

Q

Noms des élèves du trinôme :

- 2 -

Responsable de la fiche réponse :

Responsable du matériel :

Responsable de l'organisation :

B2

Feuille réponse

Première partie groupes de 3 – Principe du protocole

1. Rédigez une réponse commune à la deuxième question du travail à la maison.
« Comment montrer que les structures tridimensionnelles de l'anticorps et de l'antigène correspondant sont importantes pour la liaison ? (Donner des idées, pas des techniques). »

La structure spatiale de l'antigène et de l'anticorps peuvent être spécifique à un antigène.
On va marquer les régions variables de l'anticorps par un isotope radioactif et les récepteurs de l'antigène.
ou utiliser un matériel ayant la même complémentarité spatiale.

Deuxième partie groupes de 3 – Rédaction du protocole

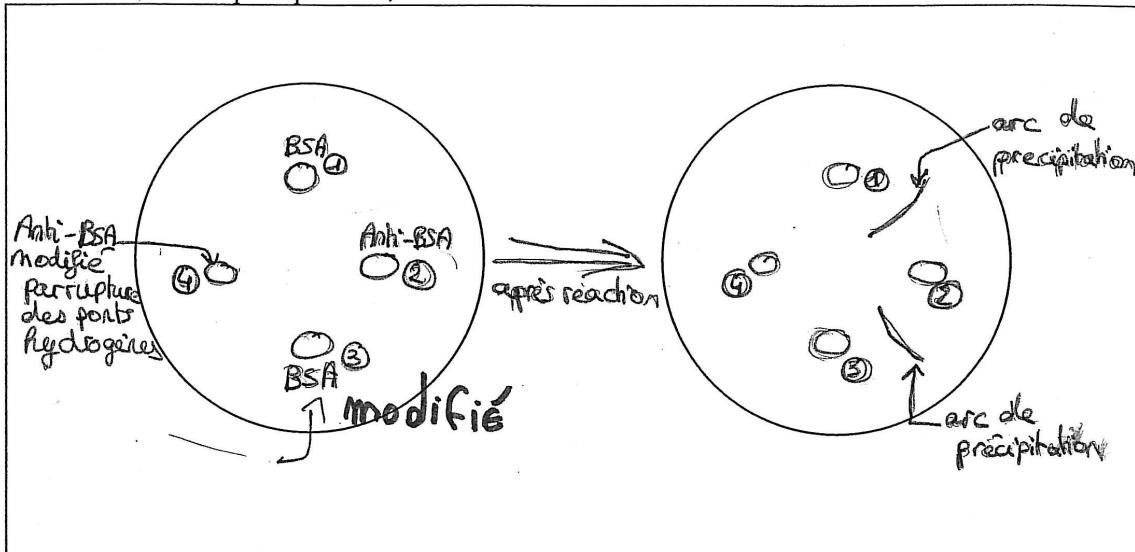
2.1. Rédigez le protocole détaillé permettant de mettre en évidence l'importance de la structure tridimensionnelle de l'antigène et de l'anticorps sur leur liaison. test d'Ouchterlony,

1. On prend une boîte de pétrie où on fait 4 trous avec l'emporte-pièce.
2. Dans le 1^{er} trou on met le BSA ainsi que dans le 3rd.
3. Dans le 2nd trou on met un Anti-BSA normal et dans le 4th trou on met un Anti-BSA avec les pointes d'hydrogène rompus grâce au SDS qui est un agent qui se fixe sur les protéines, qui rompt les liaisons hydrogène.
4. On mélange ainsi 30 µL de la solution préveineuse (Anti-BSA) et 5 µL de solution de SDS à 20%.
5. Et par le principe du test d'Ouchterlony, on devrait obtenir un cercle de précipitation visible à l'œil nu lorsque les deux solutions réagissent.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.
- 11.
- 12.
- 13.
- 14.
- 15.
- 16.

19

- 4 -

2.2. Schématisez les boîtes à réaliser en précisant les produits utilisés et les résultats attendus (arcs de précipitation).



2.3. Justifiez vos choix de molécules et d'agents.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Troisième partie groupes de 3 – Interprétation des résultats d'un autre groupe

3.1. Echangez vos feuilles et interprétez par écrit les résultats proposés par un autre groupe.
Noms des élèves ayant interprété les résultats : _____

on remarque un arc de précipitation entre les sujets contenant du BSA normal et de l'anti-BSA normal alors qu'aucune précipitation n'a lieu entre le BSA normal et l'Anti-BSA modifié par rupture des ponts hydrogène les hydrogène servant à maintenir la structure on en déduit que les anti-corps ayant leur structure modifiée ne peuvent plus se fixer sur les antigènes (la structure tridimensionnelle des anticorps est donc importante pour la fixation sur l'antigène, (structure modifiée de l'antigène ???)

