Comparaison du profil électrophorétique du sérum de différents animaux

Publié le 17.06.11

Auteur : Didier Pol

Table des matières

1. Principes et protocoles
2. Résultats et exploitation
3. Fournisseur

1. 1. Principes et protocoles

Le sérum correspond au plasma sanguin dépourvu de son fibrinogène. L'électrophorèse du sérum peut être utilisée à la fois pour la prise en main de la technique et pour montrer l'intérêt d'identifier les protéines d'un mélange et de mener leur analyse densitométrique. En outre, la comparaison des profils électrophorétiques de liquides biologiques ou d'extraits tissulaires appartenant à différents animaux permet aussi d'apprécier leur parenté évolutive, les animaux les plus proches sur le plan évolutif présentant des profils qui se ressemblent davantage que les animaux dont le degré de parenté est plus lointain.

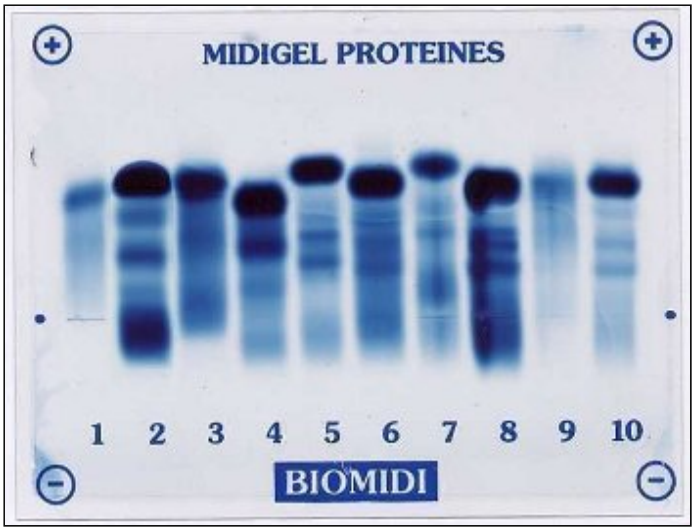
Il est possible de se procurer dans le commerce du sérum provenant de différentes espèces d'oiseaux et de mammifères (voir " approvisionnement"). Ce type de liquide biologique présente l'avantage de pouvoir être utilisé directement sans préparation particulière. Après identification des protéines du sérum humain, on peut chercher à identifier les protéines homologues dans les différents sérums testés.

Bien que les résultats présentés ci-dessous aient été obtenus avec des gels d'agarose prêts à l'emploi, des résultats similaires peuvent être obtenus avec un gel d'agarose coulé par l'utilisateur ou avec un support différent comme une bande d'acétate de cellulose. Il faut cependant noter que la résolution des protéines est meilleure avec un gel d'agarose.

Dans l'exemple ci-dessous, les dix pistes d'un gel d'agarose supporté ont été chargées avec 5 µL de sérum du commerce provenant de trois oiseaux et de sept mammifères et l'électrophorèse a été menée à 140 V pendant 60 minutes.

2. 2. Résultats et exploitation

Figure 1 : Séparation électrophorétique des protéines de sérums différents



***1** : canard ; **2** : chèvre ; **3** : poule ; **4** : cobaye ; **5** : lapin ; **6** : singe ; **7** : chien ; **8** : cheval ; **9** : pigeon ; **10** : homme.*

Les protéines sériques sont identifiées chez l'homme pour servir de référence et le profil densitométrique est établi. Deux outils logiciels gratuits, *Digispec (F. Borie) et Mesurim (J.F. Madre)* peuvent être utilisés pour cela. Le premier permet d'effectuer l'analyse densitométrique à partir d'une image au format .bmp obtenue avec un appareil photo numérique ou un scanner. Le second permet également d'effectuer l'analyse densitométrique à partir d'une image au format .bmp mais il est capable en outre de piloter le scanner.

Noter que Digispec fournit un fichier texte (.txt) qui est ensuite repris dans un logiciel tableur comme Excel pour construire le tracé graphique tandis que Mesurim fournit directement le profil. Noter également que les images ci-dessous ont été créées avec un logiciel de dessin en superposant la piste analysée avec le profil densitométrique et en ajoutant éventuellement des annotations.

