



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Cours 2007 - 2008

**Les systèmes immunitaires
dans l'évolution des espèces**



Les systèmes immunitaires dans l'évolution des espèces

INTRODUCTION / 1^{ère} partie : ANALYSE DESCENDANTE

- L'Homme et la souris
- Les mammifères
- Les autres vertébrés avec mâchoires: oiseaux et poissons
- Les vertébrés sans mâchoires et les procordés
- Les invertébrés

- Les plantes

2^{ème} partie : ANALYSE TRANSVERSALE ET CONCLUSIONS

- Bilan de l'analyse descendante
- L'émergence de l'immunité adaptative

- Quelle frontière entre immunité adaptative, anticipative, innée ?
- Les invariants
- Quelles forces de sélection ?

Date des
Cours 2008

30 janvier

6 février

13 février

20 février

27 février



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

LES PLANTES

Introduction

- I. L'interférence ARN.
- II. Les autres défenses contre les microbes pathogènes.
- III. Les défenses contre les insectes herbivores.



Introduction

- Une démarche très autonome, propre à la recherche agronomique en milieu ouvert.

- Les agresseurs :
 - Champignons
 - Bactéries
 - Virus
 - Viroïdes
 - Nématodes
 - Protozoaires
 - Insectes ravageurs
 - Plantes parasites

- Un modèle : **Arabidopsis Thaliana**

- **Un monde immense, où l'on a trouvé jusqu'à présent trois catégories de mécanismes :**
 - **des systèmes de défense contre les virus avec la découverte majeure du phénomène interférence ARN.**
 - **des défenses contre les pathogènes.**
 - **des défenses contre les herbivores.**

- **Les plantes ne disposent pas de cellules défensives mobiles.**

Leurs défenses sont fondées sur :

- **L'immunité innée de chaque cellule.**
- **Signaux systémiques émanant des sites d'infection.**

I. L'interférence ARN (ARNi ou RNAi)

A. Découverte du phénomène

1. La variabilité induite de la pigmentation des pétunias (1990)

- Tentative de surexpression de la chalcone synthase (CHS) dans les pétales pigmentés (promoteur CV + cADN). La moitié des fleurs transgéniques (initialement roses ou violettes) est dépigmentée, de façon variable, dans une même plante, comme dans sa progénie.
- Blocage de la biosynthèse de la chalcone synthase endogène.

Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into Petunia Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans - Plant Cell. 1990 Apr;2(4):279-289. FIG 1

- Les niveaux de mARN du transgène et du gène endogène sont diminués jusqu'à 50 fois. La réversion du phénotype corrèle avec le niveau de mARN (coordonné) des deux gènes.
- Phénomène de co-suppression.
- Pourquoi y-a-t-il formation de plusieurs types de dessin ? (Les ARN anti-sens ont un effet, moins marqué, mais distinct).
- Méthylation ?
- RIP (Repeat Induced Point mutation) in Neurospora (instabilité des séquences dupliquées pendant la reproduction sexuelle) (1987).

2 . Arrêt d'expression induit par un virus (VIGS) (1995)

Kumagai MH, et al. Cytoplasmic inhibition of carotenoid biosynthesis with virus-derived. RNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 Feb 28;92(5):1679-83

Ruiz MT, et al. Initiation and maintenance of virus-induced gene silencing Plant Cell. 1998 Jun;10(6):937-46.

Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. Nat Rev Genet. 2005 Mar;6(3):206-20.

- La surexpression de gènes à partir de vecteurs viraux provoque la dégradation de l'ARN. Implication du dsARN dans la réplication virale.
 - rapprochement mécanistique avec ARNi.

Fire A, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature. 1998 Feb 19;391(6669):806-11.

B. Les mécanismes de l'interférence ARN :

1. Les sources d'ARN

- **L'interférence ARN est induite par de l'ARN double-brin.**
 - a) Virus et viroïdes :**
 - **Intermédiaires de réplication.**
 - **Epingles à cheveux dans l'ARN, petits ARN transcrits.**

b) Rétrotransposons

- Transcription à partir de gènes voisins ou retrotransposons en tandem ?
- Epingles à cheveux dans les répétitions terminales.

c) Gènes cellulaires :

- ARN non codants produits par la plupart des cellules eucaryotes (mi RNAs qui modulent l'expression des mARNs).
 - Antisens et duplications.
- Les micro-RNAs (mi-RNAs) constituent une nouvelle classe d'agents régulateurs (ou si-RNAs = small interfering RNAs).

