

Travaux Dirigés 2

Cours 3: Génération des répertoire B et T

Question 3.1.1

Quel est le nom de l'isotype d'un anticorps...

- a) qui existe uniquement sous forme membranaire ?
- b) dont la forme sécrétée est pentamérique ?
- c) dont la forme sécrétée peut être un dimère relié par une chaîne J ?
- d) quels sont les deux isotypes d'anticorps retrouvés sur une cellule B naïve ?

Question inspirée de 3.1.3.

Un épitope conformationnel est affecté par la dénaturation de la molécule.

- A. Vrai
- B. Faux

Question inspirée de 3.1.6.

En l'absence de Rag-1 ou Rag-2, le développement de cellules B est possible mais les cellules B ne sont capables de faire que des IgM.

- A. Vrai
- B. Faux

Question 3.1.7.

Indiquer laquelle de ces quatre affirmations est correcte.

Les organes lymphoïdes secondaires sont le principal site où :

- A. le réarrangement des gènes codant les immunoglobulines des cellules B se produit.
- B. le réarrangement des gènes codant le récepteur des cellules T se produit.
- C. les cellules T subissent la sélection positive et négative.
- D. se produit la rencontre initiale entre les cellules B ou T et un antigène du monde

Question 3.1.9.

Indiquer quelle réponse est correcte.

La sélection positive induit l'apoptose des cellules T avec un récepteur TCR qui fixe :

- A. à la fois les MHC I et MHC II.
- B. ni le MHC I ni le MHC II.
- C. un peptide antigénique du soi.
- D. un peptide antigénique étranger.
- E. le MHC avec ou sans peptide antigénique.

Question 3.1.11.

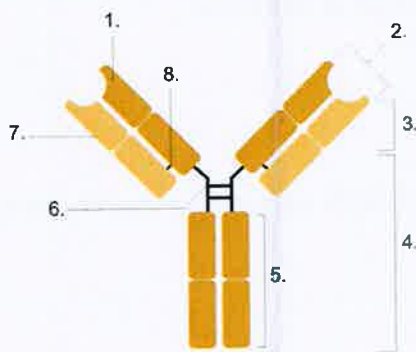
Parmi les propositions suivantes sur la sélection négative pendant le développement des lymphocytes, laquelle est la plus juste ?

- A. On appelle sélection négative la mort des cellules dont le récepteur à l'antigène n'est pas stimulé par les antigènes du soi.

- B. on appelle sélection négative la mort par apoptose induite activement par la reconnaissance de molécules du soi par le biais des récepteurs à l'antigène.
- C. La sélection négative garantit un répertoire de lymphocytes T restreints au MHC du soi.
- D. La sélection négative affecte uniquement la maturation des cellules T et non pas celle des cellules B.
- E. Le mécanisme central de la sélection négative est l'inhibition de l'expression des récepteurs à l'antigène.

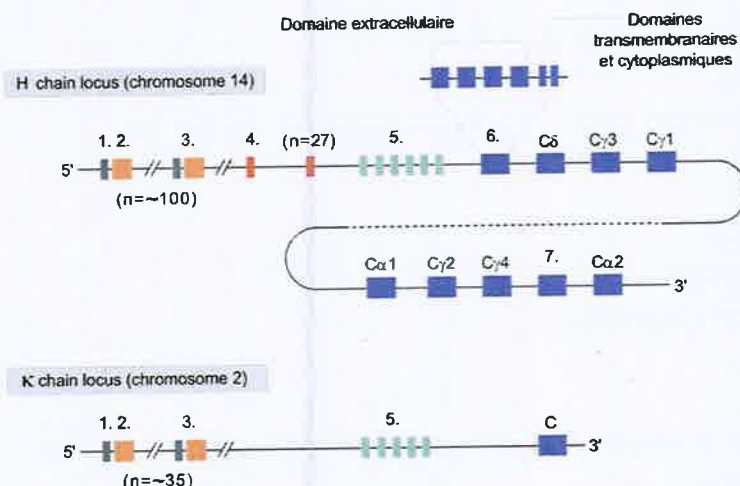
Annotations de schémas (Question 3.2.1)

- a) Annoter les cases du schéma de 1 à 8.
- b) Indiquer si un anticorps est formé de deux chaînes lourdes identiques ou différentes ?
- c) Quelles seraient les conséquences sur la réponse immunitaire si un anticorps possédait deux sites de fixation à l'antigène distincts ?
- d) Quel est le rôle de la région Fc ?



