

Organisation des gènes des récepteurs $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ des lymphocytes T humains

La majorité des lymphocytes T ont, à leur surface, des récepteurs capables de reconnaître l'antigène, lorsque celui-ci est dégradé et présenté par une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ces récepteurs T classiques sont formés de deux chaînes α et β associées au complexe CD3. Un deuxième type de récepteurs T, le récepteur $\gamma\delta$, lui aussi associé au complexe CD3, existe à la surface des cellules d'une population de lymphocytes T dépourvus du récepteur classique $\alpha\beta$. Les gènes γ et δ sont, comme les gènes α et β , réarrangés de manière spécifique dans les lymphocytes T. Cet article présente les données récentes sur l'organisation et les réarrangements des gènes α , β , γ et δ des récepteurs T chez l'homme.

Marie-Paule Lefranc

L'importance des lymphocytes T dans les réponses immunitaires spécifiques cellulaires et humorales (ces dernières par des interactions avec les lymphocytes B) provient de l'existence, à leur surface, des récepteurs d'antigènes capables de reconnaître les antigènes étrangers au soi. Les récepteurs d'antigènes des lymphocytes T, ou récepteurs T, se distinguent des récepteurs d'antigènes des lymphocytes B, que sont les immunoglobulines ou anticorps, par plusieurs caractéristiques.

- Alors que les immunoglobulines sont formées de quatre chaînes (deux chaînes lourdes et deux chaînes légères) et possèdent deux sites de reconnaissance pour l'antigène, les récepteurs T sont des dimères ne possédant qu'un seul site de reconnaissance.

- Alors que les immunoglobulines existent sous forme membranaire ou sécrétée, les récepteurs T sont uniquement membranaires.

- Alors que les immunoglobulines reconnaissent l'antigène sous forme soluble et native, les récepteurs T reconnaissent l'antigène présenté par les cellules présentatrices de l'antigène (APC) (macrophages, monocytes, cellules B, cellules dendriti-

ques), après que celles-ci l'ont remanié (*processed*) et converti à l'état de petits peptides. Cet antigène est présenté en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

La majorité des lymphocytes T exprime le récepteur T classique dit $\alpha\beta$, car formé d'une chaîne α et d'une chaîne β (*m/s n° 6, vol. 2, p. 304*). La découverte d'un troisième gène, le gène γ , chez la souris puis chez l'homme [1], a laissé prévoir l'existence d'un second type de récepteur. Cela a été confirmé par la mise en évidence de la chaîne γ à la surface d'une sous-population de lymphocytes T n'exprimant pas le récepteur $\alpha\beta$ (*m/s n° 3, vol. 3, p. 150*). L'on sait maintenant que cette chaîne γ est associée à une quatrième chaîne, la chaîne δ . Dans ce document, nous étudions la structure, l'organisation et les réarrangements des gènes des récepteurs T.

Structure des récepteurs T

Les récepteurs $\alpha\beta$ sont des dimères constitués d'une chaîne α et d'une chaîne β , unies par un pont disulfure (*figure 1*), à la surface des lymphocytes T CD3⁺ CD4⁺ et CD3⁺ CD8⁺

ADRESSE

M.P. Lefranc: professeur à l'université de Montpellier II, sciences et techniques du Languedoc. Laboratoire d'immunogénétique moléculaire, URA Cnrs 1191, place E. Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 2, France.

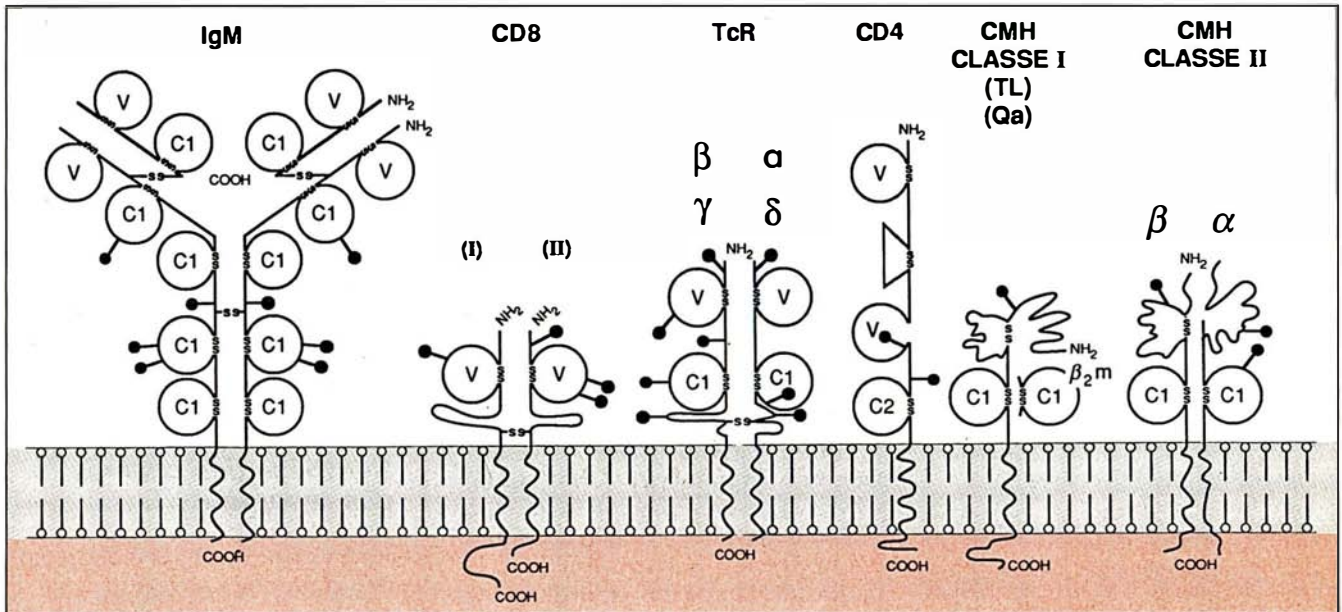


Figure 1. **Représentation schématique d'une IgM, des récepteurs T, du CD4, du CD8 et du complexe majeur d'histocompatibilité.** Par suite de leur analogie structurale avec les immunoglobulines, ces molécules font partie de la « superfamille » des immunoglobulines.

