



Pr. Saaïd AMZAZI

Filière SVI
Semestre 3 (S3)
Module de Biologie II M 10
Élément de Biologie Générale
Embryologie - Histologie - Immunologie
2005-2006

TD n°: 1 d'Immunologie

- Antigènes, Immunogènes et haptènes
- Structure et fonction des Anticorps
- Réaction Ag-Ac: Spécificité, Affinité, Complémentarité...

La Réaction Antigène - Anticorps

Les Antigènes et immunogènes

Définitions

Nature chimique

Cellules et molécules de l'immunité spécifique

Les Anticorps

Structure

Classes isotypiques

Flexibilité

La réaction Ag - Ac

Spécificité

Liaisons

Complémentarité

Valence de l'antigène

Affinité et avidité

Les Antigènes et immunogènes

Quelques définitions:

Immunogène: toute substance qui, introduite dans un organisme, est capable d'induire une réaction immunitaire

Antigène: substance ayant la propriété de réagir spécifiquement avec les cellules du SI, Ac ou Lymphocytes

Allergène: substance ayant la propriété de provoquer une réaction allergique, quelle soit animale, végétale, bactérienne ou fongique.

Antigène hétérophile: commun à plusieurs espèces animales mais qui se distinguent par des déterminants propres à l'espèce. (Ex Albumine: bovin, lapin, homme)

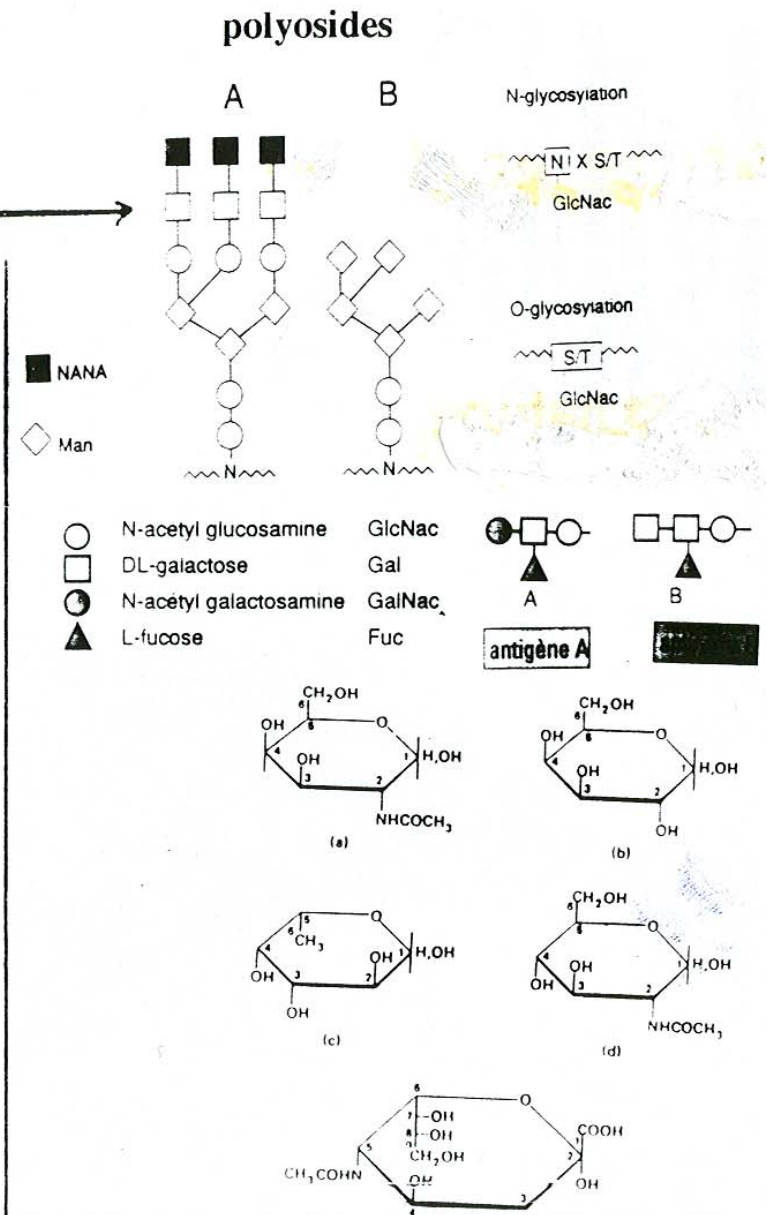
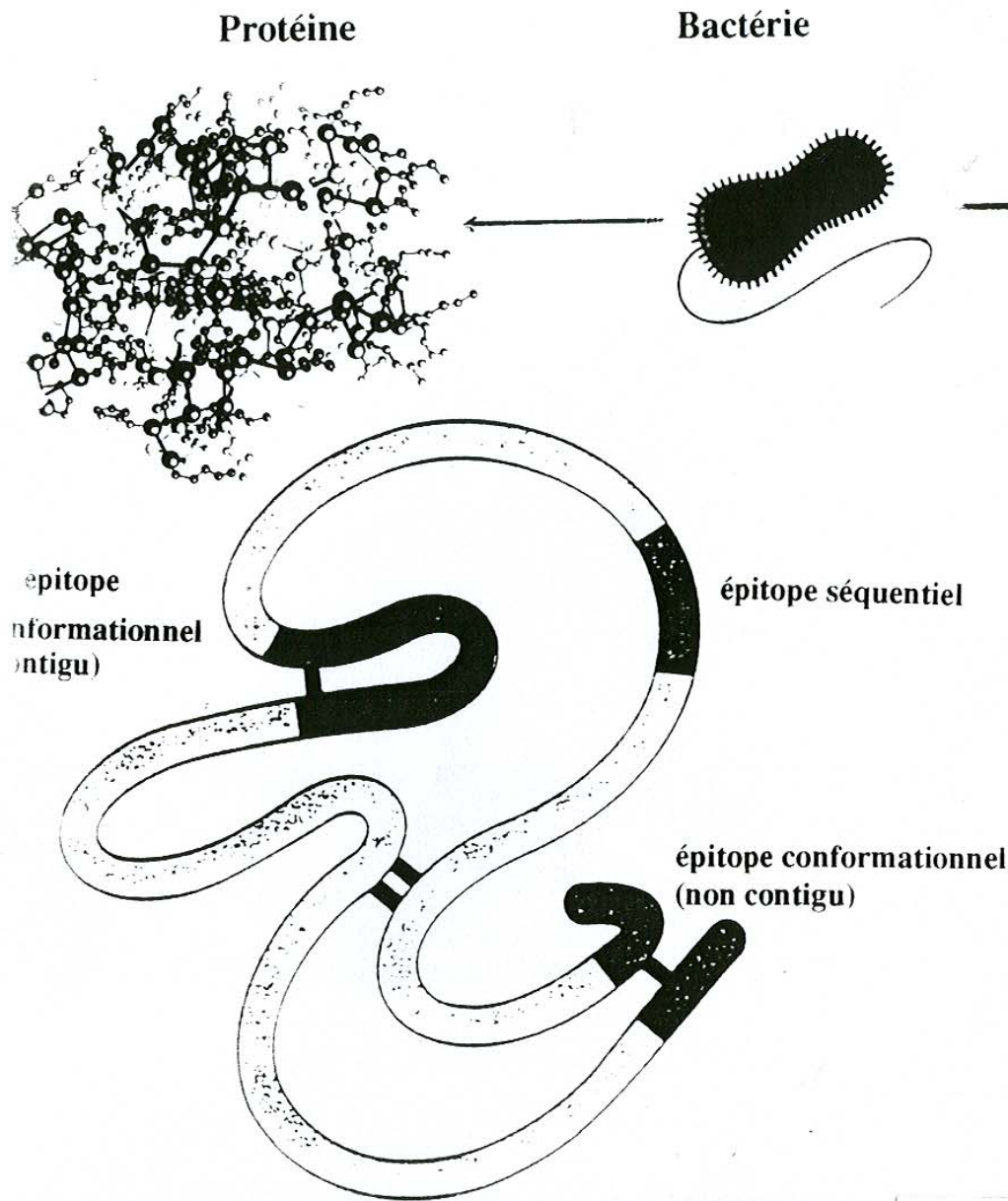
Antigène hétérologue: provient d'un organisme d'une autre espèce = **Xénoantigène**

