

Le professeur a passé plusieurs diapos. J'ai donc mis les diapos dans cette ronéo (dans ma partie qui s'arrête avant « déterminants antigéniques pour les immunoglobulines), même si dès fois on voit que dalle, afin que vous puissiez voir quelles diapos ont été commentées pendant le cours.

L'italique, c'est mes commentaires =)

Elle va nous poser 3 questions très simples parmi les 14 thèmes qu'elle nous propose.

Elle nous donne des thèmes, mais ce ne sera pas exactement les questions qu'elle nous posera, elle pourra par exemple nous demander de faire un schéma.

Elle nous demande de ne pas écrire trop, d'être clair, propre.

Les mots clés, il faut qu'ils soient placés dans un contexte de compréhension globale. *Donc on est noté sur la compréhension et sur les mots clés.*

D'autre part, tout ce qu'elle nous a donné pendant le cours nous suffit, ce n'est pas la peine d'aller chercher des tas de truc partout. Elle nous a donné la référence d'un livre, mais ce n'est que si on est très intéressé par cette matière qu'il faut le lire, si on a envie d'aller un petit peu plus loin.

Le professeur nous demande : Quelles questions nous posent problème parmi les 14 proposées ? :

1. Structure et principales caractéristiques fonctionnelles du thymus

2. Différentes étapes conduisant à la migration transendothéliale, voies moléculaires

Sélectines, intégrines : quelles sont les molécules qui jouent un rôle ? Avec les voies moléculaires.

3. Etablir un tableau comparatif des principales caractéristiques de l'immunité innée (naturelle) et de l'immunité acquise (adaptative)

4. Mode de transmission des gènes de CMH (dans une fratrie)

Elle s'explique : Par exemple, on trouve chez un enfant tel ou tel Ag HL1, locus a, locus b ou locus CDR, et on trouve tel ou tel Ag chez ses parents.

Comment s'est passée la transmission ? Reconstituez les haplotypes chez parents et enfants.

Si on a bien compris la transmission, c'est très facile. Elle ne va pas nous mettre de piège, il n'y aura pas d'homozygote, ils seront tous hétérozygotes, et pas de crossing over (évidemment =)).

5. Les molécules HLA de classe 1 : localisation des gènes, structures et rôles fonctionnel

6. Les molécules HLA de classe 2: localisation des gènes, structures et rôles fonctionnel

7. Par quels mécanismes les protéines virales peuvent elles détourner la réponse immunitaire, citer 2 exemples chez l'homme.

Eventuellement, on donnera deux exemples précis chez l'homme, 2 suffiront, avec 2 protéines particulières, et voir comment on court-circuite le phénomène d'exportation des molécules HLA.

On ne doit pas trop détailler : on demande 2 exemples.

De quel virus on parle ? Pour ce virus, quel est le type moléculaire, quel est la protéine qui est en jeu ? Et à quel niveau elle agit ? Est-ce qu'elle agit au niveau du transport ? Exportation vers la surface ? ...

Pas besoin de faire un roman

8. Le principe du concept de restriction de la réponse anti virus par le complexe majeur d'histocompatibilité

Depuis le précurseur jusqu'à un lymphocyte T mature.

9. Structure et fonction du récepteur T pour l'antigène

10. Différenciation des LT

11. Structure et fonction des immunoglobines

12. Structure et fonction du récepteur B pour l'antigène

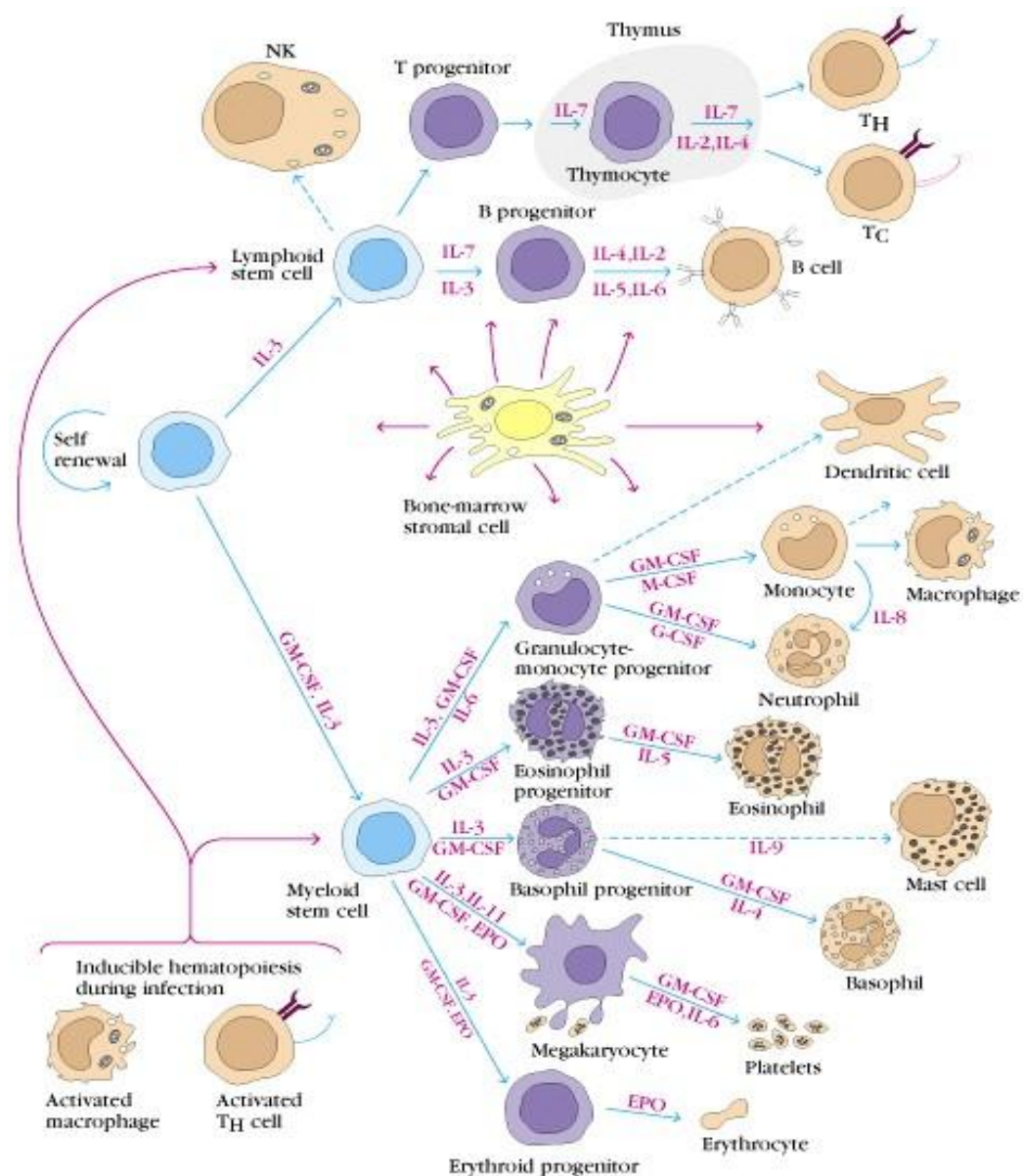
13. Différenciation des lymphocytes B

14. Décrire le principe de l'obtention des anticorps monoclonaux

Si n'on pas le temps elle l'enlèvera et elle l'a finalement enlevé car on n'a pas eu le temps.

