

Évolution de la diversité des anticorps chez les vertébrés osseux

Thibaud Roman, Guillaume Lecointre, Jacques Charlemagne

La diversité des anticorps s'obtient chez les vertébrés osseux par différents mécanismes. On peut distinguer deux groupes d'espèces selon la modalité de production de diversité principalement mise en œuvre. Le premier, dans lequel la diversité est fondée essentiellement sur une combinatoire de segments génétiques, comprend l'homme, la souris, les amphibiens et les poissons à nageoires rayonnées. Dans le second groupe, cette modalité n'est que peu ou pas utilisée, mais l'une des modalités de diversité annexe de l'homme et de la souris

est prépondérante. Or ce groupe ne comprend que des animaux de boucherie. La phylogénie des vertébrés ne permettant pas de distinguer un tel groupe, nous avons été conduits à supposer que, chez ces animaux de boucherie, le système de diversité évoluait de façon indépendante. Nous avons fait l'hypothèse de travail selon laquelle cette situation est due à une sélection qui serait accompagnée d'une perte drastique de gènes VH et d'une déficience de diversité, secondairement compensée d'une manière ou d'une autre.

Une fonction du système immunitaire des vertébrés est d'assurer la protection de l'organisme contre de multiples agressions extérieures : molécules (venins, toxines), virus, bactéries, parasites. Parallèlement à l'apparition rapide, chez les bioagresseurs, de variants qui leur permettent d'échapper à la destruction par le système immunitaire, ce dernier a évolué vers une aptitude à reconnaître une large variété de structures moléculaires grâce à la production d'une diversité équivalente de récepteurs lymphocytaires. Il s'agit des anticorps, produits par les lymphocytes B (les immunoglobulines, Ig) et des récepteurs spécifiques des lymphocytes T (TCR). La capacité de chaque individu de produire un répertoire d'Ig/TCR potentiellement complet face à un univers antigénique en perpétuelle variation est en contradiction apparente avec le principe même de la stabilité du génome. Toutefois, chez les gnathostomes (les vertébrés à mâchoire), les

locus génétiques portant les gènes des Ig et des TCR ont une structure très particulière : ils ne constituent pas des unités de transcription directement fonctionnelles et subissent, exclusivement dans les cellules lymphoïdes, des remaniements structuraux appelés réarrangements. Alors que les modalités d'expression des gènes codant pour les TCR sont conservées chez tous les gnathostomes [1], celles des gènes codant pour les Ig sont très différentes d'une espèce à l'autre, à tel point qu'aucun scénario évolutif proposé à ce jour ne peut prendre en compte toutes ces différences.

En nous référant principalement aux données concernant la structure et l'expression des gènes codant pour les régions variables des chaînes lourdes (régions VH) des Ig chez différentes espèces d'ostéichthyens (vertébrés osseux), nous allons tenter de présenter un schéma évolutif cohérent qui rende compte de ces données en faisant le minimum d'hypothèses évolutives.

Nous utiliserons trois concepts hiérarchisés pour analyser les différents modes de production de diversité. Le « mécanisme » désignera une suite cohérente d'activités enzymatiques survenant au même moment. La « modalité » sera un ensemble plus ou moins complexe de mécanismes exploitant les particularités génétiques du locus pour produire de la diversité. Le « système » rassemblera l'ensemble de toutes les modalités utilisées pour produire la totalité de la diversité finale chez un animal.

Un domaine VH est codé par trois segments génétiques, VH, D (D, pour *diversity*) et JH (J, pour *joining*). Le nombre de chacun de ces segments est variable dans le génome (*voir plus loin*). De 5' en 3' du locus *Igh*, on trouve dans l'ordre l'ensemble des segments VH, puis D, JH et les gènes codant pour les différents domaines formant les régions CH (*figure 1*).

