

TP 1 : Extraction des lectines des lentilles rouges

Introduction

Les lectines simples sont retrouvées surtout dans les graines des légumineuses. Les lectines sont des protéines hydrosolubles qui se lient spécifiquement aux hydrates de carbone. Elles possèdent la capacité bien connue d'agglutiner les érythrocytes (agglutinines) ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses.

But du TP

Le TP s'est concentrée sur l'extraction des lectines végétales à partir des graines des lentilles rouges, réalisées par broyage et trempage dans une solution de PBS.

Matériels et Appareillage

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> -Béchers -Barres d'agitations -Portoir des tubes à essai -Agitateur - Réfrigérateur - Micropipette | <ul style="list-style-type: none"> - Pissette d'eau distillée -Eprouvette gradué - Bandelettes de test pH 1-14 -Etiquettes - Balance analytique |
|---|--|

Préparations des solutions

1. Préparation de 200 mL du tampon phosphate "Phosphate Buffered Saline" (PBS) (0.1M, pH=7.4) pour l'extraction des lectines selon le tableau suivant : Compléter le tableau.

Produits chimiques utilisés	Masse molaire	Concentration	Quantité
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	141.96 g/mole	0.01M	g
Phosphate de monopotassium (KH ₂ PO ₄)	136,09 g/mole	0.0018M	g
Chlorure de sodium (Na Cl)	58,44 g/mole	0.137 M	g
Chlorure de Potassium (KCl)	74,55 g/mole	0.0027 M	g
Eau distillée	/		200mL

2. Préparation des solutions de la titration : HCl (0.1 M) et NaOH (0.1 M)

	Concentration	Quantité dans 20 mL
HCl	0.1 M	mL
NaOH	0.1 M	g

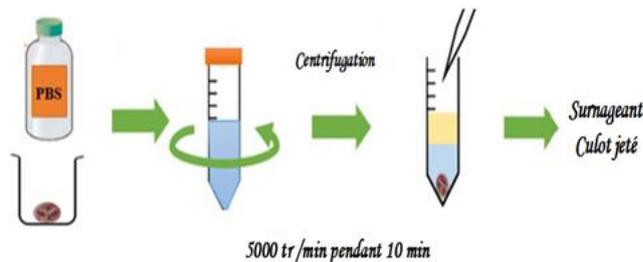
- Préparation 10 mL tampon PBS à différentes valeurs de pH en allant de (4, 5, 9, 12), après 8 jours d'incubation à 4°C en utilisant les solutions de titrations HCl (0.1 M) et NaOH préparés précédemment (0.1 M).

✚ Extraction des lectines (protéines végétales)

L'extraction est une opération visant à récupérer des substances protéiques hydrosolubles « lectines » à partir de la poudre de lentilles rouges à l'aide d'une solution tampon PBS.

Mode opératoire

- Les grains de lentilles rouges ont été broyés dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre. 48 g de poudre obtenue à partir de lentille rouge a été mise dans un bécher contenant 160 mL de la solution tampon PBS (0,1 M ; pH=7,34) pendant 8 jours au réfrigérateur (4°C).



*48g de poudre dans 160 mL de PBS (0.1 M,
pH= 7.4) 8 jours à 4°C*

- Dans 5 tubes à essai on verse 2.5g de poudre de lentille rouge avec 10 mL de tampon PBS à différentes valeurs de pH en allant de (4, 5, 9, 12), pendant 8 jours d'incubation à 4°C.
- Durant la 2^{ème} séance du TP, les préparations précédemment préparés sont centrifugé à 5000 tr /min pendant 10 min. Enfin, Les surnageant obtenus ont été utilisés pour évaluer la présence de lectines et les culots ont jeté. Les extraits bruts obtenus ont été conservés au réfrigérateur et ont servi pour le test d'hémagglutination.

Présentation du 1^{er} compte rendu du TP

Il doit comporter :

- Intitulé de la séance du TP
- But de TP :
- Préparations des solutions réalisées durant la séance du TP (tableaux).
- Schéma d'extraction des lectines végétales.
- Réponses aux questions suivantes :
 - Quel est le but de respecter les étapes d'extraction des protéines en général ?
 - Existe- il une démarche prédéfinie de l'extraction et de la purification des protéines. Si non, vous dites pourquoi ?
 - Citez les méthodes d'extractions des protéines ?
 - Le tampon de lyse doit répondre à certaines exigences expérimentales, lesquelles ?