

IMMUNOFLOUORESCENCE INDIRECTE

C'est une technique permettant de visualiser des protéines en les rendant indirectement fluorescentes

I. Comment ça marche ?

On utilise un **anticorps (Ac) spécifique** de l'épitope de la protéine que l'on souhaite observer.

- ➔ L'épitope est la partie de la protéine qui est reconnue par l'Ac
- ➔ UNE protéine peut posséder PLUSIEURS épitopes

II. Les différents usages

On peut faire des immunofluorescences **simples** ou **doubles**

Simples : On ne visualise qu'une seule protéine

Doubles : On visualise en même temps 2 protéines.

III. Les anticorps

Ac polyclonal ➔ + simple, - spécifique

➔ Obtenus par **protocole d'immunisation**

Ac monoclonal ➔ - simple, + spécifique

➔ Obtenus par criblage d'hybridome



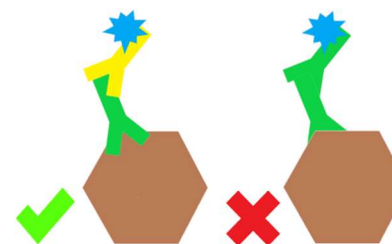
On utilisera 2 Ac, un **primaire** qui reconnaîtra l'épitope de la protéine que l'on souhaite visualiser et un **secondaire**, qui reconnaîtra l'Ac primaire et qui sera couplé à un fluorochrome donc fluorescent.

IV. Comment les choisir

- Y L'Ac primaire doit être originaire d'une espèce animale différente de celle à l'origine de l'Ac secondaire
- Y Pour une double immunofluorescence, les 2 Ac primaires doivent être d'origine animale différente
- Les Ac secondaires peuvent être d'origine animale similaire.
- Y Pour une double immunofluorescence, les fluorochromes des Ac secondaires doivent être de couleurs différentes.



Immunofluorescence simple



Immunofluorescence double

