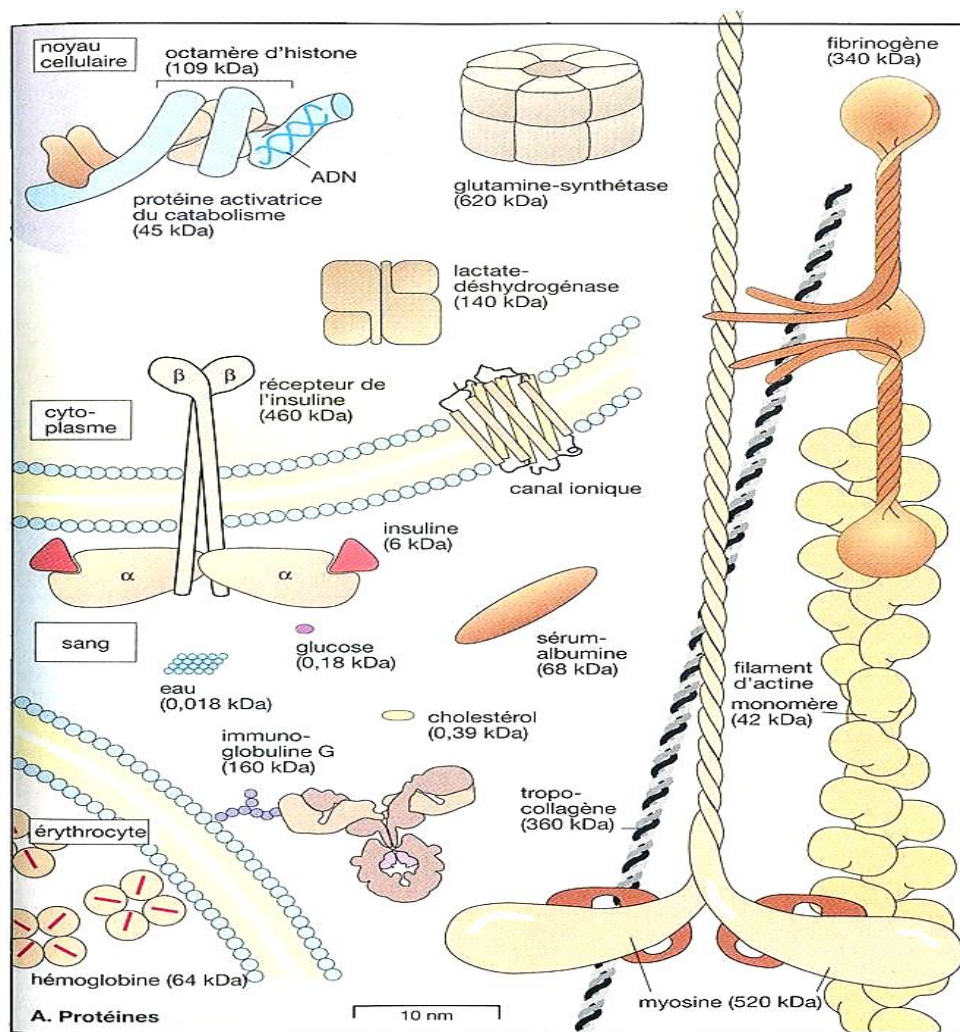


Figure 15 : Planche récapitulative : structure de quelques protéines

Les deux thèmes qui vont suivre : « **Myoglobine et Hémoglobine** » et « **Enzymes** » sont également des exemples de cette relation entre la structure d'une protéine et sa fonction.

Myoglobine et Hémoglobine

1. Introduction - Définitions

Les hétéroprotéines :

Comme leur nom l'indique, elles correspondent à l'association d'une protéine et d'un groupement non protidique dénommé groupement prosthétique.

Selon la nature de ce groupement prosthétique, on distingue différents types d'hétéroprotéines :

- Les phosphoprotéines : contiennent, en plus de la séquence peptidique, de l'acide phosphorique.
- Les glycoprotéines : possèdent une copule glucidique unie par une liaison covalente à une séquence peptidique.
- Les lipoprotéines : correspondent à l'association d'un lipide avec une protéine.

Les chromoprotéines :

Ce sont des hétéroprotéines colorées dont le groupement prosthétique renferme généralement un élément métallique. On distingue :

Les chromoprotéines porphyriniques :

Dont le groupement prosthétique correspond à un noyau tétrapyrrolique appelé porphyrine

Exemples : L'hémoglobine
La myoglobine
Les cytochromes

Les chromoprotéines non porphyriniques

Exemples : Le pourpre rétinien : caroténoprotéine
Les flavoprotéines : contenant une flavine
La Ferritine : chromoprotéine contenant du Fer
La Ceruloplasmine : chromoprotéine contenant du cuivre.

2. Etude de l'hémoglobine et de la myoglobine

Ce sont des protéines globulaires qui assurent le transport de l'oxygène dans l'organisme.

- **L'hémoglobine**, contenue dans les globules rouges, assure le transport de l'oxygène dans le sang. La présence d'hémoglobine augmente la capacité de transport d'O₂ d'un litre de sang de 5 à 250 ml

Notes

d'O₂.

L'hémoglobine joue également un rôle dans le transport du CO₂ et de l'hydrogène

- **La myoglobine**, localisée dans le muscle sert de réserve d'O₂ et facilite le transport d'O₂ dans le muscle.

L'hémoglobine et la myoglobine sont constituées par l'association

- d'une partie protéique : appelée **globine**
- et d'un groupement prosthétique : **l'hème**.

L'hème est constitué :

- d'une partie organique : la **protoporphyrine**
- et d'un atome de **Fer**

* **La protoporphyrine** : est formée par 4 noyaux pyrroles unis par des ponts méthényles pour former un noyau tétrapyrrolique.

4 méthyles, 2 vinyl et 2 propionates sont fixés sur le noyau tétrapyrrolique. Ces substituants peuvent être disposés de 15 façons différentes.

Un seul de ces isomères appelé protoporphyrine IX est présent dans les systèmes biologiques.

* **L'atome de Fer** de l'hème se lie aux 4 azotes au centre du noyau tétrapyrrolique.

Le fer peut former deux autres liaisons de part et d'autre du plan de l'hème. Ces sites sont appelés 5^{ème} et 6^{ème} position de coordination.

Le fer de l'hémoglobine normale se trouve à l'état de fer ferreux Fe⁺⁺.

L'état d'oxydation (+3) en fer ferrique conduit à la **méthémoglobine**, forme qui ne fixe pas l'oxygène.

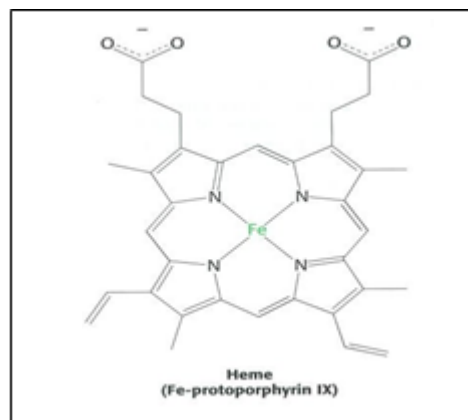


Figure 1 : structure de l'hème

2.1. Structure de la myoglobine :

La **myoglobine** est une protéine formée d'une seule chaîne polypeptidique de 153 AA repliée en une structure globulaire extrêmement compacte.

Près de 75% de la chaîne principale est replié en 8 hélices α : dénommées A. B. C. D. E. F. G. H.

La surface externe de la protéine est polaire par contre la cavité intérieure renferme que des résidus non polaires à l'exception des 2 histidines qui interviennent au niveau du site de liaison à l'oxygène.

Le **groupe héminique** est situé dans une crevasse de la molécule de myoglobine. Les chaînes latérales propionate très polaires sont dirigées à la surface de la molécule. Le reste de l'hème est à l'intérieur de la molécule où il est entouré par des résidus apolaires à l'exception de 2 histidines:

- Une histidine (F8) est liée directement à l'atome de Fer de l'hème au niveau de la 5ème position de coordination c'est l'**histidine proximale**.
- Le 2ème résidu histidine (E7) est situé au voisinage et appelé **histidine distale**.
- Le **site de liaison à l'oxygène** correspond à l'emplacement de la 6ème liaison de coordination entre l'atome de Fer de l'hème et l'histidine distale (E7).

La fixation de l'oxygène au niveau du site de liaison s'accompagne d'un léger changement de conformation de la myoglobine.

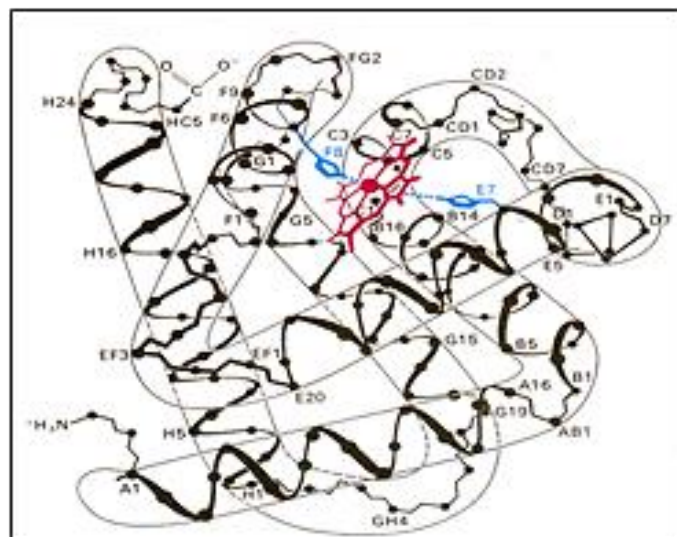


Figure 2 : la myoglobine

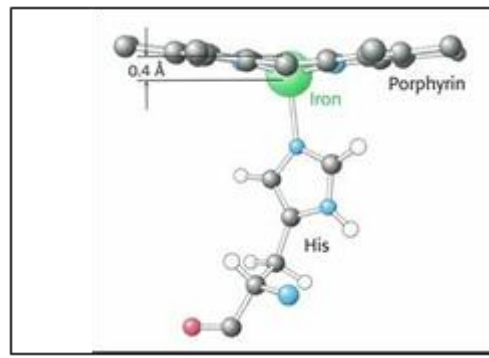


Figure 3 : liaison de l'hème à la globine

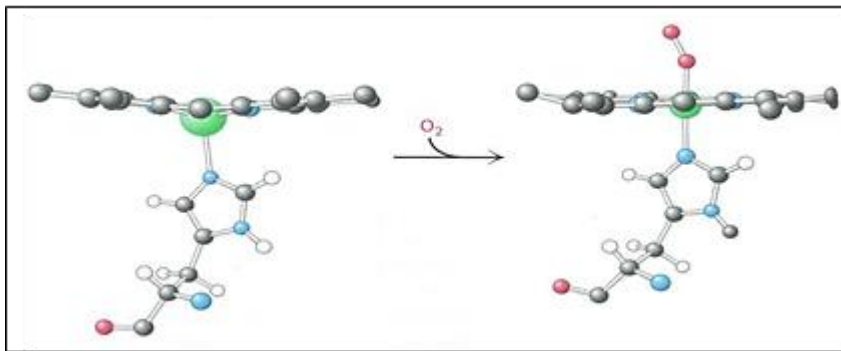


Figure 4 : Fixation de l'oxygène

2.2. Structure de l'Hémoglobine :

L'Hémoglobine est constituée par 4 chaînes polypeptidiques, contrairement à la myoglobine qui ne comporte qu'une seule chaîne.

Les 4 chaînes sont maintenues ensemble par des liaisons non covalentes.

Il y a 4 sites de liaison à l'oxygène dans la molécule d'Hb car chaque chaîne contient un groupe hémique.

- **L'Hémoglobine A** principale Hb de l'adulte contient 2 chaînes (α) et 2 chaînes (β) $\rightarrow \alpha_2 \beta_2$.
- **L'hémoglobine A2** qui existe en faible quantité chez l'adulte (environ 2% de l'Hb totale) a une structure sous-unitaire $\alpha_2 \delta_2$.
- **L'Hb embryonnaire E** détectée au début de la vie foetale a une structure sous-unitaire $\alpha_2 \epsilon_2$.
- **L'Hb foetale HbF** apparaît ultérieurement chez le fœtus a une structure sous-unitaire $\alpha_2 \gamma_2$.

La chaîne commune α toutes ces hémoglobines contient 141 résidus d'AA.

Les chaînes β , δ et γ ont des séquences d'AA très semblables et une longueur commune de 146 résidus d'AA.

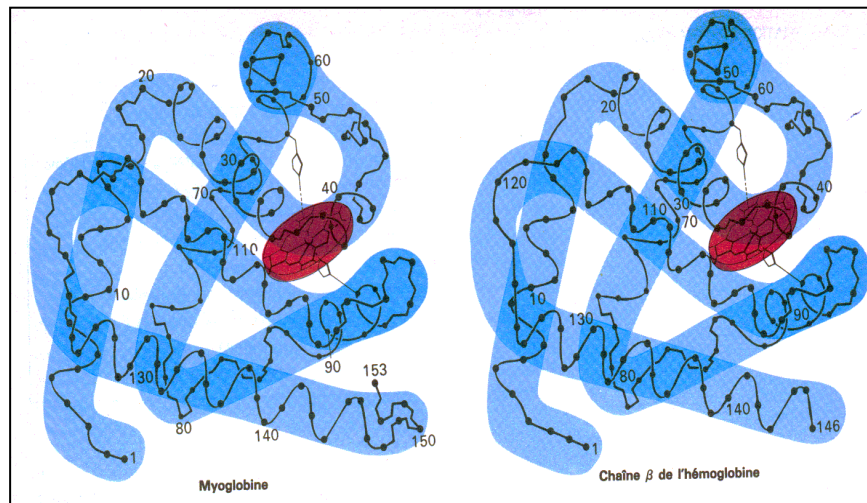


Figure 5 : structure de la myoglobine et de la chaîne β de l'hémoglobine

2.2.1. Structure quaternaire de l'Hémoglobine

La molécule d'hémoglobine est presque sphérique avec un diamètre de $55\text{\AA}$. Les 4 chaînes sont assemblées selon une disposition tétraédrique. Les groupes héminiques sont localisés dans des crevasses près de la périphérie de la molécule, un dans chaque sous unité.

Les 4 sites de liaison de l'oxygène sont très éloignés : chaque chaîne α entre en contact avec les 2 chaînes β par contre, il y'a peu d'interactions entre 2 chaînes α ou 2 chaînes β .

Les chaînes α et β de l'hémoglobine ressemblent étroitement à la myoglobine.

Malgré la grande différence de leurs structures secondaires, le repliement des chaînes α et de l'Hb est très similaire à celui de la myoglobine. Il est évident que cette structure tridimensionnelle est fondamentale pour la fonction de transporteur d'oxygène : Elle place l'hème dans un environnement qui lui permet de transporter réversiblement l'oxygène.

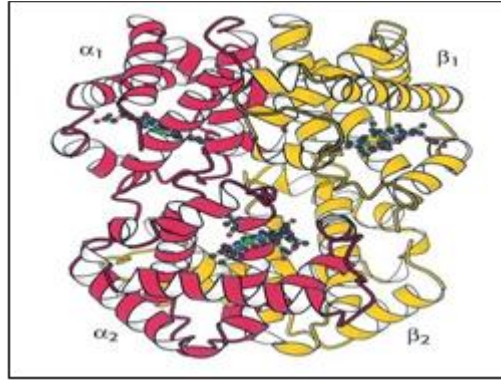
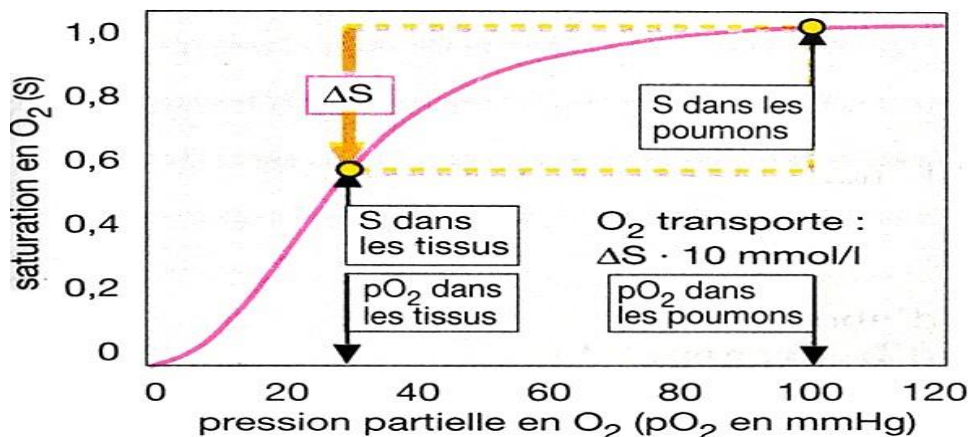


Figure 6 : structure de l'hémoglobine

3. Relation structure fonction de l'hémoglobine

De nouvelles propriétés apparaissent dans l'Hb tétramérique, propriétés qui ne sont pas présentes dans la myoglobine :

- L'Hb, outre l'O₂ transporte H⁺ et CO₂
- La fixation de ces molécules est régulée par des changements de la conformation de l'Hb : on parle de régulation allostérique.

Figure 7 : courbe de saturation de l'hémoglobine en O₂

L'Hémoglobine présente 3 types d'effets allostériques :

- 1) La fixation de l'oxygène sur l'Hb est coopérative: la fixation d'un O₂ sur 1 hème facilite la liaison de l'O₂ aux autres hèmes.
- 2) H⁺ et CO₂ facilitent la libération d'O₂ de l'Hb. Cet effet est physiologiquement important car permet la libération d'O₂ au niveau des tissus métaboliquement actifs ou la teneur en H⁺ et CO₂ est élevée.
- 3) Réciproquement l'O₂ facilite la libération d'H⁺ et CO₂ de

l'Hb au niveau du poumon.

Ces relations allostériques entre O_2 , H^+ et CO_2 sont appelées **Effet Bohr**.

Les propriétés allostériques de l'Hb proviennent des interactions entre ses unités α et β l'étude de la structure quaternaire de l'Hb montre qu'elle modifiée lors de l'oxygénation.

* La structure desoxyhémoglobine est maintenue par des liaisons électrostatiques ou salines contractées entre ses différentes sous unités.

La structure de la desoxy Hb = Forme T (tendue).

* Par contre dans l'oxyhémoglobine, ces liaisons sont rompues du fait du léger changement de conformation des sous unités lors de l'oxygénation → c'est la forme R (relâchée).

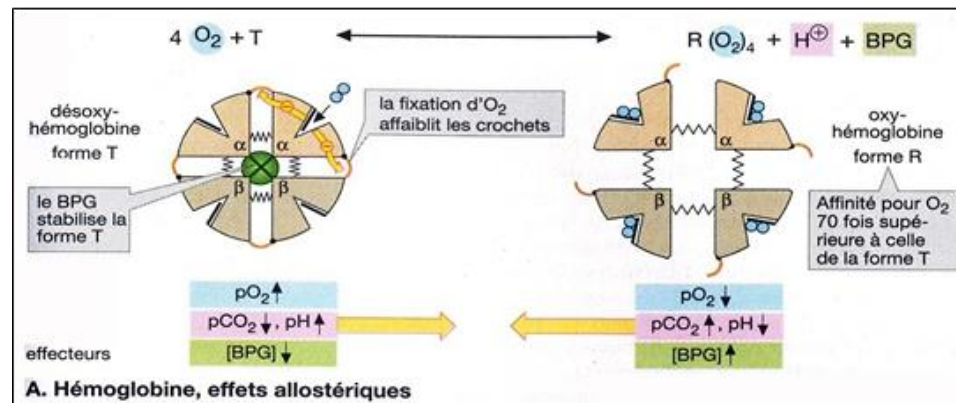


Figure 8 : hémoglobine : effet allostérique

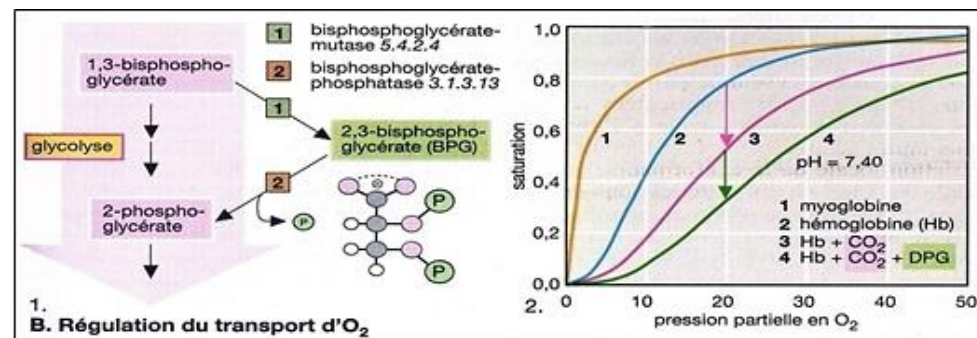


Figure 9 : Régulation du transport de l'oxygène

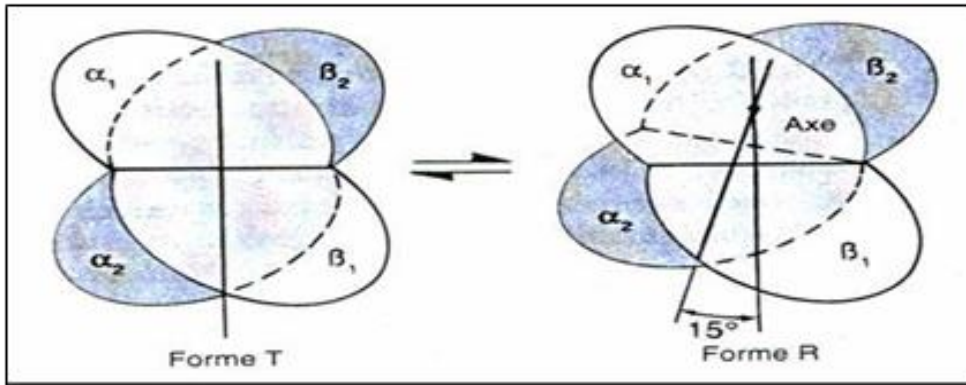


Figure 10 : forme T et R de l'hémoglobine

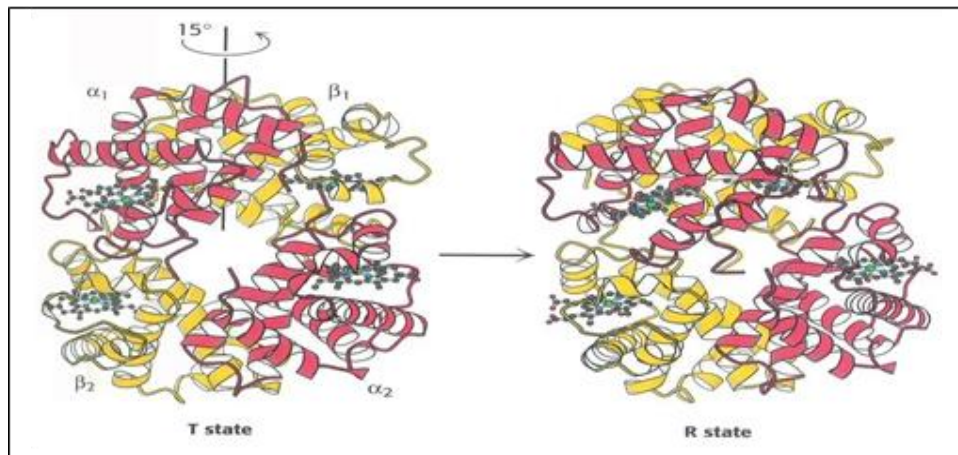


Figure 11 : passage de la forme T à la forme R

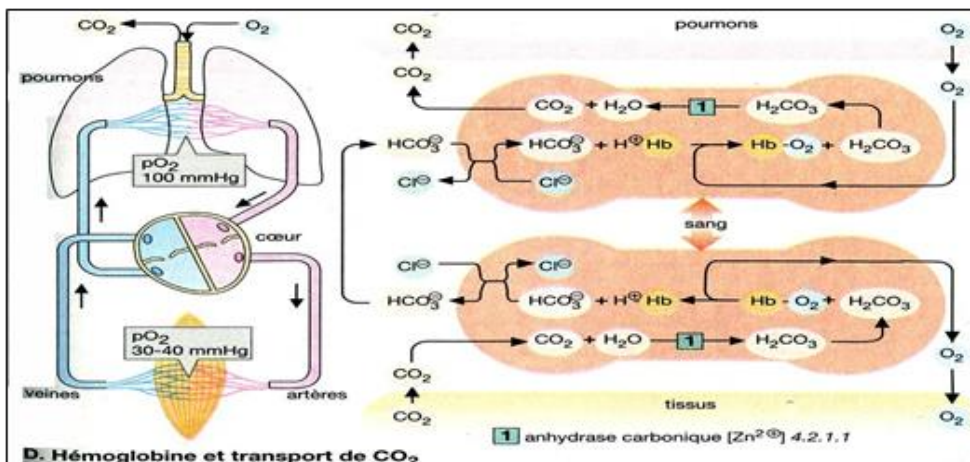


Figure12 : hémoglobine et transport de CO2

4. Hémoglobines anormales de l'adulte

Les mutations dans les gènes codant pour les chaînes α et β de

l'hémoglobine peuvent affecter la fonction biologique de l'Hb on parle d'hémoglobinopathies.

4.1. L'hémoglobine S de la drépanocytose

Résulte d'une mutation ponctuelle affectant le gène codant pour la chaîne β de l'Hb, ce qui entraîne une substitution d'un résidu Glu A2 (β) polaire par un résidu Val apolaire. Ce résidu étant situé à la surface de la molécule, il en résulte une pièce adhésive à la surface des molécules d'HbS qui vont se polymériser formant des précipités fibreux dans le GR. Ceci est responsable de la déformation des GR qui prennent un aspect en faucille. Ces GR fragiles vont être détruits au niveau de la rate → il s'ensuit une anémie (diminution du GR) et une splénomégalie (augmentation du volume de la rate). Cette hémoglobinopathie est appelée drépanocytose ou anémie falciforme.

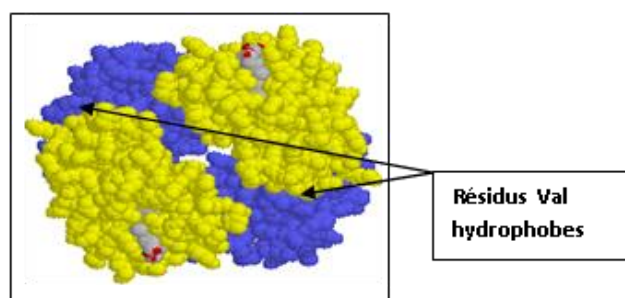
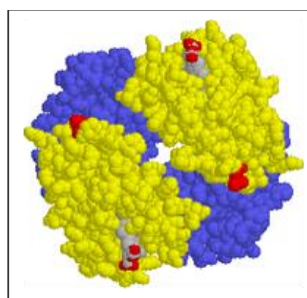


Figure 13 : Hb normale

Figure 14: Hb de la drépanocytose

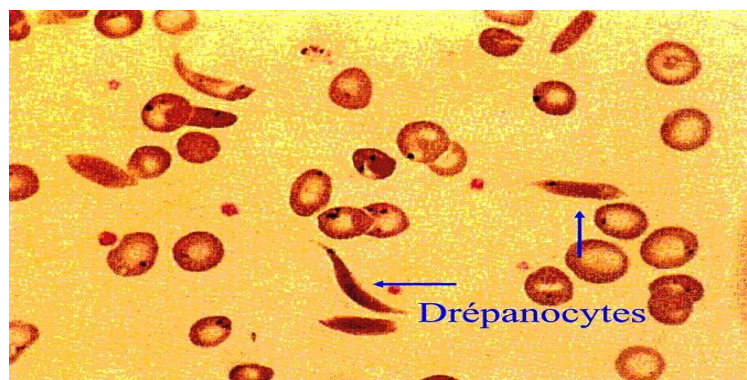


Figure 15 : globules rouges falciformes

4.2. L'Hémoglobine M

Est due à une substitution des résidus histidine impliqués dans le site de liaison à l'oxygène par des résidus tyrosine qui forme un complexe serré avec le fer de l'hème qui est stabilisé sous forme de fer Ferrique $+++$.

Ce sont les **méthémoglobinémies** qui ont une affinité pour l'O₂ diminuée.

4.3. Les thalassémies

Ce sont des hémoglobinopathies par défaut de synthèse d'une chaîne de l'Hb. On distingue.

Les α thalassémies dues à un déficit de synthèse des chaînes α de l'Hb.

Les β thalassémies dues à un défaut de synthèse des chaînes β : on note dans ce cas une persistance de la synthèse de l'hémoglobine F foetale chez l'adulte ainsi qu'un taux d'Hb A2 plus élevé que la normale.

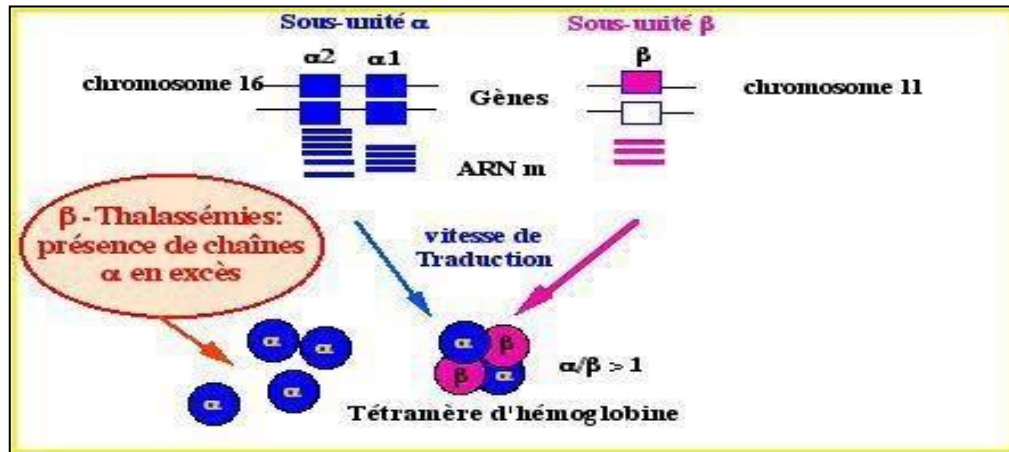


Figure 43 : synthèse de l'hémoglobine dans le cas de β thalassémie

Enzymes & Coenzymes

Dr Mariem BOUDAYA, Dr Kamel JAMOSSI.

Objectifs

1. Expliquer le rôle de biocatalyse des enzymes
2. Décrire les principales caractéristiques structurales des enzymes
3. Expliquer l'origine et les conséquences des spécificités enzymatiques
4. Définir les principales familles d'enzymes
5. Définir l'activité enzymatique
6. Décrire et expliquer le comportement des enzymes vis-à-vis d'une variation de pH, de température ou de concentration d'enzyme
7. Décrire et expliquer le comportement d'une enzyme Michaélienne vis-à-vis d'une variation de concentration de Substrat
8. Expliquer l'inhibition enzymatique
9. Décrire les modes de régulations des voies métaboliques médiés par les enzymes
10. Définir les différents types de coenzymes
11. Décrire les modes d'implication de ces coenzymes dans les réactions de catalyse
12. Expliquer l'importance des concepts étudiés dans le cadre des erreurs innées du métabolisme.
13. Expliquer l'importance des concepts étudiés dans le cadre de la biochimie clinique

1. Introduction

Les enzymes sont des biocatalyseurs protéiques. Ils interviennent à tous les niveaux des voies métaboliques. Si le bon fonctionnement de ces enzymes est nécessaire pour une homéostasie adéquate, leur dysfonctionnement se traduit souvent par des manifestations pathologiques.

2. Enzymes, propriétés générales

2.1. La catalyse

Les enzymes accélèrent d'un facteur supérieur à 10^6 des réactions thermodynamiquement possibles. Au cours de cette réaction un substrat (S) se transforme en produit (P).

Comme tout catalyseur, une enzyme augmente la vitesse de réaction en abaissant l'énergie d'activation (figure 1).

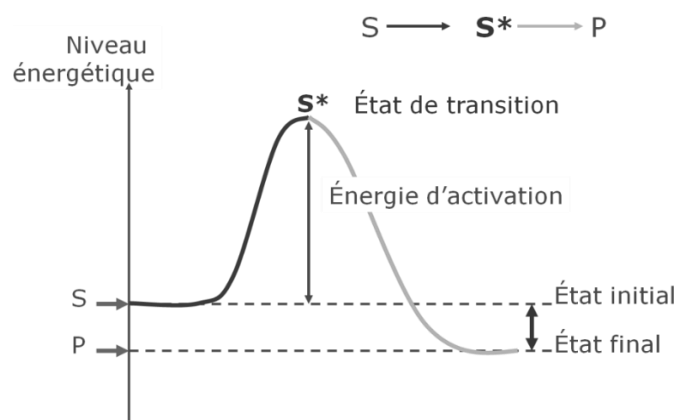


Figure 1 : Energie d'activation d'une réaction chimique non catalysée

Une enzyme, également, ne modifie pas les concentrations de S et de P à l'équilibre. L'enzyme est retrouvée intacte à la fin d'une réaction. Ceci lui permet de catalyser à nouveau une autre réaction. Une faible concentration d'enzyme sera ainsi suffisante pour obtenir une catalyse importante.

2.2. La structure

La majorité des enzymes du monde biologique sont de nature protéique. Certaines enzymes possèdent une structure monomérique. D'autres possèdent une structure polymérique (structure quaternaire formée de l'association par des liaisons non covalentes de plusieurs sous unités).

Dès le début du siècle (1913), Léonor Michaelis avait suggéré la formation d'un complexe entre l'enzyme et le substrat comme préalable à la catalyse. L'enzyme est une macromolécule protéique, alors que le

substrat est en général une petite molécule, d'où l'hypothèse que seule une petite partie de la structure de l'enzyme intervient dans la fixation du substrat. Cette partie s'appelle le site où centre actif (figure 2).

Les liaisons intervenant dans la formation du complexe ES sont les mêmes que celles qui sont responsables du maintien de la structure spatiale des protéines (liaisons de faibles énergies).

La formation du complexe ES nécessite l'interaction entre des groupements fonctionnels de la molécule de substrat et des chaînes latérales de certains acides aminés de l'enzyme. Ces acides aminés du site actif ne sont pas proches dans la séquence mais le sont dans l'espace. Les acides aminés du site actif peuvent être divisés en 2 groupes :

- ceux qui interviennent dans la reconnaissance spatiale du substrat en formant avec lui des liaisons non covalentes.
- ceux qui participent à la transformation chimique du substrat en produit et qu'on appelle acides aminés catalytiques.

