

L'Electrophorèse

I. Définition

L'électrophorèse est une méthode de séparation des particules chargées électriquement (protéines, acides aminés, nucléotides...etc) par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Les anions migrent vers l'anode et les cations migrent vers la cathode. Pour les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Le terme d'ionophorèse est utilisé dans le cas d'ions de petites tailles. Cette technique est utilisée pour vérifier la pureté d'une fraction chromatographique et pour déterminer la masse moléculaire d'une protéine inconnue à l'aide des protéines standards.

II. Support

On peut utiliser des support poreux et inertes : du papier, de l'acétate de cellulose, du gel de polyacrylamide PAGE, du gel d'agarose, gel d'amidon et gel de silice.

Remarque : lorsque deux molécules ont la même charge on les sépare par rapport à leur masse moléculaire et leur forme. Plus la molécule est grosse plus elle se déplace lentement, plus elle est légère plus elle se déplace vite.

III. Appareillage de l'électrophorèse

L'appareillage usuel est constitué de (**Figure 01**) :

- Un générateur du courant continu stabilisé relié aux électrodes d'une cuve. Ce courant crée un champ électrique qui va permettre de faire migrer les molécules.

- Une cuve d'électrophorèse fermée et éventuellement thermostatée comportant deux compartiments. Chaque compartiment est rempli du tampon de migration.
- Des accessoires comme le support d'électrophorèse, les plaques de verre pour couler le gel et les peignes pour creuser des puits dans le gel, dans lesquels les composés à analyser seront déposés.

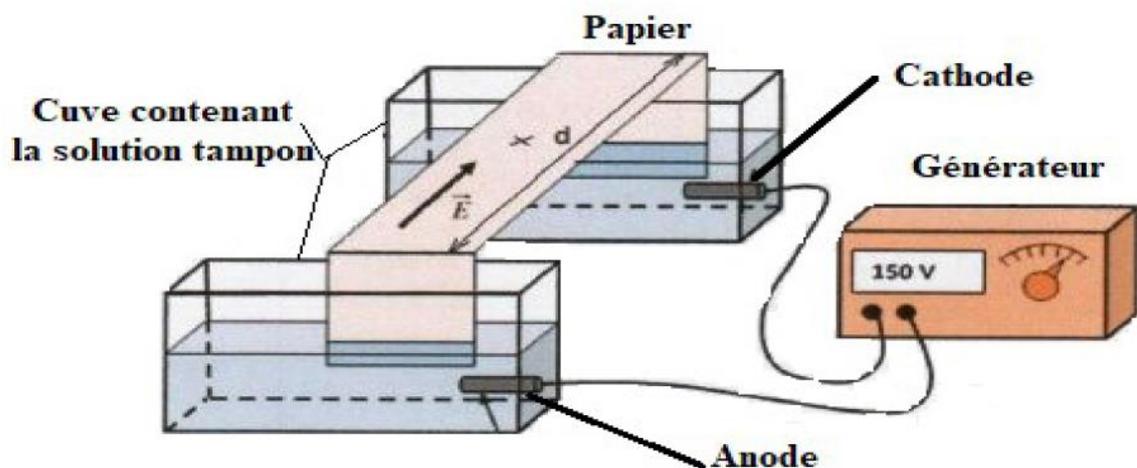


Figure 01 : Appareillage de l'électrophorèse

IV. Les différents types d'électrophorèse

L'électrophorèse peut être en des conditions non dénaturantes ou en des conditions dénaturantes.

IV. 1. Electrophorèse en des conditions non dénaturantes

Les molécules sont séparées dans leur état le plus proche possible de leur état natif. La vitesse de migration dépend de la charge native de la molécule et de sa structure tridimensionnelle.

