

RECHERCHE DE LA GELATINASE

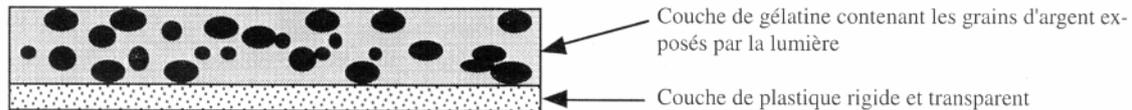
Principe

La gélatinase ou collagénase est une protéase qui hydrolyse le collagène en acides aminés ou en peptides.

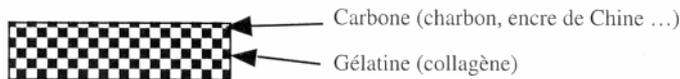
La mise en évidence de la gélatinase utilise comme substrat la gélatine fabriquée à partir du collagène, plus ou moins dénaturé pour l'opération, et met en jeu des techniques différentes.

- Libération de particules enfermées dans la gélatine

⇒ avec l'utilisation de films photographiques noir et blanc, constitués d'une pellicule de gélatine reposant sur un film plastique transparent, la pellicule renfermant des grains d'argent noirs (avant ou après développement) :



⇒ avec la gélatine de Kohn constituée de gélatine agglomérée avec du carbone (charbon ou encre de Chine) après action du méthanal (formol). C'est ce dernier test qu'utilisent les galeries API.



- Précipitation de la gélatine non hydrolysée à l'aide de chlorure de mercure II sur une gélose nutritive à 4% de gélatine (technique de Frazier).

Technique

- Faire une suspension dense en eau physiologique additionnée d'ions calcium ou en eau peptonée
- Ajouter un morceau de film noir et blanc exposé et développé ou un disque de gélatine de Kahn
- Étuver et lire après 24, 48 h...

Résultats



Disque ou film intact
Gélatinase-



Suspension de particules noires libérées du film ou du disque, éclaircissement du film :
Gélatinase+

NOTE: le principe de la cupule GEL de la galerie API 20 E est identique

Suspension de particules noires libérées du film ou du disque, éclaircissement du film : Gélatinase+

Disque ou film intact : Gélatinase-

Causes d'erreur :

- Suspension insuffisante
- Durée d'incubation insuffisante (en cupule API, 24 heures sont très généralement suffisantes)
- Disques défectueux

Pierre-Yves Guillaume

Professeur de biotechnologie génie biologique