15. Comparer les caractéristiques moléculaires et fonctionnelles des LT cytotoxiques et des cellules NK

DEBUT DU COURS



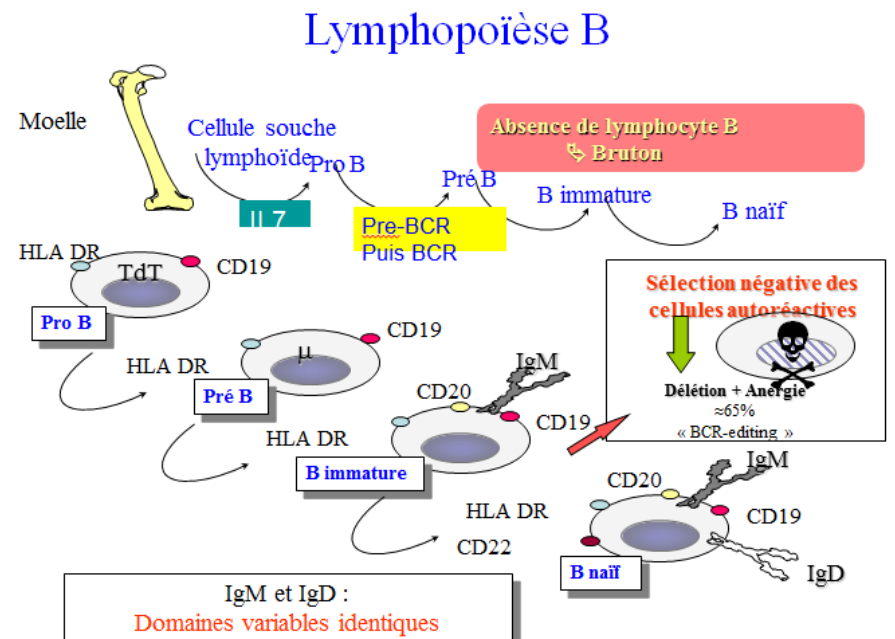
On retourne vers nos précurseurs, nos cellules souches, qui sont **totipotents**, pour nous replacer les choses avec la différenciation des Lymphocytes B.

On voit que les LB (lymphocyte B), vont venir directement de progéniteurs (de cellules souches), et vont se différencier pour aboutir à des cellules B matures, qui sont prêtes à aller reconnaître des Ag.

Tout ce **processus**, chez l'homme, se passe **dans la moelle osseuse**. Il n'y a **pas**, chez l'homme, de **tissu** spécifique comme il existe pour les LT (lymphocytes T) **pour modifier les LB et assurer leur différenciation**.

On verra que les LB ont aussi un **processus de maturation**, de par leurs **marqueurs caractéristiques** qui sont les **immunoglobulines de surface**, qui servent de **récepteur pour l'antigène**.

LA LYMPHOPOIESE B



1. Cellules souches → lymphocytes pro B

La lymphopoïèse B démarre dans la **moelle osseuse** sous la forme de **cellules souches** qui vont donner naissance à des **lymphocytes qu'on appelle pro B**, qui sont très en amont dans la différenciation.

On peut insister sur le **rôle des cytokines** et des **interleukines** sur la **différenciation spécifique**.

Par exemple : **l'interleukine 7** va jouer un rôle très important dans ce packaging de la cellule souche au lymphocyte pro B.

Cellule souche → lymphocyte pro B grâce aux cytokines et interleukines (notamment l'interleukine 7)

2. Lymphocyte Pro B → Lymphocytes pré B

Ensuite ce lymphocyte pro B très en avance dans la différenciation va se différencier en lymphocyte pré B.

On aura d'abord un **récepteur B** pour l'antigène qui **ne sera pas complètement achevé** (un petit peu comme le LT avec les pré CDR) et va ensuite exprimer un **récepteur B pour l'antigène vraiment fonctionnel**.

[Au stade pré B : on voit apparaître à l'intérieur de la cellule, la **synthèse de chaîne lourde d'immunoglobuline**. Par exemple, les chaînes mu qui donneront naissance aux IgM.]

3. Ensuite on aura une cellule B qualifiée d'immature

On voit apparaître un autre **marqueur de différenciation**, plus tardif, mais qui est aussi très spécifique des B = **marqueurs CD20**.

Et de façon concomitante, sur cette cellule B immature, on voit **apparaître la molécule d'immunoglobuline M**.

4. et enfin un LB mature.

La dernière étape de différenciation pour avoir un véritable lymphocyte B (qui n'a pas encore vu un antigène mais qui est un vrai lymphocyte B) : on voit apparaître de façon concomitante avec les IgM, **l'immunoglobuline de type D**. C'est la **présence simultanée** de ces **deux types d'immunoglobuline** qui signe vraiment la **fin de la différenciation** des LB avant qu'ils aient vu un antigène.

On a aussi l'apparition d'une autre molécule : **CD22**

Au cours de la différenciation, notre **lymphocyte pré B a déjà des marqueurs caractéristiques** qu'on va retrouver **tout au long de sa différenciation**.

Par exemple :

la molécule CD19 : elle peut, très vite et au tout début de la différenciation, **qualifier le statut** que va avoir la future cellule, et dire « ce sera un LB et pas un LT ».

Si la cellule exprime un CD19, elle ne pourra devenir qu'un LB, elle est engagée dans cette différenciation.

On a aussi vu que la molécule HLA de classe 2, HLA DR par exemple, est **exprimée fortement** et très **tôt dans la différenciation**, de façon **constitutive** sur les **LB**, ainsi que les **LT activés**.

Marqueur TDT (= terminal deoxynucleotidyl transferase) : enzyme importante pour le **réarrangement des gènes**, que ce soit des Immunoglobulines ou du récepteur B pour l'antigène. Donc ces **cellules très peu matures** expriment encore cette enzyme à **l'intérieur du cytosol**.

[Au stade pré B : on voit apparaître à l'intérieur de la cellule, la synthèse de chaîne lourde d'immunoglobuline, les chaînes mu qui donneront donc naissance aux IgM.

Ensuite, si on continue notre différenciation, on voit apparaître un autre marqueur de différenciation, plus tardif, mais qui est aussi très spécifique des B = marqueurs CD20.

