

# UE Immunologie Fondamentale

IMF CC2 05-12-2012

Durée 1h - sans documents

N'oubliez pas de mettre votre numéro d'anonymat

Numéro d'anonymat			Ne rien inscrire
Q1	réaction (2 lignes)	Molécules de costimulation. Elles fournissent un second signal indispensable pour l'activation des cellules T naïves.	1
Q2	réaction (2 lignes)	VIP et PACAP activent les cellules dendritiques en terme d'expression de CD86	1
Q3	réaction (2 lignes)	Les PAMPS ou les cytokines pro-inflammatoires, PRR ou récepteurs de cytokines	1
Q4	réaction (3 lignes)	Contrôle négatif : cellules dendritiques non traitées. Contrôle positif : LPS ou cytokine pro-inflammatoire. Les PAMPS et les cytokines pro-inflammatoires transmettent un signal de danger à la DC qui va conduire à l'augmentation d'expression des molécules de costimulation.	2
Q5	Mot ou expression	coup par minute	1
Q6	réaction (4 lignes)	Incorporation de thymidine tritiée (je ne vous explique pas le fonctionnement...)	1,5
Q7	réaction (4 lignes)	On remarque qu'en présence des peptides VIP et PACAP, les CD activent plus efficacement les LT en terme de prolifération cellulaire.	2
Q8	réaction (3 lignes)	le TCR, reconnaissant le CMH de classe II présentant un peptide	0,5

Q9	réduction (3 lignes)	Il manque l'information sur l'antigène. Il doit y avoir une interaction TCR/antigène-CMH, c'est-à-dire le premier signal. Ici soit on a ajouté un antigène dans la culture et on possède des T spécifiques, soit on a utilisé des T allogéniques.	2
Q10	Mot ou expression	Anticorps des même isotype (ou serum normal), non relevant	0,5
Q11	réduction (1 ligne)	Blocage de l'interaction CD86/CD28	0,5
Q12	réduction (2 lignes)	On observe que l'effet de VIP qui favorisait la prolifération des cellules T en présence de CD, est aboli partiellement en présence d'anticorps anti-CD86. On peut donc déduire que l'effet observé du peptide VIP passe par l'augmentation du niveau d'expression de CD86 par les CD.	2
Q13	réduction (1 ligne)	Les Th2 sécrètent l'IL-4 et les Th1 l'IFN-g	1
Q14	réduction (1 ligne)	Balance Th1/Th2	1
Q15	réduction (4 lignes)	On remarque que l'ajout de VIP et PACAP favorise la sécrétion de l'IL-4 alors qu'elle diminue la sécrétion d'IFN-g par rapport au contrôle. On peut donc penser que son effet sur les cellules dendritiques oriente la réponse T plus favorablement vers une réponse Th2	2
Q16	réduction (3 lignes)	Il faut trois signaux : 1) TCR-CMH 2) Costimulation 3) cytokines	1
Q17	réduction (2 lignes)	Le niveau d'expression du CMH de classe II par les DC ou leurs sécrétions cytokiniques,	1
Q18	réduction (4 lignes)	Ces peptides favorisent des réponses Th2 c'est-à-dire à dominante humorale et sont peu favorables aux réponses cellulaires c'est-à-dire cytotoxiques.	1

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.*

*Répondre sur la fiche réponse. Sauf indication contraire, les réponses tiennent en une ligne. N'oubliez pas d'indiquer votre numéro de groupe et votre numéro d'anonymat.*

## L'activation de l'inflammation

Les récepteurs de l'immunité innée impliqués dans la reconnaissance des microbes s'appellent les **Mot1**. Ils reconnaissent des **Mot2** caractéristiques des microbes. S'ils sont activés ils peuvent initier un mécanisme appelé **Mot3** lors duquel les vaisseaux sanguins se dilatent et permettent l'afflux de cellules et de molécules immunitaires sur le site de l'infection. Les premières cellules arrivant sur ce site sont des cellules de l'immunité innée qui sont des **Mot4** permettant l'élimination directe des pathogènes. Parmi ces **Mots4**, on distingue les **Mot5** qui meurent rapidement et peuvent former dans certains cas du pus. Viennent ensuite des **Mot6** pouvant se différencier en **Mot7**. Ces dernières cellules, ainsi que les **Mot8**, peuvent activer le système immunitaire adaptatif. De ce fait, on les qualifie de **Mot9**.

Durant l'**Mot3**, le système du **Mot10**, une cascade biochimique du système immunitaire, peut s'activer. S'il n'y a pas d'anticorps préformés contre le pathogène, les voies **Mot11** et **Mot12** peuvent permettre la destruction du pathogène. Si des anticorps ont été fabriqués contre le pathogène la voie **Mot13** peut permettre l'élimination directe du pathogène, ou bien favoriser sa phagocytose par les **Mot4** : ce dernier phénomène s'appelle l'**Mot14**.

