

Localisation intracellulaire d'anticorps à l'aide de la glucose oxydase comme antigène et marqueur

W. D. KUHLMANN

Institut de Recherches Scientifiques sur le Cancer, Villejuif, France

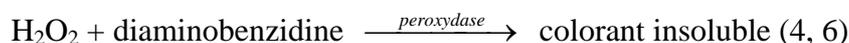
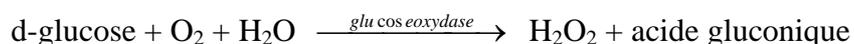
Proc. 7th Int. Congr. Electron Microscopy 1, 535-536, 1970

En microscopie optique et électronique, la localisation des anticorps anti-péroxydase et anti-phosphatase alcaline est déjà étudiée (1, 2, 3). Dans le présent travail, nous utilisons une autre enzyme, la glucoseoxydase, pour montrer:

1. que l'animal produit dans des conditions données des anticorps spécifiques antiglycoseoxydase,
2. qu'on peut obtenir une réaction dense aux électrons pour la détection des anticorps de cette enzyme en microscopie électronique,
3. que la formation d'anticorps antiglycoseoxydase dans les cellules immunocompétantes suit un processus analogue à celui de la péroxydase et de la phosphatase alcaline.

La glucoseoxydase d'*Aspergillus niger* est une glycoprotéine qui contient deux molécules de flavine-adénine-dinucléotide. Son poids moléculaire est de 150000 à 180000 et le pH optimum se situe entre 4 et 7. L'enzyme est spécifique pour les substrats d-glucose, d-mannose et 2-deoxy-d-glucose.

Des ganglions de la poplitée des lapins, une ou plusieurs fois immunisés avec un mélange de glucoseoxydase et d'adjuvant de Freund par voie intracutanée dans les pattes, sont fixés à la paraformaldehyde à 4%. Après incubation dans une solution de glucoseoxydase et lavage, les préparations cellulaires sont fixées encore une fois. L'enzyme fixée à ses anticorps homologues, est alors révélée d'après le procédé suivant:



Le procédé est analogue à la technique développée par Keston (5) pour la mesure de l'activité glucose oxydasique dans les liquides biologiques.

La localisation d'anticorps antiglycoseoxydase est la même que celle déjà rapportée pour la péroxydase et la phosphatase alcaline. Comme pour le ganglion poplité du lapin stimulé par la péroxydase (7, 8), on a trouvé deux types de cellules morphologiquement distinctes, contenant des anticorps. Les membranes des surfaces cellulaires sont souvent fortement contrastées. Il s'agit peut-être d'une adsorption non spécifique. Le désavantage de la glucoseoxydase est que la pénétration intracellulaire n'est pas facile à cause du poids moléculaire élevé. La glucoseoxydase peut être utilisée comme marqueur de l'espace extra- et intracellulaire pour mettre en évidence des anticorps antiglycoseoxydase; pour marquer des anticorps (9) et

détecter ainsi des antigènes correspondants; pour mesurer la résorption in vivo et in vitro; et pour suivre la diffusion dans les tissus. La réaction cytochimique est applicable à toutes les oxydoréductases qui donnent comme produit de réaction l'H₂O₂, par exemple, la galactose-oxydase et la L-aminoacide-oxydase (4).

References

1. Avrameas, S., et Lespinats, G., *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **265**, 302, 1967.
2. Leduc, E.H., Avrameas, S., et Bouteille, M., *J. Exp. Med.* **127**, 109, 1968.
3. Scott, G.B., Avrameas, S., et Bernhard, W., *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **266**, 746, 1968.
4. Kuhlmann, W.D., et Avrameas, S. (en préparation).
5. Keston, A.S., Abstracts of Papers of the 129th Meeting of the American Chemical Society, p 31C, 1956.
6. Graham, R.C., et Karnovsky, M.J., *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 291, 1966.
7. Avrameas, S., et Leduc, E.H., *J. Exp. Med.* (sous presse).
8. Avrameas, S., Kuhlmann, W.D., Miller, H.R.P., et Leduc, E.H. *Immunology* (sous presse).
9. Avrameas, S., *Immunochemistry* **6**, 43, 1969.