

Acides aminés

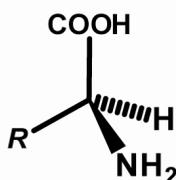
I. Structure des acides aminés	2
1. Structure d'un acide aminé. Carbone asymétrique et chiralité.....	2
2. Classification des acides aminés.....	3
<i>Les acides aminés basiques</i>	3
<i>Les acides aminés acides</i>	4
<i>Les acides aminés polaires non chargés</i>	4
<i>Les acides aminés non polaires</i>	5
II. Propriétés acido-basiques des acides aminés.....	6
1. La relation de Henderson-Hasselbach : définition et signification d'un pK	6
2. Valeurs typiques des pK de groupes ionisables des acides aminés	7
3. Courbes de titrage d'un acide aminé. Point isoélectrique	7
4. Détermination du pH_i d'une molécule possédant 2 fonctions acido-basiques.....	9
5. Détermination du pH_i d'un acide aminé possédant une fonction acido-basique supplémentaire dans sa chaîne latérale.....	10
III. La liaison peptidique.....	15

I. Structure des acides aminés

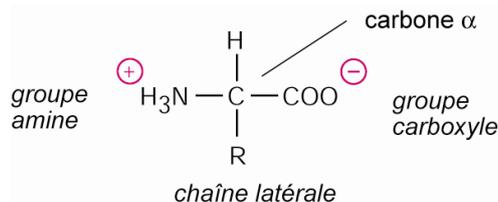
D'un point de vue chimique, une protéine est constituée de l'enchaînement linéaire (c'est-à-dire sans ramifications) de motifs de base que sont les acides aminés. Il en existe 20 fondamentaux (associés au code génétique) plus quelques autres soit non codés génétiquement (les acides aminobutyriques), soit provenant de modifications post-traductionnelles (l'hydroxyproline par exemple) ou de la dégradation d'acides aminés natifs (telle la taurine, dérivée de la cystéine). Nous ne nous intéresserons ici qu'aux seuls 20 acides aminés fondamentaux.

1. Structure d'un acide aminé. Carbone asymétrique et chiralité.

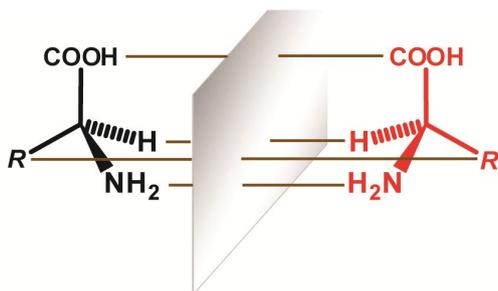
Les 20 acides aminés de base sont des α -amino acides, c'est-à-dire des structures portant sur un même carbone (dit carbone α) une fonction acide carboxylique COOH/COO^- et une fonction amine primaire $\text{NH}_2/\text{NH}_3^+$:



Nous verrons plus loin qu'à pH 7, pH physiologique, les deux fonctions sont ionisées. Une telle structure est souvent représentée en projection plane, dite « projection de Fisher » : en son centre se trouve le carbone α autour duquel les 4 substituants sont placés à 90° les uns des autres :

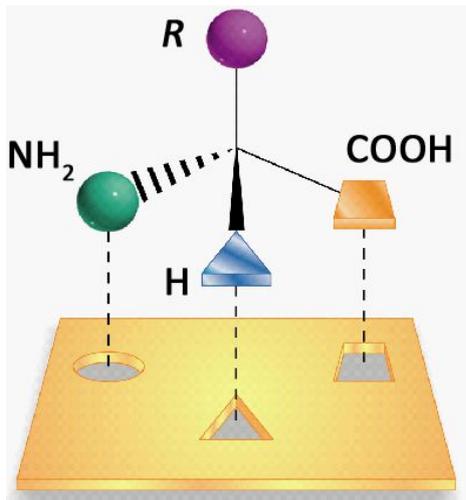


Sauf dans le cas de la glycine (où le radical R est un simple proton), les 4 substituants du carbone α d'un acide aminé sont tous différents les uns des autres : ce carbone est donc asymétrique, ce qui entraîne l'existence de 2 stéréo-isomères (respectivement appelés L et D) qui sont l'image l'un de l'autre dans un miroir (de tels composés sont dits énantiomères).



Les trois groupements communs (les 3 substituants hors la chaîne latérale R) à tous les acides aminés trouvés dans les protéines naturelles, ont toujours la même localisation spatiale, dite configuration L, quel que soit l'acide aminé considéré¹. Le dessin ci-dessous montre, quel que soit R , l'identification d'une configuration D.

¹ Les parois des bactéries sont en revanche constituées de sucres complexes (les peptidoglycanes) incorporant des acides aminés (ou leurs dérivés) de l'autre configuration spatiale (la série D).



Tous les acides aminés naturels possèdent la même configuration de leur carbone α asymétrique. Si l'on place le radical R variable au-dessus et à la verticale du plan de projection, la projection des 3 substituants communs à tous les acides aminés correspond ici à une disposition telle que le cercle (NH_2), le triangle (H) et le parallélogramme (COOH) se succèdent au cours d'une rotation dans le sens anti-horaire. La configuration représentée ici correspond donc à un acide aminé de la série D.

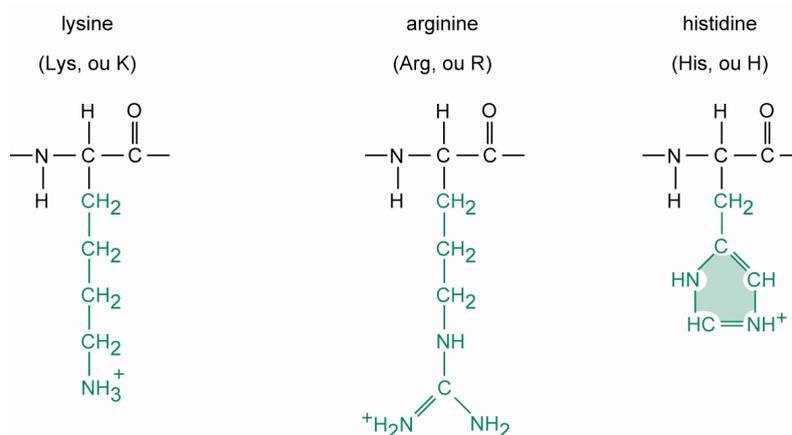
2. Classification des acides aminés

Selon la nature et les propriétés des chaînes latérales, plusieurs classifications des acides aminés sont envisageables. Certaines se recoupent en partie ou en totalité. On pourra ainsi distinguer les acides aminés hydrophobes, catégorie qui diffère peu de celle qui regrouperait les résidus non polaires. On peut distinguer les résidus aromatiques, les acides aminés aliphatiques, les acides aminés soufrés, etc. Nous avons choisi ici de définir les 4 catégories suivantes :

