

## MISE EN EVIDENCE D'UNE REACTION CROISEE ENTRE LES MARQUEURS ALLOTYPEPIQUES Aa1 ET Aa2 DU LOCUS a CHEZ LE LAPIN

C. RENNEBOOG-SQUILBIN

*Charge de Recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique,  
Laboratorium voor Algemene Biologie, Vrije Universiteit te Brussel, België*

Reçu le 9 décembre 1968

It is well known that, in rabbits, the allotypes of the b locus carried by the light chains of the IgG molecules cross-react. Nothing similar has been described for the allotypes of the a locus carried by the heavy chains of the IgG molecules. This paper describes a cross-reaction between the rabbit allotypic markers Aa1 and Aa2 of the a locus. This phenomenon became evident in successive  $I^{125}$ -labelled IgG precipitation experiments with a particular serum.

### 1. Matériel et méthodes

#### 1.1. *Les sérum antiallotypes*

Il est important de préciser la manière dont les antisérum antiallotypes ont été obtenus [1]. L'antisérum antiAa1 provient de l'immunisation d'un lapin Aa3, Ab4,5 contre des anticorps antiprotéus d'un lapin Aa1, Ab4,5. L'antisérum antiAa2 provient de l'immunisation d'un lapin Aa3, Ab4 contre des anticorps antiprotéus d'un lapin Aa2, Ab4. L'antisérum antiAb4 provient de l'immunisation d'un lapin Aa1,2, Ab5 contre des anticorps antiprotéus d'un lapin Aa2, Ab4 et l'antisérum antiAb5 provient de l'immunisation d'un lapin Aa3, Ab4,6 contre des anticorps antiprotéus d'un lapin Aa3, Ab4,5.

#### 1.2. *Les précipitations successives d'IgG marquées à l'iode 125*

Les IgG 248 (c'est-à-dire les IgG provenant du lapin no. 248) préalablement purifiées [2] ont été marquées à l'iode 125 [3]. Pour précipiter les IgG marquées au moyen des différents antisérum antiallotypes, nous avons suivi textuellement la méthode décrite par Dray et Nisonoff [4].

### 2. Résultats

La concentration de la solution radioactive d'IgG

248 a été estimée par immunodiffusion radiaire simple [5] d'IgG 248 non marquées. Les droites obtenus avec quatre antisérum différents (antiAa1, antiAb4, antiAb5 et antifragments Fab) ont concordé pour donner comme réponse 0,236 mg d'IgG par ml de solution radioactive.

La quantité d'antigène correspondant à une précipitation maximum pour un certain volume d'antisérum antiallotype a été déterminée au moyen de courbes de précipitation des IgG 248 froides avec les antisérum envisagés.

La première série de précipitations comprend trois à quatre précipitations successives suivant l'antisérum. Nous avons de plus effectué une seconde série de précipitations (de deux à cinq précipitations suivant l'antisérum) sur les seconds surnageants de la première série au moyen des antisérum dressés contre l'allotype allèle (fig. 1). Les résultats sont consignés dans le tableau 1. Par immunodiffusion des surnageants de chaque étape de précipitation, nous avons vérifié que la réaction s'est passée aux environs de la zone d'équivalence dans un léger excès d'anticorps. Seules se sont distinguées les premières précipitations pratiquées sur les seconds surnageants de la première série de précipitations, avec les antisérum antiAb4 et antiAb5. En effet, ces surnageants contiennent encore respectivement des anticorps antiAb5 qui portent l'allotype Ab4 et des anticorps antiAb4

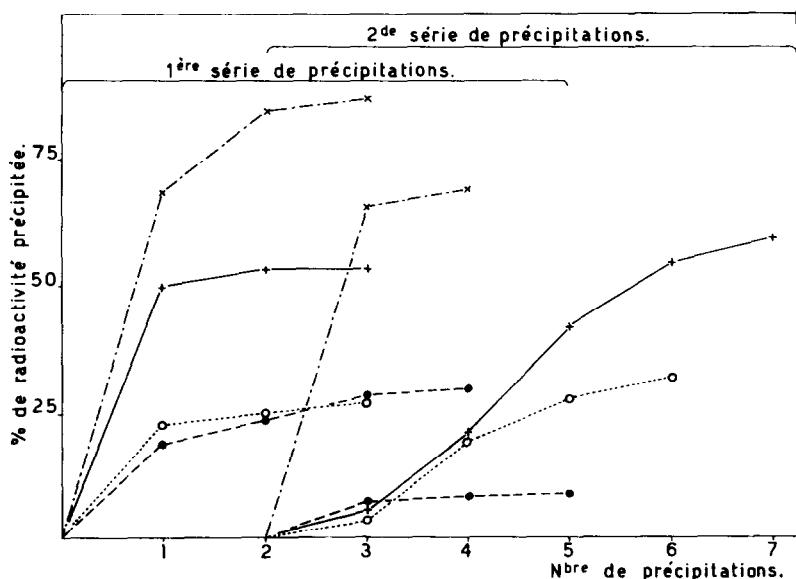


Fig. 1. Pourcentage de radioactivité précipitée par les antisérum antiAa1 (x---x), antiAa2 (●---●), antiAb4 (+---+) et antiAb5 (○---○) après réaction avec les IgG 248 marquées.

qui portent l'allotype Ab5. Ces molécules opèrent ainsi respectivement une dilution temporaire des IgG Ab4 et des IgG Ab5 radioactives ce qui est reflété par l'allure des débuts des courbes de la seconde série de précipitations avec les antisérum antiAb4 et antiAb5. Tous les essais se sont faits en triple.

