

MODULE "IMMUNOGENETIQUE" - SEPTEMBRE 1999
Durée 1h 30

PROBLEME

La molécule CD8 est composée de 2 chaînes α et β ($CD8\alpha/\beta$). Il existe deux formes alléliques de la chaîne α du CD8 appelées $CD8\alpha1$ et $CD8\alpha2$. Les dimères CD8 ($\alpha1/\beta$ et $\alpha2/\beta$) interagissent avec les mêmes molécules de classe I et sont également fonctionnels.

On dispose de souris qui n'expriment qu'un type de CD8, le $CD8\alpha2/\beta$. A partir de ces souris "normales" (non-transgéniques), on obtient des souris transgéniques pour la chaîne $CD8\alpha1$ (on les appelle $\alpha1$ -tg). La construction utilisée permet l'expression spécifique du transgène et son association à la chaîne $CD8\beta$ chez les thymocytes et les lymphocytes T périphériques. Dans ce qui suit, on considérera que seuls les dimères de CD8 ($\alpha1/\beta$ ou $\alpha2/\beta$) s'expriment de façon stable (et détectable) à la membrane, que la souris soit normale ou transgénique pour $\alpha1$.

On se propose de comparer les densités de surface des molécules CD4 et CD8 chez les souris normales et chez les souris $\alpha1$ -tg. Pour ce faire, on dispose de trois anticorps fluorescents :

- un anticorps anti-CD4 spécifique de la molécule CD4,
- un anticorps anti- $CD8\alpha2$ spécifique de la chaîne $\alpha2$ du dimère $CD8\alpha2/\beta$,
- un anticorps anti- $CD8\beta$ spécifique de la chaîne β des dimères CD8.

Les lymphocytes T cytotoxiques (LTc) ou helpers (LTh) de ces souris sont incubés avec ces anticorps, et les intensités de fluorescence de surface sont mesurées. Les résultats sont présentés dans le *Tableau I*.

Q1°. Que pouvez-vous dire du phénotype CD4 et CD8 des lymphocytes T périphériques des souris transgéniques pour $\alpha1$?

• On incube les thymocytes des souris normales et $\alpha1$ -tg avec les anticorps anti-CD4 et anti- $CD8\beta$, et on détermine les pourcentages de cellules marquées en surface par ces anticorps. Les résultats sont présentés dans le *Tableau II*.

Les 84% de thymocytes transgéniques $4^+ \beta^+$ se répartissent en 80% de cellules à faible expression du récepteur T (TCR^{lo}) et 4% de cellules à forte expression (TCR^{hi}).

Les 16% de thymocytes transgéniques $4^- \beta^+$ se répartissent en 13% de cellules à forte expression du TCR (TCR^{hi}) et 3% de cellules n'exprimant pas le TCR (TCR^-).

Q2°. Caractérisez et comparez les différentes populations de thymocytes mises en évidence chez les souris normales et chez les souris $\alpha1$ -tg.

Les thymocytes $4^- \beta^+$ des souris normales sont tous à forte expression du TCR (TCR^{hi}).

Q3°. Pourquoi obtient-on plus de thymocytes $4^- \beta^+ TCR^{hi}$ chez les souris transgéniques pour $\alpha1$ que chez les souris normales?

• A partir des souris normales (d'haplotype CMH H-2^b), on obtient de nouvelles souris transgéniques pour un récepteur T spécifique d'une molécule de classe I L^k. On peut montrer que les lymphocytes T transgéniques de ces souris TCR-tg (de CMH H-2^b) ont été sélectionnés positivement face à des molécules de classe I D.

Q4°. Sur quelles bases structurales cette sélection a-t-elle pu se dérouler?

• Si on croise ces souris TCR-tg avec les souris $\alpha 1$ -tg, on obtient des souris double-transgéniques ayant perdu 95% de leurs thymocytes par rapport aux souris normales ou TCR-tg. Les (rares) lymphocytes T cytotoxiques de ces souris expriment moins de TCR et/ou de CD8 que les lymphocytes T cytotoxiques des souris TCR-tg ou $\alpha 1$ -tg.

Q5°. Expliquez ces observations.

TABLEAUX

Tableau I

		Intensité de fluorescence après marquage à l'aide des anticorps anti-		
		CD4	CD8 $\alpha 2$	CD8 β
souris normales	LTc	0	1	1
	LTh	1	0	0
souris $\alpha 1$ -tg	LTc	0	1	2
	LTh	1	0	1

Tableau II

Phénotype	% des thymocytes totaux isolés des souris	
	souris normales	souris $\alpha 1$ -tg
4 ⁻ β ⁻	3	0
4 ⁺ β ⁻	6	0
4 ⁺ β ⁺	84	84
4 ⁻ β ⁺	7	16

Note : les valeurs reportées dans le Tableau I sont directement proportionnelles aux quantités de molécules de surface marquées par les divers anticorps.