

électrophorèse de protéines sur gel d'agarose supporté : protocole général

publié le 24.04.09

auteur : didier pol

table des matières

1. [introduction](#)
 2. [protocole](#)
 1. [préparation du gel et dépôt des échantillons](#)
 2. [fixation et coloration](#)
 3. [solution](#)
 4. [fournisseurs](#)
-

1. 1. introduction

l'électrophorèse est une technique biochimique de séparation fondée sur le fait que des molécules portant des charges électriques différentes migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique (pour plus de détail voir l'article "[l'électrophorèse](#)"). l'électrophorèse de protéines sur gel d'agarose est la technique la plus aisée et la moins coûteuse à mettre en œuvre dans un établissement d'enseignement avec un matériel limité. elle nécessite simplement une cuve à électrophorèse et une alimentation continue. on peut utiliser une cuve pour électrophorèse clinique dont le coût est modéré ou une cuve pour minigel comme celles utilisées pour l'[électrophorèse de l'adn](#). si on ne dispose pas d'une alimentation pour électrophorèse, on peut utiliser à la place une alimentation continue basse tension ou un ensemble de piles en série. il faut noter que, dans ce cas, il sera nécessaire de laisser les protéines migrer pendant plus longtemps pour obtenir les mêmes résultats (ainsi, avec une tension continue de 12 v, il faut environ une douzaine d'heures de migration quand il ne faut qu'une heure à 120 v).

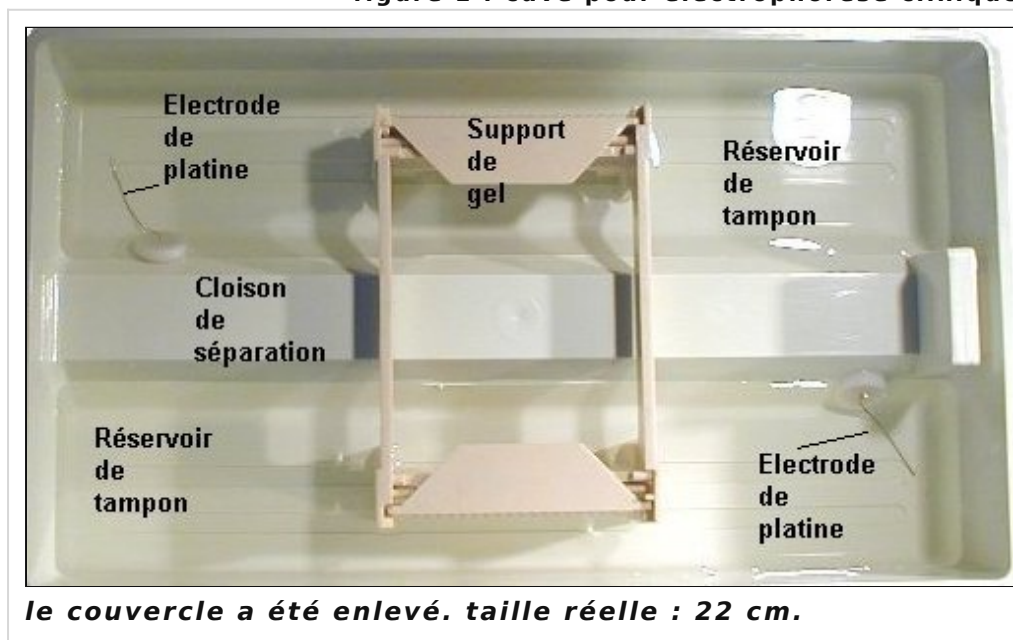
dans l'enseignement, outre la compréhension de ses aspects techniques et de ses applications, l'électrophorèse se révèle un outil extrêmement utile. ainsi, l'identification des protéines de divers échantillons naturels (extraits cellulaires, sérums, blanc d'œuf, lait, etc.) ou réalisés artificiellement dans un but pédagogique permet de concrétiser des notions abstraites dans des domaines aussi variés que le métabolisme, l'immunologie ou l'évolution. divers supports d'électrophorèse peuvent être utilisés, comme les gels d'agarose supportés, les bandes d'acétate de cellulose ou les gels d'agarose coulés par l'utilisateur. on trouvera dans cette page le protocole d'électrophorèse adapté aux gels supportés du commerce, prêts à l'emploi.

