

DES de Biologie Médicale  
Enseignement d'Immunologie



CM5.2

Diversité & sélection des répertoires  
Tolérance immunitaire

Adrien Six ([adrien.six@upmc.fr](mailto:adrien.six@upmc.fr))  
Université Pierre et Marie Curie

Phnom Penh  
septembre 2009

DESCL12009, Phnom Penh

1

Diversité & sélection des répertoires  
Tolérance immunitaire

1. Recombinaison V(D)J
2. Organisation des locus Ig et TCR
3. Mécanismes de diversification
4. Sélection des répertoires B et T
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

DESCL12009, Phnom Penh

2

Diversité & sélection des répertoires  
Tolérance immunitaire

1. **Recombinaison V(D)J**
2. Organisation des locus Ig et TCR
3. Mécanismes de diversification
4. Sélection des répertoires B et T
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

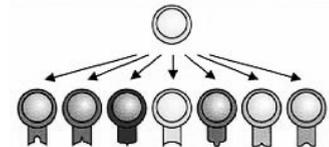
DESCL12009, Phnom Penh

3

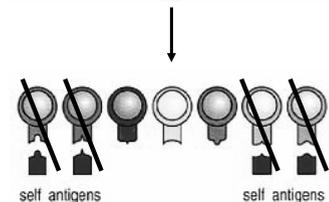
Théorie de la sélection clonale (1)

Burnet (1899–1985)

- Chaque lymphocyte exprime un type unique de récepteur spécifique d'antigène



- Les lymphocytes exprimant un récepteur dirigé contre un antigène du soi sont éliminés lors de la différenciation

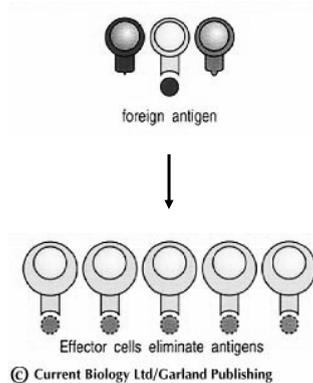


DESCL12009, Phnom Penh

4

## Théorie de la sélection clonale (2)

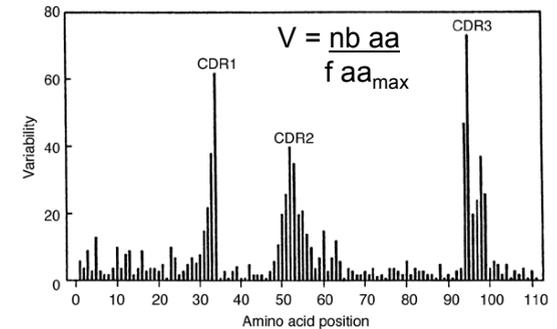
- La liaison avec une bonne affinité d'une molécule étrangère et d'un récepteur entraîne l'activation du lymphocyte
- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité



DESCL2009, Phnom Penh

5

## Les régions hypervariables (1)

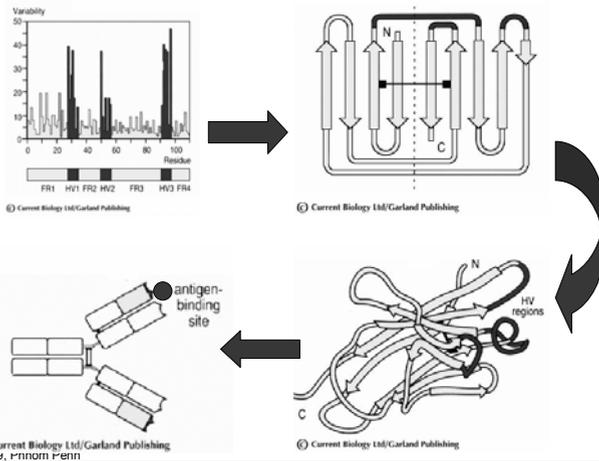


Si l'on aligne les séquences variables d'IgH ou IgL, on observe trois régions hypervariables dites régions «CDRs», qui forment le site de liaison à l'antigène...

DESCL2009, Phnom Penh

6

## Les régions hypervariables (2)



DESCL2009, Phnom Penh

7

## Un paradoxe génétique

- Beadle et Tatum (1941): un gène, une protéine
  - ~25 000 gènes dans le génome humain
- Mais...
- Capacité de production d'une variété « infinie » d'Ig et de TCR (cf. Landsteiner)
  - Constance des domaines constants vs. Diversité dans les domaines variables (cf. Edelman, 1969)
  - Combien de gènes doit-on considérer ?
- => Théorie des réarrangements somatiques  
La recombinaison V(D)J (Tonegawa, 1976)

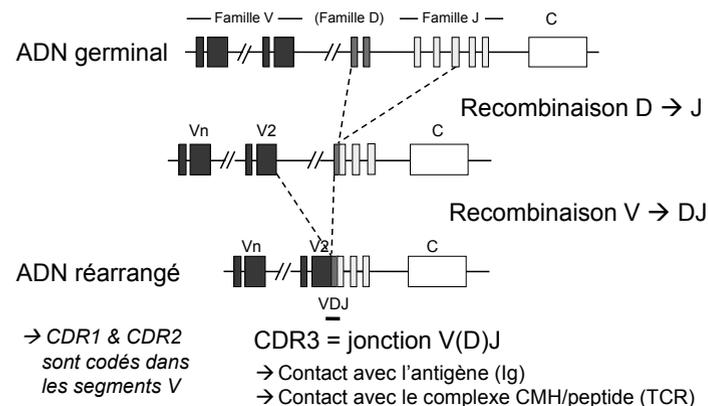
DESCL2009, Phnom Penh

8

« Si les smokings étaient faits d'une seule pièce, et que les gens devaient se faufiler à l'intérieur par un trou dans le dos, les magasins de location de smokings devraient stocker un nombre encore plus grand de ces habits qu'ils ne le font. Heureusement, on peut mélanger des pantalons, des vestes, des chemises et des chaussures de tailles et pointures différentes. »

