

MODÈLES IMMUNODÉFICIENTS



BRGS A2DR2

- **Dénomination** : C-*Rag2^{tm1Fwa}-IL2rg^{tm1Cgn}-Sirpα^{NOD}-Tg HLA-A*02-HHD Classe I* et HLA-DRB1*15 *Classe II*
- **Type** : Souris consanguine mutante, *Mus musculus*, OGM
- **Provenance** : Institut Pasteur, 2022
- **Couleur et génotype associé** : Souris albinos
- Utilisation réservée aux utilisateurs du secteur privé

PRESENTATION DU MODÈLE

La souche BRGS A2DR2 ou Balb/c *Rag2* γ c *Sirpα* est un modèle consanguin (fonds mixte Balb/c) sévèrement immunodéficient présentant 2 mutations génétiques Knock Out (KO) et un gène du fonds NOD : le gène γ c KO (Interleukin 2 receptor gamma chaîne, *IL2rg^{tm1}*), le gène *Rag2* KO (gène d'activation de la recombinaison 2) et le gène de la molécule *Sirpα* du fonds NOD. Ce modèle porte également deux transgènes exprimant les molécules HLA A2 et DR2.

La mutation *Rag2^{tm1}* communément appelée *Rag2* est une mutation KO du gène codant pour l'enzyme recombinaison 2, qui joue un rôle primordial dans la génération des récepteurs T et B des lymphocytes. Cette absence bloque le développement des lymphocytes T et B et induit une déficience immunitaire. Les souris homozygotes pour cette mutation présentent une absence totale de cellules lymphocytaires T et B en périphérie.

La mutation *IL2rg^{tm1}* appelée γ c est une mutation KO du gène codant pour la chaîne γ c commune (notamment) aux interleukines (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 et IL-15). Ce gène est nécessaire pour la différenciation et la fonction de nombreuses cellules hématopoïétiques avec une incidence complète sur le développement des cellules Natural Killer (NK).

La combinaison de ces deux mutations *Rag2^{tm1}-IL2rg^{tm1}*, induit une immunodéficiência sévère marquée par l'absence des cellules lymphocytaires T, B et NK.

La souche BRGS A2DR2 porte le gène *Sirpα* du fonds NOD présentant un polymorphisme particulier. L'expression de la protéine *Sirpα* (allèles fonds NOD) à la surface des macrophages de la moelle osseuse, permet une liaison de haute affinité avec les marqueurs CD47 des cellules hématopoïétiques humaines. Cette liaison induit un signal « don't eat me » bloquant les macrophages

murins et empêchant la phagocytose des cellules humaines greffées.

Il s'agit d'une particularité notable du fonds NOD (transféré par backcross sur les mutants BRG) qui lui confère un avantage à la transplantation humaine et à la xéno greffe en général.

La souche BRGS A2DR2 porte les transgènes exprimant les molécules de HLA humaines A2 et DR2.

La souche BRGS A2DR2 se différencie des modèles NXG (NOD-*Prkdc^{scid}-IL2rg^{tm1}/Rj*) par l'absence de la mutation *Prkdc^{scid}*, communément appelée « SCID » pour « Severe Combined Immunodeficiency ». La souche BRGS A2DR2 est ainsi plus résistante à l'irradiation, à l'injection de produits génotoxiques et au stress, conférant une utilisation plus stable et durable à la xéno greffe en général. Le modèle présente et des ganglions périphériques, permettant une optimisation des xéno greffes du système immunitaire humain, en augmentant la qualité, quantité et fonctionnalité des acteurs de l'immunité.

JANVIER LABS a obtenu la souche BRGS A2DR2 sous licence auprès de l'Institut Pasteur. L'utilisation de cette souche est réservée aux utilisateurs du secteur privé.

Les animaux sont élevés de manière à maintenir à la fois le fonds génétique et les mutations d'intérêt sous leurs formes homozygotes.

La souche BRGS A2DR2 est élevée en mode consanguin et le phénotype est contrôlé conformément à la JANVIER LABS GENETIC POLICY®.

Principaux domaines de recherche et applications

✕ Oncologie

- Etudes d'implantations tumorales
- Etudes sur la thérapie génique
- Etudes de thérapies cancéreuses
- Etude sur les cellules hématopoïétiques cancéreuses
- Etudes orientées sur le cancer du sein
- Modèle humanisé pour l'évaluation d'une thérapie génique anticancéreuse

