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

Session 2010

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

ÉPREUVE E5 :
Travaux pratiques de biotechnologies

Durée de l'épreuve : 8 heures
Coefficient : 4

SOUS-ÉPREUVE U.52

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DES PROTÉINES

Durée de la sous-épreuve : 2 H 00

Coefficient : 1

Le sujet comporte 5 pages numérotées de 1/5 à 5/5

L'utilisation de la calculatrice est autorisée.
Outil informatique à disposition.

CRDP Aquitaine

Comparaison des caractéristiques fonctionnelles de l'enzyme produite par génie génétique et de l'enzyme d'origine sauvage

Une enzyme obtenue par génie génétique appelée « LYC » est produite et libérée dans un milieu de fermentation, à partir d'une souche d'*Escherichia coli* recombinante.

Les paramètres cinétiques de l'enzyme « LYC » seront à déterminer pour être comparés aux résultats obtenus pour l'enzyme d'origine sauvage.

L'ensemble du travail portant sur la détermination de l'activité enzymatique sera réalisé sur un extrait protéique de milieu de fermentation.

1. Préparation d'un tampon phosphate à utiliser pour l'étude de l'enzyme « LYC »

1.1. Réactifs et matériel

- Solution de KH_2PO_4 à 1 $mol.L^{-1}$
- Solution de K_2HPO_4 à 1 $mol.L^{-1}$
- $MgCl_2$, $6H_20$ en poudre (MM : 203,3 $g.mol^{-1}$)
- pHmètre étalonné + acide et base concentrés pour ajustement du pH du tampon
- Fiole de 500 mL
- Verrerie classique de laboratoire

1.2. Mode opératoire

Caractéristiques du tampon	Travail à réaliser
Concentration molaire en $MgCl_2$: 1,5 $mmol.L^{-1}$	Peser la quantité nécessaire de $MgCl_2$
Concentration molaire de la solution tampon : C $mmol.\ L^{-1}$	• 15 mL de solution de KH_2PO_4 • 10 mL de K_2HPO_4
pH 7	pH à mesurer et à ajuster
Solvant : eau distillée Volume de tampon à préparer : 500 mL	Après ajustement du pH, compléter à 500 mL

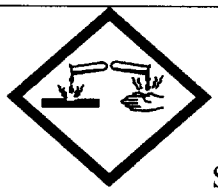
1.3. Compte rendu

- Présenter et justifier le calcul de la masse de $MgCl_2$ à peser
- Calculer la concentration molaire du tampon phosphate (C).

CRDP Aquitaine

2. Détermination des paramètres cinétiques

2.1. Réactifs et matériel

- Extrait de milieu de fermentation contenant l'enzyme surexprimée, noté « LYC ».	
- Substrat chromogène, noté « S » à 10 mmol.L^{-1}.	 SGH09
- Tampon phosphate précédemment préparé	
- Solution d'arrêt : Na_2CO_3 1 mol.L^{-1}	 SGH05
- Bain thermostaté à 37°C.	
- Chronomètre	
- Pipettes automatiques de 100 µL, 1000 µL + cônes adaptés	

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

L'annexe U52-1 sera à donner à un examinateur avant le début de la manipulation.

2.2. Mode opératoire

Dans une série de 11 tubes à essai introduire :

- Substrat ..... x mL*
- Eau distillée..... (0,9-x) mL
- Tampon phosphate pH7..... 2 mL

Préincuber 5 minutes à 37°C

- Ajouter l'enzyme « LYC »..... 0,1 mL

Homogénéiser
Incuber à 37°C pendant 5 min exactement.

- Ajouter la solution d'arrêt ..... 2 mL

Lire l'absorbance à 420 nm contre le blanc réactif.

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

CRDP Aquitaine

2.3. Compte rendu

- Déterminer les constantes cinétiques K_M en $mmol.L^{-1}$ et V_{max} en $\Delta A.min^{-1}$.
- Comparer les valeurs obtenues à celles de l'enzyme d'origine sauvage.
- Conclure sur l'efficacité de l'enzyme.

Données :

¤ $\varepsilon_S = 5000\ mol^{-1}.L.cm^{-1}$.

¤ Paramètres cinétiques de l'enzyme d'origine sauvage :

- K_M : 0,34 $mmol.L^{-1}$
- V_{max} : 0,16 $mmol.L^{-1}$ de milieu réactionnel.min^{-1}

CRDP Aquitaine

Annexe U52-1

À compléter et à rendre avant la manipulation

Rappeler la signification des pictogrammes du tableau du paragraphe 2.1.
En déduire le comportement à adopter par rapport aux produits signalés.

Remarque *: les pictogrammes qui apparaissent sont ceux qui correspondent au nouvel étiquetage des produits chimiques, la correspondance avec l'ancien étiquetage peut être consultée dans la salle.*

Produits signalés	Pictogramme	Signification du pictogramme	Comportement à adopter
Substrat chromogène, noté « S » à 10 $mmol.L^{-1}$.	 SGH09		
Solution d'arrêt : Na_2CO_3 1 $mol.L^{-1}$	 SGH05		

CRDP Aquitaine

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.