

Nom, prénom (last name, 1st name):

.....

Question 1 Recherche de la pureté / The search for purity

5 Pts

On vous demande de purifier une protéine recombinante équipée d'un His-tag et produite en bioréacteur à l'aide d'une souche de *E. coli*. Proposez une suite logique d'opérations unitaires permettant d'atteindre cet objectif. Commentez et justifiez brièvement vos choix.

You are requested to purify a recombinant protein fitted with a His-tag and produced in a bioreactor with a strain of E. coli. Propose a logical sequence of unit operations that enable you to achieve this goal. Briefly comment and justify your choices.

This image shows a single page of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page, leaving small margins at the top and bottom. There are no vertical margin lines, and the page is completely blank except for the lines themselves.

Question 2 **Que suis-je ? / What am I****3 Pts**

a) Je suis une technique de séparation thermique très coûteuse avec une grande sélectivité et des rendements élevés, mais une capacité réduite et une rapidité moyenne. Je suis

a) I am a very expensive, thermal separation technique with high selectivity and yields, but a reduced capacity and average rapidity. I am

Question 3 **L'objet mystérieux / The mysterious device****2 Pts**

1. Qu'est-ce qui est représenté dans la photo de gauche? (type et variété)
2. A quoi peut-il être utilisé? (2 exemples)

1. *What is represented in the picture on the left? (type and sort of device)*
2. *What can it be used for? (2 examples)*

Question 4 **Rendement global / Overall yield****2 Pts**

Il m'a fallu cinq étapes pour purifier ma protéine recombinante, dont les rendements individuels valent 98, 67, 92, 85 et 42%.

- Calculez le rendement global de cette purification ainsi que le rendement moyen de chaque étape.

It took me five steps to purify my recombinant protein, which individual yields amounted to 98, 67, 92, 85 and 42% respectively.

- *Calculate the global yield of recovery of this purification as well as the average yield of each step.*

Question 5 **Vitesse de sédimentation libre / Free settling velocity**

4 Pts

Une sphère en acier inox (masse volumique 7.8 g/cm^3) sédimente à une vitesse constante de 59.1 cm/s dans de l'huile de moteur SAE 40 dont la masse volumique vaut 875 g/L et la viscosité $800 \text{ mPa}\cdot\text{s}$.

- Calculez le diamètre de la bille.

A stainless steel sphere (density 7.8 g/cm³) sediments at a constant velocity of 59.1 cm/s in SAE 40 motor oil with a density of 875 g/L and a viscosity of 800 mPa·s.

- Calculate the diameter of the bead.

[illegible]

Question 6 **Le facteur à une lettre / A factor with a meaning**

2 Pts

Expliquez l'origine et la signification du facteur Σ comme paramètre caractéristique de la performance d'une centrifugeuse

Explain the origin and the meaning of the Σ factor as a characteristic parameter of a centrifuge's performance

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is a vertical margin line on the left side, creating a narrow left margin. The paper appears to be from a notebook or a standard ruled document.

Question 7 **Cherchez l'intrus / Spot the odd one**

3 Pts

Soulignez (ou surlignez) le terme qui n'a pas sa place dans chacune des deux listes ci-dessous, et justifiez votre choix.

Please underline or highlight the odd term in each of the following two lists, and justify your choice.

- Distillation – Cristallisation – Chromatographie d'exclusion de taille – Extraction L/L – Précipitation – Adsorption
- Destillation – Crystallization – Size Exclusion Chromatography – L/L Extraction – Precipitation – Adsorption

[illegible]

Question 8 **Au four et au moulin / the run of the mill**

3 Pts

A quoi faut-il s'attendre si on augmente la concentration en cellules dans la suspension lors d'une lyse dans un moulin à billes ? Et dans un homogénéisateur à haute pression ?

What should you expect if you increase the cell concentration in a suspension you are about to lyse in a bead mill ? And in a high pressure homogenizer?

