

Fiche de résolution de QCM type concours : La double immunofluorescence indirecte



1. Comment se présente le QCM ?

QCM directement extrait d'une annale de biologie cellulaire :

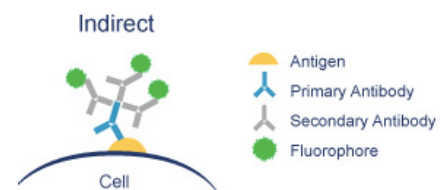
QCM 8 (2009) : On fait des expériences de double immunofluorescence avec des anticorps primaires de souris dirigés contre la protéine de méduse GFP et des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine Myc. Parmi ces propositions concernant ce type de marquage fluorescent, quelles sont les propositions exactes pour visualiser séparément dans les mêmes cellules les deux anticorps primaires ?

- A) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine
- B) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la fluorescéine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine
- C) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de chèvre couplés à la fluorescéine
- D) Anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine
- E) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la rhodamine

2. Ce qu'il est important de savoir pour le résoudre :

La technique d'immunofluorescence indirecte permet de marquer une protéine d'intérêt avec une molécule fluorescente et ainsi « l'étiqueter » pour l'observer en microscopie.

Principe : On met un anticorps (Ac) spécifique de la protéine d'intérêt : c'est l'Ac primaire. On met un second Ac, auquel on a greffé un fluorochrome, spécifique de l'Ac primaire : c'est l'Ac secondaire.



→ Via le fluorochrome porté par l'Ac secondaire, on a repéré notre protéine d'intérêt.

* Ainsi, si on nous dit : « Anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de **lapin** couplés à la **rhodamine** »
 ↳ On sait que l'Ac secondaire est un Ac de **souris** et que l'Ac primaire (reconnu spécifiquement par l'Ac secondaire) est un Ac de **lapin**. On sait aussi que l'Ac secondaire (de souris) est couplé à la **rhodamine** (le fluorochrome).

Maintenant on va parler de **double** immunofluorescence indirecte : ici l'intérêt est de visualiser séparément dans les mêmes cellules 2 protéines différentes. On va donc réaliser 2 fois le procédé expliqué ci-dessus, pour chaque protéine qui nous intéresse.

A partir de là, il y a quelques petites choses à savoir :

➤ Il est important que les **2 fluorochromes** qu'on va utiliser renvoient **2 couleurs différentes**, sinon on ne pourra pas distinguer les 2 protéines !

- Par exemple : si j'utilise de la **GFP** pour une protéine A (émet dans le **vert**) et de la **fluorescéine** pour l'autre protéine B (émet aussi dans le **vert**), je ne parviendrai pas à distinguer les protéines A et B au microscope ✘
- Par contre si j'utilise de la **GFP** pour une protéine A (émet dans le **vert**) et de la **rhodamine** pour l'autre protéine B (émet dans le **rouge**), on va distinguer les protéines A (apparaîtra en **vert**) et B (apparaîtra en **rouge**) au microscope ✔

➤ Il faut impérativement que les **2 Ac primaires** utilisés (souvent donnés dans l'énoncé) proviennent d'**espèces différentes**.

- Par exemple l'item : « Anticorps de souris anti-immunoglobuline de **lapin** couplés à la rhodamine et des anticorps de chien anti-immunoglobuline de **lapin** couplés à la fluorescéine » est faux. Ici les 2 Ac primaires sont de la même espèce (lapin) ✘

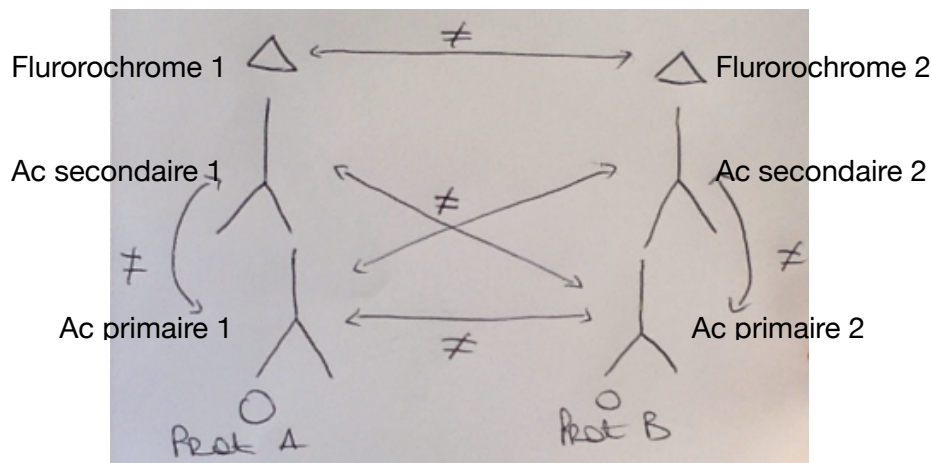
➤ Il faut impérativement que les **Ac secondaires** soient d'**espèces différentes** de celles des **Ac primaires**.

- Par exemple l'item : « Anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de chien anti-immunoglobuline de **souris** couplés à la fluorescéine » est faux. Ici le premier Ac secondaire est de la même espèce que le deuxième Ac primaire (souris) ✘
- De même, l'item : « Anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de **souris** couplés à la rhodamine et des anticorps de **chien** anti-immunoglobuline de **chien** couplés à la fluorescéine » est faux. Ici les 2 Ac secondaires sont de la même espèce que leur Ac primaire. ✘

➤ En revanche il n'est **pas nécessaire** que les **2 Ac secondaires** proviennent d'**espèces différentes**, du moment qu'ils sont spécifiques de **2 Ac primaires d'espèces différentes** (ce qui est obligatoirement le cas comme dit plus haut, sinon ça ne fonctionnera pas)

- Par exemple l'item : « Anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de chat couplés à la fluorescéine » est vrai. Le premier Ac secondaire reconnaît l'Ac primaire de lapin, le second Ac secondaire reconnaît l'Ac primaire de chat. ✔

En gros en schéma ça donne ça au niveau des contraintes à respecter :



3. Correction du QCM d'annales :

La réponse juste est : D

A) Anticorps de **souris** anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de **souris** couplés à la fluorescéine

FAUX : Ici on a un Ac secondaire de la même espèce qu'un Ac primaire.

B) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de **lapin** couplés à la **fluorescéine** et des anticorps de **lapin** anti-immunoglobuline de souris couplés à la **fluorescéine**

FAUX : Et même *doublement* faux. Ici on a utilisé 2 fois le même fluorochrome, on ne pourra donc pas distinguer les 2 protéines différentes.

En plus, on a un Ac secondaire de la même espèce qu'un Ac primaire (lapin)

C) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de **lapin** couplés à la rhodamine et des anticorps de **lapin** anti-immunoglobuline de chèvre couplés à la fluorescéine

FAUX : Ici on a un Ac secondaire de la même espèce qu'un Ac primaire.

D) Anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine

VRAI : Toutes les conditions sont respectées, et les Ac primaires sont bien ceux donnés dans l'énoncé (lapin et souris).

E) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la **rhodamine** et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la **rhodamine**

FAUX : Ici on a utilisé 2 fois le même fluorochrome, on ne pourra donc pas distinguer les 2 protéines différentes. Le reste de l'item est juste.