

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ DE GHARDAIA  
INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Projet de Fin d'Etudes  
En vue de l'obtention du diplôme de  
**Licence**

**Domaine** : Sciences de la nature et de la vie  
**Filière** : Biologie  
**Spécialité** : Biochimie

*Thème*

Dosage des protéines céphaliques  
de  
l'espèce *Tuarga insignis*

Présenté par:

MAMINE Asma

TARRACHE Mourdia

Encadreur : HAMID OUDJANA Aicha

Examineur : BEN BRAHIM F.

Juin 2012

## **Remerciements**

" - سورة البقرة الآية 152

":

*Louange à Allah. qui nous à bénis pour terminer ce travail, expirant être purement pour la promenade visage et décent dans les traces des mots du poète:*

*Puis l'enseignant vénéré dès que  
l'enseignant d'être un messenger.*

*Nous remercions beaucoup:*

*Notre enseignante responsable qui à souffert. Trouble et nous a aidés en toute sincérité et dévoué pour nous et le temps précieux et une grande partie de nous guider pour servir notre mémoire, nous espérons à dieu de le faire dans la balance de mérites.*

**HAMID OUDJANA Aicha.**

*À Mr. BEN BRAHIM.F, d'avoir examiner ce travail.*

*À Chef de Département Mr. CHEIKH SALAH.*

*À Chef de Institue Mr. ZERGOUN.*

*À tout les enseignants du primaire à l'université et surtout les enseignants de sciences de la nature et de la vie et surtout surtout les professeurs suivants :*

**KHEN, HAJ SAÏD, BEN HALIMA, BEN BRAHIM, KAMASSI, TELLI.**

*Nous remercions également tous les travailleurs de la bibliothèque centrale surtout des sciences de la nature et de la vie et les travailleurs de laboratoire biochimie.*

*À tous nos collègues de département des sciences de la nature et de la vie surtout  
**Institue de Biochimie.***

*Gratitude à tous ceux- ci la reconnaissance, et le respect.*

*Nous disons, Dieu nous récompensera la meilleur des chances.*

**MAMINE Asma.**

**TARRACHE Mourdia.**

## *Dédicace*

*Pour chacun de la sécurité de **Dieu** notre seigneur et de l'islam et **Mohammed** paix soit sur lui un prophète et un messenger.*

*À la rose parée par des tas de la terre parfumée de basilic. Cela a été attirée sur les pages de mon visage la plus belle image à la vie **ma mère**.*

*Pour le chemin lumineux de ma vie et la plantation de la graine de bonté et à lumière vertueux et leurs fruits signification; **chère père**.*

*À **mes grande mères** et **mon grand père** q' Allah l'âge.*

*Pour qui j'ai grandi parmi eux et j'ai. Partagé ma vie: **mes frères. Mohammed, Abd el Jabar, Abd el Basset, Yahia et Souad**.*

*À ma friend dans ce travail **Mourdia** et leur famille.*

*À mes oncles et mes tantes et leur enfants sans oublier ma tante **BOUDJLIDA Hadda** et ma sœur **Khadija** qui m'aide par toutes les moyennes.*

*À mon premier professeur **ABD EL HAKEM Taher***

*Pour le plus chère de l'amitié. Que je partage avec eux un jour **Amel, Barkana, Fatima Fouzia, Hanane, Houria, Nadjat, Siham, Souad, Widad** sans oublier **Rosa** et leur famille.*

*À tous les fils, et tous les agents de sécurité de la cité.*

*Pour leur rappeler de tout mon cœur et ma plume oubliée.*

*À tous je dédie ce modeste travail.*

*Asma.*

## *Dédicace*

*Mon dieu, les moments ne seront jamais beaux sans penser à toi, et le jour du jugement ne sera jamais bon sans ton pardon, le paradis ne sera jamais beau sans te voir ... tu es mon Dieu.*

*A l'enseignant de l'humanité et la source de science et des connaissances ... au prophète de clémence et la lumière des mondes ... notre prophète Mohamed que salut et la prière du Dieu soit en lui ...*

*A la personne que dieu l'a donné la solennité ... à la personne que je porte son nom avec fierté ... à la personne que mon cœur lui manque toujours ... à mon père que Dieu l'accueil dans son vaste paradis.*

*A mon ange dans cette vie ... le sens de l'amour et de l'affection ... le sourire de ma vie et le secret de mon existence ... à la personne que ses prières étaient le secret de mon succès et son affection était comme la baume pour mes blessures... à la personne la plus précieuse pour moi dans cette vie ... à ma mère.*

*A la main qui a enlevé toutes les obstacles devant moi ... à la chandelle qui a éclairé mon parcours ... à la personne que si j'utilise tout les mots ne seront pas suffisant pour le dire merci... cette personne était comme un père pour moi et pas un frère ... à toi mon cher frère Addine*

*A mes frères Djilali Abdelmalek et I Smail que je les aime beaucoup... qui sont ma force dans cette vie après mon dieu ...*

*A mon âme-sœur ... ma sœur Naima ...*

*A la personne que je vois l'espoir dans ses yeux et le bonheur dans son sourire ... à la personne qui était comme ma mère à ma Sœur Amra et son époux Abderrahmane et ses fils Djamel Eddine, Shaima, et le jumeaux Ahmed et Djihad et particulièrement Abdelkhalek qui m'a aidé beaucoup dans ce travail ...*

*A qui je les considère comme mes sœurs les épouses de mes deux frères Khadidja et Nassima ...*

*A la fille de ma sœur et ma copine Kelthoum à la fleure du narcisse qui ramène le bonheur et la joie et les parfums dans notre maison la fillette de mon frères Fatma Zahra*

*A ma tante Roukia ... à mon oncle Eddine à tout mes tontons et ses familles et particulièrement à la personne qui m a poussé et motivé beaucoup pour finir mon parcours d'étude mon tonton Slimane ...*

*A ma partenaire dans ce travail Asma ...*

*Au personnes qu'elles vont me manqué et que j'espère bien que je vais les manqué aussi ... et que ses photos resteront toujours dans mon esprit... mes amies Mebarka – Rachida – Nassira – Aycha ... à Inaya et sa famille et particulièrement sa mère ...*

*A tout les étudiants de la troisième année science de la nature et de la vie LMD et particulièrement les étudiants de la spécialité Biochimie ...*

*A toutes les personnes qui connaissent Mourdia ...*

*Mourdia*

## *Liste d'abréviations*

Aa:	Acide aminée
Ala :	Alanine
Cys :	Cystéine
DEAE- cellulose:	diéthylamino- éthyle cellulose
DNA :	Acide disoxy ribonucléique
Hyp :	Hydroxypro
Ile :	isoleucine
ATP :	Adénosine tri phosphate
B.S.A :	l'Albumine de Sérum de Bœuf
Leu :	Leusine
NOE :	Nuclear Overhauser Effect
Ox :	Oxidation
Phe :	Phénil alanine
Pro :	Proline
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
S/U :	Sous Unité
Ser :	Serine
Trp :	Tryptophane
Red :	Réduction
Tyr :	Tyrosine
Val :	Valine

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 01	Fonction des protéines.....	27
Tableau 02	Différent méthode de l'isolement et de purification des protéines.....	30

## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Figure 01	Déférents Liaisons intervenants dans le repliement des protéines.....	08
Figure 02	Repliment de protéine.....	14
Figure 03	Différentes structures de la protéine.....	16
Figure 04	Organisation structurale de la triple hélice du collagène.....	19
Figure 05	Kératine (abondante dans la peau, cheveux, ongles.....	20
Figure 06	Cheveu vu au microscope électronique. Le cheveu est fait de kératine.....	20
Figure 07	Fibroïne constituée essentiellement de feuillets plissés .....	20
Figure 08	Immunoglobuline avec 2 sites de fixation de l' antigène.....	22
Figure 09	L'étape de la purification des protéines.....	29
Figure 10	Chromatographie d'exclusion moléculaire .....	31
Figure 11	Solubilité et précipitation des protéines .....	31
Figure 12	Phénomène de dessalage .....	32
Figure 13	La morphologie des acridiennes.....	35
Figure 14	La forme générale de la tête .....	36
Figure 15	Les différentes formes de l'extrémité abdominal du male .....	37
Figure 16	L'extrémité abdominal du femelle.....	38
Figure 17	Taux de protéines chez les individus mâles et femelles de <i>Tuarega insignis</i> .....	42
Figure 18	Le poids des têtes chez les individus mâles et femelles de <i>Tuarega insignis</i> .....	43

## *Table des matières*

Introduction .....	02
<b>CHAPITRE I- Aperçu sur les protéines</b>	
I.1.-Généralité.....	04
I.2-Structure des protéines .....	04
I.2.1.-Composition en aminoacides.....	04
I.2.1.1.-Hydrolyse .....	05
I.2.1.2.-Séparation et identification des Aa contenus dans l'hydrolysat .....	05
I.2.1.2.1.-Chromatographie de partage .....	05
I.2.1.2.2.-Chromatographie par échange d'ions .....	06
I.2.1.2.3.-Electrophorèse .....	06
I.2.1.2.4.-Dosage des Aa.....	06
I.2.2.-Conformation tridimensionnelle des protéines .....	07
I.2.2.1.-Structure primaire .....	07
I.2.2.2.-Structure secondaire.....	09
I.2.2.2.1.-Hélice .....	10
I.2.2.2.2.-Feuillets .....	11
I.2.2.2.3.-Coude .....	11
I.2.2.2.4.-Pelote statistique .....	11
I.2.2.3.-Structure supersecondaire .....	11
I.2.2.4.-Structure tertiaire .....	13
I.2.2.5.-Structure quaternaire .....	14
I.2.2.5.1.-Structure quaternaire et activité biologique .....	16
I.3.-Principales propriété des protéines .....	16
I.3.1.-La solubilité .....	16
I.3.2.-Influence des électrolytes .....	16
I.3.3.-Influence des pH.....	17
I.3.4.-Influence des solvants organiques.....	17
I.3.5.-Caractère amphotère .....	17
I.3.6.-Pression osmotique.....	17
I.4.-Classification des protéines .....	18
I.4.1.-Classification selon la forme des molécules.....	18
I.4.1.1.-Protéines fibreuses ou scléroprotéines.....	18
I.4.1.2.-Protéines globulaires ou sphéroprotéines.....	21

I.4.1.2.1.-Les principales fonctions des protéines globulaires chez l'homme.....	21
I.4.2.-Classification selon la solubilité.....	22
I.4.3.-Classification selon la composition.....	23
I.4.3.1.-Holoprotéines.....	23
I.4.3.2.-Hétéroprotéines.....	23
I.5.-Métabolisme des protéines .....	24
I.5.1.- Elimination et devenir du groupe amone des aminoacides .....	24
I.5.2.-Notion d'équilibre azoté .....	24
I.5.3.-Etat dynamique des protéines .....	25
I.5.4.- La dégradation des protéines .....	25
I.5.5.-La demi-vie d'un protéine .....	26
I.5.1.1.-Localisation de la dégradation .....	26
I.5.1.1.1.-Produits d'élimination du métabolisme azoté.....	26
I.6.- Rôles biologiques des protéines .....	27
I.7.-Méthodes d'étude des protéines .....	28
I.7.1.- Stabilisation des protéines lors de leur purification.....	28
I.7.2.- Extraction des protéines de la matière vivante .....	29
I.7.3.-Purification de l'extrait .....	29
I.7.3.1.-Procèdes d'isolement des protéines bases sur la taille moléculaire .....	30
I.7.3.2.-Procèdes bases sur la solubilité.....	31
I.7.3.2.1.-Précipitation isoélectrique .....	32
I.7.3.2.2.-Dissolution des protéines par les sels (relargage) .....	32

## Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1.-Principe adopté.....	34
II.2- Choix de matériel biologique .....	34
II.2.1-La place de criquet dans le règne animale .....	34
II.2.2-Position systématique.....	34
II.2.3- Répartition géographique .....	35
II.2.4- Morphologie des Acridiens.....	35
II.2.5-Cycle biologique.....	38
II.2.6-L'importance économique .....	38
II.3- Méthode de dosage des protéines .....	39
II.3.1- Extraction des protéines céphaliques.....	39
II.3.2-Dosage des protéines .....	39
II.3.2.1-Principe de la réaction .....	39
II.3.2.2-Mode opératoire .....	40

## Chapitre III : Résultats et Discussions

III.-Résultats et Discussions .....	42
III.1.-Taux des protéines .....	42
III.2.- Poids des têtes .....	43
Conclusion.....	45
Références bibliographiques .....	47
Annexes .....	50

## **Introduction**

Dans le monde, plusieurs espèces acridiennes sont susceptibles de causer des dégâts au patrimoine agronomique, la sécurité alimentaire repose essentiellement sur la protection des cultures, ces dernières font l'objet d'attaques endémiques par les acridiens.

Les criquets sont sans doute les plus redoutables ennemis de l'homme depuis l'apparition de l'agriculture. Il n'y a pratiquement aucun groupe d'animaux que celui des acridiens qui de tout temps aient été associés à l'homme et à l'imagination des événements catastrophiques de structures fatalement inévitables. La surveillance et la maîtrise du problème acridiens supposent une connaissance approfondie de la biologie et de l'écologie de ces insectes. *Tuarega insignis*. Sont des plus gros criquets de l'ancien monde il est répartie dans les régions saharienne, il est pathogène pour l'homme et provoque des dégâts pour le monde végétale.

La lutte contre cette espèce se fait par plusieurs méthodes avec l'utilisation de plusieurs types d'insecticide possédant chacun des caractéristiques physiques et chimiques propres, car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre.

L'objectif de ce travail est d'étudier la quantité des protéines présente dans le céphale de *Tuarega insignis*. Parce que ces protéines sont des constituants importants des cellules vivants, tant d'un point de vue quantitatif (elles représentent en générale plus de la moitié de poids sec des cellules), que de point de vue qualitatif, car en plus des protéines dites structurales on trouve des protéines ayant un rôle biologique capital, en particulier les enzymes, catalyseurs biologique indispensables au déroulement des réactions dans les cellules des organismes vivants (GUILLOTON et QUINTARD, 2007). Ceci pour la lutte contre l'invasion des criquets. Pour ce la on réalisée un dosage des protéines céphalique par une méthode de dosage colorimétrique choisis d'après la méthode de LOWRY (1951).

Notre travail est structuré en trois parties, la première partie concerne les données bibliographiques sur les protéines, la deuxième partie est matériels et méthodes, la troisième partie porte sur les résultats et discussions des essais expérimentaux portant sur le dosage des protéines. La conclusion est des perspectives achèvent la présente étude.

## **Chapitre I- Aperçu sur les protéines**

### **I.1. Généralité**

Parmi les macromolécules élaborées par les cellules vivantes, les protéines (du grec protéios = premier) sont :

- Les plus abondantes : 55% du poids sec de la cellule.
- Les plus universelles : présentes dans les virus, les bactéries, les plantes, les animaux supérieurs....
- Les plus variées, plusieurs milliers de protéines ont été caractérisées et isolées (KESSOUS, 2007).

Les protéines sont des constituants extrêmement importants des cellules vivantes, tant d'un point de vue quantitatif (elles représentent en général plus de la moitié du poids sec des cellules), que du point de vue qualitatif, car en plus des protéines dites structurales on trouve des protéines ayant un rôle biologique capital, en particulier les enzymes, catalyseurs biologiques indispensables au déroulement des réactions dans les cellules des organismes vivants.

Toutes les protéines contiennent les quatre éléments : C, H, O, et N ; beaucoup contiennent du soufre, certaines renferment du phosphore (WEIL, 2005).

### **I.2.-Structure des protéines :**

Les protéines sont constituées d'enchaînements linéaires d'acides aminés ; ces enchaînements sont longueur variable quelques dizaines à quelques milliers et les acides aminés sont au nombre de vingt. Ensuite, ces protéines peuvent être modifiées après leur synthèse (modifications post-traductionnelles) ce qui multiplie encore la diversité potentielle des structures. Ces modifications pourront intéresser les chaînes latérales de certains résidus d'acides aminés, mais, très souvent, les protéines seront associées à d'autres types de molécules (GUILLTON et QUINTARD, 2007).

#### **I.2.1.- Composition en acides aminés :**

Les protéines sont constituées de vingt acides aminés (ou acides aminés) ayant des caractères structuraux communs. Ils possèdent une fonction amine primaire (ou, dans le cas de la proline, une fonction amine secondaire) et une fonction carboxyle fixées sur le même carbone, le carbone  $\alpha$ . Les acides aminés diffèrent les uns des autres par la nature de chaîne latérale, appelée également radical (ou groupement) R.

