

Université Claude Bernard



Lyon 1



# Tutorat Lyon Est

## Unité d'Enseignement 1

BANQUE DE QCM

2013-2015

2016-2017

2017-2018

2018-2019

2019-2020

**BIOCHIMIE**  
**Les peptides**

QUESTIONS et REPONSES

2020-2021

## Enoncé commun aux questions 1 à 4 :

Le 19 Octobre 2015, un chercheur Lyonnais a découvert par hasard un peptide dont la fonction serait de permettre la réussite du concours PACES.

Fort de cette découverte, il réalise de plus amples analyses sur ce peptide qu'il décide nommer « Tut' », et après séquençage il obtient la séquence suivante :

**M N P S Q K G T F P I C D K P V H R L E K T E**

### Question 1 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le peptide « Tut' » contient 12 acides aminés essentiels.
- B. Tous les acides aminés de ce peptide possèdent un carbone asymétrique sauf l'isoleucine et la thréonine qui en possèdent deux.
- C. L'action d'une carboxypeptidase permet d'obtenir un acide aminé précurseur de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique.
- D. Le peptide « Tut' » est un oligopeptide.
- E. Il peut se former un pont disulfure intra-chaîne.

### Question 1 : AC

- A. **Vrai.** Les AA essentiels sont donnés par le moyen mnémotechnique du Pr. Moyret-Lalle : « HoT MILK FoR VieW » = H,T,M,I,L,K,F,R,V et W. Il suffisait donc de compter leur nombre et on trouvait bien 12 (Douuuuuuze).
- B. **Faux.** Il faut savoir que tous les acides aminés courants possèdent un carbone asymétrique, sauf la **glycine qui n'en possède pas**, ainsi que l'isoleucine et la thréonine qui en possèdent 2. Or dans le peptide « Tut' » on retrouve une glycine qui ne possède pas de carbone asymétrique ce qui rend l'item inexact.
- C. **Vrai.** Une carboxypeptidase est une enzyme exopeptidase, enlevant un acide aminé à la fois, en commençant par l'extrémité C-terminale du peptide, à l'inverse de l'aminopeptidase qui commence par libérer l'AA au niveau de l'extrémité N-terminale. Ici l'action d'une carboxypeptidase permettra de libérer un Acide Glutamique (E), qui après décarboxylation donne le GABA, ou acide  $\gamma$ -aminobutyrique, qui est le principal neurotransmetteur inhibiteur du SNC.
- D. **Faux.** Un oligopeptide contient entre 10 et 20 résidus. Le peptide Tut' en possède 23, c'est donc un polypeptide.
- E. **Faux.** Un pont disulfure est une liaison covalente qui se forme après oxydation de 2 groupements Thiol (SH) de 2 cystéines. Dans notre séquence nous n'avons qu'une seule cystéine, on ne peut donc pas former de pont disulfure intra-chaîne. Cependant 2 peptides Tut' pourront former un pont disulfure entre eux (entre leur 2 cystéines).

## Question 2 :

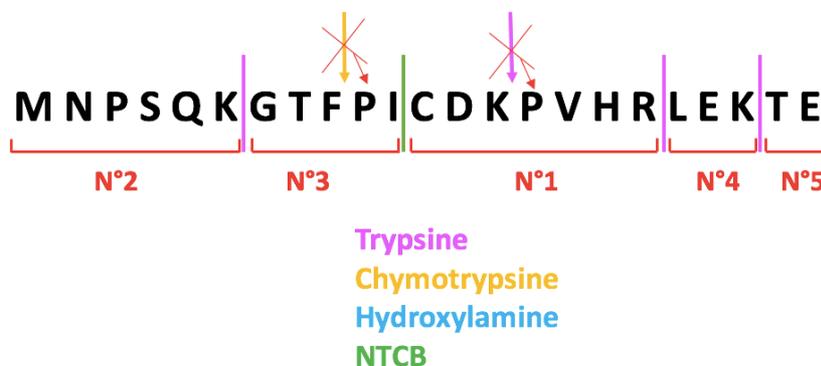
Notre chercheur décide maintenant de faire digérer notre peptide, dans des conditions normales, par de la trypsine, de la chymotrypsine, de l'acide 2-nitro-5-thiocyanobenzoïque et de l'hydroxylamine. Les fragments obtenus sont numérotés en fonction de leur taille décroissante (n°1 pour le plus grand et ∞ pour le plus petit).

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Après digestion, on obtient 6 fragments.
- B. Le fragment 5 est un dipeptide.
- C. Le peptide 3 possède 2 pics d'absorbance.
- D. L'acide aminé en C-terminal du peptide 2 possède un rôle important dans l'expression des gènes.
- E. Le fragment 2 du peptide « Tut' » aurait pu subir une N-glycosylation lors de sa traduction.

## Question 2 : BCD

- A. **Faux.** On obtient 5 fragments ! La trypsine coupe 3 fois (2x après K et 1x après R) La chymotrypsine ne coupe pas, car après la Phénylalanine, on trouve une Proline qui inhibe son action. Le NTCB coupe avant la cystéine (et pas entre Met et Cys !). L'hydroxylamine ne coupe pas, car on ne retrouve pas la séquence Asn-Gly. On a donc 4 coupures ce qui nous donne 5 fragments, de tailles différentes : N°1 : CDKPVHR, N°2 : MNPSQK, N°3 : GTFPI, N°4 : LEK et N°5 : TE



- B. **Vrai.** Le fragment 5 contient bien 2 AA, la thréonine et l'acide glutamique.
- C. **Vrai.** Le fragment est un pentapeptide, et qui dit peptide dit liaison peptique et la liaison peptique absorbe dans l'UV à environ 215-230nm ; voici donc le 1<sup>er</sup> pic d'absorption. Ensuite on a dans notre fragment 3, la présence d'un acide aminé aromatique, la phénylalanine qui absorbe également dans l'UV à 257nm ! On aura donc bien 2 pics d'absorption pour le fragments 3.
- D. **Vrai.** L'acide aminé en C-terminal du fragment 2 est la lysine, or celle-ci peut-être méthylée et acétylée ce qui joue sur l'état de compaction de la chromatine et donc sur l'expression des gènes. Rappel : la méthylation compacte l'ADN donc inhibe et la transcription et l'acétylation décompacte, détend, l'ADN facilitant la transcription.
- E. **Faux.** La N-Glycosylation est une modification traductionnelle qui consiste en l'ajout d'un sucre sur l'atome d'azote (N) de l'asparagine uniquement dans les séquences consensus : N –

X – S/T où X est n'importe qu'elle acide aminé SAUF la PROLINE. Or dans notre fragment 2 on trouve bien une asparagine et une Sérine, 2 places derrière, mais l'asparagine est suivie d'une proline. Donc la N-glycosylation n'aurait pas pu avoir lieu lors dans la traduction du peptide Tut'.

### Question 3 :

Le fragment 1 est élué par chromatographie échangeuse de cations avec un gradient de pH commençant à 1. On rappelle, les valeurs de pK des 20 acides aminés courants.

Acide Aminé	pKa1	pKa2	Acide Aminé	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	Tyr	2,2	9,1	10,1
Ala	2,3	9,7	Ser	2,2	9,2	
Val	2,3	9,6	Thr	2,6	10,4	
Leu	2,4	9,6	Cys	1,7	10,8	8,3
Ile	2,4	9,7	Met	2,3	9,2	
Pro	2	9,6	Lys	2,2	9,2	10,5
Phe	1,8	9,1	Arg	2,2	9,2	12,5
Trp	2,4	9,4	His	1,8	9,2	6,0
Asn	2	8,8	Asp	2,1	9,8	3,9
Gln	2,2	9,1	Glu	2,2	9,7	4,3

A partir de quelle valeur de pH ce peptide sera-t-il élué ?

- A. pH = 6,1
- B. pH = 8,1
- C. pH = 10,6
- D. pH = 8,4
- E. pH = 4,2

### Question 3 : D

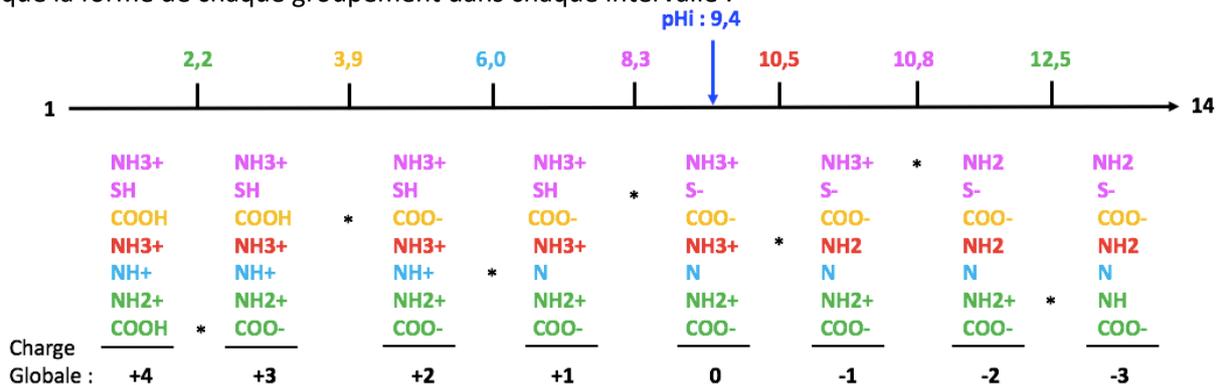
Le peptide 1 est le suivant : CDKPVHR

On veut réaliser une chromatographie échangeuse de cations, c'est à dire que la résine de la colonne est négative et qu'elle retiendra le peptide tant que celui-ci sera positif. On suit un gradient de pH croissant commençant à 1, pH très acide où le peptide sera forcément positif. Notre but est de trouver la valeur de pH pour laquelle le peptide n'est plus positif mais neutre (charge globale nulle). Pour connaître l'état d'ionisation et la charge globale d'un peptide à n'importe quelle valeur de pH, il existe une méthode simple et efficace :

