

Exercices Travaux Dirigés 1

Cours 1: Introduction : présentation générale du système immunitaire

Question 1.1.1

Indiquer quelle est la définition juste pour le mot microbiote.

- A. Une communauté écologique comprenant micro-organismes symbiotiques, commensaux, et pathogènes, associée à un hôte
- B. Une communauté écologique comprenant bactéries symbiotiques, commensales et pathogènes, associée à un hôte
- C. Une communauté écologique comprenant micro-organismes symbiotiques, associée à un hôte.

Question adaptée de 1.1.7

Parmi ces protéines membranaires, lesquelles sont produites par réarrangement somatique ?

- A) Les récepteurs de pattern (PRRs)
- B) Les BCR (récepteurs des cellules B)
- C) Les TCR (récepteurs des cellules T)
- D) Les intégrines
- E) Le complément
- F) MHC I
- G) MHC II
- H) B et C
- I) F et G

Question 1.1.10

L'existence du double signal dans l'activation des lymphocytes évite qu'un lymphocyte réponde à un antigène pour lequel il n'est pas spécifique.

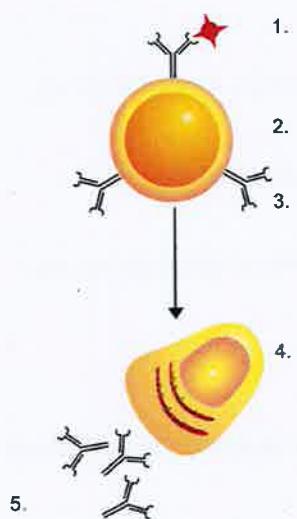
- A. Vrai
- B. Faux

Question 1.1.12

- a) Dans quel tissu les lymphocytes B produisent-ils leur récepteur BCR ?
- b) Dans quel organe les lymphocytes T produisent-ils leur récepteur TCR ?

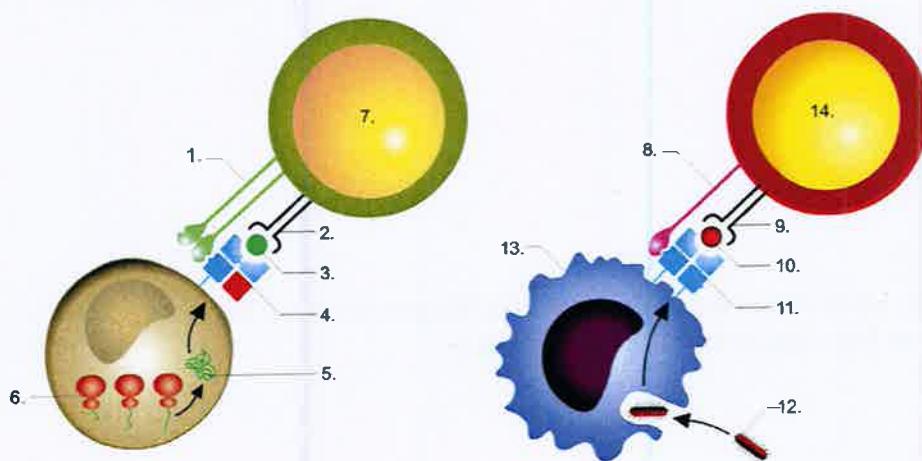
Question 1.2.2

Annotations de schéma



Question 1.2.3

Annotations de schéma



Question 1.3.1

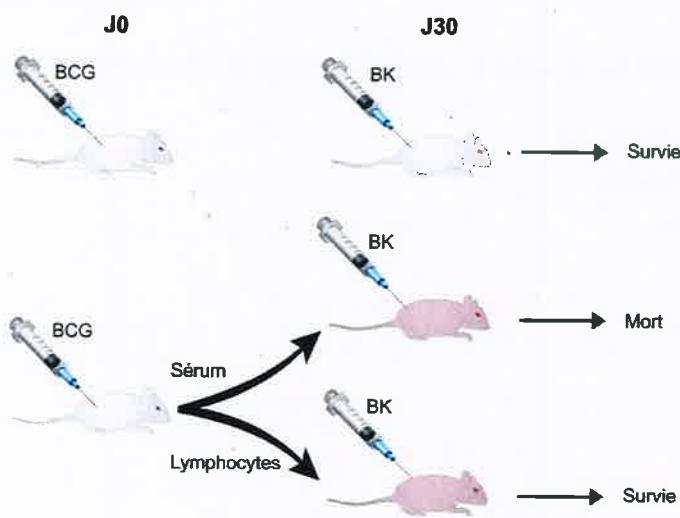
- a) L'hypothèse de la reine rouge est une hypothèse proposée par Leigh Van Valen. Expliquer cette théorie de biologie évolutive.
b) Que traduit le terme de « trade-off » (compromis) ?