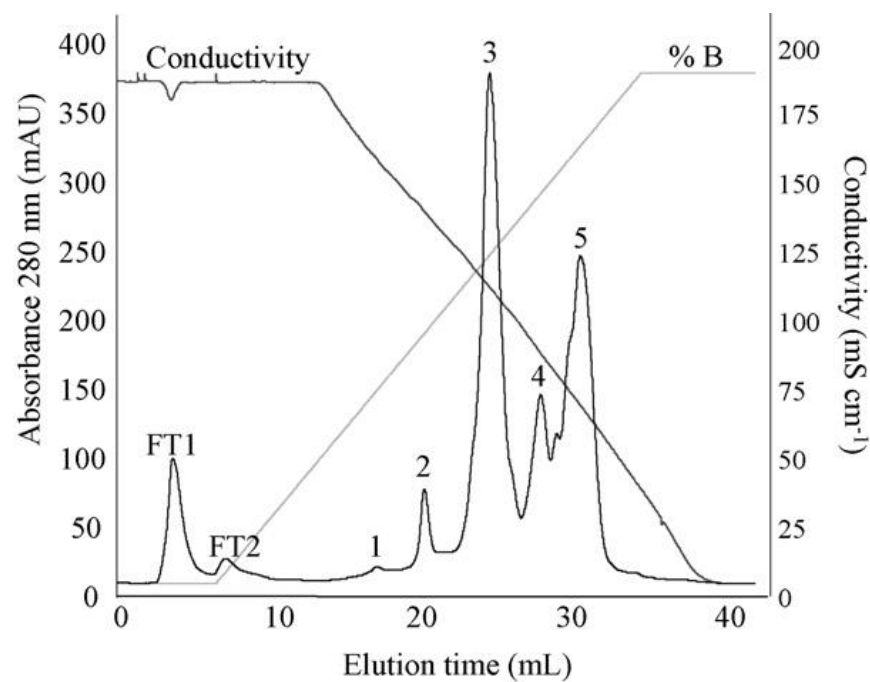
This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is no handwriting or other markings on the paper.

Question 9 **Quelle chromatographie ? / Which chromatography ?**

3 Pts

a) De quel type de chromatographe le chromatogramme ci-dessous est-il caractéristique ? Justifiez votre réponse.

a) Of which type of chromatography is the chromatogram below a typical example? Please justify your answer.



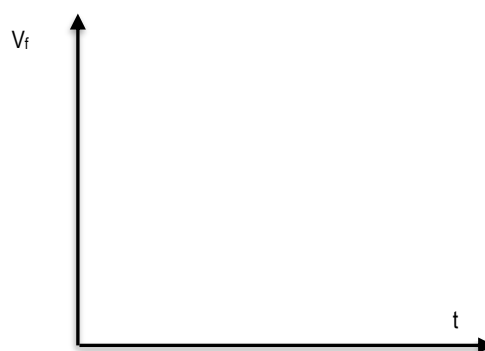
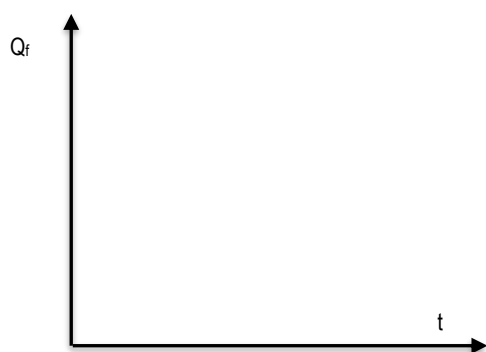
Question 10 Filtration frontale / Dead-end filtration**3 Pts**

a) Pour une filtration frontale à Δp constant, dessinez qualitativement les courbes du débit de filtrat Q_f en fonction du temps t et du volume de filtrat récolté V_f en fonction du temps t .

b) Quelle relation y a-t-il entre les deux courbes ?

a) For a dead-end filtration at constant Δp , please draw schematically the evolution of filtrate flowrate Q_f as a function of time t and of the collected filtrate volume V_f as a function of time t .

b) Which connection can you identify between both curves?



