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 :
formav.co/explorer

BTS BIORP • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioRP

U3 Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Session 2018 • Code sujet : **BOE3BP** • Durée : **2 h 00** • Coefficient : **1**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. **Étude de la L-asparaginase encapsulée** (3 questions) — **Page 3**
2. **Extraction et purification de la L-asparaginase d'Erwinia carotovora** (6 questions) — **Page 5**
3. **Influence de composés sur les paramètres cinétiques de la L-asparaginase** (3 questions) — **Page 8**
4. **Dosage des anticorps anti-L-asparaginase par ELISA** (2 questions) — **Page 10**
5. **Clarté et rigueur de l'expression écrite** (1 question) — **Page 11**
6. **Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ)** (Synthèse & Q&A Examen) — **Page 12**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire/2018/BTS BioRP - E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire - Session 2018 - 1-Sujet.pdf

1. Étude de la L-asparaginase encapsulée

Le sujet étudie l'utilisation thérapeutique de la L-asparaginase encapsulée dans des globules rouges pour traiter certains cancers du sang. Le document 1 illustre le transport de l'asparagine dans le globule rouge, l'action de l'enzyme et les effets recherchés de l'encapsulation.

Question 1.1. Écrire la réaction catalysée par la L-asparaginase et préciser la classe d'enzyme à laquelle elle appartient.

La L-asparaginase catalyse l'hydrolyse de la liaison amide de la L-asparagine, avec consommation d'eau : L-asparagine + H_2O → acide L-aspartique + NH_3. L'eau permet de séparer les produits issus de l'hydrolyse. Selon l'équation du document 1, l'ammoniaque formé est NH_3. L'enzyme appartient aux hydrolases, classe EC 3, et plus précisément aux enzymes qui hydrolysent des liaisons carbone-azote, sous-classe EC 3.5.1.1, appelée amidases.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Réaction : L-asparagine + H_2O → acide L-aspartique + NH_3. Classe : hydrolase, plus précisément amidase.

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

La L-asparagine circulante constitue un nutriment nécessaire aux cellules cancéreuses, qui en dépendent pour leur synthèse protéique et leur prolifération. La L-asparaginase la transforme en acide L-aspartique et en ammoniaque, ce qui appauvrit le sang en asparagine et limite ainsi sa disponibilité pour les cellules tumorales. D'après le document 1, l'asparagine est transportée activement dans les globules rouges contenant l'enzyme, où elle est dégradée. Ces globules rouges servent donc de compartiments de réaction et contribuent à épuiser l'asparagine circulante.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La L-asparaginase réduit l'asparagine disponible pour les cellules tumorales, freinant leur synthèse protéique et leur prolifération.

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

L'encapsulation dans les globules rouges protège l'enzyme du contact direct avec les cellules non tumorales et le système immunitaire, ce qui réduit notamment la toxicité et les réactions allergiques. Elle permet aussi de maintenir une activité dans le sang et, comme l'indique le sujet, diminue l'apparition de résistances. Une autre immobilisation consiste à fixer l'enzyme par liaison covalente à un support insoluble, après activation chimique du support.

L'immobilisation facilite la récupération et la réutilisation de l'enzyme, peut améliorer sa stabilité et permet un fonctionnement continu. Elle peut toutefois diminuer son activité, limiter les transferts du substrat ou des produits, et augmenter le coût de préparation.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L’encapsulation protège l’enzyme et réduit ses effets indésirables. L’immobilisation facilite sa réutilisation, mais peut réduire son activité et limiter les transferts de matière.

2. Extraction et purification de la L-asparaginase d’Erwinia carotovora

Cette partie porte sur la purification de la L-asparaginase d’Erwinia carotovora, une protéine de masse moléculaire annoncée de 150 kDa. Les documents 2 et 3 regroupent les étapes et données de purification, les caractéristiques des phases de gel filtration et les résultats de SDS-PAGE.

Question 2.1. Expliquer le principe de la précipitation des protéines par le sulfate d’ammonium.

Le sulfate d’ammonium augmente la force ionique du milieu. Ses ions attirent les molécules d’eau, ce qui réduit la couche d’hydratation des protéines et leur solubilité. Les protéines s’agrègent alors et précipitent : c’est le phénomène de relargage, ou salting out. En faisant varier la concentration en sel, on peut fractionner les protéines selon leur solubilité. La précipitation est généralement réversible : le précipité peut être remis en solution pour récupérer les protéines.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le sulfate d’ammonium réduit la solubilité des protéines et les fait précipiter par relargage.

Question 2.2. Calculer la masse de sulfate d’ammonium à ajouter à 100 mL d’extrait brut pour atteindre 70 % de saturation, en considérant négligeable la quantité de sels déjà présente.

