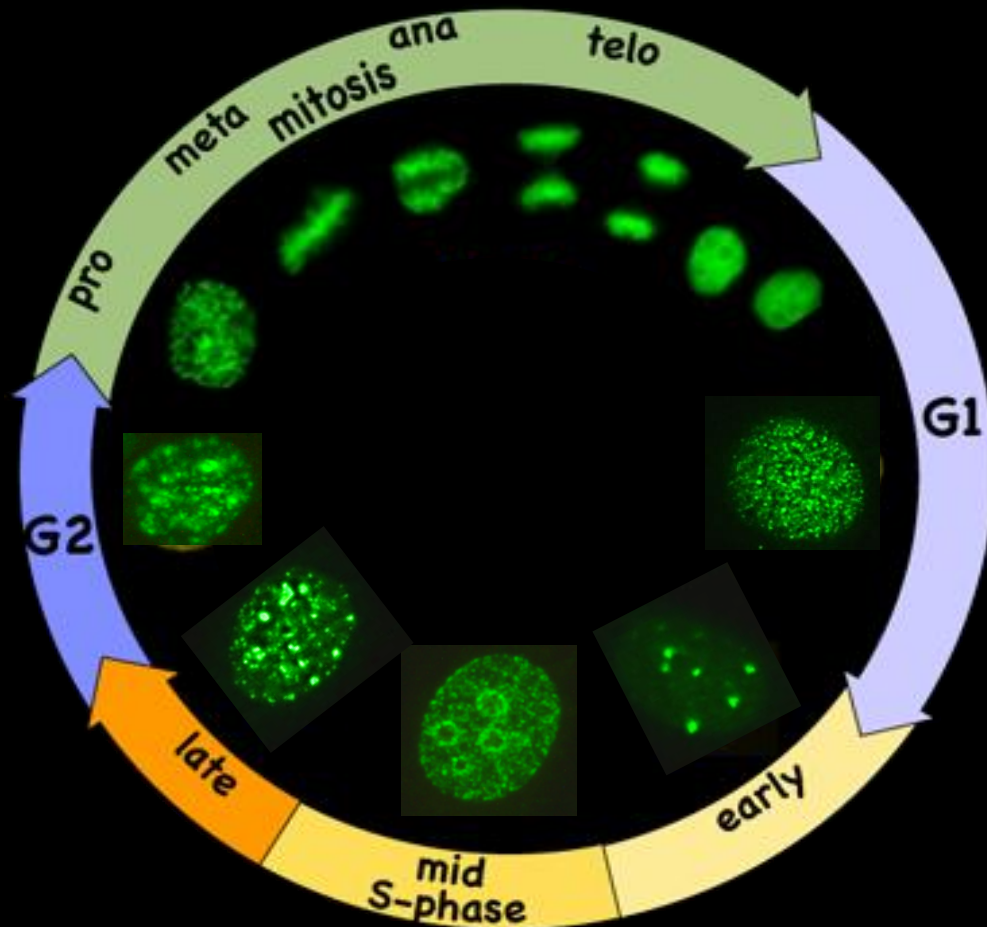


**ANTICORPS ANTI-  
CELLULES  
PROLIFERATIVES**

**René Louis Humbel**

L'introduction des cellules Hep2 pour la recherche des anticorps anti-nucléaires, à partir des années quatre vingt, a permis la découverte de nouvelles spécificités qui sont dirigées contre des protéines exprimées uniquement dans les cellules prolifératives.



# ANTICORPS ANTI-CELLULES PROLIFERATIVES

On peut séparer trois types d'anticorps. Dans le premier groupe on trouve des anticorps qui marquent les cellules prolifératives uniquement durant l'interphase:

**PCNA, Pseudo-PCNA 1 et Pseudo-PCNA 2**

Le second groupe comporte des anticorps qui reconnaissent des protéines présentes uniquement à certains stades de l'interphase et de la mitose:

**DFS70, Mev, Ki-67, Topoisomérase II $\alpha$ , MSA2, MSA3, Nop52**

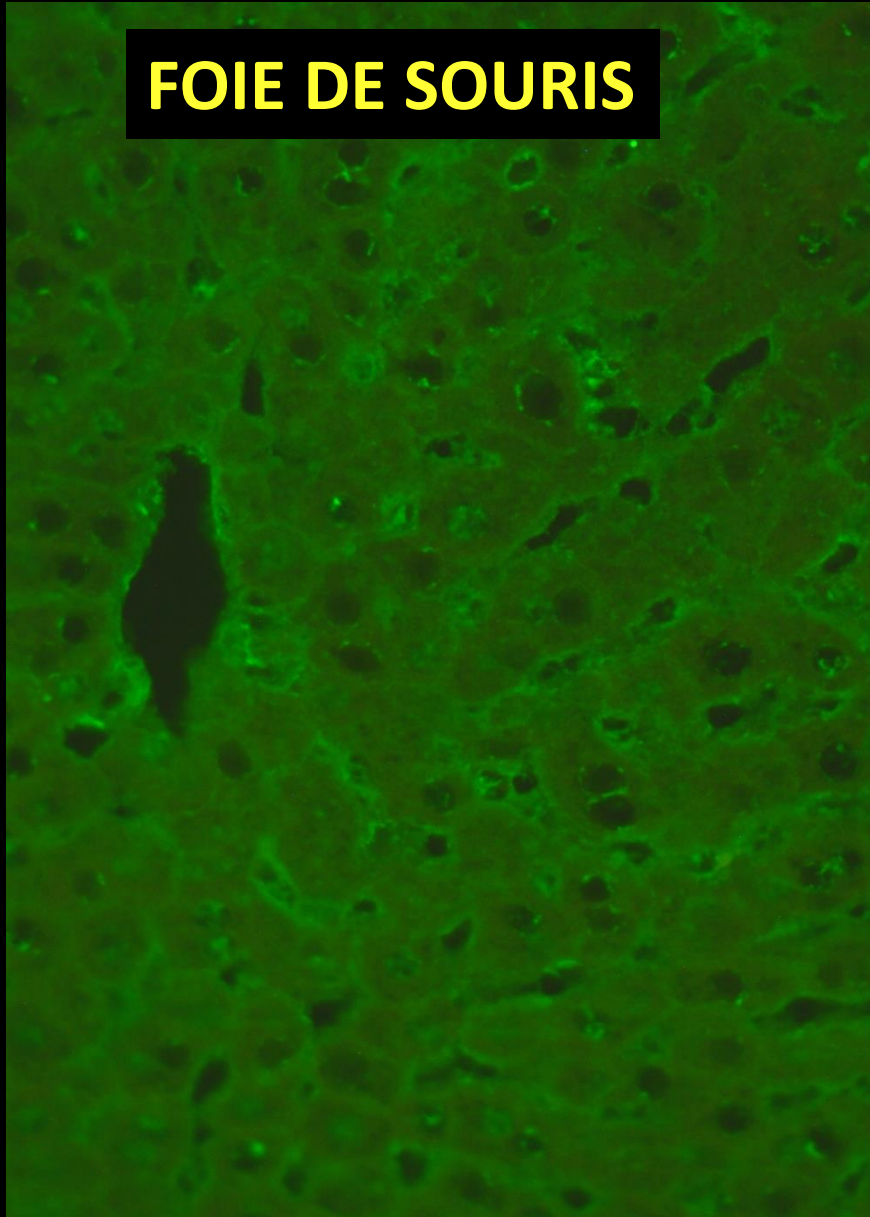
Enfin, le groupe trois qui comprend des anticorps réagissant uniquement avec les cellules en mitose:

# ANTICORPS ANTI-CELLULES PROLIFERATIVES

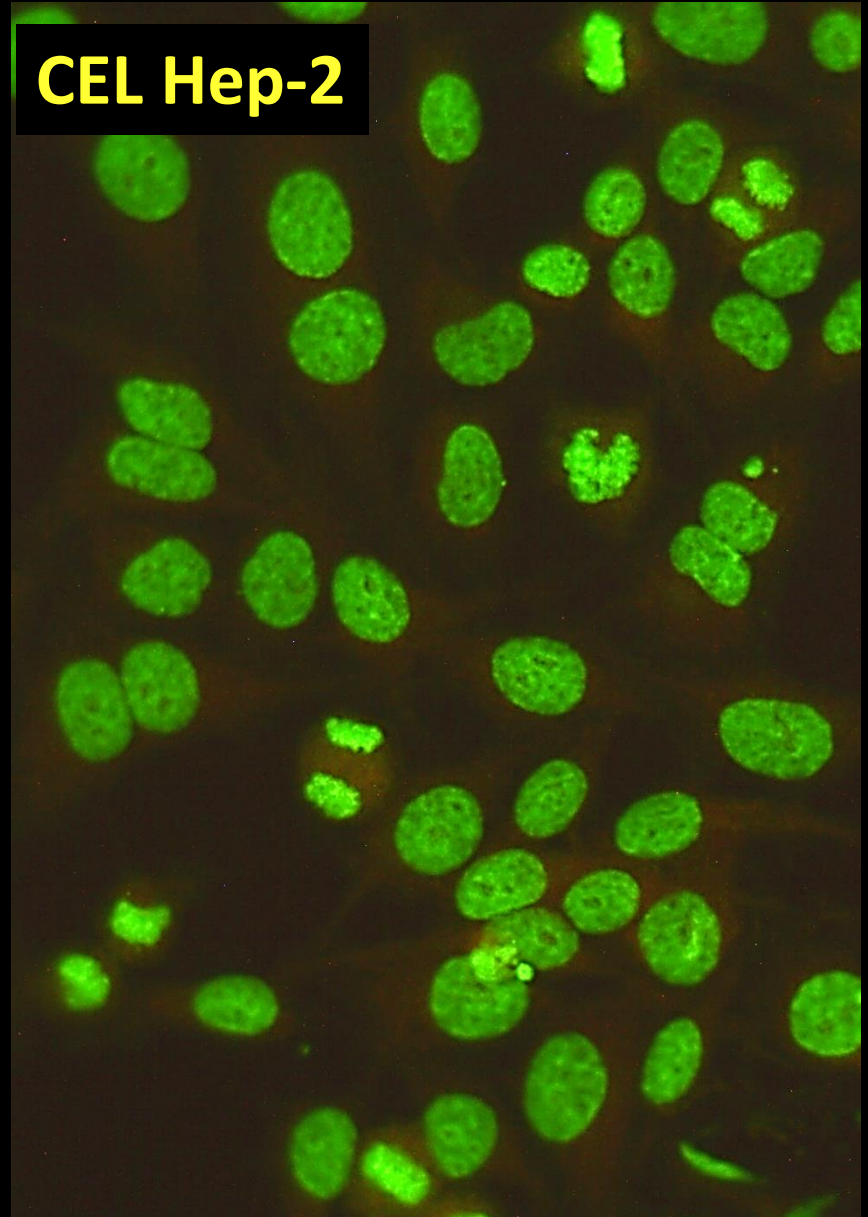
| <b>Anticorps</b> | <b>Interphase</b> |          |           | <b>MITOSES</b> |
|------------------|-------------------|----------|-----------|----------------|
|                  | <b>G1</b>         | <b>S</b> | <b>G2</b> |                |
| DFS70            | +                 | +        | +         | Chromosomes    |
| PCNA             | -                 | ++       | +/-       | -              |
| Pseudo PCNA 1    | -                 | ++       | ++        | -              |
| Pseudo-PCNA 2    | -                 | +        | ++        | -              |
| Mev              | -                 | +        | ++        | Chromosomes    |
| Ki67             | -                 | +        | ++        | Périchromosome |
| Topoll $\alpha$  | -                 | +        | +         | Chromosomes    |
| MSA2             | -                 | +        | ++        | Midbody        |
| MSA3             | -                 | +        | +         | Centromère F   |
| Nop52            | -                 | +        | Nucléole  | Périchromosome |