Question 11 Problèmes et solution / problems and solution**3 Pts**

Quels sont les problèmes associés à l'extraction de protéine à l'aide de solvants organiques immiscibles ?

Quelle solution a été proposée ?

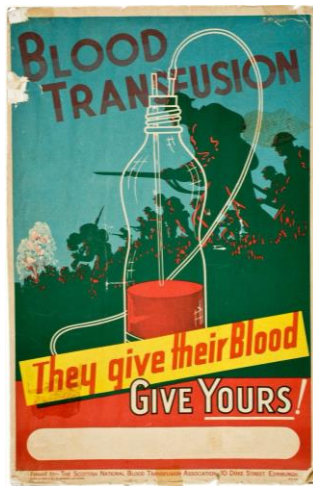
Which are the problems associated with the extraction of proteins using immiscible organic solvents ?

What solution was proposed ?

[illegible]

Question 12 **Quel est le rapport ? / What's the connection ?**

2 Pts



Quel est le rapport entre cette affiche de la 2^{ème} guerre mondiale, Edwin J. Cohn et la précipitation de protéines ?

What is the connection between this World War II poster, Edwin J. Cohn and protein precipitation?

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is a vertical margin line on the left side, creating a narrow left margin. The paper appears to be from a notebook or a standard writing template.

Question 13 **Centrifugation / Centrifugation**

5 Pts

La vitesse de sédimentation libre de cellules de *Pichia pastoris* (une levure) dans leur milieu de fermentation a été mesurée et vaut 4.907 mm/h.

Je souhaite les séparer du liquide avec une centrifugeuse à plateaux dont le facteur Σ vaut 2'500 m^2 .

- Combien de temps me faudra-t-il pour clarifier le contenu de mon bioréacteur, soit 25 m³ ?

The free settling velocity of *Pichia pastoris* cells (a yeast) in their fermentation broth has been measured at 4.907 mm/h.

I would like to separate them from the liquid with a disc stack centrifuge which Σ factor is 2'500 m².

- *How long will it take to clarify the content of my bioreactor, i.e. 25 m³?*

[illegible]