*La sagesse des gènes, Christopher Wills.*

## Les régions variables sont créées pendant la recombinaison V(D)J



## Les régions CDR1, CDR2 & CDR3

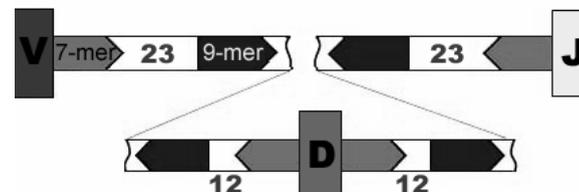
Source of variation	CDR1	CDR2	CDR3
Sequence encoded by:	V segment	V segment	V <sub>L</sub> -J <sub>L</sub> junction; V <sub>H</sub> -D <sub>H</sub> -J <sub>H</sub> junctions
Junctional flexibility	-	-	+ Ig/TCR
P-nucleotide addition	-	-	+ Ig/TCR
N-nucleotide addition*	-	-	+ Ig/TCR
Somatic hypermutation	+	+	+(Ig only)

\*N-nucleotide addition occurs only in heavy-chain DNA.

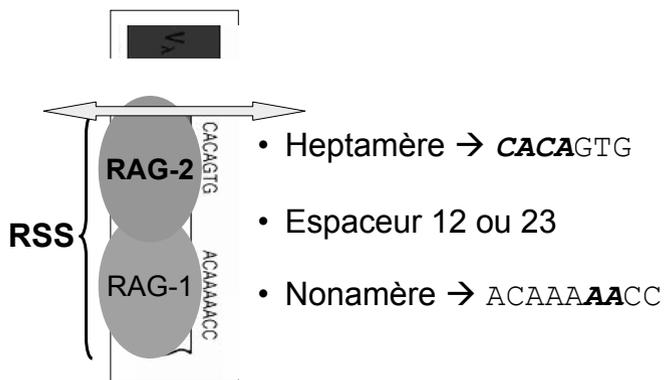
Table S-3  
 Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
 © 2007 W.H. Freeman and Company

## La recombinaison V(D)J (1)

- Nécessite l'expression des protéines RAG-1 et RAG-2
- Nécessité de l'ouverture/accessibilité de la chromatine pour la recombinaison
- Reconnaissance de RSS : heptamère-espaceur-nonamère suivant la règle 12/23



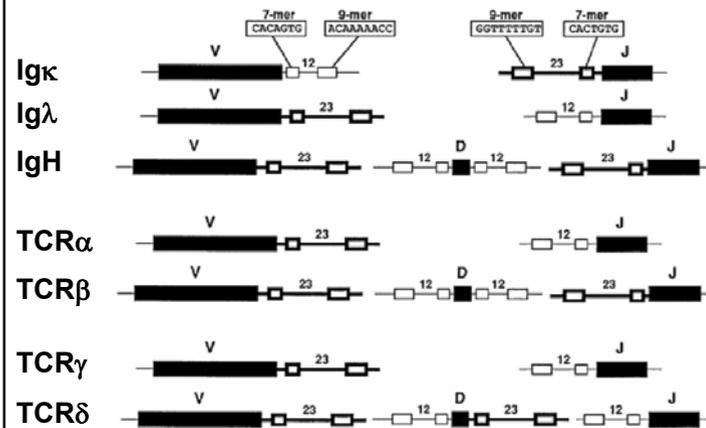
## Séquences signal de recombinaison



DESCLI2009, Phnom Penh

13

## La règle 12/23 pour les Ig et TCR

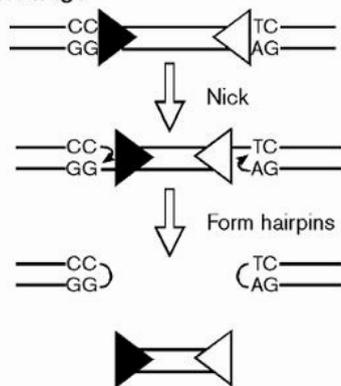


DESCLI2009, Phnom Penh

14

## La recombinaison V(D)J (2)

### (a) Cleavage



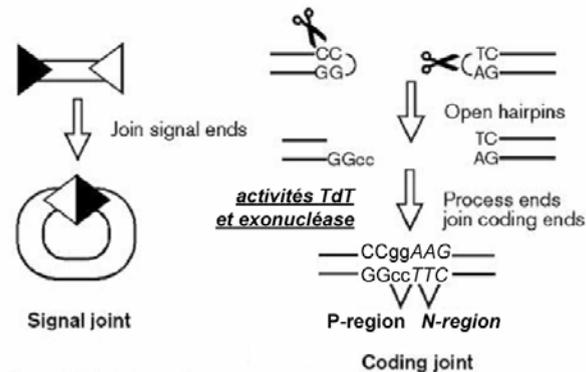
© 1996 Current Opinion in Immunology

DESCLI2009, Phnom Penh

15

## La recombinaison V(D)J (3)

### (b) Joining



© 1996 Current Opinion in Immunology

DESCLI2009, Phnom Penh

16

## Diversité & sélection des répertoires Tolérance immunitaire

1. Recombinaison V(D)J
2. **Organisation des locus Ig et TCR**
3. Mécanismes de diversification
4. Sélection des répertoires B et T
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

