



République Algérienne Démocratique et Populaire  
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen  
جامعة أبي بكر بلقايد – تلمسان-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض والكون

**Département de Biologie**

**Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie**

# **Cours d'Immunogénétique**

Destiné aux étudiants de Master II Immunologie

**Présenté par : Dr BRAHAMI Nabila**

Année universitaire : 2017/2018

## TABLE DES MATIERES

I- Introduction à l'immunogénétique	1
II- Rappel des concepts de base de la génétique	1
1- Le génome des eucaryotes et le stockage de l'information	1
1-1- La structure de la double hélice	2
1-2- Le codage de l'information	3
1-3- Niveaux de condensation de l'ADN	3
2- Les Gènes	4
2-1- Structure d'un Gène	5
2-2- Les gènes codant pour les protéines sont classés selon le nombre de leur copies	6
2-2-1- Les gènes uniques	6
2-2-2- les familles de gènes	6
2-2-3- Les Superfamilles	6
2-3- Différents types de mutations géniques	6
2-3-1- Mutations au niveau de cellules somatiques ou germinales	7
2-3-2- Fréquence des mutations	7
2-3-3- Les types de mutations ponctuelles	7
3- Les chromosomes	9
3-1- Les méthodes de coloration des chromosomes	9
3-2- Classification des chromosomes humains	10
3-3- Les anomalies chromosomiques	11
3-3-1- Les anomalies de structure	12
3-3-2- Principales anomalies de structure	13

III-Le Système Immunitaire et ses pathologies	17
1- L'immunité innée	17
1-1- Historique	17
1-2- Les récepteurs de l'immunité innée ; les PRR	18
1-2-1- Les récepteurs TLR	19
1-2-2- Rappels sur le système du complément	21
2- L'immunité adaptative	23
2-1- Historique	24
2-2- Les récepteurs de l'immunité adaptative	25
2-2-1- Les immunoglobulines	25
2-2-1-1- Structure de base	26
2-2-1-2- Fragments d'immunoglobulines : Relation structure/fonction	28
2-2-1-3- Structure de la région variable	29
2-2-1-4- Classe, Sous-classes, Types et Sous-types des immunoglobulines humaines	30
2-2-2- Les gènes des Immunoglobulines	32
2-2-2-1- Organisation des gènes des chaînes lourdes	32
2-2-2-2- Organisation des gènes de la chaîne légère $\kappa$	33
2-2-2-3- Organisation des gènes de la chaîne légère $\lambda$	33
2-2-2-4- Théories sur la diversité des immunoglobulines	34
2-2-2-5- Mécanismes moléculaires des réarrangements géniques	35
a. Les réarrangements des gènes des chaînes légères	35

b. Les réarrangements des gènes des chaînes lourdes	37
2-2-2-6- L'hypermutation somatique	38
2-2-2- Les récepteurs des cellules T	39
2-2-2-1- Structure du TCR	39
2-2-2-2- Organisation des gènes du TCR	41
3- Les pathologies immunitaires	41
3-1- Les Immunodéficiences	41
3-1-1- Les immunodéficiences primitives	42
a. Les déficits immunitaires combinés (T et B) sévères (DICS)	43
b. Déficits immunitaires isolés des cellules T	45
c. L'Agammaglobulinémie liée à l'X	46
d. Déficits des cellules phagocytaires	46
e. Déficits génétiques du complément	47
3-1-2- Déficits immunitaires secondaires	47
3-2- Les mutations du gène FAS	48
3-2-1- La protéine FAS	48
3-2-2- Voie de signalisation	49
3-2-3- Structure et localisation du gène FAS	50
3-2-4- Les mutations du gène FAS	50
4- Les anticorps monoclonaux	51
5- Introduction en Immunoinformatique	52
Références bibliographiques	54



## I- Introduction à l'immunogénétique

L'immunogénétique est la science qui étudie le rôle des gènes dans les réactions immunitaires de l'organisme par l'étude des bases génétiques de la défense de l'hôte contre les infections

Le système immunitaire assume l'une des grandes fonctions physiologiques des Vertébrés : l'aptitude à la reconnaissance d'un nombre prodigieux de structures moléculaires distinctes ; les antigènes. Un antigène est classiquement réputé « étranger » à l'organisme chez lequel il provoque une réponse immunitaire. D'où la conception selon laquelle le système immunitaire a pour fonction essentielle la distinction du « soi » (les divers constituants de son propre organisme) et du « non-soi ».

Une complète compréhension du système immunitaire nécessite de comprendre la façon dont les entités génétiques et épigénétiques collaborent ensemble, afin de produire une multitude de comportements physiologiques et pathologiques caractéristiques de ce système. Le « réseau immunitaire » comprend toutes les connections entre les cellules ainsi que la somme des interactions entre les produits des gènes dans la cellule.

De plus, l'immunogénétique tire ses enseignements des « expériences de la nature » que sont les multiples pathologies humaines liées au système immunitaire, qui ne sont pas secondaires à des facteurs environnementaux. Ces pathologies offrent des informations précieuses sur la fonction des facteurs et des gènes défectueux.

Avant de voir plus en détail les gènes de l'immunité, leur régulation et leur implication dans les différentes pathologies humaines, un bref rappel de notions de génétique et d'anomalies génétiques s'impose.

## II- Rappel des concepts de base de génétique

### 1- Le génome des eucaryotes et le stockage de l'information

Les travaux d'Avery, MacLeod et MacCarthy ont montré en 1944 que l'ADN est le support moléculaire de l'information génétique. Sa structure a été élucidée par Watson, Crick et Wilkins en 1953. La majeure partie de l'ADN est localisée, chez les eucaryotes, dans le noyau de chaque cellule (figure1).

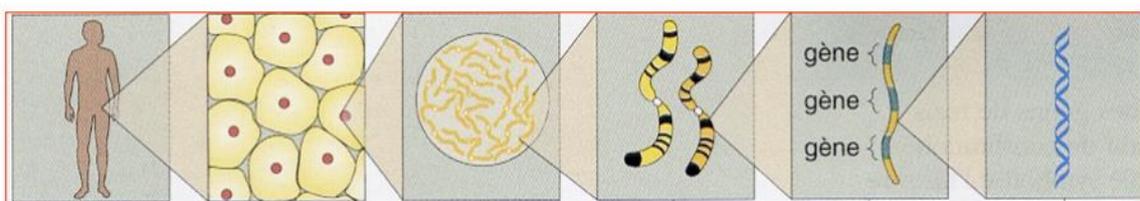
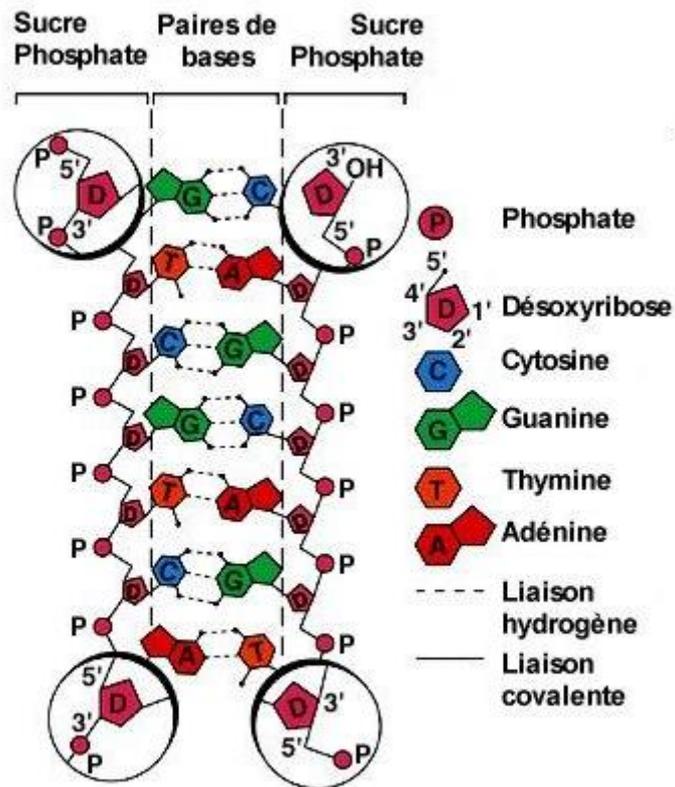


Figure 1. Emplacement du génome eucaryote dans le noyau des cellules

### 1-1- La structure de la double hélice

La structure de l'ADN est étonnamment simple. Elle est composée de l'union de deux brins, enroulés en hélice droite, constitués chacun par une longue chaîne polynucléotidique où les unités de base ; **les nucléotides** sont formés par l'union d'une base azotée avec le désoxyribose 5' phosphate et sont accrochés les uns aux autres par des liaisons 5'- 3' phosphodiester (figure 2).



**Figure 2. Structure de la double hélice.**

*Dans chaque brin le squelette est formé par une répétition de molécules de désoxyribose reliées entre elles par les liaisons phosphodiester et portant chacune une base azotée rattachée par une liaison entre un azote et le carbone 1' du désoxyribose (liaison N-osidique). Les deux brins d'ADN s'associent entre eux par des liaisons hydrogènes contractés entre les bases.*

Les bases azotées sont au nombre de quatre : **Adénine** (A) et **Guanine** (G) qui sont des bases puriques ; **Cytosine** (C) et **Thymine** (T) qui sont des bases pyrimidiques. L'association entre les bases des deux brins d'ADN ne peut se faire qu'entre adénine et thymine ou entre guanine et cytosine.

Chaque brin de la double hélice possède une extrémité 5' phosphate et à l'autre bout une extrémité 3' hydroxyle libre constituant ainsi une **séquence orientée** définie par l'enchaînement des nucléotides.

## 1-2- Le codage de l'information

L'information dont a besoin la cellule concerne l'ordre des acides aminés sur les chaînes polypeptidiques. En effet c'est leur structure primaire qui conditionne les structures tridimensionnelles et l'activité biologique des protéines. C'est dans les années 60 que le moyen utilisé par la cellule pour assurer le codage de cette information a été mis en évidence ; il faut au minimum un enchaînement ordonné de trois bases ou **triplet**, sur la molécule d'ADN, pour définir un code d'acide aminé pour les 20 composant les protéines.

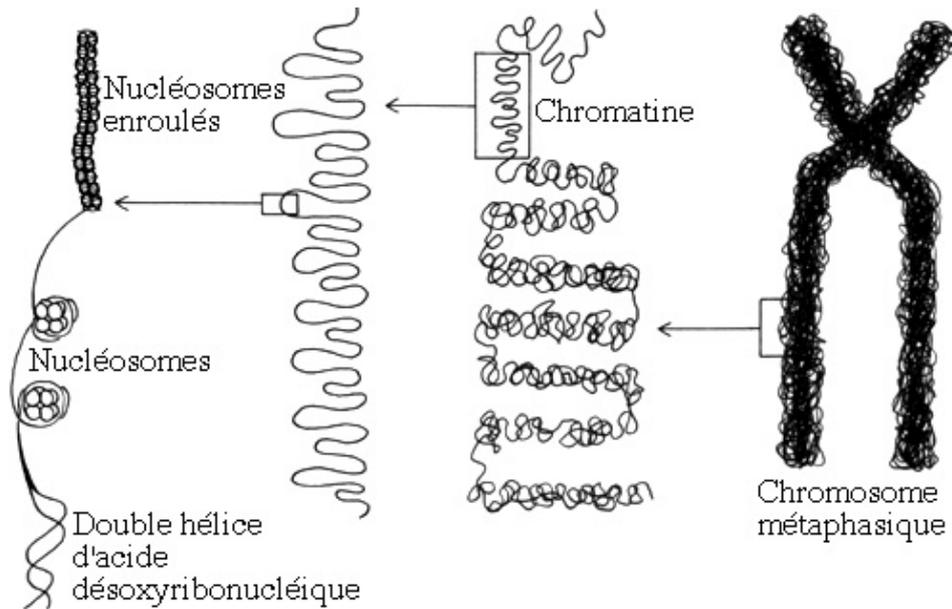
Les relations faisant correspondre les différents triplets avec les différents acides aminés portent le nom de **code génétique** (figure 3).

		2 <sup>EME</sup> NUCLEOTIDE									
		T	C	A	G						
1 <sup>ER</sup> NUCLEOTIDE	T	TTT	phénylalanine	TCT	sérine	TAT	tyrosine	TGT	cystéine	T	3 <sup>EME</sup> NUCLEOTIDE
		TTC		TCC		TAC		TGC		C	
		TTA	leucine	TCA		TAA	"stop"	TGA	"stop"	A	
		TTG		TCG		TAG		TGG	tryptophane	G	
	C	CTT	leucine	CCT	proline	CAT	histidine	CGT		T	
		CTC		CCC		CAC		CGC	arginine	C	
		CTA		CCA		CAA	glutamine	CGA		A	
		CTG		CCG		CAG		CGG		G	
	A	ATT	isoleucine	ACT	thréonine	AAT	asparagine	AGT	sérine	T	
		ATC		ACC		AAC		AGC		C	
		ATA		ACA		AAA	lysine	AGA	arginine	A	
		ATG	méthionine	ACG		AAG		AGG		G	
G	GTT	valine	GCT	alanine	GAT	acide aspartique	GGT		T		
	GTC		GCC		GAC		GGC	glycine	C		
	GTA		GCA		GAA	acide glutamique	GGA		A		
	GTG		GCG		GAG		GGG		G		

Figure 3. Le code génétique.

## 1-3- Niveaux de condensation de l'ADN

Chez l'homme la molécule d'ADN comporte  $3 \times 10^9$  paires de bases par génome haploïde, ce qui représenterait une longueur physique de 1 mètre s'il était entièrement déroulé, or le diamètre du noyau ne dépasse pas quelques microns ce qui témoigne d'un énorme taux de compaction de la molécule d'ADN. Mais cette **compaction** ne se fait pas au hasard, elle utilise un système hiérarchisé : le niveau le plus bas correspond au **nucléosome** jusqu'au niveau le plus élevé correspondant au **chromosome métaphasique** (figure 4).



**Figure 4. Schéma explicatif des niveaux de compaction de l'ADN.**

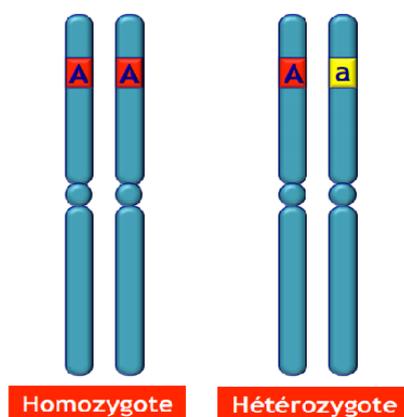
La fibre d'ADN constituant la chromatine est formée de nucléosomes qui sont régulièrement espacés et reliés entre eux par un fil de 20 Å de diamètre. Chaque nucléosome est constitué par 200 paires de bases enroulés autour de 8 molécules d'histones.

Chaque espèce eucaryote est caractérisé par un nombre défini de chromosomes. Chez les organismes supérieurs les cellules contiennent un nombre diploïde de chromosomes et chaque individu reçoit seulement un chromosome (de chaque paire) de chaque parent.

## 2- Les Gènes

Le contenu en ADN, chez les eucaryotes, est au moins 10 fois supérieur à ce qui est nécessaire pour coder l'ensemble des protéines. Les gènes sont donc noyés dans une grande masse d'ADN non codant.

Chaque gène occupe un emplacement particulier le long du chromosome, cet emplacement est appelé locus. Un gène peut exister sous plusieurs formes (variantes) que l'on appelle des allèles (figure 5).



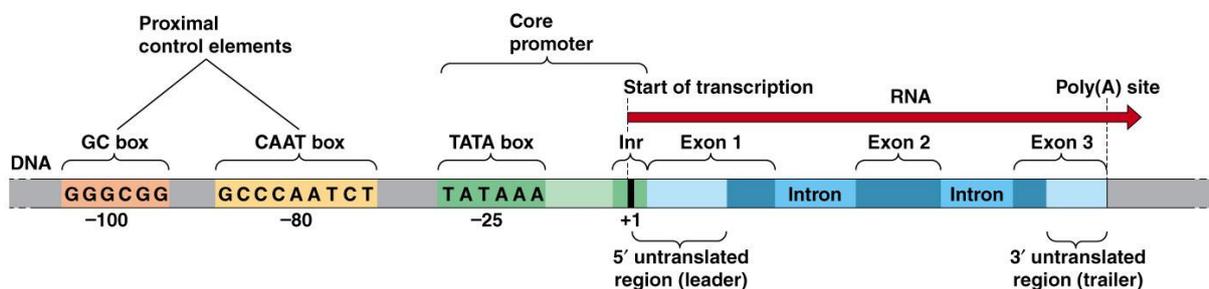
**Figure 5. Représentation schématique des différents variants alléliques pour chaque individu ; homozygote ou hétérozygote à un gène donné.**

## 2-1-Structure d'un gène

Un gène est défini comme étant une séquence d'ADN capable d'être transcrite en une molécule d'ARN fonctionnel au bon emplacement et au bon moment lors du développement de l'organisme. Pour que cela soit possible, une région régulatrice se trouve à l'une des extrémités du gène ; c'est une séquence nucléotidique spécifique qui lui permet de recevoir et de répondre à des signaux provenant d'autres parties du génome ou de l'environnement.

Le gène commence en 5' par une séquence non transcrite, dont la présence est nécessaire pour que la transcription s'effectue quantitativement et qualitativement de manière normale. Ces séquences, qui peuvent être très éloignées (jusqu'à quelques kb en amont) sont très difficiles à mettre en évidence et à délimiter de manière précise. Vers -100 par rapport au site d'initiation de la transcription commence la région promotrice où se fixe l'ARN polymérase II (enzyme responsable de la transcription des gènes codant les protéines). Vers -70 à -80 se trouve une séquence CAAT où se fixent un ou plusieurs facteurs protéiques de transcription (figure 6).

Vers -25 à -30 on retrouve la séquence TATA appelée **TATA box** ou **Goldberg-Hogness box**, c'est au niveau de cette boîte que se fixe le facteur TFII D. si elle est artificiellement délétée, le taux de transcription est diminué et la fidélité du point exact d'initiation est perdue.



