B - Séparation de deux protéines

On se propose d'étudier la séparation de deux protéines grâce à une ultra centrifugeuse. Pour cela on étudie d'abord la sédimentation de particules suffisamment petites pour que l'agitation thermique limite l'accumulation de particules au fond du récipient .

I SEDIMENTATION

Un tube vertical de section **S** de longueur **L** contient un solvant incolore et **N** particules de couleur bleue. Au temps t=0 la solution est homogène. On appelle ρ_m la masse volumique des particules et ρ_s la masse volumique du solvant avec $\rho_m > \rho_s$. La concentration des particules en un point M d'ordonnée **z** sera notée **C(z).**

B.I.1 Comment va évoluer la couleur de la solution ? Justifier qualitativement en trois lignes maximum.

B.I.2 Chaque particule (masse m) est soumise à son poids, à la poussée d'Archimède et à une force de frottement visqueux $\vec{F} = -\vec{v}/\mu$ (μ est une constante dont on précisera la dimension).

B.I.2.a En appliquant le principe fondamental de la dynamique, trouver la vitesse des particules et montrer que celles-ci atteignent une vitesse limite que l'on déterminera.

B.I.2.b En déduire la densité volumique de courant de particules $\vec{j_g}$ due à la gravitation.

B.I.3 Il apparaît alors une hétérogénéité de la concentration : **C(z),** donc un courant de diffusion de particules. Ecrire la densité volumique de courant de particules $\vec{j_d}$ due à la diffusion (on notera **D** le coefficient de diffusion).

B.I.4 On s'intéresse maintenant au régime permanent. Montrer que la concentration **C(z)** peut s'écrire :

$$C(z) = C(0)\, e^{-z/H}.$$

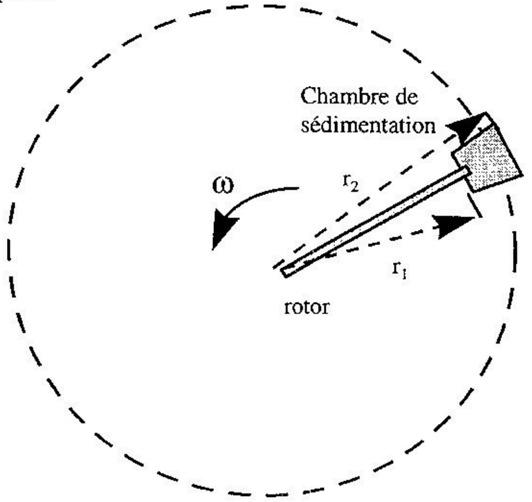
Donner l'expression de **H.**

Application numérique : Les particules sont des macromolécules : $M = 5\ 10^4$ kg mol^{-1} ; $N_a = 6{,}02 \times 10^{23}$; $g = 9.8$ ms^{-2}, $D/\mu = 4{,}1 \times 10^{-21}$ SI, $\rho_s = 1$ kg dm^{-3} ; $\rho_m = 1{,}3$ kg dm^{-3} . Calculer **H.**

B.I.5 Déterminer la concentration **C(0)** en fonction du nombre **N** de particules contenues dans la solution, de **H** et des paramètres géométriques du problème. En déduire l'expression de **C(z)** et comparer avec **B-1-1**

II. SEPARATION DE DEUX PROTEINES

On utilise maintenant une ultra centrifugeuse constituée par une chambre de sédimentation placée à l'extrémité du bras d'un rotor de longueur r_1= 6cm qui tourne à la vitesse ω dans un plan vertical (Figure ci-dessous). La vitesse de rotation est choisie de façon à ce que la norme de la force d'inertie centrifuge soit au moins 10^5 fois plus grande que celle du poids



B.II.1 Evaluler la vitesse de rotation du rotor.

B.II.2 A l'intérieur de la chambre de sédimentation est placé un solvant dont la masse volumique n'est plus constante, mais varie de ρ_1 pour $\mathbf{r=r_1}$ à ρ_2 pour $\mathbf{r=r_2}$ avec $\mathbf{d\rho_s/dr}$ constant et égal à **b**. .Déterminer **b** et donner l'expression de ρ_s en fonction de **b**, ρ_1, $\mathbf{r_1}$ et **r**. Pour quelle valeur $\mathbf{r_m}$ de **r** a-t-on $\rho_s = \rho_m$ si : $\rho_1 < \rho_m < \rho_2$?

B.II.3 On introduit dans la chambre de sédimentation des particules (macromolécules de protéine de masse molaire **M**) de masse volumique ρ_m. Soit R' le référentiel lié au bras du rotor.

B.II.3.a Déterminer l'équation de la statique des fluides dans R'. En déduire l'expression des forces de pression sur la particule.

B.II.3.b Déterminer dans R' la vitesse limite des particules. On justifiera que l'on peut négliger l'effet de la force de Coriolis ($\mu=10^{10}$ S.I)

B.II.3.c Quelle est la densité volumique de courant de particules due au champs de force.

B.II. 4 Déterminer la densité volumique de courant de particules due à la diffusion.

B.II.5 En déduire l'équation différentielle à laquelle satisfait **C(r)** en régime permanent (on écrira l'équation différentielle en utilisant **b** et $\mathbf{r_m}$)

B.II.6 Pour résoudre cette équation différentielle, on peut admettre que le terme $\boldsymbol{\omega^2 r}$ a la même valeur: $\mathbf{a=10^5\,g}$ en tous les points de la chambre de sédimentation. Montrer que, en régime permanent, la concentration en protéines s'écrit:

$$C(r) = C(r_m)\, e^{-\left(\frac{r - r_m}{L}\right)^2}$$

Donner l'expression de L. Faire une application numérique en utilisant les données précédentes et b=5kg.dm^{-4}.

B.II.7 Donner l'allure de la courbe C(r). Déterminer la largeur l de la courbe à mi-hauteur.

B.II.8 On introduit maintenant deux protéines de même masse molaire, mais de structures différentes et donc de masses volumiques légèrement différentes ρ_{m1} et ρ_{m2}. Tracer les graphes donnant les concentrations $\mathbf{C_1(r)}$et $\mathbf{C_2(r)}$ en fonction de **r** et en proposer une condition sur la différence minimale entre les deux masses volumiques pour que les deux protéines soient effectivement séparées.