

À RÉCEPTION DU COLIS :

- Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- Stocker** les articles du colis dans les bonnes conditions :
 - 📌 Placer le sachet contenant le **Bleu de charge** à **- 20 °C**
 - 📌 Placer les flacons TBE1X et les sachets INISER au réfrigérateur à 4°C
 - 📌 Placer l'agarose à **température ambiante**.

Attention : Ces conditions de stockage sont à respecter scrupuleusement pour permettre une conservation générale des produits du kit de 4 mois.

- Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

COMPOSITION pour 48 dépôts (24 binômes max) sur 6 ou 8 gels :

- 4 g d'agarose (QSP 400 ml de gels à 1 %)
- 2 bouteilles de 500 ml de TBE 1X
- 2 sachets notés INISER de 2 microtubes à stocker à **4°C** contenant :
 - o Sérum de lapin immunisé contre la BSA (lyophilisé) = bouchon rouge
 - o Sérum de lapin non-immunisé (lyophilisé) = bouchon blanc
- 1 sachet contenant 1 tube de 1 ml de Bleu de charge à stocker à - 20 °C
- 1 sachets de 50 tubes 1,5 ml
- Un tube de 10 ml d'eau déminéralisée

NB : vérifiez les quantités de consommables (agarose et TBE) dont vous avez besoin en fonction de vos cuves à électrophorèse

MATÉRIEL NÉCESSAIRE :

- Pipettes de 10/20 ml
- Poire à pipeter ou Pipump
- Fiole de 1 L
- Flacon de 1 L
- Balance
- Erlenmeyer (ou flacon) de 250 ml (pour préparer les gels)
- Feutres permanents
- Gants
- Lunettes de protection
- Microtubes Eppendorf + portoirs
- Récipient pour bains de coloration et de décoloration
- Cuves à électrophorèse + générateurs (cuves Bluegel conseillées)
- Micropipettes 2-20 µL + embouts
- Eau distillée
- Poubelles de table

OBJECTIFS COGNITIFS

Nous avons mis en évidence, grâce à la technique d'Ouchterlony, la spécificité de la réaction anticorps-antigène en utilisant un sérum de lapin immunisé contre la BSA.

Les anticorps anti-BSA présents dans le sérum immunisé se fixent de façon spécifique à la BSA = agglutination.

Cette expérience montre qu'il y a synthèse d'anticorps lors des processus d'immunisation. Ces anticorps sont présents dans le sérum.

L'électrophorèse permettra de détecter des protéines absentes dans le sérum non-immunisé et présentes dans le sérum immunisé : Les anticorps.

PREPARATION

I. PRÉPARATION DES GELS D'AGAROSE A 1 %

Pour réaliser 100 ml de gel d'agarose :

- Dans un erlenmeyer de 250 ml, pesez 1 g d'agarose
- Ajoutez 110 ml de tampon TBE 1X (110 ml pour tenir compte de l'évaporation). Portez à ébullition au micro-ondes pour dissoudre l'agarose
- Une fois l'agarose dissous, contrôlez la température avec un thermomètre. Attendez que la température descende à 55 °C avant de couler les gels
 - o Si vous disposez d'une cuve Bluegel, le volume d'un gel est 20 ml
 - o Si vous disposez d'un autre type de cuve, suivez les instructions du fabricant
 - o Placez les peignes dans le support de moule :
 - Choisir une taille de puits suffisante pour déposer au moins 15 µL
 - Si vous disposez d'une cuve BLUEGEL, vous pouvez placer 2 peignes afin d'augmenter le nombre de dépôts par gel
 - o Laissez refroidir.
- Quand les gels d'agarose ont pris, enlevez délicatement les peignes

II. PRÉPARATION DU TAMPON DE MIGRATION

Le Tampon est livré prêt à l'emploi.

III. PRÉPARATION DES SÉRUMS

- Ajouter 150µL d'eau à chaque tube de sérum.
- Ajouter 250 µL de bleu de charge dans chaque tube reconstitué.
- Vous disposez de 800 µl de chaque sérum chargé de bleu.

