

Les auto-antigènes biotinylés

Dans le domaine de diagnostic, c'est important de créer des essais très sensibles. Il y a plusieurs facteurs qui affectent la sensibilité d'un essai de diagnostic *in vitro* – entre autres l'usage de différentes surfaces ou de molécules reporteur avec lesquelles l'anticorps secondaire est conjugués. Dès que la molécule reporteur et le matériel de surface sont choisis, on peut obtenir des sensibilités plus performantes à l'aide d'une conjugaison biotine de l'antigène et à l'aide d'une incubation avec une molécule reporteur conjuguée avec streptavidine ou une surface revêtue de streptavidine (WHO 2006). La liaison avidine-biotine ou streptavidine-biotine, liaison non covalente de grande spécificité, est le résultat de plusieurs facteurs, comme p.e. plusieurs liaisons hydrogènes, des interactions de Van der Waals entre la biotine et la protéine et des boucles polypeptidiques. Ce sont les altérations structurales au site de liaison à la biotine qui modifient la structure quaternaire chez le tétramère de la streptavidine qui mène ensuite à une transformation dans les feuillets bêta qui relie les sous-unités du tétramère (Weber *et al.* 1989).

Les analyses les plus récents de diagnostic *in vitro* utilisent des surfaces recouvertes à la streptavidine pour renforcer la liaison à la base. Les antigènes biotinylés dans les analyses multiplex à billes sont couplés aux billes de streptavidine, habituellement magnétiques. Ce principe permet l'évaluation d'une grande variété d'antigènes en une seule étape et, en plus, des quantités larges d'échantillons ne sont plus nécessaires. Comparé à l'ELISA ou aux autres techniques d'immunodot standard, ces essais sont plus performants et prennent moins de temps.

La validation des antigènes biotinylés de DIARECT a été réalisée avec un ELISA utilisant des billes magnétiques (Dynabeads™ M-280 Streptavidin; Thermo Fisher Scientific) couplées aux antigènes biotinylés. Ce couplage s'était réalisé conformément aux recommandations du fabricant avec des modifications appropriées. Le protocole ELISA standard avec anticorps secondaires conjugués à la HRP a été adapté à l'usage des billes magnétiques comme matériel de surface; lavage efficace par séparation magnétique. La densité optique (OD) a été vérifiée à l'aide d'un lecteur de plaques standard.

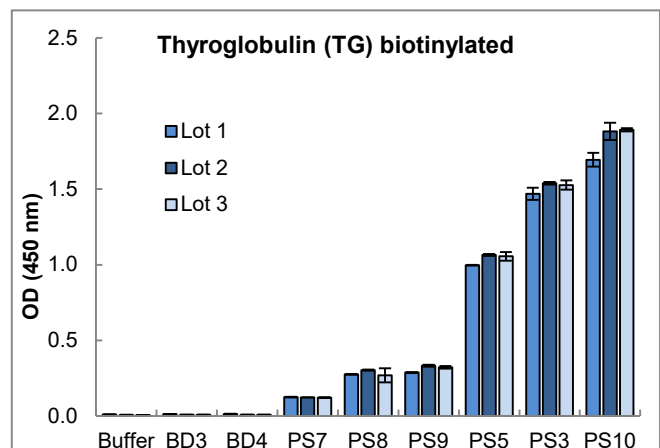
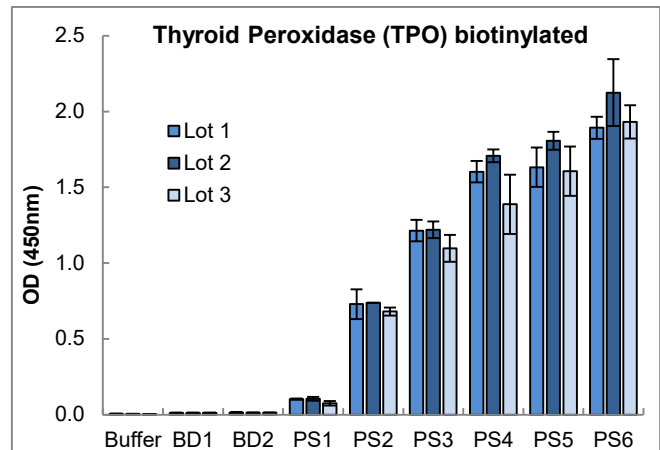


Figure: trois lots différents de TPO (en haut) et TG (en bas) ont été biotinylés et couplés sur des microsphères recouvertes à la streptavidine. Des réponses IgG spécifiques aux antigènes ont été trouvées chez des donneurs de sang sains (BD 1- 4) et chez des échantillons de patients (PS 1-10, double détermination). Antigènes non-biotinylés et tampon comme contrôles négatifs (informations disponibles sur demande).

Références:

Weber *et al.* (1989) Science. 243: 85–88
WHO (2006) Environmental Health Criteria. 236: 1–333

Attention: l'usage des antigènes dans les analyses diagnostiques peut être protégé par brevet. DIARECT n'est pas responsable pour ces questions. Nous recommandons de clarifier la situation juridique avant l'usage.

Information de commande

20300	Ro/SS-A (60 kDa; rec.) biotinylated	50 µg
20301		0.5 mg
20400	Ro/SS-A (60 kDa; non rec.; bov.) biotinylated	50 µg
20401		0.5 mg
20500	Ro/SS-A (52 kDa) biotinylated	50 µg
20501		0.5 mg
20600	La/SS-B biotinylated	50 µg
20601		0.5 mg
20700	GBM biotinylated	50 µg
20701		0.5 mg
20800	GAD65 biotinylated	50 µg
20801		0.5 mg
20100	Thyroid Peroxidase (TPO) biotinylated	50 µg
20101		0.5 mg
20200	Thyroglobulin (non rec.) biotinylated	50 µg
20201		0.5 mg

190121_Rev02