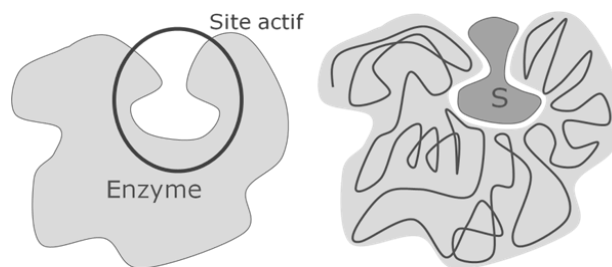


Figure 2 : Le site actif d'une enzyme et sa relation avec la structure primaire de la protéine ainsi qu'avec le substrat (S)

La formation du complexe Enzyme-Substrat est caractérisée par une spécificité plus ou moins étroite. Emil Fischer a proposé en 1890 le modèle de la clé et de la serrure pour expliquer cette spécificité. Ce modèle suppose une conformation du site actif adaptée à la structure de la molécule de substrat.

En 1958, Daniel E Koshland Jr a proposé un modèle plus flexible qui s'oppose au modèle rigide de Fisher. Ce modèle de l'ajustement induit suppose un changement de la structure tridimensionnelle du site actif au moment de la fixation du substrat. Cet « ajustement » permet une meilleure adaptation à la conformation du substrat.

De nombreuses enzymes ont besoin pour exercer leur activité catalytique d'un cofacteur. Il existe plusieurs sortes de cofacteurs (figure 3).

a. Ions métalliques : un nombre important d'enzymes requièrent un cation métallique pour leur activité. On les appelle des métallo-

enzymes. Un exemple est le cation Zn^{2+} présent dans le site actif de nombreuses enzymes. Cet ion fortement lié à la protéine participe à la fois à la reconnaissance du substrat et à la catalyse. Il joue aussi un rôle dans la stabilité de la conformation spatiale efficace du site actif. D'autres cations sont rencontrés : Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{+} , Fe^{2+} .

b. Groupements prosthétique ou coenzymes vrais : ce sont des molécules organiques de petite taille et de nature non protéique. Ils sont fortement liés au site actif de l'enzyme, souvent par des liaisons covalentes.

c. coenzymes mobiles ou cosubstrats : sont capables de se fixer réversiblement au site actif de l'enzyme.

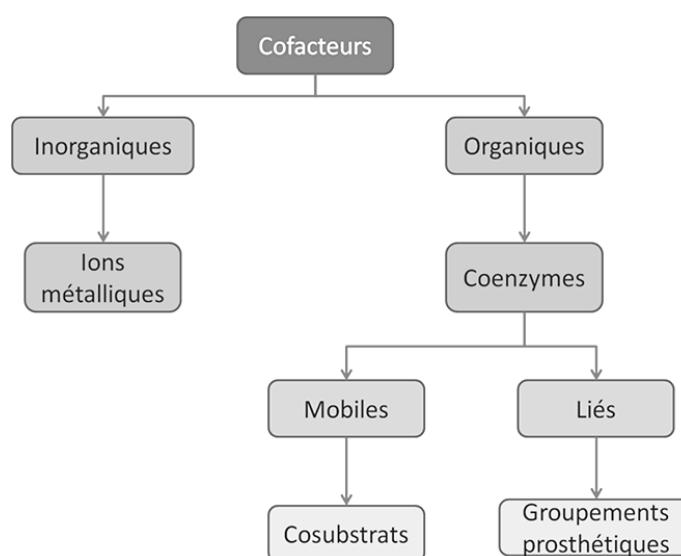


Figure 3 : Les différents types de Cofacteurs enzymatiques

2.3. Spécificité de l'action enzymatique

La spécificité est l'une des caractéristiques principales de l'action enzymatique.

La spécificité se manifeste, d'une part vis-à-vis du type de réaction catalysée par l'enzyme, d'autre part vis-à-vis du substrat de la réaction.

Spécificité liée à la réaction : une enzyme donnée ne peut catalyser qu'un seul type chimique de réaction. Cette spécificité de réaction est liée à la nature chimique des aminoacides catalytiques du site actif ainsi qu'à leur disposition dans l'espace.

Spécificité liée au substrat : une enzyme donnée catalyse une réaction sur un type chimique donné de substrat. Cette spécificité est liée à la nature chimique et à l'arrangement spatial des

aminoacides de reconnaissance du site actif. Elle peut être très large (l'enzyme agit sur une variété de substrats) ou au contraire, très étroite (l'enzyme ne transforme qu'un seul substrat). Un grand nombre de possibilités intermédiaires existent.

- Spécificité liée à la nature de la liaison : exemple dans le cas des « hydrolases » on distingue, selon le type de liaison, des osidases, des estérases, des amidases.
- Spécificité de groupe : parmi les estérases, par exemple, on peut faire la distinction entre les carboxy-estérases, spécifiques des liaisons ester où sont engagés des acides organiques, et les phospho-estérases qui hydrolysent les esters phosphoriques.
- Spécificité absolue pour un seul substrat : certaines enzymes n'agissent que sur la L-arginine)
- Stéréospécificité : beaucoup d'enzymes sont capables de distinguer deux isomères optiques l'un de l'autre et n'agir que sur l'un d'eux (ex : L- aminoacide oxydase). Un certain nombre d'enzymes font la distinction entre les conformations α et β dans les liaisons osidiques. (Ex : α et β -glucosidases). D'autres enzymes ont une stéréospécificité vis-à-vis de l'isomérisation cis/trans.

2.4. Classification des enzymes

Les enzymes sont classées selon le type de réactions qu'elles catalysent.

Un certain nombre d'enzymes sont fréquemment désignées à l'aide de noms communs (pepsine, trypsine, chymotrypsine...) Ces noms n'apportent guère d'information quant au substrat et à la réaction catalysée. Dans certains cas, pour désigner les enzymes catalysant des réactions d'hydrolyse, on utilise le nom du substrat suivi du suffixe « ase » (peptidase, phosphatase, arginase...). En 1961 une classification et une nomenclature systématiques, beaucoup plus rigoureuses ont été proposées. Cette classification comporte six classes divisées en sous-classes, comportant elles-mêmes des sous-classes, qui sont numérotées.

Dans les six classes principales sont respectivement rassemblés les enzymes de même spécificité d'action (figure 4) :

Les oxydoréductases (classe 1) : catalysent le transfert d'équivalents réducteurs entre deux systèmes redox.

Les transférases (classe 2) : catalysent le transfert d'autres groupes d'une molécule à une autre.

Les oxydoréductases et les transférases nécessitent en général un coenzyme.

Les hydrolases (classe 3) : transfèrent également des groupes mais dans ce cas l'accepteur est toujours une molécule d'eau.

Les lyases (classe 4) : souvent désignées également sous le nom de synthases, catalysent la rupture ou la liaison de composés chimiques.

Les isomérases (classe 5) : déplacent des groupes à l'intérieur d'une molécule sans que la formule brute du substrat ne varie.

Les ligases (classe 6) : catalysent des réactions d'association qui nécessitent de l'énergie et sont donc toujours couplées à l'hydrolyse de nucléosides triphosphate.

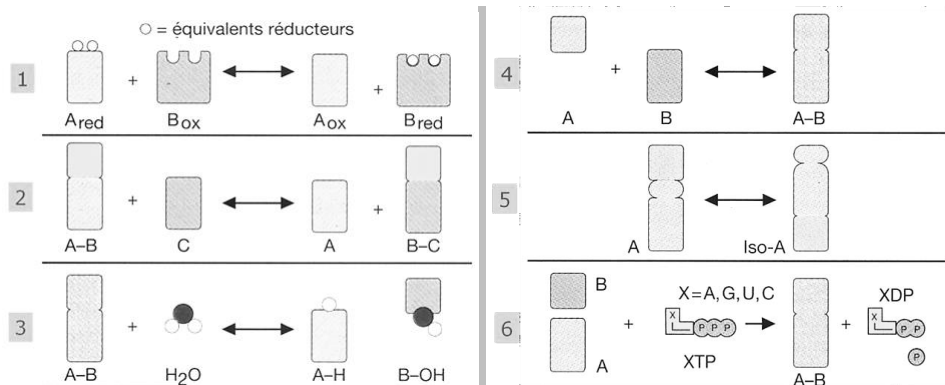


Figure 4 : Les différentes classes d'enzymes
(D'après Atlas de poche de biochimie Klaus-Heinrich Röhm, Jan Koolman. Médecine Sciences Publications 1997)

3. Cinétique enzymatique Michaélienne

La cinétique enzymatique étudie la vitesse des réactions enzymatiques. L'approche cinétique des réactions enzymatiques fournit des informations sur le mécanisme de la réaction, la spécificité de l'enzyme par rapport à son substrat, la présence éventuelle d'effecteurs ainsi que les propriétés physiques de l'enzyme.

Définition de l'activité enzymatique ou vitesse enzymatique : c'est la quantité de substrat qui disparaît (ou de produit qui apparaît) par unité de temps.

$$\text{Activité enzymatique } V = - \frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

Cette activité sera exprimée en « unité enzymatique » ou en « katal ». Une unité enzymatique (U), est la quantité d'enzyme qui catalyse la formation d'une micro mole de produit par minute.

Un katal (kat) est la quantité d'enzyme qui catalyse la formation d'une mole de produit par seconde.

$$V = -d[S]/dt = d[P]/dt = k[S]$$

La vitesse v suit dans le temps la décroissance de $[S]$. Donc, v est un paramètre variable que l'on peut mesurer seulement dans des conditions initiales et on parle de vitesse initiale.

Vitesse initiale de la réaction

Si la concentration $[S]$ est très élevée, on peut considérer qu'elle reste pratiquement constante au début de la réaction (conditions initiales).

Si $[S] = \text{constante}$, donc $v = k[S] = \text{constante}$. C'est la vitesse V_0 ou vitesse initiale.

Si l'on porte sur un graphique la concentration en produit formé en fonction du temps, on voit que la courbe exponentielle comporte une partie initiale quasi rectiligne. La pente, c'est-à-dire la vitesse y est constante.

En d'autres termes. La mesure de la pente de la tangente à la courbe au point = 0 donne la valeur de la vitesse initiale V_0 .

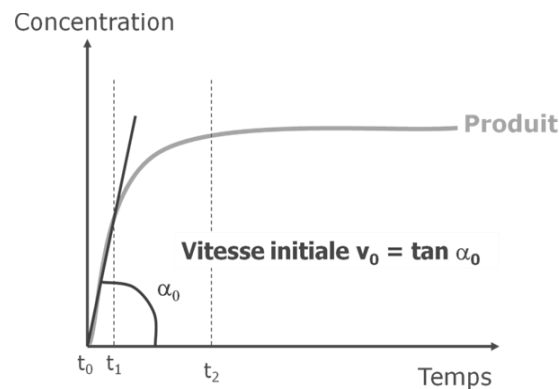


Figure 5 : Evolution de la concentration de produit dans le temps et calcul de la vitesse initiale

Etude de la relation $V_0 = f([S])$

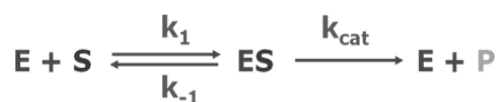
L'étude de la cinétique enzymatique doit énormément au travail pionnier de Leonor Michaelis et Maud Menten (1913). La démonstration qui va suivre est présentée à titre indicatif.

Dans les conditions initiales, la concentration de départ en substrat sera très supérieure à celle de l'enzyme $[S]_0 \gg [E]_0$. On peut décrire le processus enzymatique par deux étapes successives.

- La première est la formation d'un complexe (enzyme-substrat) par association rapide et réversible entre le substrat et le site actif de

Partie 2 : Les protéines, de la structure à la fonction

l'enzyme. Ce complexe ES est dit de Michaelis-Menten.



ES : complexe de Michaelis-Menten k_1 : constante d'association

k_{-1} : constante de dissociation k_1/k_{-1} : constante d'affinité k_{aff}

Habituellement le rapport k_1/k_{-1} est élevé.

- La deuxième étape ou catalyse est une succession de réactions intermédiaires impliquant la transformation du complexe de Michaelis-Menten en complexe enzyme produit. Ce dernier se dissocie en enzyme libre et en produit. La constante de vitesse k de cette réaction est dite constante catalytique (k_{cat}).

Habituellement la catalyse est lente par rapport à la formation du complexe ES. Donc, la constante catalytique est très inférieure à celle d'association k_1 .

Pendant la phase initiale, la formation de chaque mole de P correspond à la transformation d'une mole de ES. La relation $v_0 = (dP/dt)$ peut s'écrire $v_0 = k_{cat} \cdot [ES]$.

Hypothèse de l'état stationnaire : cette hypothèse fut proposée par Briggs et Haldane. Dans les conditions initiales, pour une concentration en enzyme $[E]_0$ très inférieure à la concentration du substrat $[S]_0$, on constate au bout d'un certain temps (quelques millisecondes) que la concentration du complexe ES est constante car il se forme autant de produit qu'il se consomme de substrat.

$[ES]$ est constante, ce qui veut dire que la vitesse de formation du complexe ES est égale à celle de sa disparition.

$$k_1 [E] \cdot [S] = k_{-1} \cdot [ES] + k_{cat} \cdot [ES]$$

Ce qui donne l'équation de Brigg-Haldane :

$$k_1 [E] \cdot [S] = (k_{-1} + k_{cat}) \cdot [ES]$$

$$\text{Où } K_m [ES] = [E] \cdot [S]$$

Avec $K_m = (k_{-1} + k_{cat}) / k_1$

K_m est la constante de Michaelis-Menten. Elle s'exprime en molarité.

Par ailleurs, l'enzyme étant un catalyseur, le nombre total de ses molécules ne varie pas au cours de processus. On peut écrire, donc, une deuxième équation :

$$[E] + [ES] = [E]_0$$

En remplaçant $[E]$ par $[E]_0 - [ES]$ dans l'équation de Brigg-Haldane, on obtient : $K_m [ES] = ([E]_0 - [ES]) [S]$ ou $(K_m + [S]) [ES] = [E]_0 [S]$

Graphiquement, cette fonction $V_0 = f([S])$ est une branche d'hyperbole

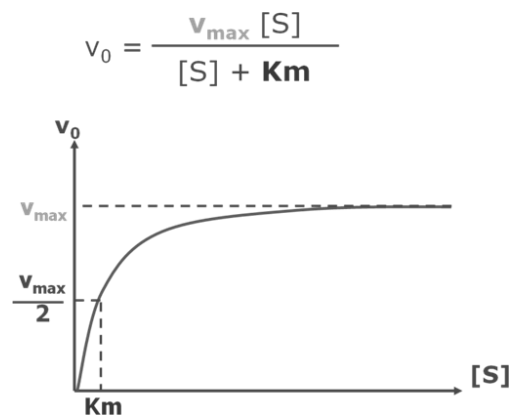


Figure 6 : La relation $v_0 = f([S])$ d'une enzyme Michaelienne

On remarquera que la constante K_m peut se définir comme la valeur de la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale est égale à la moitié de la vitesse maximale. Cette constante peut aussi être reliée à l'affinité de l'enzyme pour son substrat : si la constante catalytique est beaucoup plus petite que celle d'association, on peut assimiler K_m à $1/k_{\text{aff}}$. La mesure de la constante de Michaelis-Menten est un moyen d'évaluer l'affinité d'une enzyme pour un substrat : K_m sera d'autant plus petite que l'affinité sera grande.

La représentation de Lineweaver-Burk est une manière d'exprimer la même relation entre vitesse initiale et concentration de substrat de manière linéaire. C'est la représentation des doubles inverses :

$$1/v_0 = (K_m + [S]) / (v_{\max}[S]) = K_m/v_{\max} \cdot 1/[S] + 1/v_{\max}.$$

Sous cette forme, on a une équation linéaire de type $y = ax + b$, où la fonction y est l'inverse de la vitesse initiale, la variable x l'inverse de la concentration en substrat

$$1/v_0 = f(1/[S])$$

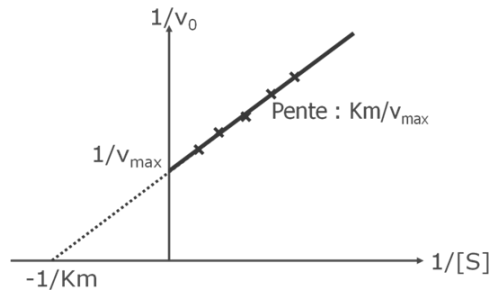


Figure 7 : Représentation de Lineweaver-Burk de la relation $v_0 = f([S])$ d'une enzyme Michaélienne

Cette représentation est plus commode que celle de Michaelis-Menten pour déterminer graphiquement les constantes cinétiques K_m et $v_{\max}$.

Il est intéressant de noter (figure 6) que pour des concentrations de substrat proches de la valeur du K_m , l'activité enzymatique changera dans le même sens : si la concentration de substrat diminue l'activité diminue et inversement. Au niveau de l'organisme, les métabolites/substrats sont souvent présents à des concentrations proches des K_m de leurs enzymes respectives. Par conséquent, tout changement de concentration de ce métabolite entraînera un changement d'activité dans le même sens. Il s'agit là d'un mécanisme d'adaptation ou de contrôle métabolique.

Pour des concentrations de substrat très supérieures au K_m (> 10 fois le K_m), l'activité enzymatique sera maintenue constante et maximale. Dans cette zone de concentration de substrat l'activité enzymatique n'est plus sensible à la variation de concentration de ce substrat. Elle reste constamment maximale. Pour certaines enzymes de l'organisme, les concentrations habituelles intracellulaires de leurs substrats respectifs sont d'emblée très supérieures aux K_m . Ceci obligera les enzymes concernées à avoir, presque tout le temps, une activité maximale. Là également il s'agit d'une réponse à un besoin métabolique particulier.

4. Influence de différents paramètres sur la vitesse initiale.

4.1. Influence de la température

L'étude de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique en fonction de la température fait apparaître deux phases. Dans la zone de

températures les plus basses, la vitesse de la réaction augmente quand la température augmente. Ceci en raison de l'énergie thermique qui aide à vaincre la barrière énergétique d'activation. Au-delà d'une certaine température qui varie selon les enzymes (45° environ), on assiste à la dénaturation de la protéine et donc une chute de l'activité.

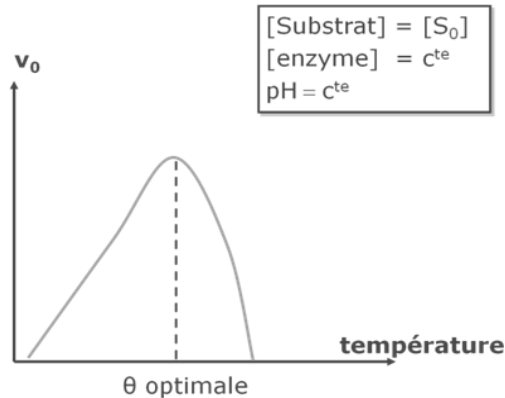


Figure 8 : Influence de la température du milieu réactionnel sur l'activité de l'enzyme

4.2. Influence du pH

Les variations de pH peuvent avoir un effet au niveau de l'enzyme, et au niveau du substrat. Ces variations de pH provoquent des modifications du degré d'ionisation et des changements de conformation.

On peut définir un pH optimum pour la transformation enzymatique d'un substrat dans un milieu de composition donnée. De part et d'autre de ce pH optimum, la vitesse initiale de la réaction décroît rapidement. En général, à 2 unités de pH de part et d'autre du pH optimum la vitesse est négligeable (Au moins 100 fois plus faible).

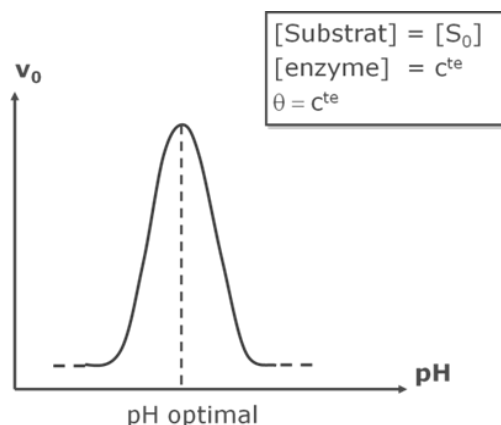


Figure 9 : Influence du pH du milieu réactionnel sur l'activité de l'enzyme

4.3. Effet de la concentration en enzyme

L'équation de Michaelis-Menten montre que la vitesse initiale est proportionnelle à la concentration totale en enzyme $[E]_0$, si la concentration en substrat est fixe.

Il faut toutefois signaler qu'il y a des limites à cette variation linéaire de V_0 en fonction de $[E]_0$.

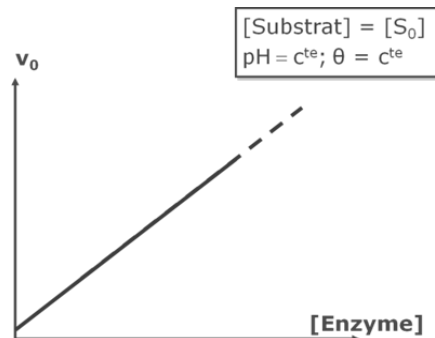


Figure 10 : Influence de la concentration d'enzyme présente dans le milieu réactionnel sur l'activité enzymatique mesurée

La proportionnalité, entre vitesse initiale et concentration en enzyme, a d'importantes applications pratiques, car elle permet d'estimer les concentrations relatives d'une enzyme donnée dans des extraits cellulaires sans qu'il soit nécessaire d'effectuer une purification totale de l'enzyme.

5. Inhibition enzymatique

D'une manière générale, on appelle inhibiteur tout composé dont la fixation sur la molécule enzymatique entraîne son inactivation partielle ou totale. Ceci se traduit par une baisse ou annulation de la vitesse initiale.

L'inhibition représente un des moyens biologiques pour contrôler l'activité d'une enzyme. Certaines substances toxiques ou médicamenteuses agissent en inhibant des enzymes.

5.1. Les inhibiteurs irréversibles

Ils sont capables de réaliser des liaisons covalentes stables avec l'enzyme. Ces modifications peuvent toucher des acides aminés du site actif. Elles peuvent également modifier la structure tridimensionnelle active. La figure ci-dessous en donne un exemple : l'inhibition de

l'enzyme cyclooxygénase par l'acide acétyl salicylique. Ce dernier en effet, va pouvoir fixer de manière covalente son groupement « Acétyl » au niveau du site actif et ainsi bloquer l'accès au substrat naturel qui est l'acide arachidonique (voir structure des lipides).

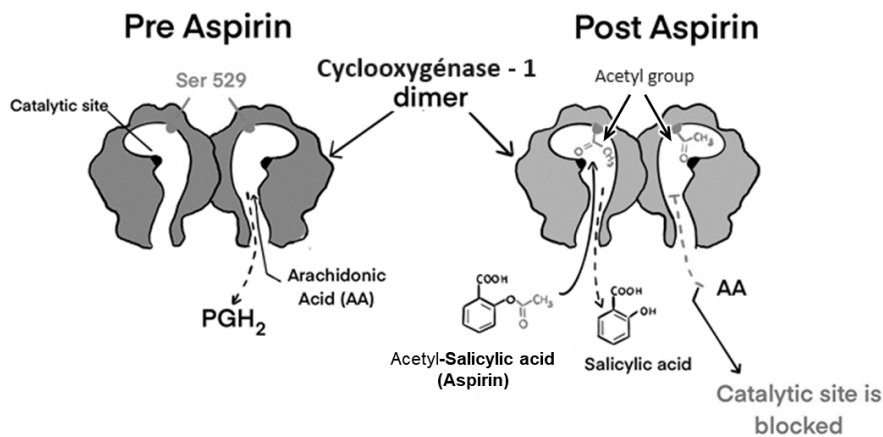


Figure 11 : Inhibition irréversible de l'enzyme cyclooxygénase par l'acide Acétyl salicylique

(Adapté de : Corrigan, T. et al. Changes in the Physical and Mechanical Properties of Human Blood with Sustained Prophylactic Use of Acetylsalicylic Acid (Aspirin)—A Rheological Study. Open Journal of Fluid Dynamics 2021, 11, 167-176)

5.2. Les inhibiteurs réversibles

Un inhibiteur réversible forme avec l'enzyme un complexe non covalent donc dissociable.

La fixation de l'inhibiteur sur l'enzyme peut empêcher la Formation du complexe ES. On parle alors d'inhibiteur compétitif.

La fixation de l'inhibiteur peut ne pas empêcher la formation du complexe ES, mais inhiber la catalyse. On dit que l'inhibiteur est non compétitif.

5.2.1. Inhibiteur compétitif

C'est un analogue structural du substrat. Il peut donc entrer en compétition avec lui pour se fixer à sa place au site actif.

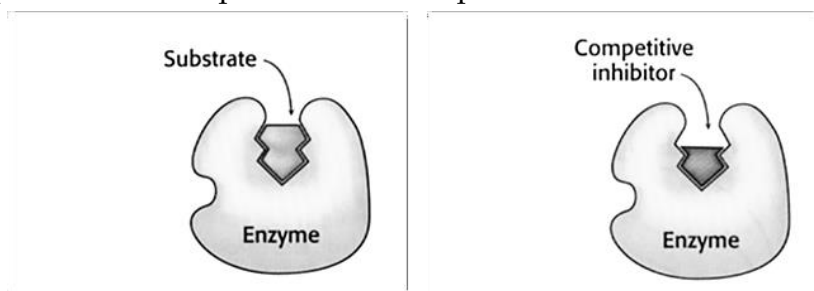


Figure 12 : Un inhibiteur compétitif ressemble au substrat naturel ce qui lui permet d'occuper le site actif

L'enzyme donne donc deux types de complexes réversibles ES et EI. La compétition signifie que les molécules d'enzyme sont soit libres, soit complexées à S ou I, mais jamais aux deux à la fois.

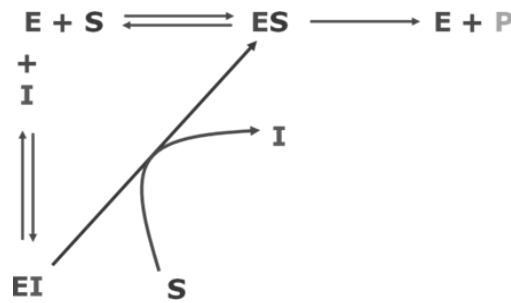


Figure 13 : En présence d'un inhibiteur compétitif l'enzyme E peut fixer soit le substrat naturel S ou bien l'inhibiteur I mais pas les deux en même temps

Un inhibiteur compétitif diminue la vitesse de catalyse en réduisant la proportion de molécules d'enzymes fixées à leur substrat (complexe ES).

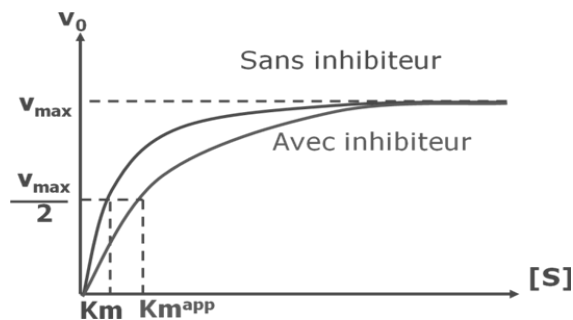


Figure 14 : Relation $v_0 = f([S])$ en absence et en présence d'un inhibiteur compétitif

Pour une concentration d'inhibiteur donnée, une augmentation importante de la concentration de substrat déplace l'équilibre en faveur du complexe ES. L'effet inhibiteur sera ainsi atténué voir complètement contrebalancé.

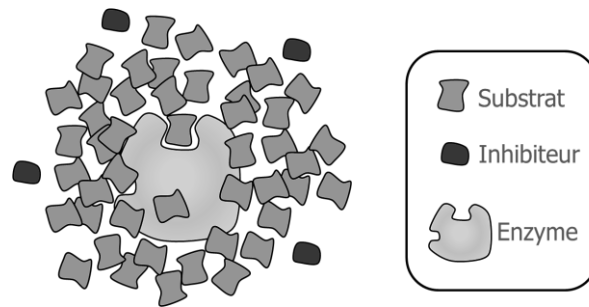


Figure 15 : L'effet d'inhibition compétitive est annulé en présence d'une forte concentration de substrat

Pour résumer : La présence d'un inhibiteur compétitif ne change pas $v_{\max}$ mais augmente k_m (k_m apparent : k_m^{app}) donc diminue K_{aff} .

Corrélations cliniques :

L'inhibition compétitive a reçu de nombreuses applications pratiques, notamment en thérapeutique dans la lutte contre les micro-organismes.

L'idée de base est d'essayer d'inhiber spécifiquement une réaction enzymatique qui est capitale dans l'organisme envahisseur mais qui ne l'est pas pour l'hôte.

L'exemple classique est celui des sulfamides, analogues de l'acide para-amino-benzoïque. Ce dernier est indispensable à nombreuses bactéries (mais non à l'homme) pour la synthèse de l'acide folique.

5.2.2. Inhibiteur non compétitif

Il se fixe à l'enzyme en un site différent du site de fixation du substrat, et n'interfère pas avec la formation du complexe de Michaelis-Menten.

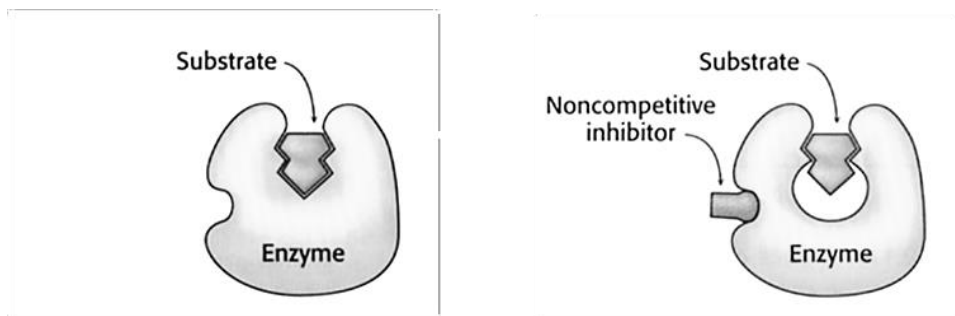


Figure 16 : Un inhibiteur non compétitif interagit avec l'enzyme au niveau d'un endroit différent du site actif

Contrairement au cas précédent, les molécules d'enzyme pourront

donc former, outre les complexes binaires ES et EI, un complexe ternaire ESI inactif.

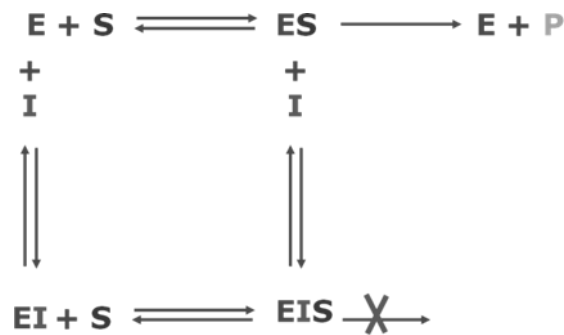


Figure 17 : La fixation d'un inhibiteur non compétitif sur l'enzyme n'empêche pas la fixation du substrat naturel et inversement

L'inhibiteur agit en diminuant l'efficacité catalytique de l'enzyme mais pas le nombre de substrats liés à l'enzyme. Ainsi la vitesse maximale est diminuée en présence de l'inhibiteur alors que le K_m est inchangé. Ce mode d'inhibition est rare.

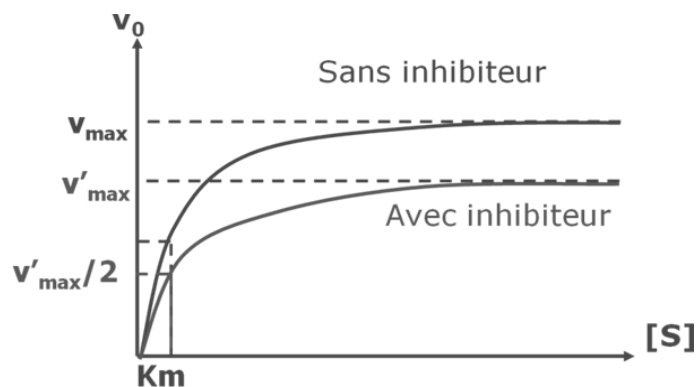


Figure 18 : Relation $v_0 = f([S])$ en absence et en présence d'un inhibiteur non-compétitif

6. Enzymes et régulations métaboliques

Dans chaque cellule ont lieu des centaines de réactions chimiques, dont l'ensemble est désigné sous le terme de métabolisme. Les composés qui participent à ces réactions sont appelés des métabolites. Ces réactions se déroulent dans des successions rapides ordonnées appelées voies métaboliques. Ils sont possibles grâce à l'existence d'enzymes.

L'activité des voies métaboliques est constamment contrôlée. Il s'agit d'adapter la formation ou la dégradation de métabolites aux besoins

physiologiques. Il s'agit également de maintenir constant le milieu intracellulaire en dépit des changements du milieu externe. Ce concept implique que les réactions catalysées par les enzymes se poursuivent à des vitesses sensibles aux variations du milieu.

Trois mécanismes généraux régulent l'activité enzymatique.

- Le changement dans la quantité absolue de l'enzyme
- La modification de la quantité de réactif
- L'altération de l'efficacité catalytique de l'enzyme.

Ces trois options sont exploitées par la plupart des formes de vie.

6.1. Changements dans la quantité de l'enzyme

La quantité absolue d'une enzyme présente dans une cellule est déterminée par sa vitesse de synthèse et sa vitesse de dégradation. La quantité d'une enzyme dans une cellule peut donc s'élever soit par augmentation de sa vitesse de synthèse soit par diminution de sa vitesse de dégradation ou les deux.

La dégradation des protéines des mammifères peut se faire par différentes voies. Certaines sont dépendantes du système ubiquitine-protéasome.

La sensibilité d'une enzyme à la dégradation protéolytique dépend de sa conformation. La présence ou l'absence de substrat, de coenzymes ou d'ions métalliques peuvent altérer la conformation d'une protéine. Ils influencent ainsi la sensibilité de l'enzyme à la dégradation.

6.2. Modification de la quantité des réactifs

La concentration intracellulaire moyenne d'un substrat, d'une coenzyme ou d'un ion métallique peut voir une certaine importance dans le comportement d'une enzyme *in vivo*. La disponibilité du substrat au niveau du compartiment de l'enzyme peut être un facteur limitant. Cet approvisionnement en « précurseur » dépend des voies métaboliques qui le synthétisent, de celles qui l'utilisent (ou dégradent) et éventuellement de systèmes de transports.

L'apport d'une coenzyme limite également le flux à travers une voie. Si ce coenzyme est régénéré par une deuxième voie indépendante, la vitesse de celle-ci peut contrôler celle de la première.