L'étude de la composition d'une protéine passe par la libération des acides aminés, et donc par la rupture des liaisons peptidiques (GUILLTON et QUINTARD, 2007).

Cette détermination se fait en 3 étapes :

- Hydrolyse des liaisons peptidiques, libérant tous les Aa constitutifs.
- Séparation et identification des Aa libérés.
- Dosage des différents Aa.

#### **I.2.1.1.- Hydrolyse :**

Elle s'effectue par 2 voies :

- **Voie chimique** par les acides forts et à chaud. En général on utilise HCl 6N à 120<sup>0</sup>C pendant 10 à 24h en ampoule scellée sous vide ou sous N<sub>2</sub>. C'est la méthode la plus utilisée.
- **Voie enzymatique** par des peptidases bactériennes ou par des endopeptidases (trypsine).

Cette hydrolyse est lente, longue, rarement complète. La spécificité des enzymes est telle qu'elle nécessite l'emploi d'un mélange d'enzymes, il y aura des dégradations soit par autolyse soit par action des autres enzymes sur les protéines enzymes (GUILLTON et QUINTARD, 2007; KESSOUS, 2007).

#### **I.2.1.2.- Séparation et identification des Aa contenus dans l'hydrolysats :**

C'est l'analyse qualitative d'une protéine.

Plusieurs méthodes biochimiques sont disponibles pour effectuer cette analyse qualitative.

on distingue:

- a-La chromatographie de partage
- b-La chromatographie par échange d'ions
- c-L'électrophorèse (KESSOUS, 2007).

##### **I.2.1.2.1.- Chromatographie de partage :**

La chromatographie est une méthode biochimique de séparation des divers composés d'un mélange hétérogène. Il existe plusieurs types de chromatographies, ils sont basées sur le même principe qui est le partage d'une substance entre deux phases non miscibles :

- Une phase aqueuse, stationnaire (immobilisée) sur un support (feuille de papier ou la couche mince).
- Une phase organique, mobile (solvant).

Les substances à séparer possèdent une solubilité spécifique dans chacune des 2 phases. Selon les principes du partage, un soluté distribué entre des volumes égaux de 2 liquides non miscibles ou phases se répartit en fonction de sa solubilité dans chacune des phases. Le rapport des concentrations du soluté dans les 2 phases, à l'équilibre et à une température donnée, est le coefficient de partage caractéristique du soluté et des phases.

$$K = Y_A / Y_B \quad Y : \text{soluté.}$$

A et B : les 2 phases. (KESSOUS, 2007).

**Technique :**

Après hydratation du support (gonflage) une microgoutte du mélange à analyser est déposée dans la zone inférieure du support (feuille de papier ou couche mince) de cilice ou d'amidon, après séchage du dépôt à l'air, le support est placé dans la cuve à chromatographie.

A la fin de la migration chromatographique (3 à 8h), le front du solvant ne migre plus. Le support est récupéré, séché. Une substance réagissant avec les éléments du mélange à fractionner est pulvérisée c'est l'étape de visualisation, le réactif pulvérisé est le révélateur. Sur le support apparaissent ainsi des taches colorées ou spots dans les régions renfermant les solutés séparés (KESSOUS, 2007).

• **Identification des éléments du mélange :**

- en faisant comigrer des éléments témoins connus sur le même support chromatographique.
- par la détermination du  $R_f$ , c'est une constante caractéristique de la substance et du système chromatographique utilisé (support, solvant, temps de migration).

**I.2.1.2.2.- Chromatographie par échange d'ions :**

Elle est Basée sur le principe de partage d'un soluté entre 2 solvants non miscible, la séparation est améliorée ici par les différences de comportement acide-base interviennent. Elle se fait habituellement sur colonne ou en « batch ». La colonne est remplie d'une résine synthétique portant des groupements chargés négativement pour les échangeurs cations positivement pour les échangeurs des anions (BEAUMONT, 2005; KESSOUS, 2007).

**I.2.1.2.3.- Electrophorèse :**

L'électrophorèse sur papier.

C'est une séparation de composés, ionisés différemment, sous l'effet d'un champ électrique. Une goutte du mélange d'Aa obtenu par hydrolyse totale, est déposée sur un papier filtre préalablement humidifiée par un tampon de PH choisi : c'est le tampon de migration électrophorétique.

Les 2 extrémités de la feuille plongent dans 2 bacs remplis de ce même tampon.

- Ces bacs contiennent les électrodes. On applique un champ électrique en fonction du PH du tampon les Aa sont ionisés et vont migrer dans des directions et à des vitesses spécifiques. Ai  $pH_i$ , les Aa ne migrent pas et restent au niveau de dépôt (KESSOUS, 2007).

**I.2.1.2.4.- Dosage des acides aminés :**

C'est l'analyse quantitative.

Les acides aminés séparés par chromatographie ou par électrophorèse sont dosés par la réaction à la ninhydrine (colorimétrie).

On a constaté que :

- Tous les 20 Aa ne sont pas présents systématiquement dans toutes les protéines.
- Les protéines insolubles renferment des proportions élevées (90%) d'Aa à R polaire.
- Les protéines acides possèdent d'avantage d'Aa acide.
- Les protéines basiques sont riches en Aa basiques (KESSOUS, 2007).

### **I.2.2.- Conformation tridimensionnelle des protéines :**

Les protéines sont formées de longues chaînes polypeptidiques et nous savons maintenant comment la séquence des aminoacides de ces chaînes peut être déterminée. Ceci constitue la structure primaire des protéines. Mais chaque protéine a en réalité une structure tridimensionnelle, une conformation, qui lui est propre, établie et maintenue par d'autres types de liaisons que la liaison peptidique ; on dit que la protéine « native » a une structure secondaire, tertiaire et même quaternaire dans certains cas (WEIL, 2005).

#### **I.2.2.1.- Structure primaire :**

La chaîne d'Aa plus ou moins longue qui constitue la structure I du polypeptide dans les conditions normales de température et de PH va adopter la conformation la plus stable énergétiquement. Dans cette conformation les substituants « - R- » ont une disposition spatiale qui rend les forces de répulsion minimales. C'est la conformation native du polypeptide. Cette conformation est tellement stable que même isolé le peptide reste à l'état natif (KESSOUS, 2007).

L'enchaînement des acides aminés constitutifs de la protéine, reliés entre eux par une liaison peptidique. Cette liaison met en jeu la fonction amine d'un Aa et la fonction acide carboxylique d'un autre Aa. La liaison ainsi formée implique une conformation spatiale déterminée. En effet, les atomes engagés dans la liaison peptidique sont dans le même plan. Seules les liaisons entourant l'atome de carbone porteur du radical de l'Aa peuvent encore subir une rotation. Cette liaison peptidique est plan et quasiment uniquement en configuration trans. On écrit traditionnellement à gauche l'Aa dont la fonction amine est libre (extrémité N terminale) et à droite l'Aa dont la fonction acide carboxylique est libre (extrémité C terminale) (BEAUMONT, 2005).

#### **• Liaisons et interactions intervenant dans le repliement des protéines :**

Quatre grands types d'interaction interviennent dans le repliement de la chaîne.

#### **Les interactions hydrophobes :**

Un certain nombre d'acides aminés ont une chaîne latérale hydrophobe, non polaire (Ala, Val, Leu, Ile, Phe), qui ne forme pas de liaison hydrogène avec les molécules d'eau (lesquelles s'associent entre elles par des liaisons hydrogène); ces chaînes latérales ainsi repoussées ont tendance à se rapprocher. Ce qui permet ainsi des interactions entre différentes parties d'une chaîne peptidique (WEIL, 2005).

La chaîne a donc tendance à se replier de façon à les regrouper entre eux au centre de la molécule, sans contact direct avec l'eau. Inversement, les acides aminés hydrophiles ont tendance à se disposer à la périphérie de façon à être en contact avec l'eau (BEAUMONT, 2005).

**Liaison ionique (ou saline) :**

C'est une liaison électrovalentielle, non covalente (donc plus faible), qui s'établit entre un radical chargé positivement et un radical chargé négativement, liant ainsi soit deux parties d'une même chaîne, soit deux chaînes différentes. Ce genre d'interaction permet même la liaison entre deux molécules différentes, par exemple dans les complexes nucléoprotéiques, entre les acides nucléiques chargés négativement et les protéines basiques-notamment les histones-chargées positivement.

**Liaison hydrogène :**

Ce type de liaison, non covalente, se forme lorsque sont à proximité l'un de l'autre, d'une part un atome d'hydrogène lié à un azote ou à un oxygène, et d'autre part un doublet électronique non partagé d'un autre azote ou d'un autre oxygène.

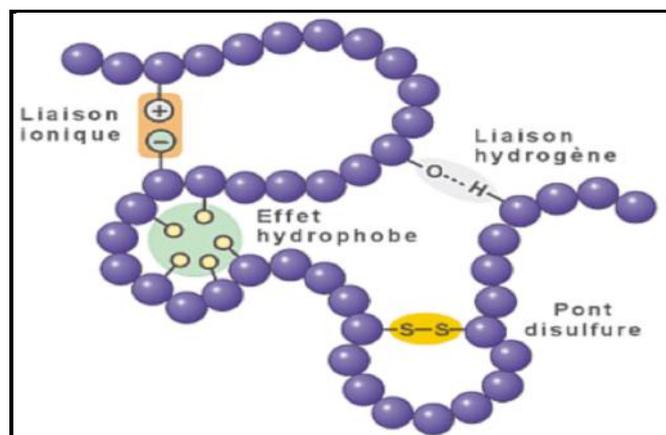
Ces liaisons peuvent s'établir :

- entre les C=O et les N – H des liaisons peptidiques ;
- entre les radicaux des résidus d'acides aminés, et impliquer, par exemple, le groupement hydroxyle de la sérine, de la thréonine ou de la tyrosine, le noyau imidazole de l'histidine le -carboxyle de l'acide glutamique, le groupement amide de l'asparagine ou de glutamine.

Comme nous le verrons, les liaisons hydrogène peuvent soit être intra chaîne et maintenir la conformation hélicoïdale de la chaîne par exemple, soit permettre des interactions inter chaînes (WEIL, 2005).

**Liaison disulfure (ou Pont disulfure) :**

Deux des vingt acides aminés ont des radicaux contenant un atome de soufre; c'est le cas de la cystéine. Deux cystéines peuvent former une liaison covalente entre elles .



**Figure 01:** Différents Liaisons intervenant dans le repliement des protéines (BERRADA, 2009).

### I.2.2.2.- Structure secondaire:

Le premier niveau d'organisation tridimensionnelle d'une protéine est sa structure secondaire (BEAUMONT, 2005).

La structure secondaire concerne l'organisation à "faible distance" dans l'espace de certains éléments de la structure primaire ; cette organisation consiste en un enroulement ou un repliement face à face de la chaîne de la protéine, de façon régulière ou irrégulière, compte tenu :

- Des angles de valences
- Des longueurs des liaisons
- De la possibilité de formation de nouvelles liaisons autres que peptidiques (AJEMP, 1982).

La structure secondaire décrit la conformation locale de la chaîne.

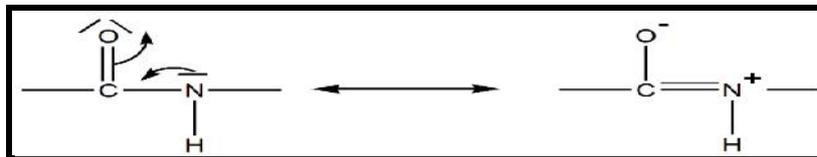
La chaîne polypeptidique ne reste pas sous forme linéaire, elle va subir un remaniement, qui lui donnera une structure bidimensionnelle ou structure secondaire (KESSOUS, 2007).

On trouve différentes organisations dont les caractéristiques géométriques sont bien connues et retrouvées dans presque toutes les protéines (BEAUMONT, 2005).

Avant d'étudier ces organisations, nous allons présenter les propriétés spatiales de la liaison peptidique.

- **Propriétés spatiales de liaison peptidique :**

La liaison peptidique peut, en fait, s'écrire de deux façons (formes mésomères) :



Elle possède donc un caractère de double liaison, ce qui implique que tous les atomes (C, O, N, H et C') soient coplanaires. En outre, il existe une possibilité d'isomérisation cis-trans pour les deux carbones C et C', par rapport à cette liaison C=N<sup>+</sup>. Dans les peptides et protéines naturels, on trouve essentiellement la configuration plane trans. Ces propriétés entraînent trois possibilités de disposition spatiale pour les plans formés par les liaisons peptidiques successives d'une chaîne peptidique.

- Ou bien les plans successifs alternent l'un par rapport à l'autre selon deux orientations spatiales privilégiées, et on parlera alors de structure en feuillet plissé.
- Ou bien les plans successifs, tournent régulièrement toujours dans le même sens l'un par rapport à l'autre, et on obtiendra une structure de type hélicoïdale.
- Enfin, les plans peuvent tourner au hasard l'un par rapport à l'autre, et la structure sera dite « en pelote statistique ».

Les C tétraédriques sont toujours situés à la charnière de deux plans consécutifs (WEIL, 2005).

**I.2.2.2.1.- Hélice :**

Les motifs peptidiques d'une chaîne protéique ou d'un morceau de chaîne peuvent s'enrouler en formant régulièrement un angle de  $100^\circ$  avec chacun de ces deux voisins, cet angle étant compté toujours dans le même sens, soit droit, soit gauche, à partir du motif peptidique initial.

La figure résultant d'un tel enchaînement compte tenu des angles de valence et des longueurs des liaisons est une Hélice droite ou gauche. Cette Hélice a un pas de 5,4 Å et comprend 3,6 résidus d'acides aminés par tour d'hélice (AJEMP, 1982).

Elle est stabilisée dans sa forme hélicoïdale par des ponts hydrogènes établis entre l'hydrogène d'un groupement aminé et l'oxygène d'un groupement carboxylique situé quatre résidus plus loin. On remarque que ces liaisons sont parallèles à l'axe de l'hélice.

Les chaînes latérales des résidus dans une hélice alpha pointent à l'extérieur de la structure. On remarque que lorsque l'on regarde l'hélice dans le sens de la structure primaire, celle-ci tourne dans le sens des aiguilles d'une montre : on dit qu'elle a un pas à droite (BEAUMONT, 2005).

La structure secondaire en hélice droite est plus stable que la gauche (AJEMP, 1982).

L'hélice alpha ne peut être formée que par des Aa appartenant à la même série D ou L.

Cette conformation est fonction :

- De la structure I donc des R,
- De l'environnement,
- De la température,
- Du solvant,
- De la viscosité,
- De la force ionique.

Tous les polypeptides n'existent pas sous forme d'hélice alpha. C'est la nature et la séquence des chaînes latérales R des Aa de la structure I qui déterminent la structure II du polypeptide.

Pour former une hélice alpha les Aa doivent posséder des R courts et non chargés. L'hélice alpha est déstabilisée par :

- Les Aa avec R chargé.
- R volumineux (ile).
- R avec groupements fonctionnels susceptibles de former des liaisons (Ser).

Pro et hydroxypro (Hyp) détruisent l'hélice car  $-N-$  au lieu de  $-NH-$  dans la liaison peptidique (KESSOUS, 2007).

**I.2.2.2.2.- Feuillet :**

Les motifs peptidiques d'une protéine ou d'une partie protéine peuvent s'enchaîner en formant régulièrement un angle de  $100^\circ$  avec chacun de ses deux plus proches voisins, mais contrairement à l'hélice alpha, cet angle n'est pas toujours compté dans le même sens à partir du motif peptidique initial ; il est compté une fois à droite une fois à gauche, une fois à droite, ect... (AJEMP, 1982).

La conformation comporte un plissement de la chaîne polypeptidique au niveau du C qui appartient ainsi à 2 plans. R est situé perpendiculairement, dans l'un des plans se trouve le carbonyle et dans l'autre plan de NH du même Aa (KESSOUS, 2007).

Isolée, cette conformation n'est pas stable car il n'y a pas d'interactions entre atomes non directement liés ; en revanche, elle est stabilisée lorsqu'elle est incorporée dans des feuillets plissés où des liaisons hydrogène s'établissent entre les CO et les NH appartenant à des brins adjacents. Les brins peuvent y être soit antiparallèles, soit parallèles (WEINMAN et MEHUL, 2004).

Dans le feuillet parallèle, les chaînes sont dans le même sens et parallèles entre elles ; dans le feuillet antiparallèle, les chaînes sont de sens opposé et parallèles entre elles.

