



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 2018

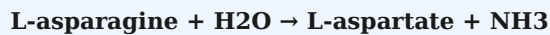
1. Rappel du contexte du sujet

Ce sujet d'examen de BTS Biotechnologie en recherche et en production (BTS BIORP) aborde l'étude de la L-asparaginase, une enzyme utilisée dans le traitement de certains cancers. Les questions portent sur ses caractéristiques, son extraction, sa purification, ainsi que son utilisation thérapeutique.

2. Correction des questions

1.1 Écrire la réaction catalysée par la L-asparaginase. Préciser la classe d'enzyme à laquelle appartient la L-asparaginase.

La L-asparaginase catalyse la réaction suivante :



La L-asparaginase appartient à la classe des hydrolases (E.C. 3.5.1.1), car elle hydrolyse une liaison amide.

1.2 Expliquer l'intérêt d'utiliser la L-asparaginase dans ce traitement.

L'intérêt d'utiliser la L-asparaginase dans le traitement des cancers du sang réside dans sa capacité à réduire les niveaux d'asparagine dans le sang. Les cellules cancéreuses, en particulier les lymphocytes, dépendent de l'asparagine pour leur croissance. En éliminant cette molécule, la L-asparaginase prive les cellules tumorales d'un nutriment essentiel, ce qui limite leur prolifération.

1.3 Expliquer l'intérêt d'encapsuler la L-asparaginase. Présenter sommairement une méthode d'immobilisation autre que par rétention physique. Rappeler les principaux avantages et inconvénients de l'immobilisation des enzymes.

L'encapsulation de la L-asparaginase permet de :

- Réduire les effets secondaires liés à la toxicité sur les cellules saines.
- Améliorer la stabilité de l'enzyme dans le sang.
- Prolonger la durée d'action du médicament.

Une méthode d'immobilisation autre que par rétention physique est la liaison covalente, où l'enzyme est fixée à un support par des liaisons chimiques.

Avantages de l'immobilisation :

- Facilité de récupération de l'enzyme.
- Stabilité accrue de l'enzyme.
- Possibilité de réutilisation de l'enzyme.

Inconvénients :

- Perte d'activité enzymatique.
- Coûts supplémentaires liés à la purification et à l'immobilisation.

2.1 Expliquer le principe de la précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium (NH₄)₂SO₄.

La précipitation par sulfate d'ammonium repose sur le principe de la réduction de la solubilité des protéines dans une solution. En ajoutant du sulfate d'ammonium, on augmente la force ionique de la solution, ce qui entraîne une déshydratation des protéines et leur agrégation, conduisant à leur précipitation. Cette méthode permet de concentrer et de purifier les protéines d'intérêt.

2.2 Calculer la masse de sulfate d'ammonium à ajouter à 100 mL d'extrait brut pour atteindre ce pourcentage de saturation.

Pour atteindre 70% de saturation en sulfate d'ammonium à partir d'une solution initiale à 0%, il faut ajouter 472 g de sulfate d'ammonium par litre de solution. Pour 100 mL, il faut donc :

$$472 \text{ g/L} \times 0.1 \text{ L} = 47.2 \text{ g}$$

Il faut donc ajouter 47.2 g de sulfate d'ammonium à 100 mL d'extrait brut.

2.3 Argumenter la nécessité d'une étape de gel filtration consécutive à la précipitation au sulfate d'ammonium.

La gel filtration permet de séparer les protéines en fonction de leur taille. Après précipitation, il est nécessaire d'éliminer le sulfate d'ammonium et d'autres petites molécules qui pourraient interférer avec les étapes suivantes de purification. En utilisant une colonne de gel filtration, on peut récupérer la L-asparaginase purifiée tout en éliminant les contaminants.

Le comportement de la L-ASNase dans les deux phases stationnaires (Sephadex G-75 et Superdex 200) dépendra de sa taille (150 kDa). Dans Sephadex G-75, qui fractionne entre 3 et 80 kDa, la L-ASNase sera retenue, tandis que dans Superdex 200, elle sera élue.

2.4 Calculer l'activité spécifique zsp (en UI.mg⁻¹) pour l'extrait brut et pour la fraction purifiée finale après chromatographie sur DEAE Sephadex.

Pour l'extrait brut :

$$\text{zsp} = \text{Activité totale} / \text{Masse totale}$$

$$\text{zsp} = 10000 \text{ UI} / 5000 \text{ mg} = 2 \text{ UI/mg}$$

Pour la fraction purifiée :

$$\text{zsp} = 3000 \text{ UI} / 3 \text{ mg} = 1000 \text{ UI/mg}$$

Le taux de purification est :

$$\text{Taux de purification} = \text{zsp fraction purifiée} / \text{zsp extrait brut} = 1000 \text{ UI/mg} / 2 \text{ UI/mg} = 500$$

Le rendement global est :

$$\text{Rendement} = \text{Activité fraction purifiée} / \text{Activité totale} = 3000 \text{ UI} / 10000 \text{ UI} = 0.3 \text{ ou } 30\%$$

2.5 Estimer la masse moléculaire correspondant à la bande obtenue après purification.

Pour estimer la masse moléculaire, il faut se référer à la courbe standard des marqueurs de masse. En fonction de la position de la bande sur le gel SDS-PAGE, on peut déterminer la masse moléculaire de la L-asparaginase purifiée. Si la bande est proche du marqueur de 150 kDa, on peut conclure que la L-

asparaginase a une masse moléculaire d'environ 150 kDa.

