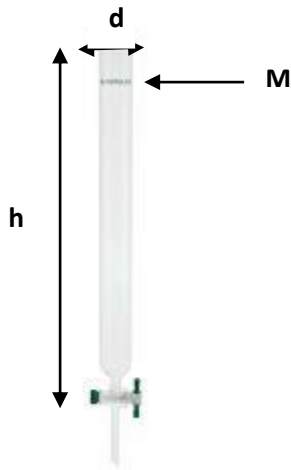


Examen de techniques d'étude des biomolécules
S6 Mai 2019 (2H)

Exercice 1 (9 pts) :

On place un gel Sephacryl S100 (10^3 - $1.2 \cdot 10^5$ kDa) dans une colonne de chromatographie d'exclusion de dimension (hauteur=0.8 m, diamètre =15 mm). Le volume du gel prend les $\frac{3}{4}$ de la colonne.



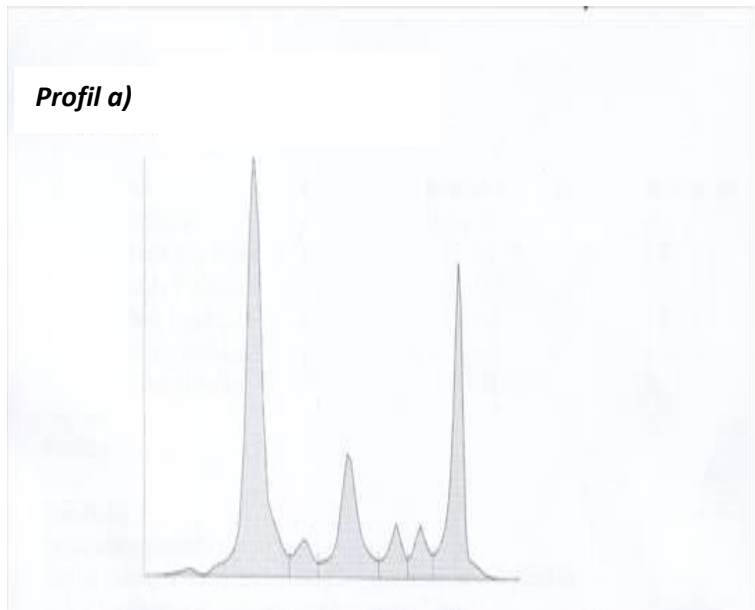
Dans un schéma simple et propre, montrer comment vous pouvez relier les appareils (bouteille de tampon de lavage, enregistreur, pompe, detector, collecteur de fractions) à la colonne ci-dessous pour établir un système chromatographique fonctionnel (2pts).

Le dépôt sur cette colonne d'un mélange M contenant les protéines (PM croissant) P1, P2, P3, P4, P5 P6 et P7 (232 000 kDa) donne le profil a).

Définir et calculer le volume total de la colonne (2pts). Placer les protéines de P1-P7 sur les pics du profil ((1pt).

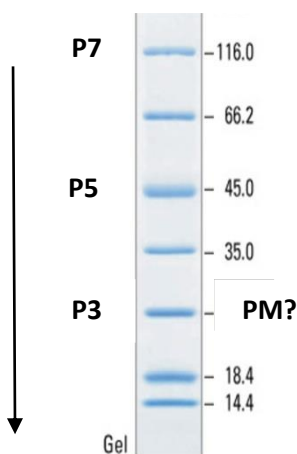
Définir et estimer (en ml) le volume à partir du quel sortira la protéine P7 (2pts).

Préciser, en justifiant votre réponse, la protéine la plus concentrée (1pt) et la protéine la moins concentrée (1pt) sachant que la détection par spectrophotomètre se fait dans les mêmes conditions et que la différence de E_{0} entre les différentes protéines P1 à P7 est négligeable.



Exercice 1 (7 pts) :

Profil b)



L'électrophorèse en milieu (SDS + DTT) du même mélange M a donné le profil suivant.

Comment a-t-on pu visualiser les bandes de ce gel (1pt).

Expliquer la différence de PM obtenu entre les profils a) et b) pour P7 (2pts).

Dans un texte bref (2 lignes max) dire comment on peut déterminer le PM de P3 (2pt).

A partir de ce gel, la protéine P5 a été identifiée comme étant l'actine. Dans un texte clair (5 lignes max), expliquer comment cette identification est possible (2 pts).

Exercice 3 (4 pts) :

On veut effectuer l'hémolyse d'un prélèvement sanguin. Dire lesquelles des concentrations de NaCl (PM 58.4) suivantes permettront cette hémolyse. Dans chaque vous justifierez votre réponse par un calcul clair et propre (0.5 pt/solution).

	C1 : 18 ug/ul,	C2 : 190 nmoles/ul	C3 125 uM	C4 0.9 %	C5 8 mg dans 2.5 ml	C6 25 pmoles dans 7 nl
Hémolyse Oui /non						

Dans le cas de la/(les) solution(s) qui permet l'hémolyse définir et décrire brièvement le mécanisme de cette lyse (2 lignes max) (1pt).