

Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

Adrien Six (adrien.six@upmc.fr)
Université Pierre et Marie Curie

octobre 2004

Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

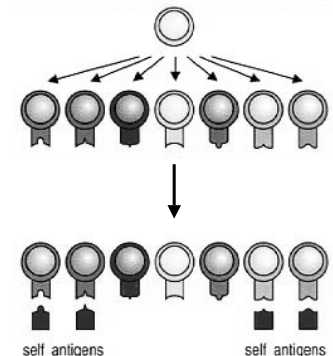
Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

Théorie de la sélection clonale (1)

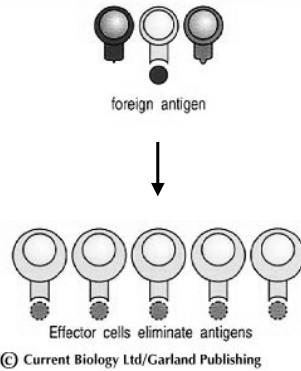
Burnet (1899–1985)

- 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

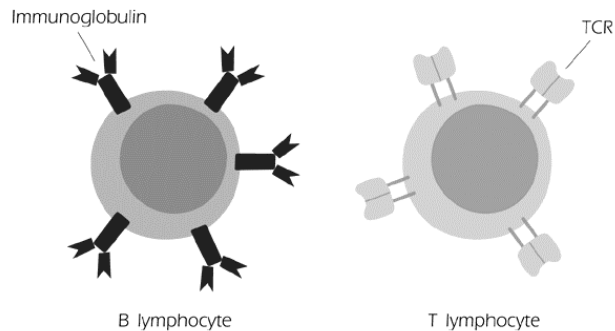


- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité

Composants cellulaires du système immunitaire

- Immunité naturelle et Immunité acquise dépendent de l'activité des leucocytes (globules blancs)
- L'immunité naturelle est essentiellement due à l'activité des cellules myéloïdes
- L'immunité acquise est principalement due à l'activité des lymphocytes B et T
- Ces cellules font partie du système hématopoïétique et ont une origine commune, la moelle osseuse

Les lymphocytes B et T



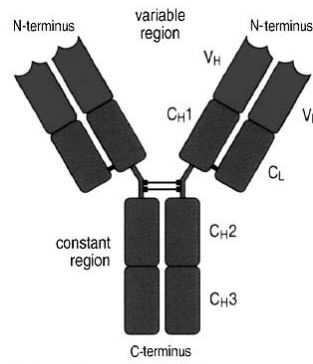
→ caractérisés par leur récepteur spécifique d'antigène

Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

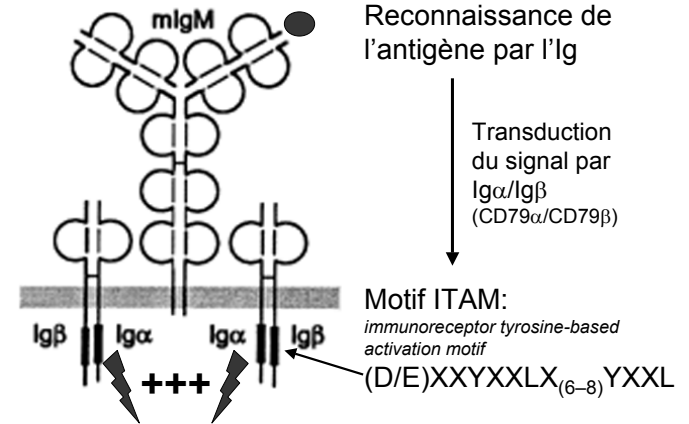
La molécule anticorps

- La molécule anticorps ou immunoglobuline est composée de 2 chaînes lourdes (IgH) et 2 chaînes légères (Igκ ou Igλ)
- Chaque chaîne comprend une région constante et une région variable
- La région variable porte le site de liaison à l'antigène

