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 :
formav.co/explorer

BTS BIOALC • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioAlc

Épreuve E3 - Unité U31

Session 2016 • Code sujet : **BAE3BT** • Durée : **3 heures** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Réaction catalysée, structure protéique et étude du tPA par SDS-PAGE (15 questions) **Page 3**

2. Étalonnage fluorimétrique et détermination de l'activité spécifique du tPA (16 questions) **Page 9**

3. Chaîne respiratoire et métabolisme anaérobie (8 questions) **Page 15**

4. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 18**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2016/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2016 - 1-Sujet.pdf

1. Réaction catalysée, structure protéique et étude du tPA par SDS-PAGE

L'Actilyse® est un médicament thrombolytique destiné au traitement des AVC ischémiques aigus, dont le principe actif est l'altéplase, ou tPA. L'étude porte sur le clivage du plasminogène, la structure du tPA et l'analyse de ses formes simple et double chaîne par SDS-PAGE.

1.1 - Réaction catalysée

Question 1.1.1. Écrire la formule semi-développée de la séquence R561-V562, en respectant l'orientation conventionnelle et en utilisant les informations fournies sur l'arginine et la valine.

La chaîne s'écrit dans le sens conventionnel N-terminal vers C-terminal. L'arginine a pour chaîne latérale b $(CH_2)_3$-NH-C(=NH)-NH_2bb et la valine ab $CH(CH_3)_2$bb. La liaison peptidique unit le carbonyle de l'arginine à l'azote de la valine. Les deux acides aminés sont représentés ici dans la séquence R561-V562, sans omettre les extrémités de la liaison peptidique.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

H_2N-CH[$(CH_2)_3$-NH-C(=NH)-NH_2]-CO-NH-CH[$CH(CH_3)_2$]-COOH

Question 1.1.2. À l'aide de la formule de la séquence précédente, présenter l'équation de la réaction catalysée par le tPA.

Le tPA catalyse l'hydrolyse de la liaison peptidique entre Arg_{561} et Val_{562}. L'eau se répartit entre les deux produits : son groupe OH complète le carboxyle de l'arginine, tandis que son hydrogène complète l'azote de la valine. Les points de suspension indiquent que les autres résidus du plasminogène restent de part et d'autre du site de coupure.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

…-Arg_{561}-CO-NH-Val_{562}-… + H_2O → …-Arg_{561}-COOH + H_2N-Val_{562}-…

Question 1.1.3. Dans le code numérique IUPAC de l'enzyme tPA, 3.4.21.68, indiquer la signification des deux premiers numéros.

Dans la nomenclature EC, le premier nombre indique la classe de réaction catalysée. Le deuxième précise la sous-classe au sein de cette classe. Le code 3.4 désigne donc une hydrolase qui hydrolyse des liaisons peptidiques. Les nombres suivants précisent des niveaux supplémentaires de classification, mais ne sont pas demandés ici.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

3 : hydrolase. 4 : enzyme agissant sur les liaisons peptidiques.

1.2 - Structure du tPA

Question 1.2.1. Définir un domaine protéique.

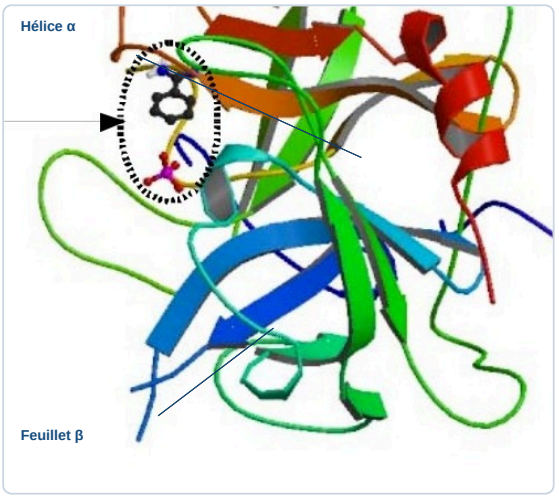
Un domaine protéique est une région d'une protéine qui se replie en une structure tridimensionnelle compacte, relativement indépendante du reste de la chaîne. Cette unité structurale peut assurer une fonction particulière. Une protéine peut ainsi comporter plusieurs domaines, comme le tPA représenté dans le document 3.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Région compacte d'une protéine, repliée de façon relativement autonome et souvent associée à une fonction.