## Effet de l'IL-1 sur les cellules T auxiliaires

(Proc Natl Acad Sci U S A. 1988 Dec;85(24):9699-703)

L'activation des lymphocytes T naïfs nécessite leur stimulation par l'intermédiaire des récepteurs d'antigènes, par des molécules de costimulation, et/ou par des cytokines inflammatoires comme l'interleukine 1 (IL-1). Les auteurs ont ici étudié le rôle de l'IL-1 comme stimulateur de la prolifération sur différents clones de lymphocytes T, de profils soit Th1 soit Th2 (figure 1).

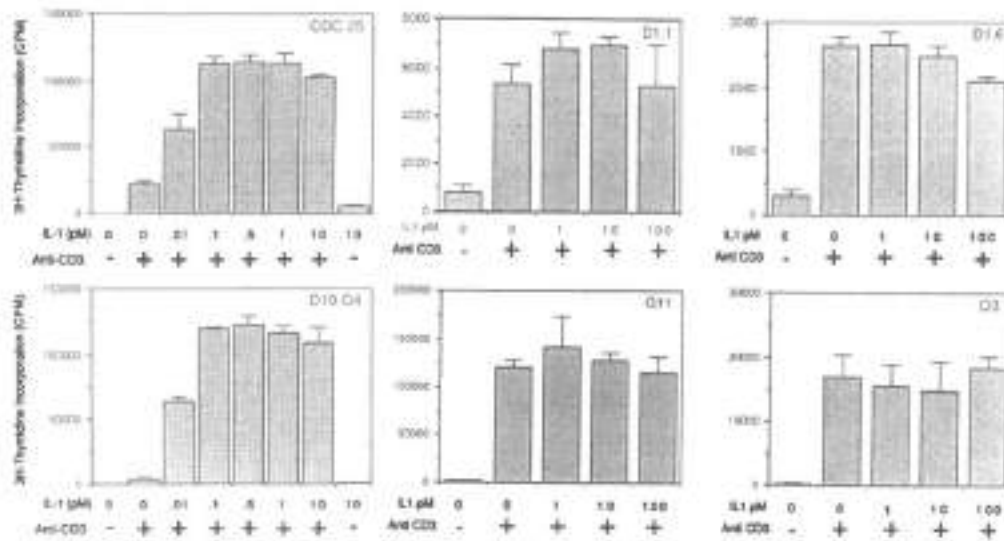


Figure 1 : Environ 10000 cellules Th2 (CDC 25 et D10 G4) ou Th1 (D1.1, G11, D1.6, et O3) ont été cultivées pendant 48h en présence ou en absence d'un anticorps anti-CD3 pour stimuler les récepteurs à l'antigène (50μg/mL). Des concentrations croissantes d'IL-1 soluble ont été ajoutées à la culture. L'incorporation de thymidine tritiée a été mesurée après 60h de culture.

- Q1 : Que permet de mesurer l'incorporation de thymidine tritiée ? Quel est le principe de ce test ? (3 lignes)
- Q2 : Citer 3 marqueurs que les cellules Th1 et Th2 possèdent en commun à leur surface. Quel est le rôle de chacun de ces marqueurs ? (2 lignes)
- Q3 : Analyser la figure 1. Quel est l'effet de l'ajout d'IL-1 sur les cellules Th2 ? Sur les cellules Th1 ? (3 lignes)

Les auteurs ont ensuite voulu savoir si l'addition d'autres cytokines modulait l'effet stimulant de la prolifération induite par IL-1 (figure 2).

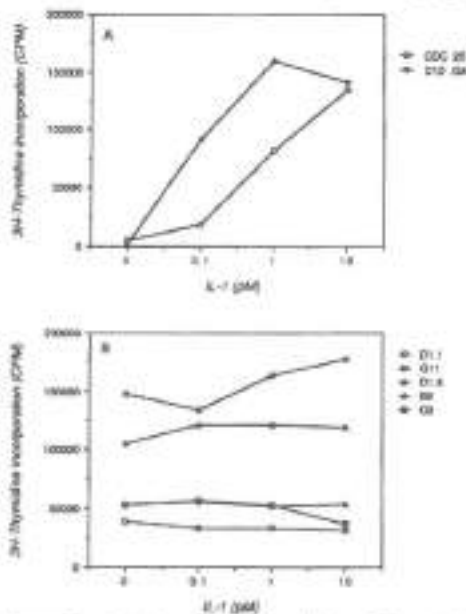


Figure 2 : Environ 20000 cellules Th2 ont été cultivées pendant 48h avec de l'IL-4 (A, en haut). Environ 20000 cellules Th1 ont été cultivées pendant 48h avec de l'IFN-γ (B, en bas). Dans les 2 cas, des concentrations croissantes d'IL-1 soluble ont été ajoutées. L'incorporation de thymidine tritiée a alors été mesurée.