# ANTICORPS ANTI-DFS70

**FOIE DE SOURIS**



**CEL Hep-2**



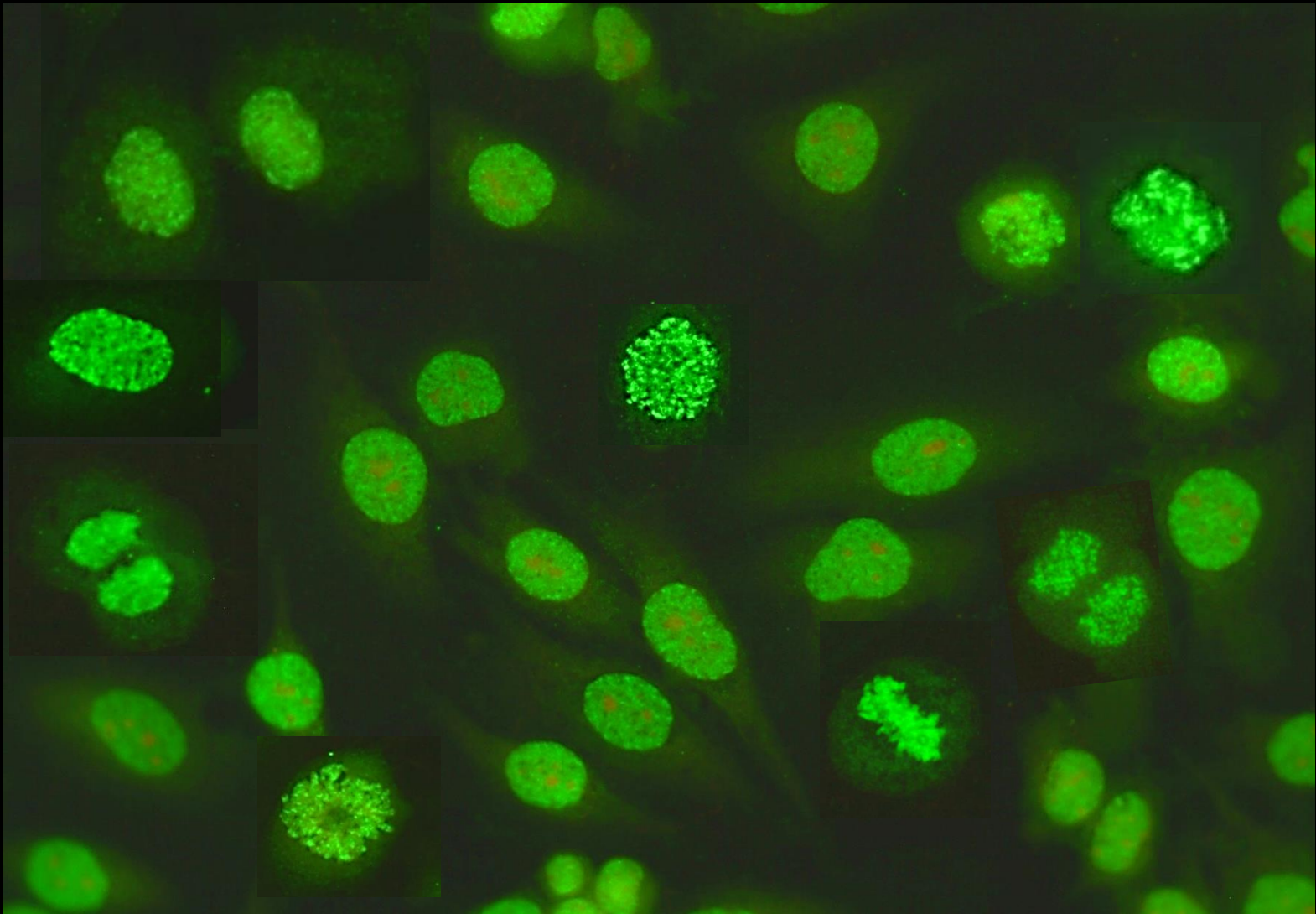
# ANTICORPS ANTI-DFS70

Les anticorps dits anti-DFS70 sont devenus une découverte relativement courante lors de la recherche des anticorps anti-nucléaires par immunofluorescence sur cellules HEp-2. Ils se caractérisent par marquage du noyau qui se situe entre celui dit moucheté donné par les anti-RNP, et celui dit granulaire, observé avec de nombreux autres anticorps. L'appellation de DFS (dense Fine Speckled) leur ainsi été attribué. Très vite il a été démontré que l'antigène cible des anticorps était une protéine de 70 kDa donnant le nom définitif d'anti-DFS70. Ces anticorps ne réagissent pas avec les cellules quiescentes des coupes de tissus mais avec les cellules prolifératives.

Ces anticorps ne sont associés à aucune pathologie particulière et sont fréquemment retrouvés chez des sujets sains.

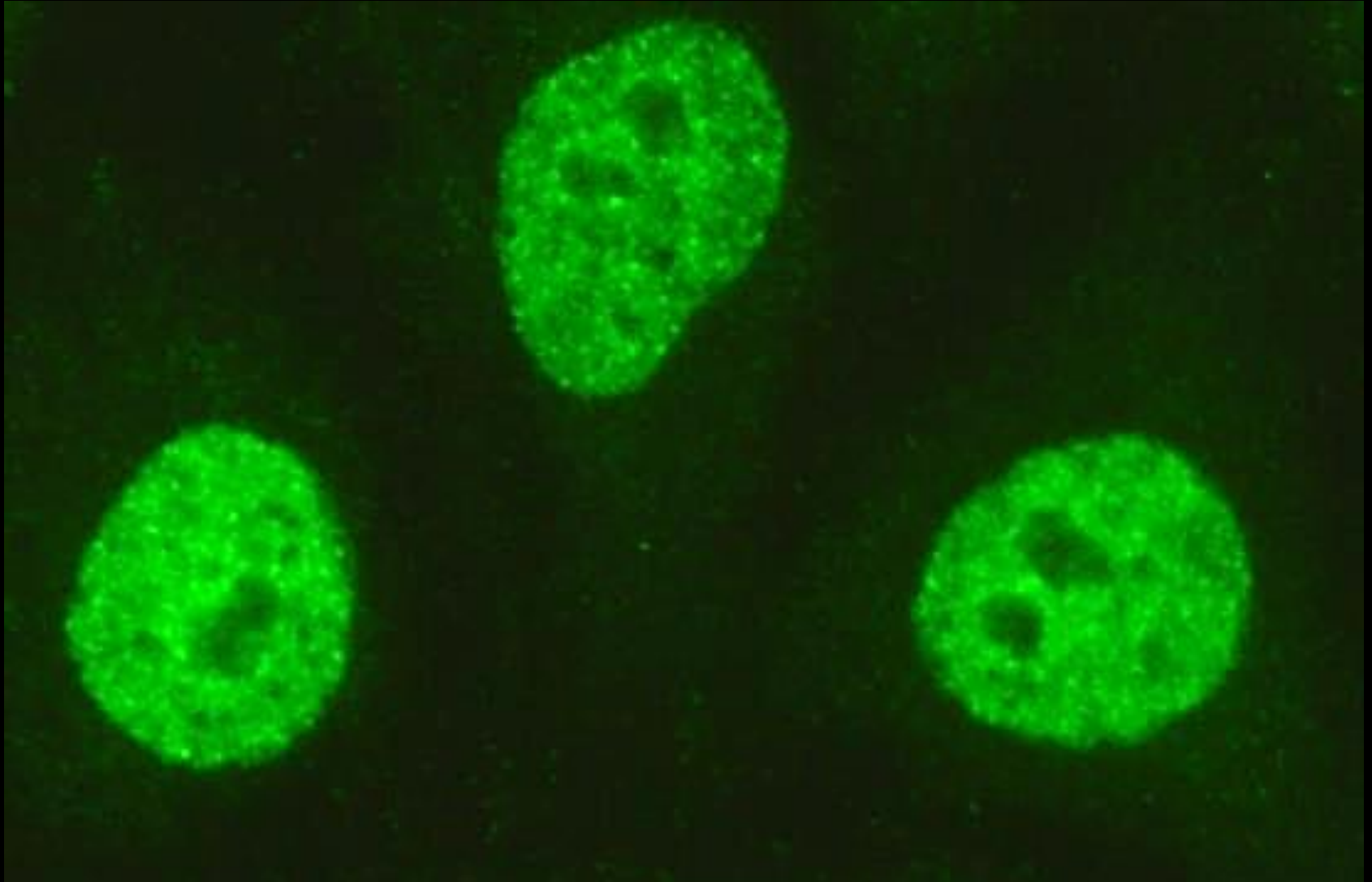
# ANTICORPS ANTI-DFS70

Sur Cellules HEp-2 on observe un marquage intense du noyau des toutes les cellules en interphase avec un aspect moucheté-granulaire très particulier. On note également un marquage intense des chromosomes condensés dans toutes les cellules mitotiques.