Question 1.2.2. Annoter le document 4 pour identifier les motifs structuraux secondaires représentés.

Le document 4 représente le domaine catalytique sous forme de rubans. Les hélices α apparaissent en rubans spiralés, tandis que les feuillets β sont figurés par des rubans larges en flèche. Il faut annoter ces deux types de motifs secondaires sur le schéma. Les boucles qui relient les motifs ne constituent pas l'une de ces deux structures régulières.

Document 4 annoté : motifs secondaires



> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Annoter les hélices α et les feuillets β.

Question 1.2.3. Nommer les interactions qui stabilisent les structures secondaires et préciser les groupements impliqués.

Les hélices α et les feuillets β sont stabilisés par des liaisons hydrogène. Ces liaisons se forment entre des atomes du squelette peptidique, et non principalement entre les chaînes latérales. Le donneur est le groupement N-H d'une liaison peptidique ; l'accepteur est l'oxygène du groupement carbonyle C=O d'une autre liaison peptidique. Leur répétition stabilise l'organisation régulière de ces motifs.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Liaisons hydrogène entre les groupements N-H et C=O du squelette peptidique.

1.3 - Les deux formes du tPA : étude par SDS-PAGE

Question 1.3.1. Compte tenu de la séquence du tPA présentée dans le document 3, expliquer les conséquences du clivage du tPA en termes d'organisation moléculaire.

La plasmine coupe la liaison peptidique entre Arg_{561} et Val_{562}. Le tPA simple chaîne, initialement constitué d'une seule chaîne polypeptidique, devient deux chaînes après cette coupure. Les ponts disulfure indiqués dans le document 3 maintiennent ces chaînes associées. Le tPA double chaîne demeure donc une même molécule, mais constituée de deux chaînes polypeptidiques reliées par ces ponts.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le clivage forme deux chaînes polypeptidiques qui restent associées par des ponts disulfure.

Question 1.3.2. Indiquer la signification du sigle SDS-PAGE.

SDS signifie dodécylsulfate de sodium, un détergent qui dénature les protéines et leur confère une charge négative. PAGE signifie électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Dans les conditions dénaturantes, la séparation dépend principalement de la masse moléculaire apparente des protéines, et non de leur charge native ou de leur forme d'origine.

✓ RÉPONSE À RETENIR

SDS-PAGE : électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium.

Question 1.3.3. Lister, en respectant leur chronologie, les principales étapes de réalisation d'une SDS-PAGE.

1. Mélanger les échantillons au tampon de dépôt, avec ou sans DTT selon le protocole, puis dénaturer les protéines.
2. Déposer les échantillons et le marqueur dans les puits du gel.
3. Faire migrer les protéines dans le tampon de migration sous l'action du champ électrique.
4. Colorer le gel au bleu de Coomassie, puis observer et comparer les bandes.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Préparer et dénaturer les échantillons, les déposer, faire migrer les protéines, colorer puis lire le gel.

1.3.4 - Composition des tampons

Question 1.3.4.1. Expliquer le rôle du « sample buffer », en insistant sur l'action du SDS et du dithiothréitol (DTT).

Le sample buffer prépare les protéines à leur séparation et permet leur dépôt dans les puits. Le SDS dénature les protéines et les recouvre de charges négatives, de sorte que leur migration dépend surtout de leur masse. Le DTT est un agent réducteur : il rompt les ponts disulfure. Les chaînes polypeptidiques reliées par ces ponts peuvent alors migrer séparément.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> SDS : dénaturation et charge négative. DTT : réduction des ponts disulfure.

Question 1.3.4.2. Préciser les rôles du glycérol et du bleu de bromophénol, puis proposer une appellation courante du « sample buffer ».

Le glycérol augmente la densité de l'échantillon et facilite son dépôt au fond du puits. Le bleu de bromophénol est un colorant traceur qui permet de suivre le front de migration. Le sample buffer contient aussi du SDS et un tampon Tris-HCl, avec ou sans agent réducteur selon sa composition. Son appellation courante est tampon de dépôt ou tampon de charge.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Glycérol : facilite le dépôt. Bleu de bromophénol : trace la migration. Sample buffer : tampon de dépôt.

