

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

Adrien Six (adrien.six@upmc.fr)
Université Pierre et Marie Curie

IF-Ib
février 2010

IF2010 BMC423 IF-Ib

1

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. Structure des anticorps
4. Site anticorps
5. Propriétés fonctionnelles
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

3

Définitions

- Immunogénicité:
capacité à induire une réponse immunitaire humorale ou à médiation cellulaire

Cellule B + Antigène → Cellule B effectrice + Cellule B mémoire
→ Anticorps

Cellule T + Antigène → Cellule T effectrice + Cellule T mémoire
→ cytokines
→ facteurs cytotoxiques

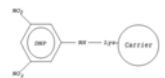
- Antigénicité:
capacité à se combiner "spécifiquement" avec les produits des réponses ci-dessus
→ par ex. Antigène+Anticorps

IF2010 BMC423 IF-Ib

4

Découverte des haptènes

- Haptène:
 - Antigène non immunogène
 - Haptène seul → pas de production d'anticorps
 - Haptène couplé à un porteur → immunogène
 - Porteur (*carrier*) = protéine immunogène homopolymère non immunogène
 - Découverte par Landsteiner (1910)
→ établit spécificité de la réponse anticorps
→ démontre extraordinaire diversité des anticorps
 - Permet d'étudier la réponse anticorps contre des déterminants chimiques précisément définis et modifiables



IF2010 BMC423 IF-Ib

5

Réponse anticorps anti-haptène

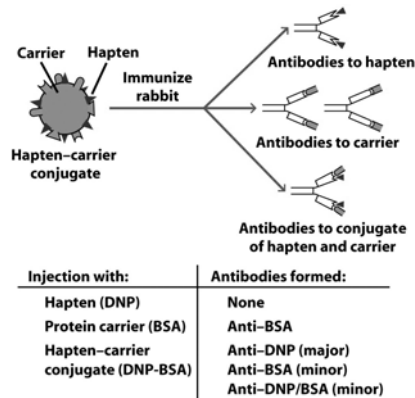


Figure 4-1
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

6

Spécificité de la réponse anti-haptène

TABLE 4-1 Reactivity of antisera with various haptens

Antiserum against	REACTIVITY WITH			
Aminobenzene	+	0	0	0
o-Aminobenzoic acid	0	+	0	0
m-Aminobenzoic acid	0	0	+	0
p-Aminobenzoic acid	0	0	0	+

KEY: 0 = no reactivity; + = strong reactivity
SOURCE: Based on K. Landsteiner, 1962, *The Specificity of Serologic Reactions*, Dover Press. Modified by J. Klein, 1982, *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination*, Wiley.

Table 4-1
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

7

Caractéristiques des immunogènes

L'immunogénicité est déterminée par:

- Caractère étranger de l'antigène (soi/non-soi)
→ la BSA n'est pas immunogène chez la vache
- Taille moléculaire
→ en général <10kDa = mauvais immunogène
→ ~100kDa = meilleurs immunogènes
- Composition et hétérogénéité chimique
→ complexité > 7; hétéropolymère >> homopolymère
→ influence des quatre niveaux d'organisation des protéines

IF2010 BMC423 IF-Ib

8

Rappel sur la structure des protéines

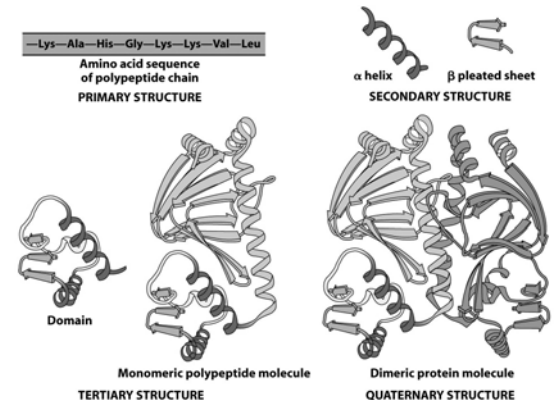


Figure 4-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

9

Caractéristiques des immunogènes

L'immunogénicité est déterminée par:

- Caractère étranger de l'antigène (soi/non-soi)
→ *la BSA n'est pas immunogène chez la vache*
- Taille moléculaire
→ *en général <10kDa = mauvais immunogène*
→ *~100kDa = meilleurs immunogènes*
- Composition et hétérogénéité chimique
→ *complexité ↑ ↑; hétéropolymère >> homopolymère*
→ *influence des quatre niveaux d'organisation des protéines*
- Couplages lipides/protéines, sucres/protéines
→ *obtention d'anticorps anti-acides gras (Vit. E, stéroïdes...)*
- Sensibilité à l'apprêtement/présentation
→ *les anticorps reconnaissent l'Ag directement*
→ *les TCR reconnaissent des peptides présentés par le CMH*

