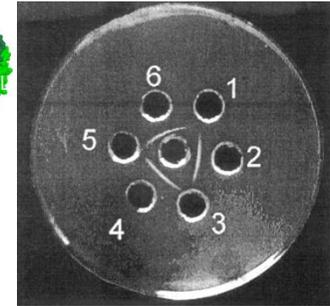
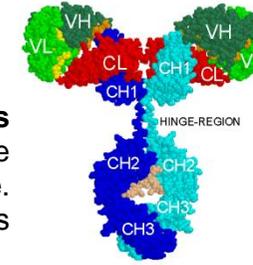




THEME 3B - Variation génétique et santé

TP4 - Structure et mode d'action des anticorps



Toute sollicitation du système immunitaire par un **antigène** induit la **production d'anticorps spécifiques de cet antigène**. La **production d'anticorps** est une des conséquences de la réaction immunitaire acquise (RIA). On suppose donc que les anticorps produits sont capables de se fixer spécifiquement à un antigène. On souhaite donc évaluer le niveau de spécificité des anticorps et comprendre comment la structure de l'anticorps permet cette spécificité.

Problématique : Comment la structure de l'anticorps lui permet-elle de reconnaître spécifiquement un antigène ?

Matériel :

- Documents 1 à 6 et Manuel BELIN p308 à 311
- Boite de Pétri avec gélose, emporte-pièce, pince, pipettes de précision (P20) et embouts
- Echantillons de sérum contenant divers antigènes ou anticorps.
- PC et logiciels GenieGen2 et LibMol, Fichiers de séquences et modélisation de divers anticorps

Aides :

- Fiche Protocole « Réaliser un test d'Ouchterlony »
- Fiche Protocole « Structure de l'anticorps »
- Fiche technique GenieGen2
- Fiche technique LibMol

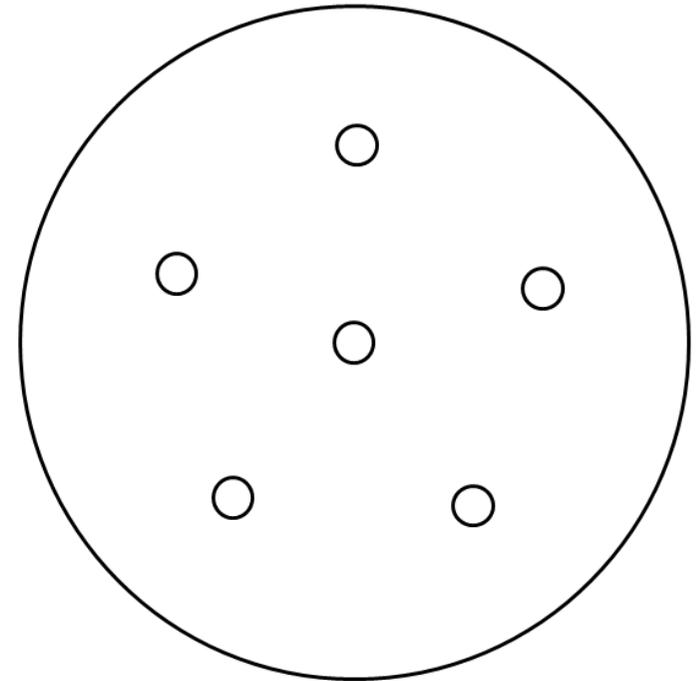
Activités et déroulement des activités	Capacités et Critères de réussite
<p><u>ACTIVITE 1 : La spécificité des anticorps</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Proposez une stratégie expérimentale permettant de déterminer si un anticorps est spécifique d'un antigène (s'aider du document 1 et 2) 2- Réalisez la manipulation proposée afin de d'identifier si l'anticorps anti-BSA est spécifique de l'antigène BSA. 3- Présentez vos résultats sous une forme appropriée. 4- Rédiger un court texte qui répond à la question. <p><u>ACTIVITE 2 : La structure de l'anticorps et l'origine de sa spécificité</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Proposez une stratégie expérimentale permettant de déterminer la structure de l'anticorps et d'identifier pourquoi il est spécifique d'un antigène donné. 2- Réalisez la manipulation informatique afin de visualiser les 4 composants principaux de l'anticorps et leur mode d'association et d'identifier les zones variables de cette structure. 3- Présentez vos résultats sous une forme appropriée. 4- Rédiger un court texte qui répond à la question. <p style="text-align: center;">📞 Appelez le professeur pour vérification</p> <p>En fin de séance, rangez le matériel et nettoyez la paillasse.</p>	<p style="text-align: center;">Recenser, extraire des informations</p> <p style="text-align: center;"><i>Qu'est-ce que je fais, Comment je le fais, A quoi je m'attends ?</i></p> <p style="text-align: center;">Mettre en œuvre un protocole (Ouchterlony)</p> <p style="text-align: center;"><i>Consignes de sécurité (cheveux attachés, blouse, attitude sérieuse), perforation de la gélose (pas de craquelure, puits nets) ; Dépôts satisfaisants des échantillons (ne pas déborder). Résultat exploitable.</i></p> <p style="text-align: center;">Utiliser un logiciel de visualisation de molécules (LibMol)</p> <p style="text-align: center;"><i>Utiliser des couleurs (colorer par chaîne) et modes de représentation (Rubans/Sphère). Garder les mêmes couleurs pour les mêmes objets, Afficher les molécules selon des vues similaires.</i></p> <p style="text-align: center;">Utiliser un logiciel de traitement de données (GenieGen2)</p> <p style="text-align: center;"><i>Comparer des séquences de même nature, identifier les segments identiques</i></p> <p style="text-align: center;">Communiquer à l'écrit (Schéma)</p> <p style="text-align: center;"><i>Techniquement correct, renseignements corrects, organisés pour répondre à la question (annotations, mots clés ...)</i></p> <p style="text-align: center;">Rédiger un texte scientifique</p> <p style="text-align: center;"><i>3On a vu que, Or on sait que, Donc</i></p> <p style="text-align: center;">Gérer et organiser le poste de travail</p>