Un réarrangement consiste à joindre bout à bout un segment VH, un segment D et un segment JH, chacun pris au hasard. Cela conduit à l'élimi-

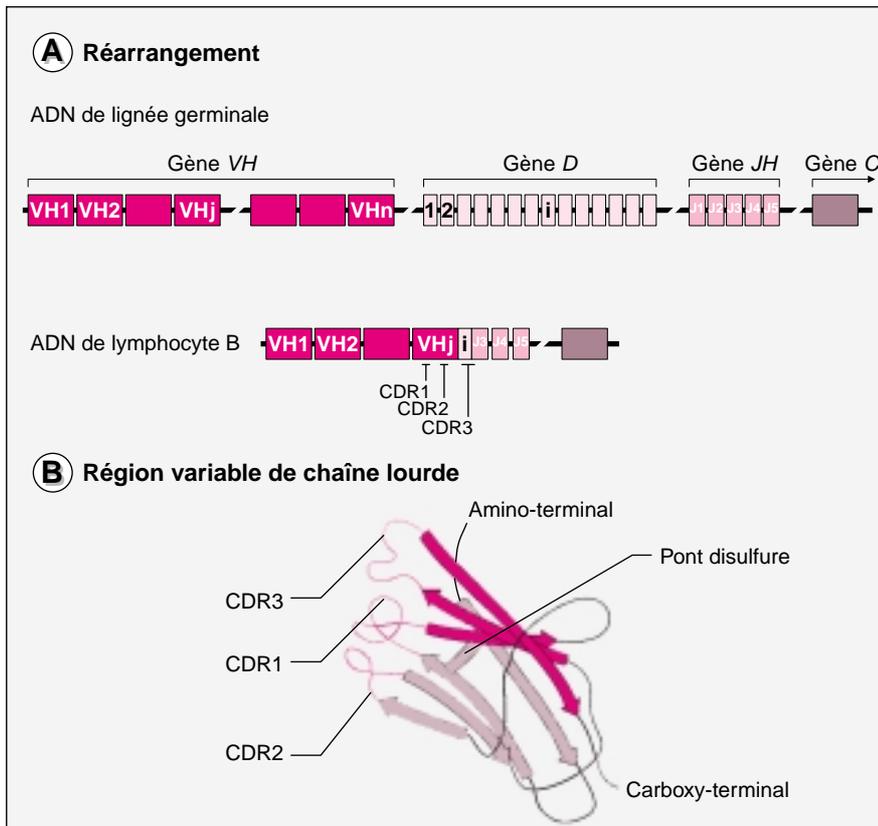


Figure 1. **Diversité de jonction.** **A.** Représentation schématique du réarrangement du locus IgH des lymphocytes B. **B.** Représentation tridimensionnelle schématisée d'une région variable de chaîne lourde d'immunoglobuline.

nation de la totalité de l'ADN qui sépare ces segments, y compris les segments VH, D et JH qu'il contient. L'ensemble VH-D-JH associé aux gènes codant pour les différents isotypes CH se comporte alors comme une unité de transcription classique. Les recombinaisons RAG1 et RAG2 sont nécessaires et suffisantes pour catalyser les réarrangements. Plusieurs mécanismes introduisent des modifications de séquence au moment des jonctions entre les segments VH, D et JH. La P-diversité (P pour palindromique) introduit de petites séquences palindromiques aux extrémités libres des brins d'ADN. Ces extrémités peuvent ensuite subir des délétions d'un nombre variable de nucléotides. Enfin, la désoxynucléotidyl-transférase terminale peut ajouter à ces extrémités, indépendamment de la matrice d'ADN, un nombre variable de nucléotides (N-diversité, N pour

l'un des 4 nucléotides, A, C, G ou T). La nature aléatoire de ces mécanismes produit une modalité de diversité, la diversité de jonction, qui joue un rôle important dans la diversité structurale de la région hypervariable CDR3 du domaine VH, dont le rôle est prépondérant dans la reconnaissance des antigènes (figure 1). Plusieurs modalités supplémentaires peuvent intervenir postérieurement aux réarrangements: des réarrangements secondaires, des conversions géniques et des hypermutations somatiques. Ainsi, le segment VH d'un ensemble VH-D-JH déjà réarrangé peut être remplacé par un autre VH issu du réservoir génomique [2]. La conversion génique peut conduire au remplacement d'un segment d'ADN d'un VH réarrangé par un segment de taille équivalente issu le plus souvent d'un pseudogène VH (Ψ VH) situé en amont [3]. Enfin, des mutations à

haute fréquence (hypermutations) peuvent affecter l'ADN lymphocytaire codant pour une région VH réarrangée.

Dans les territoires hématopoïétiques primaires de toutes les espèces de vertébrés se différencient des populations clonales de lymphocytes B dont les gènes codant pour les récepteurs Ig sont réarrangés. La différenciation des lymphocytes B et la mise en place du répertoire des Ig diffèrent ensuite très largement d'un groupe de vertébré à l'autre.

