

Electrophorèse de l'hémoglobine sur cellogel

Cette électrophorèse a pour but la recherche et l'identification d'une hémoglobine anormale.

1° Matériel :

- Générateur.
- Cuve à électrophorèse.
- Applicateur.
- Bandes de cellogel.
- Plaques de verre.

2° Réactifs :

- Tampon tris-glycine pH 9.
- Colorant (rouge Ponceau).
- Décolorant.
- Déshydratant.
- Transparisant.

3° Technique :

3.1. Migration :

Mettre le même volume de tampon dans chaque compartiment de la cuve.

Imprégner les bandes de tampon en les déposant à la surface de celui-ci. Lorsqu'elles sont imprégnées, les immerger avec une baguette de verre et attendre 15 minutes environ.

Essorer légèrement les bandes entre deux feuilles de papier Joseph.

Disposer les bandes dans la cuve, face absorbante au-dessus, puis les tendre.

A l'aide de l'applicateur, faire les dépôts du côté de la cathode. Faire un repère au niveau des dépôts et marquer les bandes.

Mettre le couvercle de la cuve puis brancher le générateur, régler la tension à 250 v et laisser migrer 90 à 120 minutes.

Débrancher le générateur puis sortir les bandes.

3.2. Révélation :

- Déposer les bandes à la surface du colorant, les immerger et agiter pendant 5 minutes.
- Passer les bandes dans 3 ou 4 bains successifs d'acide acétique à 5%, en agitant, jusqu'à obtention d'un fond blanc.
- Immerger les bandes dans le méthanol puis et agiter pendant 3 à 5 minutes puis appliquer sur les lames de verre, face absorbante contre le verre.
- Immerger les bandes dans la solution transparisante, agiter pendant environ 1 minute puis laisser sécher 1 heure à la température du laboratoire.

4° Résultat :

Les électrophorogrammes sont lus au densitomètre. Il faut toujours faire un témoin normal et un témoin de l'anomalie suspectée en parallèle avec l'hémoglobine étudiée.