

Corrigé TD N° 2 biochimie_Séquençage des péptides

CORRIGE DE L'EXERCICE N° 1 :

(O) : oligopeptide de 10 acides aminés (décapeptide)

1. L'**hydrolyse acide totale** de (O) donne 7 résidus différents. Donc soit des résidus répétés (0 à 3), soit il existe des résidus Trp (3 au maximum) qui ont été détruits par l'hydrolyse acide totale.
2. Le traitement par les **carboxypeptidases** montre que l'extrémité Carboxyle est :---Tyr-Ala
3. Le traitement le **réactif d'Edman** montre que l'extrémité N-terminale est : Tyr-Ala-----
Conclusion 1: Séquence de O : Tyr-Ala-aa3-aa4-aa5-aa6-aa7-aa8-Tyr-Ala
4. L'action de la **trypsine** donne (A) (tetrapeptide) + (B) (hexapeptide). Comme pour l'exercice précédent, on a 2 possibilités : (A)-(B) ou (B)-(A). Le peptide qui est en amont est : Tyr-Ala--- ? ---Arg. Il suffit de comparer l'une des extrémités de l'un des 2 peptides avec une extrémité de (O) pour savoir s'il s'agit de l'ordre (A)-(B) ou (B)-(A).
 - a. L'étude de (A) :
 - (A) **absorbe à 280 nm**, donc (A) contient du Trp (1 seul)
 - L'action du **DNFB** sur (A) montre qu'il possède Glu en position N terminale. Cette extrémité étant différente de l'extrémité Nt de O. On en conclut que B est en amont de (A). à ce stade on peut dire que la séquence est :Tyr-Ala-aa3-aa4-aa5-Arg-Glu-Trp-Tyr-Ala.
 - L'action de la **chymotrypsine** sur (A) confirme des données qu'on connaît déjà.
 - b. L'étude de (B) :
 - L'action du **DNFB** sur (B) confirme la position du résidu Tyr.
 - L'action du CNBr sur (B) permet de conclure que Met est en position 4 du peptide : (O): Tyr-Ala-aa3-Met-aa5-Arg-Glu-Trp-Tyr-Ala
5. L'action de la **chymotrypsine** sur (O) confirme la position des résidus aromatiques et libère, entre autres, un heptapeptide (C). L'action du réactif d'Edman sur (C) libère PTH-Ala puis PTH-Thr. On conclut que Thr est situé en position 3, juste après Ala. Le seul acide aminé qui reste à caser est Ser.

Conclusion : la séquence de (O) est : **Tyr-Ala-Thr-Met-Ser-Arg-Glu-Trp-Tyr-Ala**

CORRIGE DE L'EXERCICE N° 2 :

L'analyse après **hydrolyse acide totale** du peptide (P) met en évidence 6 acides aminés différents (un résidu de chaque). Sachant que l'hydrolyse acide détruit Trp, on peut conclure de cette première expérience que (P) contient au moins 6 acides aminés (existence de Trp ?)

1. (P) donne PTH Cys avec le **réactif d'Edman**. Cys est en position N terminale de (P) . . . L'action d'un mélange des **carboxypeptidases A et B** montre que Arg est en position C terminale de (P)
2. La **trypsine** hydrolyse (P) en 2 peptides (T1) et (T2). On ne sait pas pour l'instant si c'est (T1) qui est en amont de (T2) ou si c'est l'inverse. Mais on est sûr que le peptide qui est en amont se termine par Lys, car la trypsine coupe après les acides aminés basiques.
 - a. (T1) **absorbe à 280 nm**. Donc (T1) contient au moins un résidu Trp
 - (T1) donne 3 résidus après **hydrolyse acide totale** et 4 résidus après **hydrolyse alcaline**. Donc (T1) ne contient qu'un seul Trp. On peut signaler au passage que le peptide initial contient au moins 7 acides aminés, car on ne sait pas encore si (T2) contient du Trp.
 - Le traitement de (T1) par le **chlorure de dansyl** montre que la Cys est en position N-terminale de (T1). Cette extrémité est la même que celle du peptide initial. Donc c'est (T1) qui est en amont de (T2).

Conclusion 1: Séquence connue à ce stade : Cys-aa2-aa3-Lys ----- Arg

- b. (T2) donne 3 résidus après **hydrolyse totale acide ou basique**. (T2) est donc constitué de 3 résidus et ne contient pas de tryptophane. Le peptide (P) initial est donc un heptapeptide (constitué de 7 acides aminés). L'action du **chlorure de dansyl** permet de conclure que Thr est en position N-terminale de (T2).

Conclusion 2: à ce stade on peut dire que la séquence de (P) est : Cys-aa2-aa3-Lys-Thr-aa6-Arg ; avec Trp en position 2 ou 3.

3. L'action de la **chymotrypsine** sur (P) donne 2 peptides. Elle a hydrolysé la liaison peptidique située après Trp (seul acide aminé aromatique).
 - Le traitement par le **DNFB** montre que l'un des 2 peptides a Val-Lys en position N-terminale.

Conclusion 3: On peut conclure à ce stade, que la séquence de (P) est : Cys-Trp-Val-Lys-Thr-Asx-Arg.

4. (T1) : Cys-Trp-Val-Lys ; (T2) : Thr-**Asx**-Arg
Sachant que la **résine échangeuse de cations** retient les cations et que (T2) est élué avant (T1) lorsqu'on élève le pH, on peut conclure que (T2) est plus acide que (T1). (T2) perd sa charge (+) avant (T1).
La nature des acides aminés de (T1) montre qu'il est basique. Pour que (T2) soit plus acide que (T1), il faut qu'il contienne Asp et non Asn.

En conclusion, la séquence de (P) : Cys-Trp-Val-Lys-Thr-Asp -Arg