Figure 1 : Profil densitométrique d'un sérum humain

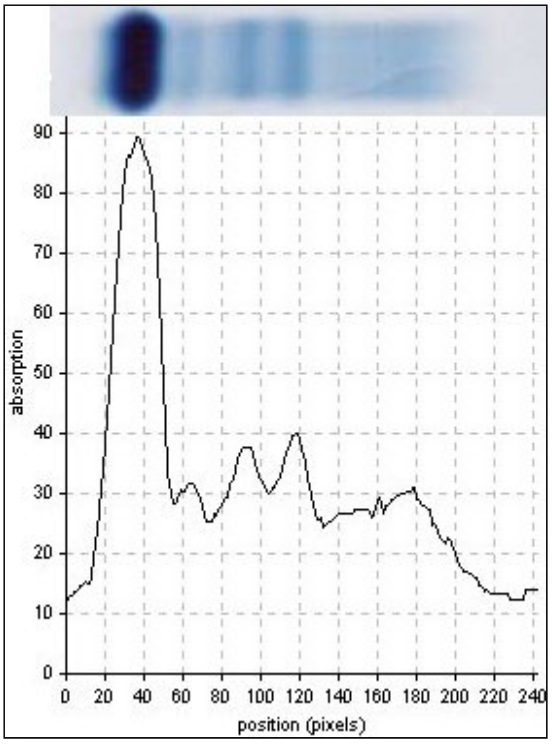
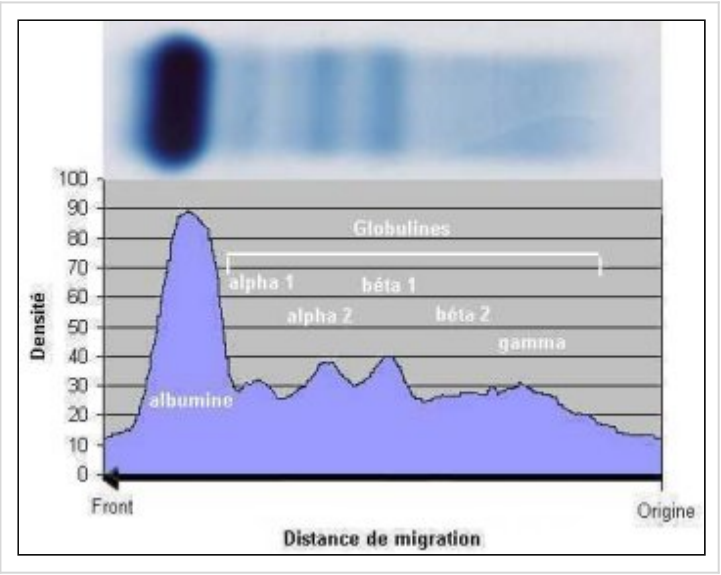
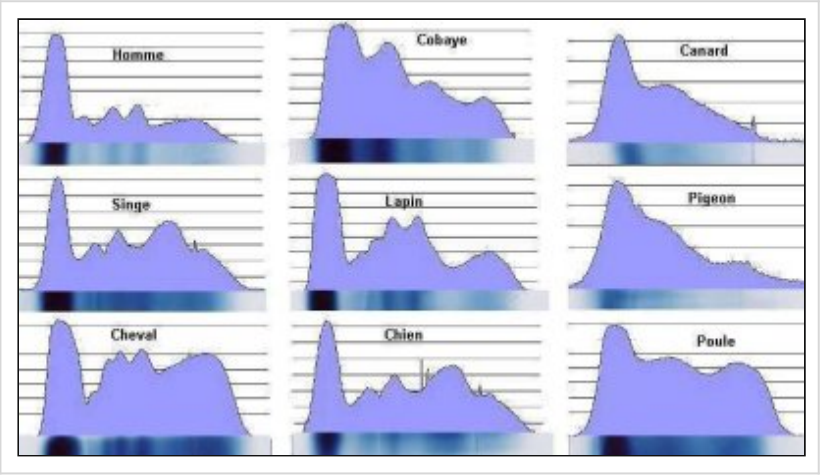


Figure 2 : Profil densitométrique d'un sérum humain



La comparaison des différents sérums peut être menée par un simple examen visuel des pistes d'électrophorèse, mais la comparaison des profils densitométriques apporte davantage de précision. Sur la figure 3, on a superposé les pistes correspondant à neuf des dix sérums avec les profils correspondants. Le sérum de chèvre n'a pas été retenu pour cette étude car, s'agissant d'un immunsérum produit pour fournir des anticorps, il était excessivement concentré en immunoglobulines.

Figure 3 : Comparaison des profils densitométriques de 9 espèces animales différentes



L'analyse des profils électrophorétiques montre deux groupes de profils, celui des mammifères et celui des oiseaux. On constate que la sérumalbumine est présente chez toutes les espèces testées avec une concentration notablement plus élevée chez les mammifères. Chez ces derniers, on observe en outre une plus grande diversité de protéines sériques qui montrent plusieurs bandes de mobilité voisine ou identique suggérant l'existence de plusieurs protéines homologues absentes du sérum des trois oiseaux testés. Noter que le sérum du cheval utilisé ici montre une importante concentration en immunoglobulines.

3. 3. Fournisseur

- Sérums animaux :
  SIGMA. L'Isle d'Abeau Chesnes BP 701 - 38297 Saint Quentin Fallavier

CRÉDITS