Antigène isologue: provient d'individus de la même espèce mais génétiquement différent = **Alloantigène**

Antigène autologue: provient de l'organisme lui-même = **Autoantigène**

Antigène

- ◆ La plupart sont des protéines ou de grandes chaînes polysaccharidiques provenant d'organismes étrangers.
 - **Microbiens**: parois, toxines, capsides virales, flagelles, etc...
 - **Non microbiens**: Pollène, blanc d'oeuf, globules rouges, surface de molécules, protéines sériques.
- ◆ Poids moléculaire de 10,000 Da ou plus.



Nature et classification chimique des antigènes

Antigènes	Nature	Immunogénicité
Antigènes naturels*	Macromolécules biologiques simples polyosides protéines	 fréquente
	lipides complexes acides nucléiques (ADN, ARN)	 rare ou occasionn
	Macromolécules biologiques composites glycoprotéines, glycolipides, lipoprotéines, nucléoprotéines.	 variable
Antigènes artificiels	Conjugués haptènes Molécules biologiques modifiées artificiellement	 variable
Antigènes de synthèse	Poly aminoacides, polynucléotides, diverses molécules de synthèse	 variable

Nature chimique

Antigène peut être sous forme:

- **soluble** (non figuré): composés chimiques, protéines, sucres, hormones...
- **particulaire** (figuré): cellule, bactérie, virus, parasite...

Ce sont des macromolécules biologiques d'origine animale, végétale, microbienne ou autres:

- **Les Protéines** et polypeptides
 - **Les Polyosides**
 - **Les lipides complexes**
 - **Les Acides nucléiques**
 - Corps chimique simple (métaux lourds, médicaments)
 - Molécules artificiels et de synthèse
- Le déterminant ou site antigénique reconnu par le Système Immunitaire s'appelle **épitope**.
- Il existe des **épitopes séquentiels** ou continus et des **épitopes conformationnels** ou discontinus

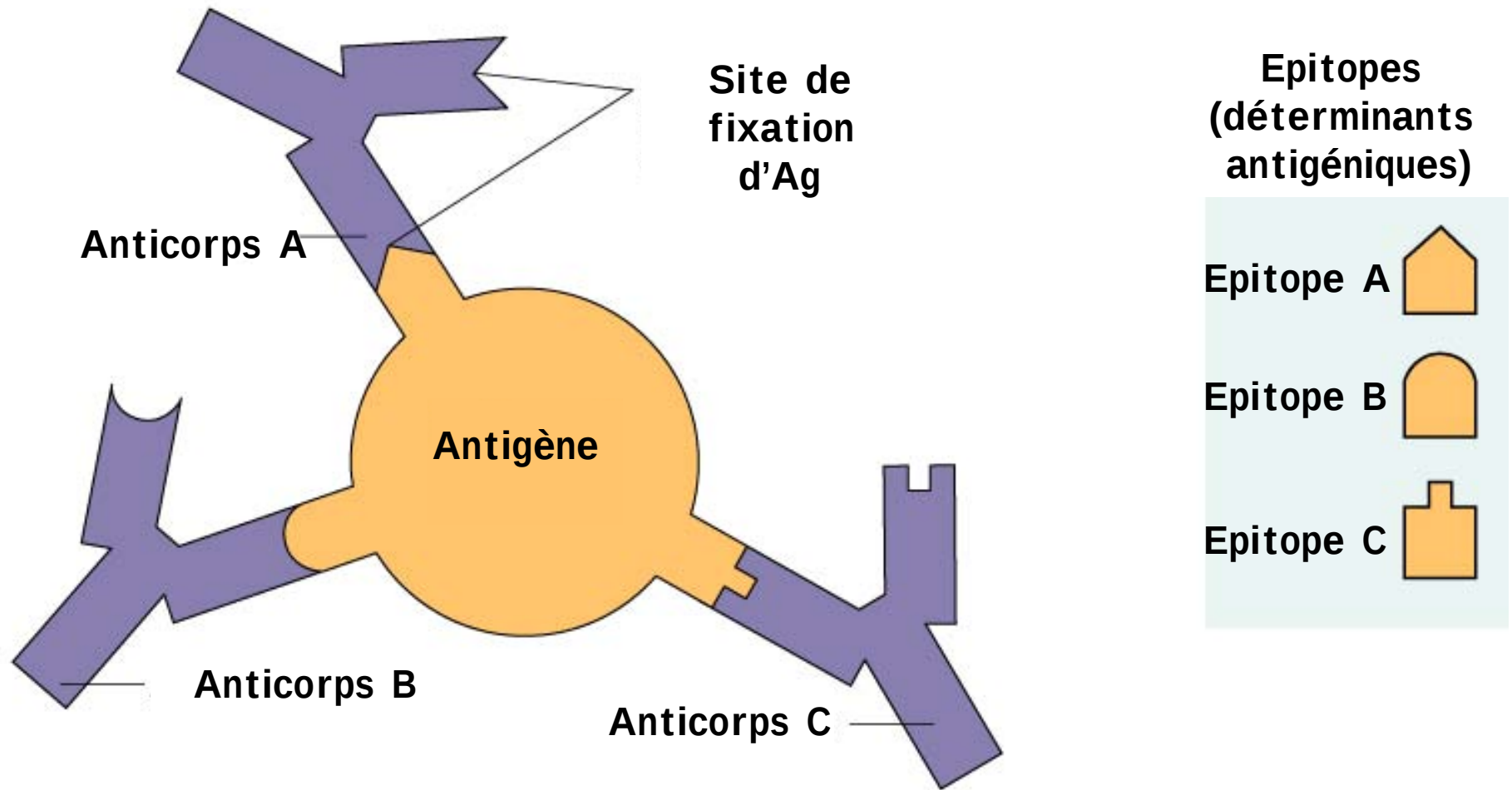
Les Protéines

- Premières substances antigéniques
- **Antigènes protéiques** : les plus nombreux et les plus variés (la majorité des vaccins sont faits à partir d'anatoxines, ex. Diphtérie, Tétanos...).
- La plupart sont immunogéniques grâce à **leur fort polymorphisme structural et des différences qui existent entre espèces**, individus et au sein d'un même organisme.
- Les Protéines sont une **mosaïque d'épitopes** différents. Les épitopes sont sous forme d'une petite séquence de 15 à 18 acides aminés (zone de 2 à 3 nm). Plus petite unité structurale reconnue par un Ac.
- Quand la disposition des aa est linéaire (structure Iaire) les **épitopes sont séquentiels**. Quand les aa sont juxtaposés dans l'espace (structure IIaire, IIIaire et IVaire), ils forment les **épitopes conformationnels**.
- Le nombre d'épitope qui s'appelle **valence de l'antigène** augmente en fonction du PM. ex. myoglobine 17 Kd – v=3; BSA 70 Kd – v=6; Hémocyanine 6 500 Kd – v=75.

