LA REACTION ANTIGENE-ANTICORPS

Dr Hatem MASMOUDI

I) Introduction

La réaction antigène-anticorps (Ag-Ac) correspond à la combinaison spécifique et réversible des Ac aux Ag qui leur correspondent.

L'étude qualitative et quantitative de la réaction Ag-Ac constitue le fondement de l'immunochimie, discipline d'une grande précision analytique et d'une importance capitale en Immunologie.

L'étude de la réaction Ag-Ac est compliquée par le fait que la plupart des Ag sont des macromolécules et même quand leur structure est connue, il est toujours difficile de déterminer la nature, le nombre et la localisation des différents groupes fonctionnels présents sur chaque molécule. Cette complexité justifie l'utilisation d'haptènes qui présentent des déterminants antigéniques en nombre limité pour l'étude de la réaction Ag-Ac. L'extrapolation à des molécules plus compliquées peut ensuite être tentée.

II) Caractères généraux de la réaction Ag-Ac

1) Exothermie

La réaction Ag-Ac est une réaction exothermique qui libère une énergie de 2 à 40 kcal/mol.

2) Spécificité

La réaction Ag-Ac est une réaction spécifique. Chaque Ac est dirigé contre un déterminant Ag donné ou épitope.

Cette spécificité n'est tout de même pas absolue et doit être nuancée compte tenu de l'existence de réactions croisées.

* *Spécificité d'un Ac :* capacité à discriminer entre des déterminants antigéniques de structures semblables mais différentes.

* *Réaction croisée* : réaction d'un Ac avec un Ag différent de celui ayant servi pour l'immunisation (cf : cours les antigènes).

3) <u>Réversibilité</u>

La réaction Ag-Ac est une réaction réversible :

$$Ag + Ac \quad \overset{\leftarrow}{\rightarrow} \quad Ag\text{-}Ac + \text{chaleur}$$

Le complexe Ag-Ac peut être dissocié par la chaleur, la baisse du pH ou l'augmentation de la force ionique du milieu.

III) Affinité et avidité

***1) <u>Affinité</u>* :** stabilité du complexe Ag-Ac déterminée par l'intensité des forces de liaison.

$$Ag + Ac \quad \underset{k'}{\overset{k}{\rightleftarrows}} \quad Ag\text{ - }Ac$$

k : *constante de vitesse d'association*

k' : *constante de vitesse de dissociation*

Compte tenu de l'identité et de l'indépendance fonctionnelle des sites et d'après la loi d'action des masses, on peut écrire <u>à l'équilibre</u> :

$$(Ag) \,.\, (Ac) \,.\, k = (Ag\text{ - }Ac) \,.\, k'$$

$$\Leftrightarrow \frac{(Ag\text{ - }Ac)}{(Ag) \,.\, (Ac)} = \frac{k}{k'} = K$$

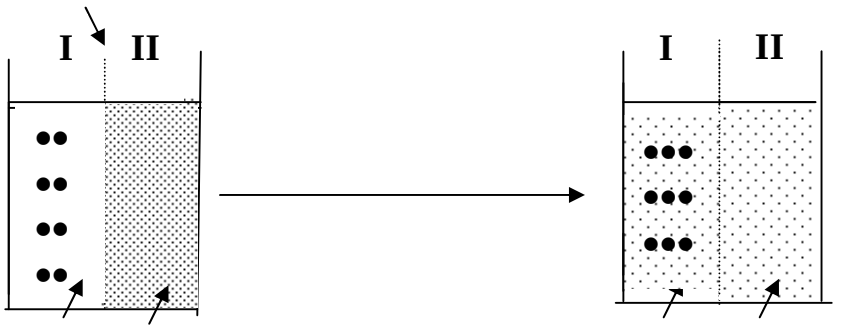
K : *constante d'association intrinsèque de la réaction Ag-Ac*

ou constante d'affinité de l'Ac

<u>Mesure de la constante d'affinité</u> :

Plusieurs techniques peuvent être utilisées notamment la dialyse à l'équilibre :

Membrane de dialyse (ne laisse pas passer que les petites molécules : haptènes…).



Etat initial ***Equilibre***

Les quantités totales d'Ac (compartiment I) et d'haptène (compartiment II) étant connues (état initial), il suffit de mesurer la quantité d'haptène libre (H) dans compartiment II à l'équilibre pour en déduire la quantité d'haptène lié (A-H) et par la même la quantité d'Ac libre (A) puisqu'on connait la quantité totale d'Ac. Ce qui permet de déterminer la constante d'affinité K :

$$K = \frac{(A\text{-}H)}{(A) \,.\, (H)}$$

2) <u>Avidité</u>

L'avidité d'un Ac pour un Ag correspond à la rapidité d'apparition d'une précipitation, d'une agglutination ou de toute autre réaction Ag-Ac observable. Elle dépend de la constante d'association, de la valence de l'Ac et de l'Ag, de la température, du pH et de la force ionique du milieu. C'est une notion expérimentale.

