

## Vers une nouvelle stratégie de purification d'enzymes coagulantes par le système *three phase partitioning* : le cas de la ficaine du latex du *ficus carica l.*

**F. Ziane**<sup>1</sup>, K. Hafid<sup>1,2</sup>, S. Nait Rabah<sup>1</sup>, M. Gagaoua<sup>1,2</sup>.

1-INATAA, Université des Frères Mentouri Constantine 1, route de Ain EL-Bey 25000 Constantine, Algérie

2-Equipe Maquav, Laboratoire BIOQUAL, INATAA, Université des Frères Mentouri Constantine 1, route de Ain EL-Bey 25000 Constantine, Algérie

Dans le cadre de cette étude, nous avons ciblé une méthode de purification se basant sur le principe de séparation triphasique, appelé communément TPP ou *Three Phase Partitioning*. Cette nouvelle méthode de purification a pour principe de fractionner un extrait brut de protéines dans un mélange de sulfate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et du *t*-Butanol pour obtenir deux systèmes de phases dans lequel les macromolécules se précipitent à l'interface (formant ainsi la troisième phase). Cette méthode est adoptée pour la première fois dans le cas de notre étude vu qu'elle est rapide et efficace pour la concentration et la purification de la ficaine. La ficaine ou ficine (EC 3.4.22.3) est une endopeptidase à cystéine de la famille de papaïne isolée du latex de figuier (*Ficus carica*). Le protocole mis en place a été optimisé pour une purification efficace de la ficaine. Les paramètres optimaux sont : une saturation en (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 40% avec un rapport de 1 : 0,75 (l'extrait brut : *t*-Butanol) à pH 7,0. Ce système a donné un facteur de purification de 6,0 et un rendement de 167%. L'analyse sur gel SDS-PAGE a révélé une enzyme ayant un poids moléculaire de 23,4 kDa. La caractérisation de l'enzyme purifiée a montré que l'activité maximale était à pH 6,5 et à une température de 60°C. Nos résultats ont aussi clairement montré que l'utilisation du système TPP pour la purification de la ficaine permettra d'améliorer le rendement de purification tout en évitant son autolyse.

**Mots-clefs** : Three Phase Partitioning, purification, latex du figuier (*Ficus carica L.*), ficaine.

---