

Dénaturation des protéines



Conformation native



Conformation native



Conformation native



Dénaturation thermique



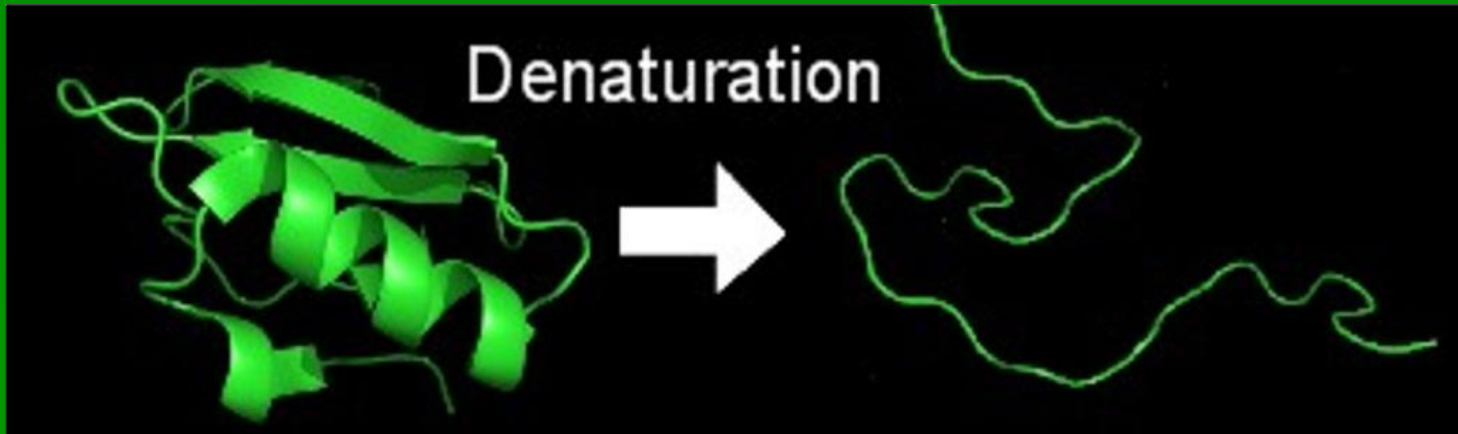
Dénaturation mécanique



Dénaturation chimique

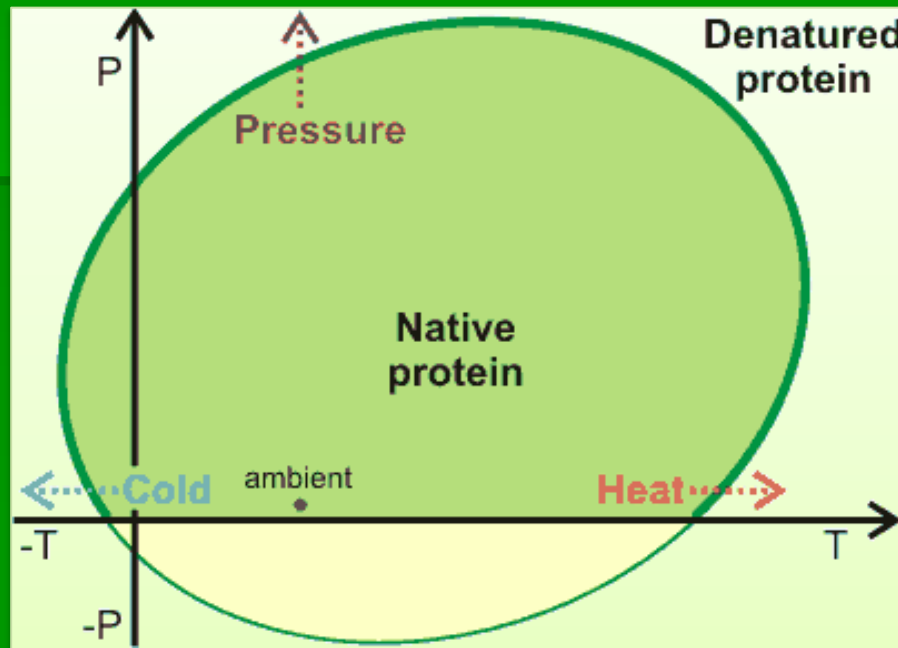
Dénaturation des protéines

- **Dénaturation**: destruction de la conformation native, sans affecter la structure primaire (liaisons peptidiques)
- **Conséquences**
 - Absence d'activité biologique
 - Insolubilité aqueuse → précipitation
- **Cause**: dissociation des liaisons faibles → déstabilisation de la conformation native.



