

Figure 1 : Homogénéiseurs : Potter, Dounce

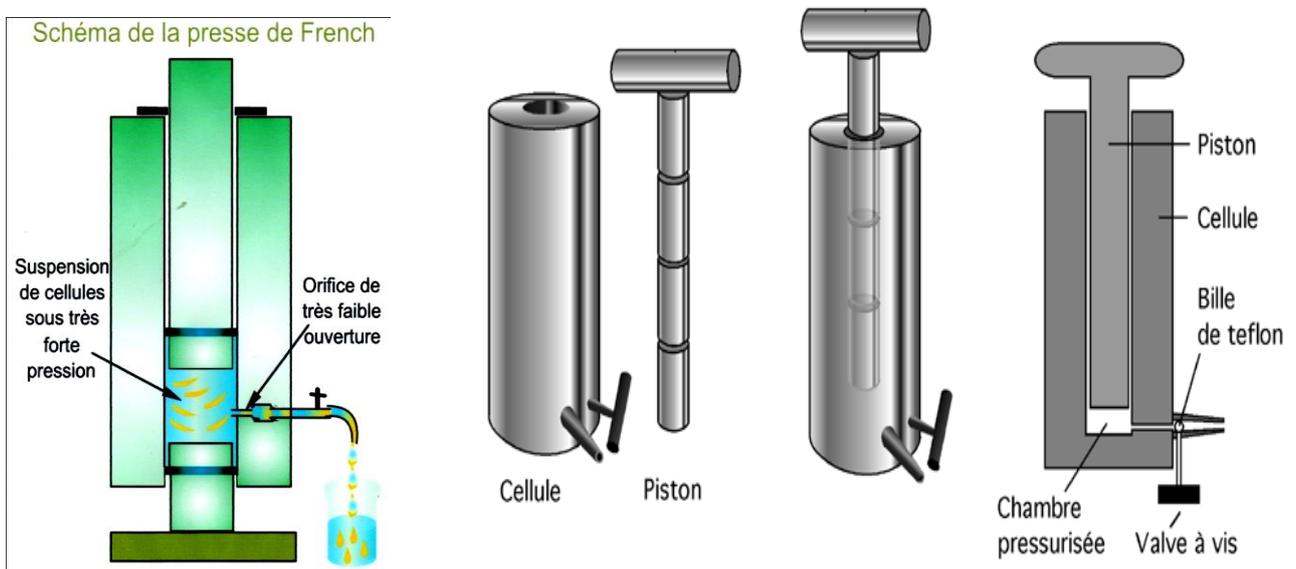


Figure 2 : La presse Aminco- French

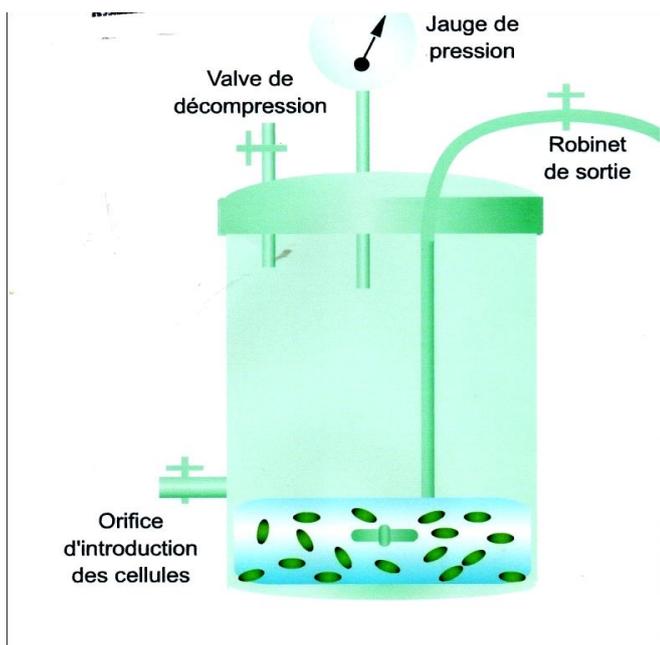