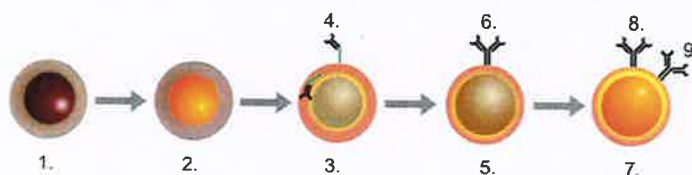
Annotations de schémas (Question 3.2.4)

- a) Annoter le schéma (1 à 7) des loci codant la chaîne lourde et la chaîne légère κ avec es termes suivants : V1, VN, D, J, L, C ϵ et C μ .
- b) Quel est le rôle de la région L (leader) ?
- c) Quels sont les domaines du locus de la chaîne lourde qui codent le domaine variable ?



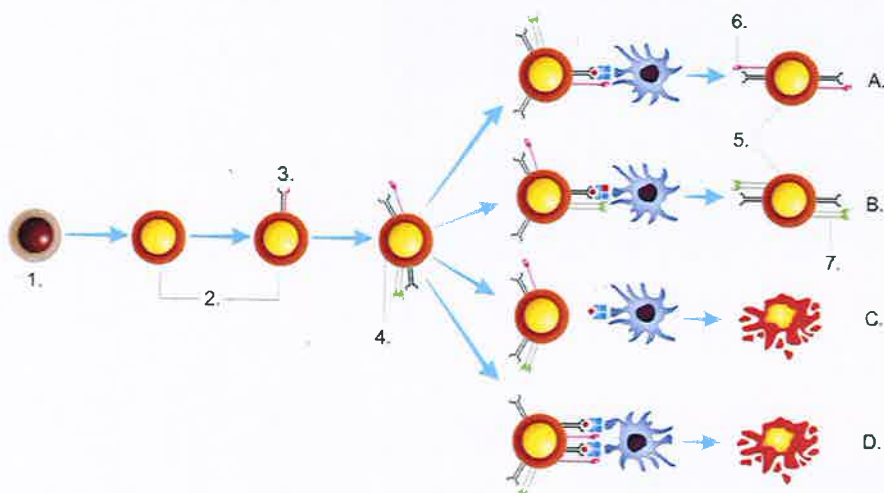
Annotations de schémas (Question 3.2.5)

- Annoter le schéma de maturation du lymphocyte B avec les termes : IgM, IgM, cellule souche, cellule B mature, pro-B, chaîne μ , pre-B, cellule B immature, IgD.
- Que se passe-t-il si le réarrangement de la chaîne lourde est abortif (i.e. conduit à la formation d'une chaîne lourde non fonctionnelle) ?
- Définir l'exclusion allélique.
- À quel stade se produit la sélection négative ?
- Quelle est le rôle de la sélection négative dans la maturation du lymphocyte B ?
- Quelles sont les deux conséquences possibles pour une cellule B immature auto-réactive (i.e. reconnaissant un antigène du soi) ?
- Pourquoi n'y a-t-il pas de sélection positive dans le cas de la lymphopoïèse B ?



