

Activité 1

Antoine a une forte fièvre depuis 2 jours. Il a aussi des courbatures, des céphalées (maux de tête) et est cloué au lit par une fatigue intense. Sa réponse immunitaire adaptative est active. Son médecin préconise une analyse de ses anticorps pour savoir par quel microorganisme pathogène il est contaminé.

Cette analyse se fait par un test d'immunodiffusion nommé « test d'Ouchterlony ».

On cherche à savoir, par le test d'Ouchterlony, vers quel antigène sont dirigés les anticorps d'Antoine.

Documents ressources

Document 1 : Production des anticorps

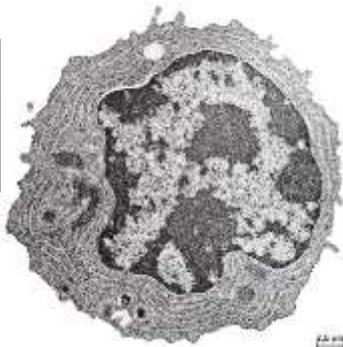
circulants

Les anticorps circulants ne sont produits qu'après rencontre des lymphocytes B avec un antigène présent dans l'organisme.

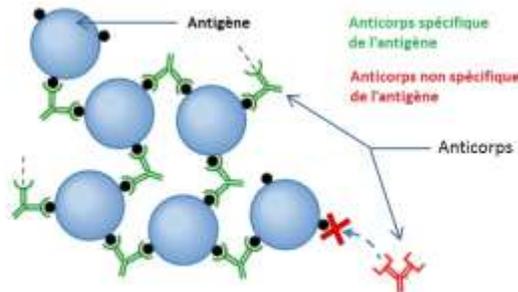
Il y a alors sélection et activation des lymphocytes B spécifiques de cet antigène.

Ils se différencient ensuite en plasmocytes qui vont produire et libérer les anticorps circulants dans le sang et la lymphe.

Lymphocyte B différencié = plasmocyte



Les anticorps vont ensuite se fixer sur les antigènes dont ils sont spécifiques et le neutraliser en formant un complexe immun.



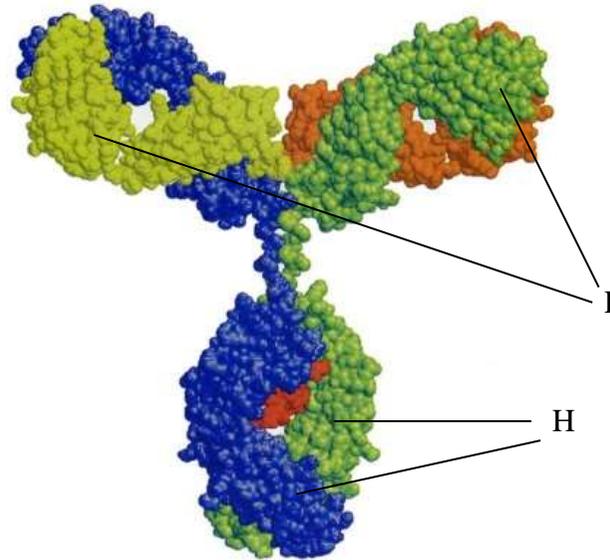
La formation du complexe immun à partir des anticorps sériques spécifiques de l'antigène

Document 2 : Structure d'un anticorps

Un anticorps est une grosse protéine appelée immunoglobuline.

Ils ont une forme de Y en 3D. Ils sont composés de 4 chaînes polypeptidiques identiques 2 à 2 :

- 2 chaînes lourdes (H)
- 2 chaînes légères (L)



Chaque anticorps possède :

- 2 sites de fixation à l'antigène au niveau des extrémités du Y
- 1 site qui est reconnu par les phagocytes

Document 3 : Principe du test d'Ouchterlony

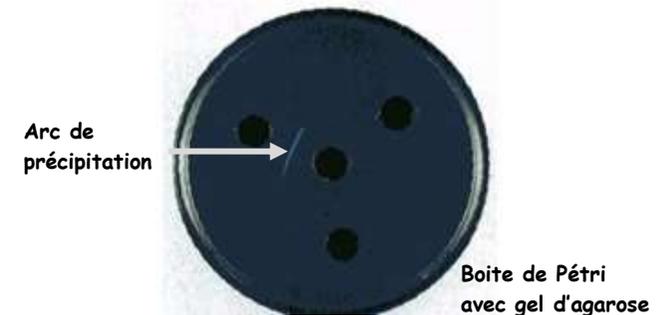
Le test d'Ouchterlony est une méthode où différentes solutions sont déposées dans différents puits équidistants creusés dans un gel.

Les molécules présentes dans les puits diffusent ensuite de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Deux auréoles de diffusion entrent en contact lorsqu'elles ont suffisamment progressé. Cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux solutions.

Quand il y a réaction entre les solutions, il se forme un arc de précipitation visible à l'œil nu. Celui-ci est dû à l'interaction entre de les anticorps et leurs antigènes, entraînant la formation d'un complexe immun.

