

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE



# Polycopié de Cours Biochimie structurale

Benazzouz - Touami Amina

---

Destiné aux étudiants licence - Chimie pharmaceutique

---

*Année universitaire 2020/2021*

---

---

## Table des matières

<b>Chapitre 1: Les Glucides</b>	<b>1</b>
1.1 Classification des glucides . . . . .	1
1.2 Oses . . . . .	2
1.2.1 Définition . . . . .	2
1.2.2 Classification des oses . . . . .	2
1.2.3 Présentation des sucres selon Fischer . . . . .	4
1.2.4 Diversité des oses et isomérisation . . . . .	4
1.2.5 Filiation des Oses selon Fischer . . . . .	6
1.2.6 Dégradation de WÖHL-ZEMPLEN . . . . .	9
1.2.7 Structure cyclique des oses . . . . .	9
1.2.8 Mutarotation . . . . .	14
1.2.9 Propriétés physiques et chimiques des oses . . . . .	15
1.3 Dérivés d'oses . . . . .	23
1.3.1 Désoxyoses . . . . .	24
1.3.2 Les osamines . . . . .	24
1.3.3 Les acides sialiques . . . . .	24
1.3.4 Acide L-Ascorbique . . . . .	25
1.4 Osides . . . . .	25
1.4.1 Holosides . . . . .	25
1.4.2 Polyosides ou polysaccharides . . . . .	29
<b>Chapitre 2: Les lipides</b>	<b>34</b>
2.1 Acides gras . . . . .	35
2.1.1 Acide gras saturés . . . . .	35
2.1.2 Les acides gras insaturés . . . . .	36
2.2 Propriétés des AG . . . . .	38
2.2.1 Propriétés physiques . . . . .	38
2.2.2 Propriétés chimiques . . . . .	38
2.3 Lipides simples . . . . .	40
2.3.1 Glycérides . . . . .	40
2.3.2 Les cérides . . . . .	41
2.3.3 Les stérides . . . . .	42
2.4 Les lipides complexes . . . . .	43
2.4.1 Les phospholipides . . . . .	43
2.4.2 Les sphingolipides . . . . .	46

<b>Chapitre 3: Les acides aminés , peptides et proteines</b>	<b>48</b>
3.1 Acide aminé . . . . .	48
3.1.1 Classification des acides aminés . . . . .	50
3.1.2 Propriétés physiques des acides aminés . . . . .	51
3.1.3 Propriétés chimiques des acides aminés . . . . .	52
3.1.4 Techniques d'étude des acides aminés . . . . .	57
3.2 Peptides . . . . .	59
3.2.1 Caractéristiques de la liaison peptidique et des peptides . . . . .	59
3.2.2 Détermination de la séquence peptidique . . . . .	60
3.3 Les protéines . . . . .	64
3.3.1 Structure des protéines . . . . .	65
3.3.2 Propriétés des protéines . . . . .	66
<b>Chapitre 4: Généralités sur la microbiologie</b>	<b>68</b>
4.1 Le monde microbien . . . . .	68
4.1.1 Définition de la microbiologie . . . . .	68
4.1.2 Définition d'un microorganisme . . . . .	69
4.1.3 La découverte du monde bactérien . . . . .	69
4.2 Cellules Eucaryotes Et Procaryotes . . . . .	70
4.2.1 Définition de la cellule . . . . .	70
4.2.2 Caractéristiques générales de la cellule procaryote . . . . .	70
4.3 Etude de quelques protistes eucaryotes . . . . .	71
4.3.1 Les protozoaires . . . . .	71
4.3.2 Les champignons . . . . .	74
4.4 Protistes procaryotes (les bactéries) . . . . .	76
4.4.1 Archéobactéries . . . . .	76
4.4.2 Bactéria . . . . .	77

## Préface

La biochimie est l'application de la chimie à l'étude des phénomènes vitaux ainsi que les substances et les réactions existantes chez les êtres vivants. L'objet de la biochimie est l'étude des molécules, leurs interactions, les processus chimiques anaboliques et cataboliques des cellules vivantes.

Ce support de cours intitulé "biochimie structurale", conforme au programme enseigné à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Constitue un support pédagogique destiné aux étudiants de 3<sup>ème</sup> année licence chimie option Chimie pharmaceutique.

Son premier volet sera consacré à l'étude des macromolécules, constituant la majeure partie de la matière organique des cellules vivantes. Cette partie vise à énoncer les structures et les propriétés des glucides, lipides, acides aminés, peptides et protéines, ce qui devrait permettre d'assimiler de façon plus aisée la diversité des molécules du vivant.

Le deuxième volet est destiné à initier les étudiants à la microbiologie générale et constater l'importance de la microbiologie dans de nombreux domaines comme le domaine pharmaceutique. Ses principaux objectifs sont de se familiariser avec le monde microbien, connaître la structure de la cellule et la classification du monde microbien en protistes eucaryotes (algues, protozoaires et champignons) et protistes procaryotes (cyanophycées et bactéries).

La réalisation de ce présent cours est basée sur l'utilisation d'un langage simple et basique, soutenu par des exemples. Afin de rendre le contenu plus accessible au public visé, beaucoup d'illustrations en forme de schémas simplifiés, de photos et de tableaux récapitulatifs ont été insérés.

# Les Glucides

---

Glucides ou Hydrates de carbones constituent une classe de produits naturels qui ont une saveur douce et sucrée, dont la formule élémentaire  $C_nH_{2n}O_n$ , sont des polyalcools caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyles et une fonction carbonyle. Les glucides sont les biomolécules les plus abondantes de la planète. Ils ont des rôles très diverses tant structuraux que métaboliques.

La synthèse du glucose à partir de précurseurs non-glucidiques (la néoglucogenèse) est une voie capitale pour le cerveau qui est dépendant du glucose. La conversion du pyruvate en glucose est une voie centrale. Elle a principalement lieu dans le foie mais aussi dans le cortex rénal et aide au maintien de la concentration du glucose dans le sang. Il existe plusieurs précurseurs non glucidiques pour la synthèse du glucose, tels que certains acides aminés transformables en glucose (Alanine et Glycine en Pyruvate, Asparagine et Aspartate en Oxaloacétate, Glutamate et Glutamine en  $\alpha$  cétooglutarate), le lactate, le glycérol et les métabolites du cycle de Krebs.

## Importance en Biologie

❖ **Rôle énergétique** : l'hydrolyse du glucose fournit l'énergie sous forme d'ATP, 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des glucides. Ils ont un rôle de réserve énergétique sous forme de glycogène dans le foie et les muscles chez les animaux et sous forme d'amidon chez les végétaux.

❖ **Rôle structural** : Les glucides interviennent comme

- Éléments de soutien chez les cellules végétales sous forme de cellulose.
- Éléments de protection et de reconnaissance dans la cellule.
- Constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines.

## 1.1 Classification des glucides

On peut classer les glucides selon différentes catégories. Les glucides peuvent être classés selon des critères structuraux. On distingue les oses et les osides.

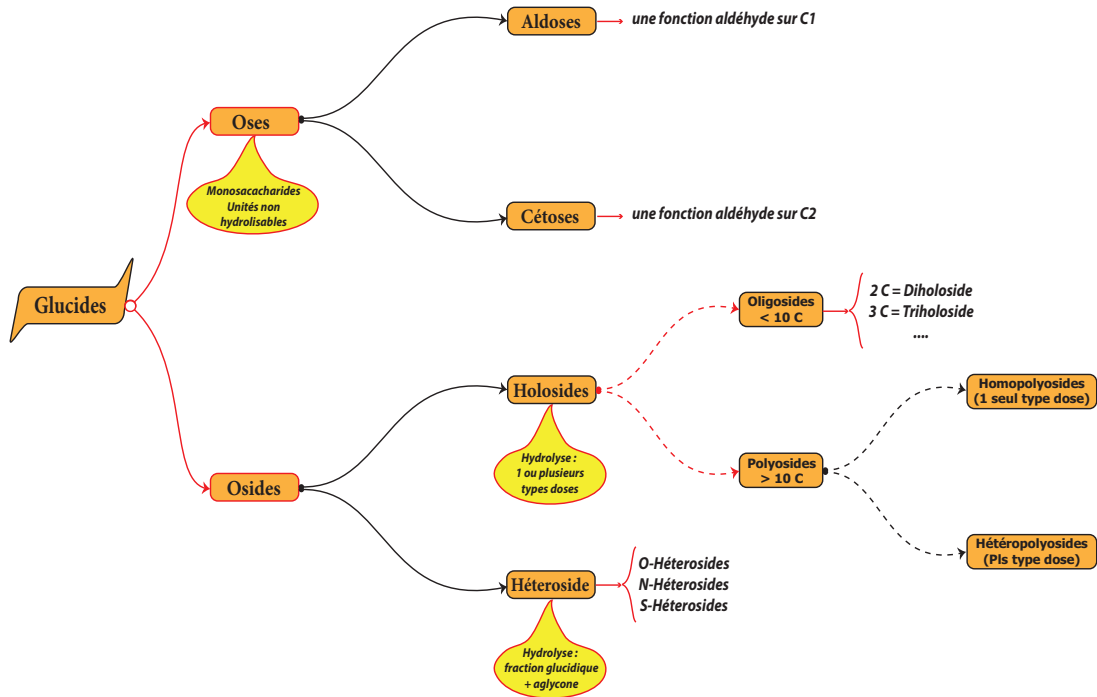


Figure 1.1. Classification des glucides [1]

## 1.2 Oses

### 1.2.1 Définition

Les oses se sont des monosaccharides, substances non hydrolysables. Ce sont des composés hydrosolubles et réducteurs. Un ose est constitué d'une chaîne hydrocarbonée portant des fonctions alcools (primaire et secondaire) et une fonction réductrice carbonylée. Cette fonction réductrice peut être mise en évidence par réduction de la liqueur de Fehling (précipité rouge après chauffage).

### 1.2.2 Classification des oses

La classification des oses repose à la fois sur deux critères :

- ✓ Nature de la fonction carbonyle ou réductrice.
  - Aldéhyde ( $-CHO$ ) caractérise un aldose.
  - Cétone ( $>C=O$ ) caractérise un cétose.

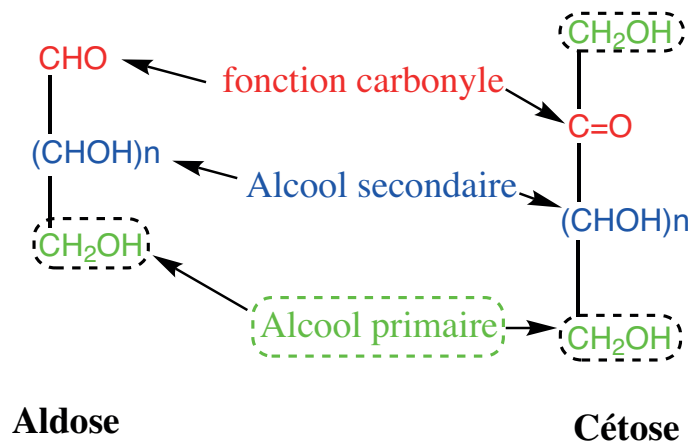
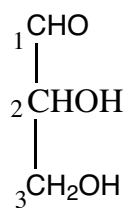


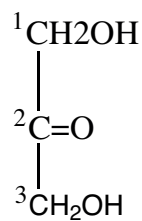
Figure 1.2. Structure des oses [2]

- ✓ Nombre d'atomes de carbone de l'ose, le premier élément ayant **3C**. Les oses portent la plupart du temps, de 3 à 6 atomes de carbone.

Les oses les plus simples ont trois atomes de carbone :



**Glycéraldéhyde**



**Dihydroxyacétone**

**Figure 1.3.** Structure d'un triose [3]

Trioses : possèdent 3 carbones ;  
Pentoses : possèdent 5 carbones ;  
Heptoses : possèdent 7 carbones ;

Tetroses : possèdent 4 carbones ;  
Hexoses : possèdent 6 carbones ;  
Octoses : possèdent 8 carbones.

## Remarque

Le carbone portant le groupement carbonyle a toujours le numéro le plus petit ( $n^{\circ}1$  pour les aldoses et  $n^{\circ}2$  pour les cétooses)

### 1.2.3 Présentation des sucres selon Fischer

La projection de **Fischer** est utilisée pour représenter facilement les glucides, dont la chaîne carbonée est alignée verticalement.

Pour un aldose la fonction aldéhyde est au sommet, le carbone de la fonction aldéhyde porte le numéro 1, les fonctions alcool sont représentées simplement avec une barre horizontale.

Pour une cétoose la fonction cétonique se situe sur le carbone cétonique qui porte le numéro 2.

Les atomes de carbone d'un ose sont numérotés à partir du carbone le plus oxydé.

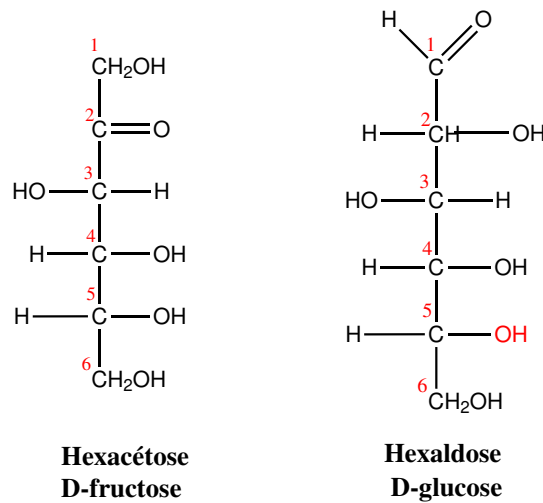


Figure 1.4. Projection de Fischer des oses [1]

### 1.2.4 Diversité des oses et isomérisation

**-Enantiomères :** le glycéraldéhyde, l'aldose le plus simple contient un carbone asymétrique. Il a donc deux isomères optiques ou énantiomères dont les structures tridimensionnelles sont les images l'une de l'autre dans un miroir non superposables (Figure 5). Dont le pouvoir rotatoire spécifique est de  $+13,5^{\circ}$  pour l'une et de  $-13,5^{\circ}$  pour l'autre.

On a deux molécules différentes de glycéraldéhyde non superposables l'une à l'autre. Ce sont deux formes stéréo-isomères du glycéraldéhyde. Cette stéréo-isomérisation est appelée énantiomère.

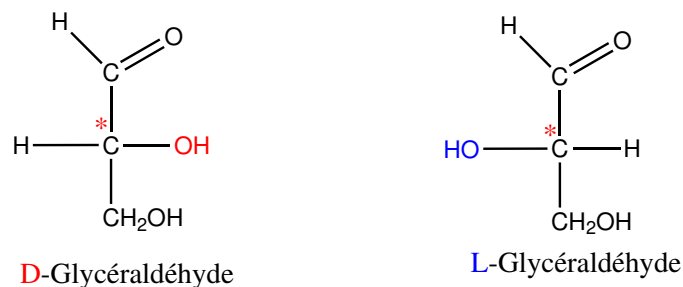


Figure 1.5. Structure des énantiomères du glycéraldéhyde [2]

Les énantiomères étaient souvent appelés des inverses optiques (antipodes optiques) en raison de leur pouvoir rotatoire spécifique opposés. Déviant le plan de polarisation de la lumière d'une même valeur d'angle, mais dans les deux directions opposées.

Pour un ose donné, les formes D et L sont appelées énantiomères. Tous les oses sont des molécules chirales à l'exception de la dihydroxyacétone (cétotriose), qui est une molécule achirale ne présente aucun carbone asymétrique.

- **Configuration absolue : Appartenance à la série D ou L** Tous les oses seront préfixés par les lettres D ou L en référence à la configuration du Glycéraldéhyde. La détermination de la configuration absolue des isomères optiques du glycéraldéhyde a pu être établie, selon la projection de Fischer l'isomère D présente son groupe hydroxyle secondaire à la droite de l'observateur. L'appartenance à la série D ou L pour un ose à  $nC$  est déterminé par la configuration absolue de l'atome du carbone du  $Cn - 1$ . Les glucides naturels sont de la série D

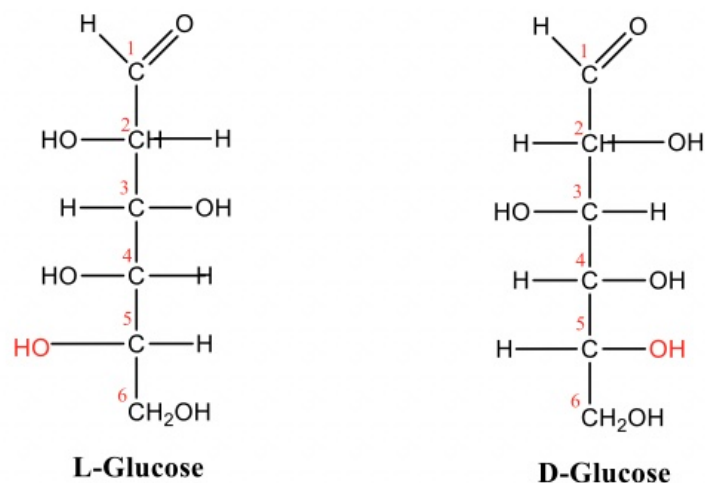


Figure 1.6. Structure du D-glucose et L-glucose [2]

**Série D** : OH du  $Cn - 1$  est à droite

**Série L** : OH du  $Cn - 1$  est à gauche

Pour un ose donné, les formes D et L sont appelées énantiomères. Tous les oses sont des molécules chirales à l'exception de la dihydroxyacétone (cétotriose), qui est une molécule achirale ne présente aucun carbone asymétrique.

- **Les diastéréo-isomères** : Représentent le cas des isomères qui ont au moins 2 carbones asymétriques différents.

Exemple le D -glucose et le D- gulose sont diastéréo-isomères car ils diffèrent par la configuration de 2 sur 4 de leurs carbones asymétriques.

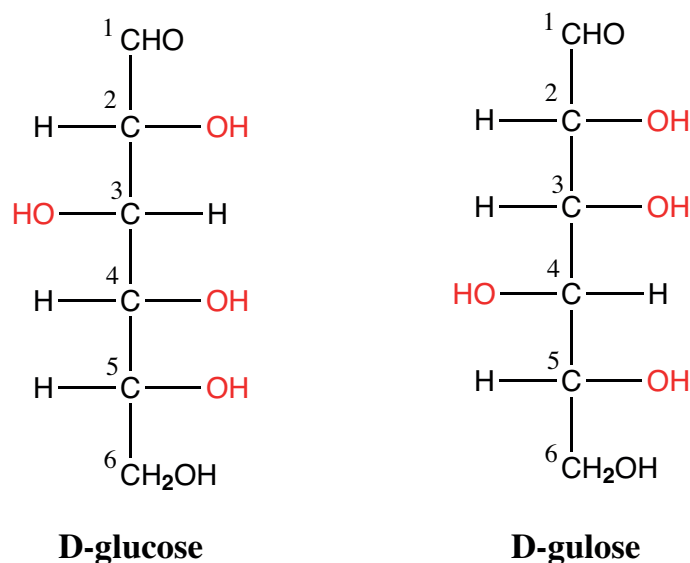


Figure 1.7. Structure des dia stéréo-isomères [2]

- **Epimères** : Se sont des stéréo-isomères de configuration qui diffèrent par la position d'un seul (01) carbone asymétrique. L'épimérisation se fait par voie chimique ou enzymatique (épimérase).

**Exemple :**

- Le Galactose est épimère en C4 du Glucose. L'absence d'épimérase empêche la transformation du Galactose en Glucose et entraîne une des formes de la galactosémie congénitale du nouveau-né.
- Le Mannose est épimère en C2 du Glucose (c'est un épimère chimique = épimère vrai).

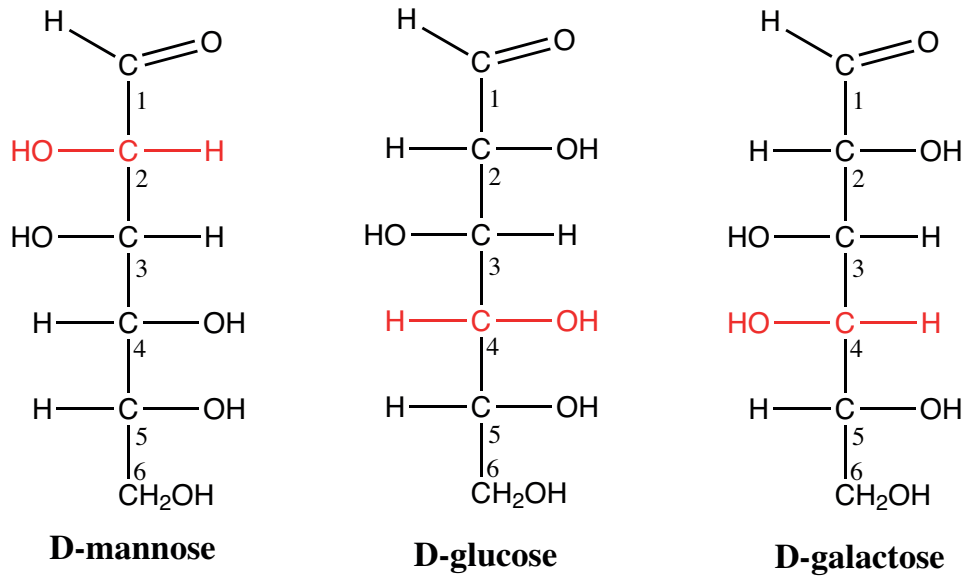


Figure 1.8. Structure des épimères [1]

### 1.2.5 Filiation des Oses selon Fisher

⇒ **Filiation des aldoses (Synthèse cyanhydrique de KILLIANI–FISHER)** La Synthèse de KILLIANI–FISHER est une méthode classique de synthèse des monosaccharides par l'élongation de leur chaîne carbonée. la synthèse de Kiliani Fischer est une synthèse cyanhydrique qui se déroule en trois étapes : fixation de l'acide cyanhydrique sur la fonction carbonyle, réduction et enfin une oxydation .

Tout aldose dérive théoriquement du glycéraldéhyde (le chef de la file des oses), On passe d'un ose ayant n atomes de carbone à l'homologue supérieur ayant (n+1), par une ou plusieurs étapes d'insertion d'un groupement CHOH en dessous de la fonction aldéhyde selon le principe dit de la filiation des oses.

Le groupement hydroxyle peut se positionner à droite ou à gauche de l'axe de la chaîne carbonée.

Cette synthèse n'est pas stéréospécifique fournit deux oses différents se différenciant par la position d'un groupement hydroxyle à partir d'un même ose se sont des épimères en C2.

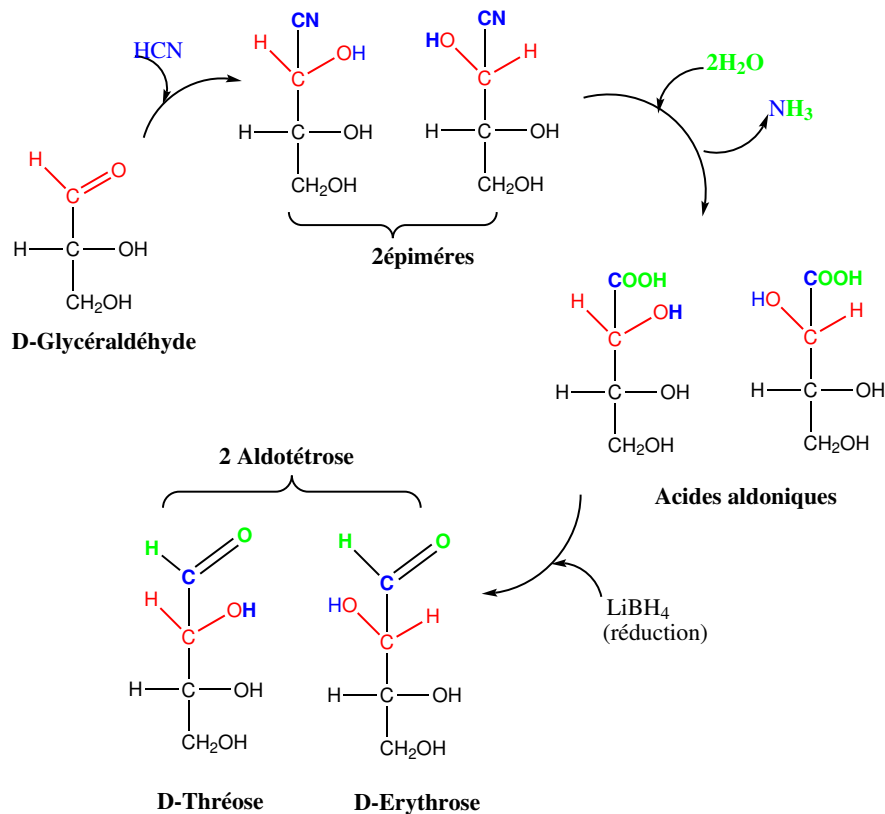


Figure 1.9. Synthèse de KILIANI- FISHER [1]

La grande majorité des oses naturels appartient à la série D de Fischer, mais des oses de série L existent également. Tous les oses présentés ici appartiennent à la série D de Fischer.

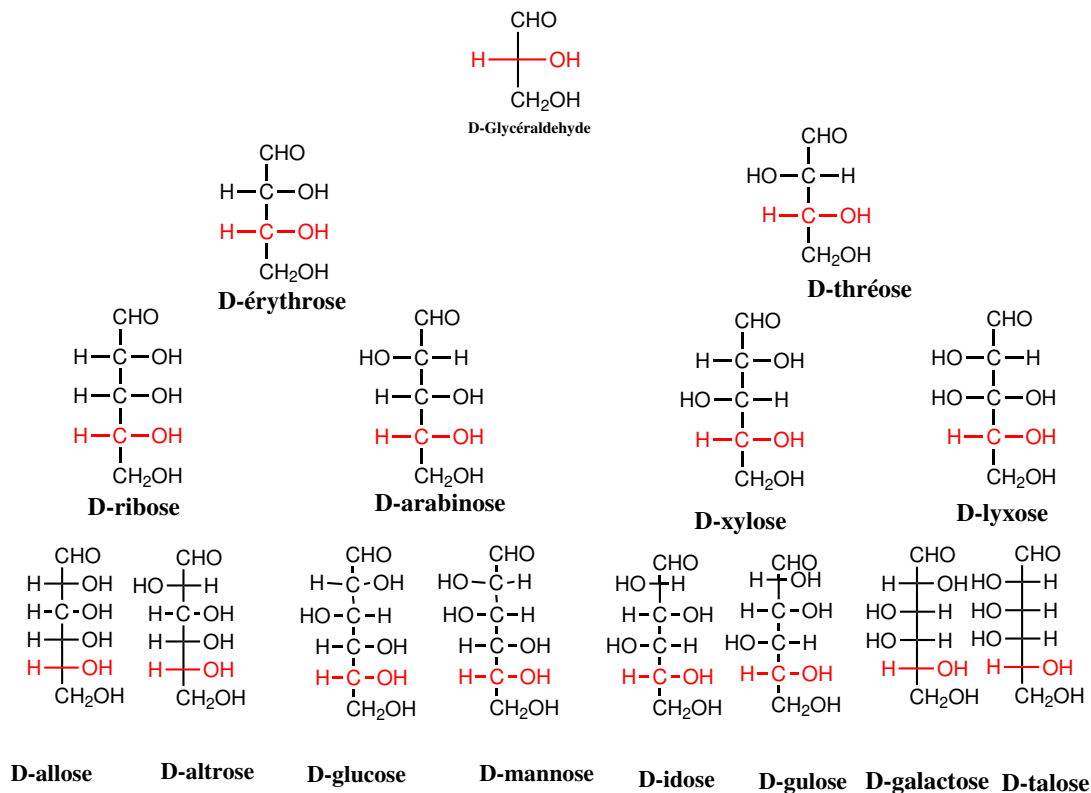


Figure 1.10. Filiation des D-aldoses [3]

⇒ **Filiation des cétooses** Les cétooses dérivent de la dihydroxyacétone par une ou plusieurs étapes d'insertion d'un chaînon asymétrique H-C-OH. Ainsi, on peut obtenir les cétooses ci-dessous ;

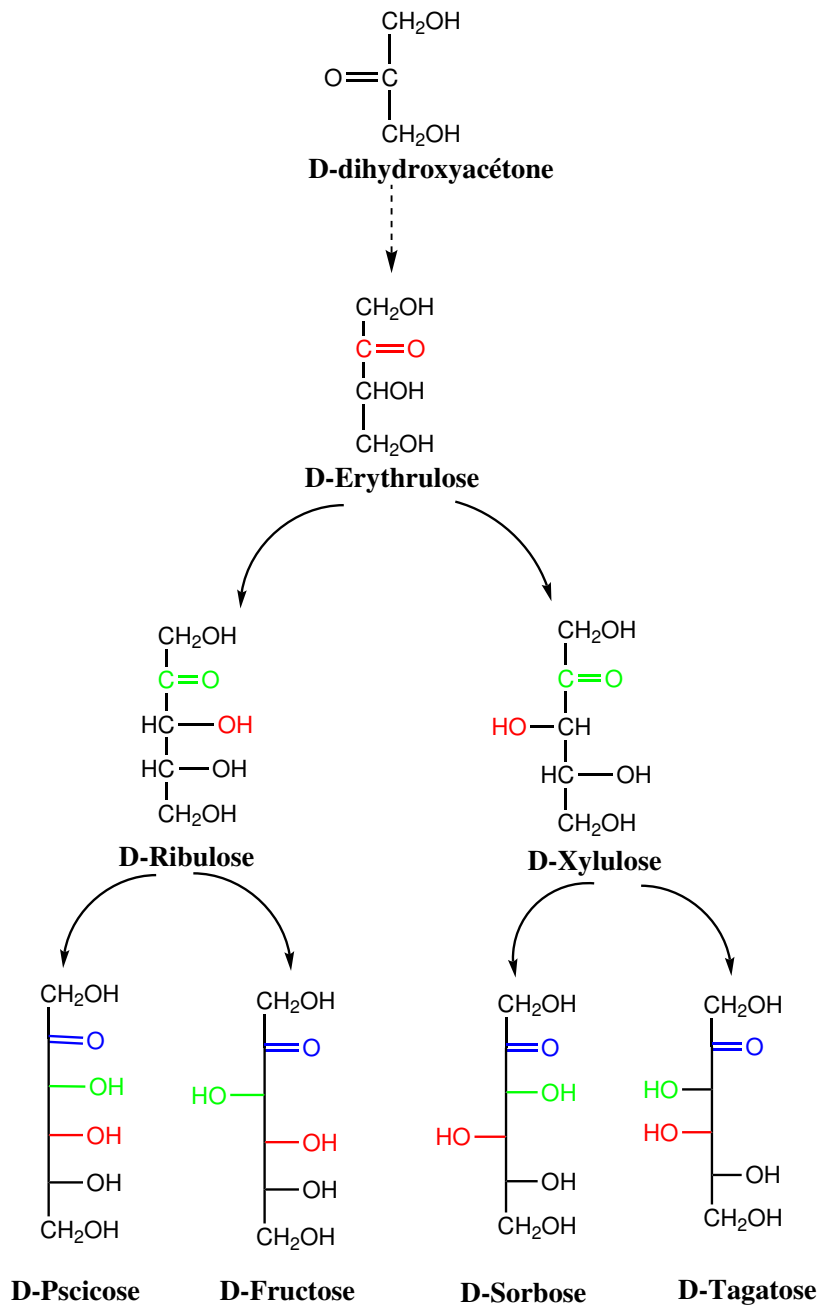


Figure 1.11. Filiation des D-Cétoses [1]

## 1.2.6 Dégradation de WÖHL-ZEMPLEN

C'est une réaction inverse à la réaction de KILIANI-FISCHER qui permet l'obtention d'un ose à ( $n$ ) atome de C à partir d'un ose à ( $n + 1$ ) atomes de C. Par condensation avec l'hydroxylamine, la fonction aldéhyde passe à l'état d'oxime de laquelle on peut faire dériver la cyanhydrine puis, en présence d'oxyde d'argent, un aldose à ( $n - 1$ ) carbone.

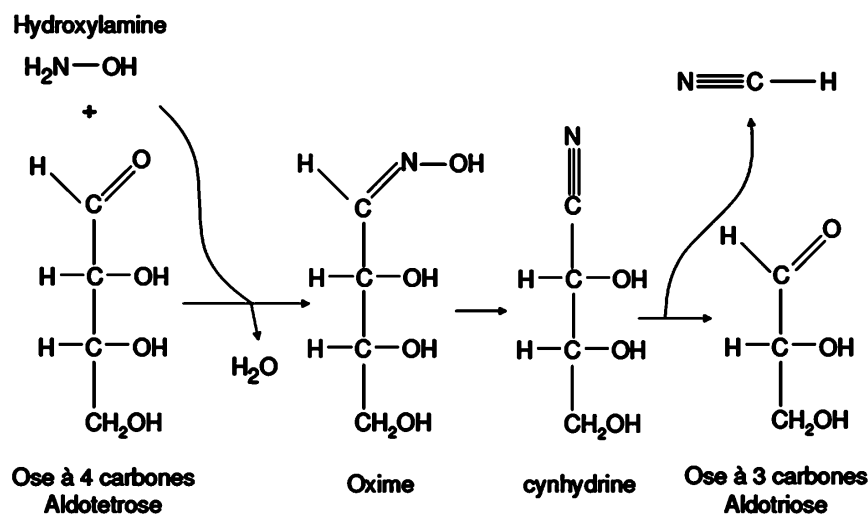


Figure 1.12. Réaction de dégradation de WÖHL-ZEMPLEN [2]

## 1.2.7 Structure cyclique des oses

La forme linéaire des oses est une représentation simple mais incomplète, ne permet pas d'expliquer certaines réactions chimiques des oses en solution .

1. les aldéhydes et des cétones ont la propriété est de se colorer avec la fuchsine décolorée par le réactif de Schiff en donnant un produit de couleur rouge, hors les oses ne se colorent pas.

2. la fonction aldéhyde hydratée (en présence de  $\text{H}_2\text{O}$ ) peut réagir avec 2 molécules d'alcool et donne un acétal, selon la réaction suivante :

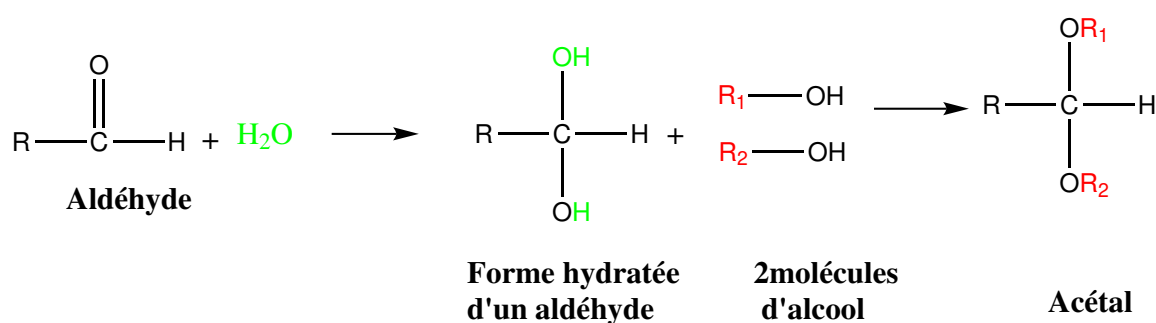


Figure 1.13. Réaction de la formation d'un acétal [2]

Mais les oses ne permettent pas la formation d'acétals, puisqu'ils réagissent avec seulement une seule molécule de  $\text{H}_2\text{O}$  en donnant des hémiacétals selon la réaction suivante.

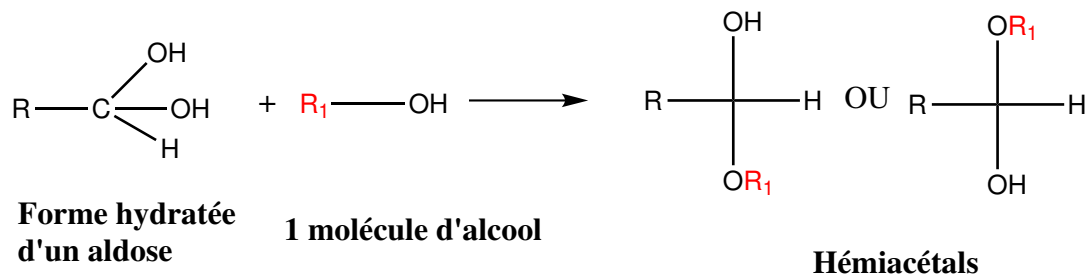


Figure 1.14. Formation d'un hémiacétals [1]

3. Un aldohexose linéaire (ex : Glucose  $n=6$ ) hydraté peut fixer théoriquement 7 groupements méthyles  $-CH_3$  ( $n + 1$  méthyles) et former une molécule heptaméthylée; hors expérimentalement les molécules d'aldohexoses hydratées ne peuvent se fixer qu'avec 5 groupements méthyles ( $n - 1$  méthyles) et former une molécule pentaméthylée.

Ces observations et d'autres ont conduit à postuler l'existence d'un carbone asymétrique supplémentaire par rapport à la forme linéaire.

⇨ **Projection de HAWORTH** La projection de Haworth est la représentation de la structure cyclique des oses la plus utilisée.

La structure cyclique est le résultat d'une réaction de condensation intramoléculaire entre le groupe carbonyle aldéhydique ou cétonique et l'un des groupes hydroxyle conduisant à la formation d'un pont oxydique. La cyclisation entraîne l'apparition d'un carbone asymétrique supplémentaire. Le carbone est dit anomérique c'est le carbone 1 pour les aldoses et le carbone 2 pour les cétooses.

L'anomérisation est une configuration particulière que l'on retrouve dans la forme cyclique du sucre. Les anomères sont distingués par les lettres  $\alpha$  et  $\beta$ . Ces deux anomères ont un pouvoir rotatoire spécifique différent.