**Figure 6. Schéma d'un gène codant pour une protéine.**

*Proximal control elements* : Régions régulatrices proximales, *Core promoter* : Région promotrice, *Start of transcription* : Site de début de transcription et fixation de la coiffe, *Untranslated region* : Région transcrite non traduite, *Poly(A) site* : Site de polyadénylation.

Vient ensuite le site **d'initiation de la transcription**. La base correspondant à ce site est le plus souvent une purine. Suivra une partie non codante de longueur variable jusqu'à la séquence **ATG**, codon méthionine, qui signale le lieu d'initiation de la traduction. Suivent ensuite une alternative de séquences codantes, les **exons** et de séquences non codantes, les **introns**.

Le signal de l'arrêt de la traduction est donné par l'un des **codons stop** : UAA, UGA ou UAG. Enfin 10 à 20 bases avant la fin du dernier exon se trouve une séquence AATAAA signal de reconnaissance pour la coupure du transcrit primaire.

Les tailles des gènes sont très variables et ne reflètent pas forcément la taille de la protéine codée.

## **2-2- Les gènes codant pour les protéines sont classés selon le nombre de leurs copies**

### **2-2-1- Les gènes uniques**

La très grande majorité des gènes appartient à cette classe. La séquence CAAT est souvent absente.

### **2-2-2- Les familles de gènes**

Un gène peut être plusieurs fois dupliqué tôt dans la phylogenèse, chaque copie ayant divergé indépendamment. Il en résulte toute une série de gènes codant pour des protéines grossièrement analogues. Parmi les familles de gènes les mieux connus ;

- La famille des gènes globine,
- La famille des gènes actine,
- La famille des gènes myosine.

### **2-2-3- Les superfamilles**

Elles résultent du même phénomène de duplication mais s'étant produit bien plus tôt dans l'évolution. La divergence est tellement grande que la relation entre les différents gènes est difficile à mettre en évidence. La superfamille des **gènes de l'immunité** en est le plus bel exemple : les gènes des immunoglobulines, des récepteurs T, des protéines d'histocompatibilité de classe I et II ... dérivent de duplications en nombre variable d'un même motif ancestral. Le nombre de motifs répétés est variable et la divergence a été considérable. Ce qui est conservé c'est la structure tertiaire de l'unité de base.

Un autre exemple est celui de la superfamille des gènes codant pour **les récepteurs nucléaires des hormones**.

## **2-3- Différents types de mutations géniques**

Une mutation est une modification de la séquence du matériel génétique. Elle peut être consécutive à :

- Une erreur survenue dans la reproduction conforme au cours de la réplication de l'ADN ;

- Ou une instabilité des bases nucléiques ou des liaisons N-glycosidiques ;
- Ou des lésions diverses provoquées par des agents chimiques ou physiques.

Une mutation introduit une modification dans l'information génétique, dans le génotype d'une cellule. Les mutations sont des événements très rares. Une mutation peut toucher au hasard n'importe quel gène, de n'importe quelle cellule, à n'importe quel moment. C'est un événement aléatoire.

### **2-3-1- Mutations au niveau de cellules somatiques ou germinales**

Pour un organisme, les conséquences d'une mutation seront différentes selon le type cellulaire qui est affecté. Si une mutation survient dans une cellule somatique, cela peut parfois déclencher le développement d'une tumeur cancéreuse. Si c'est une cellule germinale qui est touchée, l'individu lui-même ne sera pas affecté mais certains de ses descendants pourront l'être. Chez l'homme, une telle mutation peut ainsi être à l'origine d'une maladie génétique, héréditaire, la copie défectueuse du gène étant ensuite transmise de génération en génération.

### **2-3-2- Fréquence des mutations**

La fréquence des mutations n'est pas homogène au sein de chaque chromosome. Certaines zones de ceux-ci sont qualifiées de **points chauds** et les mutations peuvent atteindre 1 erreur toutes les 10<sup>6</sup> réplifications ; alors que d'autres sites présentent un taux de mutations rares de l'ordre 1 erreur toutes les 10<sup>11</sup> réplifications.

On estime en moyenne qu'en fin de répllication il existe 1 erreur pour 10<sup>10</sup> bases.

### **2-3-3- Les types de mutations ponctuelles**

Les mutations ponctuelles qui sont dues à un changement de la structure du gène effectuent un seul nucléotide.

Cependant il existe trois types de mutations génétiques :

**Une mutation par substitution**, qui signifie un remplacement d'une ou des plusieurs paires de nucléotides par un autre.

**Une mutation par addition**, qui se fait par l'ajout d'une ou plusieurs paires de nucléotides.

**Une mutation par délétion**, qui, à son tour est causée par une perte d'une ou plusieurs paires de nucléotides.

Ces deux dernières mutations peuvent provoquer un décalage du cadre de lecture, ce qui a pour conséquence le changement des acides aminés d'une grande partie de la protéine

Les mutations **ponctuelles par substitution** se regroupent en plusieurs catégories qui diffèrent par les conséquences sur les protéines codées par le gène muté.

- **La mutation faux - sens** s'explique par la mise en jeu de l'altération d'une unique base, ce qui modifie le codon de telle sorte que l'acide aminé soit lui aussi modifié et ainsi on aura une modification de la protéine. Des telles mutations sont généralement situées dans l'une de deux premières bases du codon. En général il n'y a pas d'incidence au niveau de la troisième base.
- **La mutation non- sens** qui provoque l'apparition d'un codon stop qui est une conséquence importante. Cette mutation provoque alors l'arrêt prématuré de la traduction et il en résulte une protéine plus courte. Ce type de mutation est souvent la cause des maladies car dans tous les cas la fonction de la protéine est altérée. C'est donc l'arrêt de fonctionnement des protéines causées par l'apparition du codon stop.
- **La mutation silencieuse** : certaines mutations peuvent se produire au niveau de la troisième base d'un codon et par conséquent cela n'a aucune incidence sur les acides aminés codés. De ce fait, les mutations silencieuses n'ont aucun effet sur la protéine. Elles tendent à s'accumuler dans l'ADN des organismes sous forme de polymorphisme et par conséquent, elles contribuent à la variabilité ses séquences d'ADN des différents individus d'une même espèce.

Les dernières recherches sur les mutations silencieuses ont prouvé que ces dernières n'étaient pas aussi silencieuses que cela, et que la protéine codée n'est pas conforme à celle d'un gène non muté.

- **La mutation modulant l'expression d'un gène** : par exemple « promoteur, le codant d'initiation où le site de polyadénylation, ou bien les gènes codants les facteurs de transcriptions ». A cause de ces mutations, le gène peut devenir incapable de synthétiser la protéine où la synthèse est insuffisante.

### 3- Les chromosomes

Le chromosome humain qui a été isolé apparaît formé d'une matrice protéique de laquelle partent des centaines de boucles d'ADN ayant chacune une longueur moyenne de 30  $\mu\text{m}$ .

La cytogénétique permet d'évaluer la constitution chromosomique d'un individu, soit la composition en chromosomes des cellules d'un individu. Par exemple, un homme normal est 46,XY, c'est-à-dire qu'il a:

- 46 chromosomes par cellules (23 paires)
- dont 2 gonosomes (X et Y); ce sont les deux chromosomes sexuels, et 44 autosomes.

Cette constitution est souvent représentée par la réalisation d'un caryotype comme ceux montrée dans la figure 7.

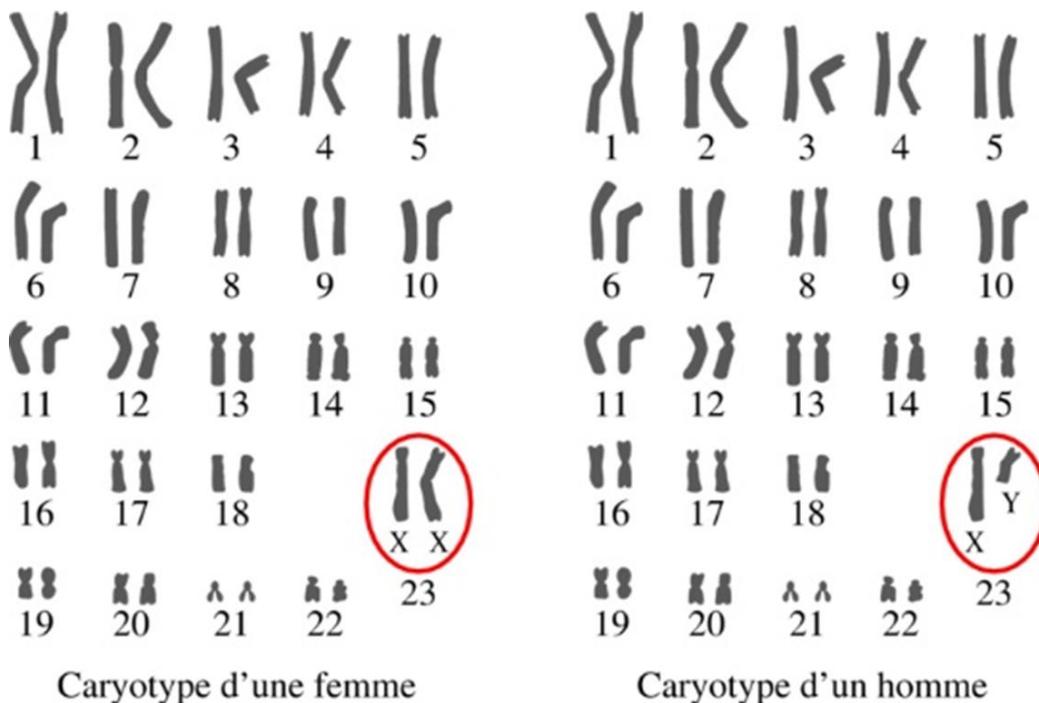
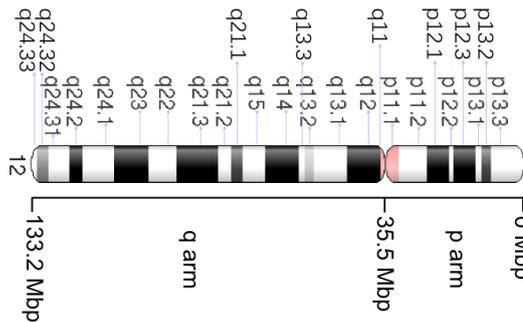


Figure 7. Caryotypes normaux de sujets de sexe masculin et féminin réalisés par les méthodes standard de cytogénétique.

#### 3-1- Les méthodes de coloration des chromosomes

Afin de mieux distinguer les différents chromosomes, des techniques de marquage des chromosomes ont été développés, parmi elles ;

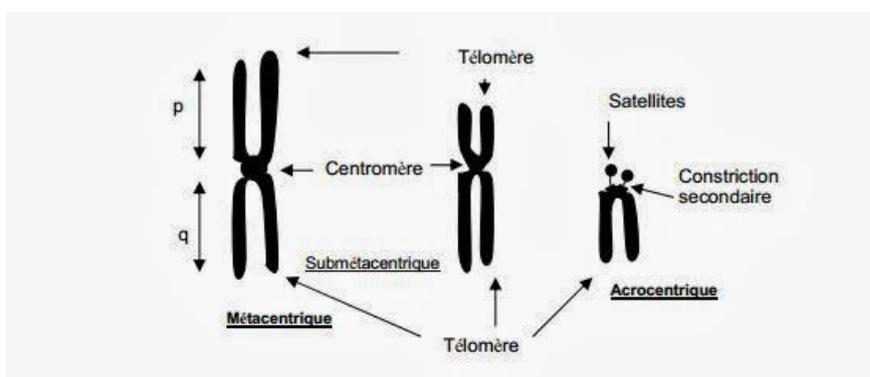
- Le G-Banding ou technique de marquage des bandes G utilise un colorant chimique, le Giemsa (après traitement des chromosomes) qui engendre des bandes sombres sur les chromosomes métaphasiques (figure 8).
- Ce colorant a la particularité de se fixer sur les thymines et les adénines, les bandes ainsi révélées indiquent les régions riches en AT.
- Note: La Quinacrine se fixe également sur les bases A et T.



**Figure 8. Schéma idéalisé du résultat obtenu après marquage du chromosome 12 humain par le G-banding.** Chaque bras est arbitrairement divisé en régions, notées de 1 jusqu'à 4 (pour certains chromosomes) en partant du centromère. Chaque région est divisée en bandes, entités visibles -clairs ou foncées-. Chaque bande peut, si nécessaire, être divisée en sous-bandes (chromosomes en prophase, moins condensés, et donc montrant plus de détails) ... Ainsi, un emplacement sera défini par le numéro du chromosome où se trouve cet emplacement, suivi de la lettre indiquant le bras impliqué, suivie des numéros de région, de bande, voire de sous-bande. Exemple : la portion montrée en rose dans le schéma est indiquée par 12p11.1.

### 3-2- Classification des chromosomes humains

Chaque chromosome comporte un centromère (CEN) région qui contient le kinétochore, centre d'organisation des microtubules responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. Les deux chromatides sœurs sont unies dans leur zone hétérochromatique de chaque côté du centromère (figure 9).



**Figure 9. Schéma représentatif des différentes parties d'un chromosome ainsi que les trois différents types de chromosomes.**

Chaque bras se termine par un télomère (en pter et qter), séquence ADN répétitive hautement conservée qui empêche les fusions avec d'autres chromosomes. Rôle également de ces séquences dans l'attachement des télomères à l'enveloppe nucléaire, en particulier lors de la méiose. Le raccourcissement des télomères est un phénomène connu, et qui paraît associé au vieillissement cellulaire.

De part et d'autre du centromère, une chromatide présente 2 bras : le bras court ou le bras p, placé en haut sur un caryotype, et le bras long (bras q) placé en dessous du centromère.

Si le bras court est presque aussi long que le bras long, le chromosome est dit *métacentrique* (figure 9) ; s'il est nettement plus court, le chromosome est dit *sub-métacentrique*. Quand il est encore plus court, le chromosome est appelé *sub-télocentrique* (le Y est sub-télocentrique). Enfin, si ce bras p est très petit, le chromosome est dit *acrocentrique*. Les acrocentriques sont les chromosomes 13, 14, 15, 21, 22. Les acrocentriques, portent sur leurs bras courts de l'hétérochromatine et des régions impliquées dans l'organisation nucléolaire (NOR) et codant pour l'ARN ribosomal.

### 3-3- Les anomalies chromosomiques

Une anomalie chromosomique peut être :

**Constitutionnelle**, les différents organes (l'ensemble de l'individu) ont la même anomalie. L'accident chromosomique existait déjà chez l'embryon ; il s'est produit avant la fécondation, dans l'un des gamètes, ou peu après, dans une des cellules du zygote. Le sujet porteur, si l'anomalie est non équilibrée (si certains gènes sont présents en plus ou en moins de deux copies) a souvent une dysmorphie et/ou des malformations viscérales, et/ou un retard du développement psychomoteur (triade).

**Ou Acquise**, un seul organe est touché, les autres organes sont normaux. L'accident chromosomique s'est produit au cours de la vie de l'individu ; il est acquis par rapport au caryotype constitutionnel. Le sujet est porteur d'un processus cancéreux sur l'organe impliqué.

Une anomalie chromosomique peut être :

**Homogène**, si toutes les cellules du tissu examiné portent la même anomalie.

- exemple 1: une anomalie constitutionnelle survenue chez un gamète parental (ex: + 21) se retrouvera chez toutes les cellules de l'enfant descendant (ex: trisomie 21 homogène).
- exemple 2: une anomalie acquise survenue lors d'une leucémie peut être présente sur toutes les cellules sanguines étudiées chez cet individu (si les cellules sanguines

normales sont suffisamment inhibées pour que l'on n'en retrouve aucune en mitose (ex: t(9;22) dans la leucémie myéloïde chronique (LMC)).

**Ou En mosaïque**, si certaines cellules du tissu examiné portent l'anomalie alors que d'autres sont normales (notion de clone).

- exemple 1: une anomalie constitutionnelle survenue chez le zygote après plusieurs divisions cellulaires (ex: +21) ne touchera qu'une partie des cellules de l'embryon puis de l'enfant (ex: 46, XY/47, XY, +21).
- exemple 2: une anomalie acquise, dans une leucémie, peut n'être présente que sur une partie des mitoses si des cellules normales entrent en division; un clone supplémentaire peut porter des anomalies additionnelles (ex: 46, XY/46, XY, t(4;11)/46, XY, t(4;11) i(7) dans une leucémie aiguë lymphoblastique).

Une anomalie chromosomique peut être :

**De Nombre**, si un (des) chromosome(s) est (sont) surnuméraire(s) (trisomie) (exemple : +21) ou manquant(s) (monosomie) exemple : XO par perte d'un gonosome ou -5. Note : le caryotype est toujours déséquilibré lors d'une anomalie de nombre.

**De Structure**, s'il y a cassures chromosomiques et recollements erronés l'anomalie de structure est :

- Equilibrée : s'il n'y a ni perte ni gain de matériel génétique
- Déséquilibrée : s'il en résulte une délétion et/ou une duplication d'un fragment.

En immunogénétique, on ne s'intéresse qu'aux anomalies de structures.

### 3-3-1- Les anomalies de structure

Les chromosomes peuvent subir des cassures suivies de recollement des extrémités libres :

- ou bien le chromosome se recolle comme il était,
- ou bien existent plusieurs cassures et le recollement est erroné: apparition d'une aberration

L'apparition de cassures chromosomiques, compensées par l'action de systèmes de réparation est un phénomène cellulaire banal. Des pathologies de ces systèmes de réparation sont connus chez l'homme.

Le plus souvent le site de cassure ne se trouve pas dans une séquence codante et ne provoque pas de mutation.

Ces cassures peuvent affecter tous les chromosomes, y compris les bras courts des acrocentriques.

Ce qui compte pour un individu, c'est de posséder **une double copie** du message de l'espèce, pas plus et pas moins. Ceci est vrai pour l'embryon, un déséquilibre de dosage génique entraîne un développement anormal, et donc une pathologie constitutionnelle (Note: en fait un équilibre génique total n'est pas nécessaire à certaines cellules différenciées, qui n'utilisent qu'une partie des fonctions protéiques disponibles au niveau génique. Cependant, de nombreux déséquilibres, qui ne touchent pourtant qu'un petit nombre de gènes, sont très délétères). Ceci est également vrai en génétique des processus malins où la perte (ou la mutation) d'un gène suppresseur du cancer (antioncogène) est un événement primordial (perte d'hétérozygotie ; modèle rétinoblastome) : la cellule garde un comportement normal, mais la perte du deuxième allèle permet l'apparition de la tumeur.

