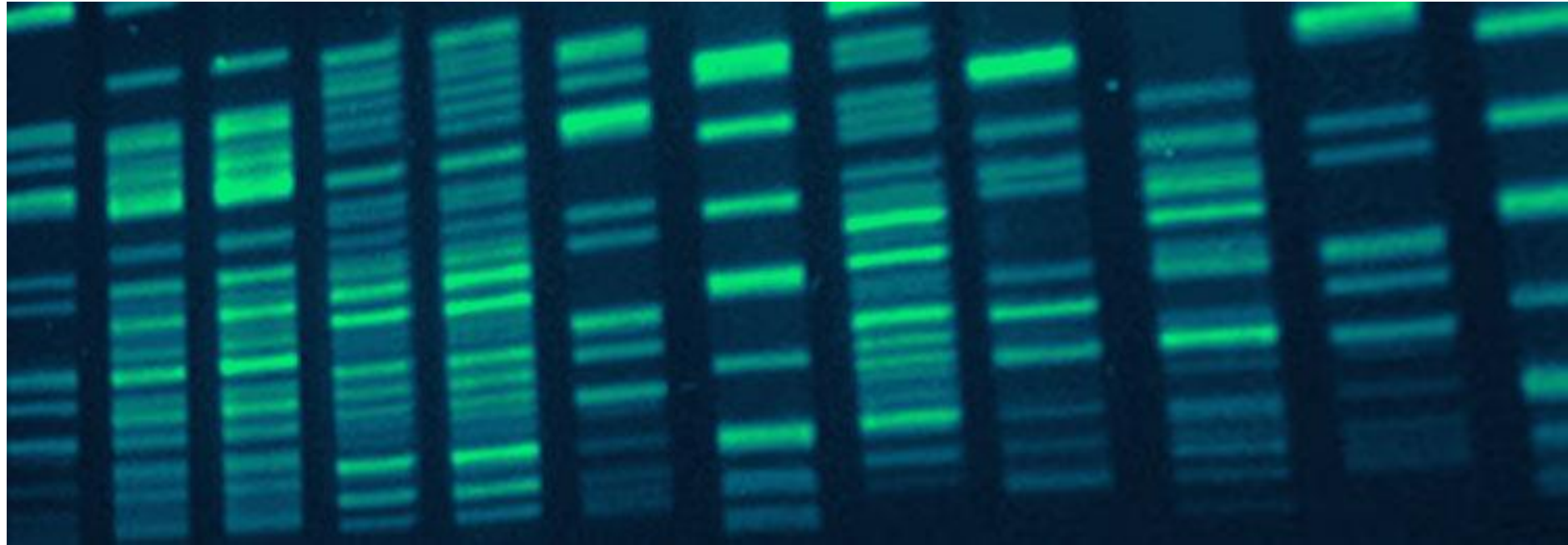


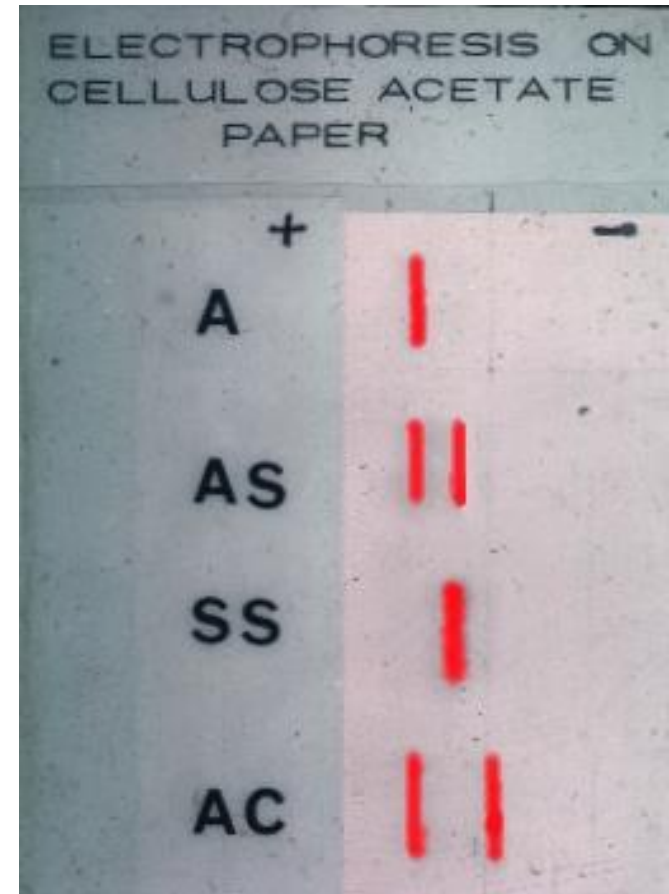
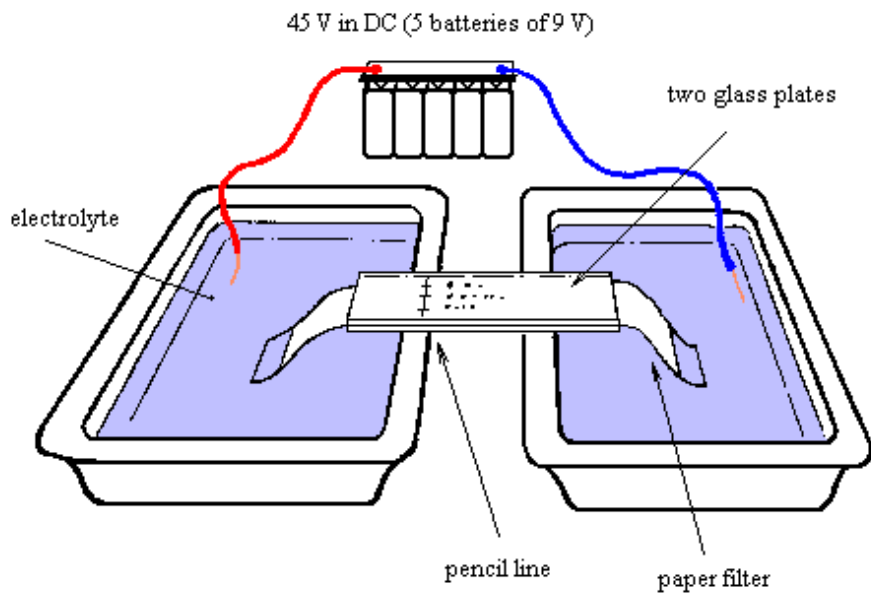
# Electrophorèse des protéines



# Généralités

- ▣ **Principe:** séparation des composés d'un mélange → déplacement des molécules chargées, sous l'influence d'un champ électrique
- ▣ **Appareillage**
  - Support pour la migration → gel, acétate de cellulose, papier
  - Electrodes → couplage à une source de courant continu
  - Solution tampon → contact entre le support et les électrodes
- ▣ **Classes de molécules séparées**
  - Micromolécules: ions, acides aminés, nucléotides, monosaccharides...
  - Macromolécules: protéines, acides nucléiques
- ▣ **Mobilité électrophorétique  $U = v / E$** 
  - $U$ : mobilité [ $\text{cm}^2 \times \text{s}^{-1} \times \text{volt}^{-1}$ ],  $v$ : vitesse de déplacement [ $\text{cm/s}$ ],  
 $E$ : intensité du champ électrique [ $\text{Volt/cm}$ ]
- ▣ **Facteurs qui influencent la vitesse de migration:** charge et taille des molécules; pH, viscosité et température du tampon; nature du support.

