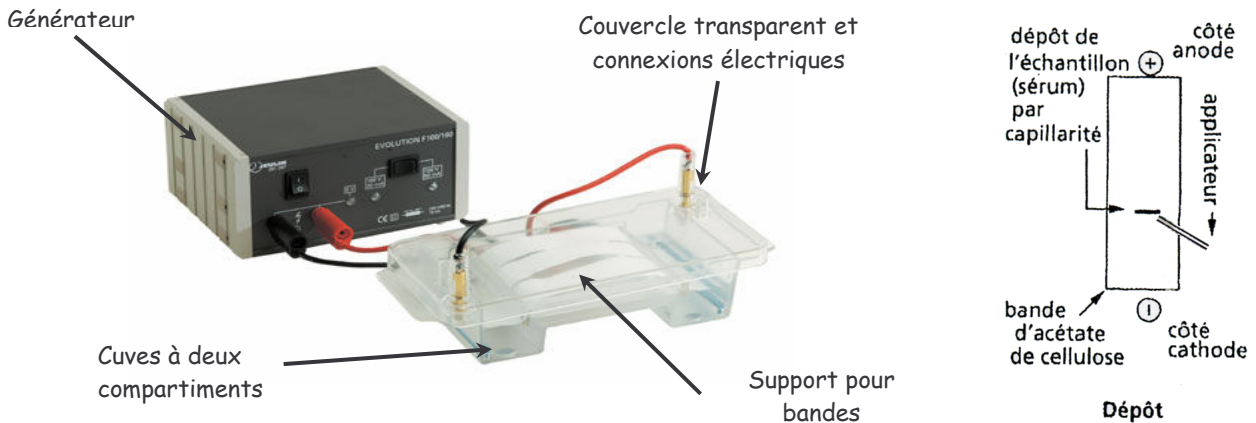


Fiche technique : ELECTROPHORESE DE SERUMS DE LAPIN IMMUNISE OU NON CONTRE UN ANTIGENE

On dispose du matériel suivant :

- une cuve à électrophorèse et son alimentation pour 2 paillasses,
- du tampon véronal pH 9,2.
- deux bandes d'acétate de cellulose, une pince plate,
- de solutions d'hémoglobines à tester,
- une micropipette et des embouts pour micropipettes.



PREPARATION DE L'ELECTROPHORESE

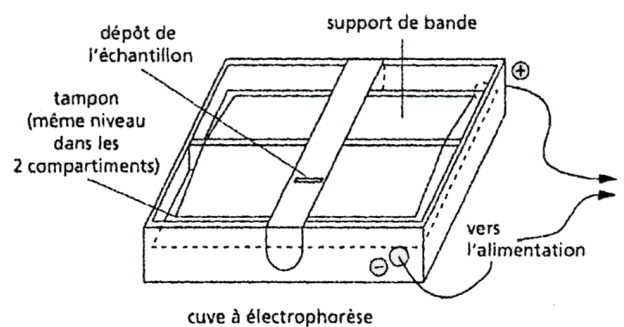
- 1) Remplir chaque compartiment de la cuve de tampon en évitant tout débordement.
- 2) Sortir les bandes des bacs de coloration à l'aide d'une pince plate. Les placer entre deux feuilles de papier et les sécher à l'aide d'un mouvement rapide de la main.
- 3) Ecarter les cales du support de bandes, en les faisant pivoter.
- 4) Poser les bandes sur le support le coin coupé de la bande en bas à droite (ainsi la bande présente sa face mate qui est absorbante sur le dessus). Faire glisser chaque extrémité de chaque bande entre les cales et leur support.
- 5) Rabattre les cales. Tendre légèrement les bandes en tirant sur leurs extrémités libres à l'aide de la pince plate.
- 6) Les bandes doivent être parallèles entre elles et perpendiculaires à l'axe du portoir pour permettre une migration des protéines dans l'axe de la bande.
- 7) Poser le portoir dans la cuve et vérifier que les extrémités de chaque bande trempent dans le tampon de chacun des deux compartiments.

