

*Université Pierre et Marie Curie (Paris 6)*

*UE BMC423 – Immunologie Fondamentale*  
*Epreuve écrite – juin 2007*

*Durée de l'épreuve : 2 heures*

**Vous devez obligatoirement traiter les exercices I & II.**

*Barème indicatif :*

Exercice I noté sur 10 points

Exercice II noté sur 10 points

**BMC423 - Immunologie Fondamentale**  
**Epreuve écrite – juin 2007**

**Exercice I (noté sur 10 points)**

Des souris sont stimulées (stimulus 1) avec DNP-OVA (haptène DNP couplé à l'ovalbumine, OVA), ou GGB ( $\gamma$ -globulines bovines), ou GGH ( $\gamma$ -globulines humaines), ou non stimulées (normal). On mélange des cellules de rate provenant d'une souris ayant reçu le stimulus 1 DNP-OVA avec des cellules de rate d'une autre souris ayant également reçu un stimulus 1, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. On transfère ensuite ces mélanges dans des souris syngéniques préalablement irradiées. Ces dernières sont alors stimulées (stimulus 2) par DNP-OVA, ou DNP-GGB, ou (DNP-GGB + GGH), ou (DNP-GGH + GGB). La réponse anti-DNP, mesurée 7 jours après la stimulation, est montrée dans le tableau ci-dessous :

Stimulus 1 : Stimulus des cellules mélangées & transférées	Réponse anti-DNP après stimulus 2 :			
	DNP-OVA	DNP-GGB	DNP-GGB + GGH	DNP-GGH + GGB
DNP-OVA + normal	1. +	2. -	3.	4.
DNP-OVA + GGB	5.	6.	7.	8.
DNP-OVA + GGH	9.	10.	11.	12.
DNP-OVA + DNP-OVA	13.	14.	15.	16.

**Abréviations :**

- « + » = réponse anti-DNP positive ; « - » = pas de réponse anti-DNP.
- Haptène = DNP (2,4-dinitrophénol).
- Protéines porteuses = OVA (ovalbumine) ; GGB ( $\gamma$ -globulines bovines) ; GGH ( $\gamma$ -globulines humaines). DNP-OVA, DNP-BBG et DNP-GGH indiquent que le DNP est couplé à la protéine porteur correspondante.

*Question 1. Qu'est-ce qu'un haptène ? (5 lignes maximum)*

*Question 2. A l'aide d'un schéma uniquement, résumez le plan expérimental mis en œuvre dans cette expérience.*

*Question 3. Rappelez le principe d'un test permettant de mesurer la « réponse anti-DNP ». (5 lignes maximum)*

*Question 4. Complétez le tableau ci-dessus.*

*Question 5. Illustrer ces résultats à l'aide d'un schéma uniquement sur la base de la coopération cellulaire dans le système immunitaire.*

## Exercice II (noté sur 10 points)

(D'après Grandjean, I., *et al.* (2003) *J.Exp.Med.* 198:1089)

Le clone T CD4<sup>+</sup> *Marylin* a été établi chez une souris de CMH H-2<sup>b</sup>xH-2<sup>k</sup>. Ce clone est dirigé contre un peptide de l'antigène H-Y exclusivement exprimé chez la souris mâle et présenté par la molécule I-A<sup>b</sup>. Les chaînes TCRβ et TCRα du clone *Marylin* ont été clonées pour produire des souris transgéniques (Tg) pour le TCR *Marylin*, de fonds génétique C57BL/6 (B6) et d'haplotype H-2<sup>b</sup> ou H-2<sup>k</sup>. Les souris *Marylin* TCR Tg H-2<sup>b</sup> (ou H-2<sup>k</sup>) ainsi obtenues ont alors été croisées avec des souris RAG-2<sup>-/-</sup> H-2<sup>b</sup> (ou H-2<sup>k</sup>) de fonds B6 afin d'obtenir les souris *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2<sup>b</sup> (ou H-2<sup>k</sup>).

Grâce à ces souris et aux lignées supplémentaires de souris B6 RAG-2<sup>-/-</sup> H-2Aβ<sup>b</sup> et B6 RAG-2<sup>-/-</sup> β2m<sup>-</sup>, on a également pu obtenir les lignées de souris *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2Aβ<sup>b</sup> ou H-2<sup>k</sup>β2m<sup>-</sup> ou H-2<sup>b</sup>xk ou H-2Aβ<sup>b</sup>x<sup>b</sup> ou H-2Aβ<sup>b</sup>x<sup>k</sup>, toutes de fonds génétique B6.

**Question 6.** A l'aide d'un schéma de croisements uniquement, expliquer comment ces dernières lignées de souris ont été obtenues :

- *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2Aβ<sup>b</sup>
- *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2<sup>k</sup>β2m<sup>-</sup>
- *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2<sup>b</sup>xk
- *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2Aβ<sup>b</sup>x<sup>b</sup>
- *Marylin* TCR Tg RAG-2<sup>-/-</sup> H-2Aβ<sup>b</sup>x<sup>k</sup>

**Question 7.** Rappelez l'effet de la mutation RAG-2<sup>-/-</sup>. (5 lignes maximum)

Le développement lymphocytaire T a été étudié chez des souris femelles de ces différentes lignées de souris, dans le thymus et la rate, par cytométrie en flux avec les anticorps anti-TCRβ, anti-CD4 et anti-CD8 (**Figure 1**).