Les actinoptérygiens, les amphibiens et certains mammifères disposent d'un important répertoire germinale d'éléments V, D et J

Parmi les espèces de vertébrés osseux dont le répertoire des Ig a été étudié, l'homme, la souris, le xénope, l'axolotl, le poisson-chat et deux salmonidés, la truite et l'omble chevalier, disposent d'un réservoir conséquent de gènes VH. Ceux-ci peuvent être classés en familles (6 à 15 selon les espèces) d'après le pourcentage de similitude de leurs séquences nucléotidiques comparées deux à deux [4]. Le nombre des segments VH génomiques fonctionnels est estimé à environ 50 chez l'homme [5]. Il est probablement peu différent chez les autres espèces. Chaque famille VH se compose de un à plusieurs dizaines de membres. Chez toutes les espèces étudiées, on trouve toujours un nombre important de Ψ VH (jusqu'à 40 %). Dans ce même groupe d'espèces, on a pu détecter de 10 (truite) à 30 (homme) segments D et de 5 à 9 segments JH fonctionnels. La diversité des segments génétiques étant grande, les réarrangements permettent l'expression d'une très grande diversité de gènes fonctionnels (la diversité combinatoire) grâce à un mécanisme de combinaisons aléatoires [6]. Cette diversité est considérablement amplifiée par la diversité de jonction. Chez les actinoptérygiens et les amphibiens, il semble bien que l'essentiel de la diversité des anticorps soit fourni par la conjonction de ces deux modalités de diversité, directement liées aux réarrangements.

Des mutations somatiques peuvent intervenir, à la suite d'une stimulation par l'antigène, dans la région VH des chaînes H réarrangées du xénope, mais, contrairement aux mammifères, elles ne semblent pas jouer un rôle important dans la maturation de la réponse humorale, peut-être parce qu'il n'y a pas de centres germinatifs chez les amphibiens [7]. Une étape supplémentaire se déroule en effet dans les centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires des mammifères où, à la suite d'une rapide série de divisions, des mutations somatiques ponctuelles (hypermutations) s'accumulent rapidement dans les régions V des gènes d'Ig réarrangés. Les lymphocytes B qui expriment ces nouveaux récepteurs sont ensuite sélectionnés dans les centres germinatifs face à l'antigène qui a suscité leur première stimulation, ce qui conduit à l'émergence de clones ayant une meilleure affinité pour l'antigène (maturation des anticorps). Les souris dont le gène de la lymphotoxine a été invalidé ne développent pas de centres germinatifs, leur réponse immunitaire est alors proche de celle d'un xénope.

Certaines espèces disposent d'un répertoire limité de segments V, D et J

Le poulet

Le locus *Igh* du poulet contient un seul segment VH fonctionnel (VH1) situé en amont de 16 segments D (dont 15 sont presque identiques entre eux) et d'un seul segment JH. En 5' de VH1 se trouvent 80 à 100 gènes ΨVH, aucun n'étant capable de se réarranger, et qui comportent à leur extrémité 3' une séquence très semblable à celle d'un segment D et du début du JH. VH1 et les gènes ΨVH appartiennent à la même famille et ressemblent à la famille VH3 humaine [8].

Pendant la vie embryonnaire, un faible nombre de précurseurs B (2-3 x 10³ cellules) colonisent la bourse de Fabricius, un organe lymphoïde particulier aux oiseaux. La majorité d'entre eux ont déjà subi un réarran-

gement. Comme la désoxynucléotidyl-transférase terminale ne s'exprime pas chez l'embryon [9], ces réarrangements ne présentent pas de N-diversité. En revanche, la P-diversité est courante et la présence de 2, parfois 3, segments D à la suite dans un même réarrangement conduit à une importante diversité de taille et de structure de la région de jonction.

Ces précurseurs B expriment des Ig de surface et se multiplient rapidement dans la bourse où les ensembles VH1-D-JH réarrangés subissent de nombreuses conversions géniques à partir du *pool* de gènes ΨVH utilisés comme donneurs. Ces conversions concernent 10 à 120 paires de bases, parfois plus de 200, et peuvent s'étendre jusqu'au début du segment JH. Plusieurs conversions peuvent se succéder, elles sont favorisées par les similitudes de séquence entre les ΨVH donneurs et le gène VH1 accepteur et sont souvent accompagnées de mutations ponctuelles de part et d'autre des remplacements [10].