1.3.5 - Analyse des résultats de SDS-PAGE

Question 1.3.5.1. Indiquer la composition du marqueur de taille utilisé dans le puits 1.

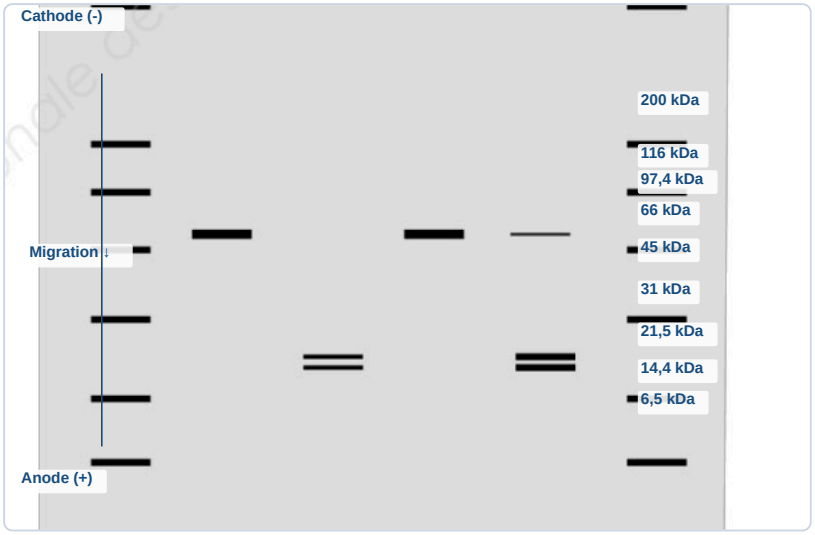
Le marqueur des puits 1 et 6 est constitué de protéines de masses moléculaires connues. Le document 5B donne les neuf valeurs de référence, exprimées en kilodaltons. Elles permettent de repérer les bandes de la piste 6 et de comparer la migration des protéines des échantillons. La liste doit être restituée sans modifier l'ordre indiqué dans le document.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Marqueur : 200, 116, 97,4, 66, 45, 31, 21,5, 14,4 et 6,5 kDa.

Question 1.3.5.2. Orienter le gel et justifier le sens de migration des protéines, puis noter sur le document 5B le poids moléculaire de chaque constituant du marqueur de taille de la piste 6.

Les puits sont en haut du gel. En présence de SDS, les protéines chargées négativement migrent vers l'anode positive, en bas. Les protéines de plus faible masse moléculaire migrent plus loin dans le gel. La piste 6 est le marqueur : les bandes se lisent de haut en bas de la plus grande à la plus petite masse. Le visuel situe les valeurs à côté des bandes du marqueur.

Document 5B : piste 6 et sens de migration



✓ RÉPONSE À RETENIR

Migration du haut vers le bas, vers l'anode (+). Piste 6 : 200, 116, 97,4, 66, 45, 31, 21,5, 14,4 et 6,5 kDa, de haut en bas.

Question 1.3.5.3. Analyser les résultats obtenus pour les puits 2, 3 et 4, puis expliquer les différences entre les profils obtenus.

Le puits 2 contient le sc-tPA préparé avec DTT : il présente une bande correspondant à la chaîne entière. Dans le puits 3, le DTT réduit les ponts disulfure du dc-tPA ; ses deux chaînes apparaissent donc séparément. Le puits 4, préparé sans DTT, conserve les deux chaînes liées et montre une seule bande, proche de celle du sc-tPA. La différence de profil vient de la réduction des ponts disulfure.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Puits 2 : sc-tPA en une bande. Puits 3 : chaînes du dc-tPA séparées par le DTT. Puits 4 : chaînes encore liées, en une bande.

Question 1.3.5.4. Analyser les résultats obtenus pour l'échantillon d'Actilyse reconstitué et conclure sur la forme prédominante du tPA.

Dans le puits 5, l'échantillon d'Actilyse reconstitué présente une bande correspondant au sc-tPA et deux bandes correspondant aux chaînes séparées du dc-tPA. Ces dernières sont les plus marquées sur le schéma, tandis que la bande de sc-tPA est moins intense. La comparaison avec les puits témoins 2 et 3 indique donc que le tPA double chaîne prédomine dans l'échantillon représenté.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'Actilyse reconstitué contient les deux formes du tPA, avec prédominance du dc-tPA.

