

UNIVERSITÉ
PIERRE ET MARIE CURIE
(Paris VI)

UER 60

Service d'enseignement de
GÉNÉTIQUE

TOUR 42 - 1^{er} étage

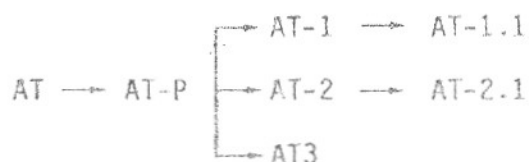
4, place Jussieu
75230 PARIS CEDEX 05
Tél. : 329.12.21 ou 336.25.25
poste 47-46

MODULE D'IMMUNOGÉNÉTIQUE

SESSION DE JUIN 1988 - Durée 2 h.

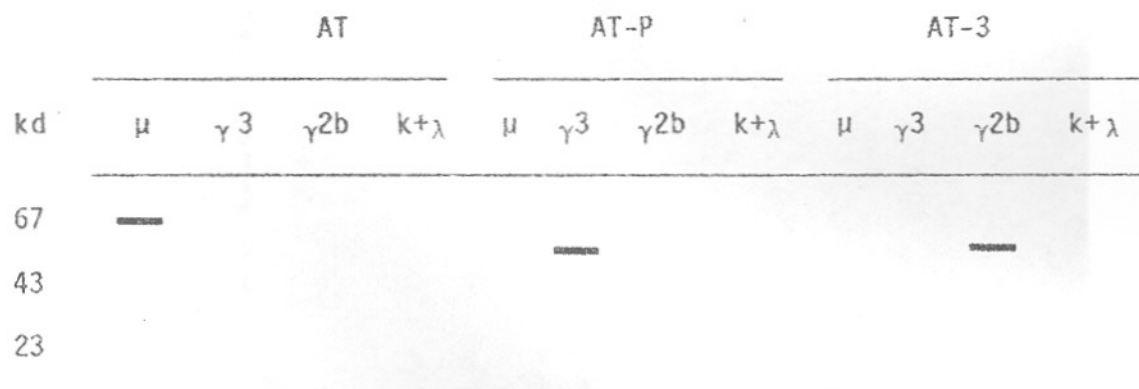
Question n° 1

Un des modèles d'étude de la commutation des chaînes lourdes est l'utilisation de certaines lignées pré-B capables de commuter pendant une culture "in vitro". La lignée AT (lignée pré-B transformée par le virus d'Abelson), utilisée pour cette étude, présente l'avantage de ne posséder qu'un seul exemplaire des segments J_H . Différents sous-clones de la lignée AT sont obtenus dont la filiation est indiquée sur le schéma suivant:



Des lysats cellulaires radiomarqués sont préparés à partir de chaque clone et immunoprécipités avec différents anticorps anti-isotypiques (anti- μ , anti- γ_3 , anti- γ_2b , anti- $(k+\lambda)$). Les échantillons obtenus sont analysés après migration électrophorétique sur un gel de polyacrylamide en présence de SDS. Les résultats sont présentés sur la figure 1.

Figure 1



Les résultats obtenus avec les lysats AT-1, AT-2 d'une part et AT-1.1, AT-2.1 d'autre part sont respectivement identiques à ceux obtenus avec AT-P et AT-3.

Différentes expériences d'hybridation utilisant la technique de Southern sont réalisées afin d'identifier d'éventuels réarrangements génomiques. Les résultats ainsi que les sondes utilisées sont présentées sur les figures 2 et 3.

Interpréter succinctement l'ensemble des données.

Que pensez-vous du fait que les sondes 4, 5 et 2 peuvent mettre en évidence des fragments de restriction de tailles différentes avec les ADNs des clones AT-3, AT-1.1 et AT-2.1.

Ces résultats vous permettent-ils de choisir entre les deux mécanismes de réarrangement généralement proposés pour la commutation? (c'est à dire formation d'une boucle puis délétion ou recombinaison inégale entre deux chromatides).

