

Bioinformatique et biostatistiques appliquées à la biologie

Enseignements d'Immunoinformatique-
IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®

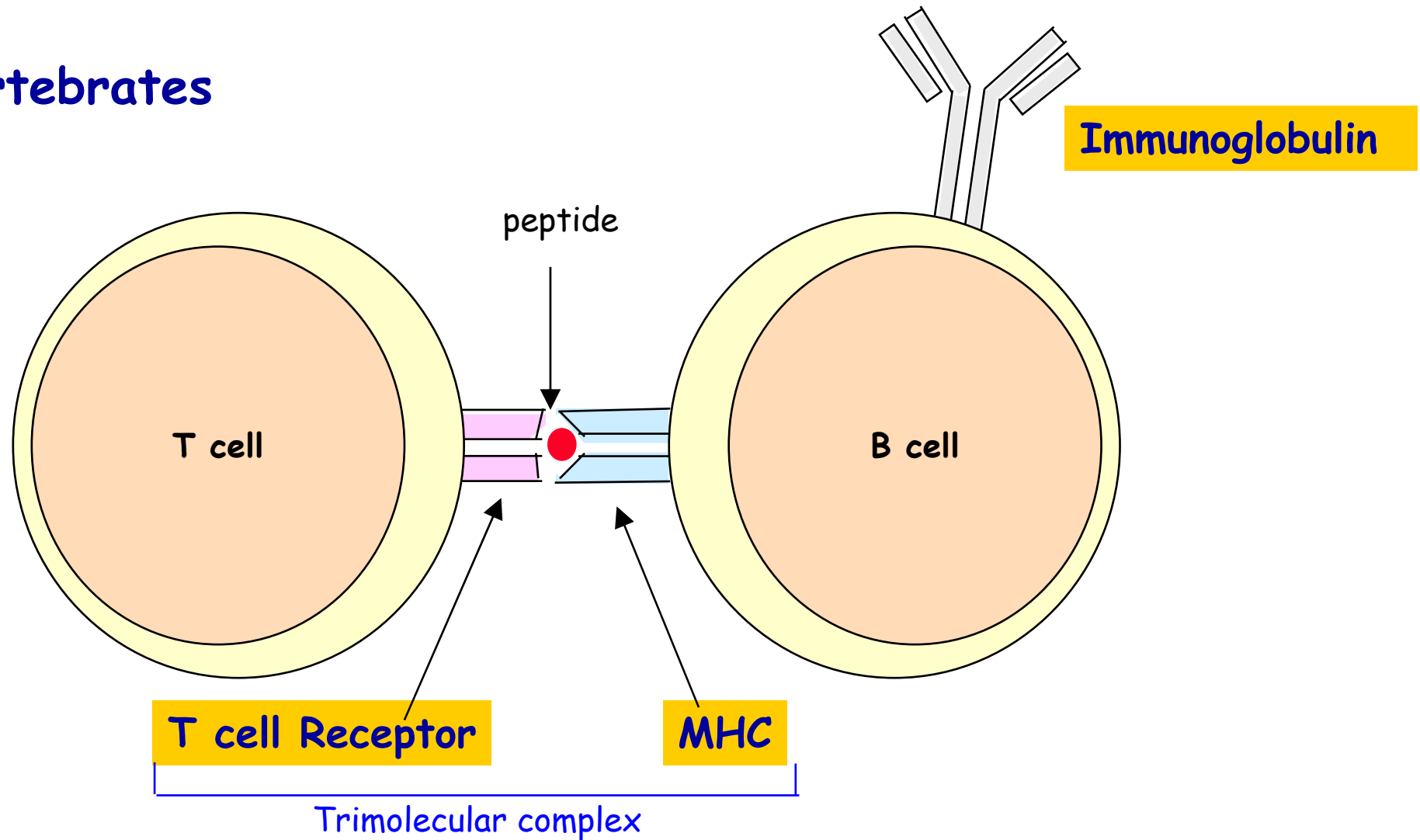
Séances : Vendredi 26 octobre

Souphatta SASORITH

- Les IG et IMGT®
- Les origines de la diversité des domaines variables des IG
- Structure des IG :
 - caractéristiques du repliement de type IG
 - structure d'un V-DOMAIN et d'un C-DOMAIN
 - colliers de Perles
- Description des IG (domaines, chaînes et récepteurs) de façon standardisée
- Glycosylation
- Les amino acides : charges, donneur et accepteur d'hydrogène, polarité des chaînes latérales, la liaison hydrogène
- Interaction protéine-protéine (IG / Lysozyme)
- Introduction à la chimérisation et à l'humanisation des anticorps
- INN, nomenclature

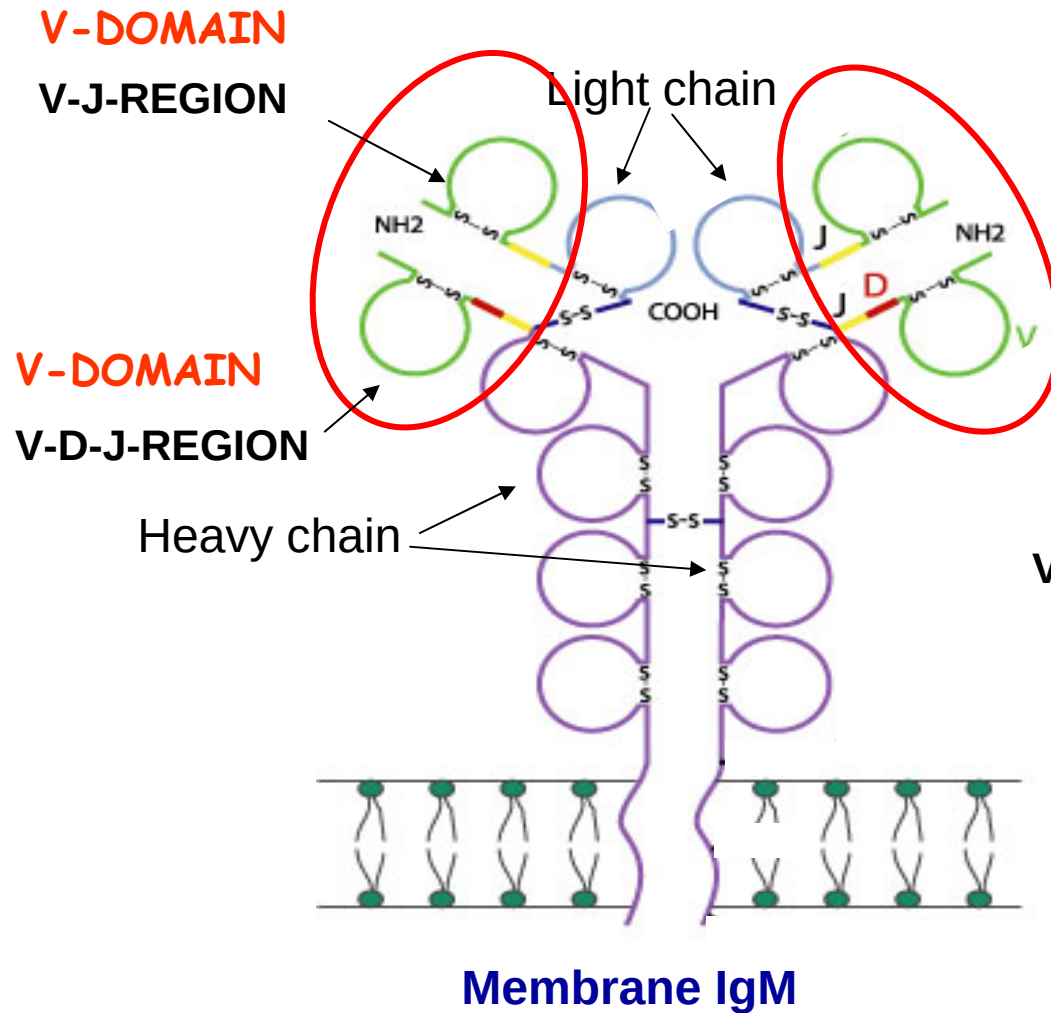
IMGT domain of research: the adaptive immune system

