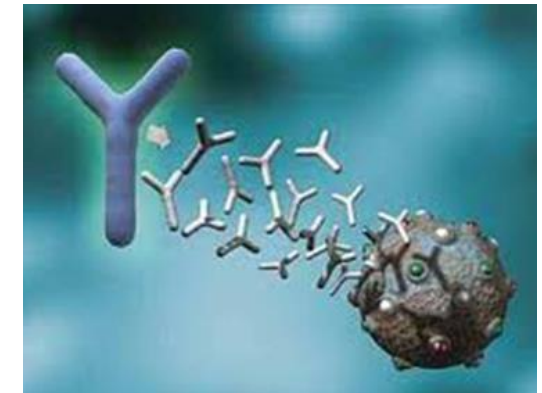




THEME 3B - Variation génétique et santé

TP3 - La réaction immunitaire acquise (RIA)



La réaction immunitaire acquise ou **adaptative** (RIA) est une réaction qui se met en place après la réaction inflammatoire. Elle est plus **lente** (au moins 3 à 5 jours). Elle nécessite un **apprentissage** basé sur la **reconnaissance des corps étrangers** (non-soi) et de leurs **antigènes**. Cette réaction aboutit notamment à 2 conséquences : la **production d'anticorps spécifiques des antigènes** mais également la **destruction des cellules infectées** par des parasites intracellulaires comme les virus.

Problématique : Comment la RIA permet-elle de produire des anticorps et de détruire les cellules infectées ?

<p>Matériel :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Documents 1 à 6 et Manuel BELIN p312 à 317 / PC équipé du logiciel Mesurim2 et photos de microscope - Electrophorèse de protéines (cuve, générateur, tampon de migration, membranes d'acétate de cellulose) - Echantillons de protéines produites par un lymphocyte B ou un plasmocyte 	<p>Aides :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fiche Protocole « Etudier la RIA » - Fiche technique Mesurim2 - Fiche technique Electrophorèse de protéines
---	---

Activités et déroulement des activités	Capacités et Critères de réussite
<p><u>ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ En s'aidant des documents 1 et 2, proposez une stratégie permettant d'identifier comment sont produits les anticorps au cours de la RIA. <div style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification</div> <p><u>ETAPE 2 : Mettez en œuvre le(s) protocole(s) proposé(s)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Réalisez une électrophorèse de protéines pour identifier quel type cellulaire est à l'origine de la production d'anticorps. ➤ Utilisez le logiciel Mesurim2 pour déterminer le rapport nucléo-cytoplasmique des cellules proposées et en déduire les caractéristiques associées à la production d'anticorps. <div style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification</div> <p><u>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Votre production devra montrer le rôle des diverses molécules et cellules immunitaires impliquées dans la production d'anticorps et l'élimination des éléments étrangers à l'organisme. <p><u>ETAPE 4 : Répondez au problème initial</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Résumez vos observations dans un court texte qui explique comment la RIA permet la production d'anticorps grâce aux cellules et molécules de l'immunité. ➤ Complétez votre travail par l'étude des documents 5 et 6 afin de comprendre comment la RIA participe à l'élimination des cellules infectées par des virus. <p>En fin de séance, <u>rangez le matériel</u> et <u>fermez la session informatique</u>.</p>	<p style="text-align: center;">Recenser, extraire des informations <i>Quoi ? Comment ? Attendu ?</i></p> <p style="text-align: center;">Utiliser un logiciel (Mesurim2) <i>Gestion des fichiers (ouverture via le réseau), mesure de surfaces, réalisation de l'échelle, obtention de résultats fiables.</i></p> <p style="text-align: center;">Mettre en œuvre un protocole (Electrophorèse) <i>Sécurité (cheveux attachés, blouse, attitude sérieuse), Dépôts satisfaisants des échantillons (volume précis, bien alignés, propres, pas de mélange). Respect du sens de migration. Obtention d'un résultat exploitable.</i></p> <p style="text-align: center;">Présenter les résultats à l'écrit <i>Techniquement correct, Renseigné correctement, Organisé pour répondre à la question</i></p> <p style="text-align: center;">Rédiger un texte scientifique <i>On a vu que..., Or on sait que..., Donc...</i></p> <p style="text-align: center;">Gérer et organiser le poste de travail</p>