Commencer par identifier tous les groupements ionisables du peptide, avec leur pKa respectifs :



On peut maintenant réaliser une échelle de pH en plaçant les pKa des groupements ionisables ainsi que la forme de chaque groupement dans chaque intervalle :

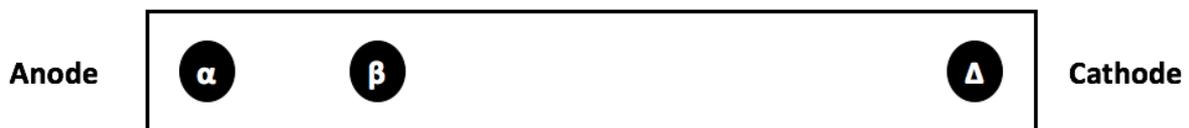


Détailler les formes des groupements dans chaque intervalle n'est pas obligatoire (je le fais pour que vous compreniez bien). Pour aller plus vite il suffisait de compter le nombre de groupements positifs à pH très acide, ici 4 donc la charge positive maximale est +4. La charge négative maximale est -3 (compter les groupements négatifs à pH très basique). On a ainsi toutes les états d'ionisations de notre peptide pour n'importe quelle valeur de pH.

On voit donc qu'on commence à avoir une charge globale nulle à partir de 8,3, donc notre peptide sera élué juste après avoir dépassé ce pKa, soit 8,4. Notre peptide est élué à partir d'un pH égal à 8,4.

#### Question 4 :

On effectue maintenant une hydrolyse acide du fragment 4, et l'on dépose les acides aminés obtenus sur une électrophorèse à pH = 8.



- A. L'anode est l'électrode positive.
- B. α est l'acide aspartique.
- C. Lors d'une électrophorèse si  $\text{pH} < \text{pHi}$ , l'acide aminé migre vers la cathode.
- D. α et β sont des aminés acides.
- E. Δ est la lysine.

#### Question 4 : ACE

Le fragment n°4 est un tripeptide : L E K

On réalise une hydrolyse acide ce qui va couper toutes les liaisons peptidiques et donc libérer les 3 AA. On réalise une électrophorèse à pH 8 avec ces 3 AA.

Le principe de l'électrophorèse est de séparer les AA en fonction de leur charge à un pH donné. Si l'AA est chargé positivement il va migrer vers l'électrode négative c'est à la cathode, qui attire les cations. Inversement si l'AA est chargé négativement, il migrera vers l'anode qui est positive, car elle attire les anions.

Ici on vous demande de trouver la place des 3 AA du peptide sur l'électrophorèse. Pour cela on peut réaliser nos échelles de pH pour chaque AA et ainsi trouver leur charge à pH 8.

On peut également trouver les AA de manière plus rapide, car on sait que :

- Si le  $\text{pH} < \text{pH}_i$ , l'acide aminé migrera vers la cathode (il sera chargé positivement)
- Si le  $\text{pH} > \text{pH}_i$ , l'acide aminé migrera vers l'anode (il sera chargé négativement).

Le  $\text{pH}_i$  de la leucine est environ 6, de l'acide glutamique environ 3,2 et celui de la lysine environ 9,8.

On est à pH 8 donc la leucine et l'acide glutamique migreront vers l'anode, tandis que la lysine migrera vers la cathode. L'acide glutamique migrera plus que la leucine car la différence entre le pH et son  $\text{pH}_i$  est plus importante que celle de la leucine.

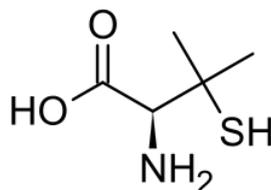
On a donc  $\alpha$  = acide glutamique,  $\beta$  = leucine et  $\Delta$  = Lysine.

- A. **Vrai.** L'anode est positive car elle attire les anions, tandis que la cathode est négative car elle attire les cations.
- B. **Faux.** L'acide aspartique est absent du peptide. C'est l'acide glutamique.
- C. **Vrai.** Si le  $\text{pH} < \text{pH}_i$ , l'acide aminé migrera vers la cathode (il sera chargé positivement). Si le  $\text{pH} > \text{pH}_i$ , l'acide aminé migrera vers l'anode (il sera chargé négativement).
- D. **Faux. Item annulé car il manquait un mot dans l'item.**  $\alpha$  est bien un acide aminé acide mais  $\beta$  est la leucine qui n'est pas acide.
- E. **Vrai.**  $\Delta$  est bien la lysine, qui est chargée positivement à pH 8, et qui donc migre vers la cathode.

### Question 5 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. La sélénocystéine est présente dans la glutathion peroxydase qui lutte contre les radicaux libres  $\text{H}_2\text{O}_2$ .
- B. L'aspartam est déconseillé aux femmes enceintes et aux diabétiques.
- C. La ghréline acétylée augmente l'appétit et la motricité gastrique.
- D. L'ubiquitinylation des peptides est possible.
- E. Le composé représenté ci-dessus est l'élément de base de nombreuses molécules antibiotiques :



### Question 5 : ADE

- A. **Vrai :** La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine qui lutte contre les radicaux libres qui attaquent l'ADN.

- B. **Faux** : L'aspartam est catabolisé en méthanol qui est toxique pour le fœtus, donc il est bien déconseillé aux femmes enceintes. En revanche l'aspartam est utile pour les diabétiques car il leur permet de sucrer leur alimentation sans augmenter leur glycémie. C'est pour les patients atteints de phénylcétonurie que l'aspartam est toxique, car cet édulcorant contient 50% de phénylalanine qui est en excès chez ces patients.
- C. **Faux** : Ce n'est pas une acétylation mais une acylation !
- D. **Vrai** : L'ubiquitinylation des peptides est possible in vitro.
- E. **Vrai** : Cette molécule est la D-pénicillamine qui est présente dans toutes les différentes pénicillines.

### Enoncé commun aux questions 6 et 7 :

Mademoiselle Lyse, Anna de son prénom, médecin et chercheuse de renommée internationale, est quelque peu tête en l'air et a oublié la séquence du nouveau peptide « Bioch » qu'elle avait découvert 2 jours plus tôt.

Elle se rappelle seulement que :

- Le peptide aurait pu subir une N-glycosylation lors de sa traduction.
- Le peptide contient un acide aminé impliqué dans le métabolisme du méthane.
- L'action d'une carboxypeptidase permet de libérer un composé pouvant mener à un dérivé d'acide aminé possédant 3 fonctions carboxyliques.
- Ce peptide peut être phosphorylé, hydroxylé, et méthylé (entre autres).
- Après hydrolyse acide de ce peptide, on obtient 9 acides aminés dont 4 essentiels.

### Question 6 :(2 points)

Quelle est la séquence du peptide « Bioch »?

A	B	C	D	E
VOKYPNGSD	VOKNPTFRE	COKNGTFRE	COKNGSWRE	CUKNGTFRE

### Question 6 :(2 points) **C**

- A. **Faux** : Ce peptide ne contient que 2 acides aminés essentiels. De plus il ne possède pas l'acide glutamique en C-term, qui par carboxylation, peut mener au Gla qui possède 3 fonctions carboxyliques.
- B. **Faux** : Ce peptide ne peut pas subir de N-glycosylation. Rappel : La N-glycosylation se fait uniquement dans la séquence consensus N-X-S/T où X est n'importe quel AA sauf la proline. Ici l'AA qui suit l'asparagine est une proline, donc pas d'N-Glycosylation possible. De plus ce peptide contient 5 AA essentiels.
- C. **Vrai** : Ce peptide répond à toute les attentes de l'énoncé.
- D. **Faux** : Après hydrolyse acide de ce peptide, on aura plus que 8 AA car l'hydrolyse aura détruit le tryptophane, et seulement 2 AA essentiels.
- E. **Faux** : Ce peptide ne contient pas de pyrrolysine qui est l'acide aminé impliqué dans le métabolisme du méthane, il contient à la place la sélénocystéine U.

### Question 7 :

Enchantée d'avoir retrouvé la séquence du peptide « Bioch », Anna décide maintenant de digérer ce dernier à l'hydroxylamine.

Après digestion, le fragment le plus long est appelé « P1 ».

On rappelle les valeurs de pK des 20 acides aminés courants :

Acide Aminé	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ile	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,2	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. La charge globale du fragment P1 est négative à pH=5.
- B. A pH=10,3, en électrophorèse, le peptide P1 migrera vers la cathode.
- C. Ce peptide sera plutôt soluble en milieu aqueux.
- D. Le peptide P1 possède une charge maximale positive égale à sa charge maximale négative, en valeur absolue.
- E. Le pHi de ce peptide est 7,2.

