

Corrigé type de l' Examen de : **MÉTHODES D'ANALYSES**

Nom :

Prénom :

Exercice n°1 : (4 pts)

La digestion d'un ADN par une enzyme de restriction a permis l'obtention de 3 fragments A, B et C de tailles différentes (voir figure 1). Séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% .

Le profil attendu (bandes) correspondra à : .0.4 (1)

Justifiez votre réponse :

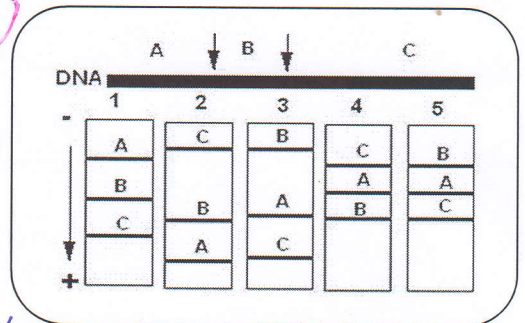


Figure 1

- ① Les fragments d'ADN sont chargés
- ② grâce à l'AcP, ce qui les fait migrer vers le pôle +

- ② La taille de l'ADN est inversement proportionnelle à sa vitesse de migration. (1)

Exercice n°2 : (3 pts)

Citez 2 inconvénients de chromatographie d'exclusion stérique :

- ① - Adsorption non spécifique des molécules à la matrice du gel.
- ② - Des particules de tailles proches peuvent ne pas être correctement séparées (particules complètement exclues ou incluses)

Exercice n°3 : (3 pts)

Qu'est-ce qu'un Nomogramme ?

- ① c'est un outil graphique (diagramme), constitué de 3 lignes graduées (rayon r, RCF et RPM).

Le rayon de rotation d'un rotor (r) est de 20 cm. A quelle vitesse faudra-t-il programmer la centrifugeuse pour obtenir une accélération (RCF) de 1000g ?

$$g = 1,119 \times 10^{-5} r \cdot N^2$$

$$\Rightarrow N = \sqrt{\frac{10^5 \times g}{1,119 \times r}} = \sqrt{\frac{10^5 \times 1000g}{1,119 \times 20cm}} \approx 2214 \text{ rpm.}$$

Exercice n°4: (2 pts)

Une enzyme a été caractérisée par une masse moléculaire apparente de 160 000 lorsqu'elle est analysée par chromatographie d'exclusion en tampon aqueux à pH 7. Par contre, une électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS n'a fourni qu'une bande correspondant à un poids moléculaire apparent de 40 000. Expliquez ce résultat ?

- l'usage de chromatographie d'exclusion détermine le PM de l'enz = 160.000 da. (2)
- l'usage de SDS et β -mercaptoéthanol permet la destruction des liaisons et l'obtention de 4 DS \rightarrow de tailles identiques (40.000 da chacune) (2)

Exercice n°5: (6 pts)

Une peptidase a été analysée par électrophorèse en SDS-PAGE en présence de différents marqueurs. Les résultats sont les suivants :

| Protéine | PM | Migration (mm) | $\log(PM)$ |
|----------------------|-------|----------------|------------|
| Albumine bovine | 66000 | 12.9 | 4.82 |
| Anhydrase carbonique | 29000 | 52.5 | 4.46 |
| Béta lactoglobuline | 18400 | 74 | 4.26 |
| Lysozyme | 14300 | 86.4 | 4.15 |
| Myoglobine | 17800 | 75.7 | 4.25 |
| Ovalbumine | 45000 | 31.4 | 4.65 |
| Peptidase | ? | 49.3 | |
| Transferrine | 78000 | 4.9 | 4.89 |
| Trypsinogène | 24000 | 61.6 | 4.38 |

Déterminer le PM de la peptidase.

① courbe: $\log(PM) = f(d)$ (2 pts) d: distance de migration (mm)

② Intersection =

Lorsque $d = 49.3$ mm $\Rightarrow \log(PM) \approx 4.49$ (2)

$\Rightarrow PM_{peptidase} \approx 31.000$ da (1)