

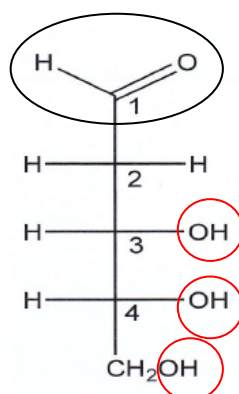
A. Structure, stabilité et pureté du fragment cible d'ADN

I. Le désoxyribose

1. Fonctions présentes sur la forme ouverte du D-2-désoxyribose.

Les fonctions présentes :

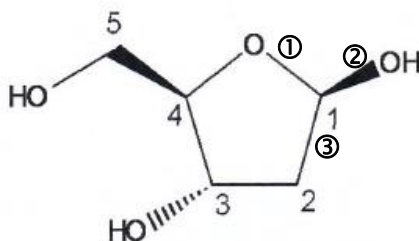
- La fonction aldéhyde -CHO (en noir)
- La fonction alcool -OH (en rouge)



2. Justification de l'appartenance à la série D.

Dans la représentation de Fischer, le groupe hydroxyle (-OH) porté par le carbone asymétrique le plus éloigné de la fonction aldéhyde (carbone 4 de la représentation du Désoxyribose) est situé à droite : le sucre appartient donc à la série D.

3. Configuration absolue du carbone C1.



D'après les règles CIP, le carbone C1 est relié à deux atomes oxygène mais l'atome d'oxygène est relié à un atome de carbone (pour le cycle) alors que l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle (-OH) est relié à un atome d'hydrogène. Donc on a bien ① > ② > ③ (L'atome d'hydrogène est situé à l'arrière du plan de la feuille). On passe de ① à ③ dans le sens des aiguilles d'une montre donc le carbone C1 possède la configuration R.

4. Nature de l'étape.

Il s'agit d'une réaction d'addition intramoléculaire conduisant à un hémiacétal.

5. Définition de la réactivité chimique.

La réactivité chimique caractérise l'aptitude d'une espèce chimique à participer à une transformation chimique.

6. Intérêt biologique du désoxyribose.

Le désoxyribose possède un groupement OH de moins que le ribose, ce qui diminue sa réactivité chimique et augmente la stabilité de l'ADN.

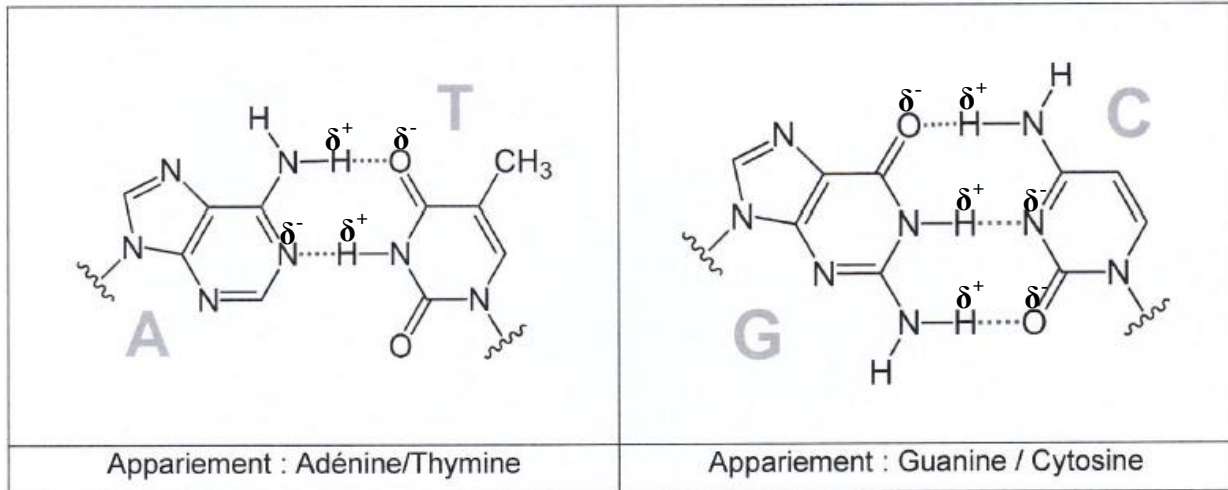
II. Dosage pH-métrique de l'alanine

7. Nom des liaisons en pointillés

Les liaisons en pointillés sont des liaisons hydrogène.

8. Charges partielles et polarisation.

- O et N sont plus électronégatifs que H.
- Les atomes O et N portent donc une charge partielle δ^- .
- Les hydrogènes liés portent une charge partielle δ^+ .



Exemple :
- $\Delta\chi(\text{N-H}) = 3,04 - 2,20 = 0,84$ La liaison est donc polarisée.
- $\Delta\chi(\text{O-H}) = 3,44 - 2,20 = 1,24$ La liaison est donc polarisée.

9. Influence du pourcentage de base azotée GC sur la température de fusion T_m .

Les paires G-C possèdent trois liaisons hydrogène alors que les paires A-T n'en possèdent que deux. Donc il faut plus d'énergie pour séparer G-C que A-T. Donc plus le pourcentage GC augmente plus la température de fusion augmente.

10. Température utilisée lors de la PCR.

La température de fusion est définie pour la moitié de la dénaturation de l'ADN. La température de dénaturation doit être supérieure à la température de fusion de l'ADN (environ 86 °C). Une température de 95 °C permet une séparation complète des deux brins.

III. Pureté de l'échantillon

11. Longueur d'onde de dosage de l'ADN.

Le dosage doit être effectué à 260 nm car l'ADN présente un maximum d'absorbance à cette longueur d'onde.