Le lapin

Le locus *Igh* du lapin contient une centaine de gènes VH (comprenant de nombreux ΨVH) qui appartiennent tous à la même famille, proche de la famille VH3 humaine [11]. Il existe 11 segments D et 5 des 6 JH génomiques sont fonctionnels. En pratique, un seul segment VH, 4 segments D et un seul segment JH sont impliqués dans 80 %-90 % des réarrangements, qui se produisent principalement avant la naissance, dans les progéniteurs B des organes lymphoïdes primaires (moelle osseuse, foie fœtal, épiploon). Le reste des réarrangements n'utilise que les gènes VH situés le plus en 3' du locus *Igh*. La diversité du répertoire primaire, due à la combinatoire des réarrangements, est donc très limitée pour CDR1 et CDR2, tandis que la diversité de jonction (même avant la naissance) permet une bonne diversité des boucles CDR3. Après la naissance, et pendant une période d'environ 3 mois, les précurseurs B migrent dans l'appendice, prolifèrent, et de nombreux événements de

conversion génique interviennent dans le locus *Igh*, qui font varier la structure du segment VH réarrangé à partir de gènes VH et ΨVH donneurs situés en 5'. Ces conversions sont accompagnées par des mutations somatiques indépendantes de la matrice ADN (délétions et insertions de codons *de novo*) qui concernent principalement la région CDR3.

Cette modalité par conversion génique se distingue quelque peu de celle du poulet. Tout d'abord, ce dernier ne possède que des ΨVH en amont de son seul VH fonctionnel. Ensuite, il n'a jamais été observé de séquences de type D ou JH fusionnées en 3' des segments VH du lapin. Enfin, le lapin conserve malgré tout une possibilité de diversité combinatoire, bien que limitée, qui est absente chez le poulet.

Le mouton et le bœuf

Il existe chez le mouton une vingtaine d'éléments génomiques VH qui appartiennent tous à la même famille, semblable à la famille VH4 de l'homme. D'autres gènes VH appartenant à des familles différentes seraient présents, mais jamais exprimés. Il existe plusieurs segments D et 6 segments JH, alors que seulement 2 segments JH sont utilisés, dont JH1 dans la majorité des réarrangements [10]. Une situation semblable existe chez le bœuf [12, 13].

Chez le mouton et le bœuf, les précurseurs lymphoïdes B réarrangent leurs gènes d'Ig dans les organes lymphoïdes primaires. A la fin de la vie fœtale, ils colonisent les plaques de Peyer de l'iléon et prolifèrent rapidement pendant une période qui se poursuit plusieurs mois après la naissance. Pendant cette phase de prolifération, le répertoire lymphocytaire B primaire est considérablement diversifié par l'accumulation de nombreuses hypermutations somatiques des gènes V réarrangés. Ces hypermutations, contrairement à celles qui se produisent chez l'homme ou chez la souris dans les centres germinatifs, sont indépendantes d'une stimulation antigénique [13, 14]. Après une phase de sélection, les lymphocytes B fonctionnels survivants possèdent des régions CDR1 et CDR2 largement

diversifiées, ce qui compense de manière efficace la pauvreté initiale du répertoire génomique des segments VH. Ils migrent ensuite vers la périphérie. Cette phase active de prolifération/hypermutation/sélection cesse quelques mois après la naissance, suite à l'involution des plaques de Peyer de l'iléon qui se comportent ainsi comme un organe lymphoïde primaire (équivalent de la bourse de Fabricius des oiseaux).

Le porc

Il n'existerait qu'une seule famille VH comprenant environ 20 éléments, proche de la famille VH3 humaine. Environ 10 segments D, mais un seul segment JH seraient utilisés [15]. La diversité des chaînes VH serait produite par des conversions géniques entre les éléments VH, et par hypermutation. La conversion génique et la N-diversité sont observées chez le nouveau-né et l'adulte, l'hypermutation est particulièrement intense chez l'adulte.