2. Les principaux mécanismes

a) En général :

- Dicer intervient dans la reconnaissance et « l'affinage » des ARN double-brin.
- RISC en aval joue un rôle effecteur. L'activation du complexe RISC s'accompagne de la libération de l'un des brins. Le complexe peut alors agir en trans, et l'ARN qu'il reconnaît est coupé.

b) Plus précisément :

- DCL, codée par Dicer, est un enzyme de type RNase-III qui produit les si-RNAs à partir d'ARN double brin provenant notamment de la réplication virale. Les plantes possèdent aussi une RNA-polymérase (RdPp) qui peut synthétiser du double brin. Les plantes ont 4 à 6 Dicer. Les DCL sont associés avec un jeu de 5 cofacteurs DRBI-5 (ds-RNA binding proteins).

➤ **Spécialisation des DCL**

- **DCL 1 → mi RNAs (régulation du développement) à partir de précurseurs en épingle à cheveu**
 - **DCL 3 → 21-24nt si-RNAs qui suppriment l'activation des éléments transposables par remaniement de la chromatine.**
 - **DCL 2,4 → si-RNAs issus de la réplication virale.**
- **Le(s) complexe(s) RISC contiennent l'endonuclease clé, Argonaute 2. Après coupure, les ARN sont rapidement dégradés par des nucléases non spécifiques.**

C. Un système immunitaire de type adaptatif purement génétique

1. L'intervention de l'interférence ARN dans les défenses antivirales.

- Elle est amplement démontrée pour les virus à ARN, mais aussi pour certains virus à ADN.
- Les virus ont développé des stratégies d'échappement.

Gordon KH, Waterhouse PM. Small RNA viruses of insects: expression in plants and RNA silencing. *Adv Virus Res.* 2006;68:459-502

Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nat Rev Genet.* 2005 Mar;6(3):206-20.

- **Autres implications dans le développement, la différenciation et la répression de la mobilisation des éléments transposables par des si-RNAS nucléaires résulte de modifications épigénétiques.**

Matzke M, et al. Targets of RNA-directed DNA methylation. *Curr Opin Plant Biol.* 2007 Oct;10(5):512-9.

