

ELECTROPHORESE

Pr Louis Augustin D. DIOUF

Maître de conférences agrégé

Laboratoire de Physique et de génie Pharmaceutique

FMPO-UCAD

INTRODUCTION

Méthode de séparation et d'analyse basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique.

Pour l'électrophorèse particules chargées sont des macromolécules.

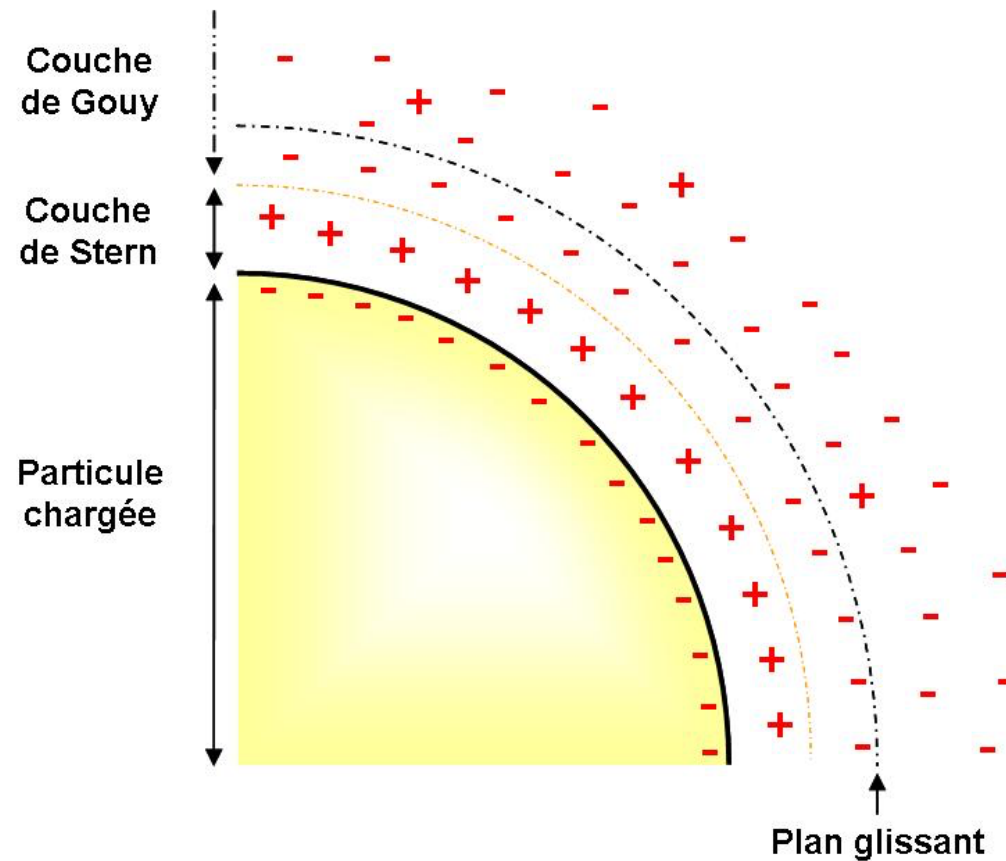
Intérêt:

- analytique (analyse qualitative et quantitative),
- diagnostic de maladies lié aux protéines sériques, les hémoglobinopathies, les anomalies du matériel génétique...