- acides
- basiques
- polaires non chargés
- non polaires

Les structures seront présentées dans ce qui suit comme si l'acide aminé se trouvait dans une protéine, ses fonctions $-\text{NH}_2$ et $-\text{COOH}$ étant alors engagées dans des liaisons (peptidiques, voir chapitre suivant) avec d'autres acides aminés. Nulle fonction α -amine ou α -carboxylique libre, en conséquence, dans les structures présentées ici où nous nous intéresserons aux seules chaînes latérales. Dans cette partie, les propriétés acido-basiques sont simplement énoncées, sans justification. La suite du chapitre permettra d'en comprendre les fondements structuraux.

Les acides aminés basiques

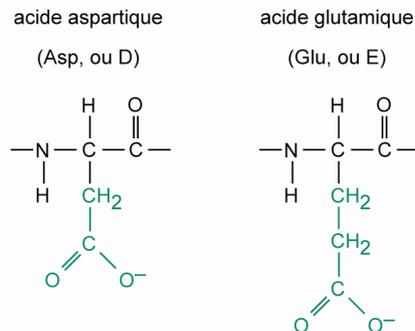


Aux pH physiologiques, la fonction basique de ces chaînes latérales est protonée (voir II). La charge positive du noyau (guanidinium) de l'arginine est stabilisée par résonance entre les deux groupements

amines, ce qui en explique la forte basicité. Au contraire, l'histidine est faiblement basique car les atomes d'azote de son noyau imidazole ont peu d'affinité pour les protons.

Les acides aminés acides

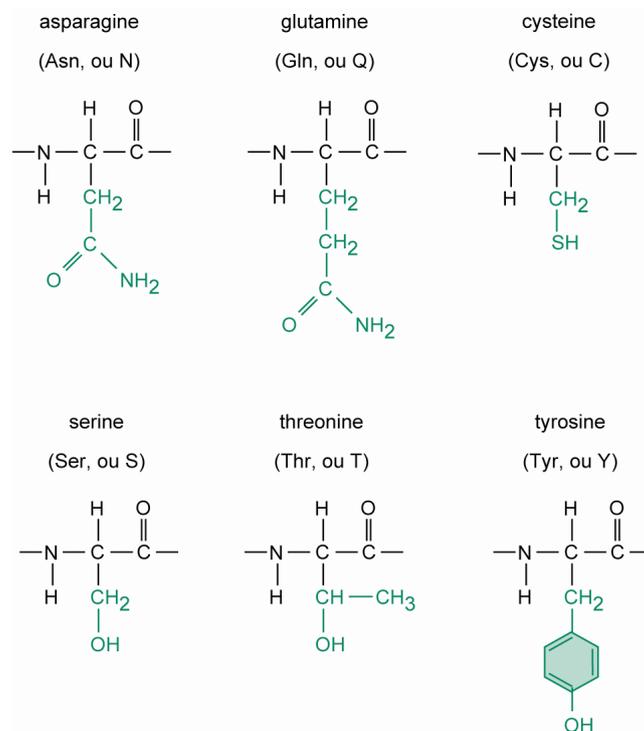
Il n'existe que deux acides aminés de ce type, aux propriétés naturellement très proches : l'acide aspartique et l'acide glutamique. Ils se différencient néanmoins par leur encombrement stérique. A pH neutre, la fonction carboxyle de leur chaîne latérale est déprotonée.



Les acides aminés polaires non chargés

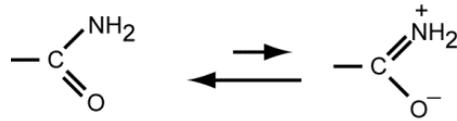
Nous verrons dans le chapitre qui suit que la différenciation entre acides aminés polaires et acides aminés chargés n'est pas, dans son principe, absolue, les acides aminés polaires pouvant s'ioniser dans des conditions extrêmes de pH. Ces conditions étant non-physiologiques, la distinction entre ces deux catégories d'acides aminés est avant tout opérationnelle.

Les chaînes latérales des acides aminés polaires comportent des fonctions amides, alcool (ou phénol pour l'une d'entre elles) et sulfhydryle.



Les fonctions hydroxyles -OH comme la fonction sulhydryle -SH, possèdent une liaison polarisée (à l'origine de la non-superposition des centres de gravité des charges partielles positives et négatives conduisant à la formation de moments dipolaires non nuls).

Les fonctions amides de l'asparagine et de la glutamine ne sont que très faiblement basiques (et donc en cela très différentes de l'amine primaire de la lysine), car la capture d'un proton par le doublet libre de l'azote abolirait la résonance stabilisatrice de celui-ci avec les électrons π de la liaison C=O (Fig. ci-dessous). Les liaisons N-H sont néanmoins polarisées.