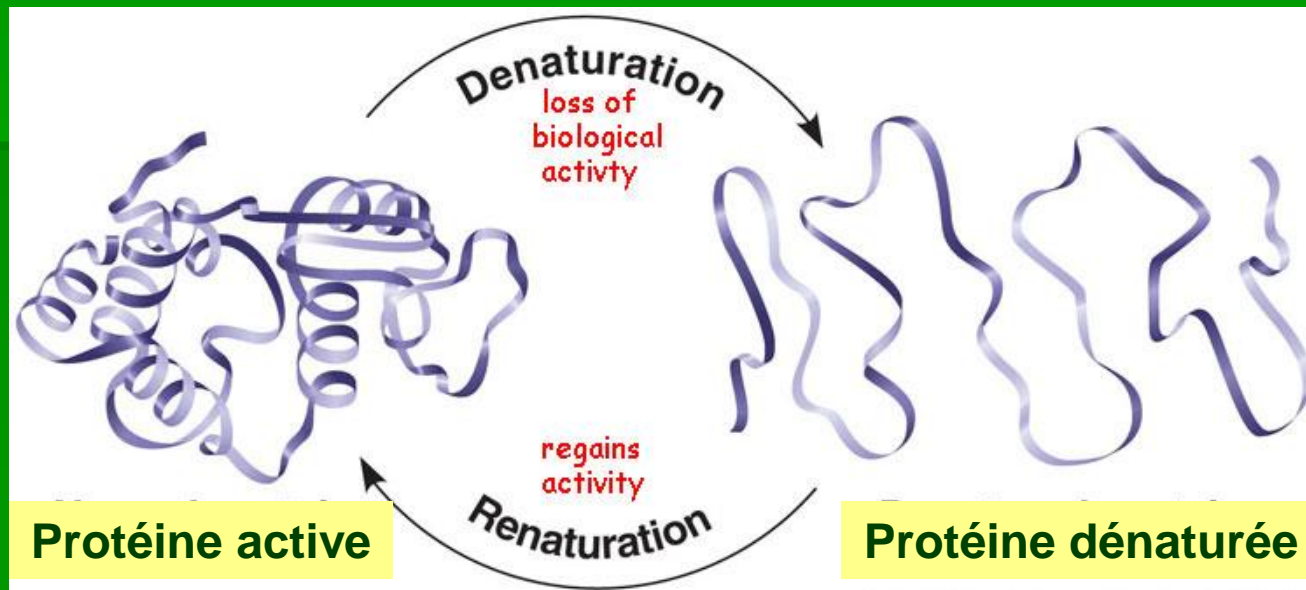
Agents dénaturants

- **Acides, bases:** Δ pH \rightarrow dissociation des attractions électrostatiques, liaisons hydrogènes (pI \rightarrow solubilité minimale des protéines)
- **Agents chimiques:** urée, sels, solvants organiques \rightarrow interaction avec l'eau environnante, altération des liaisons hydrogènes
- **Δ température:** \uparrow \rightarrow agitation thermique \rightarrow collisions moléculaires
- **Radicaux libres:** dénaturation *in vivo* \rightarrow recyclage des acides aminés.

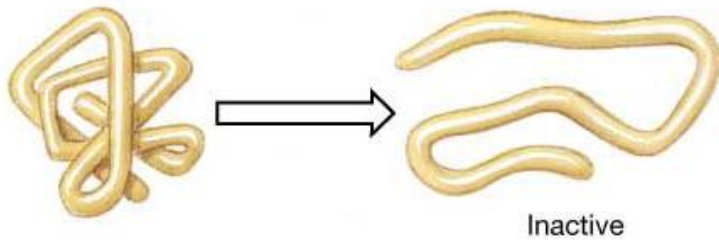


Dénaturation – renaturation

- **Dénaturation réversible / irréversible**: selon la possibilité de reprise de l'activité biologique, après enlèvement de l'agent dénaturant
- **Dénaturation** → précipitation → absence d'activité biologique
- **Renaturation** → solubilisation ± retour à la conformation native → reprise de l'activité.