DÉPÔT DES SERUMS

- 1) À l'aide de la micropipette, prélever 5 μ l d'un des deux sérums et le déposer sur la bande, à un centimètre, au dessus du rebord supérieur de la cale, du côté de la cathode et perpendiculairement à l'axe de la bande.
- 2) Déposer de la même manière, le second sérum sur une la bande..

MISE EN ROUTE DE L'ÉLECTROPHORÈSE:

- 1) Fermer la cuve à l'aide du couvercle.
- 2) Relier la cuve au générateur à l'aide des cordons.
- 3) Mettre sous tension le générateur (160 V) pour une heure de migration.



N.B. : Ne brancher l'alimentation qu'après fermeture du couvercle.

Le résultat s'observe après coloration des bandes au rougeponceau.

Fiche Technique : ACQUISITION D'UN ELECTROPHOREGRAMME

L'acquisition de l'image d'un résultat d'électrophorèse peut se faire à partir d'un appareil photo numérique ou d'un scanner.

A - Appareil photo numérique

1. Acquisition des images à partir d'un appareil photo numérique :

Prendre l'image comme pour n'importe quelle autre photographie, en veillant à utiliser une résolution suffisante pour pouvoir visualiser l'ensemble de la zone de migration de l'électrophorèse.

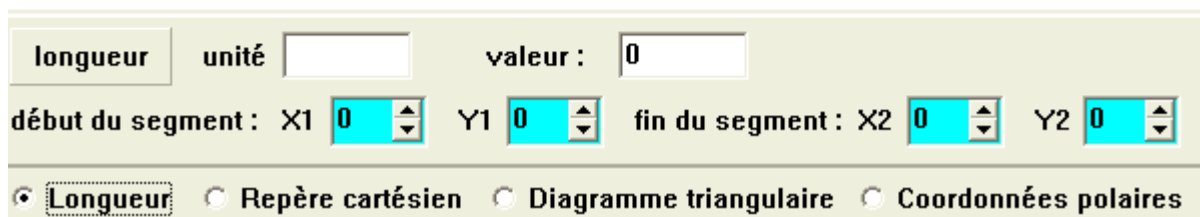
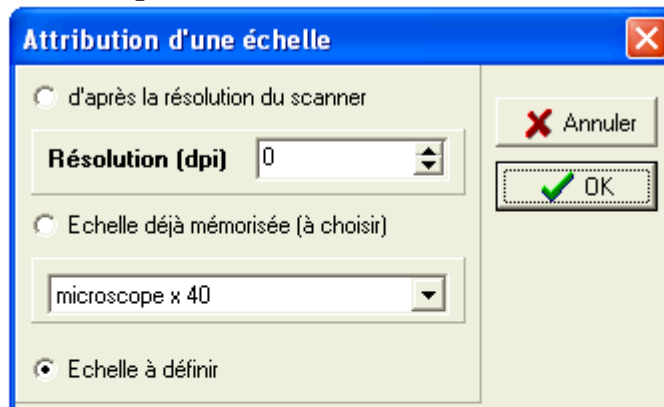
2. Enregistrer l'image capturée dans le répertoire de la classe

3. Lancer le logiciel *Mesurim* puis accéder à l'image par la commande *Fichier/Ouvrir*

4. Créer une échelle pour cette image à partir de la commande à partir de la commande



Choisir *Echelle à définir*, puis utiliser l'outil pour créer une échelle en tirant un trait de longueur connu sur l'image puis en indiquant la longueur de la ligne tracée.



Enfin *transférer* et *enregistrer* l'échelle pour pouvoir l'utiliser dans *Mesurim*.

