

DÉTECTION D'ANTICORPS DANS LE SERUM DE LAPIN PAR ELECTROPHORESE

Fiche sujet - candidat

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
- deux bandes d'acétate de cellulose immergées dans du tampon véronal
- applicateurs de sérum : lames à étalement en verre (environ 1,7 cm d'empreinte) 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 verres de montre ou boîtes de Pétri permettant de prélever les sérums afin de faire les dépôts, à identifier sur la paillasse
- papier filtre, pinces, gants, chronomètre, feutre
- bain de coloration avec rouge ponceau, trois bains de décoloration avec acide acétique à 5%, 2 bandes « résultats » ayant subi l'électrophorèse, à colorer, deux supports de séchage.

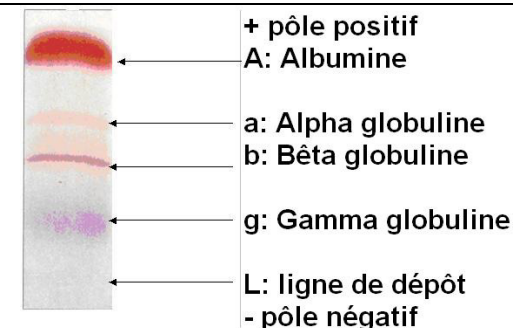
Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1. Justifier l'intérêt de l'électrophorèse des trois sérums.	Comprendre la manipulation	3
2. Mettre en œuvre le protocole en suivant les indications de la fiche technique. Appeler l'examineur à chaque fois qu'il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

DÉTECTION D'ANTICORPS DANS LE SERUM DE LAPIN PAR ELECTROPHORESE

Fiche protocole – candidat 1/2

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 « résultats » ayant subi l'électrophorèse, seront distribuées pour coloration. Le rouge Ponceau est un colorant spécifique des protéines, ayant une grande affinité pour elles.



PROTOCOLE D'UTILISATION DU MATERIEL

(NB : l'évaluation porte sur le suivi soigneux d'un protocole. Même si vous n'avez jamais réalisé seul une électrophorèse, cette manipulation est à votre portée).

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 (port de la blouse et des gants) ;

Ne jamais toucher les bandes d'acétate de cellulose avec les doigts, sinon des traces apparaîtront à la coloration.

2. **sortir** les bandes du tampon véronal, dans lequel elles sont immergées, à l'aide d'une pince, les placer entre 2 feuilles de papier filtre;
3. **fixer** les bandes d'acétate de cellulose sur le portoir de la cuve, tendues autant que possible (sans les déchirer), de façon à ce que la face mate qui est absorbante soit sur le dessus (si encoche, la placer dans la longueur en bas à droite). Les bandes doivent être parallèles entre elles ;
4. **poser** le portoir dans la cuve et **verser** dans la cuve la quantité suffisante de tampon d'électrophorèse pour que les extrémités de chaque bande trempent dans le tampon d'électrophorèse ;
5. sachant que les protéines migrent du pôle négatif vers le pôle positif, **repérer** au feutre sur la paillasse le côté où se fera le dépôt.

DÉTECTION D'ANTICORPS DANS LE SERUM DE LAPIN PAR ELECTROPHORESE

Fiche protocole – candidat 2/2

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** délicatement l'applicateur à environ 0,5 cm du bord, vers le pôle négatif (cathode), perpendiculairement au grand axe de la bande d'acétate de cellulose (faire une application bien nette) ; faire une seconde application à environ 0,5 cm à côté de la précédente avec le sérum L1
3. **renouveler** l'opération avec l'autre bande pour les sérums L et L2.

MISE EN ROUTE DE L'ELECTROPHORÈSE :

1. **fermer** la cuve avec le couvercle ;
2. **vérifier** le raccordement de la cuve au générateur. **Respecter** la correspondance des couleurs des fils et des douilles ;
3. **régler** la tension du générateur sur 160V et vérifier son branchement ;

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

4. **mettre** le générateur en route.

La migration démarre et durera une heure.

Appeler l'examineur pour obtenir deux bandes d'électrophorèse prête(s) à la coloration

COLORATION DES BANDES « RESULTATS » :

1. **immerger** les 2 bandes en même temps 5 minutes dans le Rouge Ponceau ;
2. **transférer** chaque bande dans 3 bains successifs d'acide acétique à 5% : 3 minutes, 2 minutes et 1 minute ;
3. les **déposer** chacune sur un support de séchage, **laisser sécher**.