

DM Biologie (1h)

Ce sujet comporte 5 pages

Etude de la protéine prion

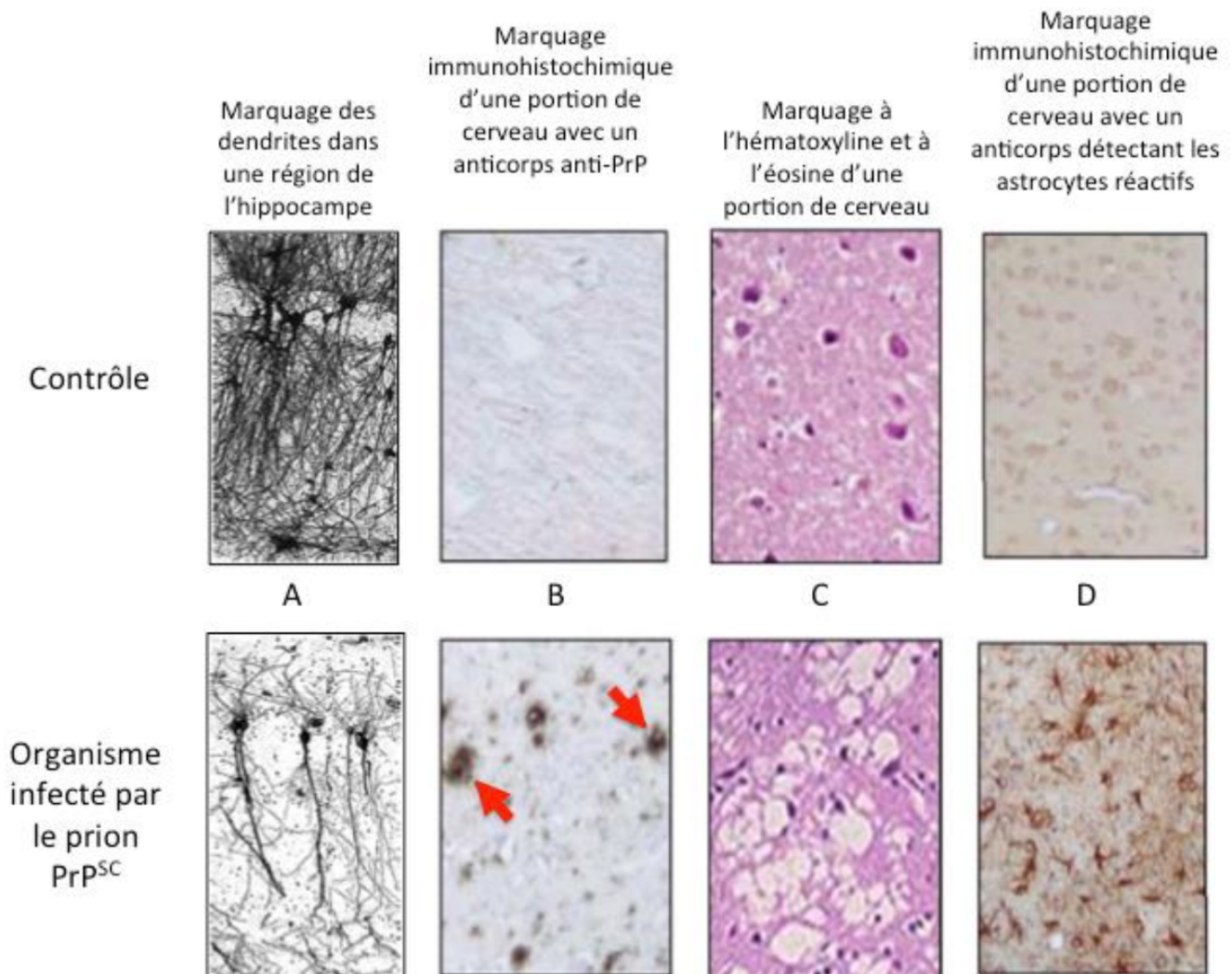
La protéine prion "scrapie", PrP^{Sc}, est un agent infectieux original responsable de maladies neurodégénératives comme la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'Homme, la tremblante du mouton ou la maladie de la "vache folle" (encéphalopathie spongiforme). Les symptômes observés sont variables d'une maladie à l'autre mais tous mettent en jeu l'accumulation de protéines prion "scrapie" dans le système nerveux central. La protéine prion "scrapie" possède la même séquence que la protéine prion PrP^C, une protéine présente dans la plupart des cellules de mammifère, mais elle s'en différencie par plusieurs caractéristiques.

L'objectif de ce thème est d'étudier la protéine prion "scrapie" PrP^{Sc} et ses effets sur l'organisme ainsi que le rôle joué par le microbiote du rumen dans un organisme infecté.

Les documents doivent être analysés et interprétés en répondant aux questions posées.