Les ions métalliques jouent un rôle catalytique et un rôle structural dans plus d'un quart de toutes les enzymes connues. Ils peuvent aussi remplir un rôle régulateur, particulièrement pour les réactions où l'ATP et d'autres polyanions sont des substrats.

6.3. Régulation de l'activité catalytique de l'enzyme

Cette régulation peut se faire principalement de 3 manières. (1) par contrôle allostérique, (2) par modifications covalentes et (3) par activation protéolytique.

6.3.1. La régulation allostérique

L'activité catalytique de certaines enzymes est modifiée par des effecteurs de faible masse moléculaire qui n'ont généralement que peu ou pas de ressemblance structurale avec les substrats ou les coenzymes de l'enzyme contrôlée.

Ces effecteurs se fixent réversiblement à l'enzyme en un emplacement différent du site actif. Cet emplacement est nommé site allostérique. Les effecteurs sont dits effecteurs allostériques.

Une enzyme allostérique est une enzyme dont l'activité catalytique peut être modifiée par la présence d'un effecteur allostérique. En général, une enzyme allostérique est la première spécifique d'une voie métabolique, et le produit terminal de la voie est son inhibiteur allostérique (rétro-inhibition ou rétro-contrôle).

Les enzymes allostériques possèdent en général une structure protéique quaternaire oligomérique. Elles sont constituées d'un petit nombre de protomère identique ou différent. Ces sous unités sont liées entre elles par des liaisons non covalentes. Il en résulte une certaine souplesse qui autorise des déformations de chacune des sous unités ainsi que des mouvements relatifs des unes par rapport aux autres. On dénombre généralement un site actif et un site allostérique par protomère.

Dans le cas des enzymes allostériques typiques, la courbe de la relation : vitesse initiale = $f(\text{concentration de substrat})$ est d'allure sigmoïde.

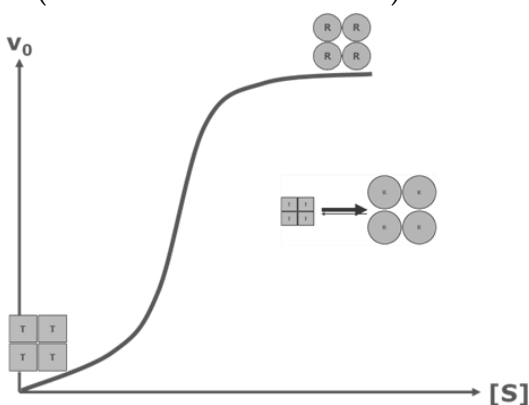


Figure 19 : Allure sigmoïde de la relation $v_0 = f([S])$ dans le cas d'une enzyme « allostérique »

Lorsque le substrat est en faible concentration, la vitesse de catalyse par l'enzyme allostérique est quasiment nulle. Au-delà d'une certaine concentration de substrat, la pente de la courbe devient plus forte. A ce niveau l'enzyme allostérique se comporterait comme un amplificateur de signal cellulaire car une faible augmentation de la concentration en substrat au niveau du point d'inflexion entraînera une vitesse maximale de l'enzyme.

Cette cinétique sigmoïde traduit le phénomène de coopérativité entre les protomères de l'enzyme vis-à-vis de la fixation du substrat. La fixation d'une première molécule de substrat favorise celle des suivantes.

La dissociation d'une enzyme allostérique en protomères peut entraîner une perte de l'activité catalytique ou bien une perte de l'allure sigmoïde.

6.3.2. Régulation par modification covalentes réversibles

La modification réversible de l'activité catalytique des enzymes peut s'effectuer par liaison covalente d'un groupement. Il s'agit en général d'une phosphorylation dépendant de l'ATP catalysée par une « protéine-kinase » le groupement phosphate est ainsi fixé sur un résidu sérine thréonine ou tyrosine de l'enzyme. La déphosphorylation consécutive est catalysée par une « protéine-phosphatase ».

Pour certaines enzymes, c'est la forme phosphorylée qui est la plus active. Pour d'autres enzymes, c'est la forme déphosphorylée qui est la plus active.

6.3.3. Activation protéolytique

Certaines enzymes sont secrétées sous la forme de précurseurs inactifs appelés proenzymes ou zymogène. La conversion de la proenzyme en enzyme active fait appel à une protéolyse sélective.

Certaines enzymes ne sont requises que de façon intermittente (par exemple les enzymes de la formation et de la lyse du caillot sanguin). De plus quand ces enzymes sont requises, elles le sont souvent rapidement. La disponibilité de proenzyme permet de répondre, après activation protéolytique, à ce besoin pressant.

De plus la synthèse de certaines enzymes sous forme de précurseurs (exemple les protéases) sert à protéger le tissu d'origine (tel le pancréas) contre l'autodigestion.

7. Coenzymes

Les coenzymes appartiennent au groupe de cofacteurs d'enzymes

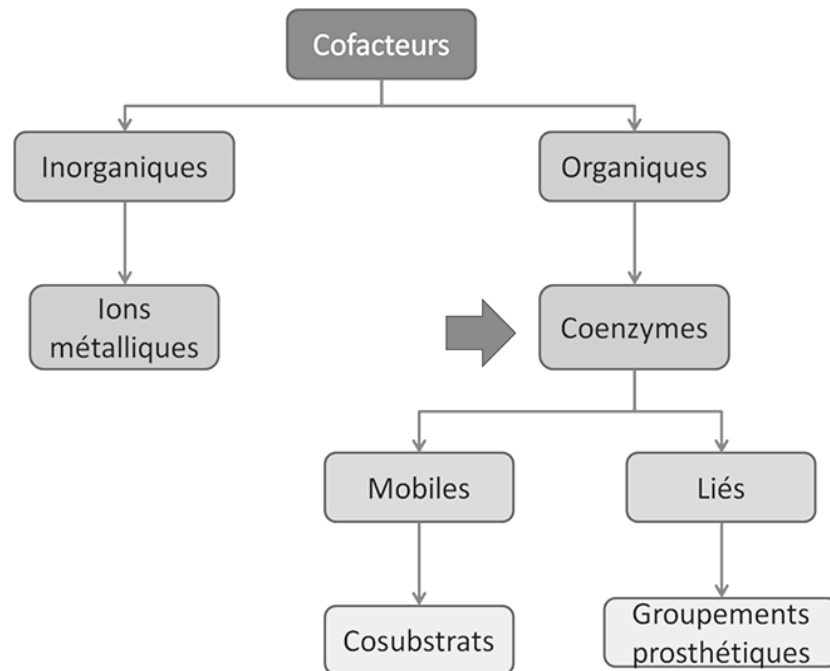


Figure 20 : Les coenzymes sont des cofacteurs de nature organique

Dans de nombreuses réactions catalysées par des enzymes, des électrons ou des groupes d'atomes seront transférés d'un substrat à l'autre. A ces réactions participent toujours des molécules supplémentaires qui prennent en charge, transitoirement, le groupe transporté. De telles molécules auxiliaires sont appelées coenzymes. Nombreuses coenzymes sont des dérivés de vitamines.

Selon le type d'interaction avec l'enzyme, on distingue les coenzymes solubles (cosubstrats, coenzymes mobiles) et les groupements prosthétiques (coenzymes vraies).

Les coenzymes solubles :

Sont, comme les substrats, associées à l'enzyme durant la réaction, modifiées chimiquement puis libérées. La forme originelle des coenzymes est régénérée par une deuxième réaction indépendante.

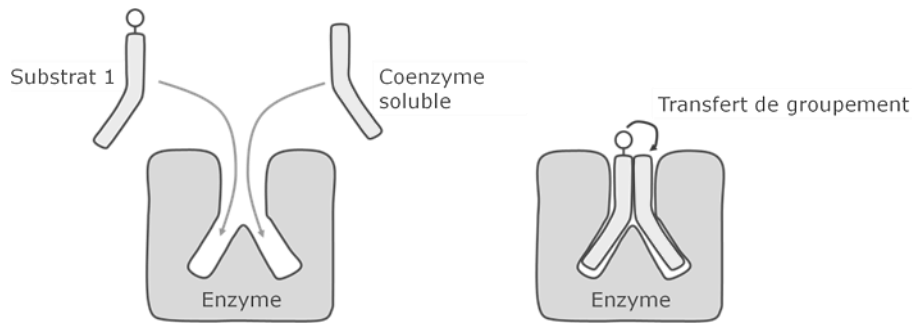


Figure 21 : Les coenzymes solubles ou co-substrats

Les groupements prosthétiques :

On désigne sous le terme de « groupement prosthétique » les coenzymes qui sont liées, en post traductionnel, de façon stable à une enzyme et ne s'en dissocient pas lors de la réaction.

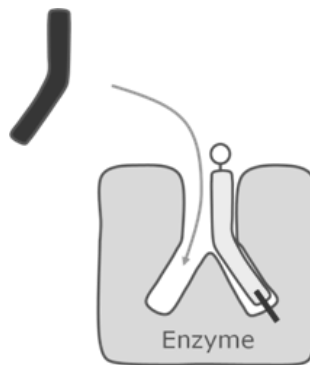


Figure 22 : Les groupements prosthétiques

7.1. Coenzymes d'oxydoréduction

Toutes les oxydoréductases (voir chapitre 2.4) nécessitent des coenzymes. Ces coenzymes peuvent agir sous forme soluble ou prosthétique. Lors des réactions redox, un ou deux protons sont souvent transférés d'une molécule à une deuxième en même temps que les électrons. On parle donc de façon générale du transport d'équivalents réducteurs.

7.1.1. Les pyridines-nucléotides

La Nicotinamide-Adénine- Dinucléotide (NAD⁺) et la Nicotinamide-Adénine- Dinucléotide-Phosphate (NADP⁺) sont largement utilisés comme coenzymes

Des déshydrogénases. Ils transportent des ions hydrure (2 e⁻ et 1H⁺)

et agissent toujours sous forme soluble. NAD⁺ Transfère des équivalents réducteurs des voies du catabolisme. Au contraire, le NADP⁺ réduit constitue l'agent de réduction le plus important dans les biosynthèses. Ces deux coenzymes sont apparentées avec l'acide nicotinique (Vitamine B3 ou vitamine PP).

7.1.2. Les coenzymes flaviniques

La Flavine-Mono-Nucléotide (FMN) et la Flavine-Adénine-Dinucléotide (FAD) sont retrouvées associées à des déshydrogénases, des oxydases et des mono oxygénases. FMN et FAD sont très fortement liées à l'enzyme et ne se dissocient pas. Le groupement redox actif des deux coenzymes est la flavine. Il s'agit d'un système cyclique à trois noyaux qui peut accepter au maximum deux électrons et deux protons lors de la réduction.

Ces deux coenzymes dérivent de la riboflavine ou vitamine B2.

7.1.3. L'acide lipoïque

Le centre redox actif est un pont disulfure. L'acide lipoïque actif est lié de façon covalente à un résidu lysine de l'enzyme (lipoamide). L'acide lipoïque participe essentiellement à la décarboxylation oxydative des acides alpha cétoniques (exemple l'acide pyruvique).

7.2. Les coenzymes de transfert de groupement

La présence de coenzymes est quasi générale dans les mécanismes d'action des enzymes de transfert. Le coenzyme joue le rôle d'un réactif interne en étant intimement associé à l'enzyme lors de la catalyse.

7.2.1. La thiamine pyrophosphate (TPP)

La TPP ou vitamine B1 fait partie intégrante du site actif des décarboxylases. C'est un transporteur de groupements aldéhydiques notamment de l'acétaldéhyde. C'est un coenzyme de décarboxylation d'acides alpha-cétoniques.

7.2.2. Le coenzyme A ou coenzyme d'acylation

C'est le coenzyme des acyl-transférases. Il dérive d'une vitamine hydrosoluble du groupe B, l'acide pantothénique (vitamine B5) C'est la fonction thiol (-SH) du coenzyme A qui est la partie active de la molécule car son hydrogène peut être substitué par divers groupements tel le groupement acyl.

7.2.3. Acide tétrahydrofolique

C'est la forme active d'une vitamine qui est l'acide folique. L'acide tétrahydrofolique est un coenzyme mobile. Il transporte des unités à 1 atome de carbone (radicaux monocarbonés). Il se comporte comme un substrat et intervient dans bon nombre de processus.

7.2.4. S-adénosyl-méthionine

C'est un transporteur mobile de groupement méthyle (donc également un transporteur de groupement en C1). Il se comporte comme substrat.

7.2.5. Biotine

C'est le coenzyme de diverses réactions de carboxylation (fixation de CO₂).

7.2.6. Phosphate de pyridoxal

Ce coenzyme dérive de la pyridoxine ou vitamine B6. il fait partie intégrante du site actif de diverses enzymes qui interviennent dans le métabolisme des aminoacides : transaminases, aminoacide-décarboxylases, sérine-déshydratase, cystéine- désulfatase....

On voit là qu'un même coenzyme peut participer à des réactions tout à fait différentes selon la protéine enzymatique à laquelle il est associé.

7.2.7. Cobalto-cobalamine

Ce coenzyme dérive de la cobalamine ou vitamine B12.

Les cobalamines coenzymes participent à diverses réactions d'isomérisation et certaines réactions de méthylation.

Exemples de coenzymes de transfert de groupements

Famille	Groupement transféré	Vitamine précurseur
Thiamine pyrophosphate	Aldéhyde	B1
Coenzyme A	acyl	B5
Tétrahydrofolate	Radical monocarboné	Acide folique
S-adénosyl méthionine	méthyl	
Biotine	CO ₂	
Phosphate de pyridoxal	amine	B6
Cobalto-cobalamine	isomérisation	B12

8. Enzymes, applications médicales

Les principes « enzymologiques », abordés dans les chapitres précédents, sont exploités dans les laboratoires de biochimie médicale comme moyens de diagnostic.

8.1. Diagnostic de maladies par erreur innée du métabolisme

Dans le cadre de maladies métaboliques, la mise en évidence d'un déficit enzymatique (déficit en protéine et/ou déficit d'activité) peut fournir la clé du diagnostic. Ces dosages sont réalisables sur des biopsies tissulaires, des cultures cellulaires ou sur des liquides biologiques (sérum, liquide de ponction...)

Cette approche peut être combinée à un diagnostic moléculaire (mise en évidence de la mutation génétique responsable de l'enzyme déficitaire).

8.2. Les enzymes, comme « Bio-marqueurs » plasmatiques.

Les enzymes plasmatiques sont de deux types. Celles qui y sont naturellement présentes parce qu'elles y assurent un rôle biologique (exemples les enzymes de la coagulation). D'autres enzymes intracellulaires, sont habituellement absentes de la circulation sanguine ou y existent à l'état de traces.

Dans les situations de souffrance tissulaire ou d'organes, ces dernières enzymes sont libérées dans le sang. Leurs concentrations plasmatiques augmentent dans ces cas.

La constatation d'une concentration « anormalement élevée » d'une de ces enzymes peut constituer un témoin indirect de l'existence d'une maladie (donc d'un organe ou d'un tissu qui souffre).

Dans ces situations l'enzyme va jouer le rôle de « marqueur » de la maladie.

Il faut signaler l'existence d'isoenzyme, c'est à-dire d'enzymes catalysant la même réaction sur un même substrat, mais ayant des structures protéiques différentes. Ces isoenzymes ont en général une distribution tissulaire spécifique. Elles ont parfois une distribution intracellulaire particulière. Le dosage spécifique des isoenzymes dans le plasma peut fournir une meilleure approche de la localisation du tissu souffrant.

Partie 3

Lipides, Glucides et Acides Nucléiques

Structure des lipides

Dr Dana Jallouli, Dr Kamel Jamoussi.

Objectifs

1. Définir les composés lipidiques
2. Décrire les acides gras indispensables
3. Décrire les principales propriétés physiques et chimiques des acides gras.
4. Décrire les glycérides
5. Décrire les glycérophospholipides
6. Expliquer les principales caractéristiques des phosphatides
7. Expliquer l'action des phospholipases
8. Définir les sphingolipides
9. Décrire les structures de sphingomyélines, de cébrosides et de gangliosides
10. Définir les lipides poly-isopréniques
11. Décrire la structure du cholestérol
12. Décrire les caractéristiques structurales d'un stéroïde par comparaison avec la structure du cholestérol
13. Décrire l'importance biologique des quinones isopréniques
14. Décrire l'importance biologique des caroténoïdes
15. Définir les vitamines liposolubles.
16. Décrire les lipides des membranes biologiques

1. Introduction

Les lipides forment un groupe hétérogène de substances organiques. Les lipides sont apparentés d'avantage par leurs propriétés physiques que chimiques. Ils ont une propriété en commun celle d'être solubles dans des solvants non polaires tels l'éther, le chloroforme, le benzène, l'acétone... Au contraire, ils sont peu ou pas solubles dans l'eau.

Les lipides constituent une source énergétique majeure. Ils constituent des éléments de base dans la structure des membranes biologiques. Les lipides assurent également l'isolation thermique de l'organisme et l'isolation électrique des cellules permettant la constitution d'un potentiel électrique membranaire.

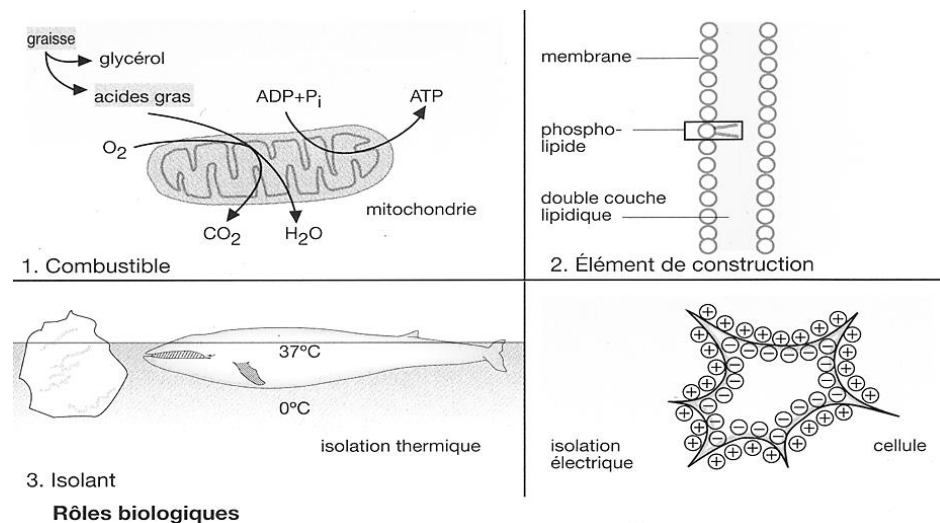


Figure 1 : Rôles biologiques des lipides

(D'après Atlas de poche de biochimie Klaus-Heinrich Röhm, Jan Koolman. Medecine Sciences Publications 1997)

Quelques lipides jouent des rôles particuliers dans l'organisme. C'est le cas des vitamines liposolubles, des acides gras indispensables, de certains médiateurs de l'information cellulaire comme les stéroïdes, les eicosanoïdes et de modulateurs de la réponse cellulaire comme l'acide rétinol.

2. Classification

Plusieurs approches sont possibles pour classer les molécules lipidiques. Celle qui suit subdivise cette grande famille en substances hydrolysables, c'est-à-dire susceptible d'être coupées avec implication d'une molécule d'eau, et en substances non hydrolysables

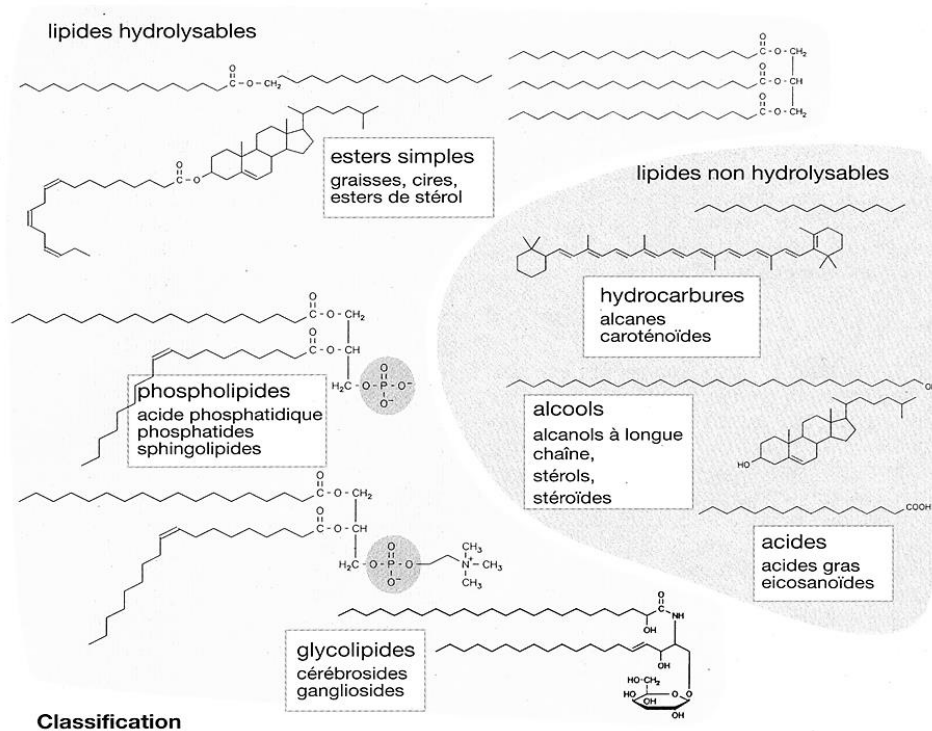


Figure 2 : Exemples de lipides hydrolysables et de lipides non-hydrolysables
(D'après Atlas de poche de biochimie Klaus-Heinrich Röhm, Jan Koolman. Médecine Sciences Publications 1997)

3. Les acides gras

3.1. Définition, structure et nomenclature

Les acides gras sont des acides carboxyliques possédant une longue chaîne hydrocarbonée (aliphatique). Les acides gras retrouvés dans l'organisme, sont principalement, estérifiés à des alcools (ex. glycérol, sphingosine, cholestérol). On trouve également en petites quantités des acides gras non estérifiés (AGNE) appelés aussi acides gras libres (AGL).

Chez l'homme on trouve principalement des acides gras à longues chaînes non ramifiées avec un nombre pair d'atomes de carbones. Ce nombre pair est la conséquence du processus de biosynthèse des acides gras qui utilise des unités à 2 carbones (Acétyl).

La chaîne d'un acide gras peut être saturée (absence de doubles liaisons) ou insaturée (présence d'une ou de plusieurs doubles liaisons). Les atomes de carbone sont numérotés à partir du carbone carboxylique¹ (carbone n° 1). L'atome de carbone n° 2, adjacent au carbone carboxylique, est aussi connu comme étant le carbone alpha. Les atomes de carbone n° 3 et n° 4 sont respectivement les carbones bêta et gamma. Le carbone méthylique terminal est connu sous le nom de carbone oméga ou carbone « n »....

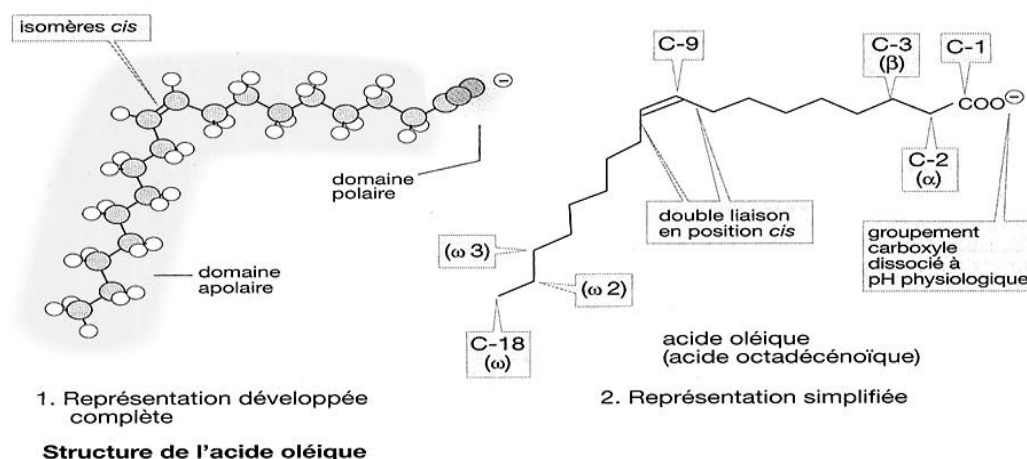


Figure 3 : schématisation et numérotation des acides gras

(D'après Atlas de poche de biochimie Klaus-Heinrich Röhm, Jan Koolman. Medecine Sciences Publications 1997)

Diverses conventions sont utilisées pour indiquer le nombre et la position des doubles liaisons. Par exemple Δ^9 indique une double liaison entre le carbone 9 et 10. $\omega 9$ indique une double liaison qui concerne le neuvième carbone (et le carbone suivant) en comptant à partir de l'extrémité ω (oméga).

Ainsi l'acide oléique est un $18 : 1 ; 9$ ou $18 : 1 ; \Delta^9$ (ou $\Delta^9, 18 : 1$) mais également $\omega 9, 18 : 1$ ou $n - 9, 18 : 1$. L'acide arachidonique s'écrit $20 : 4 ; 5,8,11,14$ ou $20 : 4 ; \Delta^{5,8,11,14}$ mais également $\omega 6, 20 : 4$ ou $n - 6, 20 : 4$. L'acide linoléique s'écrit $18 : 3 ; 9,12,15$ ou $18 : 3 ; \Delta^{9,12,15}$ mais également $\omega 3, 18 : 3$ ou $n-3, 18 : 3$.

Certains acides gras polyinsaturés sont nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme humain mais ce dernier est incapable de les synthétiser en quantités suffisantes. Ces acides gras sont dits « Indispensables » ou « essentiels ». Un apport alimentaire devrait être assuré pour ces acides gras. Il s'agit de l'acide linoléique ($\omega 6, 18 : 2$), et de l'acide linoléique ($\omega 3, 18 : 3$).

3.2. Propriétés¹ des acides gras

3.2.1. Propriétés physiques

Masses moléculaires, volumes et densités

Les masses moléculaires des acides gras sont faibles car ils contiennent peu d'oxygène. Par contre, le volume est important, la masse volumique des acides gras et la densité sont faibles.

¹ Nous aborderons uniquement les propriétés pertinentes pour la physiologie humaine

Solubilité dans l'eau et les solvants

Le caractère de solubilité dépend du volume respectif qu'occupent les deux pôles de la molécule : le pôle **COOH** (ou **COO⁻**, en fonction du pH), mouillable et la chaîne hydrocarbure, hydrophobe. Les acides gras dont la chaîne alcanique est assez longue (au-delà de 8 atomes de carbones pour les acides gras saturés) sont insolubles dans l'eau.

Volatilité

Les acides gras à courte chaîne (< 8 carbones) sont volatils à température ordinaire. Les acides gras à plus longue chaîne sont volatils en chauffant.

Température de fusion ou point de fusion

C'est la température de passage de l'état solide à l'état liquide. Cette température dépend du nombre d'atomes de carbones et du nombre d'insaturations.

Le point de fusion augmente avec la longueur de la chaîne et diminue avec le nombre de doubles liaisons.

Formation de couches mono-moléculaires et de micelles

Quand on mélange des acides gras avec l'eau, les carboxyles hydrophiles se mettent en contact avec l'eau et les chaînes hydrophobes vont fuir la phase hydrique formant ainsi des micelles.

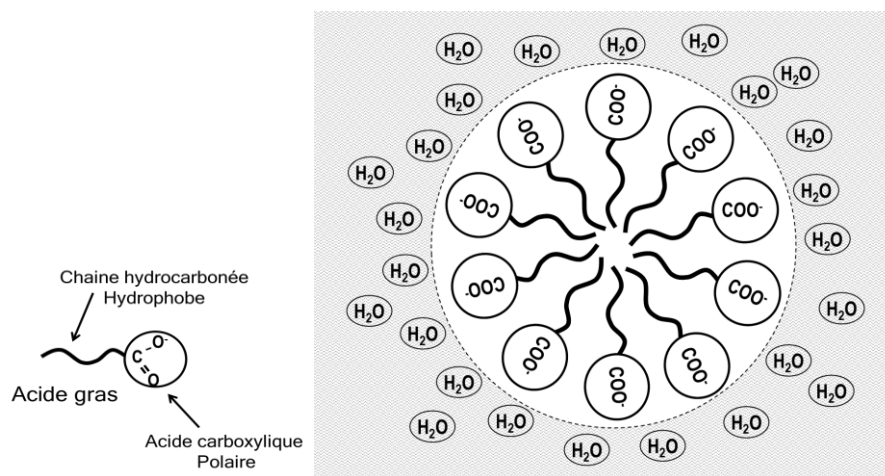


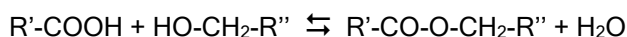
Figure 4 : Dans une phase hydrique, les acides gras s'organisent en Micelles sphériques

3.2.2. Propriétés chimiques

Neutralisation par les bases

La fonction carboxylique des acides gras est relativement peu dissociée. Cependant on peut la neutraliser par une base comme la potasse (KOH). Il se forme un sel d'acide gras (savon). C'est la réaction de saponification

Réaction d'estérification



Cette réaction permet d'associer les acides gras à différents alcools pour former des lipides hydrolysables.

Isomérisation Cis/Trans

Les doubles liaisons des acides gras naturels sont « Cis ». Ils peuvent s'isomériser en trans sous l'effet de la chaleur. Vous pouvez remarquer sur la figure #.5 que la forme « cis » de l'acide gras présente une « coudure » dans la chaîne hydrocarbonée et l'isomérisation « trans »

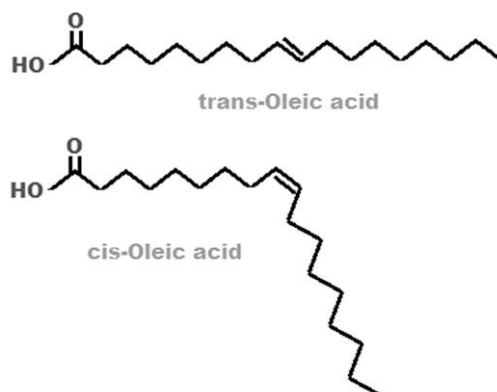


Figure 5 : Isomérisation de l'acide oléique de la forme « Cis » en forme « Trans »

Désaturation

Certaines enzymes : les désaturases, permettent de catalyser la réaction d'ajout de doubles liaisons entre les carbones de la chaîne aliphatique. Ces Désaturases possèdent une spécificité d'action : l'insaturation sera introduite à une position particulière de la chaîne hydrocarbonée de l'acide gras. La figure #.6 donne un exemple de désaturase qui cible le carbone 9 : une Delta 9 désaturase.

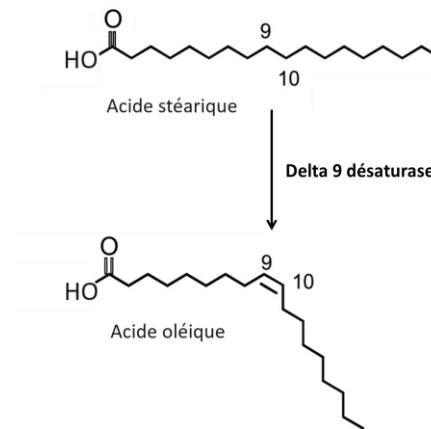


Figure 6 : Désaturation de l'acide stéarique en acide oléique

Oxydation, peroxydation

L'oxydation des acides gras peut se faire par voie chimique, mais dans l'organisme humain elle est surtout catalysée par des enzymes. Cette oxydation enzymatique est à la base du catabolisme des acides gras. Elle permet la libération d'une grande quantité d'énergie.

La peroxydation (auto-oxydation) des acides gras poly-insaturés est responsable, non seulement de la détérioration des lipides (rancissement), mais aussi, in vivo, de dommages tissulaires. Ce phénomène serait impliqué dans diverses pathologies comme les cancers, les maladies inflammatoires, l'athérosclérose, le vieillissement.

Les eicosanoïdes sont des dérivés oxygénés, d'acides gras poly-insaturés (AGPI) à 20 carbones. Les eicosanoïdes sont formés après oxygénation enzymatique (par des oxygénases) ou non enzymatique de ces AGPI. En général, les eicosanoïdes jouent le rôle de médiateurs lipidiques physiologiquement et/ou pharmacologiquement actifs.

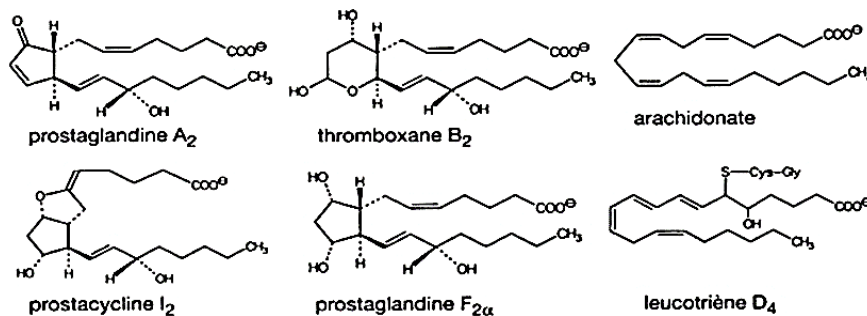


Figure 7 : Exemples d'eicosanoïdes

4. Les glycérolipides

Deux représentants de cette famille seront étudiés : les glycérides et les glycérophospholipides

4.1. Les glycérides (graisses)

4.1.1. Définition, rôle biologique

Ce sont des composés obtenus par estérification des fonctions alcools du glycérol par des acides gras. On distingue des mono-, des di- et des tri-acylglycérols (ou mono, di et triglycérides).

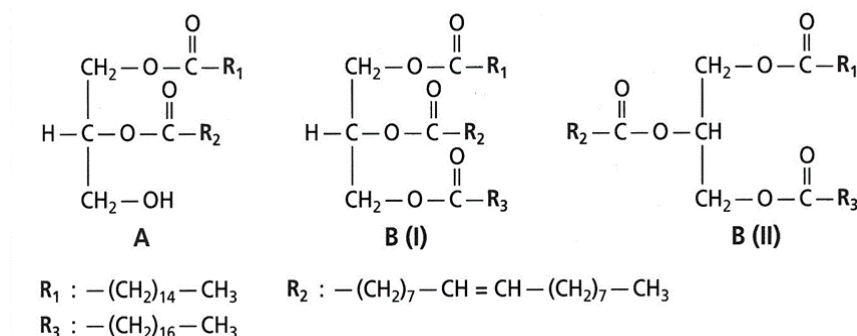


Figure 8 : Exemple de structure de di- (structure A) et tri-acyl-glycérol (structures B (I) et B (II))

Chez les vertébrés, les triglycérides sont particulièrement abondants dans les adipocytes. Ces triglycérides constituent une importante réserve d'énergie. Ils assurent également l'isolement thermique et la protection contre les chocs

L'alimentation est également une source de graisses. Cette graisse constitue un apport énergétique important. Les graisses alimentaires servent également à véhiculer les vitamines liposolubles et sont sources d'acides gras essentiels.

