

## TP 22. La réponse adaptative à médiation cellulaire

Les cellules de l'immunité adaptative à médiation humorale ne deviennent effectrices qu'après une première rencontre avec un antigène grâce aux phénomènes de sélection, d'amplification et de différenciation clonales.

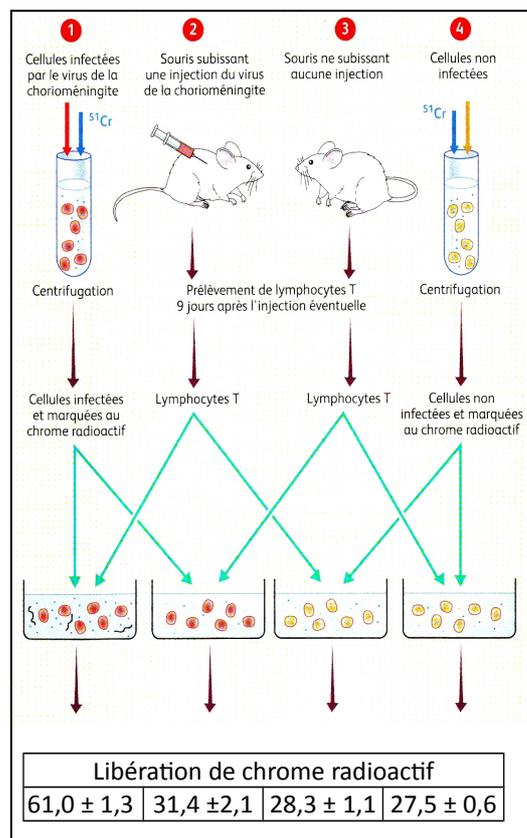
**L'objectif du TP est de caractériser les cellules intervenant dans l'immunité adaptative à médiation cellulaire et de mettre en évidence leur rôle lors de la réaction immunitaire. Une représentation finale sous forme schématique est envisageable et bienvenue.**

### L'élimination par les lymphocytes T CD<sub>8</sub> de cellules infectées par un antigène.

Il existe deux populations de lymphocytes T qui se distinguent par la présence à leur surface de marqueurs membranaires différents : les lymphocytes T CD<sub>4</sub> et les lymphocytes T CD<sub>8</sub>.

#### **Expérience n° 1**

Pour préciser les conditions de l'élimination des cellules infectées, on réalise in vitro deux cultures de cellules de souris, infectées (1) ou non (4) par un virus. Les cellules sont cultivées en présence de chrome radioactif (<sup>51</sup>Cr), qui entre dans les cellules. Ces cellules sont ensuite cultivées avec des lymphocytes T CD8, provenant d'autres souris, ayant ou non subi, neuf jours auparavant, une injection du même virus (2) et (3). Le chrome retenu dans les cellules peut être libéré soit spontanément, soit du fait d'une destruction des cellules qui le contenaient. Le pourcentage de libération spontanée du chrome est inférieur à 30 %. Au-delà de ce pourcentage, la radioactivité mesurée traduit la destruction de cellules.



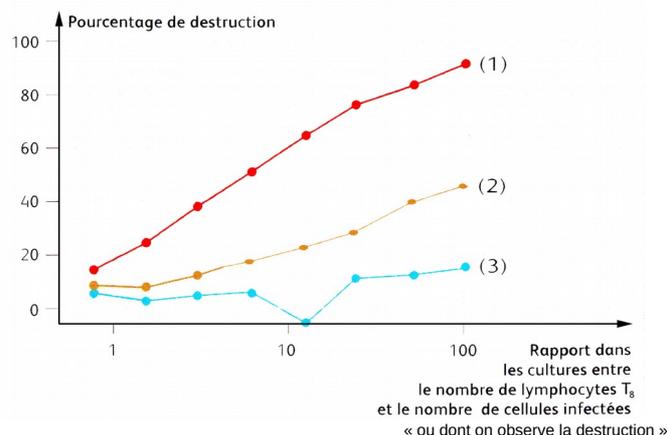
#### **Expérience n° 2**

On évalue le pourcentage de lymphocytes T CD8 impliqués dans la destruction des cellules infectées par le virus de la grippe, d'infection respiratoire ou de la chorioméningite dans le sang d'une souris n'ayant jamais été infectée, puis on réalise la même mesure huit jours après avoir contaminé la souris par le virus de la grippe.

La plupart des cellules infectées expose à la surface de leur membrane des antigènes (ici des protéines virales) associés à des molécules « corbeille »

On détermine le pourcentage de destruction de populations cellulaires infectées par un virus par des lymphocytes T CD8 provenant de souris préalablement infectées huit jours auparavant par le même virus. La population 2 subit un traitement masquant partiellement les molécules « corbeille ». La population 3 correspond à des cellules non infectées.

	Virus grippe	infection respiratoire	chorio-méningite
% LT <sub>8</sub>			
Avant l'injection	0,01	0,01	0,015
Après l'injection	8	0,01	0,015

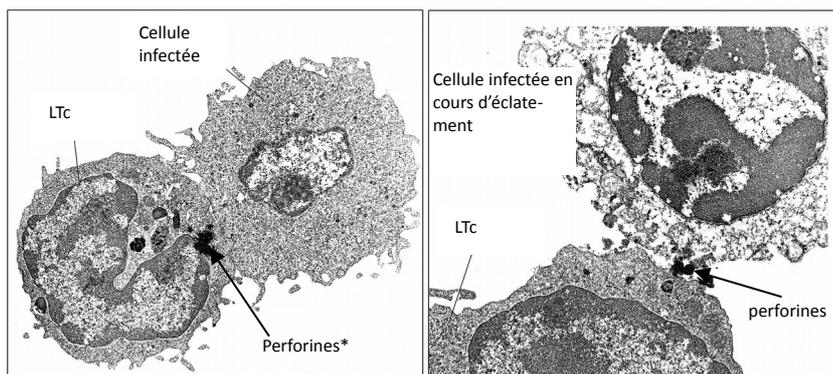


#### **Expérience n° 3**

Suite à son activation et en présence d'IL<sub>2</sub>, un LT CD8 se différencie en lymphocytes T cytotoxiques (LTC).