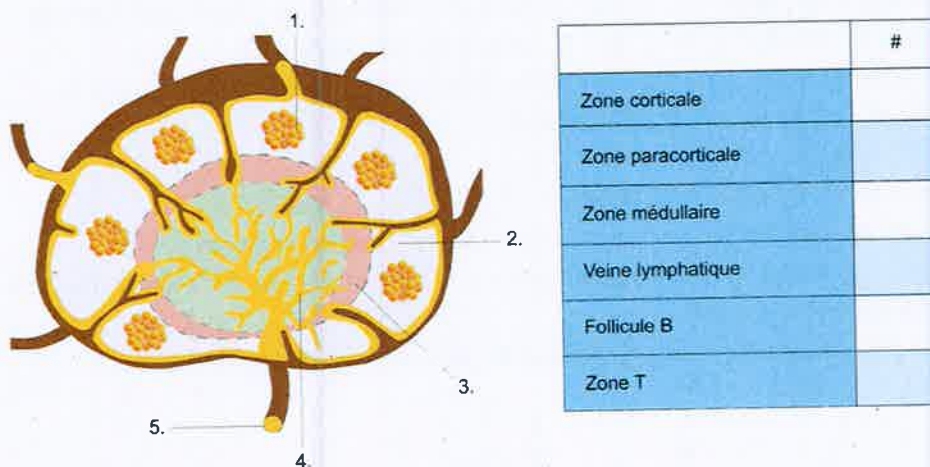
Annotations de schémas (Question 3.2.6)

- Annoter le schéma de maturation du lymphocyte T, avec les termes suivants : CD8, CD4, cellule T mature simple positive, pre-TCR (chaîne β), cellule souche, cellule T immature double positive ($CD4^+ CD8^+$), cellule T immature double négative ($CD4^- CD8^-$).
- Indiquer à droite, pour les quatre cas, le destin de la cellule T et le type de sélection.
- Quel est le rôle de la sélection négative dans la maturation du lymphocyte T ?
- Quel est le rôle de la sélection positive dans la maturation du lymphocyte T ?



Annotations de schémas (Question 3.2.8)

- Numéroter les termes suivants du noeud lymphatique.
- Indiquer les routes d'entrée des cellules dendritiques et des lymphocytes T et B.
- Indiquer la route de sortie des lymphocytes T effecteurs qui ont été activés par une cellule dendritique.
- Que veut dire le terme HEV (High endothelial venule) ?



Question 3.3.4

Diversité combinatoire des anticorps chez l'homme.

- Indiquer l'ordre des événements de recombinaison somatique (segments V, D, J, et C) pour les loci codant la chaîne lourde et la chaîne lambda.
- À l'aide du tableau, déterminer le nombre potentiel de chaînes lourdes, de chaînes légères et le nombre d'anticorps que le processus de recombinaison somatique peut générer.
- Expliquer brièvement comment est générée la diversité jonctionnelle.
- Indiquer par quel ordre de grandeur la diversité jonctionnelle augmente la taille du répertoire d'anticorps qui pourraient potentiellement être produits (trois choix : par 10, par 10^3 , par 10^5).

Segments de la lignée germinale	Chaîne lourde	Chaîne légère (κ)	Chaîne légère (λ)
V	51	40	30
D	27		
J	6	5	4

Travaux Dirigés 2

Cours 3: Présentation de l'antigène

Question 4.1.2.

Les cellules dendritiques sont issues de

- toujours de la lignée myéloïde.
- toujours de la lignée lymphoïde.
- de la lignée lymphoïde et myéloïde.

Question 4.1.4.

Un seul de ces critères distingue un récepteur de cellule T (TCR) d'un récepteur de cellule B (BCR), lequel ?

- A. Le TCR peut être activé par un antigène uniquement lorsqu'il établit un complexe trimoléculaire avec une protéine du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ou II.
- B. Seul le TCR peut fonctionner comme un récepteur transmembranaire.
- C. Seul le TCR est capable de participer à une réaction cytotoxique.
- D. Les polypeptides du TCR sont composés de domaines protéiques variables et constants....

Question 4.1.9

Entourer le nombre de molécules MHC I ou MHC II potentiellement différentes susceptibles d'être exprimés par une cellule dendritique.

a) MHC I : 1 4 6 16 64 > 100

b) MHC II : 1 4 6 16 64 > 100

Question 4.1.10.

Quelles seront les caractéristiques d'une souris déficiente pour le MHC I ?