Vertebrates

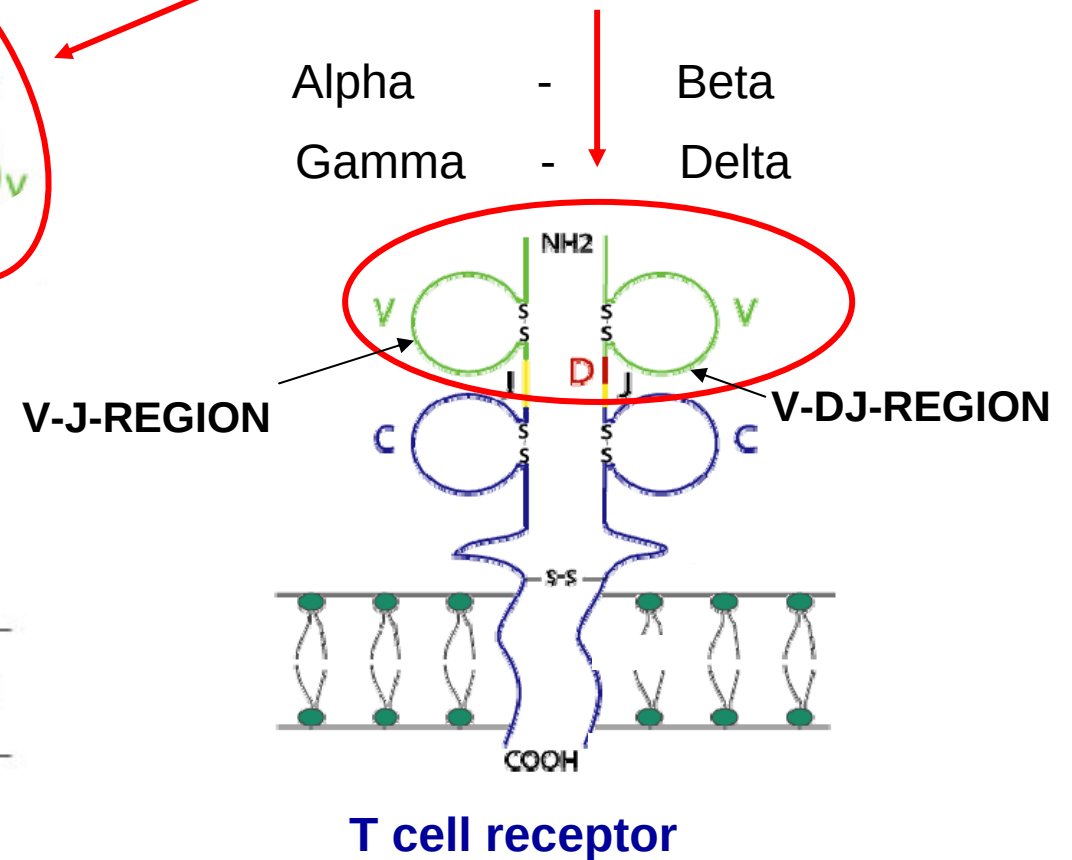


Immunoglobulin (IG)

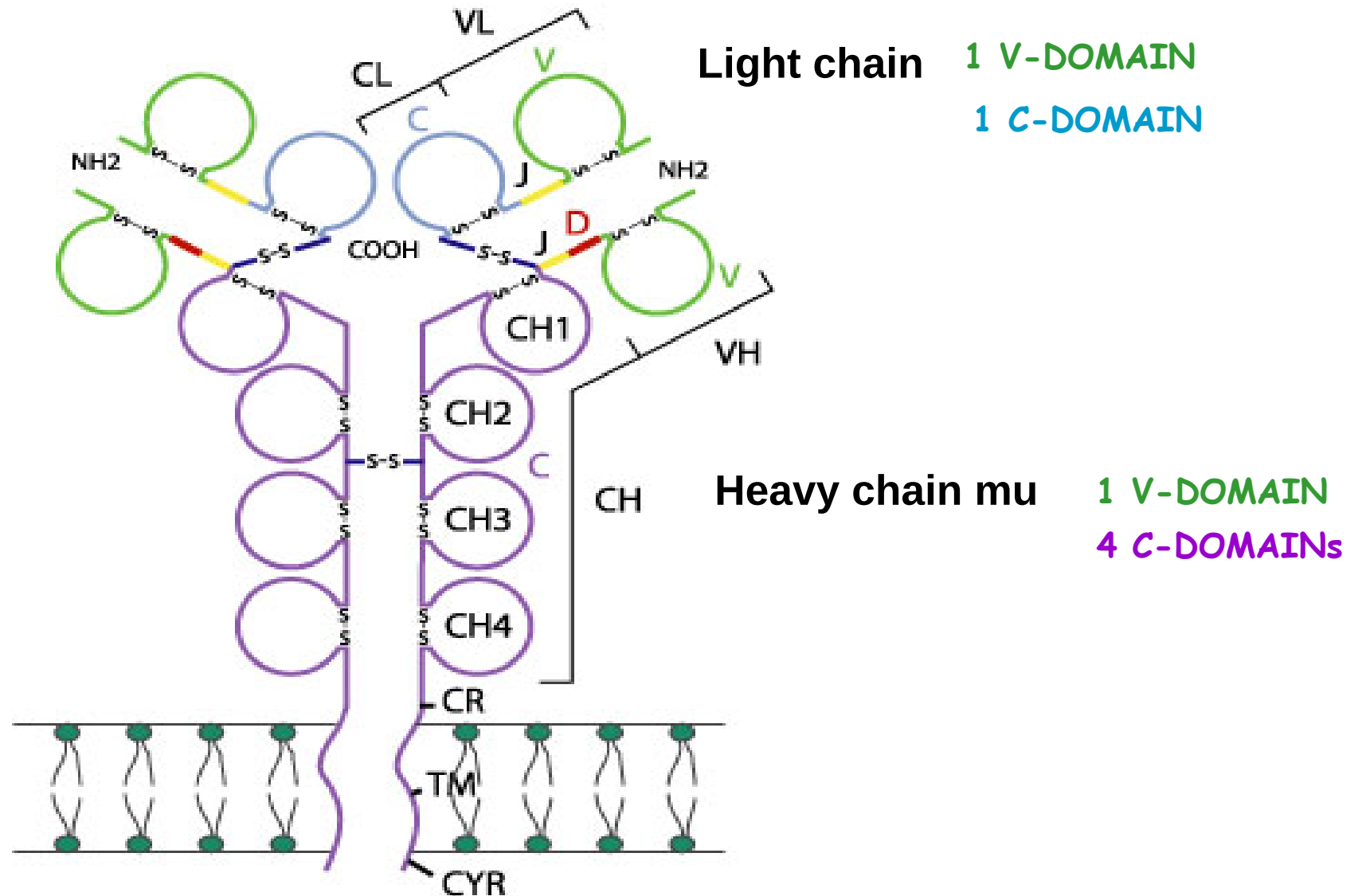
T cell receptor (TR)



