

Corrigé type Technologie de la biochimie

Exercice 1) : Choisir la ou les bonnes réponses, 4,25pt

OCM1 : Le gel d'agarose est principalement utilisé pour :

- A. Les protéines uniquement
- B. Les acides nucléiques (ADN/ARN) 0,25pt**
- C. Les lipides
- D. Les glucides

OCM2 : Le gel de polyacrylamide est plus adapté que l'agarose pour :

- A. Les fragments d'ADN très longs
- B. Les protéines et petits fragments d'ADN 0,25pt**
- C. Les cellules entières
- D. Les organites

OCM3: Dans SDS-PAGE, le SDS permet :

- A. De colorer les protéines
- B. De donner une charge négative uniforme aux protéines 0,25pt**
- C. De ralentir la migration
- D. De dégrader l'ADN

OCM4: Un agent utilisé pour visualiser l'ADN est :

- A. Bleu de méthylène
- B. Bromure d'éthidium 0,25pt**
- C. SDS 0,25pt
- D. Agarose

OCM5: Concernant le gel d'agarose :

OCM9 : Parmi les propositions suivantes concernant les méthodes spectrales, quelles sont celles qui sont exactes ? La loi de Beer-Lambert est vérifiée pour un acide faible en spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'UV si :

1-Les solutions sont limpides 0,25pt

- A. Sa taille de pores dépend de sa concentration 0,25pt**
- B. Il permet une séparation fine des protéines de petite taille
- C. Il est formé par polymérisation chimique
- D. Il est généralement non toxique 0,25pt**

OCM6 : Concernant le gel de polyacrylamide :

- A. Il résulte d'une polymérisation radicalaire 0,25pt**
- B. Il est toujours non dénaturant
- C. Sa porosité est contrôlée par acrylamide + bis-acrylamide 0,25pt**
- D. Il est utilisé en SDS-PAGE 0,25pt**

OCM7 : Concernant le SDS :

- A. Il confère une charge proportionnelle à la masse 0,25pt**
- B. Il détruit les structures secondaires et tertiaires 0,25pt**
- C. Il permet de séparer selon la charge native
- D. Il se fixe uniformément sur toutes les protéines

OCM8 :ADN sur gel d'agarose

- A. Sa migration dépend de sa conformation 0,25pt**
- B. ADN superenroulé migre plus lentement que linéaire
- C. ADN linéaire migre selon sa taille 0,25pt**
- D. ADN est chargé négativement 0,25pt**

2- Le rayonnement incident est polychromatique

3- L'acide absorbe la lumière à 450 nm

4-Les cuves de mesure sont en quartz (dosage UV) 0,25pt

5-La concentration est de l'ordre de la molarité.

QCM10 : Lors d'une électrophorèse de protéines en conditions natives, la migration dépend principalement :

- A. Uniquement de la masse moléculaire B. De la charge nette uniquement
C. Du rapport charge/masse et de la conformation 0,25pt D. Du pH du gel uniquement

Exercice N2 : 6pts

1- Une absorbance nulle signifie absence totale de composé absorbant. **Faux 0,5 pt**

Soit la concentration très faible ou bien λ mal choisi **0,5pt**

2- L'absorbance totale d'un mélange est égale à la somme des absorbances des constituants.
Vrais 1pt

3- Une réaction chimique peut être suivie par spectrophotométrie même si un seul réactif absorbe. **Vrais 1pt**

4- Une lumière monochromatique est indispensable pour appliquer strictement la loi de Beer-Lambert **Vrais 1pt**

5- L'absorbance est une grandeur sans unité **Vrais 1pt**

6- La loi de Beer-Lambert n'est valable que pour des solutions diluées **Vrais 1pt**

Exercice N3 : 4pts

On réalise une chromatographie d'exclusion avec :

- Volume total de la colonne : $V_t = 120 \text{ mL}$
- Volume mort (volume d'exclusion) : $V_o = 40 \text{ mL}$

Trois protéines donnent :

Protéine	Volume d'élution V_e
A	42mL
B	80mL
C	115mL

Questions

1. Classer les protéines selon leur taille ?

En chromatographie d'exclusion :

- Grosses molécules → sortent en premier (V_e proche de V_o)
- Petites → sortent en dernier (V_e proche de V_t)

Donc :

☞ **A > B > C (taille décroissante)**

2. Identifier celle exclue du gel ?

Exclue = ne pénètre pas dans les pores → $V_e \approx V_o$

-A (42 mL ≈ 40 mL). 1pt

3. Identifier celle totalement incluse ?

Totalement incluse → $V_e \approx V_t$

C (115 mL ≈ 120 mL) 1pt

4. Calculer le coefficient de partage (K_{av}) pour B ? 1pt

K_{av} pour B

$K_{av} = \frac{V_e - V_o}{V_t - V_o}$ 0,5pt

$80 - 40 / 120 - 40 = 0.5$; **$K_{av} = 0,5$ 0,5 pt**

Exercice N4 : 5.75pts

Un mélange de protéines est traité par le SDS et le β -mércaptoéthanol, après ce traitement, ce mélange est soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS à pH 7.

On mesure la distance de migration de ces protéines dont les poids moléculaires sont connus.

	Ovalbumine	Trypsine	Myoglobine	Cytochrome
PM (Da)	43 000	23 000	17 200	13 500
d (mm)	37,6	59,9	70	79

Ovalbumine Trypsine Myoglobine Cytochrome

1) Donner le rôle du SDS et du β -mércaptoéthanol

SDS = confère une charge négative à la protéine 1pt

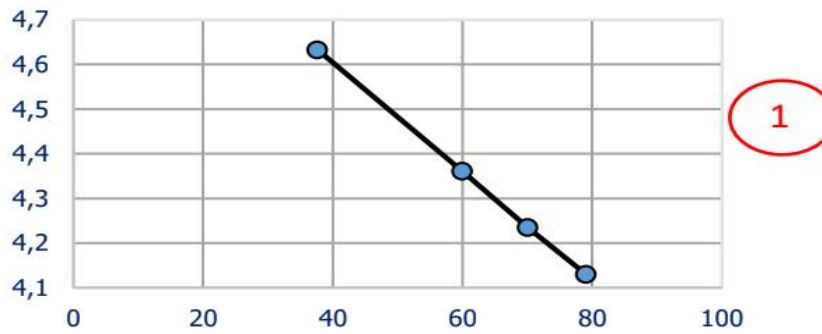
β -mércaptoéthanol = coupe les ponts disulfure S-S (dénaturation) 1pt

2) Tracer Log (PM) en fonction de d. Que remarquez-vous ?

Tableau 1pt

Nom

Prénom



on constate l'augmentation de la distance de migration (d) avec la diminution du PM (ou l'inverse). 1pt

3) Le poids moléculaire de l'hémoglobine est de 64 000. On a trouvé après une électrophorèse sur

gel de polyacrylamide en présence de SDS, une seule bande dont la distance de migration est de

73mm. Quelle est la structure de cette protéine ?

Par projection on déduit que PM de la bande $\approx 6\ 000$ daltons, donc $64000/16000 \approx 4$. Donc, l'hémoglobine est un tétramère (constituée de 4 sous-unités). 0,75 pt