

TD N°3 DE BIOCHIMIE PROTEINES

Exercice n°1.

On dispose d'une solution stock de peptide P dont on peut tirer des fractions aliquotes permettant de traiter le peptide par différents réactifs.

1- Un peptide P est traité par le chlorure de dansyle puis soumis à une hydrolyse acide totale. La chromatographie du mélange obtenu permet de caractériser les composés suivants : DANS-Ser, Tyr, Cys, Lys, Asp, Gly.

2- Le traitement de ce peptide P par la carboxypeptidase A permet d'identifier successivement Gly et Tyr.

3- L'action de la chymotrypsine sur P, suivie de celle du chlorure de dansyle puis d'hydrolyse acide fournit un mélange d'acides aminés dont 3 sont dansylés (Ser, Lys, Gly).

4- Après action de la trypsine sur P, on obtient 2 peptides A et B.

- Le peptide A donne 3 acides aminés après l'hydrolyse acide et 4 acides aminés après l'hydrolyse alcaline. Soumis à la dégradation d'Edman, ce peptide A donne successivement les PTH de Ser et Asp.

- Le peptide B, après action du chlorure de dansyle, donne DANS-Cys.

Quelle est la séquence du peptide ?

Exercice n°2.

Soit un oligopeptide O constitué de 10 acides aminés. Donner sa séquence sachant que :

1- Son hydrolyse acide totale donne la composition suivante en acides aminés : Ala, Arg, Glu, Met, Ser, Thr, Tyr.

2- Son traitement par les carboxypeptidases A et B libère successivement Ala puis Tyr.

3- Le réactif d'Edman libère respectivement PTH-Tyr et PTH-Ala.

4- L'action de la trypsine donne un térapeptide A et un hexapeptide B.

a- L'étude de A montre qu'il absorbe fortement la lumière à 280 nm. Avec le DNFB, on obtient DNP Glu. Enfin, A traité avec la chymotrypsine libère Tyr, Ala et un dipeptide acide.

b- Le traitement de B par le DNFB donne DNP-Tyr. Avec le CNBr, B se scinde en un dipeptide basique et un térapeptide.

5- L'action de la chymotrypsine sur O libère 2 Tyr, 1 Ala et un heptapeptide C. Ce dernier donne avec le réactif d'Edman, PTH-Ala puis PTH-Thr. Avec le CNBr, C se scinde en un tripeptide et un térapeptide.

Exercice n°3.

La composition en acides aminés d'un peptide P a donné : Gly 1; Cys 1; Lys 2; Ala 1; Met 2; Arg 1; Asx 1; Ser 1.

Le traitement de P par la chymotrypsine a donné dans l'ordre (de l'extrémité N-ter vers l'extrémité C-ter) CT1 (4 a.a); CT2 (5 a.a); CT3 (3 a.a).

L'action de la trypsine sur P a donné dans l'ordre T1 (2 a.a); T2 (4 a.a); T3 (3 a.a) et T4 (4 a.a).

L'action du CNBr sur P a donné dans l'ordre CN1 (4 a.a); CN2 (4 a.a) et CN3 (5 a.a)

L'action de la carboxypeptidase sur P a libéré un a.a non chiral puis un a.a. portant un groupement thiol. Le fragment T1 absorbe en UV. La charge nette de CT3 à pH7 = 0.

T1 et T3 ont la même extrémité carboxylique. L'action du chlorure de dansyl sur T3 a libéré un a.a. à radical alcool.

Déduire de ces informations la séquence de P.