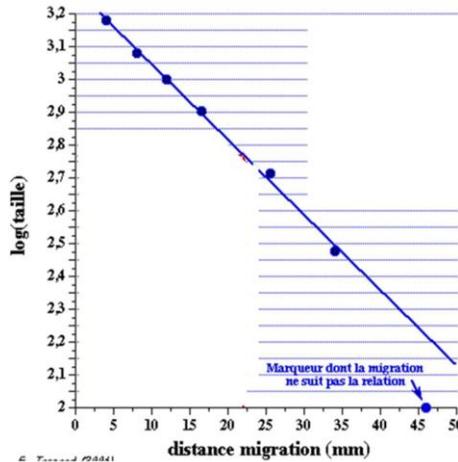
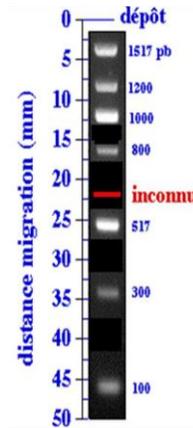


**Exercice 1 (4 points) :** Analyser et interpréter des résultats (mettre en relation des informations)



document 1



document 2

- 1- De quel type d'électrophorèse le document 2 est-il le résultat ?
- 2- Comment obtient-on le résultat proposé par le document 1 ?
- 3- Quelle information apporte la mise en relation des deux documents ?

**Exercice 2 (4 points) :**

On dispose d'un mélange de 3 protéines A, B, C. La protéine A a une masse molaire de 100 000, est composée de 4 sous-unités identiques et possède un pHi de 7,0. La protéine B a une masse molaire de 50 000, comprend qu'une seule sous-unité et possède un pHi de 3,0. La protéine C a une masse molaire de 50 000, ne comprend qu'une seule sous-unité et possède un pHi de 10,0. Les trois protéines sont sphériques. On considère que les techniques sont réalisées à pH = 7.

- 1- Justifier l'ordre d'éluion de ces trois protéines lors d'une chromatographie d'exclusion sur gel de Sephadex.
- 2- Ces trois protéines sont soumises à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS). Justifier le nombre de bandes attendues pour chacune des 3 protéines.
- 3- Déterminer les masses molaires correspondant à ces bandes si on les compare à une courbe d'étalonnage obtenue avec des protéines de masses molaires connues.

**Exercice 3 (7 points) :**

A l'aide d'un Spectrophotomètre, on réalise une série de mesures de A de solutions de Violet cristallisé, à la longueur d'onde  $\lambda = 580 \text{ nm}$ .  $l = 1 \text{ cm}$ . On obtient les résultats suivants : Violet cristallisé  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3$  :  $M = 408,19 \text{ g/mol}$

$C_m$ en g/l	$0,6 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-3}$
A en uA	0,075	0,25	0,42	0,515	0,775	1,04

- 1- Définir la Transmittance ( T ) et l'absorbance ( A ) d'une solution.
- 2- Enoncer la loi de Beer – Lambert ; expliciter tous ces termes et donner leurs unités.

- 3- Quel est le critère de choix de la longueur d'onde à laquelle s'effectue les mesures ? Pourquoi ?
- 4- Montrer que la loi de Beer est vérifiée pour cette série de solutions.
- 5- Déterminer la valeur du Coefficient d'absorption molaire ( $\epsilon$ ) du violet cristallisé.
- 6- La mesure de l'absorbance d'une solution de violet cristallisé de concentration inconnue, réalisée dans ces conditions, donne  $A = 0,531$ . Déterminer la concentration molaire  $C$  et la concentration massique  $C_m$  de cette solution.

**Exercice 4 (5 points) :**

<b>Etape de purification</b>	<b>Protéines (mg)</b>	<b>Activité enzymatique (U)</b>
Lysat <i>E. coli</i>	11250	175
Eluat colonne DEAE-Sephacel	350	75
Eluat chromat affinité HAP	210	70
Précipitation $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	89	49
Eluat colonne Q-Sepharose	47	35
Eluat colonne 5'-AMP-Sepharose	20	???

- 1- Calculez le rendement et le taux de purification de chacune des étapes par rapport à la préparation initiale (lysate *E. coli*). En fin de purification, on ajoute dans une cuve de spectromètre un aliquot de la préparation correspondant à 20  $\mu\text{g}$  de protéine à une solution d'acétaldéhyde et de  $\text{NAD}^+$  qui restent en excès pendant toute la mesure. La longueur du trajet optique de la cuve est de 1 cm et le volume final de la préparation est de 1 mL. À 340nm, le coefficient d'extinction molaire de NADH est de 6220 mol $\cdot$ L $\cdot$ cm. Après 2 min, l'absorbance enregistrée est passée de 0 à 0,311.
- 2- Calculez l'activité spécifique de la préparation à ce stade de purification et déduisez en le taux de purification final. Complétez le tableau concernant l'activité enzymatique de cette préparation.