

# Chap 3. Les peptides

# 1. Généralités

La réaction d'un groupe **COOH** d'un acide aminé avec le groupe **NH<sub>2</sub>** d'un autre acide aminé donne un **amide**. La liaison formée est la **liaison peptidique**, Cette liaison permet la formation d'un **peptide**.

**Un peptide** est un enchainement d'acides aminés reliés par des liaisons peptidique du type C-N (voir Fig. 1):

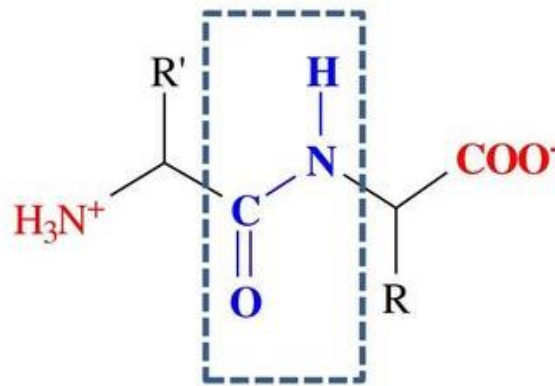


Fig. 1 Acide aminé **NH<sub>3</sub><sup>+</sup>** terminal      liaison      Acide aminé **COO<sup>-</sup>** terminal  
peptidique

Donc les **peptides** sont le résultat de l'enchaînement d'acides aminés reliés entre eux par une liaison covalente qui est une **liaison amide**. Cette liaison est formée par déshydratation entre le groupement **amine** d'un acide aminé et le groupement **carboxyle** d'un autre aminoacide. Cette liaison est également appelée **liaison peptidique**, d'où le nom de **polypeptides** également donné aux protéines.

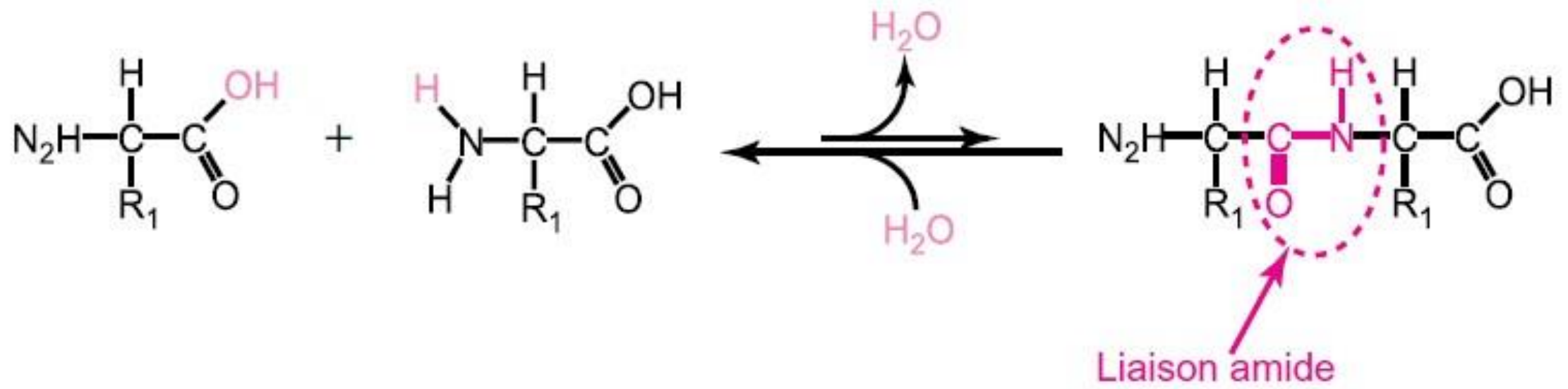


Fig. 2 Formation de la liaison peptidique.

