



Université de Médecine et Pharmacie "Victor Babes" Timișoara  
Département d'immunologie  
Département des Sciences Fonctionnelles

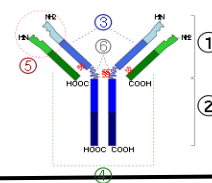


# Anticorps monoclonaux

---

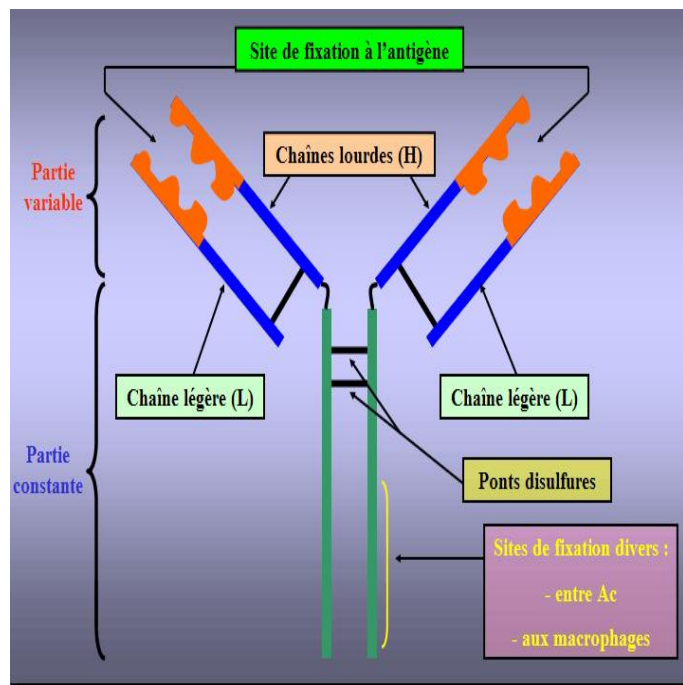
Travaux pratiques

# Définition



Les **anticorps monoclonaux** sont des **anticorps** reconnaissant le même **épitope** car ils sont issus d'une seule lignée de **plasmocytes**, provenant d'une **seule cellule**.

Ils sont le produit d'une fusion entre un **lymphocyte B** et une cellule cancéreuse (**myélome**).



1. **Fragment Fab**

2. **Fragment Fc**

3. **Chaîne lourde** (en bleu) avec une région variable ( $V_H$ ) suivie d'une région constante ( $C_{H1}$ ), une région charnière, et deux autres régions constantes ( $C_{H2}$  and  $C_{H3}$ ).

4. **Chaîne légère** (en vert) avec une région variable ( $V_L$ ) et une constante ( $C_L$ )

5. **Paratope**

6. **Régions charnières.**

Les **anticorps monoclonaux** sont des **anticorps** reconnaissant le même **épitope** car ils sont issus d'une seule lignée de **plasmocytes**, provenant d'une **seule cellule**.  
Ils sont le produit d'une fusion entre un **lymphocyte B** et une cellule cancéreuse (**myélome**).



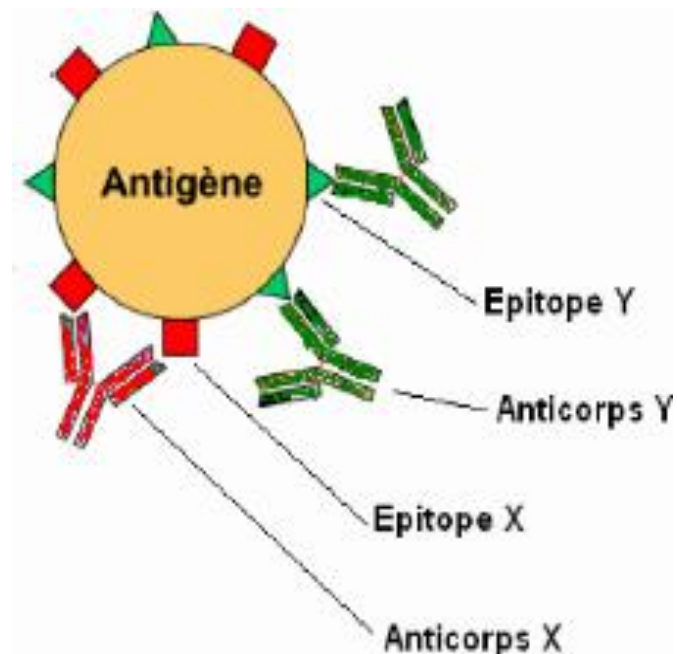
Angel of the West (2008) de Julian Voss-Andreae est une sculpture inspirée de la structure de l'anticorps publiée par E. Padlan.

Réalisé pour le campus de Floride du Scripps Research Institute, l'anticorps est placé dans un anneau faisant référence à l'Homme de Vitruve de Léonard de Vinci.

Cela permet de mettre en évidence l'analogie entre les proportions de l'anticorps et celles du corps humain.



Les **anticorps monoclonaux** sont des **anticorps** reconnaissant le même **épitope** car ils sont issus d'une seule lignée de **plasmocytes**, provenant d'une **seule cellule**.  
Ils sont le produit d'une fusion entre un **lymphocyte B** et une cellule cancéreuse (**myélome**).

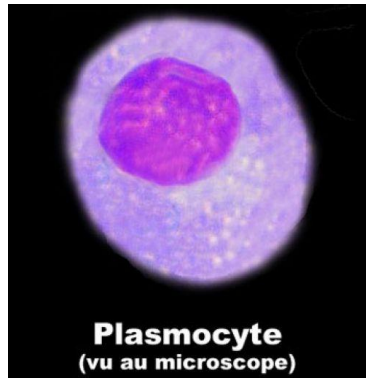


Un **épitope**, aussi appelé **déterminant antigénique**, est une molécule qui peut être reconnue par un paratope (partie variable d'un anticorps ou d'un récepteur membranaire des lymphocytes T: TCR), pour déterminer si elle appartient au domaine du soi ou au domaine du non-soi.

Un antigène est caractérisé par ses épitopes, si ses épitopes sont reconnus comme appartenant au non-soi alors il est lui-même immédiatement reconnu comme appartenant au non-soi.



Les **anticorps monoclonaux** sont des **anticorps** reconnaissant le même **épitope** car ils sont issus d'une seule lignée de **plasmocytes**, provenant d'une **seule cellule**.  
Ils sont le produit d'une fusion entre un **lymphocyte B** et une cellule cancéreuse (**myélome**).



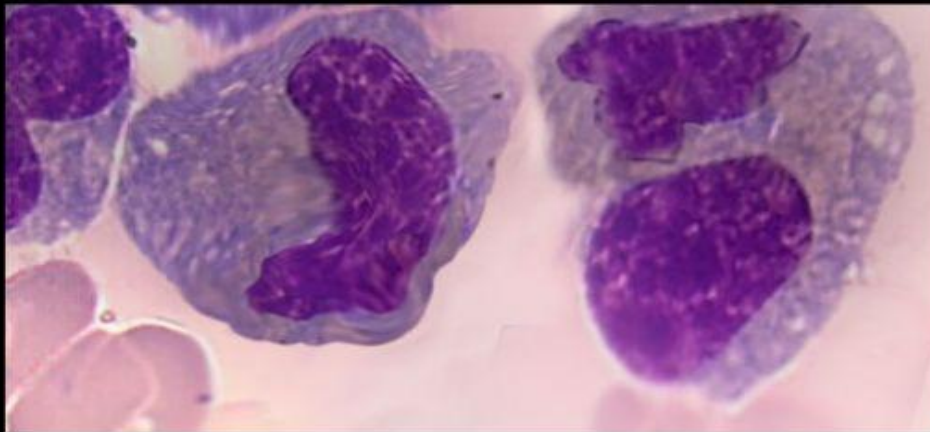
**Les plasmocytes** (parfois appelés **cellules plasmatiques** ou plasmatocytes) sont des **globules blancs**.