Figure 3 : Homogénéiseurs à gaz

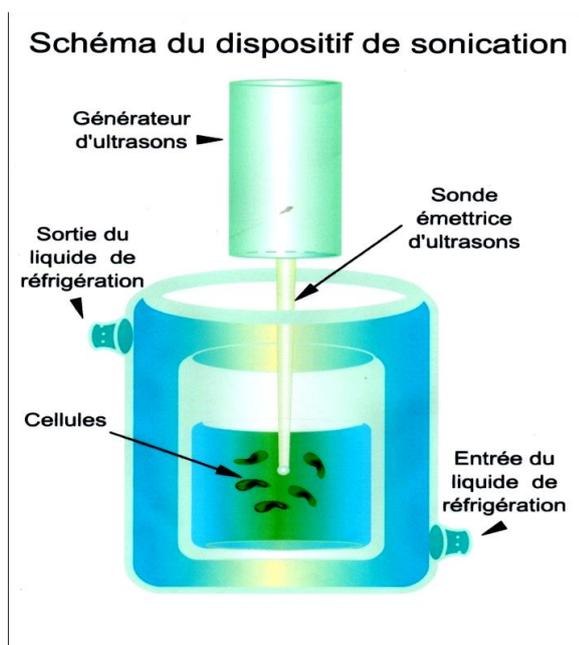


Figure 4 : Sonicateur

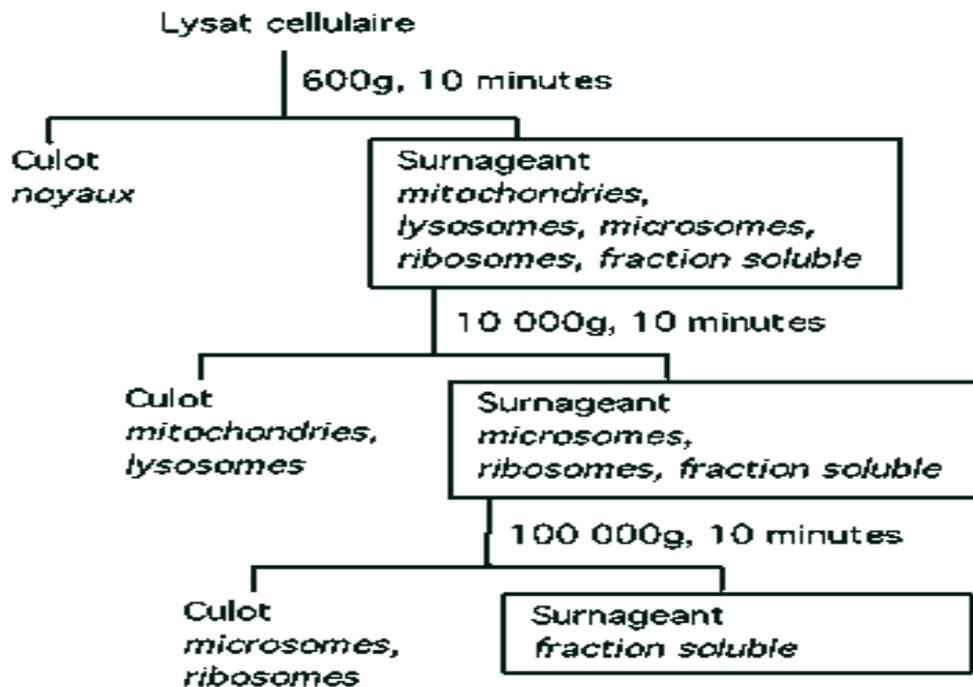
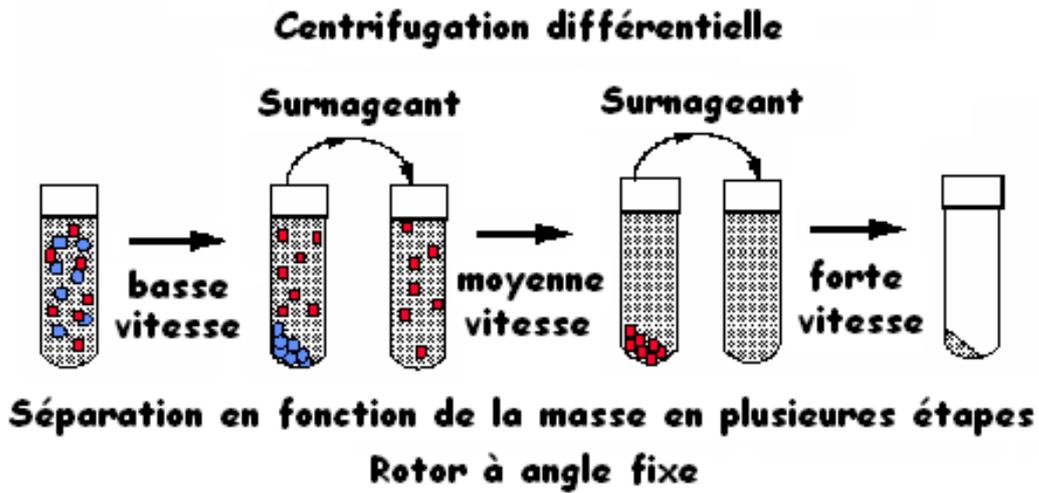


