

### TD N°3 de Biochimie générale

#### Exercice 1

En vous servant des valeurs de pK d'ionisation indiquées ci-après. Calculer les pHi des acides aminés :

	pKa ( $\alpha$ COOH)	pKb ( $\alpha$ NH <sub>2</sub> )	pKr (chaînes latérales)
Alanine	2.34	9.69	-
Thréonine	2.63	10.43	-
Acide glutamique	2.19	9.67	4.25
Lysine	2.18	8.95	10.53
Tyrosine	2.20	9.11	10.13

#### Exercice 2

Un mélange d'acides aminés renfermant de l'acide gluamique, de la tyrosine, de l'alanine et de la lysine est soumis à deux électrophorèse dans des tampons pH respectivement de 3 et 7.

Indiquer sur un schéma la position de ces acides aminés par rapport aux électrodes de référence. Justifier votre réponse.

#### Exercice 3

On soumet à une chromatographie sur colonne échangeuse de cations un mélange d'acides aminés (ceux indiqués dans l'exercice 1). L'élution est pratiquée à l'aide d'une solution présentant un gradient de pH croissant. Donner l'ordre de sortie des différents acides aminés.

#### Exercice 4

Soit un mélange de trois peptides :

His-Gly-Pro-Lys

Glu-Leu-Cys-Asp

Ala-Gly-Ile-Ser

On le soumet à une électrophorèse de zone à pH: 6. Indiquer par un schéma la position des trois peptides. Justifier votre réponse.

## Exercice 5

A)- On part d'un nanopeptide qui a donné par hydrolyse avec HCl (6N) pendant 72 h : 1 Ala, 3 Gly, 1 Pro, 1 Leu, 2 Phe, et 1 Tyr.

Ce même nanopeptide :

- ne donne pas de DNP-AA avec le DNFB,
- donne par hydrolyse chimotrypsique : 2 tripeptides ( $T_1$  et  $T_3$ ) et 1 dipeptide (D),

B)- Après hydrolyse des liaisons peptidiques par HCl (6N) des tripeptides  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  et du dipeptide D, suivie de la séparation des acides aminés des hydrolysats par chromatographie sur couche mince et révélation à la ninhydrine, on obtient les résultats suivants :

1. composition en acides aminés des fragments :

- $T_1$  : Gly, Tyr, Leu ;
- $T_2$  : Gly, Ala, Phe ;
- $T_3$  : Gly, Pro, Phe ;
- D : Gly, Phe

2. la détermination de l'extrémité N-terminale par la méthode de Sanger donne pour  $T_1$  Gly et pour  $T_2$  Gly

3. la détermination de l'extrémité C-terminale par hydrolyse enzymatique par la carboxypeptidase donne pour  $T_2$  Ala.

Déduire de ces résultats expérimentaux la séquence des acides aminés des différents peptides  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  et D et la séquence du nanopeptide de départ

### **Rappel :**

- La trypsine : coupe après Lys et Arg à condition que la Proline ne soit pas à droite de l'AA indiqué
- La chymotrypsine : coupe après Tyr, Trp, Phe et Met.
- Le bromure de cyanogène (CNBr) coupe les liaisons peptidiques après la Met.
- La carboxypeptidase A catalyse la coupure de la liaison C terminale de tous les AA sauf celle de Gly et des AA basiques.
- La carboxypeptidase B catalyse la coupure de la liaison C terminale de la Gly et des AA basiques).