



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

Corrigé du sujet d'examen - E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire - BTS BIORP (Biotechnologie en recherche et en production) - Session 2017

1. Contexte du sujet

Ce sujet d'examen concerne le BTS Biotechnologie en recherche et en production, et aborde la biochimie structurale et fonctionnelle des protéines, avec un accent particulier sur les kératinases et leur purification. L'épreuve dure 2 heures et est notée sur 20 points.

2. Correction question par question

1. Structure et mode d'action des kératinases (3 points)

1.1. Classe d'enzymes et structures secondaires

La question demande d'identifier la classe d'enzymes des kératinases, de reporter les noms des structures secondaires et de préciser les interactions stabilisantes.

- **Classe d'enzymes** : Les kératinases appartiennent à la classe des protéases à sérine.
- **Structures secondaires** : Les structures repérées par les numéros 1 et 2 sont typiquement des hélices alpha et des feuillets beta.
- **Interactions stabilisantes** : Les hélices alpha sont stabilisées par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO des acides aminés, tandis que les feuillets beta le sont par des liaisons hydrogène entre les chaînes latérales des acides aminés.
- **Technique** : La structure de la kératinase a été déterminée par cristallographie aux rayons X.

1.2. Définition d'un domaine protéique

Un domaine protéique est une unité structurale autonome d'une protéine qui peut replier indépendamment et possède une fonction spécifique. Les domaines sont souvent responsables d'interactions avec d'autres molécules.

2. Purification de la kératinase d'*Aspergillus oryzae* (10 points)

2.1. Méthode d'obtention d'un extrait brut

Pour obtenir un extrait brut de kératinase, il est possible de procéder à :

- La culture de la souche d'*Aspergillus oryzae* dans un milieu approprié pendant 5 jours.
- La centrifugation de la culture pour séparer les cellules et récupérer le surnageant qui contient la kératinase.

2.2. Fraction à retenir pour la purification

La fraction à retenir est celle correspondant à 50% de saturation en sulfate d'ammonium, car elle

présente le meilleur compromis entre la concentration de l'enzyme et sa pureté.

2.3. Schéma de la dialyse

Le schéma doit illustrer :

- Un tube contenant la solution de protéines dans un sac de dialyse.
- Un milieu extérieur (solution tampon) qui permet l'échange des petites molécules (sels) tout en retenant les protéines.

2.4. Numéros de fractions à collecter

Les fractions à collecter sont celles avec les numéros correspondant aux pics d'activité enzymatique sur le chromatogramme, généralement les fractions 3 à 5, car elles montrent la plus haute activité.

2.5. Méthode d'élution des protéines

La méthode d'élution est basée sur un gradient de concentration de NaCl, permettant de désorber les protéines de la colonne. Une autre méthode d'élution pourrait être l'élution par changement de pH.

2.6. Unité de filtration à utiliser

Il est recommandé d'utiliser une unité de filtration avec un seuil de coupure de 10 kDa, car elle permettra de concentrer la kératinase (60 kDa) tout en éliminant les petites molécules.

2.7. Calcul du rendement global et du taux de purification

Les formules sont :

- **Rendement global** : $RP = (PC \text{ fraction} / PC \text{ brut}) \times 100$
- **Taux de purification** : $RA = (KA \text{ fraction} / KA \text{ brut}) \times 100$

En utilisant les données du document 5 :

- Rendement global = $(2760 / 8275) \times 100 \approx 33,4\%$
- Taux de purification = $(2760 / 8275) \times 100 \approx 33,4\%$

Commentaire : Le rendement est relativement faible, ce qui peut indiquer des pertes lors des étapes de purification.

2.8. Qualité de la purification et structure de la kératinase

Le SDS-PAGE montre une bande correspondant à la kératinase, indiquant une bonne purification. La présence d'une seule bande suggère que la purification a été efficace.

3. Caractérisation de l'activité enzymatique de la kératinase d'*Aspergillus oryzae* (5

points)

3.1. Nature des effets des molécules testées

Les effets sont les suivants :

- CaCl_2 : activateur (augmente l'activité).
- KCl : léger activateur.
- HgCl_2 : inhibiteur (diminue l'activité).
- EDTA : inhibiteur (diminue fortement l'activité).

Le mode d'action de l'EDTA est qu'il chélationne les ions calcium nécessaires à l'activité de l'enzyme.

3.2. Support d'immobilisation approprié

Le support d'immobilisation le plus approprié est les billes de verre fritté, car elles montrent le meilleur rendement d'immobilisation et l'activité spécifique la plus élevée.

3.3. Signification du paramètre cinétique K_M

Le paramètre K_M est la concentration de substrat à laquelle la vitesse de réaction est à moitié de sa vitesse maximale. L'augmentation du K_M après immobilisation peut être due à un accès limité au site actif de l'enzyme immobilisée.

3.4. Température optimale

La température optimale est celle à laquelle l'activité enzymatique est maximale. Les valeurs doivent être déterminées à partir des données fournies dans le document 9.

3.5. Argumentation sur la stabilité thermique

L'immobilisation augmente la stabilité thermique de la kératinase, probablement en limitant la flexibilité de la protéine et en protégeant les liaisons sensibles à la chaleur.

3. Synthèse finale

Points de vigilance :

- Bien lire chaque question pour identifier ce qui est demandé.
- Utiliser des termes précis et techniques appropriés.
- Soigner la présentation et la clarté des réponses.

Conseils pour l'épreuve :

- Gérer son temps pour répondre à toutes les questions.
- Prendre le temps de vérifier les calculs et les justifications.
- Utiliser des schémas lorsque cela est pertinent pour illustrer les réponses.

© FormaV EI. Tous droits réservés.

Propriété exclusive de FormaV. Toute reproduction ou diffusion interdite sans autorisation.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV® avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV®, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV® se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV® avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV®, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV® se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.