

*Concevoir une expérience permettant de mettre en évidence des molécules intervenant dans l'immunité adaptative*

*Maîtriser un environnement numérique de travail*

*Réaliser un schéma interprétatif à partir d'un modèle moléculaire*

*Réaliser une expérience permettant de vérifier la spécificité des molécules intervenant dans l'immunité acquise*

## TP1- Anticorps et neutralisation des antigènes

### Objectifs:

- Déterminer la nature d'un anticorps.

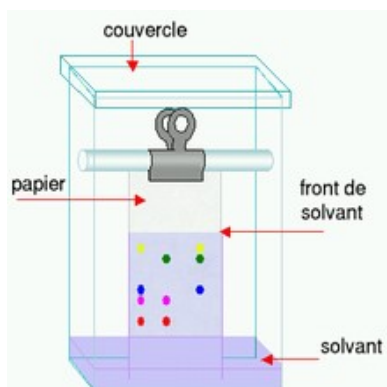
- Déterminer le mode d'action d'un anticorps lors de la réponse immunitaire adaptative.

### 1) Conception d'un protocole permettant la mise en évidence d'un acteur de l'immunité adaptative : l'anticorps.

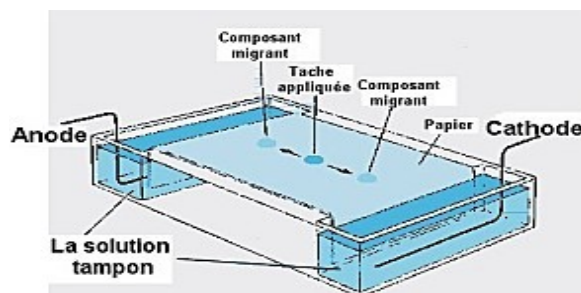
A partir des informations ci-dessous, **proposez un protocole** que vous schématiserez, permettant de mettre en évidence la présence d'anticorps dans le sérum (liquide sanguin débarrassé de ses cellules et des protéines de la coagulation) d'un organisme infecté par un microbe, par comparaison avec la composition d'un sérum d'un autre organisme du même type mais non infecté. **Le choix de la technique utilisée doit être justifiée.**

Les biologistes disposent de plusieurs techniques utilisables pour séparer et caractériser les éléments constituant un liquide. Parmi celles-ci, on distingue en particulier :

- **La chromatographie** : méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption (phénomène de surface par lequel des atomes ou des molécules se fixent sur une surface solide) et de leur désorption (détachement des atomes ou des molécules de la surface d'adsorption) successives sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase.



- **L'électrophorèse** : méthode fondée sur le déplacement d'ions sous l'effet d'un champ électrique. Du fait de leurs caractéristiques propres et en fonction des conditions de l'électrophorèse ces ions auront des vitesses de migration différentes, ils vont donc se séparer les uns des autres.



Les anticorps sont des protéines. Ils sont donc constitués d'acides aminés.

Les acides aminés sont souvent distingués d'après les propriétés de leur chaîne latérale :

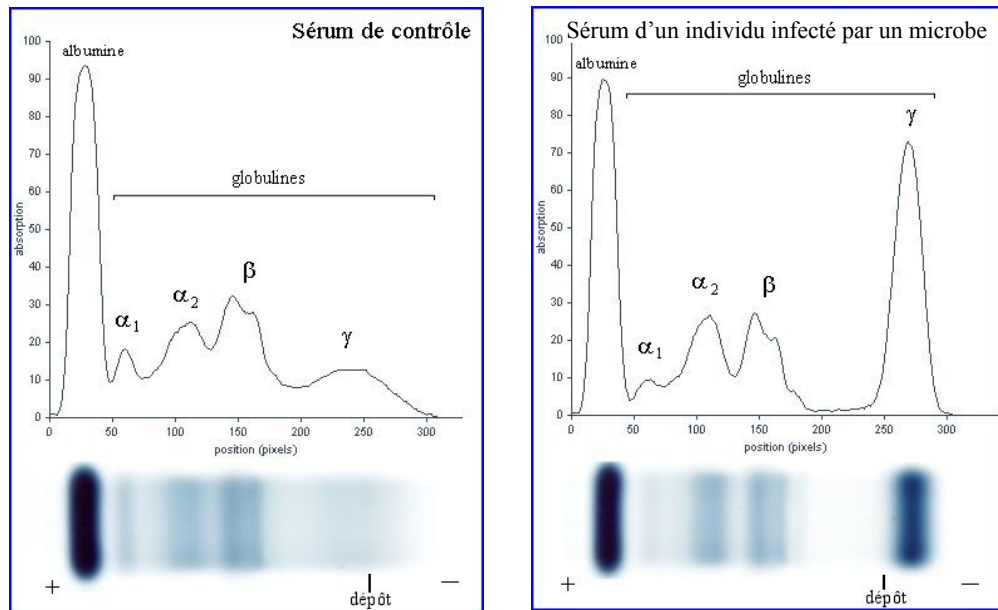
- les acides aminés apolaires (ou aliphatiques, hydrophobes) tendent à occuper le cœur des protéines, ou offrent des points d'adhérence à leur surface,

- les acides aminés polaires (hydrophiles) tendent à occuper la surface des protéines, et, parmi ceux-ci, certains sont acides, d'autres basiques, d'autres encore sont neutres.