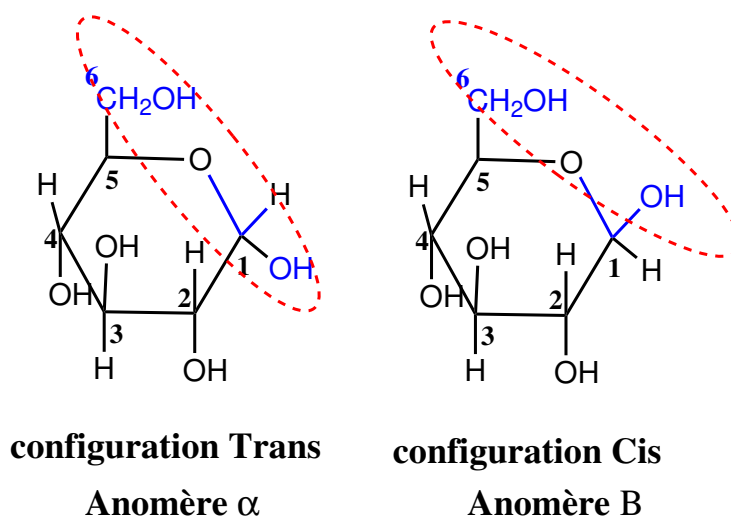


Figure 1.15. Anomère  $\alpha$  et  $\beta$  [1]

**Anomère  $\alpha$**  : le nouveau groupe ( $-OH$ ) du carbone anomérique et le carbone 6 sont en configuration Trans (se projette de part et d'autre du plan du cycle dans la projection de Haworth).

**Anomère  $\beta$**  : le nouveau groupe ( $-OH$ ) du carbone anomérique et le carbone 6 sont en configuration Cis (se projettent du même côté du plan).

⇨ **Cyclisation des aldoses** La réactivité de la fonction aldéhyde conduit à une héli-acétalisation intramoléculaire qui peut avoir lieu :

- entre les carbones C1-C5 : on obtient ainsi un hétérocycle à 6 sommets (O et 5C) appelé forme pyranique ou pyranose par analogie avec le noyau pyranne.

- entre les carbones C1-C4 : on obtient ainsi un hétérocycle à 5 sommets (O et 4C) appelé forme furanique ou furanose par analogie avec le noyau furane.

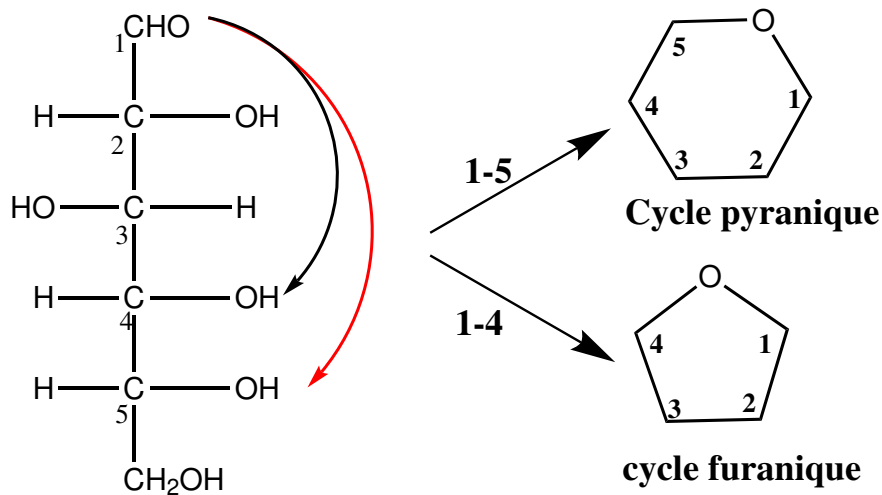


Figure 1.16. Forme pyrane et furane des aldoses [2]

### a. Formation de pyranose

La forme pyranose se forme selon le mécanisme suivant :

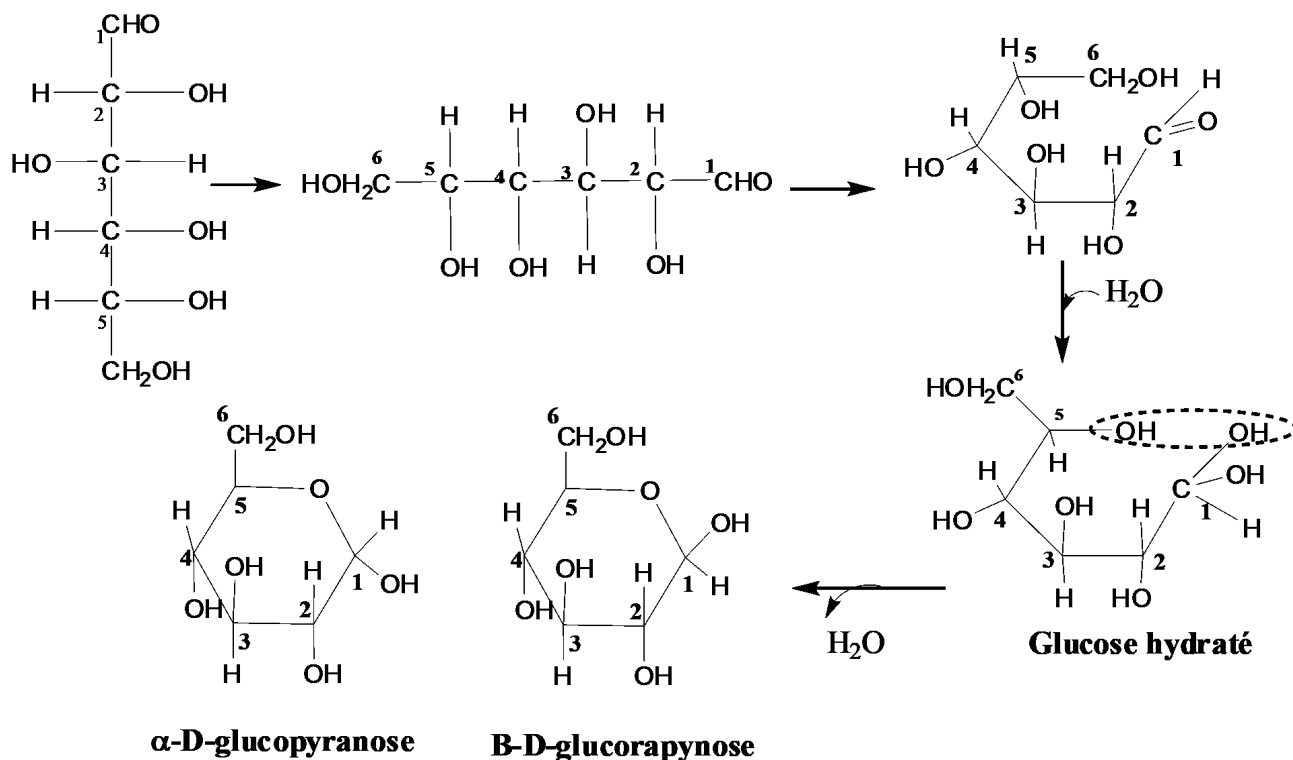


Figure 1.17. Mécanisme de la formation du cycle pyranose exemple glucopuranos [1]

### IMPORTANT

Pour passer de la projection de Fischer à la projection de Haworth, pour les sucres de la série D, il existe une correspondance directe entre l'orientation des groupes hydroxyles dans les deux projections :

**Règle 1 :** passage de la Représentation de Fischer (RF) à la Représentation de Haworth (RH)

- Les groupes OH qui se trouvent à droite dans la RF sont en dessous du plan horizontal formé par le cycle dans la RH
- Les groupes qui se trouvent à gauche dans la RF sont au dessus du plan du cycle dans la RH.

### Règle 2 : Règle d'Hudson

- L'anomère  $\alpha$  d'un D ose est celui qui possède le pouvoir rotatoire le plus élevé. Ceci correspond à la position «trans» de l'OH en C1 pour les aldoses et C2 pour les cétones par rapport au CH<sub>2</sub>OH porté par le C<sub>n-1</sub>.

- L'anomère  $\beta$  correspond à la position «cis»

- l'anomère  $\alpha$  a son groupement OH anomérique orienté vers le bas dans la série D et vers le Haut dans la série L et inversement pour l'anomère  $\beta$ .

### Règle 3 :

Quand on cyclise un ose, si l'OH entrant dans le pont oxidique est situé à droite, le CH<sub>2</sub>OH terminal sera au-dessus du plan du cycle. S'il est à gauche, le CH<sub>2</sub>OH sera en dessous du plan.

Cette règle est valable quelque soit le OH entrant dans le cycle.

### b. Formation de Furanose

La cyclisation entre le C1 et C4 donne un cycle furane selon le schéma suivant :

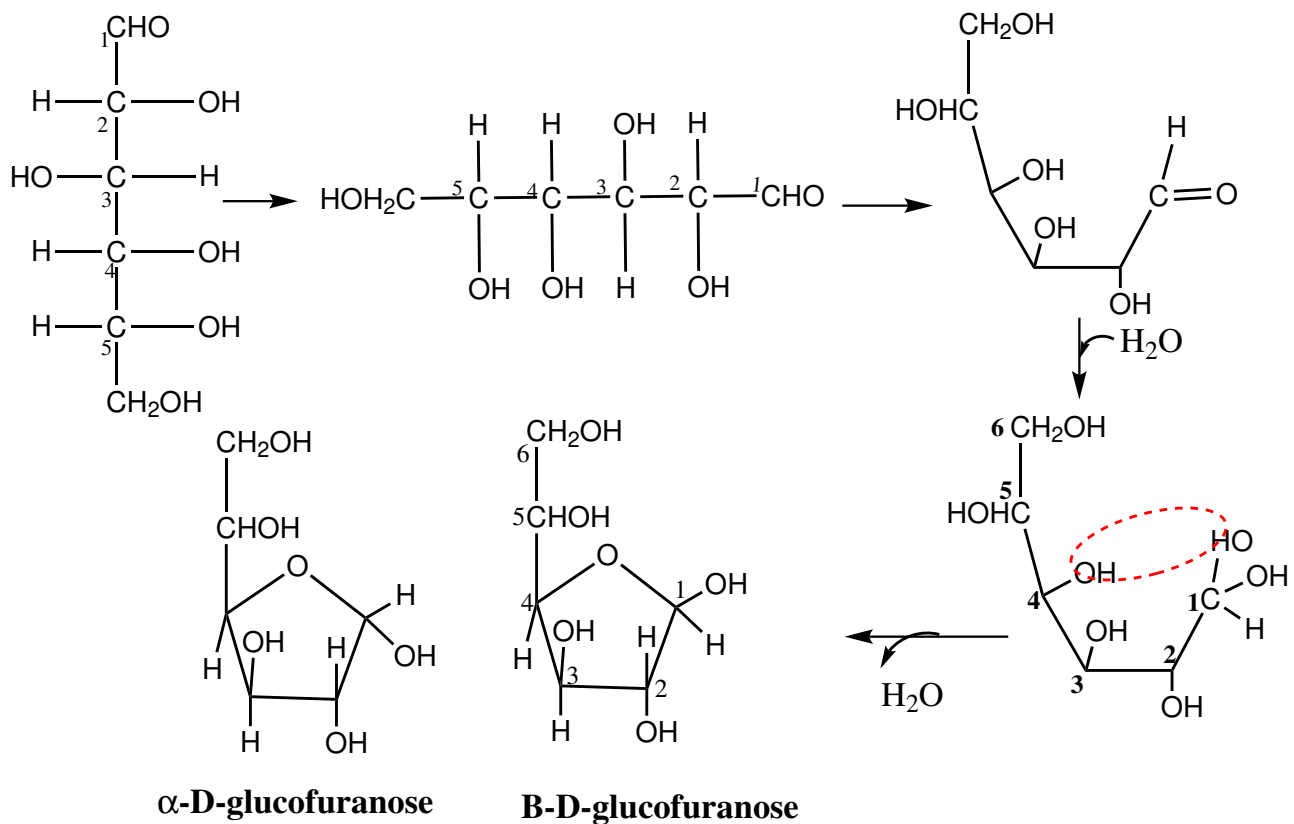


Figure 1.18. Mécanisme de la formation du cycle furanose [1]

⇒ **Cyclisation des cétones** Comme les aldoses, les cétones peuvent, se cycliser. L'hémi-acétalisation intramoléculaire a lieu entre la fonction cétone et un groupement hydroxyle porté par un des carbones de la chaîne. Au cours de la cyclisation le C2 est le carbone anomérique pour les cétones.

- entre les carbones C2-C6 : on obtient ainsi un hétérocycle à 6 sommets appelé forme pyranique (pyranose)

- entre les carbones C2-C5 : on obtient ainsi un hétérocycle à 5 sommets appelé forme furanique (furanose)

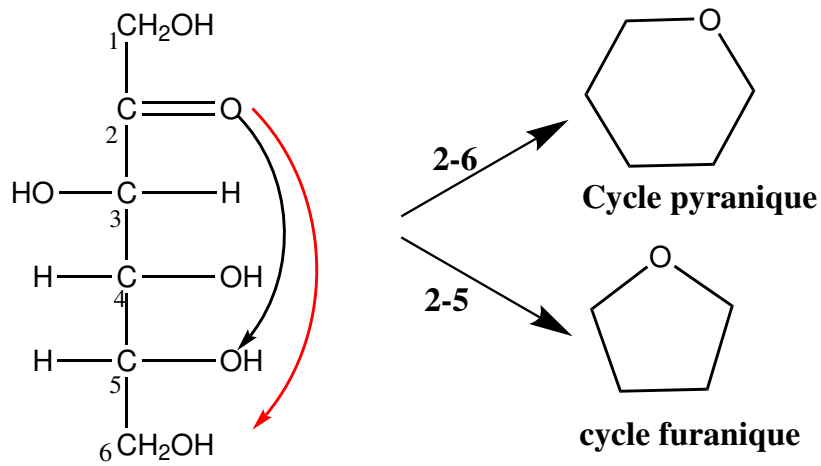


Figure 1.19. Forme pyrane et furane des cétooses [3]

### a. Formation d'une Cétopyranose

Le cycle pyranose d'une cétoose se forme par la liaison entre le C2 et le carbone 6 selon le mécanisme suivant :

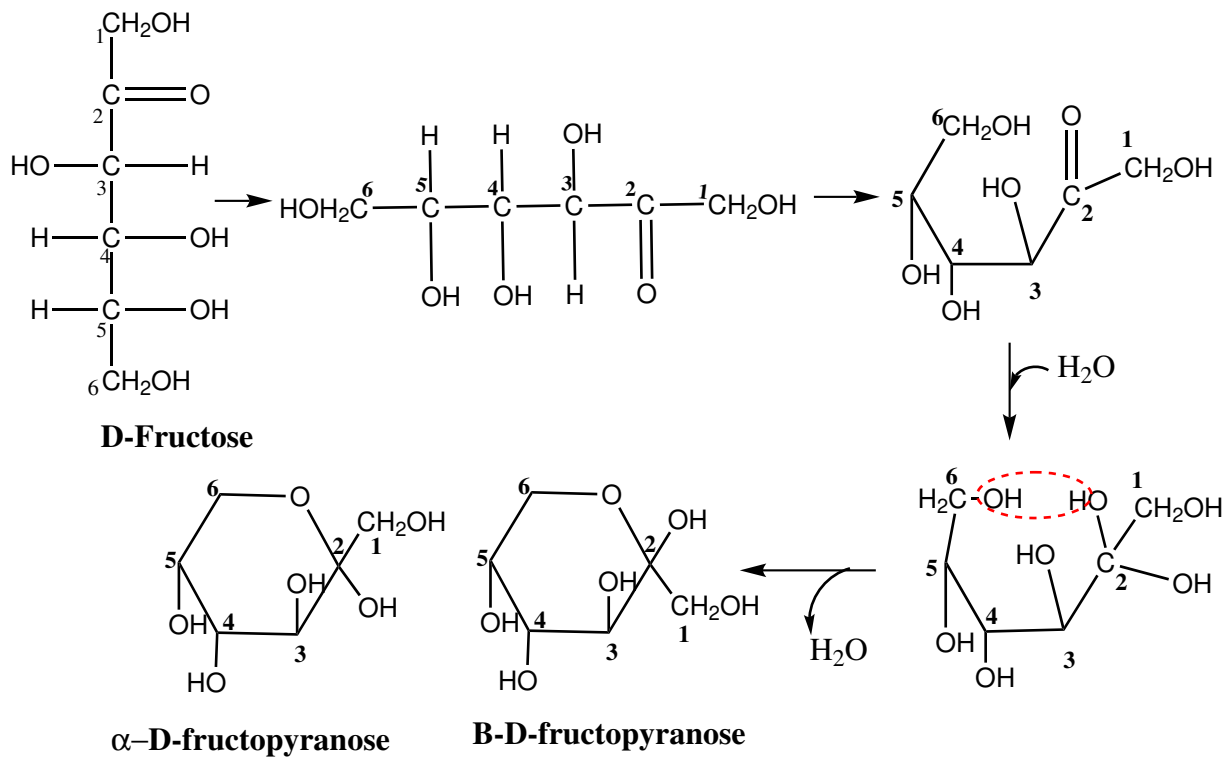


Figure 1.20. Mécanisme de la formation du cycle pyranose [1]

## b. Formation d'une Cétofuranose

La cyclisation des cétooses en C2-C5 se fait selon le schéma

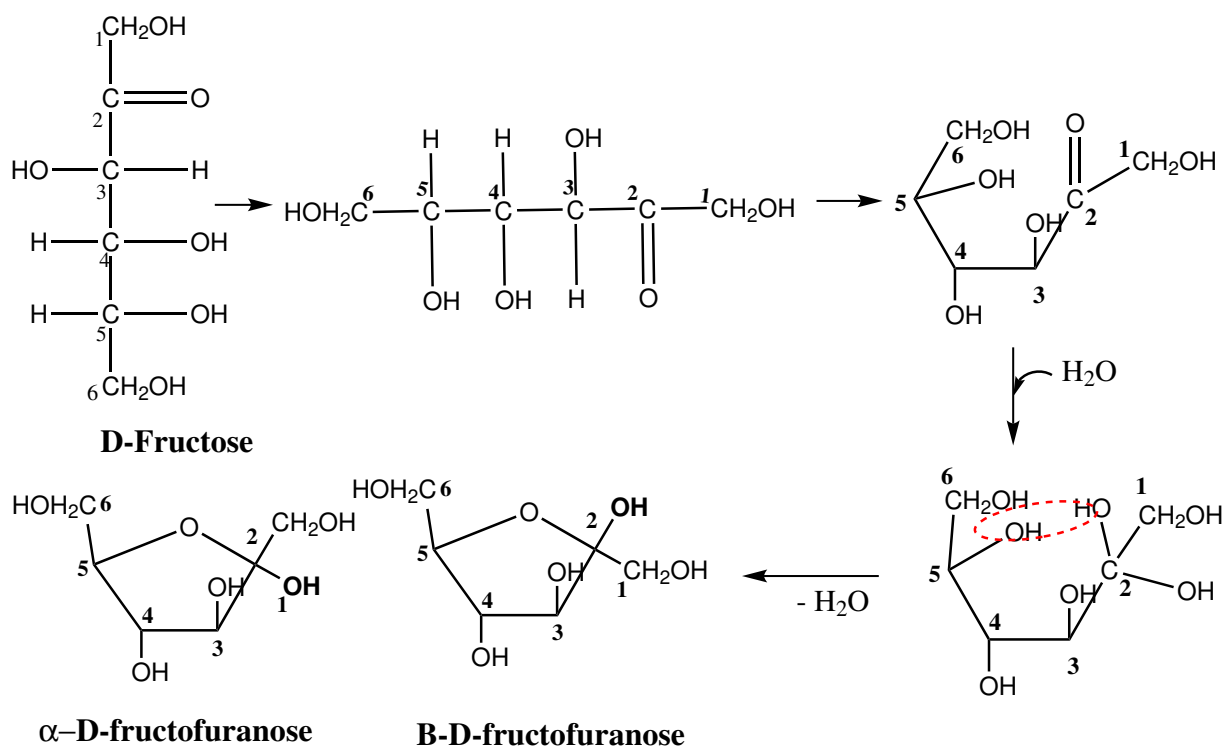


Figure 1.21. Mécanisme de la formation du cycle furanose exemple fructofuranose [1]

### Remarque

La stabilité des cycles des oses dépend de l'ose considéré

- la conformation du cycle pyranose est plus stable que celle du cycle furanose pour les aldohexoses et dans la plupart des cas, la forme pyranose prédomine en solution.
- Les aldopentoses sont plus stables sous forme furane que pyrane.
- La forme furane est la plus stable pour les cétooses que la forme pyrane. On ne trouve pas de structure cyclique à 7 sommets chez les hexoses, car elle subirait trop de tension qui empêcherait sa stabilité conformationnelle.

## 1.2.8 Mutarotation

En solution dans l'eau, les deux formes anomères  $\alpha$  et  $\beta$  du glucose sont en équilibre permanent. Il existe à tout instant des transformations réversibles entre la forme aliphatique et les deux formes cycliques, selon le schéma suivant

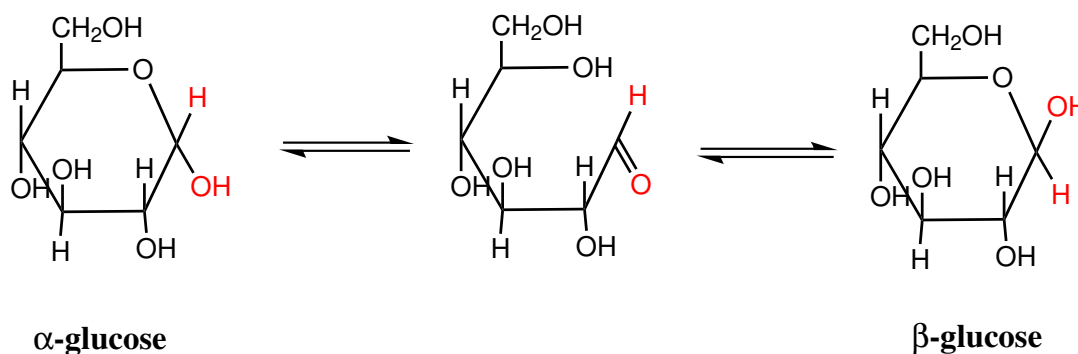


Figure 1.22. Equilibre entre formes  $\alpha$ ,  $\beta$  et aliphatique du glucose [2]

On constate que le pouvoir rotatoire d'une solution de D-glucose évolue dans le temps et se stabilise après quelques heures à la valeur de  $+52,7^\circ$ . Ce phénomène s'appelle mutarotation. La mutarotation traduit un équilibre dynamique entre l'anomère  $\alpha$  et l'anomère  $\beta$  sans que l'équilibre ne soit déplacé. Cette interconversion se fait toujours via la forme intermédiaire ouverte. L'anomère  $\beta$  est plus prépondérant car il est plus stable. Cet équilibre ne s'établit qu'en solution, en présence des ions  $H^+$  ou  $OH^-$  de l'eau qui exercent un rôle catalytique

$[\alpha]_D^{20^\circ} = +113^\circ$  correspondant au  $\alpha$ -D-glucose

$[\alpha]_D^{20^\circ} = +18,7^\circ$  correspondant au  $\beta$ -D glucose

Le pouvoir rotatoire final de la solution est celui du mélange en équilibre des deux anomères contenant 1/3 de forme  $\alpha$  et 2/3 de forme  $\beta$  (forme la plus stable) plus une très faible quantité de la forme ouverte (0,005 %)

- 35% d' $\alpha$  - D glucopyranose  $+113^\circ$
- 65% de  $\beta$  - D glucopyranose  $+18,7^\circ$
- 0,005% de D-glucose linéaire

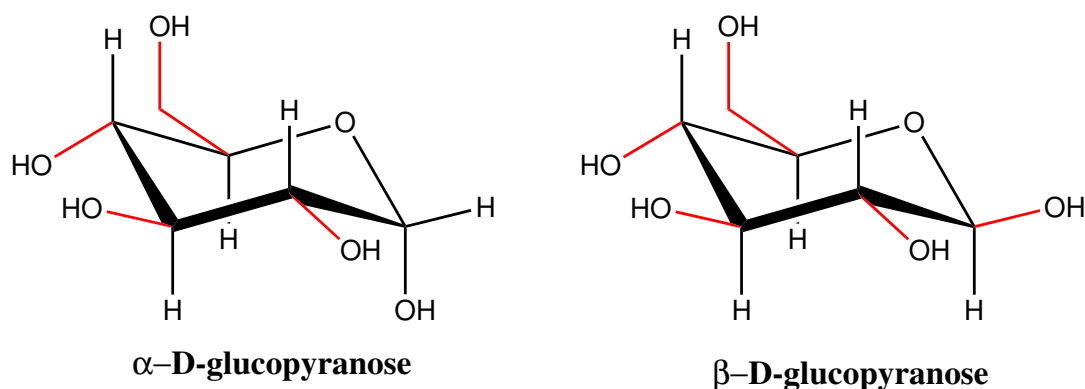


Figure 1.23. Conformation du cycle pyranique [2]

Le  $\beta$ -D-glucopyranose a ses plus gros substituants (OH et  $CH_2OH$ ) tous en position équatoriale. Ceci explique la plus grande stabilité de cet anomère comparé à celle de l'anomère  $\alpha$ . De ce fait il est le plus présent dans la nature et majoritaire en solution.

## 1.2.9 Propriétés physiques et chimiques des oses

### Propriétés physiques

#### a- Solubilité

Les oses sont de petites molécules, hydrophiles très solubles dans l'eau car présentent plusieurs groupes OH. Par contre moins solubles dans les solvants organiques. Les solutions aqueuses concentrées sont visqueuses, c'est des sirops.

#### b-Pouvoir rotatoire spécifique :

Tous les oses sont actifs optiquement sauf la dihydroxyacétone. Chaque ose a un pouvoir rotatoire spécifique qui permet de l'identifier. En solution, les formes énantiomères d'une molécule présentent des propriétés optiques différentes. Chacune d'entre elles dévie de manière spécifique le plan de polarisation d'une onde monochromatique polarisée.

On définit le Pouvoir Rotatoire spécifique par la relation de BIOT.

$$\alpha = [\alpha]_D^{20} . l . C$$

$[\alpha]$  : est le pouvoir rotatoire spécifique de la substance étudiée,

$l$  : est la longueur de la cuve polarimétrique en  $dm$

$C$  : la concentration de la solution étudiée en  $g/ml$

$\alpha$  ou  $R$  : l'angle de rotation

Les glucides qui dévient la lumière à droite sont dits dextrogyres et notés (+), ceux qui la dévient à gauche sont lévogyres (-). Un mélange équimolaire de deux énantiomères est optiquement inactif (ne dévie plus la lumière polarisée) et il est donc optiquement inactif. Il est noté racémique.

### Remarque

- ✓ L'appartenance à la série D ou à la série L ne préjuge pas le signe du pouvoir rotatoire. Celui-ci ne pouvant être déterminé qu'expérimentalement.
- ✓ Configuration et pouvoir rotatoire sont indépendants.
- ✓ Il n'existe aucun lien entre la forme D ou L (c'est à dire position droite ou gauche du (-OH) porté par le C<sub>n-1</sub> dans la représentation de Fischer) et le sens de déviation droite ou gauche du plan de polarisation de la lumière.
- ✓ Ainsi, le D(+) glucose est bien dextrogyre (= +52°), mais le D(-) fructose, lui, est fortement lévogyre (= -92,4°).

### c- Caractéristiques spectrales

Les oses n'absorbent pas en ultraviolet mais absorbent dans l'infra rouge.

### Propriétés chimiques des oses

On peut classer les propriétés chimiques des oses selon le groupement chimique impliqué dans la réaction en :

- Propriétés dues à la fonction carbonylee ;
- Propriétés dues aux fonctions alcools ;
- Propriétés dues à la fonction carbonylee et aux fonctions alcools.

#### a- Propriétés dues à la fonction carbonyle

##### a.1. Réduction

Les aldoses et les cétooses sont irréversiblement réduits en polyalcools, appelés génériquement alditol par addition d'hydrure (NaBH<sub>4</sub>, LiBH<sub>4</sub>). L'agent réducteur (hydrure H<sup>-</sup>) réagit exclusivement avec les oses linéaires présents en solution, ce qui va conduire à un déplacement de l'équilibre entre la forme cyclique et la forme linéaire de l'ose en faveur de la production de la forme linéaire et rendre, par conséquent, la réaction irréversible.

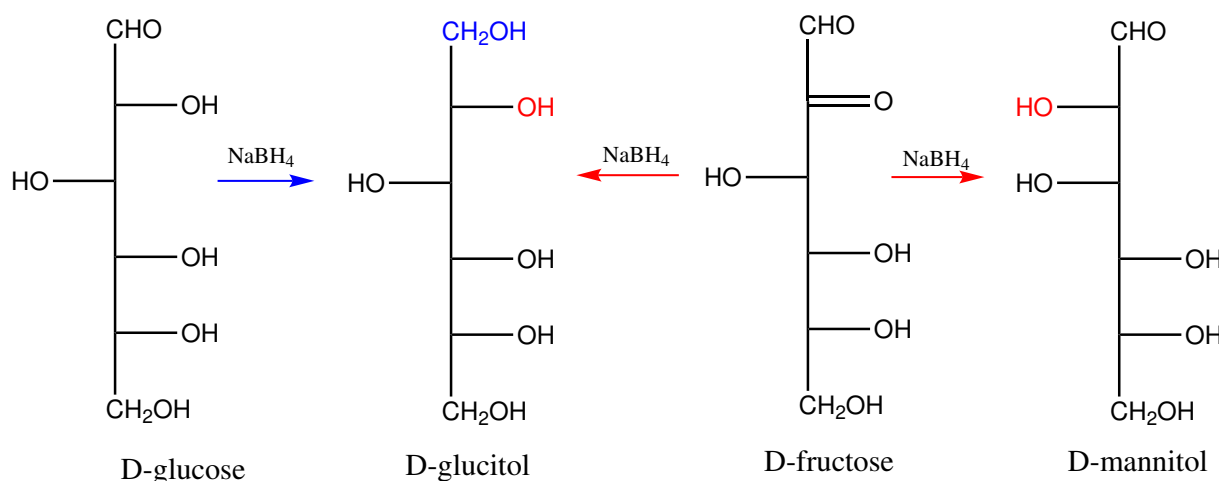


Figure 1.24. Réduction du D- glucose et du D-fructose [2]

La réduction d'une cétoose donne deux alditols épimères. La réduction du D-fructose par l'hydrure donne un mélange équimoléculaire du D-glucose et D-mannitol alditols épimères en C2.

Pour connaître le nom du produit de la réduction, il suffit de remplacer le suffixe -ose par le suffixe -itol.

**Exemple :**

Le D-glucose donne le D-glucitol (anciennement appelé D-sorbitol)

Le D-mannose donne le D-mannitol,

**a.2. Interconversion**

En milieu basique faible et à froid, les oses subissent une interconversion caractérisée par le passage de la fonction aldéhyde à la fonction cétone et inversement.

**a.3. Oxydation douce en milieu alcalin**

En milieu alcalin l'aldéhyde s'oxyde en présence d'Agents oxydants : I<sub>2</sub>, Br<sub>2</sub>, HNO<sub>3</sub> dilué. l'aldose R-CHO s'oxyde en acide aldonique R-COOH. Les cétooses ne sont pas oxydés.

Pour obtenir le nom du produit de l'oxydation douce, il suffit de remplacer le suffixe -ose par le suffixe -onique.

**Exemple :** le glucose donne l'acide gluconique, le mannose donne l'acide mannonique et le galactose donne l'acide galactonique...ect

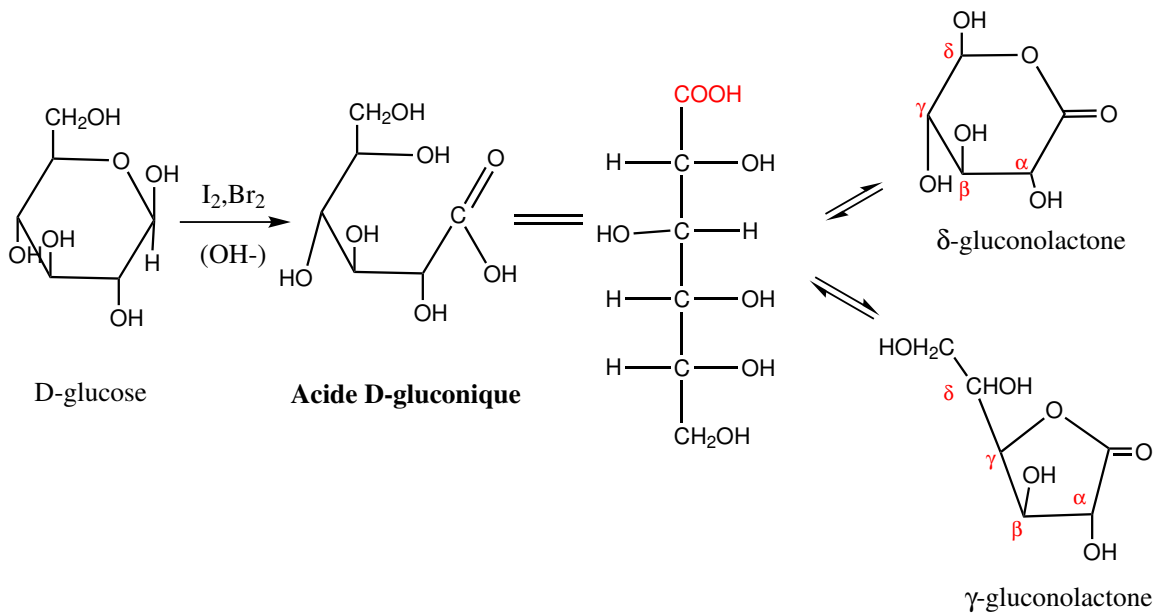


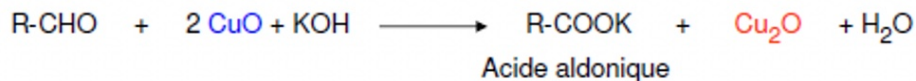
Figure 1.25. Oxydation du D-glucose en Acide gluconique [1]

**b. Propriétés dues à la fonction carbonylée et aux fonctions alcools****b.1. Pouvoir réducteur des aldoses**

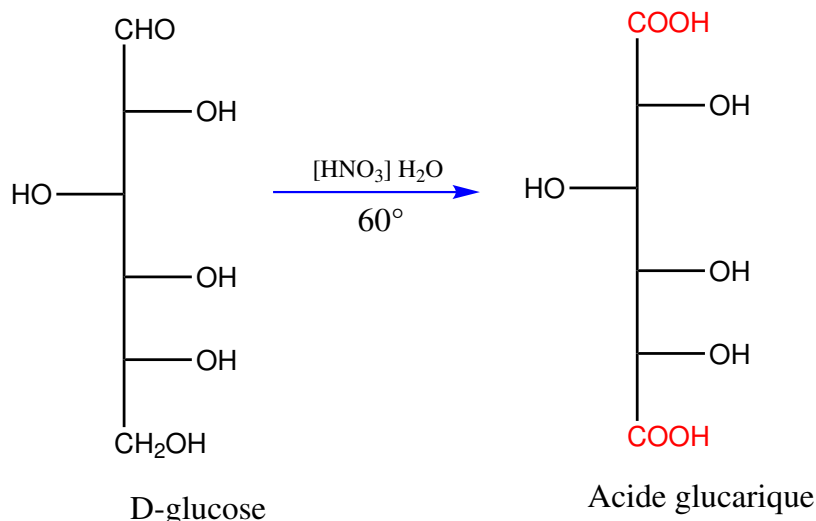
Réaction d'oxydation des aldoses par la liqueur de Fehling à chaud en milieu alcalin.

L'oxyde cuivrique (bleu) est réduit en oxyde cuivreux (rouge brique) insoluble, tandis que l'aldose s'oxyde en acide aldonique.

**Exp :** Action de la liqueur de fehling avec les sels cuivriques (à chaud en présence d'un ose réducteur)

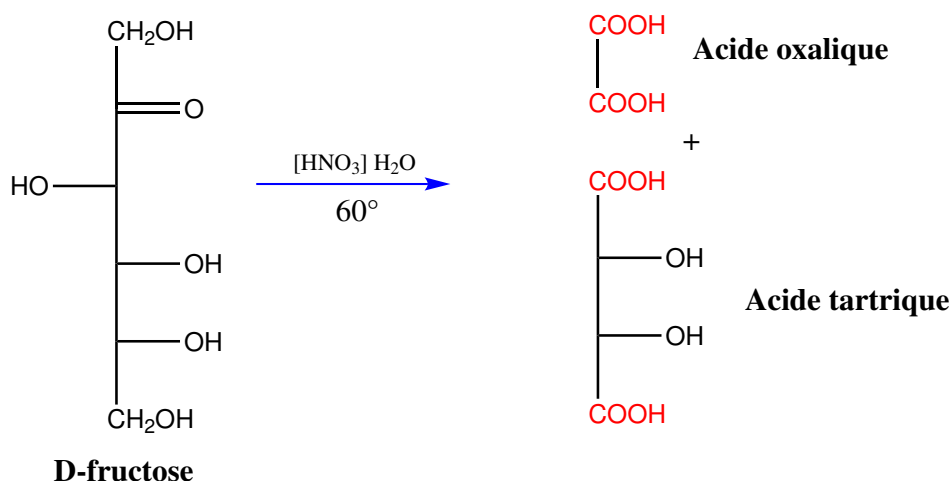
**b.2. Oxydation forte : oxydation nitrique**

L'oxydation forte d'un aldose par l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) à chaud conduit à l'attaque simultanée de l'alcool primaire terminal et de l'aldéhyde. On obtient un di-acide carboxylique porteurs d'une fonction carboxylique sur le carbone 1 et le carbone 6, appelé acide aldarique.



