

IV. Catabolisme des protéines

Les protéines sont des macromolécules biologiques essentielles, présentes dans toutes les cellules vivantes. Elles se composent de longues chaînes d'acides aminés, qui sont des unités de base liées entre elles par des liaisons peptidiques.

Le catabolisme des protéines est un processus fondamental pour les micro-organismes, leur permettant de dégrader les protéines en acides aminés, qui seront ensuite utilisés pour la synthèse de nouvelles protéines, comme source d'énergie, ou transformés en d'autres molécules.

Les microorganismes protéolytiques sont les agents de la putréfaction et doivent leurs activités à la sécrétion des protéinases exo-cellulaires. On trouve dans ce groupe des moisissures, de nombreuses bactéries aérobies strictes (*Pseudomonas*, *Bcillus*) et d'autres bactéries aéroanaérobies facultatives (*Proteus*, *Serratia*), et des anaérobies stricts sporulés (*Clostridium*).

IV.1. Les étapes du catabolisme protéique

IV.1.1. Protéolyse extracellulaire:

- Sécrétion d'enzymes: Les micro-organismes sécrètent des protéases, des enzymes spécifiques qui hydrolysent les liaisons peptidiques des protéines, les fragmentant en peptides plus petits.

- ✓ Les protéases, enzymes exocellulaires, sont largement sécrétées par divers microorganismes, avec des quantités significatives. Par exemple, *Clostridium histolyticum* produit 4 types de protéases, tandis que *Bacillus subtilis* peut sécréter jusqu'à 1g/l de protéases utilisées dans l'industrie. Les protéases provenant de moisissures jouent un rôle crucial dans la fabrication de divers produits alimentaires comme le fromage de Roquefort par *Penicillium roquefortii*. La gélatinase est spécifiquement utilisée à des fins diagnostiques pour classifier les espèces telles que *Bacillus* et les entérobactéries, tandis que d'autres protéases peuvent entraîner l'altération de produits alimentaires tels que le lait (caséinases), le sérum et le blanc d'œuf.

- Adaptation au substrat: Le type de protéase produit dépend de la nature des protéines à dégrader. Par exemple, certaines bactéries produisent des protéases capables de dégrader le collagène, une protéine très résistante.

IV.1.2. Transport des peptides:

- Perméases: Les peptides issus de la protéolyse extracellulaire sont transportés à l'intérieur de la cellule grâce à des transporteurs spécifiques appelés perméases.

IV.1.3. Protéolyse intracellulaire:

3.1. Dégradation des peptides

- À l'intérieur de la cellule, d'autres protéases, appelées peptidases, hydrolysent les peptides en acides aminés individuels.

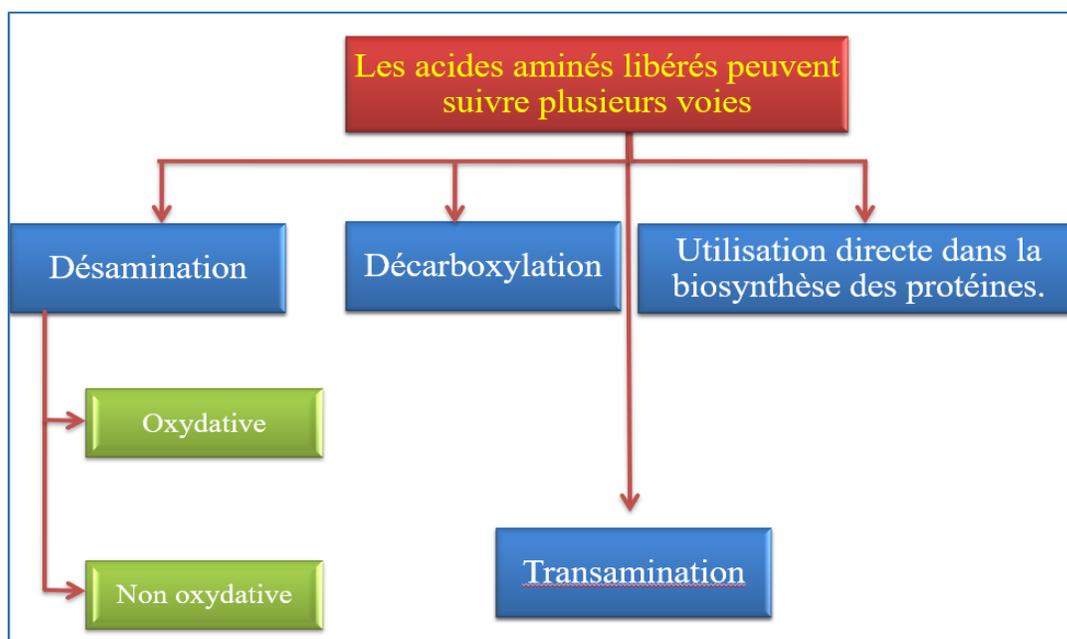
- Les peptidases sont de deux types, les endopeptidases et les exopeptidases, en fonction de leur mode d'attaque de la chaîne polypeptidique. Les exopeptidases sont elles-mêmes subdivisées en deux catégories :

