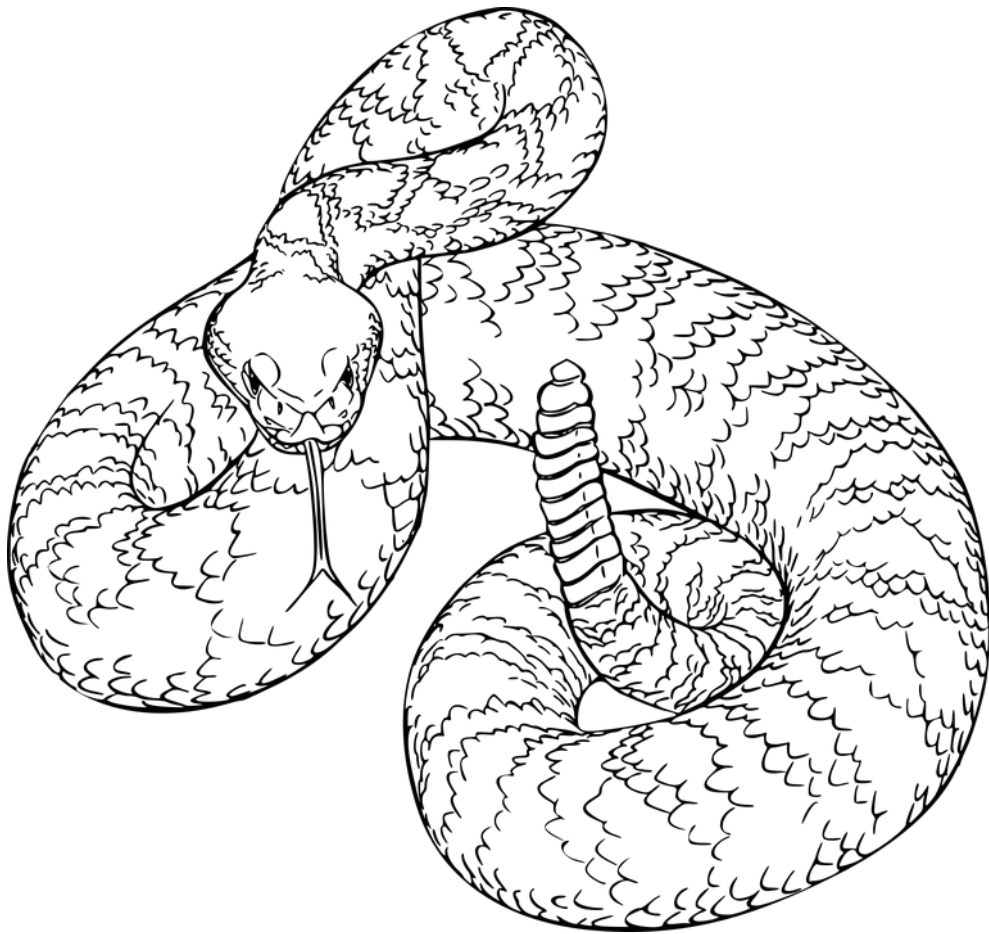


# CAHIER DE LABO

## Recherches sur le venin de serpent



### Protocoles

## *PROTOCOLE : Extraction de venin de serpent*

L'extraction de venin est une manipulation très dangereuse mais nécessaire à la production d'antivenins ou à la recherche scientifique pour comprendre le mode d'action de ceux-ci.

### Matériel :

- Serpent venimeux
- Seau rempli de CO<sub>2</sub> (plus dense que l'air)
- Compresses stériles et désinfectant
- Bécher stérile recouvert d'une membrane en latex

### Protocole :

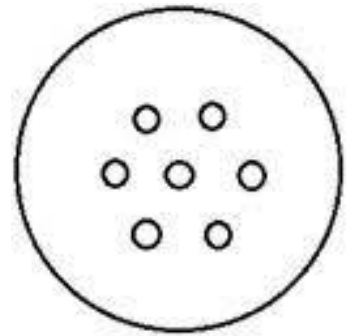
- Anesthésier le serpent dans un seau rempli de CO<sub>2</sub>
- Ouvrir la bouche en grand et désinfecter les crocs du serpent
- Planter les crocs dans un bécher stérile recouvert d'une membrane
- Masser la glande à venin pour récolter le venin
- Opérer rapidement (< 5min) avant le réveil du serpent
- Vérifier la qualité du venin récupéré

## PROTOCOLE : Immunodiffusion en gel d'OUCHTERLONY

Ce test est basé sur la diffusion homogène (immunodiffusion) de molécules déposées dans des puits creusés dans une boîte de pétri tapissée de milieu gélosé.

Deux auréoles de diffusion peuvent donc rentrer en contact : cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux réactifs. Par contre, elle se traduit par un arc de précipitation visible à l'œil nu lorsque les deux réactifs interagissent. Cela traduit une réaction immunitaire.

- **Utiliser le gabarit de perçage** pour creuser à l'aide du tube emporte-pièce les puits nécessaires dans le gel d'agar.
- **Éliminer** les disques de gélose avec le cure-dent si nécessaire en faisant attention à ne pas casser le reste de la gélose.
- **Numéroter**, à l'aide d'un feutre, chacun des puits pour vous repérer.
- **Déposer** 20  $\mu$ L du **venin** dans le puits central.
- **Déposer**, dans les **puits** périphériques, 20  $\mu$ L :
  - De T+ (témoin positif)
  - De T- (témoin négatif)
  - Des différents sérums disponibles (19, 29, 33 et 51)



Changez l'embout de la micropipette lors de chaque dépôt, sinon les résultats seront faussés. Utilisez des gants et des lunettes lors de la manipulation, il ne faudrait vous retrouver plus malade que vous ne l'êtes déjà.

## PROTOCOLE : Modélisation moléculaire avec LIBMOL

La cristallisation de molécules d'intérêt et l'observation de ces cristaux aux rayons X permet de déterminer la structure tridimensionnelle de ces molécules. La maille élémentaire des cristaux obtenus peut contenir un seul exemplaire de la molécule cristallisée comme plusieurs exemplaires.

Toutes les structures de protéines ainsi obtenues sont déposées dans une base de données internationale appelée Protein Data Bank.

Le logiciel Libmol permet de visualiser ces structures 3D et de les représenter de différentes manières pour mieux les comprendre. On peut ainsi changer la représentation et la couleur des atomes sélectionnés, mais aussi rechercher les interactions existant entre les différentes chaînes qui composent la structure. Une fiche méthode est disponible.

### Protocole :

1. Rechercher dans la Protein Data Bank le code du modèle moléculaire à afficher
2. Représenter les protéines sous forme de rubans et colorer par chaîne
3. Repérer la chaîne A (toxine du venin) et le nom des 2 chaînes associées (chaîne lourde et chaîne légère de l'anticorps)
4. Créer la représentation de la zone d'interaction entre la chaîne A et les 2 chaînes de l'anticorps
5. Afficher le détail de cette représentation (en cliquant sur le nom de la représentation) pour compter le nombre d'interactions entre l'anticorps et la toxine du venin