

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : Gilles Thibault, PU-PH

Unité : UMR7292 GICC <http://gicc.cnrs.univ-tours.fr/accueil/>

Equipe : A2RC, Anticorps, récepteurs Fc et réponses cliniques

Email de l'encadrant : gilles.thibault@univ-tours.fr

Sujet : Clivage enzymatique de la région charnière des IgG et capacité fonctionnelle du fragment Fc : influence du format de l'anticorps et de son micro-environnement. Plus de détails

La région charnière des IgG est sensible à la protéolyse par diverses enzymes. Historiquement, l'utilisation de la papaïne et de la pepsine a ainsi permis d'obtenir respectivement des fragments Fab après clivage des régions charnières des deux chaînes lourdes en amont des ponts disulfures et des fragments F(ab')₂ après clivage en aval de ces ponts. Dans le courant des années 2000, il a été montré que d'autres enzymes présentes dans des environnements inflammatoires ou cancéreux (MMP, Cathepsin G, Human Neutrophil Elastase...) ou infectieux (IdeS) pouvaient également cliver les régions charnières. Les sites de clivages ont été définis et sont pour la majorité en aval des ponts disulfures. Le clivage se fait habituellement avec une cinétique plus rapide pour l'une des deux chaînes lourdes (single chain cleaved IgG scIgG). En conditions non dénaturantes, l'IgG clivée ne libère pas le fragment C terminal et conserve donc une structure quasi-identique à la protéine non clivée. En conditions dénaturantes le fragment est libéré (Fcm pour Fc monomérique) et l'IgG ne possède plus alors qu'un hémifc avec la chaîne lourde restante. Si l'IgG est soumise à une action prolongée des enzymes, la seconde chaîne lourde est clivée à son tour et un fragment F(ab')₂ est généré. Ces phénomènes de clivage existent de manière naturelle sur les IgG endogènes puisque le clivage entraîne la formation de néo-antigènes et qu'on retrouve chez l'homme des anticorps circulants dirigés contre ces néo-antigènes..

Au cours de la fixation d'une IgG sur un FcγR, chaque chaîne lourde établit des interactions avec des acides aminés du récepteur. Chacune de ces chaînes possède ainsi une interaction par sa région charnière. Ainsi la zone de la région charnière des IgG, qui permet les interactions avec les FcγR et avec le C1q est également celle qui est sensible au clivage par les protéases. Il n'est donc pas surprenant que les formes clivées des IgG perdent leur capacité de recrutement des fonctions effectrices dépendantes des FcγR et du C1q (notamment les propriétés cytolytiques). Il a été proposé que ce mécanisme de clivage pourrait représenter un mécanisme d'échappement des environnements inflammatoires, tumoraux ou infectieux à l'action des anticorps qu'ils soient thérapeutiques ou endogènes. Dans ce contexte les objectifs de la thèse sont :

- 1) d'étudier si le clivage de l'anticorps est influencé par le format de celui-ci (classes d'anticorps, glycoformes...).
- 2) d'étudier si le clivage des anticorps par des protéases dépend de sa liaison préalable au FcR ou au C1q..
- 3) d'étudier comment le microenvironnement (présence de cellules productrices de protéases, présence d'IgG endogènes, présence d'inhibiteurs) peut conditionner le clivage des anticorps.

Le clivage des anticorps sera évalué en développant les méthodes analytiques (chromatographiques, immunologiques) appropriées et/ou en évaluant l'affinité des anticorps clivés pour les FcR et le C1q ainsi que les réponses fonctionnelles dépendantes de ces molécules.

A terme ces études devraient permettre de montrer si une partie de la variabilité de la réponse aux anticorps thérapeutiques ou de la réponse à des anticorps pathogènes est liée à une variabilité des processus de protéolyse de la région charnière des anticorps.