

Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

Adrien Six (adrien.six@upmc.fr)

Université Pierre et Marie Curie

octobre 2005

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

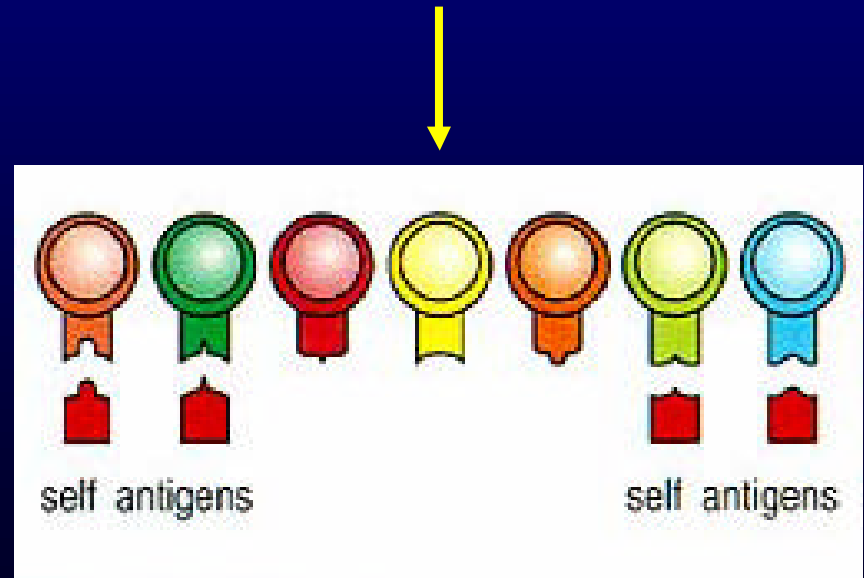
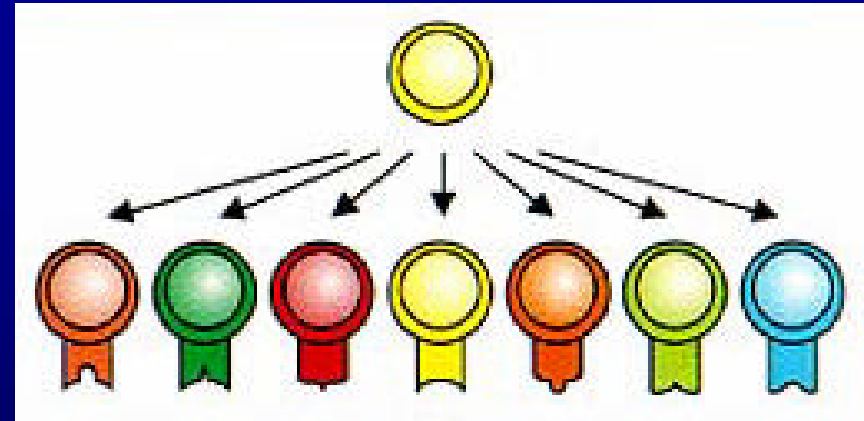
Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

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

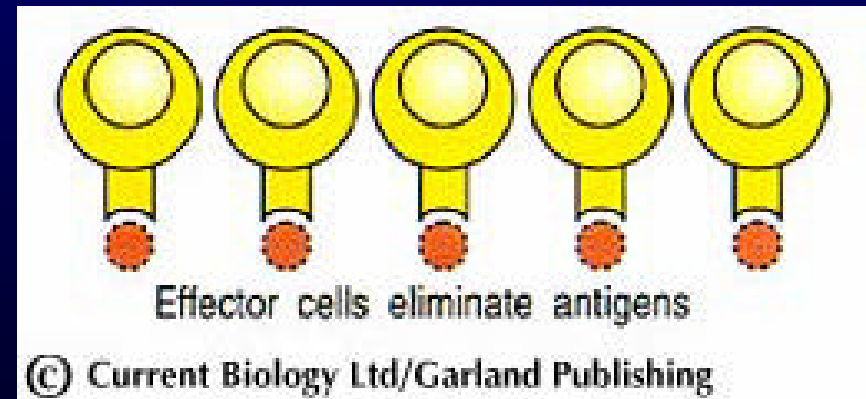


Théorie de la sélection clonale (2)

- La liaison avec une bonne affinité d'une molécule étrangère et d'un récepteur entraîne l'activation du lymphocyte



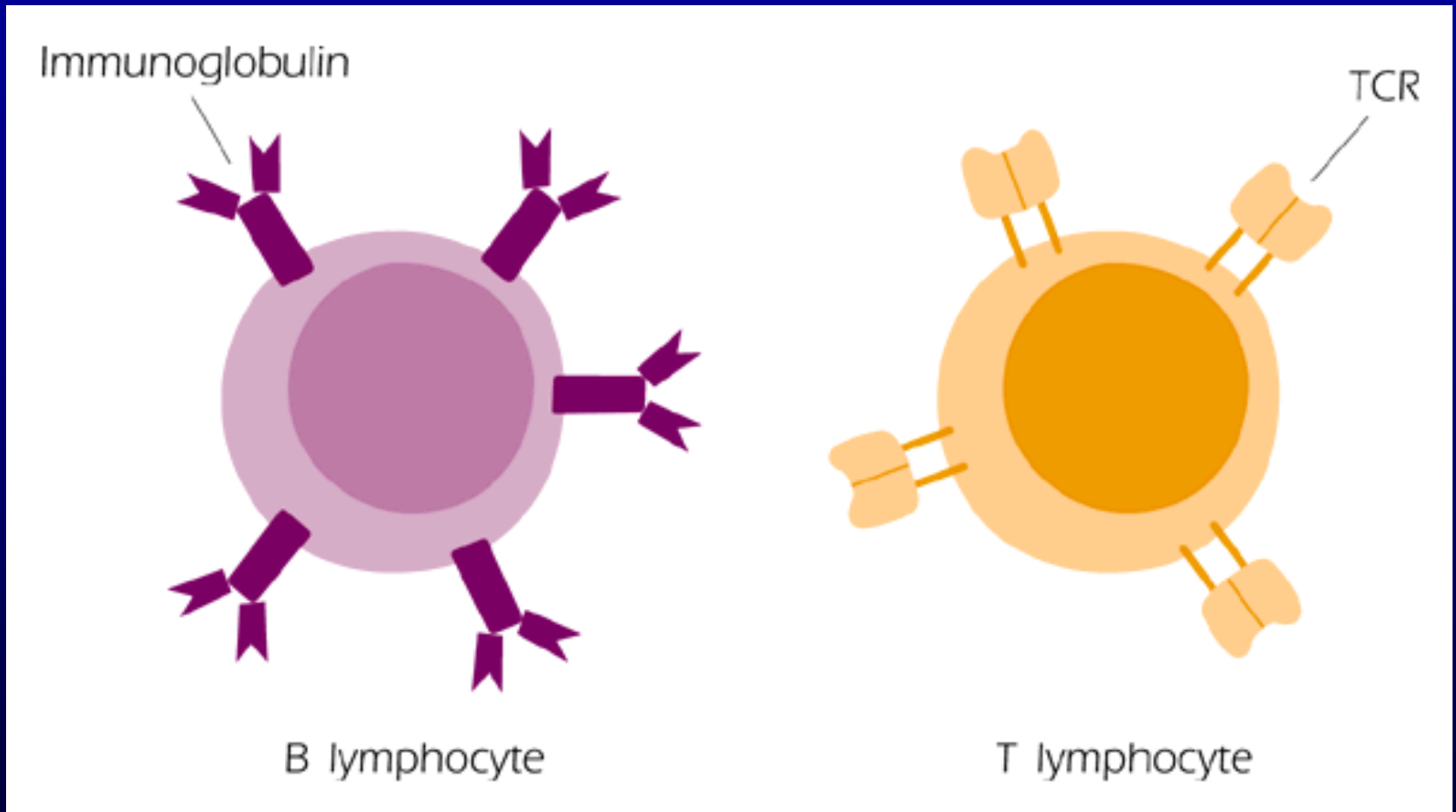
- Les cellules effectrices différenciées à partir d'un lymphocyte activé donné expriment des récepteurs de même spécificité



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

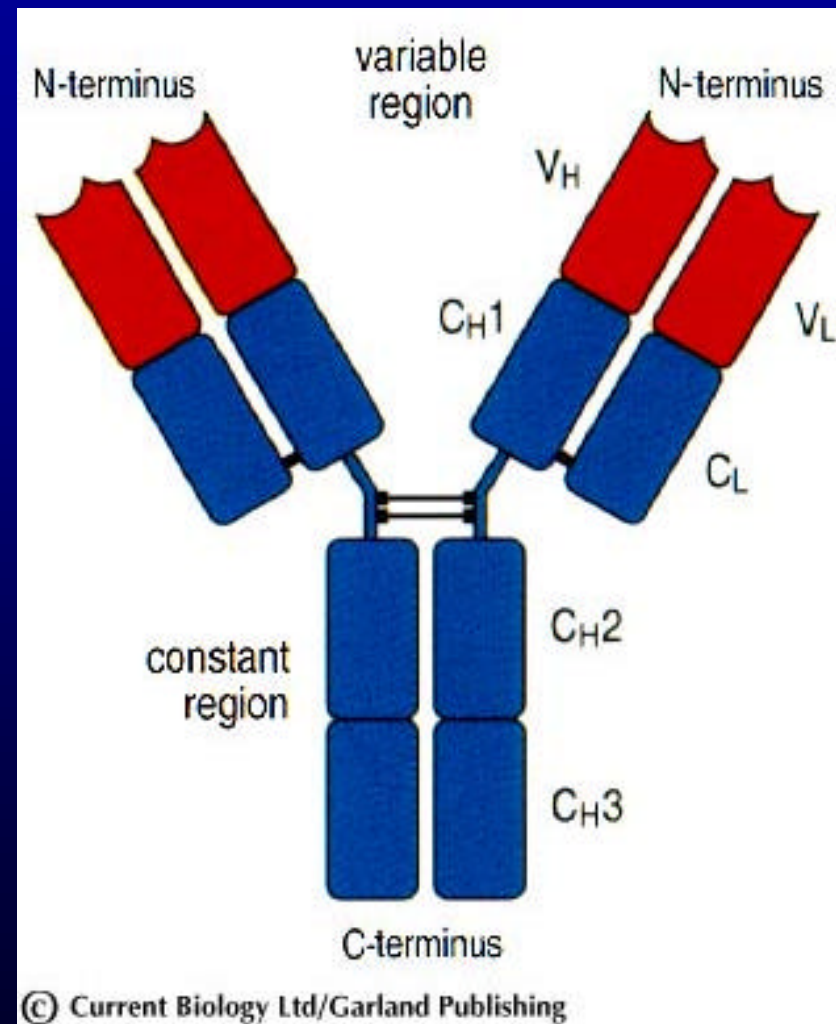
Les lymphocytes B et T



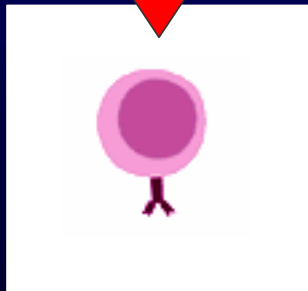
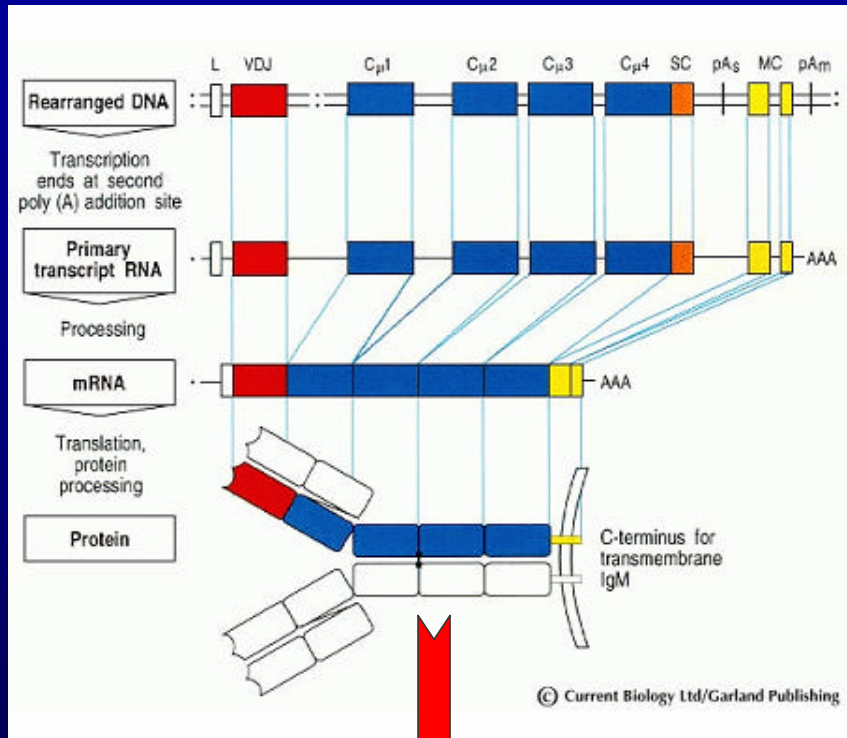
→ caractérisés par leur récepteur spécifique d'antigène