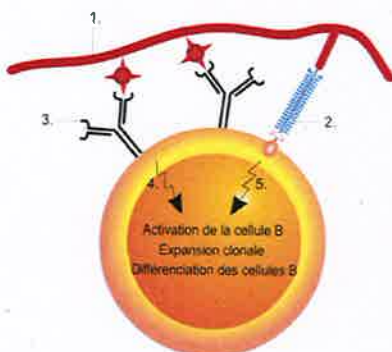
- A. Absence de T CD4
- B. Absence de T CD8
- C. Absence de T CD4 et T CD8
- D. Présence de T CD4 et T CD8

Annotations de schémas (Question 4.2.1)

a) S'agit-il de la reconnaissance d'un antigène de type TI-1 ou TI-2 (TI : Thymus indépendant) ?

b) Annoter le schéma avec les termes BCR, TLR, signal 1 (non-soi) et signal 2 (co-stimulation), antigène.

c) Citer le nom d'un antigène susceptible d'activer une telle réponse.

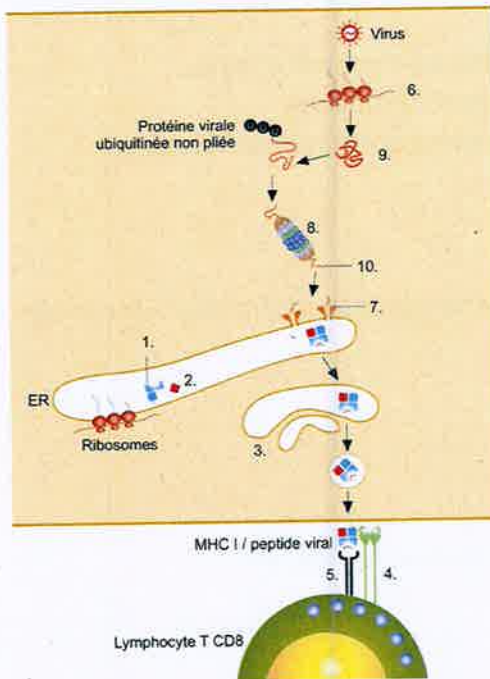


Annotations de schémas (Question 4.2.4)

a) Quel est le nom de la voie de présentation de l'antigène ?

b) Nommer les éléments 1 à 10.

c) Citer un mécanisme qui permet à un virus d'échapper à la présentation d'antigènes à des T CD8.

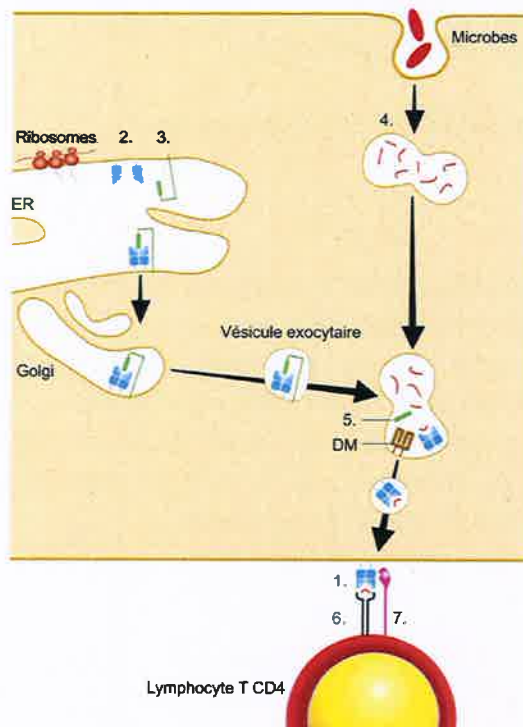


Annotations de schémas (Question 4.2.5)

a) Quel est le nom de la voie de présentation de l'antigène ?