La liaison entre : 2 aminoacides donne un dipeptide

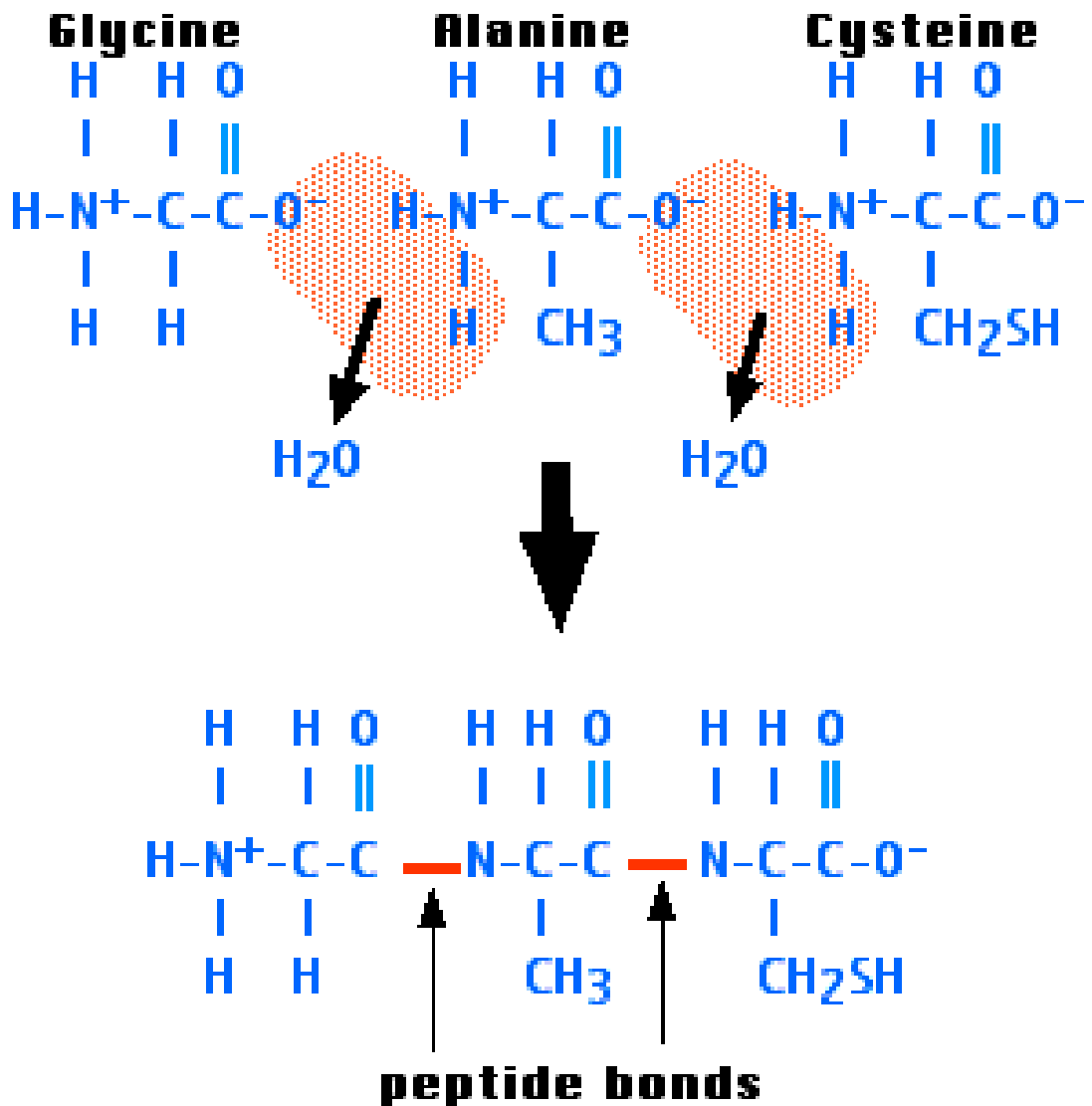
3 aminoacides donne un tripeptide

Un petit nombre d'aminoacides : un oligopeptide

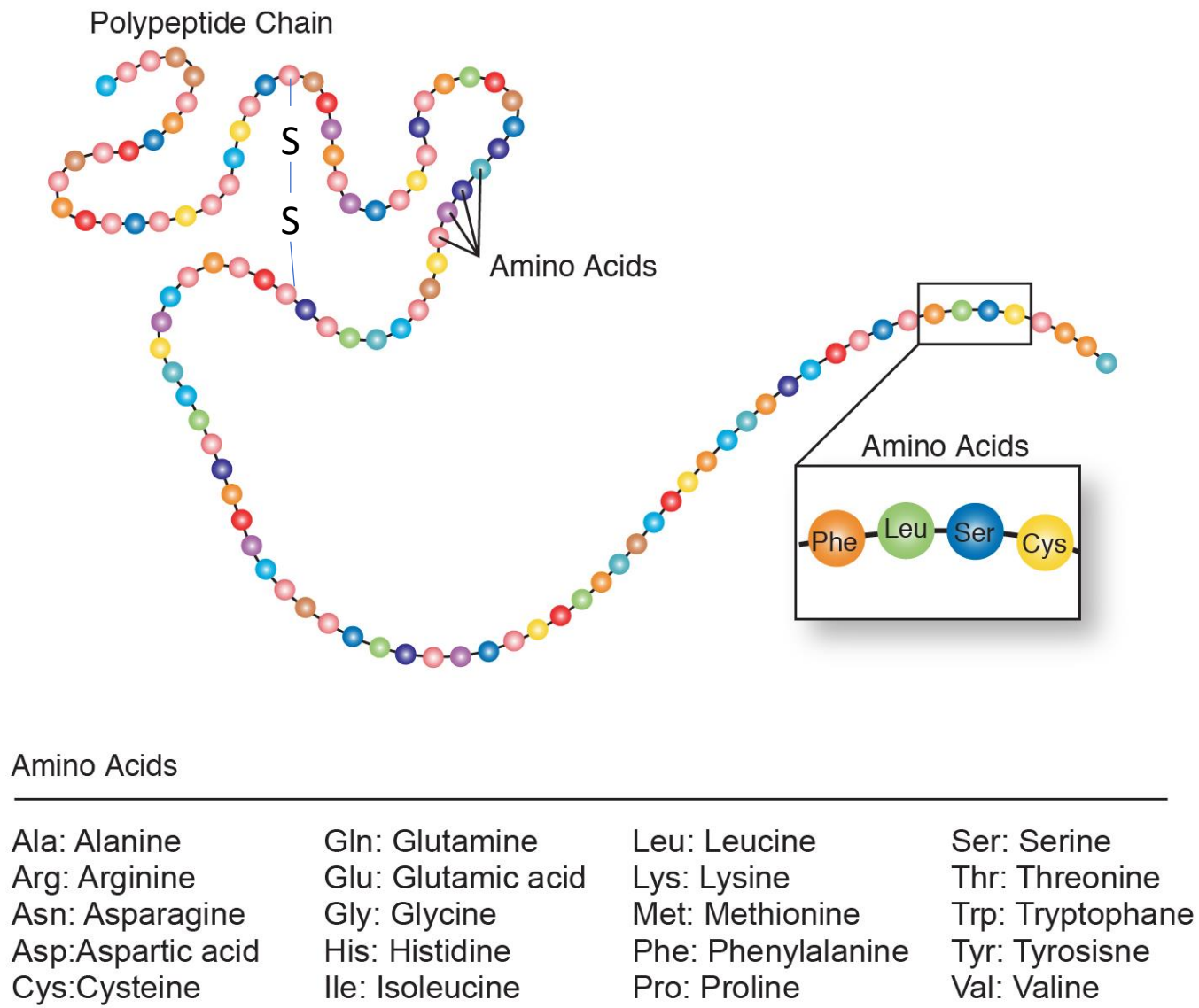
Un grand nombre d'aminoacides : un polypeptide

Une **protéine** est un ensemble d'acides aminés qui sont liés par des liaisons peptidiques qui peuvent être très longues : **Une protéine est un polypeptide**

Une **chaîne polypeptidique** (Fig 3) est formée par des aminoacides unis par des liaisons peptidiques. Parfois l'assemblage de plusieurs peptides sont reliés par des ponts **S—S** ou d'autres liaisons.



