



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV®](#)

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

[www.formav.co/explorer](http://www.formav.co/explorer)

# CORRIGE

**Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.**

# CONTRÔLE DE LA QUALITÉ D'UN CLONAGE

Lors de la présentation du sujet par le centre organisateur, on mettra l'accent sur la nouvelle présentation, en particulier l'endroit où se trouvent les questions à traiter sur la copie :

- compte rendu à la fin de chaque fiche protocole
- rapport d'analyse : bilan de l'ensemble du travail effectué (en bas de la page 1)

## Remarques concernant le sujet

Le sujet a été testé avec des dépôts de 8 µL pour les microtubes, 6 µL pour le marqueur de taille comme préconisé par le fournisseur.

Temps de migration : 100 V, 30 minutes suffisaient largement (les premières bandes du marqueur étaient sorties du gel).

Consignes générales :

- prévoir un ordre de passage au spectrophotomètre UV,
- fournir une fiche d'utilisation du spectrophotomètre,
- prévoir un délai pour remplir la feuille de traçabilité 2 (proposition : 30 minutes),
- préciser le volume à déposer dans chaque puits,
- prévoir un dépôt coloré dans un des puits par l'examineur (pour que les candidats soient dans les mêmes conditions visuelles de dépôt).

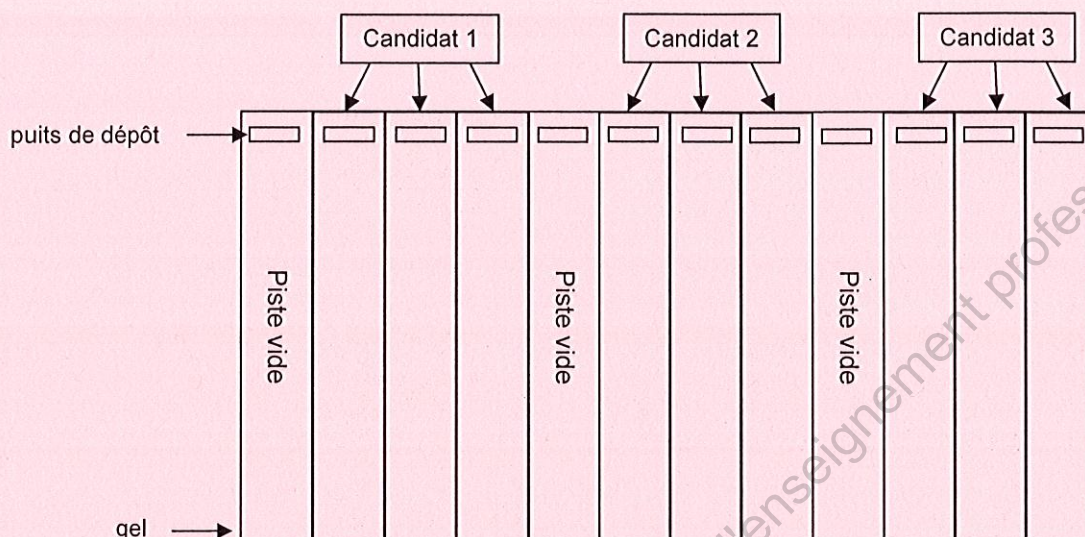
## Matière d'œuvre pour 1 groupe de 15 élèves