Notion d'épitope

- ◆ Petite partie d'un Ag qui interagit avec 1 Ac.
- ◆ Tout Ag peut avoir plusieurs épitopes.
- ◆ Chaque épitope est reconnu par un Ac différent.

Epitopes: Région de l'antigène qui interagit avec 1 anticorps

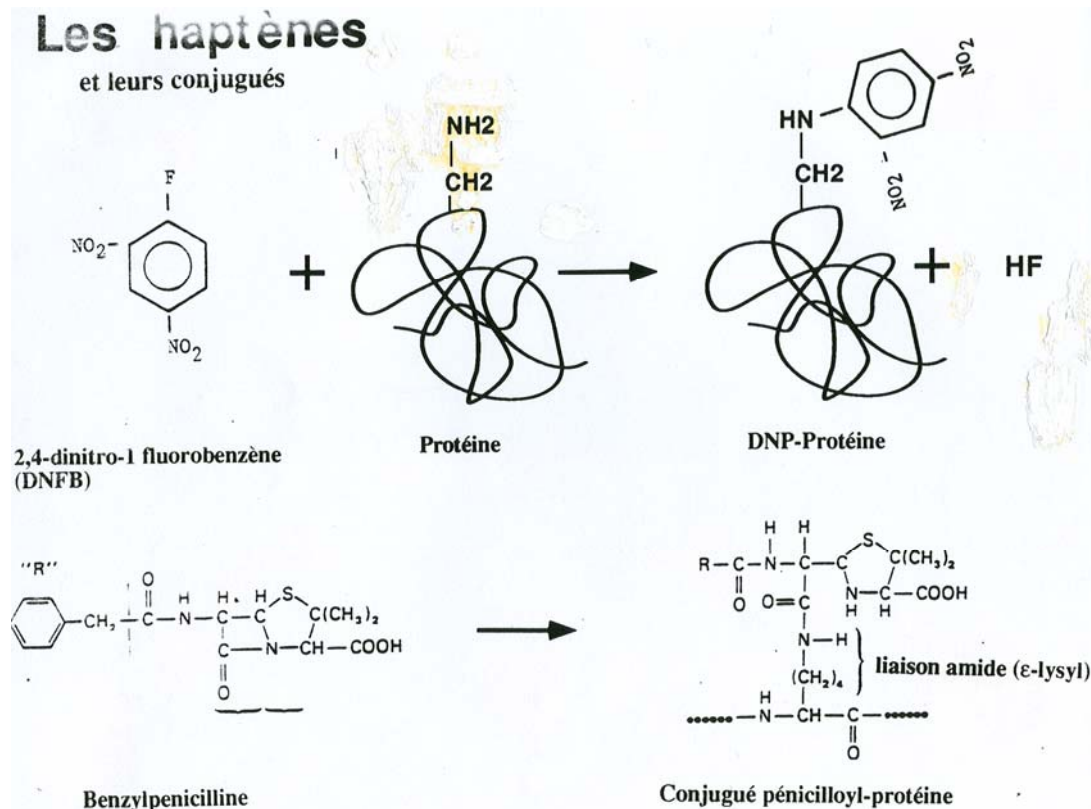


Les Sucres

- **Les sucres se sont avérés comme d'excellents immunogènes.**
- **Les Polyosides ou Polysaccharides** sont des **polymères linéaires ou branchés**, dont les motifs constitutifs sont des oses.
- Ils constituent des structures moléculaires très diversifiées et par conséquent hautement antigéniques (fructanes, mannanes, galactanes, Dextran); à l'exception de la cellulose, l'amidon et le glycogène qui ne le sont pas.
- Plusieurs hétéropolyosides se retrouvent dans les parois et capsules de certaines bactéries, tels que les pneumocoques et staphylocoques..., Certains vaccins (contre pneumocoques) sont faits à partir de polyosides capsulaire isolés et purifiés.
- Caractérisent également les groupes sanguins ABO.
- Les polysaccharides sont souvent formés **d'un seul épitope répétitif** ou d'un petit nombre (1 à 2).
- **Un épitope constitue 5 à 6 oses** parmi lesquels, un joue le rôle **d'immuno-dominant** (souvent situé à l'extrémité des chaînes du polyoside).
- **Les Ac antipolyosidiques persiste dans l'organisme** à des taux élevés pendant longtemps.

Les Haptènes

- Sont des substances, de faible PM (< 1kD) qui sont antigéniques mais pas immunogéniques. Ils ne peuvent le devenir que s'ils sont couplés à des grosses molécules porteuses. (urée, électrolytes, colorants, oligonucléotide...)
- Certains **corps chimiques simples ex.:DNFB**
- Les métaux lourds (chrome, Nickel) et les médicaments sont des haptènes.



Les molécules faiblement immunogéniques

- Certains **lipides complexes**, à longues chaînes aliphatiques sont avérés immunogènes.
- **Les glycolipides, les lipoprotéines** deviennent immunogéniques.
- **Les Acides nucléiques ARN, ADN** ont été toujours considérés non immunogéniques, peut être à tort, jusqu'à la découverte des Ac anti-ADN dans certaines maladies autoimmunes (LED).
- **Les molécules artificiels et synthétiques** qui sont modifiées ou synthétisées chimiquement par la fixation d'une ou plusieurs molécules identiques ou non

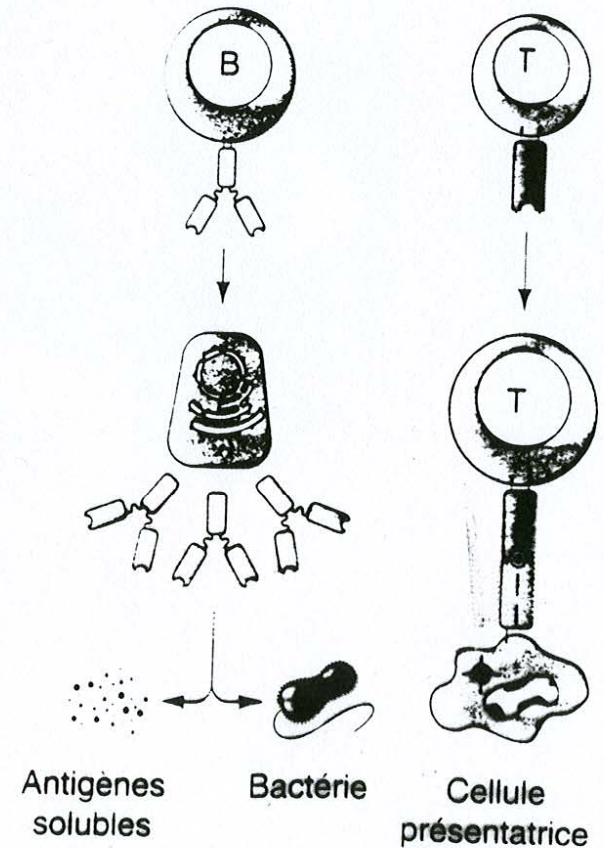
Cellules et Molécules de l'immunité spécifique

- Les LT et les LB constituent les acteurs principaux de l'immunité adaptative
- Ces cellules **reconnaissent** les microorganismes de **façon spécifique**
- Les molécules responsables sont:
 - * les Immunoglobulines sous forme de récepteurs membranaires (Ig-BCR) ou sécrétés (Ac)
 - * le récepteur des Lymphocytes T (TCR)
- La reconnaissance de l'Ag par ces deux types de cellules est différente

