

Université: Mohamed Elbachir El- Ibrahimi Bordj Bou Arréridj

Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département: Sciences Biologiques

Année Universitaire: 2021 / 2022



**2 ème année Master – Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie – Filière: Sciences biologiques –
Spécialité: Biochimie. – 3 ème Semestre**

Section N° 1 Groupe N° 1

Date : 19/01/2022

**Résultats de l'examen de la matière :MPIAS / Méthodes de purification identification /
Méthodologique3**

Coef. examen: 60.00 % Coef. CC: 40.00% Coef.de la matière: 3 Crédit: 5.00 Code UE: UE3

N°	Nom et prénoms	Matricule	Etat	Exam	TD	TP	Conf	Sem	Matière non requise		
									Proj	Stage	Autre
1	ADJNEG OUMAIMA	171733057357	N	8,5	07						
2	ARABA IMEN	171733058616	N	11,25	09						
3	BAHI DOUNYA	151534085346	N	08,5	12						
4	BAHLOULI CHAIMA	161733067884	N	11,5	10						
5	BEGHOURA ROUMAÏSSA	171733062443	N	14	10						
6	BELAHCENE NESRINE	161733068565	N	7,75	10						
7	BELHADJ ASMA	3088637	N	13,5	10,5						
8	BENAISSA AMIRA	171733058597	N	11	10,5						
9	BENAISSA MARWA	171733055899	N	11,25	12						
10	BENANIBA IMAD EDDINE	161633063403	N	13,75	12						
11	BENMAMMAR AMEL	171733063124	N	10,5	12						
12	BENMAYOUF ILYAS	161733067149	N	14,75	10						
13	BENMIRA DIHIA	171733060538	N	12	12						
14	BENSBIA SOUAD	20073088376	N	8,75	10						
15	BOUDJRIMA ROUMAÏSSA	171733057501	N	11,25	10						
16	BOUKHELIFA ZINE EDDINE	171733062844	N	09	12						
17	BOUNOUA ASMA	2098338331	N	12	15,5						
18	BOUZIANE SARA	171733067691	N	13,75	13						
19	CHEBIRI FATIMA	171733062517	N	14,75	12						
20	CHELLAKH KHADIDJA	20123054916	N	10	10						
21	CHENIHAT AMIRA	171733064250	N	8,5	07						
22	DAHAK MERIEM	171733062536	N	12,5	13						
23	DJEBBAR HADJ HAMMOU	161637004442	N	8,5	10						
24	DJOUDI YAMINA	2099372346	N	09	14,5						
25	FERHAT SOUAD	171733061290	N	09	12						
26	GHOUILA DONIA	171733058650	N	08,5	10						
27	HAMMA NAHLA	171733062553	N	11	11						
28	HANIFI LAMIA	171733063220	N	13,5	10						
29	HEDHOUD ZOUINA	171733059060	N	12,75	12						
30	HEREM IBTISSAM	171733057309	N	13	12						
31	HEREM RAYANE	171733055682	N	11	13						
32	KERROUCHE SIHEM	171733057581	N	13,5	14						
33	KHOUITER WAFI	171733062141	N	7,25	11,5						
34	LOUALA Amina yassamine	171733057355	N	10	12						
35	MADOUÏ IBTISSAM	171733063461	N	11,5	10						

(Handwritten signature)

Université: Mohamed Elbachir El- Ibrahimi Bordj Bou Arréridj

Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département: Sciences Biologiques

Année Universitaire: 2021 / 2022



2^{ème} année Master – Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie – Filière: Sciences biologiques –

Spécialité: Biochimie. – 3^{ème} Semestre

Section N° 1 Groupe N° 1

Date : 19/01/2022

Résultats de l'examen de la matière :MPIAS / Méthodes de purification identification / Méthodologique3

Coef. examen: 60.00% Coef. CC: 40.00% Coef. de la matière: 3 Crédit: 5.00 Code UE: UE3