Création du fichier échelle associé à un fichier image

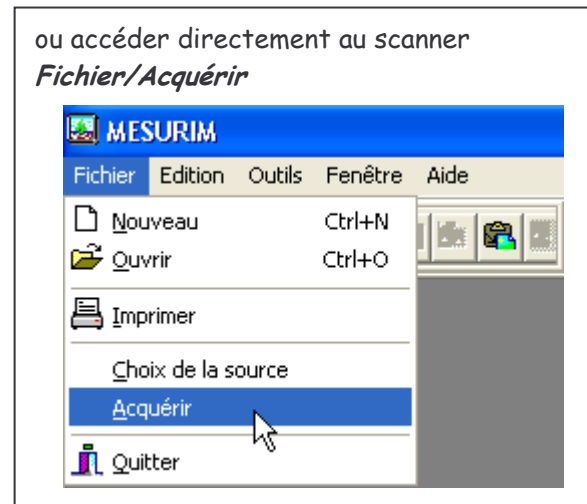
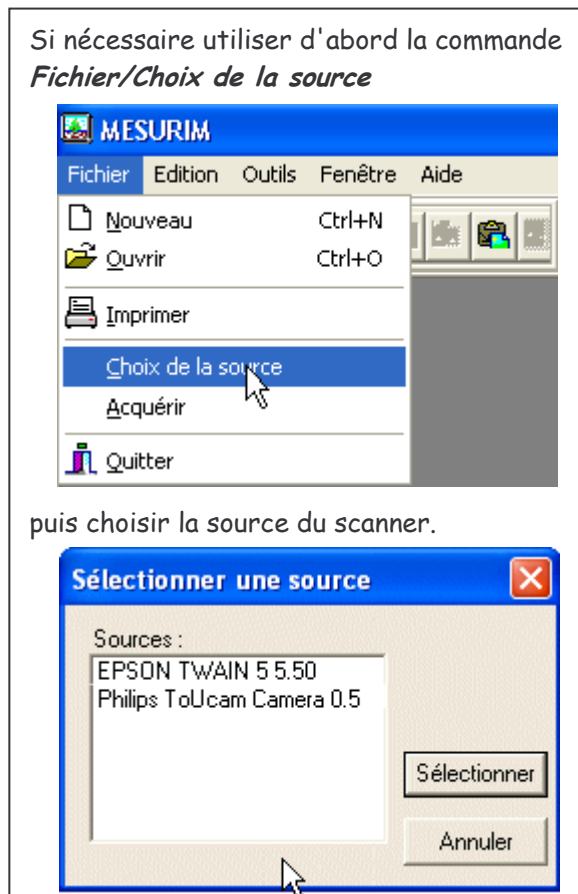
Transférer l'échelle Abandonner



B - Acquisition au scanner

Pour effectuer la capture des images d'électrophorèse à l'aide du scanner.

1. **Déposer** les résultats de l'électrophorèse face vers le bas sur le scanner (en prenant soin de protéger la vitre à l'aide d'une feuille de transparent) et les **repérer** à l'aide d'un feutre.
2. Lancer le logiciel **Mesurim** puis accéder au scanner par l'une des commandes ci-dessous :

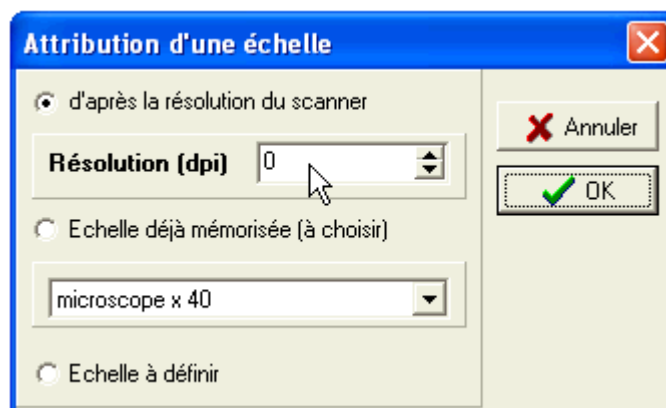


3. **Utiliser le pilote du scanner pour acquérir l'image**

Remarques : Chaque pilote est spécifique (favoriser les modes manuels au modes automatiques)

4. **Création d'une échelle**

Lorsque le pilote de scanner est lancé depuis Mesurim, indiquer alors la résolution utilisée pour l'acquisition de l'image dans le cadre **Résolution**.