2. 2. protocoles

les gels prêts à l'emploi présentent l'avantage d'être coulés sur un support plastique ce qui, d'une part, évite de les préparer et facilite leur manipulation et, d'autre part, permet de conserver indéfiniment les résultats après coloration et séchage. ils sont fournis en outre avec les produits nécessaires pour préparer le tampon et le colorant.

l'inconvénient est qu'ils reviennent plus cher que les gels coulés par l'utilisateur. comme pour les autres méthodes d'électrophorèse, il faut disposer d'une cuve dans laquelle est placé le gel et d'une alimentation continue. on peut utiliser une minicuve identique à celle utilisée pour l'électrophorèse de l'adn ou une cuve pour électrophorèse clinique, meilleur marché. dans le premier cas, la cuve étant conçue pour un gel immergé, on remplit les deux réservoirs avec le tampon d'électrophorèse et on établit le contact électrique entre gel et tampon par des ponts de papier filtre trempés dans le tampon. il en est de même si l'on utilise une cuve pour électrophorèse clinique car ce type de cuve est conçu initialement pour des bandes d'acétate de cellulose suffisamment souples pour que les extrémités plongent dans les réservoirs de tampon alors que les gels supportés sont coulés sur un support rigide.

figure 1 : cuve pour électrophorèse clinique

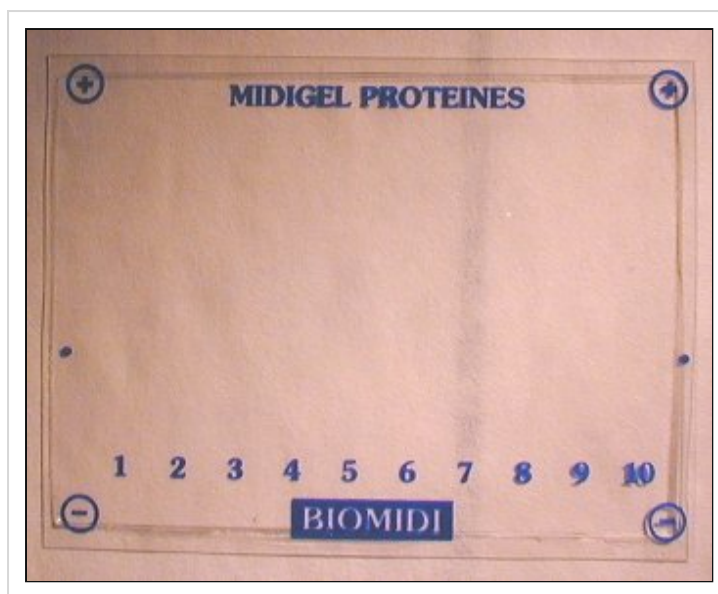


une cuve pour électrophorèse clinique est formée de deux réservoirs de tampon séparés munis chacun d'une électrode de platine. chaque support de gel est placé à cheval au dessus de la cloison qui sépare les deux réservoirs. le protocole d'électrophorèse comporte le dépôt des échantillons, la mise en place des gels, la migration électrophorétique, la fixation du gel et sa coloration puis une décoloration du fond. une fois séchés, les gels peuvent être conservés indéfiniment.

2.1. 2.1. préparation du gel et dépôt des échantillons

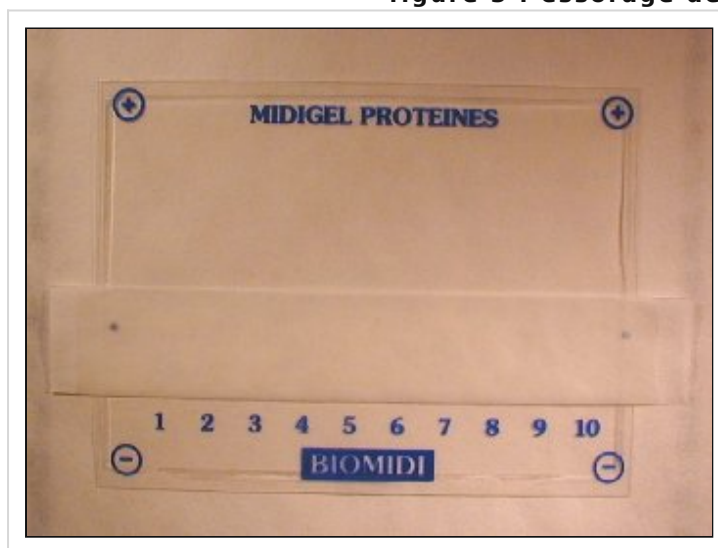
les gels supportés prêts à l'emploi sont constitués d'une mince couche d'agarose coulée sur un support plastique de 100 mm x 75 mm permettant leur manipulation aisée.