Contribution of the
2 V-DOMAINS
to the antigen binding site

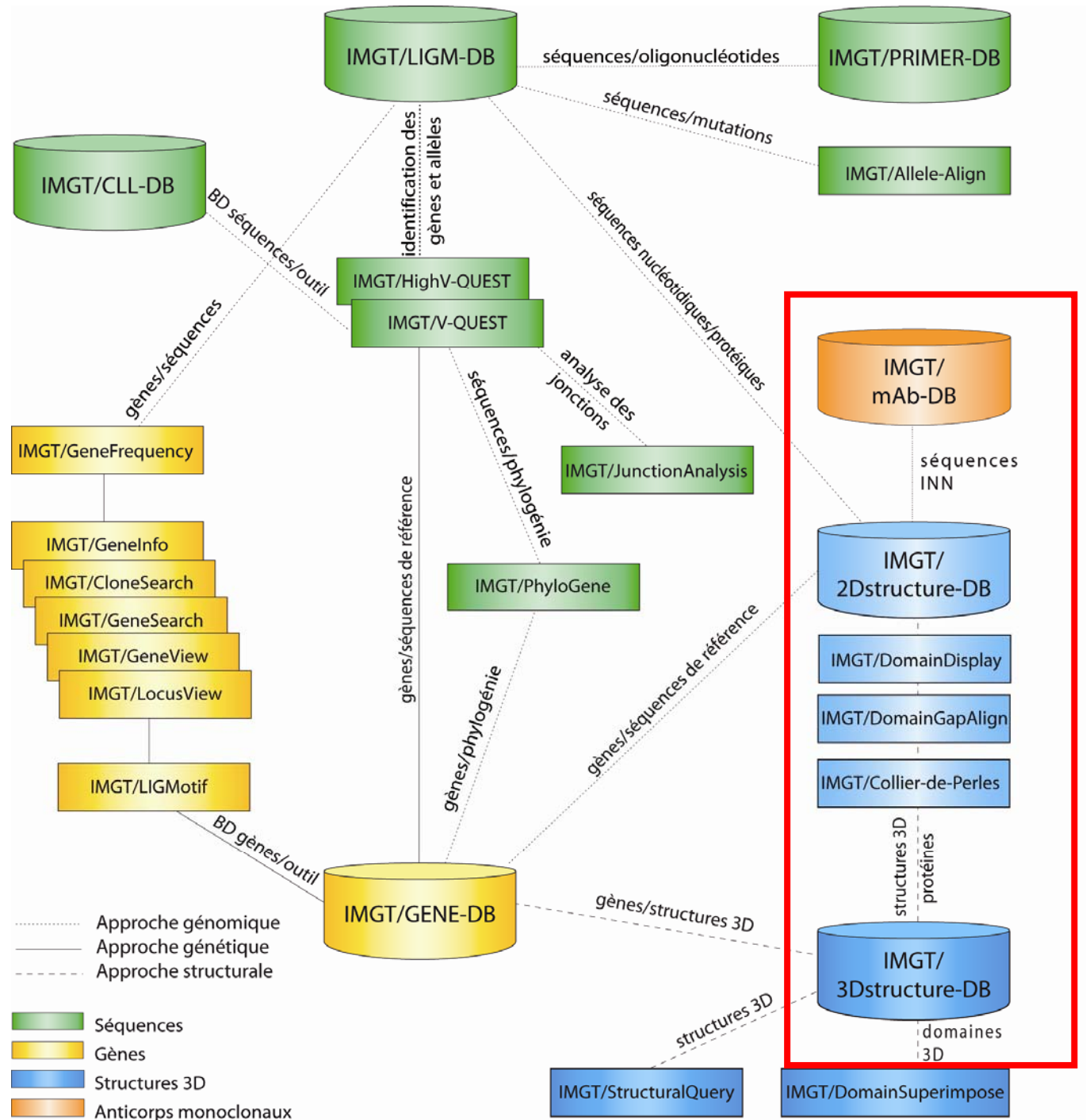


<http://imgt.cines.fr>



IMG T databases and tools

IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®



7 bases de données

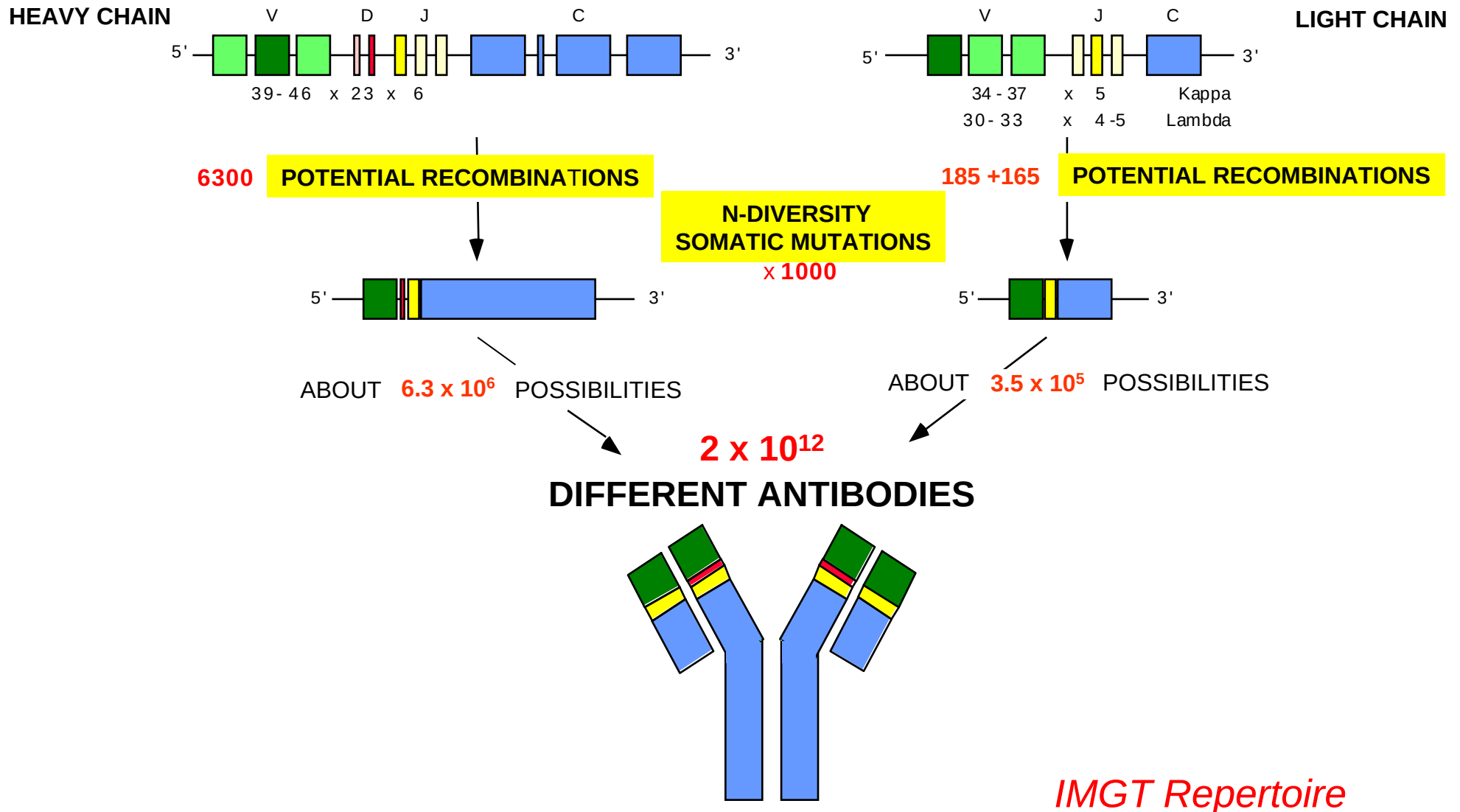
19 outils

15 000 pages web

Origines de la diversité des domaines variables des immunoglobulines

Immunoglobulin (IG) synthesis

150 FUNCTIONAL IG GENES

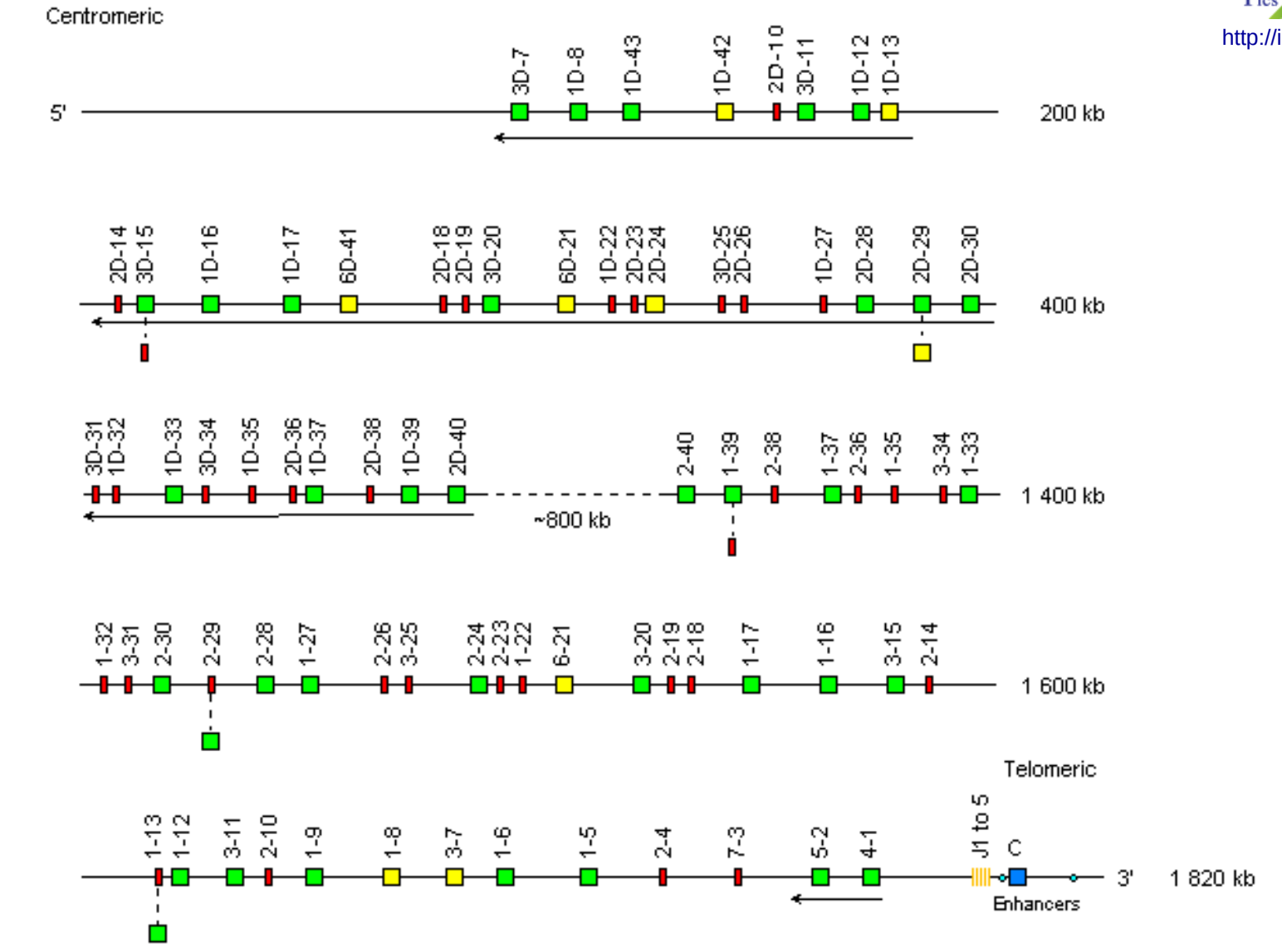


Chromosome 14q32.33



Human IGK locus

Chromosome 2p11.2



Generation of the JUNCTION diversity