Figure 5 : Centrifugation différentielle en milieu homogène

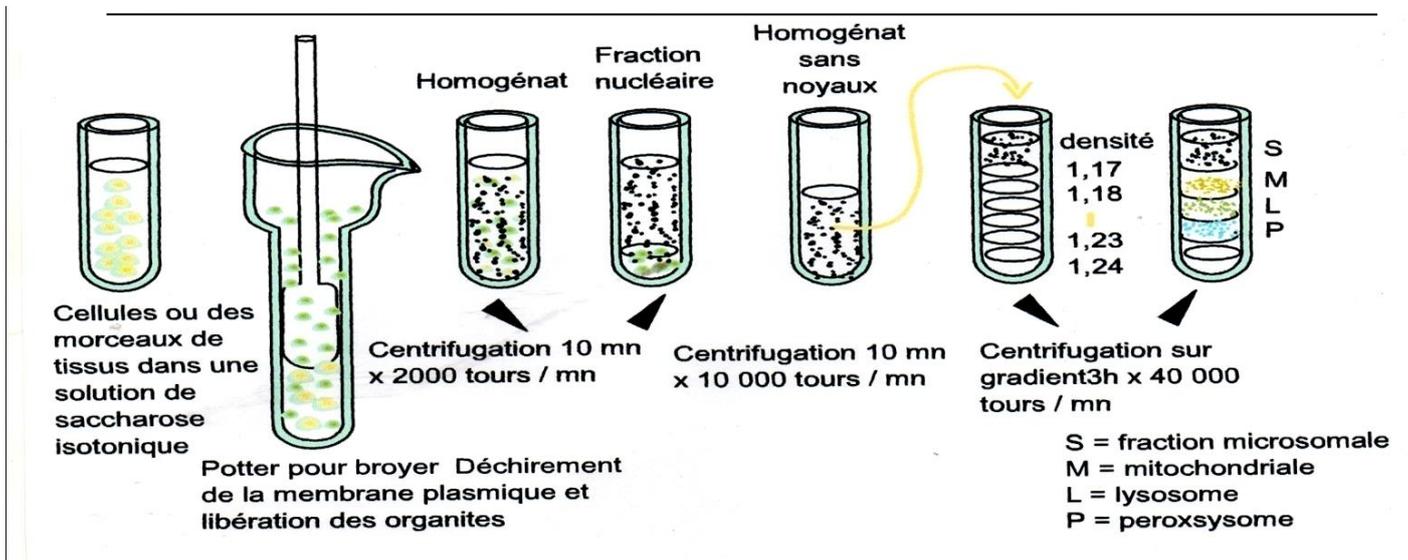


Figure 6 : Centrifugation sur gradient de densité

**Tableau 1 : Propriétés des protéines  
et Techniques de purification :**

Paramètre	Technique
Taille	Filtration sur gel
Solubilité	Précipitation séquentielle au sulfate d'ammonium
Charge	Chromatographie d'échange d'ions
Densité	Centrifugation sur gradient; ultracentrifugation
Hydrophobicité	Chromatographie en phase inverse
Marqueur ajouté	Chromatographie d'affinité

