

## TECHNOLOGIE DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Par D. CREVAT

CENTRE DE RECHERCHE CLOMATEC

60, Rue de Wattignies

75 550 PARIS CEDEX

C'est en 1975, que Georges KOHLER et César MILSTEIN ont rapporté pour la première fois la production d'anticorps monoclonaux de spécificité prédéterminée, par hybridation cellulaire; ils ouvraient ainsi une nouvelle voie d'approche de très nombreux problèmes insolubles jusqu'alors dans les sciences de la nature.

En fait, la découverte monumentale de KOHLER et MILSTEIN, consacrée par le prix Nobel de Médecine 1984, n'a été que l'aboutissement d'un grand nombre de travaux, notamment l'induction artificielle de plasmocytomes chez la souris et leur adaptation à la culture *in vitro*, le développement des techniques de fusion cellulaire et les preuves apportées à l'hypothèse de la sélection clonale émise par BURNET dès 1959 et qui peut se résumer ainsi: chez les mammifères, chaque lymphocyte B, après stimulation appropriée par un antigène, est programmé pour produire un seul type d'anticorps. Il donne naissance à un ensemble de plasmocytes ou clone plasmocytaire qui sécrète cet anticorps mono spécifique, c'est-à-dire capable de reconnaître un seul antigène et même un seul déterminant antigénique ou épitope sur l'antigène.

La théorie de production des anticorps monoclonaux est basé sur l'hypothèse de la sélection clonale: en effet, l'hybridome est obtenu par fusion entre une cellule de myelome qui apporte la capacité de multiplication infinie et un lymphocyte B de souris sensibilisé à un antigène, programmé pour produire un anticorps monospécifique vis-à-vis de cet antigène. Et, toutes les cellules dérivées de cette cellule hybride sécrètent ce même anticorps.

Pour apprécier l'impact révolutionnaire des anticorps monoclonaux comme bioréactifs, il suffit de rappeler les limites et les problèmes posés par la sérologie conventionnelle:

1. L'obtention d'un antisérum de qualité nécessite de disposer de l'antigène hautement purifié.
2. La concentration des anticorps spécifiques est faible, car le réactif contient une grande quantité d'immunoglobulines non-spécifiques.
3. L'antisérum n'est obtenu qu'en quantité limitée,
4. Sa spécificité et son affinité pour l'antigène sont variables d'un animal à l'autre, d'un prélèvement à l'autre. Ces caractères posent alors le problème de la standardisation du réactif.

Quels sont les avantages des anticorps monoclonaux ?

- Ils sont mono-spécifiques, c'est-à-dire dirigés contre un seul épitope sur un antigène donné,
- L'affinité et la spécificité pour l'antigène est homogène,
- Ils sont produits à forte concentration dans les liquides d'ascite, à partir desquels il sont aisément purifiés,
- Et ils peuvent être produits en quantité illimitée,
- Enfin, ils ne nécessitent pas de disposer de l'antigène sous forme pure. La sélection des clones producteurs d'anticorps spécifiques sera en effet réalisée grâce au test de criblage des surnageants.

Les anticorps monoclonaux constituent donc des bioréactifs parfaitement standardisés. L'inconvénient majeur de cette technologie étant le coût de revient du produit, environ 100 fois plus élevé que celui des antisérums conventionnels.

Mais les anticorps monoclonaux possèdent en outre de très vastes domaines d'application, inaccessibles aux réactifs conventionnels, essentiellement pour la recherche fondamentale; mais aussi et de plus en plus, des applications au diagnostic, voire des applications thérapeutiques. Quelques exemples permettront d'illustrer ces approches.

### LES ETAPES DE PRODUCTION DES ANTICORPS MONOCLONAUX

- L'immunisation de l'animal,
- La culture d'un myelome parental,
- La fusion proprement dite,
- La sélection des hybrides sécrétant des anticorps par le milieu sélectif de culture et le test de criblage,
- Enfin, les étapes de production des anticorps monoclonaux soit in vitro, soit in vivo:

#### 1. L'immunisation des animaux comporte deux aspects

- Le choix de l'animal: dans la plupart des cas, le choix s'oriente vers le rat et surtout la souris pour des raisons de commodité: animal résistant, bien adapté à l'élevage, de croissance rapide; le rat est moins aisé à manipuler, mais peut s'avérer indispensable pour l'obtention d'anticorps monoclonaux contre des protéines de souris.

