

Université Claude Bernard Lyon 1



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2017 - 2018

Unité d'Enseignement 2

Correction Annale 2016-2017

CORRECTION RAPIDE

1	D
2	BDE
3	BD
4	DE
5	CE
6	AE
7	BC
8	BCD
9	AB
10	CE
11	ABCD
12	BC

Question 1 :

- A. **FAUX** : la transcription se fait dans le noyau, même pour des plasmides
- B. **FAUX** : l'absence de REEP1 dans le WB est causée par le fait que dans les cellules COS7 non transfectées, REEP1 n'est pas exprimée et il n'y a donc pas de protéine dans nos cellules.
- C. **FAUX** : Ici, on ne peut pas montrer que REEP1 se dimérise. En effet, on effectue l'expérience avec du SDS et du β -mercaptoéthanol. La protéine est donc dénaturée et réduite et toutes les REEP1 migrent au même niveau. On a deux bandes car REEP1 peut très bien subir des modifications de type glycosylation.
- D. **VRAI** : Comme dit pour l'item précédent, on ne peut pas déterminer la forme où les modifications de REEP1, tout ce qu'on a c'est que notre épitope est détecté pour deux poids moléculaires différents par notre anticorps.
- E. **FAUX** : On ne peut rien dire ici. Pour conclure sur une différence de quantité entre les deux, il aurait fallu normaliser la quantité de protéine

Question 2 :

- A. **FAUX**: selon leur poids
- B. **VRAI**
- C. **FAUX**: cf cours
- D. **VRAI** : des ac polyclonaux reconnaissent plusieurs épitopes différents d'une même protéine. On a donc une protéine avec plus de chance d'être marquée et plusieurs fois.
- E. **VRAI**

Question 3 :

- A. **FAUX**
- B. **VRAI** : c'est du cours reformulé dans le contexte de l'épreuve
- C. **FAUX**
- D. **VRAI** : c'est du cours. Les shRNA ont une meilleure efficacité et un effet plus durable que les siRNA.
- E. **FAUX** : les siRNA sont double brin (cours)

Question 4 :

- A. **FAUX** : La PCR produit de l'ADN double brin. De plus ici, on révèle avec du bromure d'éthidium qui est un agent intercalant qui permet de révéler des structures doubles brin.
- B. **FAUX** : Il faut faire une PCR quantitative pour pouvoir comparer des quantités d'ADN/ARN. Or ici on a fait une PCR « classique », on ne peut donc pas émettre de conclusions sur la quantité de d'ARNm de REEP1
- C. **FAUX** : on ne peut rien conclure car on ne dispose d'aucunes informations sur le sujet.
- D. **VRAI** : Il n'y a pas de bande pour les cellules COS7 on transfectées, du coup on est sûr qu'il n'y a pas eu de contamination.
- E. **VRAI** : Ici, on peut avoir une contamination par de l'ADN plasmidique (à différencier de l'ADNg de l'item précédent).

Question 5 :

- A. **FAUX** : Ici, on a fait une séparation par centrifugation des fractions de la cellule. On ne retrouve pas de tubuline dans le troisième puit car la protéine n'est juste pas descendue dans le culot.
- B. **FAUX** : REEP1 se retrouve dans le culot pour 2 possibilités : soit il s'agit d'une protéine qui se trouve à l'intérieur d'une organelle, soit c'est une protéine accrochée à la membrane d'une organelle.
- C. **VRAI** : Lorsque l'on a un peptide signal, celui-ci est coupé et on a une diminution du poids de la protéine. Or, ici on voit bien que la protéine non modifiée est plus lourde que la protéine modifiée (retrait de l'équivalent d'un peptide signal). Cela veut dire que la protéine ne subit pas de coupure et n'a donc pas de peptide signal.
- D. **FAUX** : les AA d'un peptide signal sont hydrophobes.
- E. **VRAI** : On sait que notre partie N-ter a les caractéristiques d'un peptide signal mais que ça n'en est pas un. On peut donc imaginer qu'il s'agit d'une séquence d'association à la membrane.