Entre chaque chaîne, il y a une zone qui permet le repliement ; cette zone est évidemment très courte dans un feuillet antiparallèle, et on parle alors de boucle ou coude (BEAUMONT, 2005).

**I.2.2.2.3.- Coude :**

Ce sont des séquences de quatre Aa qui permettent à la chaîne de se replier sur elle-même. Cette structure est stabilisée par une liaison hydrogène entre le premier et le quatrième résidu d'Aa. On n'y trouve jamais d'Aa apolaire, mais au contraire de la proline, de la glycine, de l'acide aspartique et de la sérine. Alors que presque toutes les liaisons peptidiques sont configuration trans, on trouve un nombre important de ces liaisons en configuration cis (grâce à la proline) (BEAUMONT, 2005).

**I.2.2.2.4.- Pelote statistique :**

Il existe des régions de la protéine qui n'adopte aucune conformation particulière ; on parle alors de pelote statistique (BEAUMONT, 2005).

La chaîne peptidique n'a pas de forme géométrique régulière dans l'espace, mais les angles de valence sont cependant toujours respectés (WEIL, 2005).

**I.2.2.3.- Structure supersecondaire :**

Au sein des protéines globulaires repliées, des éléments de structure secondaire, hélice et/ou brins, peuvent s'associer en des motifs appelés par fois structures supersecondaires et retrouvés fréquemment dans nombre de protéines. Ces motifs peuvent avoir une fonction particulière ou simplement être partie constituante d'unités structurales et fonctionnelles plus grandes et plus élaborées, les domaines.

Le motif doué de fonction le plus simple est constitué de deux hélices unies par un coude ou une boucle. Le motif hélice-coude-hélice s'associe spécifiquement aux régions régulatrices du DNA des procaryotes. Le motif hélice-boucle-hélice, appelé aussi E-F hand, dont la boucle est un site de liaison pour les ions  $Ca^{+2}$ , est régulièrement présent dans les protéines qui fixent le calcium et régulent de nombreux processus biologiques, telles les parvalbumines, la calmoduline, la troponine C ou certaines chaînes légères de la myosine.

Le motif en épingle à cheveux est constitué de deux brins adjacents antiparallèles connectés par un coude en épingle à cheveux. Présent dans plupart des structures, soit isolément, soit comme constituant de feuilletts plus complexes, il n'a pas en lui-même de fonction spécifique. La grecque est un motif constitué de quatre brins où l'une des connexions n'est pas une épingle à cheveux. Ce motif, souvent rencontré dans les protéines globulaires, n'a pas non plus en lui-même de fonction spécifique.

Le motif  $\beta$ -baril est constitué de deux brins parallèles dont l'extrémité C-terminale de l'un est connectée par une hélice à l'extrémité N-terminale de l'autre. L'hélice  $\alpha$ , approximativement parallèle aux brins  $\beta$ , est étroitement associée à ces derniers dont elle dissimule les résidus aminoacide hydrophobes au milieu aqueux. Entre les brins  $\beta$  et l'hélice  $\alpha$ , il y a deux boucles dont les longueurs peuvent varier de deux à trois résidus aminoacide à plus d'une centaine. Un motif  $\beta$ -baril peut être considéré comme un enroulement hélicoïdal lâche d'un tour ; il est droit dans toutes les protéines connues, à l'exception de la subtilisine où il joue un rôle particulier. Que cet enroulement soit droit a d'importantes conséquences structurales et fonctionnelles lorsque les motifs  $\beta$ -baril sont inclus dans des domaines. Les deux boucles ont des fonctions différentes. Celle qui relie l'extrémité C-terminale du premier brin  $\beta$  à l'extrémité N-terminale de l'hélice  $\alpha$  est souvent impliquée dans la formation d'un site de liaison ou d'un site actif et possède des séquences d'acides aminés conservés dans les protéines homologues. L'autre boucle, en revanche, n'a pas de fonction connue (WEINMAN et MEHUL, 2004).

• **Domaines structuraux :**

La structure des protéines qui possèdent plus de 200 aminoacides présente généralement au moins deux régions que l'on appelle des domaines. La notion de domaine correspond à trois critères structuraux : la compacité, la taille et la présence de structures secondaires. Les domaines sont des régions très compactes de la molécule de protéine, reliées entre elles par de courts segments de la chaîne polypeptidique ; la compacité d'un domaine s'avère donc plus élevée que celle de l'ensemble de la molécule de protéine. Les domaines comprennent une centaine d'acides aminés en moyenne ; la chaîne polypeptidique traverse le domaine de part en part, en adoptant les structures secondaires trouvées dans les protéines fibreuses (hélice  $\alpha$ , feuilletts plissés  $\beta$ , parallèles ou antiparallèles).

Ces segments sont séparés par des coudes en épingle à cheveux (coudes  $\beta$ , par exemple). Les domaines d'une protéine exercent souvent des fonctions distinctes (GUILLOTON et QUINTARD, 2007). Ainsi, des domaines de structure semblable sont souvent retrouvés dans des protéines différentes, avec des fonctions différentes et des séquences d'acides aminés différentes (WEINMAN et MEHUL, 2004).

#### **I.2.2.4.- Structure tertiaire :**

Les liaisons H qui assurent en quasi-totalité le maintien de la structure secondaire, sont des liaisons faibles qui ne peuvent rendre compte de l'intégrité structurale de la macromolécule qu'est une protéine, ni de son activité biologique quand celle-ci est de nature enzymatique.

La chaîne d'une protéine structurée partiellement ou en totalité en structure secondaire, se replie s'enroule sur elle-même, de façon à assurer le plus de liaisons possible, intrachânes ou interchânes abaisser ainsi son énergie interne et accroître sa stabilité. Cette organisation dans l'espace de la chaîne protéique déjà organisée à faible distance, en totalité ou en quasi-totalité (structure secondaire) correspond à la structure tertiaire de la protéine (AJEMP, 1982).

Les chaînes polypeptidiques sous l'influence des forces d'attraction ou de répulsion qui se manifestent entre les R, vont subir un remaniement spatial qui conduira à la structure III. C'est la conformation tridimensionnelle complète du polypeptide. Cette structure est stabilisée par des liaisons H<sub>2</sub>, des liaisons de Van der Waal (force d'attraction faibles qui n'agissent qu'à courte distance et proviennent de dipôles ionisés) (KESSOUS, 2007).

Traits structuraux essentiels :

- Une protéine est une macromolécule compacte ne renfermant que quelques molécules d'eau fortement liées.
- Les groupements chargés COO<sup>-</sup> et NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pointent à l'extérieur de ce bloc compact et sont en contact avec l'eau.
- Les groupes apolaires se réfugient à l'intérieur de la macromolécule.
- Les groupements C=O et NH des liaisons peptidiques se disposent de façon à se lier entre eux ou avec des groupements polaires de résidus d'acides aminés par pont hydrogène.
- Un certain nombre de groupements polaires de résidus d'acides aminés se placent de façon à former des liaisons H (AJEMP, 1982).

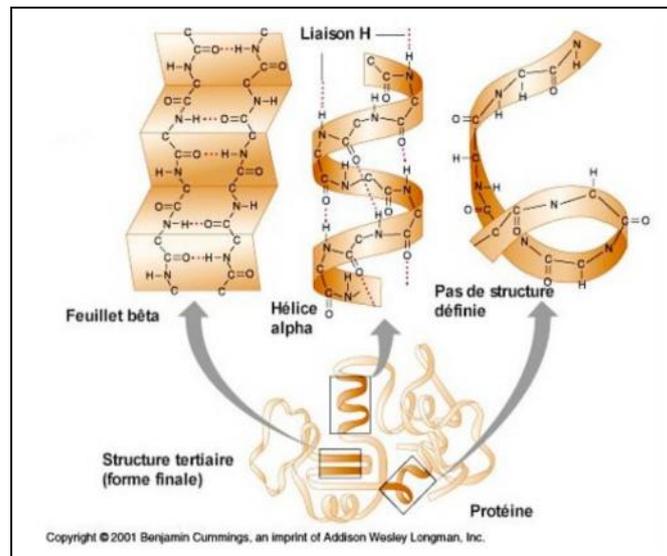


Figure 02 : Repliment de protéine (BERRADA, 2009).

### I.2.2.5.- Structure quaternaire :

On parlera de structure quaternaire, uniquement dans les cas :

-Où la protéine existe à l'état naturel sous forme de plusieurs chaînes peptidiques, chacune formant une sous-unité.

-Où ces chaînes sont liées entre elles par des liaisons apolaires

Des liaisons hydrogènes

Des liaisons ioniques

Des liaisons métalliques

A l'exclusion de tout pont disulfure.

L'assemblage des différentes chaînes peptidiques d'une telle protéine constitue la structure quaternaire de cette protéine, structure généralement plus lâche et plus flexible que la structure tertiaire (AJEMP, 1982). C'est l'association des S/U des protéines polymériques, l'introduction des éléments non protéiques indispensables à l'activité biologique de la protéine (groupement prosthétiques, métaux hème...).

Actuellement on ne connaît que la structure III et IV d'un petit nombre de protéine (KESSOUS, 2007). Certaines protéines sont des oligomères, c'est-à-dire formées par l'association de sous-unités appelées protomères. L'activité biologique est liée à cette association et elle disparaît si on la rompt (cf. Hémoglobine) (BEAUMONT, 2005).

Les structures des protéines peuvent être réparties en trois groupes principaux: les structures  $\alpha$  et les structures  $\beta$ . Dans les structures  $\alpha$ , les domaines sont constitués uniquement d'hélices  $\alpha$ , tandis que dans les structures  $\beta$ , ils sont formés de feuillets  $\beta$  antiparallèles. Les structures  $\alpha/\beta$  résultent de combinaisons de motifs  $\alpha$  -  $\beta$  qui forment un feuillet  $\beta$  parallèle entouré d'hélices  $\alpha$ . Par ailleurs, sont classées dans un groupe à part un certain nombre de protéines, le plus souvent de

faible poids moléculaire, riches en liaisons disulfure ou en métaux et dont la structure présente une certaine distorsion.

Parmi les structures , le faisceau de quatre hélices, au sein duquel des résidus hydrophobes délimitent un site actif central, est rencontré dans des protéines aussi différentes que la myohémérythrine, les cytochromes C et B<sub>562</sub> et la ferritine. De même, le repliement globinique, où là aussi des résidus hydrophobes délimitent un site actif central, est présent dans toutes les protéines d'un important groupe incluant les myoglobines et les hémoglobines, mais aussi les phycocyanines. Les caractéristiques structurales et les propriétés fonctionnelles du domaine globinique ont été très conservées tout au long de l'évolution, des Insectes et des nodules des racines des végétaux, jusqu'aux Mammifères.

Les structures sont constituées de brins dont le nombre peut varier de quatre à plus de dix souvent répartis en deux feuillets antiparallèles plaqués l'un contre l'autre pour former un tonneau affecté d'une certaine torsion. Dans nombreuses d'entre elles, certains motifs sont des grecques. Les structures ont un core hydrophobe constitué par les résidus aminoacide hydrophobes des brins qui tapissent la partie interne du tonneau. Leur surface est constituée par les résidus aminoacide hydrophiles des brins ainsi que par ceux des boucles qui unissent ces derniers. Les structures sont présentes dans des protéines fonctionnellement très différentes, telles que des enzymes, des protéines de transport et des anticorps.

Les structures , très fréquemment rencontrées, sont constituées d'un feuillet central parallèle ou mixte, entouré d'hélices . Elles se répartissent en deux classes. Les structures de la première classe présentent un core de huit brins parallèles disposés comme les douves d'un tonneau mais affectés d'une certaine torsion. Les résidus aminoacide hydrophobes des brins se disposent à l'intérieur du tonneau. Les hélices qui connectent les brins parallèles se disposent à la périphérie du tonneau. Les structures de la deuxième classe possèdent un feuillet ouvert entouré de chaque côté par les hélices .

Dans les structures , les boucles forment des cavités qui permettent la fixation de ligands et peuvent éventuellement posséder une activité catalytique. En raison de ces propriétés, nombre de protéines de transport et d'enzymes possèdent une structure ; le domaine de fixation des coenzymes nucléotidique, des enzymes de la glycolyse, tels que le triose phosphate isomérase et le pyruvate kinase, de même que beaucoup d'autres enzymes, en sont des exemples (WEINMAN et MEHUL, 2004).

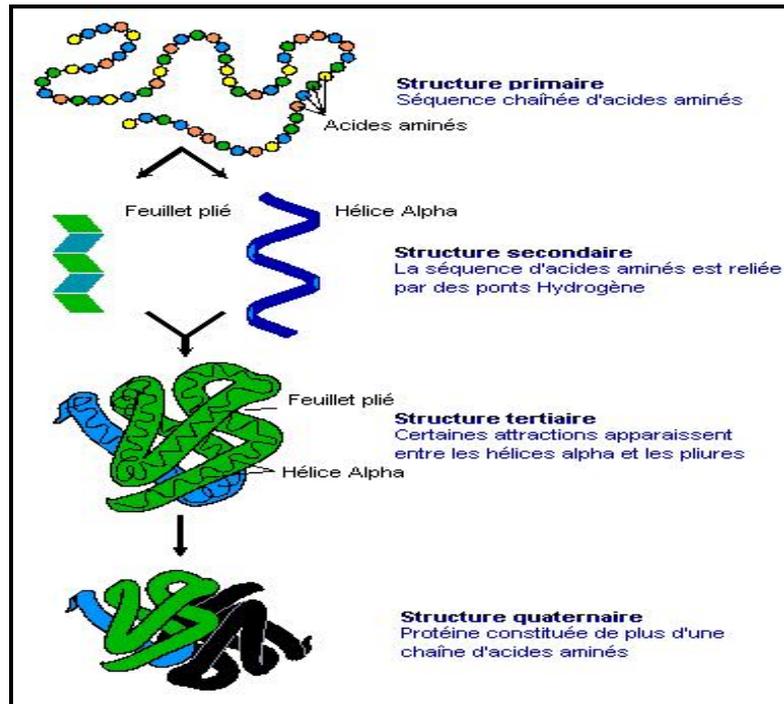


Figure 03 : Différentes structures de la protéine (GAUDUCHON, 2010).

#### I.2.2.5.1.- Structure quaternaire et activité biologique :

Dans le cas de certaines protéines enzymatiques, la structure quaternaire influe fortement sur l'activité. Une très faible modification de structure, de conformation peut entraîner un changement de l'activité : une inhibition ou une activation. La flexibilité de la structure quaternaire d'une protéine enzymatique, permet la régulation de son activité ; autrement dit, la régulation de l'activité métabolique est en partie due à cette capacité des protéines oligomériques à changer de structure (AJEMP, 1982).

### I.3.-Principales propriétés des protéines

#### I.3.1.-La solubilité :

La solubilité dans l'eau des protéines est à ce point variable qu'une classification reposant sur les différences de solubilité a été proposée. On obtient 3 catégories en fonction de leur solubilité : Les protéines solubles dans l'eau pure comme les albumines. Les protéines qui ne se dissolvent qu'en présence de sels neutres ou dans un milieu légèrement acide ou faiblement alcalin comme les globulines. Les protéines insolubles comme les scléroprotéines (WEIL, 2005).

#### I.3.2.-Influence des électrolytes :

Les sels neutres à faible concentration ont un effet dissolvant, tandis qu'à forte concentration, ils provoquent la précipitation des protéines (COLLAS, 2005) à faible force ionique, on observe un effet dissolvant tandis qu'à force ionique élevée on assiste au relargage c.à.d. la précipitation des protéines (WEIL, 2005). On peut alors séparer les différentes classes de protéines en fonction de la

concentration à laquelle elles précipitent (COLLAS, 2005). On peut donc par addition progressive d'un sel (ex. sulfate d'ammonium) dans le milieu fractionner un mélange de protéines.. Entre chaque ajout, on centrifuge et on recueille la fraction ayant précipité (COLLAS, 2005;WEIL, 2005).

Toutes les protéines ne sont pas également sensibles à cet effet de relargage par addition d'un sel neutre. Des protéines précipitent dans une solution à demi saturée en  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4^{2-}$ , d'autres quand la solution est à 55% saturée etc.... (WEIL, 2005).

### **I.3.3.-Influence du pH.**

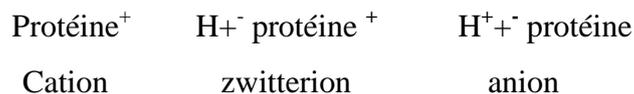
La solubilité d'une protéine est minimale au voisinage de son pHi. Dans certains cas, on peut obtenir la cristallisation d'une protéine en augmentant la concentration saline dans une solution maintenue à un pH proche du pHi (COLLAS, 2005; WEIL, 2005).