Figure 2

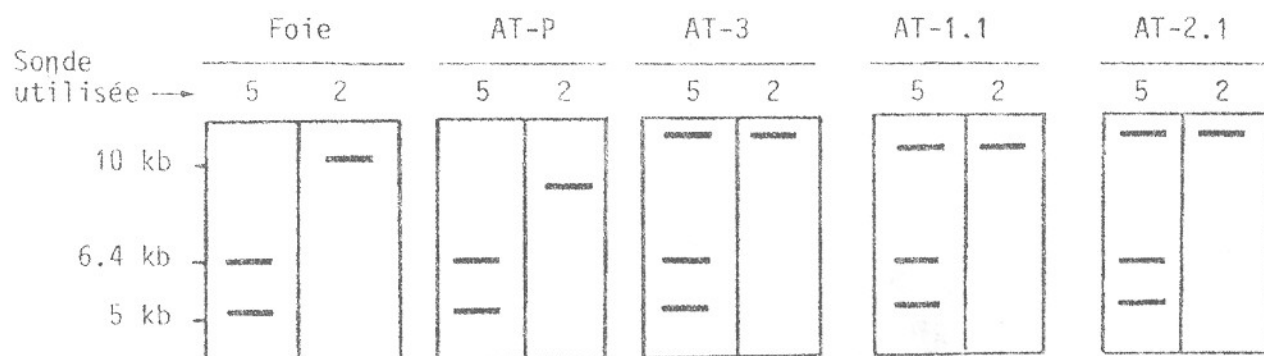
