

La kinase Chk1 (checkpoint kinase 1) est activée pendant le point de contrôle intra S en réponse à un stress de la réplication induit par des agents comme l'hydroxyurée (HU) qui diminue la quantité de nucléotides ou l'aphidicoline qui inhibe les ADN polymérase.

L'irradiation des cellules en phase S déclenche aussi le point de contrôle intra-S.

La régulation de Chk1 a été étudiée en utilisant des extraits interphasiques d'oeufs de xénope (figure 1).

Ces extraits peuvent contenir les activités nécessaires à la réplication de l'ADN ou aux points de contrôle du cycle en réponse à un endommagement de l'ADN.

Par exemple, la réplication peut être déclenchée en mélangeant de l'extrait interphasique avec des noyaux purifiés. De plus, une protéine donnée peut être éliminée de l'extrait après son immunoprécipitation avec des anticorps spécifiques (on dit alors que l'extrait a été immunodéplété pour cette protéine).

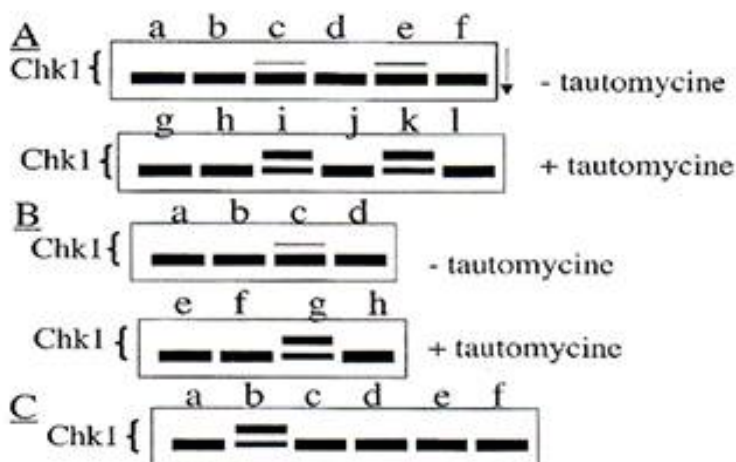


Figure 1: La protéine Chk1 radiomarquée a été incubée dans un extrait interphasique d'oeuf de xénope selon différentes conditions expérimentales. Après incubation, chaque réaction a été séparée par électrophorèse dans un gel de polyacrylamide en présence de SDS (technique du PAGE-SDS). La figure est un dessin représentant les autoradiographies obtenues. Le sens de migration est indiqué par la flèche dans la partie A. La position des différentes formes de Chk1 est indiquée. La caféine inhibe les kinases ATM et ATR. La tautomycine est un inhibiteur de nombreuses phosphatases. L'aphidicoline est un inhibiteur des ADN polymérase, entraînant le blocage de la réplication de l'ADN.

(A) La protéine Chk1 radiomarquée a été incubée pendant 30 minutes dans un extrait interphasique d'oeuf de xénope sans noyau (puits a et g) avec noyau (puits b et h), avec noyau et aphidicoline (puits c, d, i et j), avec des noyaux irradiés aux rayons UV (puits e, f, k et l). En plus, de la caféine a été ajoutée dans les réactions des puits d, f, j et l. Après 30 minutes, les extraits ont été divisés en deux et incubés pour encore 70 minutes en absence (puits a, b, c, d, e, f) ou en présence de tautomycine (puits g, h, i, j, k et l).

(B) La protéine Chk1 radiomarquée a été incubée pendant 30 minutes dans un extrait interphasique d'oeuf de xénope en présence de différents oligonucléotides synthétiques: l'homopolymère pA (puits a et e), l'homopolymère pT (puits b et f) et un oligonucléotide double-brin appelé pApT obtenu par appariement des deux homopolymère pA et pT (puits c, d, g et h). De la caféine a été ajoutée dans les puits d et h. Les extraits ont été incubés pendant 100 minutes en absence (puits a, b, c et d) ou en présence (puits e, f, g et h) de tautomycine.

(C) La protéine Chk1 sauvage (puits a, b et c) et une protéine Chk1 mutée (puits d, e et f) ont été incubées en présence d'extrait interphasique d'oeuf de xénope et de l'oligonucléotide pA (puits a et d) ou de l'oligonucléotide pApT (puits b, c, e et f). De la caféine a été ajoutée dans les réactions des puits c et f.

QCM1: D'après les résultats des expériences décrites dans la figure 1, une modification de la structure de la protéine Chk1 est observée dans ces circonstances:

- A) en présence de caféine
- B) lorsque la réplication est bloquée
- C) lorsque l'ADN est endommagée par les rayons UV
- D) en présence d'un oligonucléotide synthétique double-brin
- E) Toutes les réponses sont fausses

QCM2: D'après les résultats des expériences décrites dans la figure 1, en réponse à un problème répliatif, la protéine Chk1:

- A) est déphosphorylée
- B) agit comme une nucléase
- C) inhibe l'action d'une phosphatase
- D) phosphoryle les kinases ATM ou ATR
- E) Toutes les réponses sont fausses

QCM3: D'après les résultats des expériences décrites dans la figure 1, en présence d'ADN endommagé, la modification de la protéine Chk1 (indiquez la ou les réponses exactes):

- A) dépend des kinases ATM et ATR
- B) est inhibée par une phosphatase
- C) inhibe les ADN polymérase
- D) déclenche le point de contrôle intra-S
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM4: D'après les résultats des expériences décrites dans la figure 1, l'accumulation d'isoformes de haut poids moléculaire de Chk1 qui se produit en présence de tautomycine dans certaines réactions suggère que (indiquez la ou les réponses exactes):

- A) la tautomycine déclenche le point de contrôle intra-S
- B) la tautomycine déphosphoryle Chk1
- C) la tautomycine permet de stabiliser la modification de Chk1 en réponse à un stress répliatif
- D) la tautomycine inhibe une protéine modifiant Chk1
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM5: Si la tautomycine est ajoutée en même temps que les noyaux et l'aphidicoline, aucune modification de Chk1 n'est observée. D'après les résultats des expériences décrites dans la figure 1, ce résultat est en accord avec le fait que (indiquez la ou les réponses exactes):

- A) l'addition prématurée de tautomycine bloque l'initiation de la réplication
- B) la réplication est suffisante pour induire la modification de Chk1 dans les extraits interphasiques de xénope
- C) la tautomycine active le point intra-S
- D) la modification de Chk1 correspond à une déphosphorylation
- E) Toutes les réponses sont fausses