### Question 7 : CD

L'hydroxylamine coupe **entre N et G**. On obtient alors 2 peptides, un térapeptide et un pentapeptide que l'on nomme alors P1. Il fallait ensuite réaliser une échelle de pH pour connaître les charges de ce peptide à n'importe quelle valeur de pH.



## Question 8 : BCE

Le NTCB coupe avant une cystéine on a donc :

1 MDPPRPALLA LALPALLLL LAGARAEEM LENVSLVCPK DATRFKHLRY  
51 SGVPGTADSR SATRINCKVE LEVPQLCRFI LKTHMCTLKE YGFNPEGKAL  
101 AAAMSRVELK LAIPEGKQVF LYPEKDEPTY ILNIKRGIS ALLVPPETEE  
151 GMCSTHFTWK RKVNDATEIS TERDLGQCDR FKPIRTGISP LALIKGMTRP

Notre fragment « Lip » est : CSTHFTWKRKVNDATEISTERDLGQ

- A. **Faux** : On ne retrouve pas la séquence consensus N-X-S/T, indispensable pour la N-glycosylation.
- B. **Vrai** : Une carboxypeptidase libèrerait la Glutamine Q qui est bien l'AA le plus abondant de l'organisme.
- C. **Vrai** : « Lip » contient une phénylalanine qui est un précurseur des catécholamines (en se transformant en tyrosine).
- D. **Faux** : Seule la tyrosine peut être sulfatée, or on ne retrouve pas de tyrosine dans « Lip ».
- E. **Vrai** : La tyrosinase permet la transformation de la tyrosine en DOPA (puis en Dopachrome), menant in-fine à la formation de mélanine, mélanine qui colore la peau. Une mutation de la tyrosinase entraîne donc un arrêt de production de mélanine et donc un albinisme (absence de mélanine).

## Question 9 : (2 points)

On fait digérer notre fragment Lip, en conditions non standard, par l'hydroxylamine et la chymotrypsine. On s'intéresse au fragment le plus long, obtenu après digestion, que l'on nomme « ide ».

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. « ide » est un dodécapeptide.
- B. Le peptide « ide » possède une charge globale de -1 à pH = 12,1.
- C. Le pHi de « ide » est de 9,85.
- D. « ide » migrera vers l'anode à pH = 4.
- E. L'action de la trypsine sur « ide » permettrait la libération de 3 acides aminés libres, dont 2, souvent hydroxylés dans le collagène.

## Question 9 : (2 points) CE

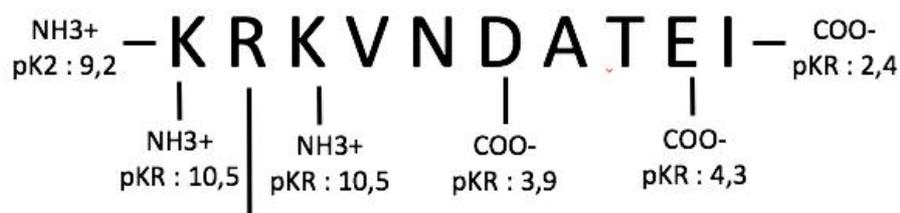
On digère notre fragment « Lip », par la chymotrypsine et par l'hydroxylamine. ATTENTION nous sommes en conditions non standards ! Donc la chymotrypsine coupe **après** W, F, Y et L, I, et M, sauf s'il y a une proline derrière ! L'hydroxylamine, elle, coupe entre N et G.

On a donc : CSTHFTWKRKVNDATEISTERDLGQ

Notre fragment « ide » est :

KRKVNDATEI

- A. **Faux** : « ide » est un décapeptide = 10AA ; Dodéca = 12AA
- B. **Faux** :



Le peptide ne passe pas par le stade de charge globale -1, car ce peptide contient 2 lysines, dont les chaînes latérales vont s'ioniser à la même valeur de  $pH = pK = 10,5$ . On a donc un changement de 2 charges en passant 10,5.

- C. **Vrai** :  $pH_i = 9,85$ .
- D. **Faux** : A  $pH = 4$ , le peptide est positif, il migrera donc vers l'électrode négative, qui est la cathode.
- E. **Vrai** : La trypsine coupe après R et K. Elle coupera donc 3 fois dans ce peptide, libérant 2 lysines et 1 arginine. Les lysines sont souvent hydroxylées dans les collagènes.

### Question 10 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le liraglutide est agoniste des récepteurs GLP1 (Glucagon-like peptide 1), et possède donc une action hyperglycémiant.
- B. Un analogue de la ghréline non acylée est utilisé pour traiter des maladies métaboliques telles que le syndrome de Prader-Willi.
- C. L'insuline est directement produite sous forme active par les cellules beta des îlots de Langerhans.
- D. La glutamine est un précurseur des nucléotides à bases puriques.
- E. L'histidine avec son noyau imidazole est l'acide aminé possédant le poids moléculaire le plus élevé.

### Question 10 : **B (D annulé)**

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le liraglutide est agoniste des récepteurs GLP1 (Glucagon-like peptide 1), et possède donc une action hyperglycémiant.
- B. Un analogue de la ghréline non acylée est utilisé pour traiter des maladies métaboliques telles que le syndrome de Prader-Willi.
- C. L'insuline est directement produite sous forme active par les cellules beta des îlots de Langerhans.
- D. La glutamine est un précurseur des nucléotides à bases puriques.

- E. L'histidine avec son noyau imidazole est l'acide aminé possédant le poids moléculaire le plus élevé.
- A. **Faux** : Le liraglutide est bien un agoniste des récepteurs GLP1, il va stimuler la production d'insuline et limiter la libération du glucagon. Le liraglutide a donc une action hypoglycémisante.
- B. **Vrai**
- C. **Faux** : L'insuline n'est pas directement synthétisée sous sa forme active ! Elle est formée sous forme de pré-pro-insuline, qui perd son peptide signal pour donner la pro-insuline, qui va ensuite perdre son peptide C, pour former l'insuline, pas encore tout à fait active. Pour la rendre totalement active elle doit subir l'action d'une carboxypeptidase qui va permettre d'enlever 2 arginines au niveau du peptide B.  
A noter cependant que l'insuline est bien fabriquée au niveau des cellules Béta du pancréas.
- D. **Annulé** : Divergence entre le cours du Pr Moyret-Lalle et le cours du Pr Morel.
- E. **Faux** : C'est le tryptophane qui est l'AA avec le plus haut PM : 186Da.

### Enoncé commun aux questions 11 à 13.

On considère le peptide suivant:

**MGITSFYELLMCGEVKCAD**

#### Question 11 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Ce peptide possède 10 acides aminés essentiels.
- B. L'hydroxylamine permet de couper ce peptide en deux peptides plus petits.
- C. Ce peptide peut se lier avec un autre par des ponts disulfures.
- D. L'action d'une carboxypeptidase permet l'obtention d'un acide aminé acide.
- E. Les acides aminés de ce peptide ont tous un carbone asymétrique.

#### Question 11 : CD

- A. **Faux**: Il y en a 9. Ils sont représentés en gras: **MGITSFYELLMCGEVKCAD**
- B. **Faux**: L'hydroxylamine coupe entre Asn et Gly, elle n'a aucune action sur ce peptide
- C. **Vrai**: Elle contient des cystéines qui peuvent réaliser des ponts disulfures
- D. **Vrai**: Une carboxypeptidase permet de couper un AA en C-ter : on obtiendra un acide aspartique
- E. **Faux**: La glycine ne possède pas de carbone asymétrique

#### Question 12 :

On fait digérer ce peptide, dans des conditions normales, par du NTCB, par la trypsine et la chymotrypsine. Les fragments obtenus sont numérotés en fonction de leur taille décroissante (1 pour le plus grand, ∞ pour le plus petit).

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. On obtient 5 fragments.
- B. Le fragment 1 possède deux acides aminés pouvant être phosphorylés.
- C. L'acide aminé obtenu absorbe les UV à 280 nm.

- D. La méthode d'Edman utilisée sur le fragment 3 permet d'obtenir un acide aminé intervenant dans les mécanismes de coagulation.
- E. Le fragment 2 contient l'acide aminé le plus abondant sous forme libre dans l'organisme.

### Question 12 : ABD

Le peptide est MGITSFYELLMCGEVKCAD

Le NTCB coupe entre Met(M) et Cys(C). La trypsine coupe après Lys(K) et Arg(R) (sauf avant Pro). La chymotrypsine coupe après les aromatiques, Phe(F), Tyr(Y), Trp(W).

On obtient donc: MGITSF Y ELLM CGEVK CAD

Donc n°1: MGITSF n°2:CGEVK n°3:ELLM N°4: CAD N°5: Y

- A. **Vrai:** voir ci-dessous
- B. **Vrai:** On a la thréonine et la sérine **MGITSF**
- C. **Faux:** Le Trp absorbe à 280 nm; L'acide aminé obtenu est la tyrosine Tyr, il absorbe à 275 nm
- D. **Vrai:** Elle permet d'obtenir un acide glutamique, qui est impliqué dans les mécanismes de coagulation après avoir été carboxylé
- E. **Faux:** Il contient Gly. C'est Gln(Q) qui est le plus abondant sous forme libre.

