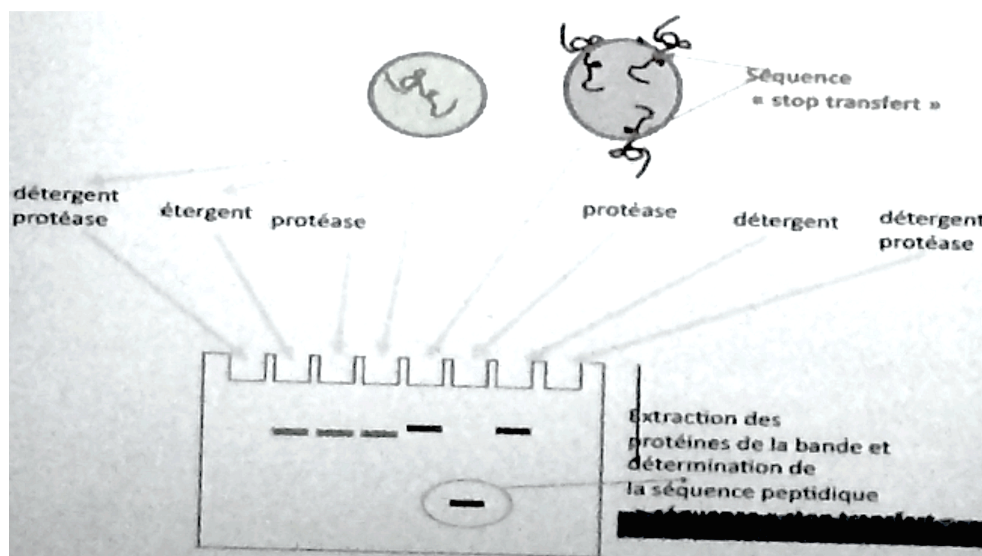


## Comment lire un Western Blot

Je vais utiliser l'expérience traitée par Gigi dans son cours sur les protéines transmembranaires pour illustrer le principe de lecture du western blot.



Il faut savoir que les détergents perméabilisent la membrane plasmique et que les protéases coupent les protéines en morceaux lorsqu'elles sont **accessibles**. On met nos échantillons de protéines restantes dans les puits en haut du gel pour observer leur position finale selon le poids moléculaire (=PM) de la protéine.

### **NOTIONS CLEFS :**

- Sur le gel d'acrylamide, plus une protéine est petite (faible PM) plus elle se faufile à travers les mailles du gel est donc **descendra bas**.
- Plus une protéine est grosse (beaucoup d'AA, haut PM) moins elle pourra se faufile, elle sera plutôt **haute** sur le gel.

Ici nous avons **deux situations** :

- Dans la première (gauche) la protéine est intra-cellulaire.
- Dans la deuxième (droite) la protéine est trans-membranaire, un bout de protéine est **extériorisée**.

### ❖ **Situation A**

- En présence de détergent seul : la protéine est extériorisée, elle possède un certain poids moléculaire (position haute, haut PM)
- En présence de protéases seules : protéine inaccessible, donc pas de coupure, sur gel elle conservera son PM.
- En présence de détergent et de protéases : protéine accessible et découpée en petits morceaux (AA à très faible PM donc non représentés sur le gel acrylamide = colonne vide)

### ❖ **Situation B : une partie de la protéine est accessible sans l'aide de détergent !**

- Détergent seul : la protéine est extériorisée et complète (haut PM)
- Protéases seules : elle peuvent découper une partie de la protéine qui est à l'extérieur ! Donc au final sur ce qu'il reste de la protéine, on aura un plus petit morceau (intramembranaire et intracellulaire) que lorsqu'elle est au complet !
- Détergent et protéases : idem que pour la situation A

### **CONCLUSION :**

Le gel d'acrylamide se lit de bas en haut (*du moins lorsque l'on ne se sert pas du pHi voir bioch*).

- En haut -> Haut PM = protéine non clivée/non coupée
- Plus on descend -> plus on a de petits morceaux de protéines clivées, le PM diminue.

*Nb : la présence éventuelle de deux morceaux (ou plus) de protéine dans la même colonne signifie que l'on utilise des protéases qui « clivent » simplement à un endroit précis de la protéine, la coupant en deux ou plusieurs morceaux selon le lieu de reconnaissance.*