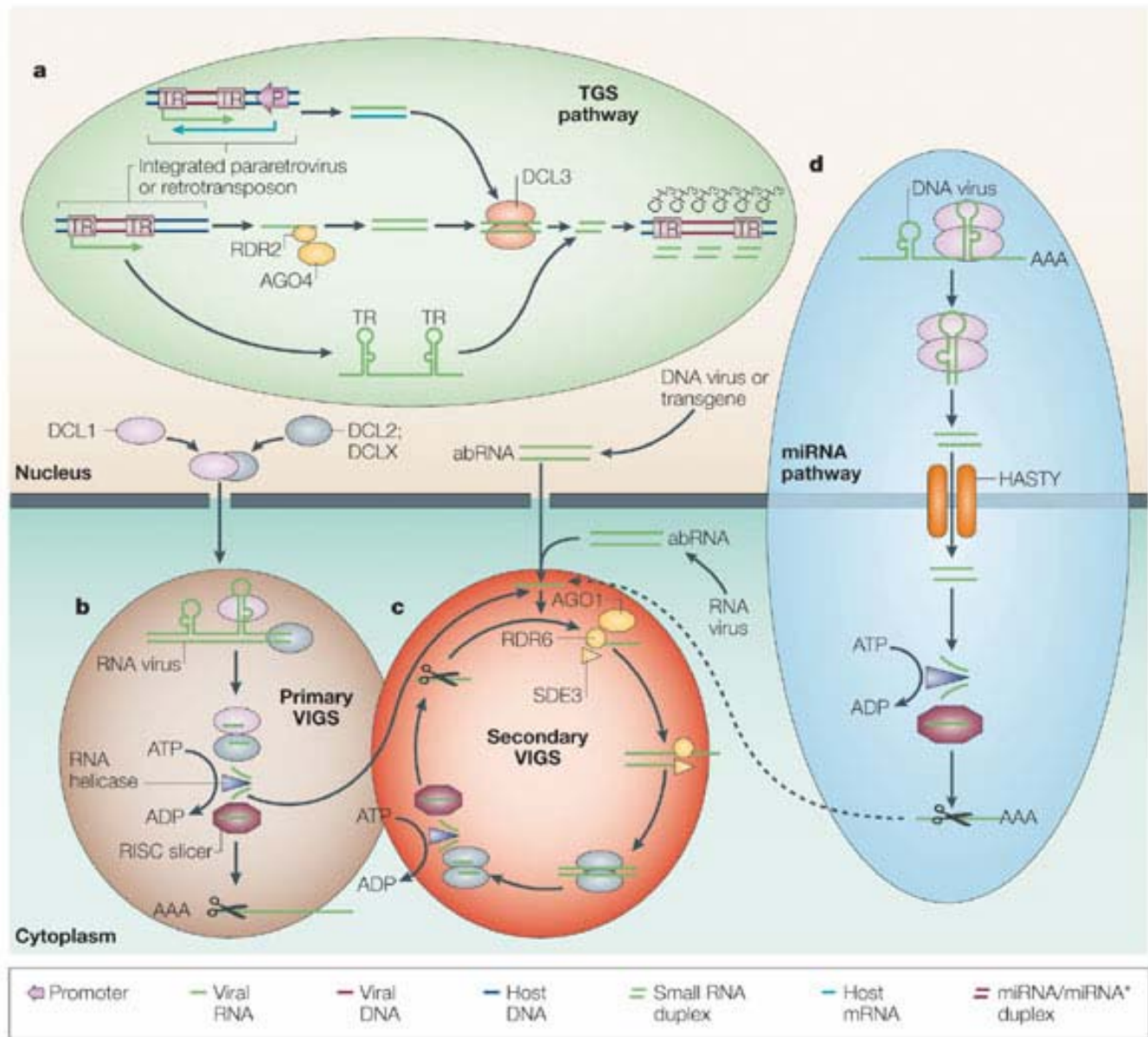


FIG 1

Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nat Rev Genet.* 2005 Mar;6(3):206-20.

2. Amplification et réactions systémiques :

a) Existence d'un mécanisme d'amplification par une polymérase de l'hôte :

- **trouvée chez les plantes, C.elegans, les champignons, pas chez les insectes et les vertébrés.**
- **deux mécanismes.**
 - **Amplification des siRNAs primaires**
 - **Conversion d'ARN aberrant en double brin.**

b) Réactions d'interférence primaire et secondaire :

- **Avec possibilité de contrer des virus à ADN, si ceux-ci produisent des ARN aberrants.**

c) Propagation systémique :

- **Phénomène dépendant des gènes RDR6 et SDE3.**
- **Spécificité de séquence (implique ARN).**
- **Transite par la vasculature.**
- **Transferts et amplifications successives.**

3. Un véritable système immunitaire :

- **Système fondé sur les séquences de gènes**
 - **Adaptatif, spécifique et systémique.**
 - **Non programmé par l'hôte.**
 - **Non anticipatif (cf. les débats sur les approches instructives et sélectives).**
- **Articulation avec les mécanismes fondés sur les protéines ?
L'acide salicylique est impliqué dans l'induction de RDRI.**

D. Les mécanismes de suppression par les virus

- **Séquestration des si-RNA de 21 nt.**
- **Inactivation des circuits Dicer et RISC.**
- **Altération du transcriptome de l'hôte (recrutement de régulateurs négatifs).**
- **Production d'ARN leurres par les virus pour divertir RISC.**
- **Impact sur le métabolisme de l'hôte.**

- **Evasion (réplication dans des visicules membranaires, les chloroplastes.)**
- **Taux de mutation élevés.**
- **Modification génétique (délétions de séquences cibles).**
- **Association à des protéines protectrices.**
- **Stratégies de détournement pour exploiter l'interférence (viroïdes ?)**

II. Les autres défenses contre les microbes pathogènes

- **Bactéries pathogènes**
 - dans les espaces intercellulaires,
 - pores (gaz, eau).
 - *Agrobacterium tumefaciens*

- **Nématodes.**

- **Champignons (fungi)**
 - entrent dans les cellules de l'épiderme, ou hyphae.

- **Champignons pathogènes et symbiotiques
+ oomycètes.**
 - Invaginent les structures d'alimentation (haustoria.).

A. Le tableau général

Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006 Nov 16;444(7117):323-9.

Chisholm ST, et al. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*. 2006 Feb 24;124(4):803-14.