Question 6 :

- A. **VRAI** : Attention au français, ici on dit que l'on ne peut voir dans le canal rouge que des cellules transfectées.
- B. **FAUX** : On peut dire grâce aux observations que REEP1 est associée au RE mais nous n'avons pas assez de résolution pour dire où et comment.
- C. **FAUX** : Ici, même si REEP1 perdait sa fonction et était mal repliée, elle serait tout de même retenue dans le RE. On pourrait donc toujours la voir.
- D. **FAUX** : Les protéines d'origine cytosolique restent dans le cytosol.
- E. **VRAI** : Il existe des fixations qui préservent la fluorescence.

Question 7 :

- A. **FAUX** : Il s'agit des protéines endogènes.
- B. **VRAI** : Si la reconnaissance était non spécifique, alors on verrait les cellules non transfectées avec REEP1 comme pour le canal rouge du fait d'une réaction croisée.
- C. **VRAI** : On a ici un réticulum avec une forme exacerbée (caricatural d'après le professeur), sous forme de « tubules », preuve de la déformation du RE.
- D. **FAUX** : On ne fait pas de FRET, on fait une observation microscopique avec un marquage immunologique. On ne peut donc bien conclure à une colocalisation mais en aucun cas à une interaction entre les protéines.
- E. **FAUX** : c'est du cours, en microscopie optique la résolution maximale est de 200nm.

Question 8 :

- A. **FAUX** : On étudie la fraction des organites.
- B. **VRAI** : Lorsque l'on traite avec la protéase K en absence de Triton X100, on ne détecte plus la protéine. Cela veut dire que l'épitope reconnu par l'anticorps était à l'extérieur de membrane du RE qui est toujours intacte.
- C. **VRAI** : On a une diminution de la taille de la calnexine en absence de Triton X100. Il y a donc bien une partie de la protéine qui a été digérée et qui ne pouvait être que cytosolique.
- D. **VRAI** : On a eu un traitement par la protéase K mais on a toujours un signal en absence de Triton X100. L'épitope de la calnexine est donc dans la lumière du RE dont la membrane est toujours intacte.
- E. **FAUX** : On a dissocié toutes les membranes avec le Triton X100 et donc la protéase K a pu « digérer » les protéines dans leur intégralité.

Question 9 :

- A. **VRAI** : C'est la N-glycosylation qui est impliquée dans le repliement des protéines. (cf cours)
- B. **VRAI** : Cours
- C. **FAUX** : C'est la membrane du RE qui est continuité avec l'enveloppe nucléaire. (cf cours)
- D. **FAUX**
- E. **FAUX** : On a une rétrotranslocation dans le cytosol avant de dégrader les protéines du RE.

Question 10 :

- A. **FAUX** : On en récupère juste plus dans le culot.
- B. **FAUX** : On en a plus ici aussi dans le culot mais ça ne veut pas dire que la densité de REEP1 est modifiée.
- C. **VRAI** : en absence du mélange paclitaxel + GTP, on a pas de tubuline dans le culot, ce qui veut dire qu'elle s'est dépolymérisée et qu'elle est sous forme non polymérisée dans le surnageant.
- D. **FAUX**
- E. **VRAI** : on a bien ici une co-sédimentation de REEP1 et des microtubules.

Question 11 :

- A. **VRAI** : les microtubules organisent tous les compartiments dans la cellule.
- B. **VRAI**
- C. **VRAI**
- D. **VRAI**
- E. **FAUX** : les FI ne sont pas polarisés. (cours)

Question 12 :

- A. **FAUX** : On a présence de microtubule dans le culot où les microtubules sont polymérisés que la protéine REEP1 soit mutée ou non.
- B. **VRAI** : On a une disparition dans le culot de la bande qui correspond à REEP1.
- C. **VRAI** : On est ici dans un milieu synthétique en présence uniquement de REEP1 et de tubuline purifiées. On teste ici l'interaction directe des deux protéines.
- D. **FAUX** : On ne peut pas le démontrer car ici, on ne peut être sûr que de l'interaction avec les microtubules polymérisés qui ont sédimentés lors de la centrifugation.
- E. **FAUX** : REEP1 est une protéine qui se situe au niveau du RE uniquement et qui interagit avec les microtubules mais cela ne vaut pas dire qu'elle est associée au transport axonal.