4.1.2. Propriétés physiques

Solubilité

Les triacylglycérols sont hydrophobes. Le stockage de cette graisse dans les vacuoles lipidiques adipocytaires se fait par conséquent avec efficacité. En effet le volume est ainsi occupé exclusivement par les triacylglycérols. Les molécules d'eau en seront exclues².

² Contrairement au stockage du glycogène dans le foie et les muscles. Le glycogène étant hydrophile, il va naturellement attirer les molécules d'eau. Ainsi le volume de stockage sera partiellement occupé par de l'eau.

Point de fusion

Dépend de la nature des résidus « Acyls ». Les graisses animales sont plus riches en acides gras saturés et sont donc solides à température ordinaire.

4.1.3. Propriétés chimiques

Hydrolyse

Dans un tube à essai (in vitro), l'hydrolyse alcaline (saponification) permet de séparer le glycéride en glycérol et en sel d'acides gras (savon).

Dans l'organisme (in vivo), l'hydrolyse des graisses est catalysée par des « lipases ». Cette réaction libère des acides gras et du glycérol ou des mono- ou di-acyl-glycérols.

Oxydation, peroxydation

Ces réactions dépendent de la nature des résidus Acyls qui participent à la structure des triacylglycérols.

4.2. Les glycérophospholipides

On les appelle également « **Phosphatides** ». On les trouve en concentrations importantes dans les membranes cellulaires et sub-cellulaires.

Les acides phosphatidiques (phosphatidates), forme la plus simple des phosphatides, résultent de l'estérification du glycérol par deux acides gras et par l'acide phosphorique. Les acides phosphatidiques jouent un rôle important dans la biosynthèse des glycérophospholipides et des triacylglycérols.

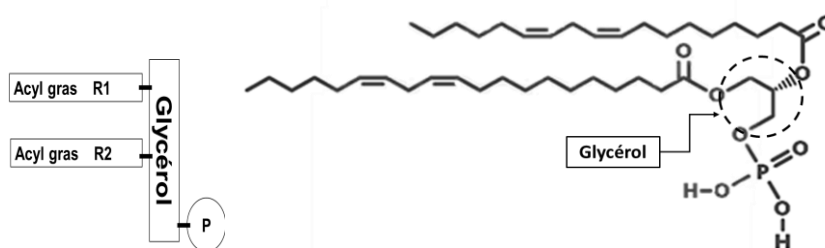


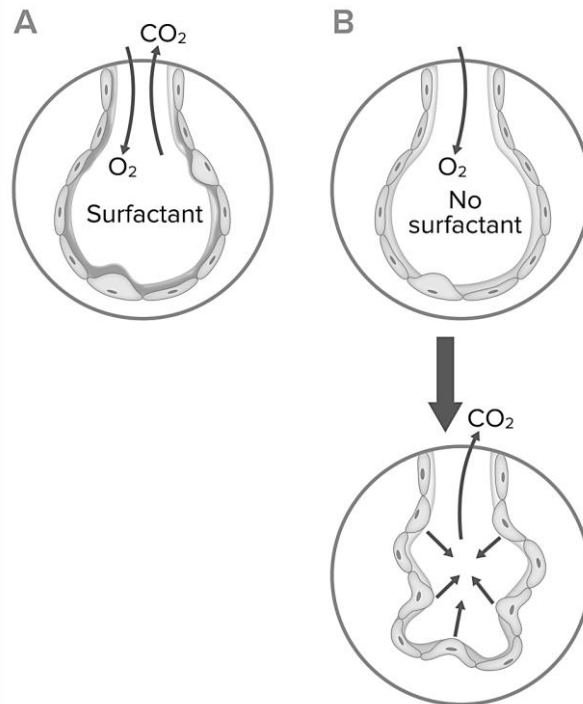
Figure 9 : Structure schématique de l'acide phosphatidique

L'acide phosphorique peut être estérifié à son tour avec le groupement hydroxyle d'un aminoalcool (choline, éthanolamine ou sérine) ou d'un sucre alcool (myo- inositol).

Les phosphatidyl-cholines (lécithines) sont les phospholipides les plus abondants de la membrane cellulaire. La dipalmitoyl-lécithine, est un agent tensioactif très efficace. C'est un constituant majeur du surfactant qui empêche l'adhérence des surfaces internes des alvéoles pulmonaires.

Corrélation clinique 1 : Le syndrome de détresse respiratoire chez le nouveau-né ou Maladie des membranes hyalines :

Le syndrome de détresse respiratoire est un trouble respiratoire des nouveau-nés prématurés qui empêche l'ouverture correcte des alvéoles des poumons. Ce syndrome est dû à l'absence ou à une production insuffisante de surfactant (essentiellement du dipalmitoyl-lécithine) qui tapisse la paroi alvéolaire.



En absence de surfactant à leur surface interne (B), les alvéoles pulmonaires vont collaber à l'expiration

Source : <https://www.lecturio.com/concepts/neonatal-respiratory-distress-syndrome/>

Les phosphatidyl-éthanolamines (céphaline) portent une éthanolamine au lieu d'une choline.

Les phosphatidyl-inositols contiennent le myo-inositol, un polyalcool cyclique. Un dérivé phosphorylé de ce glycérophospholipide, le phospho-inositol-4,5-bisphosphate est un composant particulier des membranes et peut donner naissance par hydrolyse enzymatique à

deux seconds messagers, le diacylglycérol (DAG) et l'inositol-1,4,5-triphosphate.

Les **lyso-phospholipides** sont des phospho-acyl-glycérols contenant un seul radical acyle (exemple : lysolécithine).

Lorsque deux résidus phosphatidyl sont reliés à un glycérol, on aboutit à la **cardiolipine**. Ce lipide est exclusivement retrouvé dans les membranes internes des mitochondries.

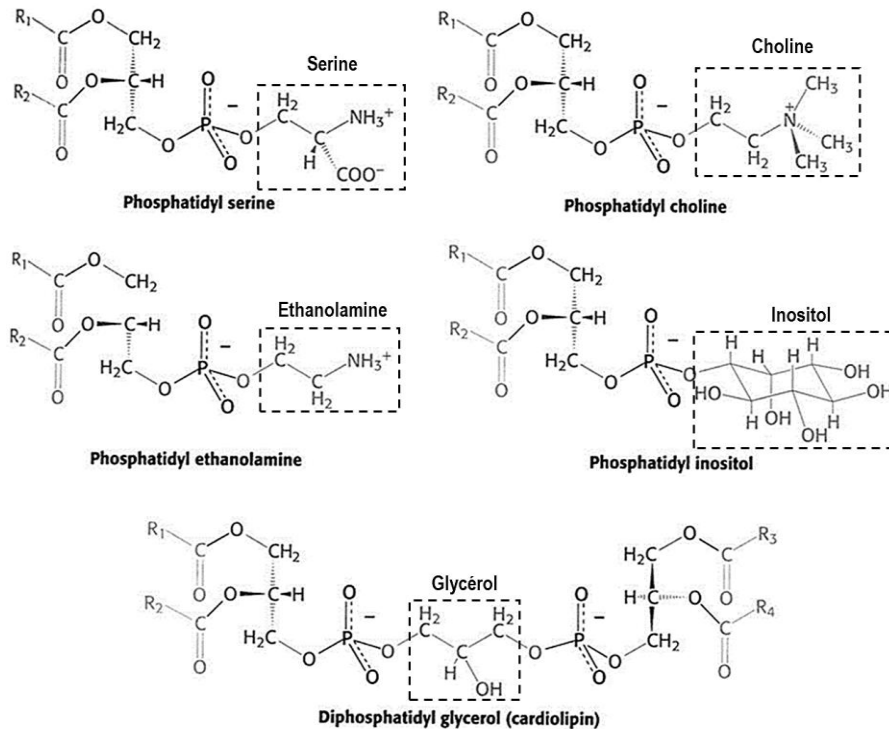


Figure 10 : Exemples de phosphatides

La molécule de phosphatide possède deux pôles. Un pôle hydrophobe correspondant aux résidus acyl et un pôle hydrophile, correspondant au groupement phosphorique et à l'alcool aminé ou le sucre alcool. Ces molécules de phosphatides ont tendance à former des doubles couches stables (membranes).

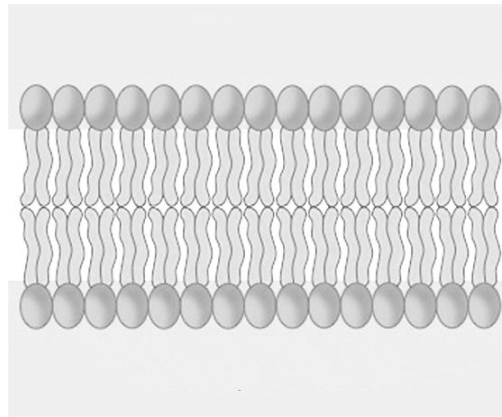


Figure 11 : Organisation des phosphatides en bicouche (membrane)

La présence d'insaturations « cis » au niveau des chaînes d'acyles provoque des coudures. Le phosphatide en question prendra plus de place. Par conséquent, une membrane riche en acyls-gras poly-insaturés sera plus relâchée et donc plus fluide

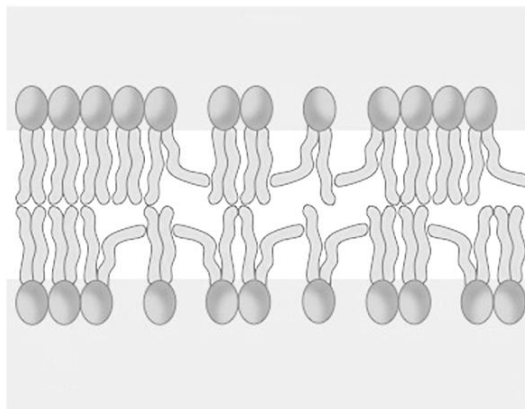


Figure 12 : la richesse des phosphatides membranaires en acyls gras polyinsaturés sera responsable de plus de fluidité

Dans l'organisme (in vivo), l'hydrolyse des glycérophospholipides est catalysée par des « Phospho-lipases ». On en distingue quatre types :

- a. **Les phospholipases A1** : détachent l'acide gras en position sn-1 des glycérophospholipides,
- b. **Les phospholipases A2** : détachent l'acide gras en position sn-2.

Dans les deux cas on obtient un lysophospholipide

- c. **Les phospholipases C** : hydrolysent la liaison ester entre l'acide phosphorique et le glycérol libérant ainsi la base azotée phosphorylée ou le sucre-alcool phosphorylé et un diglycéride,

- d. **Les phospholipases D :** scindent la liaison ester entre la base azotée ou le sucre-alcool et l'acide phosphorique. Elles libèrent ainsi l'acide phosphatidique.

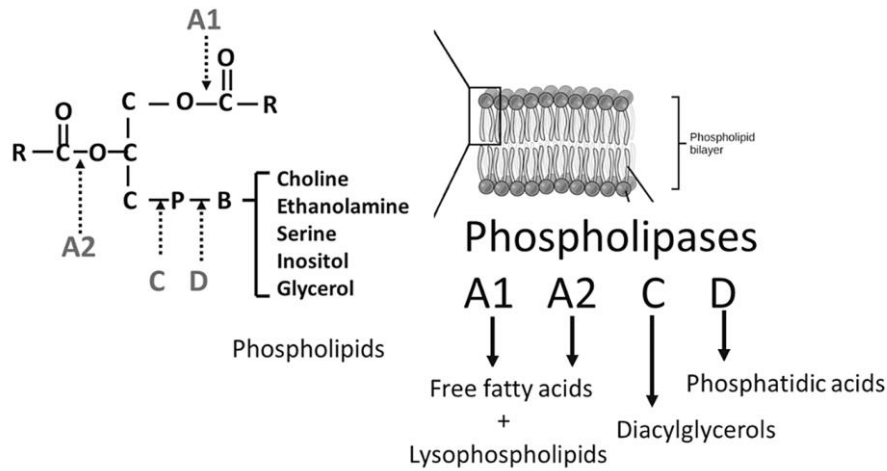


Figure 13 : Actions des Phospholipases

Source : Sun G.Y. et al. Dynamic Role of Phospholipases A2 in Health and Diseases in the Central Nervous System. Cells 2021, 10(11), 2963

5. Les sphingolipides

Dans cette famille de lipides, la sphingosine, un amino-alcool à longue chaîne, constituera la charpente de l'édifice.

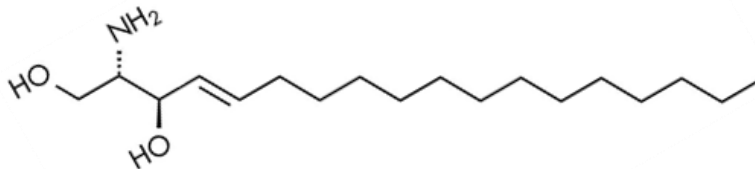


Figure 14 : Structure schématique de la Sphingosine

La sphingosine se lie à un acide gras par sa fonction amine (liaison amide) formant un « **Céramide** ». Cette entité Céramide sera présente chez tous les membres de cette famille de sphingolipides.

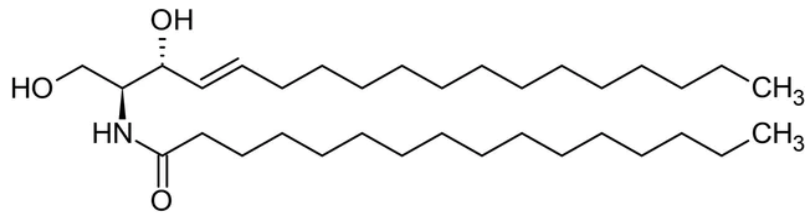


Figure 15 : Un exemple de Céramide : le palmitoyl céramide

5.1. Sphingomyélines

Ce sont des sphingolipides contenant du phosphate. La fonction alcool primaire de la sphingosine est estérifiée par un résidu phosphorique, lequel est relié à une choline. Les sphingomyélines existent en quantités importantes dans les gaines de « myéline » des neurones.

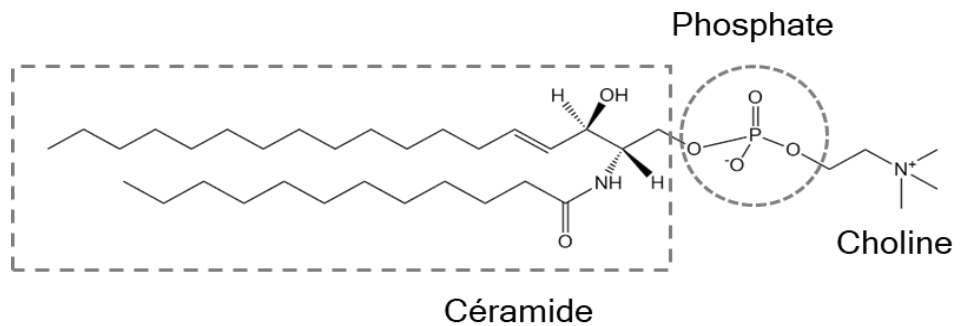


Figure 16 : Un exemple de Sphingomyéline

5.2. Cérébrosides

Ce sont des sphingolipides dépourvus de phosphate, par contre, on y trouve du galactose ou parfois du glucose. Dans la maladie de « Gaucher », des cérébrosides s'accumulent dans les tissus.

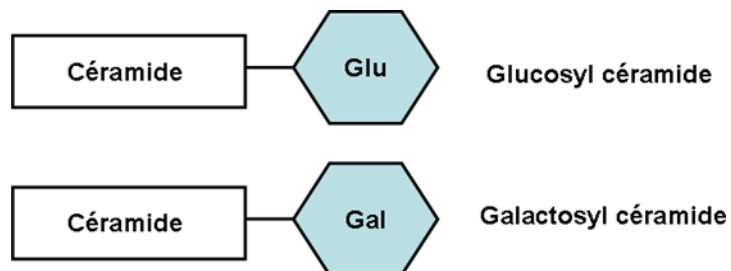


Figure 17 : Représentation schématique de Cérébrosides

5.3. Gangliosides

Ils sont également dépourvus de phosphate. La partie glycanique attachée à l'alcool primaire de la sphingosine est encore plus complexe. Cette séquence peut contenir le glucose, le galactose, l'acide sialique et la N-acétyl-galactosamine.

Ces gangliosides sont répandus dans le tissu nerveux. On les trouve aussi à la surface externe des membranes plasmiques. Ils peuvent y jouer le rôle de récepteur.

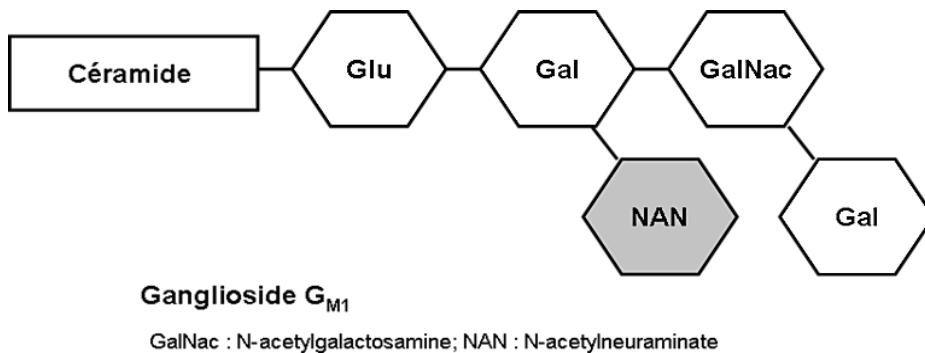


Figure 18 : Exemple de Ganglioside

6. Les lipides poly-isopréniques

Les isoprénoïdes dérivent d'un élément de base commun, l'isoprène, un composé méthylé et ramifié à cinq atomes de carbones.

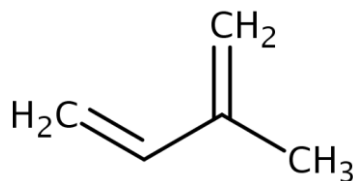


Figure 19 : Structure d'une unité « Isoprène »

La polymérisation de cet élément de base fournira, dans le règne végétal ou animal différents dérivés linéaires ou cycliques.

Pour pouvoir être associée en oligomères ou polymères, les unités « Isoprène » doivent au préalable être activées. L'isopentényl-diphosphate représente cette forme « activée de l'isoprène ».

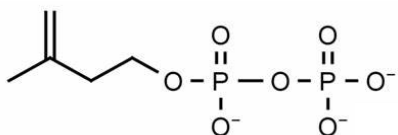


Figure 20 : Structure de l'isopentenyl-diphosphate (isoprène activé)

Chez l'Homme, cet isoprène activé est obtenu par décarboxylation d'un précurseur : le **Mévalonate**³ dans sa forme phosphorylée.

Dans cette famille nous étudierons, essentiellement, les stérols et stéroïdes, les caroténoïdes, et les quinones à chaînes isopréniques.

6.1. Stérols et stéroïdes humains

Leur chef de file est le cholestérol. Cette structure nécessitera pour sa biosynthèse 6 unités « Isoprène ».

A partir de cette molécule « fondatrice » qui est le cholestérol, et moyennant différentes transformations, nous obtenons les autres dérivés « Stéroïdes »

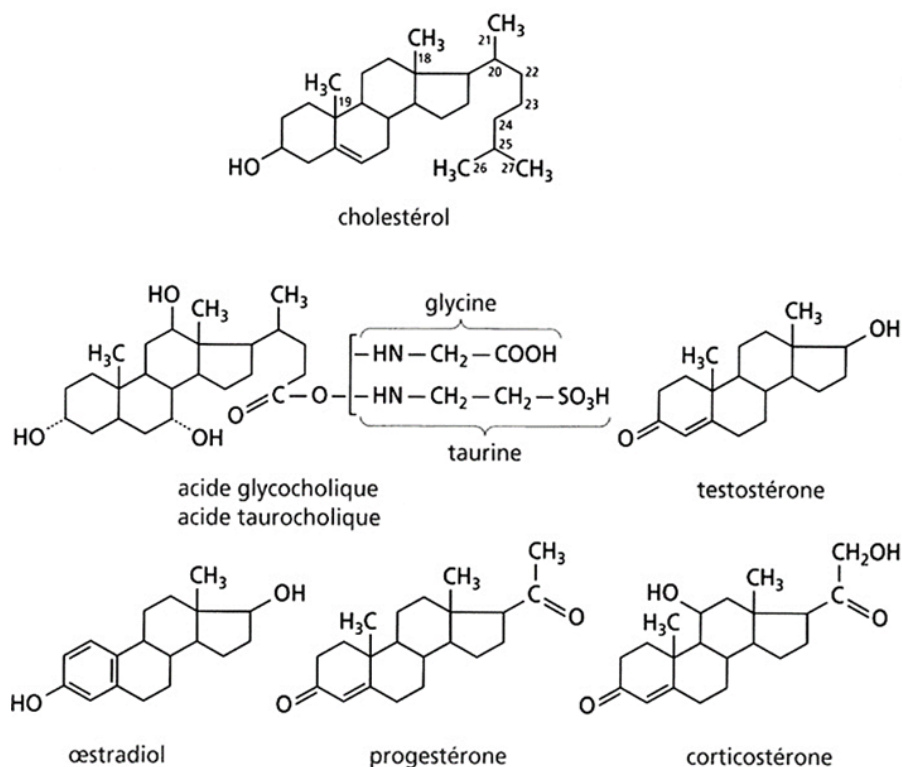


Figure 21 : Exemples de Stéroïdes chez l'Homme

³ Les étapes de cette transformation seront abordées avec la biosynthèse du cholestérol

La caractéristique commune des stéroïdes est le noyau stéroïde composé de quatre cycles saturés (cyclo-pentano-phénanthrène) baptisé « stérane ».

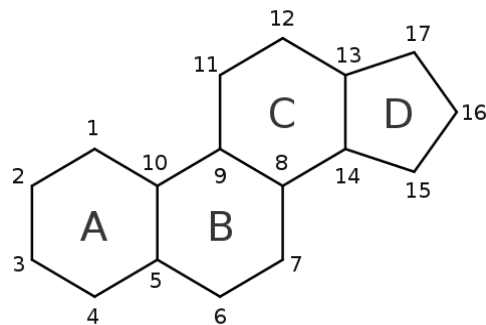


Figure 22 : Noyau stéroïde

6.2. Les quinones isopréniques

Les quinones isopréniques sont des composés liés à la membrane que l'on trouve dans presque tous les organismes vivants.

Les quinones isopréniques sont composées d'un groupe de tête polaire et d'une chaîne latérale hydrophobe.

Cette chaîne latérale apolaire confère aux molécules un caractère liposoluble et les ancre dans des bicouches lipidiques membranaires.

Les quinones isopréniques fonctionnent principalement comme transporteurs d'électrons et de protons dans les chaînes de transport d'électrons photosynthétiques et respiratoires et ces composés présentent également des fonctions supplémentaires, telles que la fonction antioxydante.

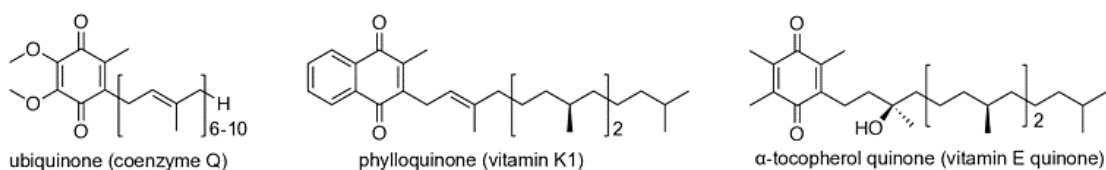


Figure 23 : Exemples de Quinones isopréniques

6.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un groupe diversifié d'isoprénoïdes présents dans les plantes, les animaux, les algues, les champignons et les bactéries.

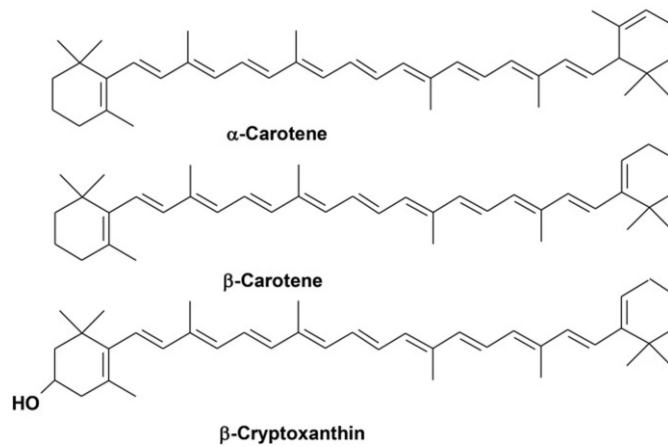


Figure 24 : Exemples de Caroténoïdes

Les animaux peuvent convertir les caroténoïdes alimentaires, tels que α-Carotène, β-Carotène et β-Cryptoxanthine, en vitamine A : le Rétinol. La vitamine A est le précurseur du rétinol 11-cis, le chromophore qui se lie de manière covalente à la protéine opsine pour former de la rhodopsine.

La rhodopsine est une molécule importante pour la vision. Dans les bâtonnets de la rétine elle permet de détecter le contraste clair/foncé et dans les cônes elle permet de détecter les couleurs.

Le Rétinol peut également être transformé en Acide Rétinoïque. Cette molécule est importante dans la régulation de l'expression génique et la différenciation tissulaire

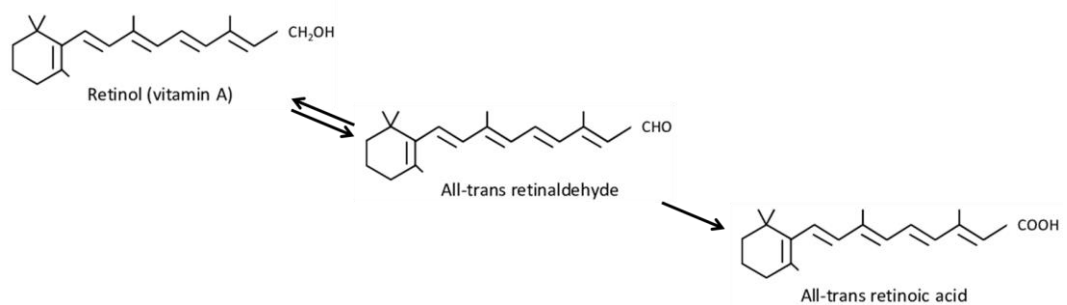


Figure 25 : Transformation du Rétinol en Acide Rétinoïque

7. Les vitamines liposolubles

Les vitamines sont des composés organiques nécessaires à la vie de l'organisme humain. Des quantités faibles en vitamines sont généralement suffisantes.

Selon leur solubilité, on distingue les vitamines liposolubles et les vitamines hydrosolubles. Les vitamines liposolubles sont les vitamines A, D, E et K.

La vitamine A ou rétinol est un dérivé de caroténoïdes

Les vitamines E et K sont des quinones isopréniques.

La vitamine D est un dérivé du cholestérol. Elle est rattachée à la famille des stéroïdes bien qu'elle présente une ouverture de son cycle B

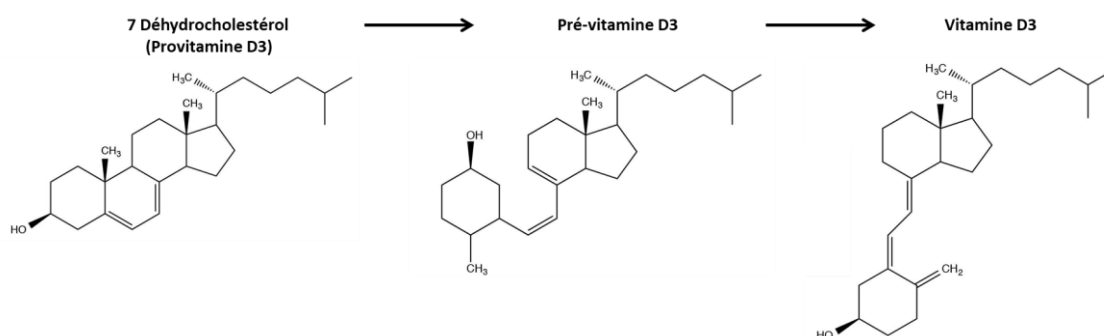


Figure
26 : Biosynthèse de la vitamine D3

Ainsi, il est possible de constater que toutes les vitamines dites liposolubles font partie des lipides isopréniques

8. Les lipides des membranes biologiques

Les membranes biologiques sont essentiellement composées de lipides et de protéines. Les lipides membranaires s'organisent habituellement en bicouche (figures 11 et 12). A l'image des glycérophospholipides (§ 4.2), toute structure lipidique à caractère « amphiphile⁴ » aura la possibilité d'occuper une place au niveau des membranes. Toutefois, les lipides membranaires sont essentiellement représentés par les glycérophospholipides, les sphingolipides et le cholestérol (la forme non estérifiée).

Ces différents lipides membranaires ne sont pas distribués de manière uniforme au sein des différentes membranes. Il existe d'une part une

⁴ Amphiphile : une espèce chimique qui possède à la fois un groupe hydrophile et un groupe hydrophobe

hétérogénéité de composition entre les membranes plasmiques en fonction des tissus et d'autre part, entre la composition des membranes cellulaires et subcellulaires pour un même tissu.

Organelle membrane lipid composition by weight percent of rat liver cells					
lipid	membrane				
	plasma membrane	microsome	inner mitochondria	outer mitochondria	nuclear
cholesterol	28.0	6.0	<1.0	6.0	5.1
phosphatidylcholine	31.0	55.20	37.9	42.70	58.30
sphingomyelin	16.6	3.7	00.8	4.1	3.0
phosphatidylethanolamine	14.3	24.00	38.3	28.60	21.50
phosphatidylserine	02.7	—	<1.0	<1.00	3.4
phosphatidylinositol	04.7	7.7	02.0	7.9	8.2
phosphatidic acid and cardiolipin	01.4	1.5	20.4	8.9	<1.00
lysophosphatidylcholine	01.3	1.9	00.6	1.7	1.4

Source: From Thomas E. Andreoli et al., *Membrane Physiology*, 2nd ed. (1987), Table II, chapter 27.

De plus il existe une asymétrie de composition entre la monocouche externe et la monocouche interne.

Ces hétérogénéités soulignent l'implication de ces lipides dans les propriétés physiques et fonctionnelles des membranes.

Structure des glucides

Dr Khansa CHAABOUNI

Objectifs

1. Analyser la structure des 2 trioses précurseurs, du glucose, du galactose, du mannose, du ribose, et du fructose
2. Reconnaître les propriétés du glucose, du galactose, du mannose, du ribose, et du fructose
3. Expliquer les différences entre 2 oses épimères, énantiomères, et anomères
4. Expliquer l'interconversion des oses
5. Reconnaître les structures et les principales propriétés des dérivés suivants : acide glucuronique, vitamine C, désoxyribose, polyols, osamines, acide sialique
6. Connaître les caractéristiques de la liaison osidique
7. Analyser la structure et les propriétés des
 - Diholosides : lactose, maltose, isomaltose, saccharose
 - Polyosides : amidon, glycogène, cellulose
 - Hétéropolyoside : inuline
9. Analyser les propriétés des principales glycosaminoglycannes
10. Décrire la structure des hétérosides et donner des exemples
11. Différencier les glycoconjugués et donner des exemples
14. Différencier par des exemples les glucides contenus dans les aliments

1. Introduction

Les glucides (saccharides) sont des composés organiques universellement répandus dans la matière vivante. Ils représentent environ 5% du poids sec des animaux et 70% du poids sec des végétaux.

Chimiquement un glucide se définit comme un aldéhyde ou une cétone d'un polyalcool de formule brute $C_n(H_2O)_n$. On les appelle ainsi hydrates de carbone.

2. Importance Biomédicale

- Rôle structural comme éléments de soutien (membrane cellulaire), éléments de protection (carapace des arthropodes), ou constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines, ...
- Rôle énergétique puisque 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des glucides.

- Rôle métabolique

Transformation en d'autres molécules d'intérêt biologique (glucidique ou non)

- Reconnaissance et de communication intercellulaires

La place du glucose

Principal carburant des tissus

- Seul carburant du fœtus
- Rôle fondamental car tous les glucides alimentaires sont absorbés sous forme de glucose ou convertis en glucose dans le foie.
- Tous les glucides sont synthétisés à partir du glucose dans l'organisme.

3. Classification

On distingue les oses (monosaccharides qui sont formés d'une seule unité) et les osides (formés de plusieurs unités par condensation de deux ou plusieurs molécules d'oses ou dérivés d'oses).

3.1. Les critères de classification des oses

Ces critères font appel au nombre d'atomes de carbone de l'ose ($3 \leq n \leq 9$) et la nature de la fonction carbonyle (aldéhyde ou cétone) : aldopentose, cétohexose, ...

Il s'ensuit plusieurs types d'isomères, dont le plan d'étude est le suivant

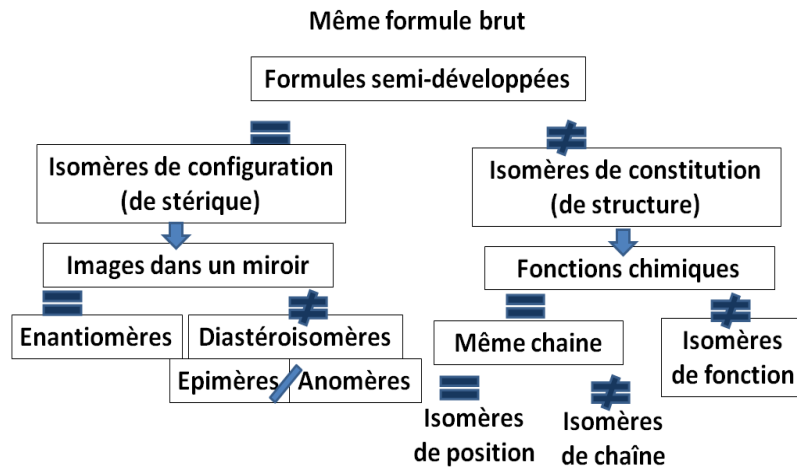


Figure 1 : Plan d'étude de l'isomérisation

3.2. Les critères de classification des osides

Les osides sont des molécules dont l'hydrolyse fournit 2 ou plusieurs molécules qui peuvent être :

- Des oses (Holosides) : di-, tri- ; tétra-, ... oligo- (< 10), poly-osides (> 10)
- Des composés différents (Hétérosides) : oses + aglycone

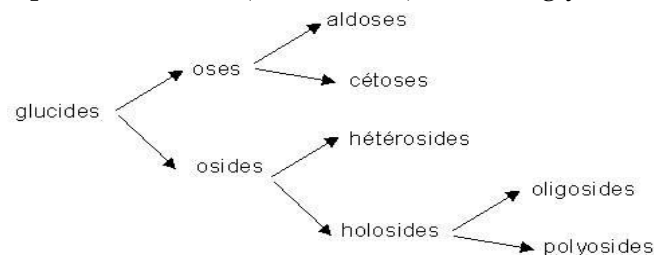


Figure 2 : Classification des glucides

4. Méthodes d'analyse des glucides

Le dosage des oses (particulièrement le glucose) revêt une grande importance en clinique car les altérations du métabolisme glucidique sont non seulement fréquentes mais aussi potentiellement dangereuses (en particulier au cours du diabète sucré). Le principe de base des différentes méthodes est de transformer le glucose invisible par des enzymes spécifiques, puis de quantifier les produits obtenus colorés. La quantité de produit est proportionnelle à celle du glucose.