Ce qui compte aussi, c'est qu'un recollement erroné de segment chromosomique n'inactive pas **un gène important** (exemple : l'inactivation induit une maladie autosomale dominante) ni ne donne naissance à un néogène hybride qui coderait pour une protéine de fusion ayant des propriétés oncogéniques (exemple : des hémopathies malignes).

**Note:** beaucoup d'anomalies structurales sont létales pour la cellule. Parmi celles qui ne le sont pas et sont transmises, les plus fréquentes sont les translocations, les délétions et les petites inversions.

**Note:** les chromosomes remaniés sont souvent appelés dérivés (der) et le dérivé porte le numéro du chromosome dont il possède le centromère.

### 3-3-2- Principales anomalies de structure

#### Translocation réciproque

- Echange, entre 2 chromosomes, d'une partie d'un de leurs bras (figure10). Tous les chromosomes peuvent être concernés par un tel réarrangement.
- Remaniement équilibré.
- Noté t, suivi d'une parenthèse indiquant les numéros des 2 chromosomes impliqués, séparés d'un point-virgule ; une deuxième parenthèse indique les points de cassure sur chacun des 2 chromosomes.

#### Caractéristiques:

- Les translocations réciproques sont des remaniements équilibrés, et le sujet porteur est de phénotype normal.

- Ils exposent à des malségrégations (surtout s'il existe un acrocentrique dans la translocation), ce qui provoque alors un déséquilibre. D'une façon générale, les zygotes déséquilibrés produits sont d'autant moins viables que les segments qui ont été échangés sont plus grands.
- Un échange de chromatides homologues en méiose n'aura pas de conséquence sur la structure des chromosomes impliqués.
- Certaines translocations réciproques se font avec des points de cassure dans les centromères, et échanges complets de bras courts ou longs.

### *Translocation réciproque :*

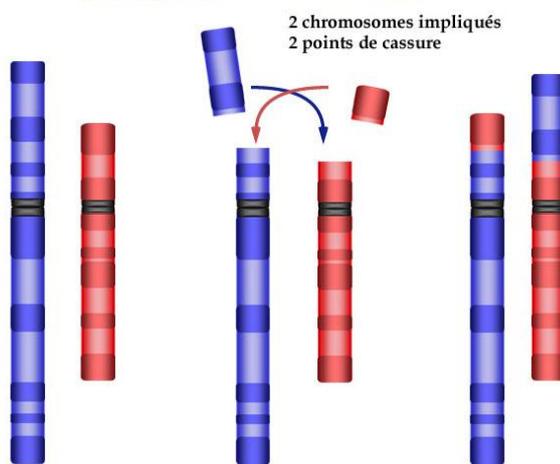


Figure 10. Mécanisme de survenue d'une translocation réciproque

### Translocation Robertsonienne

- Fusion de 2 acrocentriques par cassure-recollement à proximité des centromères, plus souvent sur les bras p, engendrant alors un chromosome dicentrique (dic), possédant 2 centromères. L'un des 2 centromères est généralement inactivé, permettant au chromosome remanié de se comporter comme un monocentrique, sans problème de ségrégation à l'anaphase. Le chromosome remanié comporte dans tous les cas les bras longs des 2 acrocentriques concernés, alors que les bras courts sont généralement perdus (figure11).
- Le caryotype est pourtant dit équilibré, parce que la perte des bras courts de 2 acrocentriques est sans retentissement phénotypique. Le caryotype du porteur à phénotype normal comporte alors 45 chromosomes.
- Noté t, suivi d'une parenthèse indiquant le numéro de chaque chromosome suivi de la notation q (exemple : t(14q21q)).

## Caractéristiques

- Les fusions centriques représentent l'anomalie chromosomique la plus fréquente dans la population humaine.
- Elles peuvent survenir *de novo*, ou être transmises.
- Elles exposent à la constitution de gamètes déséquilibrés (voir Figure), graves pour les chromosomes 13 et 21 surtout, car viables en trisomie.
- Toutes les combinaisons entre acrocentriques ne sont pas aussi fréquentes; la plus fréquente est la t(14q21q).
- Les translocations entre homologues ne permettent de former que des gamètes déséquilibrés.
- Les fusions centriques jouent un rôle important dans la spéciation.

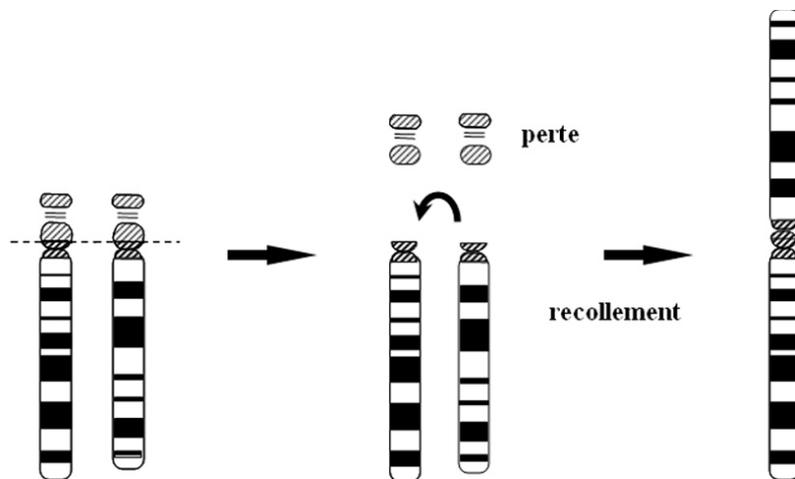


Figure 11. Translocation Robertsonienne

## Les Délétion

Perte d'un segment au sein d'un chromosome ; implique la perte des gènes portés par ce segment ("monosomie" partielle).

Remaniement déséquilibré.

Noté del, suivi du numéro du chromosome dans une première parenthèse, suivi dans une deuxième parenthèse des 2 points de cassure indiquant la région délétée (délétion interstitielle).

Dans le cas où la délétion semble terminale, un seul point de cassure est noté.

**Délétion constitutionnelle**

- Sur un autosome, le retentissement phénotypique est majeur (exemples : del(18p) ; del(18q) ; del(4p): syndrome de Wolf ; del(5p): "cri du chat" et le risque de transmission à une éventuelle descendance est donc exclu.
- Le remaniement survient donc de novo le plus souvent (10 à 15 % seulement des délétions proviennent de la malségrégation d'un remaniement parental équilibré ; dans ce dernier cas, la délétion peut être pure, ou accompagnée d'une trisomie partielle pour un autre chromosome: (duplication/déficiences)
- Cas particulier des microdélétions: elles sont parfois transmises (exemple: del(13)(q14.0q14.09): rétinoblastome).
- Sur un gonosome, une délétion provoque des troubles de la différenciation sexuelle et de la gamétogénèse

**Délétion acquise**

Peut signifier la perte d'un gène suppresseur de cancer (exemple : del(13) (q14.00q14.09): rétinoblastome).

## II- Le système Immunitaire et ses pathologies

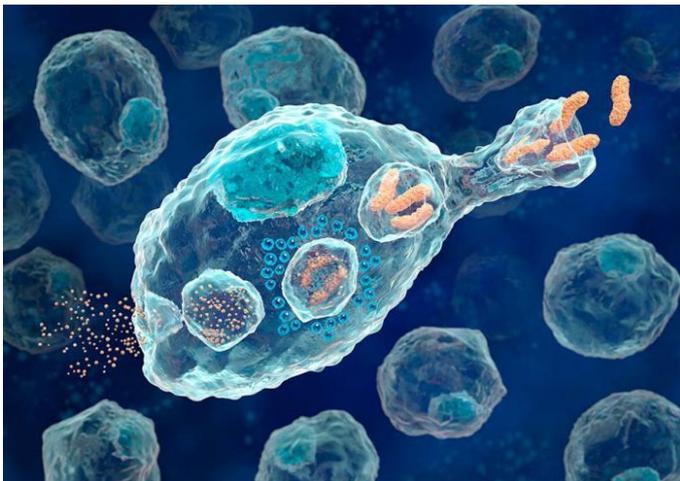
### 1- L'Immunité innée

La première ligne de défense va reposer sur le système immunitaire inné. C'est une réaction immédiate mettant en jeu différents acteurs moléculaires, cellulaires et tissulaires agissant au niveau local et systémique.

#### 1-1- Historique

La découverte de la phagocytose et de la théorie phagocytaire de l'Immunité s'est faite grâce au zoologiste d'origine ukrainienne Elie Metchnikoff (1845-1916) qui a découvert en 1884 un phénomène biologique original : une larve d'étoile de mer blessée par une épine de rosier réagit en mobilisant contre l'intruse des cellules particulières « amiboïdes » qui l'ingèrent et la digèrent.

Les cellules responsables, les « phagocytes », proviennent du mésoderme de l'invertébré. Metchnikoff rejoignit l'institut Pasteur en 1888, d'où il constata que la phagocytose existe aussi chez les animaux supérieurs et chez l'homme. Certains globules blancs, les grands monocytes, pouvaient se muer en phagocytes et ces « éboueurs » cellulaires éliminaient bactéries et débris divers. Il lança l'idée que la phagocytose était un phénomène très général et qu'elle constituait un mécanisme essentiel de défense contre les infections. Les tenants de l'immunité cellulaire comme lui, considéraient que la défense de l'organisme était due à des cellules ayant la capacité de phagocyter des corps étrangers (figure 12).



**Figure 12. Schéma représentatif d'une cellule phagocytaire.** *Mouvement intentionnel vers les pathogènes, capture et absorption par clivage ultérieur.*

Actuellement, l'on sait également que cette immunité innée est une réponse rapide qui se fait indépendamment de la reconnaissance d'antigènes spécifiques et sans établissement d'une mémoire. Elle est basée sur la reconnaissance de motifs moléculaires conservés à la surface

des pathogènes, les **PAMP** (PathogenAssociated Molecular Pattern) par les **PRR** (Pattern Recognition Receptor) exprimés à la surface des cellules phagocytaires issues des lignages myéloïdes tels que les monocytes/macrophages ou les cellules dendritiques. Les cellules NK (Natural Killer) douées naturellement d'une activité cytotoxique vont, par la reconnaissance de signaux de stress cellulaire et de danger, participer activement à la réponse innée. Le fait qu'environ 90% des espèces animales ne possèdent pas d'immunité adaptative prouve le succès de leurs stratégies de défense.

### 1-2- Les Récepteurs de l'immunité innée ; les PRR

Sont de 3 types suivant leur localisation :

- Les PRR solubles, ou PRR sécrétés, se situent dans les fluides corporels.
- Les PRR membranaires, ou PRR endocytique, se situent à la surface des cellules.
- Les PRR cytoplasmique, ou PRR de signalisation, se situent dans le cytoplasme.

Parmi les **PRR solubles** on peut citer :

Les composants du complément, les protéines MBP (pour « Mannan Binding Protein ») ou MBL (pour « Mannane Binding Lectin »), les protéines CRP (pour « C-Reactive Protein ») et les protéines LBP (pour « LPS-binding protéin »).

Alors que les **PRR membranaires** sont eux beaucoup plus diversifiés et sont impliqués :

- dans la phagocytose,
- dans l'activation de la réponse inflammatoire,
- dans l'activation de la réponse antivirale,
- dans le transfert à d'autres PRR

Parmi ces récepteurs membranaires, les plus connus sont ; les **récepteurs MMR** (pour « *Macrophage Mannose Receptor* »), les **récepteurs aux lectines**, les **récepteurs du complément**, les **récepteurs scavengers** (récepteurs poubelles) qui jouent un rôle dans ; la phagocytose et les **récepteurs TLR** (pour « *Toll Like Receptors* ») qui jouent un rôle dans l'activation de la réponse inflammatoire ainsi que de la réponse antivirale.

Les récepteurs PRR membranaires se trouvent sur deux cellules caractéristiques, les **macrophages** et les **cellules dendritiques**. Sauf exception faite pour les TLR qui se trouvent presque partout : cellules endothéliales, muscles...

### 1-2-1- Les Récepteurs TLR

Découverts initialement chez *Drosophila melanogaster*, comme étant impliqués dans le développement de la drosophile, un deuxième rôle dans la défense anti-infectieuse fut imputé à ces récepteurs.

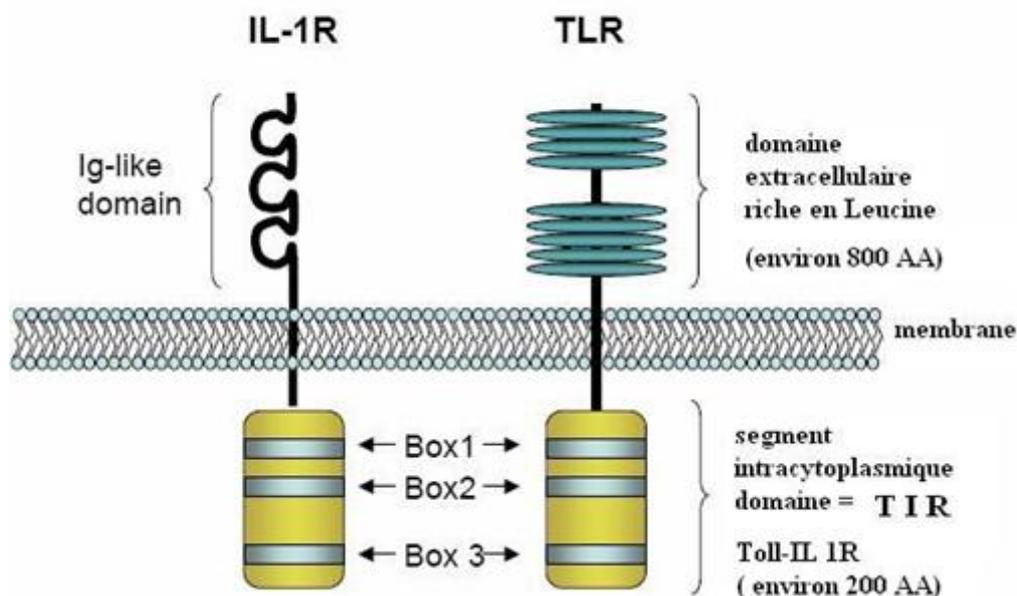
Des récepteurs similaires existent également chez les mammifères.

Les TLR au nombre de 10 chez l'homme, reconnaissent un petit nombre de structures moléculaires propres aux microorganismes, communes à de nombreux pathogènes.

- **Structure et fonctions**

Ce sont des protéines transmembranaires de type I comportant :

- Un domaine extracellulaire
- Un domaine transmembranaire
- Un domaine intracellulaire permettant la transduction du signal d'activation (figure 13).



**Figure 13. Structure des TLR.** Le domaine extracellulaire est riche en Leucine, un domaine transmembranaire et un segment intracytoplasmique avec domaine TIR.

Leurs fonctions sont :

- Détection des microorganismes
- Initiation de la réponse effectrice
- Stimulation adaptative

Il existe 10 TLRs différents dans l'espèce humaine dont 7 ont leurs ligands spécifiques :

- Les **TLR 1, 2, 4, 5, 6** sont situés au niveau de la membranaire plasmique et sont impliqués dans la reconnaissance des composants de la paroi des agents infectieux (figure 14) :
  - **TLR-4** qui reconnaît les **LPS** (*Lipo Polysaccharides*), endotoxines présentes au niveau des bactéries Gram négative.
  - **TLR-5** qui reconnaît la flagelline, protéines de structure des flagelles bactériens.
  - **TLR-1, TLR-2** et **TLR-6** qui reconnaissent le peptidoglycane, les lipoprotéines et les glycophospholipides ; ils forment des hétérodimères TLR-1/TLR-2 et TLR-2/TLR-6.
- Les **TLR-3, 7, 8, 9** sont situés au niveau des endosomes et reconnaissent les composants viraux et bactériens, surtout les acides nucléiques :
  - **TLR-3** reconnaît surtout des ARN doubles brins viraux.
  - **TLR-7** reconnaît surtout des ARN simples brins viraux.
  - **TLR-9** qui reconnaît les ADN bactériens au niveau des dinucléotides CpG non méthylés.

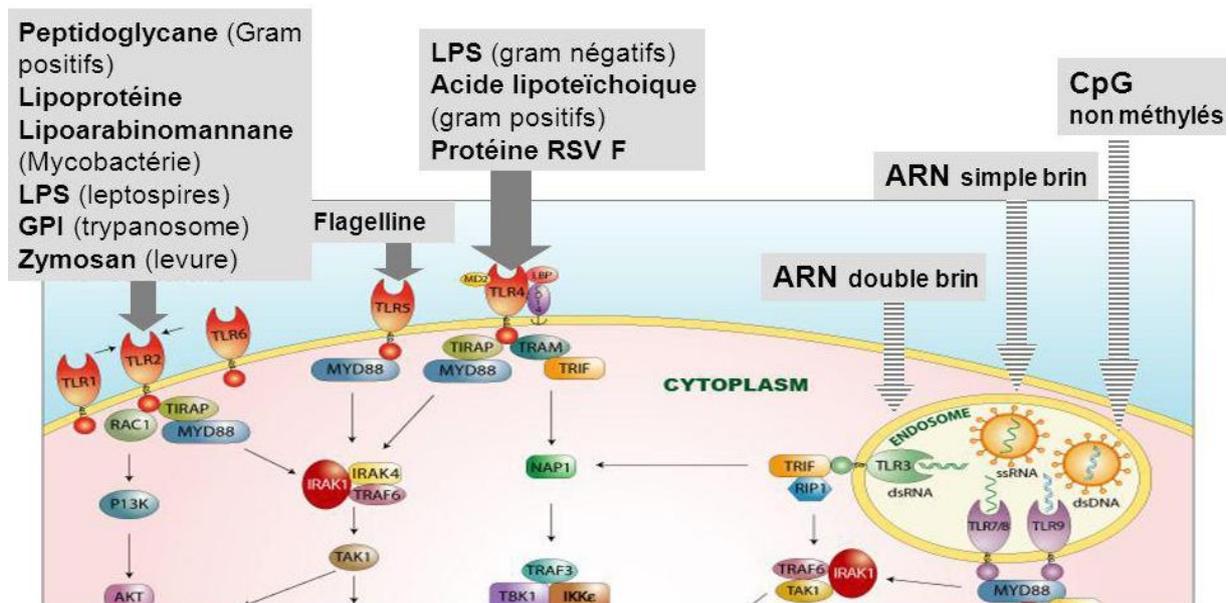


Figure 14. Les TLR et leurs PAMPs

#### • Voie de signalisation

La fixation du ligand aux TLR induit deux voies de signalisation (figure15). La première implique la molécule adaptatrice MyD88 qui possède un domaine TIR, se fixant au domaine TIR du TLR, et un domaine de mort cellulaire qui recrute et active une sérine-thréonine protéine kinase IRAK (pour IL1 receptor associated kinase) possédant elle aussi, un domaine de mort cellulaire.