Un tripeptide



**Fig 3.** représentation schématique d'un polypeptide

Un aminoacide engagé dans une liaison peptidique est appelé **résidu**

Exemple: **Tyr** devient **résidu Tyrosyl**

**Met** devient **résidu Metionyl**

- Formule d'un peptide (Fig 4):

La formule d'un peptide s'écrit de la gauche vers la droite : A partir de l'**Aa** ayant un groupement **NH<sub>2</sub>** libre (non engagé dans une liaison peptidique), vers l'**Aa** ayant son **COOH** libre.

On dit **extrémité NH<sub>2</sub>** ou **Aa N Terminal** ou **Aa NH<sub>2</sub> Terminal**

On dit **extrémité COOH** ou **Aa C Terminal** ou **Aa COOH Terminal**

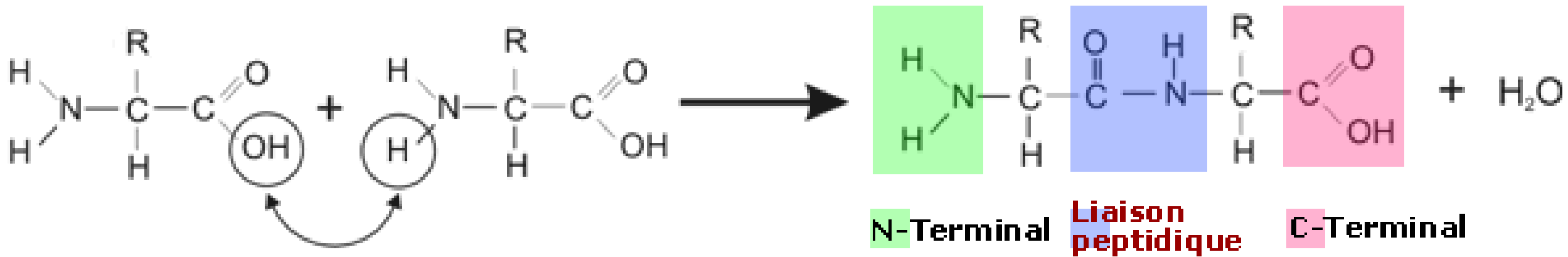
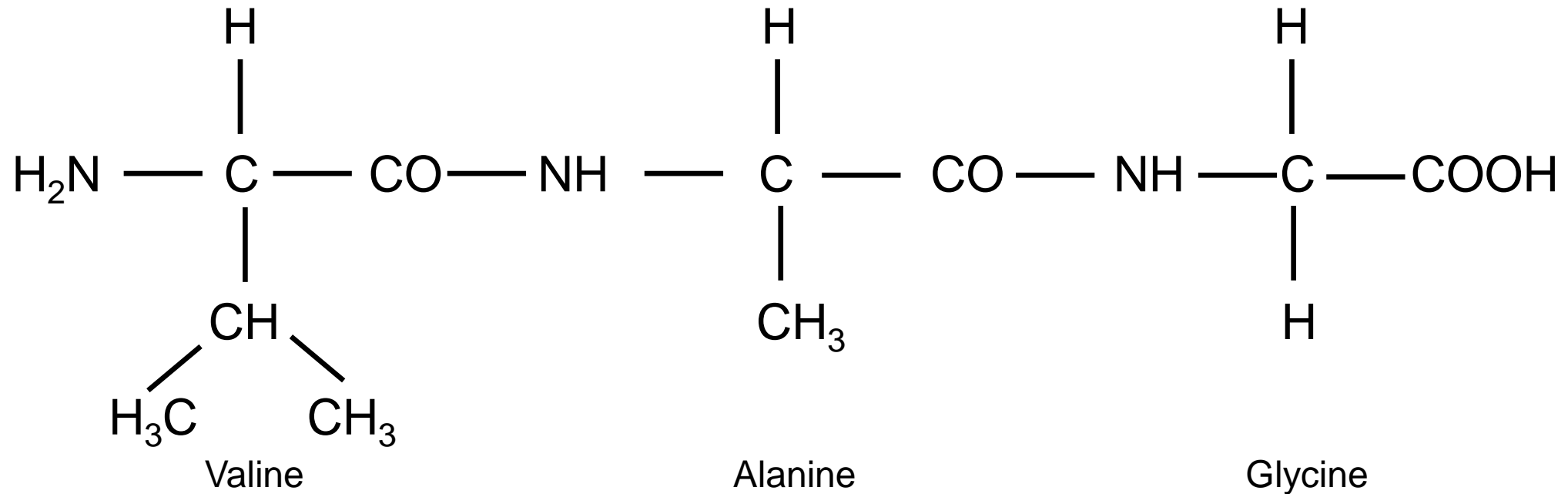


Fig. 4 Formule d'un peptide

Le **peptide** est **nommé** dans l'ordre de la séquence de ses composants en Aa.

Exemple:



Le peptide se nomme Valyl-alanyl-glycine

Le résidu valyl a perdu un hydroxyl OH

alanyl a perdu un H et un OH

glycine a perdu un H

## 2. Origine des peptides

- Généralement, les peptides composés par 2,3 ou plus d'Aa, sont obtenus par **hydrolyse partielle** de longues chaînes polypeptidiques.
- Par exemple, dans le tractus gastro intestinal, les peptides sont aussi formés au cours de la digestion des protéines par le biais des protéases qui ont un rôle dans l'hydrolyse des liaisons peptidiques.

### 3. Propriétés acido-basiques

- Les peptides petits peuvent se cristalliser et donner une forme d'ion dipolaire,
- Aucune des fonctions COOH ou NH<sub>2</sub> engagés dans la liaison peptidique ne peut s'ioniser,
- Le comportement acido-basique du peptide est dû aux fonctions NH<sub>2</sub> et COOH terminales et les fonctions ionisables apportées par le R (de l'acide aminé).