Lorsque le pilote de scanner n'est pas lancé depuis Mesurim, mais à partir d'un autre logiciel, enregistrer l'image puis se reporter à l'utilisation de l'outil Image/ Créer, modifier une échelle décrite dans le paragraphe A (Appareil photo numérique)

5. **Enregistrer l'image capturée** dans le répertoire de la classe

L'électrophorèse des Protéines a été réalisée selon les consignes de la fiche technique.

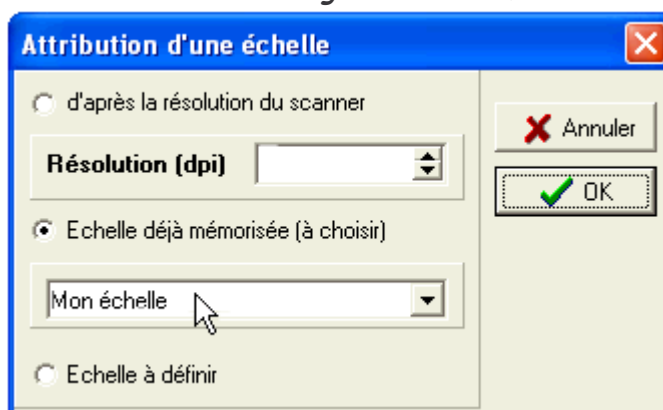
Ouvrir l'image de l'électrophorégramme

1. **Ouvrir le fichier** correspondant à l'électrophorèse par la commande *Fichier/ouvrir*
Choisir l'image qui correspond à l'électrophorèse à étudier.

2. **Appliquer une échelle à l'image.** Utiliser la commande *Image Créer/modifier l'Echelle* :

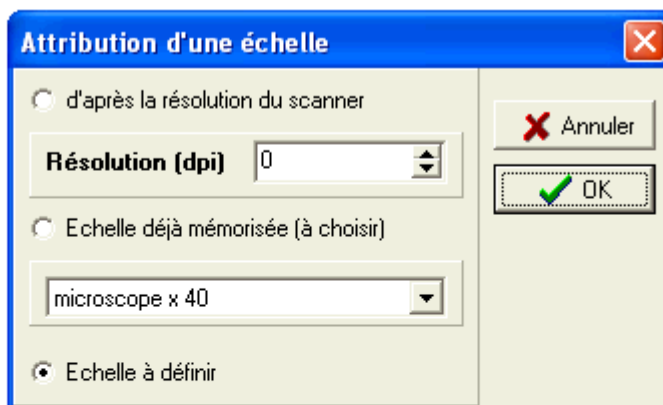


- pour **appeler une échelle déjà mémorisée** dans un fichier pour cette image



- ou pour **Définir une échelle** si ce n'est pas encore fait. (voir fiche Acquisition)

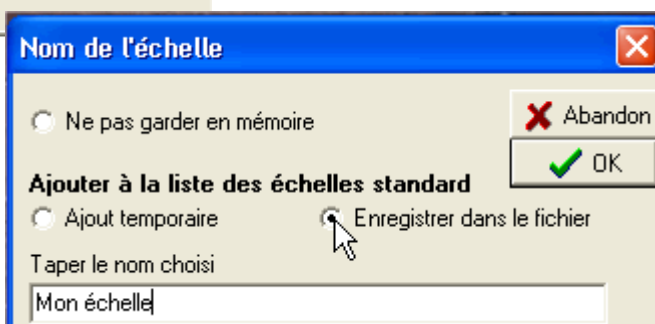
Choisir **Echelle à définir**, puis utiliser l'outil pour créer une échelle en tirant un trait de longueur connu sur l'image puis en indiquant la longueur de la ligne tracée.



