

DÉTECTION D'ANTICORPS DANS LE SERUM DE LAPIN PAR ELECTROPHORESE

L'injection d'un antigène à un lapin déclenche des réactions immunitaires. Elles aboutissent à la synthèse d'anticorps présents dans le sérum et détectables par électrophorèse. Chez certains lapins, un déficit immunitaire empêche la production d'anticorps.

On cherche à déterminer si un lapin ayant reçu une injection d'antigène présente ou non un déficit immunitaire.

Matériel

- cuve à électrophorèse avec système de fixation
- 100ml de tampon d'électrophorèse à pH 9,2 et une éprouvette de 100ml
- trois bandes d'acétate immergées dans du tampon
- applicateurs de sérum (lamelles de dépôt en verre ou équivalent) à identifier sur la paillasse
- trois flacons contenant les sérums de lapin mis en contact avec un antigène inoffensif (ou des produits de substitution) : L1 : lapin non immuno-déficient ; L2 : lapin immuno-déficient ; L : lapin à tester
- trois récipients permettant de prélever afin de faire les dépôts à identifier sur la paillasse
- papier filtre, pinces, gants

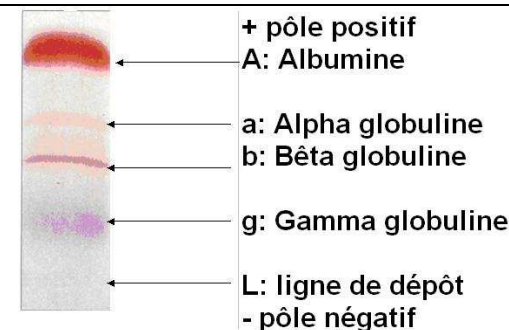
Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1- Justifier l'intérêt de l'électrophorèse des trois sérums.	Comprendre la manipulation	3
2- Mettre en œuvre le protocole en suivant les indications de la fiche technique. Appeler l'examineur à chaque fois qu'il est indiqué dans le protocole, et pour qu'il vous fournisse les bandes des résultats après coloration.	Réaliser une manipulation en suivant un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation de la paillasse	9
3- Réaliser un schéma des résultats observés.	Traduire une observation par un schéma	5
4- Utiliser les résultats de l'immuno-électrophorèse pour déterminer si le lapin L présente un déficit immunitaire. Justifier votre réponse.	Appliquer une démarche explicative	2
5- Ranger le poste de travail.	Gérer et organiser le poste de travail et respecter les consignes de sécurité	1

DÉTECTION D'ANTICORPS DANS LE SERUM DE LAPIN PAR ELECTROPHORESE

Principe : en milieu basique, les protéines sont chargées négativement. Lorsqu'un mélange de protéines est soumis à un champ électrique, les protéines migrent à une distance caractéristique par rapport à la ligne de dépôt, en fonction de leur taille et de leur charge.

Les anticorps sont des protéines gamma-globulines.

Remarques : la migration nécessitant une durée d'une heure, des bandes d'acétate après migration et déjà colorées au rouge Ponceau (ou une fiche de résultats) seront distribuées pour interprétation. Le rouge Ponceau est un colorant spécifique des protéines, ayant une grande affinité pour elles.



PROTOCOLE D'UTILISATION DU MATERIEL

MISE EN PLACE DES BANDES D'ACETATE DE CELLULOSE DANS LA CUVE

1. **Organiser** le poste de travail pour manipuler proprement et en respectant les règles de sécurité d'usage.
2. **Remplir** la cuve à électrophorèse au 2/3 avec la solution tampon, de chaque côté, en évitant tout débordement.
Ne jamais toucher les bandes d'acétate de cellulose avec les doigts, sinon des traces apparaîtront à la coloration.
3. **Sortir** les bandes du tampon, dans lequel elles sont immergées, à l'aide d'une pince, les placer entre 2 feuilles de papier filtre et les sécher à l'aide d'un mouvement rapide.
4. **Fixer** les bandes d'acétate de cellulose sur le portoir de la cuve, tendues autant que possible (sans les déchirer bien entendu), de façon à ce que la face mate qui est absorbante soit sur le dessus (encoche de la bande tenue dans la longueur en bas à droite). Les bandes doivent être parallèles entre elles.
5. Repérer sur le portoir l'extrémité de la bande où doit se faire le dépôt, sachant que les protéines migrent du pôle négatif vers le pôle positif.
6. **Poser** le portoir dans la cuve et **vérifier** que les extrémités de chaque bande trempent dans le tampon de la cuve.

DÉPOT DES SERUMS (ou de produits de substitution, le résultat de votre électrophorèse n'étant pas exploité en raison de la durée de la migration)

1. **Verser** les sérums dans les récipients permettant de faire les prélèvements avec les applicateurs.

Appeler l'examineur pour qu'il vérifie le montage et qu'il soit présent au moment des dépôts

2. **Tremper** l'applicateur dans le sérum du lapin L, **déposer** rapidement l'applicateur près du bord, vers le pôle négatif, perpendiculairement au grand axe de la bande d'acétate de cellulose (faire une application bien nette).
3. **Renouveler** l'opération avec les deux autres bandes pour le sérum L1 et le sérum L2.

MISE EN ROUTE DE L'ELECTROPHORÈSE

1. **Fermer** la cuve avec le couvercle, côté de la cathode (pôle négatif, borne noire) près du bord avec encoche.
2. **Relier** la cuve au générateur à l'aide du cordon. **Respecter** la correspondance des couleurs entre cordons et douilles.
3. **Raccorder** l'appareil au secteur.

Appeler l'examineur pour vérifier juste avant de mettre sous tension

4. **Mettre** sous tension et **régler** la tension de l'alimentation sur 160V.
5. La migration démarre et durera une heure.

Appeler l'examineur pour qu'il vous fournisse les résultats colorés au rouge Ponceau.