

***URL source du document***

[//pst.chez-alice.fr](#)

***Document***

# Immunologie: organes, cellules et molécules (TP-TD)

Dans cette page:

- [TP - le système immunitaire: des cellules et des organes](#)
- [TD - les cellules et les molécules du système immunitaire](#): marqueurs membranaires, cytokines, [techniques immunologiques](#), [RAI](#)

---

## TP - Le système immunitaire: des cellules et des organes

Petite mise au point sur ce que l'on sait des organes et cellules immunitaires (Bordas pp 102-105, et TP sur les cellules immunitaires) ; on commencera par les cellules car elles sont bien plus accessibles à l'observation par prélèvement des liquides internes chez l'homme que les organes qui nécessitent des observations anatomiques:

**Les cellules immunitaires**, parmi les **cellules sanguines**  
(ce tableau, incomplet, vous permet de situer les cellules étudiées en TP, il n'est bien évidemment pas à mémoriser)

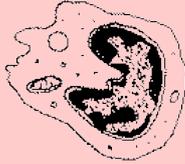
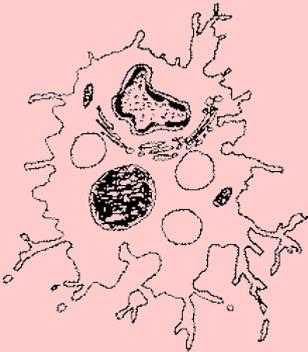
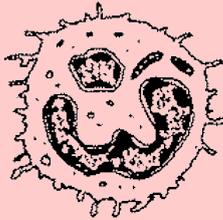
(RNC = rapport nucléocytoplasmique, qui est un indice de différenciation: une cellule a un RNC d'autant plus élevé qu'elle est peu différenciée)

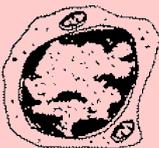
Si certaines cellules comme des cellules épithéliales ou folliculaires des organes lymphoïdes périphériques (comme les ganglions lymphatiques) participent aux réactions immunitaires, on peut tout de même affirmer que **toutes les cellules immunitaires se forment dans la moelle rouge des os longs** (on dit qu'elles ont une origine hématopoïétique, l'hématopoïèse étant le processus de formation des cellules sanguines dans la moelle) à partir d'une seule lignée de cellules dites cellules souches. L'hématopoïèse est estimée à environ 100 milliards de globules rouges par jour par exemple.

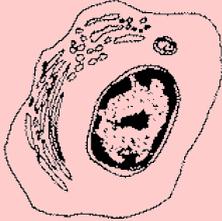
**cellules souches**

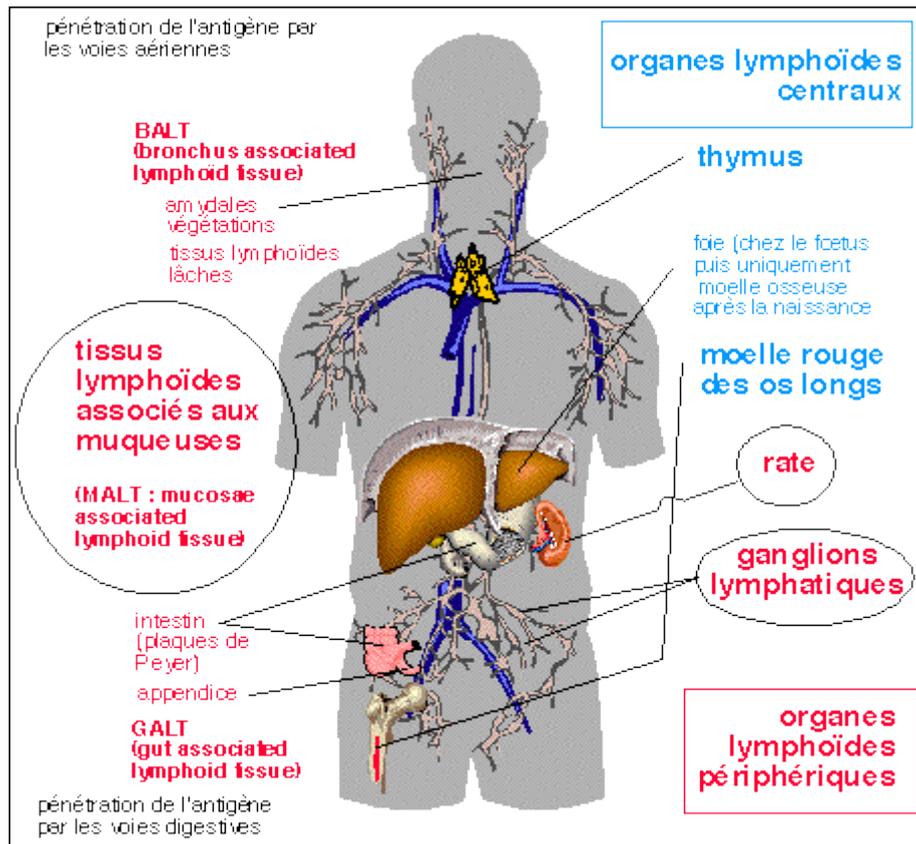


5  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ , RNC élevé, localisées dans le foie pendant la vie fœtale, elles colonisent ensuite la moelle osseuse où elles se divisent activement, ce sont des cellules peu différenciées (pluripotentes : elles ont plusieurs destinées possibles)