Mesurer les surfaces cellulaires des lymphocytes B et des plasmocytes (Mesurim 2)

Matériel

- PC équipé de **Mesurim2** (réseau)
- **Fichiers (en local) pour Mesurim2**
 - > Lymphocyte-B.jpg (+ version colorisée)
 - > Plasmocyte.jpg (+ version colorisée)

Remarques :

- La mesure de surface peut s'effectuer simplement en utilisant l'outil couleur et en modifiant le seuil.
- Certaines fois, l'outil couleur est trop peu sensible (couleurs trop similaires) et ne donne pas de bons résultats, il faut alors utiliser l'outil « polygone » et tracer le contour de la surface à mesurer.

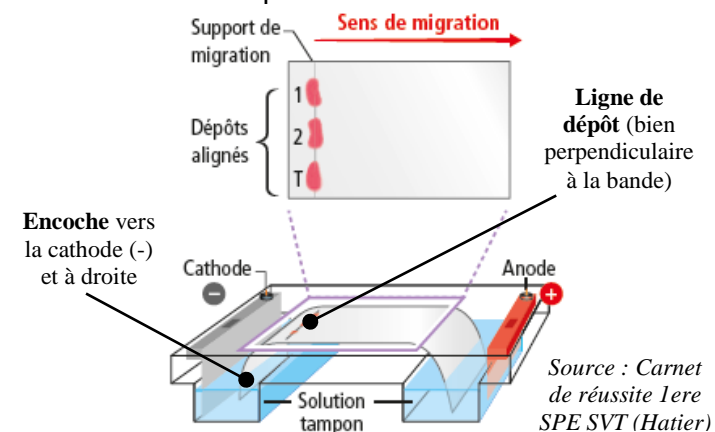
- 1- Accéder à **Mesurim2** : <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/mesurim2/>
- 2- Dans l'onglet « Image », cliquer sur « Ouvrir une image » et la rechercher sur le réseau.
- 3- Dans l'onglet « Mesurer », choisir sur « Surface ».
- 4- Définir l'échelle en cliquant sur « Définir l'échelle »
- 5- **Saisir la valeur** et son **unité** (ex : 10 cm) sachant qu'un globule rouge mesure 7 μm
- 6- **Tracer un trait** correspondant aux éléments entrés précédemment et cliquer sur « Valider ».
- 7- **Mesurer la surface** de la cellule et celle du noyau pour le lymphocyte B.
- 8- **Reproduire les étapes 2 à 7** pour la photographie de plasmocyte.

☎ Appelez le professeur pour vérification de la capture d'écran

Identifier les cellules à l'origine de la production d'anticorps (Electrophorèse de protéines)

Matériel

- Cuve à électrophorèse et support de migration en plastique (« pont »)
- Générateur de courant
- Feuille d'acétate de cellulose (2,5 x 14 cm)
- Echantillons de protéines purifiées à partir de cellules de LB (N) ou de plasmocytes (I)
- Applicateur
- Pince large (si possible sans dent)
- Rouge ponceau
- Acide acétique 5%



- 1- **Remplir les 2 compartiments de la cuve à électrophorèse** avec la solution tampon (voir ci-contre)
- 2- **Vérifier** que la bande d'acétate de cellulose est bien humidifiée par le tampon Tris HCl
- 3- **Sortir la bande du liquide** délicatement (risque de déchirement)
- 4- **Placer la bande** sur le support de migration, encoche du côté cathode (-), à droite
- 5- **Tendre la bande** et la replier des 2 côtés au moyen des élastiques (**les 2 replis ont la même taille**)
- 6- **Repérer la zone de dépôt**, du côté cathode (-), à 1,5 cm du bord
- 7- **Réaliser les deux dépôts** avec l'applicateur (I ou N : ne pas mélanger les solutions)
 - La ligne de dépôt doit être **perpendiculaire** à la bande
 - Les dépôts doivent être **espacés** correctement

☎ Appelez le professeur pour vérification

- 8- **Refermer et brancher la cuve**
- 9- **Démarrer le générateur** en suivant les consignes du matériel (60 minutes, 125 V)
- 10- **Vérifier que des bulles se forment** au niveau des bornes (petit fil de platine)