## 4. La liaison peptidique

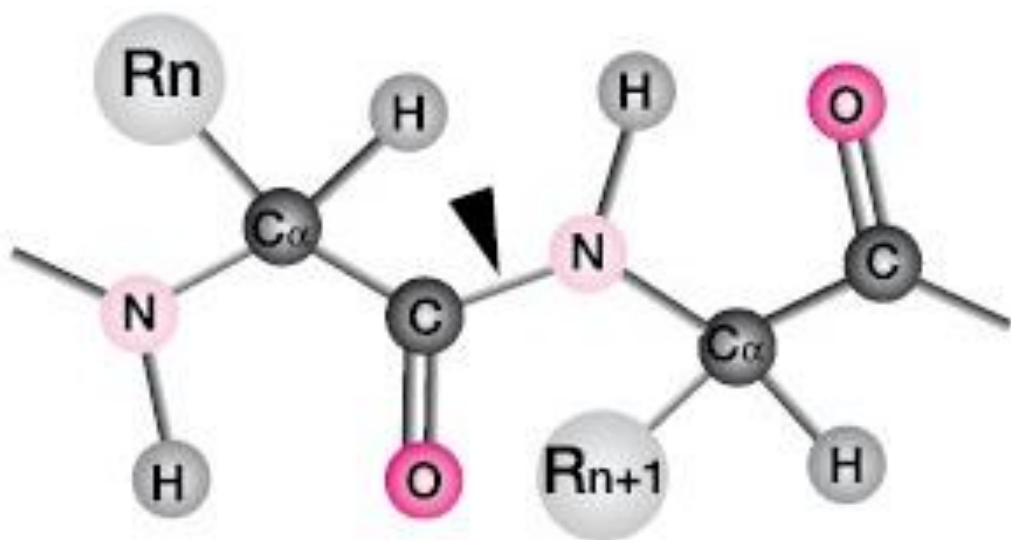
La **liaison peptidique** est très stable à pH neutre malgré un équilibre de réaction en faveur de l'hydrolyse.

La résistance particulière à l'hydrolyse est liée à la **résonance des électrons** entre les atomes d'oxygène et d'azote de la liaison amide.

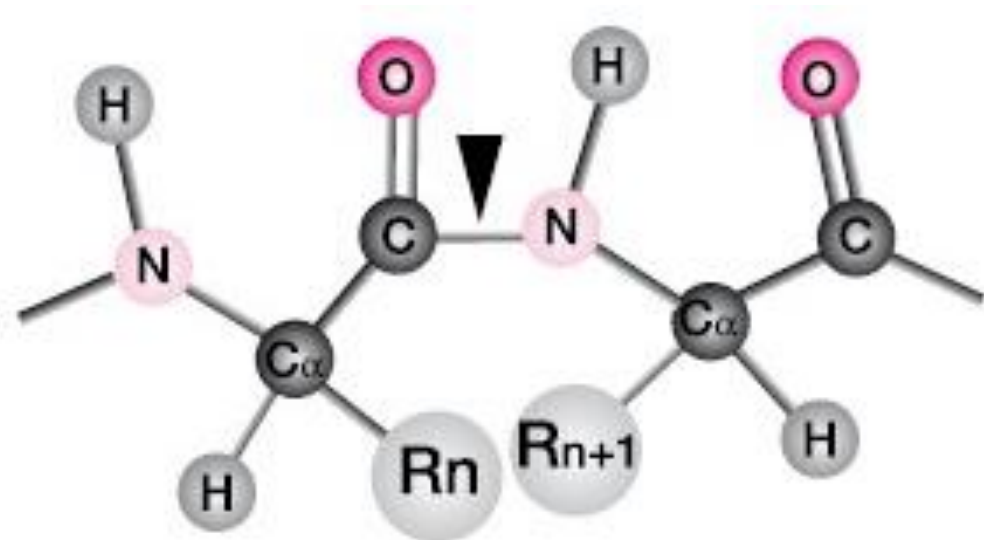
### Origine de la résonance:

Deux autres propriétés importantes de la liaison peptidique, sont à l'origine du phénomène de résonance : (i) il augmente la polarité de la liaison lui octroyant un **moment dipolaire** et (ii) il donne à la liaison peptidique un caractère de double liaison.

Dans un peptide, le caractère double liaison bloque la rotation autour de l'axe C-N. Ce qui fait, le C $\alpha$ , le groupe CO du 1<sup>er</sup> acide aminé, le groupe NH et le C $\alpha$  du 2<sup>nd</sup> acide aminé se trouvent dans un même plan. La libre rotation autour de la liaison amide (angle  $\omega$ ) est limitée à deux configurations, soient la configuration *trans* ( $\omega = 180^\circ$ ), où les 2 C $\alpha$  sont localisés de part et d'autre de la liaison amide et la configuration *cis* ( $\omega = 0^\circ$ ), où les 2 C $\alpha$  sont localisés du même côté de la liaison.

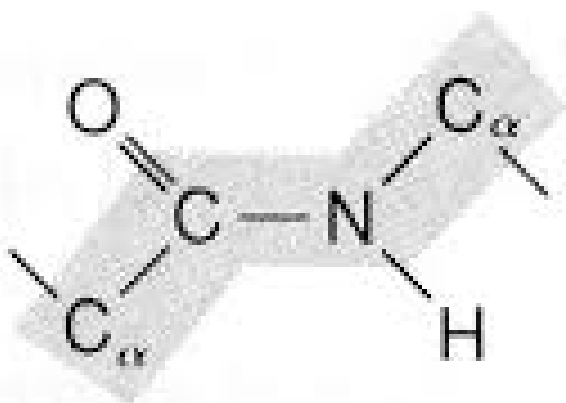


*Trans*

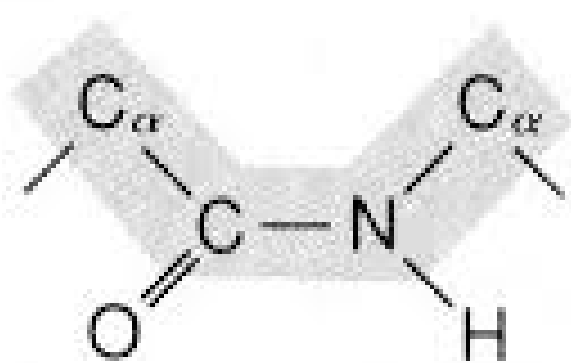


*Cis*

Liaisons peptidiques cis et trans. ▼ indique la liaison amide.