L'activation d'IRAK va aboutir à l'activation des facteurs de transcription NF- κB, AP-1 et IRF5.

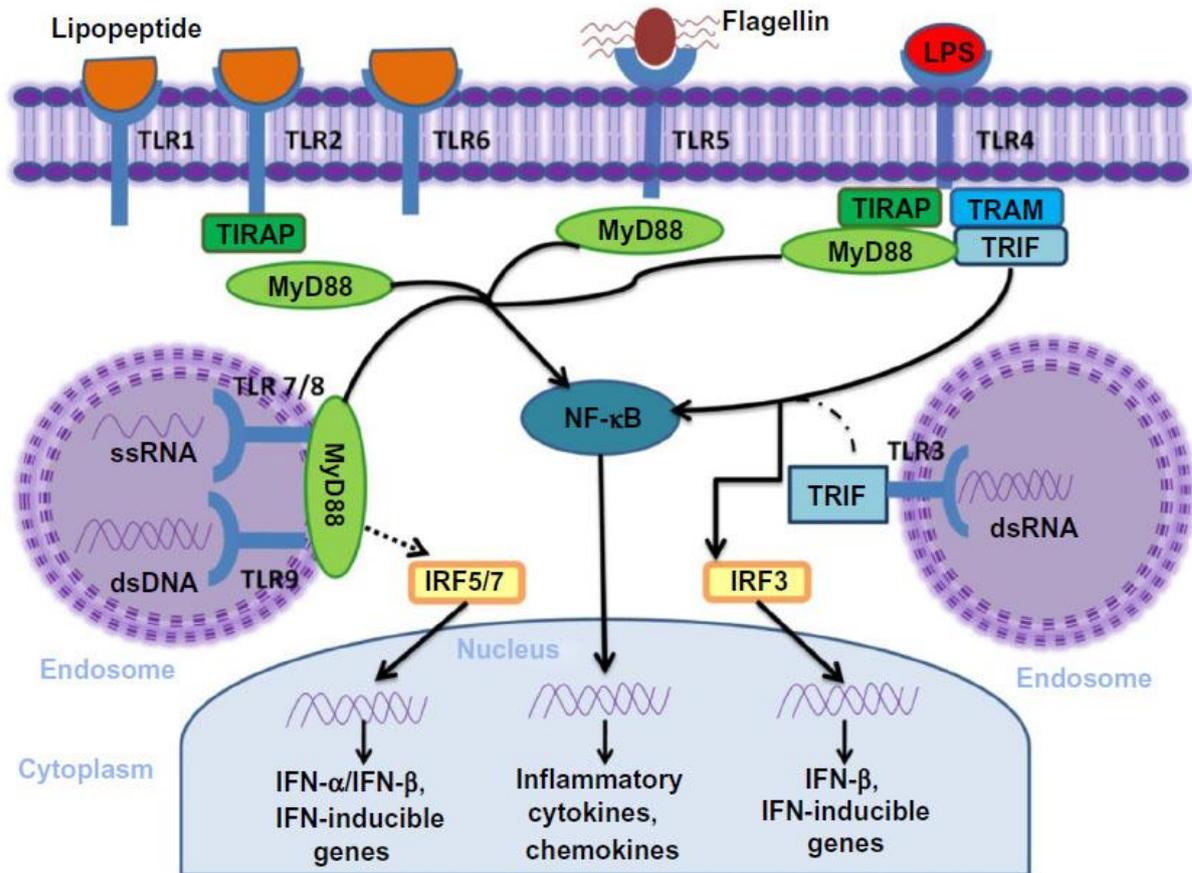


Figure 15. Voies de signalisation intracellulaires des TLR

La deuxième voie de signalisation implique la molécule adaptatrice TRIF et induit principalement l'activation des facteurs de transcription NF-κB et IRF3 (figure 15).

### 1-2-2- Rappels sur le système du complément

Le système du complément constitue un des éléments de l'immunité innée. Il doit son nom à sa découverte : il agit en complément des anticorps pour la lyse des bactéries.

Les activités biologiques de ce système ont des impacts non seulement sur l'immunité innée mais aussi sur l'immunité acquise,

Après une activation initiale, les différents composants du complément interagissent au sein d'une cascade hautement régulée, pour effectuer un nombre de fonctions physiologiques incluant :

- la lyse des micro-organismes (bactéries, virus, parasites...) ;
- l'opsonisation qui favorise la phagocytose des antigènes particuliers ;

- la liaison à des récepteurs du complément spécifiques de la surface des cellules du système immunitaire déclenchant l'activation des réponses immunitaires telles que l'inflammation ou alors exerçant une activité immunorégulatrice sur les réponses immunes spécifiques ;
- enfin, la clearance des complexes immuns et des corps apoptotiques.

### Les protéines du complément

On distingue les protéines propres à chaque voie d'activation, les protéines du complexe d'attaque membranaire (complexe lytique), les récepteurs et les protéines régulatrices (tableau1) :

**Tableau1. Les protéines du système du complément**

	Composants
Voie classique	C1, C2, C3, C4
Voie alterne	C3 et les facteurs B et D
Voie des lectines	MBL, MASP1, MASP2
Complexe d'attaque membranaire (CAM)	C5, C6, C7, C8, C9
Récepteurs	CR1, CR2, CR3, CR4
Protéines régulatrices	C1inh, C4p, H, I, DAF, MCP, HRF

### Synthèse et génétique des protéines du complément

Les protéines du complément sont surtout synthétisées par les hépatocytes, dans les monocytes et les macrophages, les cellules épithéliales du tube digestif et de l'appareil génito-urinaire et les fibroblastes.

Les composants C2, C4 et B sont codés par des gènes situés à l'intérieur de ceux du CMH, et comme d'autres composants (C3, C6, et C7), font l'objet d'un polymorphisme nucléotidique.

### Activation du complément

Les facteurs protéiques constituant le complément sont sous forme inactive dans le sérum, leur activation se fait selon un ordre déterminé :

- Pour la voie classique l'activation se fait à partir de C1
- Pour la voie alterne l'activation se fait à partir de C3

Ces deux voies se réunissent ensuite pour suivre la même séquence d'activation.

Bien que dans certains cas, cette réponse immunitaire (innée) soit suffisante pour l'élimination des agents pathogènes, l'absence de spécificité antigénique va être le frein de ce type de réponse. C'est pourquoi, il peut être nécessaire d'activer par le biais de cellules de l'immunité innée des cellules effectrices appartenant à l'immunité adaptative.

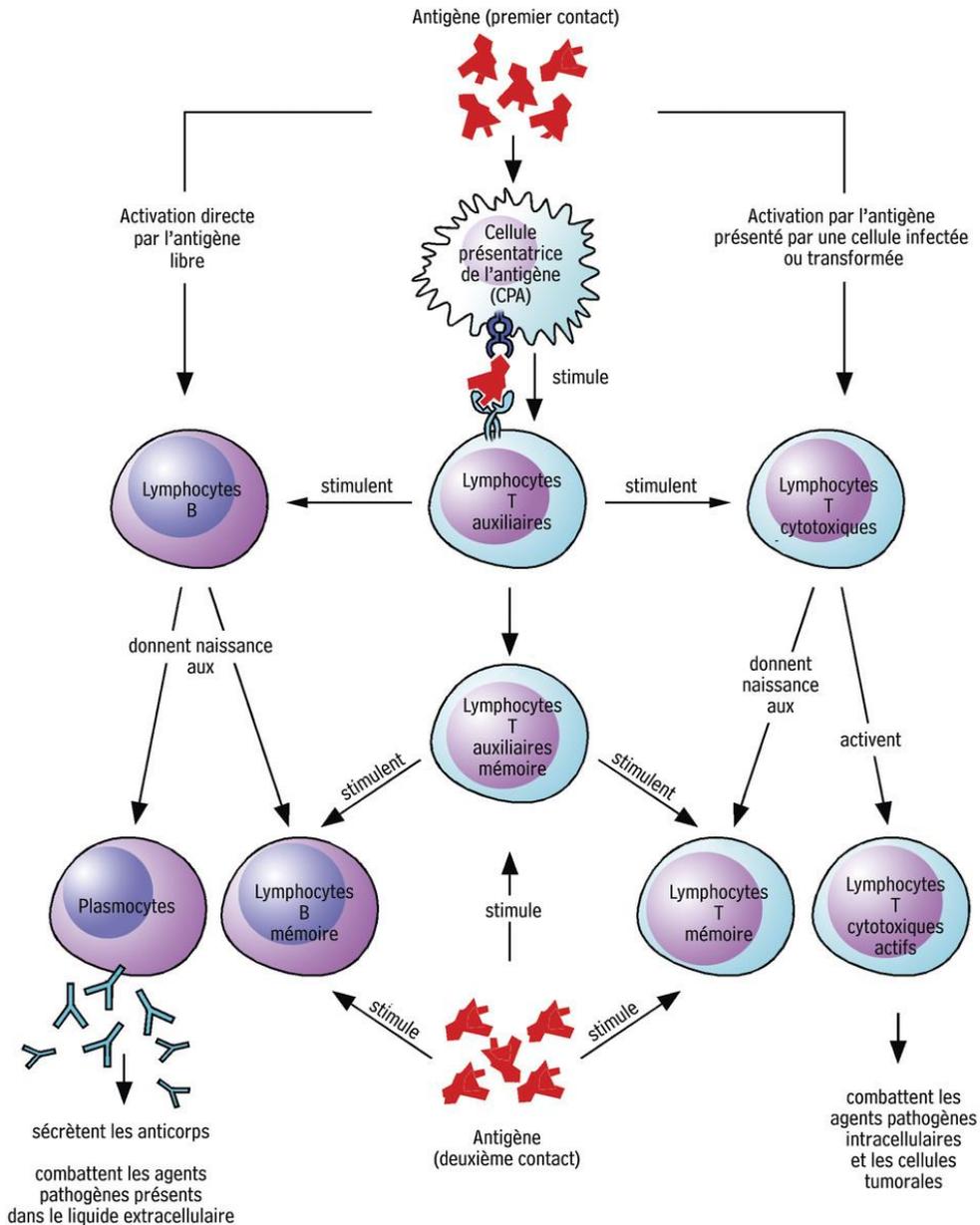
Néanmoins, ces deux réponses restent étroitement liées. En effet, la réponse immunitaire innée est utile à la production de molécules de costimulation, de cytokines et de chimiokines nécessaires à l'activation des lymphocytes. En retour les lymphocytes influent sur la réponse immunitaire innée, le tout pour une orchestration optimale de la réponse immunitaire mais aussi de sa résolution.

## 2- L'Immunité adaptative

La réponse adaptative, seconde ligne de défense est apparue avec les vertébrés il y a environ 500 millions d'années. Elle repose sur des cellules d'origines **hématopoïétiques**, les lymphocytes T et B, portant à leur surface des récepteurs à l'antigène **hautement spécifiques** et ayant la capacité de développer en cas de réinfection par le même pathogène, une mémoire immunitaire à long terme.

C'est une réponse plus lente, nécessitant un processus d'expansion clonale des lymphocytes spécifiques des antigènes du pathogène. Les lymphocytes B reconnaissent des antigènes entiers ou natifs grâce à leur récepteur, le BCR (B Cell Receptor) qui est une immunoglobuline de surface. Les lymphocytes T quant à eux reconnaissent les antigènes sous forme de fragments peptidiques liés à des molécules du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) présentes à la surface des CPA (Cellules Présentatrices de l'Antigène), cellules de l'immunité innée.

Une réponse immunitaire adaptative se déroule en deux phases : **la phase de reconnaissance** permet aux CPA spécialisées de prendre en charge, de traiter et de présenter l'antigène aux cellules médiateurs adéquates, cellules T et B; **une phase effectrice** permettra aux cellules médiatrices qui ont spécifiquement reconnu l'antigène de se différencier en cellules effectrices et de lutter pour l'élimination de l'antigène.



**Figure 16. Schéma récapitulatif des deux phases de défense contre un antigène impliquant les acteurs de l'immunité innée et ceux de l'immunité adaptative.** Une réponse immunitaire implique les deux instruments du système immunitaire d'un individu : le système inné comprenant les macrophages, les granulocytes, les cellules NK et les cellules dendritiques qui jouent le rôle de CPA et le système immunitaire adaptatif comprenant les deux réponses de type humorale (plasmocytes) et cellulaire (lymphocytes T) qui lancera la phase effectrice.

## 2-1- Historique

C'est seulement cinq ans après la première vaccination antirabique mise au point par Pasteur qu'Emil von Behring (1854-1917) et Shibasaburo Kitasato (1852-1931) montrèrent que le sang de sujets immunisés contre la diphtérie ou le tétanos contenait des substances capables de

neutraliser la toxine. Ces substances furent alors appelées **antitoxines**, sérums antitoxiques à la fois contre la diphtérie et contre le tétanos.

Ces auteurs montrèrent également que des cobayes immunisés avec des doses sublétales de toxine tétanique devenaient résistants à l'administration ultérieure d'une dose létale, mais qu'ils succombaient à l'injection de toxine diphtérique. La réciproque étant vraie, c'est la notion de **spécificité** qui était ainsi clairement définie.

En 1890 la sérothérapie, ou le traitement des maladies infectieuses par des immunosérums, était née. Dès 1893 fut préparé chez des chevaux des immuns sérums antitoxines à usage thérapeutique. Les antitoxines eurent un immense retentissement et enchantèrent tellement le monde médical de l'époque que Von Behring reçut le premier prix Nobel en 1901.

Le nom d'antitoxines resta jusqu'à ce que Paul Ehrlich en 1897 leur attribue le terme générique d'anticorps, définissant en retour les antigènes comme les molécules reconnues et neutralisées par les anticorps. L'identification des anticorps circulant dans le sang devait permettre à Jules Bordet, en 1899, de définir le complément formé de molécules également circulantes qui aident les anticorps à détruire les cellules ou microbes sur lesquels ils se fixent.

## **2-2- Les Récepteurs de l'immunité adaptative**

Les deux types de lymphocytes ont développé des mécanismes de diversification similaires, bien qu'exprimés à travers des molécules distinctes : les anticorps, ou **immunoglobulines** (Ig) pour les Lymphocytes B, et les récepteurs T ou TCR pour les lymphocytes T. Fonctionnellement, les **TCR** restent fixés à la membrane cellulaire T, alors que les immunoglobulines peuvent être membranaires ou circulantes, ce qui explique les observations originelles de von Behring et Kitasato.

Pour compléter l'équipement qui constitue l'ossature du système immunitaire adaptatif, il convient d'ajouter le **complexe majeur d'histocompatibilité**, ou CMH, décrits en particulier chez l'homme par Jean Dausset ; les molécules du CMH jouent un rôle essentiel dans la liaison entre l'immunité innée et l'immunité adaptative par leur intervention cruciale dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes lors d'une stimulation antigénique.

### **2-2-1- Les Immunoglobulines**

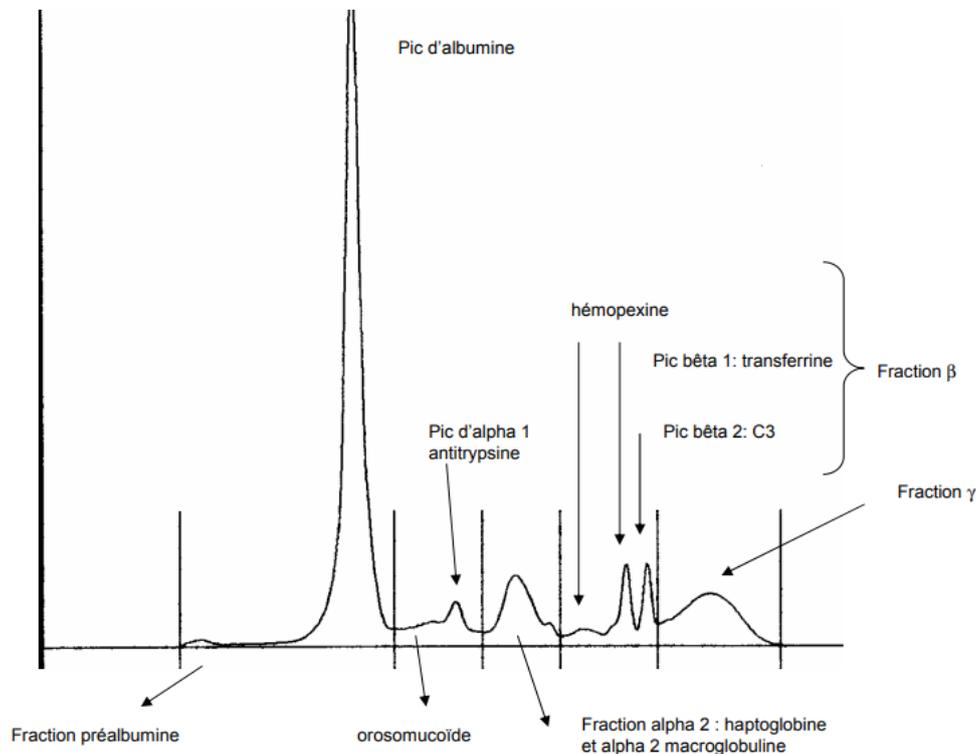
En raison de leur abondance, les immunoglobulines ont été les premières molécules caractérisées.

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines douées d'une fonction anticorps.

