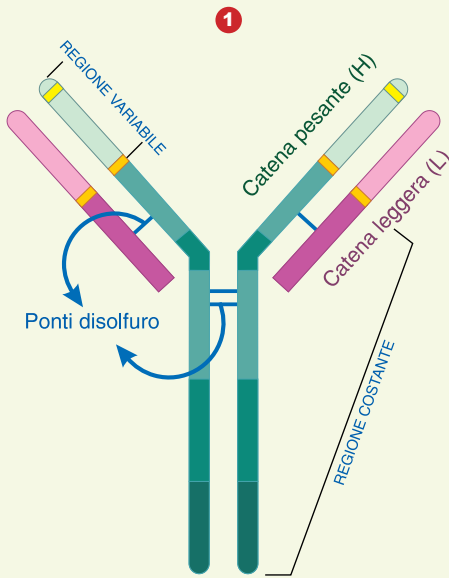


# Quando lo *splicing* è programmato: lo sviluppo del sistema immunitario

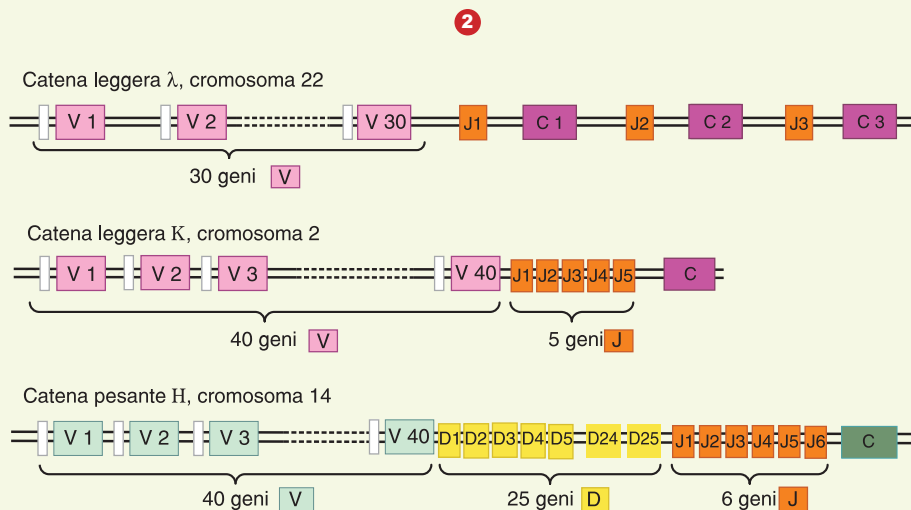


**Fig. 1.** Ogni anticorpo è costituito da 4 subunità proteiche: 2 catene leggere (in rosa); 2 catene pesanti (in verde). La struttura dell'anticorpo è stabilizzata da una serie di ponti disolfuro tra gli atomi di zolfo di due cisteine sia intracatena che intercatena (in blu). Ogni catena è caratterizzata da: una regione costante (in rosa e verde scuro) e una regione variabile (in rosa e verde chiaro). Le regioni costanti sono caratteristiche della specie e della classe di immunoglobuline. Le regioni variabili sono responsabili dello specifico riconoscimento dell'antigene. In giallo e arancione sono i sottodomini delle regioni variabili.