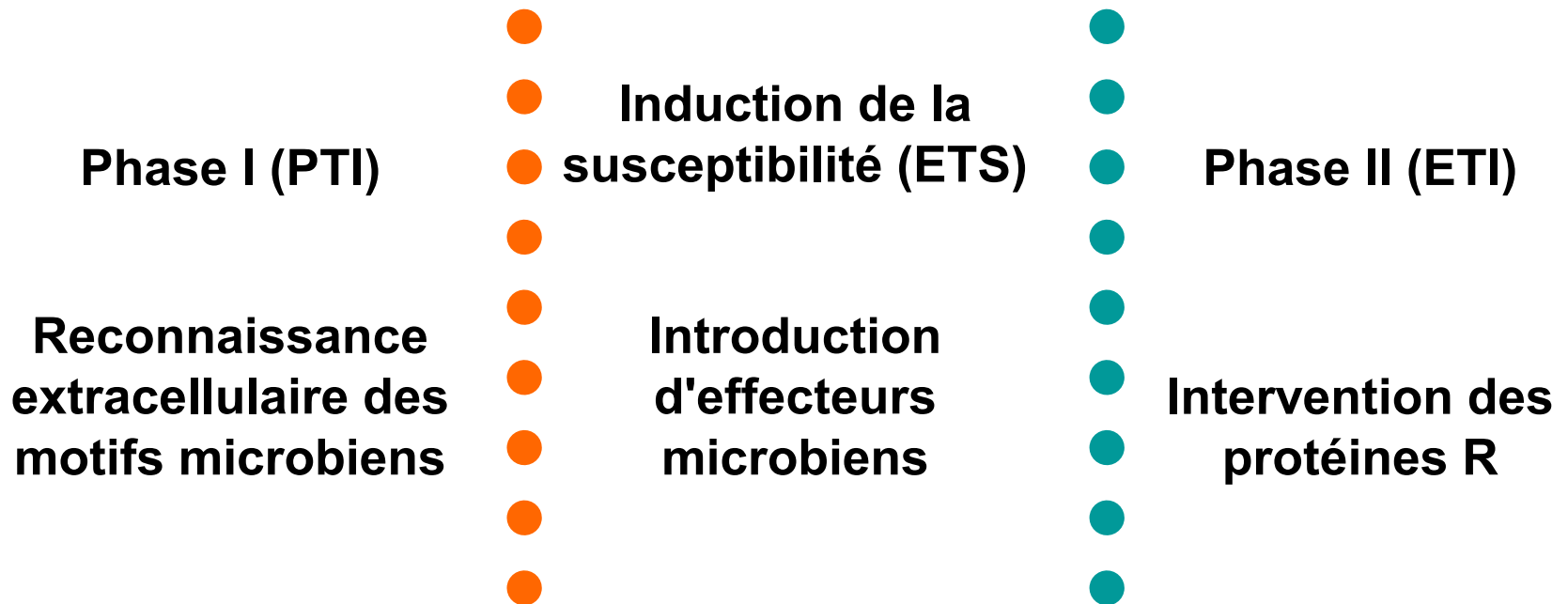
- L'accès à l'intérieur de la plante implique une première pénétration par les pores naturels ou des blessures, puis le franchissement de la membrane cellulosique rigide.
- La perception de micro-organismes à la surface de la cellule végétale par des récepteurs extracellulaires déclenche un premier type de réponse, parfois appelée : PTI = PAMP – triggered immunity.
(PAMP = Pathogene-Associated Molecular patterns).

- La PTI suffit souvent à bloquer l'infection, mais les pathogènes ont développé des moyens d'y échapper ou de la supprimer, par exemple, en sécrétant des protéines effectrices qui altèrent la signalisation et provoquent la susceptibilité.
- Cette capacité de délivrer des protéines pathogènes dans la plante est une caractéristique générale des phytopathogènes.

ETS = Effective-Triggered Susceptibility

- Se développe alors un deuxième type de réponse baptisé **ETI**.
ETI = Effector Triggered Immunity
- L' ETI fait intervenir les protéines de résistance de la plante (R) qui bloquent la croissance du microbe, après une prolifération limitée de ce dernier. Les protéines R peuvent hypothétiquement reconnaître les protéines microbiennes ou, indirectement , le « soi » de la plante altéré.
- Les effecteurs de pathogènes ont souvent la capacité d'interférer avec l'ETI.

- D'où un modèle en deux phases de défense :



B. La phase I (PTI)

1. Les motifs microbiens reconnaissables (PAMP)

- L'archétype est la flagelline, dont les extrémités N et C terminales sont très conservées chez les eubactéries.
- Chez **Arabidopsis**, un peptide de 22 aa suffit à la reconnaissance, et active la PTI, avec la transcription de 1100 gènes.
- D'autres molécules bactériennes (cold shock, EF-Tu) activent la PTI (également : chitine, ergostérol des champignons).



