

TP n° 16 :

Les caractéristiques de la réponse adaptative humorale

La grippe est une infection virale saisonnière dont l'organisme guérit normalement en une semaine. Pour permettre l'élimination de ce virus, l'organisme met en place une réponse dite « adaptative »

Objectif de connaissance : comprendre comment l'organisme réagit face à une infection virale

Objectifs méthodologiques:

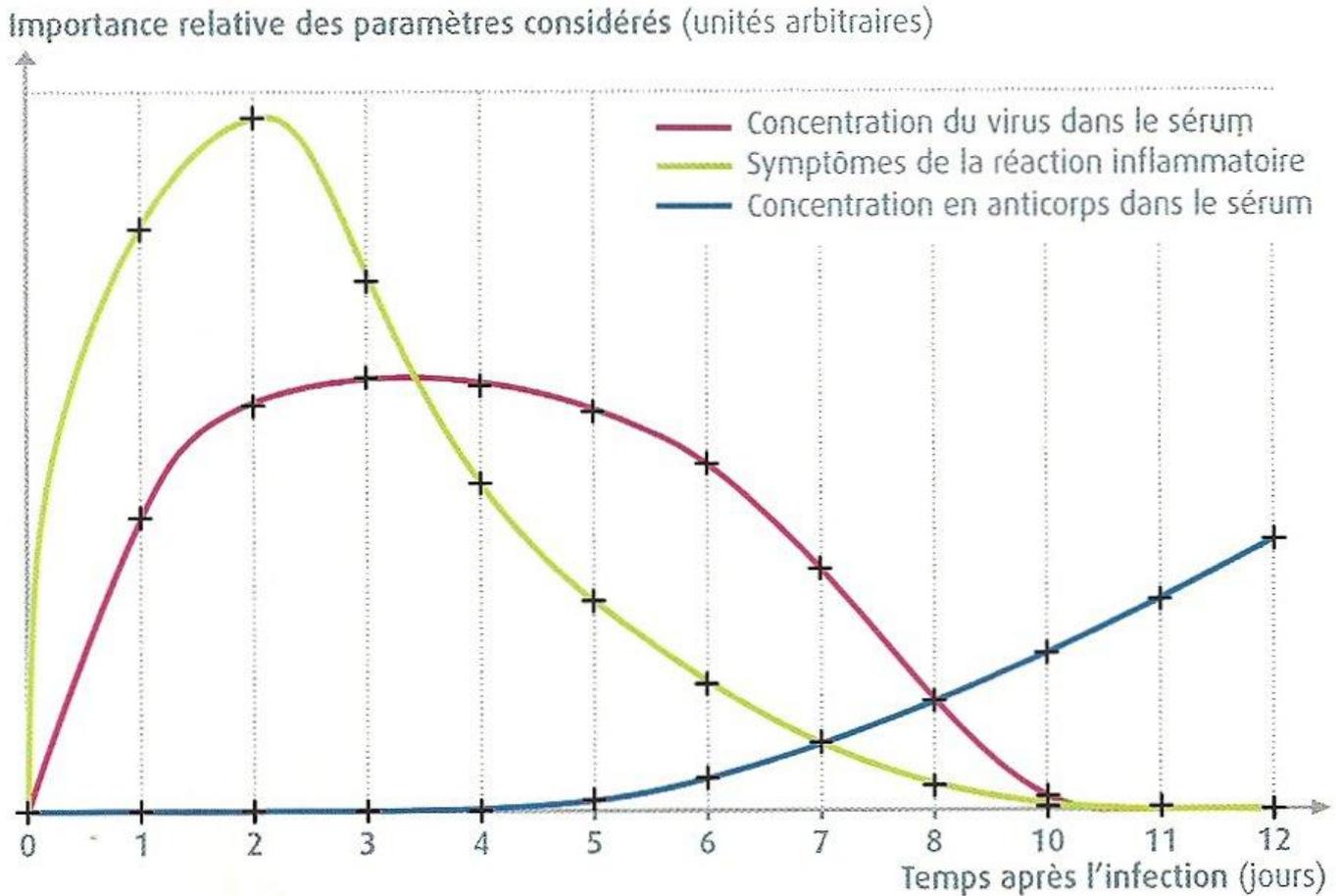
Réaliser une manipulation selon un protocole
Utiliser un logiciel de mesure
Adopter une démarche explicative

Supports :

