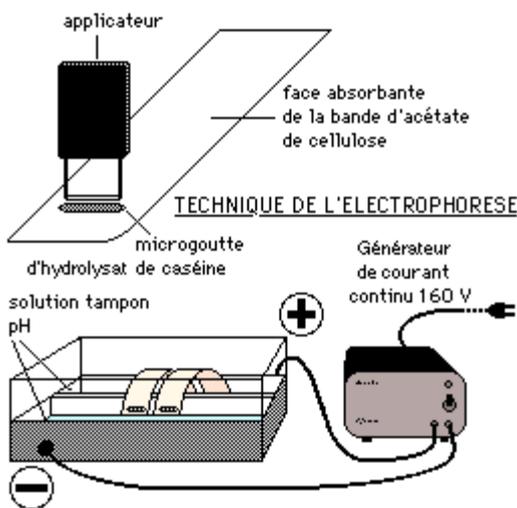


L'immunité adaptative à médiation humorale

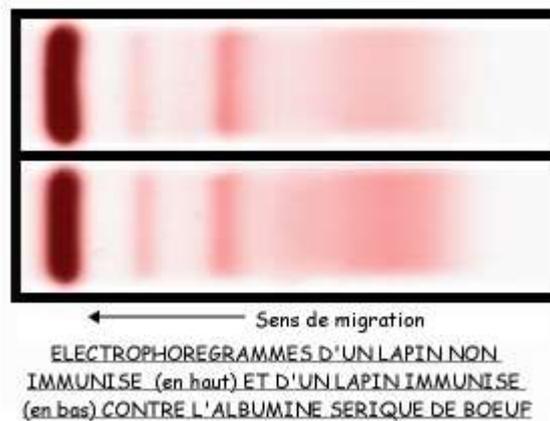
La séropositivité pour le VIH correspond à la présence d'anticorps spécifiques contre certaines protéines du virus. La synthèse d'anticorps est la signature d'une réaction de l'organisme à la présence d'éléments étrangers. Les anticorps agissent dans le milieu extracellulaire en se liant spécifiquement aux antigènes qui ont déclenché leur formation.

1. La réaction antigène-anticorps

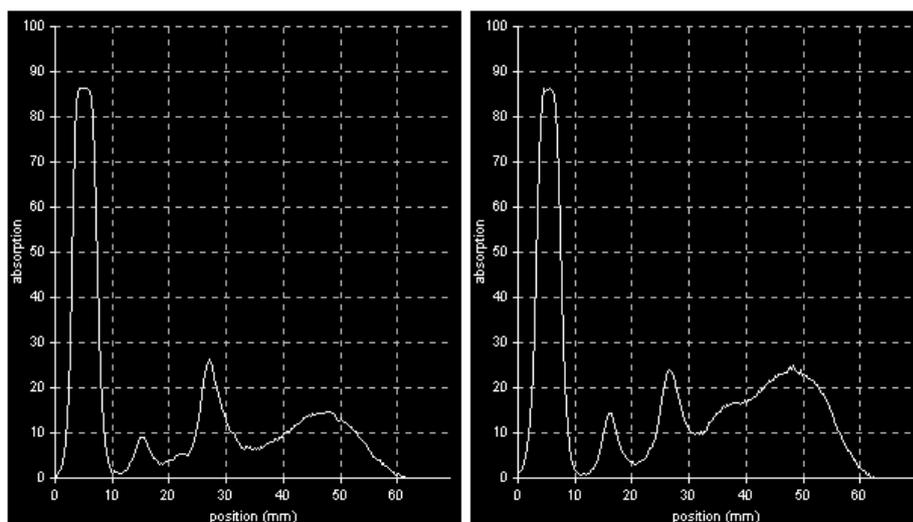
- Mise en évidence d'anticorps dans le sang par électrophorèse



La technique de l'électrophorèse permet de comparer la composition protéique du sérum d'un lapin ayant reçu par injection une molécule étrangère, l'albumine de boeuf (lapin immunisé) et celle d'un lapin témoin non immunisé par la technique d'électrophorèse.



Les résultats peuvent être numérisés puis traités par le logiciel MESURIM pour être transformés en **profil électrophorétique** (« spectre d'absorption » ou « profil densitométrique » de l'électrophorégramme).



