

# ANTICORPS MONOCLONAUX PAN-HA

●●● Pour la quantification du virus de la grippe

## FAITS SAILLANTS

La grippe de types A et B est responsable des épidémies de grippe saisonnière. La grippe est classée en fonction des protéines de surface virales : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). Actuellement, il existe 18 sous-types d'hémagglutinine connus; des mutations ponctuelles dans n'importe quel sous-type d'hémagglutinine ou un changement antigénique peuvent produire les conditions nécessaires à une pandémie de grippe.

Chaque année, des vaccins sont produits pour atténuer les effets négatifs potentiels de la grippe. En collaboration avec les organismes de réglementation, la production et la distribution des anticorps requis pour quantifier de nouveaux lots de vaccins peuvent prendre jusqu'à 16 semaines, ce qui peut entraîner des retards importants dans la production des vaccins.

La seule méthode de dosage acceptée, l'immunodiffusion radiare, nécessite des anticorps spécifiques standardisés contre chaque souche de la grippe. En revanche, l'utilisation d'anticorps à spécificité élargie contre la grippe est susceptible de permettre un dosage rapide et précis grâce à d'autres méthodes, ce qui est susceptible d'accélérer la production de vaccins. En effet, le processus de développement du vaccin pourrait être accéléré grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux (AcM) pan-HA, tandis que l'accumulation de données qui en découlerait pourrait entraîner le remplacement de l'immunodiffusion radiare par un test plus efficace et ainsi accélérer la distribution annuelle du vaccin.

Pour répondre à ce besoin, le CNRC a généré deux anticorps monoclonaux présentant une spécificité contre

40 souches de grippe de types A et B, englobant les sous-types HA de H1 à H13. Une fois combinés, ils forment un cocktail d'AcM pan-HA qui réduit considérablement le besoin d'anticorps spécifiques aux souches, ce qui pourrait ainsi accélérer le processus de production annuelle de vaccins.

## TRANSFERT DE TECHNOLOGIE

- Licence pour exploitation commerciale
- Entente de R-D pour la mise au point
- Application commerciale des AcM

- Ils remplacent les anticorps spécifiques à une souche pour accélérer le développement annuel de lots de vaccins.
- Ils permettent de recourir à des méthodes de quantification autres que l'immunodiffusion radiare, laquelle est limitée par la disponibilité des réactifs.
- Ils sont applicables au transfert de type western, à l'hybridation sur taches, aux essais immuno-enzymatiques et à d'autres immuno-essais utilisant des antigènes dénaturés.

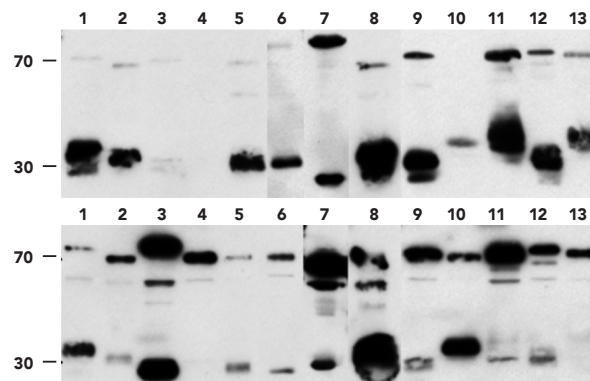


Figure 1 : Liaison de l'AcM 11H12 à 13 sous-types de la grippe. Les marqueurs moléculaires correspondant au sous-type HA2 à 30 kDa et au sous-type HA1 à 70 kDa sont indiqués. Le nom complet des souches virales correspondant à chaque colonne se trouve dans le tableau ci-dessous.

LANE	SUBTYPE	STRAIN
1	A/H1N1	A/Porto Rico/8/34
2	A/H2N2	A/Singapore/1/57
3	A/H3N2	A/New York/55/01
4	A/H4N6	A/Canard/Tchécoslovaquie/56
5	A/H5N9	A/Dinde/Wisconsin/68
6	A/H6N2	A/Dinde/Massachusetts//3740/65
7	A/H7N7	A/Cheval/Prague/1/56
8	A/H8N4	A/Dinde/Ontario/6118/68
9	A/H9N2	A/Dinde/Wisconsin/1/66
10	A/H10N8	A/Caille/Italie/1117/65
11	A/H11N6	A/Canard/Angleterre/56
12	A/H12N6	A/Canard/Wisconsin/480/79
13	A/H13N6	A/Goéland/Maryland/704/77

- Ils peuvent être soit immobilisés sur une surface ou être liés à une molécule transporteuse pour de nouvelles méthodes de dosage, de techniques de diagnostic ou d'applications thérapeutiques.
- Ils sont utilisables sous forme d'immunoglobuline G (IgG) entière, comme fragments Fv, scFv, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, ou comme élément d'une molécule chimère.
- Ils sont utilisables pour la détection et la quantification.

## FONCTIONNEMENT

Une séquence peptidique hautement conservée dans les souches et sous-types de la grippe a été utilisée pour générer des hybridomes de souris. Après criblage, les anticorps monoclonaux 10A9 et 11H12 ont été sélectionnés pour leur grande réactivité parmi les souches de grippe testées, et ont ainsi été séquencés. La lignée cellulaire CHO, propriété exclusive du CNRC, a été transfectée pour générer des populations et des lignées cellulaires stables. Les populations stables ont ensuite été dégelées, amplifiées et induites avec du cumate pour débiter

la production des AcM dans des conditions prédéterminées. De grandes quantités d'AcM pourraient être produites grâce à l'utilisation de bioréacteurs à grande échelle, fournissant ainsi des anticorps monoclonaux pan-HA de

haute qualité pour assurer un système de production cohérent qui répond aux besoins industriels.

