|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Fiche TK***Méthodes de fractionnement*** | *Electrophorèse des protéines***Utilisation du logiciel MESURIM PRO** | * http://mathblogger.free.fr/images/boite-a-outils.gif
 |

1. Mesurer des densités optiques
	1. **Importer l’image :**
* Ouvrez l’application Mesurim (application Mesurim pro exe, icône : )
* Importer l’image de votre gel d’électrophorèse en cliquant sur « fichier » puis « ouvrir ». L'image doit être dans un format compatible (type jpeg). Agrandir l’image si besoin est.
	1. **Faire apparaître le profil électrophorétique correspondant à une bande:**
* Sélectionner la bande du gel à étudier en traçant un trait vertical le long duquel se fera la mesure, dans le sens **du - au + de l’électrophorèse.** Pour cela, cliquer avec la souris au niveau de la bande côté - et en maintenant le clic enfoncé, diriger le trait qui se trace automatiquement vers le côté +, arrêter le trait en relevant le doigt.

**ATTENTION : veillez à bien faire dépasser le trait de mesure de chaque côté dans les zones blanches**

* Puis cliquer dans la barre d'outil sur « Choix », puis « outil de mesure » et enfin « lumière sur une bande » : une fenêtre apparaît nommée « mesure d’intensité de couleur sur une ligne » : sélectionner alors les paramètres suivants :
	+ Indiquer une largeur de bande en pixels d’une valeur de « 10 »
	+ Cochez « mesure en absorption » et cochez si besoin est : « mesure en linéaire »
	+ Puis appuyer sur mesure : le profil électrophorétique s’affiche

 

Trait de sélection de la bande dont on veut réaliser le tracé éléctrophorétique

Profil électrophorétique

* 1. **Régler le zéro du profil électrophorétique (et le fond) :**
* Cliquer sur l’onglet graphique de la fenêtre pour :
	+ afficher un « **fond blanc** » ;
	+ modifier le « **zéro** » du graphique : cliquer sur l’onglet graphique puis zéro : une **ligne bleue** apparaît : cliquer dessus pour la sélectionner et la déplacer vers le bas jusqu’au niveau de la base du graphique. Puis cliquer sur « **OK** ».
1. Mesure des aires des fractions : densitogramme
* Cliquer sur « **surface** » une bande de sélection de surface hachurée en rouge apparaît : encadrer le pic à sélectionner en déplaçant la bande et/ou en l’agrandissant aux dimensions souhaitées, puis lire la surface qui s’affiche en bas du tracé. Ne pas oublier de déterminer la surface totale du densitogramme en sélectionnant la totalité du tracé.
* Pour que la totalité des pics soient sélectionnés sans chevauchement, le mieux est de procéder ainsi :
	+ sélectionner le premier pic : la surface du pic 1 s’affiche
	+ puis agrandir vers la droite la bande de sélection jusqu’au second pic : la surface des deux pics sélectionnés s’affiche la noter
	+ Et ainsi de suite jusqu’à la totalité des pics qui correspondra à la surface cumulée.
	+ Il suffira par une simple soustraction, de calculer l’aire de chaque pic

III Mesure des proportions des fractions sous excel

* Copier l’électrophorégramme et le transporter dans un fichier excel ; découper la piste analysée (outils « image »puis « format » puis « rogner »)
* Copier le densitogramme en cliquant sur « copier » et l’importer dans le fichier Excel, l’agrandir en largeur si besoin est.
* En dessous un densitogramme, réaliser un tableau de résultats qui permettra :
	+ De calculer les pourcentages de protéines contenues dans chaque fraction ; recopier les valeurs de référence.
	+ De calculer les concentrations massiques correspondantes

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **fractions** | **** | **** | **** | **** | **alb** | **Total protéines** |
| **Surface cumulée** |  |  |  |  |  |  |
| **Surface réelle** |  |  |  |  |  |  |
| **% fractions** |  |  |  |  |  |  |
| **Proportion en g/L** |  |  |  |  |  |  |

* Marquer votre nom, faire un aperçu avant impression puis imprimer.

Bande de l’électrophorégramme

densitogramme

Traitement des données sous excel