Le fractionnement d'un extrait glucidique est aussi possible, mais reste toujours difficile et délicat. Il est réalisable par des méthodes chromatographiques ou électrophorétiques.

Oses

1. Structure linéaire & configuration

La formule linéaire des oses est représentée de telle manière que la numération soit croissante de haut en bas, en choisissant le sens qui donne au carbone le plus oxydé l'indice le plus faible.

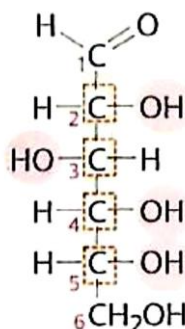


Figure 3 : Représentation de Fisher du glucose [Koolman J.]

Tous les oses dérivent de deux trioses : glycéraldéhyde et dihydroxy acétone. Ces deux trioses ont la même formule brute ($C_3H_6O_3$) mais des formules développées différentes : isomères de constitution.

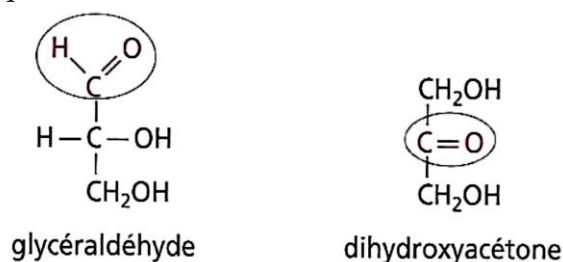


Figure 4 : Les précurseurs des oses [Weil J.H.]

L'examen de ces trioses montre que tous les atomes de carbone portent un groupement hydroxyle, sauf un. Ce carbone « exception » porte soit un groupement aldéhydique (C1) soit cétonique (C2). Ainsi le glycéraldéhyde est un aldotriose alors que le dihydroxyacétone est un cétotriose.

La configuration D ou L des oses est définie par rapport au carbone C_{n-1} . Cependant, c'est l'ensemble des carbones asymétriques d'une molécule donnée qui lui confère son pouvoir rotatoire + ou -.

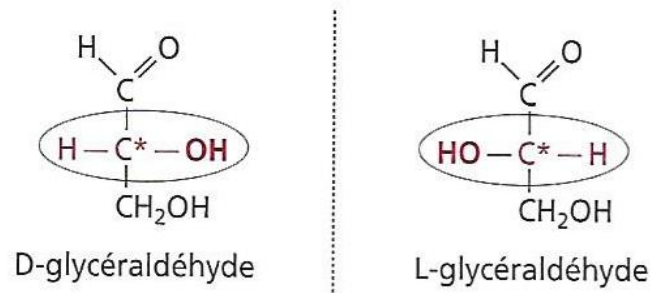
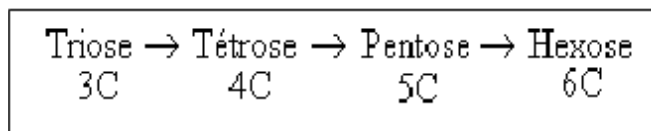


Figure 5 : Configurations D et L du glycéraldéhyde [Weil H.J.]

2. Filiation des oses

A partir du CO₂ les plantes synthétisent les deux trioses : glycéraldéhyde et dihydroxyacétone. De ces trioses dérivent le reste des glucides.



La filiation chimique des oses se fait par addition juste en dessous du carbone portant la fonction carbonyle, d'un nouvel atome de carbone porteur d'un groupement hydroxyle et d'un atome d'hydrogène. Ce nouveau carbone représente un nouveau centre d'asymétrie (carbone chiral) créant ainsi un nouveau couple de stéréoisomères. D'où deux épimères : oses qui ne diffèrent que par la configuration spatiale d'un seul atome de carbone asymétrique.

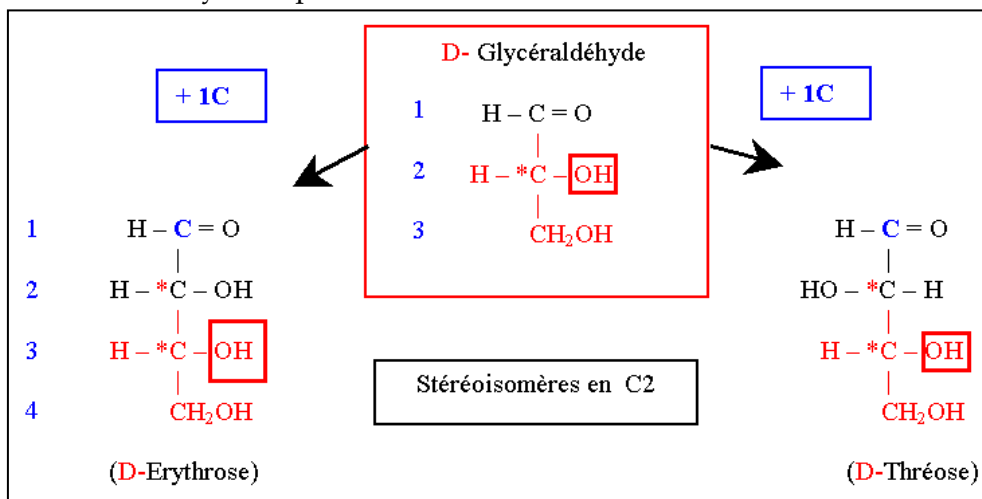


Figure 6 : Synthèse de Kiliani-Fisher [Touitou Y.]

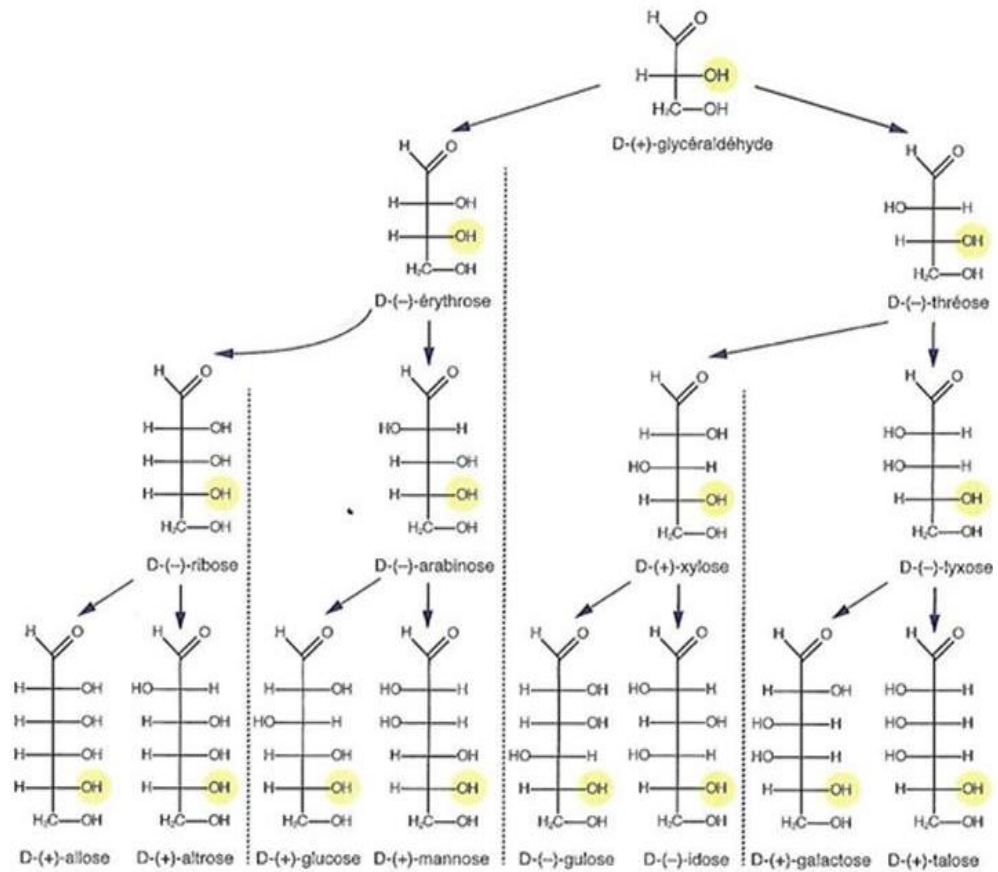


Figure 7 : Filiation des aldoses [Coumoul X.]

Dans le cas des cétooses le triose est la dihydroxyacétone. Il n'y a qu'un seul cétoose de la série D à 4 carbones c'est le D-érythrulose d'où dérivent 2 cétopentoses 4 cétohexoses 8 cétohéptoses.

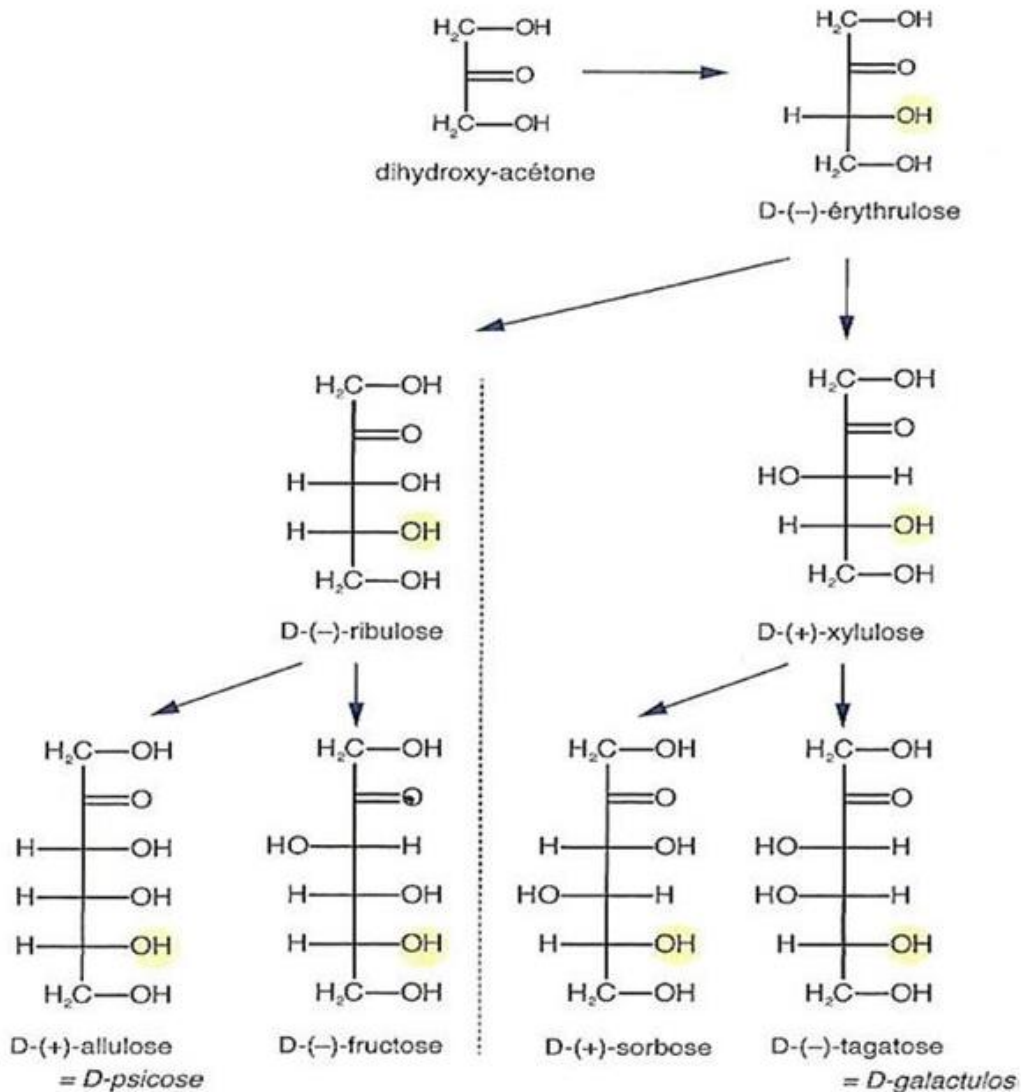


Figure 8 : Filiation des cétooses [Coumoul X.]

1. Structure cyclique

Les oses existent exceptionnellement sous forme linéaire déjà décrite. Pour des raisons énergétiques, ils adoptent une forme cyclique dans laquelle une des extrémités de la molécule a réagi avec l'autre. Il s'ensuit une cyclisation intra-moléculaire :

Pour le glucose : le groupement aldéhydique réagit avec un groupement hydroxyle situé à l'autre extrémité de la molécule : C5. Le glucose se présentera alors sous forme d'un cycle à 6 atomes : 5 carbones et 1 oxygène => pyranose.

Partie 3 : Lipides, Glucides et Acides Nucléiques

Pour le fructose : le groupement cétonique réagit avec un groupement hydroxyle situé à l'autre extrémité de la molécule : C5. Le fructose se présentera alors sous forme d'un cycle à 5 atomes : 4 carbones et 1 oxygène => furanose.

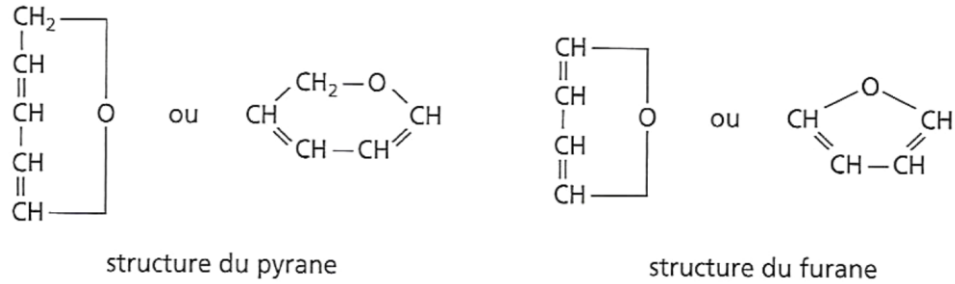


Figure 9 : Structure du pyrane et furane [Weil H.J.]

Dans le cycle, les groupements fonctionnels qui se trouvaient à droite dans la forme linéaire (représentation de Fischer) se trouvent en bas (représentation de Haworth) et ceux qui étaient à gauche se trouvent en haut.

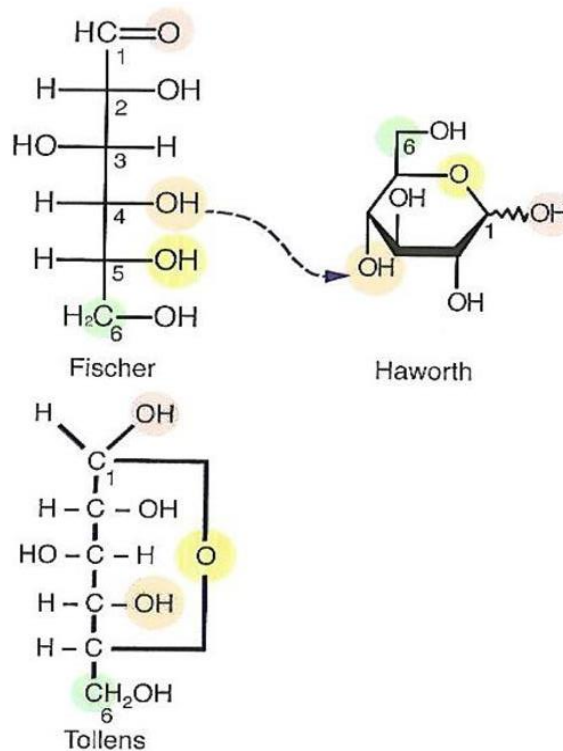
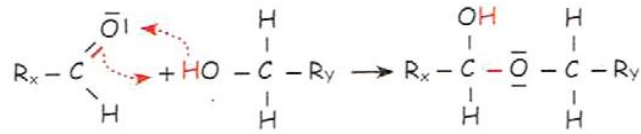


Figure 10 : Représentation de Fischer, de Tollens et de Haworth du D glucopyranose [Coumoul X.]

Cette réaction entre l'aldéhyde et le groupement hydroxyle conduit à l'apparition d'une fonction hémi-acétal (pour les aldoses) et hémi-kétal (pour les cétooses : réaction entre la fonction cétone et le groupement

hydroxyle). Ces fonctions sont relativement instables avec une tendance à la formation d'un acétal ou un kétal intégral plus stable en réagissant avec un groupement hydroxyle et départ d'une molécule d'eau.



R = résidu carboné

Figure 11 : Formation d'un héli-acétal au niveau du carbone anomérique [Horn F.]

Anomérisation : la cyclisation fait apparaître un nouveau carbone asymétrique C1 pour les aldoses et C2 pour les cétooses. Il s'ensuit deux isomères différents :

- **alpha** : l'hydroxyle porté par le carbone anomérique est de l'autre côté du carbone terminal par rapport au plan du cycle => en bas
- **beta** : l'hydroxyle porté par le carbone anomérique est du même côté du carbone terminal par rapport au plan du cycle => en haut

Les anomères se transforment l'un dans l'autre en solution aqueuse (situation qui se présente dans le corps humain) de façon spontanée et toujours en passant par la forme linéaire. Cette interconversion s'appelle mutarotation à l'état d'équilibre ; la forme beta représente ≈ 66% du glucose avec moins de 1% de forme linéaire, le reste est sous forme alpha.

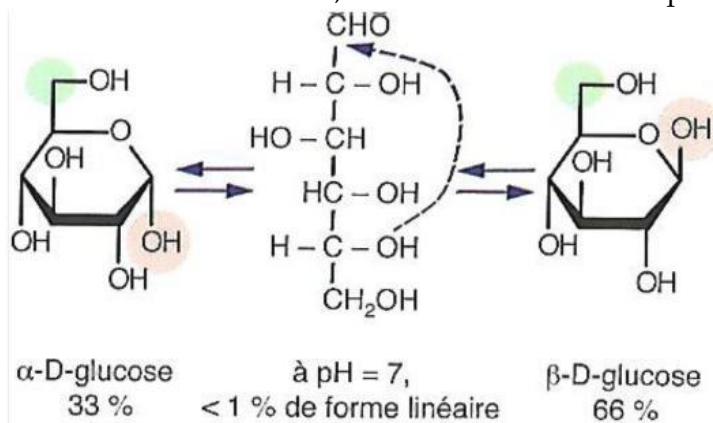


Figure 12 : alpha et betaD- glucopyrannose [Coumoul X.]

2. Nomenclature des oses

La nomenclature de l' α D- glucopyranose est en rapport avec :

- α : est en rapport avec la position du groupement OH du carbone 1 : en bas du plan.
- D : est en rapport avec la position du groupement OH du carbone 5 : pris dans le pont oxydique avec le carbone 1.
- **Glucose** : indique la longueur de la chaîne et est en rapport avec les positions des groupements OH des carbones 2,3 et 4.
- **Pyran** : le cycle comprend 5 atomes de carbone et 1 atome d'oxygène.
- **Ose** : il s'agit d'un vrai sucre réducteur.

Des abréviations pour les oses et leurs dérivés peuvent être utilisées.

Tableau 1 : Abréviation des principaux oses et leurs dérivés [Nelson D.L.]

Abequose	Abe	Glucuronic acid	GlcA
Arabinose	Ara	Galactosamine	GalN
Fructose	Fru	Glucosamine	GlcN
Fucose	Fuc	N-Acetylgalactosamine	GalNAc
Galactose	Gal	N-Acetylglucosamine	GlcNAc
Glucose	Glc	Iduronic acid	IdoA
Mannose	Man	Muramic acid	Mur
Rhamnose	Rha	N-Acetylmuramic acid	Mur2Ac
Ribose	Rib	N-Acetylneuraminic acid	Neu5Ac
Xylose	Xyl	(a sialic acid)	

3. Conformation spatiale

La forme cyclique représentée simplement dans un seul plan ne reflète pas exactement la réalité de la disposition des oses dans l'espace. Le cycle peut adopter diverses conformations, les deux principales sont la forme chaise et la forme bateau. La première est largement prédominante du fait de sa plus grande stabilité.

Les substituants qui sont verticaux pour l'observateurs sont appelés axiaux, les autres sont équatoriaux.



Figure 13 : Formes bateau et chaise du glucopyranose [Weil H.J.]

4. Exemples d'oses simples

4.1. Glucose

Le glucose est très répandu dans la nature. Il représente le principal carburant de notre organisme et le seul carburant du fœtus. Il est stocké sous forme polymérisée : glycogène, amidon. Il est la forme d'absorption de certains glucides alimentaires. D'autres oses doivent être convertis en glucose dans le foie pour pouvoir être utilisés.

4.2. Fructose

Le fructose est retrouvé surtout dans les fruits (fructus en latin). Son pouvoir rotatoire est lévogyre => nommé Lévulose. Il participe au mouvement des spermatozoïdes.

4.3. Ribose

Le ribose intervient dans la structure des acides nucléiques et des coenzymes : nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), adénosine triphosphate (ATP)

Sa forme biologique est furanique (1 - 4) : pentose

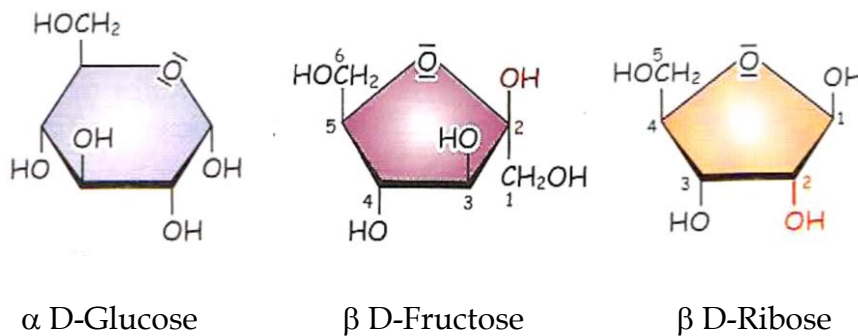


Figure 14 : Principaux oses simples [Horn F.]

4.4. Galactose

Le galactose intervient dans la composition du sucre du lait (lactose), et dans la structure de certains glycolipides et glycoprotéines.

4.5. Mannose

Le mannose est présent surtout dans les végétaux. C'est un constituant des glycoprotéines chez l'homme.

1. Propriétés Chimiques

1.1. Réactions de caramélisation

Par chauffage en milieu acide, il y a déshydratation interne avec cyclisation. On obtient des composés furfuralique.

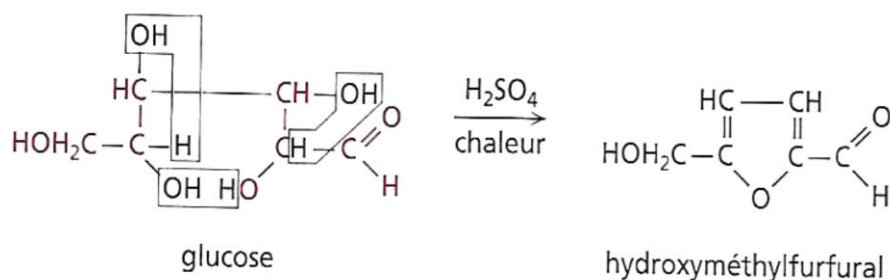


Figure 15 : Formation de l'hydroxyméthyl-furfural à partir du glucose [Rama Rao A.V.S.S.]

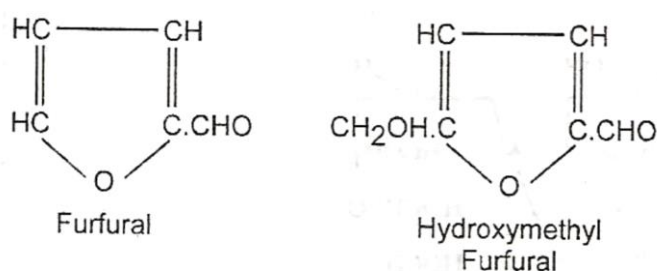


Figure 16 : Furfural et Hydroxyméthyl-furfural [Rama Rao A.V.S.S.]

Ces dérivés de type furfural ont la propriété de se condenser avec des phénols, des amines cycliques ou des hétérocycles azotés pour donner naissance à des matières colorantes, ces colorations peuvent servir, si elles sont suffisamment stables au dosage de l'ose.

Parmi les composés les plus employés, on peut citer :

- l' α - naphthol (réaction de Molish), coloration rouge violacé

1.2. Réactions en milieu alcalin

Les oses donnent à froid, en milieu alcalin soit une interconversion soit une épimérisation exemple (glucose $\rightleftharpoons$ galactose).

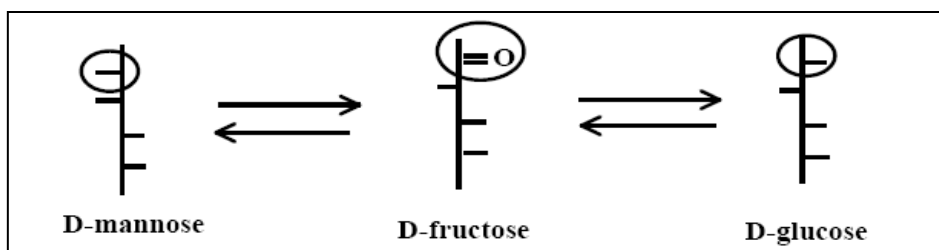


Figure 17 : Interconversion des oses

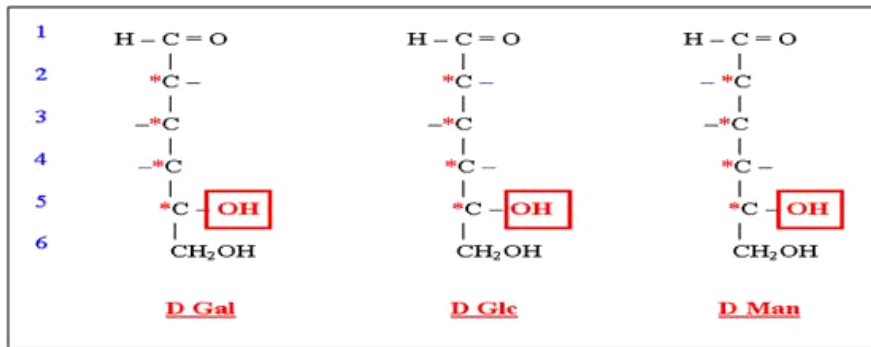


Figure 18 : Epimérisation des oses [Touitou Y.]

1.3. Réduction des oses

La réduction des oses donne des polyalcools (=polyols = aldotols). Ces molécules ne sont plus cyclisables. La réduction peut se faire par voie chimique ou enzymatique. Ces réductions ne sont pas réversibles par voie chimique, mais elles le sont par voie enzymatique. En partant d'un aldose, on obtient un isomère unique. Exemple : pour le D- Glucose on obtient le sorbitol. En partant d'un cétose, on a deux isomères possibles : pour le fructose on peut obtenir le sorbitol ou le mannitol.

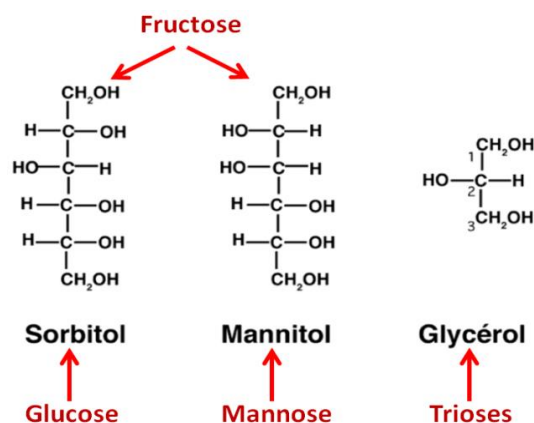


Figure 19 : Réduction des aldoses

1.4. Estérification des oses

La réaction d'estérification majoritaire est la phosphorylation au niveau d'un alcool primaire d'un ose. Ces oses phosphorylés sont des intermédiaires métabolique : glucose-6-P, fructose-1,6-biP, ribose-5P, ...)

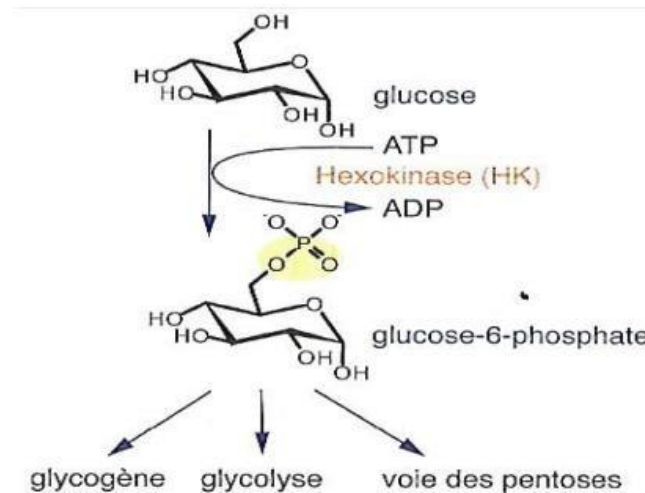


Figure 20 : Estérification du glucose en C6 [Coumoul X.]

1.5. Fermentation

La fermentation par des levures ou des bactéries produit à partir des glucides du dioxyde de carbone, de l'alcool et/ou de l'acide.

1.6. Réaction de Maillard

C'est une réaction de glycation non enzymatique qui comporte plusieurs étapes. Dans un premier temps, la condensation de la fonction hémi-acétal (ou hémi-kétal) avec un groupement aminé libre d'une protéine qui conduit à la formation d'une base de Schiff (aldimine) labile. Cette réaction est rapide et réversible.

Dans un second temps, la base de Schiff subit un réarrangement pour former une liaison cétoamine (fructosamine) stable.

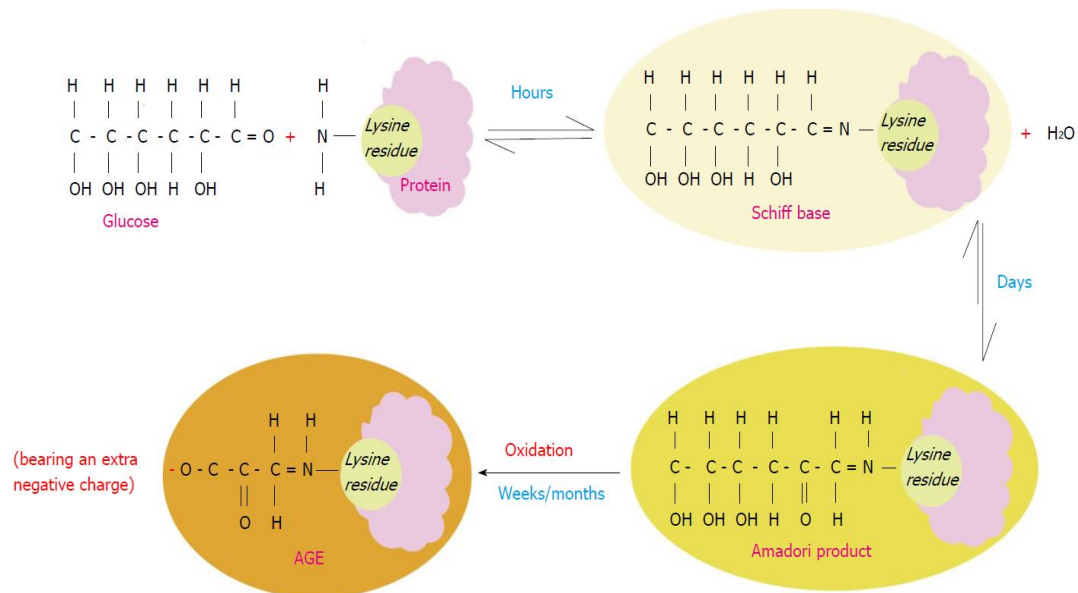


Figure 21 : Etapes de la glycation [Hegab Z 2012]

2. Dérivés des oses

2.1. Dérivés aminés = osamines

Ces dérivés sont obtenus par transamination d'une fonction alcool d'un ose (généralement en C2) : formation d'une liaison N-glucosidique. Les plus courants sont : glucosamine, galactosamine, mannosamine. Ces molécules présentent toutes les propriétés des oses (pouvoir réducteur, cyclisation, mutarotation,...) en plus des propriétés de l'amine primaire (équilibre acido-basique, ...)

La fonction amine des osamines se trouve souvent acétylée pour donner une N-acétylglucosamine, N-acétylgalactosamine, N-acétylmannosamine. Les osamines sont des constituants des glycolipides, des glycosaminoglycanes et des glycoprotéines.

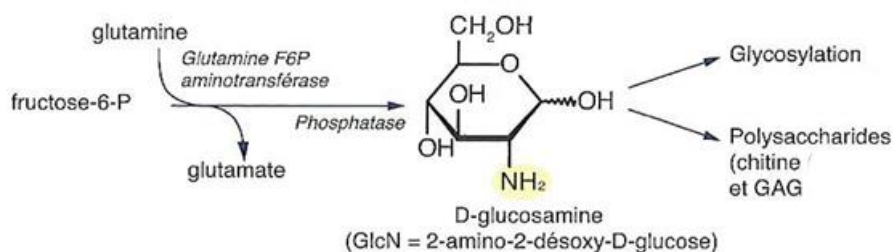


Figure 22 : Transamination du fructose (glucose) en glucosamine [Coumoul X.]

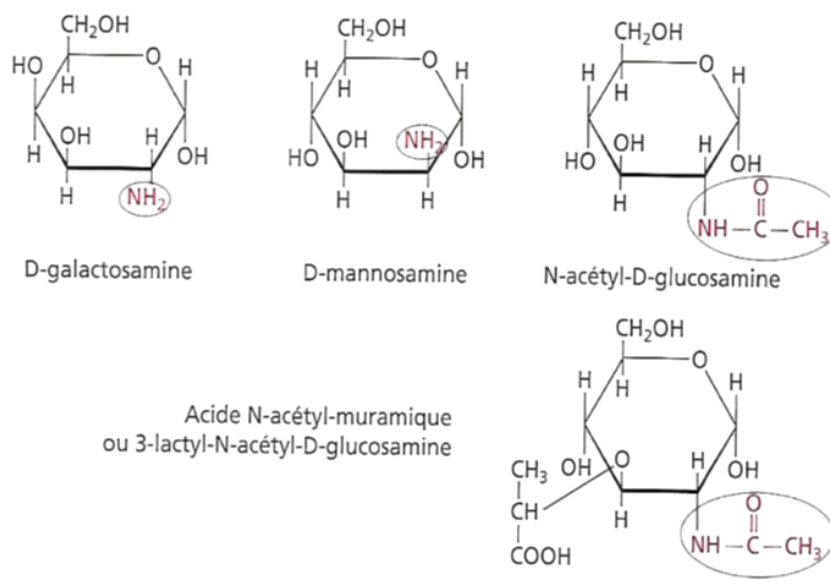


Figure 23 : Structure de quelques hexosamines [Weil H.J.]

