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

U3 Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Session 2019 • Code sujet : **BOE3BP** • Durée : **2 h** • Coefficient : **1**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Le collagène, un substrat naturel de la lysyl oxydase (4 questions) **Page 3**

2. Étude du niveau d'expression de la protéine LOX en condition d'hypoxie (6 questions) **Page 5**

3. Détermination de l'activité de la lysyl oxydase (9 questions) **Page 8**

4. Clarté et rigueur de l'expression écrite (1 question) **Page 12**

5. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 13**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire/2019/BTS BioRP - E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire - Session 2019 - 1-Sujet.pdf

1. Le collagène, un substrat naturel de la lysyl oxydase

Le sujet présente le collagène comme une protéine fibreuse dont la structure contribue à la résistance mécanique des tissus. Les documents montrent les formules de la glycine et de la proline ainsi que les structures en hélice alpha et en triple hélice du tropocollagène.

Question 1.1. Écrire la formule générale semi-développée d'un acide aminé naturel, puis dégager les particularités structurales de la glycine et de la proline et leur incidence sur la structure secondaire du collagène.

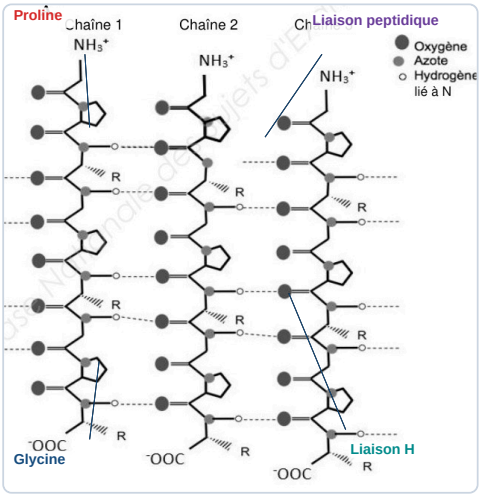
La formule semi-développée générale est $H_2N–CH(R)–COOH$. La glycine a $R = H$: elle est très petite et achirale, ce qui permet son empaquetage au centre de la triple hélice. Chez la proline, la chaîne latérale se referme sur l'azote, formant un cycle qui contraint la chaîne peptidique. Cette contrainte favorise la conformation particulière des chaînes de collagène, en hélice gauche.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Glycine : petite et achirale, elle s'empaquette au centre. Proline : cyclique, elle contraint la chaîne en hélice gauche.

Question 1.2. Sur le document 2b de l'annexe à rendre avec la copie, entourer et légender un résidu proline, un résidu glycine, une liaison peptidique et une liaison hydrogène.

Sur la projection A, un résidu proline se reconnaît à son cycle à cinq atomes fermé sur l'azote. La glycine a pour chaîne latérale un hydrogène. La liaison peptidique est la liaison covalente C–N du motif –CO–NH– dans une chaîne. Les liaisons hydrogène sont figurées par des pointillés entre les chaînes. Les repères sont placés sur l'annexe.

Document 2b annoté



> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Annexe annotée : proline, glycine, liaison peptidique et liaison hydrogène.

Question 1.3. **Construire et compléter un tableau comparant l'hélice alpha et la triple hélice du tropocollagène selon le nombre de chaînes peptidiques et le positionnement des interactions hydrogène stabilisatrices.**

Critère	Hélice α	Triple hélice du tropocollagène
Nombre de chaînes peptidiques	Une	Trois chaînes associées
Position des interactions hydrogène stabilisatrices	Au sein d'une même chaîne	Entre les chaînes

Les interactions hydrogène stabilisent donc une chaîne dans l'hélice α et l'association des trois chaînes dans le tropocollagène.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

Hélice α : une chaîne, liaisons hydrogène intrachaîne. Tropocollagène : trois chaînes, liaisons hydrogène interchaînes.

Question 1.4. **Proposer au moins un argument expliquant pourquoi la structure en triple hélice du tropocollagène permet une plus grande résistance à la traction.**

Les trois chaînes étroitement associées forment un assemblage compact. Les liaisons hydrogène entre elles limitent leur séparation sous l'effet d'une traction. La force est ainsi répartie entre les chaînes, plutôt que supportée par une seule. Cette cohésion contribue à la forte résistance mécanique des fibres de collagène.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

Trois chaînes associées par des liaisons hydrogène répartissent la traction et renforcent la cohésion du tropocollagène.

