



Académie de Paris
UFR 927 Sciences de la Vie
4 Place Jussieu , 75252 Paris Cedex 05

MODULE d'IMMUNOGENETIQUE

SESSION DE JUIN 1995

Durée : 2 Heures

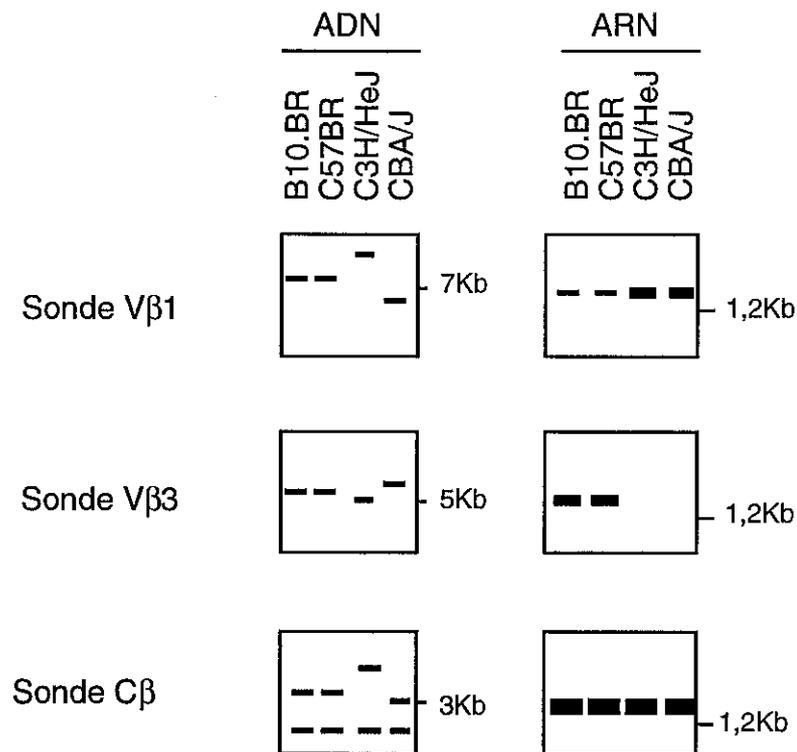
Les données présentées vous permettent d'analyser une réponse immune contre un antigène soluble, le cytochrome c de pigeon chez la souris.

Des souris appartenant à différentes lignées consanguines reçoivent une injection de cytochrome c. Sept jours plus tard, les cellules des ganglions lymphatiques sont prélevées puis cultivées avec des cellules spléniques syngéniques irradiées en présence ou en absence de l'antigène et de 100 U/ml d'interleukine 2 (IL-2). Après l'ajout de thymidine tritiée, un test de prolifération est réalisé. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant dans lequel les caractéristiques allotypiques du complexe H-2 sont indiquées.

Lignées de souris	Haplotype H-2						Présence du cytochrome c pendant le test	Incorporation de thymidine ^3H en cpm
	K	A β	A α	E β	E α	D		
B10.BR	k	k	k	k	k	k	- +	100 150.000
C3H/HeJ	k	k	k	k	k	k	- +	150 150.000
CBA/J	k	k	k	k	k	k	- +	200 170.000
C57BR	k	k	k	k	k	k	- +	100 150.000
C3H.SW	b	b	b	b	-	b	- +	120 150.000
B10.A(5R)	b	b	b	b	k	k	- +	150 150.000
B10.A(4R)	k	k	k	k	-	b	- +	150 170.000

1) Décrivez succinctement le principe de l'expérience (3 points).

L'utilisation des segments de gène V β 1 et V β 3 est recherchée parmi les cellules T stimulées par le cytochrome c. Pour cela des expériences d'hybridation à l'aide de sondes spécifiques sont réalisées soit avec de l'ADN issu du foie et digéré par une enzyme de restriction, soit avec de l'ARNm préparé à partir des cellules T stimulées. Un contrôle est effectué en utilisant une sonde C β . Les résultats sont présentés sur la figure qui suit.



