

TD 1 TAB- L3 Biochimie et Pharmaco-Toxicologie

Exercice 1:

On prépare plusieurs solutions diluées d'une solution commerciale de dichromate de potassium. Le tableau suivant donne les concentrations et l'absorbance correspondante pour chacune de ces solutions.

Concentration (mol.L⁻¹) (x 10⁻⁴)	0	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	4,0
Absorbance A	0	0,090	0,20	0,39	0,50	0,59	0,78

a- Tracer sur un graphe la courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration.

b- La loi de Beer-Lambert est-elle vérifiée ?

c- On mesure l'absorbance de la solution S : $A = 0,67$. Déterminer graphiquement la concentration C_S de la solution S en dichromate de potassium.

Exercice 2:

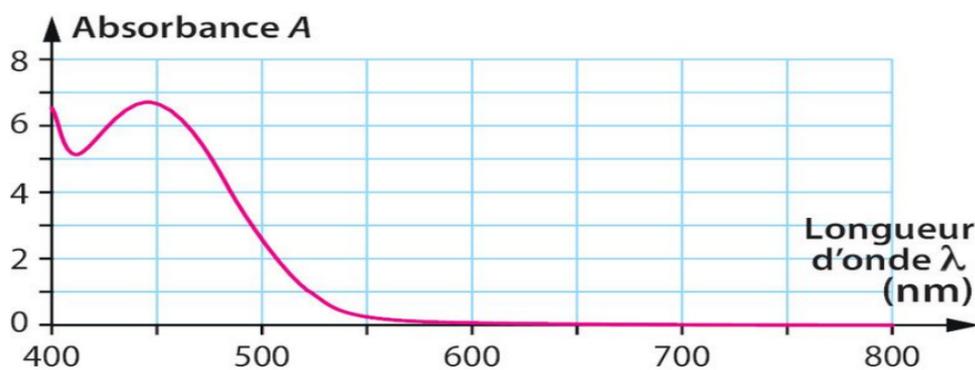


FIGURE 1 – Spectre d'absorption d'une solution de dichromate de potassium

1-Quelle longueur d'onde faut-il régler le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance d'une solution de dichromate de potassium ? Justifier.

Exercice 3 :

1) Calculez le ϵ_{\max} d'un composé dont l'absorption maximale (A) est de 1,2. La longueur de la cellule l est 1 cm, la concentration est 1,9 mg par 25 ml de solution et la masse moléculaire du composé est de 100 g/mol.

2) Calculer le coefficient d'absorption molaire d'une solution de concentration 10^{-4} M, placée dans une cuve de 2 cm, avec $I_0 = 85,4$ et $I = 20,3$.

Exercice 4 :

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 $\epsilon_{Ni} = 0$ à 700 nm .

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 5 : En mesurant l'absorbance d'une solution d'acide nucléique pure à 260 nm, on obtient sa concentration à l'aide de l'équation de la loi Beer-Lambert. Le trajet optique des cuves utilisées est de 1 cm. Ces coefficients d'extinction sont listés ci-dessous : ADN simple brin = $\sim 33 \text{ ng} \cdot \text{cm} / \mu\text{l}$, ADN simple brin: $0,027 (\mu\text{g}/\text{mL}) \cdot \text{cm}^{-1}$.

Oligo sequence	Oligo-specific conversion factor ($\mu\text{g}/A_{260}$)	A_{260}
AAA AAA AAA AAA AAA AAA	25.41	20.75
/56-FAM/CCC CCT TTT CCC CCT CCC TTT CCC CCT CCC TTT CCC CCT TTT CCC	38.18	36.96
CTC AAT TGT AGG TAC TAC TTC	32.19	19.97

Questions 1 :

A- Quelle relation existe-t-il entre I et I₀ et A ? Rappeler la loi de Beer-Lambert.

B- Calculer les concentrations des oligonucléotides.

Question 2:

Le Kit QIAamp est un système ayant recours à la technologie des membranes de silice pour l'isolation et purification de l'ADN génomique. La méthode Trizol utilise un produit chimique qui contient de l'isothiocyanate de guanidinium et du phénol.

A- Quelle est la longueur d'onde optimale (λ_{max}) pour une analyse quantitative ?

B- Calculer les concentrations des oligonucléotides.

Question 3 :

Plusieurs paramètres basés sur les absorptions spectrophotométriques sont utilisés pour analyser la pureté d'une solution d'acides nucléiques.

A- Analyser la pureté des acides nucléiques des deux extractions.