

## TP 25 : Les anticorps : des immunoglobulines spécifiques

Le dépistage du VIH est réalisé notamment par le test Elisa qui consiste à rechercher dans le plasma d'une personne la présence d'anticorps anti-VIH. Une personne est séropositive lorsqu'on détecte la présence d'anticorps anti-VIH dans son plasma. On suppose donc que les anticorps produits sont spécifiques d'une molécule donnée (antigène).

**A partir des ressources proposées et du matériel fourni, démontrez que les anticorps sont des molécules spécifiques d'un antigène et expliquez les origines moléculaires et génétiques de cette spécificité.**

### Activité 1 : Mise en évidence de la structure des anticorps

Matériels :

- logiciels Rastop avec modèles moléculaires « IGG-TOTAL.pdb » et « IGG-LYS.pdb » et Anagène avec séquences « IGG.edi » et « 2IGG1ind.edi »
- Fiches techniques Rastop et Anagène

**But de l'activité : Savoir compléter et légènder** le schéma ci-contre d'une molécule d'anticorps.

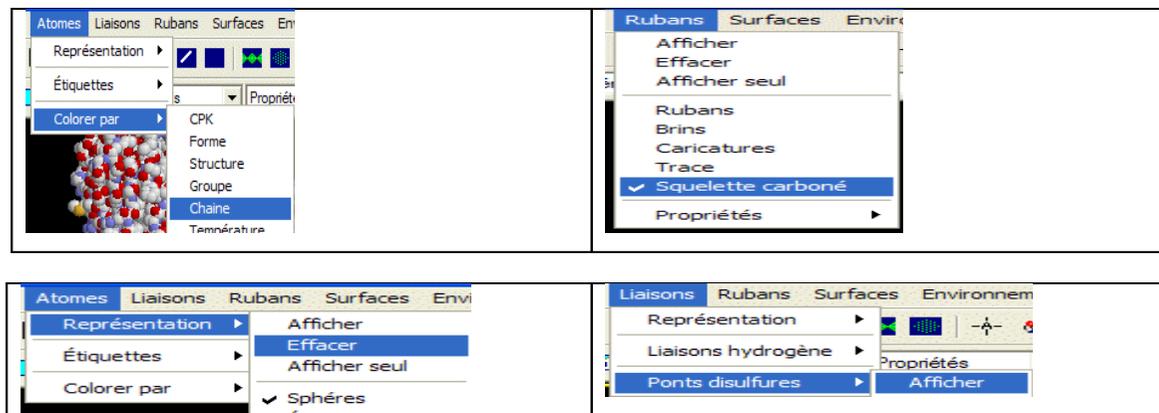
#### 1 - Etude de l'organisation générale d'un anticorps circulant

Ouvrir Logiciel Rastop puis Fichier **Iggtotal.pdb**



Afficher en sphères de Van der Waals avec le bouton :

Puis



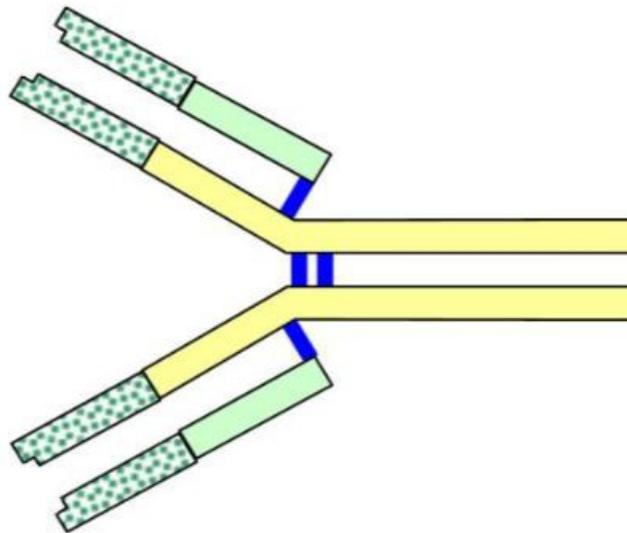
Colorer spécifiquement les ponts disulfures :  permet d'afficher une palette de coloration.

Choisir "Ponts disulfures" dans la liste déroulante puis une couleur. Ils sont un peu plus visibles. La sélection des seuls atomes de soufre se fait dans la liste déroulante la plus à gauche. Une fois l'élément

choisi, la sélection n'est effective qu'en actionnant le bouton  situé à droite. Les atomes de soufre seront alors affichés en utilisant l'icône "Boules et Bâtonnets" 

La sélection d'une couleur pour les atomes dans la palette termine la mise en évidence des ponts disulfures.  (sélectionner atome)

Conclusion :  
Complétez votre schéma de l'anticorps



## 2 - Comparaison des séquences polypeptidiques de différents anticorps

Logiciel Anagène

Fichier **igg-sida-4chaines.edi**

Lancez le logiciel « Anagene » et Ouvrez le fichier « igg-sida-4chaines.edi ». Ce fichier présente les différentes chaînes d'un même anticorps.

Igghsida.pro : Séquence de la 1ère chaîne lourde d'un anticorps humain (H)

Iggisida.pro : Séquence de la 2ème chaîne lourde d'un anticorps humain (I)

Igglsida.pro : Séquence de la 1ère chaîne légère d'un anticorps humain (L)

Iggmsida.pro : Séquence de la 2ème chaîne légère d'un anticorps humain (M)

Comparez les 4 séquences protéiques par comparaison simple. Décrivez vos observations.

Fermez ce fichier.