A la fin de la migration,

- 11- **Arrêter le générateur, ouvrir la cuve et récupérer les bandes** délicatement
- 12- **Colorer les bandes** au rouge ponceau pendant 10 minutes (paillasse professeur)
- 13- **Réaliser 3 à 6 rinçages** avec de l'acide acétique 5% - 1 minute, **agiter délicatement**
- 14- **Observer le résultat**

☎ Appelez le professeur pour vérification

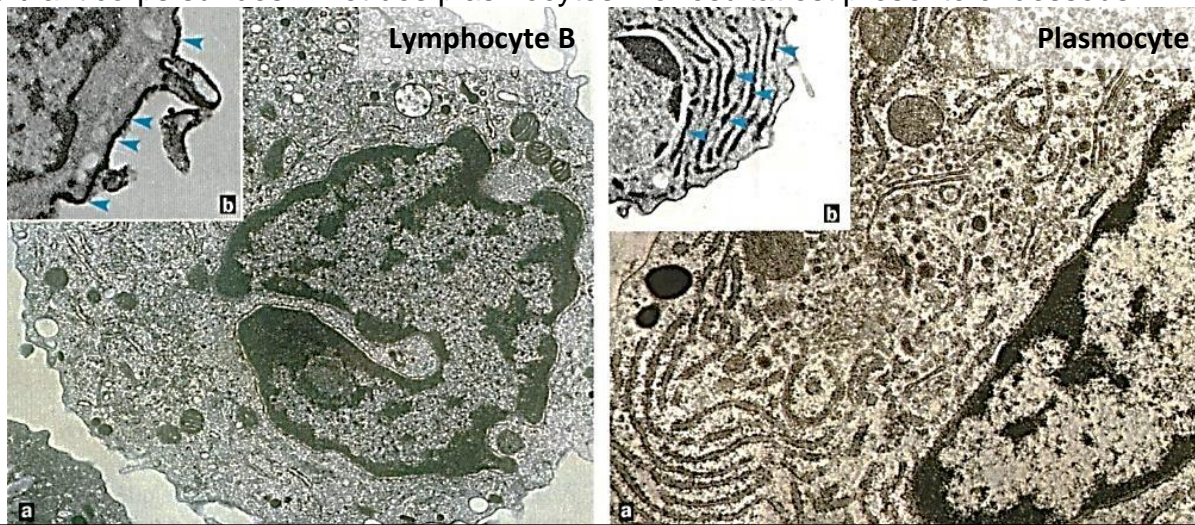
Document 1 : Le rôle des lymphocytes et des macrophages

• Pour identifier le rôle des lymphocytes B, T4 et des macrophages, on a réalisé diverses expériences de cultures cellulaires récapitulées ci-dessous. La culture 1 est filtrée pour ne conserver que les cellules et former la culture 2 à laquelle on ajoute parfois d'autres cellules. On étudie la production d'anticorps qui révèle l'activation de la réaction immunitaire acquise.

Exp	Contenu de la culture 1	Culture 2	Résultat
1	LB	LB	Aucun anticorps produit
2	LB + antigène	LB	Faible présence d'anticorps
3	LB + antigène + macrophages	LB + macrophages	Forte présence d'anticorps
4	Macrophage + antigène	Macrophage	Aucun anticorps produit
5	Macrophages + antigène	Macrophages + ajout LT4	Aucun anticorps produit
6	Macrophages + antigène	Macrophages + ajout LB	Forte présence d'anticorps
7	Macrophages + LT4 + antigène	Macrophages + ajout LB	Très forte présence d'anticorps

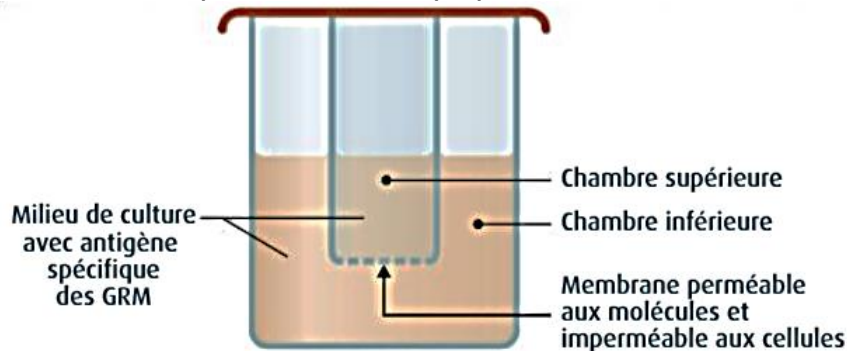
Document 2 : Les LB et les plasmocytes, producteurs d'anticorps

