

Epreuve d'Immunogénétique

Juin 2000

sujet I. Liberman

D'après D.A. Nemazee et K. Bürki, Nature 337, 562 (1989); D.M. Russell et al., Nature 354, 308 (1991); V. Kouskoff et al., Science 287, 2501 (2000).

Ces premières expériences sont réalisées avec des souris transgéniques pour les chaînes lourde et légère d'une IgM qui reconnaît les molécules de CMH I H-2K^k, H-2D^k et H-2K^b, d'idiotype appelé 3.83. Deux lignées de souris transgéniques sont obtenues, de fonds génétiques respectifs H-2^{d/d} et H-2^{d/k}. La figure 1 vous montre le résultat d'un simple marquage immunofluorescent avec des anticorps anti-IgM et anti-idiotype 3.83 sur les cellules de la rate et de la moelle osseuse de souris non transgénique (Non-Tg), transgénique H-2^d (H-2^d Tg) ou transgénique H-2^{d/k} (H-2^d x H-2^k Tg). Les concentrations sériques en IgM totales et en Ig d'idiotype 3.83 dans ces trois lignées de souris sont présentées dans le tableau 1.

Figure 1

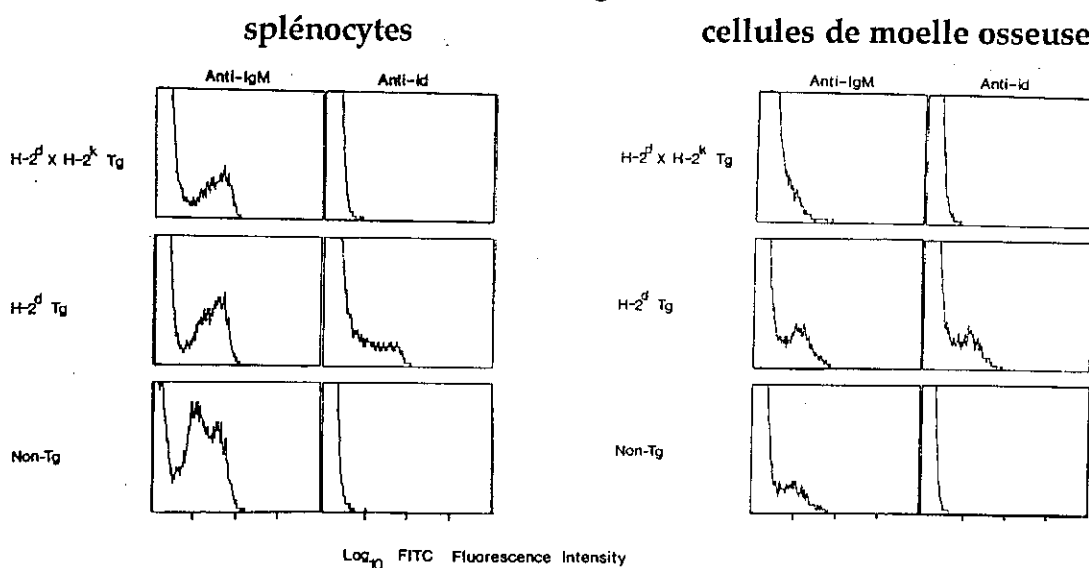


Tableau 1

Concentrations en immunoglobulines sériques dans les différentes souris

	IgM µg/ml	Idiotype 3.83 µg/ml	nombre d'animaux testés
Non-Tg	846 ± 301	<0,3 (<0,035%)	13
H-2 ^d Tg	151 ± 42	93 + 34 (61,6%)	7
H-2 ^d x H-2 ^k Tg	40 ± 21	<0,3 (<0,75%)	6

Q-1) Commentez l'ensemble de ces résultats en comparant le répertoire des lymphocytes B dans les trois lignées de souris.