La molécule anticorps

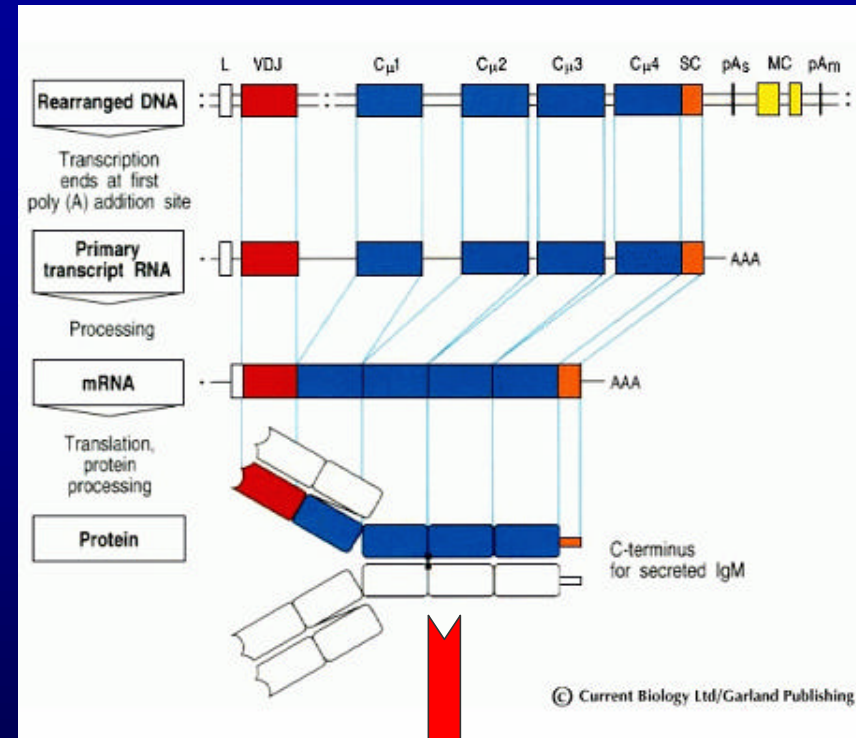
- La molécule anticorps ou immunoglobuline est composée de 2 chaînes lourdes (IgH) et 2 chaînes légères (Ig κ ou Ig λ)
- Chaque chaîne comprend une région constante et une région variable
- La région variable porte le site de liaison à l'antigène



Ig membranaire – Ig sécrétée

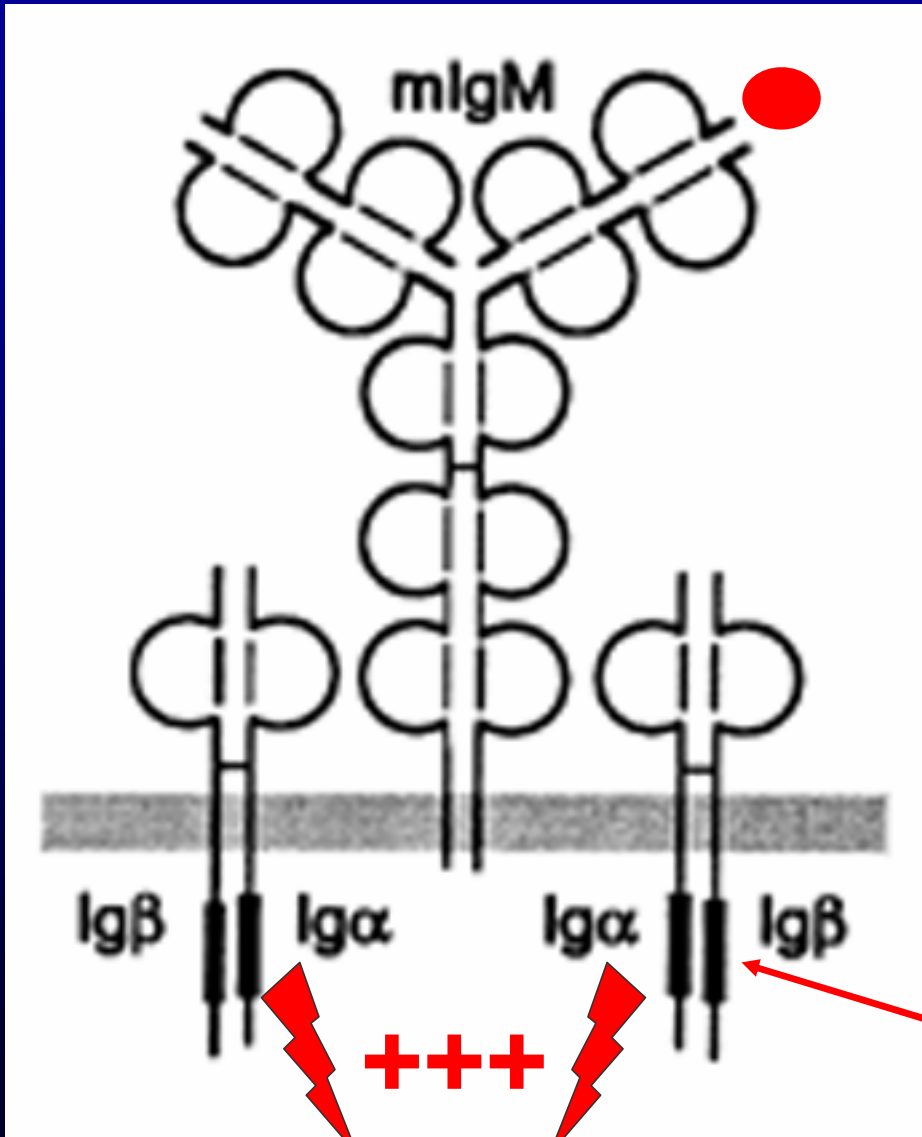


lymphocyte B



plasmocyte

Transduction du signal BCR



Reconnaissance de l'antigène par l'Ig

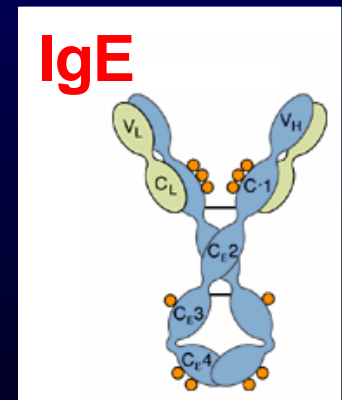
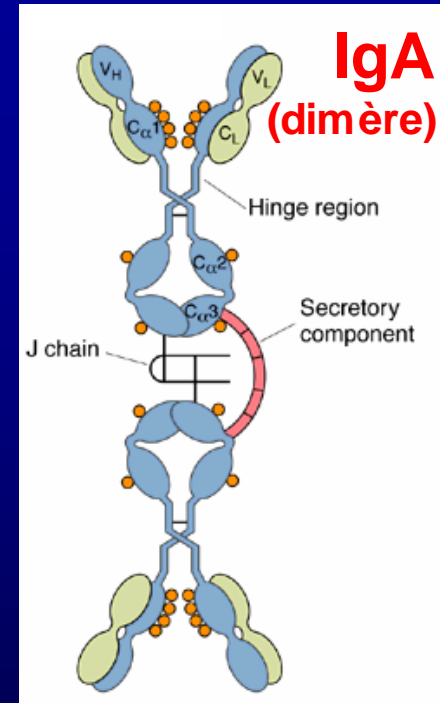
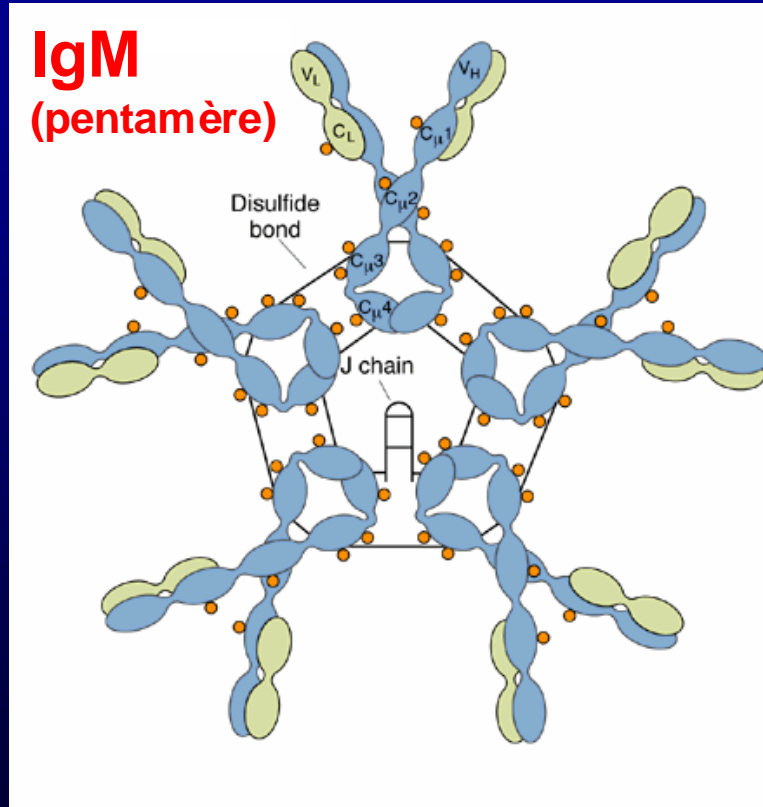
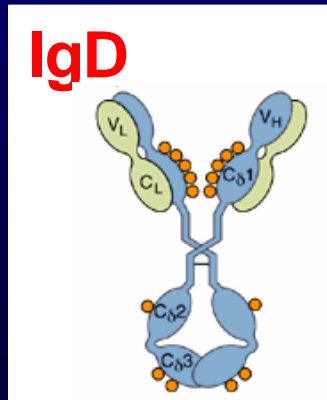
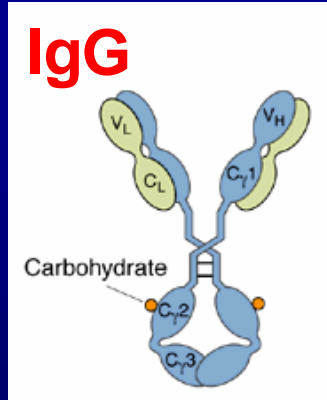
Transduction du signal par Igα/Igβ (CD79α/CD79β)

Motif ITAM:

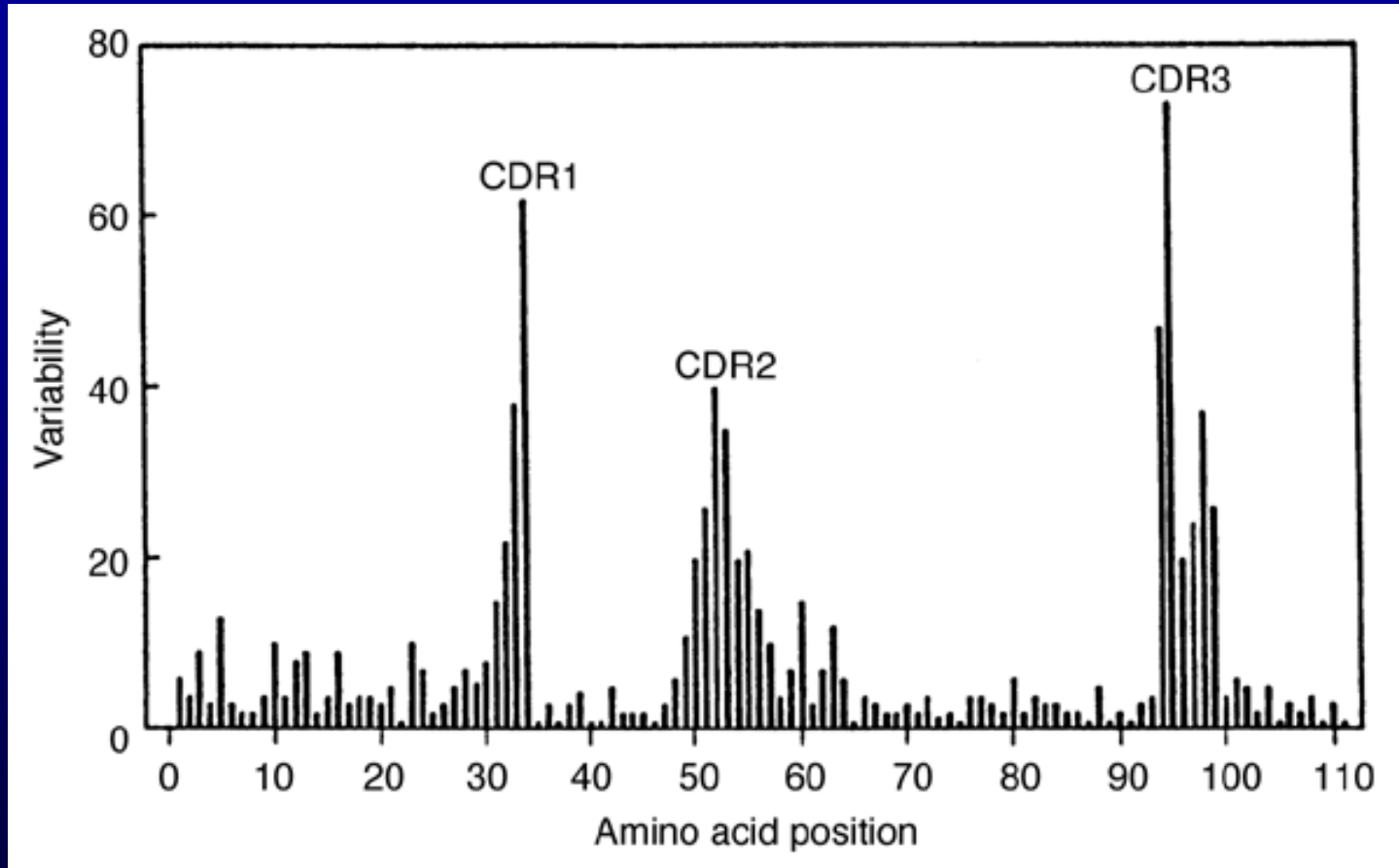
immunoreceptor tyrosine-based activation motif

