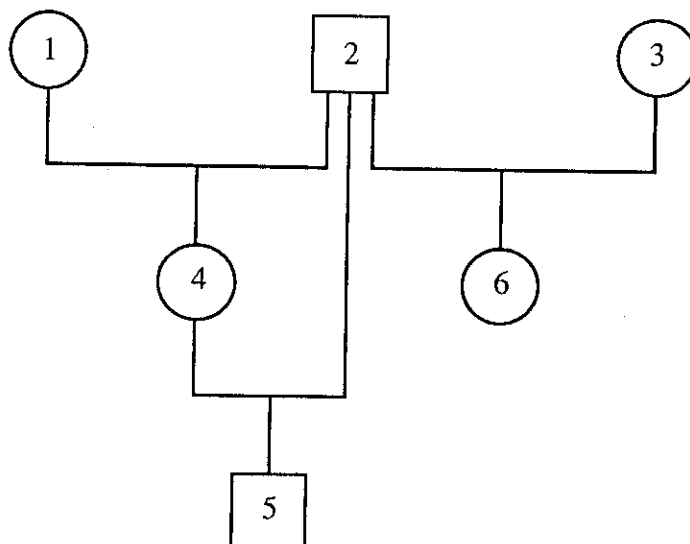


MODULE D'IMMUNOGENETIQUE
SESSION DE JUIN 1992 - Durée 3 heures

Chez le lapin, contrairement à d'autres espèces de mammifères, il est relativement facile de définir des motifs allotypiques sur les parties variables (VH) des chaînes lourdes des immunoglobulines (Igs). La majorité des immunoglobulines d'un individu (env. 90% des Igs sériques) exprime les déterminants allotypiques de la série a. L'étude présentée ici permet d'élaborer un modèle rendant compte de la surexpression de ces marqueurs allotypiques.

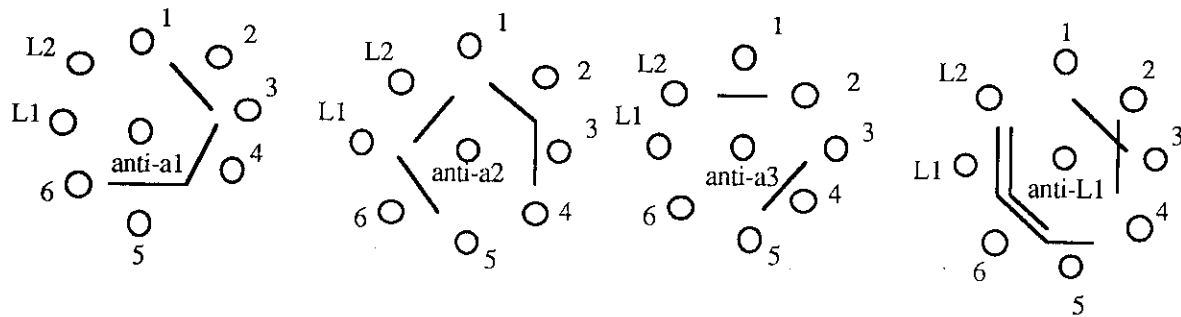
Les immunoglobulines d'un lapin L1 (génotype a1/a1) soumis à une suppression allotypique pour a1 ont été isolées afin d'immuniser un lapin L2 (génotype a2/a2). L'immunsérum obtenu (anti-L1) permet de décrire deux nouveaux allotypes x^{32} et y^{33} localisés sur la partie variable des chaînes lourdes. Notez bien que les lapins L1 et L2 présentent les mêmes caractéristiques allotypiques pour les chaînes légères et pour les parties constantes des chaînes lourdes des immunoglobulines.

L'expression des allotypes de la série a ainsi que des allotypes x^{32} et y^{33} est analysée dans la famille suivante.