2. Les récepteurs des PAMPs :

- Le récepteur de la flagelline chez *Arabidopsis* (FLS2) comporte un domaine extra cellulaire qui comporte des répétitions riches en leucine.
(**LRR** = **L**eucine **R**ich **R**epeat)

Des plantes déficientes en FLS2 sont plus sensibles aux infections bactériennes. Toutefois, certaines flagellines sont moins actives que d'autres.

- La portion cytoplasmique a un domaine kinase, et la signalisation passe par la voie des MAP kinases et des facteurs de transcription WRKY.
- Il existe plus de 200 kinases à LRR dans le génome d'*Arabidopsis* ainsi que 56 protéines membranaires qui possèdent un domaine extracellulaire LRR, mais pas de domaine kinase intracellulaire.

C. La suppression de la PTI par les pathogènes et l'induction de la susceptibilité

- Pour « réussir », un pathogène doit échapper à, ou supprimer la PTI, grâce à des molécules effectrices qui peuvent avoir un rôle structural mais qui, le plus souvent, sont injectées dans la cellule de la plante.

1. Bactéries

- Les bactéries phytopathogènes utilisent un système de sécrétion de type III (TTSS) pour délivrer de 15 à 30 protéines (souvent baptisées Avr pour Avirulence)

Truman W, et al. Type III effectors orchestrate a complex interplay between transcriptional networks to modify basal defence responses during pathogenesis and resistance. *Plant J.* 2006 Apr;46(1):14-33

- **Certains effecteurs ont une activité enzymatique. Les pathogènes devant se protéger contre leur action. D'autres effecteurs peuvent être des protéines chaperonnes, qui les maintiennent inactifs avant la sécrétion.**

- **D'autres peuvent supprimer la reconnaissance de PAMPs.**

- **D'autres activent la transcription de gènes de la plante.**

- **Certains mimiquent des hormones de la plante, comme la coronatine, produite par le *Pseudomonas syringae* (Chancre bactérien, coulure bactérienne). C'est un analogue de l'acide jasmonique qui avec l'acide salicylique et l'éthylène, régule les défenses de la plante.**

- **La coronatine déplace le circuit de l'acide salicylique.**



- D'autres interfèrent avec la fortification des parois cellulaires par le dépôt de cellulose.
 - D'autres suppriment la « réponse hypersensible » qui est une apoptose localisée au site d'infection (H R = Hypersensitive Response).
- Par exemple, des effecteurs de *Pseudomonas* et de *Xanthomonas* mimiquent des ubiquitine-ligases et interfèrent avec la voie de sumoylation.

2. Champignons et oomycètes.

- **Pas de TTSS chez les champignons qui délivrent souvent des peptides dans l'espace intercellulaire. Mal connu. Certains effecteurs sont ciblés sur la chitine.**
- **Des effecteurs d' oomycètes plus proches des algues brunes que des champignons) possèdent le signal RXLR, utilisé pour la translocation de protéines de la malaria dans les cellules hôtes.**

3. Virus.

- **Interférence ARN, mais aussi protéines R spécifiques.**

D. La phase II (ETI)

1. Les gènes de résistance R

- a) Ce sont pour la plupart des protéines de type NB-LRR (plus de 150 NB-LRR chez Arabidopsis).

NB = **N**ucleotide **B**inding site (similarités avec les NB dans les régulateurs de l'apoptose)

LRR = **L**euцин **R**ich **R**epeat (domaines de 20 à 30 aa)

- b) Il existe aussi des protéines R extracellulaires formées de LRR (eLRR)

- Lorsque l'effecteur (Avr ou protéine avirulente) est reconnu par une protéine R, notamment une NB-LRR, l'ETI est activée.

2. Mode d'action des protéines R

a) Activation des NB-LRR et signalisation.

- **Les mécanismes sont encore mal connus. Les LRR agissent probablement comme des régulateurs négatifs qui interfèrent avec l'inactivation inappropriée de NB dans une conformation de la molécule maintenue à l'aide de chaperonnes.**

Holt BF, et al. Antagonistic control of disease resistance protein stability in the plant immune system. *Science*. 2005 Aug 5;309(5736):929-32. Epub 2005 Jun 23.