DESCL2009, Phnom Penh

17

## Organisation génomique des locus Ig chez l'homme

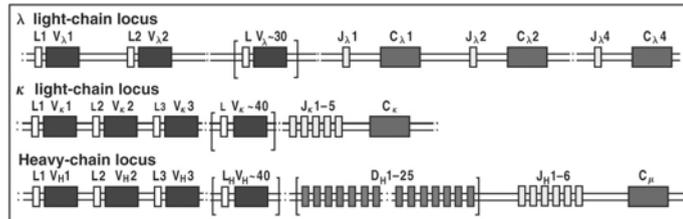


Figure 4-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

DESCL2009, Phnom Penh

18

## Organisation génomique des locus Ig chez la souris

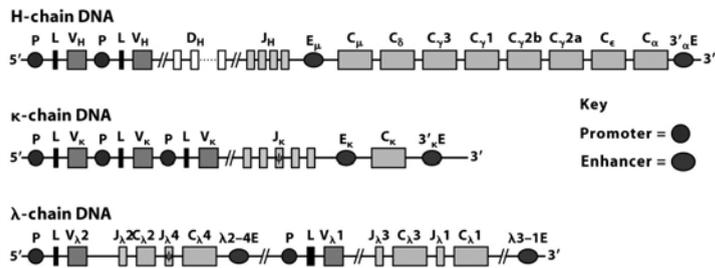


Figure 5-22  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

DESCL2009, Phnom Penh

19

## Organisation génomique des locus TCRαβ chez l'homme

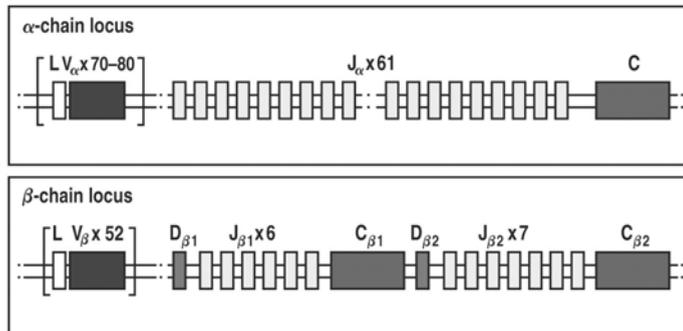


Figure 4-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

DESCL2009, Phnom Penh

20

## Organisation génomique des locus TCR $\gamma\delta$ chez l'homme

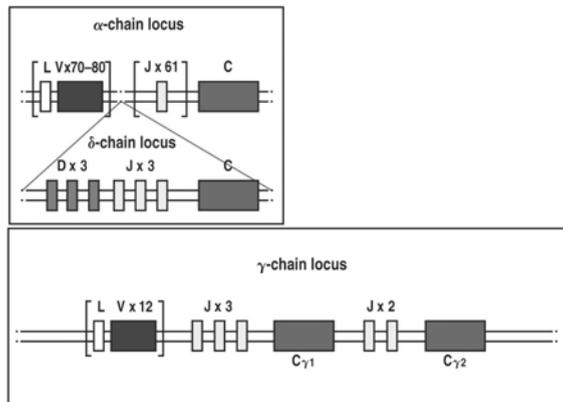


Figure 4-15 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005

DESCLI2009, Phnom Penh

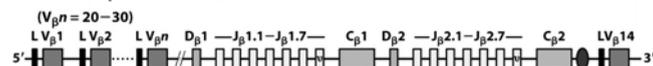
21

## Organisation génomique des locus TCR chez la souris

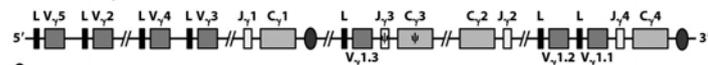
### Mouse TCR $\alpha$ -chain and $\delta$ -chain DNA (chromosome 14)



### Mouse TCR $\beta$ -chain DNA (chromosome 6)



### Mouse TCR $\gamma$ -chain DNA (chromosome 13)



● = Enhancer  
 $\psi$  = pseudogene

Figure 9-5  
 Kubly IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
 © 2007 W. H. Freeman and Company

DESCLI2009, Phnom Penh

22

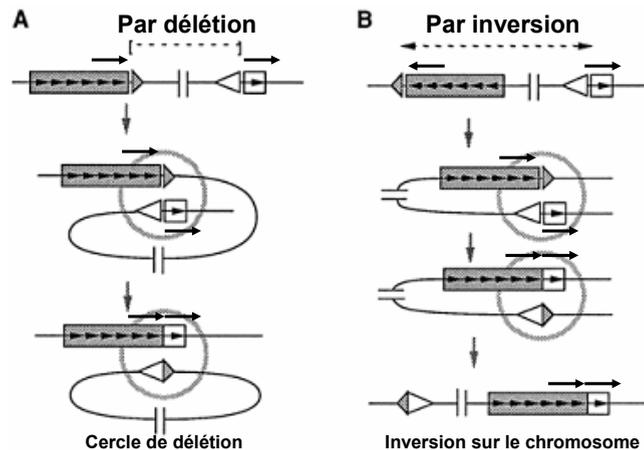
## Diversité & sélection des répertoires Tolérance immunitaire

1. Recombinaison V(D)J
2. Organisation des locus Ig et TCR
3. Mécanismes de diversification
4. Sélection des répertoires B et T
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

DESCLI2009, Phnom Penh

23

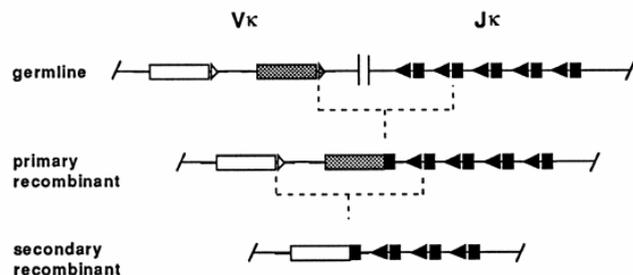
## Différents types de réarrangements



DESCLI2009, Phnom Penh

24

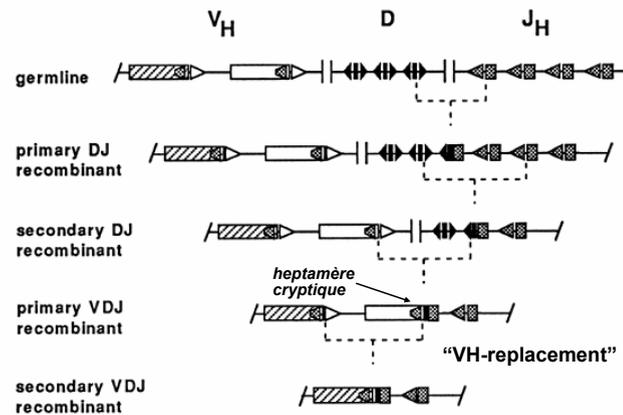
## Réarrangements secondaires (1)