NB : sans l'IL-4 ou l'IFN-γ, IL-1 n'a pas d'effet sur l'incorporation de thymidine tritiée.

Q4 : Pourquoi ajouter l'IL-4 ou l'IFN- $\gamma$  ?

Q5 : Analyser la figure 2. (3 lignes)

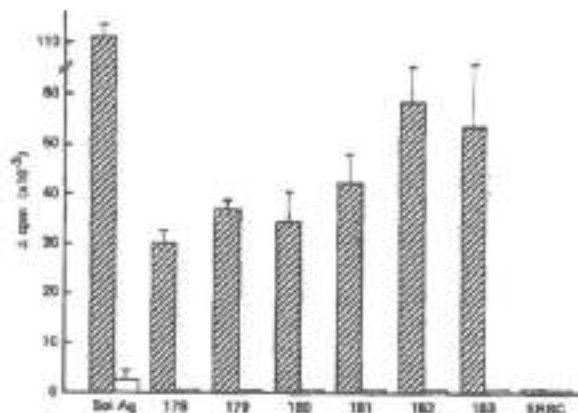
Q6 : A l'aide de ces deux figures, quelle hypothèse pouvez-vous faire sur le mécanisme d'action de l'IL-1 ?

## Réponse à une infection par *Leishmania major*

(J Exp Med. 1990 Nov 1;172(5):1359-65.)

Le parasite *Leishmania major* est un protozoaire intracellulaire responsable de la leishmaniose, maladie chronique cutanée et/ou viscérale. Ici, pour étudier la réponse immunitaire à ce parasite, les auteurs ont analysé l'importance de la reconnaissance de certains peptides dans la réponse anti-*Leishmania*.

Tout d'abord, Les auteurs ont étudié la capacité de peptides antigéniques à entraîner une prolifération des cellules ganglionnaires de souris BALB/c préalablement infectées par *Leishmania* (figure 1).



**Figure 1 :** Des souris BALB/c ont été immunisées avec le parasite *L. major* (en hachuré), ou non immunisées (en blanc). Les cellules ganglionnaires ont ensuite été testées pour leur capacité à proliférer *in vitro* en réponse à une solution d'antigènes solubles de *L. major* (Sol Ag), à des peptides antigéniques (p178, 179, 180, 181, 182, 183), ou aux globules rouges de mouton (SRBC).

Q7 : Que représentent respectivement, pour l'expérience, les échantillons Sol Ag et SRBC ? Justifiez votre réponse. (2 lignes)

Q8 : Analysez la figure. Que peut-on conclure sur l'effet des peptides ? (3 lignes)

*In vivo*, des expériences d'immunisation par les différents peptides ont ensuite révélé que seul le peptide p183 est immunogène. Les auteurs ont voulu analyser l'effet de l'immunisation par ce peptide en utilisant différents anticorps (figure 2).

Q9 : Quel est la différence entre un antigène et un immunogène ?

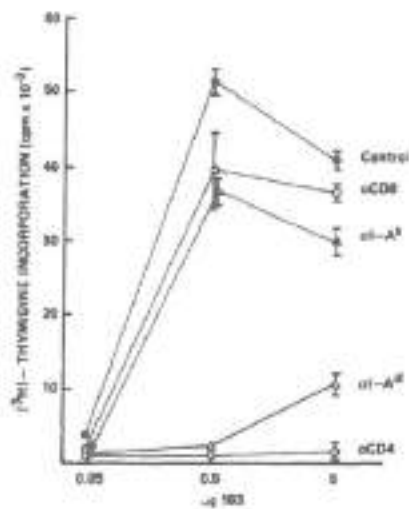


Figure 2 : Des souris BALB/c ont été immunisées avec le peptide p183. Les cellules ganglionnaires ont ensuite été testées pour leur capacité à proliférer *in vitro* en réponse à diverses concentrations de p183, en présence des anticorps indiqués (anti-CD4, anti-CD8, anti-I-A<sup>d</sup>, anti-I-A<sup>b</sup>).

Q10 : Qu'est-ce que I-A ? Quelle est la fonction de cette molécule ? (2 lignes)

Q11 : Globalement, quel est le but recherché ici en utilisant des anticorps ?

Q12 : Qu'est-ce que les auteurs ont pu utiliser comme condition contrôle ?

Q13 : Analyser la figure 2 (3 lignes)

Q14 : Quelle est le sous-type de cellule dont on observe la prolifération ici ? Justifiez votre réponse.

Q15 : Quel est le rôle de I-A dans la réponse observée ?

Afin de préciser quelle réaction immunitaire est mise en jeu dans le cadre d'une infection par le parasite, les auteurs ont étudié les sécrétions de quelques cytokines après immunisation par p183 (tableau 1).