**Figure 1.26.** Oxydation de la fonction aldéhydique et alcool primaire par les oxydants énergique [1]

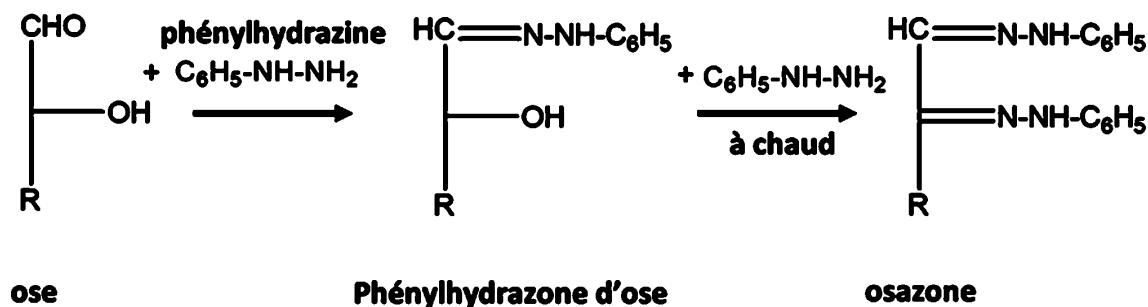
Dans ces mêmes conditions, les cétooses sont dégradées. La même réaction d'oxydation provoque la coupure oxydante du squelette carboné des cétooses.



**Figure 1.27.** Dégradation des cétooses par les oxydants énergiques [1]

### b.3. Formation d'osozones

En milieu légèrement acide, à 100°C, les oses réagissent avec un excès de phénylhydrazine pour former des phénylosozones insolubles dans l'eau. Le glucose, le fructose et le mannose donne la même osazone : la glucosazone.



**Figure 1.28.** Action de la phénylhydrazine [1]

## c. Propriétés dues aux fonctions alcools

### c.1. Oxydation sélective de la fonction alcool primaire

C'est une oxydation sélective *in vivo* de la fonction alcool primaire. Si on protège la fonction aldéhyde pendant l'oxydation (par méthylation faible), on aura oxydation de la fonction alcool primaire en fonction acide carboxylique. On obtient les acides uroniques oxydés uniquement sur la fonction alcool primaire en C6.

Le nom de l'acide uronique formé est obtenu en remplaçant le suffixe-ose d'un aldose par le suffixe-uronique

#### Exemple :

Le glucose donne l'acide glucuronique,

Le galactose donne l'acide galacturonique

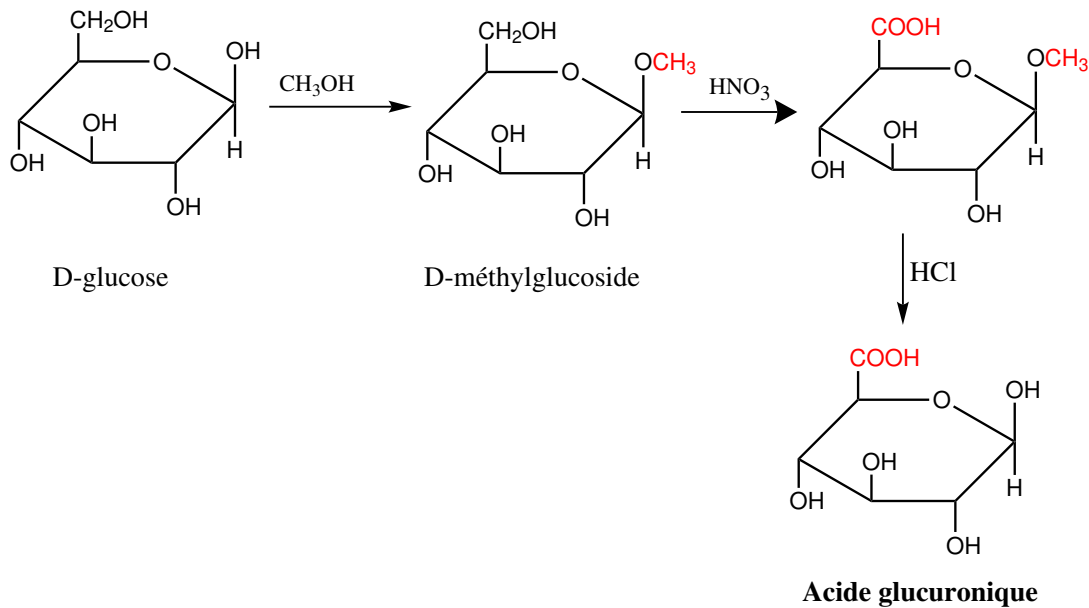


Figure 1.29. Formation de l'acide uronique [1]

#### Remarque

Les acides uroniques sont des constituants des Glycosaminoglycanes. Leur rôle biologique est essentiel dans la détoxification hépatique.

Ces composés interviennent dans la reconnaissance cellulaire chez les bactéries.

L'acide glucuronique est le précurseur de la voie de synthèse de la vitamine C ou acide L-ascorbique (La vitamine C est l'ènediol d'une lactone d'acide aldonique).

### c.2. Oxydation par l'acide périodique

Des renseignements structuraux peuvent être obtenus par dégradation oxydative sous l'action du périodate en milieu acide. L'oxydation nous permet de déterminer la taille du cycle.

L'acide périodique peut couper la chaîne carbonée en provoquant la rupture de la liaison covalente porteuse de  $\alpha$  glycol libre ( $-\text{OH}$ ). L'alcool I et II se transforment en aldéhyde formique et acide formique, respectivement. Les carbones porteurs de fonction alcool primaire se transforment en aldéhyde formique ( $\text{HCHO}$ ). Tandis que les carbones porteurs de fonction alcool secondaire se transforment en acide formique ( $\text{HCOOH}$ ).

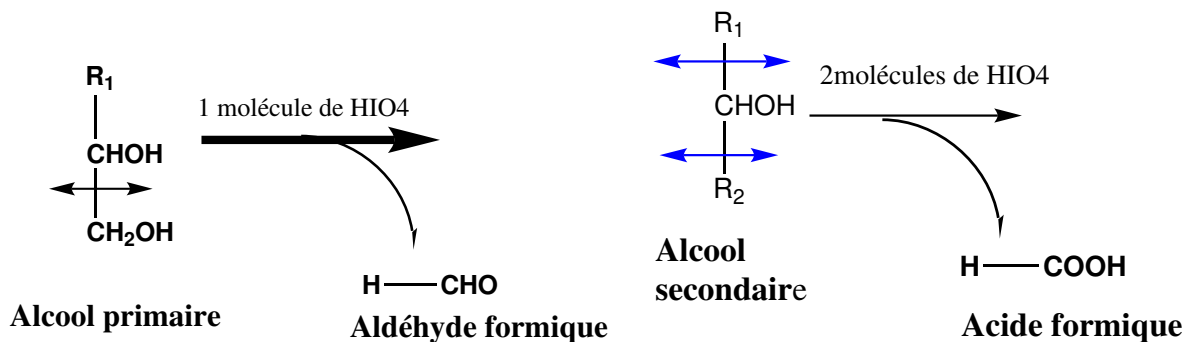
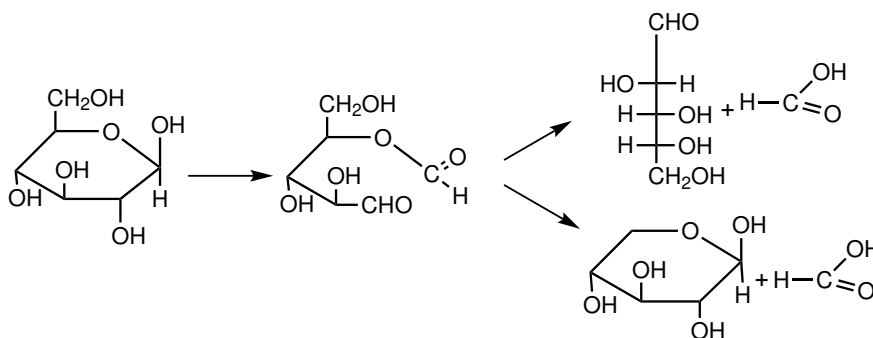


Figure 1.30. Oxydation de l'alcool primaire et secondaire par l'acide periodique(HIO4) [1]

**Remarque**

Une protection de la fonction aldéhyde par méthylation s'impose avant l'utilisation de l'acide périodique.

**Ose réducteur**



**Ose non réducteur**

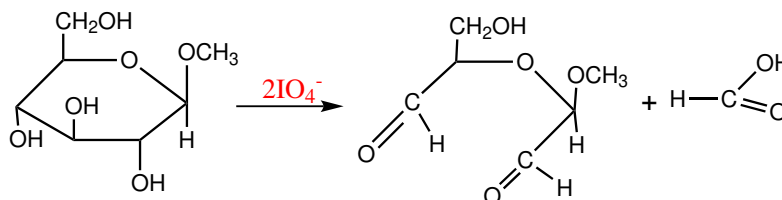


Figure 1.31. réduction du glucose par le  $HIO_4$  [1]

Tab. 1.1. Bilan de l'oxydation des aldoses et cétooses par le périodate

	Pyranose	Furanose
Aldose		
Bilan	$2HIO_4^- + 1HCOOH$	$2HIO_4^- + 1HCHO$
Cétose		
Bilan	$2HIO_4^- + 1HCOOH$	$1HIO_4^-$

### c.3. Déshydratation

A chaud et en présence d'acide fort concentré, les oses (à partir de 5 C) subissent une déshydratation et se transforment en furfurals ou en ses dérivés. Les pentoses se déshydratent en furfural tandis que les hexoses en hydroxyméthyl furfural.

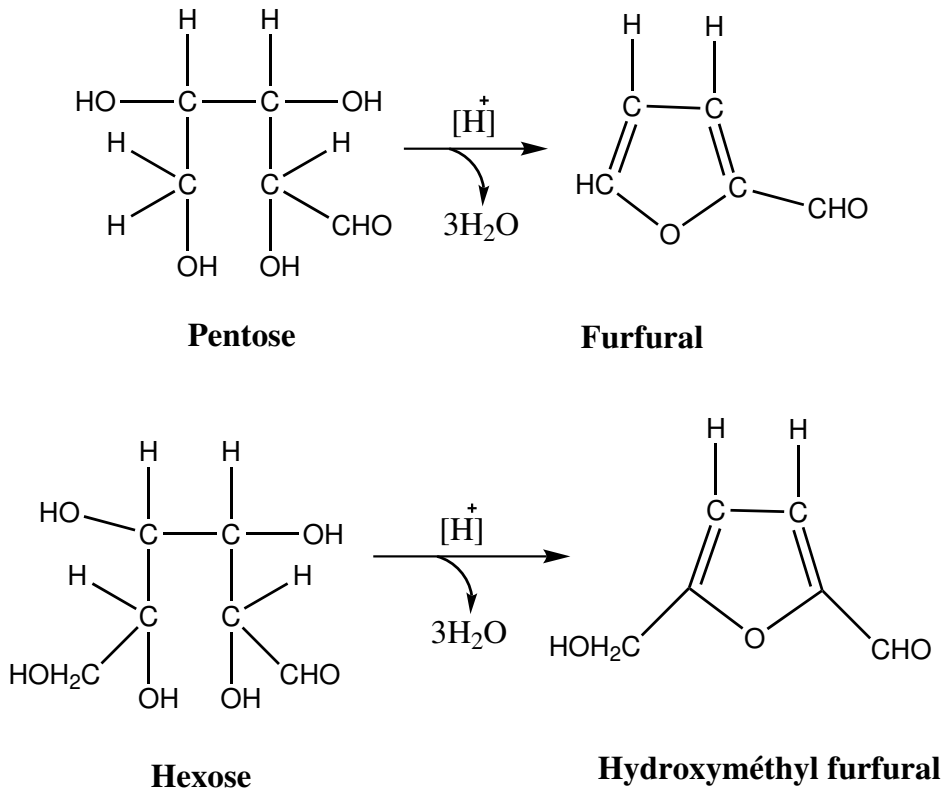
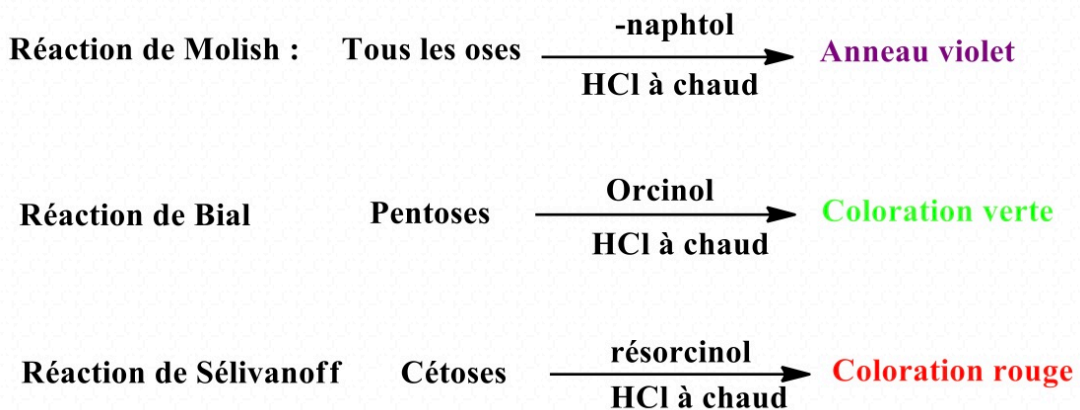


Figure 1.32. Formation du furfural et hydroxyméthylfurfural a partir des oses [2]

Les furfurals et dérivés se condensent avec des phénols pour donner des produits colorés utilisés pour la caractérisation et le dosage colorimétrique des oses.



### c.4. Réaction d'addition et de substitution sur les glucides

La fixation d'une molécule chimique (non glucidique = aglycone) au niveau du OH du carbone asymétrique des oses permet de bloquer la mutarotation (l'ose garde son anomérie) et freine le pouvoir réducteur.

La liaison d'un aglycone (partie non glucidique) avec l'ose constitue en milieu acide des hétérosides. Selon le groupement substituant le OH du carbone anomérique, on distingue un type d'hétéroside.

- Lorsque la molécule aglycone est un H<sub>0</sub>-R, le type d'hétéroside est un O-hétéroside.
- Lorsque la molécule aglycone est un S-R, le type d'hétéroside est un S-hétéroside.
- Lorsque la molécule aglycone est un NH-R, le type d'hétéroside est un N-hétéroside.

### ► Formation de O-Hétérosides

La réaction des oses avec les alcools et les phénols (addition) aboutit à la formation d'un oside. Un O-glycoside n'a pas de pouvoir réducteur (il ne réduit pas les oxydes métalliques).

Il n'est pas capable de mutarotation.

**Exemple :** l'Action du méthanol sur le glucose donne un composé O-glycoside :

$\beta$ -méthyl-O-D-glucopyranoside

### ► Formation de N-Hétérosides

Les aldoses et les cétooses se condensent avec les amines primaires pour donner des imines cycliques. Les imines cycliques ou glycosylamines N-substituées, ou encore N-glycosides, entrent dans la composition de nombreuses molécules biologiques, dont les plus connues sont les nucléosides et les nucléotides, constitutifs des acides nucléiques.

### ► Formation de S-Hétérosides

Par Action des thiols (substitution) . Les aldoses donnent des S-Hétérosides alors que les cétooses ne se combinent pas.

L'ensemble des réactions d'additions et de substitutions sont regroupées dans la figure suivante.

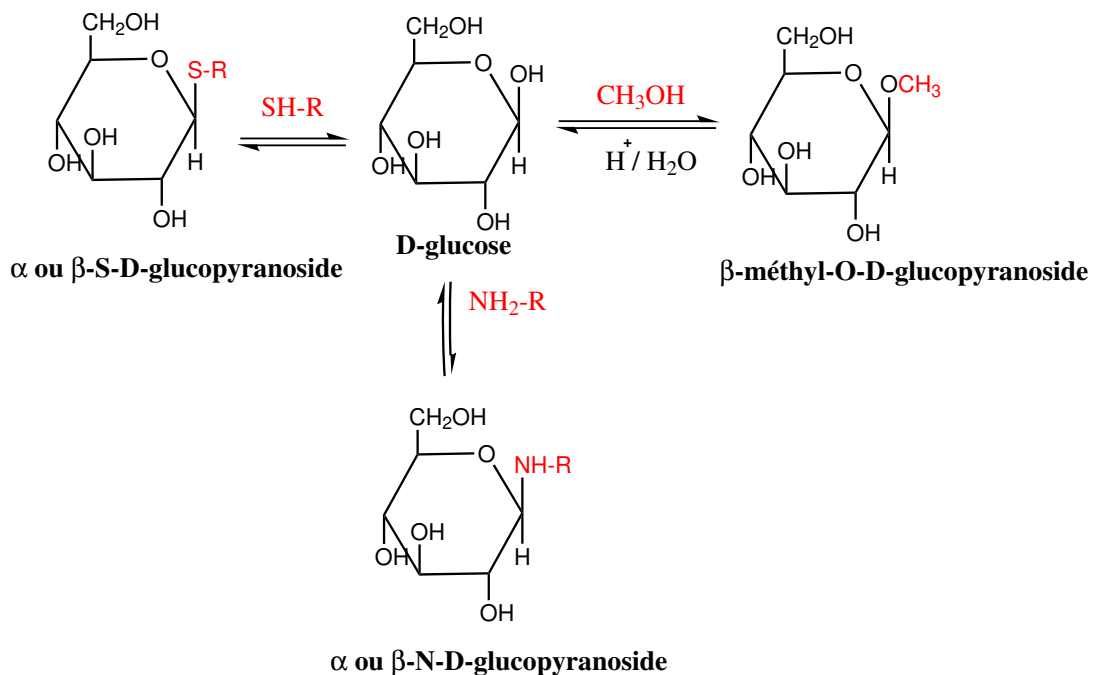


Figure 1.33. Formation des hétérosides [3]

### c.5. Formation d'esters

Les oses peuvent être estérifiés au niveau des alcools primaires ou secondaires par l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) pour former des esters phosphoriques. Trois types d'estérification conduisent à la formation de trois substrats énergétiques très importants dans la cellule :

- une estérification au niveau du C1 conduisant à la formation de glucose-1-phosphate,
- au niveau du C6 permettant l'obtention de glucose-6-phosphate,
- une bi-estérification au niveau du C1 et C6 conduisant à la formation de glucose-1,6-biphosphate.

Des oses mono- et diphosphate sont essentiels dans le métabolisme énergétique. Des esters d'oses existent à l'état naturel.

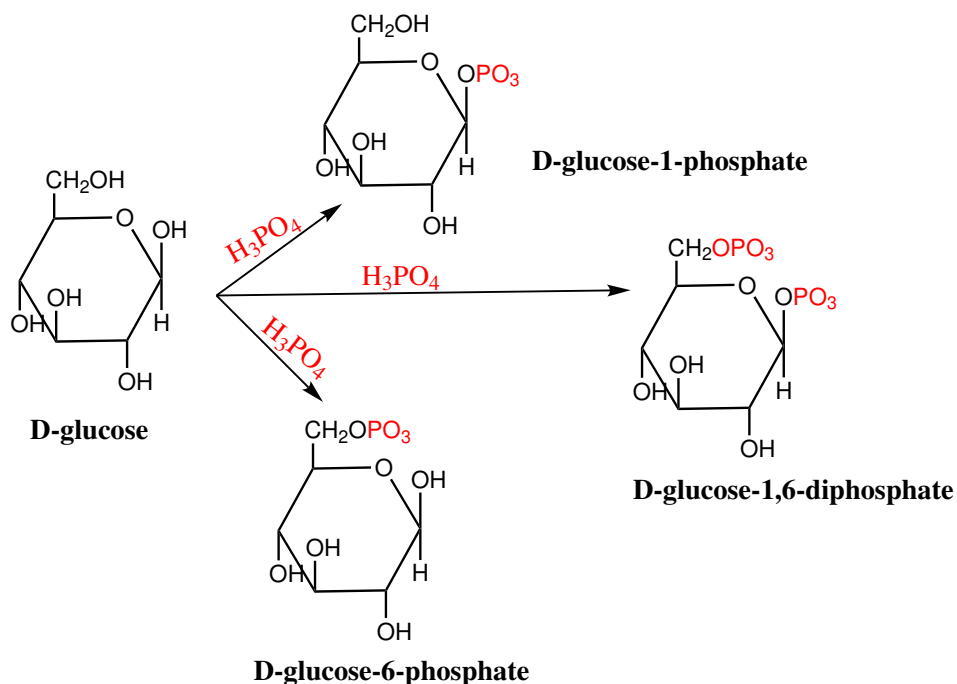


Figure 1.34. Estérification du D-glucose [1]

### c.6. Éthérisation : Formation de dérivés O-méthylés

La méthylation permet de mettre en évidence les fonctions alcools libres. C'est une technique importante qui a deux applications principales :

- En premier lieu elle permet de déterminer la structure des cycles.
- En second lieu elle permet de déterminer l'enchaînement (la liaison osidique) dans les polysides.

Si l'on fait agir sur un hexose un agent méthylant puissant comme

- Le sulfate de méthyle ( $SO_4(CH_3)_2$ ) en présence de soude (Haworth).
- L'iodure de méthyle  $ICH_3$  en présence d'oxyde d'argent  $Ag_2O$ .

Les deux méthylants agissent en substituant tous les hydrogènes des groupements hydroxyles libres par un- $CH_3$  formant ainsi un groupement éther.

Cette méthode est appelée aussi la Per-méthylalion.

Ce type de réaction peut affecter le carbone anomérique en formant un acétal. Le méthyle situé sur l'oxygène porté par le carbone anomérique disparaît lors de l'hydrolyse.

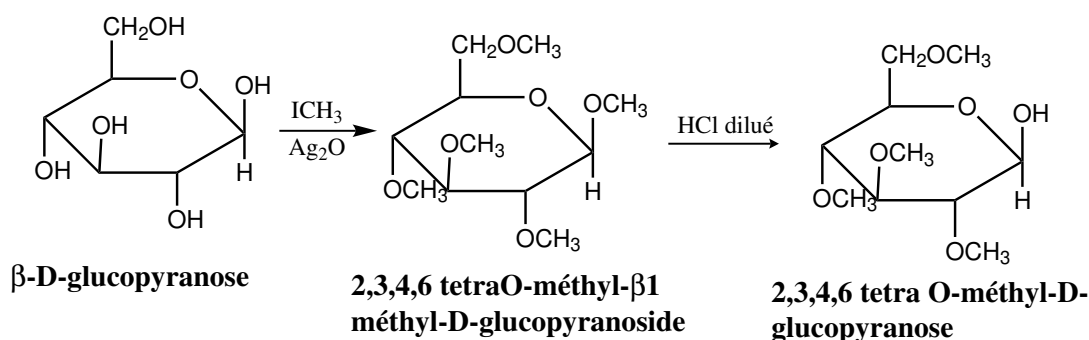


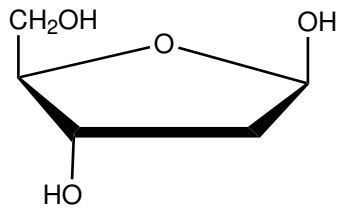
Figure 1.35. Méthylation du D-glucose [4]

## 1.3 Dérivés d'oses

Les dérivés d'oses sont issus de modifications chimiques des oses par phosphorylation, oxydation amidation ...

### 1.3.1 Désoxyoses

Les désoxyoses sont des oses dans lesquels un OH est remplacé par un H. C'est le cas du desoxyribose que nous rencontrons dans la constitution de l'acide desoxyribonucleique (ADN).



2-désoxyribose

Figure 1.36. Exemple de désoxyose [2]

### 1.3.2 Les osamines

Ce sont des oses dans lesquels une fonction alcool a été substituée par une amine. Les plus importantes sont des hexosamines, dérivés du glucose ou du galactose par substitution sur le C2. Les osamines ont les mêmes propriétés que les oses (propriétés réductrices, formes cycliques,...) et les propriétés des amines (basique : fixation d'un proton).

On les trouve essentiellement :

- Sous forme polymérisée, par exemple dans la chitine (squelette des arthropodes).
- Dans la confection de la muréine (paroi des bactéries).
- Dans les glycoprotéines.

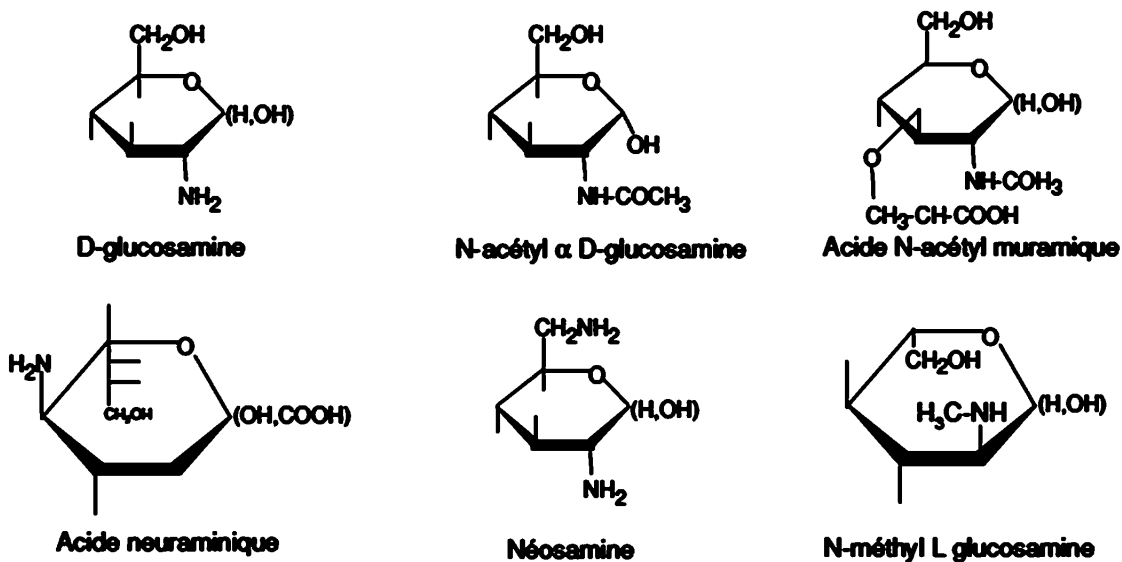


Figure 1.37. Structure des osamines [4]

### 1.3.3 Les acides sialiques

La famille des acides sialique compte plusieurs molécules dérivant tous de l'acide neuraminique (Neu). La différence entre les molécules constituant cette famille réside principalement dans le nombre et la position des acétylations, dont le plus courant est l'acide N-acétyl neuraminique.

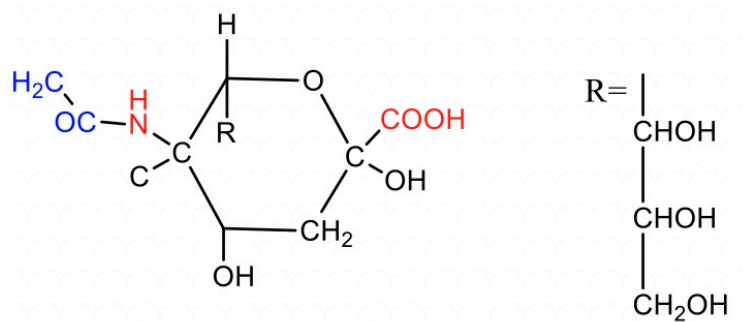


Figure 1.38. L'acide N-acétylneuraminique (NANA) [4]

**L'acide N-acétylneuraminique (NANA)** est un cétose à 9carbone. C'est un constituant des glycoprotéines et glycolipides de la paroi des cellules eucaryotes (Il joue un rôle fondamental dans la fixation et la pénétration des virus dans les cellules). Il est le produit de condensation de : l'Acide pyruvique + D mannosamine. Les acide N-acétylneuraminiques n'existent pas à l'état libre. Ils s'y trouvent en bout de chaîne liés par une liaison  $\alpha$ -glycosidique. La fonction COOH est libre, ce qui confère aux glycoprotéines un caractère acide marqué.

### 1.3.4 Acide L-Ascorbique

- La vitamine C est indispensable car elle n'est pas synthétisée par l'organisme chez l'homme. Sa carence conduit au scorbut, entraîne des anomalies de la synthèse du collagène, la fragilité des parois vasculaires.
- C'est une vitamine hydrosoluble. Seule la forme L est active.
- Elle possède un pouvoir très réducteur. Elle est donc facilement oxydable en acide déhydroascorbique qui est aussi biologiquement actif.
- Elle intervient aussi dans la synthèse des stéroïdes

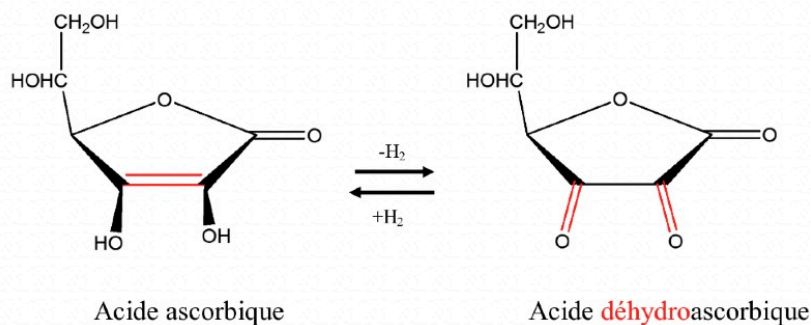


Figure 1.39. L'acide ascorbique [2]

## 1.4 Osides

### 1.4.1 Holosides

Les holosides Sont des molécules qui donnent par hydrolyse deux ou plusieurs molécules d'oses. Ces oses peuvent être identiques ou différents.

L'holoside peut être un oligoside, constitué de moins de dix oses, ou polyside, constitué de plus de dix oses.

La liaison qui permet l'union entre ces molécules (oses-ose) est appelée : liaison osidique.

L'hydrolyse des osides peut être réalisée par voie chimique conduisant à la rupture non spécifique de la liaison osidique, ou par voie enzymatique permettant de couper spécifiquement la liaison osidique et ce, selon le type d'ose engagé dans cette liaison et son anomérie.

## Liaison glycosidique

Une liaison O-osidique ou O-glycosidique est formée par condensation de l'hydroxyle de la *fonction hémiacétalique* porté par le carbone anomérique d'un ose (C1 pour les aldoses, C2 pour les cétooses), d'un groupement –OH d'une autre molécule.

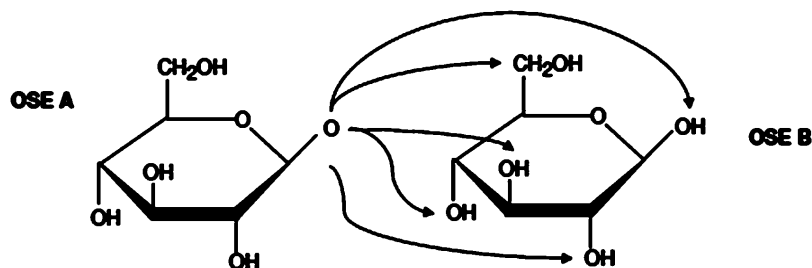


Figure 1.40. La liaison glycosidique [5]

La fonction réductrice peut être libre (OH du carbone anomérique est libre) ou engagée dans la liaison osidique. Si un OH d'un seul carbone anomérique est libre, l'holoside est donc réducteur.

## Nomenclature

Afin de réussir l'écriture du nom complet d'un holoside, quelques règles s'imposent .

On commence par dénommer les oses en commençant :

- par l'ose qui est le plus à gauche par rapport à la molécule.
- par l'ose qui est en haut par rapport à la molécule.
- il faut écrire avec exactitude l'anomérisation, la série, le type d'ose et la forme de son cycle.
- le nom du 1er ose et ceux qui sont en position intermédiaire se termine par le suffixe osido ou osyl.
- le nom du dernier ose se termine par ose s'il est réducteur, ou oside s'il n'est pas réducteur.
- mentionner entre parenthèse et pour chaque deux noms d'oses voisins, le numéro des carbones dont le OH est engagé dans la liaison glycosidique.

## Disaccharides réducteurs : Osido-ose

Trois diholosides existent à l'état libre, les autres proviennent de l'hydrolyse des polyosides. Leur formule brute est  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , il s'agit du lactose, saccharose et thréhalose.

Ce sont des osido-ose qui possèdent une fonction OH semi acétalique libre ; le diholoside est réducteur et se présente sous deux formes anomères .

La stéréochimie de la liaison osidique est fixe et apparaît dans le nom systématique alors que celle du carbone anomérique du sucre de droite n'est pas fixe puisque ce sucre possède une extrémité réductrice.

**a- Lactose :** c'est le sucre des mammifères, une lactase l'hydrolyse en glucose et galactose qui peuvent être absorbés.

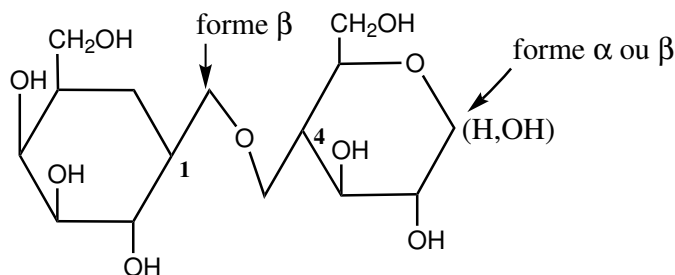


Figure 1.41. Structure du lactose [5]

Le nom systématique complet est :  $\beta$ -D-Galactopyranosyl (1-4) D-glucopyranose

Le nom abrégé est :  $\beta$ -D-Gal (1-4) D-Glc

**b-Maltose :**

C'est un produit de dégradation de l'amidon et du glycogène, il donne 2 molécules de glucose.

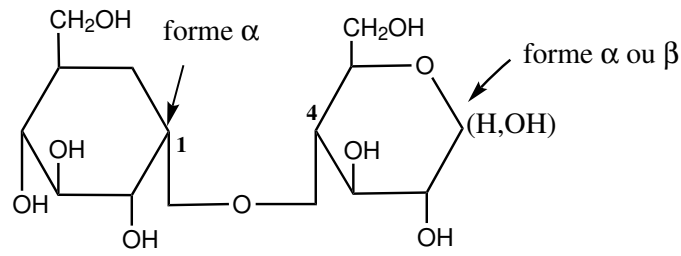


Figure 1.42. Structure du maltose [4]

**c-Isomaltose :**

C'est un produit de dégradation de l'amidon ou du glycogène et est constitué par l'union de deux molécules de glucose comme le maltose mais diffère avec ce dernier par rapport au mode de liaison qui est de (1  $\rightarrow$  6) au lieu de (1  $\rightarrow$  4) dans le maltose.

Son nom systématique est :  $\alpha$ -D-glucopyranosido (1-6) D- glucopyranose En abrégé : Glc ( $\alpha$ 1-6) Glc

**d-Cellobiose :** Unité de base de cellulose, c'est un produit de dégradation de la cellulose. Par hydrolyse, il donne 2 molécules de glucose.

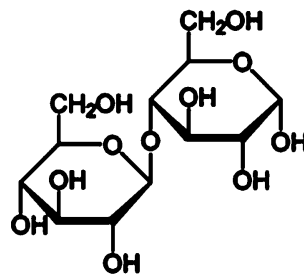


Figure 1.43. Structure de la cellobiose [3]

$\beta$ -D-glucopyranosido (1-4) D-glucopyranose

**Disaccharides non réducteurs**

La condensation de la fonction hémiacétalique des ose se fait par une liaison osido-oside entre les deux carbones anomériques. Bloquant les deux oses dans l'une des formes anomères cycliques ce qui provoque l'absence de phénomène de mutarotation ainsi que le pouvoir réducteur (aucun OH semi-acétalique n'est libre)

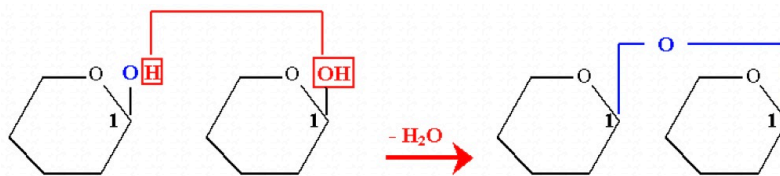


Figure 1.44. Formation d'un disaccharide non réducteur [1]

**a- Tréhalose**

Le tréhalose est un osido-oside que l'on trouve dans les champignons, les bactéries. De nombreux organismes l'accablent en réponse à des chocs thermiques (froid) ou à la dessiccation.

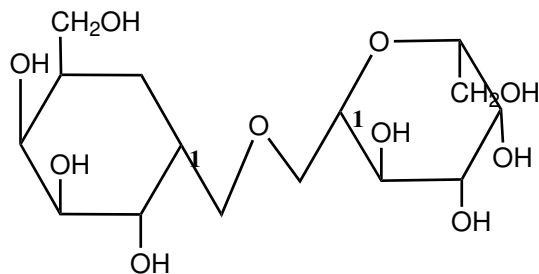


Figure 1.45. Structure du Tréhalose [5]

$\alpha$ -D-glucopyranosido (1-1)  $\alpha$ - D- glucopyranoside

$\alpha$ -D-glucopyranosyl (1-1)  $\alpha$ - D- glucopyranoside

### b- Saccharose

Sucre non réducteur qu'on trouve chez les végétaux. Produit intermédiaire de la photosynthèse, il est le vecteur glucidique dans les plantes. Il est mis en réserve dans les tiges de la canne à sucre et dans les racines des betteraves.

Dans le saccharose, la liaison glycosidique unit le carbone anomérique C1 d'un D-glucopyranose au carbone anomérique C2 d'un D-fructofuranose

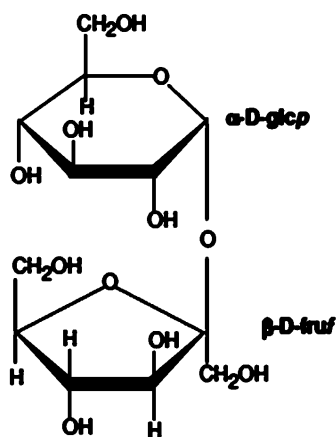


Figure 1.46. Structure de Saccharose [3]

$\alpha$ -D-glucopyranosido (1-2)  $\beta$ - D- fructofuranoside

### c- Autres oligosides

Le raffinose est un triholoside non réducteur présent dans la betterave est éliminé lors du raffinage du sucre.

