

CHAPITRE IV :

EXEMPLES D'APPLICATION DE L'INGÉNIERIE PROTÉIQUE

Ingénierie d'une protéine: Insuline

1

En solution aqueuse et à pH physiologique, l'insuline se dimérise spontanément.

En présence de zinc, les molécules forment des hexamères.

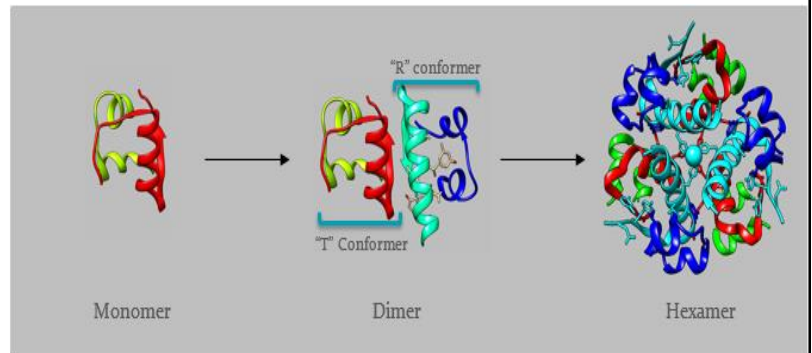


Figure 1 (PDB ID: 4GBC): Monomeric Insulin forms a dimer and then a hexamer, the storage form of insulin. B chains in insulin monomers can exist in "T" and "R" conformations.

mutagenèse dirigée + études structurales par IRM ont mis en évidence les aa impliqués dans cette polymérisation: auto-association des dimères en hexamères,

déterminer les aa impliqués dans la relation au récepteur et dans son activation.

2

- l'insuline native commerciale existe généralement sous forme d'hexamère contenant du zinc en raison d'une concentration très élevée,
- dans le sang, l'insuline biologiquement active est sous forme monomère .
- Par conséquent, ce complexe oligomère devrait se dissocier pour que l'insuline puisse être absorbée à partir du site d'injection dans le sang.
- Pour cette raison, l'insuline recombinante injectée par voie sous-cutanée a généralement un début lent avec une concentration plasmatique maximale après 2 heures d'injection et une durée d'action plus longue, de 6 à 8 heures

3

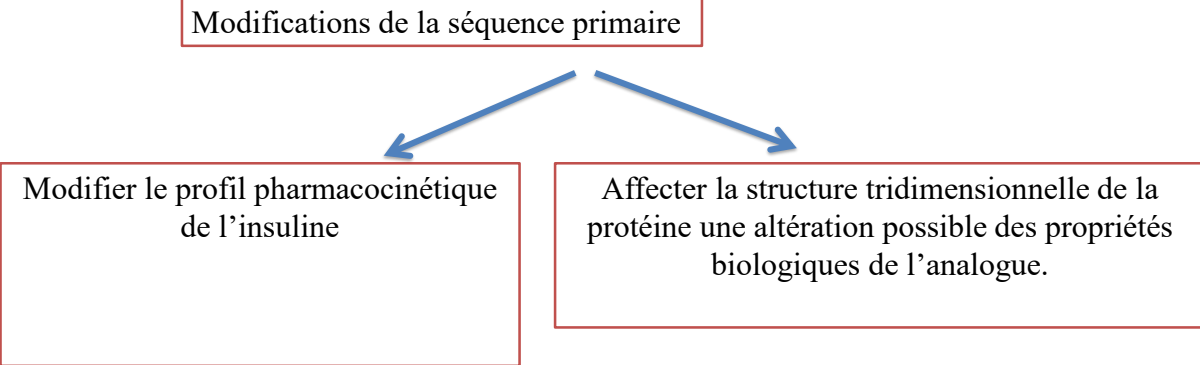
- Par conséquent, afin de développer un analogue d'insuline à action rapide, il était nécessaire de modifier les résidus d'acides aminés dont les chaînes latérales sont impliquées dans la formation de dimères ou d'oligomères.

4

Ingénierie de l'insuline

- La création d'analogues de l'insuline utilise en général des techniques **d'ingénierie des protéines** visant à modifier la séquence en acides aminés

Modifications de la séquence primaire



```
graph TD; A[Modifications de la séquence primaire] --> B[Modifier le profil pharmacocinétique de l'insuline]; A --> C[Affecter la structure tridimensionnelle de la protéine une altération possible des propriétés biologiques de l'analogue.];
```

Modifier le profil pharmacocinétique de l'insuline

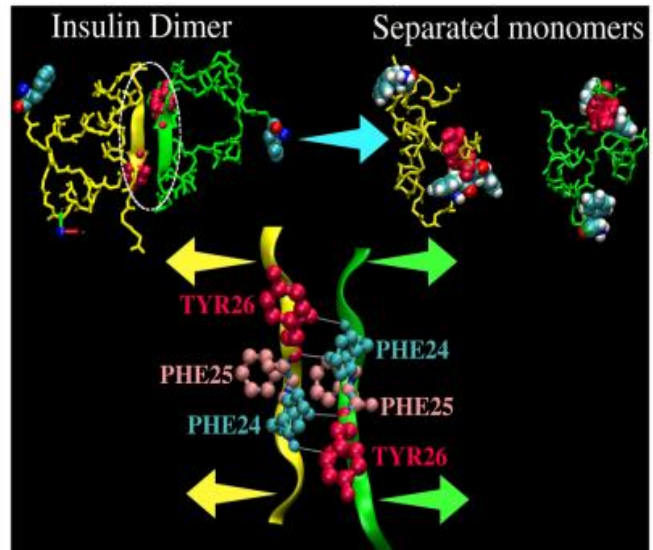
Affecter la structure tridimensionnelle de la protéine une altération possible des propriétés biologiques de l'analogue.

5

il est possible, en modifiant certains acides aminés, de construire un analogue présentant les caractéristiques souhaitées, définies précédemment

6

- Residues of the B chain (PHE-24, PHE-25, and TYR-26) of two monomers are shown. They help in the formation of the antiparallel β sheet by the formation of four hydrogen bonds. Additional stability arises due to hydrophobic interactions



7

Chaîne A

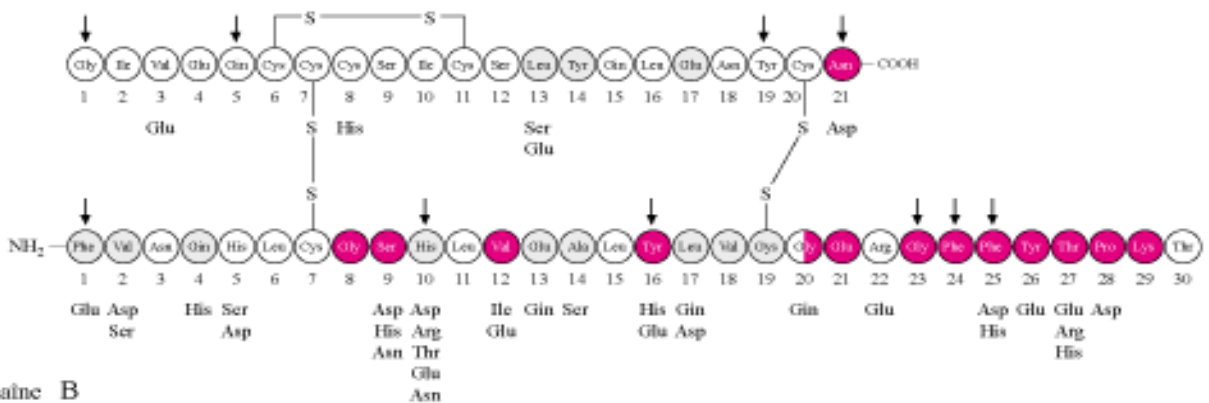


Figure. aa en rouge sont impliqués dans la formation des dimères, les aa en gris sont impliqués en plus dans l'auto-association des dimères en hexamères, les aa indiqués par une flèche sont impliqués dans l'interaction de l'insuline avec son récepteur.

8

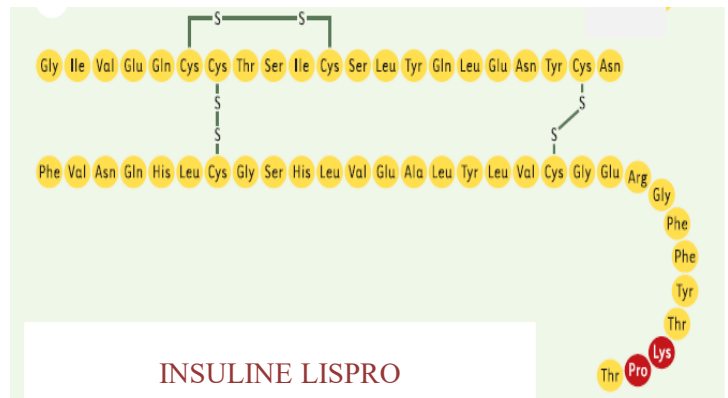
La lispro = Humalog® (Escherichia coli)

Cet analogue est le premier à avoir été commercialisé, en 96.

inversion de la proline en position 28 de la chaîne B par la lysine en position 29

conséquence

Élimination du contact existant entre monomères au niveau des acides aminés B28 et B23, contact important pour la formation de dimères.



9

Cette modification réduit également la force des deux liaisons hydrogènes entre les feuillettes β , qui influence la stabilisation des dimères au sein des hexamères d'insuline.

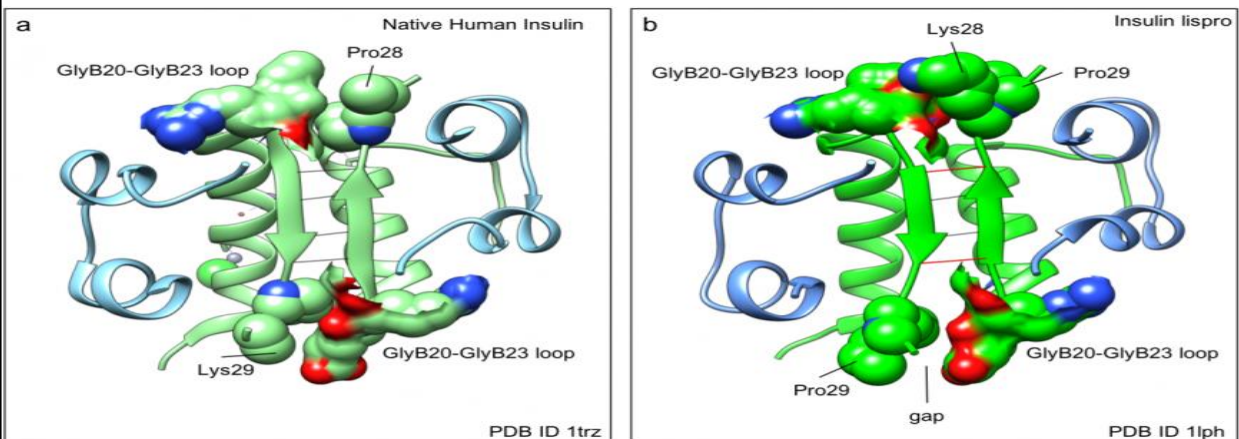


Figure: Interactions stabilizing dimer formation of insulin: a. wild-type human insulin (PDB ID [1trz](#), Ciszak and Smith, 1994); and b. insulin lispro (PDB ID [1lph](#), Ciszak et al., 1995). The protein structures are shown in ribbon representation, while the interacting surfaces of the Gly20-Gly23 loop is also shown. Hydrogen bonds between the insulin monomer β -strands are shown as thin lines

