



**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

**BIOCHIMIE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DES
PROTEINES**

SESSION 2011

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h
COEFFICIENT : 1

CORRIGÉ

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 4 pages numérotées de 1/4 à 4/4.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines	Code sujet: BOE3BP bis	Page : 1/4

Etude de l'enzyme glucose oxydase GOD ou GOx, enzyme extrait d'*Aspergillus niger*, utilisé pour le dosage enzymatique du glucose.

N°	Réponse	Points
1.	Etude de la structure et des propriétés de la glucose oxydase	12 points
1.1.	6 classes oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérases, ligases	3 points
1.2.	Glucose + O ₂ → β gluconolactone + H ₂ O ₂ β gluconolactone + H ₂ O → acide gluconique Soit 1ere réaction soit le bilan des 2 avec la présence de l'eau.	1 point
1.3.	Protéine globulaire, structure secondaire avec feuillets bêta et hélice alpha, glycosylée par du mannose, dimérique, chaque sous unité liée à du FAD	2 points
1.4.	Partie protéique de l'enzyme sans le coenzyme donc sans le FAD	1 point
1.5.	<div style="text-align: center;"> </div> <p>O-glycosylation</p> <p>Remarque : la formule du sucre n'est pas demandée ! et une seule glycosylation au choix est à traiter</p>	2 points
1.6.	<p>Structure simplifiée FAD = flavine adénine dinucléotide</p> <p style="text-align: center;">:</p> <div style="text-align: center;"> </div> <p>Rq : on valide la structure générale d'un nucléotide</p>	1 point 1 point

1.7.	$\begin{array}{ccc} \text{Glucose} + \text{FAD} & \longrightarrow & \text{gluconolactone} + \text{FADH}_2 \\ \text{FADH}_2 + \text{O}_2 & \longrightarrow & \text{H}_2\text{O}_2 + \text{FAD} \end{array}$ <p>Soit réaction détaillée soit uniquement le fait que FAD prenne en charge 2H^+ et 2e^-</p>	1 point
2.	Extraction et purification de la glucose oxydase	5 points
2.1.	Etape 2 = carboxyméthyl cellulose donc résine cationique (avec groupements carboxyliques) Etape 4 = Diéthyl amino éthyl cellulose donc résine anionique (avec groupements amines)	1 points
2.2.	Les protéines précipitent, si l'on ajoute des solutions concentrées de sels neutres comme le sulfate d'ammonium. Le sulfate d'ammonium agit de la façon suivante : il fixe l'eau donc les protéines interagissent entre elles et précipitent. Le précipité récupéré est resolubilisé et la solution est fortement « salée » : la dialyse effectuée ensuite permet le dessalage donc l'élimination du sulfate d'ammonium, qui peut perturber les étapes suivantes de purification.	2 points
2.3.	Facteur d'enrichissement = activité spécifique après purification / activité spécifique avant purification = $80/20 = 4$	2 points
3.	Utilisation de la GOD dans les kits de dosage du glucose	13 points
3.1.	Le glucose présent dans l'échantillon est quantitativement transformé par la GOD en gluconolactone et H_2O_2 (réaction 1). L' H_2O_2 formée est dégradée par la POD avec apparition d'un composé coloré en rouge (réaction 2). Il y a proportionnalité entre la concentration de glucose et l'intensité de la couleur. Réaction 1 : $\text{Glucose} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{gluconolactone} + \text{H}_2\text{O}_2$ Réaction 2 : $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{PAP} + \text{chloro-4-phénol} \longrightarrow \text{quinonéimine rouge} + \text{H}_2\text{O}$	2 points
3.2.	Méthode en point final car on laisse les enzymes GOD et POD agir durant 10 min à 37°C ou 20 min à 20°C : ainsi tout le glucose sera transformé.	1 point
3.3.	UI/L = c'est la quantité d'enzyme qui transforme 1 μmole de substrat par min et par L de réactif R1	1 point
3.4.	R1 : renferme le tampon nécessaire au maintien du pH durant les réactions catalysées par la POD et GOD, la GOD permettant la transformation du substrat à doser, la POD permettant la réaction indicatrice et un des chromogènes visualisant la détection. R2 : renferme le deuxième chromogène dont la transformation libèrera un produit coloré. R3 : est la solution étalon de glucose à 1g/L. Il permet de faire un étalonnage en un point par comparaison.	2 points 0,5 point 1 point

3.5.	La limite de linéarité de la méthode de dosage est de 5g/L. On attend une concentration comprise entre 5 et 30g/L donc il faut diluer le moût au 1/10 pour être dans la limite. Comme la mélasse a une couleur initiale brune, il faut réaliser un « blanc mélasse » renfermant 1mL d'ED + 10µL de mélasse initiale diluée au 1/10 et l'absorbance mesurée sera déduite de l'absorbance de l'échantillon.	3 points
3.6.	Calcul : $((\text{Abs dosage} - \text{abs blanc dosage}) / \text{abs étalon}) \times \text{Cétalon} \times \text{fd} = ((0.340 - 0.04 / 0.150)) * 1 * 10 / 1 = 20 \text{ g/L}$	2,5 points
4.	Utilisation de la glucose oxydase immobilisée dans l'électrode à glucose	8 points
4.1.	Document à l'attention des correcteurs <p>3 techniques exigées basées sur des principes différents avec explication sommaire</p>	3 points
4.2.	Avantages : réutilisation, (thermo)stabilisation Inconvénients : perte d'activité, (coût) et/ou complexité de la mise en œuvre	1 point
4.3.	Immobilisation par création de liaisons covalentes entre le support et la Gox (par des groupements amines) par l'intermédiaire du glutaraldéhyde. Le glutaraldéhyde possède deux fonctions réactives qui permettent une liaison avec les fonctions amines des protéines et du support	2 points
4.4.	- passage du glucose présent dans le milieu à travers la membrane semi perméable. - glucose transformé par la Gox en acide gluconique + H ₂ O ₂ - H ₂ O ₂ oxydé par une électrode en platine avec production d'un courant proportionnel à la concentration de glucose : dosage ampérométrique. - Electrode de référence = électrode d'argent	2 points
Clarté et rigueur de l'expression écrite et de la composition		2 points
Total		40 points

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : 1 point

1 point	0 point
Peu de fautes (maxi 3 à 5 par pages), les termes scientifiques usuels sont correctement orthographiés.	Très nombreuses fautes d'orthographe et/ou de grammaire (au moins 10 par pages), des erreurs pour l'orthographe des termes scientifiques usuels.
Vocabulaire adapté, pas de contresens.	Vocabulaire inadapté, contresens.
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture : 1 point	
1 point	0 point
Copie présentée de façon soignée, facilitant le travail de lecture du correcteur (textes 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.

Le total des points est à diviser par 2 pour obtenir une note sur 20 points