

TD 3 TAB- L3 Biochimie et pharmacotoxicologie 2023-2024

Exercice 1 : On détermine les temps de rétention (t_r) au cours d'une chromatographie sur Sephadex, des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) (Le débit de la colonne est de 5 ml / min) :

	MM	t_r (min)
Aldolase	145000	10,4
Lactate déshydrogénase	135000	11,4
Phosphatase alcaline	80000	18,4
Ovalbumine	45000	26,2
Lactoglobuline	37100	28,6

1 - Calculer les volumes d'éluion (V_e) correspondants. Porter le log de MM en fonction de V_e - Que remarquez-vous ?

2 - Pour la glucokinase, $t_r = 21$ min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent. Existe t'il une autre méthode pour déterminer la MM ?

Exercice 2 : On veut déterminer la masse moléculaire (MM) d'une protéine p par chromatographie d'exclusion. La limite d'exclusion du gel se situe entre 40000 et 400000 de MM.

L'étalonnage du gel se fait par diverses substances, dont les MM (exprimées en Daltons) et les volumes d'éluion (V_e , exprimé en ml) sont indiqués dans le tableau suivant :

	MM (Da)	V_e (ml)
Dextran	2000000	45
Fibrinogène	340000	60
Catalase	230000	75
Lactoglobuline	19000	132

1- Rappeler à quoi correspond le Dalton.

2 - La protéine p montre, quant à elle, un volume d'éluion $V_e = 113$ ml. Déterminer sa MM.

Exercice 3 : On veut séparer 3 acides-aminés : l'acide L-glutamique, la L-leucine et la L-lysine par chromatographie sur une résine polystyrénique substituée par des groupements sulfonate ($-\text{SO}_3^-$). Les pH isoélectriques de l'acide L-glutamique, de la L-leucine et de la L-lysine sont respectivement : 3,22 ; 5,98 ; 9,74, à 25 °C.

On dépose ces 3 acides aminés sur la colonne, à pH 2, puis on élue en amenant progressivement le pH à 7.

1 - Quels acides aminés sont élués et dans quel ordre ? (On considérera que les interactions acide aminé-résine sont uniquement d'ordre électrostatiques).