N°	Nom et prénoms	Matricule	Etat	Exam	TD	TP	Conf	Sem	Proj	Matière non requise	
										Stage	Autre
36	MANSOURI IBTISSEM	171733067181	N	11,5	10,5						
37	MEBARKIA ZAHIRA	161633069825	N	06,5	10						
38	MEGHRAOUI KHEDIDJA	201433059021	N	11	11						
39	MESSOUAK EL YAMINE	2002380092	N	14,5	12						
40	MEZHOUD ABDELBASSAT	20063100585	N	10	10						
41	MILOUDI FATIMA	171733062518	N	12,25	11						
42	MOHAMADI IMENE	161633069395	N	11	14,5						
43	OUNOUGH ANFEL	171733063127	N	12,75	10						
44	RADJAI RANDA	3092491	N	Abs	Abs						
45	RAHAL NARIMENE	171733057907	N	7,25	12						
46	RAMDANE SOUMIA	161636007241	N	12,5	12						
47	SAADAOUI NASSIMA	171733055956	N	14,5	10						
48	SAADAOUI REZKIA	171733061272	N	03	10						
49	SEMAI AMIRA	171733057225	N	08,75	11						
50	TABABOUCHET SAFA	201533070392	N	13,25	10						
51	YAHYI INTISSAR	171733055526	N	08,5	10,5						
52	YALAOUI RANIA	171733063173	N	09,5	10						

EXAMEN DE : MÉTHODES DE PURIFICATION, IDENTIFICATION ET D'ANALYSE STRUCTURALE

Nom :

Prénom :

Groupe :

Exercice n°1 : (4pts)

Les 5 protéines dont les masses moléculaires et les points isoélectriques sont donnés ci-dessous, sont séparées par SDS-PAGE. Donnez l'ordre de leur migration du sommet (le point de dépôt des échantillons) à la partie inférieure du gel.

A : Alpha-Antitrypsine (PM : 45000 ; pI : 5.4)

D : Albumine sérique (PM : 69000 ; pI : 4.8)

B : Cytochrome C (PM : 13400 ; pI : 10.6)

E : Transferrine (PM : 90000 ; pI : 5.9)

C : Myoglobine (PM : 17000 ; pI : 7)

② Sommet \ominus E D A C B \oplus partie inf.

Si les 5 protéines de la question 1 sont séparées par isoélectrofocalisation, schématisez leur distribution.

	D	A	E	C	B
	0	00		0	0
	pH				

Exercice n°2 : (4pts) définitions :

- HPLC** : chromatographie liquide à haute performance. C'est une technique chromatographique analytique et/ou préparative basée sur l'utilisation d'un débit élevé d'écoulement d'une phase mobile liquide ce qui entraîne une pression dans le système et usage du tr.
- Chromatographie d'affinité** : Méthode de chromatographie de séparation des molécules selon leur capacité à se lier à un ligand spécifique fixé sur une résine.
- CPG** : chromatographie en phase gazeuse. C'est une technique chromatographique analytique/préparative qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage.
- SDS-PAGE** : technique électrophorétique sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes. Le SDS dénature les prots et les enrobe par une charge \ominus . Le β -mercaptoéthanol est un agent réducteur (rupture des ponts S-S).

Exercice n°3 : (3 pts) choisissez la/les bonne(s) réponse(s)

- La charge électrique des acides nucléiques est due à :
 - Bases azotées
 - Acide phosphorique
 - Pentose
- En électrophorèse, les gels d'agarose sont souvent utilisés dans la séparation des composés suivants :

- Isoenzymes
- Protéines
- Acides désoxyribonucléiques (ADN)
- Lipoprotéines

- L'électrophorèse est une technique de séparation qui exploite principalement les critères moléculaires suivants :

- Forme et charge électrique des molécules
- Polarité et forme des molécules
- Ionicité et taille des molécules
- Solubilité des molécules

Exercice n°4 : (4.5pts)

Un mélange de 3 acides aminés : Asp (pHi=2.87), Arg (pHi=10.76) et Leu (pHi=6) est soumis à une chromatographie sur colonne échangeuse de cations. L'éluion est effectuée à l'aide d'un tampon à pH=6. Dans quel ordre peut-on prévoir la sortie de ces acides aminés ?

1.00 L'acide aspartique (Asp) puis la leucine (Leu)
 Justifiez : Si les 3 AA sont retenus sur la colonne \Rightarrow pH $<$ 2.87

A un pH = 6 \Rightarrow l'Asp est chargé \ominus il est donc élué puis Leu
 L'Arg reste chargé \oplus \Rightarrow il n'est pas élué

AA	pHi	charge à pH 2.87	charge à pH = 6
Asp	2.87	+	\ominus
Leu	6	+	\ominus
Arg	10.76	+	\oplus

Exercice n°5 : (4.5pts)

On veut déterminer la masse moléculaire (MM) d'une protéine p par chromatographie d'exclusion. La limite d'exclusion du gel se situe entre 40 000 et 400 000 Da.