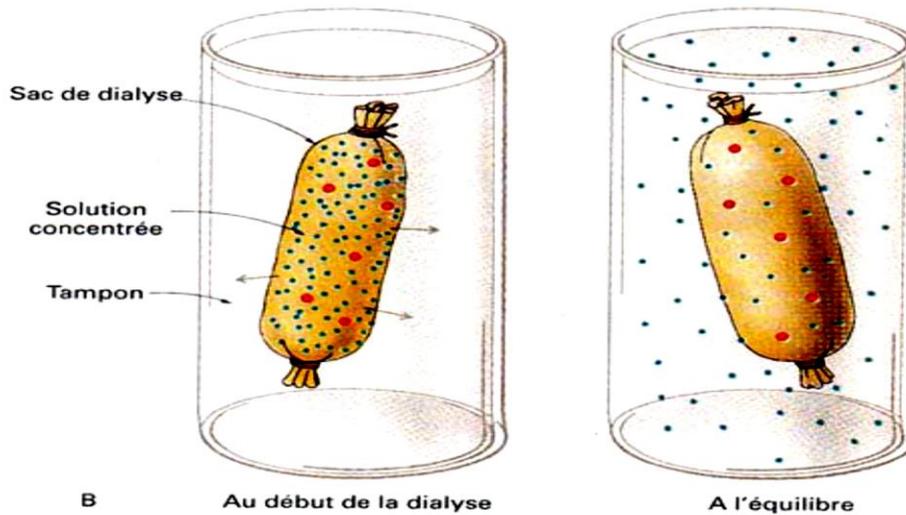
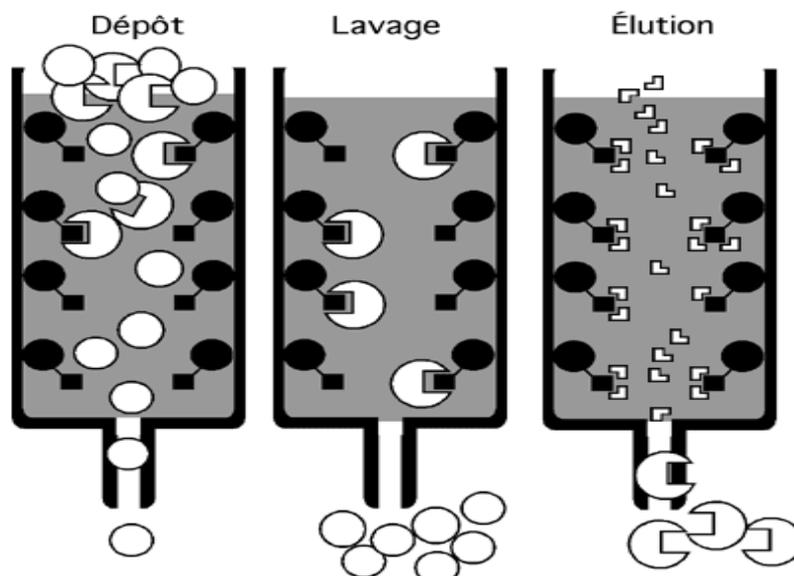
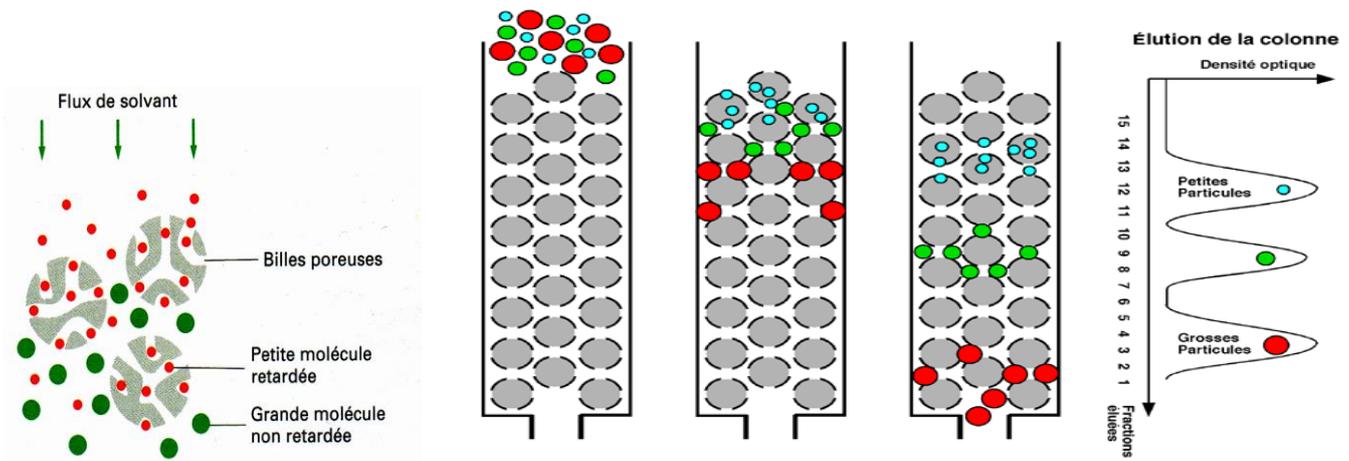