Pour montrer que la L-asparaginase est un homotétramère, on peut observer que la masse moléculaire estimée est quatre fois plus élevée que celle d'une sous-unité. Si l'extrait brut montre une bande à 150 kDa et la fraction purifiée à 150 kDa, cela confirme que la purification a été efficace.

2.6 Expliquer les informations complémentaires apportées par la réalisation d'une électrophorèse SDS PAGE en conditions non réductrices.

La réalisation d'une SDS-PAGE en conditions non réductrices permet de visualiser les complexes protéiques et de déterminer si l'enzyme est sous forme monomérique ou multimérique. Cela aide à confirmer la structure oligomérique de la L-asparaginase et à observer d'éventuelles modifications post-traductionnelles ou interactions avec d'autres protéines.

3.1 Analyser les résultats obtenus en présence des ions Mg^{2+} et K^{+} pour en déduire l'effet de chacun de ces ions sur l'enzyme.

Les résultats montrent que la présence de Mg^{2+} réduit l'activité de la L-asparaginase à 24%, tandis que K^{+} l'augmente à 133%. Cela indique que Mg^{2+} est un inhibiteur de l'enzyme, tandis que K^{+} agit comme un activateur, possiblement en stabilisant la structure de l'enzyme ou en favorisant son interaction avec le substrat.

En présence d'EDTA, un agent chélateur, l'activité est également augmentée (117%), ce qui suggère que Mg^{2+} pourrait être nécessaire pour l'activité enzymatique, mais sa présence en excès pourrait inhiber l'enzyme.

3.2 Analyser les résultats présentés et conclure quant aux actions des deux effecteurs testés sur les paramètres cinétiques de l'enzyme (K_M et v_{max}).

Les résultats montrent que la cystéine et le glutathion réduisent la constante de Michaelis (K_M), ce qui indique une augmentation de l'affinité de l'enzyme pour le substrat. De plus, le V_{max} augmente également, ce qui signifie que ces composés augmentent l'activité enzymatique globale de la L-asparaginase. Cela suggère que les groupements thiols favorisent la catalyse enzymatique.

3.3 Montrer que la modification de l'affinité mesurée en présence des effecteurs est en adéquation avec le modèle proposé.

Le modèle proposé suggère que les groupements thiols interagissent avec des résidus spécifiques de la L-asparaginase, modifiant ainsi sa conformation et augmentant son affinité pour le substrat. Les résultats observés, avec une diminution de K_M et une augmentation de V_{max} , corroborent ce modèle, indiquant que les effecteurs augmentent l'activité enzymatique en favorisant une conformation plus active de l'enzyme.

4.1 Réaliser un schéma annoté montrant le contenu moléculaire d'une cupule positive.

Un schéma annoté d'une cupule positive montrerait :

- Anticorps anti-L-asparaginase fixés sur la surface de la cupule.
- Antigène L-asparaginase présent dans le plasma du patient.
- Anticorps conjugués à une enzyme (ex. : HRP) qui se lient à l'anticorps anti-L-asparaginase.

- Substrat pour la réaction enzymatique, produisant un signal mesurable (changement de couleur).

Les caractéristiques de l'anticorps conjugué incluent son site de fixation spécifique à l'anticorps anti-L-asparaginase, permettant la détection de l'antigène.

4.2 Expliquer l'évolution attendue du signal en fonction de la concentration en anticorps anti L-asparaginase du plasma.

À mesure que la concentration d'anticorps anti-L-asparaginase augmente dans le plasma, le signal mesuré (absorbance) augmentera proportionnellement. Cela est dû à une plus grande quantité d'anticorps se liant à l'antigène, ce qui entraîne une augmentation de la quantité d'anticorps conjugués à l'enzyme, et donc une plus grande réaction enzymatique produisant un signal détectable.

3. Synthèse finale

Lors de l'épreuve, il est essentiel de :

- Lire attentivement chaque question pour bien comprendre ce qui est demandé.
- Structurer vos réponses de manière claire et logique, en utilisant des paragraphes et des listes lorsque cela est pertinent.
- Être précis dans vos calculs et justifications, en expliquant chaque étape de votre raisonnement.
- Prendre en compte les unités dans vos calculs et réponses.

Les erreurs fréquentes incluent des confusions dans les concepts d'immobilisation, des erreurs de calcul, et des réponses trop vagues. Veillez à bien justifier vos réponses et à utiliser un vocabulaire technique approprié.

© 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.