

Devoir Techniques Etudes des biomolécules (S6)

Avril 2022 (2H)

**Exercice 1 (2pts/0.5pt par affirmation) :**

Répondre par vrai ou faux aux affirmations suivantes. Si l'affirmation est fausse, corriger :

- La réduction des liaisons S-S entre a.a. Val peut se faire par le DTT et le SDS : (faux /Cys-Cys).
- L'addition des DNAses lors de l'extraction des protéines inhibe les protéases : faux /réduire la viscosité due à l'ADN.
- Les détergents non ioniques comme le TRITON et CHAPS détruisent la barrière lipidique lors de la lyse cellulaire : vrai.
- L'action de l'éthanol et du sulfate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) a le même effet sur la précipitation des protéines : vrai.

**Exercice 2 (7pts):**

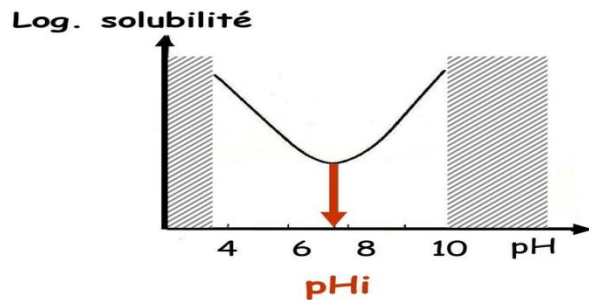
a) (3 pts/0.5 pt par équipement) Dans 1 seule ligne au max/ par équipement, donner l'utilisation des équipements de laboratoire suivants :

- |                |                           |
|----------------|---------------------------|
| • Rotor        | * Vortex                  |
| • Enregistreur | * Détecteur               |
| • Mixeur       | * Collecteur de fractions |

(2pts) Donner **la courbe** montrant l'influence d'une gamme de pH (2-12) sur la solubilité d'une protéine.

Solubilité

\* **Influence du pH** : solubilité **minimale** au point isoélectrique (en dehors des pH extrêmes).



L'absence de charge électrique supprime les forces de répulsions inter-moléculaires  
=> formation d'agrégats insolubles.

- b) (2pts) Dans un texte clair (5 lignes max) décrire pourquoi et comment on fait une dialyse des protéines.

