

TD N° 2 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 **trypsin** 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 **trypsin** 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 ?