(D/E)XXYXXLX₍₆₋₈₎YXXL

Les classes d'immunoglobulines

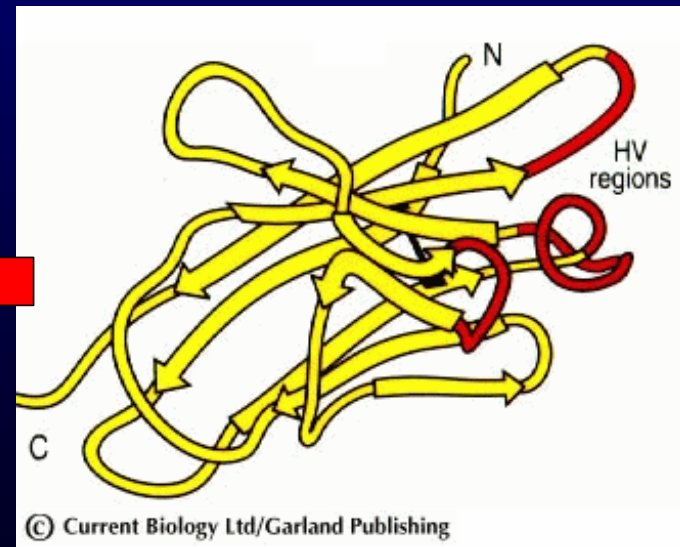
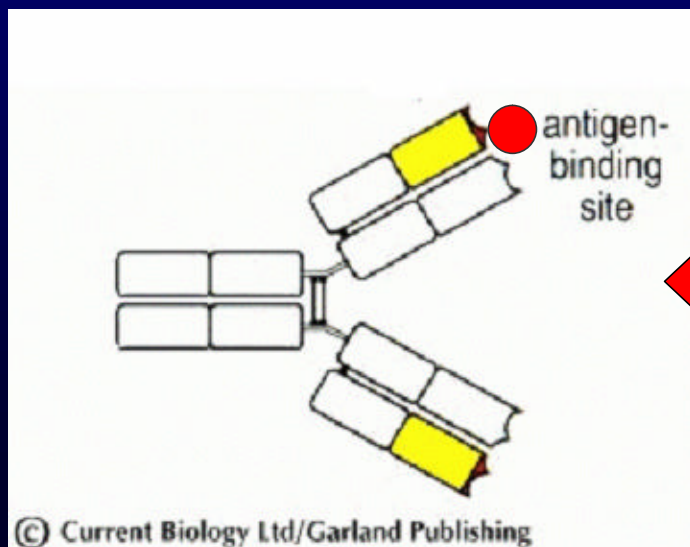
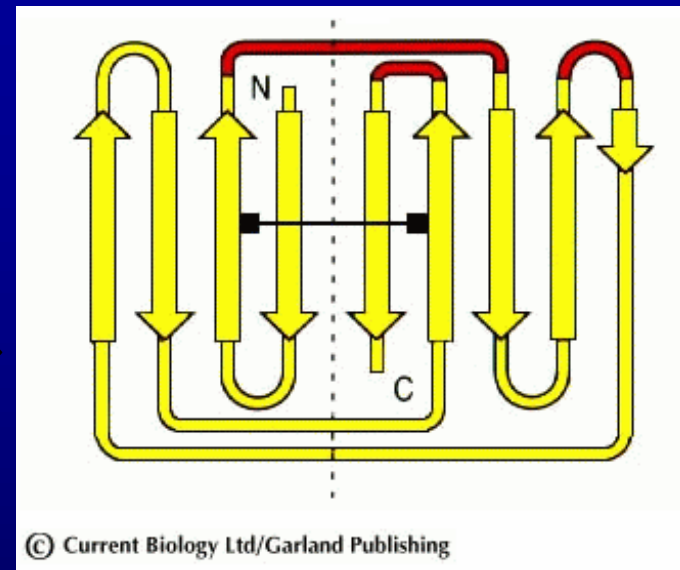
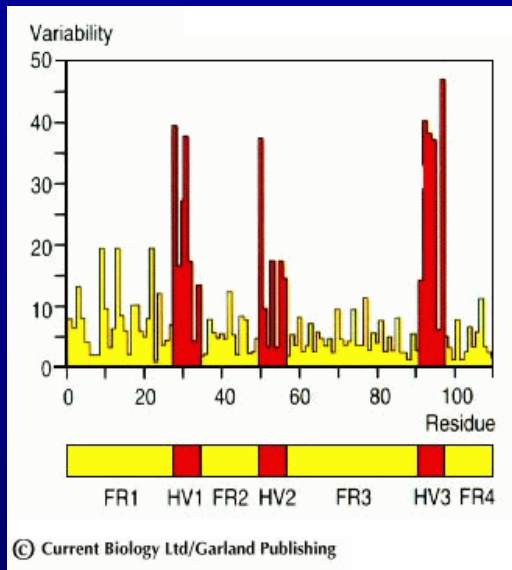


Les régions hypervariables (1)



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

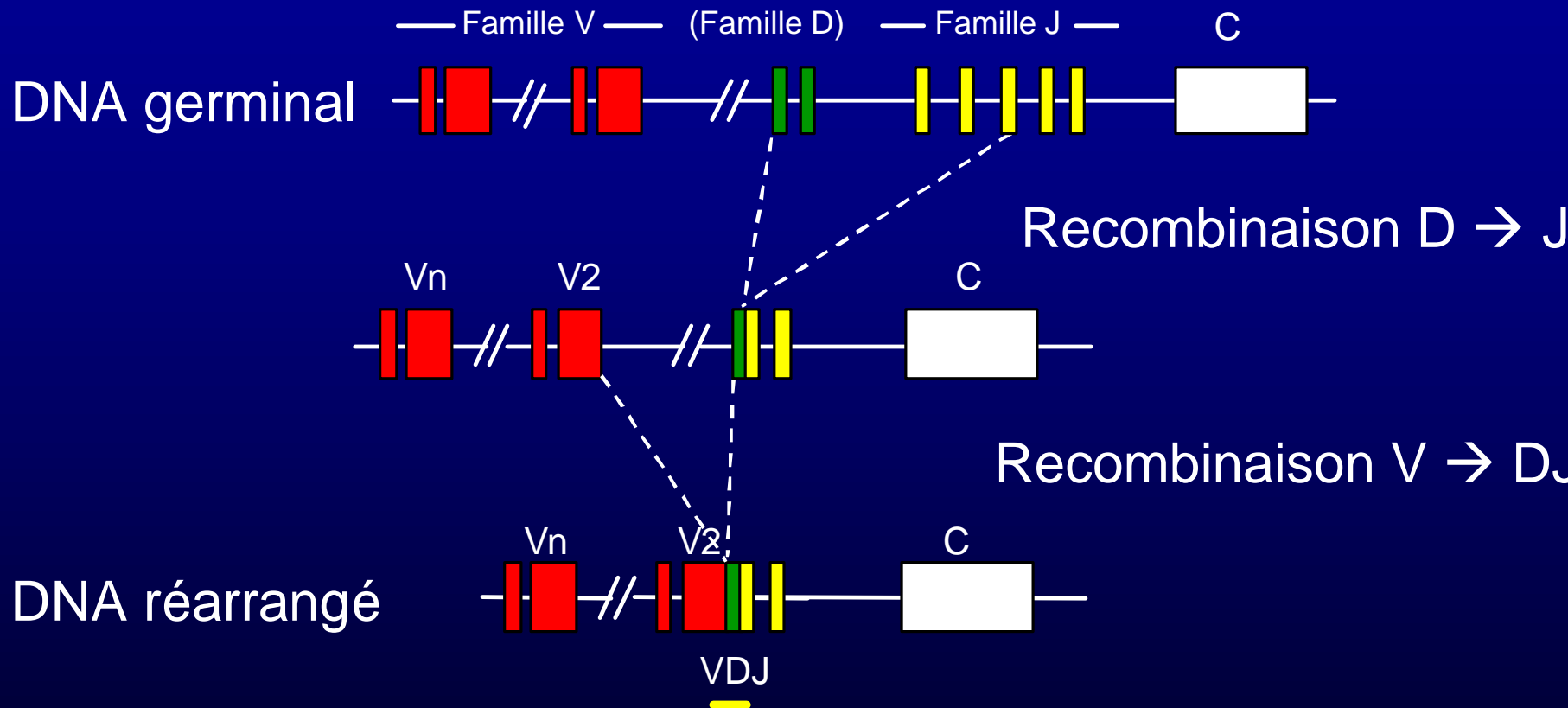
Un paradoxe génétique

- 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



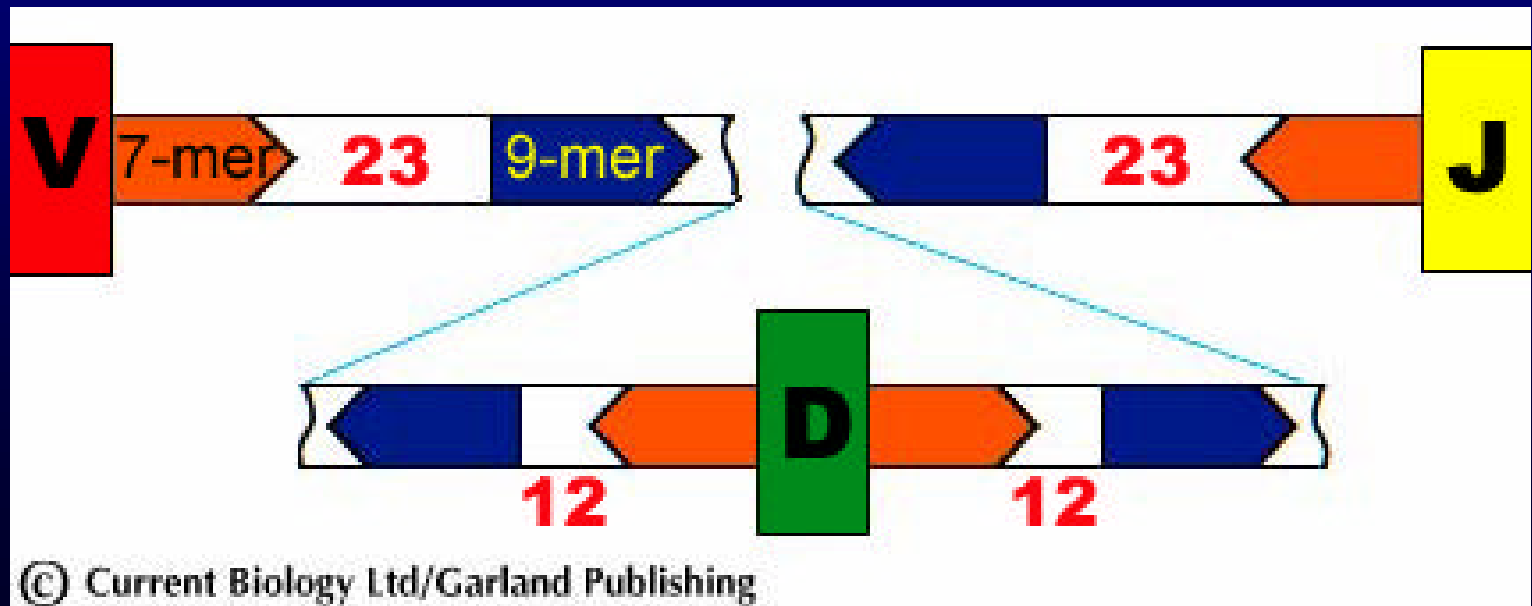
CDR3 = jonction V(D)J

→ Contact avec l'antigène (Ig)

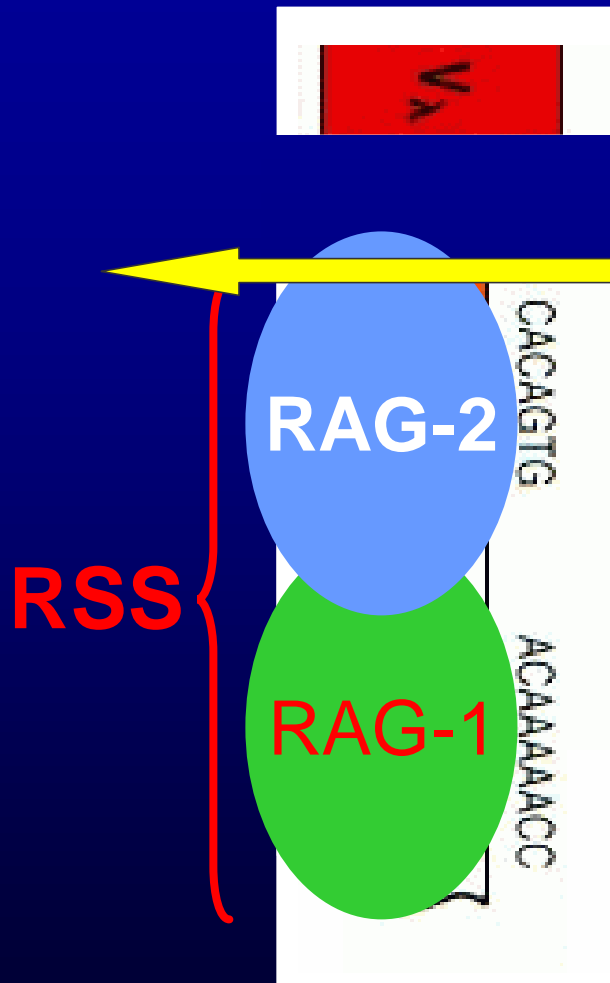
→ Contact avec le complexe CMH/peptide (TCR)

