

Enseignement d'Immunologie
Septembre 2009

ET03
Tests immuno-enzymologiques
Exercices

DES de Biologie Médicale



Universités des Sciences de la Santé
CAMBODGE – LAOS

Avec la participation de l'Université Pierre et Marie Curie



Soutenu par :

Projet d'Appui à l'Enseignement Supérieur Médical en R.D.P. Lao
Projet d'Appui à l'Université des Sciences de la Santé au Cambodge
Fondation Mérieux au Cambodge et au Laos (Centre Christophe Mérieux)

ET3: ELISA, Exercice

On se propose d'étudier, à l'aide d'anticorps monoclonaux, une glycoprotéine de 70 kDa, l' α -foetoprotéine humaine (AFP) produite par le foie fœtal. Pour cela on immunise trois souris BALB/c contre l'AFP.

Après huit jours, les rates des souris immunisées sont prélevées. Les lymphocytes B sont fusionnés aux cellules de myélome. Les hybridomes sont sélectionnés puis clonés.

Après 10 jours, on dénombre 432 clones dont 11 sécrètent des anticorps anti-AFP mis en évidence par un test immunologique.

1. Décrivez les étapes du test immunologique à mettre en place pour déterminer la spécificité des anticorps.

Un clonage des colonies productrices d'anticorps anti-AFP est effectué. On se propose d'étudier la spécificité de quatre anticorps monoclonaux AFP n°2051, n°2053, n°2062 et n°2066. Pour cela des tests d'inhibition sont réalisés ; les résultats sont présentés sur la figure 1.

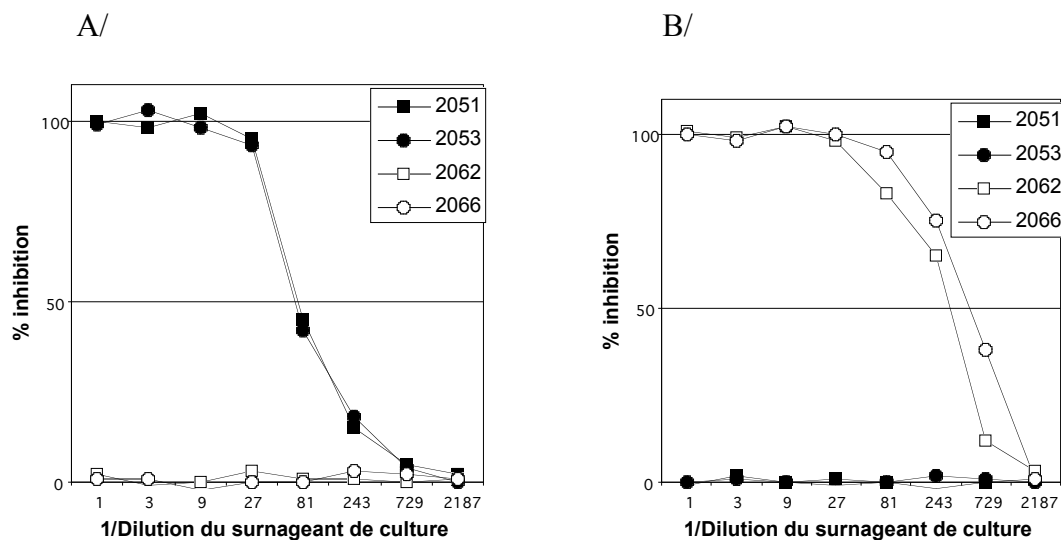


Figure 1 : L'antigène AFP a d'abord été immobilisé dans les puits de plaques de polystyrène. Ensuite, la capacité de fixation des anticorps anti-AFP marqués ^{125}I -n°2051 (A) et ^{125}I -n°2062 (B) a été testée par compétition avec des dilutions en série au tiers du surnageant de culture des 4 lignées d'hybridomes sécrétant des anticorps anti-AFP (n°2051, n°2053, n°2062, n°2066). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la fixation de l'anticorps marqué sur l'AFP en l'absence de surnageant compétiteur.

2. Représentez par un schéma le test utilisé.
3. Analyser les résultats et émettre des hypothèses.

Un test "sandwich" mis au point pour affiner cette étude est schématisé comme suit :
Phase solide ---- anti-AFP ... AFP ... anti-AFP*

4. *Que peut-on dire des résultats présentés sur le Tableau 1 ?*

Table 1 : Solid-phase radioimmunoassay of α -foetoprotein employing monoclonal anti-AFP antibodies*

Solid-phase anti-AFP	Radiolabelled anti-AFP								
	^{125}I -2051**			^{125}I -2062**			^{125}I -rabbit anti-AFP***		
	AFP (+)	AFP (-)	Δ cpm	AFP (+)	AFP (-)	Δ cpm	AFP (+)	AFP (-)	Δ cpm
2051	186	73	113	10,607	42	10,565	6,932	119	6,813
2053	214	83	131	11,521	64	11,457	6,894	127	6,717
2062	6,846	49	6,797	98	69	29	5,814	81	5,733
2066	6,934	52	6,882	101	74	27	5,986	88	5,898

*Four batches of monoclonal anti-AFP in solid-phase were incubated with 25 μl of a solution containing AFP (100 $\mu\text{g/ml}$) or 25 μl of buffer. The bound AFP was detected by radiolabelled mouse monoclonal anti-AFP (2051 or 2062) or rabbit anti-AFP. The count in the presence of AFP minus the count in the absence of AFP (Δ cpm) is the specific uptake of radiolabelled antibody by AFP.

**Five nanograms of γ -globulin (3×10^4 cpm) were used.

***Ten nanograms of γ -globulin (6×10^4 cpm) were used.