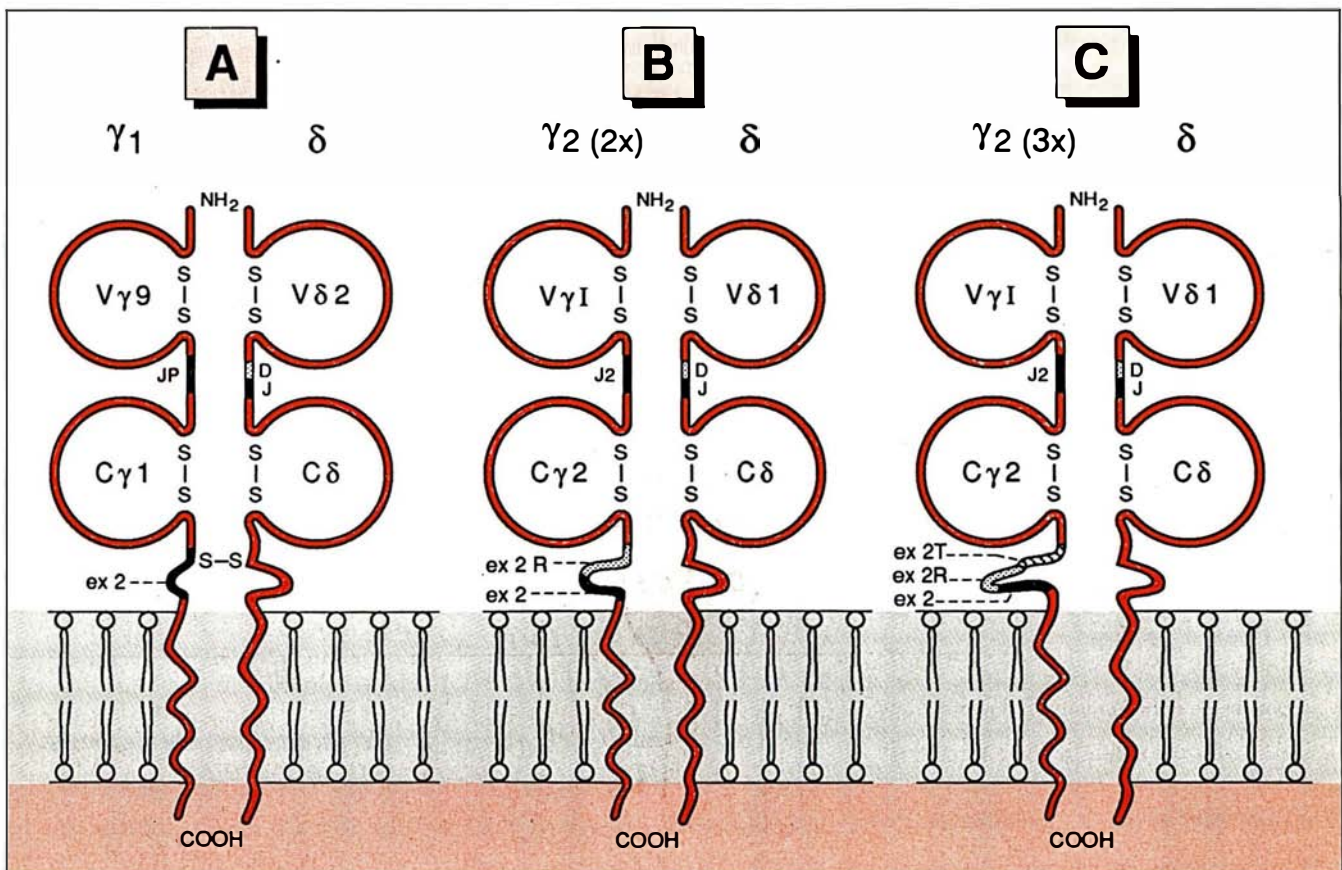


Figure 2. **Représentation schématique des récepteurs T $\gamma\delta$ [7].** Selon la chaîne γ exprimée, il existe trois types de récepteurs T γ/δ : (A) le récepteur $\gamma 1$ - δ dont la chaîne $\gamma 1$ de 40 kDa est unie par un pont disulfure à la chaîne δ ; (B) le récepteur $\gamma 2(2x)$ - δ et le récepteur $\gamma 2(3x)$ - δ , dont les chaînes $\gamma 2(2x)$ (de 40 ou 44 kDa selon le degré de glycosylation) et les chaînes $\gamma 2(3x)$ (de 55 kDa) sont respectivement caractérisées par une duplication ou une triplification de l'exon 2 [14] et sont associées de manière non covalente à la chaîne δ [7] ex 2, ex 2R et ex 2T: exon 2 et ses formes de duplication et de triplification.

