



059365

Méthodes en immunologie

Des principes à la bonne application

Principes
généraux

Recommandations
de mise en œuvre

Exemples
d'applications

059365

MD 1298

10



Méthodes en immunologie

Des principes aux bonnes applications

Collège des enseignants d'immunologie (Assim)

Coordinateurs de l'ouvrage :

Marie Christine Béné

Christian Drouet

Sylvain Fisson

Estelle Seillès



ELSEVIER
MASSON

Table des matières



Liste des collaborateurs	V
Abréviations	IX
Avant-propos	XI

Introduction générale	1
------------------------------	----------

Techniques immunologiques

Chapitre 1	
L'antigène comme réactif : définition et propriétés	9

Caractéristiques des antigènes	9
Nature chimique, origine et localisation des antigènes	9
Thermodynamique de la réaction antigène-anticorps	10
Qualité de l'antigène et interactions antigène-récepteur	10
Propriétés des antigènes influant sur les méthodes de dosage	11
Autres facteurs conditionnant l'interaction antigène-récepteur	13
Particularités des allergènes	13

Chapitre 2	
Les anticorps comme réactifs	15

Rappels sur les anticorps	15
Préparation d'anticorps polyclonaux	17
Préparation d'anticorps monoclonaux	19
Conservation des anticorps	22
Intérêts respectifs des anticorps polyclonaux et monoclonaux	23

Chapitre 3	
Techniques sans traceur	25

Immunoprécipitation	25
Immunodiffusion	28

Immuno-chromatographie	31
Mesure d'affinité par résonance plasmonique de surface	34
Agglutination immunologique	35
Mise à profit des capacités cytotoxiques du complément	38

Chapitre 4	
Techniques avec traceurs	41

Types de traceurs	41
Les enzymes comme traceurs (41),	
Les fluorochromes comme traceurs (43),	
Les radio-isotopes comme traceurs (43).	
Dosages immuno-enzymatiques (ELISA) ou immuno-fluorescents (FLISA)	46
Dosages radio-immunologiques (RIA)	51
Immunodosages multiplex sur billes	53
Immuno-empreinte/western-blot	55
Immuno-fixation	58
Puces à protéines/ <i>protein arrays</i>	58
Cytométrie en flux	60
Marquages cellulaires et tissulaires, immunocytologie et immunohistologie	66
Puce tissulaire (<i>Tissue MicroArray</i>)	69
ELISpot	72

Chapitre 5	
Techniques de biologie moléculaire	75

Techniques d'amplification utilisées en immunologie	75
Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (75),	
Reverse transcription-PCR (77), qRT-PCR ou	
RT-PCR quantitative (77), Génotypage par PCR-SSO,	
PCR-SSP et PCR-SBT (79), Immuno-PCR (79).	
Diagnostic de clonalité, analyse du répertoire	82
Puces à ADN (<i>DNA microarrays</i>)	85
Hybridation génomique comparative sur puce (CGH array) (86).	
Transcriptomique	90
Polymorphismes géniques	91

Transfections cellulaires/expression conditionnelle	93
Transfections cellulaires d'ADN (93), La transfection d'ARN (94).	
Protéomique	95
Protéomique conventionnelle (96), Protéomique et imagerie MALDI (99).	

Chapitre 6
Tests cellulaires **105**

Étude cytologique des cellules immunitaires	105
Immunophénotypage	108
Séparation et tri cellulaire	110
Techniques de séparation par densité (110), Techniques de séparation en phase solide (111), Tri cellulaire par cytométrie en flux (113).	
Culture cellulaire et co-cultures	114
Prolifération cellulaire	117
Cytotoxicité, fonction cytotoxique des lymphocytes T CD8	120
Apoptose	122
Mesure des modifications mitochondriales liées à l'apoptose (124), Évaluation de l'altération des membranes plasmiques liée à l'apoptose (124), Activation des caspases et apoptose (126), Étude de la fragmentation de l'ADN associée à l'apoptose par électrophorèse sur gel de l'ADN génomique (126), Étude de la fragmentation de l'ADN associée à l'apoptose par méthode TUNEL (127).	
Suppression	127
Phagocytose/autophagie	130
Bactéricidie	135
Métabolisme oxydatif	136
Dégranulation	138
Migration cellulaire/adhérence	140

