



MABTECH anime un atelier Immuno-monitorage au sein de l'Université Paris VI La technique Fluorospot à l'honneur !

Fin octobre 2009 et début janvier 2010, l'Université Pierre et Marie Curie (UPMC) a convié comme chaque année la société MABTECH à animer l'atelier Immuno-monitorage. Au programme : la présentation des méthodes classiques telles que l'ELISA et l'ELISpot, mais aussi pour la première fois, une technologie tout particulièrement novatrice : le Fluorospot. Explications !

Un atelier de spécialisation du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'UPMC

Comme chaque année, MABTECH, société suédoise mondialement connue pour ses anticorps monoclonaux uniques et de très haute qualité, parraine une formation pratique à l'immuno-monitorage au sein de l'Université Paris 6 – Pierre et Marie Curie. Cet atelier est proposé aux étudiants de 2ème année du Master Sciences et Technologies – Option Biologie Moléculaire et Cellulaire.

MABTECH y participe à deux titres : le premier en offrant les kits d'immuno-analyse utilisés dans le cadre des travaux pratiques, et le second en tant qu'intervenant.

« Cet atelier de spécialisation du Master de Biologie Moléculaire et Cellulaire est une formation destinée aux étudiants scientifiques en Master, mais aussi aux médecins, pharmaciens ainsi qu'aux ingénieurs et techniciens exerçant dans le domaine des sciences du vivant et, en particulier, de l'immunologie » explique M. Bertrand BELLIER, maître de conférences UPMC, responsable de l'Unité d'Enseignement Immuno-monitorage. « Deux sessions de cinq jours consécutifs sont proposées au

calendrier des formations de l'UPMC - l'une fin octobre et l'autre début janvier – avec toujours la possibilité d'en programmer de nouvelles à la demande... »

Plus de 80 étudiants ont déjà participé aux précédentes sessions organisées au sein de l'UPMC. Cette formation s'inscrit ici dans le cadre d'un suivi immunologique post-vaccinal chez la souris ; son objectif spécifique vise l'utilisation et l'étude comparative des différentes techniques pour évaluer la réponse immunitaire cellulaire. Les cinq jours de formation débutent par une réflexion en petits groupes d'étudiants sur les différentes techniques immunologiques appropriées. S'en suivent la mise en œuvre expérimentale et les présentations techniques, puis l'analyse des résultats et leur présentation. Les techniques mises en œuvre sont l'ELISA, l'ELISpot, la cytométrie en flux (phénotypage lymphocytaire, technologie tétramères, détection de cytokines intracellulaires) et lympho-prolifération *in vitro* (thymidine tritiée et CFSE)...

Cette année, une toute nouvelle technologie a été exposée par la société MABTECH : le Fluorospot. « Le Pr Bernt AXELSSON, qui a participé au développement des nouveaux produits MABTECH basés sur la méthode Fluorospot, est venu spécialement de Suède pour présenter aux étudiants la technique et ses applications », souligne M. Alexandre ANTONI, responsable France MABTECH.

La technique Fluorospot

« Le test Fluorospot est une modification du test ELISpot », explique M. AXELSSON. « L'ELISpot mesure la sécrétion d'une cytokine par une cellule dans un puits en utilisant un anticorps spécifique à la cytokine étudiée marqué

par une enzyme. Le Fluorospot, quant à lui, mesure la sécrétion d'une ou de plusieurs cytokines simultanément en utilisant des anticorps spécifiques marqués par des fluorochromes de couleurs différentes. La méthode peut être appliquée à n'importe quel système et permet à la différence de la technique ELISpot d'étudier la double, voire triple, sécrétion cytokinique au niveau unicellulaire. »

La technique Fluorospot est intéressante car elle permet, pour un nombre restreint de cellules, l'analyse simultanée de plusieurs cytokines dans un même puits. Cette technique pourra ainsi être utilisée pour l'analyse des cellules T-polyfonctionnelles, y compris lorsque ces cellules productrices représentent seulement une petite fraction de la population cellulaire. Notez en outre que le test Fluorospot possède une sensibilité semblable à celui de l'ELISpot traditionnel. Il est tout particulièrement adapté pour l'analyse des réactions immunitaires polyclonales ou antigène-spécifiques aux cellules T périphériques stimulées *in vivo*. Comme l'ELISpot, le Fluorospot est simple à réaliser et approprié à des essais comprenant un nombre important d'échantillons.