Question 14 **Chromatographie éch. d'ions / IEX chromatography**

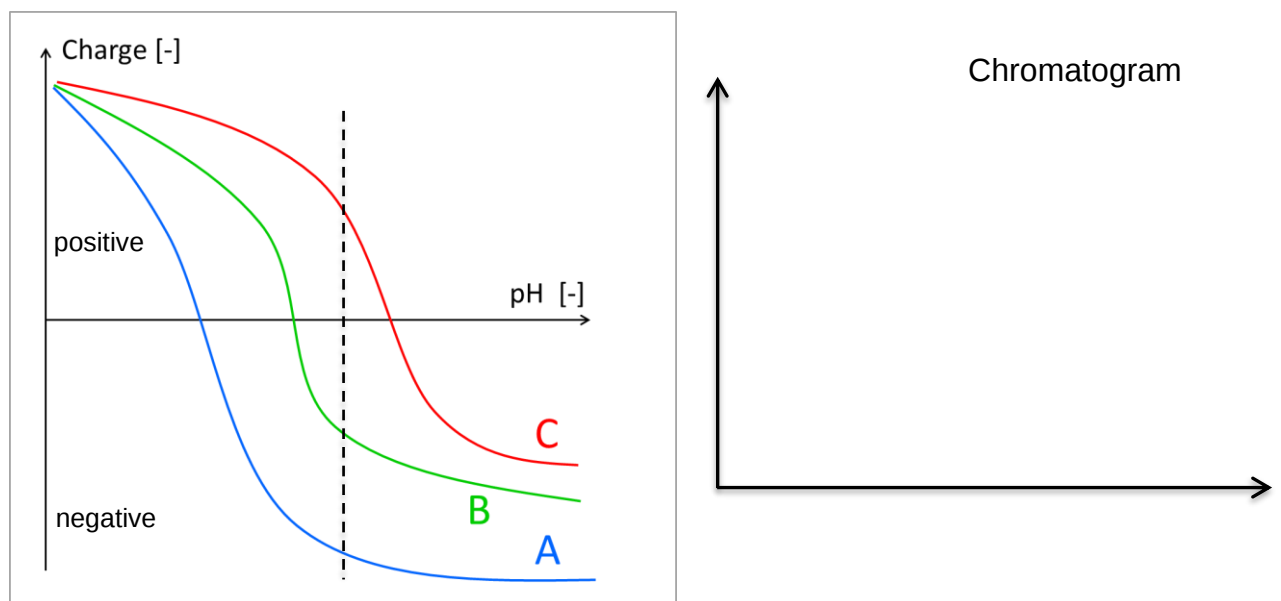
4 Pts

L'image ci-dessous représente les courbes de titration (charge nette = $f(\text{pH})$) pour trois protéines (bleue (A), verte (B) et rouge (C)).

1. A la valeur de pH indiquée par la ligne traitillée, vous réalisez une chromatographie **échangeuse de cations**.
2. Dessinez svp le chromatogramme correspondant montrant la séquence d'élution des trois protéines. **N'oubliez pas de tracer le profil du gradient et de nommer les axes.**

The picture below shows the titration curves (net charge vs. pH) of three proteins (blue (A), green (B) and red (C)).

1. At the pH value indicated by the dotted line, you will perform a **cation exchange chromatography**.
2. Please draw the corresponding chromatogram showing the elution sequence of all three proteins. **Do not forget to show the gradient profile and to name the axes.**



Question 15 **Linéarisation de courbes de filtration / *Linearizing filtration data*** **4 Pts**

Au cours d'une filtration de particules très rigides et totalement incompressibles, à une pression constante Δp_1 , le volume de filtrat recueilli V_f [m^3] a été mesuré en fonction du temps t [s]. Les données ont ensuite été linéarisées en traçant $A \cdot t / V_f$ en fonction de V_f / A , où A [m^2] représente la surface du filtre. La ligne droite résultante est représentée sur le graphique ci-dessous.

- a) Si je réalise une seconde filtration à une pression $\Delta p_2 = 0.5 \cdot \Delta p_1$ (tous les autres paramètres étant maintenus constants), quel serait l'impact sur la régression ? Tracez svp la droite correspondante sur le même graphe.
- b) Au fait, la résistance du filtre est-elle ici négligeable comparée à celle du gâteau ? Justifiez votre réponse, svp.

During the filtration of *highly rigid, incompressible particles* at a constant pressure Δp_1 , the collected volume of filtrate V_f [m^3] was measured as a function of time t [s]. The data were then linearized by plotting $A \cdot t / V_f$ as a function of V_f / A , where A [m^2] represents the area of the filter. The resulting straight line is shown on the graph below.

- a. If I do a second filtration experiment at a pressure $\Delta p_2 = 0.5 \cdot \Delta p_1$ (all other parameters being held constant), what would be the impact on the linear regression? Please draw the corresponding straight line on the same graph.
- b. By the way, is the filter resistance negligible here compared to cake resistance? Please justify your answer.

