

Recombinaison homologue, un nouvel outil au service des immunologistes : des souris déficientes en $\beta 2$ microglobuline

La recombinaison homologue est un formidable outil d'analyse de la fonction des gènes, appelée à compléter la gamme des réponses obtenues grâce aux techniques de transgénèse. Ces dernières permettaient jusqu'à présent d'analyser les effets de l'expression anormale d'un gène (en quantité augmentée, sous des contrôles modifiés)... ou ceux de l'expression d'un gène anormal, par exemple un proto-oncogène « activé » par mutation (pour revue [1-2]). La recombinaison homologue, présentée en détail dans ces colonnes il y a peu [3], permet d'aboutir à des insertions de séquences étrangères dans des gènes donnés qui sont ainsi inactivés (mutagenèse insertionnelle [4]). Le principe de la méthode consiste à transférer dans des cellules embryonnaires souches de souris, la séquence étrangère utilisée entourée de séquences identiques à celle d'un fragment du gène à inactiver. Les événements de recombinaison homologue sont alors différenciés des événements de recombinaison au hasard et sélectionnés. Des cellules ainsi modifiées sont injectées dans un blastocyste de souris, engendrant des animaux chimères... notamment, dans certains cas, pour la lignée germinale. Des hétérozygotes peuvent alors être obtenus par croisement avec des souris normales ; ceux-ci seront le plus souvent normaux, la plupart des mutations inactivant un gène étant récessives, ce qui signifie que le fonctionnement normal d'un allèle sur deux est habituellement suffisant pour mettre l'organisme à l'abri de conséquences majeures. Des homozygotes peuvent — quand la mutation récessive n'est pas létale — être produits à partir du

croisement d'animaux hétérozygotes. Cette stratégie vient d'être utilisée par M. Zijlstra *et al.*, des laboratoires de D.H. Raulet et de R. Jaenisch (MIT, Cambridge, MA, USA) pour produire des souris homozygotes pour une mutation insertionnelle du gène de la $\beta 2$ microglobuline [5]. Cette protéine est la chaîne constante des molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité, qui ne peuvent ainsi être exprimées à la surface de la cellule qu'en sa présence (*m/s suppl. au n° 1, vol. 5, p. 23 et n° 8, vol. 5, p. 604*).

Elle est aussi une sous-unité du récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines G de la muqueuse intestinale de rats et souris nouveau-nés, récepteurs impliqués dans l'absorption des anticorps d'origine maternelle [5].

Les souris homozygotes pour la mutation insertionnelle produisent un messenger tronqué de $\beta 2$ microglobuline, et pas de protéine. Comme on pouvait s'y attendre, elles ne possèdent pas de molécules de classe I à la surface cellulaire et sont donc incapables de présenter des antigènes dans le contexte de ces molécules ; elles sont également déficientes en récepteur Fc fonctionnel au niveau de leur muqueuse intestinale. Le développement embryonnaire est cependant strictement normal, indiquant que ni les molécules de classe I membranaires ni la $\beta 2$ microglobuline en elle-même ne jouent de rôle important dans l'embryogenèse. Le thymus est normal, soulignant, comme nous l'avons nous-mêmes suggéré ici, que la $\beta 2$ microglobuline a peu de chance d'être le « chimio-attractant », responsable de la colonisation de

l'épithélium thymique par les thymocytes dérivant des cellules de la moelle osseuse (*m/s n° 6, vol. 5, p. 428 et n° 1, vol. 6, p. 71*).

Ainsi que le laisse prévoir le modèle de la sélection positive des cellules T au cours du développement thymique, sélection des lymphocytes reconnaissant des molécules du CMH autologues (du *self*) (*m/s suppl. au n° 1, vol. 5, p. 25 et n° 10, vol. 5, p. 788*), les souris déficientes en $\beta 2$ microglobuline ne possèdent pas de cellules T CD8+ exprimant le récepteur pour l'antigène formé des chaînes α et β (Tc R $\alpha\beta$). Les antigènes présentés par des molécules du CMH de classe I sont en effet normalement reconnus par les lymphocytes T CD8+, Tc R $\alpha\beta$ +

En revanche, les lymphocytes exprimant le Tc R $\gamma\delta$ ([6] et *m/s n° 1, vol. 6, p. 80*) ne semblent pas affectés, alors que des résultats antérieurs semblaient indiquer qu'ils reconnaissent des antigènes présentés par certains membres peu polymorphes des molécules de classe I (codés par la région Qa/TL du *locus*). Or on peut penser que, si cela était le cas, le même phénomène de sélection positive que pour les cellules Tc R $\alpha\beta$ + interviendrait, aboutissant à un déficit de lymphocytes Tc R $\gamma\delta$ + chez les souris étudiées ici.

En l'absence de lymphocytes CD8+, ces souris sont également dépourvues de cellules T cytotoxiques (*m/s suppl. au n° 1, vol. 5, p. 1 et p. 17*). Les auteurs les ont, pour l'instant, élevées dans des conditions axéniques (c'est-à-dire à l'abri des germes). Des études ultérieures diront si, comme il est probable, leur résistance aux maladies virales est très atténuée

alors que leur réponse humorale (dépendante des lymphocytes B et T CD4 +) est normale. On peut aussi s'attendre que les cellules de la moelle osseuse déficientes en molécules de classe I soient rejetées par des souris syngéniques normales si, comme de nombreux indices semblent l'indiquer (*m/s* n° 1, vol. 6, p. 79), les cellules NK de l'hôte sont capables de réagir contre des cellules médullaires greffées déficientes en une molécule de classe I du « self ».

Ainsi le premier succès remporté dans le domaine de l'immunologie

par la mutagenèse insertionnelle secondaire à une recombinaison homologue s'avère-t-il riche d'une impressionnante moisson d'observations, dont certaines sont parfaitement « iconoclastes » vis-à-vis des idées reçues. Il faudra s'habituer, vraisemblablement, à réanalyser toutes nos notions quant à la fonction de protéines particulières à la lumière des résultats de l'expérience directe qui consiste à évaluer les conséquences de l'inactivation des gènes en dirigeant la synthèse.

A.K.

1. Gerlinger P. Animaux transgéniques et oncogènes. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 166-71.
2. Hanahan D. Transgenic mice as probes into complex systems. *Science* 1989 ; 246 : 1265-75.
3. Lemarchandel V, Montagutelli X. La recombinaison homologue de nouvelles perspectives pour la transgénèse. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 18-29.
4. Panthier JJ, Condamine H. La mutagenèse insertionnelle chez la souris. *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 568-76.
5. Zijlstra M, Bix M, Simister NE, Loring JM, Raulet DH, Jaenisch R. $\beta 2$ microglobulin deficient mice lack CD4⁺8⁺ cytolytic T cells. *Nature* 1990 ; 344 : 742-6.
6. Lefranc MP. Récepteurs $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ des lymphocytes T humains. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 754-61.