À saturation initiale nulle, le tableau indique 472 g·L⁻¹ pour atteindre 70 % de saturation. Pour 100 mL, soit 0,100 L :

$m = 472\ \mathrm{g\cdot L^{-1}} \times 0{,}100\ \mathrm{L} = 47{,}2\ \mathrm{g}.$

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Ajouter 47,2 g de sulfate d’ammonium aux 100 mL d’extrait brut.

Question 2.3. Argumenter la nécessité d’une étape de gel filtration après la précipitation au sulfate d’ammonium. À l’aide des domaines de fractionnement, prévoir le comportement de la L-asparaginase dans les deux phases stationnaires, vérifier la cohérence des volumes d’élution avec ce comportement et discuter le choix de la phase stationnaire.

Après la précipitation, la gel filtration élimine notamment le sulfate d’ammonium et sépare les protéines selon leur taille.

Phase stationnaire	Domaine de fractionnement	Comportement à 150 kDa	Élution observée
Sephadex G-75	3 à 80 kDa	Exclusion des pores	101 mL, proche de V mort = 100 mL
Superdex 200	10 à 1300 kDa	Pénétration partielle des pores	158 mL, entre V mort = 112 mL et V total = 250 mL

Les volumes confirment les comportements attendus. Superdex 200 est le meilleur choix pour fractionner la L-asparaginase; G-75 convient surtout au dessalage.

✓ RÉPONSE À RETENIR

G-75 exclut la L-asparaginase et permet surtout le dessalage; Superdex 200 la fractionne selon sa taille.

Question 2.4. Calculer l'activité spécifique de l'extrait brut et de la fraction purifiée finale après chromatographie sur DEAE Sephadex, en présentant les équations aux grandeurs et les valeurs numériques. Calculer également le taux global de purification ou d'enrichissement et le rendement global.

L'activité spécifique est le rapport de l'activité totale à la masse totale de protéines. L'enrichissement compare les activités spécifiques finale et initiale; le rendement compare les activités totales.

Grandeur	Calcul	Résultat
Activité spécifique, extrait brut	10000 UI / 5000 mg	2 UI·mg^{-1}
Activité spécifique, fraction DEAE Sephadex	3000 UI / 3 mg	1000 UI·mg^{-1}
Enrichissement global	1000 / 2	500 fois
Rendement global	(3000 / 10000) × 100	30 %

La purification multiplie l'activité spécifique par 500, tout en conservant 30 % de l'activité initiale.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Activités spécifiques : 2 et 1000 UI·mg^{-1}; enrichissement : 500 fois; rendement global : 30 %.

Question 2.5. Estimer la masse moléculaire correspondant à la bande obtenue après purification. Montrer que la L-asparaginase est un homotétramère, comparer les résultats de l'extrait brut et de la fraction purifiée, puis conclure.

En conditions réductrices, la piste purifiée montre une bande unique, estimée à environ 34 à 35 kDa d'après les marqueurs. Pour une enzyme native de 150 kDa constituée de quatre sous-unités identiques, la masse attendue par sous-unité est $150/4 = 37{,}5$ kDa : cette estimation est compatible avec un homotétramère. L'extrait brut présente plusieurs bandes, dont une à la même hauteur que la bande purifiée. La purification a donc éliminé la plupart des protéines contaminantes.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Bande purifiée : environ 34 à 35 kDa. La masse attendue de 37,5 kDa par sous-unité est compatible avec un homotétramère de 150 kDa.

Question 2.6. Expliquer les informations complémentaires qu'apporterait la réalisation d'une électrophorèse SDS-PAGE en conditions non réductrices.

En SDS-PAGE non réductrice, le SDS dénature les protéines et dissocie les associations non covalentes, mais les ponts disulfure restent intacts. La comparaison avec les conditions réductrices permet donc de déterminer si des chaînes polypeptidiques sont reliées par ces ponts :

- si elles le sont, elles migrent ensemble et donnent une bande de masse apparente supérieure;
- si elles ne le sont pas, elles migrent séparément comme en conditions réductrices.

Cette analyse apporte ainsi une information sur les liaisons covalentes entre sous-unités.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Elle révèle si des sous-unités sont liées par des ponts disulfure, qui restent intacts en conditions non réductrices.

3. Influence de composés sur les paramètres cinétiques de la L-asparaginase

Cette partie examine les effets de Mg^{2+}, de K^+ et de l'EDTA sur l'activité enzymatique, puis ceux de composés à groupements thiols sur la cinétique de la L-asparaginase. Les documents 4 à 6 présentent les activités relatives, les valeurs de KM et de vitesse maximale, ainsi qu'un modèle de mécanisme d'action.