RÉFÉRENCES

1. Lefranc MP, Rabbitts TH. Two tandemly organized human genes encoding the T-cell γ constant-region sequences show multiple rearrangements in different T-cell types. *Nature* 1985 ; 316 : 464-6.
2. Raulat DH. Antigens for γ/δ T cells. *Nature* 1989 ; 339 : 342-3.
3. Wilson RK, Lai E, Concannon P, Barth RK, Hood LE. Structure, organization and polymorphism of murine and human T-cell receptor α and β chain gene families. *Immunol Rev* 1988 ; 101 : 149-72.
4. Toyonaga B, Yoshikai Y, Vadsaz V, Chin B, Mak T. Organization and sequences of the diversity, joining and constant region genes of the human T-cell receptor β -chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 8624-8.
5. Baer R, Lefranc MP, Minowada J, Forster A, Stinson MA, Rabbitts TH. Organization of the T-cell receptor alpha-chain gene and rearrangement in human T-cell leukemias. *Mol Biol Med* 1985 ; 3 : 265-77.
6. Yoshikai Y, Clark SP, Taylor S, et al. Organization and sequences of the variable, joining and constant region genes of the human T-cell receptor α -chain. *Nature* 1985 ; 316 : 837-40.
7. Lefranc MP, Rabbitts TH. The human T-cell receptor gamma (TRG) genes. *Trends Biochem Sci* 1989 ; 14 : 214-8.
8. Lefranc MP, Forster A, Rabbitts TH. Rearrangement of two distinct T-cell γ -chain variable-region genes in human DNA. *Nature* 1986 ; 319 : 420-2.
9. Lefranc MP, Forster A, Baer R, Stinson MA, Rabbitts TH. Diversity and rearrangement of the human T-cell rearranging genes: nine germ-line variable genes belonging to two subgroups. *Cell* 1986 ; 45 : 237-46.
10. Forster A, Huck S, Ghanem N, Lefranc MP, Rabbitts TH. New subgroups in the human T-cell rearranging $V\gamma$ gene locus. *EMBO J* 1987 ; 6 : 1945-50.
11. Huck S, Dariavach P, Lefranc MP. Variable region genes in the human T-cell rearranging gamma (TRG) locus: V-J junction and homology with the mouse genes. *EMBO J* 1988 ; 7 : 719-26.
12. Lefranc MP, Forster A, Rabbitts TH. Genetic polymorphism and exon changes of the constant regions of the human T-cell rearranging gene γ . *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 9596-600.
13. Huck S, Lefranc MP. Rearrangements to the JP1, JP and JP2 segments in the human T-cell rearranging gamma gene (TRG) locus. *FEBS Lett* 1987 ; 224 : 291-6.

qui représentent 90 % des lymphocytes T circulants. Les lymphocytes $CD3^+ CD4^+$ reconnaissent l'antigène en association avec les molécules du CMH de classe II et sont pour la plupart des lymphocytes auxiliaires (ou *helpers*) tandis que les lymphocytes $CD3^+ CD8^+$ reconnaissent l'antigène en association avec les molécules du CMH de classe I et sont pour la plupart des lymphocytes cytotoxiques.

Les récepteurs $\gamma\delta$ sont des dimères constitués d'une chaîne γ et d'une chaîne δ , unies ou non par un pont disulfure (figure 2, p. 755), à la surface des lymphocytes $CD3^+ CD4^- CD8^-$. Ceux-ci représentent de 1 à 10 % des lymphocytes périphériques (en moyenne 3 %). Leur fonction, la nature de l'antigène et le contexte dans lequel il est reconnu sont encore inconnus et font actuellement l'objet de nombreuses recherches. Des travaux récents ont montré que des cellules T $\gamma\delta^+$ reconnaissent des épitopes conservés, mycobactériens et autologues, appartenant aux protéines de stress (protéines du choc thermique). Les cellules $\gamma\delta^+$ pourraient ainsi jouer un rôle dans l'immunité mycobactérienne, mais aussi,

de manière plus générale, permettre l'élimination de cellules « stressées » autologues, qu'elles soient infectées ou transformées [2].

Les récepteurs $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ sont ancrés dans la membrane cellulaire par une région transmembranaire hydrophobe. Ils sont associés au complexe CD3, lui-même formé de quatre protéines γ , δ , ϵ et ζ (figure 3). Le complexe CD3 permet la transduction du signal d'activation vers l'intérieur de la cellule, à la suite de la reconnaissance de l'antigène par les récepteurs T.

Synthèse des chaînes des récepteurs T

Chaque chaîne α , β , γ et δ des récepteurs T comporte une région variable et une région constante ayant une structure semblable au domaine des immunoglobulines (figure 1). Comme pour les chaînes des immunoglobulines, la région constante est codée par un gène C (constant) et la région variable résulte de la jonction de segments d'ADN (gène V et segment J dans le cas des chaînes α et γ ; gène V, segments D et J dans le cas des chaînes β et δ) (*m/s n° 6, vol. 2, p. 304; n° 3, vol. 3, p. 310*).

La jonction de ces segments se fait, comme pour les immunoglobulines, grâce à l'enzyme appelée recombinase qui reconnaît des signaux de recombinaison, dits « heptamère-nonamère », situés en 3' (en aval) des gènes V, en 5' (en amont) des segments J et de part et d'autre des segments D (figure 4). Les séquences heptamère et nonamère de chaque signal sont séparées par 12 ± 1 ou 23 ± 1 nucléotides. Il semblerait que les recombinaisons efficaces aient lieu lorsqu'elles font intervenir un signal dont l'intervalle est de 12 ± 1 nucléotides et un autre de 23 ± 1 nucléotides (règle dite 12/23).

Organisation des gènes des récepteurs T

- Le locus β (TRB) localisé sur le chromosome 7q35 comprend environ 60 gènes $V\beta$ appartenant à 20 sous-groupes différents [3]. Il existe deux gènes $C\beta$ ($C\beta 1$ et $C\beta 2$), chacun d'eux étant précédé d'un groupe de segments $J\beta$ (six segments $J\beta 1$ et sept segments $J\beta 2$) et d'un segment D

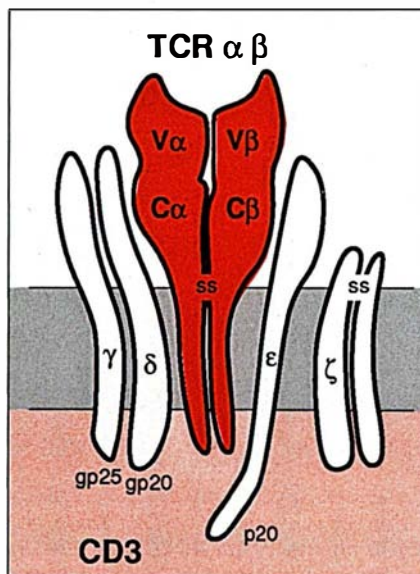


Figure 3. Représentation schématique du complexe récepteur T $\alpha\beta$ -CD3 humain.