			mais toutes inscrites dans la lignée hématopoïétique)	
<i>quelques étapes de maturation</i>		<i>cellule différenciée</i>	<i>ultra structure très simplifiée et caractéristiques cytologiques</i>	
lignée myéloïde	érythroblaste	<b>érythrocyte</b> (globule rouge = hématie)	7 µm de Ø, pas de noyau (chez les oiseaux et les mammifères), biconcave, durée de vie environ 120 jours (phagocyté)	
	mégacaryoblaste	plaquettes (thrombocyte)	fragment cytoplasmiques anucléés	
		<b>Monocyte</b> (circulant)  (fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b> )		10 à 14 µm de Ø, RNC moyen, doué de diapédèse, circule dans le sang
	monoblaste	<b>Macrophage</b> (tissulaire)		Ø >> 20 µm, RNC très faible, très spécialisé (phagocytose) avec de nombreuses vacuoles de phagocytose (phagosomes) des lysosomes, des pseudopodes et un Golgi développé
	cellule souche myéloïde	<u>Remarque:</u> les multiples formes tissulaires des cellules de la lignée monocyte/macrophage forment le <b>système réticulo-histiocytaire</b> (anciennement réticulo-endothélial) comprenant : les cellules dendritiques (du thymus par exemple), les cellules de Langerhans (de l'épiderme), les cellules interdigitées du cortex des ganglions lymphatiques)...		
myéloblaste	<b>granulocyte (=polynucléaire) neutrophile</b>  (fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b> )		10 à 12 µm de Ø, 45 à 70% des leucocytes (3 à 6000 cellules/µL), doués de diapédèse et de pouvoir de phagocytose (lysosomes), très mobiles ce sont les principaux phagocytes intervenant dans la réponse	

			immunitaire non spécifique, leur demi-vie est de l'ordre de 4 à 10 heures une fois qu'ils ont quitté la moelle osseuse, sous l'action de substances chimiotactiques, ils quittent le sang et se rendent sur les lieux de l'inflammation, RNC assez élevé
	cellule souche myéloïde	<p><b>granulocyte (=polynucléaire) éosinophile</b></p> <p>(fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b> mais peut aussi être tissulaire)</p>	10 à 12 $\mu\text{m}$ de $\emptyset$ , 1 à 3% des leucocytes, doués de diapédèse, contiennent de nombreux lysosomes, interviennent essentiellement dans la réponse contre les parasites par leurs propriétés cytotoxiques
		<p><b>granulocyte (=polynucléaire) basophile</b></p> <p>(fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b>)</p>	8 à 10 $\mu\text{m}$ de $\emptyset$ , moins de 0,5% des leucocytes, noyau rond, doués de diapédèse, possèdent de grosses granulations pouvant libérer de l'histamine (voir inflammation), jouent un rôle dans l'allergie
		<b>mastocyte</b>	8 à 10 $\mu\text{m}$ de $\emptyset$ , localisés dans les tissus (tissu conjonctif et muqueuses)
lignée lymphoïde	<p><b>lymphocyte T ou cellule T ou thymocyte</b></p> <p>(fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b> au sens large)</p>		<p>7 à 8 <math>\mu\text{m}</math> de <math>\emptyset</math>, 15 à 35% des leucocytes, doués de diapédèse, RNC élevé (peut se diviser activement), responsables de <u>l'immunité à médiation cellulaire</u></p> <p><u>Remarque:</u> Au repos (phase Go du</p>

			<p>cycle cellulaire) le noyau présente une chromatine dense et le cytoplasme réduit à une mince couche péri nucléaire ne contient que très peu de lysosomes et de mitochondries</p> <p>Lorsqu'ils sont activés les lymphocytes ( stade <b>lymphoblastes</b>) entrent en phase G1 du cycle cellulaire, la chromatine se décondense et la réplication de l'ADN a lieu (phase S), le volume du cytoplasme augmente. Ces lymphoblastes peuvent se diviser ou retourner à l'état de repos des petits lymphocytes.</p>
		<p><b>lymphocyte B ou cellule B</b></p> <p>(fait partie des globules blancs: <b>leucocytes</b>)</p>	 <p>7 à 8 µm de Ø, 5 à 15% des leucocytes, doués de diapédèse, RNC élevé (peut se diviser activement)</p>
	pro lymphocyte B	<p><b>Plasmocyte</b></p>	 <p>issu de la différenciation des lymphocytes B, Ø &gt; 20µm, RNC faible (cellule différenciée, spécialisée : REG et Golgi hyperdéveloppés), cellule sécrétrice d'Ig (immunoglobulines) ou Ac (anticorps), responsables de <u>l'immunité à médiation humorale</u></p>
cellule souche	<p><b>cellules nulles</b> (sans les marqueurs des cellules B ou T)</p>		<p><b>cellule tueuse K</b> (killer) ou <b>NK</b> (natural killer)...</p>



### Le système immunitaire

comprend classiquement les organes centraux ou primaires (thymus et **moelle rouge des os longs**) et les organes périphériques ou secondaires (**ganglions lymphatiques, rate et organes lymphoïdes associés aux muqueuses**) mais aussi les appareils circulatoires (sanguin et lymphatique).