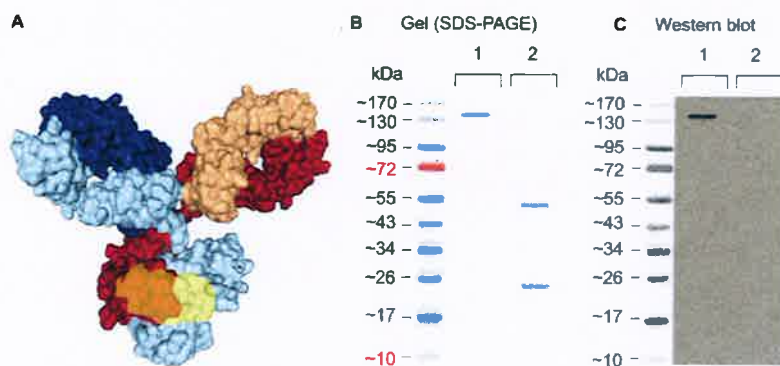
b) Nommer les éléments 1 à 7.

c) Citer le nom des trois types cellulaires susceptibles de présenter des antigènes au T CD4.



Problème 7 (relatif au chapitre 3)

Un chercheur veut tester la spécificité d'un anticorps anti-immunoglobuline de souris. Selon le fournisseur, l'anticorps devrait reconnaître la partie Fc de l'immunoglobuline (fig. 13A, partie surlignée en jaune clair). Pour s'assurer de la véracité de cette information, le chercheur fait l'expérience montrée dans la figure 13B, où il fait migrer deux échantillons sur gel d'électrophorèse (SDS-PAGE). Il transfère ensuite le gel sur une membrane pour faire un western blot utilisant l'anticorps à tester. L'échantillon 1 contient du sérum de souris. L'échantillon 2 contient du sérum de souris réduit et alkylé ; cette procédure détruit irréversiblement les ponts disulfures.



Question

7.1 Rappeler brièvement la structure d'une immunoglobuline: combien de chaînes légères ? De chaînes lourdes ? Où se situent les ponts disulfures ?

7.2 En vous basant sur le gel SDS-PAGE (fig. 13B), quel est le poids moléculaire approximatif d'une chaîne lourde? D'une chaîne légère? D'une immunoglobuline entière ?

7.3 Expliquer le résultat du western blot en C. Que se passe-t-il avec l'épitope dans l'échantillon 1 ? Dans l'échantillon 2?

Problème 8 (relatif au chapitre 3)

Un chercheur travaille sur un virus inconnu dont il veut déterminer le récepteur sur les cellules cibles. Le virus lyse les cellules qu'il infecte. Le chercheur sait déjà que le virus utilise le récepteur A mais suspecte qu'il y a un deuxième récepteur moins important. Pour mettre en évidence ce récepteur, il tente de bloquer l'entrée du virus via le récepteur A. Parmi les fournisseurs d'anticorps, il trouve deux sérums polyclonaux anti-A et deux anticorps monoclonaux anti-A. Dans une plaque de culture cellulaire, il incube les cellules cibles avec les différents anticorps, puis ajoute le virus et observe si les cellules sont lysées.

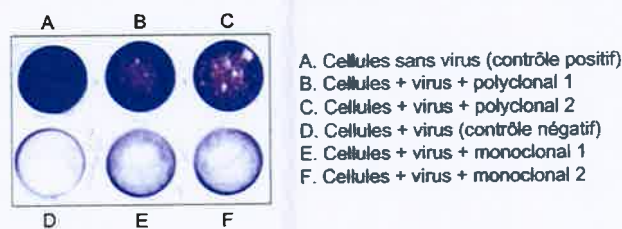


Figure 14 Analyse de la lyse en plaque cellulaire.

Question

8.1 Rappeler brièvement comment produire un anticorps polyclonal ou un anticorps monoclonal. Que reconnaît un anticorps polyclonal ? Un anticorps monoclonal ?

8.3 Le chercheur ferait-il mieux d'utiliser un anticorps polyclonal ou un anticorps monoclonal pour bloquer le récepteur A? Justifier.

Problème 11 (relatif au chapitre 4)

La capacité des cellules du système immunitaire à se déplacer dans l'organisme est fondamentale pour l'établissement d'une réponse immunitaire efficace. On étudie ici la migration des cellules dendritiques.