Et de façon concomitante, sur cette cellule B immature, on voit apparaître la molécule d'immunoglobuline M.

La dernière étape de différenciation pour avoir un véritable lymphocyte B qui n'a pas encore vu un antigène mais qui est un vrai lymphocyte B : on voit apparaître de façon concomitante avec les IgM, l'immunoglobuline de type D. C'est la présence simultanée de ces deux types d'immunoglobuline qui signe vraiment la fin de la différenciation des LB avant qu'ils aient vu un antigène.

On a aussi l'apparition d'une autre molécule : CD22]

La prof avait placée la partie entre crochet ici, je l'ai aussi replacé dans les stades de différenciation du LB.

Aujourd'hui, avec quelques marqueurs de surface, on peut arriver très facilement à repérer les marqueurs de différenciations.

On va fabriquer des anticorps monoclonaux contre toutes ces molécules (CD19, CD20, CD22), et on peut très facilement, si on fait le phénotype de ces cellules, dire :

« Si je trouve seulement du CD 19 et du HLA DR, et si je vais voir dans ma cellule et que je trouve dans du TdT (à vérifier), ça veut dire que la cellule s'est très peu différenciée »

En jouant avec ce qu'il se passe à la surface et ce qu'il se passe dedans, on peut avoir très facilement une idée de l'état de différenciation des lymphocytes B.

Et ça nous ai très utile, quand on veut **savoir à quelle type de cellule maligne on a affaire**. Si on veut s'assurer du **niveau de différenciation** d'une cellule maligne, on va utiliser les **marqueurs de surface**, pour savoir à **quel stade de différenciation les LB ou T ont été bloqués**. C'est très important pour **choisir le traitement** qui pourra être appliqué au patient.

Il est donc très important d'avoir un diagnostic d'hémopathie non seulement avec l'hématologie, les données cytologiques, les données de l'anapathologie, mais aussi les données de **l'immunophénotypage** qui permettent **d'appréhender le type de cellule auquel on a affaire**.

Question de Marc que je n'entends pas.

Important : A ce stade la, les **IgM** et les **IgD** qui sont présents sur cette même cellule. Elles ont des **domaines variables qui sont identiques**, et elles **reconnaissent potentiellement le même type d'antigène**.

Il ne faut pas penser que d'un côté, on va reconnaître un morceau de bactérie X et de l'autre côté un morceau de bactérie Y. **Elles seront dirigées contre le même antigène**.

Important bis: A ce niveau on va **perdre** (comme ça se passe dans le thymus) **beaucoup de LB** car

- Certains LB sont auto réactifs donc ils pourraient engendrer une réaction auto-immune
- Et si, par hasard certain LB se mettaient à reconnaître directement de gros antigènes de l'homme, on serait très vite embêté car on se mettrait à produire beaucoup trop d'anticorps.

La **sélection** et **l'identification** de cette sélection est **beaucoup moins achevée que pour les LT**. Néanmoins, on peut constater que l'on perd beaucoup de lymphocyte B, et ces LB que l'on perd sont très clairement ceux qui sont potentiellement auto réactifs.

STRUCTURE

On a un LB et son **récepteur de surface**, qui est un détecteur pour l'antigène.

On parle globalement des **récepteurs pour l'antigène** : Si par hasard on nous donnait une question du type : comparer les 2 types de récepteurs, dans les deux cas ce sont bien des récepteurs pour l'antigène.

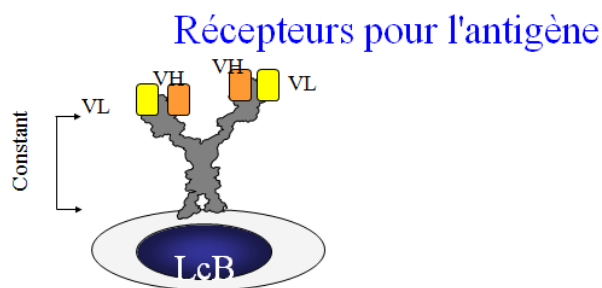
Sauf si on nous parle de récepteur T car il faut que l'antigène soit modifié.

Ce récepteur pour l'antigène est constitué par une molécule d'immunoglobuline :

On a

- **2 chaînes lourdes** (en bleu et mauve)
- **2 chaînes légères** (rose et rose clair)
- **En noir** :

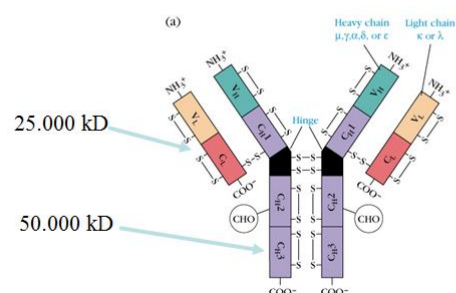
Une partie très importante, que les anglais appellent hinge, qui est la **partie charnière**. Elle permet la **flexibilité éventuelle** de la molécule d'immunoglobuline.



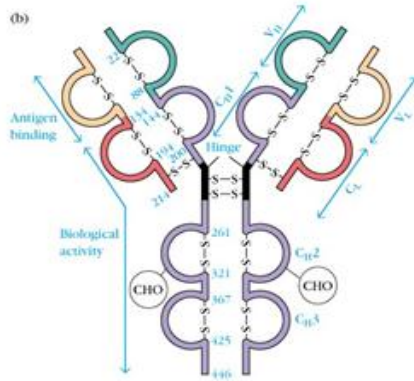
Gènes codant pour les **domaines Variables (V)**

- V : Gènes de Variabilité : VH, VL, V α , V β
- D : Gènes de Diversité : VH, V β , V δ
- J : Gènes de Jonction entre les domaines V et C

Une immunoglobuline est formée de **deux chaînes lourdes** (μ , γ , α , δ ou ϵ) et de **deux chaînes légères** (κ ou λ)



Organisation en domaines



Tout ça n'est **pas statique**, et ces molécules ont une **grande capacité de mobilité**, et, si on reconnaît un fragment d'antigène d'un côté mais que la molécule soit un petit tordue, il y a de la **marge de flexibilité** pour pouvoir éventuellement reconnaître l'autre partie de l'antigène.

Il y a beaucoup de **ponts disulfures** qui associent les chaînes légères et les chaînes lourdes et les deux chaînes lourdes entre elles. C'est important car quand on les détruit, on peut modifier complètement les chaînes d'immunoglobulines.

Les immunoglobulines ont une **organisation en domaines**. Que ce soient les **chaînes légères** ou les **chaînes lourdes**, on a toujours cette organisation en domaine qui est maintenu.

Les sites de glycolisation sont très importants :

Aujourd'hui on s'est rendu compte que pour l'immunothérapie, quand on utilise des anticorps monoclonaux, en fonction du niveau de glycolisation de ces anticorps monoclonaux, il peut y avoir une fixation plus ou moins efficace sur les récepteurs qui peuvent modifier (?)