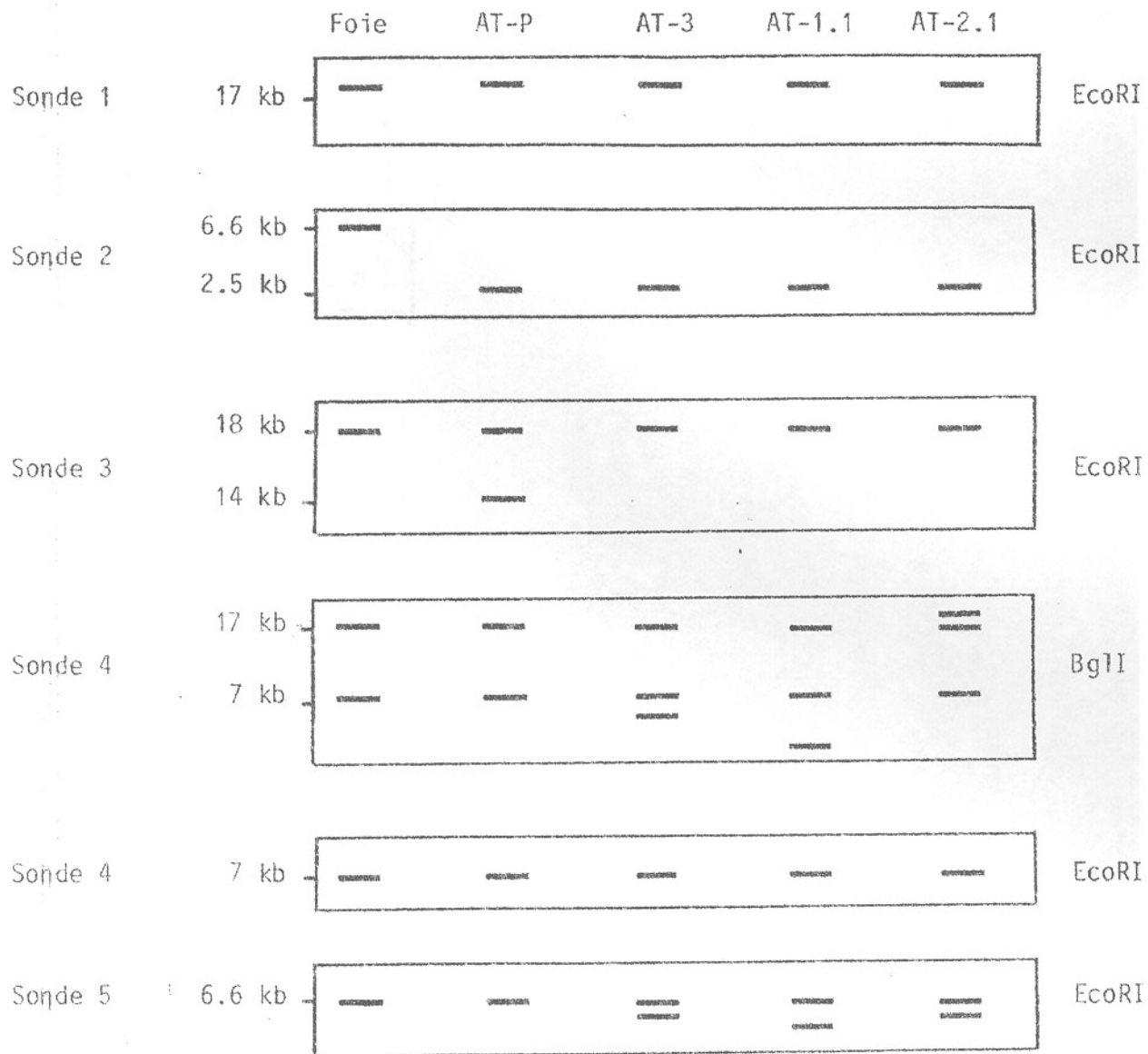
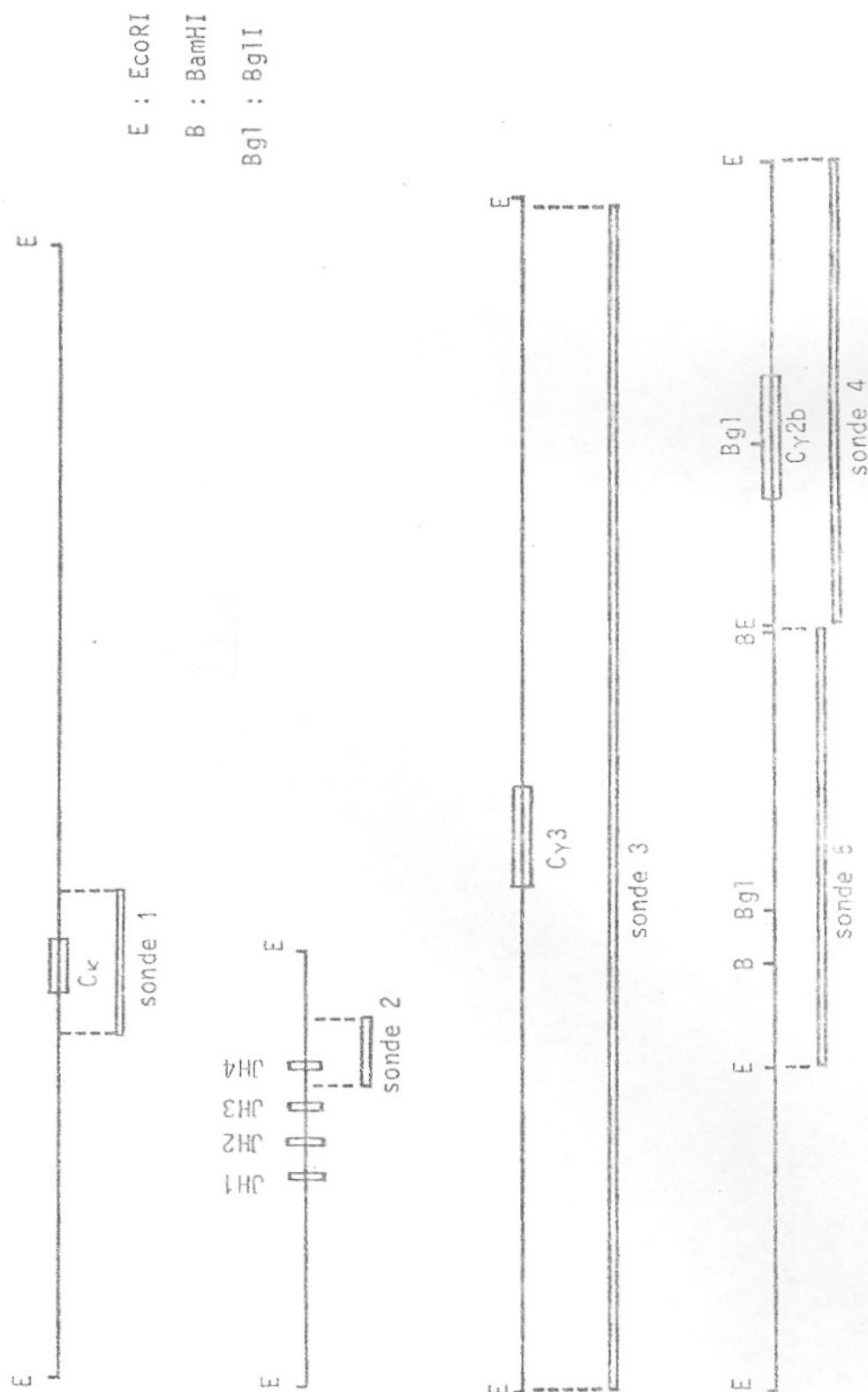