Des souris double-transgéniques (souris Dbl-Tg) sont obtenues en croisant la souris transgénique pour l'IgM d'idiotype 3.83 d'haplotype CMH H-2^{d/d} (souris Ig-Tg) avec une souris transgénique MT-K^b dans laquelle le transgène K^b est sous le contrôle d'un promoteur qui cible son expression dans les cellules du foie exclusivement. La figure 2 vous montre le résultat d'un double marquage immunofluorescent avec des anticorps anti-IgM et anti-idiotype 3.83 sur les cellules de la moelle osseuse, de la rate et des ganglions de souris Non-Tg, Ig-Tg et Dbl-Tg. Les concentrations sériques en IgM totales et en Ig d'idiotype 3.83 dans ces trois lignées de souris sont présentées dans le tableau 2.

Figure 2

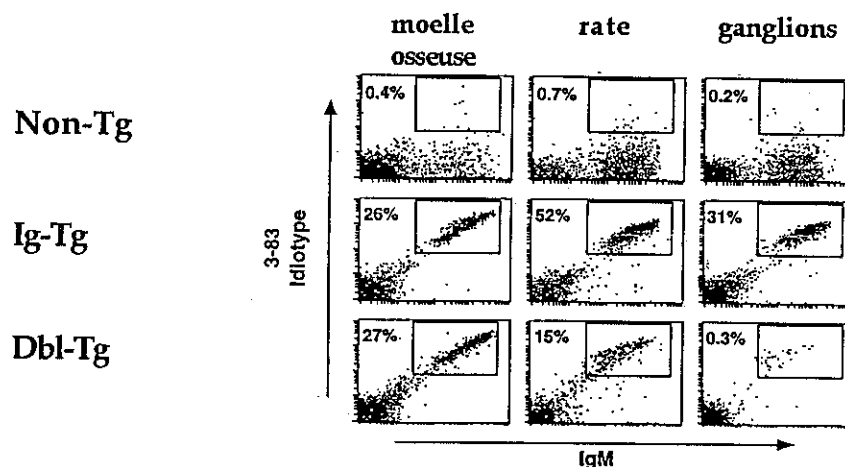


Tableau 2

Concentrations en immunoglobulines sériques dans les différentes souris

	IgM μg/ml	Idiotypic 3.83 μg/ml
Non-Tg	360 ± 90	<0,4
Ig-Tg	98 ± 47	34 ± 16
Dbl-TgTg	103 ± 36	<0,4

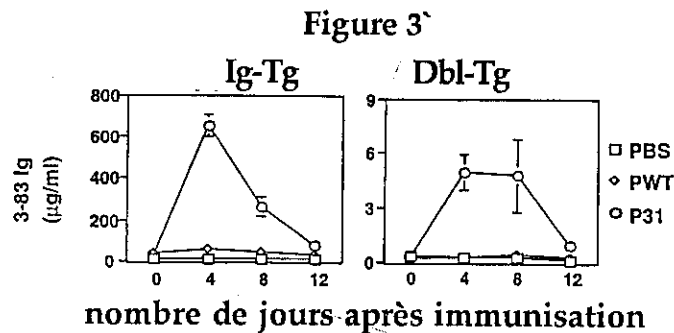
Q-2) Commentez l'ensemble de ces expériences.

Q-3) Comment expliquez-vous les résultats obtenus avec la souris Dbl-Tg?

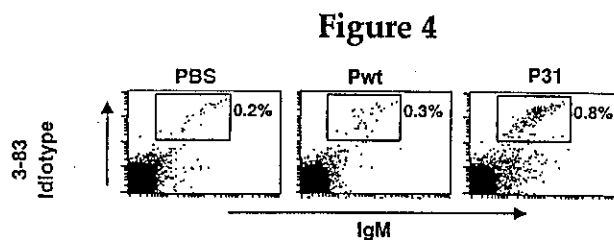
Q-4) Selon vous, à quoi est due la différence entre les résultats obtenus dans les splénocytes et les cellules ganglionnaires de cette souris?

