

## DETECTION 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 ne permet pas 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
- 100ml de tampon d'électrophorèse à pH 9,2 et une éprouvette de 100ml
- trois bandes d'acétate
- applicateurs de sérum (lamelles de dépôt en verre ou équivalent)
- un verre de montre contenant du sérum de lapin L1 immunisé contre un antigène inoffensif (BSA ou autre)
- un verre de montre contenant du sérum de lapin L2 non immunisé
- un verre de montre contenant du sérum du lapin L à tester
- papier filtre, pinces

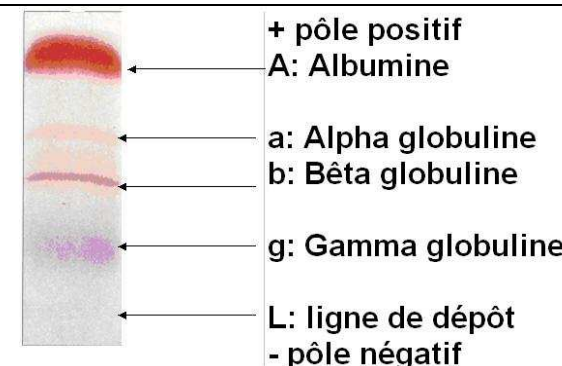
| Activités et déroulement des activités  | Capacités et principaux critères d'évaluation  | Barème |
|---|--|--------|
| 1- <b>Justifier</b> l'intérêt de l'électrophorèse des trois sérums.   | <b>Adopter une démarche explicative</b>  | 3      |
| 2- <b>Mettre en œuvre</b> le protocole en suivant les indications de la fiche technique.<br><br><b>Appeler l'examineur pour vérifier le montage et obtenir les bandes des résultats après coloration.</b> | <b>Réaliser une manipulation en suivant un protocole</b><br>respect des étapes du protocole<br>utilisation maîtrisée du matériel<br>organisation de la paillasse | 10     |
| 3- <b>Réaliser</b> un schéma des résultats observés sur les bandes distribuées.   | <b>Représenter une observation par un schéma</b>   | 5      |
| 4- <b>En déduire</b> si le lapin L présente un déficit immunitaire. <b>Justifier</b> à l'aide des données fournies.   | <b>Adopter une démarche explicative</b>  | 2      |

## DETECTION 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. **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 avec les doigts, sinon des traces apparaîtront à la coloration.***
2. **Sortir** les bandes des bacs à l'aide d'une pince, les placer entre 2 feuilles de papier filtre et les sécher à l'aide d'un mouvement rapide.
3. **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 et perpendiculaires à l'axe du portoir pour permettre une migration des protéines dans l'axe du portoir.
4. **Poser** le portoir dans la cuve et **vérifier** que les extrémités de chaque bande trempent dans le tampon de la cuve.

#### DEPOT DES SERUMS

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

#### MISE EN ROUTE DE L'ELECTROPHORESE

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. **Régler** la tension de l'alimentation sur 160V.
4. **Raccorder** l'appareil au secteur.
5. **Mettre** sous tension. La migration démarre et durera une heure. Les résultats fournis sont colorés au rouge Ponceau.