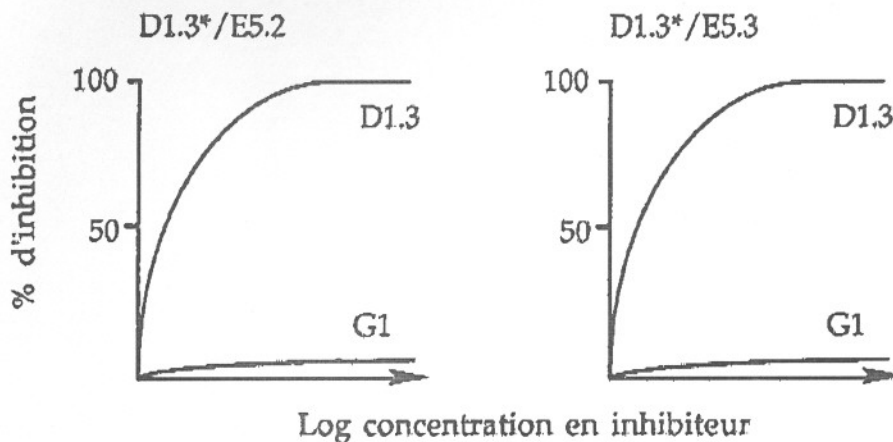


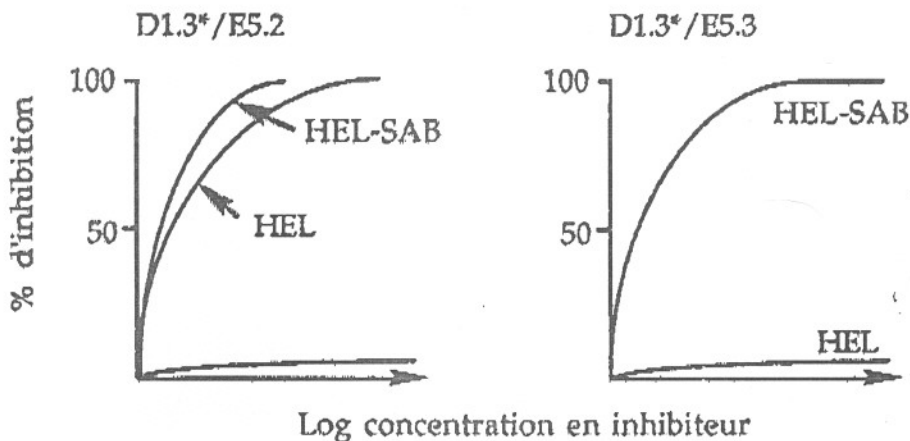
Module d'Immunogénétique de Maîtrise Session de Septembre 1997

D1.3 est un anticorps monoclonal obtenu à partir d'une souris Balb/c, dirigé contre le lysozyme d'œuf de poule (HEL), et d'isotype IgG1, κ . Cette protéine D1.3 est injectée à une souris Balb/c. Les splénocytes immuns de cette souris sont fusionnés aux cellules d'un myélome non sécreteur de souris Balb/c. La spécificité de deux anticorps monoclonaux E5.2 et E5.3 ainsi obtenus contre D1.3 est analysée en inhibant l'interaction D1.3 radioactif(*)/anticorps monoclonal E5.2 ou E5.3, par D1.3 ou par G1 qui est un autre anticorps monoclonal d'origine Balb/c, d'isotype IgG1, κ dirigé contre la phosphorylcholine. Les courbes ci-dessous résument les caractéristiques de ces inhibitions.



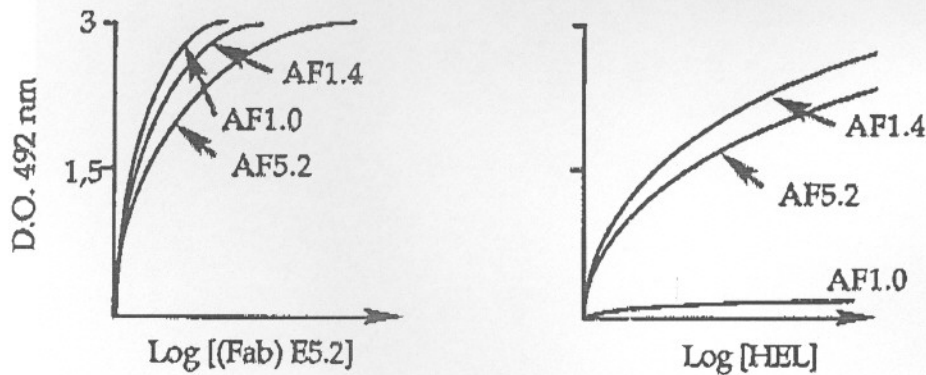
1) Quelle est la spécificité des anticorps monoclonaux E5.2 et E5.3? (2 points)

L'interaction D1.3 radioactif (*)/anticorps monoclonal E5.2 ou E5.3 est étudiée en présence de l'antigène HEL ou de ce dernier couplé à la sérum albumine bovine (HEL-SAB).