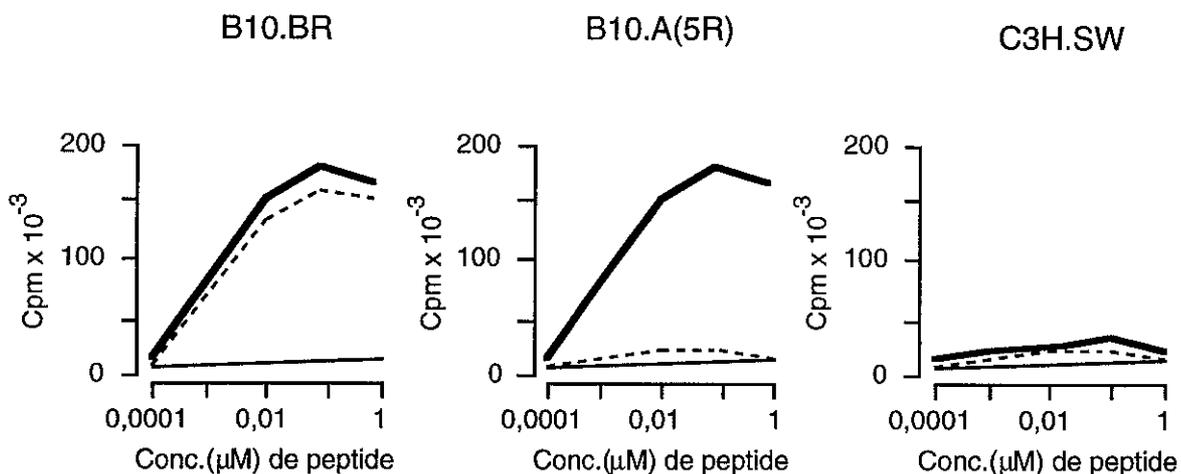
2) Analysez la présence et la taille des bandes révélées. Formulez des hypothèses pour expliquer l'absence de bandes avec la sonde V β 3 pour les souris C3H/HeJ et CBA/J (5 points).

La présentation de trois peptides dérivés du cytochrome c est recherchée à l'aide de cellules présentatrices d'antigène (CPA) provenant de différentes lignées consanguines. La réponse proliférative des cellules T induites contre le cytochrome c est suivie en mesurant l'incorporation de thymidine. Les résultats sont présentés sur la figure suivante. Il est à noter qu'aucune réponse proliférative ne peut être obtenue en présence d'anticorps anti-CD4.