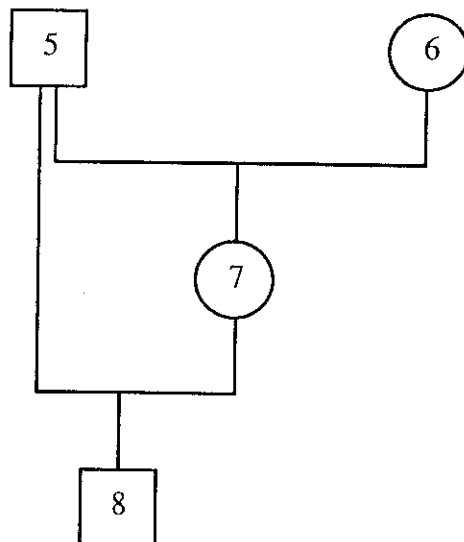
Les résultats obtenus grâce à des tests d'immunoprécipitation (technique d'Ouchterlony), sont présentés sur la Figure 1. Dans le puits central est déposé un immunsérum anti-allotypique. Le sérum des lapins constituant la famille ainsi que les sérums des lapins L1 et L2 avant immunisation sont déposés dans les autres puits.

Figure 1 :



1) Etablissez le génotype des différents lapins en précisant l'anomalie présentée par le lapin n°5. On notera par x^- et y^- l'absence de réactivité vis-à-vis de l'immunsérum anti-L1.

L'expression des allotypes VH est analysée dans la descendance du lapin n°5 obtenue dans la famille suivante :



Les résultats présentés sur le Tableau 1 sont exprimés en pourcentage d'immunoglobulines (marquées à l'iode 125) fixées sur les différents immunsérums anti-allotypiques insolubilisés.

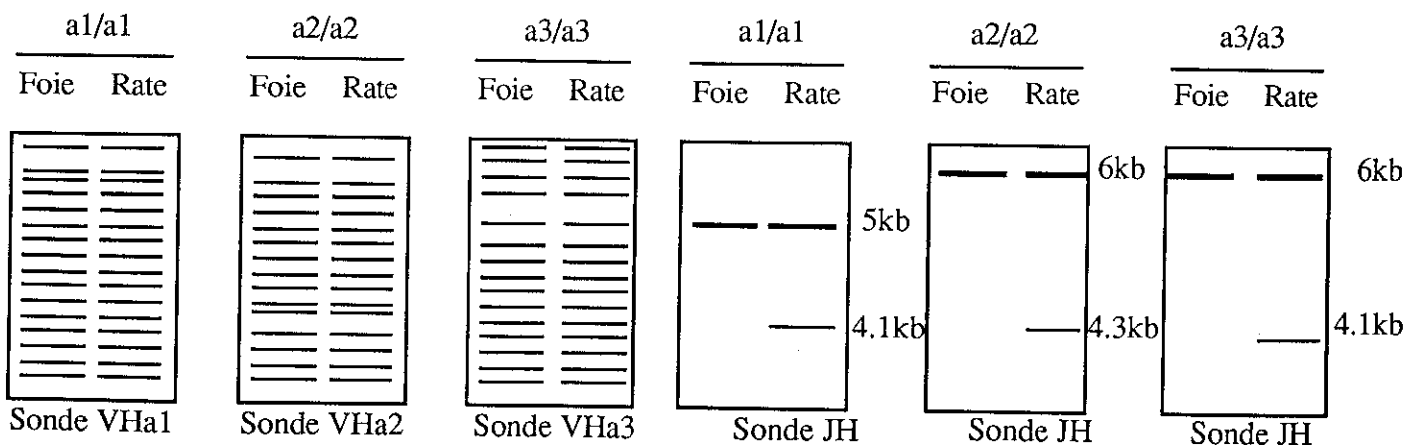
Tableau 1

Sérums insolubilisés	% Igs fixées isolées à partir des lapins					
	n°5	n°6	n°7	n°8	L1	L2
Anti-a1	80	0	0	0	0	0
Anti-a2	0	90	80	0	0	90
Anti-a3	0	0	0	0	0	0
Anti-L1	5	5	10	50	100	0

2) Proposez une formule génotypique pour les lapins n°7 et n°8. Analysez les résultats du Tableau 1. Emettre une (des) hypothèse(s) sur la nature de l'anomalie du lapin n°5.