# ANTICORPS ANTI-DFS70

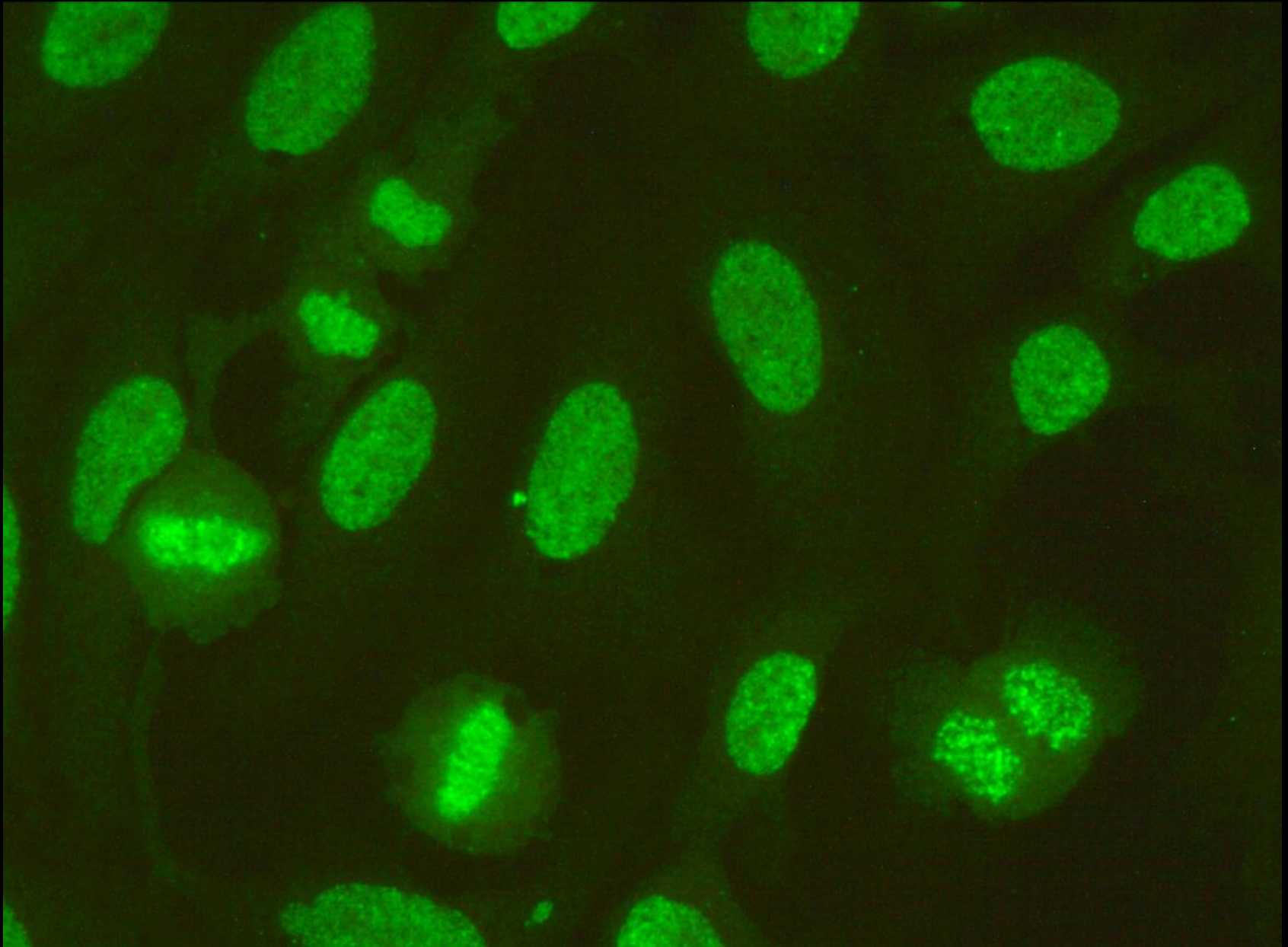
## CELLULES EN INTERPHASE



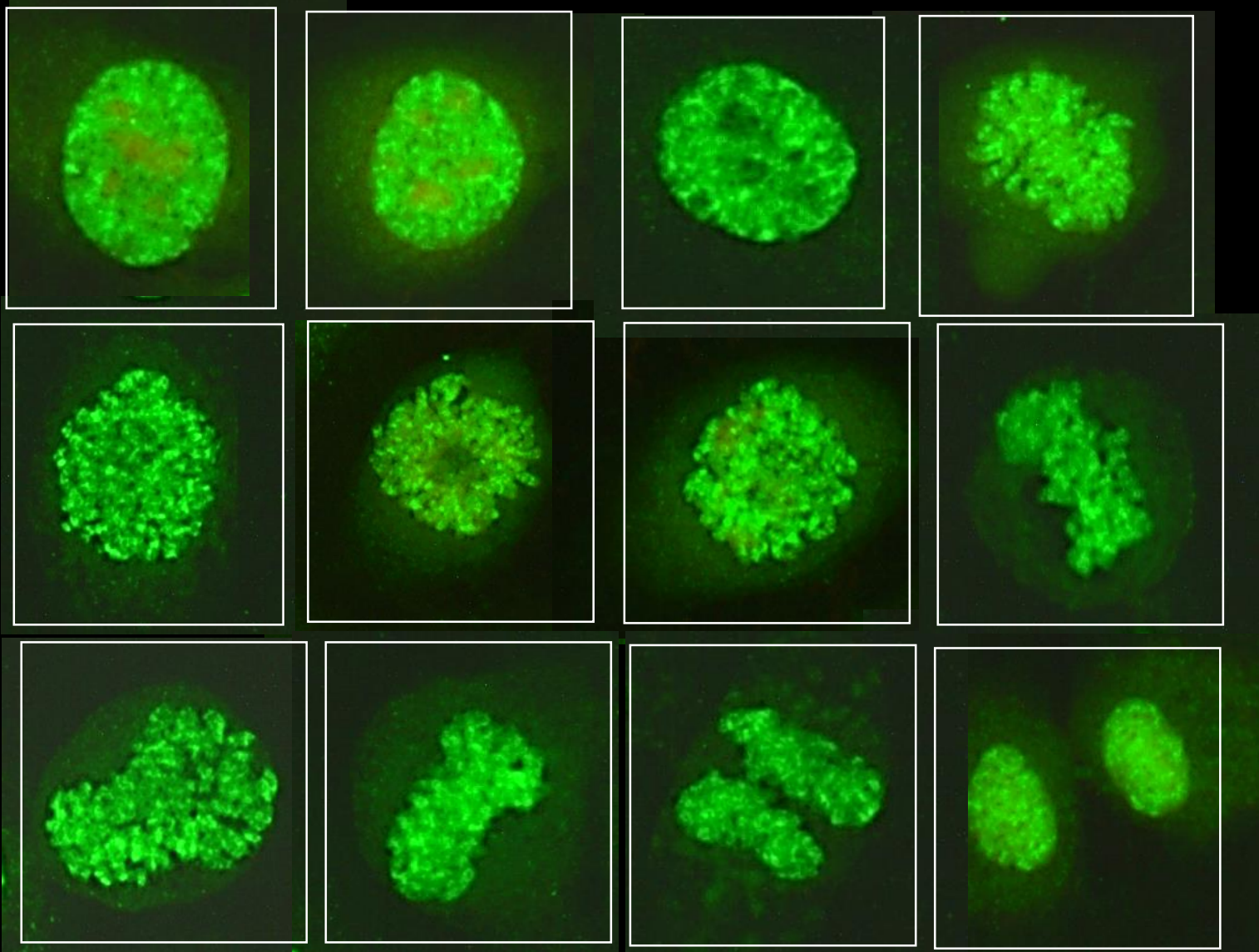


**ANTI- DFS70**

**CELLULES EN MITOSE**

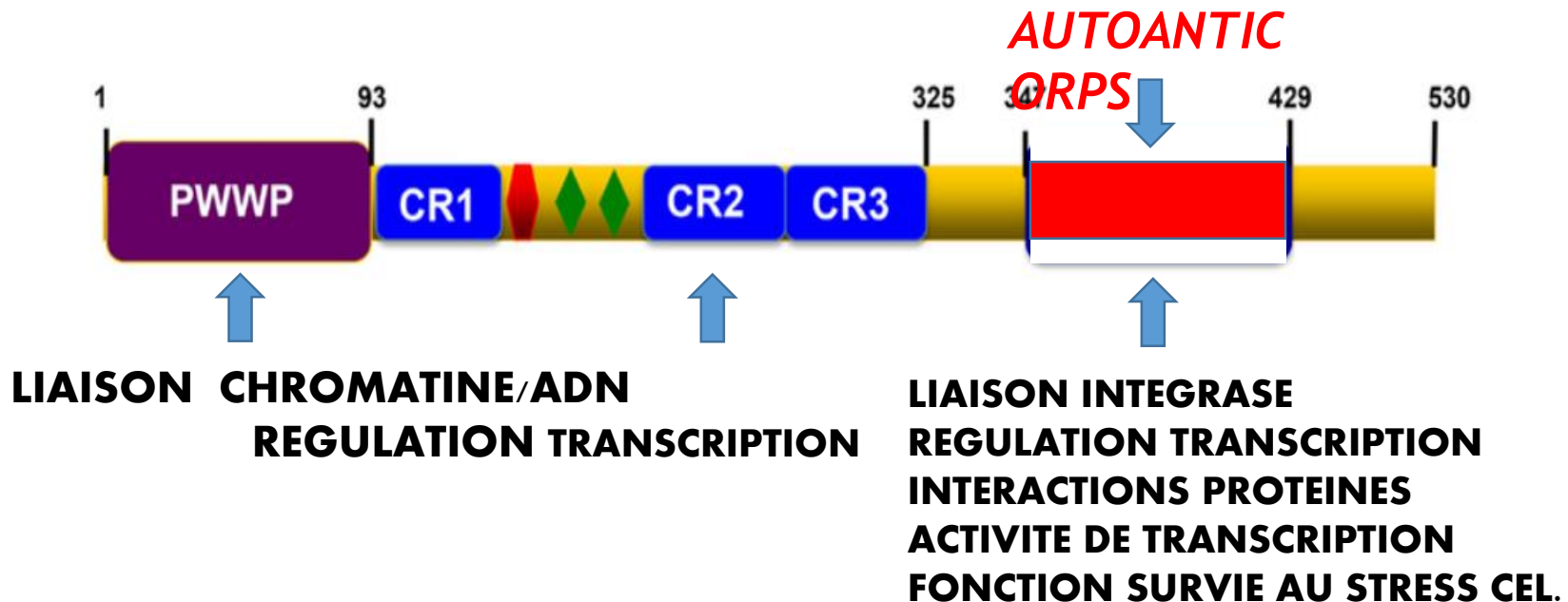


# ANTI-DFS 70 DURANT LA MITOSE



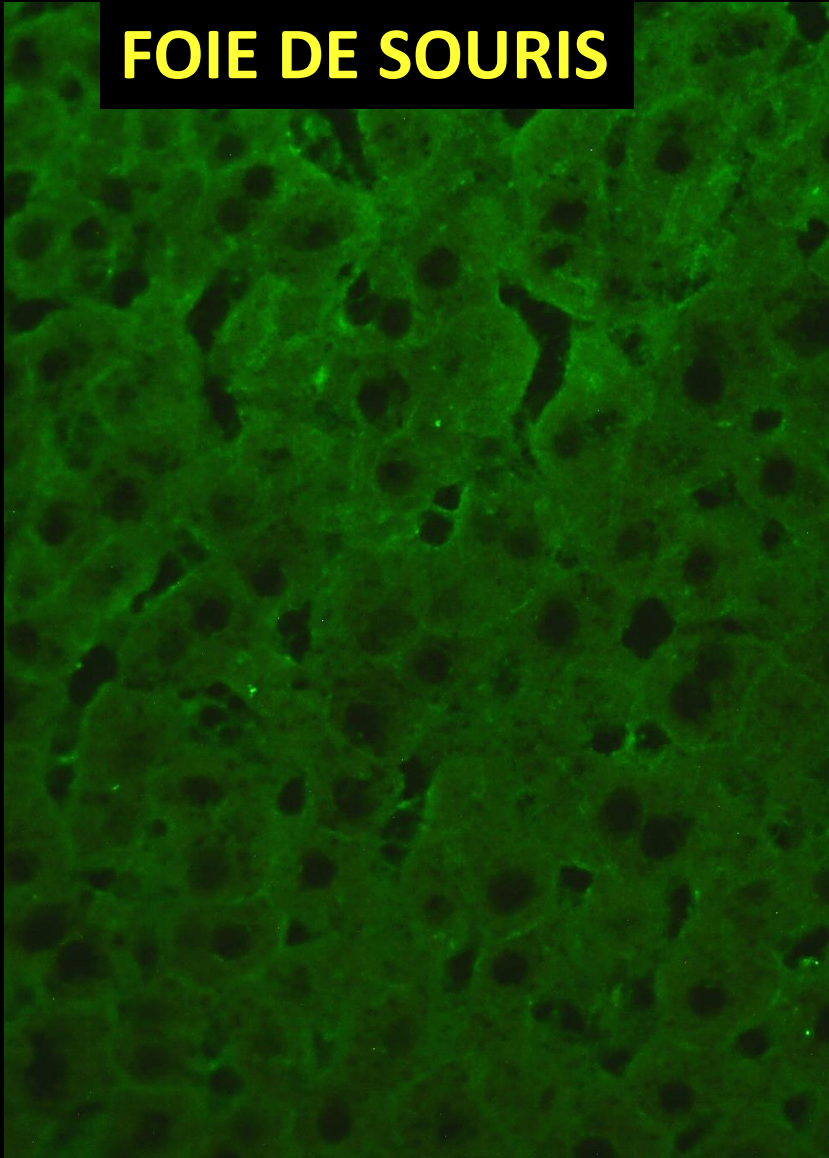
# ANTICORPS ANTI-DFS70

L'autoantigène des anticorps anti-DFS70 est une protéine multifonctionnelle de 70 kDa formée de 530 acides aminés répartis en plusieurs séquences. La partie N-terminale comprend les éléments de liaison à la chromatine intervenant comme co-activateur de la transcription. La partie C-terminale, qui porte la région épitopique majeure pour les autoanticorps, est un site de liaison de nombreuses protéines intervenant dans la vie et le fonctionnement cellulaires.