IF2010 BMC423 IF-Ib

10

Immunogénicité & Présentation

TABLE 4-2 Comparison of antigen recognition by T cells and B cells

Characteristic	B cells	T cells
Interaction with antigen	Involves binary complex of membrane Ig and Ag	Involves ternary complex of T-cell receptor, Ag, and MHC molecule
Binding of soluble antigen	Yes	No
Involvement of MHC molecules	None required	Required to display processed antigen
Chemical nature of antigens	Protein, polysaccharide, lipid	Mostly proteins, but some lipids and glycolipids presented on MHC-like molecules
Epitope properties	Accessible, hydrophilic, mobile peptides containing sequential or nonsequential amino acids	Internal linear peptides produced by processing of antigen and bound to MHC molecules

Table 4-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

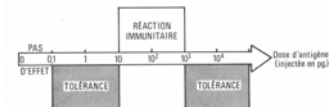
IF2010 BMC423 IF-Ib

11

Immunogénicité & Facteurs biologiques

L'immunogénicité est modifiée par:

- Génotype du receveur
→ *rôle essentiel du CMH*
- Taux et voie d'administration
→ *dose et voie optimale dépend de l'Ag*
→ *plus est l'ennemi du bien*



- Adjuvant
→ *du latin adjuvare, aider*
→ *augmentation de l'immunogénicité: persistance Ag, signaux costimulation, inflammation locale, pouvoir mitogène*

IF2010 BMC423 IF-Ib

12

Ag thymo-dépendant et thymo-indépendant

TABLE 11-2 Properties of thymus-dependent and thymus-independent antigens

Property	TD antigens	TI antigens	
		Type 1	Type 2
Chemical nature	Soluble protein	Bacterial cell-wall components (e.g., LPS)	Polymeric protein antigens; capsular polysaccharides
Humoral response			
Isotype switching	Yes	No	Limited
Affinity maturation	Yes	No	No
Immunologic memory	Yes	No	No
Polyclonal activation	No	Yes (high doses)	No

Table 11-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

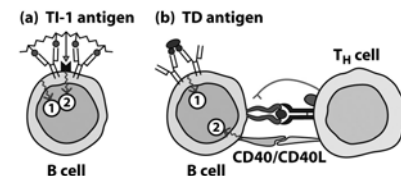


Figure 11.2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

14

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. **Epitope**
3. Structure des anticorps
4. Site anticorps
5. Propriétés fonctionnelles
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

15

Epitope: définition

- L'épitope (ou déterminant antigénique) correspond à la portion discrète de l'antigène qui entre en contact avec le récepteur spécifique d'antigène (anticorps ou TCR)
- Epitopes reconnus par les anticorps
 - Accessibilité (reconnaissance directe)
 - Séquentiel ou Linéaire (ex. 6-8 aa hélice α en surface)
 - Non séquentiel ou Conformationnel
 - Chevauchants
 - Epitopes conformationnels plus sensibles à la dénaturation ménagée de l'antigène
- Un épitope peut être immunodominant