Quelques éléments pour justifier ma présentation:

\* le thymus est un organe de jeunesse remplacé majoritairement par de la graisse à 30 ans (voir courbe ci-dessous)

\* la fonction hématopoïétique (formation des cellules sanguines et des cellules immunitaires à partir des mêmes cellules souches) est d'abord localisée dans le foie chez le fœtus puis elle se déplace progressivement vers la moelle osseuse, qui devient le seul lieu de l'hématopoïèse à partir de la naissance;

\* la réponse immunitaire commence au point de pénétration de l'antigène (un antigène est toute molécule ou organisme capable de déterminer une réponse immunitaire de la part de l'organisme) ;

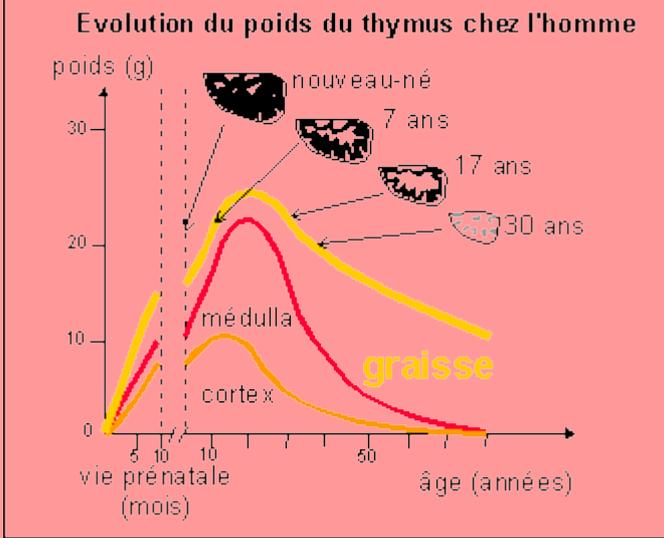
\* l'appareil circulatoire, tant lymphatique que sanguin, est indissociable du système immunitaire ...

Le système immunitaire comprend:

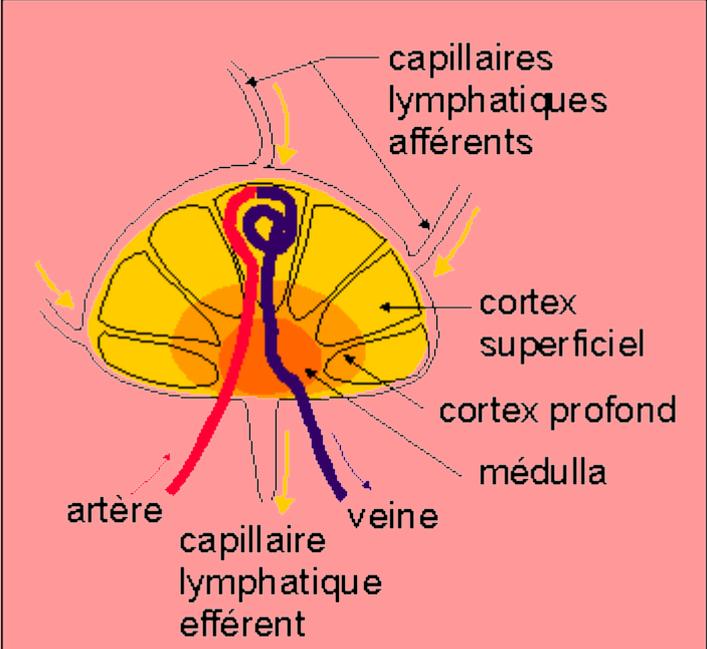
- des **cellules spécifiques** ayant une origine embryonnaire unique (foie, moelle rouge des os...) et
- regroupées dans des **organes à fonction spécifique** (ganglions lymphatiques, rate, thymus...) ou
- **dispersées** (tissus lymphoïdes associés aux muqueuses) aux lieux des points d'entrée des antigènes, et
- dont le caractère **dynamique** est assuré par l'appareil circulatoire (lymphatique et veineux).

### Le système lymphoïde

(ensemble des organes et des tissus produisant, stockant ou intervenant dans la maturation ou les fonctions des cellules immunitaires)