• Les expériences précédentes montrent que les **lymphocytes B** sont à l'origine de la production d'anticorps, après qu'ils aient été stimulés par les LT4. L'observation microscopique de LB stimulés par des LT4 montre qu'ils se différencient en **plasmocytes**. On a marqué en noir (flèches bleues) la présence d'anticorps sur des LB et des plasmocytes. Le résultat est présenté ci-dessous.



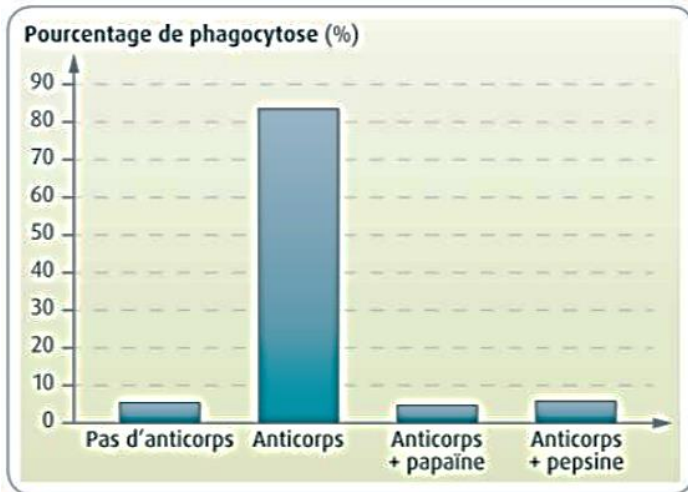
Document 3 : Le rôle essentiel des LT4

• Pour déterminer plus précisément le rôle des LT4, Marbrook eût l'idée de réaliser un système avec 2 chambres séparées par une **membrane semi-perméable** : elle laisse passer les molécules mais pas les cellules. On ajoute un **antigène** provenant de globules rouges de mouton (GRM) dans le milieu de culture qui peut donc diffuser dans les 2 chambres. On étudie ensuite le nombre de plasmocytes formés, ce qui permet d'évaluer la quantité d'anticorps produits.

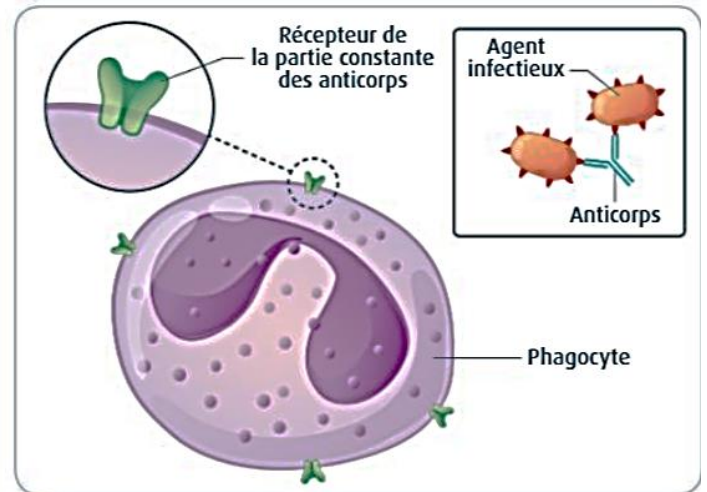


Culture	Chambre supérieure	Chambre inférieure	Nombre de plasmocytes
1	Pas de cellule	LT4 + LB	961×10^6
2	Pas de cellule	LB	72×10^6
3	LT4	LB	1011×10^6
4	Ajout d'interleukine 2	LB	985×10^6

Document 4 : L'importance des anticorps pour la phagocytose



a Efficacité de la phagocytose avec ou sans anticorps. On mesure la capacité phagocytaire d'une lignée de macrophages humains *in vitro* en présence d'un champignon (*Candida albicans*) qui est incubée ou non avec un anticorps spécifique (anticorps dirigés contre ce champignon).



b Des récepteurs de la partie constante des anticorps. Les macrophages à leur surface possèdent des récepteurs qui se fixent sur la partie constante des anticorps. Ces récepteurs augmentent l'efficacité de la phagocytose de l'agent infectieux lors de la réponse adaptative.