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



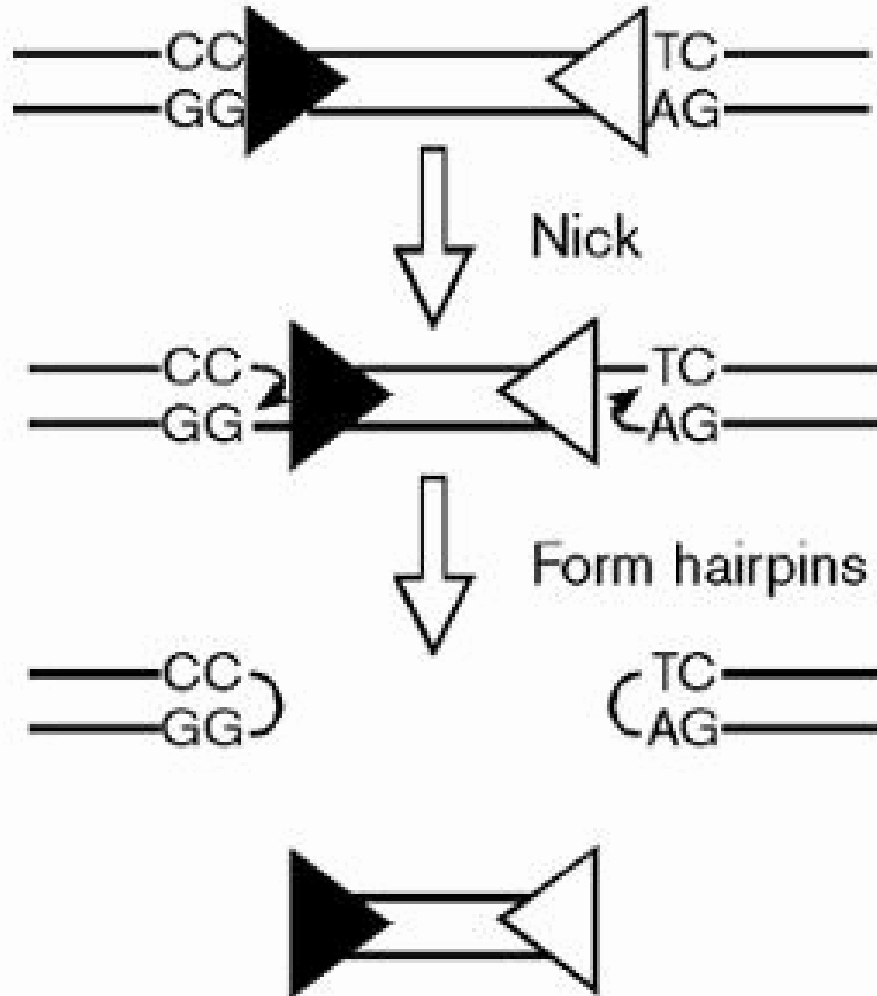
Séquences signal de recombinaison



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

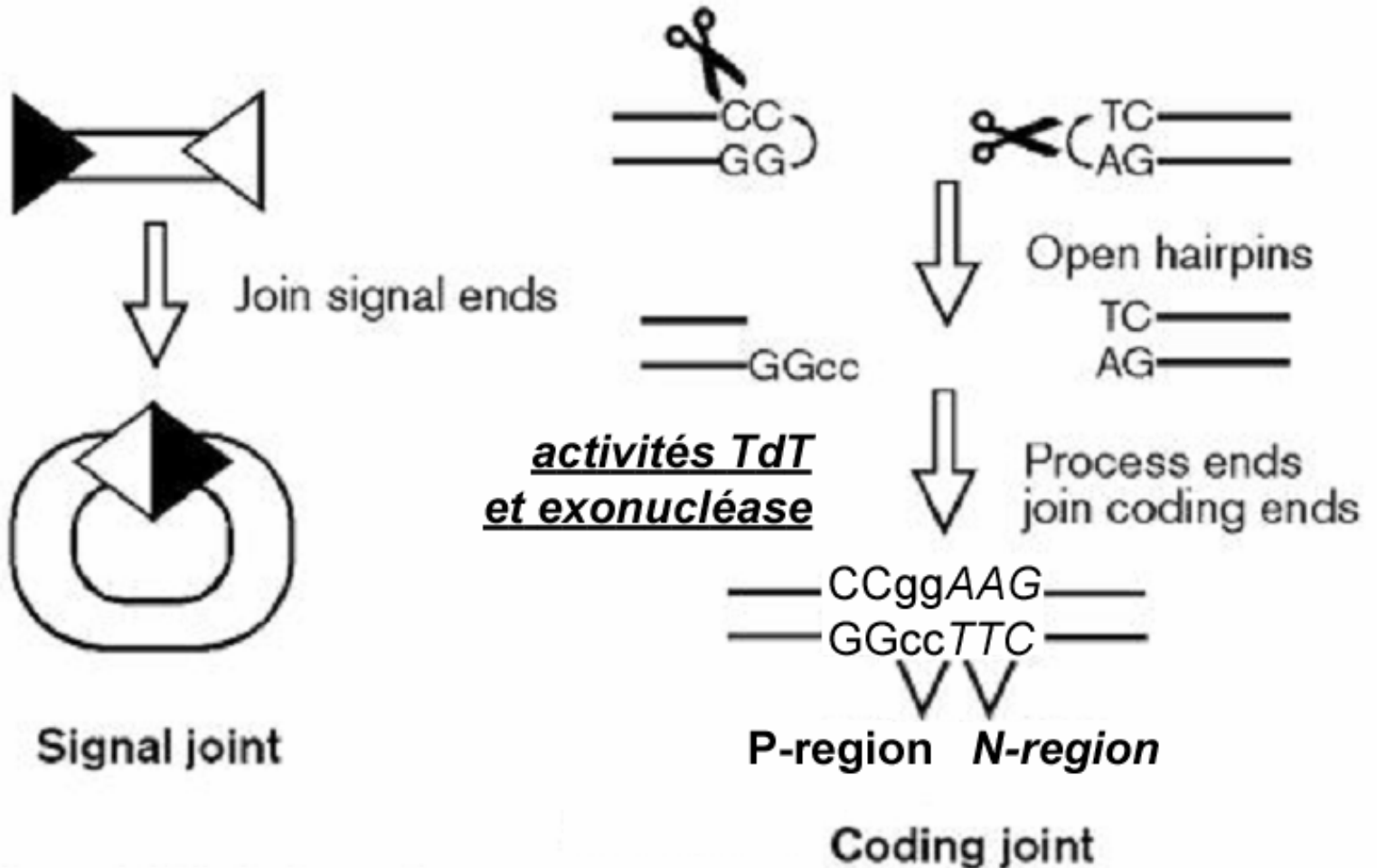
La recombinaison V(D)J (2)

(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, Artemis
- Ku70, Ku80, DNAPK, XRCC4, Ligase IV
- Exonucléases, TdT

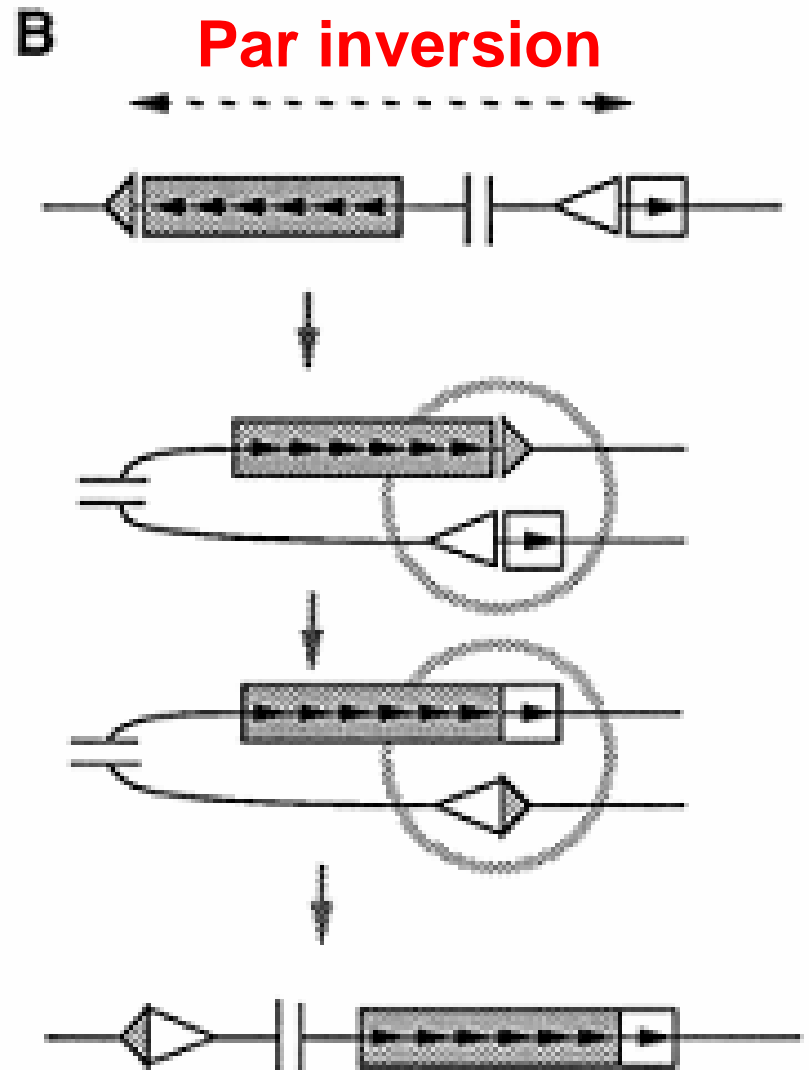
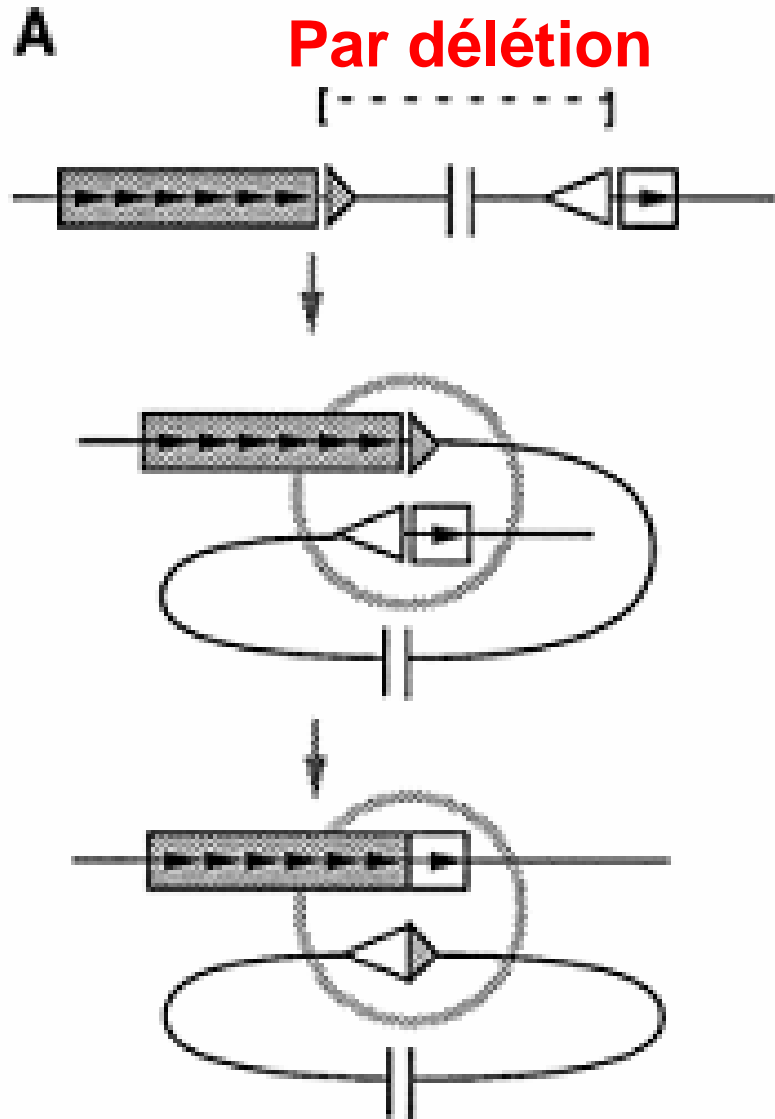
La recombinaison V(D)J (5)

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 (+).

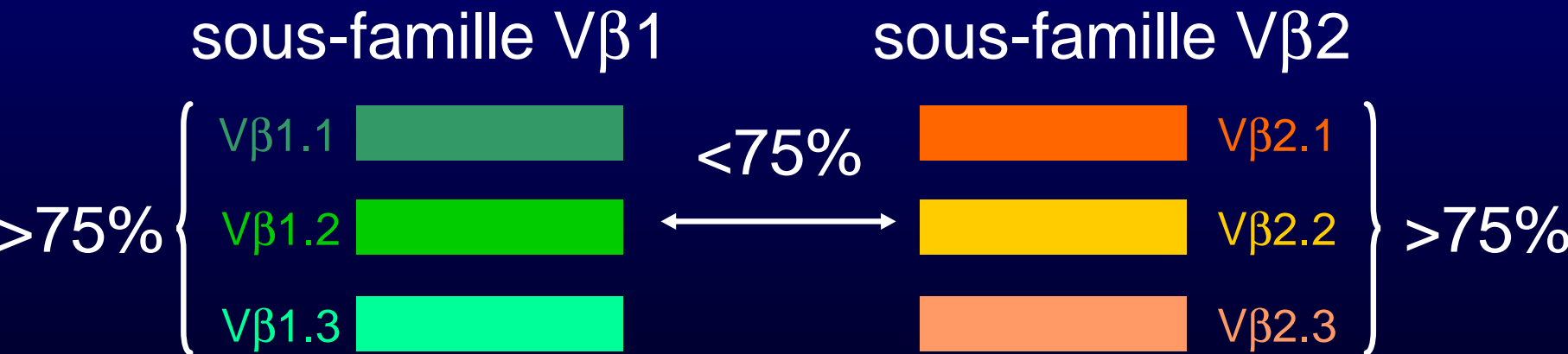
<i>Cys</i>	<i>Ala</i>	...V	>	N(D)N	<	J...	<i>Phe</i>	<i>Gly</i>	
<i>TGT</i>	<i>CGA</i>	<i>CC</i>				<i>TCGC</i>	<i>TTT</i>	<i>GGT</i>	
<i>TGT</i>	<i>CGA</i>	<i>CC</i>		g aa		G	<i>CTT</i>	<i>TGGT</i>	-
<i>TGT</i>	<i>CGA</i>	<i>CC</i>		g gaa		GCT	<i>TTG</i>	<i>GT</i>	-
<i>TGT</i>	<i>CGA</i>	<i>CC</i>	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

Différents types de réarrangements

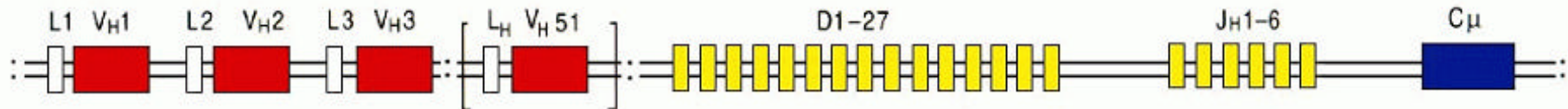


Sous-familles de gènes variables

- 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.