organes lymphoïdes centraux (primaires)	<p><b>thymus</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Evolution du poids du thymus chez l'homme</b></p>  <p>Le thymus est un organe qui semble être avant tout chez l'homme le <b>lieu de maturation des lymphocytes T</b>. Sans détailler la structure du thymus, qui sort du cadre de ce cours, il me semble important de comprendre que le thymus est un <u>organe de jeunesse</u> : il est colonisé par les cellules hématopoïétiques à la 9<sup>ème</sup> semaine de gestation et les premiers lymphocytes T matures sont produits dès la 16<sup>ème</sup> semaine de vie foetale. Après la naissance, il ne cesse de régresser et est remplacé petit à petit par de la graisse chez l'adulte. C'est ce qui explique que les lymphocytes T forment une population âgée chez l'adulte qui, si elle vient à être détruite (comme dans le cas d'un SIDA), ne peut être remplacée.</p> <p>On manque clairement de données sur la durée de vie des lymphocytes T. D'une part il est certain que même les personnes âgées de 80 ans ont encore des LT, d'autre part, on considère que plus de 10 ans est une durée de vie extrêmement longue pour un lymphocyte T. Étant donné la régression du thymus fonctionnel avec l'âge, il y a là un problème important non résolu. Enfin cette observation pose le problème du vieillissement des populations des pays industrialisés, le système immunitaire des personnes âgées devient progressivement déficient, même si les variations individuelles sont très importantes.</p>
	<p><b>foie fœtal et moelle osseuse</b></p>	<p>Chez le fœtus, c'est à partir de la 9<sup>ème</sup> semaine de vie que l'on observe des cellules hématopoïétiques dans le <b>foie</b>. Progressivement, le site de l'hématopoïèse se déplace vers la moelle osseuse des os longs. A la naissance, elle n'est plus localisée que dans la <b>moelle osseuse</b>. C'est le lieu de formation de presque toutes les cellules sanguines (<b>hématopoïèse</b>) à partir de cellules souches. C'est aussi le <b>lieu de différenciation des lymphocytes B</b>, phénomène qui dure toute la vie sans qu'il semble y avoir de régression.</p>

<p>organes lymphoïdes périphériques (secondaires)</p>	<p><b>ganglions lymphatiques</b></p>	<p>Les ganglions lymphatiques sont composés de 3 zones principales :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* un <i>cortex superficiel</i> qui contient de macrophages, des cellules dendritiques folliculaires, quelques LT mais surtout des <b>LB</b> ; il semble être le <b>siège de la multiplication clonale des LB activés</b> qui se différencient soit en petits <b>LB mémoire</b> (et restent dans le cortex superficiel), soit en <b>plasmocytes</b> et migrent vers la médulla et la moelle osseuse.</li> <li>* un <i>cortex profond</i> contenant essentiellement des <b>LT</b> et des <b>cellules interdigitées</b> ; il semble être le siège de la réponse primaire T-dépendante des LB (c'est-à-dire de l'activation des LB par les LT4 activés).</li> <li>* une <i>médulla</i> contenant surtout des <b>macrophages</b> et des <b>plasmocytes</b></li> </ul> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p><u>Question</u> : Pourquoi les ganglions lymphatiques gonflent-ils lors d'une infection ?</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px 0;"> <p><u>Réponse</u> : le flux de lymphocytes traversant un ganglion est très élevé : il est estimé entre 2 et <math>5 \cdot 10^{10}</math> cellules par 24h (le nombre total de lymphocytes estimé étant de <math>10^{10}</math>, chaque lymphocyte passe donc plusieurs fois par jour dans chaque ganglion). Sur 10 lymphocytes entrant dans le ganglion par voie sanguine, 9 en ressortent par voie veineuse sanguine et un seul par le capillaire lymphatique efférent. Lorsque le ganglion est activé, le flux de lymphocytes sortant diminue et le ganglion gonfle. On pense que cette hypertrophie joue un rôle important en favorisant les contacts membranaires entre les cellules interdigitées du ganglion gonflé et les lymphocytes.</p> </div> <p><u>Remarque</u> : il est important de comprendre qu'un ganglion lymphatique est un organe richement <b>irrigué</b> et est un des points essentiels de <b>passage des lymphocytes</b> de la lymphe vers le sang ou des <b>monocytes ou macrophages</b> du sang vers la lymphe (en fait les lymphocytes passent très peu du sang vers la lymphe au niveau de l'appareil circulatoire dans d'autres zones que les ganglions). Voici un schéma simplifié de la structure d'un ganglion lymphatique pour vous aider à comprendre cette idée.</p>
---	--------------------------------------	--

		 <p><b>Schéma simplifié de la structure d'un ganglion lymphatique</b> suggérant son rôle dans le passage des cellules immunitaires entre le sang et la lymphe (la vascularisation d'un seul lobe a été représentée)</p>
	<p><b>rate</b></p>	<p>La rate est un organe situé en dérivation de la circulation sanguine. Elle comprend deux zones : la pulpe rouge, qui est le site de destruction des vieilles hématies et de réserve de nouvelles hématies ; et la pulpe blanche, qui a une structure assez semblable au cortex des ganglions lymphatiques, et qui contient des LB, des LT et des macrophages.</p>
	<p><b>tissus lymphoïdes associés aux muqueuses</b></p>	<p>On les trouve au niveau de l'intestin grêle (plaques de Peyer) mais aussi au niveau des muqueuses aéro-digestives (amygdales et végétations par exemple...). On pense que ce sont les <b>sites d'induction de la réponse immunitaire spécifique aux Ag pénétrant dans le milieu intérieur</b>. Il est logique que les tissus immunitaires soient situés le plus près possible des points de pénétration des antigènes, c'est-à-dire des muqueuses, comme nous venons de la voir dans la partie précédente. Ils comprennent essentiellement des cellules interdigitées (présentatrices d'Ag), des lymphocytes et des macrophages.</p>

