

TD N° 5 BIOCHIMIE_SÉQUENÇAGE DES PÉPTIDES

EXERCICE N° 1:

Soit un oligopéptide (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 tétrapéptide (A) et un hexapéptide (B)
 - a. l'étude de :
 - ☐ (A) montre qu'il absorbe fortement la lumière à 280 nm
 - ☐ (A) traité avec le DNFB on obtient DNP-Glu
 - ☐ (A) traité avec la chymotrypsine libère Tyr , Ala et un dipéptide acide
 - b. le traitement de :
 - ☐ (B) par le DNFB donne DNP-Tyr,
 - ☐ Avec le CNBr, (B) se scinde en un dipéptide et un tétrapéptide

5. L'action :

- ☐ de la chymotrypsine sur (O) libère 2 Tyr , 1 Ala et un heptapéptide (C) ce dernier donne avec le réactif d'Edman :PTH-Ala puis PTH –thr ,
- ☐ avec le CNBr (C) se scinde en un tripéptide et un tétrapéptide

EXERCICE N° 2:

La composition globale en acides aminés d'un péptide (P) obtenue par hydrolyse totale (Hcl 6N à 100 °C pendant 24 à 72 heures) est : Arg 1, Asx 1, Cys 1, Lys 1, Thr 1, Val 1 . (Asx signifie qu'on ne peut pas savoir si le péptide P contient Asp ou Asn, car dans les conditions d'hydrolyse totale, Asn est transformé en Asp et NH₃)

- 1) Le traitement de (P) par le réactif d'Edman donne le PTH-Cys et donne par l'action d'un mélange de la carboxypeptidase A et B de l'Arg.
- 2) La trypsine catalyse l'hydrolyse de P en deux péptides (T₁) et (T₂)
 - a. (T₁) absorbe fortement la lumière à 280 nm.
 - ☐ Après hydrolyse chlorhydrique totale, (T₁) donne 3 acides aminés
 - ☐ Après hydrolyse alcaline totale (NaOH 5N à 100 °C pendant 4 à 8 heures) (T₁) donne 4 acides aminés.
 - ☐ Après le traitement de (T₁) par le Chlorure de Dansyl suivi d'une hydrolyse on isole 2 composés et on a identifié l'un d'eux : la Dansyl-Cys par chromatographie sur papier
 - b. (T₂) donne 3 acides aminés après hydrolyse chlorhydrique ou alcaline totale,
 - ☐ le traitement de (T₂) par chlorure de Dansyl suivi d'une hydrolyse acide totale donne le dansyl-Thr
- 3) La chymotrypsine hydrolyse (P) en 2 péptides :
 - ☐ Le traitement de l'un de ces 2 péptides par le DNFB suivi d'hydrolyse totale donne le DNP–
Val et le DNP–Lys

Quelle est la séquence de P?

- 4) (T₂) est élué avant (T₁) quand on élève le PH au cours d'une chromatographie sur résine échangeuse de cations, peut-on en déduire la nature de Asx ?