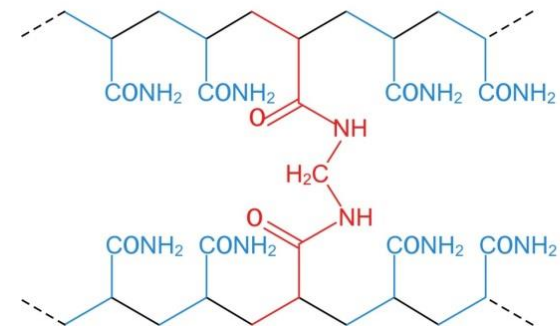
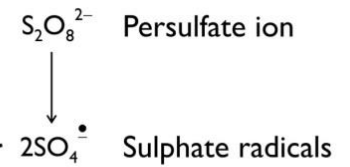
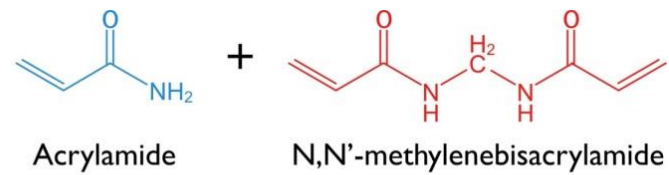
# Exemples: électrophorèse sur papier et acétate de cellulose



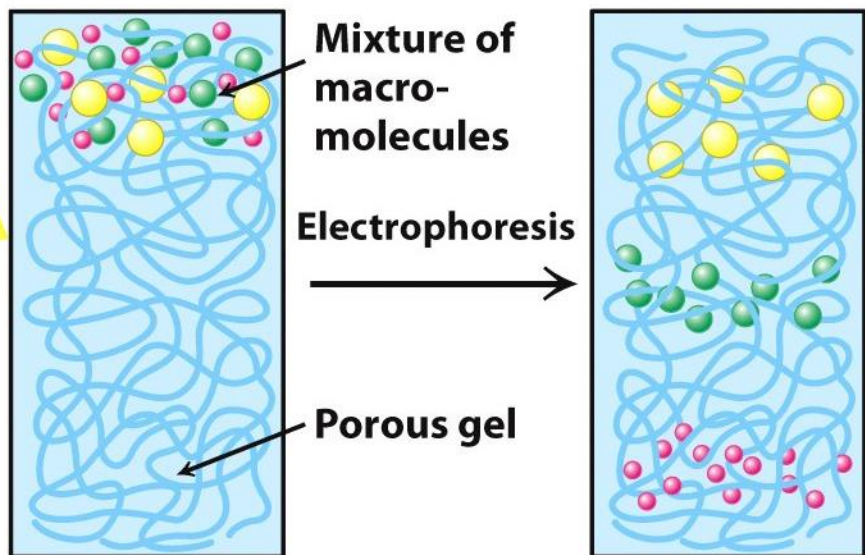
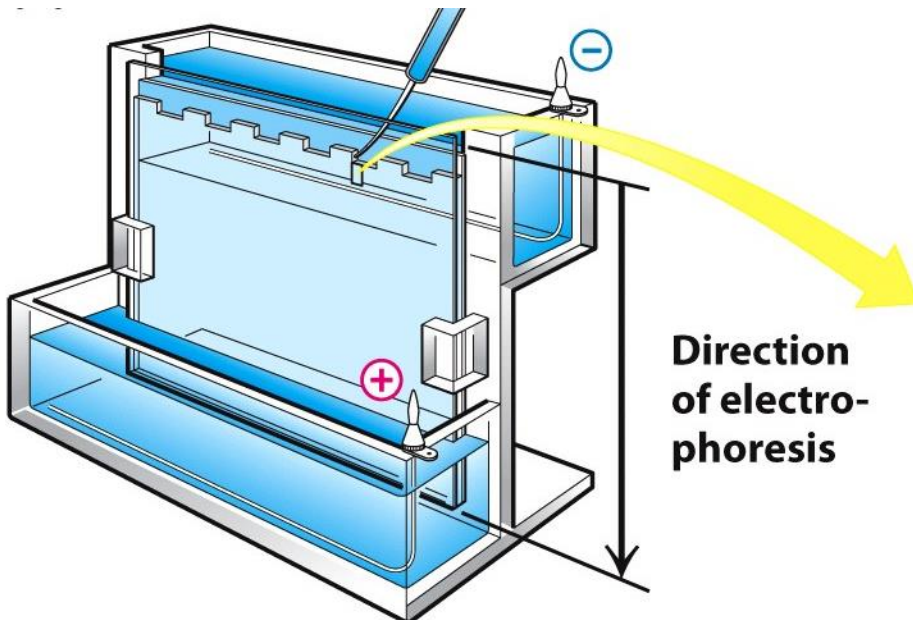
**Applications:** séparation des micromolécules et des peptides