B6 15

Noms des élèves du trinôme : ...

- 2 -

Responsable de la fiche réponse : _____

Responsable du matériel : _____

Responsable de l'organisation : _____

Feuille réponse

Première partie groupes de 3 - Principe du protocole

1. Rédigez une réponse commune à la deuxième question du travail à la maison.
« Comment montrer que les structures tridimensionnelles de l'anticorps et de l'antigène correspondant sont importantes pour la liaison ? (Donner des idées, pas des techniques). »

Pour montrer que la structure dimensionnelle est importante pour la liaison :
* on peut déformer la structure spatiale du site de fixation de l'anticorps
... si l'antigène se fixe quand même alors la structure spatiale n'importe pas
* de la même façon on déforme le déterminant antigénique
* on observe la compatibilité des molécules qui ont une structure spatiale similaire
(des antigènes ayant un déterminant d'une structure proche)

Deuxième partie groupes de 3 – Rédaction du protocole

2.1. Rédigez le protocole détaillé permettant de mettre en évidence l'importance de la structure tridimensionnelle de l'antigène et de l'anticorps sur leur liaison.

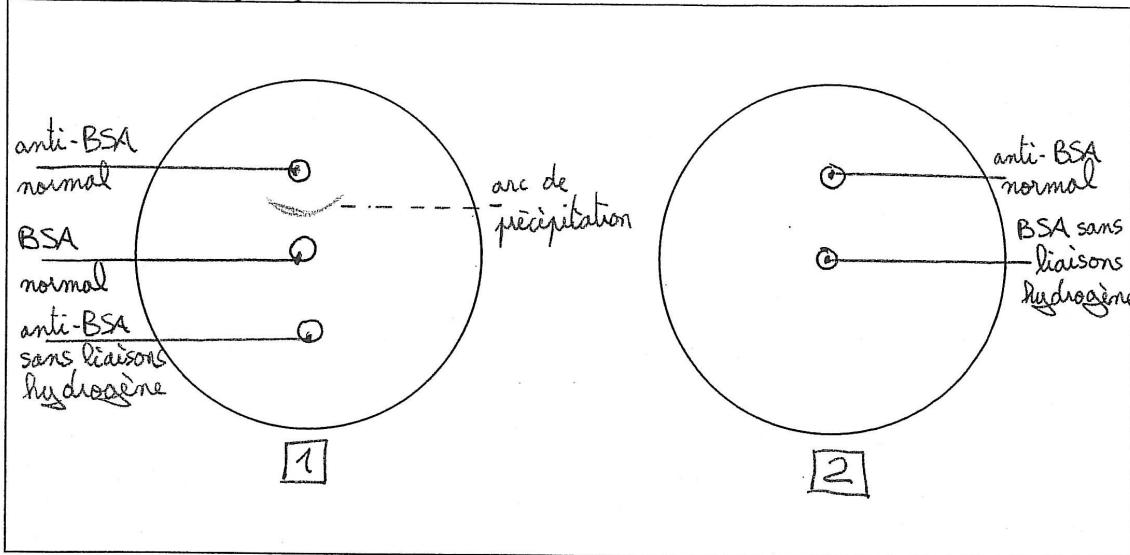
① Préparation des modèles rupturant des ponts hydrogène (ce sont eux qui maintiennent la structure tridimensionnelle de la protéine)

3. solution A: 30 µl de solution d'anticorps anti-BSA + 15 µl de solution de sodium Dacétyl sulfate (SDS) à 20%
4. solution B: 30 µl de solution de BSA + 15 µl de solution de SDS 20%
6. on dispose aussi d'une:
solution C: anticorps anti-BSA
7. solution D: BSA

② Expériences

9. on réalise le test d'Ouchterlony
on dispose de deux boîtes de Petri : 1 et 2
- 10.
11. Boîte 1: on installe 3 puits à au moins 1 cm de distance
 - o puit du milieu: BSA (solution D)
 - o puit du haut: Anti-BSA (sol. C)
 - o puit du bas: Anti-BSA modifié (sol. A)
13. Boîte 2: 2 puits
 - o puit bas: BSA modifié (sol. B)
 - o puit haut: anti-BSA normal (solution C)
16. **③ Résultats**: 26° à 68° plus band claire
16. (les résultats): présence ou non d'une de précipitation.

2.2. Schématissez les boîtes à réaliser en précisant les produits utilisés et les résultats attendus (arcs de précipitation).