Elles sont présentes :

- sous forme soluble dans le plasma et dans de nombreuses sécrétions
- sous forme membranaire sous forme de récepteur de l'antigène à la surface des cellules B (BCR)

Leur nom vient du fait qu'elles fassent parties de la fraction globulines du plasma (figure 17) et de leur implication dans les défenses immunitaires.



**Figure 17. Profil d'un sérum normal en électrophorèse capillaire.** Les immunoglobulines appartiennent à la fraction  $\gamma$  des protéines sériques.

### 2-2-1-1- Structure de base

La structure de base des immunoglobulines est illustrée dans la figure 18 . Bien que différentes immunoglobulines puissent présenter des variations structurales, elles sont toutes construites sur la même unité de base.

#### A. Chaînes lourdes et légères

Toutes les immunoglobulines ont une unité de base formée d'une structure comprenant quatre chaînes. Elles sont ainsi composées de deux chaînes légères (L) identiques (23kD) et de deux chaînes lourdes (H) identiques (50-70kD).

#### B. Ponts disulfures

**Ponts disulfures inter-chaînes.** Les chaînes lourdes et légères, d'une part, et les deux chaînes lourdes, d'autre part, sont maintenues ensemble par des ponts-disulfures inter-

chaînes ainsi que des liaisons non-covalentes. Le nombre de ponts disulfures inter-chaînes varie en fonction des molécules d'immunoglobulines.

**Ponts disulfures intra-chaînes.** On trouve également des ponts disulfures intra-chaîne au sein de chaque chaîne polypeptidique.

### C. Régions Variables (V) et Constantes (C)

Lorsque l'on compare les séquences en acides aminés de nombreuses chaînes légères et chaînes lourdes différentes, il apparaît qu'à la fois les chaînes lourdes et les chaînes légères peuvent être divisées en deux régions basées sur la variabilité des séquences. Ce sont :

1. Pour la chaîne légère : les régions VL (110 acides aminés) et CL (110 acides aminés)
2. Pour la chaîne lourde : les régions VH (110 acides aminés) et CH (330-440 acides aminés)

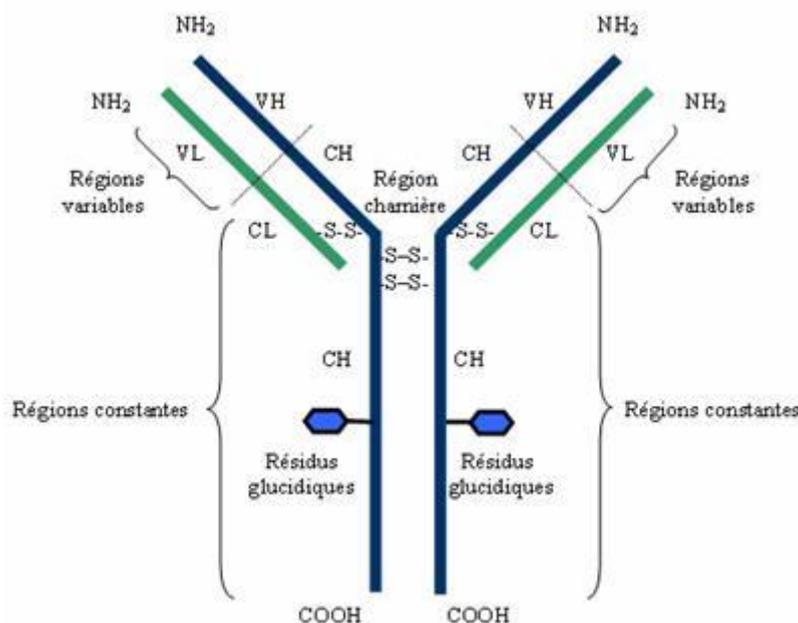


Figure 18. Structure de base des immunoglobulines.

### D. Région charnière

C'est la région au niveau de laquelle les bras de la structure d'anticorps sont en forme de Y (figure 18). Cette région est appelée « charnière » car c'est à ce niveau que la molécule présente un certain degré de flexibilité.

### E. Domaines

Les images de la structure tridimensionnelle de la molécule d'immunoglobuline montrent que la structure est plus complexe que comme représenté dans la figure 19. En effet, elle est plutôt

structurée en régions globulaires, chacune d'entre elles contenant un pont disulfure intra-chaîne (figure 19). Ces régions sont appelées domaines.

1. Domaines de la chaîne légère : VL et CL

2. Domaines de la chaîne lourde VH, CH1 à CH3 (eventuellement CH4)

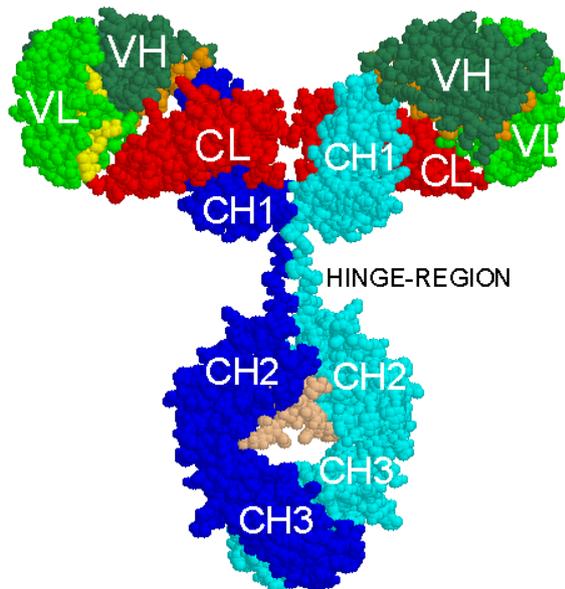


Figure 19. Structure tridimensionnelle de l'immunoglobuline structurée en régions globulaires.

## F. Oligosaccharides

Des motifs oligosaccharidiques sont attachés au domaine CH2 de la plupart des immunoglobulines. Dans certains cas, ces oligosaccharides peuvent aussi être attachés sur d'autres parties de la molécule.

### 2-2-1-2- Fragments d'immunoglobulines : Relation structure/fonction

Les fragments d'immunoglobulines générés par protéolyse se sont révélés très utiles pour comprendre les relations structure/fonction des immunoglobulines.

#### A. Fragment Fab

La digestion par la papaïne casse la molécule d'immunoglobuline au niveau de la région charnière avant le pont disulfure inter-chaîne (figure 20). Cela conduit à la formation de deux fragments identiques qui contiennent une chaîne légère et les domaines VH et CH1 d'une chaîne lourde.

Liaison à l'antigène. Ces fragments ont été appelés Fab car ils contiennent les sites de liaison à l'antigène de l'anticorps. Chaque fragment Fab est monovalent alors que la molécule

d'origine est divalente. Le site de liaison de l'anticorps est créé par la mise en commun des domaines VH et VL. Des combinaisons de différents domaines VH et VL conduit à des anticorps qui peuvent se lier à des déterminants antigéniques différents.

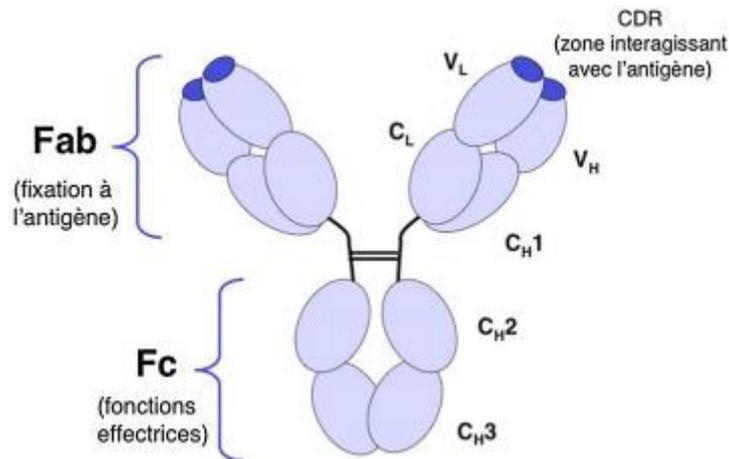


Figure 20. Fragments d'immunoglobulines : Relation structure/fonction.

## B. Fragment Fc

La digestion par la papaïne génère aussi un fragment qui contient le reste des deux chaînes lourdes contenant chacune les domaines CH2 et CH3. Ce fragment a été appelé Fc car il cristallisait facilement.

Une fois qu'une cellule B a lié un antigène spécifique et reçoit l'aide d'autres cellules médiatrices, elle devient activée et se différencie en une cellule plasmique effectrice qui sécrète l'anticorps dans les fluides corporels et le sang. Dès l'or l'anticorps se lie à l'antigène, ce complexe immunitaire peut être éliminé par des facteurs du complément ou phagocyté par les macrophages et les granulocytes plus efficacement que les pathogènes nus grâce à la reconnaissance de la partie anticorps du complexe immunitaire par des récepteurs FcR spéciaux à la surface de la membrane du macrophage.

### 2-2-1-3- Structure de la région variable

#### A. Région hypervariable (HVR) ou complementarity determining regions (CDR)

La comparaison des séquences en acides aminés de régions variables de nombreuses immunoglobulines montre que l'essentiel de la diversité réside dans trois zones hypervariables (ou complementarity determining region, c'est à dire des régions déterminant la complémentarité, sous-entendu avec l'antigène) comme illustré dans la figure 20. Des anticorps de spécificité antigénique différente (c'est à dire des sites de liaison différents à l'antigène) auront des régions hypervariables différentes alors que des anticorps de spécificité rigoureusement équivalente auront des régions hypervariables identiques (les CDR forment

en fait le site de liaison de l'anticorps à l'antigène). Les régions hypervariables sont trouvées à la fois sur les chaînes légères et les chaînes lourdes.

### B. Régions assurant l'ossature (Framework)

Les régions placées entre les régions hypervariables au sein des domaines variables assurent d'ossature (ou le squelette) ou « framework », de l'immunoglobuline. En se basant sur les similarités et les différences entre les régions « Framework » des domaines variables des chaînes lourdes et légères, il est possible de définir des groupes et des sous-groupes de chaînes lourdes et légères. Ce sont les produits de gènes codant pour différentes régions variables.

## 2-2-1-4- Classe, Sous-classes, Types et Sous-types des immunoglobulines humaines

### A. Classes d'immunoglobulines

Les immunoglobulines peuvent être divisées en cinq classes différentes selon les séquences en acides aminés des régions constantes des chaînes lourdes. Toutes les immunoglobulines, au sein d'une classe donnée, auront des régions constantes de chaînes lourdes très similaires (figure 21). Ces classes différentes peuvent être détectées par des études de séquençage ou, plus communément, par des tests sérologiques.

1. IgG : chaîne lourde « Gamma »
2. IgM : chaîne lourde « Mu »
3. IgA : chaîne lourde « Alpha »
4. IgD : chaîne lourde « Delta »
5. IgE : chaîne lourde « Epsilon »

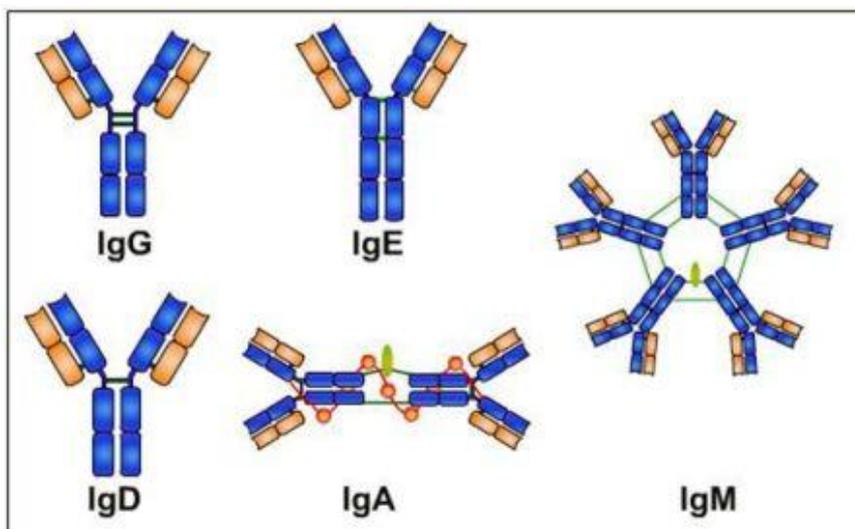


Figure 21. Différentes classes d'Immunoglobulines

## **B. Sous-classe d'immunoglobulines**

Les classes d'immunoglobulines peuvent être subdivisées en sous-classe en fonction de légères différences en acides aminés présentes dans la région constante des chaînes lourdes. Toutes les immunoglobulines, au sein d'une sous-classe donnée, auront des régions constantes de chaînes lourdes très similaires. De nouveau, ces différences peuvent être mises en évidence par des moyens sérologiques.

### **1. Sous-classes d'IgG**

- a) IgG1 : chaîne lourde Gamma 1
- b) IgG2 : chaîne lourde Gamma 2
- c) IgG3 : chaîne lourde Gamma 3
- d) IgG4 : chaîne lourde Gamma 4

### **2. Sous-classes d'IgA**

- a) IgA1 : chaîne lourde Alpha 1
- b) IgA2 : chaîne lourde Alpha 2

## **C. Types d'immunoglobulines**

Les immunoglobulines peuvent aussi être classées en types en fonction de la chaîne légère dont elles disposent. Les types de chaînes légères sont basés sur des différences dans la séquence des acides aminés de la région constante. Là encore, ces différences peuvent être mises en évidence par des moyens sérologiques. On distingue :

- 1. Chaînes légères de type Kappa
- 2. Chaînes légères de type Lambda

## **D. Sous-types d'immunoglobulines**

Les chaînes légères peuvent également être subdivisées en sous-types en fonction de différences légères dans la séquence en acides aminés des régions constantes de la chaîne légère au sein d'un type donné.

### **1. Sous-types Lambda**

- a) Lambda 1
- b) Lambda 2
- c) Lambda 3

d) Lambda 4

### **E. Nomenclature**

Les immunoglobulines sont dénommées sur la base de leur classe, ou de leur sous-classe de chaîne lourde et sur leur type, ou sous-type de chaîne légère. En absence de précision, il faut admettre que toutes les classes, sous-classe, types ou sous-types sont présents dans un échantillon biologique. IgG signifie que toutes les sous-classes d'IgG et tous les types sont présents dans un échantillon biologique.

### **F. Hétérogénéité**

Les immunoglobulines, prises en tant que population de molécules, sont normalement très hétérogènes car elles sont composées non seulement de différentes classes et sous-classes de molécules chacune composée de types et de sous-types de chaînes légères différentes mais aussi car elles peuvent avoir des propriétés de liaison à des antigènes différents du fait de la diversité des régions  $V_H$  et  $V_L$ .

## **2-2-2- Les gènes des Immunoglobulines**

Les gènes codant pour les immunoglobulines sont répartis en trois loci sur des chromosomes différents. Chacun de ces loci regroupe un grand nombre de segments génétiques différents codant pour des polypeptides (exons), séparés par des introns, mais qui contiennent des séquences importantes dans le contrôle génétique et le processus de recombinaison.

### **2-2-2-1- Organisation des gènes des chaînes lourdes**

Les gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines sont localisés sur le chromosome 14 (figure 22). Dans la configuration germinale trouvée dans les cellules immatures, ces gènes sont organisés en quatre segments séparés : les acides aminés (AA) 1 à 95 des régions variables sont codés par environ 50 gènes V fonctionnels, puis les AA 96 à 101 par 10 à 30 gènes D (D : diversité) et enfin les AA 102 à 110 par 6 gènes J (J : jonction). La partie constante de la chaîne lourde est codée par 9 gènes supplémentaires :  $\mu$  pour IgM,  $\gamma 1$  pour IgG1,  $\gamma 2$  pour IgG2, etc. Chaque gène V est précédé d'une séquence L (L : leader).

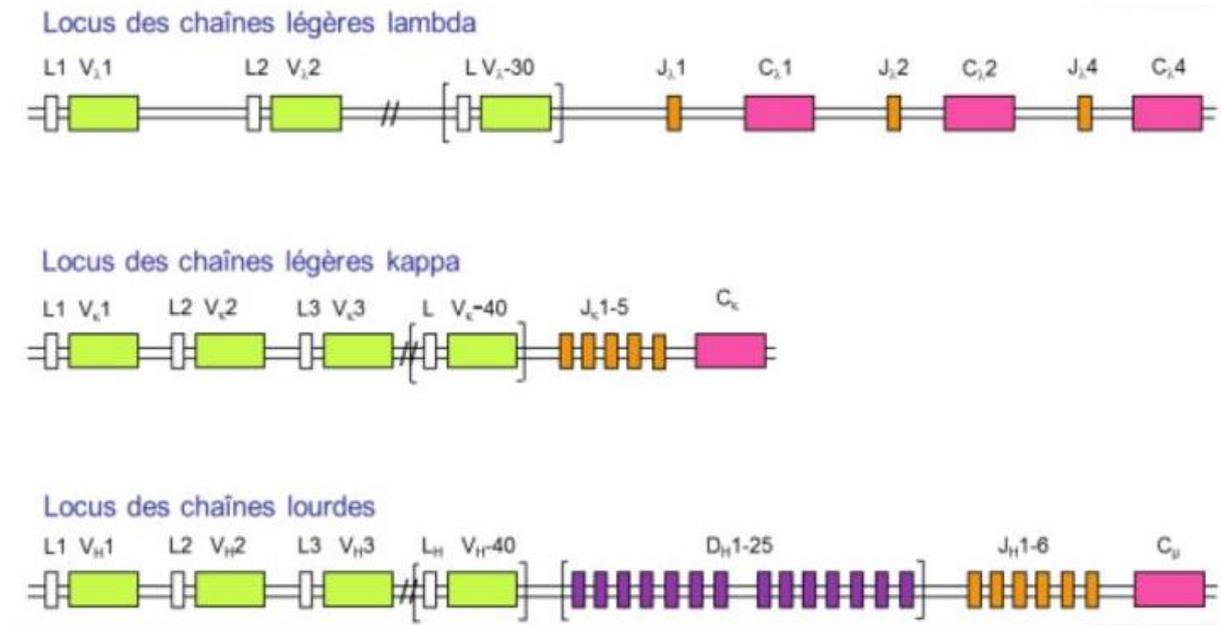


Figure 22 : Organisation des gènes des immunoglobines

### 2-2-2-2- Organisation des gènes de la chaîne légère $\kappa$

Les gènes des chaînes légères Kappa sont localisés sur le chromosome 2. Les AA 1 à 95 de la partie variable sont codés par 35 à 40 gènes V fonctionnels, chacun avec son segment L, alors que les AA 96 à 110 sont codés par 5 gènes J (figure22).