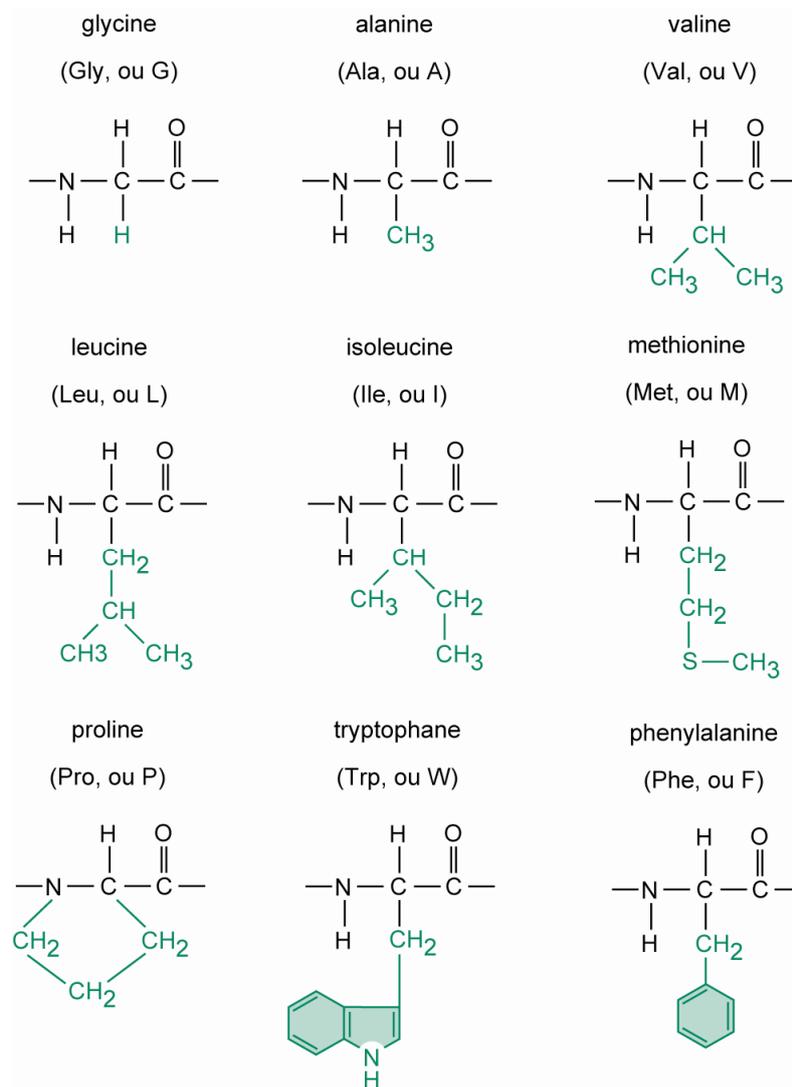


Lorsque deux cystéines se rapprochent au sein d'une protéine, elles peuvent interagir pour former une liaison covalente appelée pont disulfure :



Les acides aminés non polaires

Tous les acides aminés apolaires sont aussi fortement hydrophobes. Néanmoins, il existe des degrés différents d'hydrophobie (et aussi d'hydrophilie) qui peuvent être quantifiés (plusieurs échelles ont été proposées). Ces indices permettent d'attribuer un profil d'hydrophobicité à une protéine de séquence connue. De tels profils sont utiles pour essayer de prévoir quelles parties de séquence pourraient par exemple être intramembranaires ou faire partie d'un déterminant antigénique.

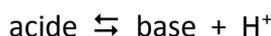


Deux (Trp et Phe) des quatre (les deux autres étant Tyr et His) acides aminés aromatiques² sont apolaires. Ce sont tous des dérivés de l'alanine, ce qui explique la présence, dans toutes ces structures, d'un groupement méthylène -CH₂ entre le noyau aromatique et le carbone α.

II. Propriétés acido-basiques des acides aminés

6. La relation de Henderson-Hasselbach : définition et signification d'un pK

En solution, les acides faibles (en pratique, quasiment les seuls que l'on rencontre dans les milieux biologiques) sont partiellement dissociés (en proton H⁺ et en base dite « conjuguée » à l'acide en question) :



Il existe ainsi un équilibre entre les formes protonée et déprotonée conjuguées du couple acide-base. Cet équilibre est caractérisé par une constante (de dissociation) K_a :

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{base}]}{[\text{acide}]} = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

$$\text{D'où : } \log(K_a) = \log\left(\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]}\right) = \log[\text{H}^+] + \log\left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}\right)$$

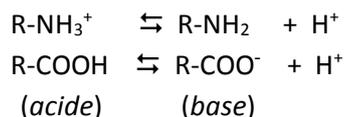
$$-\log(K_a) = -\log[\text{H}^+] + \log\left(\frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}\right)$$

$$\boxed{\text{pKa} = \text{pH} + \log\left(\frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}\right)} \quad \text{relation de Henderson-Hasselbach}$$

Ainsi, **plus l'acide est fort**, plus il est dissocié et plus le rapport [AH]/[A⁻] est faible. Par conséquent, **plus la valeur du pKa** correspondante **est petite**.

Il résulte de cette relation l'égalité pKa = pH lorsque [A⁻] = [AH]. Autrement dit, le **pKa d'un équilibre acido-basique** correspond à la valeur du **pH pour laquelle la concentration en forme protonée AH est égale à celle de la forme déprotonée A⁻**. En d'autres termes, c'est le pH de demi-dissociation de l'équilibre acido-basique.

Attention : la forme « protonée » d'un équilibre acide/base n'est pas nécessairement la forme ionisée, donc chargée. Il suffit de comparer l'équilibre relatif à une fonction amine (où la base est neutre et la forme acide chargée positivement) et celui correspondant à une fonction carboxyle (où c'est la forme basique qui est chargée – négativement – et où la forme acide protonée est neutre) :



² Par opposition à *aliphatique* (du grec *aleiphar*, -atos : graisse), terme à l'origine utilisé pour définir les acides gras possédant de longues chaînes hydrocarbonées linéaires. Dans le cas des acides aminés, l'adjectif désigne les acides aminés acycliques (le cas de la proline est particulier car il s'agit d'un imino- et non d'un amino-acide). Les acides aminés aromatiques possèdent un noyau comportant des doubles liaisons conjuguées leur conférant des propriétés spectrales d'absorption spécifiques.

2 Valeurs typiques des pK de groupes ionisables des acides aminés

L'état d'ionisation d'un acide aminé dépend de son environnement, particulièrement s'il se trouve incorporé dans une protéine (d'où l'existence d'une plage de valeurs et non d'un chiffre absolu).

α -carboxyle (n'importe quel amino-acide)	2.0 - 2.5
carboxyle d'une chaîne latérale (Asp, Glu)	3.5 - 4.5
imidazole d'une His	6.5 - 7.4
α -amine (n'importe quel amino-acide)	8.0 - 9.0
sulhydryle (-SH d'une Cys)	8.5 - 9.0
phénol d'une Tyr	9.5 - 10.5
amine d'une chaîne latérale (Lys)	9.8 - 10.4
noyau guanidinium d'une Arg	12.0 - 12.5