**Electrophorèse de l'hémoglobine**

# Exemple: électrophorèse sur gel de PAA

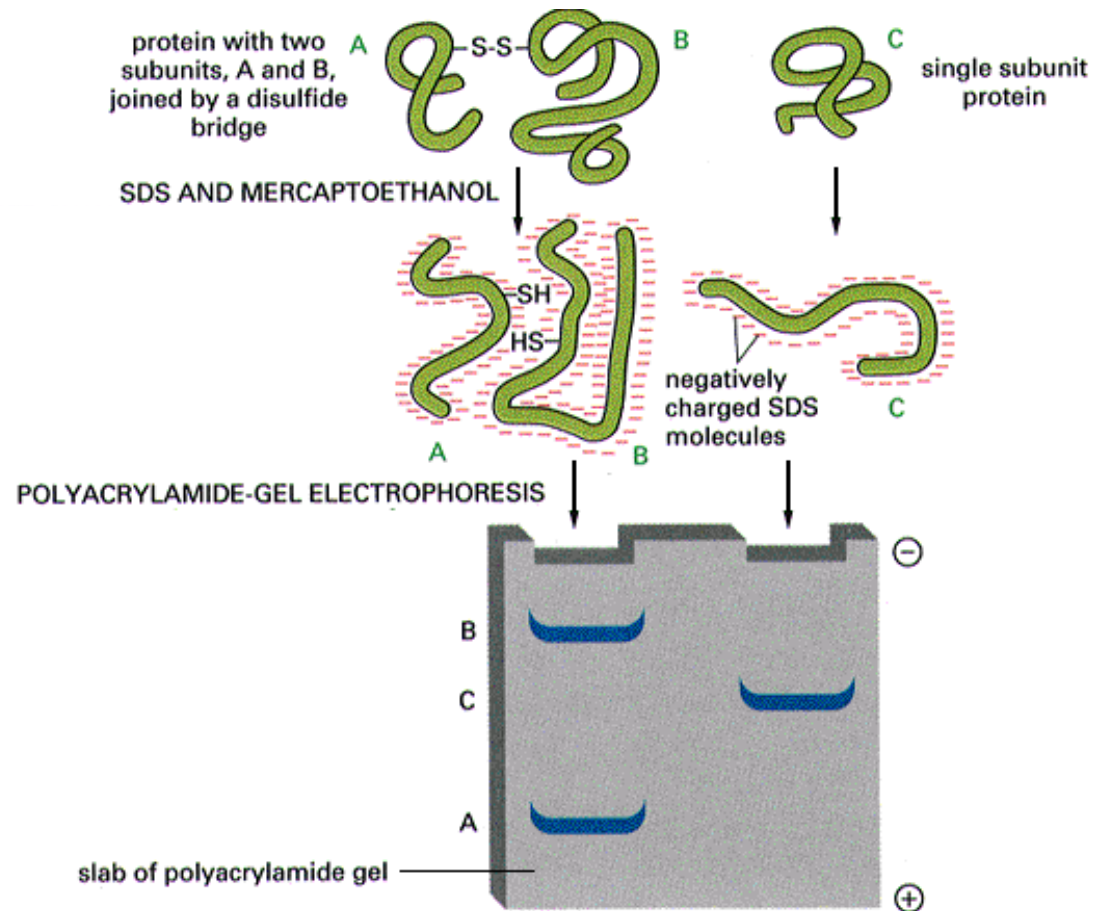


**PAA** (copolymère): réseau moléculaire poreux, taille des pores inversement proportionnelle à la concentration du gel

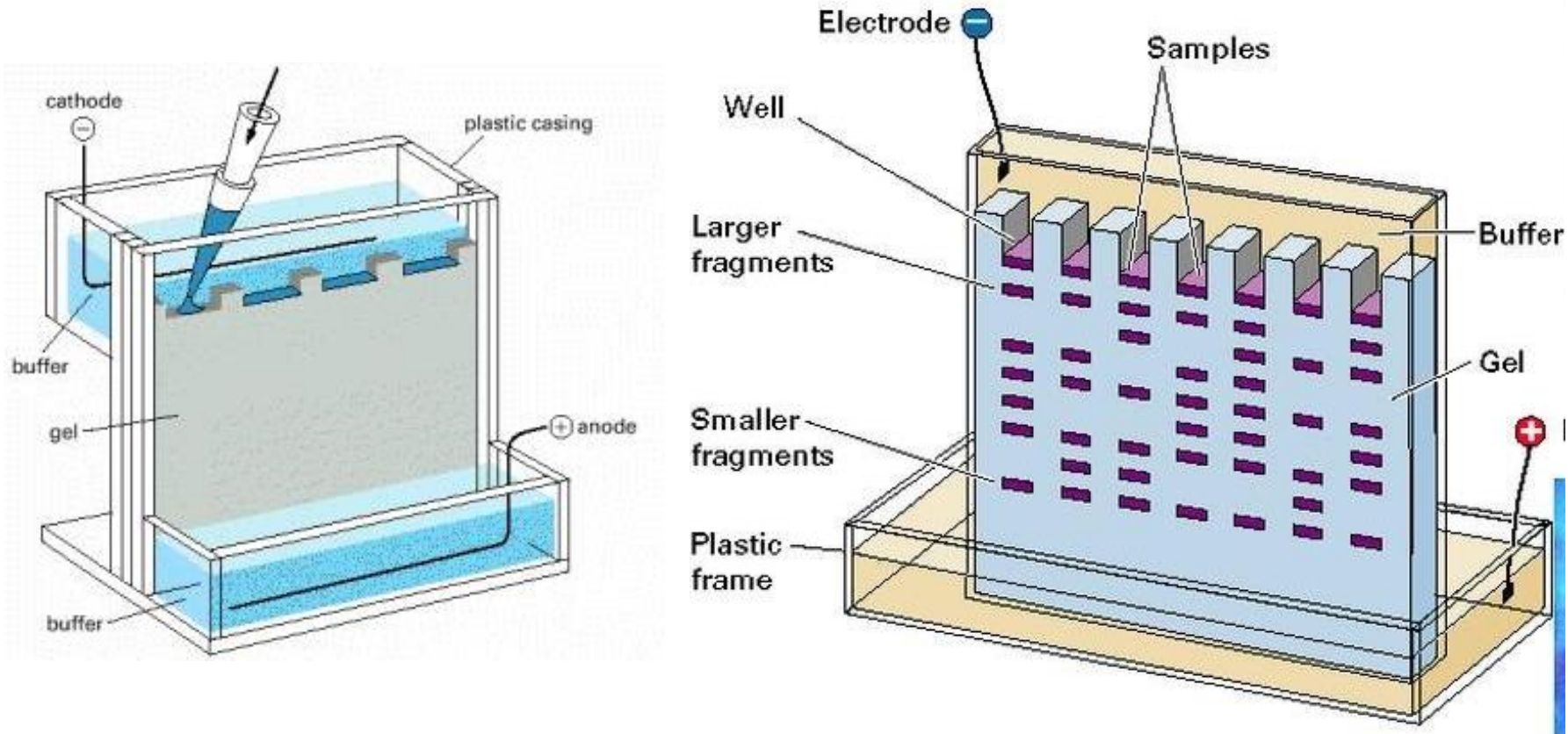


# Séparation des protéines sur gel de PAA

- Caractère amphotère des acides aminés → la charge nette des protéines varie selon le pH
- Migration des protéines: dépendante du pH du milieu
  - $\text{pH} = \text{pI}$  → mobilité nulle
  - $\text{pH} < \text{pI}$  → charge nette (+)  
→ migration vers la cathode
  - $\text{pH} > \text{pI}$  → charge nette (-) → migration vers l'anode.

