

CONCOURS EXTERNE n 47

Technicien BAP A

Epreuve écrite

Mardi 18 juin 2002

Durée : 1 h 30

De 10 h à 11 h 30

Les calculatrices sont autorisées.

Cette épreuve est organisée en trois parties :

1^{ère} partie : 15 questions à choix multiple (cocher les cases sur la grille de réponse fournie)
Plusieurs réponses peuvent être correctes

2^{ème} partie : Une question à rédiger sur la feuille d'examen

3^{ème} partie : Choisir et répondre à un des cinq sujets en fonction de vos compétences (écologie évolutive, écologie microbienne, méthode d'analyse des protéines, microscopie, biologie moléculaire).

1ère partie (QCM) :

- 1- La parthénogenèse est un type de : ?
 - a) Reproduction sexuée
 - b) Reproduction asexuée
 - c) Une phase de la méiose
 - d) Une synthèse de protéines
 - e) Une synthèse d'anticorps

- 2- Une femelle d'une espèce animale qui se reproduit par reproduction sexuée transmet à sa descendance : ?
 - a) L'intégralité de son génome
 - b) La moitié de ses gènes
 - c) Ses caractères phénotypiques
 - d) La totalité de ses gènes
 - e) Une partie de son génotype

- 3- Un anticorps est : ?
 - a) Une protéine
 - b) Une cellule du système immunitaire
 - c) Une immunoglobuline
 - d) Un lipide
 - e) Un microbe

- 4- A partir d'un gène, plusieurs étapes sont nécessaires pour aboutir à la synthèse de la protéine codée par ce gène. L'ordre de ces étapes est :
 - a) Traduction de l'ADN en ARNm, puis transcription de cet ARNm en protéine
 - b) Transcription de l'ADN en ARNt, puis traduction de cet ARNt en protéine
 - c) Transcription de l'ARNm en ADN, puis traduction de cet ADN en protéine
 - d) Transcription de l'ADN en ARNm, puis traduction de cet ARNm en protéine
 - e) Réplication de l'ADN, puis transcription de l'ADN en ARNt, puis traduction de cet ARN en protéine

- 5- Quels sont les macromolécules utilisées pour la traduction : ?
 - a) L'ADN
 - b) Les ribosomes
 - c) Les snRNPs
 - d) Les ARNt
 - e) L'ARNm

- 6- Dans une séquence d'ARNm, le codon marquant l'arrêt de la traduction est ? :
 - a) UAG
 - b) AUG
 - c) UAA
 - d) CCG
 - e) GAU

7- Une protéine est composée de 445 acides aminés. La séquence codant pour cette protéine est de : ?

- a) 890 nucléotides
- b) 1200 nucléotides
- c) 1335 nucléotides
- d) 8900 nucléotides
- e) 1344 nucléotides

8- Pour les cellules eucaryotes, la transcription, l'épissage et la traduction ont lieu : ?

- a) La traduction et l'épissage dans le cytoplasme, la transcription dans le noyau
- b) La transcription et la traduction dans le noyau, l'épissage dans le cytoplasme
- c) Les trois dans le cytoplasme
- d) La traduction dans le noyau, la transcription et l'épissage dans le cytoplasme
- e) La transcription et l'épissage dans le noyau, la traduction dans le cytoplasme

9- Vous devez préparer 500 ml de tampon PBS (0,15 M de NaCl et 50 mM de phosphate de sodium, PH 7,4). Quelles quantités de NaCl (masse moléculaire 58) et de NaH_2PO_4 hydraté, $2\text{H}_2\text{O}$ (masse moléculaire 156) allez-vous peser : ?

- a) 3,9 g NaCl et 8,7 mg NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$
- b) 4,35 g NaCl et 3,9 mg NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$
- c) 7,8 g NaCl et 8,7 mg NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$
- d) 4,35 g NaCl et 7,8 mg NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$
- f) 8,7 g NaCl et 7,8 mg NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$

10- Vous devez préparer un litre d'acide sulfurique 1M (H_2SO_4) à partir du produit commercial (96%, poids/poids ; densité 1,835 ; masse moléculaire : 98). Quelle quantité allez-vous diluer dans l'eau : ?

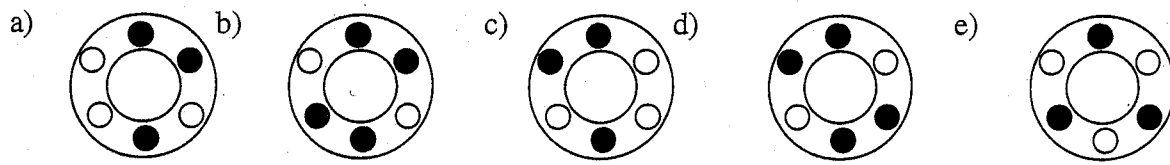
- a) 98 ml b) 53,4 ml c) 90 g d) 51 g e) 55,6 ml

11- Vous disposez d'une solution Tris 2 M et d'une solution d'EDTA 0,5M. Pour préparer 250 ml d'une solution Tris 10 mM, EDTA 0,5mM, quelles quantités des solutions mères prenez-vous : ?

- a) 1,25 ml Tris 2M et 0,25 ml EDTA 0,5M
- b) 2,5 ml Tris 2M et 5 ml EDTA 0,5M
- c) 500 microlitres Tris 2M et 250 microlitres EDTA 0,5M
- d) 1,25 ml Tris 2M et 0,5 ml EDTA 0,5M
- e) 1,25 ml Tris 2M et 250 microlitres EDTA 0,5M

12- Vous devez centrifuger trois tubes de même poids dans un rotor à six positions. Comment disposez-vous les tubes ?:

Les positions occupées par les tubes sont représentées en noir.



b) avec un tube supplémentaire de même poids

d) avec un tube vide supplémentaire de même volume

13- Pour désinfecter un erlenmeyer ayant contenu une culture de bactéries ?:

- a) On le lave avec un détergent et on le rince précautionneusement
- b) On le met dans un lave-vaisselle de laboratoire
- c) On le traite avec une solution de Javel
- d) On l'autoclave
- e) On le rince à l'eau et on pulvérise une solution d'éthanol à 70%

14- Pour observer sur une table UV un gel d'agarose contenant des acides nucléiques et coloré au bromure d'éthidium on doit s'équiper de : ?

- a) De gants
- b) D'une pipette
- c) De lunettes de protection
- d) D'une blouse
- e) D'un chronomètre

15- Sur un ordinateur, pour manipuler des données numériques, j'utilise un : ?

- a) Un traitement de texte
- b) Un logiciel de messagerie
- c) Un tableur
- d) Un logiciel système
- e) Un traducteur

Grille de réponse de la première partie (cocher les bonnes réponses)

(à remettre avec la feuille d'examen)

réponse question	a)	b)	c)	d)	e)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

2^{ème} Partie :

Question à rédiger : Comment situez-vous l'activité d'un technicien de la recherche par rapport à celle des autres personnels d'un laboratoire ? (10 lignes maximum)

3^{ème} Partie :

Choisir **un** des cinq sujets en fonction de vos compétences et le traiter directement sur les feuilles correspondantes.