Ils se trouvent normalement dans les tissus, et non dans le sang. Ce sont des cellules basophiles.

Ces cellules sont productrices d'anticorps, et elles sont le stade final de différenciation des lymphocytes B.



Les **anticorps monoclonaux** sont des **anticorps** reconnaissant le même **épitope** car ils sont issus d'une seule lignée de **plasmocytes**, provenant d'une **seule cellule**.  
Ils sont le produit d'une fusion entre un **lymphocyte B** et une cellule cancéreuse (**myélome**).



**Maladie de Kahler  
(myélome multiple)**

Le **myélome multiple** des os (aussi connu sous le nom de **maladie de Kahler**, ou, simplement, **myélome**) est un cancer hématologique (signifiant qu'il se développe à partir des cellules de l'hématopoïèse, celles-là même qui sont à l'origine des cellules du sang, formées dans la moelle osseuse).

s  
au tiers inférieur du  
fémur.

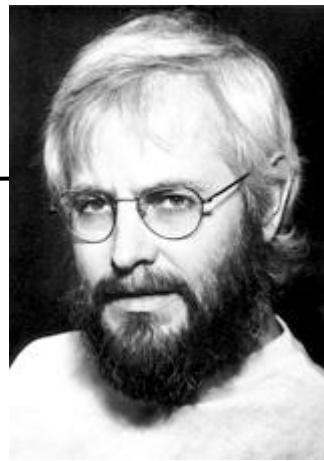
Ostéolyses multiples et  
fracture pathologique de  
l'ulna.







# Histoire



Durant les années 1970, il était connu qu'un cancer (myélome) des cellules B produisait de grandes quantités d'anticorps identiques.

En 1975, Georges Köhler et César Milstein ont publié dans Nature une technique de production d'anticorps monoclonaux.

En 1984, ils ont reçu le Prix Nobel de médecine pour cette découverte.





# Principe

Afin de produire des lignées stables de cellules produisant les anticorps désiré, Kohler et Milstein ont élaboré l'idée et la méthode de fusion de deux types de cellules.

Ainsi, des cellules B (produisant les anticorps), dont l'incapacité de se reproduire est palliée par des myélomes (des cellules cancéreuses immortelles) résulte en un hybridome sécrétant des anticorps et ayant à la fois la propriété de se reproduire indéfiniment.

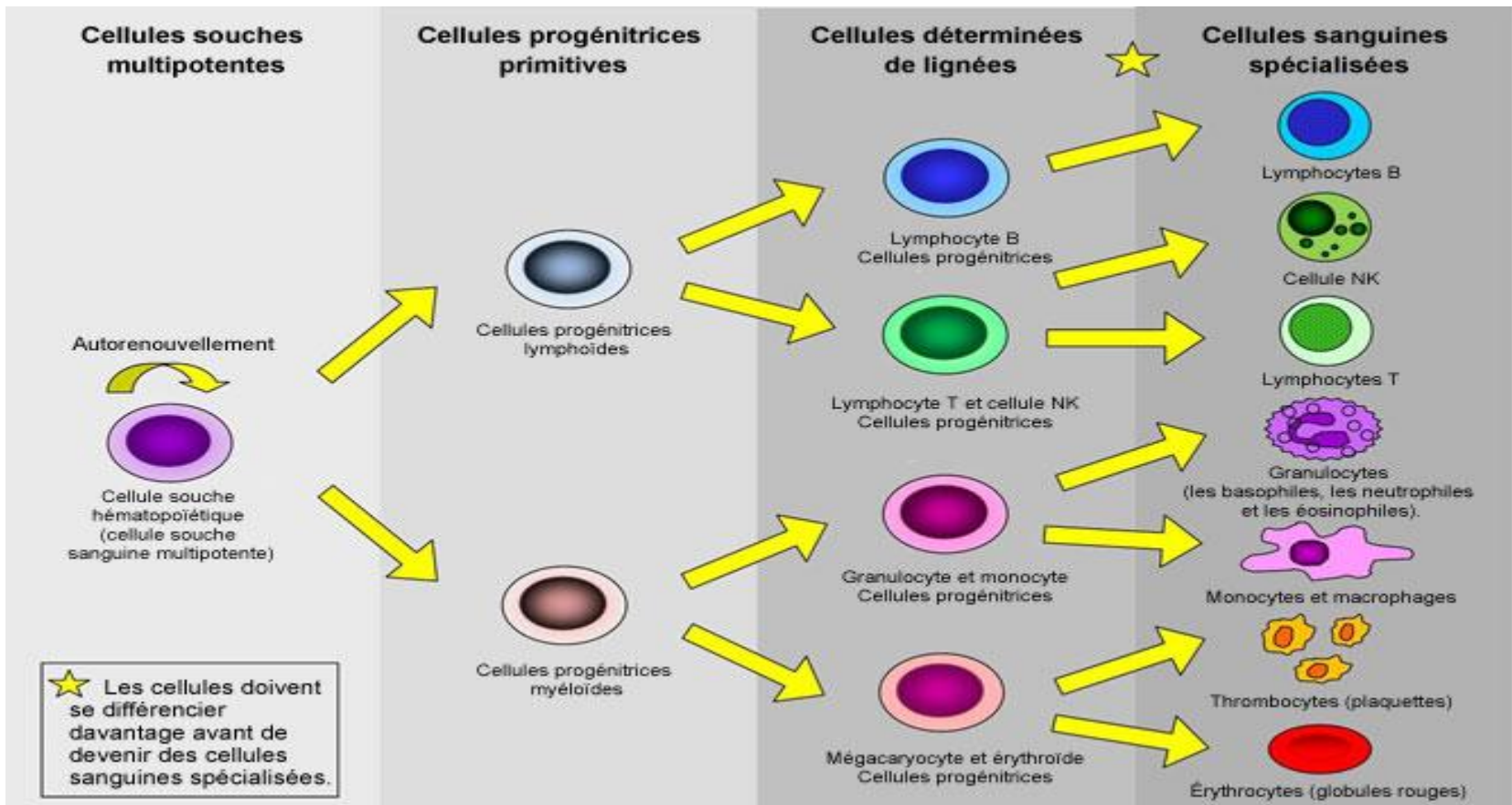


Afin de produire des lignées stables de cellules produisant l'anticorps désiré, Kohler et Milstein ont élaboré l'idée et la méthode de fusion de deux types de cellules.

Ainsi, des cellules B (produisant les anticorps), dont l'incapacité de se reproduire est palliée par des myélomes (des cellules cancéreuses immortelles) résulte en un hybridome sécrétant des anticorps et ayant à la fois la propriété de se reproduire indéfiniment.

Une **lignée cellulaire** est une population homogène de cellules, stables après des mitoses successives, et ayant en théorie une capacité illimitée de division.

Une **lignée cellulaire** est une population homogène de cellules, stables après des mitoses successives, et ayant en théorie une capacité illimitée de division.



