

## Réarrangements successifs d'un même gène d'immunoglobuline

La production d'une molécule d'immunoglobuline fonctionnelle exige la recombinaison préalable au cours de la différenciation B lymphocytaire de plusieurs segments génétiques dont trois composent le domaine « variable » spécifique de l'antigène : il s'agit dans le cas des chaînes lourdes des segments  $V_h$ , D et  $J_h$ . Chez la souris, on trouve dans les cellules non lymphocytaires (gènes en configuration germinale) environ 200 segments  $V_h$  suivis à une distance inconnue de 12 segments D situés immédiatement en amont (c'est-à-dire du côté 5') de 4 segments  $J_h$ . Exactement comme cela a été récem-

ment rapporté par Marie et Bernard Malissen dans *m/s* à propos du récepteur des lymphocytes T [1], les signaux de recombinaison entre ces segments sont des heptamères palindromiques (c'est-à-dire des séquences de 7 nucléotides qui, dans le sens 5' 3', sont semblables sur les deux brins d'ADN) identiques à ou s'écartant peu de la séquence 5' — CACTGTG — 3', séparés d'un nonamère riche en A (acides adényliques) et T (acides thymidiliques) par des espaceurs (« spacers », en anglais) de 12 ou 23 nucléotides. Seules les extrémités des segments ayant un espaceur de 23 nucléotides et l'autre

de 12 nucléotides peuvent se recombinaison (loi « 12/23 »). On savait ainsi depuis plusieurs années qu'au cours de la différenciation des lymphocytes B, le premier événement était un réarrangement associant un fragment D à un fragment  $J_h$ , suivi de la jonction d'un fragment  $V_h$  à ce bloc D  $J_h$  (figure 1). Ces recombinaisons se font très probablement par appariement entre un « signal 12 » d'un segment D et un « signal 23 » d'un segment  $J_h$  pour la première étape, puis d'un segment  $V_h$  pour la seconde. Les jonctions D-J et V-D ne se font pas parfaitement et on trouve à leur niveau des nucléo-

