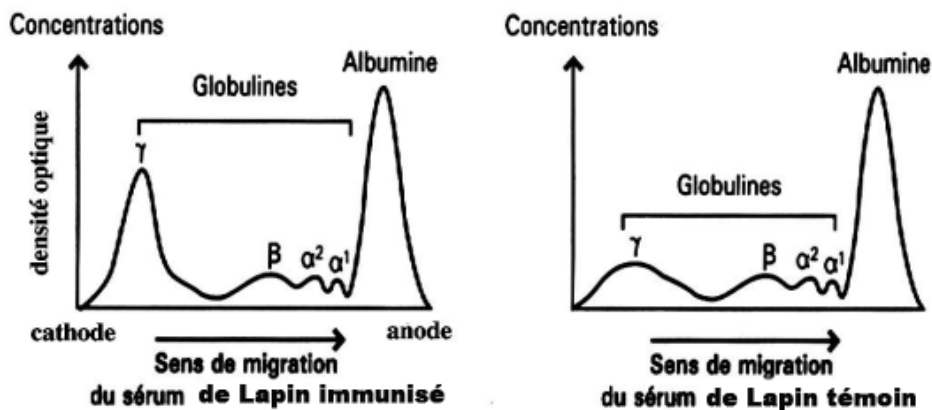


Activité D2-2 : La spécificité anticorps-antigène - Test d'Ouchterlony

Situation initiale : On compare la composition du sérum (phase liquide du sang débarrassée de ses cellules et des protéines de coagulation) d'un lapin témoin et d'un lapin ayant reçu 8 jours auparavant une molécule étrangère : **l'albumine de sérum de bœuf BSA**.

L'albumine BSA est une molécule présente dans le sang et qui sert à transporter certaines molécules (hormones, nutriments ...). Chez les bovins, une autre albumine est aussi présente dans le lait : la lactalbumine.

L'électrophorèse permet de visualiser les principales protéines du sérum des deux lapins testés : l'albumine et les globulines.



Remarque :
Les anticorps sont des protéines appartenant à la classe des **gammaglobulines**.

Problème : les anticorps présents dans le sérum du Lapin immunisé sont ils spécifiques d'un antigène donné ?

3 Hypothèses sont à tester :

- ils reconnaissent les molécules d'albumine de toutes les espèces
- ils reconnaissent les albumines de boeuf uniquement (BSA et lactalbumine)
- ils reconnaissent les albumines de sérum de bœuf uniquement (BSA)

On dispose :

- de sérum du Lapin immunisé contenant de nombreux anticorps (tube rouge)
- de sérum de bœuf dans sa totalité (tube jaune)
- d'albumine de sérum de bœuf : BSA (tube blanc)
- d'albumine de lait de vache : lactalbumine (tube vert)
- d'albumine de sérum de chèvre (tube rose)
- d'albumine de sérum de cheval (tube bleu)

Bilan à rendre en fin de TP :

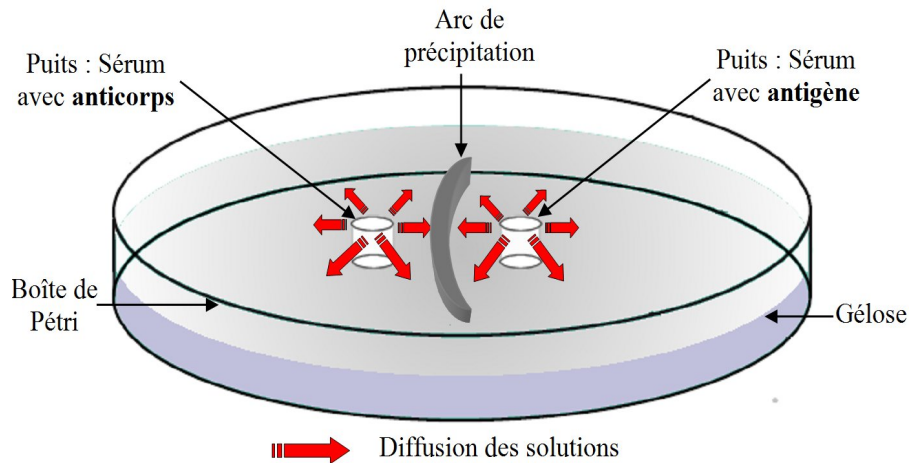
Pour chaque hypothèse, proposez les conséquences vérifiables expérimentalement

Schéma des résultats expérimentaux ou photographie légendée du test d'Ouchterlony

Interprétation des résultats et conclusion.

Principe du Test d'Ouchterlony

Les anticorps et les antigènes possèdent la propriété de diffuser dans la gélose (gel d'agarose). Lorsque les molécules d'anticorps rencontrent les molécules d'antigènes, la liaison antigène-anticorps conduit à la précipitation des complexes immuns dans la zone de rencontre.

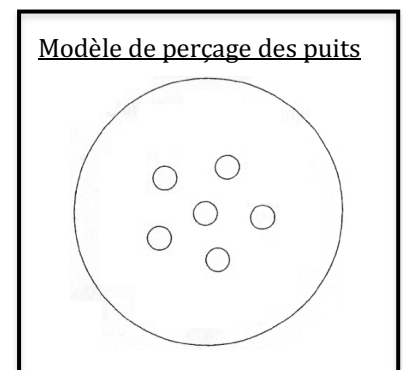
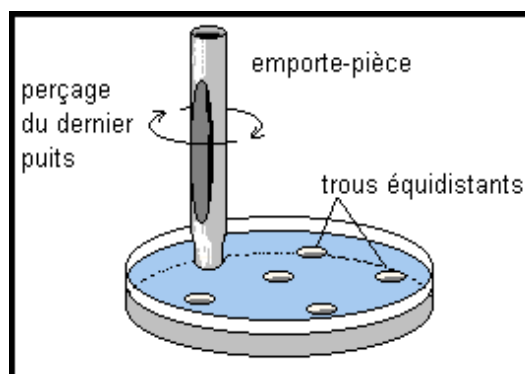


A. Préparation de la gélose

- Pesez **0,2g d'Agar** prélevé à l'aide de la spatule
- Versez **10 mL d'eau distillée** puis les 0,2g d'Agar dans le bécher : dissoudre en remuant avec la spatule
- Chauffez le mélange en remuant avec la spatule jusqu'à ce qu'il devienne limpide (et arrêtez au tout début de l'ébullition)
- Retirez le bécher à l'aide d'une pince en bois
- Pipetez **5 mL** de gel d'Agar chaud et versez dans une boîte de Pétri vide
- Egalisez le niveau et supprimez rapidement les bulles
- Ne plus remuer les boîtes pendant 10 minutes le temps que le gel se solidifie

B. Perçage des puits

A l'aide d'un emporte-pièce, percez dans la gélose des puits disposés à équidistance les uns des autres. Éliminez les disques de gélose avec un cure-dent.



C. Dépôt des substances à tester

Avant de commencer : Proposez un schéma pour l'emplacement des différents produits : **appelez votre professeur pour vérification**.

- A l'aide de la micropipette réglée sur **10 ou 15 µL** (à tester avec le premier puits), remplissez les puits avec les substances à tester en changeant de cône à chaque fois.
- Il ne doit pas y avoir de bulle ni aucun débordement : versez lentement en surveillant le remplissage.
- Notez bien le contenu de vos puits pour les interprétations !!
- Laissez migrer jusqu'à obtention éventuelle d'arcs de précipitation.