Figure7 : La dialyse

**Chromatographie d'affinité :**



## Chromatographie par exclusion de taille (gel-filtration) :



### Nom de la résine

### Capacité de fractionnement (en Da)

#### *type dextran*

Sephadex G-10

700

Sephadex G-25

1 000- 5 000

Sephadex G-75

3 000- 70 000

Sephadex G-200

5 000- 800 000

#### *type polyacrylamide*

Bio-gel P2

200- 2 000

Bio-gel P6

1 000- 6 000

Bio-gel P-150

15 000- 150 000

Bio-gel P-300

60 000- 400 000

#### *type agarose*

Sepharose 2B

2 000 000- 25 000 000

Sepharose 4B

300 000- 3 000 000

Bio-gel A-0,5M

30 000- 500 000

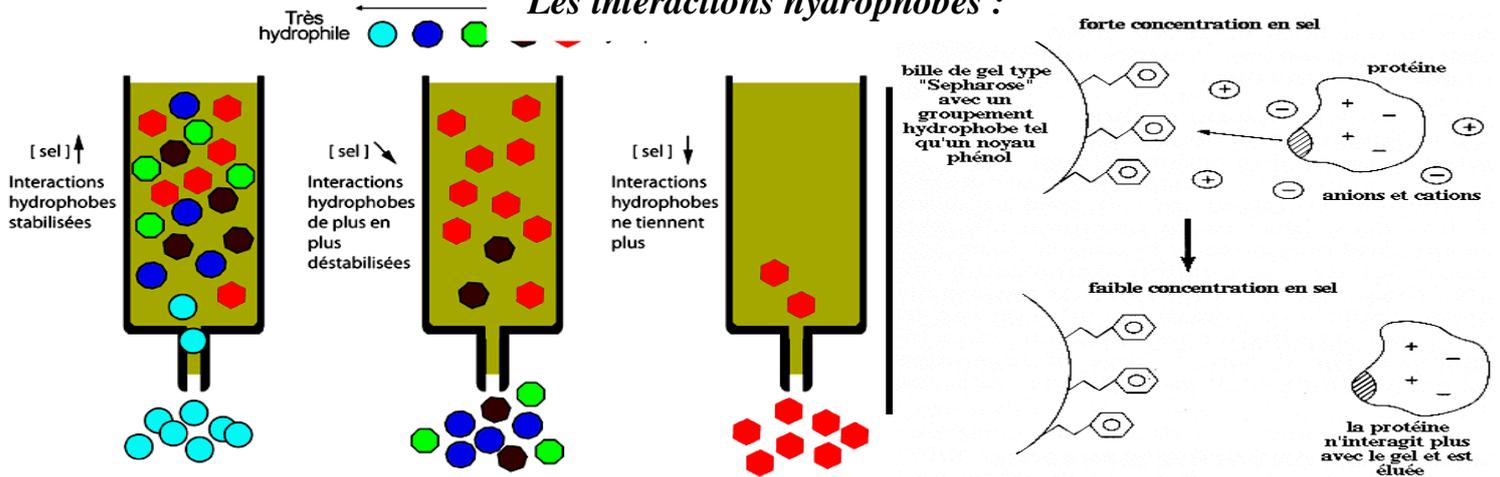
Bio-gel A-15M

30 000- 15 000 000

Bio-gel A-150M

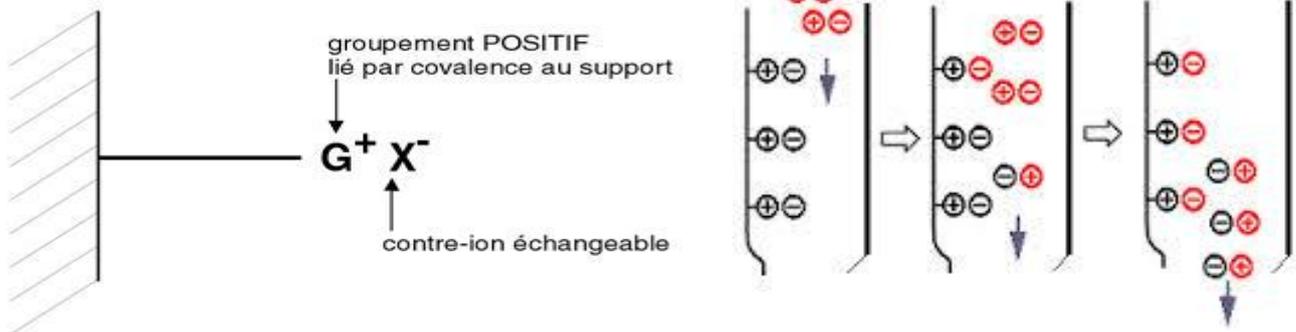
5 000 000- 150 000 000

### Les interactions hydrophobes :



### Chromatographie échangeuse d'ions :

#### Résine échangeuse d'anions (anionique) :



<p>DEAE (diethyl aminoethyl-)</p>	Échangeur d'anions