1^{er} Sujet : écologie évolutive

1^{ère} question : Qu'est-ce qu'une population d'organismes vivants ?

.....

.....

.....

.....

.....

2^{ème} question : Quelle est votre conception de l'utilité d'un cahier d'expériences en recherche ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3^{ème} question : Qu'est-ce qu'une moyenne et une variance ?

.....

.....

.....

.....

.....

4^{ème} question : Explain what is the importance of mutations in the modern theory of evolution
? (réponse en français)

.....

.....

.....

.....

.....

.....
.....
.....

5^{ème} question : Pourquoi est-il utile de prévoir un contrôle dans un plan d'expérience ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

2^{ème} Sujet : écologie microbienne

1^{ère} question: Vous disposez de peptone, d'extrait de viande, d'extrait de levure, de chlorure de sodium et d'agar sous forme de poudres déshydratées, ainsi que d'une solution d'antibiotique thermolabile stérile de concentration 100 mg/ml.

On vous demande de préparer un milieu de culture qui sera réparti, après stérilisation, dans des boîtes de Pétri. Expliquez de façon détaillée comment vous procéderez, sachant:

- 1) qu'il est nécessaire de préparer 14 boîtes et qu'il faut environ 20 ml de milieu de culture par boîte
- 2) que la composition du milieu est la suivante :

- Peptone	5 g/l
- Extrait de viande	1 g/l
- Extrait de levure	2 g/l
- NaCl	5 g/l
- Agar	15 g/l
- Antibiotique	200 µg/ml

.....

.....

.....

.....

.....

2^{ème} question : Les méthodes de comptage des bactéries:

- a) ne s'effectuent en milieu solide que pour les bactéries du sol.
- b) peuvent nécessiter l'utilisation d'anticorps antibactériens.
- c) ne permettent pas de dénombrer plus de 10^9 cellules / ml ou par g d'échantillon.
- d) grâce à l'utilisation de fluorochromes permettent uniquement le dénombrement des cellules vivantes.
- e) peuvent être basées sur une activité métabolique.

Parmi le choix suivant, quelles sont les propositions vraies (entourer la bonne réponse):

- 1) a,c,d 2) a,c,e 3) b,c,d,e, 4) b,e 5) a,d

3^{ème} question : The bacterial suspension is spread over the surface of a slide, and the smear is air-dried. Bacteria are then fixed by slowly passing the slide through the flame of a Bunsen burner, smear side up. The preparation is then covered with a basic purple dye, usually crystal violet. After one minute, the purple dye is washed off with water, and the smear is covered with iodine. After one minute, the slide is washed with water and then with ethanol. The

alcohol is rinsed off, and the smear is then stained for one minute with safranin, a basic red dye. The slide is washed again with water, air dried, and examined microscopically.

questions:

- a/ Décrivez brièvement les différentes étapes du protocole expérimental décrit dans ce texte.

.....

.....

.....

.....

.....

- b/ Sous quel nom est connu cette coloration différentielle des bactéries? Quel est son intérêt?

.....

.....

.....

.....

.....

4^{ème} question: Quelles méthodes sont utilisées pour la conservation à long terme des souches bactériennes au laboratoire?

.....

.....

.....

.....

.....

5^{ème} question: Qu'est-ce qu'un Western Blot?

.....

.....

.....

.....

.....

3^{ème} Sujet : techniques de microscopie :

1^{ère} question : Dites quel type de microscope électronique (MET ou MEB) permet d'observer :

	MET	MEB
- les bactéries	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- le mouvement des flagelles	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- la disposition des protéines dans les membranes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- les macromolécules	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- un immuno-marquage	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- l'organisation des cellules dans les tissus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- l'organisation interne des cellules	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- la surface des objets	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- la surface des membranes cellulaires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- les virus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2^{ème} question : Indiquez les étapes spécifiques aux méthodes de préparation des échantillons biologiques pour la Microscopie Electronique à Transmission (MET) et la Microscopie Electronique à Balayage (MEB) ?

MET :

.....

MEB :

.....

3^{ème} question : Le glutaraldéhyde est commercialisé en ampoules scellées contenant une solution à 50 %. Indiquez les volumes d'eau et de glutaraldéhyde commercial à mélanger pour préparer 12,5 ml de glutaraldéhyde à 4 %.

.....

.....

.....

.....

4^{ème} question : Parmi les facteurs suivants, quels sont ceux qui vous paraissent indispensables à respecter pour préparer un liquide fixateur destiné à fixer des prélèvements d'organes de rat pour leur observation en microscopie électronique à transmission (rayez les mots inutiles) :

osmolarité - pH - stérilité - température - teneur en ions - viscosité

5^{ème} question : Vous avez à effectuer un immuno-marquage direct de protéines de la membrane plasmique de cellules cultivées sur lamelles de verre :

a) A partir du protocole général ci-dessous, entourez les numéros des étapes qui vous paraissent nécessaires.

Protocole :

1. Wash twice the cell culture in PBS
 2. Fix the cells with 3.0 % paraformaldehyde during 30 min.
 3. Wash extensively in PBS
 4. Permeabilize the cells with 1.0 % Triton X-100 in PBS for 5 min.
 5. Wash extensively in PBS and overlay the cells with 1.0 % BSA in PBS
 6. Incubate the cells for 30 min. in primary or conjugated antibody diluted in 1.0 % BSA in PBS
 7. Wash 5 X in PBS for 5 min.
 8. Incubate the cells for 12 min. in diluted conjugated secondary antibody
 9. Wash 5 X in PBS for 5 min. and mount with antifade medium.
- b) Quel type de marqueur lié aux anticorps allez-vous utiliser pour que ces préparations puissent être observées en microscopie à fluorescence.?
- le DAPI - le FITC - des particules d'or colloïdal - la peroxydase
- (Entourez le type de marqueur choisi et expliquez succinctement la raison de votre choix).

.....

.....

.....

4^{ème} Sujet : Méthodes d'analyse des protéines

1^{ère} question : Quels sont les principes de la séparation des protéines par électrophorèse bidimensionnelle : ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2^{ème} question : Vous voulez séparer par électrophorèse bidimensionnelle des protéines basiques ($pI > 9,5$). Pour les gels de première dimension, choisissez-vous des gels avec des ampholines (pH de 5 à 10) ou avec des immobilines (pH de 3 à 10) ? Justifier votre choix.

.....

.....

.....

.....

3^{ème} question : Expliquer le principe de la chromatographie d'échange d'ions appliquée aux protéines.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

4^{ème} question : Un mélange de protéines est composé d'albumine (67kDa) et des protéines de masse comprise entre 60 et 80 kDa, constituées chacune de plusieurs sous-unités liées par des ponts disulfures. Comment séparerez-vous l'albumine du mélange des autres protéines en utilisant l'une des colonnes suivantes: d'échange d'ions, de phase inverse, ou de gel filtration ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....