### 2-2-2-3- Organisation des gènes de la chaîne légère $\lambda$

L'organisation des gènes des chaînes légères  $\lambda$ , localisés sur le chromosome 22 n'a pas été entièrement clarifiée. Plusieurs gènes C sont trouvés et les séquences J précèdent directement les gènes C. Le nombre de séquences variables de la chaîne  $\lambda$  est vraisemblablement similaire à celui de la chaîne  $\kappa$ .

L'organisme humain a la possibilité de produire un anticorps spécifique pour chacun des milliers d'antigènes qui peuvent exister dans la nature.

Un paradoxe génétique : comment générer une infinité de protéines à partir d'un nombre limité de gènes ?

Beadle et Tatum postulaient qu'un gène = une protéine

25 000 gènes dans le génome humain

Or capacité de production d'une diversité « infinie » de BCR

### 2-2-2-3- Théories sur la diversité des immunoglobulines

L'élucidation des bases moléculaires et génétiques de la diversité des anticorps a mobilisé la communauté des immunologistes pendant trois quarts de siècle. Pour Ehrlich, le lymphocyte exprimait à sa surface une collection de récepteurs distincts, la stimulation par un antigène ayant pour effet d'amplifier les seuls récepteurs spécifiques rapidement libérés dans le sang.

Ehrlich élaborait une théorie dite sélective (1897-1900) sur l'apparition des anticorps. Elle est également désignée par « théorie des chaînes latérales ». Ces entités seraient présentes dans le protoplasme cellulaire. En réponse à leur liaison à des toxines bactériennes elles seraient libérées et conduiraient à l'élaboration d'un excès de chaînes similaires.

Une autre théorie basée sur l'instruction des anticorps apparaît autour de la période des découvertes de Karl Landsteiner and Merrill Chase, étalée sur une quinzaine d'années. Ils surent générer des anticorps contre presque n'importe quelle structure chimique, même synthétique. Fritz Breinl et Felix Haurowitz suivirent cette découverte avec intérêt, ils proposèrent en conséquence la première théorie instructionniste ou informatrice qui stipulait que l'antigène imprimait à l'anticorps sa spécificité en agissant sur lui comme un moule. L'anticorps aurait une structure suffisamment malléable pour adapter sa configuration spatiale à ce moule. Cette théorie fut reprise par le grand biochimiste américain Linus Pauling (1901-1994) en 1940. Il établit avec Corey le modèle des structures protéiques primaire et secondaire, configuration en hélice  $\alpha$  et en feuillet  $\beta$ .

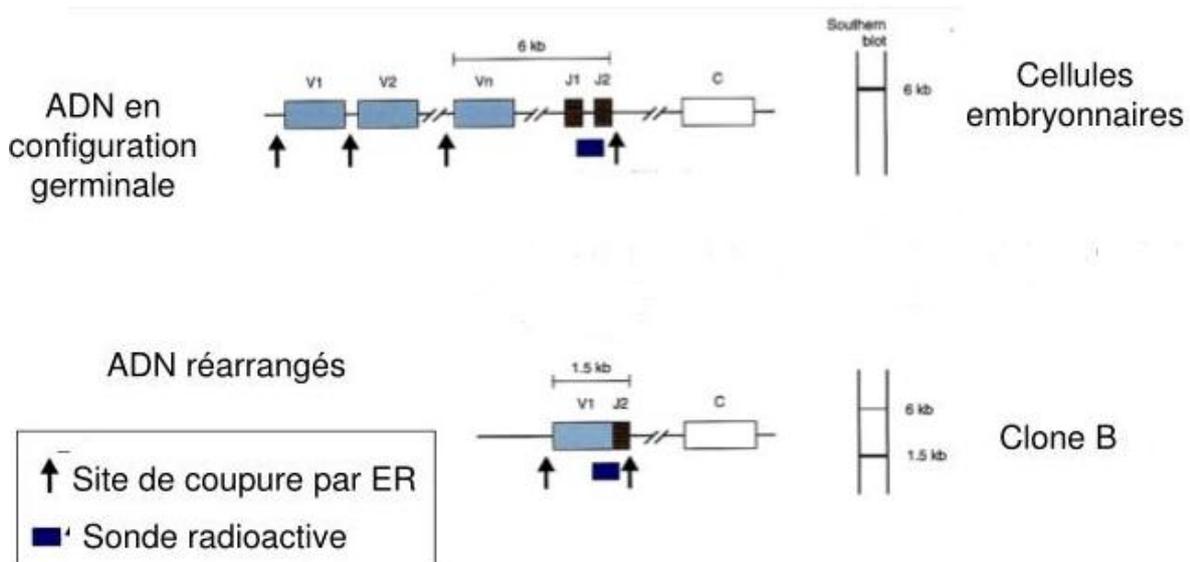
Concernant la réaction antigène/anticorps il considérait que l'antigène réagissait avec l'anticorps et lui imposait une forme complémentaire. La théorie instructionniste fut désapprouvée en 1964 lorsque fut montré que des anticorps peuvent être dénaturés puis se reformer en absence d'antigène.

#### **Le modèle du myélome**

Les études sur les immunoglobulines et leurs gènes ont été grandement facilitées par l'utilisation d'un modèle fécond, le myélome. Il s'agit d'une prolifération monoclonale de plasmocytes. Les immunoglobulines sécrétées sont donc toutes identiques (ce qui permit d'obtenir les 200 grammes d'immunoglobulines qui ont été nécessaires à la détermination de leur structure primaire dans les années 70). Les réarrangements des gènes des immunoglobulines sont identiques dans toutes les cellules myélomateuses du fait de la prolifération monoclonale, et les images en Southern-blot sont donc parfaitement définies et reproductibles (figure 23).

En 1976, Tonegawa et Hozumi proposèrent qu'environ mille pièces de matériel génétique dans la portion variable d'une cellule B peuvent se recombiner en différentes séquences (figure

23). Il découvrit le mécanisme de réarrangement somatique qui permet la production d'anticorps spécifiques pour plus d'un milliard d'antigènes différents. Le groupe de Tonegawa révéla l'existence des séquences jonctionnelles J au sein des chaînes légères d'Ig tandis que Weigert montrera plus tard leur rôle dans le remaniement des séquences V-J. En 1980, le segment D (diversité) dans les chaînes lourdes fut découvert par une autre équipe, et ainsi le réarrangement complet V-D-J.



**Figure 23. Mise en évidence expérimentale par la méthode du Southern Blot, du réarrangement des gènes  $\kappa$ .** Les ADN extraits sont digérés par la même enzyme de restriction et sont soumis à une électrophorèse sur un gel de nitrocellulose puis hybridés avec une sonde clonée du gène J  $\kappa$ .

### Mécanismes moléculaires des réarrangements géniques

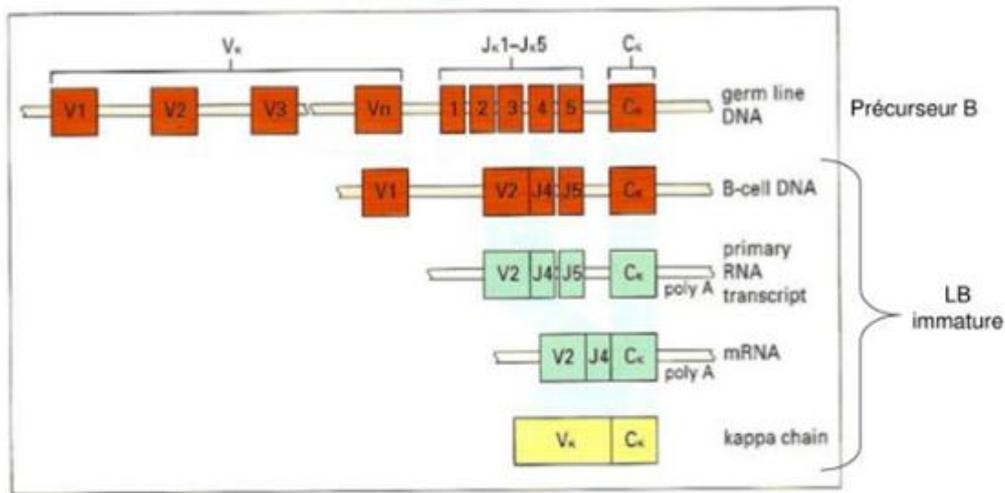
Perçu dans son ensemble, le système immunitaire adaptatif est constitué chez l'homme d'environ  $10^{12}$  lymphocytes, responsables de la synthèse de quelques  $10^{20}$  molécules d'immunoglobulines !

Cette extraordinaire complexité rend compte de l'énorme potentialité de reconnaissance du système immunitaire adaptatif. Elle résulte de l'organisation mosaïque d'un nombre limité de gènes Ig et TCR qui sont aléatoirement « réarrangés » au cours de la différenciation des lymphocytes B et T.

### Les réarrangements des gènes des chaînes légères

- Il y a d'abord réarrangement de l'ADN : permet de joindre un segment V et un segment J; les séquences intermédiaires sont délétées,
- Puis copie de l'ARN pré-messager (transcription) qui comporte des introns,

- Puis épissage (splicing) : élimination des introns de l'ARN pré-messager et obtention de l'ARN messager mature,
- Puis synthèse protéique (traduction) (figure 24).



**Figure 24. Réarrangements V-J des chaînes légères κ**

Les réarrangements V-J se font au niveau des séquences de recombinaison (RS : recombination signal) qui comportent une séquence heptamère (7 nucléotides) et une séquence nonamère (9 nucléotides), séparées par un espaceur (spacer) (figure 25).

Chaque gène V est suivi en aval (en 3') d'un RS comprenant un heptamère CACAGTG, puis un espaceur de 12 paire de bases (pb), puis un nonamère ACAAAAACC.

Chaque gène J est précédé en amont (en 5') d'un RS comprenant, de 5' en 3', un nonamère GGTTTTTGT, un espaceur de 23 pb et un heptamère CACTGTG.

Ces réarrangements se font grâce aux enzymes recombinases RAG1 et RAG2

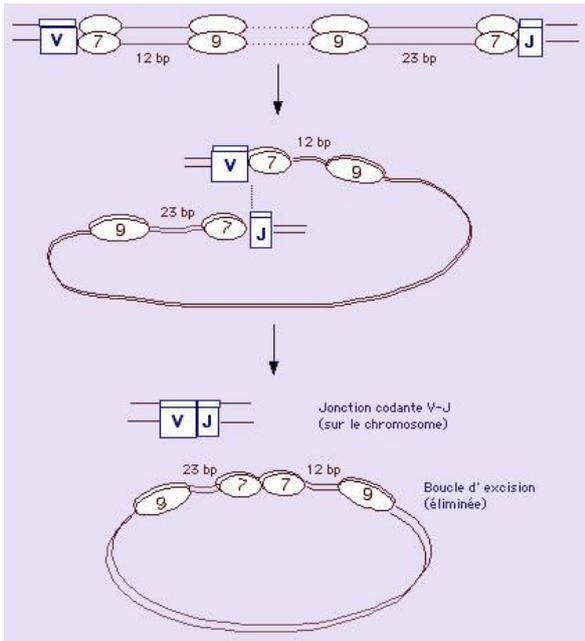


Figure 25. Mécanismes moléculaires des réarrangements géniques au niveau des séquences de recombinaison.

### Les réarrangements des gènes des chaînes lourdes

Réarrangements de l'ADN entre l'un des 38 à 46 gènes variables V fonctionnels, l'un des 23 gènes de diversité D fonctionnels, et l'un des 6 gènes de jonction J fonctionnels (figure 26) : il existe ici aussi des RS qui sont localisés en aval (en 3') des gènes V, de part et d'autre des gènes D et en amont (en 5') des gènes J. Lors d'un réarrangement V-D-J, il y a d'abord jonction d'un segment D et d'un segment J, puis jonction d'un segment V au complexe D-J (figure 26).

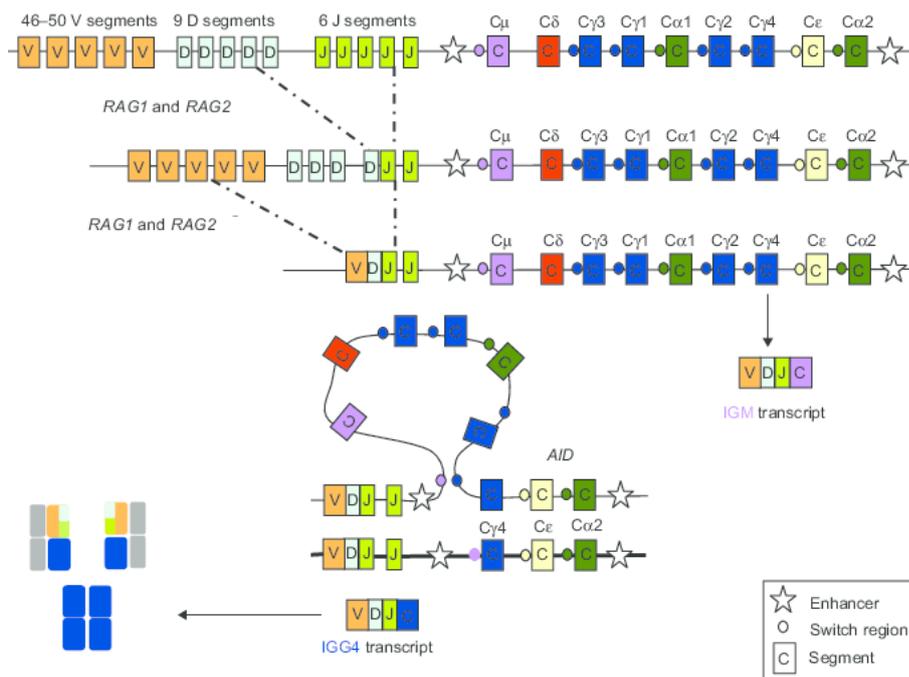


Figure 26. Réarrangements V-D-J des chaînes lourdes

Ce processus est sous le contrôle des gènes RAG. Tout segment v (D) J formé peut-être exprimer avec une région CH.

Après cette diversité combinatoire qui est fournie par la réunion aléatoire de séquences V, J et D dans un locus, une autre étape de diversité combinatoire est atteinte en appariant des chaînes lourdes et légères réarrangées.

Il est évident que la recombinaison V (D) J ne peut pas expliquer la diversité croissante des anticorps au cours des rencontres subséquentes avec l'antigène. Lederberg avait déjà proposé sa théorie de la mutation somatique, et Brenner et Milstein l'ont développée davantage en 1966 en la limitant à la région codant V des gènes d'immunoglobuline.

### **L'hypermutation somatique**

En 1970, Weigert et Cohn ont soutenu la théorie somatique avec des preuves expérimentales de variations extrêmement localisées des acides aminés dans la région variable des anticorps provenant des hybridomes établis après différentes immunisations avec le même antigène. Ces variations d'acides aminés se traduisent par des mutations ponctuelles au niveau de l'ADN des gènes Ig.

Cette dernière découverte a marqué un tournant décisif où les études sur **l'hypermutation somatique** se sont définitivement déplacées de la protéine à la séquence d'ADN ; La séquence du gène **Ig hypermutant** a été complètement disséquée, soit dans le locus endogène par Gearhart et ses collègues, soit en utilisant les transgènes d'immunoglobulines comme dans le groupe Storb.

Avec l'apparition de lignées B immortalisées et transformées, les recherches sur l'hypermutation somatique sont devenues de plus en plus accessibles, conduisant finalement à la découverte historique de l'AID (Activation-induced cytidine deaminase), l'enzyme initiateur de l'hypermutation somatique prédite par Brenner et Milstein 30 ans auparavant.

Après réarrangement et vérification de l'activité de la chaîne lourde, la cellule pré-B se divise activement et donne naissance à des cellules filles qui auront toutes la même chaîne lourde réarrangée, mais chacune d'entre elles peut procéder à son propre réarrangement unique des chaînes légères pour finalement les assembler dans le BCR.

Une diversité jonctionnelle due à l'addition de nucléotides non codés aux sites de la jonction D : J et moins largement aux sites de la jonction V : D.

Si l'on prend en compte les trois composantes de la diversité, le résultat final de la diversité totale théorique est étonnant ( **$5 \times 10^{13}$  combinaisons !**).

### 2-2-2 les récepteurs des cellules T

Le composant cellulaire du système immunitaire adaptatif comprend des lymphocytes T, qui peuvent adopter un rôle régulateur, suppresseur ou effecteur.

Les lymphocytes T peuvent détecter et lier l'antigène par l'intermédiaire de leur récepteur de lymphocytes T (TCR) lié à la membrane. Cependant, le TCR ne peut reconnaître l'antigène que s'il est présenté à la cellule T par une cellule présentatrice d'antigène (CPA), comme une cellule motrice dendritique qui a rencontré l'antigène lors de son échantillonnage dans les tissus périphériques.

Une fois qu'ils reconnaissent l'antigène spécifique, les lymphocytes T subiront la différenciation entre les médiateurs et les cellules effectrices et deviendront soit des lymphocytes T auxiliaires, soit des lymphocytes T cytotoxiques.

- Les cellules T cytotoxiques ciblent spécifiquement les cellules somatiques déjà infectées ou transformées par le pathogène porteur d'antigène et les éliminent par lyse.
- Les cellules T auxiliaires jouent un rôle dans l'activation des lymphocytes B, les aidant à devenir des producteurs d'anticorps et à diriger les anticorps les mieux adaptés en fonction de la nature précédemment estimée de l'antigène envahisseur (parasites, virus ou bactéries).

Dans les années 1980, les TCRs furent découverts et un consensus approuva l'idée qu'ils partageaient un ancêtre commun avec les gènes des BCR. Cette attestation est basée sur une organisation similaire de leurs domaines et sur un mécanisme de base commun dans la génération de la diversité.