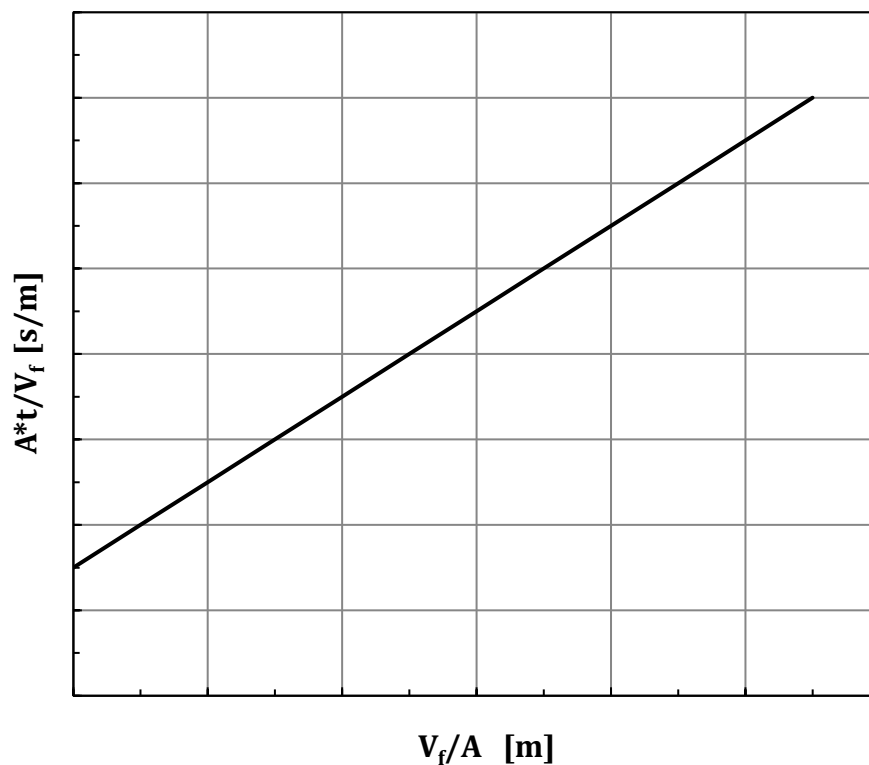


Figure F15: Linéarisation d'une courbe de filtration / Linearization of filtration data

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Question 16 Isotherme d'adsorption / Adsorption isotherm

8 Pts

S. Ghose et al., Biotechnol. Prog. 2004, 20, 830-840 ont mesuré l'isotherme d'adsorption d'un fragment d'anticorps sur une résine de chromatographie de type protéine A. Ils ont mesuré – à l'équilibre - la concentration adsorbée q_{eq} [mg/mL_{resin}] en fonction de la concentration résiduelle dans la solution C_{eq} [mg/mL_{solution}]. Les résultats expérimentaux sont reportés dans le tableau ci-dessous.

S. Ghose et al., Biotechnol. Prog. 2004, 20, 830-840 have measured the adsorption isotherm of an antibody fragment on a Protein A chromatography resin. They have measured – at equilibrium – the adsorbed concentration q_{eq} [mg/mL_{resin}] as a function of the residual concentration in the solution C_{eq} [mg/mL_{solution}]. The experimental results are given in the table below.

C_{eq} [mg/mL _{solution}]	q_{eq} [mg/mL _{resin}]			
0.011	11.73			
0.052	26.07			
0.178	34.54			
0.389	37.72			

- a) Déterminez les paramètres de l'isotherme de Langmuir qui décrivent le mieux ces données.
b) Aux basses concentrations, cette isotherme peut être approximée par une droite. Sur la base du modèle de Langmuir et des valeurs de ses paramètres, déterminez la pente de cette section linéaire.

- a) Determine the parameters of the Langmuir adsorption isotherm that best describe these data
b) At low concentrations, the isotherm can be seen as a straight line. Based on the Langmuir models and the values of its parameters, determine the slope of this linear section.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue or grey ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There is no handwriting or other markings on the paper.

Question 17 Extraction Liquide-liquide / Liquid-liquid extraction 8 Pts

50 L d'une solution à 20 g/L d'un sucre modifié ont été extraits deux fois avec 5.0 L d'un solvant organique immiscible. La ligne d'équilibre pour le partage biphasique du sucre est donnée dans le graphique ci-après.