*Trans*



*Cis*

## 5. Etude de la structure des peptides :

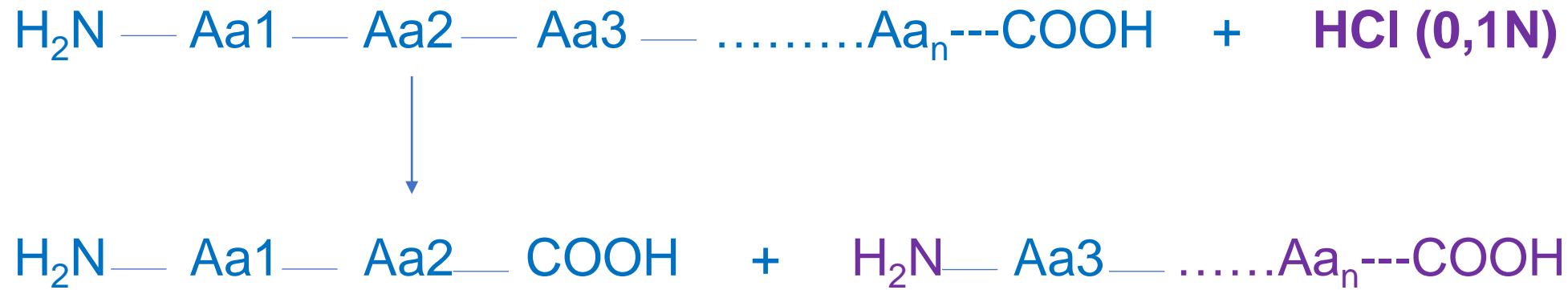
Pour connaître la séquence des acides aminés il faut d'abord déterminer les acides aminés N- et C- terminaux, puis l'ordre d'enchaînement des autres acides aminés.

Pour **déterminer** la séquence d'un peptide, il existe plusieurs méthodes

Parmi les principales méthodes utilisées :

## a. Clivage non spécifique d'un peptide:

- Hydrolyse HCl (0,1 N) partiel:



Ce type d'hydrolyse permet l'obtention d'un dipeptide

La coupure se fait au Hazard sans aucune spécificité des Aa

- Hydrolyse HCl (6 N) total : L'utilisation d'un HCL concentré (à 110°C, 24h) permet la coupure totale de toutes les liaisons peptidiques. C'est la méthode la plus utilisée.

**Cas1.** L'hydrolyse acide totale détruit le **Tryptophane** :



**Aa4 n'apparaît pas dans le résultat et on conclue que, le nom de l'Aa4 détruit était le Trp.**

**Cas2.** Dans le cas de l'**Asparagine** (Asn) et la **Glutamine** (Glu), l'utilisation de HCl (6N) leur fait perdre les groupements  $\text{NH}_2$ , et transforme en acide les fonctions amides de la **Glutamine** et de l'**Asparagine** pour donner du **Glutamate** et de l'**Aspartate**.

- Hydrolyse basique (alcaline) : (ou hydrolyse totale alcaline)

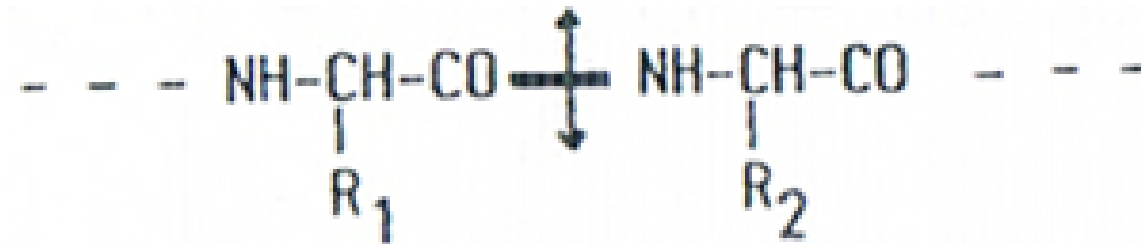
L'utilisation de l'hydroxide de sodium (NaOH) à 4 mol/L à (110 °C) pendant 24h, induit à :

Destruction de la Sérine, la Thréonine et la Cystéine.

- Clivage des ponts disulfures (S-S) : Le pont disulfure est responsable de la structure tertiaire des protéines, apportant une grande stabilité à cette dernière. Les chaînes peptidiques reliées entre elles par des ponts disulfures peuvent être cassés, à l'aide de réactifs chimiques comme le B-Mercapto-éthanol (HS-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH) et l'acide performique (HIO<sub>4</sub>).

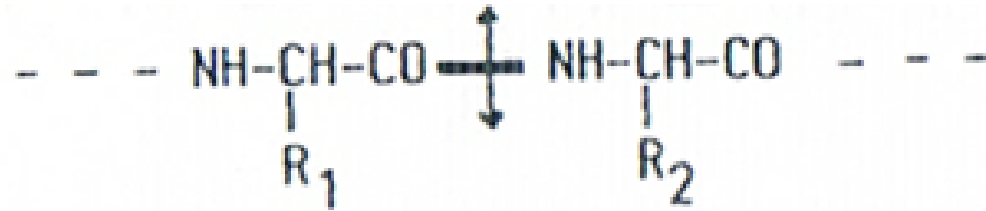
## b. Clivage spécifique des peptides :

- **Action de la Trypsine** : La trypsine est une endopeptidase. La **Trypsine** catalyse très spécifiquement le clivage des chaînes peptidiques à droite des **Aa basiques (-CO-)** la **Lysine** (Lys) et l'**Arginine** (Arg).