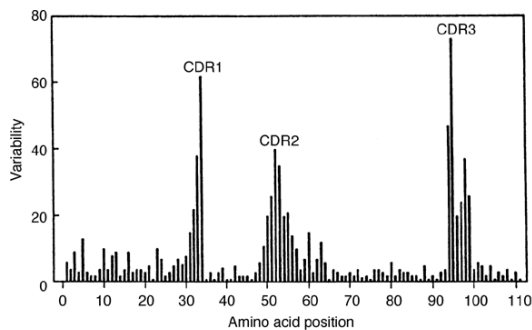


© Current Biology Ltd/Garland Publishing

Transduction du signal BCR

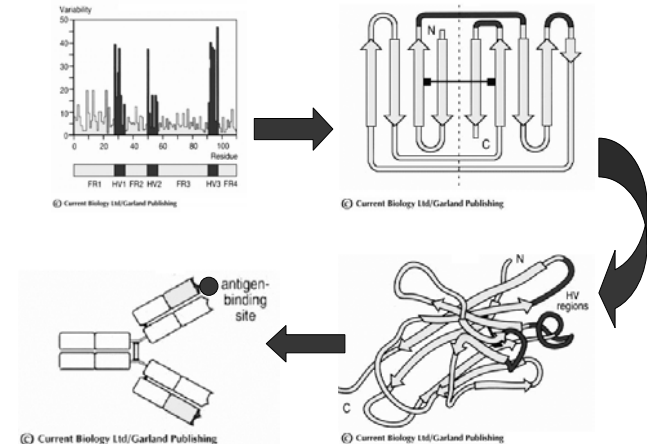


Les régions hypervariables (1)



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)



Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

Un paradoxe génétique

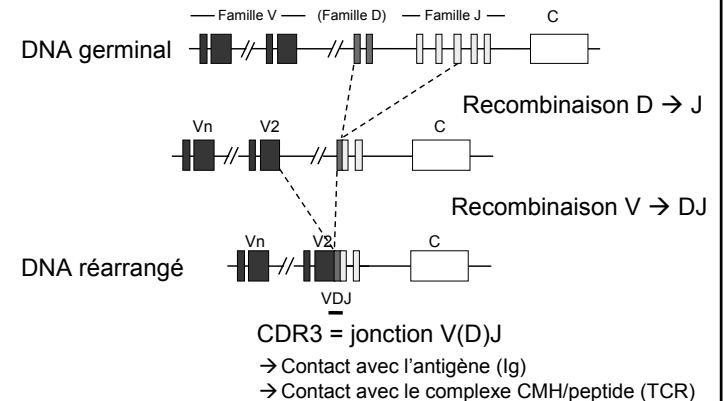
- Beadle et Tatum (1941): un gène, une protéine
- ~50 000 gènes dans le génome humain
- Capacité de production d'une variété « infinie » d'anticorps et de récepteurs T différents

=> 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. »

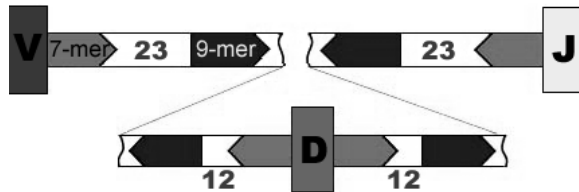
La sagesse des gènes, Christopher Wills.