2. Étalonnage fluorimétrique et détermination de l’activité spécifique du tPA

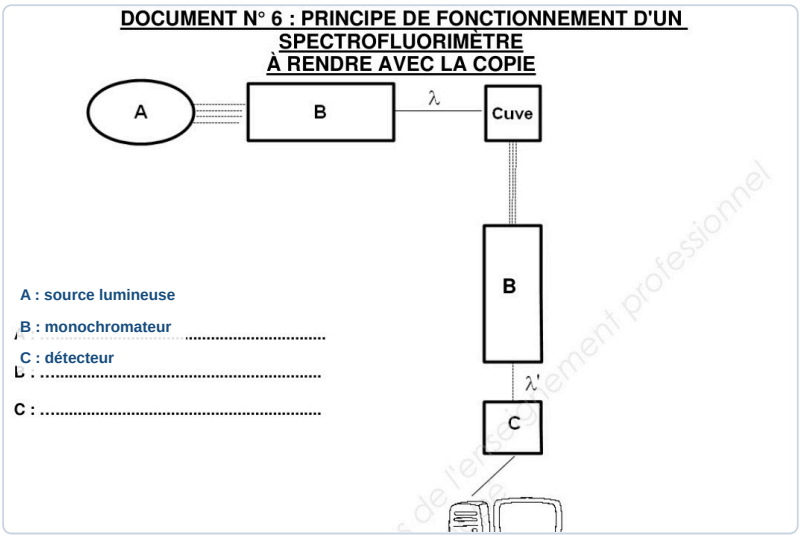
L’activité du tPA produit par des cellules CHO recombinantes est contrôlée par une méthode cinétique suivie par spectrofluorimétrie. Les tâches portent sur l’appareil et son étalonnage, le test enzymatique, puis le calcul de l’activité catalytique et de l’activité spécifique avant et après purification.

2.1 - Principe d’un spectrofluorimètre

Question 2.1.1. Compléter le document 6 en indiquant les noms des composants A, B et C du spectrofluorimètre.

A est la source lumineuse. B est le monochromateur, qui sélectionne les longueurs d’onde sur les trajets optiques d’excitation et d’émission. C est le détecteur, placé après la sélection du signal fluorescent, qui transforme la lumière reçue en signal mesurable. Ces trois éléments sont repérés sur le document 6 et leurs noms complètent les lignes A, B et C.

Document 6 complété



> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> A : source lumineuse ; B : monochromateur ; C : détecteur.

Question 2.1.2. Indiquer la signification de λ et λ′ sur le schéma, comparer ces grandeurs et justifier la réponse.

λ désigne la longueur d’onde de la lumière d’excitation envoyée vers la cuve. λ′ correspond à la longueur d’onde de la fluorescence émise par l’AMC puis mesurée. L’émission a une longueur d’onde supérieure à celle de l’excitation, car une partie de l’énergie absorbée est dissipée avant l’émission. Le document 7 précise les réglages utilisés pour l’AMC : excitation à 354 nm et émission à 442 nm.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> λ : excitation, 354 nm ; λ′ : émission, 442 nm ; λ′ > λ.

2.2 - Étalonnage du spectrofluorimètre

Question 2.2.1. Indiquer le matériel nécessaire pour préparer une solution étalon fille d'AMC à 40 µmol.L⁻¹ à partir de l'étalon à 4 mmol.L⁻¹, et préciser les volumes choisis.

La solution fille doit être diluée 100 fois : l'étalon à 4 mmol·L⁻¹ correspond à 4 000 µmol·L⁻¹. Prélever 100 µL avec une micropipette, les verser dans une fiole jaugée de 10,0 mL, compléter au trait avec le tampon 1X, puis homogénéiser. Le matériel nécessaire est donc l'étalon, une micropipette avec embout, une fiole jaugée et le tampon 1X.