Question 1.3.3

Expliquer en quelques lignes quels sont les rôles des cytokines et des chimiokines.

Question 1.3.6

On vaccine une souris avec le BCG (Bacille de Calmette-Guérin, un vaccin de la tuberculose atténué dérivé de *Mycobacterium bovis*, la tuberculose de la vache). Trente jours plus tard, cette souris est infectée par une souche virulente de la tuberculose, BK (Bacille de Koch, *Mycobacterium tuberculosis*) avec une dose létale pour la souris. On cherche à déterminer quel est le composant du système immunitaire adaptatif qui est impliqué dans la protection par des expériences de transfert soit de lymphocyte, soit de sérum, à des souris non immunisées.



Interpréter les résultats.

Cours 2: Immunité Innée

Question 2.1.4

Quel est le composant moléculaire impliqué dans l'initiation de la cascade du complément en absence d'anticorps ?

- A. C1
- B. C9
- C. Mannose binding lectin (MBL)
- D. CR2
- E. Mannose receptor (MR)

Question adaptée 2.1.5

Parmi les types de cellules suivantes, laquelle est cytotoxique ?

- A. Macrophages
- B. NKs (Natural Killers)
- C. Basophiles
- D. Cellules B
- E. Les T CD4

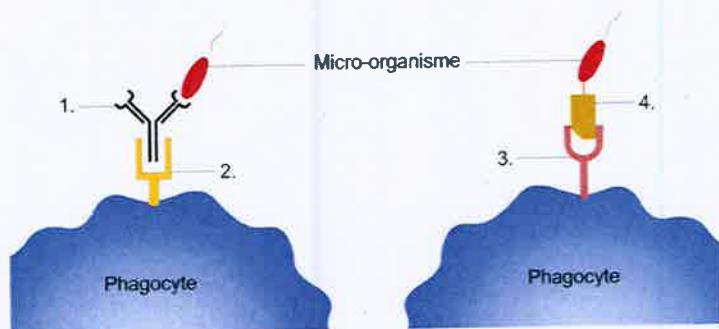
Question 2.1.9

Les patterns moléculaires PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) reconnus par les récepteurs de pattern sont :

- a) généralement absents sur les cellules de l'hôte.
- b) souvent présents à la surface des microbes.
- c) absents des microbes non pathogènes.
- d) essentiels à la survie du microbe.
- e) spécifiques des procaryotes.