**TD Retour sur les cellules et les molécules du système immunitaire**

# Les cellules immunitaires, panorama en guise de résumé

Mise au point - aveu d'incompétence

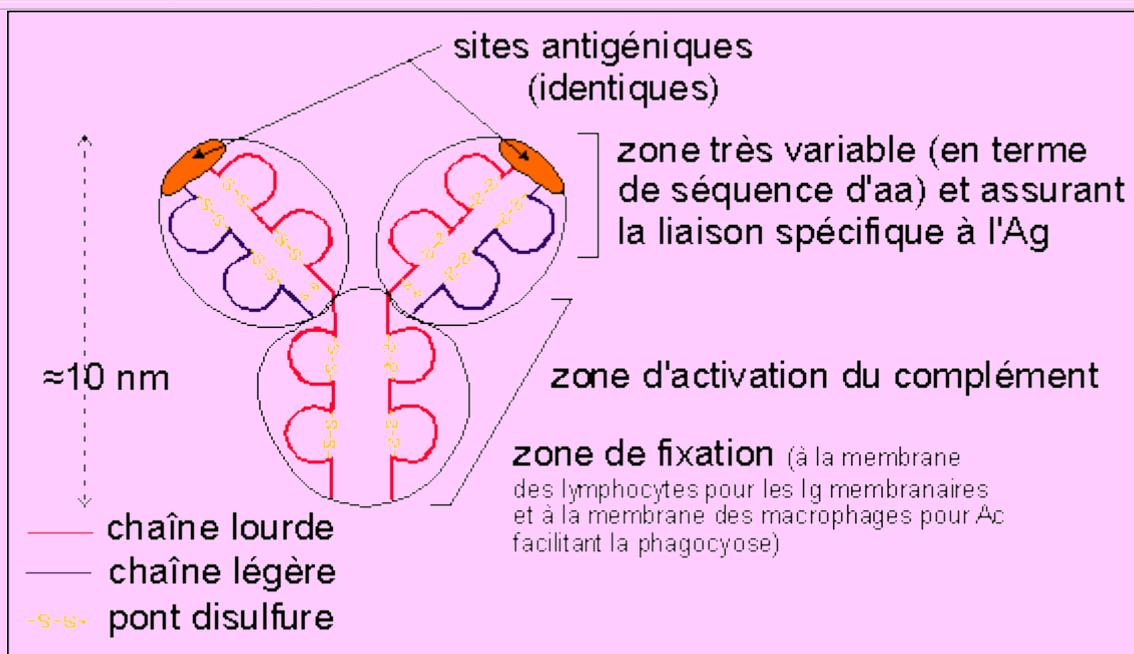
<p><b>caractéristiques cytologiques :</b></p> <p><i>structurales (taille, forme... aspect en microscopie optique) et ultrastructurales (en microscopie électronique : organites...) mais aussi leur coloration spécifique (pour les granulocytes) ; les connaissances semblent assez solides (voir TP)</i></p>	<p><b>caractéristiques fonctionnelles :</b></p> <p><i>origine, lieu de maturation (ou plutôt de <b>différenciation</b> : c'est-à-dire évolution irréversible vers une fonction spécifique) et activation ; les connaissances sont très partielles dans ce domaine</i></p>	<p><b>caractéristiques membranaires :</b></p> <p><i>étant donné l'engouement pour la biologie moléculaire, les marqueurs membranaires connus sont innombrables mais leurs rôles sont rarement connus avec recul, on se limitera donc à un minimum (l'avenir nous dira si nous avons fait les bons choix)</i></p>
<p><b>cellule souche</b></p>	<p>cellules <b>indifférenciées</b>, toutes situées dans la moelle osseuse à partir de la fin de la vie foetale ; elles se divisent activement pendant toute la vie et donnent naissance à (presque) toutes les cellules immunitaires</p>	<p>inutiles à ce niveau d'enseignement</p>
<p><b>granulocyte</b> (basophile, neutrophile, éosinophile)</p>	<p>issus de la moelle osseuse, circulent dans le sang, sont relativement différenciés et ont une durée de vie assez courte : comprise entre quelques jours et quelques mois, rôle essentiel dans la phagocytose pour les <b>neutrophiles</b> essentiellement</p>	<p>inutiles à ce niveau d'enseignement</p>
<p><b>monocyte / macrophage</b></p>	<p><b>monocytes</b> circulants dans le sang et issus de la moelle osseuse, migrent dans les tissus et se différencient sous l'action de facteurs chimiques en <b>macrophages</b>, fortement différenciés (rôle essentiel dans la phagocytose)</p>	<p>molécules du système HLA de classe I et II (voir plus haut)</p> <p><u>Remarque</u> : il n'y a pas de modèle structural (schéma) proposé car, à ma connaissance, la structure spatiale <i>in situ</i> est largement inconnue même si une molécule HLA a été étudiée sous forme cristallisée par diffraction des</p>

