

Contrôle de Techniques d'analyse Biologique

Corrigé type

1/ Décrivez en 4-5 lignes le principe de chaque technique :

✓ L'électrophorèse (3 points):

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective : Les anions migrent vers l'anode et les cations migrent vers la cathode. Pour les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Du fait de leurs caractéristiques propres (charge, masse, forme) et des conditions de l'électrophorèse (nature du support, conditions physico-chimiques), la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces ions diffèrent, ce qui permet leur séparation

✓ Le dialyse (3 points) :

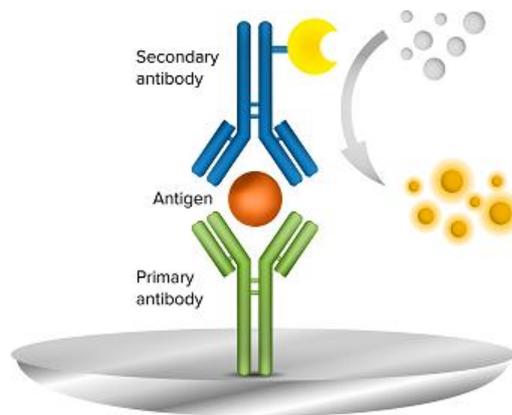
La dialyse est basée sur les principes régissant la diffusion à travers une membrane perméable ou semi-perméable. Les molécules diffusibles vont traverser la membrane selon le gradient de concentration et passe dans le dialysat. Il y aura donc un déplacement net des molécules du côté le plus concentré vers le côté le moins concentré. À l'équilibre, les concentrations de chaque espèce diffusible seront égales de part et d'autre. Si le volume du liquide à l'extérieur du boudin est très grand par rapport à celui de la solution à dialyser, cette égalité des concentrations implique que la majorité des molécules diffusibles, en termes de quantité, est en fait sortie de la solution. On peut amplifier cette élimination des molécules diffusibles en répétant ce processus. Les molécules de taille supérieure à la taille des pores restent du côté rétentat.

2/ Pour quoi on utilise le solvant tétrachlorométhane CCL₄ en résonance magnétique nucléaire (RMN) (2 points) :

On utilise le tétrachlorométhane puisque est un solvant dépourvu d'hydrogène pour ne pas masquer les protons de l'échantillon.

3/ Décrire la différence fondamentale entre les chromatographies d'adsorption et les chromatographies de partage (2 points) : La nature des phases stationnaire : solide pour les chromatographies d'adsorption et liquide pour les chromatographies de partage

4 / Quelle est la technique représentée par la figure suivante (2 points) :



- ELISA sandwich

5/ Pour déterminer la concentration d'hémoglobine dans un échantillon de sang par spectrophotométrie d'absorption moléculaire, on prépare une courbe standard d'absorbance à 412 nm de plusieurs solutions d'hémoglobine de concentrations connues. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous.

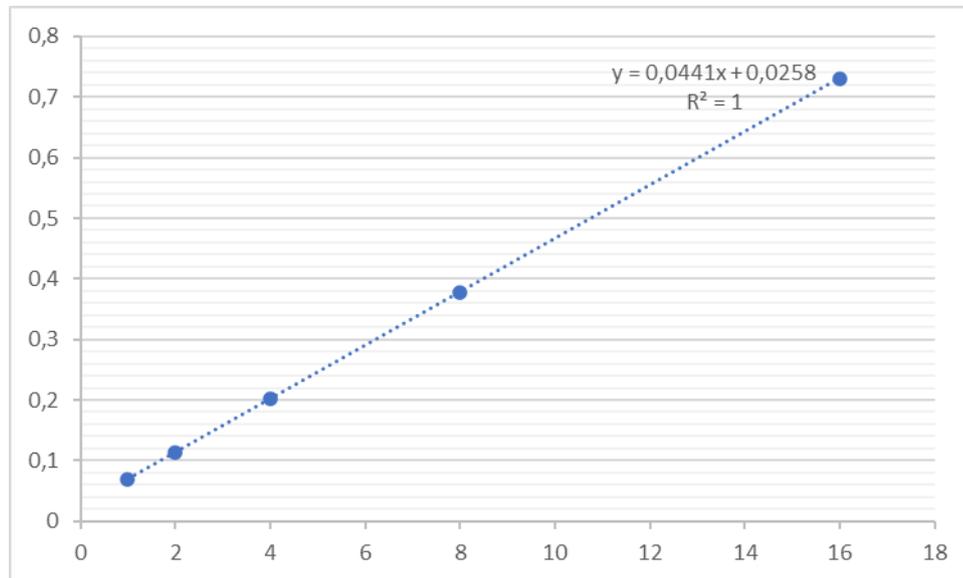
Questions (10 points) :

- Décrivez le principe de la technique utilisée en cette manipulation (3 points)
- Tracer la courbe : $D.O = f(\text{concentration en hémoglobine})$ (2 points)
- Est-ce que la loi de Beer-Lambert est vérifiée (2.5 points)
- Quelle est la concentration (en $\mu\text{g/ml}$) en hémoglobine dans un échantillon du sang présentant une densité optique à 412 nm égale à 0.45 ? (2.5 points)

Concentration hémoglobine ($\mu\text{g/ml}$)	Densité optique à 412 nm
1	0.070
2	0.114
4	0.202
8	0.378
16	0.731

- Dans cette manipulation ils ont utilisé la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible, le principe de cette technique est basé sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée.

- La courbe D.O = f (concentration en hémoglobine)



- La loi de Beer -Lambert est traduite par une fonction linéaire. Sa représentation graphique doit donc être une droite passant par l'origine. La figure ci-dessus représente bien une droite passant par l'origine. La loi de Beer-Lambert est donc vérifiée.

- la concentration (en µg/ml) en hémoglobine dans un échantillon du sang présentant une densité optique à 412 nm égale à 0.45 est 9.61 (µg/ml)