



Samedi 31 mars 2018

Contrôle de Biochimie structurale
S4-90mn

1-

a-Calculer le pHi du dipeptide Glu-Lys sachant

(/5)

	pK _a COOH	pK _a NH ₂	pK _R
Lys	2,3	9,4	10,6
Glu	2,2	9,10	3,4

b-A quel pH la solution contiendrait 70% de la forme zwitterion

2- Calculer la charge globale de la protéine suivante à pH 2 et pH 12

(/3)

	Nombre de résidus
Asp	20
cys	3
Tyr	5
Lys	15
Arg	11
COOH ter	1
NH ₃ ⁺ ter	1

3-quelle est l'influence de la force ionique sur la solubilité des protéines

(/2)

4-soit un peptide P de 10 acides aminés. Donner sa séquence sachant que :

(/10)

1-L'hydrolyse acide totale suivie d'une CCM montre la présence de 7 acides aminés.

L'hydrolyse ménagée permet de récupérer un autre acide aminé.

2-Le traitement de P par les carboxypeptidase 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 à 280 nm. Avec le DNFB on obtient DNP-acide aminé. 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 2-nitro-5-thiocyanatobenzoate, B se scinde en un dipeptide basique et un tetrapeptide.

5-L'action de la chymotrypsine sur le peptide P libère 2 Tyr, 1 Ala et un heptapeptide C. l'heptapeptide C donne avec le réactif d'Edman, le PTH-Ala puis le PTH d'un acide aminé possédant une fonction amide. Avec le CNBr, le fragment C se scinde en un tripeptide et un tetrapeptide.

Date : 25 mai/2017

Contrôle
Module : Biochimie structurale
Session printemps
Durée : 1H30
Documents non autorisés

I- Tracez et interprétez la courbe qui illustre le phénomène de la solubilité et la turbidité des protéines

II- On sépare un mélange de lysine, glycine, tyrosine et d'acide glutamique par chromatographie échangeuse d'ions.

a) donner le principe de cette méthode

Quel sera l'ordre d'élution des acides aminés si on utilise un tampon allant progressivement de pH 10 à pH 2, et si on utilise:

b) une résine échangeuse de cations

c) une résine échangeuse d'anions

Quelle est selon vous la colonne donnant la meilleure séparation?

III-soit le peptide suivant : Donner la charge globale de ce peptide à pH4, pH8 et pH12,5

Acide aminé	nombre	pK _R
Arg	10	12,5
Asp	12	4
Cys	8	8
Glu	14	4,5
Lys	10	10
Tyr	8	10,2
Nterminal	1	9,7
Cterminal	1	2,3

< < =
= > >
< = >
< > >
< < >
< < >
pH < pK < <
> > >

IV- On soumet une séquence polypeptidique à une hydrolyse acide totale, à l'action des carboxypeptidases, à la réaction de Sanger et à l'hydrolyse par trypsine.

L'hydrolyse acide contient 2Gly, 2Glu, 2Lys, 1Leu, 1Met, 1Asp, 1Phe, 1His et 1Pro. Les carboxypeptidases sont sans effet. La réaction de Sanger suivie d'hydrolyse totale conduit à DNP-Gly. Après action de la trypsine on obtient 4 fragments :

Un tetrapeptide (1) qui donne le DNFB la DNP-Leu, par ailleurs (1) est traité avec BrCN ; les produits de la réaction sont séparés ; parmi eux figure un dipeptide non chargé en milieu neutre.

Un tripeptide (2) : après hydrolyse, le mélange des aminoacides est séparé par chromatographie sur résine échangeuse de cations, à pH 3 : un des trois aminoacides n'est pas retenu par la résine et se retrouve dans les premières fractions de l'éluat. L'acide aminé qui a réagi avec le DNFB est la glycine

Un dipeptide (3) : la réaction de Sanger révèle la présence de DNP-Asp ; en plus, il donne une réaction de Sakaguchi positive.

Le 4^{ème} fragment (4) donne avec le DNFB la DNP-Gly ; la chymotrypsine hydrolyse ce fragment en 2 dipeptides.

Après action du BrCN sur le polypeptide on retrouve 2 peptides : l'un contenant Gly ; Glu, Leu et lys, l'autre tous les aminoacides restants.

Etablir la structure primaire de la séquence polypeptidique.

Date : 21/05/2016

Contrôle
BCG S4 : Biochimie structurale

Session du Printemps

Durée : 1H30

Documents non autorisés

Questions claires ne demandez aucune explications

Téléphone éteint et posé sur la table

I-Résine sulphonée : principe et utilité

II-Le glutathion est un tripeptide : Glu-Cys-Gly. Donner les différents états d'ionisation et calculer son pHi

$$pK_{\text{Cter}} = 2,12, pK_R = 3,83, pK_R = 8,66, pK_{\text{Nter}} = 9,12$$

III-Déterminer la charge du peptide : Lys-Asp-Arg-Tyr-Cys-Asp à pH5 et pH12 (pH 7)

VI-L'étude d'un composé peptidique A de 10 acides aminés dont 8 différents, a montré :

1-Après hydrolyse acide totale et chromatographie sur papier 7 acides aminés ont été révélés et un seul acide aminé serait dégradé.

2- L'action du dithiothréitol (équivalent du β -mercaptoéthanol) sur le composé A libère un tripeptide B du côté aminoterminal et un heptapeptide C du côté carboxyterminal.