I- ETUDE THEORIQUE

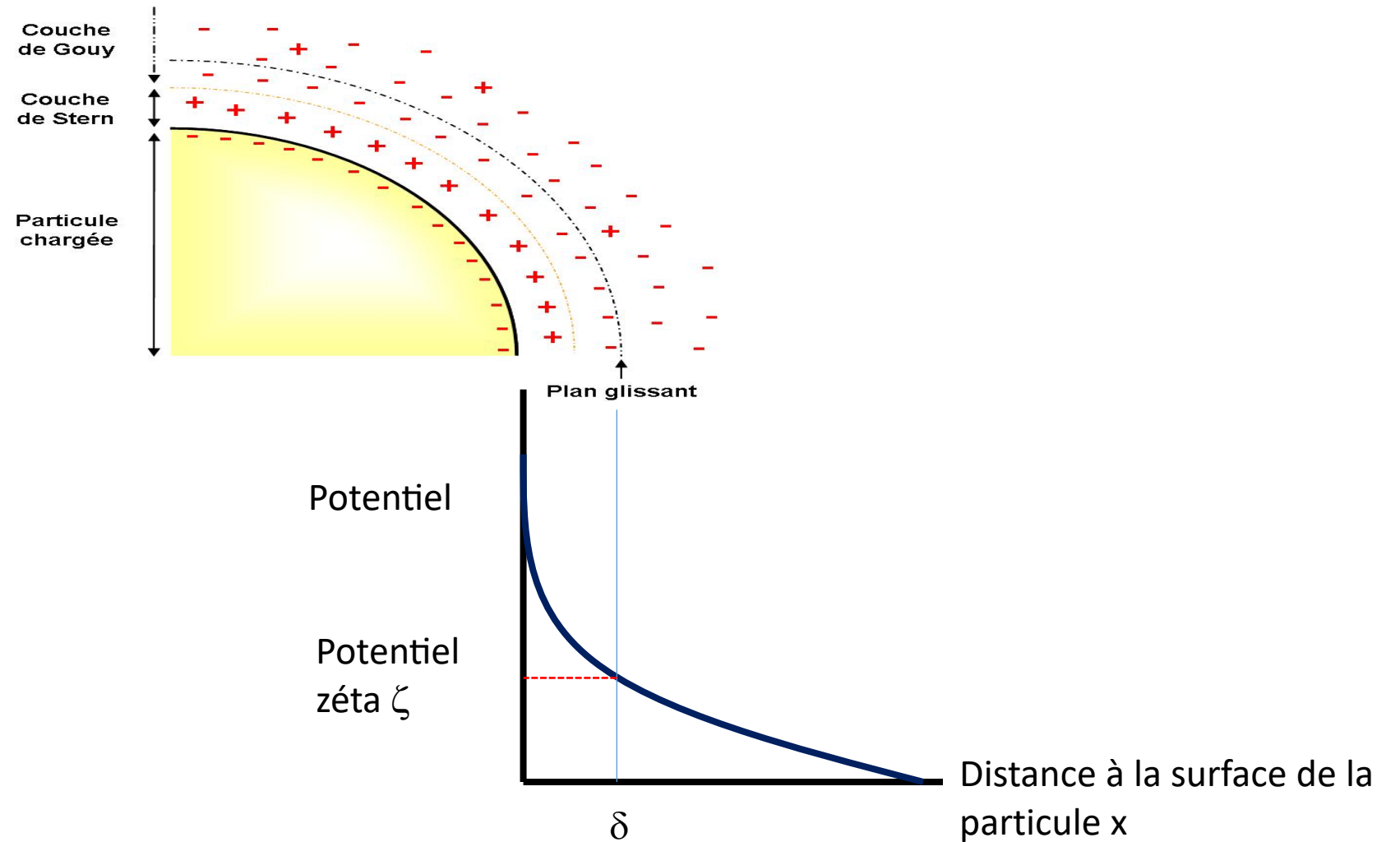
I-1 DISTRIBUTION DES CHARGES AUTOUR D'UNE MACROMOLECULE

Double couche à la surface d'une macromolécule



I- ETUDE THEORIQUE

I-2 MESURE DE POTENTIEL AUX DIFFÉRENTES COUCHES



I- ETUDE THEORIQUE

I-3 MOBILITE ELECTROPHORETIQUE

En présence d'un champ électrique, particule soumise à :

- Une force électrique

$$F_e = q \cdot E = q \cdot \frac{U}{l}$$

- Forces de frottements

$$F_f = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot v$$

Lorsque régime stationnaire atteint

$$F_e = F_f \quad \rightarrow \quad q \cdot E = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot v_l \quad \text{soit}$$