Cellules et molécules de l'Immunité adaptative

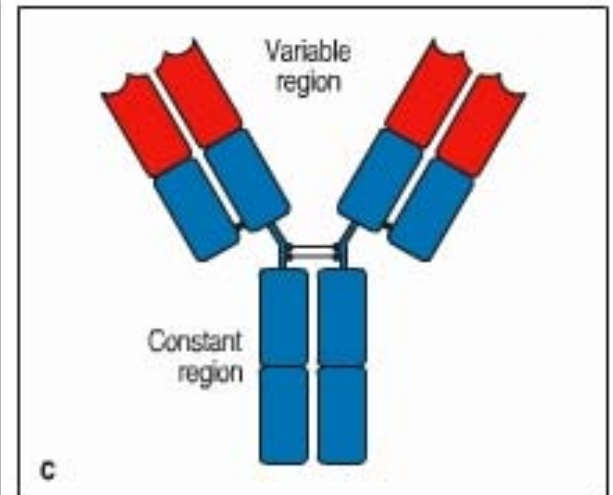
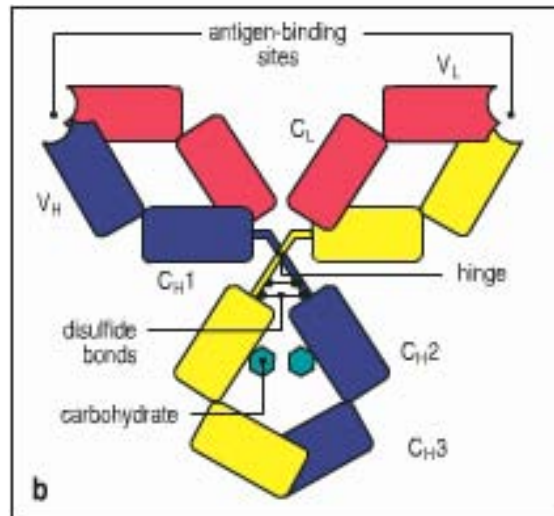
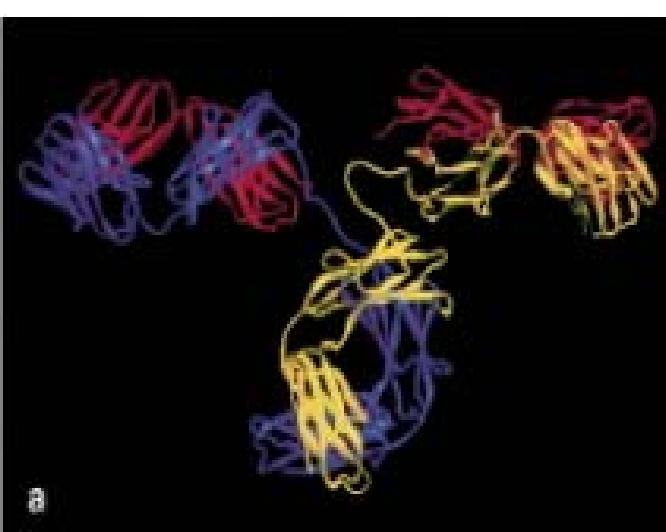
Caractéristiques de reconnaissance et de réponse des lymphocytes B et des lymphocytes T

Lymphocytes B	Lymphocytes T
Antigène intact	Antigène dégradé
Interaction de type ligand-récepteur	Complexe ternaire antigène dégradé-CMH-TCR
Epitopes continus ou discontinus	Epitopes linéaires
Réponse en général à tous types d'antigènes	Réponse restreinte par le CMH
Epitopes généralement exposés	Epitopes généralement non exposés
Immunoglobulines de surface (BCR) ou sécrétées (anticorps)	TCR membranaire



Les anticorps

- ◆ Protéines qui reconnaissent et se lient à un Ag avec une grande spécificité.
- ◆ Produits en réponse à un Ag.
- ◆ Appartiennent à un groupe de protéines sériques appelées immunoglobulines



La structure des Ac est commune à toute la famille des Immunoglobulines:

- **4 chaînes** dont **2 lourdes H** et **2 légères L** (κ, λ)

- Régions constantes C_L, C_H et régions variables V_L, V_H

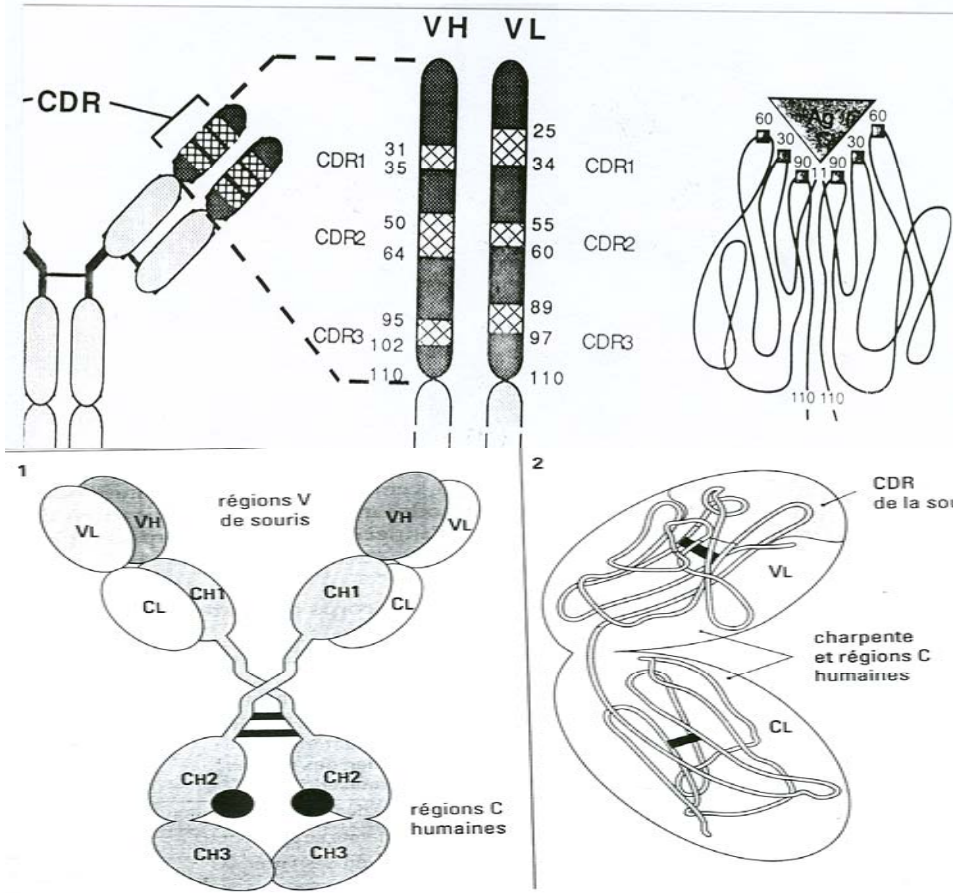
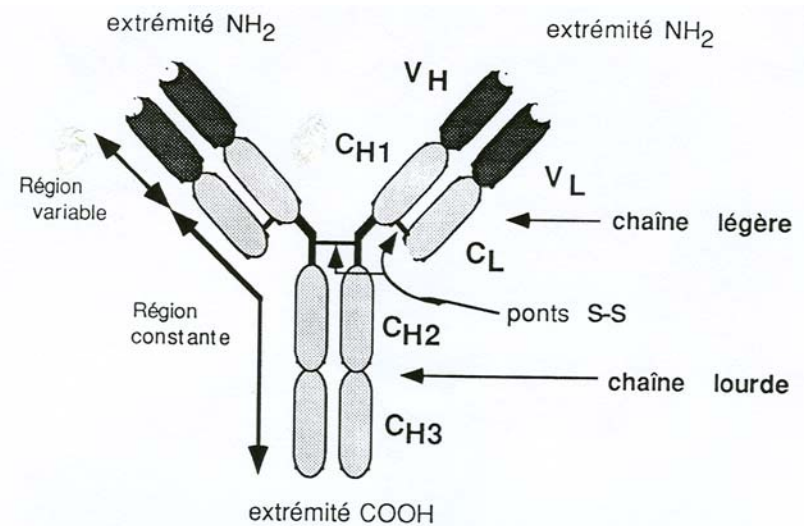
- **La chaîne lourde** est constituée d'un **domaine variable** et de **3 domaines constants** ($V_H, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}$) pour une IgG

