

AP # 10 : L'IMMUNITÉ INNÉE

Situation
initiale



Vous savez du collège (Cycle 4) que l'organisme pluricellulaire humain possède un système de défense non spécifique apparaissant rapidement et correspondant à des globules blancs phagocytes avant un éventuel relais de protection supplémentaire spécifique au bout de 4 jours en mobilisant d'autres, les lymphocytes.

Problème
posé



COMMENT SAVONS-NOUS QUE L'IMMUNITÉ PREMIÈRE, RAPIDE, INNÉE EST AUSSI APPARUE EN PREMIER AU COURS DE L'HISTOIRE DU VIVANT, ET QUELS EN SONT LES ACTEURS ET MÉCANISMES ?

Consigne



Vous caractériserez et montrerez en quoi les mécanismes de l'immunité innée sont partagés par les Pluricellulaires et constituent une première ligne de défense qui peut être efficace contre les antigènes des microbes étrangers à l'organisme.



Travail en
ateliers

ATELIER ET TRAVAIL DEMANDÉ	COMPÉTENCES	INDICATEURS & CRITERES DE REUSSITE	NIVEAUX DE MAÎTRISE	POINTS
ACTIVITÉ- ATELIER 1 IDENTIFIER L'EXISTENCE D'UNE IMMUNITÉ INNÉE CHEZ L'HUÎTRE	C 5 : concevoir une stratégie de résolution	la stratégie permet bien de vérifier que l'huître dispose de mécanismes de l'immunité innée		
	C 11 : mettre en oeuvre un protocole	le protocole fourni est bien respecté et la lame d'observation est soignée, correspond bien au 2 ^e liquide de la cavité palléale et est exploitable dans le sens du problème à résoudre, comporte les cellules attendues		
	C 14 : communiquer des résultats	les données obtenues apportent les informations utiles récoltées à la résolution de la situation-problème		
	C 12 : exploiter les résultats	l'exploitation vérifie bien que l'hypothèse que l'huître dispose de mécanismes de l'immunité innée est validée		
ACTIVITÉ-ATELIER 2 MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE DÉTECTION DE MOLÉCULES DU NON-SOI	C 11 : mettre en oeuvre un protocole	<ul style="list-style-type: none"> - RASTOP est bien utilisé dans le sens du problème à résoudre (montrer que la détection d'une infection met en jeu des protéines membranaires de globules blancs par une RIA en empêchant la propagation du virus, capables de se fixer sur les molécules étrangères du Non-Soi) - idem avec ANAGENE : démontrez que les récepteurs de l'immunité innée sont communs à des organismes de groupes très différents depuis très longtemps 		
	C 15 : communiquer par un mode de représentation adapté	<ul style="list-style-type: none"> - l'image choisie sur Rastop est correctement renseignée : titrée, légendée dans le sens du problème à traiter - les résultats de votre réponse sous la forme de votre choix sont judicieux, pertinents, exacts 		
	C 14 : communiquer une démarche argumentée explicative	<ul style="list-style-type: none"> - vous avez bien montrer que la reconnaissance des éléments étrangers par les leucocytes innés se fait par reconnaissance, moléculaire membranaire de molécules communes à de nombreux micro-organismes - en s'appuyant sur l'ensemble des résultats du TP, vous avez correctement montré que les mécanismes innés sont communs à tous les Pluricellulaires. 		



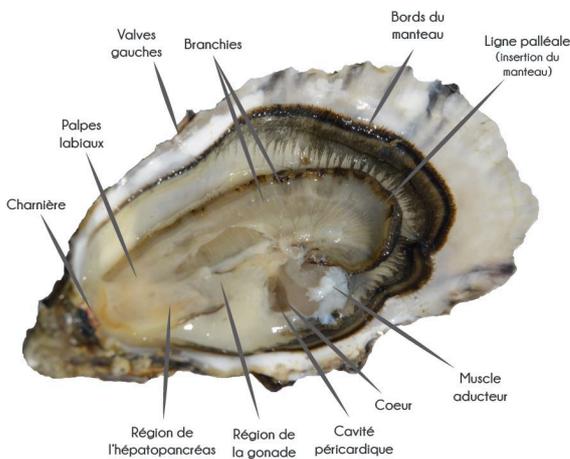
- huître ouverte dont le système immunitaire (SI) a été stimulé par injection d'éléments étrangers
- lame à concavité + lamelles
- MO et caméra numérique
- corpus documentaire
- fichiers RASTOP (TLR3-Arn.pdb) et ANAGENE fichier [TLR4.edi](#)
- logiciels RASTOP dans vos programmes de PC + fiche technique