Dénaturation réversible et irréversible

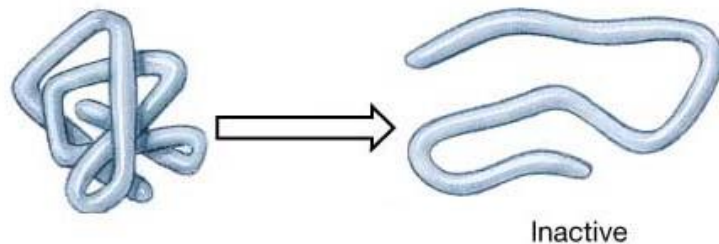


No reconfiguration;
permanently
denatured



Example: fried egg

Dénaturation irréversible



Reconfiguration;
temporarily
denatured

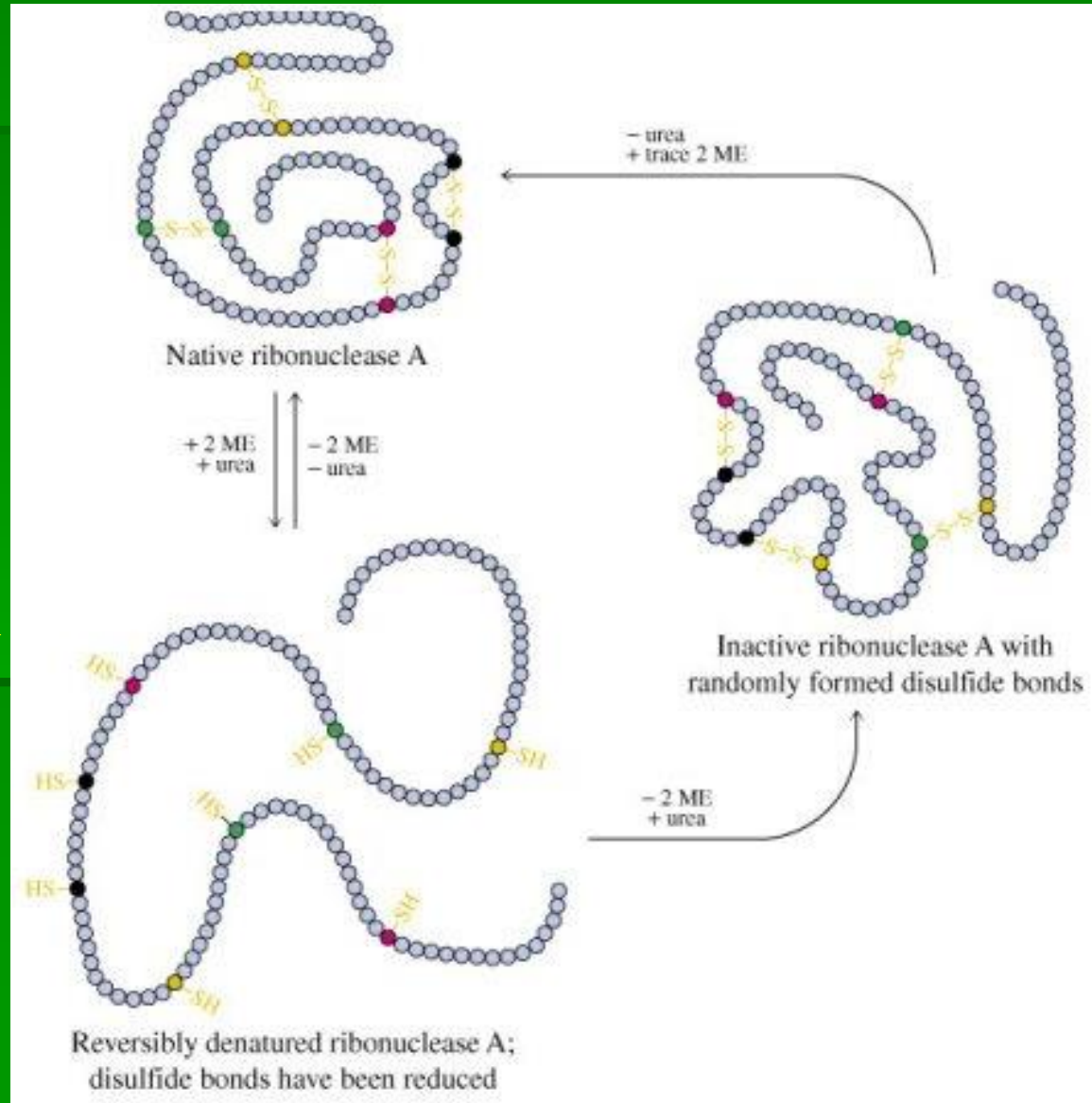


Example: warmed milk

Dénaturation réversible