		<p>RX. Certaines chaînes glycoprotéiques, fortement globulaires, semblent avoir plusieurs domaines possédant chacun une partie intramembranaire et une partie cytoplasmique, ce qui rend la représentation dans l'espace très difficile... nous attendrons donc des données plus précises avant de donner un modèle.</p>
<p><b>lymphocyte / plasmocyte</b></p>	<p><b>lymphocytes T</b>, issus de la moelle osseuse mais migrant dès la vie foetale dans le thymus qui régresse à partir de la puberté, les lymphocytes T forment une population de cellules âgées, non renouvelées. Au repos (on parle de cellules naïves) ce sont de petites cellules possédant une mince couche de cytoplasme autour d'un volumineux noyau. Activés, leur volume augmente, et on observe une différenciation cytoplasmique avec développement de l'appareil de Golgi. Ils peuvent se différencier (en 30 h environ) en <b>lymphocytes sécréteurs de cytokines</b> (ou helpers ou auxiliaires), ou en <b>lymphocytes cytotoxiques</b> (ou effecteurs) ou retourner à l'état de petit lymphocyte au repos (<b>LT mémoire</b>). L'activation des LT n'est donc pas une différenciation irréversible. <u>Les LT mémoire</u> forment une population de cellules capables de se différencier rapidement (environ 10 h, donc 3 fois plus vite que les cellules naïves), ils</p>	<p>très complexe, on a pris la mauvaise habitude de les scinder uniquement en deux catégories: ceux qui possèdent les marqueurs CD4+ et ceux qui possèdent les marqueurs CD8+ ; et l'on a, encore plus abusivement considéré que les lymphocytes porteurs de marqueurs CD4+ sont LES lymphocytes auxiliaires (helpers), ce qui n'est pas du tout absolu; de même, les lymphocytes T possédant les marqueurs CD8+ ne sont pas tous des lymphocytes cytotoxiques et ils ne sont pas les seuls à le posséder...(certains lymphocytes cytotoxiques portent les marqueurs CD4+ et les lymphocytes sécréteurs de cytokines qualifiés d'auxiliaires</p> <p><b>Actuellement les seuls marqueurs spécifiques de la lignée T sont les récepteurs des lymphocytes T (TCR = T cell receptor) et les complexes moléculaires CD3</b> ( CD = classe de différenciation = cluster of différenciation : cette dénomination fait référence à des types d'Ac (1, 2, 3...) qui reconnaissent spécifiquement des marqueurs membranaires des leucocytes : une molécule CD3 est donc une molécule reconnue par les Ac de type 3 : par abus de langage on parle de marqueur CD ou de CD tout court pour désigner une molécule membranaire ou un complexe moléculaire : par exemple le marqueur gp39 fait partie de la classe 40 L on la nomme CD40L). <b>Nous n'utiliserons que les récepteurs T, ce qui est tout à fait dans la ligne de prudence du programme.</b></p> <p>schéma d'un récepteur T -Bordas</p>

	<p>survivent plus longtemps à l'état différencié et surtout <u>ils semblent capables de présenter plusieurs fonctions en même temps</u>: sécréteurs de cytokines et de perforines. Ils n'auraient pas besoin d'être stimulés de façon permanente par un Ag et formeraient une population de cellules à très longue durée de vie.  <small>(cf. La cellule-mémoire, gardien de l'immunité, Henrique Veiga-Fernandes, La Recherche, 349, janvier 2002, 38-41)</small></p>	<p>peuvent aussi posséder les marqueurs CD8+..., voir par exemple Immunologie de Revillard p 102 et ch 6-2 et 6-3 p 65 et s)</p> <p>Dans l'état actuel de nos connaissances (et surtout des miennes, c'est-à-dire de ce que j'ai pu comprendre sur ces marqueurs), il est peu prudent de qualifier une population cellulaire uniquement par ses marqueurs membranaires. Ce qui est justifiable en recherche, ne l'est pas quand on veut faire une synthèse à destination des élèves du secondaire.</p>	<p>p109 n°3 ou ci-dessous</p>
	<p><b>lymphocytes B</b>, formés dès la vie foetale et pendant toute la vie de la moelle osseuse, ils ont une durée de vie moyenne (quelques mois à quelques années) et se différencient sous l'action de facteurs chimiques et/ou des contacts membranaires en <b>plasmocytes</b>, très différenciés (sécréteurs d'Ac), à durée de vie courte (quelques jours à quelques semaines). Certains lymphocytes B issus de ces divisions restent de petite taille et indifférenciés, on les qualifie de <b>LB mémoire</b>.</p>		<p><b>Pour la lignée B les récepteurs (BCR = B cell receptors) sont des immunoglobulines (Ig) de même nature que les anticorps solubles (Ac)</b>, avec en plus, cependant, une chaîne lourde traversant la membrane et constituée d'une vingtaine d'aa hydrophobes et une très courte région cytoplasmique. Les chaînes de ces Ig pouvant provenir de différents groupes (M, D, G...), on leur adjoint le préfixe "m" on a ainsi des mIgM, mIgD, mIgG...</p> <p>schéma de la structure d'un Ac - Bordas p 106-107 n°2 et 3 ou ci-dessous</p>