ATELIER 1 : LA PHAGOCYTOSE : EXEMPLE DE L'HUÎTRE



[HTTPS://WWW.YOUTUBE.COM/WATCH?V=-G7NWF0wXV8](https://www.youtube.com/watch?v=-G7NWF0wXV8)

L'anatomie de l'huître



Manipulations préalables nécessaires à l'activation du système immunitaire de l'huître

- Coloration des levures du boulanger au bleu de méthylène. Cette coloration ne permet pas d'obtenir des levures bien colorées mais de mieux les repérer au microscope (paroi mieux contrastée).
- Injection des levures préalablement colorée à l'aide d'une seringue entre les deux valves, sans ouvrir l'animal et attendre 30 minutes.
- Ouvrir l'huître quelques minutes avant la séance et jeter le premier liquide de la cavité palléale. Un autre liquide se forme.

Manipulations pour réaliser la lame d'observation microscopique

- **prélever** directement le liquide de la cavité palléale à l'aide d'une seringue et **déposer** une goutte de ce liquide sur la lame fournie
- **attendre** deux à trois minutes que les cellules se déposent au fond de la lame
- **recouvrir** d'une lamelle et **rechercher des hémocytes** au microscope optique

- Attention :**
- Prendre soin de ne pas aspirer d'impuretés en prélevant le liquide de la cavité palléale
 - Bien attendre que les cellules se déposent au fond de la lame à concavité
 - Ne pas confondre les hémocytes avec les cellules reproductrices (ovules ou spermatozoïdes) qui peuvent être présentes

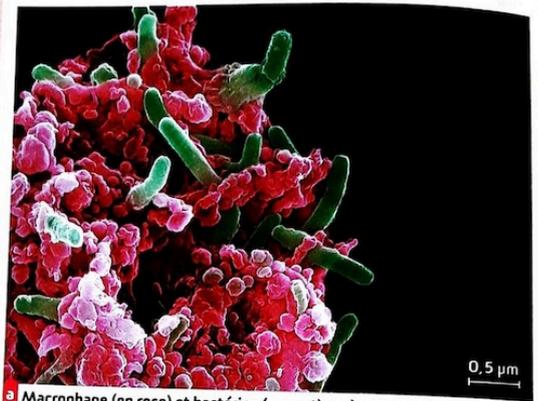
le prélèvement de l'hémolymphe (2^e liquide) se fait se fait directement dans la cavité palléale

on appelle pseudopodes les prolongements cytoplasmiques des hémocytes

à droite : extrait du Nathan, TS

1 Sur le site de l'inflammation

- ▶ Afin de comprendre comment les cellules de l'immunité réagissent face à l'entrée d'un pathogène dans l'organisme, on réalise l'expérience suivante.
- ▶ Des monocytes sont isolés à partir de sang de souris puis traités chimiquement de façon à les transformer en macrophages. Ces derniers sont ensuite mis en présence de bactéries puis sont régulièrement prélevés et observés au microscope.
- ▶ L'ensemble des phénomènes observés constitue la phagocytose.



▶ **Macrophage (en rose) et bactéries (en vert) après 15 min de culture** (MEB, image colorisée).