DESCL2009, Phnom Penh

25

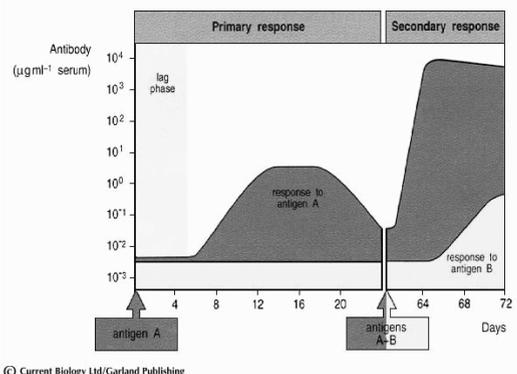
## Réarrangements secondaires (2)



DESCL2009, Phnom Penh

26

## Mémoire immunologique



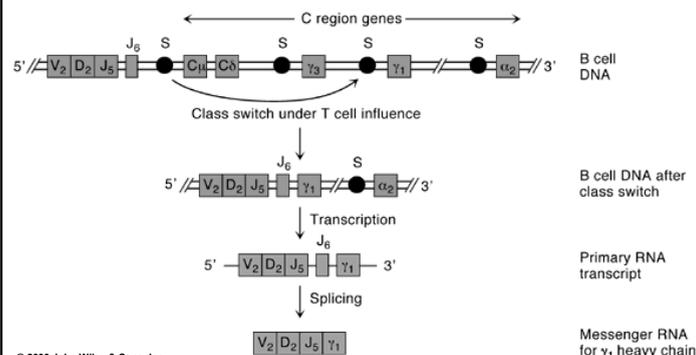
© Current Biology Ltd/Garland Publishing

→ Principe de la vaccination

DESCL2009, Phnom Penh

27

## La commutation isotypique (1)

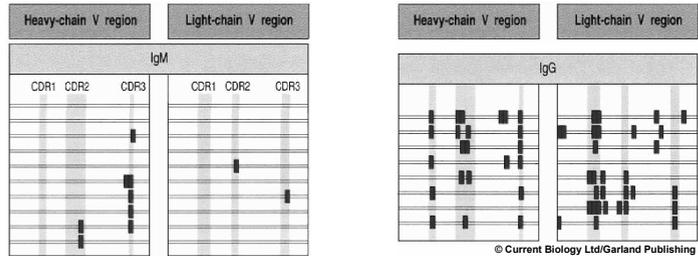


© 2000 John Wiley & Sons, Inc.

DESCL2009, Phnom Penh

28

## La maturation d'affinité



« Réponse primaire »  
7 jours après la 1<sup>ère</sup> immunisation

→

« Réponse secondaire »  
7 jours après la 2<sup>ème</sup> immunisation au jour 14

→ *Hypermutation somatique dans les centres germinatifs*

DESCL2009, Phnom Penh

29

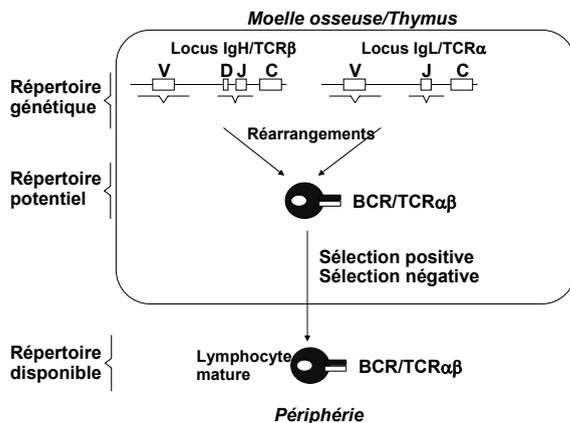
## Diversité & sélection des répertoires Tolérance immunitaire

1. Recombinaison V(D)J
2. Organisation des locus Ig et TCR
3. Mécanismes de diversification
4. **Sélection des répertoires B et T**
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

DESCL2009, Phnom Penh

30

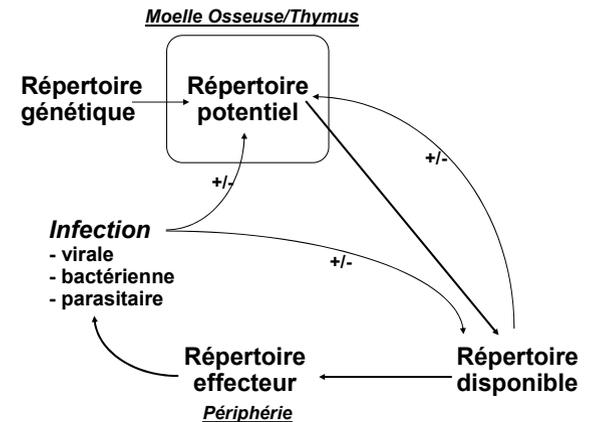
## Notions de répertoires (1)