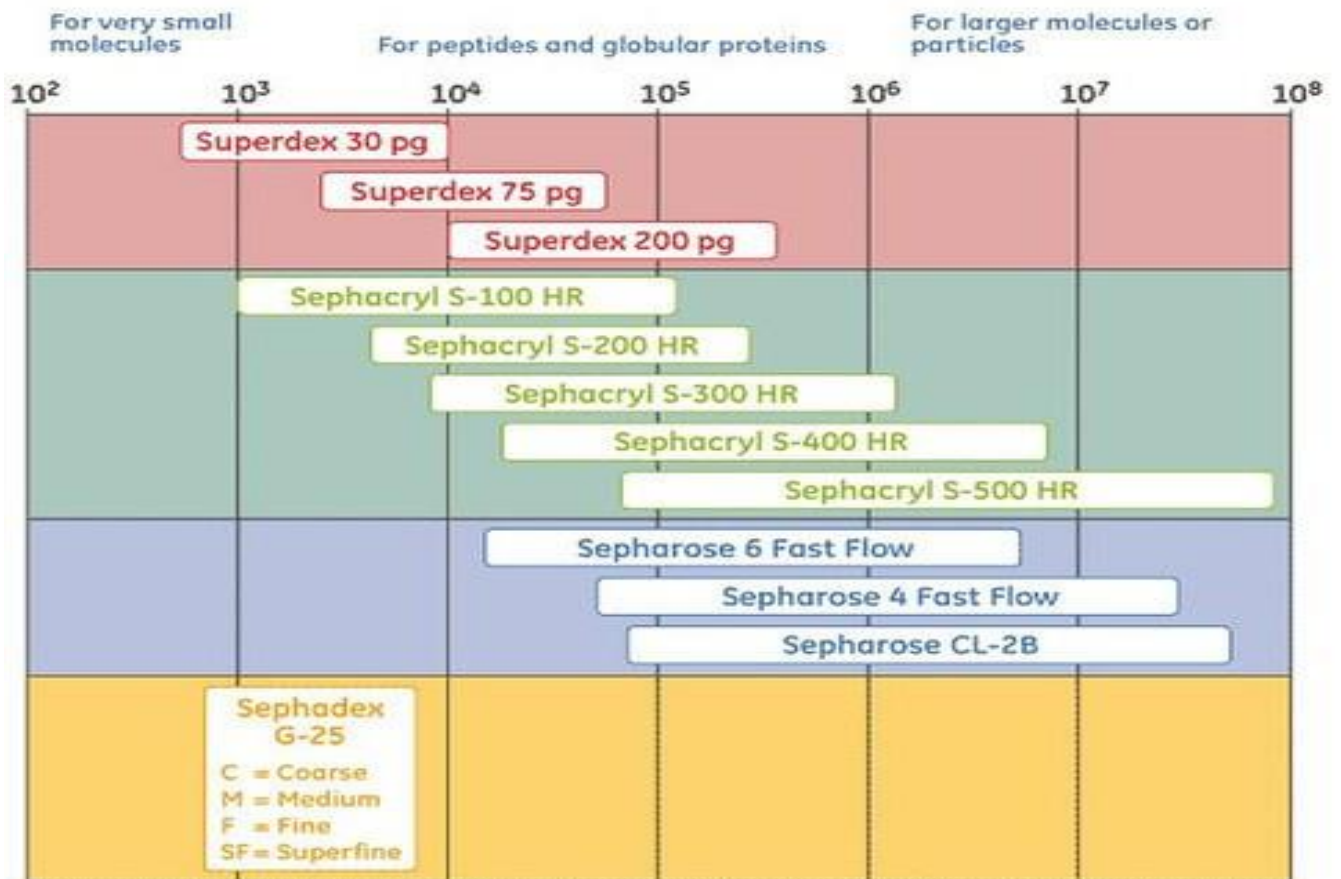
**Exercice 2 (11 pts):**

- a) Le tableau suivant résume les données pour faire une séparation d'un mélange protéique (P1-P5) dissous dans 4.5 ml :

Protéines du mélange	P1	P2	P3	P4	P5
pHi	pHi=4.5	pHi=7.4	pHi=8.1	pHi=8.7	pHi=3.9
PM	<b>composition en acides aminés : 25V, 12A, 18C, 14K, 19 I</b>	$PM_{(P2)} = 12.5 \cdot 10^4$	$PM_{(P3)} < PM_{(P1)}$	$PM_{(P3)} = 10^6$	$PM_{(P5)} = 26 \cdot 10^3$
Concentration ou quantité dans le mélange	<b>0.125%</b> <b>1.25 mg/ml</b>	20 nM $20 \times 10^{-9} \times 12.5 \cdot 10^4 = 0.0025$ <b>mg/ml</b>	<b>0.1 mg/ml</b>	$35 \cdot 10^4$ pmoles $(35 \cdot 10^4 \cdot 10^{-12} \times 10^6 \text{ moles} \times 10^3 \text{ mg/mole}) \cdot 4.5 \text{ ml} = 350 \text{ mg}/4.5 \text{ ml}$ <b>77.7 mg/l</b>	75 mg $75 \text{ mg}/4.5 \text{ ml} = 16.6$ <b>mg/ml</b>

**PM moyen d'1 a.a. : 100**

- Dire quelles protéines sortiront dans le volume  $V_0$  (mort) d'une colonne contenant les gels suivants : G1 (Superdex-30) (1pt) et G2 (Sephacryl S-200) (1pt).  
**G1 (Superdex-30) : P4, P 2, P5. G2 (Sephacryl S-200) (1pt) :P4.**
- Proposez un gel dans lequel le mélange (P1-P5) sera élué entre  $V_0$  et  $V_t$  (volume total) **Tout gel depuis Sephacryl-300 HR jusqu'à Sephacos CL 2B** (1pt) et précisez l'ordre (1pt) ordre de sortie  **$P4 > P2 > P5 > P1 > P3$**  et l'amplitude (3pts) du pic de sortie de chacune des protéines du mélange. **L amplitude de chaque pic dépendra de la concentration (à calculer du tableau précédent) donc on aura  $C4 > C5 > C1 > C3 > C2$**
- Donnez le nom de la chromatographie utilisée pour ce type de séparation et sur quelle caractéristique des protéines elle est basée (1pt). **Chromatographie d'exclusion ou tamisage basée sur le PM.**



b) on veut réaliser une chromatographie utilisant la résine chargée ci-dessous.

Donner le nom précis de cette chromatographie (1pt). **Chromatographie échangeuse d'anions** Quel gradient de pH sera utilisé **gradient de pH décroissant** et quel sera l'ordre d'éluion des protéines du mélange dans ce gradient (2pt). **p4>p3>p2>p1>p5** (celle de plus faible pH i sortira la dernière)