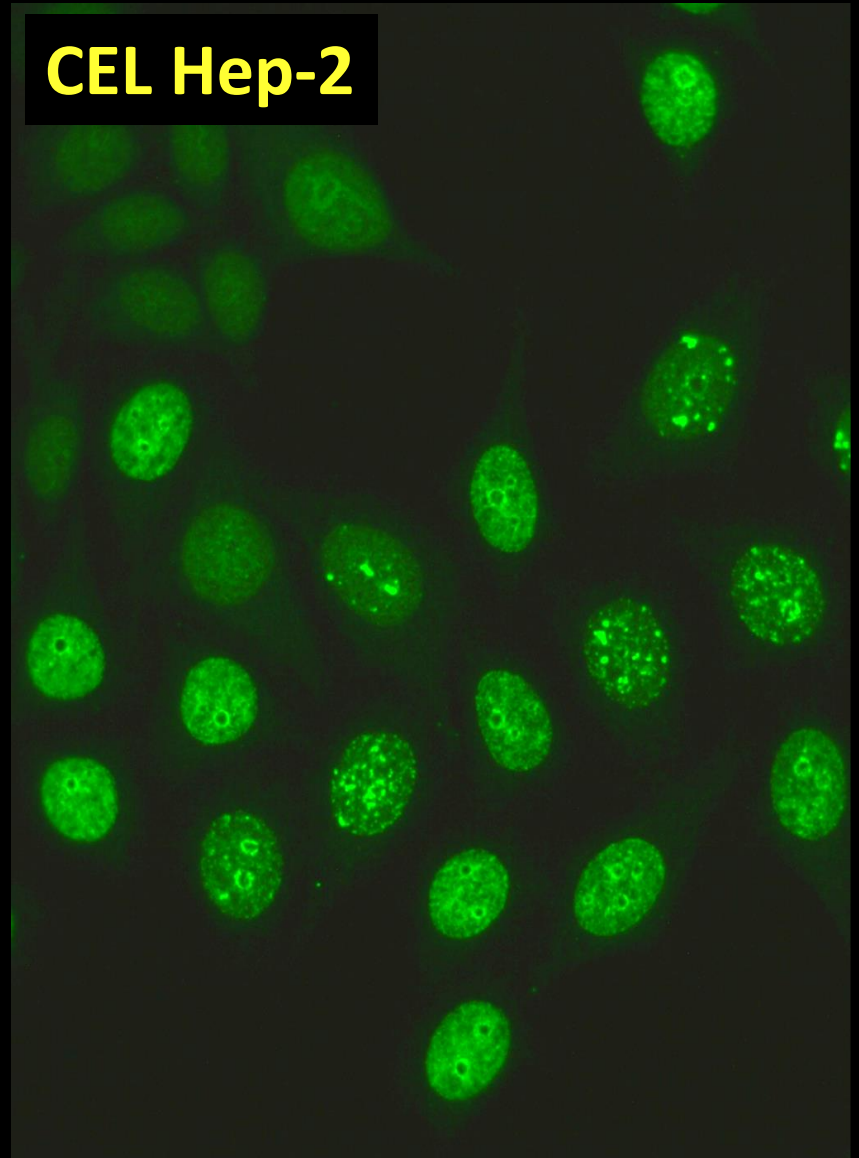


# ANTICORPS ANTI-PCNA

FOIE DE SOURIS

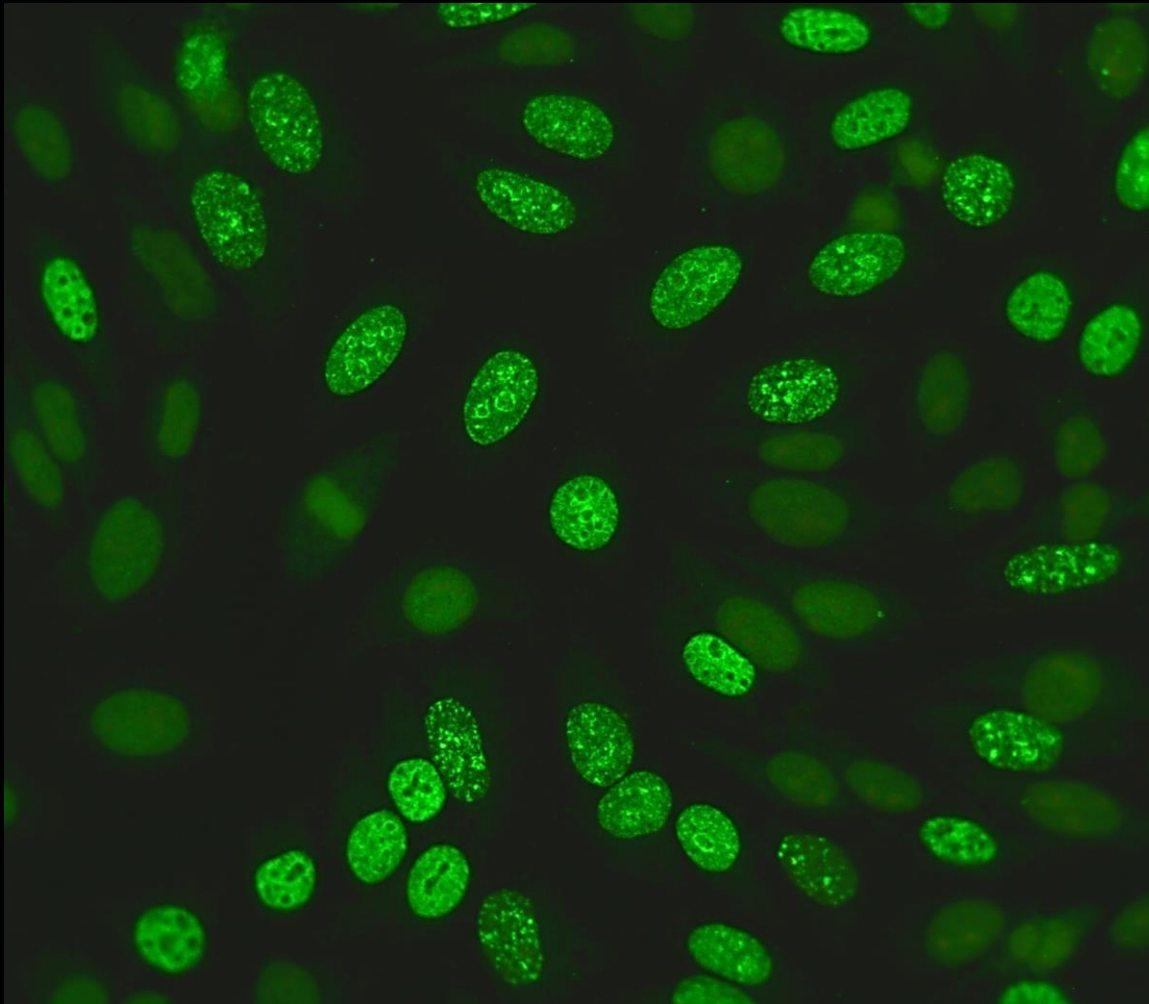


CEL Hep-2



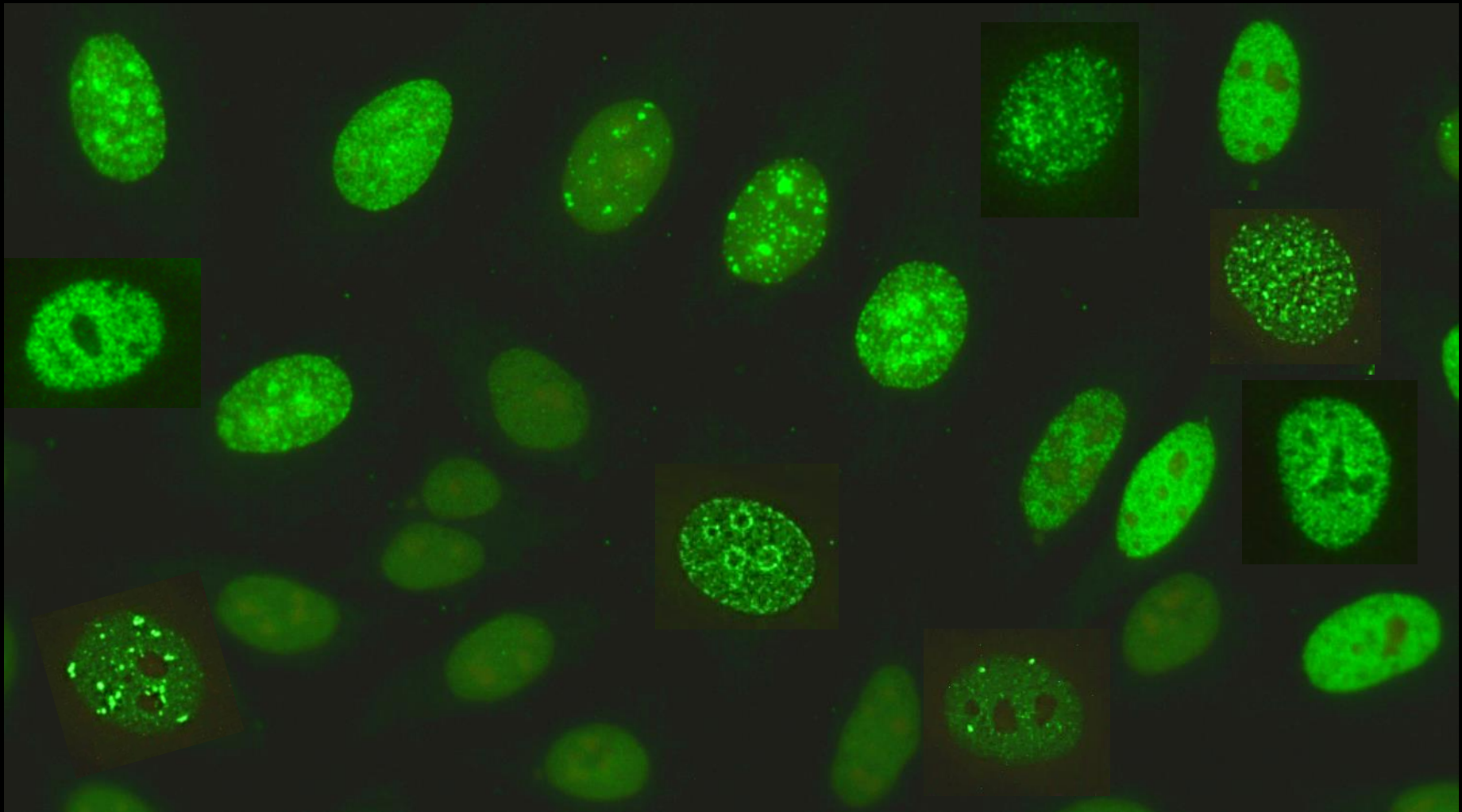
# ANTICORPS ANTI-PCNA

Les premiers anticorps réagissant avec les cellules prolifération ont été appelés PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen). Sur cellules HEp-2 ces anticorps donnent un aspect de marquage polymorphique des noyaux de certaines cellules seulement. Il s'agit en particulier des cellules s'étalant durant la phase S du cycle cellulaire.



