

ACTIVITE 1 : LES VENINS DES TRICOTS RAYÉS

Mise en situation

Après une morsure sévère d'un serpent marin : le tricot rayé bleu (*Laticauda laticauda*), on bande le membre. Une fois à l'hôpital, après une observation de 10 à 12h, le médecin traite le blessé en lui injectant un produit anti-venin qui contient des anticorps dirigés contre des protéines (= antigènes) présentes dans le venin.

Un laboratoire Australien a fabriqué un produit anti-venin de tricot rayé qu'il désire commercialiser en Nouvelle-Calédonie. Étant donné la variabilité des venins et des réactions des animaux utilisés pour la production de l'anti-venin, le fabricant doit auparavant s'assurer de l'efficacité de son produit contre les différentes populations néocalédoniennes de tricot rayé à savoir *Laticauda laticauda* (bleu), *Laticauda saintgironsi* (jaune) comme c'est déjà le cas pour les « Sea snakes » australiens.

On cherche à déterminer si les anticorps contenus dans un produit anti-venin Australien peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin de toutes les espèces de tricots rayés néocalédoniens, afin de savoir s'il peut être distribué en Nouvelle-Calédonie.

Ressources

Document 1 : Elaboration d'un produit anti-venin de tricot rayé

Le venin du tricot rayé est composé de diverses protéines, toxiques pour l'organisme. La composition protéique des venins de cette espèce varie en fonction de la diversité génétique des individus

Pour élaborer un "anti-venin", on procède en injectant à des chèvres un mélange de venins détoxifiés*, prélevés sur des tricots rayés issus de régions différentes.

Après quelques jours, les chèvres ont produit des anticorps dirigés spécifiquement contre les protéines présentes dans les venins. Ce sont ces anticorps qui entrent dans la composition du produit anti-venin.

Toutes les chèvres ne réagissant pas de la même façon aux venins injectés, on s'assure de l'efficacité du produit anti-venin contre les différentes populations de tricots rayés présentes sur le territoire avant de le proposer aux hôpitaux.

* les protéines toxiques sont rendues inactives sans que leur structure soit modifiée



Document 2 : répartition des populations de tricots rayés

Le tricot rayé jaune est endémique à la Nouvelle-Calédonie et vit dans le lagon pour se nourrir et sur les îlots pour digérer, muer, se reposer et se reproduire. Il chasse dans les récifs coralliens alors que le tricot rayé bleu, chasse dans les fonds sablonneux. Il est aussi appelé tricot rayé à lèvres sombres.

Leur tête présente deux crochets sur le devant de la bouche reliés aux glandes salivaires transformées en glandes à venin. Leur morsure est utilisée pour immobiliser leur proie et la puissance de leur venin équivaut à 10 fois celle du cobra royal, il contient des myotoxines.



- produit anti-venin à tester (issu d'une chèvre ayant reçu un mélange de venins détoxifiés* de tricot rayé)
- venins de tricots rayés issus des différentes populations (C, D et E)

Compétences testées

TP20 La réaction anticorps-antigène : réaction spécifique

Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole d'immunodiffusion sur gel, afin de déterminer si les anticorps contenus dans un produit "anti-venin" Australien peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin de tous les tricots rayés néocalédoniens.

Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide
(les résultats peuvent ne pas être directement exploitables)

Présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix, **traiter** les **données obtenues** pour les **communiquer**.

Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour **déterminer** si les anticorps contenus dans un produit "anti-venin" peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin des tricots rayés néocalédoniens, afin de savoir s'il peut être distribué en Nouvelle Calédonie.

Activité 2 : La structure moléculaire d'un anticorps ou immunoglobuline.

Objectif : On cherche à expliquer la neutralisation spécifique observée en montrant la relation entre structure et fonction d'un anticorps.

On dispose de séquences partielles des 4 chaînes polypeptidiques d'un anticorps (IGG.EDI), des séquences des chaînes de 2 anticorps d'un même individu (2IGG.EDI) ainsi que de la modélisation d'un fragment d'anticorps fixé sur un antigène (IGG-LYS.PDB) et de la molécule d'anticorps complète (IGGTOTAL).