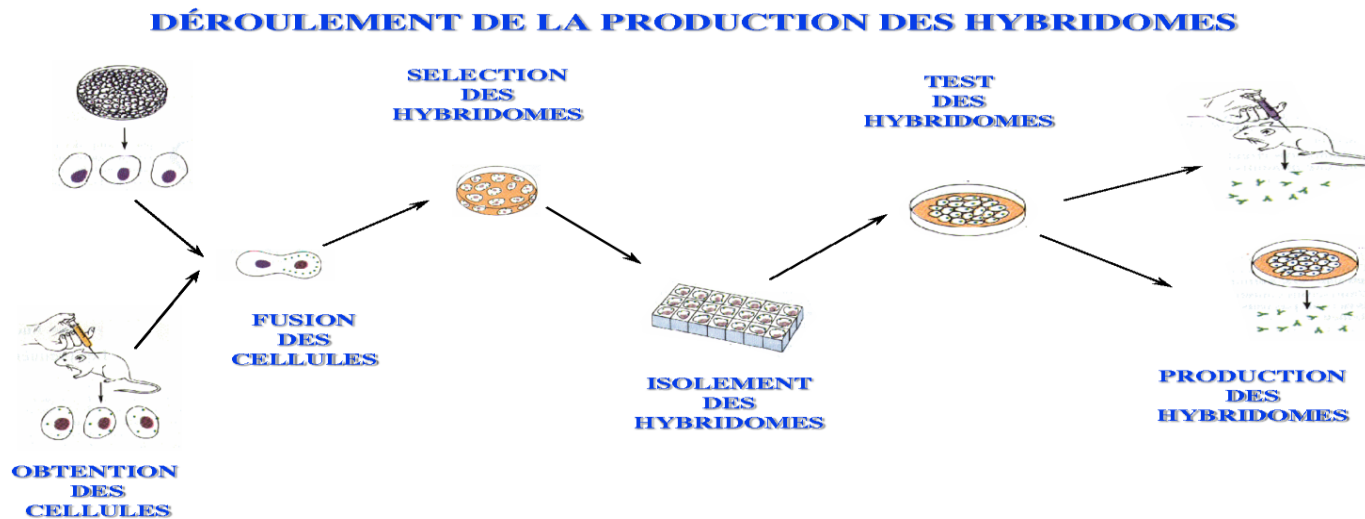


Afin de produire des lignées stables de cellules produisant l'anticorps désiré, Kohler et Milstein ont élaboré l'idée et la méthode de fusion de deux types de cellules.

Ainsi, des cellules B (produisant les anticorps), dont l'incapacité de se reproduire est palliée par des myélomes (des cellules cancéreuses immortelles) résulte en un hybridome sécrétant des anticorps et ayant à la fois la propriété de se reproduire indéfiniment.

Un **hybridome** est une cellule qui provient de l'hybridation entre des cellules lymphoïdes normales de mammifères et des cellules myélomateuses de tumeurs malignes du système immunitaire.

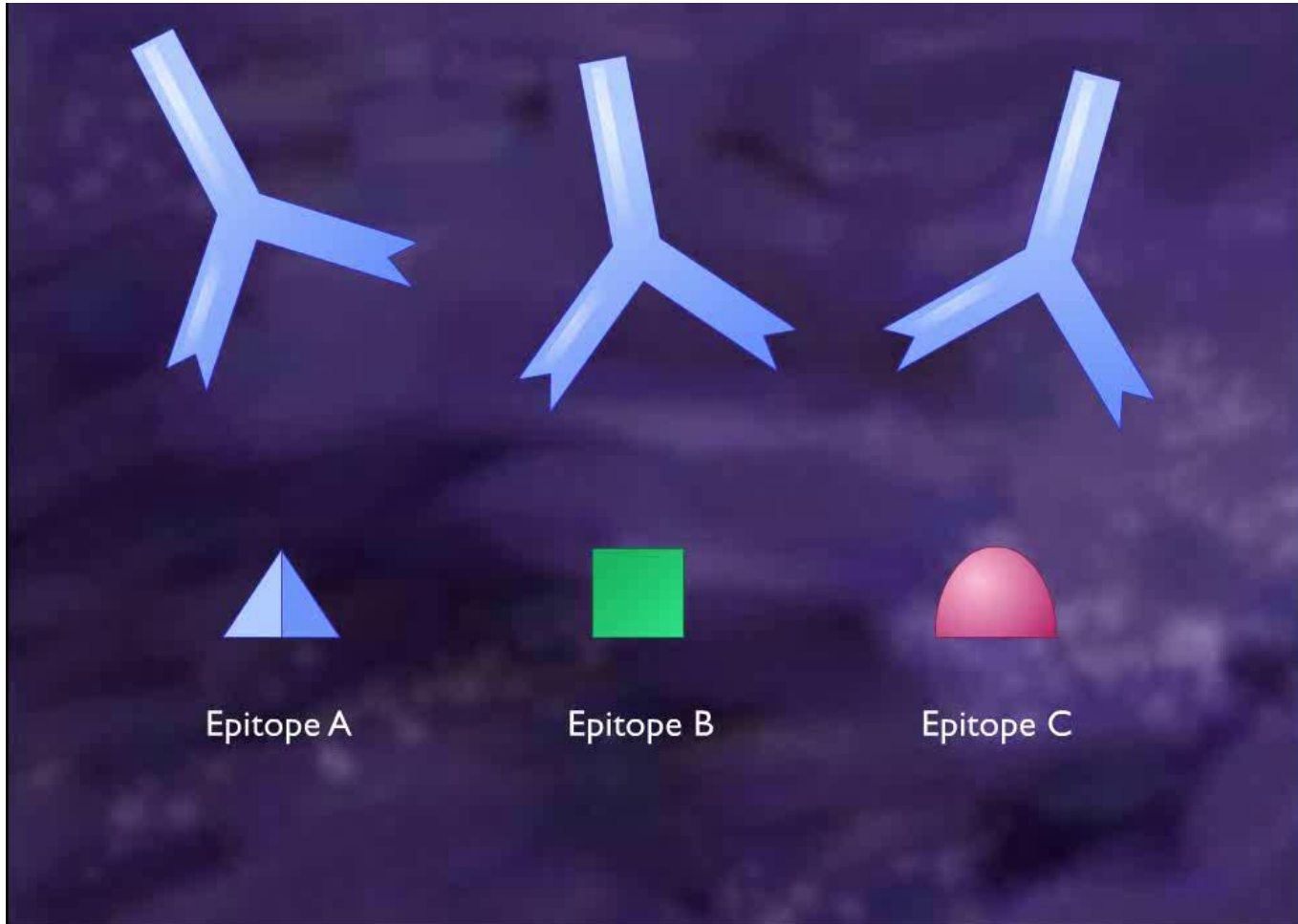
Un **hybridome** est une cellule qui provient de l'hybridation entre des cellules lymphoïdes normales de mammifères et des cellules myélomateuses de tumeurs malignes du système immunitaire.







