

Titre : Effet de la structure sur la digestion des protéines

Mots clés : Digestion, Nourriture, Structure des protéines, Gels de protéines, Diffusion aux petits angles

Résumé : Les protéines sont des macronutriments irremplaçables dans l'alimentation humaine, fournissant les acides aminés essentiels aux fonctions de l'organisme. Les aliments protéiques ingérés dans le système gastro-intestinal subissent diverses modifications physico-chimiques, induites par le pH et les environnements enzymatiques (la pepsine gastrique à pH acide, puis les protéases intestinales à pH neutre).

Contrairement aux processus biochimiques de la digestion des protéines, les questions biophysiques, comme les changements des structures moléculaires (dépliage, agrégation, réticulation des protéines...) sont peu connues.

Nous abordons la question des changements structuraux, lors d'une digestion gastro-intestinale simulée, des protéines de colza (la cruciférine - un grand cylindre creux et la napine - un petit ellipsoïde compact).

Dans un premier temps, nous caractérisons les comportements et les structures des protéines de colza dans des solutions natives, à divers environnements de pH et dans des conditions dénaturantes (chimiques et par la chaleur).

L'information structurale sur le mélange de ces protéines provient principalement de la structure de la plus grande cruciférine. Nous nous concentrons sur deux gels préparés par chauffage à différentes conditions de pH. Dans les gels à pH 8, les protéines sont plutôt dépliées, alors que dans les gels à pH 11, elles conservent une conformation assez repliée.

Ensuite, nous étudions les comportements de ces deux gels lors de la digestion gastro-intestinale principalement *in vitro*, par l'utilisation de la rhéologie et du SANS, en observant les différentes tendances des structures protéiques pour les deux gels, en fonction des conditions digestives.

Les études complémentaires de SAXS ont permis de détailler et de compléter les tendances déjà observées, avec des comportements complexes des protéines lors de la digestion, impliquant des évolutions de va-et-vient avec le dépliement et le re-compactage des protéines ainsi que l'agrégation, avant les scissions finales des protéines aboutissant à petits peptides.

Les différences de comportement des protéines entre les deux gels résultaient des états initiaux des protéines (dépliées ou compactes), qui affectaient les taux de dégradation enzymatique des gels.

Ces études ont été complétées par des expériences d'imagerie, permettant d'explorer à l'échelle microscopique, c'est-à-dire la structure des gels et la taille des agrégats de protéines (imagerie confocale et neutronique), et les processus de digestion *in situ* des gels (fluorescence UV).

L'approche méthodologique a permis de lier les changements conformationnels des protéines au cours de la digestion aux propriétés microscopiques et macroscopiques des gels.

Title : Effect of structure on digestion of proteins

Keywords : Digestion, Food, Protein structure, Protein gels, Rheology, Small-Angle Scattering

Abstract : Proteins are irreplaceable macronutrients in human diet, providing essential amino acids for different functions of the body.

Ingested protein food in gastro-intestinal tract undergoes various physicochemical modifications, induced by pH and enzymatic environments, i.e. gastric pepsin at acidic pH, followed by intestinal proteases at neutral pH.

Unlike biochemical processes of protein digestion, the biophysical questions, like the conformational changes of molecular structures (e.g. protein unfolding, aggregation, crosslinking) are still little known.

We address, in this thesis, the issue of structural changes during simulated gastro-intestinal digestion of canola proteins (i.e. cruciferin – a large hollow cylinder and napin – a small compact ellipsoid).

First, we characterize the behaviors and structures of canola proteins in native solutions, at various pH environments and under denaturing conditions (chemical and by heat).

The structural information on the mixture of those proteins arises mainly from the larger cruciferin's structure. We focus on two heat-set gels, prepared at different pH conditions. In the pH 8 gels, proteins are rather unfolded, whereas in the pH 11 gels, they retain a quite folded conformation.

We first studied the behaviors of these two gels upon *in vitro* gastro-intestinal digestion, by the use of rheology and SANS, attaining the different trends of the protein structures for the two gels, depending on the digestive conditions.

The further studies by SAXS enabled to detail and complete the already observed trends, with complex behaviors of the proteins upon digestion, involving back-and-forth evolutions with the proteins unfolding and re-compaction together with aggregation, before the final protein scissions resulting in small peptides.

The differences in protein behaviours between the two gels resulted from the initial states of the proteins (unfolded or compact), which affected the rates the enzymatic degradation of the gels.

This studies were completed by imaging experiments, allowing to explore microscale, i.e. structure of the gels and sizes of protein aggregates (confocal and neutron imaging), and the *in situ* digestion processes of the gels (UV fluorescence).

The methodological approach allowed to link the protein conformational changes during digestion with microscopic and macroscopic properties of the gels.