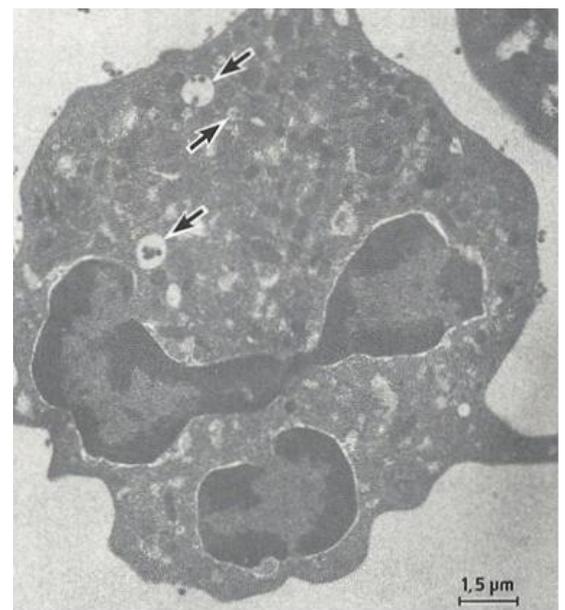
Des modifications du sérum mises en évidence grâce à une électrophorèse
La réponse humorale (docs 1, 2, 3)
Évaluation des concentrations des protéines sériques à l'aide de Mesurim
Résultats du test d'Ouchterlony

Expliquez comment l'organisme réagit vis-à-vis d'une infection grippale.

La réponse humorale

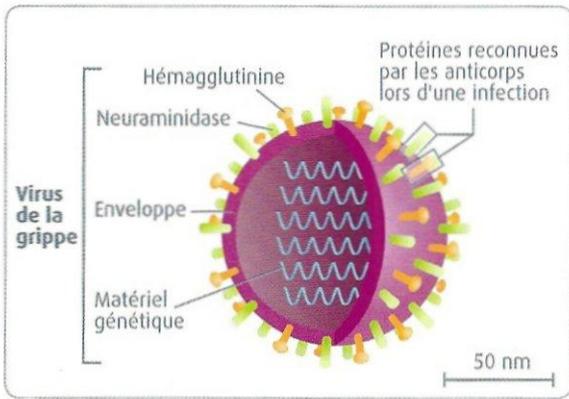


Document 1 : Variation de quelques paramètres physiologiques au cours des 12 jours suivant une infection grippale. La grippe est une infection virale associée à une réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse nasale et de la gorge. Hormis la fièvre, ses principaux symptômes sont un écoulement nasal abondant, des maux de gorges, des migraines, des nausées et des douleurs articulaires.

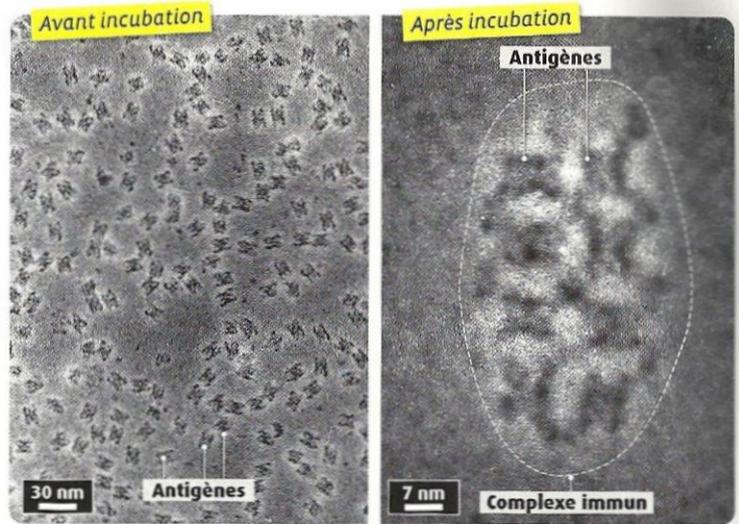


Document 3 : la phagocytose des complexes anticorps / virus de la grippe par un granulocyte (MET). Les particules virales sont repérées par des flèches.