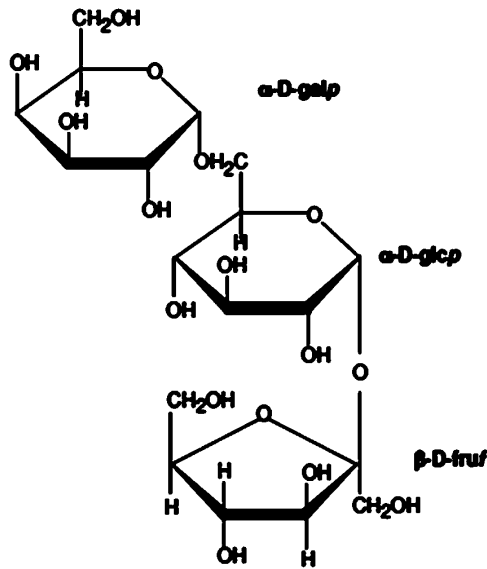


Figure 1.47. Structure du raffinose [5]

## 1.4.2 Polyosides ou polysaccharides

La plupart des glucides se présentent à l'état naturel sous forme de polyosides de haut poids moléculaire. Le D-glucose en est le constituant majeur.

Se sont des polyosides de réserve comme l'amidon et le glycogène, ou bien des polyosides de structure comme la cellulose.

### Polyosides homogènes

#### A- Polyosides de réserve

Il s'agit essentiellement des glucosanes ( amidon et glycogène) et d'un fructosane (inuline).

##### A-1- Amidon

L'amidon est un haut polymère insoluble dans l'eau froide, son hydrolyse donne deux fractions homogènes :

- L'amylose qui présente 5 à 30% de l'amidon, soluble dans l'eau tiède et cristallise par refroidissement
- L'amylopectine présente 70 à 95% Les sources essentielles en sont les graines des céréales (blé, maïs et riz) et certains tubercules (pommes de terre).

##### ► L'amylose :

Est un enchaînement linéaire parfaitement répétitif de 1000 à 4000 monomères de D-glucose sans branchement liés par une liaison glycosidique ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )

##### ► L'amylopectine :

L'amylopectine se distingue par un nombre de glucose supérieur mais surtout par une structure ramifiée. Sur la chaîne principale des liaisons osidiques de type  $\alpha 1 \rightarrow 4$  et des points de branchement se répétant environ tous les 20 à 30 résidus, sont formés par une liaison  $\alpha 1 \rightarrow 6$

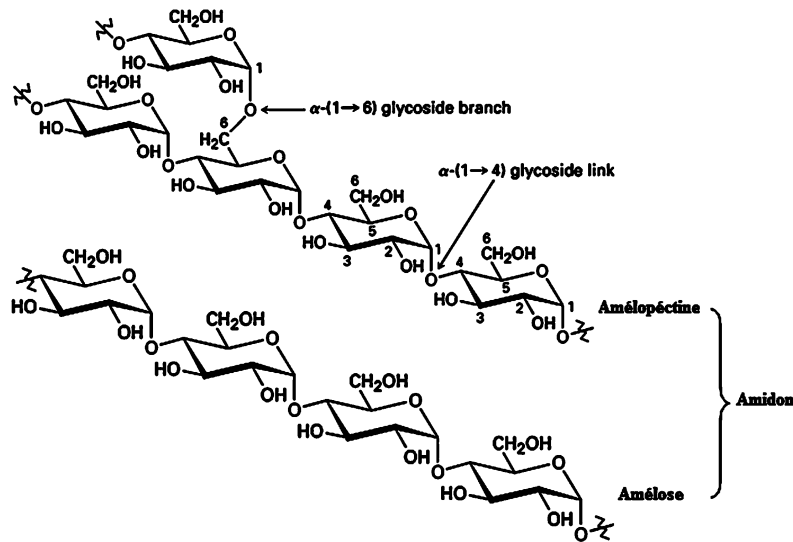


Figure 1.48. Structure de l'amidon [4]

**A-2-Le glycogène :** Le glycogène est la forme de stockage du glucose dans le foie et les muscles .Sa structure est celle de l'amylopectine des chaines de glucose liés en  $\alpha 1 \rightarrow 4$  avec des ramifications tous les 8 à 12 résidus glucoses en  $\alpha 1 \rightarrow 6$ . Il a une structure plus compacte et plus buissonnante que celle de l'amylopectine

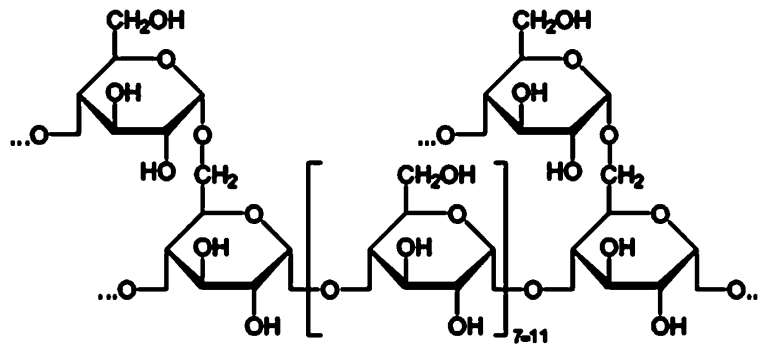


Figure 1.49. Structure du glycogène [3]

**A-3- L'inuline :** De la famille des fructosanes, c'est un composé de réserve, polymère de  $\beta$ -D-fructofuranose de 30 à 100 unités liés par des liaisons  $\beta 1 \rightarrow 2$  que l'on trouve chez certains végétaux comme l'artichauts. c'est le seul composé de configuration  $\beta$ .

**A-4- Les dextranes :** Réserves des bactéries et levures, ce sont des polymères d' $\alpha$ -D-glucose liés par des liaisons  $\alpha 1 \rightarrow 6$  avec d'occasionnels branchements sur les C3 ou C4 . il sont un composant de la plaque dentaire, produit de la prolifération bactérienne buccale.

**B- Les polyosides de structure :** En générale extracellulaires, ils construisent les armateurs des exosquelettes d'algues, de végétaux ( cellulose) et d'animaux(carapace de chitine des arthropodes). Se sont des polymères de glucose ou d'un dérivé qui ne sont pas ramifiés et dont la liaison entre unité est une liaison avec l'anomère  $\beta$ .

**B-1- La cellulose :** principal biopolymère de structure des végétaux, est l'un des composés organiques les plus abondants de la biosphère.

C'est un polyoside non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons  $\beta 1 \rightarrow 4$ . Ces dernières sont susceptibles de contracter entre elles des liaisons hydrogène entre l'oxygène hétérocyclique d'un monomère et la fonction OH porté par le C3 du monomère suivant. Ces polymères s'organisent en feuilles et forment alors des fibres très résistantes à l'étirement.

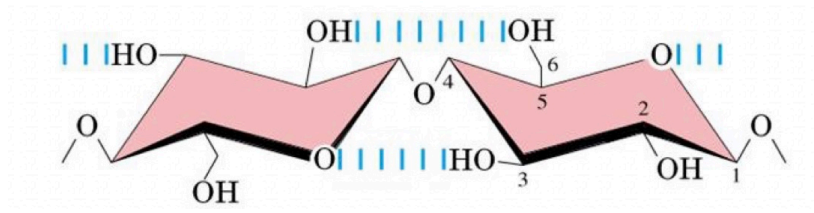


Figure 1.50. Unité de la cellulose [5]

**B-2- La chitine :** Elle diffère de la cellulose par le C2 du glucose : son hydroxyle est remplacé par le groupement acétylamine. Ce polymère Glc Nac  $\beta 1 \rightarrow 4$  a la même structure que la cellulose. On le trouve dans le squelette extérieur des invertébrés (crustacés, insectes).

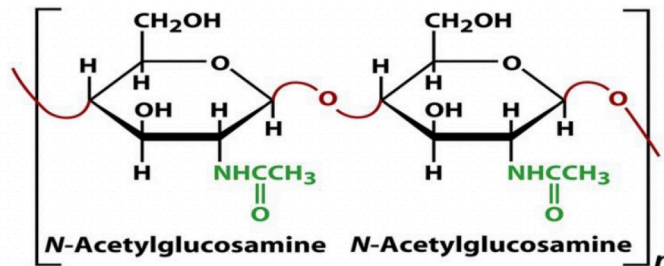


Figure 1.51. Structure de la chitine [3]

### Les polyosides hétérogènes

Il sont des chaînes d'oses ou de dérivés d'oses différents, la plus part du temps limités à deux types, Leur hydrolyse libère au moins deux monosaccharides neutre différents mais aussi des acides uroniques, des osamines et des acides sialiques.

**a- l'agar-agar ou gélose,** extrait des algues rouges et très employé en microbiologie pour les cultures sur gel, est un polyoside complexe de D et L-galactose irrégulièrement sulfaté.

**b- les alginates** des algues brunes fournissent les polyuronides linéaires faits de deux acides uroniques, les acides  $\beta$ -D-mannuronique et  $\alpha$ -L- guluronique liés par une liaison  $\alpha 1 \rightarrow 4$ .

#### c- Glycosaminoglycans

Ce sont des polyosides hétérogènes qui résultent de la polycondensation d'osamines et d'acides glucuroniques.

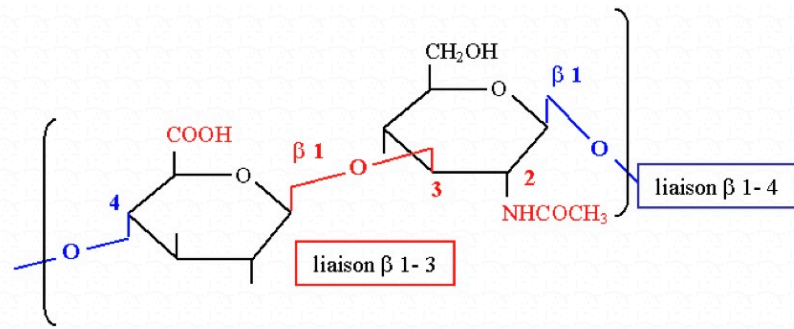


Figure 1.52. Structure de L'acide hyaluronique [3]

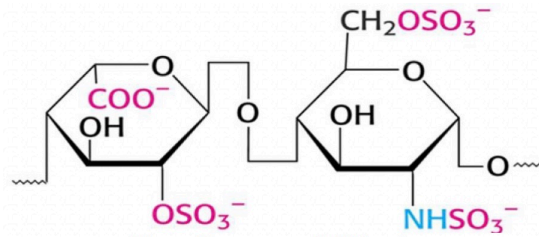


Figure 1.53. Structure de l'héparine [3]

## Les hétérosides

On regroupe sous ce nom des molécules résultant de l'association covalente de glucides (Oses) avec d'autres types de molécules (partie non glucidique (aglycone : partie non sucrée).

On les désigne très souvent sous le terme de glycoconjugués.

### A- Les glycoprotéines

Se présentent comme des glycoprotéines qui contiennent des glycanes formés de chaînes poly osidiques plus courtes mais plus diverses structurellement.

Les osides sont fixés sur les protéines par deux types de liaisons :

- La liaison N-osidique qui s'établit en général entre le dérivé N-acétylamine du glucose et la fonction amide de la glutamine ou de l'asparagine.
- La liaison O-osidique se fait entre le groupement réducteur terminal de la fraction glucidique et une fonction alcool d'un acide aminé alcool (sérine, thréonine).

#### ► Rôle biologique des fractions glucidiques

- Elles permettent la reconnaissance spécifique par d'autres protéines comme les lectines.
- Elles interviennent dans l'interaction cellule-cellule : contact, transfert d'information,...
- Elles influencent le repliement des protéines.
- Elles protègent les protéines contre les protéases.

#### ► Les principales glycoprotéines

- Les hormones hypophysaires : LH et FSH.
- Les glycoprotéines du plasma : Orosomucoïdes, haptoglobine.
- Les glycoprotéines du blanc d'oeuf : ovalbumine.

## B- Les peptidoglycannes

Réseau de polysides reliés par de nombreux petits peptides. Ils forment la paroi des bactéries qui leur donne leur forme et les protège.

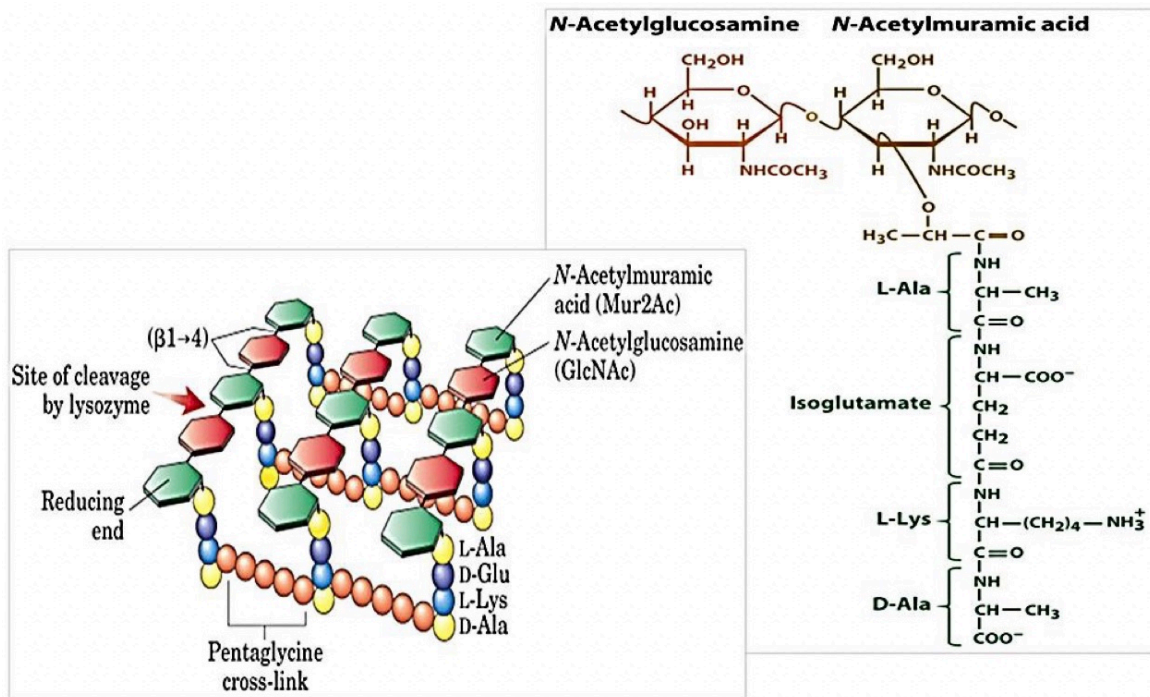


Figure 1.54. Structure du peptidoglycane de la paroi bactérienne

## c- Les lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des constituants de la membrane externe des bactéries gram négative. Le LPS de *Salmonella typhimurium* est formé d'un lipide A, glycolipide où six acides gras sont fixés sur deux résidus glucosamine dont l'un est lié à un oligosaccharide complexe. Certains LPS sont toxiques pour l'homme et les animaux; ils peuvent alors être responsables du syndrome de choc toxique observé lors d'infections par des bactéries gram-négatives.

## Les lipides

---

Les lipides constituent avec les glucides et les protéines, l'une des trois grandes classes d'aliments. Ils constituent la matière grasse des êtres vivants.

Les lipides ne correspondent à aucune catégorie de molécules parfaitement définie chimiquement et forment un groupe très hétérogène de composés. Ils sont définis comme des dérivés naturels des acides gras résultant de leur condensation avec des alcools (glycérol, stérols, alcools gras) ou avec des amines (sphingosine). Ils sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau et solubles dans les solvants organiques non polaires (méthanol, chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, acétone...). Les lipides peuvent se présenter à l'état solide comme les cires et les graisses ou liquides comme dans les huiles.

Chez l'homme la majorité des acides gras sont exogènes (lipides alimentaires) néanmoins la plupart des tissus sont capable de synthétiser les AG à partir de l'acétyl CoA dans le foie, reins, tissu adipeux, poumons et les glandes mammaires. La biosynthèse des acides gras est connue sous le nom de lipogénèse qui est l'ensemble des réactions enzymatiques se déroulant principalement dans le cytosol. Les glucides consommés en excès sont convertis en triglycérides pour un stockage à long terme. L'acétyl CoA permet la synthèse d'AG à nombre paire d'atome de carbone il est obtenu soit par : La glycolyse donnant le pyruvate qui sous l'action de pyruvate déshydrogénase donne l'acétyl-CoA. Le catabolisme des acides aminés (régime hyperprotéique). Ou bien la  $\beta$ -oxydation des acides gras.

### 1. Rôles biologiques

Les lipides naturels jouent de nombreux rôles dans le monde vivant

1) les lipides représentent dans l'organisme une forme de réserves intracellulaires d'énergie. La combustion d'un gramme de lipide fournit en moyenne 38 Kilojoules.

2) matériaux de structure

- couches de protection de cellules
- composants des membranes biologiques

3) molécules en concentration faible qui peuvent être :

- des précurseurs d'activité biologique : hormones stéroïdes, médiateurs extracellulaires et messagers intracellulaires, vitamines liposolubles...

### 2. Classification des lipides

1) Les lipides simples (vrais)

Ils en résultent de la condensation d'acide gras avec les alcools par liaison ester ou amide. On trouve les :

- Triglycérides ou glycérides se sont les triesters du glycérol.
- Cérides : sont des esters d'alcools à longue chaîne.
- Stérides : sont des esters de stérols (cholestérol).

2) Les lipides complexes :

Ils sont constitués des mêmes éléments que les lipides simples mais ils contiennent en plus dans leur molécule de l'azote, du phosphore, du soufre ou des oses, on distingue :

- Les Glycérophospholipides,

- Les glycéroglycolipides
- Les sphingolipides

Les lipides complexes sont les constituants essentiels des membranes biologiques, par leur imperméabilité, ils permettent de délimiter les différents compartiments des cellules.

## 2.1 Acides gras

Les acides gras sont des acides monocarboxylique de formule générale R-COOH. Le radical R est une chaîne aliphatique hydrocarbonée de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe ; à nombre d'atome de carbones de 4 à 32, saturés ou en partie insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6. La chaîne carbonée est représentée sous forme d'un zigzag.

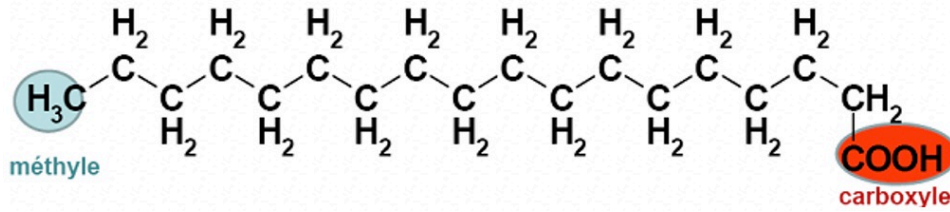


Figure 2.1. Structure d'un acide gras saturé [3]

### 2.1.1 Acide gras saturés

Un Acide gras(AG) saturé de formule générale  $C_nH_{2n}O_2$  ou  $CH_3 - (CH_2)_n - COOH$  comporte une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue, fortement apolaire et un groupement carboxyle polaire. Les plus abondants sont l'acide palmitique (C16) et l'acide stéarique (C18)

Des dénominations parallèles coexistent : la nomenclature systématique s'efface souvent devant le nom d'usage.

Le nom systématique s'écrit :  $n - [nC] \text{ an oi que}$

- $n$  : indique que l'acide gras est linéaire (chaîne non branchée)
- $[nC]$  : nombre de carbones
- $an$  : indique que la chaîne est saturée

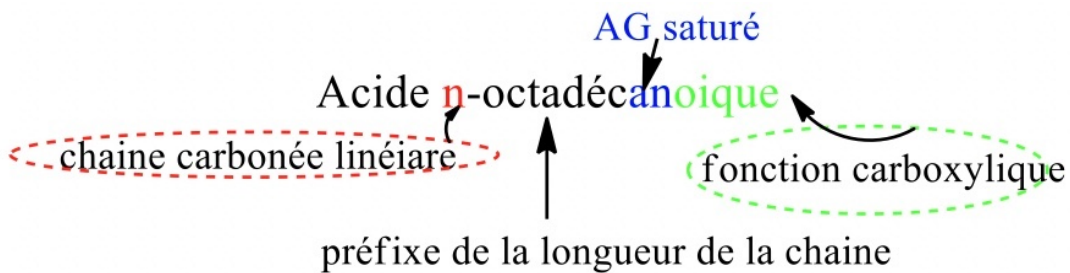


Figure 2.2. Nomenclature systématique d'un acide gras saturé [2]

- le symbole est  $C_n : 0$  (0 indique que la chaîne est saturée)

Par convention, on numérote les atomes de carbone à partir de celui qui porte la fonction carboxyle.

L'ensemble des AGs les plus répandus dans la nature sont regroupés dans le tableau 1.

Tab. 2.1. Classification des AGs saturés

Nombre de carbone	Nom systématique	Nom commun	Répartition dans la nature
4	n-butanoïque	Butyrique	Beurre de vache
6	n-hexanoïque	Caproïque	
8	n-octanoïque	caprylique	
12	n-dodécanoïque	Laurique	Huiles ou graisses animales ou végétales
14	n-tétradécanoïque	Myristique	
16	n-hexadécanoïque	Palmitique	
18	n-octadécanoïque	stéarique	
20	n-eicosanoïque	Arachidique	Graines
22	n-docosanoïque	béhénique	

### 2.1.2 Les acides gras insaturés

Les acides gras insaturés possèdent dans leurs structures une ou plusieurs doubles liaisons. Deux numérotations coexistent, l'une systématique et l'autre utilisée en diététique qui permet de regrouper les acides gras insaturés en séries ou familles. Dans les AGs insaturés la position de la double liaison est très importante pour l'établissement de la série (famille) des AGs

Les Acides gras possèdent :

- une double liaison : acides monoéniques ou monoinsaturés
- ou plusieurs doubles liaisons : ils sont polyéniques ou polyinsaturés
- La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones.

En règle générale :

- la première, ou la seule, double liaison est établie entre les C9 et les C10.
- les doubles liaisons multiples ne sont pas conjuguées mais séparées par un groupe méthylène, ce qui les place, par exemple, en  $\Delta 9$ ,  $\Delta 12$ ,  $\Delta 15$ ...
- les doubles liaisons sont de configuration cis.

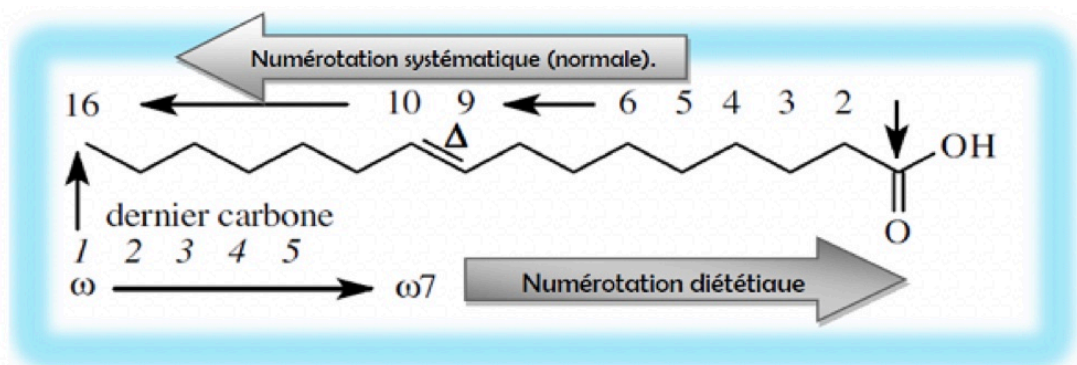


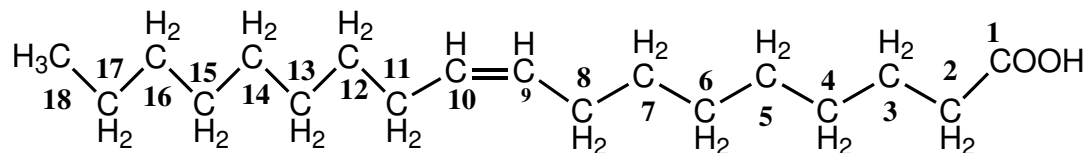
Figure 2.3. Structure d'un AG insaturé

La position de la première double liaison s'exprime en partant du carboxyle (1er carbone)

Le nom systématique s'écrit : **conf-p-[nC] x énoïque**

- **conf-p** : configuration et position des doubles liaisons
- **[nC]** : nombre de carbones
- **x** : nombre de doubles liaisons (di, tri...)
- le symbole est **Cn : mΔ(p, p'..)**
- **Cn** : nombre de carbones
- **mΔ** : nombre de doubles liaisons
- **(p, p'...)** : positions des doubles liaisons en numérotation normale

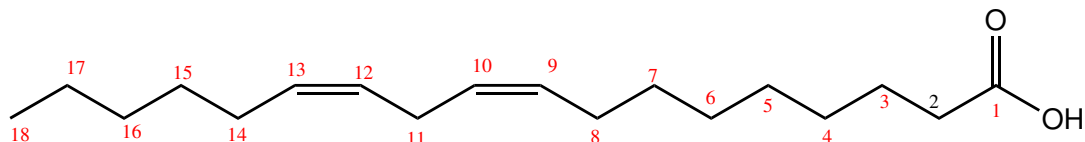
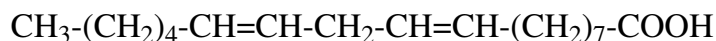
**Exemple d'un AG mono insaturé :**



Le nom systématique s'écrit : Cis-9-octadécaénoïque ou C18 : 1Δ<sup>9</sup>

Nom commun : Acide oléique C18 : 1(n-9) ou C18 : 1ω9

**Exemple d'un AG polyinsaturé**



**Tab. 2.2.** Classification des AGs insaturés

Nombre de carbone	Nom systématique	Nom courant	symbole
16	Cis-9-hexadécénoïque	palmitoléique	C16 : 1Δ <sup>9</sup>
18	Cis-9-octadécénoïque	Oléique	C18 : 1Δ <sup>9</sup>
	Cis, Cis-9-12-octadécadiénoïque	Linoléique	C18 : 2Δ <sup>9,12</sup>
	Cis, Cis, cis-9-12-15-octadécatriénoïque	linoléinique	C18 : 3Δ <sup>9,12,15</sup>
20	Cis 5-8-11-14-icosatétraénoïque	Arachidonique	C20 : 4Δ <sup>5,8,11,14</sup>

### Famille des Acides gras insaturés

Pour définir la famille des omégas, on commence la numérotation des atomes de carbone à partir du groupement méthyl CH<sub>3</sub> jusqu'à la première insaturation rencontrée. La série est de la forme ω<sub>n</sub> où n est la position de la première double liaison notée par rapport à la position du dernier carbone de la chaîne aliphatique

On classe les AG insaturés en 4 familles ou séries

- ω<sub>7</sub> ou n-7 : chef de file l'acide palmitoléique et ses dérivés.
- ω<sub>9</sub> ou n-9 : famille de l'acide oléique et ses dérivés.
- ω<sub>6</sub> ou n-6 : famille de l'acide linoléique et ses dérivés.
- ω<sub>3</sub> ou n-3 : famille de l'acide linoléinique et ses dérivés.

**Remarque :**

Du point de vue nutritionnel, les deux séries ω<sub>7</sub> et ω<sub>9</sub> sont essentielles (joue un rôle biologique dans la synthèse de molécules biologiquement actives), et non indispensables car elles peuvent être synthétisées par l'homme à partir de précurseurs non lipidiques.

En revanche les AG insaturés ω<sub>6</sub> et ω<sub>3</sub> sont indispensables car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation.

## 2.2 Propriétés des AG

### 2.2.1 Propriétés physiques

#### Point de fusion

Le point de fusion dépend de 2 facteurs :

- nombre de carbones : le point de fusion augmente avec le nombre de carbones, pour une série homologue.

- le degré d'insaturation : le point de fusion diminue avec l'insaturation, pour un nombre constant d'atomes de C.

Acide gras	Point de fusion (°C)
C18 :0	69
C18 :1	16
C18 :2	-5
C18 :3	-11

#### Solubilité

L'acide butyrique à 4C est soluble dans l'eau puis la solubilité des AGs diminue progressivement et ils sont insolubles à partir de 10C . Ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires L'hydrophobie de la chaîne hydrocarbonée apolaire l'emporte sur la faible hydrophilie du groupement COOH.

### 2.2.2 Propriétés chimiques

#### ⇨ Propriétés de la fonction carboxylique COOH

##### a. Formation des sels alcalins

Un acide gras en présence d'une base forte, à chaud, donne un sel ou savon, et de l'eau. Le savon est soluble dans l'eau, et présente des propriétés détergentes et un pouvoir moussant. Selon la réaction suivante :

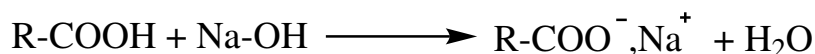


Figure 2.4. Formation d'un sel alcalin [2]

##### b. Formation d'esters

L'action d'un alcool sur un acide gras conduit à la formation d'un ester.

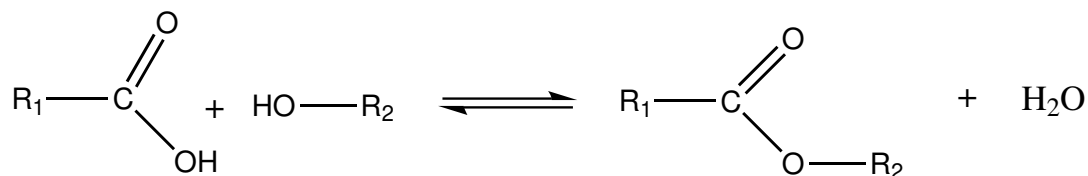


Figure 2.5. formation d'un ester à partir d'un AG [2]

L'action du méthanol sur AG conduit à la formation d'ester méthylique utilisé lors de la séparation des acides gras en chromatographie en phase gazeuse.

### c. Formation d'amide

L'action d'une amine sur un acide gras conduit à la formation d'un amide selon la réaction suivante

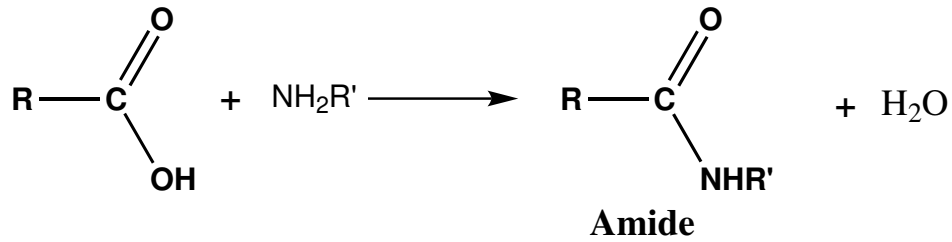


Figure 2.6. Formation d'un amide à partir des AGs [2]

#### ⇨ Propriétés dues à la présence de la double liaison

##### a. Réduction ou Hydrogénation

Il s'agit d'une réaction de saturation des doubles liaisons. La fixation d'hydrogène sur la double liaison transforme l'acide gras insaturé en acide gras saturé. Cette réaction se fait en présence d'un catalyseur métallique (platine, nickel, palladium, etc.). L'hydrogénation des huiles est importante dans l'industrie agro-alimentaire car elle permet la transformation des huiles (végétales ou animales) en graisses solides (margarine).

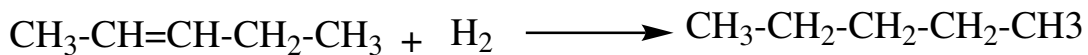


Figure 2.7. Réaction d'hydrogénation d'un AG insaturé [5]

##### b. Fixation d'halogènes : Halogénéation

Les acides gras insaturés fixent les halogènes (brome ou iode) sur les doubles liaisons par une réaction d'addition, on obtient un dérivé di halogéné.

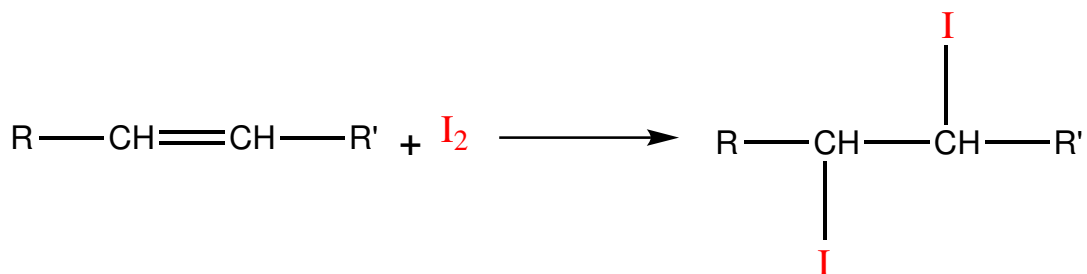


Figure 2.8. Halogénéation des AGs insaturés [5]

Une des applications de cette propriété est la détermination de l'indice d'iode et évaluer le degré d'insaturation des acides gras. L'indice d'iode est la quantité d'iode fixée par 100g de lipide, il est déterminé par la formule 1.

$$I_i = \frac{PM I_2 \cdot X \cdot 100}{PM \text{ lipide}}$$

$PM I_2 = 254$ ,  $X =$  nombre d'insaturation

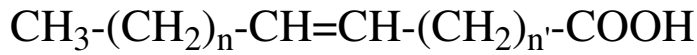
##### c. Oxydation des doubles liaisons

###### - Auto oxydation à l'air

Les acides gras insaturés s'oxydent sous l'action de l' $O_2$  atmosphérique (facilitée à température élevée, 60 °C) et a pour résultat le rancissement des graisses, qui produit des peroxydes puis, par rupture de la chaîne carbonée, des composés volatils (aldéhydes ou cétones) responsables de l'odeur désagréable.

###### - Oxydation des Acides gras par des oxydants forts

L'acide gras insaturé traité par un oxydant puissant tel qu'une solution concentrée de permanganate de potassium ( $KMnO_4$ ), conduit à la formation de deux acides par coupure de la double liaison.



acide gras monoinsaturé



oxydant puissant

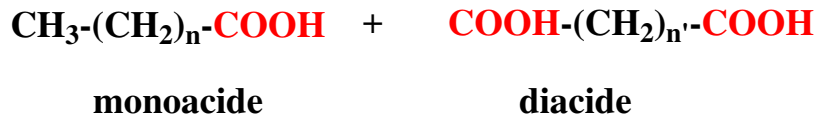


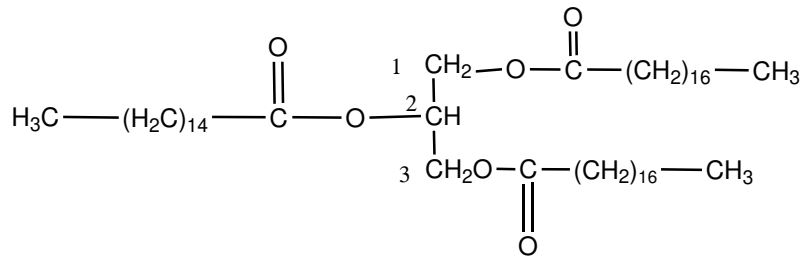
Figure 2.9. Réaction d'oxydation des AGs insaturés par un agent oxydant [5]

## 2.3 Lipides simples

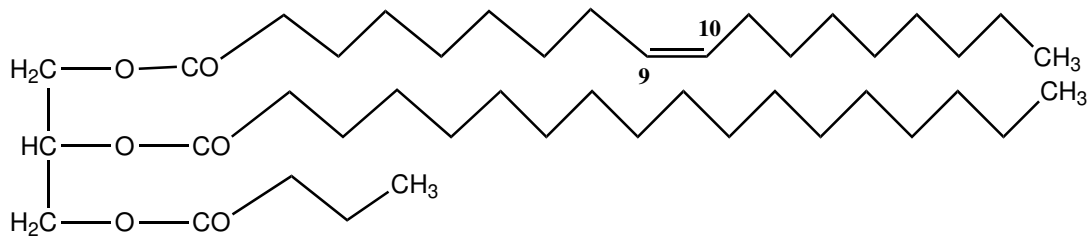
### 2.3.1 Glycérides

Ce sont des esters d'acides gras et de glycérol. Les fonctions alcool du glycérol se trouvent estérifiées par des acides gras. Selon le nombre de fonction alcool estérifiées du glycérol on distingue :

- les mono glycérides ou mono acylglycérol
- les di glycérides ou diacylglycérol
- les triglycérides ou triacylglycérol (TG).



1,3- distéaryl-2-palmityl glycérol  
1,3- distéaro palmitine



1-oleyl-2-stéaryl-3-butyryl glycérol  
1-oléo-2- stéaro-3-butyrine

Figure 2.10. Structure des glycérides [4]

Les triacylglycérols se distinguent les uns des autres par la nature et la position des trois acides gras. Selon la nature des AGs on parle de glycéride homogène ( $R_1=R_2=R_3$ ) ou de glycéride hétérogène ( $R_1 \neq R_2 \neq R_3$ ).

Ils servent principalement de réserve chez les animaux et les végétaux. Leur catabolisme par oxydation libère de l'énergie deux fois plus forte que celle du glycogène, servent aussi d'isolants thermiques dans les

tissus adipeux sous cutanés.

La nomenclature des glycérides est basée sur les substituants acyl du glycérol . On indique sur quelle fonction alcool du glycérol a lieu l'estérification en précisant à l'aide des numéros des atomes de carbone. On utilise les lettres grecques  $\alpha$  ,  $\beta$  et  $\alpha'$  , la nomenclature actuelle retient 1, 2, 3.

