Université Larbi Ben M’hidi – Oum El Bouaghi. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. Département des S.N.V.

**Corrigé type : Procédés biochimiques de purification .**

1. En chromatographie les molécules du mélange sont soumises à deux forces : forces d’entrainement par la phase mobile et de rétention de la phase stationnaire, pour faire une séparation par migration différentielle des solutés……. **(2 pts)**
2. CPL normale : phase stationnaire polaire, phase mobile apolaire.

* CPL inversée : phase stationnaire apolaire, phase mobile polaire……..**(2 pts)**

2.2. Liaisons de Van der Waals ; liaisons hydrogènes, interactions hydrophobes….**(1.5 pts)**

1. Intérêt : comparer le résultat d’un soluté spécifique dans une chromatographie de même conditionnement afin de le déterminer.

Rf= dx soluté / D solvant ……………….**(1.5 pts)**

* 1. **Inférieur** à tous les pHi………..**(0.5 pts)**
  2. L’élution progressive par gradient de pH, par gradient de sel ou par compétition substrat.
* Explication……………**(1 pts)**
  1. Appareillage : réservoir à solvant ; pompe ; injecteur ; colonne ; détecteur et enregistreur ; collecteur…………..**(1.5 pts)**
  2. Base du traçage: DO de chaque soluté, temps d’émergence, volume d’élution…
* Informations à fournir : identification des composants du mélange, pHi et concentration des protéines………**(1.5 pts)**
  1. D-HPLC : denaturing high performance liquid chromatography: qui permet l’élution différentielle d’ADN homo- et hétéro-duplexes, pour la détection des mutations, de polymorphismes…..**(1 pts)**

1. Le gel d’agarose possède une faible adhésion au verre (glissement du sandwich) **(1 pts)**
2. Molécules **ampholytes**.

* Avantages : durée mois critique, molécules immobilisées………**(1.5 pts)**

1. Pour les molécules de haut poids moléculaire, comme l’ADN supérieur à 50 kb (15 à 100 kb)……… **(1 pts)**
2. Centrifugation **différentielle**.

* Principe : plusieurs centrifugations successives à des vitesses croissantes……**(1.5 pts)**

1. La centrifugation zonale vs isopycnique :…….. **(1.5 pts)**

* Gradient de densité de saccharose vs gradient de concentration de sel (chlorure de césium)
* Aucune interférence au milieu vs molécules isopycique par rapport au milieu
* Arrêt programmé de la centrifugation vs arrêt automatique une fois l’équilibre est atteint

11. La propriété capitale d’une ultracentrifugeuse analytique est la présence d’un système d’observation et de mesure pour suivre la migration des particules……..**(1 pts)**

**Dr Khennouchi N.C.H.**