

Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et TCR

Adrien Six
Université Pierre et Marie Curie

IF2008 IF-VIa
février 2008

Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

1. Introduction
2. Recombinaison V(D)J
3. Organisation des locus TCR et Ig
4. Notions de répertoire
5. Conclusion

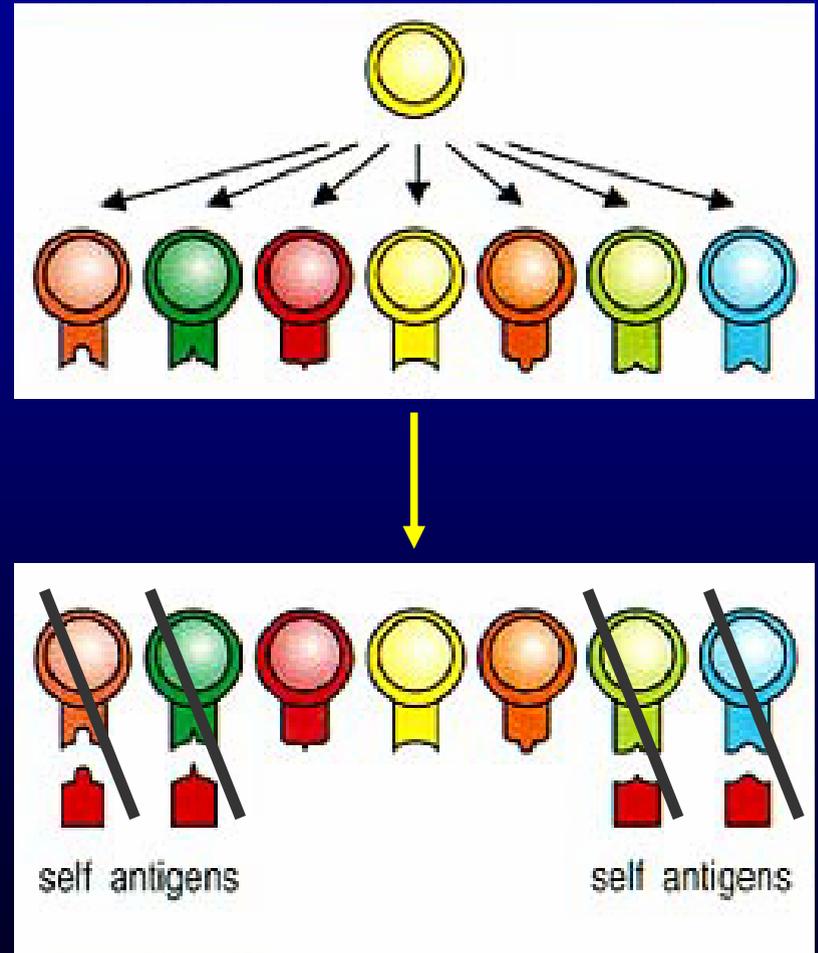
Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

- 1. Introduction**
2. Recombinaison V(D)J
3. Organisation des locus TCR et Ig
4. Notions de répertoire
5. Conclusion

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

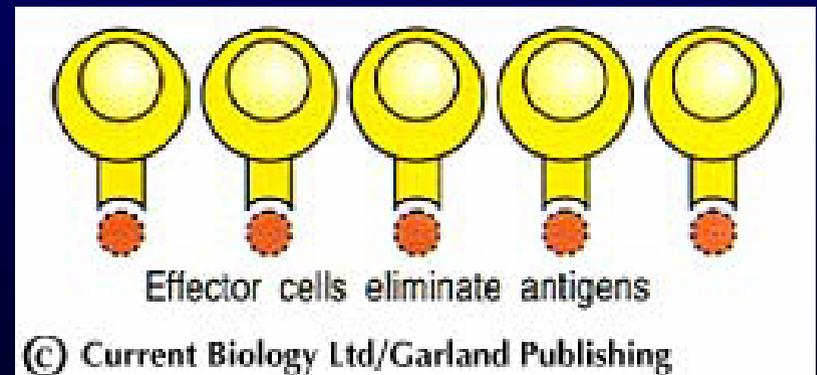


Théorie de la sélection clonale (2)

- 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



Théorie de la sélection clonale (3)

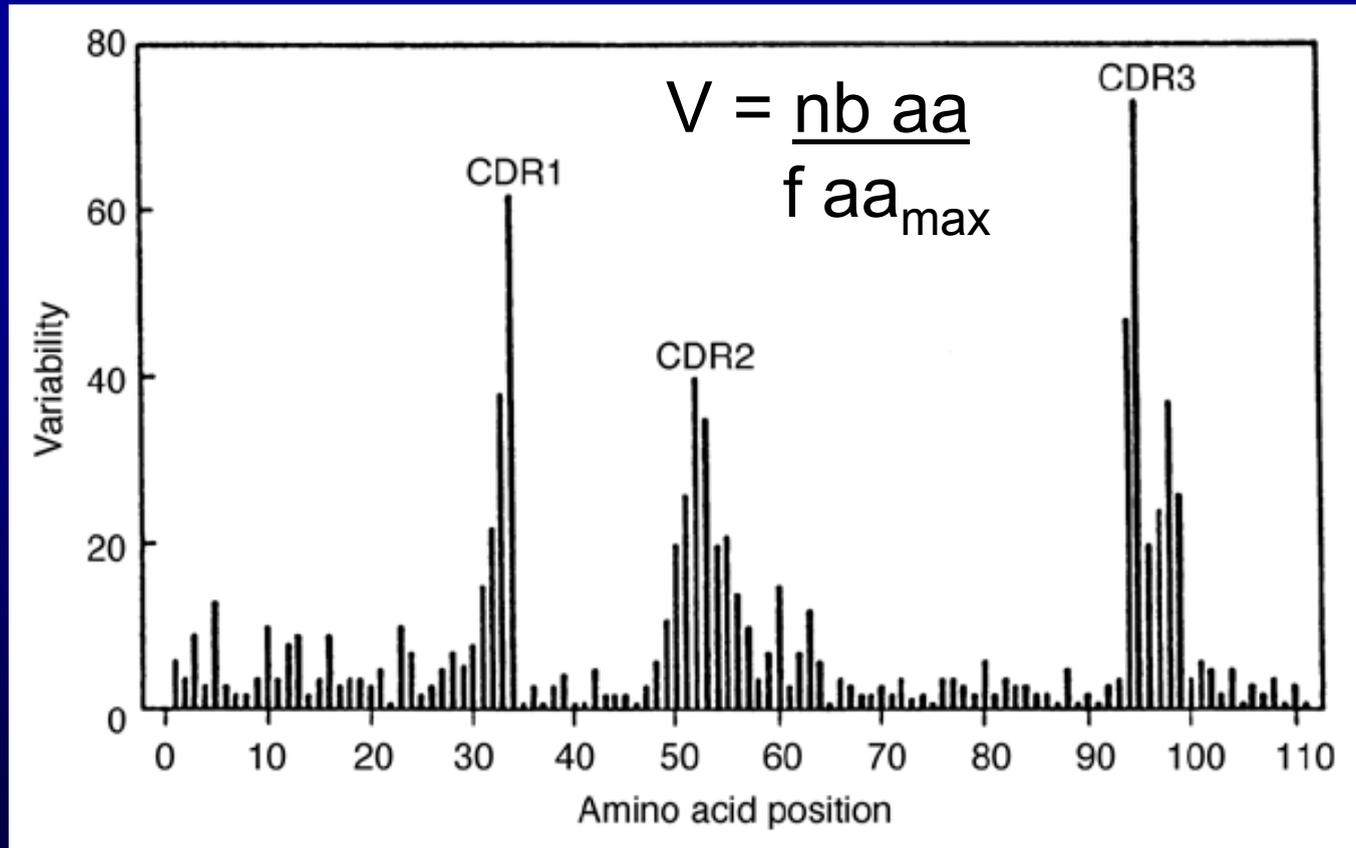
Cette théorie sélective pose néanmoins le problème de l'origine génétique de la diversité :

- Comment expliquer l'extraordinaire diversité ? (Landsteiner a montré qu'elle est « illimitée »)
- Comment expliquer la constance des domaines constants alors que la diversité se concentre dans les domaines variables (Edelman, 1969) ?
- Combien de gènes doit-on considérer ?

Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

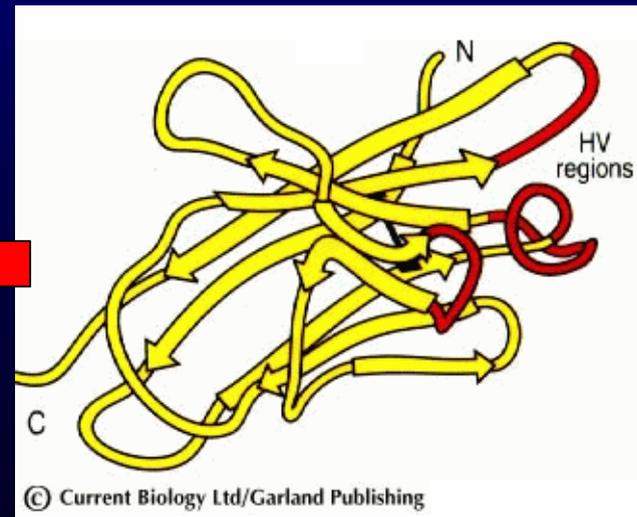
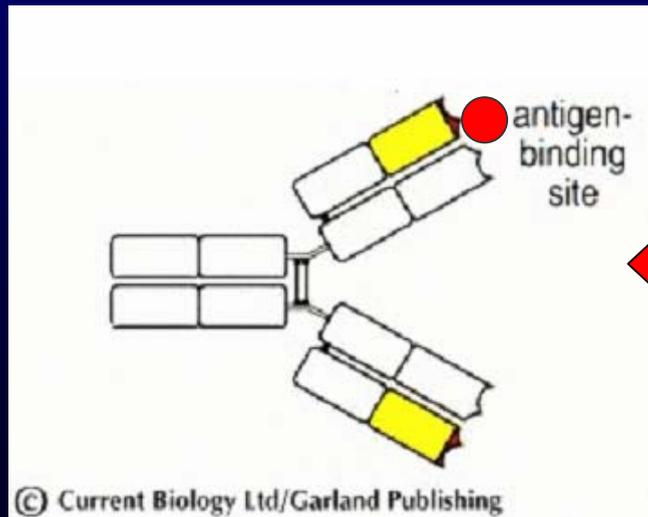
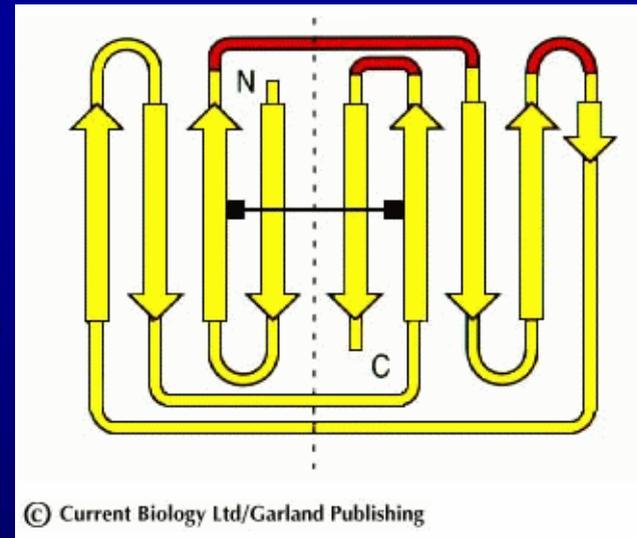
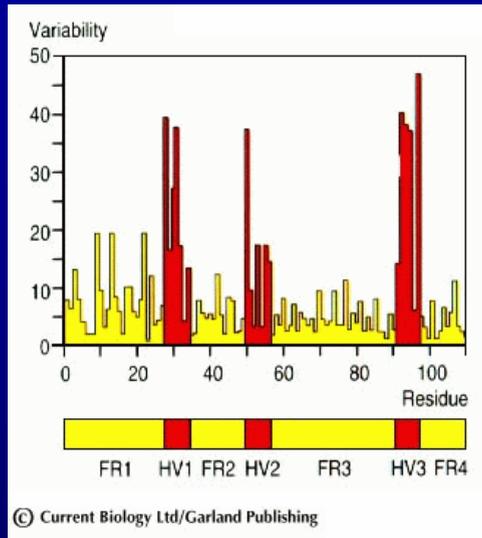
1. Introduction
- 2. Recombinaison V(D)J**
3. Organisation des locus TCR et Ig
4. Notions de répertoire
5. Conclusion

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...

Les régions hypervariables (2)



Un paradoxe génétique

- Beadle et Tatum (1941): un gène, une protéine
- ~25 000 gènes dans le génome humain

Mais...