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



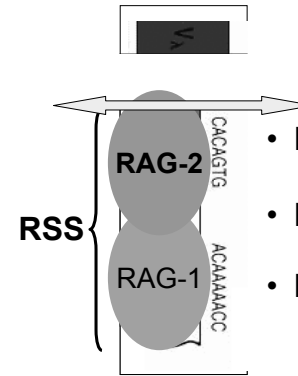
La recombinaison V(D)J (1)

- Expression des protéines RAG-1 et RAG-2
- Accessibilité du locus → Ouverture de la chromatine pour permettre le réarrangement
- Reconnaissance de RSS → Heptamère-espaceur-nonamère suivant la règle 12/23



© Current Biology Ltd/Garland Publishing

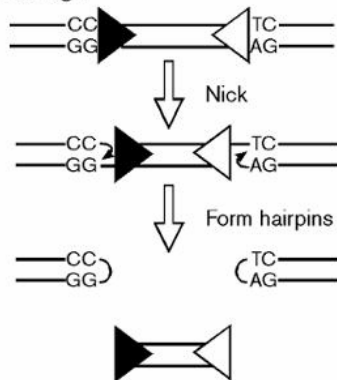
Séquences signal de recombinaison



- Heptamère → **CACAGTG**
- Espaceur 12 ou 23
- Nonamère → **ACAAAAACC**

La recombinaison V(D)J (2)

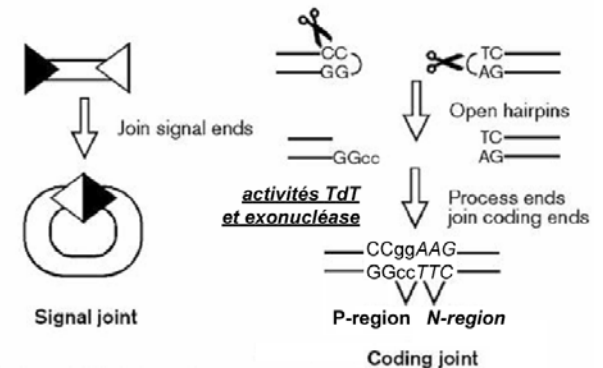
(a) Cleavage



© 1996 Current Opinion in Immunology

La recombinaison V(D)J (3)

(b) Joining



© 1996 Current Opinion in Immunology

La recombinaison V(D)J (4)

Différentes protéines sont impliquées:

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

La recombinaison V(D)J (5)

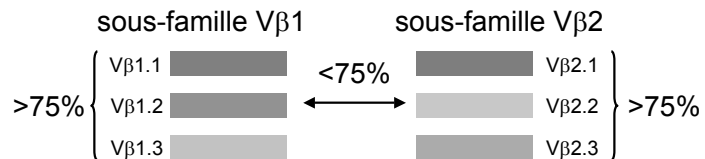
Réarrangements en phase vs. hors phase :

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

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.



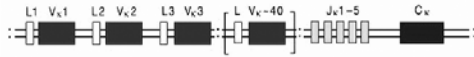
Organisation génomique du locus IgH humain



© Current Biology Ltd/Cartland Publishing

- Chromosome 14
- Entièrement séquencé (1,2 Mb)
- ~80 VH (dont ~50 fonctionnels) groupés en 7 sous-familles
- 27 DH, 6 JH, 9 CH

Organisation génomique du locus Igκ humain



© Current Biology Ltd/Carland Publishing

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

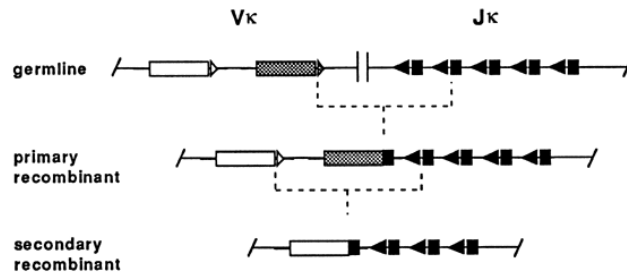
Organisation génomique du locus Igλ humain