Le principe du test Fluorospot

« Le principe Fluorospot est semblable à celui de l'ELISpot », poursuit M. AXELSSON. « Cependant, pour détecter des cellules qui sécrètent deux cytokines différentes, un mélange de deux anticorps de capture spécifique pour les deux cytokines est utilisé dans chacun des puits d'une plaque à 96 puits. Après stimulation cellulaire et incubation, on enlève donc les cellules (lavage) puis on ajoute un mélange de deux anticorps spécifiques des cytokines sécrétées. Pour réaliser une détection séparée des deux cytokines sécrétées, les deux anticorps spécifiques « anti-



Le Pr Bernt AXELSSON.

cytokine » sont conjugués à un marqueur fluorescent différent. Le couplage peut être direct, comme par exemple couplé au FITC, ou indirect par révélation de l'anticorps biotinylé avec la streptavidine marquée avec un fluorochrome rouge. La membrane du puits contient ainsi un mélange de taches vertes et rouges. Une cellule qui a sécrété les deux cytokines, produit ainsi une tache verte et une tache rouge localisées à la même position sur la membrane. »

L'analyse des résultats est ensuite réalisée grâce à un lecteur automatisé Fluorospot équipé de filtres séparés et piloté par un logiciel qui permet une lecture des taches fluorescentes « simples » vertes et rouges. Les taches représentant les cellules qui auront sécrétées les deux cytokines apparaissent en jaune (recouvrement des taches vertes et rouges) ; la fréquence des cellules sécrétrices « simples » ou « doubles » est déterminée en comptabilisant le nombre de taches dans les cultures stimulées et celles obtenues sans stimulus « contrôles ».

Fiable et facile à utiliser, le test Fluorospot est assurément promis à un grand avenir ! « La technique a été découverte il y a plus de cinq ans, mais faute de lecteur adapté, elle n'a jamais pu être exploitée vraiment », explique M. ANTONI. Aujourd'hui, les premiers lecteurs sont commercialisés et les laboratoires s'équipent progressivement, notamment dans le domaine de la vaccinologie où des recherches utilisant le Fluorospot ont déjà débuté. « Le Fluorospot va devenir LA technique de référence dans les prochaines années », déclare M. AXELSSON. Pour de plus amples renseignements concernant la technique Fluorospot, les applications et les produits, n'hésitez pas à prendre contact avec le bureau français de MABTECH.

S. DENIS

Pour en savoir plus :
Alexandre ANTONI, responsable France MABTECH
Tél : 04 92 38 80 70 - Fax : 04 92 38 80 71
Email : mabtech.fr@mabtech.com
Web : www.mabtech.com

Deux nouveaux articles seront publiés prochainement dans La Gazette du Laboratoire : le premier sur la société MABTECH et le second, sur le parcours Immunotechnologies & Biothérapies du Master Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'Université Paris 6. A suivre donc...

Froilabo

Centrifugeuse SW14 ...

Ensemble, imaginons le futur !

FROILABO innove et présente : la SW14

La SW14 bouleverse le monde de la microcentrifugation, plus besoin de 2 centrifugeuses de capacité différente sur votre paillasse !

La centrifugeuse SW14 vous permet non seulement de centrifuger des microvolumes mais aussi des volumes de 10 ml, 15 ml et 50 ml.

- Vitesse maximale : 14 000 rpm
- 5 rotors angulaires - 1 rotor swing-out
- Changement de rotor en 1 seconde
- Capacité maximale : 6 x 50 ml avec rotor angulaire
- Capacité en microtubes importante : 48 x 0.2 ml
- Jusqu'à -20°C avec le modèle SW14R

Forum LABO & BIOTECH

Stand D88

FROILABO - 8 Bd Monge - 69330 Meyzieu
www.froilabo.com - froilabo@froilabo.com
Tél: 04 78 04 75 75 - Fax: 04 78 04 75 76

Echues Congélateurs -86°C Incubateurs Enceintes ICH