

# DES ACIDES $\alpha$ -AMINÉS AUX PEPTIDES ET PROTÉINES

## Exercice d'application

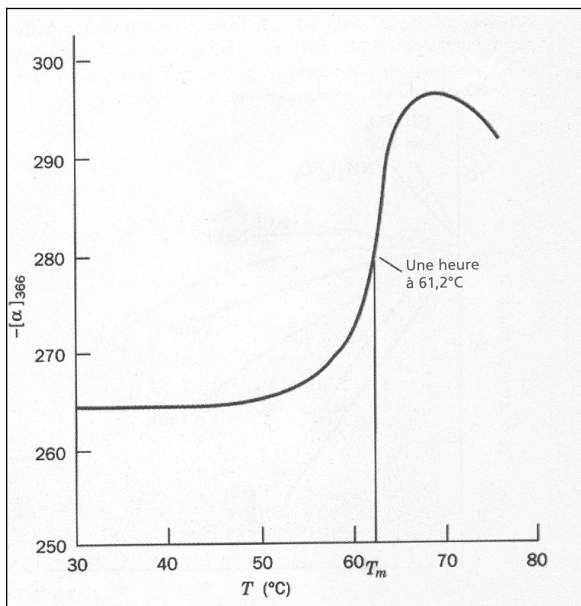
### La dénaturation et renaturation de la ribonucléase

La ribonucléase, petite protéine de 100 acides aminés, contient 8 cystéines associées par 4 ponts disulfures intra-caténaux.

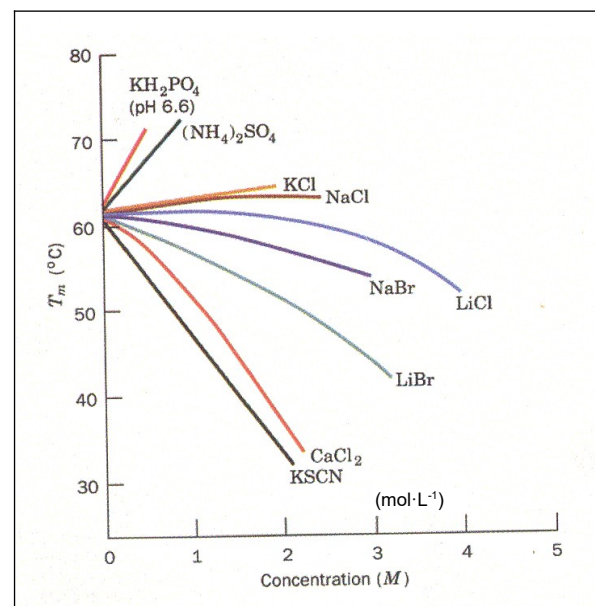
**Q1.** Signifier les termes « ponts disulfures intra-caténaux » ?

On étudie le pouvoir rotatoire de la ribonucléase en fonction de la température (document n°1) ainsi que l'action de différents sels sur cette enzyme (document n°2).

Document n°1 :



Document n°2 :



**Q2.** Décrire le phénomène de dénaturation thermique de la ribonucléase grâce au document n°1.

Sur le graphique du document n°1, la température de fusion protéique (*protein melting temperature*, notée  $T_m$ ) est repérée.

**Q3.** Dédire la définition de la  $T_m$  protéique et relever sa valeur pour la ribonucléase.

**Q4.** Commenter le document n°2.

Afinsen, en 1957 étudia la renaturation de la ribonucléase en appliquant divers traitements à cette enzyme.

	Protéine utilisée	Traitement suivi	Effet du traitement	
			Nombre de thiols libres	Activité enzymatique
Cas 1	protéine native	8M urée + 2-Mercaptoéthanol	8	0
Cas 2	protéine dénaturée et réduite	dialyse contre tampon sans urée et sans 2-Mercaptoéthanol	0	++
Cas 3	protéine dénaturée et réduite	dialyse contre 8M urée	0	0
Cas 4	protéine obtenue par le traitement en 3	dialyse contre tampon sans urée	0	~ 1%
Cas 5	protéine obtenue par le traitement en 3	dialyse sans urée + traces 2-Mercaptoéthanol	0	++

**Q5.** Rappeler ou rechercher la formule et le mode d'action de l'urée et du  $\beta$ -mercaptoéthanol.

**Q6.** Rechercher et présenter rapidement la méthode de dialyse (principe, intérêt).

**Q7.** Analyser les cas 1 et 2.

**Q8.** Expliquer en détaillant les résultats obtenus pour les cas 3, 4, et 5.

*Aide : On pourra s'interroger sur le nombre de manières de reformer 4 ponts disulfure dans la protéine dénaturée et réduite.*