Ce sont essentiellement les souris BALB/c qui sont utilisées pour la production des hybridomes car les myelomes utilisés comme lignée parentale ont une origine BALB/c. Les cellules hybrides obtenues seront histocompatibles, et pourront pousser dans les souris BALB/c sous forme d'ascites tumorales riches en anticorps.

Des hybridations inter-espèces peuvent être obtenues notamment entre rat et souris ou homme et souris. Mais les hybrides ainsi réalisés posent deux problèmes:

- L'instabilité du matériel génétique dans ces cellules avec relargage préférentiel des chromosomes de l'espèce la plus évoluée dans l'échelle phylogénique, aboutissant à la perte de la sécrétion des anticorps spécifiques pour la lignée cellulaire.

- La production des anticorps monoclonaux devra être réalisée par culture in vitro de l'hybridome. Mais il est possible de court-circuiter les problèmes de compatibilité et d'obtenir des ascites tumorales soit dans les souris Nude athymiques, soit chez les animaux irradiés de façon sublétales.

- Le protocole d'immunisation : il peut être éminemment variable mais il vise dans tous les cas à obtenir une bonne réponse anticorps chez l'animal, réponse sous la dépendance de plusieurs facteurs.

\* L'antigène lui-même: s'il s'agit d'une protéine soluble, l'utilisation d'un adjuvant est essentiel. Si l'antigène est une molécule de faible poids moléculaire ou est faiblement immunogénique, le couplage sur une molécule carrier (KLH, BSA) peut être requis.

Rappelons que l'antigène n'est pas obligatoirement une molécule purifiée, mais une structure antigénique complexe (par exemple, des cellules entières pour développer des anticorps monoclonaux contre des récepteurs de membrane ou des antigènes de groupe sanguin ou tissulaire).

\* La dose d'antigène est de l'ordre de:

- 10 ug d'antigène émulsionné dans 200 ul d'adjuvant de Freund
- $10^7$  cellules en suspension dans tampon phosphate.

\* La voie d'inoculation sera:

- soit intrapéritonéale (pour les cellules entières, par exemple)
- soit sous-cutanée ou dans les coussinets plantaires pour des antigènes solubles, avec de préférence plusieurs points d'injection différents.

\* En général, 2 à 3 injections distantes de 2 à 8 semaines seront mises en oeuvre. Un boost sera réalisé 3 jours avec la fusion soit intrapéritonéal, soit intraveineux.

## 2. Le choix du myelome parental

Plusieurs myelomes de souris sont disponibles pour la génération d'hybridomes. Ce sont des variants du myelome MOPC-21 sélectionné pour sa sensibilité au milieu de culture HAT: les cellules de ce myelome sont déficientes pour une activité enzymatique (hypoxanthine - guanine - phosphorybosyl transferase); elles sont incapables de se multiplier en présence d'aminoptérine et d'hypoxanthine. Ceci est fondamental pour la sélection biochimique des hybrides après la fusion.

Ces myelomes sont cultivés in vitro en milieu RPMI-1640 supplémenté avec du sérum de veau foetal (10 à 15%). Ils sont maintenus en culture en présence d'azaguanine qui élimine les éventuels révertants pour l'activité enzymatique déficiente. Les cultures sont maintenues à 37°C, en atmosphère saturée d'eau et avec 5% de CO<sub>2</sub>.

NS<sub>1</sub> et Sp2/O sont les myelomes les plus utilisés; ce dernier présente la qualité supplémentaire de ne pas sécréter spontanément une chaîne légère d'immunoglobuline.

D'autres myelomes de rat ou humains ont été utilisés avec succès par certains auteurs.