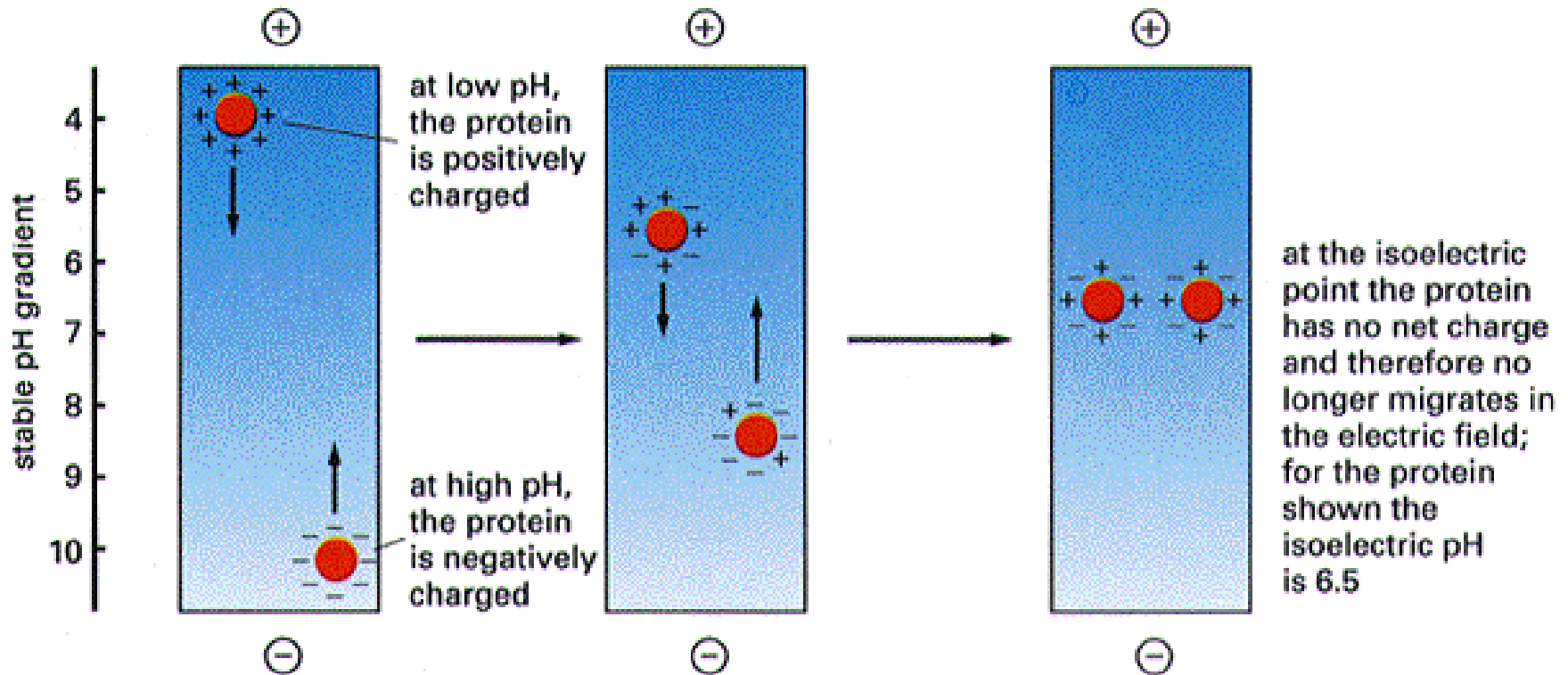


# Applications de l'électrophorèse sur gel de PAA



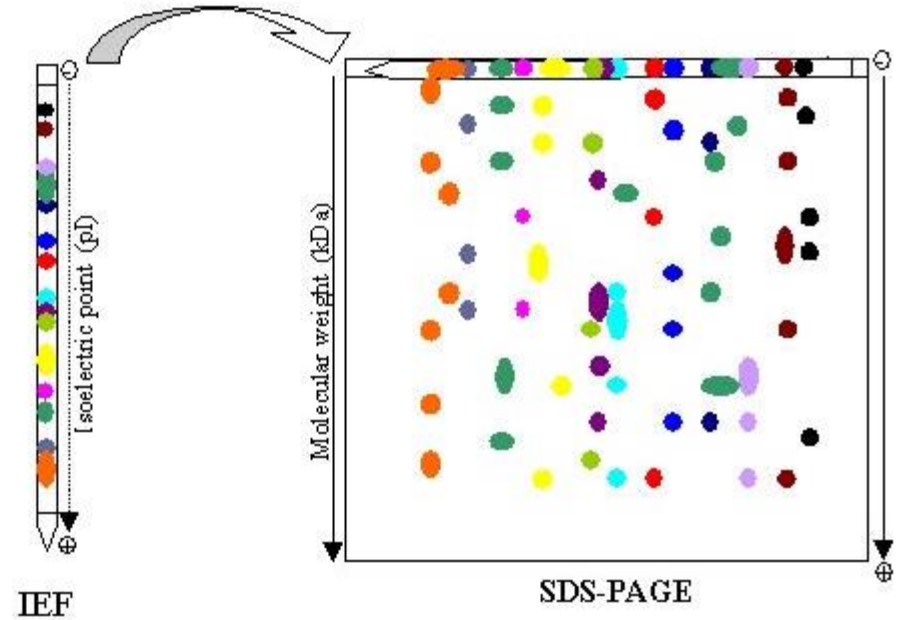
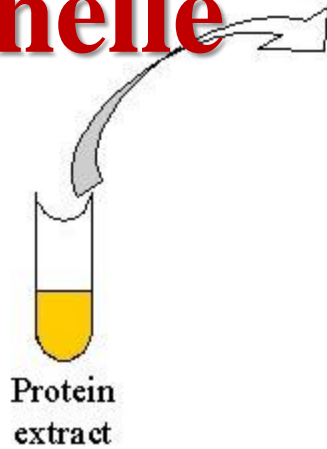
Séparation et purification des macromolécules (protéines, ADN, ARN),  
estimation de la masse molaire des sous-unités protéiques, séquençage de l'ADN

# Exemple: focalisation isoélectrique (acides aminés, peptides, protéines)



Migration à travers un gradient de pH: séparation selon le pI

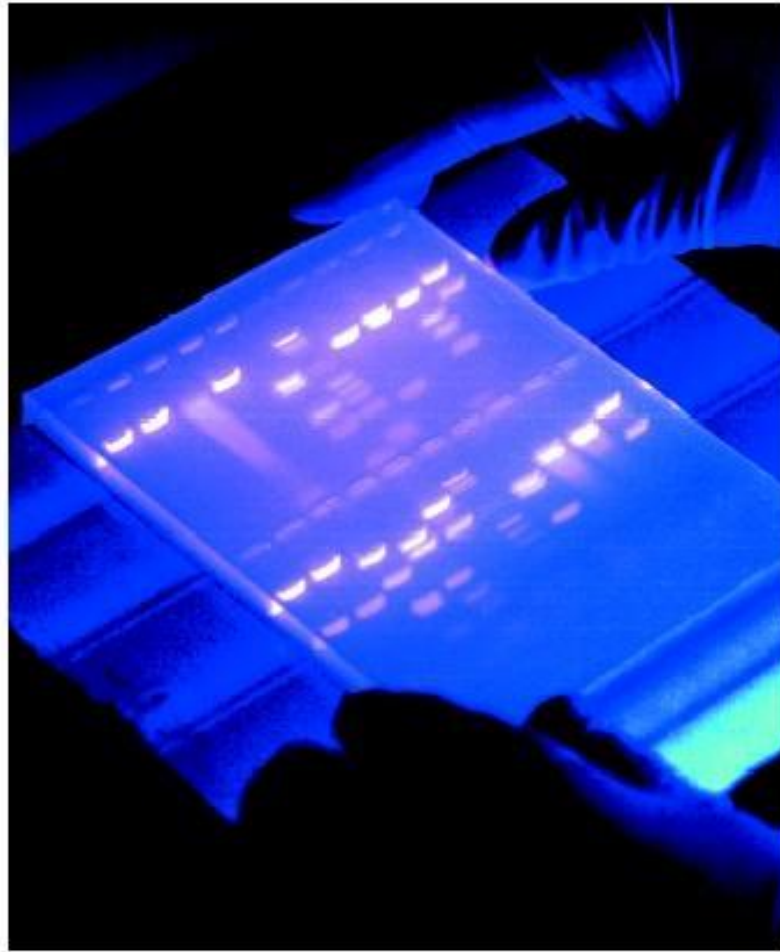
# Exemple: électrophorèse bidimensionnelle