Test d'immunodiffusion d'Ouchterlony

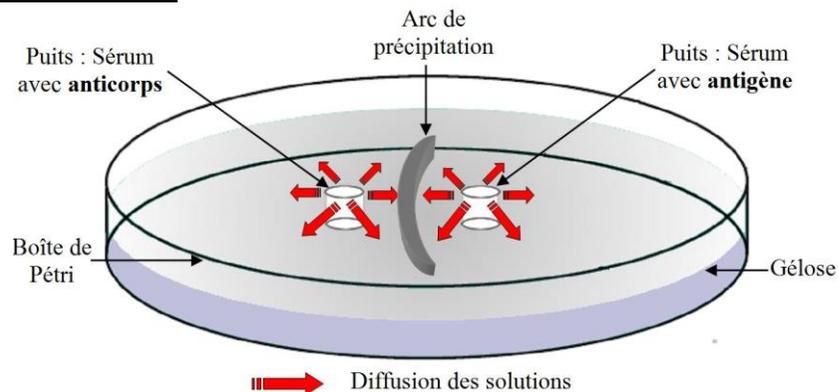
Matériel :

- Une boîte de Pétri contenant la gélose (agarose)
- Une pince fine, un cure-dent, une aiguille lancéolée, un tube emporte-pièce, un récipient poubelle
- Un marqueur fin, une lampe et un carton de couleur noire, un chronomètre
- Une micropipette P20 et 6 embouts jaunes
- Des sérums à tester :
 - Eau distillée (E)
 - Sérum de lapin immunisé (S) contenant l'anticorps anti-BSA
 - Sérum de chèvre (O) contenant des albumines de chèvre
 - Sérum de vache (L) contenant des albumines de vache
 - Sérum de boeuf (B) contenant des albumines de bœuf (BSA)
 - Sérum de cheval (C) contenant des albumines de cheval

Gabarit de perçage dans le gel d'agarose



Principe du test d'Ouchterlony



- **Creuser** à l'aide du tube emporte-pièce le nombre de puits nécessaires dans le gel d'Agar. S'aider du gabarit de perçage ci-contre.
- **Éliminer** les disques de gélose avec le cure-dent ou une pince.
- **Annoter la boîte et les puits** soit sur le fond de la boîte soit sur le couvercle mais en plaçant un repère.
- **Remplir** les différents puits (**sans déborder**) avec les différents sérums contenant soit l'anticorps, soit les antigènes que vous voulez tester.
- **Fermer** la boîte.
- **Observer** les résultats au bout de 15 minutes environ sur fond noir et avec un éclairage rasant.