### 3. L'étape de fusion proprement dite

#### - Protocole de fusion:

Une fois bien immunisé, l'animal est sacrifié, la rate est prélevée stérilement puis dilacérée. Une suspension cellulaire homogène de splénocytes est mélangée avec les cellules de myelome dans le rapport de 1 pour 5 à 10 splénocytes. Après centrifugation le culot de cellules est remis en suspension dans l'agent fusionnant; le polyéthylène glycol (PEG). Son action est stoppée par addition progressive de milieu de culture RPMI-1640. Après nouvelle centrifugation pour éliminer l'excès de PEG, les cellules fusionnées sont délicatement remises en suspension dans le milieu sélectif de culture pour la croissance des hybridomes (RPMI - 1640, 10 à 15 % de sérum de veau foetal, additionné d'aminoptérine  $10^{-5}$  M et d'hypoxanthine  $10^{-3}$  M).

#### - Nécessité de la sélection par le milieu HAT:

La fusion par le PEG se réalise au hasard; dans la suspension cellulaire après fusion, on trouve des cellules hybrides entre 2 splénocytes (celles-ci ne survivront en culture que quelques jours). Les cellules de myelome non fusionnées et les hybrides entre 2 cellules myelomateuses ne pourront pas se multiplier du fait de leur sensibilité au milieu HAT, et meurent en 72 heures. Seuls les hybrides entre une cellule de myelome et un splénocyte vont croître dans ce milieu sélectif, car le splénocyte apporte l'enzyme HGPRT déficiente dans la cellule de myelome.

#### - Les divers paramètres qui influent sur l'efficacité de la fusion:

- . la concentration de PEG: doit être entre 30 et 50 %
- . le pH de la solution du PEG (pH optimal = 8)
- . le temps d'exposition du PEG: la fréquence des fusions augmente avec la durée d'exposition au PEG; mais la toxicité augmente aussi (en général 1 à 2 minutes)

. d'autres facteurs sont d'importance mineure:

- \* la température du PEG (37°C),
- \* son poids moléculaire,
- \* le rapport nombre de splénocytes/nombre de cellules de myelome.

#### 4. L'étape de criblage des hybridomes sécréteurs

Après fusion, les cellules sont réparties en plaques de 96 puits à raison de  $10^5$  cellules par puit. La culture est réalisée en incubateur à 37°C, 5 % de CO<sub>2</sub> et atmosphère saturée en vapeur d'eau.

4 à 6 jours après la fusion, on peut observer au microscope, la croissance d'un ou quelques amas de cellules hybrides au fond de chaque puit. La culture se poursuit jusqu'au 10 - 12ème jour où les cellules forment alors un tapis presque complet. Le surnageant de culture dans chaque puit est alors prélevé stérilement; la présence d'anticorps spécifiques vis-à-vis de l'immunogène va alors être recherchée.

De nombreuses méthodes de criblage des surnageants peuvent être mises en oeuvre; le choix de la méthode de "screening" constitue une des étapes primordiales pour la production d'anticorps monoclonaux. Il peut s'agir:

- soit d'un test radio-immunologique
  - . type précipitation en phase liquide (par exemple pour le screening d'anticorps monoclonaux comme des hormones),
  - . ou type sandwich sur phase solide,
- soit d'un test immunoenzymatique: la présence des anticorps spécifiques dans le surnageant de culture est alors révélée par une réaction colorée. Ces tests offrent les mêmes avantages de sensibilité et rapidité. De plus, ces derniers évitent tous les problèmes posés par la manipulation des radioéléments.

- Le criblage des surnageants peut encore être réalisé par des tests d'immunofluorescence sur cellules ou tissus,
- ou un test de cytotoxicité qui détecte les anticorps capables de fixer le complément et dirigés contre un antigène de surface cellulaire,
- ou encore des tests de rosettes pour les antigènes des globules rouges (groupe sanguin) ou pour tout antigène susceptible d'être couplé sur les érythrocytes,
- enfin, des tests d'immunoprécipitation et analyse sur gel de polyacrylamide.

Les cellules hybrides correspondant aux surnageants positifs dans le test de criblage vont être propagées; une partie des cellules sera congelée et conservée dans l'azote liquide et l'autre partie sous-clonée.

## 5. Clonage des anticorps

L'étape de clonage est indispensable:

- Pour réduire le risque de perte des hybridomes sécréteurs (les cellules non productives peuvent en effet croître plus rapidement que les hybridomes producteurs),
- Pour s'assurer que les anticorps sécrétés sont réellement monoclonaux.