<p>QAE (quaternary aminoethyl-)</p>	Échangeur d'anions
<p>CM (carboxymethyl-)</p>	Échangeur de cations
<p>Phospho-</p>	Échangeur de cations
<p>-S (monoS, p.e.)</p>	Échangeur de cations

## Électrophorèse :

➤ **Électrophorèse en gel:**

- Migration des molécules dans un champ électrique
- Les grosses molécules sont ralenties par rapport aux petites

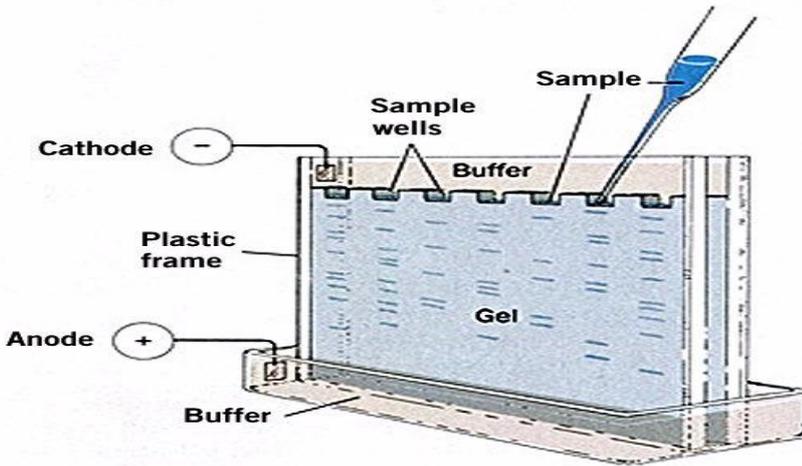
➤ **Chromatographie en gel-filtration:**

- Migration des molécules par gravité
- Les petites molécules sont ralenties par rapport aux grosses

➤ **Migration selon la taille et la charge des molécules**

- Les plus chargées (-) migrent plus loin vers l'anode
- Pour deux molécules de même charge:
- Les plus petites migrent plus loin que les plus grosses