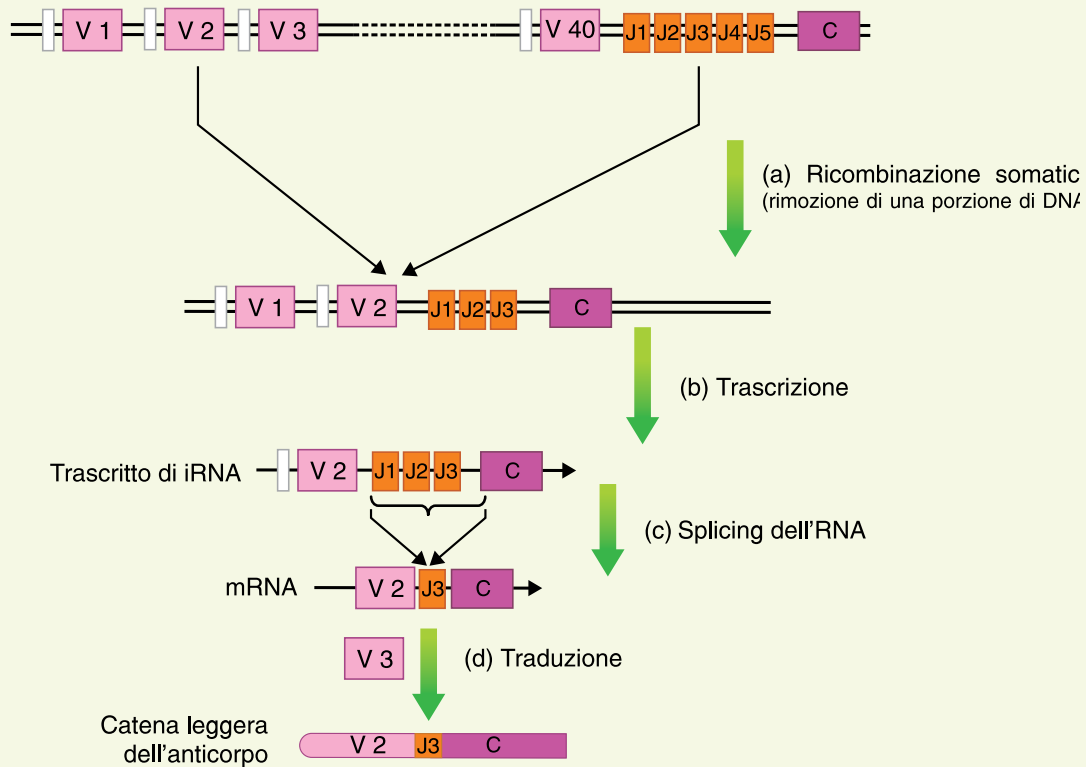
Nei mammiferi la risposta immunitaria è mediata da un repertorio apparentemente senza limiti di **anticorpi**, ciascuno sintetizzato in risposta alla stimolazione con un **antigene** diverso. Una volta che l'organismo ha sintetizzato un particolare anticorpo, la capacità di sintesi rimane disponibile per combattere qualsiasi esposizione futura. Ma in che modo l'organismo è in grado di produrre anticorpi, ciascuno previsto per riconoscere specificamente un antigene la cui struttura non è nota all'organismo stesso? In effetti, l'organismo è in grado di produrre fino a diversi miliardi ( $10^{11}$ ) di anticorpi diversi. La natura ha risolto questo problema adottando un efficiente sistema di ricombinazione genica, ovvero un processo casuale, mediante il quale un numero relativamente piccolo di geni viene ricombinato per determinare una variabilità dell'ordine di diversi miliardi di nuovi geni differenti. La ricombinazione genica per la produzione di anticorpi è un processo che avviene all'interno del linfocita B immaturo e il suo completamento determina la creazione di un linfocita B funzionale.

Ciascun anticorpo, o più propriamente **immunoglobulina**, è formato da **due catene leggere (L)** identiche e da **due catene pesanti (H)** anch'esse identiche fra loro. Sia le catene L sia quelle H sono a loro volta costituite da due regioni principali: una **regione variabile**, caratterizzata da una notevole diversità di sequenza amminoacidica fra anticorpi diversi, e una **regione costante**, sostanzialmente abbastanza conservata fra anticorpi diversi (fig. 1).

Nelle cellule che esprimono anticorpi, come i linfociti B, ciascuna catena immunoglobulinica è codificata da un singolo gene interrotto e gli esoni del gene corrispondono ai domini funzionali della proteina. Tuttavia i diversi tratti genici che codificano per la catena pesante e leggera di una singola immunoglobulina non sono né trascritti né tradotti fino a quando non vengono riarrangiati a dare geni funzionali. Il **riarrangiamento** è eseguito da un sistema genetico dinamico, capace di generare più di  $10^{10}$  specie differenti. Alla fine di questi processi, una cellula B immunocompetente e matura conterrà una singola sequenza di DNA codificante per una catena leggera funzionale e una singola sequenza codificante per una catena pesante. Quindi, ogni linfocita B avrà specificità per un'unica tipologia di antigene. Le catene leggere e le catene pesanti sono codificate da loci genici separati, posti rispettivamente sui cromosomi 2, 22 e 14 (fig. 2).