figure 2 : gel d'agarose prêt à l'emploi



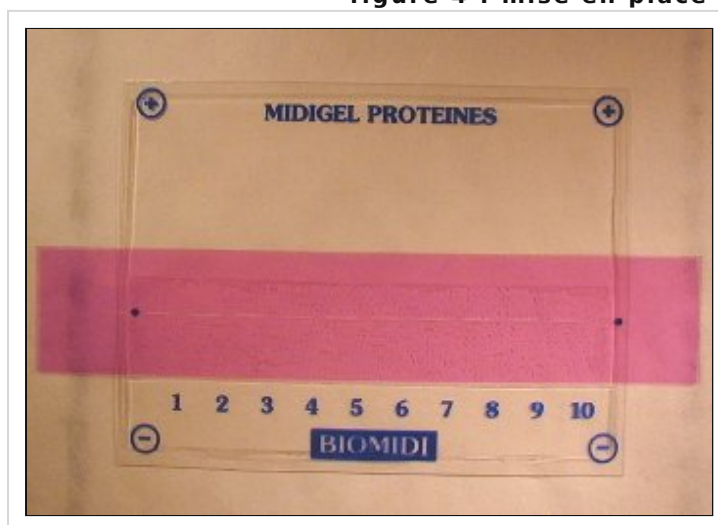
une fois le gel sorti de son emballage, la zone de dépôt est essorée avec une bande de papier filtre pour faciliter la diffusion des échantillons lors du dépôt.

figure 3 : essorage de la zone de dépôt



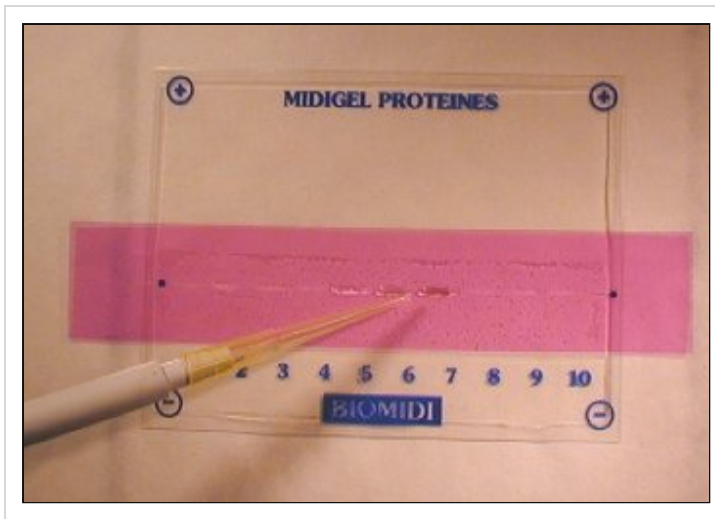
la bande est ensuite retirée et jetée et on dispose à la même place un masque de dépôt formé d'une bande de plastique comportant 10 fentes.

figure 4 : mise en place du masque de dépôt



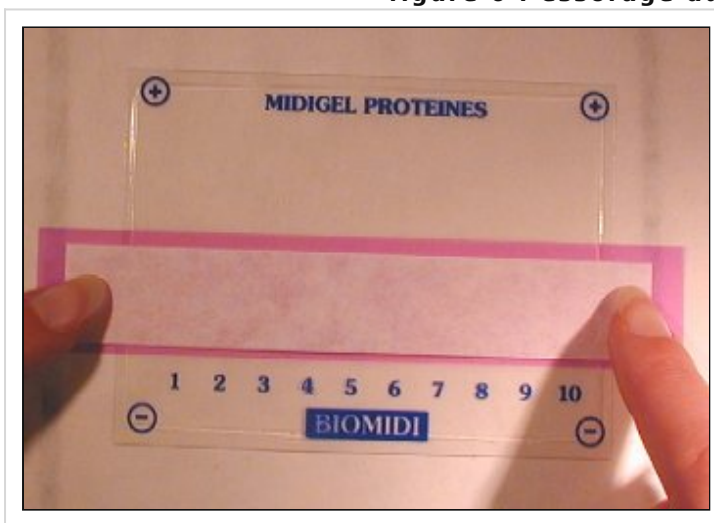
un volume de 5 μ l des échantillons à analyser est déposé sur les fentes et abandonné pendant 5 minutes pour assurer leur diffusion au niveau de la zone de dépôt.

figure 5 : dépôt des échantillons



le liquide non absorbé par le gel est ensuite essoré avec une autre bande de papier filtre et le masque de dépôt est jeté.