$$\frac{v_l}{E} = \frac{q}{6\pi \cdot \eta \cdot r} = \mu$$

μ = mobilité électrophorétique

I- ETUDE THEORIQUE

I-3 MOBILITE ELECTROPHORETIQUE

En tenant compte du potentiel électrocinétique

$$q = \zeta \cdot \epsilon_r \cdot \delta$$

ϵ_r = constante diélectrique

$$\mu = \frac{q}{6\pi \cdot \eta \cdot r}$$

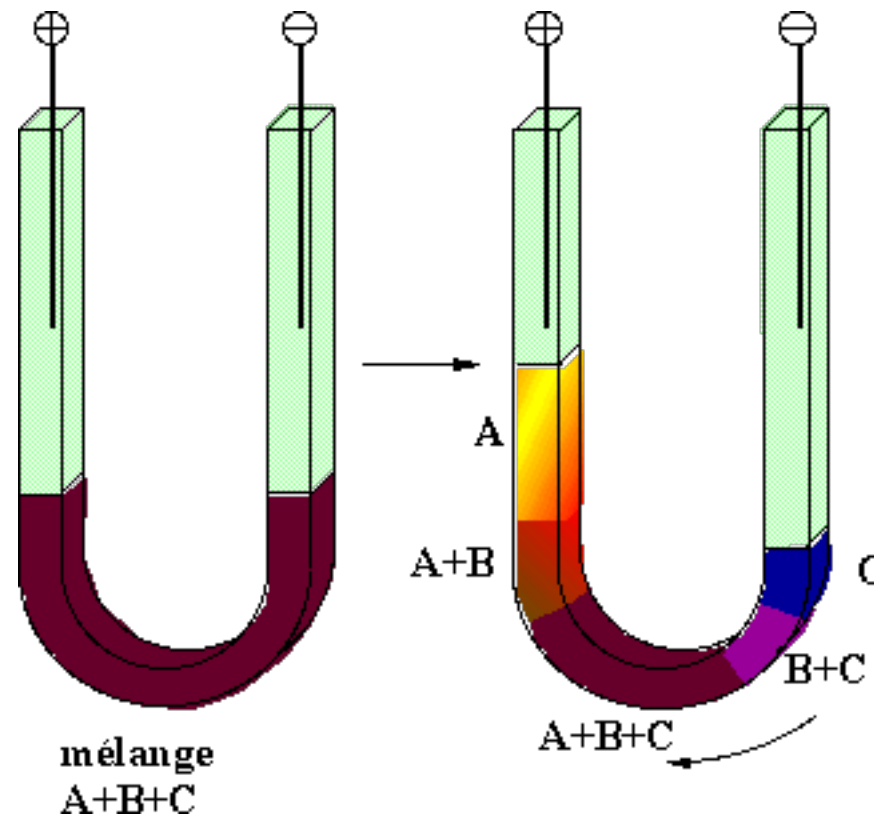
$$\mu = \frac{\zeta \cdot \epsilon_r \cdot \delta}{6\pi \cdot \eta \cdot \delta}$$

