



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

***BIOCHIMIE STRUCTURALE ET
FONCTIONNELLE DES PROTÉINES***

Durée de l'épreuve : 2 heures
Coefficient : 1

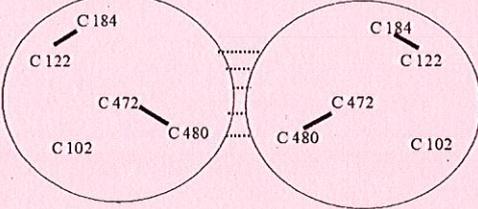
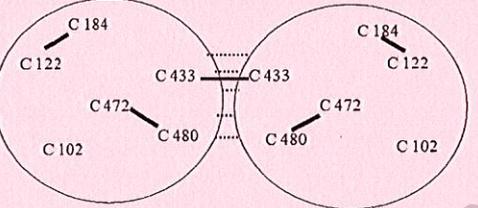
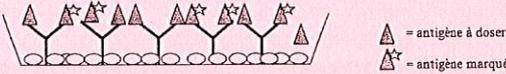
CORRIGÉ ET BARÈME

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Étude de phosphatases alcalines mutées, responsables de maladies des os et des dents (hypophosphatasies) chez l'homme

Questions	Éléments de corrigé	Points sur 38
1.		20
1.1	<u>Homodimère</u> : protéine composée de 2 sous-unités identiques <u>Non covalent</u> : les sous-unités sont reliées uniquement par des liaisons faibles.	2
1.2	Étapes principales du Western blot : - une étape d'électrophorèse classique SDS PAGE permettant de séparer les protéines selon leur masse moléculaire. Les protéines chargées négativement en présence de SDS, migrent toutes vers l'anode, - une étape de transfert des protéines du gel vers une membrane de nitrocellulose, par un phénomène d'électro-transfert, - révélation : toutes les protéines transférées ne sont pas révélées. Un anticorps marqué, et spécifique de la protéine étudiée, permet de révéler celle-ci.	3
1.3	De nombreuses protéines peuvent être contenues dans l'échantillon analysé, mais seule la protéine spécifique de l'anticorps marqué utilisé, est révélée.	1
1.4	Le β mercaptoéthanol ou le dithiothréitol sont des agents réducteurs, permettant la rupture des ponts disulfures, présents à l'intérieur d'une sous-unité protéique, ou bien reliant deux sous-unités.	1
1.5	- En présence de β -mercaptoéthanol (conditions réductrices), on obtient 2 bandes de mêmes intensités, à 66 et 80 kDa. Ces masses moléculaires correspondent à la taille d'une sous-unité de la protéine TNSALP annoncée (forme non glycosylée à 66 kDa et forme glycosylée à 80 kDa). La TNSALP étant un homodimère, on attend une bande pour les deux sous-unités, séparées en présence de SDS. - En absence de β -mercaptoéthanol, on obtient les mêmes résultats, ce qui prouve que le β -mercaptoéthanol n'a aucun effet sur la protéine TNSALP, donc que les sous-unités ne sont reliées que par des liaisons faibles (homodimère <u>non covalent</u>).	2
1.6	Les résidus N sont des asparagines. La formule doit être juste et faire apparaître la chaîne latérale : $\text{CH}_2\text{-CO-NH}_2$.	1
1.7	Sur les résidus asparagines, il s'agit d'une liaison N-osidique ou N-glycosidique.	1
1.8	Elle commence dans le REG et se poursuit dans l'appareil de Golgi.	1
1.9	Sur une protéine, les chaînes glucidiques : 2 rôles attendus parmi les suivants : - augmentent le caractère hydrophile, - peuvent jouer le rôle de marqueur antigénique, - motifs de reconnaissance pour des récepteurs, - peuvent être utilisées pour l'adressage correct de la protéine dans la cellule.	1
1.10	1 = peptide signal 2 = ribosome 3 = SRP = signal recognition protein 4 = signal peptidase ou enzyme protéolytique 5 = translocon ou canal de translocation 6 = chaîne glucidique	3

