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

E5 – Travaux pratiques de biotechnologies – Sous-épreuve U.52 : Travaux pratiques de biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Sujet du BTS Biotechnologies (session 2010), classé dans les annales du BTS BioRP.

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.

1. PRÉPARATION D'UN TAMPON PHOSPHATE À UTILISER POUR L'ÉTUDE DE L'ENZYME « LYC »

Les réactifs et le matériel (1.1) sont donnés par le sujet : solutions de KH_2PO_4 et de K_2HPO_4 à 1 mol.L^{-1}, $MgCl_2$, $6H_2O$ en poudre (MM : 203,3 g.mol^{-1}), pHmètre étalonné, acide et base concentrés, fiole de 500 mL et verrerie courante.

1.2 Mode opératoire

Mode opératoire : travail à réaliser pour préparer le tampon (concentration en $MgCl_2$: 1,5 mmol.L^{-1} ; solution tampon : 15 mL de KH_2PO_4 et 10 mL de K_2HPO_4 ; pH 7 à mesurer et à ajuster ; eau distillée, volume final 500 mL).

Peser la masse de $MgCl_2$, $6H_2O$ nécessaire (0,152 g, voir 1.3). Introduire dans un bécher environ 300 mL d'eau distillée, puis prélever 15 mL de solution de KH_2PO_4 et 10 mL de solution de K_2HPO_4 à 1 mol.L^{-1} à la pipette jaugée (ou à la burette) et les y verser. Dissoudre le $MgCl_2$ dans ce mélange sous agitation.

Vérifier l'étalonnage du pHmètre fourni, rincer puis plonger l'électrode dans la solution et mesurer le pH. Le mélange 15 mL de KH_2PO_4 + 10 mL de K_2HPO_4 donne un pH voisin de 6,6 (pH = pK_{a2} + log(10/15), avec un pK_{a2} apparent voisin de 6,8 dans ces conditions) : ajuster à pH 7,0 avec la base concentrée, goutte à goutte et sous agitation (l'acide ne sert qu'en cas de dépassement).

Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 500 mL, rincer le bécher et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée (une fois le pH ajusté). Homogénéiser par retournements successifs.

1.3 Compte rendu : masse de $MgCl_2$

Présenter et justifier le calcul de la masse de $MgCl_2$ à peser.

La concentration molaire visée en $MgCl_2$ est de 1,5 mmol.L^{-1} pour un volume de 500 mL, soit 0,5 L.

Quantité de matière : $n = C \times V = 1{,}5 \times 10^{-3}$ mol.L^{-1} × 0,5 L = $7{,}5 \times 10^{-4}$ mol.

Masse : $m = n \times M = 7{,}5 \times 10^{-4}$ mol × 203,3 g.mol^{-1} = 0,152 g.

Masse à peser : m = 0,152 g de $MgCl_2$, $6H_2O$ (pesée sur balance de précision au mg).

1.3 Compte rendu : concentration C

Calculer la concentration molaire du tampon phosphate (C).

Quantités de phosphate apportées :

KH_2PO_4 : 1 mol.L^{-1} × 0,015 L = 0,015 mol

K_2HPO_4 : 1 mol.L^{-1} × 0,010 L = 0,010 mol

Quantité totale de phosphate : 0,015 + 0,010 = 0,025 mol, dans un volume final de 0,5 L.

C = 0,025 mol / 0,5 L = 0,05 mol.L^{-1}

C = 50 mmol.L^{-1}

2. DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES CINÉTIQUES

2.1 Pictogrammes (annexe U52-1)

À partir des informations données par les pictogrammes SGH09 et SGH05, indiquer sur l'annexe U52-1 le comportement à adopter pendant la manipulation.

Annexe U52-1 complétée

Produits signalés	Pictogramme	Signification du pictogramme	Comportement à adopter
Substrat chromogène, noté « S » à 10 mmol.L^{-1}	SGH09	Dangereux pour le milieu aquatique (environnement)	Ne pas rejeter à l'évier ; récupérer les solutions et les pipettes souillées dans un récipient étiqueté pour déchets chimiques ; porter blouse, gants et lunettes
Solution d'arrêt : Na_2CO_3 1 mol.L^{-1}	SGH05	Corrosif : brûlures de la peau et lésions oculaires graves	Porter blouse, gants et lunettes ; éviter projections et contacts ; rincer abondamment à l'eau en cas de contact

2.2 Mode opératoire : détermination de x

Déterminer x de manière à avoir une gamme de concentration en substrat de 0 à 3 mmol.L^{-1} de milieu réactionnel.

Le volume réactionnel avant addition de la solution d'arrêt est la somme des volumes introduits : x + (0,9 – x) + 2 + 0,1 = 3,0 mL. La concentration en substrat dans ce milieu est [S] = 10 × x / 3,0 (mmol.L^{-1}).

Pour obtenir 3 mmol.L^{-1} : x = 3 × 3,0 / 10 = 0,9 mL.