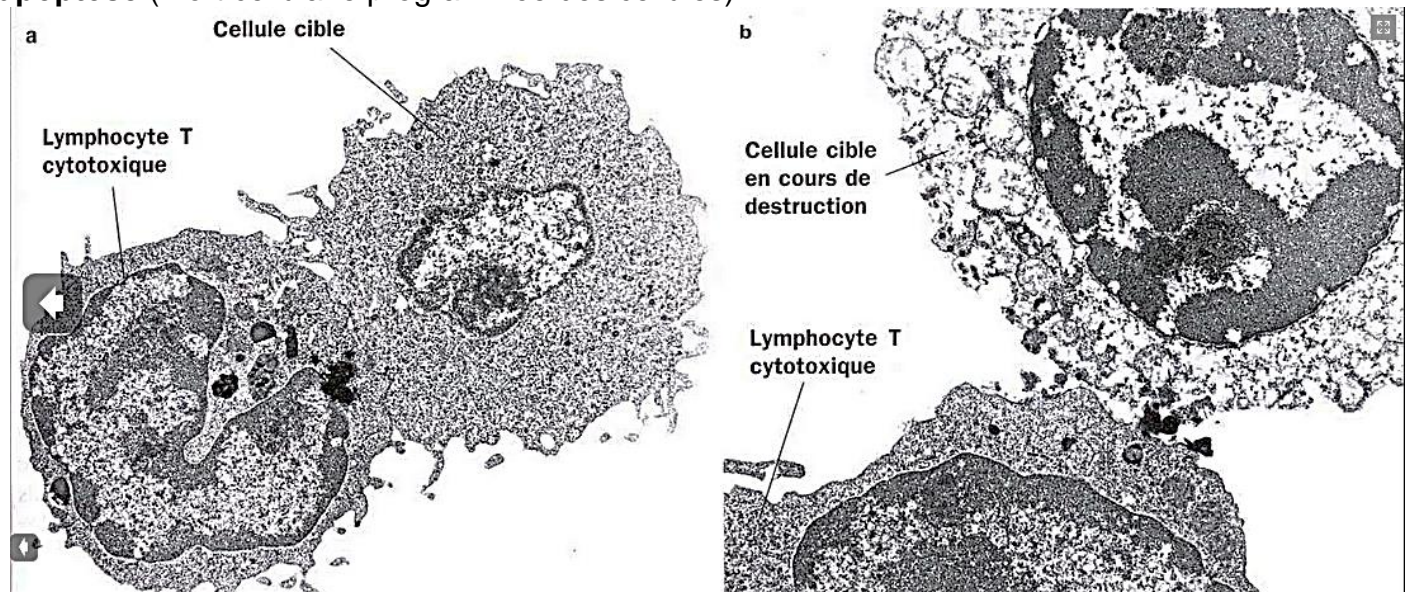
Document 5 : L'identification des cellules permettant l'élimination des cellules infectées

● Pour comprendre comment les leucocytes éliminent les cellules infectées, on a réalisé plusieurs expériences et observations récapitulées ci-dessous.

Exp	Contenu de la culture	Résultat
1	LB + cellules infectées	Cellules infectées intactes
2	LT4 + cellules infectées	Cellules infectées intactes
3	Macrophages + cellules infectées	Quelques cellules détruites
4	LT8 + cellules infectées	Quelques cellules détruites
5	LT4 + LT8 + cellules infectées	Nombreuses cellules détruites
6	Macrophages + LT4 + LT8 + cellules infectées	Toutes les cellules sont détruites

