

TRAVAUX DIRIGES N°3

PROTEINES

Exercice n°1:

Vers quel pôle migrera chacune des protéines suivantes dans un champ électrique :

a- sérum albumine (pHi = 4,9) à pH 8 ; b- uréase (pHi = 5) à pH 3 et 9 ; c- ribonucléase (pHi = 9,5) à pH 4,5 ; 9,5 et 11 ; d- pepsine (pHi = 1) à pH 3,5 ; 7 et 9,5.

Exercice n°2:

Parmi les protéines suivantes: ovalbumine (pHi = 4,6), cytochrome c (pHi = 10,65) et lysozyme (pHi = 11), quelles sont celles qui sont retenues par la carboxyméthyl-cellulose (CM-cellulose) à pH 7 ? A quel pH et dans quel ordre seront-elles éluées ?

Exercice n°3:

Parmi les protéines suivantes: sérumalbumine (pHi = 4,9), uréase (pHi = 5) et chymotrypsinogène (pHi = 9,5), quelles sont celles qui sont retenues par la diéthylaminoéthyl-cellulose (DEAE-cellulose) à pH 7 ? A quel pH et dans quel ordre seront-elles éluées ?

Exercice n°4:

Une protéine hémique pure contient 0,326 % de fer. Si la molécule ne contient qu'un atome de fer, quelle est sa masse moléculaire ?

Exercice n°5:

Dans quel ordre apparaîtront les protéines suivantes après filtration d'un mélange sur gel de séphadex dont la limite d'exclusion est de 200 000: myoglobine (Mr = 16 000), catalase (Mr = 500 000), cytochrome c (Mr = 12 000), chymotrypsinogène (Mr = 26 000) et sérumalbumine (Mr = 65 000) ?

Exercice n°6:

Après filtration sur gel en tampon aqueux à pH 7, une enzyme a une masse moléculaire apparente de 160 000. Soumise à une électrophorèse en gel de polyacrylamide-SDS, cette enzyme ne montre qu'une bande correspondant à un poids moléculaire apparent de 40 000. Expliquer ces résultats.

Exercice n°7: On détermine les temps de rétention (tr) au cours d'une chromatographie sur Sephadex, des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) (Le débit d de la colonne est de 5 ml / min) :

	MM	tr (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 (Ve) correspondants sachant que $tr = Ve/d$. Porter le log de MM en fonction de Ve. Que remarquez-vous ?

2 - Pour la glucokinase, $tr = 21$ min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent.