

D'après l'article de Sigal et al., Nature 1999, 398:77

- 1° Rappelez brièvement à l'aide d'un schéma le trajet intracellulaire d'une protéine virale néo-synthétisée dont des fragments peptidiques sont présentés par les molécules du CMH classe I.
- 2° On dispose de souris appelées TAP⁰, déficientes pour le transporteur TAP. Quels sont les effets prévisibles de cette déficience sur les lymphocytes T périphériques CD4⁺ et CD8⁺ de telles souris ?

On irradie des souris sauvages B6 (de CMH classe I H-2^b) dans des conditions qui détruisent la totalité des cellules de la moelle osseuse (MO). On reconstitue ensuite ces souris avec des cellules de MO de souris TAP⁰ (également de CMH classe I H-2^b) : on appelle les souris-chimères ainsi reconstituées TAP⁰→B6. Des chimères-contrôle sont par ailleurs générées par reconstitution des souris B6 irradiées avec des cellules de la MO de souris B6 (on les appelle B6→B6).

- 3° Que peut-on attendre d'une telle reconstitution en ce qui concerne les lymphocytes T périphériques CD4⁺ et CD8⁺ des chimères TAP⁰→B6 ?

Après reconstitution, on infecte les chimères TAP⁰→B6 et B6→B6 avec un virus recombinant de la vaccine exprimant l'ovalbumine de poule (vaccine-OVA). On vérifie que ce virus infecte bien la plupart des tissus de l'organisme. On récupère ensuite les cellules de la rate (cellules spléniques) des chimères infectées par la vaccine-OVA, et on les cultive en présence de fibroblastes de souris B6. Ces fibroblastes sont normaux (exp. A), ou transfectés par le gène de l'ovalbumine (exp. B).

On mesure ensuite la lyse de ces fibroblastes : les résultats des expériences A et B sont présentés dans la **Figure 1**.

- 4° En vous basant sur vos connaissances, le comportement des chimères TAP⁰→B6 vous semble-il "normal" et pourquoi ? toutes les interprétations seront acceptées pourvu qu'elles soient raisonnables et argumentées.

On remplace le virus recombinant précédent par un autre virus recombinant de la vaccine qui exprime un octapeptide antigénique de l'OVA (vaccine-OVAg), et on répète les mêmes expériences que précédemment. Les résultats des expériences A et B sont présentés dans la **Figure 2**.

- 5° Sachant que la construction du virus recombinant vaccine-OVAg est réalisée de telle sorte que OVAg est précédé d'une séquence-signal qui délivre l'octapeptide directement dans le réticulum endoplasmique, interprétez ces résultats. Que pensez-vous de votre réponse à la question 4° ?

On immunise les chimères à l'aide de l'OVA, puis on récupère les cellules issues de leurs ganglions lymphatiques. On cultive ces cellules pendant 48h en présence d'OVA, en absence ou en présence d'anticorps anti CMH-classe II, puis on mesure la production d'IL-2. Les contrôles sont réalisés sur les chimères non-immunisées par l'OVA. Les résultats de ces expériences sont présentés dans la **Figure 3**.

- 6° Interprétez ces résultats. Etaient-ils attendus et pourquoi ?