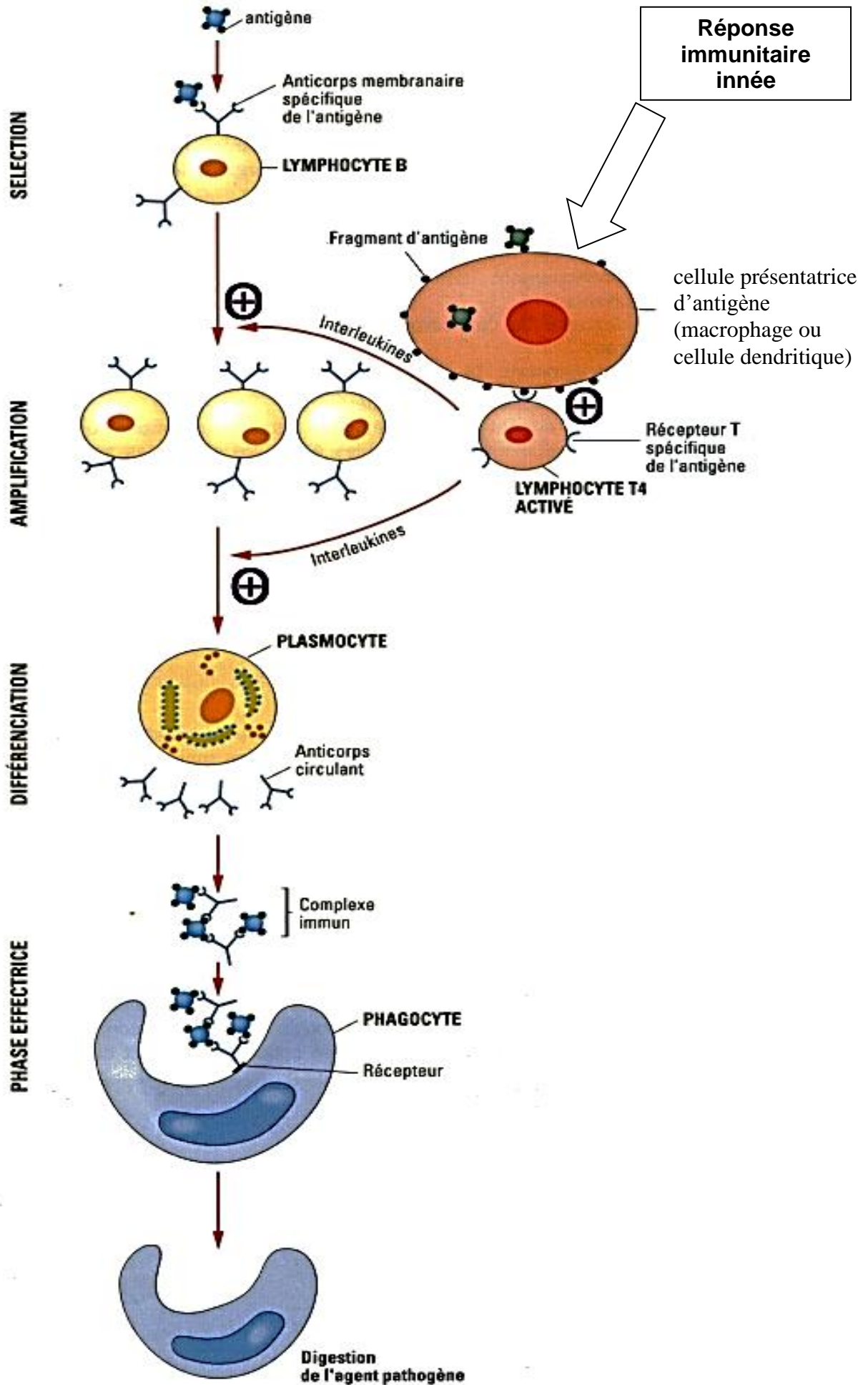
Document 6 : Le rôle des lymphocytes T8 dans l'élimination des cellules infectées

● L'observation de la culture 4 a permis d'identifier un contact entre les LT8 et les cellules infectées. Ce contact (a) permet la différenciation du LT8 en **LTc (cytotoxique)**. Les LTc sont alors capables de produire des molécules toxiques comme les **perforines** : ce sont des petits canaux qui perforent la membrane des cellules infectées et contribuent à leur destruction. Les LTc sont aussi capables d'initier l'**apoptose** (mort cellulaire programmée des cellules).



Document de référence

Schéma bilan des étapes de la production d'anticorps au cours de la RIA



Document de référence (à compléter)
Schéma fonctionnel de la réaction immunitaire adaptative (RIA)