Immunisation	IL-2	IFN- $\gamma$	IL-4
		$\mu/ml$	
p183 + CFA	12	3	240
CFA	10	2	<1.0
p180 + CFA	5	2	<1.0

Tableau 1 : Des souris BALB/c reçoivent par injection sous-cutanée 100 $\mu$ g de peptide + CFA ou de CFA seul, et les cellules ganglionnaires sont ensuite cultivées avec p183. Les concentrations des surnageants en cytokines (IL-2, IFN- $\gamma$  et IL-4) sont mesurées (Rappel : le peptide p180 n'est pas immunogène).

Q16 : Le CFA est un adjuvant contenant entre autres des mycobactéries tuées. Il peut activer la réponse immunitaire innée et adaptative. Quels types de récepteurs de l'immunité innée peut-il activer ? Par quelle famille de molécules ces récepteurs sont-ils activés ?

Q17 : Quelle technique a pu être utilisée pour mesurer la concentration en cytokines ?

Q18 : Analyser la figure. Que peut-on conclure par rapport au type de réponse induite par l'immunisation par p183 ? (3 lignes)

Afin de préciser encore la manière dont la réponse immunitaire a lieu, différentes souches de souris ont été immunisées (tableau 2).

Strain	H-2	Antigen in vitro			
		p183	p182	p180	SolAg
		<i>cpm × 10<sup>4</sup></i>			
BALB/c	d	54.8 ± 5.2	7.7 ± 0.8	<1.0	5.2 ± 0.5
BALB.b	b	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
BALB.k	k	1.0	<1.0	<1.0	<1.0
CBA	k	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
B10	b	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
B10.S	s	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
B10.D2	d	40.3 ± 3.2	3.7 ± 1.5	<1.0	3.5 ± 0.8

**Tableau 2 :** Les souris de diverses souches reçoivent par injection sous-cutanée 100µg de peptides (p183, p182, p180, SolAg) + CFA. Les cellules ganglionnaires sont ensuite cultivées avec p183. La prolifération est mesurée.

**Q19 :** Que représentent les lettres de la colonne H-2 (d, b, k, s) ?

**Q20 :** Analysez le tableau. Quel est le rôle de H-2 vis-à-vis du peptide p183 ? (3 lignes)

**Q21 :** Question de synthèse : d'après tous les résultats, que pouvez-vous déduire de la réponse induite par le peptide 183 dans les souris BALB/c (haplotype H-2<sup>d</sup>)? Cette réponse est-elle adaptée à la lutte contre le parasite ? Justifiez. (3 lignes)

# UE Immunologie Fondamentale (IMF)

Licence 2 S3 Sciences du Vivant - 9 janvier 2013

Durée 2h - sans documents

N'oubliez pas de mettre votre numéro d'anonymat

Numéro d'anonymat			Ne rien inscrire dans ces cases	
mot1	(mot ou expression)	PRR	0.5	
mot2	(mot ou expression)	PAMP	0.5	
mot3	(mot ou expression)	Inflammation	0.5	
mot4	(mot ou expression)	phagocytes	0.5	
mot5	(mot ou expression)	neutrophiles	0.5	
mot6	(mot ou expression)	monocytes	0.5	
mot7	(mot ou expression)	macrophages	0.5	
mot8	(mot ou expression)	cellules dendritiques	0.5	
mot9	(mot ou expression)	cellules présentatrices d'antigène	0.5	
mot10	(mot ou expression)	complément	0.5	
mot11	(mot ou expression)	alterne / des lectines	0.5	
mot12	(mot ou expression)	des lectines / alterne	0.5	
mot13	(mot ou expression)	classique	0.5	
mot14	(mot ou expression)	opsonisation	0.5	
Q1	(3 lignes)	Prolifération - incorporation d'une base radioactive dans l'ADN nouvellement synthétisé	1	
Q2	(2 lignes)	1) CD3 / TCR : reconnaissance du complexe CMH-peptide - 2) CD4 : co-récepteur - 3) CD28 : récepteur de costimulation	1	
Q3	(3 lignes)	La prolifération des cellules Th augmente après stimulation par anti-CD3 - Quand IL-1 est ajoutée les Th2 prolifèrent plus vite, mais pas les cellules Th1	1	
Q4		IL-4 est exprimée par les Th2, IFN- $\gamma$ par les Th1	0.5	
Q5	(1 ligne)	IL-4 amplifie l'effet de IL-1 sur la prolifération des Th2 tandis que IFN- $\gamma$ n'amplifie pas l'effet de IL-1 sur la prolifération des Th1.	1	
Q6		IL-1 permet d'augmenter la prolifération des cellules Th2, qui prolifèrent plus vite en présence d'IL-4	0.5	