DESCL2009, Phnom Penh

31

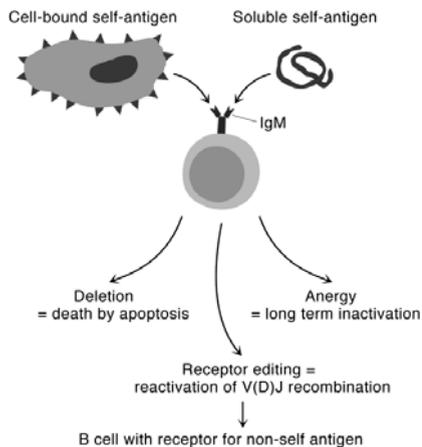
## Notions de répertoires (2)



DESCL2009, Phnom Penh

32

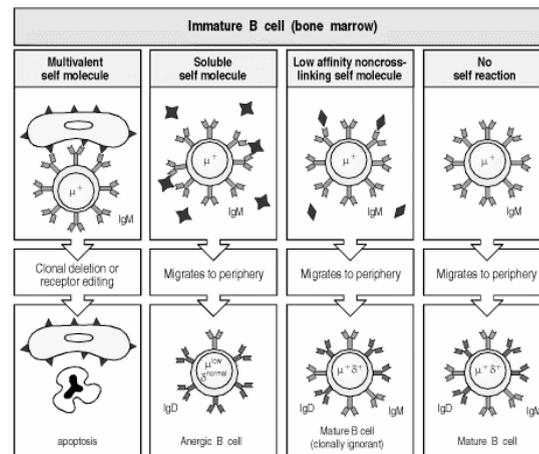
## Sélection des lymphocytes B (1)



DESCL2009, Phnom Penh

© 2000 John Wiley & Sons, Inc. 33

## Sélection des lymphocytes B (2)



DESCL2009, Phnom Penh

34

## Délétion clonale (1)

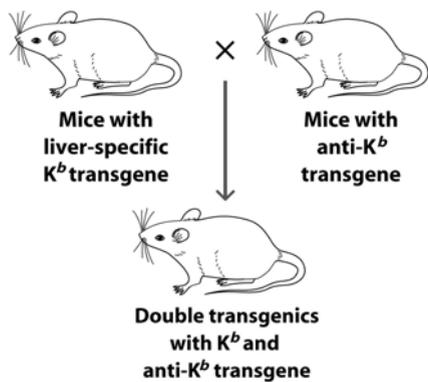


Figure 11-15a  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

DESCL2009, Phnom Penh

35

## Délétion clonale (2)

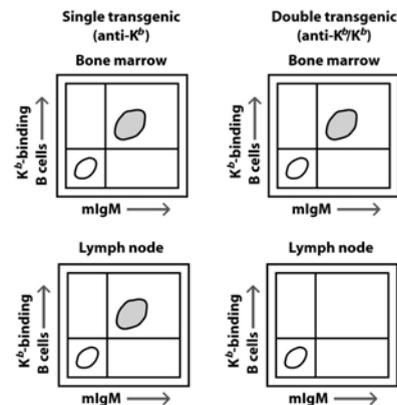
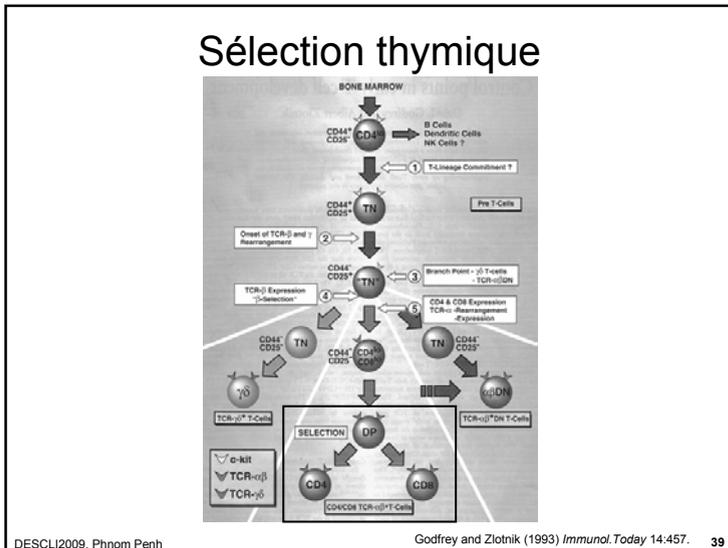
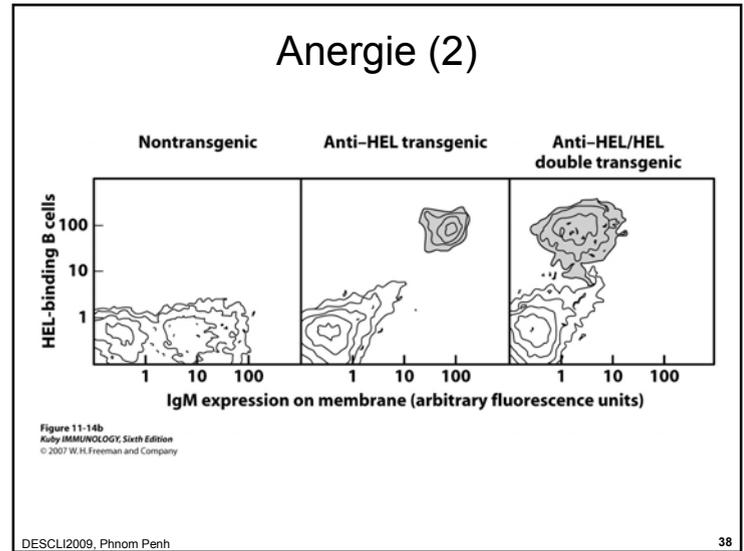
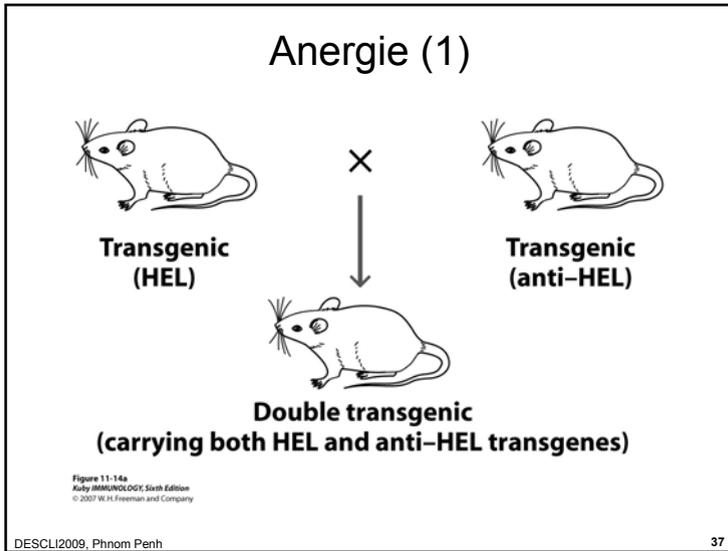