#### 2-2-2-1- Structure du TCR

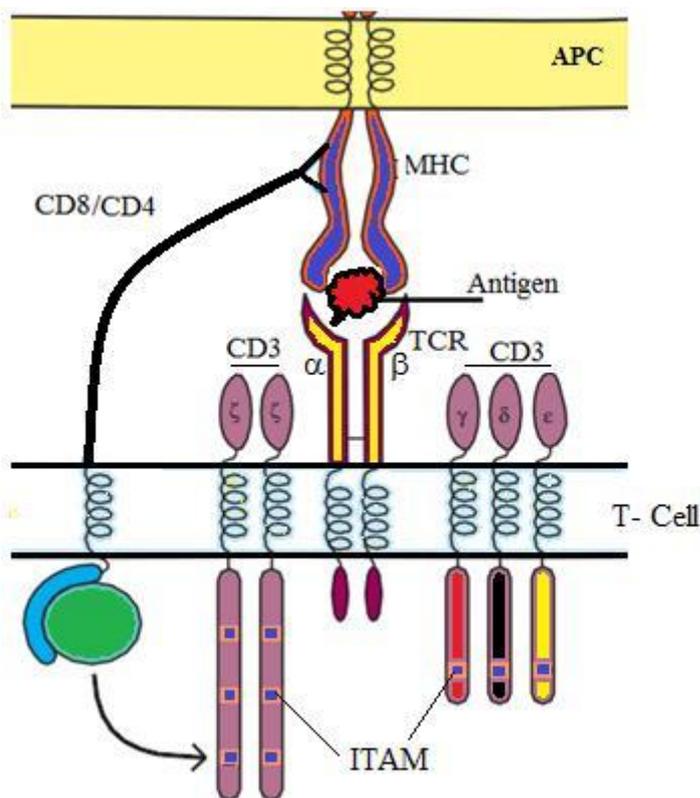
Le TCR est composé de deux chaînes transmembranaires polypeptidiques glycosylées  $\alpha$  et  $\beta$ . Ces glycoprotéines de type I appartiennent à la superfamille des immunoglobulines (Ig).

Chaque chaîne est composée d'un domaine extracellulaire amino-terminal contenant une région variable (V), une région constante (C) ainsi qu'une région charnière (figure 27). Font suite, un domaine transmembranaire hydrophobe composé de 5 à 12 acides aminés chargés positivement (favorisant la stabilité du complexe TCR/CD3) ainsi que d'un court domaine cytoplasmique.

L'association des deux chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  se fait par l'intermédiaire d'un pont di-sulfure. L'ensemble des régions variables ( $V\alpha$  et  $V\beta$ ) ainsi réunies forme le site de reconnaissance à l'antigène.

Chaque région variable possède trois régions hypervariables appelées CDR (Complementary Determining Region) par homologie aux CDR identifiés sur les régions variables des immunoglobulines.

Les régions CDR1 et CDR2 permettent la liaison aux molécules de CMH, le CDR3 se liant préférentiellement au peptide antigénique. Le complexe TCR/CD3 : Le complexe CD3 peut être qualifié de plateforme de transduction du signal associée à l'hétérodimère  $\alpha\beta$ . Il est composé des sous-unités polypeptidiques non polymorphes  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  et  $\zeta$  qui vont s'associer de manière non covalente, afin de former les hétérodimères  $CD3\delta\epsilon$ ,  $CD3\gamma\epsilon$  ainsi que l'homodimère  $CD3\zeta\zeta$ .



**Figure 27. Structure du TCR et CD3 et reconnaissance d'un antigène présenté par une CPA.**

A l'exception du domaine  $CD3\zeta$ , toutes les sous-unités  $CD3$  possèdent une portion transmembranaire chargée négativement qui va permettre l'association avec le TCR et surtout favoriser la stabilité du complexe  $CD3/TCR$ . En réponse à l'engagement du TCR par le complexe CMH/peptide, les portions cytoplasmiques des molécules  $CD3$  permettent l'initiation de la signalisation grâce à leurs motifs ITAM (Immunoreceptor tyrosines-based activation motifs).

La phosphorylation des tyrosines de ces motifs ITAM va permettre le recrutement de protéines de signalisation importantes.

### 2-2-2- Organisation des gènes du TCR

Afin de se prémunir au mieux face à l'immense diversité des agents pathogènes, l'organisme a eu pour unique solution de générer aléatoirement la spécificité des TCR pour les peptides antigéniques. De cette façon, la taille et la diversité du répertoire des cellules T naïves qui vont émerger du thymus vers la périphérie sont maximisées. Le réarrangement des gènes codant pour les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  est réalisé au cours du développement intrathymique des lymphocytes T.

Les processus de recombinaison génique employés vont être très similaires à ceux utilisés pour les réarrangements des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines au cours de la lymphopoïèse B. Chez l'homme, les loci  $\alpha$  et  $\beta$  sont composés, dans leur configuration germinale de segments V (Variable), J (Joining) et C (Constant) pour la chaîne  $\alpha$  et V, D (Diversity), J et C pour la chaîne  $\beta$  (figure 28).

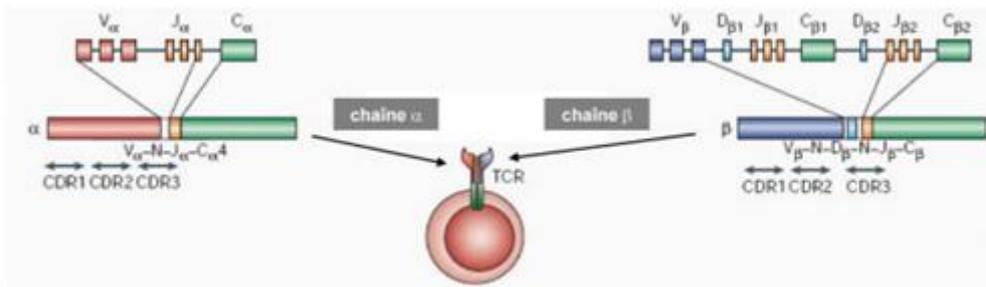


Figure 28. Réarrangements des segments de gènes codant les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR

## 3- Les pathologies immunitaires

Grace à l'identification de mutations géniques et plus récemment, à l'étude de modèles expérimentaux dans lesquels des gènes sont inactivés par recombinaison, des informations essentielles ont été fournies sur les mécanismes de différentes maladies du système immunitaires.

### 3-1- Les Immunodéficiences

#### Symptômes évoquant une immunodéficiência

- Infections fréquentes
- Infections prolongées
- Infections dans des sites inhabituels
- Infections à germes inhabituels

- Septicémies
- Histoire familiale

### Classification des Immunodéficiences

Les immunodéficiences sont classées en deux groupes étiologiques ;

Les immunodéficiences primitives (génétique) que l'on va développer et les immunodéficiences acquises qui sont dû à des agents extrinsèques tel que :

- Agent infectieux (VIH)
- Problème métabolique (diabète, malnutrition)
- Médicament (dans le cadre d'une transplantation ou une maladie auto-immune)
- Cancer

#### 3-1-1- Les immunodéficiences primitives

L'analyse des marqueurs et des fonctions des cellules B et T permet de les classer selon le niveau d'arrêt de la maturation (figure 29)

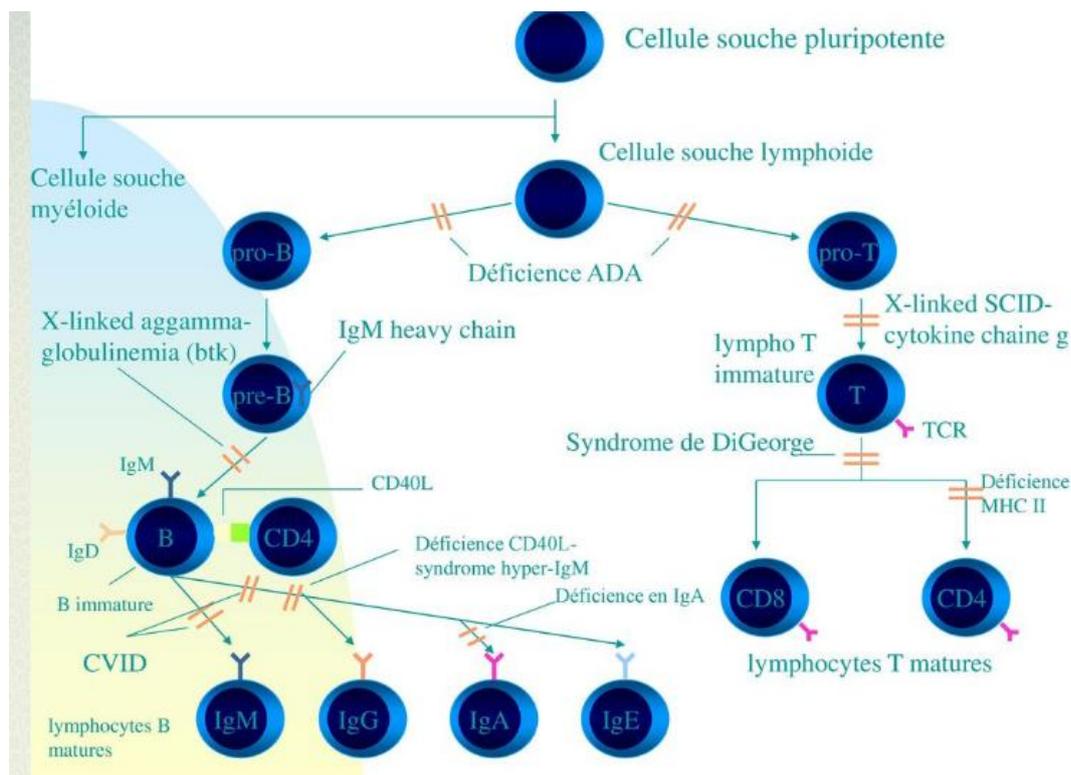


Figure 29. Représentation schématique des différents déficits de l'immunité selon le niveau d'arrêt de la maturation

**a. Les déficits immunitaires combinés (T et B) sévères (DICS)**

Se manifestent par des infections très précoces (après la naissance)

- Virales (entérovirus, parainfluenza)
- Parasitaires (pneumocystis carinii)
- Mycotiques (Candida)
- Bactériennes : pneumonies, otites, septicémies

Il s'agit de maladies génétiques à transmission X récessive (touchant les garçons) ou autosomique récessive. On en distingue plusieurs types (tableau 2) ;

**Tableau 2. Origines génétiques des déficits immunitaires combinés sévères**

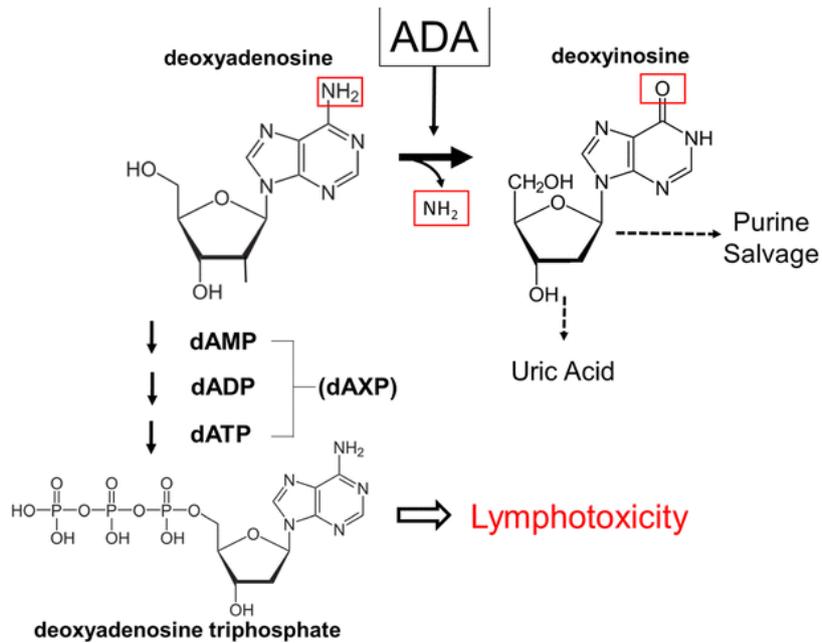
Déficiences spécifiques	Fonction altérée	Mode de transmission héréditaire	Localisation chromosomique de la mutation
Déficit en RAG1/ RAG2	Pas de réarrangement des gènes TCR ou Ig <b>(T-B-)</b>	Autosomique récessif	11p13
Déficit en ADA	Metabolites toxiques dans les cellules B et T	Autosomique récessif	20q13
Déficit en PNP			14q13
Déficit en JAK-3	Déficit des signaux	Autosomique récessif	19p13
Déficit en chaîne $\gamma$ c ( $\gamma$ commune)	IL2,4,7,9,15 <b>(T- B+)</b>	Lié à l'X	Xq13
Déficit en ZAP 70	Déficit du signal TCR	Autosomique récessif	2q12

**Les DICS T- B-**

Ces déficits immunitaires ont une transmission autosomique récessive et sont caractérisés par l'absence de lymphocytes T et B, alors que les cellules Natural Killer (NK) restent présentes. Ils sont dus à des anomalies de la recombinaison V(D)J et/ou de la réparation d'ADN. En effet, une mutation du gène RAG1 ou RAG2 est retrouvée.

**Le déficit en adénosine désaminase (ADA)**

Il est transmis de façon autosomique récessive. L'absence d'ADA entraîne l'accumulation de substrats d'amont : adénosine, AMP, ADP, ATP et de leurs dérivés (figure 30) qui ont un effet toxique sur les thymocytes T, B et NK. Ce qui a pour conséquence l'arrêt des réponses prolifératives.

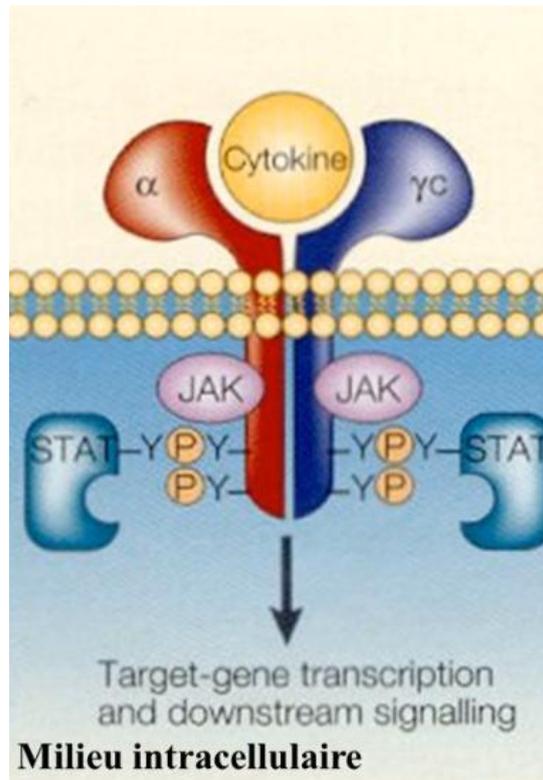


**Figure 30. Schéma représentatif du rôle de ADA dans la voie de synthèse des bases puriques.** *Le déficit en ADA entraîne une accumulation notamment de désoxyadénosine triphosphate ce qui conduit à une Lymphotoxicité.*

### Les DICS T- B+

Ces déficits sont caractérisés par l'absence de cellules T, parfois également des cellules NK et la présence de cellules B ; ils représentent environ la moitié des cas de DICS.

- Le DICS T- B+ lié à l'X est dû à une mutation du gène codant la chaîne commune ou  $\gamma_c$  du récepteur des cytokines suivantes : interleukine (IL)-2, IL-4, IL-7, IL9, et IL15. Ces cytokines sont nécessaires au cours de la lymphopoïèse T et NK.
- Le DICS T- B+ autosomique récessif est dû à une mutation du gène JAK3, qui code une kinase jouant un rôle central dans la signalisation de la chaîne  $\gamma_c$ .



**Figure 31. Rôle du JAK 3 dans la transmission du signal intracellulaire consécutif à la fixation de la cytokine à son récepteur.**

### **b. Déficiences immunitaires isolées des cellules T**

Il s'agit d'un ensemble de syndromes où les cellules T sont retrouvées dans le sang circulant mais dont les fonctions sont très défectueuses.

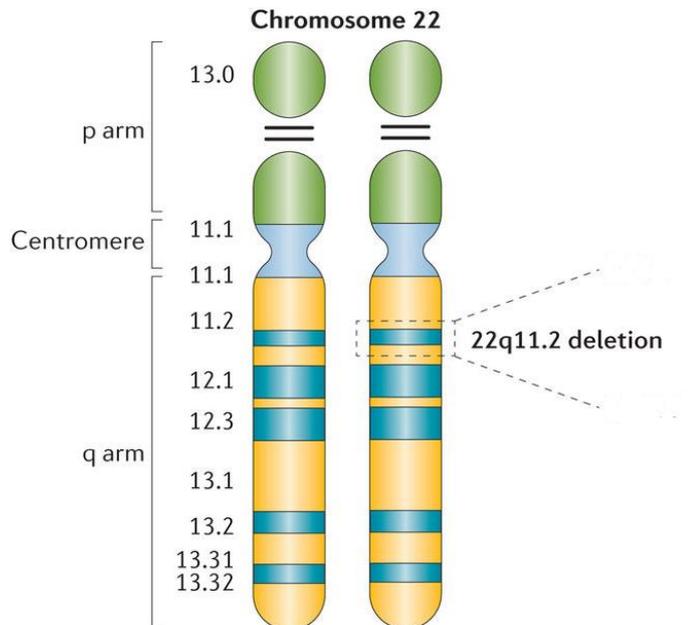
Les malades présentent diverses infections mais moins graves et moins précoces que celles présentées par les enfants atteints de DICS.

- Le syndrome de Di George est défini par l'absence congénitale de thymus. C'est le cas le plus pur de déficit sélectif en cellules T dont le nombre et les fonctions sont réduits ou même nuls.

Les cellules B sont présentes mais les concentrations sériques d'immunoglobulines sont diminuées.

Ce syndrome est associé à des micro délétions (figure 32) hétérozygotes du chromosome 22 (22q11).