50 L of a modified sugar solution at 20 g/L were extracted twice with 5.0 L of an immiscible organic phase. The equilibrium line for the biphasic partition of the sugar is given below.

- Tracez les lignes opératoires pour les deux extractions et déterminez le rendement final
a) Draw the operating lines for both extractions and determine the final yield
- Que vaut le coefficient de partage du sucre modifié sous ces conditions ?
b) What is the partition coefficient of the modified sugar under these operating conditions?
- Si la concentration initiale du sucre modifié était de 10 g/L au lieu de 20, de quelle façon le rendement d'extraction serait-il affecté ? Justifiez votre réponse.
c) If the initial concentration of the modified sugar was 10 g/L instead of 20, how would the extraction yield be affected? Justify your answer.

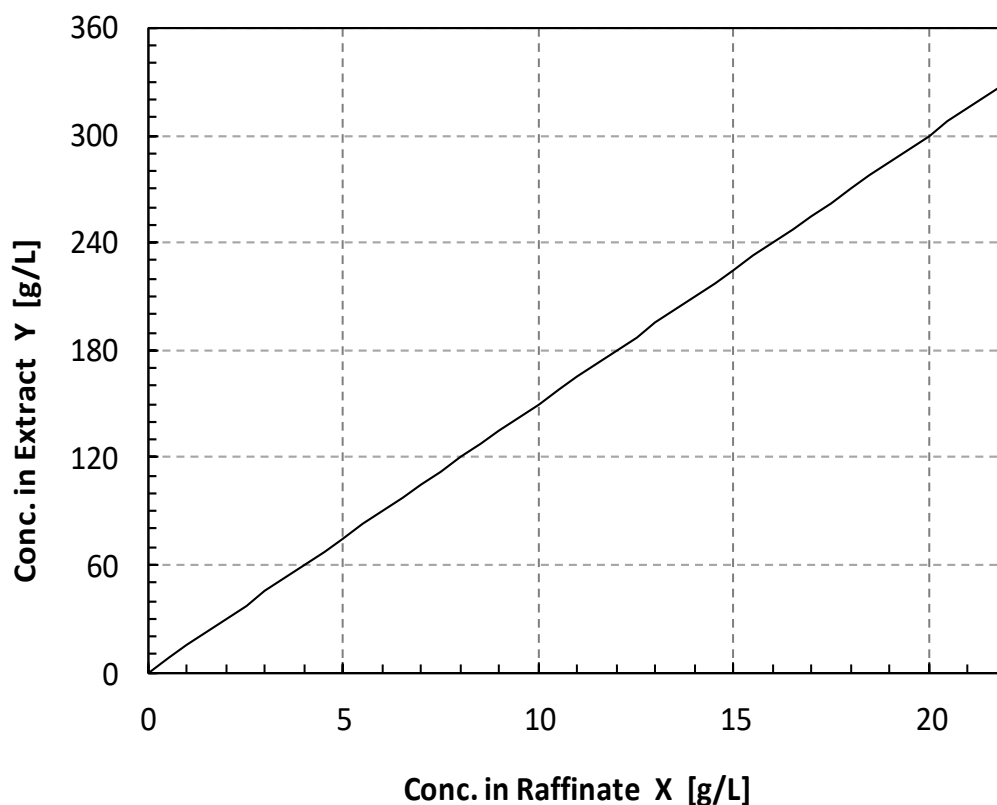
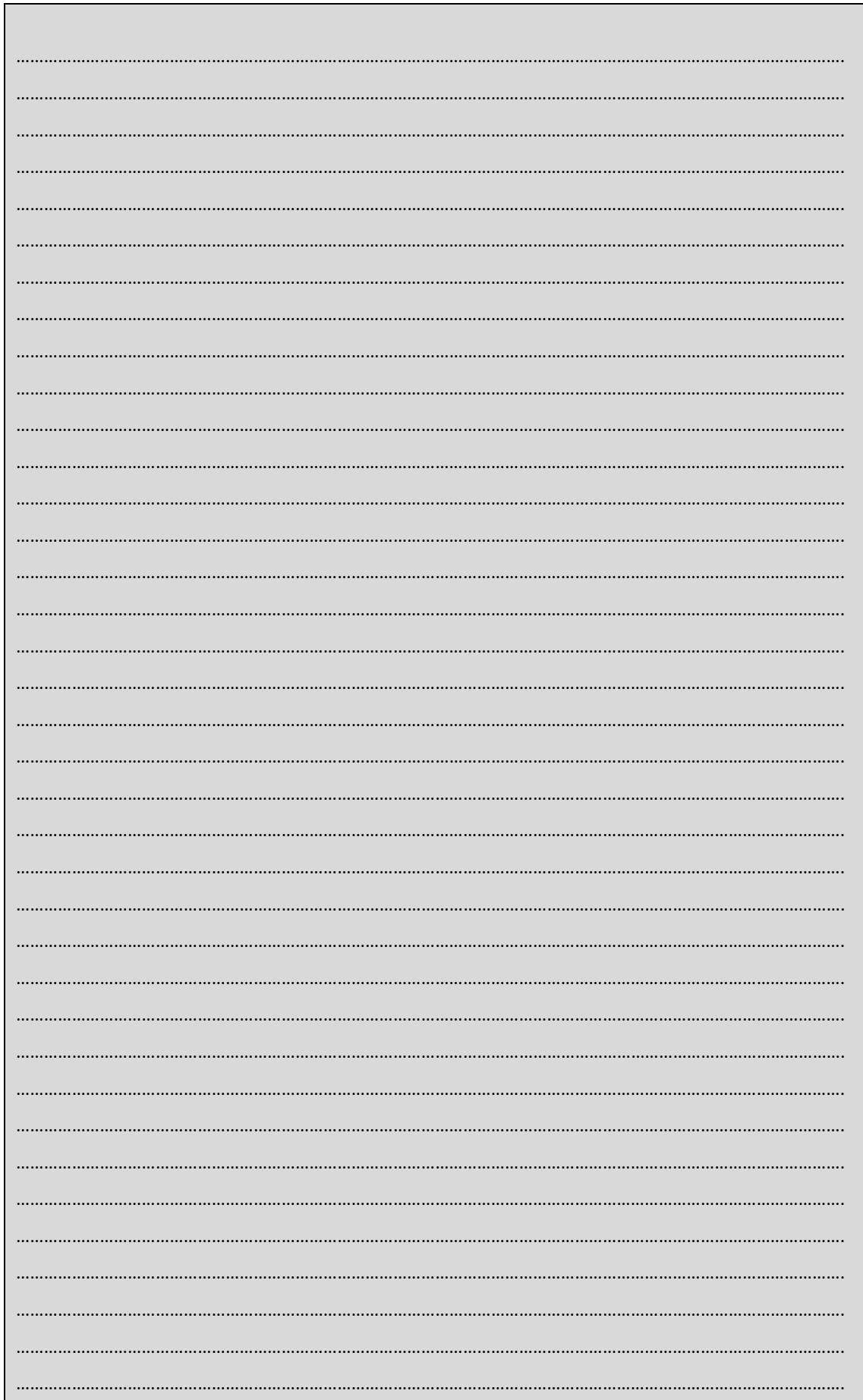
