



**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.

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).

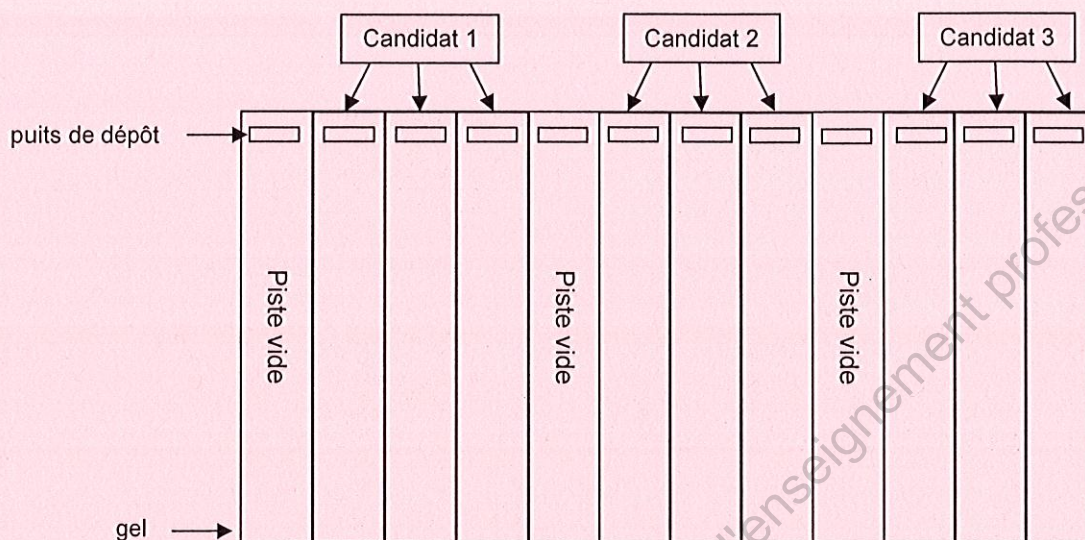
Matière d'œuvre pour 1 groupe de 15 élèves

- 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 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 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 + microcuves UV jointain BIORAD.
 - 4 ordinateurs (ou plus) reliés à imprimante.
 - Micropipettes P₁₀, P₁₀₀ et P₁₀₀₀ + 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^{ème} 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 Qsp 20 μL	Tampon 1 X final	ADN plasmidique PII	Enzyme 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

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