2.2. Dérivés acides

2.2.1. Oxydation en C1 = acides aldoniques

Les oxydants doux, comme le brome ou l'iode en milieu alcalin, l'acide nitrique très dilué, oxydent la fonction aldéhydique en groupement carboxylique conduisant à la formation d'un acide aldonique. La réaction est stoechiométrique et permet le dosage spécifique des aldoses.

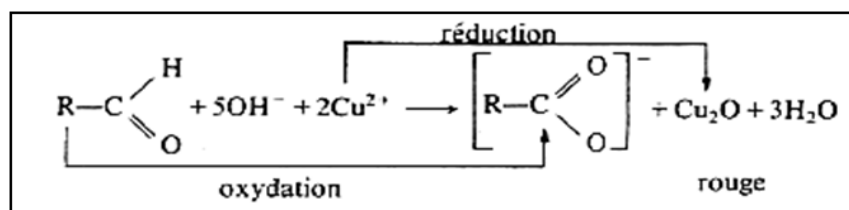


Figure 24 : Oxydation par la liqueur de Fehling

L'acide gluconique peut être obtenu aussi par l'action de la glucose oxydase. Cette réaction est couramment utilisée pour déterminer la glycémie : concentration du glucose sanguin.

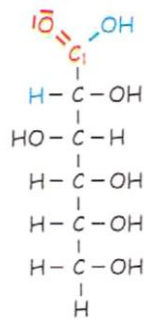
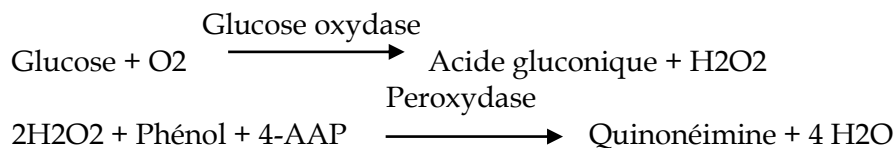


Figure 25 : Oxydation douce du glucose en acide gluconique [Horn F.]

En présence de glucose oxydase (GOD), le glucose est oxydé en acide gluconique. L'eau oxygénée, libérée au cours de la réaction, réagit sous l'action de la peroxydase (POD), avec le phénol et l' amino -4- phénazone, pour former un complexe rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.



4-AAP : Amino-4-Antipyrine

La Quinonéimine est une solution limpide colorée en rose susceptible d'un dosage colorimétrique à une valeur déterminée de λ (longueur d'onde)

2.2.2. Oxydation en Cn = acides uroniques

Si la fonction hémiacétalique est protégée pendant l'oxydation, on obtient les acides uroniques. Dans le foie le C1 est protégé par l'uridine diphosphate. L'acide glucuronique dérivé du glucose joue un rôle très important dans les voies d'éliminations et de détoxifications hépatiques des substances apolaires : glucuronoconjugaison

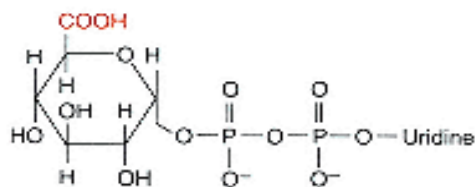


Figure 26 : acide UDP - glucuronique

2.2.3. Oxydation en C1 et Cn = acides aldariques

L'oxydation plus poussée des aldoses par l'acide nitrique, oxyde la fonction alcool primaire en même temps que la fonction carbonilique.

On obtient ainsi des diacides appelés aldariques.

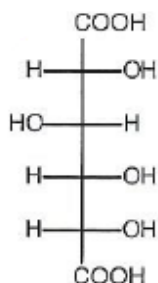


Figure 27 : oxydation poussée du glucose en acide glucarique

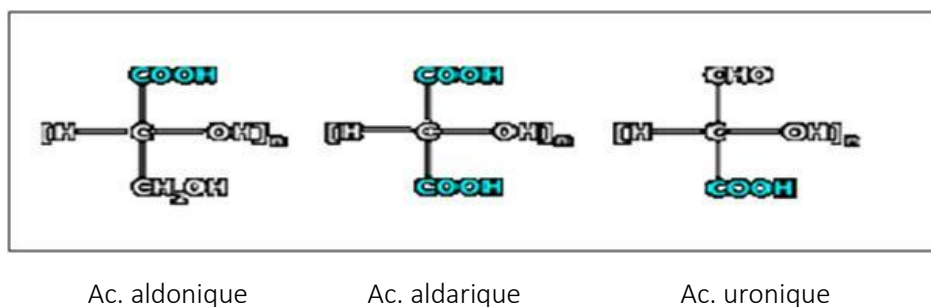


Figure 28 : Résumé de l'oxydation des aldoses

2.2.4. Acide sialique = acide N-acétylneuraminique (NANA)

L'acide N-acétylneuraminique est issu de la réaction entre une osamine « N-acétyl-mannosamine » et l'acide pyruvique ($C_3O_3H_3$). Il joue un rôle important dans la structure des glycoprotéines et des gangliosides (sécrétions glandulaires, membrane cellulaire, plasma sanguin)

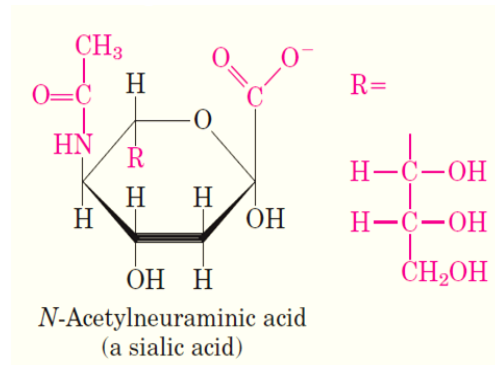


Figure 29 : acide N-acétylneuraminique [Nelson D.L.]

2.2.5. Acide ascorbique = vitamine C

La vitamine C est une vitamine (substance non synthétisée par l'organisme mais nécessaire en très faible quantité). Beaucoup d'espèces sont capables de synthétiser cette vitamine à partir de l'acide glucuronique à l'exception de l'Homme et du cobaye. Il existe une série de réactions dépendantes de la vitamine C dans notre organisme : synthèse du collagène et des catécholamines, consolidation du système immunitaire.

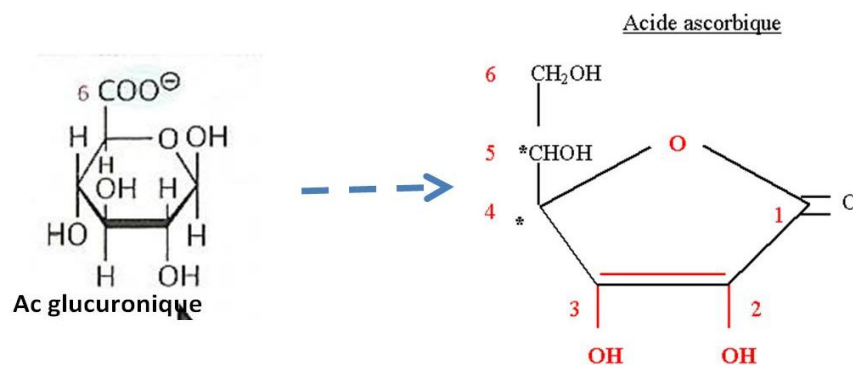


Figure .30 : synthèse de l'acide ascorbique [Touitou Y.]

Holosides

Les holosides sont constitués exclusivement d'oses. Ces molécules d'oses peuvent être identiques ou différents. Selon le nombre de molécules d'oses, on distinguera : diholosides, oligoholosides, polyosides (>10)

1. Liaison osidique (glycosidique)

La liaison acétalique, qui résulte de la combinaison entre l'hydroxyle acétalique de l'ose et un hydroxyle alcoolique avec élimination d'eau, est appelée liaison osidique (=glycosidique). Si l'hydroxyle alcoolique appartient à :

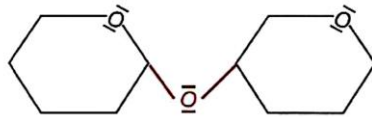
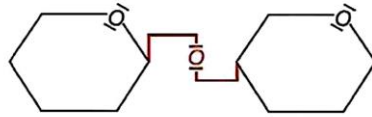
- une autre molécule d'ose, l'oside formé est un holoside
- un aglycone (molécule non glucidique : alcool, phénol,...), l'oside est un hétéroside

Lors de l'établissement d'une liaison entre deux oses, ceux-ci réagissent par leurs groupements hydroxyles avec libération d'une molécule d'eau : formation d'une liaison osidique. Le premier ose entre toujours dans la liaison par son C1, dont l'hydroxyle de la fonction hémi-acétal est particulièrement réactif.

Le 2ème ose va participer dans cette liaison par un de ses groupements hydroxyles.

Les liaisons les plus retrouvées sont : C1 - C2, C1 - C4, C1- C6.

Il est important de noter la configuration des carbones anomériques entrant dans la liaison osidique : formation de liaison α - ou β -osidique.

Liaison α -glycosidiqueLiaison β -glycosidiqueFigure 31 : liaison α - et β -osidique [Horn F.]

NB :

- Tous les types de liaisons osidiques peuvent être rompus par hydrolyse chimique ou enzymatique (fixation d'une molécule d'eau). L'enzyme en cause reconnaît le carbone anomérique participant à la liaison osidique.
- Les liaisons N-glycosidiques, ont été déjà étudiées avec les osamines

2. Diholosides

Pour obtenir un disaccharide, on doit relier deux monosaccharides par une liaison O-osidique. Les diholosides les plus importants en médecine sont : saccharose, lactose, maltose, isomaltose.

2.1. Saccharose

Le saccharose est très répandu chez les végétaux. C'est ce qu'on appelle communément « SUCRE ». Il est constitué de glucose et de fructose.

C'est le α -D- glucopyrannosyl (1 $\rightarrow$ 2) β -D fructo-furannoside .

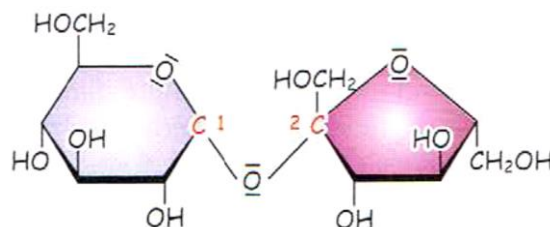


Figure 32 : Saccharose [Horn F.]

L'enzyme hydrolysant est l' α glucosidase ou la β fructosidase.

Le saccharose ne présente pas de phénomène de mutarotation.

2.2. Maltose et isomaltose

Ce sont deux diholosides provenant de l'hydrolyse de l'amidon ou du glycogène.

Maltose = α - D glucopyrannosyl (1 $\rightarrow$ 4) D-glucopyrannose

Isomaltose = α - D glucopyrannosyl (1 $\rightarrow$ 6) D-glucopyrannose

La fonction héli-acétalique libre peut en solution exister sous 2 configurations α ou β qui sont en équilibre. Cette fonction est responsable du pouvoir réducteur de ces deux diholosides. L'enzyme hydrolysant la liaison osidique est « α - glucosidase »

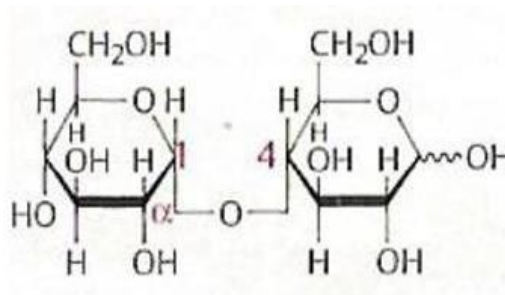


Figure 33 : Maltose [Koolman J.]

2.3. Lactose

Le lactose est un composé important des produits laitiers (lait, yaourt, fromage,...).

C'est le β - D galatopyrannosyl (1 $\rightarrow$ 4) D glucopyrannose

L'enzyme hydrolysant la liaison osidique est la β galactosidase (= lactase). Certains nourissons ont un déficit en lactase intestinale : intolérance au lait. Le lactose non digéré provoque une diarrhée.

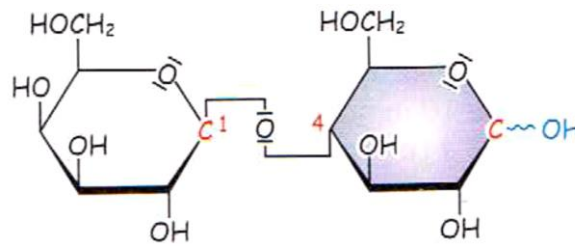


Figure 34 : Lactose [Horn F.]

3. Oligoholosides

Les oligoholosides sont formés de 3 à 10 oses. Ils sont souvent liés à des protéines ou des lipides en particulier au niveau de la membrane cellulaire. Ils jouent alors un rôle dans la reconnaissance cellulaire.

Les groupes sanguins ABO appartiennent à cette catégorie. La composition en oligosides de la surface des globules rouges détermine le groupe sanguin qui nous est propre.

4. Polyosides

On parle de polyosides quand la chaîne de glucides dépasse 10 oses. On attribue alors à ces chaînes le suffixe « -anne ». On les subdivise en :

- Homopolyosides = homoglycannes : constitués d'un seul type d'ose
- Hétéropolyosides = hétéroglycannes : constitués de différents types d'oses

4.1. Homopolyosides

Les trois principaux homopolyosides les plus intéressants pour l'être humain sont : amidon, glycogène, et cellulose. Dans le règne animal c'est le glycogène qui joue le rôle de réserve de glucose. Dans le règne végétal c'est

l'amidon qui joue le rôle de réserve, alors que la cellulose joue un rôle structural.

4.1.1. Amidon

C'est la réserve glucidique essentielle du monde végétal, composé de 2 substances :

- 15 à 30% d'amylose.
- 70 à 85% d'amylopectine

L'amylose C'est un polymère à chaîne linéaire formé d'unités de glucose liées par des liaisons α (1,4) glucosidiques. Les masses moléculaires sont comprises entre 150.000 et 600.000 (selon l'origine) ce qui correspond à la réunion de 1000 à 4000 résidus glucose.

L'amylopectine est constituée de chaînes de D glucose unies par des liaisons α (1,4), les chaînes étant elles-mêmes ramifiées par des liaisons α (1,6). Le PM peut atteindre plusieurs millions.

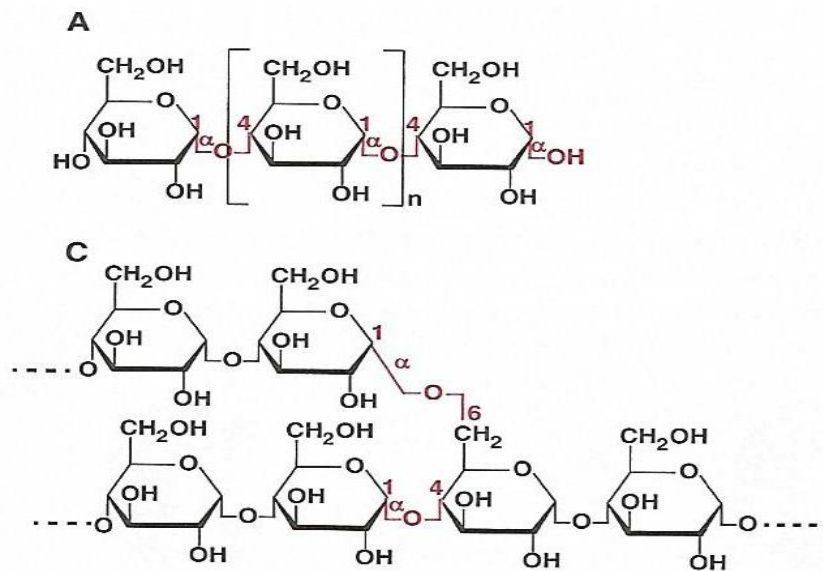


Figure 35 : A : Amylose, C: Amylopectine [Quentin F.]

4.1.2. Glycogène

C'est la forme de stockage du glucose chez les animaux (essentiellement localisé au niveau hépatique et musculaire)

Sa structure est la même que celle de l'amylopectine mais le glycogène est plus ramifié. Son PM peut atteindre plusieurs dizaines de millions.

4.1.3. Cellulose

C'est la substance principalement responsable de la structure des parois cellulaires des végétaux. Elle représenterait la moitié du carbone disponible sur la terre.

Elle n'est pas hydrolysable par les enzymes du tube digestif de l'être humain, mais les ruminants et divers insectes peuvent l'assimiler.

La cellulose est constituée de longues chaînes formées d'unité D- glucose reliées par des liaisons β - (1,4) glucosidique. Ces chaînes s'associent à leur tour par des liaisons hydrogènes ou de type de Vander Waals formant ainsi des structures fibreuses compactes et insolubles.

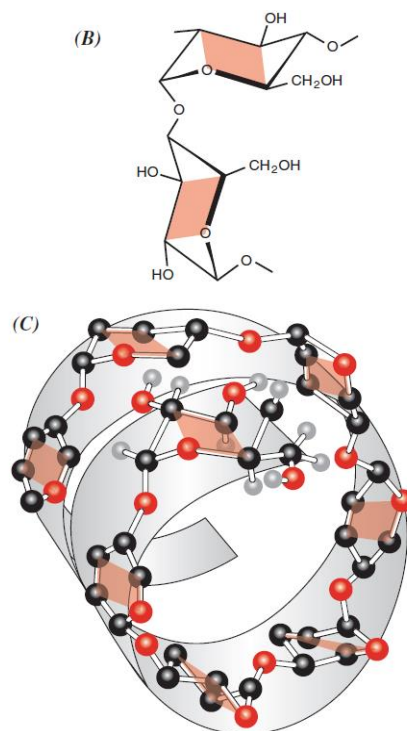


Figure 36 : Amylopectine et Glycogène

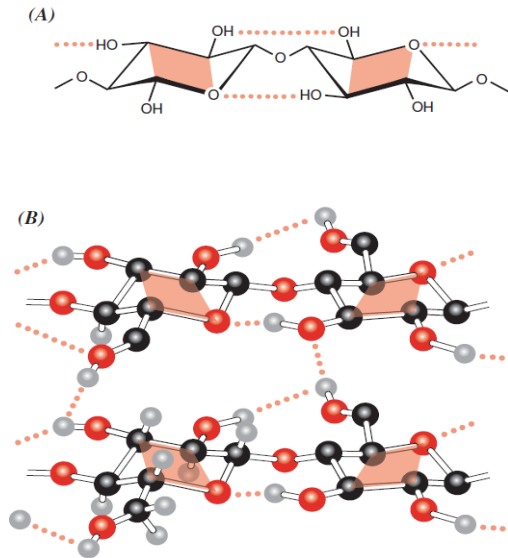


Figure 37 : Cellulose [Weinman S.]

4.2. Chitine

La chitine est un homopolyoside constitué de N-acétylglucosamines relié en β 1-4. C'est le constituant principal de la trame de la carapace des insectes et des crustacés. Il est également retrouvé dans la paroi des champignons.

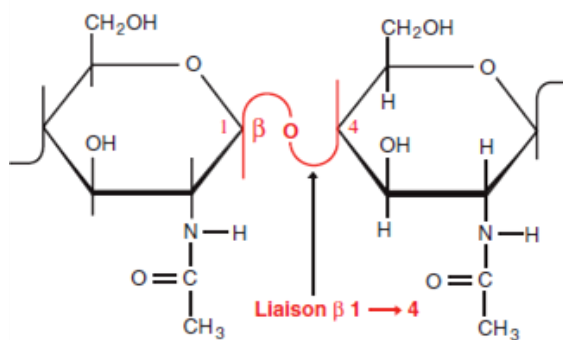


Figure 38 : Chitine [Weinman S.]

5. Hétéropolyosides

5.1. Inuline

L'inuline est un polymère de β -D-fructofuranose de 30 à 100 unités liées par des liaisons (2-1). Ce fructosane contient du glucose en faible quantité. C'est un élément de réserve chez certains végétaux (artichauts).

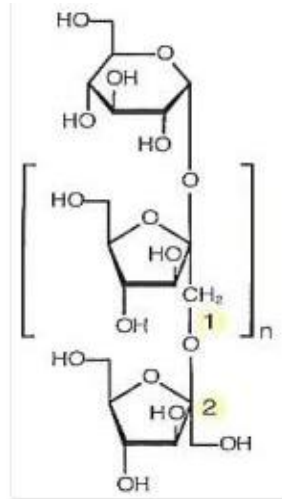


Figure 39 : Inuline [Coumoul X.]

5.2. Pectine

Les pectines sont des polyosides complexes solubles à base d'acide galacturonique et galactose, arabinose, ou rhamnose.

5.3. Agar

L'agar est un hétéropolysaccharide des algues rouges. C'est un mélange de D-galactose et de L-galactose sulfatés lié en α 1-3. Sa principale propriété est la formation de gel exploité dans la migration électrophorétique de protéine, d'ADN,...

5.4. Muréine

La muréine est un constituant de la paroi bactérienne. Elle est formée par l'alternance de N-acétylglucosamine et de N-acétylmuramine liés en $\beta 1-4$.

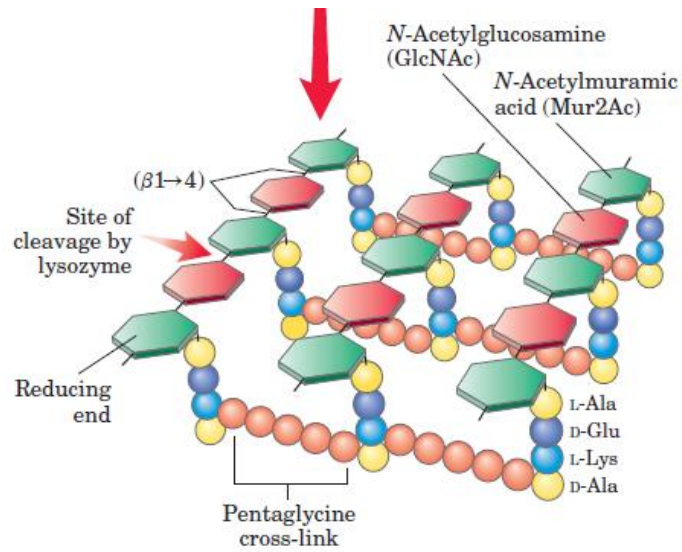


Figure 40 : Paroi bactérienne du *staphylococcus aureus* (peptidoglycane)
[Nelson D.L.]

Tableau 2 : Polyoside et intérêt en nutrition humaine

	Enzyme	Intérêt chez l'Homme
Amidon	Amylase	
Glycogène	Amylase	
Cellulose	Cellulase	
Chitine	Chitinase	
Agarose	Agarase	
Inuline	Inulinase	

5.5. Glycosaminoglycannes

Les glycosaminoglycannes sont d'origine animale. Ils constituent un groupe homogène de glycannes linéaires anioniques formés par la répétition de structures diosidiques, où l'un des résidus est un ose aminé (N-acétylglucosamine, N-acétylgalactosamine) +/- sulfaté ; et l'autre est un acide uronique.

Ces macromolécules complexes, typiquement extra-cellulaires, sont porteuses de nombreuses charges négatives ($-\text{COO}^-$, SO_3^-). Au pH de la matière vivante, ils se comportent comme de volumineux polyanions. Ils établissent des liaisons ioniques avec les protéines et certains cations. L'ensemble attire les molécules d'eau formant ainsi un gel hydraté et poreux qui résiste à l'écrasement.

5.5.1. Glycosaminoglycannes de structure

- Acide hyaluronique : présent dans tous les tissus conjonctifs et tous les espaces intercellulaires. Il occupe un volume important, sert de lubrifiant au liquide articulaire, et offre une grande résistance aux compressions. C'est un gel macromoléculaire très hydrophile qui peut absorber jusqu'à 10 000 fois sa masse en eau.

Il se lie aux protéines par des liaisons ioniques.

Localisation : tous les tissus conjonctifs.

- Chondroïtine sulfate : trouvée dans le cartilage et dans l'os en voie de croissance. La présence de groupements sulfates porteurs de deux charges négatives permet à cette molécule de retenir les ions calciums et de participer à la calcification osseuse.
- Keratane sulfate : trouvée dans le cartilage et dans l'os en voie de croissance.
- Dermatan sulfate : trouvé dans la peau et certains vaisseaux
- Héparan sulfate : peu sulfaté. Appartient à une famille très hétérogène.

Propriétés :

- Molécules étirées et rigides
- Polyanioniques
- Très hydrophiles
- Composition de la Matrice extra-cellulaire

5.5.2. Glycosaminoglycannes de sécrétion : Héparine

L'héparine (héparan sulfate) est un polysaccharide riche en groupements sulfatés dans lequel la glucosamine n'est plus acétylée mais sulfatée. Il joue le rôle d'un anticoagulant naturel.

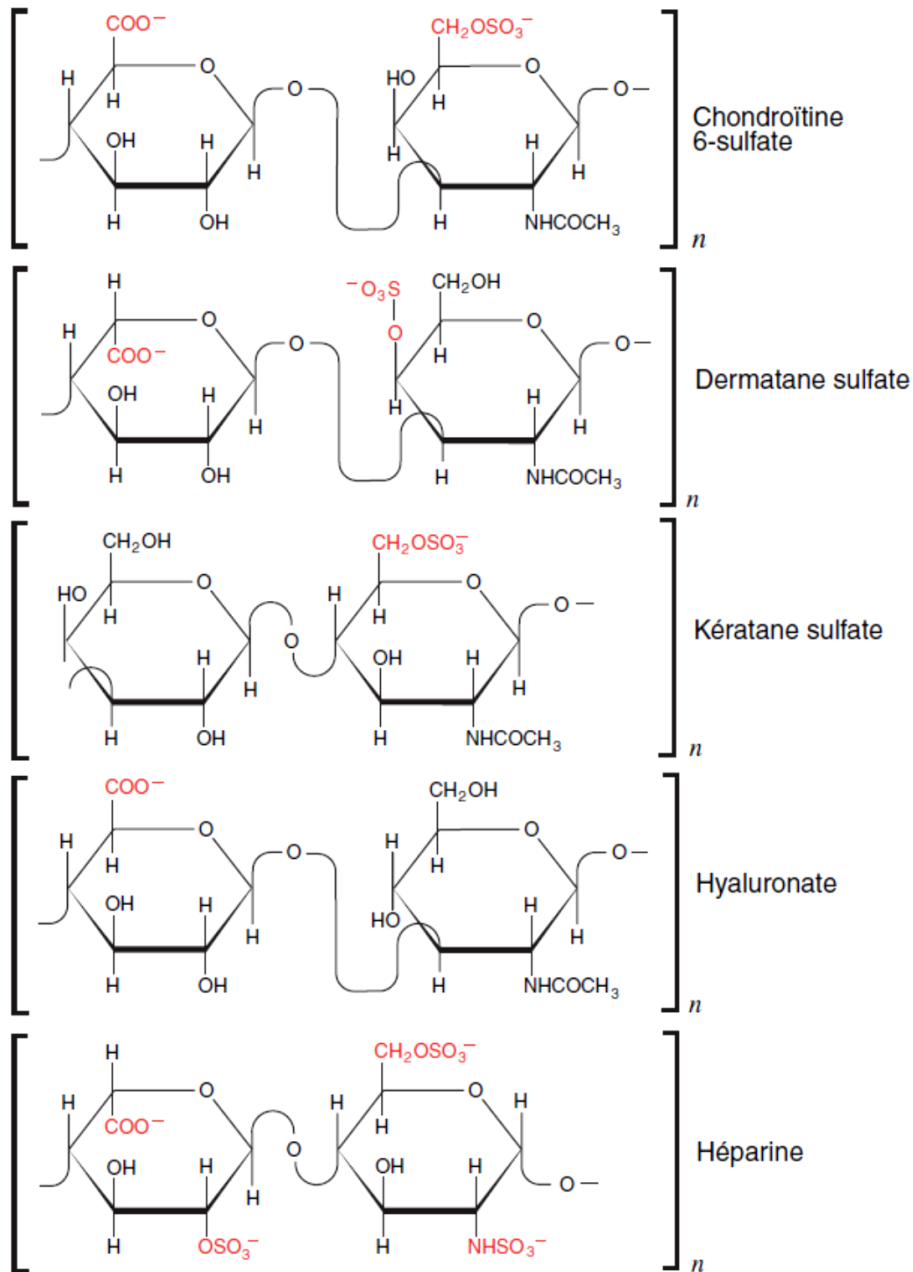


Figure 41 : Glycosaminoglycans [Weinman S.]

Hétérosides

Ils résultent de l'union entre le groupement réducteur d'un ose ou d'un oside et une ou plusieurs substances non glucidiques : aglycone. Dans les hétérosides naturels l'aglycone participe à la liaison osidique par :

- Un hydroxyle alcoolique ou phénolique : O-hétérosides
- Un groupement thiol : S-hétérosides
- Un groupement aminé : N-hétérosides

La présence de la partie non glucidique leur confère des propriétés particulières. Les O- et S-hétérosides sont essentiellement d'origine végétale.

1. O-Hétérosides

Les O- hétérosides résultent de la combinaison de la fonction carbonyle soit avec une fonction alcool secondaire ou tertiaire d'un aglycone, soit avec un groupement phénol.

Exemple de O- hétérosides d'alcool :

L'amygdalosite des amandes amères qui existe dans les noyaux et les feuilles du pêcher et de l'abricotier.

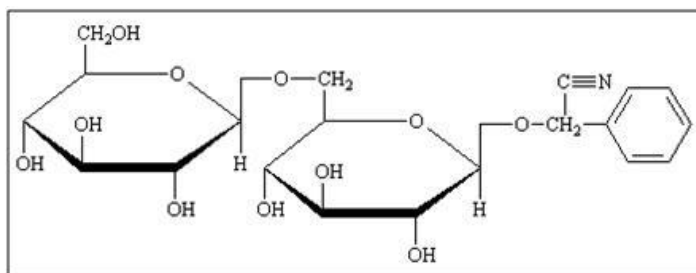


Figure 42 : Amygdalosite des amandes amères

L'hydrolyse enzymatique d'un tel composé conduit à l'apparition dans l'organisme de : deux molécules de glucose liées, une molécule d'aldéhyde benzoïque et une molécule d'acide cyanhydrique. Ainsi s'expliquent les intoxications aiguës par l'acide cyanhydrique observées chez l'enfant après consommation excessive d'amandes extraites de noyaux de pêches ou d'abricots.

2. N-Hétérosides

Ce sont presque exclusivement des dérivées du ribose et du désoxyribose présents dans toutes les cellules animales et végétales. Leurs esters phosphoriques, appelés nucléotides, sont les monomères constitutifs des acides nucléiques.

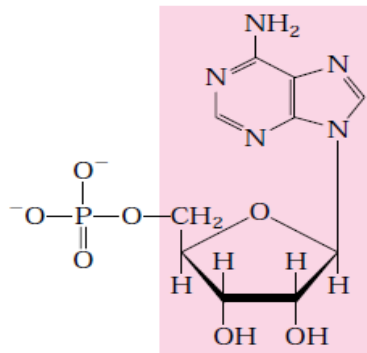


Figure 43 : Structure de l'adénosine monophosphate (AMP) [Nelson D.L.]

Glycoconjugués

Les fonctions biologiques associées à la partie glucidique des glycoconjugués sont aussi nombreuses que leur diversité structurale.

Remarque : Nos connaissances actuelles des glycoprotéines, en pleine évolution, sont encore imparfaites d'où une certaine confusion dans la nomenclature et la classification.

1. Glycoconjugués aux lipides = glycolipides

Des lipides membranaires des cellules animales ou bactériennes portent des chaînes d'oligoholosides, exemple : antigènes de groupes sanguins.

2. Glycoconjugués aux protéines

Ce sont des hétéroprotéines résultant de l'union d'une fraction glucidique avec une fraction protéique, uniquement par l'intermédiaire de liaisons covalentes solides.

Selon le rapport composante glucidique /composante protéique on distingue les glycopeptides, les peptidoglycannes, et les protéoglycannes.

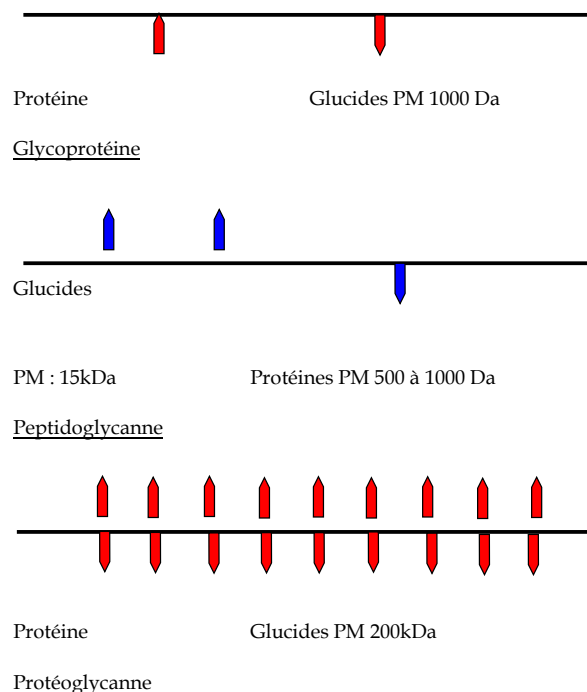


Figure 44 : Structure des glycoconjugués

2.1. Modèles de liaisons Glucides - protéines chez l'homme

La partie glucidique est fixée sur la chaîne polypeptidique par des liaisons :

- O-glycosidique : à un atome d'oxygène d'un résidu sérine ou thréonine
- N-glycosidique : à l'atome d'azote de l'amide d'un résidu asparagine.

Ce processus de glycosylation a lieu le réticulum endoplasmique et/ou l'appareil de Golgi.