- Les aminopeptidases commencent leur action par l'extrémité $-NH_2$ libre du polypeptide et leur activité dépend souvent de la présence d'ions métalliques.
- Les carboxypeptidases débutent leur attaque par l'extrémité $-COOH$ libre du polypeptide.

L'activité de ces différentes enzymes conduit à la libération de di- et tripeptides qui sont ensuite hydrolysés en acides aminés.

3.2. La dégradation des acides aminés

- Contrairement à la dégradation des glucides, les réactions des dégradations des acides aminés ne produisent pas de l'ATP : l'énergie des liaisons rompues est dégagée sous formes de chaleur. Seule la dégradation des radicaux carbonés restants peut produire de l'énergie utilisable par la cellule.

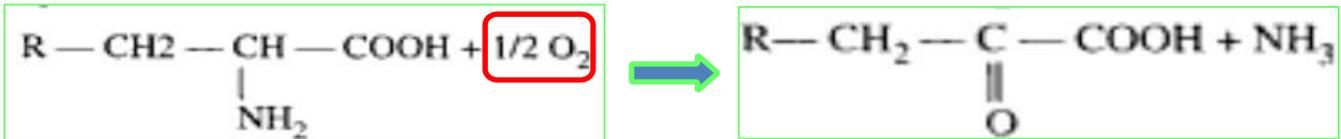


- La dégradation des acides aminés s'effectue principalement par désamination et décarboxylation.

a) La désamination

- **Les aminoacides désaminases :** Conduisent à la libération du groupe NH₂ le plus souvent sous forme d'ammoniaque. Elles sont à la fois des enzymes oxydatives et des enzymes non oxydatives.

- **La désamination oxydative :** l'acide aminé est hydrolysé en ammoniaque et en acides α-cétonique selon la réaction :

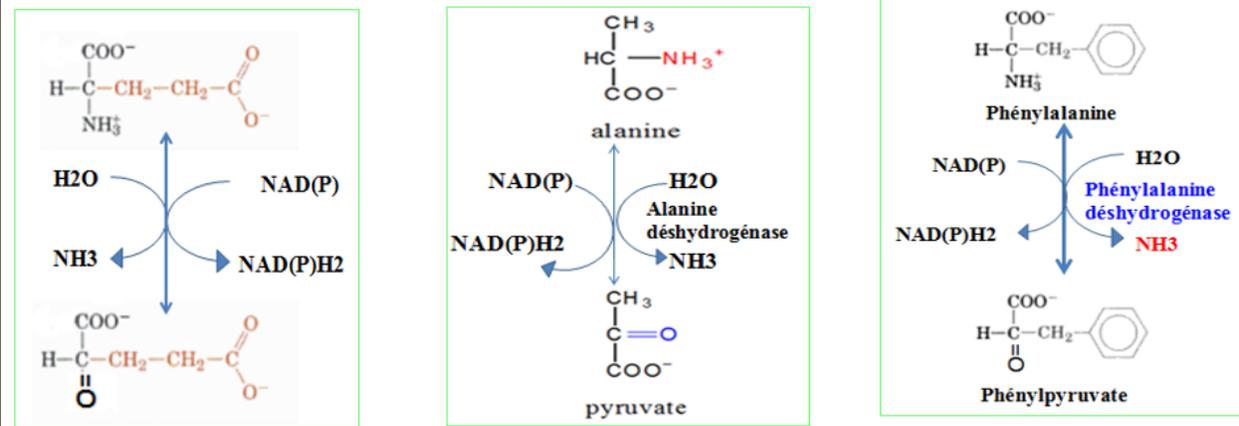


Exemples

L'acide glutamique est ainsi désaminé par la glutamate déshydrogénase de façon réversible en Acide **α-cétoglutarique**.