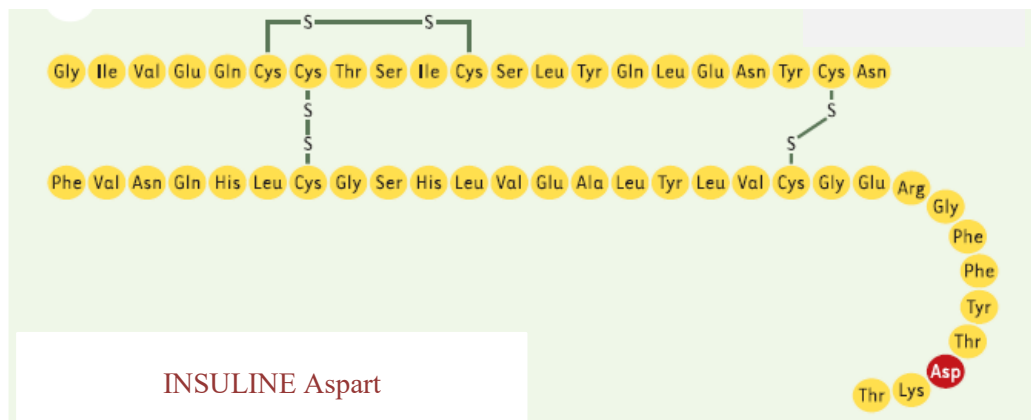
10

- un délai d'apparition de l'activité métabolique plus court pour l'insuline lispro que pour l'insuline humaine
- l'insuline lispro a une durée d'action plus courte que l'insuline humaine, 6 heures au lieu de 8
- Pour la production commerciale d'insuline Lispro, un ADNc synthétique codant pour la proinsuline humaine Lys B28-ProB29 a été exprimé dans *E. coli* et l'insuline Lispro a été excisée de manière protéolytique de la proinsuline par traitement à la trypsine et à la carboxypeptidase.

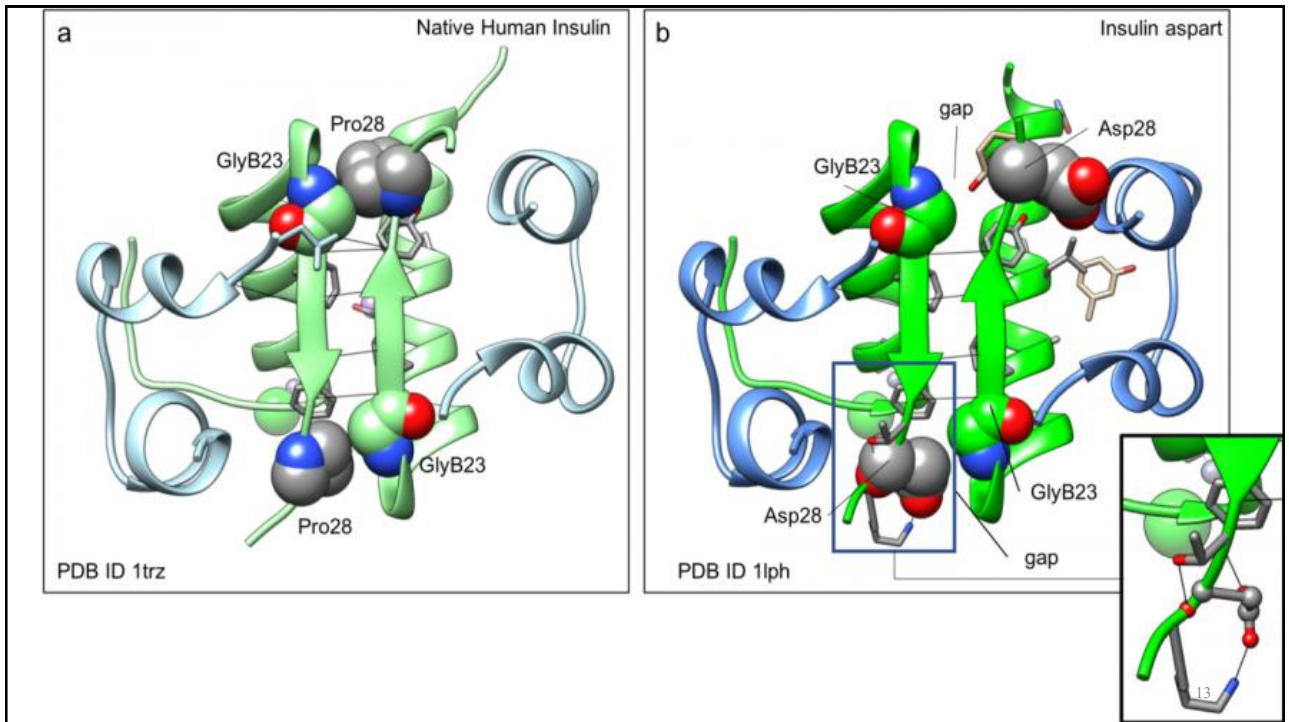
11

L'insuline aspart = Novolog® (*Saccharomyces cerevisiae*)

- Dans ce second analogue rapide de l'insuline commercialisé, la proline en position B28 a été remplacée par l'acide aspartique

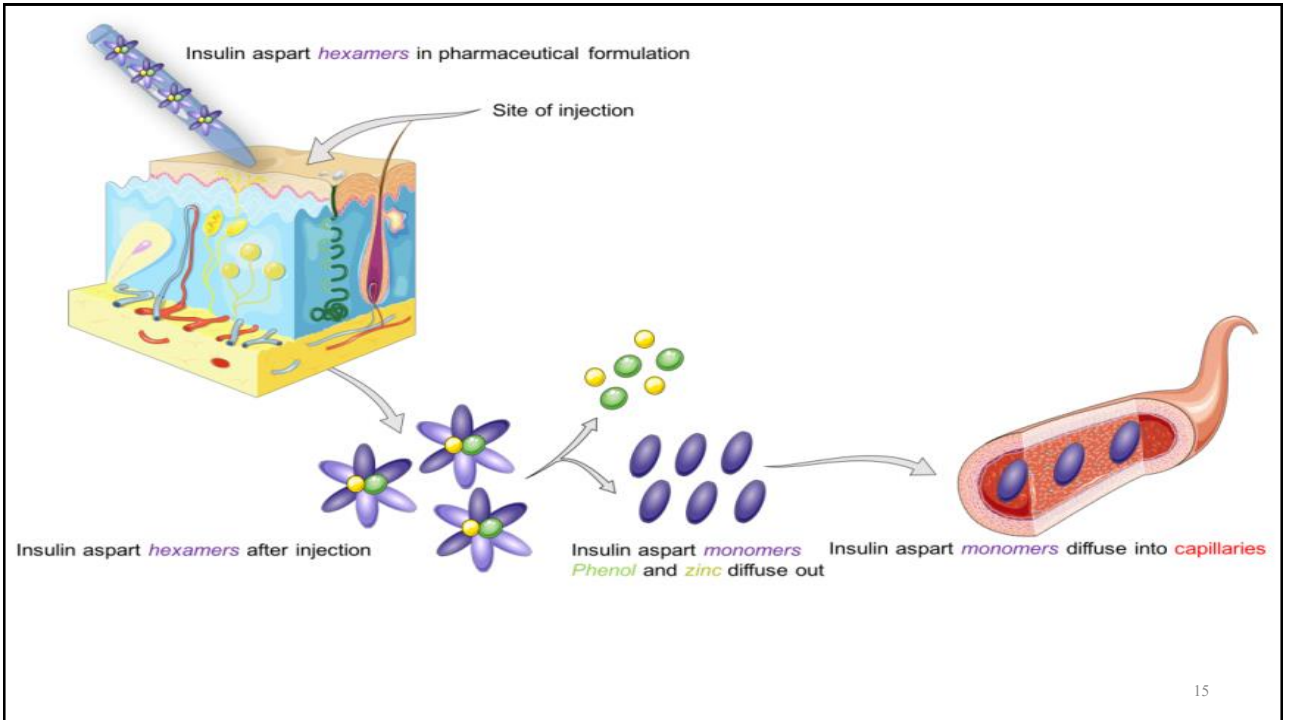


12



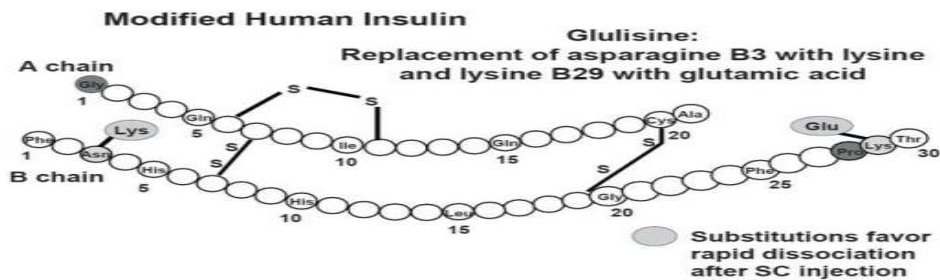
Pro→asp

- éliminer toute interaction entre les monomères au niveau des acides aminés B23 et B28;
- Introduire un nouveau groupement carboxyle dans la chaîne, et donc une charge négative dans les conditions physiologiques, ce qui réduit encore la formation d'agrégats.
- L'affinité de l'insuline aspart pour le récepteur de l'insuline est légèrement supérieure à celle de l'insuline lispro,
- a une durée d'action plus courte que l'insuline humaine, 6 heures au lieu de 8



Insuline glulisine = Apidra® (Escherichia coli)

- Remplacement de l'asparagine en B3 par de la lysine et de la lysine en B29 par l'acide glutamique
- Délai plus court : 5-10 min / Durée : 2-4h



Insulines lentes

L'insuline étant injectée dans le tissu sous-cutané, ces analogues seront « piégés » pour s'y maintenir le plus longtemps possible et être libérés de manière régulière et très lente.

