



**LE RÉSEAU DE CRÉATION  
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux  
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR  
BIOANALYSES ET CONTRÔLES**

**ÉPREUVE E5 – UNITÉ U53  
TECHNIQUES DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET  
MOLÉCULAIRE**

**1<sup>ER</sup> JOUR**

SESSION 2011

Durée : 2 heures  
Coefficient : 2

**Matériels autorisés :**

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999)

**Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, le respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.**

**Attention : le protocole du premier jour ne pourra être réutilisé le second jour.**

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 8 pages, numérotées de 1/8 à 8/8.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de biologie cellulaire et moléculaire 1 <sup>er</sup> jour	Code : BAE5BCM/1	Page : 1/8

# CONTRÔLE DE LA QUALITÉ D'UN CLONAGE

## Contexte professionnel

Une entreprise pharmaceutique tente de faire exprimer une sous unité protéique du récepteur GABA en vue de développer de nouveaux agonistes gabaergiques.

Ainsi, la séquence du gène correspondant (900 paires de bases pb) a été clonée dans un vecteur plasmidique de 1 600 pb.

L'insertion est réalisée au niveau du site de restriction Pvu I.

Les étapes de ce contrôle sont :

- contrôler la pureté de l'extrait plasmidique par spectrophotométrie UV,
- vérifier la présence de l'insert par digestion plasmidique puis migration électrophorétique.

## Compétences

Analyser et quantifier des fragments nucléotidiques par des techniques spectrophotométriques et électrophorétiques.

Valider et interpréter les résultats.

## Mise en œuvre

Les activités de spectrophotométrie UV et d'électrophorèse d'ADN sont indépendantes.

*Un ordre de passage sera indiqué en début de séance pour l'utilisation du spectrophotomètre UV.  
Temps limité à 10 minutes par candidat.*

Activités professionnelles	Ressources - Documents	Pages	Documents à compléter et à joindre avec la copie
<b>1</b> Évaluer la qualité de la purification de l'extrait plasmidique par spectrophotométrie UV. Mesurer la concentration en ADN de la solution plasmidique par spectrophotométrie UV. <b>(11 points)</b>	- Fiche protocole 1 - Fiche technique relative au spectrophotomètre UV fournie par le centre (au poste spectrophotomètre)	3	Feuille de traçabilité 1 <b>(page 7)</b>
<b>2</b> Préparer une digestion plasmidique <b>(6 points)</b>	- Fiche protocole 2	4	Feuille de traçabilité 2 <b>(page 8)</b>
<b>3</b> Réaliser un électrophorèse d'ADN <b>(12 points)</b>	- Fiche protocole 3 - Fiche de sécurité BET	5 6	

**La feuille de traçabilité 2 devra être complétée avant .....**  
**Une feuille de traçabilité 2 complétée sera fournie si nécessaire.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de biologie cellulaire et moléculaire 1 <sup>er</sup> jour	Code : BAE5BCM/1	Page : 2/8

FICHE PROTOCOLE 1	Évaluation de la qualité de la purification du plasmide et détermination de la concentration en ADN par spectrophotométrie UV.	
-------------------	--	--

## Matériel et réactifs

### Au poste de travail

- Solution plasmidique obtenue après purification notée « PI » (environ 50 µL)
- Eau distillée, notée « eau BM »
- Micropipettes P<sub>10</sub>, P<sub>100</sub> et P<sub>1000</sub> avec cônes adaptés
- 1 microtube

### Au laboratoire de biologie/biochimie

- Spectrophotomètre UV
- Cuves de spectrophotomètre, à choisir, au poste de spectrophotomètre

## Mode opératoire

**À réaliser au poste de spectrophotométrie en présence d'un examinateur.**

Réaliser en eau distillée une dilution au 1/20 de la solution d'ADN sous un volume final de 500 µL.

Remplir la cuve UV.

Faire le « blanc » selon les indications fournies pour l'appareil.

Placer la cuve remplie et mesurer l'absorbance à 260 et 280 nm.

