**Travaux dirigés : Techniques de fractionnement et de purification**

**Exercice 1 :**

Indiquer en regard de chacune de ces techniques chromatographiques, le terme qui représente le mode essentiel de fixation sur la phase.

1. phase inversée a. masse moléculaire

2. perméation de gel b. hydrophilie

3. chromatographie ionique c. hydrophobie

4. phase normale d. protonation/ionisation

**Exercice 2 :**

Quel est l’ordre d’élution des acides suivants en HPLC avec une colonne dont la phase stationnaire est de type C18 et une phase mobile un tampon formiate C = 200 mM, de pH 9 ?

1- Acide palmitoléique CH3 (–CH2 )5 –CH=CH(–CH2)7 –COOH

2- acide linoléique CH3 (CH2 )4 CH = CHCH2 CH = CH(CH2 )7 COOH

3- acide arachidique CH3 (CH2 )18 C

**Exercice 3 :**

Un mélange de trois 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'élution est effectuée à l'aide d'un tampon à pH = 6.

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

**Exercice 4 :**

Les 5 protéines dont les masses moléculaires et les points isoélectriques sont donnés ci-dessous, sont séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (une des techniques de séparation très utilisée) en présence de SDS.

**1-** Donner 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),

b: Cytochrom c (PM: 13400, pI: 10,6), c: Myoglobine (PM: 17000, pI: 7,0),

d: Albumine sérique (PM: 69000, pI: 4,8), e: Transferrine (PM: 90000, pI: 5,9).

**2-** Si les 5 protéines de la question 1 sont séparées par isoélectrofocalisation, quelle pourrait être

leur distribution entre les extrémités positive (anode,+) et négative (cathode, -) du gel ? Donner les valeurs les plus hautes et les plus faibles de pH.

**Exercice 5 :**

On veut séparer 3 acides-aminés : l'acide L-glutamique, la L-leucine et la L-lysine par chromatographie sur une résine polystyrénique substituée par des groupements sulfonate (-SO3-). Les pH isoélectriques de l'acide L-glutamique, de la L-leucine et de la L-lysine sont respectivement : 3,22 ; 5,98 ; 9,74, à 25 °C.