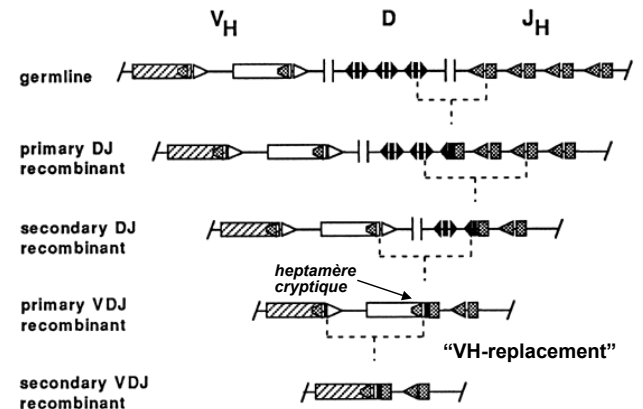
© Current Biology Ltd/Carland Publishing

- Chromosome 22
- Entièrement séquencé (1 Mb)
- ~70 Vλ (dont ~30 fonctionnels) groupés en 11 sous-familles
- 7-11 clusters J-Cλ (4-5 fonctionnels)

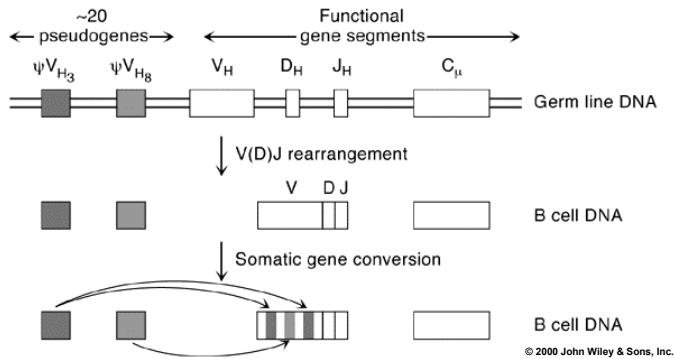
Réarrangements secondaires (1)



Réarrangements secondaires (2)

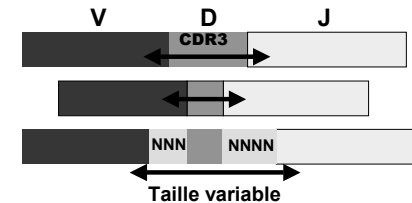


Conversion génique



La région CDR3 concentre l'essentiel de la diversité

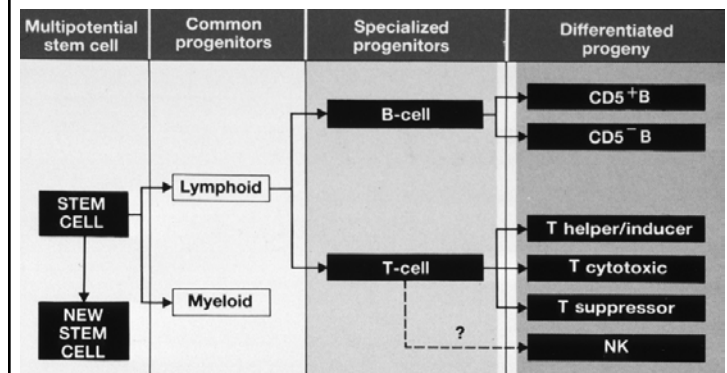
- La recombinaison V(D)J est imprécise
- Activité exonucléase → délétions aléatoires
- Activité TdT → additions N aléatoires
- La région CDR3 est de taille variable; c'est la *signature du réarrangement*



Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

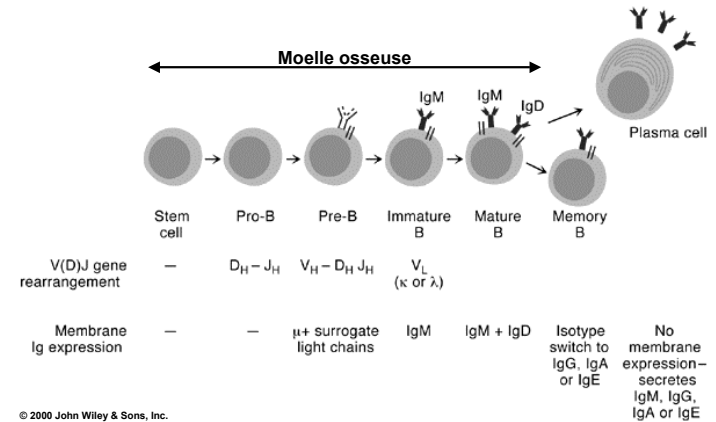
La lignée lymphocytaire



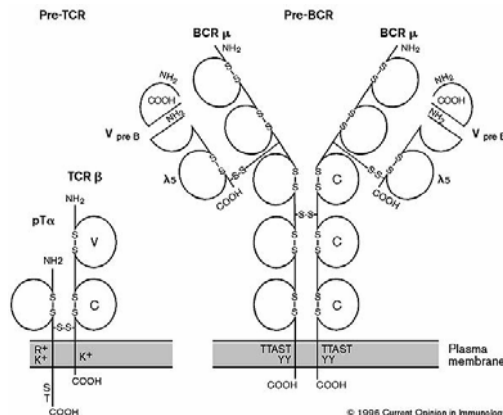
Questions

- Engagement des précurseurs communs vers les différentes lignées lymphocytaires
- Régulation de la taille des populations lymphocytaires
- Régulation de la recombinaison V(D)J
 - ♦ développement
 - ♦ spécificité tissulaire
 - ♦ spécificité de lignée
- Sélection des répertoires lymphocytaires

Différenciation des lymphocytes B



Caractérisation du pré-BCR

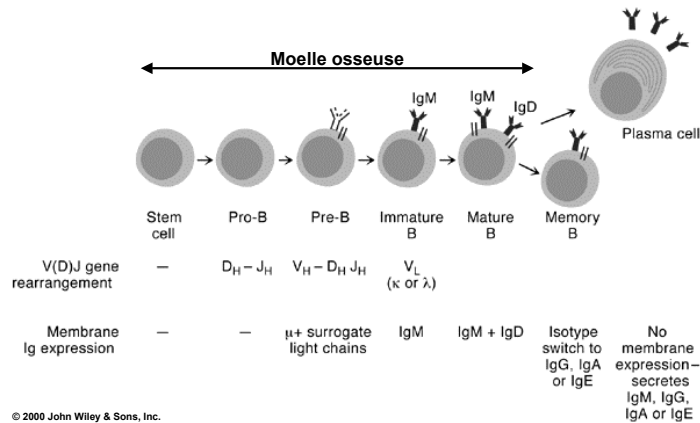


D'après Borst et al. (1996) Curr. Op. Immunol. 8:181-190.

Rôle du pré-BCR

- *Exclusion allélique*: Un réarrangement IgH productif sur un locus IgH entraîne l'arrêt de la recombinaison V(D)J sur l'autre locus
 - Une seule chaîne IgH produite par cellule B, en accord avec la théorie de sélection clonale
- *Prolifération des cellules pré-B*:
 - Enrichissement en réarrangements productifs
- *... Induction des réarrangements IgL*:
 - Production d'une Ig complète