Ouvrez le fichier « igg-vih-8seq.edi qui permet de comparer différentes chaînes lourdes et légères du même anticorps (dirigé contre le VIH).

chaîneL-ACY Séquence d'une chaîne légère d'un anticorps humain anti-protéine gp120 du VIH

ChaîneH-ACY Séquence d'une chaîne lourde d'un anticorps humain anti-protéine gp120 du VIH

ChaîneL\_1F58 Séquence d'une chaîne légère d'un anticorps humain anti-protéine gp120 du VIH

ChaîneH\_1F58 Séquence d'une chaîne lourde d'un anticorps humain anti-protéine gp120 du VIH

1E6J\_chLourde Séquence d'une chaîne lourde d'un anticorps humain anti-protéine gp24 du VIH

1E6J\_chLegere Séquence d'une chaîne légère d'un anticorps humain anti-protéine gp24 du VIH  
1NLD\_chLourde Séquence d'une chaîne lourde d'un anticorps humain anti-protéine gp24 du VIH  
1NLD\_ChLegere Séquence d'une chaîne légère d'un anticorps humain anti-protéine gp24 du VIH

Sélectionnez l'ensemble des chaînes légères et réalisez un alignement avec discontinuité.

**Que pouvez-vous en conclure ? Localisez les différentes zones mises en évidence.**

**Sélectionnez l'ensemble des chaînes lourdes et réalisez un alignement avec discontinuité.**

**Que pouvez-vous en conclure ? Localisez les différentes zones mises en évidence.**

### 3 - Etude de la position des régions variables de l'anticorps

Logiciel Rastop  
Fichier **IGG-LYS-3D**  
Fichiers **iggtotal.pdb**  
Fichier **IGG-SIDA-3 D** : 1E60.pdb, 1NLD.pdb  
**Coloration sélective des acides aminés 1 à 110 des chaînes légères et 1 à 120 des chaînes lourdes**

Conclusion

Logiciel Anagène  
Fichier **igg-multiples.edi**

**Que pouvez-vous en conclure ? Localisez les différentes zones mises en évidence.**

### 4 - Observation de complexes antigène - anticorps (complexes immuns)

Logiciel Rastop  
Fichier **IGG-SIDA-3D**  
Fichiers **1ACY.pdb, 1<sup>E</sup>6J.pdb, 1F58.pdb**  
**Coloration sélective des acides aminés 1 à 110 des chaînes légères et 1 à 120 des chaînes lourdes d'une immunoglobuline liée à son antigène**

*Conclusion :*

**LES VENINS DE VIPERES****Mise en situation et recherche à mener**

Après une morsure de vipère aspic (*Vipera aspis*), on traite immédiatement le blessé en lui injectant un produit anti-venin qui contient des anticorps dirigés contre des protéines (= antigènes) présentes dans le venin.

Un laboratoire a fabriqué un produit anti-venin de vipère aspic qu'il désire commercialiser en France. Étant donné la variabilité des venins et des réactions des animaux utilisés pour la production de l'anti-venin, le fabriquant doit auparavant s'assurer de l'efficacité de son produit contre les différentes populations françaises de vipère aspic.

**On cherche à déterminer si les anticorps contenus dans un produit anti-venin peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin des vipères aspic françaises, afin de savoir s'il peut être distribué en France.**

**Ressources****Document 1 : Elaboration d'un produit anti-venin de vipère aspic**

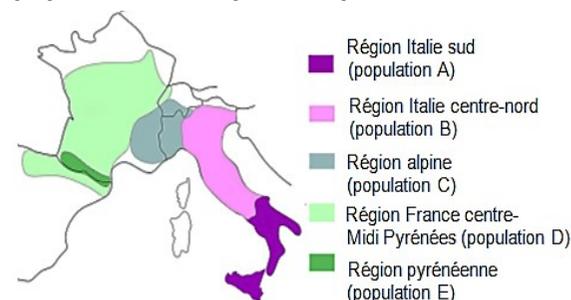
Le venin de la vipère aspic est composé de diverses protéines, toxiques pour l'organisme. La composition protéique des venins de cette espèce varie en fonction de la diversité génétique des individus et donc en fonction de leur localisation géographique.

Pour élaborer un "anti-venin", on procède en injectant à des chèvres un mélange de venins détoxifiés\*, prélevés sur des vipères issues 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 vipères aspic présentes sur un territoire avant de le proposer aux hôpitaux qui se trouvent sur ce territoire.

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

**Document 2 : Carte de répartition des populations de vipères aspic**

d'après M. Zuffi, *Amphibia-Reptilia* n° 23 (2002)

- produit anti-venin à tester (issu d'une chèvre ayant reçu un mélange de venins détoxifiés\* de vipères aspic)
- venins de vipères issus des différentes populations (A, B, C, D et E)

**Matériel envisageable**

- de laboratoire (verrerie, instruments...)
- d'observation (microscope, loupe binoculaire...)
- de mesure et d'expérimentation (balance, chaîne ExAO...)
- informatique et d'acquisition

**Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)**

**Proposer une démarche d'investigation** permettant de **déterminer** si les anticorps contenus dans un produit "anti-venin" peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin de toutes les vipères aspic françaises, afin de savoir s'il peut être distribué en France.

**Appeler l'examineur pour vérifier votre proposition et obtenir la suite du sujet.**

**Votre proposition peut s'appuyer sur un document écrit (utiliser les feuilles de brouillon mises à votre disposition) et/ou être faite à l'oral.**

**Étape 2 : 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" peuvent neutraliser les antigènes présents dans le venin des vipères aspic françaises.

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

**Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer**

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

**Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérification de votre production**

**Étape 4 : 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 vipères aspic françaises, afin de savoir s'il peut être distribué en France.

**Répondre sur la fiche-réponse candidat.**