Q7	(2 lignes)	Sol Ag : contrôle positif (épitopes communs avec <i>Leishmania</i> , utilisé pour l'immunisation) - SRBC : contrôle négatif (pas d'épitopes communs)	0.5	
Q8	(1 ligne)	Différents peptides antigéniques sont capables de conduire à une réaction secondaire après immunisation par <i>Leishmania</i> (toutefois moins forte que Sol Ag, une solution contenant de multiples épitopes)	0.5	
Q9		Ag = reconnu mais ne conduit pas forcément à une réponse immunitaire - immunogène = réponse	0.5	
Q10	(2 lignes)	I-A : molécule du CMH de classe II - Fonction : associé à un peptide, se lie au TCR des cellules CD4+	1	
Q11		Ac : pour bloquer les interactions ligand-récepteur	0.5	
Q12		Contrôle : Ac de même isotype (ou sérum normal) non relevant	0.5	
Q13	(3 lignes)	La capacité à proliférer des cellules ganglionnaires est affectée si CD4 ou I-Ad est bloqué, mais pas si CD8 ou I-As est bloqué : CD4 et I-Ad sont importants pour la reconnaissance du peptide antigénique.	0.5	
Q14		Les cellules T CD4+ prolifèrent ici, puisque CD4 (et pas CD8) est important pour la prolifération	0.5	
Q15		I-A permet de présenter le peptide antigénique p183 au TCR des cellules CD4+	0.5	
Q16		PRR - PAMP	0.5	
Q17		ELISA	0.5	
Q18	(2 lignes)	Une production d'IL-4 a lieu après immunisation par le peptide antigénique p183 (+adjuvant) : il y a une orientation Th2 de la réponse immunitaire.	1	
Q19		Les lettres d, b, k, s sont des haplotypes différents des gènes du CMH de la souris (H-2)	0.5	
Q20	(3 lignes)	Seules les souris immunisées d'haplotype H2d (BALB/c ou B10.D2) sont capable de réponse secondaire au peptide p183. Les allèles H-2d sont donc responsables de la présentation du peptide p183 via le CMH-II au TCR des cellules T CD4+	1	
Q21	(2 lignes)	Le peptide p183 entraîne une réponse de type Th2. Elle est plutôt humorale (sécrétion d'Ac), et donc inadaptée contre des pathogènes intracellulaires comme <i>Leishmania</i> .	1	

TOTAL

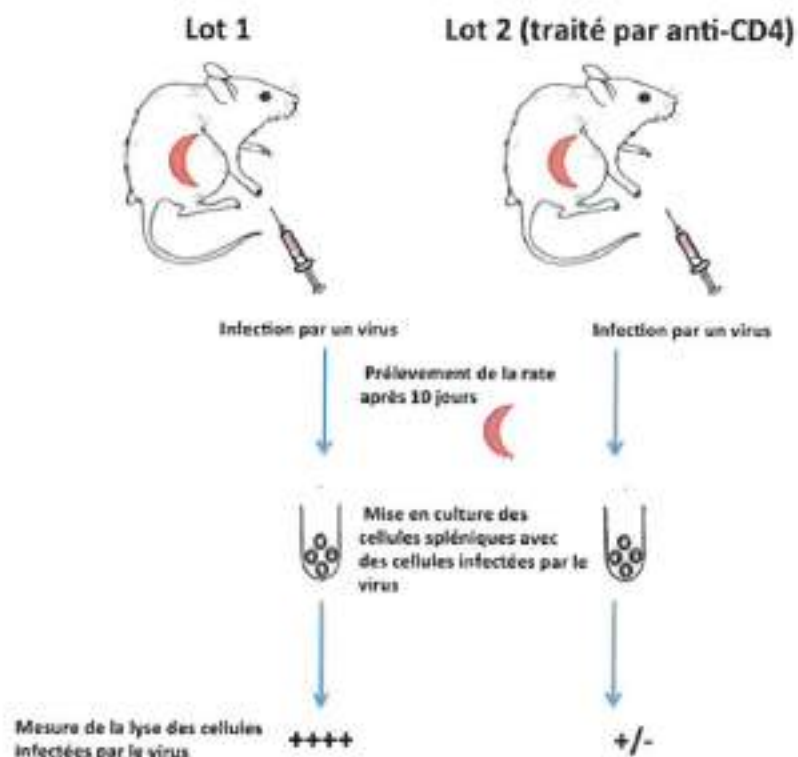
21.5

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Vos sacs doivent être déposés au bas de l'amphi. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.*

*N'oubliez pas d'indiquer vos numéros d'anonymat et votre groupe de TD.*

**d'après Schoenberger et al., Nature 1998, 393: 480-483**

Deux lots de souris sont infectés par un virus « latent ». Le lot 1 est un lot contrôle, le lot 2 a été traité par un sérum contenant des anticorps dirigés contre la molécule CD4. Ces anticorps sont dits « déplétants » c'est-à-dire qu'ils détruisent *in vivo* les cellules T CD4<sup>+</sup>. Après 10 jours, la rate de ces souris est prélevée et la réponse cytotoxique des splénocytes contre des cellules infectées par le virus est mesurée. Les résultats sont présentés dans la figure 1.



