

DEVELOPPEMENT DES VIRUS ET ELECTROPHORESE D'ADN

Les bactériophages sont des virus qui se développent à l'intérieur des bactéries. Certaines souches bactériennes possèdent des enzymes de restriction, capables de dégrader (couper) l'ADN des virus qui les infectent. Dans ce cas, le virus ne peut pas se multiplier et les bactéries sont alors protégées de l'infection virale.

Des bactériophages λ sont cultivés sur une souche bactérienne donnée. L'ADN de ces bactériophages est ensuite isolé et analysé par électrophorèse.

On recherche si ces bactériophages λ peuvent se développer dans la souche bactérienne.

Matériel :

- cuve à électrophorèse, support rempli de gel avec les peignes mis en place
- tampon d'électrophorèse TBE
- une « solution » d'ADN du bactériophage λ (avant contact avec bactéries)
- une « solution » d'ADN du bactériophage λ (extrait de bactéries infectées)
- une micropipette et deux embouts (ou équivalent)
- papier noir, règle et crayons de couleur

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1- Justifier l'utilisation des deux « solutions » d'ADN de bactériophages λ	Adopter une démarche explicative	3
2- Mettre en œuvre le protocole en suivant les indications de la fiche technique Appeler l'examineur pour vérifier le montage et obtenir les résultats de l'électrophorèse	Réaliser une manipulation en suivant un protocole Respect des étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Organisation de la paillasse	9
3- Réaliser un schéma simplifié du dispositif expérimental qui rende compte du déroulement de la manipulation et qui présente à l'échelle 1/1 les résultats du gel fourni	Représenter une observation par un schéma	6
4- A partir des résultats obtenus, répondre au problème posé. Justifier.	Adopter une démarche explicative	2

DEVELOPPEMENT DES VIRUS ET ELECTROPHORESE D'ADN

Principe de l'électrophorèse : *En milieu basique, les molécules d'ADN sont chargées négativement. Soumises à un champ électrique, elles migrent, dans un gel conducteur, de la cathode (borne négative) vers l'anode (borne positive). La distance de migration par rapport à la ligne de dépôt est caractéristique de la taille et de la charge de la molécule.*

Remarque : *la migration nécessitant plus de temps que la durée réservée à l'épreuve, des résultats sont fournis (gel ou fiche résultats - candidat*

PROTOCOLE DE REALISATION D'UNE ELECTROPHORESE

PREPARATION DE LA CUVE

1. **Poser** la cuve sur le papier noir (les puits dans le gel seront plus visibles).
2. **Placer** le gel dans la cuve sans le casser, bien parallèlement aux côtés de la cuve, les puits devant être du côté de la cathode (borne négative).
3. **Verser** le tampon TBE dans les deux compartiments de la cuve, le gel doit être tout juste recouvert. (environ 1mm au dessus du gel).

DEPOT D'ADN

ATTENTION Il faut réaliser les dépôts en stabilisant le mouvement par calage des coudes sur la paillasse et veiller à ne pas percer le fond du puits et à changer les embouts entre chaque dépôt

4. **Déposer** avec une micropipette une solution d'ADN dans un puits sans débordement :
La cuve utilisée nécessite un volume d'ADN de μL .
5. **Déposer**, de la même manière, dans un deuxième puits à coté du précédent la deuxième solution d'ADN
6. Si le dépôt ne paraît pas satisfaisant (débordement par exemple), un second essai peut être réalisé dans les puits situés à côté. Dans ce cas, bien **repérer** les puits conservés pour l'électrophorèse.

MISE EN ROUTE DE L'ELECTROPHORESE ET MIGRATION (la migration doit avoir lieu juste après les dépôts)

7. **Brancher** la cuve au générateur et **faire migrer** à 100 volts. le pôle négatif (= cathode) doit être du côté du dépôt.
8. **Vérifier** le bon déroulement de l'électrophorèse : de la buée doit apparaître sur le couvercle dans les cinq premières minutes si le générateur et la cuve sont bien alimentés. Si ce n'est pas le cas, **appeler** l'examineur.
Pendant la migration, **répondre** aux questions.