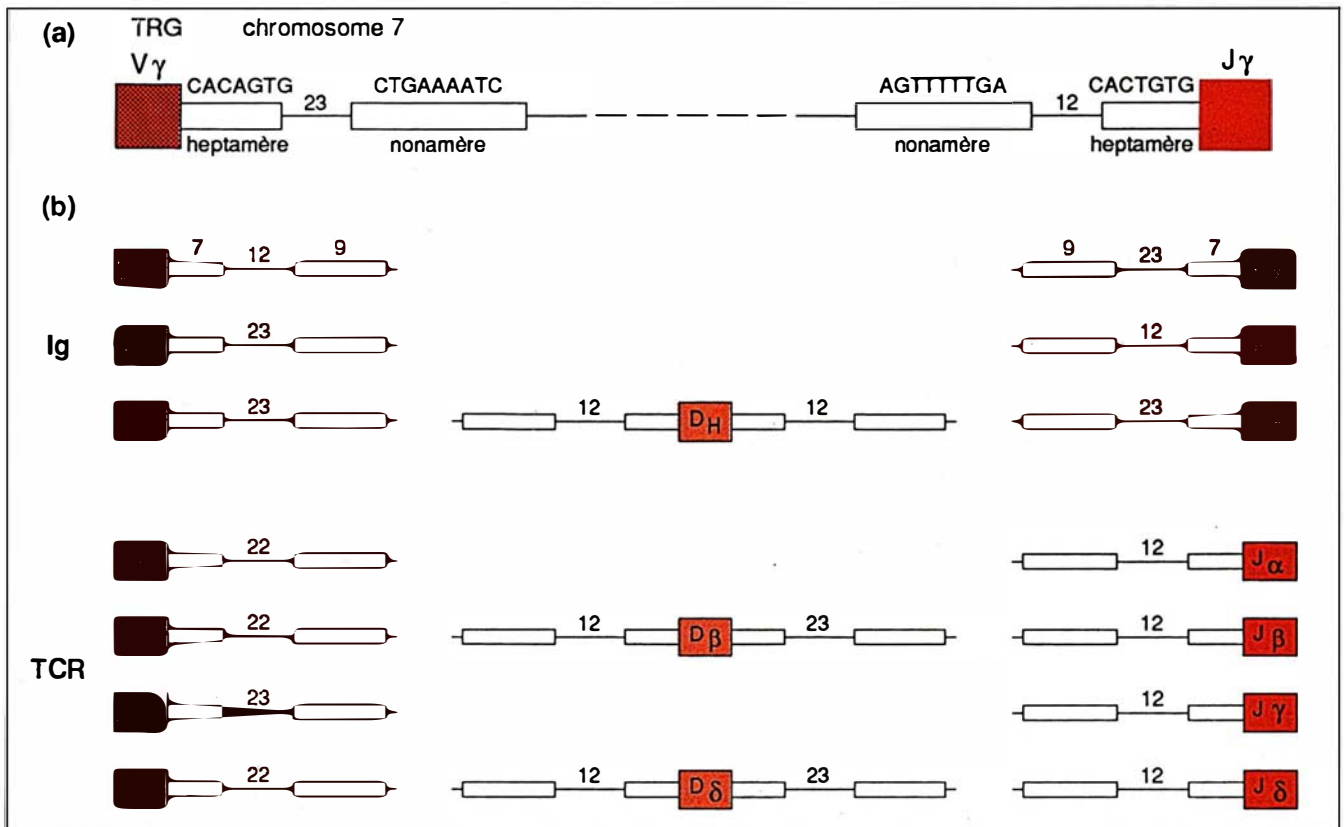


Figure 4. **Signaux de recombinaison des gènes V et des segments D et J dans les loci des Ig et récepteurs T.** Les signaux de recombinaison, dits « heptamère-nonamère », sont situés en 3' (en aval) des gènes V, en 5' (en amont) des segments J, et de part et d'autre des segments D, quand ceux-ci existent. Les séquences heptamère et nonamère de chaque signal sont séparées par 12 ± 1 ou 23 ± 1 nucléotides. Il semblerait que les recombinaisons efficaces aient lieu lorsqu'elles font intervenir un signal dont l'intervalle est de 12 ± 1 nucléotides et un autre signal dont l'intervalle est de 23 ± 1 nucléotides (règle dite 12/23). En (a), modèle des segments V et J du gène γ du récepteur T. En (b), différentes organisations au niveau des gènes codant pour les chaînes des immunoglobulines (Ig) et des récepteurs T (TCR).

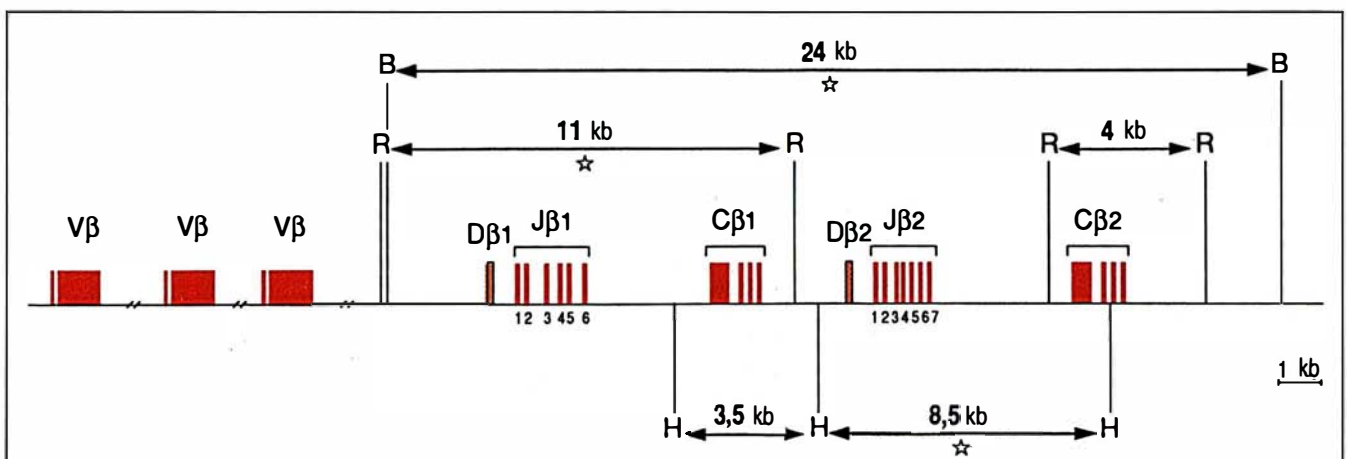


Figure 5. **Organisation du locus β (TRB) des récepteurs T.** Le locus β humain comprend environ 60 gènes V β [3]. Il existe deux gènes C β (C β 1 et C β 2), chacun d'eux étant précédé d'un groupe de segments J β (six segments J β 1 et sept segments J β 2) et d'un segment D (D β 1 et D β 2) [4]. La taille des fragments de restriction obtenus en configuration « germline » (non réarrangée) est indiquée en kilobases (kb). B = BamHI, H = Hind III, R = EcoRI.