5^{ème} question : Indiquer au moins trois méthodes de coloration de protéines séparées par électrophorèse, sur le gel ou après transfert sur une membrane. Classifier ces méthodes en fonction de leur sensibilité de détection.

.....
.....
.....
.....
.....

5^{ème} Sujet : Biologie Moléculaire :

1^{ère} question : La PCR

a) Que signifie ce sigle ?

.....
.....

b) Vous souhaitez amplifier l'ADN suivant

5'-ATC GTC CAT TCA GTA CTA CTA CTG TTT CAT CTA-3'

TAG CAG GTA AGT CAT GAT GAT GAC AAA GTA GAT

à partir de la séquence

5'-CCC AGT ATC GTC CAT TCA GTA CTA CTA CTG TTT CAT CTA CGC GGG-3'

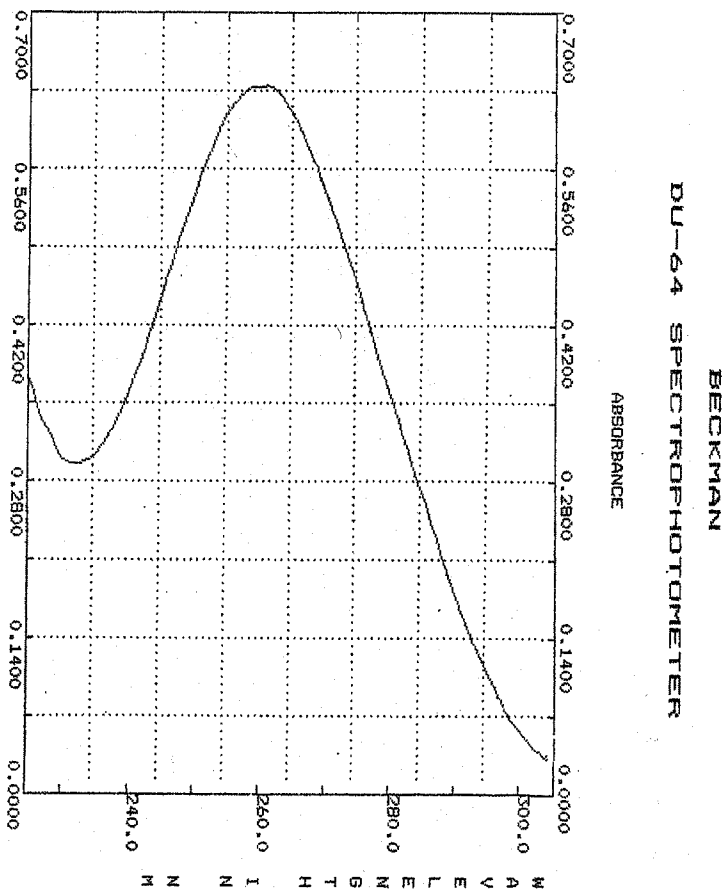
GGG TCA TAG CAG GTA AGT CAT GAT GAT GAC AAA GTA GAT GCG CCC

Quel couple d'amorces (oligonucléotides, 10 mers) devez vous commander en synthèse ?

Vous indiquerez les séquences en orientation 5'-3'.

.....
.....

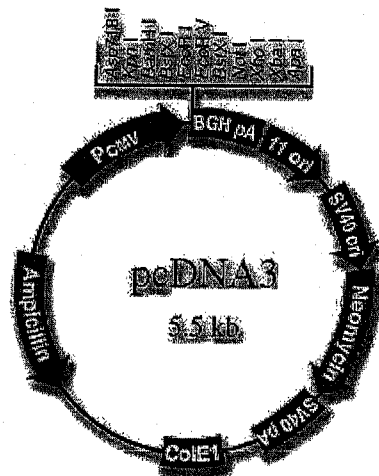
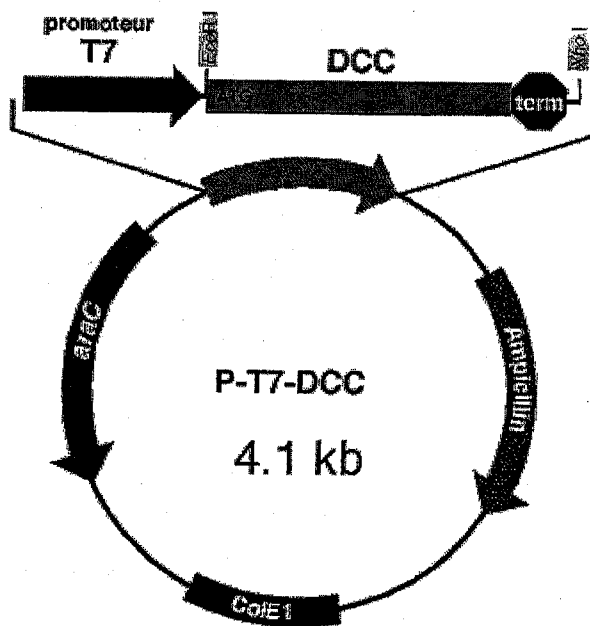
2^{ème} question : Après avoir effectué une maxipréparation d'ADN, vous obtenez à partir d'une dilution 50x de votre solution d'ADN, le spectre suivant :



Calculez la concentration de votre solution d'ADN sachant que 1 unité DO correspond à 50 µg/ml d'ADN

.....

3^{ème} question : A partir du plasmide pT7-DCC et du plasmide pcDNA-3 dont les cartes sont présentées ci-après, vous souhaitez faire exprimer la protéine DCC, après transfection dans des cellules mammifères HEK293.



- a) Quelles manipulations de biologie moléculaire doivent être faites avant d'effectuer la transfection dans les cellules HEK293 ? (donnez brièvement les étapes)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- b) Citez trois méthodes de transfection :

.....

.....

.....

4^{ème} question : Vous souhaitez voir si la protéine DCC interagit avec la protéine ERK. Vous disposez des vecteurs plasmidiques permettant l'expression de DCC et ERK dans des cellules HEK293. Vous réalisez une co-immunoprécipitation.

a) Décrivez le principe de l'expérience :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

b) A quoi correspondent les bandes parasites migrant vers 50kDa sur l'immunoblot ?

.....

.....

5^{ème} question : Vous souhaitez produire et purifier la protéine ZZZ à partir d'un vecteur d'expression en bactérie pET-ZZZ dans laquelle ZZZ est étiquetée avec une répétition de 6 motifs Histidine.

a) Qu'est ce qu'une protéine étiquetée (en anglais « tagged ») ?

.....

.....

.....

b) A quoi va servir cette étiquette et quel est le principe de la purification ?

.....

.....

.....

.....

.....

Région "Languedoc-Roussillon"
Concours externes – Session 2002

Concours n° 48 BAP A
(techniciens de la recherche)

Epreuve écrite : durée 1 h 30

Les documents et calculatrices ne sont pas autorisées.