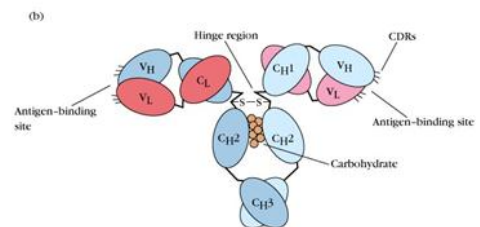
Il y a les capacités de reconnaissance des antigènes par les anticorps, mais il ne faut pas oublier que le fragment qui peut être fixé sur un récepteur spécifique est très important aussi pour transmettre les fonctions, et que la fixation sur le récepteur de ce fragment est très dépendante du **niveau de glycolisation** de la molécule.

Dans les chaînes d'immunoglobulines, il y a des régions qui sont :

- **peu variables** (qui ne vont pas vraiment varier d'une spécificité à l'autre)
- **hyper variables** car elles seront complètement spécifiques d'un antigène. C'est sur ces régions qu'on va retrouver la plus grande variabilité dans la **séquence d'acides aminés**. Ce sont les fameuses **régions CDR** (complementary determining regions).

Ces régions sont suffisamment variables pour pouvoir **s'adapter**. « Complementary » = complémentarité avec un antigène.

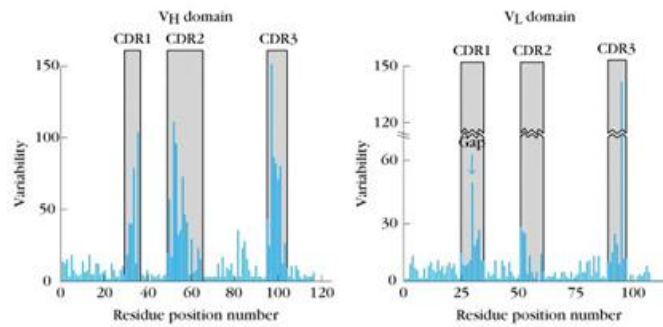
Organisation en domaines



Les Immunoglobulines

Les domaines *variables* des chaînes légères et des chaînes lourdes possèdent des zones de structure (relativement peu variables) et des zones *hypervariables* impliquées directement dans la liaison à l'antigène : ce sont les CDR (*complementarity determining regions*)

Complementarity determining regions



Ici on voit la **variabilité dans la fréquence AA** (acide aminé) avec ici la position des AA dans la séquence. On voit la région variable d'une chaîne lourde et la région variable d'un domaine de chaîne légère. Et c'est dans les régions CDR qu'on retrouve la plus grande variabilité d'AA. C'est là qu'est portée la spécificité vis-à-vis de l'antigène.

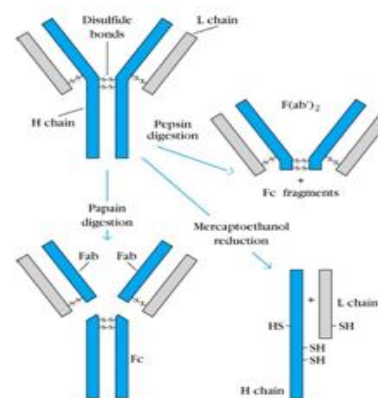
Important : On peut modifier ces molécules d'immunoglobuline, suivant la digestion enzymatique que l'on va faire.

Par exemple

>On peut isoler un fragment que l'on appelle **F(ab')₂**. On coupe avec de la **pepsine** la **fraction constante des chaînes lourdes**. On obtient donc expérimentalement une immunoglobuline qui n'a plus de fraction constante.

Dans **l'utilisation en immunothérapie**, ça peut être quelque chose de très important, pour **éviter l'immunisation contre les parties constantes** des immunoglobulines. On le reverra l'an prochain.

Fraction constante (Fc) et fraction de liaison à l'antigène (Fab)



>On peut aussi obtenir des petits fragments dégradés d'immunoglobuline qui ont chacun leur nom.

>Par exemple Fab (= fragment qui est capable de fixer l'antigène, on a un seul site récepteur) :

- Si on coupe seulement cette région (*la région en dessous du pont disulfure*), il est à double dose (**avec de la pepsine**) : c'est un **Fab₂**
- Si on coupe complètement (*la région au dessus du pont disulfure*) en utilisant de la **papaïne**, on va avoir **2 fragments Fab**.

Très souvent on utilise expérimentalement ce genre de dégradation pour prouver que la fraction constante de l'immunoglobuline n'a rien à voir dans une expérience que l'on a mené, et dans le rôle fonctionnelle de l'immunoglobuline, mais que la spécificité est bien portée par une région FAP.

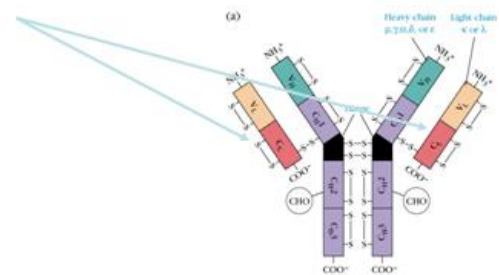
> On peut aussi **dissocier complètement chaîne lourde et chaîne légère**, mais c'est moins intéressant. Quoi que : Si on s'était intéressé à lire un peu de littérature scientifique en immunologie ou autre, on aurait vu que parfois, quand on fait certaine expérience en biochimie notamment, et bien on va utiliser du mercaptoéthanol à un moment pour dissocier les chaînes d'immunoglobulines, et quand on fait l'électrophorèse après ça, on va trouver des poids moléculaires pour les anticorps qui ne sont pas égaux aux poids moléculaires pour les anticorps totaux. En fait c'est parce qu'ils ont été complètement été découpés par l'utilisation du mercaptoéthanol (c'était pour la petite histoire mais c'est important pour la compréhension : Par exemple si on voit sur un document qu'il y a 25 kD pour un anticorps, on peut se dire : « tient c'est un léger pour un anticorps », mais en fait ça va être une toute petite partie d'un anticorps, comme sa chaîne légère)

Les fractions des Ig

Il faut faire attention car on a trop tendance à croire que toute la partie qu'on vient de définir comme étant le Fab ou le Fab₂, est une région qui complètement variable.

Mais en fait, les **chaînes légères** une **partie qui est constante** (en rose), qui est **incluse dans le Fc**. Et c'est bien cet ensemble qui conduit à la fixation de l'antigène.

- Les chaînes légères ont des **régions constantes!**



FRACTION CRISTALISABLE Fc

Les parties constantes des chaînes légères ne constituent PAS la fraction que l'on appelle Fc de la molécule.