IF2010 BMC423 IF-Ib

16

Exemple d'épitopes

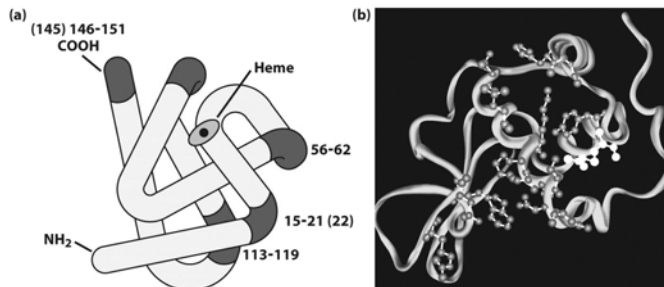


Figure 4-3
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

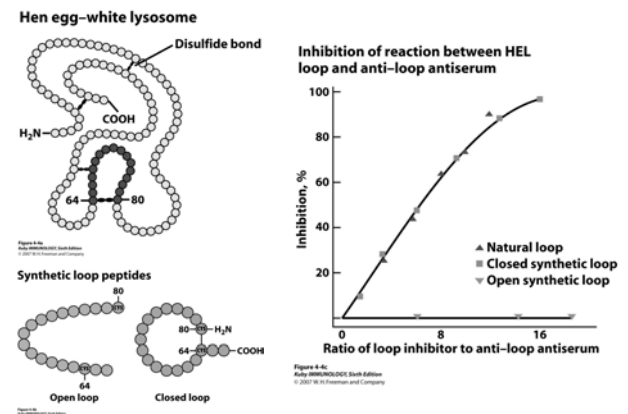
Myoglobine de cachalot

Lysozyme d'œuf de poule

IF2010 BMC423 IF-Ib

17

Liaison d'un épitope conformationnel



IF2010 BMC423 IF-Ib

18

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. **Structure des anticorps**
4. Site anticorps
5. Propriétés fonctionnelles
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

19

La molécule anticorps

- La molécule anticorps ou immunoglobuline est un hétérodimère composé de 2 chaînes lourdes (IgH) et 2 chaînes légères (IgL κ ou λ)

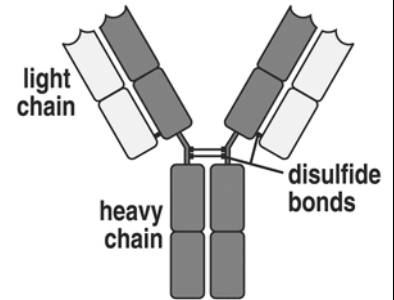


Figure 3-2 Immunobiology, 6/e (© Garland Science 2005)

IF2010 BMC423 IF-Ib

20

La molécule anticorps

- La molécule anticorps ou immunoglobuline est un hétérodimère composé de 2 chaînes lourdes (IgH) et 2 chaînes légères (IgL κ ou λ)
- Chaque chaîne comprend une région constante et une région variable

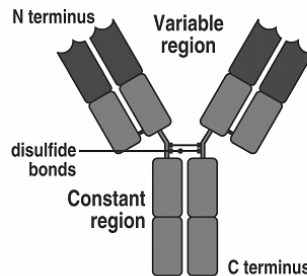


Figure 3-1 part 3 of 3 Immunobiology, 6/e (© Garland Science 2005)

IF2010 BMC423 IF-Ib

21

La molécule anticorps

- La molécule anticorps ou immunoglobuline est un hétérodimère composé de 2 chaînes lourdes (IgH) et 2 chaînes légères (IgL κ ou λ)
- Chaque chaîne comprend une région constante et une région variable
- Les chaînes IgH et IgL sont organisées en domaines
- La région variable porte le site de liaison à l'antigène ou site anticorps (Ac)

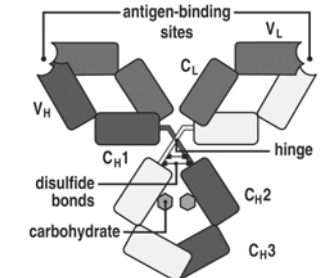


Figure 3-1 part 2 of 3 Immunobiology, 6/e (© Garland Science 2005)

IF2010 BMC423 IF-Ib

22

Immunoglobulines sériques

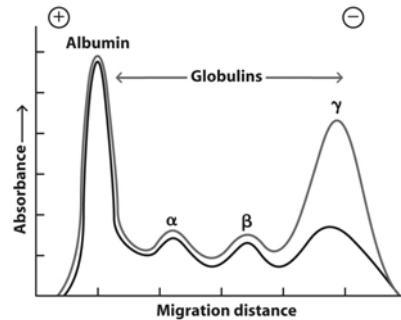


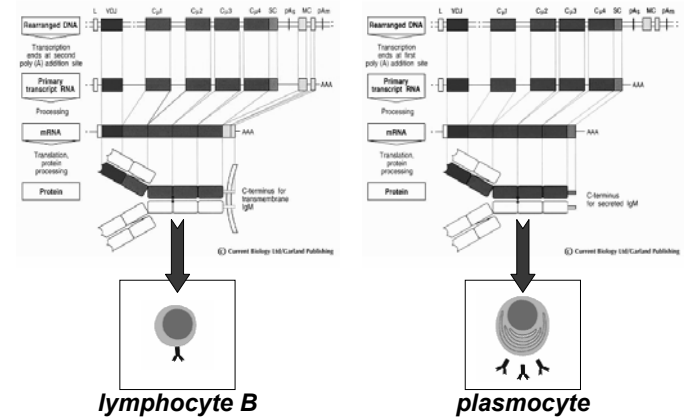
Figure 4-5
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Les immunoglobulines produites par les cellules B sont principalement retrouvées dans la fraction sérique des γ -globulines (expériences de Tiselius et Kabat, 1929)

