

Immunité naturelle contre le VIH : étude de lignées de macrophages ne possédant pas la protéine CCR5 par Western Blot

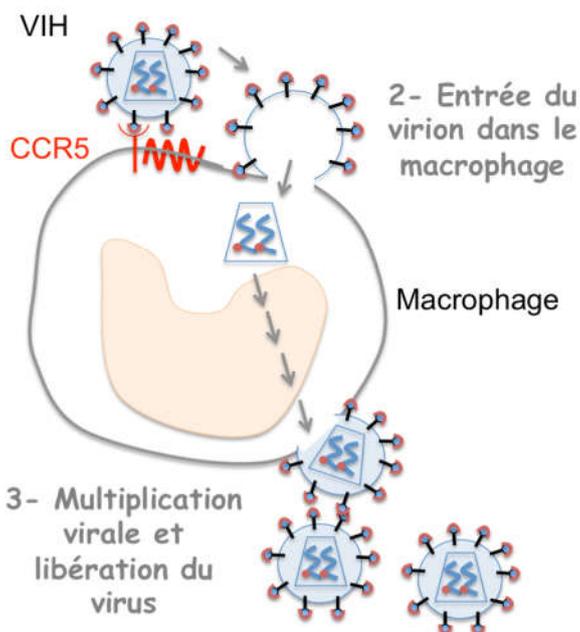
Scénario pédagogique proposé par BOUVIER Isabelle, BUSSO Bénédicte, CANNET Aude Lycée Jean Jaurès Chatenay Malabry, 2021

Contexte

Selon les estimations, **0,3 % de la population mondiale est doté d'une immunité naturelle contre le VIH** grâce à une mutation d'un gène codant la protéine **CCR5**.

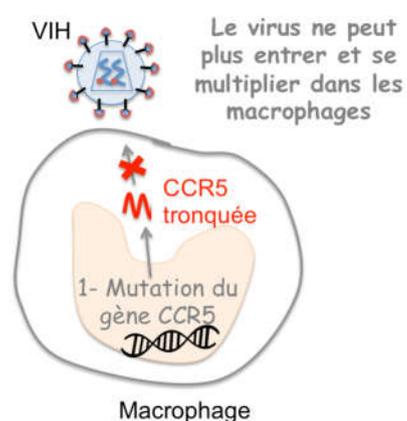
CCR5 est un récepteur présent sur la membrane des macrophages et est considéré comme la porte d'entrée du virus dans les cellules. Les virus ne peuvent se multiplier qu'en étant à l'intérieur d'une cellule où ils pourront profiter de la présence des organites dont ils sont dépourvus (**document 1**).

1- Liaison spécifique du virus au macrophage grâce au récepteur CCR5



Document 1 : Schéma représentant le cycle viral du VIH

La mutation du gène CCR5 conduit à une protéine tronquée, qui n'est plus exprimée à la surface des cellules. Les virus ne peuvent alors pas entrer et se multiplier dans ces cellules cibles, conduisant à **une immunité naturelle des personnes possédant cette mutation**.



Document 2 : Schéma illustrant l'immunité naturelle vis à vis du VIH

Il est possible de reproduire, en laboratoire, cette mutation du gène CCR5 et générer ainsi des macrophages ne possédant pas la protéine CCR5. Dans cette expérience, deux lignées cellulaires de macrophages sont mises en culture pour recréer la délétion du gène de CCR5. Pour vérifier l'efficacité de ces délétions, la présence de la protéine CCR5 dans les deux lignées cellulaires est vérifiée par Western Blot.

Réflexion préliminaire

La technique de Western Blot est une technique qui permet de connaître le niveau d'expression d'une protéine dans une cellule. Dans le cas présent, on souhaite utiliser cette technique pour vérifier qu'il est possible de produire, en laboratoire, des macrophages n'exprimant pas la protéines CCR5.

Deux lignées de macrophages sont testées : échantillons #edit 4 et #edit 7. En parallèle, des contrôles négatif et positif sont réalisés pour valider l'expérience.

Avant de faire la manipulation, vous devez :

- choisir les contrôles positif et négatif ;
- comprendre la préparation des extraits protéiques à partir des cellules ;
- comprendre les étapes de la technique de Western blot.

Pour faire cette réflexion préliminaire, cliquer sur le lien suivant :

<https://www.quiziniere.com/#/PartageExercice/6G52E7PBGJ>

Réalisations pratiques

Dans un premier temps, les protéines sont séparées en fonction de leur taille en réalisant un gel d'électrophorèse.

T1- Réaliser la simulation « Running a protein gel » sur LabXchange sans faire les questions en cliquant sur le lien suivant :

https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:227ccb5:lx_simulation:1

Une fois la migration terminée, les protéines sont transférées du gel vers une membrane de nitrocellulose puis détectées grâce à un anticorps dirigé contre la protéine recherchée.

T2 - Réaliser la simulation « Western blot : Testing Protein Expression Level » sur LabXChange sans faire les questions en cliquant sur le lien suivant :

https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:ee936a17:lx_simulation:1

Présentation et exploitation des résultats

Cliquer sur le lien suivant pour visualiser les résultats obtenus et les analyser :

<https://www.quiziniere.com/#/PartageExercice/QV7K4NDWR8>