Explications : Le terme **Fc** (dont on dit toujours que c'est l'ensemble des fractions constantes est une définition un peu erroné car il y a une partie constante dans les chaînes variables) signifie **fraction cristallisable**, et non pas fraction constante.

Régions constantes = Fc (partie constante des chaînes lourdes) + une petite partie du fragment Fab (partie constante des chaînes légères)

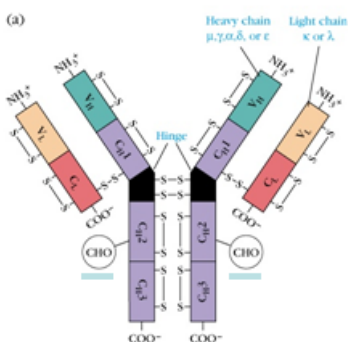
Ce que j'ai compris : les Fc représentent les fractions constantes des chaînes lourdes, mais pas l'ensemble des fractions constantes de l'immunoglobuline.

Régions variables, en corolaire, **ne représentent qu'une partie de la région Fab.**

Les fractions des Ig

- En fait, le terme **Fc** signifie **fraction cristallisable** et non fraction constante
- L'ensemble des **régions constantes** d'une immunoglobuline comprend la fraction Fc et une partie de la fraction Fab
- Les régions variables d'une immunoglobuline ne représentent qu'une partie de la fraction Fab

Importance de la glycosylation des Fc



■ **Élimination des complexes immuns**

■ **Solubilité des immunoglobulines**

Ici on voit l'importance de la glycolisation au **sens physiologique** (*pas thérapeutique comme décrit avant*). On sait que la **glycolisation de la molécule d'immunoglobuline est très importante** :

- dans **l'élimination des complexes immuns**. On verra quand on ira plus loin dans l'auto immunité combien les complexes immuns sont importants. On sait aujourd'hui que quand on a des **immunoglobulines qui sont mal sucrées** ou pas très

sucrées, on a une **élimination des complexes immuns qui est moins efficace.**

- Pour la **solubilité des immunoglobulines.**

Donc c'est une propriété physique qui est assez importante.

LES CHAINES LEGERES

Concernant les chaînes légères, on sait que chez **l'homme, 60%** des immunoglobulines utilisent une chaîne **kappa** et **40% une chaîne lambda.**

Le calcul du **rapport kappa/lambda** permet de **diagnostiquer** une éventuelle **prolifération dite monoclonale des lymphocytes B (myélome)**. **Monoclonale**, ça veut dire que je produis qu'**un seul type d'immunoglobuline** avec qu'**un seul type de chaîne légère.**

C'est donc très important pour pouvoir identifier une immunoglobuline monoclonale pathologique.

Souvent le myélome est associé à un **excès de chaîne légère** par rapport aux chaînes lourdes, ce qui fait que l'on a des **chaînes légères qui sont libres** et qui ne sont incorporées dans une molécule d'immunoglobuline. C'est très important de pouvoir **doser ces chaînes légères** pour pouvoir identifier une **condition pathologique.**

On voit que si ne on connaît pas bien la structure des immunoglobulines et exactement comment elles sont fabriquées, c'est très difficile, au plan physiopathologique, de bien comprendre ce qu'il se passe.

LES CHAINES LOURDES

On a plusieurs types de chaînes lourdes : **les isotypes.**

L'**isotype** est déterminé par la **chaîne lourde.**

Il est très important de connaître le terme isotype et le terme de commutation isotypique.

Au cours de la réponse d'un clone B, pour un même antigène, **l'immunoglobuline sécrétée varie de façon séquentielle.**

Ca veut dire que j'aurai **d'abord initié les IgM** et ensuite les **IgG.**

Chaînes légères

- Chez l'homme, 60% des Ig utilisent une chaîne κ et 40% une chaîne λ .
- le calcul du rapport κ/λ permet de diagnostiquer une prolifération monoclonale des lymphocytes B (myélome)
- en outre, le myélome est souvent associé à un excès de chaînes légères (non incorporées dans des Ig) : protéine de *Bence-Jones*

Chaînes lourdes

- plusieurs types de chaînes lourdes : ce sont les *isotypes* $\mu, \gamma, \alpha, \delta$ et ϵ
- l'*isotype* de la chaîne lourde détermine à lui seul *la classe* de l'immunoglobuline
 - $\mu \rightarrow$ IgM
 - $\gamma \rightarrow$ IgG
 - $\alpha \rightarrow$ IgA
 - $\delta \rightarrow$ IgD
 - $\epsilon \rightarrow$ IgE

Commutation isotypique

- au cours d'une réponse d'un clone de lymphocytes B contre un même antigène, l'isotype utilisé pour l'Ig sécrétée varie de façon séquentielle
 - c'est la commutation isotypique (*switch*)

Sous-classes d'IgG et d'IgA

On distingue ce qu'on appelle des **sous isotypes** (sous classes).

- Au sein des isotypes γ et α , on distingue des *sous-isotypes* qui déterminent donc des *sous-classes* d'IgG (IgG₁, IgG₂, IgG₃ et IgG₄) et d'IgA (IgA₁ et IgA₂)

Cette diapo est là simplement pour rappeler que la chaîne gamma peut avoir 4 sous isotypes, et que ces sous isotypes peuvent être associés soit à la chaîne kappa, soit à la chaîne lambda.

On a 2 isotypes pour IgA.

Pas de sous classe pour les IgM, IgD, IgE.

Classes et sous-classes

TABLE 4-1 CHAIN COMPOSITION OF THE FIVE IMMUNOGLOBULIN CLASSES IN HUMANS

Class	Heavy chain	Subclasses	Light chain	Molecular formula
IgG	γ	$\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4$	κ or λ	$\gamma_2\kappa_2$ $\gamma_2\lambda_2$
IgM	μ	None	κ or λ	$(\mu_2\kappa_2)_5$ $(\mu_2\lambda_2)_5$ $n = 1$ or 5
IgA	α	$\alpha 1, \alpha 2$	κ or λ	$(\alpha_2\kappa_2)_n$ $(\alpha_2\lambda_2)_n$ $n = 1, 2, 3, \text{ or } 4$
IgE	ϵ	None	κ or λ	$\epsilon_2\kappa_2$ $\epsilon_2\lambda_2$
IgD	δ	None	κ or λ	$\delta_2\kappa_2$ $\delta_2\lambda_2$

Classes et sous-classes

TABLE 4-2 PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITIES* OF CLASSES AND SUBCLASSES OF HUMAN SERUM IMMUNOGLOBULINS

Property/Activity	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA2	IgM [†]	IgA	IgD
Molecular weight [‡]	150,000	150,000	150,000	150,000	150,000-600,000	150,000-600,000	900,000	190,000	150,000
Heavy-chain composition	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	$\mu 1$	$\mu 2$	μ	α	δ
Serum serum level (mg/ml)	9	3	1	0.5	3.0	0.5	1.5	0.0003	0.03
In vivo serum half life (days)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Activates classical complement	+	+/−	++	−	−	−	+++	−	−
Crosses placenta	+	+/−	+	+	−	−	−	−	−
Transfers to membrane of mature B cells	++	+/−	++	+	−	−	+	−	−
Binds to Fc receptors of phagocytes	−	−	−	−	++	++	+	−	−
Mucosal transport	−	−	−	−	−	−	−	+	−
Induces mast cell degranulation	−	−	−	−	−	−	−	+	−

*Activity levels indicated as follows: ++ = high; + = moderate; +/- = minimal; − = none; ? = questionable.
[†]IgG₁, IgG₂, and IgG₃ always exist as monomers. IgA can exist as a monomer, dimer, trimer, or tetramer. Monomers bound to light is a monomer, but several light isotypes are present.
[‡]IgM is the first isotype produced by the neonate and during a primary immune response.