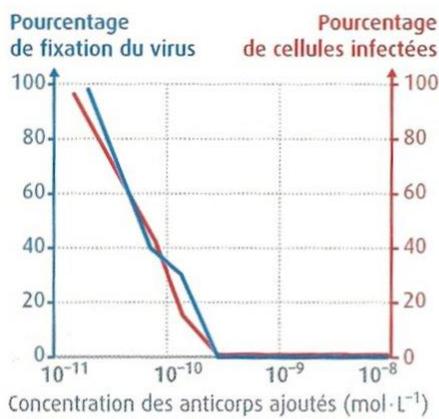
Les cellules phagocytaires possèdent sur leur membrane des récepteurs spécifiques de la partie constante des anticorps et peuvent fixer des complexes anticorps- antigènes, déclenchant alors leur phagocytose.



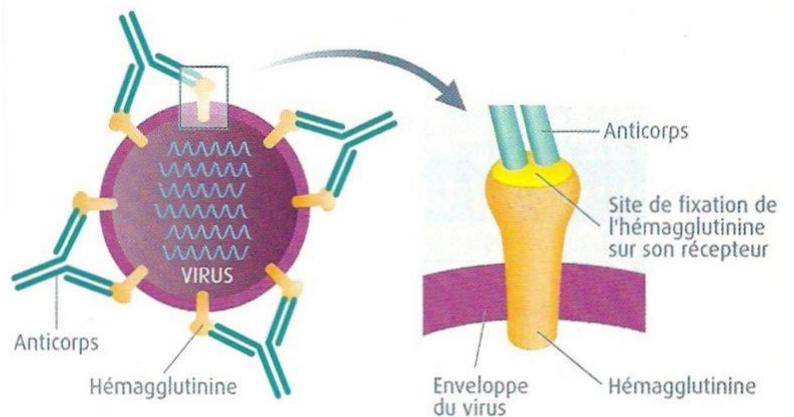
Les cibles des anticorps produits lors d'une infection grippale. Une grande partie des anticorps produits lors d'une réponse adaptative anti-grippe se fixent sur les protéines de l'enveloppe virale, en particulier sur l'hémapglutinine. Aucune protéine de ce type n'est produite par les cellules de l'organisme infecté. Les molécules qui déclenchent une réponse immunitaire adaptative sont qualifiées d'**antigènes**.



Des molécules d'antigène avant et après incubation avec un anticorps (clichés au MET). Cet anticorps se fixe sur l'antigène étudié. On observe que l'anticorps agglutine les molécules d'antigène. La structure ainsi formée est qualifiée de **complexe immun**.



Étude de l'action d'un anticorps anti-hémapglutinine. En présence de concentrations croissantes d'un anticorps anti-hémapglutinine produit lors d'une infection grippale, on mesure le 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.



Le complexe formé par des anticorps anti-hémapglutinine et l'hémapglutinine à la surface du virus de la grippe.

Document 2 : les cibles des anticorps

Des modifications du sérum mises en évidence grâce à une électrophorèse

Le médecin de Grégoire a demandé une analyse de sang. Malheureusement 3 semaines plus tard, celui-ci attrape la grippe. Suite à des complications, le médecin ordonne une nouvelle prise de sang.

Dans chaque cas, une électrophorèse du sérum est réalisée afin de déterminer les protéines sériques.

Sérum 1 : avant la grippe ; **Sérum 2** : pendant la grippe

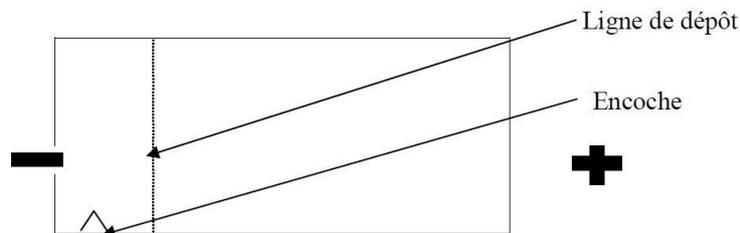
Principe

Une électrophorèse (électro- : électricité ; -phorèse : transport) est une méthode physicochimique de séparation des molécules. Selon le pH du milieu, certaines molécules sont plus ou moins ionisées. Soumises à un champ électrique, les molécules ionisées se déplacent à des vitesses différentes en fonction de leur charge électrique, de leur structure et de leur masse moléculaire. C'est donc une méthode qui permet de séparer des substances initialement mélangées dans un liquide.

Protocole

Repérer la **face absorbante** de la membrane (face à soi quand le coin coupé est en bas à droite)

À l'aide d'une pince, fixer les 2 bandes d'acétate de cellulose sur le portoir de la cuve le plus tendu possible (sans les déchirer bien entendu) et les placer dans la cuve à électrophorèse vide.