figure 6 : essorage du liquide en excès



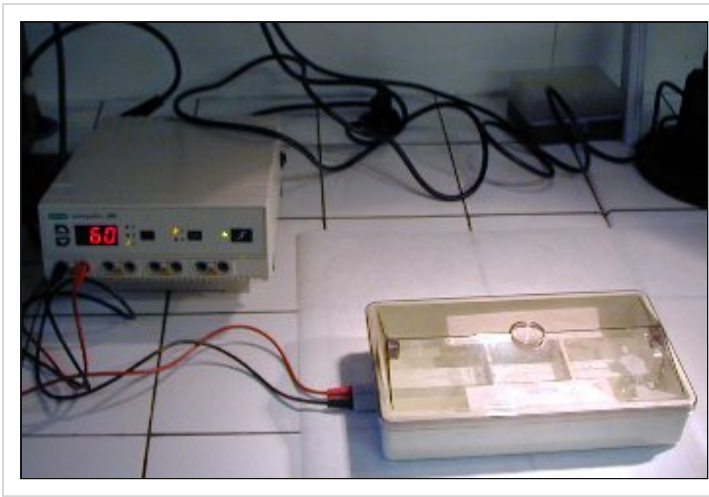
le gel est alors mis en place dans la cuve et le contact électrique entre le tampon placé dans les deux réservoirs et le gel est assuré par des bandes de papier filtre trempées dans le tampon.

figure 7 : gel en place dans la cuve



après fermeture du couvercle et mise en marche de l'alimentation, la migration des protéines démarre. la tension appliquée au gel et le temps de migration dépendent de la nature des échantillons à analyser.

figure 8 : ensemble du dispositif d'électrophorèse



2.2. 2.2. fixation et coloration

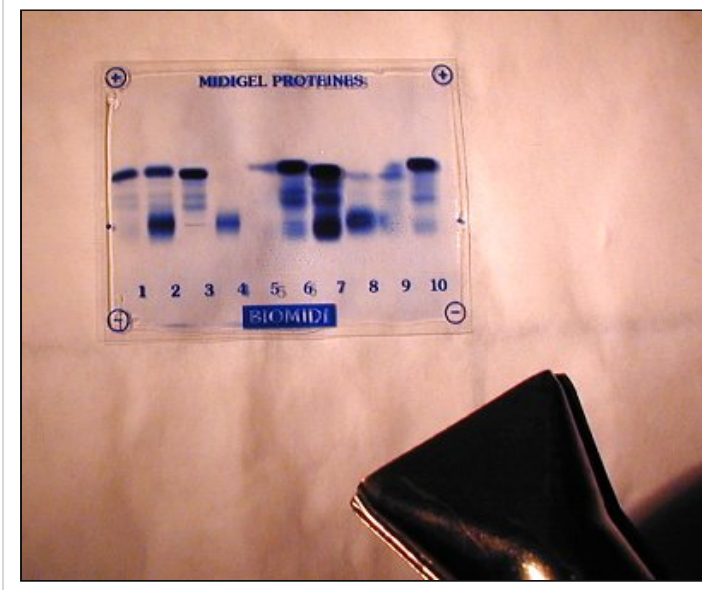
une fois la migration électrophorétique terminée, le gel est plongé pendant dix minutes dans le fixateur, séché puis plongé pendant 10 minutes dans le colorant. une succession de bains dans la solution de décoloration permet ensuite d'éliminer la coloration du fond de façon à faire apparaître les bandes correspondant aux diverses protéines séparées.

figure 9 : décoloration du fond



le gel est ensuite séché ce qui permet de le conserver dans de bonnes conditions.

figure 10 : séchage final du gel



3. 3. solutions

1. tampon tris barbital

- tris (hydroxyméthyl) aminométhane : 7,2 g
- acide diéthylbarbiturique : 1,82 g
- diéthylbarbiturate de sodium : 10,2 g
- ethylmercurithiosalicylate : 0,02 g
- eau distillée : 1 l

2. colorant

- noir amido : 1,25 g
- acide acétique à 5 % : 500 ml

3. fixateur

- méthanol : 90 ml
- acide acétique glacial : 20 ml
- eau distillée : 90 ml

4. décolorant

- acide acétique à 5 %

nb les gels supportés biomidi sont fournis dans un coffret comportant 10 gels, les bandes de papier filtre, les masques et les produits nécessaires pour préparer le tampon et le colorant.

4. 4. fournisseurs

cuves à électrophorèse et alimentations

pierron

2, rue gutenber

bp 80609

57206 sarreguemines

gels supportés prêts à l'emploi

 CRÉDITS