La 1^{ère} partie est la même pour tous et comporte un QCM, un problème et une épreuve d'anglais technique.

La 2^{ème} partie est au choix, suivant votre spécialité vous choisirez de traiter un seul des quatre sujets A, B, C ou D.

1^{ère} partie (notée sur 14)

QCM :

(Attention : plusieurs réponses peuvent être vraies)

Répondez aux questions en n'inscrivant sur votre copie d'examen que les réponses vraies.
Par exemple, si pour la question 1 les réponses a et b sont vraies écrivez :

1 a

1 b

1. La dialyse est une technique qui utilise
 - a) Le courant électrique
 - b) La diffusion
 - c) La force centrifuge
2. La force motrice dans l'électrophorèse est :
 - a) Un flux d'électrons
 - b) Un flux de tampon
 - c) Une force centrifuge
3. Dans l'électrophorèse, les acides nucléiques migrent vers
 - a) L'anode
 - b) La cathode
 - c) L'une ou l'autre suivant leur charge
4. Dans une électrophorèse les macromolécules les plus volumineuses migrent
 - a) Le plus vite
 - b) Le plus lentement
 - c) L'un ou l'autre suivant leur taille

5. L'ADN peut être dénaturé par
- NaOH
 - NaCl
 - H₂O
6. Un gel bi-dimensionnel sépare les protéines par :
- Leur point isoélectrique
 - Leur masse moléculaire
 - Leur concentration
 - Leur composition en acides aminés
7. Pour stériliser de l'eau, on peut utiliser :
- Un volume identique d'éthanol absolu
 - Une lampe UV
 - Un filtre à 0,45µm
 - Un autoclave
8. Vous préparez une solution contenant des solvants (phénol et chloroforme); vous travaillez :
- Sous une hotte chimique
 - A votre place habituelle sur la paillasse
 - En portant des gants
 - En portant une blouse
9. Quelle(s) substance(s) n'(e) est (sont) pas cancérogène(s) ?
- Les sels de benzidine
 - L'acide acétylsalicylique
 - Le sulfure de nickel
 - Le chromate de zinc
10. Sur un flacon de produit chimique, une étiquette représentant une tête de mort avec un "T" signifie que le produit est :
- Neurotoxique
 - Nocif
 - Toxique
 - Tératogène
11. Sur un flacon de produit chimique, une étiquette représentant des gouttes qui tombent sur une main avec un "C" signifie que le produit est :
- Combustible
 - Corrosif
 - Irritant
 - Nocif
12. 1milliM équivaut à:
- 1 millimole/l
 - 1 nanomole/l
 - 10 micromoles/ml

13. 1 nanoM équivaut à :

- a) 10^{-12} M
- b) 10^{-9} M
- c) 10^{-6} M
- d) 10^{-15} M

14. Une solution de NaOH à 0,04 M correspond à:

- a) 0,04 osmole
- b) 0,08 osmole
- c) 0,04 N
- d) 0,08 N

15. Une solution de H_2SO_4 à 0,01 M correspond à:

- a) 0,01 N
- b) 0,02 N
- c) 0,06 N

16. Les plantes à fleur sont composées de deux grandes catégories :

- a) Les Monocotylédones et les Dicotylédones
- b) Les arbres et les herbes
- c) Les Ptéridophytes et les Magnoliophytes
- d) Les mâles et les femelles

17. Les végétaux sont :

- a) Autotrophes
- b) Hétérotrophes
- c) Phototrophes
- d) Chimiotrophes

18. Ces éléments sont nécessaires à la photosynthèse :

- a) H_2O
- b) NaCl
- c) CO_2
- d) $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

19. Les insectes se caractérisent par :

- a) Un corps avec des ailes
- b) Un cycle de vie comprenant une phase larvaire
- c) La possession de 3 paires de pattes
- d) Une métamorphose

20. Ces organismes sont des insectes :

- a) Puceron
- b) Gammare
- c) Araignée
- d) Machaon

21. La conformation tridimensionnelle d'une protéine est
- a) Sa composition en acides aminés
 - b) Son association avec d'autres protéines
 - c) Son arrangement dans l'espace
22. Les acides aminés basiques ont un pK voisin de
- a) pH4 - pH5
 - b) pH7
 - c) pH9 - pH10
23. L'organisme vecteur du paludisme est:
- a) La mouche Tsé-Tsé
 - b) Un moustique
 - c) Une tique
 - d) Un ver
24. Le paludisme est causé par :
- a) Un protozoaire
 - b) Un virus
 - c) Une bactérie
 - d) Un ver
25. L'appareil de Golgi est impliqué dans :
- a) La sécrétion des protéines
 - b) La production de l'ATP
 - c) La dégradation des protéines
26. Les ribosomes sont composés :
- a) D'ADN
 - b) D'ARN
 - c) De protéines
 - d) De lipides
27. Dans les cellules eucaryotes on trouve de l'ADN dans :
- a) Le noyau
 - b) Les mitochondries
 - c) Les ribosomes
 - d) Les chloroplastes
28. L'agent responsable de l'encéphalite bovine spongiforme, est :
- a) Une bactérie
 - b) Un prion
 - c) Un plasmide
 - d) Un parasite

29. Une enzyme de restriction est une :
- a) Exonuclase
 - b) Endonucléase
 - c) Endoprotéase
 - d) Polymérase
30. Ces organismes sont des procaryotes :
- a) Cyanobactérie
 - b) Levure
 - c) Paramécie
 - d) Eubactérie
31. Les bactéries ont été découvertes par :
- a) Louis Pasteur
 - b) Antoni van Leeuwenhoek
 - c) James Watson
 - d) Christian Gram
32. Chez les bactéries les transferts de gènes se font par :
- a) Conjugaison
 - b) Hybridation
 - c) Transformation
 - d) Transduction
33. La théorie de l'évolution par la sélection naturelle a été émise par :
- a) Lamarck
 - b) Copernic
 - c) Darwin
 - d) Linné
34. Soit un caractère contrôlé par un locus à deux allèles "A" et "a" avec "A" dominant :
- a) Le génotype AA est identique au génotype Aa
 - b) Les phénotypes d'un individu AA et d'un individu Aa sont identiques
 - c) Les hétérozygotes sont les plus nombreux
 - d) Le génotype aa n'existe pas
35. Un gène est dit polymorphe quand il :
- a) Détermine une maladie génétique
 - b) Existe au moins sous la forme de deux allèles
 - c) Existe au moins sous la forme d'un allèle dominant et d'un allèle récessif
 - d) Existe au moins sous la forme d'allèles co-dominants
36. Un gène existe :
- a) Parfois sous plusieurs formes alléliques au sein d'une même espèce
 - b) Parfois sous plusieurs formes alléliques chez un même individu
 - c) Toujours sous une seule forme allélique au sein d'une même espèce
 - d) Toujours sous une seule forme allélique chez un même individu

37. Après la méiose, chaque cellule formée contient :

- a) Un seul chromosome de chaque paire d'homologues
- b) Toutes les paires de chromosomes homologues
- c) Quantitativement la même information génétique que la cellule mère
- d) Qualitativement la même information génétique que la cellule mère