IF2010 BMC423 IF-Ib

23

Ig membranaire – Ig sécrétée



IF2010 BMC423 IF-Ib

24

Structure 3D de l'anticorps

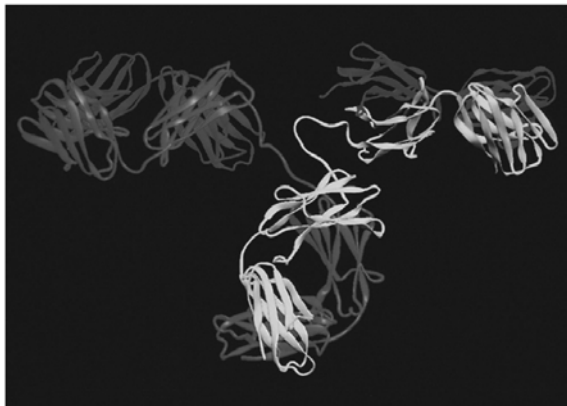


Figure 3-1 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e, © Garland Science 2005

IF2010 BMC423 IF-Ib

25

Propriétés structurales

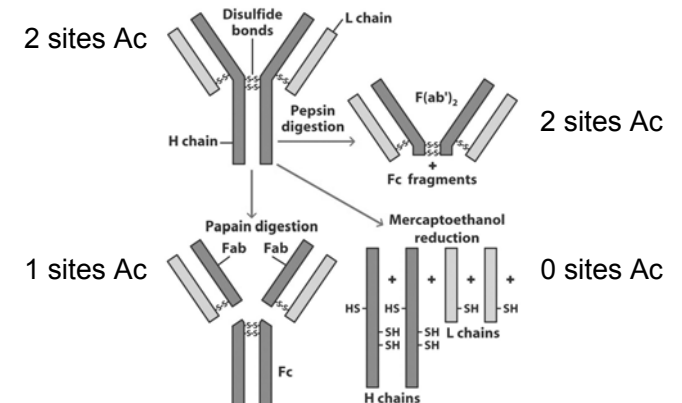


Figure 4-7
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

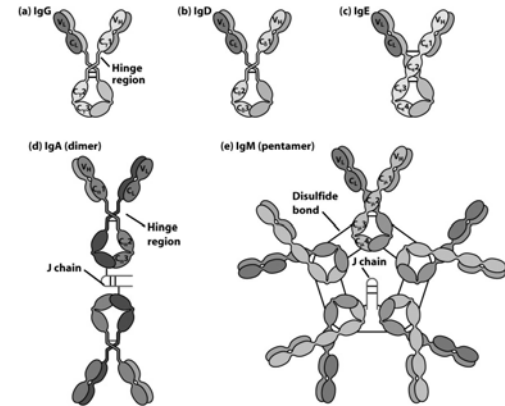
26

5 classes d'immunoglobulines

	Immunoglobulin								
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE
Heavy chain	γ_1	γ_2	γ_3	γ_4	μ	α_1	α_2	δ	ϵ
Molecular weight (kDa)	146	146	165	146	970	160	160	184	188
Serum level (mean adult mg ml ⁻¹)	9	3	1	0.5	1.5	3.0	0.5	0.03	5×10 ⁻⁵
Half-life in serum (days)	21	20	7	21	10	6	6	3	2

Figure 4-17 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

5 classes d'immunoglobulines

Figure 4-17
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Organisation des gènes C du locus IgH

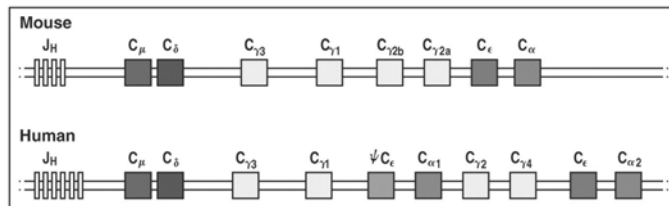
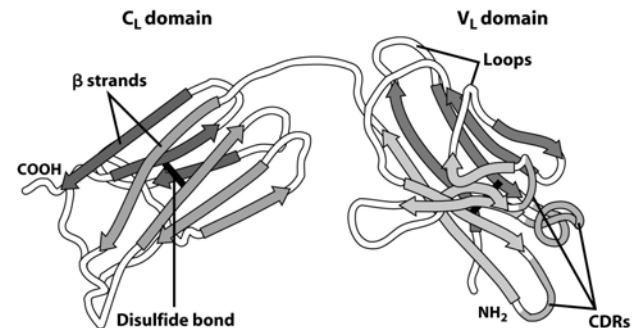