Ainsi, les anticorps, composés d'acides aminés, présentent des charges positives ( $\text{NH}_3^+$ ) et négatives ( $\text{COO}^-$ ) à leurs extrémités.

## 2) Mise en évidence de la nature moléculaire des anticorps à l'aide des résultats d'une électrophorèse:

- D'après les résultats de l'électrophorèse ci-dessous, précisez à quelle famille de protéines appartiennent les anticorps.

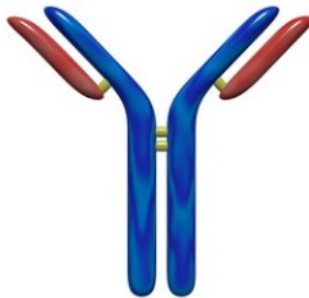


Les globulines et l'albumine sont des protéines.

## 3) Mise en lien de la structure d'une molécule d'Ac avec sa spécificité d'action (images obtenues à l'aide des logiciels Rastop et Anagene) :

L'image du document 1p286 du livre montre un anticorps (Igg total), l'image du document 2p286 (Igg-lys) montre un lysozyme (en rouge) qui est une molécule antigénique « fixée » à un fragment d'anticorps. Le fragment d'anticorps présente des couleurs qui correspondent à une partie de l'anticorps entier présenté dans le fichier IggTotal.

- **Etudier l'image IggTotal et réaliser une recherche internet afin de titrer et légénder** le schéma d'un Ac ci-dessous reproduit sur votre compte-rendu en y ajoutant : les noms des chaînes, leurs nombres d'atomes et les éventuelles identités de séquences entre les chaînes.



- **Compléter le schéma** en positionnant les zones hypervariables des séquences peptidiques des chaînes constituant l'anticorps, à partir de l'étude du document 3p286 de votre livre.

- **Expliquer le lien** existant entre les zones hypervariables de l'anticorps et sa capacité à se lier un type unique de molécule antigénique.

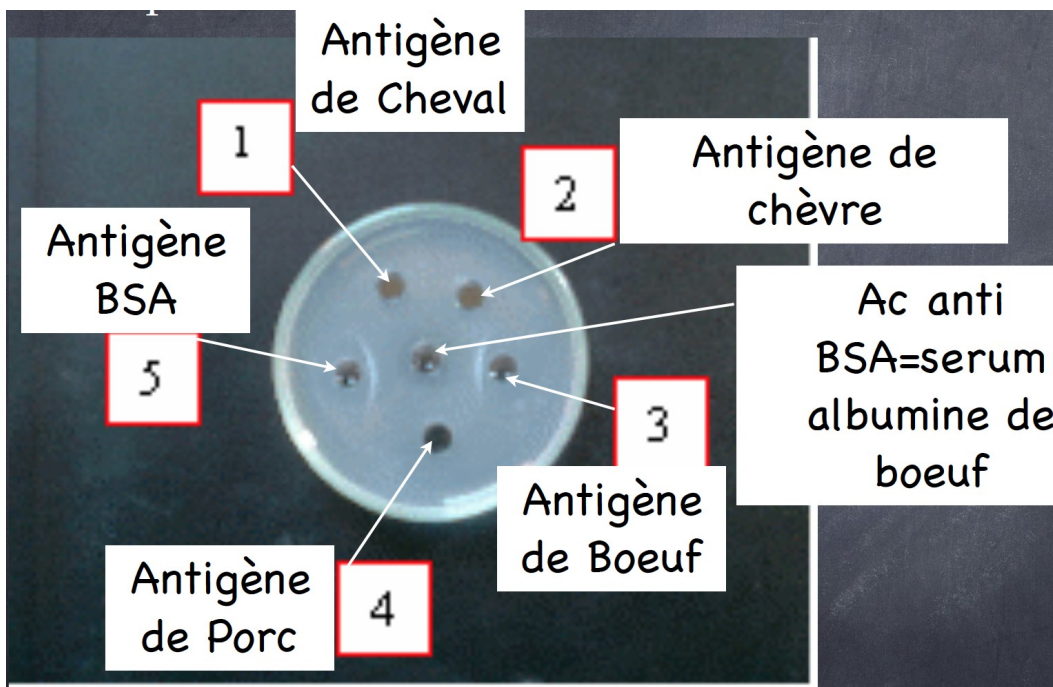
4) Mise en évidence expérimentale de la réaction spécifique anticorps/antigène par le Test d'Ouchterlony

- Réalisation du test d'ouchterlony : Voir la vidéo <https://www.youtube.com/watch?v=hJ12cWdUkIU>



- Expliquer en quoi ce test permet d'illustrer la spécificité d'action des anticorps.

- A l'aide du travail sur la structure de l'anticorps, schématiser un complexe immun (plusieurs anticorps associés en chaîne à plusieurs antigènes) formé lors d'un test d'ouchterlony dont le résultat est présenté ci-après (photographie légendée) à partir des formes géométriques fournies ci-dessous et de l'organisation d'un anticorps étudiée précédemment.



Commentez votre schéma pour répondre au problème du TP.

Antigènes	Boeuf	Chèvre	Porc	Cheval
Figurés	○	◡	△	◑

Remarque : Tous les antigènes utilisés sont des albumines extraites de sérum prélevés chez les différents animaux nommés. Seule une partie de l'antigène, nommée déterminant antigénique, est fixée au niveau de la zone hypervariable de l'anticorps.