

La réaction antigène / anticorps

I La liaison antigène-anticorps

A. Molécules

1) Les antigènes

Ces molécules, normalement étrangères à l'organisme, portent des épitopes de structure particulière et de petite taille. Ils sont reconnus par les sites de liaison des anticorps. Il peut avoir différentes valences (= nombre d'épitopes).

2) Les anticorps

Ce sont des glycoprotéines qui ont une structure de base en forme de Y, dont les paratopes, spécifiques d'un antigène, sont variables d'un anticorps à l'autre. Ils sont formés des régions CDR (1, 2 et 3) des chaînes lourdes et légères. La partie constante comporte des fonctions effectrices. Ils ont des valences différentes.

B. Forces attractives intramoléculaires

Ce sont toujours des liaisons non-covalentes qui lient les paratopes et les épitopes. Ces liaisons, d'énergie faible mais en grand nombre, permettent une liaison facile et stable entre l'antigène et l'anticorps.

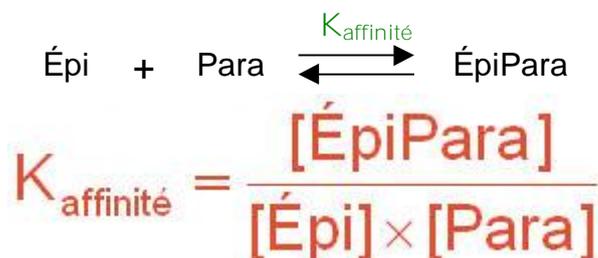
Les liaisons permettant la formation du complexe sont des liaisons hydrogènes, électrostatiques, de Van der Waals et *hydrophobes*. Ces dernières sont souvent abondantes entre le paratope et l'épitope, elles peuvent former jusqu'à 50 % de l'énergie totale de liaison.

C. Complémentarité des formes

Afin que se forment ces liaisons, l'épitope et le paratope doivent avoir une bonne complémentarité stérique pour que le maximum d'atomes soient en contact.

D. Notion d'affinité

L'affinité est définie comme la somme des forces de liaison et de répulsion entre un épitope et un paratope.



E. Notion d'avidité (ou affinité fonctionnelle)

L'affinité est une valeur théorique car, en réalité, il y n'a jamais d'anticorps libre, ni d'antigène libre. On utilise alors l'avidité qui est la force avec laquelle un anticorps multivalent lie un antigène multivalent. L'avidité est donc largement

supérieure à la somme des affinités. On observe ainsi que l'avidité augmente très fortement avec la valence de l'anticorps.

L'avidité conditionne la rapidité de la formation du complexe antigène / anticorps. Elle dépend de l'affinité des paratopes, mais aussi de la valence de l'antigène et de l'anticorps et des conditions du milieu (température, pH et force ionique).

F. Spécificité des anticorps

Un anticorps ne peut se lier qu'à un épitope particulier. Voici quelques expériences :

<i>Antigènes introduits</i>	<i>Anticorps sécrétés</i>	<i>Système sérologique</i>
1 antigène à 1 épitope	1 anticorps	Simple
3 antigènes à 1 épitope chacun	3 anticorps	Simple
1 antigène à 3 mêmes épitopes	1 anticorps	Multiple
1 antigène à 3 épitopes différents	3 anticorps	Multiple

Un système sérologique est simple si le nombre d'anticorps correspond au nombre d'épitopes, sinon il est multiple.

II L'immunoprécipitation

A. Précipitation en milieu liquide

1) Test de l'anneau (*ring test*)

C'est un test qualitatif. On introduit dans un tube des antigènes et des anticorps et on laisse reposer. Ils vont lentement diffuser dans le milieu, créant des gradients de concentration. Lorsqu'ils sont à l'équivalence, c'est-à-dire qu'il y a autant de paratope que d'épitopes, ils forment des complexes et précipitent.

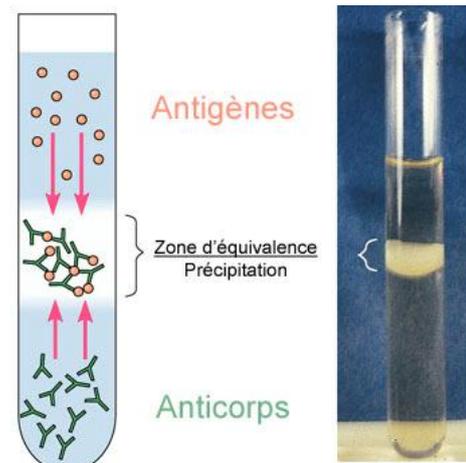
I Théorie du réseau :