**Figure 1**

**Question 1a :** La réponse antivirale efficace contre des virus latents est-elle essentiellement humorale ou cellulaire ? Justifiez.

Question 1b : Que faut-il injecter aux souris du groupe contrôle (Lot 1) pour être sûr que les résultats obtenus dans le Lot 2 sont bien dus à la présence des anticorps anti-CD4 ? Justifiez votre réponse.

Question 1c : Quelle est la technique utilisée pour mesurer la lyse des cellules infectées par le virus ? La décrire

Question 1d : A votre avis, quelles sont les cellules qui vont lyser les cellules infectées par le virus ?

Question 1e : Quelles sont les molécules sécrétées par ces cellules qui sont responsables de la lyse des cellules infectées par le virus ?

Question 1f : Interprétez la figure 1 ?

Question 1g : Quelle(s) hypothèse(s) pouvez-vous faire pour expliquer ces résultats?

Deux autres lots de souris sont traités par le sérum contenant les anticorps dirigés contre la molécule CD4. Elles sont ensuite infectées par le virus soit en présence d'un anticorps contrôle (Lot 3) ou d'un anticorps anti-CD40 (Lot 4). Cet anticorps est dit "agoniste" car il mime l'effet du ligand de la molécule CD40, c'est-à-dire qui induit les mêmes signaux qu'une cellule qui exprimerait CD40L et dont le CD40L se fixerait sur CD40. La réponse cytotoxique est alors mesurée comme dans la question 1. Les résultats sont présentés sur la figure 2.

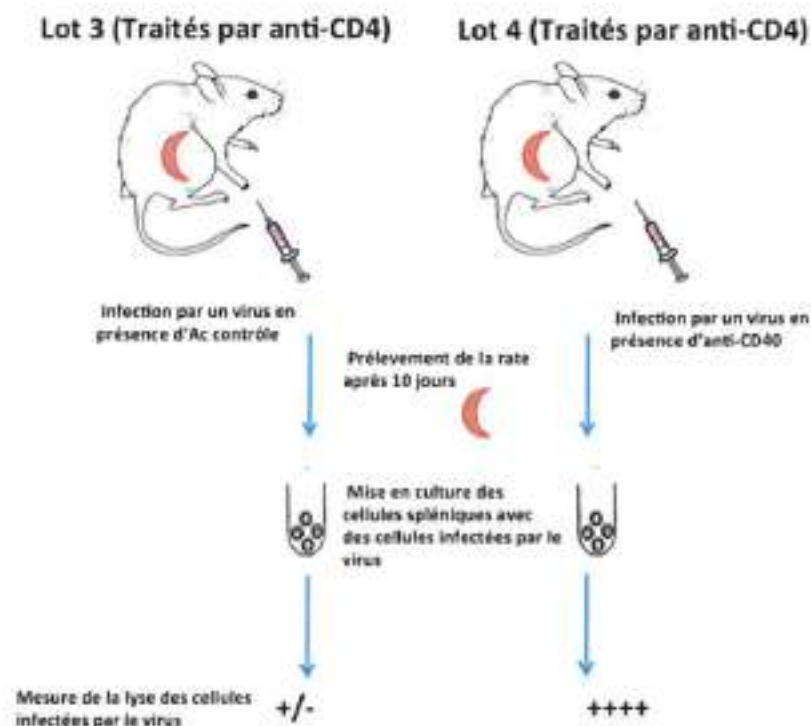


Figure 2

Question 2a : Interprétez la figure 2.

Question 2b: A votre avis, quelles sont les cellules qui expriment la molécule CD40L ? Justifiez à partir des données des figures 1 et 2.

Question 2c : Qu'en déduisez-vous quant au rôle de l'interaction CD40/CD40L dans la différenciation des cellules capables de lyser les cellules infectées par un virus ?

Question 2d: Ces résultats vous permettent-ils de confirmer ou d'infirmer les hypothèses que vous aviez faites dans la question 1g ? Justifiez votre réponse.

**En guise de conclusion, compléter le texte ci-dessous qui explique comment se différencient les cellules qui vont lyser les cellules infectées par le virus.**