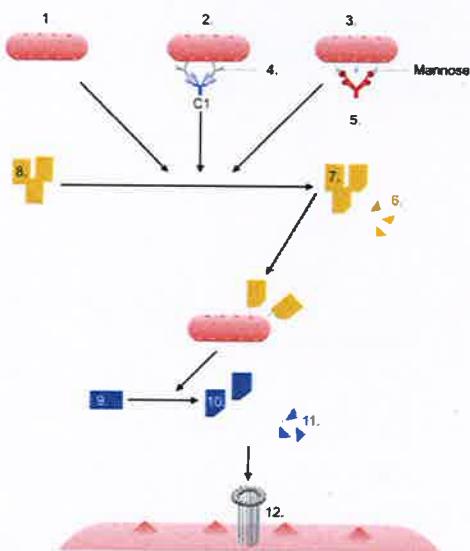
Question 2.2.2

Annotations de schéma



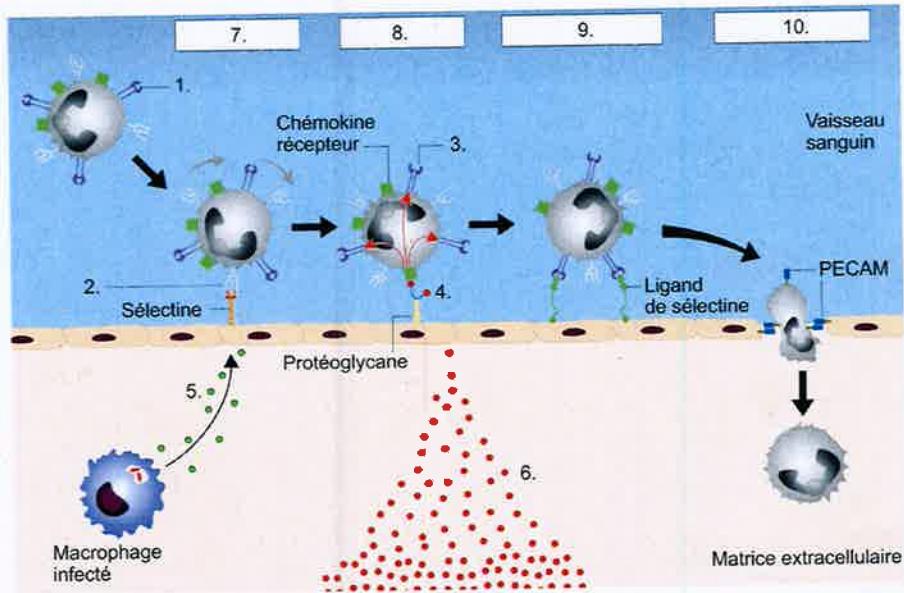
Question 2.2.6.

- a) Annoter le schéma en mettant les termes suivants : C9, C3, C3a, C3b, C5, C5a, C5b, MBL, IgG, voie classique, voie alterne, voie des lectines.
- b) Citer le nom des deux anaphylatoxines et indiquer leur rôle.
- c) Quelle est la fonction de C3b ?



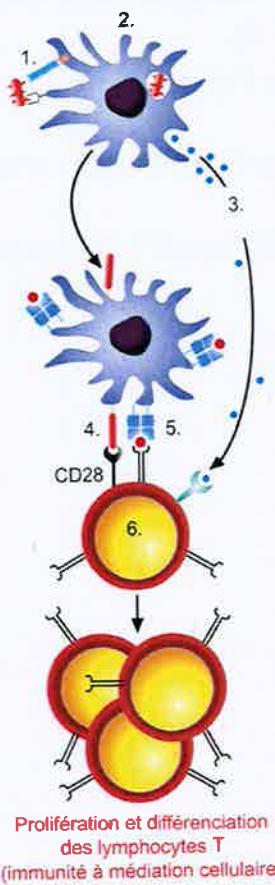
Question 2.2.7

- a) Annoter le schéma avec les mots suivants : intégrine (faible affinité), intégrine (forte affinité), gradient de chimiokines, oligosaccharides, chimiokine, cytokine (n° 1-6).
- b) Indiquer dans les cases blanches les quatre phases de la migration d'un leucocyte à travers un endothélium (n° 7-10).
- c) Citer le nom de deux types de leucocytes de l'immunité innée capables de migrer dans un tissu infecté.
- d) Pourquoi la migration des leucocytes est-elle localisée au site de l'infection ? Comment les leucocytes migrent-ils au site de l'infection ?



Question 2.2.9.

- Annoter le schéma avec les mots suivants: MHC II, cytokine, CD80/CD86 (ou B7.1/B7.2), cellule T naïve, Toll-like receptor, cellule dendritique.
- Expliquer la théorie des deux signaux dans le cadre de l'activation d'une réponse T.
- La cellule dendritique est-elle une cellule de l'immunité innée ?



Question 2.3.4

Lors d'une réponse inflammatoire (p. ex. blessure de la peau avec une aiguille souillée par des bactéries),

- a) Préciser les rôles respectifs des cellules épithéliales, des neutrophiles, des mastocytes, des macrophages et des cellules dendritiques dans la réponse immunitaire.
- b) Indiquer parmi ces 5 types cellulaires, lequel migre du sang au site infecté.
- c) Indiquer les fonctions respectives des chimiokines et des cytokines pendant cette réaction.

Question 2.3.7

- a) Quelle est la fonction des peptides antimicrobiens ? Quel est leur site d'action sur le microbe ? Quels sont les principaux tissus produisant des peptides antimicrobiens ?

Question 2.3.16

- a) Quel est le rôle principal du mastocyte ?
- b) Citer le nom de deux molécules relarguées par les mastocytes et leur fonction.
- c) Quel type d'anticorps est susceptible d'activer un mastocyte ?
- d) Citer le nom d'une maladie qui implique les mastocytes.