Enfin **transférer et enregistrer** l'échelle pour pouvoir l'utiliser dans Mesurim.


Création du fichier échelle associé à un fichier image

Transférer l'échelle Abandonner



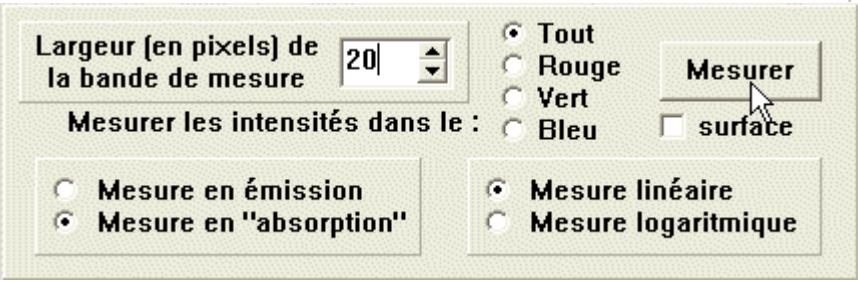
A - Mesure du spectre d'absorption

1. Sélectionner l'outil de Mesure



puis Tracer avec la souris une ligne sur la zone de migration de l'image d'électrophorèse

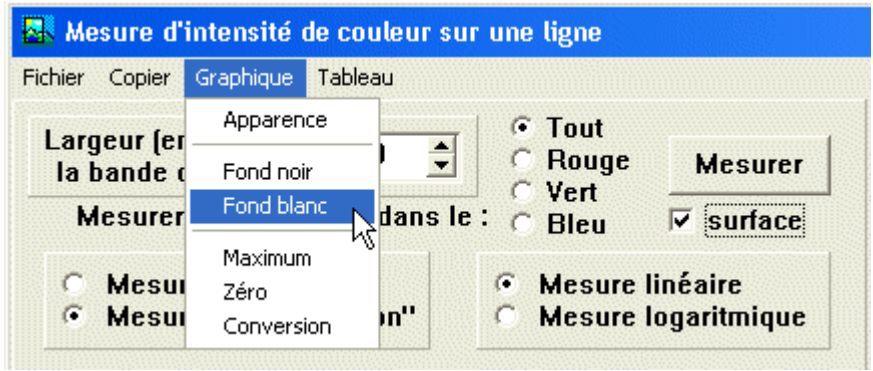
2. Lancer l'outil de mesure de lumière sur une bande :
Paramétrer l'outil comme indiqué :



Cliquer sur Mesurer

B - Affiner la présentation et la lecture du spectre d'absorption obtenu :

Dans le menu *Graphique*, régler le *Fond Blanc*, le *Maximum* et le *Zéro*:



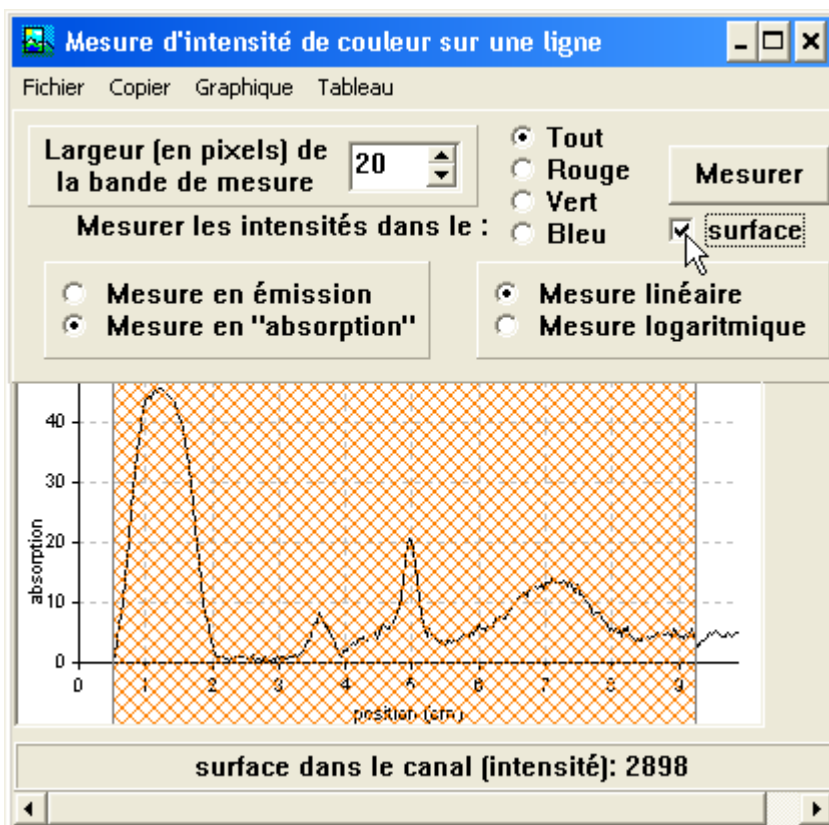
Puis cochez l'outil *surface*

1 - Mesurer la surface totale des pics d'absorption (Absorption totale de la bande)

Après avoir mesuré le spectre d'absorption, cocher la case **surface** de l'outil de **mesure de lumière sur une bande**

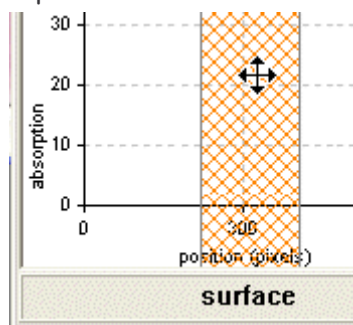
La bande hachurée indique la zone sur laquelle la mesure de surface est effectuée

Déterminer la **surface totale couverte** par l'ensemble des pics. (Positionner avec précision la bande hachurée sur l'ensemble de la surface occupée par les pics d'absorption puis lire la mesure dans le bandeau sous le graphique).



2 - Mesurer la surface de chaque pic d'absorption (pic caractéristique de chaque protéine)

Déterminer la **surface de chaque pic** (Positionner avec précision la bande hachurée sur un pic et lire la mesure dans le bandeau sous le graphique).