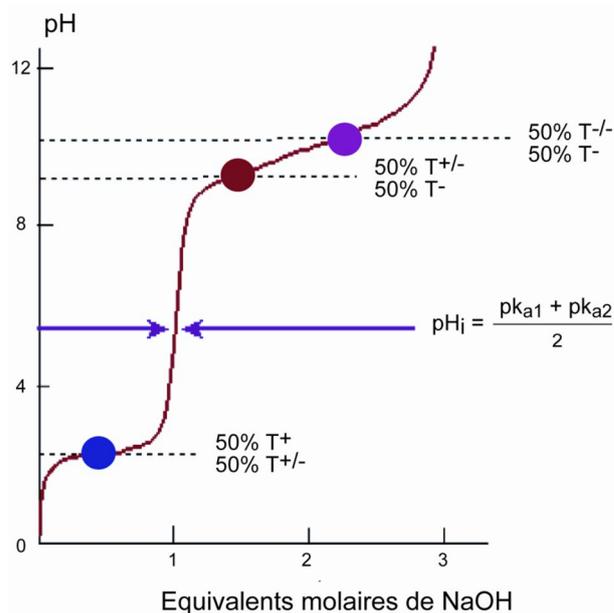
On notera que les fonctions phénol et sulfhydryle sont l'une et l'autre affectées d'une valeur de pK (basique) et sont donc ionisables. La tyrosine et la cystéine qui les renferment devrait-elles être en conséquence classées dans la catégorie des acides aminés basiques et non dans celle des acides aminés polaires non chargés, comme indiqué précédemment ? En réalité, les pK indiqués (entre 8 et 10) montrent qu'aux pH physiologiques, ces fonctions se trouvent très majoritairement (voir paragraphe suivant) sous forme protonée. Les formes ionisées ne sont donc observables qu'à des pH très élevés non physiologiques, d'où la classification donnée. Pour les mêmes raisons, la lysine (fonction NH_3^+) est, elle, protonée en deçà de son pK et donc bien ionisée aux pH physiologiques.

3 Courbes de titrage d'un acide aminé. Point isoélectrique

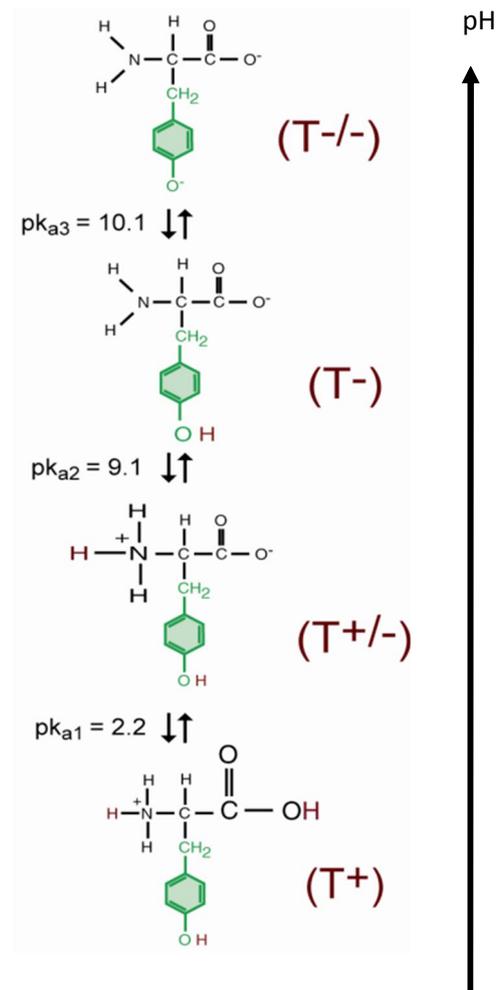
Une courbe de titrage d'un acide aminé, qui figure l'évolution du pH en fonction de la quantité de soude ajoutée dans le milieu, permet la mise en évidence de ses pK. Ainsi, la tyrosine comporte 3 groupements acido-basiques : les fonctions COOH/COO^- et $\text{NH}_3^+/\text{NH}_2$ communes à tous les acides aminés libres, ainsi que la fonction phénol portée par sa chaîne latérale. Examinons le déplacement des équilibres acido-basiques à mesure que l'on diminue l'acidité du milieu.

Au départ, à pH très faible, toutes les fonctions acido-basiques sont protonées. Elles se trouvent donc sous les formes OH, COOH et NH₃⁺. La molécule de tyrosine porte ainsi une charge électrique positive (d'où la notation T⁺ pour cette forme de la molécule). Lorsque l'on ajoute 0.5 équivalent molaire de NaOH, la fonction la plus acide (ici l' α -carboxyle) s'est à moitié dissociée, de sorte que le mélange contient les formes T⁺ et T^{+/-} en concentrations égales. En application de la définition du pK, le pH en ce point est égal au pK de cette fonction la plus acide, soit ici pK_{a1}. Lorsque 1.5 équivalents molaires de NaOH ont été ajoutés, la deuxième fonction la plus « acide » (soit ici la fonction amine terminale, donc en fait une fonction basique) se trouve à moitié dissociée ([NH₃⁺] = [NH₂]). La dernière fonction acido-basique (la fonction phénol) se déprotonera pour une quantité encore plus élevée d'équivalents NaOH ajoutés dans le milieu (pK = 10.1), donc pour une valeur encore plus élevée du pH.

la Figure ci-après présente la courbe de titrage correspondante.

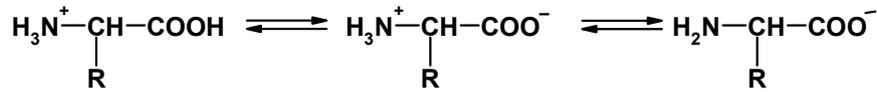


Le **point isoélectrique** pH_i d'une molécule (acide aminé ou protéine) est défini comme étant le pH pour lequel la charge globale de la molécule est nulle, celle-ci étant donc électriquement neutre (forme zwitterion). Il ne faut pas en déduire qu'à ce pH la molécule ne possède aucun groupement chargé (ce qui est impossible pour une protéine, ou même un simple acide aminé), mais simplement que la somme des charges d'un signe compense exactement celle des charges de l'autre signe. Nous allons voir dans ce qui suit comment déterminer la valeur du pH_i.

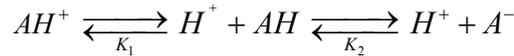


4 Détermination du pH_i d'une molécule possédant 2 fonctions acido-basiques

C'est par exemple le cas de tout acide aminé libre (non engagé par des liaisons peptidiques dans une protéine) et dont la chaîne latérale ne possède pas de fonction ionisable. Les équilibres entre ses différents états d'ionisation sont les suivants (la forme protonée – à gauche – est favorisée aux pH acides, la forme déprotonée – à droite – étant majoritaire aux pH basiques) :



Ecrivons les équilibres chimiques correspondants :



Les constantes d'équilibre de dissociation relatives à ces deux étapes consécutives s'écrivent :

$$K_1 = \frac{[\text{AH}][\text{H}^+]}{[\text{AH}^+]} \rightarrow [\text{H}^+] = K_1 \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{AH}]}$$

$$K_2 = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]} \rightarrow [\text{AH}] = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{K_2}$$