L'alanine est désaminé **en acide pyruvique**

Le phénylalanine est désaminé **en phénylpyruvate**



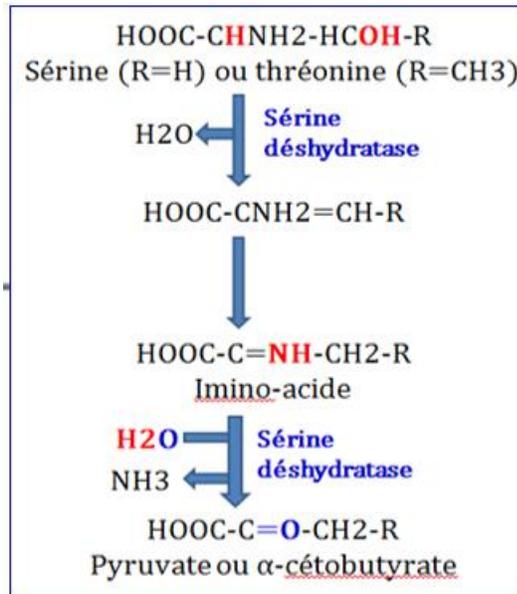
- **La désamination non oxydative** peut être de trois types :

- **Désamination désaturante:** Elle conduit à la formation d'ammoniaque et d'un acide insaturé.

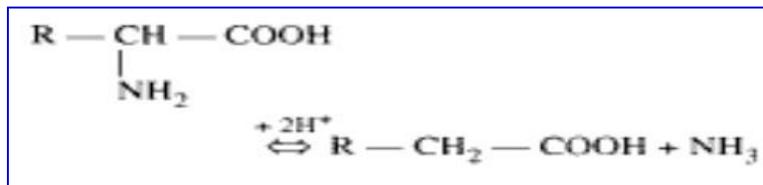
Exemple : La désamination désaturante (*E. coli*, *Proteus*) de l'acide aspartique par une aspartase aboutit à la formation du fumarate et de l'ammoniac.



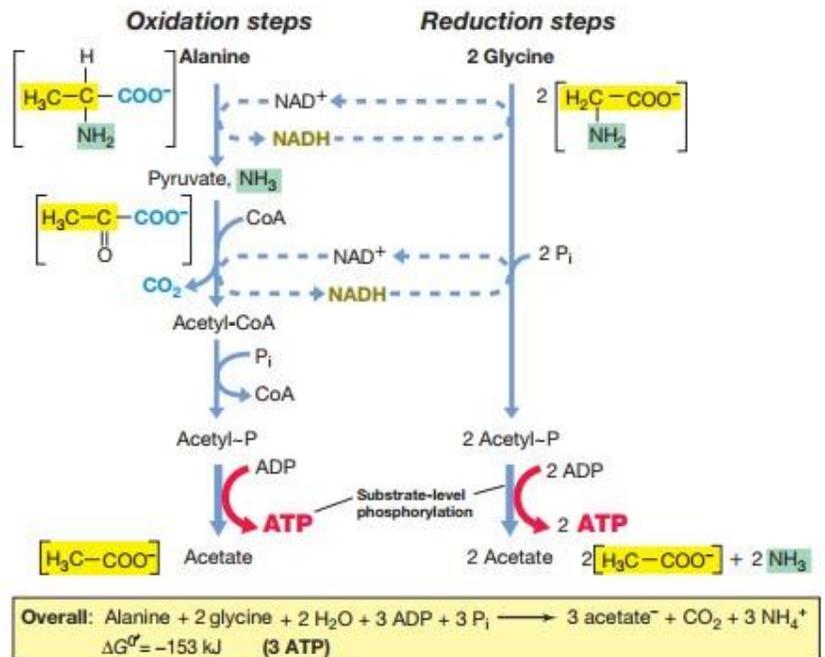
- Désamination par déshydratation:** Ce mode de désamination est particulier aux acides aminés hydroxylés (sérine et thréonine) et est exclusivement microbien. Il y a formation d'ammoniaque et d'un acide cétonique.