Le test d'Ouchterlony peut être utilisé :

- soit pour chercher la présence d'anticorps spécifiques d'un antigène dans le sérum d'un individu
- soit pour chercher un antigène précis dans un liquide biologique.



Arc de précipitation

Boîte de Pétri avec gel d'agarose

Activités proposées

Capacités travaillées

1- Vous allez réaliser un test d'Ouchterlony afin de déterminer vers quel(s) antigène(s) sont dirigés les anticorps d'Antoine.

A partir des ressources et du matériel à disposition, déterminer la position des différentes solutions et placer-les sur le schéma ci-dessous.

Appeler le professeur pour vérifier votre proposition

2- Réaliser les étapes du protocole proposé.

Appeler le professeur pour vérification des résultats

3- Représenter sur la boîte ci-dessous le résultat obtenu.

Communiquer dans les cases ci-dessous vos résultats sous la forme de 2 schémas : un expliquant au niveau moléculaire la formation d'un arc de précipitation et un expliquant l'absence d'un arc. Vous utiliserez les modèles ci-dessous

Appeler le professeur pour vérification

4- Préciser vers quels antigènes sont dirigés les anticorps d'Antoine.

Concevoir une stratégie de résolution

Suivre rigoureusement les étapes d'un protocole

Respecter les consignes de sécurité

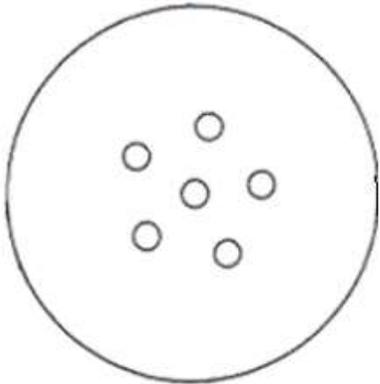
Communiquer sous forme de schéma en respectant les critères de communication (titre, légendes, couleurs si besoin....)

Saisir des informations et les interpréter

Schéma de la position des produits et des résultats

Modèle de l'anticorps d'Antoine pour la schématisation

Modèle des antigènes pour la schématisation



--	--

Matériel et protocole d'utilisation du matériel

Afin de déterminer par quel antigène a été contaminé Antoine, suivre les étapes du protocole suivant :

Matériel :

- 1 boîte de Pétri
- 6 solutions :
 - sérum d'Antoine contenant des anticorps liés à son infection (= S)
 - eau distillée (= E)
 - 4 solutions de protéines extraites de microorganismes divers (antigènes) :
 - protéines du virus du SIDA (= A),
 - protéines de la bactérie E.Coli (= D),
 - protéines du virus de la rougeole (= C),
 - protéines du virus de la grippe (= B)
- 1 gabarit de perçage
- 1 tube emporte-pièce
- 1 cure-dent
- 1 marqueur (pour marquer la boîte de Pétri)
- 1 micropipette avec un embout pour chaque produit ou une pipette compte-goutte
- gants
- 1 lampe de bureau
- 1 petite feuille de papier noir.

I- Préparation d'un gel d'Agar à couler dans 1 boîte de Pétri pour test d'Ouchterlony

1. **Peser** dans la coupelle 0,1g d'Agar prélevés à l'aide de la spatule (ne pas oublier de faire le zéro = tare)
2. **Verser** 7mL de tampon puis l'Agar dans le bêcher et dissoudre soigneusement l'Agar avec la spatule
3. **Chauffer** le mélange en remuant à la spatule jusqu'à ce que le mélange devienne limpide et arrêter au tout début de l'ébullition.
4. **Retirer** à l'aide de la pince en bois et **verser** directement dans la boîte de Pétri sans se brûler
5. **Egaliser** le niveau et **supprimer** rapidement les bulles si nécessaire
6. **Ne pas remuer la boîte avant prise du gel d'Agar : environ 5 mn**
Appeler le professeur pour vérification

II- Préparation du test

1. **Creuser** les puits nécessaires dans le gel d'Agar d'une boîte de Pétri en utilisant le gabarit fourni pour répartir les puits nécessaires (attention, le nombre de puits n'est pas forcément adapté au cas présent).
2. **Utiliser** le cure-dent pour éliminer les disques de gélose si nécessaire.

III- Réalisation du test

1. **Marquer** sur le fond de la boîte de Pétri la disposition des produits à déposer dans les puits.
Appeler le professeur pour vérification
2. **Remplir** les puits : le produit, prélevé dans un tube avec un compte goutte propre, doit être déposé dans le puits approprié sans débordement ni bulles et sans endommager le gel d'agar. **Changer** la pipette à chaque solution.
3. Après 5 à 10 min, **observer** les résultats fournis sur fond noir et en éclairage rasant.

Appeler le professeur pour vérification et obtention éventuelle d'une boîte de résultats

Sécurité (logo et signification)

RAS

Précautions de la manipulation

RAS

Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)



Activité 2

On cherche maintenant à comprendre ce qui, dans l'organisation d'un anticorps, est à l'origine de sa spécificité vis-à-vis d'un antigène précis.