Figure 11-15b  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

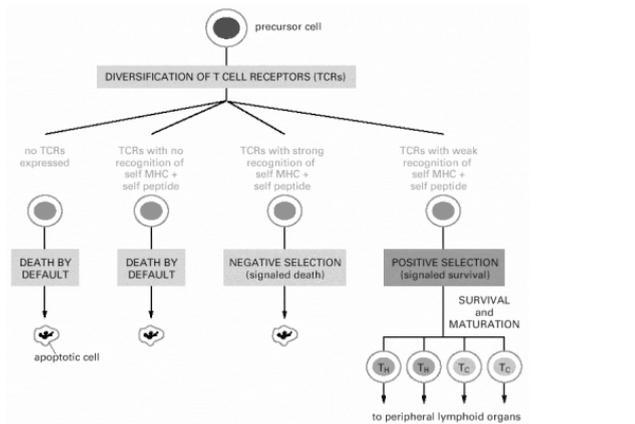
DESCL2009, Phnom Penh

36

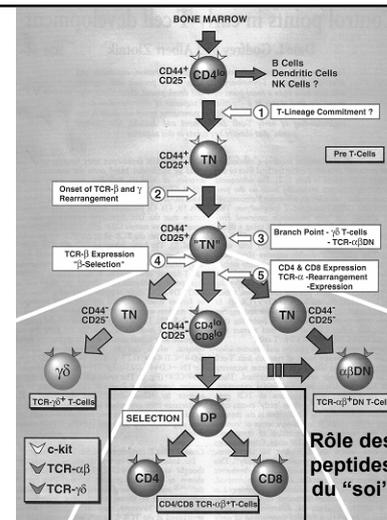


- ### Sélections positive et négative (1)
- Sélection positive: le TCR doit avoir une certaine réactivité avec une molécule du CMH du soi
  - L'expression du co-récepteur CD4/CD8 suit la restriction pour le CMH  
→ CD4/classe II et CD8/classe I
  - Sélection négative: les cellules T autoréactives (reconnaissant CMH + peptide du soi) sont éliminées
- DESLI2009, Phnom Penh 40

## Sélections positive et négative (2)

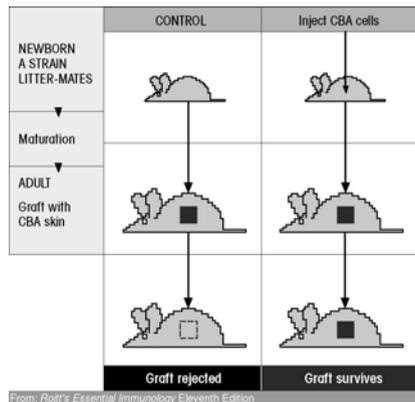


→ *Éducation thymique*



Rôle des peptides du "soi"