On étudie la migration des cellules dans un système in vitro basé sur l'utilisation d'une chambre de migration (Boyden chamber). Cette chambre (fig. 20) est constituée de deux compartiments: un compartiment supérieur séparé du compartiment inférieur par une membrane dont les pores ont un diamètre de $8\text{ }\mu\text{m}$. Ces deux compartiments sont remplis de milieu de culture. Les cellules sont déposées dans le compartiment supérieur, la molécule à tester est déposée dans le compartiment inférieur.

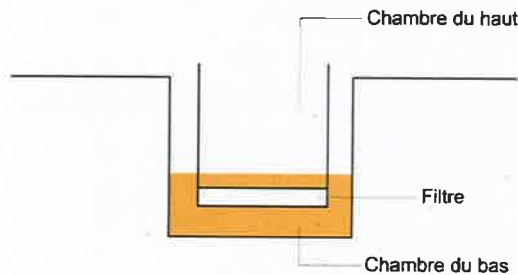


Figure 20 Chambre de migration Boyden.

Un gradient de concentration de la molécule à tester s'établit alors entre le compartiment inférieur et le compartiment supérieur. Les cellules répondent à cette molécule, elles entrent en mouvement. Les cellules ayant migré dans le compartiment inférieur sont alors comptées. Ainsi, la chambre de Boyden permet de mesurer le pouvoir d'attraction d'une molécule. Une expérience de migration avec une chambre de Boyden est réalisée pour analyser le pouvoir attractif de la molécule C5a (fig. 21).

Question 11.1

- Quelle est la principale fonction des cellules dendritiques ?
- Qu'est-ce que C5a ? Dans quel contexte cette molécule est-elle produite ?
- Expliquer brièvement le résultat obtenu dans la figure 21

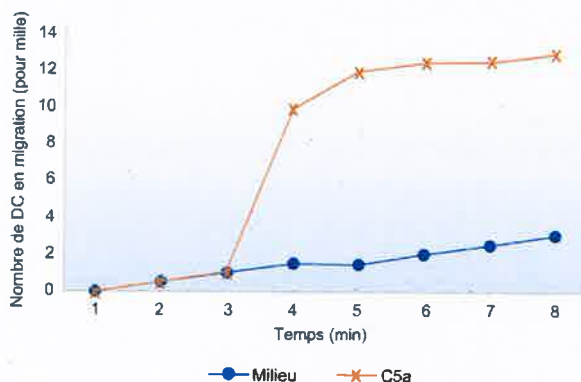


Figure 21 Migration de cellules dendritiques placées dans le compartiment supérieur de la chambre de Boyden. La molécule C5a ou du milieu (contrôle) ont été ajoutées dans le compartiment inférieur. Le nombre de cellules présentes dans le compartiment inférieur a été mesuré au cours du temps après l'exposition au gradient de C5a.

On répète l'expérience de la chambre de Boyden avec deux chimiokines RANTES et SDF-1 en utilisant des cellules dendritiques pré incubées ou pas avec du LPS. Les résultats sont montrés dans la figure 22.

Question 11.2

- Quel est l'effet du LPS sur les cellules dendritiques ?
- Décrire les résultats de la figure 22.
- En utilisant vos connaissances sur les cellules dendritiques, déterminer si les chimiokines RANTES et SDF-1 sont produites dans les nœuds lymphatiques ou dans les tissus périphériques infectés.

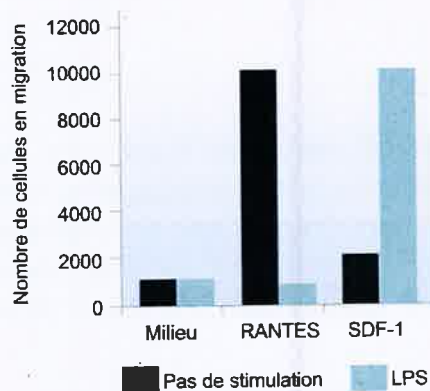


Figure 22 Migration des cellules dendritiques en réponse à deux chimiokines (RANTES et SDF-1).