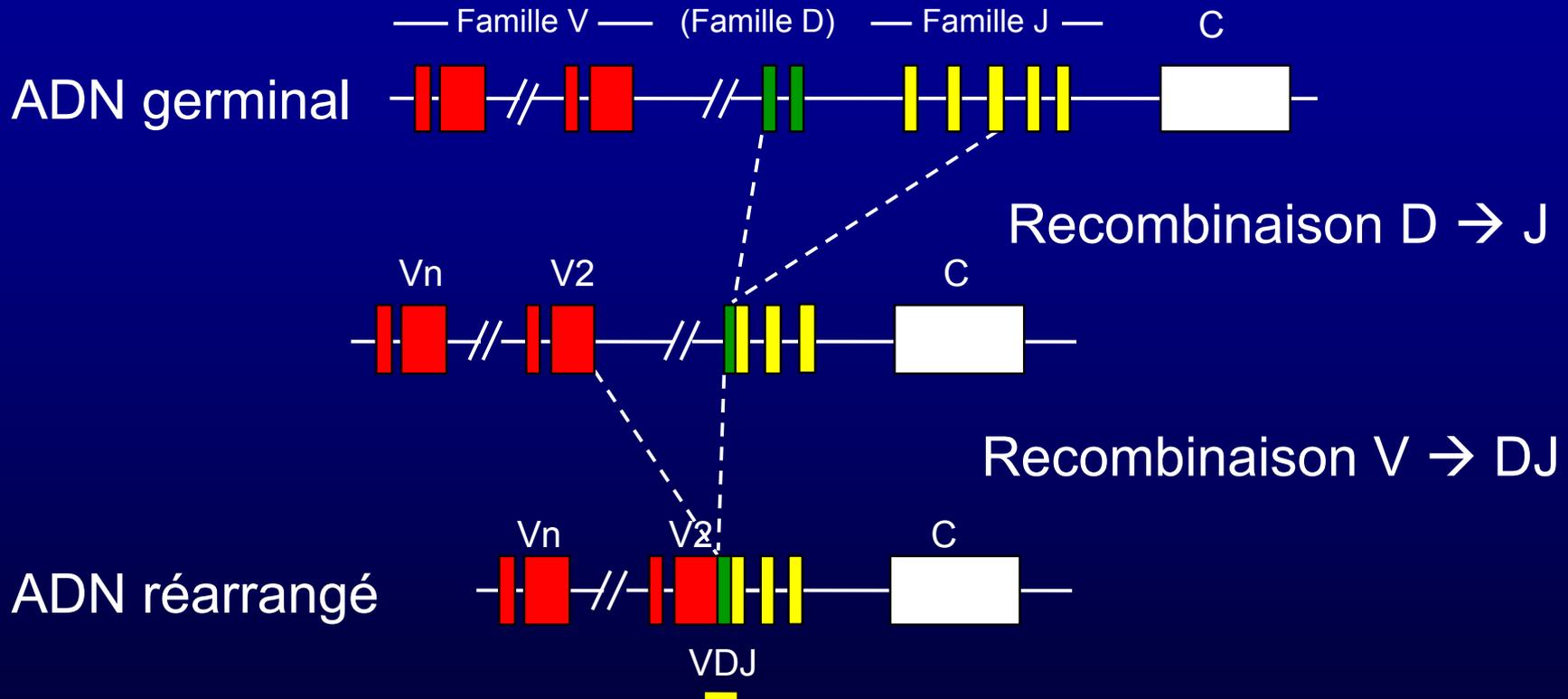
- Capacité de production d'une variété « infinie » d'Ig et de TCR (cf. Landsteiner)
- Constance des domaines constants vs. Diversité dans les domaines variables (cf. Edelman, 1969)
- Combien de gènes doit-on considérer ?

=> Théorie des réarrangements somatiques
La recombinaison V(D)J (Tonegawa, 1976)

« 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



→ CDR1 & CDR2
sont codés dans
les segments V

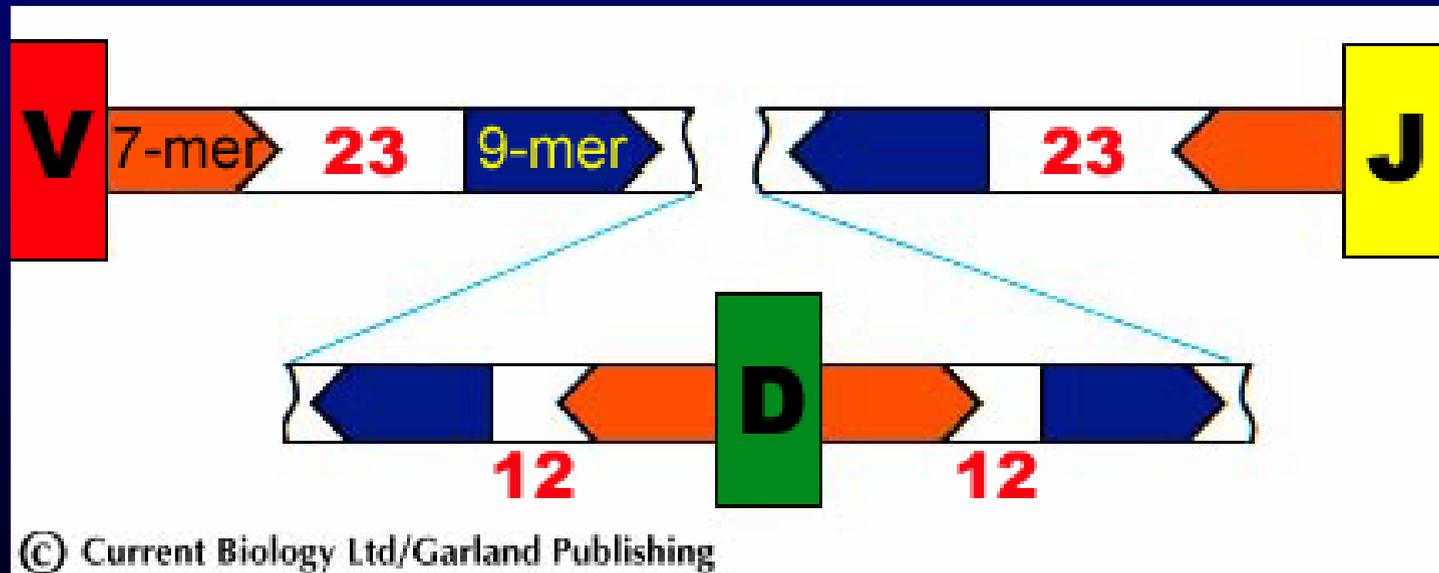
CDR3 = jonction V(D)J

→ Contact avec l'antigène (Ig)

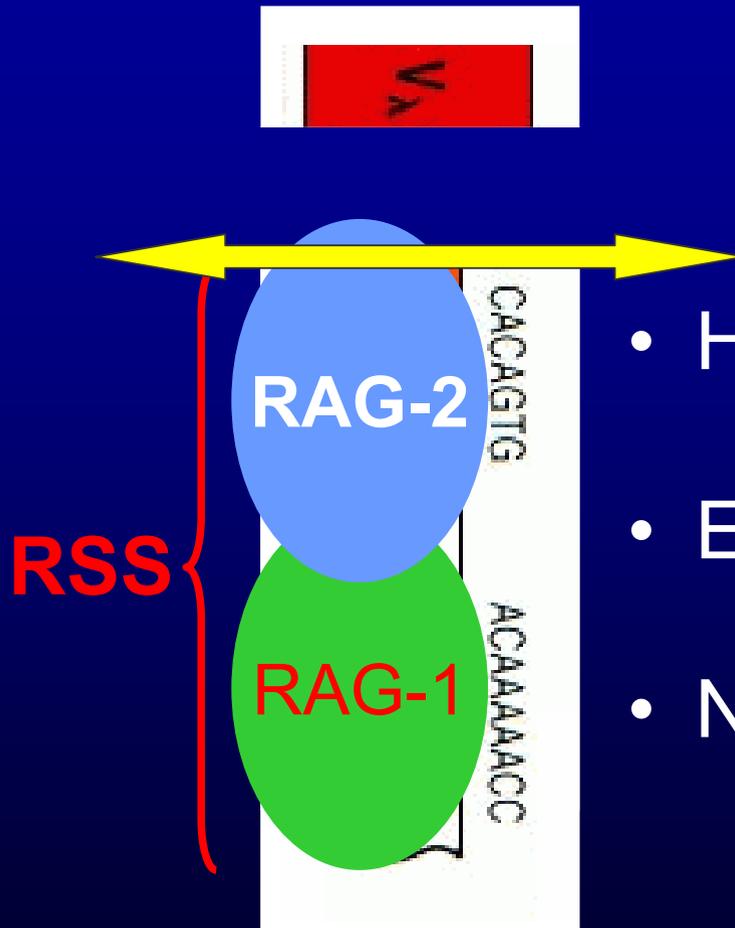
→ Contact avec le complexe CMH/peptide (TCR)

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



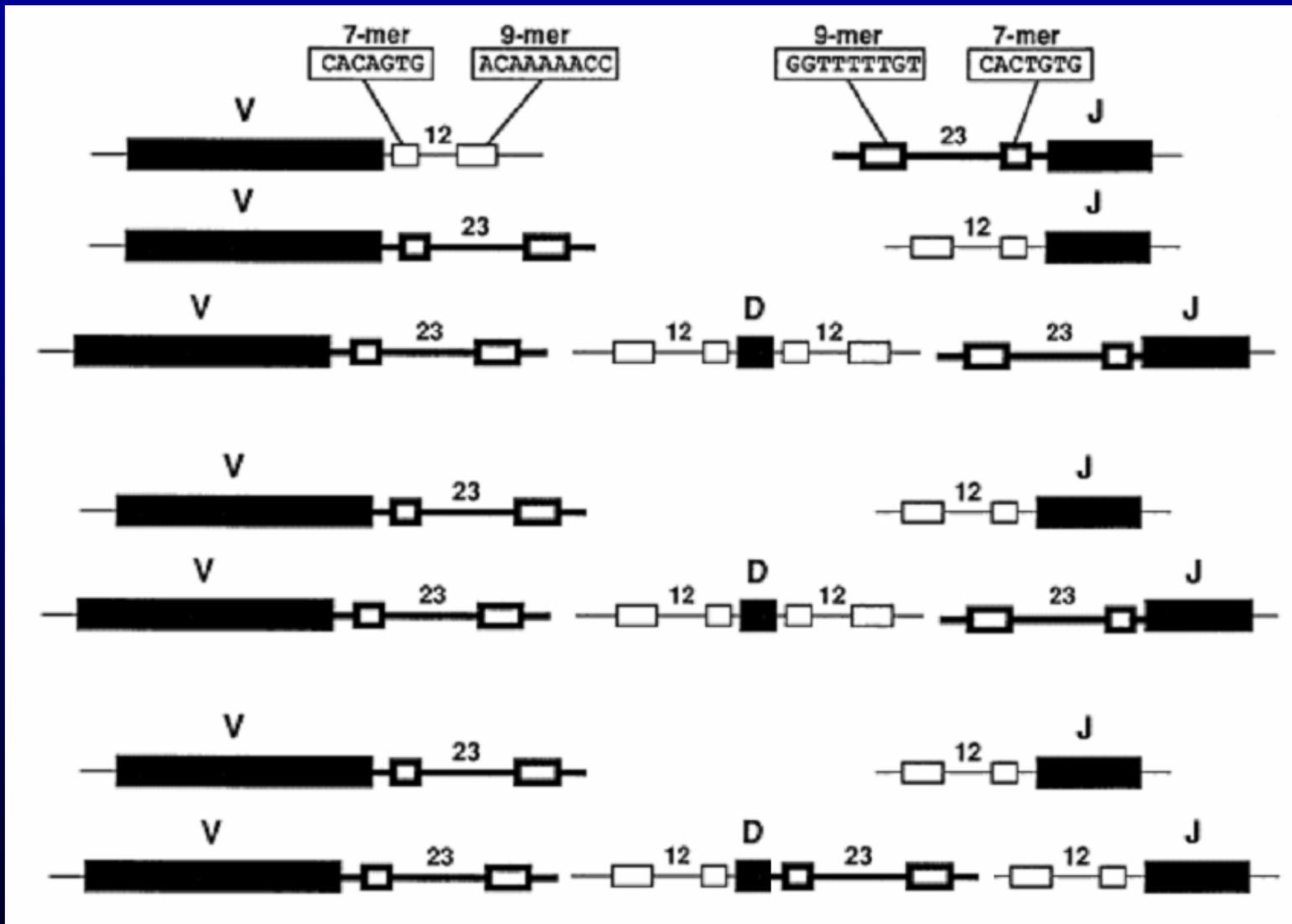
- Heptamère → **CACAGTG**
- Espaceur 12 ou 23
- Nonamère → ACAAAA**A**ACC

