



Immunologie

Réf :
117 104

Français – p 1

Version : 8105

**Kit test immunodétection principe ELISA
(24 tests)**

1 Introduction

Prêt à l'emploi, pas de préparation ni matériel spécifique
 Une simple dilution à l'eau déminéralisée des réactifs et c'est prêt.

Terminale S

Concevoir et réaliser une expérience permettant de caractériser la spécificité des molécules intervenant dans l'immunité adaptative.

Terminale STL

Les anticorps peuvent être utilisés *in vitro* pour des applications en diagnostic.



2 Composition du kit

- 24 ½ barrettes microtitration précoatées BSA
- **Tube 1** : Anticorps primaire – **Ac1** = Sérum de lapin anti-BSA (400µL)
- **Tube 2** -Sérum de lapin (Témoin négatif – T-)
- **Tube 3** - Anticorps secondaire – **Ac2** = Anti-IgG de lapin couplé peroxydase
- **TMB** (Tetramethyl benzidine) prêt à l'emploi - Ampoule sécable blanche (6 mL) avec compte-goutte intégré
- **PBS tween** concentré
 Ampoule sécable translucide contenant Tween et PBS à diluer dans 90 mL d'eau
- 2 microtubes X et Y

3 Matériel complémentaire

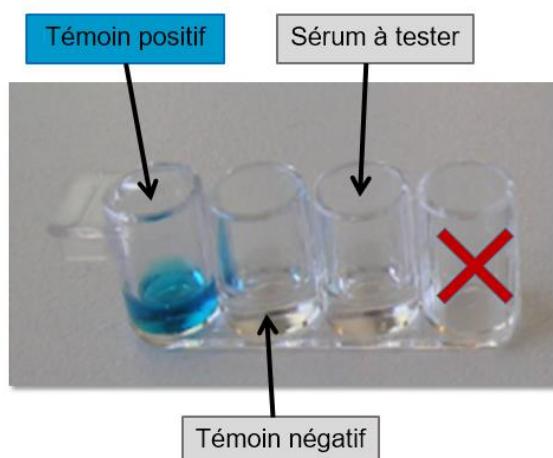
- 1 pipette graduée de 10mL par TP
- 1 micropipette 0- 200µL par groupe (Pour les réactifs)
- 1 pipette graduée par groupe (Pour les rinçages)

Ce kit permet de réaliser une expérience afin de mettre en évidence la présence ou non d'un anticorps recherché. Ce test ELISA fonctionne comme un test de dépistage **qualitatif** :

- Si l'anticorps est détecté alors c'est bleu
- Si l'anticorps est absent alors il n'y a pas de coloration

Une manipulation pour l'élève en moins de 45 minutes.

On utilise uniquement 3 puits sur 4 – Cependant les 4 puits sont précoatés avec de la BSA ce qui rend la ½ barrette utilisable dans les 2 sens.



Pour une préparation rapide et simplifiée :

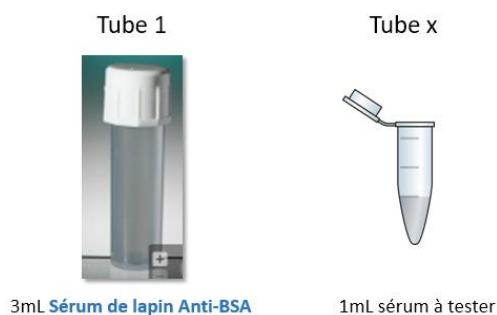
Tube 1 ,2 et 3 : rajouter 3,6 mL d'eau déminéralisée directement dans le tube à hémolyse.

4 Avant le TP

Préparation du sérum de lapin anti-BSA (Ac1)

Tube 1 (Avec 1mL le professeur peut faire jusqu'à 12 tests positifs - Au maximum 1,5mL peuvent être prélevés pour l'individu X, soit 18 tests positifs)

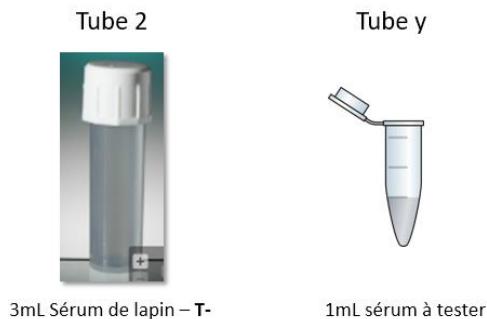
- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse
- Prélever ensuite 1mL du tube 1 que vous venez de diluer pour le mettre dans le tube x
- Le tube 1 contient le Sérum de lapin avec anticorps anti-BSA (3mL)
- Le tube x correspond au sérum à tester de l'individu x (1mL)



Préparation Sérum lapin non immunisé (Témoin négatif – T-) :

Tube 2 :

- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse
- Prélever ensuite 1mL du tube 2 que vous venez de diluer pour le mettre dans le tube y
- Le tube 2 contient le Sérum de lapin sans anticorps anti-BSA (Témoin négatif – T) (3mL)
- Le tube y correspond au sérum à tester de l'individu y (1mL)

**Préparation Anti-IgG de lapin couplé à la peroxydase (Ac2)****Tube 3 :**

- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse
- Ac2** (Anticorps secondaire)

3mL **Anti-IgG de lapin couplé peroxydase****PBS Tween**

- Ouvrir l'ampoule (translucide)
- Verser le contenu dans un bêcher
- Compléter avec 90mL d'eau

TMB (2-3 gouttes par puits pour la révélation)

