



**LE RÉSEAU DE CRÉATION  
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux  
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

# CORRIGE

**Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.**



**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR**  
**BIOTECHNOLOGIES**

***BIOLOGIE STRUCTURALE ET  
FONCTIONNELLE DES PROTÉINES***

Durée de l'épreuve : 2 heures  
Coefficient : 1

**CORRIGÉ ET BARÈME**



Les  $\beta$ -lactamases

Questions	ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ	Barème /40
<b>1</b>		<b>(15 points = 30 points/2)</b>
<b>1.1</b>		<b>4 pts</b>
1.1.1	Spécificité de réaction et spécificité de substrat	1 pt
1.1.2	6 classes à citer	2 pts
1.1.3	Classe 3 (hydrolase)	1 pt
<b>1.2</b>		<b>7 pts</b>
1.2.1	Cristallographie et diffraction aux rayons X ou RMN	1 pt
1.2.2	Définition + liaisons	2 pts
1.2.3	Hélice $\alpha$ et feuillet $\beta$	1 pt
1.2.4	Segment de protéine présentant une structure tridimensionnelle bien définie, autonome, indépendante du reste de la protéine.	1 pt
1.2.5	Acides aminés intervenant dans la fixation (et le positionnement) du substrat et acides aminés engagés dans l'acte catalytique (certains sont dans les 2 fonctions).	2 pts
<b>1.3</b>		<b>13 pts</b>
1.3.1	Formules des 2 acides aminés	2 pts
1.3.2	Cystéine : fonction thiol ; lysine : fonction amine	1 pt
1.3.3	2 critères : taille ; charge	1 pt
1.3.4	$k_{cat}$ : constante (coefficient) catalytique, coefficient de vitesse de l'étape catalytique, nombre de réactions que l'enzyme peut catalyser par unité de temps (exprimée en $s^{-1}$ ) à saturation. $K_M$ : constante (coefficient) de Michaelis ; concentration en substrat qui donne $v_i = V_{max}/2$ ou concentration en substrat de demi-saturation de l'enzyme.	2 pts
1.3.5	Le $K_M$ de TEM-1 est environ 10 fois plus faible que le $K_M$ de TEM-31. L'affinité de TEM-1 est donc 10 fois meilleure que celle de TEM-31.	1.5 pt
1.3.6	Efficacité = $k_{cat}/K_M$ . Efficacité de TEM-31 pour pénicilline G = $eG = (100/365) = 0,274$ . Efficacité de TEM-31 pour céphaloridine = $eC = (11/681) = 0,016$ . Le rapport des 2 efficacités est voisin de 17 en faveur de la pénicilline G.	2 pts
1.3.7	Inhibition compétitive. L'analogue du substrat est en compétition avec le substrat sur le même site de fixation.	1.5 pt
1.3.8	Le $K_M$ apparent pour l'antibiotique substrat est augmenté + justification	2 pts
<b>1.4</b>		<b>3 pts</b>
1.4.1	Opérations expérimentales : - Faire séjourner des fractions aliquotes de la préparation enzymatique pendant différents temps à la température testée. - Arrêter l'effet thermique par refroidissement brusque. - Mesurer l'activité résiduelle de chaque fraction aliquote dans le standard de mesure de l'activité.	1.5 pt
1.4.2	Temps 1/2 vie = durée qui conduit à la dénaturation thermique de la moitié de la quantité d'enzyme	0.5 pt
1.4.3	Augmentation de $t_{1/2}$ + justification	1 pt
<b>1.5</b>		<b>3 pts</b>
1.5.1	pH pour lequel la charge globale de la protéine est nulle.	1 pt
1.5.2	Electrophorèse en gel avec gradient de pH. Chaque protéine est alors focalisée au niveau de son pI.	1 pt
1.5.3	1 critère supplémentaire de séparation, en plus de celui de la masse moléculaire	1 pt



<b>2.</b>		<b>(5 points = 10 pts/2)</b>
<b>2.1</b>		<b>3 pts</b>
2.1.1	* 1 <sup>ère</sup> étape de congélation /décongélation : procédé mécanique visant par la formation des cristaux de glace à faire éclater la paroi bactérienne. * 2 <sup>ème</sup> étape la sonication : procédé mécanique. Les ondes d'implosion des cavitations formées lors de l'application des ultra-sons lysent les cellules.	2 pts
2.1.2	La dialyse est utilisée pour éliminer de l'extrait protéique les ions diffusibles pouvant interférer avec la chromatographie échangeuse de cations.	1 pt
<b>2.2</b>		<b>3 pts</b>
2.2.1	Pores calibrés ; les molécules de tailles inférieures à 5 000 Da peuvent pénétrer.	1 pt
2.2.2	$\beta$ -lactamase exclue (MM > 5 000 Da) Volume d'élution correspond au volume mort, volume extérieur aux billes.	2 pts
<b>2.3</b>	La SDS-PAGE permet d'évaluer la pureté de chacune des fractions obtenues au cours des étapes d'extraction-purification et donne des indications de masses moléculaires sur les unités protéiques détectées. La piste 2 permet de mettre en évidence les différentes protéines présentes après extraction. À l'issue de la 1 <sup>ère</sup> étape de purification (échangeur de cations), il y a plusieurs bandes mais en nombre inférieur, donc il y a eu une purification mais incomplète. À l'issue de la 2 <sup>ème</sup> étape (gel filtration), il n'y a plus qu'une seule bande, d'une épaisseur plus importante ; à l'issue de la chromatographie gel-filtration une seule fraction protéique est détectée. La protéine serait ainsi formée par un seul type d'unité protéique de masse moléculaire voisine de 30 kDa.	<b>4 pts</b>

Bonification maximale de 2 points pour « **la clarté et la rigueur de l'expression écrite et de la composition** » (peut être modulé en fonction du contenu scientifique de la copie).

<b>Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : + 1 point</b>	
<b>Rajouter 1 point à la copie si :</b>	<b>Ne rien rajouter si :</b>
Peu de fautes (maxi 3 à 5 par page), les termes scientifiques usuels sont correctement orthographiés.	Très nombreuses fautes d'orthographe et/ou de grammaire (au moins 10 par page), des erreurs pour l'orthographe des termes scientifiques usuels.
Vocabulaire adapté, pas de contre-sens.	Vocabulaire inadapté, contre-sens.
<b>Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture : + 1 point</b>	
<b>Rajouter 1 point à la copie si :</b>	<b>Ne rien rajouter si :</b>
Copie présentée de façon soignée, facilitant le travail de lecture du correcteur (texte et schémas).	Copie « bâclée », lecture fastidieuse liée à un manque de soin apporté au traitement des questions (textes et schémas).
Lecture fluide, texte facilement compréhensible.	Formulations non claires nécessitant une relecture.