Par combinaison des deux relations ci-dessus, il vient :

$$[\text{H}^+] = K_1 K_2 \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{A}^-][\text{H}^+]} \rightarrow [\text{H}^+]^2 = K_1 K_2 \frac{[\text{AH}^+]}{[\text{A}^-]}$$

Le point isoélectrique de la molécule est défini comme étant la valeur du pH pour laquelle la charge électrique nette de la molécule est nulle, c'est-à-dire la valeur du pH pour laquelle :

$$[\text{AH}^+] = [\text{A}^-]$$

Pour cette valeur pH_i du pH, la relation précédente s'écrit :

$$[\text{H}^+]^2 = K_1 K_2$$

soit, en prenant le logarithme des deux membres :

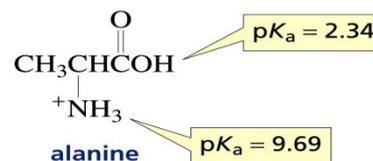
$$2 \log [\text{H}^+] = \underbrace{\log K_1}_{-pK_1} + \underbrace{\log K_2}_{-pK_2}$$

et finalement :

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

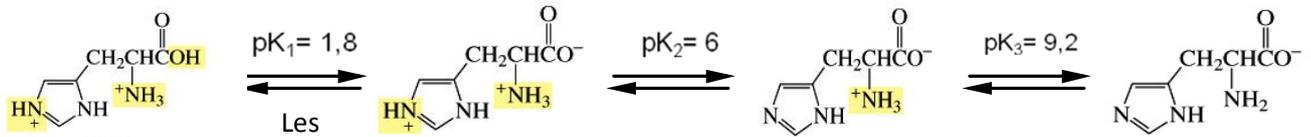
Ainsi, dans le cas de l'alanine par exemple :

$$pH_i = \frac{2,34 + 9,69}{2} = 6,02$$



5 Détermination du pH_i d'un acide aminé possédant une fonction acido-basique supplémentaire dans sa chaîne latérale

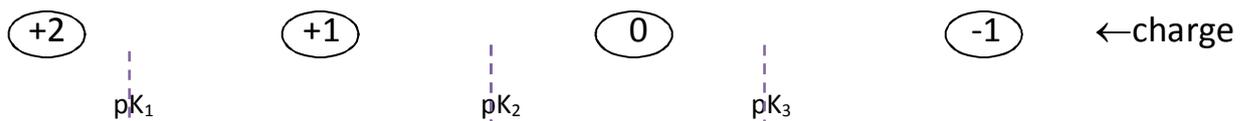
C'est par exemple le cas de l'Histidine :



différentes formes ionisées deviennent tour à tour majoritaires à mesure que le milieu devient plus basique, c'est-à-dire à mesure que le pH est augmenté, de gauche à droite. Ecrivons les pK relatifs à chaque groupement, ainsi que la charge globale de la molécule d'histidine dans chaque zone de pH



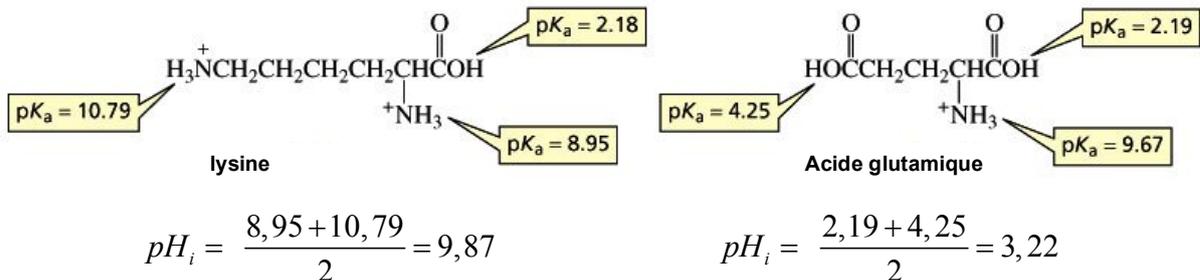
correspondante ($pH < pK_1$, $pK_1 < pH < pK_2$, $pK_2 < pH < pK_3$, $pH > pK_3$). Pour établir cette charge globale, on considérera que la forme majoritaire d'une fonction (ionisée ou non) est la seule présente dans l'intervalle en question.



Le pH_i sera considéré (avec une très bonne approximation, voir plus loin) comme étant la moyenne des valeurs des deux pK qui encadrent la forme de la molécule ayant une charge globale nulle, soit ici, dans le cas de l'histidine, les valeurs de pK_2 et pK_3 :

$$pH_i = \frac{6 + 9,2}{2} = 7,6$$

Dans le cas de la lysine (chaîne latérale comportant une fonction basique) et dans celui de l'acide glutamique, nous aurons respectivement :



$$pH_i = \frac{8,95 + 10,79}{2} = 9,87$$

$$pH_i = \frac{2,19 + 4,25}{2} = 3,22$$

L'approximation consistant à ne considérer que les deux pK entourant la forme de la molécule ayant une charge nulle est-elle justifiée ?

Calculons précisément la proportion relative, selon la valeur du pH, de chacune des formes ionisées ou non de la molécule considérée. Pour ce faire, nous allons établir, à partir de la relation d'Henderson-Hasselbach, une formule permettant de déterminer ces pourcentages, pour chacune des fonctions acido-basiques :

Relation d'Henderson-Hasselbach :
$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

soit, en prenant le logarithme des deux membres :

$$\log\left(\frac{[AH]}{[A^-]}\right) = pK_a - pH \quad d'o\grave{u} \quad \frac{[AH]}{[A^-]} = 10^{(pK_a - pH)}$$

Par ailleurs, la fonction acido-basique considérée existe soit sous forme déprotonée A^- , soit sous forme protonée AH . Les pourcentages de ces deux espèces moléculaires sont donnés par :

$$AH\% + A\% = 100\% \quad \text{soit :} \quad A\% = 100 \frac{[A^-]}{[A^-] + [AH]} = \frac{100}{1 + \frac{[AH]}{[A^-]}}$$