**Principe:** 1<sup>ère</sup> migration par focalisation isoélectrique → 2<sup>ème</sup> migration à 90° sur gel de PAA → séparation des protéines à haute résolution



# Exemple: électrophorèse sur gel d'agarose

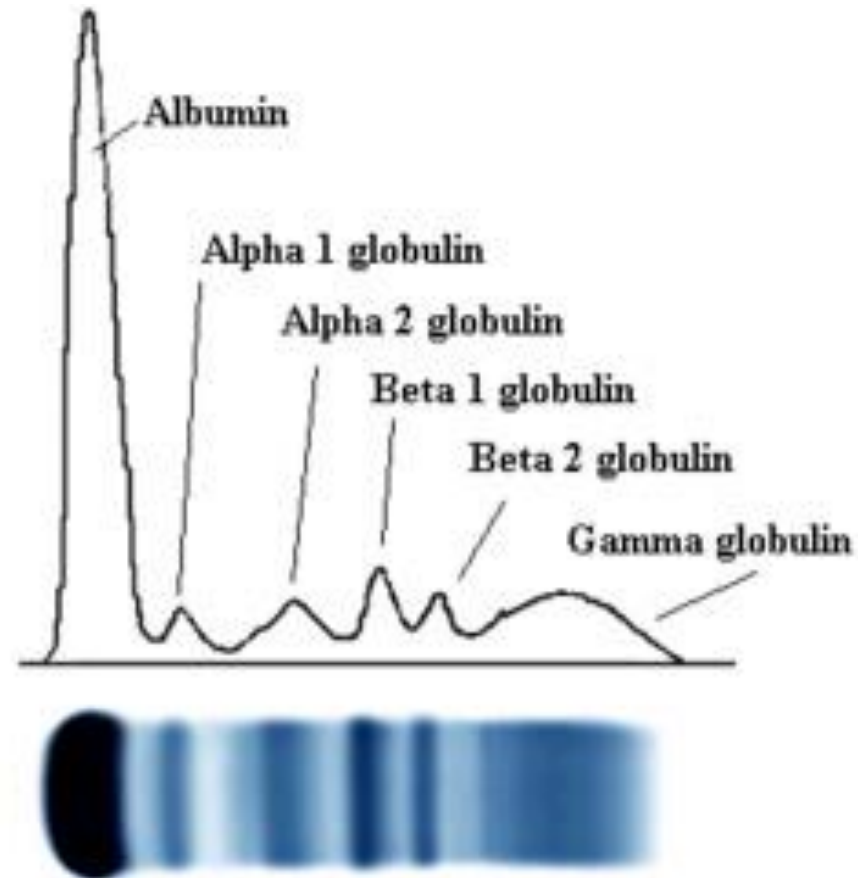


**Agarose** (polymère de galactopyranose, gel poreux):  
séparation des acides nucléiques

# Séparation des protéines du sérum

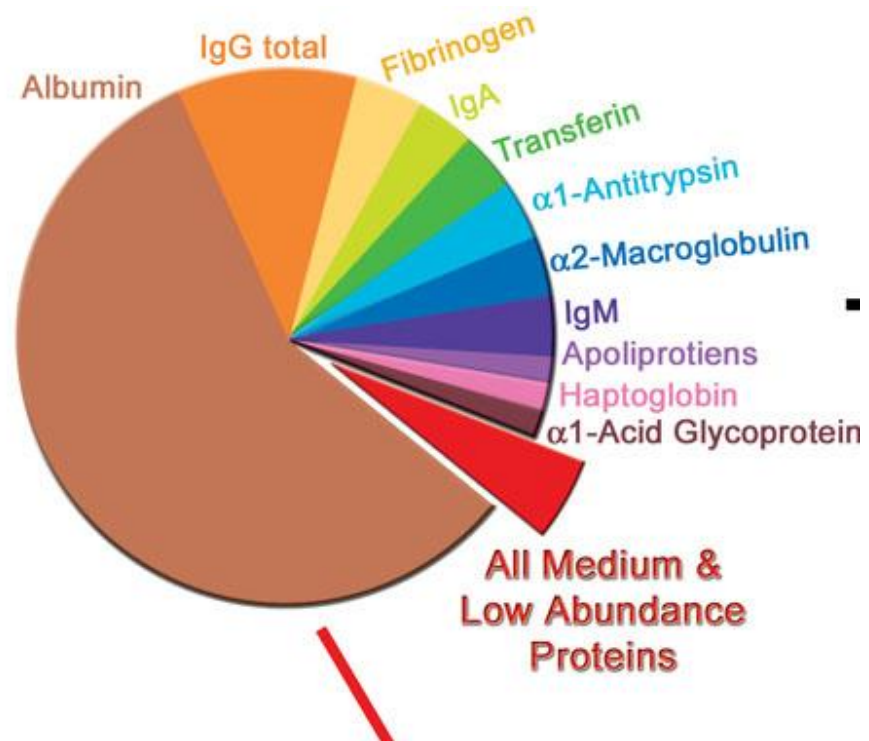
Électrophorèse des protéines du sérum  
(6-8 g/dL) → 5 fractions:

1. Albumine (50-60%)
2. Globulines  $\alpha_1$  (3,5-5,5%)
3. Globulines  $\alpha_2$  (6-12%)
4. Globulines  $\beta$  (9-15%)
5. Globulines  $\gamma$  (15-21%).