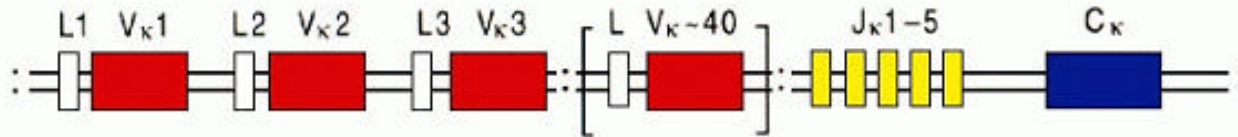
Organisation génomique du locus IgH humain



© Current Biology Ltd/Garland Publishing

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

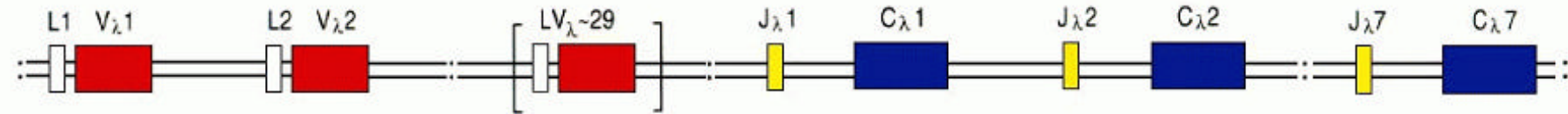
Organisation génomique du locus Ig κ humain



© 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

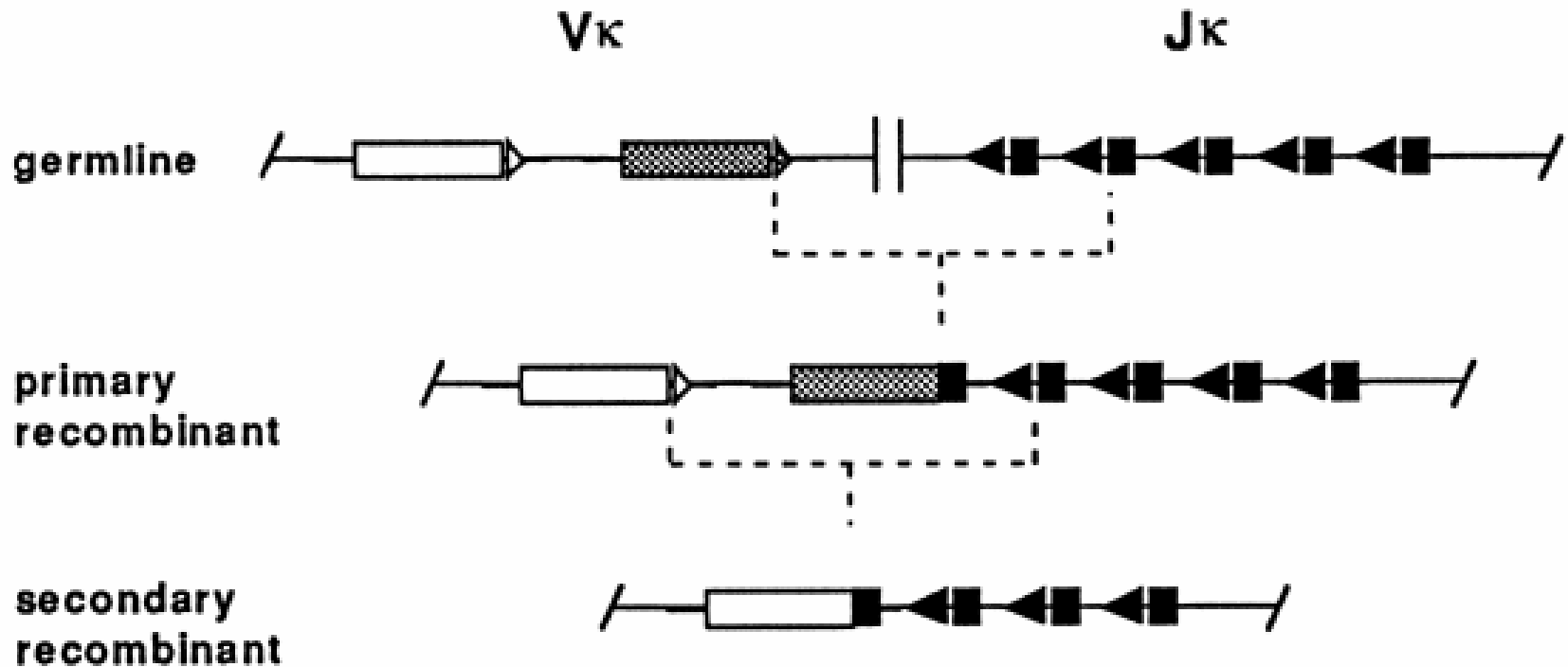
Organisation génomique du locus $Ig\lambda$ humain



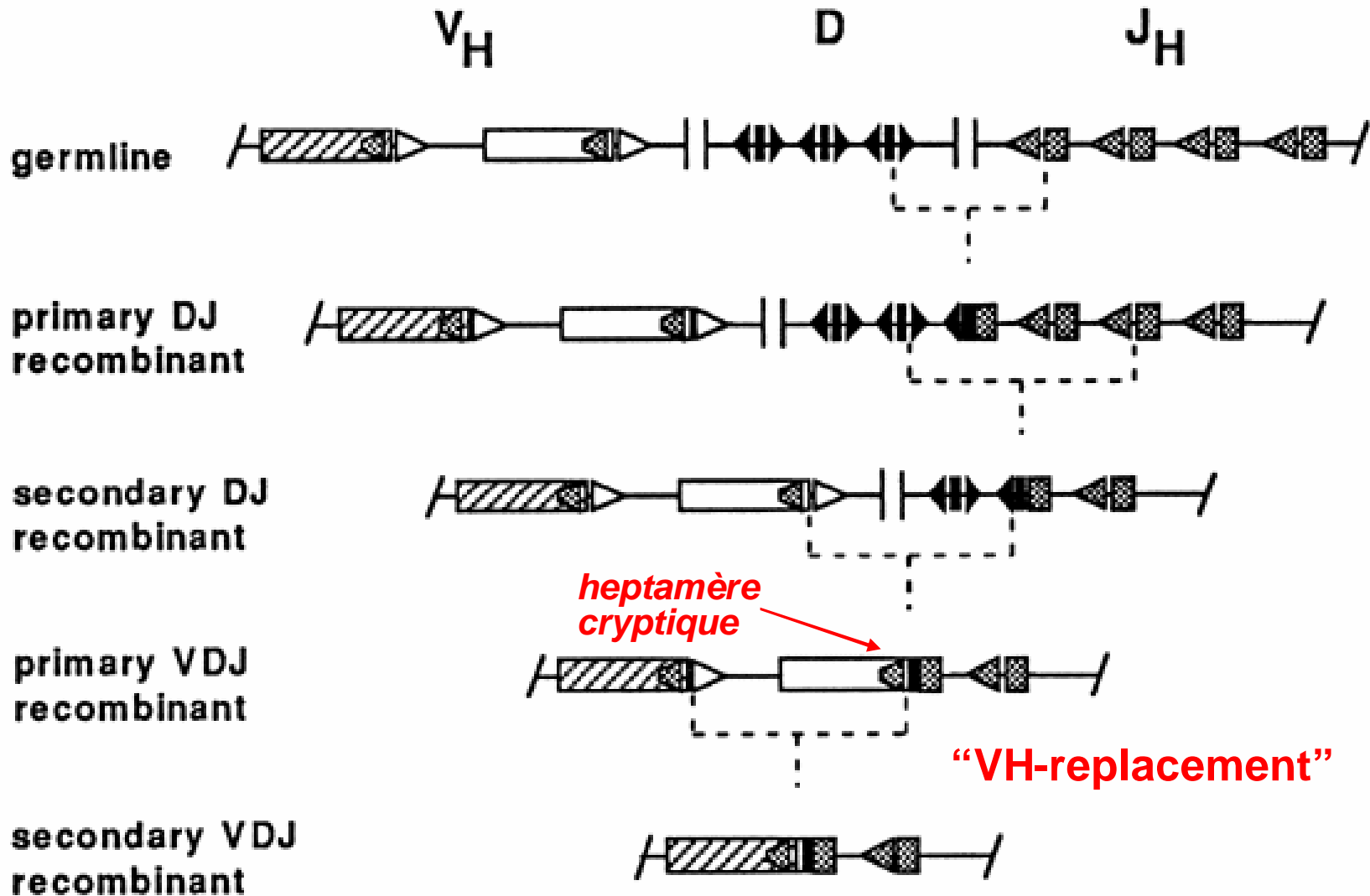
© Current Biology Ltd/Garland Publishing

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

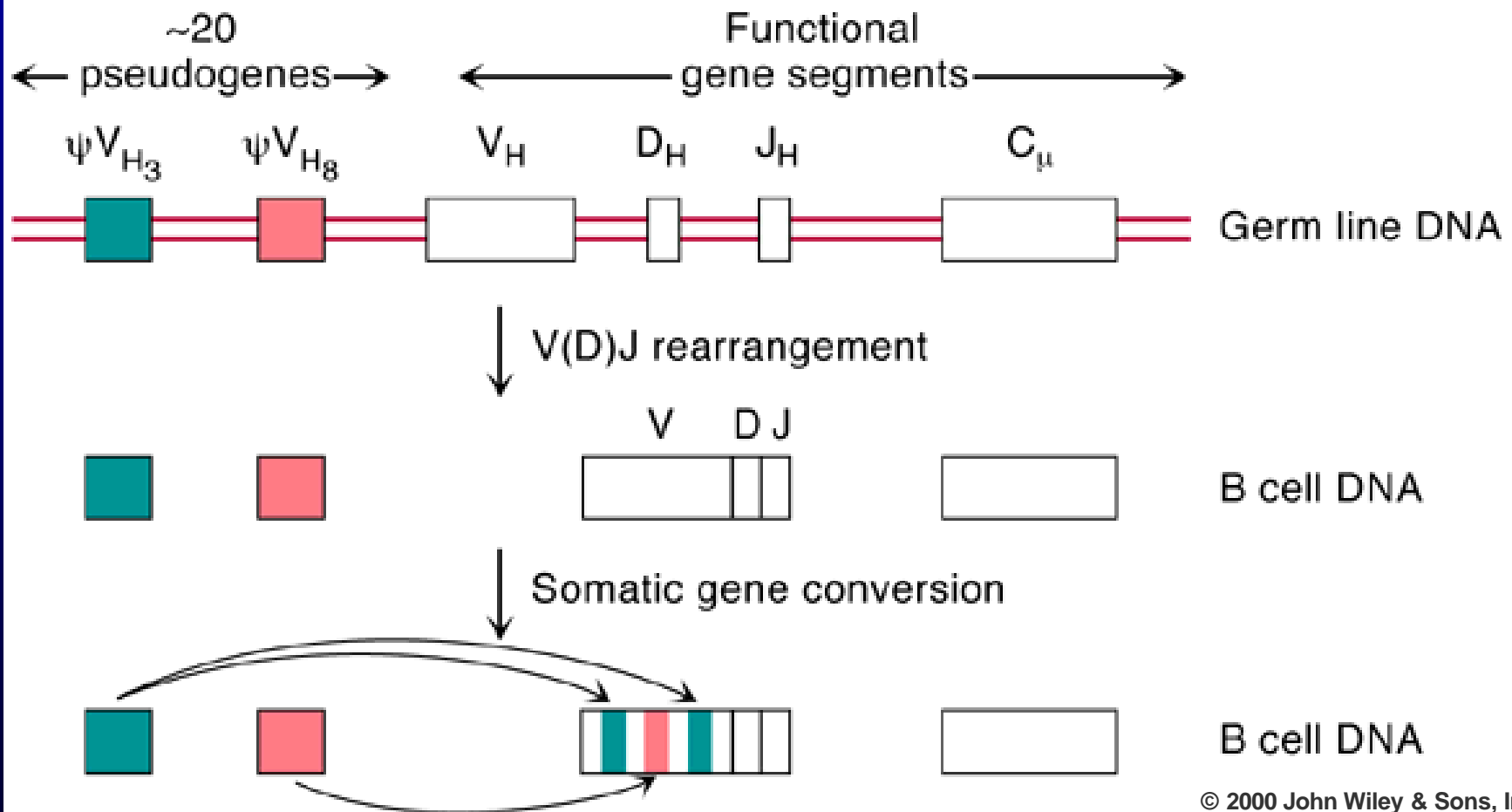
Réarrangements secondaires (1)



Réarrangements secondaires (2)



