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 2016

1. Rappel du contexte du sujet

Ce sujet d'examen porte sur la biochimie structurale et fonctionnelle des protéines, avec un accent particulier sur la peroxydase de raifort (HRP). Les questions abordent les caractéristiques de l'enzyme, ses propriétés catalytiques, son utilisation en dépollution et ses applications thérapeutiques.

2. Correction des questions

1. Caractéristiques structurales de la protéine HRP (6 points)

1.1. Indiquer la classe d'enzyme à laquelle appartient l'HRP.

La peroxydase de raifort (HRP) appartient à la classe des oxydoréductases, plus précisément aux peroxydases.

1.2. Proposer un rôle pour le groupement prosthétique de l'HRP.

Le groupement prosthétique de l'HRP, qui est un groupe hème, joue un rôle crucial dans le transfert d'électrons, permettant ainsi la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) lors des réactions catalytiques.

1.3. Décrire la structure de l'HRP.

La HRP est une protéine monomérique de 34 kDa, composée de 308 acides aminés. Elle contient un groupement hème avec un ion Fe^{3+} et deux ions Ca^{2+}, ainsi que quatre ponts disulfures, ce qui contribue à sa stabilité.

1.4. Indiquer la signification des astérisques (*) situés sous les séquences.

Les astérisques (*) indiquent des positions identiques entre les isoenzymes, signifiant que les acides aminés à ces positions sont conservés au cours de l'évolution.

1.5. Rappeler la nature et les propriétés de la chaîne latérale de la phénylalanine (F) et de celle de la tyrosine (Y).

La phénylalanine (F) a une chaîne latérale hydrophobe et aromatique, tandis que la tyrosine (Y) a une chaîne latérale similaire mais avec un groupe hydroxyle (-OH) qui la rend polaire et capable de former des liaisons hydrogène.

1.6. Expliquer la signification des deux points (:) situés sous les séquences.

Les deux points (:) indiquent des positions similaires, où les acides aminés à ces positions ont des propriétés chimiques semblables, bien qu'ils ne soient pas identiques.

1.7. Expliquer les termes « identity » et « similar positions » fournis par le logiciel CLUSTAL.

« Identity » fait référence au pourcentage de positions identiques entre les séquences comparées, tandis

que « similar positions » indique le pourcentage de positions où des acides aminés ayant des propriétés chimiques similaires sont présents.

1.8. Indiquer les modifications post-traductionnelles que subit l'HRP.

L'HRP subit plusieurs modifications post-traductionnelles, notamment la formation de ponts disulfures et la glycosylation, qui influencent sa stabilité et son activité.

1.9. En déduire une définition pour le terme d'isoenzyme.

Les isoenzymes sont des formes différentes d'une enzyme qui catalysent la même réaction mais qui diffèrent par leur structure, leur activité ou leurs propriétés cinétiques.

2. Caractéristiques de la catalyse enzymatique médiée par l'HRP (5 points)

2.1. Comparer l'affinité de l'enzyme pour les trois substrats. Justifier la réponse.

Pour comparer l'affinité de l'HRP pour les substrats ABTS, TMB et gaïacol, on utilise la constante de Michaelis (K_M). Plus K_M est faible, plus l'affinité est élevée. Les valeurs sont :

- ABTS : K_M = 0,18 mM
- Gaïacol : K_M = 4,7 mM
- TMB : K_M = 0,09 mM

Conclusion : L'HRP a la plus forte affinité pour le TMB, suivie de l'ABTS, et enfin du gaïacol.

2.2. Indiquer la signification du rapport k_{cat}/K_M.

Le rapport k_{cat}/K_M est une mesure de l'efficacité catalytique d'une enzyme. Un rapport élevé indique que l'enzyme est efficace pour convertir le substrat en produit.

2.3. Calculer le rapport k_{cat}/K_M pour les trois substrats étudiés.

Les valeurs sont :

- ABTS : k_{cat} = 736 s^{-1}, K_M = 0,18 mM → k_{cat}/K_M = 736 / 0,18 = 4088,89
- Gaïacol : k_{cat} = 990 s^{-1}, K_M = 4,7 mM → k_{cat}/K_M = 990 / 4,7 = 210,64
- TMB : k_{cat} = 172 s^{-1}, K_M = 0,09 mM → k_{cat}/K_M = 172 / 0,09 = 1911,11

2.4. Identifier le substrat pour lequel l'enzyme est la plus efficace.

Le substrat pour lequel l'enzyme est la plus efficace est l'ABTS, car il a le rapport k_{cat}/K_M le plus élevé.