14. Buresi C, Ghanem N, Huck S, Lefranc G, Lefranc MP. Exon duplication and triplication in the human T-cell receptor gamma (TRG) constant region genes and RFLP in French, Lebanese, Tunisian and Black African populations. *Immunogenet* 1989; 29: 161-72.
15. Lefranc MP, Chuchana P, Dariavach P, et al. Molecular mapping of the human T-cell receptor gamma (TRG) genes and linkage of the variable and constant regions. *Eur J Immunol* 1989; 19: 989-94.
16. Takihara H, Tkachuk D, Michalopoulos E, et al. Sequence and organization of the diversity, joining, and constant region genes of the human T-cell δ -chain locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6097-6101.
17. Loh EY, Cwirla S, Serafini AT, Phillips JH, Lanier LL. Human T-cell receptor δ chain: genomic organization, diversity, and expression in populations of cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9714-8.
18. Boehm T, Baer R, Lavenir I, et al. The mechanism of chromosomal translocations t(11; 14) involving the T-cell receptor C δ locus on human chromosome 14q11 and a transcribed region of chromosome 11p15. *EMBO J* 1988; 7: 385-94.
19. Baer R, Boehm T, Yssel H, Spits H, Rabbitts TH. Complex rearrangements within the human J δ -C δ /J α -C α locus and aberrant recombination between J α segments. *EMBO J* 1988; 7: 1661-8.
20. Hata S, Brenner MB, Krangel MS. Identification of a putative human T-cell receptor δ complementary DNA clones. *Science* 1987; 238: 678-82.
21. Loh EY, Lanier LL, Turck CW, et al. Identification and sequence of a fourth human T-cell antigen receptor chain. *Nature* 1987; 330: 569-72.
22. Satyanarayana K, Hata S, Devlin P, et al. Genomic organization of the human T-cell antigen-receptor α/δ locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8166-70.
23. Hata S, Clabby M, Devlin P, Spits H, de Vries JE, Krangel MS. Diversity and organization of human T-cell receptor δ variable gene segments. *J Exp Med* 1989; 169: 41-57.
24. Triebel Y, Faure F, Mami-Chouaib F, et al. The identification of a novel V δ gene provides further evidences for a limited recombinatorial diversity of the « first » T-cell receptor in a predominant human peripheral blood lymphocyte fraction. *Eur J Immunol* 1988; 18: 2021-7.
25. Dariavach P, Lefranc MP. First genomic sequence of the human T-cell receptor variable $\delta 2$ gene. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 4880.
- (D $\beta 1$ et D $\beta 2$) [4] (figure 5, p. 757). Cette organisation résulte d'une récente duplication de la région constante.
- Le locus α localisé sur le chromosome 14q11 comprend environ 60 gènes Va appartenant à 22 sous-groupes [3], ≈ 100 J α localisés sur 80 kb et une seule région constante Ca [5, 6] (figure 6). L'organisation des segments J sur une aussi grande étendue est tout à fait inhabituelle et n'est pas observée dans les autres loci Ig (immunoglobuline) ou TcR.
 - Le locus γ [7] localisé sur le chromosome 7p15 comprend 14 gènes V γ appartenant à quatre sous-groupes. Neuf gènes V γ , 5 d'entre eux fonctionnels (V2, V3, V4, V5 et V8) et quatre pseudogènes (V1, V5P, V6, V7) appartiennent au sous-groupe I, tandis que les sous-groupes II, III et IV contiennent chacun un seul gène, désigné respectivement V9, V10 et V11 [8-11] (figure 7). Deux pseudogènes, VA et VB, localisés respectivement en amont de V9 et V11, n'appartiennent à aucun de ces sous-groupes [10, 11]. Il existe deux régions constantes, C $\gamma 1$ et C $\gamma 2$, séparées par 16 kb [1, 12]. C $\gamma 1$ est précédé de trois segments de jonction, JP1, JP et J1 et C $\gamma 2$ de deux segments JP2 et J2 [8, 9, 13] (figure 7). Ces gènes C γ résultent, comme les gènes C β , d'une récente duplication, mais contrairement aux gènes C β , les deux gènes C γ présentent des différences structurales. Ainsi, le gène C $\gamma 1$ a trois exons et possède une cystéine au niveau de l'exon 2, ce qui permet à la chaîne $\gamma 1$ d'être unie par un pont disulfure à la chaîne δ [12]. Le gène C $\gamma 2$, quant à lui, a quatre ou cinq exons par suite d'une duplication ou triplication de l'exon 2 [14]. Cela entraîne un polymorphisme de la chaîne $\gamma 2$ qui peut être plus ou moins longue et plus ou moins glycosylée. De plus, la chaîne $\gamma 2$ n'a pas de cystéine et, de ce fait, est associée de manière non covalente à la chaîne δ . Il existe ainsi trois types de chaînes γ , les chaînes $\gamma 1$ unies par un pont disulfure à la chaîne δ , les chaînes $\gamma 2$ (2x) et les chaînes $\gamma 2$ (3x), respectivement caractérisées par une duplication ou triplication de l'exon 2 et associées de manière non covalente à la chaîne δ [7] (figure 2).
 - Le locus δ est localisé dans le locus α , en amont des segments Ja
- (figure 6). Trois segments D et 3 segments J précèdent l'unique gène C δ localisé à 85 kb en amont du gène Ca [16-19]. Ce locus comprend un nombre limité de gènes V δ (six V δ ont été identifiés au niveau des transcrits). Le gène V $\delta 1$ [20, 21] est situé parmi les gènes Va [22], le gène V $\delta 2$ est localisé en aval de V $\delta 1$ [23-25]. Le gène V $\delta 3$ qui est situé en 3' de C δ a une orientation inverse des autres gènes du locus δ et se réarrange avec les autres segments par un mécanisme d'inversion [17, 23, 26], alors que les autres gènes décrits à ce jour dans les loci TcR humains se réarrangent par un mécanisme de délétion classique. Certains gènes Va pourraient être utilisés pour la synthèse de chaînes δ [27].