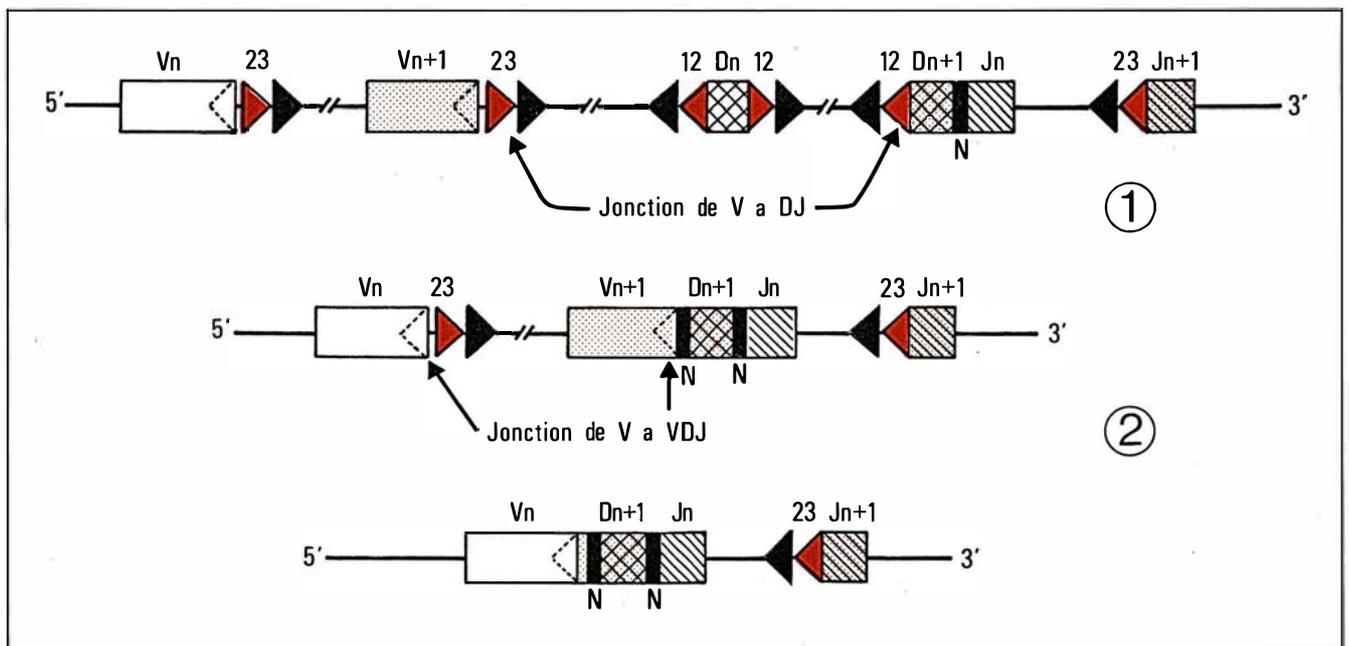


Figure 1. **Les triangles représentent les signaux de recombinaison** : heptamère (triangle rouge), espaceur de 12 ou 33 nucléotides indiqué au-dessus de la figure et nonamère (triangle noir). Le triangle pointillé situé à l'intérieur des segments  $V_h$  indique la présence de « l'heptamère isolé » intervenant dans les recombinaisons  $V \rightarrow VDJ$ . Les rectangles noirs N représentent les zones de nucléotides modifiés situées entre les segments V, D et J recombinés. Étape 1 : Après une recombinaison DJ ( $D_{n+1}$  joint à  $J_n$ ), le segment  $V_{n+1}$  est recombinaison avec ce bloc. Étape 2 : Le segment  $V_n$  se recombinaison avec le bloc ( $V_{n+1} - D_{n+1} - J_n$ ) grâce à l'appariement entre son « signal 23 » et l'heptamère en 3' du segment  $V_{n+1}$ . Dans le nouveau bloc ( $V_n - D_{n+1} - J_n$ ), quelques nucléotides de  $V_{n+1}$  persistent (rectangle rose).

tides modifiés, rajoutés ou délévés, formant les zones N. La variabilité de ces zones N accroît la diversité des régions des immunoglobulines qui sont le support de leur spécificité d'anticorps, mais aboutit aussi à de fréquents réarrangements non fonctionnels qui sont le plus souvent dus à des décalages de phase de lecture (*frameshift* — *lexique m/s*, n° 2 vol. 2, p. 276). On pensait jusqu'alors que de tels réarrangements non fonctionnels étaient définitifs ; la chronologie supposée de ces phénomènes était la suivante : un premier réarrangement survient sur l'un des chromosomes d'une paire ; s'il est fonctionnel, il aboutit à un clone possédant des gènes réarrangés sur un chromosome et en « configuration, germinale » sur l'autre ; si le premier réarrangement est non fonctionnel, un « nouvel essai » est tenté sur le deuxième chromosome ; si cet essai réussit, le clone résultant aura un réarrangement fonctionnel sur un chromosome et non fonctionnel sur l'autre ; s'il échoue, la cellule sera éliminée. Une telle succession d'événements explique bien le phénomène d'exclusion allélique des cellules immunologiquement compétentes, leurs immunoglobulines (ou leurs récepteurs T) n'étant codées que par un seul des chromosomes d'une paire.

Ce que vient de démontrer une équipe allemande [2], c'est qu'un premier réarrangement non fonctionnel n'est pas définitif. Une recombinaison d'un nouveau segment  $V_h$  avec un bloc VDJ déjà constitué est possible, aboutissant au remplacement du segment  $V_h$  antérieurement réarrangé (voir *figure 1*). Il semble que ce phénomène soit rendu possible par l'existence, à l'extrémité 3' des segments  $V_h$ , d'un équivalent des heptamères des signaux de recombinaison « 12 et 23 ». La recombinaison se ferait donc par appariement entre « le signal 23 » du nouveau segment  $V_h$  et l'hep-

tamère persistant en 3' du segment  $V_h$  déjà réarrangé. La nouvelle jonction VDJ laisse persister quelques nucléotides appartenant à l'ancien segment  $V_h$ , constituant ainsi une nouvelle zone N qui peut rétablir une phase correcte de lecture du messenger issu de ce gène, et donc rétablir sa fonction.