3'V-REGION

N-REGION

D-REGION

N-REGION

5'J-REGION

tgtgcaaa ga



tacc



agcatattg

gtggtgactgctat tcc



gatt

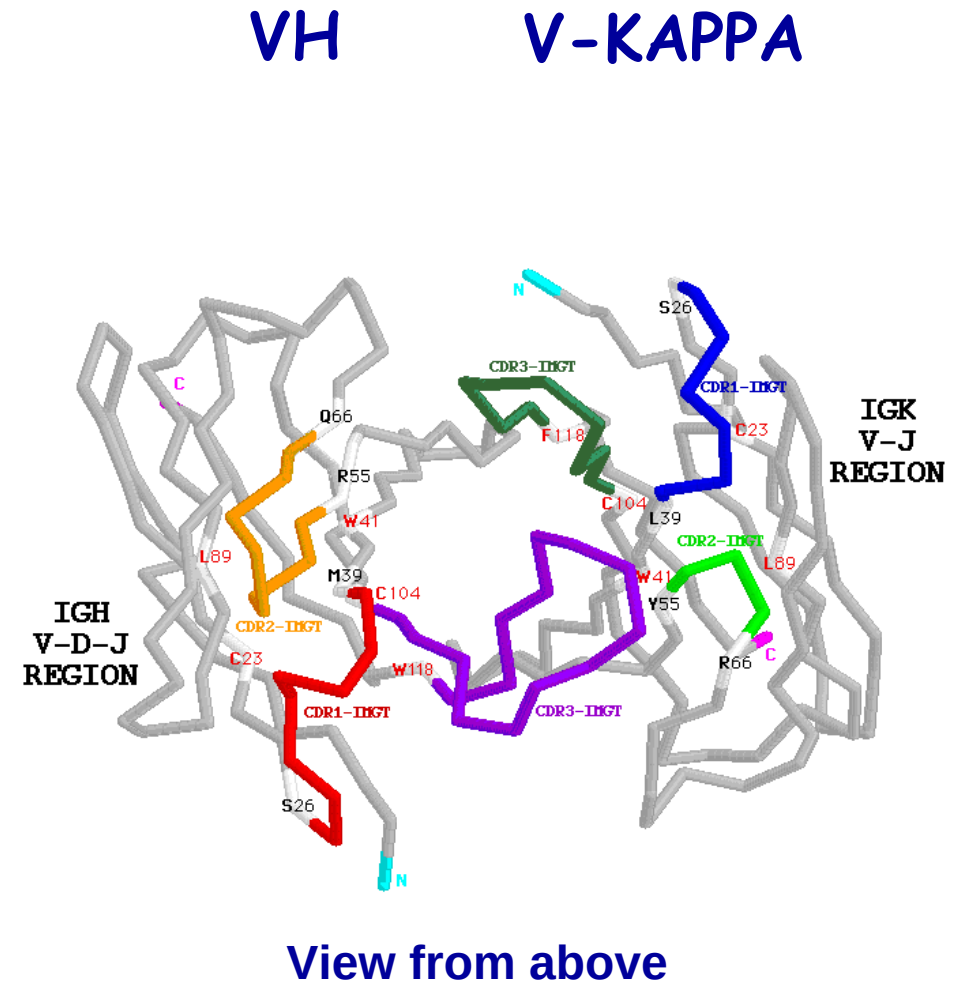
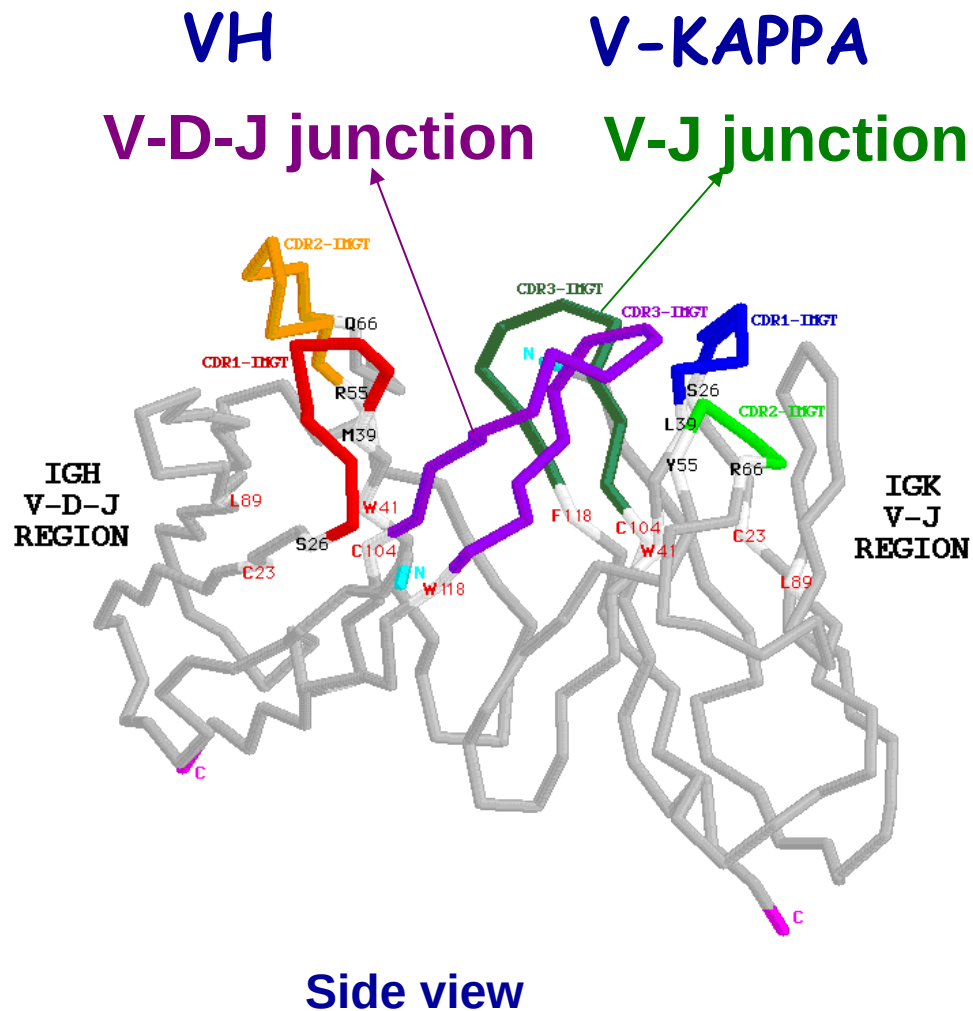


acaactgggtcg actcctgg

JUNCTION

C A P Y R G D T Y D Y S W
tgt gcg cca tac cgg ggt gac act tat gat tac tcc tgg

Junctions of the V-DOMAINS



Mouse(Mus musculus) E5.2Fv

CDR3-IMGT= Complementarity determining region (105-117)

V-J junction (104-118)

V-D-J junction (104-118)

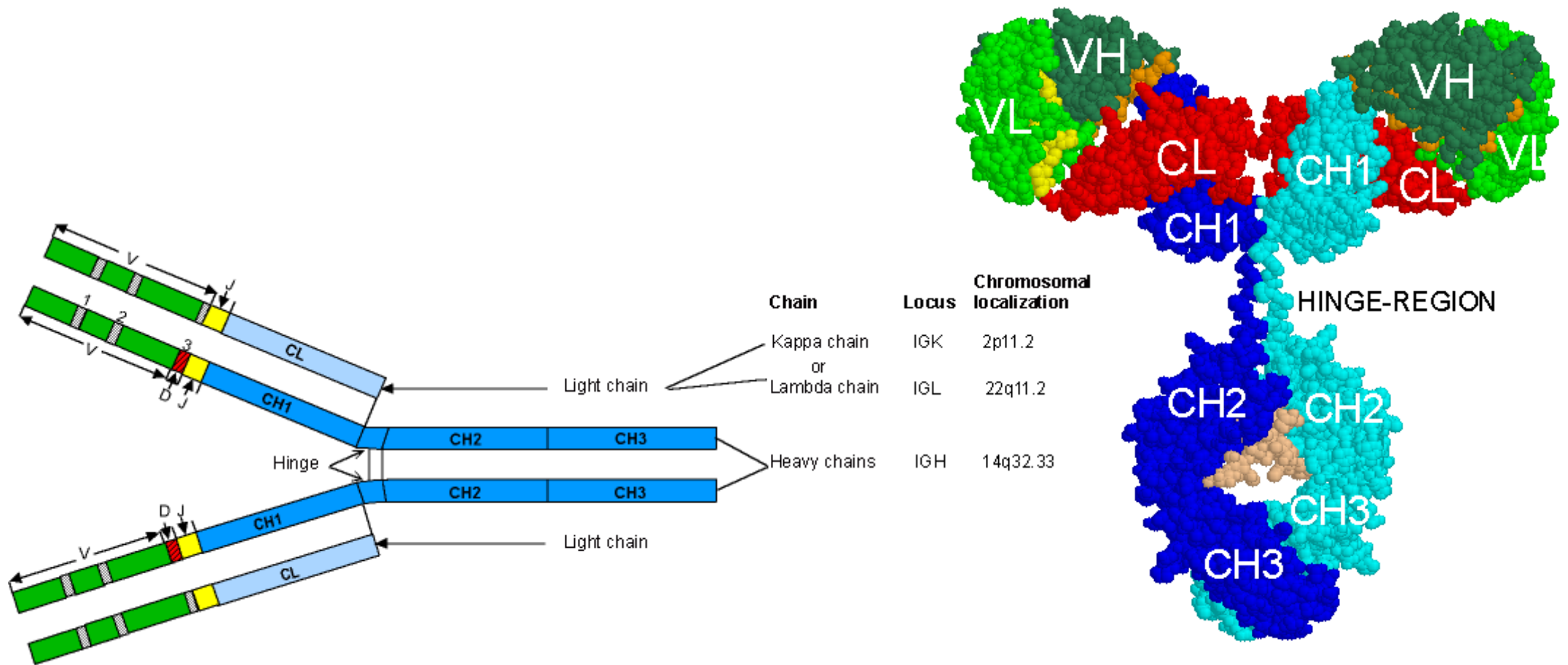
Propriétés structurales et biologiques des IG humains

