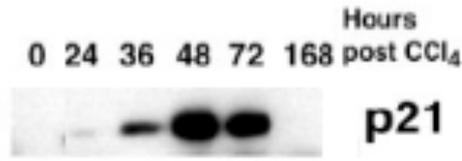




péricentraux. Il a été constaté que les souris p21<sup>-/-</sup> (souris invalidées pour le gène codant pour la protéine p21/Waf) avaient une régénération hépatique plus rapide que les souris sauvages (WT). Dans un premier temps les auteurs ont analysé par western blot l'expression de p21 dans le foie de souris contrôle (wildtype = sauvage) à différents temps après injection par voie intra-péritonéale de CCl<sub>4</sub>.

**Figure 1**



Décrivez la méthode et interprétez les résultats.

**Décrivez la méthode 1,5 points**

- Dans un premier temps à séparer les protéines grâce à **une électrophorèse 0,50**
- Ces protéines ainsi séparées sont dans un deuxième temps **transférées** sur une membrane de nitrocellulose. **0,50**
- Dans un troisième temps, les protéines d'intérêts sont reconnues grâce à un marqua avec un anticorps primaire (reconnaissant la protéine d'intérêt) **0,50**

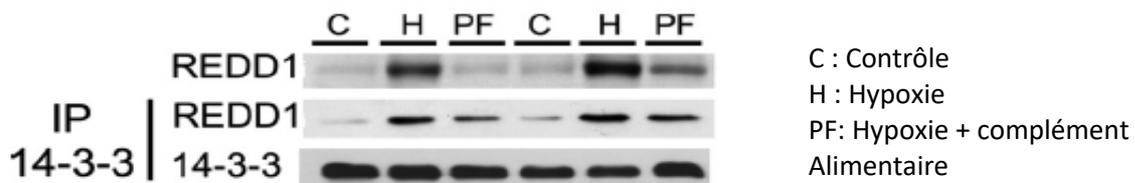
**Interprétez les résultats. 1,5 points**

Le CCl<sub>4</sub> active l'expression du gène d'intérêt (p21) à 24-36h **0,50**

Une expression p21 maximale à 48h **0,50**

Un retour à l'expression p21 basale 168h après traitement **0,50**

**Exercice 3 (4 points) :**



**Décrivez la méthode 2 points**

- Isoler une protéine d'intérêt à partir d'un lysat cellulaire **0,5**
- Utiliser un Ac spécifique de la protéine d'intérêt **0,5**
- Précipiter le complexe protéine – Ac. **0,5**
- Incubation avec deux anticorps IP + interaction **0,5**

**Interprétez les résultats 2 points**

- Interaction entre 14-3-3 et REDD1 en situation hypoxie **0,5**

- Absence d'interaction entre 14-3-3 et REDD1 en présence O<sub>2</sub> **0,75**

- Interaction entre 14-3-3 et REDD1 est atténuée avec un complément alimentaire **0,75**



**1- Sur quel principe repose la méthode de séquençage de Sanger et Coulson qui a été utilisée ? 3 points**

- Les nucléotides sont liés les uns aux autres grâce à des liaisons phosphodiester qui se forment entre le groupement OH en position C3' du ribose du premier nucléotide et le groupement phosphate. 0,5
- La réaction de Sanger repose sur l'incorporation alléatoire par cette ADN polymérase de didéoxynucléotides interrupteurs de chaîne (ddNTP) eux aussi présents dans le milieu réactionnel. 0,5
- Ces ddNTP diffèrent des dNTP par leur extrémité 3'. L'extrémité 3'OH des dNTP est remplacée par une extrémité 3'H. Cette modification empêche la formation de la liaison phosphodiester entre le ddNTP incorporé dans la chaîne et le nucléotide suivant. L'allongement de la chaîne est alors interrompu en position C5' du ribose du deuxième nucléotide. 0,5
- Tous les fragments générés se terminent par un ddNTP 0,5
- On génère autant de fragments d'ADN qu'il y a de bases à séquencer et ils sont tous différents d'une base 0,5
- On détermine l'ordre par électrophorèse (5'=>3' des plus petits vers les + grands) 0,5

**2- Quelle est la nature de la mutation dans ce gène ? 1 point**

Par comparaison homme sain (N/N) avec homme malade (M/M) on voit substitution base A>T en 4<sup>ème</sup> position. 1