- **La chaîne légère** est constituée d'un **domaine variable** et d'un **domaine constant** V_L, C_L

- **5 isotypes** ou sous classes: **IgG, IgA, IgD, IgE, IgM** en fonction des chaînes lourdes: $\gamma, \alpha, \delta, \epsilon, \mu$

- **Ponts dissulfures** qui permet la **stabilité** de la molécule

- **3 Domaines CDR** (hypervariables) et **4 régions Framework** (charpentes non impliquées avec Ag)



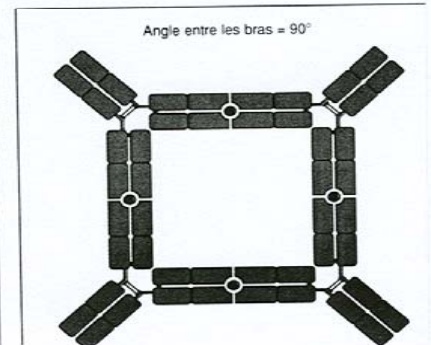
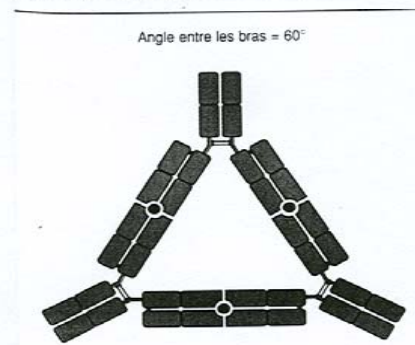
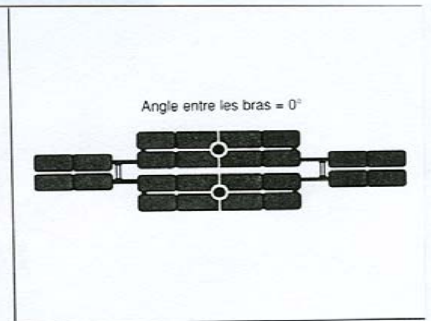
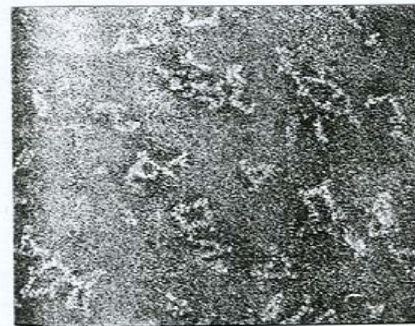
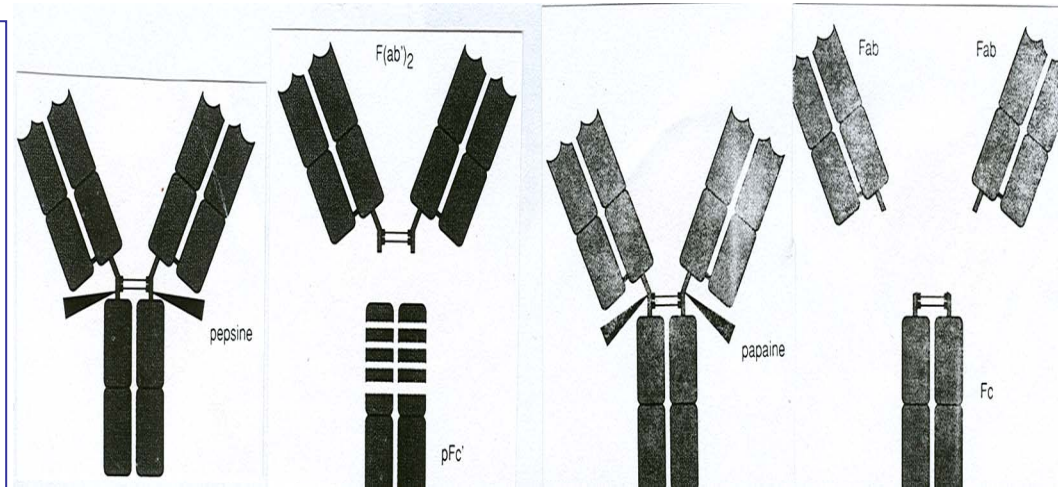
- **Deux parties Fab et Fc** sont obtenus par hydrolyse à la pepsine ($F(ab')_2 + pFc'$) ou à la papaine ($2Fab + Fc$).

***Fab** est le **fragment de reconnaissance antigénique** c'est ce qui forme le **paratope**

***Fc** est le **fragment** qui permet à l'anticorps de **se fixer** sur la cellule hôte et réagir avec les cellules du SI.

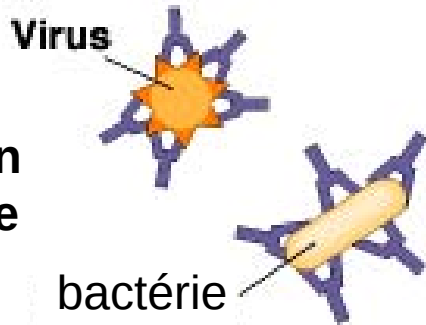
- **Les bras des Ac** sont réunis par une **charnière flexible** qui leur permet de se lier aux Ag en faisant des angles même de 90° dans des formes tétramériques