La règle 12/23 pour les Ig et TCR

Ig κ
Ig λ
IgH

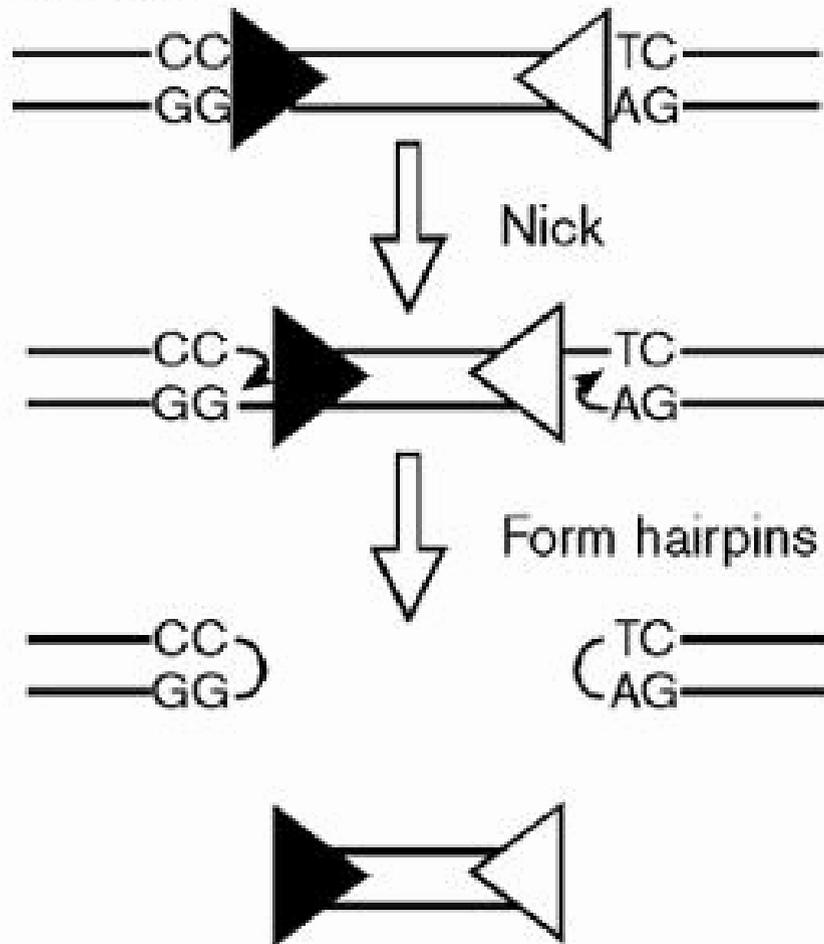
TCR α
TCR β

TCR γ
TCR δ



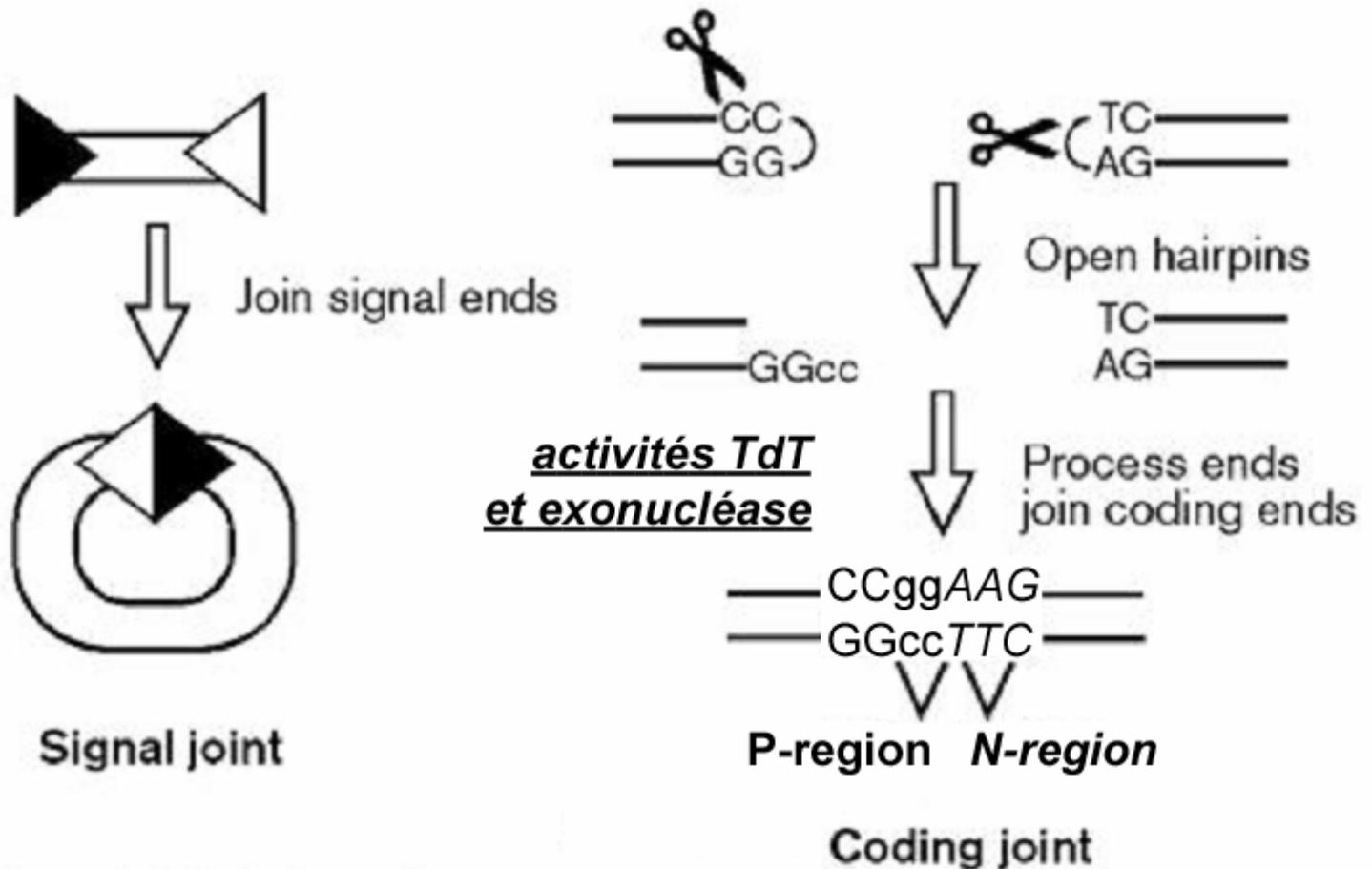
La recombinaison V(D)J (2)

(a) Cleavage



La recombinaison V(D)J (3)

(b) Joining

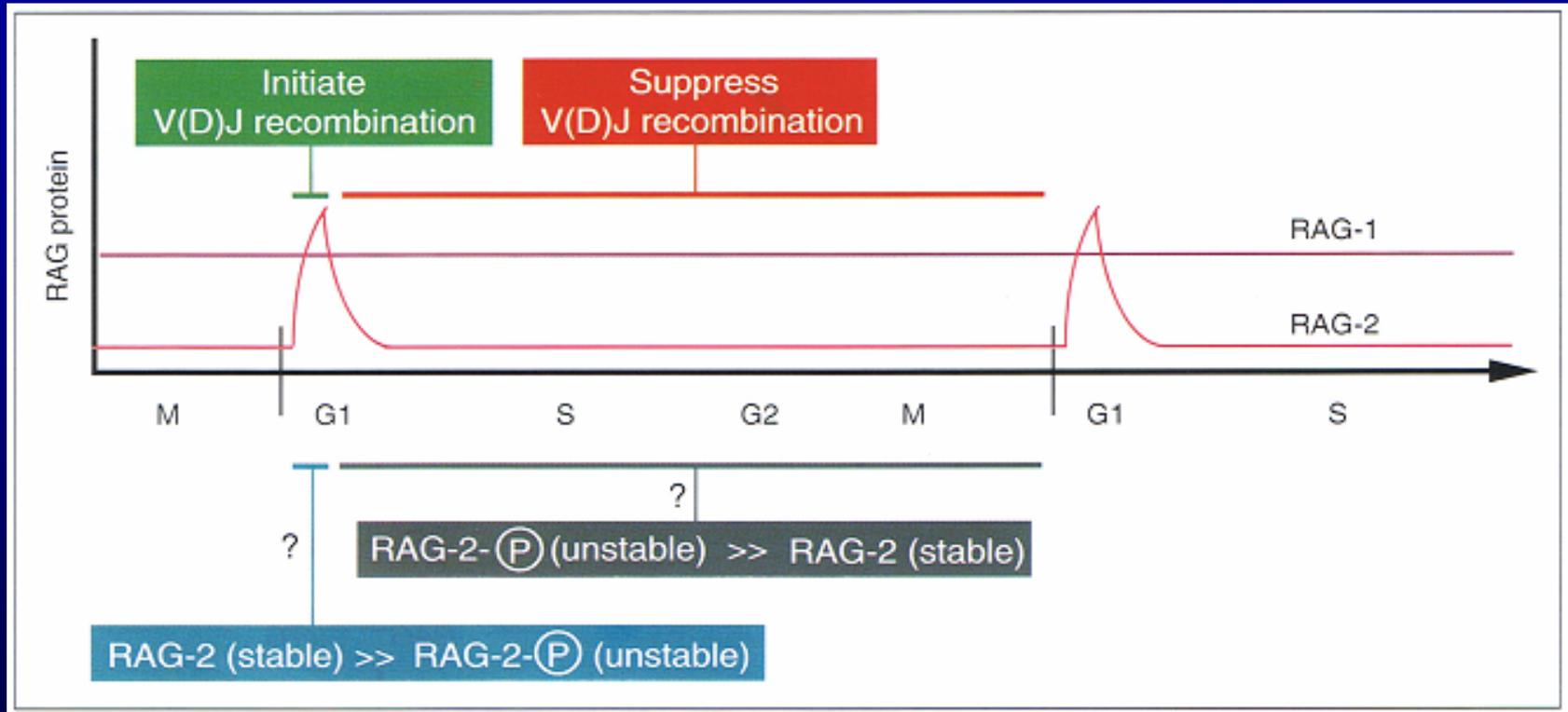


La recombinaison V(D)J (4)

Différentes protéines sont impliquées :

- RAG-1/RAG-2
- HMG1/2
- Ku70, Ku80, DNAPK, XRCC4, Ligase IV
- Artemis, TdT

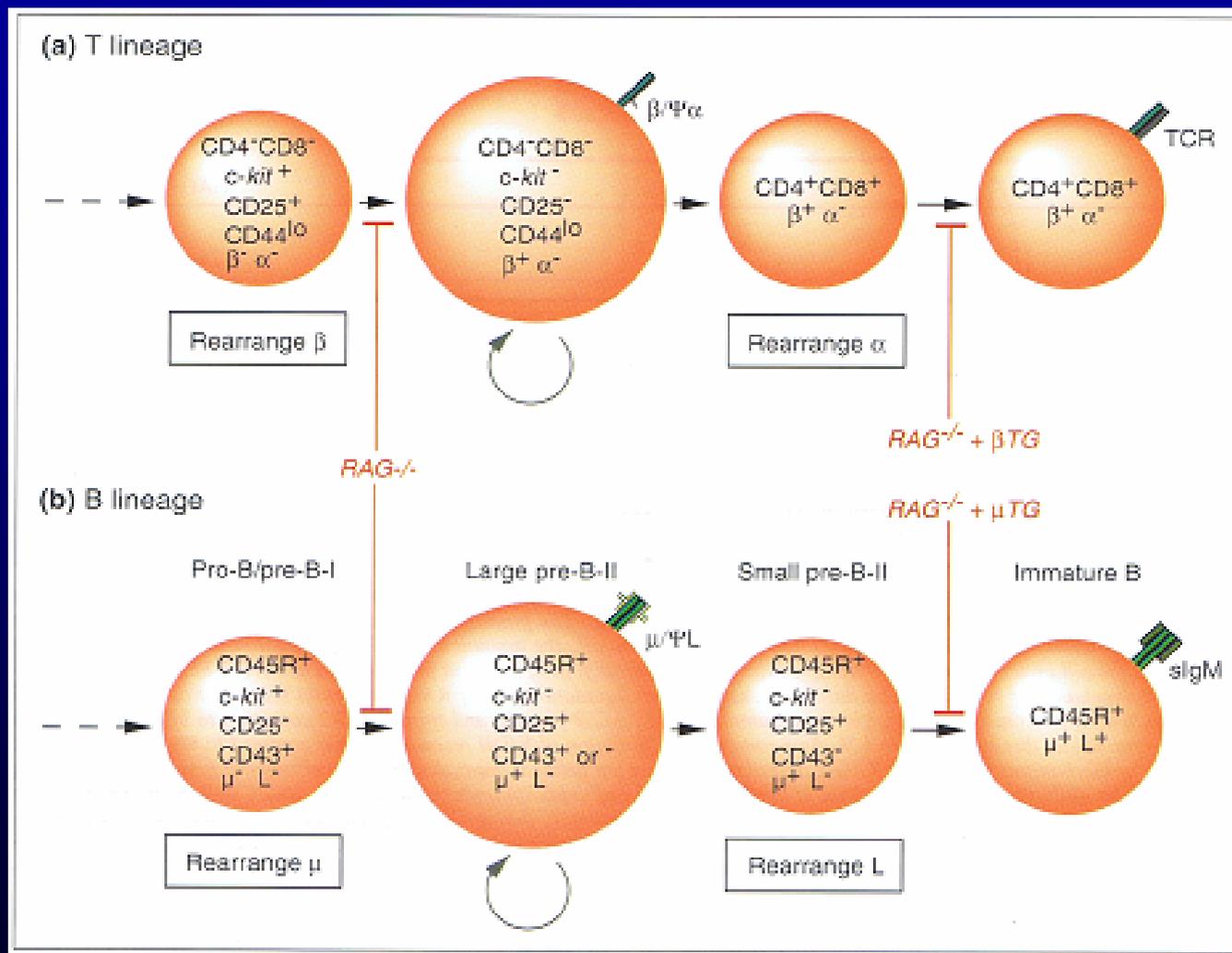
Régulation de l'expression de RAG



Au cours du cycle cellulaire:

- l'expression de RAG-1 est constante
- l'expression de RAG-2 active est limitée à la phase G1

Régulation de la recombinaison V(D)J



La recombinaison V(D)J (5)

Réarrangements en phase vs. hors phase :

- Parmi les réarrangements possibles impliquant les mêmes segments de gène V(D)J, 2/3 sont hors phase (-) et 1/3 sont en phase (+).

| <i>Cys</i> | <i>Ala</i> | ...V | > | N(D)N | < | J... | <i>Phe</i> | <i>Gly</i> | |
|------------|------------|------|---|-------------|---|------|------------|------------|---|
| TGT | CGA | CC | | | | TCGC | TTT | GGT | |
| TGT | CGA | CC | | g aa | | G | CTT | TGGT | - |
| TGT | CGA | CC | | g gaa | | GCT | TTG | GT | - |
| TGT | CGA | CC | | g gaa g | | GC | TTT | GGT | + |
| TGT | CGA | CC | | g gaa gt | | G | CTT | TGGT | - |
| TGT | CGA | CC | | g gga agt | | GCT | TTG | GT | - |
| TGT | CGA | CC | | g gga agt t | | GC | TTT | GGT | + |

Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

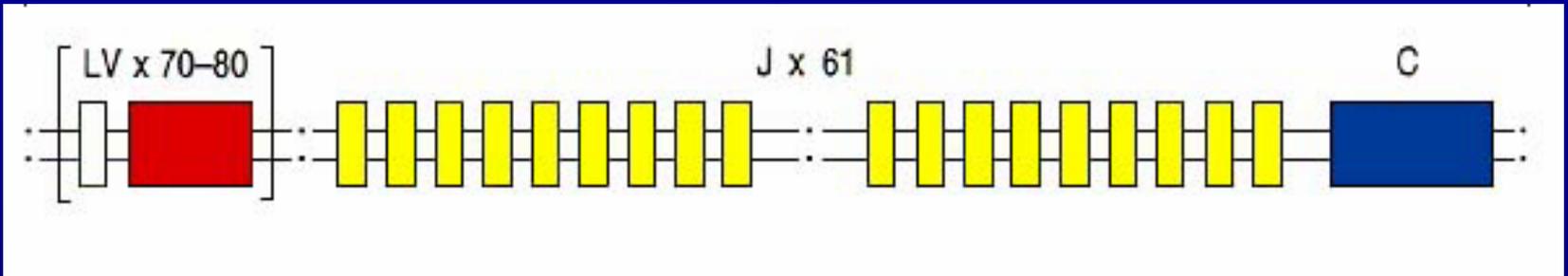
1. Introduction
2. Recombinaison V(D)J
- 3. Organisation des locus TCR et Ig**
4. Notions de répertoire
5. Conclusion

Sous-familles de gènes variables

- Deux segments de gène variables de chaîne de TCR ou d'immunoglobuline sont groupés dans une même sous-famille s'ils partagent au moins 75 % d'identité au niveau nucléique.