$$\mu = \frac{\zeta \cdot \epsilon_r}{6\pi \cdot \eta}$$

II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

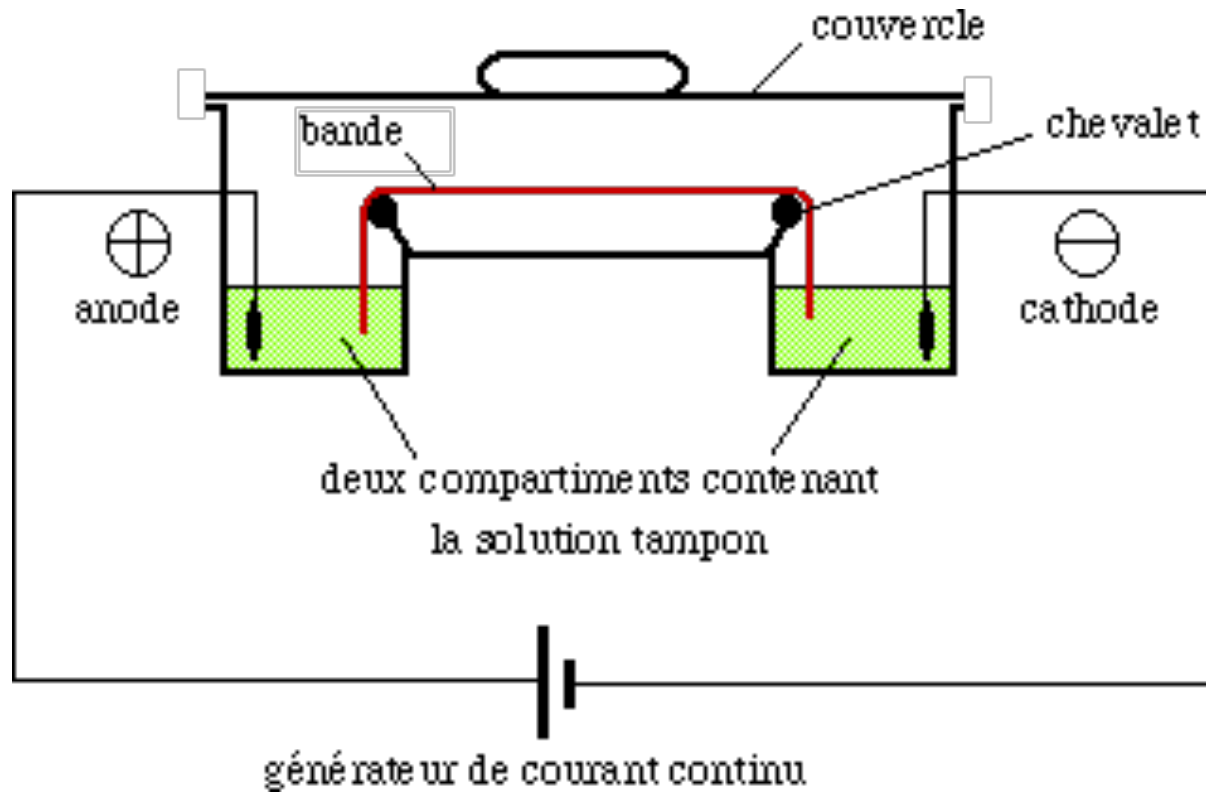
II-1 ÉLECTROPHORÈSE EN VEINE LIQUIDE

Première technique électrophorétique A. TISELIUS (1937)



II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-2 ÉLECTROPHORÈSE SUR BANDE D'ACÉTATE DE CELLULOSE



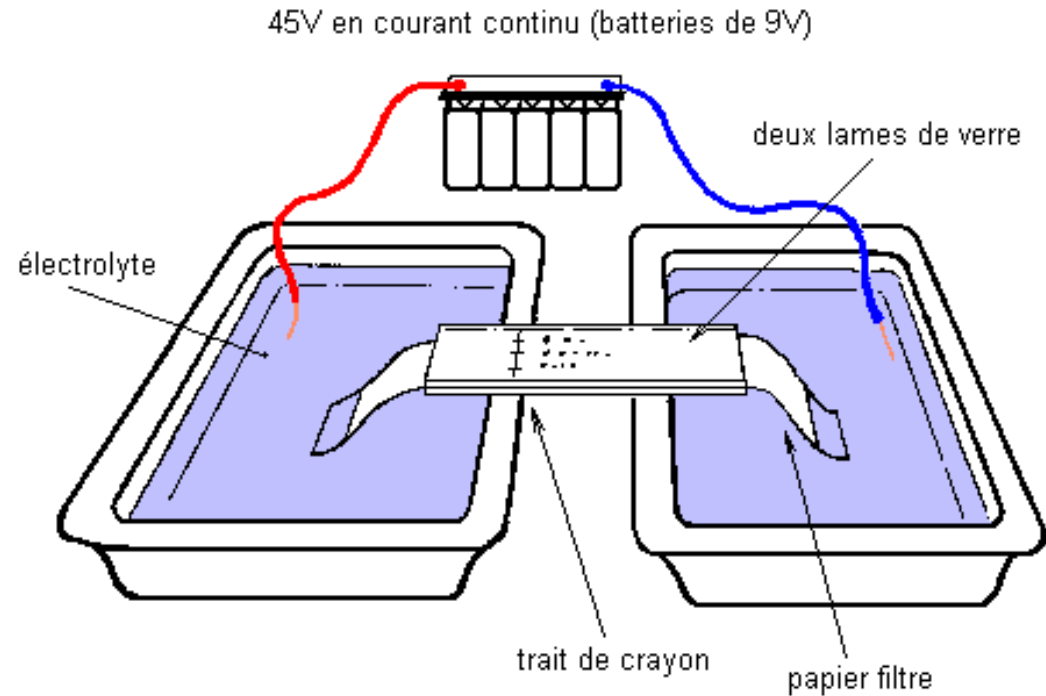
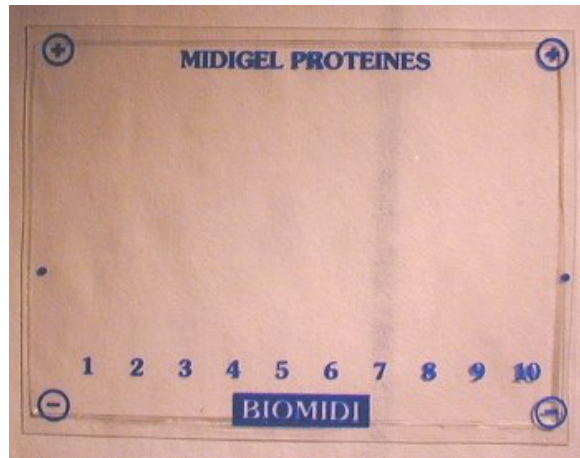
Après migration:

- Coloration
- Transparisation
- Densitométrie
- Mesure vitesse migration

II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-3 ÉLECTROPHORÈSE SUR GEL

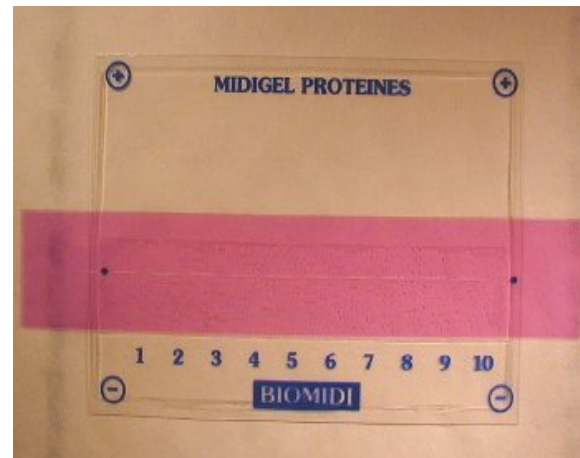
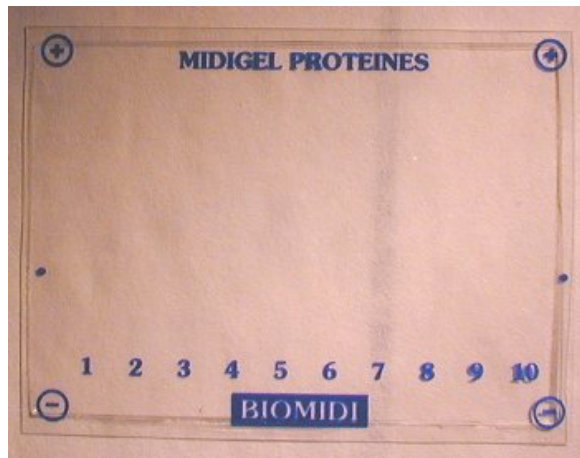
Gel agar agar, amidon



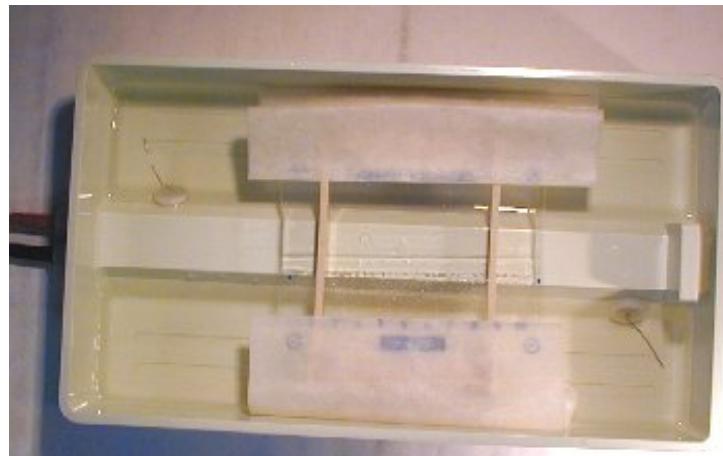
II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-3 ÉLECTROPHORÈSE SUR GEL