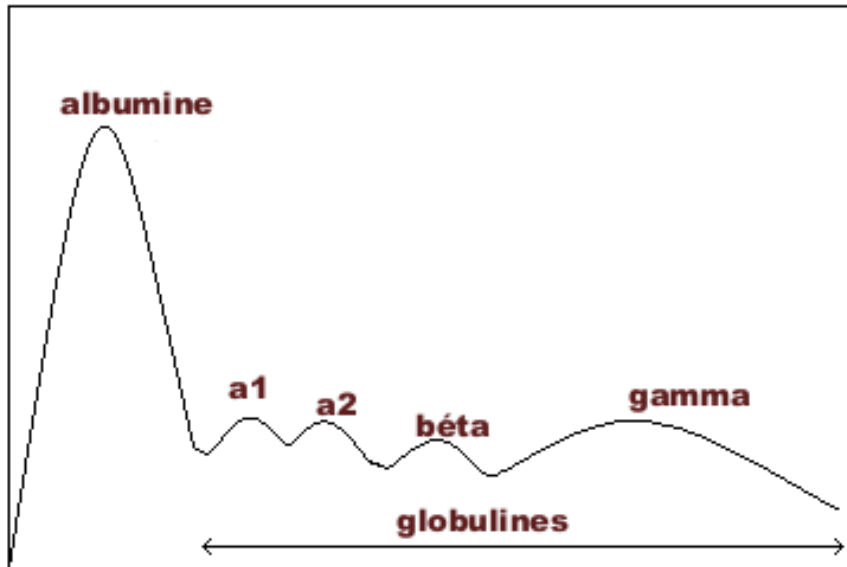


# Protéines du sérum

- **Albumine (4,5-5,5 g/dL)**
  - Protéine transporteuse (ions, bilirubine, hormones, acides gras, enzymes, médicaments...)
  - Maintien de la pression colloïde-osmotique → régulation de l'équilibre hydroélectrolytique
- **Globulines (1,5-2,5 g/dL)**
  - Défense (inflammation, immunité), pression colloïde-osmotique.



# Densitométrie des fractions

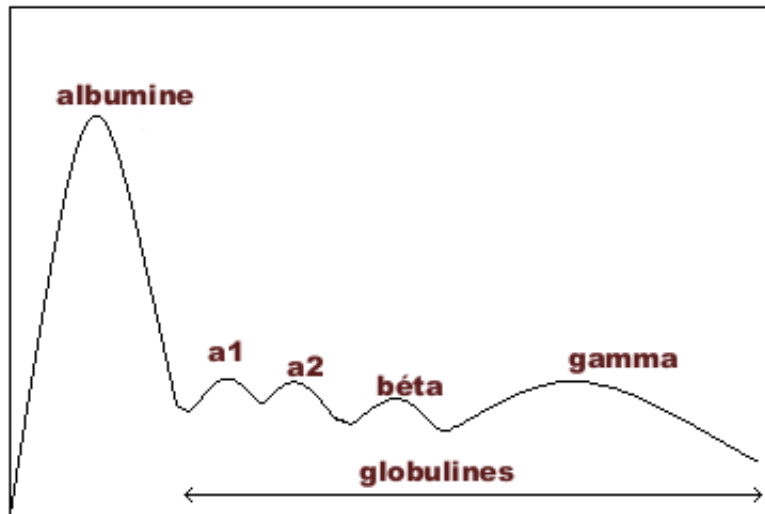


Estimation de la quantité de protéines dans chaque bande  
→ représentation graphique

Aspect du  
sérum normal

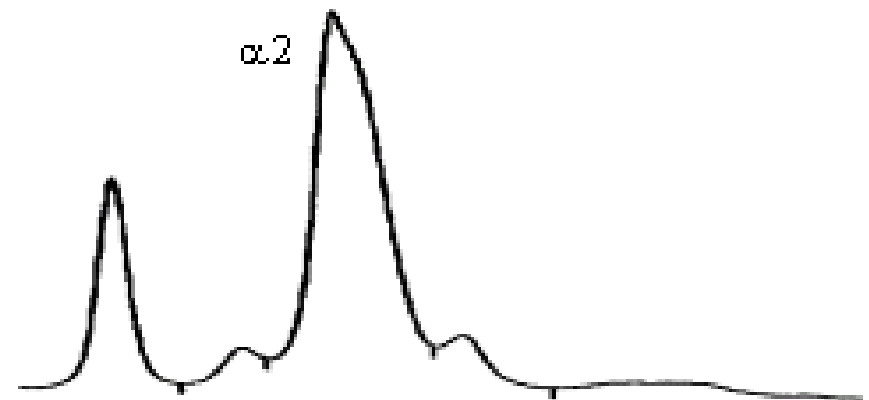
- une fraction de forte intensité, située à proximité de l'anode, est constituée d'une seule protéine : **la sérum albumine** ;
- les trois fractions suivantes notées **alpha1**, **alpha2**, **b** sont chacune constituées d'un groupe divers de protéines ;
- la fraction **Gamma**, fraction large de faible intensité, située à proximité de la cathode, n'est pratiquement constituée que d'immunoglobulines, protéines à fonction anticorps, synthétisées par les plasmocytes.

# Syndrome néphrotique



Aspect normal

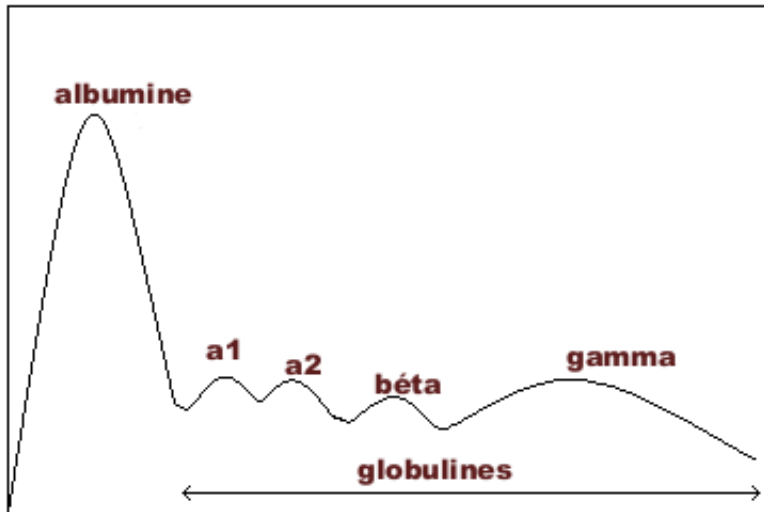
- ↓ protéines totales
- ↓ albumine
- ↓  $\alpha_1$ -globulines
- ↑  $\alpha_2$ -globulines



Syndrome néphrotique

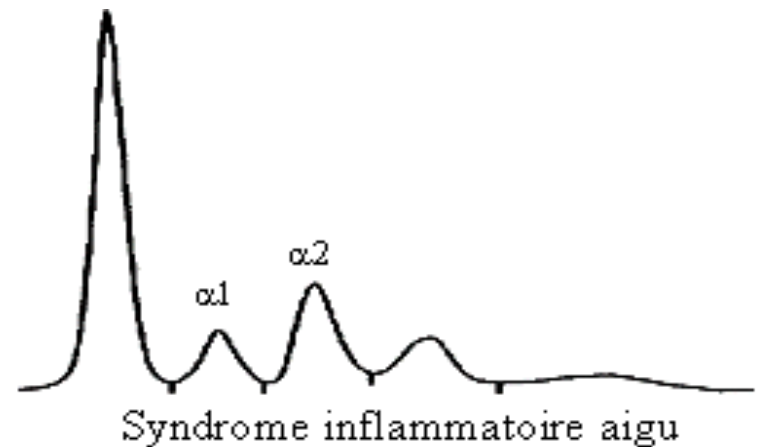
Hyper alpha 2 importante liée à l'augmentation de l'alpha 2 macroglobuline, associée à une hypoprotidémie sévère due à la fuite rénale et à une protéinurie massive.