## Compte rendu

**1.1 - Compléter la feuille de traçabilité 1 (à rendre avec la copie).**

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
Réseau CANTOPE

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de biologie cellulaire et moléculaire 1 <sup>er</sup> jour	Code : BAE5BCM/1 Page : 3/8

FICHE PROTOCOLE 2	Préparation du « mix » de digestion plasmidique.	
-------------------	--	--

## **Matériel et réactifs**

### Au poste de travail

- Solution plasmidique obtenue après purification prête pour la digestion notée « PII » (environ 10 µL d'ADN à 50 µg/mL)
- Endonucléase de restriction Pvu I notée « Pvu I » à 5 U/ µL (dans la glace pilée)
- Tampon d'hydrolyse 10 X noté « T » pour l'enzyme Pvu I
- Eau distillée notée « eau BM »
- Glace pilée
- Micropipettes P<sub>10</sub>, P<sub>100</sub> et P<sub>1000</sub> avec cônes adaptés
- Bain-marie thermostaté à 37°C pour microtubes Eppendorf ®
- Thermomètre
- Centrifugeuse pour microtube
- 2 microtubes

### Calculs préliminaires

**Remplir la feuille de traçabilité 2 en suivant les instructions données ci-dessous et la soumettre à un examinateur avant de manipuler.**

#### Microtube 1 : contrôle ADN plasmidique

Calculer le volume de suspension plasmidique PII à prélever pour obtenir la quantité de 100 ng.

Calculer le volume de tampon T pour obtenir une concentration finale 1X.

Compléter avec de l'eau distillée qsq 20 µL.

#### Microtube 2 : hydrolyse de l'ADN plasmidique

Calculer le volume de suspension plasmidique PII à prélever pour obtenir la quantité de 100 ng.

Calculer le volume de suspension d'enzyme Pvu I à prélever pour obtenir la quantité de 10 U.

Calculer le volume de tampon T pour obtenir une concentration finale 1X.

Compléter avec de l'eau distillée qsq 20 µL.

## **Mode opératoire**

Préparer dans la glace pilée les mix 1 et 2 à partir de la feuille de traçabilité 2 validée par les examinateurs.

**Montrer la préparation du microtube 2 à un examinateur.**

Centrifuger les tubes quelques secondes.

Placer les tubes à 37°C pendant 45 minutes.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de biologie cellulaire et moléculaire 1 <sup>er</sup> jour	Code : BAE5BCM/1 Page : 4/8

**Matériel et réactifs**Au poste de travail

- Glace pilée
- Micropipettes P<sub>10</sub>, P<sub>100</sub> et P<sub>1000</sub> avec cônes adaptés
- Solution de charge 6 X, noté « **SCh** »
- Centrifugeuse pour microtubes

Au poste d'électrophorèse

- Marqueur de taille prêt à l'emploi
- Gel d'agarose à 1 % (m/Vl additionné de bromure d'éthidium prêt à l'emploi et déjà positionné)
- Cuvette d'électrophorèse et générateur prêt à l'emploi

**Mode opératoire**

Ajouter 4 µL de la solution de charge dans chacun des 2 microtubes. Centrifuger quelques secondes et conserver les tubes dans la glace.

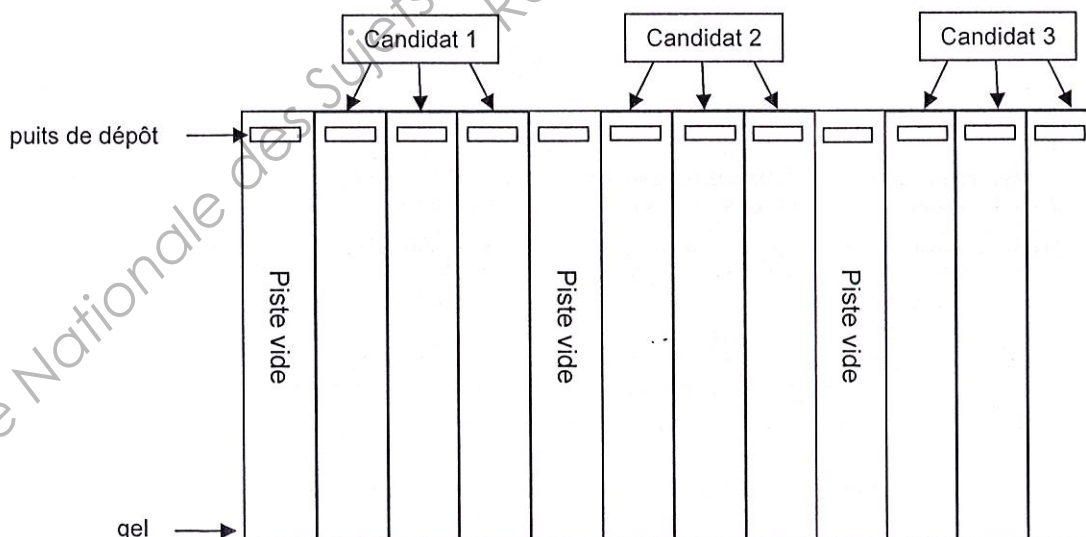
**Signaler à l'examineur que les dépôts peuvent être réalisés.**

