

**UNIVERSITÉ
PIERRE ET MARIE CURIE
(Paris VI)**

UER 60

Service d'enseignement de
GÉNÉTIQUE

TOUR 42 - 1^{er} étage

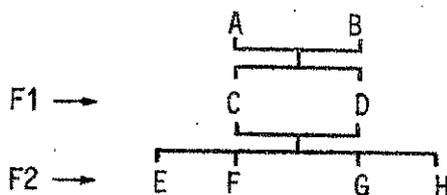
4, place Jussieu
75230 PARIS CEDEX 05
Tél. : 329.12.21 ou 336.25.25
poste 47-46

MODULE D'IMMUNOGÉNÉTIQUE

SESSION DE JUIN 1990 - Durée 2 heures

Question n°1:

Une mutation pour le gène de la $\beta 2$ microglobuline ($\beta 2m$) est introduite dans le génome d'une souris A ($H-2^b$). Afin d'étudier l'effet de cette mutation, des individus F2 sont obtenus en croisant la souris A avec une souris B issue de la même lignée consanguine, comme indiqué sur la figure suivante:

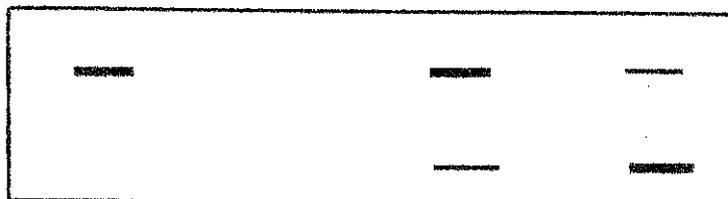


Dans une première série d'expériences, des fibroblastes provenant des souris F2 sont cultivés en présence de méthionine ^{35}S puis lysés. Une immunoprécipitation est réalisée à l'aide d'anticorps anti- $H-2D^b$ ou anti- $\beta 2m$; les produits immunoprécipités sont réduits et analysés par électrophorèse en gel d'acrylamide en présence de SDS.

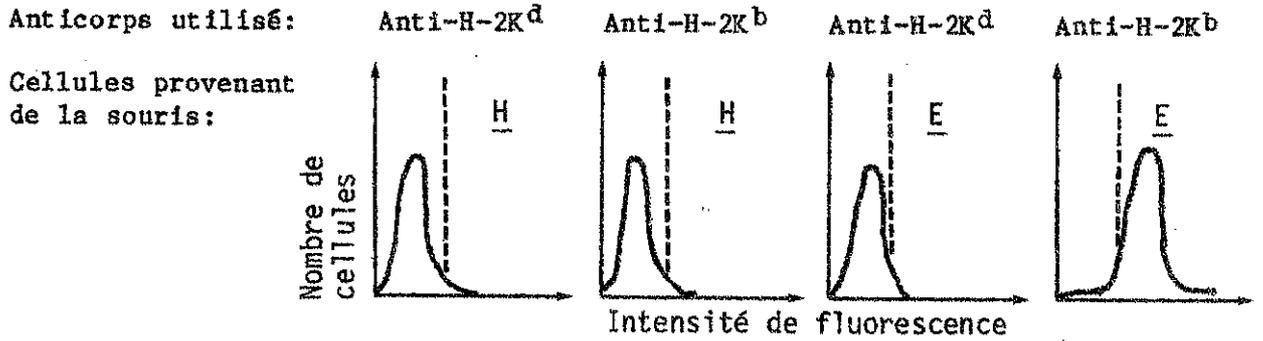
Lysat obtenu à partir de :	Fibroblastes de la souris H		Fibroblastes de la souris E	
Anticorps utilisé:	Anti- $H-2D^b$	Anti- $\beta 2m$	Anti- $H-2D^b$	Anti- $\beta 2m$