### Question 13 : (5/0)

Le fragment (peptide) n°2 est élué par chromatographie échangeuse d'anions avec une gamme de pH commençant à 12. Pour rappel, les valeurs de pK des 20 acides aminés courants sont :

	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ile	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,2	9,1	10,1
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

A partir de quelle valeur de pH ce peptide sera-t-il élué ?

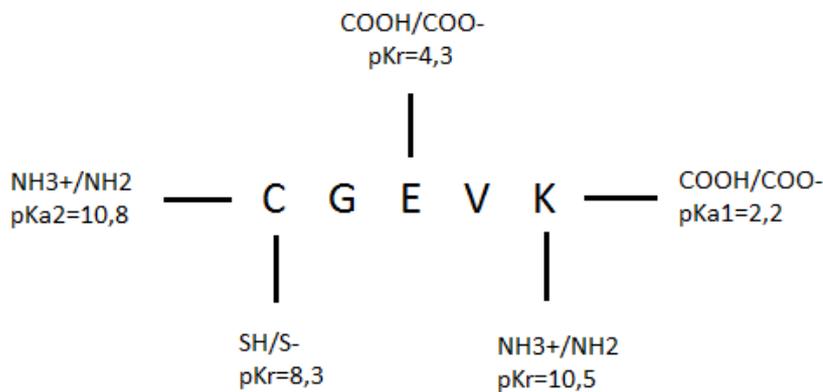
- A. pH= 6,3
- B. pH= 4,2
- C. pH= 4,4

- D. pH= 8,4
- E. pH= 8,2

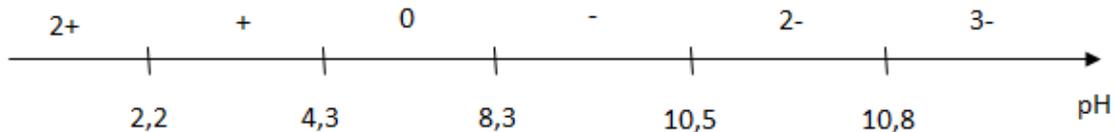
### Question 13 : E

Le peptide concerné est CGEVK.

On commence à pH=12. Le peptide sera élué dès que le pKa/pK<sub>r</sub> permettant d'avoir une charge globale nulle aura été franchi.



Voici le peptide avec ses groupements ionisables. On va donc faire une échelle de pH avec les différentes charges en fonction du pH.



On part de pH=12, on a une charge nulle à partir de pH=8,3, donc à le peptide est élué juste après avoir dépassé ce pKa, donc à pH=8,2.

### Question 14 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. La pénicilline agit comme un "leurre" : elle est intégrée à la paroi bactérienne, mais provoque alors une inhibition de la synthèse de cette dernière.
- B. La glutathion peroxydase est un tripeptide comportant une liaison isopeptidique.
- C. La maladie de Parkinson est associée à une augmentation anormale du taux de glutathion peroxydase.
- D. La TRH est une hormone hypothalamique possédant un acide glutamique cyclisé en Nterm.

- E. L'insuline possède 4 ponts disulfures, 2 intra-chaînes et deux inter-chaînes.

### Question 14 : AD

- A. **Vrai**: C'est un antibiotique  
B. **Faux**: Ceci est vrai pour le glutathion, la glutathion peroxydase est l'enzyme réalisant l'oxydation  
C. **Faux**: Elle est au contraire associée à une diminution de sa quantité, donc une diminution de l'effet antioxydant  
D. **Vrai**: C'est l'acide pyroglutamique, il augmente la stabilité du peptide  
E. **Faux**: Elle possède 3 ponts disulfures, 2 inter-chaînes et un seul intra-chaîne.

La structure et la maturation de l'insuline est très importante

### Question 15 :

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le glucagon, produit par les cellules  $\beta$  du pancréas, est une hormone hyperglycémiant.  
B. Le peptide signal des protéines permet la transmission des signaux dans les mécanismes de communication intra-cellulaire.  
C. L'analogue de B-raf permet de stimuler le système immunitaire et peut donc être utilisé dans le traitement des cancers.  
D. Un analogue peptidique agoniste possède la même action que le ligand de base sur le récepteur.  
E. La ghréline acylée agit à la fois sur le système nerveux en augmentant l'appétit, sur le complexe hypothalamo-hypophysaire en stimulant la synthèse d'hormone de croissance, et sur l'estomac en augmentant les sécrétions acides et la motricité gastro-duodénale.

### Question 15 : Réponses CDE

- A. **Faux**: C'est bien une hormone hyperglycémiant, mais il est produit par les cellules  $\alpha$  du pancréas  
B. **Faux**: Rien à voir! Il s'agit d'une partie présente à l'extrémité de nombreuses protéines, souvent clivée par une signal peptidase et qui permet l'adressage à un compartiment cellulaire lors de sa synthèse  
C. **Vrai**: C'est exactement ça. C'est un peptide immunothérapeutique  
D. **Vrai**: C'est la définition de l'agoniste  
E. **Vrai**: Tout est vrai!

### Question 16 :

- A. La consommation d'aspartame ne peut être que bénéfique, il permet de limiter la consommation de sucres.  
B. Le glucagon est codé par un seul gène, il est issu du clivage du pré-pro-glucagon en 4 peptides.

- C. La ghréline active dans la sécrétion de GH est non acylée, l'acylation inhibe l'action de l'enzyme dans cette voie.
- D. La somatostatine permet l'augmentation de la tension artérielle.
- E. La pénicilline est un tripeptide antibiotique.

**Question 16 : B**

- A. **FAUX:** Son métabolisme libère du méthanol toxique pour le fœtus + Phe toxique pour les personnes atteintes de phénylcétonurie
- B. **VRAI**
- C. **FAUX:** C'est l'inverse, l'acylation permet son activation dans cette voie.
- D. **FAUX:** C'est le rôle de l'angiotensine II. La somatostatine inhibe le relargage de GH et de TSH.
- E. **FAUX:** Il s'agit d'un dipeptide, Formylglycyl + D-Pénicillamine.

**Énoncé commun aux questions 17 et 18 :**

On s'intéresse à la chaîne B d'une hormone imaginaire, la pacessine, très proche de l'insuline, que l'on a isolée et qui possède la séquence suivante d'acides aminés :

**F-V-N-Q-H-L-C-G-S-R-L-V-E-A-L-Y-L-V-C-G-E-R-P-F-F-Y-T-P-A-T**

On rappelle les valeurs de pK des 20 acides aminés courants:

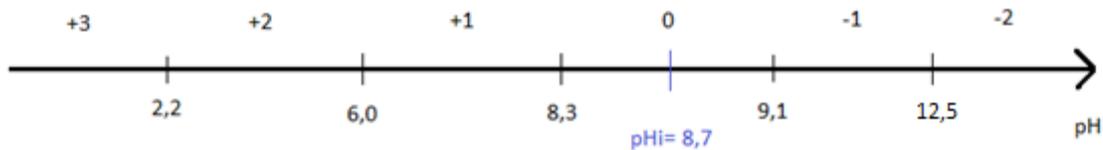
Acide Aminé	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ile	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,2	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

**Question 17 :**

On cherche à étudier ce peptide. Pour cela, on réalise des coupures à l'aide d'enzymes, on fait agir la trypsine et la chymotrypsine dans des conditions normales.

- A. On obtient 8 fragments.





On peut ainsi répondre à toutes les questions :)

On cherche à étudier ce peptide. Pour cela, on réalise des coupures à l'aide d'enzymes, on fait agir la thrombine et la chymotrypsine dans des conditions normales.

- A. **FAUX:**
- B. **FAUX:** Le diabète de type 1 survient généralement chez des personnes jeunes, sans relation avec la surcharge pondérale. Il est souvent due à une destruction du pancréas (cellules bêtas) dans le cadre de maladies auto-immunes, qui n'est plus capable de synthétiser correctement l'insuline, la glycémie n'est alors plus contrôlée. On parle de diabète insulino-dépendant (on doit faire des injections régulières d'insuline pour réguler la glycémie). Le diabète de type 2 est, quant à lui, largement associé à une surcharge pondérale, et souvent associé à une résistance à l'insuline, la régulation de la glycémie s'effectue alors de façon anormale.
- C. **FAUX:** Faux et archi-faux: l'insuline provient d'un gène unique, qui synthétise une préproinsuline qui va donner l'insuline grâce aux actions respectives de la signal peptidase, de la PC1 et de la CPE. On obtient deux chaînes car on a clivage d'un peptide C situé au milieu de la chaîne initiale de la proinsuline.
- D. **VRAI:** C'est exactement le mécanisme mis en jeu. :)
- E. **VRAI:** La phénylalanine absorbe à 257nm, la tyrosine à 275nm.

### Question 18 : (2 points)

On s'intéresse au peptide le plus long obtenu après digestion.