On a entouré en rouge les sous classe qui peuvent traverser la barrière placentaire. Mais on n'y voit pas grand-chose sur la diapo. C'est plutôt les IgG mais pas les IgM. Pour plus de lisibilité de ces tableaux : voir diapo.

Les isotypes et les sous isotypes ne sont déterminés que par la chaîne lourde.

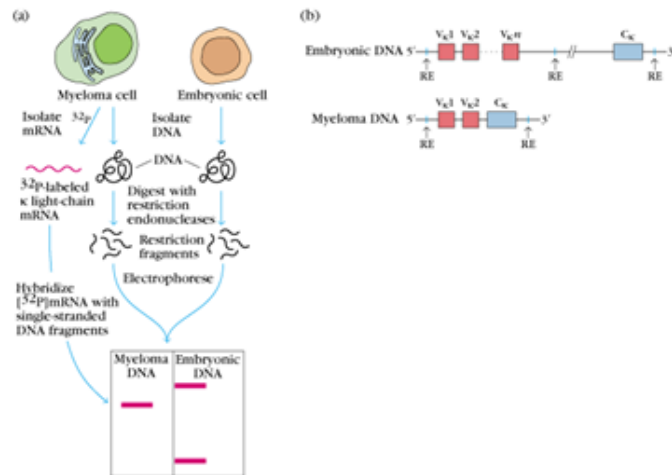
EXPERIENCE DE TONEGAWA : découverte du système de réarrangement

En fait, Tonegawa avait sa découverte 10aine d'année avant qu'il ait eut le prix Nobel. Il a émis et prouvé l'hypothèse qu'en fait (on savait qu'il y avait des régions constantes et variables dans l'immunoglobuline) ces **fractions constantes et variables étaient codées par des gènes distincts au départ.**

Tonegawa : prix Nobel 1987

- Les fractions constantes et variables d'une même protéine (chaîne légère κ d'une immunoglobuline) sont codées par des gènes qui sont initialement distincts

Tonegawa : prix Nobel 1987



Son expérience : Comparer de l'ARNm qui venait d'une cellule de myélome par exemple à celui d'une cellule embryonnaire.

Conclusion : il a montré que quand on hybridait, c'est-à-dire que l'on essayait de fixer une sonde particulière qui était radioactive, au ARN obtenu à partir de la cellule de myélome ou d'une cellule embryonnaire sur une région précise dont on savait qu'elle permettait la synthèse des immunoglobulines, on n'avait pas du tout le même profil entre la cellule embryonnaire et la cellule productrice d'anticorps.

La conclusion du monsieur, c'est qu'il devait y avoir **plusieurs gènes qui intervenaient** et qu'on perdait **beaucoup de matériel en termes d'ARN entre le moment où la cellule n'était pas entrée dans la formation des anticorps et le moment où elle était vraiment capable de les produire.**

Cette expérience est le point de départ de la **démonstration du réarrangement du récepteur à l'antigène.** On n'avait pas idée à l'époque que tout cela se faisait grâce à une **famille de plusieurs gènes qui s'associaient de manière combinatoire.**

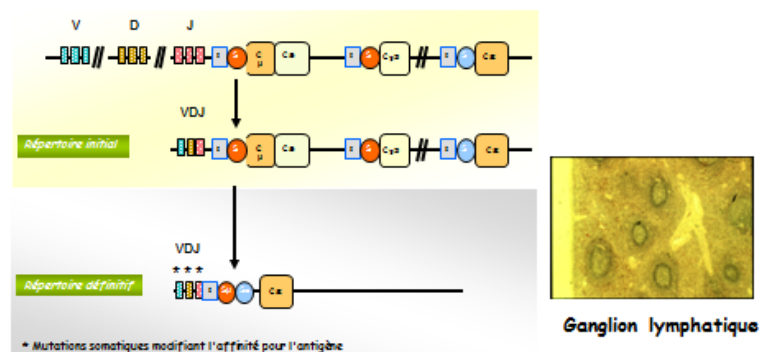
La conséquence a été de **comprendre comment on pouvait générer autant de molécules différentes chez l'individu avec au départ une série de gènes.**

Voilà le système de réarrangement.

On ne va pas pousser sur les réarrangements, mais c'est très important car ça permet de comprendre pourquoi les anticorps ont une allure d'anticorps et pourquoi ils sont efficaces.

Donc c'est exactement la même séquence pour toutes les immunoglobulines. On va avoir le choix entre plusieurs gènes, codant pour une chaîne lourde et une chaîne légère, plusieurs gène d'immunoglobuline B, plusieurs gène de jonction de façon à arriver à la fin à une séquence nucléotidique **d'association de gènes** qui vont donner **naissance a une seule possibilité de sous type d'immunoglobuline** avec une **reconnaissance antigénique particulière** et donc une spécificité

Réarrangement des gènes d'Immunoglobulines



pour un antigène.

L'EXCLUSION ALLELIQUE

L'exclusion allélique, on l'avait abordé l'autre jour pour le récepteur T. Il y a un **parallèle très net entre les deux systèmes**. Il y a une seule chose qui n'est pas la même : dans la génération de la diversité, il y a les **permutations somatiques qu'on ne trouve que pour les immunoglobulines ?**.

L'exclusion allélique est un système qui **procède par étape** jusqu'à ce qu'on arrive à un **système fonctionnel** qui puisse éliminer les antigènes.

Exclusion allélique

- Dès qu'un réarrangement productif de chaîne lourde est obtenu, il bloque les réarrangements de chaîne lourde et enclenche les réarrangements de la chaîne légère κ
- Dès qu'un réarrangement productif de la chaîne κ est obtenu, il bloque les réarrangements de chaîne légère et les chaînes ainsi obtenues s'assemblent
- Dans le cas contraire, on passe au réarrangement de la chaîne légère λ

SEQUENCE DANS LA SECRETION DES IgM et des IgG

Séquence dans la sécrétion des IgM et des IgG

- largement utilisée dans le diagnostic des maladies infectieuses
 - IgM+ IgG- infection aiguë
 - IgM+ IgG+ infection subaiguë
 - IgM- IgG+ infection ancienne

La séquence dans l'acceptation des IgM et des IgG est très importante.