Le système immunitaire des bivalves : l'huître

DOCUMENT 1 : Les différentes populations d'hémocytes de *Crassostrea gigas* et leurs principales caractéristiques

<i>Crassostrea gigas</i>				
Hemocyte type	Granulocyte		Agranulocyte	Vesicular cell
Subpopulation	BG	Intermix		
Proportion	25%	Rare	64%	Rare
Nucleus	Eccentric	ND	Central, eccentric	ND
Chromatin	Large clumps	ND	Stripped	ND
Cytoplasm				
Ectoplasm	Prominent	Unobvious	None	Prominent
Pseudopod	Prominent	Prominent	Long	Unobvious
N/C ratio	Low	ND	High	ND
Organelles	G, M, V	ND	G, M, V, rER	ND
Granules (Gr)	Basophilic	Eosinophilic and basophilic	Lake	Lake
Tinctures	Deep blue	Pink and blue		
EM	Electron-lucent	ND		
Size	0.4~0.9 µm			
Shape	Round, ovoid			

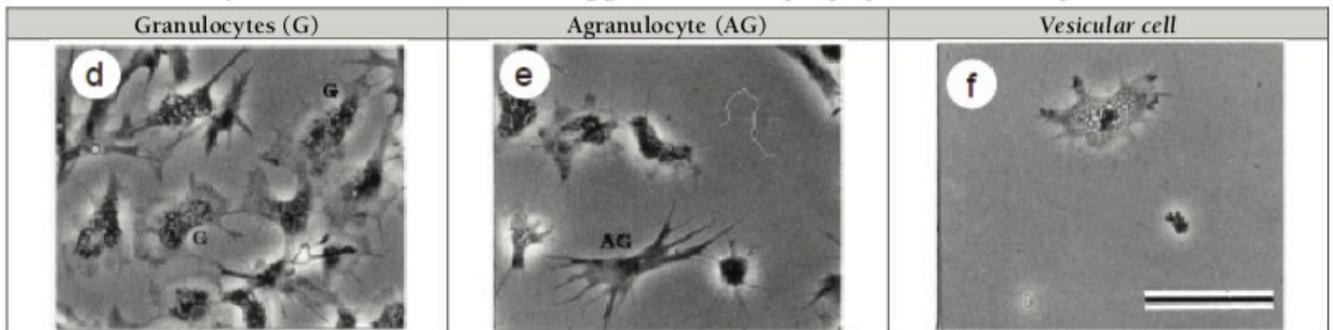
LEG, large eosinophilic granulocyte; SEG, small eosinophilic granulocyte; H, hyalinocyte; BLC, blast-like cell; EG, eosinophilic granulocyte; BG, basophilic granulocyte; Intermixed, hemocyte with eosinophilic and basophilic granules; Gr, granule; G, Golgi complex; M, mitochondria; V, vesicle; rER, rough endoplasmic reticulum; ND, not detected.

DOCUMENT 3 : Hémocyte d'huître (x400)



Videos : *Preparing the Hemolymph – Hemocytes in Action*
http://ww2.mdsg.tumd.edu/interactive_lessons/oysters/oysblood.htm

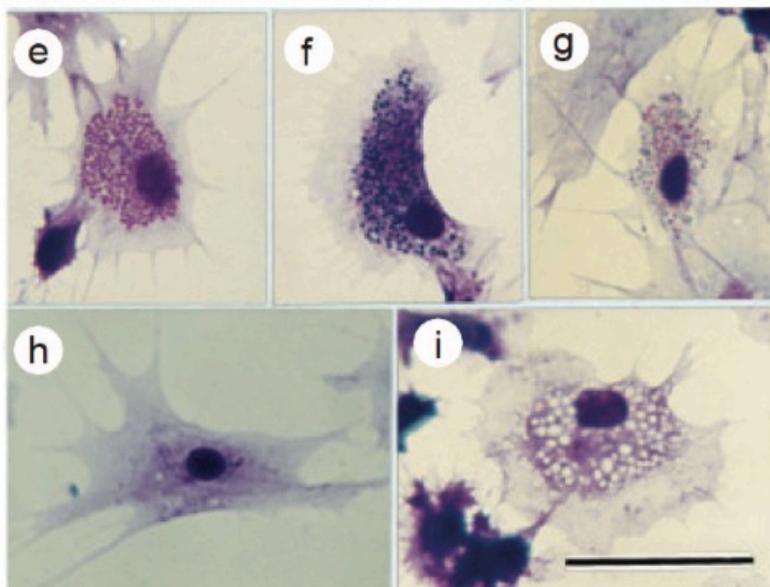
DOCUMENT 2 : Hémocytes vivants d'huître (*Crassostrea gigas*) au microscope optique à contraste de phase