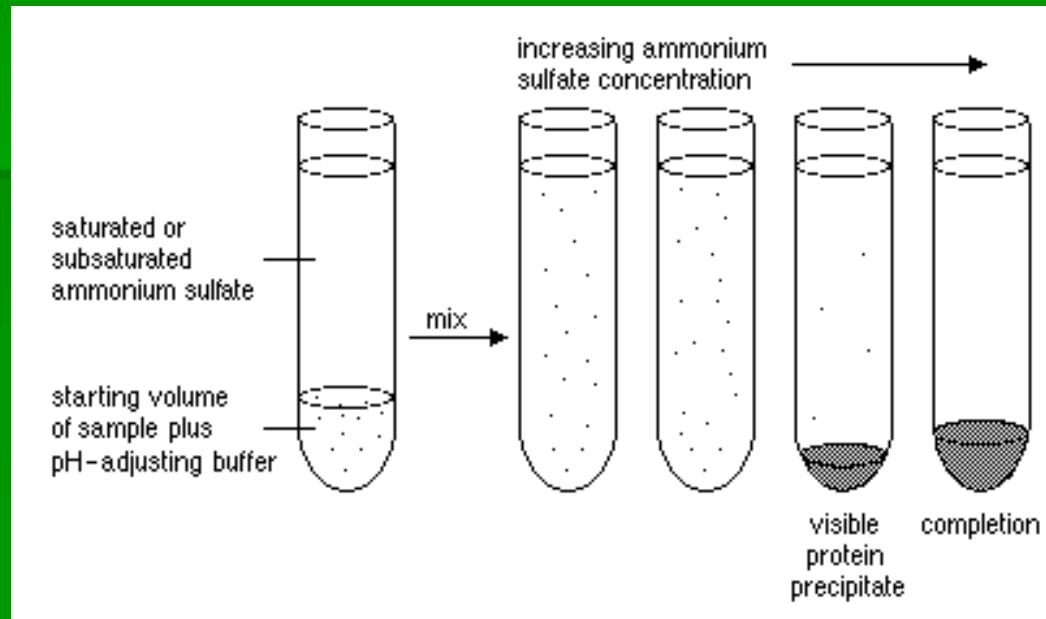
Dénaturation de la ribonucléase

Dénaturation réversible
(urée, β -ME): renaturation spontanée en milieu aqueux \rightarrow l'information nécessaire au repliement des protéines est présente dans la séquence d'acides aminés \rightarrow la conformation native est déterminée par la structure primaire.