Chronologie des réarrangements des gènes des récepteurs T

L'ordre des réarrangements des gènes des récepteurs T semble être γ et δ , puis β et enfin α . Lorsque le locus γ et le locus δ sont fonctionnellement réarrangés, la cellule T exprime le récepteur $\gamma\delta$ à sa surface. Si les réarrangements γ et/ou δ ne sont pas productifs, les loci β et α sont à leur tour réarrangés. Un réarrangement fonctionnel des deux loci permet l'expression du récepteur $\alpha\beta$ à la surface du lymphocyte T [28]. Par suite de cette chronologie des réarrangements, toutes les cellules T, qu'elles soient $\gamma\delta^+$ ou $\alpha\beta^+$, présentent un réarrangement des gènes γ . Ce gène représente donc un excellent marqueur de clonalité de tous les lymphocytes T [1]. Le locus δ , quant à lui, est délété sur au moins un des allèles des cellules T $\alpha\beta^+$. La délétion du gène C δ et des segments D et J semble dépendre de séquences spécifiques situées, d'une part, en amont de D $\delta 1$ (séquence δ REC) et, d'autre part, en aval du gène C δ (séquence ψ J α) [29]. Cette délétion précéderait le réarrangement α qui lui-même entraînerait la délétion des séquences d'ADN situées entre le gène Va et le gène Ja qui réarrangent.

Étude des réarrangements des gènes des récepteurs T

Les réarrangements les plus étudiés sont ceux des gènes β et γ . En effet :

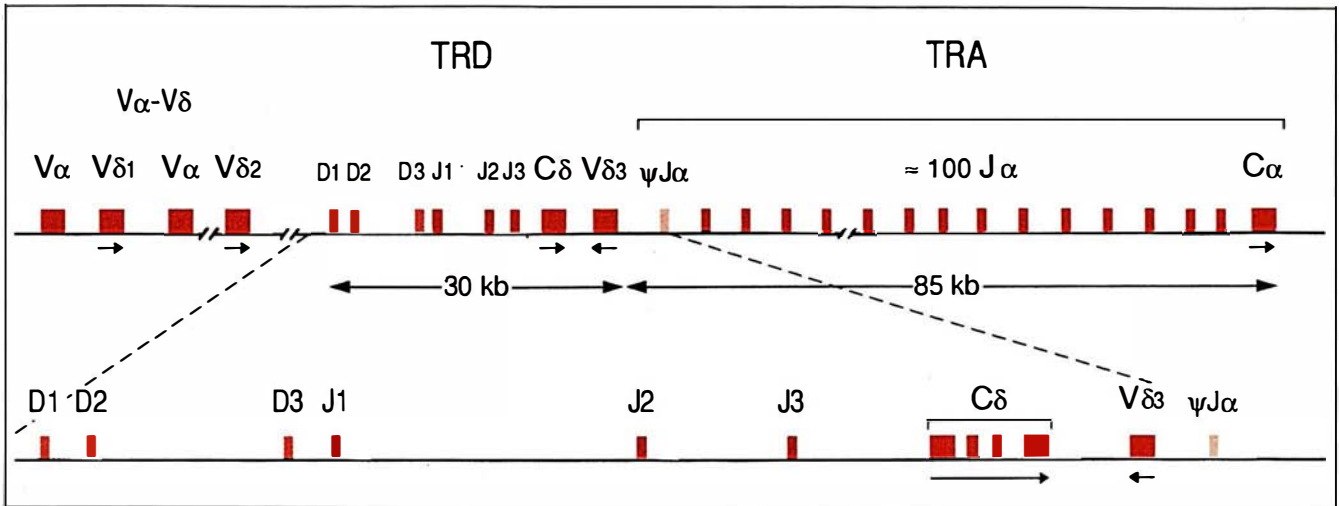


Figure 6. **Organisation des loci α (TRA) et δ (TRD) des récepteurs T.** Le locus α humain comprend environ 60 gènes $V\alpha$ [3], $\approx 100 J\alpha$ localisés sur 80 kb et une seule région constante [5, 6]. Le locus δ est localisé dans le locus α , en amont des segments $J\alpha$. Trois segments $D\delta$ et trois segments $J\delta$ précèdent l'unique gène $C\delta$ localisé à 85 kb en amont du gène $C\alpha$ [16-19]. Le gène $V\delta 1$ [20, 21] est situé parmi les gènes $V\alpha$ [22], $V\delta 2$ est en aval de $V\delta 1$ [23-25]. Le gène $V\delta 3$ [17, 23, 26] a une orientation inverse des autres gènes du locus et est situé en 3' de $C\delta$. Le réarrangement entre une séquence dite δ REC, située en amont de $D\delta 1$ (mais de localisation précise inconnue et, par suite, non représentée sur le schéma) et la séquence $\psi J\alpha$ entraîne la délétion du gène $C\delta$ et des segments $D\delta$ et $J\delta$. Cette délétion précéderait le réarrangement $V\alpha$ - $J\alpha$ [29].