✓ RÉPONSE À RETENIR

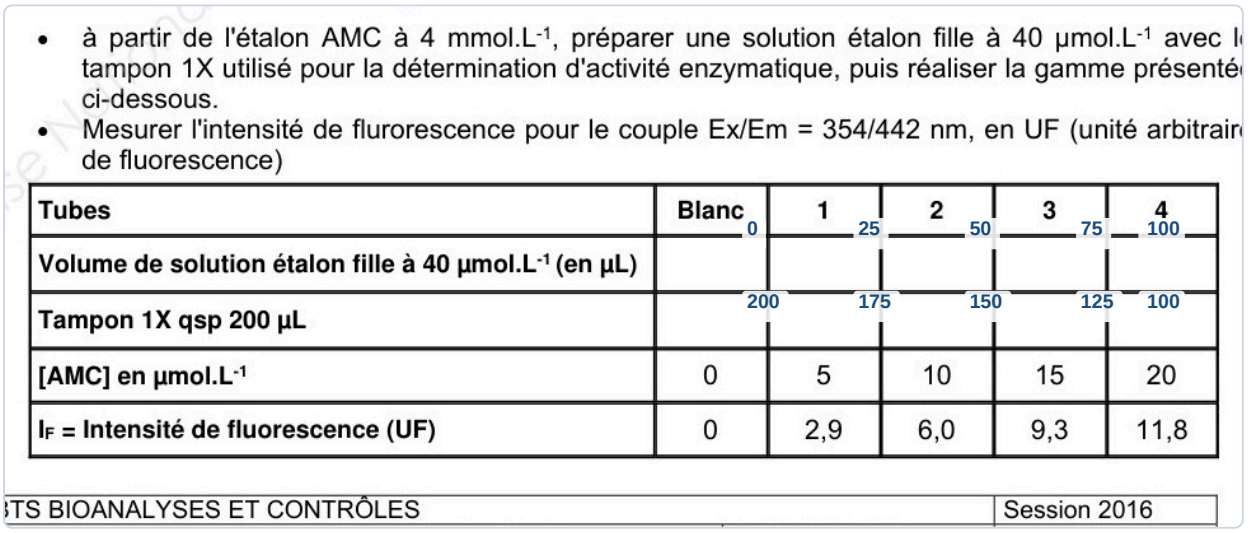
Prélever 100 µL d'étalon à 4 mmol·L⁻¹ et compléter à 10,0 mL avec le tampon 1X.

Question 2.2.2. Compléter le tableau de spectrofluorimétrie du document 7.

Chaque tube contient un volume final de 200 µL. Pour chaque concentration visée, le volume d'étalon fille est calculé par dilution, puis le tampon 1X complète à 200 µL. Les concentrations et intensités de fluorescence sont reportées telles qu'indiquées dans le document 7.

Tube	Blanc	1	2	3	4
Étalon fille à 40 µmol·L⁻¹ (µL)	0	25	50	75	100
Tampon 1X (µL)	200	175	150	125	100
[AMC] (µmol·L⁻¹)	0	5	10	15	20
IF (UF)	0	2,9	6,0	9,3	11,8

Document 7 complété



- à partir de l'étalon AMC à 4 mmol.L-1, préparer une solution étalon fille à 40 µmol.L-1 avec l tampon 1X utilisé pour la détermination d'activité enzymatique, puis réaliser la gamme présenté ci-dessous.
- Mesurer l'intensité de flurorescence pour le couple Ex/Em = 354/442 nm, en UF (unité arbitrair de fluorescence)