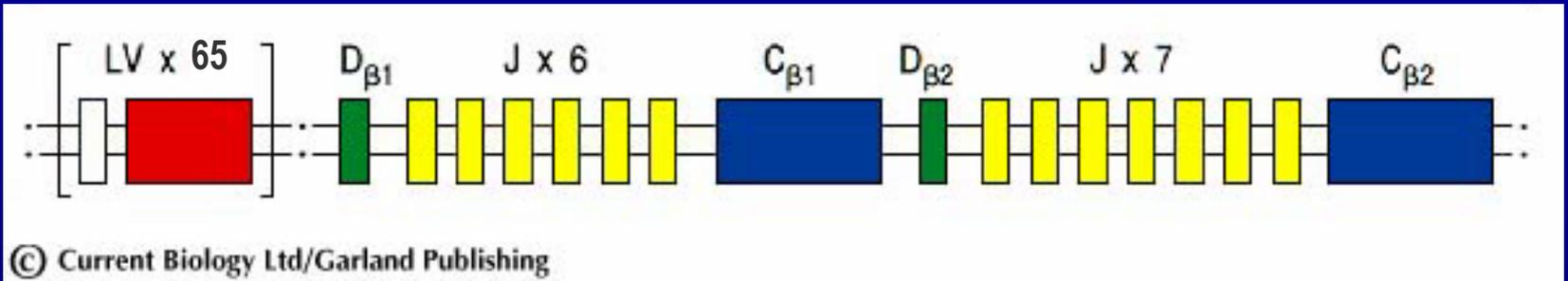


Organisation génomique du locus TCR α humain



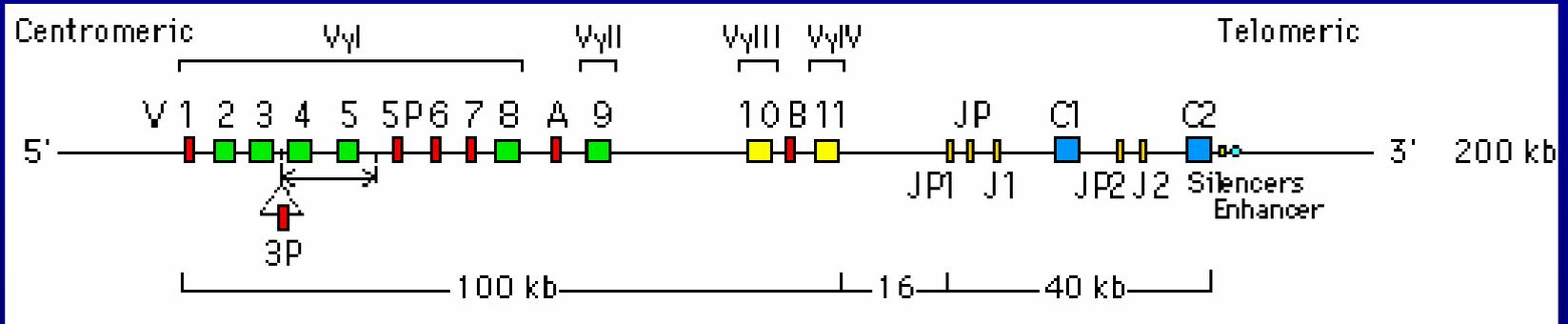
- Chromosome 14
- Entièrement séquencé (1.1 Mb)
- 70-80 V α groupés en 41 sous-familles
- 61 J α , un seul C α

Organisation génomique du locus TCR β humain



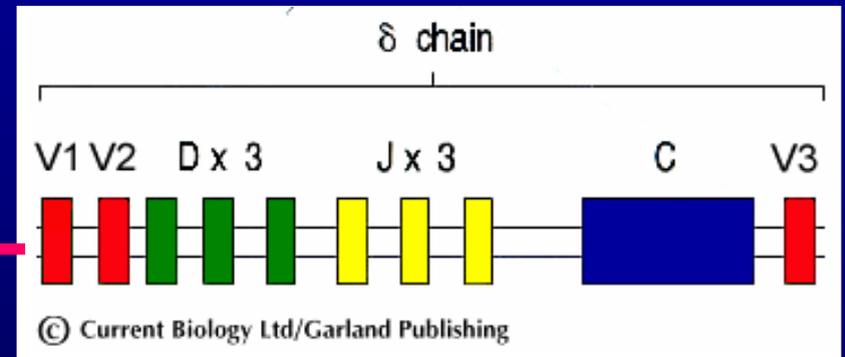
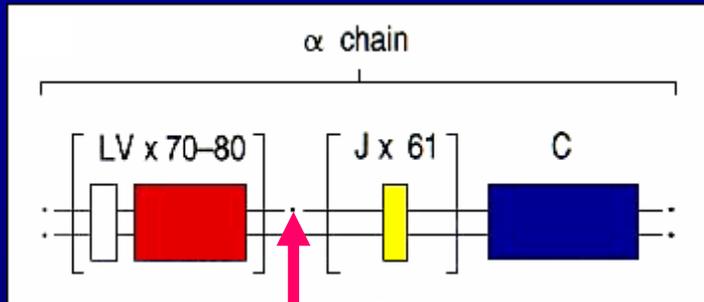
- Chromosome 7
- Entièrement séquencé (685 kb)
- 65 segments V β
- 30 sous-familles (1-9 membres)
- 2 D β , 13 J β , 2 C β , en deux répétitions

Organisation génomique du locus TCR γ humain



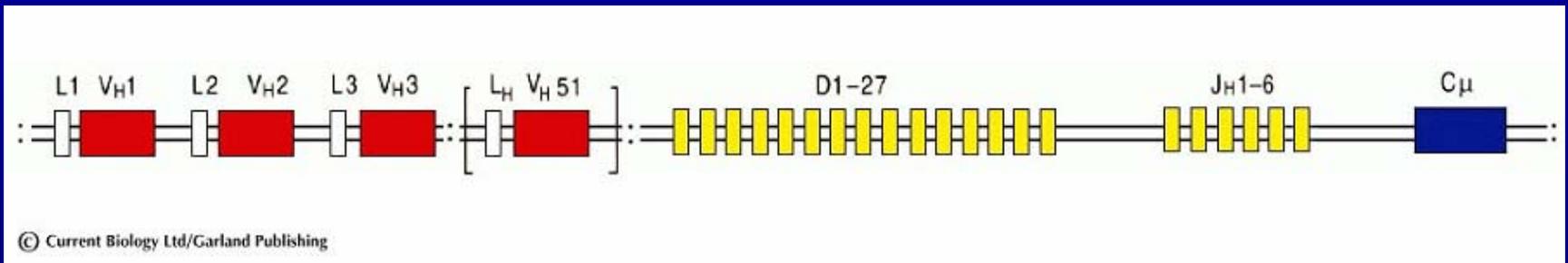
- Chromosome 7
- 14 V γ groupés en 4 sous-familles
- 5 J γ , 2 C γ , en deux répétitions
- Deux formes C γ 2 sans cystéine dans le peptide charnière → pas de pont disulfure avec la chaîne TCR δ

Organisation génomique du locus TCR δ humain



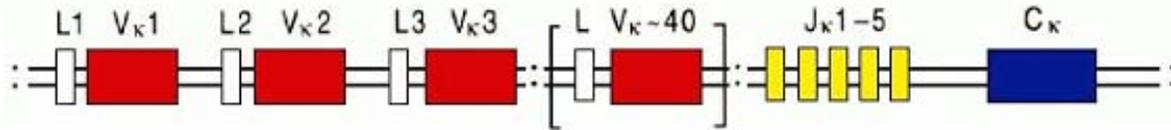
- Chromosome 14, inséré dans le locus TCR α
- 3 V δ principaux, 3 D δ , 3 J δ , un seul C δ
- Des V α sont utilisés par les chaînes TCR δ :
V α / δ 14.1, V α / δ 23.1, V α / δ 29.1, V α / δ 36.1, V α / δ 38.2
- 2 ou 3 D δ souvent en tandem dans CDR3

Organisation génomique du locus IgH humain



- Chromosome 14
- Entièrement séquencé (1,2 Mb)
- ~80 V_H (dont ~50 fonctionnels) groupés en 7 sous-familles
- 27 D_H , 6 J_H, 9 C_H

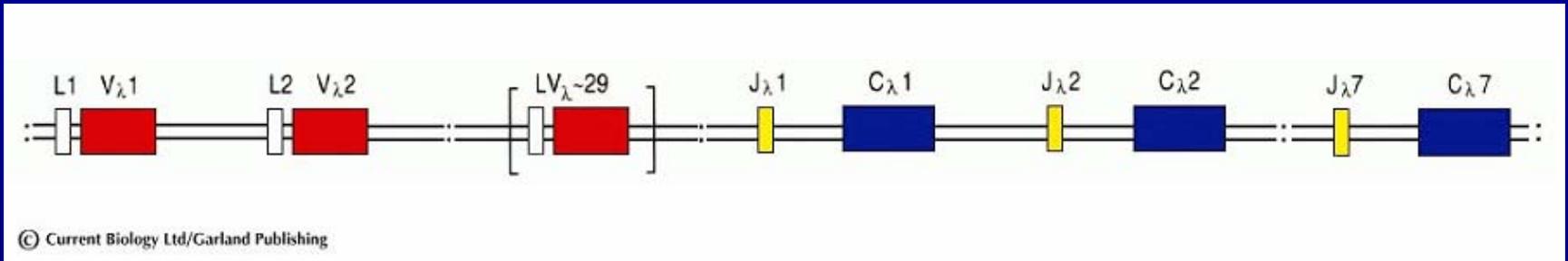
Organisation génomique du locus $Ig\kappa$ humain