Plusieurs techniques ont été décrites: clonage en agar, clonage par dilution limite ou clonage grâce au trieur de cellules (fluorescence activated cell sorter = FACS).

quelle que soit la méthode utilisée, le clonage sera effectué deux fois pour chaque lignée d'hybridome et la production d'anticorps spécifiques contrôlée par le test de criblage des surnageants de culture.



## 6. Production proprement dite des anticorps monoclonaux

Elle peut être réalisée par propagation in vitro des hybridomes et purification des anticorps monoclonaux à partir du surnageant de culture.

Mais, le plus souvent, des souris vont être ré-inoculées avec des cellules hybrides clonées. Un progrès important a été réalisé grâce à l'utilisation des souris Nude qui permet de s'affranchir des barrières très strictes de l'histocompatibilité.

Pour ce faire, on injecte chaque souris avec une suspension de  $10^6$  à  $10^7$  cellules dans le péritoine - 1 à 2 semaines plus tard, se développe une ascite tumorale - l'ascite est ponctionnée, centrifugée et filtrée.

La concentration en anticorps spécifique des ascites est environ 1000 fois plus élevée que celle des surnageants de culture.

Les anticorps monoclonaux des ascites peuvent être aisément purifiés par chromatographie d'affinité ou d'échange d'ions. Le bioréactif obtenu est finalement d'une extrême pureté comme le prouve l'électrophorèse en gel de polyacrylamide, réalisé en parallèle avec un antisérum conventionnel ou même sa fraction "immunoglobuline".

Ces anticorps monoclonaux pourront alors être couplés à un radio-élément artificiel, à une enzyme, à un fluorochrome.

### DIFFICULTES DE LA TECHNOLOGIE DES ANTICORPS MONOCLONAUX

La maîtrise des techniques de fusion et de clonage est relativement aisée (d'excellents livres en exposent les protocoles détaillés).

De plus, les réflexes d'aseptie nécessaires pour la culture cellulaire s'acquièrent rapidement.

Les difficultés de la technologie des anticorps monoclonaux sont d'ordre essentiellement matériel: elle nécessite, en effet, de disposer d'un laboratoire correctement équipé:

- hotte à flux laminaire vertical,
- incubateur CO<sub>2</sub>,
- animalerie,
- centrifugeuse et microscope inversé,
- possibilité de stockage des hybridomes dans l'azote liquide
- matériel stérile à usage unique très onéreux (pipettes, flacons de culture, plaques de cultures multipuits...)
- milieux de culture également onéreux.

Le coût de revient d'un anticorps monoclonal est de ce fait relativement élevé.

Quelques difficultés d'ordre purement technique peuvent se présenter:

- nous ne reviendrons pas sur la nécessité absolue de maîtriser un test de criblage des hybridomes, avant toute tentative de fusion: test sensible (les méthodes radio-immunologiques et immuoenzymatiques sont les plus performantes) test rapide (résultat en moins de 24 heures), test spécifique (la spécificité du test peut être en défaut par l'utilisation d'un antigène non purifié. On peut être alors amené à mettre en oeuvre un test de screening "de confirmation").

- de plus, il est important de disposer d'un myelome parental à haut rendement de fusion (l'infection avec les mycoplasmes, très fréquentes dans les cultures cellulaires, peut être à l'origine des fusions "blanches"; d'autre part, il est nécessaire de vérifier pour chaque fusion que les cellules de myelome sont sensibles au milieu HAT.

- Il faut également disposer d'un bon lot de sérum de veau foetal assurant une croissance rapide des myelomes, donc des hybrides après la fusion et le sous-clonage.

#### LES AUTRES METHODOLOGIES D'OBTENTION DES ANTICORPS MONOCLONAUX

En effet, outre l'hybridation somatique à l'aide du PEG, d'autres techniques ont été utilisées avec succès:

- nous ne citerons que pour mémoire la fusion cellulaire avec le virus Sendaï.
- par contre, la propriété de transformation des lymphocytes humains par le virus d'Epstein-Barr (EBV) est de plus en plus utilisée pour l'obtention des lignées lymphoblastoïdes qui sécrètent des anticorps monoclonaux.