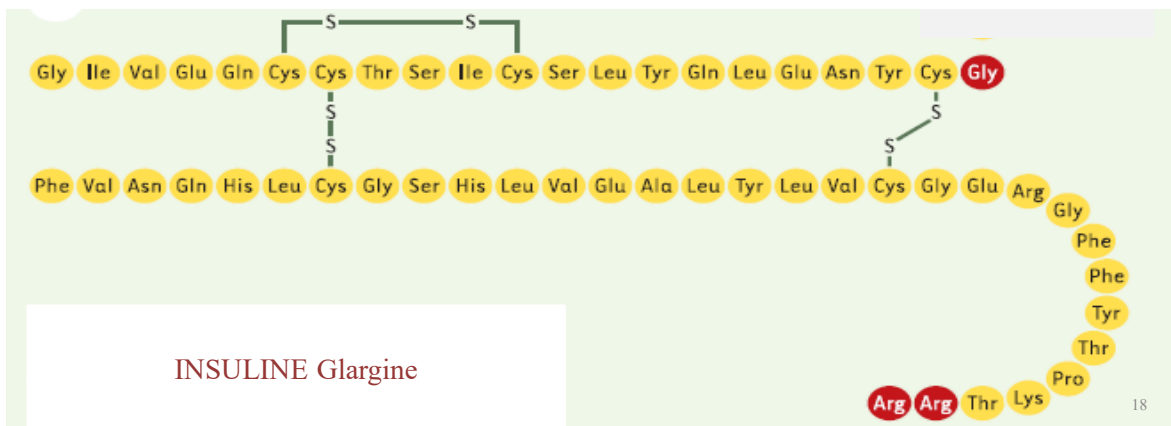
- Délai : 1 heure, durée d'action : 18 à 24 h, pas de pic
- Le délai et la durée d'action sont augmentés par modification du point isoélectrique ou par augmentation de la lipophilie et de la liaison à l'albumine

17

L'insuline glargine Lantus® :

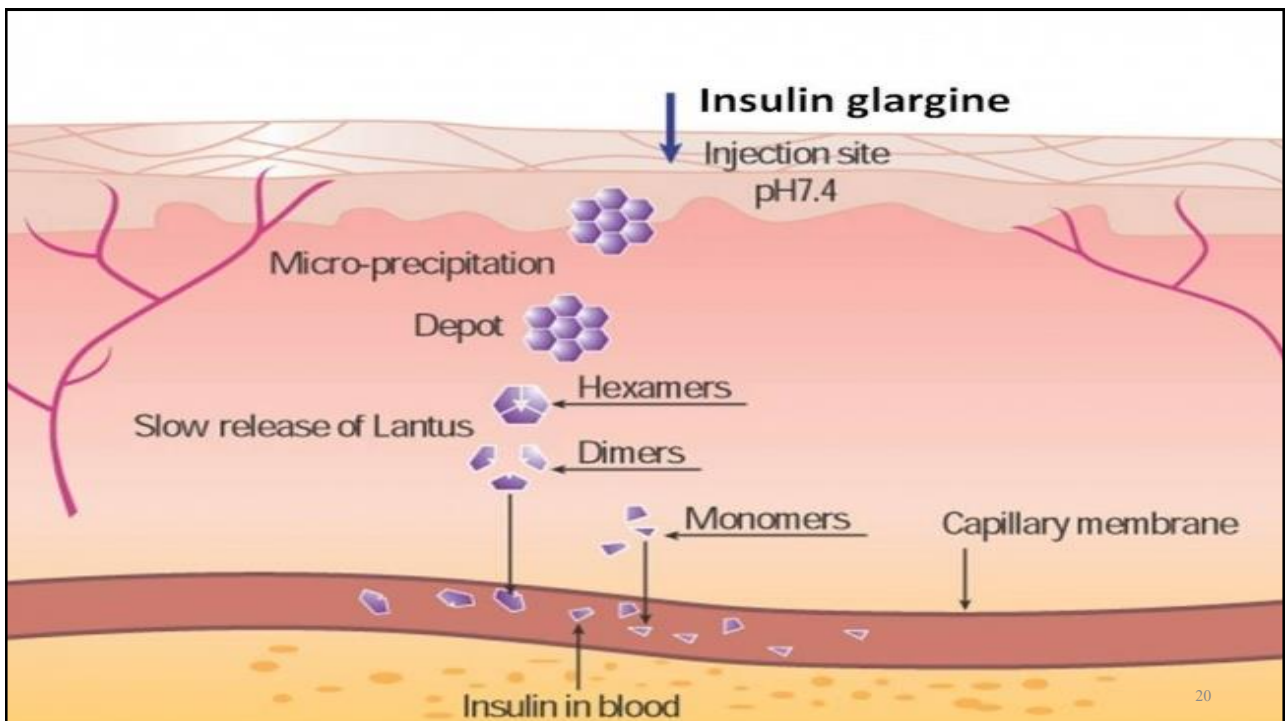
Chaîne B = addition de 2 résidus « arginine » sur la thréonine en 30, n = 32 → solubilité accrue en milieu acide.

Chaîne A = remplacement en 21 d'une asparagine par une glycine pour stabiliser l'hexamère



- Les modifications apportées sur la structure de l'insuline modifient la charge et le pHi
- Le pHi passe de 5,3 (insuline recombinante humaine) à 6,7. L'insuline glargine est conditionnée sous forme d'une solution limpide à pH = 4
- L'insuline glargine injectée en solution acide (pH 4,0) en sous-cutané cristallise dans cet environnement neutre, ce qui aboutit à une absorption retardée à partir du dépôt sous-cutané.

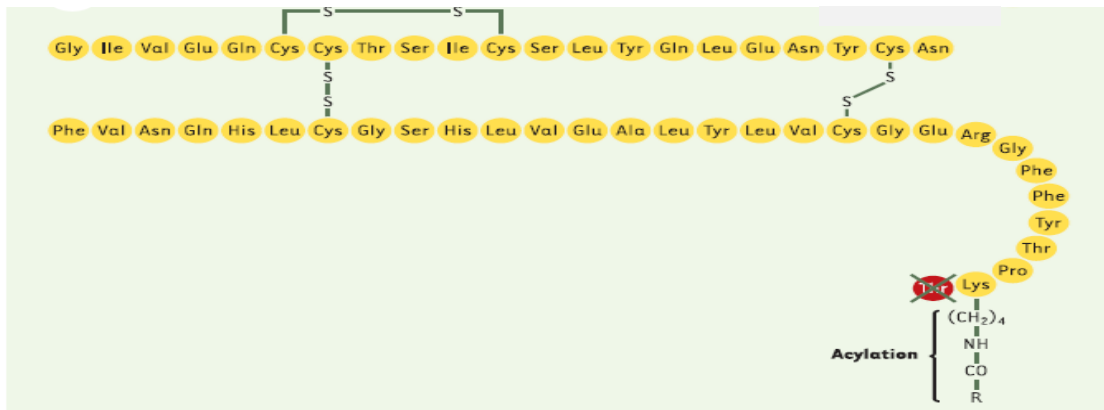
19



20

Insuline Détémir= Lévémir ®

- l'acide aminé B30, une thréonine, est éliminé
- la lysine en B29 est acylée par un acide gras miristoyle à 14 atomes de carbone

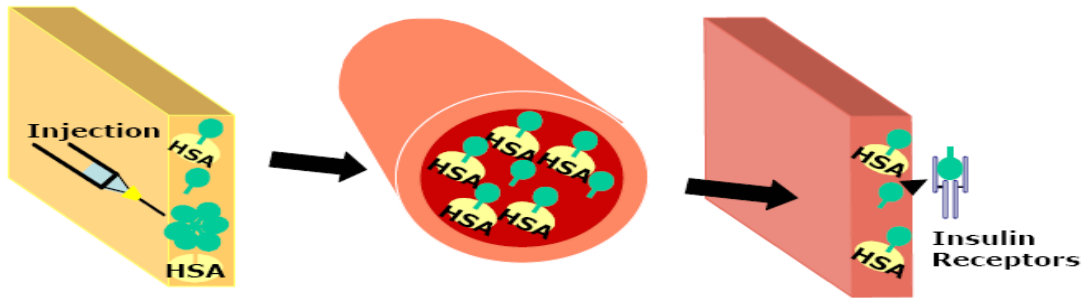


21

Insuline Détémir= Lévémir ®

- Augmentation de la lipophilie et de la liaison à l'albumine
- Auto-agrégation des hexamères d'insuline
- Liaison réversible à l'albumine grâce à l'acide myristique (est un acide gras saturé à 14 atomes de carbone C14), avec une cinétique ralentie de la dissociation entre la forme liée et la forme libre
- Délai et durée d'action augmentés

22



- L'insuline detemir s'associe à l'albumine dans les 3 compartiments : 1) tissu sous-cutané, 2) sang (98 % de liaison), 3) tissu cible.
- L'affinité de l'insuline Detemir pour le récepteur à l'insuline est supérieure à celle pour l'albumine. Cela modifie in situ, dans le tissu cible, l'équilibre de liaison : l'insuline Detemir quitte l'HSA pour se fixer sur le Récepteur de l'insuline

23

- Comme l'insuline glargine, ces modifications permettent de prolonger le temps d'absorption à partir du dépôt sous-cutané. Cependant, à l'inverse de l'insuline glargine, cette prolongation n'est pas due à une cristallisation; l'insuline detemir se présente sous une forme soluble conservée après l'injection.
- L'augmentation du temps d'absorption est obtenue grâce aux chaînes d'acide gras qui augmentent la stabilité de l'hexamère, permettent la formation de di-hexamères et interfèrent avec la fixation réversible des molécules à l'albumine au niveau du tissu sous-cutané.

24



Lispro

B28 Lys, B29 Pro

Aspart

B28 Asp

Glulisine

B3 Lys, B29 Glu

Glargine

A21 Gly, B31 Arg, B32 Arg

Détémir

B29 tetradecanoyllysyl, des B30

Structure primaire et formules des analogues rapides et lents de l'insuline humaine.

25

Ingénierie d'une enzyme SsoPox

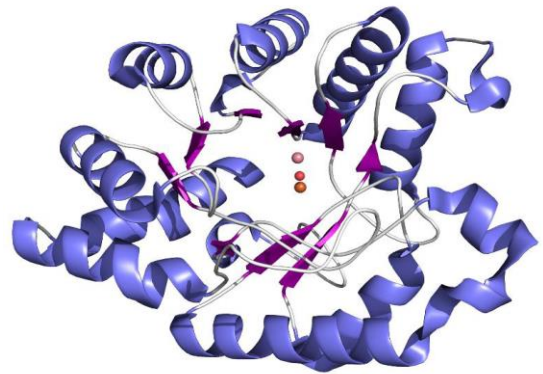
26

Ingénierie de *SsoPox*

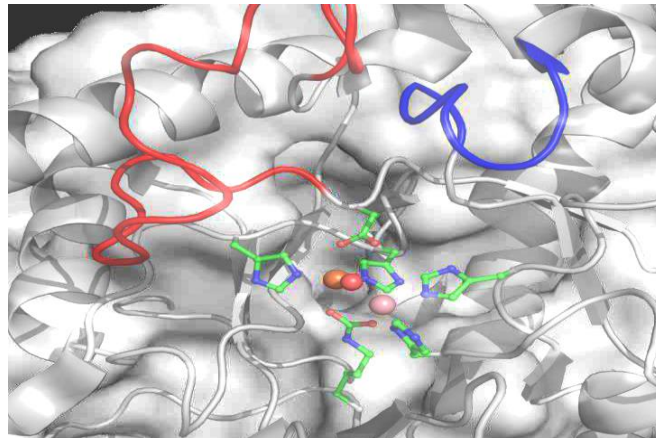
- Archée: *Sulfolobus Solfataricus*
- huit sous-unités α/β (hélice α /feuille β).

Topologie en tonneau (α/β)₈ de *SsoPox*.

Les hélices sont représentées en bleu foncé, les feuillets en violet et les boucles en gris. Les sphères rose, orange et rouge représentent respectivement les atomes de cobalt, fer et la molécule d'eau catalytique.



