

# Objectif : mettre en évidence expérimentalement le phénotype moléculaire

## Capacités

**B1 : Saisir des informations et les relier au problème**

**C2 : Réaliser techniquement une manipulation**

## TECHNIQUE D'ANALYSE DES MOLECULES DE PROTEINE

### ♦ LES PROTEINES :

Les protéines sont des molécules constituées de séquences d'**acides aminés** liés entre eux par des liaisons appelées **liaisons peptidiques**. Les acides aminés sont des petites molécules comportant fondamentalement 2 atomes de Carbone (C), 4 atomes d'Hydrogène (H), 2 atomes d'Oxygène (O) auquel s'ajoute un groupe d'atomes spécifique à chaque variété d'acide aminé. Dans les protéines, on dénombre environ 20 acides aminés différents.

Plusieurs protéines peuvent être liées entre elles ; c'est le cas de la molécule d'hémoglobine qui comporte 4 chaînes protéiques : 2 chaînes Alpha ( $\alpha$ ) et 2 chaînes Bêta ( $\beta$ ). Les liaisons s'établissent entre des acides aminés des différentes chaînes. Ces liaisons ne sont pas des liaisons peptidiques, elles sont moins fortes et peuvent être rompues par des traitements physiques (chauffage).

Les protéines sont des chaînes linéaires plus ou moins longues, donc plus ou moins grandes, selon le nombre d'acides aminés qui les composent. Ainsi, on distingue :

- les **peptides** composées de quelques acides aminés à quelques dizaines d'acides aminés.
- les **polypeptides** composés de quelques centaines d'acides aminés.
- les **protéines** composées de plusieurs milliers d'acides aminés.

### ♦ LES TECHNIQUES D'ANALYSE :



Ici, la technique utilisée pour étudier la composition de la molécule d'hémoglobine est celle dite des **empreintes digitales d'Ingram**. On compare 2 molécules de nature voisine. Connaissant la structure de l'une d'entre elle, on veut déterminer celle de la seconde. On cherche donc les parties des protéines qui ne sont pas identiques.

Pour cela, on réalise successivement pour les deux protéines découpées en peptides, une **électrophorèse** suivie d'une **chromatographie sur papier**.

**Le principe de ces deux techniques doit être impérativement connu !**

*Les molécules utilisées pour illustrer ces techniques sont différentes de la molécule d'hémoglobine.*

## I - RÉALISATION DE LA CHROMATOGRAPHIE

CAPACITES	BAREME	ACTIVITES ET CONDITIONS DES ACTIVITES	EXIGENCES
<b>B1</b>		On dispose du matériel suivant : <ul style="list-style-type: none"><li>☞ feuilles chlorophylliennes</li><li>☞ deux éprouvettes</li><li>☞ papier aluminium</li><li>☞ deux bandes de papier Whatmann</li><li>☞ deux solvants</li></ul>  <b>Manipuler les solvants avec précaution</b>	Bien lire !
<b>C2</b>		A/ <b>Déposer</b> de la chlorophylle brute à 2 cm et au milieu d'une extrémité de la bande de papier Whatmann qui sert de support à la chromatographie. B/ <b>Placer</b> la bande de papier (dépôt en bas) dans une éprouvette contenant un des deux solvants mis à disposition, de manière à ce que son bord inférieur trempe dans le solvant.  <b>Manipulez la feuille par la tranche afin de ne pas la graisser avec les doigts, le dépôt ne doit pas tremper dans le solvant.</b> C/ <b>Fermer</b> l'éprouvette et maintenez la à l'obscurité pendant 20 minutes. D / <b>Réaliser</b> la même opération avec le deuxième solvant.	Travailler... ...proprement ...avec calme ...avec précision ...en respectant les consignes de sécurité