**Question 8.** A l'aide d'un tableau comparatif (cf. modèle ci-dessous), vous résumerez et analyserez ces résultats en précisant, pour chaque lignée,

- quelles molécules du CMH sont exprimées
- quelle cellularité est observée dans le thymus et dans la rate
- quelles populations sont absentes ou présentes
- comment ces observations cadrent avec vos connaissances du développement lymphocytaire T

**Question 9.** A la fin de ce tableau comparatif, vous terminerez votre analyse en indiquant

- quelle(s) population(s) supplémentaire(s) vous attendriez-vous à observer
- si l'on injectait l'antigène H-Y dans le thymus des souris nouveaux-nés
- ou si les souris ne portaient pas la mutation RAG-2<sup>-/-</sup>

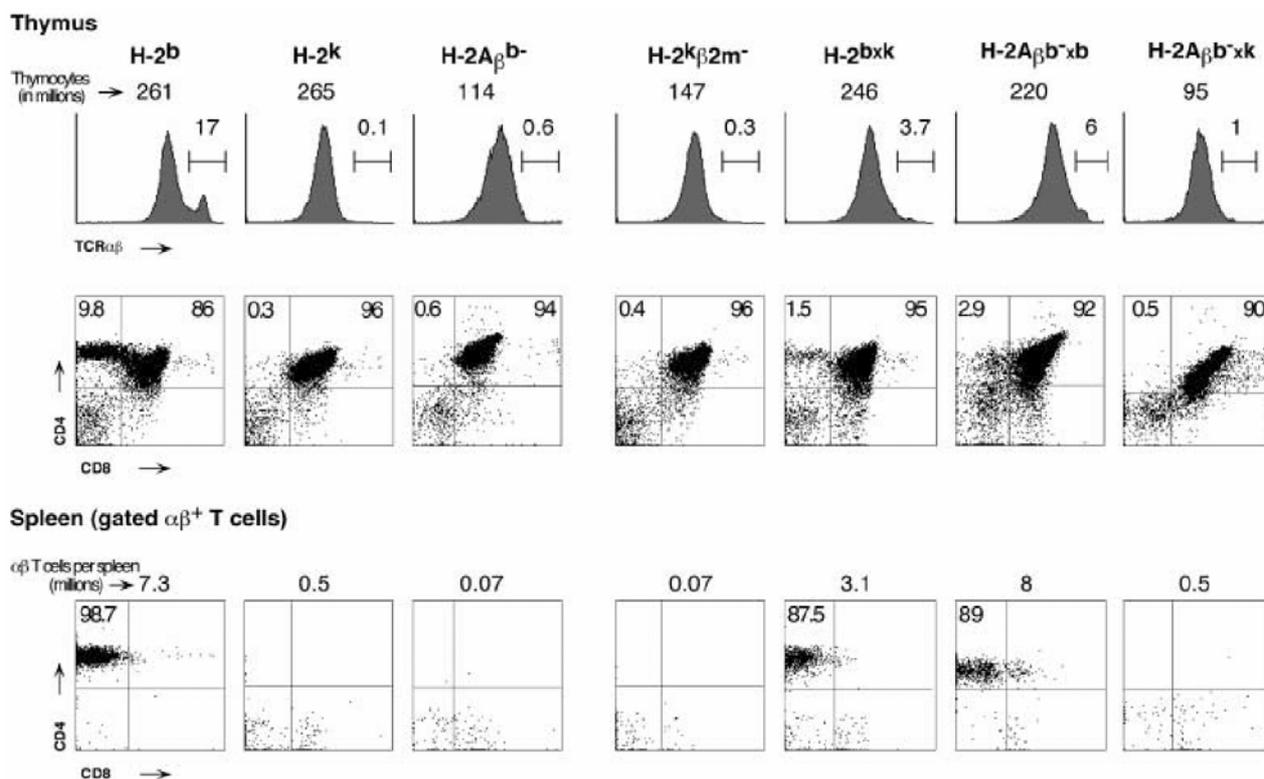


Figure 1

Le développement lymphocytaire T a été étudié chez des souris femelles des différentes lignées de souris *Marylin* TCR Tg. Le génotype du CMH des lignées étudiées est indiqué en haut de chaque colonne. Les thymocytes et splénocytes ont été analysés par cytométrie en flux avec les anticorps anti-TCR $\beta$  (TCR $\alpha\beta$ ), anti-CD4 et anti-CD8. Pour les splénocytes, l'analyse ne montre que les cellules TCR $\alpha\beta^+$ . Pour chaque organe étudié, le nombre total de cellules est indiqué (en millions). Les nombres inscrits dans les quadrants des profils correspondent à la proportion de cellules du phénotype correspondant.

N.B. : On rappelle que toutes les souris sont ici déficientes pour RAG-2.

Modèle de tableau pour la réponse aux Question 8 et Question 9 :

	H-2 <sup>b</sup>	H-2 <sup>k</sup>	H-2Aβ <sup>b-</sup>	H-2 <sup>k</sup> β2m <sup>-</sup>	H-2 <sup>b/k</sup>	H-2Aβ <sup>b-xb</sup>	H-2Aβ <sup>b-xk</sup>
Expression CMH I							
Expression CMH II							
Cellularité thymus							
Cellularité rate							
Populations thymus							
Populations rate							
Interprétation développement T							
Prédiction injection thymique antigène H-Y							
Prédiction RAG2+							