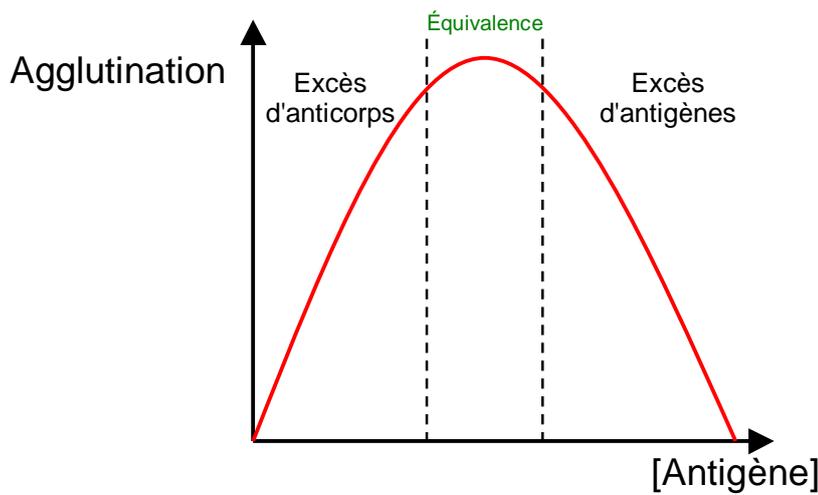
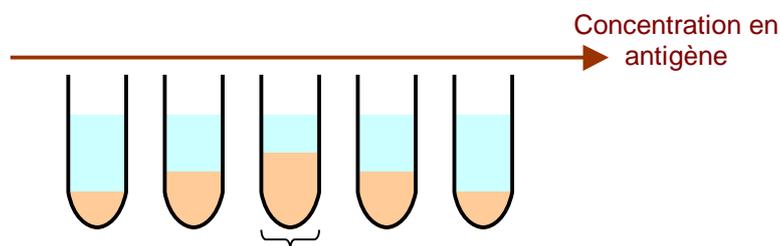
Si et seulement si les antigènes et les anticorps sont à l'équivalence, alors et seulement alors ils précipitent.

2) Technique de Heidelberg et Hendl

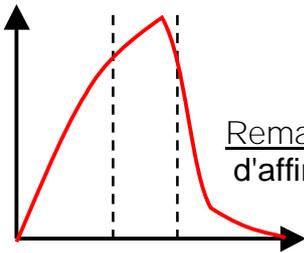
C'est une vieille technique, mais qui démontre bien l'équivalence. On verse dans plusieurs tubes une quantité constante d'anticorps, et une quantité croissante d'antigènes. On centrifuge les tubes, et on compare la quantité de précipité en fonction de la concentration.

Ainsi, lorsque l'on ajoute des antigènes dans les premiers, l'agglutination augmente tandis que c'est lorsqu'on ajoute des anticorps que l'agglutination augmente dans les derniers tubes. Par contre en ajoutant des anticorps ou des antigènes dans les tubes à l'équivalence, on n'observe aucun changement.





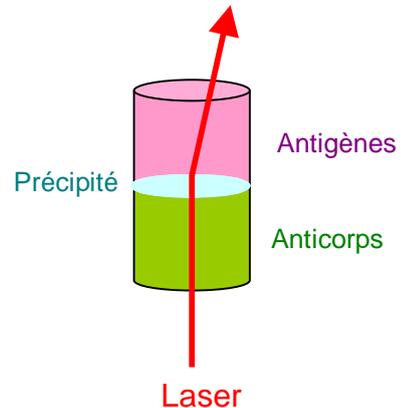
Chez le cheval



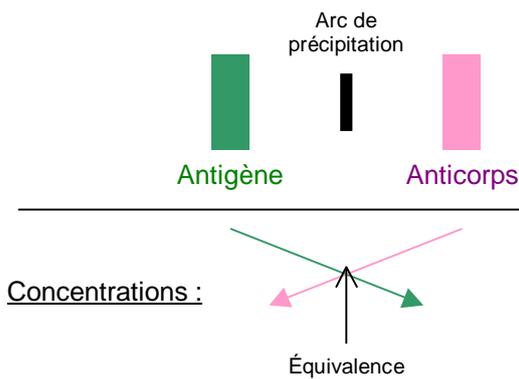
Remarque : la courbe est différente chez le cheval car ses anticorps ont plus d'affinité avec l'eau.

3) Expérience d'immunonephelométrie

La déviation de la lumière dans un précipité dépend de sa concentration. On peut alors doser les antigènes ou les anticorps.