Figure 3



SONDES UTILISEES

Question n° 2

1) La fréquence des cellules T répondant à un antigène étranger associé aux molécules du soi du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est habituellement faible. En revanche, la fréquence de cellules T répondant à des formes allogéniques du CMH en absence d'antigène étranger est extrêmement élevé. Dans le travail présenté ci-dessous, les auteurs (P. Marrack et J. Kappler, *Nature* 332, 1988) ont tenté d'appréhender le concept d'alloréactivité.

La réponse de différents hybridomes T est évaluée par la production d'IL2 après stimulation par différentes lignées cellulaires en présence ou en absence d'antigène. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

Hybridomes T	Expression de V _H 8.17a	Antigène ajouté	Cellules stimulantes			
			P-388 (I-E ^d) Lignée macrophagique		A20 (I-E ^d) Lignée B	CH12 (I-E ^k) Lignée B
			(-)IFN _γ	(+)IFN _γ ^d		
			10 ^a	150	50	80
2Q23	+	+	<10 ^b	<10	1000	1200
		-	<10	<10	1100	1100
Q023	+	+	<10	<10	1000	1200
		-	<10	<10	900	1100
2S23	+	+	<10	<10	950	1250
		-	<10	<10	1200	1250
2B4 ^c	-	+	<10	<10	<10	1600
		-	<10	<10	<10	<10
LFE-1 ^c	-	+	100	1200	800	<10
		-	<10	<10	<10	<10

^aQuantité relative de molécules I-E par cellule, déterminée par cytofluorométrie.