2.5. Argumenter que la mesure de la vitesse initiale est déterminée en condition de vi max.

La vitesse initiale est mesurée à des concentrations de substrat suffisamment élevées pour garantir que l'enzyme fonctionne à sa vitesse maximale (v_{max}), ce qui permet d'évaluer l'activité enzymatique sans que le substrat ne devienne limitant.

2.6. Indiquer la signification d'une unité d'activité enzymatique utilisée dans cette procédure opératoire.

Une unité d'activité enzymatique est définie comme la quantité d'enzyme qui catalyse la conversion d'un micromole de substrat par minute dans des conditions standards.

2.7. Indiquer les compositions qualitative et quantitative du milieu réactionnel et en déduire son volume.

Le milieu réactionnel contient 100 µL de substrat, 100 mM de phénol, 100 µL de solution d'enzyme, et 450 µL de tampon phosphate. Le volume total est donc de 100 + 100 + 450 = 650 µL.

2.8. Justifier la présence du facteur 2 dans l'équation aux grandeurs.

Le facteur 2 est présent pour tenir compte de la stœchiométrie de la réaction, où deux molécules de substrat sont nécessaires pour produire un produit, ce qui double l'activité mesurée.

2.9. Poser l'équation aux valeurs numériques et calculer la concentration d'activité catalytique b en unité (U) par millilitre de solution d'enzyme.

La vitesse initiale ($\Delta A/\Delta t$) est de 0,06 min^{-1}. Si l'équation est de la forme : b = ($\Delta A/\Delta t$) * facteur, alors : b = 0,06 * 2 = 0,12 U/mL.

3. Développement d'outils de dépollution par immobilisation de l'HRP (4 points)

3.1. Identifier le type d'immobilisation mis en jeu dans ce document.

Le type d'immobilisation utilisé est l'immobilisation sur support solide, en l'occurrence des nanoparticules de magnétite.

3.2. Citer deux avantages et deux inconvénients de cette immobilisation.

- **Avantages :**
  - Facilité de récupération de l'enzyme par simple lavage.
  - Stabilité accrue de l'enzyme immobilisée.
- **Inconvénients :**
  - Perte potentielle d'activité enzymatique lors de l'immobilisation.
  - Coûts potentiellement élevés des supports d'immobilisation.

3.3. Déterminer graphiquement les valeurs de K_M pour les formes libre et immobilisée de l'HRP.

Pour cette question, il est nécessaire de se référer au document 6, où les valeurs de K_M peuvent être extraites du graphique de Lineweaver-Burk.

3.4. Commenter les valeurs obtenues.

Les valeurs de K_M pour l'HRP libre et immobilisée doivent être comparées. Une augmentation de K_M pour l'HRP immobilisée indiquerait une diminution de l'affinité pour le substrat, tandis qu'une diminution indiquerait une augmentation de l'affinité.

3.5. Analyser et interpréter les résultats.

Les résultats doivent montrer que l'HRP immobilisée conserve une activité résiduelle significative après plusieurs cycles, ce qui indique une bonne stabilité et une possibilité de réutilisation dans des applications de dépollution.

4. Utilisation de l’HRP comme outil thérapeutique (3 points)

4.1. Schématiser une molécule d’anticorps de type Ig G.

Le schéma doit montrer les chaînes lourdes et légères, les ponts disulfures, les domaines et les paratopes. Un modèle typique d'anticorps IgG comprend deux chaînes lourdes et deux chaînes légères reliées par des ponts disulfures.

4.2. Illustrer la stratégie thérapeutique par un schéma annoté et commenté.

La stratégie ADEPT implique un anticorps conjugué à l'HRP qui libère un composé toxique au contact des cellules tumorales. Le schéma doit montrer comment l'anticorps cible spécifiquement les cellules cancéreuses et comment l'HRP active le prodrug.

3. Synthèse finale

Les erreurs fréquentes lors de cet examen incluent un manque de précision dans les définitions et les descriptions, ainsi qu'une mauvaise interprétation des données graphiques. Il est essentiel de bien comprendre les concepts de base de la biochimie et de la catalyse enzymatique.

Conseils pour l'épreuve

- Lire attentivement chaque question et s'assurer de répondre à tous les aspects demandés.
- Utiliser des schémas pour illustrer les réponses lorsque cela est pertinent.
- Réviser les concepts clés de la biochimie, notamment les mécanismes enzymatiques et les modifications post-traductionnelles.
- Pratiquer des exercices de calculs cinétiques pour être à l'aise avec les rapports k_{cat}/K_M.

© 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.