### **I.3.4.-Influence des solvants organiques:**

L'éthanol, le méthanol, l'acétone peuvent être utilisés pour précipiter les protéines à condition que l'on maintienne une température de  $-5^\circ\text{C}$  pour éviter la dénaturation des protéines par ces solvants (WEIL, 2005).

### **I.3.5.-Caractère amphotère:**

La plupart des groupements aminés et carboxyliques des aminoacides sont dans les protéines engagés dans les liaisons peptidiques .Selon le pH de la solution, ces groupements sont plus ou moins ionisés en fonction de leurs  $p_k$ , de sorte que les protéines peuvent exister lorsqu'on élève le pH, sous les trois états suivants :



Lorsque le nombre de groupements chargés positivement est égal au nombre de ceux chargés négativement, on est au point isoionique; le nombre de protons combinés aux groupements basiques est alors égal à celui des protons libérés par la dissociation des groupements acides. Comme dans le cas des aminoacides, ce point isoionique (caractéristique d'une protéine pure en solution dans l'eau) est voisin du point isoélectrique ou la charge totale de la protéine est nulle (en tenant compte des autres ions en solution, susceptibles de se fixer sur la molécule protéique). Le pHi peut varier beaucoup d'une protéine à l'autre.

### **I.3.6.-Pression osmotique :**

Considérons deux compartiments séparés par une membrane perméable aux ions, mais imperméable aux protéines. la présence d'une protéine dans l'un des compartiments provoque une distribution inégale d'ions diffusibles de part et d'autre de la membrane (alors qu'en l'absence de protéine on a une distribution égale, à l'équilibre) (Weil, 2005).

#### **I.4.-Classification des protéines :**

##### **I.4.1.-Classification selon la forme des molécules.**

##### **I.4.1.1.-Protéines fibreuses ou scléroprotéines.**

Sont appelées protéines structurales car elles constituent le principal matériau de construction chez les Vertébrés, Elles sont linéaires, insolubles dans l'eau et d'une grande stabilité (support mécanique aux tissus et résistance à la traction) (BERRADA, 2009).Ce sont les plus abondantes, leur conformation est assez simple, leurs chaînes polypeptidiques sont habituellement disposées ou enroulées en faisceaux parallèles (KESSOUS, 2007).Sont des protéines naturelles existant sous forme de fibre (filiformes)et insolubles dans l'eau (les chaînes latérales des acides aminés, la plupart hydrophobes, sont tournées vers l'extérieur de l'hélice ).Elles remplissent des fonctions structurales ou protectrices, la plupart sont des holoprotéines (MOUSSARD et al., 2002).

Les protéines fibreuses peuvent être classées en deux grands groupes :

**-Structure fibreuses de types** : ces types de structures se rencontrent dans la kératine naturelle, la myosine, le fibrinogène.

**-Structure fibreuses de type** : ces types de structures apparaissent soit à l'état naturel (fibroïne de la soie) ; soit par un étirement, d'environ 30%, des structure fibreuses (de la kératine par exemple).

Les principales protéines fibreuses sont le collagène, la kératine, le fibrinogène et les protéines musculaires (BERRADA, 2009).

- **Le collagène :**

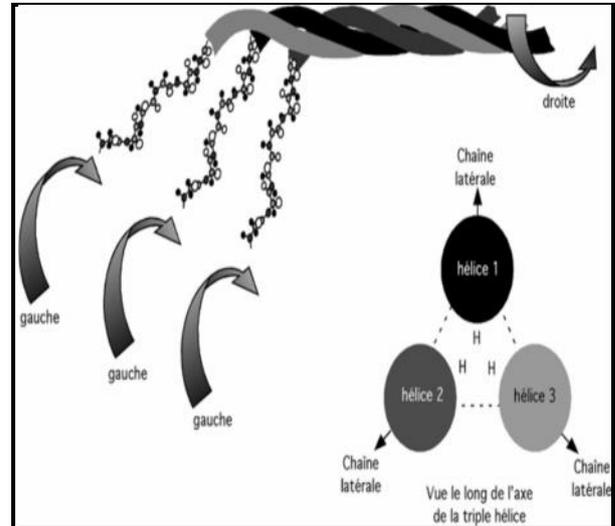
C'est la protéine la plus abondante (en quantité) de l'organisme. Le collagène est formé de fibrilles constituées de trois longues hélices alpha reliées entre elles par des ponts disulfures. Ces fibrilles s'unissent les unes aux autres par des liaisons hydrogène. L'ensemble forme de grosses fibres très résistantes à la traction. C'est le collagène qui donne à la peau sa souplesse et sa résistance. On retrouve de semblables treillis de collagène autour de la plupart des organes. Ce collagène, permet aux artères de résister à la pression sanguine. Un manque de collagène, symptôme caractéristique du scorbut provoque de graves hémorragies suite à l'éclatement des artères sous l'effet de la pression sanguine (ROUEDE, 2006). Le collagène est le protéine la plus abondant des vertébrés supérieurs .il existe différents types de collagène qui diffèrent dans leur structure, dans leur composition et dans leur distribution au sein des tissus et des organismes. Le collagène est une macromolécule fibreuse de la matrice intracellulaire constituant un système de cohésion qui permet l'assemblage des cellules en tissus, des tissus en organes et des organes en organismes (tissu conjonctif).

La diffraction des rayons X par le collagène montre une hélice résultant de l'enroulement de 3 chaînes polypeptidiques avec pas à gauche et unies entre elles grâce à l'atome d'hydrogène constituant la chaîne latérale de la glycine rejetés à l'intérieur et permettant aux 3 hélices de s'entrelacer par

formation de liaison H<sub>2</sub>. On retrouve une séquence répétitive X-Y-Gly. L'ensemble des 3 chaînes forme un enroulement droit dont le pas porte 10Aa (KESSOUS, 2007).

Le collagène (constitutif de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif) est sous forme d'hélice gauche répétant un même motif Gly –X-Y riche en proline et lysine et leur dérivé hydroxylé (MOUSSARD et al, 2002).

Le collagène se trouve dans les os, la peau les tendons et les cartilages. Sa triple hélice formée de trois chaînes polypeptidiques d'environ mille acides aminés chacune, lui donne l'apparence d'un gros câble. Lorsque des fibrilles de collagène sont dégradées par chauffage intense, leurs chaînes se raccourcissent pour former la gélatine (BERRADA, 2009). (transformation de collagène dans les tissus conjonctifs par la chaleur en gélatines) (COLLAS, 2005).



**Figure 04:** Organisation structurale de la triple hélice du collagène (BERRADA, 2009).

• **La kératine :**

La kératine, présente dans les couches supérieures de l'épiderme, dans les cheveux, les ongles les écailles, les sabots et les plumes, s'enroule en une torsade régulière appelée «hélice alpha». Chargée de protéger l'organisme contre l'environnement extérieur, la kératine est totalement insoluble dans l'eau. Ses nombreuses liaisons disulfures en font une protéine extrêmement stable, capable de résister à l'action des enzymes protéolytiques (BERRADA, 2009).

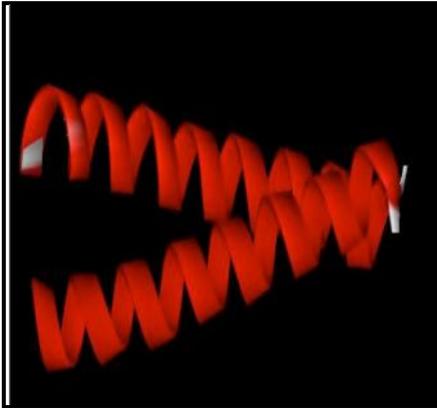
Les kératines insoluble synthétisées par les cellules des l'ectoderme, on distingue:

- Les kératine : c'est en étudiant ces protéines que L. Pauling et Corey ont établi la structure . ces protéines constituent les ongles, la corne, les cheveux, la laine, la peau.
- Les kératines : on permis la distribution de la structure ; ce sont les constituant des fibres des araignées, du vers à soie, des écailles et des griffes des oiseaux et des reptiles (KESSOUS, 2007).

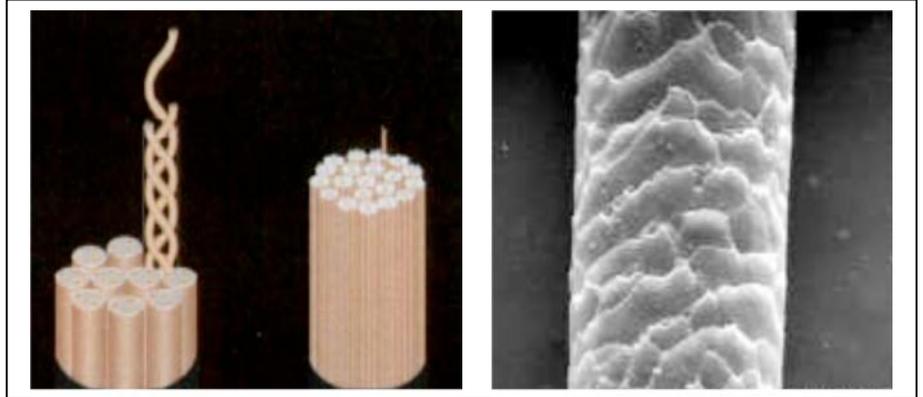
La kératine est formée de deux hélices qui s'enroulent entre elles pour former une hélice de kératine. Ces hélices de kératine se combinent ensuite pour former des structures plus complexes protofilaments et protofibrilles. Elle est riche en résidus de cystéine, ce qui permet l'établissement de ponts disulfures qui assurent la stabilité importante de la structure (BEAUMONT, 2005).

Les kératines (constitutives des phanères) sont majoritairement sous forme d'hélice . Ces molécules s'agrègent en fibres grâce à des liaisons hydrophobes et des ponts disulfures. Elles sont

insolubles dans l'eau, les chaînes latérales des acides aminés, le plus souvent hydrophobes, étant tournées vers l'extérieur d'hélice (MOUSSARD et al., 2002).



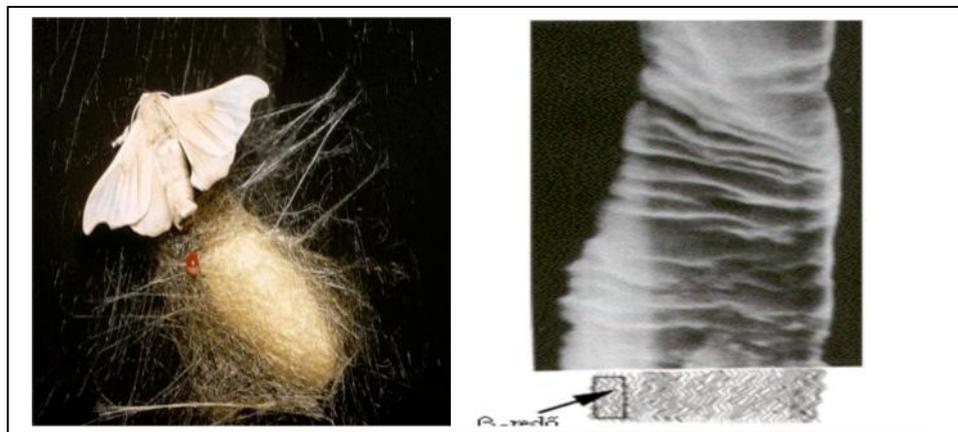
**Figure 05 :** Kératine (BERRADA, 2009).  
(abondante dans la peau, cheveux, ongles)



**Figure 06:** Cheveu vu au microscope électronique. Le cheveu est fait de kératine (BERRADA, 2009).

- **Fibrinogène :**

Le fibrinogène est une protéine plasmatique sanguine responsable de la coagulation du sang. Grâce à l'action de la thrombine, le fibrinogène est converti en molécules de fibrine, une protéine insoluble qui s'agglutine, pour former un caillot protecteur contre les hémorragies (BERRADA, 2009).



**Figure 07 :** Fibroïne constituée essentiellement de feuillets plissés (ROUEDE, 2006).

- **Les protéines musculaires :**

La myosine se lie à l'actine, une autre protéine musculaire, pour donner l'actomyosine. Les filaments de l'actomyosine peuvent se raccourcir et provoquer la contraction des muscles (BERRADA, 2009).

#### **I.4.1.2.-Protéines globulaires ou sphéroprotéines :**

Contrairement aux protéines fibreuses sont de forme sphérique ou ovoïde. Elles sont en générale plus facilement solubles, Constituent la plupart des protéines biologiquement actives (en particulier les enzymes). Elles peuvent être constituées de plusieurs chaînes, mais peuvent aussi ne comporter qu'une seule chaîne polypeptidique plusieurs chaînes (WEIL, 2005). Les chaînes latérales hydrophobes des acides aminés sont enfouies à l'intérieur de la molécule, tandis que les chaînes latérales hydrophiles sont tournées vers l'extérieur). Parmi elles, on trouve les enzymes, les hormones et les anticorps.

Presque toutes sont des hétéroprotéines (la molécule comporte une partie non protéique) (MOUSSARD et al., 2002). Elles jouent un rôle important dans le métabolisme. Les albumines, les globulines, la caséine et les hormones protéiques sont des protéines globulaires. Les albumines et les globulines sont abondantes dans les cellules animales, le sérum sanguin, le lait et les œufs (BERRADA, 2009).

Les protéines peuvent être classées selon leurs liaisons stéréospécifiques et les conséquences fonctionnelles (WEINMAN et MEHUL, 2004).

##### **I.4.1.2.1.-les principales fonctions des protéines globulaires chez l'homme.**

- La catalyse

Les enzymes sont essentielles à presque toutes les réactions biochimiques de l'organisme; elles multiplient par au moins un million la vitesse des réactions chimiques (BERRADA, 2009). Ils reconnaissent spécifiquement leurs substrats ; ils catalysent et régulent les réactions du métabolisme (WEINMAN et MEHUL, 2004).

Citons **l'amylase** salivaire (dans la salive), qui catalyse la dégradation des amidons, et **les oxydases** qui permettent l'oxydation des combustibles alimentaires.

- Le transport

Les hémoglobines et fixent réversiblement l'oxygène moléculaire ; les hémoglobines permettent le transport de l'oxygène des milieux extérieur aux tissus, dans le sang; les myoglobines son stockage dans les muscles (WEINMAN et MEHUL, 2004; BERRADA, 2009). Les lipoprotéines transportent les lipides et le cholestérol. Le sang contient d'autres protéines de transport pour le fer, les hormones stéroïdes et d'autres substances.

- La régulation du pH

Un grand nombre de protéines plasmatiques, notamment **l'albumine**, peuvent servir d'acide ou de base dans un système tampon. Elles empêchent les variations excessives du pH sanguin en captant ou en libérant des protons H<sup>+</sup>.

- La régulation du métabolisme

Les **hormones polypeptidiques** et les **hormones protéiques** contribuent à régler l'activité métabolique, la croissance et le développement. Ainsi, l'hormone de croissance est une hormone anabolique nécessaire pour une croissance optimale; **l'insuline** aide à régler le taux de glucose sanguin (BERRADA, 2009).

Les protéines contractiles des fibres musculaires, des cils ou des flagelles interagissent entre elles pour créer une force contractile ou motrice (WEINMAN et MEHUL, 2004).

- La défense de l'organisme

Les **anticorps** : sont des protéines très spécialisées qui reconnaissent et inactivent les bactéries les toxines et certains virus. Ils participent à la réponse immunitaire, qui contribue à protéger l'organisme contre les substances étrangères et les microorganismes. Les **protéines du complément** en circulation dans le sang, améliorent l'activité du système immunitaire et stimulent la réaction inflammatoire, un mécanisme de résistance non spécifique de l'organisme. (BERRADA, 2009).

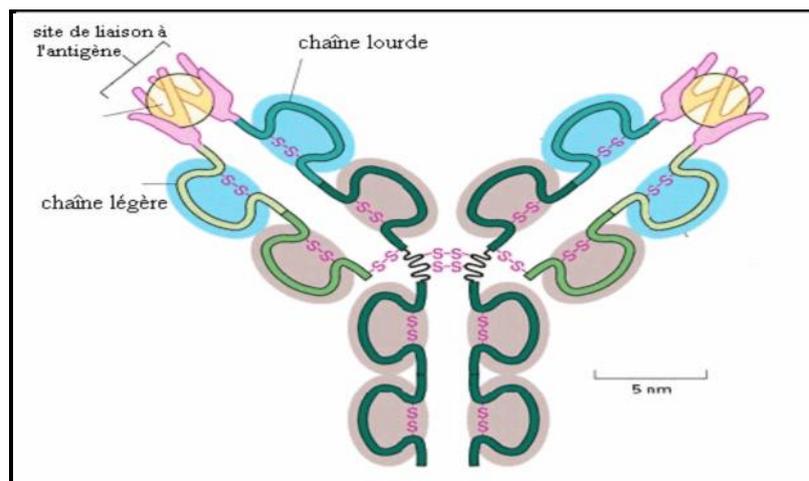


Figure 08 : Immunoglobuline avec 2 sites de fixation de l'antigène (BERRADA, 2009).

