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.

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

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR

BIOTECHNOLOGIES

BIOCHIMIE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DES PROTEINES

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

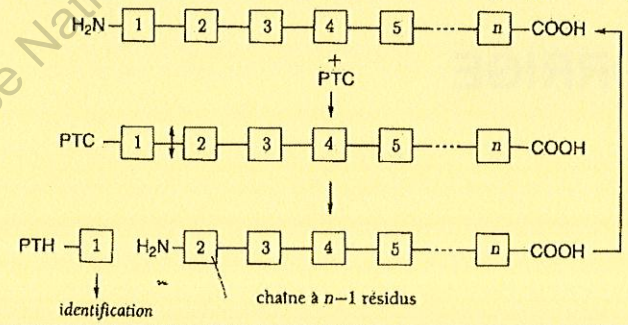
SESSION 2012

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00
COEFFICIENT : 1

CORRIGE

Ce corrigé comporte 5 pages numérotées de 1/5 à 5/5.

Caractérisation et purification de l'époxyde hydrolase d'*Aspergillus niger*

N°	Réponse	Points
1.	**Généralités de l'époxyde hydrolase d'*Aspergillus niger***	**12 points**
1.1.	C'est une hydrolase donc classe 3.	1 point
1.2.	Le site actif d'un enzyme est la région qui lie les substrats et qui contient les résidus ou **groupes catalytiques** qui participent directement à la formation ou au clivage des liaisons. Les aminoacyls qui participent à ce site actifs sont : Asp 192, Tyr 251, Tyr314, Asp 348, His 374. Les groupes hydroxyls des Tyr 251 et 314 permettent la liaison et le positionnement du substrat dans le site actif de l'enzyme par liaison H. Le groupement carboxylique de Asp 192 permet l'attaque nucléophile. Les chaînes latérales d'His 374 et Asp 348 permettent d'activer une molécule d'eau.	1 point 0,5 point 1,5 point
1.3.	Deux rôles attendus parmi : • réguler l'activité des protéines • les "étiqueter" afin qu'elles soient reconnues par d'autres molécules ou par des systèmes de dégradation • les ancrer dans une membrane • les intégrer à une cascade de signalisation • les "adresser" à un compartiment cellulaire • définir une identité immunologique (groupes sanguins)	2 points
1.4.	Lieu : RER et appareil de golgi	0,5 point
1.5.	1 : Hélice α 2 : Feuillet β 3 : Coude β Préciser le niveau d'organisation de ces éléments structuraux ainsi que les liaisons mises en jeu. Structure secondaire. Liaisons H entre les CO et NH des liaisons peptidiques.	3 points
1.6.	Dégradation cyclique récurrente à partir du NH_2 terminal puis séparation et identification des PTH-AA par chromatographie en phase inverse.  	1,5 point
1.7.	Dans les conditions testées, détermination du pH optimum : pH=7 et de la température optimale = 40°C.	1 point

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

2. Préparation d'extrait soluble brut — 8 points

2.1. (2 points)

Ce sont les seuils de coupure des deux techniques qui diffèrent.
La microfiltration permet de retenir les cellules intactes et les débris cellulaires et permet la séparation de particules de l'ordre du micromètre. (Pores de 0,1 à 8 µm de diamètre).
L'ultrafiltration permet la séparation, la concentration de macro-molécules, le dessalage de solutions. Diamètre des pores plus petits (de 5 à 35 nm voire 100 nm).

2.2. (2 points)

Dosage des protéines par la méthode de Folin-Lowry
[protéines] fraction soluble = m/V = 2000/1000 = 2 mg/mL

Pour avoir m = 200 µg soit 0,2 mg il faut un volume V = m/C = 0,2/2 = 0,1mL soit 100 µL donc inférieur au volume maximal de 0,4 mL. Il n'est donc pas nécessaire d'effectuer une dilution.

2.3. (2,5 points)

$$AS = \frac{\text{Cat conc}}{[\text{protéine}]} = \frac{AT}{\text{masse protéine}}$$

exemple de calcul : AS fraction soluble=6.0 / (2000/1000) =3
Avec
AS : Activité Spécifique en U/mg
Cat conc : concentration catalytique U/mL
[protéine] : concentration en protéines en mg/mL
Masse protéine en mg

Etapes	Volume récupéré en mL	concentration catalytique en U/mL	Protéines totales en mg	Activité spécifique en U/mg
Fraction soluble	1000	6,0	2000	3,0
Microfiltration	4000	1,6	1000	6,4
Ultrafiltration	380	15, 0	380	15,0