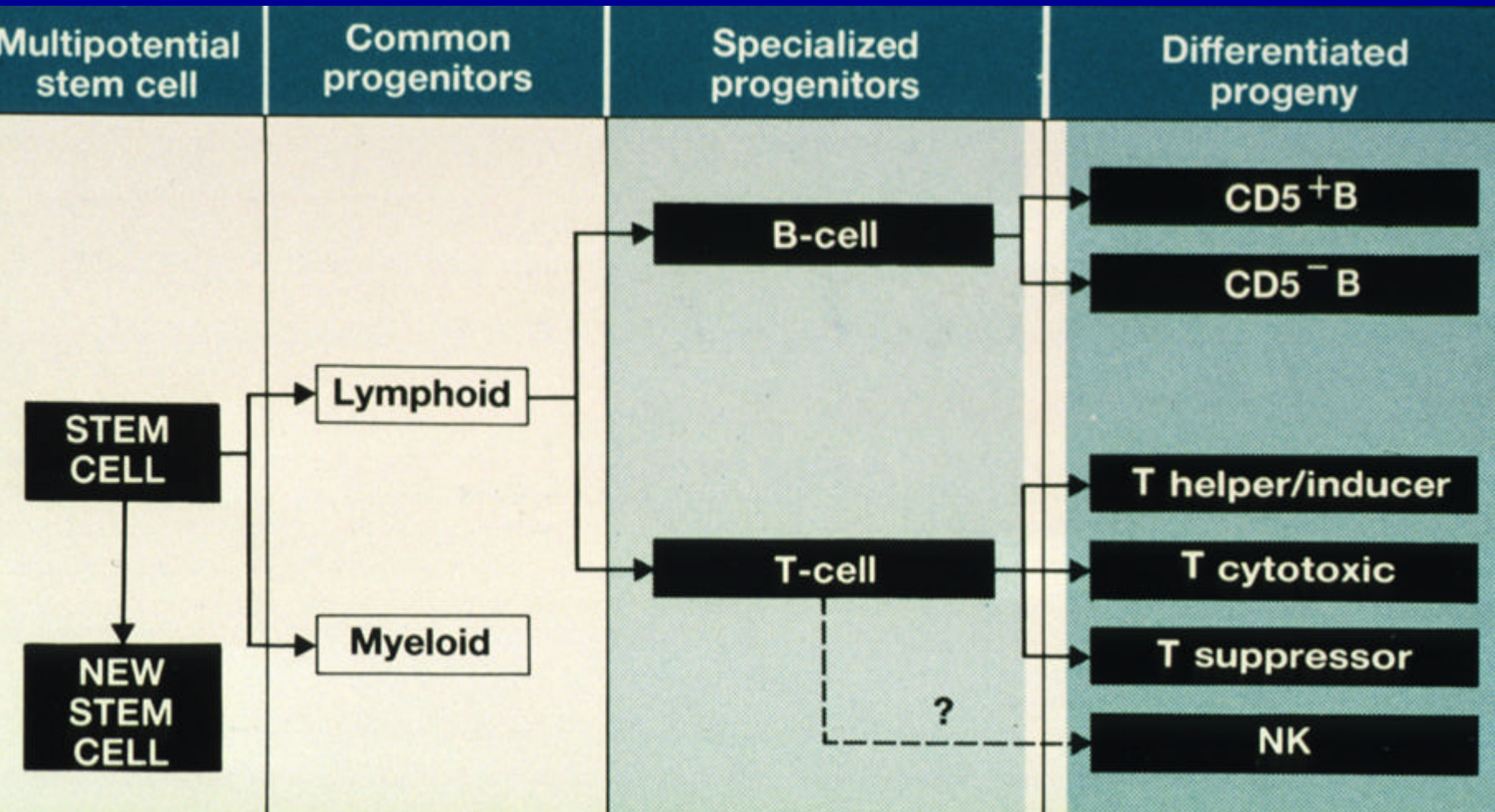
Conversion génique



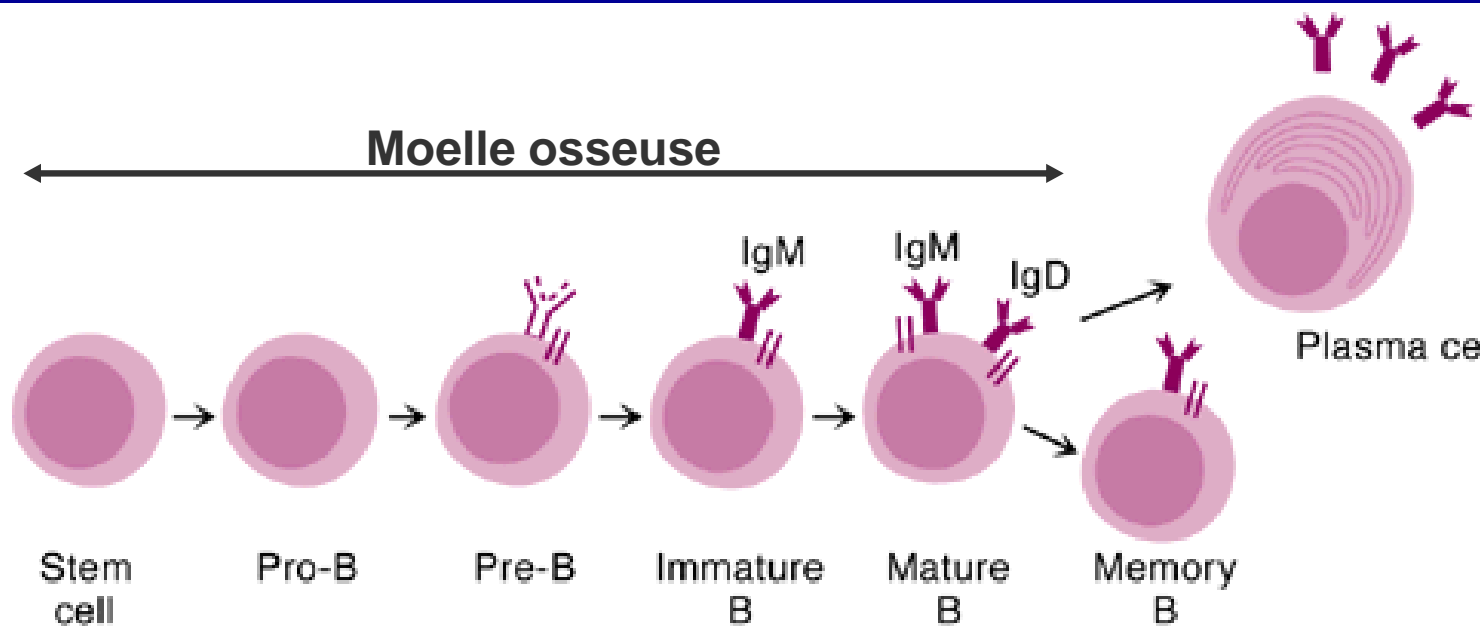
Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

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

La lignée lymphocytaire



Différenciation des lymphocytes B



Stem cell Pro-B Pre-B Immature B Mature B Memory B

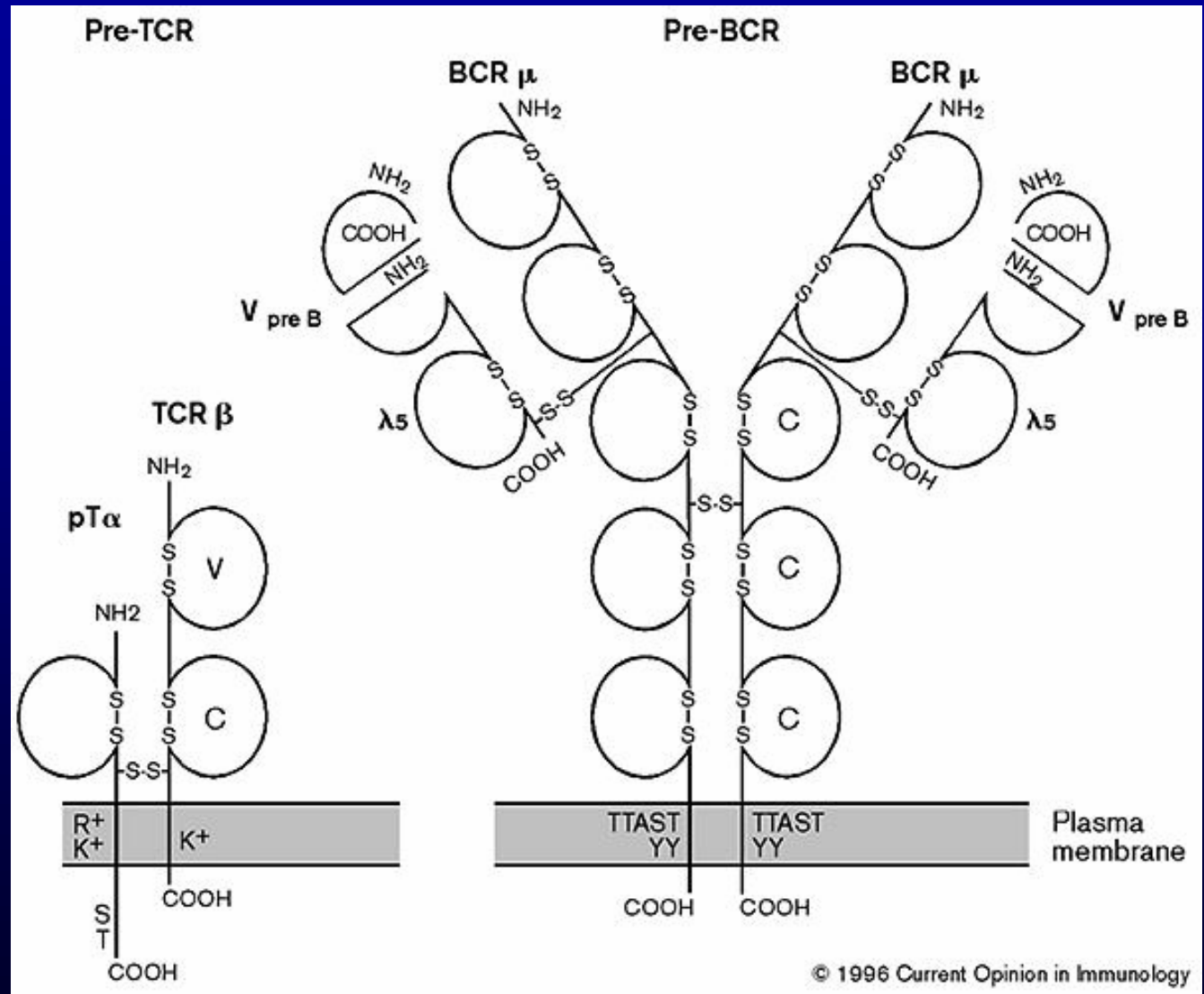
V(D)J gene rearrangement

— $D_H - J_H$ $V_H - D_H J_H$ V_L (κ or λ)

Membrane Ig expression

— — μ + surrogate light chains IgM IgM + IgD Isotype switch to IgG, IgA or IgE No membrane expression - secretes IgM, IgG, IgA or IgE

Caractérisation du pré-BCR

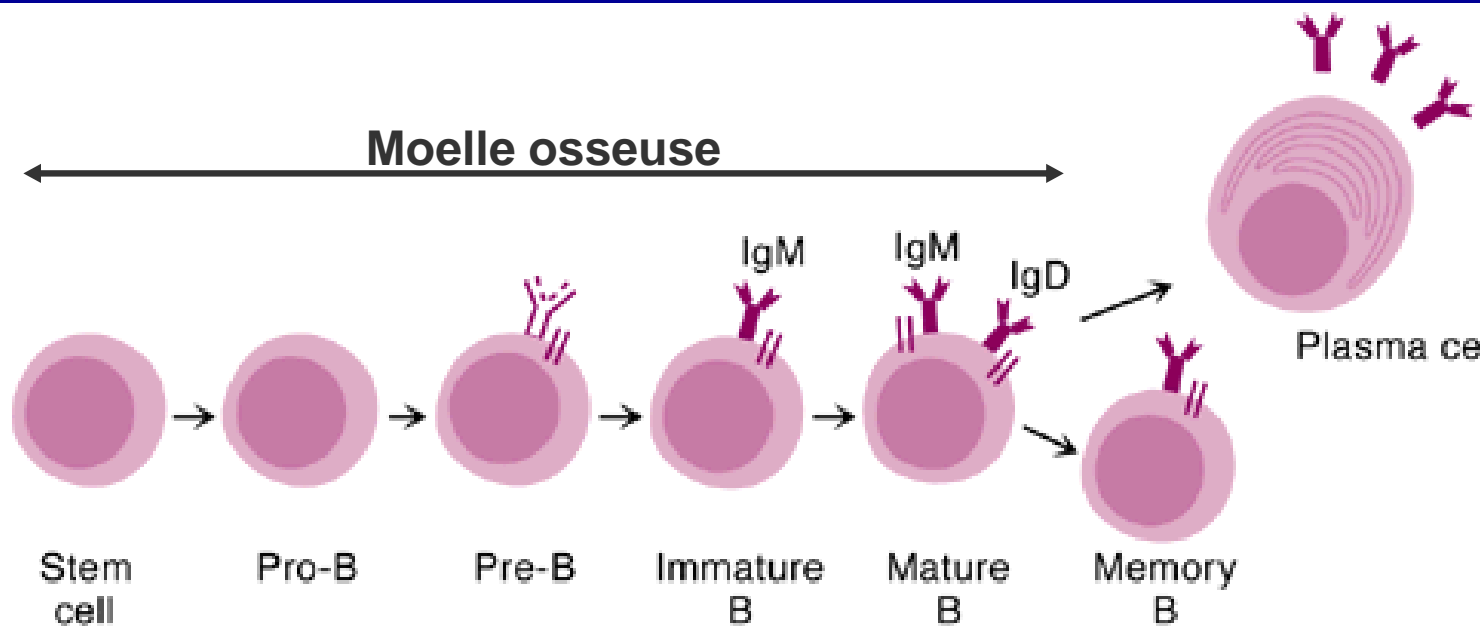


© 1996 Current Opinion in Immunology

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



Stem cell Pro-B Pre-B Immature B Mature B Memory B

V(D)J gene rearrangement

— $D_H - J_H$ $V_H - D_H J_H$ V_L (κ or λ)