Pour la fixation, demander conseil au professeur.

Remplir chaque compartiment de la cuve à électrophorèse avec la solution de tampon Tris (tampon de migration). **Seules les extrémités des bandes d'acétate doivent tremper dans le tampon de migration.** Les bandes ne doivent pas être recouvertes de tampon.

Déposer à l'aide d'une micropipette, 5 μ L de sérum 1 à 15 mm du bord (la ligne de dépôt perpendiculaire au front de migration), coté cathode (pôle négatif).

À un pH basique, les protéines sont chargées négativement et se dirige vers le pôle positif (anode) plus ou moins rapidement selon leur charge électrique.

Faire de même pour le sérum 2 sur l'autre bande.

Fermer la cuve à électrophorèse, la mettre **sous tension** en respectant les bornes.

Laisser migrer pendant **60 minutes** puis **débrancher** la cuve.

Coloration et traitement

Retirer les bandes de la cuve et les placer - face absorbante vers le bas - dans le **rouge ponceau** pendant **10 minutes**.

Éliminer l'excès de colorant en immergeant les bandes dans de l'**acide acétique** à 5 % pendant **5 minutes**.

Tremper les bandes dans la solution de transparisation jusqu'à qu'elles deviennent translucides.

Étendre la membrane sur une plaque de verre - face absorbante contre le verre - et laisser sécher.

