



Examen de fin du 1^{ère} semestre de Biochimie

Exercice 1 (4 pts)

On veut séparer un mélange de trois protéines du blanc d'œuf par chromatographies. Les masses moléculaires et les points isoélectriques de ces protéines sont indiqués dans le tableau suivant :

Protéine	Masse moléculaire (kD)	Point isoélectrique
Ovalbumine	44	4,6
Ovotransferrine	77	6,1
Lysozyme	15	11

1. Indiquer l'ordre dans lequel ces 3 protéines s'élueront dans une colonne d'exclusion moléculaire (en commençant par celle qui est éluée en premier). Justifier la réponse.
2. Ce mélange est déposé sur une colonne échangeuse de cations. Le pH du tampon utilisé pour cette colonne est de 3 :
 - a) Quelle est la charge de la colonne ?
 - b) Quelles protéines ne seront pas retenues par la colonne ? Justifier la réponse.
 - c) Pour éluer les protéines fixées sur la colonne un gradient linéaire de NaCl (de 0 à 1 M) est appliqué. La concentration en NaCl augmente progressivement de 0 à 1 M. Préciser l'ordre d'élution des protéines liées à la colonne, en fonction de l'augmentation de la concentration en sel. Justifier la réponse.

Exercice 2 (8 pts)

On veut déterminer la structure d'un octapeptide P dont la composition globale en acide aminé est la suivante :

1 Lys, 2 Glu, 3 Met, 2 Tyr

Le peptide P est soumis à différents traitements :

1. Le traitement de P par la trypsine libère un acide aminé et un heptapeptide P₁. La réaction de P₁ avec le réactif de Sanger suivi d'hydrolyse acide libère un DNP-Met.
2. Le traitement de P par la carboxypeptidase Y libère un acide aminé soufré.

3. Le traitement de **P** par du bromure de cyanogène, suivi d'une séparation des fragments obtenus par chromatographie en couche mince, on observe deux taches : une d'un dipeptide et l'autre de deux tripeptides identiques.

4. Le traitement de **P** par la chymotrypsine libère 1 dipeptide et 2 tripeptides.

Déduire la séquence en acides aminés de l'octapeptide **P**.

Interpréter les expériences (en précisant le rôle de chaque enzyme et réactif utilisés)

Exercice 3 (8 pts)

Soit le triholoside **T** suivant :

α -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- α -D-glucofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fructopyranoside

1. Écrire la structure chimique du triholoside **T**, selon la représentation de Haworth.
2. Ce triholoside peut-il présenter le phénomène de mutarotation ? Pourquoi ?
3. Le triholoside **T** a subi une oxydation par l'acide périodique (HIO_4).
 - a) Combien de moles d'acide périodique seront nécessaires pour oxyder une mole du triholoside **T** ? Justifier la réponse en indiquant le principe de cette réaction et les sites de coupure de ce triholoside par l'acide périodique.
 - b) Déduire le nombre de moles d'acide formique (HCOOH) et de formaldéhyde (HCHO) formées.
4. Quels sont les produits obtenus par perméthylation exhaustive (généralisée) suivie d'une hydrolyse acide douce de ce triholoside ?
5. Quels sont les enzymes (osidases) qui peuvent hydrolyser le triholoside **T**. Justifier la réponse.
6. L'action d'un seul de ces enzymes sur le triholoside **T** permet de libérer un diholoside et un ose dont l'oxydation nitrique donne naissance à un produit inactif sur la lumière polarisée. Donner le nom et la formule de ce produit d'oxydation.