

**Examen de l'UER ACCEM 2023-2024**  
**(A Merched, JP Lasserre)**  
**1ère session, 7 mai 2024**  
**(3 questions sur 4 pages ; 20 points ; durée 2 heures)**

**Question I (8 points)**

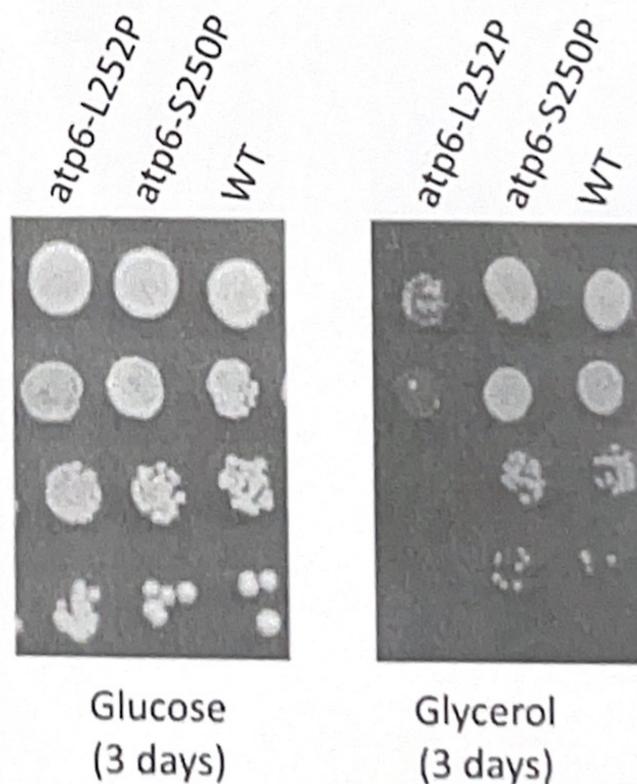
Des chercheurs ont voulu étudier les mutations T9185C (S250P) et T9191C (L252P) trouvées dans le gène ATP6 chez des patients atteints d'une maladie neurodégénérative appelée NARP (Neurogenic Ataxia and Retinitis Pigmentosa).

Chez la levure, la première mutation (T9185C) provoque le changement d'une serine en proline en position 250 de la protéine. La deuxième mutation (T9191C) provoque le changement d'une leucine en proline en position 252 de la protéine.

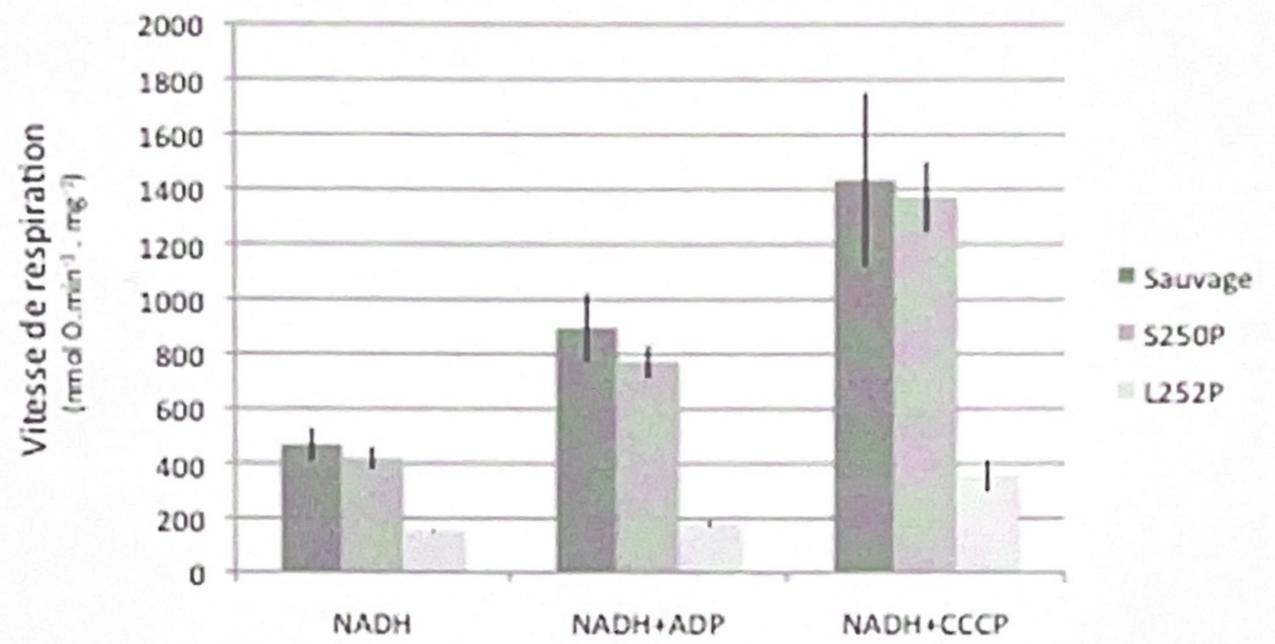
Le gène ATP6 est un gène mitochondrial codant pour une sous-unité du complexe de l'ATP synthase. Pour étudier l'impact de ces différents variants, les chercheurs ont choisi d'utiliser la levure. Les résultats sont présentés dans les documents suivants (Figures 1-4).

