

II/ L'immunofluorescence

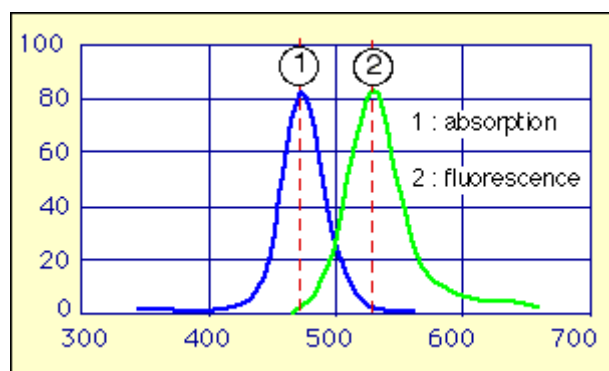
II.1 Le phénomène de fluorescence

*Les fluorochromes sont des substances qui, quand elles sont soumises à un rayon lumineux, deviennent instables (passent à un état excité). Pour revenir à l'état fondamental, les fluorochromes émettent une longueur d'onde différente de la longueur d'onde absorbée.

=>La radiation émise est une lumière de fluorescence.

*Un fluorochrome est caractérisé par deux spectres : son spectre d'absorption (de la lumière incidente) et son spectre d'émission de fluorescence.

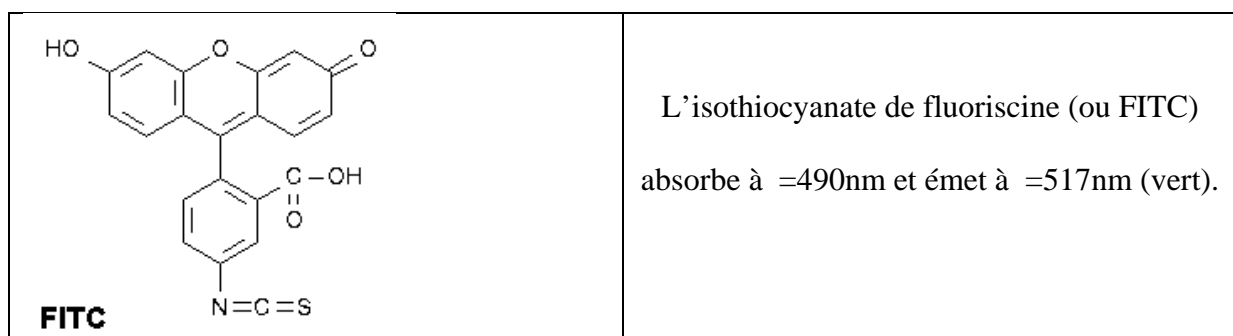
=>Le spectre d'émission des fluorochromes est dans le visible.



<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Microscopie/fluo/fluoverte.htm>

*Les fluorochromes les plus classiques:

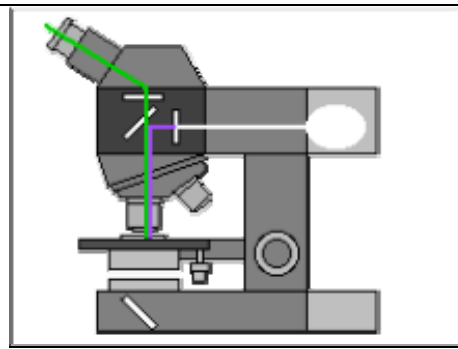
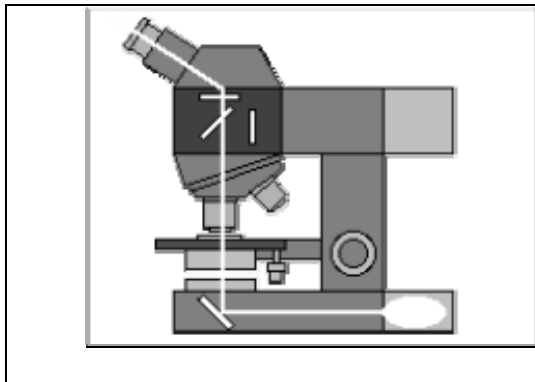
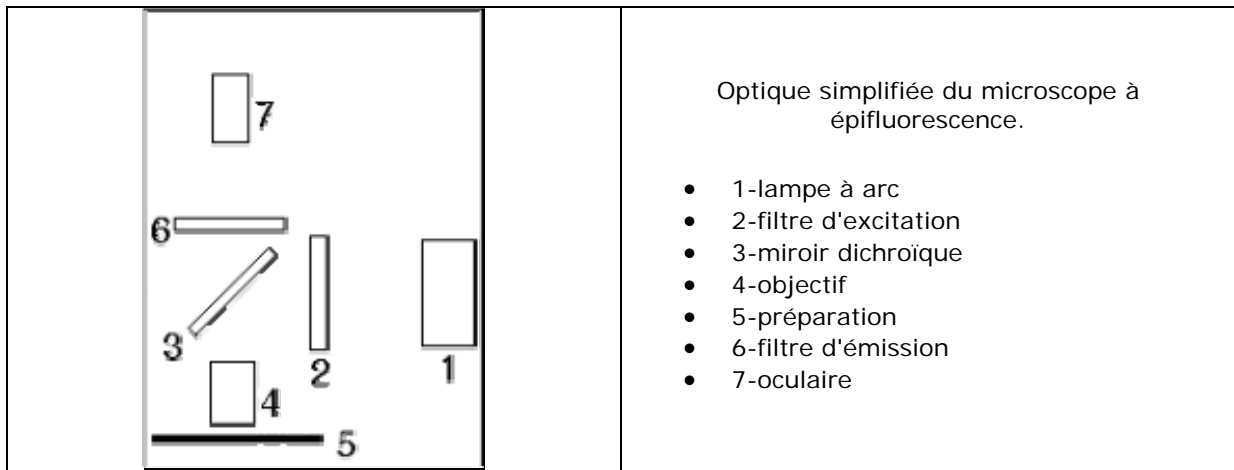
-FITC : dérivé de la fluorescéine :



-Dérivés de la rhodamine : L'isothiocyanate de rhodamine absorbe à $\approx 550\text{nm}$ et émet à $\approx 580\text{nm}$ (rouge, orangé).

-La phycoérythrine est un autre fluorochrome.

II.2 Le microscope à épifluorescence

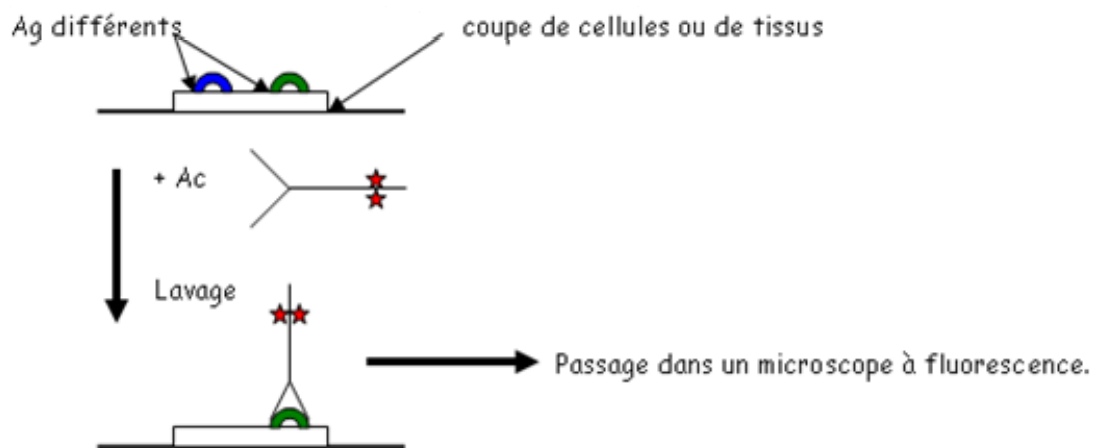
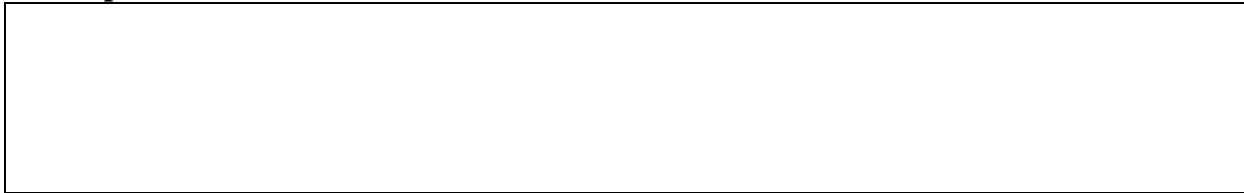