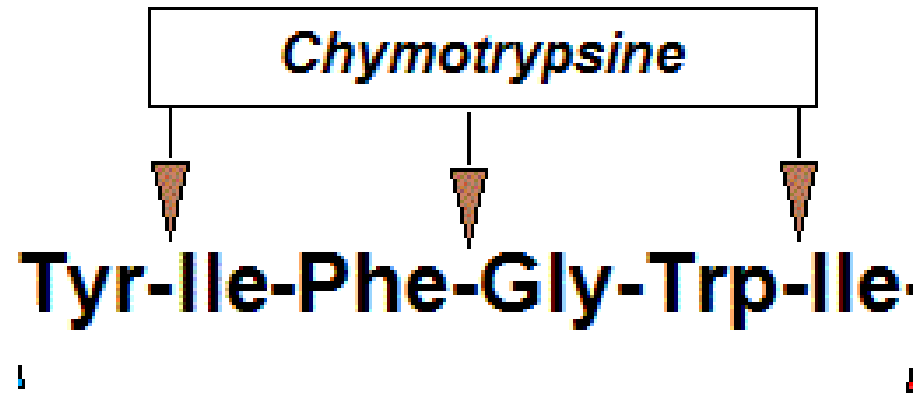


R1= Lys ou Arg

- Action de la Chymotripsine : La chymotripsine est une endopeptidase, elle agit à droite de l'Aa aromatique (-CO-), comme la Phénylalanine (Phe) et la Tyrosine (Tyr). Et aussi Tryptophane (Trp).

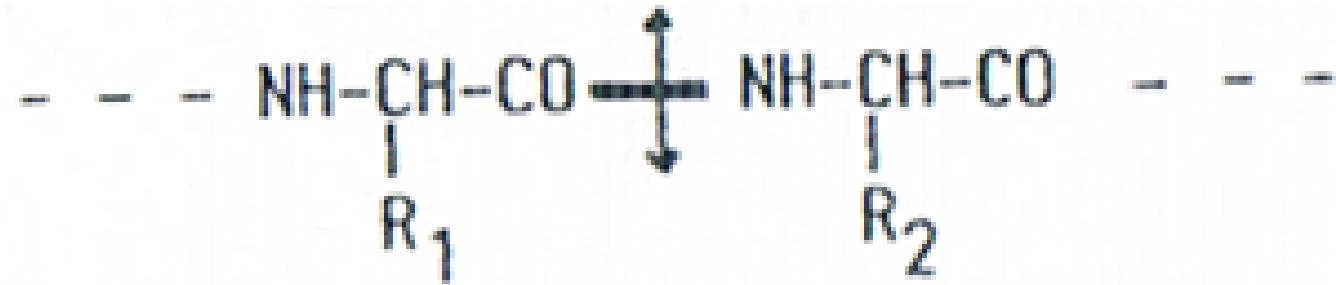


R1= Phe, Tyr, Trp



## - Action de la pepsine

Spécificité plus faible, elle coupe la liaison peptidique impliquant le –NH– d'un maillon correspondant à un acide aminé aromatique et le Tryptophane.

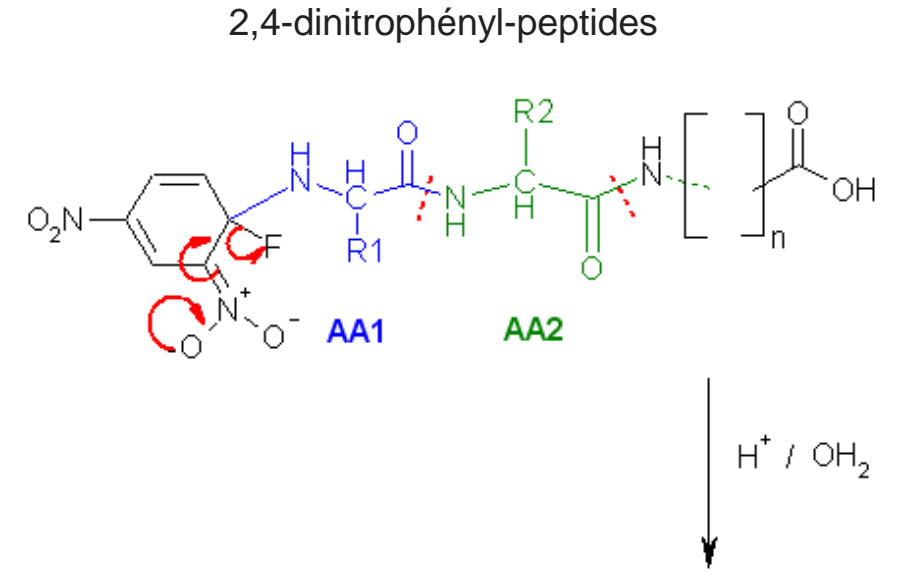
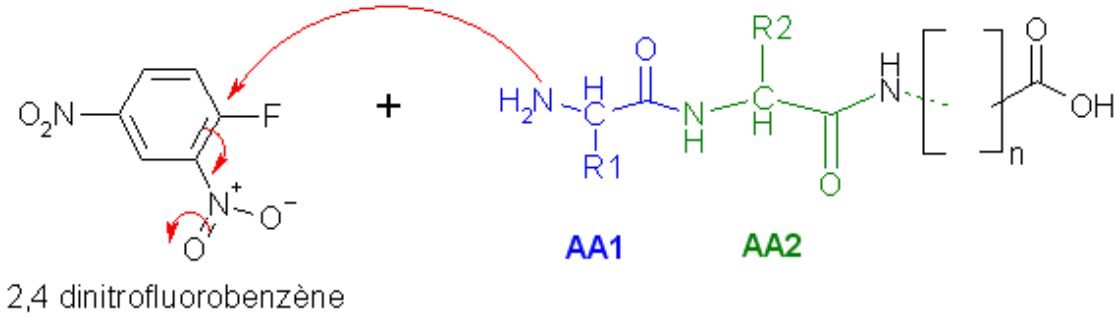