- Pourquoi seules les mères peuvent transmettre ces deux mutations ? Le père peut-il transmettre des maladies mitochondriales ? Pourquoi ?
- Comment le glucose est-il utilisé par la levure ? et le glycérol ? Qu'elle est la conclusion du test de la figure 1 ?
- Que montre les tests de la figure 2 ?
- Concernant le BN-PAGE/western blot de la figure 3, commentez le résultat ?
- Qu'indique le SDS-PAGE/western blot de la figure 4 ? A quoi sert la porine ?
- Sachant que la synthèse de la protéine Atp6p n'est pas affectée, que pouvez-vous conclure avec l'ensemble de ces résultats ?

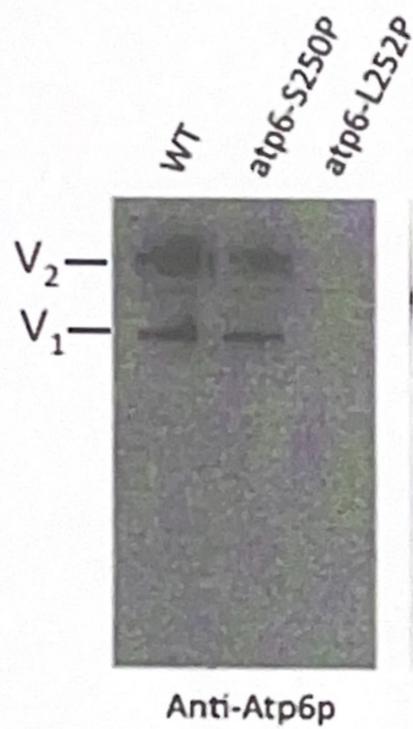
**Figure 1 : Tests en goutte**



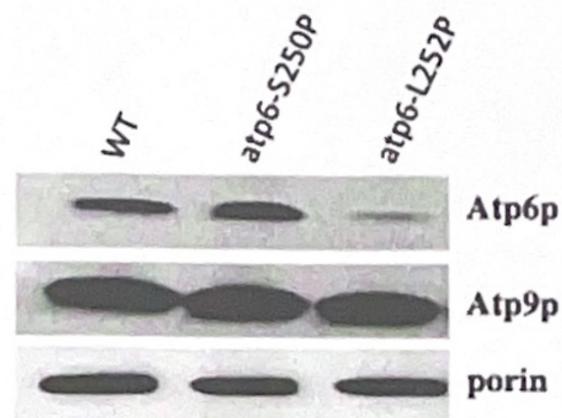
**Figure 2\_:** Tests de respiration sur mitochondries isolées



