

PROPRIETES DES PROTEINES

Plan du cours

- I. SOLUBILITE
 - a. INFLUENCE DU pH
 - b. INFLUENCE DE LA FORCE IONIQUE
 - c. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE
 - d. INFLUENCE DES SOLVANTS ORGANIQUES
 - e. INFLUENCE DES DETERGENTS
 - f. INFLUENCE DES AGENTS CHIMIQUES
- II. PROPRIETES OPTIQUES
- III. CARACTERE AMPHOTERE
- IV. ESTIMATION DU PHI D'UNE PROTÉINE

I. SOLUBILITE

Les relations protéines - solvants dépendent de l'interaction des liaisons peptidiques avec les molécules du solvant par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes.

La solubilité aqueuse est quant à elle variable:

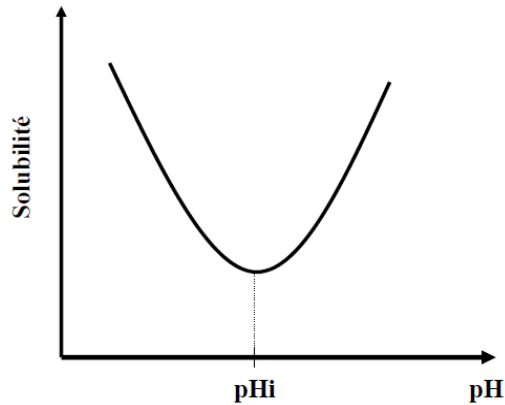
- Albumine: soluble dans l'eau pure.
- Globulines: solubles uniquement en présence de faibles quantités de sels neutres.
- Kératines, collagènes: insolubles dans toutes ces conditions.

La solubilité des protéines dépend de certains paramètres :

- Influence du pH.
- Influence de la concentration en électrolytes de la solution
- Influence des solvants organiques: les alcools méthyliques, l'acétone précipitent les protéines.

a. INFLUENCE DU pH

A force ionique et à température constante, la solubilité d'une protéine est minimum pour une valeur de pH égale à son pHi, car à ce pH la protéine se comporte comme une molécule neutre et ses possibilités d'interaction avec l'eau par le biais de liaisons hydrogènes sont donc minimum.



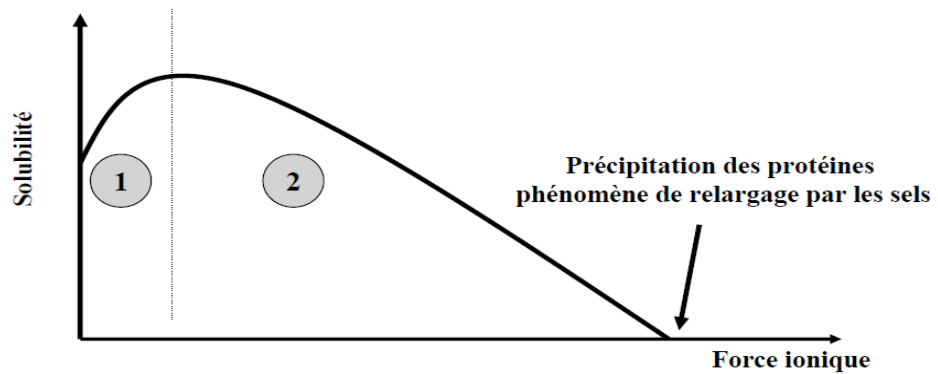
b. INFLUENCE DE LA FORCE IONIQUE

- Les sels interviennent à la fois par leur charges et leur concentrations.
- $U = \frac{1}{2} \epsilon c.z$

*C: concentration de chaque ion.

*Z: valence de chaque ion.

Les protéines sont solubles à faible force ionique, alors qu'à force ionique élevée (concentration en sels augmente) les protéines précipitent : c'est l'effet de relargage: utilisé dans les techniques de précipitation par les sels: sulfate d'ammonium.



- 1 **Phase 1** : effet dissolvant (salting in), l'augmentation de la force ionique stimule le caractère polaire de la protéine qui peut ainsi plus facilement réagir avec l'eau
- 2 **Phase 2** : phénomène de relargage par les sels (salting out), la solubilisation des sels présents en forte concentration mobilise les molécules d'eau qui sont ainsi retirés de leur contact avec la protéine. On observe rapidement la précipitation des protéines présentes