Print of this table: Lefranc, M.-P. and Lefranc, G., The Immunoglobulin FactsBook, Academic Press, London, UK (458 pages), 2001, ISBN:012441351X

Properties	Classes and subclasses								
	IgM	IgD	IgG				IgA		IgE
			IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	
Molecular weight of secreted form (kDa) (1)	950(p)	170-180	150	150	155-165	150	160 (m) 300 (d)	160 (m) 350 (d)	190
Chain composition	(κ2μ2)5 or (λ2μ2)5	κ2δ2 or λ2δ2	κ2γ12 or λ2γ12	κ2γ22 or λ2γ22	κ2γ32 or λ2γ32	κ2γ42 or λ2γ42	(κ2α12)1-2 or (λ2α12)1-2	(κ2α22)1-2 or (λ2α22)1-2	κ2ε2 or λ2ε2
Functional valency	5 or 10	2	2				2 or 4		2
Structure (2)	monomer (mb) pentamer (s)	monomer	monomer				monomer (mb) dimer (s)		monomer
Interchain disulphide bonds per monomer	1	1	2	4	11	2	2		1
Other chain	J chain (16 kDa)	-	-				J chain (16 kDa) SC secretory component (70 kDa)		-
Sedimentation coefficient in Svedberg unit (S)	18-20	7	6.5-7.0				7, 10, 13, 15, 17		7.9
Carbohydrate average (%)	10-12	9-14	2-3				7-11		12-13
Adult level range (age 16-60) in serum (g/L) (3)	0.25-3.1	0.03-0.4	5-12	2-6	0.5-1	0.2-1	1.4-4.2	0.2-0.5	0.0001-0.0002
			8.0-16.8						
Approximate % total IG in adult serum	10	0.2	45-53	11-15	0.03-0.06	0.015-0.045	11-14	1-4	0.004
Synthetic rate (mg/kg Weight/day)	3.3	0.2	33	33	33	33	19-29	3.3-5.3	0.002
Biological half-life (day)	5-10	0.4	21-24	21-24	7-8	21-24	5-7	4-6	1-5
Transplacental transfer	0	2-8	++	+	++	++	0	0	0
Complement activation classical pathway (C1q)	+++	0	+++	+	+++	0	0	0	0
Complement activation alternative pathway	0	0	0	0	0	0	+	0	0
Binding macrophages and other phagocytic cells (FcγR or FCGR) (4)	0	+	+++	+/-	+++	+/-	0	0	0
Binding to mast cells and basophils (FcεR or FCER)	0	0	0	0	0	0	0	0	+++
Binding to epithelial poly-IG receptor	+	0	0	0	0	0	+++	+++	0
Reactivity with <i>Staphylococcus</i> protein A	0	0	++	++	0	++	0	0	0

Structures 3D des Immunoglobulines

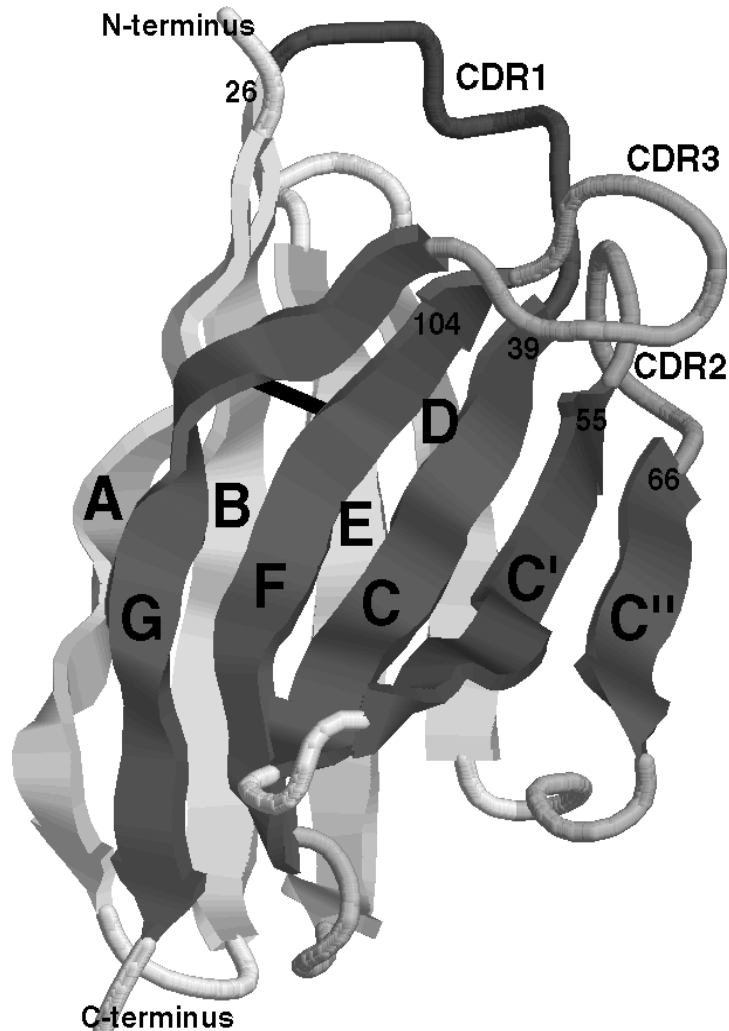
Structure d'une Immunoglobuline



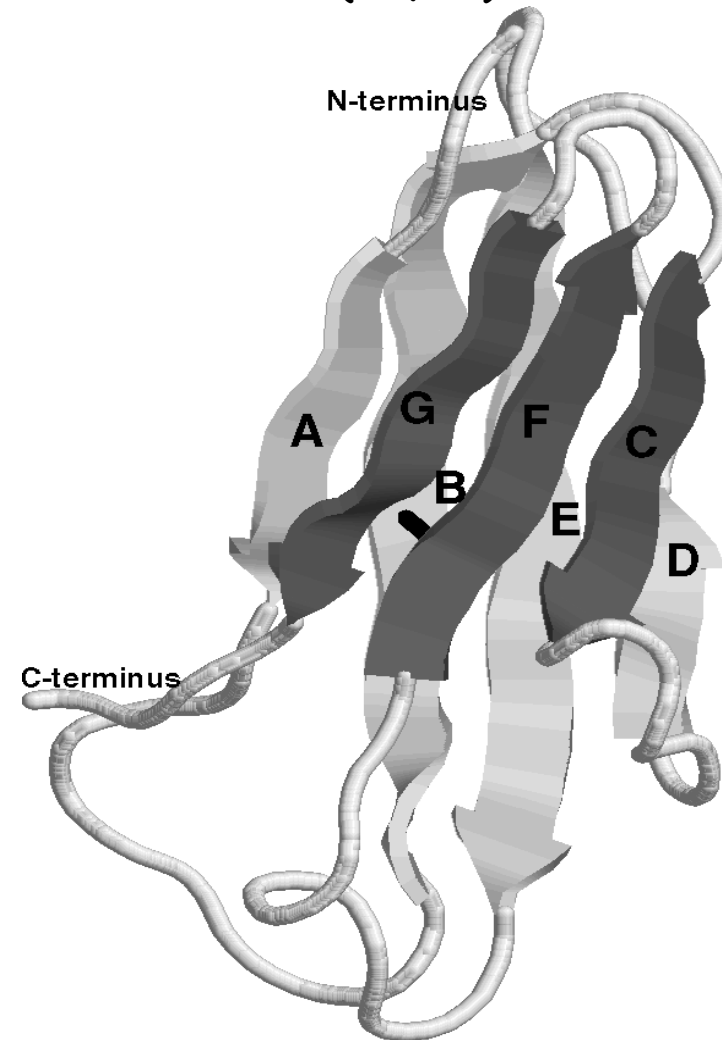
Les IG sont constituées de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Chaque chaîne est issue de la recombinaison de plusieurs gènes appartenant à des familles multigéniques.