Membrane Ig expression

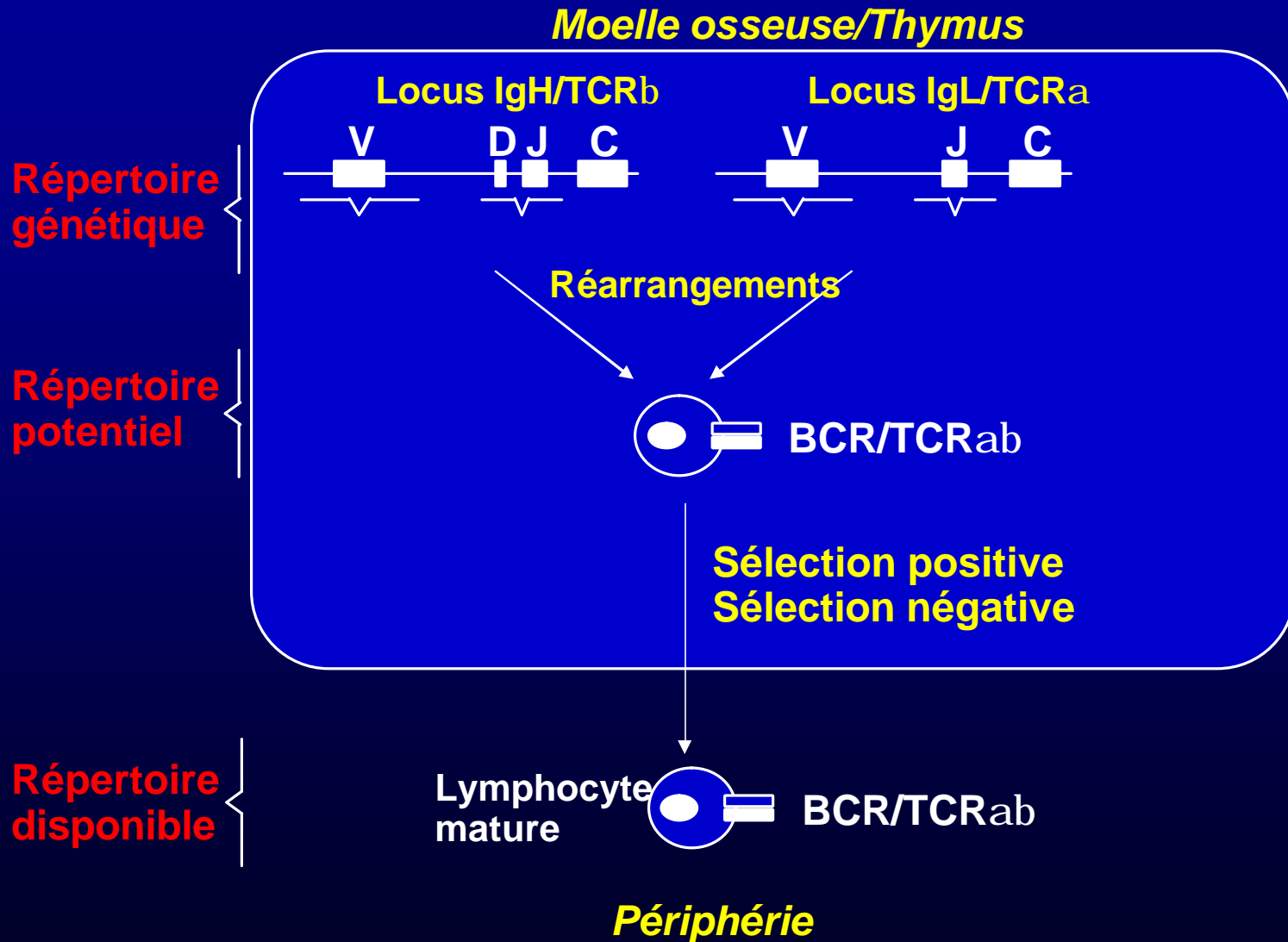
— — μ + surrogate light chains IgM IgM + IgD Isotype switch to IgG, IgA or IgE

No membrane expression - secretes IgM, IgG, IgA or IgE

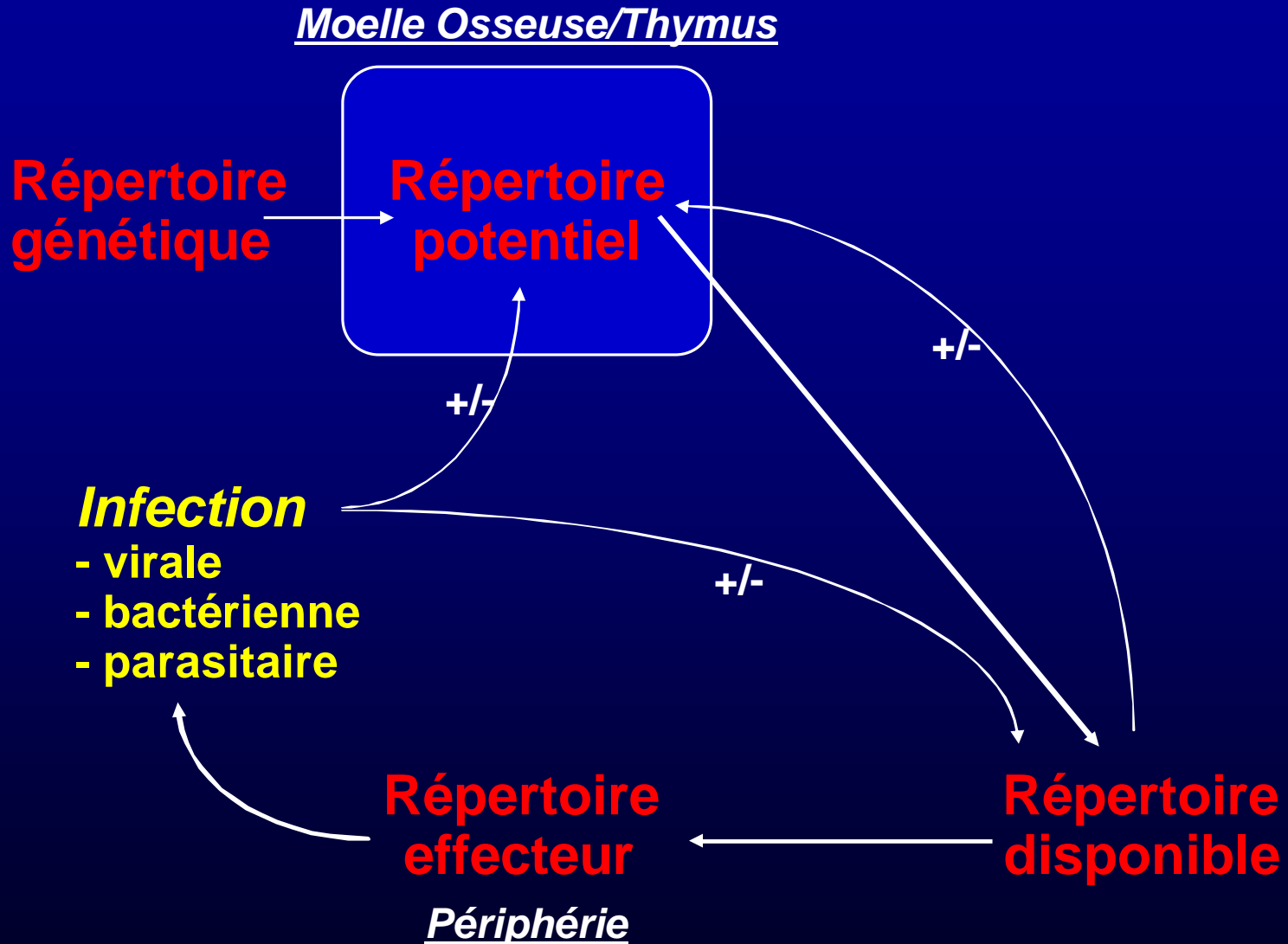
Génération de la diversité et différenciation des lymphocytes B

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

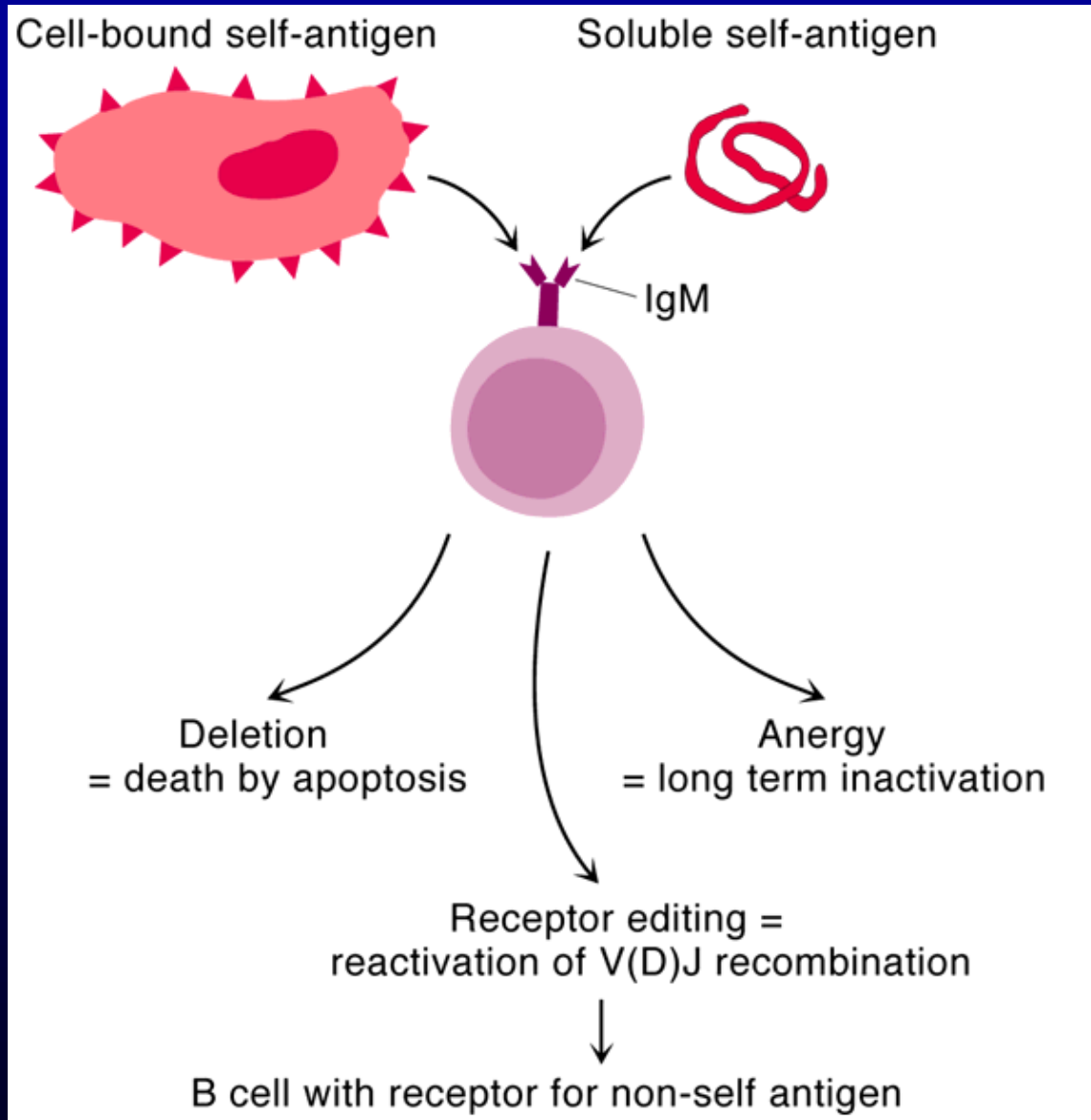
Notions de répertoires (1)



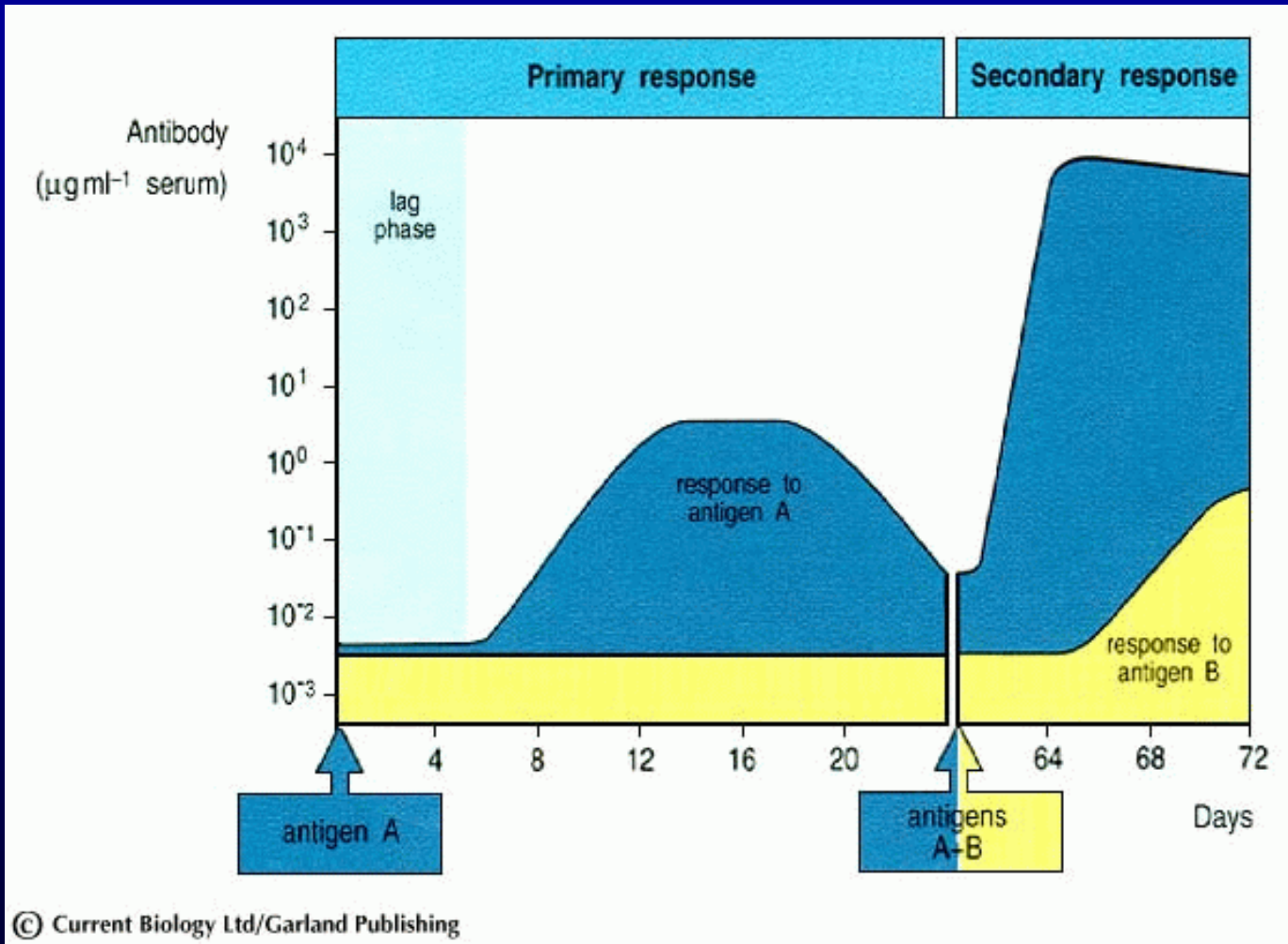
Notions de répertoires (2)