En effet, si on sait très bien comment se passe cette séquence, et que dans des résultats d'examen, on observe une IgM dirigée contre un virus x, on peut dire qu'on est dans le début d'une infection. C'est le début de la réponse immunitaire. On a toujours **en premier la synthèse des IgM** et ensuite grâce à la **communication isotypique** on a **des IgG**, que l'on va retrouver un peu plus tard après le début de l'infection.

Ca permet aussi quand on a **de façon concomitante**, des **IgM**, et **des IgG** dirigés contre un même agent infectieux, de qualifier une **infection de subaiguë**.

Par contre, quand on ne retrouve **plus que des IgG**, et bien on sait qu'on est dans **une infection déjà ancienne**. On est **immunisé contre le virus**, mais ce n'est absolument pas quelque chose qu'on a contracté récemment.

On s'en sert beaucoup pour le diagnostic des hépatites, et notamment pour les donneurs d'organes (on fait un bilan sérologique complet pour les donneurs d'organe).

En fonction du bilan sérologique que j'obtiens, contre le virus de l'hépatite B notamment, je peux dire si je peux prendre au donneur ou s'il y a un haut risque qu'il soit infecté encore pas le virus.

Tous les déterminants et tout ce qu'on a à notre portée est important pour vraiment comprendre et travailler tous les jours. Donc si on ne comprend pas très bien comment ça fonctionne, c'est difficile d'interpréter un examen de laboratoire.

Question : que je n'entends pas :

Réponse : Quand on aura la rencontre avec l'antigène, on a des **anticorps qui vont être sécrétés**, c'est qu'on va **rencontrer dans le sérum**.

Ces anticorps viennent des LB qui portaient l'IgM. Ces LB continuent leur différenciation même après rencontre avec l'antigène.

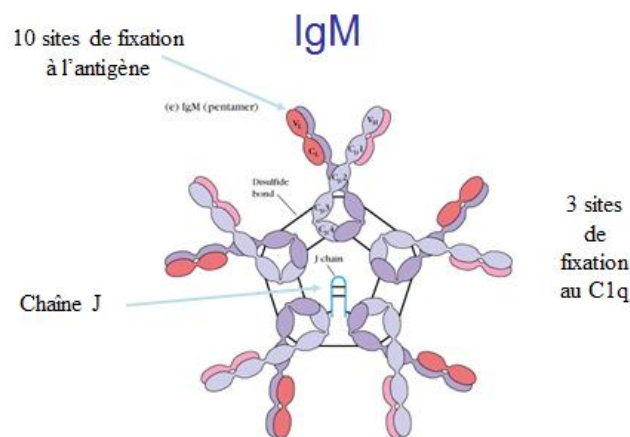
Ils vont rencontrer l'antigène, le reconnaître grâce à leur IgM, et ça leur donne un signal de prolifération, différenciation et de production spécifique des anticorps. Ca peut aussi dans certains cas leur donner un signal de mort et les éliminer.

La réponse c'est ça : on reconnaît les antigènes, et le LB continue sa différenciation après avoir vu l'antigène

LES IgM

Elles vont être associées, assez souvent, **dans le sérum** (IgM sérique), par la chaîne J, **sous forme d'un pentamère**. Elles vont pouvoir ainsi **fixer des protéines du complément**. C'est tout à fait **typique de l'IgM**. Le fait qu'elle se mette sous cette conformation fait qu'on a **10 sites de fixation à l'antigène** et que ça **augmente beaucoup leur affinité pour l'antigène**. Effectivement, si on a une seule molécule toute seule, elle aura une affinité moindre par rapport à la molécule qui est polymérisée.

La forme sécrétée est **pentamérique**.



Question : ?

Réponse : La molécule ne reconnaît qu'un type d'antigène.

La forme membranaire est presque toujours **monomérique**.

Elles sont **secrétées en grande partie avant l'hypermutation somatique**. Si on les prend sous forme de **monomère**, leur **affinité est faible**.

Ce sont les **premiers anticorps que l'on trouve sécrétés** au cours d'une réponse immunitaire. Il ne faut pas l'oublier, c'est très important de bien garder en tête cette séquence d'événements.

IgM

- **Forme sécrétée pentamérique** mais forme membranaire monomérique
- Compartiment **vasculaire**
- Les IgM sont **secrétées en grande partie avant l'hypermutation somatique**, leur affinité est relativement faible sauf pour des antigènes multivalents (10 sites de fixation)
- Les IgM sont **secrétées avant les IgG** lors d'une réponse immunitaire : première ligne de défense de l'immunité adaptative

IgM

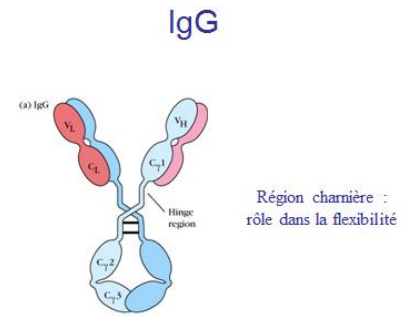
- Les IgM sont **trop grosses pour passer la barrière placentaire**
- L'apparition d'IgM contre un agent infectieux chez le bébé signe une **infection** et non un transfert passif d'anticorps de la mère

Elles ne **passent pas la barrière placentaire**. Cela veut dire que quand on trouve des **IgM chez un enfant**, contre un agent infectieux, on peut être sûr que c'est la **réponse à une infection**, et que ça n'est pas des anticorps qui ont été transférés depuis la mère.

IgG

La molécule d'IgG n'est pas associée.

Leur **région charnière** est particulièrement importante dans la **flexibilité** et il doit y avoir beaucoup de flexibilité.



IgG

- Immunoglobuline majoritaire dans le sérum (70 à 75% des Ig totales)
- Intra- et extravasculaire
- Sécrétées après les IgM
- Selon la sous-classe considérée
 - bonne fixation aux récepteurs Fc γ R (IgG₁ et IgG₃)
 - fixation au C1q (IgG₁ et IgG₃)

Ces IgG sont majoritaires dans le sérum (70-75 % mais il y a une très grande variabilité individuelle).

On les trouve les **régions intra vasculaire**

Elles sont **sécrétées après les IgM**.

Selon la **sous classe qui est considérée**, on voit qu'on va avoir une sorte de **gradation de l'activité**, puisqu'elles vont plus ou moins bien fixer les récepteurs pour leur fragment Fc. Par exemple : les IgG1 et les IgG3 auront une très bonne fixation, une très bonne affinité pour le récepteur et pour la fixation aux molécules du complément.