2.3. Justifiez vos choix de molécules et d'agents.

- * On utilise la protéine BSA et l'anticorps correspondant, anti-BSA, car ils font une liaison antigène-anticorps.
- * On choisit le Sodium Dodecyl Sulfate car il rompt les liaisons hydrogènes des protéines, qui maintiennent la structure spatiale. Cela permet d'observer si la liaison se fait avec des protéines déformées.

Troisième partie groupes de 3 – Interprétation des résultats d'un autre groupe

3.1. Echangez vos feuilles et interprétez par écrit les résultats proposés par un autre groupe.

Noms des élèves ayant interprété les résultats : LAPENKO Natalya, MANIÉ BÉTTE, C.

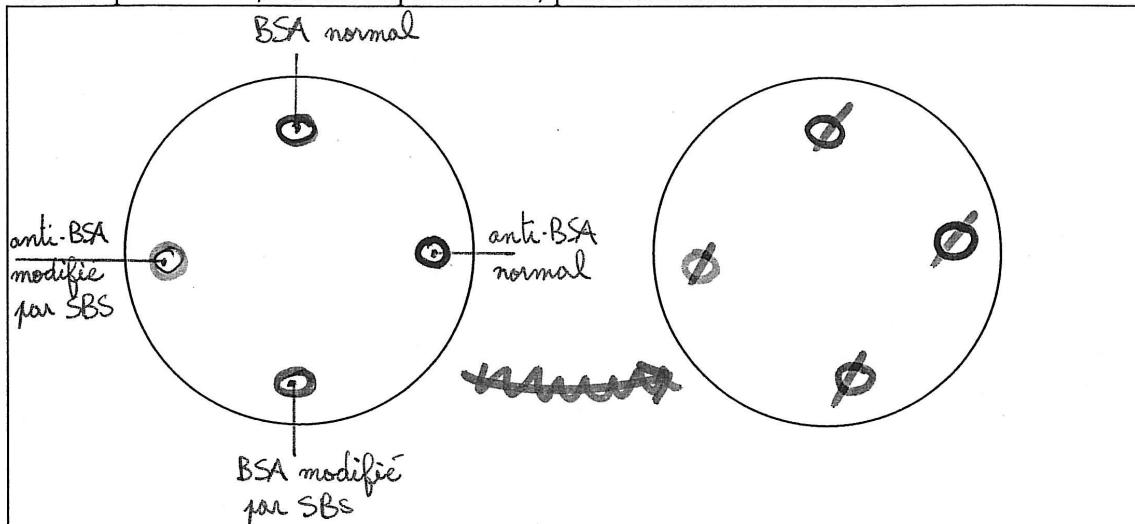
Nous sommes en accord avec le travail fait par ce groupe car lors d'une modification de la structure spatiale de l'anticorps nous n'observons pas d'arc de précipitation représentant le complexe immuun (= liaison antigène-anticorps).

B26 ⑥ + ⑦

Noms des élèves des deux groupes :

Quatrième partie groupes de 6 – Rédaction et réalisation d'un protocole commun

4.1. Choisissez ensemble les molécules et les agents sachant que vous ne pourrez pas utiliser plus de 200 µl d'anticorps anti-BSA, puis schématissez les boîtes à réaliser.



4.2. Rédez un protocole commun n'utilisant pas plus 200 µl d'anticorps anti-BSA.

1. Voir cadre A Feuille Lucas / Gué / Justine
2. 2 Expérience
3. 1 Matériel
4. une boîte de Petri + un emporte-pièce
.... 3 pipettes (pour chaque solution)
5. 1 solution d'anti-BSA
.... 1 solution de BSA
6. une solution de sodium Dodecyl sulfate (SDS) à 20 %
7.
8. 2 EXPÉRIENCE
9. PERCER 4 trous dans une boîte de Petri comme indiqué sur le schéma

b(6) + (2)

- 6 -

10. • prélever à la pipette de la solution Anti-BSA.
11. Déposer délicatement 1 goutte ($\approx 15 \mu\text{l}$) dans un des trous.
12. • faire de même avec la solution de BSA.
.... • Dans un 3ème trou mélanger $30 \mu\text{l}$ (= 2 gouttes).
13. d'Anti-BSA avec $15 \mu\text{l}$ de SDS à 2%
[celui-ci a pour but de casser les ponts d'hydrogène afin
de modifier la structure de l'anti-corps]
14. • Dans le 4ème faire de même avec BSA
 $(30 \mu\text{l} \rightarrow \text{BSA} + 15 \mu\text{l} \rightarrow \text{SDS})$
15.
16. ③ Résultats : 24^h à 48^h plus tard, observer les résultats : présence ou non d'au(s) de précipitation.