Su-Jang Chang *et al.* (2005), « Morphological Characterization via Light and Electron Microscopy of the Hemocytes of two Cultured Bivalves : A Comparison Study between the Hard Clam (*Meretrix lusoria*) and Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) », *Zoological Studies*, vol. 44, n°1, p. 144-153.

Barre d'échelle doc C = 50 µm (toutes les photos sont à la même échelle)

DOCUMENT 4 : Hémocytes d'huître (*Crassostrea gigas*) au microscope optique après coloration au May-Grünwald Giemsa

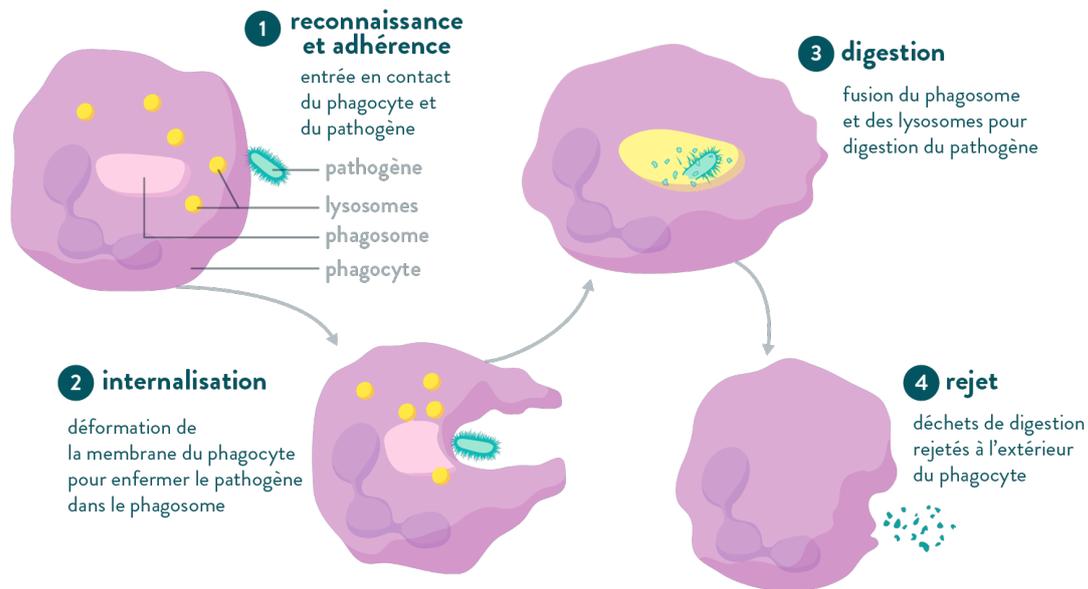


Légende :

- **Granulocytes :**
- (e) *Eosinophilic granulocyte*
- (f) *basophile granulocyte*
- (g) *granulocyte avec des granules éosinophiles et basophililes*
- **Agranulocytes**
- (h) *agranulocyte*
- (i) *vesicular cell*

Barre d'échelle = 20 µm
 Toutes les photos sont à la même échelle

S.-J. Chang *et al.*, *op. cit.*



© SCHOOLMOUV

la digestion lysosomale est un travail enzymatique à pH acide.