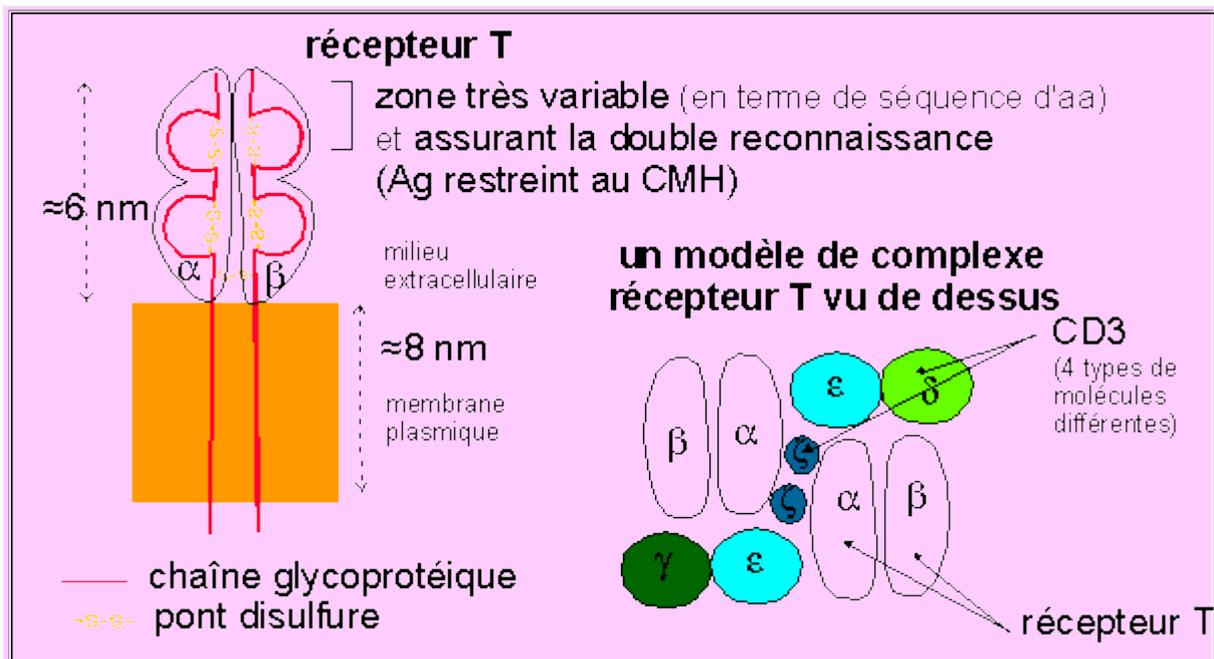
<p>presque toute cellule de l'organisme infectée par un virus ou par un parasite intracellulaire (bactérie ou protiste) mais surtout les cellules épithéliales et endothéliales</p>	<p>cellule jouant le rôle de <b>cellule présentatrice d'antigène</b></p>	<p>molécules du système HLA de classe I (voir plus haut) et Bordas p97 n°4</p> <p><u>Remarque</u> : mais ce modèle n'est pas exact... en effet, certaines chaînes glycoprotéiques, fortement globulaires, semblent avoir plusieurs domaines possédant chacun une partie intramembranaire et une partie cytoplasmique, ce qui rend la représentation dans l'espace très difficile... nous attendrons donc des données plus précises avant de donner un modèle.</p>
---	--	---

### Quelques marqueurs membranaires des cellules immunitaires...



### Un schéma d'une immunoglobuline (Ig) ou anticorps (Ac)

Molécules formées de quatre chaînes de **glycoprotéines** identiques deux à deux et de taille et séquence variable selon le type d'Ig ; elles sont soit synthétisées puis exposés à leur **surface** par les **lymphocytes B** en cours de maturation (mIgM puis mIgM et mIgD) soit **sécrétées** par les **plasmocytes** (IgM sécrétées par les plasmocytes à très courte durée de vie : qui meurent en quelques jours ; IgG et IgA sécrétées par les plasmocytes à plus longue durée de vie : meurent en 2 à 3 semaines).



### Un exemple de récepteurs membranaires des lymphocytes T (rT):

ils forment, avec les molécules CD3, des complexes dépassant de la membrane plasmique et pointant vers le milieu extracellulaire ; les chaînes présentées ( $\alpha$  et  $\beta$ ) ne sont que des exemples (portées par près de 95% de lymphocytes T) et qui sont susceptibles de se lier aux molécules HLA des deux classes présentées plus haut (classe I et II) mais il existe d'autres chaînes... C'est le complexe moléculaire CD3 qui assure la transmission du signal (transduction) lors de la liaison d'un récepteur avec un Ag associé aux molécules HLA.

### Les cytokines

Ce sont des **protéines**, le plus souvent glycosylées ou **glycoprotéines** (possédant des glucides), **sécrétées sous l'action d'un signal activateur** (et non à un certain taux par des cellules toujours actives, même si leur activité est modulée par des paramètres physiologiques, comme le sont les hormones) **par de nombreux types cellulaires** (et non un seul type de cellule endocrine comme pour les hormones) **et qui agissent sur des cellules-cibles pourvues de récepteurs spécifiques** (comme pour les hormones).

Cet ensemble de molécules est très hétérogène et regroupe :

- des interleukines (IL2 par exemple), qui sont des médiateurs entre les leucocytes
- des lymphokines, médiateurs produits par les lymphocytes
- des interférons, substances sécrétées en réponse à une infection virale...
- des facteurs stimulant les colonies (croissance de clones cellulaires)
- des facteurs de nécrose des tumeurs
- des facteurs transformants de croissance
- des facteurs de croissance dérivés des plaquettes
- des facteurs de croissance des fibroblastes (cellules conjonctives) ou des cellules épidermiques....