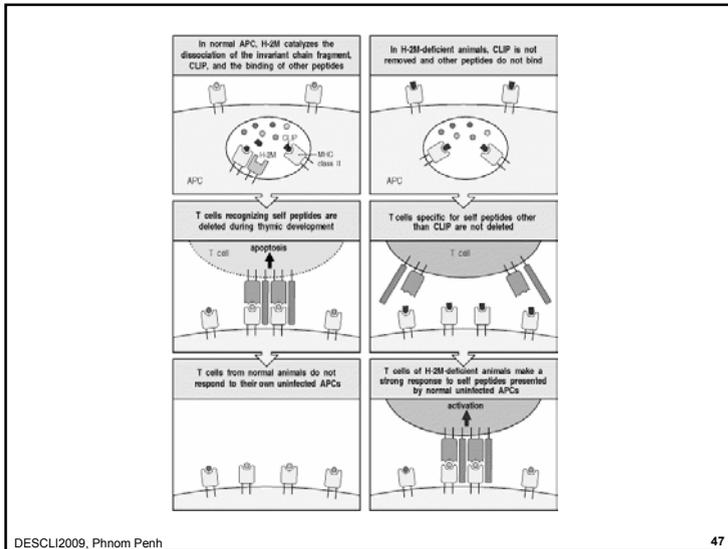
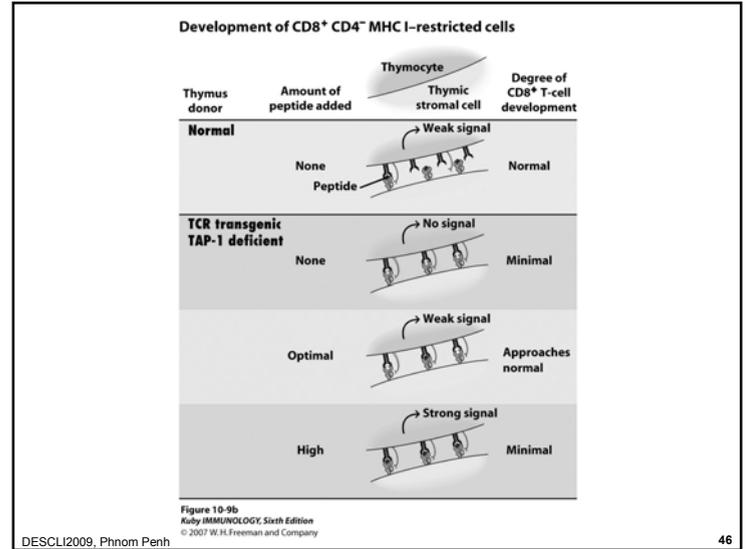
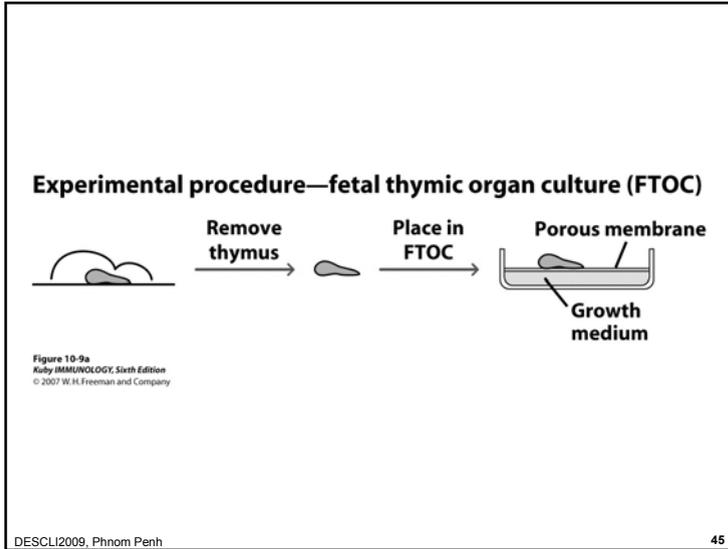
## Induction de la tolérance



From: *Poll's Essential Immunology* Eleventh Edition

→ Rôle des peptides du soi → Délétion clonale





- ## Diversité & sélection des répertoires
- ### Tolérance immunitaire
1. Recombinaison V(D)J
  2. Organisation des locus Ig et TCR
  3. Mécanismes de diversification
  4. Sélection des répertoires B et T
  - 5. Tolérance immunitaire**
  6. Conclusion
- DESCLI2009, Phnom Penh 48

## Tolérance immunitaire (1)

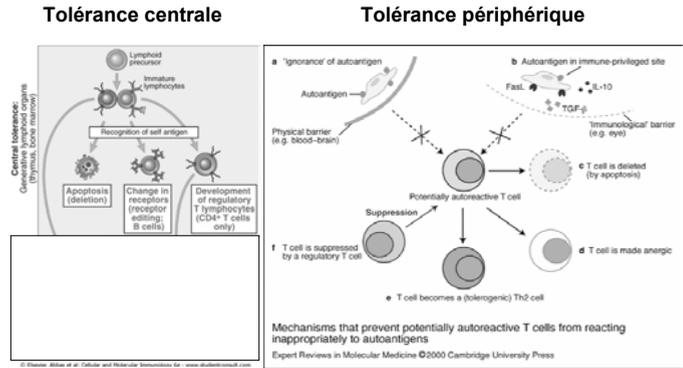
Tolérance = absence de réponse immunitaire suite à une exposition antigénique.

- Cette propriété assure la discrimination entre le soi et le non-soi
- Limite la survenue de pathologies autoimmunes

Mécanismes:

- Tolérance passive: ignorance, privilèges
- Tolérance centrale: délétion clonale, anergie, édition
- Tolérance périphérique: délétion clonale, anergie, lymphocytes régulateurs

## Tolérance immunitaire (2)



## Les cellules T régulatrices

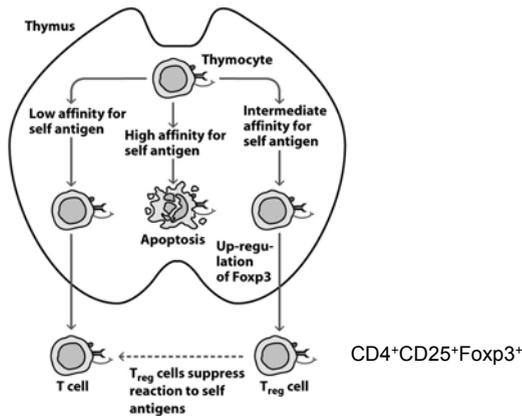
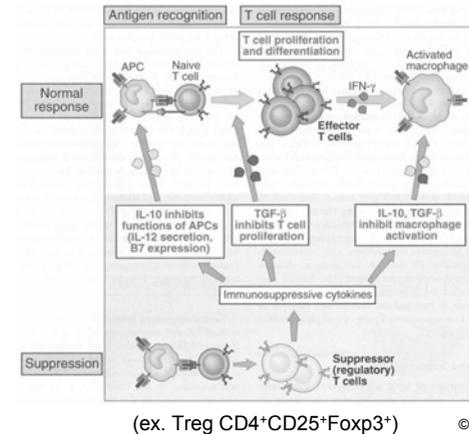


Figure 16-4  
Basic Immunology, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

## Les cellules T régulatrices



Abbas & Lichtman  
Basic Immunology  
© 2001 W.B. Saunders

## Diversité & sélection des répertoires Tolérance immunitaire

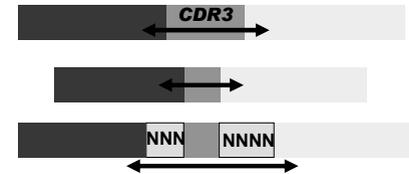
1. Recombinaison V(D)J
2. Organisation des locus Ig et TCR
3. Mécanismes de diversification
4. Sélection des répertoires B et T
5. Tolérance immunitaire
6. Conclusion