38. La parthénogenèse est un mode de reproduction

- a) Uniparental
- b) Nécessitant la fusion d'un ovule et d'un spermatozoïde
- c) Entre individus génétiquement identiques

39. Vous avez mesuré dix plantes dont les hauteurs sont : 7, 10, 11, 8, 9, 12, 6, 10, 8, 9. La moyenne de cet échantillon est :

- a) 8,0
- b) 9,0
- c) 10,0
- d) 90,0

40. La variance de cet échantillon est :

- a) 3
- b) 5
- c) 0,9
- d) 30

Problème :

Une solution est composée du produit A à 10mM, du produit B à 0,05M et du produit C à 1mM. Sachant que :

la masse molaire de A, $M = 1000 \text{ g/mol}$

la masse molaire de B, $M = 500 \text{ g/mol}$

et C est en solution mère à 0,5M

Question A :

Comment allez-vous en confectionner 2 litres 50 fois concentré ?

Question B :

Puis comment préparer 100ml de cette solution à la concentration de 1?

Epreuve d'anglais technique :

Lisez le texte et répondez en français aux questions posées.

« The dilution technique is most commonly used to count bacteria and fungi. The sample is diluted to zero concentration in sterile buffer. A typical experiment would have 1 ml of a water sample transferred to 9 ml of buffer and mixed. A 1 ml sample from this tube would again be transferred to 9 ml of sterile buffer. Five or six dilutions are made for each sample. Subsamples of 0.1 ml from each tube are spread over plates of a rich nutrient agar medium and incubated to yield colonies. We assume that each colony represents growth from a single cell. Five replicate plates are inoculated from each dilution to overcome variation in the samples. We might find on average of 85 colonies on each of the five plates inoculated with 0.1 ml from 10^{-3} dilution tube. We would estimate that the number of bacteria in the water sample is $85 \times 10^3 \times 10^{-1} = 8.5 \times 10^3$ / ml. The major advantage of the dilution technique is that it yields estimates of numbers of viable cells. The microscopic count cannot differentiate between living and dead cells . »

Question A :

Quelle procédure est décrite dans ce texte ?

Question B :

Que fait-on dans cette expérience pour tenir compte de la variabilité des échantillons ?

Question C :

Quelle conclusion est tirée à la fin du texte ?

2^{ème} partie (notée sur 6)

Traitez un seul des sujets A, B, C ou D.

Sujet A : Cytochimie

On cherche à caractériser de nouvelles protéines du cytosquelette chez le parasite protozoaire *Trypanosoma brucei*. Des protéines du cytosquelette ont été séparées par électrophorèse et injectées à des souris. Des anticorps monoclonaux dirigés contre chacune de ces protéines ont été obtenus à partir de ces souris.

Un de ces anticorps (anti-A) est utilisé pour déterminer la localisation cellulaire de la protéine inconnue A. La technique choisie est l'immuno-fluorescence.

On dispose d'une culture liquide du parasite. Après avoir centrifugé et lavé les cellules, on veut les préparer pour l'immuno-fluorescence.

Question 1 :

Expliquez le rôle de chaque étape du protocole de préparation des cellules sur une lame en citant (à partir de la liste jointe) pour chaque étape le produit ou la solution nécessaire:

Etapes :

1. Fixation
2. Lavage
3. Saturation (blocage)
4. Lavage
5. Incubation avec l'anticorps primaire
6. Lavage
7. Incubation avec l'anticorps secondaire
8. Lavage
9. Incubation avec DAPI
10. Lavage
11. Incubation avec l'agent stabilisateur de fluorescence

Liste de produits et solutions pour immuno-fluorescence :

- Tampon PBS
- Anticorps anti-souris-FITC (anticorps conjugué à la fluoresceine) obtenu chez le lapin
- Méthanol ou éthanol ou formaldéhyde ou acétone ou glutaraldéhyde
- Stabilisateur de fluorescence
- Tampon PBS contenant 1% d'albumine de serum de bœuf (BSA)
- Anticorps monoclonal anti-A
- Solution de DAPI (intercalant fluorescent)

Question 2 :

Pour réaliser l'expérience précédente, on a déposé des cellules dans les 3 puits d'une même lame et chaque puits peut être traité individuellement. Le protocole décrit précédemment est suivi pour le puits 1.

T. brucei Anti-A Anti-souris-FITC 10/05/02	①	②	③
---	---	---	---

Sachant que la tubuline est le composant majeur du cytosquelette du parasite et que vous disposez d'un anticorps anti-tubuline obtenu chez la souris, quel contrôle expérimental feriez-vous dans le puits 2 par exemple ? Pourquoi ?

Question 3 :

Dans le troisième puits, quel contrôle supplémentaire pourriez-vous faire avec le matériel dont vous disposez ? Pourquoi ?

Question 4 :

Dans cette expérience, si la lame comportait un autre puits, quel autre contrôle pourriez-vous effectuer ?

Sujet B : Microbiologie

On souhaite dénombrer la totalité des cellules bactériennes présentes dans un échantillon d'eau de mer. Plusieurs étapes doivent être remplies et l'on vous demande de préciser les protocoles que vous allez mettre en oeuvre.

Conservation des échantillons jusqu'au moment de leur analyse.

Vous disposez de plusieurs moyens de conservation de l'échantillon : un réfrigérateur (+4°C), un conteneur d'azote liquide (-180° C), un congélateur à basse température (-80°C), un congélateur (-20°C), des fixateurs (formaldéhyde, alcool), des cryotubes.

Question 1 :

Décrivez les moyens que vous pourriez utiliser pour conserver les échantillons jusqu'au moment de leur analyse qui ne peut s'effectuer qu'après 1 délai d'un mois.

Dénombrement des cellules bactériennes.

Dans le laboratoire, vous avez à votre disposition un microscope en épifluorescence, des fluorochromes (DAPI, Acridine orange, SYBR Green), des membranes filtrantes noires (porosités : 0,22, 0,45, et 1 µm), un poste de filtration... Vous disposez également de l'ensemble du matériel consommable qui peut se trouver dans un laboratoire de bactériologie (pipettes stériles, boîtes de Pétri, tubes, eau physiologique...).

Question 2 :

Décrivez les étapes du protocole que vous mettriez en place pour estimer l'abondance des cellules bactériennes présentes dans l'échantillon.

Question 3 :

Sachant que le volume d'échantillon analysé est de 5ml, que vous avez compté en moyenne 30 cellules bactériennes par champ microscopique et qu'il y a 10^6 champs microscopiques sur un filtre calculez le nombre moyen de cellules bactériennes par ml de l'échantillon initial.

Environnement de l'expérimentation.

Votre expérimentation terminée vous devez procéder à la destruction des échantillons et du matériel consommable qui ont été utilisés.

Vous disposez dans le laboratoire d'un autoclave et de produits désinfectants (Javel 40% , alcool 90%).

