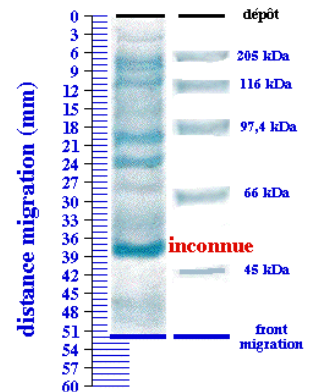


## EMD TAB 2025-2026

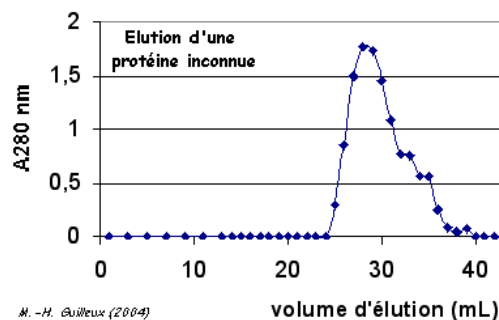
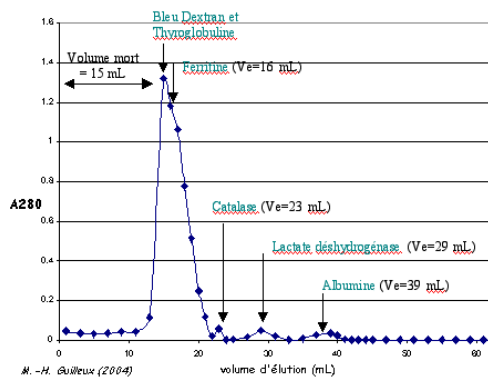
### Exercice 1 (5 points) :

- A. Rappeler le principe de l'électrophorèse des protéines en conditions dénaturantes.  
B. A partir du profil électrophorétique ci-dessous, calculez la masse molaire de la protéine inconnue.



### Exercice 02 (7 points) :

Le gel de chromatographie (filtration sur gel ou tamis moléculaire) Superdex G200 a été calibré avec les protéines standard suivantes : thyroglobuline (669 kDa), ferritine (440 kDa), catalase (232 kDa), lactate déshydrogénase (140 kDa), albumine (66 kDa). Bleu Dextran : volume mort  $V_0 = 15$  mL. Le profil d'élution est présenté dans la **figure 1**.



Tracer la droite étalon :  $V_e / V_0 = f \log (\text{masse molaire})$ .

- A. Pourquoi la thyroglobuline est-elle éluée avec le Bleu Dextran ?  
B. Quelle technique est utilisée pour suivre l'élution des protéines ? Pourquoi ?  
C. A partir de la droite étalon, déterminer la masse molaire d'une protéine inconnue dont le profil d'élution obtenu dans les mêmes conditions est présenté dans la **figure 2**.

**Exercice 03 (8 points) :** La purification des invertases : le cas des invertases cytoplasmique (INV 1) et pariétale ionique (INV 2). Les différentes étapes sont résumées dans le tableau ci-dessous. Chaque fraction protéique a été testée en présence de saccharose pour déterminer son activité catalytique en unité enzymatique. La teneur en protéine (en mg) de chaque fraction a également été dosée à l'aide de la méthode de Bradford.

- A) Pour chaque fraction, déterminez l'activité spécifique, le taux de purification et le rendement et cela pour les deux types d'invertase. Détaillez un exemple de calcul uniquement pour chaque paramètre et remplissez le tableau 1. B) Que pouvez-vous en déduire pour chaque étape de ce protocole de purification ?

Étapes de purification	Type d'invertases	Unités enzymatique (μkatal)	Quantité de protéine (mg)	Activité spécifique	taux de purification	Rendement (%)
Broyage et solubilisation	INV 1	1000	1250		1,00	100,00
	INV 2	318	353		1,00	100,00
Centrifugation à 27 000 g	INV 1	600	1034			
	INV 2	210	344			
Saturation avec du sulfate d'ammonium	INV 1	570	792			
	INV 2	180	265			
Centrifugation à 27 000 g	INV 1	530	730			
	INV 2	172	215			
Chromatographie gel filtration sur sephadex G-100	INV 1	320	5,82			
	INV 2	90	3,10			
Chromatographie d'adsorption	INV 1	208	1,30			
	INV 2	62	0,50			