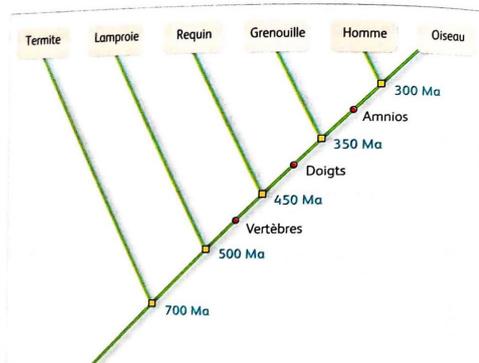
ATELIER 2 : MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA RIA

Au cours de la RIA, l'activation de différentes populations de cellules de l'immunité innée nécessite de détecter les éléments étrangers du Non-Soi. **On veut comprendre les mécanismes moléculaires de détection d'une infection provoquant une réaction innée et montrer que ces mécanismes sont communs à tous les Pluricellulaires.**

Les Toll-Like Récepteurs 3 (TLR 3) reconnaissent les ARN double-brins (dsRNAs), une signature moléculaire caractéristique de nombreux Virus., déclenchant une RIA empêchant la propagation virale. Les domaines extracellulaires de LTR3 se dimérisent (s'associent par 2) au contact d'oligonucléotides (petits ribonucléotides) de 40 à 50 paires de bases (pb).

1 Les mécanismes de l'immunité dans le monde vivant

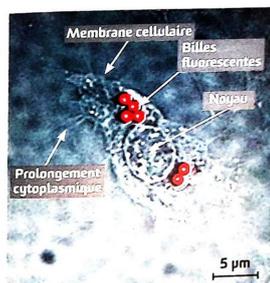
On identifie la présence de différents éléments de l'immunité innée et de l'immunité adaptative chez plusieurs êtres vivants. Ces résultats, mis en parallèle avec l'arbre phylogénétique du vivant, permettent de dater et de déterminer les conditions d'émergence du système immunitaire adaptatif.



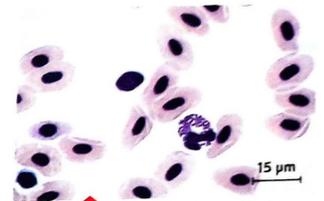
Arbre phylogénétique de quelques taxons. Les caractères dérivés ainsi que leur date d'apparition supposée sont indiqués pour quelques nœuds.

Nous avons recherché des lymphocytes T chez le Requin à corne. Pour prouver l'existence de ces cellules, il nous fallait identifier leurs récepteurs d'antigènes. Nous avons échoué jusqu'au jour où nous avons utilisé la méthode d'amplification des gènes, ou PCR, une technique qui produit des millions de copies d'un petit fragment d'ADN. Récemment, nous avons isolé, chez la Raie, les quatre classes de récepteurs d'antigènes des lymphocytes T de mammifères, et nous pensons qu'elles existent aussi chez le Requin.

Extrait de « Les défenses de l'organisme », Pour la Science, Octobre 2000.



Phagocytose de billes fluorescentes de latex par des cellules immunitaires de termites (microscopie à fluorescence). Aucun lymphocyte n'a été mis en évidence chez cet animal.



Lymphocyte et granulocyte dans le sang d'une grenouille verte (MO).

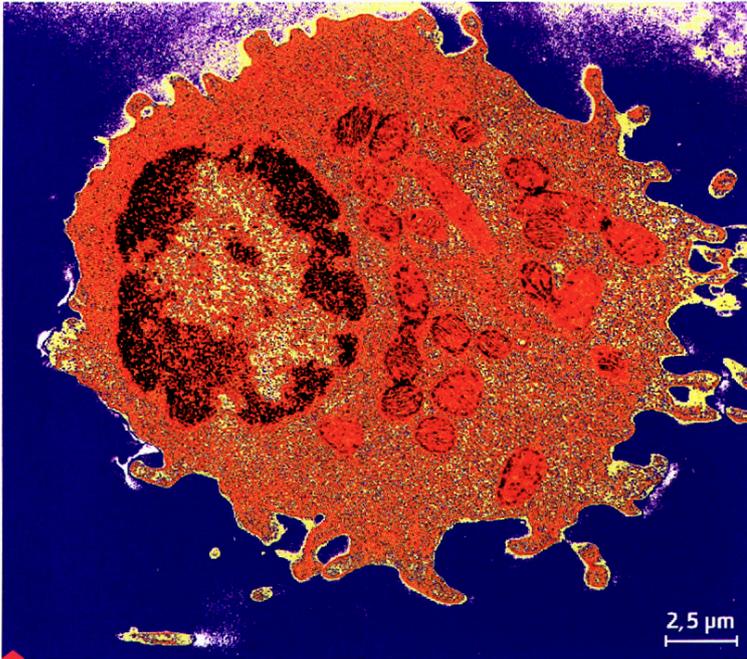


Trois lymphocytes dans le sang d'une poule (MO). Des phagocytes y sont fréquemment observés.