Question 2.3.5

- a) Quel organe produit les protéines de phase aigüe ? En réponse à quelles cytokines ? Quels sont les rôles des protéines de phase aigüe ?

Problème 5

Inspiré de Alexopoulou et al., Nature. 2001;413(6857) :732-8.

Les Toll-like receptors (TLRs) forment une famille de Pattern recognition receptors (PRRs) capables de reconnaître des composés microbiens et d'activer des réponses immunitaires de type innées. En 1998, il a été montré que TLR4 reconnaît le LPS (lipopolysaccharide), un composant de la paroi des bactéries à Gram négatif. Dans cet exercice, nous nous proposons d'étudier la fonction d'un autre membre de la famille des TLRs : TLR3. Pour cela, on mesure le niveau de cytokines produites par des cellules issues de souris sauvages (+/+) ou déficientes pour TLR3 (-/-) (fig. 10).

Questions

- 5.1 Définir ce qu'est un « Pattern recognition receptor » (en 3-4 lignes).

5.2 Quelle famille d'agents infectieux produit de l'ARN double-brin ?

5.3 Résumer les résultats présentés en figure 10.

5.4 En déduire quelle est la fonction de TLR3.

5.5 Pourquoi les macrophages (M) dérivant de la moelle osseuse de souris déficiente pour TLR3 répondent-ils au LPS ?

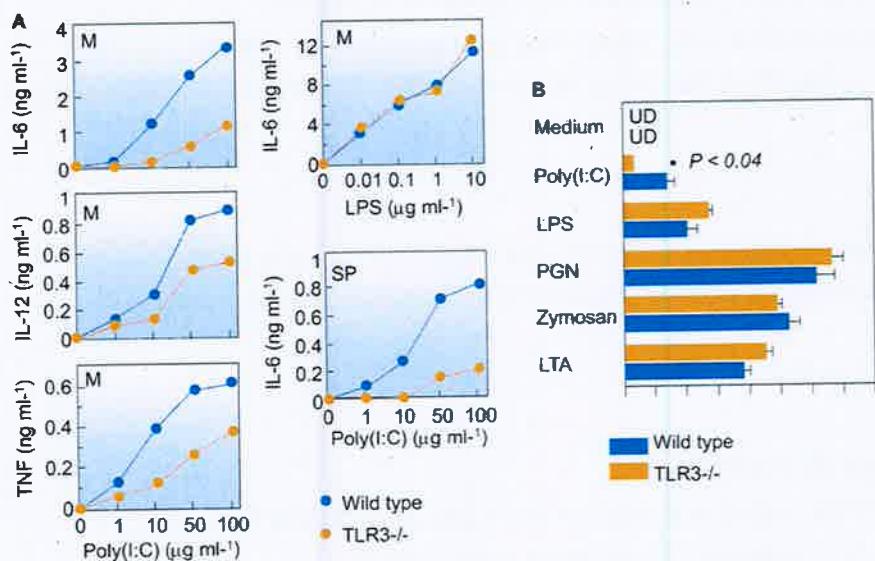


Figure 10 (A) Des macrophages dérivés de la moelle osseuse (M) ou des splénocytes de la rate (SP) de souris sauvage (+/+) ou TLR3^{-/-} ont été stimulés avec des concentrations crois-santes de poly (I:C) ou de LPS pendant 24h, et les concentrations d'IL-6, IL-2 et de TNF- α produites dans le milieu de culture ont été mesurées par la technique ELISA. Les données sont représentatives de 3 expériences indépendantes. **(B)** Des macrophages dérivés de la moelle osseuse (M) de souris sauvage (+/+) ou TLR3^{-/-} sont stimulés avec 100 mg/ml-1 poly(I:C), 10 mg/ml-1 LPS, 10 mg/ml-1, PGN, 100 mg/ml-1 zymosane (glucane de levure) ou 10 mg/ml-1 LTA pendant 24 h, et les concentrations d'IL-6 dans les surnageants de culture ont été mesurées par ELISA. Les données sont représentatives de 3 expériences indépendantes.

Problème 6 (relatif au chapitre 2)

Inspiré de J. Shi et al., *Exp Med.* et al. 2004 ;199(10) :1379-90.