B. Précipitation en milieu gélifié



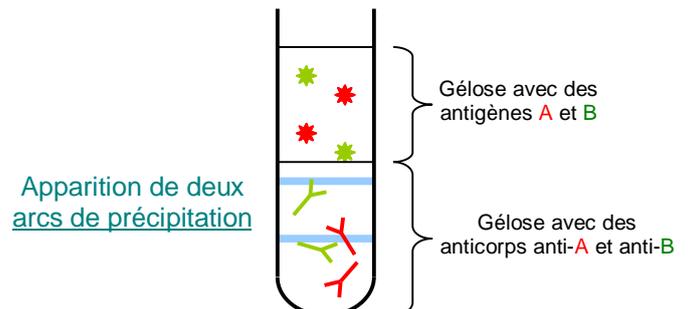
La gélose est composée d'1% d'agar, et de 99% d'eau. Les molécules peuvent donc diffuser dans toutes les directions.

Ce faisant, il se forme un gradient de concentration. On observe un arc de précipitation à l'endroit où il y a l'équivalence.

Remarque : il y a autant d'arcs de précipitation que de groupes d'antigènes / anticorps.

1) Méthode d'Oudin

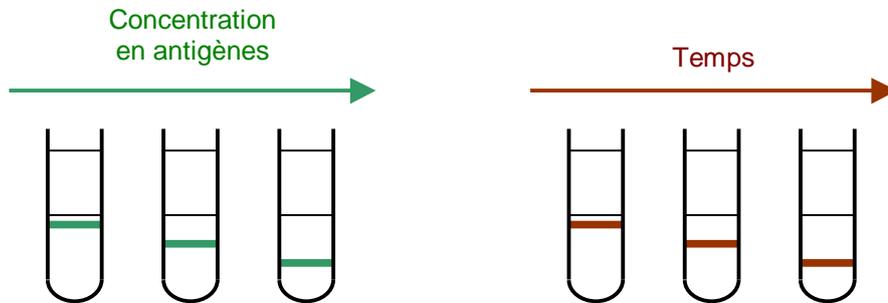
On met en contact dans un tube deux géloses contenant chacune des antigènes et des anticorps. Les molécules vont diffuser et former un arc de précipitation à l'équivalence.



La position des arcs de précipitation dépend des antigènes et des anticorps concernés. En effet, les molécules diffusent en fonction de leur taille et de leur structure.

La position varie aussi avec la concentration. Plus l'antigène est concentré, plus il devra diffuser avant d'atteindre l'équivalence.

De plus au cours du temps, l'arc de précipitation va descendre jusqu'à une certaine hauteur pour rester à une densité qui lui correspond.



2) Technique d'Ouchterlony

Cette technique permet de comparer les épitopes portés par différents antigènes. C'est une méthode qualitative.

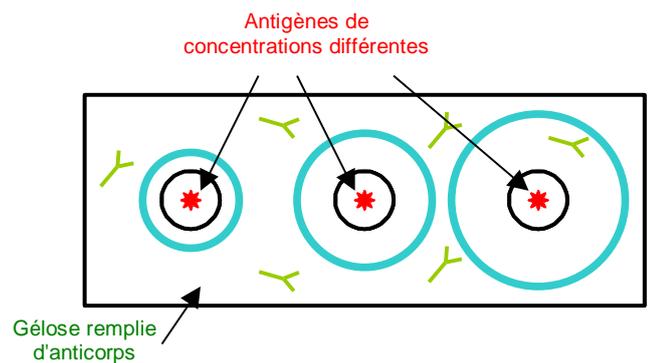
On fait des puits dans la gélose que l'on remplit de différents antigènes et anticorps. On observe alors des arcs de précipitation qui sont différents en fonction des antigènes et des anticorps présents.



3) Technique de Mancini

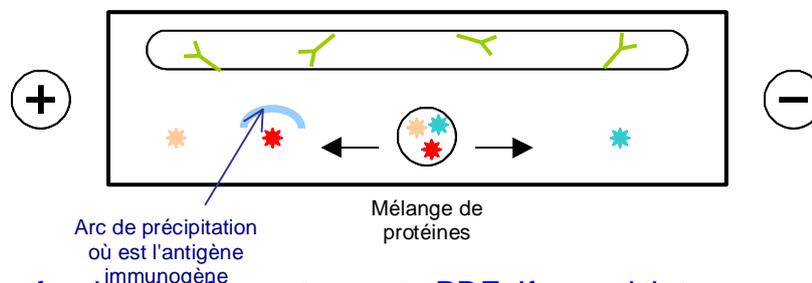
On remplit des puits avec un antigène de concentrations différentes, dans une gélose remplie d'anticorps contre cet antigène.

