

Purification par précipitation	Masse/taille	Charge/pH
<p>Précipitation par sels anti-chaotropiques ou relargage</p> <p>Le sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$ est capable de piéger l'eau et d'induire la précipitation des protéines.</p> <p>+ la protéine est hydrophile + il faudra de sels pour la faire précipiter.</p> <p>Cette technique joue sur les propriétés de solubilité des protéines.</p>	<p>Dialyse</p> <p>Sac de dialyse dans un tampon (tampon sans molécules de petite taille) : les <u>grosses protéines</u> restent dans le sac, les petites diffusent dans le tampon (taille des pores variable)</p>	<p>Chromatographie par échange d'ions</p> <p>Les molécules sont retenues si leur charge est opposée à celle que porte la colonne.</p> <p><u>Colonne + → charges - = colonne échangeuse d'anions</u></p> <p><u>Colonne - → charges + = colonne échangeuse de cations</u></p>
	<p>Chromatographie par filtration sur gel / chromatographie d'exclusion / tamisage moléculaire</p> <p>Utilisation d'une colonne remplie de billes poreuses → les petites molécules vont "perdre du temps" dans les billes alors que les <u>grosses molécules</u> vont très vite traverser la colonne.</p>	
	<p>Electrophorèse sur gel de polyacrylamide dans des conditions dénatrantes (SDS-PAGE)</p> <p>Mélange de protéines + SDS + βmercaptoéthanol/DTT</p> <p>SDS(-) fixent les chaînes principales (1 SDS pour 2 AA)</p> <p><u>charge - proportionnelle à la masse de la protéine</u></p> <p><u>distance de migration dans le gel proportionnelle au log de la masse de la protéine</u></p>	<p>Electrophorèse sur gel</p> <p>On place la protéine dans un champ électrique.</p>
	<p>Electrophorèse bidimensionnelle</p> <p>Combinaison entre électrofocalisation (pH) + technique SDS-PAGE</p>	<p>Electrofocalisation</p> <p>On forme un gradient de pH dans le boudin d'acrylamide. Les protéines migrent à la position où le gradient correspond à leur pHi (leur charge devient neutre, elles s'arrêtent de migrer)</p>
<p>Précipitation isoélectrique</p> <p>Cette technique revient à modifier le pH de la solution pour se placer au pHi de la protéine:</p> <p>↪ la protéine devient globalement neutre → il n'y a plus de répulsion électrostatique → formation d'agrégats → on peut la récupérer par centrifugation.</p>	<p>Spectrométrie de masse</p> <p>Permet: la détermination de la masse, la purification, la séparation et le dosage de la protéine.</p>	<p>Electrophorèse bidimensionnelle</p>
	<p>Spectrométrie de masse de MALDI-TOF</p> <p>Ionisation de la protéine par un laser. Un champ électrique accélère les ions. Les + légers arrivent en premier et le laser mesure le temps de vol (ou TOF) des ions, il peut également déterminer la masse.</p>	