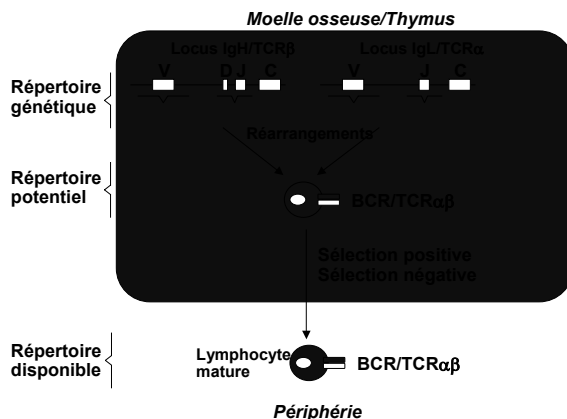
Différenciation des lymphocytes B



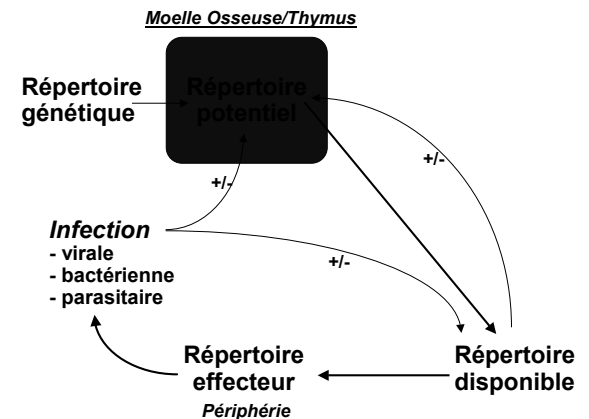
Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

1. Généralités
2. Anticorps et complexe BCR
3. Recombinaison V(D)J
4. Différenciation des lymphocytes B
5. Sélection des répertoires

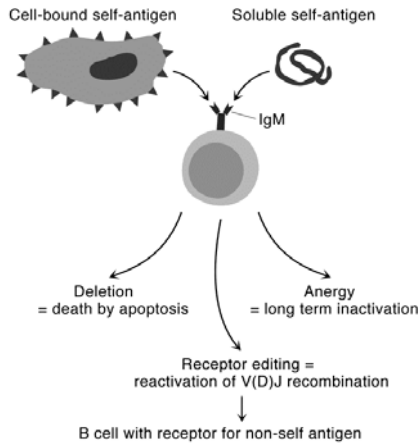
Notions de répertoires (1)



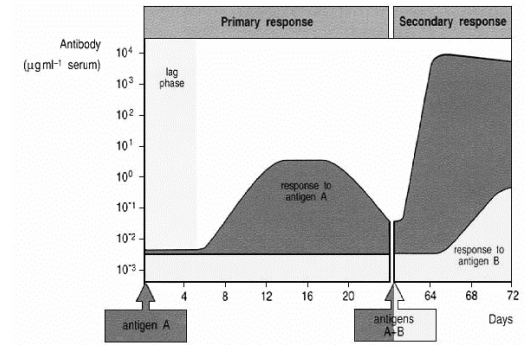
Notions de répertoires (2)