Évolution des modalités de production de la diversité

Seule la diversité de jonction met en œuvre des mécanismes originaux. L'activité transposase de RAG1 et RAG2, récemment démontrée [16], est, sur le plan biochimique, très proche de celle des transposons bactériens. Bien que les mécanismes qui permettent les hypermutations somatiques ne soient pas élucidés, ils pourraient être liés à la transcription et dérivés des mécanismes habituels de la réparation de l'ADN [17]. Les conversions géniques sont des phénomènes universels de recombinaison de l'ADN [18].

Si le nombre et la diversité structurale des segments génétiques VH, D et JH peuvent changer considérablement d'une espèce à l'autre, leur organisation en tandem semble commune à l'ensemble des ostéichthyens. Ils réarrangent tous leurs gènes d'Ig grâce aux mêmes enzymes, RAG1 et RAG2. Si les mutations somatiques qui modifient les régions VH ne sont efficaces que chez les amniotes, elles surviennent

également chez le xénope [19], et affectent aussi les régions variables des récepteurs NAR (*new antigen receptor*) des requins (chondrichthyens) [20]. Cette modalité de diversification du répertoire existait donc très probablement chez l'ancêtre des amniotes, et peut-être déjà chez l'ancêtre des gnathostomes (figure 2). La modalité exploitant les conversions géniques n'a été pour le moment démontrée que chez des amniotes. Sa mise en évidence nécessite en effet une somme d'informations sur la structure des locus *Ig* qui n'est pas encore disponible chez les autres espèces. L'ancêtre des amniotes devait donc également posséder cette modalité.

La grande diversité qualitative et quantitative des répertoires VH génomiques des actinoptérygiens, des amphibiens et de certains mammifères (homme, souris) permet aux réarrangements et à la diversité de jonction qui leur est associée de jouer un rôle prépondérant dans la diversification somatique du répertoire des Ig chez ces espèces. Le fait que cette modalité mette en jeu de

nombreux gènes et qu'elle soit très semblable dans ces trois groupes suggère fortement qu'elle ne soit apparue qu'une seule fois au cours de l'évolution, et qu'elle existait déjà comme principale stratégie de diversification des anticorps chez leur ancêtre ostéichthyen [21].

Toutes les espèces produisant l'essentiel de leur diversité à partir d'une modalité alternative disposent d'un nombre restreint de segments VH génomiques: un seul segment VH fonctionnel chez le poulet ou quelques segments VH appartenant toujours à une même famille chez les autres espèces. Cette faible potentialité génétique ne diminue que l'efficacité de la diversité combinatoire. La diversité de jonction et l'hypermutation sont indépendantes de la diversité des segments VH. Quant à la conversion génique, elle est favorisée par des similitudes de séquence et défavorisée par des divergences importantes.

Ces systèmes de diversité décrits chez le poulet, le lapin, le mouton, le bœuf et le porc peuvent être vus comme des régressions de la moda-

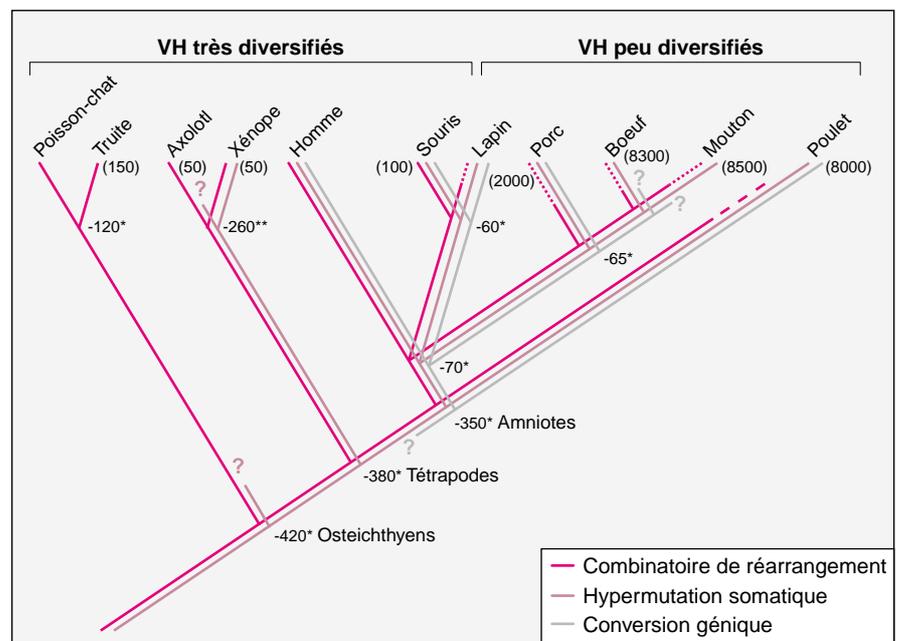


Figure 2. **Phylogénie des espèces dont le système de production de diversité des anticorps est connu.** Chiffres entre parenthèses : années de domestication (d'après [31]). Chiffres suivis d'astérisque : millions d'années de divergence. * (d'après [32]) ; ** (d'après [33]).