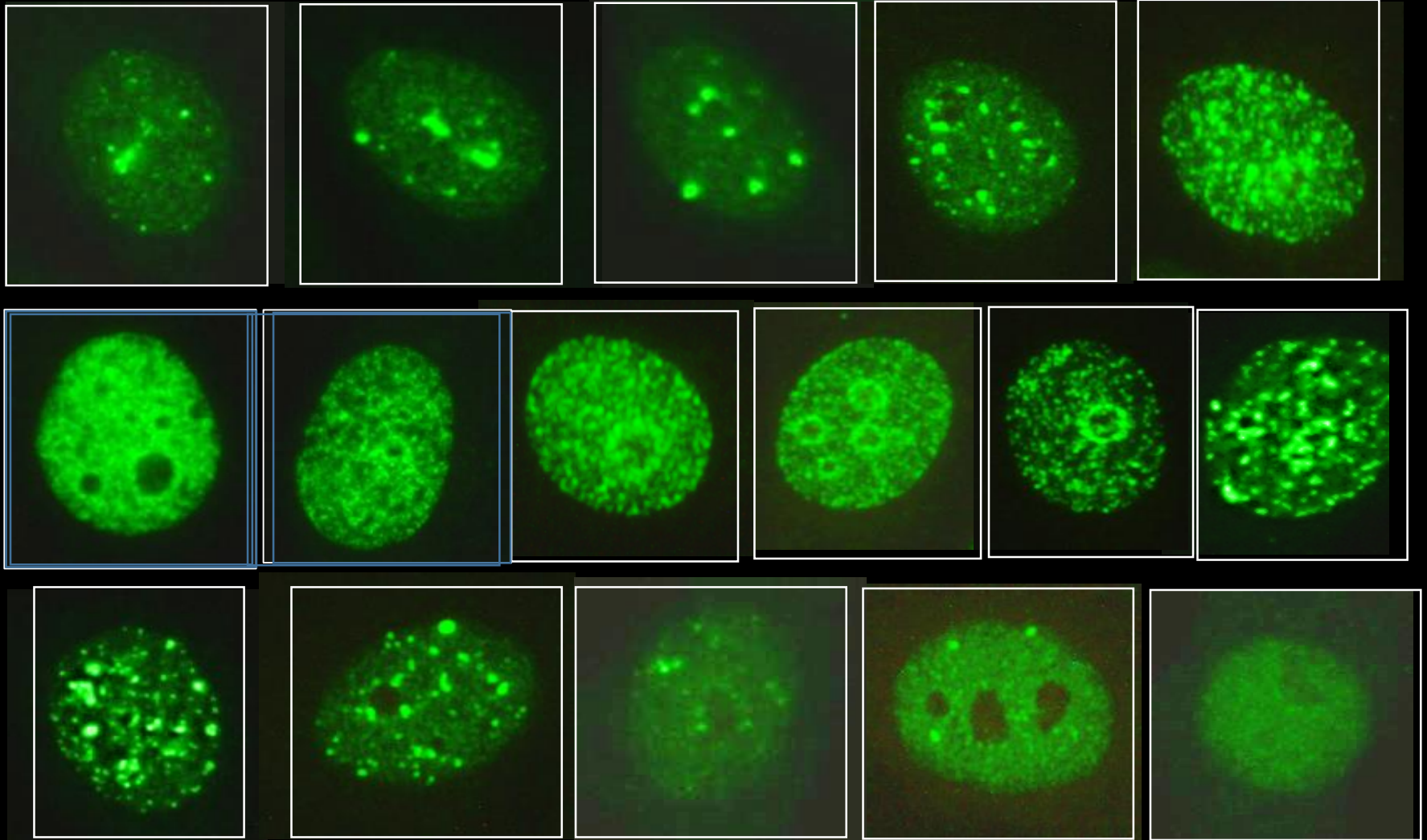
# ANTICORPS ANTI-PCNA

## CELLULES EN PHASE S et DEBUT G2



# ANTICORPS ANTI - PCNA

## EVOLUTION DURANT LA PHASE S



# ANTICORPS ANTI-PCNA

L'autoantigène des anticorps anti-PCNA est une protéine nucléaire de 34 kDa constitué de 261 acides aminés qui s'associe en trimères ayant la forme d'un anneau. Celui-ci s'enroule autour de l'ADN où il fonctionne comme une pince coulissante indispensable pour l'organisation de la réplication.



En se liant à ce dernier, PCNA agit comme un activateur puissant de la polymérase delta et d'autres polymérases. Il interagit et régule aussi les activités de nombreuses autres protéines impliquées dans la réplication et la réparation de l'ADN.



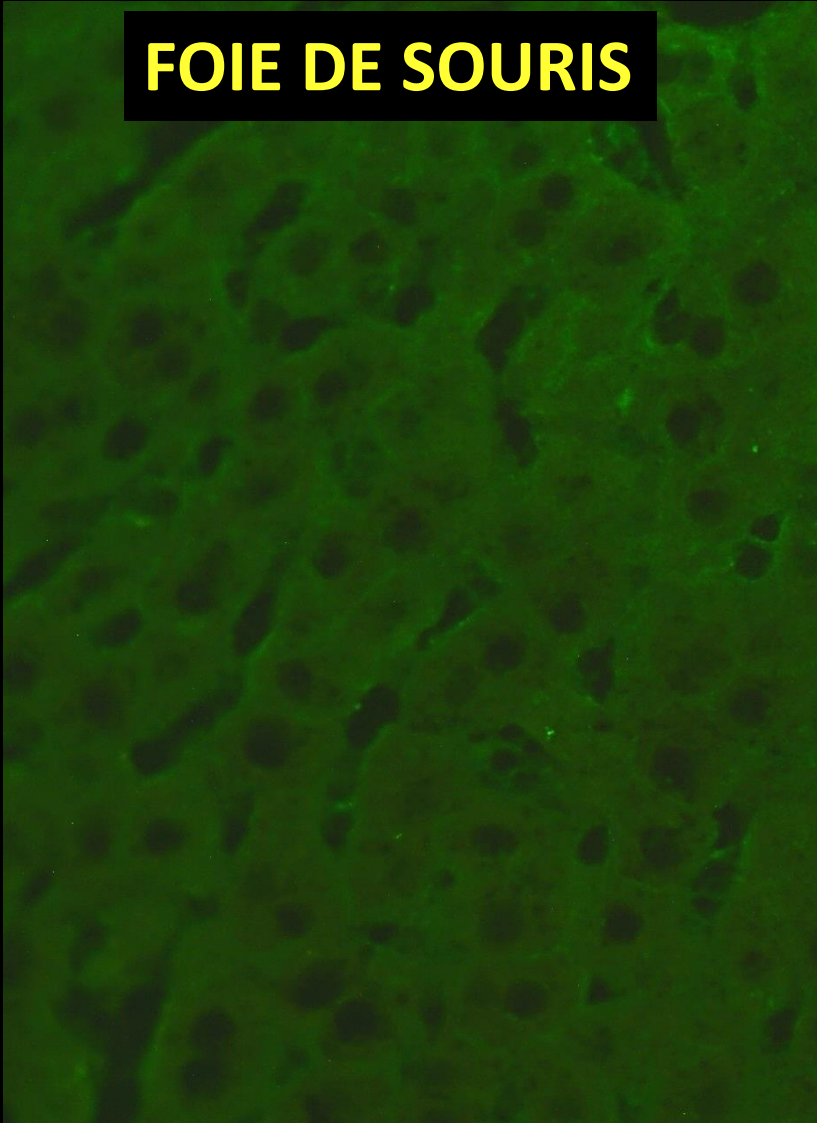
# **ANTICORPS ANTI-PCNA**

**La spécificité des anticorps anti-PCNA peut-être confirmée par les méthodes immuno-enzymatiques avec la protéine native ou recombinante. Cette étape est importante pour établir la spécificité des anticorps, en particulier pour les différentier des autres anticorps marquant les cellules prolifératives. Elle permet aussi de déceler la présence d'anti-PCNA, lorsque ceux-ci sont associés aux anti-ADN et aux autres anti-nucléaires, qui par leurs marquages masquent l'aspect pléomorphique.**

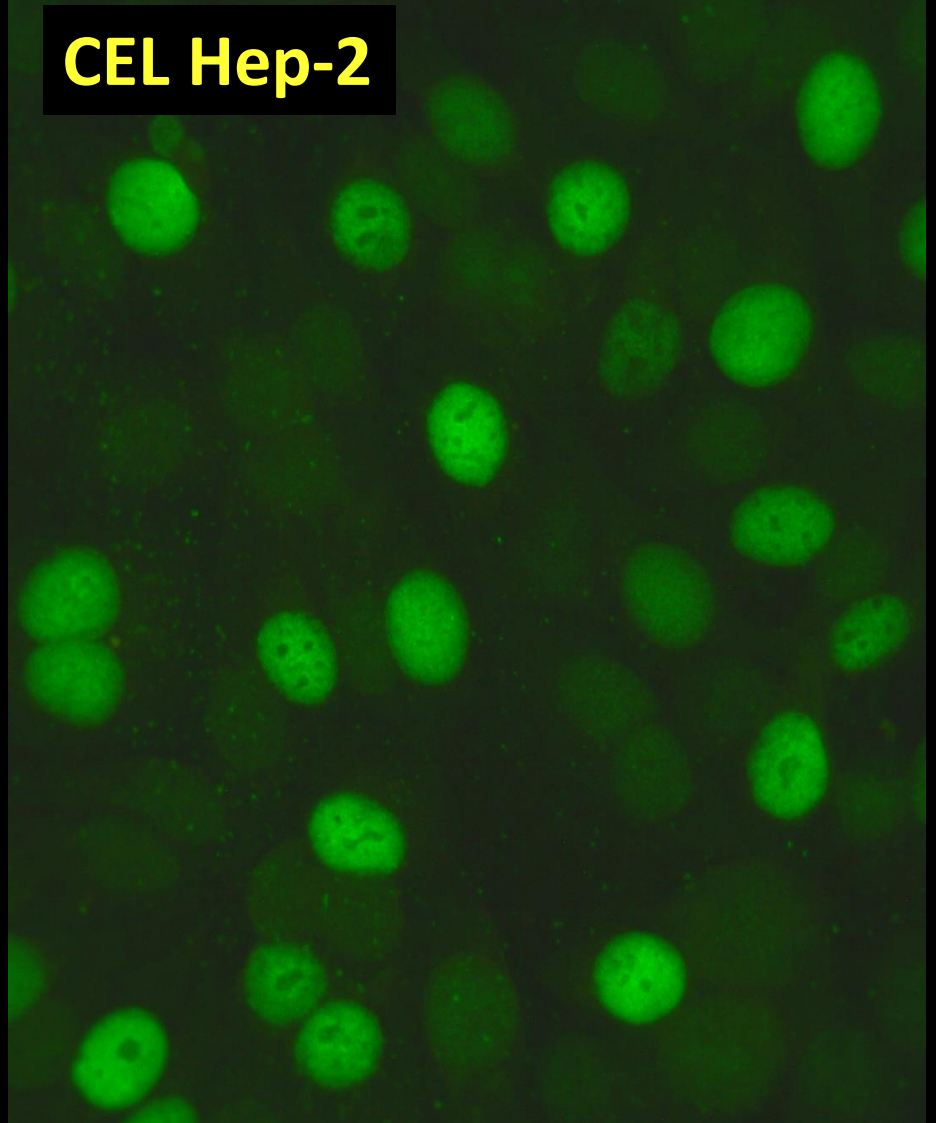
**Les anticorps anti-PCNA dont la spécificité a été confirmée sont associés au lupus érythémateux disséminé.**

# ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA 1

FOIE DE SOURIS



CEL Hep-2



# **ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA**

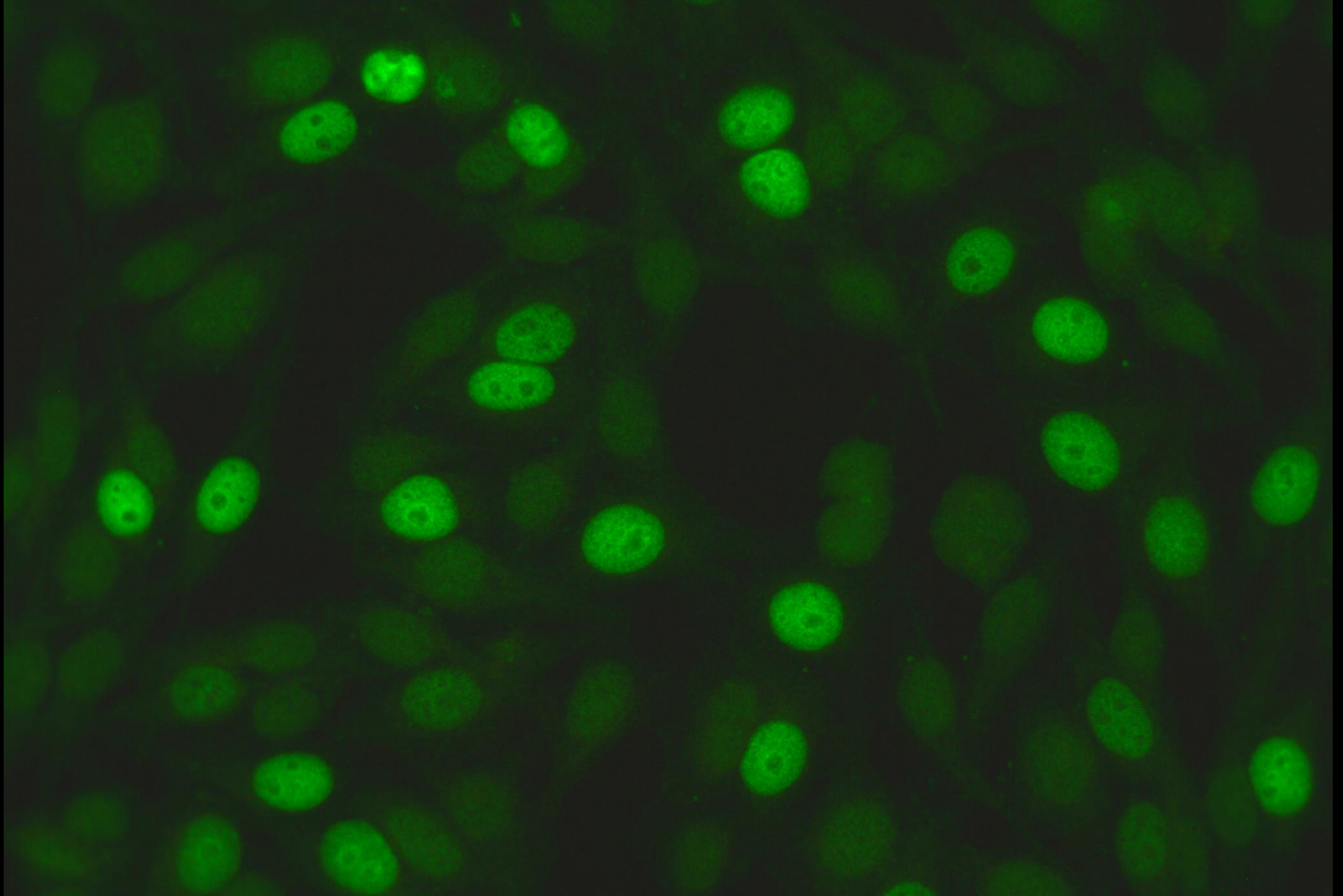
**Les anticorps dits anti-Pseudo-PCNA concernent des anticorps qui réagissent avec certaines cellules prolifératives mais dont l'aspect de la fluorescence et la spécificité sont différents des anti-PCNA .**