Une lamproie, animal parasite. On y observe des cellules phagocytaires mais aucun vrai lymphocyte.

Chez l'humain et la Souris, les cellules de l'immunité innée sont caractérisées par leur capacité de phagocytose : on recherche chez d'autres organismes l'existence de cellules équivalentes.

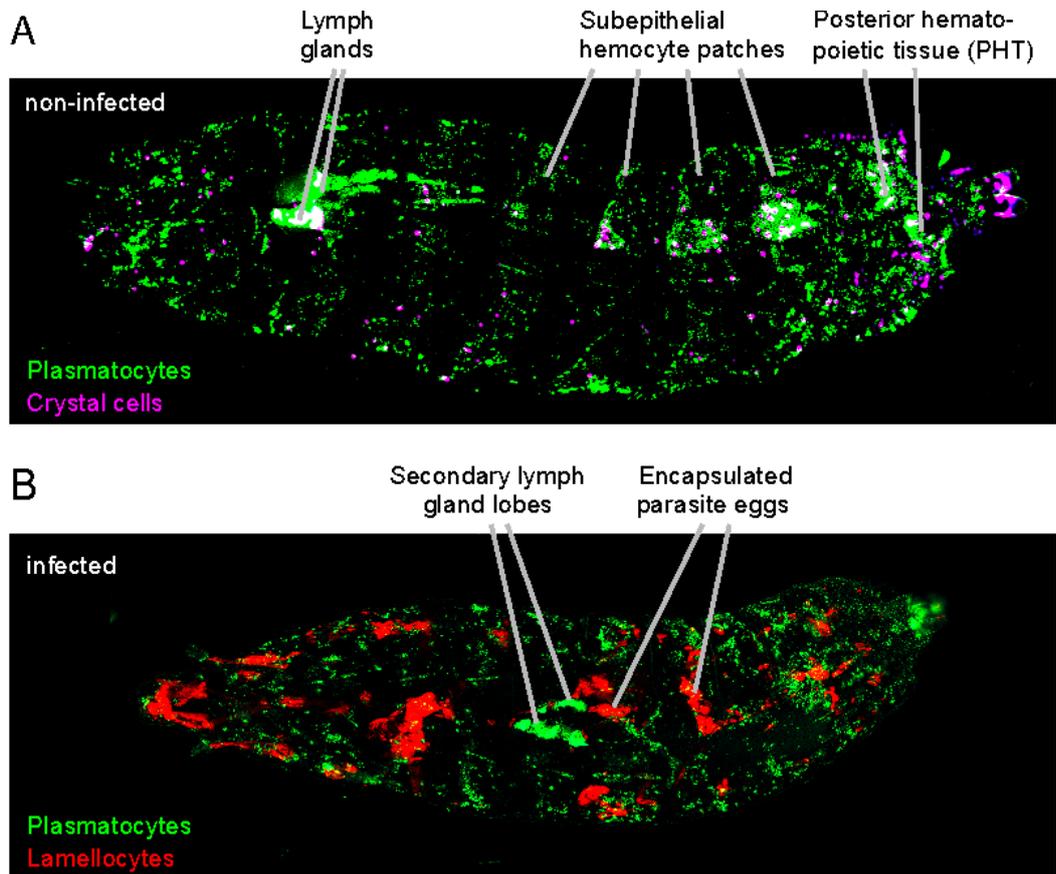


b Macrophage après 30 min de culture (MET, image colorisée).
Les vésicules digestives contenant les bactéries apparaissent en orange foncé.

a : chez la tortue, macrophage présentant des prolongements membranaires pouvant faciliter la reconnaissance et phagocytose (MET, image colorisée), après 30 min de culture, les vésicules digestives contenant les bactéries sont orange foncé

Après 1 h de culture, les bactéries ne sont plus détectables dans le cytoplasme des macrophages : elles ont été digérées.