# Syndrome inflammatoire aigu



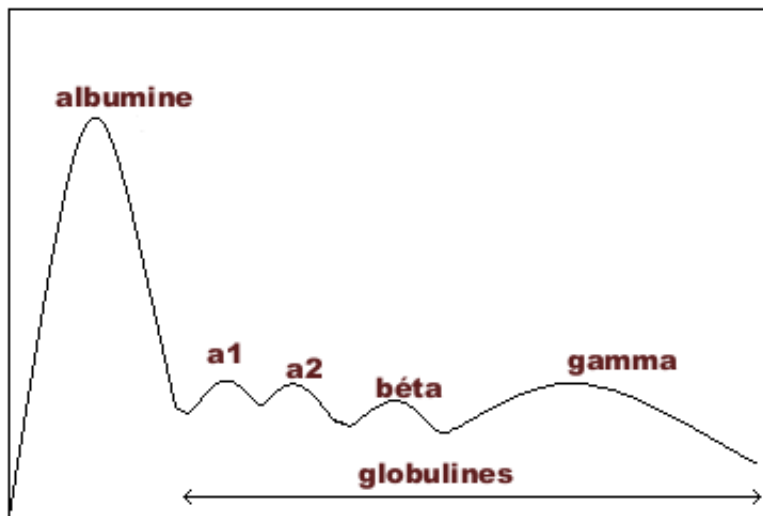
Aspect normal

- $\uparrow$   $\alpha_1$ -globulines
- $\uparrow$   $\alpha_2$ -globulines



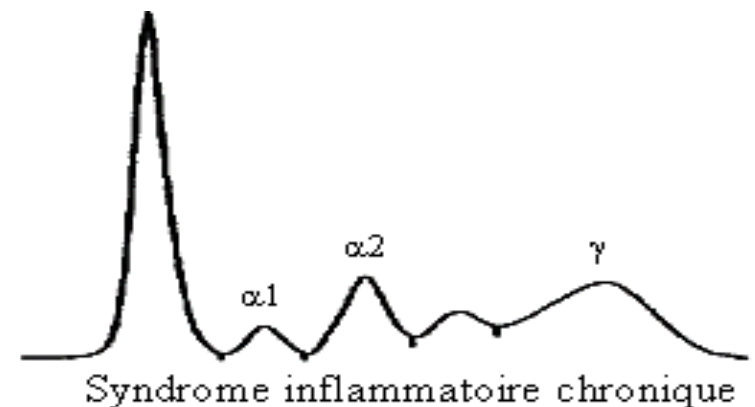
Hyper alpha 1 et hyper alpha 2 liées à l'augmentation des protéines de la réaction inflammatoire aiguë.

# Syndrome inflammatoire chronique



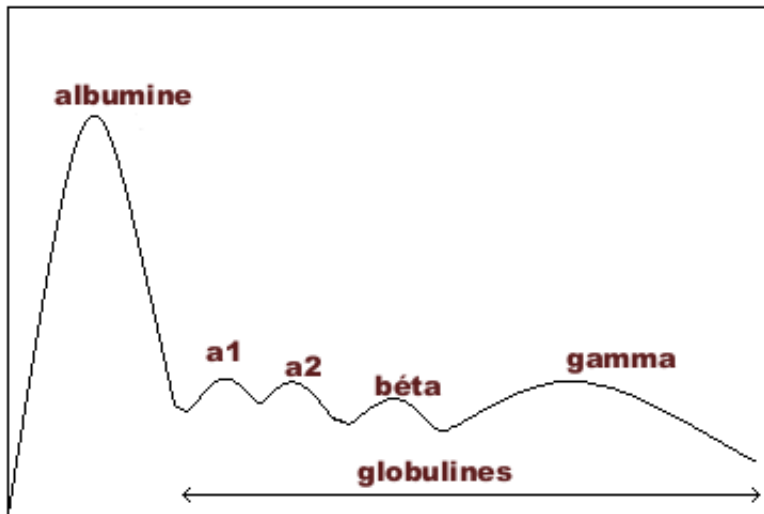
Aspect normal

- $\uparrow$   $\gamma$ -globulines



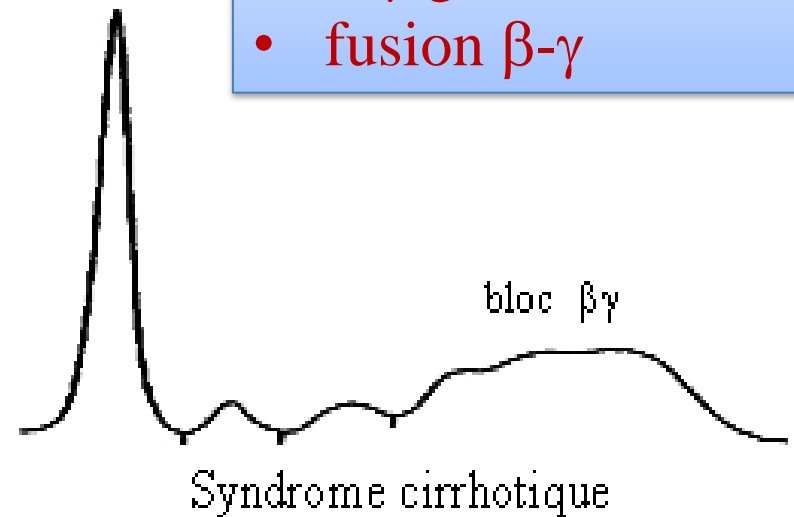
Hyper alpha1 et hyper alpha2 liées à l'inflammation, hyper gamma-globulinémie liée à l'augmentation du taux d'immunoglobulines témoignant de la chronicité de la maladie inflammatoire.