# **ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA 1**

**Les anticorps anti-Pseudo-PCNA 1 ont été décrits sous l'appellation d'anti-SG2/NA chez un patient ayant un cancer du poumon et de la vessie. En immunofluorescence on note un marquage très finement granulaire dense du noyau de certaines cellules seulement. Les mitoses sont négatives. Les études en cytométrie de flux ont montré que les cellules marquées sont en phase S et G2 d'où l'appellation d'anti-SG2/NA.**

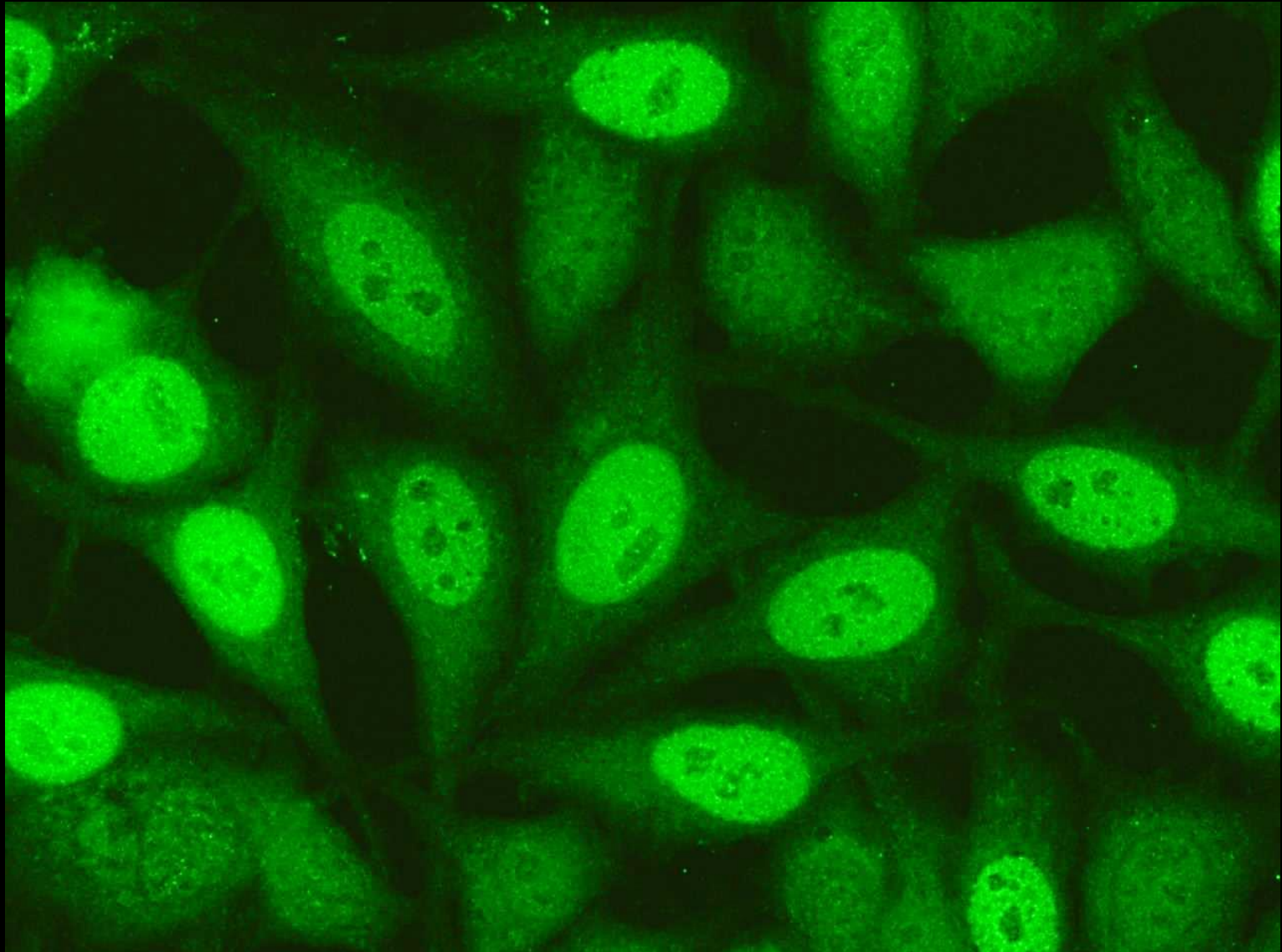
**Ces anticorps ont été trouvés dans différentes maladies mais avec une fréquence élevée dans les cancers et hémopathies malignes.**

# ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA 1



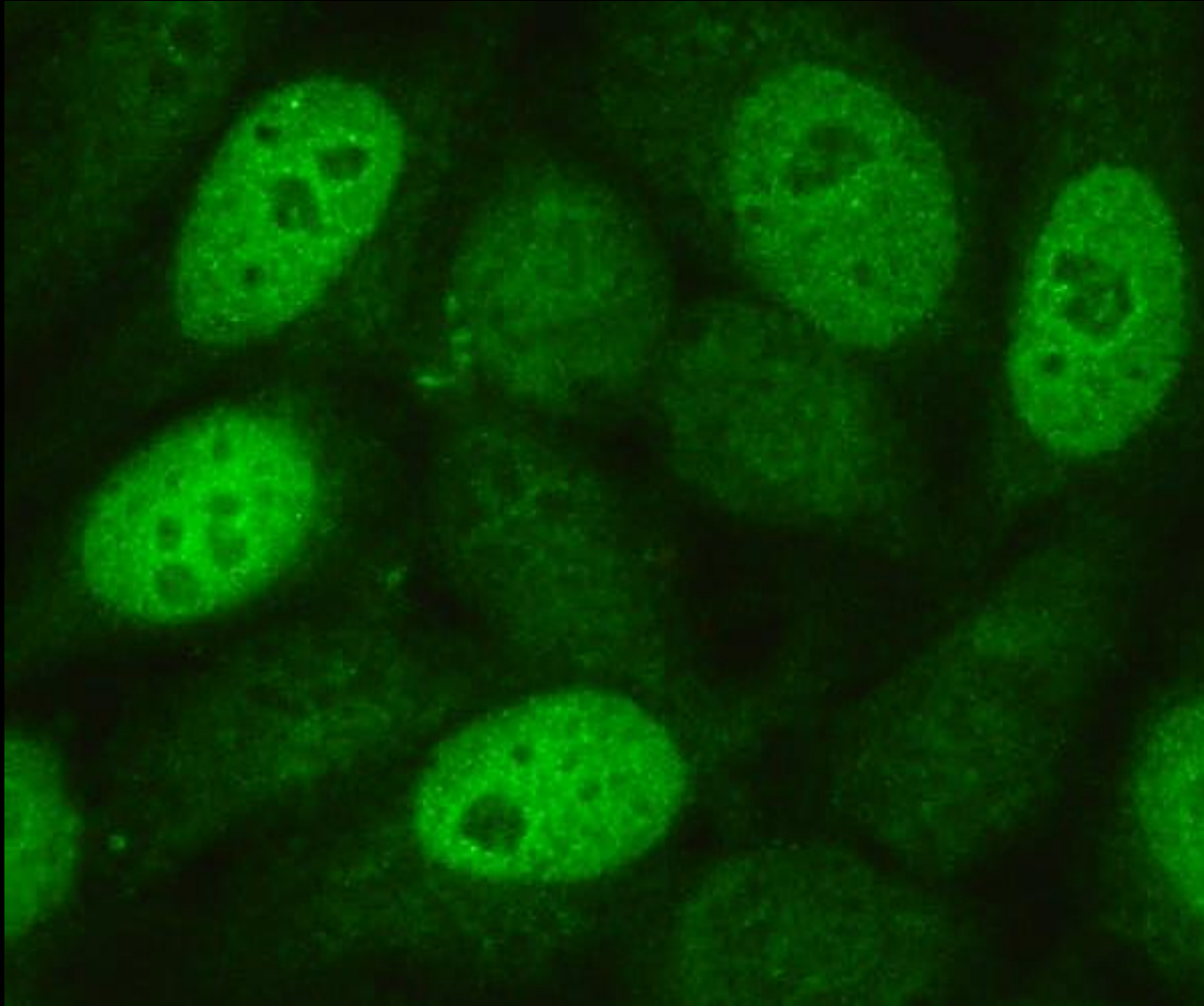
# ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA 1