Q-5) Quelle est l'importance physiologique de ces observations expérimentales?

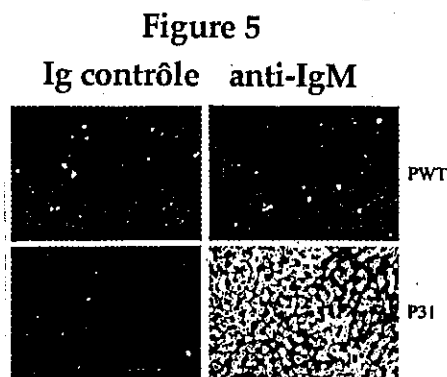
Les souris Ig-Tg et Db1-Tg sont immunisées avec le bactériophage P31 qui exprime un épitope de 15 acides aminés reconnu par l'Ig 3.83, ou par le bactériophage Pwt qui n'exprime pas cet épitope, ou avec une solution saline contrôle (PBS). La concentration en immunoglobulines d'idiotype 3.83 est évaluée dans le sérum de ces souris après immunisation. Le résultat vous est présenté sur la figure 3.

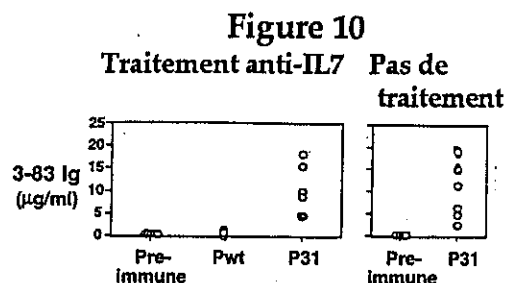
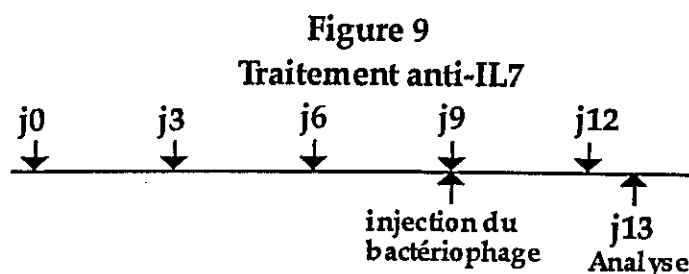


24h après immunisation, une expérience de double marquage en cytométrie de flux est réalisée sur les cellules ganglionnaires des souris Db1-Tg. La figure 4 montre le résultat de cette expérience.



4 jours après immunisation avec Pwt ou P31, des coupes histologiques de foie de souris Db1-Tg sont marquées avec un anticorps anti-IgM couplés au FITC ou avec un anticorps contrôle de même isotype et examinées au microscope. La figure 5 vous montre les photographies de ces coupes.



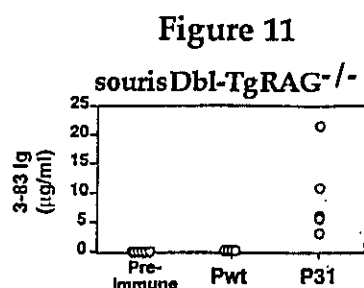


Q-9) Que peut-on en conclure quant aux cellules productrices d'immunoglobulines d'idiotype 3.83 dans les souris immunisées par P31?

Les souris DbI-Tg sont croisées avec des souris RAG^{-/-}. On obtient ainsi des souris DbI-Tg RAG^{-/-}.

Q-10) Selon vous, quelles populations lymphocytaires sont présentes ou absentes dans ces souris?

Ces souris sont immunisées par Pwt ou P31 ou non immunisées. La concentration en Immunoglobuline d'idiotype 3.83 est évaluée dans le sérum de ces souris 4 jours après immunisation. Le résultat de cette expérience vous est montré en figure 11.



Q-11 Quelle information cette expérience apporte-t-elle?

Q-12) Dans quel contexte immunopathologique l'ensemble de ces observations expérimentales est-il important?