Deux autres équipes, américaines celles-là, ont étendu cette possibilité de réarrangements VDJ successifs à des gènes fonctionnels [3]. Une telle possibilité est de nature à accroître le répertoire possible des anticorps. Il semble, en effet, que l'un des mécanismes expliquant la recombinaison des gènes d'immunoglobuline soit l'augmentation de l'accessibilité à une enzyme, la « recombinaise », des segments génétiques situés à proximité d'un « enhancer » d'immunoglobuline activé par des facteurs diffusibles synthétisés au début de la différenciation lymphocytaire B (*Lexique m/s*, n° 1 vol. 1, p. 442). Cette augmentation d'accessibilité pourrait être liée à une modification de la structure chromatiniennne autour d'un gène dont la transcription est stimulée (*lexique m/s*, n° 1, vol 1, 334). Or, après un réarrangement D-J, le « enhancer » situé dans l'intron entre D-J et les segments codant pour les parties constantes, stimule principalement la transcription, et donc le réarrangement des segments  $V_h$  qui sont les plus proches, c'est-à-dire les plus en 3' (*figure 1*). Il existe donc un biais important pour l'utilisation préférentielle, lors d'un premier réarrangement, des segments  $V_h$  les plus en 3'. Or, il semble bien que le « répertoire d'anticorps » des lymphocytes B inclut également tous les segments  $V_h$ . Le remplacement progressif de segments  $V_h$  réarrangés par des segments situés plus en 5' serait donc un moyen de parvenir à cette utilisation potentielle de tous les segments V. On a peine à croire, cependant, que de tels réarrange-

ments successifs puissent intéresser ainsi les quelques centaines de segments  $V_h$  existant dans les cellules non lymphocytaires [4]. L'exploration des mécanismes du réarrangement des gènes d'immunoglobuline (et du récepteur T) n'est donc pas terminée et nous réservera probablement encore de considérables surprises.

A.K.

1. Malissen M, Malissen B. Réarrangements somatiques des gènes du récepteur des lymphocytes T. *médecine/sciences* 1985 ; 2 : 304-11.
2. Reth M, Gehrman P, Petrac E, Wiese P. A novel  $V_h$  to  $V_h$ -D- $J_h$  joining mechanism in heavy-chain-negative (null) pre-B cells results in heavy-chain production. *Nature* 1986 ; 322 : 840-2.
3. Kleinfield R, Hardy RR, Tarlinton D, Dangel J, Herzenberg LA, Weigert M. Recombination between an expressed immunoglobulin heavy-chain gene and a germline variable gene segment in a Ly 1 B cell lymphoma. *Nature* 1986 ; 322 : 843-6.
4. Alt FW. Antibody diversity. New mechanism revealed. *Nature* 1986 ; 322 : 772-3.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ La séquence complète des acides aminés d'un récepteur muscarinique de l'acétylcholine vient d'être déduite de la séquence nucléotidique du messenger par l'équipe de Numa. Il s'agit d'une protéine qui appartient à la même famille de récepteurs que les opsines (notamment la rhodopsine) et le récepteur  $\beta$  adrénergique, comportant comme eux 7 segments intramembranaires (voir *nouvelle m/s* n° 10, vol. 2, p. 583). Il est probable que les récepteurs couplés, par l'intermédiaire de G-protéines différentes, aux systèmes de l'adénylate cyclase, de l'hydrolyse du phosphatidylinositol diphosphate et de l'ouverture de canaux ioniques, sont codés par des messagers et des gènes différents. [Kubo T *et al.* *Nature* 1986 ; 323 : 411-6.]