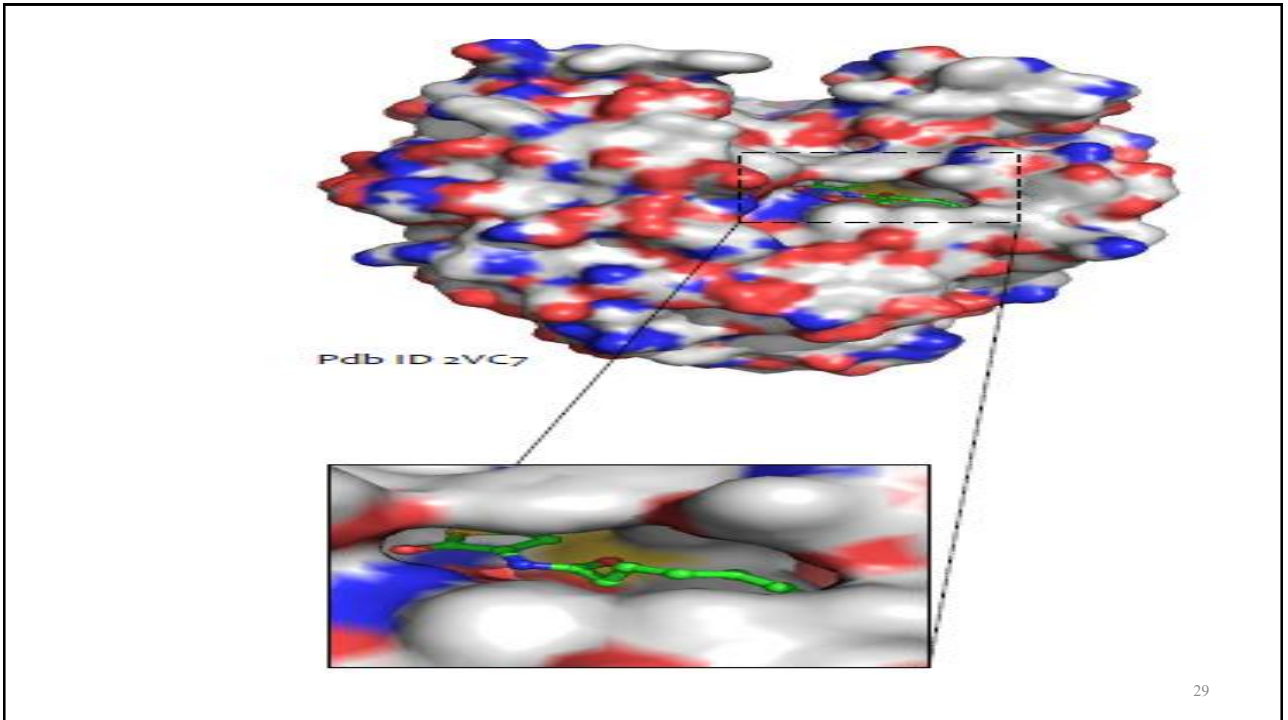
27



Cœur catalytique de l'enzyme *SsoPox*.

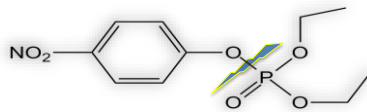
Les structures II sont représentées en gris. Les résidus coordonnant les métaux sont représentés en bâtons. Les boucles 7 et 8 impliquées dans la reconnaissance des substrats sont représentées respectivement en bleu et rouge.

28



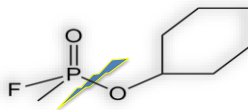
SsoPox: Activité Phosphotriesterase

- Dégradation des Organophosphoré (OP)
 - Insecticides



Paraoxon

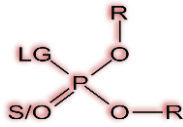
- Nerve agents



Cyclohexyl Sarin

- Décontamination
 - Crops, personnel ...
 - Military vehicles (MBTs, IFVs) ...

Organophosphorés (OPs): agents neurotoxique



inhibiteur Acétylcholine estérase

Utilisé comme insecticide
Amélioration dans l'utilisation militaire

Insecticides



Agents de guerre chimique (CWA)

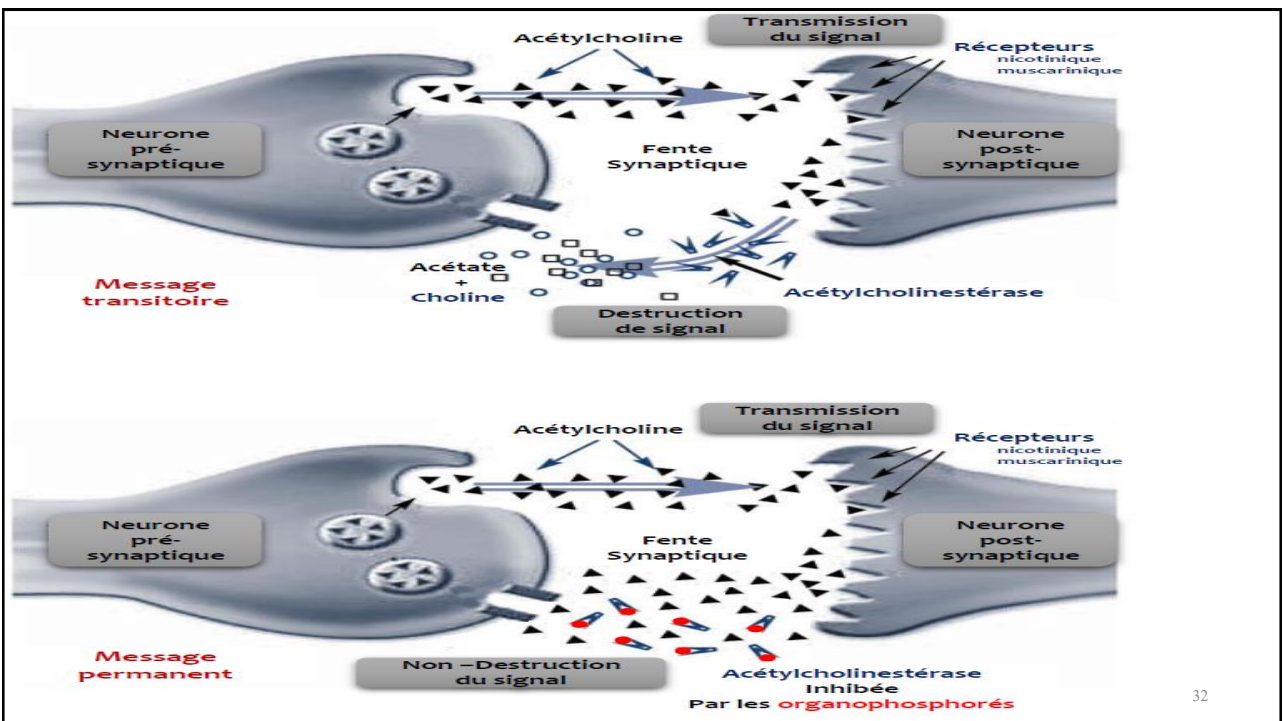


- Problème de santé publique
- 1-3 millions d'intoxications /an
- 200 000 morts / an

•Armes chimiques

- Iran/Irak.
- Pendant la guerre du Golfe,
- Syrie

31



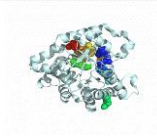
32

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme spécifique du tissu nerveux et de la jonction neuromusculaire. Elle hydrolyse rapidement l'acétylcholine (neurotransmetteur) en choline inactive et en acétate.

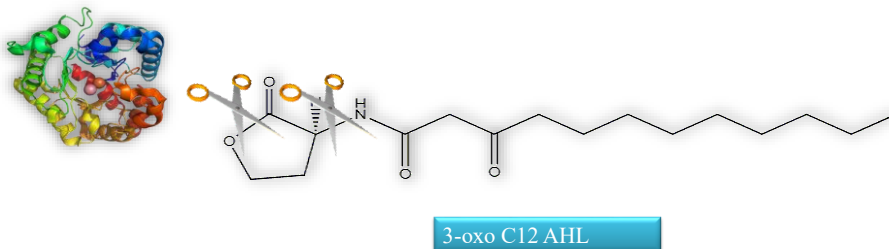
- Une intoxication aigüe aux OPs peut conduire à des convulsions, à une atteinte cardiaque, une sudation et salivation importante ou encore un arrêt respiratoire. Ces différents symptômes constituent le syndrome cholinergique qui peut entraîner la mort de la personne contaminée

33

***SsoPox*: Activité lactonase *Quorum* quenching**

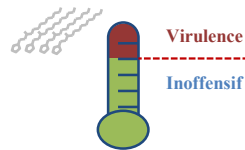


Dégradation des AHL (Acy Homoserine Lactones)



34

Une bactérie va produire de petites molécules, qui seront excrétées dans le milieu extracellulaire ces molécules sont appelées AHL, qui vont s'accumuler jusqu'à atteindre une concentration seuil reflétant la densité de la population bactérienne – quorum sensing – et permettant de synchroniser l'expression de certains gènes et adopter un comportement de groupe en acquérant une capacité d'infection



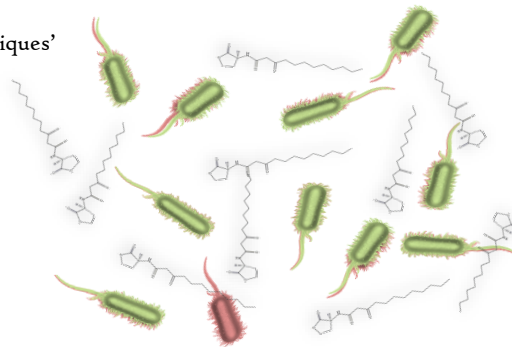
Contrôle:

La virulence

La mobilité

Le biofilm 'résistance aux antibiotiques'

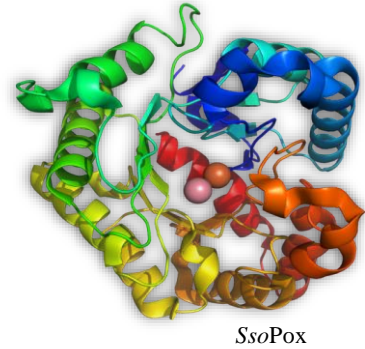
....