47 kd →

16 kd →

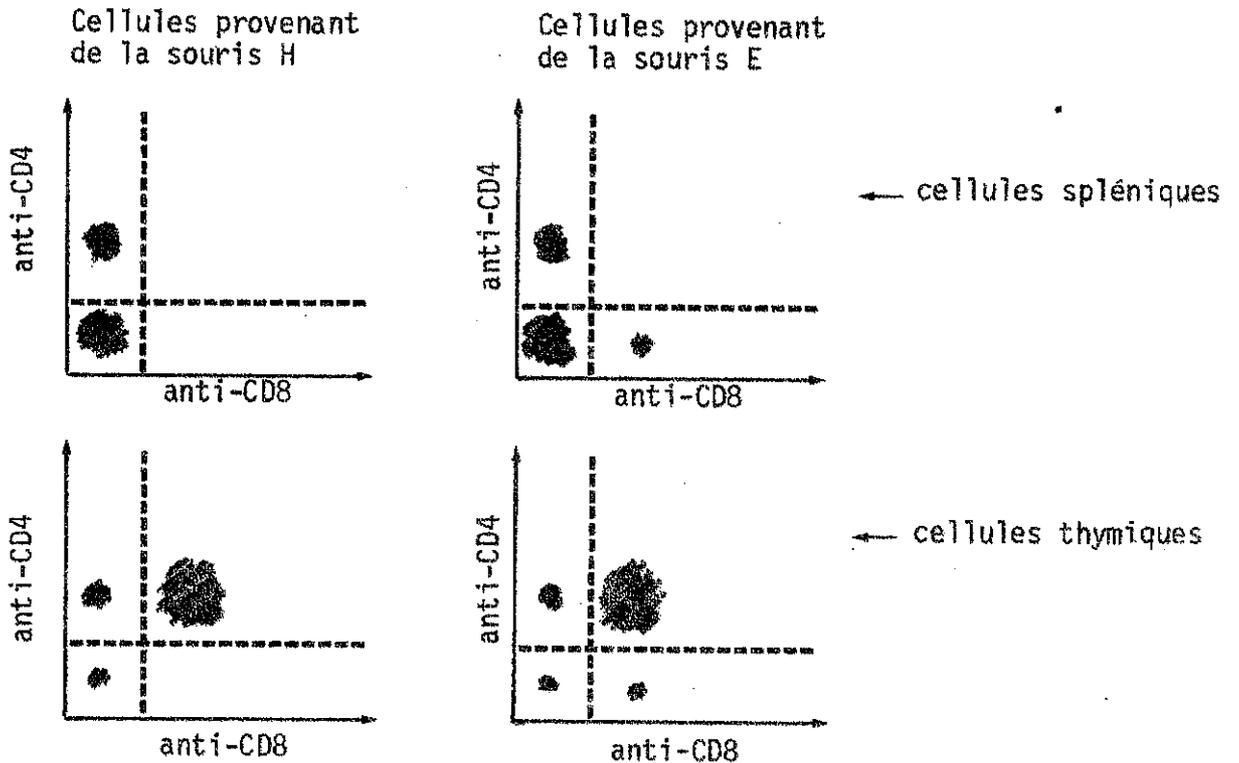


Dans une seconde série d'expériences, les cellules de ganglions lymphatiques sont marquées à l'aide d'anticorps anti-H-2K couplés à la fluoresceine. Les résultats obtenus grâce à l'analyseur de cellules (FACS) sont présentés sur la figure suivante:



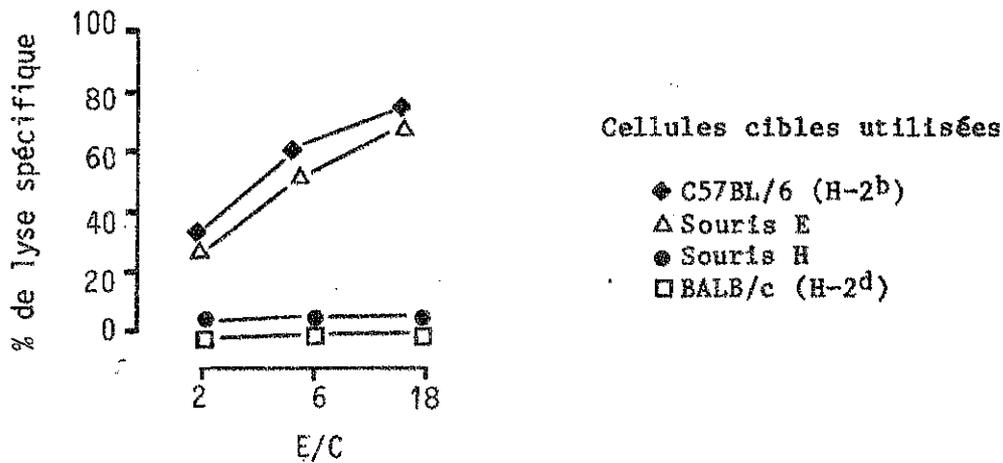
1) Sachant que les résultats obtenus avec les souris A,B,C,D,F,G sont comparables à ceux de la souris E, proposer une hypothèse sur la nature de la mutation introduite chez la souris A.

Le phénotype CD4⁺/CD8⁺ des cellules T issues du thymus ou de la rate est analysé par double fluorescence au FACS.