Les précautions à prendre :

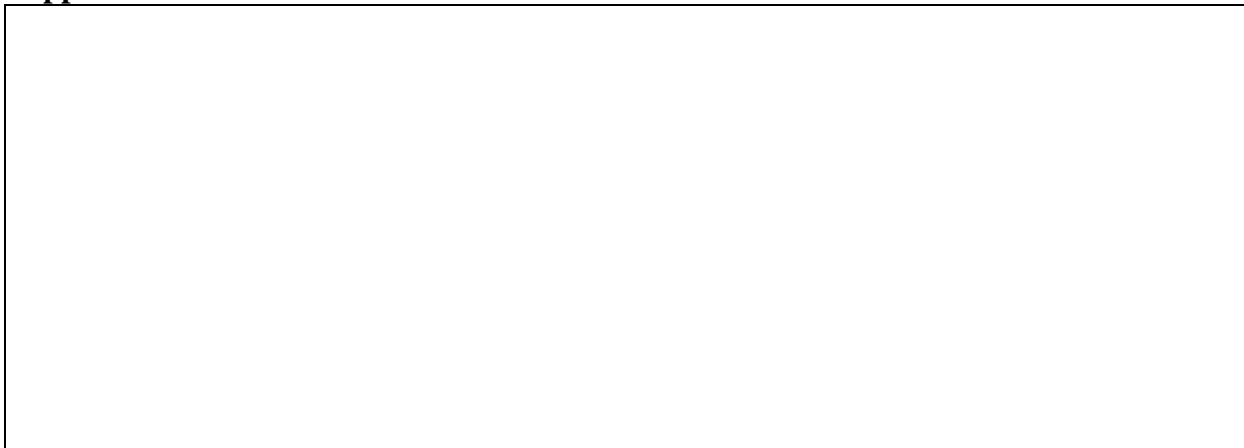
II.3 Les techniques d'immunofluorescence

II.31 Immunofluorescence directe

Principe :

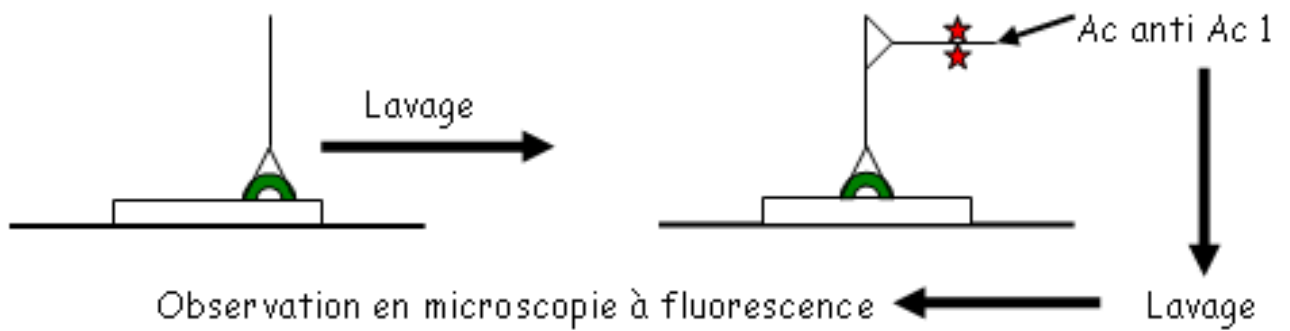


Applications :