Sélection des lymphocytes B

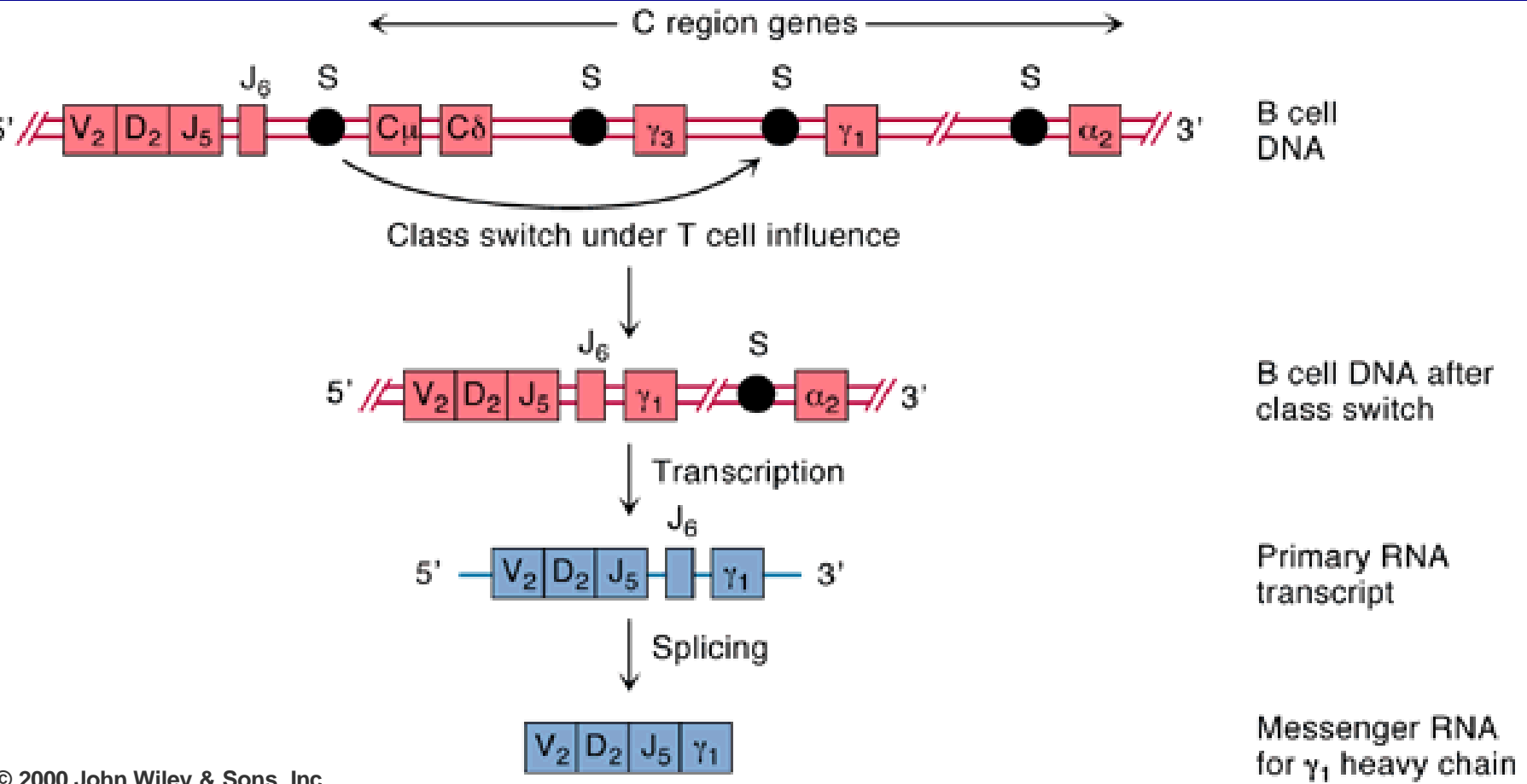


Mémoire immunologique

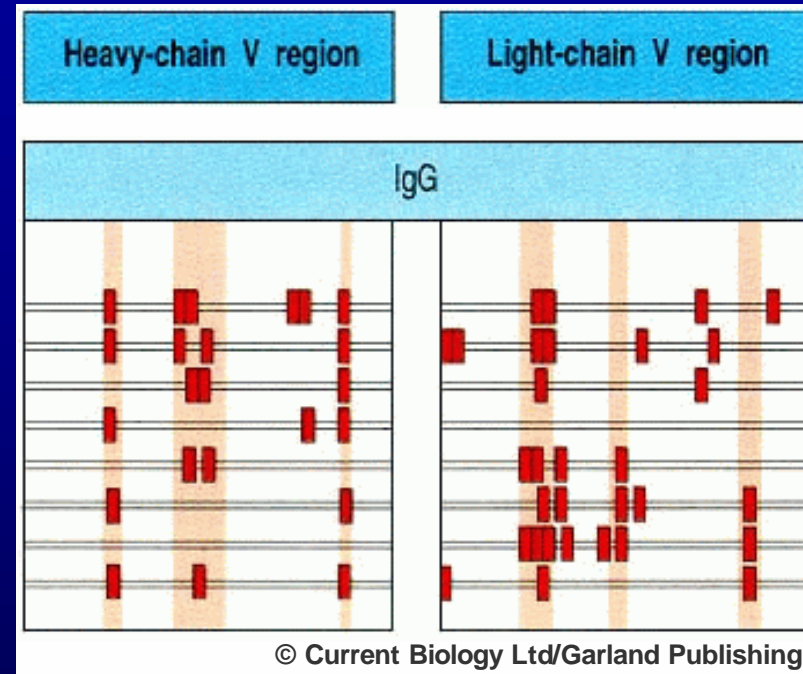
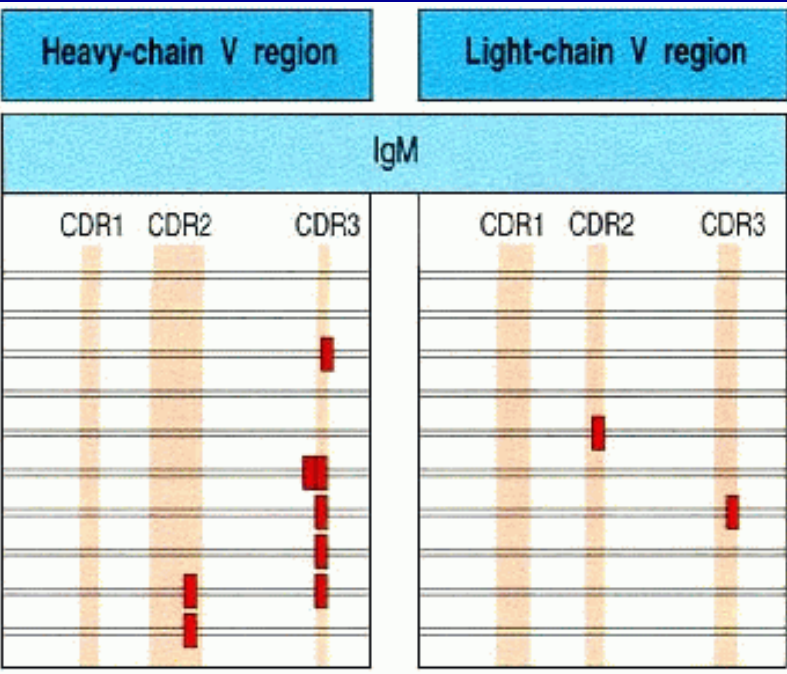


▲ *Principe de la vaccination*

La commutation isotypique



La maturation d'affinité



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

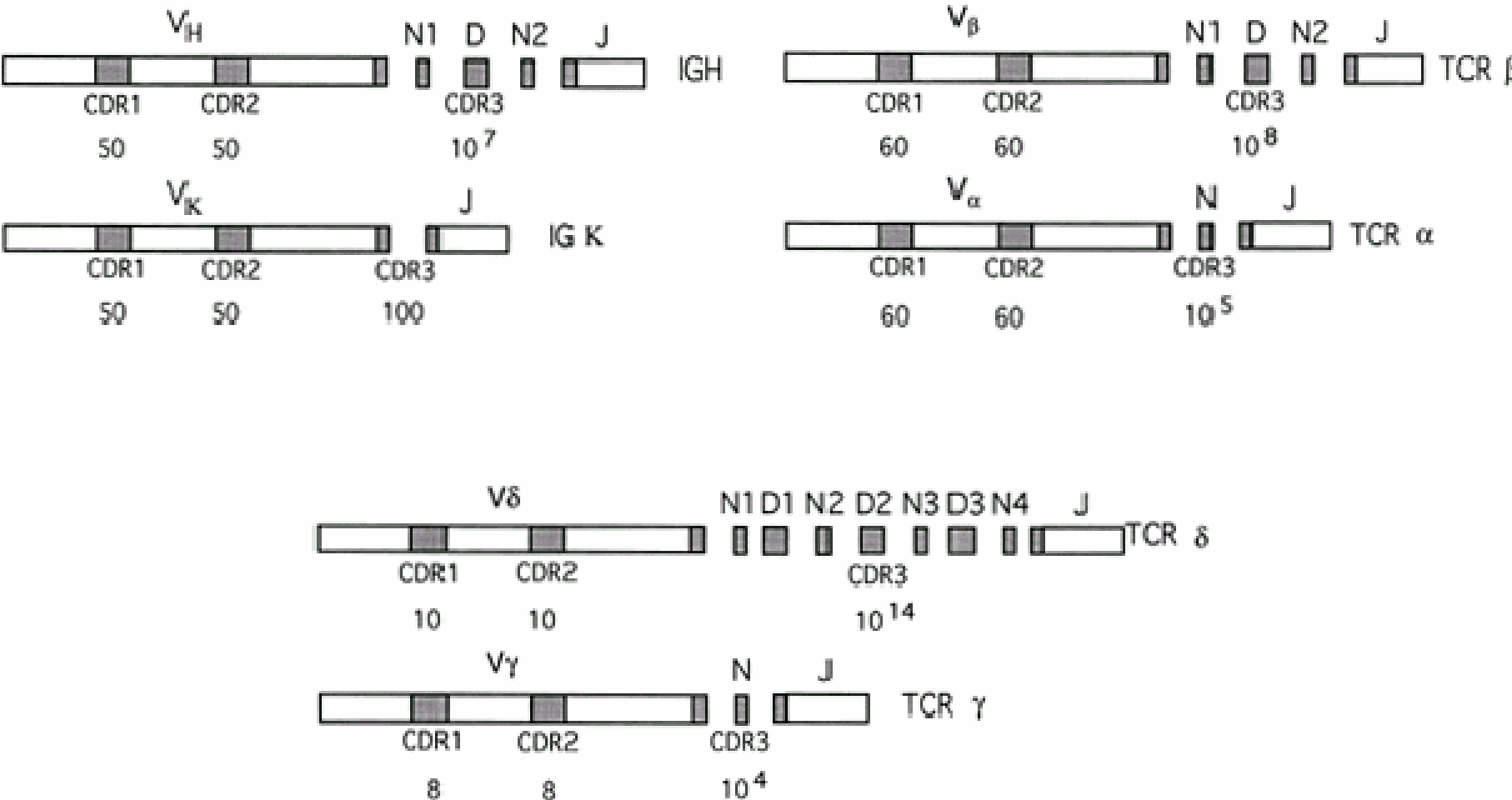


« Réponse secondaire »
7 jours après la 2^{ème}
immunisation au jour 1.

→ *Hypermutation somatique dans les centres germinatifs*

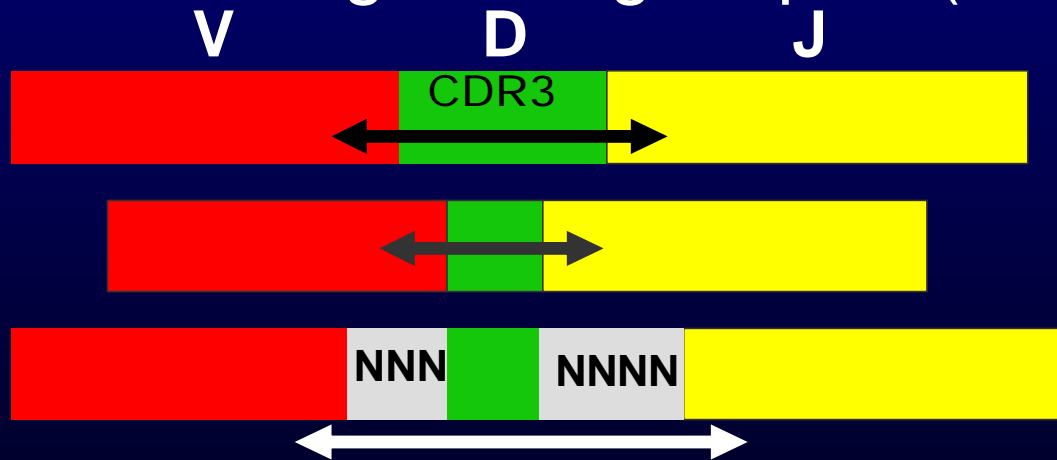
Conclusion

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



CDR3 → Contact avec l'antigène