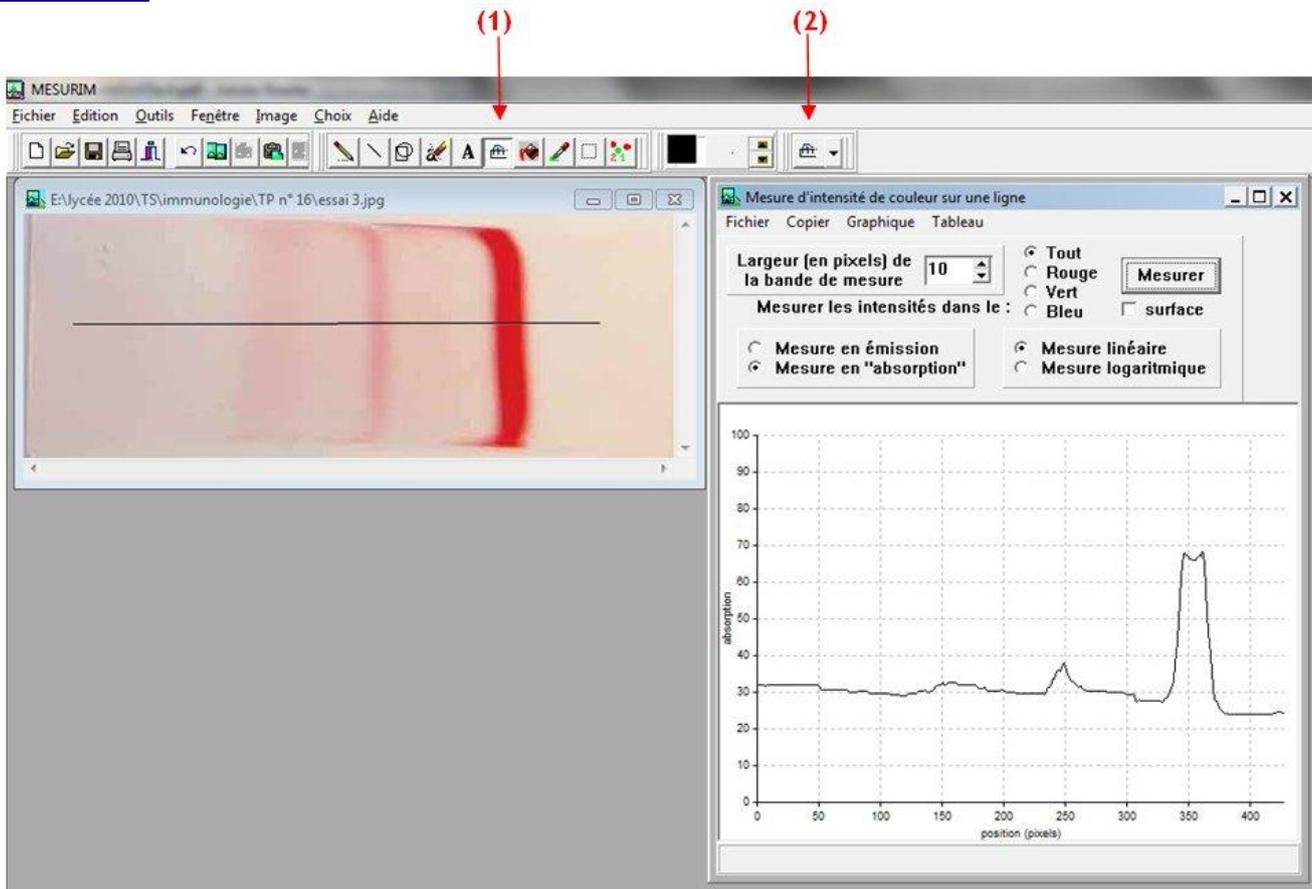


Évaluation des concentrations des protéines sériques à l'aide de Mesurim

A. Principe

Plus la concentration en protéines est forte dans une portion de bande d'électrophorèse, plus la coloration est forte. On peut donc évaluer les concentrations des différentes catégories de protéines par mesure optique de la densité de coloration sur la bande. Le profil d'absorption est lu avec les outils du logiciel *Mesurim*.

B. Protocole



Lancer *Mesurim* et ouvrir le fichier, accessible par le menu *Fichier*, l'image «*sérum de l'individu sain*»

- Cliquer sur l'icône de mesure (1) puis tracer par *cliquer - glisser* de gauche à droite, une ligne de préférence horizontale parcourant la première électrophorèse en son milieu ou une zone plus représentative : c'est la ligne selon laquelle la mesure d'absorption de lumière sera faite.

- Choisir dans le menu de *Type de mesure* (2) : *lumière sur une Bande*. Une fenêtre de paramétrage apparaît. Paramétrer la mesure comme indiqué ci-dessus

- Cliquer sur le bouton *Mesurer*. Un graphique du profil d'absorption s'affiche.

- Choisir dans le menu *Graphique* de la fenêtre de *Mesure d'intensité de couleur* : fond blanc.

- *Copier*.

- Coller ce premier graphique dans une page Word.

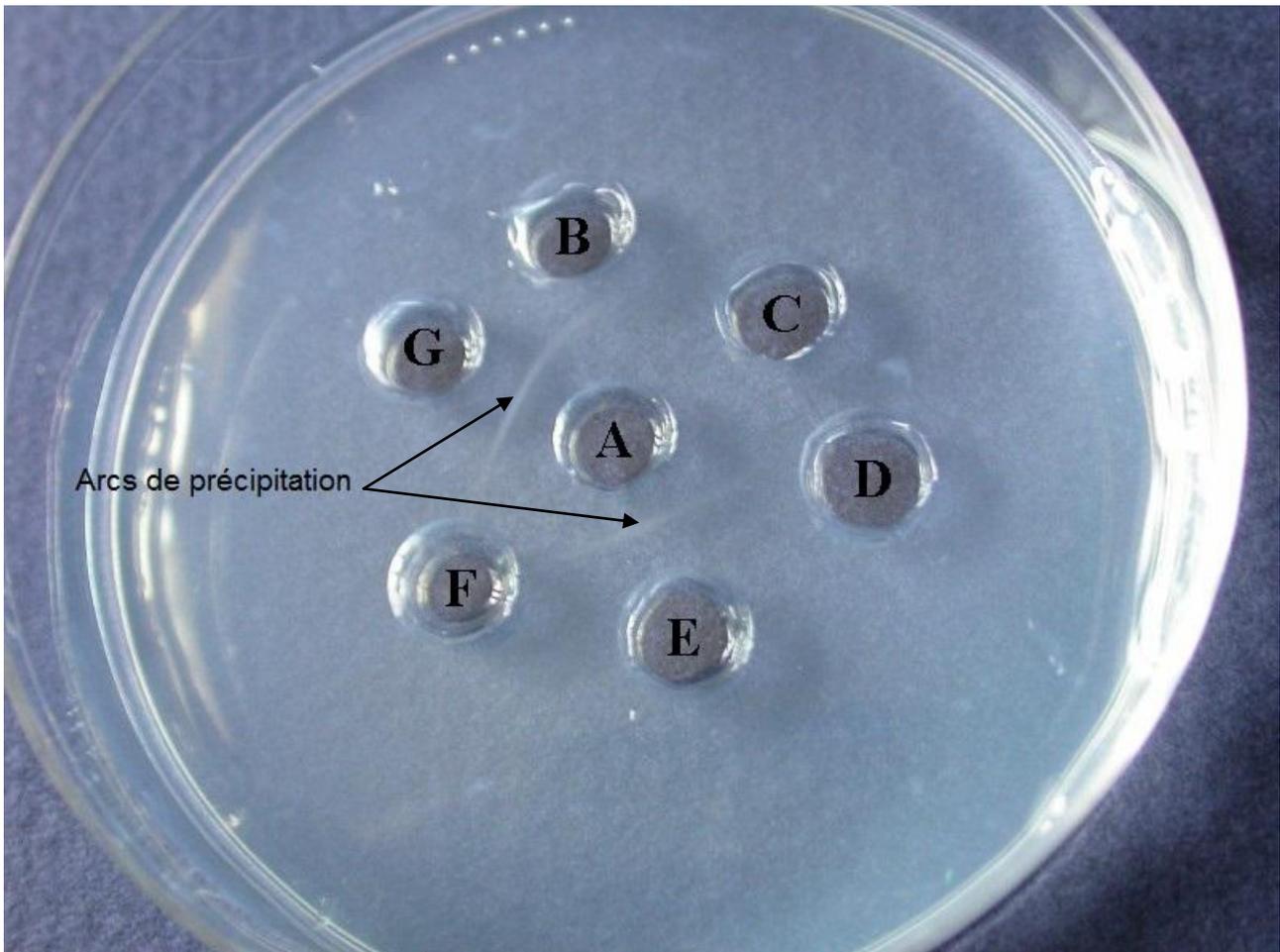
- Répéter le protocole pour le profil du sérum de l'individu malade deuxième.

