

FICHE DE TP : ELECTROPHORESE DES IMMUNOGLOBULINES

Principe :

L'électrophorèse est une technique utilisée pour séparer des molécules polaires suivant leur charge et leur masse.

En milieu basique (PH = 9,2) les protéines sont chargées négativement.

Déposées sur un papier spécial et placées dans un champ électrique, elles se déplacent d'autant plus vite que leur charge électrique est plus forte et leur masse molaire plus faible. Elles se séparent ainsi en bandes parallèles que l'on peut visualiser.

Protocole expérimental :

Attention! Ne jamais toucher la bande avec les doigts. Utiliser la pince.

Ne pas modifier la tension du générateur alimentant la cuve.

1°/ Préparation d'une bande pour le dépôt d'immunoglobulines

Sortir les deux bandes de polyacétate de la solution tampon, bien la sécher avec du papier absorbant.

Ouvrir la cuve à électrophorèse. Retirer les 2 fixe-bandes (baguettes plastiques) du portoir de la cuve à électrophorèse. Placer les bandes sur le portoir, face mate vers le haut, en plaçant le coin coupé de la bande (en bas à droite) du côté du pôle – (fil noir). *Mettre 2 (ou 4) bandes dans la même cuve.*

Fixer les bandes sur le portoir avec les 2 baguettes fixe-bandes. Tendre les bandes avec précaution en tirant sur l'extrémité libre. Chaque bande doit tremper dans le tampon aux deux extrémités.

Remplir de solution tampon la cuve à électrophorèse jusqu'à mi-hauteur de la cloison centrale (*Les cuves seront déjà remplies*)

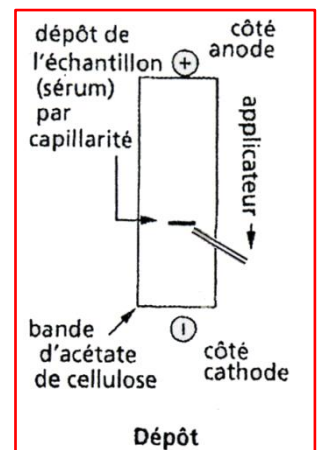
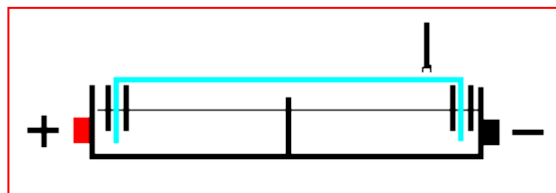
2°/ Dépôt d'immunoglobuline

Repérer les pôles + (fil rouge) et – (fil noir)

Prélever l'immunoglobuline à l'aide d'une pipette pasteur (*attention d'en utiliser une propre*).

Réaliser sur la bande un dépôt rectiligne d'immunoglobuline, perpendiculairement à la longueur de la bande, à 1cm du bord, côté pôle négatif (fil noir).

Vu en coupe de la cuve et position du dépôt



3°/ La migration

Fermer la cuve à électrophorèse.

Relier les fils de la cuve au générateur (fil noir avec pastille noire, fil rouge avec pastille rouge)

Mettre en marche l'alimentation, vérifier que le voyant lumineux est éclairé et attendre 45 minutes.

Lorsque la migration est terminée, arrêter le générateur et déconnecter la cuve du générateur.

Sortir les bandes et les tremper 5 minutes dans le colorant, la face absorbante contre le colorant.

Faire tremper dans des solutions d'acide acétique à 5 % jusqu'à obtenir un fond parfaitement blanc.

Sécher sur un papier filtre.