3. L'action d'une chymotrypsine ne modifie pas le tripeptide B mais donnerait 4 fragments dans l'heptapeptide du côté carboxyterminal au côté aminoterminal :

un acide aminé libre,

un fragment de 3 acides aminés,

un fragment de 2 acides aminés

et enfin un acide aminé libre.

4. L'action du réactif d'Edman sur l'heptapeptide C révèle la présence d'un acide aminé aromatique ayant un radical ionisable, suivi d'un acide aminé à chaîne latérale présentant une fonction thiol.

5 L'action de la trypsine sur le tripeptide B donnerait un fragment de 2 acides aminés du côté carboxyterminal et sur l'heptapeptide C elle donnerait un fragment de 4 acides aminés du côté aminoterminal.

6. L'acide aminé dégradé, récupéré par hydrolyse ménagée et présent dans l'heptapeptide C est situé du côté aminé d'une arginine. L'analyse a montré la présence d'un acide aminé sans pouvoir rotatoire dans chacun des peptides B et C et qui ne sont pas aux extrémités de ces 2 fragments.

7. L'action du bromure de cyanogène ne provoque aucune coupure supplémentaire dans le peptide B et C.

Date : 25 mai/2017

Contrôle

Module : Biochimie structurale

Session printemps

Durée : 1H30

Documents non autorisés

I- Tracez et interprétez la courbe qui illustre le phénomène de la solubilité et la turbidité des protéines

II- On sépare un mélange de lysine, glycine, tyrosine et d'acide glutamique par chromatographie échangeuse d'ions.

a) donner le principe de cette méthode

Quel sera l'ordre d'éluion des acides aminés si on utilise un tampon allant progressivement de pH 10 à pH 2, et si on utilise:

b) une résine échangeuse de cations

c) une résine échangeuse d'anions

Quelle est selon vous la colonne donnant la meilleure séparation?

III-soit le peptide suivant : Donner la charge globale de ce peptide à pH4, pH2 et pH12,5

Acide aminé	nombre	pK _R
Arg	10	12,5
Asp	12	4
Cys	8	8
Glu	14	4,5
Lys	10	10
Tyr	8	10,2
Nterminal	1	9,7
Cterminal	1	2,3

IV- On soumet une séquence polypeptidique à une hydrolyse acide totale, à l'action des carboxypeptidases, à la réaction de Sanger et à l'hydrolyse par trypsine .

L'hydrolyse acide contient 2Gly, 2Glu, 2Lys, 1Leu, 1Met, 1Asp, 1Phe, 1His et 1Pro. Les carboxypeptidases Sont sans effet. La réaction de Sanger suivie d'hydrolyse totale conduit à DNP-Gly. Après action de la trypsine on obtient 4 fragments :

Un tetrapeptide (1) qui donne le DNFB la DNP-Leu, par ailleurs (1) est traité avec BrCN ; les produits de la reaction sont séparés ; parmi eux figure un dipeptide non chargé en milieu neutre.

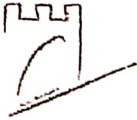
Un tripeptide (2) : après hydrolyse, le mélange des aminoacides est séparé par chromatographie sur résine échangeuse de cations, à pH 3 : un des trois aminoacides n'est pas retenu par la résine et se retrouve dans les premières fractions de l'éluât. L'acide aminé qui a réagi avec le DNFB est la glycine

Un dipeptide (3) : la réaction de Sanger révèle la présence de DNP-Asp; en plus, il donne une réaction de Sakaguchi positive.

Le 4^{ème} fragment (4) donne avec le DNFB la DNP-Gly ; la chymotrypsine hydrolyse ce fragment en 2 dipeptides.

Après action du BrCN sur le polypeptide on retrouve 2 peptides : l'un contenant Gly ; Glu, Leu et lys, l'autre tous les aminoacides restants.

Etablir la structure primaire de la séquence polypeptidique.



Samedi 3 juin 2019

Contrôle de Biochimie structurale
(BCG)-S4-90mn

1-La cystine est un composé formé par deux cystéines, liés par un pont disulfure (S-S). (/6)

En supposant que les valeurs des pKa des fonctions ionisables sont identiques à celles de la cystéine,

a-calculez le pHi de la cystéine et de la cystine

	pK _a COOH	pK _a NH ₂	pK _R
Cystéine (cys)	1,17	10,78	8,33

b-A pH 7 calculez les pourcentages des différentes formes ioniques de la cystéine et de la cystine

2- Tamis moléculaire : principe et utilité (/3)

3-quelle est l'influence de la force ionique sur la solubilité des protéines (/3)

4- La composition globale en acides aminés d'un peptide P obtenue par hydrolyse acide totale est : Arg 1, Asp 1, Cys 1, Lys 1, Thr 1, Val 1, NH₃ 1

-Le traitement de P par le réactif d'Edman donne la PTH-Cys et par la carboxypeptidase donne l'Arg.

-La trypsine catalyse l'hydrolyse de P en 2 peptides T1 et T2.

Après hydrolyse acide totale de T1, il donne 3 acides aminés et après hydrolyse ménagée 4 acides aminés. Après traitement de T1 par le chlorure de dansyle, on isole 2 composés fluorescents et on identifie l'un des deux à la dansyl-Cys.

T2 donne 3 acides aminés après hydrolyse acide et ménagée. Le traitement de T2 par le chlorure de dansyle donne dansyl-Thr.

-La chymotrypsine hydrolyse P en 2 peptides. Le traitement de l'un de ces 2 peptides par le DNFB donne la DNP-Val et la DNP-Lys.

1--Donner la séquence de P en justifiant toutes vos réponses par les arguments acquis (/8)