© Current Biology Ltd/Garland Publishing

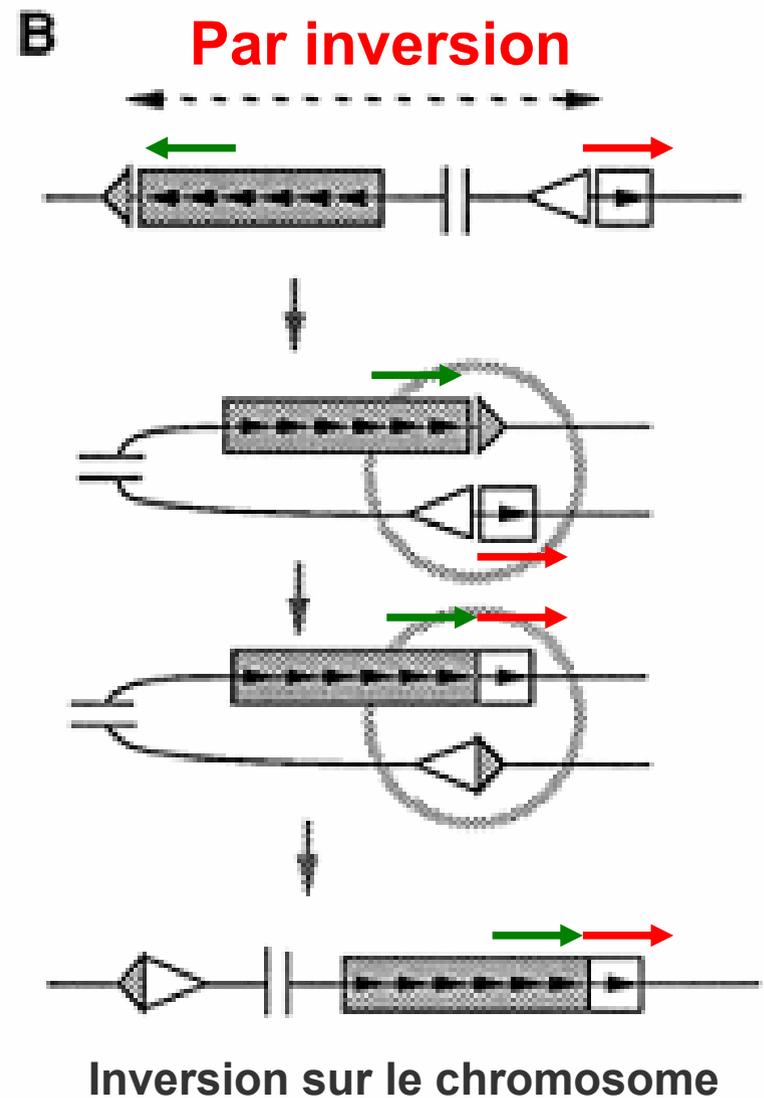
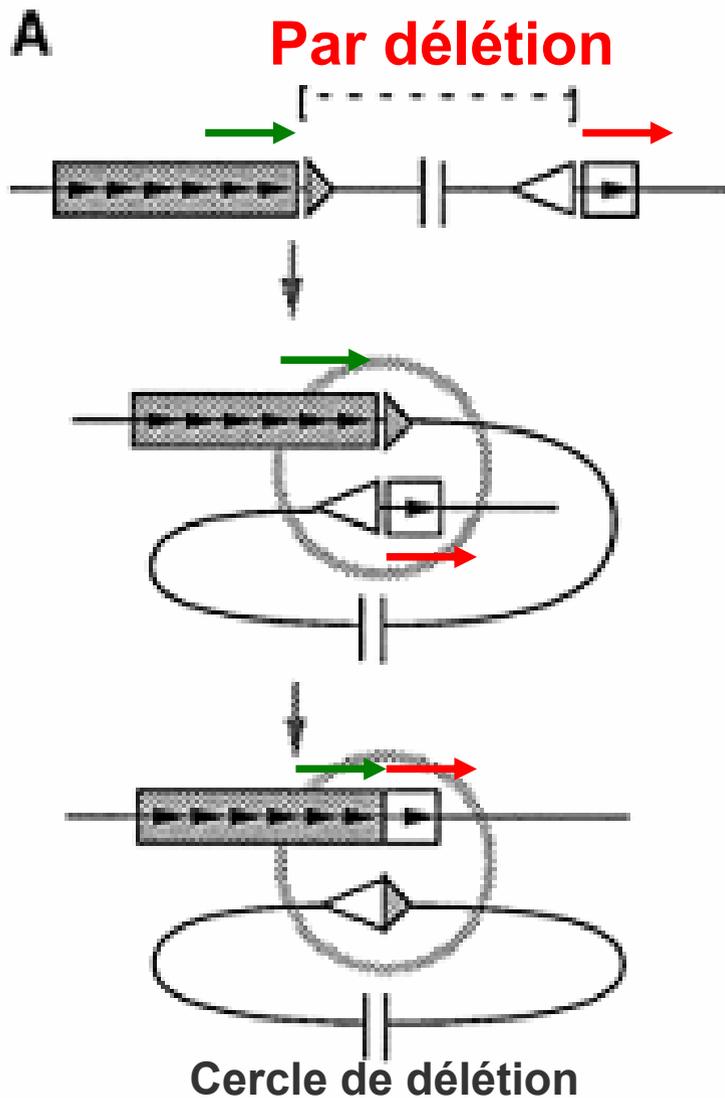
- Chromosome 2
- Entièrement séquencé (1,8 Mb)
- ~80 V κ (dont ~40 fonctionnels) groupés en 7 sous-familles
- V κ organisés en deux répétitions en miroir
- 5 J κ , un seul C κ

Organisation génomique du locus $Ig\lambda$ humain

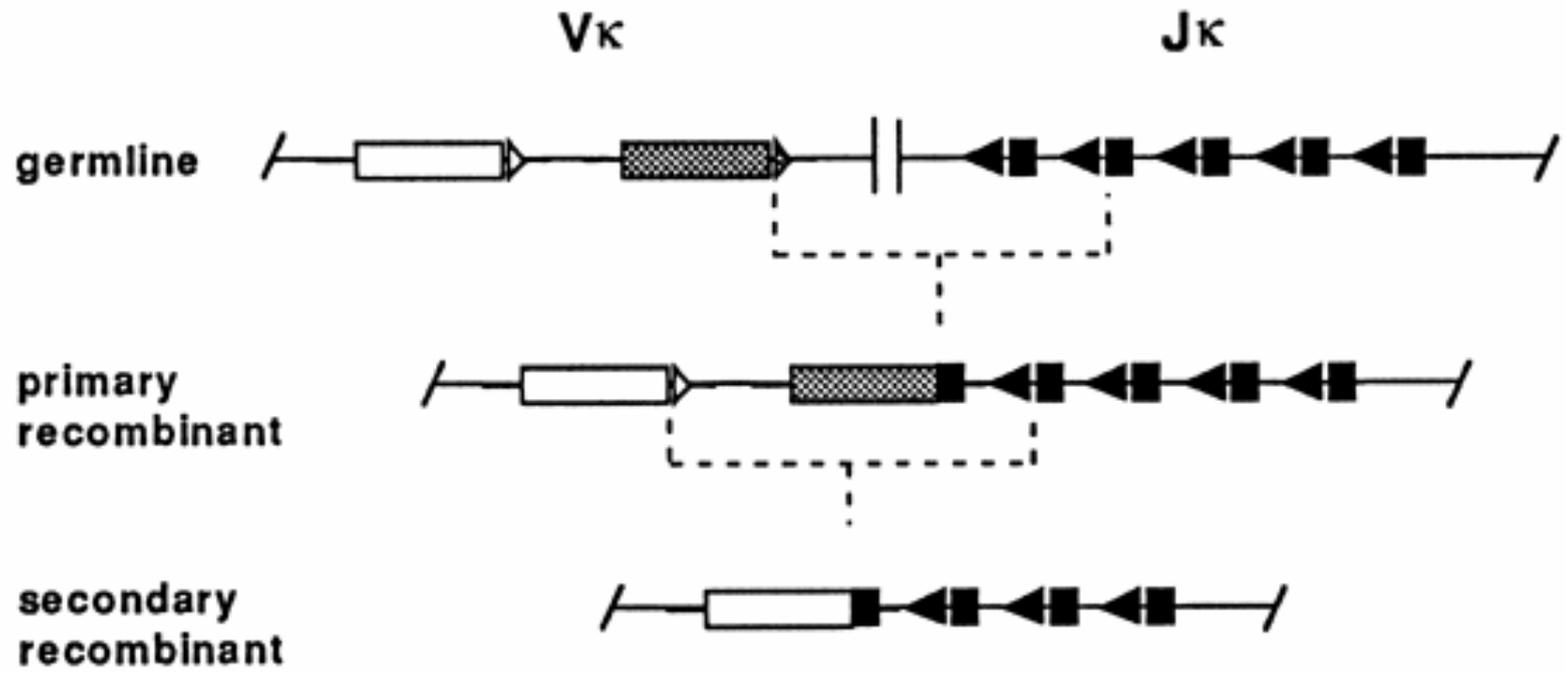


- Chromosome 22
- Entièrement séquencé (1 Mb)
- ~70 $V\lambda$ (dont ~30 fonctionnels) groupés en 11 sous-familles
- 7-11 clusters J- $C\lambda$ (4-5 fonctionnels)

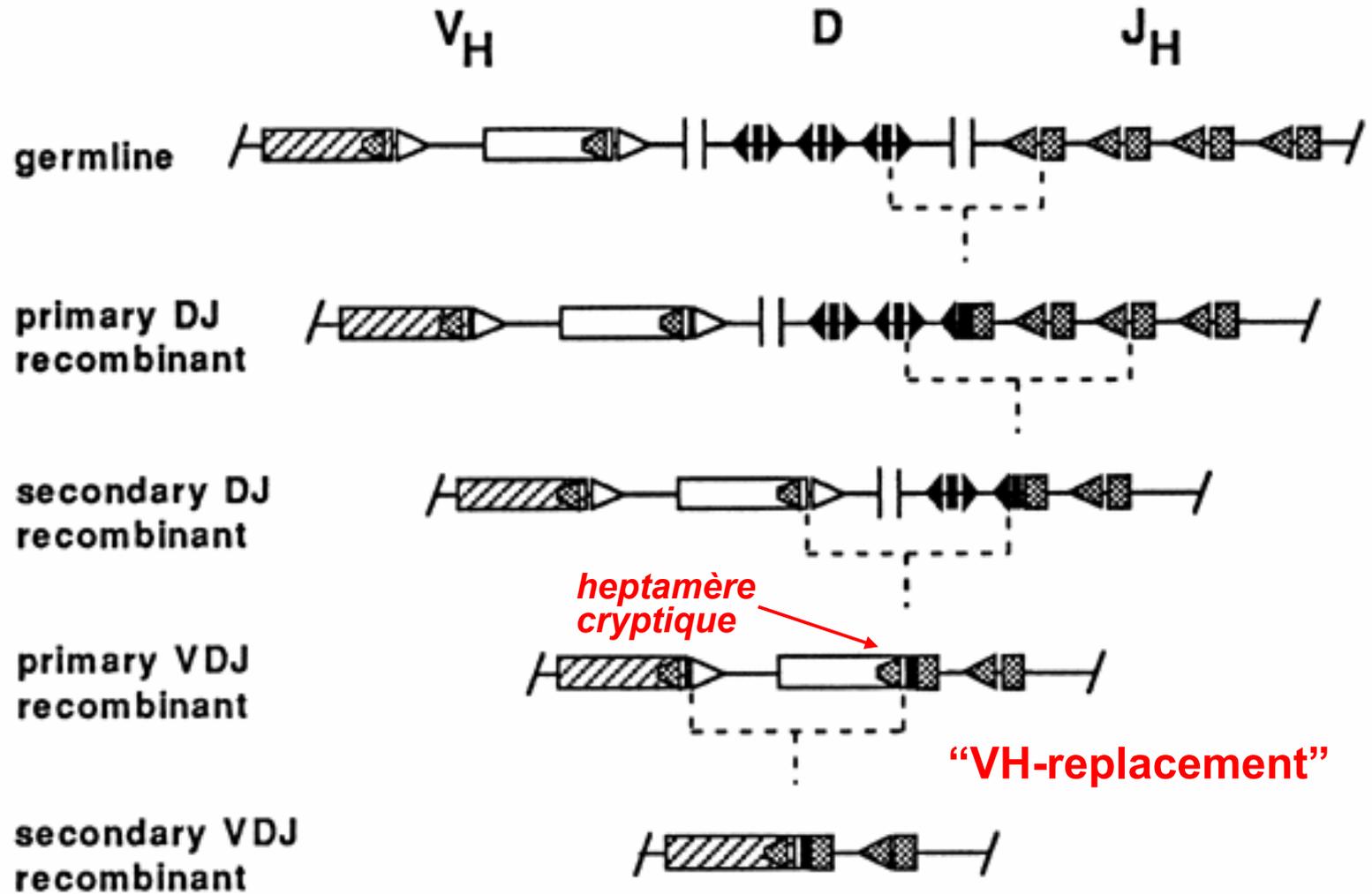
Différents types de réarrangements



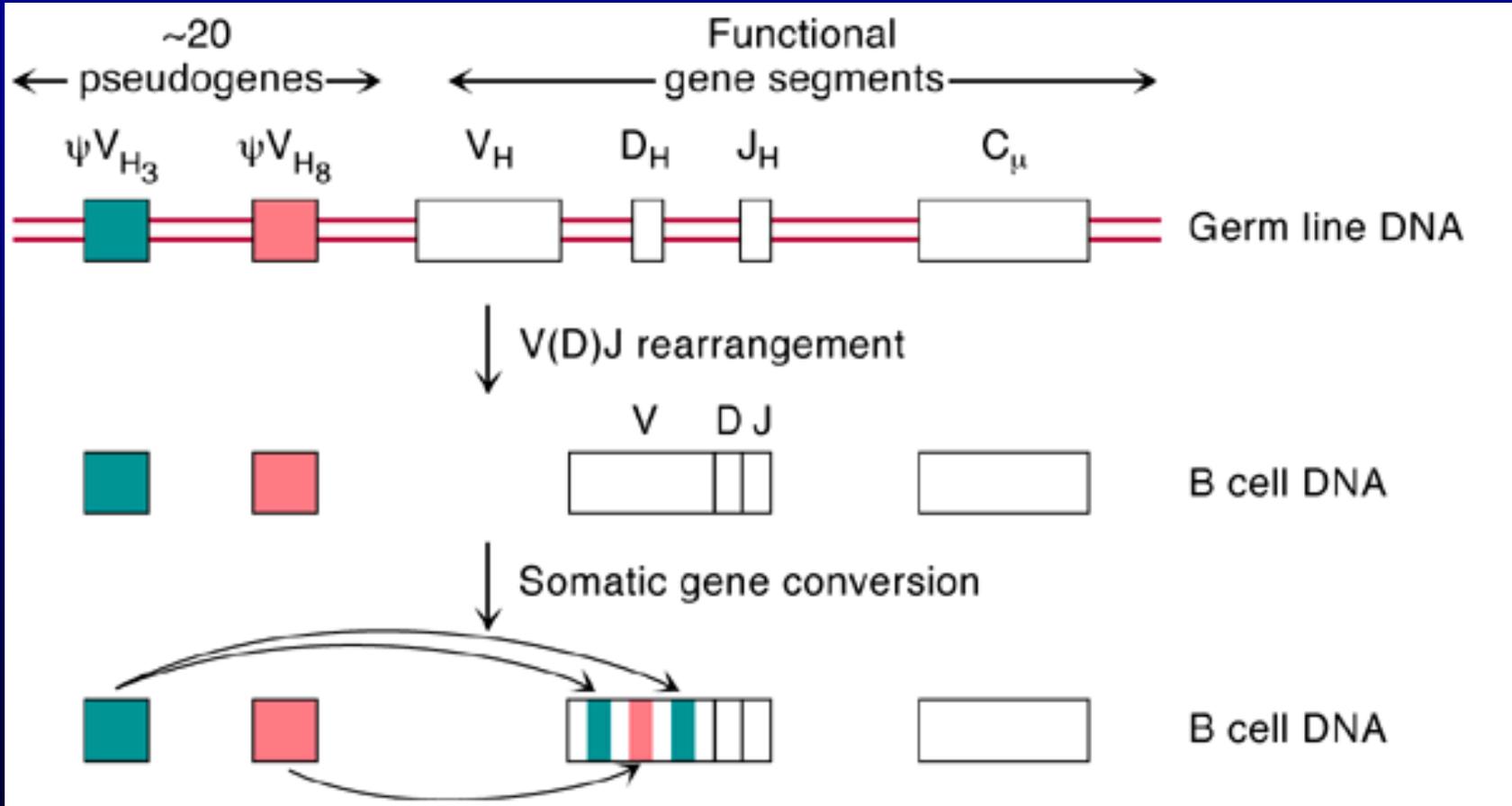
Réarrangements secondaires (1)