Document 1 - Manifestations tissulaires de la maladie

Des coupes histologiques dans divers tissus du système nerveux central ont été réalisées chez des organismes mammifères infectés, ou non infectés (contrôle), par la protéine prion "scrapie" PrP^{SC}. Ces coupes ont été traitées par différentes techniques (A, B, C et D) décrites directement sur le document.



A : les dendrites sont des prolongements des neurones impliqués dans la communication nerveuse. Ils sont mis en évidence par marquage à l'argent qui apparaît en noir (l'hippocampe est une région interne du cerveau des mammifères).

B : l'anticorps utilisé anti-PrP marque indifféremment les protéines prion PrP^C et PrP^{SC}. Les têtes de flèches rouges pointent des amas de protéines.

C : l'hématoxyline met en évidence les noyaux (coloration rose foncé) alors que l'éosine se lie aux éléments cytoplasmiques (coloration rose).

D : les astrocytes sont des cellules du système nerveux central qui assurent diverses fonctions dont la protection des neurones. Ces cellules sont réactives (elles se multiplient, grossissent) en cas d'inflammation du tissu nerveux.

1. **Comparer** rigoureusement les deux séries de coupes histologiques pour en déduire les manifestations tissulaires de l'expression de la protéine prion "scrapie" PrP^{SC} chez des mammifères infectés.
2. **Proposer une hypothèse** sur l'origine de la pathogénicité de la protéine prion "scrapie" PrP^{SC}.

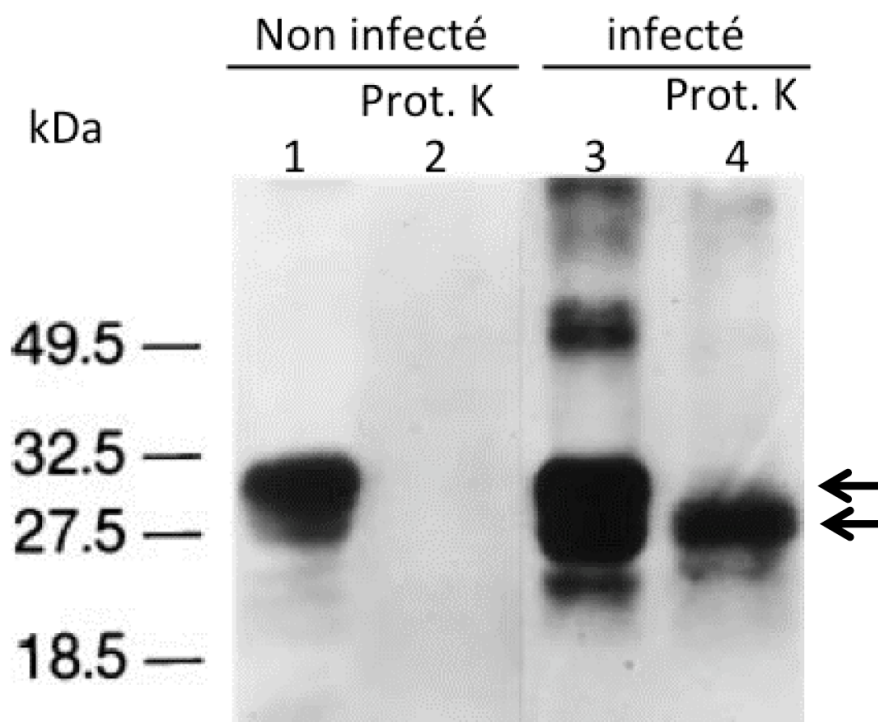
Document 2 - Étude des différentes formes de la protéine prion PrP

Document 2A - Caractéristiques biochimiques de la protéine prion "scrapie"

Les protéines du cerveau de 4 hamsters ont été extraites à partir d'individus non infectés ou infectés par la protéine prion "scrapie". Les extraits contenant des quantités de protéines équivalentes ont été traités par la technique du **SDS-PAGE**, puis par **Western Blot** avec un anticorps anti-PrP afin de révéler spécifiquement la protéine prion PrP. L'anticorps utilisé reconnaît à la fois la protéine prion native PrP^C et la protéine prion "scrapie" PrP^{SC}, protéine pathogène.

Différentes conditions expérimentales ont été réalisées :

- colonnes 1 et 2 : hamsters non infectés
- colonnes 3 et 4 : hamsters infectés par la protéine prion "scrapie" PrP^{SC}
- colonnes 2 et 4 : les extraits de cerveau ont été soumis à une digestion à 37°C durant 30 minutes par la protéinase K, une enzyme qui hydrolyse les protéines, avant la réalisation du SDS-PAGE (Prot. K).



3. **Présenter** en quelques lignes les techniques de SDS-PAGE et de Western Blot et leurs intérêts.
4. En vous intéressant spécifiquement aux bandes pointées par des flèches sur le document 2A, **comparer** les résultats entre un organisme infecté et un non infecté par la protéine prion pathogène.
5. Quel contrôle faudrait-il rajouter pour valider le Western Blot ?