Et finalement :
$$A\% = \frac{100}{1 + 10^{(pK_a - pH)}}$$

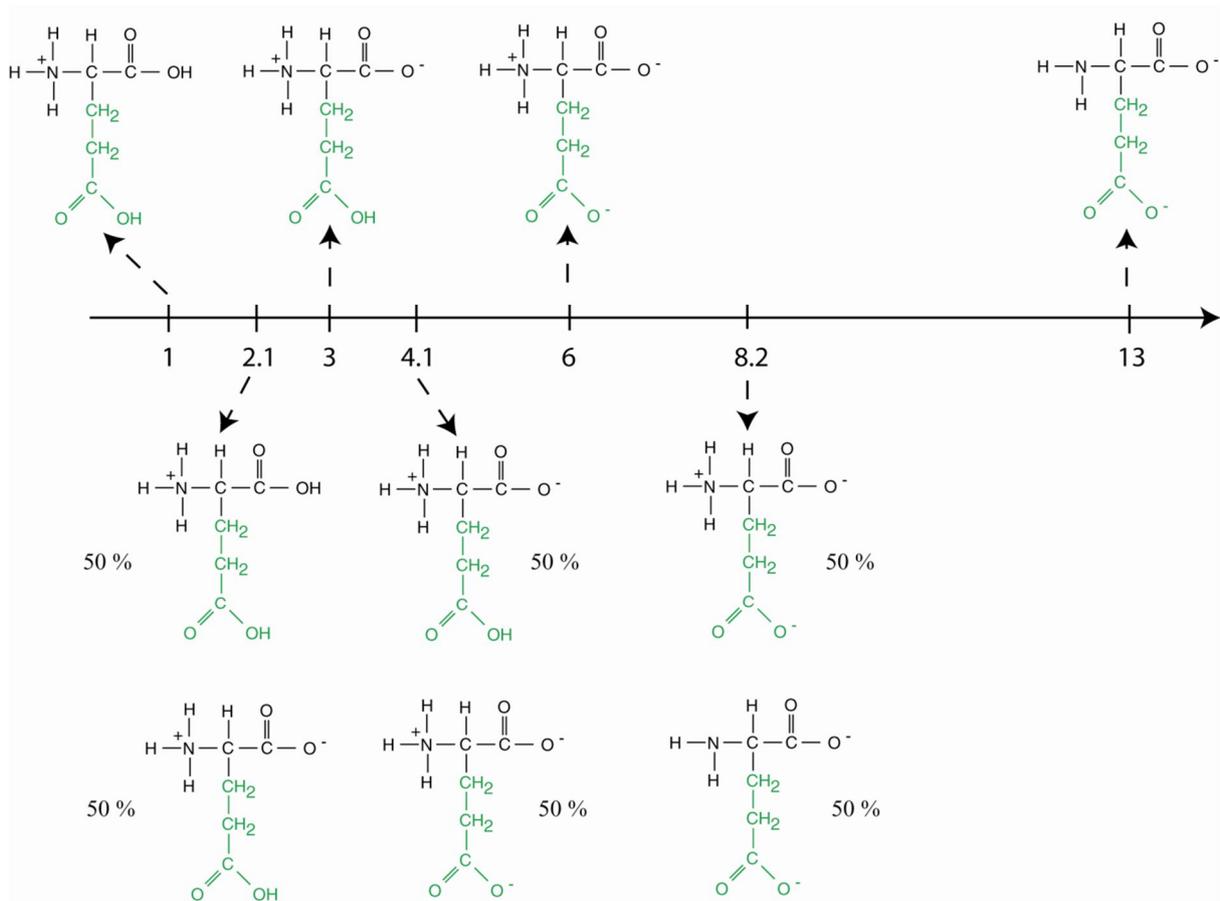
Appliquons cette formule au calcul des pourcentages des différentes formes ionisées de l'acide glutamique, en fonction du pH (nous choisirons ici des valeurs de pKs légèrement différentes de celles données plus haut pour la même molécule, les valeurs trouvées dans la littérature pouvant en effet légèrement diverger et dépendre d'un certain nombre de facteurs expérimentaux) :

$$\begin{array}{ll} \alpha\text{COOH} / \alpha\text{COO}^- & pK1 = 2.1 \\ \gamma\text{COOH} / \gamma\text{COO}^- & pK2 = 4.1 \\ \text{NH}_3^+ / \text{NH}_2 & pK3 = 8.2 \end{array}$$

pH \ % forme	1	2.1 (=pK1)	3	4.1 (=pK2)	6	8.2 (=pK3)	13
αCOOH	92.64	50	11.19	0.99	0	0	0
αCOO^-	7.36	50	88.81	99.01	100	100	100
γCOOH	99.92	99.01	92.64	50	1.24	0.01	0
γCOO^-	0.08	0.99	7.36	50	98.76	99.99	100
NH_3^+	100	100	100	99.99	99.37	50	0
NH_2	0	0	0	0.01	0.63	50	100

On constate que la fonction amine $\text{NH}_3^+/\text{NH}_2$ se trouve en totalité sous forme protonée dans les zones de pH correspondant aux pKs des deux fonctions acides carboxyliques. En conséquence, la contribution de la fonction amine à la charge globale de l'acide aminé sera toujours de +1 pour des pH inférieurs à 4. Il n'y a donc pas lieu de tenir compte de l'équilibre acido-basique correspondant pour établir le pK de l'acide glutamique.

Il en résulte que les formes ionisées majoritaires de l'acide glutamique, selon le pH du milieu, seront les suivantes :



Application : détermination du pH_i du dipeptide Glu-Lys

La structure des dipeptides sera détaillée dans le chapitre consacré aux protéines, au travers de la mise en place de la liaison peptidique. Il suffit de savoir ici que les groupements acido-basiques de la structure indiquée sont les suivants (par ordre d'acidité décroissante de gauche à droite, α indiquant une fonction portée par un carbone α et γ dénotant un groupement acido-basique appartenant à une chaîne latérale d'acide aminé) :

pk1 $\alpha\text{COOH}/\text{COO}^-$ pk2 $\gamma\text{COOH}/\text{COO}^-$ pk3 $\alpha\text{NH}_2/\text{NH}_3^+$ pk4 $\gamma\text{NH}_2/\text{NH}_3^+$

pH	pk1		pk2		pk3		pk4		
	pH < pk1	pk1 < pH < pk2	pk2 < pH < pk3	pk3 < pH < pk4	pk4 < pH				
Etat d'ionisation	αCOOH γCOOH αNH_3^+ γNH_3^+	αCOO^- γCOOH αNH_3^+ γNH_3^+	αCOO^- γCOO^- αNH_3^+ γNH_3^+	αCOO^- γCOO^- αNH_2 γNH_3^+	αCOO^- γCOO^- αNH_2 γNH_2	αCOO^- γCOO^- αNH_2 γNH_2			
Charge globale	+ 2	+ 1	0	-1	-2				

(Les barres verticales des colonnes indiquent les valeurs des pK écrits au dessus).