1.11	Caractéristiques du peptide signal : - courte séquence et riche en résidus apolaires (G, L, V, A, P, I, M, C...) - positionné côté N-terminal	1
1.12	- Démarrage de la traduction par un ribosome libre dans le cytoplasme. - Reconnaissance du peptide signal par une protéine SRP, qui bloque la traduction. - Fixation de l'ensemble « SRP-système de traduction » sur le translocon. - Libération de la SRP (après hydrolyse d'un GTP) puis reprise de la traduction. - Entrée progressive de la protéine en cours de synthèse dans le REG, par le translocon. - Clivage du peptide signal dans le REG par le signal peptidase. - À la fin de la traduction dissociation du ribosome du translocon et de l'ARNm. - Repliement de la protéine - Glycosylations éventuelles de la protéine dans le REG.	3
2		14
2.1	$CAC (U \cdot mL^{-1}) = (\Delta A / \Delta t) \times (1 / \epsilon \times \ell) \times (VT / V_{enz}) \times 10^6$ Unités à justifier. Dans cette formule, VT est en L et V enz en mL (accepté aussi VT et V enz en mL avec un facteur 10^{-3}) $VT = (0.1+0.3+0.1+0.5) 10^{-3} = 1.10^{-3} L$; $V_{enz} = 0,1 mL$ (homogénat cellulaire)	2,5
2.2	$AS (U/mg) = CAC (U/mL) / \rho (mg/mL)$ On obtient : TNSALP sauvage : 300 U/mg R 433 H : 500 U/mg R 433 C : 102 U/mg	1,5
2.3	L'enzyme mutante R 433 C présente une AS plus faible que la sauvage (102 au lieu de 300). Il y a remplacement de l'arginine, résidu à chaîne latérale basique, polaire et assez encombrante, par une cystéine, résidu apolaire, à petite chaîne latérale. Cela engendre certainement des modifications structurales défavorables à l'activité enzymatique. L'enzyme R 433 H présente une AS plus forte que la sauvage (5070 au lieu de 300). Il y a remplacement de l'arginine, résidu à chaîne latérale basique, polaire et assez encombrante, par une histidine, résidu aux propriétés très proches de l'arginine. On pouvait donc s'attendre à une AS similaire. On peut supposer que la mutation engendre des modifications structurales favorables à l'activité enzymatique.	2
2.4	Deux enzymes sont des isoenzymes, si elles catalysent la même réaction, ont une séquence très proche, mais présentent des propriétés de régulation différentes.	0,5
2.5	Le mutant R 433 H donne des résultats équivalents à la protéine sauvage sur western blot. Comme pour la protéine sauvage, on déduit que cette protéine mutante est un homodimère non covalent. Le mutant R 433 C donne des résultats équivalents à la protéine sauvage en conditions réductrices. En revanche, en conditions non réductrices, on obtient deux bandes de 130 et 160 kDa, valeurs correspondant au double de 66 et 80 kDa. En absence de β mercaptoéthanol, les sous-unités de la protéine ne se sont donc pas dissociées. <u>Le mutant R 433 C possède donc un pont disulfure reliant les sous-unités.</u>	2

2.6	<p><u>Hypothèse 1</u> : pour le mutant R 433 C, le pont disulfure est formé entre les deux cystéines 433 des 2 sous-unités.</p> <p><u>Hypothèse 2</u> : pour le mutant R 433 C, deux ponts disulfures sont formés entre la cystéine 433 de chacune des 2 sous-unités et la cystéine 102 de l'autre sous-unité.</p>	2
2.7	Schéma d'un pont disulfure	0,5
2.8	<p>Les bandes obtenues pour le double mutant (R 433 C - C 102 S) sont les mêmes que pour le mutant (R 433 C), en conditions réductrices et non réductrices. La mutation de la cystéine 102 n'a donc aucun effet sur les ponts disulfures reliant les deux sous-unités.</p>	1
2.9	<p><u>TNSALP sauvage</u> : les sous-unités sont reliées par des liaisons faibles</p>  <p><u>TNSALP mutant (R 433 C)</u> : les sous-unités sont reliées par des liaisons faibles et un pont disulfure entre les cystéines 433</p>  <p><u>Dans le mutant (R 433 C - C 102 S)</u>, la cystéine 102 est remplacée par une sérine, mais la structure est la même que pour le mutant (R 433 C). (Remarque : schémas difficiles à réaliser donc clémence pour les représentations.)</p>	2
3		4
3.1	<p>Ajouts (concomitants) de l'antigène à doser (en quantité variable) et de l'antigène marqué (en quantité limitante)</p>  <p>1- Lavage pour éliminer les molécules d'antigènes non retenues. 2- Mesure de l'activité de l'enzyme (TNSALP) d'autant plus forte que la concentration de l'antigène à doser est faible.</p>	2
3.2	<p>Plus la concentration en antigène à doser augmente, plus la quantité d'antigènes marqués retenus diminue, car l'anticorps fixé au support est en quantité limitante.</p>	1
3.3	<p>La gélatine permet de saturer les sites non occupés par l'anticorps de la phase solide.</p>	0,5
3.4	<p>Élimination des antigènes marqués ou non marqués, non retenus par les anticorps.</p>	0,5

« Clarté et rigueur de l'expression écrite et de la composition » : **2 points sur 40** à attribuer en concertation avec l'équipe des correcteurs si la correction des questions est partagée.

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : 1 point	
1 point	0 point
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 : 1point	
1 point	0 point
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.