

Solution de l'exercice d'application

Etape 1 :

1/les trois fractions que l'on mélange sont : 3, 4,5.

-Nombre total d'UE recueilli :

$$(328+1256+216)(\text{UE/ml}) \times 5\text{ml} = 9000(\text{UE})$$

-Quantité totale de protéines : $(480+570+420) (\text{mg/ml}) \times 5\text{ml} = 7350\text{mg} = 7.35\text{g}$

- Volume d'élution : $5\text{ml} \times 4 = 20\text{ml}$

Etape 2 :

2/ Le type d'ion que peut échanger la résine de l'étape 2 : résine échangeuse de **cations**.

Justification : on a $\text{pH} (7.4) < \text{pI} (9.6)$ c'est-à-dire, la protéine est chargée positivement et se fixe sur la résine qui est chargée négativement.

Exemples : Cl^- , SO_3^- , COO^- , HCO_3^- ,.....

Le pH au quel va être réalisée l'élution pour cette chromatographie échangeuse d'ions est : **pH \geq 9.6**.

Justification : lorsque on modifie le pH : soit $\text{pH} = \text{pI}$ ou supérieur au pI de la protéine, cette dernière va changer de charge (nulle ou négative respectivement) et elle sera détachée et éluée.

3/Le volume d'élution de l'enzyme est : $5\text{ml} \times 6 = 30\text{ml}$.

4/

	protéines (g) :	AE (UE) :	rendement :	taux de purification :	AS
extrait :	25	10000	100	1	400
étape 1 :	7.35	90000	90%	3.06 fois	1224,5
étape 2 :	2.25	4910	49.1 %	5.45 fois	2182,2

5/ Calculs :

***Quantité totale de protéine étape 2**

$$A = C \cdot \varepsilon \quad C = A / \varepsilon \quad c = 0.74 / 115 = 6.43 \times 10^{-3} \text{mol/l}$$

$$m = C \cdot V \cdot M \quad m = 6.43 \times 10^{-3} \times 5 \times 10^{-3} \times 70000 \quad m = 2.25\text{g}$$

*** AE(UE) étape 2 :**

$$982 \times 5 = 4910\text{UE}$$

AS=activité enzymatique totale / protéine totale

$$\text{Étape 1: } A_s = 9000 / 7.35 = 1224.5 \text{ UE/g}$$

$$\text{Étape 2: } A_s = 4910 / 2.25 = 2182.2 \text{ UE/g}$$

Taux de purification = AS de l'étape x / AS de l'étape initiale

$$\text{Etape 1 : } 1224.5 / 400 = 3.06 \text{ fois}$$

$$\text{Etape 2 : } 2182.2 / 400 = 5.45 \text{ fois}$$

Rendement = AE de l'étape X / AE de l'étape initiale

Etape 1 : $9000 / 10000 = 90\%$

Etape 2 : $4910 / 10000 = 49.1\%$

- **Rendement global : 49,1%**

- **Conclusion : ce protocole de purification réalisé en 3 étapes, il permet de purifier la protéine 5,45 fois et récupérer 49,1% de la totalité des protéines (donc une perte de 50,9% de protéine).**