2. Étude du niveau d’expression de la protéine LOX en condition d’hypoxie

Des cellules cancéreuses de lignée pulmonaire sont cultivées en normoxie ou en hypoxie, puis leurs protéines sont analysées par western blot. Le document décrit les étapes expérimentales et présente les résultats de détection de la LOX et de la β-actine.

Question 2.1. Expliquer le rôle de l’étape de SDS-PAGE dans l’étude.

Le SDS dénature les protéines et leur confère une charge négative globalement proportionnelle à leur longueur. Dans le gel, leur migration dépend donc principalement de leur masse moléculaire : les plus petites migrent le plus loin. La SDS-PAGE sépare ainsi les protéines extraites des cellules avant leur transfert sur la membrane de PVDF, où elles seront reconnues spécifiquement par des anticorps.

✓ RÉPONSE À RETENIR

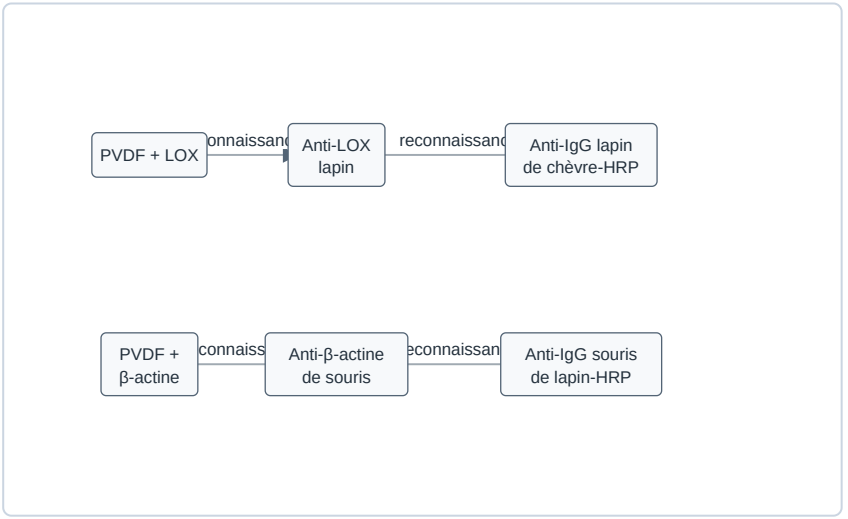
La SDS-PAGE sépare les protéines principalement selon leur masse moléculaire avant leur immunodétection.

Question 2.2. Construire deux schémas légendés des édifices moléculaires impliqués dans l’immunodétection sur la membrane de PVDF : l’un pour la LOX et l’autre pour la β-actine.

Les protéines transférées sur la membrane sont reconnues par des anticorps primaires spécifiques. Des anticorps secondaires couplés à l’HRP reconnaissent ensuite les anticorps primaires selon leur espèce d’origine :

1. LOX : anticorps anti-LOX de lapin, puis anti-IgG de lapin produit chez la chèvre et conjugué à l’HRP.
2. β-actine : anticorps anti-β-actine de souris, puis anti-IgG de souris produit chez le lapin et conjugué à l’HRP.

Complexes d’immunodétection sur PVDF



Chaque anticorps secondaire reconnaît l’espèce de l’anticorps primaire correspondant et porte l’HRP.

✓ RÉPONSE À RETENIR

LOX : anti-LOX de lapin, puis anti-IgG de lapin-HRP. β-actine : anti-β-actine de souris, puis anti-IgG de souris-HRP.

Question 2.3. **Expliquer le rôle de l'étape n° 2 du western blot ainsi que celui des étapes de lavage.**

1. À l'étape 2, le lait à 5 % s'adsorbe sur les zones libres de la membrane de PVDF. Il bloque ces sites et limite la fixation non spécifique des anticorps.
2. Les lavages au PBS-Tween 0,1 % éliminent les anticorps non fixés spécifiquement après les incubations. Ils réduisent ainsi le bruit de fond et rendent la révélation plus sélective.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le lait bloque les sites libres de la membrane ; les lavages éliminent les anticorps non fixés spécifiquement.

Question 2.4. **La β-actine étant une protéine à expression constante, expliquer l'intérêt de la détecter dans cette étude.**

La β-actine, dont l'expression est constante, sert de contrôle de chargement et de transfert. Une détection comparable dans les deux échantillons indique que des quantités similaires de protéines ont été déposées et transférées. Elle permet donc de comparer les bandes de LOX sans attribuer leur différence à une quantité inégale de protéines analysées.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La β-actine contrôle l'égalité du chargement et du transfert pour comparer l'expression de la LOX.