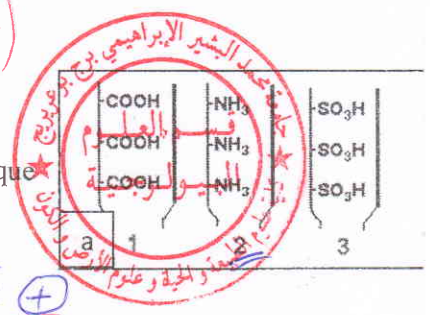
L'étalonnage du gel se fait par diverses substances, dont les MM (exprimées en KDa) et les volumes d'éluion (Ve exprimé en ml) sont indiqués dans le tableau suivant :

	MM (K Da)	Ve (ml)	Log(MM)
Dextran	2 000	45	6.30
Fibrinogène	340	60	5.53
Catalase	230	75	5.36
Lactoglobuline	19	132	4.28

Une protéine p montre, quant à elle, un volume d'éluion $V_e = 113$ ml. Déterminer sa MM.

1.2 Courbe Log MM en fonction de V_e \rightarrow
 $V_e = 113$ ml \Rightarrow Log MM =
 \Rightarrow MM = 85 114 Da

INTERROGATION (13 pts)



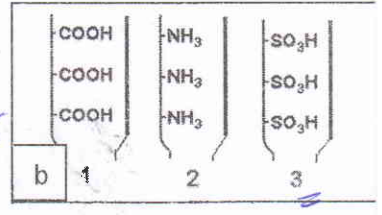
Q1.

- Laquelle des résine suivantes (1,2, 3) correspond à un échangeur anionique faible (figure a)? Pourquoi ?

1. Résine 1 = une résine anionique est chargée (+)

- Laquelle des résine suivantes (1,2, 3) correspond à un échangeur cationique fort (figure b) ? Pourquoi ?

2. Résine 3 ⇒ une résine cationique est chargée (-)



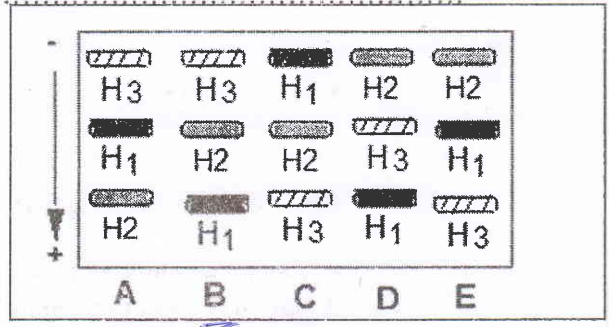
Q2. Les 5 protéines dont les masses moléculaires et les points isoélectriques sont donnés ci-dessous, sont séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS. Donner l'ordre de leur migration du sommet (le point de dépôt des échantillons) à la partie inférieure du gel.

- A : Transferrine (PM : 90000 ; PI : 5,9)
- B : Cytochrom c (PM : 13400 ; PI : 10,6)
- C : Myoglobine (PM : 17000 ; PI : 7,0)
- D : alpha-antitrypsine (PM : 45000 ; PI : 5,4)
- E : Albumine sérique (PM : 69000 ; PI : 4,8)

3. dépôt → A, E, D, C, B

Q3. On réalise une électrophorèse à pH 6,8 d'un mélange d'hémoglobines mutées qui ne diffèrent de l'hémoglobine normale que par la substitution d'un acide aminé.

- L'hémoglobine H1 diffère de l'hémoglobine normale par le remplacement d'une valine par un acide glutamique.
- L'hémoglobine H2 diffère de l'hémoglobine normale par le remplacement d'un acide glutamique par une valine.
- L'hémoglobine H3 diffère de l'hémoglobine normale par le remplacement d'un acide glutamique par une lysine.



1. Parmi les 5 profils électrophorétiques (A, B, C, D, E), quel est le diagramme susceptible de représenter correctement la séparation sur le même support de ces 3 hémoglobines ? B

Justifiez votre réponse:

Les PM des 3 hémoglobines mutées sont proches. Néanmoins, les pHi des prot. changent. H.b. Substitution de AA pHi charge v migration

	Substitution de AA	pHi	charge	v migration
H1	AA neutre par AA Acide	→	⊖	grande
H2	AA Acide par AA neutre	↗	⊕	moyenne
H3	AA Acide par AA basique	↗↗	⊕⊕	limitée