En considérant le tableau 1, nous voyons que dans un même échantillon, la somme des allotypes du locus a, Aa1 et Aa2 vaut environ 100% quel que soit l'ordre de précipitation tandis que la somme des allotypes du locus b, Ab4 et Ab5 vaut en moyenne 87% (lignes horizontales). Dans le cas des IgG 248, il y a donc 13% de molécules ne portant pas d'allotypes du

locus b. Cette valeur est en accord avec celles qu'on trouve dans la littérature (5 à 26% de molécules ne portant pas d'allotypes du locus b) [4,6-9].

En additionnant les pourcentages des molécules d'allotypes Ab4 et Ab5 qui résultent de la première série de précipitations dans des échantillons différents d'une part et de la seconde série de précipitations d'autre part (colonnes verticales), nous obtenons les valeurs de 81 et 93% qui entourent les 87% pour un même échantillon, cités plus haut. Nous pouvons nous dire que ces variations ne sont pas significatives étant donnée la précision des dernières mesures de radioactivité.

Tableau 1  
Pourcentage d'IgG 248 radioactives précipitées par les différents antisérum antiallotypes.

Antisérum	1 <sup>re</sup> série de précipitations	Antisérum	2 <sup>de</sup> série de précipitations	Somme
antiAa1	87,5%	antiAa2	9 %	96,5%
antiAa2	30,5%	antiAa1	69,5%	100 %
somme	118 %		78,5%	
antiAb4	53,5%	antiAb5	32,5%	86 %
antiAb5	27,5%	antiAb4	60,5%	88 %
somme	81 %		93 %	

La cohérence des résultats du dosage des molécules portant les allotypes du locus b représente à nos yeux un témoignage de ce que la méthode utilisée est valable.

Considérons maintenant les allotypes du locus a. La somme des molécules portant les allotypes Aa1 et Aa2 dépasse significativement 100%; cela voudrait dire qu'environ 20% des molécules (87,5-69,5 = 18; 30,5-9 = 21,5) réagissent simultanément avec les antisérum antiAa1 et antiAa2.

Que l'antisérum antiAa2 réagit faiblement avec les molécules Aa1 a été confirmé dans les expériences en gradient de saccharose d'Hamers et Hamers Casterman [10] où on observe une déviation par ce même antisérum antiAa2, du complexe soluble "IgG Aa1+8-antisérum antiAa8" vers une région de plus haut poids moléculaire.

### 3. Discussion

Il faut noter que les lapins ayant servi à faire les antisérum antiAa1 et antiAa2 sont tous deux homozygotes pour l'allotype Aa3 du locus a. On peut faire le rapprochement avec la constatation relative au locus b [1] à savoir que des antisérum antiAb5 et antiAb6 obtenus dans des lapins homozygotes Ab4 réagissent également avec les allotypes Ab6 et Ab5 respectivement.

La réaction croisée que nous observons est peut-être à mettre en relation avec l'existence d'une plus grande différence structurale entre les allotypes Aa1 et Aa3 ou Aa2 et Aa3 qu'entre les allotypes Aa1 et Aa2. Les données sont encore trop rudimentaires pour pouvoir conclure mais actuellement, on connaît

deux positions (9 et 220) du fragment Fd de la chaîne H des IgG où les lapins d'allotype Aa3 possèdent un autre résidu d'acide aminé que les lapins d'allotypes Aa1 et Aa2 [11].

### Remerciements

Nous remercions Monsieur le Professeur Hamers pour l'aide qu'il n'a cessé de nous apporter au cours de nos recherches.

Ce travail a été fait dans le cadre du Contrat 007-61 ABIB entre l'Université de Bruxelles et l'Euratom et du Contrat du Fonds Recherche Fondamentale Collective no. 617.

### Références

- [1] A.S.Kelus et P.G.H.Gell, *Progr. Allergy* 11 (1967) 141.
- [2] D.H.Campbell, J.S.Garvey, N.E.Cremer et D.H.Sussdorf, in: *Methods in Immunology* (Benjamin, New York, 1963) p. 119.
- [3] F.C.Greenwood, W.M.Hunter et J.S.Glover, *Biochem. J.* 89 (1963) 114.
- [4] S.Dray et A.Nisonoff, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 113 (1963) 20.
- [5] G.Mancini, A.O.Carbonara et J.F.Heremans, *Immunochem.* 2 (1965) 235.
- [6] P.Bornstein et J.Oudin, *J. Exp. Med.* 120 (1964) 655.
- [7] A.M.Gilman, A.Nisonoff et S.Dray, *Immunochem.* 1 (1964) 109.
- [8] G.W.Stemke, *Immunochem.* 2 (1965) 359.
- [9] M.Lanckman et G.De Vries, *Symposium on Immunglobulin*, Fifth FEBS Meeting, Praha, 1968, sous presse.
- [10] R.Hamers et C.Hamers-Casterman, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 32 (1967) 129.
- [11] R.R.Porter, *Biochem. J.* 105 (1967) 417.