Question 2.5. **Argumenter la nécessité d'incuber la membrane avec l'anticorps de chèvre anti-IgG de lapin conjugué à l'HRP à l'étape n° 5, avant l'incubation avec l'anticorps de lapin anti-IgG de souris conjugué à l'HRP à l'étape n° 7.**

Le primaire anti-LOX est un anticorps de lapin : il doit être révélé par l'anti-IgG de lapin produit chez la chèvre et conjugué à l'HRP. L'ordre des incubations évite que cet anti-IgG de lapin ne reconnaisse aussi l'anticorps secondaire anti-IgG de souris, qui est lui-même produit chez le lapin. Le second anticorps révèle alors la β-actine.

- Étape 5 : détection du primaire anti-LOX de lapin.
- Étape 7 : détection du primaire anti-β-actine de souris.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'anti-IgG de lapin-HRP doit être ajouté avant l'anticorps secondaire anti-IgG de souris, lui-même produit chez le lapin, pour limiter les réactions croisées.

Question 2.6. Analyser les résultats présentés et conclure sur l'effet de l'hypoxie sur le niveau d'expression de la LOX.

Après 24 h, la bande de LOX est plus intense à 0,5 % d'O_2 qu'à 19 % d'O_2. Le graphique donne une expression relative proche de 3 en hypoxie, contre 1 en normoxie. Les bandes de β-actine sont comparables, ce qui appuie l'égalité du chargement. Ces résultats montrent que l'hypoxie augmente le niveau d'expression de la LOX dans les cellules étudiées.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'hypoxie à 0,5 % d'O_2 augmente l'expression relative de la LOX, d'environ 1 à 3 par rapport à la normoxie.

3. Détermination de l’activité de la lysyl oxydase

Un kit fluorimétrique sert à mesurer l’activité de la LOX dans des échantillons biologiques et à étudier l’effet de l’inhibiteur compétitif BAPN. Les documents présentent les réactions du dosage, le protocole du kit et une étude du traitement de souris porteuses de tumeurs.

Question 3.1. Préciser les composants présents dans un puits servant à mesurer l’activité LOX d’un surnageant de culture cellulaire.

Dans un puits échantillon, déposer 1 à 50 µL de surnageant puis compléter à 50 µL avec du PBS contenant 0,1 % de BSA. Ajouter ensuite 50 µL de mélange réactionnel LOX, soit 100 µL au total.

Composant	Rôle
Surnageant de culture	Apporte la LOX à doser
PBS + BSA à 0,1 %	Ajuste le volume de l’échantillon
Tampon avec substrat peptidique de la LOX	Permet la réaction enzymatique
HRP et substrat fluorogène	Révèlent le H_2O_2 produit

Le mélange réactionnel comprend donc le substrat peptidique, le substrat fluorogène, la HRP et le tampon de dosage.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Surnageant ajusté à 50 µL avec PBS-BSA, puis 50 µL de mélange réactionnel contenant substrat peptidique, substrat fluorogène, HRP et tampon.

Question 3.2. Donner la signification du « X » dans l’expression « 250X ».

Le « X » indique un facteur de concentration par rapport à la concentration d’utilisation, définie comme 1X. Ainsi, une solution à 250X est 250 fois plus concentrée que la solution finale attendue dans le dosage. Elle doit donc être diluée avant ou pendant la préparation du mélange réactionnel. Cette notation ne désigne pas une unité de volume ni une concentration exprimée en $mol \cdot L^{-1}$.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> 250X signifie une solution 250 fois plus concentrée que la concentration finale d’utilisation, notée 1X.

Question 3.3. Justifier l’utilisation dans le kit de la solution « HRP substrate » préparée à 250X et utilisée à 1X lors du dosage.

La solution 250X est diluée lors de la préparation du mélange réactionnel. D’après le protocole, 40 µL sont incorporés dans un volume final de 5 mL : le mélange obtenu est à 2X. On ajoute ensuite 50 µL de ce mélange à 50 µL d’échantillon, ce qui divise encore sa concentration par deux. La concentration finale de substrat dans le puits est donc 1X, comme demandé pour le dosage.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les dilutions successives donnent un mélange réactionnel à 2X, puis une concentration finale à 1X dans le puits.

Question 3.4. Exposer le principe de la fluorescence et préciser les longueurs d'onde de réglage de l'appareil de mesure.