Ces anticorps monoclonaux humains ont l'avantage, d'avoir des applications directes en médecine. De plus, la transformation par l'EBV peut être la source unique d'obtention d'anticorps monoclonaux lorsqu'on ne dispose pas d'un immunogène chez l'homme en quantité suffisante pour envisager des immunisations animales (c'est le cas pour certains antigènes encore non caractérisés: virus des hépatites Non-A Non-B).

Le principe de cette technique est simple: les lymphocytes totaux sont isolés par gradient de Ficoll à partir du sang d'un sujet immunisé contre l'antigène. Les lymphocytes T sont éliminés par rosettes classiques sur hématies de mouton.

Les lymphocytes B sont transformés avec une suspension de virus EBV. Après quelques semaines de culture, une lignée lymphoblastoïde est établie et un test de criblage permet de rechercher une activité anticorps spécifique dans le surnageant. Les lignées positives seront alors sousclonées par étapes successives.

Cette technologie de transformation par le virus EBV peut être précédée:

- soit d'une restimulation in vitro des lymphocytes par contact avec l'antigène,
- soit d'une sélection des lymphocytes B de spécificité prédéterminée (rosettes, immunoadsorption).

La transformation peut être associée à une seconde des lymphocytes transformés avec les cellules d'un myelome humain ou murin.

A côté de la transformation des lymphocytes par le virus EBV, d'autres technologies sont appelées à se développer dans un futur proche:

- l'électrofusion: dérive de la technologie classique de l'hybridation somatique. La fusion est réalisée par modification des propriétés membranaires dans un champ électrique, qui favorise l'échange du matériel génétique. La fusion est réalisée cellule après cellule, ce qui supprime théoriquement la nécessité des sous-clonages secondaires des hybrides.

- les progrès réalisés en biologie moléculaire autorisent à envisager la production d'anticorps monoclonaux grâce à des lymphocytes B immortalisés par transfert d'ADN.

#### APPLICATIONS DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Elles sont extrêmement nombreuses et variées et il ne saurait être question d'en faire une liste exhaustive.

Dans le domaine de la recherche appliquée au diagnostic, les anticorps monoclonaux présentent toutes les caractéristiques d'un bioréactif idéal, parfaitement standardisé, spécifique et produit en quantité illimitée. Deux exemples vont illustrer l'application des anticorps monoclonaux au diagnostic:

- le diagnostic des infections à chlamydia
- et le diagnostic sérologique d'une maladie infectieuse: l'hépatite virale humaine de type A.

### 1. Le diagnostic des infections à chlamydia

Les chlamydiae sont des agents infectieux apparentés aux virus par leur petite taille et leur multiplication intracellulaire obligatoire. Par contre, comme les bactéries, ils possèdent les deux types d'acides nucléiques (ADN et ARN) une paroi et un équipement enzymatique assez conséquent.

Dans le genre chlamydia, on distingue deux espèces qui possèdent un antigène commun mis en évidence par immunofluorescence ou technique immunoenzymatique:

- *Chlamydia trachomatis*: infecte surtout l'être humain particulièrement dans les pays en voie de développement,
- *Chlamydia psittaci*: infecte surtout l'être humain particulièrement dans les pays en voie de développement,
- *Chlamydia psittaci*: infecte préférentiellement les animaux. Plusieurs enquêtes épidémiologiques ont démontré le rôle prépondérant des chlamydiae dans les avortements spontanés des ovins.

Les chlamydiae étant des bactéries intracellulaires, de culture difficile, le diagnostic de laboratoire est le plus souvent un diagnostic indirect par la mise en évidence d'anticorps anti-chlamydia dans le sang.

La mise au point d'un test pour la détection directe des chlamydiae dans le mucus vaginal par immunofluorescence représenterait une technique plus rapide que l'isolement de l'agent pathogène par formation de plages de lyse qui exige la survie des chlamydiae depuis le prélèvement jusqu'au moment de la culture et l'entretien

d'une lignée de cellules. Ce test d'immunofluorescence directe serait également plus sensible, moins onéreux et permettrait aux prélèvements de voyager par la poste.