Figure 4-19 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Organisation des domaines Ig (1)

Figure 4-11a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Organisation des domaines Ig (2)

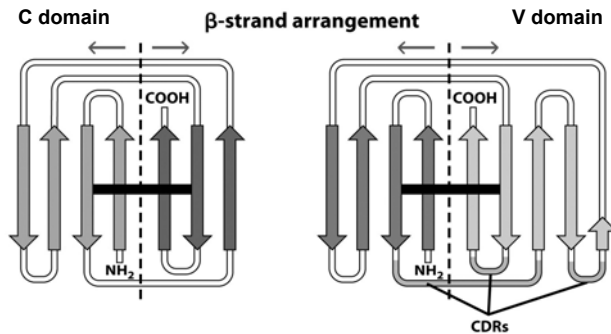


Figure 4-11b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

31

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. Structure des anticorps
4. **Site anticorps**
5. Propriétés fonctionnelles
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

32

Régions hypervariables → Site Ac (1)

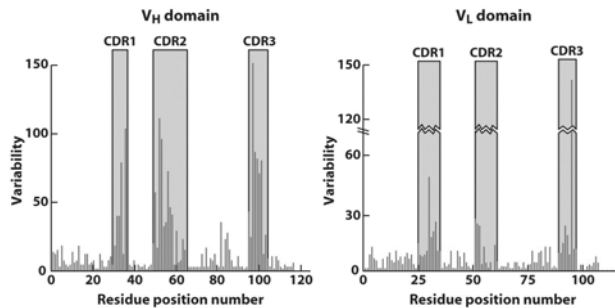


Figure 4-12
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

33

Régions hypervariables → Site Ac (2)

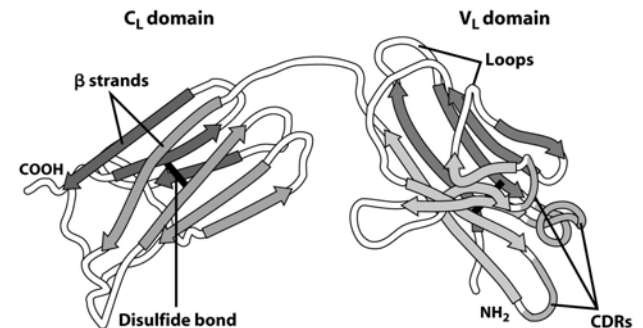


Figure 4-11a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Le site anticorps est donc formé par les 6 régions CDR:
CDR1/CDR2/CDR3 IgH + CDR1/CDR2/CDR3 IgL

IF2010 BMC423 IF-Ib

34

Site anticorps = forme

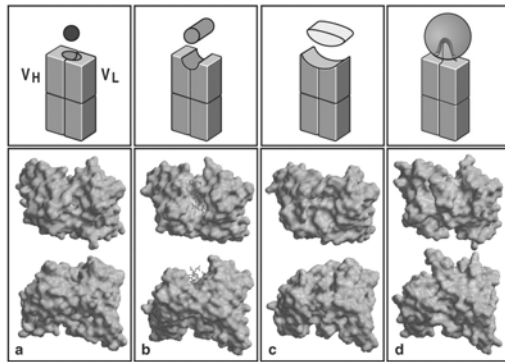


Figure 3-8 Immunobiology 6/e. (© Garland Science 2005)

Le site anticorps adopte une forme (structure stéréochimique) qui va interagir avec l'antigène.

IF2010 BMC423 IF-Ib

35

Epitope & Paratope

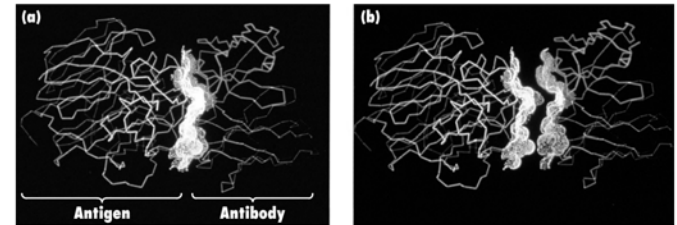


Figure 4-13
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

L'épitope (sur l'Ag) interagit directement avec le paratope (dans le site Ac).