On en déduit que le pH_i de ce dipeptide est donné par la formule :

$$pH_i = \frac{pK_2 + pK_3}{2}$$

5. **Exercice** : chaque fonction pouvant exister sous deux états de protonation différents (base / acide), sous combien de formes théoriques (c'est-à-dire indépendamment des conditions dans lesquelles s'observe chacun des états d'ionisation) différentes pourrait-on trouver l'acide glutamique ? Si l'on considère qu'un composant acido-basique n'est présent en quantité significative que si sa proportion est supérieure à 5% (par rapport à la proportion de la composante conjuguée correspondante), quelles sont les formes moléculaires de l'acide glutamique réellement existantes parmi l'ensemble de celles théoriquement identifiées ?

Chacune des 3 fonctions acido-basiques possède 2 états d'ionisation différents (protoné ou non protoné) : il existe donc $2 \times 2 \times 2 = 8$ combinaisons possibles, donc 8 espèces moléculaires théoriquement envisageables. Il est facile de les identifier :

Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 1	(1) αCOOH	(2) γCOOH	(3) NH_2
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 2	(1) αCOOH	(2) γCOOH	(3) NH_3^+
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 3	(1) αCOOH	(2) γCOO^-	(3) NH_2
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 4	(1) αCOOH	(2) γCOO^-	(3) NH_3^+
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 5	(1) αCOO^-	(2) γCOOH	(3) NH_2
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 6	(1) αCOO^-	(2) γCOOH	(3) NH_3^+
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 7	(1) αCOO^-	(2) γCOO^-	(3) NH_2
Etats d'ionisation au sein de l'espèce moléculaire 8	(1) αCOO^-	(2) γCOO^-	(3) NH_3^+

En considérant les proportions extrêmes (5-95%) proposées, les pH limites correspondants sont les suivants :

$$pH \text{ limite supérieure} : \text{pH} = \text{pKa} - \log\left(\frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}\right) = \text{pKa} - \log\left(\frac{5}{95}\right) = \text{pKa} + 2.95$$

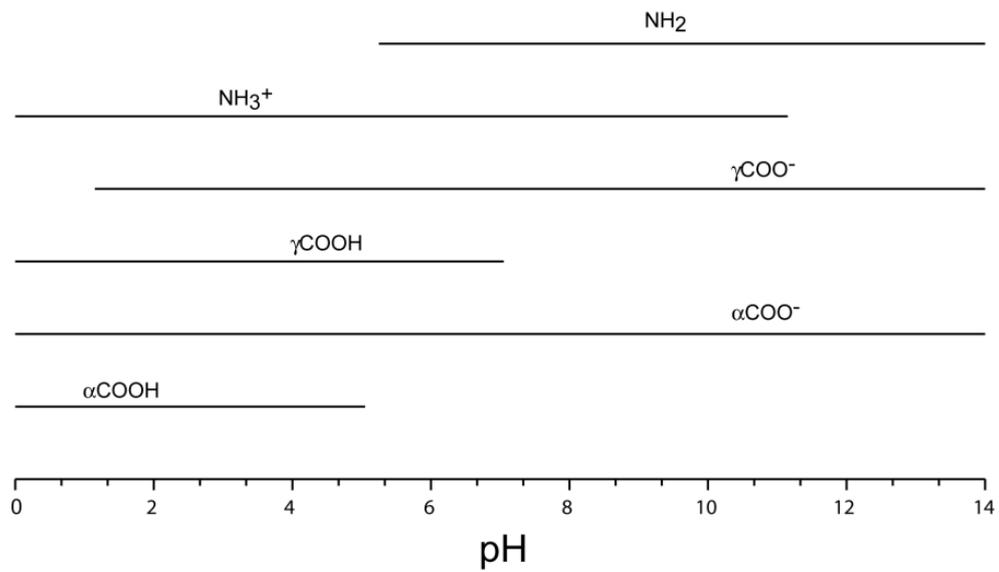
$$pH \text{ limite inférieure} : \text{pH} = \text{pKa} - \log\left(\frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}\right) = \text{pKa} - \log\left(\frac{95}{5}\right) = \text{pKa} - 2.95$$

Comme indiqué précédemment, plus le pH est inférieur au pK et proche de 0, plus la proportion de forme protonée de toute fonction acido-basique est importante. Pour ces formes (αCOOH , γCOOH et NH_3^+), les proportions significativement présentes sont donc comprises entre 0 et le pH limite supérieur (pour lequel $[\text{AH}] = 5\%$) donné ci-dessus. Inversement, les formes déprotonées (αCOO^- , γCOO^- et NH_2) sont d'autant plus présentes que le pH est élevé. En conséquence, ces espèces seront significativement présentes dans une zone de pH comprise entre le pH limite inférieur ($[\text{A}^-] = 5\%$) et 14. Ces considérations sont résumées dans le tableau suivant :

Composante de la fonction acido-basique	pKa	pH limite inférieur $\text{pKa} - 2.95$	pH limite supérieur $\text{pKa} + 2.95$
αCOOH	2.1	0	5.05
αCOO^-	2.1	0 *	14
γCOOH	4.1	0	7.05
γCOO^-	4.1	1.15	14
NH_3^+	8.2	0	11.15
NH_2	8.2	5.25	14

*le pH ne peut être négatif

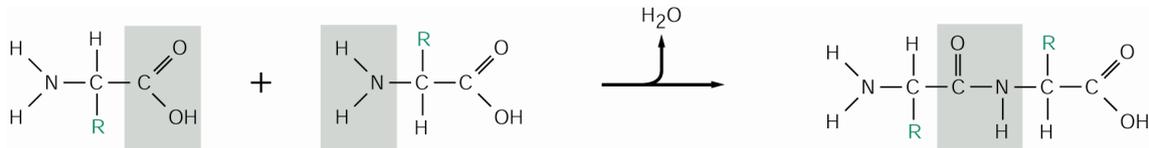
et sur le schéma ci-dessous :



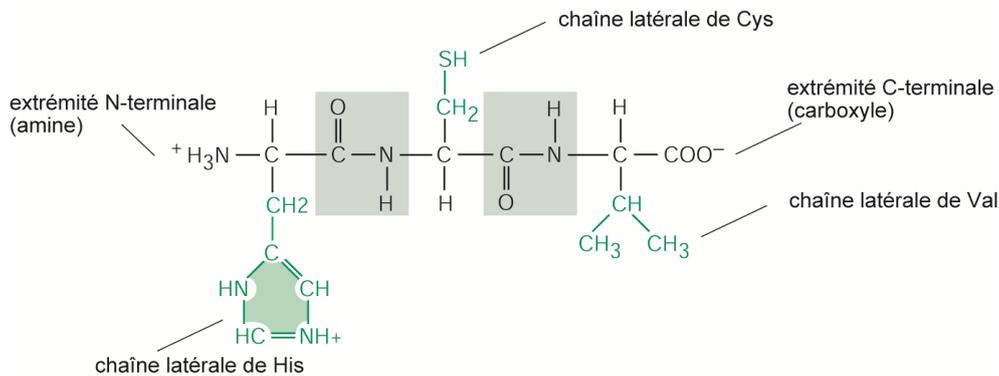
Seules les formes αCOOH et NH_2 ne peuvent donc être présentes, de manière significative, sur une même forme moléculaire de l'acide glutamique. En conséquence, seules les espèces 1 et 3 (de l'énumération théorique précédente) ne peuvent être détectées. Ces restrictions tomberaient si l'on considérait des seuils de détection plus faibles, 1% par exemple.