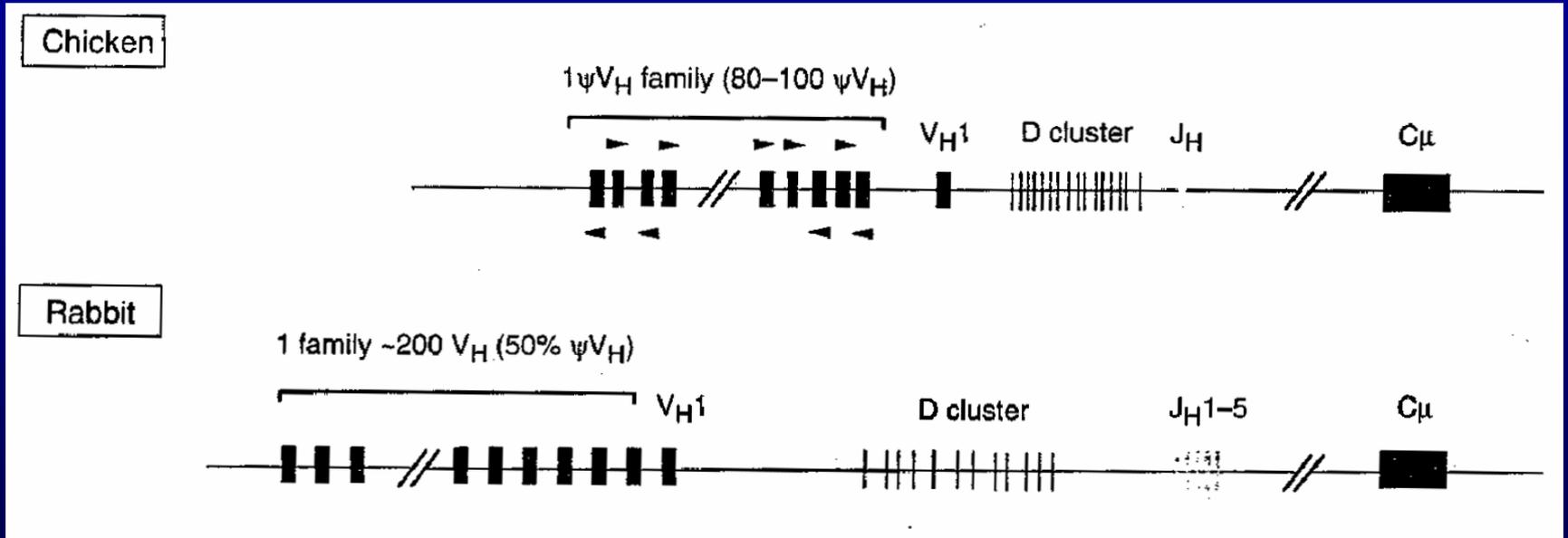
Réarrangements secondaires (2)



Conversion génique (1)



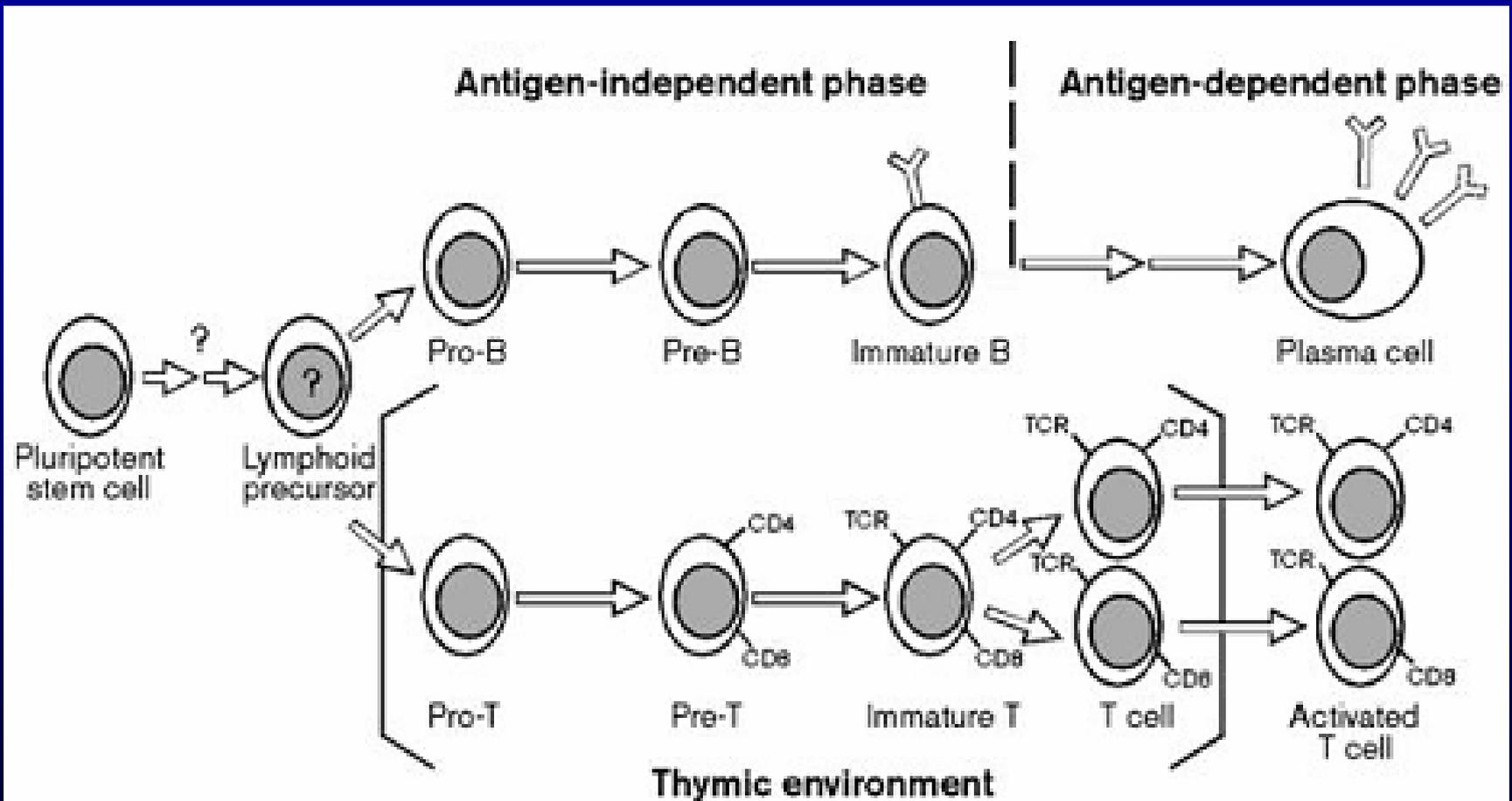
Conversion génique (2)



Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

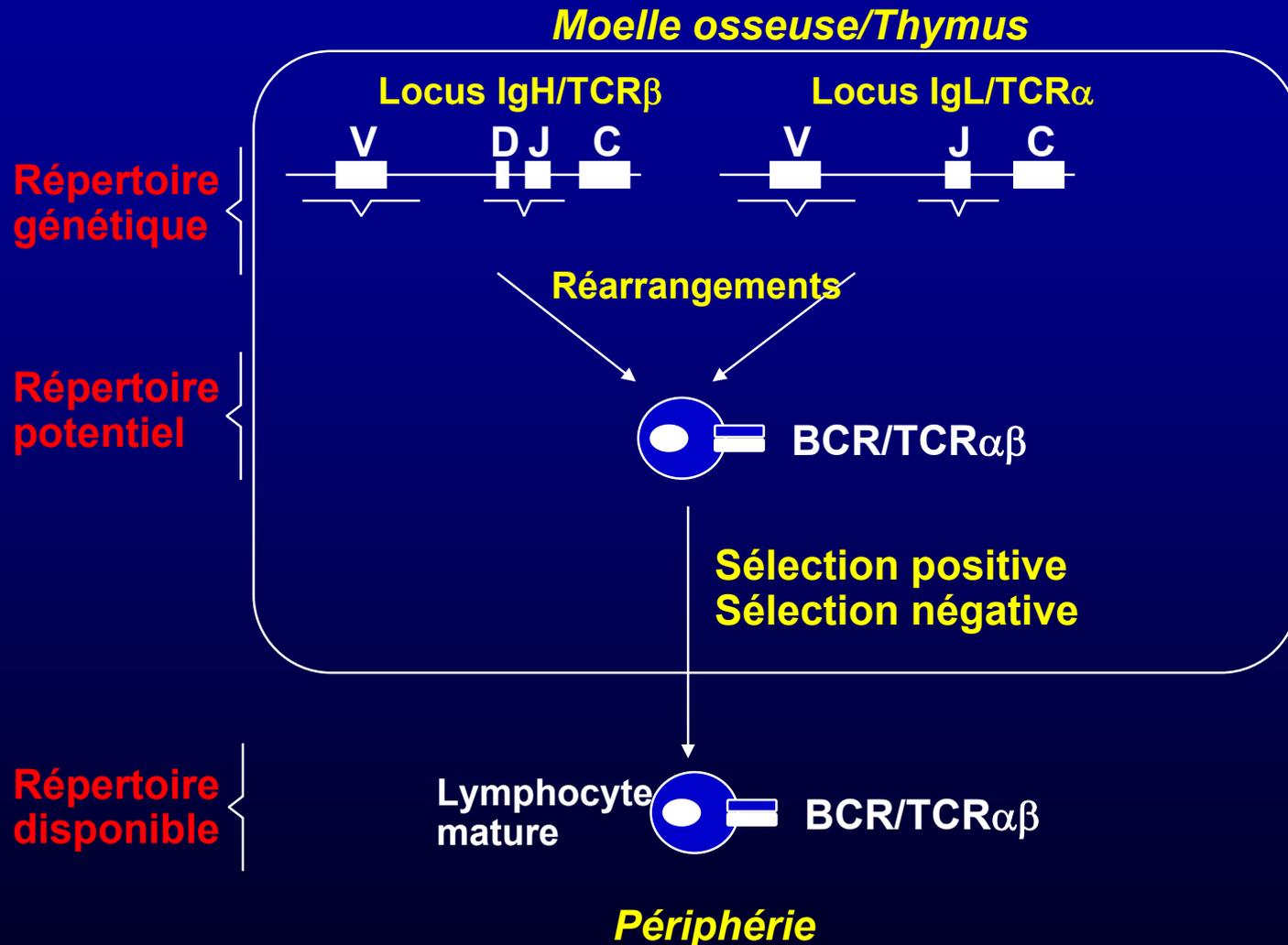
1. Introduction
2. Recombinaison V(D)J
3. Organisation des locus TCR et Ig
- 4. Notions de répertoire**
5. Conclusion

Parallèle différenciations B et T

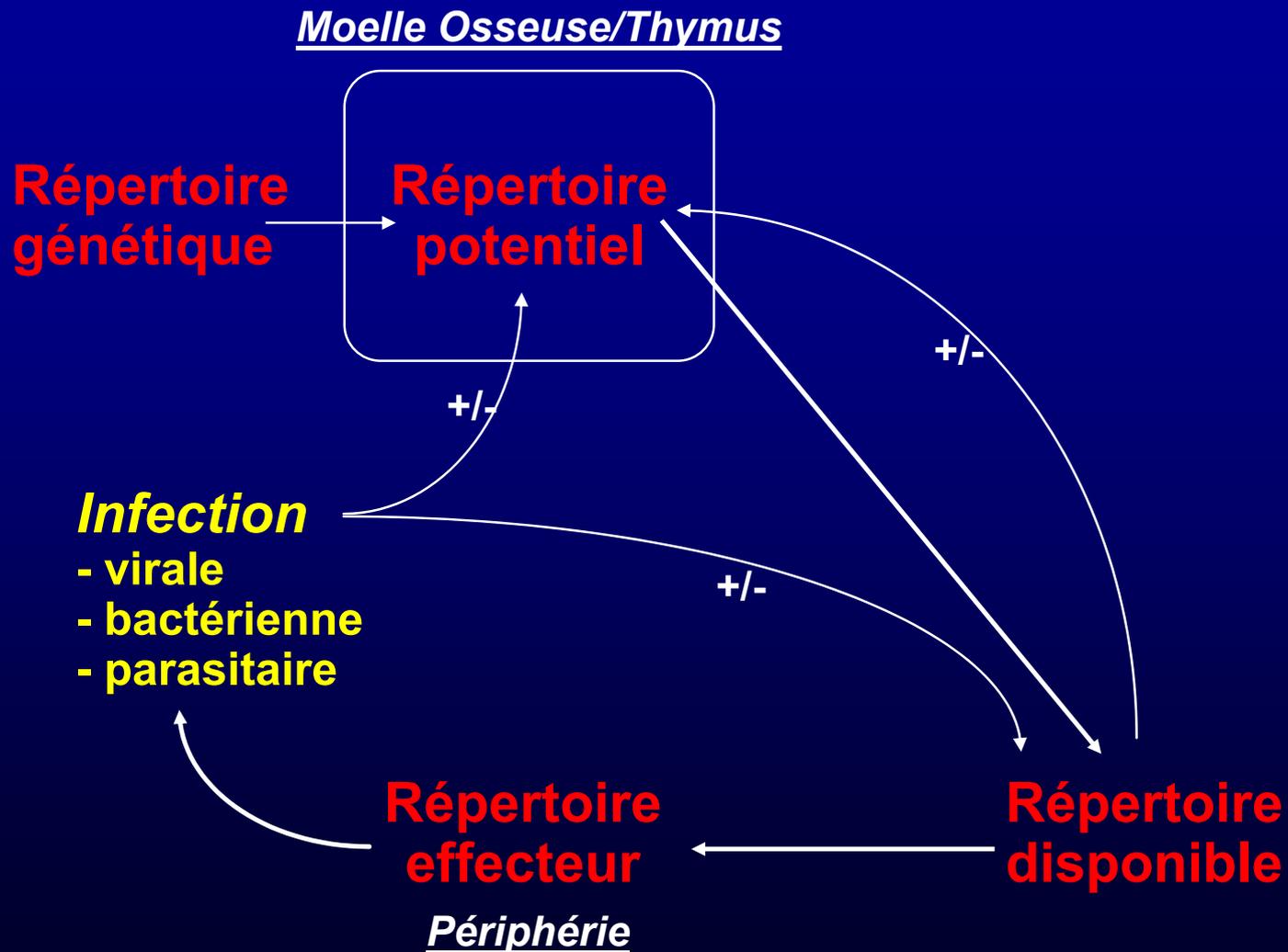


© 1996 Current Opinion in Immunology

Notions de répertoires (1)



Notions de répertoires (2)



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***.