Gel agar agar, amidon

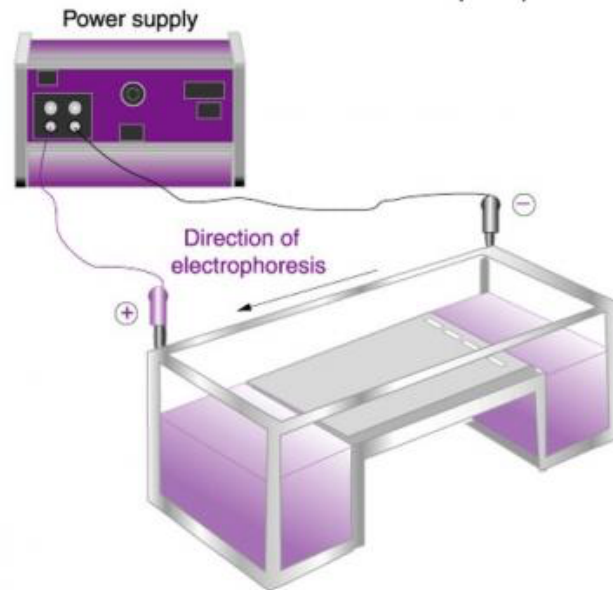


masque de dépôt

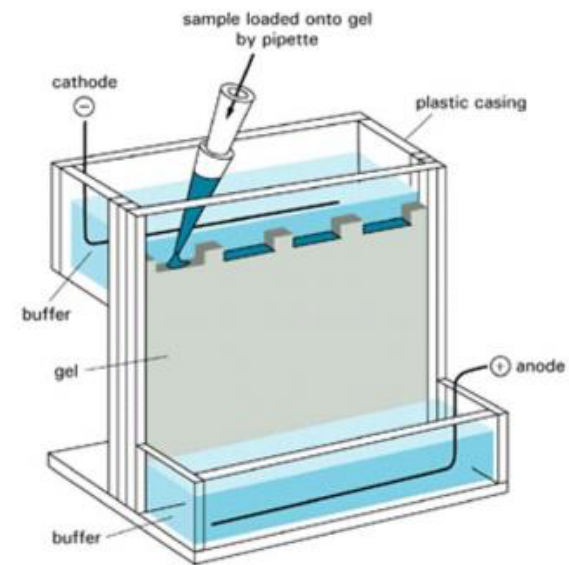


II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-3 ÉLECTROPHORÈSE SUR GEL



Électrophorèse horizontale
(gel d'agarose)



Électrophorèse verticale
(gel de polyacrylamide)

II- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-4 AUTRES TECHNIQUES ÉLECTROPHORETIQUES

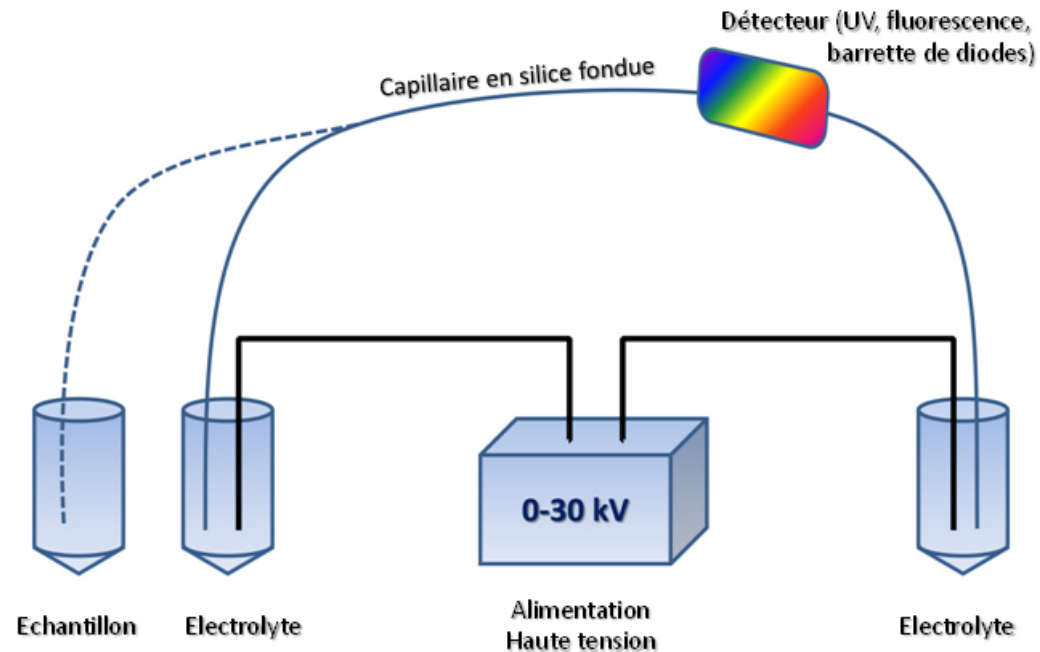
-**Isoelectrofocalisation**: La migration est effectuée dans un gradient de pH; chaque molécule migre jusqu'à l'endroit où le pH est égal à son pHi.

-**Electrophorèse bidimensionnelle**: On sépare selon le pHi dans une dimension (IEF) et selon la masse molaire dans l'autre dimension (PAGE-SDS); on sépare ainsi des centaines de protéines dans le sérum

III- TECHNIQUES DE SÉPARATION PAR ÉLECTROPHORÈSE

II-4 AUTRES TECHNIQUES ÉLECTROPHORETIQUES

-Electrophorèse capillaire:

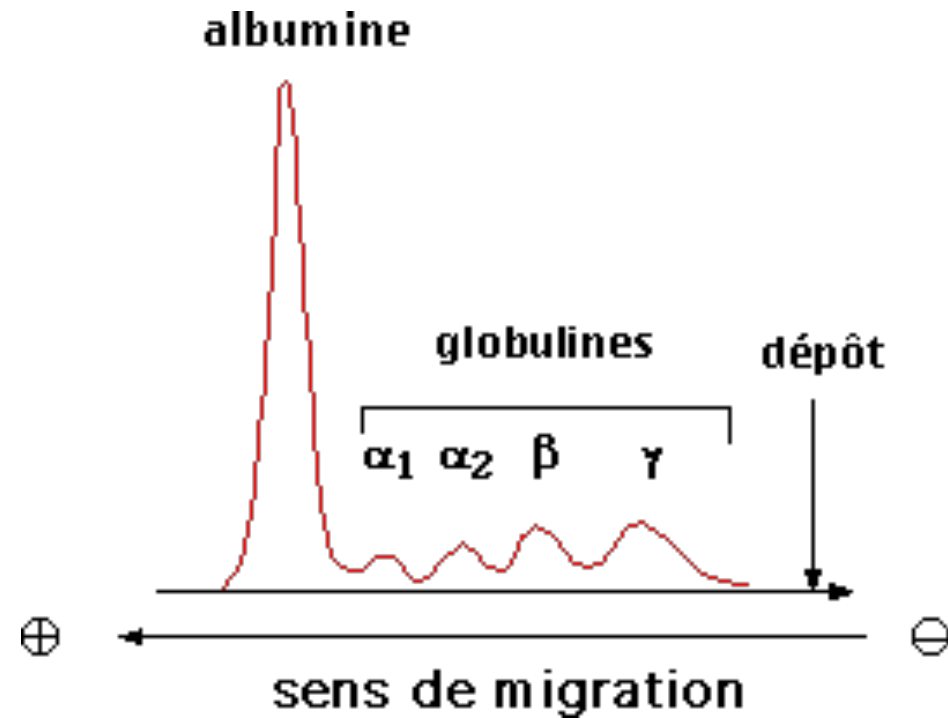


Le déplacement est fonction:

- De la migration électrophorétique
- De la courant d'électroendosmose

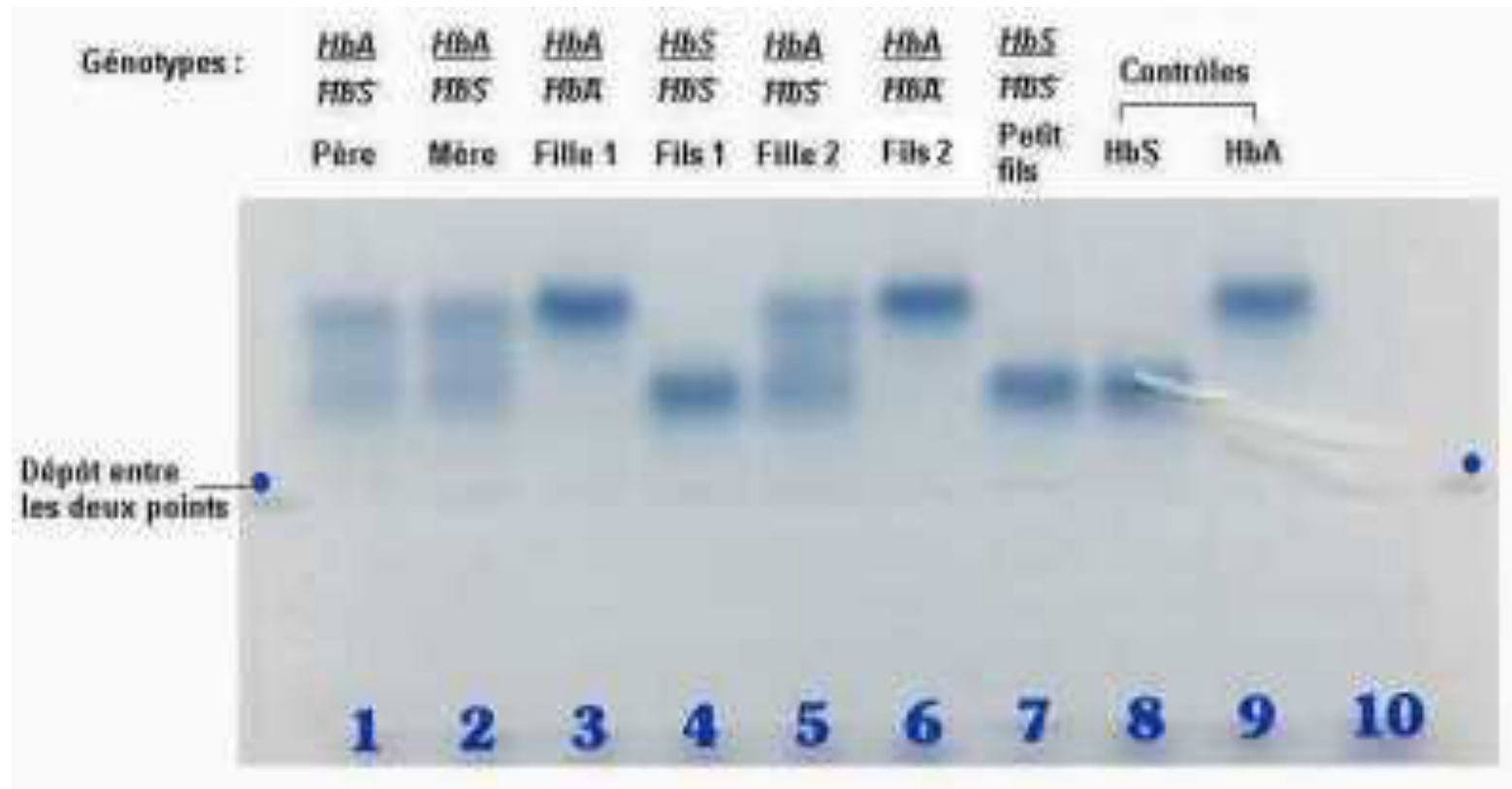
III- APPLICATIONS

III-1 ÉLECTROPHORÈSE DES PROTEINES SÉRIQUES



III- APPLICATIONS

III-2 ÉLECTROPHORÈSE DE L'HEMOGLOBINE



III- APPLICATIONS

III-3 ÉLECTROPHORÈSE DES ACIDES NUCLÉIQUES