IF2010 BMC423 IF-Ib

36

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. Structure des anticorps
4. Site anticorps
- 5. Propriétés fonctionnelles**
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

37

Région charnière et flexibilité

- La région charnière entre les domaines CH1 et CH2 des Ig γ , Ig δ et Ig α assure la flexibilité de l'Ac.
- Le domaine CH2 des Ig μ et Ig ϵ assure la même fonction.

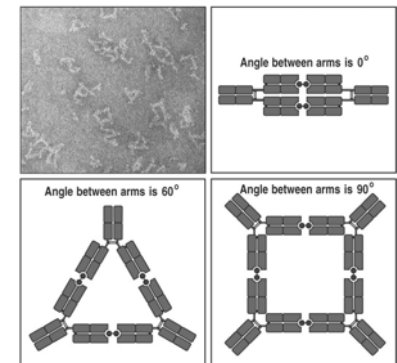


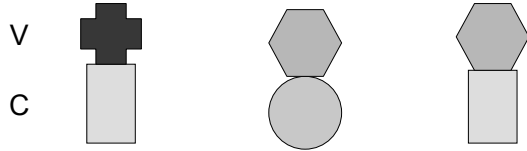
Figure 3-4 Immunobiology 6/e. (© Garland Science 2005)

IF2010 BMC423 IF-Ib

38

Fonctions anticorps et effectrice

Fonction spécifique = Fonction anticorps



Fonction non spécifique = Fonction effectrice

Propriétés fonctionnelles des anticorps

	Immunoglobulin								
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE
Classical pathway of complement activation	++	+	+++	-	+++	-	-	-	-
Alternative pathway of complement activation	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Placental transfer	+++	+	++	+	-	-	-	-	-
Binding to macrophage and phagocyte Fc receptors	+	-	+	+	-	+	+	-	+
High-affinity binding to mast cells and basophils	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
Reactivity with staphylococcal Protein A	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Figure 4-17 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. Structure des anticorps
4. Site anticorps
5. Propriétés fonctionnelles
- 6. Réaction antigène-anticorps**
7. Conclusion

La réaction antigène - anticorps

- La réaction antigène-anticorps est une association bimoléculaire semblable à une réaction enzyme-substrat.
- C'est une association non-covalente et réversible.
- Elle met en jeu plusieurs forces d'interaction:
 - Liaisons hydrogènes
 - Liaisons ioniques
 - Interactions hydrophobes
 - Forces de van der Waals

Forces des interactions Ag-Ac

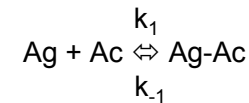
Noncovalent forces	Origin	
Electrostatic forces	Attraction between opposite charges	$-\text{NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$
Hydrogen bonds	Hydrogen shared between electronegative atoms (N,O)	$\text{N} \cdots \text{H} \cdots \text{O} = \text{C}$ $\delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^-$
Van der Waals forces	Fluctuations in electron clouds around molecules oppositely polarize neighboring atoms	$\delta^+ \quad \delta^-$
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	$\text{H}_2\text{O} \quad \text{H}_2\text{O} \quad \text{H}_2\text{O}$ $\delta^+ \quad \delta^- \quad \delta^+$

Figure 3-9 Immunobiology, 6/e, (© Garland Science 2005)

IF2010 BMC423 IF-Ib

43

Réaction Ag-Ac & Affinité



- k_1 (L/mol/s) constante de vitesse aller (association)
- k_{-1} (s^{-1}) constante de vitesse retour (dissociation)
- $K_a = k_1 / k_{-1}$ constante d'association = affinité

$$K_a = [\text{Ag-Ac}] / [\text{Ag}] [\text{Ac}]$$

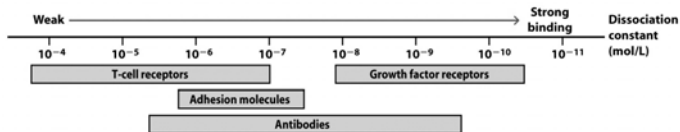
Rem: le modèle concerne la liaison d'un site de liaison anticorps (Ac) avec un antigène (Ag) monovalent.