Les **anticorps** ont la capacité de neutraliser les **antigènes** selon une **réaction spécifique** durant laquelle l'anticorps se fixe à l'antigène.

Problème : On cherche à connaître l'organisation de la molécule d'anticorps pour comprendre la liaison antigène-anticorps.

Mise en évidence de la structure de l'anticorps et son interaction anticorps – antigène (LibMol)

- Ouvrir le navigateur internet
- Se connecter au site **Libmol.org**
- Ouvrir le fichier **IGG-TOTAL.pdb**
- Effectuer un affichage en rubans et une coloration par chaîne
- Réaliser une capture d'écran montrant explicitement les 4 chaînes et la structure globale d'un anticorps
- Réaliser le même type de travail pour le fichier **IGG-LYS.pdb** afin d'identifier la zone d'interaction anticorps/antigène

Remarque : l'antigène présent dans le modèle IGG-LYS.pdb correspond à la chaîne Y

☎ Appelez le professeur pour vérification

Mise en évidence des régions variables de l'anticorps (GenieGen2)

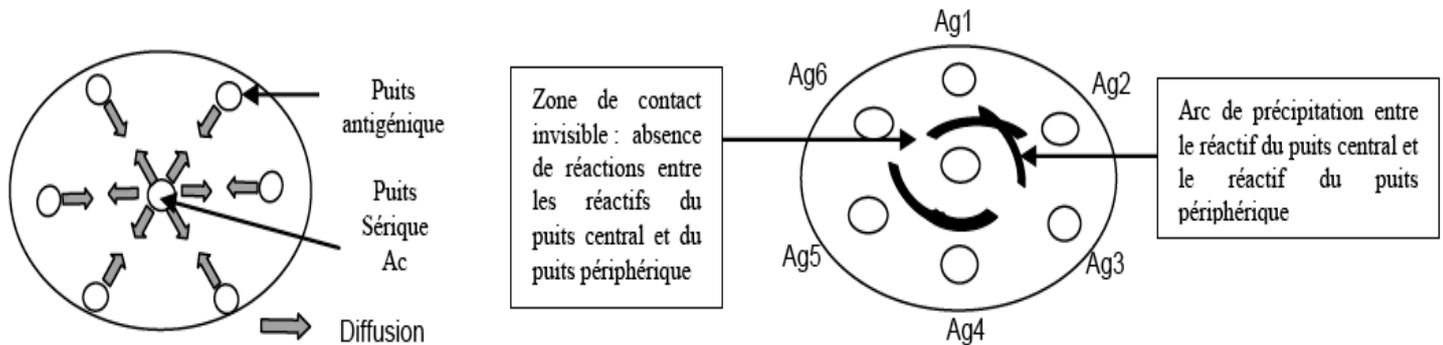
- Ouvrir le navigateur internet
 - Se connecter au site **Genigen2**
 - Ouvrir le fichier **IGG.edi** contenant les séquences des 4 chaînes d'un anticorps dirigés contre un antigène
 - **Aligner les séquences des 4 chaînes d'un même anticorps, en procédant 2 à 2 (2 chaînes lourdes puis 2 chaînes légères)**
- ☎ Appelez le professeur pour vérification**
- Ouvrir le fichier **2IGG1ind.edi** contenant les séquences des 4 chaînes de 2 anticorps différents dirigés contre 2 antigènes différents
 - **Comparer les séquences des 4 chaînes de 2 anticorps dirigés contre deux anticorps différents.**
 - **En déduire la structure générale de l'anticorps et la(les) zone(s) de fixation à l'antigène.**

☎ Appelez le professeur pour vérification

Document 1 : Principe du test d'Ouchterlony, un test d'immunodiffusion sur gel

Le **test d'Ouchterlony** correspond à un test d'immunodiffusion sur gel d'agarose. Au sein d'un gel, on réalise des puits qui seront remplis avec différentes substances : soit des **antigènes** soit des **anticorps**.