Peptides agonistes, antagonistes (1)

Peptide ligand altéré (APL)

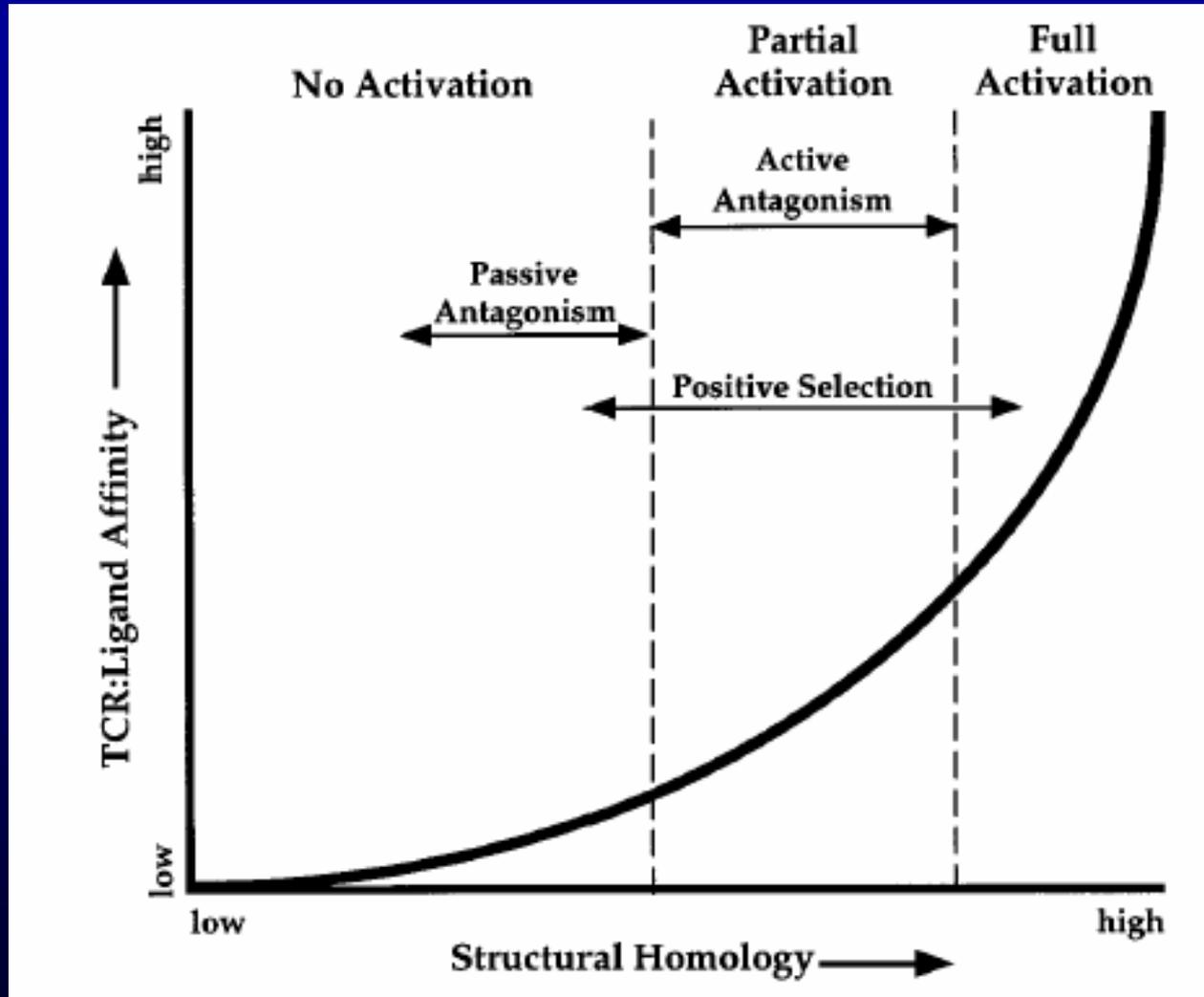
= peptide analogue d'un peptide immunogène

Agoniste → Conserve certaines fonctions d'activation

Antagoniste passif → Compétition pour le CMH

Antagoniste actif → induction d'anergie, modification de la cascade d'activation

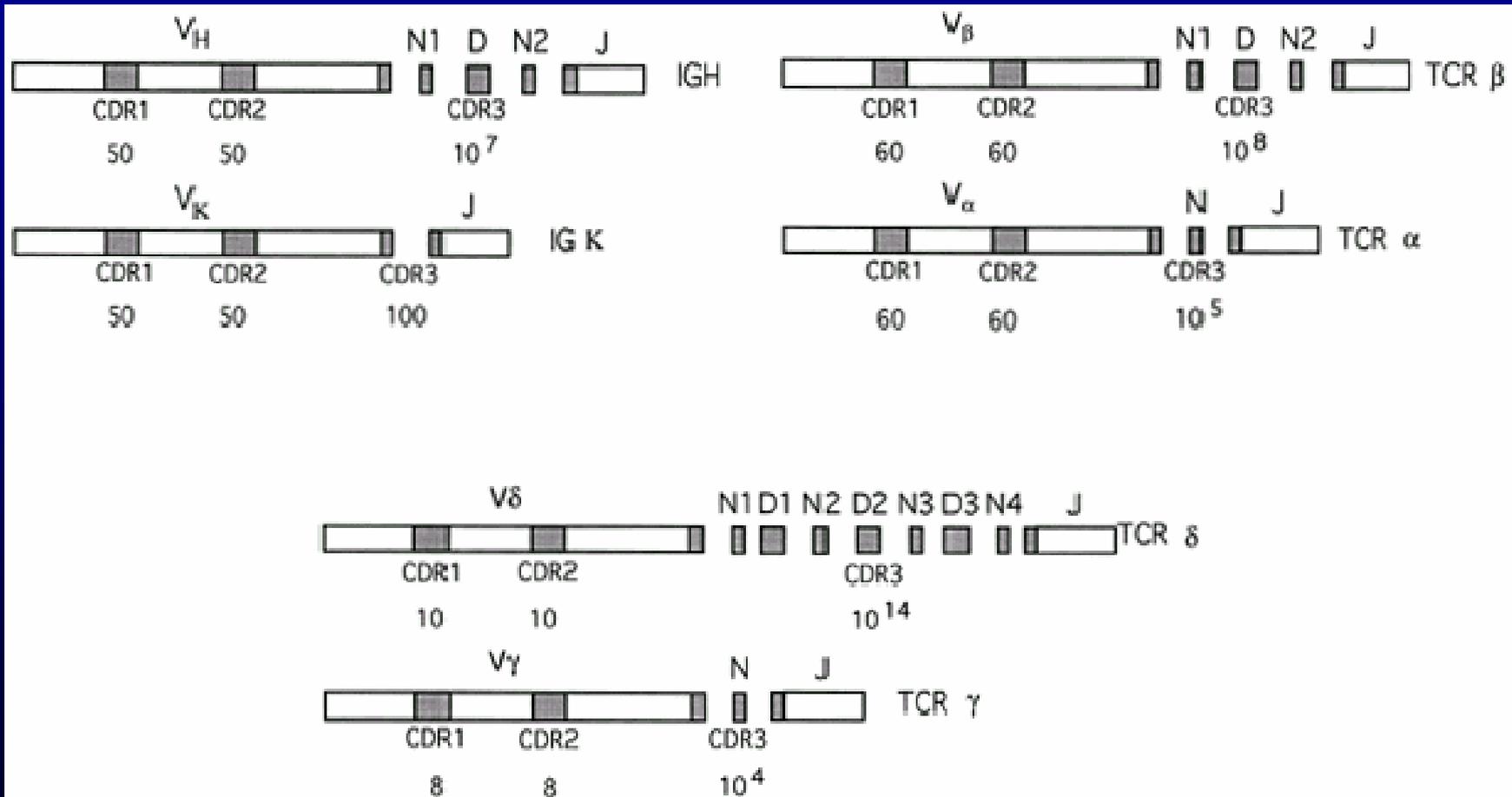
Peptides agonistes, antagonistes (2)



Mécanismes de génération de la diversité des anticorps et des TCR

Conclusion

Diversité jonctionnelle CDR3 : une stratégie générale



Estimation de la diversité

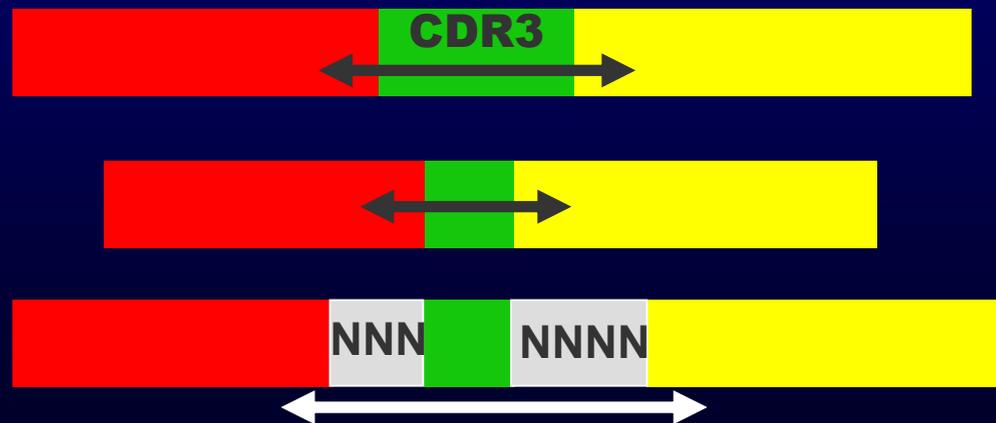
Table 1 Sequence diversity in T cell receptor and immunoglobulin genes

| | IG | | TCR $\alpha:\beta$ | | TCR $\gamma:\delta$ | |
|------------------------------|----------------|----------|--------------------|----------|---------------------|-------------------|
| | H | κ | α | β | γ | δ |
| Variable segments | 250-1000 | 250 | 50 | 25 | 7 | 10 |
| Diversity segments | 10 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 ^a |
| Ds read in all frames | rarely | — | — | often | — | often |
| N-region addition | V-D, D-J | None | V-J | V-D, D-J | V-J | V-D1, D1-D2, D1-J |
| Joining segments | 4 | 4 | 50 | 12 | 2 | 2 |
| Variable region combinations | 62,500-250,000 | | 1250 | | 70 | |
| Junctional combinations | $\sim 10^{11}$ | | $\sim 10^{15}$ | | $\sim 10^{18}$ | |