Images de la rencontre d'un LTC avec une cellule infectée.

\* Les perforines sont des protéines qui ont la propriété de perforer les membranes cellulaires.



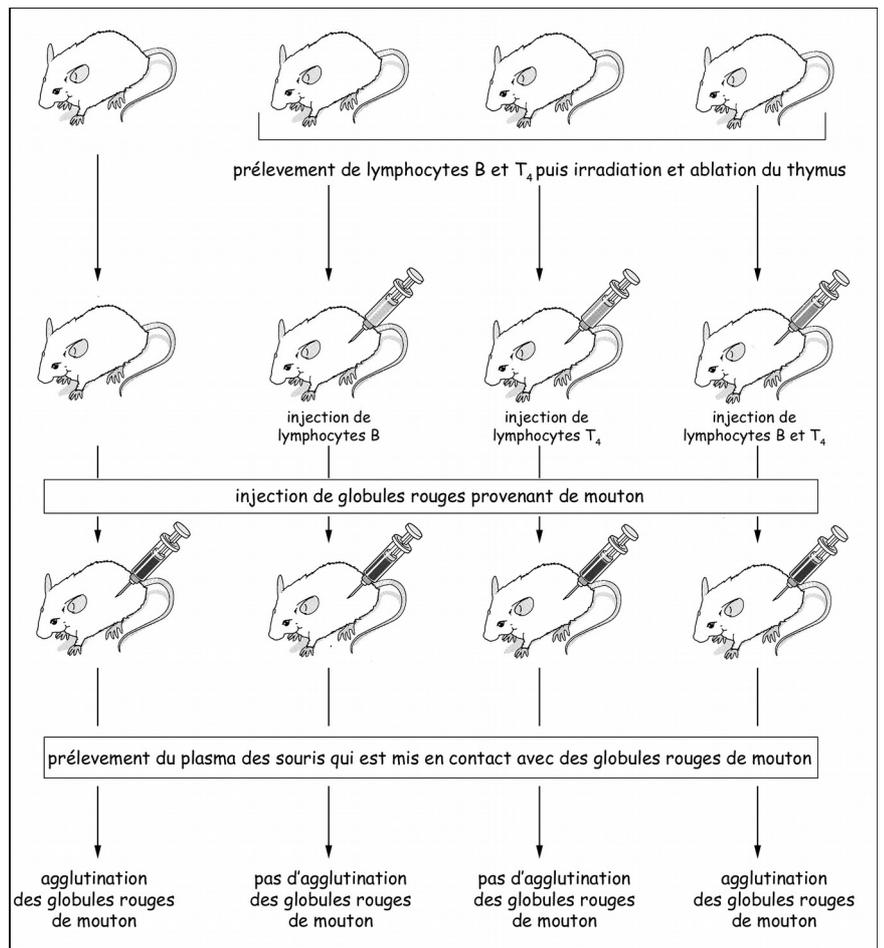
Quelques secondes

## II Le rôle clé des lymphocytes T CD<sub>4</sub> lors des réponses immunitaires acquises.

Le système immunitaire produit un autre type de lymphocytes T, les lymphocytes T<sub>4</sub>. Le VIH infecte ces cellules. Au fur et à mesure de la progression du sida, ces lymphocytes disparaissent, alors que le système immunitaire s'effondre. Les lymphocytes T<sub>4</sub> sont donc indispensables au bon déroulement des réponses immunitaires.

### Expérience n° 4.

Afin d'étudier le rôle des différents types de lymphocytes dans les réponses immunitaires, Claman a préparé des souris dépourvues de système immunitaire (ablation du thymus puis traitement aux rayons X, le **thymus** est l'organe qui permet aux lymphocytes T de devenir matures et fonctionnels). Il a ensuite injecté à ces souris différents types de lymphocytes puis des globules rouges de mouton. Une semaine après la dernière injection, le plasma des souris est mis en contact in vitro avec des globules rouges de mouton.



### Expérience n° 5.

À partir d'un prélèvement sanguin provenant d'une souris, un mélange enrichi en lymphocytes est préparé. Les différents lymphocytes sont séparés puis mis en culture en présence d'une substance, la PHA, qui mime l'agression antigénique provoquant leur activation. Un peu de liquide de la culture des LT<sub>4</sub> est introduit dans les cultures de LT<sub>8</sub> ou LB matures et activés par la PHA. On observe alors la présence ou non d'une prolifération cellulaire.

### **Résultats complémentaires :**

- En l'absence de la PHA dans la culture des LT<sub>4</sub>, on n'observe pas de prolifération cellulaire des lymphocytes (T<sub>8</sub> ou B).

- De la même façon, si les LB ou LT<sub>8</sub> ne sont pas cultivés en présence de la PHA, on n'observe pas de prolifération cellulaire (même si la culture des LT<sub>4</sub> a, elle était réalisée avec de la PHA).

- Si l'on prélève un peu de liquide de la culture des LT ou LB et que l'on transfère celui-ci dans les autres cultures, il n'y a pas de prolifération cellulaire.