# Principe



[http://www.canal-u.tv/video/les\\_amphis\\_de\\_france/5/l\\_hybridation\\_lymphocytaire\\_et\\_les\\_anti\\_corps\\_monoclonaux.3061](http://www.canal-u.tv/video/les_amphis_de_france/5/l_hybridation_lymphocytaire_et_les_anti_corps_monoclonaux.3061)

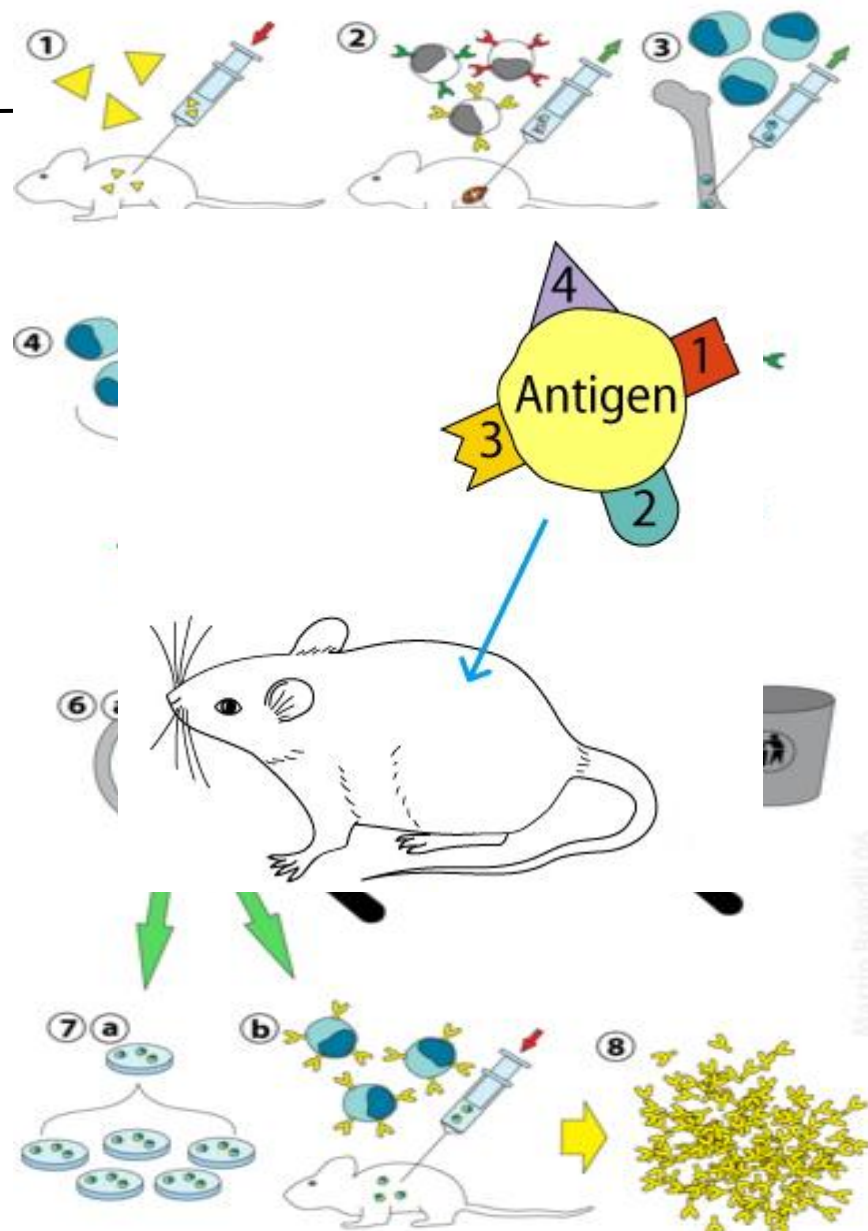
## L'immunisation

- Les sources d'antigènes

- degré de pureté: élimination des contaminants
- haptènes, protéines

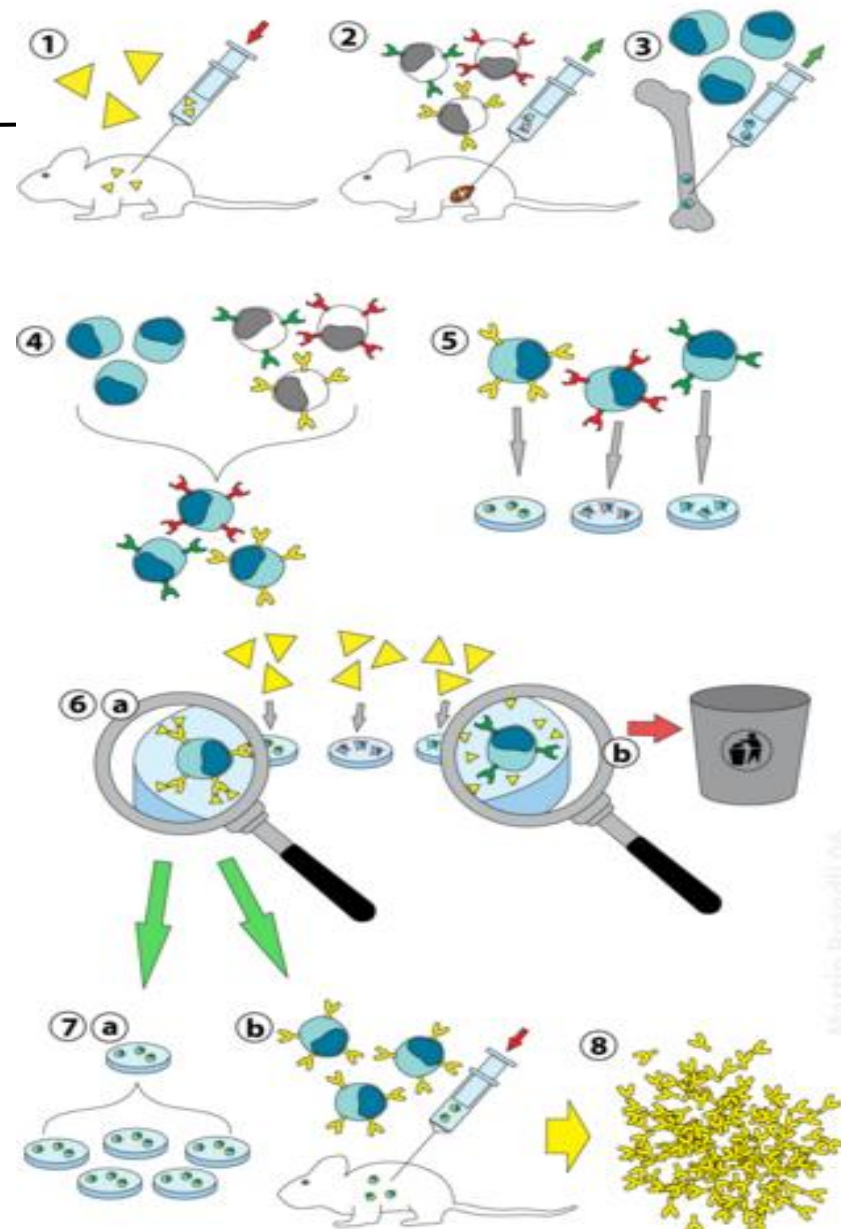
- L'immunisation de l'animal

- dose et forme de l'antigène
- adjuvants
- voie et nombre d'injection



Il est possible d'obtenir des anticorps reconnaissant des substances qui ne sont pas immunogéniques, en les conjuguant à des protéines immunogéniques, comme la BSA (l'albumine sérique bovine ou en anglais bovine serum albumin).

