

Module : Méthodes d'analyses et de dosages en Biologie

Série d'exercices N°2 : Chromatographie

Exercice N°1 :

Une série de protéines de masse moléculaire connue et une enzyme inconnue ont été étudiées par chromatographie sur gel de séphadex G-200. Le volume d'élution (V_{el}) pour chaque protéine est donné dans le tableau ci-dessous. Estimez la masse moléculaire de la protéine inconnue.

<i>Protéine</i>	<i>Mr</i>	<i>V_{el} (mL)</i>
dextran bleu	1 000 kDa	85.00
lysozyme	14 kDa	200.00
chymotrypsinogène	25 kDa	190.00
sérum albumine	65 kDa	150.00
aldolase	150 kDa	125.00
uréase	500 kDa	90.00
ovomucoïde	28 kDa	160.00
inconnu	?	130.00

Exercice N°2 :

On charge une colonne de DEAE-cellulose à pH 6.5 avec un mélange de protéines: ovalbumine (pI 4.6), uréase (pI 5.0), et myoglobine (pI 7.0). La colonne est éluée avec un tampon de faible force ionique à pH 6.5,

Dans quel ordre les protéines apparaîtront-elles dans l'éluant?

Exercice N°3 :

On sépare un mélange de lysine, glycine, alanine, isoleucine et d'acide glutamique par chromatographie échangeuse d'ions. Quel sera l'ordre d'élution des acides aminés si on utilise un tampon allant progressivement de pH 10 à pH 2, et si on utilise:

- a) une résine échangeuse de cations
- b) une résine échangeuse d'anions

Quelle est selon vous la colonne donnant la meilleure séparation?

N.B : $\Phi_{(Lys)} = 9,7$; $\Phi_{(Glu)} = 3,26$; $\Phi_{(Gly)} = 6,01$; $\Phi_{(Ala)} = 6$; $\Phi_{(Ile)} = 6,1$

Exercice N°4 :

Un mélange de trois acides aminés : acide aspartique ($pH_i = 2,87$), Arginine ($pH_i = 10,76$) et Leucine ($pH_i = 6$), est soumis à une chromatographie sur colonne échangeuse de cations. L'élution est effectuée à l'aide d'un tampon à $pH = 6$.

Dans quel ordre peut-on prévoir la sortie de ces acides aminés ?