

Référence : ELECROT



Electrophorèse des protéines (hémoglobines) sur gel d'agarose

Manipulations et résultats en 1 h 30

Comprendre les relations de dominance et de récessivité sur les gènes de la globine

Objectifs cognitifs :

L'électrophorèse de l'hémoglobine provenant d'individus normaux ou atteints de drépanocytose est utilisée pour identifier les hémoglobines A et S ce qui permet d'établir leur génotype et d'étudier les relations génotype-phénotype.

Caractérisation de phénotypes moléculaires et identification des génotypes par électrophorèse de l'hémoglobine.

Les mutations qui confèrent un avantage sélectif ont une grande probabilité de se répandre dans la population :

La démarche est identique à celle de première mais il s'agit en terminale de relier génétique et évolution.

Manipulation proposée :

Électrophorèse sur gel d'agarose d'hémoglobine A, d'hémoglobine S et d'un mélange des deux.

L'hémoglobine anormale, S (sickle), ne diffère de l'hémoglobine normale, A, que par un seul acide aminé de la chaîne bêta en position 6 (acide glutamique remplacé par valine). Les deux allèles ne diffèrent que par un codon.

On peut distinguer les deux hémoglobines par leur mobilité électrophorétique. En appliquant la technique à l'hémoglobine extraite des globules rouges d'un individu, on peut donc déterminer quelle(s) hémoglobine(s) il possède et en déduire son génotype : hétérozygote, HbA/HbS ou homozygote HbA/HbA ou HbS/HbS.

La migration des protéines se voit même sans coloration, les élèves peuvent donc voir leur résultat immédiatement à la fin de la migration.

La visualisation est plus nette après coloration puis décoloration au rouge de ponceau (durée minimal totale:

30 min). Plus le gel est fin et plus la coloration / décoloration sera rapide.

Electrophorèse sur gel d'agarose:

Durée de la migration : 40 à 60 min avec la cuve BLUEGEL; 30 min avec des cuves standards à 160V

L'électrophorèse se fait au cours d'une séance d'1H30.

Composition pour 48 dépôts (24 binômes max) :

- 4 g d'agarose (QSP 20 gels à 1% de 3 mm d'épaisseur)
- 0,3 ml de solution d'hémoglobine A et S (2,5 mg/ml)

- 1 dose pour 1 L de tampon de migration (tris-glycine)

- 500 ml de rouge ponceau

- Acide éthanoïque 5,1%
- Bleu de dépôt 10X
- Notice technique et pédagogique disponible sur notre site.

Matériel nécessaire :

Cuve à électrophorèse BLUEGEL (permet de faire des gels de 3mm, et des puits de 2 mm)

Micropipettes 2-20 µL

Conservation : 6 mois

Solutions d'hémoglobines : congélateur