

TD 2 de Biochimie Structurale

Exercice n°1

Un mélange d'acide glutamique et d'histidine à pH 5 est soumis à une électrophorèse sur papier et à une chromatographie sur résine échangeuse d'anions.
Quels sont respectivement le profil électrophorétique et l'ordre d'élution obtenu ?

Exercice n°2

Soit un tetrapeptide T dont la séquence est : Glu-Met-Ser-Lys.

1- Déterminer le pHi de T connaissant les pK suivants :

Fonction ionisable Acide aminé	COOH	NH2	R
Glu	2,19	9,67	4,25
Met	2,23	9,21	-----
Ser	2,21	9,15	-----
Lys	2,18	8,95	10,53

- 2- Traité par le CNBr, T est ensuite soumis à une électrophorèse à pH 7.
Représenter schématiquement la migration du (ou des) composé (s) obtenus en précisant la forme ionique.
- 3- On fait agir la trypsine sur T, puis on procède à une électrophorèse dans les mêmes conditions que précédemment. Représenter la migration en précisant la forme ionique à ce pH.

Exercice n°3

Le tripeptide T Glu-Val-Ala, présente les pK suivants : 3,12 ; 4,25 et 9,32.

- 1- Attribuer aux différentes fonctions ionisables de T les pK correspondants.
- 2- Ecrire les différentes formes de T aux pH remarquables puis déterminer son pHi
- 3- Sachant qu'une solution molaire de T est à 20% neutre, calculer le(s) pH(s) qui permet(tent) d'obtenir ce pourcentage.

Exercice n°4

La composition globale en acides aminés d'un peptide 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 savoir si le peptide 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 par la carboxypeptidase (en mélange A et B) donne l'Arg.
- 2- La trypsine catalyse l'hydrolyse de P en 2 peptides T1 et T2.
 - a- T1 absorbe fortement la lumière à 280 nm. Après hydrolyse chlorhydrique totale, il donne 3 acides aminés, et après hydrolyse alcaline totale (NaOH 5N à 100°C pendant 4 à 8 heures), il donne 4 acides aminés. Après traitement de T1 par le chlorure de dansyl, suivi d'une hydrolyse totale, on isole 2 composés et on identifie l'un d'eux à la dansyl-Cys par chromatographie sur paapier.
 - b- T2 donne 3 acides aminés après hydrolyse chlorhydrique ou alcaline totale. Le traitement de T2 par le chlorure de dnsyl suivi d'hydrolyse acide totale donne la dansyl-Thr.
- 3- La chymotripsine hydrolyse P en 2 peptides. Le traitemant de l'un de ces 2 peptides par le DNFB, suivi d'hydrolyse totale, donne la DNP-Val et la 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 ?

Exercice n°5

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 tetrapeptide 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 tetrapeptide.
- 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 tétrapeptide.

Exercice n°6

Une solution protéique est composée de 3 protéines A, B et C. B et C sont des monomères alors que A est composée de 2 sous unités A1 et A2 de même masse moléculaire. A et C ont le même pHi 4,2. Celui de B est de 8,3.

A, B et C ont la même masse moléculaire mais des propriétés antigéniques différentes.

Quel sera l'ordre d'élution des protéines de la solution lorsqu'elle est soumise à :

- 1- une chromatographie échangeuse d'anions ?
- 2- une chromatographie d'exclusion (limite d'exclusion : 300 000) ?
- 3- une chromatographie d'exclusion après traitement des 3 protéines par l'urée 8 M ?

Représenter le profil de migration de ces protéines quand on procède à :

- 4- une électrophorèse sur gel en présence de SDS.
- 5- une électrophorèse sur gel se présence de SDS de la solution préalablement traitée au β -mercaptoéthanol.
- 6- Citer la ou les techniques qui permettent de séparer le plus efficacement les 3 protéines en même temps. Justifier la réponse.

Exercice n°7

Pour l'ensemble de la molécule d'hémoglobine normale HbA, on ne trouve que la valine en résidu N terminal. Pour 100 μ g d'HbA, on a 0,73 μ g de valine.

1- Sachant que la MM d'HbA est de 64000 et celle de la valine est de 117, combien y a-t-il de chaînes polypeptidiques par molécules de HbA ?

Par ailleurs, on sait qu'à pH 4, les chaînes polypeptidiques de l'hémoglobine se dissocient en 2 et 2, alors qu'à pH 7, l'hémoglobine reprend sa structure associée. Une hémoglobine anormale HbC diffère de HbA par la présence sur l'une des chaînes d'un résidu lysyl à la place d'un glutamyl. Une autre hémoglobine HbI diffère également de HbA par le remplacement d'un acide aminé par un autre.

Une solution contenant HbC et HbI est ramenée à pH4. Après neutralité on trouve que la solution contient 4 types d'hémoglobine HbC, HbI, HbA et un nouveau type HbX.

- 2- Quelle est la chaîne mutée dans HbI ?
- 3- Quelle est la formule du nouveau type d'hémoglobine ?

Exercice n°8

Une protéine A contient du fer (MA = 56) dans une proportion de 0,35 %

Pour déterminer sa MM, on mélange A à une protéine B de MM 50 000 et une protéine C de MM 75 000. Le mélange des 3 protéines est déposé sur colonne pour chromatographie d'exclusion. La protéine A est éluée dans une fraction intermédiaire entre B et C.

- 1- Combien d'atomes de fer, la protéine A contient-elle ?
- 2- Quelle est la MM de la protéine A ?
- 3- Quel est l'ordre d'élution des protéines A, B et C ?

L'ultracentrifugation de la protéine dans un milieu contenant de l'urée 8M montre l'existence d'un seul pic, correspondant à une MM égale au quart de celle de A. On obtient le même résultat en présence d'urée 8M et de β -mercaptoéthanol.

L'électrophorèse de la protéine A en présence d'urée 8M montre 2 bandes de même intensité et de charges différentes.

- 4- Quel est le nombre de sous-unités de la protéine A ?
- 5- Sont-elles identiques ou non ?
- 6- Quels types de liaisons existent entre les sous-unités ?

Exercice n°9

On veut déterminer quelques caractéristiques physiques et chimiques de la protéine Histone T bovine (P).

On a ainsi déterminé le pourcentage pondéral de 3 acides aminés entrant dans la composition de P. Glu : 8,3 % ; Lys : 24,1 % ; Tyr : 2 %. Les MM respectives sont : 147, 146 et 181

- 1- Quels renseignements apportent ces pourcentages sur la nature chimique de P ?
- 2- Déterminer sa masse moléculaire minimale.
- 3- Déduire le nombre minimal de ces trois résidus acides aminés dans P.

Soumis à une chromatographie d'exclusion, P est élué entre deux protéines globulaires A et B de MM respectives 5700 et 12600.

- 4- Préciser l'ordre d'élution de ces 3 protéines.
- 5- En déduire la MM de P.
- 6- La protéine P est soumise à une électrophorèse à pH 7. Migrera-t-elle vers l'anode ou vers la cathode. Justifier votre
- 7- Soit une protéine P' différente de P par deux acides aminés. Citer une technique appropriée pour mettre en évidence ces différences.
- 8- Compte tenu de la nature de P, quelle zone de pH faut-il choisir pour précipiter cette protéine en solution

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

