

Travaux dirigés de Biochimie structurale
BCG S4 Acides aminés
Seance I et II

- 1- Donner les différentes formes d'ionisation à des échelles de pH croissants
- 2- Tracer sa courbe de titration en fonction de NaOH et en déduire son pHi

Acide aminé	pK _{COOH}	pK _{NH2}	pK _R
Glycine (G, Gly)	2,35	9,6	
Alanine (A, Ala)	2,34	9,69	
Valine (V, Val)	2,32	9,62	
Leucine (L, Leu)	2,36	9,6	
Isoleucine (I, Ile)	2,36	9,68	
Proline (P, Pro)	1,99	10,96	
Phenylalanine (F, Phe)	1,83	9,13	
Tyrosine (Y, Tyr)	2,2	9,11	10,07
Tryptophane (W, Trp)	2,38	9,39	
Sérine (S, Ser)	2,21	9,15	
Thréonine (T, Thr)	2,11	9,62	
Asparagine (N, Asn)	2,02	8,08	
Glutamine (Q, Gln)	2,17	9,13	
Cystéine (C, Cys)	1,96	8,18	10,28
Méthionine (M, Met)	2,28	9,21	
Acide aspartique (D, Asp)	2,19	9,6	3,65
Acide glutamique (E, Glu)	2,19	9,67	4,25
Histidine (H, His)	1,82	9,17	6
Lysine (K, Lys)	2,18	8,95	10,53
Arginine (R, Arg)	2,17	9,04	12,48

3- On veut séparer 4 acides-aminés : l'acide L-glutamique, la L-leucine et la L-lysine par chromatographie sur une résine polystyrénique substituée par des groupements sulfonate (SO₃⁻). On dépose ces 3 acides aminés sur la colonne, à pH 2, puis on élue en augmentant progressivement le pH. Quels acides aminés sont élués et dans quel ordre ?

4-Même séparation en électrophorèse à pH7

7-On se propose de séparer par technique d'électrophorèse 4 acides aminés, le tampon utilisé ayant un pH égal à 3,20.

	$pK_1(\alpha\text{COOH})$	$pK_2(\alpha\text{NH}_3^+)$	$pK_3(R)$
ALA	2,34	9,69	-
GLU	2,19	9,67	4,25
HIS	1,82	9,17	6,00
CYS	1,71	10,78	8,33

- 1- Déterminer les pHi de ces différents acides aminés, ainsi que leurs charges à pH = 3,20.
- 2- Dessinez la bande d'électrophorèse théorique à pH= 3,20
- 3- Pour obtenir une meilleure répartition des acides aminés sur la bande d'électrophorèse on choisit un tampon de pH différent. Dans quelle zone de pH est-il judicieux de le choisir ? Justifier votre réponse

8-Une chaîne polypeptidique A comporte des groupements acides pour lesquels les pK_a sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Radicaux	pK_a	Nombre de résidus
-COOH Ter	3,8	1
-COOH R (ASP, GLU)	4,5	6
-SH R (CYS)	8,0	8
$-\text{NH}_3^+$ R (LYS)	10,2	14
$-\text{NH}_2^+$ R (ARG)	12,0	8
$-\text{NH}_3^+$ Ter	7,8	1

Calculez la charge de A à pH = 4,5 et à pH = 10,2. Déterminez la valeur de son pHi ; justifiez vos réponses.

9- Pour la β endorphine le bilan en acides aminés ionisables est donné dans le tableau suivant

Radicaux	pK_a	Nombre de résidus
$-\text{NH}_3^+$ Ter	7,80	1
-COOH Ter	3,80	1
TYR	10,00	1
GLU	4,50	1
HIS	6,50	1
LYS	10,50	5

Déterminez la charge globale de la β endorphine à pH = 6,00.