⇨ **Propriétés physiques des triglycérides (TGs)** - Les TGs sont insolubles dans l'eau et très soluble dans les solvants les plus apolaires.

- Le point de fusion des glycérides est lié au point de fusion des AGs qui rentre dans sa composition.

⇨ **Propriétés chimiques des triglycérides a. Hydrolyse**

Deux types d'hydrolyse sont possibles : chimique et enzymatique

- Hydrolyse chimique se fait par traitement acide ( $H_2SO_4$ ) et provoque la rupture des liaisons esters et libère les constituants du TG : les AGs et le glycérol.

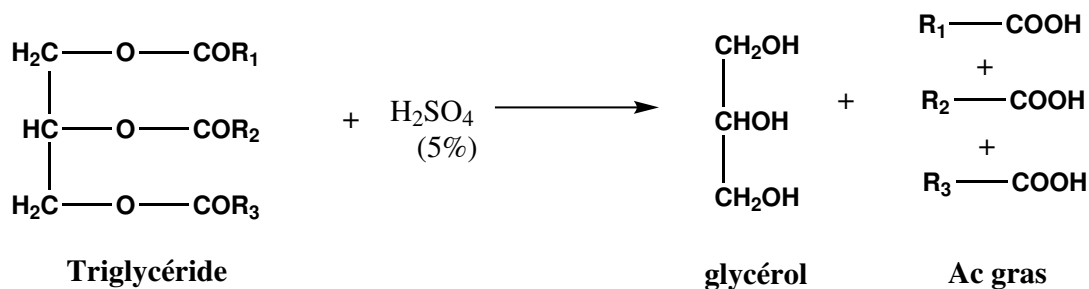


Figure 2.11. hydrolyse chimique d'un triglycéride hétérogène [2]

- Hydrolyse enzymatique Elle se fait par les lipases pancréatiques qui donne le même résultat final que l'hydrolyse chimique.

**b. Saponification**

Les acides gras en présence d'une base forte à chaud donne un sel ou savon (soluble dans l'eau) et du glycérol.

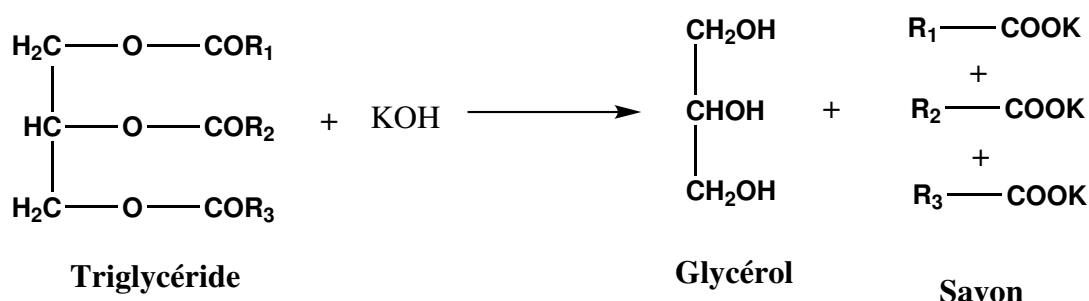


Figure 2.12. Réaction de saponification d'un AG [2]

**- Indice de saponification**

L'indice de saponification (Is) est le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour saponifier les esters et pour neutraliser les acides contenus dans 1g de matière grasse.

$$I_s = \frac{PM \text{ KOH} \times n \times 10^3}{PM \text{ lipide}}$$

Monoglycéride :  $n = 1$  ; diglycéride :  $n = 2$  ; triglycéride :  $n = 3$

L'indice de saponification nous renseigne sur le PM des glycérides  $I_s \nearrow PM \searrow$

### 2.3.2 Les cérides

Les cérides doivent leur nom au fait qu'ils soient les principaux constituants des cires animales (blanc de baleine, cire d'abeilles), végétales (cuticule des feuilles) et certaines parois bactériennes . ils sont des molécules essentielles des revêtements de protection des organismes vivants.

Les cérides sont des monoesters d'acides gras et d'alcools à longue chaîne saturée et non ramifiée à nombre pair d'atomes de carbone ( $n > 30$ ).

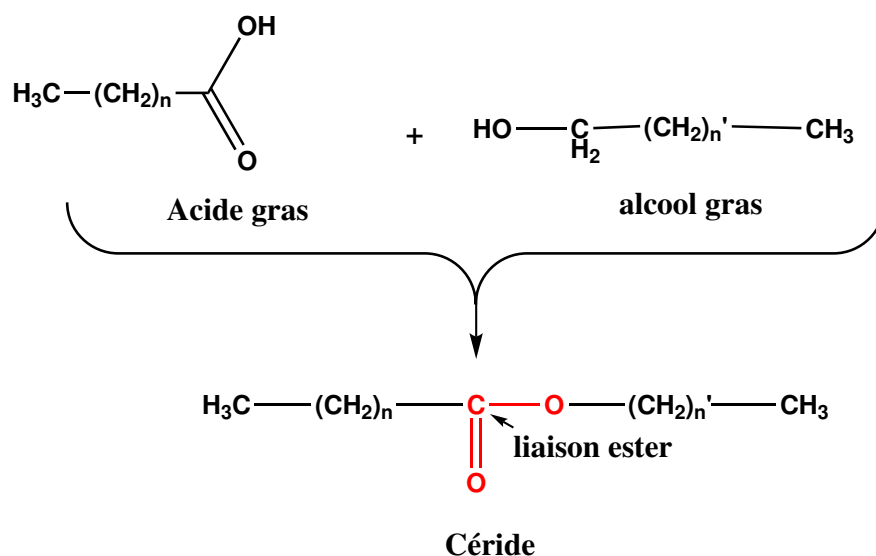
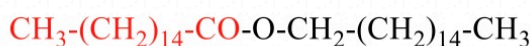


Figure 2.13. Structure d'un céride [4]

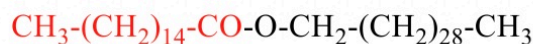
### Exemples

#### Palmitate de cétyle



Palmitate      alcool cétylique

#### Triacontanylpalmitate (cire d'abeille)



Palmitate      Triacontanol

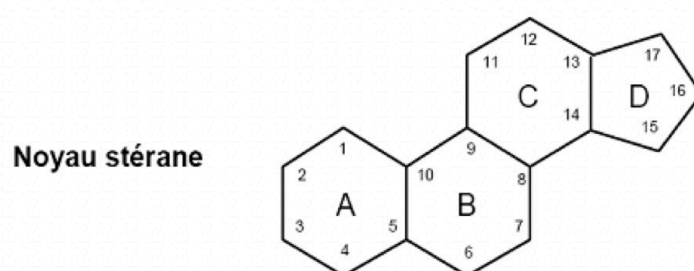
Les cérides sont des substances solides et incolores, solubles à chaud dans les solvants organiques. Elles ont une température de fusion entre 60 et 100°C. Elles sont des molécules inertes chimiquement; difficilement saponifiables et résistent à la plus part des réactifs chimiques.

### 2.3.3 Les stérides

Ce sont des esters d'acides gras et d'alcool cycliques les stérols. Ils ont un rôle structural dans les membranes cellulaires.

Les stérols sont une famille de composés polycycliques à fonction biochimique et hormonale variée. Ils possèdent un noyau fondamental le stérane, porteur d'une ou plusieurs fonctions alcool. Il est formé de 4 cycles dont un pentagonal, désignés par les lettres A, B, C et D et, d'une chaîne latérale portant des ramifications.

Tous les composés porteurs de ce noyau (avec ou sans fonction alcool) font partie des « stéroïdes ».



Le plus représentatif des stérols chez les animaux est le cholestérol en raison des dérivés auxquels il donne naissance tels que les hormones stéroïdiennes, acides biliaires et les vitamines. Chez les végétaux on

rencontre plusieurs structures du stérol. On appelle spécifiquement les stérides du cholestérol les ester de cholestéryle.

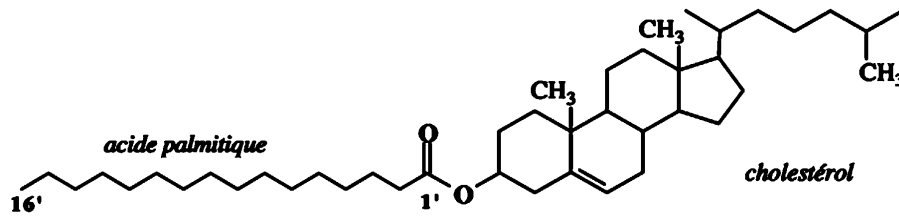


Figure 2.14. Structure du palmitate de cholestéryle [4]

## 2.4 Les lipides complexes

Ils renferment en plus des éléments C, H, O du phosphore (P), de l'azote (N) ou du soufre (S). Ces lipides sont des structures chimiques importantes de part leur rôle dans le métabolisme, par contre, ils n'ont aucun rôle énergétique. On distingue les phospholipides et les glycolipides.

Selon la nature de l'alcool, on distingue Les glycérophospholipides (GPL), l'alcool étant le glycérol Les sphingolipides (SPL), l'alcool étant la sphingosine

### 2.4.1 Les phospholipides

Les phospholipides (PL) ou GPL sont des glycérolipides dont un des carbones du glycérol ne porte pas un AG mais un acide phosphorique. La molécule de base est l'acide phosphatidique qui est de l'acide glycérophosphorique ou le carbone 3 du glycérol est estérifié par un acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ). C1 et C2 sont estérifiés par des acides gras (R1 et R2).

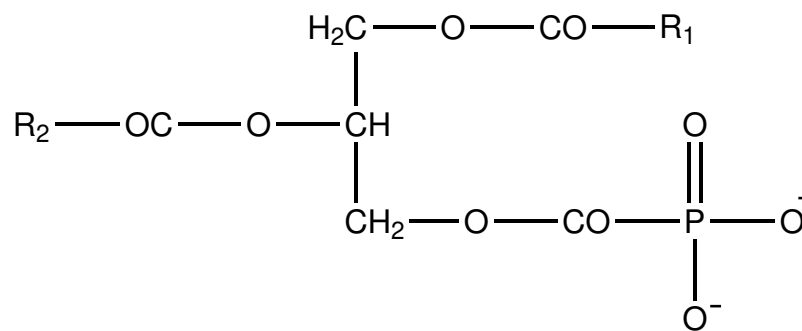


Figure 2.15. Structure d'acide phosphatidique (=diacylglycérol-P) [4]

L'estérification de l'acide phosphatidique au niveau de son groupement phosphorique par un alcool donne naissance aux glycérophospholipides.

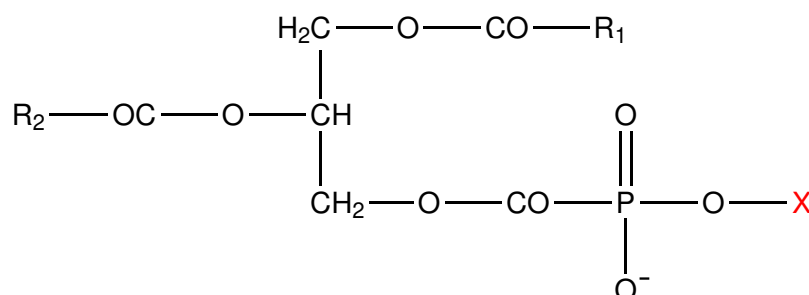


Figure 2.16. Structure générale d'un glycérophospholipide [4]

L'acide phosphorique est estérifié par un alcool qui peut être un alcool aminé ou un polyol sans azote :

- les alcools aminés peuvent être, la sérine, son produit de décarboxylation, l'éthanolamine, le dérivé N-triméthyle de cette dernière et la choline.
- les polyols non azotés comme le glycérol, un stéréoisomère de l'inositol, le myo-inositol ou de ses ester-phosphates.

c'est la nature de x qui détermine la nature du glycérophospholipide  
 les principaux glycérophospholipides sont représentés dans le tableau 3 .

### Propriétés et rôles des glycérophospholipides

Les phospholipides sont des molécules amphiphiles possédant deux pôles : un pôle hydrophile du à l'ester phosphorique et l'autre hydrophobe du aux Acides grass. Ces acides gras s'arrangent naturellement en structure feuilletée  $\implies$  bicouche lipidique. Si on agite, la structure feuilletée est désordonnée et les lipides peuvent se réarranger en micelles.

Ils sont aussi des molécules amphotères car elles possèdent à la fois :

- Une fonction acide portée par le  $H_3PO_4$
- Une fonction basique portée par l'alcool (sérine ou choline)

Le caractère amphotère de la molécule confère des propriétés tensioactives, c'est à dire qu'elle permet de stabiliser des émulsions. En milieu aqueux, leur solubilité est très limitée , ils ont tendance à former des micelles. En association avec d'autres molécules amphiphiles, ils forment la bicouche lipidique sphérique, dont la face externe est hydrophile ainsi que la face interne. Ce qui est fondamental dans la constitution des membranes biologiques.

Un traitement acide à chaud agit sur les liaisons esters et libère les acides gras et les autres constituants du phosphoglycéride. L'action à chaud des bases en solution alcoolique hydrolyse aussi les liaisons esters (saponification).

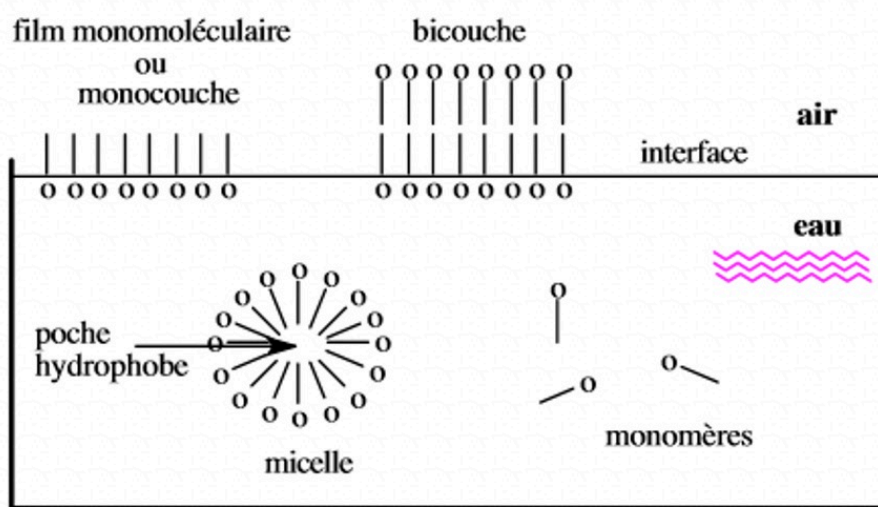
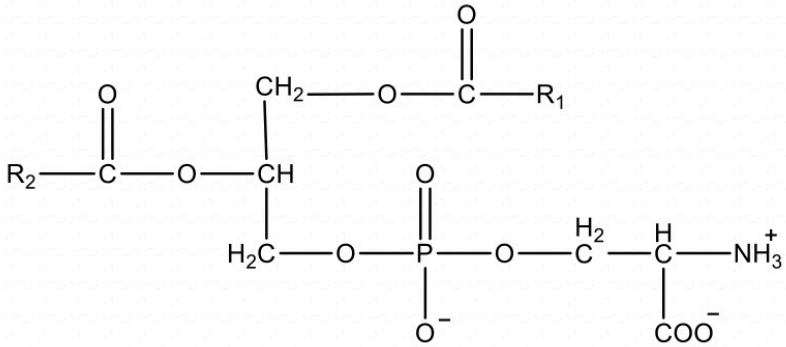
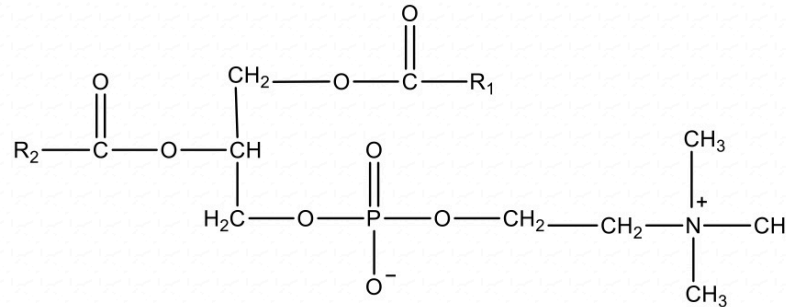
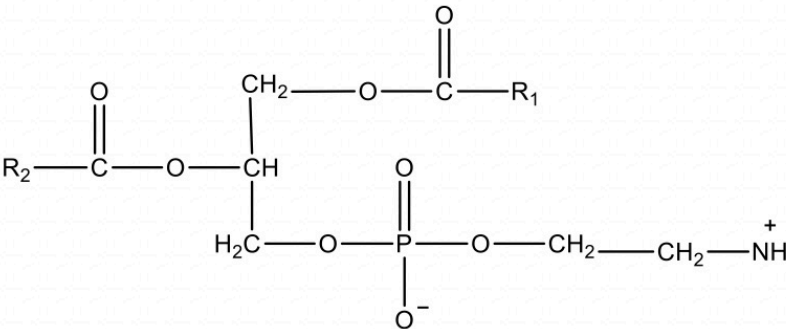
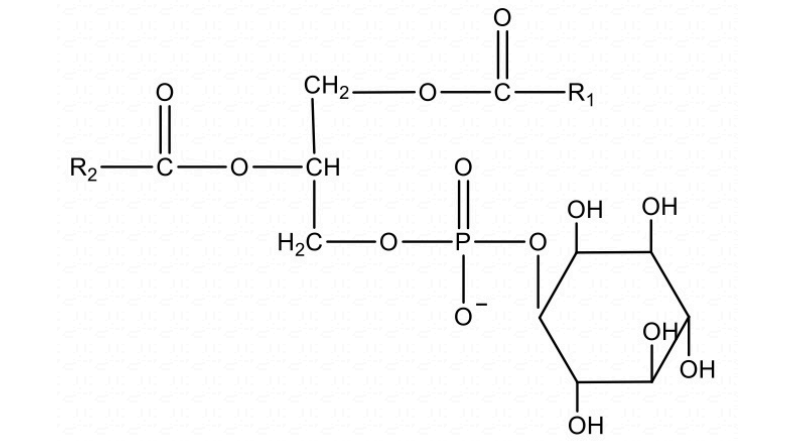


Figure 2.17. Caractère tensioactif des lipides [2]

Tab. 2.3. Les glycérophospholipides

Nature de x	Nom du glycérophospholipide
x = sérine	<p style="text-align: center;">Phosphatidylsérines (PS)</p>  <p style="text-align: center;">Phosphatidylsérines</p>
x = choline	<p style="text-align: center;">Phosphatidylsérines lécithine (PC)</p>  <p style="text-align: center;">Phosphatidylcholine</p>
x = éthanolamine	<p style="text-align: center;">Phosphatidylcholine céphaline (PE)</p>  <p style="text-align: center;">Phosphatidyléthanolamine</p>
x = inositol	<p style="text-align: center;">Phosphatidyléthanolamine myoinositol (PI)</p>  <p style="text-align: center;">Phosphatidylinositol</p>



### c. Les glycolipides : glycosphingolipides

Les glycolipides sont des lipides non phosphorés. La fonction alcool primaire de la céramide fixe une partie glucidique par liaison osidique avec le carbone anomérique d'un ose. La partie osidique ne dépasse pas en général une dizaine d'unités. Les plus simples sont des cérébrosides tels que les galactocérébrosides du système nerveux et du cerveau qui contiennent du D-galactose. L'hydrolyse des cérébrosides donne : une mole de sphingosine, une mole de D-galactose et une mole d'acide gras.

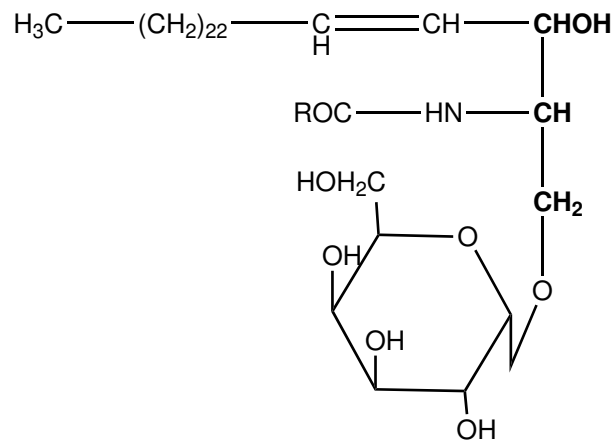


Figure 2.21. Exemple des cérébrosides [4]

## Les acides aminés , peptides et proteines

Les protéines sont de très gros bio polymères formés à partir de seulement 20 monomères différents d'acides aminés liés par des liaisons covalentes : les liaisons peptidiques. Présentes chez tous les êtres vivants, des bactéries à l'homme.

Les protéines remplissent des fonctions très diverses dans l'organisme. Elles jouent un rôle essentiel dans la cohésion des structures morphologiques et dans le fonctionnement cellulaire.

Elles jouent le rôle :

- D'hormone comme l'insuline
- Catalyseur des réactions chimiques : enzymes
- Protéines de transport : Hémoglobine une protéine qui transporte l'oxygène des poumons aux organes
- Certaines protéines assurent l'identité d'un organisme et sa défense comme les immunoglobulines,

anticorps . . .

Selon leur forme, on distingue deux groupes de protéines : les protéines globulaires, solubles ou transmembranaires et les protéines fibreuses qui sont des molécules très allongées.

Contrairement aux glucides et lipides, les acides aminés en excès ne peuvent être stockés, ils sont alors rapidement dégradés par transamination pour donner un ion ammonium et un squelette carboné. L'ion ammonium est éliminé par excrétion ou par l'uréogénèse. Le squelette carboné peut aussi être réutilisé pour reformer l'acide aminé correspondant ou servir de précurseurs soit à la synthèse des glucides, soit à la synthèse des acides gras. Les précurseurs des acides aminés constituent les  $\alpha$ -cétoacides directement utilisables pour la transamination ou permettent de les synthétiser. Les glucides sont les principaux fournisseurs du carbone, rencontrés dans les acides aminés.

### 3.1 Acide aminé

$\alpha$ - aminoacide ou un acide  $\alpha$ -aminé est une molécule organique possédant un groupement amine primaire  $-NH_2$  et un groupement carboxyle  $COOH$  et un radical R attaché à un même carbone dit carbone  $\alpha$  de formule générale :

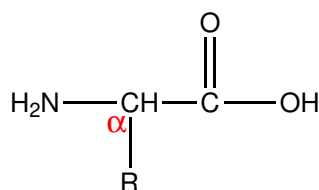


Figure 3.1. Structure d'un acide aminé [2]

Les  $\alpha$ -aminoacides ont trois caractères structuraux qui déterminent leurs propriétés :

#### ► La configuration du $C_\alpha$

Selon la convention de Fischer, la chaîne carbonée des  $\alpha$ -aminoacides est verticale et vue par sa convexité ; le  $COO^-$ , dont le niveau d'oxydation est le plus élevé, est placé vers le haut et le  $NH_3^+$  peut alors se situer

soit à gauche, soit à droite du  $C\alpha$  chiral ; les  $\alpha$ -aminoacides appartiennent alors à la série L ou à la série D. Il existe donc pour chaque acide aminé deux stéréo-isomères (énantiomères) sauf pour la Glycine. Les  $\alpha$ -aminoacides connus appartiennent à la série L

### ► La Fonction $\alpha$ -aminoacides

En milieu aqueux les  $\alpha$ -aminoacides sont ionisés et l'état d'ionisation est fonction du pH. En milieu très acide, le carboxyle et l'amine sont protonés et l' $\alpha$ -aminoacides porte une charge positive. En milieu très alcalin le carboxyle et l'amine sont déprotonés et  $\alpha$ -aminoacides porte une charge négative.

### ► Structure et propriétés de la chaîne latérale

C'est la nature du groupement latéral ( $-R$ ) qui différencie les acides aminés entre eux.

On distingue 20 acides aminés reconnu par le code génétique

Suivant la nature du radical  $R$  et les propriétés qui en découlent plusieurs critères de classification des acides aminés ( $AA$ ) peuvent être retenus :

#### 1. Structure linéaire ou cyclique de $R$

- $AA$  aliphatiques ( $R$  non cyclique)
- $AA$  aromatiques ( $R$  cyclique de type benzénique)
- $AA$  hétérocycliques ( $R$  cyclique avec un atome autre que le carbone dans le cycle)

#### 2. Présence ou non dans $R$ d'un groupement pouvant prendre une charge électrique

- $AA$  neutres
- $AA$  acides (charge potentielle négative)
- $AA$  basiques (charge potentielle basique)

#### 3. Présence ou non dans $R$ d'un groupement polaire

On distingue trois groupe d'  $\alpha$ -aminoacides : apolaire, polaire neutres et polaires ionisable

#### ***$\alpha$ -aminoacides à chaîne latérale apolaire***

les chaînes latérales des  $\alpha$ -aminoacides apolaire sont de nature aliphatique (Glycine, Alanine, Valine, Leucine, Isoleucine,, Méthionine et Proline) ou aromatique( Phénylalanine et Tryptophane) et donc très hydrophobe. Pour cette raison ces  $\alpha$ -aminoacides jouent un rôle important dans le maintien de la structure tridimensionnelle des protéines via les interactions hydrophobes.

#### ***$\alpha$ -aminoacides à chaîne latérale polaire non chargée***

Les chaînes latérales des  $\alpha$ -aminoacides comporte des groupes fonctionnels hydroxyle, sulfhydryle ou amide. Ces aminoacides sont plus solubles dans l'eau que ceux qui possèdent une chaîne latérale non polaire. Serine, Thréonine et Tyrosine possèdent une fonction hydroxyle responsable de leur polarité. Asparagine et Glutamine doivent leur polarité à leur fonction amide et la Cystéine à sa fonction thiol SH

#### ***$\alpha$ -aminoacides à chaîne latérale polaire ionisable***

Possédant des groupes fonctionnels très hydrophiles dont la charge est en fonction du pH

#### ***$\alpha$ -aminoacides à chaîne latérale polaire chargée négativement (acide)***

Au  $pH$  physiologique, les chaînes latérales de l'acide aspartique et l'acide glutamique se terminent par un groupement carboxyle ionisé qui contribue à la charge négative des protéines lorsqu'il se situe à leur périphérique.

#### ***les $\alpha$ -aminoacides à chaîne latérale polaire chargée positivement (basique)***

Les aminoacides basiques dont la chaîne latérale  $R$  présente une charge positive nette à  $pH=7$  ont tous six atomes de carbone. La Lysine possède une seconde fonction amine sur la chaîne aliphatique, et l'Arginine possède un groupement guanidinium chargé positivement. L'Histidine, qui contient la fonction imidazolium faiblement basique, est à la frontière de cette catégorie

#### 4. Présence ou non d'un groupement fonctionnel dans $R$

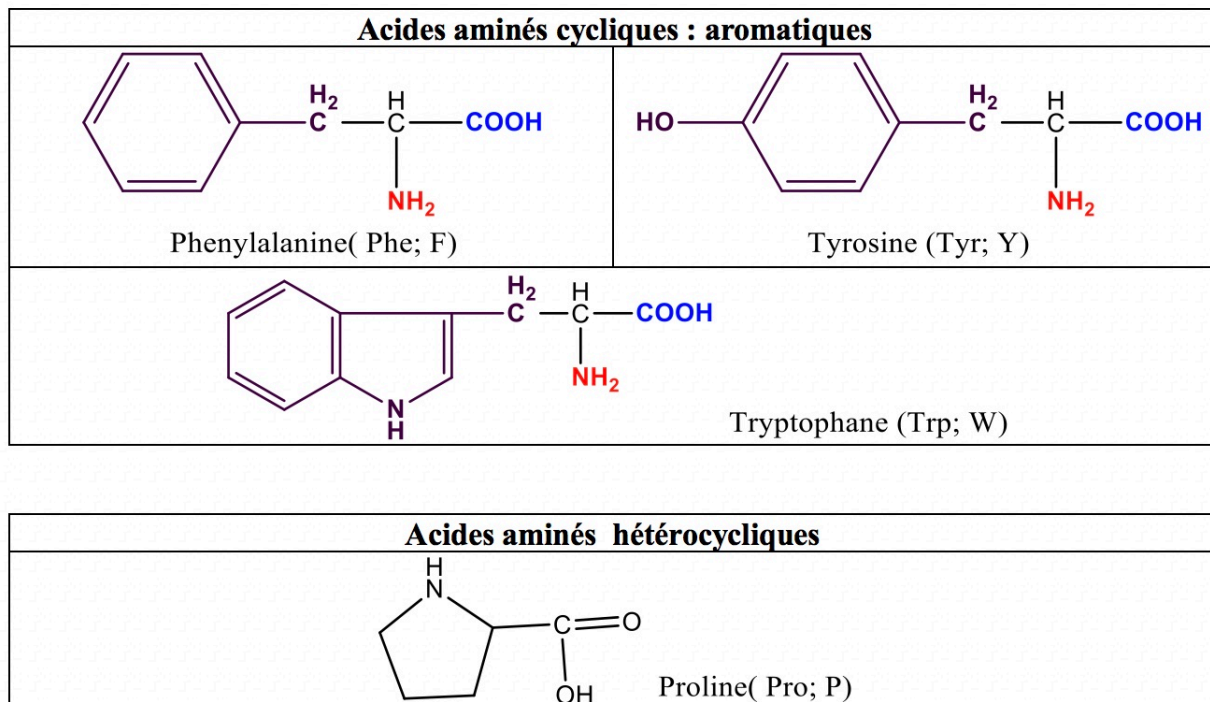
- $AA$  hydrocarbonés (pas de groupement fonctionnel dans  $R$ , chaîne aliphatique ou cycle aromatique)
- $AA$  hydroxylés (présence d'un groupement alcool ou phénol dans  $R$ )
- $AA$  soufrés (présence d'un groupement thiol ou thiol-éther dans  $R$ )
- $AA$  hétérocycliques ( $R$  est un hétérocycle)
- $AA$  acides (présence d'un groupement acide carboxylique dans  $R$ )
- $AA$  amide (dérivent des précédents par amidification)
- $AA$  basiques (présence d'un groupement azoté, amine ou autre, dans  $R$ )

### 3.1.1 Classification des acides aminés

Les **AA** sont symbolisés soit par un code à trois lettres (en général les trois premières lettres du nom) commençant par une majuscule soit par un code à une seule lettre.

Les acides aminés sont classés selon la composition chimique et la nature du radical **R**

<b>Acides aminés aliphatiques à chaîne hydrocarbonée</b>	
$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Glycine (Gly; G)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Alanine (Ala; A)</p>
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\   \\ \text{HC}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Valine (Val; V)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\   \\ \text{HC}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad \quad   \\ \text{H}_3\text{C} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Leucine (Leu; L)</p>
$\begin{array}{c} \text{H}_2 \quad \text{H} \quad \text{H} \\   \quad   \quad   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \quad   \quad   \\ \quad \quad \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Isoleucine (Ile; I)</p>	
<b>Acides aminés aliphatiques hydroxylés / sulfurés</b>	
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Sérine (Ser; S)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Thréonine (Thr; T)</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{SH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Cystéine (Cys; C)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\   \quad   \\ \text{S}-\text{C}-\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad   \\ \quad \quad \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Méthionine (Met; M)</p>
<b>Acides aminés aliphatiques acides</b>	
$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Acide aspartique (Asp; D)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\   \\ \text{HOOC}-\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Acide glutamique (Glu; E)</p>
<b>Acides aminés aliphatiques amidés</b>	
$\begin{array}{c} \text{OC}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad \quad   \\ \text{NH}_2 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Asparagine (Asn; N)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\   \\ \text{OC}-\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad \quad   \\ \text{H}_2\text{N} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Glutamine (Gln; Q)</p>
<b>Acides aminés aliphatiques basiques</b>	
$\begin{array}{c} \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\   \quad   \\ \text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad \quad \quad   \\ \text{NH}_2 \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Lysine (Lys; K)</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\   \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{HN}-\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\    \quad \quad \quad   \\ \text{NH} \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Arginine (Arg; R)</p>
$\begin{array}{c} \text{HC}=\text{C}-\text{H}_2-\text{H}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{N} \quad \text{NH} \\   \\ \text{C} \\   \\ \text{H} \end{array}$ <p>Histidine (His; H)</p>	



### 3.1.2 Propriétés physiques des acides aminés

⇨ **Solubilité et point de fusion** Les acides aminés se présentent sous forme de poudres blanches cristallisées. Ils sont solubles dans l'eau cependant la solubilité varie en fonction de la nature du radical **R** :

- la solubilité dans l'eau est importante Si **R** est polaire ou ionique,
- la solubilité dans l'eau est plus faible quand **R** est apolaire.

Les acides aminés ont un point de fusion élevé supérieur à 200 °C.

⇨ **Propriétés optiques : le pouvoir rotatoire** Tous les acides aminés sauf la Glycine possèdent au moins un carbone asymétrique C\*, qui est le carbone  $\alpha$ . Les acides aminés existent donc sous forme de plusieurs stéréo-isomères, dont deux énantiomères symétriques l'un par rapport à l'autre.

Alanine :

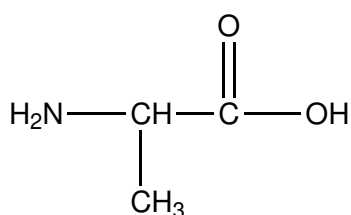


Figure 3.2. Structure de l'alanine [2]

On distinguera les deux séries, D et L. L'énantiomère où le **NH<sub>2</sub>** est à gauche en projection de Fischer appartient à la série L, celui où il est à droite appartient à la série D



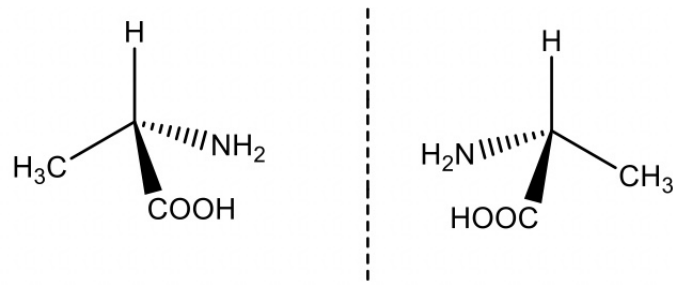


Figure 3.3. Structure des énantiomères de l'alanine [2]

⇨ **Absorbance** Les 20 acides aminés n'absorbent pas dans le visible par contre trois acides aminés : tyrosine, tryptophane et phénylalanine absorbent fortement dans l'ultraviolet. La plupart des protéines contenant des résidus tryptophane, la mesure de l'absorption de la lumière à 280nm est un moyen rapide et satisfaisant de la mesure de la concentration protéique d'une solution.

### 3.1.3 Propriétés chimiques des acides aminés

⇨ **Ionisation des acides aminés** La présence dans la même molécule d'au moins deux groupements fonctionnels antagonistes, l'un acide :  $-COOH$ , l'autre basique :  $-NH_2$ , donne des propriétés très particulières aux acides  $\alpha$  aminés.

Dans l'eau l'acide aminé peut agir à la fois comme un acide (donneur de protons) ou comme base (accepteur de protons). Les substances ayant de telles propriétés sont amphotères. Ils peuvent contenir des charges positives et négatives portées par leurs groupements carboxyliques chargés négativement, et aminés chargés positivement et par les groupements ionisables de leurs chaînes latérales. Cette évolution de la charge nette est tributaire du  $pH$  du milieu comme illustré dans la courbe de titration ci-dessus :

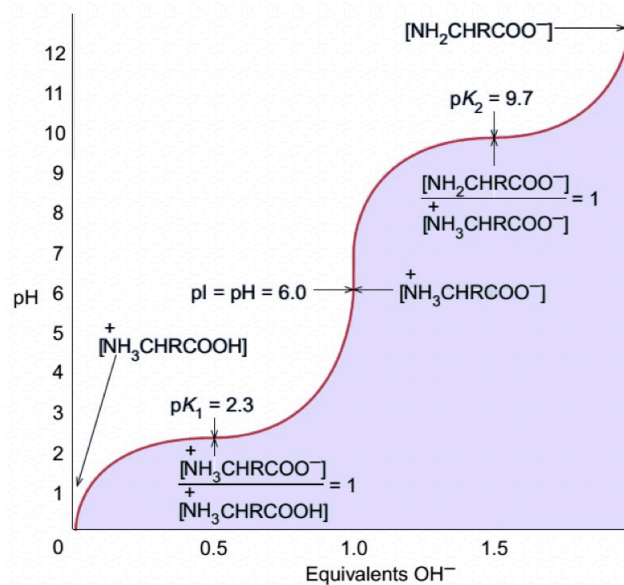


Figure 3.4. Courbe de titration de l'alanine [2]

La forme acide du groupement acide carboxylique est  $-COOH$ , sa forme basique est  $-COO^-$



On mesure la capacité d'un acide à céder des protons par la constante de dissociation  $K$ .

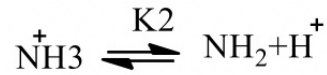
$$K_1 = \frac{[RCOO^-][H^+]}{RCOOH}$$

Quand le groupement COOH est dissocié à moitié (demi dissociation) on a :

$$K_1 = [H^+] ; \quad -\log K_1 = -\log[H^+] \quad \text{donc} \quad -\log PK_1 = PH$$

Le pK d'un groupement acide est le  $pH$  ou la forme associée ( $R-COOH$ ) et la forme dissociée ( $R-COO^-$ ) sont présentes en concentration égale.