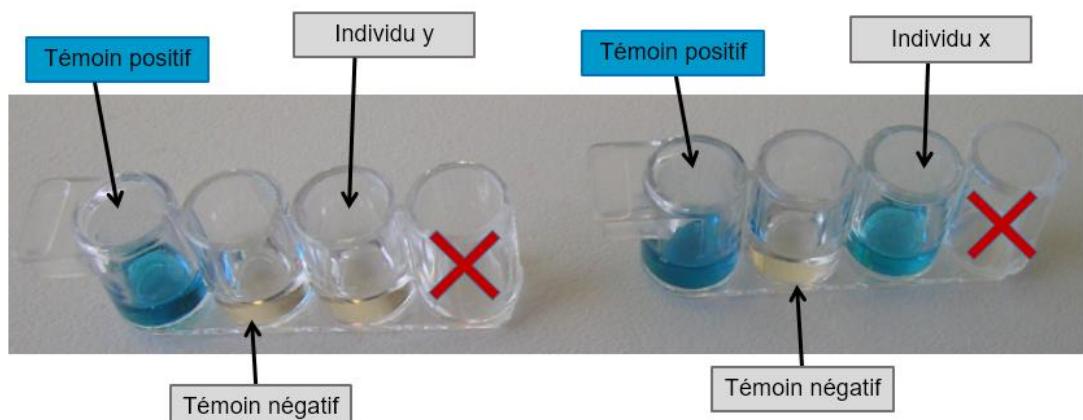
Le TMB est livré dans une ampoule scellable opaque muni d'un compte-goutte.



Déroulement du test :

	Produit	Quantité	1 Test		24 tests
			Action	Puits ①	
Témoin positif	Ac1 (Sérum anti-BSA)	80µL			24 x 0,080 = 1,92mL
Témoin négatif	T- (Sérum de Lapin)	80µL		Puits ②	24 x 0,080 = 1,92mL
Sérum à tester	Tube x ou Tube Y (choix)	80µL		Puits ③	12 x 0,080 = 0,96mL (x) et/ou 12 x 0,080 = 0,96mL (y)
Vider les puits ① et ② et ③					
1 ^{er} Rinçage	PBS Tween	120µL	Puits ① ② et ③		24 x 2 x 0,120 x 2 = 17,28mL
Rincer 2 fois successivement					
Anti IgG de lapin couplé peroxydase	Ac2 (Anti IgG)	50µL	Puits ① ② et ③		24 x 3 x 0,05 = 3,60mL
2 ^{ème} Rinçage	PBS Tween	120µL	Puits ① ② et ③		24 x 2 x 0,120 x 3 = 25,92mL
Rincer 3 fois successivement					
Révélation	TMB	80µL (2-3 gouttes)	Puits ① ② et ③		24 x 3 x 0,080 = 5,76mL
Maximum d'intensité entre 30 secondes et 1minute environ					

L'éjection des solutions contenues dans les puits s'effectue par un retournement et un secousse sèche, en veillant à ce que les liquides ne transvasent pas d'un puits à l'autre.

Résultats obtenus :

Important : l'intensité de la coloration est atteinte très rapidement entre 30 secondes et 1minute environ, la lecture du résultat est quasi instantanée.

Le seuil de détection par le TMB est très bas, ainsi il faut veiller à bien éliminer les résidus d'anticorps secondaire lors des derniers rinçages. Lorsque le puits du témoin négatif apparaît avec une coloration bleutée ceci est le signe de rinçages et de vidage pas assez efficaces.

5 En résumé

Grâce au test ELISA, on peut détecter visuellement dans un liquide la présence d'anticorps spécifiques d'antigènes.

Les applications courantes sont le diagnostic médical du VIH ou encore de la maladie de Lyme.

La spécificité de la réaction anticorps - antigène du test ELISA trouve de nombreuses applications en dehors du diagnostic médical pour la détection de molécules diverses tels que les tests de grossesse, le contrôle des eaux, les tests de drogues.... Cependant le principe diverge légèrement car dans ces configurations, c'est l'antigène que l'on souhaite détecter. La plaque support est donc recouverte de l'anticorps spécifique, l'antigène sera piégé puis révélé ensuite par la réaction chromogène.

6 Pour aller plus loin

Ce test simple permet de mettre en évidence la présence ou non d'un anticorps, c'est une approche qualitative. La technique ELISA permet aussi une approche quantitative permettant de doser l'anticorps recherché en réalisant au préalable un gradient de concentrations connues de cet anticorps (*kit référence 115 037*).

7 Service après-vente

Pour tous réglages, contacter le **Support Technique** au **0 825 563 563**.

JEULIN – Support technique

468 rue Jacques Monod

CS 21900

27019 EVREUX CEDEX France

0 825 563 563*

* 0,15 € TTC/min. à partir un téléphone fixe

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts
à votre disposition
du lundi au vendredi
de 8h30 à 17h30

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge
immédiatement votre appel
pour vous apporter une réponse
adaptée à votre domaine
d'expérimentation :
Sciences de la Vie et de la Terre,
Physique, Chimie, Technologie.

Service gratuit*

0 825 563 563 choix n°3**

* Hors coût d'appel. 0,15 € TTC/min à partir d'un poste fixe.

** Numéro valable uniquement pour la France métropolitaine et la Corse. Pour les DOM-TOM et les EFE, composez le +33 2 32 29 40 50.

Aide en ligne
FAQ.jeulin.fr

Direct connection for technical support

A team of experts
at your disposal
from Monday to Friday
(opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request
immediately to provide you
with the right answers regarding
your activity field : Biology, Physics,
Chemistry, Technology.

Free service*

+33 2 32 29 40 50**

* Call cost not included.

** Only for call from foreign countries.