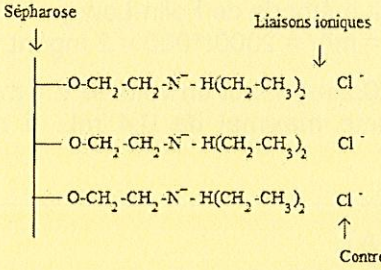
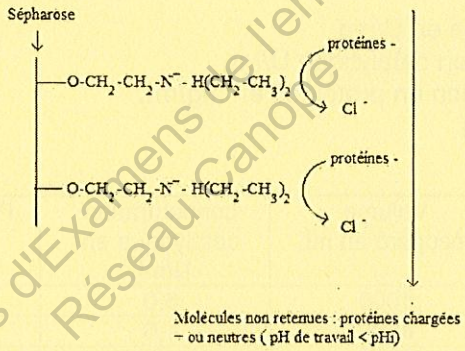
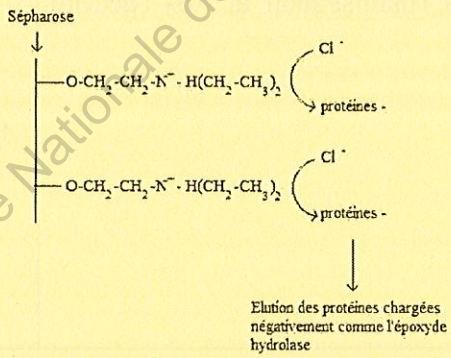
2.4. (1,5 point)

Taux de purification ou d'enrichissement global :

$\boxed{T_n = \frac{AS_n}{AS_0}}$ avec AS_n l'activité spécifique après l'ultrafiltration et AS_0 l'activité spécifique de départ

T = 15.0 / 3.0 = 5

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

3.	**Purification de l'époxyde hydrolase d'*A. niger***	**18 points**
3.1.	Ce sont des échangeurs d'anions car les groupements fixés sur la colonne ont une charge positive	1 point
3.2.	A l'équilibre :  Injection de l'extrait soluble : Les protéines chargées négativement sont retenues par la colonne. Les autres sont éluées.  Elution des protéines retenues : Gradient croissant de force ionique. Compétition entre les Cl^- et les protéines chargées  	1 point 2 points 2 points
3.3.	Gradient continu ou linéaire de concentration en contre ion Cl-.	1 point
3.4.	La présence d'un pic d'activité époxyde hydrolase montre qu'elle est récupérée dans les fractions 60 à 75. L'époxyde hydrolase est éluée pour une concentration en KCl entre 0,22 et 0,26 mol/L	2 points

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

3.5.	Gel de séparation : pourcentage en acrylamide-bisacrylamide = 15% et concentration en Tris-HCl pH 8,8 = 0,375 mol/L	3 points
3.6.	Le tampon d'échantillon contient du : • SDS : permet la linéarisation des chaînes polypeptidiques et les recouvre de charges négatives à densité de charge constante.	2 points
	• . β-mercaptoéthanol : est un agent réducteur qui coupe les ponts disulfures • Tampon Tris-HCl : maintien du pH • glycérol : alourdit l'échantillon • bleu de bromophénol visualise la migration	2 points
3.7.	Lors de la purification, on observe la disparition des bandes contaminantes et une augmentation de la bande d'intérêt. La purification parait correcte notamment au niveau de la pureté. Après purification, une seule bande d'environ 45 KDa est En SDS – Page, la masse moléculaire est de 45 KDa tandis qu'en gel filtration celle-ci est de 187 KDa. Les conditions utilisées pour le gel filtration permettent de garder l'époxyde hydrolase sous forme native, non dénaturée contrairement au SDS-Page qui dénature les structures secondaire, tertiaires et quaternaires des protéines. La comparaison des masses permet de conclure que l'époxyde hydrolase est tétramérique.	1 point 1 point
Clarté et rigueur de l'expression écrite et de la composition		**2 points**
Total		**40 points**

Le total des points est à diviser par 2 pour obtenir une note sur 20 points.

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : 1 point	
1 point	**0 point**
Peu de fautes (maxi 3 à 5 par pages), les termes scientifiques usuels sont correctement orthographiés.	Très nombreuses fautes d'orthographe et/ou de grammaire (au moins 10 par pages), des erreurs pour l'orthographe des termes scientifiques usuels.
Vocabulaire adapté, pas de contresens.	Vocabulaire inadapté, contresens.
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture : 1 point	
1 point	**0 point**
Copie présentée de façon soigneuse, facilitant le travail de lecture du correcteur (textes 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.

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

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

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.