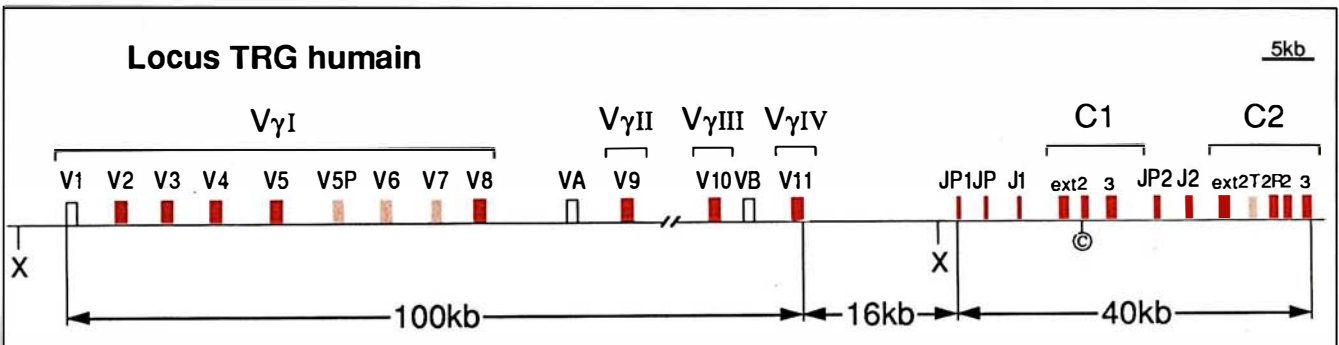


Figure 7. **Organisation du locus γ humain (TRG) des récepteurs T** [15]. Le locus γ humain [7] comprend 14 gènes $V\gamma$. Huit d'entre eux sont fonctionnels et appartiennent à quatre sous-groupes différents [8-11]. Les gènes V fonctionnels et les pseudogènes sont représentés respectivement par des rectangles rouges et roses clairs; les deux gènes $C\gamma$ [1, 12] sont représentés avec les segments J associés, $JP1$, JP , $J1$ pour $C\gamma 1$, $JP2$ et $J2$ pour $C\gamma 2$ [8, 9, 13]. Le rectangle rouge clair dans le gène $C\gamma 2$ représente l'exon 2 tripliqué caractéristique de l'allèle $C2(3x)$ [14], la taille du locus γ est estimée à 160 kb, les 14 gènes $V\gamma$ couvrent 100 kb [15], les 2 gènes $C\gamma$ et les cinq segments J moins de 40 kb [12, 13]. La distance entre $JP1$ et l'exon 3 de $C\gamma 2$ est 37 kb pour l'allèle avec duplication de l'exon 2 [12] et 39,5 kb pour l'allèle avec triplification [14] et la distance entre $V11$ (le gène V le plus en 3') et $JP1$ (le segment J le plus en 5') est seulement 16 kb [15].

(a) les réarrangements des gènes α sont difficiles à étudier. Étant donné l'étendue de la région $J\alpha$, un nombre important de sondes est nécessaire pour couvrir l'ensemble de cette région. De plus, des réarrangements non fonctionnels J-J peuvent être observés en aval du réarrangement fonctionnel, ce qui complique l'interprétation des *Southern blots* [19]; (b) les réarrangements des gènes δ

peuvent être analysés dans les cellules immatures T ou dans les cellules $\gamma\delta^+$. Cependant, dans la majorité des lymphocytes T circulants $\alpha\beta^+$, le locus δ est délété sur un ou même les deux chromosomes 14, à la suite du (ou des) réarrangement(s) $V\alpha$ $J\alpha$.

En pratique, pour étudier les réarrangements β , on utilise une sonde qui décèle, en configuration germinale (non réarrangée), les fragments de restriction décrits dans la figure 5.

Un réarrangement dans la région $C\beta 1$ ou $C\beta 2$ se matérialise par la diminution de la bande correspondant à la configuration germinale BamHI et l'apparition d'une bande nouvelle réarrangée. Les digestions EcoRI et Hind III permettent d'assigner le réarrangement respectivement à la région $C\beta 1$ ou $C\beta 2$.

26. Takihara T, Champagne E, Ciccone E, Moretta L, Minden M, Mak TW. Organization and orientation of a human T-cell receptor δ chain V gene segment that suggests an inversion mechanism is utilized in its rearrangement. *Eur J Immunol* 1989; 19: 571-4.

27. Guglielmi P, Davi F, d'Auriol L, Bories JC, Dausset J, Bensussan A. Use of a variable α region to create a functional T-cell receptor δ chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5634-8.

28. Triebel F, Lefranc MP, Hercend T. Further evidence for a sequentially ordered activation of T-cell rearranging gamma genes during T lymphocyte differentiation. *Eur J Immunol* 1988; 18: 789-94.

29. Begley CG, Aplan PD, Davey MP, et al. Demonstration of δ REC-pseudo J α rearrangement with deletion of the δ locus in a human stem-cell leukemia. *J Exp Med* 1989; 170: 339-42.

30. Moisan JP, Bonneville M, Bouyge I, Moreau JF, Soullillou JP, Lefranc MP. Characterization of the T-cell receptor gamma (TRG) gene rearrangements in alloreactive T-cell clones. *Human Immunol* 1989; 24: 95-110.

31. Chen Z, Font MP, Bories JC, et al. The human T-cell V gamma gene locus: cloning of new segments and study of V gamma rearrangements in neoplastic T and B cells. *Blood* 1988; 72: 776-83.

32. Migone N, Casorati G, Francia P, Lusso P, Foa R, Lefranc MP. Non-random TRG gamma variable gene rearrangements in normal human T-cells and T-cell leukemias. *Eur J Immunol* 1988; 18: 173-8.

33. Triebel F, Faure F, Graziani M, Jitsukawa S, Lefranc MP, Hercend T. A unique V-J-C rearranged gene encodes a protein expressed on the majority of CD3⁺ T-cell receptor α/β -circulating lymphocytes. *J Exp Med* 1988; 167: 694-9.

34. Sturm E, Braakman E, Bontrop R, et al. Coordinated V gamma and V delta gene segment rearrangements in human gamma-delta⁺ lymphocytes. *Eur J Immunol* 1989; 19: 1261-5.

35. Dariavach P, Lefranc MP. The promoter regions of the T-cell receptor V9 gamma (TRGV9) and V2 delta (TRDV2) genes display short direct repeats but no TATA box. *FEBS Lett* 1989; 256: 185-91.

36. Loh EY, Elliott JF, Cwirla S, Lanier LL, Davis MM. Polymerase chain reaction with single-sided specificity: analysis of T-cell receptor δ chain. *Science* 1989; 243: 217-20.