Un tel test de diagnostic chez l'homme et l'animal nécessite un bioréactif aisément fourni par la technologie des anticorps monoclonaux:

- des souris BALB/c sont immunisées avec une souche de chlamydia cultivée sur oeuf de poule embryonné, puis semi-purifiée. Après fusion avec le myelome murin Sp2/O, l'activité anticorps spécifique dans les surnageants de culture est recherchée par immunofluorescence sur cellules Mac Coy infectées par les différentes souches de chlamydia.

On sélectionne ainsi un hybridome qui sécrète un anticorps monoclonal dirigé contre l'antigène commun aux diverses souches de chlamydia. Cet anticorps peut donc être utile au diagnostic des infections humaines ou animales. Il est de plus capable de révéler les deux formes que prend l'agent pathogène au cours de son cycle de développement: corps élémentaires (forme infectieuse) et corps réticulés.

- L'anticorps monoclonal a été produit sous forme de liquide d'ascite puis purifié et conjugué à l'isothiocyanate de fluoresceine. Sous cette forme, il permet le diagnostic direct de l'infection à partir d'un prélèvement vaginal: le prélèvement sur écouvillon est étalé sur lame, séché à l'air, fixé; il est incubé 15 à 30 minutes avec le bioréactif. Après lavage, l'observation directe des prélèvements sous microscope à fluorescence met en évidence l'agent pathogène.

- Les performances de l'anticorps monoclonal pour le diagnostic des chlamydiae humaines sont excellentes par rapport à un antiserum conventionnel de référence: sur une série de 114 prélèvements, il n'existe aucune discordance de résultats entre ces deux réactifs. La même observation peut être faite chez l'animal sur 128 prélèvements.

## 2. Diagnostic sérologique des hépatites virales A humaines

L'hépatite A humaine est une maladie extrêmement fréquente et bénigne; très souvent inapparente, ne se traduit que par l'apparition d'anticorps spécifiques qui persistent durant toute la vie de l'individu. Comment dans ce cas différencier une maladie récente d'une immunité séquellaire due à une infection ancienne ? Ceci est possible par la mise en évidence dans le sérum d'anticorps spécifiques du virus de l'hépatite A (VHA) d'une classe particulière: les immunoglobulines M qui apparaissent quelques jours après le début de l'infection et sont progressivement remplacées par les immunoglobulines G.

Les Ig M anti-VHA sont donc le stigmate d'une infection récente par ce virus et vont être mises en évidence par un test sérologique:

- Un premier type de test est aisément élaboré: le virus est fixé sur un support solide (bille) et incubé avec le sérum du malade. La bille retient alors les IgM et IgG spécifiques. La fixation des IgM est révélée par un anticorps monoclonal spécifique de cette classe d'immunoglobuline. Mais ce type de test est à l'origine de nombreux faux négatifs (par saturation des sites antigéniques par les IgG si elles sont prédominantes dans le sérum) ou de faux positifs (notamment les sérums contenant des facteurs rhumatoïdes).

La génération de nouveaux tests a donc été entreprise. Ils reposent sur la technique d'immunocapture:

- L'anticorps monoclonal anti-IgM est fixé sur le support solide et incubé avec le sérum du malade. Il capture toutes les IgM sériques; et la spécificité de celles-ci sera secondairement révélée par incubation avec l'antigène (VHA) et un second anticorps monoclonal spécifique de ce virus.

- Le développement de tels tests d'immunocapture se heurte à deux problèmes: ils nécessitent de disposer d'une source d'antigène si possible standardisé (ce problème est résolu pour le VHA dont la culture sur différentes lignées cellulaires a été réalisée avec succès). D'autre part, ils nécessitent de disposer d'un bioréactif spécifique de l'antigène; dans ce but, l'immunisation de souris a été entreprise avec un extrait brut d'une culture cellulaire infectée avec le VHA.

La technologie des anticorps monoclonaux a permis l'obtention d'un réactif spécifique de ce virus:

- l'immunofluorescence indirecte révèle en effet la présence du virus dans les cellules infectées à l'épato-me d'Alexander.

- cet anticorps ne réagit avec aucun constituant cellulaire sur une culture contrôle non infectée.

