



TD – AA, Peptides, protéines

Exercice 1:

Soient les acides aminés suivants: Ala, Asp, Lys.

1. Indiquer la charge nette globale de ces acides aminés à pH 1, à pH 7 et à pH 10.
2. Calculer leur pHi.

Exercice 2:

Soient le mélange d'acides aminés suivant: Ala, Tyr, Glu, Asp, Arg, Lys. Le mélange est déposé sur une colonne échangeuse d'anion à un certain pH.

1. Rappeler du principe de la chromatographie échangeuse d'anion
2. Indiquer ce pH.
3. Quel est l'ordre d'élution de ces acides aminés ? Expliquer.

Exercice 3:

On soumet un mélange d'histidine, de valine et d'acide aspartique à une électrophorèse sur papier dans un tampon acétate de pyridine (pH 5,2), sous une tension élevée.

1. Rappeler le principe de cette technique
2. Donner la position relative de ces trois acides aminés sur la bande de papier après électrophorèse.

On donne les pHi de ces trois acides aminés : His : 7,6 ; Val : 6,0 ; Asp : 2,95.

Exercice 4:

On veut séparer l'acide glutamique, la leucine et la lysine par chromatographie sur une résine polystyrénique substituée par des radicaux sulfonate (SO_3^-). Les pH isoélectriques de l'acide glutamique, de la leucine et de la lysine sont respectivement 3,22 , 5,98 et 9,74 à 25°C.

On dépose ces 3 acides aminés sur la colonne, à pH = 2 puis on amène progressivement le pH à 7.

1. Rappeler le principe de cette technique
2. Quel est l'ordre d'élution de ces acides aminés ? Expliquer.

Exercice 4: L'étude de la structure d'un peptide a donné les résultats suivants :

1. Composition en acides aminés : Ala, Arg, Cys, Lys, Ser.
2. L'hydrolyse par la trypsine donne un dipeptide et un tripeptide.
3. L'hydrolyse acide ménagée donne un tripeptide composé de : Ala, Arg, et Cys.
4. L'action du dinitrofluorobenzène (DNFB) sur le tripeptide précédent donne un dinitrophényl-Alanine (DNP-Ala).

Parmi les réponses suivantes, choisir la ou les séquence(s) compatible(s) avec les données ci-dessus:

- | | |
|------------------------|------------------------|
| a-Lys-Ala-Arg-Cys-Ser | d- Ser-Ala-Arg-Cys-Lys |
| b- Ala-Arg-Cys-Ser-Lys | e- Ser-Lys-Ala-Arg-Cys |
| c- Ala-Arg-Cys-Lys-Ser | f- Ala-Arg-Ser-Cys-Lys |

Exercice 5:

Soit l'hexapeptide de composition suivante : Arg 1, Ala 1 ; Val 1 ; Leu 1 ; Phe1 ; Tyr1.

- a. La méthode à l'aminopeptidase libère 1 Ala.
- b. L'hydrolyse trypsique conduit à 2 tripeptides dont l'un est constitué de Arg, Ala et Tyr.
- c. L'hydrolyse acide partielle conduit à un mélange de peptide :
 - Le peptide P1 constitué de Phe et Arg.
 - Le peptide P2 constitué de Leu et Val et un peptide P3 constitué de Phe, Leu et Arg.

En déduire la structure de ce peptide.

Exercice 6:

L'étude de la structure d'un pentapeptide a donné les résultats suivants :

- a. composition en acides aminés : Ala, Arg, Cys, Lys, Ser ;
- b. l'hydrolyse trypsique donne un tripeptide et un dipeptide ;
- c. une hydrolyse acide ménagée donne un tripeptide qui est composé de Ala, Arg, et Cys ;
- d. l'action du DNFB sur le tripeptide précédent donne le DNP-Ala.

Exercice 7:

Un peptide P contient douze résidus d'acides aminés, deux d'entre eux étant présents chacun deux fois. Il contient de la lysine et pas d'arginine.

- Le réactif d'Edman détache un diacide à 4 carbones.
- Le clivage par le bromure de cyanogène donne deux peptides, un peptide A de 5 résidus et un peptide B de 7 résidus.
- Du peptide A le réactif d'Edman détache successivement le diacide à 4 carbones, puis le plus simple des acides aminés. La trypsine coupe A en deux peptides, A1 et A2, dont l'un est un dipeptide qui a comme acide aminé N-terminal un acide alcool à 3 carbones.
- Du peptide B le réactif d'Edman détache un acide aminé faiblement basique contenant 3 atomes d'azote et la carboxypeptidase un acide aminé alcool à 3 carbones.
- La chymotrypsine détache un dipeptide terminé par un acide aminé porteur d'une fonction phénol.
- La trypsine sépare B en deux peptides, B1 et B2. le peptide B1 donne par hydrolyse acide 3 acides aminés et 4 par hydrolyse alcaline. Du peptide B2 le réactif d'Edman enlève Ile puis un acide alcool à 4 carbones.

- Donner la séquence du peptide P

Exercice 8:

La composition en acides aminés d'un oligopeptide P est : Lys 1, Arg 1, Asx 1, Thr 1, Val 1, Cys

- Le traitement de P par le réactif d'Edman donne le PTH de Cys, et par la carboxypeptidase, Arg.
- La trypsine catalyse l'hydrolyse de P en 2 oligopeptides A et B.
- L'hydrolyse chlorhydrique, A donne trois acides aminés et, après hydrolyse alcaline, 4 acides aminés.
- Le traitement de A par le DNFB, suivi d'hydrolyse acide, donne DNP-Cys. B, après hydrolyse chlorhydrique ou alcaline, donne trois acides aminés. Le traitement de B par le DNFB, suivi d'hydrolyse acide, donne DNP-Thr. B est élué avant A quand on élève le pH au cours d'une chromatographie sur support échangeur de cations.
- La chymotrypsine hydrolyse P en 2 oligopeptides, C et D. C, hydrolysé par l'acide chlorhydrique, donne Cys et, par la soude, 2 acides aminés.
- Le traitement de D par le DNFB, suivi d'hydrolyse acide, libère DNP-Val.

- Quelle est la séquence de P ?