- Les autres déficiences immunitaires sélectives des cellules T sont plus rares.  
Les défauts d'expression de CD3  
Le défaut de la tyrosine ZAP 70



**Figure 31. Micro délétion au niveau de la région q11.2 du chromosome 22 responsable du syndrome de Di George**

### c. L'Agammaglobulinémie liée à l'X

L'agammaglobulinémie liée à l'X ou maladie de Bruton est caractérisé par une absence de lymphocytes B dans le sang et les organes lymphoïdes, due à un blocage précoce de la maturation des lymphocytes B. Les lymphocytes T sont normaux

Le gène responsable est le gène *BTK*.

Les premières infections bactériennes surviennent vers l'âge de 6 Mois après la disparition des immunoglobulines maternelles.

### d. Déficiences des cellules phagocytaires

Les déficiences des principaux types de cellules phagocytaires (polynucléaires, monocytes et macrophages) peuvent être quantitatives (Neutropénies et agranulocytoses) ou qualitatives (granulomatose septique chronique).

- **La maladie de Kotsmann** est une neutropénie isolée permanente liée à un blocage de maturation des polynucléaires dans la moelle osseuse

Mutation au niveau du gène *HAX1*.

- **La neutropénie cyclique** (tous les 21 jours) est dû à des mutations du gène de l'élastase *ELA2*.
- **Déficiences de protéines d'adhésion** est une maladie autosomique récessive et entraîne un déficit fonctionnel de l'adhésion des neutrophiles, monocytes et lymphocytes.

Les malades présentent un retard à la chute du cordon ombilical, des infections nécrotiques sans pus et une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles persistantes.

Le déficit est lié à des mutations du gène codant la chaîne  $\beta$  commune des intégrines et donc responsables de l'absence d'expression membranaire de ces molécules.

#### e. Déficiences génétiques du complément

De nombreux déficits génétiques du complément sont connus, deux d'entre eux sont relativement fréquents ;

- **Déficit en C1 inh**

Sa transmission se fait selon le mode autosomique dominant.

Est responsable de l'œdème angioneurotique.

L'atteinte des voies respiratoires fait la gravité de l'affection.

- **Déficit en C2**

Le plus fréquent des déficits génétiques du complément

Dans la plupart des cas ce déficit est lié aux allèles HLA-A10, B18 et DR2

Ils s'accompagnent de maladies de type auto-immun, proches du lupus érythémateux disséminé.

### 3-1-2- Déficiences immunitaires secondaires

Les dysfonctionnements du système immunitaire se développent souvent à cause d'anomalies dont l'origine n'est pas génétique mais acquises au cours de la vie.

Parmi ces anomalies,

- L'une des plus graves à l'échelle mondiale est l'infection par le VIH.
- Les cancers qui envahissent la moelle osseuse et/ou sont consécutives à d'autres thérapies.
- Les traitements anticancéreux par chimiothérapie et radiothérapie peuvent par exemple léser les cellules et conduire à une immunodéficience.
- Les traitements destinés aux maladies inflammatoires et à empêcher le rejet des greffes.
- La malnutrition entraîne également des déficits de quasi tous les composants du système immunitaire et constitue une cause fréquente d'immunodéficiences dans les pays en voie de développement.

### 3-2- Les mutations du gène *FAS*

Le syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité ou ALPS (*auto-immune lymphoproliferative syndrome*) se caractérise par un syndrome tumoral bénin, d'apparition précoce, qui associe des adénopathies, une splénomégalie et parfois une hépatomégalie.

Cette lymphoprolifération chronique s'accompagne d'une hypergammaglobulinémie, majoritairement de type IgG et IgA, et se caractérise par l'accumulation dans le sang et les organes lymphoïdes secondaires d'une population polyclonale de lymphocytes T $\alpha\beta$  matures n'exprimant ni CD4 ni CD8, appelés lymphocytes T double négatifs.

Des manifestations auto-immunes sont retrouvées chez plus des deux tiers des patients ALPS, le plus souvent sous la forme de cytopénies auto-immunes (anémie hémolytique, thrombopénie, neutropénie).

L'ALPS est associé à un défaut génétique de la voie de l'apoptose lymphocytaire induite par le récepteur de mort **FAS**.

Ainsi, un défaut complet ou partiel d'apoptose induite par FAS est mis en évidence dans les cellules des patients porteurs respectivement d'une mutation germinale homozygote ou hétérozygote du gène codant le récepteur de mort FAS.

#### a. La protéine FAS

Le gène *FAS* (*Apoptosis Stimulating Fragment*) code l'une des nombreuses protéines importantes pour l'apoptose appelé aussi APO-1, CD95, impliquée dans l'homéostasie immunitaire, à l'élimination des cellules transformées et infectées et joue un rôle central dans la tolérance périphérique.

Protéine transmembranaire de 335 d'acides aminées, 50kDa (figure 32)

appartenant à la famille du récepteur du TNF,

pouvant médier la mort par apoptose de cellules transformées mais aussi de lymphocytes T humaines activées

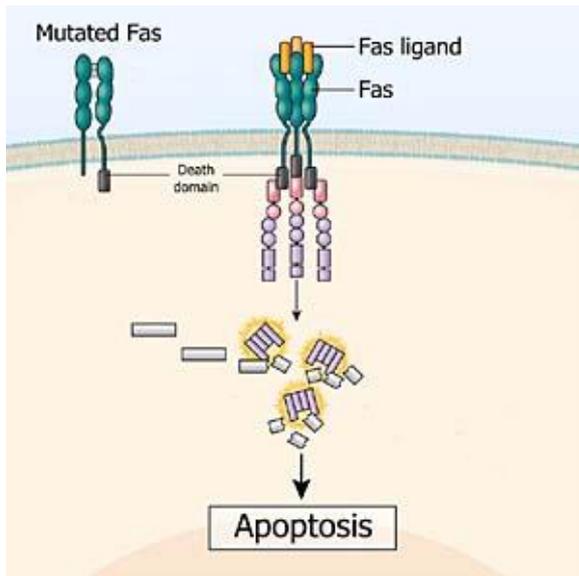


Figure 32. Schéma de la structure du récepteur FAS avec son ligand et FAS muté

### b. Voie de signalisation

Après fixation de leurs ligands par leur extrémité N-terminale, sont activés sous forme de trimères.

L'extrémité intracellulaire C-terminale comporte une séquence de 80 acides aminés formant un "domaine de mort" (DD).

Les trois DD associés du trimère FAS activé vont recruter une protéine cytoplasmique FADD (Fas Associating protein with Death Domain) (figure 33) comportant deux domaines :

- Un domaine DD qui forme un dimère avec le domaine DD de FAS
- Un domaine DED (Death Effector Domain) qui fixe et active la procaspase 8 (forme zymogène inactive de la caspase 8).

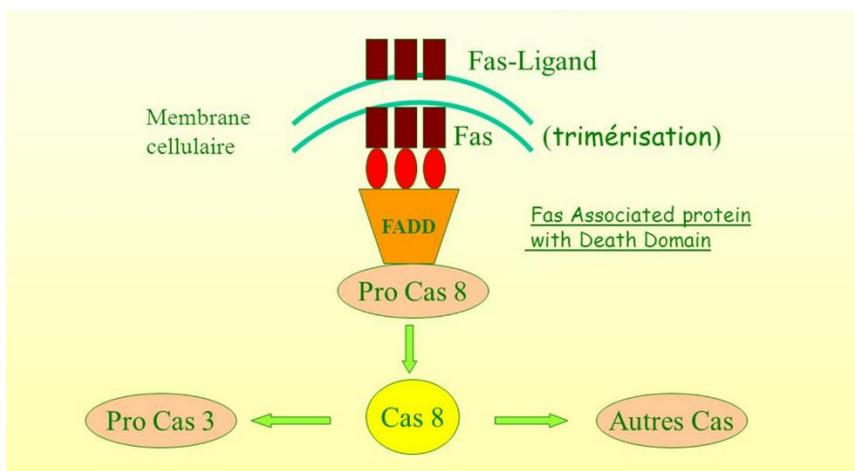


Figure 33. Voie de signalisation Fas/Fas L

En activant la procaspase 8, FAS induit la cascade d'activations protéiques aboutissant à la mort cellulaire par apoptose.

### c. Structure et localisation du gène *FAS*

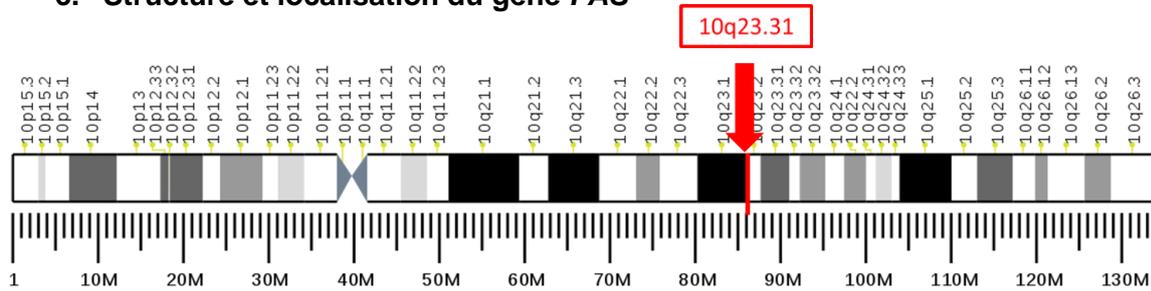


Figure 34. Localisation du locus du gène *FAS* sur le chromosome 10q23.31

- Le gène Fas a 18 transcrits différents
- Parmi eux 3 codes pour des protéines (figure 35)

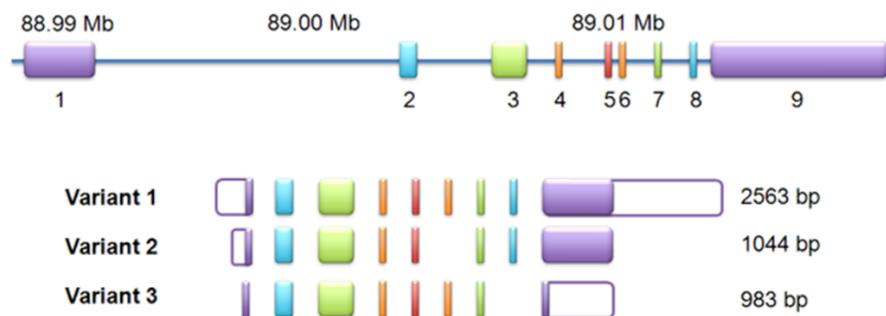


Figure 35. Les trois transcrits du gène *FAS*.

### d. Les mutations du gène *FAS*

La majorité des mutations ont été retrouvés dans les exons 8 et 9

Codant la partie intracellulaire de la glycoprotéine Fas

Cellules Tumorales malignes et des cellules ALPS type la montrent une mutation hétérozygote du domaine DD de la molécule Fas

Trois mutations "hot-spots" ont été identifiées et retrouvées impliquées dans l'interaction CD95/FADD

- arginine in position 234,
- aspartic acid in position 244,
- valine in position 251

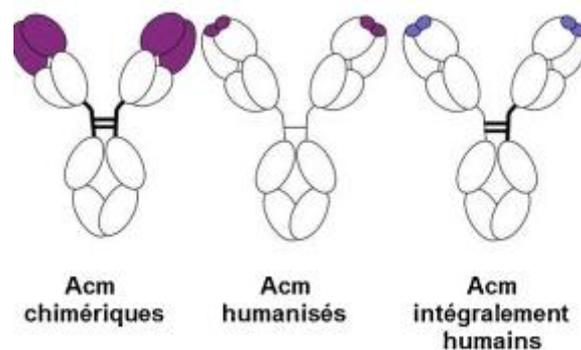
#### 4- Les anticorps monoclonaux

On doit leur réalisation aux deux chercheurs Köhler et Milstein en 1975, en ciblant de façon spécifique une structure antigénique précise avec un anticorps homogène, donc monoclonal.

La méthodologie a consisté à fusionner une cellule maligne de la lignée B (un plasmocytome murin) avec un lymphocyte B provenant d'un animal immunisé. Cet hybridome regroupe ainsi les propriétés d'immortalité de la cellule maligne et la spécificité du lymphocyte.

Initialement, ils ont servi à des fins diagnostiques *in vitro*, par production, chez la souris contre une quantité croissante d'antigènes,

Leur utilisation dans un but thérapeutique chez l'homme n'a pas été réalisable de suite, car l'organisme humain fabrique ses propres anticorps contre ces Acm murins, et ce sont les techniques du génie génétique qui ont permis d'obtenir progressivement des anticorps murins de plus en plus « humanisés » (figure 36). C'est ainsi qu'ont été successivement produits des anticorps chimériques, dans lesquels les parties constantes des Ig murines étaient remplacées par leurs homologues humaines, puis des anticorps humanisés, consistant à insérer les régions hypervariables murines spécifiques de la cible à la place de leurs homologues humaines, pour finalement faire produire directement par des souris des anticorps entièrement humains par les techniques d'inactivation et d'insertion géniques. On dispose ainsi d'anticorps monoclonaux humains pour lesquels l'immunogénicité chez l'homme est réduite au minimum (Figure 36).



**Figure 36. Humanisation des Acm.**

*Les Anticorps monoclonaux (Acm) chimériques sont obtenus par l'association génétique du fragment Fab murin avec le fragment Fc murin. Les Acm humanisés ont été obtenus par l'association des gènes codant la région hypervariable clonés à partir de souris immunisés et les gènes des chaîne lourde et légère de l'anticorps humain. Les Acm intégralement humains sont obtenus par immunisation de souris transgéniques portant les loci humains de la chaîne lourde et légère.*

La dénomination des anticorps monoclonaux est indicative du principe de leur construction.

Le suffixe « momab » désigne les anticorps monoclonaux construits à partir de la souris,  
Le suffixe « ximab » dénomme les anticorps chimériques – homme/souris,  
Le suffixe « zumab » est appliqué aux anticorps monoclonaux « humanisés »,  
Le suffixe « mumab » concerne les anticorps monoclonaux entièrement « humains ».

Les premières cibles visées par les Acm ont porté sur des cellules du système immunitaire lui-même, afin de prévenir le rejet de greffe (molécules CD3 des lymphocytes T), mais très rapidement le champ d'application des Acm s'est considérablement élargi, en particulier dans le domaine de la cancérologie, où un Acm peut être dirigé spécifiquement pour s'attacher à certaines parties d'une cellule cancéreuse. L'anticorps marque ainsi la cellule cancéreuse par opsonisation et facilite l'élimination par le système immunitaire.

C'est dans le domaine des tumeurs lymphoprolifératives que les avancées les plus spectaculaires ont été d'abord obtenues, suivies par l'utilisation d'Acm dirigés contre des récepteurs de la famille des EGF-R (epidermal growth factor receptors) dans certains cancers du sein.

Les Acm ont également été utilisés dans le traitement d'autres maladies redoutables et fortement invalidantes telles que la polyarthrite rhumatoïde, et plus récemment, la sclérose en plaques ou la dégénérescence maculaire liée à l'âge.

## **5- Introduction en Immunoinformatique**

Un organisme humain synthétise plus de  $10^{12}$  anticorps et plus de  $10^{12}$  récepteurs T différents pour faire face aux agressions extérieures de la part des virus, bactéries et parasites et pour lutter contre ses propres cellules malignes. C'est par des mécanismes complexes de réarrangements de l'ADN et, dans le cas des gènes Ig, de mutations somatiques, qu'un nombre aussi important de récepteurs d'antigènes peut être obtenu. Pour gérer cette complexité des gènes, séquences et structures des Ig et TCR, l'IMGT « the international ImMunoGeneTics information system » a été créé en 1989 à Montpellier par le Laboratoire d'ImmunoGénétique Moléculaire (LIGM). C'est une plate-forme française d'intérêt mondial et une source unique de connaissances en immunogénétique au niveau international.

L'IMGT® est composé de plusieurs bases de données (quatre de séquences, une de gènes, une de structures 3D), d'une quinzaine d'outils interactifs et de plus de 10 000 pages de ressources Web.

Il est devenu le véritable système de référence pour la nomenclature des gènes des immunoglobulines et des récepteurs T. Ce sont les noms des gènes Ig et TCR définis par

IMGT® qui sont approuvés par le Human genome organisation (HUGO) nomenclature committee (HGNC) et utilisés par les laboratoires du monde entier.

L'IMGT® est aujourd'hui le système de référence international en immunogénétique et immunoinformatique, utilisé en recherche fondamentale, médicale et biotechnologique, et en particulier, en ingénierie et humanisation des anticorps.

**Références Bibliographiques**

Green LL, Hardy MC, Maynard-Currie CE, et al. Antigen-specific human monoclonal antibodies from mice engineered with human Ig heavy and light chain YACs. *Nat Genet* 1994 ; 7 : 13-21.

Kalman L, et al. Mutations in genes required for T-cell development: IL7R, CD45, IL2RG, JAK3, RAG1, RAG2, ARTEMIS, and ADA and severe combined immunodeficiency: HuGE review. *Genet Med*. 2004;6:16–26. doi: 10.1097/01.GIM.0000105752.80592.A3.

Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975 ; 256 : 495-7.

Kohn DB, Gaspar HB. How we manage adenosine deaminase-deficient severe combined immune deficiency (ADA SCID). *J Clin Immunol*. 2017; doi: 10.1007/s10875-017-0373-y.

Lefranc MP. WHO-IUIS Nomenclature subcommittee for immunoglobulins and T cell receptors. *Dev Comp Immunol* 2008 ; 32 : 461-3.

Lefranc MP, Giudicelli V, Ginestoux C, et al. IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®. *Nucleic Acids Res* 2009 ; 37 : D1006-12.

Lonberg N, Taylor LD, Harding FA, et al. Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications. *Nature* 1994 ; 368 : 856-9.

Moreira I, Papaioannou M, Mortuza FY, et al. Heterogeneity of VH-JH gene rearrangement patterns: an insight into the biology of B cell precursor ALL. *Leukemia*.2001;15(10):1527–1536.

Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT. Chimeric human antibody molecules : mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 6851-5.

Mortuza FY, Moreira IM, Papaioannou M, et al. Immunoglobulin heavy-chain gene rearrangement in adult acute lymphoblastic leukemia reveals preferential usage of J(H)-proximal variable gene segments. *Blood*.2001;97(9):2716–2726.

Queen C, Schneider WP, Seltick HE, et al. A humanized antibody that binds to the interleukin-2 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 10029-35.

Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*. 1971;2(7731):971–972.