# Cirrhose hépatique



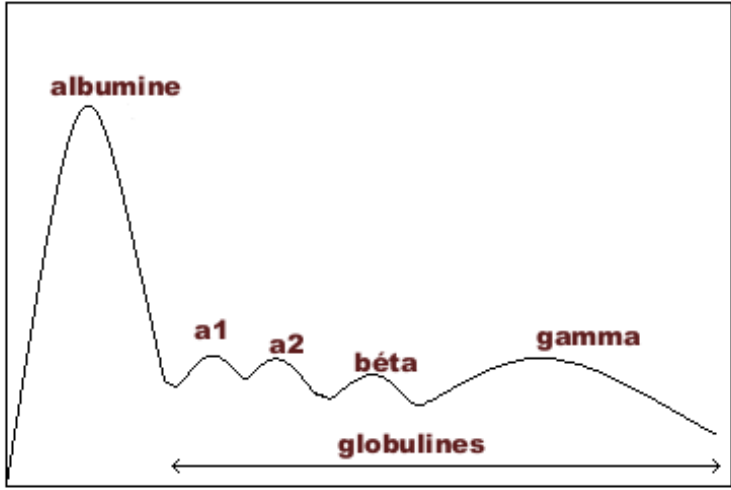
Aspect normal

- ↓ protéines totales
- ↓ albumine
- ↑  $\gamma$ -globulines
- fusion  $\beta$ - $\gamma$

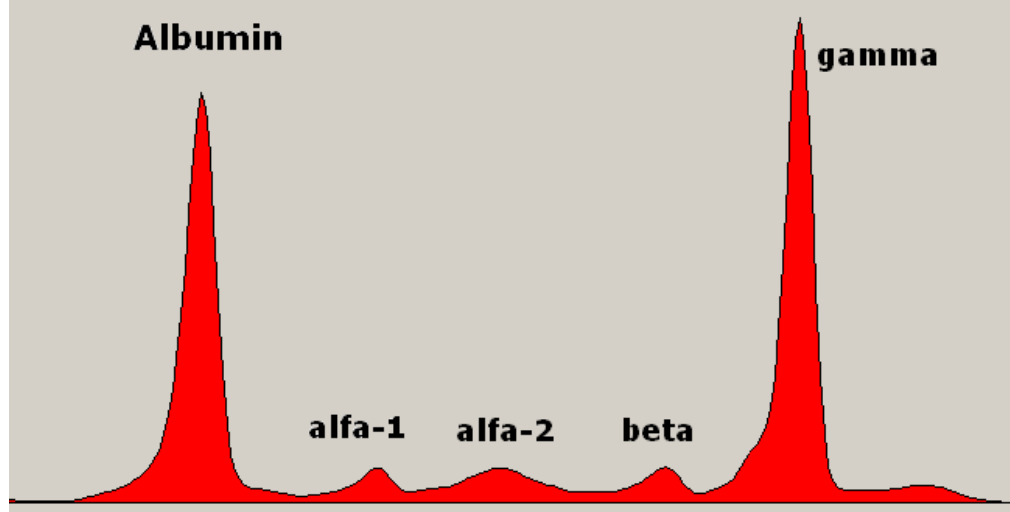


Cirrhose à un stade avancé : fusion des fractions béta et gamma (= **bloc béta-gamma**) (aspect en "dos de chameau") liée à l'augmentation de la synthèse des IgA et des IgM, qui dépasse celle des IgG et qui se positionne à l'électrophorèse dans la zone entre les béta et gamma globulines

# Gammapathies mono- et polyclonales

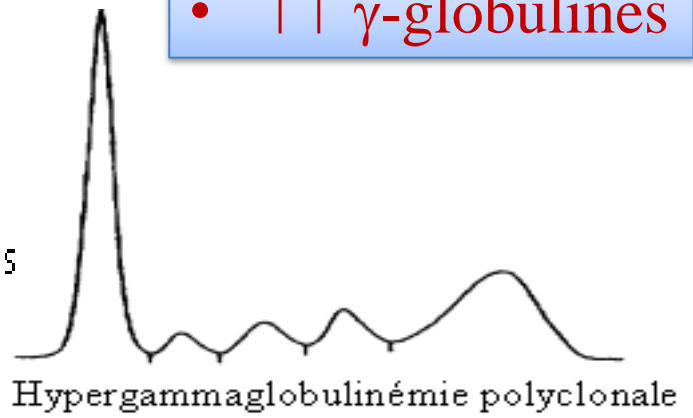


Aspect normal

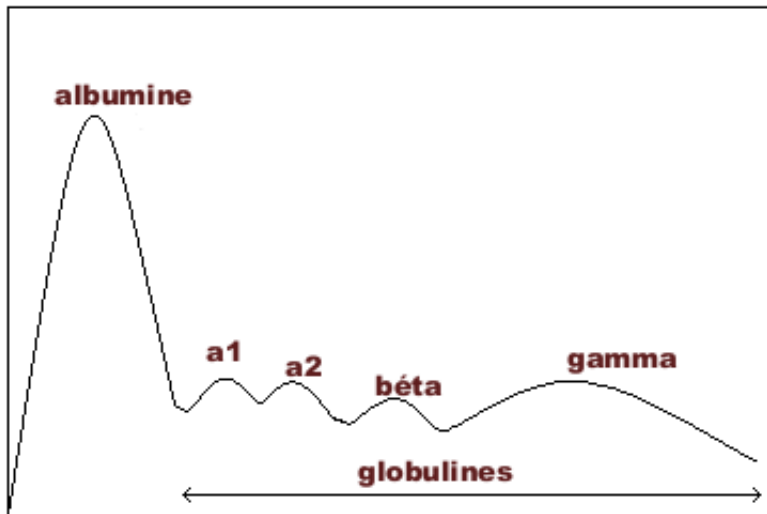


• ↑↑  $\gamma$ -globulines

Hyper gamma-globulinémie polyclonale liée à la stimulation de nombreux clones lymphocytaires B (d'où l'aspect "en dôme" du pic gamma).

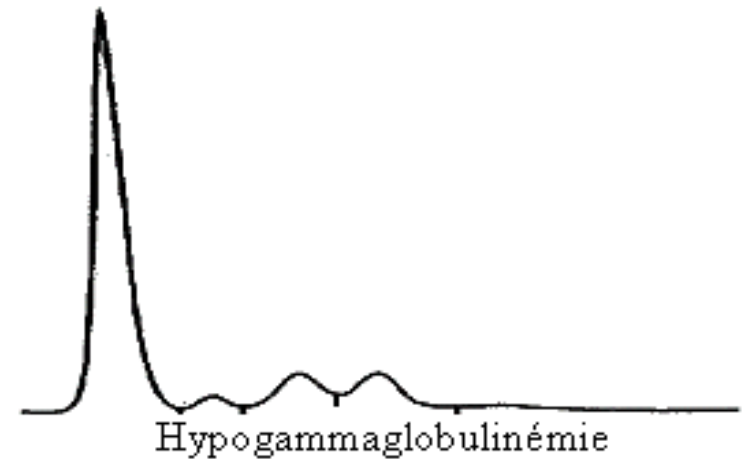


# Hypo-gammaglobulinémie



Aspect normal

- ↓  $\gamma$ -globulines
- ↑  $\alpha_2$ -globulines
- ↑  $\beta$ -globulines



Hypo-gamma liée à une diminution congénitale ou acquise de la production des Ig