Un fluorophore absorbe une lumière d'excitation et passe à un niveau énergétique supérieur. En revenant à un niveau inférieur, il émet une lumière de fluorescence, généralement de plus faible énergie et de longueur d'onde plus grande que celle d'excitation. Le lecteur mesure l'intensité de cette émission, qui dépend de la quantité de composé fluorescent formé. Le protocole indique un réglage d'excitation à 540 nm et de mesure d'émission à 590 nm.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Excitation : 540 nm. Émission mesurée : 590 nm.

Question 3.5. Expliquer comment la réaction indicatrice catalysée par la HRP est couplée à la réaction catalysée par la LOX.

1. La LOX oxyde le résidu lysine du substrat peptidique en présence d'oxygène et produit du peroxyde d'hydrogène, H_2O_2.
2. La HRP utilise ce H_2O_2 pour catalyser la transformation du substrat fluorogène en composé fluorescent.
3. Le lecteur mesure la fluorescence produite : dans les conditions du dosage, elle augmente avec la quantité de H_2O_2, donc avec l'activité de la LOX.

Le H_2O_2 est ainsi l'intermédiaire qui relie la réaction enzymatique à la réaction indicatrice.

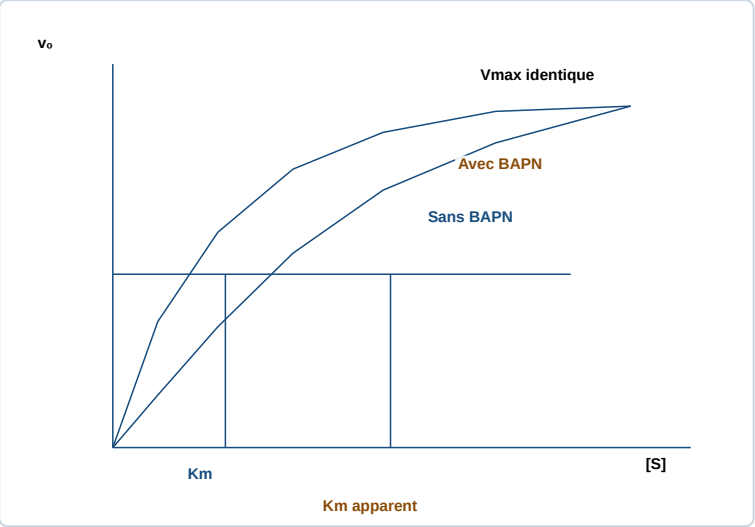
✓ RÉPONSE À RETENIR

La LOX produit le H_2O_2 utilisé par la HRP pour former le composé fluorescent mesuré.

Question 3.6. Proposer une représentation graphique annotée mettant en évidence les paramètres cinétiques de la LOX en présence et en absence de BAPN, sachant que le BAPN est un inhibiteur compétitif.

Tracer la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat. Sans BAPN, la vitesse augmente rapidement puis atteint le plateau Vmax. Avec BAPN, la courbe est déplacée vers les concentrations en substrat plus élevées. Pour une inhibition compétitive, Vmax reste identique, tandis que le Km apparent augmente. La représentation ci-dessous est schématique et ne comporte pas de valeurs expérimentales.

Cinétique de la LOX avec et sans BAPN



✓ RÉPONSE À RETENIR

Avec le BAPN, Vmax ne change pas et le Km apparent augmente.

Question 3.7. À partir des résultats de l'étude, préciser si la différence d'activité enzymatique de LOX observée entre le témoin et le lot 1 est significative.

Le graphique compare l'activité LOX du témoin et du lot 1, traité au BAPN pendant les deux dernières semaines de l'étude. La moyenne du lot 1 paraît plus faible, mais l'incertitude représentée ne permet pas de distinguer nettement les deux groupes.

- Les barres d'erreur se chevauchent.
- La différence observée n'est donc pas significative au vu de la figure.

On ne peut pas conclure à une diminution significative de l'activité LOX après le traitement du lot 1.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Non. La différence entre le témoin et le lot 1 n'est pas significative, les barres d'erreur se chevauchant.

Question 3.8. Analyser l'ensemble des résultats de l'étude et conclure sur l'efficacité de l'inhibition par le BAPN.