Question 4 :

Comment détruiriez vous les échantillons ayant été en contact avec des produits chimiques comme des fluorochromes ?

Comment stériliseriez-vous le matériel non consommable ayant été en contact avec l'échantillon comme un récipient en verre sale et une rampe de filtration en inox?

Sujet C : Biologie moléculaire

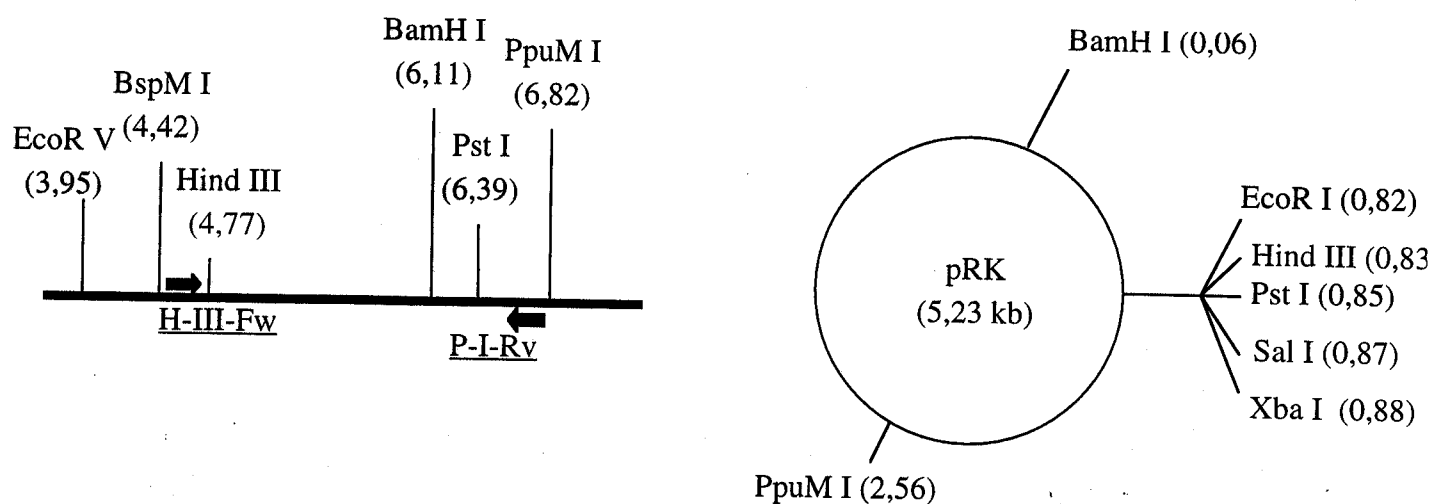


Figure 1 : Cartes de restriction (sites uniques) de la région génomique contenant le fragment à sous-cloner et du plasmide pRK. Les nombres entre parenthèses indiquent la position approximative (en kilobases) des sites de restriction par rapport à une origine arbitraire.

Afin de sous-cloner le fragment génomique Hind III-Pst I dans le plasmide pRK, on veut tout d'abord réaliser une amplification par PCR à l'aide des amorces H-III-Fw et P-I-Rv.

Question 1 :

Décrivez rapidement le principe de la PCR (polymerase chain reaction) ainsi que les principaux réactifs que doit contenir une réaction de PCR.

On réalise ensuite la digestion du fragment PCR obtenu par Hind III et Pst I.

Question 2 :

Donnez les tailles approximatives des fragments de restriction obtenus et indiquez quelle(s) méthode(s) vous pourriez employer pour purifier le fragment Hind III-Pst I.

On effectue la digestion du plasmide pRK par Hind III et Pst I et l'on purifie le plus grand fragment. On ligue ensuite le fragment génomique Hind III-Pst I dans le vecteur pRK/PstI-Hind III et l'on transforme des bactéries avec le produit de ligation.

Question 3 :

Afin d'identifier les clones contenant un plasmide pRK ayant incorporé le fragment génomique Hind III-Pst I, on réalise un criblage par restriction enzymatique. Indiquez quel(s) enzyme(s) de restriction vous pourriez utiliser et quelle serait la taille des fragments générés.

On souhaite ensuite réaliser le séquençage du fragment Hind III-Pst I sous-cloné.

Question 4 :

Indiquez pourquoi ce séquençage s'avère nécessaire dans la stratégie utilisée et donnez le principe du séquençage d'ADN par la méthode de Sanger.

Sujet D : Expérimentation végétale

Le sphinx de l'euphorbe est un papillon dont la chenille se nourrit exclusivement de feuilles d'euphorbe. En été, les papillons mâle et femelle se retrouvent sur les fleurs d'euphorbe. Il y a alors accouplement, les femelles pondent des œufs sur les feuilles d'euphorbe. Les larves se développent en consommant les feuilles. En hiver, les larves s'enterrent dans le sol et entrent en diapause. Quant aux euphorbes, les graines germent avec les pluies d'automne. Au printemps, les larves de sphinx reprennent leur activité et leur croissance avant de se métamorphoser en papillon.

Le sphinx de l'euphorbe est une espèce supposée spécialiste qui ne consomme les feuilles que d'une seule espèce : la grande euphorbe, *Euphorbia characias*. Le but de cette expérience est de tester cette préférence.

Etape 1 :

La première année, un échantillonnage sera réalisé dans les populations naturelles. Pour cela des graines d'euphorbe sont récoltées dans différentes localités du sud de la France. Dans les mêmes populations, des larves de sphinx sont récupérées. Ces larves ne sont pas encore en diapause.

Question 1 :

A quelle époque de l'année partez-vous pour faire cet échantillonnage et qu'emportez-vous comme matériel ?

Etape 2 :

L'ensemble du matériel biologique est rapporté au laboratoire. Les graines sont triées et stockées pour être utilisées dans un protocole d'expérimentations en conditions contrôlées.

Question 2 :

Dans quelles conditions conserveriez-vous les graines ? Et les larves ?

Etape 3 :

Les graines d'euphorbe sont mises à germer en automne. Après la germination, les plantules sont repiquées dans des pots individuels de 20 cl. La grande euphorbe est une espèce qui préfère les sols calcaires et bien drainés. La terre de base dont vous disposez est une terre riche en argile.

Question 3 :

Décrivez le protocole de préparation du sol. Quelle est la fréquence d'arrosage des plantules ?

Etape 4 :

Après 6 mois de croissance, les plantes sont prêtes à être repiquées en pleine terre sur une parcelle non utilisée depuis 3 ans.

Question 4 :

Décrivez la préparation de la parcelle.

Etape 5

Afin de tester la préférence des larves pour la grande euphorbe, 30 parcelles sont préparées : 10 parcelles contiennent exclusivement des individus de la grande euphorbe, 10 parcelles identiques contiennent exclusivement des individus d'une seconde espèce d'euphorbe (*Euphorbia helioscopia*). 10 parcelles contiennent un mélange en proportion 1 : 1 des deux espèces. Une larve de sphinx est déposée sur chaque plante.