- L'activité lactonase de *SsoPox* a été améliorée par ingénierie enzymatique du résidu W263 (Remplacement du résidu tryptophane par les vingt acides aminés possibles).
- Ce résidu a été particulièrement considéré car il est situé dans le site actif et impliqué dans les mouvements de boucles. Une expérience de mutagenèse a permis d'identifier un variant extrêmement efficace, *SsoPox-W263I*, montrant des efficacités catalytiques allant jusqu'à $5,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ par rapport à l'enzyme sauvage de plus de 45 fois,

SsoPox

- Enzyme hyperthermostable
 - Résistance à la température (>100 °C)
 - Active à T : 10 - 100 °C et à pH 5,0 - 9,0
 - Tolérance aux solvants (chloroforme,...)
 - Peu sensible aux protéases



37/50

Rat pulmonary infection model

Pseudomonas aeruginosa PAO1

ils ont développé un modèle d'infection pulmonaire chez le rat



n=20

T₀: PAO1 only

NT
non treated



n=20

T₀: PAO1 & SsoPox

IT
immediate treatment



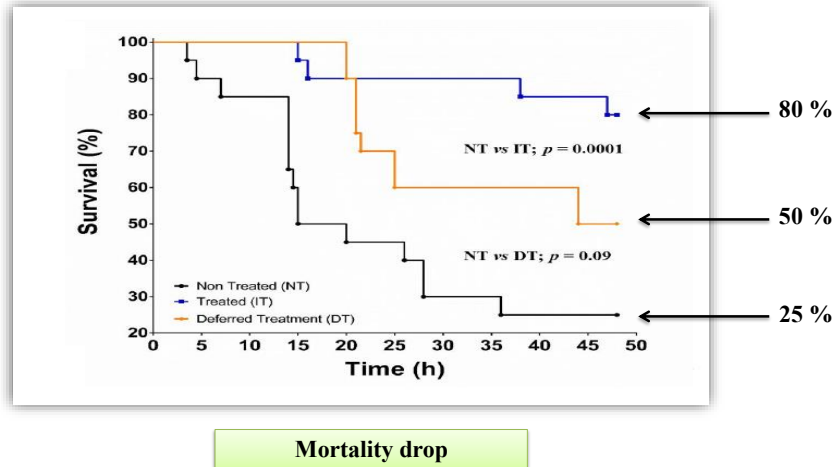
n=20

T₀: PAO1
T₊₃: SsoPox

DT
delayed treatment

38

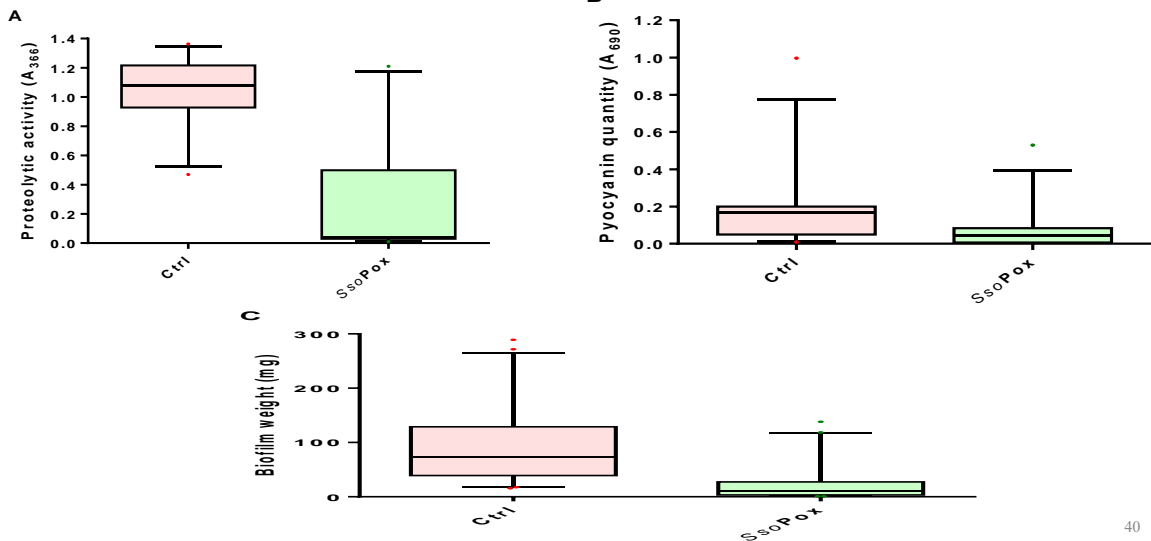
Rat pulmonary infection



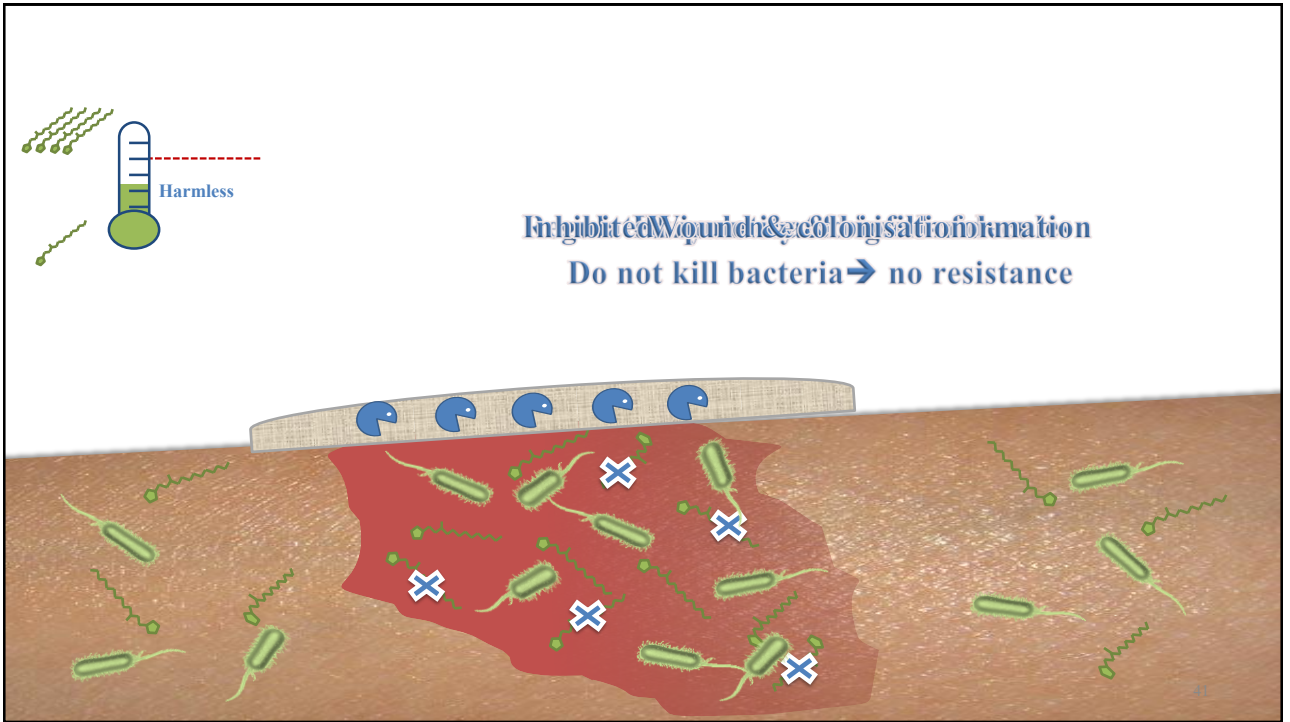
Hraiech *et al.*, (2014), *PLoS ONE*; 9(10)

39

• 53 *P. aeruginosa*



40



• Applications de SsoPox



► avec les antibiotiques,

► un développement des pansements antibactériens greffer cette enzyme sur différents dispositifs médicaux (cathéters, sondes...) ou de l'incorporer dans des peintures hospitalières pour limiter l'implantation bactérienne.



► L'utilisation de l'enzyme en aérosol pour le traitement des patients atteints de mucoviscidose



Ingénierie des anticorps monoclonaux

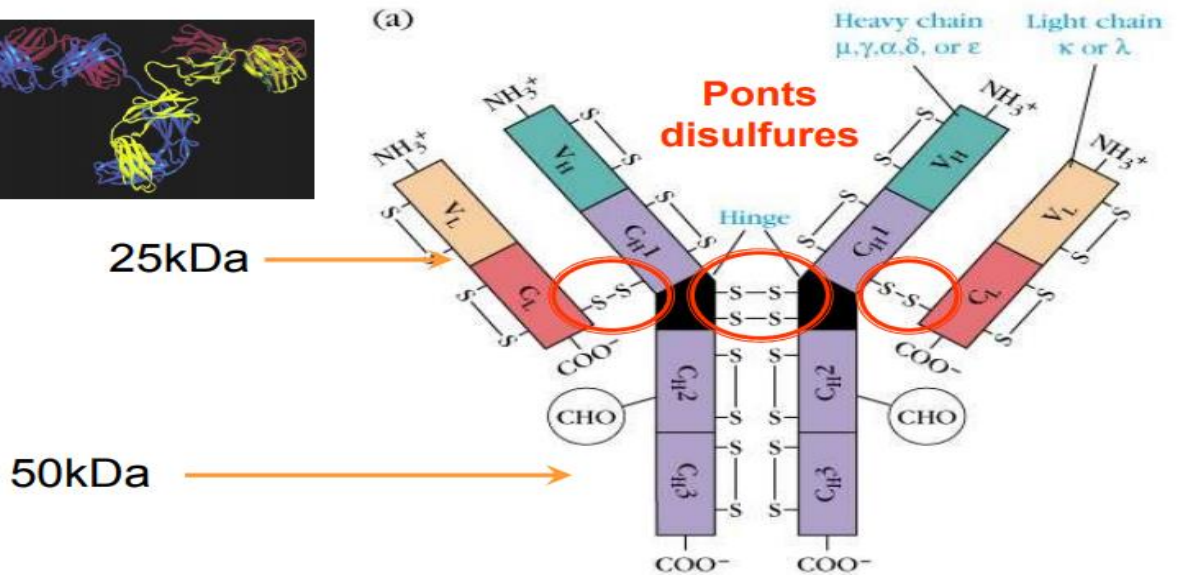
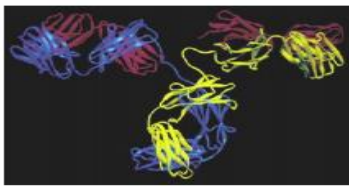
43

Rappels sur les anticorps

- Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines
- Elles sont présentes :
 - sous forme soluble dans le plasma et dans de nombreuses sécrétions
 - sous forme membranaire comme élément du récepteur de l'Ag à la surface des cellules B (BCR)
- Terminologie : Immunoglobulines = anticorps = γ -globulines
- Une immunoglobuline est formée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères
- Chaînes lourdes : varient selon classes ($\gamma, \alpha, \mu, \delta, \epsilon$) ou sous-classes reliées entre elles par un ou plusieurs ponts S-S MM ~ 50 kDa (450AA)
- Chaînes légères : communes à toutes les classes de type Kappa (65%) ou Lambda (35 %)
- Chaînes légères reliées à chaînes lourdes par ponts S-S MM ~ 25 kDa (212AA)
- Région charnière très flexible (60° à 180°) pour faciliter liaison à l'antigène

44

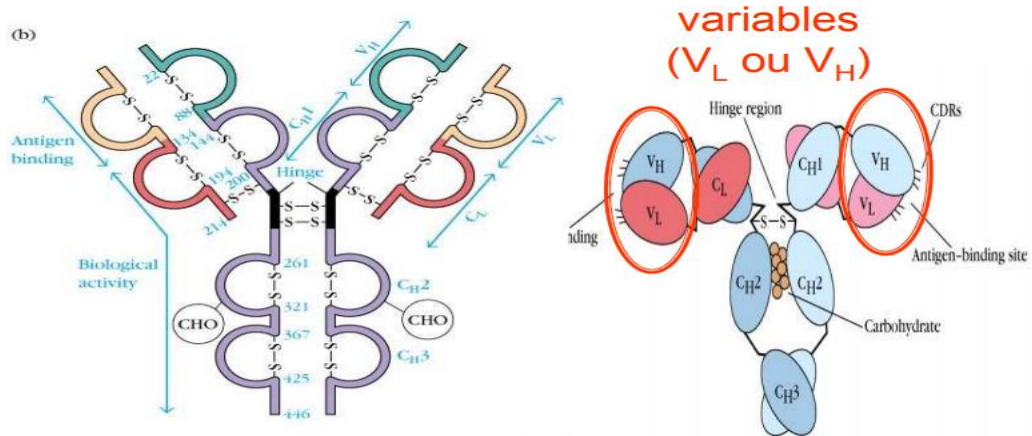
Rappels sur les anticorps



45

Rappels sur les anticorps

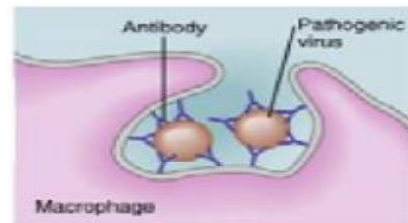
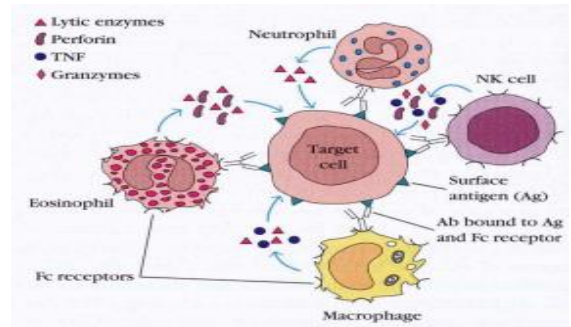
- Chaînes lourdes : 4 domaines (sauf pour IgM et IgE qui ont 5) Chaînes légères : 2 domaines
- Région COOH-terminale est dite constante (CH et CL) Région NH₂-terminale est dite variable (VH et VL)