- **Plusieurs NB-LRR reconnaissent les effecteurs de type III de façon indirecte, i.e détectent des altérations du « soi ».**
- **Ainsi, plutôt que de développer des récepteurs contre tous les effecteurs possibles, les plantes ont généré des mécanismes de surveillance des cibles cellulaires les plus fréquentes, de façon à déclencher l'ETI.**
- **Il existe néanmoins des exemples d'interactions directes entre NB-LRR et beaucoup reste à élucider en matière de reconnaissance directe ou indirecte des champignons et des oomycètes.**

3. Le conflit co-évolutif entre protéines de résistance de la plante et effecteurs des pathogènes.

Tiffin P, Moeller DA. Molecular evolution of plant immune system genes. Trends Genet. 2006 Dec;22(12):662-70.

- Dans les populations d'une même plante, on observe des polymorphismes dans certains gènes de résistance. Sélection de variants microbiens et émergence de nouvelles solutions défensives.
- Certains genes NB-LRR ne sont pas « enclins » à la duplication et évoluent lentement, peut-être parce qu'ils surveillent des éléments du soi essentiels et peu variables :
- D'autres, qui évoluent rapidement, pourraient interagir directement avec des effecteurs en évolution rapide.



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008

Chaire d'Immunologie Moléculaire

III. Les défenses contre les insectes herbivores

Kessler A., Baldwin I.R. - Plant Responses to insect herbivory : The Emerging Molecular Analysis - - Annual Review of Plant Biology - Vol. 53: 299-328 (Volume publication date June 2002) .

- Les attaques d'hétérotrophes se produisent sur des **échelles spatiales très différentes.**
- Défenses anti-microbiennes : réponse hypersensible (HR) souvent précédée par ROS) déclenchée par le système de surveillance (R-genes) → localisée.
- Défenses contre les insectes herbivores, autonomes → échelle beaucoup plus grande, qui implique la plante elle-même, mais aussi la communauté environnante.

A. Plusieurs mécanismes

1. Des défenses directes contre les herbivores

- Des métabolites secondaires.
- Inhibiteurs de protéases (PI) → antidigestifs.
- Polyphénol oxydases → antinutritives.
- Produits toxiques
(alkaloides, terpenoides, etc.)



2. Des défenses indirectes qui attirent les prédateurs des herbivores

- **Composés organiques volatiles (VOC) (qui peuvent avoir un rôle de défense direct, et un rôle d'alerte pour la communauté).**
- **Nectars extra-floraux, et production de nourriture à l'intention des ennemis des herbivores.**

B. Défenses directes

1. Eliciteurs produits par les herbivores

- **Enzymes lytiques (ex: beta-glucosidase).**
- **Conjugués acides aminés – acides gras (FACs). Volicitine.**
- **Charançon du pois (*Bruchus pisorum*) : bruche (aw-diol à longue chaîne estérifié) qui peut stimuler une croissance néoplastique de la gousse.**

2. Réponses de la plante déclenchées par les blessures

- **Signaux de blessure :**
 - **Forcément systémiques, donc mobiles.**
 - **Electriques, hydrauliques, chimiques.**
 - **Systémiques (solanacées : tomates, etc.) fonctionnent au niveau de la fénomole.**
 - ✓ **Peuvent induire des *oligogalactmonides* et ROS**
 - ✓ **Activent une cascade majeure : phospholipase A2 et octadecanoïde.**



3. Caractérisation moléculaire des défenses directes

- **Un arsenal de métabolites secondaires :**
 - **Inhibiteurs de protéases trypsine, chymotrypsine, mais aussi élastase, anti-digestifs.**
 - **L'insecte peut moduler son profil de protéases, et les plantes disposent de mécanismes pour produire :**
 - ❖ **des antiprotéases multivalentes (plusieurs domaines).**
 - ❖ **des variants à évolution rapide.**



C. Défenses indirectes

1. Caractérisation moléculaire des défenses indirectes et/ou mutualisées

- Les composés organiques volatiles (VOC) émis par plus de 15 espèces ont été caractérisés. Ils proviennent d'au moins 3 voies.
 - Alcools et aldéhydes en C6 (feuilles vertes).
 - Terpenes dérivés des circuits de l'isoprenoïde.
 - indol et méthyl salicylate : dérivés d'acide shikimique.
- Nectar extrafloral, trouvé dans plus de 60 espèces, appât pour les ennemis naturels des herbivores (fourmis, guêpes).



2. Dimension écosystémique :

- « Escalade » évolutive entre plantes et herbivores.
- Attention aux hypothèses et solutions biotechnologiques naïves.
- Inter-disciplinarité.



