

## Expériences réalisées sur les fibroblastes déficients en DPAGT1

- Marquages métaboliques

Plusieurs expériences de marquages métaboliques ont été réalisées sur les fibroblastes de Lena afin de mettre en évidence un défaut de N-glycosylation. A ce jour, nous n'arrivons pas à mettre en évidence un défaut de N-glycosylation par marquage métabolique. Les résultats étant comparables à ceux obtenus dans des cellules contrôles.

- Analyse par western Blot de DPAGT1

Afin de confirmer la déficience en DPAGT1, nous avons voulu regarder le niveau de la protéine DPAGT1 par une approche de western blot. Nous avons commandé les anticorps. Après plusieurs essais en modifiant certaines conditions, nous ne sommes pas arrivés à détecter la protéine DPAGT1. Conclusion, les Ac utilisés dans les publications sont non spécifiques

- Analyse par western Blot de glycoprotéines susceptibles d'être altérées dans la déficience en DPAGT1

D'après la littérature, une déficience en DPAGT1 mène à une déficience d'ADAM10. Nous avons évalué le profil d'ADAM10 dans les fibroblastes de Lina après avoir commandé les anticorps. Là encore le résultat est décevant et ne nous permet pas de conclure. Bien que publié, les Anticorps dans nos mains sont non spécifiques. Nous avons également regardé des glycoprotéines témoins et tout est normal.

Conclusion : Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence une déficience de glycosylation dans les cellules fibroblastes de Lena. Le fibroblaste n'est peut-être pas le modèle adapté pour identifier une déficience de glycosylation.

## Expériences réalisées sur les levures

Suite à ces résultats nous avons entrepris d'utiliser le modèle levure déficiente en DPAGT1. Le problème c'est que ALG7 (l'équivalent de DPAGT1 chez la levure) est un gène essentiel. Les cellules KO ALG7 sont donc non viables. Pour contourner cette déficience, nous avons délété le gène ALG7 pour le remplacer avec DPAGT1 wild-type et muté. Des expériences lourdes de biologie moléculaire ont été entreprises pour déléter dans le génome le gène ALG7. Les constructions sont faites et nécessitent d'être transfectées dans la levure afin de mettre en évidence la pathogénicité et le lien des mutations identifiées dans la glycosylation.