**Exercice**

En chromatographiant des protéines de poids moléculaires connus sur une **colonne de gel**

**filtration**, on peut déterminer leur **volume d’élution** (Ve) et tracer une courbe

d’étalonnage qui permet **d’évaluer le poids moléculaire d’une protéine** inconnue.

Les données ci-contre sont utilisées pour tracer la courbe d’étalonnage ci-dessous.

(\* le bleu dextran est un polymère de haut PM)





Une protéine X, chromatographiée dans les mêmes conditions expérimentales, est éluée à un

volume d’élution de 130 ml.

**a- Justifier l’ordre d’élution des protéines de PM connus.**

**b- Evaluer le PM de la protéine X.**

Cette protéine X est ensuite analysée par **électrophorèse SDS-PAGE**, et on détecte une seule

bande correspondant à un **PM apparent de 25 kDa**.

Après traitement de la protéine X par un excès de β**-mercaptoéthanol**, la même analyse par

électrophorèse ne donne toujours qu’une seule bande à 25 kDa.

**c- Sur quel principe est basée la détermination du PM apparent mesuré par**

**électrophorèse SDS-PAGE? En quoi diffère-t-il de la chromatographie par gel**

**filtration ?**

**d- Que peut-on dire des ponts disulfures de la protéine X ?**

**e- Proposer une structure schématique pour la protéine X**

- une autre protéine purifiée est ensuite analysée par **électrophorèse SDS-PAGE**. On détecte deux

bandes majoritaires de **75 000 et 25 000 daltons**.

- La même analyse est réalisée sur un deuxième échantillon de la fraction purifiée

préalablement **traitée par le** β**-mercaptoéthanol.** On détecte alors deux bandes de

**50 000 et 25 000 daltons.**

**Que peut-on déduire de ces données quant à la structure de la protéine purifiée ?**