La forme acide du groupement amine est  $-NH_3^+$ , sa forme basique est  $-NH_2$



$$K_2 = \frac{[RNH_2][H^+]}{RNH_3^+}$$

et donc  $pK_2 = PH$

On définit le point isoélectrique ou  $pHi$  comme la valeur du  $pH$  pour laquelle on obtient une forme comportant les deux fonctions ionisées. Il n'y a pas de charge électrique à ce  $pH$ , la molécule ne peut migrer dans un champ électrique. Le  $pHi$  est une valeur caractéristique de l'acide aminé.  $pHi$  ou  $pH$  isolélectrique ou point d'équivalence des charges positives (+) et négatives (-). C'est le  $pH$  pour lequel l'acide aminé est sous forme de Zwitterion. Il est caractéristique de chaque acide  $\alpha$ -aminé et sa valeur est donnée par la relation :

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

Donc la charge d'un acide aminé est en fonction du  $pH$  :

- Si  $pH = pHi$ , la charge de l'acide aminé est nulle
- Si  $pH < pHi$ , la charge de l'acide aminé est positive
- Si  $pH > pHi$ , la charge de l'acide aminé est négative

En fonction du  $pHi$  on peut classer les aminoacides en :

- Acides aminés acides : *Glu, Asp*;  $pHi$  3
- Acides aminés basiques : *lys, Arg, His*;  $pHi$  10
- Acides aminés neutres : tous les acides aminés restant ;  $pHi$  7

### 1. Exemples de calcul du $pHi$

#### a. Acide aminé neutre

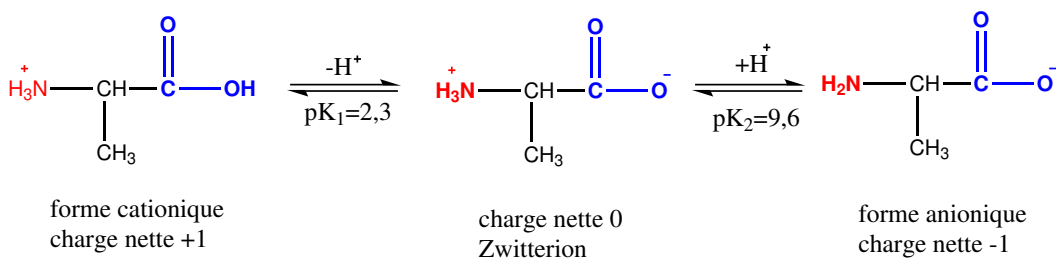


Figure 3.5. État d'ionisation d'un acide aminé neutre [5]

En milieu acide, un excès de protons bloque la fonction carboxyle, qui ne se dissocie pas, tandis que la fonction amine peut accepter un proton supplémentaire :

$$pH_i = \frac{2,3 + 9,6}{2} = 6,02$$

#### b. Acides aminés acides

Les deux acides aminés : acide aspartique et acide glutamique possèdent un groupement acide carboxylique dans le radical R, ils ont donc trois groupements ionisables.

C'est le groupement -COOH en  $\alpha$  qui est le plus fort ( $pKa \approx 2$ ), puis vient le groupement -COOH du radical R ( $pKa \approx 4$ ), le groupement  $-NH_3^+$  est l'acide le plus faible ( $pKa \approx 9,7$ )

L'ordre d'ionisation est de l'acide aspartique est donc le suivant :

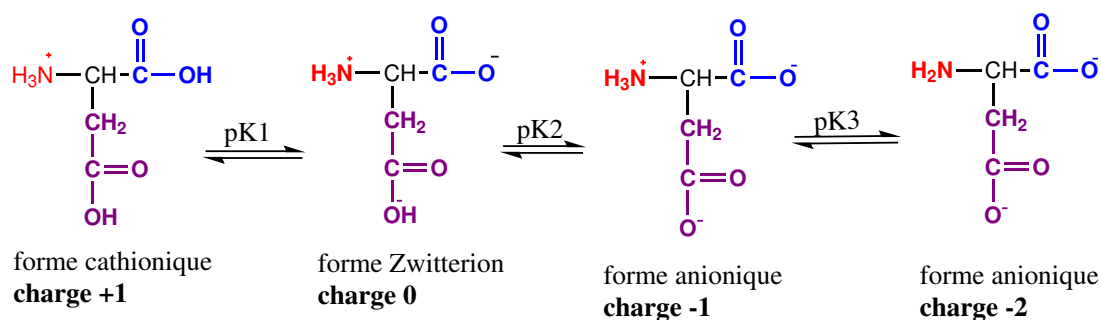


Figure 3.6. État d'ionisation d'un acide aminé acide [5]

La forme Zwitterion neutre se situe entre la première et la deuxième ionisation donc :

$$pH_i = \frac{2 + 4}{2} = 3$$

### c. Acides aminés basiques

Trois acides aminés, lysine et arginine et histidine possèdent un groupement azoté dans le radical R, ils ont donc également trois groupements ionisables.

C'est le groupement  $-\text{COOH}$  en  $\alpha$  qui est le plus fort ( $pK_a \approx 2$ ), puis vient le groupement  $-\text{NH}_3^+$  en  $\alpha$  ( $pK_a \approx 9$ ), le groupement azoté du radical R est l'acide le plus faible ( $10 < pK_a < 13$ ), sauf pour l'histidine où le groupement azoté du radical R est plus fort ( $pK_a \approx 6$ ) que le groupement  $-\text{NH}_3^+$  en  $\alpha$  ( $pK_a \approx 9$ ).

L'ordre d'ionisation est de la lysine donc le suivant :

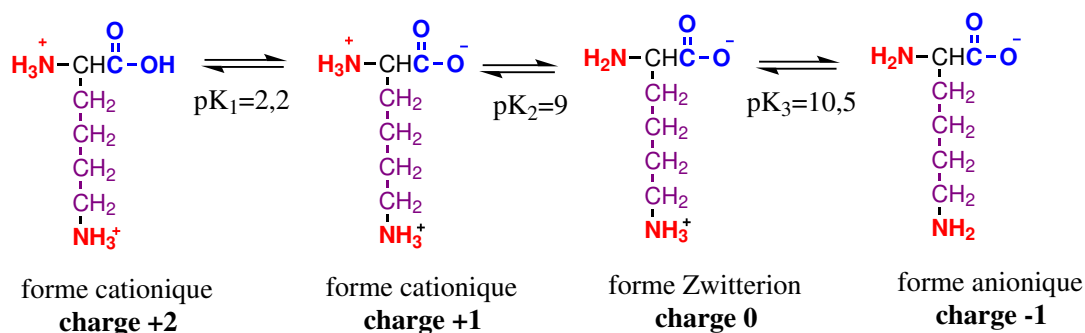


Figure 3.7. État d'ionisation d'un acide aminé basique [5]

$$pH_i = \frac{9 + 10,5}{2} = 9,74$$

#### Remarque

Pour écrire les équations dissociées

- écrire d'abord la formule la plus polarisée ;
- écrire les équations en fonction de l'échelle de pH croissant ;
- l'ordre chronologique de dissociation est donné par les valeurs de pK ;
- évaluer les charges globales de la molécule ;
- les valeurs des pks de part et d'autre de la charge 0 doivent être utilisées pour le calcul du pHi.

### Propriétés dues à la fonction acide carboxylique $-\text{COOH}$

Les réactions chimiques du groupement carboxyle sont diverses, les plus importantes peuvent être résumées en réaction de formation d'amide (a) réduction (b) d'estérification (c) et décarboxylation(d)

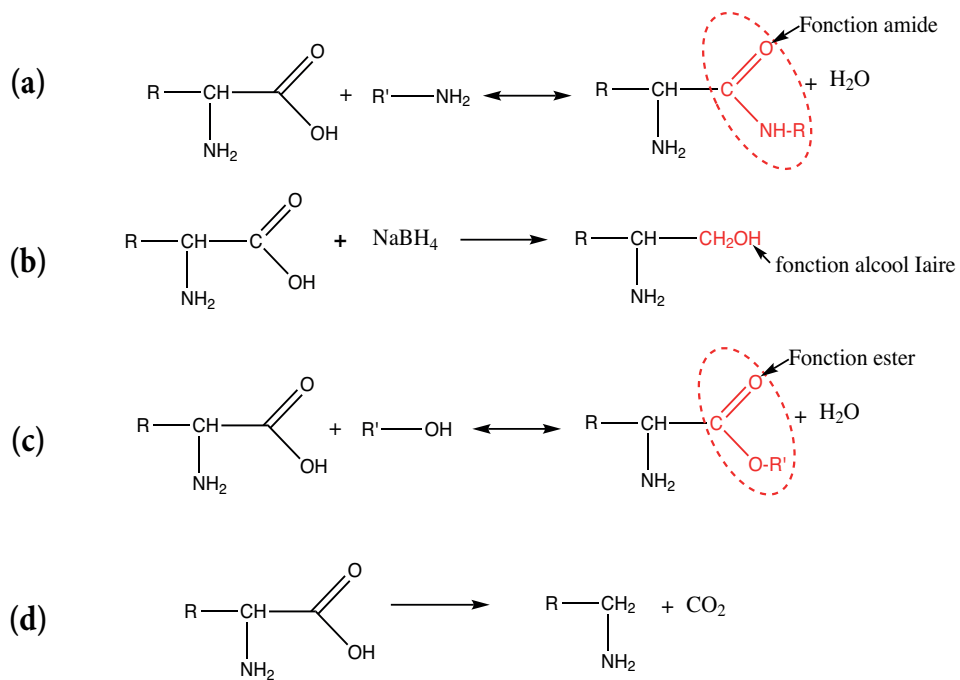


Figure 3.8. Propriétés de la fonction acide carboxylique  $-\text{COOH}$  [3]

**La décarboxylation est une** réaction intéressante d'un point de vue biochimique. Elle aboutit à la formation d'une amine par décarboxylation de l'acide aminé. Cette décarboxylation peut se faire par voie chimique ou par voie enzymatique sous l'action d'enzymes : les décarboxylases. Ces enzymes sont spécifiques pour chaque acide aminé car elle aboutit à des amines biologiquement très actives.

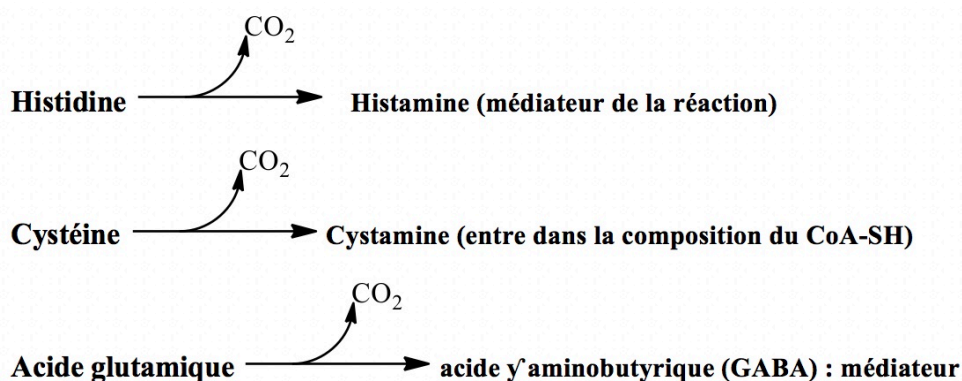


Figure 3.9. Produits actifs de la décarboxylation des acides aminés [3]

#### ⇨ Propriétés de la fonction amine primaire $-\text{NH}_2$ • Substitution par un radical R

Les hydrogènes portés par la fonction amine peuvent être remplacés par un radical aliphatique ou aromatique. Le formol agit sur la fonction amine primaire pour conduire à la formation d'une amine tertiaire (dérivé diméthylol de l'acide aminé) :

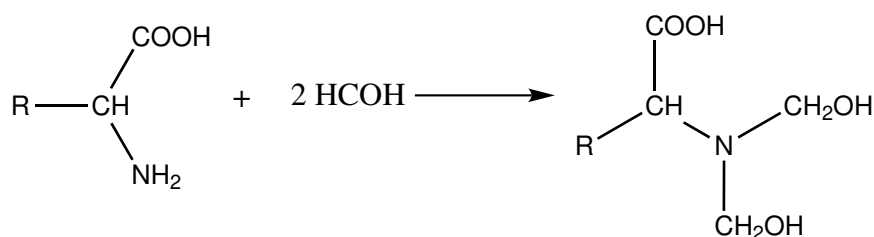


Figure 3.10. Réaction de substitution [2]

Le blocage de la fonction amine sert :

- Dosage de l'AA par acidimétrie (dosage de COOH par le NaOH)
- Modifier les propriétés de l'acide aminé : une protéine peut être toxique par ses groupements NH<sub>2</sub>, elle est moins toxique après blocage de ces derniers.
- **Désamination**

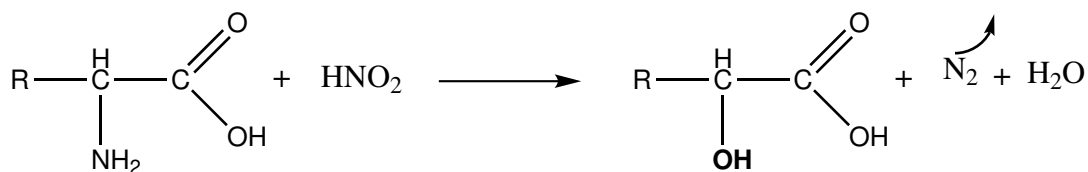


Figure 3.11. Réaction de désamination [2]

L'acide nitreux réagit sur les acides aminés en libérant du diazote qui peut être dosé.

⇨ **Propriétés des fonctions -COOH et -NH<sub>2</sub> conjointes**

• **Réaction avec la Ninhydrine**

Les acides aminés réagissent avec la ninhydrine oxydée pour former un complexe coloré de deux molécules de ninhydrine (réduites) liées par l'azote de l'acide aminé, appelé le pourpre du RUHMANN qui présente une coloration violette avec tous les acides aminés primaire (lecture de la densité optique à λ max = 540 nm), sauf avec la Proline (aa secondaire) avec laquelle il sera jaune (lecture de la densité optique à λ max = 440 nm).

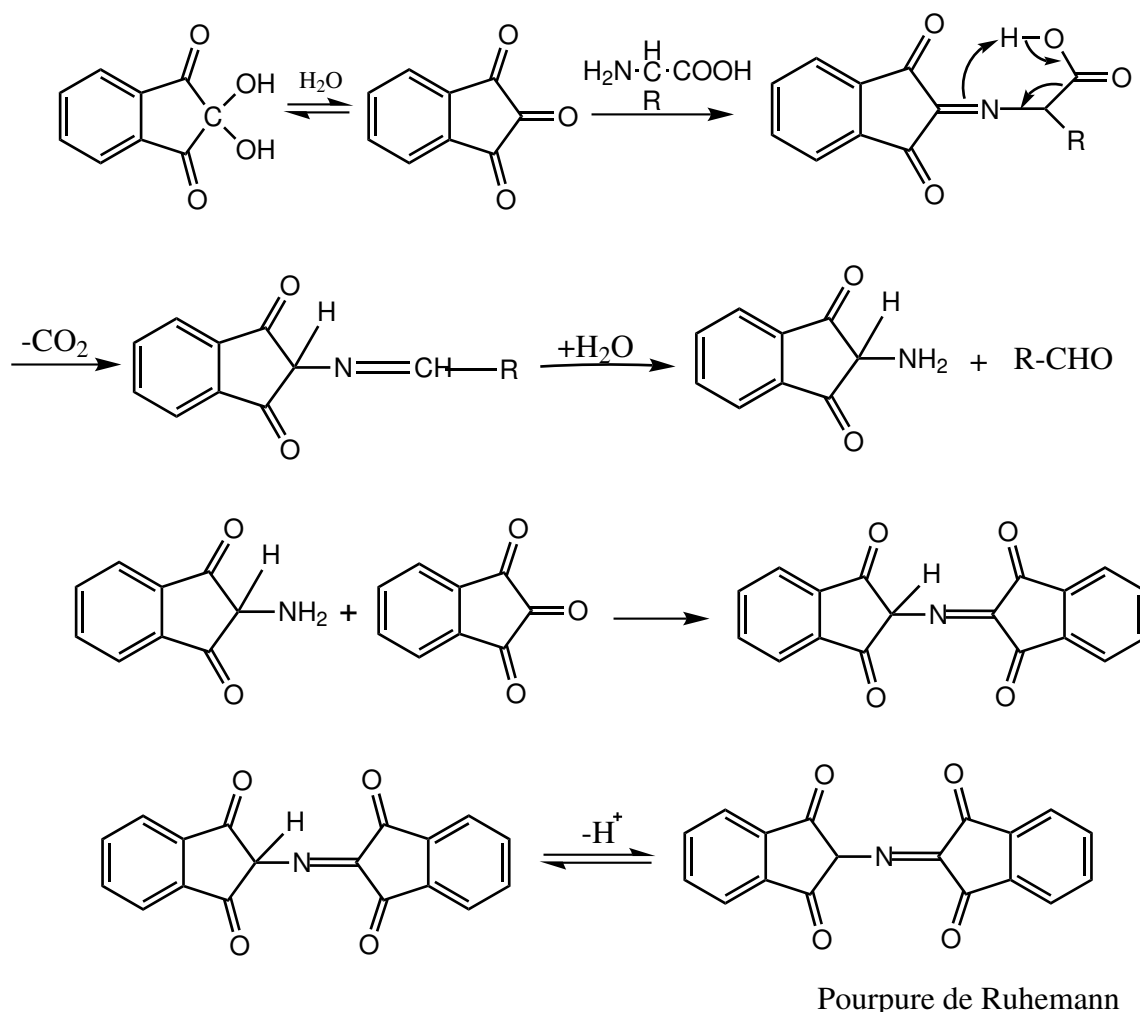


Figure 3.12. Réaction des acides aminés avec la Ninhydrine [5]

Les plus petits peptides, dipeptide ou tri peptide donnent la même réaction (coloration violette). Par contre, quand ils contiennent plus de quatre résidus d'acides aminés, les peptides ne réagissent plus avec la

ninhydrine.

⇨ **Propriétés des fonctions alcools** La Sérine ou la Thréonine peuvent être estérifiées par l'acide phosphorique

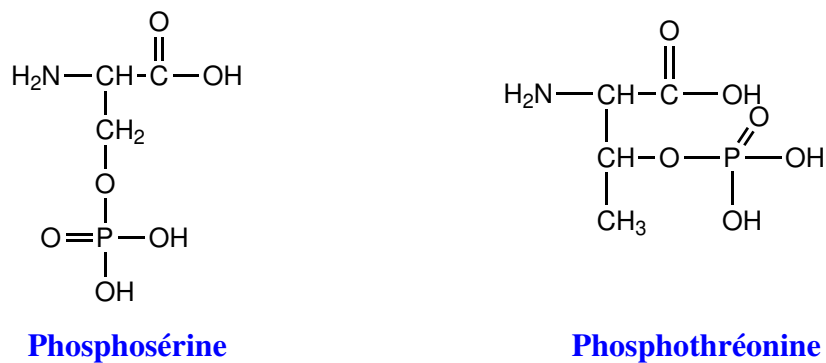


Figure 3.13. Estérification de la Sérine et la Thréonine [2]

### Réaction de formation du pont disulfure

Le groupe thiol de la cystéine est très réactif son oxydation est à l'origine de la formation des ponts disulfures qui se trouve dans les structures tertiaires et quaternaires des protéines.

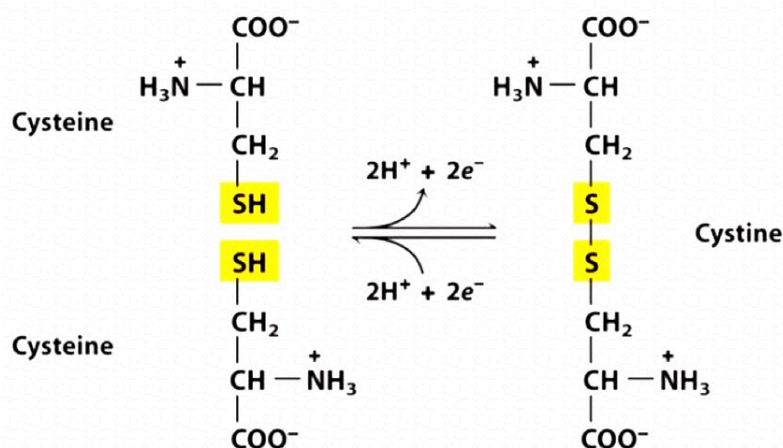


Figure 3.14. formation et réduction d'un pont disulfure [2]

### 3.1.4 Techniques d'étude des acides aminés

Certains aminoacides présentent des réactions colorées ou spectres d'absorption caractéristique, mais le plus souvent pour l'étude d'un mélange on utilise des techniques de fractionnement comme l'électrophorèse ou la chromatographie. ⇨ **Méthodes de dosage** Ces méthodes permettent de doser tous les acides aminés, quelle que soit la nature du radical R.

- Dosage spectrophotométrique dans l'ultraviolet et dans le visible
- **Méthode de Kjeldahl**

Les acides aminés sont minéralisés totalement par oxydation en milieu sulfurique concentré et chaud. Il se forme du sulfate d'ammonium, acide faible qui peut être dosé par une base forte.

- **Dosage spectrophotométrique à la ninhydrine**
- **Méthode de Sørensen**

La réaction employée est la substitution par le formaldéhyde, le composé qui en résulte est une amine tertiaire, qui est une base plus faible (donc un acide plus fort sous la forme protonée) que l'amine primaire initiale. Le dosage de la molécule est donc plus aisé par une base en présence d'un indicateur coloré. Cette méthode a pour nom "formol-titration de Sørensen".

### ⇨ Techniques de séparation des acides aminés - Electrophorèse

Méthode d'analyse et de fractionnement basée sur la migration différentielle de particules chargées électriquement, sous l'influence d'un champ électrique. Les acides aminés ont une charge électrique due aux groupements ionisables. Ils peuvent se déplacer dans un champ électrique.

Dans le procédé de l'Electrophorèse sur papier une goutte d'une solution d'un mélange d'acides aminés est déposée sur une feuille de papier filtre qui est ensuite humidifiée avec un tampon à un pH donné. Les extrémités de la feuille sont placées dans des bacs contenant des électrodes et un champ électrique de haut voltage est appliqué. En raison de la valeur différente de leur  $pH_i$  les acides aminés migrent dans des directions différentes à des vitesses différentes.

Pour établir leur localisation caractéristique, des échantillons d'acides aminés témoins sont traités dans les mêmes conditions. Après plusieurs heures, le papier filtre est séché et les acides aminés sont révélés à la ninhydrine.

$A \text{ } pH = pHi$  : la charge globale étant nulle, il n'y aura pas de déplacement

$A \text{ } pH > pHi$  : les charges négatives prédominent et l'acide aminé ou la protéine migre vers l'anode.

$A \text{ } pH < pHi$  : les charges positives prédominent et la migration se fait vers la cathode.

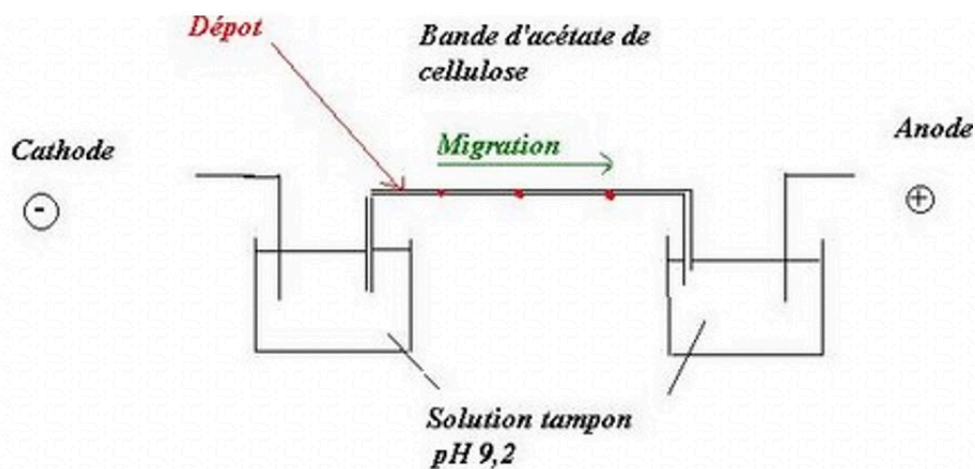


Figure 3.15. Schéma d'une électrophorèse

### - Chromatographie de partage

Les acides aminés peuvent être séparés entre deux phases liquides car chaque acide aminé possède un coefficient de partage spécifique. Ce principe est utilisé dans la chromatographie de partage et la chromatographie sur papier.

En chromatographie sur papier, le solvant contenant le mélange d'acides aminés monte verticalement dans le papier par capillarité, de nombreuses distributions microscopiques des AA apparaissent entre la phase mobile et la phase aqueuse stationnaire. À la fin du processus les différents acides aminés ont migré à des distances différentes, le papier est séché et la position des différents acides aminés est révélée à la ninhydrine. Les acides aminés inconnus sont identifiés par comparaison de leurs  $R_f$  avec les  $R_f$  des témoins.

### - Chromatographie par échange d'ions

C'est le procédé le plus utilisé pour séparer, identifier et quantifier chaque acide aminé dans un mélange. Une colonne de chromatographie est remplie d'une résine synthétique contenant des groupements chargés. Il existe deux classes de résine échangeuse d'ions :

- Une résine avec des groupements anioniques est une échangeuse de cations.
- Une résine avec des groupements cationiques est une échangeuse d'anions.

Les acides aminés sont habituellement séparés sur une colonne d'échangeurs de cations, constituée de particules solides d'une résine de polystyrène sulfoné chargé négativement (porteuse d'ions  $SO_3^-$ ). On ajoute à la résine une solution acide ( $pH=3$ ) d'un mélange d'acides aminés.

À  $pH=3$ , les AA sont sous forme de cations avec une charge positive nette, la plupart des acides aminés basiques tels la Lysine sont solidement liés à la résine par des forces électrostatiques, et les plus acides (Asp, Glu) sont les moins liés.

Pour éluer le mélange, on fait varier le pH et ainsi faire varier les charges des aminoacides dans la colonne et donc leur vitesse de migration le long de la colonne. Ces aminoacides sont ensuite collectés à la sortie de la colonne, colorés à la ninhydrine, leur absorbance est mesurée, le chromatogramme se présente sous forme d'un graphe présentant des pic lors de la sortie d'un AA.

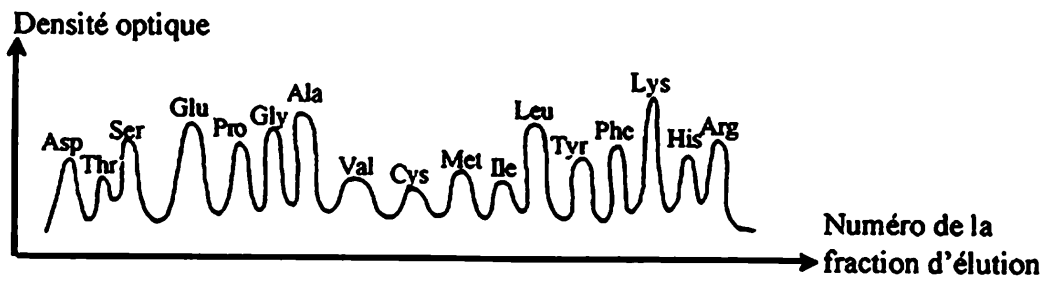


Figure 3.16. Chromatogramme d'élution des acides aminés

### 3.2 Peptides

Les peptides sont des petits polymères d'acides aminés. Ils sont constitués d'un enchainement d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques (liaison amide), qui se forme entre la fonction acide d'un acide aminé et la fonction amine d'un autre aminoacide.

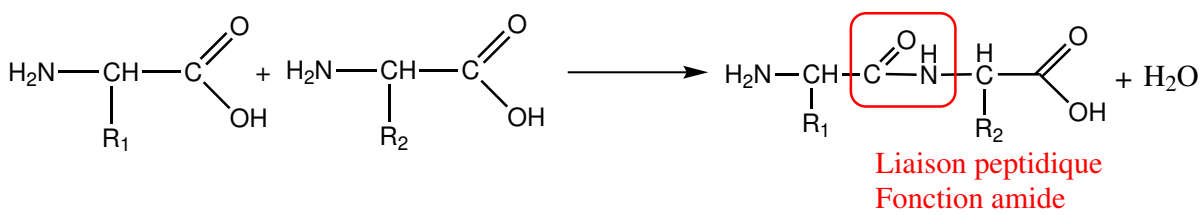


Figure 3.17. Formation d'une liaison peptidique [5]

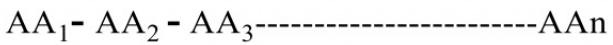
Les peptides sont nommés dans l'ordre de la séquence de leurs composants en aminoacides, les conventions d'écriture placent la fonction N terminale portant une fonction amine libre à gauche, et la fonction C terminale à droite. On ajoute le suffixe- yl au nom du résidu. Le dernier résidu garde son nom d'origine.

#### 3.2.1 Caractéristiques de la liaison peptidique et des peptides

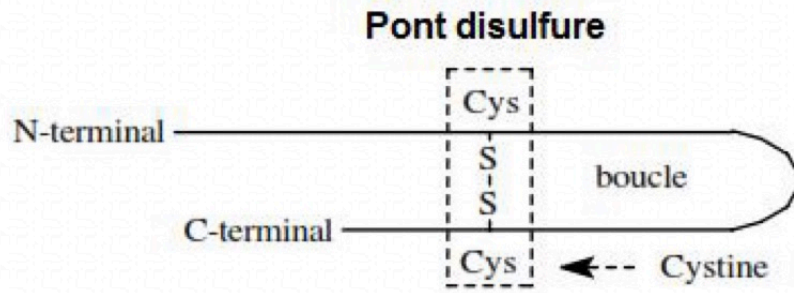
- Le caractère de la liaison peptidique est légèrement acide, ce qui contribue à créer de nouvelles propriétés, différentes celles des acides aminés.
- La liaison peptidique est hydrolysable en milieu acide concentré et à chaud.
- Un peptide possède de nombreux groupements ionisables libres (extrémités N et C terminales, groupements ionisables R de la chaîne latéral), il va donc exister sous de nombreuses formes ioniques différentes, il possède un pHi.
- Les peptides à partir de 4 acides aminés peuvent être mis en évidence par la réaction du biuret, qui est caractéristique de la liaison peptidique. Le peptide, en milieu très alcalin, réagit avec le cuivre  $\text{Cu}^{2+}$  pour donner un complexe rose.

Les peptides peuvent être sous forme d'un :

- Simple brin : peptide formé d'une seule chaîne et linéaire



- Double brin : peptide formé d'une seule chaîne cyclique, une liaison covalente (pont S-S) intra-chaîne est réalisée par l'oxydation de deux fonctions thiol de deux cystéines.



- Peptides cycliques.
- Peptides semi cycliques.

### 3.2.2 Détermination de la séquence peptidique

L'étude de la structure primaire d'une protéine peut être réalisée en utilisant les étapes suivantes :

1. Si la protéine contient plus d'une chaîne peptidique, les chaînes doivent être d'abord séparées puis purifiées ; toutes les liaisons disulfures doivent être réduites en thiols par le mercaptoéthanol et les thiols ainsi obtenus doivent être alkylés.

2. Un échantillon de chaque chaîne polypeptidique est soumis à une hydrolyse totale.

- Hydrolyse acide : les polypeptides sont chauffés avec un excès d'HCl 6N à 120°C durant 10 à 24 heures, le tryptophane est cependant toujours détruit dans ces conditions.

- Hydrolyse alcaline par chauffage conduit à la destruction de tous les aminoacides, excepté le tryptophane.

- L'hydrolyse peut se faire par voie enzymatique mais on obtient souvent des polypeptides.

3. Identification des extrémités N et C terminales.

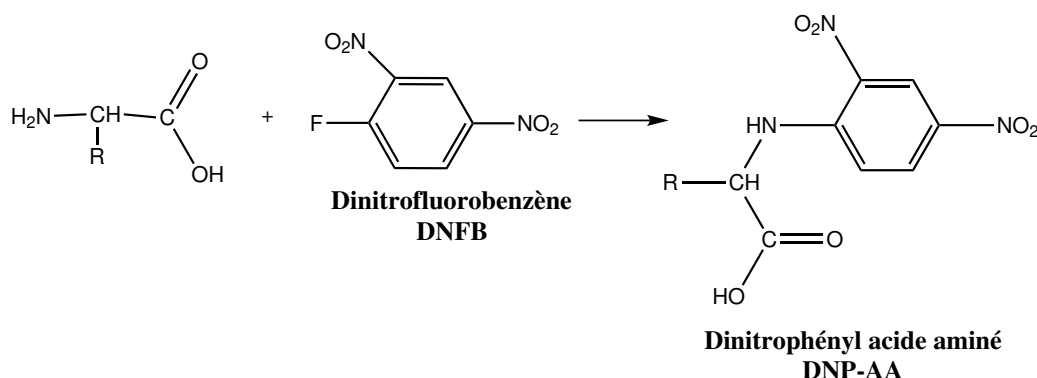
4. Fragmentation des chaînes polypeptidique : est coupée en une série de petits peptides par des hydrolyses enzymatiques ou chimiques.

5. Les fragments peptidiques résultant de l'étape précédente sont séparés et pour chaque peptide, la composition et la séquence en AA sont déterminées. Deux méthodes sont généralement utilisées : la méthode sur papier (chromatographie ou électrophorèse) et la chromatographie sur colonne.

⇨ **Détermination de l'acide aminé Nt 1. méthode chimique**

#### *a- Méthode de Sanger*

Utilise le 1-Fluoro-2,4 dinitrobenzène (DNFB) comme réactif. Les fonctions  $\alpha$ -aminées des aminoacides et peptides réagissent avec le 2,4 dinitrofluorobenzène pour former des dérivés jaunes, les Dinitrophényl-peptides.



**Figure 3.18.** Réaction de Sanger [5]

Lorsque ces derniers composés sont soumis à une hydrolyse avec HCl 6N, toutes les liaisons peptidiques sont hydrolysées mais la liaison entre la fonction de DNFB et la fonction amine de l'AA reste stable, d'où l'identification de ce dernier aminoacide.

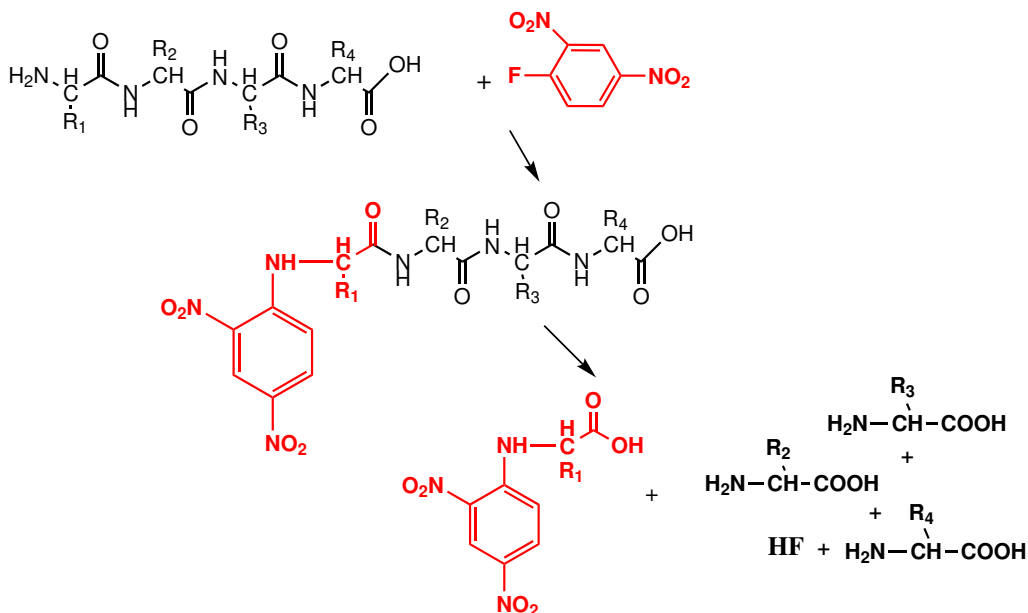


Figure 3.19. Dégradation de Sanger [2]

**b- Méthode au chlorure de DANSYL (1-Diméthyle-Amino-Naphtalène-5-Sulfonyle =DANS)**

Le chlorure de Dansyl réagit avec le  $NH_2$  terminal et donne un dérivé fluorescent jaune. la méthode est utilisée pour doser les AA par HPLC car elle permet une meilleure détection et une meilleure quantification, c'est une technique très sensible.

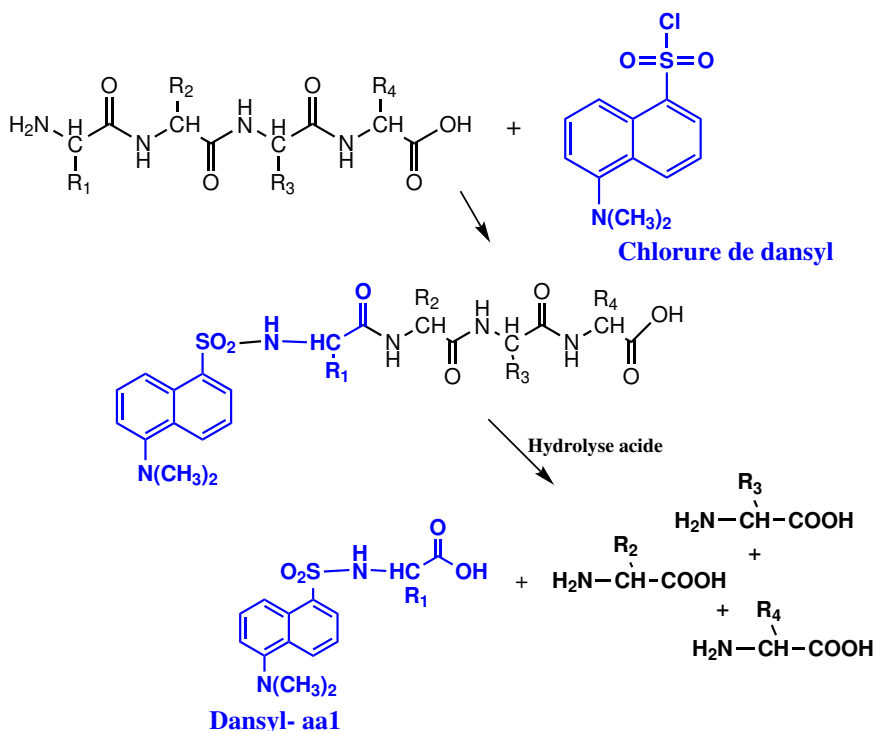


Figure 3.20. Méthode au chlorure de DANSYL [5]

**c- Méthode d'EDMAN par le phényl isothiocyanate(PITC)**

Le PITH agit en milieu basique avec  $NH_2$  terminal pour former l'acide Phénylthiohydantoïque amino-acide. Après une légère action acide le Phénylthiohydantoïque aminoacide est cyclisé et libéré sous forme de Phénylthiohydantoïne aminoacide (PTH-AA) et le peptide restant intact. Le grand avantage de la méthode d'Edman est que la chaîne polypeptidique reste intact peut être récupérée et soumise à un autre traitement avec le PITC.