Les solutions déposées vont ensuite diffuser de façon homogène dans toutes les directions autour du puits (invisible à l'œil nu). Lorsque les auréoles de diffusion se recouvrent, les antigènes et les anticorps peuvent alors interagir entre eux. Si l'anticorps se fixe à l'antigène, il y a alors formation d'un **complexe immun** (voir document 2) : c'est un gros complexe formé d'anticorps et d'antigènes liés les uns aux autres. Ce complexe est identifié par un **arc de précipitation** : c'est une trace blanchâtre présente entre 2 puits du gel contenant des molécules qui interagissent entre elles.



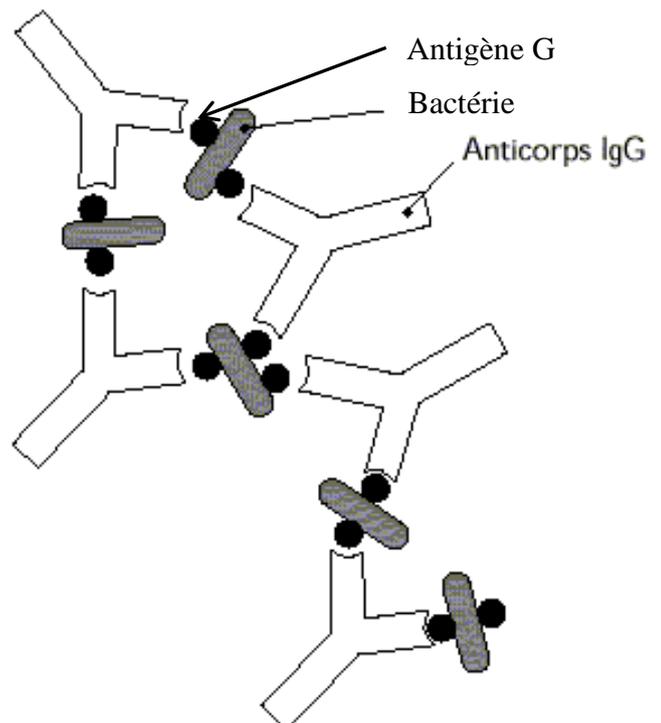
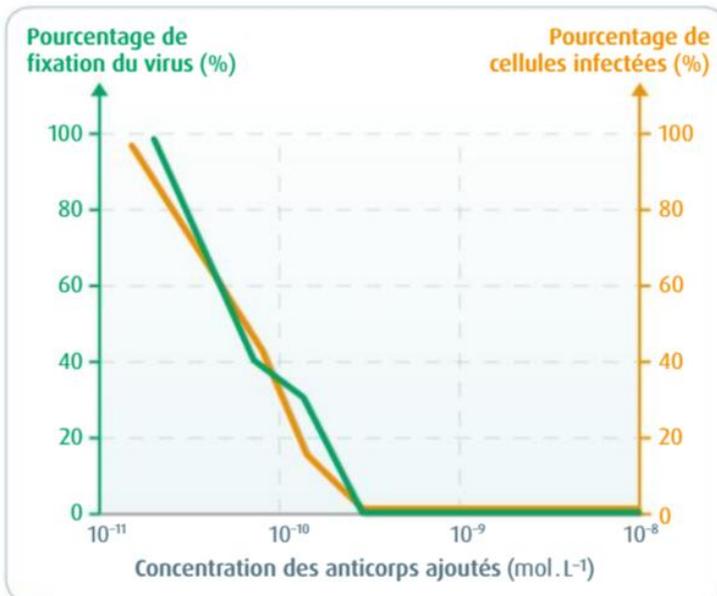
Remarque :

Il existe différentes variantes du test d'Ouchterlony :

- On peut tester différents anticorps contre un même antigène (dans ce cas, l'antigène est placé au centre)
- On peut tester l'activité des anticorps en plaçant l'antigène dans la gélose (les puits contiennent alors seulement des anticorps à tester).

Document 2 : La formation d'un complexe immun

La formation du complexe immun permet de **neutraliser les micro-organismes**. En effet, ce complexe **ralentit la division** des bactéries et **empêche l'entrée des micro-organismes** dans la cellule (virus ou bactérie intracellulaire).



