



corrigé type.

Interrogation 2 de Techniques d'analyses Biologiques

Nom :

Prénom :

Groupe : 2

Une colonne d'exclusion moléculaire avec résine polystyrène a une longueur de 30 cm est utilisée pour séparer les constituants d'un extrait protéique. La chromatographie est effectuée à un débit de 5mL/min. L'étalonnage de la colonne est réalisé avec les protéines suivantes.

Molécule	$V_e$ (mL)	Poids moléculaire (Da)	$\log_{10} M_M$
Bleu de Dextran 2000	17,7	$2 \cdot 10^6$	6,301
Aldolase	35,6	158000	5,198
Catalase	32,3	210000	5,322
Ferritine	28,6	440000	5,643
Thyroglobuline	25,1	669000	5,825
Inconnue	30,3	?	

1. A quel volume les molécules totalement exclues du gel sortiront de la colonne ?
2. Calculer le facteur de rétention de la molécule inconnue ?
3. Estimer la masse moléculaire de la molécule inconnue ?

1. Afin de déterminer le volume des molécules totalement exclues du gel, il faut se fier aux molécules avec des poids moléculaires supérieurs aux diamètres des pores du gel d'exclusion. dans cette manipulation, c'est le Bleu de Dextran 2000, car on sait que cette molécule possède un PM important =  $2 \cdot 10^6$  Da elle est par conséquent exclue du gel. (souvent employée en chromatographie d'exclusion, elle eluera dans le volume mort  $V_H$ )  
 donc le  $V_H = 17,7$  ml (1)

2. Calcul du facteur de rétention de la molécule inconnue.

$$k' = \frac{t_R - t_H}{t_H} \quad \text{ou bien} \quad k' = \frac{V_e - V_H}{V_H}$$

Où sait que:  $D = \frac{\text{Volume}}{\text{Temps}} \Rightarrow \text{temps} = \frac{\text{Volume}}{\text{Débit}}$

donc:

$$t_R = \frac{30,3}{5} = 6,06 \text{ min}$$

$$t_H = \frac{17,7}{5} = 3,54 \text{ min}$$

ou

$$k' = \frac{30,3 - 17,7}{17,7} =$$

$$k' = 0,71$$

$$\text{Donc } k' = \frac{6,06 - 3,54}{3,54} = 0,71$$

$$k' = 0,71 \quad \text{①}$$

3. Afin d'estimer le MM de la molécule inconnue, il faut tracer une courbe d'étalonnage  $\log \text{MM} = f(V_e)$ .

Calcul de  $\log \text{MM}$ :

$$\text{Tracé de } \log \text{MM} = f(V_e) \quad \text{②}$$

Détermination de la MM de la molécule inconnue ①

$$y = -0,0627x + 7,04042$$

lorsque  $x = 30,3 \text{ ml}$

$$\log \text{MM} = 5,59$$
$$\text{donc } \text{MM} = 310440,51 \text{ Da}$$