Question 3.1. Analyser les résultats obtenus en présence des ions Mg^{2+} et K^+ afin de déduire l'effet de chacun sur l'enzyme. Sachant que l'EDTA est un agent chélateur, proposer une explication des résultats obtenus en présence de ce réactif.

Le témoin vaut 100 % d'activité. Après préincubation, Mg^{2+} laisse une activité de 24 % : il a donc un effet inhibiteur dans les conditions testées. K^+ donne 133 % : il exerce un effet activateur.

- L'EDTA donne 117 % d'activité. En chélatant des ions métalliques, il peut retirer du milieu un cation inhibiteur.
- Ce résultat est compatible avec l'inhibition par Mg^{2+}, sans démontrer que le magnésium est le seul ion impliqué.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Mg^{2+} inhibe l'enzyme, K^+ l'active. L'activation observée avec l'EDTA est compatible avec la chélation d'un cation inhibiteur.

Question 3.2. Analyser les résultats obtenus avec la cystéine et le glutathion réduit, puis conclure sur les effets de ces deux composés sur les paramètres cinétiques KM et vimax de l'enzyme.

Effecteur	K_M (mmol·L^{-1})	v_{imax} (µmol·mg^{-1}·min^{-1})
Témoin	0,098	1700
Cystéine	0,086	2000
Glutathion réduit	0,055	2500

Par rapport au témoin, les deux composés thiols diminuent K_M et augmentent v_{imax}. La diminution de K_M traduit une affinité apparente plus élevée pour le substrat, tandis que l'augmentation de v_{imax} indique une capacité catalytique maximale accrue. Le glutathion réduit modifie davantage les deux paramètres que la cystéine : c'est l'effecteur le plus marqué des deux testés.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les deux thiols diminuent K_M et augmentent v_{imax}. Le glutathion réduit produit l'effet le plus marqué.

Question 3.3. À l'aide du modèle de mécanisme d'action du document 6, montrer que la modification de l'affinité mesurée en présence des effecteurs est en adéquation avec le modèle proposé.

Dans le modèle, T se fixe à l'enzyme et forme l'état II. Le substrat se lie alors à cet état avec une constante indiquée comme αK_M, où α est compris entre 0 et 1. Cette constante est donc inférieure ou égale à K_M : le modèle prévoit une baisse de K_M et une augmentation de l'affinité apparente pour le substrat.

Les mesures suivent cette prédiction : K_M est de 0,098 $mmol \cdot L^{-1}$ sans effecteur, de 0,086 avec la cystéine et de 0,055 avec le glutathion réduit.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le modèle prévoit une baisse de K_M en présence d'un thiol, conformément aux valeurs mesurées avec la cystéine et le glutathion réduit.

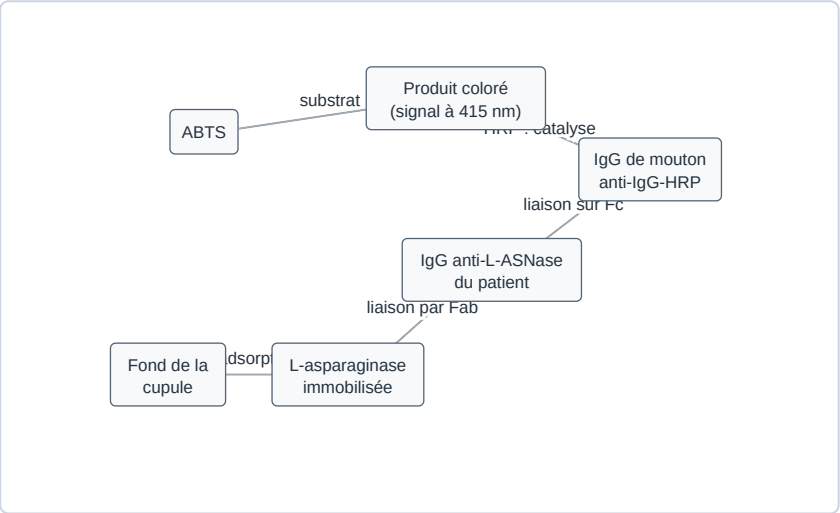
4. Dosage des anticorps anti-L-asparaginase par ELISA

Cette partie porte sur un test ELISA destiné à détecter les anticorps anti-L-asparaginase dans le plasma de patients traités. Le document 7 décrit le protocole, de l'immobilisation de l'antigène à la mesure de l'absorbance après révélation.

Question 4.1. Réaliser un schéma annoté montrant le contenu moléculaire d'une cupule positive. Présenter les caractéristiques de l'anticorps conjugué utilisé et préciser son site de fixation.