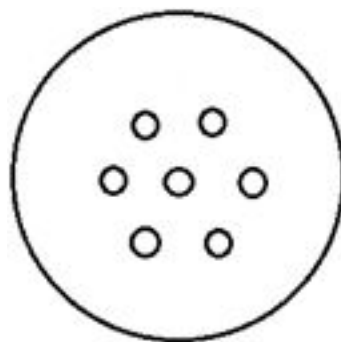
- 1. Ouvrir** avec le **logiciel RASTOP** dans protéines le dossier IGG puis le fichier « IGGTOTAL » puis **effectuer un affichage en ruban** des chaînes constituant l'anticorps, les couleurs utilisées (vert, jaune, bleu clair, bleu foncé) devant distinguer ces chaînes.
- 2. Afficher** simultanément à l'écran le fichier « IGG-LYS » en utilisant les mêmes codes que précédemment ; l'antigène Y sera représenté en sphères rouges.
- 3. Précisez**, à partir des observations précédentes, dans quelle partie de l'anticorps se fixe l'antigène.
- 4. Ouvrir** avec le **logiciel ANAGENE** les fichiers de la banque de molécule SVT molécules « IGG.EDI » et « 2IGG.EDI » puis **traiter judicieusement les séquences pour :**
 - comparer 2 à 2, les 4 chaînes d'une même immunoglobuline
 - comparer 2 à 2, les 4 chaînes de deux anticorps d'une même personne.
- 5. Indiquez** quelles sont les différentes parties d'un anticorps et quelles sont ses caractéristiques ?
- 6. Expliquez** la spécificité de la réaction antigène-anticorps.

TP20 La réaction anticorps-antigène : réaction spécifique
Fiche-protocole 1

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel :

- petite boîte de Pétri gélosée (6cm de diamètre)
- emporte-pièce
- cure-dent ou aiguille lancéolée
- gabarit de perçage
- série de compte-gouttes propres
- feutre
- tube contenant le sérum de chèvre produit par le laboratoire (S)*
- 2 tubes contenant les solutions de venin de tricots rayés néocalédoniens (C, D,) 1tube de venin de sea snake E *
- feuille de papier noir



gabarit de perçage

* les produits utilisés (soude notamment) sont des produits de substitution permettant de modéliser les réactions entre sérum et venin, afin d'éviter les risques liés à la manipulation de produits biologiques dangereux. Cependant, un risque chimique subsiste puisque la soude provoque des brûlures et lésions oculaires.



Principe du test d'immunodiffusion sur gel

Les solutions déposées dans des puits creusés dans le gel diffusent de façon homogène **dans toutes les directions** autour des puits. Deux auréoles de diffusion peuvent donc entrer en contact lorsqu'elles ont suffisamment progressé. Cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux solutions. En revanche, elle se traduit par un **arc de précipitation** visible à l'œil nu lorsque les deux solutions réagissent, c'est-à-dire si elles forment un **complexe** non soluble dans le gel.

Protocole :

- **préparer** la gélose en creusant un puits central pour le produit anti-venin et des puits périphériques en nombre adéquat, régulièrement espacés, où seront disposés les venins. (voir fiche protocole 2)
- la réaction antigène-anticorps s'obtient de façon optimale lorsque la rencontre a lieu à l'intérieur de la gélose, entre les puits.

Appeler l'examineur pour vérification

Fiche protocole 2

1/ Préparation de la boîte :

- A l'aide de l'emporte-pièce et du gabarit de perçage, **creuser**, dans la gélose de la boîte de Pétri, un puits central, puis 3 autres puits, uniformément répartis et disposés à égale distance du puits central.
- Utiliser le cure-dent (ou l'aiguille lancéolée) pour **éliminer** les disques de gélose si nécessaire.

