

Génétique

Réf :
107 842

Français – p 1

Version : 2208

**Kit drépanocytose Electrophorèse
d'hémoglobines (analogiques)**

1 Introduction

La drépanocytose est une maladie génétique qui se manifeste par la présence d'hémoglobine falciforme (HbS) anormale.

Les hémoglobines HbS sont dues à des mutations dans le gène codant pour la chaîne β globine.

Par électrophorèse de l'hémoglobine, il est possible d'identifier les phénotypes moléculaires HbS de l'hémoglobine normale HbA.

PHÉNOTYPE MOLÉCULAIRE Dépistage par électrophorèse	Hémoglobine normale	Hémoglobine drépanocytaire
PHÉNOTYPE CELLULAIRE Dépistage par la forme des hématies	 Hématies en forme de coussin	  Hématies en forme de fauille
Fonction et pathologie	souples, elles peuvent se déformer pour passer dans les capillaires, et assurer le transport d' O_2	Déformées par l'hémoglobine drépanocytaire et rigides, ces hématies finissent par obstruer les capillaires. L'individu souffre d'anémie, d'accidents vasculaires et d'infections bactériennes graves.

2 Objectifs et Principes

Ce kit propose de distinguer les deux types d'hémoglobines par leur différence de mobilité électrophorétique, de manière à déterminer le génotype de l'individu.

L'électrophorèse est réalisée en gel d'agarose, compatible avec n'importe quel type d'électrophorèse à ADN.

Dans ce kit, les solutions d'hémoglobines HbA et HbS sont simulées par 2 composés organiques d'apparence équivalente aux échantillons sanguins. Le kit contient les hémoglobines simulées et les réactifs pour la migration (agarose, tampon TAE), ils sont d'une totale innocuité.

Suivant le type d'électrophorèse utilisé, il est possible de réaliser :

- 10 gels avec le système Compact Jeulin PhorEasy
- 5 gels avec les cuves standard ADN /protéines

3 Mode opératoire

Format 40 élèves : 40 tests soit 80 dépôts

Temps de migration : 6 à 8 minutes

4 Composition

Microtube rouge : HbS Solution Hémoglobine **S** simulée 350 μ l (hémoglobine simulée)

Microtube bleu : HbA Solution Hémoglobine **A** simulée 350 μ l (hémoglobine simulée)

Tube Agarose = 6 gr

Tampon TAE 10x (100mL) → pour reconstituer 1 litre TAE 1X

Matériel nécessaire :

Ensemble électrophorèse

Micropipette 2- 20 μ l

Conservation :

Les réactifs, solutions de simulation et tampon TAE, sont à stocker à température ambiante.

5 Préparation

Gel d'agarose :

Gel d'agarose à 3% dans tampon TAE 1X

Pour électrophorèse compacte phorEasy 20 mL de gel avec le peigne **côté grands puits**.

Pour électrophorèse Jeulin classique (protéine ou ADN) gel 50 mL.

Préparation des échantillons :

Microtube **bleu** HbA = tube prêt à l'emploi

Microtube **rouge** HbS = tube prêt à l'emploi

HbA /HbS = à préparer en mélangeant à volume égal HbA /HbS

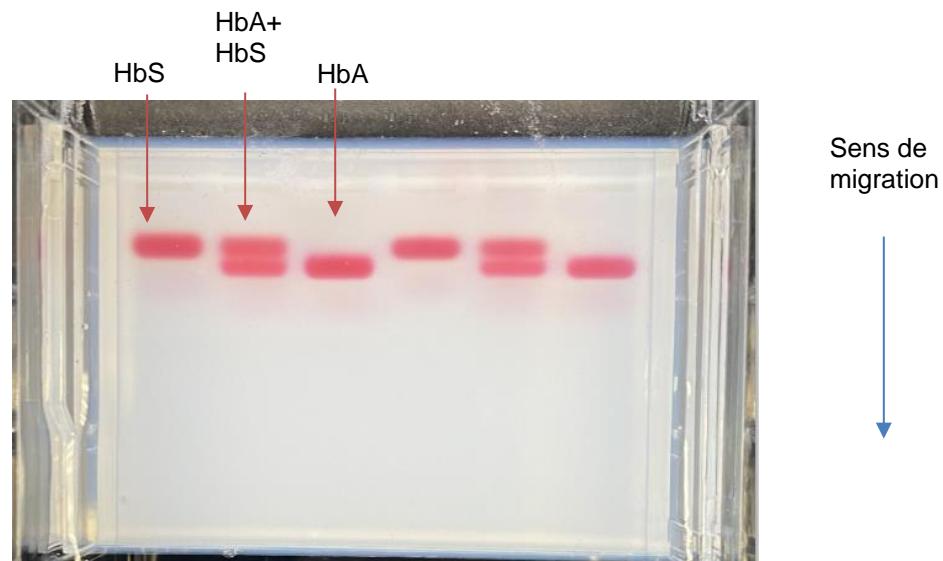
Les dépôts dans le gel et migration :

Pour mini one dépôt de **6 µL** par puits et durée de l'électrophorèse 6 - 8 minutes

Pour Jeulin (protéine ou ADN) 6 µL et migration 8-10 min à 140 Volts.

6 Résultats

Aucune révélation n'est nécessaire, les bandes sont bien visibles d'une coloration rouge nette.



L'hémoglobine S (HbS) migre moins rapidement que l'hémoglobine A. Cela est dû à sa charge électrique qui est moins élevée que d'HbA, conséquence de la substitution d'un acide glutamique par une valine (position 6) de la chaîne β globine.

Mutation sur 1 base : Thymine remplace Adénine

GAG = Acide glutamine

GTG = valine

[L'interprétation est à réaliser dans les 10 minutes suivant la fin de l'électrophorèse, car en l'absence de champs électriques, la solution organique mimant les hémoglobines diffuse dans le gel. Après plusieurs minutes, les bandes colorées deviennent progressivement de plus en plus floues.]

7 Assistance Technique

Pour toute question, veuillez contacter

N° Cristal : 09 69 32 02 10

Appel non surtaxé