- A. Le peptide aura une charge globale de +1 à pH=4.
- B. Le peptide aura une charge globale nulle à pH= 8,7.
- C. L'acide aminé en C-term est très important pour la régulation de l'expression des gènes.
- D. Ce peptide peut être sulfaté.
- E. Ce peptide peut s'accrocher sur une colonne échangeuse de cations à pH=6,5.

### Question 18 : BCE

On s'intéresse au peptide le plus long obtenu après digestion.

- A. **FAUX:** Il aura une charge +2, voir correction détaillée
- B. **VRAI:** Voir correction détaillée, cela correspond à son pHi
- C. **VRAI:** C'est l'arginine, qui peut être méthylée dans les histones. Cette méthylation participe à la régulation de la condensation de la chromatine et donc de l'expression des gènes. La méthylation est généralement associée à une répression de l'expression. (mais pas toujours!)
- D. **FAUX:** La sulfatation peut se faire uniquement sur des tyrosines, or il n'y en a pas dans le peptide.

- E. **VRAI:** En effet, le peptide aura une charge globale positive (de +1) il pourra donc s'accrocher sur la colonne. Il sera alors élué à partir de pH=8,4 et totalement élué à pH= 8,7.

### Question 19 :

Concernant les acides aminés et les peptides, on peut dire que :

- A. Un excès de sulfatation de la tyrosine est associé à la formation de métastases dans le carcinome du nasopharynx.
- B. L'alanine peut être synthétisée à partir de la glycine.
- C. Le glucagonome est un cancer des cellules alpha du pancréas et est généralement associé à une hypersécrétion de glucagon.
- D. Au cours du vieillissement de l'individu, on observe une accumulation de sélénocystéine dans les cellules à l'origine d'une perturbation des mécanismes d'oxydo-réduction.
- E. La TRH est un tripeptide possédant une liaison isopeptidique.

### Question 19 :

- A. **VRAI:** Il facilite le phénomène d'agrégation observé dans les processus métastatiques
- B. **VRAI**
- C. **VRAI:** On observe par ailleurs un érythème nécrolytique migrateur dans ce cancer.
- D. **FAUX:** A l'inverse, on observe une diminution de la quantité de sélénocystéine, et une insuffisance des systèmes antioxydants de la cellule (glutathion peroxydase, thioredoxine réductase)
- E. **FAUX:** Ceci est vrai pour le glutathion, mais pas pour la TRH, de séquence: acide pyroglutamique-histidine-prolinamide

### Enoncé commun aux questions 20 et 21

On s'intéresse à l'hormone de croissance (GH) (légèrement modifiée pour les besoins de l'exercice) dont la séquence en acides aminés est donnée ci -dessous:

10	20	30	40	50
MAAGSRTSLL	LAFGLLCLSW	LQEGSAFPTI	PLSRLFDNAM	LRARRLYQLA
60	70	80	90	100
YDTYQEFEEA	YILKEQKYSF	LQNPQTSLCF	SESIPTPSNR	VKTQOKSNLE
110	120	130	140	150
LLRISLLLIQ	SWLEPVQLLR	SVFANSLVYG	ASDSNVYRHL	KDLEEGIQTL
160	170	180	190	200
MWRLEDGSPR	TGQIFNQSYS	KFDTMSHND	ALLKNYGLLE	CDRKPMCKVE
210				
TFLRIVQCRS	VEGSCGF			

On réalise d'abord une coupure de la protéine complète au bromure de cyanogène (BrCN), puis on s'intéresse au fragment obtenu commençant à l'acide aminé 176.

### Question 20 :

Concernant la protéine et le fragment obtenu (qui est un peptide) :

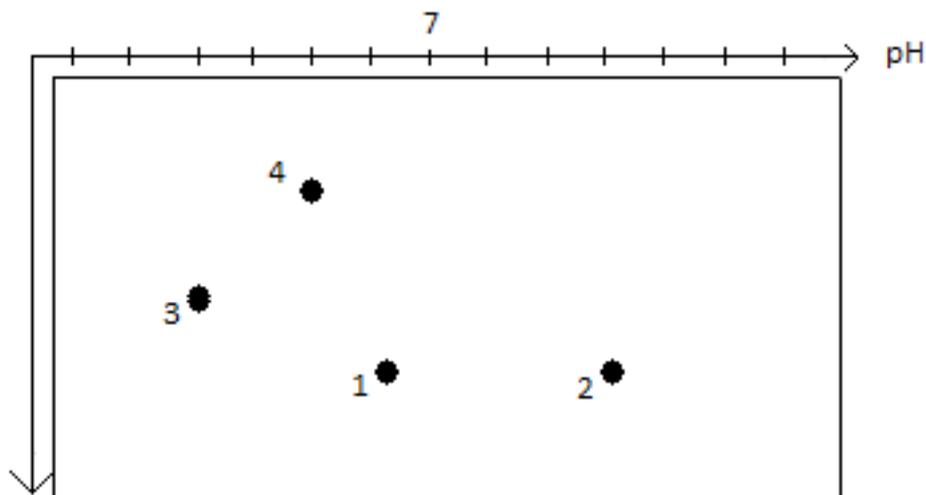
- A. L'acide aminé C-ter de la protéine peut être hydroxylé dans le collagène.
- B. Le peptide obtenu peut former un pont disulfure intra-chaîne.
- C. Le fragment précédent le peptide d'intérêt (commençant à l'acide aminé 176) peut être digéré par l'hydroxylamine.
- D. Le peptide obtenu est plutôt hydrophile.
- E. Le peptide d'intérêt peut être dosé par spectrométrie à 275nm.

### Question 20 :

- A. **FAUX:** Il s'agit d'une phénylalanine qui ne peut pas être hydroxylée. L'hydroxylation dans le collagène se réalise sur les lysines/prolines
- B. **FAUX:** Il faut deux cystéines pour faire un pont disulfure, or il n'y en a qu'une seule dans le peptide obtenu.
- C. **FAUX:** L'hydroxylamine coupe entre N et G, or on ne trouve pas ce motif dans le fragment.
- D. **VRAI:** On remarque une abondance d'acides aminés hydrophiles (S,K,R,H,D....)
- E. **VRAI:** C'est la tyrosine qui absorbe à cette longueur d'onde. Le peptide d'intérêt possède une tyrosine, il absorbe donc à 275nm et peut être dosé à cette longueur d'onde

### Question 21 : (3 points)

Pour étudier le peptide d'intérêt obtenu précédemment (on rappelle qu'il s'agit du peptide commençant à l'acide aminé 176), on le fait digérer par le NTCB et la trypsine. On obtient alors plusieurs fragments que l'on sépare par électrophorèse bidimensionnelle. Pour cet exercice, les différences de poids moléculaires entre les acides aminés ne sont pas prises en compte. On obtient alors le résultat suivant :



On rappelle les valeurs des pKa et pKaR des acides aminés courants :

Acide Aminé	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	

Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ile	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,2	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

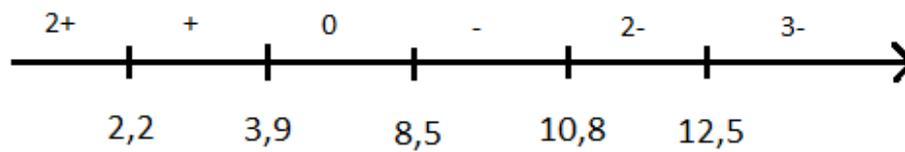
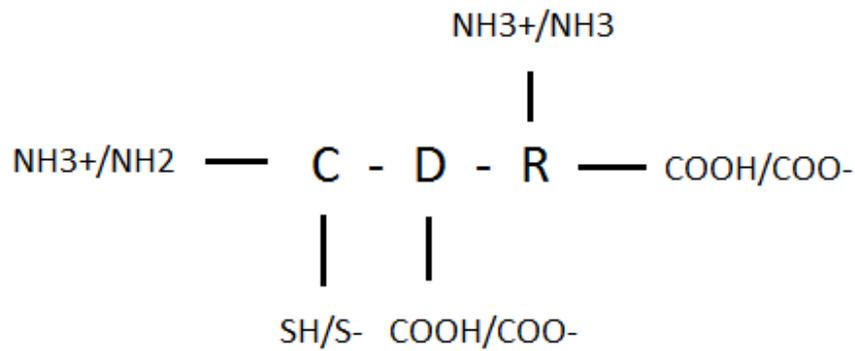
- Le fragment n°3 possède 6 acides aminés.
- Le fragment n°2 possède une arginine.
- Dans une électrophorèse bidimensionnelle, on sépare en fonction de la taille par SDS-PAGE puis en fonction du pHi par isoélectrofocalisation.
- Le fragment n°3 possède en C-ter un acide aminé pouvant être carboxylé pour donner du GABA.
- Si on sépare les fragments obtenus par chromatographie échangeuse d'anions, le fragment n°4 sera élué à partir de pH=5.