Les systèmes immunitaires dans l'évolution des espèces

INTRODUCTION / 1^{ère} partie : ANALYSE DESCENDANTE

- L'Homme et la souris
- Les mammifères
- Les autres vertébrés avec mâchoires: oiseaux et poissons
- Les vertébrés sans mâchoires et les procordés
- Les invertébrés

- Les plantes

2^{ème} partie : ANALYSE TRANSVERSALE ET CONCLUSIONS

- Bilan de l'analyse descendante
- L'émergence de l'immunité adaptative

- Quelle frontière entre immunité adaptative, anticipative, innée ?
- Les invariants
- Quelles forces de sélection ?

Date des
Cours 2008

30 janvier

6 février

13 février

20 février

27 février



Deuxième Partie :

BILAN DE L'ANALYSE DESCENDANTE

Introduction : Bilan de l'analyse descendante

- I. L'émergence de l'immunité adaptative**
- II. Quelle frontière entre : Immunité adaptative, immunité anticipative, immunité innée ?**
- III. Quelques mécanismes généraux ou invariants ?**
- IV. Quelles forces de sélection ?**

Conclusions



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

Chaire d'Immunologie Moléculaire

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008

Les systèmes immunitaires dans l'évolution des espèces

Introduction : Bilan de l'analyse descendante



COLLÈGE
DE FRANCE
—1530—

Professeur Philippe Kourilsky

Année 2008

Chaire d'Immunologie Moléculaire

I. L'émergence de l'Immunité Adaptative.



A. L'évolution des organes lymphoïdes et des cellules B et T.

Boehm T, Bleul CC. The evolutionary history of lymphoid organs. *Nat Immunol.* 2007 Feb;8(2):131-5.

1. Les 3 fonctions des organes lymphoïdes

- Niches de développement des lymphocytes ■ primaires
 - Elaboration de répertoires tolérants au soi ■ primaires
 - Efficacité et précision des réponses. ■ secondaires
- Evolution des organes en réponse à :
 - L'émergence de la recombinaison VDJ ?
 - La nécessité de la tolérance au soi ?
 - Combinatoires « précises » \leftrightarrow possibilité de sélection germinale.
 - Imprécisions de jonction et additions aléatoires (TdT)
 \leftrightarrow impossibilité de principe.



2. La diversité des sites de production des B contraste avec l'unicité du site de production des T

- **B**
 - Requin, raie
 - Poisson-zèbre
 - Amphibiens, reptiles
 - Oiseaux
 - Lapin, ruminants
 - Autres mammifères
 - rate (rein, foie)
 - rein (pronéphros)
 - moelle osseuse (foie et rate)
 - bourse de Fabricius
 - tissus liés à l'intestin
 - moelle osseuse (foie fœtal)

- **T**
 - Le thymus
 - duplication chez la souris ?

Terszowski G, et al. Evidence for a functional second thymus in mice. *Science*. 2006 Apr 14;312(5771):284-7.

- La lamproie : typhlosole, site de production des BVLR⁺ Probablement pas de T.



3. Questions et hypothèses

- Les cellules T ont plusieurs fonctions spécifiques, dont la cytolyse et la régulation des B.
- Pourquoi les T contrôlent-elles la production des anticorps conventionnels par les B ? (≠ lamproie).
- Lien avec le développement de séquences aléatoires ?
- Emergence du thymus pour gérer la tolérance au soi des T ?
- Localisation du thymus liée à l'émergence des mâchoires ?

- **Inscription dans les approches systémiques (analyse des réseaux de protéines impliqués dans les plans de développement).**

FIG 1 Davidson EH, Erwin DH.
Gene regulatory networks and
the evolution of animal body plans.
Science. 2006 Feb 10;311(5762):796-800.



4. D'autres évolutions

Vorbach C, et al. Evolution of the mammary gland from the innate immune system? *Bioessays*. 2006 Jun;28(6):606-16

- **Recouvrement des propriétés immunitaires et nutritives du lait :**
 - **XOR (Xanthine oxydoréductase) : anti microbien (ROS, RNS), impliqué dans la formation des gouttes de graisse.**
 - **Lysozyme : antibiotique, allèle dupliqué : lactalbumine.**
 - Lactalbumine
 - nutritive
 - synthèse du galactose
 - HAMLET
 - **Lactoferrine, transferrine, lactopéroxydase, défensine-1 (Homme).**



- **La lactation dérive-t-elle d'une réponse inflammatoire ?**
 - **Régulation (NF-kappa B, etc.).**
 - **Gouttes graisseuses souvent formées dans les cellules inflammatoires.**
 - **Glandes protectrices de la peau communes chez les animaux.**
 - **Lactation et production de mucus : passage sous contrôle hormonal ?**



- **Régulation de l'immunité gastro-intestinale par les peptides du lait (y compris des cytokines).**

Politis I, Chronopoulou R. Milk peptides and immune response in the neonate. *Adv Exp Med Biol.* 2008;606:253-69.