#### I.4.2.-Classification selon la solubilité.

- **Albumines.**

Solubles dans l'eau distillée ou pure. Précipitent par addition de sulfate d'ammonium entre 70 et 100% de la saturation. Leur  $pH_i < 7$  (5.3 pour la sérumalbumine, 4.7 pour l'ovalbumine), elles ont donc un caractère acide (WEIL, 2005; COLLAS, 2005).

- **Globulines.**

Insolubles dans l'eau pure, mais solubles dans les solutions salines diluées (NaCl 5%), Elles précipitent par addition de sulfate d'ammonium à 50% de la saturation. Souvent des glycoprotéines ou lipoprotéines (WEIL, 2005).

- **Protamines et histones.**

Ce sont des protéines solubles, de taille relativement petite (plutôt polypeptides que protéines) à caractère basique dû à la présence de forte proportion de lysine et d'arginine, ce qui leur confère un point isoélectrique élevé (11). On les trouve liées aux acides désoxyribonucléiques dans les noyaux des cellules. (WEIL, 2005).

- **Globines.**

Elles constituent la partie protéique des hémoglobines et des myoglobines, chromoprotéines dont le groupement prosthétique est l'hème. Elles ont une teneur élevée en histidine.(jusqu'à 10%) (WEIL, 2005).solubles dans l'eau.

- **Prolamines et glutélines.**

Protéines végétales insolubles dans l'eau, mais solubles dans les acides et les bases dilués (WEIL, 2005 ; COOLAS, 2005).

- **Les scléroprotéines :**

Insolubles dans l'eau.et dans les solutions salines, acides ou alcalines diluées (WEIL, 2005).

- **Les protéines fibrillaires :**

Solubles il s'agit de protéines constituant les fibrilles dans les cellules musculaires ou les microtubules du cytosquelette. Les fibrilles des cellules musculaires contiennent quatre types de protéines appelées protéines contractiles : (myosine, actine, troponine, tubuline) (WEIL, 2005).

**I.4.3.-Classification selon la composition.** On distingue deux grands groupes :

**I.4.3.1.-Holoprotéines.**

Elles ne sont constituées que d'acides aminés.

**I.4.3.2.-Hétéroprotéines.**

Elles comportent une ou plusieurs chaînes peptidiques associées (homoprotéine) liées de manière covalente à un groupement prosthétique de nature non protéique. La nature de ce groupement est extrêmement variée :

- glucide- glycoprotéines
- lipide- lipoprotéines
- phosphate-phosphoprotéines
- ion métallique chromoprotéines (hémoglobines, cytochromes) (WEIL, 2005).

## **I.5.-Métabolisme des protéines :**

### **I.5.1.-Elimination et devenir du groupe amone des aminoacides :**

Chez les vertébrés terrestres urotéliques, la désamination de la plupart des aminoacides dans le cytosol ne donne pas lieu directement à la formation d'un ion ammonium et d'un cétoacide car l'ammoniac est toxique pour les cellules lors d'une réaction catalysée par une aminotransférase. L'acide aminé est tout d'abord l'objet d'une transamination sur le  $\alpha$ -cétoacide avec formation de  $\alpha$ -cétoacide et de l'acide correspondant à l'acide aminé. Le glutamate pénètre dans la mitochondrie où il subit une désamination oxydative catalysée par la glutamate déshydrogénase mitochondriale qui régénère l' $\alpha$ -cétoacide et avec formation d'un ion ammonium  $\text{NH}_4^+$  ce dernier sera converti en urée, non toxique grâce à une série de réactions, le cycle de l'urée, initié dans la matrice mitochondriale et achevé dans le cytosol (WEINMAN et MEHUL, 2004).

### **I.5.2.-Notion d'équilibre azoté :**

Si on détermine d'une part, la quantité d'azote ingérée par l'animal et d'autre part, la quantité excrétée dans l'urine et les matières fécales on peut avoir trois situations :

- l'azote excrété est inférieur à l'azote ingéré donc il y a rétention d'azote par l'animal (en voie de croissance, état physiologique divers)
- l'azote excrété est supérieur à l'azote ingéré (il y a perte d'azote par l'organisme ; c'est ce qui arrive lorsque le régime protéique est insuffisant ou dans certaines maladies ;
- l'azote excrété est égal à l'azote ingéré : (état d'équilibre azoté ou protéique).

On peut définir la quantité d'azote à fournir dans l'alimentation pour subvenir exactement aux besoins métaboliques de l'organisme et maintenir l'animal (adulte) en équilibre azoté ; c'est ce qu'on appelle le « minimum protéique ». Mais ce minimum protéique n'est pas suffisant seul parce que l'alimentation comporte aussi, d'une part, les acides aminés indispensables et, d'autre part, des glucides et des lipides pour satisfaire les besoins énergétiques. Si on veut assurer le maintien de l'équilibre azoté chez un adulte ou la croissance d'un jeune individu, à l'aide d'une seule protéine, il faut assurer qu'elle est bien digestible et qu'elle comporte les acides aminés indispensables en quantités suffisantes (WEIL, 2005).

L'organisme demande un rapport azoté suffisant pour permettre le renouvellement des protéines, en particulier dans les muscles, car ce tissu contient la majorité des protéines de l'organisme et en renouvelle 400g chaque jour. D'où la nécessité d'un équilibre entre dégradation et synthèse sinon on constate une fonte musculaire. Chez l'enfant le besoin en protéines est encore plus important en raison de la croissance. La synthèse se déroule en majorité dans le foie. A poids égal le tissu hépatique produit six fois plus de protéines que le muscle. Cette activité de synthèse représente 25% des dépenses énergétiques dans les conditions du métabolisme basal. Les hépatocytes sont à l'origine

de la quasi totalité des protéines de structure et des protéines plasmatiques ainsi que des enzymes impliquées dans la transformation des toxines et des xénobiotiques .L'apport en acides aminés provient soit de l'alimentation (pour tous les acides aminés), soit de la synthèse de novo (pour les acides aminés non essentiels).

Les acides aminés essentiels : Ils sont synthétisés par les bactéries, mais pas par les mammifères car ceux ci ne disposent pas du matériel enzymatique nécessaire (BORG et REEBER, 2004)

### **I.5.3.-Etat dynamique des protéines :**

La plus grand partie de l'azote ingérée est retenu par l'organisme, et l'azote excrété provient des protéines de l'organisme (renouvellement de protéines).

-si on administre un aminoacide marqué sur l'azote ( $^{15}\text{N}$ ), on constat, d'une part que la plus grande partie de ce  $^{15}\text{N}$  est incorporée dans les protéines et que seule une petite partie est excrétée, d'autre part, que l'azote excrété est en grande partie non marqué et provient des protéines de l'individu. Ceci signifie que - contrairement à ce que l'on avait cru pendant longtemps - les protéines tissulaires de l'adulte ne sont pas stables pendant tout la vie de l'individu, mais sont au contraire perpétuellement en train de se renouveler (sans que leur concentration change). On appelle « état dynamique des protéines » ce métabolisme protéique permanent, caractérisé, d'un coté par une dégradation continue et, de l'autre, par une biosynthèse permanente des protéines à partir du « pool métabolique des aminoacides » (constitué par les aminoacides d'origine alimentaire et ceux libérés par hydrolyse des protéines tissulaires).

Grace à cette technique de marquage, on a pu étudier la rapidité avec laquelle les protéines des divers tissus se renouvelaient. Ainsi, chez le rat, la moitié des protéines hépatiques est renouvelée en 5jours alors que la demi-vie de protéines dans les tissus oies musculaire et conjonctif est de 21 jours cependant, commences dernières représentent un poids environ 25 fois supérieur à celui des protéines hépatiques .si l'on considère la biosynthèse des protéines à l'échelle de l'animal. Il est clair que, par unité de temps. Il se forme beaucoup plus de protéines dans les tissus musculaires conjonctifs que dans le foie (WEIL, 2005).

### **I.5.4.-La dégradation des protéines :**

Est un processus important qui permet d'un part, de cataboliser les protéines ingérées normales et élimines les protéines présentant des anomalies. (soit à la suite d'erreurs lors de la traduction, soit à la suite de dommages subis (par exemple lors d'un stress oxydatif) (WEIL, 2005).

### **I.5.5.-La demi-vie d'une protéine :**

La demi-vie des protéines est très variable selon leurs fonctions, comme les enzymes intervenant dans les phénomènes de régulation ont une demi-vie courte (WEIL, 2005). La demi-vie d'une protéine est indépendante de la vie de la cellule. Ainsi, certaines cellules qui se multiplient tous les 30 jours contiennent des protéines dont la demi - vie est courte. Au contraire, dans le foie la demi-vie est généralement proche de un jour, alors que les hépatocytes ne se divisent qu'une fois par an. Ou encore dans le cerveau ou le muscle ou les cellules ne se divisent pas, la demi-vie moyenne est comprise entre 3 et 6 jours. On considère que la demi-vie d'une protéine est surtout liée à sa fonction et à localisation. (BORG et REEBER, 2004).

### **I.5.1.1.-Localisation de la dégradation :**

On distingue deux sites de dégradation qui correspondent à deux mécanismes différents :

- Un processus lysosomal qui concerne les protéines à durée de vie longue. Il est contrôlé par des hormones.
- Un processus cytoplasmique qui concerne les protéines à courte durée de vie, en particulier celles qui jouent un rôle dans la régulation métabolique, ainsi que les protéines anormales à la suite d'une erreur de transcription, de traduction ou de modification post-traductionnelle. Ce processus est contrôlé par l'ATP (BORG et REEBER, 2004).

### **I.5.1.1.1.-Produits d'élimination du métabolisme azoté :**

L'azote est éliminé sous trois formes :

- ammoniac et sels ammoniacaux, chez les organismes ammoniotéliques (Invertébrés aquatiques et Poissons).
- acide urique, chez les espèces uricotéliques (Invertébrés terrestres, Oiseaux, Reptiles).
- urée, chez les animaux uréotéliques (notamment les Mammifères, dont l'Homme).

Ces différents azotés peuvent coexister chez un même organisme ; ainsi l'Homme excrète l'azote principalement sous forme d'urée (80%), mais on trouve dans l'urine également des sels ammoniacaux et de l'acide urique.

Dans la plupart des tissus ,la désamination des aminoacides conduit à la formation de  $\text{NH}_3$ , Cet ammoniac toxique est pris en charge par l'acide glutamique pour former la glutamine et c'est sous cette forme que  $\text{NH}_3$  est transporté dans le sang jusqu' aux reins le système acide glutamique – glutamine joue donc rôle capital dans le transport de  $\text{NH}_3$  , et il faut signaler que ces deux aminoacides représentent un pourcentage très important de l'azote non protéique des tissus animaux ( dans le plasma humain , ils forment à eux deux le tiers de l'azote total des aminoacides).

NH<sub>3</sub> est un précurseur de l'urée, mais il faut se souvenir que l'inverse n'est pas vrai : ce n'est pas l'urée qui est un précurseur du NH<sub>3</sub> urinaire, c'est avant tout la glutamine sanguine, et dans une moindre mesure l'ensemble des aminoacides dont la désamination au niveau du rein produit du NH<sub>3</sub> qui est immédiatement excrété (WEIL, 2005 ).

**I.6.-Rôles biologiques des protéines :**

L'importance des protéines vient surtout de l'extrême diversité de leurs fonctions biologiques

<b>Catégorie</b>	<b>Fonction générale</b>	<b>Exemple</b>	<b>Rôle biologique</b>
Enzymes	Catalyse des réactions	Anhydrase carbonique	Accélération des échanges de CO <sub>2</sub>
Protéines de structure	Organisation, consolidation ou protection des tissus	collagène	Constituant des tendons, du cartilage, des os
Protéines de transport	Faciliter le transport des ions/molécules à travers les membranes	Lactose perméase	Assure le passage et l'accumulation du lactose dans les bactéries ( <i>Escherichia coli</i> )
Protéines de défense	Reconnaissance et neutralisation des structures étrangères	Immunoglobulines (anticorps)	Fixent spécifiquement les structures étrangères (antigènes) et favorisent leur élimination
Protéines de réserve	Nutrition des embryons	ovalbumine	Protéine principale de l'œuf
Moteurs moléculaires	Conversion énergie chimique énergie mécanique	myosine	Contraction musculaire
Récepteurs	Détection et transduction de signaux chimiques, électriques, mécaniques, lumineux	rhodopsine	Captage des photons dans les disques rétiens
Régulateurs de transcription	Modulation de l'expression des gènes	Gcn4p	Contrôle de métabolisme des molécules azotées chez la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Hormones	Communication chimique entre les tissus et les organes	insuline	Entrée et consommation du glucose dans les tissus des vertébrés

**Tableau 01:** Fonction des protéines (GUILLTON et QUINTARD, 2007; KESSOUS, 2007).

### **I.7.-Méthodes d'étude des protéines :**

Cristallographie par diffraction des rayons x et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) ces techniques donnent des informations différentes sur des molécules placées dans des environnements différents (WEINMAN et MEHUL, 2004).

- **Analyse par diffraction aux rayons X de cristaux de protéines :**

On cristallographie par diffraction des rayons X, la protéine est bloquée dans un cristal et chaque réflexion contient une information sur ses atomes de carbone, d'oxygène et d'azote. (WEINMAN et MEHUL, 2004).

- **Par résonance magnétique nucléaire (RMN) :**

En RMN, la protéine en solution est libre et les intensités NOE (Nuclear Overhauser Effect) correspondant à des interactions dipolaires ; chaque résonance contient une information locale entre l'atome proche dans l'espace (WEINMAN et MEHUL, 2004).

Ces méthodes permettent d'obtenir une image de la structure . Au préalable, il isoler et purifier la protéine à étudier. Chaque cellule contient des milliers protéines différentes, certaines sont présentes à très faible concentration (KESSOUS, 2007).

#### **I.7.1.-Stabilisation des protéines lors de leur purification**

L'intégrité structurale des protéines et leur stabilité dépendent de plusieurs facteurs:

- **pH :**

Utilise des solutions tampon qui maintiennent le pH dans une zone "physiologique" (6.5-7.5/8.0) pour éviter d'endommager les protéines par des variations brusque de pH.

- **Température :**

Les protéines sont facilement dénaturées à hautes températures, plusieurs protéines se dénaturent lentement lorsque conservées à 25°C.

la purification des protéines se fait normalement à des températures proches de 0-5°C.une fois purifiées, les protéines peuvent se conserver à long terme à des températures de -20 à -80°C.