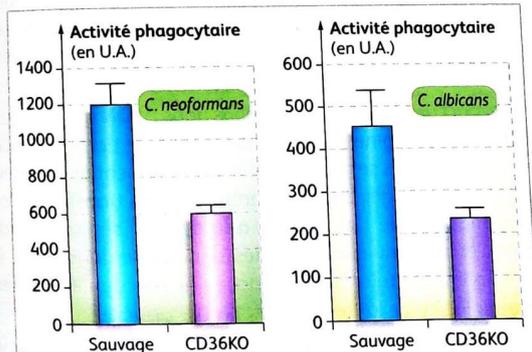
b : ci-dessous : hémocyte d'une larve de drosophile (Microscope à Fluorescence) : les hémocyte en vert sont spécialisées dans la phagocytose de bactéries chez les insectes.



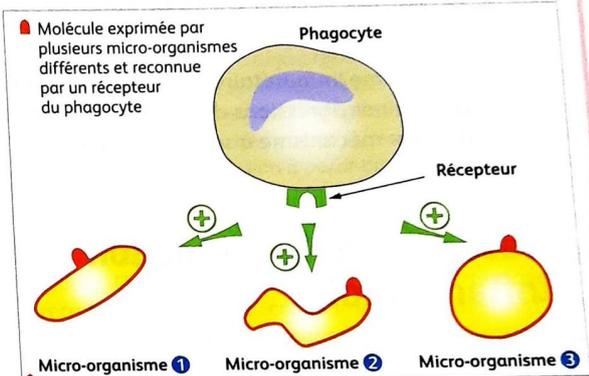
c : phagocytose par une amibe, animal unicellulaire (M0) : [HTTPS://WWW.YOUTUBE.COM/WATCH?V=AWITGLVILC](https://www.youtube.com/watch?v=AWITGLVILC)

2 Immunité innée et diversité des pathogènes

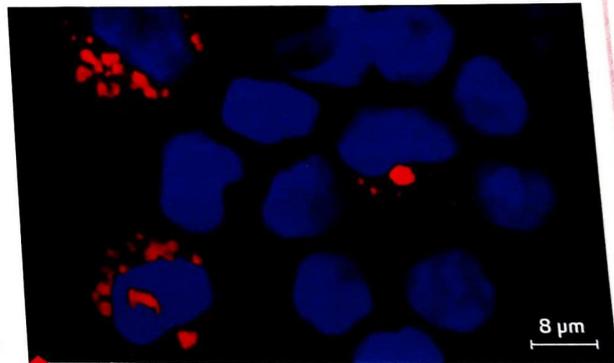
- ▶ Un organisme est susceptible de répondre au cours de sa vie à une immense diversité de pathogènes. Cela est rendu possible grâce aux macrophages qui possèdent des récepteurs capables de reconnaître des molécules présentes à la surface de nombreux micro-organismes.
- ▶ On cherche à identifier précisément les mécanismes moléculaires de reconnaissance des pathogènes par les cellules de l'immunité innée.
- ▶ On s'intéresse à une souche de souris CD36KO particulièrement sensible aux infections par les champignons. On identifie chez ces souris l'absence d'un récepteur membranaire à une molécule appelée **bêta-glucane**. On évalue l'activité phagocytaire de macrophages de souris sauvages et de souris CD36KO en présence de deux champignons : *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*.



b Activité phagocytaire de macrophages en contact avec deux champignons.



a Principe de la reconnaissance entre un récepteur et une molécule étrangère.



c Récepteurs aux pathogènes (en rouge) sur une cellule de l'immunité innée (en bleu) (microscopie à fluorescence).