### Question 21 : (3 points)

Pour étudier le peptide d'intérêt obtenu précédemment (on rappelle qu'il s'agit du peptide commençant à l'acide aminé 176), on le fait digérer par le NTCB et la trypsine. On obtient alors plusieurs fragments que l'on sépare par électrophorèse bidimensionnelle. Pour cet exercice, les différences de poids moléculaire entre les acides aminés ne sont pas prises en compte. On obtient alors le résultat suivant:

- VRAI:** Il s'agit du fragment NYGLLE, il migre à une position intermédiaire en SDS PAGE
- FAUX:** Le fragment n°2 est KPM, qui ne contient pas d'arginine (voir correction détaillée pour plus d'explications)
- FAUX:** On réalise bien ces deux étapes, mais dans l'autre sens: on commence par l'isoélectrofocalisation puis on réalise la SDS PAGE (en effet si on réfléchit le SDS confère des charges négatives aux peptides, donc après cela on ne peut plus les séparer en fonction de leur charge puisqu'ils ont tous la même, on ne peut plus réaliser d'isoélectrofocalisation)
- FAUX:** Il s'agit d'un acide glutamique. L'acide glutamique est décarboxylé pour donner du GABA. Il est carboxylé dans les mécanismes de coagulation, il donne alors l'acide gammacarboxyglutamique.
- FAUX:** Dans une chromatographie échangeuse d'anions, on commence à pH très basique, lorsque les peptides sont chargés négativement. On diminue ensuite progressivement le pH par ajout d'acidité. Le peptide n°4 commence à être élué à partir de pH=6 (5,9 pour les





KPM possède un pI environ égal à 10  $((9,2+10,5)/2)$ . C'est donc le fragment n°2.  
 CDR possède quant à lui un pI environ égal à 6  $((3,9+8,5)/2)$ . C'est donc le fragment n°1.  
 Une fois que l'on a identifié les peptides,

### Question 22 :

Vous êtes à la recherche d'un peptide miracle reconnu pour faire majorer l'UE1. Suite à vos recherches en laboratoire vous réussissez à isoler un peptide, voici sa séquence :

N-Term – R P F T R C E W Y M A Y T R V H K D A D C – C-term

Vous faites digérer ce peptide in vitro à l'aide de la thrombine, de la chymotrypsine en condition non standard et du NTCB. Vous numérotez les différents fragments obtenus dans l'ordre croissant de gauche à droite.

Rappel des valeurs de pK des 20 acides aminés courants pouvant être utilisées pour les questions suivantes

	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ileu	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,1	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

Parmi ces propositions cochez celle(s) qui est/sont juste(s).

- A. Le peptide étudié est un oligopeptide.
- B. Sur une résine échangeuse d'anion le fragment 5 commence à être élué à un pH de 9,1, c'est à dire avant le fragment 9.
- C. Une hydrolyse acide du peptide aurait permis de libérer 20 acides aminés libres.
- D. Sur le fragment 8 on retrouve un acide aminé pouvant être directement O-glycosylé.
- E. Les différents outils biologiques utilisés ont permis de libérer 9 fragments.

### Question 22 : BC

Première chose à faire dans ce genre d'exercice : couper le peptide. Ici on utilisait de la **thrombine** in vitro, elle coupe donc après R même s'il y a une Proline derrière. On utilisait aussi de la **chymotrypsine en condition non standard**, qui coupe donc après W, Y, F, L, I, M. Enfin on utilisait du **NTCB** qui coupe avant C. Voici donc notre peptide digéré :

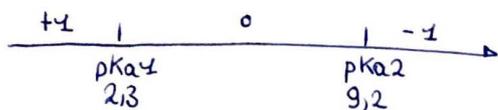
N-term – R P F / T R / C E W / Y / M / A Y / T R / V H K D A D / C – C-term  
 1 2 3 4 5 6 7 8 9

**Attention**, la thrombine ne coupe pas après le premier R car c'est une endopeptidase, elle n'est donc pas capable de couper les extrémités d'un peptide. On peut maintenant répondre au QCM.

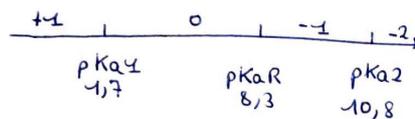
**A FAUX** On compte 21 acides aminés dans ce peptide. C'est donc un polypeptide.

**B VRAI** Pour répondre on doit faire la courbe de titration des 2 fragments :

fragment 5: H



fragment 9: C



Sur une résine échangeuse d'anions on utilise un gradient de pH décroissant. Il faut donc partir des valeurs de pH élevées et évoluer de façon décroissante, puis on regarde lequel des fragments devient neutre le plus vite. Le fragment devient neutre à 9,2 tandis que le fragment 9 devient neutre à 8,3. Donc le fragment 5 commencera à être élué en premier. Pour savoir la valeur exacte à laquelle il sera élué on fait  $pK - 0,1$  pour une résine échangeuse d'anions, donc pour le fragment 5 il commencera à être élué à 9,1 ( $= 9,2 - 0,1$ ). Le fragment 9 quant à lui commence à être élué à 8,2.

**C VRAI** Une hydrolyse acide permet de libérer tous les acides aminés du peptide mais détruit le W. Ici on avait 21 acides aminés dans notre peptide, dont 1 tryptophane, après une hydrolyse 20 acides aminés seraient donc libérés.

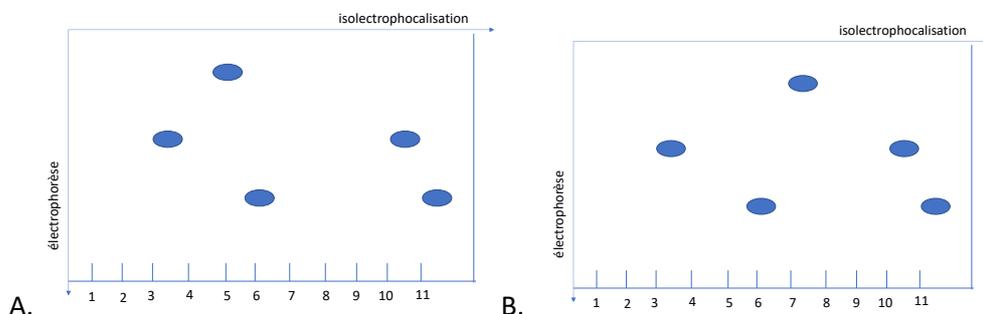
**D FAUX** Ici on parle de Lysine. La lysine ne peut pas être directement O-glycosylée. Elle doit d'abord être hydroxylée, c'est l'hydroxylysine qui sera O-glycosylée.

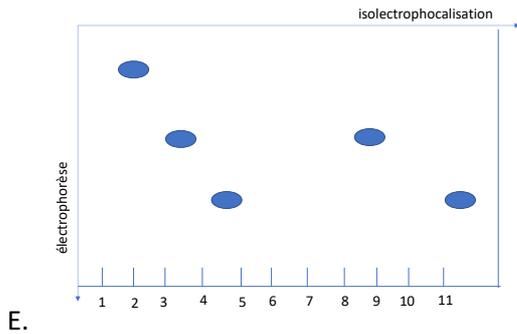
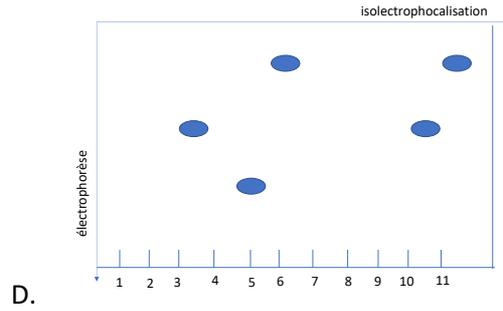
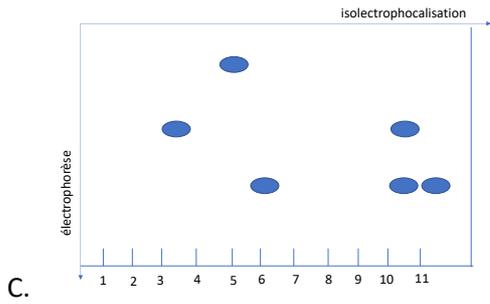
**E FAUX** On libère bien 9 fragments avec tous les outils utilisés mais ce ne sont pas que des outils biologiques. En effet le NTCB est un outil chimique.

### Question 23 :

Vous décidez d'analyser les différents peptides libérés dans la question précédente à l'aide d'une électrophorèse bidimensionnelle. Malheureusement vous mélangez vos résultats avec d'autres cartes peptidiques. Vous essayez alors de retrouver la carte correspondant à votre peptides parmi 5 cartes peptidiques différentes.

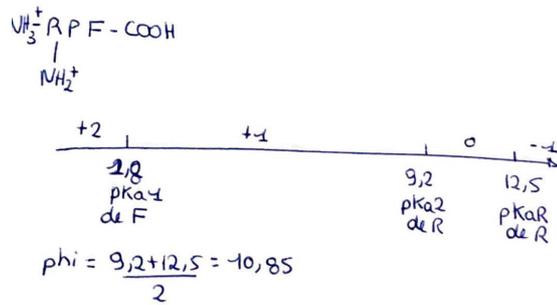
Parmi ces propositions cochez la carte peptidique correspondant à votre électrophorèse bidimensionnelle.