**Figure 3 :** BN-PAGE et Western Blot



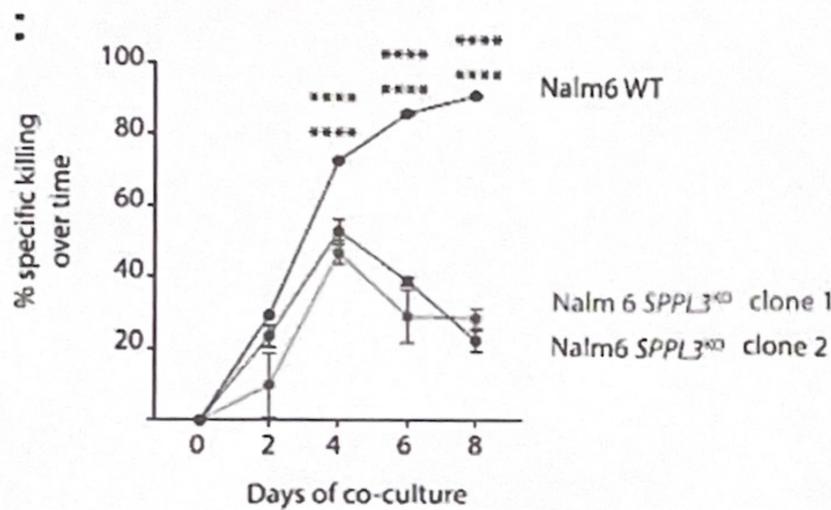
**Figure 4 :** SDS-PAGE et Western Blot (la porine est une protéine exclusivement mitochondriale)



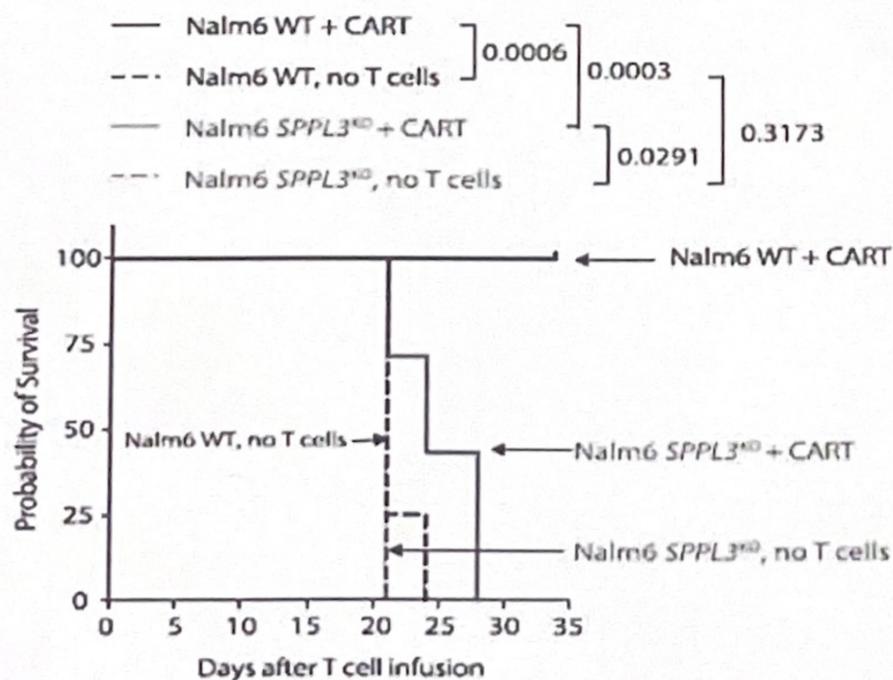
**Question 2 (10 points)**

Des chercheurs ont examiné les mécanismes de résistance à la thérapie CART dans les leucémies lymphoblastiques aiguës de type B. Ils ont effectué une perte de fonction à l'échelle du génome, basée sur CRISPR/Cas9 dans la lignée cellulaire humaine modèle de cette pathologie, Nalm6 pour identifier gènes dont la fonction peut favoriser la résistance à l'action des CAR T ciblant le CD19 (CART19). Ils ont montré que la perturbation d'une protéase intra-membranaire du golgi, appelée Signal Peptide Peptidase-like 3 ou SPPL3 a provoqué une hyperglycosylation de CD19. Les auteurs ont étudié la conséquence de cette anomalie de modification post-traductionnelle sur la liaison des anticorps anti-CD19, l'activation des cellules CAR T, et la résistance à la thérapie CAR. Les résultats sont présentés dans les figures suivantes.