lité principale ancestrale compensée par la surexploitation d'autres sources de diversité (conversion génique ou hypermutation somatique), existant déjà de façon marginale chez l'ancêtre ostéichthyen ou développées à partir de mécanismes universels. Ces systèmes alternatifs seraient donc apparus de manière indépendante chez des vertébrés qui disposaient d'un système ancestral de diversification pourtant performant. Cela concerne toujours des espèces qui sont domestiquées depuis quelques milliers d'années. Elles ont subi, sur un grand nombre de générations, une sélection artificielle inévitable, portant sur un ensemble de particularités phénotypiques : croissance, fécondité, qualités bouchères, résistance aux maladies, qui représentent une association complexe d'interactions physiologiques.

Le scénario le plus simple consiste à supposer que, pour une raison inconnue, cette sélection entraîne la délétion d'une majorité des gènes VH. Dans ces conditions, l'hypermutation deviendrait la seule modalité efficace de diversification. Des souris transgéniques pour un gène codant pour la chaîne légère d'un anticorps spécifique peuvent modifier, par hypermutation, la séquence du transgène et la spécificité de l'anticorps produit [22]. Secondairement surviendraient des duplications rapides du (ou des) gène(s) VH persistant(s), puis une restructuration et une réorganisation des différents mécanismes fondamentaux produisant la diversité des anticorps, valorisant une modalité utilisée de manière marginale chez l'ancêtre sauvage de chacune de ces espèces. Ce n'est pas toujours la même famille VH qui persiste. Cette différence pourrait résulter de l'organisation initiale de la région VH des locus *Igh* chez les espèces sauvages d'origine.

Les systèmes du porc, du lapin et du poulet chez lesquels seul VH3 s'exprime sont différents entre eux et différents du système utilisé par des ruminants qui n'exploite que VH4. La perte des nombreux VH ancestraux est donc survenue indépendamment dans ces différentes lignées (figure 2).

Ce scénario suppose que les systèmes du bœuf et du mouton, bien que très semblables, résultent d'évolutions indépendantes. Leurs ressemblances ne seraient pas héritées d'un système ancestral commun, mais d'une convergence fortuite. Cependant, deux remarques rendent une telle convergence plausible. D'une part, les modalités alternatives de diversité disponibles sont peu nombreuses et il existe peu de façons différentes de les combiner pour former un système de diversification efficace, donc la probabilité d'obtenir par hasard deux systèmes identiques n'est pas négligeable. D'autre part, ces deux espèces ont une écologie et une physiologie proche et elles ont pu réagir aux mêmes contraintes de façon semblable.

L'âge de ces cinq domestications étant très court comparativement au temps de divergence des espèces sauvages d'origine (300-8 500 ans contre 70-350 millions d'années), l'hypothèse d'une sélection artificielle insistante est indispensable pour envisager en un temps aussi bref la succession d'événements improbables. Cette sélection intuitive, empirique, certainement très confuse, était propice aux artéfacts et a conduit à la perte d'une partie du système de diversification ancestral puis à la restauration d'un système efficace original. La simple domestication ne serait pas suffisante.

Nous avons remarqué à propos de ces cinq espèces que les séquences introoniques qui encadrent les segments VH sont remarquablement conservées, même entre des pseudogènes et des gènes fonctionnels [13, 23-30]. Cette observation plaide en faveur d'une origine des différents gènes ou pseudogènes VH très récente par rapport au temps de divergence de chacune de ces espèces.