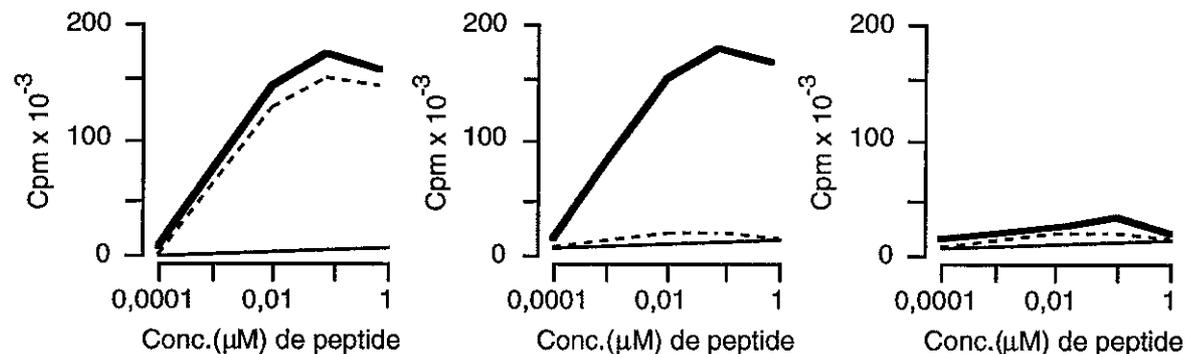
Cellules présentatrices d'antigène

Cellules T induites contre le cytochrome c

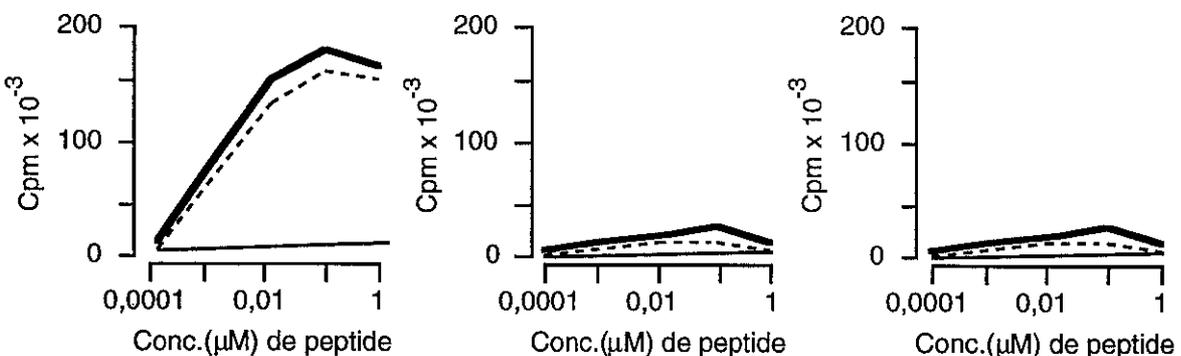
B10.BR



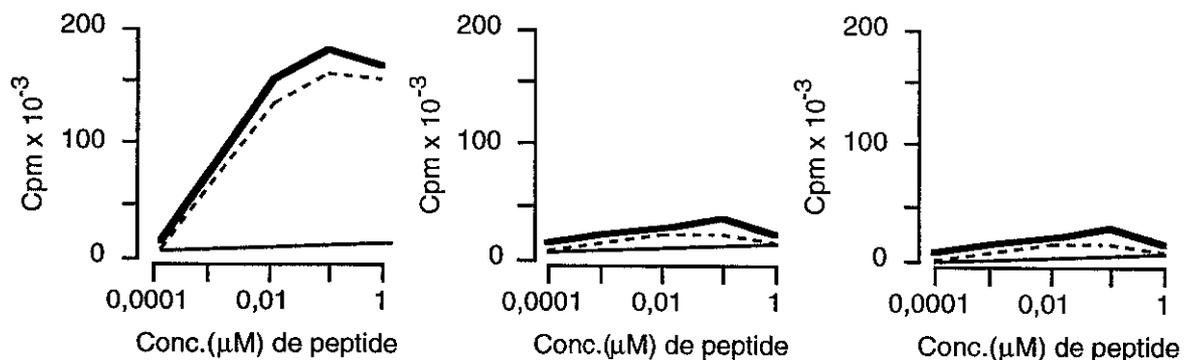
C57BR



C3H/HeJ



CBA/J



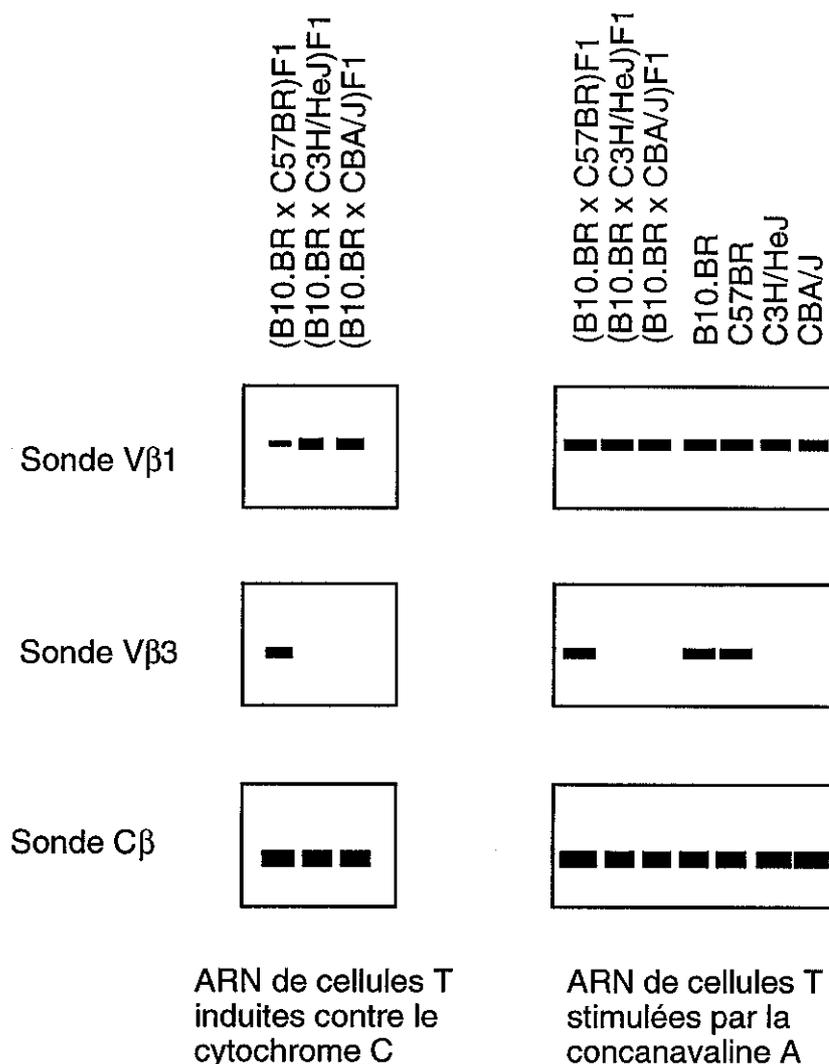
Peptides: — p81-103, - - - p81-104, — p70-94

3) Sachant que l'utilisation de cellules présentatrices d'antigène préparées à partir de la lignée B10.A(4R) donne des résultats similaires à ceux obtenus avec C3H.SW, précisez l'élément de restriction reconnu par les cellules T. Comment interprétez-vous les résultats obtenus avec des CPA de B10.A(5R)? (6 points)

Afin de mieux comprendre l'absence d'expression de V β 3 lors d'une réponse contre le cytochrome c, deux expériences sont réalisées.

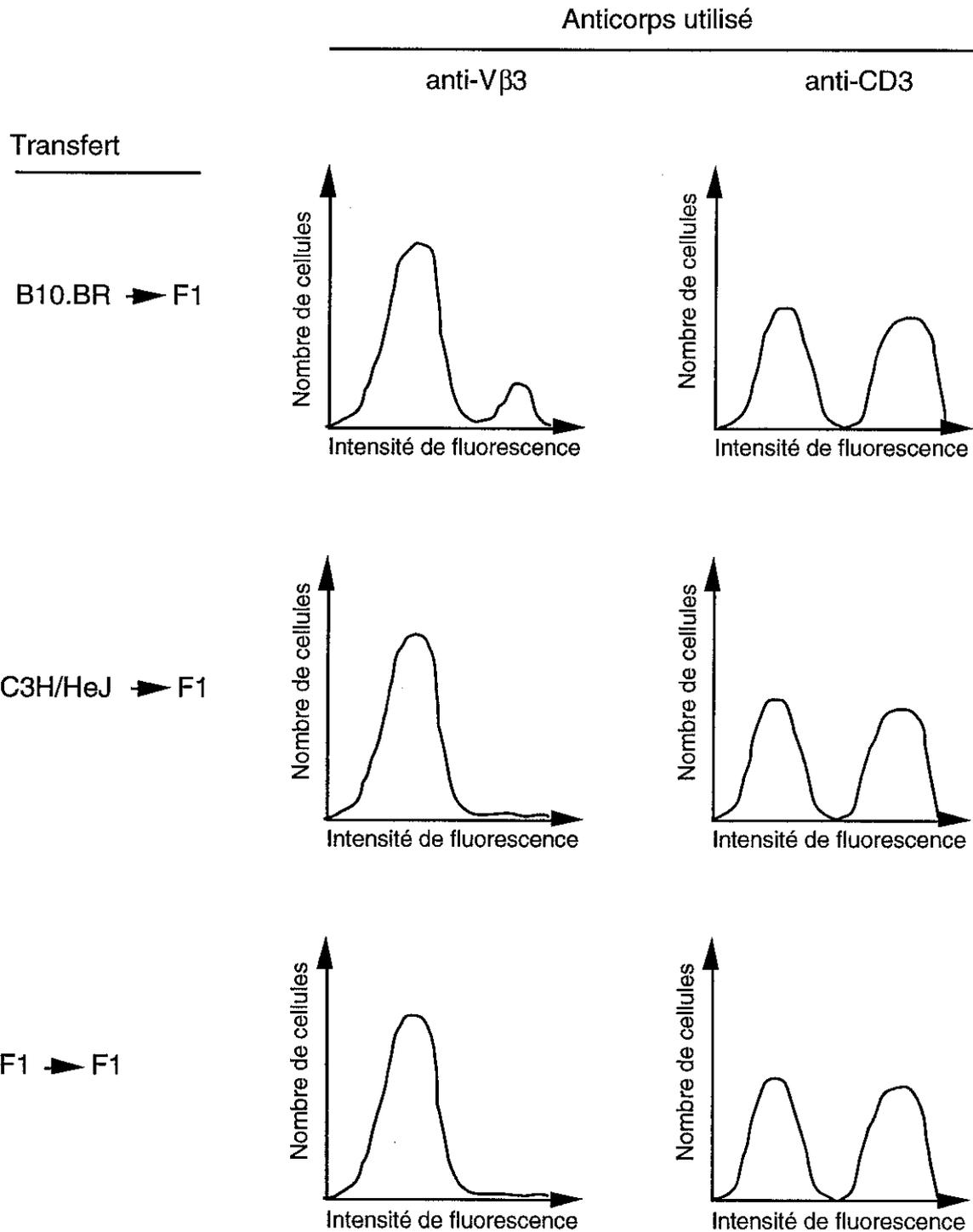
Première expérience :

Différentes souris F1 sont immunisées contre le cytochrome c et l'expression de V β 3 est recherchée par hybridation de l'ARNm isolé à partir des cellules T stimulées. Une comparaison est faite en hybridant de l'ARNm isolé de cellules T de ganglions lymphatiques de souris non immunisées mais stimulées *in vitro* par de la concanavaline A. Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



Deuxième expérience :

Des souris (B10.BR x C3H/HeJ) F1 sont irradiées et reconstituées à l'aide de cellules de moelle osseuse provenant, soit de B10.BR, soit de C3H/HeJ, soit de (B10.BR x C3H/HeJ) F1. Six à huit semaines après reconstitution, les cellules de ganglions lymphatiques sont marquées à l'aide d'un anticorps fluorescent anti-V β 3 ou anti-CD3, puis analysées par cytofluorométrie de flux. Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



4) Commentez les deux expériences. Quelle hypothèse pourrait rendre compte de la non-utilisation des V β 3 chez les souris C3H/HeJ et CBA/J en réponse au cytochrome c (6 points).