- La flexibilité permet d'obtenir des énergies de liaisons maximales

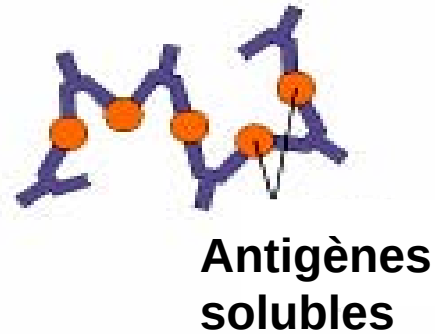


Fonction des Ac

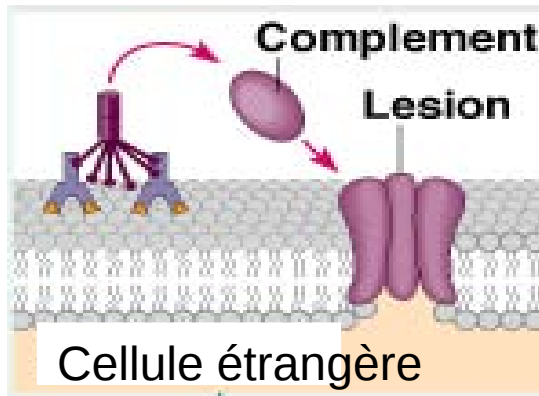
Neutralisation
De pathogène



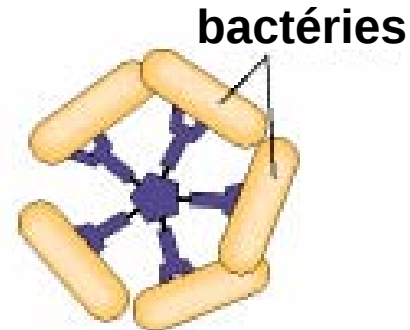
Précipitation



Activation du
complément



Agglutination



Réaction Ag - Ac

Spécificité: Les boucles des régions variables des Ac déterminent la spécificité

- Un Ac reconnaît un **Déterminant Antigénique** et un seul

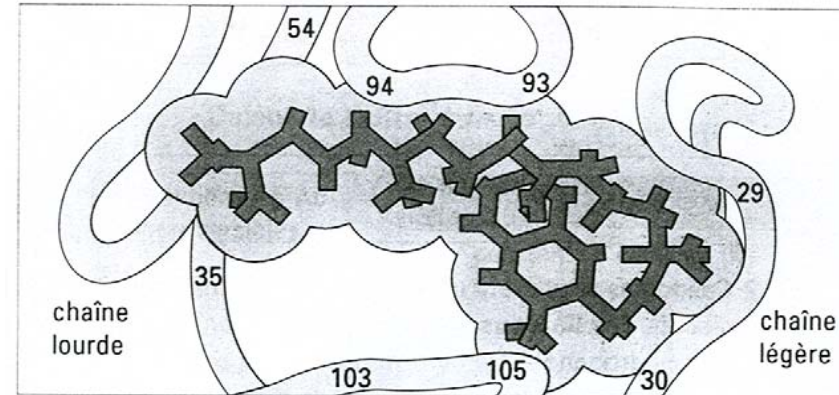
- Les chaînes lourdes et légères de l'AC forment une dépression dans laquelle se niche l'Ag

- C'est une zone dont la surface est complémentaire à celle de l'Ag: Paratope-épitope

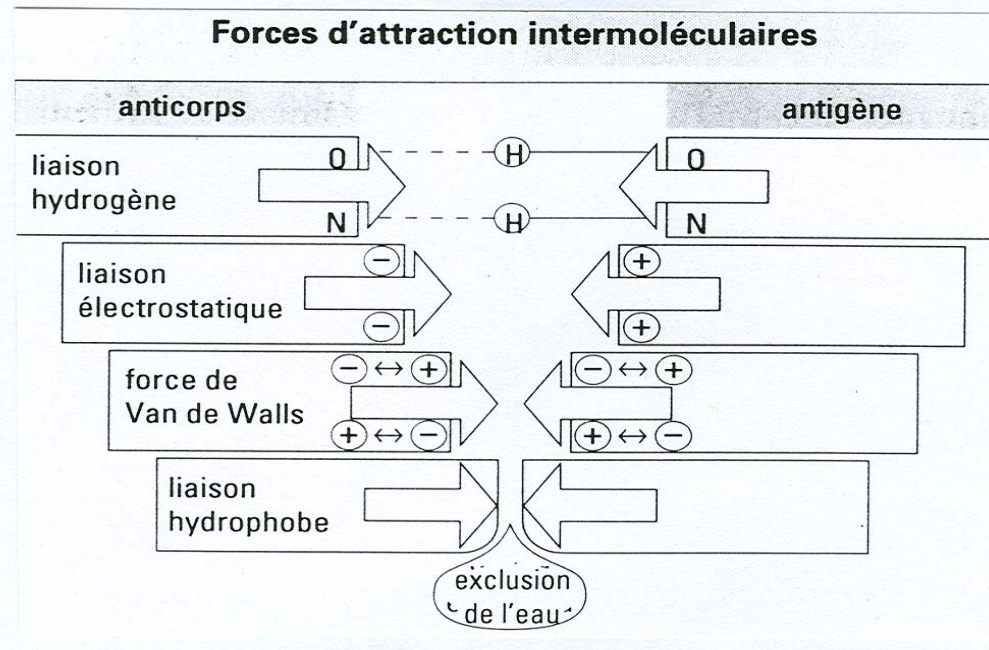
- L'Ac reconnaît plus la configuration de l'**épitope** que les groupements chimiques

- Les Ac sont capables de reconnaître des **petites différences** dans la structure primaire d'un Ag ou des différences de charges, de conformation optique ou stérique.

Le site de liaison de l'anticorps



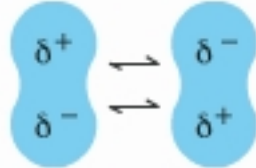
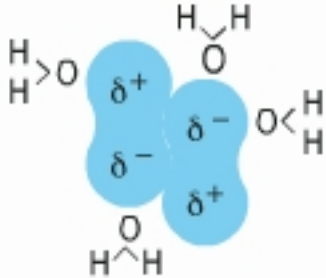
	fixation d'anticorps		type d'épitope
	Ac 1	Ac 2	
peptide naturel	+	+	épitope 1 conformationnel
peptide dénaturé (reduction)	-	+	épitope 2 séquentiel
épitope-	Fixation des Ac anti-phosphotyrosin		
W K I D Y S N D T E D C K	0		
W K I D Y ^(P) S N D T E D C K	+		
W K I D Y ^(P) S N D T ^(P) E D C K	0		



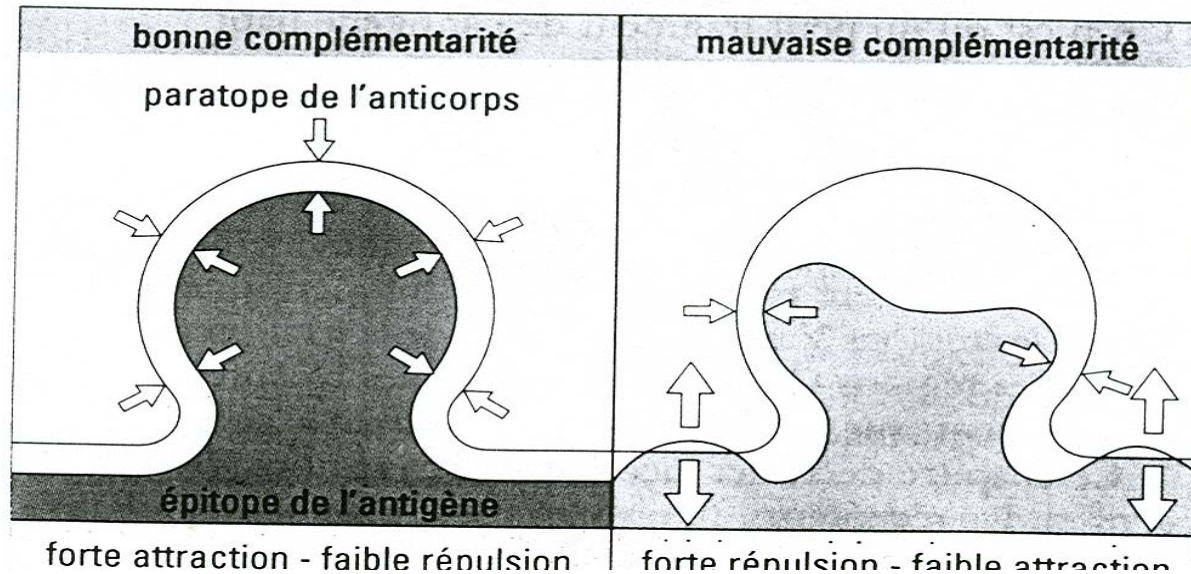
Liaisons: Des interactions non covalentes de fortes énergies régissent le complexe Ag-Ac:

- Liaisons hydrogènes: ponts H₂ entre atomes
- Liaisons électrostatiques: attraction ionique de charges différentes
- Forces de Van Der Walls: nuage électronique
- Liaisons hydrophobes: les plus importantes. Entre groupements non polaires et hydrophobes qui aboutit à l'exclusion d'eau
- **Ces liaisons requièrent un contact étroit entre Ag et Ac**
- La distance qui sépare les groupements réactifs est un facteur critique pour l'établissement des liaisons

Liaisons Non-covalentes

Non-covalent forces	Origin	
Electrostatic forces	Attraction between opposite charges	$\text{—NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$
Hydrogen bonds	Hydrogen shared between electronegative atoms (N,O)	$\begin{array}{c} > \text{N} \text{—} \text{H} \text{—} \text{O} = \text{C} < \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
Van der Waals forces	Fluctuations in electron clouds around molecules oppositely polarize neighboring atoms	
Hydrophobic forces	Hydrophobic groups interact unfavorably with water and tend to pack together to exclude water molecules. The attraction also involves van der Waals forces	

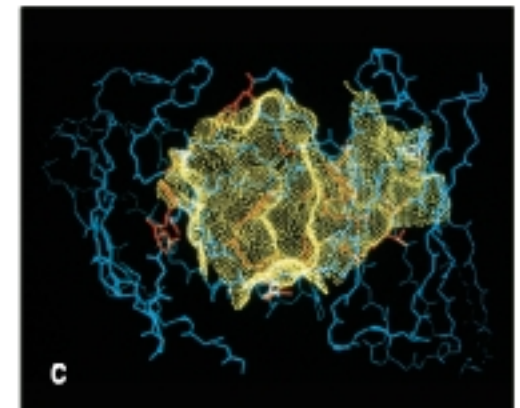
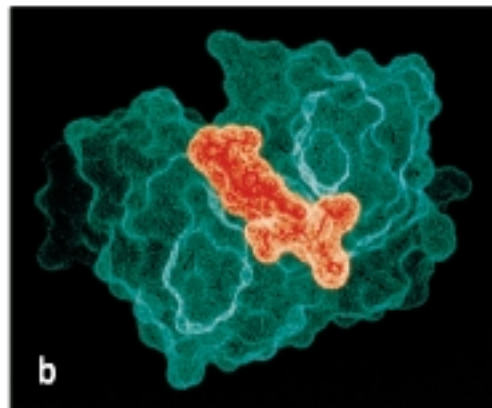
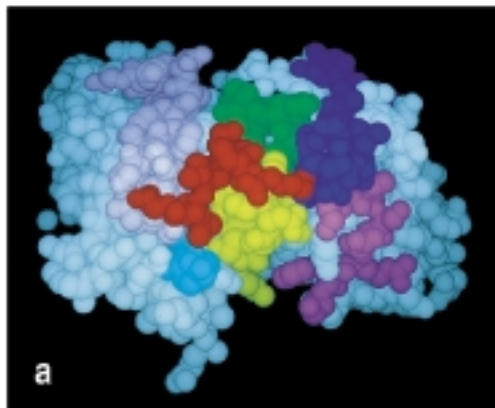
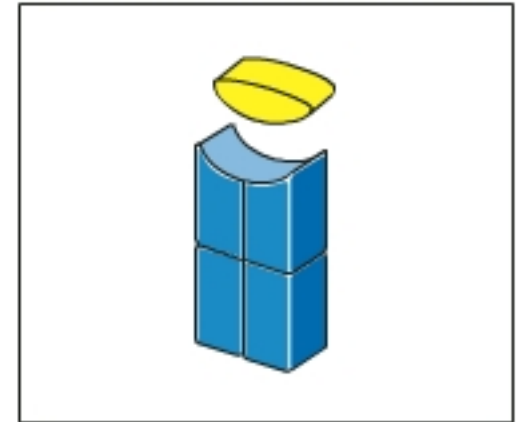
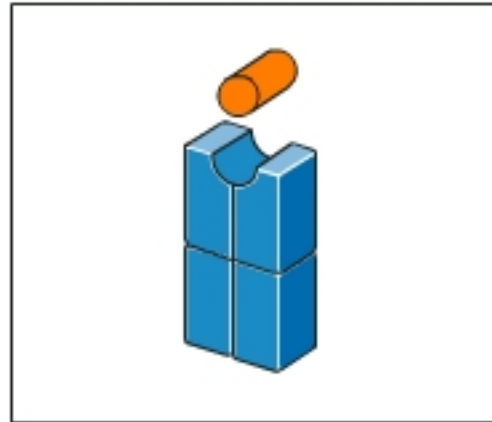
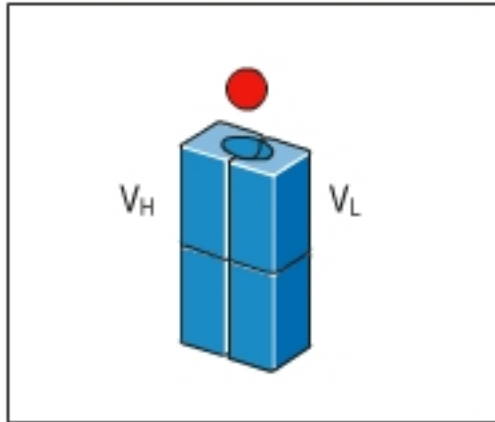
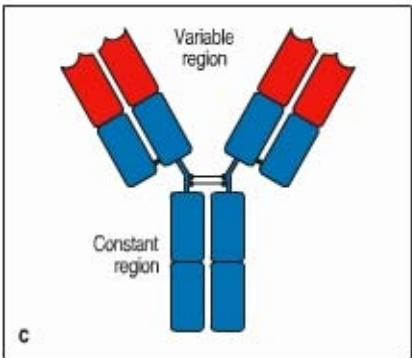
Complémentarité parfaite et imparfaite



Complémentarité: L'épitope et le paratope ont une conformation complémentaire

- Quand il y a complémentarité parfaite, l'énergie de liaison empêche toute rupture de liaisons (augmentation des forces attractives)
- Toute modification des structures complémentaires va entraîner l'augmentation des forces répulsives et la diminution des forces attractives

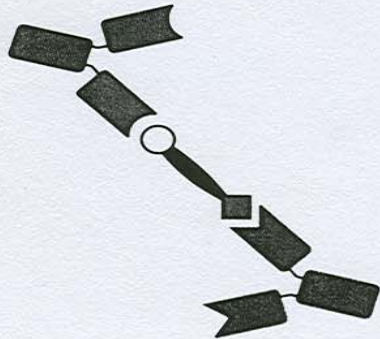
Interaction Antigène-anticorps



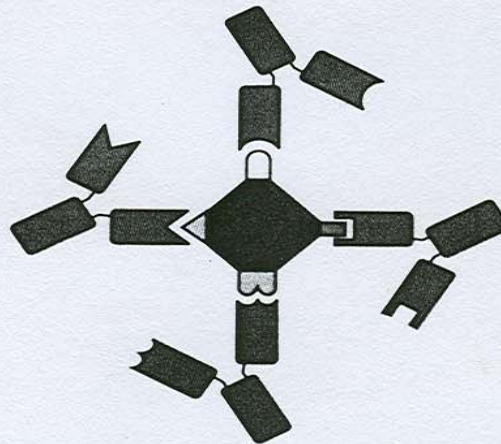
Valence:

- L'Ac avec ses 4 chaînes possède 2 paratopes. Il peut alors se lier à l'Ag de façon plurivalente
- L'Ag est monovalent: haptène=1 déterminant Ag ou multivalent (plusieurs épitopes)

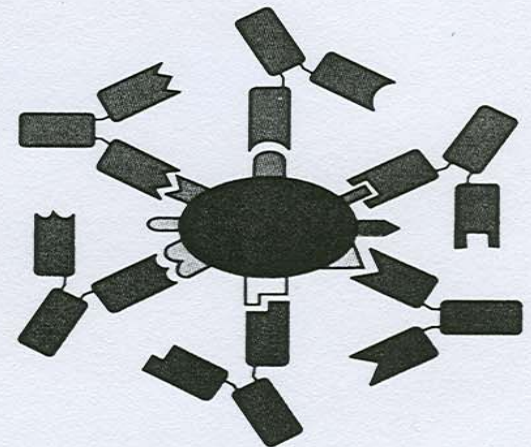
Valence de l'antigène = 2



Valence de l'antigène = 4



Valence de l'antigène = 6



Affinité :

C'est l'équilibre des forces attractives et répulsives entre un épitope et un paratope. Elle mesure la force de liaison Ag-Ac

Un Ac de forte affinité implique des structures complémentaires parfaites.

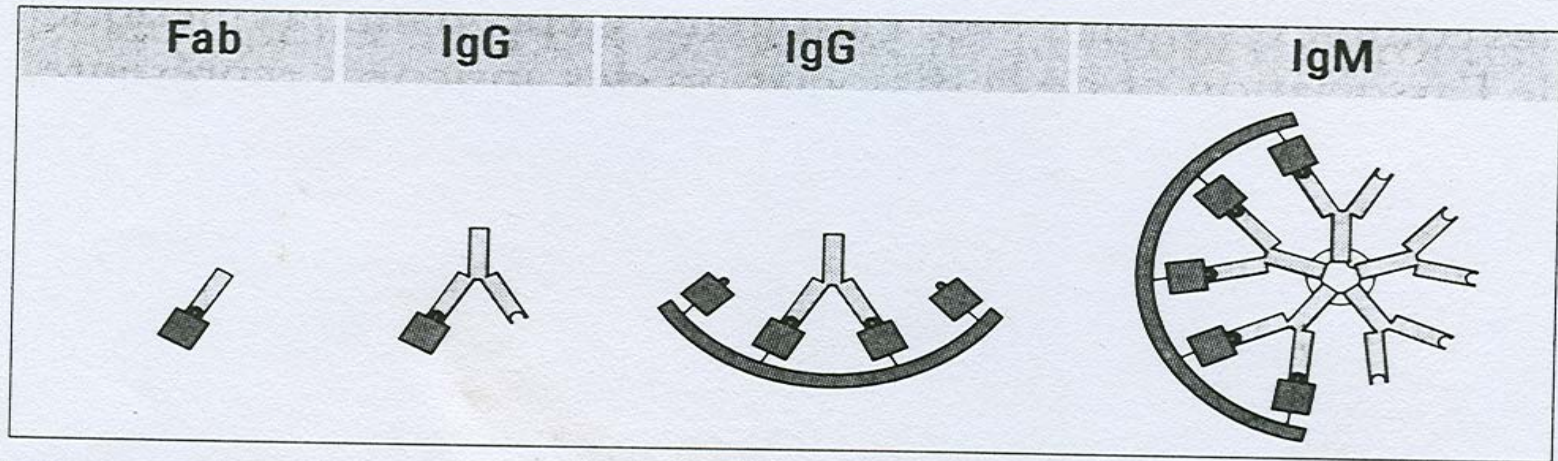
Avidité:

C'est l'ensemble des forces de plusieurs systèmes Ag-Ac.

Ca correspond à la résultante de leur affinité.

On parle de l'Avidité d'un antisérum contenant plusieurs Ac à spécificité différente.

Affinité et avidité

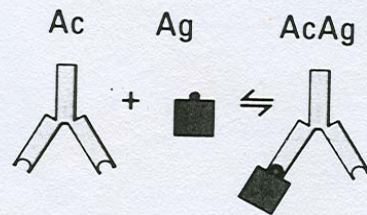


anticorps	Fab	IgG	IgG	IgM
valence fonction. de l'anticorps	1	1	2	jusqu'à 10
valence de l'antigène	1	1	n	n
constante d'équilibre (L/M)	10^4	10^4	10^7	10^{11}
bonus de la multivalence	—	—	10^3 fois	10^7 fois
définition de la liaison	affinité	affinité	avidité	avidité
	affinité intrinsèque		affinité fonctionnelle	

Toutes les Réaction Ag-Ac sont réversibles. La constante d'équilibre K de la loi d'action de masse représente l'affinité d'un Ac

Calcul de l'affinité de l'anticorps

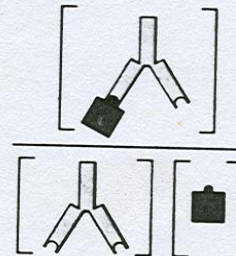
Les réactions Ag-Ac sont réversibles



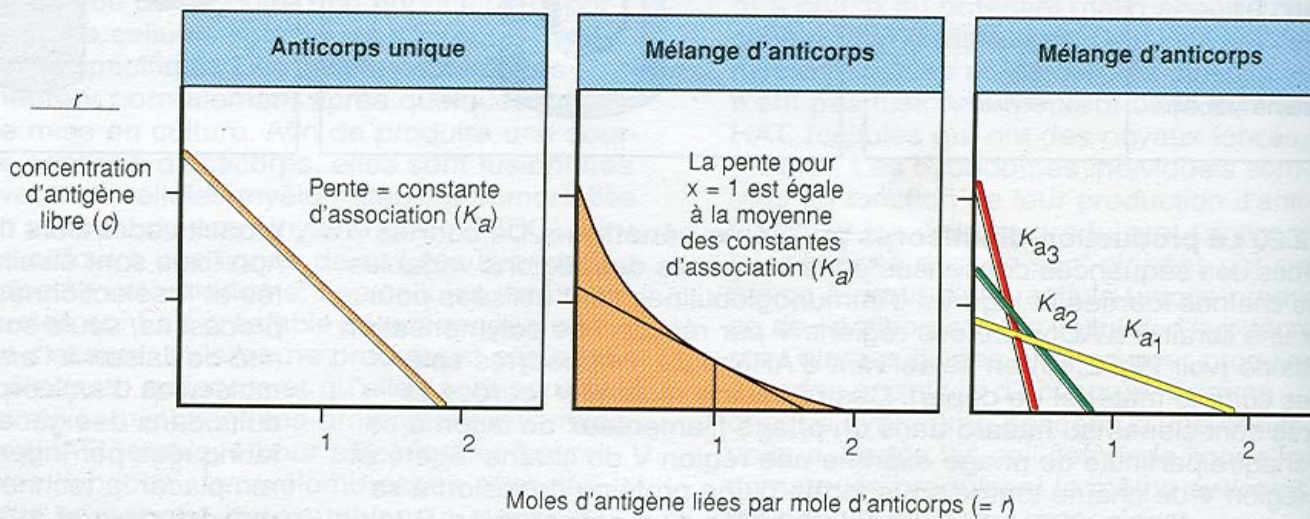
loi d'action de masse

constante d'équilibre (K)
définie comme :

$$K = \frac{[\text{AcAg}]}{[\text{Ac}][\text{Ag}]}$$



Analyse de Scatchard



Immunoprécipitation en milieu Liquide