On étudie la réponse innée mise en jeu lors d'une infection à la bactérie *Staphylococcus aureus*. Une souris KO délétée (mutée) pour le gène codant la protéine Mannose-binding lectin (MBL) a été produite pour étudier la fonction de la MBL (la souris KO est appelée MBL null). La susceptibilité de souris sauvages ou mutantes pour MBL à une infection par *S. aureus* est présentée dans la figure 11.

Question 6.1

- Que reconnaît la MBL ?
- Quel tissu produit la MBL pendant une infection ?

c) Quelles sont les trois voies d'activation du complément ? Quelle molécule est à l'origine de l'activation de chacune des trois voies ?

Question 6.2

- a) Analyser et interpréter les résultats de la figure 1 en quelques lignes.
b) Quel est l'intérêt de tester des souris mutantes MBL ayant préalablement reçu de la protéine recombinante MBL ?

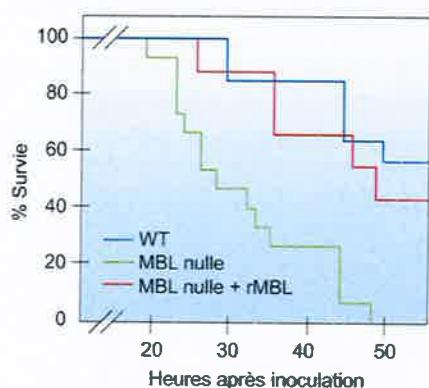


Figure 11 5×10^7 CFU (Colony-forming unit) de *S. aureus* ont été inoculés i.v. (par intraveineuse) dans la queue de souris sauvages (wt) ou mutantes pour MBL (MBL-null) et la survie a été étudiée. MBL null+rMBL : il s'agit de souris mutantes pour MBL mais ayant reçu une injection de 75 µg de protéine recombinante MBL 1 h avant l'inoculation par *S. aureus*. Le nombre de souris utilisé est: 15 wt, 14 MBL-null, et 9 MBLnull plus rMBL. rMBL : protéine recombinante humaine MBL.

On recherche par quel mécanisme le facteur MBL contribue à la survie des souris contre la bactérie *S. aureus*. Dans ce but, on incube la bactérie avec du plasma (surnageant obtenu après centrifugation du sang pour enlever les globules rouges ou blancs) ou du sang de souris sauvage ou KO pour la MBL, et on mesure la croissance bactérienne au temps $t = 10$ min ou $t = 120$ min.

Question 6.3

- a) Indiquer les trois mécanismes par lesquels la cascade du complément contribue à la réponse immunitaire.
b) Analyser et interpréter les résultats de la figure 12 en quelques lignes.
c) En fonction de ces résultats, quel mode d'action de la MBL pouvez-vous éliminer (qui ne contribue pas à la survie des souris contre *S. aureus*) ?

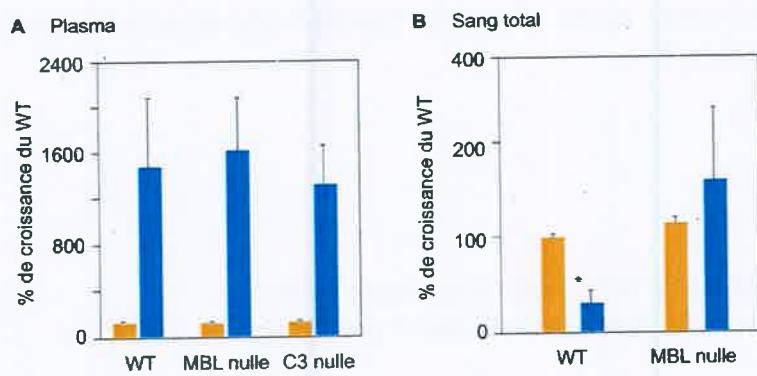


Figure 12 La croissance bactérienne a été testée dans le plasma ou dans le sang issu de souris sauvage (wt) ou de sourie mutée pour le gène codant MBL (MBL-null). **(A)** Les résultats sont exprimés en pourcentage de croissance bactérienne dans le plasma wt à 10 min. Barres orange : t = 10 min, barres bleues : t = 2 heures. Les barres indiquent la moyenne ± écart-type. **(B)** Les résultats sont présentés sous forme de pourcentage de croissance bactérienne dans du sang wt à 10 min. Le sang a été prélevé à partir de quatre souris et les essais ont été effectués *in vitro*.