

Biochimie, Techniques d'analyse. Contrôle TP S3

Source : Faculté des Sciences-Semlalia, Marrakech, Maroc
 Mise en ligne : <http://www.takween.com>

Réponses brèves à la fin du document



UNIVERSITE CADI AYYAD
 Faculté des Sciences Semlalia
 Département de Biologie

Nom :
 Prénom :
 N° Table :

Filière Sciences de la vie
 Semestre 3 - Année universitaire 2014-2015
 MODULE : TECHNIQUES CHIMIQUES POUR LA BIOLOGIE

Examen de TP Techniques d'Analyse
 Mercredi 04 février 2015/ Durée 1heure

Dans le but de doser les **fractions protéiques** dans un sérum humain, vous procédez simultanément par **deux techniques d'analyses**: D'une part, vous faites un **dosage colorimétrique par spectrophotométrie** des protéines totales selon la méthode de lowry, et d'autre part la technique de l'**électrophorèse sur papier acétate de cellulose** pour l'étude des différentes fractions protéiques.

- **Dosage colorimétrique par spectrophotométrie**

Pour la **gamme étalon**, vous préparez une solution albumine bovine SAB (100 µg/ml) que vous répartissez dans les tubes 2 à 5 selon le tableau ci-dessous.

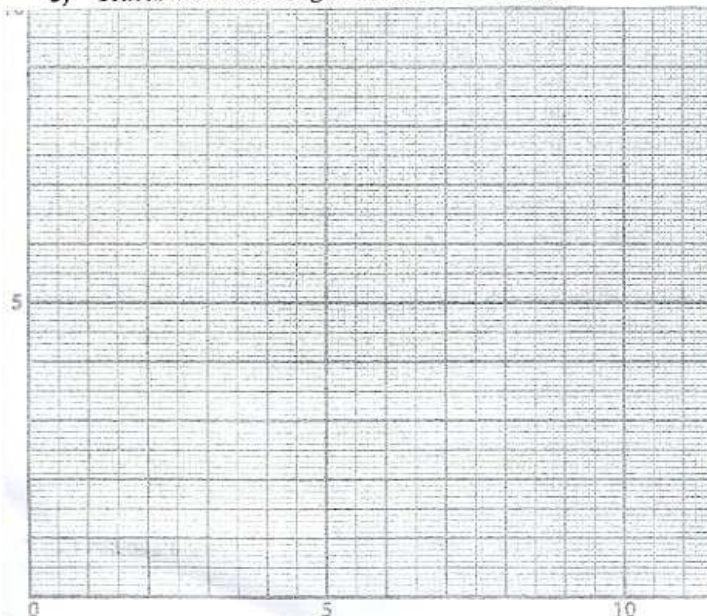
Dans le tube 6 vous mettez 0,01ml de votre **échantillon de sérum dilué au 1/20^e** (1ml sérum pour 19 ml eau dist.), Puis, en **vous référant** au protocole de Lowry, vous rajoutez dans les 6 tubes les réactifs (solution cupro alcaline, réactif de Folin et eau distillée) et vous assurez les temps d'incubation nécessaires.

La mesure de la DO au spectrophotomètre à 750nm est reportée dans le tableau suivant :

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6
SAB (100 µg/ml)	0 ml	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml	
Sérum dilué						0,01 ml
Quantité SAB en µg						
DO		0,160	0,260	0,370	0,465	0,285

Questions :

- 1) Précisez le rôle du tube 1
- 2) Complétez le tableau par la **D0** du Tube 1 et la **quantité en SAB** dans les tubes 2 à 5 en donnant 1 exemple de calcul
- 3) Tracez la courbe de la gamme étalon $D_0 = f(Q_{SAB})$, et en déduire la quantité des protéines totales dans le tube 6.



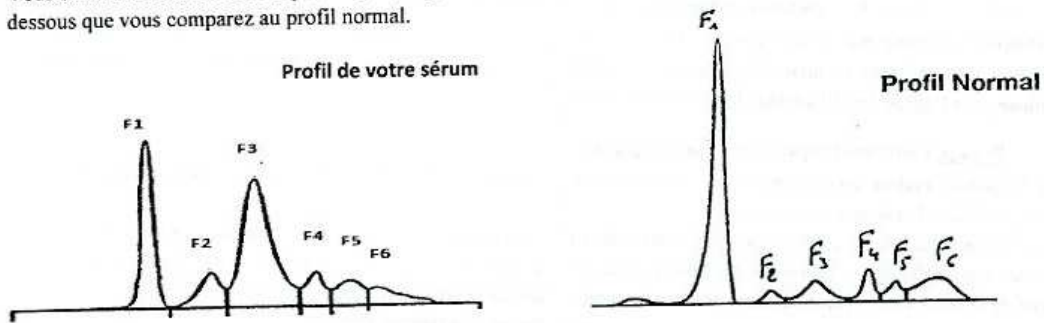
- 4) Calculer en g/l la concentration en protéines totales dans votre sérum et compléter le tableau ci-dessous.

.....

	Sérum
Concentration en protéines totales (en g/l)	

- Dosage par électrophorèse

Vous analysez votre sérum humain non dilué par la technique de l'électrophorèse sur acétate de cellulose. Vous obtenez une bande électrophorétique, et grâce à un densitomètre vous obtenez le profil électrophorétique ci-dessous que vous comparez au profil normal.