Question 5 :

Que feriez-vous pour éviter les échanges de larves entre les différentes parcelles ? Quelles sont à votre avis les données qu'il serait souhaitable de recueillir pour tester la préférence des larves pour la grande euphorbe ?

Région « Ile de France »

CONCOURS EXTERNES - Session 2002

CONCOURS N° 49 BAP A

(TECHNICIENS DE LA RECHERCHE)

Epreuve Ecrite : durée 1 H 30

Aucun document n'est autorisé, utilisez exclusivement les feuilles de brouillon qui sont fournies. Les ordinateurs et téléphones portables ne sont pas autorisés. Les calculatrices simples sont autorisées.

N'indiquez sur les feuilles, aucun nom, prénom, ou tout autre signe qui permettrait d'identifier les candidats.

Veuillez répondre exclusivement sur les feuilles ci-jointes agrafées.

Partie 1 : QCM (sur 37 points)

Cochez la ou les bonnes réponses à chaque question (ATTENTION quelquefois plusieurs réponses sont possibles, toute mauvaise réponse est comptée négativement)

1) On effectue une chromatographie sur gel suivant le principe du tamis moléculaire. Les protéines seront-elles purifiées suivant :

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------|
| Leur poids moléculaire | <input type="checkbox"/> |
| Leur affinité avec un anticorps | <input type="checkbox"/> |
| Leur point isoélectrique | <input type="checkbox"/> |
| Leur composition en acides aminés | <input type="checkbox"/> |

2) Vous avez exécuté une expérience qui a raté. Consignerez-vous cette expérience dans un cahier de laboratoire ?

- | | |
|-------------|--------------------------|
| Oui | <input type="checkbox"/> |
| Non | <input type="checkbox"/> |
| Quelquefois | <input type="checkbox"/> |

3) Vous renversez un flacon contenant un produit radioactif sur la paillasse. Que feriez-vous en premier ?

- | | |
|---|--------------------------|
| Vous ouvrez la fenêtre | <input type="checkbox"/> |
| Vous appelez les pompiers | <input type="checkbox"/> |
| Vous fermez la pièce à clef | <input type="checkbox"/> |
| Vous mettez des gants | <input type="checkbox"/> |
| Vous avez déjà des gants et vous épongez avec un papier absorbant spécial | <input type="checkbox"/> |

4) Que veut dire "stérile" pour une solution ou un milieu de culture.

- Qui ne contient pas d'organismes vivants ☐
- Qui est dans un flacon propre et bien nettoyé ☐
- Qui ne permet pas aux organismes vivants de se développer ☐

5) La stérilisation d'un milieu consiste à :

- Tuer les différents micro-organismes présents dans le milieu, mais n'inactive pas les virus ☐
- Tuer les différents organismes vivants présents dans le milieu sauf les microorganismes ☐
- Éliminer les nutriments indispensables à la culture d'un micro-organisme vivant ☐
- Filtrer le milieu pour enlever des particules qui ne seraient pas dissoutes ☐
- Chauffer le milieu liquide pour mieux dissoudre les différents composés du milieu ☐

6) Vous avez un mélange de deux protéines dans un tampon à pH 7,0 ; l'une ayant une masse de 15 kDa et un pI de 4,5 ; l'autre ayant une masse de 16 kDa et un pI de 7,0. Pour les séparer, utiliseriez-vous :

- Une colonne échangeuse d'anions ☐
- Une colonne de tamisage moléculaire ☐
- Une colonne échangeuse de cations ☐

7) Parmi ces molécules, lesquelles ne constituent pas une base de l'ADN ?

- Adénine ☐
- Uracile ☐
- Arginine ☐
- Guanine ☐

8) Lequel de ces mots n'évoque pas un microorganisme ?

- Bactérie ☐
- Lymphocyte ☐
- Levure ☐
- Bacille ☐

9) Quels mots conviennent pour désigner une levure ?

- Virus ☐
- Champignon ☐
- Eucaryote ☐
- Algue ☐
- Procaryote ☐
- Plasmide ☐

10) Que vaut 1 picogramme ?

- 10^{-6} g ☐
- 10^9 g ☐
- 10^{-12} g ☐
- 10^{-9} g ☐

11) Le maximum d'absorption d'une solution d'ADN se situe à :

- 240 nm ☐
- 260 nm ☐
- 280 nm ☐
- 360 nm ☐
- 595 nm ☐

12) Comment s'appelle le passage de l'ADN à l'ARN ?

- Réplication ☐
- Traduction ☐
- Transduction ☐
- Transcription ☐

13) La photosynthèse nécessite :

- Une mitose ☐
- De la lumière ☐
- L'ADN polymérase ☐
- Des chloroplastes ☐

14) La synthèse des protéines cytoplasmiques dans la cellule a lieu au niveau des :

- Noyaux ☐
- Mitochondries ☐
- Vacuoles ☐
- Ribosomes ☐

15) Dans quel sens s'effectue de façon générale le flux de l'information génétique :

- ADN- > ARN- > protéine ☐
- ARN- > protéine- > ADN ☐
- ARN- > ADN- > protéine ☐
- protéine- > ARN- > ADN ☐

16) Un Western Blot est-il ?

- Une technique de transfert d'ADN ☐
- Une technique de transfert d'ARN ☐
- Une technique permettant de développer une radiographie ☐
- Une technique de transfert de protéine ☐

17) Le Western blot permet principalement de :

- | | |
|---|--------------------------|
| Vérifier une interaction ADN-ARN | <input type="checkbox"/> |
| Vérifier une interaction ADN-protéine | <input type="checkbox"/> |
| Vérifier une interaction protéine-anticorps | <input type="checkbox"/> |
| Visualiser une radiographie | <input type="checkbox"/> |

18) Dans la technique d'électrophorèse SDS-PAGE les protéines migrent-elles :

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------|
| Suivant leur point isoélectrique | <input type="checkbox"/> |
| Suivant leur poids moléculaire | <input type="checkbox"/> |
| Suivant leur forme | <input type="checkbox"/> |
| Suivant leur activité enzymatique | <input type="checkbox"/> |

19) Pour améliorer la résolution d'une protéine en SDS-PAGE changeriez-vous :

- | | |
|---------------------------------------|--------------------------|
| La concentration en SDS | <input type="checkbox"/> |
| La concentration en acrylamide | <input type="checkbox"/> |
| La composition du tampon de migration | <input type="checkbox"/> |
| Le pH | <input type="checkbox"/> |

20) La technique de SDS-PAGE permet-elle de vérifier à 100% la pureté d'une protéine ?

- | | |
|-----|--------------------------|
| Oui | <input type="checkbox"/> |
| Non | <input type="checkbox"/> |

21) Quelle est la solution qui contient le plus de molécules d'une protéine de masse moléculaire 25 000 g/mol ?