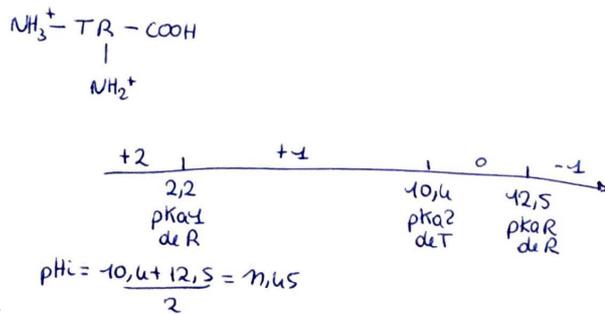


### Question 23 : A

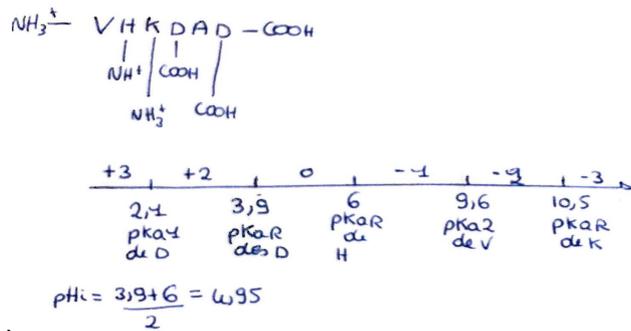
Pour résoudre ce problème il faut d'abord faire la courbe de titration de tous les peptides libérés pour trouver les pHi de chacun, cet exercice est long mais permet de vous entraîner au calcul de phi. Voici les courbes de titrations :



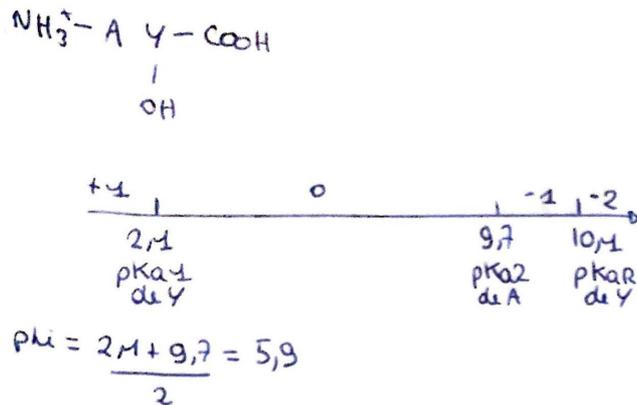
De RPF :



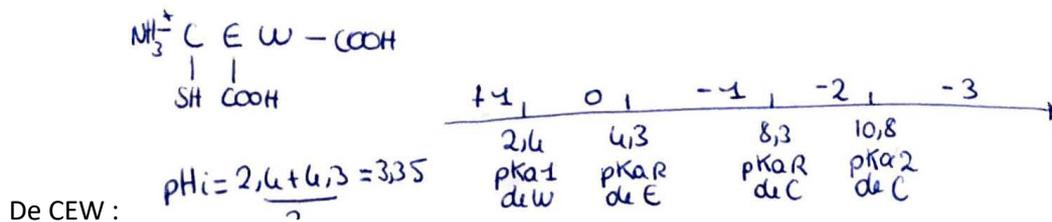
De TR :



De VHKAD :



De AY :

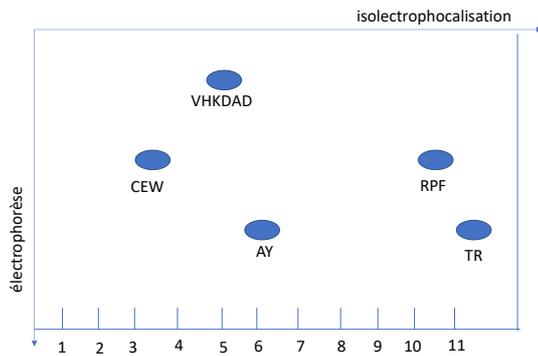


De CEW :

On libère 6 peptides après digestion, mais 2 peptides sont identiques (TR) donc leurs taches seront confondues sur la carte peptidique, on peut déjà éliminer la carte présentant 6 tâches. On place donc chaque fragment à son pHi, puis on regarde à quelle hauteur ils se trouvent.

**RAPPEL** : pour calculer le pHi on fait la moyenne des 2 valeurs de Pk entourant la zone neutre du peptide.

On sait que les peptides les plus lourds sont ceux qui migrent le moins, donc VHKDAD sera la tâche la plus haute, CEW et RPF sont deux tripeptides donc ils seront à la même hauteur et au milieu de la carte, TR et AY seront au plus bas de la carte car ce sont les plus légers donc ils migrent plus. La carte peptidique correcte était donc la A :



### Question 24 :

- A. L'alcool est un agoniste de la vasopressine, hormone anti-diurétique permettant la rétention d'eau.
- B. L'angiotensine 2 et la bradykinine sont 2 hormones ayant des fonctions antagonistes.
- C. La TRH inhibe au niveau de l'hypophyse antérieure les sécrétions de TSH et de prolactine.
- D. Le peptide C de l'insuline peut être utilisé pour doser l'insuline active.
- E. Les aminopeptidases sont des enzymes retrouvées plus majoritairement dans le pancréas, tandis que les carboxypeptidases sont plus majoritairement retrouvées dans l'intestin.

### Question 24 : **BD**

**A FAUX** L'alcool est un antagoniste de la vasopressine, le reste est juste.

**B VRAI** L'angiotensine 2 fera plutôt élever la pression artérielle tandis que la bradykinine de par son action vasodilatatrice la fera baisser.

**C FAUX** Elle active le relargage de TSH et de prolactine.

**D VRAI**

**E FAUX** C'est l'inverse les aminopeptidases sont retrouvées plus majoritairement dans l'intestin, et les carboxypeptidases dans le pancréas.

### Question 23 :

Vous ne vous lassez plus de couper des peptides, cette fois-ci vous décidez de couper le peptide suivant :

**W I T H Y N G L V N W F P R G N T S M M C Y K F I L E T K D R P N H Q A W E M A  
D E I T A L P F E**

Vous le faites digérer in vitro, par la chymotrypsine en condition standard présente en excès, par la thrombine et par l'hydroxylamine. Vous numérotez uniquement les peptides obtenus, du plus grand au plus petit, dans l'ordre croissant.

Rappel des valeurs de pK des 20 acides aminés courants pouvant être utilisées pour les questions suivantes

	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ileu	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,1	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

Cochez la/les réponse(s) juste(s).

- A. Un des acides aminés libres libérés peut-être N-glycosylé.
- B. Le peptide n°1 est présent à 100% sous forme zwitterionique à pH = 2,85.
- C. Les peptides n°6, 7 et 8 possèdent tous une charge globale de +2 à pH = 1.
- D. Sur la courbe de titration du peptide n°4 nous pouvons retrouver des points de demi-équivalences à pH = 6 et pH = 9,6.
- E. La réaction de Sanger sur le peptide n°5 aurait permis de libérer un acide aminé absorbant à 257nm.

**Question 23 : ABCD**

Tout d’abord il faut couper le peptide. La **chymotrypsine** en condition standard coupe après W, Y, et F SAUF s’il y a une proline derrière. On précise qu’elle est présente en excès donc elle coupera aux extrémités. La **thrombine** coupe après R. Enfin l’**hydroxylamine** coupe entre N et G.

**RAPPEL : Pour les endopeptidases, cette année, elles ne coupent jamais aux extrémités d’un peptide in vivo. Elles couperont si elles sont présentes en excès in vitro, si elles sont en condition limitante elles ne couperont pas.**

Voici donc notre peptide digéré :

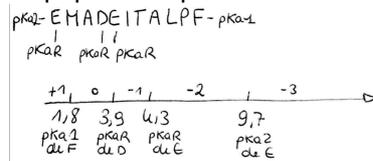
6                      5                      7                      2                      8                      3                      4                                      1

W / I T H Y / N / G L V N W / F P R / G N T S M M C Y / K F / I L E T K D R / P N H Q A W / E M A D E I T A  
L P F / E

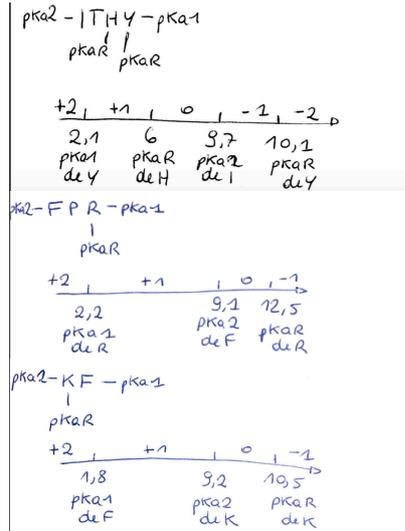
On numérote uniquement les peptides, donc on ne numérote pas les aa libres, et on numérote dans l’ordre croissant du peptide le plus long au peptide le plus petit. On peut désormais répondre aux questions.

**A VRAI** Il s'agit de l'asparagine.

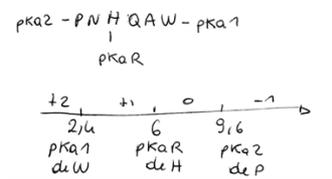
**B VRAI** Le point où le fragment est présent à 100% sous forme zwitterionique est le pHi. Or le pHi de ce peptide d'après la courbe de titration =  $(1,8 + 3,9) / 2 = 2,85$ .



