



HAL
open science

Etude immunochimique des molécules du CMH des bovins (BoLA)

D. Levy, J. Goyeneche, C. Demeulemester, M. Baquero

► **To cite this version:**

D. Levy, J. Goyeneche, C. Demeulemester, M. Baquero. Etude immunochimique des molécules du CMH des bovins (BoLA). *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1989, 20 (3), pp.381-384. hal-00901904

HAL Id: hal-00901904

<https://hal.science/hal-00901904>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Exposé de synthèse

Etude immunochimique des molécules du CMH des bovins (BoLA)

D. Levy, J. Goyeneche, C. Demeulemester et M. Baquero

INRA, Ecole Nationale Vétérinaire, laboratoire pathologie et immunogénétique, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France

(reçu lors des journées d'animation scientifique du département de pathologie animale de l'INRA, Le complexe majeur d'histocompatibilité : structure et fonctions dans les différentes espèces, Maisons-Alfort, 14-15 septembre 1988)

complexe majeur d'histocompatibilité — réunion scientifique — structure — fonction

Bovine CMH (BoLA) molecules : immunochemical study

major histocompatibility complex — scientific meeting — structure — fonction

L'étude du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des bovins (BoLA) présente un triple intérêt :

— sur le plan économique, les bovins constituant une source importante de nourriture pour l'homme, l'étude des processus physiologiques et pathologiques qui concernent l'espèce bovine est essentielle,

— le second pôle d'intérêt est pathogénique. En effet, les bovins sont sujets à des maladies qui présentent des analogies avec certaines affections humaines et qui peuvent donc servir de modèle à celles-ci : il existe des similitudes entre le virus de la leucémie bovine (BLV) et les virus leucémogènes humains lymphotropes T (HTLV); la theilériose bovine

quant à elle permet l'étude des mécanismes des réponses immunes médiées par les lymphocytes T dans le cas d'une infection par un protozoaire,

— sur le plan de l'évolution, l'étude du BoLA, ainsi que celle du CMH d'autres mammifères, permet d'apprécier la conservation du nombre des gènes et leur organisation, et amène à se poser le problème de leur signification.

Deux classes de molécules, dénommées I et II ont été identifiées dans le CMH des bovins.

Les antigènes de classe I ont été mis en évidence par une étude sérologique faite essentiellement avec des allo-anticorps. Les premières comparaisons internationales (1982) ont permis d'établir

l'existence de 17 spécificités différentes contrôlées par les allèles d'un même locus (BoLA-A). Le dernier atelier (1988) a porté à 23 le nombre d'allèles de ce locus, nombre probablement bien inférieur à la réalité puisque de nombreux animaux ne peuvent encore être typés («blancs») et qu'un certain nombre de spécificités ont été dédoublées (w6-w8).

En 1982, nous avons apporté la preuve que les antigènes BoLA de classe I sont constitués, comme leurs homologues humain et murin, par l'association non covalente d'une chaîne lourde de 45 kDa et d'une chaîne légère de 12 kDa. Bien plus, nous avons démontré que ces molécules bovines étaient, certes reconnues par les alloantisérums bovins, mais aussi par des anticorps monoclonaux spécifiques des CMH humain et murin, prouvant donc une forte conservation de certains épitopes.

Par la suite, Chardon a établi que les sondes des gènes du HLA reconnaissent des fragments spécifiques dans l'ADN bovin. De plus, ces études suggèrent l'existence de plusieurs gènes de classe I et un polymorphisme considérable.

Les gènes de classe I du BoLA ont été localisés sur le chromosome 23, grâce à des techniques d'hybridation somatique et d'hybridation *in situ* (Womack, communication, 1988). Ces gènes sont en synténie avec ceux de la glyoxylase 1 et de la 21-hydroxylase. Le fait que, dans toutes les espèces animales étudiées, les gènes de classe II ont été retrouvés sur le même chromosome que les gènes de classe I, amène à postuler que les gènes de classe II du BoLA se situent également sur le chromosome 23.

Par ailleurs, bien que, sérologiquement, il ne soit défini qu'un locus de classe I, le groupe de l'ILRAD de Nairobi a démontré par la technique de précipitations séquentielles et par l'analyse des

mutants de délétion au locus A, qu'il existe au moins deux sous-régions de classe I.

Contrairement aux antigènes de classe I qui sont présents sur toutes les cellules nucléées des mammifères, les antigènes de classe II ont une distribution tissulaire plus restreinte. Ils sont constitués d'hétérodimères comprenant une chaîne lourde de 33-36 kDa et une chaîne légère de 24-29 kDa. Chez l'homme, les études moléculaires ont établi l'existence de trois sous-régions de classe II désignées HLA-DP, -DQ et -DR. Les données actuelles montrent qu'un gène alpha et un gène bêta dans la sous-région DP, que deux gènes alpha et deux gènes bêta dans la sous-région DQ, et qu'un gène alpha et deux gènes bêta dans la sous-région DR sont exprimés, par génome haploïde ou haplotype.

Dans l'espèce bovine, l'étendue des connaissances de la région BoLA de classe II et de ses produits est moindre. Cela relève vraisemblablement des difficultés d'utilisation des tests de lymphocytotoxicité avec des allo-anticorps. Cependant, les premiers essais de réaction lymphocytaire mixte suggéraient déjà l'existence de produits de plus d'un seul locus de classe II et démontraient une liaison entre les régions de classe I et les régions de classe II.

