CORRIGÉ NON OFFICIEL

BTS Biotechnologie en recherche et en production

E5 - Fabrication d'un produit biologique à haute valeur ajoutée par procédé biotechnologique

Session 2010

Proposition de corrigé rédigée par FormaV pour s'entraîner. Ce n'est pas le corrigé officiel de l'examen et elle ne remplace pas les éléments de correction officiels.

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 consulter tous nos sujets d'annales et corrigés du BTS BioRP, veuillez visiter :
btsbiorp.fr/annales-sujets-et-corriges

BTS Biotechnologies

Session 2010

Épreuve E5 – Travaux pratiques de biotechnologies – Sous-épreuve U.51 – Deuxième jour

PROPOSITION DE CORRIGÉ

Proposition de corrigé établie par FormaV à partir du sujet, non officielle. Elle ne préjuge pas des consignes nationales de correction données aux jurys.

ÉTUDE DE LA RÉPLICATION D'UN PLASMIDE RECOMBINÉ DANS DEUX SOUCHES D'*E. COLI*. ESTIMATION DE LA QUANTITÉ DE PLASMIDE DANS CHAQUE SOUCHE.

Les questions portent sur l'électrophorégramme obtenu par le candidat lors du premier jour de l'épreuve pratique. Les valeurs numériques dépendant de chaque gel, le corrigé présente la démarche et la rédaction attendues.

Question 1

Légender l'électrophorégramme.

La légende comporte, pour chaque puits du gel d'agarose, le contenu déposé : marqueur de taille et de masse (fragments d'ADN de tailles et de masses connues), témoins de plasmide non digéré issus de chaque souche (*E. coli* NM et *E. coli* K12 JM109), et extraits plasmidiques de chaque souche digérés par l'enzyme de restriction. Elle indique également le sens de migration des fragments, de la cathode (–) vers l'anode (+), ainsi que le colorant de révélation (par exemple le bromure d'éthidium, visible sous UV).

La légende comporte enfin un titre et les conditions de l'électrophorèse (pourcentage d'agarose, tampon, tension, durée).

Question 2

Analyser le profil électrophorétique des témoins non digérés.

Les témoins non digérés présentent des bandes correspondant aux différentes conformations du plasmide. La forme superhélicoïdale (surenroulée), la plus compacte, migre le plus rapidement et forme la bande la plus basse. La forme circulaire ouverte (« nicked »), due à une cassure simple brin, migre plus lentement et forme une bande plus haute. Lorsqu'elle est présente, la forme linéaire, due à une cassure double brin, migre à une position intermédiaire. Des bandes plus hautes peuvent correspondre à des formes multimériques (dimères) du plasmide.

Des profils identiques pour les deux témoins sont compatibles avec la présence du même plasmide dans les deux souches ; l'identité est confirmée par le profil des échantillons digérés. On recherche aussi d'éventuelles contaminations : ADN chromosomique (bande de haut poids moléculaire près du puits) et ARN (traînée diffuse en bas du gel).

L'intensité des bandes, qui dépend de la quantité d'ADN déposée, donne une première comparaison entre les deux souches : une bande plus intense indique une quantité de plasmide plus élevée. L'ADN non digéré se répartissant entre plusieurs conformations, la comparaison des quantités se fait de préférence sur le plasmide linéarisé.

Question 3

Estimer la taille du plasmide.

La taille est estimée à partir de la droite d'étalonnage obtenue avec le marqueur de taille : on porte le logarithme décimal de la taille de chaque fragment en fonction de la distance de migration. Pour le plasmide digéré, la somme des tailles des fragments obtenus est égale à la taille du plasmide ; la taille de la forme linéaire non digérée peut également être lue sur la droite.

On applique la relation : $\log(T) = a \times d + b$, où d est la distance de migration de la bande, a la pente et b l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage, puis $T = 10^{a \times d + b}$. Le résultat est exprimé en paires de bases (pb) ou en kilobases (kb).

Seules la forme linéaire ou les fragments de digestion sont utilisables ; la forme surenroulée migre plus vite qu'un ADN linéaire de même taille et ne permet pas d'estimer la taille. La lecture n'est valable que dans le domaine de linéarité de la droite d'étalonnage.

On reporte la distance de migration de la forme linéaire (ou de chaque fragment de digestion), on lit $\log(T)$ sur la droite et on donne T en pb puis en kb, arrondi à la centaine de pb compte tenu de la précision de lecture.

