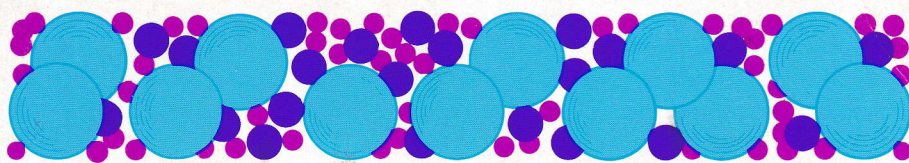


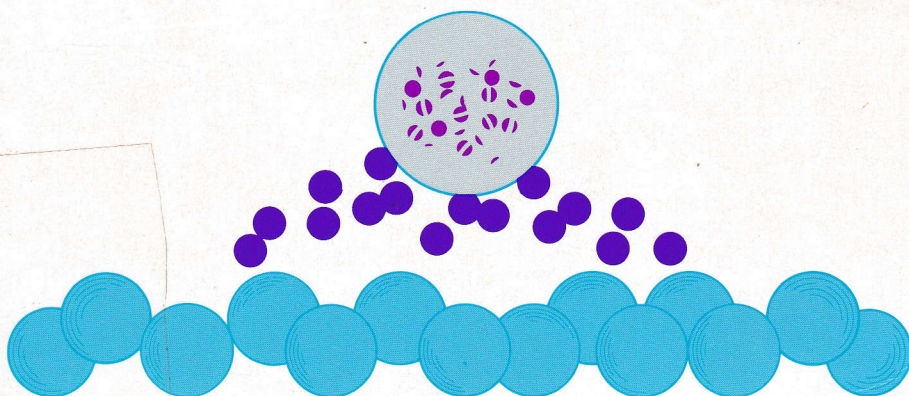
techniques de laboratoire

8



LES MÉTHODES DE PURIFICATION ET D'ANALYSE DES PROTÉINES

JEAN-MARIE FRÈRE CHARLES GERDAY



MASSON

Le biochimiste se trouve souvent confronté à des problèmes de purification de protéines ou de vérification de leur homogénéité. L'utilisateur inexpérimenté reste parfois perplexe devant l'important éventail de techniques aujourd'hui disponibles, ne sachant ni opérer une sélection, ni élaborer une stratégie rationnelle.

C'est à cet utilisateur que s'adresse cet ouvrage, qui reprend et complète les notes du cours « Purification et analyse des protéines » donné par les auteurs dans le cadre du « Certificat de Biophysique », organisé depuis 1975 par l'Université de Liège.

Sans se prétendre exhaustif, ce livre décrit la théorie et les applications des méthodes proposées, en insistant particulièrement sur les aspects pratiques et en discutant les avantages et les limitations de chaque technique.

Il est le fruit de l'expérience acquise par les auteurs au cours de leurs travaux relatifs à la chimie des protéines et à l'enzymologie.



ISBN : 2-225-68850-8



Table des matières



Avant-propos	7
Abréviations et symboles	8
Première partie. — Les méthodes chromatographiques	9
1. Théories générales de la chromatographie	11
Introduction	11
Coefficient de partage	11
Isothermes	12
Déséquilibre local	13
Théorie des plateaux	13
Théorie cinétique	14
2. Les tamis moléculaires	16
Principe	16
Types de tamis	16
Choix du support. Dimensions des grains	19
Coefficient de distribution	20
Pouvoir de résolution	21
Facteurs influençant la séparation	21
Applications	22
Détails pratiques	25
3. L'échange d'ions	28
Principe	28
Aspects théoriques	28
Types d'échangeurs et propriétés	30
Courbes de titration. Capacité	36
Applications et aspects pratiques	37
4. La chromatographie d'affinité	44
Principe	44
Supports solides	45
Ligands	46
Principaux types de supports activés	47
Aspects pratiques	49
5. Autres méthodes chromatographiques	56
La chromatographie hydrophobe	56
Adsorption sur gel de phosphate calcique	58
Adsorption sur gel d'hydroxylapatite	58
Elution par un substrat ou un effecteur	59
Chromatographie liquide de haute performance	59

Deuxième partie. — Les méthodes non chromatographiques	61
6. L'électrophorèse	63
Considérations théoriques	63
Electrophorèse en milieu homogène	66
Electrophorèse en milieu hétérogène	68
7. L'ultracentrifugation	85
Généralités	85
Caractéristiques principales des instruments	85
Sédimentation de vitesse	89
Sédimentation d'équilibre et détermination des poids moléculaires	100
Résumé des principales applications	102
Ultracentrifugation préparative	102
8. Dialyse. Ultrafiltration. Lyophilisation	107
Dialyse	107
Ultrafiltration	108
Lyophilisation	112
9. Les méthodes de précipitation	113
Précipitation au sulfate ammonique	113
Ions de métaux lourds	114
Conditions extrêmes	114
Précipitation par les solvants organiques	114
10. Conclusion. Notion de stratégie	115
Isolement de la protéine	115
Vérification de la pureté	118
Ouvrages à consulter	119
Index	125