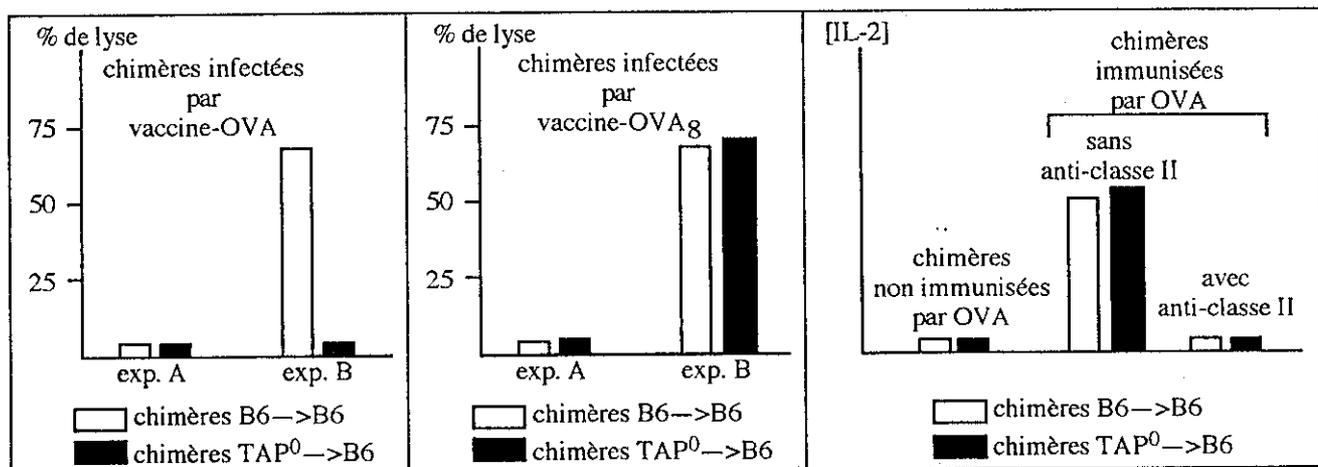


Figure 1

Figure 2

Figure 3

•7° Résumez à ce stade vos remarques sur le comportement des chimères TAP⁰→B6 face à une infection virale, en insistant sur les questions que suscitent selon vous ces observations.

Afin de disposer de plus d'éléments d'information, on entreprend les expériences suivantes :

Le poliovirus humain (PVh) n'infecte pas les souris car elles ne disposent pas du récepteur de surface (RPV) approprié. A partir de souris B6, on construit des souris transgéniques exprimant le RPV humain sous le contrôle d'un promoteur qui permet son expression dans toutes les cellules de l'animal. Après avoir vérifié que ces souris transgéniques (appelées rpv) sont devenues sensibles à l'infection par le PVh, on les irradie et on les reconstitue avec des cellules de MO de donneurs rpv, ou B6 ou TAP⁰ : on obtient ainsi des chimères rpv→rpv, B6→rpv et TAP⁰→rpv.

Après reconstitution, on infecte ces trois chimères (ainsi que la chimère B6→B6) avec un poliovirus recombinant exprimant l'ovalbumine de poule (polio-OVA). On vérifie que ce virus recombinant infecte bien toutes les cellules exprimant le récepteur approprié. On récupère ensuite les cellules spléniques des chimères infectées par le polio-OVA, et on les cultive en présence de fibroblastes de souris B6. Ces fibroblastes sont normaux, ou transfectés par le gène de l'ovalbumine.

On mesure ensuite la lyse de ces fibroblastes : les résultats de ces expériences sont présentés dans la **Figure 4**.

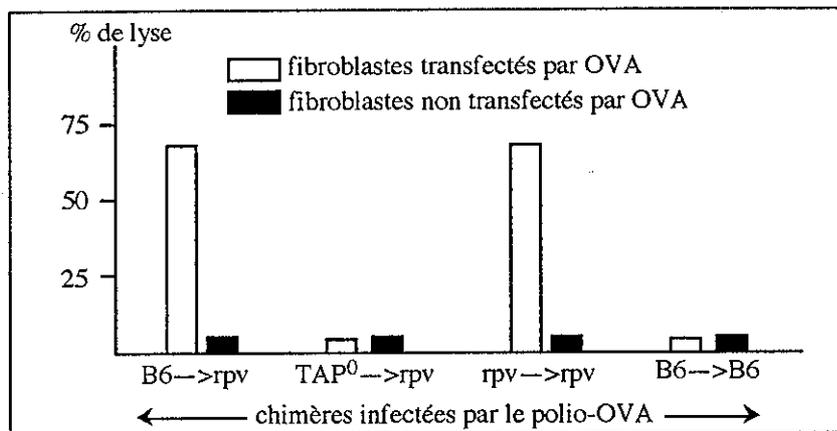


Figure 4

8° Quels sont, pour chacune de ces chimères, les tissus non infectés par le polio-OVA.

9° Que vous montent ces expériences ? Remettent-elles en cause vos connaissances sur les voies de présentation de l'antigène par les molécules du CMH classe I ?

oo