

TD 02 : PROTEOMIQUE

Exercice 01 :

Tracer la courbe d'étalonnage et en déduire la masse moléculaire de la sous unité de la phosphatase alcaline.

Que peut-on en conclure sachant que la masse moléculaire trouvée par la chromatographie d'exclusion de diffusion est de $7,9 \cdot 10^4$ DA.

Protéines	Masse moléculaire (DA)
Alpha-lactalbumine	14400
Inhibiteur trypsique	20000
Anhydrase carbonique	30000
Ovalbumine	43000
albumine	67000
Phosphatase alcaline à prés traitement à pH 3.5	?

Exercice 02 :

Exercice : On détermine les temps de rétention (t_r) au cours d'une chromatographie sur Sephadex, des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) (Le débit de la colonne est de

5ml / min) :

	MM	t_r (min)
Aldolase	145000	10,4
Lactate déshydrogénase	135000	11,4
Phosphatase alcaline	80000	18,4
Ovalbumine	45000	26,2
Lactoglobuline	37100	28,6

1 - Calculer les volumes d'élution (V_e) correspondants. Porter le log de MM en fonction de V_e - Que remarquez-vous ?

2 - Pour la glucokinase, $t_r = 21$ min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent. Existe-t'il une autre méthode pour déterminer la MM ?

Exercice 03 :

TD 02 : PROTEOMIQUE

1 - Cet exercice met en jeu une chromatographie échangeuse d'ions. Une résine polystyrénique substituée par des groupements sulfonate ($-\text{SO}_3^-$) est chargée négativement et est donc une résine échangeuse de cations.

Lorsque le pH est supérieur au pHi ($\text{pH} > \text{pHi}$), l'acide aminé est chargé négativement (forme anionique).

Lorsque le pH est inférieur au pHi ($\text{pH} < \text{pHi}$), l'acide aminé est chargé positivement (forme cationique).

Le tableau ci-dessous donne les charges des 3 acides aminés, à pH = 2 et à pH = 7.

<u>acide aminé :</u>	<u>pHi :</u>	<u>charge à pH = 2 :</u>	<u>charge à pH = 7 :</u>
Acide L-Glutamique (Glu)	3,22	+	-
L-Leucine (Leu)	5,98	+	-
L-Lysine (Lys)	9,74	+	+

Ainsi, à pH = 2, les trois acides aminés sont chargés positivement, et seront retenus lors du passage sur la colonne.

A pH = 7, seuls Glu et Leu, chargés négativement, seront élués. Lys reste fixé à la colonne.

Glu est élué en premier (pHi = 3,22) puis Leu l'est ensuite (pHi = 5,98).