^bQuantité d'IL2 produite en unités/ml

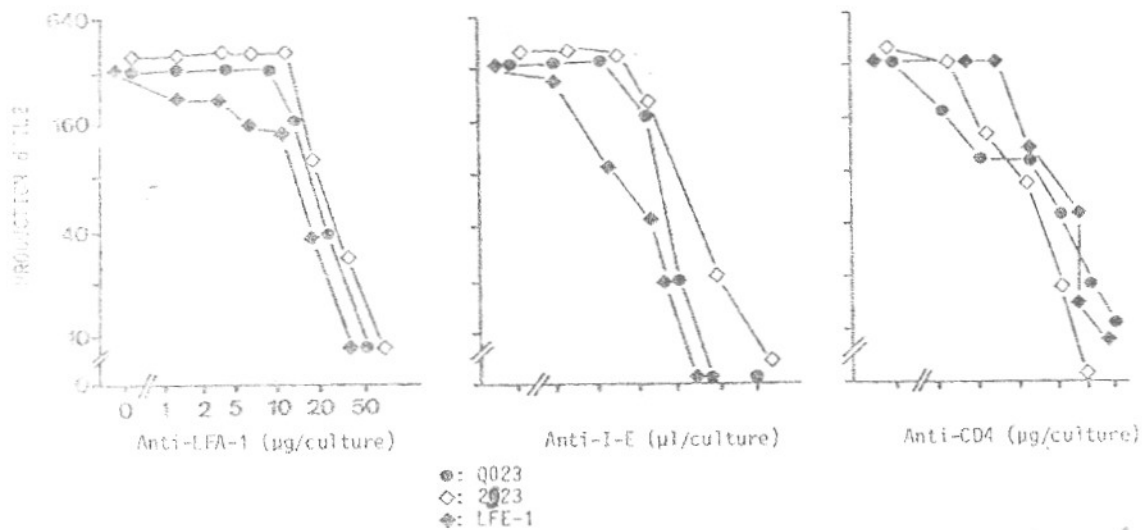
^c2B4 est spécifique du peptide 88-104 du cytochrome C de pigeon

LFE-1 est spécifique du peptide 12-26 du represseur lambda.

^dIFN : Interféron gamma

Commenter les comportements des hybridomes T 2Q23, Q023 et 2S23 d'une part et de 2B4 et LFE-1 d'autre part. Peut-on exclure certaines interprétations pour expliquer la non-réponse des clones T2Q23, Q023 et 2S23 à la lignée macrophagique? oui → *par pb à cause de I-E*

Les hybrides T sont analysés en fonction de leur sensibilité à l'action de différents anticorps monoclonaux. Ainsi, les hybrides T et les cellules A20 présentatrices d'antigène sont cultivés en présence de l'antigène (ici represseur lambda) et de différentes dilutions d'anti-LFA-1, d'anti-CD4 et d'anti-I-E.



→ A20 - T a aussi besoin de mol acc.

Interpréter ces résultats. Sachant que la reconnaissance de P-388 par les cellules T nécessite la présence de molécules accessoires, ces résultats vous permettent-ils d'expliquer la non-réponse des clones 2Q23, Q023 et 2S23 à P-388?

AL

3) Les données obtenues avec les macrophages en culture ont amené les auteurs à comparer la réponse vis à vis de macrophages isolés directement de la souris (macrophages péritonéaux) à celle obtenue vis à vis de macrophages de la moëlle osseuse cultivés pendant deux semaines en présence d'Interféron gamma. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

a part

"neuf"

ils ont tous dit

Hybridomes T	Antigène ajouté	Macrophages péritoneaux		Macrophages de la moëlle osseuse		Cellules spléniques	
		C3H	BALB/c*	C3H	BALB/c	C3H	BALB/c
2Q23	-	2560°	2320	<10	<10	2560	1280
Q023	-	2560	2280	<10	<10	3120	1280
2S23	-	2220	2280	<10	<10	2440	2240
2B4	+	2560	<10	1280	<10	1240	<10
LFE-1	+	<10	1160	<10	1180	<10	1280

id.

non AgB

ont vu B

*C3H= H-2^k et BALB/c= H-2^d

°Quantité d'IL2 produite en unités/ml

Pouvez-vous émettre une hypothèse sur la non-réponse des clones T alloréactifs vis à vis de P-388 sachant que tout antigène du soi ne pourrait être présenté qu'en association avec les molécules du CMH et que les macrophages de la moëlle osseuse sont nouvellement formés.

→ Mφ so → MHC + rien ou Ag soi

ne circulent → MHC modifié par Ag foreign.

OR T activé par B

⇒ I-E + peptide B