- **HAMLET – Human Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells**

Hallgren O, et al. Apoptosis and tumor cell death in response to HAMLET (human alpha-lactalbumin made lethal to tumor cells). *Adv Exp Med Biol.* 2008;606:217-40.

Gustafsson L, et al. HAMLET kills tumor cells by apoptosis: structure, cellular mechanisms, and therapy. *J Nutr.* 2005 May;135(5):1299-303.



B. RAG-1 ET RAG-2

- **Recombinase : Rag-1 (~ 1040 aa) Rag-2 (~ 530 aa).**
- **Séquences de reconnaissance : heptamères et nonamères espacés de 12 ± 1 ou 23 ± 1 nucléotides.**
- **Structure du locus compacte, conservée, absence d'introns.**
- **Origine : un transposon ? Lequel ?**

Kapitonov VV, Jurka J. RAG1 core and V(D)J recombination signal sequences were derived from Transib transposons. PLoS Biol. 2005 Jun;3(6):e181.



- **10 superfamilles de transposons chez les eucaryotes.**
- **Transib : transposon de 3-4 kb. TPase 700 aa, homologie avec Rag 1 (dont site enzymatique DDE).**
- **Quid de Rag 2 ?**
- **Analogie avec transposon bactérien (Hin) ?**

Kapitonov VV, Jurka J. RAG1 core and V(D)J recombination signal sequences were derived from Transib transposons. PLoS Biol. 2005 Jun;3(6):e181.

Fugmann SD, et al . An ancient evolutionary origin of the Rag1/2 gene locus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 7;103(10):3728-33.



- Locus Sp Rag 1 L de l'oursin 983 aa 31 % homologie RAG 2.
 - Transcrit dans de nombreux tissus (dont coelomocytes).
 - Conservation du DDE et du doig 1 de zinc impliqué dans l'interaction avec RAG 2.
 - 2^{ème} locus proche : 512 aa homologie avec RAG 2.
 - Les deux gènes sont co-exprimés.
 - Associations croisées en hétérodimères avec RAG 1 RAG 2 de requin.
 - Attachement spécifique à l'ADN.
 - Séquences de type RAG 1 chez l'anémone de mer, l'hydre.
 - Pas chez la lamproie ni C.intestinalis.
- ➔ Rupture de la corrélation entre immunité adaptative et transfert (horizontal) d'un transposon Rag 1 – Rag 2.



C. Réviser l'histoire du big-bang immunologique de l'immunité adaptative.

Du Pasquier L. Speculations on the origin of the vertebrate immune system. *Immunol Lett.* 2004 Mar 29;92(1-2):3-9. .

- Il n'y a pas eu émergence simultanée du MHC, des cellules B et des cellules T, avec les systèmes de recombinaison spécifiques afférents.

- 1. RAG-1 RAG-2 chez l'oursin (pas de MHC, d'anticorps ou de cellules T)

- 2. « Anticorps » de type VLR chez la lamproie (pas de RAG-1 RAG-2, pas de CMH, pas de Cellules T).

- 3. Pré-existence de la TdT et de l'AID (outre RAG-1 RAG-2) vs immunité adaptative



- Fonctions éparses, « redirigées » au cours de l'évolution pour servir dans l'immunité adaptative, et ce, de plusieurs manières possibles;

- Quelle utilisation antérieure ?

- Plusieurs solutions évolutives possibles aux questions :
 - De la structure des anticorps :
 - hétérodimères Hg.
 - homodémères Ig (requin).
 - anticorps monocaténaires Ig (chameau).
 - VLR (lamproie, myxine).



- **De la génération de leur diversité :**
 - **Mécanismes : recombinaison, conversion génique, hyper mutation.**
 - **Diversification, avec ou sans séquences extra-germinales.**
 - **Période de production et de diversification du répertoire naïf (continue ou non).**
 - **Organes de production (moelle, bourse de Fabricius, P.P. etc.).**

- **De la régulation de leur synthèse :**
 - **Avec ou sans cellules T.**
 - **etc.**