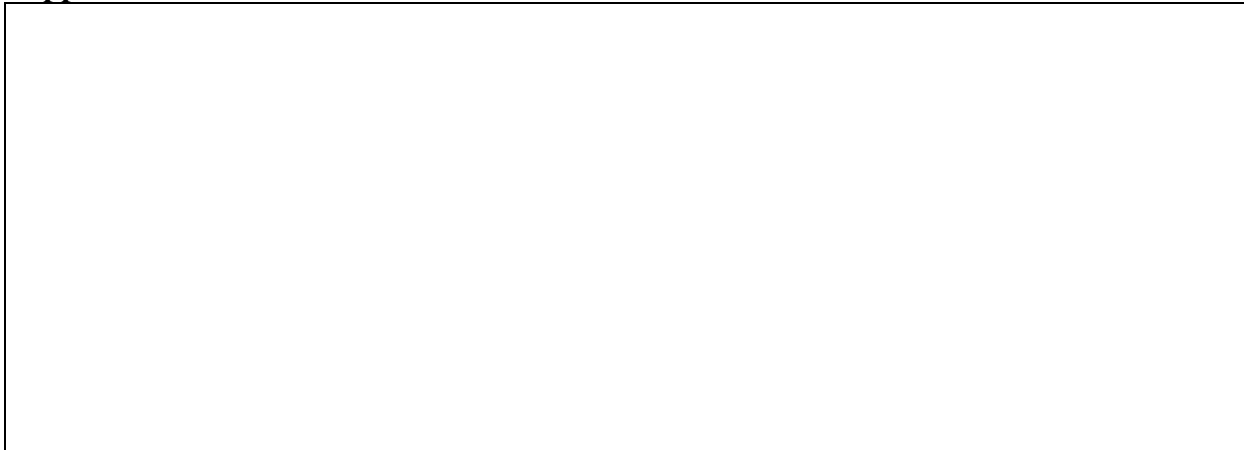


II.32 Immunofluorescence indirecte (IFI)

Principe :



Applications :



II.4 Organigramme du protocole expérimental. (Quelques consignes)

Utilisation de lames préparées avec l'antigène

Incubation des coupes fixées sur lame avec le sérum ou l'Ac dilué dans du tampon PBS

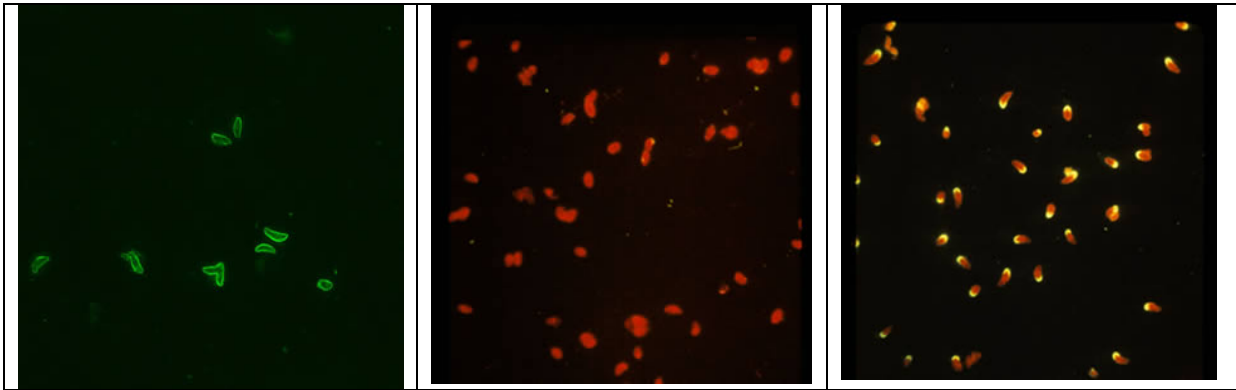
Lavages dans du tampon PBS

Incubation des complexes avec les Ac secondaires dilués dans du tampon PBS

Lavages dans du tampon PBS

Montage entre lame et lamelle puis observation au microscope

Résultats



Discussion sur la lecture :