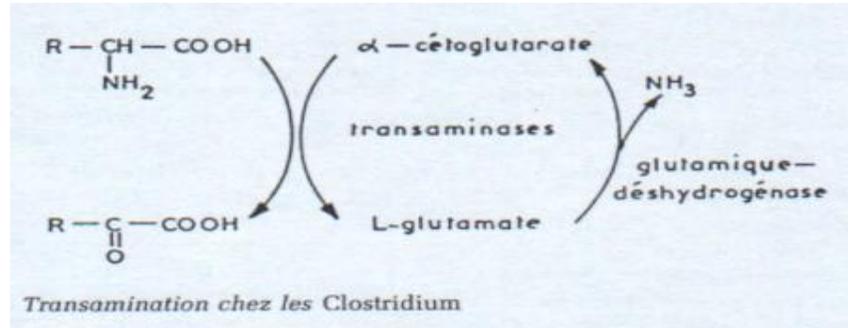
- Désamination réductive:** S'effectue en anaérobiose et donne naissance à des acides gras saturé, de l'ammoniaque. On la rencontre généralement chez les *Clostridium*.



- Il existe un dernier type de désamination appelée **désamination couplée (réaction de Stickland)**. Cette réaction est une réaction d'oxydo-réduction couplée entre deux acides aminés, l'un jouant le rôle d'accepteur d'hydrogène, l'autre de donneur.

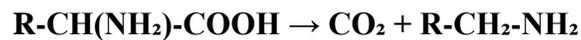


La réaction de **Stickland** est réalisée par un grand nombre de bactéries anaérobies strictes sporulées (*Clostridium*) : elle fait intervenir un coenzyme à NAD. Les *Clostridium* qui ne réalisent pas cette réaction dégradent les acides aminés grâce à un processus catalytique de **transamination** proche de celui des animaux supérieurs.

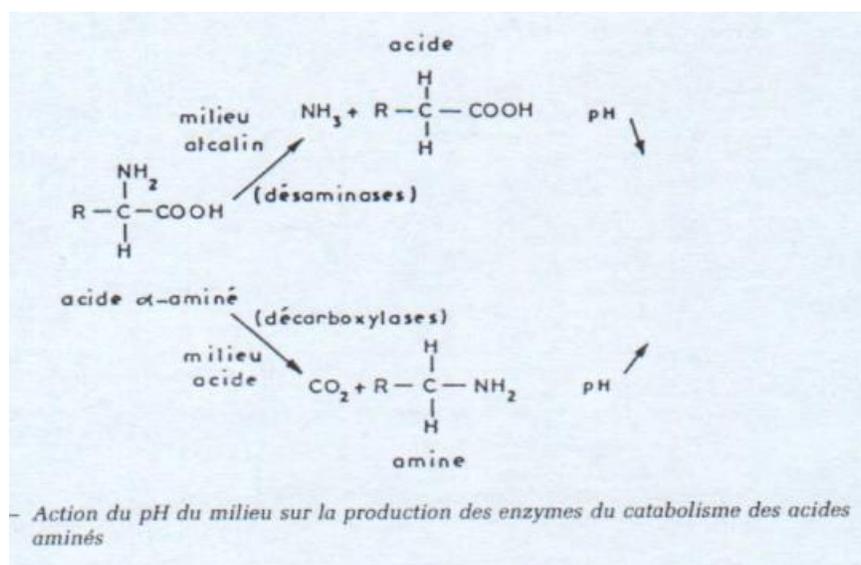


b) La décarboxylation

La seconde voie majeure de dégradation des acides aminés par les micro-organismes est leur décarboxylation qui conduit à la libération de CO₂ et à la formation d'une amine :



Cette réaction est effectuée par un grand nombre de micro-organismes protéolytiques ou non. Les amines sont des composés nauséabonds, parfois toxiques (histamine). La manière dont un micro-organisme dégrade les acides aminés est contrôlée en partie par le pH du milieu. Un milieu acide favorise la formation de décarboxylases alors qu'un milieu alcalin stimule celle de désaminases.