Grâce à ce bioréactif spécifique, un test immunoenzymatique de capture pour les IgM anti-VHA a été élaboré et comparé au test commercial de référence (HAVAB M EIA-Laboratoires ABBOTT). Une étude d'un panel de sérums est en cours de réalisation, mais on peut affirmer que leur sensibilité est équivalente et qu'aucune discordance de résultats n'a été trouvée entre les deux tests jusqu'à présent. Enfin, 20 sérums contenant des facteurs rhumatoïdes sortent tous négatifs dans ce test d'immunocapture.

Nous avons développé largement l'intérêt des anticorps monoclonaux en tant que bioréactifs de diagnostic. Mais leurs caractéristiques propres leur confèrent un domaine immense d'applications:

. dans la recherche fondamentale, ils autorisent une analyse de la structure antigénique fine des molécules, à l'aide d'un panel d'anticorps monoclonaux dirigés contre les différents épitopes de l'antigène. Ils aident à l'étude des relations structure-fonction (par exemple pour le récepteur à l'acétylcholine à la jonction neuromusculaire).



Ils ont permis la découverte et la caractérisation d'antigènes de différenciation (sous-groupes de lymphocytes T), la purification de certaines molécules par chromatographie d'affinité (interféron).

. en médecine humaine, les anticorps monoclonaux sont utilisés avec succès, non seulement pour le diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires, mais aussi pour le dosage de médicaments ou d'hormones stéroïdes (notamment la B HCG urinaire: test de grossesse).

Les anticorps monoclonaux ont aussi des applications *in vivo*:

- soit pour l'immunolocalisation des tumeurs ou des organes,
- soit en thérapeutique: notamment pour les leucémies, les transplantations d'organes, les maladies infectieuses et parasitaires. Ces aspects sont appelés à se développer avec l'avènement des anticorps monoclonaux humains.

. en médecine vétérinaire: ils ont des applications dans la surveillance sérologique des vaccinations en masse dans les élevages, ou encore dans la détermination du jour de l'évolution chez les bovins en vue de l'insémination artificielle (mise en évidence du pic d'hormone L H dans les urines).

. en pathologie végétale: ils ont, certainement, d'importants débouchés pour le diagnostic des virus et des parasitoses,

. dans l'industrie de la fermentation, le criblage de mutants de bactéries ou de levures de haute performance est grandement facilité par l'analyse des antigènes de surface grâce aux anticorps monoclonaux. Enfin, les réactifs monoclonaux permettraient d'améliorer le contrôle sanitaire des produits issus de l'industrie alimentaire.

En conclusion, la technologie des anticorps monoclonaux offre des perspectives nouvelles dans nombre de domaines. Son importance peut être mesurée par le nombre de publications scientifiques qui mettent à profit cette technologie, et qui sont en progression constante depuis 1975. D'autre part, le nombre de sociétés de biotechnologie des anticorps monoclonaux ne cesse de croître, car non seulement les anticorps monoclonaux sont appelés à remplacer les antisérums conventionnels, mais ils ont ouvert de nouveaux marchés.

Enfin, la technologie des anticorps monoclonaux ne cesse de progresser, notamment par association avec la technologie de l'ADN qui en recule les limites.

#### B I B L I O G R A P H I E

KOHLER G. and MILSTEIN C.- Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975 - 256, 495.

CAMPBELL A.M.- Monoclonal antibody technology/dans la série:  
Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology.  
Edited by: BURDON R.H. and VAN KNIPPENBERG P.H. 1984, ELSEVIER  
AMSTERDAM.

GODING J.W.: Monoclonal antibodies: Principles and practice.  
Academic Press - 1983.

KENNETT R.H., BECHTOL K.B., Mac KEARN T.J.- Monoclonal antibodies  
and functional cells lines: Progress and applications. Plenum  
Press NEW YORK 1982.

KLEIN E., BECHTOL K.B., Mac KEARN T.J., Monoclonal antibodies  
hybridomas: A new dimension in biological analyses - Plenum  
Press NEW YORK 1981.

BURNET F.M. The clonal selection theory of acquired immunity.  
Cambridge University Press 1959.