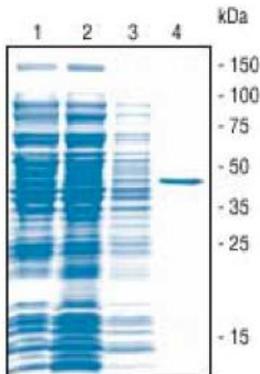


Exercice 1 (6 points) : Il est possible de doser simultanément par spectroscopie UV-Visible le cobalt et le nickel dans une solution aqueuse en se basant sur l'absorption des complexes de ces métaux avec le quinolinol-8. Les coefficients d'absorption molaire (en $L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$) sont $\epsilon_{Co} = 3529$ et $\epsilon_{Ni} = 3228$ à 365 nm, et $\epsilon_{Co} = 428,9$ et $\epsilon_{Ni} = 0$.

Questions : Calculer la concentration en nickel et en cobalt dans une solution indiquant une absorbance de 0,814 à 365 nm et 0,056 à 700 nm (cellules de 1 cm).

Exercice 2 (7 points) : L'expression d'une protéine dans une bactérie (*Escherichia coli* le plus souvent) permet l'obtention d'un taux élevé de protéines pures. Le plasmide pET-15 de la société Novagen permet l'expression inductible de protéines recombinantes porteuses d'une extension N-terminale de 6 résidus histidine (His). Cette séquence poly-His est capable de se lier à des ions nickel divalents (Ni^{2+}) immobilisés sur un gel de cellulose ou d'agarose. Un extrait bactérien brut, après induction de l'expression de la protéine recombinante, peut être chargé directement sur une colonne contenant ce type de résine, et après une étape de lavage, la protéine retenue peut être éluée par de l'imidazole. Cette résine peut être régénérée et réutilisée.



La figure représente un gel SDS-PAGE coloré par le bleu de Coomassie, où l'on a séparé les échantillons suivants :

- 1 - Lysat brut de bactéries transfectées par le plasmide pET-15 contenant un insert d'ADNc
- 2 - Protéines non retenues sur la colonne
- 3 - Lavage
- 4 - Protéine éluée

Questions : 1 - Quel est le type de chromatographie utilisé ? Expliquer le principe.
 2 - Commenter le gel SDS-PAGE. Déterminer la masse moléculaire de la protéine éluée.

Exercice 3 (7 points) : A l'aide d'un spectrophotomètre, on réalise une série de mesures d'absorbance A d'une solution X , à la longueur d'onde $\lambda = 580$ nm la cuve a une épaisseur de 1,00 cm. On obtient les résultats suivants en fonction de la concentration massique ρ des solutions.

ρ ($g \cdot l^{-1}$)	$0,60 \cdot 10^{-3}$	$1,50 \cdot 10^{-3}$	$2,40 \cdot 10^{-3}$	$3,00 \cdot 10^{-3}$	$4,50 \cdot 10^{-3}$	$6,00 \cdot 10^{-3}$
A	0,075	0,250	0,420	0,515	0,775	1,040

Données : X : $C_{25}H_{30}ClN_3$ $M = 408,19 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

- 1) Quel est le critère de choix de la longueur d'onde à laquelle s'effectuent les mesures ?
Pourquoi ?
- 2) Montrer que la loi de Beer-Lambert est vérifiée pour cette série de solutions.
- 3) Déterminer la valeur du coefficient d'absorption molaire de X obtenue à partir de cette série de mesures.
- 4) La mesure de l'absorbance d'une solution de X de concentration inconnue, réalisée dans les mêmes conditions donne $A = 0,531$. Déterminer la concentration molaire C de cette solution.
En déduire sa concentration massique.