46

Rappels sur les anticorps

- L'anticorps présente schématiquement deux structures fonctionnelles, l'une pour la fixation de l'antigène ou Fab (fragment antigen binding), l'autre Fc ou fragment cristallisable qui interagit, soit avec des récepteurs appelés FcR situés à la surface de certaines cellules (PN, macrophages et Lymphocytes), soit avec le complément soit pour le passage transplacentaire.
- L'hydrolyse d'une molécule d'anticorps par la papaine conduit à la formation de deux fragments Fab et d'un fragment Fc alors que l'hydrolyse par la pepsine conduit à la formation d'un seul fragment $F(ab')_2$



47

Rappels sur les anticorps

- Fragment Fab : liaison à l'antigène. La zone de l'Ac interagissant avec l'épitope est appelée paratope et est localisée au niveau des domaines VH et VL. Six régions, dites hypervariables, localisées au sein de ces domaines variables et appelées CDR (*complementarity determining regions*), constituent la zone de contact avec l'épitope et confèrent donc la spécificité de liaison à l'Ag.
- 6 CDR: 3 CDR sur VH et 3 CDR sur VL encadrés par 4 parties relativement constantes dites charpentes («framework regions»)
- la liaison spécifique de l'épitope à son paratope est non covalente et réversible, et met en jeu des interactions énergétiquement faibles mais nombreuses (forces de van der Waals, forces électrostatiques, ponts hydrogènes et/ou interactions hydrophobes)

48

Rappels sur les anticorps

Les anticorps monoclonaux

- Les Anticorps monoclonaux sont une **population homogène d'anticorps issus d'un « seul et unique » clone de cellules B.**
- pour créer un anticorps monoclonal, nous allons injecter un antigène à la souris puis isoler des cellules de rate (contenant l'anticorps produit par la souris) que l'on va faire s'hybrider avec des cellules de myélome qui sont immortelles. Après sélection des clones, ceci va nous permettre d'obtenir des anticorps monoclonaux qui seront immortel

49

Production des Ac monoclonaux par la technique des hybridomes

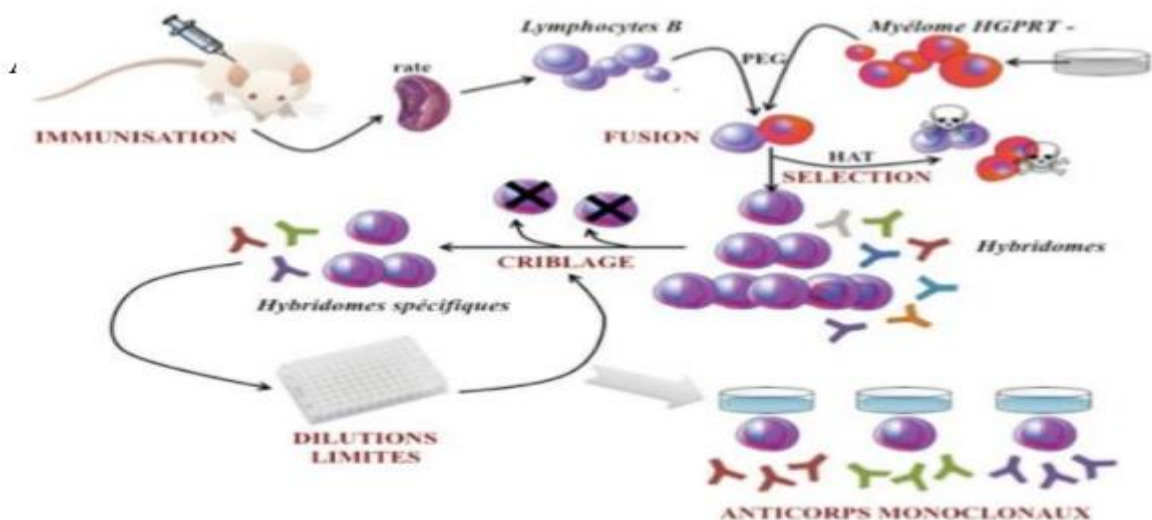
50

Technique d'hybridation cellulaire ou hybridome

- Nous allons utiliser des cellules B extraites d'organes lymphoïdes secondaires (**rate**, ganglions) + cellules myélomateuses
- Nous allons utiliser soit la fusion chimique qui se fait grâce au Poly Ethylène Glycol (PEG) ou la Fusion physique qui se fait par électro fusion
- Dans des conditions précises, seuls les hybridomes se développent .
- La sélection se fait par **dilution limite** où le clonage est réalisé directement dans une plaque de microtitration.

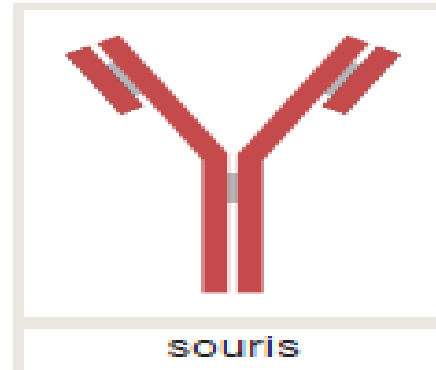
51

La technique de l' hybridome :



52

- Par cette technique on obtient des Ac murins.
- Ces Ac provoquent de sévères effets secondaires, en général de type allergique, allant, dans certains cas, jusqu'au décès,



- Pour minimiser les risques de rejet, les scientifiques se sont alors tournés vers les **chimères** qui sont des **anticorps humains** sur lesquels a été greffée la **petite partie variable**, la seule qui se lie à l'antigène, **prélevée sur les anticorps de souris** (se sont des **anticorps recombinants**).

53

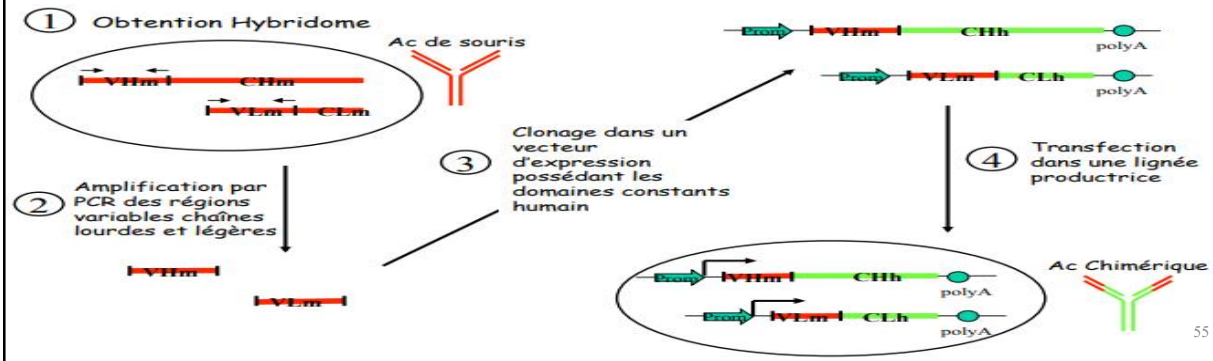
Les anticorps recombinants

54

Modification des anticorps

Chimérisation des anticorps

- La construction d'un anticorps recombinant chimérique consiste à isoler l'ADN codant pour le domaine VH et le domaine VL d'un anticorps monoclonal de souris ou de rat et à le lier à l'ADN codant les domaines constants H et L d'une immunoglobuline humaine. Une telle construction génétique permet de produire un anticorps hybride dont la partie constante, humaine, n'est pas immunogène chez l'homme (il s'agit en général de la région constante des IgG1 humaines).

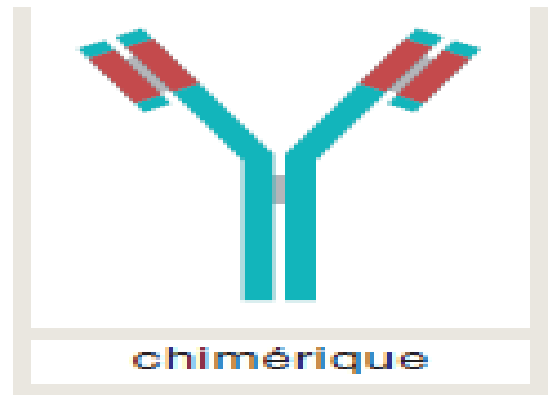


Modification des anticorps

Chimérisation des anticorps

Exemple Ac chimrique

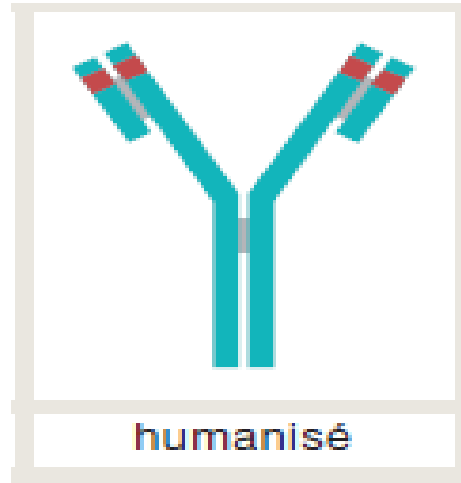
- Utilisé contre certains lymphomes, cet anticorps se situe régulièrement dans le top 10 mondial des ventes de produits pharmacologiques
- ne règlent pas totalement le problème du rejet et sont, eux aussi, susceptibles de perdre en efficacité à la longue.



Optimisation des anticorps

Humanisation

- Les chercheurs ont tenté d'humaniser encore un peu plus leur médicament en greffant la partie murine la plus petite possible sur un anticorps humain jusqu'à obtenir une proportion de 5 à 10 % d'éléments murins contre 90 à 95 % d'éléments humains.
- Le trastuzumab, prescrit contre le cancer du sein, est un exemple d'anticorps « humanisé »



57

Optimisation des anticorps

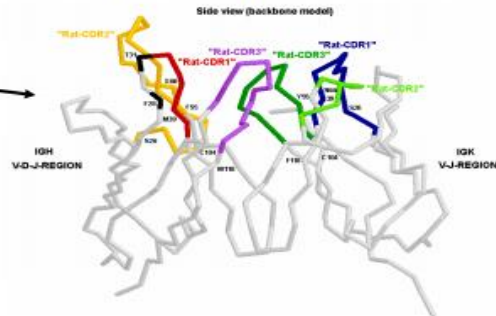
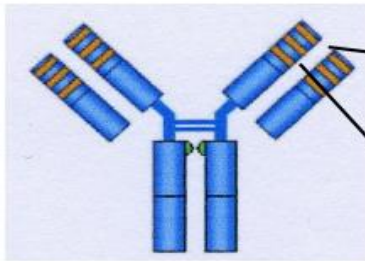
Humanisation

- La substitution des régions hypervariables d'anticorps monoclonaux de souris ou de rat aux régions hypervariables de domaines VH et VL humains [« Complementarity Determining Regions (CDRs) grafting »] permet d'obtenir des **anticorps recombinants humanisés**, a priori peu immunogènes chez l'homme, car seules les régions hypervariables sont d'origine murine.