✕ Immunologie et immunothérapie

✕ Implantation de cellules humaines en modèle murin

✕ Implantation de cellules hématopoïétiques en modèle murin

✕ Transplantations et greffes

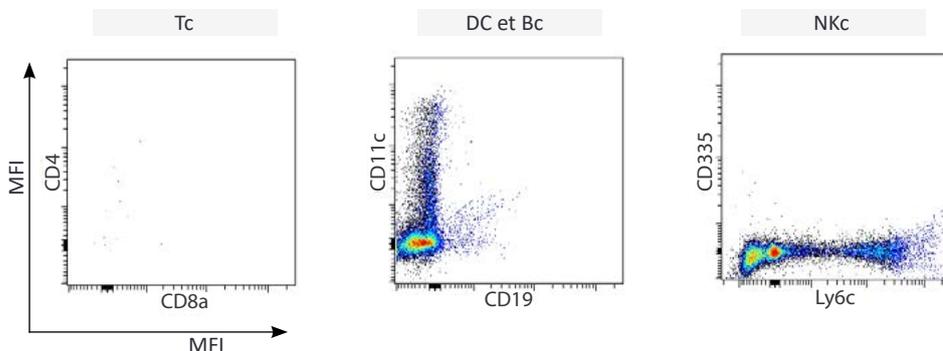
- Xéno greffes de tumeurs primaires humaines d'origine pulmonaire
- Etude des cellules souches d'origine épithéliale
- Étudier le rejet d'allogreffe après une transplantation pancréatique contre pour le diabète de type I

✕ Infectiologie

- Modèles humanisés pour l'étude des maladies infectieuses spécifiques à l'homme comme le VIH, le virus d'EpsteinBarr, le paludisme et la dengue.

MODÈLES IMMUNODÉFICIENTS

ANALYSE EN CYTOMÉTRIE EN FLUX, RATE



Analyse représentative par cytométrie de flux confirmant l'absence de cellules B positives (CD19), de cellules T positives (CD4 et CD8) et de cellules NK (CD335) dans le sang périphérique des souris BRGS A2DR2.

Les intensités de fluorescence (MFI) représentent les expressions spécifiques des clusters de différenciations.

On obtient des nuages de points, chaque point représentant une cellule.

On peut alors déterminer les cellules négatives/simples et positives/doubles positives dans chaque population (définie par "Cluster de différenciation"), en fixant ou non les deux anticorps portant les fluorochromes.



CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE

Ce modèle a été entièrement caractérisé. Les paramètres immunologiques et hématologiques ont été analysés par le Centre Immunophénomique (Ciphe) de Marseille en France.

Fonds génétique	Reproduction/croisement	Pelage	Lymph T	Lymph B	Echappement	Cellules NK	Cellules dendritiques
BALB/c	Consanguin	Albinos	Absents	Absents	-	Absentes	Dysfonctionnelles
Macrophages	Complément	Tolérance à l'irradiation	Durée de vie	Immunité humorale	Emergence de lymphôme	Gènes d'intérêt	
Normaux	Normal	Haute	89 semaines	Absente	Indéfinie	<i>RAG2 IL2rg</i>	

ORIGINE/CRÉATION

Les souris congéniques Balb/c Rag2 γ c Sirp α ont été générées à l'Institut Pasteur, puis croisées (speed congenic) avec un fond BALB/c(n) pendant six générations.

La souche BRGS A2DR2 porte les transgènes exprimant les molécules HLA humaines A2 et DR2.

Des souris transgéniques HLA-A*02-HHD classe I et HLA-DRB1*15 classe II (fond B6), ont ensuite été croisées (>10 générations) avec la souche Balb/c Rag2 γ c Sirp α (BRGS), pour créer la souche BRGS A2DR2.

OBSERVATIONS PHÉNOTYPIQUES/PHYSIOLOGIQUES :

Les souris BRGS A2DR2 sont viables, fertiles, de taille normale et ne présentent aucune anomalie physique ou comportementale évidente. L'examen histologique des tissus lymphoïdes révèle l'absence de cellules lymphoïdes et de certaines structures kystiques dans le thymus, une absence de follicules dans la rate, et une cellularité nettement réduite des ganglions lymphatiques.

Les souris BRGS A2DR2 sont déficientes en lymphocytes matures, et les immunoglobulines Ig sériques ne sont pas détectables.

Ces souris sont résistantes au développement de lymphomes, même après traitement par des radiations sublétales. Il a été démontré que ces souris mutantes supportent facilement la transplantation de cellules souches hématopoïétiques CD34+ humaines. Ce modèle offre une longue durée de vie adaptée aux études utilisant des stratégies de xénotransplantation.

RÉFÉRENCE/PUBLICATION

Accelerated thymopoiesis and improved T-cell responses in HLA-A2/-DR2 transgenic BRGS-based human immune system mice

Guillemette Masse-Ranson^{1,2,3}, Mathilde Duss'eaux^{1,2}, Oriane Fiquet^{1,2}, Sylvie Darche^{1,2}, Maud Boussand^{1,2}, Yan Li^{1,2}, Silvia Lopez-Lastra^{1,2}, Nicolas Legrand⁴, Erwan Corcuff⁴, Antoine Toubert^{5,6}, Mireille Centlivre³, Timothee Bruel^{3,7,8}, Hergen Spits⁹, Olivier Schwartz^{3,7,8}, Yves L'evy^{3,10,11}, Helene Strick-Marchand^{1,2} and James P. Di Santo^{1,2}

> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30888052/>