Dans une cupule positive, la L-asparaginase est adsorbée au fond et sert d'antigène. Une IgG anti-L-asparaginase du plasma s'y fixe par son site Fab. L'anticorps secondaire est une IgG de mouton anti-IgG, conjuguée à la peroxydase de raifort (HRP) ; elle se fixe sur la région Fc de l'IgG du patient. Après lavage, l'ajout du substrat ABTS permet à la HRP de produire un signal coloré mesuré à 415 nm.

Contenu moléculaire d'une cupule ELISA positive



La HRP conjuguée à l'anticorps secondaire révèle la présence des IgG anti-L-asparaginase après ajout d'ABTS.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Fond de cupule - L-asparaginase - IgG anti-L-asparaginase du patient - IgG de mouton anti-IgG-HRP fixée sur le Fc.

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

Quand la concentration en anticorps anti-L-asparaginase du plasma augmente, davantage d'IgG se lient à la L-asparaginase immobilisée. Après les lavages, davantage d'anticorps secondaire conjugué à la HRP reste dans la cupule. La peroxydase transforme alors davantage de substrat ABTS en produit coloré, ce qui accroît l'absorbance mesurée à 415 nm. Le signal augmente donc avec la concentration en anticorps dans la plage de mesure, puis tend vers un plateau lorsque les sites de fixation sont saturés.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La concentration en anticorps anti-L-asparaginase et l'absorbance à 415 nm évoluent dans le même sens, puis le signal plafonne à saturation.

5. Clarté et rigueur de l’expression écrite

Une partie du barème évalue la qualité générale de la copie. Elle porte sur la justesse de l’expression écrite et sur la clarté de la présentation.

Question Critères. Soigner la justesse et la rigueur de l’expression écrite, notamment l’orthographe, la grammaire et le vocabulaire, ainsi que la présentation générale et la fluidité de lecture de la copie.

La copie doit présenter des réponses scientifiquement justes, rédigées avec une orthographe et une grammaire correctes. Le vocabulaire doit être précis et adapté aux notions de biochimie. Une organisation logique des idées et des transitions claires rendent le raisonnement fluide. La présentation doit être lisible, avec des réponses distinctes et des notations cohérentes. Chaque affirmation doit être formulée sans ambiguïté et répondre directement à la question.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Expression juste et rigoureuse, vocabulaire précis, copie claire, lisible et fluide.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2018)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve de BTS Biotechnologies, U3 Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines, est celle de la session 2018, code BOE3BP, d'une durée de 2 h et de coefficient 1. Elle étudie la L-asparaginase comme biomolécule thérapeutique : catalyse, encapsulation, purification, cinétique enzymatique et dosage ELISA des anticorps anti-enzyme, avec une évaluation de l'expression écrite.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- La L-asparaginase hydrolyse la L-asparagine en acide L-aspartique et en ammoniaque.
- L'activité spécifique correspond à l'activité catalytique totale divisée par la masse totale de protéines.
- En gel filtration, une protéine au-dessus du domaine de fractionnement est exclue des pores et élue près du volume mort.
- Une diminution de KM traduit une augmentation de l'affinité apparente pour le substrat, dans des conditions comparables.

Points de vigilance & attentes du jury

- Distinguer activité totale, activité spécifique, rendement global et taux d'enrichissement.
- Relier la masse moléculaire de l'enzyme, le domaine de fractionnement et le volume d'élution observé.
- Comparer KM et vimax sans confondre affinité apparente et capacité catalytique maximale.
- Pour l'ELISA, représenter l'antigène, l'anticorps du patient et l'anticorps secondaire conjugué à la peroxydase.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment calculer l'activité spécifique et le rendement global de purification ?

L'activité spécifique est l'activité catalytique totale divisée par la masse totale de protéines. Le rendement global est l'activité totale de la fraction finale divisée par celle de l'extrait brut, puis multipliée par 100.

Q : Que signifie une diminution de KM en présence d'un effecteur ?

À conditions comparables, une diminution de KM signifie que l'enzyme atteint la moitié de sa vitesse maximale à une concentration de substrat plus faible. Elle correspond à une augmentation de l'affinité apparente de l'enzyme pour le substrat.

Q : Comment répartir le temps pour cette épreuve de deux heures ?

Utilisez les points comme repère : 3, 8, 4 et 3 points pour les quatre parties, puis 2 points pour l'expression écrite. Réservez du temps aux calculs, à la rédaction des unités et à une relecture finale.

Q : Quels critères de présentation sont explicitement évalués ?

Deux points évaluent la clarté et la rigueur de l'expression écrite : orthographe, grammaire, vocabulaire, présentation générale de la copie et fluidité de lecture.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire/2018/BTS BioRP - E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire - Session 2018 - 1-Sujet.pdf
Ressources BTS BioRP : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

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.