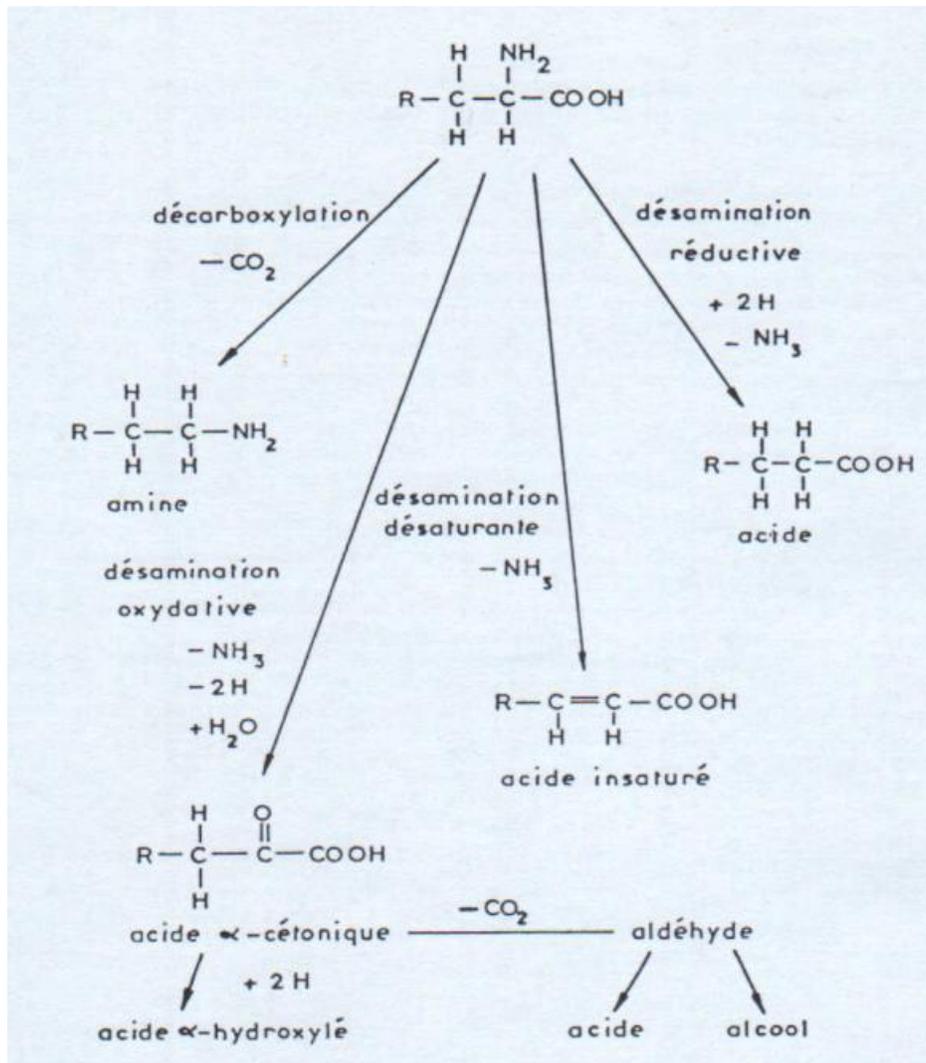


Figure: schéma général de dégradation des acides aminés.

IV.1.2. Les voies métaboliques des acides aminés

Une fois libérés, les acides aminés peuvent suivre différentes voies métaboliques :

- **Synthèse de nouvelles protéines:** Les acides aminés sont incorporés dans les ribosomes pour la synthèse de nouvelles protéines, essentielles à la croissance et au renouvellement cellulaire.
- **Production d'énergie:** Les acides aminés peuvent être dégradés pour produire de l'énergie. Le groupe amine est éliminé par désamination, tandis que le squelette carboné est transformé en intermédiaires du cycle de Krebs, une voie métabolique centrale de production d'énergie.
- **Synthèse d'autres molécules:** Certains acides aminés peuvent servir de précurseurs pour la synthèse d'autres molécules, comme des nucléotides ou des coenzymes.

IV.1.3. Importance du catabolisme protéique

Le catabolisme des protéines est essentiel pour les micro-organismes pour plusieurs raisons :

- **Nutrition:** Il permet aux micro-organismes d'utiliser les protéines comme source d'azote et de carbone, essentiels à leur croissance.
- **Adaptation à l'environnement:** Les micro-organismes peuvent s'adapter à des environnements riches en protéines en produisant des protéases spécifiques.
- **Pathogénicité:** Certaines bactéries pathogènes utilisent le catabolisme des protéines pour envahir les tissus de l'hôte et causer des maladies.