EXPLOITATION DU PHÉNOMÈNE DE RELARGAGE PAR LES SELS

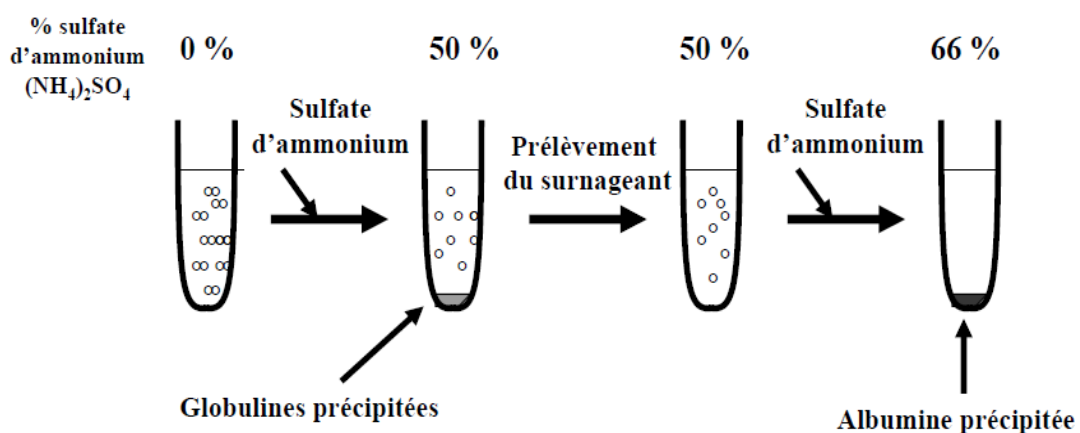
Plus une molécule est polaire, plus la force ionique devra être importante pour observer le phénomène de relargage par les sels.

Pour une force ionique donnée, certaines protéines pourront être encore solubles alors que d'autres auront déjà été précipitées.

Ce principe est couramment utilisé lors des premières étapes de purification d'une protéine pour séparer rapidement et à moindre coût les protéines des autres composants présents dans le milieu.

Il est également envisageable d'exploiter le phénomène de relargage par les sels afin de séparer des protéines.

Séparation des globulines et de l'albumine du sérum de bovin par précipitation au sulfate d'ammonium



- Albumine
- Globulines

c. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

L'élévation thermique est un facteur de dénaturation des protéines et par conséquent de leur précipitation.

En dessous de 40°, la T° favorise la solubilité de certaines protéines.

La dénaturation d'une protéine correspond à la destruction des liaisons qui maintiennent en place les niveaux de structure quaternaires (s'il y a lieu), tertiaires et secondaires.

La protéine se présente sous une configuration désordonnée, seule la structure primaire n'est pas perturbée. En conséquence, la protéine n'est plus sous sa forme native et a donc perdu son activité biologique.

Suivant les facteurs de dénaturation, le processus peut être réversible ou irréversible.

d. INFLUENCE DES SOLVANTS ORGANIQUES

Les protéines sont insolubles dans les solvants organiques qui augmentent les forces d'attraction et facilitent ainsi l'agrégation des protéines entre elles.

e. INFLUENCE DES DETERGENTS

Ils pénètrent dans le cœur des protéines et perturbent les interactions hydrophobes.

Exp: le désoxycholate de sodium,
(i facilite le passage en solution de certaines protéines enzymatiques).

f. INFLUENCE DES AGENTS CHIMIQUES

- Urée et Guanidine: facilitent la pénétration de l'eau dans les protéines, ce qui perturbe les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogènes.
- β Mercaptoéthanol entraîne la rupture des ponts disulfures.
- L'acide trichloracétique à 5% provoque la précipitation des protéines.

II. PROPRIETES OPTIQUES

l'absorbance de la lumière:

Les solutions protéiques ne sont pas parfaitement limpides, elles absorbent et diffusent de la lumière

- Les solutions protéiques absorbent la lumière:
 - La liaison peptidique Absorbe à 200nm.
 - Les résidus aromatiques absorbent dans l'UV à 280nm.

La diffusion de la lumière: les protéines diffusent une partie de la lumière.

- Application :
- Développement des méthodes de dosage : (Spectrophotométrie)
 - La diffusion permet dans certaines conditions une appréciation du poids moléculaire.

III. CARACTERE AMPHOTERE

Les protéines possèdent au moins deux fonctions à caractère acido-basique (extrémités N et C terminales), elles ont donc un caractère amphotère.

La charge globale d'une protéine sera fonction du bilan des charges présentes sur chaque site acido-basique.

Cette charge globale pourra être positive, nulle ou négative.

La protéine pourra, en fonction du pH du milieu dans lequel elle se trouve, se comporter comme un cation, comme une molécule neutre ou comme un anion.

Le pH ou 100 % de la protéine est sous forme globalement neutre (forme zwitterion) correspond au pHi de la protéine.

Lorsque le pH est inférieur au pHi, la forme majoritaire de la protéine est la forme cation.

Lorsque le pH est supérieur au pHi de la protéine la forme majoritaire de la protéine est la forme anion.

IV. ESTIMATION DU PHI D'UNE PROTÉINE

Le pHi d'une protéine dépend du pKa de chaque fonction acido-basique.

Sachant que le pHi correspond au pH où la protéine est entièrement sous la forme zwitterion, on peut facilement estimer sa valeur par une équation du type:

$pHi = 1/2 (pKa1 + pKa2)$ avec pKa1 et pKa2 correspondant aux pKa des couples acidobasiques impliqués dans la formation de la forme zwitterion.

