

La structure primaire des protéines

La structure primaire des protéines est représenté par l'enchaînement d'acides aminés dans une protéine, après avoir représenté également, effectuant une analyse spécifique afin de déterminé la composition par segment.

1° Détermination globale en acide aminé d'une protéine :

On met la protéine étudiée dans une ampoule scellée contenant :

- HCl à 6 mol/L.
- à 100°C.
- pendant 24 h.

Après 24 heures, on va obtenir un mélange d'acides aminés.

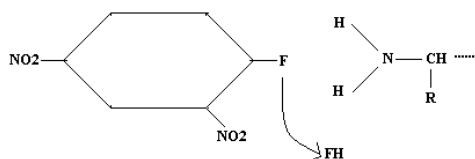
Le tryptophane est détruit en milieu acide, on échange donc l'acide par une base qui est la potasse.

2° Détermination de l'ordre des acides aminés :

2.1. Recherche de l'acide aminé possédant la fonction aminé terminale :

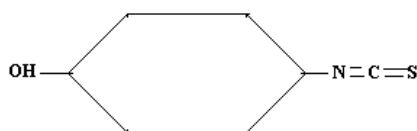
2.1.1. La méthode de Sanger :

Il utilise le DNFB (dinitrofluorobenzène). Il se fixe exclusivement sur la fonction amine terminal. Le fluor va s'associé avec l'hydrogène pour formé :



2.1.2. La méthode d'Edman :

Il utilise le phénylthiocyanate.



Il réagit en milieu basique avec la fonction amine de l'acide aminé libre pour formée le phénylthiohydantoïne-A.A.

2.1.3. La méthode enzymatique à la leucineaminopeptidase :

C'est une enzyme qui va coupé les liaisons peptidiques depuis la fonction amine libre se dirigeant vers le $-COOH$. On associe après la caractérisation, une quantification.

2.2. Recherche de la fonction $COOH$ libre :

2.2.1. La méthode hydrazinolase :

La phénylkydrozine réagit en présence du $-COOH$ libre. Il coupe les liaisons peptidiques sauf, celles de l'acide aminé ayant un $COOH$ libre.

2.2.2. La méthode carboxypeptidase :

C'est une enzyme qui détecte spécifiquement les acides aminés porteur d'un groupement carboxylique libre. Toutes les carboxypeptidases non pas la même spécificité. En effet, de façon courante, l y a deux types de carboxypeptidase qui sont utilisées :

- la A, scinde les liaisons peptidiques sauf entre l'arginine et la lysine.
- la B, coupe seulement les liaisons peptidiques de l'arginine et de la lysine.

2.3. Détermination de l'enchainement des acides aminés à l'intérieur :

Cette détermination de l'ordre des acides aminés, ne peut se faire que sur une seule chaîne. Pour séparé deux chaînes, on utilise l'oxydation ou la r éduction.

On travail par hydrolyse partielle enzymatique. Elle va coupée que certaines liaisons.

2.3.1. L'hydrolyse, acide partielle :

Elle est non spécifique et elle forme des peptides.

2.3.2. L'hydrolyse partielle enzymatique :

2.3.2.1. La trypsine :

Elle coupe au niveau des acides aminés possédant un $COOH$ libre.

2.3.2.2. La chymotrypsine :

Elle coupe au niveau des acides aminés aromatiques ayant un COOH libre.

2.3.2.3. La pepsine ou papaïne :

Elle coupe les liaisons peptidiques des acides aminés de façon endopeptidasique.