

Académie de Paris

UNIVERSITE

PIERRE & MARIE CURIE

UFR 927 Sciences de la Vie

4 Place Jussieu

75252 PARIS CEDEX 05

☎ (1) 44.27.47.46

Pierre-André Cazenave
Professeur

847

MODULE D'IMMUNOGENETIQUE

SESSION DE JUIN 1991 - Durée 2 heures

Question n°1:

Un typage par cytofluorométrie est réalisé à l'aide d'anticorps monoclonaux au sein de différentes lignées de souris. Pour ce faire, les cellules spléniques sont marquées avec un anticorps monoclonal couplé à un fluorochrome et comptées grâce à un analyseur de cellules (FACS). Les résultats ainsi que l'haplotype CMH et Igh des souris sont présentés sur le Tableau 1.

Commenter la répartition des marqueurs cellulaires définis par immunofluorescence.

Question n° 2:

Un hybridome T (T421) issu d'une souris C57BL/6 est capable de reconnaître des cellules cibles issues de la souris BALB/c. Un test de stimulation est réalisé afin de préciser sa spécificité. Des cellules T421 mélangées à différentes cellules cibles irradiées sont incubées *in vitro* en présence ou non d'anticorps. Après incubation, le surnageant de culture est

ajouté à des cellules d'une lignée T dont la croissance est IL-2 dépendante. En mesurant l'incorporation de thymidine tritiée, le taux d'IL-2 contenu dans le surnageant sera déterminé comparativement à une gamme étalon.

Commenter les résultats présentés sur le Tableau 2, sachant que l'anticorps anti-V β 5 reconnaît le produit du segment de gène V β 5 de la chaîne β du récepteur T. Donner la spécificité de l'hybridome T421.

Question n°3:

L'expression du segment de gène V β 5 ainsi que d'autres marqueurs T est recherchée par cytofluorométrie, comme précédemment, au niveau du thymus ou des ganglions lymphatiques.

Commenter les résultats présentés sur le Tableau 3. Proposer un mécanisme expliquant les faibles pourcentages de cellules T V β 5 chez les souris BALB/c, DBA/2 et B10.D2.

Question n°4:

Les croisements entre les souris DBA/2 et B10.D2 sont réalisés afin de tester si la différence d'expression de V β 5 entre ces lignées est déterminée génétiquement. Le pourcentage de cellules V β 5 positives est recherché parmi les cellules des ganglions lymphatiques. D'autre part, le clone T421 présente la particularité de ne pas reconnaître des cellules cibles DBA/2. La production de l'IL-2 produit par T421 est donc évaluée après stimulation par des cellules cibles provenant des différentes souris obtenues après croisement.

Sachant que le taux d'expression de la molécule I-E ne varie pas en fonction des souris analysées, proposer une hypothèse permettant d'expliquer le faible taux d'expression de V β 5 chez la souris B10.D2.

A la lumière de ces nouvelles données, discuter le fait que le pourcentage de cellules de ganglions lymphatiques exprimant V β 5 soit plus faible pour la souris DBA/2 que pour la souris C57BL/6 (Tableau 3).

Tableau I: Pourcentage de cellules marquées parmi les cellules spléniques.

<u>Lignées de souris</u>	<u>Haplotype CMH</u>				<u>Haplotypes Igh</u>		<u>Anticorps monoclonaux</u>				
	<u>K</u>	<u>Aβ</u>	<u>Aα</u>	<u>Eβ</u>	<u>Eα</u>	<u>D</u>	<u>anti-H2 K^d</u>	<u>anti-H2 K^b</u>	<u>anti-I-E^d</u>	<u>anti-IgM^a</u>	<u>anti-IgM^b</u>
BALB/c	d	d	d	d	d	d	100	0	60	50	0
C57BL/6	b	b	b	b	-	b	0	100	0	0	50
DBA/2	d	d	d	d	d	d	100	0	60	50	0
B10.D2	d	d	d	d	d	d	100	0	60	0	50
(BALB/c x C57BL/6)F1	d/b	d/b	d/b	d/b	d/-	d/b	100	100	60	25	25

Tableau 2: Production d'IL-2 par l'hybridome T421

<u>Cellules cibles irradiées</u>	<u>Anticorps ajouté</u>	<u>Unités d'IL-2</u>
-	-	10
C57BL/6	-	20
BALB/c	-	230
B10.D2	-	220
B10.D2	anti-I-E ^d	20
B10.D2	anti-V β 5	15
B10.D2	anti-CD4	16
B10.D2	anti-CD8	220

Tableau 3: Pourcentage de cellules marquées dans différentes lignées de souris

<u>Anticorps fluorescents</u>	<u>Thymus</u>				<u>Ganglions lymphatiques</u>			
	<u>BALB/c</u>	<u>C57BL/6</u>	<u>DBA/2</u>	<u>B10.D2</u>	<u>BALB/c</u>	<u>C57BL/6</u>	<u>DBA/2</u>	<u>B10.D2</u>
Anti-V β 5	7.2	7.5	7.3	7.0	0.2	7.1	2.0	0.2
Anti-CD4	85	85	85	85	50	50	50	50
Anti-CD8	85	85	85	85	30	30	30	30
Anti-CD3	90	90	90	90	80	80	80	80

Tableau 4: Correlation entre le pourcentage d'expression de Vβ5 et la capacité de cellules cibles à stimuler l'hybridome T421

Lignées de souris	Nombre de souris testées	Pourcentage de cellules Vβ5 parmi les cellules de ganglions lymphatiques (mini/maxi)	Production d'IL-2 par hybridome T421 (unités par ml, mini/maxi)
DBA/2	20	1.5 - 2.1	10 - 15
B10.D2	18	0.1 - 0.2	90 - 150
(B10 x DBA/2)F1	20	0.1 - 0.2	90 - 150
(B10.D2 x DBA/2)F1 x DBA/2	Σ⇒ 26	0.1 - 0.2	90 - 150
	Σ⇒ 22	1.5 - 2.1	10 - 15