MARQUAGE FINEMENT GRANULAIRE DENSE DES NOYAUX



# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 1

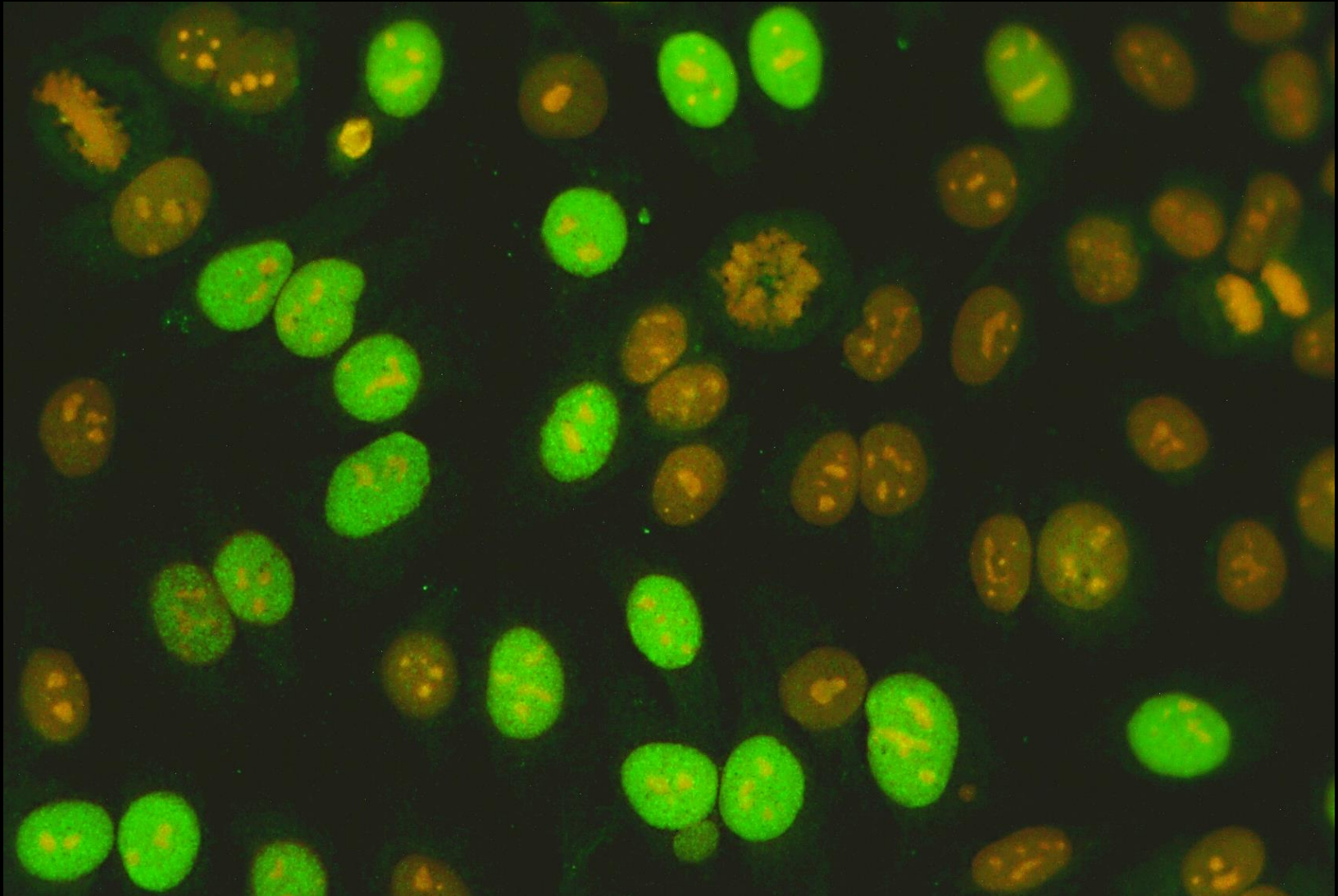
MARQUAGE FINEMENT GRANULAIRE DENSE DES NOYAUX



# ANTICORPS ANTI-PSEUDO PCNA 1

*Contre coloration au Bromure d'Ethydium*

**Mitoses negatives.**

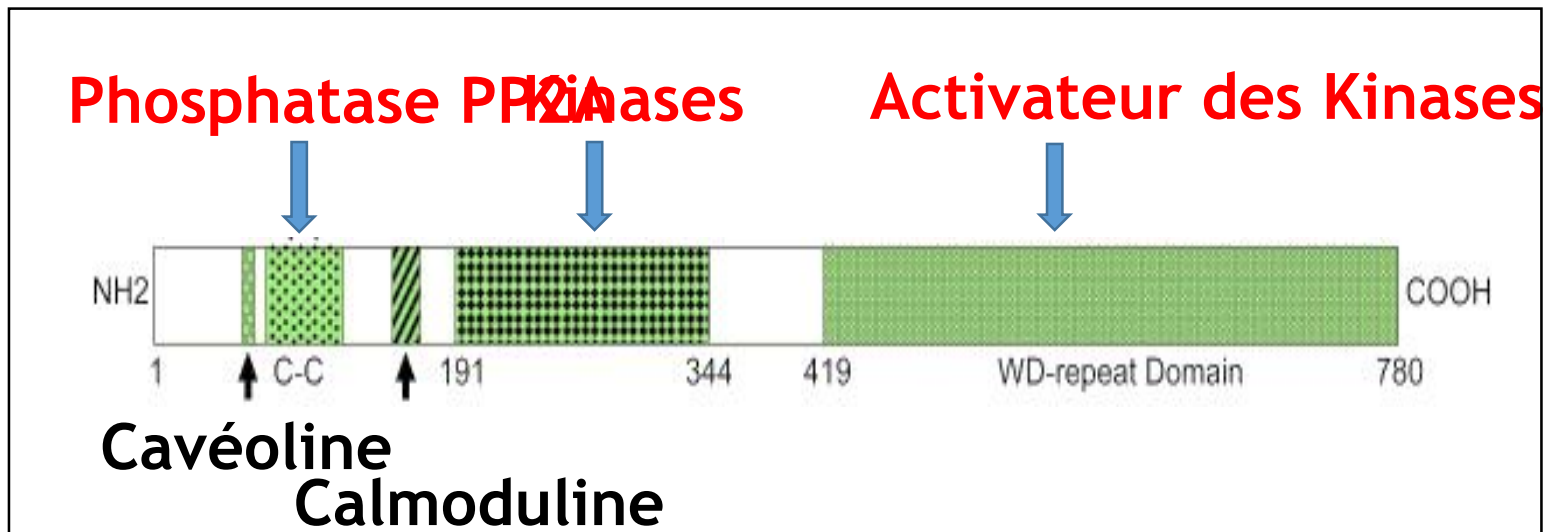




# L'AUTOANTIGENE SG2/NA

L'antigène cible des anticorps anti-SG2/NA est la Striatine 3, une protéine intracellulaire de 94 kDa formée de 780 acides aminés et qui fonctionne comme une protéine d'échafaudage de complexes qui participent à une variété de processus cellulaires.

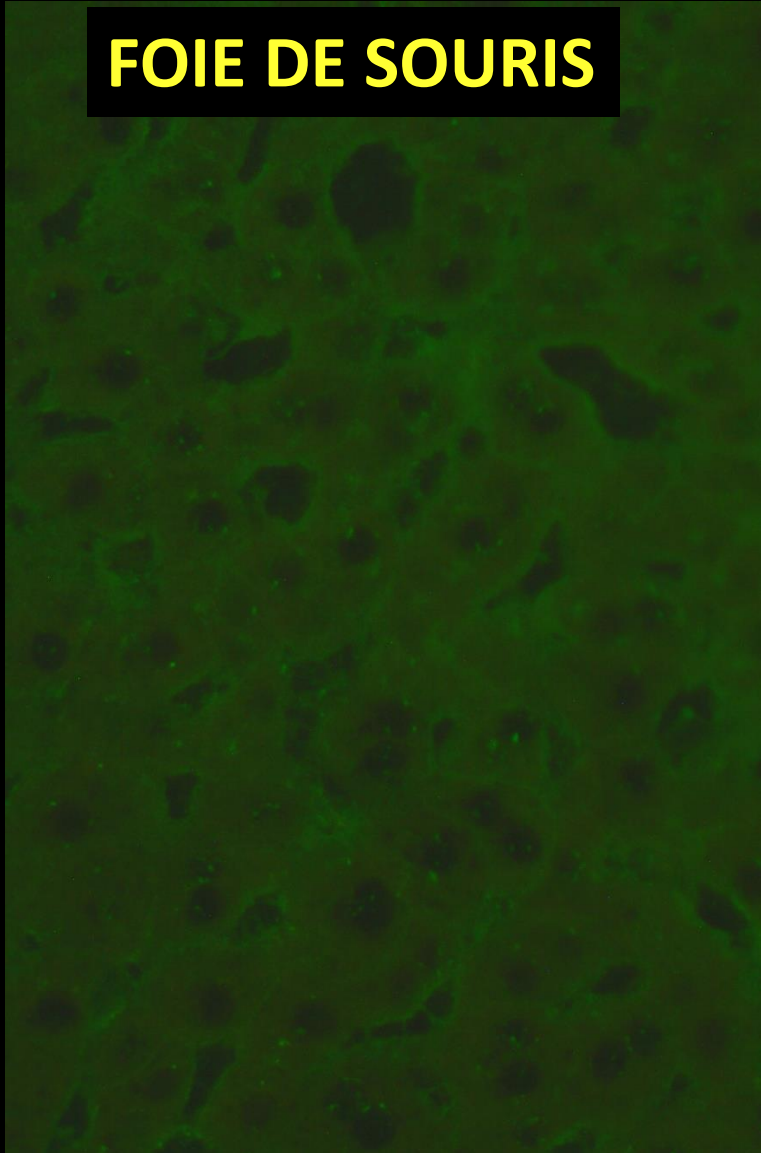
La Striatine comporte plusieurs segments dont chacun porte des sites de liaison spécifiques avec différentes protéines dont la **phosphatase PPA2 et les kinases** du centre germinatif avec lesquelles se forme un complexe (STRYPAK) qui participe au contrôle du cycle cellulaire.



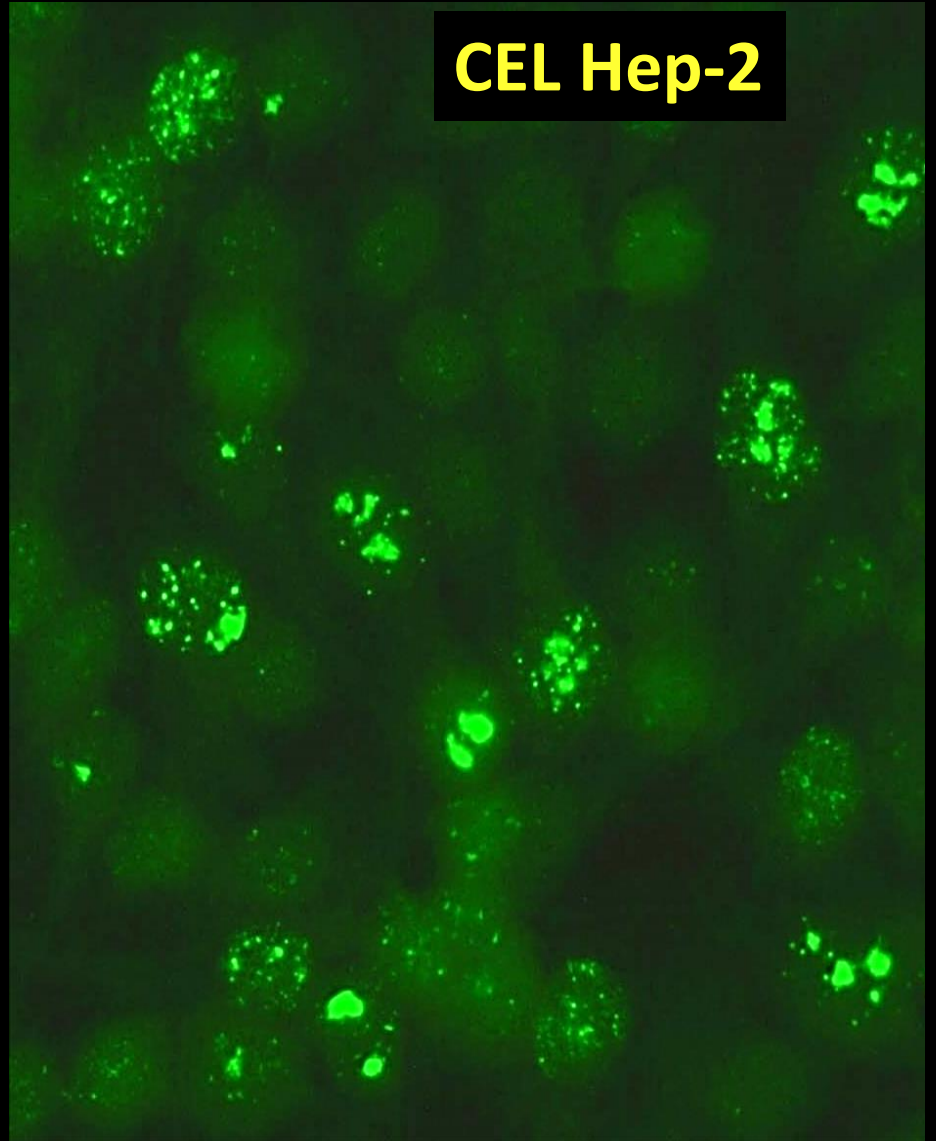
Il n'existe pas de tests commerciaux pour la recherche spécifique des anti-Pseudo-PCNA 1 anti-SG2/NA

# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 2

FOIE DE SOURIS



CEL Hep-2



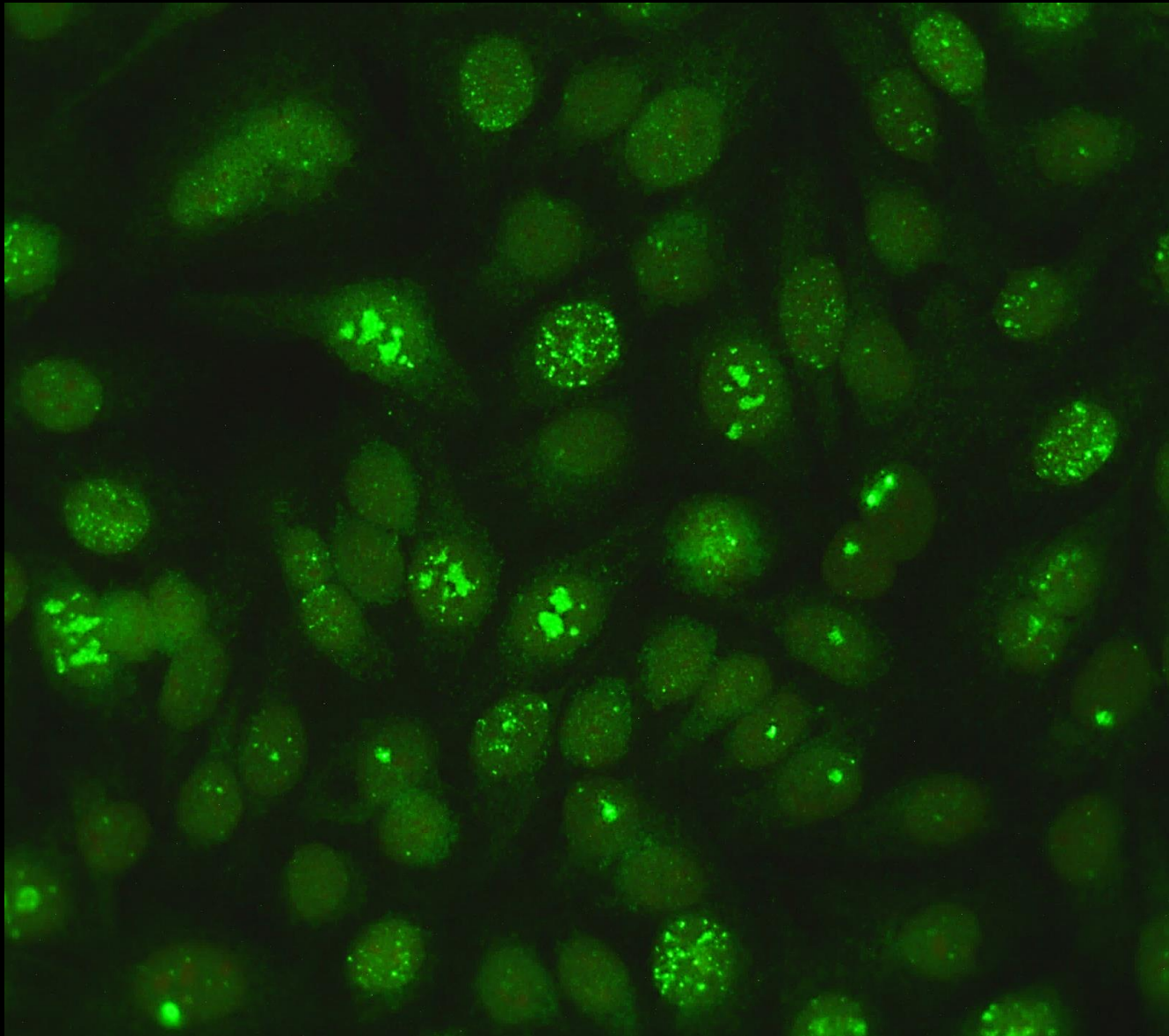
# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 2

J'ai inclus en 1985 dans la classification des aspects de fluorescence sur cellules HEp2 un second type d'anticorps l'anti-Pseudo-PCNA 2. Il se caractérise par un marquage très hétérogène des noyaux de certaines cellules. Quelques gros dots commencent à apparaître à la fin de la phase G1 juste avant l'entrée en phase S. Puis le marquage devient de plus en plus important avec apparition de grosses mottes. En phase G2 les nucléoles sont marqué. Les mitoses ne sont pas marquées ce qui les différencie avec les anti-Mev qui marquent aussi fortement les cellules en mitose.

L'antigène cible de ces anticorps n'a pas été identifié à ce jour. Il n'existe donc pas de tests spécifiques pour leur identification .

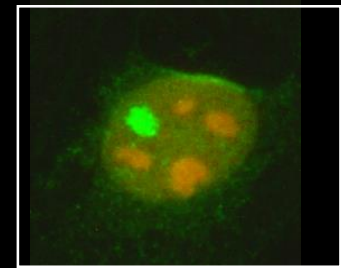
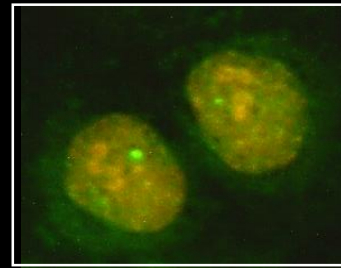
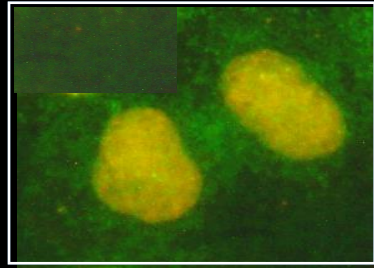
Ces anticorps ont surtout été observés chez des malades atteints d'un cancer.

# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 2

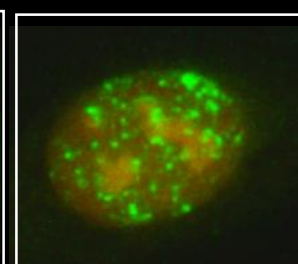
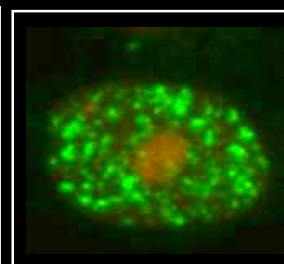
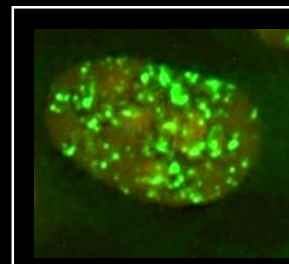
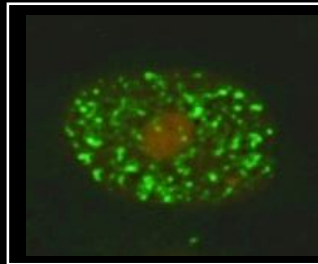


# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 2

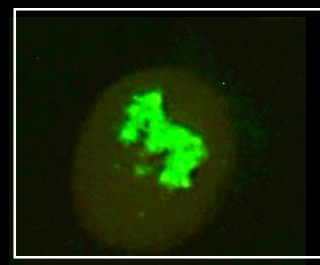
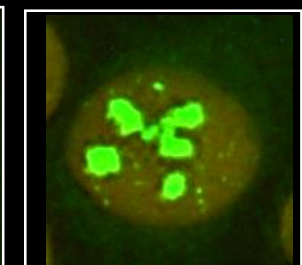
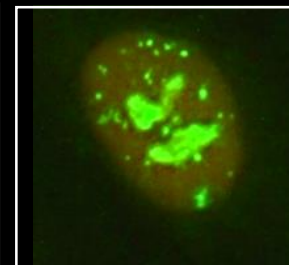
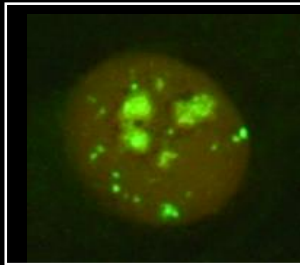
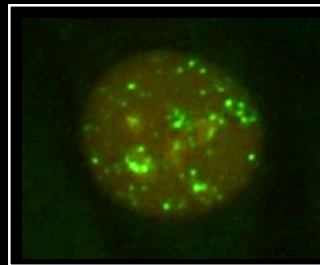
Phase G1



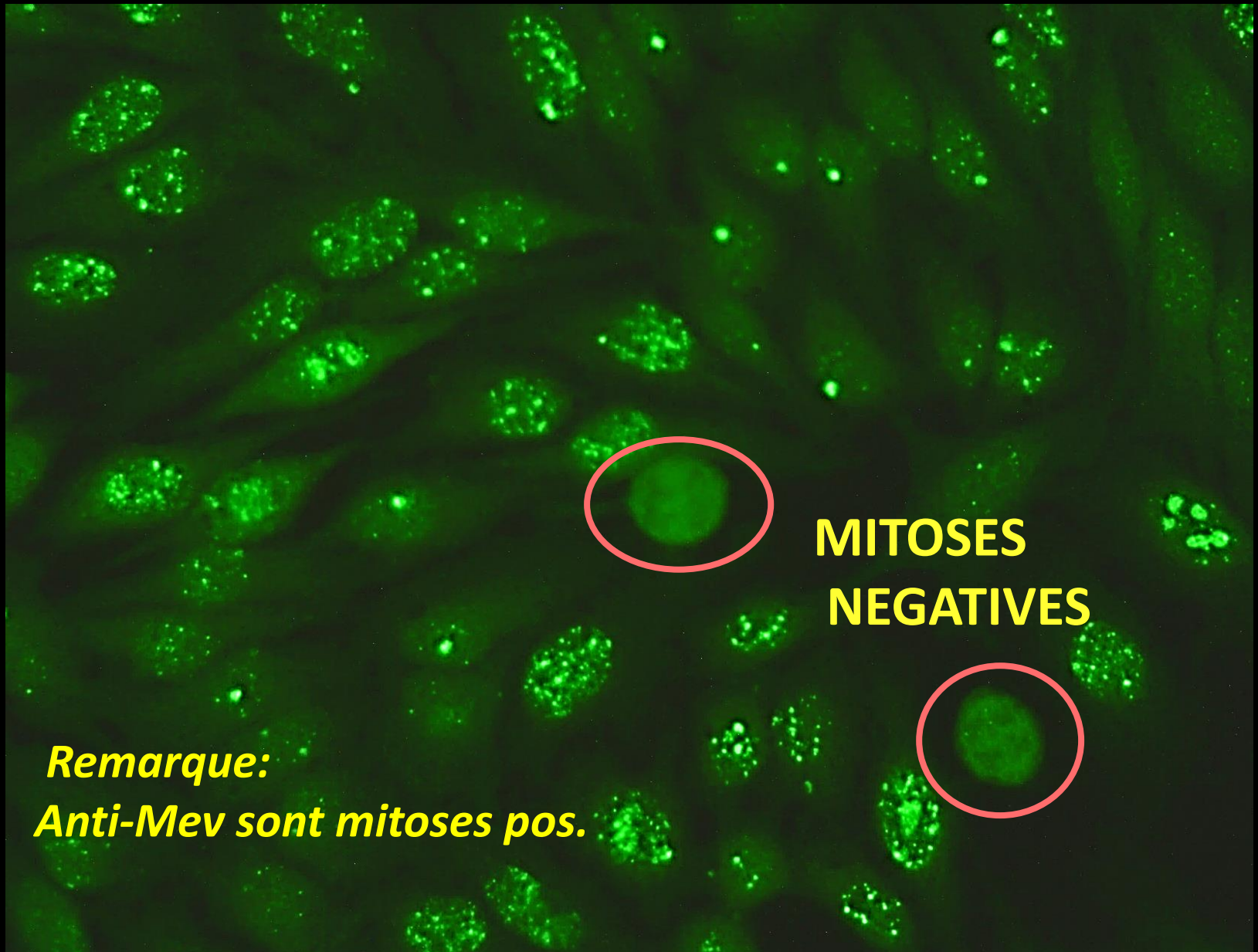
Phase S



Phase G2



# ANTICORPS ANTI-PSEUDO-PCNA 2



MITOSES  
NEGATIVES

*Remarque:  
Anti-Mev sont mitoses pos.*