ATTENTION : le graphe précédent reste affiché jusqu'à un nouveau clic sur *Mesurer*.

- Coller le 2^e graphique obtenu.

- Imprimer.

Résultats du Test d'Ouchterlony.



Principe de la méthode

Le puits central (A) contient du sérum de lapin immunisé contre la BSA (*Bovine serum albumin*). Les autres puits contiennent respectivement du sérum de chèvre (B), de porc (C), de lapin (D), de bœuf (E), de cheval (F) et une solution de BSA (G).

La reconnaissance d'un antigène par un anticorps forme un complexe immun. Cela se traduit ici par l'apparition d'un précipité blanc (arc de précipitation) entre les puits concernés.

La formation d'un arc de précipitation correspond à la formation de complexes immuns (liaison d'un anticorps à un antigène).

Capacités testées	Critères d'évaluation	Barème			
		A	B	C	D
Réaliser une manipulation selon un protocole	Respect des différentes étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Lisibilité des résultats Organisation de la paillasse et rangement du matériel en fin de manipulation				
Utiliser un logiciel de mesure	Respect des différentes étapes Courbes d'absorption des 2 sérums Impression des résultats correctement légendés				
Adopter une démarche explicative	Les différentes réponses de l'organisme Modification de la composition du sérum Rôle et mode d'action des anticorps Chaque document est exploité Synthèse rédigée Intégration des résultats				
Total / 20					

Capacités testées	Critères d'évaluation	Barème			
		A	B	C	D
Réaliser une manipulation selon un protocole	Respect des différentes étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Lisibilité des résultats Organisation de la paillasse et rangement du matériel en fin de manipulation				
Utiliser un logiciel de mesure	Respect des différentes étapes Courbes d'absorption des 2 sérums Impression des résultats correctement légendés				
Adopter une démarche explicative	Les différentes réponses de l'organisme Modification de la composition du sérum Rôle et mode d'action des anticorps Chaque document est exploité Synthèse rédigée Intégration des résultats				
Total / 20					

Capacités testées	Critères d'évaluation	Barème			
		A	B	C	D
Réaliser une manipulation selon un protocole	Respect des différentes étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Lisibilité des résultats Organisation de la paillasse et rangement du matériel en fin de manipulation				
Utiliser un logiciel de mesure	Respect des différentes étapes Courbes d'absorption des 2 sérums Impression des résultats correctement légendés				
Adopter une démarche explicative	Les différentes réponses de l'organisme Modification de la composition du sérum Rôle et mode d'action des anticorps Chaque document est exploité Synthèse rédigée Intégration des résultats				
Total / 20					