Cette hypothèse présente l'avantage d'expliquer simplement une situation complexe, difficilement concevable sur les bases d'une évolution naturelle des divers mécanismes permettant la diversité des anticorps. Elle peut être testée en analysant de façon non biaisée l'organisation et l'expression des locus *Igh* des espèces sauvages les plus proches des espèces domestiquées ■

RÉFÉRENCES

1. Charlemagne J, Fellah JS, De Guerra A, Kerfourn F, Partula S. T-cell receptors in ectothermic vertebrates. *Immunol Rev* 1998; 166: 87-102.
2. Papavasiliou F, Casellas R, Suh H, et al. V(D)J recombination in mature B cells: a mechanism for altering antibody responses. *Science* 1997; 278: 298-301.
3. Selsing E, Xu B, Sigurdardottir D. Gene conversion and homologous recombination in murine B cells. *Semin Immunol* 1996; 8: 151-8.
4. Brodeur P H, Riblet R. The immunoglobulin heavy chain variable region (*Igh-V*) locus in the mouse. I. 100 *Igh-V* genes comprise 7 families of homologous genes. *Eur J Immunol* 1984; 14: 922-30.
5. Giudicelli V, Chaume D, Bodmer J, et al. IMGT, the international ImMunoGeneTics database. *Nucleic Acids Res* 1997; 25: 206-11.
6. Roitt IM, Brostoff J, Male D K. *Immunologie*. 3^e ed. Traduction de J.P. Revillard et W.H. Fridman. Bruxelles: De Boeck-Wesmael SA, 1994; 540 p.
7. Wilson M, Hsu E, Marcuz A, Courtet M, Du Pasquier L, Steinberg C. What limits affinity maturation of antibodies in *Xenopus* - the rate of somatic mutation or the ability to select mutants? *EMBO J* 1992; 11: 4337-47.
8. Parvari R, Avivi A, Lentner F, et al. Chicken immunoglobulin g-heavy chains: limited VH gene repertoire, combinatorial diversification by D gene segments and evolution of the heavy chain locus. *EMBO J* 1988; 7: 739-44.
9. Yang B, Gathy KN, Coleman MS. T-cell specific avian TdT: characterization of the cDNA and recombinant enzyme. *Nucleic Acids Res* 1995; 23: 2041-8.
10. Weill JC, Reynaud CA. Generation of diversity by post-rearrangement diversification mechanisms: the chicken and the sheep antibody repertoires. In: Honjo T, Alt FW, eds. *Immunoglobulin genes*, 2^e ed. London: Academic Press, 1995: 267-88.
11. Gallarda JL, Gleason KS, Knight KL. Organization of rabbit immunoglobulin genes I. Structure and multiplicity of germ-line VH genes. *J Immunol* 1985; 135: 4222-8.
12. Sinclair M C, Gilchrist J, Aitken R. Bovine IgG repertoire is dominated by a single diversified VH gene family. *J Immunol* 1997; 159: 3883-9.
13. Lopez O, Perez C, Wylie D. A single VH family and long CDR3s are the targets for hypermutation in bovine immunoglobulin heavy chains. *Immunol Rev* 1998; 162: 55-66.
14. Reynaud CA, Garcia C, Hein WR, Weill JC. Hypermutation generating the sheep immunoglobulin repertoire is an antigen-independent process. *Cell* 1995; 80: 115-25.

