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

ÉPREUVE E5. UNITÉ U53
Techniques de biologie cellulaire et moléculaire

DÉTECTION ET DOSAGE DES GLIADINES DANS UN ALIMENT POUR BÉBÉ (40 points)

Les grains de blé sont constitués d'un sucre, l'amidon, et d'un mélange complexe de protéines.

Le gluten est obtenu après extraction de l'amidon de la farine de blé par lixiviation. Il contient un mélange de protéines insolubles dans l'eau : les gliadines et les gluténines.

Les gliadines correspondent à la fraction protéique du gluten soluble dans l'éthanol à 70%. Elles représentent environ 50% des protéines de l'albumen du grain de blé.

Certaines personnes présentent une intolérance alimentaire aux gliadines. On parle alors de maladie cœliaque. Un régime alimentaire est alors indispensable.

La commission du Codex Alimentarius appartenant à l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et la FAO (Food and Agricultural Organisation of United Nations) indiquent que les aliments contenant un taux de gluten supérieur à 0,04% doivent être exclus de l'alimentation des personnes atteintes de maladie cœliaque.

On se propose de doser les gliadines d'un aliment pour bébé par une méthode immunoenzymatique en phase hétérogène basée sur une réaction de compétition.

Le dosage des gliadines dans les aliments nécessite leur extraction préalable. L'échantillon de gliadines « G » a été obtenu à partir d' 1 g d'aliment aux céréales pour bébé par extraction dans 10 mL d'éthanol à 70%.

1 - Matériel et réactifs :

- Un support pour barrettes.
- Une barrette de 2 x 8 cupules sensibilisées par les gliadines, en position 1 et 2 sur le support.
- Une barrette de 2 x 8 cupules vides, en position 11 et 12 sur le support.
- Un film autocollant.
- Une pipette automatique P_{200} + cônes.
- Une pipette automatique P_{1000} + cônes.
- Agitateur de microplaques (400 tours/min).
- Lecteur de microplaques réglé à 405 nm.
- Étuve à 37°C.
- Un tube Eppendorf étiqueté **« Etalon »** contenant 300 µL d'une solution étalon de gliadine 1 $mg.mL^{-1}$.
- Un tube Eppendorf étiqueté **« Echantillon G »** contenant 250 µL d'échantillon à tester.
- Un flacon étiqueté **« PBS-Tween »** contenant 30 mL de tampon PBS-Tween 20 à 0,05.
- Un flacon étiqueté **« Tampon PBS pH 7,2 »** contenant 10 mL de tampon PBS.
- Un tube à hémolyse étiqueté **« Conjugué anti-gliadines »** contenant 1,5 mL de solution d'anticorps anti-gliadines conjugués à la phosphatase alcaline.
- Un tube à hémolyse étiqueté **« Substrat »** contenant 2 mL de PNPP à 1 $g.L^{-1}$ en tampon glycine $MgCl_2$.
- Un tube à hémolyse contenant 1,5 mL de **« NaOH »** à 5 $mol.L^{-1}$ (produit corrosif).

2 - Protocole opératoire.

La barrette en position 1 et 2 est utilisée pour le dosage des gliadines.
Elle a été préalablement sensibilisée de la manière suivante :

Dans toutes les cupules sauf A1 et B1 :
Dépôt de 100 µL de gliadines à 100 $\mu g.mL^{-1}$.
Incubation 2 heures à 37°C de la barrette recouverte d'un film autoadhésif puis lavage avec du tampon PBS-Tween et rinçage avec du tampon PBS.

Dans toutes les cupules sauf A1 :
Dépôt de 200 µL de sérumalbumine bovine (SAB) à 3% en tampon PBS.
Incubation 60 minutes à 37°C de la barrette recouverte d'un film autoadhésif puis lavage avec du tampon PBS-Tween et rinçage avec du tampon PBS.

La barrette vide installée en position 11 et 12 du support est utilisée pour la réalisation des dilutions suivantes :
À partir de la solution étalon de gliadines à 1mg.mL^{-1}, réaliser une gamme de 11 dilutions en série de progression géométrique de raison 1/2, en utilisant comme diluant du « tampon PBS pH 7,2 ». Commencer par la dilution au 1/2, dans la cupule A11.

Appeler un examinateur pour la réalisation d'une dilution

Dans la barrette sensibilisée installée en position 1 et 2 du support, distribuer :

- 50 μL de chacune de ces dilutions dans les cupules D1 à F2.
- 50 μL de diluant «**Tampon PBS pH 7,2** » dans les cupules B1 et C1.
- 50 μL d' « **échantillon G** » dans les cupules G2 et H2.

Déposer ensuite dans chacune des cupules, à l'exception de A1, 50 μL de « **Conjugué anti-gliadines** ». Recouvrir la barrette d'un film autoadhésif et agiter 5 minutes à température ambiante, à environ 400 tours.min^{-1}.

Incuber 45 minutes dans l'étuve à 37°C.

Effectuer 3 lavages successifs avec du tampon « **PBS-Tween** » et 1 rinçage avec du « **tampon PBS pH 7,2** » dans chaque cupule.

Pour chaque lavage ou rinçage :

Remplir chacune des cupules. Laisser agir 10 secondes. Vider ensuite par retournement brusque. À la fin du rinçage, égoutter les cupules par tapotement de la barrette sur papier absorbant.

Ajouter ensuite 100 μL de « **Substrat** » dans toutes les cupules

Recouvrir d'un film autoadhésif et incuber 15 minutes à l'étuve à 37°C.

Arrêter la réaction enzymatique par addition de 50 μL de solution de « **NaOH** » dans chaque cupule.

Mélanger en appliquant un léger mouvement de rotation.

Lire les absorbances de chaque cupule à 405 nm contre la cupule A1 dans un lecteur de microplaque.

3 - Compte-rendu.

3.1 - Méthodologie.

Présenter, sous forme d'un schéma légendé, les étapes de la méthode mise en œuvre pour ce dosage.

Quel est le rôle de l'ajout de la SAB à 3% ?

Préciser le rôle des lavages. Indiquer la composition et le rôle des différents témoins (cupules A1, B1 et C1.

Conclure sur les résultats obtenus pour chacun d'eux.

3.2 - Expression et analyse des résultats.

Présenter un tableau de préparation de la gamme d'étalonnage. Indiquer, sous forme d'un tableau récapitulatif :

- les concentrations en gliadines (μg.mL^{-1}) pour les cupules D1 à F2.
- Le logarithme des concentrations en gliadines.
- le résultat des absorbances brutes de toutes les cupules.
- le résultat des absorbances nettes en tenant compte des témoins.

Calculer, pour chaque cupule sauf B1 et C1, le pourcentage d'inhibition selon la formule ci-dessous et regrouper vos résultats dans votre tableau récapitulatif.

$$I = \frac{A_{maximale} - A_{cupule}}{A_{maximale}} \times 100$$

Á l'aide de l'outil informatique, représenter graphiquement la fonction :
Pourcentage d'inhibition = f (log concentration en gliadines), avec la concentration exprimée en μg.mL^{-1}.

Valider les résultats expérimentaux de l'étalonnage. Etablir les paramètres de l'équation de la représentation graphique.

Déterminer la concentration en gliadines de l'échantillon G fourni.

En déduire la teneur en gluten de cet aliment.

Conclure sur la qualité de l'aliment pour les bébés atteints de maladie cœliaque.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.