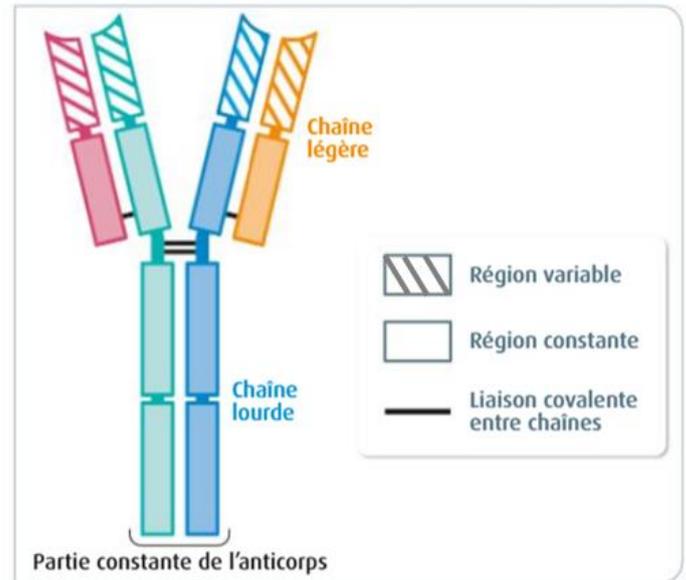
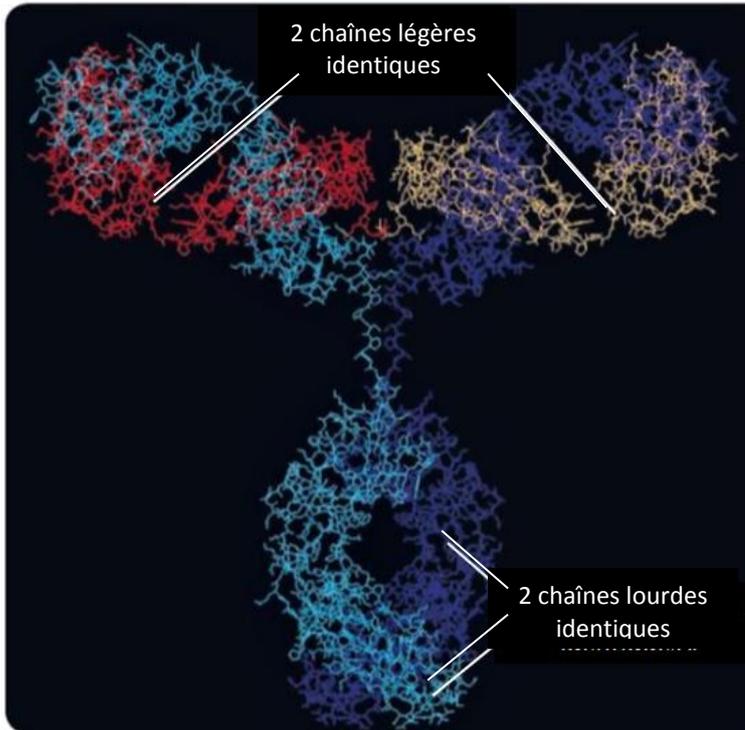
a Étude de l'action d'un anticorps anti-hémagglutinine.

En présence de concentrations croissantes d'un anticorps anti-hémagglutinine produit lors d'une infection grippale, on mesure les taux de fixation du virus de la grippe sur des cellules en culture et le taux d'infection de ces cellules. Les résultats sont exprimés en pourcentage du taux de liaison ou d'infection observé en l'absence d'anticorps.

b Schéma simplifié du complexe immun

Document 3 : Structure d'un anticorps

L'anticorps est une protéine de la famille des Immunoglobulines (Ig). L'anticorps présente une forme globale de Y avec 2 « bras » courts et un « pied » long. L'étude de la structure d'un anticorps peut être réalisée via Rastop ou Libmol.



1 Structure tridimensionnelle d'un anticorps anti-hémagglutinine du virus de la grippe (Vue Rastop et schématique). La taille réelle d'un anticorps est d'environ 15 nm.

Document 4 : La reconnaissance d'un antigène par l'anticorps

La reconnaissance de l'antigène se fait au niveau des « bras » de l'anticorps, formé d'une chaîne légère et d'une chaîne lourde. Ainsi, l'anticorps peut reconnaître 2 antigènes identiques, ce qui lui permet de faire des **ponts** entre les antigènes (formation du **complexe immunitaire**). La reconnaissance se fait par **complémentarité** entre l'anticorps et l'antigène (**modèle clé-serrure**).