**Fig. 2.** Rappresentazione dell'organizzazione dei geni codificanti per le catene leggere ( $\lambda$  e  $\kappa$ ) e per le catene pesanti (H) delle immunoglobuline umane, posti rispettivamente sui cromosomi 22, 2 e 14. Nelle catene leggere le regioni variabili sono codificate dalle due componenti geniche V e J (rappresentate in rosa e arancione), mentre nelle catene pesanti le regioni variabili sono codificate da tre componenti: V, J e D (rispettivamente in verde chiaro, arancione e in giallo). Ciascuna di queste componenti è codificata da un numero variabile di geni, come indicato in figura. I geni codificanti per le regioni costanti (C) sono indicati con rettangoli in rosa scuro (catene leggere) o verde scuro (catene pesanti).



**Fig. 3.**

La parte costante della catena leggera di tipo K è codificata da un solo tipo genico, mentre la parte variabile è codificata dal complesso genico V-J. Si definisce V un gene preso da circa 40 geni che definiscono la parte variabile, mentre J è anch'esso un gene scelto fra i 5 geni che servono ad unire la parte variabile alla parte leggera.

Questi loci sono in realtà delle famiglie multigeniche, in quanto contengono numerosi geni, presenti in numerose copie, con sequenze differenti l'una dall'altra ma che possono essere raggruppati in famiglie in base all'omologia di sequenza. In effetti, esistono diverse varianti sia delle porzioni geniche codificanti per le regioni variabili sia delle porzioni geniche codificanti per le regioni costanti.

Grazie a un raffinato meccanismo di ricombinazione somatica, che prevede la rimozione di porzioni variabili di DNA (fig. 3), le cellule B riescono a riarrangiare i geni codificanti per le porzioni variabili con quelli codificanti per le porzioni costanti, dando così origine a una grande varietà di combinazioni diverse.

Il processo di ricombinazione, dal punto di vista genetico, è relativamente complesso. La partenza è data dal DNA che, con la sua regione leader (rappresentata dal rettangolo bianco nella figura 3) definisce l'inizio del riarrangiamento. Nella prima fase un gene V si unisce ad un gene J. La scelta dei due geni è casuale, anche se sembra che abbiano più successo le coppie tra loro vicine piuttosto che le coppie lontane (fig. 3a). Nel riarrangiamento delle catene di tipo  $\lambda$  viene selezionato casualmente anche un gene C tra i tanti di-

sponibili del pool genico (questo accade per le catene K in quanto per esse esiste un solo gene C). Una volta avvenuta la ricombinazione somatica, si ha la trascrizione che porta alla formazione di uno stampo di RNA immaturo (i-RNA) che contiene ancora l'introne tra il complesso V-J e C (fig. 3b).

L'i-RNA viene quindi sottoposto a un evento di splicing che rimuove la regione compresa fra VJ e C; si produce così un RNA messaggero di tipo maturo pronto per essere tradotto con conseguente produzione della catena polipeptidica.

Poiché per le catene leggere di tipo K ci sono circa 40 geni che codificano per la parte variabile (V), 5 geni per la parte di unione (J) e 1 gene per la parte costante, la ricombinazione casuale di questi tre elementi porta alla formazione di 200 possibili combinazioni. Analogamente, per le catene leggere di tipo  $\lambda$  le possibili combinazioni sono 480 (30 geni V, 4 geni J e 4 geni C), mentre per le catene pesanti il numero è ancora più elevato: 54 000 (40 geni V, 25 geni D, 6 geni J e 9 geni C). Poiché ogni catena leggera si combina con una catena pesante, ecco che si spiega come il nostro organismo sia in grado di produrre qualche miliardo di anticorpi diversi.