**C VRAI** Il faut réaliser les courbes de titrations de chaque peptide pour répondre :



**D VRAI** Les points de demi-équivalences sont les points de pK. Donc toutes les graduations sur la courbe de titration sont des points de demi-équivalences.



**E FAUX** La réaction de Sanger sur « G L V N W » aurait libéré l'aa en N-term c'est à dire la glycine. Or elle n'absorbe pas dans l'UV.

**Question 24 :**

- A. Les cytokines sont des signaux de division cellulaire qui vont provoquer une cascade de signalisations passant par l'activation de la protéine B-raf.
- B. L'aspect quantitatif des cartes peptidiques peut permettre de suivre l'efficacité d'un traitement par exemple.
- C. L'action d'une signal peptidase sur la pro-insuline libèrera un peptide d'environ 20 acides aminés.
- D. L'aspartam est un tripeptide utilisé comme édulcorant avec un goût 180 fois plus sucré que le saccharose.
- E. Le γ- glutamyl-cystéinyl-glycine est un peptide qui possède le plus gros pouvoir antioxydant de la cellule.

**Question 24 : ABE**

A VRAI

B VRAI On peut vérifier si la protéine mutée est de moins en moins présente en comparant l'intensité des tâches avant et après traitement.

C FAUX La signal peptidase agit sur la pré-pro-insuline, et pas sur la pro-insuline.

D FAUX L'aspartam est un dipeptide.

E VRAI Il s'agit du glutathion.

### Question 25 :

Passionné par l'étude des peptides vous décidez d'analyser un peptide inconnu réputé pour donner de la force et de la motivation en période de révisions. Voici la séquence en acides aminés du peptide :

N-Term – F O R C E M E S K P R H O N N E U M L N U K N A C K I R D W A P R H M C E S C H A T  
N V K A C E S T L O N G I K N O W L M P K H V N N Q E S T Y A G A V I – C-Term

Vous faites digérer in vitro ce peptide par une exopeptidase retrouvée majoritairement dans l'intestin, par la trypsine et par le bromure de cyanogène. Vous numérotez les fragments libérés dans l'ordre croissant de gauche à droite.

Rappel des valeurs de pK des 20 acides aminés courants pouvant être utilisées pour les questions suivantes

	pKa1	pKa2	pKaR
Gly	2,3	9,6	
Ala	2,3	9,7	
Val	2,3	9,6	
Leu	2,4	9,6	
Ileu	2,4	9,7	
Pro	2	9,6	
Phe	1,8	9,1	
Trp	2,4	9,4	
Asn	2	8,8	
Gln	2,2	9,1	
Tyr	2,1	9,1	10,1
Ser	2,2	9,2	
Thr	2,6	10,4	
Cys	1,7	10,8	8,3
Met	2,3	9,2	
Lys	2,2	9,2	10,5
Arg	2,2	9,2	12,5
His	1,8	9,2	6,0
Asp	2,1	9,8	3,9
Glu	2,2	9,7	4,3

Cochez la/les réponse(s) juste(s).

- A. Il est très probable de retrouver des acides aminés de série D dans ce peptide.
- B. Une ubiquitine ligase pourrait créer une liaison isopeptidique entre le dernier acide aminé du fragment numéroté 4 et la glycine de l'ubiquitine.
- C. Les fragments numérotés 6, 14 et 15 sont chargés positivement à pH physiologique.
- D. Le fragment numéroté 11 possède 6 acides aminés à chaînes latérales ionisables.

- E. La fragment numéroté 3 est complètement élué en électrophorèse échangeuse de cations à pH = 3,3.

### Question 25 : A

Tout d'abord pour répondre il faut couper le peptide :

1 2 3 4 5 6 7 8 9  
N-Term - F / OR / CE M / ESKPR / HONNEUM / LNUK / NACK / IR / DWAPR / H  
M / CESCHATNVK / ACESTLONGIK / NOWL M / PK / HVNNQESTYAGAVI - C-Term  
10 11 12 13 14

L'exopeptidase retrouvée majoritairement dans l'intestin est une aminopeptidase. L'**aminopeptidase** coupe après l'aa en N-term. La **trypsine** coupe après R et K SAUF s'il y a une proline derrière. Le **bromure de cyanogène** coupe après M. Ensuite on numérote les fragments.

**ATTENTION** : En 2019 le professeur Moyret-Lalle a dit en séance de Q/R que les acides aminés libres n'étaient PAS considérés comme des fragments. Donc on ne les numérote pas.

Je suis désolée de l'incohérence des items suite à cette nouvelle information...

On peut maintenant répondre aux questions :

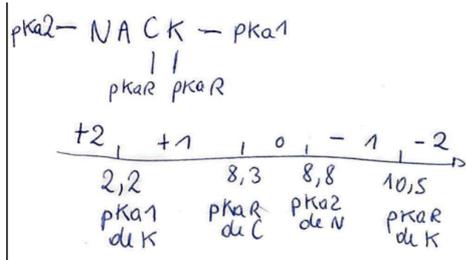
- A. Il est très probable de retrouver des acides aminés de série D dans ce peptide.
- B. Une ubiquitine ligase pourrait créer une liaison isopeptidique entre le dernier acide aminé du fragment numéroté 4 et la glycine de l'ubiquitine.
- C. Les fragments numérotés 6, 14 et 15 sont chargés positivement à pH physiologique.
- D. Le fragment numéroté 11 possède 6 acides aminés à chaînes latérales ionisables.
- E. La fragment numéroté 3 est complètement élué en électrophorèse échangeuse de cations à pH = 3,3.

**A VRAI** On retrouve dans ce peptide les acides aminés rares O et U. Il est dit dans le cours que U est un acide aminé retrouvé uniquement chez les bactéries, or on sait que les acides aminés de série D sont très majoritairement retrouvés chez les bactéries.

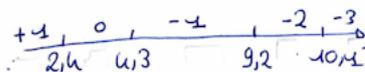
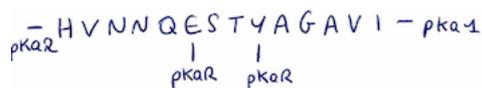
**B FAUX** Le dernier aa du fragment numéro 4 est une méthionine, or il est dit dans le cours que l'ubiquitine réalise une liaison isopeptidique entre sa glycine et la **lysine** d'un peptide.

**C FAUX** On peut directement cocher faux puisqu'il n'y a pas de fragment numéroté 15 avec cette numérotation (désolée). Cependant voici les courbes de titrations des fragments pour s'entraîner :

Fragment 6 :

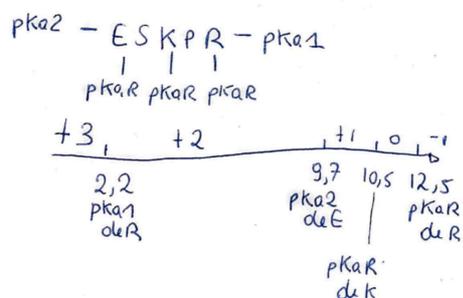


Fragment 14 :



**D FAUX** Le fragment 11 « A C E S T L O N G I K » possède 3 acides aminés possédants des chaînes latérales ionisables. On rappelle que les acides aminés à chaîne latérale ionisable sont : D E R C H K Y. Ici il y avait une cystéine, un acide glutamique et une lysine (C, E et K).

**E FAUX** Pour répondre il faut calculer le pHi, en effet lorsqu'on dit « est complètement élué » peu importe la résine la réponse sera au pHi. Alors que lorsqu'on dit « commence à être élué » c'est là qu'on utilise pKa +/- 0,1 (voir correction QCM 21 épreuve majeure 1 de 2019). Donc ici on cherche le pHi de « E S K P R ».



Le pHi =  $(10,5 + 12,5) / 2 = 11,5$ . L'item E est donc faux.

### Question 26 : ACE

- Concernant la liaison peptidique, la rotation des plans est possible autour du carbone  $\alpha$ . On appelle l'angle entre l'azote et le  $\text{C}\alpha$  «  $\phi$  » et l'angle entre le  $\text{C}\alpha$  et le C suivant «  $\psi$  ».
- Les PAM agissent par différents modes d'actions, parmi eux l'insertion dans la bicouche lipidique des membranes, par liaison à des facteurs viraux ou encore par modulation de la réponse inflammatoire primaire.
- Le profil d'absorption d'un peptide dans l'UV présentant un pic à 215nm et un pic à 257nm amène à penser qu'il y a la présence de phénylalanine dans ce peptide.
- En 2014 on comptait une centaine de biomédicaments en cours de développement.
- Le glutathion oxydé est essentiel dans l'élimination des ions peroxydes produit physiologiquement par les mitochondries lors du vieillissement.

## Question 26 : C

**A FAUX** Ce sont les même lettres grecques.

**B FAUX** Les PAM modulent la réponse inflammatoire **secondaire**.

**C VRAI** La liaison peptidique absorbe à 215nm, ce pic est donc révélateur des liaisons peptidiques retrouvées dans le peptide et le pic à 257nm, quant à lui, est révélateur de la présence de phénylalanine dans le peptide.

**D FAUX** En 2014 on comptait 826 biomédicaments en cours de développement, ce qui est bien plus qu'une centaine.

**E FAUX**