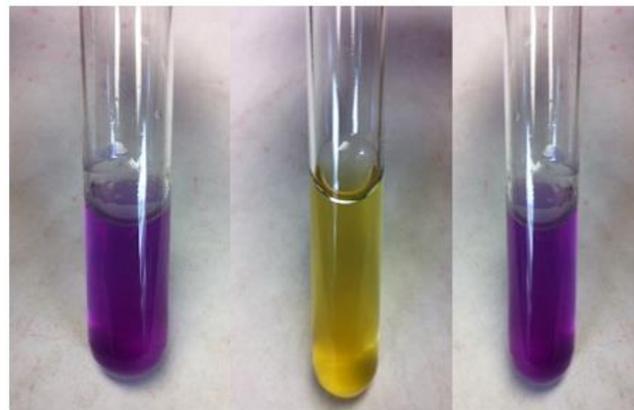
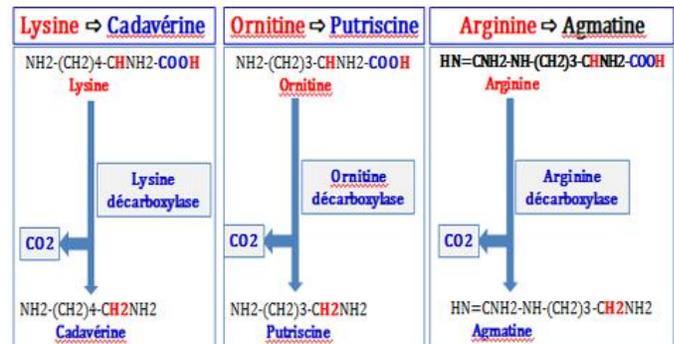
Recherche des décarboxylases

Ces enzymes forment des substances alcalines qui font virer l'indicateur de pH.

Effectuée dans le cas des Germes aéro-anaérobies à métabolisme fermentatif

Dans un premier temps il y a acidification du milieu par fermentation du glucose qui vire le milieu de la coloration violette en **jaune**

En 2^{ème} lieu il y a dégradation des acides aminés et alcalisations du milieu et virage de la coloration jaune en **violet**.



V. Catabolisme des lipides

La dégradation des lipides se fait par des lipases ou les estérases qui hydrolysent la même liaison chimique : les estérases hydrolysent les esters solubles dans l'eau et les lipases les esters insolubles dans l'eau. Ces lipases se rencontrent chez les moisissures (*Aspergillus flavus*, *A. oryzae*, *A. parasiticus*, *Penicillium roqueforti*, *P. caseicolum*, *Rhizopus arrhizus*, *R. delemar*, *Geotrichum candidum*, *G. klebahnii*...), les levures (*Candida rugosa*, *C. paralipolytica*, *C. lipolytica*, *Torulopsis erobnii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *C. cylindracea*, *Saccharomycopsis lipolytica*...) et les bactéries (*Serratia liquefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fragi*, *Xanthomonas campestris*, *Chromobacterium viscosum*, *Alcaligenes sp.*, *Staphylococcus aureus*...).