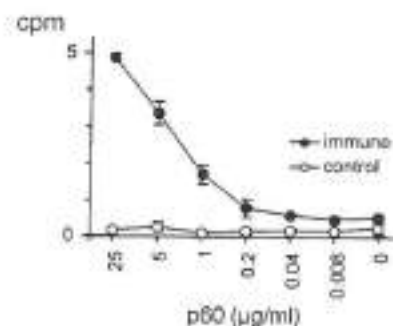
Lorsqu'un virus pénètre dans l'organisme, il est généralement capturé par des cellules (**Mot1**), qui, en véritables douaniers de l'organisme, sont présentes à toutes les frontières entre l'organisme et l'extérieur. Ces cellules vont présenter des peptides issus de ce virus associés aux molécules du (**Mot2**). Les peptides associés au (**Mot2**) de classe 1 vont être reconnus par les récepteurs des (**Mot3**) qui expriment la molécule (**Mot4**). En effet, la molécule (**Mot4**) peut reconnaître les parties monomorphes du (**Mot2**) de classe 1 alors que les récepteurs des (**Mot3**), appelés (**Mot5**), reconnaissent les complexes (**Mot2**)-peptides. Ces interactions constituent le premier signal. Cependant, il faut un second signal pour que les (**Mot3**) de type (**Mot4**)<sup>+</sup> s'activent et se différencient en (**Mot3**) capables de lyser les cellules infectées par un virus, les (**Mot3**) (**Mot6**). Ce second signal est fourni par les cellules (**Mot1**) lorsqu'elles sont activées par des (**Mot3**) (**Mot7**) qui portent la molécule (**Mot8**). La molécule (**Mot8**) reconnaît les parties monomorphes du (**Mot2**) de classe 2. Les (**Mot3**) (**Mot7**) reconnaissent des peptides issus du virus associés au (**Mot2**) de classe 2 à la surface de la cellule (**Mot1**) grâce à leur (**Mot5**). Ils envoient alors 2 signaux à la cellule (**Mot1**) : un signal soluble sous forme de cytokines comme (**Mot9**) et un signal membranaire grâce à l'interaction entre (**Mot10**) exprimé sur la cellule (**Mot1**) et le ligand de (**Mot10**) qui est exprimé par les (**Mot3**) (**Mot7**). Suite à ce signal les (**Mot3**) de type (**Mot4**)<sup>+</sup> s'activent et se différencient en (**Mot3**) capables de lyser les cellules infectées par un virus.

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Vos sacs doivent être déposés au bas de l'amphi. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. N'oubliez pas d'indiquer vos **numéros d'anonymat** et votre **groupe de TD**.

D'après Geginat et al., *J Immunol* 1998; 160:6046-6055

*Listeria monocytogenes* est une bactérie intracellulaire pathogène pour l'Homme. Chez la femme enceinte, la bactérie peut traverser le placenta pour atteindre le fœtus, induisant des naissances prématurées et des infections chez le bébé. Des précautions peuvent être prises, notamment en évitant la consommation de produits crus. *L. monocytogenes* est également pathogène pour la souris, ce qui permet d'étudier l'infection dans cet organisme modèle. Les travaux présentés ici concernent l'analyse de la réponse immunitaire de la souris contre *L. monocytogenes*, en particulier contre la protéine p60, un antigène sécrété par la bactérie.

Etant donné le grand nombre d'épitopes portés par la bactérie, les auteurs ont tout d'abord voulu savoir si la réponse immunitaire contre *L. monocytogenes* pouvait se mettre en place plus spécifiquement contre la protéine p60. Pour cela, des souris de souche BALB/c ont été infectées par la bactérie, leur rate a été prélevée et les cellules spléniques ont été cultivées en présence de la protéine p60. L'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules a alors été mesurée (**Figure 1**).



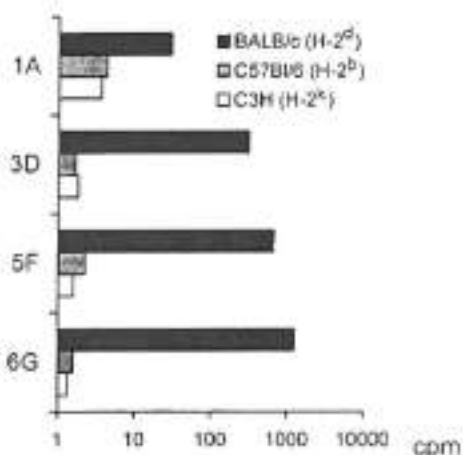
**Figure 1** : Les splénocytes de souris infectées par *L. monocytogenes* (« immune ») ou de souris non infectées (« control ») sont incubées avec des concentrations décroissantes de protéine p60 purifiées. L'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules a été mesurée (en coups par minute, « cpm »).

**Question 1 :** De façon générale, que permet de mesurer la technique d'incorporation de thymidine tritiée ? Décrivez le principe de cette technique.

**Question 2 :** L'activité de quel grand type d'immunité est-elle mesurée ici ?

**Question 3 :** Analysez la figure 1 et concluez.

Les auteurs ont voulu analyser plus en détail les conditions d'activation par p60 des splénocytes de souris infectées. Pour cela, ils ont isolé des clones de cellules reconnaissant la protéine p60 à partir de splénocytes de souris de souche BALB/c infectées. Ils ont alors cultivé ces clones cellulaires en présence de cellules « accessoires » de souches différentes et de la protéine p60. L'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules a alors été mesurée (**Figure 2**).