58

Optimisation des anticorps *Humanisation*

Exemple d'un anticorps humanisé: anti-CD52 (Campath ou Alemtuzumab)



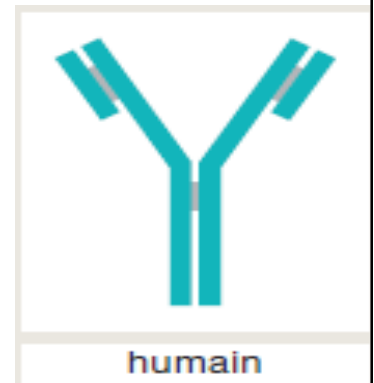
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
EVKLLESGGLVQPGGSMRLSCAGS	GFTFTDFY	MNWIHQFAGKAPWLGF	IRDKAKGYTT	EYNPSVKGRFTISRDNQNMPLYLQMNLTIRAEDTATYYC	AREGHTAAPFDY	WGQGVMTVSS
eth QVQLQESGPGLVLRPSQTLSTLTCTVS	GFTFTDFY	MNWRQFPGRGLEWIGF	IRDKAKGYTT	EYNPSVKGRVTMLVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYC	AREGHTAAPFDY	WGQGLVTVSS

- Conservation des séquences animales uniquement dans le site de liaison à l'antigène (CDRs): « CDR grafting »
- Modification des AA exposés au solvants: « Resurfacing »

59

Optimisation des anticorps *Humanisation*

- des anticorps **recombinant totalement humains**. Cela a été rendu possible par le développement de technologies de pointe dont celle des souris transgéniques et la technique '*phage display*'
- Ces molécules devraient en principe être invisibles pour le système immunitaire humain et donc parfaitement tolérées par l'organisme.
- Un des Ac qui a rencontré le plus de succès et qui provient d'une sélection par phage display est l'adalimumab (HUMIRA): un Ac entièrement humain dirigé contre les récepteurs du TNF alpha et prescrit contre la polyarthrite rhumatoïde, le rhumatisme psoriasique et la maladie de crohn

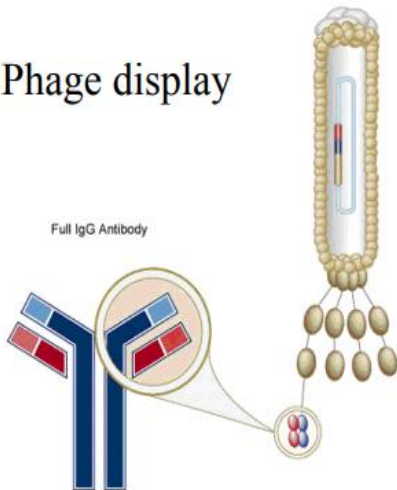


60

Optimisation des anticorps

Humanisation

Phage display



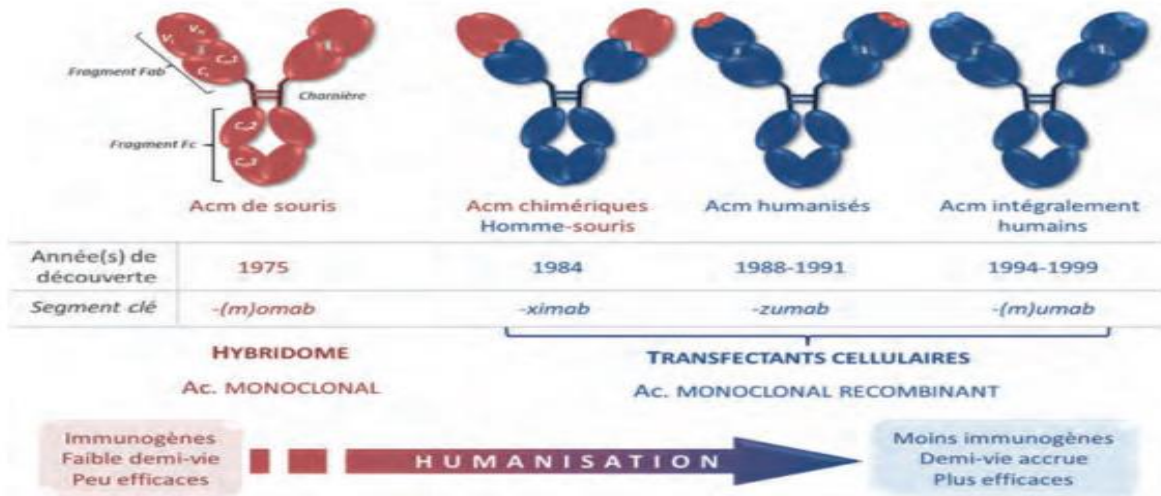
- Le " phage display" consiste à présenter à la surface de phages filamenteux des peptides aléatoires, des protéines, ou des fragments d'anticorps (scFv, " Fab" ou Fv), en fusion avec le domaine amino-terminal de leurs protéines pIII ou pVIII.
- Les bactériophages les plus souvent utilisés pour le phage display sont le bactériophage M13, T4, T7, et λ .
- Les phages recombinants sont sélectionnés pour leur capacité de liaison à une cible. Après de nombreux lavages, les phages fixés sont élués puis isolés et amplifiés par infection de bactéries.

61

ATC	Composition	Technique	Inconvénients
Murins	Murine	Technique des hybridomes	- Faible fixation - Immunogénicité - Une demi-vie courte.
Anticorps Chimériques	DV : murine DC : humaine	Fusionner des gènes codant les régions variables d'un anticorps murin et les régions constantes d'une Ig humaine	- Immunogénicité: - Elles peuvent induire une réponse immune humaine anti-souris.
Humanisés	Ig humaine CDR murines	Greffer les régions hypervariables murines (cdr), dans la région variable d'une Ig humaine	L'affinité de l'anticorps humanisé n'est pas toujours aussi élevée que l'anticorps d'origine.
Entièrement humanisé	Humain	Techniques d'hybridomes. - Phage display. - Souris transgénique.	/

62

Degré d'humanisation des anticorps monoclonaux



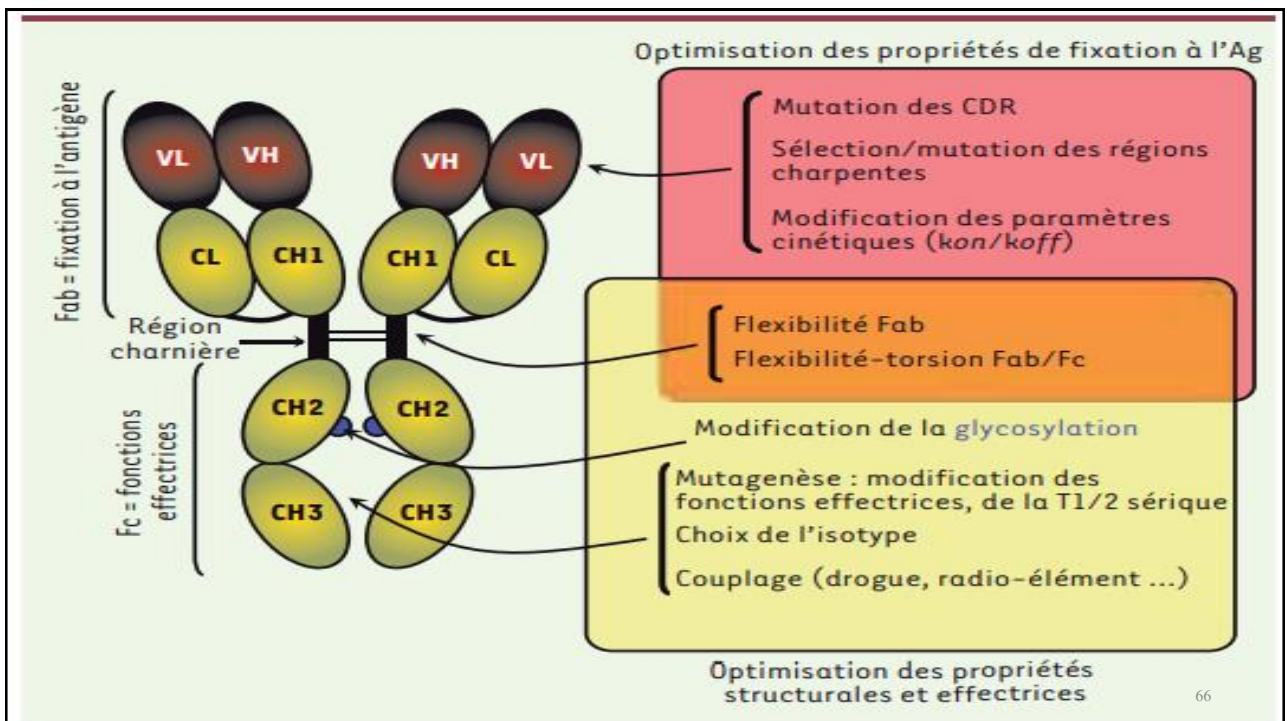
63

Ingénierie des régions Fab et Fc

64

L'optimisation des Ac passe par une ingénierie manipulant la région Fab (fixation de l'Ac à sa cible) et/ou la région Fc (propriétés effectrices de l'Ac). De nombreux autres travaux ont cherché également à mieux maîtriser la stabilité, le repliement, l'immunogénicité, la demi-vie et la biodisponibilité des Acm ainsi que leurs conditions de production et de purification à une échelle industrielle. Ces différents aspects sont abordés dans d'autres articles de ce numéro.