PROFILS ELECTROPHORETIQUES D'UN LAPIN NON IMMUNISE (à gauche) ET D'UN LAPIN IMMUNISE (à droite) CONTRE L'ALBUMINE SERIQUE DE BOEUF

- Le test d'Ouchterlony

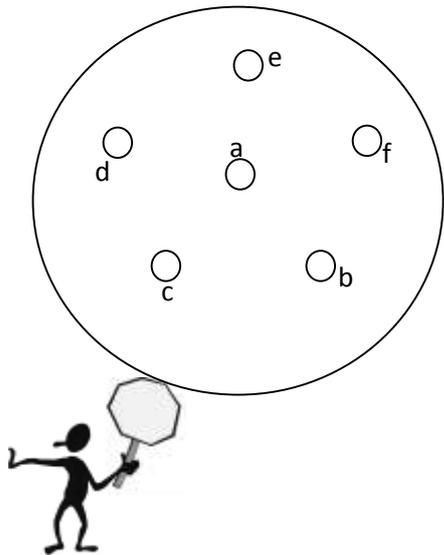
Dans cette méthode, antigène et anticorps, introduits séparément, diffusent dans un gel d'agarose et à leur rencontre se produit une réaction qui peut être visualisée. *Le fond de deux boîtes de Pétri contient un gel d'agarose dans lequel ont été réalisés 6 puits périphériques et un puits central (voir le document) à égale distance les uns des autres.*

NOUS DEVONS DISPOSER DU MATÉRIEL SUIVANT :

- 2 boîtes de Pétri vides, de l'eau distillée, 1 éprouvette graduée de 50 mL
- 1 bec électrique chauffant (+ lunettes de protection) et une spatule
- 1 pince en bois, 1 bécher, 1 emporte-pièce et 1 mire plastifiée
- 1 pipette graduée de 10 mL, 1 propipette, une coupelle en plastique
- Une balance de précision sur la paillasse professeur
- Un flacon de solution tampon phosphate salé PBS (*Phosphate Buffer Saline*)
- De l'agar-agar en poudre et une spatule sur la paillasse professeur
- Une micropipette et 6 embouts sur la paillasse professeur
- Différentes solutions sur la paillasse professeur :
 - 1 tube (marron) numéroté 3 contenant de la BSA
 - 1 tube (rouge) numéroté 4 contenant une solution tampon
 - 1 tube (orange) numéroté 5 contenant du sérum complet de bovin
 - 1 tube (jaune) numéroté 6 contenant du sérum complet de lapin
 - 1 tube (violet) numéroté 7 contenant du sérum complet d'âne
 - 1 tube (vert) numéroté 8 contenant des anticorps anti-BSA

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL :

- **Peser** dans la coupelle en plastique **0,2 g** d'agar-agar.
- **Verser 14 mL** de solution tampon PBS dans le bécher puis l'agar et le dissoudre soigneusement avec la spatule.
- **Chauffer** en remuant avec la spatule jusqu'à ce que le mélange devienne limpide puis arrêter le chauffage au début de l'ébullition ; **retirer** délicatement le bécher à l'aide de la pince en bois **EN ÉVITANT DE SE BRÛLER ET DE RENSER LE CONTENU BRÛLANT SUR LA PAILLASSE**.
- **Pipeter 5 mL** de gel d'agarose chaud encore fluide et le verser dans une boîte de Pétri posée sur un support plan et horizontal. **Recommencer** l'opération avec la deuxième boîte et attendre la prise du gel (environ 5 min) avant de manipuler les boîtes ; pendant ce temps **rincer la pipette** et vider tout fragment de gel d'agarose prisonnier.
- **Poser** la boîte de Pétri sur la matrice fournie (mire plastifiée)
- **Faire des trous** dans la gélose, à l'aide de l'emporte-pièce, en suivant le modèle de la matrice et **ôter le disque de gélose** complètement et l'éjecter à l'aide de la poire. **Recopier** sur le fond de la boîte, à l'aide d'un feutre indélébile, les lettres de la matrice ci-contre.
- **Déposer**, à l'aide d'une micropipette **15 µL de solution d'anticorps dans le puits central (tube n°8 vert)**.
- **Déposer 15 µL de chaque tube 3 à 7** dans les emplacements b à f en indiquant au fur et à mesure le sérum déposé dans chaque puits.
- **Mettre à l'étuve** pendant 48 heures à 30°C puis lire les résultats.