Activités proposées

1- Réaliser les étapes du protocole fourni sur le logiciel Rastop.

2- Sur votre impression, légender et titrer vos observations et indiquer sur l'anticorps complet où se fixe l'antigène.

3- Avec le logiciel ANAGENE, ouvrir les fichiers de molécules « IGG.edi » et « 2IGG1ind.edi » puis :

- comparer les 2 chaînes légères puis les 2 chaînes lourdes d'un même anticorps,

- comparer les 2 chaînes légères puis les 2 chaînes lourdes de deux anticorps d'un même individu, dirigés contre deux antigènes différents.

Appeler le professeur pour vérification

4- Décrire les résultats de vos comparaisons.

5- A partir du document ci-dessous et des résultats précédents, expliquer l'origine de la spécificité de la réaction antigène - anticorps.

En quoi la variabilité de la partie terminale des anticorps est importante et nécessaire pour l'organisme ?

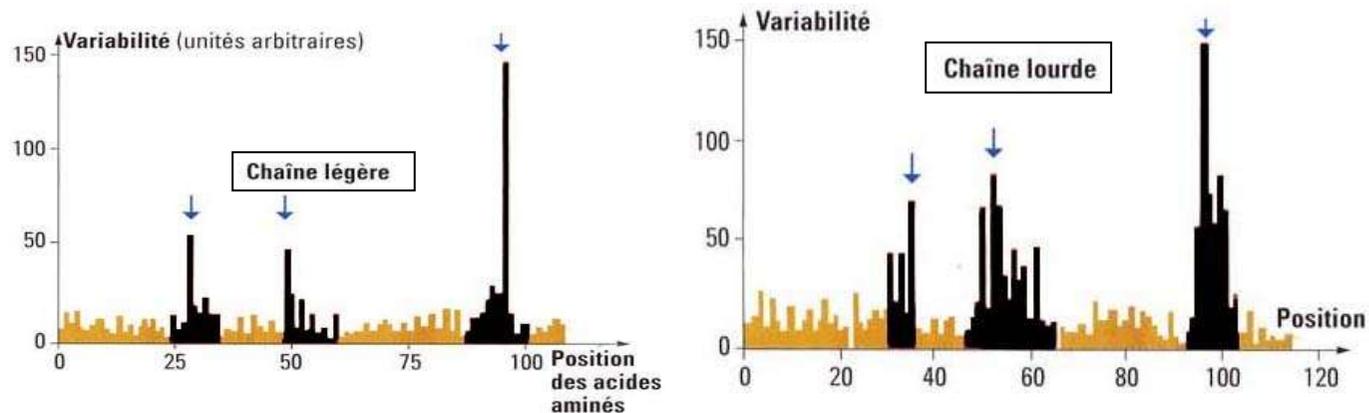
Utilisation maîtrisée du logiciel Rastop

Communiquer en respectant les règles

Utilisation maîtrisée du logiciel Anagène

Exploiter des résultats afin de répondre à un problème

> Document 1: La variabilité des chaînes lourdes et légères des anticorps



La position 0 correspond à l'extrémité de l'anticorps, côté fixation de l'antigène (bras du Y)

Les flèches indiquent les sites de fixation à l'Ag sur l'anticorps. La variabilité correspond au changement possible d'un acide aminé par un autre entre des anticorps différents.

Matériel et protocole d'utilisation du matériel

Afin de comprendre l'origine de la spécificité d'un anticorps vis-à-vis de son antigène, suivre les étapes du protocole suivant :

Matériel :

- logiciel ANAGENE et sa fiche technique
- logiciel RASTOP et sa fiche technique

Dans « Mes documents, Devoirs, vieillard »

- fichiers ANAGENE :

- séquences partielles des quatre chaînes d'un anticorps : « IGG.edi »
- séquences des 4 chaînes de 2 anticorps différents d'un individu : « 2IGG1ind.edi »

- fichiers RASTOP :

- anticorps complet : « IGG-TOTAL.pdb »
- fragment d'anticorps lié à l'antigène : « IGG-LYS.pdb »

En suivant les fiches techniques :

1- Dans le logiciel Rastop, afficher en mosaïque :

- le fichier « IGG-TOTAL.pdb »
- le fichier « IGG-LYS.pdb »

2- Sur l'anticorps complet :

- **mettre** les différentes chaînes constituant l'anticorps en boules et bâtonnets (2 chaînes lourdes, 2 chaînes légères)
- les **distinguer** en utilisant des couleurs différentes (vert, jaune, bleu clair, bleu foncé). **Noter** les couleurs utilisées.

3- Sur le fichier où l'anticorps est partiel :

- **colorer** les 2 chaînes de l'anticorps en utilisant les mêmes couleurs que précédemment,
- **mettre** en sphères rouges l'antigène (appelé « Chain Y »)

4- **Mettre** le fond blanc avant impression.

Appeler le professeur pour vérification et impression

Sécurité (logo et signification)

RAS

Précautions de la manipulation

RAS

Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)