IF2010 BMC423 IF-Ib

44

Exemples d'affinité de liaison Ag-Ac

TABLE 6-1 Forward and reverse rate constants (k_1 and k_{-1}) and association and dissociation constants (K_a and K_d) for three ligand-antibody interactions					
Antibody	Ligand	k_1	k_{-1}	K_a	K_d
Anti-DNP	ϵ -DNP-L-lysine	8×10^7	1	1×10^8	1×10^{-8}
Anti-fluorescein	Fluorescein	4×10^8	5×10^{-3}	1×10^{11}	1×10^{-11}
Anti-bovine serum albumin (BSA)	Dansyl-BSA	3×10^5	2×10^{-3}	1.7×10^8	5.9×10^{-9}

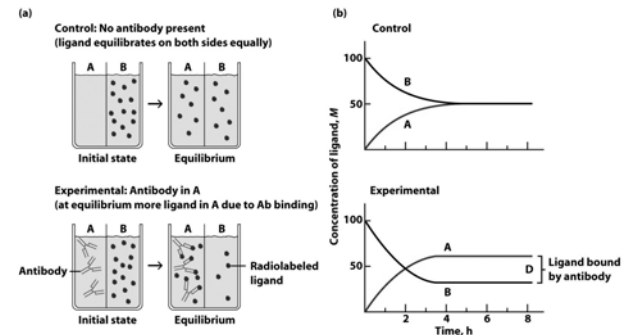
SOURCE: Adapted from H. N. Eisen, 1990, *Immunology*, 3rd ed., Harper & Row, Publishers.Table 6-1
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and CompanyFigure 9-12a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

45

Mesure de la liaison Ag-Ac

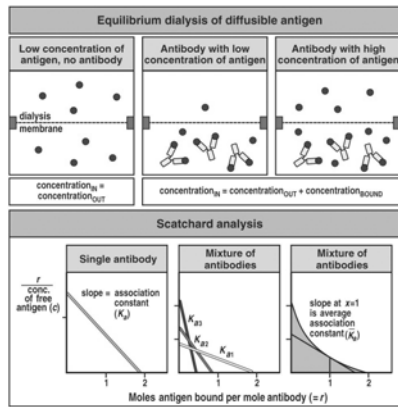
Technique de dialyse à l'équilibre:

Figure 6-2
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

IF2010 BMC423 IF-Ib

46

Courbe de Scatchard



Eq. de Scatchard:

$$r / c = K_a n - K_a r$$

n = nb sites Ac = valence

IgG: $n = 2$

IgA: $n = 4$

IgM: $n = 10$

$c = [Ag]$

$r = [Ag-Ac] / [Ag-Ac] + [Ac]$
([Ac lié] / [Ac total])

IF2010 BMC423 IF-Ib

47

Affinité & Avidité

- L'avidité est la résultante des affinités des multiples sites de liaison.
- L'avidité est une meilleure mesure de la capacité de liaison au sein d'un système biologique.
- Pour une IgG, avidité théorique maximale:
 $K_a \times K_a = K_{eq} = [Ag-Ac] / [Ag] [Ac]$
- En réalité, $K_{eq} < K_a^2$, en raison des contraintes géométriques. Néanmoins, $K_{eq} \gg K_a$.
- $K_{eq} \text{ IgM} > K_{eq} \text{ IgG}$ du fait de la valence IgM malgré $K_a \text{ IgM} < K_a \text{ IgG}$.

IF2010 BMC423 IF-Ib

48

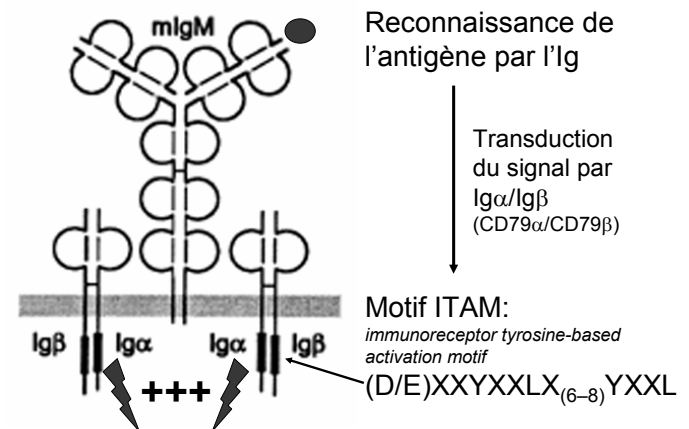
Immunoglobulines, Antigènes & Réaction Antigène-Anticorps

1. Immunogénicité & Antigénicité
2. Epitope
3. Structure des anticorps
4. Site anticorps
5. Propriétés fonctionnelles
6. Réaction antigène-anticorps
7. Conclusion