Donc c'est important aussi, dans certain cas, de connaître la sous classe, le sous isotype d'immunoglobuline auquel on a affaire.

Elles **passent la barrière du placenta** et interviennent dans la **protection** du fœtus et du nouveau né qui pendant une assez grande période va pouvoir bénéficier des anticorps maternels pour être immunisé.

On teste beaucoup d'enfants aujourd'hui issus de mère VIH qui sont séropositives et qui ont un virus VIH qui réplique. Chez un enfant qui va naître, on va trouver des IgG dirigés contre le VIH, mais ça ne veut pas dire qu'il est lui-même infecté. Il sera séropositif sans avoir la présence du virus.

IgG

- **Passent le placenta et interviennent dans la protection du fœtus et du nouveau-né**
- **Un enfant né de mère séropositive pour le VIH sera toujours « séropositif » même s'il n'est pas infecté!**

LES IgA

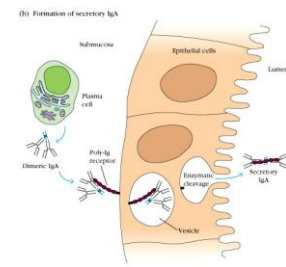
Très intéressantes de par leur localisation. Elles sont présentes dans les sécrétions au niveau digestif, respiratoire, génito-urinaire, le colostrum, les larmes. On les retrouve dans des **endroits** qui sont tout à fait **stratégiques en tant que barrière immunitaire**.

IgA

- **Présente dans le sérum (15% des Ig) mais surtout importante par sa présence dans les sécrétions**
 - digestives
 - respiratoires
 - génito-urinaires
 - colostrum
 - larmes

Sécrétion des molécules d'IgA (c'est pas très lisible donc voir diapo correspondante) :

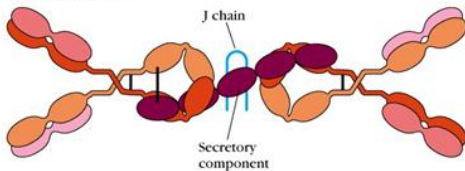
Sécrétion des IgA



IgA

- la forme sérique est monomérique
- la forme sécrétée est polymérique
 - 2 IgA
 - chaîne J
 - pièce sécrétoire

(a) Structure of secretory IgA



Au plan sérique, elles sont monomériques : quand elles sont sécrétées dans le sérum, ce sont des IgA qui vont être produites et qui iront directement dans le sérum, sous la forme d'une seule chaîne.

Par contre quand elles sont sécrétées dans les muqueuses, elles sont sous forme dimériques, ce qui leur confère la possibilité d'être excrétées des tissus où elles sont produites.

Les IgA on donc un rôle fondamental dans l'immunité muqueuse. De plus en plus on pense qu'il y a vraiment un rôle très important des muqueuses et notamment de la muqueuse digestive dans l'immunité innée ou l'immunité adaptative car on voit les rôles joués par la muqueuse digestive (des zones particulière de la muqueuse digestive) notamment dans l'éducation des lymphocytes B .

IgA

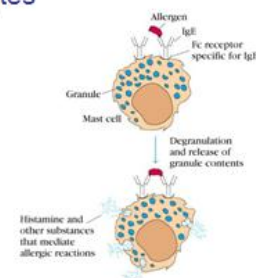
- Rôle fondamental dans l'immunité muqueuse
- Exercent surtout une fonction neutralisante

LES IgE

Les IgE : elles sont très connues des allergiques. Pourquoi ? : quand on a des IgE qui vont se fixer par leur fragment Fc sur un récepteur porté par le mastocyte, ça active un signal qui est celui de dégranulation de ces mastocytes → responsable de la réponse allergique.

IgE

- Phénomène de Prausnitz et Kustner
- Dégranulation des basophiles et des mastocytes



LES FONCTION ANTIMICROBIENNES DES IMMUNOGLOBULINES

Fonctions antimicrobiennes des immunoglobulines

- 1. Neutralisation
- 2. Activation de la voie classique du complément
- 3. Opsonisation

Les fonctions antimicrobiennes des immunoglobulines sont importantes de par

- la neutralisation des agents infectieux,
- l'activation de la voie classique du complément
- et l'opsonisation (= la fixation des anticorps sur l'agent infectieux, qui permet la phagocytose de l'agent infectieux avec la molécule d'immunoglobuline. Ca se fait parce que le fragment Fc aura pu se fixer sur le récepteur qui est présent sur une cellule phagocytaire (c'est une des voies très importantes du rôle de ces immunoglobulines)).

RECEPTEURS POUR FC








Il y a plusieurs sortes de récepteurs pour les fragments Fc, en **fonction du type d'immunoglobuline**.

Ils ne délivrent pas tous (et ça c'est vraiment quelque chose de passionnant !) le **même type de signal à l'intérieur de la cellule** qui les porte :

Par exemple dans la glycolysation des molécules d'immunoglobuline : En fonction de la glycolysation de ces molécules, on n'activera pas tout à fait de la même manière le récepteur Fc et on ne transférera pas le même type de signal par le récepteur pour le fragment Fc.

Pendant très longtemps, on ne croyait pas trop que le récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines pouvait être un paramètre important dans la réponse immunitaire.

Récepteur pour Fc

Receptor	FcγR (CD64)	FcγR-A (CD32)	FcγR-B2 (CD32)	FcγR-B1 (CD32)	FcγR3 (CD16)	FcεR1	FcαRI (CD88)
Structure	 = 72kDa = 25kDa	 = 40kDa = 25kDa	 = 70kDa = 25kDa	 = 70kDa = 25kDa	 = 55-70kDa = 25kDa	 = 40kDa = 25kDa	 = 55-75kDa = 25kDa
Binding	IgG1 10^6 M^{-1}	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgE 10^{10} M^{-1}	IgA1, IgA2 10^7 M^{-1}
Order of affinity	1) IgG1-IgG3 2) IgG4 3) IgG2	1) IgG1 2) IgG3-IgG2* 3) IgG4	1) IgG1-IgG3 2) IgG4 3) IgG2	1) IgG1-IgG3 2) IgG4 3) IgG2	IgG1-IgG3		IgA1-IgA2
Cell type	Macrophages Neutrophils Eosinophils Dendritic cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils Basophils Langerhans' cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils	B cells Mast cells	NK cells Eosinophils Macrophages Neutrophils Mast cells	Mast cells Eosinophils Basophils	Macrophages Neutrophils Eosinophils*
Effect of ligation	Uptake Stimulation Activation of respiratory burst Induction of killing	Uptake Granule release (eosinophils)	Uptake Inhibition of stimulation	No uptake Inhibition of stimulation	Induction of killing (NK cells)	Secretion of granules	Uptake Induction of killing