On observe des cercles de précipitation dont le diamètre est proportionnel à la concentration d'antigène. On peut alors doser l'antigène.



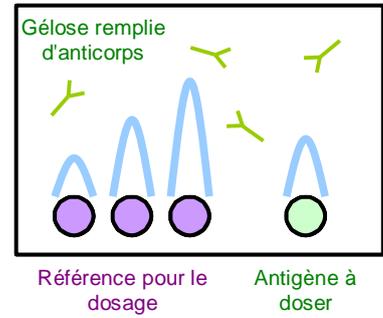
4) Immunoélectrophorèse

Cette technique permet d'analyser des mélanges complexes d'antigène. On effectue une électrophorèse de ce mélange afin de séparer les antigènes. On peut ainsi analyser jusqu'à une trentaine de protéines.





I Électrophorèse en fusée (méthode de Laurell)
 L'électrophorèse en fusée permet de doser l'antigène.
 Cette technique est beaucoup plus sensible que celle de Mancini. La *taille des arcs de précipitation est proportionnelle à la concentration de l'antigène*.



I Électrophorèse bidimensionnelle
 En effectuant deux électrophorèses successives perpendiculaires, on peut séparer les antigènes qui diffusent ensemble. Le dosage n'est malheureusement plus possible.

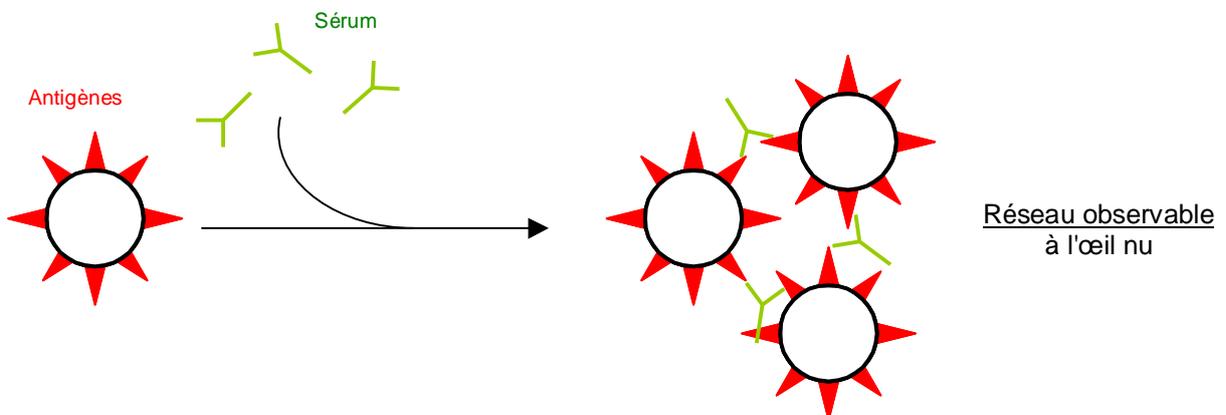
III L'immunoagglutination

A. Principe

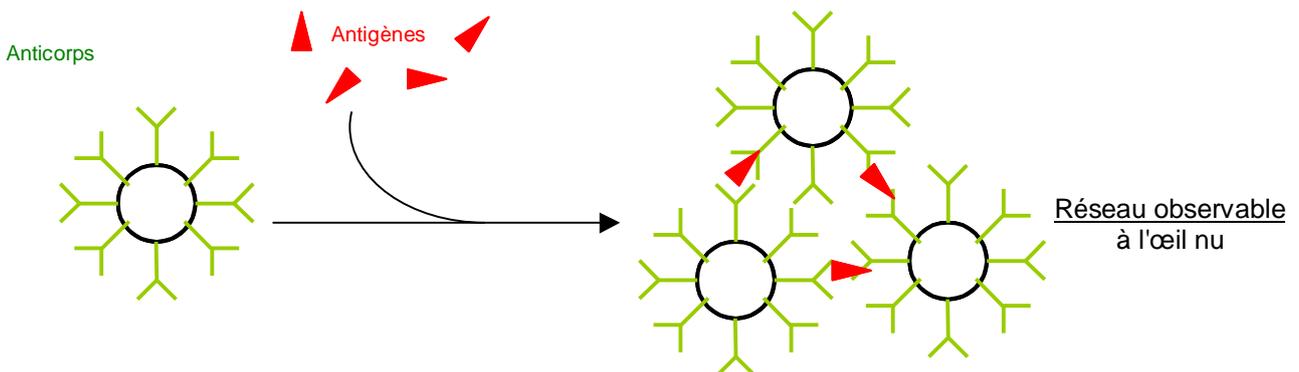
Lors de l'agglutination, les anticorps et les antigènes s'associent de manière à former un réseau. S'il y a *beaucoup d'antigènes et d'anticorps*, on observe le précipité à l'œil nu, c'est l'agglutination directe. Mais si la *quantité d'antigènes et d'anticorps est trop faible*, on peut artificiellement déclencher l'agglutination afin de l'observer ; c'est l'agglutination indirecte.