- Gels agarose : déjà préparés par le centre  
4 minigels de 15 mL d'agarose 1 % (Volume de 60 mL soit Q nécessaire 0,6 g d'agarose) en tampon TBE (tris 900 mM, borate 900 mM, EDTA 20 mM, pH = 8).
- BET en solution dans le gel à 3 µg/mL en TBE (voir plus si problème d'intensité du signal). Volume à ajuster en fonction du matériel utilisé ou autres révélateurs.
- ADN plasmidique noté PI : 150 µg/mL, V = 50 µL  
Par soucis d'économie, il est préférable d'utiliser un ADN « bon marché » comme celui du phage λ. La solution sera à 150 µg/mL et l'élève dispose de 50 µL soit un besoin de  $150 \times 50 = 7\,500$  ng, soit pour 15 élèves,  $15 \times 7\,500 = 112\,500$  ng = 112,5 µg d'ADN λ.
- ADN plasmidique noté PII : pUC19 à 50 µg/mL, V = 10 µL  
Par élève, cela représente donc  $10 \times 50 = 500$  ng par élève soit  $15 \times 500 = 7\,500$  ng = 7,5 µg de pUC 19.
- Enzymes de restriction Pvu I, annoncé à 5 U/µL mais préparée à une concentration comprise entre 8 et 10 U/µL ce qui permet en fait d'ajouter 16 à 20 U d'enzymes (au lieu de 10 dans le sujet) et ce qui permet de réduire le temps de digestion de l'enzyme (1 heure classiquement, ici dans le sujet environ 45 minutes suffisent), volume par élève 2 µL suffit.  
Il faut donc  $2 \times 10 = 20$  U par candidat soit  $15 \times 20 = 300$  U maxi.
- Tampon d'hydrolyse 10 X (le tampon normalement est livré avec l'enzyme de restriction).
- Marqueurs de taille, GeneRuler 1 Kb ou autres marqueurs de taille prêts à l'emploi.
- Solution de charge 6 x (glycérol 30% + bleu de bromophénol 0,1 %) (Q nécessaire = 120 µL) noté SCh, 10 µL par candidat.
- Eau distillée de qualité BM en tube à essai : par élève : 2 mL notée eau BM (eau ultra pure stérile).
- Glace pilée.
- 4 bains marie thermostatés à 37°C + thermomètre.

| Récapitulatif des produits coûteux          | Société             | Référence   | Conditionnement     | PUHT (euros) | Besoin pour 15 élèves |
|---------------------------------------------|---------------------|-------------|---------------------|--------------|-----------------------|
| Agarose                                     | Fermentas euromedex | RO491       | 100 g               | 174          | 0,6 g                 |
| pUC19                                       | Fermentas euromedex | SD0061      | 50 µg               | 36           | 7,5 µg                |
| Pvu I                                       | Fermentas euromedex | ER0621      | 300 U               | 77           | 300 U                 |
| ADN λ                                       | Fermentas euromedex | SD0011      | 500 µg              | 100          | 115 µg                |
| Marqueur de taille GeneRuler 1Kb DNA ladder | Fermentas euromedex | SM0311      | 50 µg<br>100 dépôts | 50           | 12 dépôts             |
| BET                                         | eurobio             | GEPBET00-ON | 10 mL               | 20           |                       |

## Matériel et réactif pour 1 groupe de 15 élèves

### Plan de dépôts pour électrophorèse



- 5 cuves électrophorèse pour minigels, peigne à 12 dents.
  - Tampon TBE 1X nécessaire pour 4 cuves à électrophorèse.
  - 2 générateurs pour électrophorèse.
  - au minimum 2 spectro UV + microcuvettes UV jointain BIORAD.
  - 4 ordinateurs (ou plus) reliés à imprimante.
  - Micropipettes P<sub>10</sub>, P<sub>100</sub> et P<sub>1000</sub> + cônes stériles.
  - Table à transillumination UV, cuve de rinçage, appareil photo polaroid ou numérique.
- On veillera à tirer un cliché 100 % en dimension sans effet zoom.
- Cliché à remettre au candidat le deuxième jour**
- Marqueur de taille GeneRuler 1Kb prêt à l'emploi.
  - Centrifugeuse microtubes.
  - Bain thermostaté 37° C.
  - 3 microtubes (1,5 mL) par candidat.

#### Fournir aux candidats lors de la 2<sup>ème</sup> séance :

- 1 photographie d'un gel avec les résultats attendus (pour candidats sans résultat).
- Document photocopié pour le marqueur de taille à fournir à chaque candidat.

## FEUILLE DE TRAÇABILITÉ 2

(complétée)

(à fournir après vérification de la feuille de traçabilité 2)

| Mise en microtubes | Eau distillée<br>Qsp 20 µL | Tampon<br>1 X final | ADN<br>plasmidique PII | Enzyme<br>Pvu I |
|--------------------|----------------------------|---------------------|------------------------|-----------------|
| 1                  | V = 16 µL                  | V = 2 µL            | V = 2 µL               | V = 0 µL        |
| 2                  | V = 14 µL                  | V = 2 µL            | V = 2 µL               | V = 2 µL        |