12. Vérification de la présence de phénol.

Le rapport A_{260}/A_{280} permet de détecter la présence de phénol car une augmentation de A_{280} montre une présence de phénol. De plus, la guanidine et le phénol absorbent de façon identique à A_{230} .

13. Loi reliant absorbance et concentration.

C'est la loi de Beer-Lambert. On a la relation :

$$A = \varepsilon \times l \times C$$

A : absorbance (sans unité)

ε : coefficient d'extinction molaire ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l : trajet optique (cm)

C : concentration ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

14. Trajet optique dans le Nanodrop.

Le trajet optique correspond à l'épaisseur de la colonne de liquide entre les deux surfaces (entre le socle et le bras supérieur).

15. Deux dispositifs dispersifs.

Le prisme et le réseau sont deux systèmes dispersifs.

16. Calcul de la longueur d'onde.

Le réseau est éclairé en incidence normale donc $i = 0^\circ$. On a la relation :

$$\sin(i') - \sin(i) = k \times n \times \lambda \quad d'où \quad \lambda = \frac{\sin(i') - \sin(i)}{k \times n}$$

$$\lambda = \frac{\sin(23,0) - \sin(0)}{1 \times 1500 \times 10^3} = 2,60 \times 10^{-7} \text{ m} = 260 \text{ nm}$$

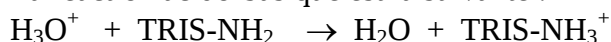
On retrouve la valeur d'absorption maximale de 260 nm donc l'appareil fonctionne correctement.

B. Étude du milieu réactionnel**I. Le tampon****17. Propriétés d'une solution tampon**

Une solution tampon maintient un pH pratiquement constant lors d'une faible addition d'acide, de base ou lors d'une dilution modérée.

18. Réaction acido-basique.

La réaction acido-basique est la suivante :

**19. Composition finale et pH.**

	H_3O^+	+	TRIS-NH_2	$\rightarrow$	H_2O	+	TRIS-NH_3^+
E.I	0,5 mol		1,0 mol		0		0
E.F	0		0,50 mol		0,50 mol		0,50 mol

Donc à l'état final : $n(\text{H}_3\text{O}^+) = 0 \text{ mol}$; $n(\text{TRIS-NH}_2) = n(\text{TRIS-NH}_3^+) = 0,50 \text{ mol}$

D'après la relation donnée dans l'énoncé :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{base}]}{[\text{Acide}]} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{TRIS} - \text{NH}_3^+]}{[\text{TRIS} - \text{NH}_2]} = 8,1 + \log \frac{0,5}{0,5} = 8,1$$

$\text{pH} = \text{pKa} = 8,1$. Donc la solution peut donc servir de tampon.

II. Le magnésium**20. Facteur de dilution.**

$$F = \frac{C_{\text{mère}}}{C_{\text{fille}}} = \frac{25}{5} = 5$$

21. Verrerie nécessaire.

Pour préparer 10,0 mL :

- pipette jaugée de 2,0 mL
- fiole jaugée de 10,0 mL

22. Justification du caractère total.

La constante de formation du complexe vaut $K_f = 10^{8,7}$, très supérieure à 10^3 : la réaction est donc totale.

23. Couleurs avant et après l'équivalence.

- Avant équivalence : rouge violacé (NET complexé par Mg)
- Après équivalence : bleu (pH = 10 et NET libre)

24. Relation à l'équivalence.

D'après la réaction support du dosage donnée dans le document 2, on a la relation :

$$n_{Mg^{2+}} = n_{Y^{4-}}$$

25. Concentration en ions Mg^{2+} .

D'après la relation précédente, on peut écrire :

$$n_{Mg^{2+}} = n_{Y^{4-}} \quad \text{donc} \quad [Mg^{2+}] \times V = C \times V_{eq}$$

$$[Mg^{2+}] = \frac{C \times V_{eq}}{V} = \frac{1,0 \times 10^{-2} \times 0,70}{2,00} = 3,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$$

26. Masse de chlorure de magnésium hexahydraté à peser.

$$M(MgCl_2 \cdot 6H_2O) = 24,3 + 2 \times 35,5 + 6 \times 18 = 203,3 \text{ g.mol}^{-1}$$

On a la relation :

$$m = n \times M = [Mg^{2+}] \times V \times M = 3,5 \times 10^{-3} \times 2,0 \times 203,3 = 1,4 \text{ g}$$

C. Marquage et détection des amplicons

I. Le SYBR Green

27. Définition de la fluorescence.

La fluorescence est un phénomène lumineux observé lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie lumineuse, dans le domaine de l'UV ou proche du visible, et la réémet rapidement sous forme de lumière, dans le domaine du visible, à une longueur d'onde différente.

28. Vérification du critère de Stokes.

$$\Delta\lambda = 520 - 497 = 23 \text{ nm}$$

Comme $\Delta\lambda > 20 \text{ nm}$, le SYBR® Green est utilisable.

II. La sonde TaqMan

29. Principe du quenching.

Le quenching est un phénomène d'extinction de la fluorescence : l'intensité de fluorescence diminue en présence d'une autre espèce chimique ou à cause d'un processus particulier.

Une partie de l'énergie absorbée n'est plus réémise en fluorescence, mais dissipée par un autre mécanisme.

30. Méthode donnant la plus forte fluorescence.

La méthode SYBR® Green donne la fluorescence la plus intense car plusieurs molécules de colorant peuvent se fixer sur chaque fragment d'ADN au fur et à mesure de la réaction de polymérisation. Pour la méthode TaqMan, le fluorophore est libéré uniquement à la fin de la réaction de polymérisation.

31. Position du détecteur.

En fluorimétrie, le détecteur est placé à 90° afin de mesurer uniquement la lumière émise par fluorescence et éviter la lumière incidente transmise.