Exemple de rédaction (valeurs illustratives, non issues du sujet)

Droite d'étalonnage : $\log(T) = -0{,}045 \times d + 4{,}62$ (d en mm). Forme linéaire du plasmide : $d = 28\ \text{mm}$, d'où $\log(T) = -0{,}045 \times 28 + 4{,}62 = 3{,}36$ et $T = 10^{3{,}36} \approx 2\,290$ pb, soit environ 2,3 kb.

Question 4

Évaluer la quantité de plasmide présente dans chaque solution plasmidique.

La quantité est évaluée par comparaison de l'intensité de la bande de plasmide avec celle de la bande du marqueur de masse d'intensité la plus proche (comparaison visuelle ou densitométrique), en supposant une fluorescence proportionnelle à la masse d'ADN :

$$m_{\text{plasmide}} = m_{\text{bande}} \times \frac{I_{\text{plasmide}}}{I_{\text{bande}}} \quad \text{avec} \quad m_{\text{bande}} = m_{\text{marqueur déposée}} \times \frac{T_{\text{fragment}}}{T_{\text{ADN total du marqueur}}}$$

où I est l'intensité de la bande ; la masse de chaque bande du marqueur peut aussi être lue sur la fiche du marqueur. Si le plasmide digéré donne plusieurs fragments, on additionne leurs masses. La concentration de la solution plasmidique est $C = \dfrac{m_{\text{plasmide}}}{V_{\text{déposé}}}$, multipliée par le facteur de dilution éventuel de l'extrait, exprimée en ng/µL.

On présente, pour chaque souche (*E. coli* NM et *E. coli* K12 JM109), la masse de plasmide estimée en ng et la concentration de la solution plasmidique en ng/µL.

Pour comparer la réplication du plasmide dans les deux souches, les quantités doivent être rapportées à une même quantité de bactéries : extractions réalisées à partir d'un même volume de culture de même densité optique (ou résultat exprimé en ng de plasmide par unité de DO ou par mL de culture), avec un même volume d'élution.

Exemple de rédaction (valeurs illustratives, non issues du sujet)

Marqueur supposé : ADN du phage λ digéré par *Hin*dIII (48 502 pb au total), 1 µg déposé. Masse de la bande de 2 027 pb : $m = 1\,000 \times \dfrac{2\,027}{48\,502} \approx 41{,}8$ ng, soit environ 42 ng.

Souche NM : bande du plasmide linéarisé d'intensité voisine de celle de la bande de 2 027 pb du marqueur, donc $m_{\text{plasmide}} \approx 42$ ng pour 5 µL déposés, soit $C = \dfrac{42}{5} \approx 8{,}4$ ng/µL.

Souche K12 JM109 : bande d'intensité environ deux fois plus faible que celle de la bande de 2 027 pb, donc $m_{\text{plasmide}} \approx 21$ ng pour 5 µL déposés, soit $C = \dfrac{21}{5} \approx 4{,}2$ ng/µL.

Question 5

Conclure.

On indique quelle souche présente la quantité de plasmide la plus élevée, on la rapproche du rendement de production d'enzyme « LYC » et on répond explicitement à la question du technicien.

La conclusion porte sur la comparaison des deux souches : si la souche présentant le rendement de production d'enzyme le plus élevé possède aussi une quantité de plasmide plus importante, on peut admettre une relation entre meilleure réplication du plasmide et production plus élevée de l'enzyme « LYC », à condition que les extraits aient été préparés à partir de quantités de bactéries équivalentes ; cette relation reste une corrélation, établie sur deux souches et un nombre limité de mesures : elle ne démontre pas à elle seule un lien de cause à effet, car d'autres facteurs, comme l'expression du gène d'intérêt ou la stabilité du plasmide, peuvent intervenir. Dans le cas contraire, l'hypothèse d'une réplication plus efficace n'est pas confirmée.

Exemple de conclusion rédigée (valeurs illustratives de la question 4)

Dans cet exemple, si la souche NM est celle dont le rendement de production d'enzyme « LYC » est le plus élevé, elle contient environ deux fois plus de plasmide que la souche K12 JM109 (8,4 ng/µL contre 4,2 ng/µL) : le résultat est en faveur de l'hypothèse du technicien, sous réserve que les deux extraits proviennent de quantités de bactéries équivalentes et en gardant à l'esprit qu'une corrélation ne prouve pas un lien de cause à effet.

Continue à t'entraîner

Retrouve tous les sujets et corrigés du BTS BioRP, classés par épreuve et par année :
btsbiorp.fr/annales-sujets-et-corriges

Pour réviser tout le programme avant l'examen, les Fiches de Révision du BTS BioRP reprennent l'essentiel de chaque épreuve :
btsbiorp.fr/fiches-de-revision

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.