En utilisant la technique de transfert de Southern, les configurations génomiques de lapins homozygotes a1/a1, a2/a2 et a3/a3 sont comparées entre elles à l'aide de sondes VH et JH. Les sondes VH sont issues d'ADN complémentaires obtenues à partir de rates de lapins a1/a1, a2/a2 ou a3/a3. La sonde JH couvre les cinq segments JH décrits chez le lapin. Les autoradiographies sont présentées sur la Figure 2.

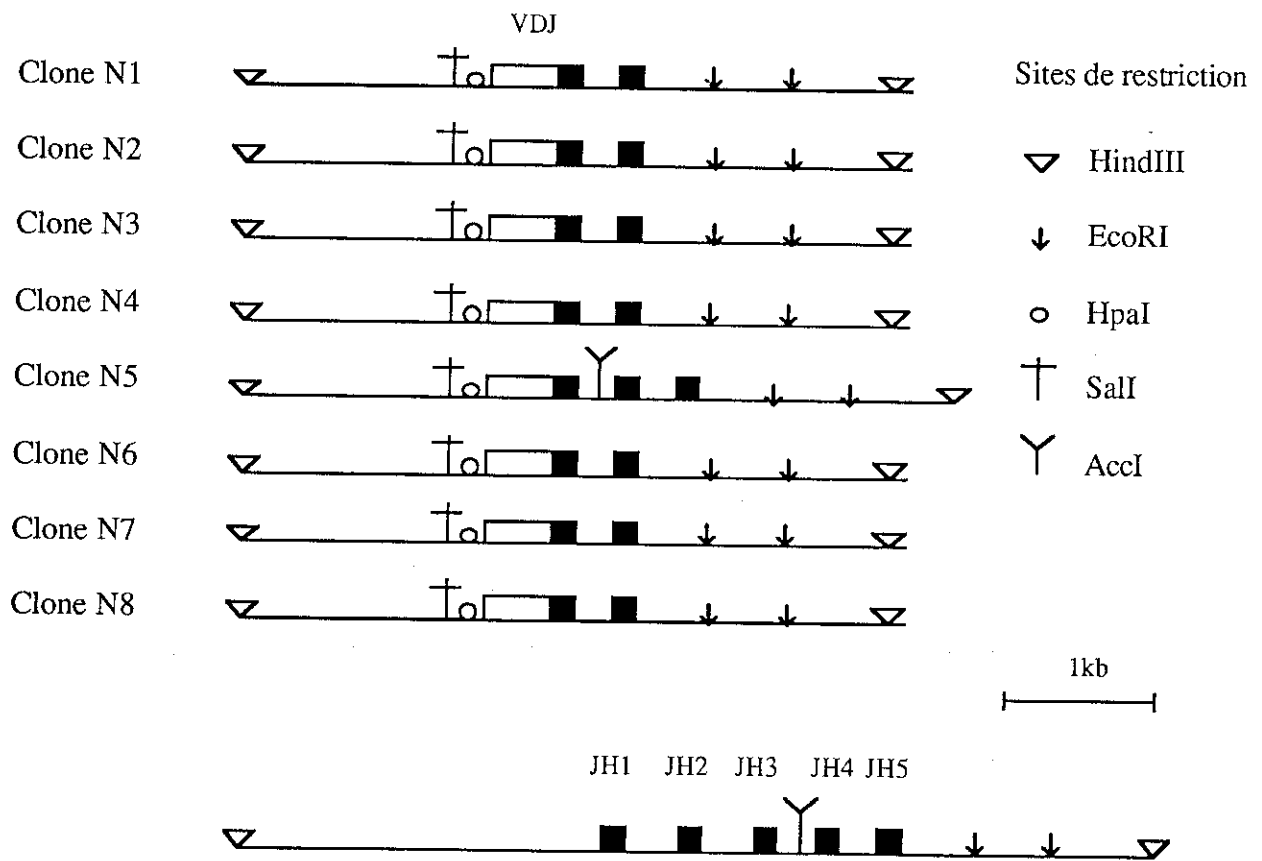
Figure 2 : Digestion de l'ADN par l'enzyme de restriction HindIII.