Pour l'étude des réarrangements γ , on utilise la sonde J γ 1, pH 60 [1, 8] qui permet de détecter tous les réarrangements γ quel que soit le gène V ou le segment J impliqué. De plus, l'assignement précis des réarrangements à un gène V et à un segment J est possible par détermination de la taille des fragments réarrangés BamIII, EcoRI, et HindIII [10] et Kpn I [13]. De tels assignements ont permis d'étudier de manière non ambiguë, la clonalité de cellules T alloréactives [30], de cellules leucémiques [31, 32] et de cellules exprimant le récepteur $\gamma\delta$ [28, 33, 34]. Les sondes J δ 1 et J δ 2 permettent de caractériser les réarrangements δ dans les cellules $\gamma\delta^+$ [34].

Diversité des chaînes des récepteurs T

La diversité des chaînes des récepteurs T dépend essentiellement de deux mécanismes.

- La diversité combinatoire est une conséquence du nombre de gènes V et de segments D et J. Cette diversité, relativement importante pour les gènes β et α (respectivement $\approx 1\ 500$ et $5\ 000$ combinaisons) est moindre pour les gènes γ et δ (respectivement 40 et 54 combinaisons). Cette diversité est en fait restreinte, d'une part, par l'utilisation préférentielle de certains gènes ou segments — ainsi V γ 9, J γ P et V δ 2 sont préférentiellement exprimés dans le sang périphérique [24, 28, 33] — et, d'autre part, par l'association préférentielle des chaînes correspondantes qui en résulte (V γ 9-J γ P fréquemment associée à V δ 2) [24, 34]. Il est intéressant de noter que les régions promotrices des gènes V γ 9 et V δ 2 ont en commun certaines particularités (absence de TATA et CAAT boxes, présence de courtes séquences répétées et d'un octanucléotide caractéristique qui pourraient représenter des sites de liaison de facteurs intervenant dans l'expression coordonnée de ces gènes [35].

- La N-diversité correspond à l'existence d'une « région N » au niveau des jonctions V-J, V-D, D-D et D-J. Elle résulte de délétions de nucléotides aux extrémités des régions codantes V, D et J par action d'une exonucléase et de l'addition de nucléotides au hasard par la désoxynu-

cléotidyl transférase terminale (dTdT). Les régions N des gènes γ [11] et δ [23, 36] peuvent être nettement délimitées lorsque les séquences en configuration germinale des gènes V et des segments D et J sont connues et comparées aux séquences réarrangées. La possibilité, dans le locus δ , de joindre deux ou même trois segments D accroît encore la diversité car il existe alors trois ou quatre séquences N au niveau des jonctions V (D)-D-D-J.

- Le mécanisme des mutations somatiques ne semble pas exister au niveau des loci des récepteurs T. Dans le locus γ , ceci a été démontré par l'identité complète, en dehors des régions N, de plusieurs séquences de gènes réarrangés avec leurs équivalents germinaux [9]. Il en est de même dans le locus δ où les séquences germinales et celles des ADNc sont identiques ou ne diffèrent que par un ou deux nucléotides [25]. Cette absence de mutations somatiques est une différence importante avec les immunoglobulines.

Perspectives

L'absence de mutations somatiques a permis d'utiliser des oligonucléotides correspondant aux régions V et J comme « amorces » pour l'amplification d'ADN *in vitro* par la PCR (*polymerase chain reaction*) afin de séquencer les régions N des gènes réarrangés. Cette technique peut être extrapolée pour la détermination de la région N de clones malins. L'utilisation d'un oligonucléotide spécifique de la région N de ce clone devrait permettre de déceler les cellules malignes résiduelles au cours du traitement des leucémies et lors de prélèvements en vue d'autogreffes.

Par ailleurs, l'utilisation d'anticorps reconnaissant spécifiquement des épitopes de la région constante C δ (TCR δ -1, TCR $\gamma\delta$ -1), de la région variable V δ 1-J δ 1 (δ TCS-1), de la région variable V δ 2 (BB3), et de la région variable V γ 9 (Ti γ A) (références dans [34]) fournissent, avec les sondes moléculaires du locus γ [15] et du locus δ [34], des outils très précieux pour la caractérisation des clones $\gamma\delta^+$ dont l'étude fonctionnelle est en cours ■

Summary

Organization of the human T-cell receptor $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ genes

Recognition by most T cells of processed antigens presented by the major histocompatibility complex (MHC) is accomplished by the T-cell receptor composed of disulfide linked α - β chains, associated to the CD3 complex. A subset of T cells does not express the « conventional » $\alpha\beta$ receptor but, instead, a receptor composed of a $\gamma\delta$ dimer, also associated to the CD3 complex. All four α , β , γ and δ chains are clonally variable and are encoded by families of variable (V), diversity (D, only for the β and δ chains) and joining (J) genes which assemble by gene rearrangements during T-cell differentiation. In this paper, we review the recent data on the organization of the T-cell receptor α , β , γ and δ *loci* in human.

FLASH

La brève de m/s parue en novembre 1989 (n° 9, vol. 5, p. 698) relatait la possibilité d'utiliser le sang de cordon humain comme source de cellules souches capables de reconstituer le tissu hématopoïétique après greffe. Une telle greffe vient d'être réalisée avec succès à Paris (hôpital Saint-Louis, groupe du docteur E. Gluckman). Sur deux jeunes malades américains atteints de maladie de Fanconi. Ces résultats sont relatés par des équipes française et américaine dans N Engl J Med, décembre 1989.

Remerciements

Je tiens à remercier le Cnrs, l'Inserm, l'Association pour la Recherche sur le Cancer, la Fondation pour la Recherche Médicale, la Ligue Nationale Française contre le Cancer, le Ministère de la Recherche et de la Technologie pour leur aide qui nous a permis la réalisation des travaux du Laboratoire sur les gènes γ et δ . Je remercie également Jeanine Riso pour la préparation de ce manuscrit.

TIRÉS A PART

M.-P. Lefranc.

m/s n° 10 vol. 5, décembre 89