I Agglutination indirecte

On fixe des antigènes sur des billes de plastique (latex ou polystyrène) voire parfois des cellules. Ces billes étant volumineuses, on observe beaucoup mieux la formation d'un réseau.

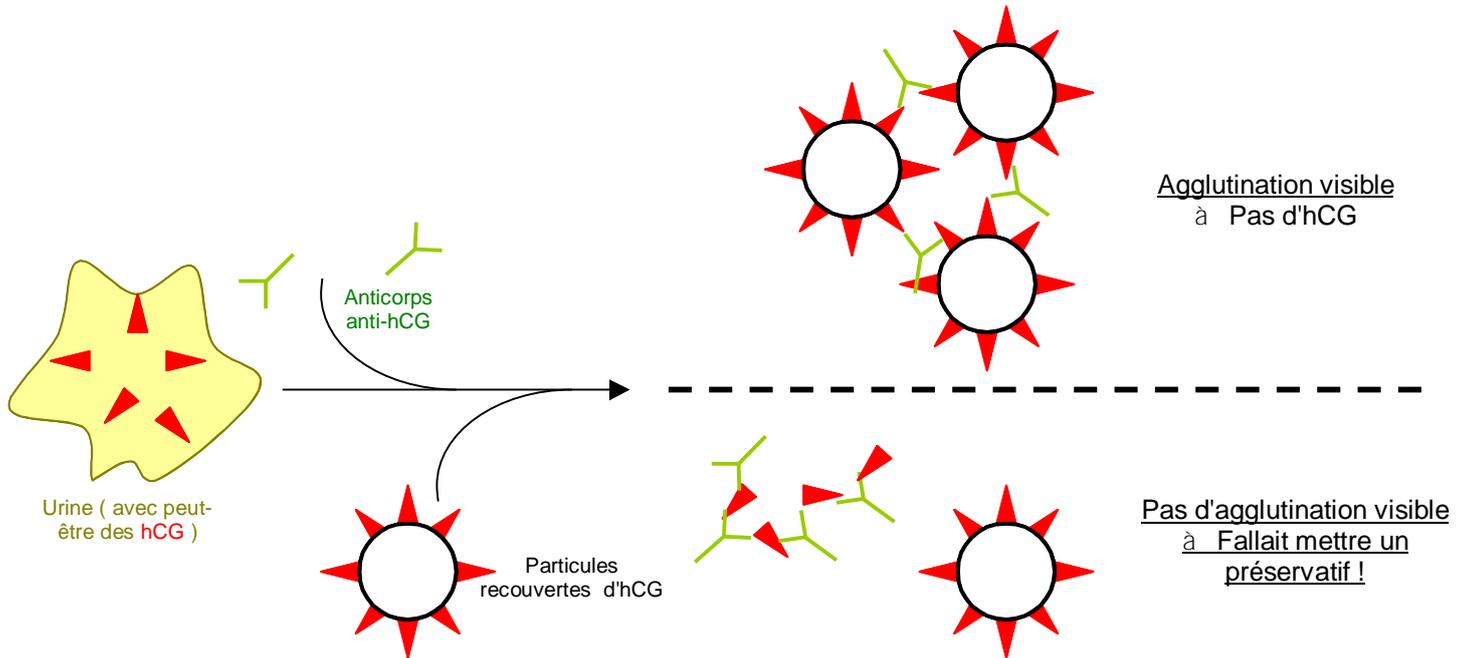


Il est aussi possible de faire l'inverse, c'est-à-dire d'attacher des anticorps sur des billes afin de tester quels sont les antigènes compatibles avec certains anticorps.
 Exemples d'application :



| Test de grossesse

Après la fécondation, le corps de la femme se met à fabriquer l'hormone hCG. Ainsi en détectant cette hormone, on détecte une grossesse.



| Test virologique