- **Protéases :**

Les cellules contiennent des protéases (enzymes qui hydrolysent les liens peptidiques). Ces protéases sont libérées lors de la lyse cellulaires et peuvent dégrader les protéines lors de la purification, l'ajout d'inhibiteurs de protéases permet d'empêcher cette dégradation (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

### I.7.2.-Extraction des protéines de la matière vivante :

Les méthodes d'extraction choisies doivent éviter la dénaturation des protéines, les techniques utilisées sont :

- broyage avec du sable, de l'alumine ou des billes de verre de petite taille.
- déchiquetage mécanique (blender de type Waring).
- homogénéisateur (Potter en téflon).
- rupture par haute pression (French press).
- sonication par vibration ultrasonique (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

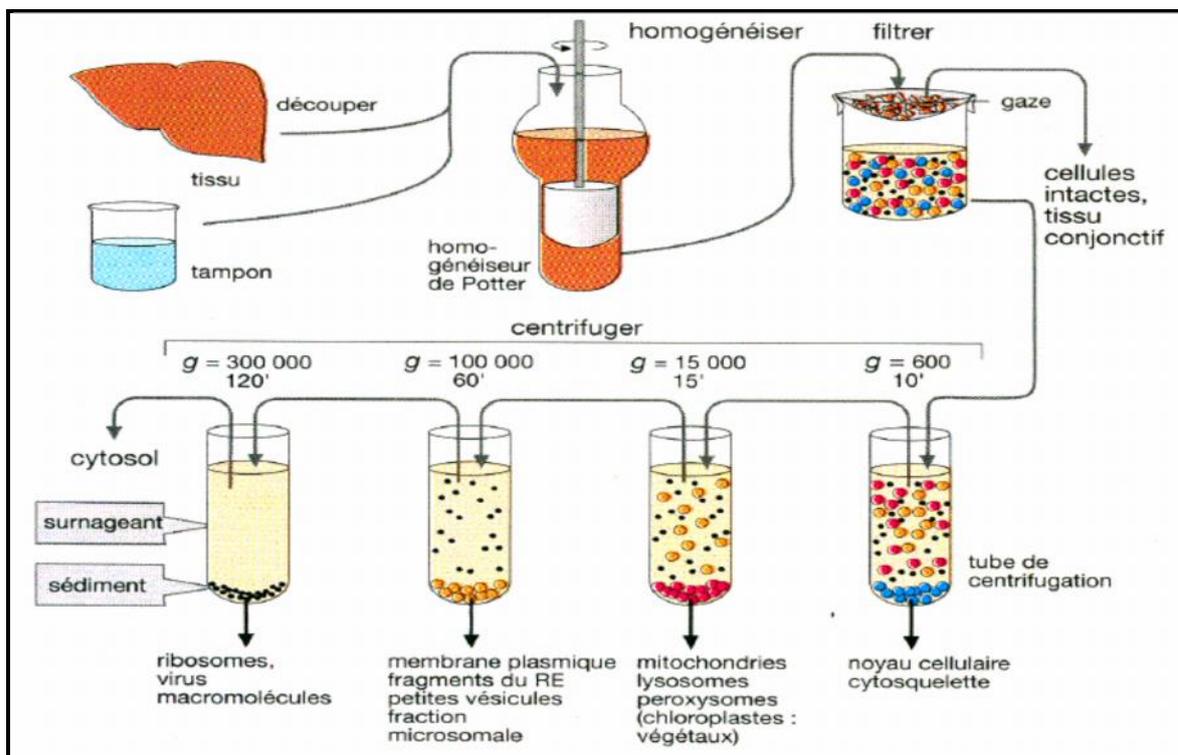


Figure 09 : L'étape de la purification des protéines (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM , 2008)

### I.7.3.-Purification de l'extrait :

- **Chromatographie :**

-d' échange d'ions: (exemple : diéthylamino- éthyle cellulose, ou DEAE- cellulose polymère dérivé de la cellulose, échangeurs d'anions).

-d' adsorption: (exemple : Gel de phosphate de calcium, terre de diatomée).

-de gel –filtration : certains polymères du glucose (dextran ou sephadex) se présentent comme des assemblages polyosidiques tridimensionnels comportant un nombre variable de liaisons croisées qui conditionnent la porosité du support .ces « gels » se comportent comme ces « tamis moléculaires »,et permettent de fractionner des protéines en fonction de leur taille moléculaire, les plus petites pénétrant dans le gel et étant de ce fait retardées (filtration inversée).

- **Electrophorèse** « préparative ».
- **Ultracentrifugation** « préparative » (AJEMP, 1982).

Les protéines sont des molécules relativement fragiles, ne concernant leur activité biologique que dans un intervalle étroit de pH et de température. Isoler une protéine à l'état pur semble aléatoire dans ces conditions. Cependant il existe des méthodes d'isolement et de purification des protéines très efficaces, ces méthodes font appel à :

<b>La taille moléculaire</b>	- ultracentrifugation - chromatographie par gel-filtration - électrophorèse
<b>La solubilité</b>	précipitation
<b>La charge électrique</b>	-chromatographie par échange d'ions -l'ectrophorèse - focalisation isoélectrique
<b>L'adsorption</b>	chromatographie d'affinité, l'affinité pour certaine substance biologique

**Tableau02 :** Différent méthode de l'isolement et de purification des protéines (KESSOUS, 2007).

### **I.7.3.1.-Procèdes d'isolement des protéines bases sur la taille moléculaire**

- **Dialyse et ultrafiltration :**

Les protéines globulaires en solution peuvent facilement être séparées des solutés de faibles PM par dialyse à travers une membrane semi-perméable. La taille des pores de cette membrane ne permet pas le passage des macromolécules, seules les molécules de faible PM peuvent traverser cette membrane semi- perméable (KESSOUS, 2007).

La dialyse consiste à placer la solution, contenue dans un sac de cellophane, en contact avec une solution tamponnée, dans le but d'éliminer les petites molécules(GUILLOTON et QUINTARD, 2007).

- **Chromatographie d'exclusion moléculaire ou gel- filtration moléculaire**

La séparation se fait selon le PM et la taille des solutés. Le mélange traverse par gravité la colonne contenant des billes d'un matériel interne, hydraté et polymérique ; En général on utilise du séphadex non commercial d'un polysaccharide. La porosité de ces billes est calibrée.

Les solutés de tailles moléculaires différentes pénètrent plus ou moins dans les pores des billes et ainsi traversent la colonne à des vitesses différentes. Les plus petites molécules pénètrent dans les grains de séphadex et sont retardées. Les grandes molécules protéiques sont exclus et migreront alors plus vite vers l'extrémité inférieure de la colonne (KESSOUS, 2007).

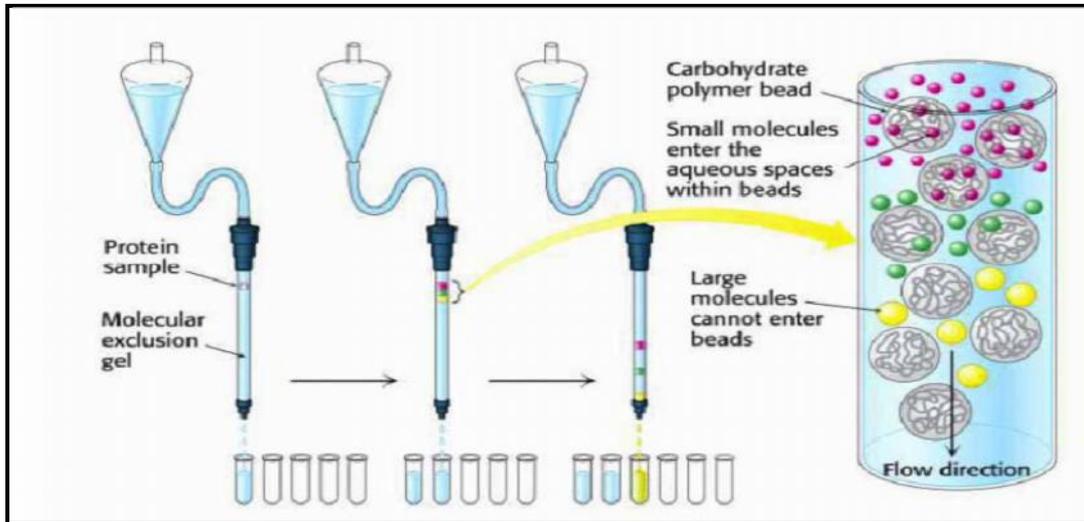


Figure 10 : Chromatographie d'exclusion moléculaire (THIBAUT, 2004).

### I.7.3.2.-Procèdes bases sur la solubilité

Les protéines en solution sont des électrolytes ; et donc leur solubilité est fonction de :

- Le pH
- La force ionique
- Les propriétés électriques du solvant
- La température

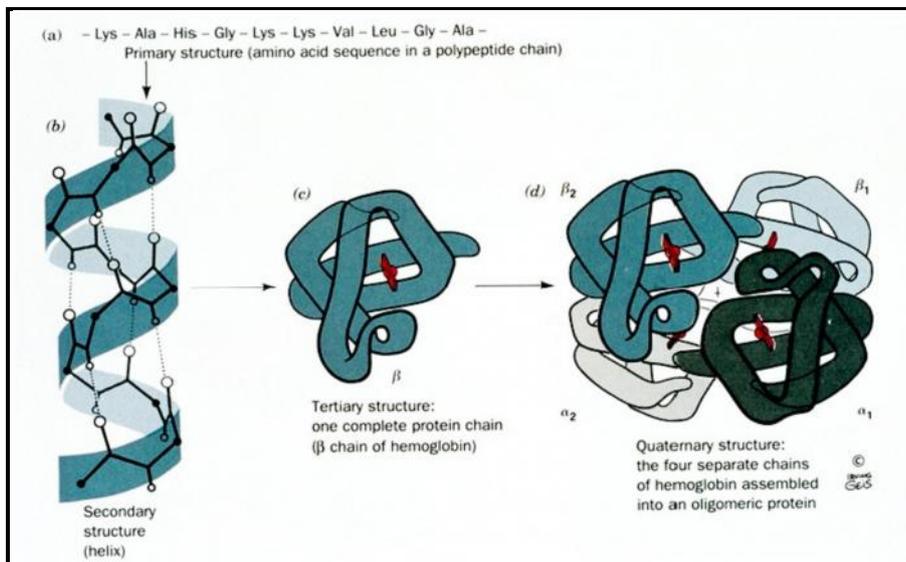


Figure 11 : Solubilité et précipitation des protéines (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

### I.7.3.2.1.-Précipitation isoélectrique :

Chaque protéine a une pH isoélectrique. A son pH isoélectrique la protéine ne porte pas de charge électrique nette et ne migre pas dans un champ électrique. N'étant plus chargée il n'y a plus de répulsion entre les molécules, elles vont former des agrégats et précipiter. Quand le pH d'un mélange protéique est ajusté au pH isoélectrique de l'un des protéine du mélange, cette protéine précipite alors que les autres restent en solution. Les protéines précipitées par cette méthode conservent leur conformation native (KESSOUS, 2007).

### I.7.3.2.2.-Dissolution des protéines par les sels (relargage) :

Quand la force ionique augmente, la solubilité d'une protéine diminue. A une force ionique suffisamment élevée la protéine devient insoluble et précipite c'est le relargage par les sels. Les protéines isolées par relargage conservent leur conformation native (KESSOUS, 2007).

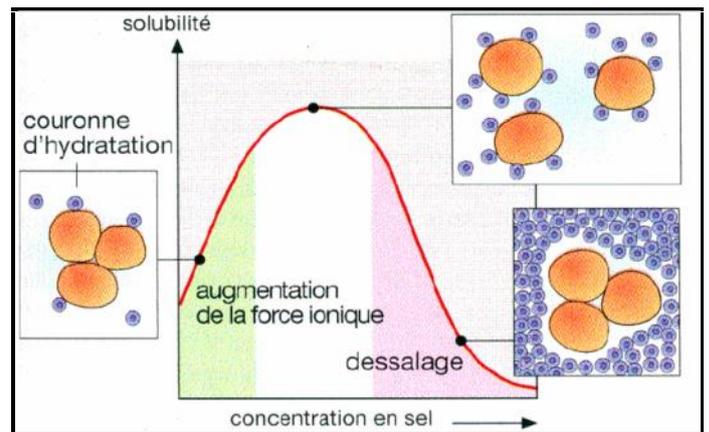


Figure 12 : Phénomène de dessalage

(VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

- **Salting in:**

Augmentation de la solubilité d'une protéine dans l'eau par l'ajout de faibles concentrations de sels.

- les ions salins interagissent directement avec les protéines.
- les ions de même charge augmentent la répulsion entre protéines, ce qui réduit leur agrégation favorise leur solubilité.
- ces ions (qui sont hydrophiles) augmentent les interactions des protéines avec le solvant aqueux favorise leur solubilité (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

- **Salting out:**

Diminution de la solubilité d'une protéine dans l'eau par l'ajout de hautes concentrations de sels.

- les ions salins n'interagissent pas avec les protéines.
- l'ajout de hautes concentrations de sels très hydrophiles amène la séquestration des molécules d'eau par ces ions.
- la quantité de molécules d'eau disponible pour solubiliser les protéines diminue.
- les régions hydrophobes des protéines seront déshydratées en premier lieu ce qui favorisera le rapprochement des régions hydrophobes des protéines (via interactions hydrophobe ->effet goutte d'huile) (VOET et VOET, 2008; KOOLMAN et RÖHM, 2008).

## **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

### **II.1.-Principe adopté :**

On a étudié le dosage des protéines céphalique chez un espèce acridienne par l'utilisation d'une méthode de dosage colorimétrique c'est la méthode de Lowry 1951.

### **II.2- Choix de matériel biologique :**

L'étude porte sur l'espèce *Tuarega insignis*, cette insecte représente un modèle de choix vu son fort potentiel reproducteur et de sa prédominance parmi les autres espèces. *Tuarega insignis* est sans doute le plus gros criquet de l'ancien monde, il est capable de voler sur 50 mètres et plus, ses ailes sont jaunes avec une bande jaune, on ne le remarque que lorsqu'il bouge.

#### **II.2.1-La place de criquet dans le règne animal :**

Dans le règne animal, la majorité des espèces connues (environ 80%) est constituée par des animaux à squelette externe ou cuticule et pattes articulées ou arthropodes.

Selon cette nouvelle classification, les Orthoptéroïdes se subdivisent en 5 ordres :

- Les dictyoptères comprennent deux familles : les Blattidae et les Mantidae.
- Les Dermaptères sont constitués par les forficules ou perce-oreilles.
- Les Phasmoptères correspondent aux phasmes.
- Les Isoptères regroupent les termites.
- Les Orthoptères sont représentés par les sauterelles et les criquets. La classification la plus admise est celle de DIRSH (1965) modifiée par UVAROV (1972) (BENKENANA, 2006).

Le criquet appartient à l'embranchement des ARTHROPODES (articulés) car son corps recouvert de chitine, est formé de segments et pourvu d'appendices articulés. Il appartient à la classe des INSECTES arthropodes dont le corps est divisé en trois parties : tête, thorax, abdomen. Le criquet possède une seule paire d'antennes, deux paires d'ailes et trois paires de pattes locomotrices (HEXAPODES).

La première paire d'ailes, dure, forme de longs élytres, et la deuxième paire, membraneuse, est pliée en éventail sous les élytres. Les pièces buccales sont broyeuses et le développement présente des métamorphoses incomplètes. Le criquet fait partie de l'ordre des ORTHOPTERES (ce mot rappelle que la seconde paire d'ailes forme des droites) (DÉSIRÉ, 2005).

#### **II.2.2-Position systématique:**

Embranchement : *Arthropodes*.

Classe : *Insectes*.

Ordre : *Orthoptères*.

Sous ordre : *Caeliférés*.

Famille : *Pawphagidae*.

Sous famille : *Akicerinae*.

Genre : *Tuarega*.

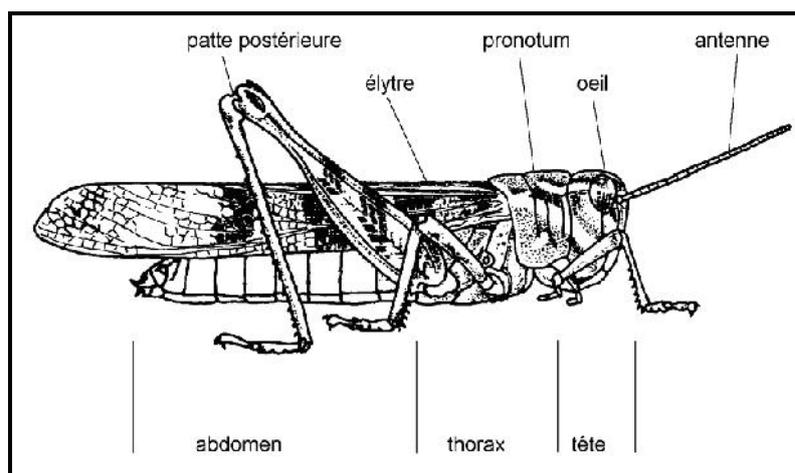
Espèce : *Tuarega insignis* (UVAROV, 1972).

### II.2.3- Répartition géographique :

Elle est liée à la recherche de la chaleur : les criquets se disposent sous le néon ou s'agrippent sur le cable chauffant dans l'angle du vivarium. Effectuez des mesures de température à l'aide du thermomètre fourni et constatez .on peut aussi observer la posture particulière adoptée par certains individus postés à proximité immédiate de la lampe (qui reproduit le soleil) ils inclinent leur corps pour profiter au maximum du rayonnement de la chaleur (BENKENANA, 2006).

### II.2.4- Morphologie des Acridiens :

Le corps des acridiens comprend trois partie appelées aussi tagmes : la tête le thorax et l'abdomen (Fig.13).