### Les techniques immunologiques

L'essentiel des techniques repose sur nos connaissances de la **liaison Ag-Ac**. Un Ag possède de très nombreux sites possibles de liaison avec un Ac (**épitopes**) alors que l'Ac ne possède qu'un seul type de site (appelé **paratope**). La liaison entre l'épitope et le

paratope est **réversible** et met en jeu des **forces faibles** (liaison hydrogène, forces électrostatiques et forces de Van der Waals) pour lesquelles la conformation spatiale des éléments associés est essentielle (le degré de liaison est mesuré en terme d'**affinité**). MAIS il est essentiel de bien considérer que l'on a affaire à un système biologique et non uniquement chimique (voir ci-dessous). On sait produire de grande quantité d'Ac reconnaissant un seul épitope par la technique des **anticorps monoclonaux**. On peut aussi utiliser des anticorps **polyclonaux** isolés à partir d'un sérum par exemple (qui contiennent des Ac spécifiques de différents épitopes d'un même Ag ou d'Ag différents).

Les **anticorps monoclonaux** sont obtenus par fusion cellulaire (hybridation somatique) entre un lymphocyte B et une cellule tumorale de la lignée myéloïde (non sécrétante). Il faut savoir que les cellules tumorales (cancéreuses) se caractérisent par une aptitude à se diviser activement, même à l'état différencié. Les cultures de ces cellules hybrides, qui se divisent par mitose (et forment donc un clone : on parle de clonage), permettent de récupérer de grande quantité d'Ac parfaitement homogènes (dirigés vers un seul épitope) : on qualifie ces Ac de monoclonaux.

Les techniques de dosages ou de marquage d'Ag par l'intermédiaire d'Ac sont devenues extrêmement courantes et sont une des grandes avancées technologiques à applications médicales mais aussi biologiques. Je voudrais simplement mettre en garde les élèves contre une vision simpliste de la liaison Ac-Ag et donc de ses applications. Un Ac se lie spécifiquement un Ag par l'intermédiaire des ses sites antigéniques... oui, mais il ne s'agit pas d'une liaison absolue (théorique), c'est une **liaison biologique** : elle s'explique (se décrit, se **modélise**) en termes d'interactions faibles mais est sous la dépendance de nombreux facteurs non maîtrisés ou difficiles à maîtriser, in vitro et a fortiori in vivo : modification de l'affinité par une très légère différence de séquence (le système biologique utilisé dans le cas de production d'Ac monoclonaux n'empêche pas des erreurs de synthèse, au contraire, ne pas oublier qu'il s'agit au départ d'une cellule cancéreuse...), présence de substances inconnues dans le milieu utilisé qui modifient la liaison Ag-Ac... etc. Par exemple dans le cas de la détection d'Ag par des dosages radio immunologiques (RIA = radioimmunoassay) ou immunoenzymatiques (ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay), on utilise souvent plusieurs niveaux de reconnaissance Ac-Ag pour amplifier le signal . Dans la technique par "compétition" on compare les signaux obtenus dans des milieux contenant un Ag purifié couplé soit à un marqueur radioactif ( $^{125}\text{I}$ ) soit à une enzyme. Dans la technique dite "en sandwich", on utilise deux niveaux : un Ac dirigé vers l'Ag recherché + un Ac dirigé contre l'Ac précédent auquel on a fixé (par liaison Ac-Ag) une enzyme qui permet un repérage dans le milieu. Toutes ces techniques doivent être appliquées en présentant à chaque fois les résultats avec les incertitudes et les techniques d'étalonnage des méthodes utilisées.

### **RAI par compétition :**

une technique de dosage radio-immunologique

on cherche à doser par exemple une hormone présente dans le sang de l'homme. Injectée par exemple chez le Lapin cette hormone déclenche parfois une réponse immunitaire et donc la sécrétion d'anticorps (Ac) de Lapin dirigés spécifiquement contre cette hormone. Pour les hormones qui ne déclenchent pas de réponse immunitaire naturellement, on les accroche à une autre substance (antigène) qui, elle, déclenche la production d'Ac. Les Ac récupérés servent à marquer spécifiquement et donc à doser l'hormone dans un échantillon de sérum. Pour doser les Ac on les marque à leur tour par un radio-isotope. Normalement on utilise à la fois des Ac marqués et

non-marqués en proportions connues et croissantes (technique par compétition) afin de tenir compte du fait que la fixation de l'Ac avec l'hormone est un phénomène biologique et donc non absolu. On doit cependant auparavant réaliser une courbe d'étalonnage à partir de sérums contenant des concentrations d'hormone connues... on voit donc combien cette technique est complexe, indirecte et expérimentale (les chiffres obtenus doivent impérativement être donnés avec une incertitude la plus large possible). Un exemple pour inciter à la prudence : cette technique de dosage RAI a été utilisée par exemple pour rechercher l'insuline (une hormone habituelle chez les vertébrés qui intervient dans la régulation de la glycémie, teneur en glucose du sang) : et l'on a en effet trouvé une substance qui fixe les Ac anti-insuline dans des groupes aussi variés que les Insectes, les Annélides, les Mollusques et même certains Protistes... de là a en déduire que l'on a affaire avec certitude à de l'insuline...il y a un pas qui ne peut être franchi !