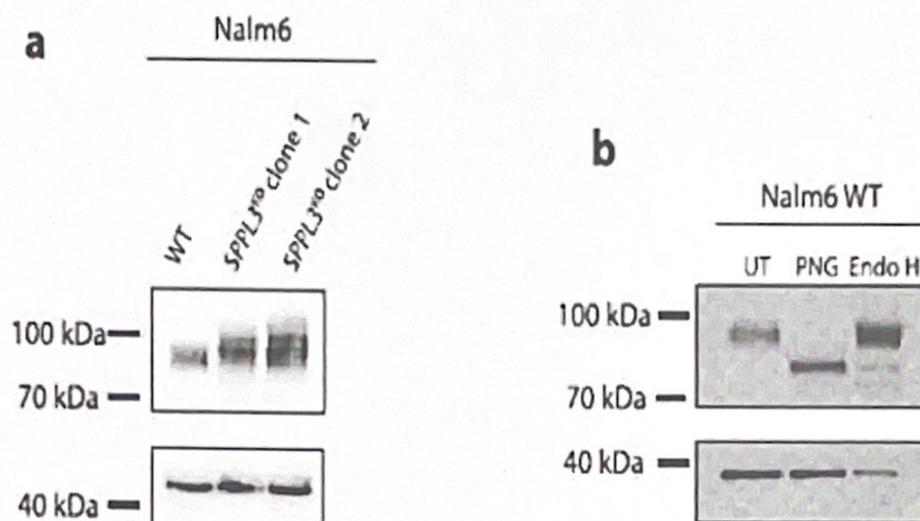
**Figure 5 :** Survie des Nalm6 déficientes (ko) ou pas (WT) en SPPL3 après incubation avec CART19



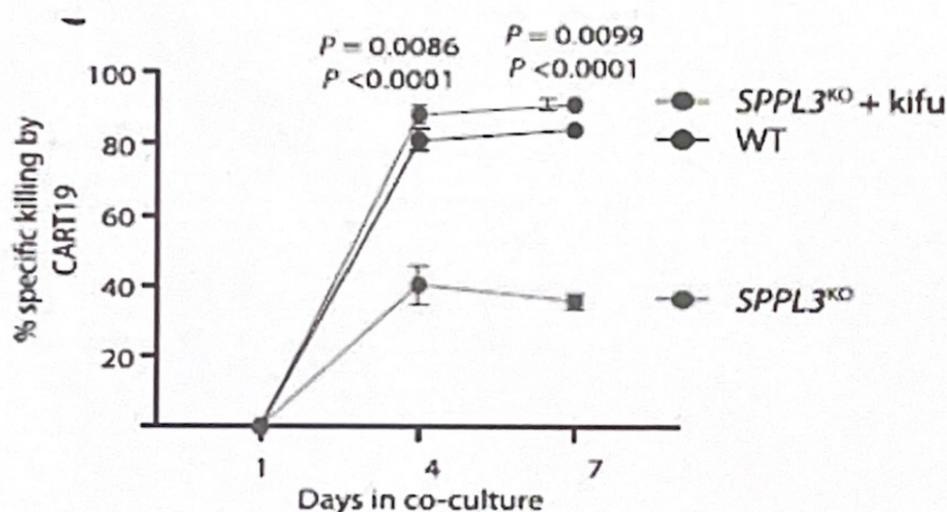
**Figure 6 :** Survie des souris injectées par les cellules Nalm6 déficientes (ko) ou pas (WT) en SPPL3, avec ou sans traitement par les CART



**Figure 7 :** (a) Western blot de lysats de cellules WT ou SPPL3<sup>KO</sup> Nalm6 incubés avec un anti-CD19. (b) Western blot de lysats de WT ou SPPL3KO Cellules Nalm6 qui ont été soit non traitées (UT), traitées avec de la PNGase F (PNG) ou traitées avec de l'endoglycosidase H (Endo H), puis incubés avec un anti-CD19. Endo H clive uniquement les sucres ajoutés dans le RE tandis que le PNG clive également les glycanes ajoutés dans le Golgi.



**Figure 8 :** Survie du WT, du SPPL3<sup>KO</sup> non traité et du traitement à la kifunensine (inhibiteur de glycosylation) des SPPL3<sup>KO</sup> Nalm6 au cours du temps en co-culture avec des cellules CART19



D'après vos connaissances et l'analyse de ces résultats, répondez aux questions suivantes :

- Expliquer le principe de CART19 : la conception des cellules, la composition du récepteur chimérique, les effets secondaires liés au traitement et la façon d'y remédier
- Quelles sont les conséquences d'inhibition de SPPL3 sur l'efficacité de CART19 in vitro et in vivo ?
- Comment SPPL3 pourrait agir sur le CD19 ?

### Question 3 (2 points)

Expliquer les mécanismes de mort cellulaire par ferroptose