2/ Repérage :

- **Marquer** sous la boîte de Pétri la disposition des produits à déposer dans les puits.
- **Marquer** les compte-gouttes qui seront utilisés pour chaque produit

3/ Remplissage des puits :

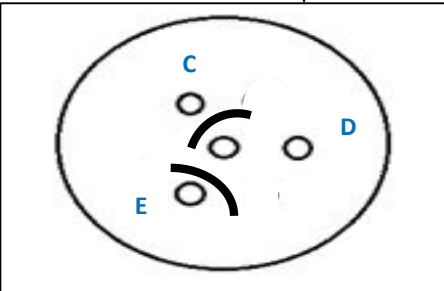
- **Prélever** un produit dans un tube avec le compte-goutte propre correspondant
- **Disposer** le produit dans le puits approprié sans débordement ni bulles, et sans endommager le gel d'agar.
- **Renouveler** l'opération pour chaque produit.

4/ Lecture des résultats :

- **Laisser diffuser** les produits pendant 15 à 30 minutes.
- **Observer** les résultats fournis sur fond noir et en éclairage rasant.

TP20 La réaction anticorps-antigène : réaction spécifique

Fiche barème d'évaluation ACTIVITE 1

<p>Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables</p> <p style="text-align: center;"><u>Gestion de l'outil :</u></p> <p><u>Aide mineure</u> (pour "débloquer") : remarques orales ou conseils (pictogramme de sécurité, soin apporté au perçage, marquage des puits et des compte-gouttes, débordement léger, utilisation du papier noir pour lire les résultats) le rangement du poste de travail est comptabilisé comme une aide mineure</p> <p><u>Aide majeure :</u> si erreur dans le nombre ou la disposition des puits, erreur dans la disposition des solutions, erreur de correspondance entre marquage des puits et des compte-gouttes, débordement important boîte de secours le prof réalise le geste à la place du candidat le prof intervient pour imposer à l'élève les conditions de travail et les règles de sécurité <i>le prof oriente le candidat vers le document-secours</i></p>	<p style="text-align: center;">CRITERES DE REUSSITE</p> <p>Mise en œuvre du protocole de manière satisfaisante (maitrise du matériel, respect des consignes et gestion correcte du poste de travail), seul ou avec <u>une aide mineure</u>, obtient des résultats exploitables.</p> <div style="text-align: center;">  </div>
<p style="text-align: center;">Présenter les résultats pour les communiquer.</p> <p style="text-align: center;"><u>Respect des règles inhérentes au mode de communication choisi :</u> Dessin, image numérique, schéma, tableau, diagramme, ...</p> <p style="text-align: center;"><u>Exactitude et exhaustivité des éléments de commentaire associés :</u> localisations du sérum (Ac) et des venins (Ag) présents dans les puits, présence ou non d'arcs de précipitation, indications <u>des sens de diffusion respectifs</u></p>	<p style="text-align: center;">CRITERES DE REUSSITE</p> <p>présentation d'un résultat compréhensible, complet et exact, qui respecte les règles de communication.</p>
<p>Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème</p> <p>Selon les produits proposés:</p> <p>le lien est fait entre l'ensemble des résultats et l'efficacité du sérum :</p> <ul style="list-style-type: none"> - le produit réagit avec <u>tous</u> les venins → efficace sur tout le territoire → commercialisable - le produit ne réagit pas avec un des venins → non commercialisable - la présence d'un complexe Ag-Ac implique la présence d'Ac dans le sérum - l'efficacité est associée à la présence d'Ac 	<p style="text-align: center;">CRITERES DE REUSSITE</p> <p>utilisation de manière satisfaisante (pertinente, complète, exacte et critique) les informations tirées des résultats obtenus pour apporter une réponse au problème posé.</p>
<p>Notion du BO concernée Thème 3-A-1</p>	<p style="text-align: center;">Capacités et attitudes du BO</p>
<p>L'immunité adaptative est propre aux Vertébrés. Elle s'ajoute à l'immunité innée et assure une action plus spécifique contre des molécules, ou partie de molécules. Les défenses adaptatives associées avec les défenses innées permettent normalement d'éliminer la cause du déclenchement de la réaction immunitaire.</p>	<p>Recenser, extraire et exploiter des informations, y compris expérimentales, sur les cellules et les molécules intervenant dans l'immunité adaptative Concevoir et réaliser une expérience permettant de caractériser la spécificité des molécules intervenant dans l'immunité adaptative Concevoir et réaliser des expériences permettant de mettre en évidence les immunoglobulines lors de la réaction immunitaire.</p>

TP20 La réaction anticorps-antigène : réaction spécifique

Activité 2 : La structure moléculaire d'un anticorps ou immunoglobuline.