Attention à ne pas fendre la gélose ; manipuler le plus proprement possible. Ne jamais faire déborder les puits et éviter tout contact entre les solutions. Chaque solution doit être prélevée à l'aide d'un embout différent sur la paillasse professeur. La surface du dépôt dans les puits doit être plane. Si une seule de ces conditions n'est pas remplie, l'expérience échouera lamentablement et si les embouts ne sont pas changés, tous les résultats de tous les groupes qui suivent seront faussés.

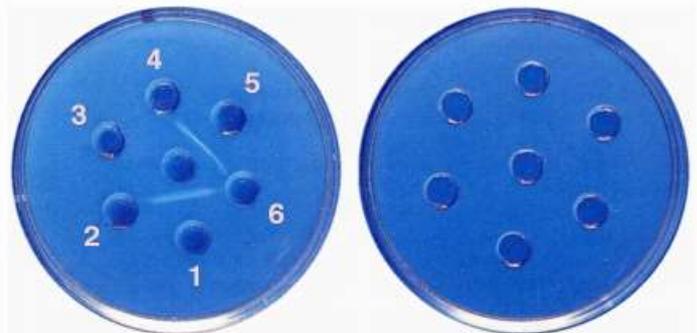


Exemple de résultats :

Dans chacun des puits périphériques on a déposé, en égal volume, différentes solutions d'antigènes :

- Puits 1: de l'albumine sérique de bœuf (BSA),
- Puits 2: du sérum de cheval,
- Puits 3: du sérum de lapin,
- Puits 4: du sérum d'âne,
- Puits 5: du sérum de bœuf,
- Puits 6: une solution tampon.

Dans le puits central de la **boîte à gauche** on a déposé une solution d'anticorps anti-ASB (sérum de lapin immunisé contre l'albumine sérique de bœuf).



MISE EN EVIDENCE DE LA REACTION Ag-Ac PAR LE TEST D'OUCHTERLONY

Dans le puits central de la **boîte à droite** on a déposé du sérum de lapin non immunisé contre l'albumine sérique de bœuf.

Les boîtes sont fermées et conservées à température ambiante pendant 24 heures: les produits de chaque puits diffusent dans le gel. On peut traiter chacune des deux boîtes par un colorant, le bleu de Coomassie, qui souligne la réaction qui s'est produite entre certains puits.

2. Mécanismes moléculaires

- Modélisation moléculaire des anticorps ou immunoglobulines:

Il est possible de comprendre la structure tridimensionnelle d'une molécule d'**anticorps** - encore appelée **immunoglobuline** - en la visualisant grâce aux logiciels Rasmol, Rastop ou Chime, que l'on trouvera sur le site de l'INRP. Le fichier du modèle moléculaire se trouve dans les sous-dossiers de Rasmol ou [ici](#).

La forme en Y de l'anticorps correspond à l'assemblage de quatre chaînes polypeptidiques enroulées et interconnectées, identiques deux à deux: deux chaînes lourdes et deux chaînes légères.

- Séquences peptidiques d'une molécule d'anticorps:

Avec **Anagène 2**, on peut ouvrir différents fichiers de séquences complètes ou de fragments de séquences d'immunoglobulines dans « **Fichier** », « **Thèmes d'étude** », « **Terminale S** », « **Immunologie** », « **IgG** », « **Structure d'une IgG** » (par exemple, sélectionner « chaîne complète » affiche 4 séquences : une chaîne légère et une chaîne lourde d'une immunoglobuline, une chaîne légère et une chaîne lourde d'une autre).

Avec **Anagène 1**, il faut aller dans « **fichier** » « **ouvrir** » et cliquer sur « **anagène** » puis sur « **banque** » : à gauche, plusieurs séquences d'étude sont proposées. Choisir **h-hepa.pro** puis **h-eu.pro**, **LI-hepa.pro** puis **LI-eu.pro** afin de sélectionner respectivement deux chaînes lourdes de deux immunoglobulines différentes et deux chaînes légères de ces deux mêmes immunoglobulines.

On pourra trouver à [cette adresse](#) toutes les ressources permettant de visualiser les modèles moléculaires numériques des immunoglobulines ou d'étudier les séquences peptidiques.

The image displays two screenshots of a sequence alignment software interface. Each screenshot shows a comparison between two protein sequences with a table of alignment parameters and a visual representation of the alignment.