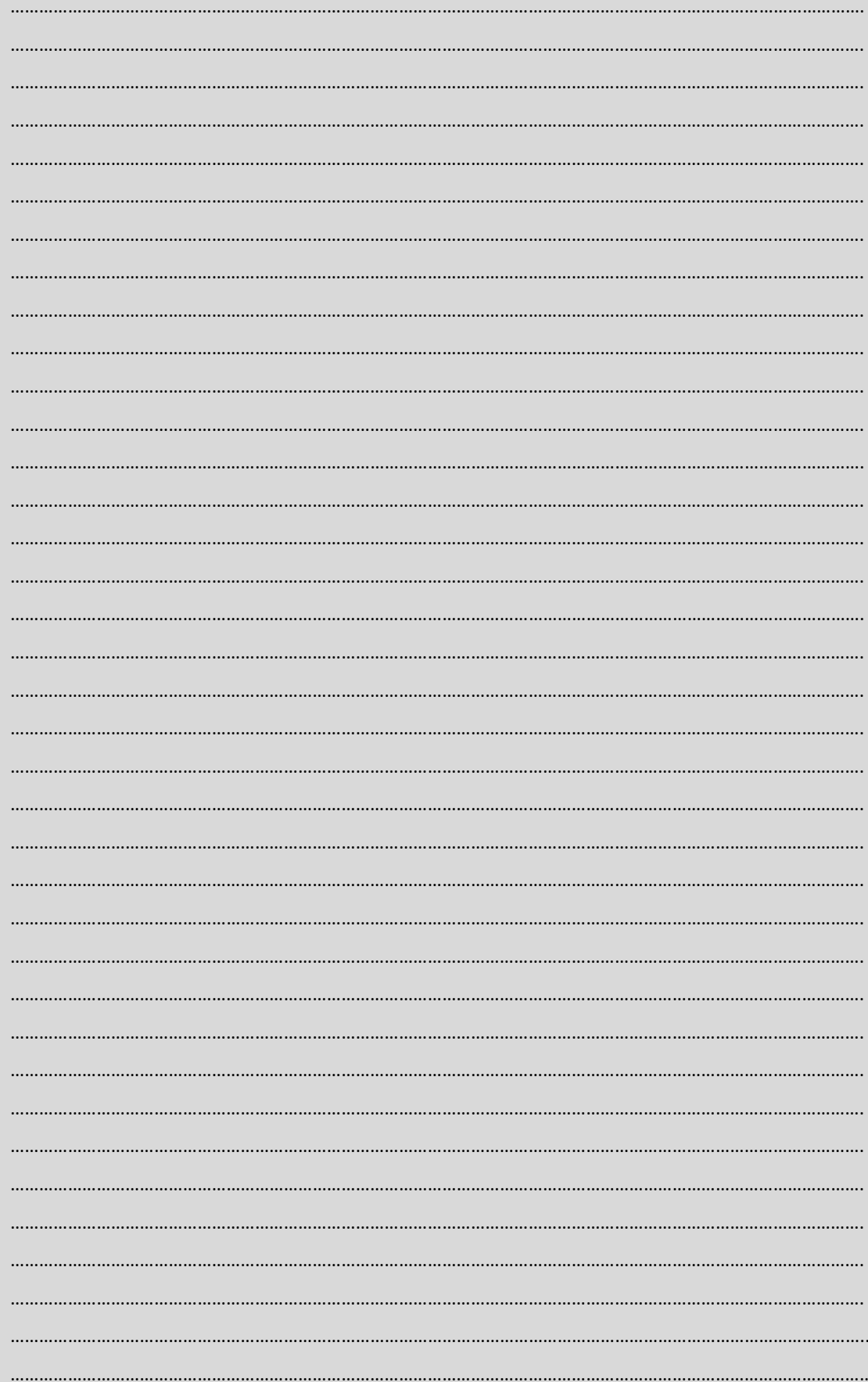


Figure 19: Ligne d'équilibre pour le partage biphasique du sucre modifié

Figure 19: Biphasic partition equilibrium line for the modified sugar



Additional space (just in case)

A large rectangular area with horizontal dotted lines, intended for additional writing or calculations. The area is bounded by a thin black line on the left and right, and the top and bottom edges of the page.