Structural domains (IG et TR)

V-DOMAIN (IG, TR) AND V-LIKE-DOMAIN



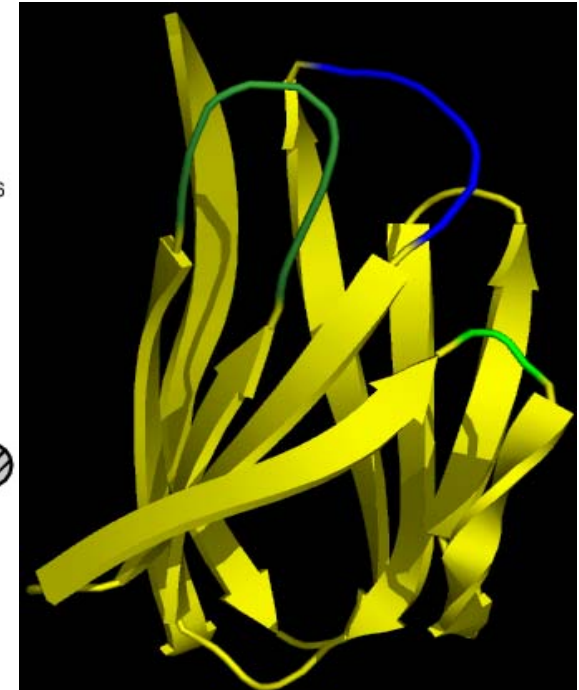
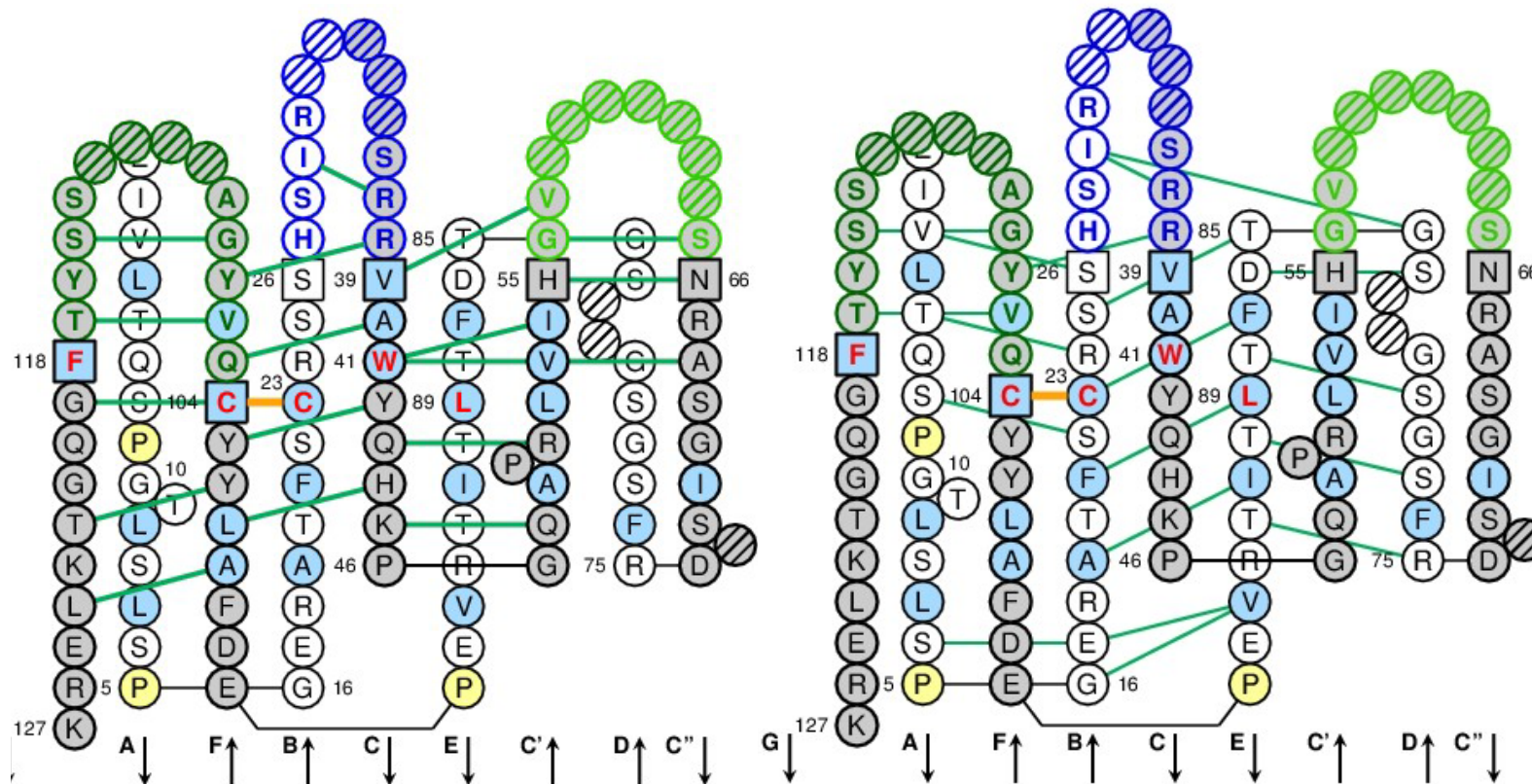
C-DOMAIN (IG, TR) AND C-LIKE-DOMAIN



Le repliement des IG est de type sandwich bêta constitué de 2 feuillets bêta antiparallèles.

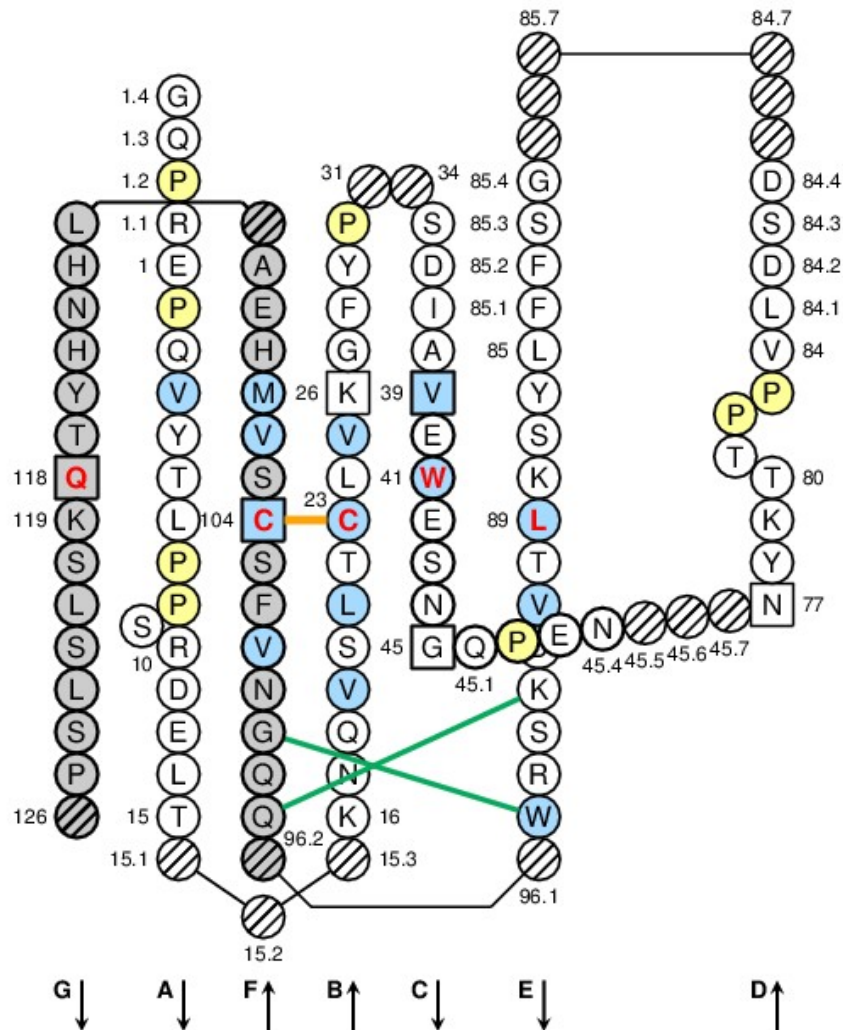
- V-DOMAIN : 9 brins antiparallèles et 3 boucles hypervariables (ou CDR pour « Complementarity Determining Region ») qui assurent la liaison avec un antigène.
- C-DOMAINS : 7 brins antiparallèles reliés entre eux par des tournants beta ou des boucles.