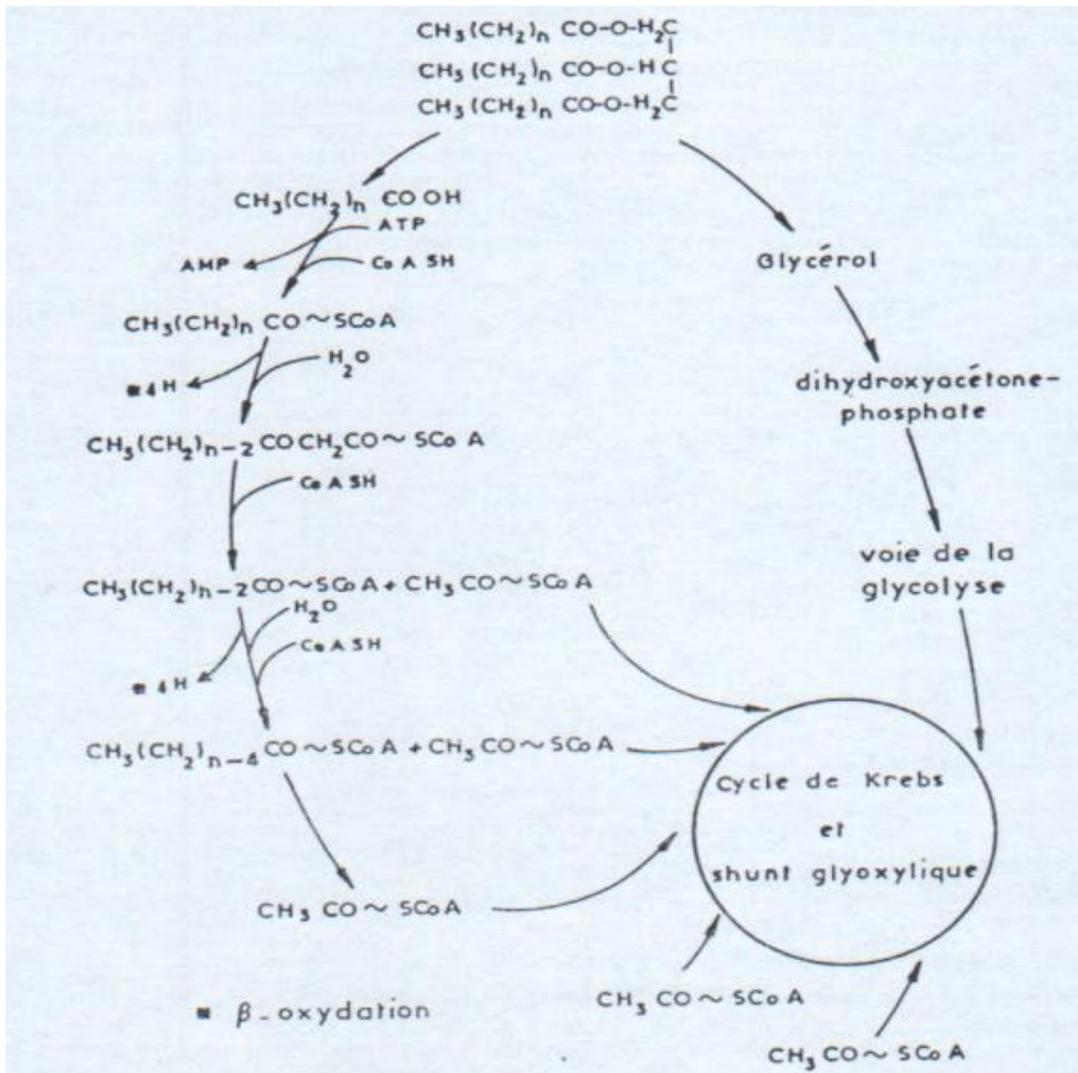


Figure : schéma général de dégradation des lipides.

Les lipides ne sont utilisés dans le métabolisme qu'après dégradation en glycérol et acides gras dans l'espace extracellulaire.

- Le glycérol est phosphorylé en dihydroxyacétone-phosphate et dégradé dans la glycolyse.
- Les acides gras, subissent une β -oxydation, sont d'abord activés par l'ATP en présence de coenzyme A pour former de l'acyl-CoA, lequel est oxydé en β -cétoacyl-CoA. Une hydrolyse se produit ensuite donnant naissance à de l'acétyl-CoA possédant deux carbones de moins. Les réactions d'oxydation se poursuivent autant qu'il est nécessaire du fait de la longueur de la chaîne. L'acétyl-CoA formé peut être incorporé dans le cycle de Krebs et le shunt glyoxylique.