➤ **La charge des molécules dépend du pH du tampon.**

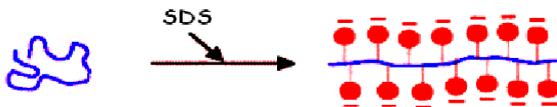


## SDS – PAGE :

Principe de formation du complexe SDS-protéines dénaturées

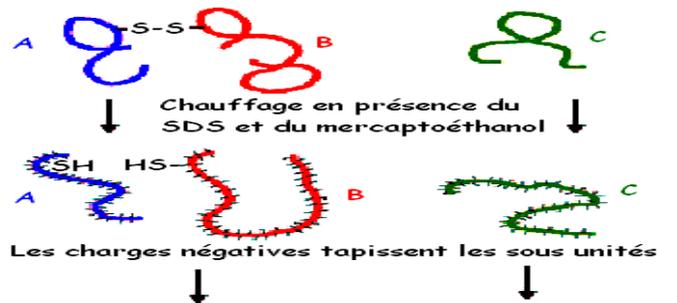


Combinaison d'une protéine avec SDS



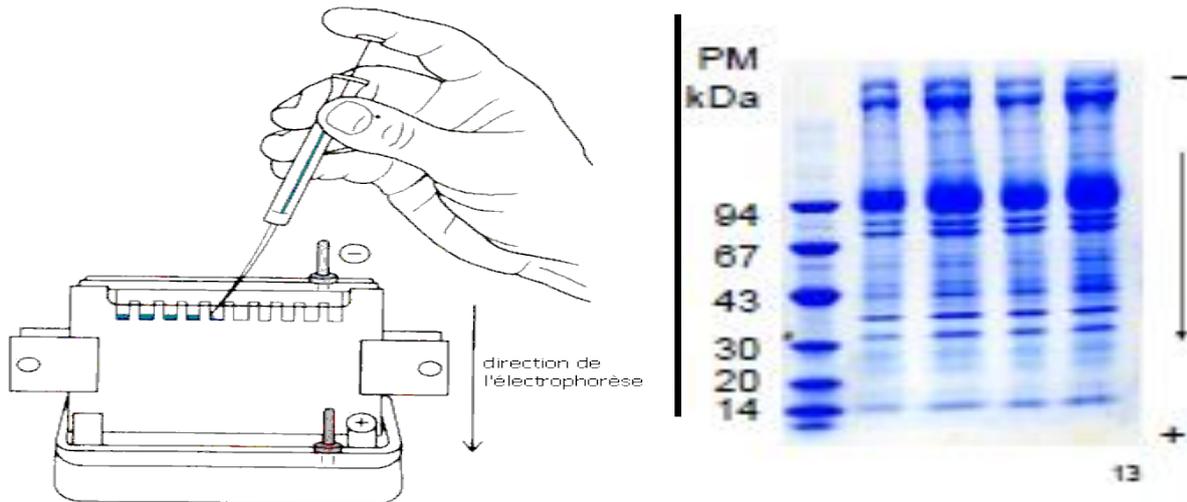
Les protéines sont chargées négativement.  
Elles migrent vers l'anode en fonction de leur PM

Protéine dimérique                      Protéine monomérique



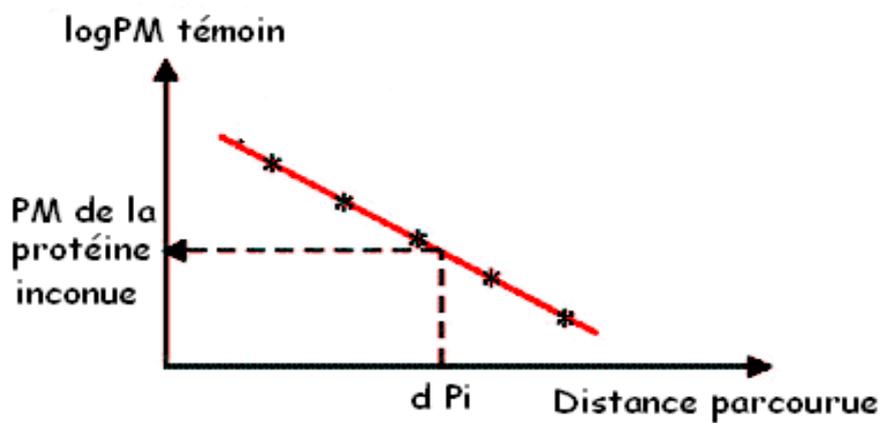
Electrophorèse en gel de polyacrylamide





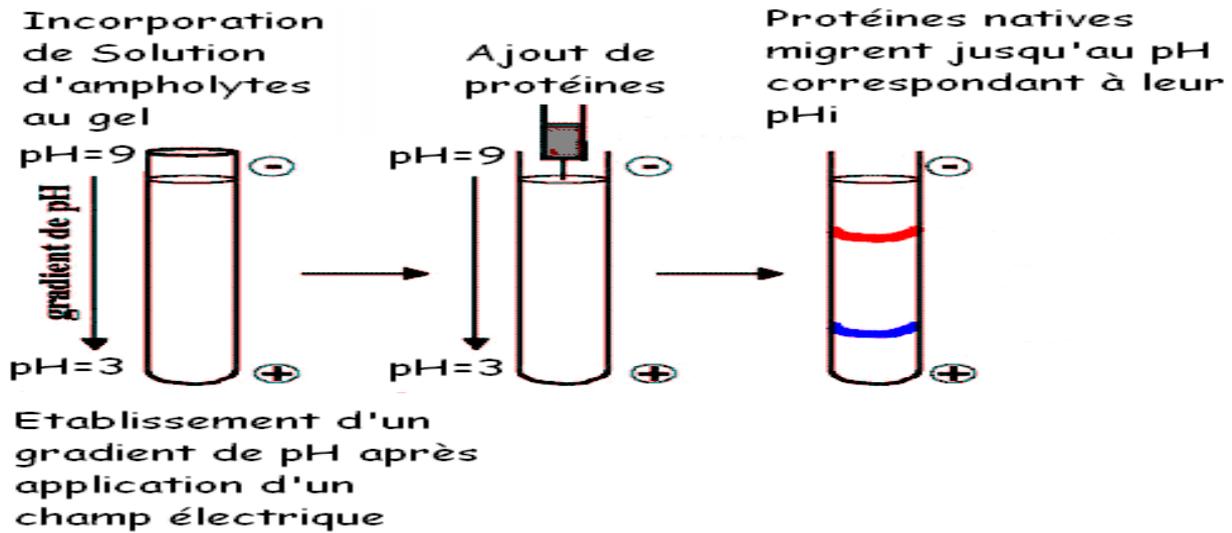
Détermination du PM d'une protéine inconnue par utilisation d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturant

On utilise des marqueurs (Protéines à PM connu)



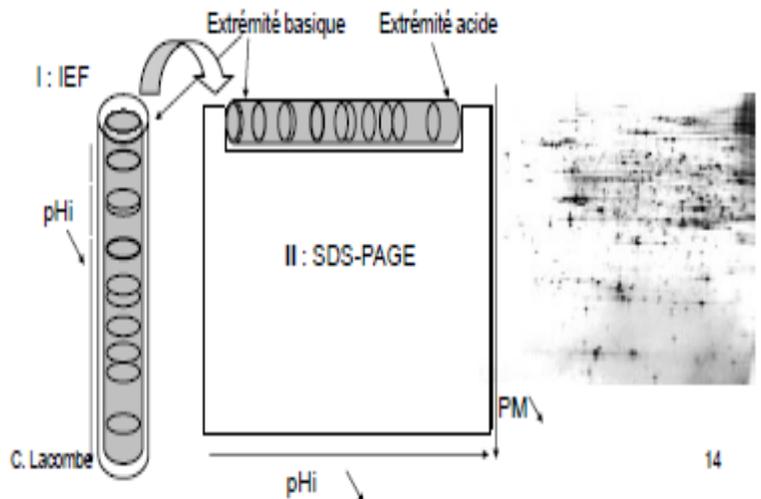
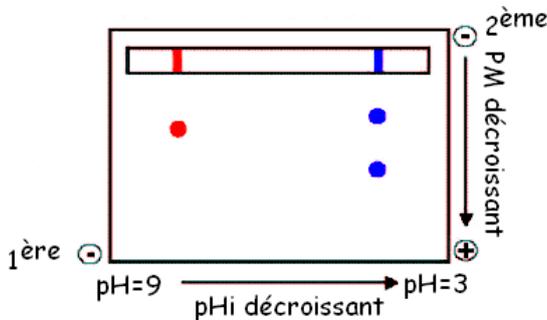
**IEF :**

- 1- Création d'un gradient de pH (solution d'ampholytes)
- 2- Séparation des protéines natives en fonction du pHi



**Électrophorèse bidimensionnelle :**

- 1<sup>ère</sup> dimension: séparation en fonction du pHi  
Electrophorèse sur gradient de pH
- 2<sup>ème</sup> dimension: séparation en fonction du PM  
Electrophorèse en gel de polyacrylamide: CDR



Val-His-Leu-Thr-Pro-**Glu**-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ala-Leu-Try-Gly-Lys-Val-Asp-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Try-Thr-Glu-Arg-Phé-Phé-Glu-Ser-Phé-Gly-Asp-Leu-Ser-Thr-Pro-Asp-Ala-Val-Met-Gly-Asp-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Gly-Ala-Phé-Ser-Asp-Gly-Leu-Ala-His-Leu-Asp-Asp-Leu-Lys-Gly-Thr-Phé-Ala-Thr-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asp-Phé-Arg-Leu-Leu-Gly-Asp-Val-Leu-Val-Cys-Val-Leu-Ala-His-His-Phé-Gly-Lys-Glu-Phé-Thr-Pro-Pro-Val-Glu-Ala-Ala-Tyr-Glu-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

**Hémoglobine normale (chaîne β)**

Val-His-Leu-Thr-Pro-**Val**-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ala-Leu-Try-Gly-Lys-Val-Asp-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Try-Thr-Glu-Arg-Phé-Phé-Glu-Ser-Phé-Gly-Asp-Leu-Ser-Thr-Pro-Asp-Ala-Val-Met-Gly-Asp-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Gly-Ala-Phé-Ser-Asp-Gly-Leu-Ala-His-Leu-Asp-Asp-Leu-Lys-Gly-Thr-Phé-Ala-Thr-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys-Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asp-Phé-Arg-Leu-Leu-Gly-Asp-Val-Leu-Val-Cys-Val-Leu-Ala-His-His-Phé-Gly-Lys-Glu-Phé-Thr-Pro-Pro-Val-Glu-Ala-Ala-Tyr-Glu-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

**Hémoglobine anormale (anémie falciforme)**