IMGT NUMEROTATION UNIQUE: Colliers de Perles de V-DOMAIN



- Les liaisons Hydrogène stabilisant chaque feuillet sont représentées en vert
- Cette numérotation assure que les AA occupant une même position, quels que soient l'espèce ou le type de domaine, sont dans des positions équivalentes (séqu et 3D)

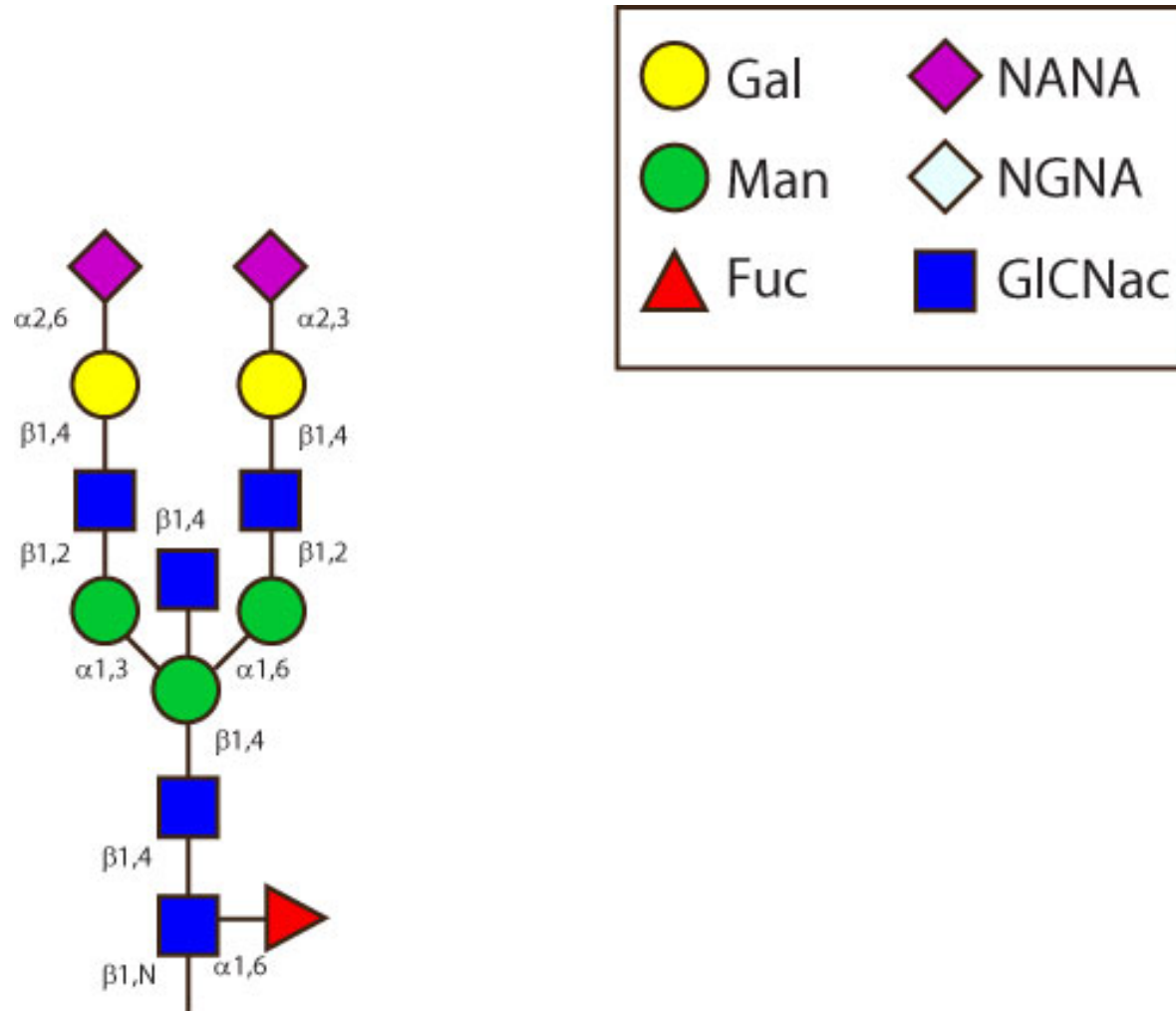
NUMEROTATION : Colliers de Perles de C-DOMAIN



- Les liaisons Hydrogène maintenant les 2 feuillets entre eux sont représentées en vert
- Le Collier de Perles est une représentation en 2D de la topologie (structures 2D) du domaine IG.

Lefranc MP, Pommie C, Kaas Q, et al. Dev Comp Immunol 2005

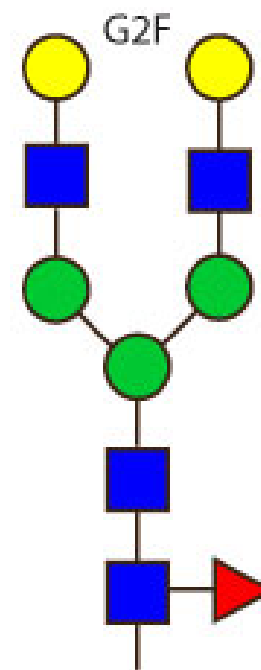
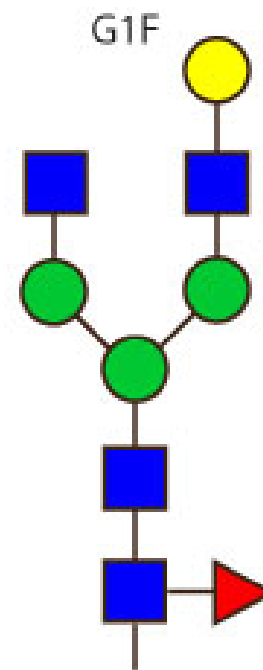
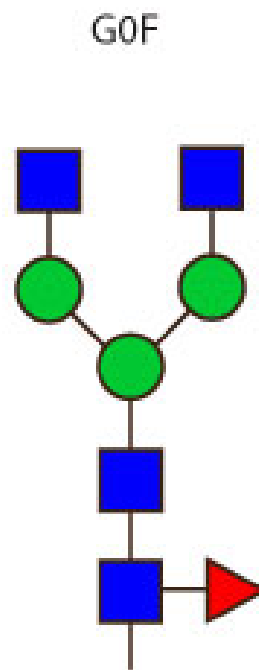
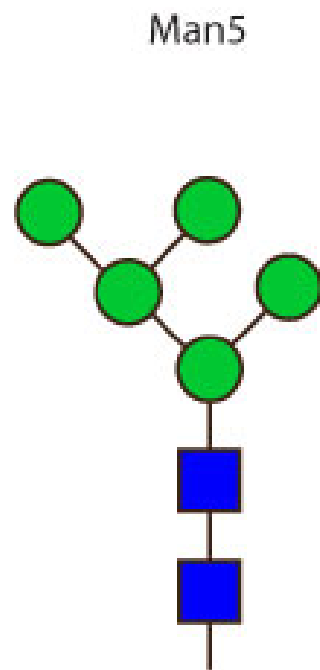
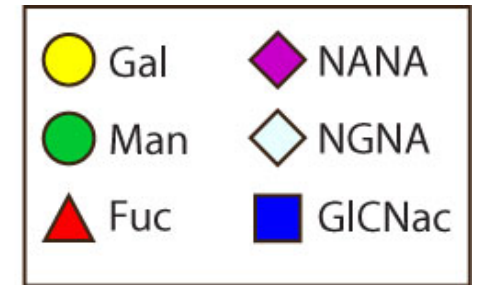
Glycosylation : largest carbohydrate found in human



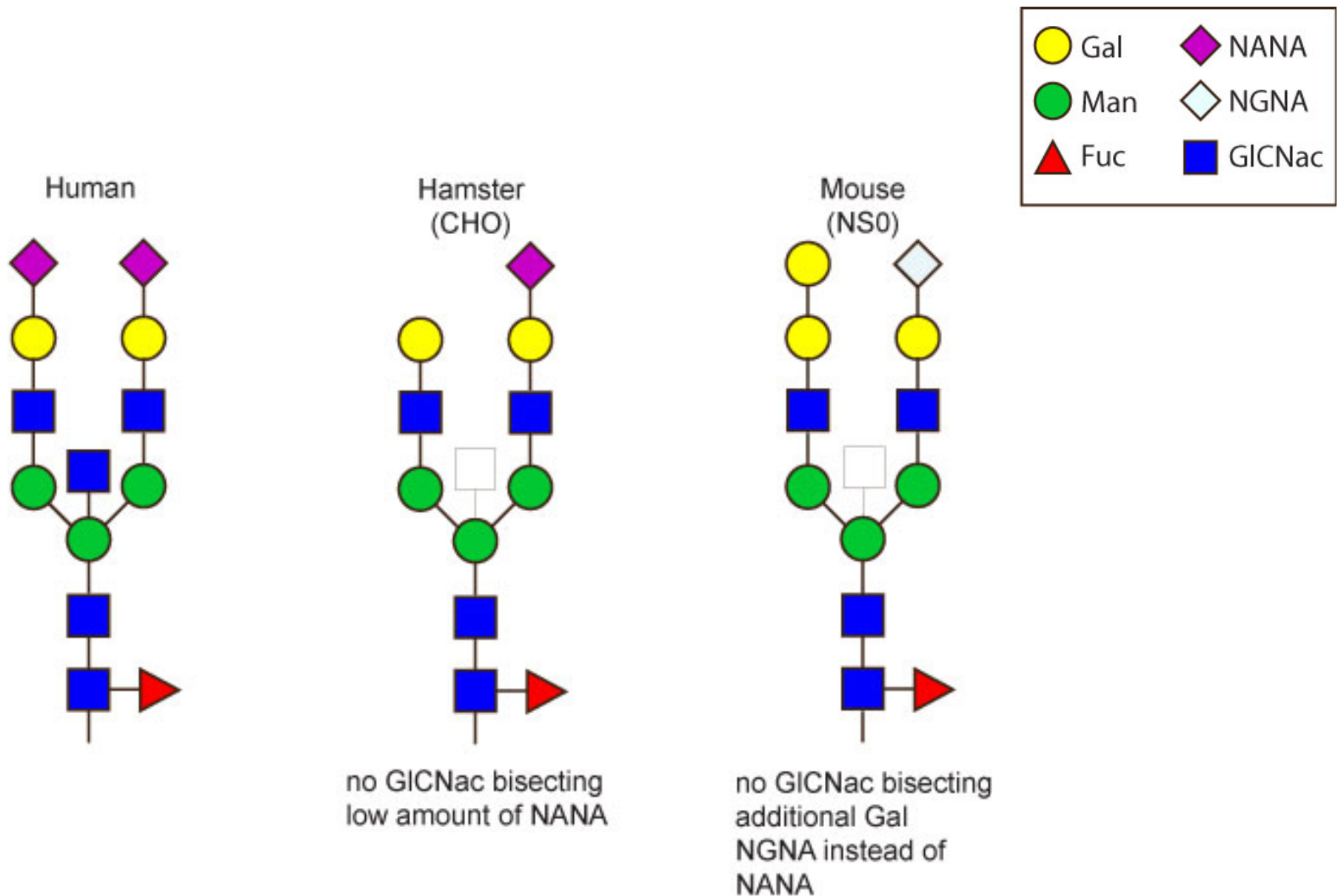
Gal: galactose, Man: mannose, Fuc: fucose, GlcNAc: N-acetylglucosamine, NANA: N-acetylneuraminic acid and NGNA: N-glycolylneuraminic acid.