3) Expliquez la multiplicité des bandes révélées par les sondes VH. Interprétez l'apparition d'une bande supplémentaire avec la sonde JH au niveau de l'ADN de rate.

Huit lymphomes B ont été obtenus artificiellement chez différents individus a2/a2. Les clones génomiques contenant les gènes codant pour la chaîne lourde ont été isolés et leurs cartes de restriction comparées à celle du locus JH (Figure 3).

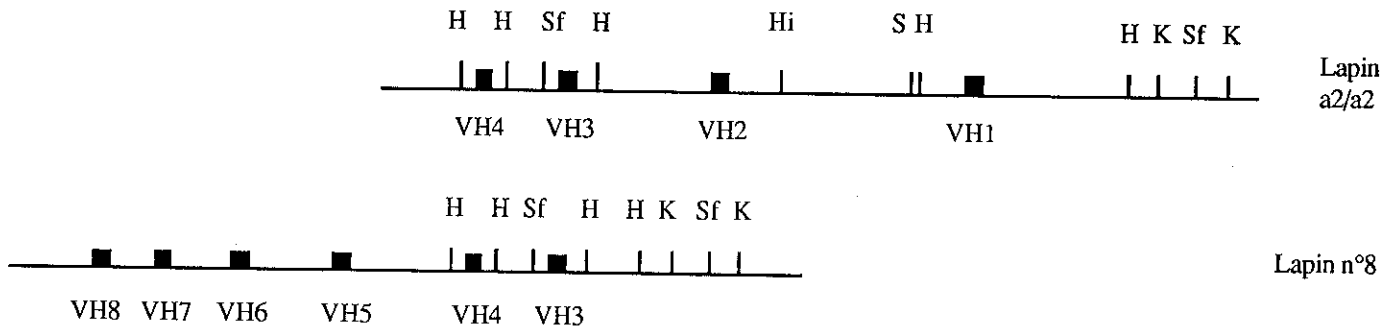
Figure 3 :



4) Analysez ces résultats en précisant pourquoi, d'après vous, les cartes de restriction sont relativement homogènes.

A partir de banques cosmidiques, les positions des segments VH les plus proches des segments D ont été déterminées pour un lapin a2/a2 et le lapin n°8. Les cartes de restriction sont présentées sur la Figure 4.

Figure 4 :



Sites de restriction: Hi = HindIII; S = Sall; H = HpaI; Sf = SfiI; K = KpnI

Les carrés noirs correspondent aux segments VH indiqués

5) Pouvez-vous établir une corrélation entre ces cartes et l'anomalie présentée par le lapin n°8.

Une partie de la séquence du clone N1 (Voir question 4) est comparée aux séquences correspondantes des segments VH1 et VH3 (Figure 5).

Figure 5 :

VH1	TTC	ACC	ATC	TCC	AAA	ACC	TCG	TCG	ACC	ACG	GTG	ACT
Clone N1	---	---	---	A--	-G-	---	AGC	CT-	-A-	---	---	---
VH3	---	TGT	---	A--	-G-	---	AGC	CT-	-A-	---	A-C	---

(Un tiret indique une identité de nucléotides avec VH1)

6) Imaginez un mécanisme permettant d'obtenir le clone N1 à partir des segments de gène VH1 et VH3.

7) A l'aide de l'ensemble de ces résultats, Proposez un schéma général qui décrit les processus de réarrangements aboutissant à l'expression des chaînes lourdes des immunoglobulines chez le lapin.