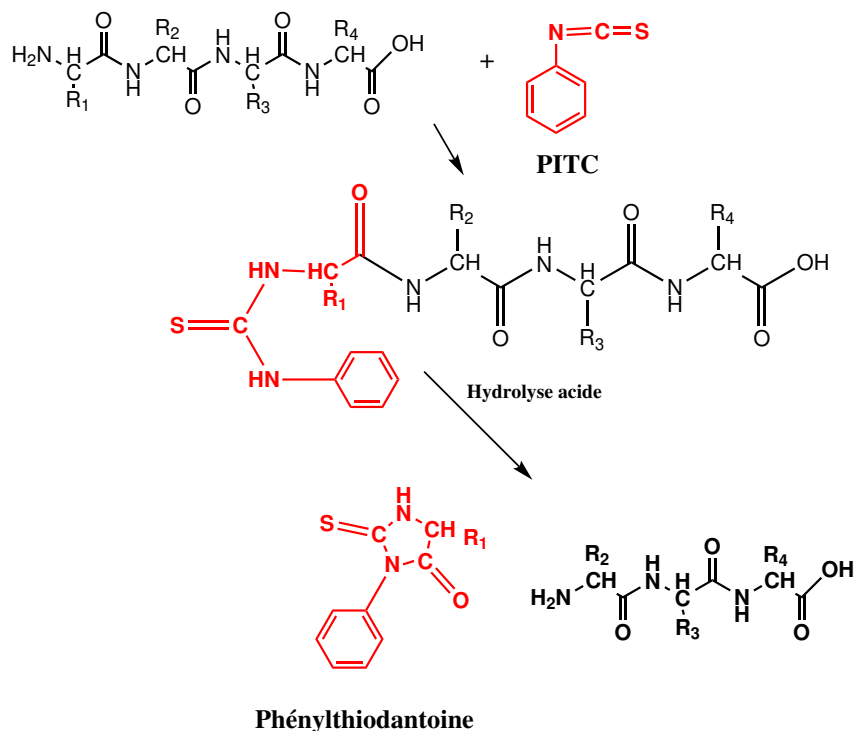


Figure 3.21. Dégradation d'EDMAN [5]

## 2. Méthode enzymatique

L'aminopeptidase est une enzyme de la famille des exopeptidases, hydrolyse des liaisons peptidiques et libère l'acide N-terminal. L'aminopeptidase agit sur tous les AA sauf la proline et La prolinase agit sur la proline en position Nt L'AA libéré est identifié par chromatographie.

### ⇨ Détermination de l'acide aminé en position Ct

#### Méthode chimique

La méthode la plus importante est l'hydrazinolyse qui coupe toutes les liaisons peptidiques en les convertissant en hydrazide à l'exception de l'acide C-terminal.

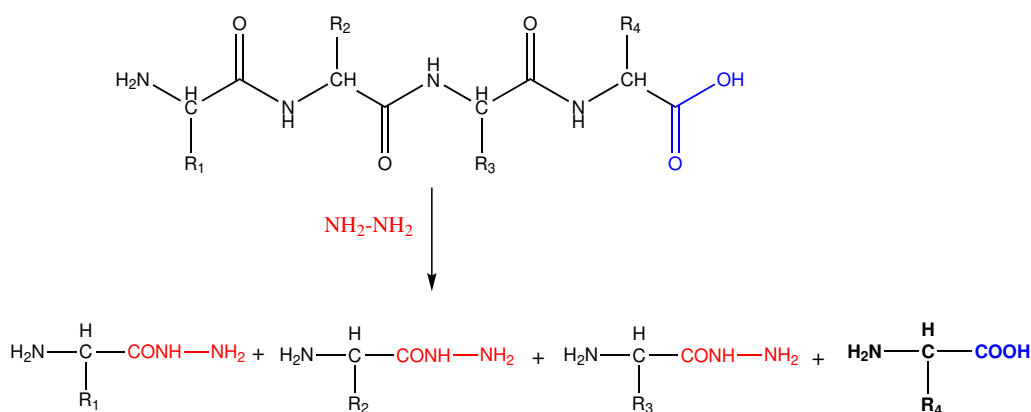


Figure 3.22. Réaction d'hydrazinolyse [5]

#### Méthode enzymatique

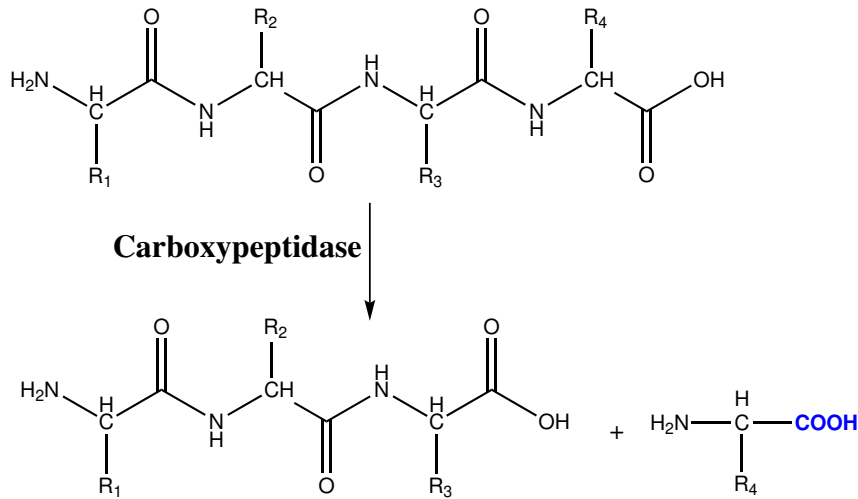
L'acide aminé C-terminal d'un peptide peut aussi être sélectivement éliminé de la chaîne par action d'une enzyme la carboxypeptidase.

Les carboxypeptidases A et B sont des enzymes de la famille des exopeptidases, elles catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques à l'extrémité C terminale.

- **La carboxypeptidase A** catalyse la coupure de la liaison C terminale sauf celle de Gly et des acides aminés basiques(Arg, His et Lys) à condition que l'avant dernier acide aminé ne soit pas la Proline.

- **La carboxypeptidase B** catalyse la coupure de la liaison C terminale des acides aminés basiques à condition que l'avant dernier acide aminé ne soit pas Pro. Un inconvénient de cette méthode est que l'enzyme,

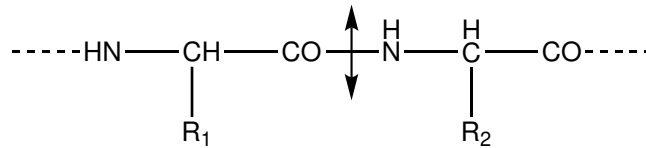
après avoir éliminé le résidu C-terminal, attaque le nouvel aminoacide C-terminal lié au peptide.



**Figure 3.23.** Action de la carboxypeptidase [5]

⇨ **fragmentation des chaînes peptidiques** Si le peptide à étudier comporte plus de 50 acides aminés il sera réduit en peptides plus courts par coupures spécifiques avant d’être séquencé. La méthode de choix utilise des protéases (endopeptidases), enzymes qui catalysent l’hydrolyse des liaisons peptidiques possédant des sites de coupure spécifique :

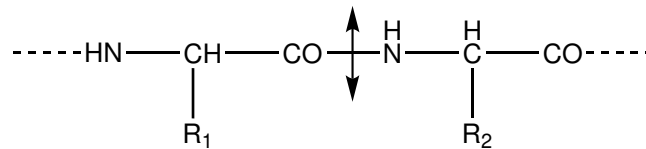
- **la trypsine** est une endopeptidase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé basique (Lys, Arg) engage sa fonction acide.



R1= Lys ou Arg

**Figure 3.24.** Action de la Trypsine [5]

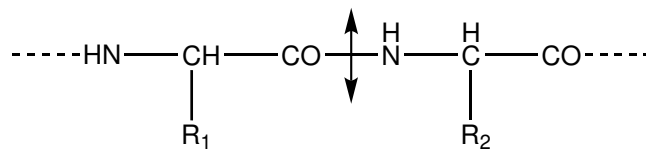
- **la chymotrypsine** permet la coupure du côté C-terminal des trois aminoacides aromatique (Tyr, Trp, Phe ) engage sa fonction acide.



R1= Phe, Tyr, Trp

**Figure 3.25.** Action de la chymotrypsine [5]

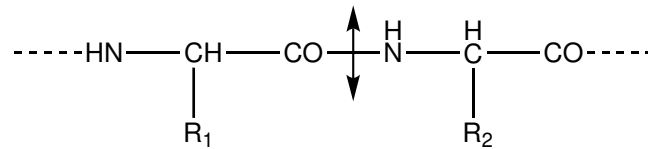
- **Thermolysine** permet la coupure au niveau de l’extrémité N-terminale de la leucine, l’isoleucine et la Valine.



R2 : Val, Leu et Ileu.

**Figure 3.26.** Action de la Thermolysine [5]

• la **pepsine** qui est une endopeptidase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe) engage sa fonction amine.



R<sub>2</sub>= Phe, Tyr, Trp

Figure 3.27. Action de la pepsine [5]

De nouvelles méthodes chimiques ont été développées pour cliver les chaînes peptidiques comme le **Bromure de Cyanogène (BrCN)** : qui clive les chaînes peptidiques dans lesquelles la fonction carbonyle est fournie par la Méthionine.

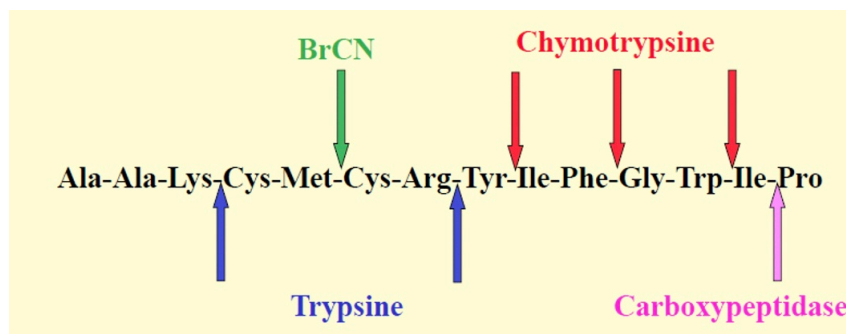


Figure 3.28. Fragmentation enzymatique d'une chaîne peptidique [5]

### 3.3 Les protéines

Sont des polymères d'acides aminés (nombre d'AA <100), de haut poids moléculaire pouvant atteindre 1000 000 D, (la plupart entre 25000 D et 200000 D). Une protéine peut être formée d'une seule chaîne polypeptidique (monomère) ou de plusieurs (dimère, tétramère, ...)

**Selon leur composition on distingue :**

- Les holoprotéines qui sont formées uniquement d'unité(s) polypeptidique(s)
- Les hétéroprotéines auxquelles un groupement prosthétique non protidique est associé. Les hétéroprotéines sont classées en fonction de la nature chimique de leur groupement prosthétique.
  - Glycoprotéines : Le groupement prosthétique est un groupement glucidique qui a un rôle structural ou de reconnaissance. Ces protéines sont largement répandues dans le monde vivant.
  - Protéolipides : Le groupement prosthétique est un groupement lipidique dont le rôle est l'ancrage des protéines aux membranes.
  - Chromoprotéines : Ce sont des hétéroprotéines colorées. Exemples : les myoglobines ou les hémoglobines où une seule chaîne peptidique (la globine) est combinée à un groupement prosthétique (hème) logé dans un repliement de la structure tertiaire de la globine.
  - Phosphoprotéines : le groupement prosthétique est un groupement phosphate lié par une liaison ester-phosphate aux fonctions alcools des résidus sérines et thréonines.
  - Métalloprotéines : le groupement prosthétique est un métal (Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>).

**Selon leur forme on distingue :**

- Les **scéléroprotéines** ou protéines fibreuses, de forme allongée, peu solubles, très résistantes, ce sont des molécules de structure.
- Les **sphéroprotéines** ou protéines globulaires, de forme compacte, solubles, fragiles, ce sont des molécules possédant une fonction biologique active : défense, signalisation, transport....

### 3.3.1 Structure des protéines

Pour les protéines la relation structure-fonction est très forte, le rôle biologique de ces molécules ne peut être maintenu que si l'organisation tridimensionnelle est respectée.

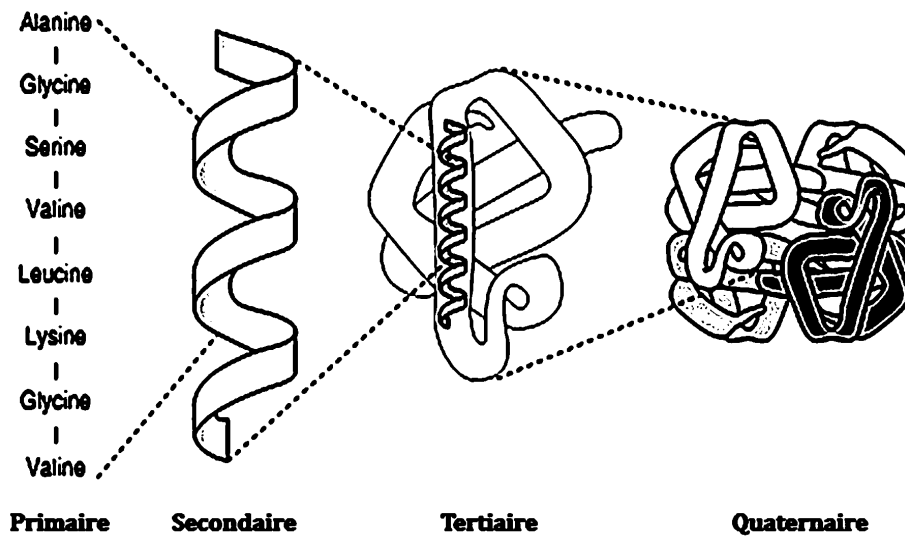


Figure 3.29. Structure des protéines [3]

On distingue quatre niveaux structuraux chez les protéines :

- **Structure primaire** d'une protéine correspond à l'ordre d'enchaînement des acides aminés, la séquence commence par l'acide aminé Nt et se termine par l'acide aminé Ct, cette succession correspond au sens de la traduction de la protéine.

- **Structure secondaire** : repliement de la protéine sur elle-même stabilisée par des liaisons covalentes. l'union des régions contigües d'une chaîne polypeptidique par liaisons hydrogène donne naissance à des hélices  $\alpha$  et à des feuillets  $\beta$ .

⇒ **L'hélice  $\alpha$**

Une hélice  $\alpha$  est engendrée par la rotation régulière d'une chaîne polypeptidique sur elle-même pour former un cylindre rigide dans lequel chaque liaison peptidique est reliée de manière régulière par liaison hydrogène à d'autres liaisons peptidiques proches dans la chaîne. Les chaînes latérales des aminoacides se projettent vers l'extérieur de l'hélice formée par le squelette peptidique. Les oxygènes des CO pointent vers l'extrémité C-terminale, les hydrogènes des NH vers l'extrémité N-terminale.

⇒ **Feuillets  $\beta$**

Le brin  $\beta$  est une conformation constituée d'un fragment de chaîne polypeptidique presque totalement étirée. Cette conformation n'est pas stable car il n'y a pas d'interactions entre atomes non directement liés. Se rencontrent rarement dans les membranes car moins stables que les hélices  $\alpha$ . En revanche, elle est stabilisée lorsqu'elle est incorporée dans les feuillets plissés  $\beta$  ou les liaisons hydrogènes s'établissent entre les CO et les NH appartenant à des brins adjacents. Les chaînes peuvent être parallèles ou anti parallèles. Le brin  $\beta$  est représenté sous forme d'une flèche

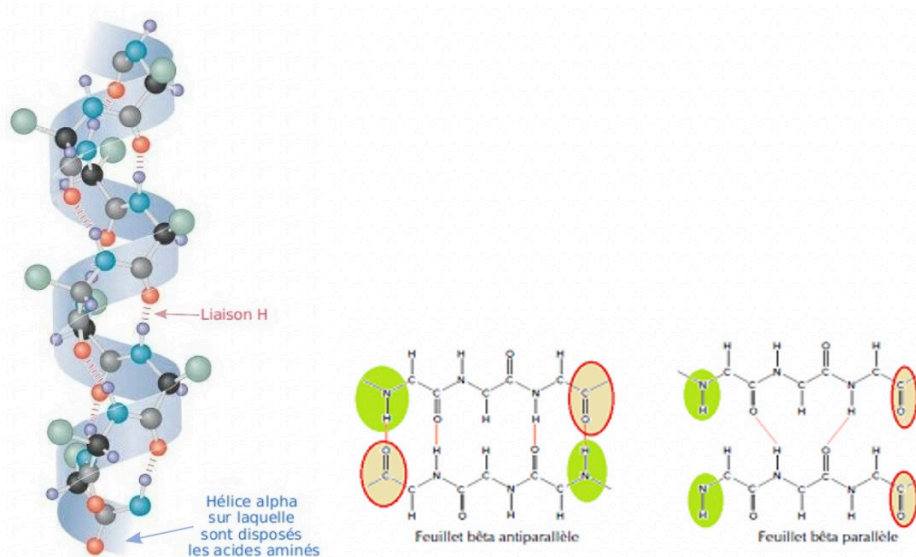


Figure 3.30. Structure de l'hélice  $\alpha$  et les feuillets  $\beta$  [3]

• **Structure tertiaire** : certaines combinaisons d'hélice  $\alpha$  et des feuillets  $\beta$  s'assemblent pour former des unités globulaires repliées de façon compacte, chacune d'entre elles étant appelée domaine protéique. La structure tertiaire des protéines désigne la façon dont les chaînes polypeptidiques sont enroulées ou courbées dans les trois dimensions pour former les structures compactes et extrêmement enroulées des protéines globulaires.

• **Structure quaternaire** : agencement des sous-unités entre elles, quand la protéine est constituée de plusieurs sous-unités indépendantes.

**Exemples :**

La protéine de l'**hémoglobine** est un tétramère hétérogène. L'hémoglobine est formée de 2 chaînes  $\alpha$  et de 2 chaînes  $\beta$ . Les hèmes contenant chacun un atome de fer sont représentés par les disques rouges.

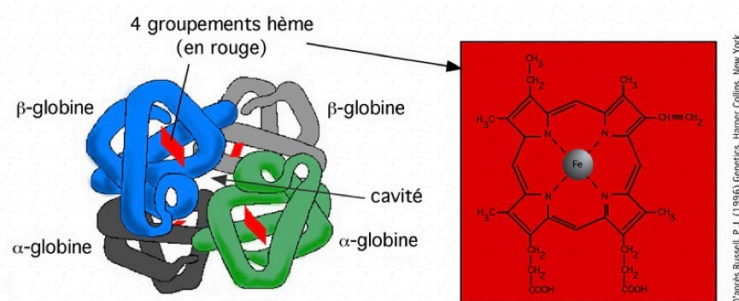


Figure 3.31. Conformation tridimensionnelle des protéines [3]

### 3.3.2 Propriétés des protéines

⇒ **Caractère de solubilité** Les protéines fibrillaires sont généralement insolubles dans l'eau alors que les protéines globulaires sont solubles. La solubilité dépend du :

- pH : la protéine est moins soluble au voisinage de son pHi.
- force ionique : Le sulfate d'ammonium augmente la force ionique
- solvants organiques : les solvants organiques miscibles à l'eau ont un effet précipitant sur les protéines, en diminuant leur solubilité, ex éthanol)

⇒ **Propriétés ioniques d'une protéine** Le caractère amphotère des radicaux des aminoacides ionisables qui constituent les protéines est très important pour la structure et les fonctions de ces radicaux dans les domaines de la protéine. On peut déterminer la charge globale d'une protéine à n'importe quel pH en calculant la charge de chaque acide aminé ionisable qui la compose.

Propriétés optiques : La plus part des protéines absorbent la lumière UV à DO 280nm. Cette absorption est en relation avec la Tyrosine et le Tryptophane de la protéine.

⇒ **Dénaturation des protéines** Les liens protéiques peuvent se défaire, aboutissant à une structure désordonnée : C'est la dénaturation, elle est due :

- La chaleur : l'agitation thermique peut briser les liaisons hydrogène.
- Un pH extrême : milieu trop acide ou trop alcalin.
- Un milieu très concentré en électrolytes : ions.
- Les solvants organiques.
- Certaines substances chimiques peuvent aussi réagir avec la protéine et briser les liaisons ioniques ou même les ponts disulfures.

## Généralités sur la microbiologie

### 4.1 Le monde microbien

#### 4.1.1 Définition de la microbiologie

La microbiologie est l'étude d'organismes vivants de très petite taille qui ne peuvent pas être perçus à l'œil nu. Leur taille est généralement inférieure à un millimètre et ils doivent être observés au microscope (photonique/optique ou électronique) et cultivés dans des milieux permettant leur croissance et leur isolement.

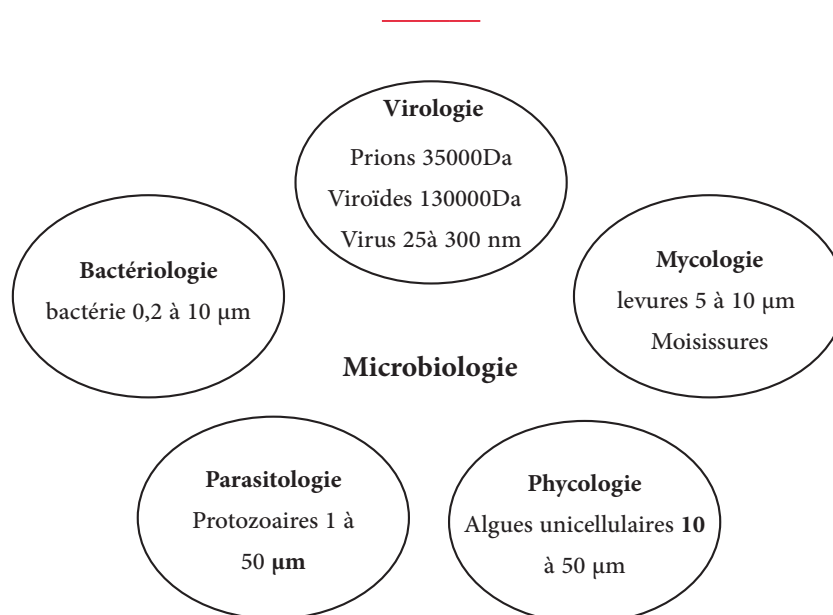
On les appelle pour cela des micro-organismes ou microbes ou protistes. Le terme microbes a été donné par le chirurgien Sedillot en 1878 pour désigner les organismes microscopiques.

La microbiologie est discipline qui contribue à comprendre l'évolution et les origines de la vie, la génétique, la biochimie et l'écologie. Elle a servi de base pour le fondement de l'immunologie et l'évolution du domaine clinique et thérapeutique.

La microbiologie fondamentale se consacre à l'étude et à la compréhension des mécanismes microbiens. Elle a pour but l'identification et la caractérisation des micro-organismes, l'étude de leur physiologie et leurs structures moléculaires. La compréhension des relations micro-organismes et milieu naturel ainsi que l'étude de leur identité, leur origine et leur évolution.

L'utilisation des micro-organismes dans différents domaines ; alimentaire, agroalimentaire, industriel, biotechnologique, clinique constitue la microbiologie appliquée.

Grâce à la microbiologie fondamentale, beaucoup de sciences ont vu le jour : la bactériologie (l'étude des bactéries), la virologie (l'étude des virus), mycologie (l'étude des mycètes : levures et moisissures), parasitologie (étude des parasites)...etc.



## 4.1.2 Définition d'un microorganisme

Le terme de microbe peut être défini comme l'ensemble des êtres vivants dont la taille est invisible à l'œil nu. Tout organisme dont le diamètre est inférieur à 0.1mm est un micro-organisme. Les microorganismes diffèrent et varient par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie. Ils peuvent se différencier également par la nature du noyau : procaryotes (noyau primitif ou nucléoïde) ou eucaryotes. Ces microbes comprennent les bactéries, les archéobactéries, les champignons microscopiques (levures et moisissures), les algues unicellulaires et les protozoaires. Les virus sont considérés comme des êtres non vivants, acellulaires qui dépendent entièrement de leurs cellules hôtes.

Les micro-organismes sont présents partout : dans l'atmosphère, l'eau, les végétaux, les animaux et le sol. En décomposant la matière organique, ils jouent un rôle important dans le cycle de la nature. De nombreux procédés de transformation des aliments tels que les fromages, les yaourts, la bière et le vin utilisent certains micro-organismes comme les bactéries ou les champignons.

La comparaison des ARN ribosomiques des microorganismes a permis de mettre en évidence trois domaines phylogénétiquement distincts qui sont les Bacteria (eubactérie), les Archaea constituées de cellules procaryotes et les Eukarya (eucaryotes).

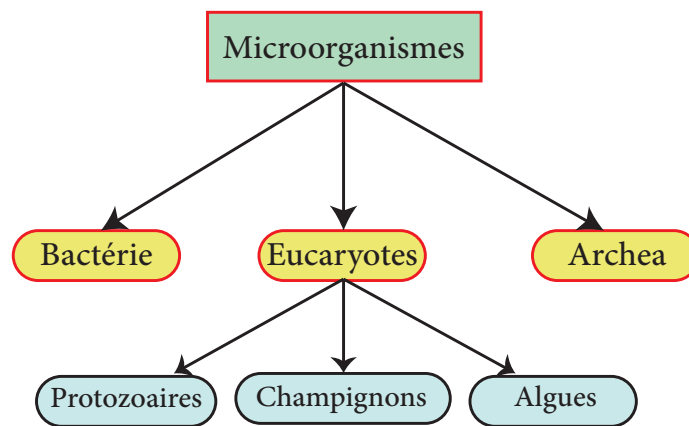


Figure 4.1. Classification des protistes [6]

## 4.1.3 La découverte du monde bactérien

La découverte du microscope par Anthoine Van Leeuwenhoek (1632-1732) grand amateur de loupes et instruments optiques observe les microorganismes par le plus simple microscope. Cette découverte lui a permis l'observation des diverses formes présentes dans des échantillons d'eau, des décoctions de foin ou dans la salive ainsi la découverte des microorganismes pour la première fois. Pour qualifier ces organismes, il les a appelés animalcules.

Durant le 18<sup>ème</sup> siècle de très nombreux micro-organismes furent décrits et des tentatives de classification furent proposées. En 1886, le zoologiste allemand Haeckel proposa la création d'un troisième règne, pour ces formes microscopiques, celui des protistes (qui signifie « les tout premiers (Protistos) » en grec). Haeckel crée le mot protiste en 1866 pour désigner deux types de protistes : inférieurs procaryotes et supérieurs eucaryotes).

### Découvertes de Louis Pasteur (1822-1895)

A partir de 1857, Louis Pasteur met en évidence le rôle des microorganismes dans la fermentation lactique et alcoolique. Pasteur prouve grâce à sa célèbre expérience que les microorganismes ne peuvent pas apparaître spontanément, comme on le croyait à l'époque, mais qu'ils existent autour de nous dans l'air, l'eau, la terre. Lors de la même époque : le rôle des bactéries dans les processus de fermentation et dans la transmission des maladies a été découvert.

### Découvertes de Robert Koch (1843-1910)

En 1876, Robert Koch démontre que le charbon est dû à *Bacillus anthracis*. Il cultive des bactéries sur de la gélatine, puis découvre l'agent de la tuberculose (le bacille de Koch : *Mycobacterium tuberculosis*).

En 1883, il isole l'agent microbien du choléra. Les postulats de Koch sont publiés pour la première fois en 1884.

En 1884, Hans Christian Gram développe une technique de coloration nommée coloration de Gram qui permet la classification des Bactérie.

En 1928 Alexandre Fleming découvre les propriétés antibactériennes de la pénicilline puis en 1997 le premier génome bactérien celui d'Esherichia coli est séquencé.

## 4.2 Cellules Eucaryotes Et Procaryotes

Grâce à l'invention du microscope électronique En 1937, Edward Chatton mis en opposition deux types de cellules, la cellule eucaryote qui possèdent un noyau entouré d'une membrane, des chromosomes, un appareil de mitose et une structure cellulaire complexe (mitochondries notamment). Et la cellule procaryote être unicellulaire dépourvu de noyau. L'ADN portant l'information génétique est directement au contact du cytoplasme.

### 4.2.1 Définition de la cellule

La cellule est un compartiment cloisonné par une membrane dans lequel sont regroupées toutes les molécules du vivant. Sans cette membrane ces biomolécules seraient diluées dans le milieu environnant. Tout être vivant (donc tout organisme) est soit une cellule isolée, soit une association de plusieurs cellules.

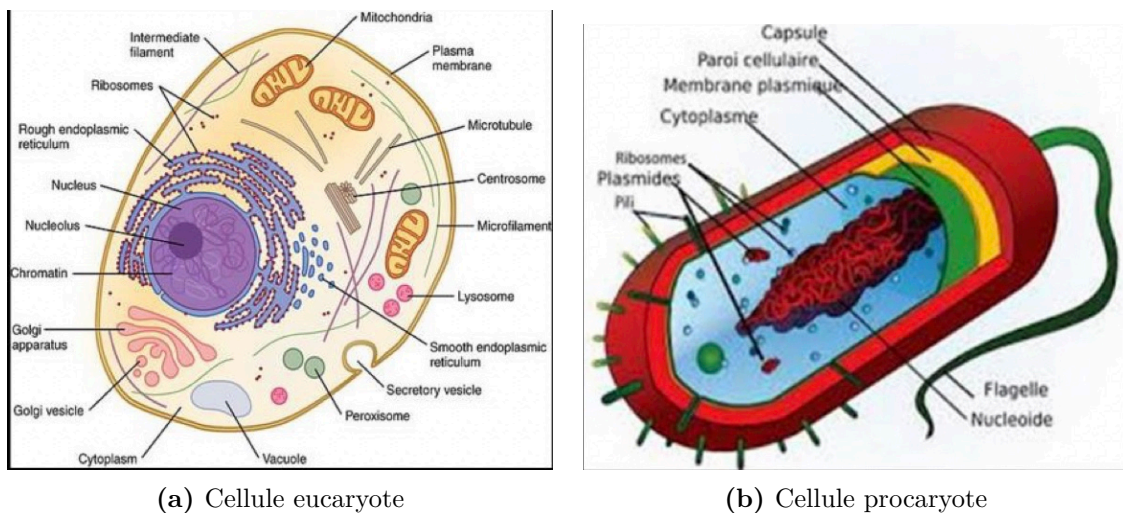


Figure 4.2. Organisation d'une Cellule procaryote et cellule eucaryote [7]

### 4.2.2 Caractéristiques générales de la cellule procaryote

Contrairement à la morphologie complexe et la taille de la cellule eucaryote, la cellule procaryote est plutôt de petite taille et de morphologie simple avec un noyau non entouré par une membrane nucléaire. Généralement, la notion de compartimentation en utilisant des membranes pour délimiter chaque organe est une caractéristique des eucaryotes. Le tableau 1 rapporte les principales différences entre les deux types de cellule procaryote et eucaryote.

**Tab. 4.1.** Caractéristiques des cellules eucaryotes et procaryotes

Caractéristique	Eucaryote	Procaryote
<b>Taille</b>		
Taille moyenne de la cellule	10-100µm	1-10µm
<b>Appareil nucléaire</b>		
Membrane nucléaire	Présence d'une membrane nucléaire qui régule les échanges avec le cytoplasme	pas de membrane nucléaire, le noyau est diffus dans le cytoplasme : nucléoïde
Composition des chromosomes	ADN associé aux histones	pas d'histones, mais des protéines qui ressemblent aux histones (Histone-like proteins)
Chromosomes	Forme et nombre variables en fonction de l'espèce (en général diploïde :2 brins)	Unique et circulaire (haploïde : 1 brin)
Division cellulaire	Division binaire de la cellule mitose	Division simple
<b>Structures cellulaires et organites</b>		
Respiration	Par des organites spécialisés : mitochondries	Localisée au niveau de la membrane cytoplasmique
Ribosomes	Très nombreux libres (80 S) ou sur les systèmes membranaires internes	Très nombreux, libres (70 S) uniquement
Autres organites : Réticulum endoplasmique appareil de Golgi lysosomes	Oui Oui Oui	Non Non Non
Organites spécialisés	Chloroplastes	Pas de chloroplastes, présence de chromatophores (chromatoblastes = cellule précurseur des chromatophores) ou de systèmes membranaires
<b>Mouvement de la cellule</b>		
	Flagelles et cils faits de tubuline	Flagelles faits de flagelline
<b>Absorption ou exclusion par la cellule</b>		
Endocytose/Pinocytose et exocytose	Présente	Absente

## 4.3 Etude de quelques protistes eucaryotes

### 4.3.1 Les protozoaires

#### Généralités

Le mot Protozoaire est constitué de deux parties : Proto = premier et Zoa = animal, dont la structure est proche de celle des cellules animales. Sont des protistes supérieurs (eucaryotes) possédant tous les constituants classiques de la cellule eucaryote, hétérotrophe unicellulaire, qui ingèrent leur nourriture par phagocytose, mobiles au moins à un stade de leur développement. Ils vivent exclusivement dans l'eau ou dans les sols humides ou à l'intérieur d'un organisme.

Les protozoaires sont extrêmement diversifiés au niveau des structures cellulaires et du point de vue écologique. On peut les trouver :

- A l'état libre (en milieu aqueux ou humide).

- Comme parasite (maladie).
- Comme symbiote.

Les protozoaires ont une taille comprise entre 1 et 600µm. Les plus petits sont les sporozoaires. Les plus grands sont les amibes qui peuvent atteindre jusqu'à 5mm.

### Classification des protozoaires

La classification des protozoaires est relativement complexe, la principale classification simplifiée se base sur le mode de déplacement ou de locomotion et sur les caractéristiques des cycles de développement.

L'embranchement des protozoaires comporte 5 sous embranchements : Embranchements Protozoaires

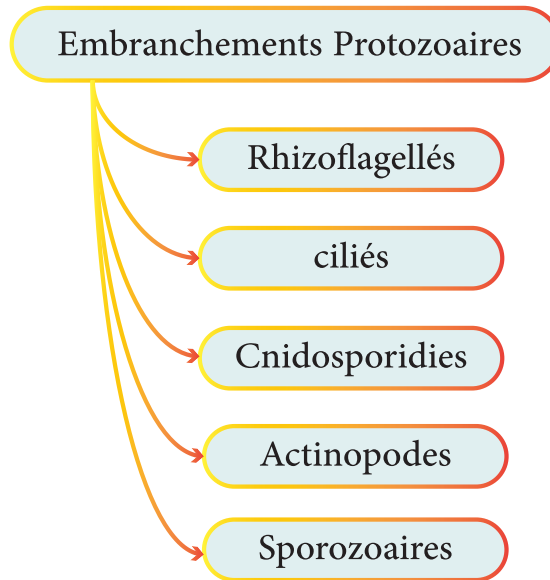


Figure 4.3. Classification des protozoaires [8]

#### a. Rhizoflagellés

Ils comprennent les rhizopodes et les flagellés

o **Rhizopodes** : Ce sont des protozoaires qui possèdent des pseudopodes servant à la locomotion et à la nutrition, on note parfois la présence d'une coquille externe. Les formes sont libres ou parasites. On trouve dans cette classe les amibes, les radiolaires rhizopodes.



Figure 4.4. Les Rhizopodes [8]

o **flagellés** : Regroupe les Protozoaires à un ou n flagelles dont la longueur est au moins égale à celle du corps pendant une partie de la vie. On considère généralement les Flagellés comme les plus primitifs des protozoaires. Les espèces peuvent être libres, parasites ou encore symbiotes.

## b. Ciliés

Les ciliés anciennement appelés infusoires sont des protozoaires les plus complexes et on les considère comme étant les plus évolués.

Ce sont des animaux caractérisés par la présence de nombreux cils vibratiles dont les battements permettent la locomotion, apportent les particules alimentaires et renouvellent le dioxygène (ex : *Paramecium caudatum*). On les trouve dans tous les milieux, ils peuvent être libres, parasites ou encore symbiotes. Beaucoup de ciliés présentent des kystes de résistance. On les divise en 2 sous-classes.

○ **Les Holotriches** : la ciliature est uniforme et les cils sont bien séparés exemple les paramécies et les vorticelles.

○ **Les Spiotriches** : la ciliature est constituée par des membranes ondulantes formant un frange adorale ou des cirres (cils plus ou moins soudés) exemple : *Stylonichia*, *Stentor*.

