

norme française

Blé dur

Identification variétale par électrophorèse des protéines en gel de polyacrylamide-dodécylsulfate de sodium (S.D.S.)

E : Durum — Identification of variety by electrophoresis of proteins in polyacrylamide gel containing sodium dodecylsulfate

D : Hartweizen — Varietätenidentifikation durch Elektrophorese der Proteine in Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gel

Norme française homologuée par décision du Directeur Général de l'afnor le 20 juillet 1990 pour prendre effet le 20 août 1990.

correspondance À la date de publication de la présente norme, il n'existe pas de travaux internationaux en cours sur le même sujet.

analyse Les protéines de réserve sont les produits directs de la transcription et de la traduction des gènes et reflètent donc le génotype des organismes qui les contiennent. C'est pourquoi en analysant les constituants protéiques des céréales notamment par la technique d'électrophorèse on peut procéder à l'identification des cultivars.

C'est ainsi qu'une méthode d'identification par électrophorèse en gel d'amidon faisant l'objet de la norme NF V 03-715, a été développée pour le blé tendre et le blé dur. Cependant, le manque de différenciation constaté entre les électrophorégrammes des différentes variétés, en particulier en raison de l'irrégularité des taux de réticulation des gels d'amidon obtenus à partir des produits du commerce, a été à l'origine du développement de méthodes en gel de polyacrylamide. Par suite, la présente norme décrit une telle méthode permettant de différencier les variétés de blé dur cultivées en France.

descripteurs **Thésaurus International Technique** : céréale en grain, blé, blé dur, variété, identification, protéine, méthode par électrophorèse.

modifications

corrections

Membres de la commission de normalisation chargée de l'élaboration du présent document

Président : M SCOTTI

Secrétariat : M AMPE — AFNOR

M	AUFFRAY	LABORATOIRE CREPIN
M	AUGEAI	MIN ECONOMIE, FINANCES ET BUDGET — DGCCRF
M	AUTRAN	INRA MONTPELLIER
Mlle	BENOUALID	CTUC
M	BERGER	GRANDS MOULINS DE PANTIN
M	BLANC	LABORATOIRES WOLFF
M	BOURGUIGNON	MIN ECONOMIE, FINANCES ET BUDGET — CGd'UMA
M	BRAGADIR	GEFAR
M	CAUVET	COMITE FRANCAIS DE LA SEMOULERIE INDUSTRIELLE
M	COLAS	GRANDS MOULINS DE PARIS
M	CORMIER	UNCAMTC
M	DAUXAIS	SYNDICAT DE PARIS
M	DRAPRON	
M	DULLIN	FEDERATION FRANCAISE DU COMMERCE DES GRAINS
Mme	DUMAIN	MIN DEFENSE — SCERCAT
M	DUVAL	FFCAC
Mme	FRITZ	MIN INDUSTRIE, PET T ET TOURISME — SARSCI
M	GOTESMAN	ONIC
M	GRANDVOINNET	GRANDS MOULINS DE PANTIN
Mme	LE BRUN	ITCF
M	LE ROUX	TRIPETTE ET RENAUD
M	MARTIN	ITCF
M	MARTIN	SYNPRODUR
Mme	MAZERAND	ENSMIC
M	MONT	UNCAC — LABORAGRO
M	MORDILLAT	AGPB
M	MULTON	INRA JOUY EN JOSAS
M	PROVOT	LABOVAL
M	SCOTTI	BIPEA
M	TOURNELLE	
M	TRENTESAUX	LU SA
Mlle	WALLE	PANZANI SA

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente norme décrit une méthode de fractionnement d'extraits protéiques de grains de blé dur, par électrophorèse en gel de polyacrylamide en milieu S.D.S., en vue d'identifier des variétés et d'estimer la composition variétale d'un lot.

Elle donne également, en annexe A, les intervalles de confiance associés au nombre de grains trouvés pour un nombre de grains analysés de 30 et 60 et, en annexe B, une liste d'anomalies constatées avec leurs causes possibles.

2 RÉFÉRENCES

NF V 03-700 Céréales — Échantillonnage.

NF V 03-702 Céréales — Détermination de la masse de 1 000 grains.

3 PRINCIPE

Extraction des protéines par une solution contenant du dodécylsulfate de sodium, à partir soit d'une mouture de grains dans le cas d'une variété pure, soit de grains broyés pris isolément dans le cas d'un mélange de variétés.

Séparation des composants protéiques des extraits par électrophorèse verticale en gel de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium. Fixation des composants protéiques par l'acide trichloroacétique, suivie de leur révélation par le bleu de Coomassie et de l'élimination de la coloration de fond de gel par un mélange acide acétique-éthanol.

Interprétation de l'électrophorégramme après lecture du gel ou de sa réplique photographique à l'aide des schémas types et de la clé d'identification.

4 RÉACTIFS ET PRODUITS

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique et l'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de pureté équivalente.

4.1 Réactifs pour la préparation des gels

4.1.1 Tampon Tris, solution tampon à 1 mol/l, de pH 8,8

Tris-hydroxyméthyl-aminométhane	121,14 g
HCl ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml)	20 ml
Eau distillée, compléter à	1 000 ml

4.1.2 Tampon Tris, solution à 1 mol/l, de pH 6,8

Tris-hydroxyméthyl-aminométhane	121,14 g
HCl ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml)	78 ml
Eau, compléter à	1 000 ml

4.1.3 Dodécylsulfate de sodium (S.D.S.), solution à 0,347 mol/l

S.D.S.	10 g
Eau, compléter à	100 ml