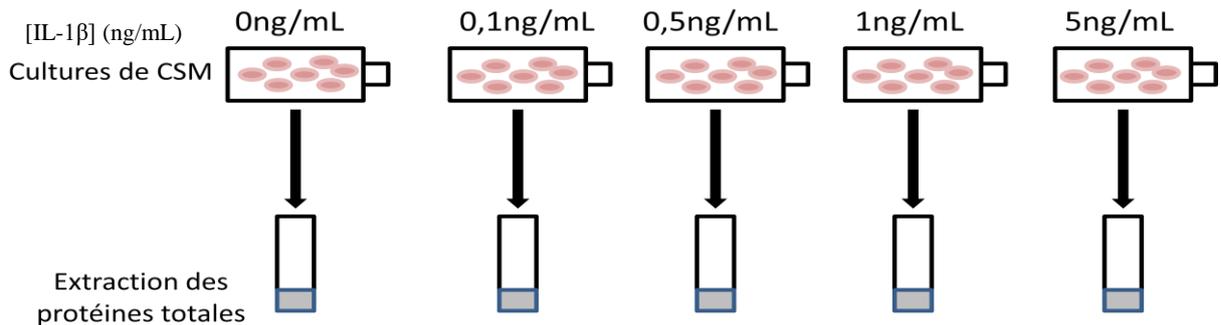


TD de Protéomique analytique et fonctionnelle
Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE)
Master I BMC

I. Une étude a été menée sur l'effet de l'IL-1 β sur l'expression des protéines COX-2 (protéines responsables de l'activité inflammatoire) chez les cellules souches mésenchymateuses. Ces dernières ont été cultivées pendant 24h en présence de concentrations croissantes d'IL-1 β , des cellules témoins ont été cultivées en absence de ce facteur. Les protéines totales ont été extraites par lyse cellulaires et centrifugation à partir des cinq échantillons (figure ci-dessous).



Pour la détermination de la concentration en protéines totales des échantillons, nous avons préparé une gamme étalon établie à partir de concentrations croissantes en BSA (0 à 2 mg/ml) (tableau) et nous avons mesuré la DO à 655nm. Dans les même condition, nous avons également mesuré la DO des cinq échantillons.

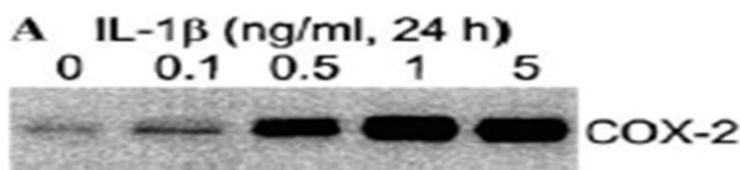
BSA (mg/ml)	0mg/ml	0.2 mg/ml	0.75 mg/ml	1 mg/ml	1.25 mg/ml	1.5mg/ml	2mg/ml
DO (655nm)	0,085	0,113	0,207	0,21	0,245	0,27	0,321

	Témoin	0,1 ng/mL	0,5 ng/mL	1 ng/mL	5 ng/mL
Protéines totales (mg/mL)
DO (655nm)	0,212	0,284	0,099	0,200	0,230

- ⇒ Sur Excel, faites la courbe étalon et déterminez l'équation de régression linéaire.
- ⇒ Calculez les concentrations de protéines totales dans chaque échantillon.
- ⇒ Pour chaque échantillon, calculez le volume de protéines à déposer dans les puits sachant que :
 - le volume déposé et dilué au 1/2 avec le tampon de charge,
 - Un puits ne peut contenir un volume au delà de 30 μ L,
 - Il faut déposer 10 μ g de protéines/puits.
- ⇒ Déterminez les extractions ratées. Dites pourquoi ?

Nous avons refait les extractions ratées et poursuivi le western blot jusqu'à la révélation. Nous avons obtenu les résultats ci-dessous.

- ⇒ Interprétez ces résultats.



II. Comment préparer les solutions suivantes ?

Une solution de Tris à 1M/ 1,5M/ 50mM, (PM = 121,14g/mole),

Une solution de Glycine à 250mM, (PM = 75,07g/mole),

Une solution de TrisHcl à 50mM, (PM = 157,56g/mole).