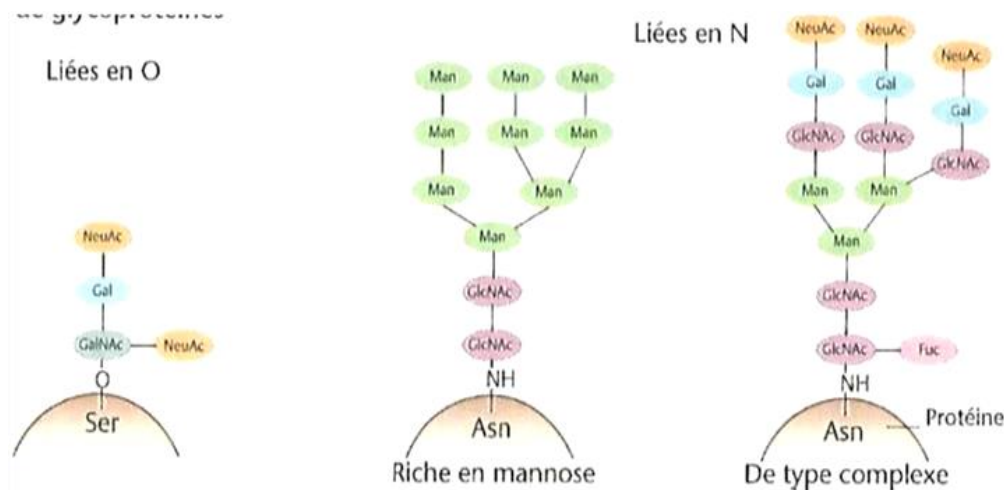


Figure 45 : Différentes formes de glycoprotéines [Koolman J.]

2.2. Les glycopeptides et glycoprotéines

De nombreuses protéines membranaires et la plupart des protéines sécrétées, telles que les immunoglobulines, certaines hormones (FSH, LH, TSH), des protéines du lait, la ribonucléase, les mucines, se présentent comme des glycoprotéines qui contiennent des glycanes formés de chaînes polysidiques courtes mais diverses structuralement.

2.2.1. Structure

Ce sont des substances dans les quelles de courts chaînons glucidiques sont unis à des structures polypeptidiques ou protéiques. Ils renferment jusqu'à 20 résidus mono-osidiques.

La fraction glucidique peut représenter un pourcentage variable (de 5% à 70%) du poids de la molécule, mais en général la fraction protéique prédomine.

Les chaînes d'oligosides des glycoprotéines comprennent :

- Des oses
- Des 6-désoxyoses
- Des hexoamines le plus souvent N-acétylées
- Des acides sialiques

2.2.2. Intérêt :

La fraction glucidique des glycoprotéines :

- Permet d'augmenter l'hydrosolubilité des glycoprotéines sécrétées
- Participe au repliement de la protéine
- Représentent un facteur de dissymétrie membranaire
- Est un marqueur de surface spécifique

2.3. Les peptidoglycanes

Ce sont des substances dans lesquelles de courts chaînons polypeptidiques sont unis à des structures glucidiques :

- Le nombre d'unités osidiques est très élevé (PM de l'ordre de 15kDa). Il s'agit d'une répétition d'une unité diosidique : N-acétylglucosamine et acide N-acétyl-muramique (β 1-4)
- La partie protéique est formée de tétrapeptides : alanine-glutmate-lysien-alanine

Les peptidoglycanes forment la paroi des bactéries qui leur donne leur forme et les protège.

Intérêt : composant de la paroi bactérienne

2.4. Les protéoglycanes

Les protéoglycanes se présentent comme des protéines solubles ou sécrétées dans la matrice extracellulaire ou comme des protéines intrinsèques transmembranaires.

2.4.1. Structure

Ce sont des molécules en général très volumineuses, composées par l'association covalente de protéines et de polymères glucidiques appartenant à la famille des glycosaminoglycanes.

La partie glycosaminoglycane est plus dominante par rapport à la partie protéique et elle est le principal site de l'activité biologique de la molécule, renfermant jusqu'à 600 unités disodiques et même plus, ce qui correspond à un PM d'environ 200kDa.

Les glycosaminoglycanes s'organisent autour d'un axe central protéique ne représentant que quelques pourcent de sa masse totale.

Les glycosaminoglycanes qui peuvent participer à la structure des protéoglycanes sont : chondroïtine sulfates, dermatan sulfates, héparane sulfates, héparine, et kératan sulfates.

2.4.2. Intérêt :

Structure de la substance fondamentale du tissu conjonctif, du tissu cartilagineux.

Ils offrent une résistance à la compression, facilitent la migration des cellules, régulent l'activité de molécules sécrétés par les cellules, et jouent un rôle de co-récepteur.

Partie 3 : Lipides, Glucides et Acides Nucléiques

Tableau 3 : Exemples de protéoglycanes

Protéoglycane	Type de GAG	Nombre de chaînes de GAG	Distribution	Rôle
Aggrécan	CS + KS	130	Cartilage	Support mécanique
Bétaglycane	CS / DS	1	Surface cellulaire, matrice	Fixe le TGFβ
Décorine	CS / DS	1	Diffuse dans les tissus conjonctifs	Liaison au TGFβ et au collagène
Perlécane	HS	2 - 15	Lame basale	Filtre dans les lames basales
Syndécane-1	CS + HS	1 - 3	Surface des cellules épithéliales et des fibroblastes	Adhésion cellulaire Fixe le FGF

CS = Chondroïtine-sulfate ; HS = héparane sulfate ; DS = dermatane sulfate ; KS : Kératane sulfate

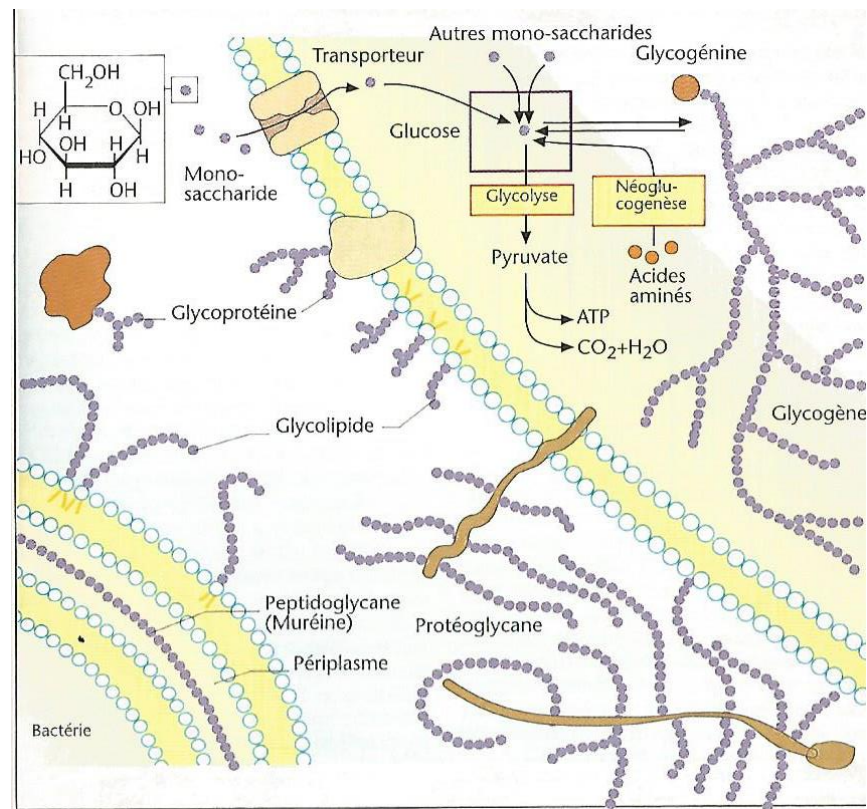


Figure 46 : Disposition cellulaire des glycoconjugués [Koolman J.]

3. Exemples de glycoconjugués

- mucines trouvées dans les mucus des cellules brodeuses de toutes les cavités de l'organisme.
- glycoprotéines sériques : l'orosomucoïde, les haptoglobines, les immunoglobulines.
- glycopeptides des groupes sanguins.
- glycoprotéines urinaires
- certaines hormones.
- certaines enzymes.
- glycoprotéines des membranes cellulaires.

Les glycoconjugués ont pris, au cours des dernières années, une très grande importance en biologie. Leur structure, les mécanismes de leur biosynthèse et leur rôle, sont actuellement l'objet de très nombreuses recherches.

Les Nucléotides

Dr Dana JALLOULI, Dr Mouna TURKI

Objectifs

1. Connaître la structure de base des nucléotides
2. Différencier une base purique d'une base pyrimidique

1. Introduction

Définition

Les acides nucléiques sont des macromolécules présentes dans toutes les cellules vivantes. Ils ont été isolés tout d'abord à partir du « noyau » des cellules d'où leur nom. Maintenant on sait qu'il en existe aussi dans le cytoplasme. En outre, les virus les plus simples sont constitués uniquement d'une molécule d'acide nucléique entourée d'une coque protéique.

Intérêt biomédical

Les acides nucléiques ont une importance fondamentale car ils sont

- soit le support de l'information génétique
- Soit les agents permettant l'expression de cette information.

Il existe 2 types d'acides nucléiques

- * Le DNA : acide désoxyribonucléique
- * Le RNA : acide ribonucléique.

Le DNA est retrouvé essentiellement dans le noyau des cellules. On le trouve également dans les mitochondries et dans les chloroplastes des organismes photosynthétiques.

Le RNA est retrouvé essentiellement dans le cytoplasme des cellules. Certains virus, notamment des virus végétaux et aussi animaux ont un génome constitué de RNA. Exemple : Virus du SIDA.

C'est dans la synthèse des protéines et dans la régulation de cette synthèse que les DNA et les RNA jouent un rôle essentiel.

Structure des acides nucléiques (AN)

Les A.N sont de longues chaînes, formées par la répétition de sous unité qu'on appelle « nucléotide ».

2. Les nucléotides

2.1. Éléments constituant le nucléotide

Un nucléotide est formé lui-même de 3 éléments :

Base - sucre - acide phosphorique

- **La base :**

Il existe 2 types possibles de bases :

- Les bases puriques
- Les bases pyrimidiques.

Les bases puriques : Elles possèdent toutes un noyau purine et divers substituants qui se greffent sur ce noyau.

Suivant ces constituants on distingue l'Adénine et la Guanine qu'on trouve dans le DNA et le RNA

Les bases pyrimidiques : elles possèdent un cycle pyrimidine et divers substituants qui se greffent sur ce noyau.

On distingue : la cytosine, la thymine et l'Uracile.

Au pH physiologique, la forme (C = O) l'emporte sur la forme (OH) qui sont 2 formes tautomères (**voir figure 3**)

- **Le sucre :**

C'est un pentose : on trouve 2 types de pentoses

- Le D - ribose (RNA)
- Le 2' - désoxy- D - ribose (DNA)

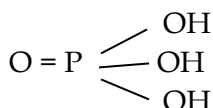
* Le D - ribose est un ose en C5' : c'est le D - ribofuranose

* Le 2 - désoxy - D - ribose est un ribose dans lequel il manque un OH en 2'.

Ces 2 sucres sont de la série D. Ils sont des anomères (OH en 1' est en haut du plan)

- **L'acide phosphorique :**

C'est un triacide. Deux des 3 fonctions acides seront estérifiées dans le DNA ou le RNA



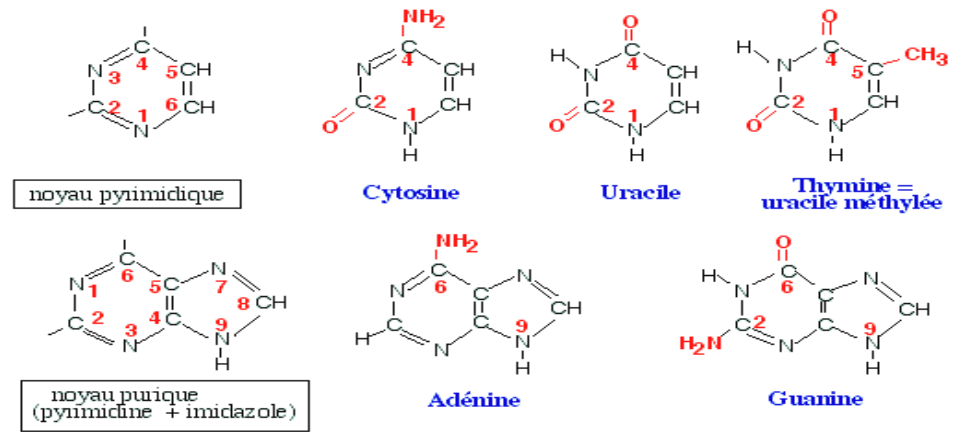


Figure 1 : bases pyrimidiques et puriques

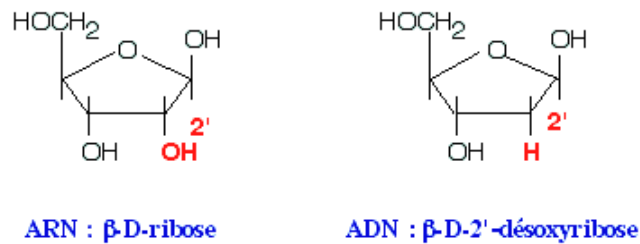


Figure 2 : sucres des AN

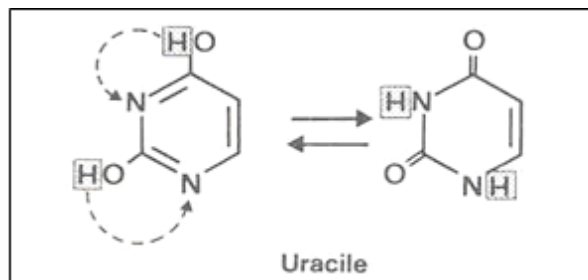


Figure 3 : exemple de forme tautomère
(forme lactime à gauche (énol) - forme lactame à droite (cétone))

2.2. Association de ces éléments

La liaison qui unit l'ose et la base est une liaison - osidique cet assemblage s'appelle nucléoside (**Voir figure 4**).

Le tableau ci-dessous indique la nomenclature des principaux nucléosides :

BASE	RIBONUCLEOSIDE	DESOXYRIBONUCLEOSIDE
Adénine	adénosime	désoxyadénosine
Guanine	Guanosine	désoxyguanosine
uracile	uridine	désoxyuridine
Cytosine	cytidine	désoxycytidine
tymine	Tymidine(rare)	désoxytymidine

La liaison entre l'ose et l'acide phosphorique est une liaison ester

Un 2ème et un 3ème groupement phosphate peut-être fixer sur le phosphate d'un nucléoside 5' monophosphate formant ainsi un ribo ou un desoxyribonucléoside 5' diphosphate ou triphosphate (XDP ou dXDP) ou (XTP ou dXTP).

Parfois le groupement phosphate peut former un pont entre C5' et C3' formant ainsi un NMP cyclique exemple : AMP cyclique

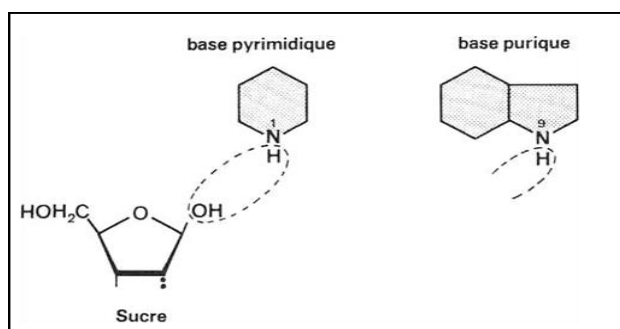


Figure 4 : liaison sucre - base azoté

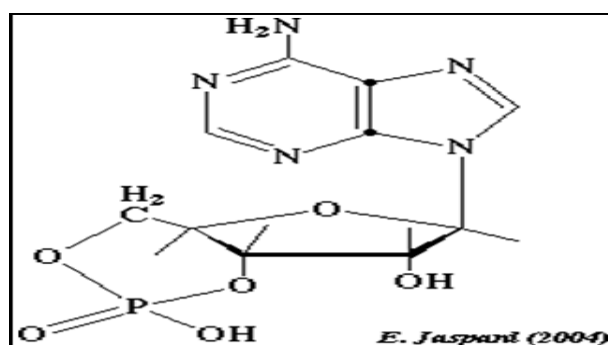


Figure 5 : structure de l'AMP cyclique

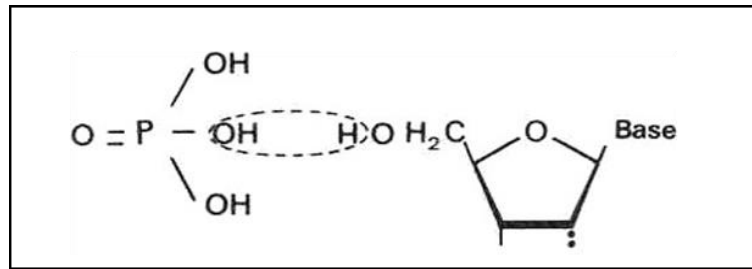


Figure 6 : liaison sucre -phosphate

L'acide désoxyribonucléique (ADN)

Dr Dana JALLOULI, Dr Mouna TURKI

Objectifs

1. Identifier les différentes liaisons unissant les éléments constitutifs d'un acide nucléique
2. Identifier les caractéristiques propres du DNA
3. Connaître les propriétés physico-chimiques des acides nucléiques du DNA
4. Préciser l'action de chacune des nucléases
5. Connaître les méthodes de séquençage du DNA
6. Savoir déterminer une séquence de DNA

1. Association des nucléotides dans un AN

Dans le DNA comme dans le RNA les nucléotides sont reliés par des liaisons 3' 5' phosphodiester donc chaque groupement phosphate n'a plus qu'une seule acidité libre. La figure 1 montre l'enchaînement de plusieurs nucléotides

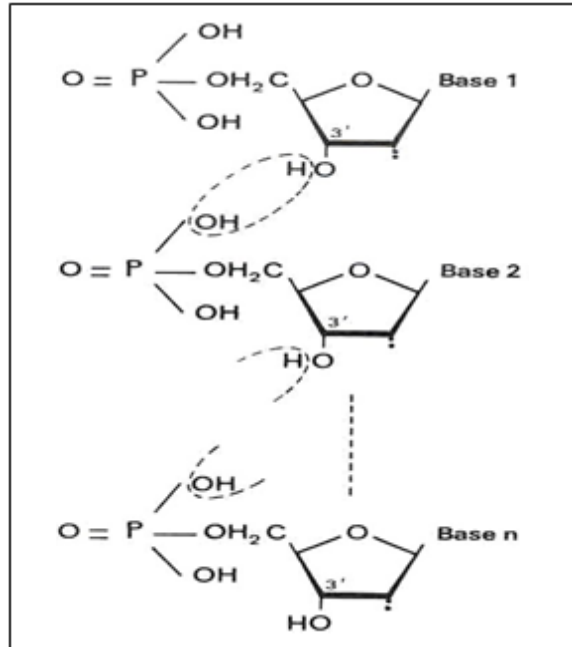


Figure 1 : enchaînement de plusieurs nucléotides

- **Convention de lecture**

Considérons les 2 extrémités d'une chaîne : 5' (P) et 3' OH

Par convention : on lira toujours une chaîne d'acide nucléique dans le sens suivant : de 5' (P) vers 3' OH (sens de synthèse).

- **Remarque**

A part leur rôle dans la synthèse des acides nucléiques les nucléotides et les nucléosides peuvent avoir d'autres rôles tels que :

- transfert d'énergie (ATP...)
- formation de coenzymes (vitamine PP, vitamine B2, vitamine B12...)
- messenger (AMPc...)

2. Le DNA

2.1. Caractéristiques propres au DNA

Trois caractéristiques sont propres au DNA, et vont le différencier des RNA :

- a) L'ose est le désoxyribose et non le ribose comme sera le cas dans le RNA.
- b) Les bases constituant les nucléotides du DNA sont A, G, C, T. On ne trouve jamais de l'uracile, alors que dans le RNA il y aura de l'uracile à la place de la T.
- c) Les 2 chaînes de nucléotides forment une molécule de DNA. Alors qu'une molécule de RNA n'en comprend qu'une.

2.2. Caractéristiques des 2 chaînes de DNA

Les 2 chaînes ont 3 propriétés essentielles, elles sont dites :

- Antiparallèles
- Complémentaires
- Hélicoïdales

- **Antiparallèles**

C'est à dire les 2 chaînes sont parallèles mais dans des directions opposées. Un brin $5' \rightarrow 3'$ de gauche à droite, l'autre $5' \rightarrow 3'$ de droite à gauche.

$3' \leftarrow 5'$

$5' \rightarrow 3'$

- **Complémentaires**

La règle de complémentarité est la suivante : A - T et C - G en face d'une purine on a une pyrimidine avec 2 liaisons H entre A et T et 3 liaisons H entre C et G

Par convention et pour simplifier, on représente une chaîne d'A.N en écrivant seulement les bases.

Par exemple

5' C T A G C G A T 3'

3' G A T C G C T A 5'

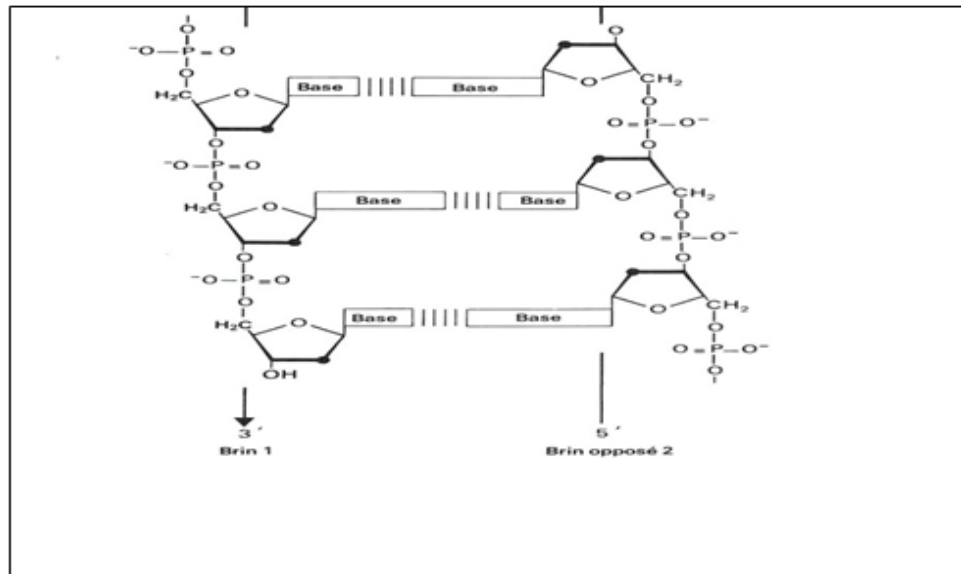


Figure 2 : Deux chaînes anti parallèles

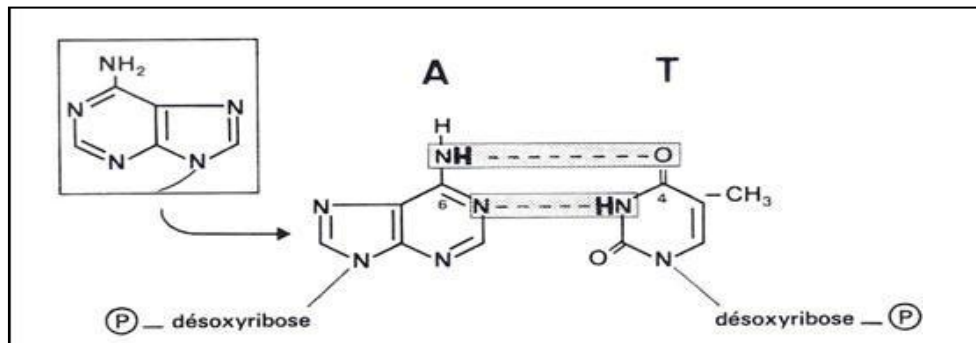


Figure 3 : complémentarité A=T

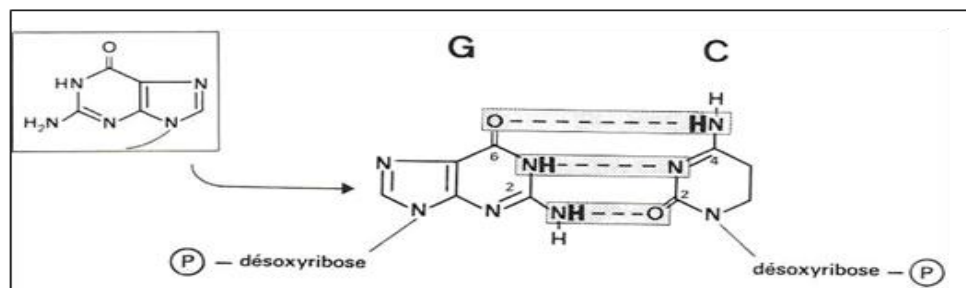


Figure 4 : complémentarité C-G

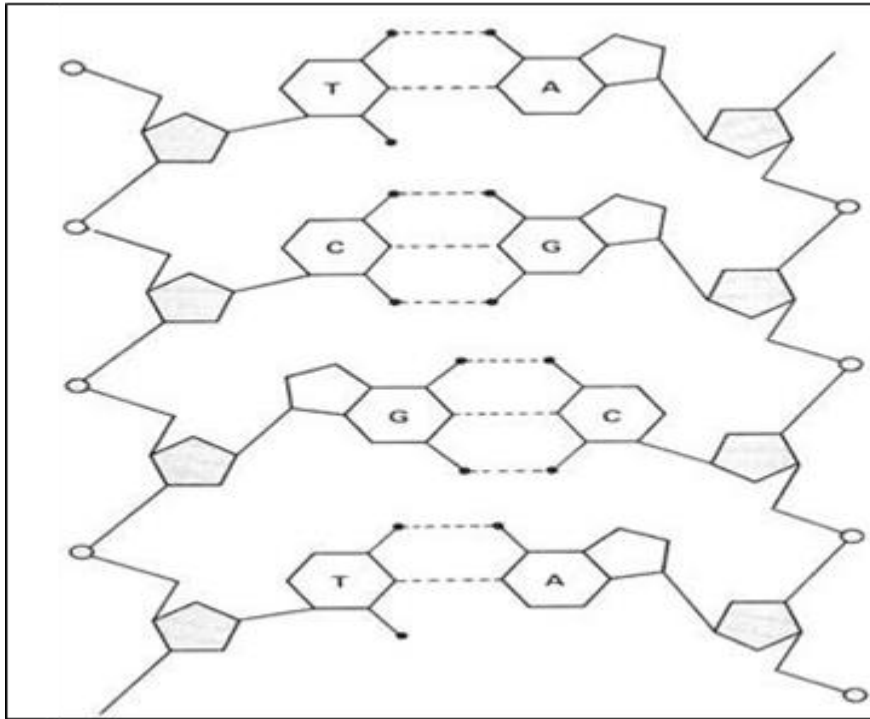


Figure 5 : Représentation schématique d'une molécule de DNA

- **Hélicoïdales**

Les deux chaînes de DNA présentent dans l'espace une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un axe central imaginaire en formant une double hélice.

Il existe plusieurs formes de DNA à double hélice.

Selon la composition du milieu extérieur, en particulier le pourcentage d'eau lié aux phosphates hydrophiles, la double-hélice d'ADN peut adopter trois structures :

- 95 % d'eau : type B
- 70 % d'eau : type A
- 50 % d'eau : type Z

Ces structures existent aussi in-vivo.

B-DNA : forme d'ADN la plus commune et biologiquement la plus importante. C'est une hélice droite, des plateaux de base perpendiculaires à l'axe de l'hélice passant au centre de l'appariement de ces dernières. (voir figure 6)

On trouve 10 pb par tour de spire. La distance entre 2 spires correspondant au pas de l'hélice est 3,4 nm. Le diamètre de l'hélice est de 2 nm.

A-DNA : forme moins fréquente que le B-DNA. Les plans des paires de bases sont inclinés de 19° par rapport au plan perpendiculaire à l'axe de l'hélice. C'est une double hélice droite ayant 11 paires de bases par tour de spire.

C'est la forme d'ADN spécifique à la transcription. En effet l'ARN ne pouvant adopter que la conformation de type A, lors de la transcription, l'ARN stimule un transfert de l'ADN du type B vers le type A. À la fin de la transcription, lorsque l'ARN s'est détaché, l'ADN reprend sa conformation B.

Cette structure du DNA a été découverte par Watson et Crick en 1953.

Z-DNA : son rôle est de favoriser l'interaction des bases avec les protéines régulatrices. C'est une hélice gauche. Il est caractérisé par des plateaux peu inclinés (9° à peu près en zig zag), et une position alternative des sucres en radiale et tangentielle. L'axe passe par le petit sillon et présente 12 paires de bases par tour. Le passage de l'ADN-B en ADN-Z est favorisé par la présence de multiples cytosines au sein des promoteurs (voir figure 7).

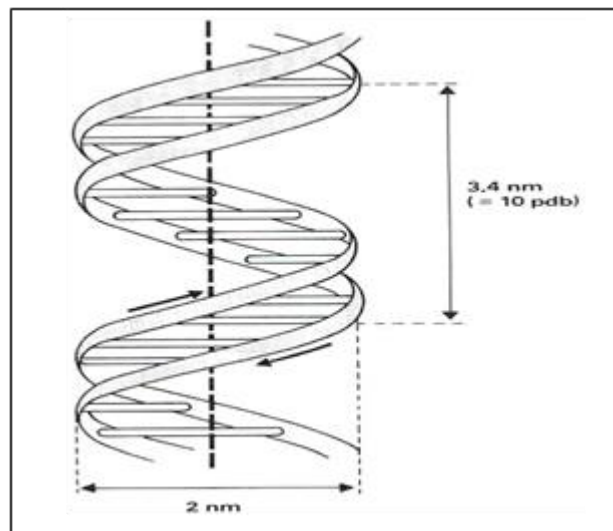


Figure 6 : Représentation hélicoïdale d'une molécule de B-DNA

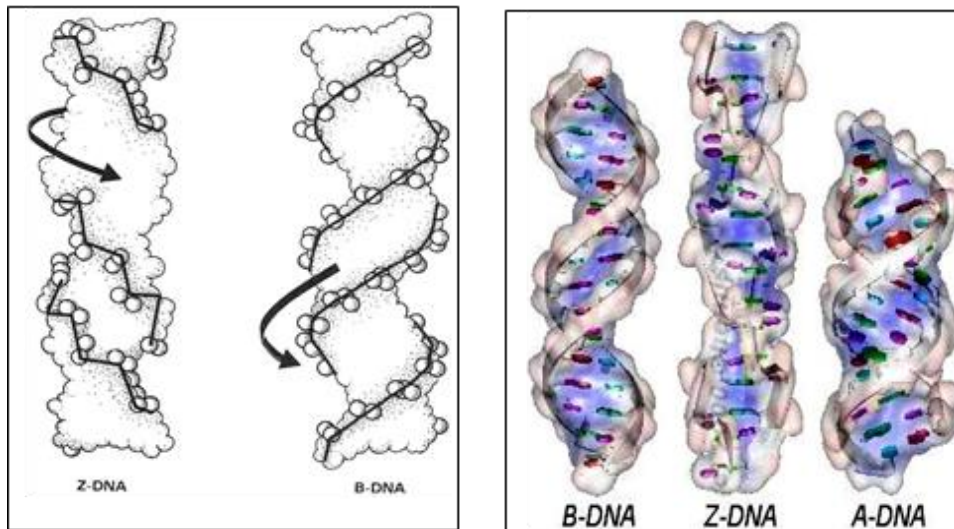


Figure 7 : les différentes formes du DNA

2.3. Le DNA des différents êtres vivants

Tous les êtres vivants qu'il s'agisse, d'un animal, d'une plante, d'une bactérie ou d'un virus, possèdent :

- le même type de structure soit deux brins (sauf exception rencontrées chez certains types de virus) constitués chacun par une succession de plusieurs milliers de nucléotides.

De plus, certains rapports entre les nucléotides formant l'ADN avaient été observés. Ces rapports sont connus sous le nom de règles de Chargaff, du nom du chercheur qui les a décrits.

Ce qui diffère d'une espèce à l'autre sera :

- Le nombre de molécule de DNA dans une cellule (1 molécule chez E. Coli plusieurs chez les êtres supérieurs).
- Sa longueur : quelques milliers de nucléotide dans un chromosome.
- Sa forme : linéaire ou circulaire.
- La séquence en bases qui est caractéristique de chaque DNA.

- **Les virus :**

Sont les « êtres vivants » possédant les AN les plus courts. On distingue les virus à DNA et les virus à RNA. Le DNA est formé de quelques milliers à plusieurs dizaines de milliers de nucléotides.

- **Les procaryotes : exemple : E. coli.**

Le DNA se trouve dans le cytoplasme, il a une forme circulaire et il comporte environ 4 millions de pb et constitue l'unique chromosome. On trouve parfois à côté de ce chromosome des petits morceaux de DNA circulaires qu'on appelle plasmides.

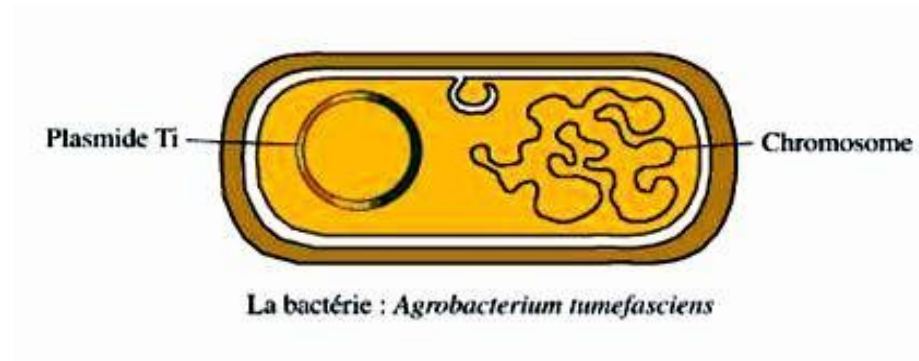


Figure 8 : chromosome et plasmide bactérien

- **Les eucaryotes :**

Le DNA est situé dans le noyau.

Chaque chromosome contient une très longue molécule de DNA, toute repliée, pelotonnée. Le nombre de nucléotide par chromosome est mille fois plus grand que dans le cas des bactéries.

On trouve chez l'homme environ trois milliards de paires de nucléotides dans les molécules de DNA constituant les 46 chromosomes humains. Ce DNA est associé à des protéines pour former la chromatine.

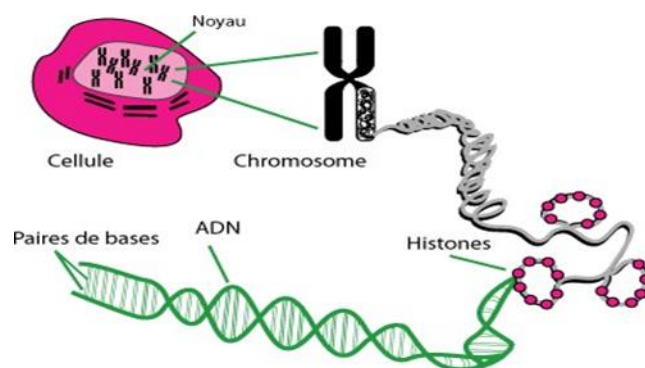


Figure 9 : Structure du DNA chez les eucaryotes

Le DNA est retrouvé aussi dans les mitochondries chez les eucaryotes.