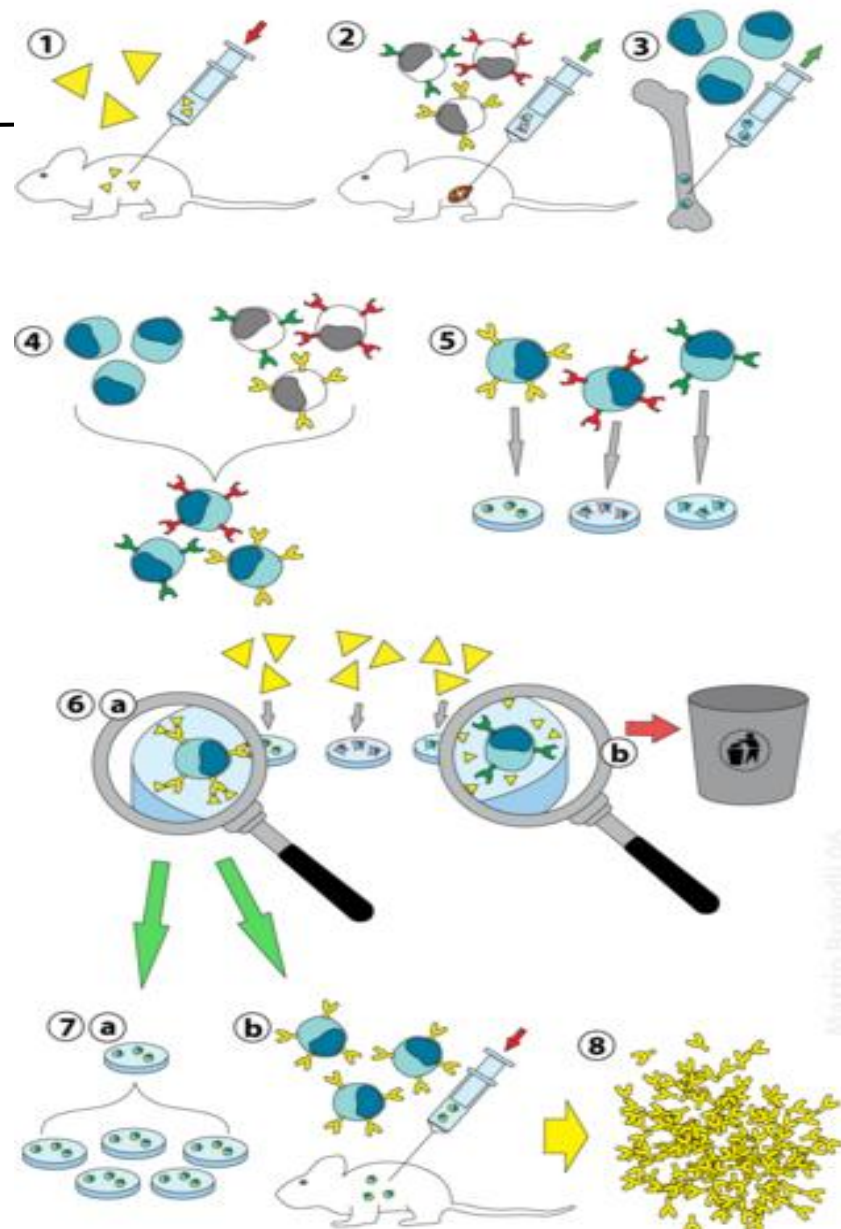
Plusieurs protocoles d'immunisation sont possibles en variant les doses, les intervalles des injections, l'adjuvant utilisé et la durée du traitement.



Les adjuvants agissent selon 2 types d'actions dans les préparations vaccinales.

Le premier favorise et prolonge la durée de l'interaction entre l'antigène et le système immunitaire.

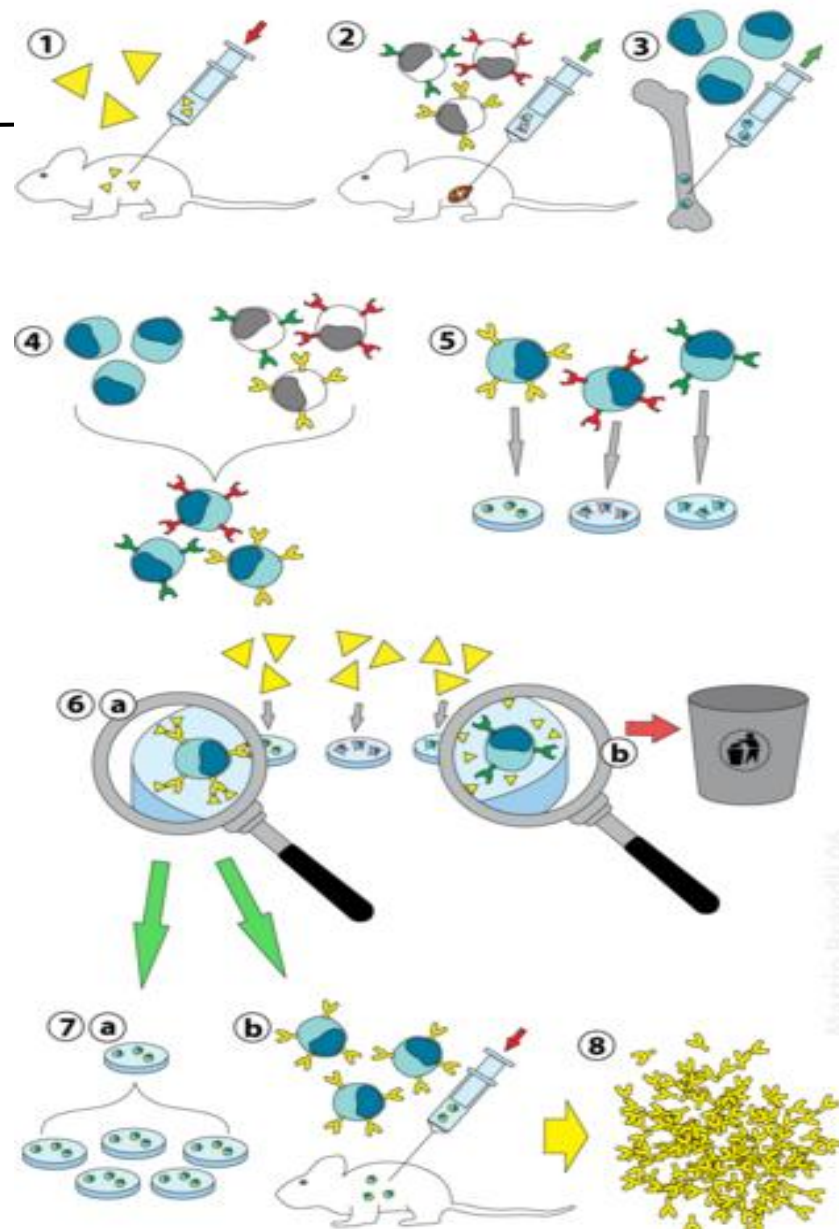
Le second recrute et active les cellules de l'immunité naturelle pour qu'elles induisent la réponse adaptative.



## Fusion

Ensuite, l'animal est sacrifié et les cellules B sont isolées à partir de la rate **(2)**. Celles-ci, ne pouvant se multiplier mais produisant les anticorps désirés, sont fusionnées **(4)** avec des myélomes (cellules cancéreuses, donc aptes à une division cellulaire rapide et immortelles).

Ces cellules sont ensuite mises en culture, ces hybridomes ayant la propriété des cellules cancéreuses, elles se multiplient rapidement et indéfiniment.