**Figure 2 :** Les clones de cellules (1A, 3D, 5F, 6G) sont co-cultivés, en présence de protéine p60 purifiée, avec des cellules dites « accessoires ». Ces cellules accessoires sont des splénocytes de souris BALB/c (haplotype H-2<sup>d</sup>), C57Bl/6 (haplotype H-2<sup>b</sup>) ou C3H (haplotype H-2<sup>k</sup>), qui ont été traitées par la mitomycine C (drogue qui bloque la prolifération cellulaire). L'incorporation de thymidine tritiée dans les cellules a été mesurée (en coups par minute, « cpm »).

**Question 4 :** A votre avis, l'implication de quel type de molécules du système immunitaire cherche-t-on à étudier, lorsqu'on utilise des souris de souches différentes ? Expliquez.

**Question 5 :** Quelles interactions moléculaires entre cellules accessoires et clones de lymphocytes T permet, selon vous, l'activation des clones ?

**Question 6 :** A quelle condition une activation des clones a-t-elle lieu ? Analysez la figure 2. Quel principe du système immunitaire ce résultat illustre-t-il ?

Les auteurs ont ensuite voulu mieux caractériser le type de réponse immunitaire mis en place. Ils ont pour cela mesuré la concentration de cytokines sécrétées dans le milieu de culture des clones incubés avec les cellules accessoires adéquates et la protéine p60 (**Tableau 1**).

Clone	IFN- $\gamma$	IL-4
1A	25	0,1
3D	18	0
5F	19	0,1
6G	19	0
Aucun	0	0

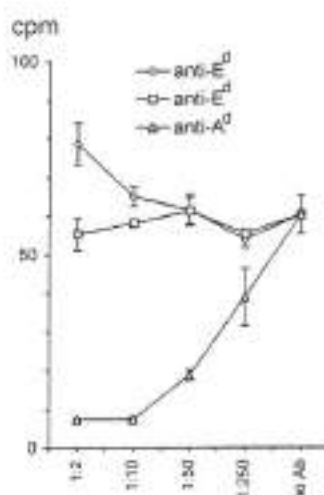
**Tableau 1** : Les clones de cellules (1A, 3D, 5F, 6G) ont été co-cultivés, en présence de protéine p60 purifiée, avec des cellules accessoires adéquates. Après 24h, la concentration en IFN- $\gamma$  et de IL-4 a été mesurée dans les surnageants de culture (en ng/mL).

**Question 7** : Selon vos connaissances de cours, quel type cellulaire est capable de produire de l'IFN- $\gamma$  ou de l'IL-4 ?

**Question 8** : Analysez le tableau 1. Sachant qu'un anticorps dirigé contre le CMH de classe II peut bloquer l'activation de ces clones, pouvez-vous maintenant déterminer avec plus de précision la nature du type cellulaire des clones ? Quelle réponse immunitaire était initialement mise en place *in vivo*, avant l'isolement de ces clones ?

**Question 9** : Ce type de réponse face à un pathogène comme *L. monocytogenes* vous surprend t-il ? Expliquez.

Les auteurs ont enfin voulu déterminer plus précisément les conditions d'activation par p60 des cellules du clone 1A. Pour cela, ils ont réalisé des co-cultures de cellules du clone 1A avec des cellules accessoires préalablement traitées par des anticorps bloquant la molécule I-E<sup>d</sup> ou I-A<sup>d</sup>, en présence de p60 (**Figure 3**).



**Figure 3** : Les cellules accessoires traitées à la mitomycine ont été incubées une nuit avec une solution de p60 purifiée. Les cellules accessoires ont ensuite été incubées avec des dilutions d'anticorps croissantes contre différentes molécules du complexe H-2 : deux anticorps anti-I-E<sup>d</sup> différents, et un anticorps anti-I-A<sup>d</sup>. L'incorporation de thymidine tritiée dans des co-cultures de ces cellules avec les cellules du clone 1A a été mesurée (en coups par minute, « cpm »).

**Question 10 :** Expliquez la signification des acronymes H-2<sup>d</sup>, I-E<sup>d</sup> et I-A<sup>d</sup>.

**Question 11 :** Quel est le nom donné au récepteur caractéristique des clones étudiés précédemment ? Pouvez-vous maintenant déterminer précisément ce que reconnaît ce récepteur dans le cas du clone 1A ? Expliquez.

**Question 12 :** Décrivez sous forme de schéma les étapes successives entre l'entrée de *L. monocytogenes* dans l'organisme de la souris et l'activation des cellules du clone 1A (molécules et cellules impliquées, localisation dans l'organisme).

**Question bonus :** *Listeria innocua* n'est pas pathogène, et présente plus de 90% d'homologie avec *Listeria monocytogenes* pour la protéine p60. Pouvez-vous imaginer une piste possible d'application thérapeutique de *Listeria innocua* et en expliquer le principe ?