

## Notion d'antigènes / anticorps

Antigène : molécule ou substance pouvant être naturelle ou synthétique, *capable d'induire une réponse immunitaire adaptative* (ou spécifique) par la *production d'anticorps*

Anticorps : *protéine* circulante, immunoglobuline produite par l'organisme *en réponse à l'antigène*

- Structure : l'anticorps possède 2 chaînes légères et 2 chaînes lourdes avec des parties constantes ainsi que des parties variables au niveau des extrémités, lieu de fixation des antigènes

NB : la spécificité d'un anticorps est due à cette partie variable

Un antigène présente plusieurs épitopes (= partie de l'antigène reconnu par l'anticorps)

NB : plusieurs anticorps qui reconnaissent un même antigène peuvent reconnaître des épitopes différents

Les anticorps vont être classés selon leur capacité à reconnaître un épitope (= anticorps monoclonal) ou plusieurs épitopes (= anticorps polyclonaux)



### I. Fabrication d'anticorps

On injecte un antigène à un animal, généralement la souris ou le lapin (c'est quand même plus facile à faire rentrer dans un labo qu'un cheval :D). L'injection répétée du même antigène va venir stimuler les Lymphocytes B pour produire des anticorps

NB : Comme beaucoup de Lymphocytes B différents peuvent être stimulés par un même antigène, on se retrouve avec un sérum d'anticorps polyclonaux reconnaissant tous le même antigène mais possédant des reconnaissances d'épitopes différents

### II. Obtention d'anticorps monoclonaux

L'intérêt d'avoir des anticorps monoclonaux est d'augmenter la spécificité.

On va utiliser la technique de criblage d'hybridomes.  
Hybridome : cellule provenant de la fusion de cellules lymphocytaires normales et de cellules cancéreuses (= myélome) possédant la capacité de se multiplier indéfiniment

- Un hybridome possède les propriétés d'être immortelle (grâce à la cellule cancéreuse) et de produire des anticorps monoclonaux (grâce au lymphocyte B)

### A. Synthèse d'ADN

Il existe 2 voies de synthèse des bases puriques (Adénine - Guanine) et pyrimidique (Thymine - Cytosine) nécessaires à la synthèse d'ADN

- Voie endogène : voie préférentielle consommant de l'ATP qui est inhibée par l'*aminoptérine*
- Voie exogène : par l'intermédiaire de l'enzyme *HGPRT* (Hypoxanthine Guanine PhosphoRibosylTransférase)

### B. Experience Time

- ✓ On injecte l'antigène à nos souris
- ✓ On sacrifie la souris et on récupère la rate (= organe lymphoïde secondaire) car on y retrouve les lymphocytes
- ✓ On récupère dans la rate les lymphocytes qui produisent des anticorps contre l'antigène d'intérêt
- ✓ On place les lymphocytes récupérés au contact des cellules myélomateuses (= cellules cancéreuses)

**ATTENTION** : Ces cellules myélomateuses sont particulières, on leur a inhibé l'enzyme HGPRT, elles sont donc HGPRT-

**NB** : Ces cellules myélomateuses ne peuvent donc pas synthétiser d'ADN ni se répliquer

- ✓ Les cellules myélomateuses et les lymphocytes sont ensuite placés dans un *milieu HAT* (= Hypoxanthine Aminoptérine Thymidine), inhibiteur de la *synthèse endogène* des nucléotides

**NB** : Les cellules myélomateuses ne peuvent donc plus synthétiser du tout d'ADN (ni par la voie endogène, ni par la voie exogène)

- ⇒ Le seul moyen pour que les cellules myélomateuses puissent survivre et se multiplier est qu'elles *fusionnent* avec les lymphocytes de l'animal qui elles sont HGPRT+

**IMPORTANT** : Les lymphocytes B apportent l'enzyme HGPRT et les cellules cancéreuses apportent l'immortalité.

Après la fusion on observe 3 types d'hybridomes :

	<b>Lymphocyte B</b>	<b>Cellule myélomateuse</b>
<b>Lymphocyte B</b>	Non viable (soumis à l'apoptose)	Viable
<b>Cellule myélomateuse</b>	Viable	Non viable (HGPRT- et milieu HAT)

Afin de récupérer les hybridomes on laisse les cellules en culture, les hybridomes non viables disparaîtront au fur et à mesure.

Des *techniques de dilutions* sont ensuite utilisées pour récupérer les hybridomes d'intérêt, on dilue de sorte de ne retrouver qu'un hybridome par puits, on testera ensuite

chaque hybridome dans chaque puits pour voir contre quel épitope ils agissent (= **criblage d'hybridome**).

Le criblage permet de sélectionner les anticorps d'intérêt qui sont monoclonaux donc dirigés contre un seul épitope de la protéine X

### C. Utilisation des anticorps monoclonaux

- ✓ Visualisation d'une protéine de façon spécifique
- ✓ Permet une purification par chromatographie d'affinité
- ✓ Outil diagnostique
- ✓ Médicaments

NB : Le *polyéthylène glycol* est un produit chimique favorisant la fusion des cellules (normalement la fusion est un procédé plutôt rare)