MANIPULATION :

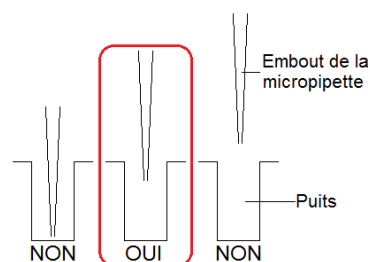
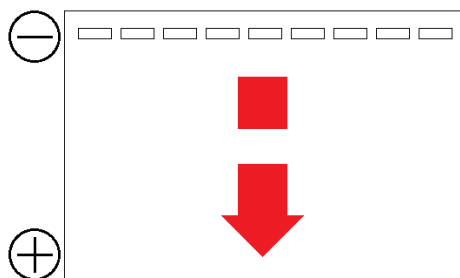
Répartissez les élèves en fonction du nombre d'électrophorèses : chaque élève doit réaliser au moins un dépôt.

I. Préparations des cuves à électrophorèse :

- ✓ Si vous disposez de cuves Bluegel : déposez le gel et ajouter 18 ml de tampon TBE 1X (le tampon recouvre à peine le gel).
- ✓ Si vous disposez d'un autre type de cuve à électrophorèse : référez-vous à la notice de la cuve (gel immergé ou non).

II. Dépôts des échantillons de sérums :

- Distribuer 25µL de chaque sérum (immunisé (noté A) et non immunisé (noté B)) à chaque binôme.
- Chaque élève va déposer 15µL de A ou de B.



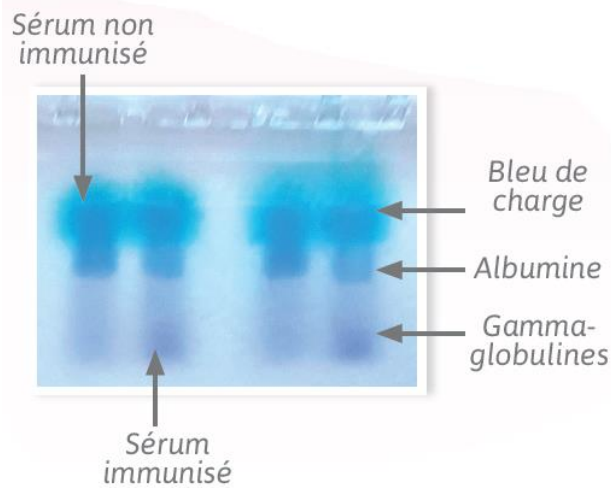
👁👁 ATTENTION 👁👁 : Changez d'embout de micropipette entre chaque dépôt !

III. Migration :

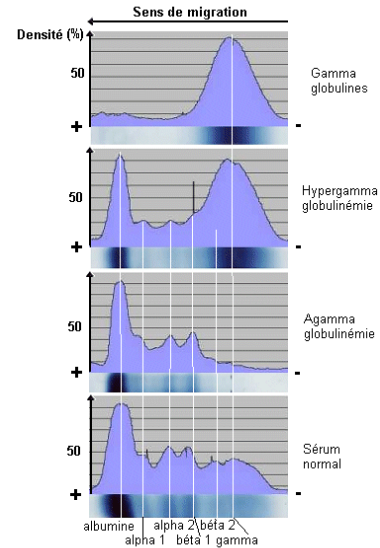
Durée de la migration : 30 à 40 min avec la cuve BLUEGEL; 20-30 min avec des cuves standards à 160V

Si vous disposez d'un autre type de cuve à électrophorèse, réglez l'alimentation sur 100 V et attendez que le bleu de dépôt ait atteint l'extrémité du gel pour arrêter l'électrophorèse.

RESULTATS ATTENDUS ET INTERPRETATION



Explication sur la migration des anticorps :



FICHE SECURITE (guide non exhaustif)

Ne pas ingérer les produits contenus dans ce kit. En cas de contact direct avec la peau, rincer abondamment.

Les produits fournis dans ce kit ne sont pas toxiques et ne requiert donc pas de précautions d'utilisation particulières.

Les sérums sont des produits issus de matériel biologique vivant. Il est recommandé de manipuler ces solutions avec des gants pour éviter toute source d'allergie potentielle.

FICHE CONSERVATION

Le tampon TBE1X se conserve 1 mois à température ambiante.

Les sérums lyophilisés se conservent 1 an à 4°C. Une fois reconstitués, ils se conservent 24 heures à 4°C ou 2 semaines à -20°C.

FICHE TRI ET RECUPERATION

Les plastiques peuvent être jetés dans les bacs de recyclage prévus à cet effet, une fois rincés.