Précipitation fractionnée des protéines

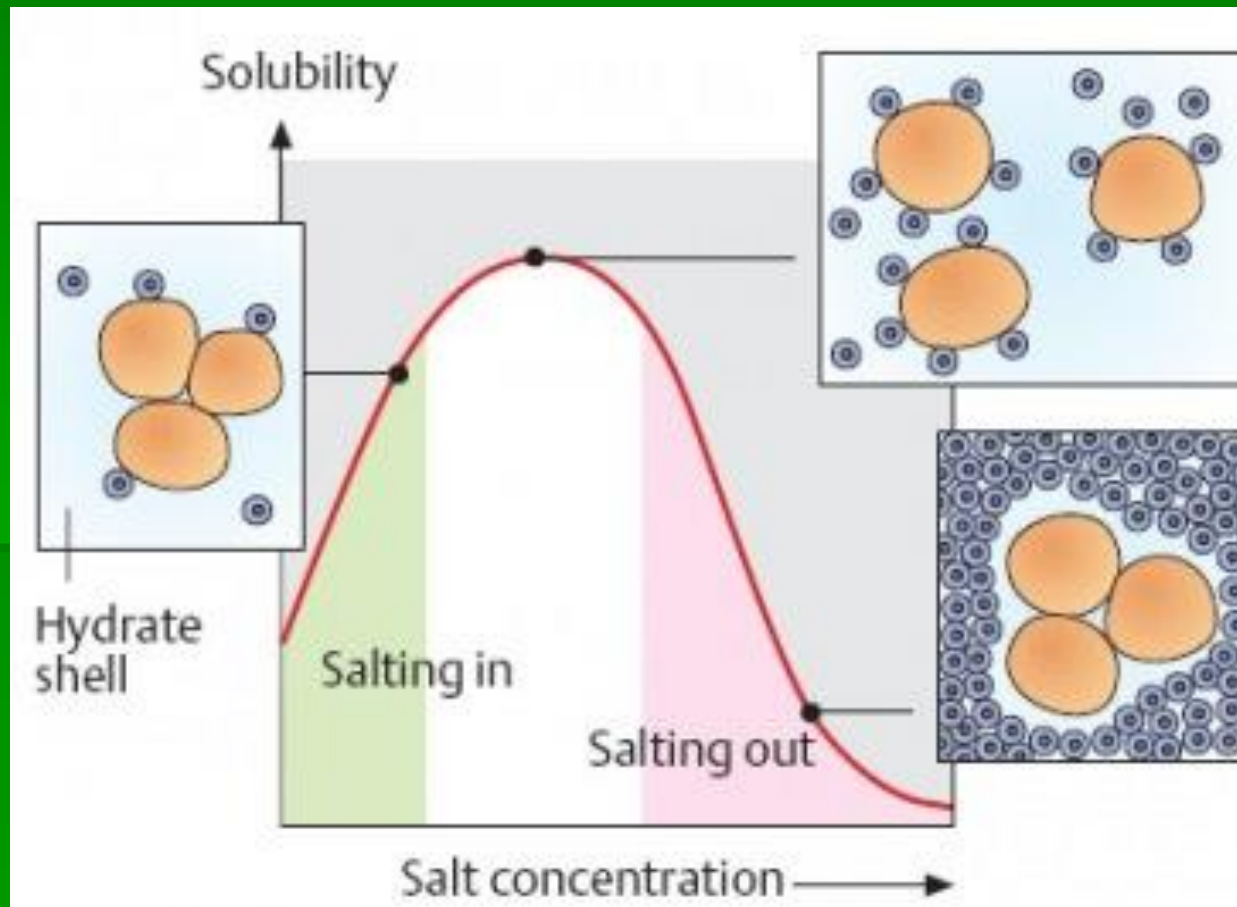
- **Conditions dénaturantes:** spécifiques pour chaque protéine
- **Précipitation fractionnée:** méthode de séparation des protéines
 - Protéines + agent dénaturant 1 → précipitation de la protéine I → centrifugation → précipité (protéine I) + surnageant (autres protéines)
 - Surnageant + agent dénaturant 2 → précipitation de la protéine II → centrifugation → précipité (protéine II) + surnageant (autres protéines)...



Méthodes de précipitation fractionnée

- Acide trichloracétique, solvants organiques (acétone, alcools)
 - Action à basse température (-20°C)
 - Le précipité peut être dissous, mais la fonction biologique ne sera plus restaurée
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
 - Action \approx douce \rightarrow renaturation possible (certaines protéines)
 - Faible concentration \rightarrow \uparrow solubilité (*salting-in*)
 - Forte concentration \rightarrow interaction avec la couche d'hydratation \rightarrow dénaturation + précipitation (*salting-out*)
 - Concentration spécifique \rightarrow précipitation de chaque protéine.

Précipitation avec sulfate d'ammonium



Applications médicales

- **Sérum + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30% (volume égal): 2 fractions**
 - Précipité (globulines) → séparation par centrifugation
 - Surnageant (albumine) + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30% → précipitation → séparation par centrifugation
- **Albumine: 4,5-5,5 g/dL**
 - ↓ sérique: apport insuffisant (malnutrition, malabsorption), synthèse déficitaire (hépatites), pertes (hémorragies, brûlures, maladies rénales...)
- **Globulines: 1,5-2,5 g/dL**
 - ↑ sérique: infections, inflammations, gammopathies monoclonales (prolifération tumorale des plasmocytes).