Les anticorps purifiés ne montrent aucune dégradation après 12 mois, et l'affinité de liaison reste inchangée après trois cycles de gel-dégel. Les résultats des essais immunologiques montrent que 11H12 se lie préférentiellement au groupe 1 de la grippe de type A, tandis que 10A9 se lie préférentiellement au groupe 2. Les souches de grippe de type B testées ont été reconnues par l'un ou l'autre des anticorps. La combinaison des deux anticorps génère un cocktail complémentaire qui permet la détection d'un large éventail de souches et de types de la grippe.

## AVANTAGES

- Ils permettent une quantification reproductible des souches de la grippe de type A et B.
- Ils éliminent le besoin d'anticorps anti-HA de souches précises.
- Ils détectent efficacement l'hémagglutinine de pleine longueur et trois (3) conformations de peptides : monomères, dimères et oligomères.
- Les AcM 10A9 et 11H12 reconnaissent tous deux une région hautement conservée de l'hémagglutinine avec un profil de liaison différent mais complémentaire.

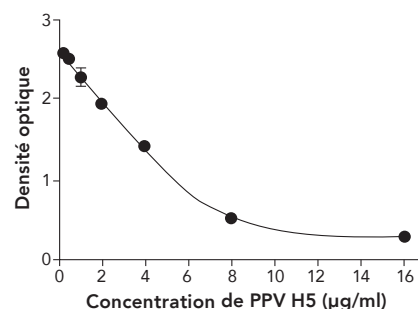


Figure 3: Courbe standard obtenue avec une PPV de H5 au moyen d'un essai immuno-enzymatique concurrentiel. L'anticorps 10A9 à une concentration de 800 ng/ml a été mélangé à différentes concentrations de PPV de H5 et ajouté à une plaque recouverte au préalable. Une régression logistique à quatre paramètres a été effectuée pour modéliser la courbe.

- Les AcM 10A9 et 11H12 peuvent être utilisés en combinaison dans un cocktail pour une détection pan-HA, ou individuellement selon les besoins.
- Ils détectent les hémagglutinines recombinantes (HAr), les particules pseudo-virales (PPV), les virus purifiés ou les échantillons non purifiés.
- Ils peuvent reconnaître des HA provenant de différentes plateformes de production : cellules de mammifères, cellules d'insectes, cellules aviaires, œufs et végétaux.
- Des populations stables de cellules CHO sont disponibles pour une production rapide et efficace des deux AcM.
- Le procédé de production peut être transposé en bioréacteurs à grande échelle pour répondre aux besoins industriels.

## BREVET

WO 2018/138681 A1

## RÉFÉRENCE

Manceur et coll., Generation of monoclonal pan-hemagglutinin antibodies for the quantification of multiple strains of influenza (2017) PLoS ONE 12(6):e0180314

## CONTACT

Daniel Desmarteaux,  
Chef des relations avec les clients  
514-496-5300  
Daniel.Desmarteaux@cnrc-nrc.gc.ca

[www.canada.ca/  
therapeutique-sante-humaine-cnrc](http://www.canada.ca/therapeutique-sante-humaine-cnrc)

© 2020 Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le Conseil national de recherches du Canada.  
PDF: N° de cat. NR16-320/2020F-PDF  
ISBN 978-0-660-35159-9

062020 • Also available in English

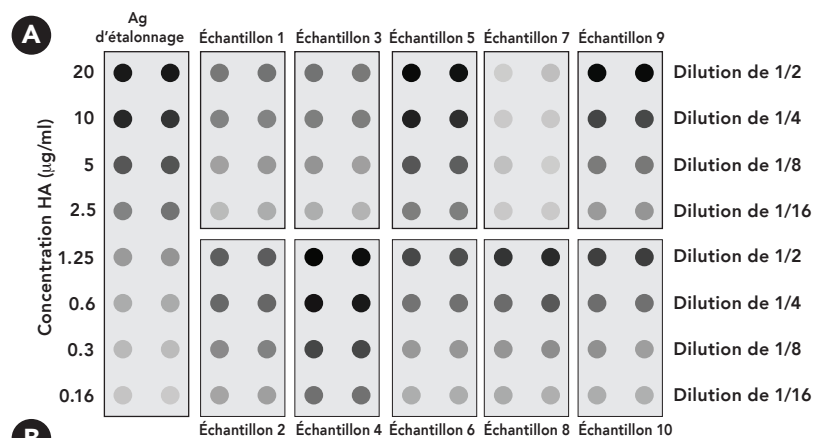


Figure 2 : Quantification par la méthode dot-blot de dix échantillons de la grippe (H1N1 A/Porto Rico/8/34) produits dans des cellules HEK293 en suspension à l'aide d'un cocktail pan-HA. L'antigène (Ag) étalon a été ajouté en duplicata, et dix échantillons ont été ajoutés en quatre dilutions. En utilisant une courbe standard ( $r^2 = 0,9893$ ) générée par l'antigène étalon, les concentrations en hémagglutinine (HA) pour les dix échantillons non purifiés (de S1 à S10) ajoutés en A ont été calculées (B).