Chapitre 7
Tests in vivo **145**

Pertinence des modèles animaux	145
Les différentes espèces utilisées (145), Points clés des modèles souris (146), Différents types de lignées de souris (146), Aspects éthiques et législatifs (148).	
Transgénèse, KO-KI	148
Transgénèse additionnelle (148), Le KO ou KI (150), Les cKO (150).	
Tests cutanés	151

Exemples d'applications

Chapitre 8
Exploration du complément **157**

Complément hémolytique	157
Dosage des fractions, expression des récepteurs	158
Ligands du complément	161
Exploration de l'angioœdème	162

Chapitre 9
Exploration des immunoglobulines **167**

Immunoglobulines monoclonales : méthodes diagnostiques	167
Recherche d'anticorps spécifiques	174

Chapitre 10
Détection/dosage des cytokines et de leurs récepteurs **179**

Chapitre 11
Exploration du complexe majeur d'histocompatibilité **187**

Typage du <i>HLA</i> en sérologie	188
Typage du <i>HLA</i> par biologie moléculaire	188
Épreuves de compatibilité tissulaire	189
Étude du chimérisme donneur-receveur après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	189
Tétramères CMH-peptides	189

Chapitre 12
Hypermutations somatiques et translocations chromosomiques **191**

Hypermutations somatiques	191
Translocations chromosomiques	193

Chapitre 13
Immuno-hématologie **195**

Techniques sérologiques par hémagglutination	199
Alternatives à l'hémagglutination	200

Chapitre 14

Immunoinformatique **203**

IMGT® 203

Approche génomique (203), Approche génétique (206),
Approche structurale (206), IMGT/mAb-DB (206).

IMGT-ONTOLOGY 206

Identification (206), Classification (208),
Description (208), Numérotation (208).

Exemples d'outils IMGT® 208

IMGT/V-QUEST (208), IMGT/HighV-QUEST (209), IMGT/
DomainGapAlign (209), IMGT/Collier-de-Perles (209).

IMGT/3Dstructure-DB 209

Index **211**

Méthodes en immunologie

Des principes à la bonne application



L'ouvrage

Cet ouvrage, rédigé sous l'égide de l'Assim, offre un tour d'horizon complet et synthétique de toutes les méthodes actuelles en immunologie. Il en recense les différentes pratiques, partant des principes de la méthode à leur application. Il s'articule en deux grandes parties : la première portant sur les techniques elles-mêmes ; la seconde dédiée à des domaines d'applications spécifiques et mobilisant parfois une grande diversité de techniques.

Chacun des 14 chapitres est étayé d'illustrations didactiques et de tableaux synthétiques, et construit de telle sorte que le lecteur y retrouve :

- une présentation générale de chaque technique ;
- une description synoptique de la méthodologie ;
- des recommandations spécifiques de mise en œuvre ;
- des indications sur le mode de présentation des résultats ;
- des informations sur la validation des résultats ;
- un point sur les avantages et inconvénients propres à chaque technique ;
- des exemples d'applications pratiques.

Le public

Rédigé par des professionnels de la discipline, cet ouvrage s'adresse aux personnels des laboratoires de recherche, aux chercheurs et enseignants-chercheurs et aux étudiants en Master ou en thèse.

Les auteurs

Cet ouvrage a été coordonné par **Marie Christine Béné**, PU-PH en hématologie, CHU de Nantes et faculté de médecine, université de Nantes ; **Christian Drouet**, PU-PH en immunologie, CHU de Grenoble et faculté de pharmacie, université Joseph Fourier ; **Sylvain Fisson**, professeur des Universités en immunologie, faculté des sciences fondamentales et appliquées, université d'Évry-Val-d'Essonne ; et **Estelle Seillès**, PU-PH en immunologie, CHU de Besançon et faculté de médecine et de pharmacie, université de Franche-Comté.