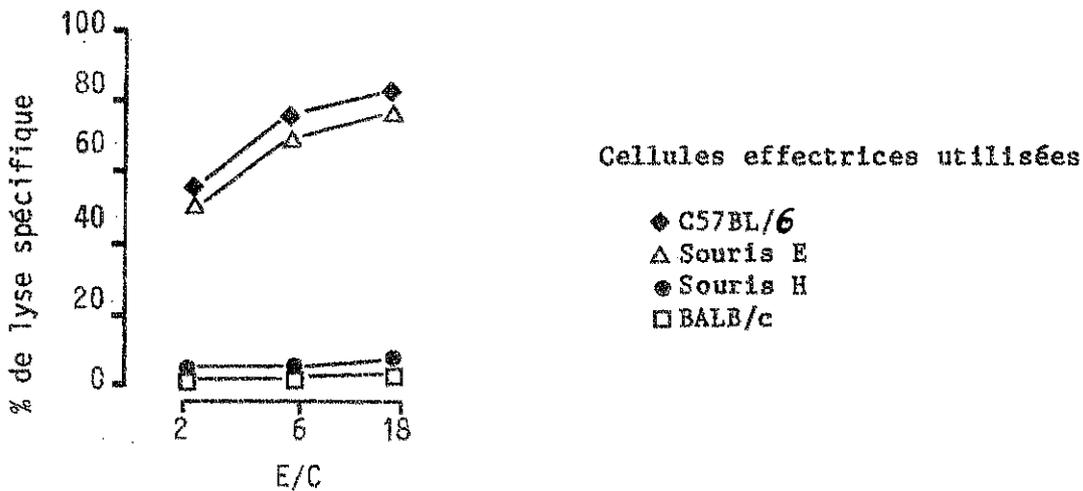


2) Commentez.

Deux expériences de cytotoxicité sont réalisées afin d'utiliser les cellules spléniques des souris H et E, soit comme cellules cibles, soit comme cellules effectrices. Dans la première expérience, des cellules T cytotoxiques de BALB/c (H-2^d) anti-H-2^b sont testées vis à vis de cellules cibles radiomarquées au ⁵¹Cr et la lyse spécifique des cibles est calculée en fonction du rapport cellules effectrices/cellules cibles (E/C).



Dans la seconde expérience, après une incubation préalable avec des cellules BALB/c irradiées, les cellules spléniques de différentes souris sont testées pour leur capacité cytotoxique vis à vis de cellules BALB/c marquées au ⁵¹Cr:



Enfin, une réaction lymphocytaire mixte est réalisée de la manière suivante. Des cellules de ganglions lymphatiques provenant des souris H ou E sont incubées en présence de cellules spléniques irradiées de BALB/c ou C57BL/6. Cinq jours après l'incorporation de thymidine tritiée (^3H) est déterminée.

Cellules ganglionnaires	Cellules irradiées	Incorporation de ^3H -thymidine en cpm/culture
H	BALB/c	18.000
H	C57BL/6	600
E	BALB/c	20.000
E	C57BL/6	400

3) Commenter ces résultats. Interprétez-les en vous aidant de l'analyse faite à la question 2.

4) Discuter l'influence de la mutation du gène de la $\beta 2\text{m}$ sur l'établissement du répertoire T.

Question n°2:

Le p-azophenyl-arsonate (Ars) et le p-azophenyl-sulfonate (Sulf) sont deux haptènes ayant des analogies structurales. Des anticorps reconnaissant Ars peuvent être obtenus par immunisation de souris consanguines A/J contre l'un ou l'autre haptène couplés à l'hémocyanine (KLH). D'autre part, un immunosérum anti-idiotypique est obtenu contre un anticorps monoclonal anti-Ars issu de A/J. L'expression du marqueur idiotypique Id CRI ainsi défini est recherchée lors d'une réponse primaire ou secondaire comme présenté sur le tableau.

Antigène injecté		Nombre de plages de lyse vis à vis de Ars/10 ⁷ cellules spléniques en absence (-) ou en présence (+) de sérum anti-Id CRI	
Première immunisation	Deuxième immunisation	(-)	(+)
-	-	100	100
Ars-KLH	-	3.000	2.000
Ars-KLH	Ars-KLH	2.800	1.500
Sulf-KLH	-	3.000	3.000
Sulf-KLH	Sulf-KLH	3.100	3.000
Ars-KLH	Sulf-KLH	3.200	1.500

Les plages de lyse sont obtenues après incubation des cellules spléniques A/J avec des globules rouges de mouton couplés à l'arsonate (Ars-GRM) en présence de sérum anti-Ig souris plus complément.

Interpréter ces résultats en précisant comment un répertoire idiotypique utilisable peut être modifié chez des individus ayant un même patrimoine génétique.