IV) Bases physico-chimiques de la réaction Ag-Ac

Les forces qui unissent les Ac aux Ag ne sont pas fondamentalement différentes des forces régissant les diverses interactions entre protéines (enzymes substrat, hormone-récepteur...). Il s'agit uniquement de forces non covalentes donc relativement faibles et très dépendantes de la complémentarité stérique entre les sites Ac ou paratopes et les déterminants antigéniques ou épitopes.

Les études en cristallographie de complexes Ag-Ac ont remis en cause le modèle de la clé et de la serrure qui était généralement accepté. La combinaison de l'Ac avec l'Ag se fait par le contact intime en plusieurs points de 2 surfaces plus ou moins planes. 4 types de forces intermoléculaires de faible énergie interviennent dans la liaison de l'Ac à l'Ag :

* forces de Van Der Waals : liées au mouvement des électrons dans les molécules qui entrainent la formation de champs électriques instantanés.

***** forces électrostatiques ou ioniques : liées à l'attraction qui s'exerce entre 2 groupements ioniques de charges opposées (ex : $NH3^+$ et COO^-)

* liaisons hydrogène : entre atomes électropositifs (H) et atomes électronégatifs (ex : O, N) ; ↑ quand θ°C ↓

* liaisons hydrophobes : interactions stabilisantes entre groupements non polaires dans l'eau ; ↑ quand θ°C ↑

V) Paramètres de la réaction Ag-Ac

La réaction Ag-Ac dépend de ces paramètres :

1) <u>Valence et structure physique et chimique de l'Ag</u>

La plupart des Ag sont multivalents c-à-d qu'une molécule d'Ag peut fixer plusieurs molécules d'Ac ; 1 molécule d'Ag comprend généralement plusieurs épitopes.

La structure physique de l'Ag détermine les caractéristiques de la réaction Ag-Ac :

- Ag libre en solution : Ag + Ac → complexes immuns solubles et/ou insolubles selon la valence de l'Ag, des Ac, les concentrations respectives des Ag et des Ac ; si complexes insolubles → précipitation
- Ag insoluble : fixé sur des hématies → hémagglutination

  fixé sur des particules de latex ou autres → agglutination
- Ag constitutif de cils, de flagelles ou de pili à la surface de cellules ou de microorganismes → immobilisation de ces μorganismes et leur rassemblement en amas visibles à l'œil nu.

2) <u>Multiplicité et hétérogéniété structurale et fonctionnelle des Ac</u>

La réponse immunitaire humorale à l'Ag donne naissance, sauf rares exceptions, à une multiplicité d'Ac différents → intérêt de l'utilisation d'Ac monoclonaux.

3) <u>Etat physique du système réactionnel</u> : la réaction Ag-Ac peut se dérouler :

- en phase homogène : milieu liquide ou gélifié ; le contenant (tube, micropuits…) n'intervient pas dans la réaction Ag-Ac
- en phase hétérogène : milieu liquide et solide ; l'Ag ou l'Ac est absorbé sur une phase solide (tube, micropuits, billes…), nécessité de lavages répétées après chaque étape.

Références

1- Immunobiologie. Charles A. *Janeway, Kenneth Murphy, Paul Travers, Marc Walport,. 3ème édition française, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre L. Masson.* De Boeck, 2009.

2- Fondements de l'Immunologie. Peter J. *Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M. Roitt, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre Masson*. De Boeck, 2008.

3- Atlas de Poche d'Immunologie. *G. Burmester, A. Pezzutto*. Traduction française par P. V. Endert, 2ème édition. Médecine-Sciences Flammarion, 2005.

4- Immunologie. Collection de la biologie à la clinique. Jean François Bach et L. Chatenoud, 4ème édition. Flammarion Médecine Sciences, 2005.

5- Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. *Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman*. Traduction de la 2ème édition anglaise. Elsevier, 2005.

6- Immunologie. Aide-mémoire illustré. David Male. Traduction de la 4ème édition anglaise par *Paul Fonteneau*. De Boeck, 2002.

7- Immunologie. Jean Pierre *Revillard avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM).* De Boeck, 2001.

8- Immunologie. Le cours de Janis Kuby. Avec questions de révision. *Richard*

A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne. Traduction de la 4ème édition anglaise par Serge Weinman. Dunod, 2001.

9- Immunologie Fondamentale. *Hatem Masmoudi et Amel Ben Ammar El-Gaaied.* Centre de Publication Universitaire, Tunis. 2000.

10- Immunologie. *I.M Roitt, J. Brostoff, D.K Male*. De Boek Université, 1994.

10- Immunologie clinique. J*. Brostoff, G.K Scadding, D. Male, I.M Roitt*. De Boek Université, 1993.

11- Les cytokines. *Jean Marc Cavaillon*. Masson, 1996.

12- HLA, Fonctions immunitaires et applications médicales. *Jacques Colombani*. John Libbey Eurotext, 1993.

13- Traité d'Immunologie. *Jean François Bach*. Flammarion Médecine Sciences, 1993.

14- Cours annuel de la Société Française d'Immunologie (SFI) 1991-1996, 2003.

15- Immunologie clinique ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990.

16- Immunologie générale ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990.

17- Méthodes en Immunologie. ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990

18- Cours d'Immunologie générale de l'Institut Pasteur de Paris. 1989, 1993.

19- Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur de Paris. 1988, 1992.