Avec x = 0,9 mL, le volume d'eau distillée (0,9 – x) est nul en fin de gamme. La gamme s'étend donc de 0 (x = 0 mL) à 3 mmol.L^{-1} (x = 0,9 mL), par pas de 0,09 mL.

x = 0,9 mL

Volumes et concentrations des 11 tubes

Tube	Substrat x (mL)	Eau distillée (0,9 – x) (mL)	[S] dans le milieu réactionnel (mmol.L^{-1})
1	0	0,90	0
2	0,09	0,81	0,3
3	0,18	0,72	0,6
4	0,27	0,63	0,9

Tube	Substrat x (mL)	Eau distillée (0,9 – x) (mL)	[S] dans le milieu réactionnel (mmol.L^{-1})
5	0,36	0,54	1,2
6	0,45	0,45	1,5
7	0,54	0,36	1,8
8	0,63	0,27	2,1
9	0,72	0,18	2,4
10	0,81	0,09	2,7
11	0,90	0	3,0

2.3 Compte rendu : constantes cinétiques

Déterminer les constantes cinétiques K_M en mmol.L^{-1} et V_{max} en ΔA.min^{-1}.

La méthode est en temps fixe. Pour chaque tube, on lit A_{420} contre le blanc réactif après 5 min exactement d'incubation à 37 °C, puis on calcule la vitesse initiale par $v = A_{420} / 5$ (en ΔA.min^{-1}), en admettant que la vitesse est constante pendant les 5 minutes. Le tube 1 ([S] = 0) sert de blanc réactif. Il est exclu de la représentation en doubles inverses, car 1/[S] n'y est pas défini.

La relation de Michaelis-Menten $v = V_{max} \times [S] / (K_M + [S])$ est linéarisée par la représentation de Lineweaver-Burk : $1/v = (K_M / V_{max}) \times (1/[S]) + 1/V_{max}$.

On trace 1/v en fonction de 1/[S] ; la droite obtenue a pour ordonnée à l'origine $1/V_{max}$ et pour pente K_M / V_{max}. On en déduit V_{max} (en ΔA.min^{-1}) puis K_M = pente × V_{max} (en mmol.L^{-1}).

Présenter les résultats dans le tableau suivant (tubes 2 à 11). Tracer 1/v = f(1/[S]) et effectuer la régression linéaire avec l'outil informatique. V_{max} = 1/(ordonnée à l'origine), en ΔA.min^{-1}. K_M = pente × V_{max} = pente / ordonnée à l'origine, en mmol.L^{-1}. Rendre le graphique avec l'équation de la droite et le coefficient de corrélation.

Les valeurs numériques dépendent des absorbances mesurées par le candidat et ne sont pas fournies par le sujet : elles sont à établir à partir de ces mesures.

Tableau de résultats à compléter avec les mesures

Tube	[S] (mmol.L^{-1})	A_{420}	$v = A_{420}/5$ ($\Delta A.min^{-1}$)	1/[S] (L.mmol^{-1})	1/v (min.ΔA^{-1})
2	0,3			3,33	
3	0,6			1,67	
4	0,9			1,11	
5	1,2			0,833	
6	1,5			0,667	
7	1,8			0,556	
8	2,1			0,476	
9	2,4			0,417	
10	2,7			0,370	
11	3,0			0,333	

2.3 Compte rendu : comparaison

Comparer les valeurs obtenues à celles de l'enzyme d'origine sauvage.

Paramètres de l'enzyme d'origine sauvage : K_M = 0,34 mmol.L^{-1} et V_{max} = 0,16 mmol.L^{-1} de milieu réactionnel.min^{-1}.

Pour comparer les vitesses maximales, il faut les exprimer dans la même unité. L'absorbance est lue dans 5 mL (3 mL de milieu réactionnel + 2 mL de solution d'arrêt). D'après la loi de Beer-Lambert $A = \varepsilon \times l \times C$ (ε_S = 5000 mol^{-1}.L.cm^{-1} ; en admettant une cuve de trajet optique l = 1 cm), 1 $\Delta A.min^{-1}$ correspond à 1/5000 = 2 × 10^{-4} mol.L^{-1}.min^{-1} dans la cuve, soit 0,2 × 5/3 = 0,333 mmol.L^{-1}.min^{-1} de milieu réactionnel.

Ainsi, V_{max} sauvage = 0,16 / 0,333 = **0,48 $\Delta A.min^{-1}$**.

La valeur de K_M de l'enzyme « LYC » est à comparer à 0,34 mmol.L^{-1} : une valeur plus faible indique une affinité plus élevée pour le substrat, et inversement. La valeur de V_{max} obtenue (en $\Delta A.min^{-1}$) est à comparer à 0,48 $\Delta A.min^{-1}$: une valeur plus élevée indique une activité maximale plus grande.

Le K_M est une caractéristique intrinsèque de l'enzyme et se compare directement. Le V_{max} dépend de la concentration en enzyme dans l'essai : sa comparaison n'a de sens qu'à quantité d'enzyme égale.

2.3 Compte rendu : conclusion

Conclure sur l'efficacité de l'enzyme.

L'efficacité catalytique se juge sur le rapport V_{max}/K_M, à quantité d'enzyme égale. Pour l'enzyme sauvage : V_{max}/K_M = 0,48 / 0,34 ≈ 1,4 $\Delta A.min^{-1}$.L.mmol^{-1}. Calculer le même rapport pour l'enzyme « LYC ». S'il est supérieur ou égal à 1,4, l'enzyme recombinante est au moins aussi efficace que l'enzyme sauvage ; s'il est inférieur, elle est moins efficace. Une affinité plus forte (K_M plus faible) peut compenser un V_{max} plus faible, et inversement. La comparaison suppose des conditions identiques (tampon phosphate 50 mmol.L^{-1} pH 7, 37 °C).

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.