

Document complémentaire **DC 5 Retour sur les portfolios**

Des exemples de bonnes contributions

... en interprétant les résultats avec pertinence

Mais dès lors que nous avons des résultats : les tests sur microplaques, les absorbances... **Nous prenions systématiquement en photo nos résultats et on consignait tout dans un petit cahier de bord.** Ce dernier permettait de réaliser **des brouillons de courbe d'absorbance pour identifier dans quels tubes notre enzyme était sorti, résultats que l'on mettait en relation avec les tests en microplaques.** **Si un résultat paraissait anormal on se posait d'abord la question de savoir si on avait pu faire une erreur dans la manipulation,** ce qui nous ai arrivé une fois lors de la méthode de Lowry où nous nous sommes trompés entre nos échantillons à prendre et les échantillons dilués de l'étape précédente. Cette erreur était réelle, nous n'avons pas mis longtemps avant de nous en rendre compte ce qui nous a permis de recommencer sans dépasser le temps impartis, donc toujours en accord avec le cahier des charges imposé. (...)

- ACTION : répond bien à la question : comment avez-vous porté un regard critique sur les résultats obtenus ? Quelles actions vous ont permis d'y arriver ?
- RÉFLEXION SUR L'ACTION : accès aux questions posées et au raisonnement.

...en mobilisant les méthodes et outils adaptés

La sauvegarde de l'activité enzymatique de la LDH passe par la protection de notre enzyme à différents paramètres : la température, le pH, les forces de cisaillement, les protéases, ...

Dans la première étape de la purification, nous avons effectué **une centrifugation** de notre broyat de muscle cardiaque. Le moteur de la centrifugation, en tournant à des vitesses très élevées (de 15 000 x g), va chauffer l'enceinte de la centrifugeuse. **Donc nous risquons de dégrader l'enzyme, et perdre de l'activité enzymatique, sous l'effet de la chaleur. Pour cela, il faudra utiliser une centrifugeuse réfrigérée, capable d'atteindre 4 °C afin de garder au froid notre enzyme.** De plus, nos fractions d'enzyme sont conservées dans un réfrigérateur maintenu à 4°C, dans ce même but

Afin **d'éviter la dégradation de notre enzyme par le pH, nous allons donc utiliser une solution tampon de Tris-HCl, équilibré à un pH de 7,5.** Lors du broyage, en dégradant les cellules, nous allons ouvrir les lysosomes, ayant un contenu acide. **La solution tampon va donc permettre de maintenir le pH à une valeur qui ne dénaturera pas l'enzyme**

Les forces de cisaillements sont à prendre en considération lors des étapes de mélange. Il faudra privilégier une **méthode de mélange douce** (par retournement) Les protéases, lors de l'étape de broyage, sont inhibées par la présence, dans le tampon d'extraction, d'EDTA qui va chélater les ions métalliques et de béta-mercaptoéthanol

Question(s) et conseil(s) :

- Mentionnez le but de l'action (sauvegarde de l'activité enzymatique), expliquez les conséquences de l'emploi des différentes centrifugeuses afin de choisir celle qui permet d'atteindre l'objectif.
- Justifiez de la raison pour laquelle l'emploi de l'une est écarté et la raison pour laquelle l'emploi de l'autre est préféré.
- Possibilité de justifier selon les fonctions du matériel/ des techniques, leur utilité, leur particularité et leur adéquation à l'objectif visé.

...en mobilisant les méthodes et outils adaptés

En ce qui concerne les choix adaptés des appareillages, nous avons toujours su ce qu'il fallait utiliser grâce aux informations qui se trouvaient dans le protocole. En effet, si nous prenons l'exemple du spectrophotomètre. En effet, si nous prenons l'exemple du spectrophotomètre. Nous avons des fractions à lire à une absorbance à 280 nm pour certaines manipulations et à 340 nm pour d'autres manipulations. Nous n'avons pas utilisé les mêmes spectrophotomètres. **Pour les absorbances à 280 nm, nous avons pris un spectrophotomètre UV car les longueurs d'onde émises à 280 nm ne sont pas visibles à l'œil nu.** En ce qui concerne les absorbances à 340 nm nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Visible car cette longueur d'onde ci, quant à elle, est visible à l'œil nu.

Question(s) et conseil(s) :

- Pour fournir une justification complète : y a-t-il d'autres raisons que celles-là qui vont faire que vous utilisez un matériel/ une technique plutôt qu'une autre ?

Des exemples de contributions moins bien réussies

...en respectant les règles d'hygiène, de sécurité et de responsabilité environnementale

Nous **avons tout d'abord gardé le masque (1)** et nous avons désinfecté nos paillasse au bactopin avant et après chaque journée de manipulation. De plus, le port de la blouse était systématique et le port de lunettes et gant a été effectué **lors de manipulation de produit qui le nécessitait (2)**. En ce qui concerne les responsabilités environnementales, nous avons jeté **les produits qui représentaient un danger environnemental (3)** dans un bidon de récupération.

Question(s) et conseil(s) :

- Éviter de confondre récit de l'action avec justification : la justification répond à la question du sens de l'action, quel est l'intérêt de procéder de telle façon ? Pourquoi est-ce important ?
- (1) Pourquoi garder le masque ? A quoi cela sert-il ?
Ex de justification : « Le port du masque est justifié pour empêcher la propagation des aérosols en raison de la pandémie. »
- (2) Lors de la manipulation de produits qui le nécessitaient : c'est-à-dire ? De quels produits s'agit-il ? Dans quelles circonstances est-ce intéressant de mettre des gants ? Et/ou des lunettes ? Pour quelle raison ? Quelle ressource vous permet d'affirmer cela ?

Un bon exemple de justification à ce propos :

Pour les autres protections, il suffit de regarder les pictogrammes qui se trouvent sur les flacons. Par exemple, si nous avons le pictogramme suivant :



Corrosif : Brûlures de la peau et lésions oculaires graves.

Nous savons qu'il faut porter des gants et des lunettes de protection car c'est un produit corrosif pour la peau et les yeux.

- (3) Quels produits représentent un danger environnemental ? Pour quelles raisons ? Quelle ressource vous permet d'affirmer cela ? En quoi agir comme vous l'avez fait est positif et permet de respecter l'environnement ?

...en mobilisant les méthodes et outils adaptés

Le choix des appareillages était adapté, en effet on a utilisé une centrifugeuse **réfrigérée afin de ne pas dénaturer l'enzyme 1.**

Les spectrophotomètres UV et UV-visible ont tous les deux étaient utilisés en fonction des expériences et de la nécessité 2. Le choix des petits-matériels a également **était adapté**^{3.} : les agitateurs, les pipettes manuelles et automatiques, le ph mètre et les balances. En effet c'est surtout le respect du choix des pipettes qui est important afin de ne pas faire des erreurs de pipetage car on a différentes micropipettes

Question(s) et conseil(s) :

- Faire apparaitre le but de l'action (ne pas dénaturer l'enzyme (1) + expliquer en quoi la centrifugeuse réfrigérée est plus adaptée qu'une autre afin de ne pas dénaturer l'enzyme ? Que permet-elle ? Que fait-elle différemment ? En quoi était-ce l'outil le plus pertinent ?
- Utilisation en fonction des expériences et de la nécessité (2) → Ok ! Mais préciser Quelles expériences et quelles conditions impliquent l'usage du spectromètre UV et UV visible ? Quelles ressources avez-vous mobilisées pour prendre une décision en ce qui concerne l'utilisation de ces outils ?
- Adapté (3) à quoi ? Parlez des actions qui vous permettent d'affirmer cela ...