Document 2B - Structure secondaire des protéines prion PrP^C et de PrP^{Sc}

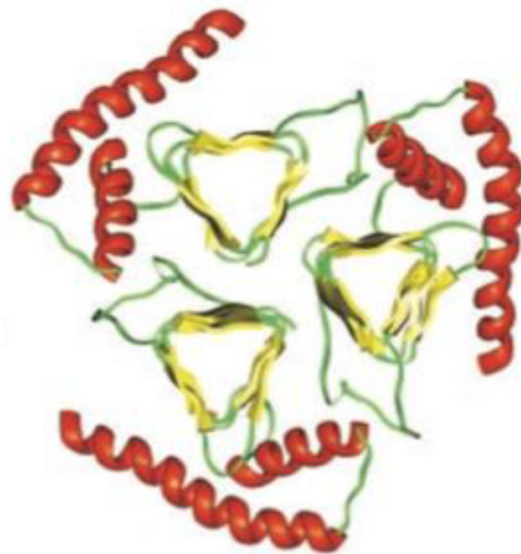
Les structures secondaires des protéines PrP^C et PrP^{Sc} (protéines prion) ont été déterminées par cristallographie et diffraction aux rayons X : les résultats en pourcentages sont présentés dans le tableau ci-dessous. Ces données, établies à partir de protéines natives purifiées, ont permis de proposer des modèles d'organisation en trois dimensions des deux formes de la protéine prion PrP. On rappelle ici que les protéines PrP^C et PrP^{Sc} ont la même séquence.

Structure	PrP ^C	PrP ^{Sc}
Hélice alpha	42	30
Feuillet bêta	3	43
Tour	32	11
Coude	23	16

PrP^C



PrP^{Sc}

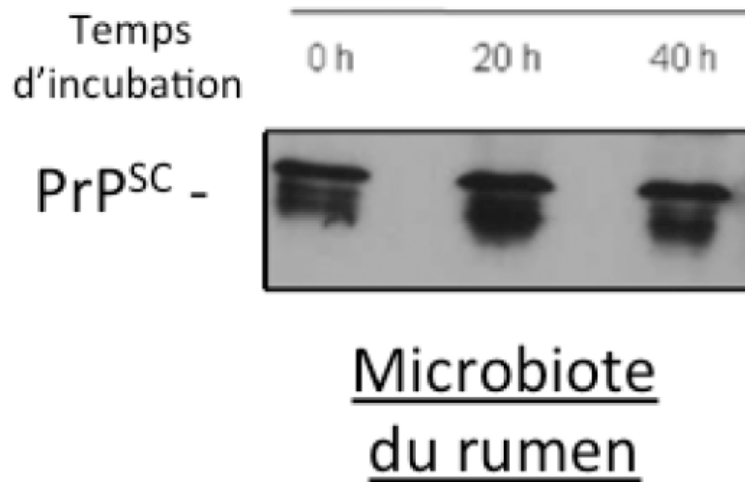


6. **Décrire** et **interpréter** les résultats présentés dans le document 2B. **Préciser** en quoi ils permettent d'expliquer les résultats des pistes 2 et 4 du document 2A.

Durant les années 1990, principalement dans le Royaume-Uni, la filière bovine a subi une grande crise sanitaire du fait de la rapide propagation d'une maladie au sein des troupeaux : l'encéphalopathie spongiforme bovine, appelée la maladie de "la vache folle". Suite à cette crise, de multiples études épidémiologiques ont été réalisées. Il a ainsi été montré que la protéine prion pouvait se transmettre par voie orale, en particulier par la nourriture apportée aux troupeaux. Des compléments protéiques souvent utilisés étaient les farines animales : des restes d'animaux (dont des bovins) non consommés broyés finement. Certaines de ces farines n'étaient pas traitées à une température suffisamment importante lors de leur fabrication, ce qui ne permettait pas l'élimination de la protéine prion "scrapie" PrP^{Sc}.

Document 3 - Effet du microbiote ruminal sur la protéine prion pathogène PrP^{SC}

L'action du microbiote sur la protéine prion "scrapie" est étudiée. La protéine prion "scrapie" est incubée pendant 40h avec des microorganismes du rumen dans des conditions anaérobies. Des Western-Blot spécifiques de la protéine prion "scrapie" PrP^{SC} ont été réalisés au cours de l'incubation (0h, 20h et 40h) et les résultats obtenus sont présentés ci-dessous. Les différences de distances de migration de la protéine entre les différents puits sont uniquement dues à des défauts des gels de migration.



7. **Analyser** les résultats du western-blot du document 3. **Préciser** en quoi ces résultats expliquent le potentiel infectieux de la protéine prion "scrapie" PrP^{SC}.
8. Quel(s) contrôle(s) faudrait-il rajouter pour valider les conclusions ?

Source : sujet TB 2018