Top Screenshot (Positions 119-135):

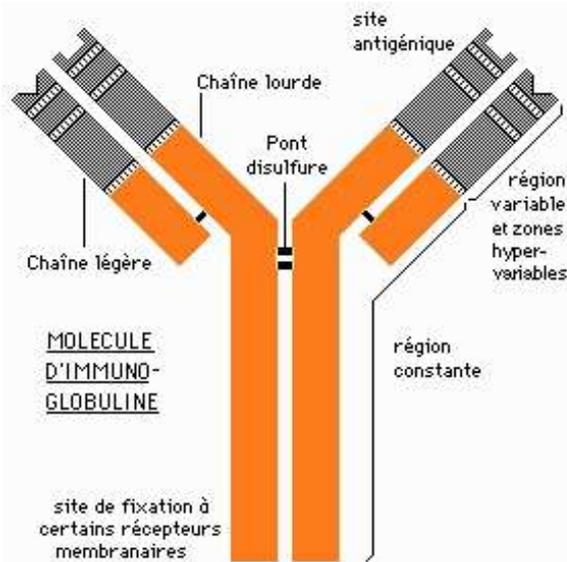
Traitement	Identités	h-eu.pro	h-hepa.pro
0	0	GlyGlyLeuValThrValSerSerAlaSerThrLysGlyProSer	GlyGln- Thr- - - - - - - - - - - - - - - -

Bottom Screenshot (Positions 94-114):

Traitement	Identités	II-hepa.pro	II-eu.pro
0	0	GlySerTyrThrValValPheGlyGlyGlyThrLysLeuThrValLeuGlyGlnProLysAlaAlaPro	Arg- LeuArg- - - - - - - - - - - - - - - - -

Selection : 0/4 lignes

- Modèle moléculaire simple d'un anticorps:



La structure simplifiée d'une molécule d'anticorps est schématisée sur la figure ci-contre à gauche. Les deux chaînes "lourdes" ont une masse molaire comprise entre 40 000 et 70 000 Daltons, les deux chaînes légères, elles, ont une masse molaire de 22 500 Daltons.

Chaque chaîne comporte une région variable (environ la moitié de la chaîne légère et un quart de la chaîne lourde) et une région constante. Ce sont les régions variables des chaînes légères et lourdes qui se replient dans l'espace pour former les sites de combinaison anticorps-antigène, c'est à dire les sites qui se lient aux antigènes particuliers contre lesquels les anticorps sont dirigés.

Les anticorps sécrétés sont structurellement identiques à leur équivalent membranaire (à l'exception d'un segment transmembranaire et d'une petite partie intracytoplasmique que l'on ne retrouve que dans la version membranaire). Les anticorps sont aussi appelés immunoglobulines. On distingue cinq classes d'immunoglobulines : IgG, IgM, IgA, IgE et IgD, dont la structure repose chez l'Homme sur un modèle à quatre chaînes (deux lourdes identiques et deux légères identiques).

- Modélisation d'un complexe antigène - anticorps (complexe immun)

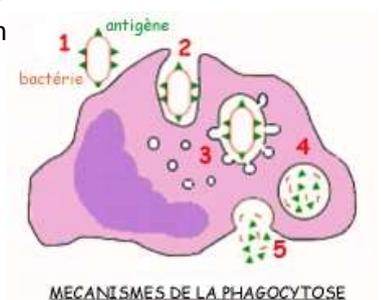
On peut visualiser le modèle moléculaire de la liaison antigène-anticorps à l'aide de Rasmol ou Rastop en choisissant le fichier igg-lys.pdb disponible dans les sous-dossiers de Rasmol ou [ici](#).

3. Élimination des complexes immuns : la phagocytose

- Une ligne de défense innée, non spécifique:

La phagocytose est un mécanisme cellulaire par lequel certaines cellules, les **phagocytes**, ingèrent puis dégradent par digestion intracellulaire des éléments solides capturés dans le milieu extracellulaire comme des bactéries ou d'autres cellules. Elle constitue une ligne de défense non spécifique qui se déroule en n'importe quel endroit de l'organisme. Les macrophages sont des phagocytes. Ils ont pour origine des **monocytes sanguins** nés dans la moelle osseuse et qui gagnent les tissus lymphoïdes périphériques.

Lors de la phagocytose, les macrophages accolent leur membrane aux particules étrangères (**1**) puis les font pénétrer dans leur cytoplasme (**2**) à l'intérieur de vésicules membranaires (endocytose) où elles sont dégradées par digestion intracellulaire: des lysosomes issus de l'appareil de Golgi et contenant des enzymes lytiques déversent leur contenu dans les vésicules d'endocytose (**3**) pour former un phagosome (**4**). Les déchets solides sont ensuite éliminés par exocytose (**5**).