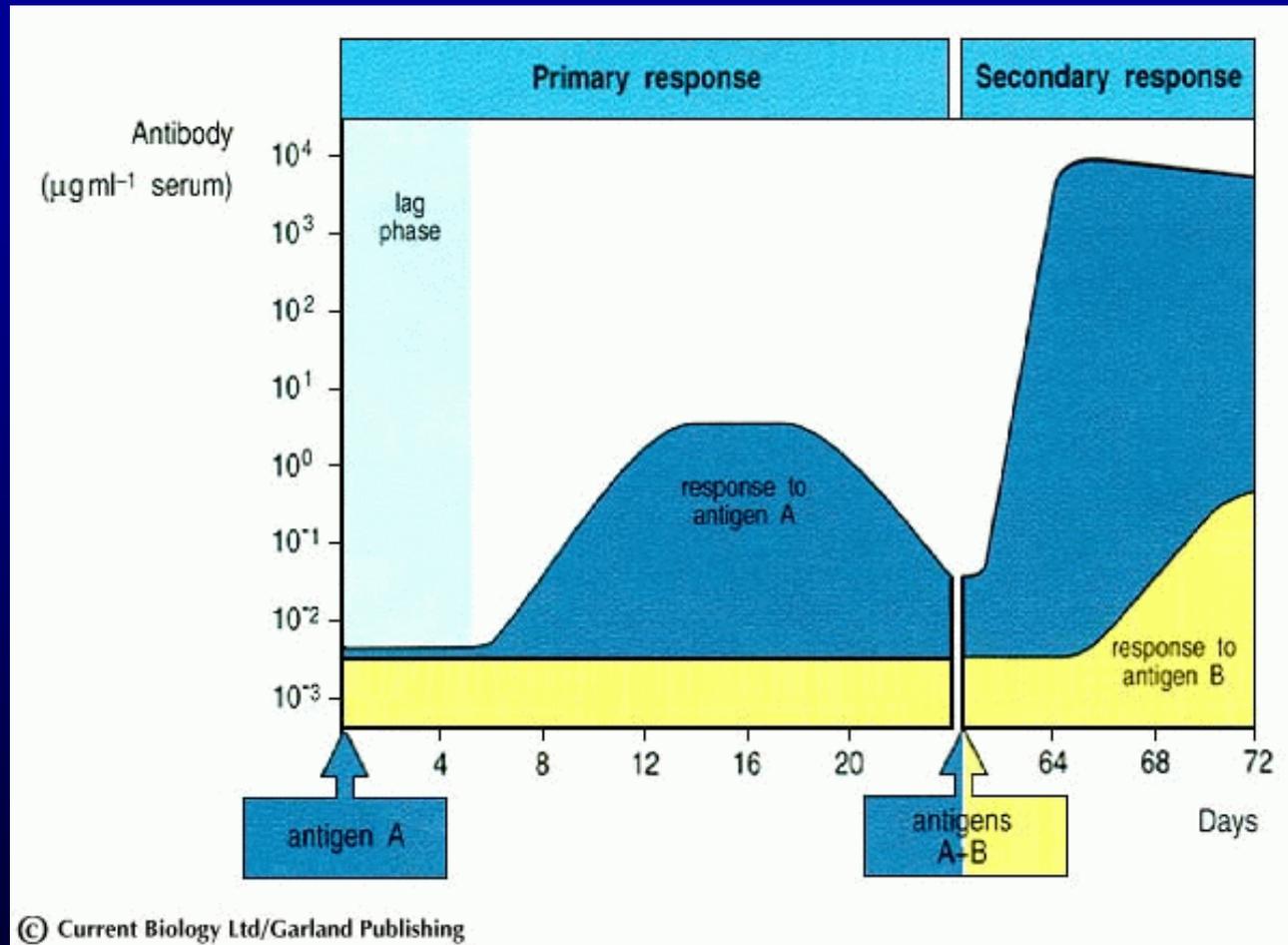
^a D regions in TCR δ can be used together in one expressed polypeptide (i.e. VD1 D2 JC), unlike other TCR or Ig loci, which use only one at a time (VDJC).

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 α / β or TCR γ / δ
 - Ajout/élimination aléatoire de nucléotides à la jonction des segments géniques (CDR3)

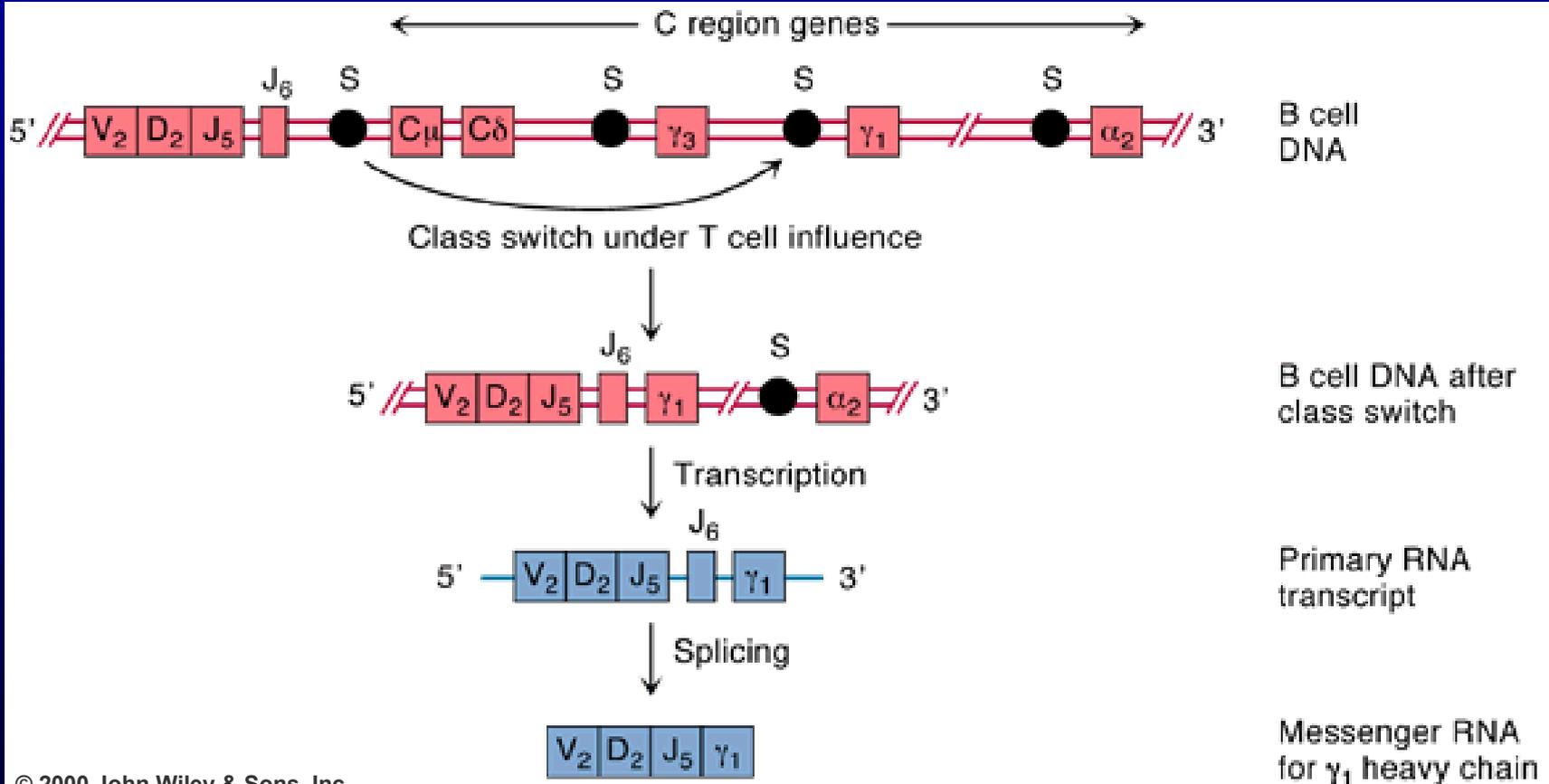


Mémoire immunologique

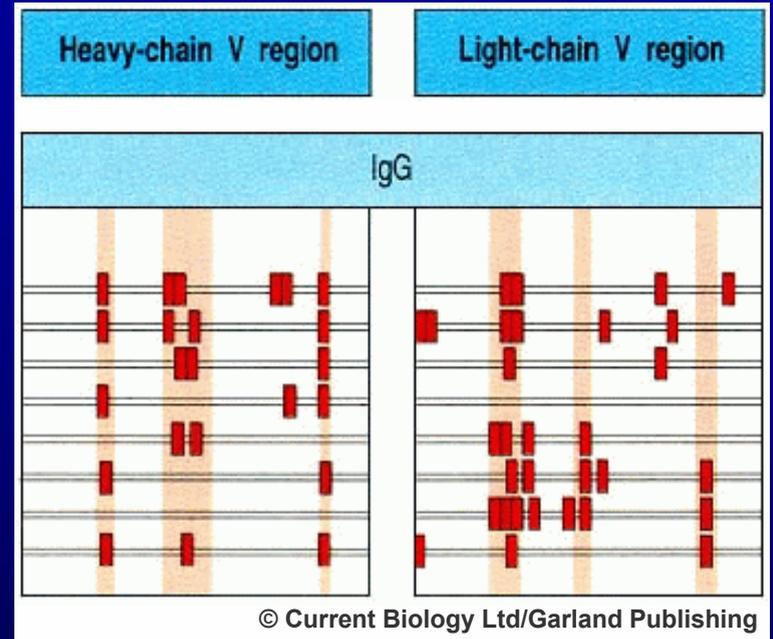
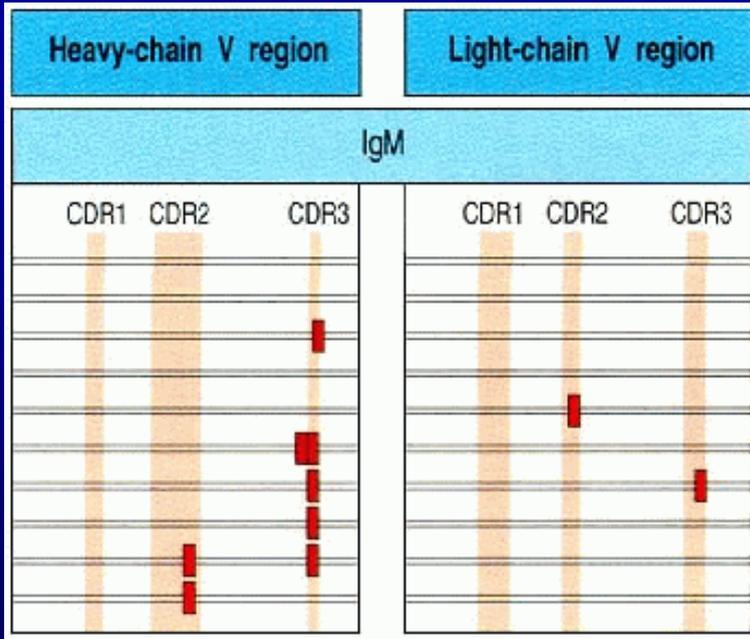


→ *Principe de la vaccination*

La commutation isotypique



La maturation d'affinité



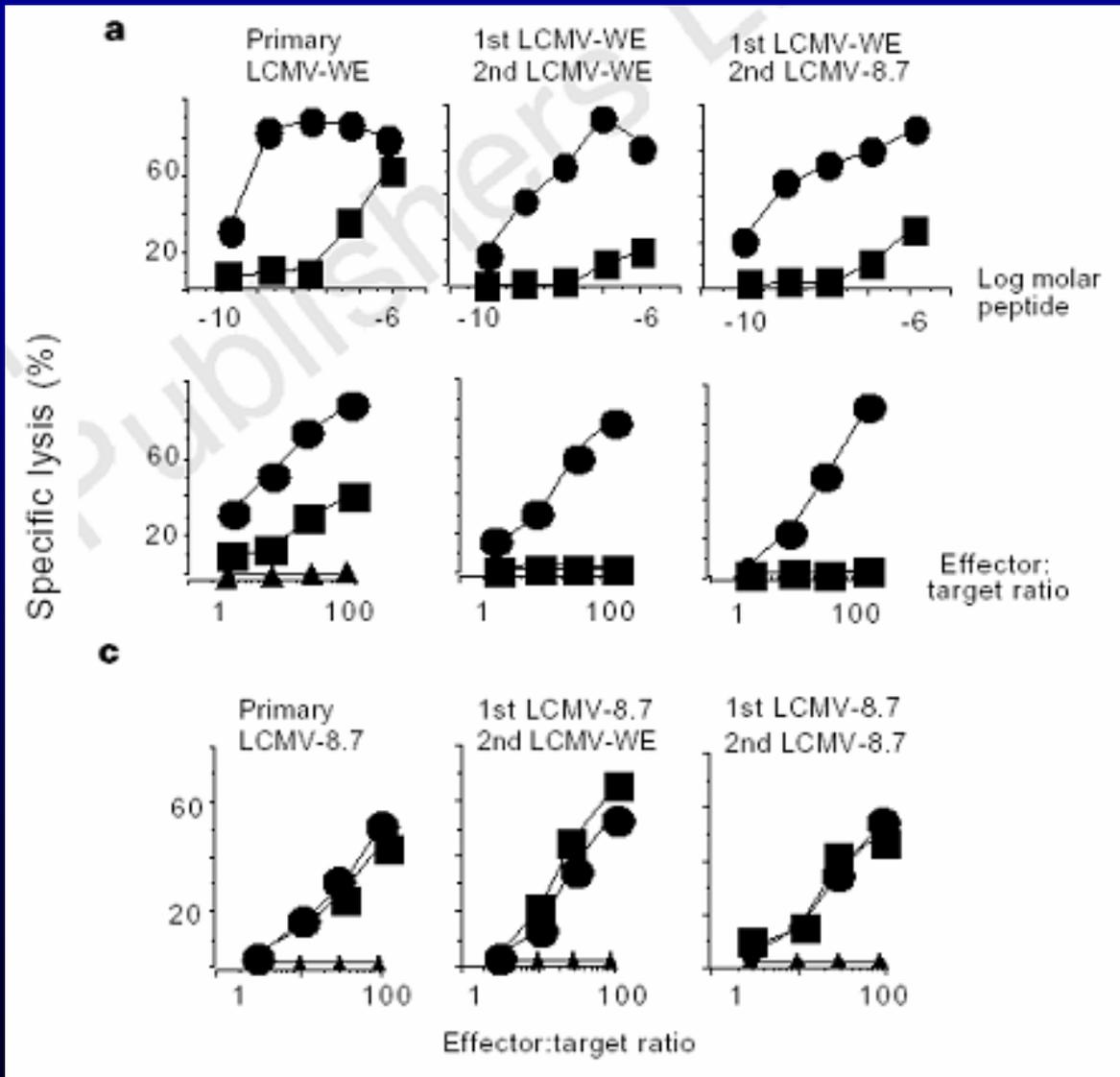
« Réponse primaire »
7 jours après la 1^{ère}
immunisation



« Réponse secondaire »
7 jours après la 2^{ème}
immunisation au jour 14

→ *Hypermutation somatique dans les centres germinatifs*

Le « péché originel »



LCMV-WE
 → Sauvage
 → GP33-wt
 → H-2D^b

LCMV-8.7
 → Mutant
 → GP33-3L APL