65



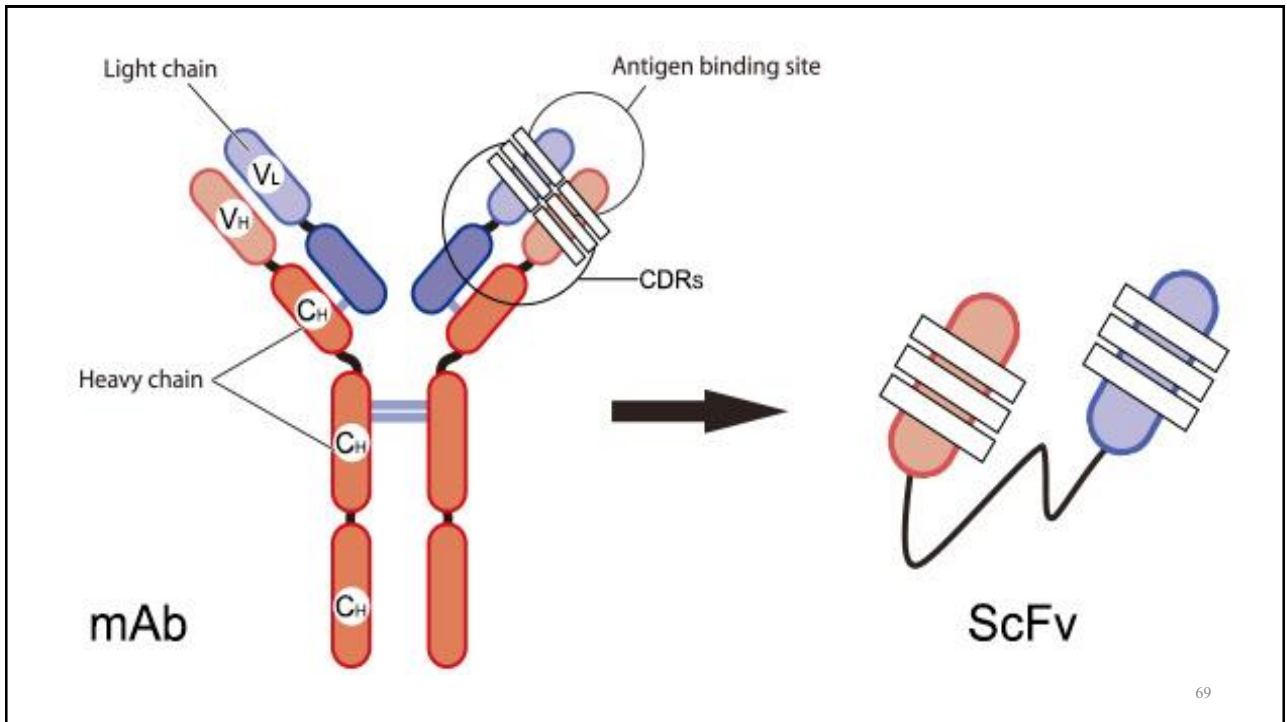
Commentaire de la figure précédente:

Les anticorps sur le métier de l'ingénierie moléculaire. La sélection des CDR (*complementarity determining regions*), des régions charpentes des domaines VH et VL, l'optimisation des paramètres cinétiques d'interaction permettent d'optimiser la fixation de l'Ac à l'Ag. Le choix de l'isotype, les modifications de la région charnière et des séquences clés impliquées dans les fonctions effectrices, les modifications du profil de glycosylation ou encore le couplage à différents agents cytotoxiques ou stabilisateurs permettent l'optimisation des propriétés effectrices de l'anticorps.

67

- ***L'introduction de mutations dirigées ou aléatoires dans les domaines variables*** permet de moduler l'interaction Ag-Ac afin d'augmenter l'affinité de l'Ac ou de modifier sa spécificité fine.
- Le choix de ces mutations repose sur la connaissance détaillée des interactions Ag-Ac dans lesquelles les CDR jouent un rôle central. C'est ainsi que la mutagenèse de fragments Fab ou simple chaîne Fv (fragment variable) (*single chain Fv, scFv*) isolés à partir de banques de phages a permis d'accroître leur affinité d'un facteur 100 à 1 000

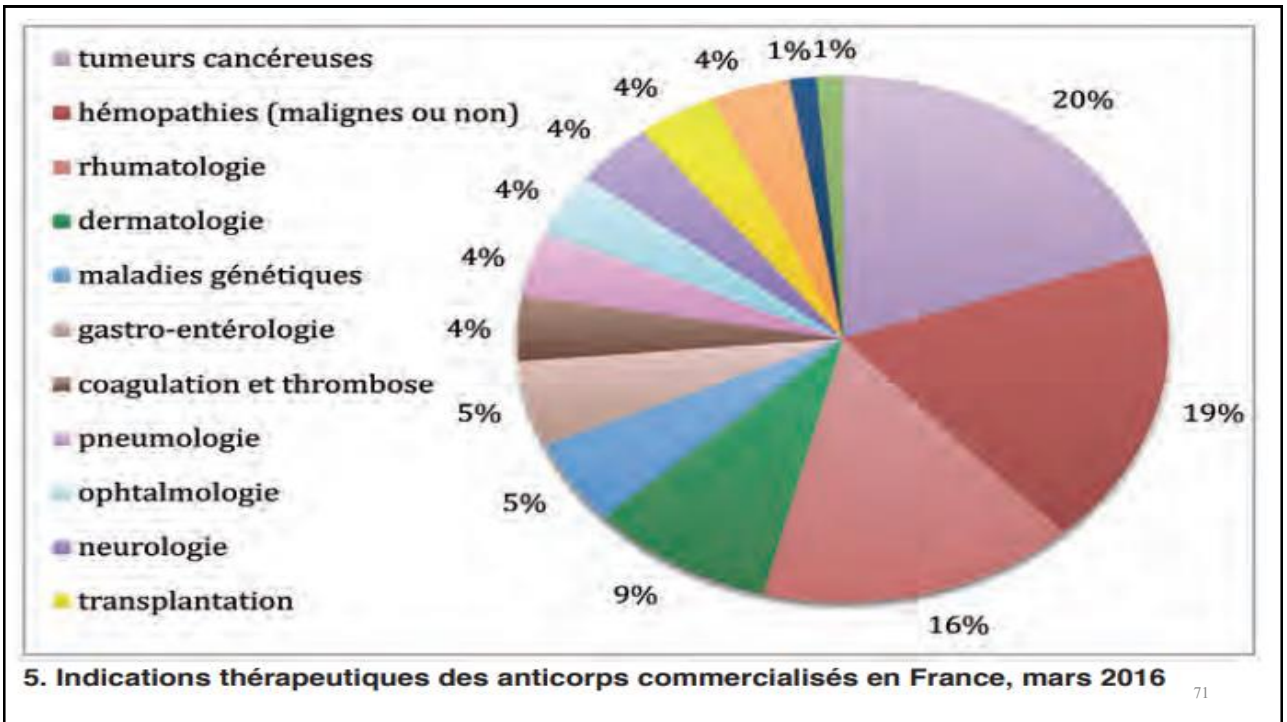
68



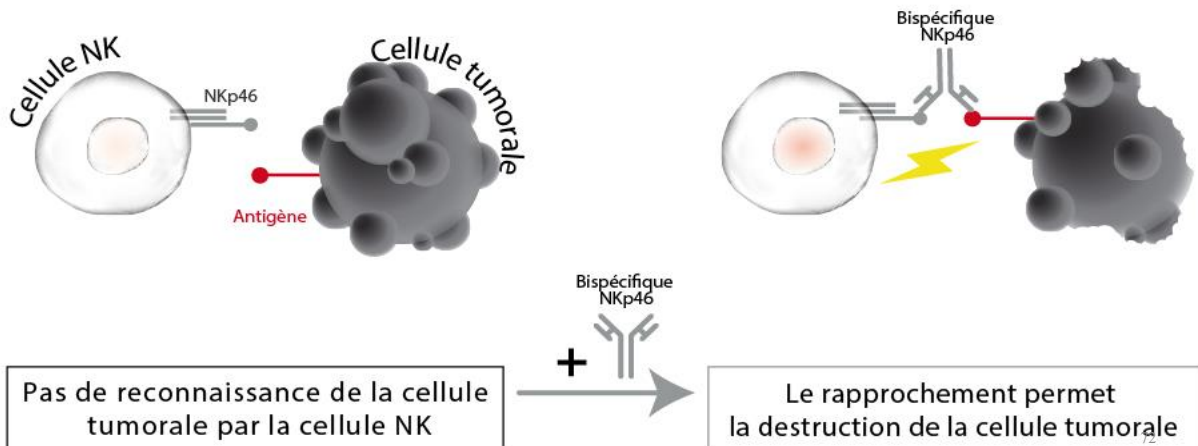
69

- ***Le choix et la manipulation de la région Fc*** sont également essentiels pour disposer d'un Acm capable d'induire les fonctions effectrices désirées. La plupart des Acm mis sur le marché en 2009 (16/26) sont des IgG1 isotype capable d'activer la voie classique du complément et de fixer les RFc pour les IgG (RFc γ).
- Des techniques moléculaires ont été développées pour modifier la région Fc des IgG1 afin d'optimiser leur activation de la voie classique du complément

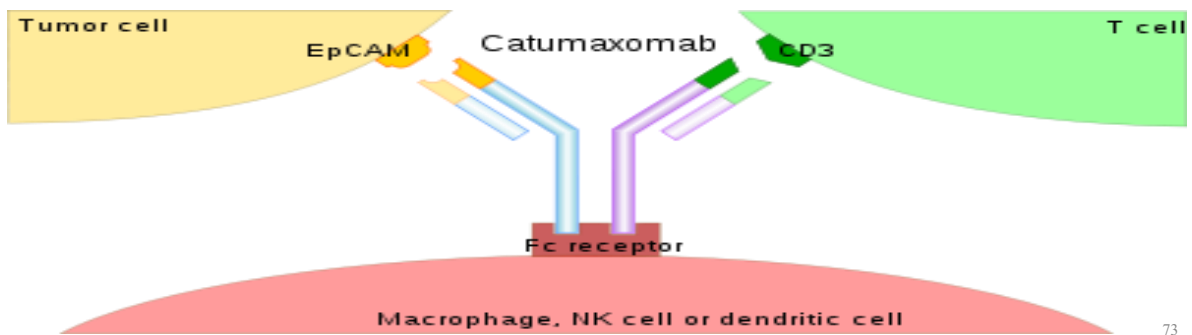
70



- L'ingénierie des anticorps est aussi utilisée pour construire des anticorps **bispécifiques**.
- C'est une protéine Artificiel dont il est composé de fragments de deux différents anticorps monoclonaux, ce qui permet de se lier simultanément à deux types différents de antigène.

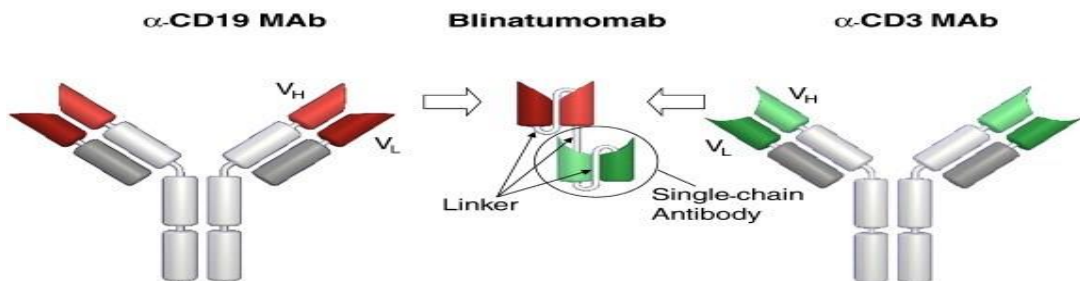


- Le premier médicament de cette classe: **catumaxomab** approuvé en Europe en 2009.
- Il se lie d'un côté à un marqueur propre aux cellules du cancer de l'ovaire et, de l'autre, aux lymphocytes T. Ces derniers sont des cellules tueuses du système immunitaire secondaire mobilisées en général contre les infections bactériennes ou virales et pour lesquelles les tumeurs ne représentent pas une victime habituelle.



73

- **Blinatumomab**, entré sur le marché américain en décembre 2014.
- sa structure: que les extrémités actives (scFv) reliées entre elles par un «pont» flexible.
- un problème de demi-vie, ne survit que quelques h dans l'organisme, contre plusieurs semaines pour les anticorps plus grands: il doit être administré en continu aux patients durant plusieurs semaines.



74