$\text{R}_2 = \text{Phe, Tyr, Trp}$

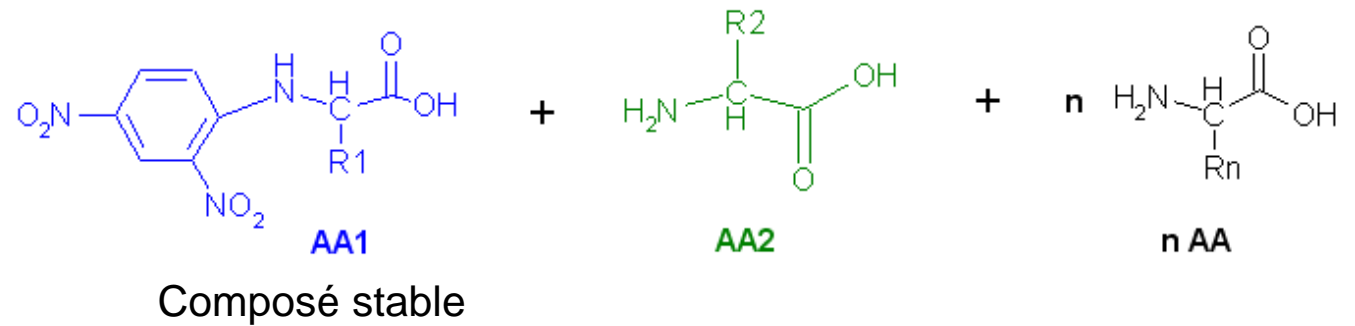
- **Action de la Clostripaine.** Elle coupe la liaison peptidique en impliquant le  $\text{-CO-}$  de l'Arg
- **Action de la protéase staphylococcique.** Elle coupe la liaison peptidique en impliquant le  $\text{-CO-}$  des résidus Asp et Glu.
- **Action de BrCN.** Elle coupe la liaison peptidique en impliquant le  $\text{-CO-}$  d'une Met et transforme le résidu Met en HSL (homosérine lactone).
- **Action de l'Hydroxylamine.** Elle coupe la liaison Asn–Gly

### c. Identification de l'Aa N-terminal ( $\text{NH}_2$ ) d'un peptide :

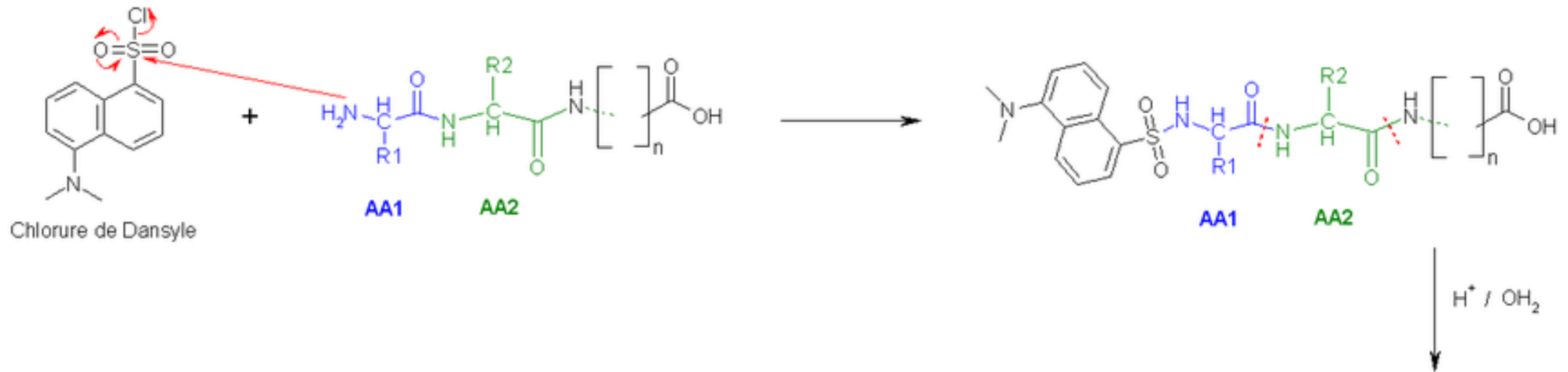
- Réactif de Sanger,
- Chlorure de Dansyl,
- Action du Phénylthiocyanate ou réactif d'EDMAN
- Action de l'aminopeptidase