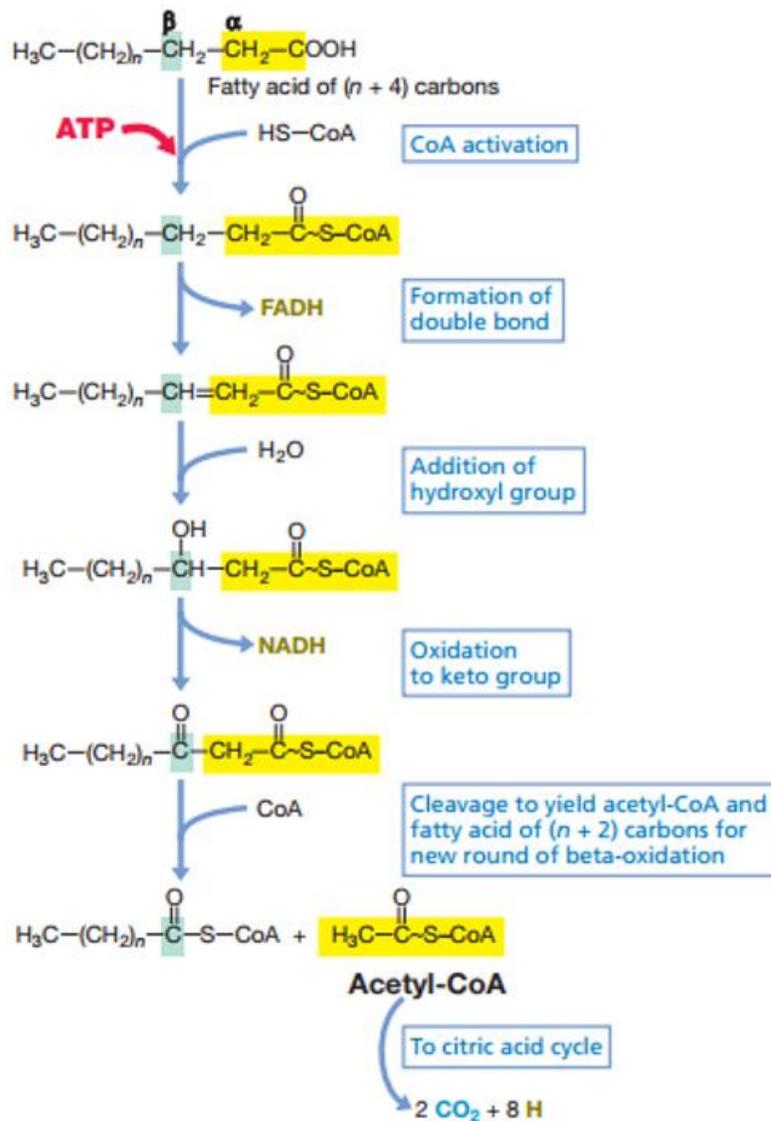


Figure: β -oxydation.

➤ **Activité lipolytique recherchée**

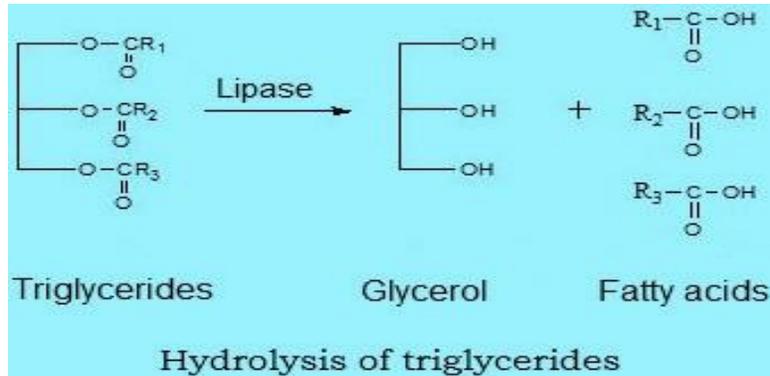
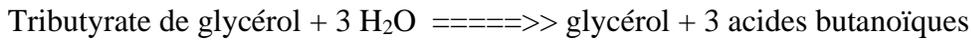
1. Activité lipasique

L'activité lipasique est liée à une lipase constitutive, exocellulaire, capable d'hydrolyser les lipides.

Elles sont recherchées en choisissant un triacylglycérol comme substrat

Acides gras court : tributirine

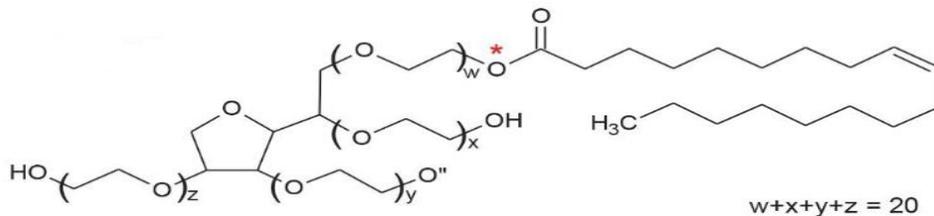
Acides gras long trioléate -glycérol)



2. Activité estérasique

Est liée à la présence des estérases; enzymes constitutives, exocellulaires, capables d'hydrolyser certains lipides simples. Elles sont recherchées sur une gélose contenant un ester d'acide gras choisit comme substrat.

Exemple : Milieu de Sierra additionné de tween 80 ou Polysorbate (80)



En présence de CaCl₂ les acides gras libérés sont complexés par les ions Ca²⁺ pour donner un précipité de **sels calciques insolubles** , qui se traduira par une **opacification (dépôt)** autour de la culture.

Réactif/milieu	Technique	Résultats
Milieu de Sierra additionné de tween 80 Peptone10 g Tween 80.....10 ml NaCl..... 05 g Agar.....18 g CaCl ₂ -1H ₂ O0,1 g Eau distillée1000 ml pH=7.4	Ensemencer une suspension de la souche à tester, par strie ou spot . Incuber les 24 heures ou plus . boîte retournée  	Souche estérase + halo d'opacification autour de la culture 
		Souche estérase - absence de halo d'opacification autour de la culture. 

3. Activité lécithinasiq

La lécithinase est une enzyme recherchée sur une gélose au jaune d'œuf coulée en boîte de Pétri. Utile pour l'identification des genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *clostridium* et pour la caractérisation des colonies de *S. aureus* sur la gélose Baird-parker.

La lécithine