IF2010 BMC423 IF-Ib

49

Transduction du signal BCR



IF2010 BMC423 IF-Ib

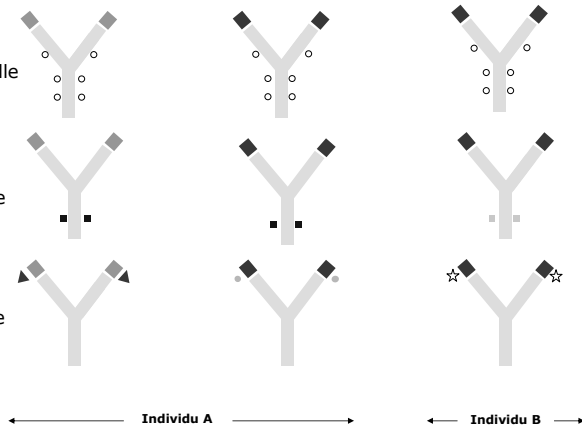
50

Isotypie, Allotypie, Idiotypie

Isotypie
→ Variabilité fonctionnelle

Allotypie
→ Variabilité individuelle

Idiotypie
→ Variabilité particulière



IF2010 BMC423 IF-Ib

51

Anticorps polyréactifs

Table III. Polyreactivity of anti-DNA mAbs with or without N-addition in H-CDR3^a

mAb	N-region(s) in H-CDR3	Actin	Myosin	Thyroglobulin	IgG
64.9D	N ⁺	—	—	—	—
64.22.2	N ⁺	+++	+++	+++	+
70.1.4	N ⁺	+	+	—	—
70.3.1	N ⁺	+	+	—	—
64.3AII	N ⁺	+	+	+	+++
A.24.7	N ⁰	—	—	—	—
3.4.1	N ⁰	++	+	++	—
A.18.13	N ⁰	—	—	—	—
64.18AI	N ⁰	—	—	—	—
8.46.2	N ⁰	—	—	—	—
8.3.6	N ⁰	+	+++	—	—
A.1.11	N ⁰	—	—	—	—
64.8DI	N ⁰	—	—	—	—
27.3EIIa	N ⁰	++	+++	+++	+++

^a Binding of supernatant mAbs (1 µg/ml) to immobilized Ags was tested by ELISA. The results are expressed as the OD at 492 nm: (—) represents OD < 0.1; +, 0.1 < OD < 0.3; ++, 0.3 < OD < 0.5; +++, OD > 0.5. In both N⁺ and N⁰ groups, mAbs were classified in decreasing order of their relative avidity for ssDNA (cf Fig. 1).

Comment?

- Epitope redondant
- Epitopes dégénéré
- Epitopes distincts
- ...

Weller, S. et al. (1997) *J.Immunol.* 159:3890-3898.

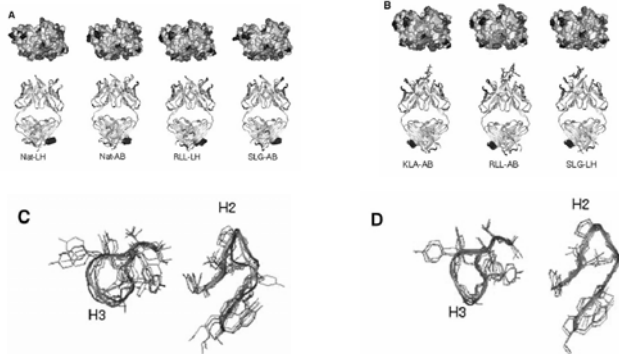
IF2010 BMC423 IF-Ib

52

Reconnaissances...

4 structures différentes sans Ag

Structures avec 3 Ag différents

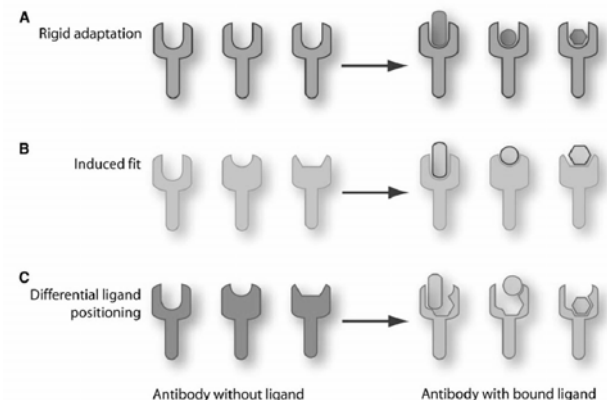


Superposition des régions CDRs

IF2010 BMC423 IF-Ib

Sethi et al. (2006) *Immunity* 24, 429-438

Reconnaissances...



IF2010 BMC423 IF-Ib

Mariuzza (2006) *Immunity* 24, 359-364