Déposer (à la demande d'un examinateur) les 2 échantillons et le marqueur de taille selon le plan de dépôts fourni ci-dessous. Le volume de dépôt Vd = ..... µL.

**Effectuer les dépôts en présence d'un examinateur.**


Mettre en migration sur une durée comprise entre 30 minutes et 1 heure sous une tension de 7V/cm. } effectués par un examinateur


Rincer quelques minutes en tampon TBE.


**Plan de dépôts pour électrophorèse**


## FICHE DE SÉCURITÉ

BET : Bromure d'éthidium pur en poudre (Les risques sont les phrases H encadrées)

<b>Toxicité aiguë</b>	
<b>Classification</b>	<b>Catégorie 4</b>
<b>PICTOGRAMME</b>	
<b>Mention d'avertissement</b>	Attention
<b>Mention de danger : toxicité par voie orale</b>	<b>H302</b> Nocif en cas d'ingestion.

<b>Corrosion cutanée/irritation cutanée</b>	
<b>Classification</b>	<b>Catégorie 2</b>
<b>PICTOGRAMME</b>	
<b>Mention d'avertissement</b>	Attention
<b>Mention de danger</b>	<b>H315</b> Provoque une irritation cutanée.

<b>Lésions oculaires graves et irritation oculaire</b>	
<b>Classification</b>	<b>Catégorie 2</b>
<b>PICTOGRAMME</b>	
<b>Mention d'avertissement</b>	Attention
<b>Mention de danger</b>	<b>H319</b> Provoque une sévère irritation des yeux.

<b>Agents mutagènes sur les cellules germinales</b>	
<b>Classification</b>	<b>Catégorie 2</b>
<b>PICTOGRAMME</b>	
<b>Mention d'avertissement</b>	Attention
<b>Mention de danger</b>	<b>H341</b> Susceptible d'induire des anomalies génétiques (indiquer la voie d'exposition s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conduit au même danger).
<b>Effets sur la reproduction</b>	Le bromure d'éthidium provoque des malformations sévères dans un essai de tératogenèse sur l'embryon de grenouille (test FETAX). Les malformations atteignent tous les organes majeurs ; on observe, entre autres, courbure de la moelle épinière, anencéphalie, microcéphalie et microphthalmie. La DL <sub>50</sub> du bromure d'éthidium dans ce test est de 0,05 mg/mL et la dose efficace qui induit 50 % de malformations (DE <sub>50</sub> ) est de 0,035 mg/mL.

Le BET est introduit dans le gel d'agarose pour une concentration finale de 5 µg/mL.

# FEUILLE DE TRAÇABILITÉ 1

(à rendre avec la copie)

NOM DE L'OPÉRATEUR .....

Date : .....

Poste n° .....

## Réalisation de la dilution

- Volume d'eau « BM » : ..... µL
- Volume de solution plasmidique « PI » : ..... µL
- Justification des choix de volume

## Absorbances relevées

- $A_{260 \text{ nm}}$  :
- $A_{280 \text{ nm}}$  :

## Interprétation

	Résultat	Critère	Conclusion
$R = \frac{A_{260}}{A_{280}}$		Compris entre 1,8 et 2 : ADN qualifié pur	

	Données	Calcul et résultat
<b>Concentration massique en ADN de la solution plasmidique</b>	1 unité d'absorbance à 260 nm correspond à une concentration d'ADN de 50 µg/mL	



## FEUILLE DE TRAÇABILITÉ 2

(à remplir par le candidat et à rendre avec la copie)

NOM DE L'OPÉRATEUR .....

Date : .....

Poste n° .....

Mise en microtubes	Eau distillée Qsp 20 $\mu$ L	Tampon 1 X final	ADN plasmidique PII	Enzyme Pvu I
1	V =	V =	V =	V =
2	V =	V =	V =	V =

Justification des calculs pour le microtube 2 :