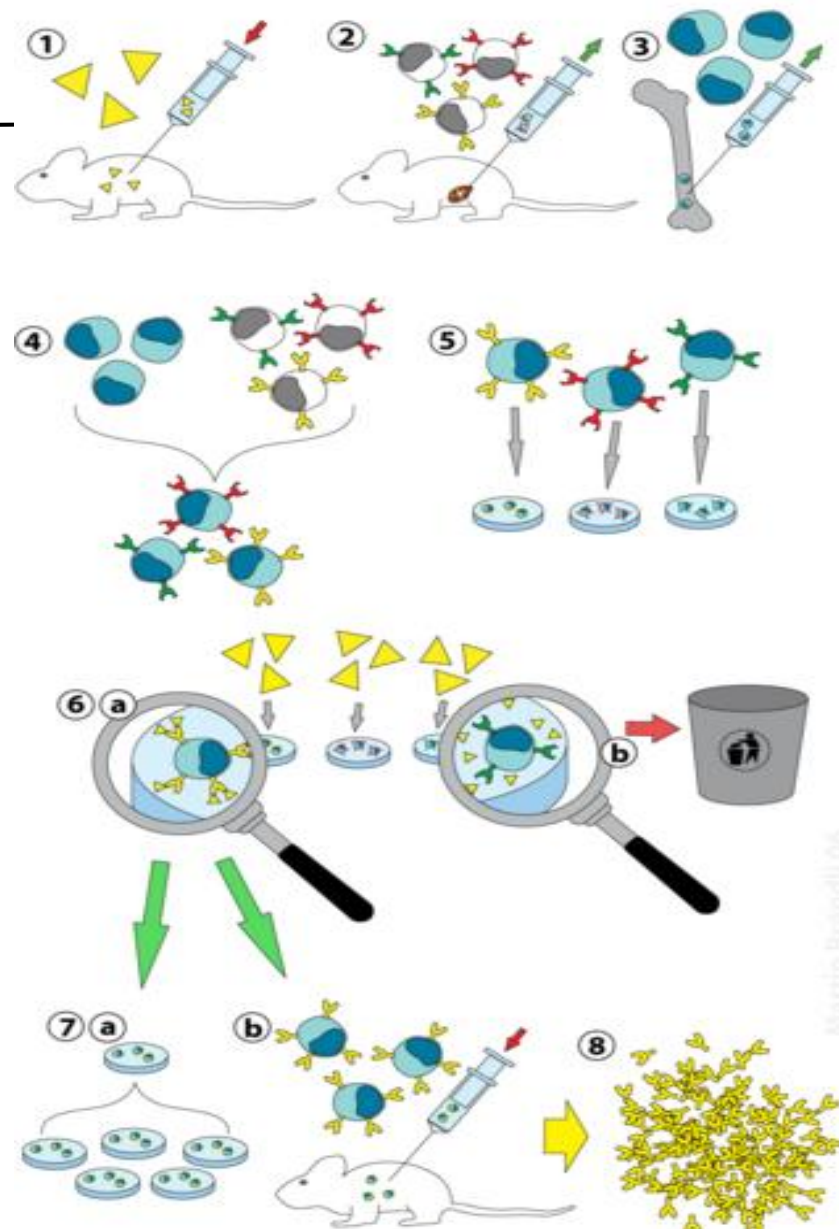




## Propagation, sélection et clonage

Les cellules myélomateuses utilisées pour la fusion ne produisent pas d'anticorps ou une des chaînes d'anticorps.

De plus, ces cellules ont perdu (par sélection génétique) la faculté de produire une enzyme appelée hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT).

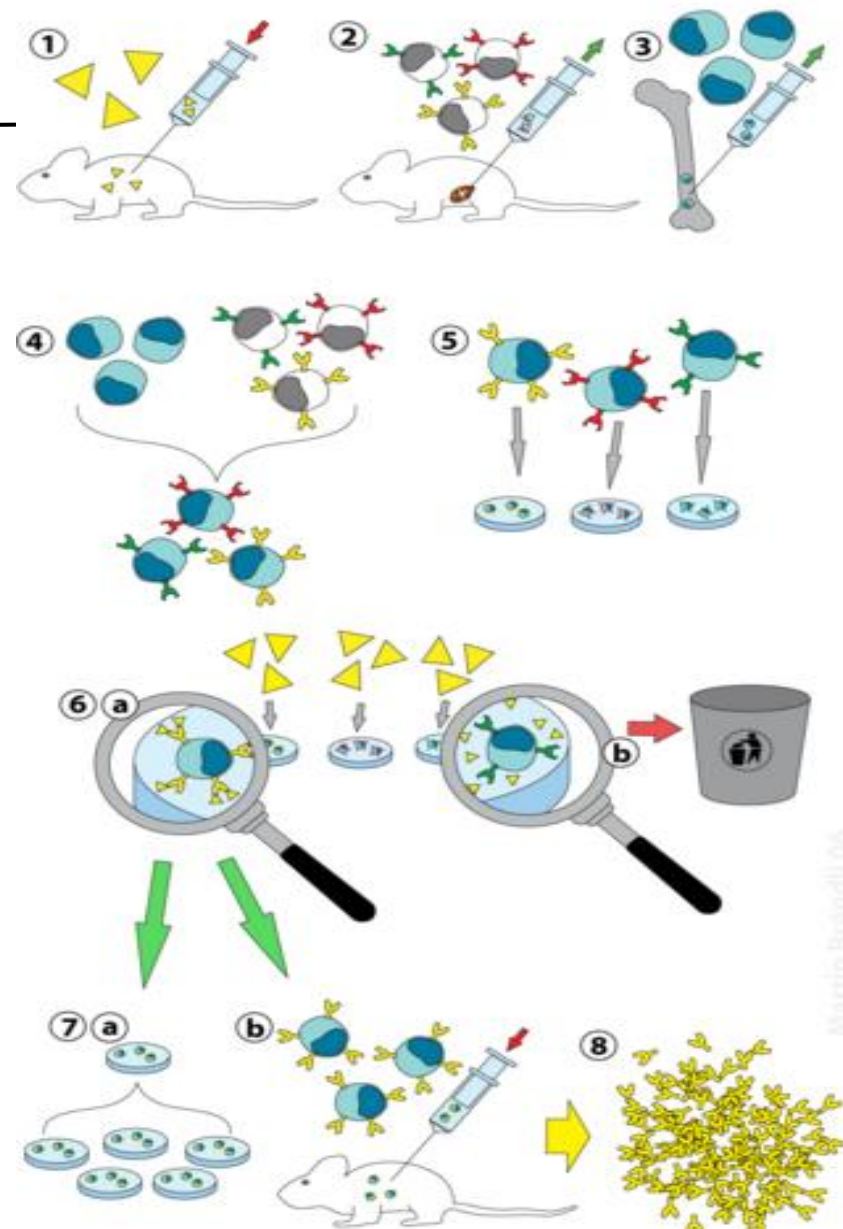


Cette enzyme est impliquée dans la synthèse des nucléotides, plus particulièrement dans la voie de sauvetage (par opposition à la voie de novo).

Les myélomes parents n'ayant pas l'enzyme essentielle, seules les cellules fusionnées avec les splénocytes et l'ayant ainsi acquis pourront survivre.

Ces lignées d'hybridomes secrètent des anticorps tous différents.

Afin de sélectionner notre anticorps d'intérêt, il faut d'abord isoler chacun des clones **(5)**.