Objectif : On cherche à expliquer la neutralisation spécifique observée en montrant la relation entre structure et fonction d'un anticorps.

1. Ouvrir **abc / *L jaune ruban , *H vert ruban, *I bleu foncé ruban, *M bleu clair ruban**
2. Afficher simultanément à l'écran le fichier « IGG-LYS.PDB » en utilisant les mêmes codes que précédemment ; l'antigène Y sera représenté en sphères rouges. **mosaïque abc * L jaune ruban , *H vert ruban, *Y rouge sphère**
3. Précisez, à partir des observations précédentes, dans quelle partie de l'anticorps se fixe l'antigène.
A l'extrémité de l'ensemble chaîne lourde + chaîne légère.
4. Ouvrir avec le logiciel ANAGENE les fichiers de molécules « IGG.EDI » et « 2IGG.EDI » puis **traiter judicieusement les séquences pour :**
Regroupement des séquences « chaînes légères » puis « chaînes lourdes »
IGG comparaison 2 à 2 par alignement : -des chaînes lourdes d'une part : A1 et A2 identiques
-des chaînes légères d'autre part : B1 et B2 identiques
2IGG : comparaison des chaînes 2 à 2 (A1-C1) et (B1-D1) montrant des différences dans une partie de la molécule
Choisi Echelle de comparaison des séquences d'acides aminés et non des nucléotides.
 - comparer 2 à 2, les 4 chaînes d'une même immunoglobuline
 - comparer 2 à 2, les 4 chaînes de deux anticorps d'une même personne.
5. Indiquez quelles sont les différentes parties d'un anticorps et quelles sont ses caractéristiques ?
La molécule est constituée de 2 chaînes lourdes identiques, de 2 chaînes légères identiques 2 à 2 disposées en Y
6. Expliquez la spécificité de la réaction antigène-anticorps. **C'est la variabilité de la partie terminale qui permet la fixation des antigènes différents selon l'anticorps produit qui est responsable de cette spécificité.**

TP20 La réaction anticorps-antigène : réaction spécifique
Fiche laboratoire

Prescriptions : Gants Lunettes

Données complémentaires pour le protocole:

Matériel par poste :

- une petite boîte de Pétri gélosée (6cm de diamètre) [plus une deuxième à fournir avec le protocole détaillé de secours en cas de besoin]
- un emporte-pièce, un cure-dent ou une aiguille lancéolée,
- un gabarit de perçage, un feutre,
- une série de compte-gouttes propres,
- un tube contenant le sérum de chèvre produit par le laboratoire (S)*
- 3 tubes contenant les solutions de venin de vipères issues des différentes populations françaises (C, D, E) *,
- une feuille de papier noir.

Préparation au laboratoire :

on peut décider que le sérum est réactif contre 1, 2 ou 3 venins. Pour chaque déclinaison choisie, établir un tableau de correspondance entre produits de substitution et produits modélisés afin d'éviter les erreurs entre préparation du matériel et évaluation des élèves :

Poste	Produits modélisés	S	A	B	C
	Produits de substitution	Soude	Sulfate de zinc ou Eau distillée	Sulfate de zinc ou Eau distillée	Sulfate de zinc ou Eau distillée

Prévoir des boîtes résultats:

- **La diffusion des produits nécessitant entre 15 et 20 minutes, prévoir une boîte à fournir au candidat pour lui permettre de travailler durant le temps de migration des produits.**
- (3 des 6 puits représentés sur le gabarit sont à percer).

Aide majeure :

- la boîte gélosée intacte de secours