La figure ci-contre présente de façon générale le mécanisme de la phagocytose.

- Une aide à la phagocytose apportée par les anticorps

La phagocytose est également impliquée dans les réponses spécifiques lorsqu'elle est réalisée par certains phagocytes situés dans les organes lymphoïdes périphériques. Dans ce cas, après que des immunoglobulines (anticorps) se furent fixés sur les antigènes de la paroi bactérienne, grâce à leur **site de reconnaissance antigénique** (complexes immuns), le bras Fc (fragment constant) de chaque anticorps est libre. Or la membrane plasmique des cellules phagocytaires porte des **récepteurs membranaires** capables de se fixer à ces **fragments Fc**: l'adhérence entre le phagocyte et la particule à ingérer est donc facilitée, et par là-même la phagocytose. Ainsi, un mécanisme non spécifique, la phagocytose, qui est répandu chez de nombreuses cellules, est utilisé dans les organes lymphoïdes secondaires au cours de réactions immunitaires spécifiques faisant intervenir des anticorps. C'est donc la phagocytose qui assure l'élimination des complexes immuns.

4. Origine des anticorps

- Les plasmocytes, cellules sécrétrices d'anticorps

Les anticorps sont sécrétés dans le sang par de gros globules blancs spécialisés: les **plasmocytes**. Chaque plasmocyte ne sécrète qu'un seul type de molécule d'immunoglobuline.

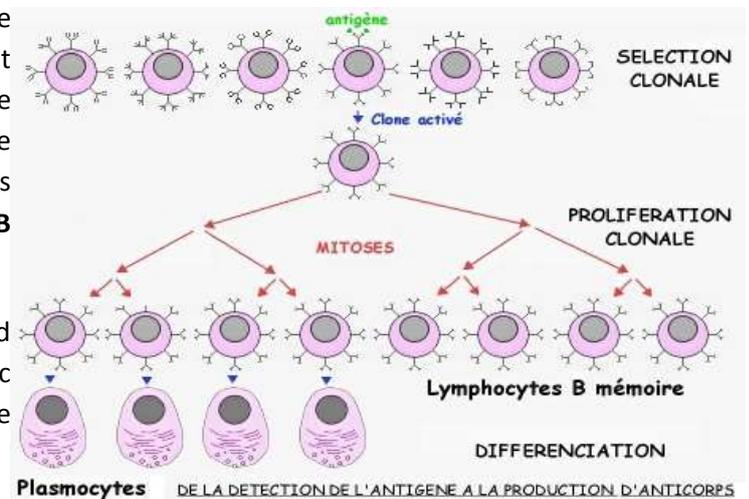
- La production massive d'anticorps

La production d'anticorps en réponse à l'entrée d'un antigène dans l'organisme est le résultat de mécanismes complexes qui se déroulent en plusieurs étapes:

▪ **Reconnaissance de l'antigène et sélection clonale des lymphocytes B :**

Les différentes molécules d'anticorps présentes à la surface des lymphocytes B (LB) sont toutes identiques et reconnaissent le même antigène. Ces anticorps jouent le rôle de récepteur pour les lymphocytes B (on les nomme « **BCR** » pour *B cell receptor*). Présents à raison de quelques milliers dans l'organisme, **un groupe de lymphocytes B reconnaissant un antigène donné constitue un clone**.

L'organisme est capable de reconnaître un très grand nombre d'antigènes différents: l'organisme contient donc autant de clones différents de lymphocytes B que d'antigènes susceptibles d'être reconnus.



▪ **Prolifération clonale des lymphocytes B activés:**

L'**activation d'un clone de lymphocytes B identiques** se traduit par leur multiplication intense par mitoses (**amplification** ou **prolifération clonale**).

▪ **Différenciation en plasmocytes sécréteurs d'anticorps spécifiques:**

Une partie de ces lymphocytes B se différencie en **plasmocytes**, une autre en **lymphocytes B mémoire**: ce sont des cellules à durée de vie longue, plus nombreuses que les LB initiaux spécifiques de l'antigène.

En résumé, les lymphocytes B, grâce à leurs anticorps membranaires, détectent des antigènes dans les liquides circulants.