Nous avons démontré en 1982 que les antigènes de classe II du BoLA ont une organisation structurale identique à celle décrite dans les espèces humaine et murine. Bien plus, nous avons apporté des arguments en faveur de l'existence d'au moins deux produits différents de classe II, en utilisant des anticorps anti-IA et anti-IE de la souris, qui reconnaissaient donc des déterminants antigéniques conservés. Cependant, du fait de la rareté des animaux homozygotes et de la difficulté d'obtenir des réactifs sérologiques

spécifiques, il n'avait pas été possible de définir clairement les diverses molécules de classe II des bovins.

Sur des gels en 2 dimensions, qui séparent les molécules en fonction de leur point isoélectrique et de leur masse, les antigènes de classe II du BoLA reconnus par un anticorps anti-HLA présentent un aspect identique à celui décrit chez l'homme et chez la souris, avec au moins 3 chaînes différentes (alpha, bêta et li). Ces données ont été confirmées par des expériences de chasse après marquage métabolique bref où apparaissent seulement 3 précurseurs protéiques. Puis, après un processus de maturation relativement rapide (environ 30 minutes), apparaissent d'autres chaînes, sans relation précurseur-produit évidente avec les chaînes précédentes.

L'étude d'un plus grand nombre d'animaux confirme la généralité des réactions croisées entre les espèces et suggère une forte conservation des séquences. De par la complexité des images autoradiographiques, il est, pour l'instant, impossible d'analyser par cette technique la ségrégation des produits des gènes paternels et maternels.

Dans le but de mieux comprendre l'organisation du BoLA, une autre approche a consisté à analyser sur une lignée lymphoblastoïde bovine, les antigènes reconnus par une batterie d'anticorps anti-classe II. Tous ces antigènes sont des hétérodimères comportant une chaîne lourde comprise entre 31 et 36 kDa et une chaîne légère comprise entre 26 et 31 kDa. Des expériences d'absorption croisée ont permis de mettre en évidence l'existence de 5 groupes de molécules de classe II différentes. L'analyse structurale sur gels en 2 dimensions confirme ces données en montrant des images autoradiographiques particulières pour chaque anticorps.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats est en faveur de l'existence de produits d'au moins deux sous-régions de classe II dans l'espèce bovine. Ces données sont corroborées par l'étude de l'organisation génomique de cette région effectuée avec des sondes d'ADN humain. Cependant, cette étude ne permet pas de savoir si tous les gènes identifiés sont réellement exprimés. L'utilisation de nouvelles techniques (électrophorèse à champs pulsés, clonage en levure) devrait permettre d'établir rapidement la carte de la région du CMH bovin. De même, des techniques biochimiques analytiques et préparatives autres que l'électrophorèse bidimensionnelle permettent de mieux résoudre et analyser les chaînes constitutives des molécules de classe II : étude des cartes peptidiques, établissement des séquences N-terminales et caractérisation immunologique avec des réactifs monomorphes humains et bovins.

L'accumulation de ces données devrait amener à établir des relations entre la structure des différentes molécules et leur fonction, et à étudier l'importance et la signification de la conservation de certains épitopes dans les différentes espèces.

Références

- Andersson L., Bohme J., Rask I. & Peterson P.A. (1986) Genomic hybridization of bovine major histocompatibility genes. II - Polymorphism of DR genes and linkage disequilibrium in the DQ-DR region. *Anim. Genet.* 17, 295-304
- Anon. (1982) Proceedings of the 2d Intern. Lymphocyte antigen (BoLA) workshop. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 13, 33-53
- Bensaid A., Naessens J., Kemps S.J., Black S.J., Shapiro S.Z. & Teale A.J. (1988) An immunochemical analysis of class I (BoLA) molecules on the surface of bovine cells. *Immunogenetics* 27, 139-144

- Chardon P., Kalil J., Leveziel H., Colombani J. & Vaiman M. (1983) Monoclonal antibodies to HLA recognize monomorphic and polymorphic epitopes on *BoLA T. Antigens* 22, 62-71
- Hoang-Xuan M., Charron D.J., Zilber M.T. & Levy D. (1982) Biochemical characterization of class II bovine major histocompatibility complex antigens using cross-species reactive antibodies. *Immunogenetics* 15, 621-624
- Hoang-Xuan M., Leveziel H., Zilber M.T., Parodi A.L. & Levy D. (1982) Immunochemical characterization of major histocompatibility antigens in cattle. *Immunogenetics* 15, 207-211
- Levy D. (1988) *BoLA* class II antigens : structure, biosynthesis and polymorphism. *Anim. Genet.* 19 (suppl. 1) 26-28
- Levy D., Goyeneche J. & Davis W.C. (1989) Structural heterogeneity of the MHC class II region antigens in cattle (soumis à publication)
- Usinger W., Curie-Cohen M., Benforado C., Pringnitz D., Rowe R., Splitter G.A. & Stone W.H. (1981) The bovine major histocompatibility complex (*BoLA*) : close linkage of the genes controlling serologically defined antigens and mixed lymphocyte reactivity. *Immunogenetics* 14, 423-442
- Womack J.E. (1988) Strategies for the development of a bovine gene map. *XXIst Int. Conf. on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphisms, Turin.*