

LE MARQUAGE A L'IMMUNOPEROXYDASE APPLIQUE AUX TECHNIQUES D'OBSERVATION DES SURFACES CELLULAIRES A HAUTE RESOLUTION

Bernard RENTIER. Laboratoire de microbiologie, Pathologie B-23, Université de Liège, Sart Tilman, B4000 Liège, Belgique.

La détection d'antigènes membranaires lors de l'observation de surfaces cellulaires en microscopie électronique à balayage (MEB) à haute résolution (émission de champ), ou en répliques de surface (R.S.), présente des difficultés dues aux dimensions des marqueurs couplés aux anticorps. L'immunoperoxydase, largement utilisée en microscopie optique ou à transmission, est applicable en MEB tant ordinaire qu'à haute résolution. En effet, le produit d'oxydation de la diaminobenzidine qui forme un dépôt brun, opaque aux électrons, apparaît en MEB ou en R.S. sous la forme de granules dont les dimensions sont en relation avec la durée d'incubation enzyme-substrat. A haute résolution, il est souhaitable de réaliser des granules de 15 à 20 nm de diamètre, évitant ainsi de masquer les structures à observer.

Nous avons appliqué cette méthode à l'étude des modifications des membranes cytoplasmiques de cellules infectées par des virus enveloppés. Ces virus induisent, avant de bourgeonner, des modifications structurales des membranes et, en particulier, y insèrent leurs propres antigènes d'enveloppe. Nous avons ainsi mis en évidence des rubans d'antigènes du virus rougeoleux et en avons défini la distribution sur les cellules infectées. Nous avons également suivi la redistribution d'antigènes viraux lors de la modulation antigénique par des anticorps anti-virus rougeoleux. Avec d'autres virus, le marquage permet de détecter les bourgeons viraux à des stades précoces, avant qu'ils ne soient morphologiquement reconnaissables.

Cette technique, combinée avec l'étude à haute résolution des surfaces cellulaires non-marquées, offre l'avantage d'identifier clairement les structures propres aux virus. Elle permet, en outre, de standardiser les méthodes d'immunomarquage en microscopie optique, à transmission (coupes et répliques) et à balayage.