

http://www.geocities.com/bap_laboratory



<http://www.takween.com>

TECHNIQUES DE SEPARATION ET D'ANALYSE EN BIOCHIMIE ET MARQUAGE DE LA DIVERSITE GENETIQUE

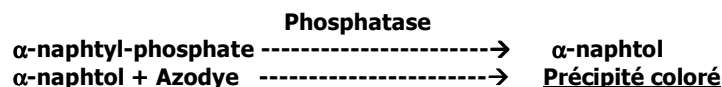
Cours théorique et pratique: M. BAAZIZ
baaziz@ucam.ac.ma

PRINCIPE DE DETECTION DES ISOENZYMES PAR ELECTROPHORESE

La révélation des isoenzymes est effectuée directement sur le gel ayant servi de support de séparation électrophorétique. La réaction enzymatique est à l'origine de l'apparition d'une ou plusieurs bandes colorées.

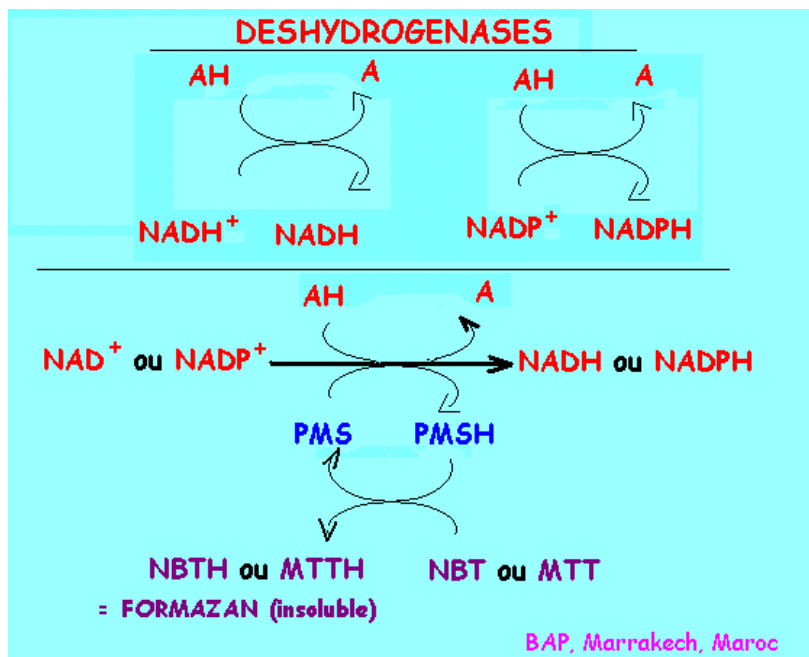
Cas des hydrolases :

Ces enzymes sont rendues visibles sur gel par utilisation de substrats chromogènes ou fluorogènes qui donnent des produits colorés ou fluorescents après action de l'enzyme. Ainsi, par exemple, La libération de α - ou β -naphthol permet, ensuite, sa combinaison à un "Azodye" (Fast Garnett, Fast blue RR, ...) pour donner un précipité coloré. C'est le cas des estérases et des phosphatases :



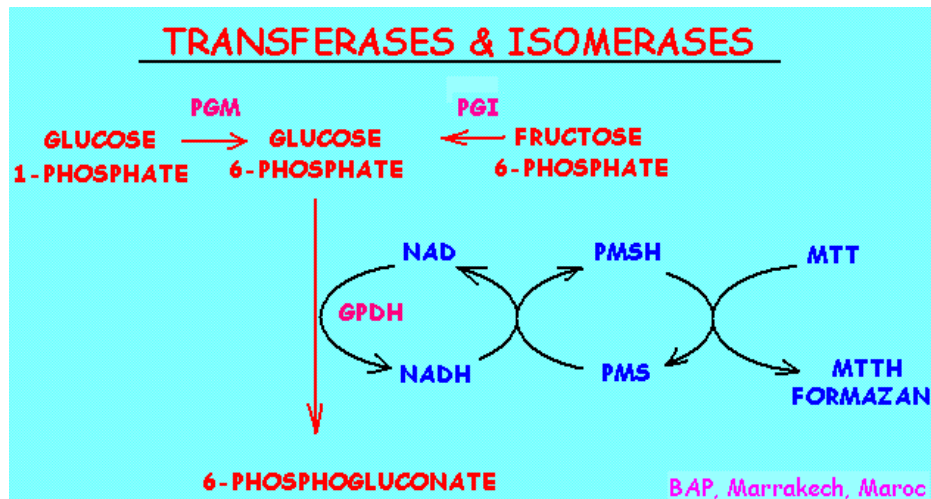
Cas des déshydrogénases

Les déshydrogénases (DH) catalysent le transfert d'atomes d'hydrogène de leur substrat à un coenzyme (NAD^+ ou $NADP^+$). L'atome d'hydrogène, libérée sous l'action de la DH, peut être transférée, en présence de phénazine méthosulfate (PMS), sur un sel de tetrazolium, tel que Nitro Blue Tetrazolium (NBT) ou Méthyl Thiazolyl Tetrazolium (MTT) qui donnent alors un précipité insoluble bleu; le formazan :



Cas des transférases et des isomérases

Les transférases, comme la phosphoglucomutase (**PGM**) et les isomérases, comme la glucose phosphate isomérase (**PGI**), peuvent être visualisées indirectement, car, elles peuvent fournir un produit qui peut être déshydrogéné par une autre enzyme (enzyme indicatrice) utilisant un des coenzymes NAD^+ ou NADP^+ :



* **GPDH** : glucose 6-phosphate déshydrogénase (enzyme de la réaction indicatrice).
L'enzyme de la réaction indicatrice, ne pouvant pas diffuser rapidement dans le gel, le mélange réactionnel est étalé en une couche mince d'agarose sur le gel de séparation.

00_TechniquesSommaire, 01_TechniquesPolarite,
02_TechniquesTaille, 03_TechniquesForme, 04_Techniqueslonicite,
05_Electrophorese, 06_Isozymes1 ←
/ → 08_Isozymes3