RÉFÉRENCES

15. Butler JE, Sun J, Navarro P. The swine Ig heavy chain locus has a single JH and no identifiable IgD. *Int Immunol* 1996; 8: 1897-904.
16. Ramsden DA, van Gent DC, Gellert M. Specificity in V(D)J recombination: new lessons from biochemistry and genetics. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 114-20.
17. Wiesendanger M, Scharff MD, Edelman W. Somatic hypermutation, transcription, and DNA mismatch repair. *Cell* 1998; 94: 415-8.
18. Haber JE. DNA recombination: the replication connection. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 271-5.
19. Hsu E. Mutation, selection, and memory in B lymphocytes of exothermic vertebrates. *Immunol Rev* 1998; 162: 25-36.
20. Diaz M, Greenberg AS, Flajnik MF. Somatic hypermutation of the new antigen receptor gene (NAR) in the nurse shark does not generate the repertoire: possible role in antigen-driven reactions in the absence of germinal centers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14343-8.
21. Sitnikova T, Su C. Coevolution of immunoglobulin heavy- and light-chain variable region gene families. *Mol Biol Evol* 1998; 15: 617-25.
22. Betz AG, Rada C, Pannell R, Milstein C, Neuberger MS. Passenger transgenes reveal intrinsic specificity of the antibody hypermutation mechanism: clustering, polarity, and specific hot spots. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2385-8.
23. McCormack WT, Laster SM, Marzluff WF, Roux KH. Dynamic gene interactions in the evolution of rabbit VH genes: a four codon duplication and block homologies provide evidence for intergenic exchange. *Nucleic Acids Res* 1985; 13: 7041-54.
24. Bernstein KE, Alexander CB, Mage RG. Germline VH genes in an a3 rabbit not typical of any one VH_a allotype. *J Immunol* 1985; 134: 3480-8.
25. Reynaud CA, Dahan A, Anquez V, Weill JC. Somatic hyperconversion diversifies the single VH gene of the Chicken with a high incidence in the D region. *Cell* 1989; 59: 171-83.
26. Knight KL, Becker RS. Molecular basis of the allelic inheritance of rabbit immunoglobulin VH allotypes: implications for the generation of antibody diversity. *Cell* 1990; 60: 963-70.
27. Friedman ML, Tunyaplin C, Zhai SK, Knight KL. Neonatal VH, D and JH gene usage in rabbit B lineage cells. *J Immunol* 1994; 152: 632-41.
28. Sun J, Kacs Kovics I, Brown WR, Butler JE. Expressed Swine VH genes belong to a small VH gene family homologous to human VHIII. *J Immunol* 1994; 153: 5618-27.
29. Sun J, Butler JE. Molecular characterization of VDJ transcripts from a newborn piglet. *Immunology* 1996; 88: 331-9.
30. Dufour V, Malinge S, Nau F. The sheep Ig variable region repertoire consists of a single VH family. *J Immunol* 1996; 156: 2163-70.
31. Digard JP. *L'homme et les animaux domestiques*. Collection Le temps des Sciences. Paris: Fayard, 1990.
32. Benton M. *Vertebrate palaeontology*, 2^e ed. New York: Chapman and Hall, 1997; 452 p.
33. Feller AE, Hedges SB. Molecular evidence for the early history of living amphibians. *Mol Phyl Evol* 1998; 9: 509-16.

Thibaud Roman

UMR BIPAR INRA-AFSSA-ENVA, AFSSA Alfort, 22, rue Pierre-Curie, BP 67, 94703 Maisons-Alfort Cedex, France.

Adresse actuelle: Préfecture de la Sarthe, Direction des Services Vétérinaires, 37, rue de Bellevue, 72016 Le Mans Cedex 2, France.

Guillaume Lecointre

Laboratoire d'ichtyologie générale et appliquée et Service de systématique moléculaire, IFR Cnrs 1541, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, France.

Jacques Charlemagne

Équipe Immunologie Comparée, Biologie cellulaire et moléculaire du développement, UMR 7622 Cnrs, Université Pierre-et-Marie-Curie, 9, quai Saint-Bernard, Boîte 29, 75252 Paris Cedex 05, France.

Summary

Evolution of antibody diversity in bony vertebrates

This paper is a rapid description of the different systems which, in osteichthyan vertebrates, led to antibody diversity. Two major groups can therefore be distinguished. In the first one, diversity is mainly obtained by the combinatorial recombination of a large number of the genomic DNA segments that encode the V, (D) and J regions of variable domains of immunoglobulin (Ig) chains. This group includes man, mouse, amphibians and actinopterygians. In the second group, combinatorial diversity cannot operate efficiently, due to the loss of the majority of the genomic V segments. Diversity is thus obtained by alternative strategies, like gene conversion or somatic hypermutation that, to a lesser extent, also operate in the first group. This second group includes chicken, rabbit, sheep, ox and pig. These two groups obviously have nothing to do with phylogeny. The phylogenetic disparity of the second group suggests that their immunity systems evolved independently in each domesticated species. As a working hypothesis, we propose that the situation of the second group could be a side effect of artificial selection. All these species are domesticated farm animals which have been selected to improve some phenotypic characters. A possible effect of this selection would be a drastic loss of V genes. This loss of combinatorial diversity was then compensated by alternative strategies of antibody diversification. This hypothesis may help to elucidate a complex situation and could easily be tested by analyzing the Ig repertoires in the wild and comparing them to the ones found in species of the second group.

TIRÉS À PART

T. Roman.