IV.2. Electrophorèse en des conditions dénaturantes

Les molécules sont soumises à un traitement dénaturant avant la séparation électrophorétique, détruisant la structure tridimensionnelle native. La séparation est donc en fonction de la masse moléculaire. Les agents de dénaturation sont le SDS

(Sodium Dodécylsulfate) et le β -mercaptoéthanol. Le SDS est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger de la même façon permettant ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Les protéines sont dites dénaturées : elles ont perdu leur structure tridimensionnelle native. Avant de procéder à la dénaturation des protéines avec du SDS, on utilise le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts disulfures des protéines les rendant ainsi sous forme monomérique. La forte charge négative globale apportée par le SDS masque la charge intrinsèque des protéines.

Selon le support électrophorétique, il existe deux types d'électrophorèse:

✓ **L'électrophorèse libre, en veine liquide**

Elle est réalisée dans un tube en U de section carrée (**Figure 02**) (ceci afin de pouvoir réaliser des mesures optiques au travers du tube, comme avec une cuve de spectrophotomètre) : la séparation n'est pas totale, mais les frontières qui se forment sont mises en évidence par des méthodes optiques (absorption UV, indice de réfraction, fluorescence...). Cette méthode est utilisée en recherche pour mesurer la mobilité électrophorétique et pour vérifier la pureté des protéines.

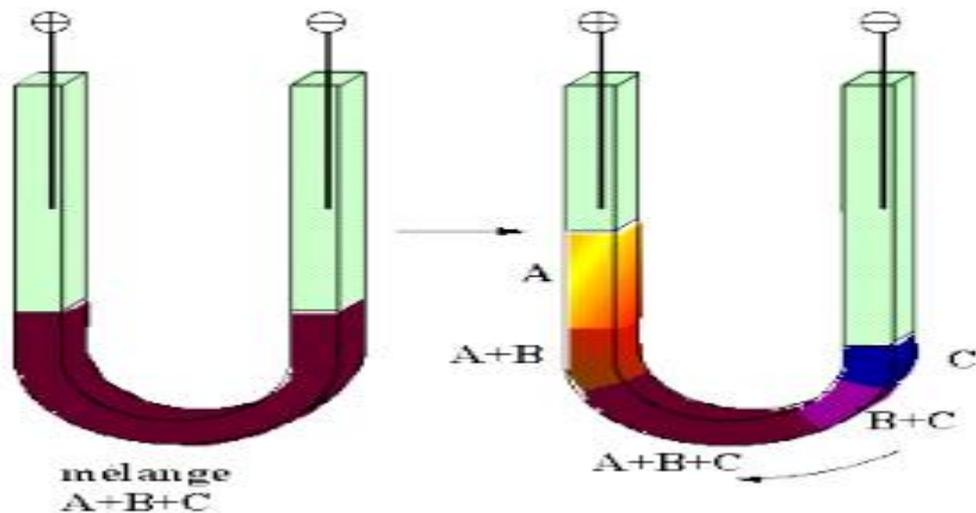


Figure 02 : Appareillage de l'électrophorèse en veine liquide

✓ **Electrophorèse de zone sur support**

Les mobilités obtenues en ce type d'électrophorèse sont plus faibles que celles de l'électrophorèse en veine liquide. Dans ce type d'électrophorèse, le mélange à séparer est déposé sur un support convenable, homogène, poreux, inerte et imprégné de tampon. Ce support peut être du papier, un dérivé de cellulose, de l'amidon, de l'agarose, du polyacrylamide (PAGE), etc. Les différents types d'électrophorèse de zone sont souvent nommés en fonction du type de support . Les fractions séparées par électrophorèse de zone migrent comme des zones individuelles. La taille des pores pour le support en gel peut influencer la vitesse de migration (ralentissement du déplacement des grosses molécules).

V. Exemple d'application

L'électrophorèse des protéines sériques permet la séparation des protéines du sang, sous l'influence d'un champ électrique. Elle permet de mettre en évidence des protéines anormales et de détecter une augmentation ou une baisse anormale de protéines dans le sang. L'augmentation de certaines protéines peut indiquer un syndrome inflammatoire. Cette dernière est réalisée grâce à un prélèvement sanguin, en général au pli du coude. Le sérum est ensuite déposé sur acétate de cellulose ou sur gel d'agarose. Les protéines migrent sous l'influence d'un champ électrique de la cathode vers l'anode.