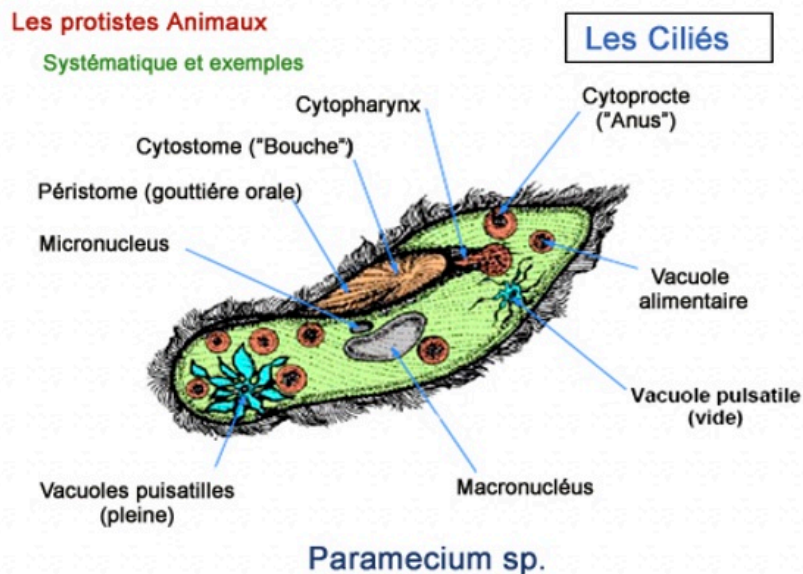


Figure 4.5. Structure d'un protozoaire cilié *Paramecium sp*

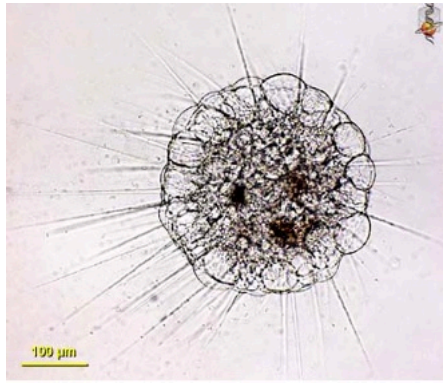
## c. Cnidosporidies

Protozoaires intracellulaires parasites d'invertébrés et de poisson réunis autrefois aux sporozoaires (attaquent le système nerveux des poissons). Ils sont dépourvus de mitochondries et de substances de réserve glucidiques et lipidiques. Cet embranchement se subdivise en trois classes : les Myxosporidies, les Microsporidies et les Actinomyxide.

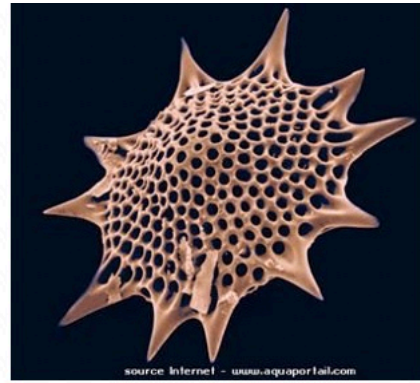
## d. Actinopodes

Ce sont des organismes aquatiques unicellulaires, caractérisées par de très fins pseudopodes rayonnants et non locomoteurs et la présence d'un fin squelette siliceux. On distingue 3 classes :

1. Les acanthaires : protozoaires marins et planctogéniques.
2. Les radiolaires actinopodes : protozoaires marins avec un squelette siliceux. Leur sédimentation et leur fossilisation donnent naissance à des roches telles le jaspe.
3. Les héliozaires.



**Heliozaires**



**Radiolaires**

**Figure 4.6.** Structure des actinopodes : Heliozaires et radiolaires [8]

#### **e- Sporozoaires**

Ce sont de très petits protozoaires immobiles parasites obligatoires des cellules animales. Dépourvue d'organites locomoteurs. Ils émettent des spores flagellées pendant leur cycle reproducteur. Dans ce groupe figurent les Plasmodium Exemple : Plasmodium falsiparum responsable du paludisme chez l'homme.

### **4.3.2 Les champignons**

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. L'organisation cellulaire des champignons est généralement sous forme de thalle, caractérisé par l'absence de tige, feuille et système racinaire. Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou des filaments ou hyphes (qui constituent le mycélium ou moisissures). Certaines levures sont toutefois capables de former des structures filamenteuses (pseudomycélium) dans certaines conditions. On distingue trois groupes majeurs de champignons :

- ⇨ Les moisissures (champignons filamenteux),
- ⇨ les levures (unicellulaires)
- ⇨ les champignons macroscopiques.

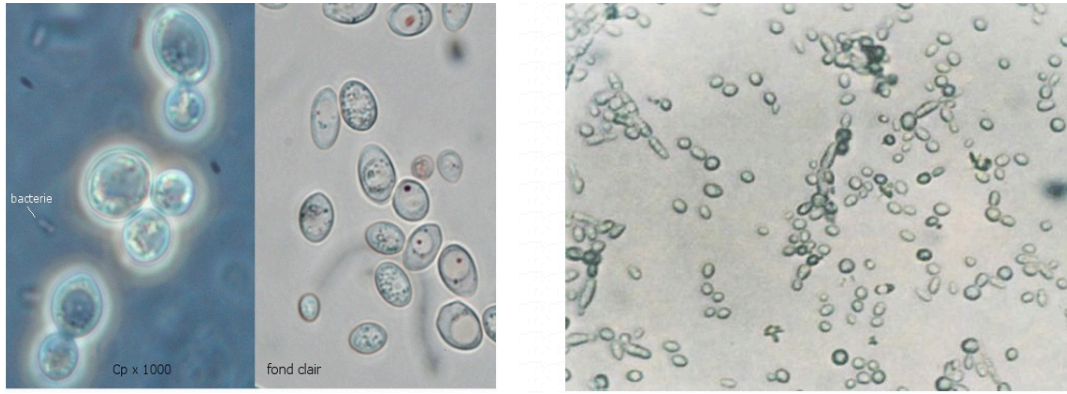
Dépourvus de chlorophylle, les champignons sont hétérotrophes pour le carbone, Ils vivent

- ⇨ En saprophyte : ils exploitent la matière organique morte, ils décomposent végétaux et animaux.
- ⇨ En parasité : ils exploitent de la matière organique vivantes, ils sont souvent pathogène et provoquent des mycoses chez les animaux et de nombreuses maladies chez les plantes

Les champignons se reproduisent par des spores, selon un mode asexué et/ou sexué. Chez les mycètes la membrane plasmique se caractérise par la présence particulière d'ergostérol qui remplace le cholestérol des cellules eucaryotes animales. La paroi contient de la chitine, la cellulose et parfois la mélanine (pigment noir )

#### **Les levures**

Les levures sont des champignons unicellulaires qui ont une taille qui varie de 2 à 50 µm. Leur thalle est dit lévuriforme. Les levures peuvent se présenter sous plusieurs formes, elles peuvent être sphérique, ovoïde, allongée, cylindrique.



**Figure 4.7.** Observation microscopique des levures [8]

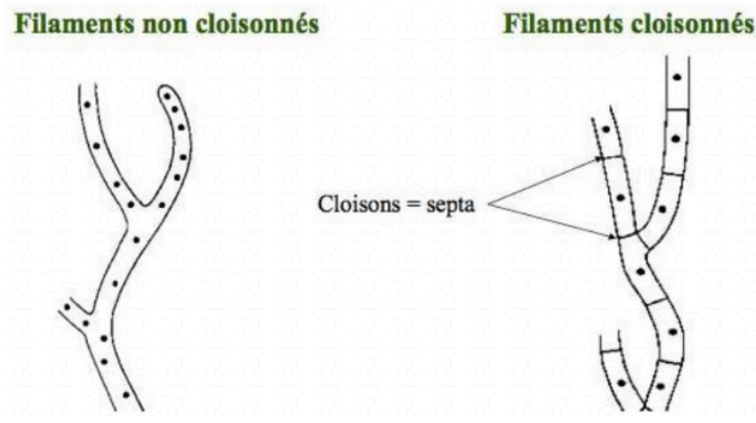
## Les moisissures

Les moisissures sont des champignons pluricellulaires hétérotrophes. constitué par l'assemblage de filaments plus ou moins ramifiés sont appelés hyphes. L'ensemble des hyphes constitue le mycélium. La paroi cellulaire responsable de leur forme est riche en cellulose ou en chitine selon les groupes. Elles contiennent également des substances mucilagineuses, des polysaccharides, des substances pectiques, des protéines, des pigments et de l'hémicellulose.

Les champignons filamenteux sont parfois très utiles et largement utilisés en pharmacologie (antibiotiques), en agriculture ou dans l'industrie alimentaire :

Selon la présence de cloisons (parois) entre les cellules de l'hyphe on peut distinguer : Les Phycomycètes, les cellules ne sont pas séparées par des cloisons transversales : le thalle est dit coenocytique (ou « siphonné »).

Les Septomycètes, le thalle est cloisonné (ou « septé »). Dans ce cas, des perforations assurent la communication entre les cellules (ex : *Aspergillus*).



**Figure 4.8.** Structure du thall des moisissures [8]

Les levures et les moisissures appartiennent au règne des Mycètes (Fungi). La classification est basée sur le cloisonnement des hyphes et des caractères morphologiques observés lors de la reproduction sexuée représenté dans le tableau 2.

Tab. 4.2. Classification des Mycetes

Classe	Cloisonnement	Reproduction sexuée	Particularités / Exemples
Myxomycètes	non	oui	moisissures visqueuses plasmodiales
Oomycètes	non	oui	<i>Plamopara viticola</i> (mildiou de la vigne)
Zygomycètes	non	oui	Mucorales : <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Absidia</i>
Ascomycètes	oui	oui	<i>Saccharomyces</i> , <i>Kluyveromyces</i> , <i>Hansenula</i> ; <i>Neurospora</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. nidulans</i>
Basidiomycètes	oui	oui	nombreux champignons macroscopiques : <i>Agaricus</i> , <i>bisporus</i> , <i>Coprinus</i> ...
Deutéromycètes ( <i>Fungi imperfecti</i> )	oui	Absente	<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodothorula</i> , <i>Brettanomyces</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i>

## 4.4 Protistes procaryotes (les bactéries)

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes unicellulaires de taille très réduite (1-10µm) que l'on rencontre pratiquement partout.

Les bactéries se distinguent des eucaryotes par :

- ⇨ L'absence de membrane nucléaire.
- ⇨ Un chromosome unique et pas d'appareil mitotique.
- ⇨ L'absence de mitochondries, d'appareil de Golgi et de réticulum endoplasmique.
- ⇨ la présence d'un constituant spécifique le peptidoglycane ou mureine ou mucopeptide.

Les bactéries peuvent être divisées en deux grands groupes : Eubactéries et Archéobactéries.

### 4.4.1 Archéobactéries

Les *Archaea* tirent leur nom du grec arkhaios qui signifie « ancien ». Ce sont des bactéries singulières, connues depuis longtemps et jugées atypiques. Ce sont des bactéries adaptées à la vie dans des conditions extrêmes (forte salinité, haute température, faible pH, sans oxygène), différentes des Eubactéries par de nombreux caractères structuraux et physiologiques. Leur membrane cellulaire est aussi distincte des eubactéries et des eucaryotes. On distingue 3 grands groupes :

#### ⇨ Halophiles extrêmes

Dites aussi halobactéries constituent un groupe majeur des Archéobactéries, pourront croître à des concentrations salines approchant la saturation (36%). Ainsi, les halobactéries ne se développent que dans des habitats à haute salinité comme les lacs salés, ils se développent aussi dans des produits alimentaires comme du poisson salés. Les halobactéries ont souvent une pigmentation rouge à jaune à cause des caroténoïdes qu'elles utilisent probablement comme protection contre la lumière forte du soleil. Leur principal représentant est Halobacterium.

#### ⇨ Thermophiles extrêmes

Ce sont des bactéries de nature thermophile dont les températures optimales de croissance sont voisines de 80°C et pour certaines sont bien plus élevées. Elles se développent principalement dans les sources d'eaux chaudes sulfureuses qui ont une acidité extrême. C'est pourquoi ces bactéries, très largement anaérobies, résistent également aux pH les plus bas et sont appelées pour cette raison thermoacidophiles extrêmes.

Parmi elles, *Pyridictium occultum* a une température optimum de croissance de 105°C, alors que *Sulfolobus* se développe à des températures moyennes de 87°C à 90°C et à des pH inférieur à 1.

#### ⇨ **Méthanogènes**

Les méthanogènes sont des anaérobies strictes. Elles obtiennent de l'énergie en convertissant le  $CO_2$ ,  $H_2O$ , le formiate, le méthanol, l'acétate et d'autres substances en méthane ou méthane et  $CO_2$ . Ils sont autotrophes et se développent sur  $H_2$  et  $CO_2$ , donc sont capables de croître dans des milieux réduits ou ils vivent en association avec d'autres bactéries qui leurs fournissent l'hydrogène et gaz carbonique nécessaires à la méthanogénèse.

### 4.4.2 Bactéria

Le mot «bactérie» est apparu pour la première fois avec le microbiologiste Gottfried en 1838, il vient d'un mot grec signifiant «bâtonnet». La famille des Bacteria comporte tous les procaryotes pathogènes connus à ce jour, ainsi que des centaines d'autres espèces non pathogènes. Elles ne sont visibles qu'au microscope optique ( $\times 103$ ) ou au microscope électronique ( $\times 106$ ). Elles ont une des activités fondamentalement bénéfiques pour les autres organismes vivants, notamment par leur rôle d'acteurs du recyclage de la matière organique et par leur implication dans de nombreux processus agro-industriels. Se sont des micro-organismes que l'on rencontre pratiquement partout. On rencontre des :

**Bactéries ubiquitaires** : se sont des bactéries qui ont colonisé tous les milieux (air, eau, sol et être vivant...). Certaines peuvent même vivre dans des conditions extrêmes.

**Bactéries commensale** : c'est l'ensemble de bactéries qui vivent sur ou dans un organisme sans être pathogène. Elle contribue soit à sa défense, soit à son fonctionnement, soit au bon état de ses muqueuses. La flore commensale est principalement sur les muqueuses : peau, tube digestif, arbre respiratoire, appareils génitaux.

**Bactéries pathogènes** : sont des bactéries qui provoquent un ensemble de troubles spécifiques plus ou moins sévères chez un hôte infecté.

**Bactéries opportunistes** : bactérie commensale normalement présente dans l'organisme, mais qui peut provoquer une maladie à la suite d'une diminution des défenses de l'organisme (chez les immunodéprimés ou les malades du SIDA...).

#### ⇨ **Classification bactérienne**

La forme des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification. Les bactéries sont subdivisées selon différents critères

- ⇨ La classification de BERGY sépare les bactéries en quatre groupes : les bactéries à Gram positif, les bactéries à Gram négatif, les mycoplasmes et les archaebactéries.
- ⇨ la morphologie bactérienne qui se définit par la forme des cellules, leurs dimensions et les arrangements ou les groupements (agencement) qu'elles constituent entre elles. Ces caractéristiques constituent les critères essentiels de reconnaissance et d'identification. Les bactéries peuvent être sphériques (coques ou cocci), en forme de bâtonnet (bacilles), ou intermédiaires. La morphologie des bactéries est représentée dans la figure 4.9 .



Pour les microscopes optiques à fluorescence : on utilise des molécules fluorescentes appelées des fluorochromes, comme colorant. La lumière excite les fluorochromes permettant ainsi d'obtenir une image de l'objet résultante de la lumière fluorescente émise par l'échantillon.

### **b. Microscopes électroniques**

Permettent une étude fine de la structure bactérienne ou l'anatomie bactérienne. Les microscopes électroniques nécessitent la déshydratation de l'échantillon et donc la mort des cellules et du fait du faible pouvoir pénétrant des électrons les échantillons doivent être sous forme de coupes ultra fines et donc soumis à des inclusions. Les microscopes électroniques utilisent des faisceaux d'électrons, on obtient un grossissement x 100 000. La microscopie électronique à balayage consiste à balayer une préparation par un faisceau d'électrons, permettant la mise en évidence des reliefs de l'échantillon.

### **c. Les colorations**

Divers procédés de coloration peuvent être utilisés pour l'observation de la cellule bactérienne.

#### **La coloration de Gram**

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste Danois.

la coloration de Gram est parfois appelée coloration V.L.A.F afin de se rappeler les colorants et dans quel ordre ils doivent être utilisés ( Violet, Lugol, Alcool, Fuschine)

La coloration de GRAM qui s'effectue, selon le schéma suivant, après avoir fait les étalements, les avoir fixés et séchés

L'étalement est recouvert de violet de gentiane : tous les éléments sont colorés en violet, en profondeur	
L'étalement est recouvert de lugol qui favorise la fixation du colorant	
L'étalement est recouvert d'éthanol ou d'un mélange d'éthanol-acétone Deux résultats différents	
Le violet de gentiane fixé ne sera pas dissous	Le violet de gentiane est dissous
Lavage à l'eau	
Les germes restent colorés	Les germes sont décolorés
L'étalement est recouvert d'une solution diluée de fuschine de Ziel ou safranine	
Les germes restent colorés en violet sur fond rose sont dits Gram +	Les germes sont colorés en rose sur fond rose sont dits Gram-

#### **Remarque**

Certaines bactéries telles que les Bacillus, apparaissent parfois roses et violettes sur le même frottis, on les dit « Gram labiles » et les différences de coloration sont dues à des différences d'âge des bactéries

⇒ **Anatomie bactérienne** Dans une cellule bactérienne on distingue différents types de structure :

- ▶ Structures constantes : Retrouvées chez toutes les espèces bactériennes :
  - Chromosome.
  - Cytoplasme.
  - Membrane cytoplasmique.
  - Paroi (absente chez les Mycoplasmes).
- ▶ Structures facultatives : Présentes chez quelques espèces seulement ou certains individus (souches) d'une espèce :
  - La spore.
  - La capsule, glycocalyx.
  - Les plasmides.
  - Les cils ou flagelles.
  - Les pilis

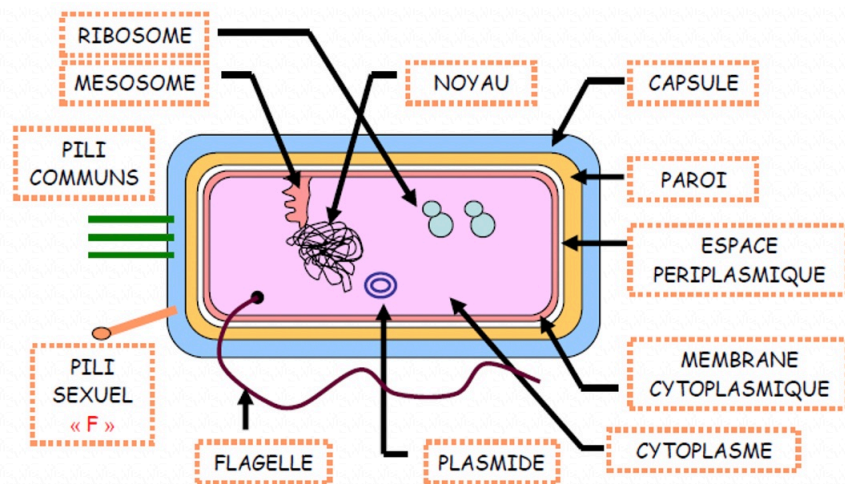


Figure 4.10. Structure de la cellule bactérienne [8]

## 1. Structures constantes

### 1.a. Paroi bactérienn

La paroi représente 20% du poids sec de la cellule bactérienne. Enveloppe rigide sous jacente à la capsule assurant l'intégrité de la bactérie. Elle est responsable de la forme, la rigidité et la résistance des cellules. Elle protège des variations de pression osmotique. Sa structure diffère selon qu'il s'agit de bactéries à Gram (+) ou à Gram (-) mais les deux ont un élément en commun : «Le peptidoglycane». Les Mycoplasmes sont dépourvus de paroi.

## Remarque

### Le peptidoglycane(PG)

- ✦ C'est un polymère de chaînes linéaires formées par l'alternance de deux sucres aminés : NAG (N-Acétyle Glucosamine) et NAM (N-Acétyle Muramique ) unis par liaison disaccharidique.
- ✦ Sur le NAM sont fixées des chaînes tétra peptidiques dont la composition varie selon les espèces.(exemple : L-Alanine – A-D-Glutamique - L-Lysine - D-Alanine)

Une différence de structure apparaît entre la paroi des bactéries Gram positif et celle des bactéries Gram négatif en microscopie électronique.

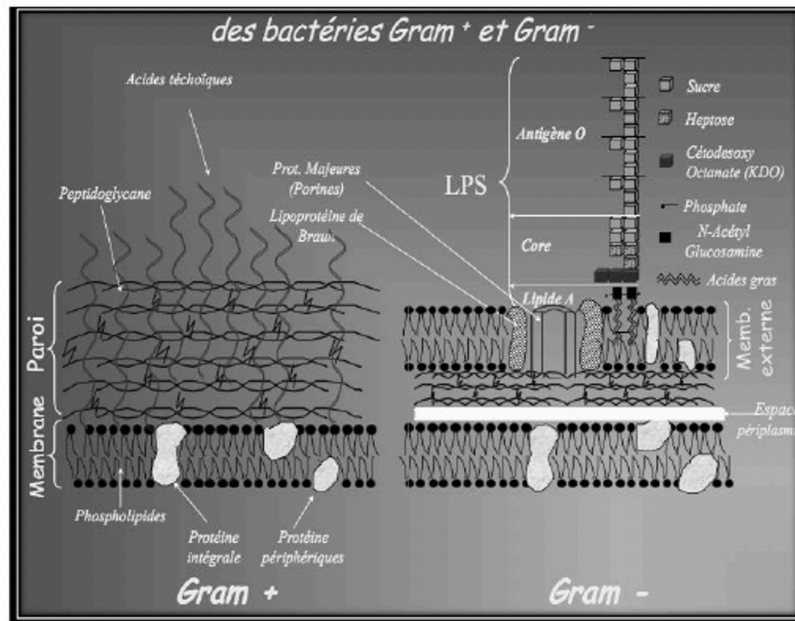


Figure 4.11. Structure la paroi Gram + et Gram - [6]

La paroi des Gram positif est en générale plus épaisse (15 à 80 nm) et d'aspect plus homogène, constituée en grande partie de peptidoglycane uni à des acides teichoïques (2<sup>e</sup> composant essentiel de la paroi, c'est un polymère de glycérol phosphate ou ribitol phosphates associés à un sucre) et lipoteichoïques. Les acides teichoïques se combinent à des ions Mg<sup>++</sup> pour rendre la paroi plus compacte. La paroi des Gram (+) est perméable aux antibiotiques.

La paroi des Gram négatif est plus fine (6 à 15 nm) et plus hétérogène. Sa structure est plus complexe que celle des Gram (+), constituée d'une fine couche de PG, recouverte d'une couche tri lamellaire appelée enveloppe externe formée de :

- Phospholipides (PL).
- Protéines (Porines).
- Lipopolysaccharides (LPS) constitué de 3 parties :
  - Le lipide A toxique : enfuit dans la membrane.
  - Le polysaccharide central constitué de 10 sucres(core).
  - La chaîne latérale O : ou Antigène O de nature oligosaccharidique, sa composition varie selon la souche bactérienne. Est considéré comme l'antigène de surface à la base des identifications sérologiques, correspond à l'endotoxine responsable du choc endotoxinique.

**Tab. 4.3.** Différentes caractéristiques de la paroi Gram+ et Gram -

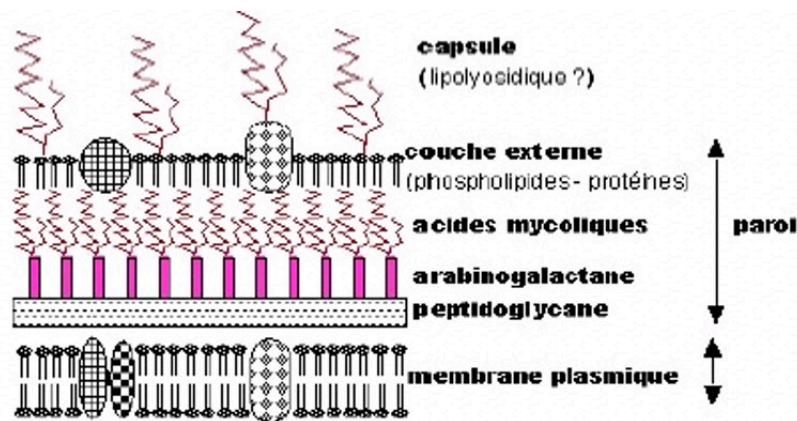
<b>Paroi des bactéries Gram (+)</b>	<b>Paroi des bactéries Gram (-)</b>
Osamines : N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)	
Acides teichoïques et lipoteichoïques	Pas d'acides teichoïques et lipoteichoïques
Acides aminés dont 4 majeurs : Ala (D et L) DGlu, L-Lys, acide diaminopomélique (DAP)	Mêmes acides aminés (moins de L-Lys et de DAP)
Peu de lipides (1 à 2%)	Lipides en grande quantité (10 à 20% dans la membrane externe)

Le LPS joue plusieurs fonctions, telle que l'attachement sur les surfaces, bloque l'entrée de substances toxiques. Il agit comme une endotoxine (lipide A) qui cause les symptômes des maladies induites par des Gram négatives.

### Paroi des BAAR (Bacilles Acido-Alcool Résistants)

Les mycobactéries sont classées parmi les bactéries à Gram (+). Leur paroi est riche en lipides (60%), formée de peptidoglycane associé à des molécules d'arabino-galactane, liées à des acides mycoliques, d'où :

- ⇨ Résistance aux lysozymes = multiplication intra cellulaire.
- ⇨ Imperméabilité aux antibiotiques courants.



**Figure 4.12.** Structure de la paroi des Bacilles Acido-Alcool Résistants [6]

### 1.b. Membrane cytoplasmique

Se trouve sous la paroi et délimite le cytoplasme. Elle possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec beaucoup moins de glucides et jamais de stérols (sauf chez les mycoplasmes). Elle est composée de 60 à 70 % de protéines et 30 à 40 % de lipides.

Formée d'une double couche de phospholipides ou s'insère des protéines enzymatiques : (perméases, enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, les enzymes de la chaîne respiratoire, les déshydrogénases et les coenzymes associés : NAD<sup>+</sup>, FAD). D'autres enzymes impliquées dans la synthèse des lipides et dans la réplication de l'ADN y sont localisées.

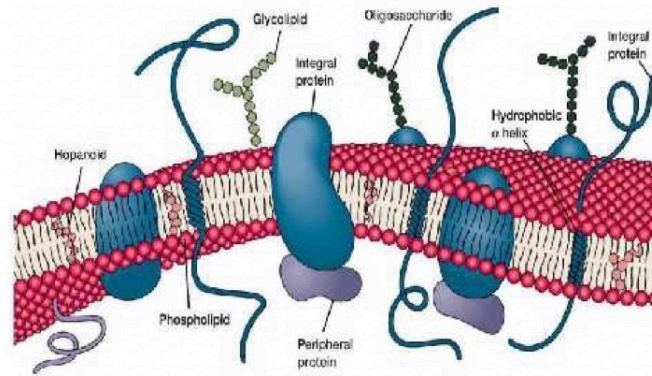


Figure 4.13. Structure de la membrane cytoplasmique [8]

### Fonctions de la membrane plasmique

**a-** Rôle de barrière semi-perméable à travers laquelle les métabolites pénètrent soit par diffusion simple soit par transport actif par les perméases

**b-** Site de fixation des flagelles

**c-** Possède des protéines membranaires ayant pour rôles :

Enzymes responsables de la biosynthèse et de l'excrétion dans l'espace périplasmique de molécules nécessaires à la synthèse de la paroi. Des Enzymes de la chaîne respiratoire permettant la synthèse d'ATP et celles de la photosynthèse. Des transporteurs de diverses molécules (ions, sucres, ...) dans les 2 sens.

### 1.c. Cytoplasme

Le cytoplasme ou le cytosol est un élément constant présent chez toutes les bactéries. Il constitue un hydrogel fluide et aqueux caractérisé généralement d'un pH neutre (7,2). La membrane plasmique délimite ce cytoplasme dans lequel baignent les différents éléments cellulaires, il contient :

- ⇨ Des enzymes.
- ⇨ Des ribosomes : interviennent dans la synthèse des protéines.. Sont composés de 2 sous-unités de taille différente (diamètre de 10 à 30 nm; constante de sédimentation de 70S). Sont composés de protéines et d'ARNr (particules ribo-nucléiques). On peut les colorer par du bleu de méthylène.
- ⇨ Des substances de réserve : chaque groupe de bactéries synthétise une seule catégorie de substances de réserve qui forment des agrégats, parfois de grande taille. Cela peut être des glucides (amidon et surtout glycogène), des lipides (poly-hydroxy-butyrates) et parfois des minéraux (fer, soufre).

### 1.d. Chromosome bactérien

Le chromosome bactérien est une unique molécule d'ADN diffus dans le cytoplasme, de forme circulaire, surenroulé, fermée et très longue (environ 1000 fois plus longue que la bactérie : 1360 µm chez E.coli). L'absence de membrane nucléaire conduit à parler d'appareil nucléaire ou de nucléoïde plutôt que de noyau. Cet ADN est associé à des protéines notamment des topoisomérases qui interviennent dans le repliement de la molécule d'ADN, par contre on ne trouve pas d'histones comme chez les eucaryotes.

L'ADN ou acide désoxyribonucléique est un polymère de PM élevé, est composé de deux chaînes complémentaires antiparallèles formée chacune d'un ensemble de nucléotides liés par des liaisons diester.

- ⇨ Nucléotide : «Groupement phosphorylé + sucre à 5 atomes + une base purique ou pyrimidique».
- ⇨ Bases puriques : Adénine A et Guanine G

- ⇨ Bases pyrimidiques : Cytosine C et Thymine T
- ⇨ Le sucre : Désoxyribose
- ⇨ Le groupement phosphoré : est un phosphate diester en 3' et 5' du desoxyribose

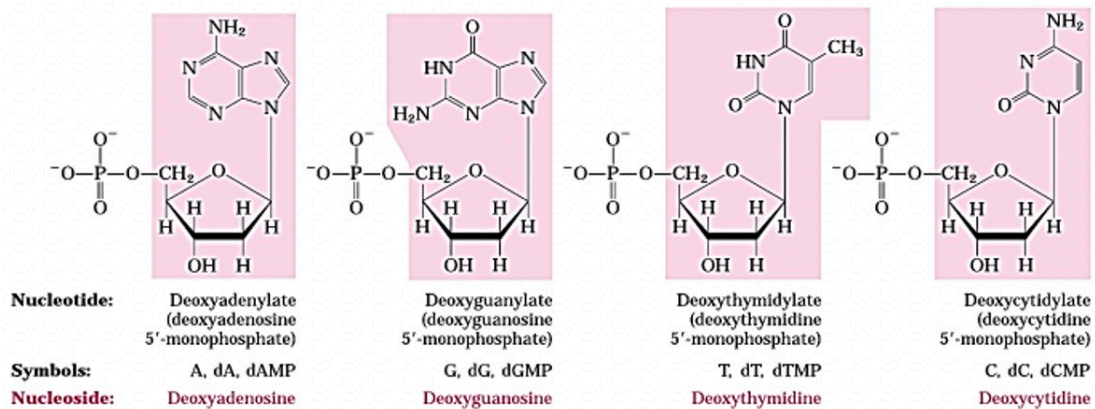


Figure 4.14. Structure des Désoxyribonucléotides [4]

Le chromosome est le support des caractères héréditaires, de l'information génétique. Il va se répliquer à l'identique pour que une cellule fille hérite du même potentiel génétique que la cellule mère.

## 2. Structure s facultatives

**2.a. Capsule** la capsule est une structure inconstante organisée qui forme une couche visqueuse, localisée à l'extérieur de la paroi cellulaire. Cette couche ne peut pas être facilement enlevée de la cellule. Elle est mise en évidence par l'ancre de chine. La capsule est en général de nature polysaccharidique, et quelquefois polypeptidique (*Bacillus anthracis* ou *megatherium*)

### Fonctions de la capsule

Les bactéries peuvent vivre sans la capsule, mais cette dernière lui confère des avantages grâce à ses rôles :

- De protection : contre les Ultraviolets, la dessiccation, les agents physiques et chimiques.
- De Virulence (la pathogénicité) : Elle s'oppose a la phagocytose en diminuant l'adhésion de bactéries aux macrophages. Elle exerce un chimiotactisme négatif sur les leucocytes.
- Antigénique : les Ag capsulaires sont responsable de la spécificité sérologique (Ag K). A partir de cette propriété, une classification peut être établie (ex : 70 types sérologiques différents chez *Streptococcus pneumoniae*).

**2.b. Cils et Flagelles** Les cils et les flagelles sont des appendices locomoteurs rigides et fins de nature protéique (composés de flagelline) avec une structure hélicoïdale qui s'étendent de la membrane plasmique jusqu'à l'extérieur en traversant la paroi bactérienne. Ces structures qui caractérisent les bactéries mobiles dont le diamètre est d'environ 10 à 25 nm (ex : 12 nm chez *Proteus* et de 20 -25 chez *Pseudomonas*).

### Rôles des flagelles

- La locomotion
- Rôle antigénique Les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes. En présence de l'anticorps correspondant à leur Ag H, les bactéries agglutinent et s'immobilisent. La spécificité antigénique repose sur le nombre et la séquence des acides aminés de la flagelline.
- Fixation des bactériophages Les flagelles sont le lieu de fixation de certains bactériophages.
- Le chimiotactisme Certaines substances attirent les bactéries mobiles, d'autres les repoussent.

## 2.c. Plasmides

La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extra chromosomiques, capables d'autoréplication. On les appelle plasmides ce sont de petites molécules d'ADN bicaténaire, circulaire, surenroulé, ayant une réplication indépendante de celle du chromosome.

- ⇨ Capables de se transmettre aux cellules filles après division cellulaire.
- ⇨ Capables de se propager d'une bactérie ou d'une espèce à une autre par un processus de conjugaison ou de transformation.
- ⇨ Peuvent porter des gènes de virulence ou de résistance aux antibiotiques/antiseptiques.

Certaines bactéries possèdent plusieurs plasmides différents. On classe les plasmides selon leur fonction et leur propagation. on distingue :

- **plasmides conjugatifs**, qui portent le gène responsable de la synthèse des pili sexuels, nécessaires à la conjugaison.

- **plasmides R (facteurs de résistances)** : ils permettent aux bactéries de résister aux antibiotiques.

- **plasmides Col** qui codent pour des protéines dites bactériocines, telle que la colicine d'*E.coli*. Les bactériocines donnent un avantage à la bactérie en tuant des souches très proches systématiquement parlant d'*E.coli*.

- **plasmides de virulence** qui codent pour des toxines responsables des symptômes causés par des bactéries pathogènes.

- **Plasmides métaboliques** qui codent pour des enzymes capables de cataboliser des molécules complexes, aromatiques qui polluent notre environnement (pesticides) ou bien des nutriments comme le lactose, citrate de Na, urée. Enfin la fixation de l'azote chez *Rhizobium*.

## 2.d. Pili

Les Pili ou fimbriae signifie structure chevelue ou bien filament ou fibre . Différentes des flagelles, ce sont de courts appendices protéiques fines et plus minces que les flagelles qui mesurent de 3 à 10 nm de diamètre et plusieurs  $\mu\text{m}$  de long, sont largement retrouvé chez les Gram (-) et rares chez les Gram (+). . On distingue 2 sortes de pili :

- **Les pili communs ou de type I** : ils sont nombreux autour de la bactérie, courts (de l'ordre de  $1\mu\text{m}$ ) et rigides .Ils sont impliqués dans les propriétés d'adhésion des bactéries aux tissus. Ils constituent donc un facteur de virulence pour les bactéries pathogènes.

- **Les pili sexuels ou de type II** : ils sont plus longs (10  $\mu\text{m}$  environ) et se terminent par un renflement. Leur nombre varie entre 1 et 4. Ils ont un rôle dans la conjugaison bactérienne (un des 3 modes de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre).

## 2.e. Spores

Ce sont des structures de résistance formées par certaines bactéries lorsque les conditions deviennent défavorables (carence en éléments nutritifs ...). Produite par des bacilles Gram+ essentiellement. Les spores sont de petites unités ovales ou sphériques. Elles peuvent déformer ou non le corps bactérien. Leur position dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminale.

La spore comporte plusieurs couches qui sont de l'intérieur à l'extérieur :

- Le peptidoglycane
- Le cortex : comporte du Dipicolinate de  $\text{Ca}^{++}$  (synthétisé lors de la sporulation) responsable de la thermo-résistance de  $80^\circ$  à  $100^\circ\text{C}$ .
- Les tuniques externes : Formées de Kératine ce qui lui confère une résistance aux solvants organiques.

Durant la sporulation l'eau sort lentement de la spore. Cette déshydratation permet de résister aux enzymes à qui l'eau est nécessaire à leur action. Les spores sont détruites par autoclavage à  $120^\circ\text{C}$  durant 15mn. Les contaminations redoutables sont celles des spores de *Clostridium botulinum* qui germent en milieu anaérobies et libèrent des toxines qui peuvent être mortelles.

---

## Bibliographie

- [1] Anne Marie Leseney and Dominique Bounir. *ARPC Biochimie*. Université Pierre et Marie Curie, 2002.
- [2] Paul Arnaud, Brigitte Jamart, Jacques Bodiguel, and Nicolas Brosse. *Les cours de Paul Arnaud-Cours de Chimie organique-19e édition : Cours avec 350 questions et exercices corrigés*. Dunod, 2015.
- [3] Serge Weinman. *Toute la biochimie*. Dunod, 2013.
- [4] Abderrazak Marouf and Gérard Tremblin. *Abrégé de biochimie appliquée*. EDP sciences, 2021.
- [5] E.HEBERT. *Cahier du PCEM : Biochimie*. Atlani, 2000.
- [6] Lansing M Prescott, Joanne M Willey, M Sherwood Linda, and J Woolverton Christopher. *Microbiologie*. De Boeck 4ème édition, 2013.
- [7] Daniel Prieur, Claire Geslin, and Christopher Payan. *Mini manuel de microbiologie : cours + QCM-QROC*. Edition Dunod, 2011.
- [8] Jean Figarella, Guy Leyral, and Michèle Terret. *Microbiologie générale et appliquée*. Editions Jacques Lanore, 2001.