

Exemple de protocole expert pour mettre en évidence l'importance de la structure spatiale de l'anticorps et de l'antigène pour leur liaison

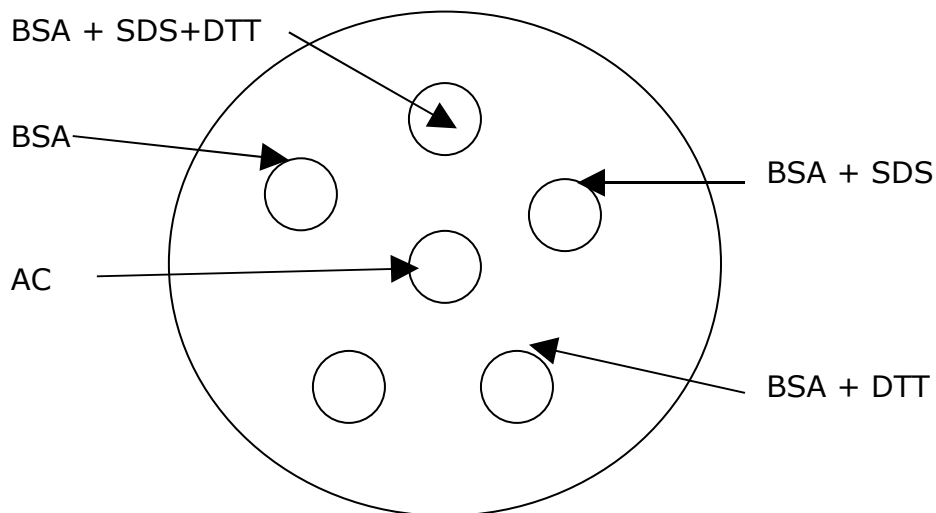
1 : Préparer les 2 boîtes pour le test:

-**1.1** : Dans chaque boîte, creuser dans l'agarose un puit central avec l'emporte-pièce, et enlever la gélose avec un cure-dent.

-**1.2** : Creuser 4 puits distants de 1,5 cm du puits central et répartis autour de lui et enlever la gélose contenue dans chacun avec un cure-dent.

2 : Réaliser la boîte pour tester l'importance de la structure spatiale de l'antigène

-**2.1** : Marquer le fond de la boîte avec un repère et un plan correspondant au schéma ci-dessous (attention, ne pas marquer le plan sur le couvercle qui peut tourner ensuite):



En utilisant pour chaque produit un compte-goutte propre :

-**2.2** : Placer dans le puit central 20 microlitres (1 goutte) de solution d'anticorps.

-**2.3** : Placer dans chaque puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de solution de BSA

-**2.4** : Ajouter dans un des puits périphériques 20 microlitres (1 goutte) de SDS à 20 %.

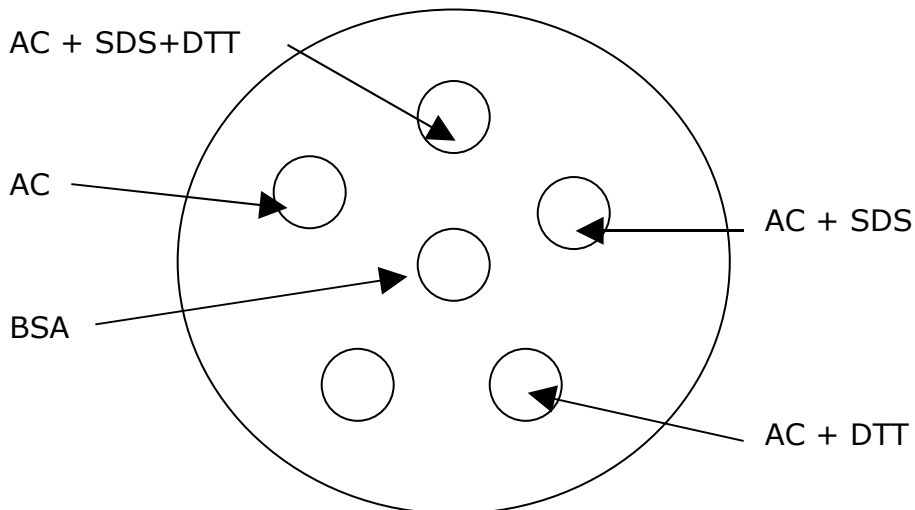
-**2.5** : Ajouter dans un deuxième puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de DTT à 20%.

-**2.6** : Ajouter dans un troisième puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de DTT à 20% et 20 microlitres (1 goutte) de SDS à 20 %.

3 : Réaliser la boîte pour tester l'importance de la structure spatiale de

l'anticorps.

-3.1 : Marquer le fond de la boîte avec un repère et un plan correspondant au schéma ci-dessous :



En utilisant pour chaque produit un compte-goutte propre :

-3.2 : Placer dans le puits central 20 microlitres (1 goutte) de solution de BSA

-3.3 : Placer dans chaque puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de solution d'anticorps.

-3.4 : Ajouter dans un des puits périphériques 20 microlitres (1 goutte) de SDS à 20 %.

-3.5 : Ajouter dans un deuxième puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de DTT à 20%.

-3.6 : Ajouter dans un troisième puit périphérique 20 microlitres (1 goutte) de DTT à 20% et 20 microlitres (1 goutte) de SDS à 20 %.

-3.7 : un puits supplémentaire peut éventuellement être réalisé avec de l'ovalbumine ou de la BSA.

4 : Permettre la diffusion dans la gélose et la production des complexes immuns :
Laisser reposer 24 à 48 h en atmosphère humide à température ambiante.

5 : Lire les résultats

Après 48 heures, observer les boîtes et repérer puis dessiner ou photographier les arcs de précipitations.