Symbol nomenclature is from the Nomenclature Committee

The 4 most abundant glycans in mAb biopharmaceuticals



Differences of ab produced in human, CHO and NS0



The eleven IMGT amino acid classes according to the physico-chemical properties

'Volume' classes		'Hydropathy' classes					
	in Å ³	Hydrophobic		Neutral		Hydrophilic	
Very large	189-228	F	W	Y			
Large	162-174	I	L			K	R
Medium	138-154	V				H	E
Small	108-117		C	P	T		D
Very small	60-90	A		G	S		N
		Aliphatic		Hydroxyl		Basic	
		Sulfur				Acidic	
						Amide	
		Nonpolar		Uncharged		Charged	
						Uncharged	
				Polar			

Polarité des chaînes latérales des amino acides(AA)

I. AA polaires (avec des atomes donneur et/ou accepteur de liaison hydrogène)

1) 5 AA sont chargés : D, E, H, K, R

- AA acides: aspartic acid (D) and glutamic acid (E).

- AA basiques: histidine (H), lysine (K) and arginine (R).

→ Ces AA sont très polaires, hydrophile (ou neutre pour H), presque toujours localisé à la surface des protéines et peuvent être engagés dans des ponts salins.

2) 5 AA sont non chargé : N, Q, S, T, Y

- groupement NH₂ : asparagine (N) and glutamine (Q).

- groupement OH : serine (S), threonine (T) and tyrosine (Y).

→ Ces AA sont polaire, hydrophile (Q, N) ou neutre (S, T, Y), sont souvent localisé à la surface des protéines et sont souvent impliqués dans des liaisons hydrogène.

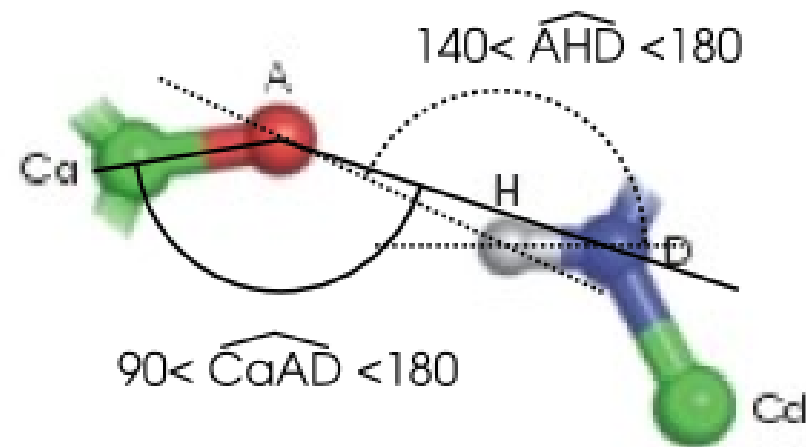
II. AA non polaires

10 AA non polaires: A, C, G, I, L, M, F, P, V, W.

→ Ces AA non polaires ont tendance à former des cluster avec leur chaînes latérales à l'intérieur des protéines et sont souvent impliqués dans des contacts de Van der Waals.

IMGT Aide-mémoire

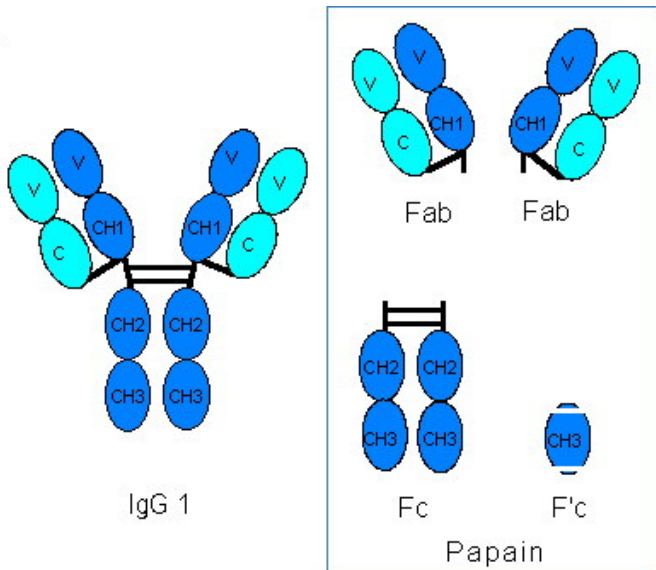
Liaison Hydrogène



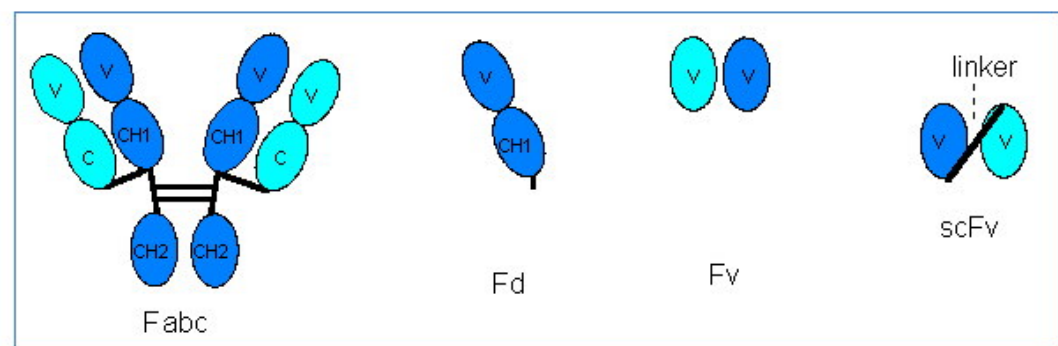
- Une liaison hydrogène est définie par une distance entre l'atome donneur D et l'atome accepteur A de moins de $3.5\text{\AA}$.
- L'angle entre D, H et A doit être supérieure à 140° (et inférieure à 180°)
- Plus la distance entre H et A est grande et plus la liaison hydrogène est faible.
- L'énergie est de 12 à 38kJ/mol (plus forte que van der Waals, moins forte qu'ionique)

Anticorps thérapeutiques

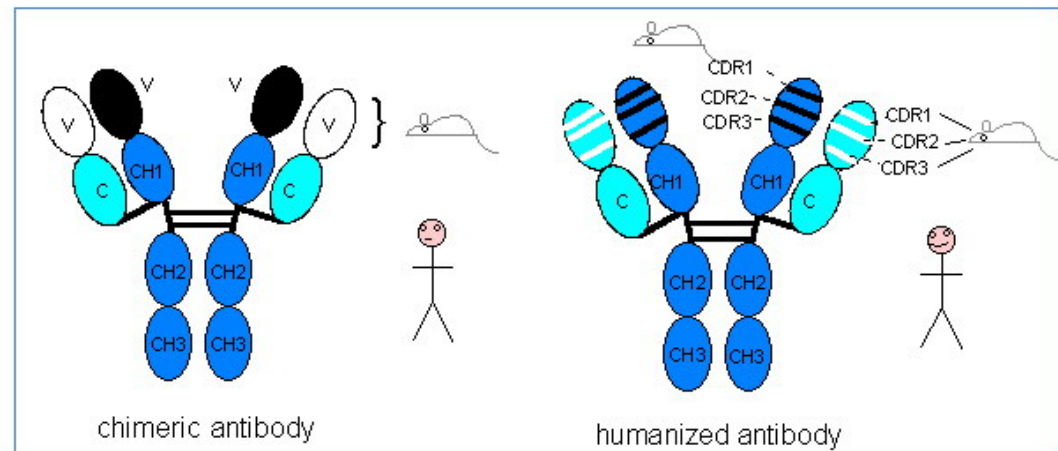
A



B



C



Anticorps chimérique : correspond à la greffe des parties constantes des chaînes lourdes et légères (CH et CL) d'anticorps humain sur les parties variables respectives (VH et VL) d'un anticorps murin.

Anticorps humanisé : correspond à la greffe des parties hypervariables (ou complementary determining region (CDR)) d'un anticorps murin sur une immunoglobuline (Ig) humaine.