Sélection des lymphocytes B

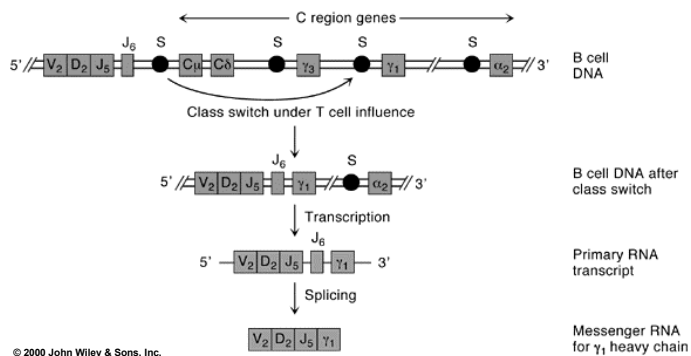


Mémoire immunologique

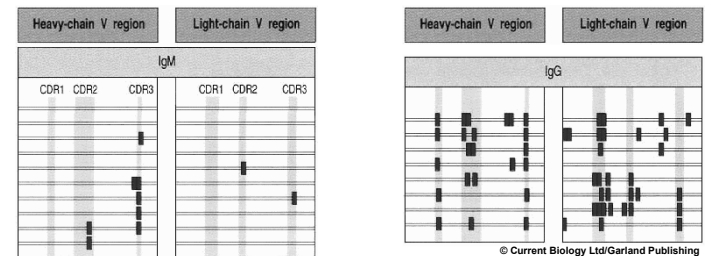


▲ *Principe de la vaccination*

La commutation isotypique



La maturation d'affinité



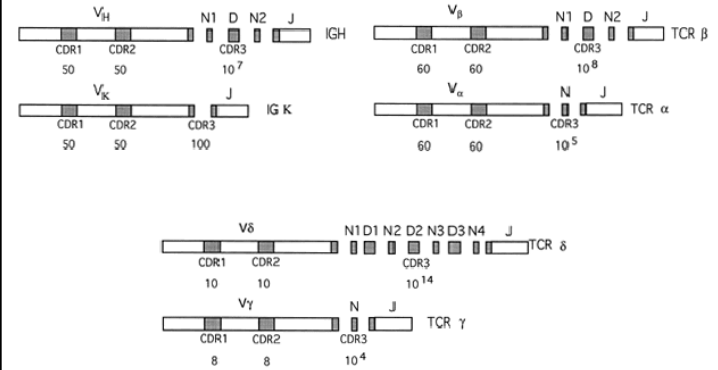
« Réponse primaire »
7 jours après la 1^{ère}
immunisation

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

→ *Hypermutation somatique dans les centres germinatifs*

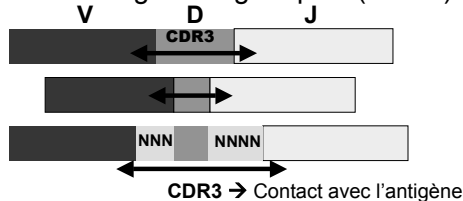
Conclusion

Diversité jonctionnelle CDR3: une stratégie générale

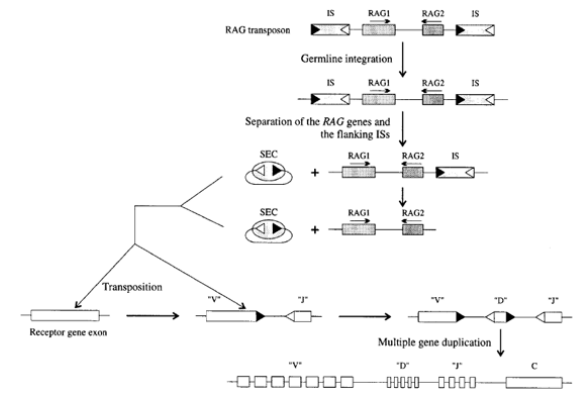


Diversité des chaînes Ig et TCR

- La diversité des chaînes d'Ig et de TCR est le produit de:
 - Combinatoire des segments V(D)J
 - Appariement IgH/L, TCRα/β or TCRγ/δ
 - Ajout/élimination aléatoire de nucléotides à la jonction des segments géniques (CDR3)

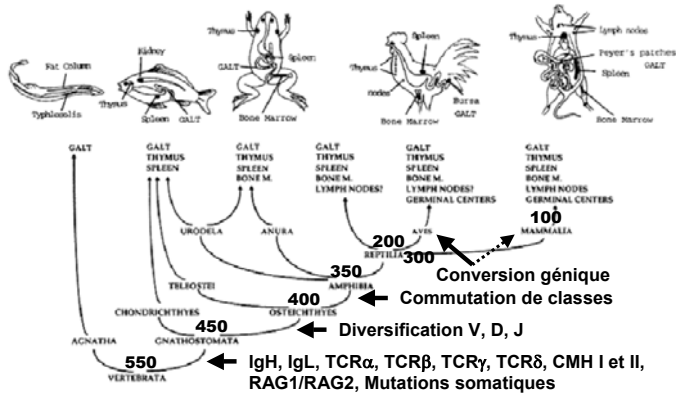


Origine de la recombinaison V(D)J



D'après Fugmann et al. (2000) Annu. Rev. Immunol. 18:495-527.

Éléments d'immunologie comparée



D'après Du Pasquier et Flajnik, in *Fundamental Immunology*, 4th edition, W.E.Paul ed.

Questions/Discussion...