2) Interprétez ces résultats. (2 points)

On immunise une souris Balb/c avec E5.2. En fusionnant les splénocytes immuns de cette souris, on obtient trois hybridomes producteurs de trois anticorps monoclonaux AF1.0, AF1.4 et AF5.2 spécifiques de E5.2. La réactivité de ces trois anticorps vis à vis de fragments (Fab) de E5.2 et de HEL est analysée par un test ELISA, à l'étape initiale duquel des concentrations variables de HEL ou de (Fab) de E5.2 ont été insolubilisées au fond des puits. Le résultat de ce test est présenté sur la figure ci-dessous.



3) Décrivez succinctement les étapes du test ELISA effectué ici, après l'insolubilisation de (Fab)E5.2 ou HEL. (2 points)

4) Commentez ce résultat. (3 points)

La spécificité de ces trois anticorps est analysée en étudiant l'inhibition de l'interaction E5.2 marqué/anticorps monoclonal AF1.0, AF1.4 ou AF5.2, par E5.2 ou HEL. Le résultat de cette expérience est présenté dans le tableau ci-dessous.

Inhibiteurs:	Interaction E5.2*/AF1.4	Interaction E5.2*/AF5.2	Interaction E5.2*/AF1.0
E5.2	+	+	+
HEL	+	+	-

(+) indique qu'il y a inhibition, (-) qu'il n'y a pas d'inhibition

5) Commentez ces résultats.

Sont-ils en accord avec les résultats précédents?

Qu'apportent-ils de plus? (2 points)

L'ADN des différents hybridomes D1.3, AF1.4 et AF5.2 est extrait et les gènes codant pour les chaînes lourdes et légères des différents anticorps monoclonaux sont séquencés. Les séquences sont présentées sur la figure ci-après.

Chaîne lourde:

10	20	30	40	50	60	70	80	
QVQLQESGPG	L V A P S Q S L S I T C T C T V S Q F S L T G Y G Y N W V R Q P P G K G L R W L G M I W G D G N I D Y N S A L K S R L S I S K D N S K S Q V F L							D1.3
			S			R	NR	AF1.4
				A				AF5.2
90	100	110						
K M N S L H T D D T A R Y Y C A R E R D Y R L D Y W G Q G T I L T V S S								D1.3
Q	L	T						AF1.4
Q		Y						AF5.2

Chaîne légère:

10	20	30	40	50	60	70	80	
D I V L T Q S P A S L S A S V G E T V T I T C R A S G N I H N Y L A W Y Q Q K Q G K S P L L V Y Y T I T L A D G V P S R F S G S G S G T Q Y S L K I N S L Q P								D1.3
				AE				AF1.4
				N	KS	TE		AF5.2
90	100							
E D R G S Y Y C Q H F W S I P K I F G G T K I E I K								D1.3
								AF1.4
N								AF5.2

Les régions soulignées correspondent aux régions hypervariables.

6) Que suggère ce résultat? (3 points)

Trois lots de souris Balb/c sont immunisés l'un avec HEL, l'autre avec E5.2 et le dernier est non immunisé (contrôle). Les splénocytes immuns de ces souris sont prélevés et mélangés in vitro avec du HEL couplé à des globules rouges de mouton et du complément en présence ou en absence d'anticorps inhibiteurs. Les plages d'hémolyse locale (PFC) sont dénombrées dans chaque situation:

origine des splénocytes	Anticorps inhibiteurs	Nombre de PFC anti-HEL/rate
souris non immunisée	-	230
	E5.2	240
	E5.3	225
souris immunisée avec HEL	-	115 000
	E5.2	530
	E5.3	116 000
souris immunisée avec E5.2	-	95 000
	E5.2	510
	E5.3	93 000

7) Commentez ce résultat. (3 points)

8) Quelle application thérapeutique ces résultats permettent-ils d'envisager? Proposez des expériences permettant de tester cette perspective. (3 points)