

Travaux dirigés : peptides et protéines

Exercice 1 :

1. Dans une protéine globulaire hydrosoluble, quels acides aminés dans la liste suivante : **Méthionine**, **histidine**, **arginine**, **phénylalanine**, **valine**, **glutamine**, **acide glutamique**, Pensez-vous trouver :
 - a. À la surface de la protéine ?
 - b. À l'intérieur de la protéine ?
2. Comment savons-nous à quoi ressemble une protéine repliée ?
3. Quelle est l'interaction non covalente prédominante qui unit les hélices α et les feuillets β ?
4. Les chaînes latérales des acides aminés dans une hélice α sont-elles orientées vers l'intérieur ou l'extérieur de l'élément structural ?
5. Nommez les quatre types d'interactions responsables de la création de structures tertiaires dans les protéines.

Exercice 2 :

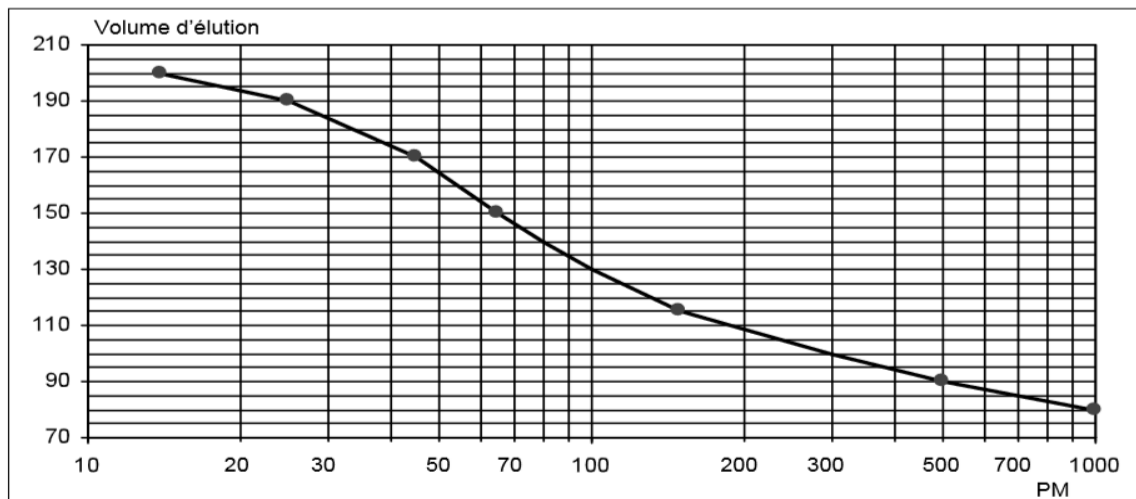
Soit les protéines suivantes:

- Protéine A (pHi= 3)
 - Protéine B (pHi= 4,6)
 - Protéine C (pHi=7,2)
 - Ces protéines sont soumises à un champ électrique dans un tampon à PH=8 lors d'une électrophorèse sur gel d'agarose.
1. Expliquer le principe de l'électrophorèse sur gel d'agarose.
 2. Donner l'ordre de migration de ces protéines en précisant le sens de migration (illustrer par un schéma).

Exercice 3 :

La chromatographie des protéines de poids moléculaires connus sur une colonne de gel filtration, permet de déterminer leur volume d'élution (V_e) et tracer une courbe d'étalonnage (voir courbe) qui permet d'évaluer le poids moléculaire d'une protéine inconnue.

	PM (kDa)	V_e (ml)
bleu dextran*	1000	80
uréase	500	90
aldolase	150	115
sérum albumine	65	150
ovalbumine	45	170
chymotrypsinogène	25	190
lysozyme	14	200



Une protéine X, chromatographiée dans les mêmes conditions expérimentales, est éluée avec un volume d'élution de 130 ml.

1. Expliquer le principe de la chromatographie sur gel filtration
2. Déterminer le PM de la protéine X.

Cette protéine X est ensuite analysée par électrophorèse SDS-PAGE. On obtient une seule bande correspondant à un PM apparent de 25 kDa.

3. Sur quel principe est basée la détermination du PM apparent par électrophorèse SDS-PAGE ?
En quoi diffère-t-il de la chromatographie par gel filtration ?
4. Expliquer le résultat obtenu
5. Donner une structure schématique de la protéine X

Exercice 4:

Après hydrolyse trypsique partielle d'un polypeptide, on isole un **hexapeptide** dont l'hydrolyse totale libère 5 acides aminés dont un est répété 2 fois.

L'action du **chlorure de dansyl** sur l'hexapeptide libère un dansyl-Valine alors que **l'hydrazinolyse** libère 5 hydrazides et une lysine libre.

Le traitement de l'hexapeptide par **l'hydroxylamine** libère 2 tripeptides.

NB : l'acide aminé répété 2 fois est un acide aminé soufré apolaire.

1. Indiquer comment on obtient la composition en acides aminés d'un peptide.
2. Indiquer comment on détermine la nature de l'acide aminé N-terminal.
3. Donner la séquence de l'hexapeptide en expliquant la démarche suivie.

Exercice 5 :

Soit le peptide suivant :

Y-V-E-S-K-A

1. Nommer ce peptide.
2. A quelle classe appartient ce peptide ?
3. Donner la structure chimique de ce peptide.
4. Etablir l'équilibre d'ionisation de ce peptide en allant d'un pH très acide vers pH très alcalin.
5. Calculer le pHi de ce peptide (Pour les pK se référer au tableau du cours acides aminés).
6. Donner les fragments obtenus par l'action :
 - *N-bromosuccinimide.
 - *Chymotrypsine.
 - *Lysine.
 - *Carboxypeptidase C.
 - *Chlorure de dansyl.