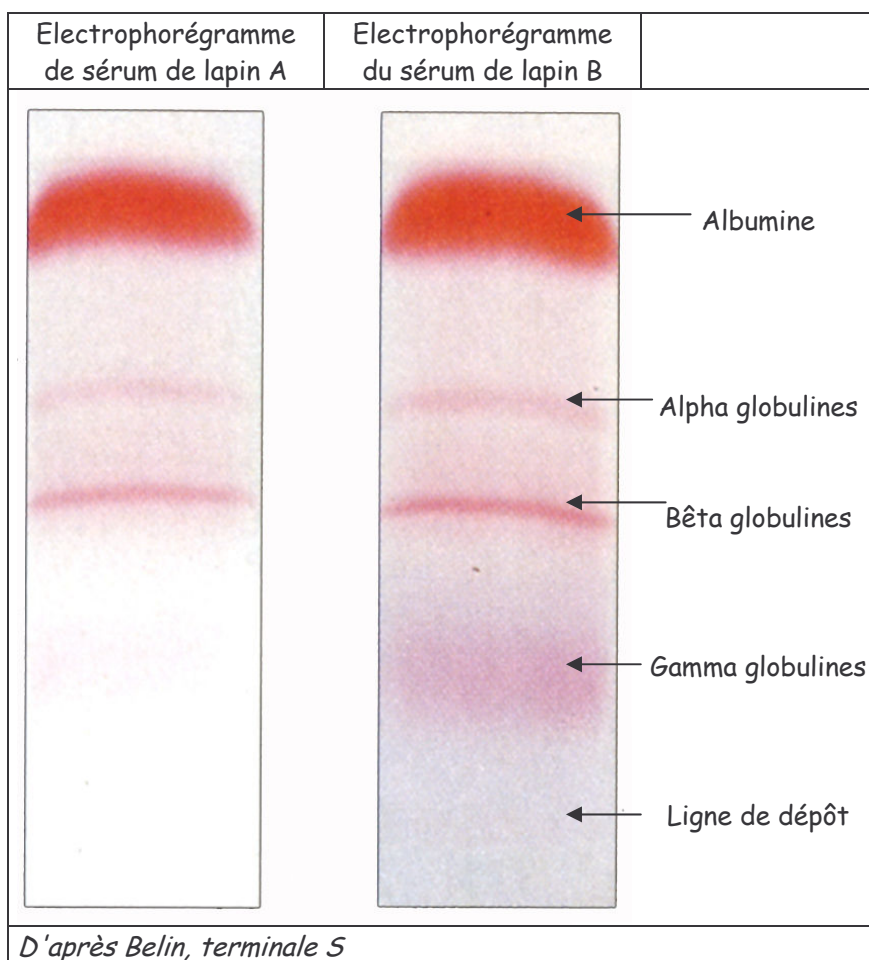


3 - Compléter le tableau de relevé des mesures.

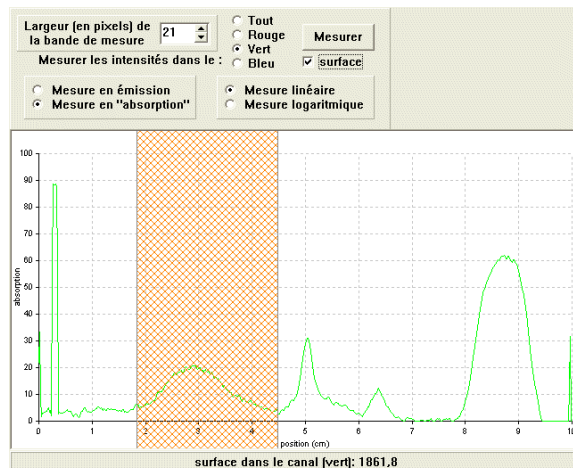
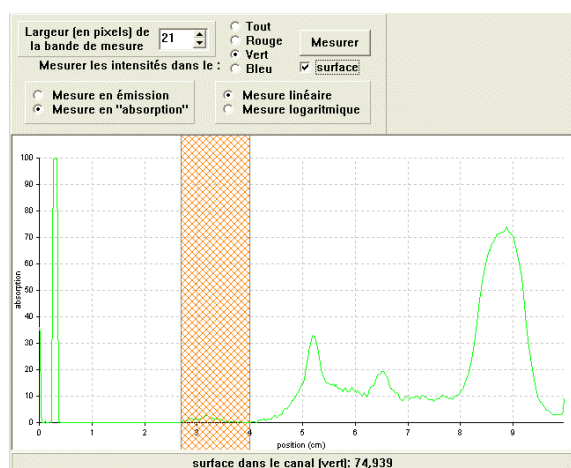
Sérum	Surface totale	Gamma	Bêta	Alpha	Albumine
Non immunisé (Lapin A)	100 %				
Immunisé (Lapin B)	100 %				

4 - Refaire le travail pour la seconde bande d'électrophorèse.

RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE DE SERUMS DE LAPIN IMMUNISE OU NON CONTRE UN ANTIGENE



Résultats avec mesurim :



Sérum	Surface totale	Gamma	Bêta	Alpha	Albumine
Non immunisé (Lapin A)	7 047	75	1 350	1 271	4 383
	100 %	1 %	19 %	18 %	62 %
Immunisé (Lapin B)	6 723	1 861	923	278	3 658
	100 %	27,7 %	13,7 %	4,1 %	54,4 %