Le lot 1 reçoit une injection quotidienne de BAPN pendant les semaines 4 à 6 : son activité LOX mesurée est un peu plus faible que celle du témoin, sans différence significative. Le lot 2 est traité plus longtemps, des semaines 3 à 6, et son signal de fluorescence est presque nul. Comme la fluorescence reflète la production de H_2O_2 liée à l'activité LOX, ces résultats indiquent une inhibition marquée après le traitement prolongé, mais ne démontrent pas d'effet significatif pour le traitement plus court.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le traitement prolongé par BAPN réduit presque totalement l'activité LOX mesurée ; l'effet du traitement plus court n'est pas significatif.

Question 3.9. Argumenter l'intérêt d'utiliser le BAPN dans la lutte contre le développement des cancers.

La LOX participe au remodelage de la matrice extracellulaire et contribue à stabiliser l'implantation des foyers métastatiques. Son inhibition par le BAPN pourrait donc limiter ces mécanismes et freiner le développement des métastases. L'étude chez la souris montre une forte baisse de l'activité LOX après un traitement prolongé, ce qui soutient l'intérêt de cette piste. Ces résultats justifient des recherches complémentaires, mais ne suffisent pas à établir une efficacité thérapeutique chez l'être humain.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le BAPN pourrait freiner l'implantation et le développement des métastases en inhibant la LOX.

4. Clarté et rigueur de l’expression écrite

La qualité de l’expression écrite est évaluée sur l’ensemble de la composition. Les critères portent sur la justesse de la langue et la clarté de la présentation générale de la copie.

Question Critère. Rédiger une composition claire et rigoureuse, avec une expression écrite juste en orthographe, grammaire et vocabulaire, ainsi qu’une présentation générale lisible et fluide.

Répondre à chaque question de façon précise, en employant un vocabulaire scientifique adapté. Organiser les idées dans un ordre logique et distinguer les observations des interprétations. Appuyer les conclusions sur les documents et rédiger des phrases complètes, correctes en orthographe et en grammaire. Soigner la présentation, l’écriture et l’espacement pour rendre la copie lisible et faciliter une lecture fluide.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Expression correcte, réponses structurées et présentation lisible et fluide.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2019)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve de BTS Biotechnologies, session 2019, code BOE3BP, dure 2 h et a un coefficient 1. Elle étudie l'implication de la lysyl oxydase dans le développement des métastases cancéreuses, de la structure du collagène au dosage de l'activité enzymatique. Les compétences évaluées comprennent l'analyse des protéines, l'interprétation d'un western blot et l'étude d'un inhibiteur compétitif.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- La séquence répétée Gly-Pro-X du collagène et la triple hélice contribuent à la résistance mécanique des fibres.
- La SDS-PAGE sépare les protéines principalement selon leur masse moléculaire après leur dénaturation par le SDS.
- La LOX produit du H_2O_2, utilisé par la HRP pour transformer un substrat fluorogène en composé fluorescent.
- Un inhibiteur compétitif augmente le Km apparent sans modifier la Vmax théorique.

Points de vigilance & attentes du jury

- Distinguer les anticorps primaires des anticorps secondaires conjugués et expliquer le rôle des lavages.
- Utiliser la β-actine comme témoin de chargement pour comparer l'expression de la LOX.
- Lire les axes, les unités, les barres d'erreur et les conditions expérimentales avant de conclure.
- Respecter les volumes et les dilutions du protocole, puis soustraire le signal du blanc.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment le dosage fluorimétrique relie-t-il le signal mesuré à l'activité de la LOX ?

La LOX produit du peroxyde d'hydrogène en agissant sur son substrat. La HRP utilise ce produit pour former un composé fluorescent. Le signal mesuré à 540/590 nm, après soustraction du blanc, reflète l'activité enzymatique.

Q : Pourquoi détecter la β-actine dans le western blot ?

La β-actine sert de témoin de chargement et de transfert, car son expression est considérée comme constante. Sa détection permet de vérifier que les différences de signal LOX ne s'expliquent pas par des quantités inégales de protéines déposées.

Q : Comment organiser son temps pendant les 2 h de l'épreuve ?

Le sujet répartit les points entre trois parties scientifiques notées sur 5, 6 et 7 points, puis 2 points de qualité rédactionnelle. Aucun temps par partie n'est imposé : répartissez-le selon le barème et gardez un moment pour relire.

Q : Quels critères de rédaction sont explicitement évalués ?

Deux points évaluent la clarté et la rigueur de l'expression écrite. Les critères précisés sont la justesse de l'orthographe, de la grammaire et du vocabulaire, ainsi que la clarté de la présentation et la fluidité de lecture.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire/2019/BTS BioRP - E3 - Gestion opérationnelle du laboratoire - Session 2019 - 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.