



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV](#)®

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

***BIOLOGIE STRUCTURALE ET
FONCTIONNELLE DES PROTÉINES***

Durée de l'épreuve : 2 heures
Coefficient : 1

CORRIGÉ ET BARÈME

Les β -lactamases

Questions	ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ	Barème /40
1		(15 points = 30 points/2)
1.1		4 pts
1.1.1	Spécificité de réaction et spécificité de substrat	1 pt
1.1.2	6 classes à citer	2 pts
1.1.3	Classe 3 (hydrolase)	1 pt
1.2		7 pts
1.2.1	Cristallographie et diffraction aux rayons X ou RMN	1 pt
1.2.2	Définition + liaisons	2 pts
1.2.3	Hélice α et feuillet β	1 pt
1.2.4	Segment de protéine présentant une structure tridimensionnelle bien définie, autonome, indépendante du reste de la protéine.	1 pt
1.2.5	Acides aminés intervenant dans la fixation (et le positionnement) du substrat et acides aminés engagés dans l'acte catalytique (certains sont dans les 2 fonctions).	2 pts
1.3		13 pts
1.3.1	Formules des 2 acides aminés	2 pts
1.3.2	Cystéine : fonction thiol ; lysine : fonction amine	1 pt
1.3.3	2 critères : taille ; charge	1 pt
1.3.4	k_{cat} : constante (coefficient) catalytique, coefficient de vitesse de l'étape catalytique, nombre de réactions que l'enzyme peut catalyser par unité de temps (exprimée en s^{-1}) à saturation. K_M : constante (coefficient) de Michaelis ; concentration en substrat qui donne $v_i = V_{max}/2$ ou concentration en substrat de demi-saturation de l'enzyme.	2 pts
1.3.5	Le K_M de TEM-1 est environ 10 fois plus faible que le K_M de TEM-31. L'affinité de TEM-1 est donc 10 fois meilleure que celle de TEM-31.	1.5 pt
1.3.6	Efficacité = k_{cat}/K_M . Efficacité de TEM-31 pour pénicilline G = $eG = (100/365) = 0,274$. Efficacité de TEM-31 pour céphaloridine = $eC = (11/681) = 0,016$. Le rapport des 2 efficacités est voisin de 17 en faveur de la pénicilline G.	2 pts
1.3.7	Inhibition compétitive. L'analogue du substrat est en compétition avec le substrat sur le même site de fixation.	1.5 pt
1.3.8	Le K_M apparent pour l'antibiotique substrat est augmenté + justification	2 pts
1.4		3 pts
1.4.1	Opérations expérimentales : - Faire séjourner des fractions aliquotes de la préparation enzymatique pendant différents temps à la température testée. - Arrêter l'effet thermique par refroidissement brusque. - Mesurer l'activité résiduelle de chaque fraction aliquote dans le standard de mesure de l'activité.	1.5 pt
1.4.2	Temps 1/2 vie = durée qui conduit à la dénaturation thermique de la moitié de la quantité d'enzyme	0.5 pt
1.4.3	Augmentation de $t_{1/2}$ + justification	1 pt
1.5		3 pts
1.5.1	pH pour lequel la charge globale de la protéine est nulle.	1 pt
1.5.2	Electrophorèse en gel avec gradient de pH. Chaque protéine est alors focalisée au niveau de son pI.	1 pt
1.5.3	1 critère supplémentaire de séparation, en plus de celui de la masse moléculaire	1 pt

		(5 points = 10 pts/2)
2.1		3 pts
2.1.1	* 1 ^{ère} étape de congélation /décongélation : procédé mécanique visant par la formation des cristaux de glace à faire éclater la paroi bactérienne. * 2 ^{ème} étape la sonication : procédé mécanique. Les ondes d'implosion des cavitations formées lors de l'application des ultra-sons lysent les cellules.	2 pts
2.1.2	La dialyse est utilisée pour éliminer de l'extrait protéique les ions diffusibles pouvant interférer avec la chromatographie échangeuse de cations.	1 pt
2.2		3 pts
2.2.1	Pores calibrés ; les molécules de tailles inférieures à 5 000 Da peuvent pénétrer.	1 pt
2.2.2	β -lactamase exclue (MM > 5 000 Da) Volume d'élution correspond au volume mort, volume extérieur aux billes.	2 pts
2.3	La SDS-PAGE permet d'évaluer la pureté de chacune des fractions obtenues au cours des étapes d'extraction-purification et donne des indications de masses moléculaires sur les unités protéiques détectées. La piste 2 permet de mettre en évidence les différentes protéines présentes après extraction. À l'issue de la 1 ^{ère} étape de purification (échangeur de cations), il y a plusieurs bandes mais en nombre inférieur, donc il y a eu une purification mais incomplète. À l'issue de la 2 ^{ème} étape (gel filtration), il n'y a plus qu'une seule bande, d'une épaisseur plus importante ; à l'issue de la chromatographie gel-filtration une seule fraction protéique est détectée. La protéine serait ainsi formée par un seul type d'unité protéique de masse moléculaire voisine de 30 kDa.	4 pts

Bonification maximale de 2 points pour « **la clarté et la rigueur de l'expression écrite et de la composition** » (peut être modulé en fonction du contenu scientifique de la copie).

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : + 1 point	
Rajouter 1 point à la copie si :	Ne rien rajouter si :
Peu de fautes (maxi 3 à 5 par page), les termes scientifiques usuels sont correctement orthographiés.	Très nombreuses fautes d'orthographe et/ou de grammaire (au moins 10 par page), des erreurs pour l'orthographe des termes scientifiques usuels.
Vocabulaire adapté, pas de contre-sens.	Vocabulaire inadapté, contre-sens.
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture : + 1 point	
Rajouter 1 point à la copie si :	Ne rien rajouter si :
Copie présentée de façon soignée, facilitant le travail de lecture du correcteur (texte et schémas).	Copie « bâclée », lecture fastidieuse liée à un manque de soin apporté au traitement des questions (textes et schémas).
Lecture fluide, texte facilement compréhensible.	Formulations non claires nécessitant une relecture.