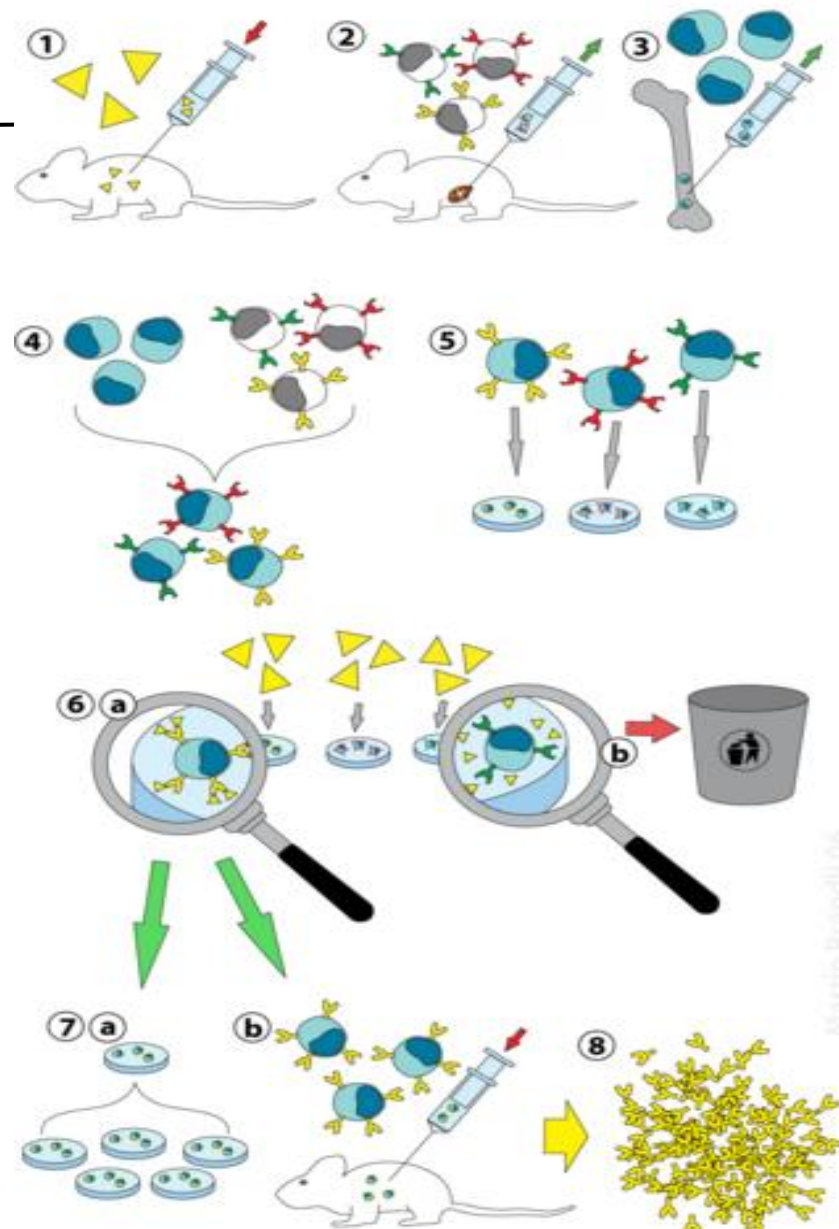


Martin Brandli 06



## Production

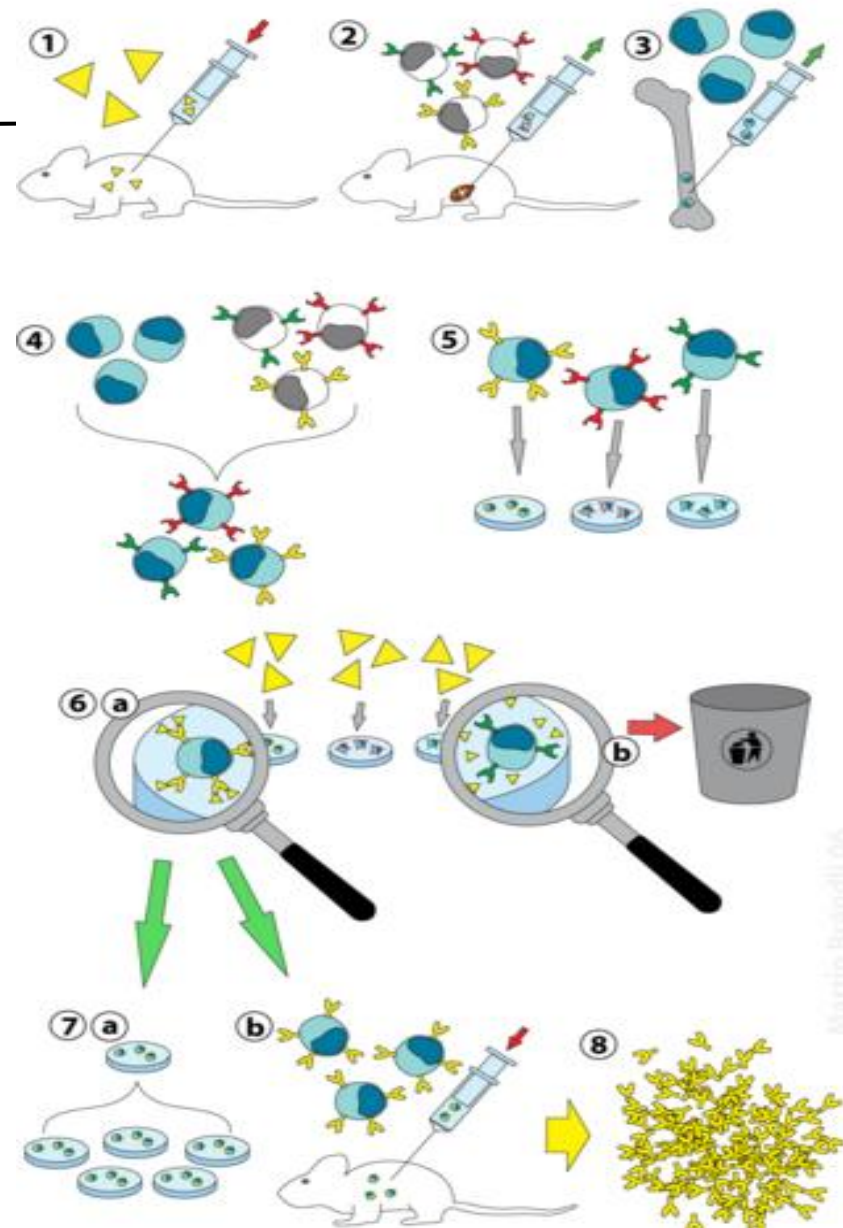
Après la sélection, la production de lots d'anticorps se fait par purification d'un milieu biologique contenant l'anticorps en solution, celui-ci étant soit un ascite produit chez l'animal (c'est-à-dire une injection intrapéritonéale de l'hybridome dans un animal préparé à l'avance) **(7b)**, soit un surnageant de culture cellulaire ayant servi à cultiver l'hybridome in vitro **(7a)**.



Une fois obtenu un clone d'hybridome sécrétant un anticorps de spécificité voulue, il sera caractérisé afin de connaître la classe des chaînes d'immunoglobuline, son affinité, ou l'épitope reconnu (epitope mapping).

Il est possible de déterminer la séquence d'ADN du gène des immunoglobulines de ce clone, de le sous-cloner et de le modifier.

Ceci permet de produire des anticorps chimériques ou humanisés, ou encore de produire uniquement le fragment de l'anticorps Fab reconnaissant l'antigène.