2.4. Nouvelles découvertes (Concernant la structure du DNA) :

- **Topo isomères**

Récemment on a montré l'existence de super enroulement négatif de la double hélice du B- DNA. Ce surenroulement exerce une contrainte sur la molécule. Cette contrainte provoque un vrillage. Les 2 formes de DNA : relâchée et surenroulée s'appellent : topo isomères

- **Les structures complexes :**

- Les triplex : structure formée lorsque une molécule d'ADN simple brin vient s'apparier dans le grand sillon d'une double hélice d'ADN

- Les G-quadruplexes: Structure secondaire formée par de l'ADN simple brin lorsqu'il est riche en guanine, formant un empilement de plateaux ("quartets") constitués chacun de 4 guanines.

- Les hairpins : structure en épingle à cheveux

2.5. Propriétés physico-chimiques du DNA

- **Poids moléculaire**

Il est très élevé : plusieurs dizaines de millions.

- **Solubilité**

Les DNA sont solubles dans les sels de sodium donnant des solutions à viscosité très élevée. Pour les précipiter il suffit d'ajouter 2 volumes d'éthanol.

- **Absorption dans l'U.V**

Les DNA absorbent à 260 nm du fait de la présence des bases puriques et pyrimidiques.

- **Action de la température**

Lorsque du DNA en solution aqueuse est chauffé on observe.

- Une augmentation de la D.O à 260 (effet hyperchrome).
- Une diminution de la viscosité.

Ceci correspond à une séparation des 2 brins de la double hélice, on donne le nom du « point de fusion DNA » à la température à laquelle ce phénomène apparaît. Les DNA riches en C - G ont des températures de fusion plus élevées que le DNA riche en A - T.

Après élévation thermique on peut refroidir la solution de DNA :

- Soit brutalement et rapidement on aura alors persistance de la dénaturation, les 2 brins restent séparés
- Soit lentement : les 2 brins se rapparient et reconstituent la double hélice bicatenaire en gardant les activités biologiques.

Il s'agit d'un phénomène de l'hyperchromicité : dénaturation d'un ADN bicatenaire par la chaleur ; c'est à dire rupture des liaisons H, d'où démasquage de celle-ci ; ce démasquage est responsable de l'augmentation de l'absorbance à 260 nm.

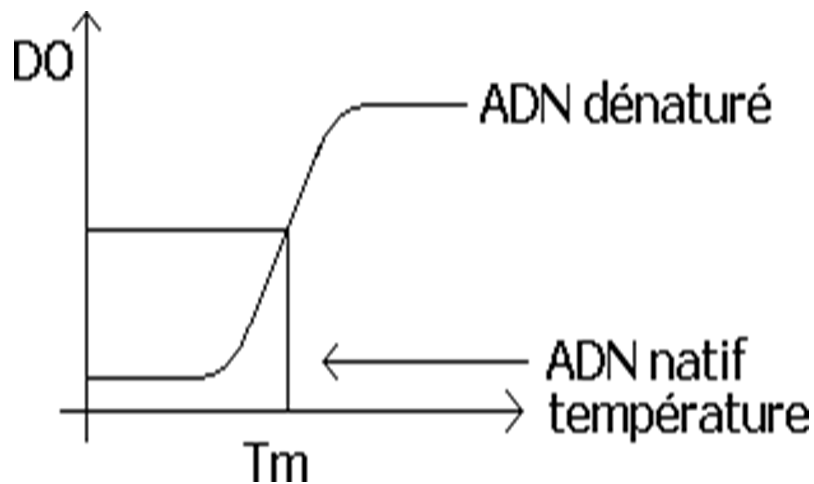


Figure 10 : phénomène d'hyperchromicité

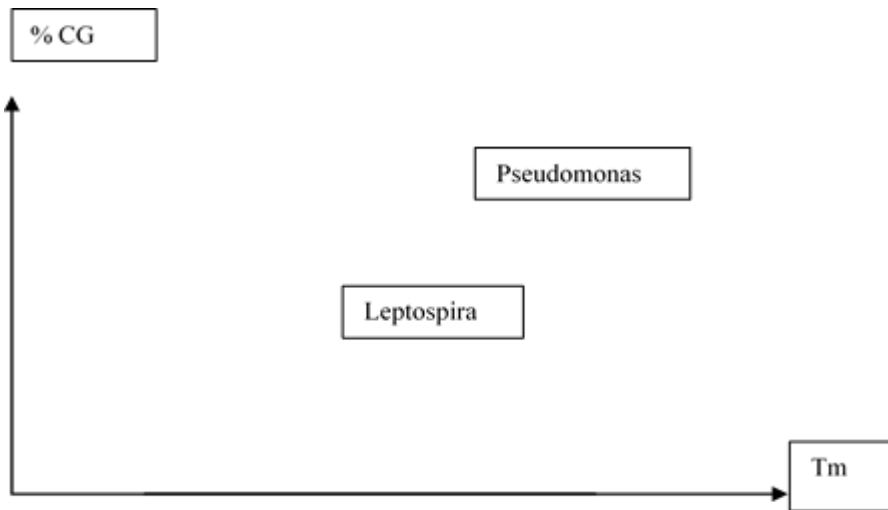


Figure 11 : % CG en fonction de la température de fusion Tm

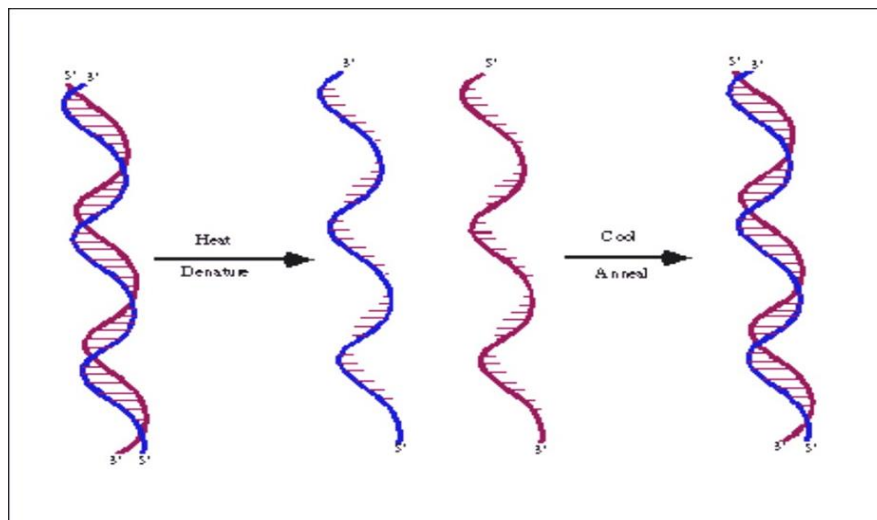


Figure 12 : dénaturation -renaturation du DNA

2.6. Etude des séquences de DNA

C'est seulement en 1976 que la 1ère séquence de DNA a pu être effectuée à partir des plus petites molécules de DNA, celle d'un virus.

Ce prodigieux bond en avant a pu être obtenu à partir de nouvelles techniques permettant de :

- Couper le DNA en des endroits bien précis en utilisant des enzymes appelées : « Endonucléases de restriction ».
- Analyser les fragments de DNA obtenus par les techniques enzymatiques de Sanger ou la technique chimique de Maxam et Gilbert.

- **Coupure par les endonucléases de restriction**

Les séquences de nucléotides reconnus par ces enzymes sont nommées palindromes (Exemple : radar) c'est à dire des séquences de DNA à symétrie inversée, lues de droite à gauche ou de gauche à droite.

Exemple : 5' C C A G A A T T C C A T 3'
 3' C T T C T T A A G G T A 5'

La coupure peut se faire de plusieurs façons suivant l'origine de l'enzyme

- Eco R1 (enzyme extraite de E. coli) coupe de façon à donner des bouts adhésives (Figure 13)
- Hpa1 coupe de façon à donner des extrémités franches (Figure 14)

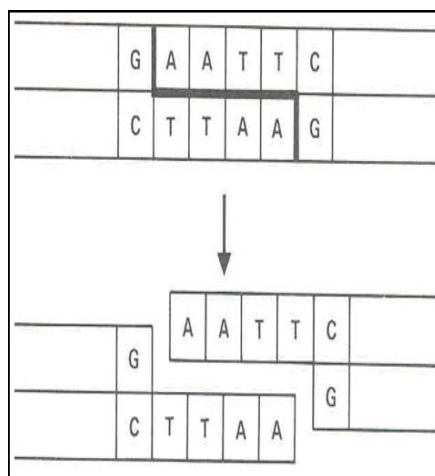


Figure 13 : coupure par Eco R1

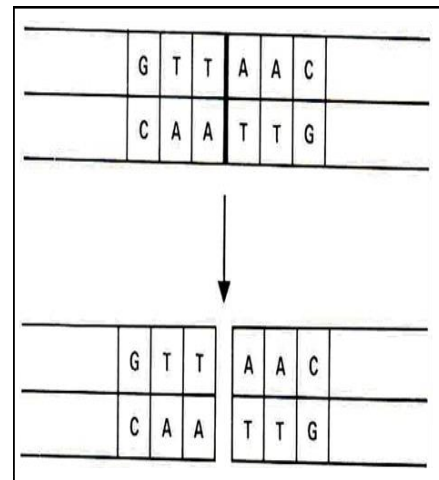


Figure 14 : coupure par Hpa1

- **Coupure par des desoxyribonucléases**

Remarque :

- * L'hydrolyse chimique alcaline ne peut se faire avec du DNA (pas de OH en 2').
- * Il existe des endonucléases ou la coupure se fait à l'intérieur de la chaîne et des exo nucléases ou la coupure se fait à l'extérieur de la chaîne
- * Il y a des enzymes qui agissent sur les 2 brins du DNA, d'autres sur 1 seul brin.

Les Dnases les plus connues sont :

- La Dnase pancréatique (I) : c'est une endonucléase à mécanisme haplontique (1 seul brin est hydrolysé) agissant à pH neutre. Elle engendre des oligonucléotides 5' monophosphate. (Voir figure 15.A)
- La Dnase de rate ou Dnase (II) : acide : elle agit sur 1 seul ou sur les 2 brins, engendrant des oligonucléotides 3' monophosphate. (Voir figure 15.B)

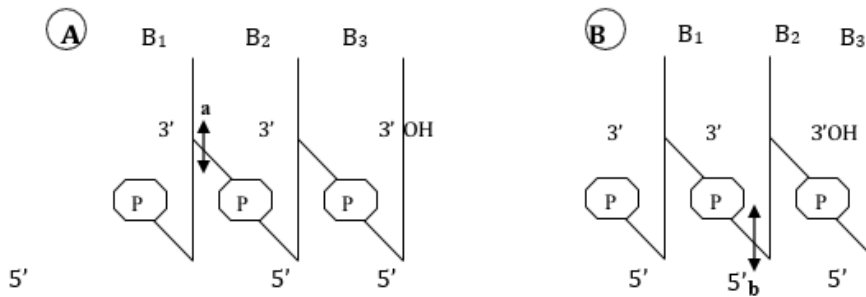


Figure 15 : Action des DNases

- **Techniques de séquençage de Maxam et Gilbert.**

C'est une bonne méthode permettant de déterminer les séquences de DNA. Elle repose sur l'obtention de fragments spécifiques à l'aide d'endonucléases de restriction et sur le clonage de ces fragments.

Le principe de l'analyse de ces fragments repose sur différentes hydrolyses chimiques.

On soumet 4 aliquotes d'un fragment de DNA marqué au ^{32}P à 4 réactions différentes dans des conditions où on n'aura qu'une coupure par chaîne :

- 1) un traitement au diméthylsulfate qui méthyle surtout la guanine en N7 ; sous l'effet de la chaleur, la guanine est détachée et la chaîne poly nucléotidique est rompue à ce niveau.
- 2) Un traitement au diméthylsulfate en milieu acide détache les 2 purines A et G
- 3) Un traitement par l'hydrazine en milieu Na Cl 1M permet de déterminer les fragments se terminant par C.

4) Un traitement par l'hydrazine (Sans sel) permet de couper au niveau des C et des T.

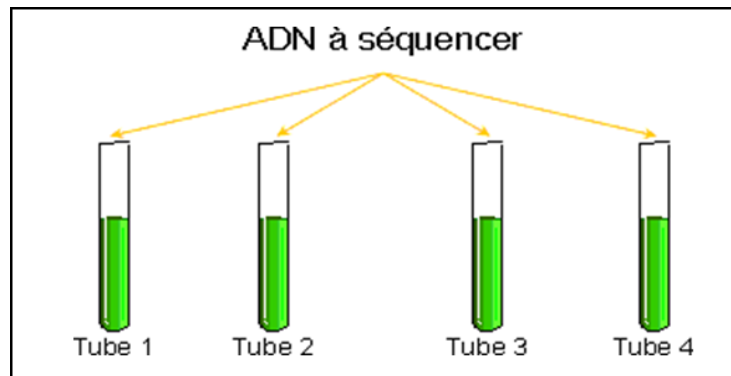


Figure 16 : Traitement des échantillons

Tous ces fragments engendrés par ces 4 réactions vont être soumis à une électrophorèse qui les sépare en fonction de leur taille.

Le fragment le plus court se trouve au bas du gel. Sachant que 2 fragments successifs ne diffèrent que par un seul nucléotide, on peut lire la séquence du DNA après autoradiographie.

G	G et A	C	C et T	
-	-	-	-	
—	—	—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-C-T-G-A-C-3'OH
	—	—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-C-T-G-A-3'OH
	—	—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-C-T-3'OH
—	—	—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-C-T-3'OH
		—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-C-3'OH
		—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-C-3'OH
	—	—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-A-3'OH
		—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-C-3'OH
		—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-T-3'OH
		—	—	³² P 5'-A*-A-G-T-C-3'OH
—	—		—	³² P 5'-A*-A-G-T-3'OH
	—		—	³² P 5'-A*-A-G-3'OH
	—			³² P 5'-A*-A-3'OH
				³² P 5'-A*-3'OH
+	+	+	+	

Figure 17: schéma d'un gel

Remarque : l'inconvénient de cette méthode est que le 1er nucléotide ne peut pas être identifié

- **Techniques de séquençage de Sanger**

On peut également déterminer la séquence de DNA par la méthode de Sanger qui se base sur la polymérisation, l'électrophorèse, et l'autoradiographie.

Le principe de cette méthode consiste à initier la polymérisation de l'ADN à l'aide d'un petit oligonucléotide (amorce) complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer. L'élongation de l'amorce est réalisée par le fragment de Klenow (une ADN polymérase I dépourvue d'activité exonucléase 5'→3') et maintenant par des ADN polymérases thermostables. Les quatre (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) sont ajoutés, ainsi qu'en faible concentration de l'un des quatre didésoxynucléotides (ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP).

Ces didésoxynucléotides, agissent comme des « poisons » terminateurs de chaîne : une fois incorporés dans le nouveau brin synthétisé, ils empêchent la poursuite de l'élongation. Cette terminaison se fait spécifiquement au niveau des nucléotides correspondant au didésoxyribonucléotide incorporé dans la réaction. Pour le séquençage complet d'un même fragment d'ADN, on répète cette réaction quatre fois en parallèle, avec les quatre didésoxyribonucléotides différents.

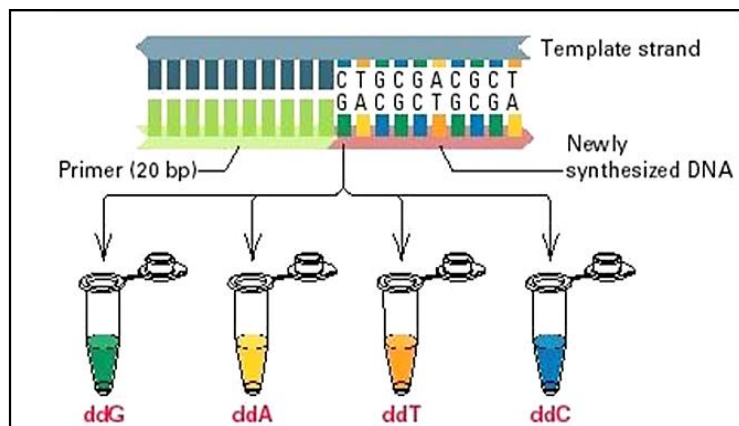


Figure 18 : Technique de Sanger

Par exemple, dans la réaction où on a ajouté du ddGTP, la synthèse s'arrête au niveau des G. Le mélange réactionnel contenant, à la fois du dGTP et un peu de ddGTP, la terminaison se fait de manière statistique suivant que l'ADN polymérase utilise l'un ou l'autre de ces nucléotides. Il en résulte un mélange de fragments d'ADN de tailles croissantes, qui

se terminent tous au niveau d'un des G dans la séquence. Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide.

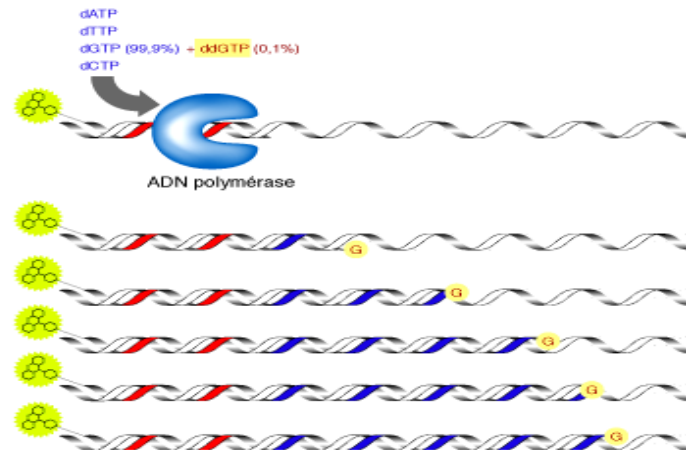


Figure 19 : Synthèse en présence de ddGTP

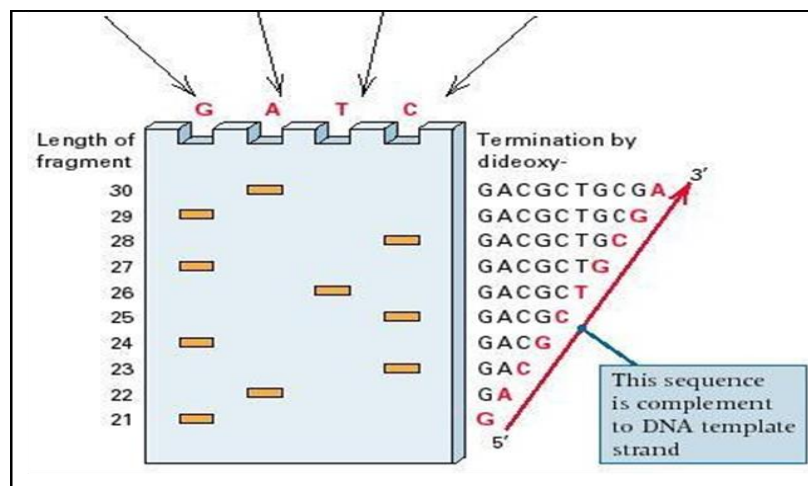


Figure 20 : Exemple de résultat

Remarque : Le dernier nucléotide est indéterminé, en plus un domaine doit être connu au préalable. La lecture est indirecte

- **Nouvelle technique de Rothberg**

Cette nouvelle technique (conçue par J. Rothberg) utilise des puits minuscules en fibre optique et une barrette qui contient 1.6 millions de puits.

En utilisant la lumière pour mesurer les réactions, les essais de l'appareil indiquent qu'il est capable de séquencer 25 millions de bases en un seul passage de 4 heures avec plus de 99% d'exactitude.

L'acide ribonucléique (ARN)

Dr Dana JALLOULI, Dr Mouna TURKI

Objectifs

1. Identifier les caractéristiques propres du RNA
2. Connaître les propriétés physico-chimiques des acides nucléiques du RNA
3. Préciser l'action de chacune des nucléases (RNA ase)
4. Connaître les méthodes de séquençage du RNA
5. Savoir déterminer une séquence de RNA
6. Définir les différents types des RNA

1. Caractéristiques des RNA

Les RNA sont caractérisés essentiellement par :

- * L'ose (ribose)
- * Les bases (A, C, G, U)
- * Une seule chaîne de nucléotide. Cette chaîne est d'ailleurs plus courte que les chaînes de DNA.

Les règles d'appariement sont les mêmes qu'entre 2 brins de DNA :

A = T et C = G

Ces appariements s'observent dans une région repliée en épingle à cheveu. Où entre 2 molécules de RNA (puisque une molécule de RNA ne possède qu'une chaîne).

2. Propriétés physico-chimiques

- **Poids moléculaire :**

Les PM des RNA sont compris entre 25 000 et plusieurs millions

- **Constante de sédimentation C.S :**

Ces C.S sont généralement comprises entre 3 et 30 U.S.

Les C.S dépendent de la masse, de la densité et de la forme de la particule

- **Solubilité**

Les RNA sont peu solubles dans l'eau mais très solubles dans les solutions salines diluées (NaCl 0,01 M), Insolubles dans les solvants organiques.

- **Absorption à l'UV**

Les RNA comme les DNA absorbent à 260 nm (bases puriques et pyrimidiques)

- **L'effet hypochrome et hyperchrome**

Cet effet peut être observé à propos de la renaturation et dénaturation des RNA. Mais cet effet est moins accentué que dans le DNA du fait que le DNA est totalement bicaténaire.

3. Etudes des séquences du RNA

- **Hydrolyse chimique alcaline**

C'est la liaison phosphodiester du côté 5' du ribose qui est hydrolysée sous l'action des alcalis. Cette hydrolyse entraîne la formation d'un intermédiaire 2' 3' monophosphate cyclique puis d'un nucléotide 2' ou 3' monophosphate.

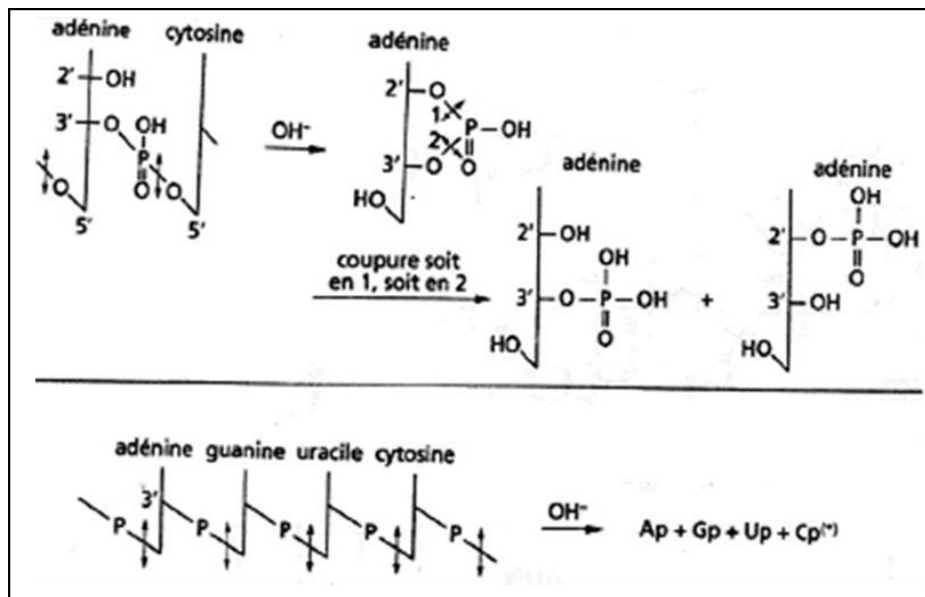


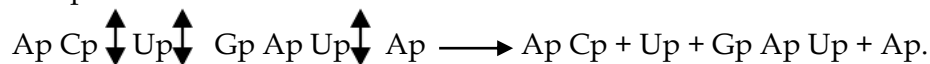
Figure 1 : Hydrolyse chimique alcaline

- **Hydrolyse enzymatique** : par les ribonucléases ou Rnase

Les Rnases hydrolysent spécifiquement les RNA

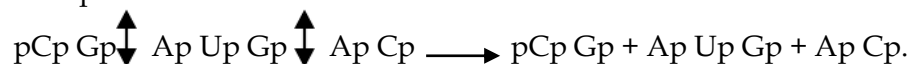
- **Rnase pancréatique** : Endonucléase hydrolyse les liaisons phosphodiesteres en (b) engendrant des oligonucléotides à uridine 3' (P) ou cytidine 3' (P)

Exemple



- **Rnase T1** : Synthétisé par une bactérie. C'est une endonucléase dont la coupure est de type (b) engendrant des oligonucléotides à Guanidine 3' (P).

Exemple



- **Rnase U2** : Endonucléase (b), scinde les liaisons phosphodiesteres des RNA lorsque du côté 3' il y a un nucléotide adénylique ou guanilique.

Utilisé sur des fragments provenant de l'hydrolyse par la Rnase T1, elle coupera spécifiquement au niveau des nucléotides adényliques.

- **phosphodiesterase de venin de serpent PDVS**

C'est une exonucléase, elle attaque à partir de l'extrémité 3'OH. La coupure est en (a). Elle agit sur RNA et DNA.

- **phosphodiesterase de rate de bœuf PDRB**

C'est une exonucléase agit en sens opposé à la précédente, type (b). Elle commence à partir de l'extrémité 5'OH. Elle libère séquentiellement des nucléotides 3' P. Elle agit sur RNA et DNA.

- **phosphatase alcaline d'E. Coli**

Les phosphatases sont des phosphomonostérases et non des phosphodiesterases elles peuvent détacher le groupement phosphate uniquement à l'extrémité d'un chaîne 5' Ap Up Cp Gp Cg Ap 3'.

Il ya des 3' phosphomonostérases et des 5' phosphomonostérases.

• **Technique de séquençage et autoradiographie**

C'est une méthode très semblable à celle Maxam et Gilbert. Le principe est en effet identique, sauf que l'on a recours à de différentes hydrolyses enzymatiques (au lieu de chimiques).

On marque l'extrémité du fragment de RNA à l'extrémité 5' par le ^{32}P puis on soumet diverses aliquotes à différentes hydrolyses enzymatiques spécifiques (Rnases pancréatiques, T1 ou T2 ou d'autres nucléases) dans des conditions où il n'aura qu'une coupure par chaîne.

Après électrophorèse sur gel de polyacrylamide, seuls les fragments porteurs de l'extrémité 5' marqué au ^{32}P seront visualisés par autoradiographie.

Parallèlement, un hydrolyse alcaline partielle permet de couper après tous les nucléotides et sert de repère. On peut ainsi lire directement sur le gel la séquence d'un fragment allant jusqu'à 70 nucléotides ou davantage.

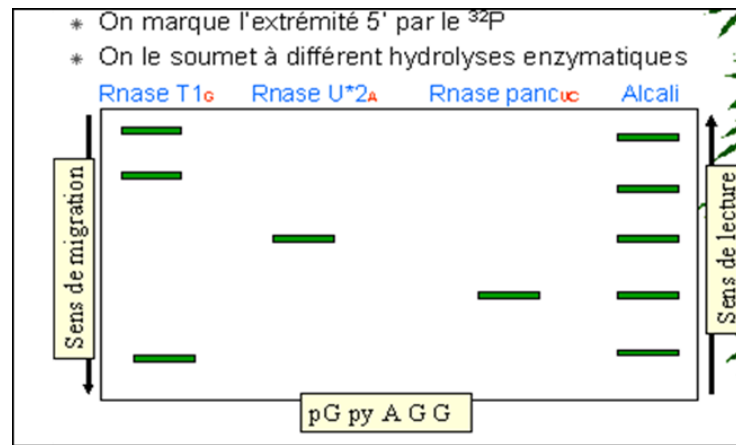


Figure 2 : Technique de séquençage et autoradiographie

Le sens de la lecture est l'inverse du sens de migration à pH élevée.

4. Les différents types des RNA

Les cellules contiennent essentiellement trois types de RNA

- Ribosomal (rRNA) les plus abondants dans la cellule 82%
- De transfert (tRNA) et 6%
- Messager (mRNA) 2%

• RNA ribosomaux (rRNA)

Les ribosomes sont de véritable « usines à protéines » de la cellule. On les trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries.

* Chez les procaryotes le ribosome est formé de 2 sous unités : une grande sous unité 50 S et une petite sous unité 30 S pour former un ribosome 70 S. Chaque sous unité est constituée par un mélange de : protéines et RNA.

- L'ensemble rRNA + r - protéines de la s - unité 30S a une masse enivrante de 900.000D
- L'ensemble rRNA + r - protéines de la s - unité 30S a une masse enivrante 1,6 millions dalton.

Lorsque la petite et la grande sous - unité s'assemblent, il se forme entre les 2 sous - unités, un sillon dans lequel passera le mRNA.

* Chez les eucaryotes les ribosomes sont plus gros (80S) : Une sous unité (40S) et une sous unité (60S) forment le ribosome 80S.

Partie 3 : Lipides, Glucides et Acides Nucléiques

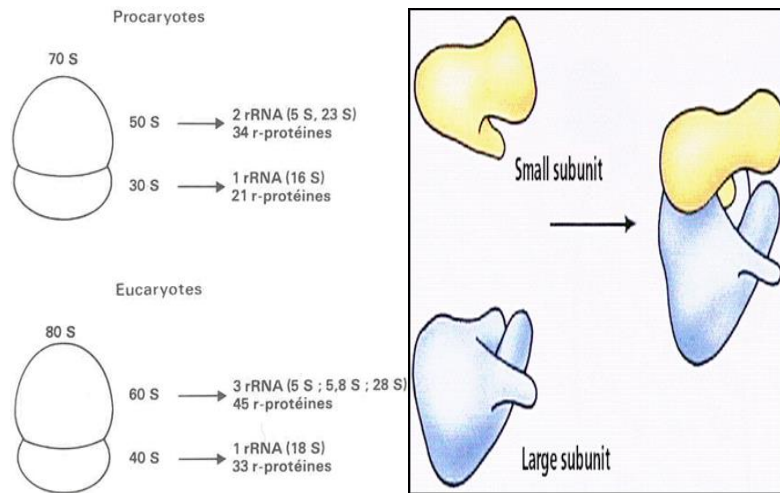


Figure 3 : Structures des ribosomes

Les rôles des r-RNA : rôle de structure, rôle pour faciliter la fixation des autres RNA (tRNA, mRNA)

- **Les t - RNA**

Les t - RNA vont transférer, véhiculer les acides aminés qui se trouvent dans le cytoplasme jusqu'au ribosome, lieu de la synthèse protéique.

La forme spatiale dans t-RNA est caractéristique. La chaîne (100 de Nucl) se replie pour donner un aspect général en forme de trèfle : avec des branches appariées et des boucles non appariées.

Dans l'espace, cette molécule se replie pour donner une forme rappelant un ♣ .

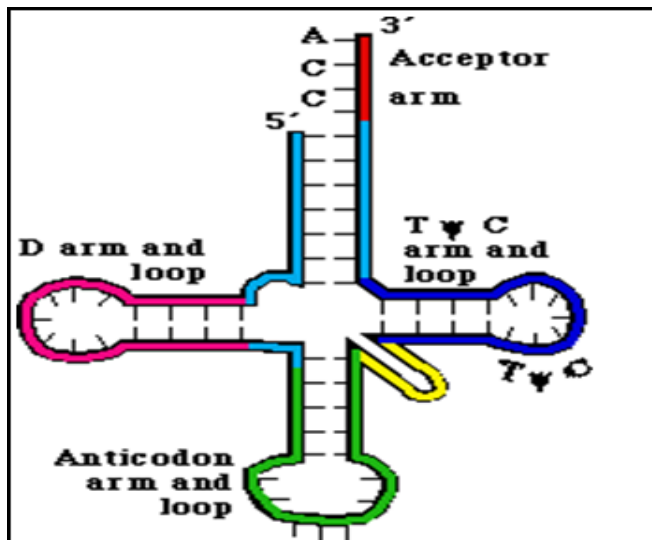


Figure 4 : Représentation schématique d'un tRNA

On trouve dans le t-RNA :

- Des nucléotides atypiques : l'hypoxanthine (IMP). On trouve également la thymine. Ces bases ne sont pas incorporées telles quelles au moment de la synthèse du t-RNA. Elles sont formées secondairement par modification d'une des 4 bases (A, U, C, G).
- IMP provient de la désamination de l'Adénine dans AMP.
- TMP provient de la méthylation de UMP.

L'extrémité 3' de tous les t-RNA se termine par CCA et c'est ici que se fixe l'acide aminé.

L'anti codant comprend 3 Nucléotides il reconnaît le codon du mRNA cet appariement est anti parallèle et complémentaire. (Voir figure 6.30)

• Les mRNA

Ce type de RNA porte une partie de l'information génétique contenue au niveau du DNA.

La durée de vie des mRNA est très courte. Les mRNA se produisent et se dégradent très rapidement. Chez les bactéries la durée de vie est de quelques minutes, chez les eucaryotes (quelques heures à quelques jours).

Il est formé d'une seule chaîne de nucléotides les bases étant A, C, G, U.

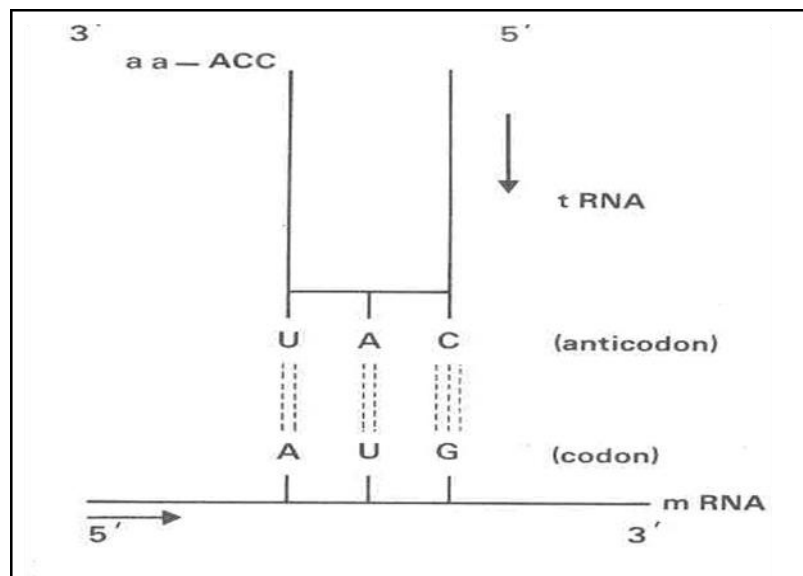


Figure 5 : Complémentarité codon-anticodon