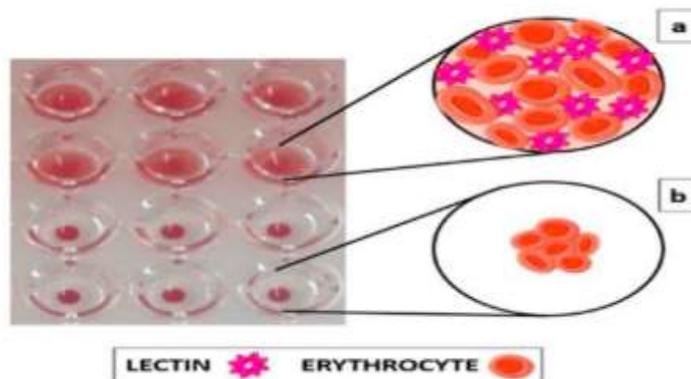


TP3 : Effet du PH sur l'activité hémagglutinante de lectines

1. Principe

Les lectines sont aussi nommés agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules comme les érythrocytes. Pour tester l'activité hémagglutinante des extraits ont été utilisées la technique sur microplaque. Ce test a été porté sur les hématies permet d'affirmer la présence des lectines dans les extraits bruts (E1, E2, E3, E4 et E5). Il se repose sur l'observation de l'agglutination ou agrégation des érythrocytes par des lectines, visible à l'œil nu.

- ✚ En cas du résultat positif, les hématies forment un tapis ou réseau érythrocytaire qui couvre le fond des puits de la microplaque.
- ✚ En absence d'activité hémagglutinine, les hématies sédimentent par gravité au fond des puits dans chaque puit d'une microplaque, un point rouge peut être observé.



(a): Réaction positive ; (b): réaction négative.

2. But du TP

- Testez l'activité hémagglutinante des extraits bruts de lectine (E1, E2, E3, E4 et E5).
- Observez le test d'activité agglutinante sur microscope optique.

3. Matériels et produits chimiques

- | | |
|-----------------------------------|----------------------------|
| -Béchers | - Lame et lamelle |
| -Micropipettes | - Microplaques- Etiquettes |
| - Portoirs-Embouts (jaune + bleu) | -Pissette en plastique |
| - Tubes à hémolyses | |

4. Appareillage

- Centrifugeuse
- Microscope

5. Préparation des solutions

- Préparez Na Cl 0,9%

6. Mode opératoire

6.1. Préparation de suspension d'hématies à 3%

6.1.1. Lavage des hématies

Le tube contenant une quantité de sang (1,5ml) a été centrifugé à 3000tr/min pendant 5min. Le surnageant résultant est versé et une solution de NaCl 0.9% est ajoutée au culot. Après avoir bien mélangé, le tube est soumis à nouveau à une centrifugation (l'opération a été répétée 3fois ou plus jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair).

6.1.2. Dilution des hématies

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globules rouges est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1,5ml des hématies dans 48,5ml de NaCl 0.9% afin d'obtenir des hématies à 3%.

6.2. Effet du pH sur l'activité agglutinante

Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl d'extrait à différentes valeurs de pH ont été déposés tout en ajoutant 50 µl des hématies à 3%. Après 30 à 45 min, l'agglutination est observée à l'œil nu.

7. Présentation du 3^{ème} compte rendu du TP

Il doit comporter :

- ✓ Intitulé de la séance du TP
- ✓ Introduction
- ✓ But de TP
- ✓ Principe
- ✓ Matériel et méthodes
- ✓ Résultats et interprétations
- ✓ Conclusion