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------|
| 200 microlitres à 5 mg/ml | <input type="checkbox"/> |
| 400 microlitres à 50 micromolaire | <input type="checkbox"/> |

22) Pour préparer 50ml d'une solution à pH 7,8 composée de : Tris- HCl 20mM, NaCl 0,2M, EDTA 5 mM, DTT 2 mM .

On dispose des solutions stock suivantes :

A : Tris- HCl pH 7,8 1M

B : NaCl 4M

C : DTT 1M

D : EDTA pH 7,8 0,1M

a) Quels volumes pipetez-vous ?

- | | | | | |
|-------------|--------------|-------------|------------|--------------------------|
| A : 1 ml, | B : 2 ml , | C : 1 ml, | D : 2 ml | <input type="checkbox"/> |
| A : 1 ml, | B : 3 ml , | C : 0,1 ml, | D : 2 ml | <input type="checkbox"/> |
| A : 1 ml, | B : 2,5 ml , | C : 0,1 ml, | D : 2,5 ml | <input type="checkbox"/> |
| A : 1,5 ml, | B : 2,5 ml , | C : 1 ml, | D : 2 ml | <input type="checkbox"/> |
| A : 0,5 ml, | B : 2,5 ml , | C : 1 ml, | D : 2,5 ml | <input type="checkbox"/> |

b) Quel volume d'eau rajoutez-vous ?

- 44 ml ☐
- 44,9 ml ☐
- 43 ml ☐
- 42,5 ml ☐
- 43,9 ml ☐

23) Une protéine X a une masse molaire de 17500 daltons. Son coefficient d'extinction molaire à 280 nm est de 29750. On prépare une solution de cette protéine X diluée au 1/10. La lecture de la DO à 280 nm dans une cuve de trajet optique de 1 cm est 0,25. Quelle est la concentration en mg/ml de la protéine initiale ?

- 0,14 mg/ml ☐
- 17,5 mg/ml ☐
- 0,17 mg/ml ☐
- 1,47 mg/ml ☐
- 14,7 mg/ml ☐

24) On souhaite congeler 1 ml d'une culture bactérienne en présence de glycérol. Quel volume de glycérol 100 % devez vous ajouter pour obtenir une solution finale (volume/volume) à 20% ?

- 200 μ l ☐
- 250 μ l ☐
- 4 ml ☐
- 2,5 ml ☐

25) Quelles sont les précautions à prendre pour manipuler les produits suivants :

	A	B	C	D	E
Phénol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
³² P	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Méthanol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Solution d'acrylamide	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acrylamide en poudre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ethanol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A - hotte

B - gants

C - écran de plexiglas

D - masque à poussière

E - aucune précaution particulière

Partie 2 : Donner des réponses précises (sur 33 points)

1) Classer ces différents éléments par ordre croissant de taille : (de 1 à 5 du plus petit au plus grand)

un organe	Donner la réponse : _____
une mitochondrie	Donner la réponse : _____
une protéine	Donner la réponse : _____
le magnésium	Donner la réponse : _____
une cellule	Donner la réponse : _____

2) A 10 microlitres d'une solution de protéine de masse moléculaire 35000g/mol, on ajoute 70 microlitres de tampon. Quelle est la concentration MOLLAIRE de la solution finale sachant que la concentration initiale est de 8 mg/l ?

Donner la réponse : _____

3) La phase ouverte de lecture d'un gène est composée de 1500 nucléotides, combien la protéine correspondante aura d'acides aminés, donnez également sa masse moléculaire (environ).

Donner les réponses : _____ et _____

4) Donnez le nom du mécanisme de passage d'un type de molécule à l'autre :

ADN -> ADN	Donner la réponse : _____
ADN -> ARN	Donner la réponse : _____
ARN -> ADN	Donner la réponse : _____
ARN -> Protéine	Donner la réponse : _____

5) Combien de bases différentes trouve-t-on dans l'ADN?

Donner la réponse : _____

6) Combien d'acides aminés différents peuvent exister dans une protéine?

Donner la réponse : _____

7) Si vous devez préparer trois litres de solution contenant du glucose à 2 mg/ml, combien pèserez-vous de glucose ?

Donner la réponse : _____

Avec cette solution, vous devez remplir des flacons d'une contenance de 50 ml, de combien de flacons avez-vous besoin ?

Donner la réponse : _____

8) Vous devez préparer 0,1 L de solution de soude 10 N dans de l'eau distillée. Sachant que vous disposez de pastilles de soude (masse molaire 40), Comment procédez-vous ?

Détaillez la réponse : _____

9) Vous devez préparer 0,1 L d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 3 N à partir d'une solution concentrée d'acide à 12 N. Comment procédez-vous ?

Détaillez la réponse : _____

10) Vous devez neutraliser (amener à pH 7.0) 5 mL d'une solution de soude à 10 N par une solution d'acide chlorhydrique à 4 N. Quelle quantité d'acide devez-vous ajouter ?

Donner la réponse : _____

11) L'incubation d'un plasmide de 5250 paires de bases par l'enzyme de restriction EcoRI permet, après séparation des fragments obtenus par électrophorèse de caractériser 5 bandes de longueur 350, 450, 700, 1000, 2300. Combien de sites EcoRI sont présents sur le plasmide ?

Donner la réponse : _____

12) La PCR (abréviation en anglais) est une méthode remarquable en biologie moléculaire. Remplacer PCR par un nom précis (en français).

Donner la réponse : _____

13) Donner le nom de l'appareil utilisé pour la PCR et sa particularité

Donner les réponses : _____ et _____

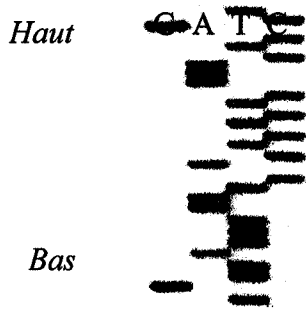
14) Décrire un cycle d'amplification en donnant les caractéristiques (théoriques et pratiques) de chaque étape (un schéma annoté peut suffire).

Donner la réponse: _____

15) Comment prépare-t-on des ADNc à partir de cellules ?

Détaillez la réponse: _____

16) Quelle est la séquence du fragment d'ADN dont voici l'autoradiographie du gel d'acrylamide 6% (d'après la méthode de Sanger).



Donner le résultat dans le sens 3' vers 5' :

17) Quel volume d'ampicilline (solution stock à 25mg/ml) ajoutez-vous à 3 ml de milieu de culture bactérienne pour avoir une concentration finale de 100µg/ml d'ampicilline ?

Donner la réponse :

Partie 3 (sur 5 points)

1) Traduisez ce texte en français :

Chicken liver filamin was prepared according to Craig et al. (1993) with certain modifications. After the DEAE-cellulose column, filamin was applied onto a Sephacryl S300 column. Fractions containing filamin were precipitated using 50% ammonium sulfate saturation. After centrifugation, the pellet was dissolved and dialyzed against 100mM KCl, 1mM EGTA, 10 mM Tris-HCl pH 7.4. Its purity was determined by SDS/PAGE.

Donnez la traduction : _____