DESCL12009, Phnom Penh

53

## Diversité des chaînes Ig et TCR

- La diversité des chaînes d'Ig et de TCR est le produit de :
  - Combinatoire des segments V(D)J
  - Appariement IgH/L, TCR $\alpha$ / $\beta$  or TCR $\gamma$ / $\delta$
  - Ajout/élimination aléatoire de nucléotides à la jonction des segments géniques (CDR3)



DESCL12009, Phnom Penh

54

## Estimation de la diversité (2)

Mechanism of diversity	IMMUNOGLOBULINS		$\alpha\beta$ T-CELL RECEPTOR		$\gamma\delta$ T-CELL RECEPTOR	
	H Chain	$\kappa$ Chain	$\alpha$ Chain	$\beta$ Chain	$\gamma$ Chain	$\delta$ Chain
ESTIMATED NUMBER OF FUNCTIONAL GENE SEGMENTS*						
V	101	85	79	21	7	6
D	13	0	0	2	0	2
J	4	4	38	11	3	2
POSSIBLE NUMBER OF COMBINATIONS*						
Combinatorial V-J	$101 \times 13 \times 4$	$85 \times 4$	$79 \times 38$	$21 \times 2 \times 11$	$7 \times 3$	$6 \times 2 \times 2$
and V-D-J joining	$5.3 \times 10^3$	$3.4 \times 10^2$	$3.0 \times 10^3$	$4.6 \times 10^2$	21	24
Alternative joining of D gene segments	-	-	-	+	-	+
Junctional flexibility	+	+	+	+	+	+
N-region nucleotide addition <sup>†</sup>	$\sim 10^{12}$	+	$\sim 10^{15}$	+	$\sim 10^{18}$	+
P-region nucleotide addition	+	+	+	+	+	+
Somatic mutation	+	+	-	-	-	-
Combinatorial association of chains	+		+	+		

\*Immunoglobulin data from Table 5-2; TCR data from Baum et al., 2004, *Nucleic Acids Research* 32:D51.  
<sup>†</sup>A plus sign (+) indicates mechanism makes a significant contribution to diversity but to an unknown extent.  
 A minus sign (-) indicates mechanism does not operate.  
<sup>‡</sup>See Figure 9-8d for theoretical number of combinations generated by N-region addition.

Table 9-3  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

DESCL12009, Phnom Penh

55

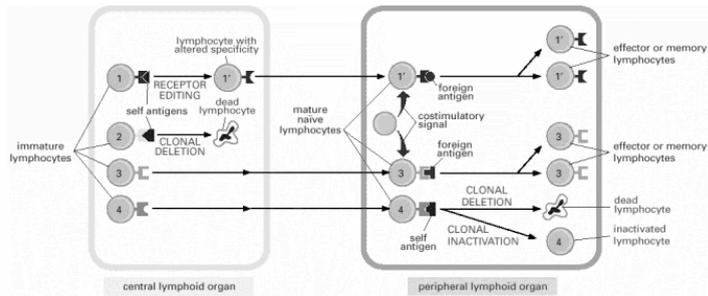
## Notions de répertoires (3)

- La diversité des récepteurs spécifiques de l'antigène du répertoire disponible de lymphocytes matures périphériques conditionne la capacité à répondre aux **antigènes du non-soi**.
- Cette diversité disponible est en fait façonnée, notamment pendant la différenciation lymphocytaire, par les **antigènes du soi**.

DESCL12009, Phnom Penh

56

## Sélections centrale et périphérique



DESCL2009, Phnom Penh

57

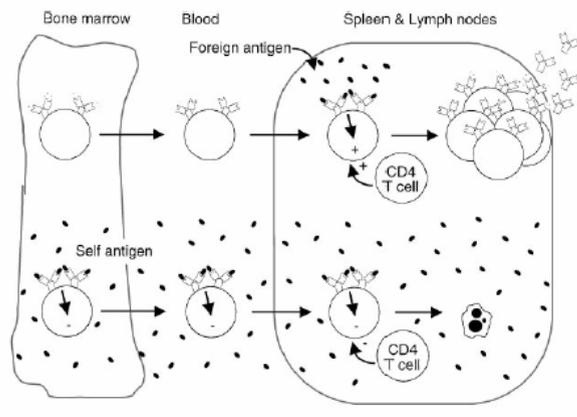
There is only one immune system! The view from immunopathology. A. M. Silverstein and N. R. Rose. *Semin. Immunol.* 12:173-178, 2000.

- The immune system does not 'decide' that a stimulus is deadly or harmless and respond accordingly.
- The world is not divided between the self and the not-self (foreign). The immune system does not 'know' the difference. Only obedience to the immunological rules defines what is tolerated and what is intolerable.
- SELF IS ONLY THAT COLLECTION OF POTENTIAL IMMUNOGENS THAT CANNOT STIMULATE A RESPONSE (or only a subliminal one) AT THAT TIME AND PLACE! This inability, which we name immunological tolerance [...] is the result of a multitude of central and peripheral down-regulatory mechanisms that have acted according to their own rules.
- Any 'foreign' epitope can become 'self' if administered appropriately, and any 'self' epitope can become 'foreign' and cause autoimmune disease, if tolerance is overcome with an adjuvant, by an intercurrent infection, by molecular mimicry, or by a variety of other means.
- Again, the immune system does not 'choose' immunoprotection or immunopathology in response to a challenge; both will occur in any event, and the fixed rules only determine the relative balance of the two.

DESCL2009, Phnom Penh

58

## Immunité versus tolérance



D'après Healy et Goodnow (1998) *Annu. Rev. Immunol.* 16: 645-670.

DESCL2009, Phnom Penh

59