**Figure13** : La morphologie des acridiens (BENKENANA, 2006).

**La tête** porte une paire d'antennes, les pièces buccales et les yeux (BELLMANN et LUQUET, 2009). Elle est de type orthognate, elle forme un angle droit avec le reste du corps. Elle se subdivise en deux parties. Une partie ventrale qui renferme l'ensemble des pièces buccales. Une partie dorsale, la capsule céphalique, portant les yeux composés, les ocelles et les antennes (BENKENANA, 2006).

Les antennes, rectilignes et formées d'articles, son recouvertes de petits poils chitineux. On les considère comme des organes du toucher et de l'olfaction. Il existe **des yeux composés** et **des yeux simples**, les premiers, volumineux et de forme ovale présentent en surface un nombre très élevé de **facettes microscopiques**. Les yeux simples, ou **ocelles**, au nombre de trois, sont disposés en triangle un médian et deux latéraux ces derniers étant situés à la base des antennes (DÉSIRÉ, 2005).

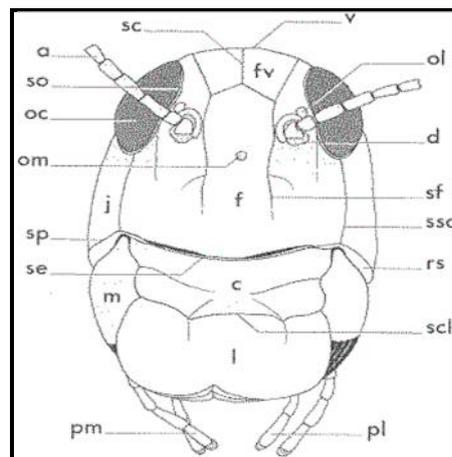
Les pièces buccales, appartiennent au type primitif broyeur (chez beaucoup d'autres insectes, on observe divers types évolués, par exemple les pièces buccales de type suceur-lécheur ou de type piqueur) (BELLMANN et LUQUET, 2009). Elles composent d'une :

**Lèvre supérieure** est un repli chitineux protecteur qui n'est pas considéré comme un véritable appendice. **Paire de mandibules**, appendices formés de chitine dure, sont dentées sur le bord interne.

**Paire de mâchoires** sont deux appendices biramés possédant chacun une pièce basilaire, une rame externe et une rame interne ; c'est la rame interne qui joue un rôle masticateur. Du côté externe, la mâchoire est pourvue d'un prolongement articulé riche en poils chitineux, **le palpe maxillaire**, qui constituerait un organe sensoriel destiné à apprécier la qualité des aliments.

**La lèvre inférieure** est une pièce unique qui a la valeur de deux appendices car elle est formée par la soudure de deux pièces biramées. Elle porte des palpes, **les palpes labiaux**, dont le rôle doit être identique à celui des palpes maxillaires.

Ces pièces buccales destinées à la mastication d'organes végétaux (feuilles, bourgeons...) sont **des pièces buccales broyeuses** ; l'appareil buccal du criquet, qui se retrouve chez bien d'autres insectes est un **appareil buccal broyeur** (DÉSIRÉ, 2005) (Fig.14).



**Figure 14** : La Forme générale de la tête (BENKENANA, 2006).

**a** : antenne, **c** : clypeus, **d** : dépression antennaire, **f** : front, **fv** : fastigium du vertex, **j** : joue, **l** : labre  
**m** : mandibule, **oc** : il composé, **ol** : ocelle latéral, **om** : ocelle médian **pl** : palpe labial, **pm** : palpe maxillaire, **rs** : région sub-génale, **sc** : suture coronale, **scl** : suture clypéo-labrale, **se** : suture épistomiale, **so** : suture oculaire, **sp** : suture pleurostomiale, **sso** : suture sous-oculaire, **v** : vertex

**Le thorax** : est le tagme spécialisé pour la marche et le vol, il est composé de trois segments d'avant en arrière : le prothorax, mésothorax et le métathorax. Dans chaque segment, il existe une partie dorsale : le pronotum ou tergeur, deux parties latérales : les pleures une partie ventrale le sternum.

Ces sclérites sont eux-mêmes divisés en sclérites secondaires. Les pattes sont insérées entre les pleures et le sternum, les ailes lorsqu'elles existent entre le sternum et les pleures (BENKENANA, 2006).

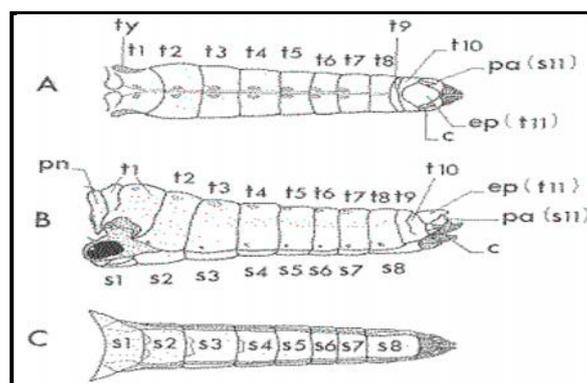
La première paire d'ailes est formée d'ailes étroites et solides qui recourent, au repos, la seconde paire d'ailes : ce sont les élytres. Les ailes postérieures, au contraire, sont plus larges et plus fines ; au repos elles se plient comme un éventail et s'abrient sous les élytres : ce sont les ailes du vol ou ailes membraneuses. Chaque aile est un repli chitineux qui s'est développé extérieurement. Une aile présente de nombreuses nervures ramifiées dont l'ensemble forme des dessins spécifiques.

Ces nervures sont des tubes chitineux ramifiés renfermant du sang et un tube respiratoire appelé trachée. Les ailes sont actionnées par des muscles puissants situés à l'intérieur des anneaux thoraciques. Un anneau thoracique porte une paire de pattes locomotrices. Sur chaque patte on observe les mêmes articles : la hanche qui relie la patte à l'anneau thoracique, le trochanter, la cuisse, la jambe le tarse formé de trois articles. Les deux premières paires de pattes sont semblables entre elles, mais la troisième présente une cuisse très longue et très puissante, ainsi qu'une jambe très développée l'ensemble cuisse-jambe-tarse fonctionne comme un véritable ressort plié en Z au repos et qui, en se détendant brusquement, projette l'animal en avant. On dit que les pattes postérieures du criquet sont adaptées au saut : le criquet est un insecte sauteur (DÉSIRÉ, 2005).

**L'abdomen** est composé de onze segments les dix premiers sont divisés dorsalement en tergites ventralement en neuf sternites chez les mâles et huit sternites chez les femelles.

Les segments sont reliés entre eux par des membranes très extensibles permettant les mouvements respiratoires.

Les valves génitales des femelles se situent à l'extrémité de l'abdomen, en position ventrale par rapport aux valves anales. Elles se composent de trois paires de valves courtes et robustes dont l'ensemble est l'organe de ponte typique des Caelifères appelé Oviscapte (Fig.15).

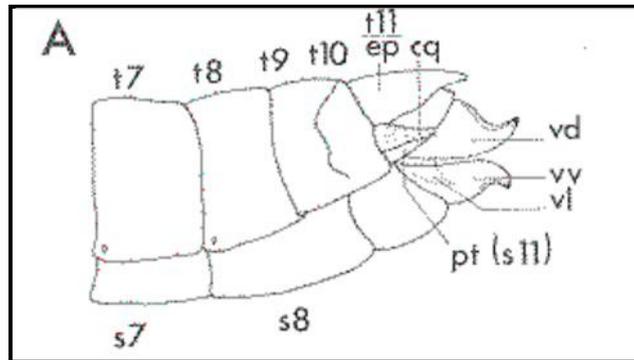


**Figure15** : Les différentes formes de l'extrémité Abdominal du mâle (BENKENANA, 2006).

**A** : vue dorsale, **B** : vue latérale gauche, **C** : vue ventrale **c** : cerque, **ep** : épiprocte, **pa** : paraprocte. **pn** : postnotum métathoracique, **s1-s8** : sternites abdominaux, **ty** : organe tympanique. **t1- t11** : tergites abdominaux.

L'organe copulateur des mâles placé à l'extrémité de l'abdomen sous les valves anales flanqués de deux cerques. On ne voit qu'un repli membraneux en forme de sabot, différencié à partir du neuvième sternite en plaque sous génitale. l'intérieur se trouve la chambre génitale.

La forme des cerques et de la plaque sous génitale des mâles varie beaucoup selon les espèces. Elles sont souvent utilisées dans les clés d'identification (Fig.16).



**Figure16** : L'extrémité Abdominale du femelle (BENKENANA, 2006).

**a** : apodème, **an** : anus, **cq** : cerque, **ep** : épiprocte, **go** : guide de l'uf, **gp** : gonopore ou orifice génital  
**od** : oviducte, **pt** : paraprocte, **r** : rectum, **s** : spermathèque, **sp** : orifice de la spermathèque.

**s7-s11** : sternites abdominaux, **s8** : sternite abdominal (plaque sous-génitale), **t8-t11** : tergites abdominaux, **vd-vl-vv** : valves dorsales, latérales et ventrales de l'oviscapte.

### II.2.5- Cycle biologique:

- Espèces à diapause embryonnaire, ne pouvant être capturées que pendant la saison des pluies. Seuls les œufs persistent dans le sol en saison sèche.
- Espèces à diapause imaginale, pouvant être capturées sous forme de larves et d'imagos pendant la saison des pluies mais uniquement sous forme d'imagos pendant la saison sèche.
- Espèces à reproduction continue, pouvant être capturées toute l'année sous forme de larves et d'imagos.
- Nombre maximal de générations par an généralement admis (LECOQ, 1988).

### II.2.6- L'importance économique :

La qualification « dangereux » est appliquée à l'espèce susceptible de faire des dégâts sur les cultures vivres ou industrielle. L'ingestion par les criquets de pesticides ou de végétaux toxiques peut provoquer des empoisonnements chez l'homme lorsque le dernier en consomme. Mais aucune maladie ne paraît de voir être transmise aux hommes et aux plantes par les criquets. Encore que quelques coïncidences aient été notées entre des arrivées massives de criquets et des maladies respiratoires chez l'homme, des cas d'allergie ont été relevés. Les acridiens ont toujours été considérés comme un fléau et une catastrophe naturelle.

La menace acridienne a laissée des traces indélébiles dans la mémoire des hommes, en effet les dégâts causés par les acridiens sont suivis de famine dans le pays pauvres.

Dans un passé récent, les acridiens ont occupés à plusieurs reprises. Le premier plan de l'actualité des ravageurs : pullulations des sauteriaux dans le Sahel en 1974 et 1975 puis du criquet pèlerin « *Schistocera gregaria* » autour de la mer rouge et du criquet migrateur « *locusta migratoria* » dans le Sud du bassin du lac Tchad en 1979 et 1980.

En 1986, les pertes agricoles causées par les acridiens dans sept pays du Sahel ont été estimées à 77 millions de dollars soit 8% de la valeur commerciale des céréales. Le coût de la lutte anti-acridienne est revenue à 31 millions de dollars. Le total des pertes annuelles dues aux sauteriaux est suffisamment élevé pour que ces insectes soient classés comme des ennemis majeurs des cultures, cette perte diffère en fonction de l'espèce, en raison de sa densité, de ses besoins alimentaires et de la plante cultivée attaquée (BENKENANA, 2006).

### **II.3- Méthode de dosage des protéines :**

#### **II.3.1- Extraction des protéines céphaliques :**

Pour l'étude quantitatif des protéines céphaliques, on effectue une extraction des protéines céphalique à partir de 6 têtes des criquets (3criquet males et 3 femelle), Pour ce faire, on découpe ces têtes en petit morceaux et on mesure leurs poids ensuite on broie ceux –ci en présence d'une solution d'extraction (tampon à (pH 7) et tween) pendant 5 min .puis on filtre se mélange à l'aide d'un papier filtre, en fin on obtient un extrait brut.

#### **II.3.2-Dosage des protéines :**

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Lowry qui utilise le folin ciocalteu comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (B.S.A) comme standard.

##### **II.3.2.1-Principe de la réaction :**

La **méthode de Lowry** est une méthode de dosage colorimétrique des protéines créée en 1951 par le biochimiste américain Oliver H. Lowry . Elle est essentiellement basée sur la méthode du biuret.

Le dosage est réalisé en deux étapes distinctes :

La première, la protéine est mis à réagir avec du sulfate cuivrique alcalin en présence de tartrate pendant 10 minutes à température ambiante. Au cours de cette incubation, un cuivre tétradentate formes complexe à partir de quatre liaisons peptidiques et un atome de cuivre (c'est le "réaction du biuret").

1. Complexation d'ions  $\text{Cu}^{2+}$  avec les atomes d'azote des liens peptidiques de la protéine dans des conditions de pH alcalin. Le  $\text{Cu}^{2+}$  est ainsi réduit.

au  $\text{Cu}^{+}$ :  $\text{Cu}^{2+}/\text{OH}^{-} + \text{protéine} \longrightarrow \text{complexe } [\text{Cu}^{2+} \text{ _ protéine}]$ .

$\text{Cu}^{2+} + (\text{acides aminés polaires, Trp, Tyr red}) \longrightarrow \text{Cu}^{+} + (\text{acides aminés})\text{ox}$ .

Deuxièmement, une solution d'acide phosphomolybdique-phosphotungstique est ajoutée. Ce composé (appelé Folin-phénol réactif) se réduit, la production d'un bleu intense. On croit que l'amélioration de la couleur se produit lorsque le complexe de cuivre tétradentate transfère des électrons au complexe acide phosphomolybdique-phosphotungstique. La couleur bleue continue de s'intensifier au cours d'une incubation température ambiante 30 minutes. Il a été suggéré que lors de l'incubation de 30 minutes, un réarrangement du complexe initial bleu instable conduit à l'écurie complexe final de couleur bleue qui a une plus grande absorption.

2. Les ions  $\text{Cu}^{+}$  et les radicaux du Trp, Tyr et Cys réduisent le complexe acide phosphotungstique/acide phosphomolybdique (couleur jaune) contenu dans le réactif Folin-Ciocalteu ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$ ), produisant ainsi une couleur bleue.

$\text{Cu}^{+} + (\text{F-C})\text{ox} \longrightarrow \text{Cu}^{2+} + (\text{F-C})\text{red}$  (*Bleu*) (CHEVREUX, 2009; CABOS- SIGUIER, 2009).

La couleur finale est bleu optimale mesurée à 750nm, mais elle peut être mesurée à une longueur d'onde 650nm et 750nm entre avec peu de perte de l'intensité des couleurs. Il est préférable de mesurer la couleur à 750nm depuis quelques autres substances absorbent la lumière à cette longueur d'onde.

Pour petits peptides, la quantité de couleur augmente avec la taille du peptide. La présence de l'un des cinq résidus d'acides aminés (tyrosine, le tryptophane, la cystéine, l'histidine et l'asparagine) dans le peptide ou squelette de la protéine augmente encore la quantité de couleur produite parce qu'ils contribuent supplémentaires équivalents réducteurs pour réduire encore le complexe d'acide phosphomolybdique / phosphotungstique.

À l'exception de la tyrosine et le tryptophane, acides aminés libres ne seront pas produire un produit coloré avec le réactif de Lowry, toutefois, la plupart des dipeptides peuvent être détecté (BERTRAND, 2002).

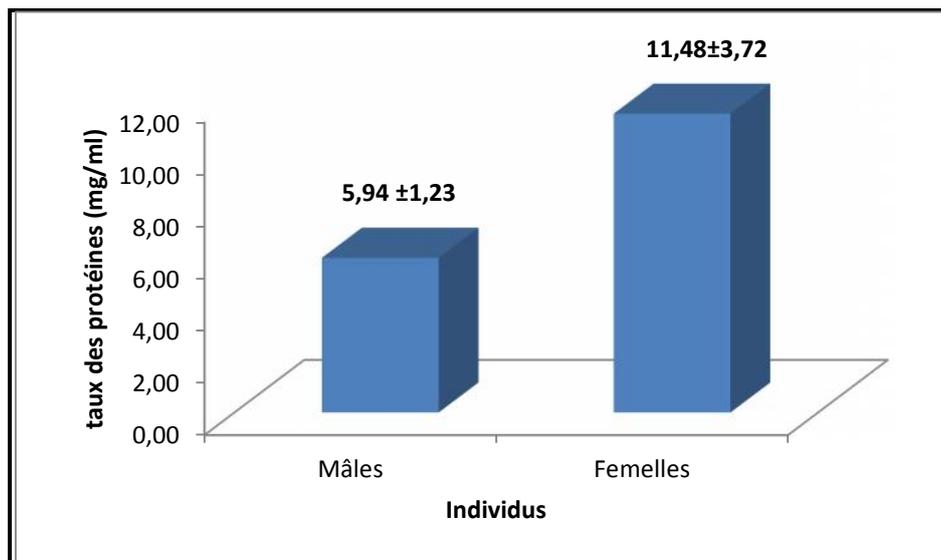
### **II.3.2.2-Mode opératoire :**

On prend l'extrait de ces 6 têtes des criquets et on met chaque sur un tube à vis, ainsi ajoute 1,25 ml de réactif C à 0,25 ml d'échantillon à doser, convenablement dilué dans l'eau distillée (1/100) , après 10 minutes, on ajoute rapidement 0,125 ml de réactif de Folin-Ciocalteu, (ajouter le réactif au centre du tube, ne pas le faire l'agitation ). Après 30 minutes à l'obscurité, à l'aide d'un spectrophotomètre on lire l'absorbances à une longueur d'onde de 750 nm. la concentration en protéines estimée par rapport à une courbe étalon établie avec l'albumine de sérum de bœuf (BSA entre 0 et 0,1 g/l).