III. La liaison peptidique

La présence des fonctions amine et carboxyle sur le carbone α d'un acide aminé favorise les **réactions intermoléculaires** qui conduisent à la formation de structures polypeptidiques (peptides et protéines), donnant une certaine rigidité au squelette ainsi formé. Les petits peptides restent assez flexibles. Les grosses structures protéiques sont plus rigides. D'un point de vue chimique, la condensation d'un acide carboxylique et d'une amine engendre une fonction amide, CO-NH :

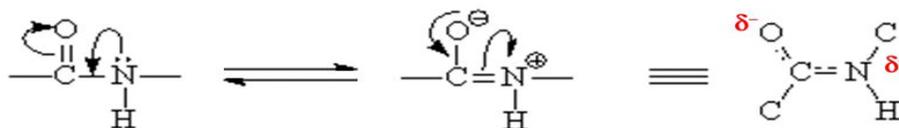


La liaison covalente entre le C et le N de la fonction amide reliant deux acides aminés est appelée **liaison peptidique**. Peptides et protéines sont donc constitués de l'enchaînement linéaire d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Ainsi, dans l'exemple ci-dessous, la liaison des acides aminés His, Cys et Val conduit à la formation du tripeptide His-Cys-Val.

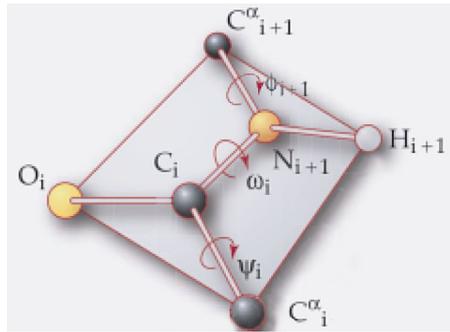


Les extrémités d'une chaîne polypeptidique sont dissymétriques. L'une correspond à une fonction α -amine libre, l'autre à une fonction α -acide carboxylique libre. Elles sont respectivement appelées extrémités N- et C-terminales de la chaîne. Par convention, on positionne à gauche l'extrémité N-terminale et à droite l'extrémité C-terminale (tant dans la structure chimique développée que dans la désignation de la succession des acides aminés de la séquence, ici His-Cys-Val). Aux pH physiologiques, les extrémités N- et C-terminales sont toutes deux ionisées.

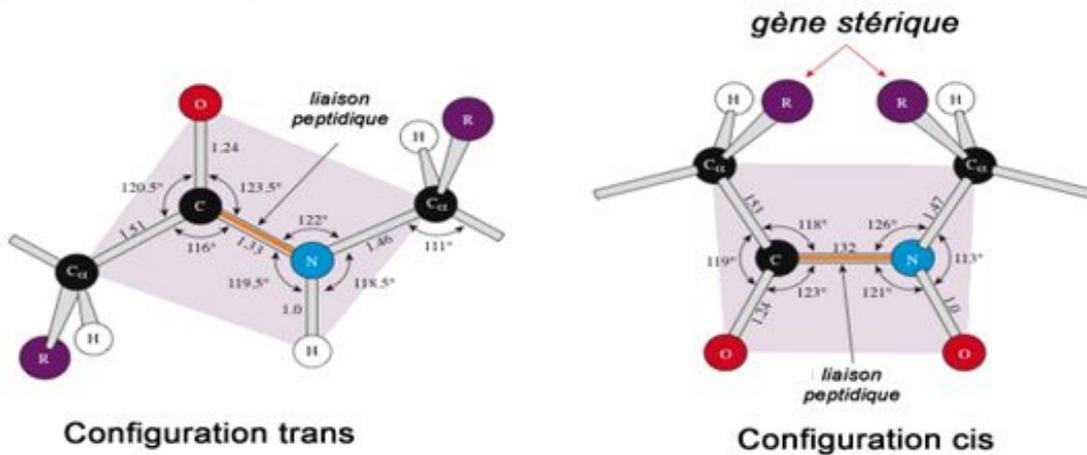
La fonction amide est stabilisée par mésomérie (résonance), ce qui confère à la liaison peptidique un caractère partiel de double liaison :



Le phénomène de résonance exige la planéité de la liaison peptidique (établie dans la figure ci-dessous entre les acides aminés i et $i+1$) : les 4 atomes O_i , C_i , N_{i+1} et H_{i+1} forment en conséquence un plan rigide. De ce fait, il n'y a pas de rotation libre autour de la liaison peptidique : l'angle dièdre associé ω_i ne peut prendre que 2 valeurs, 0 ou 180° .



Les carbones α des acides aminés i et $i+1$, soit C_i^α et C_{i+1}^α , se trouvent également dans ce plan, mais la rotation est cette fois possible autour des liaisons $C_i^\alpha - C_i$ (angle Ψ_i) et $C_{i+1}^\alpha - N_{i+1}$ (angle Φ_{i+1}). Selon la valeur (0 ou 180°) de l'angle ω_i , les chaînes latérales portées par les deux carbones α sont situées soit de part et d'autre (configuration **trans**), soit du même côté (configuration **cis**) de la liaison C-N :



La configuration **cis** est très peu fréquente car stériquement défavorisée (sauf dans le cas de la proline, où elle est imposée par la formation d'une liaison covalente entre la chaîne latérale de l'imino-acide et un atome d'azote du squelette polypeptidique, ce qui engendre une contrainte très forte dans la géométrie de ce dernier). La manière dont les plans peptidiques consécutifs vont s'orienter les uns par rapport aux autres autour des angles Ψ et Φ va déterminer la mise en place de motifs structuraux d'un ordre supérieur, les structures secondaires.