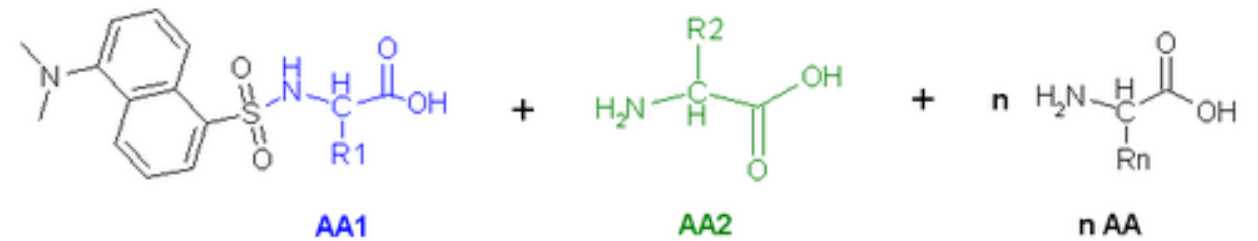
## Méthode de Sanger



Exemple: Identification de l'Aa1 par chromatographie



## Méthode. Chlorure de Dansyl

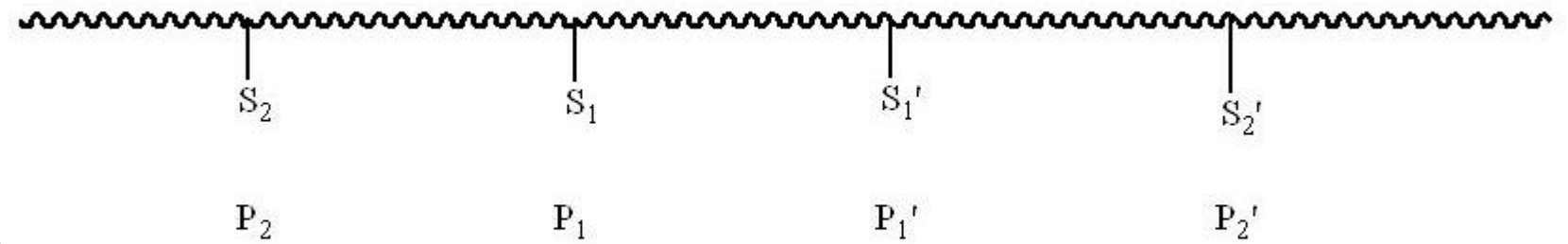


Cette méthode, qui, combiné à une hydrolyse totale acide forme un **Dansyl-AcideAminé1 (DNS-aa)** qui est fluorescent et un hydrolysant

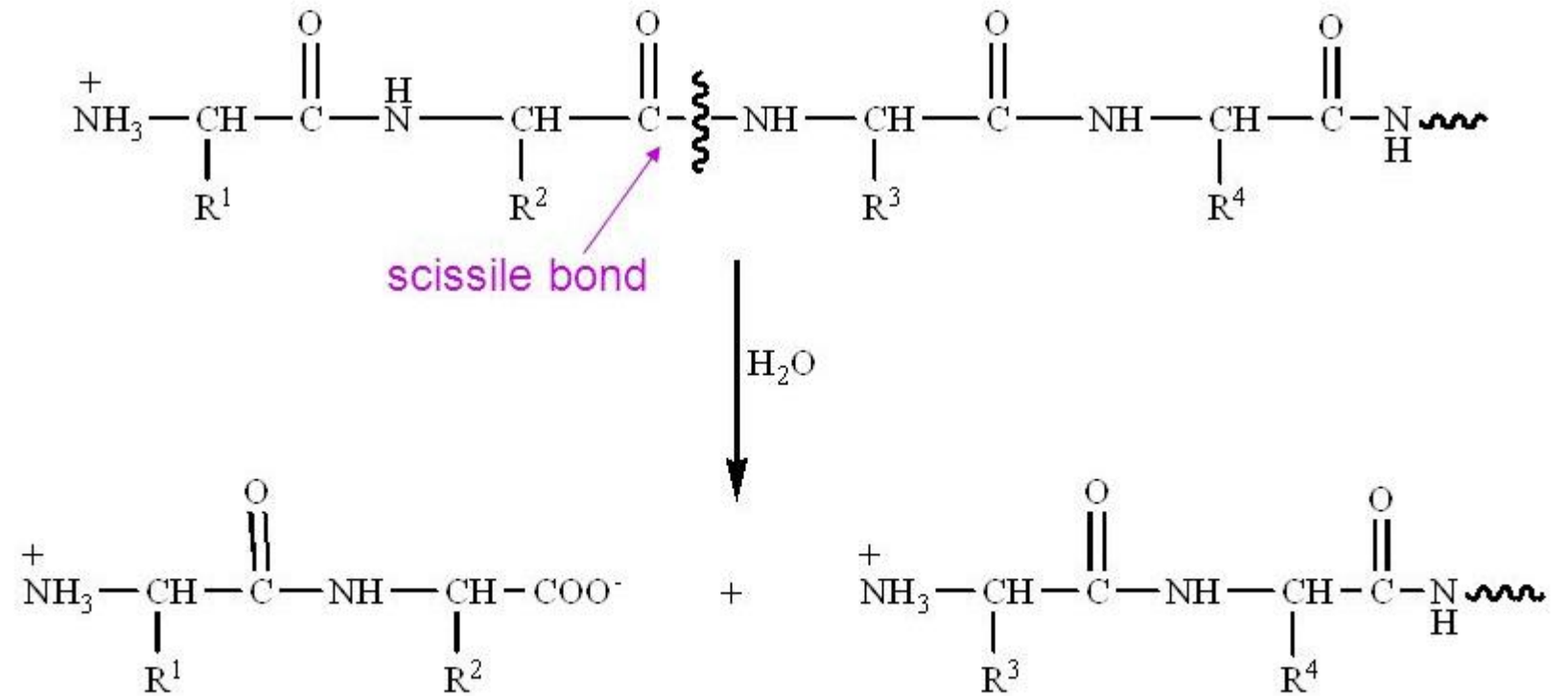
## - La méthode d'Edman

Dans cette méthode, le **Phénylthiocyanate** réagit avec la fonction **amine N-terminale** de l'Aa pour donner un complexe. Ce dernier agit avec un acide dans des conditions douces et libère une **Phénylthiohydantoïne** et le **peptide** reste intact.

# Reaction catalyzed by peptidases



Ex. d'action des aminopeptidase



#### d. Identification de l'Aa C-Terminal

- **Action de la carboxypeptidase.** L'enzyme exopeptidase détache l'Aa C-terminal du peptide.
- **Action de borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) ou du borohydrure du Lithium ( $\text{LiBH}_4$ ).** Ces réactifs transforment la fonction COOH de l'Aa C-terminal en fonction alcool. Donc ils permettent de reconnaître l'Aa C-terminal.
- **Action de l'Hydrazinolyse.** C'est une réaction chimique qui coupe toutes les liaisons peptidiques à l'exception de celle de l'Aa C terminal. Elle convertit les Aa en Hydrazides, sauf l'Aa C-Terminal apparait sous forme libre qui peut être identifié par chromatographie.