Questions

5) la concentration en protéines totales pour un sérum humain normal (non pathologique), est de 64 – 80 g/l, que pouvez-vous déduire pour votre sérum ?

La lecture des deux profils au densitomètre, a montré le pourcentage relative à chaque pic, reporté dans le tableau suivant :

Fractions protéiniques	Profil normal		Profil de votre sérum	
	%	g/L	%	g/L
F1 : albumine	59 à 69	39 à 45	30	
F2 : α 1 globuline	2 à 4	0,9 à 1,9	4	
F3 : α 2 globuline	6 à 11	5 à 7	43	
F4 : β 1 globuline	8 à 12	5 à 8	8	
F5 : β 2 globuline	4 à 7	2 à 5	4	
F6 : γ globuline	11 à 18	6 à 10	11	

6) En tenant compte des résultats des deux techniques d'analyse des protéines sériques, compléter le tableau ci-dessus.

7) Comparer les résultats des fractions au Profil normal en montrant la caractéristique de votre sérum

Réponses brèves

Avertissement: Une fois les examens et contrôles sont organisés par l'Institution d'origine, celle ci détient possession des archives qui deviennent disponibles sur les supports d'information (dont site web) de l'Institution et sont ainsi rendues accessibles pour aider les étudiants des années suivantes à préparer leurs contrôles et examens. Tout usage dans cette optique reste légal et n'enfreigne pas la loi. Les éléments d'information ci joints ne peuvent constituer les réponses complètes aux questions posées, considérant d'éventuels manques de précisions que le responsable de l'épreuve pourrait fournir suite à la demande des étudiants. Ces éléments de réponses n'engagent pas la partie ayant formulé les questions.

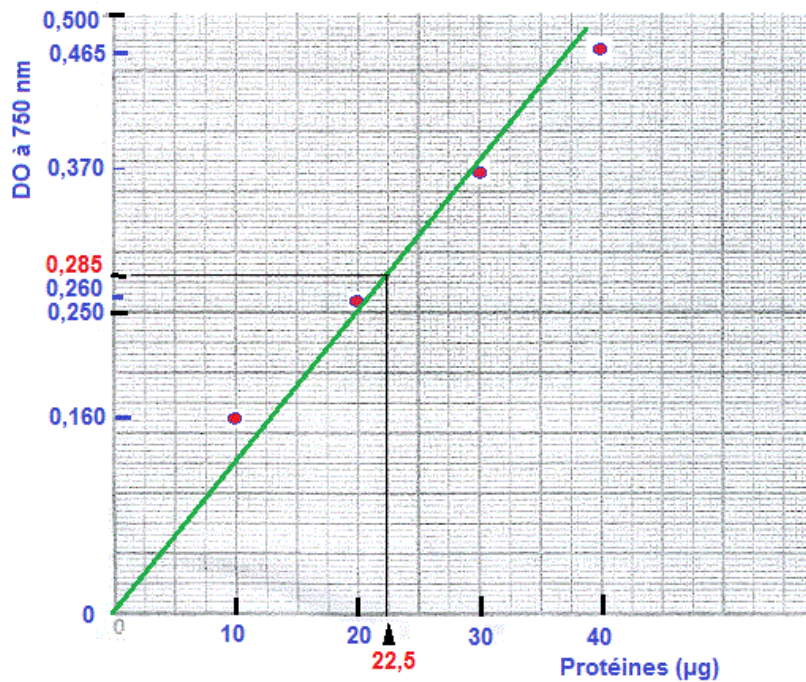
1/ Dosage des protéines par spectrophotométrie

- Rôle du tube N° 1 . Le tube 1, ne contenant pas de protéines (0 mg de SAB), sert de témoin pour la l'évaluation spectrophotométrique des protéines. Il permet de régler la densité optique (DO) à zéro, c'est-à-dire éliminer l'absorbance (DO) ne provenant pas des protéines.
- DO du tube 1. DO à 750 nm = 0.

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Quantité SAB en µg	0	10	20	30	40

Exemple de calcul : Tube 2 : 100 µg par 1ml et x µg par 0,1 ml. Ceci donne x = 10 µg

- tracer la courbe gamme étalon DO = f(quantité SAB)



Quantité de protéines dans le tube N°6 : 22,5 µg

4- Concentration des protéines (g/l) dans le sérum : 22,5 µg → 0.01 ml soit 2250 µg/ml ou 2,25 mg/ml ou 2,25 g/l. Comme le sérum est dilué 20 fois, on doit multiplier cette concentration par 20. Ceci donne un sérum de départ (non dilué) à 45 g/l.

2/ Evaluation des protéines par électrophorèse

- 5- Etat du sérum étudié : la concentration du sérum étudié (45 g/l) informe sur un état anormal du sérum humain, car l'état normal correspond à un intervalle de concentrations égal à 64-80 g/l.
 6- Tableau des fractions protéiques du sérum (profil protéique du sérum):

	%	g/L
F1 : albumine	30	13,5
F2 : alpha 1 globulines	4	1,8
F3 : alpha 2 globulines	43	19,35
F4 : béta 1 globulines	8	3,6
F5 : béta 2 globulines	4	1,8
F6 : gamma globulines	11	4,95

7- Comparaison des protéinogrammes des sérums normal et anormal : Le protéinogramme du sérum étudié (sérum anormal) est caractérisé par un taux faible en albumines (fraction F1) et un pourcentage très élevé en alpha 2 globulines (Fraction F3)