### III.- Résultats et Discussions :

#### III.1.-Taux de protéines :

Les résultats d'étude du taux de protéines sont répertoriés sur la figure (17), lors du dosage de protéines dans la partie céphalique récoltée sur *Tuarega insignis*, les concentrations mesurées étaient respectivement de  $5.94 \pm 1.23$  mg de protéines /ml chez les mâles et de  $11.48 \pm 3.72$  mg de protéines /ml chez les femelles. Le taux de protéines chez les individus femelles, est élevé par rapport à celui des individus mâles. Donc les individus mâles, présentent une valeur inférieure de taux de protéines.



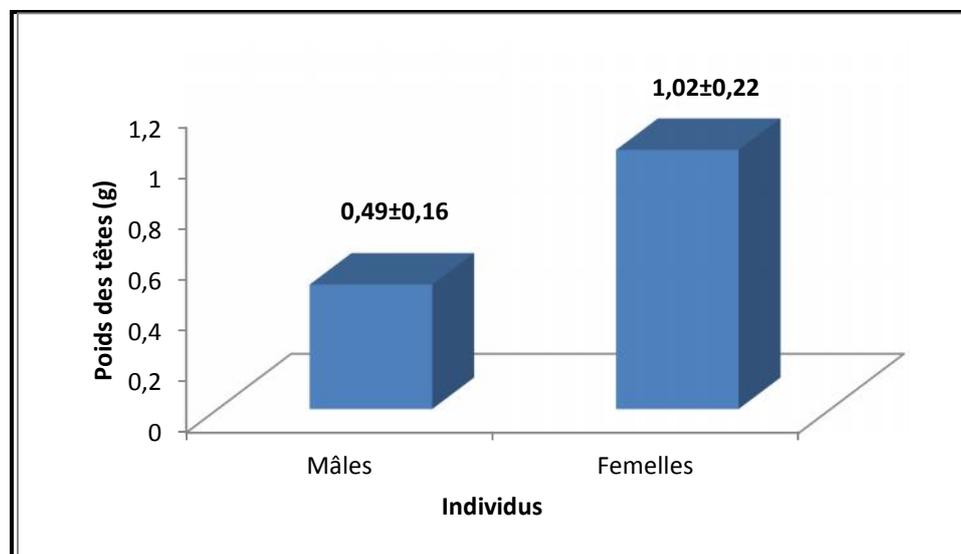
**Figure 17:** Taux de protéines chez les individus mâles et femelles de *Tuarega insignis*

Selon les résultats des dosages, le taux de protéines chez les criquets femelles est très important que les criquets mâles. En outre, VANTOMME, 2010 montre que beaucoup d'insectes jouent un rôle important dans l'alimentation des humains et des animaux domestiques car ce sont d'excellentes sources de protéines, glucides et vitamines.

La pratique de l'entomophagie peut contribuer à compenser ces carences: par exemple. Si les termites contiennent 35% de protéines et 45 % de lipides, les sauterelles ont une teneur en protéines qui varie de 50 à 75 % alors que le poulet n'excède que 23 % et le porc, 17% (BIZÉ, 1997).

### III.2.- Poids des têtes :

Les résultats relatives au poids des têtes des individus femelles et mâles de *Tuarega insignis* sont répertoriés sur la figure (18).



**Figure 18:** Le poids des têtes chez les individus mâles et femelles de *Tuarega insignis*

Le Poids des têtes chez les individus femelles, est élevé par rapport à celui des individus mâles. Il est de  $1.02 \pm 0.22$ g pour les femelles et  $0.49 \pm 0.16$  g pour les mâles. Donc les têtes des femelles plus grandes que les têtes des mâles.

A partir des deux figures (17) et (18), on constate que le taux de protéine est en relation proportionnelle avec le poids de tête. Lorsque le poids est élevé le taux de protéine est important.

## Conclusion

La présente étude a pour objectif l'étude de dosage des protéines céphaliques de l'espèce *Tuarega insignis* à travers leur taux en protéine céphalique, pour ce fait en utilisant la méthode de Lowry.

Les résultats obtenus dans l'analyse quantitative de protéine céphalique dans *Tuarega insignis* montrent qu'une variabilité existe entre les femelles et les mâles. En conséquence la quantité de protéine existante dans le céphale de femelle et de mâle constitue un caractère spécifique.

Ce travail reflète une variabilité quantitative sur le taux de protéine céphalique selon le sexe de criquet étudié, et montre que le classement des extraits protéiques en fonction de leur poids dépend principalement de leur sexe. De point de vue comparative le taux de protéine céphalique dans la femelle est élevé  $11.48 \pm 3.72$  mg/ml que le taux de protéine céphalique dans le mâle  $5.94 \pm 1.23$  mg/ml.

En fin, l'étude de dosage des protéines céphaliques dans une seule espèce acridienne *in vitro* montre une quantité de protéine céphalique importante et à des variabilités sur le taux de cette protéine entre les femelles et les mâles. Donc ces résultats importants pour la lutte antiacridienne, en outre à travers cette étude nous avons pu traiter quelque donnée sur les problèmes à l'agriculture. À cet effet le problème acridien suppose une connaissance approfondie de la biochimie de criquet.

Néanmoins, il serait intéressant d'élargir l'échantillonnage pour différents métabolites dans le but de préciser les composés d'importance biologique et préconiser les méthodes de lutte, nous envisageons d'élargir nos recherches ultérieures et d'approfondir l'étude de quantité de protéine céphalique acridienne.

Nous espérons que vous sélectionnez le type de recherche d'autres protéines en plus à la céphale d'acridien et les fonctions de ces protéines au sein du membre.

*Références bibliographiques*

- AJEMP., 1982-** Biochimie.3<sup>ème</sup> édition, Ed. Office des publications universitaires, Alger, 210 p.
- BEAUMONT. S., 2005-**Biochimie.Ed . Dunod, paris, 342 p.
- BELLMANN. H et LUQUET.G., 2009-** Guide des sauterelles grillons et criquets d 'Europe Occidentale. Ed. Delachoux et Niestlé, Paris ,383 p.
- BENKENANA.N., 2006-** Analyse biosystématique, écologique et quelques aspects de la biologie des espèces acridiennes d'importance économique dans la région de Constantine. Thèse Magister, en entomologie, Unive. Mentouri, Constantine, Algérie ,162 p.
- BERRADA. S., 2009-** Biochimie Appliquee Dans Les Filieres Sbssa (Cours Des Proteines : Structure Proprietes et Applications Technologiques).13p.
- BERTRAND. M., 2002-** Suivi de l'ATP et des proteines du biofilm dans un bioréacteur à lit fluidisé fermentant un perméat de lactosérum reconstitute.Thèse Exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables, Unive. Québec à Chicoutimi, 113p.
- BIZE. V., 1997-** Les insectes, une ressource alimentaire d'avenir. insectes 106 (03), p10.
- BORG. J et REEBER. A., 2004 -** Biochimie métabolique. Ed. Dunod, paris, 240 p.
- CABOS-SIGUIER .B, 2009-**Etude de deux facteurs de transcription impliqués dans le développement des mélanomes et la formation de métastases: N Oct-3 et HIF-2a. Caractérisation structurale, recherche de partenaires et étude de leur interaction avec l'ADN.Thèse. doctorat l'université PAUL Sabatier Toulouse III. 137p.
- CHEVREUX .S., 2009-** Speciation directe de metalloproteines separees sur gels d'electrophorese : Analyses XAS de la superoxy de dismutase et ICP-MS de proteines Arseniees.Thèse Doctorat, Unive. Bordeaux, 201 p.
- COLLAS. Ph., 2005-** Cours de Biochimie structural. UCO Bretagne Nord, 57 p.
- DESIRE. C., 2005-** Zoologie. Ed. Bordas, France, 324p.
- GAUDUCHON.P., 2010-**protéines cour n0 2. 38 pp.
- GAW. A, MURPH. M.I, COWAN. R. A, O'REILLY. STEWART .D et SHEPHERD. J., 2004 -** Biochimie clinique, Ed. Dunod, paris, 165p.
- GUILLOTON. M et QUINTARD. B., 2007-**Mini Manuel de Biochimie. Ed. Dunod, paris, 214p.
- KESSOUS. C., 2005-** Biochimie structurale. 9<sup>ème</sup> édition, Ed. Office des publications universitaires 194p.
- KOOLMAN et RÖHM, 2008-** L'Atlas de Poche de Biochimie. Ed. Flammarion, 32pp.

- LECOQ. M., 1988-** les Criquets du Sahel. Ed. Ministère des Affaires étrangères des Pays-Bas et CIRAD/PRIFAS (France).125 p.
- MOUSSARD. C, GIBEY. R et BENEDINI. M., 2002** -Biochimie structurale et métabolisme. 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Dunod, Paris, 2005, 245p.
- OUAHES. C., 2009-** Chimie organique (Sciences biomédicales et sciences de la nature). 8<sup>ème</sup> édition Ed, Office des publications universitaires, 420 p.
- ROUEDE., 2006-** Protéine(L3).31 pp.
- THIBAUT. P., 2004-**Purification de protéines.22 pp.
- UVAROV.B. P., 1972-** The fight against locusts in the government of Chad during the period 1970-1971, reffian dyuro, 88p.
- VOET et VOET., 2008-** livre Biochimie. 3<sup>ème</sup> édition. Ed.Umontreal.ca, 32 pp.
- VONTOMME.P., 2010-** les insectes forestiers comestibles, un apport protéique négligé. Unasylva 236 (61), département des forêts de la FAO, Rome, P19.
- WEIL .J. H., 2005-** Biochimie générale.10<sup>ème</sup> édition, Ed, Dunod, paris, 726p.
- WEINMAN. S et MEHUL. P., 2004** -Tout la biochimie. Ed, Dunod, paris, 452p.

## **Dosage des protéines par la méthode de Lowry (1951)**

### **I- Matériaux et produits chimiques:**

#### **I.1-Les réactifs et produits chimique:**

##### **I.1.1-Réactifs :**

- Réactif de Folin- Ciocalteu.
- NaOH : la soude.
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  : carbonate de sodium anhydre .
- $\text{CuSO}_4$  : sulfate de cuivre anhydre.
- Tartrate de Na et K.
- (BSA) Albumine de sérum bovin.

##### **I.1.2-Solutions :**

Le réactif de dosage est préparé extemporanément à partir de trois solutions :

La solution de Lowry est un mélange de produits chimiques les dessus, à l'exception du réactif de Folin.

-0,5g de  $\text{CuSO}_4$  dans 100 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée.

-1g de tartrate de Na et K dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$  distillée à partir des deux solutions on prépare les solution suivants :

-solution A : 5g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans 250 ml  $\text{H}_2\text{O}$  distillée + 1g de NaOH.

-solutions B : 2ml de  $\text{CuSO}_4$  0,5% +2ml de tartrate de Na et K 1%.

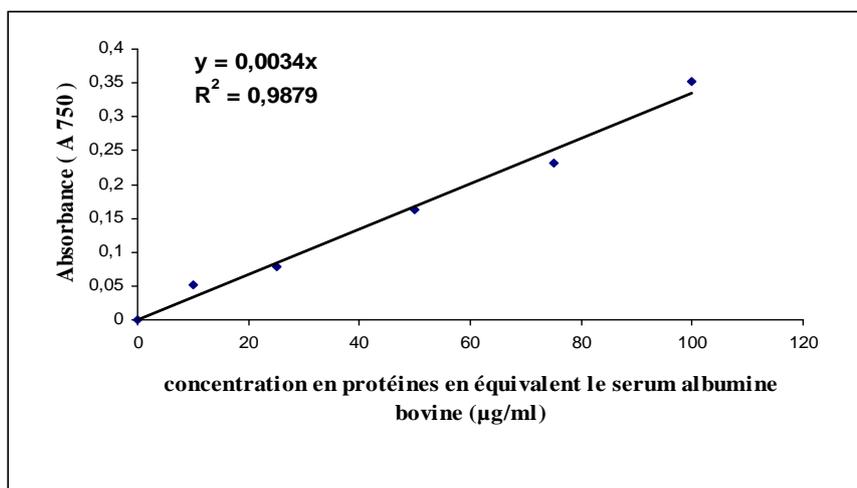
-solution C : 50ml de A +1ml de B.

Les solution doit être préparé, au jour de la mesure. Bien que la solution C préparé à l'avance.

**\*Gamme d'étalonnage:**

A partir de la solution de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau ci- dessous

Solution de BSA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	0	10	25	50	75	100
Solution mère de BSA ( $\mu\text{l}$ )	0	100	250	500	750	1000
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	1000	900	750	500	250	0

**\*Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY et al (1951).**

BSA = l'albumine sérique bovine utilisée comme protéine étalon;

R = Coefficient de corrélation

## Résumé

Notre étude porte sur le taux de protéines chez le criquet *Tuarega insignis*, les résultats obtenus par le dosage des protéines reflètent une variabilité quantitative de taux de protéine céphalique entre les femelles et les mâles, le taux de protéines chez les individus femelles, est plus élevé par rapport à celui des individus mâles. Il est de  $11.48 \pm 3.72$  mg de protéines /ml pour les individus femelles et de  $5.94 \pm 1.23$  mg de protéines /ml pour les individus mâles. Ainsi le poids des têtes chez les individus femelles, est élevé par rapport à celui des individus mâles. Il est de  $1.02 \pm 0.22$  g pour les femelles et  $0.49 \pm 0.16$  g pour les mâles. Ces résultats reflètent une corrélation directe entre le taux de protéine et le poids céphalique dans ce criquet. Lors que le poids est élevé le taux de protéine augmente.

**Mots clés :** Dosage - Protéines céphaliques - *Tuarega insignis*.

## Summary

Our study is about the rate of proteins at the locust *Tuarega insignis*, the obtained results by the dosage of proteins reflect a quantitative variability of the rate of cephalic protein between the females and the males, so the rate of proteins at the females is more raised in comparison with males. It is  $11.48 \pm 3.72$  mg of proteins /ml for females, and  $5.94 \pm 1.23$  mg of proteins/ml for males. Thus weight of heads of females is more raised in comparison with males. It is  $1.02 \pm 0.22$  g for females and  $0.49 \pm 0.16$  g for males. These results reflect a direct correlation between the rate of proteins and the cephalic weight at the case of this locust. When the weight is raised, the rate of proteins will be raised also.

**Key words:** Dosage - Cephalic proteins - *Tuarega insignis*.

## ملخص

تتم دراستنا بنسبة البروتينات لدى جراد *Tuarega insignis*، وقد كشفت النتائج المتحصل عليها من خلال معايرة البروتينات عن التغير (الاختلاف) الكمي لنسب البروتينات الدماغية بين الإناث والذكور. حيث أن نسبة البروتينات لدى الإناث مرتفعة أكثر مقارنة بالنسبة الموجودة لدى الذكور، وهي  $3.72 \pm 11.48$  ملغ من البروتينات/مل بالنسبة للإناث و  $1.23 \pm 5.94$  ملغ من البروتينات/مل بالنسبة للذكور. وهكذا فإن وزن الرؤوس لدى الإناث مرتفع أكثر مقارنة بالذكور وهو  $0.22 \pm 1.02$  غ بالنسبة للإناث و  $0.16 \pm 0.49$  غ بالنسبة للذكور، وتكشف هذه النتائج أن هناك علاقة مباشرة بين نسبة البروتينات ووزن الدماغ لدى هذا النوع من الجراد. أي عندما يكون الوزن مرتفعاً تزيد نسبة البروتينات.

**الكلمات الدالة:** معايرة - البروتينات الدماغية - جراد *Tuarega insignis*.