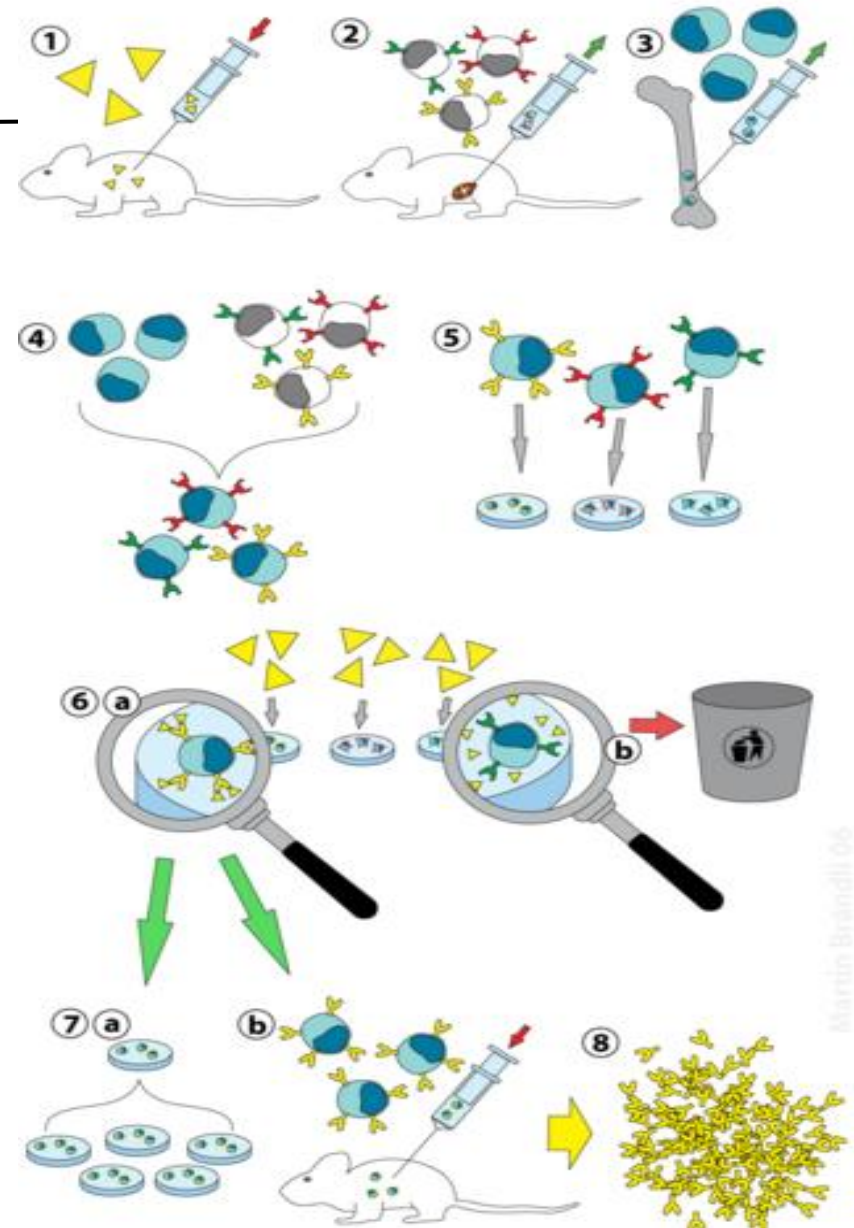


# Utilisation

Les applications varient de l'usage en laboratoire à l'application clinique.

Les anticorps monoclonaux ont de multiples applications en recherche et en diagnostic, clinique humaine et animale, exploitant la reconnaissance de protéines en biologie, ou encore peuvent être utilisés comme médicaments (quelques exemples).

Le 16 octobre 2008, la Food and Drug Administration (FDA) a souligné les risques des infections potentiellement mortelles suivantes: infection bactérienne, méningite virale, leucoencéphalopathie.

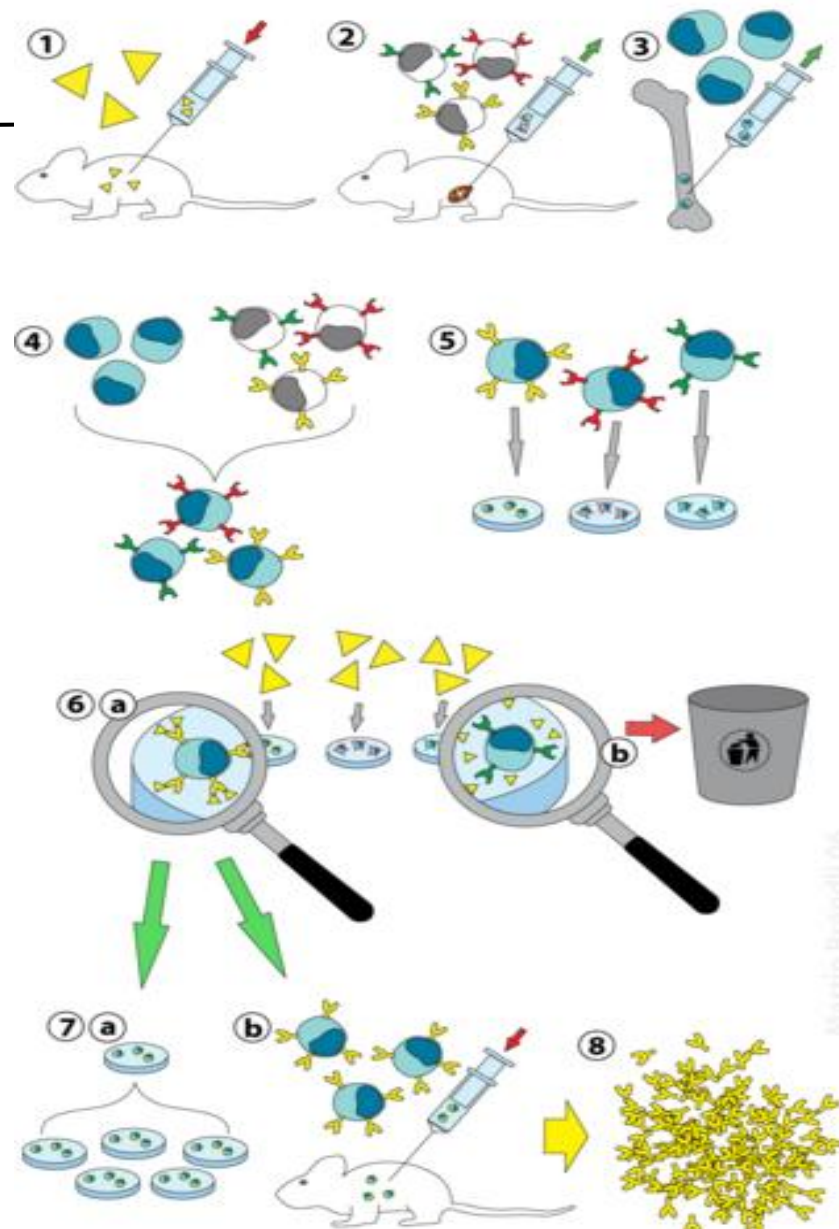


# Pharmacologie

L'administration se fait par voie parentérale (intraveineuse, sous-cutanée ou intramusculaire).

Les anticorps monoclonaux diffusent dans tout l'organisme mais ne passent pas la barrière hémato-encéphalique.

L'élimination se fait soit après fixation à l'antigène cible (endocytose du complexe anticorps-antigène et dégradation par les lysosomes), soit de manière non spécifique par le système réticulo-endothélial.





# Effets secondaires

Ils sont de deux types : soit spécifique, dû à l'inhibition de l'antigène ciblé, soit non spécifique, dû à l'anticorps lui-même.

Dans ce dernier cas, il peut s'agir de réactions allergiques, d'intolérance au point d'injection.

Les réactions allergiques sont moindres dans le cas d'anticorps humanisés.