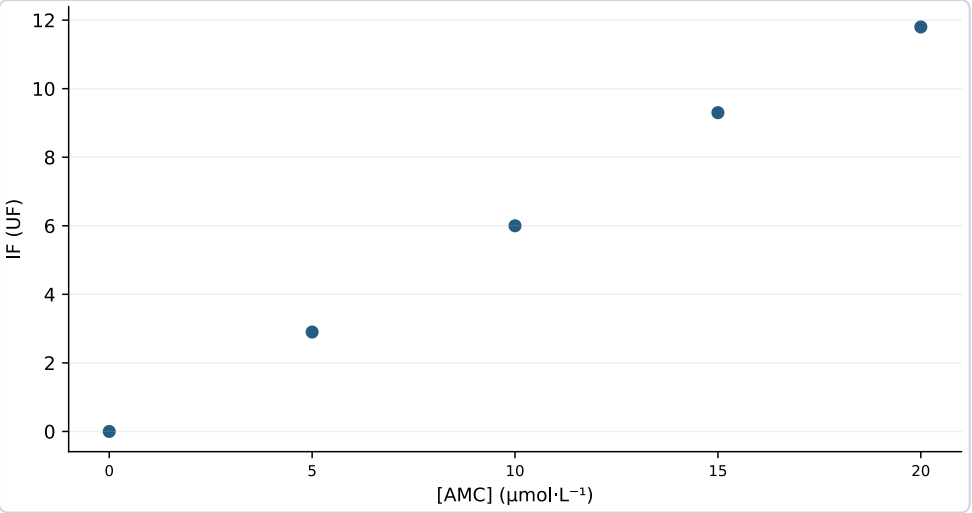
Tubes	Blanc	1	2	3	4
Volume de solution étalon fille à 40 µmol.L-1 (en µL)	0	25	50	75	100
Tampon 1X qsp 200 µL	200	175	150	125	100
[AMC] en µmol.L-1	0	5	10	15	20
I_F = Intensité de fluorescence (UF)	0	2,9	6,0	9,3	11,8

✓ RÉPONSE À RETENIR

Étalon fille (µL) : 0, 25, 50, 75, 100 ; tampon 1X (µL) : 200, 175, 150, 125, 100.

Question 2.2.3. Établir la relation entre la concentration en AMC, en µmol.L⁻¹, et l'intensité de fluorescence IF, en UF, en précisant les paramètres de la régression linéaire.

On ajuste une droite IF = a[AMC] + c aux cinq couples expérimentaux du tableau, blanc compris. La pente vaut a = 150/250 = 0,60 UF par µmol·L⁻¹, et l'ordonnée à l'origine vaut c = 0 UF. La relation est donc proportionnelle dans la gamme mesurée, de 0 à 20 µmol·L⁻¹ d'AMC.



✓ RÉPONSE À RETENIR

IF = 0,60 × [AMC] ; pente a = 0,60 UF·L·µmol⁻¹ ; ordonnée à l'origine c = 0 UF.

2.3 - Détermination de l'activité spécifique du tPA

Question 2.3.1. Expliquer le principe du test présenté dans le document 8.

Le test utilise un substrat fluorogène spécifique du tPA. Le clivage du substrat libère l'AMC, qui émet une fluorescence bleue. L'intensité augmente avec la quantité d'AMC formée et, par conséquent, avec l'activité enzymatique. On suit cette intensité en continu après mélange, puis on détermine la pente de la portion linéaire initiale, exprimée en UF·min⁻¹, pour évaluer la vitesse de réaction.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le tPA clive le substrat et libère l'AMC fluorescent ; la vitesse d'augmentation de fluorescence mesure son activité.

2.3.2 - Préparation de l'échantillon et conditions de mesure

Question 2.3.2.1. Lors de la préparation de l'échantillon, justifier la récupération du seul surnageant après centrifugation et préciser pourquoi ces opérations sont réalisées à 4 °C.

La centrifugation à 3 000 × g pendant 15 minutes sédimente les cellules et les débris. Le tPA soluble recherché se retrouve dans le surnageant, qui est récupéré pour le dosage. Le maintien à 4 °C ralentit les réactions enzymatiques et autres processus susceptibles de modifier ou dégrader l'échantillon pendant sa préparation. Le protocole recommande ensuite d'éviter les cycles répétés de congélation-décongélation.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les débris sont éliminés dans le culot ; le surnageant contient le tPA soluble, protégé par le froid.

Question 2.3.2.2. Expliquer la signification de « 2X » pour le tampon de dosage fourni.

« 2X » signifie que le tampon fourni est deux fois plus concentré que la concentration d'utilisation, dite 1X. Le protocole mélange 50 µL d'échantillon et 50 µL de solution substrat préparée dans le tampon 2X. Le volume total double celui de la solution substrat et dilue donc le tampon de moitié. La concentration finale du tampon dans le mélange réactionnel est ainsi 1X.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le tampon 2X est deux fois concentré ; le mélange à parts égales le ramène à 1X.

Question 2.3.2.3. Rappeler les conditions de mesure d'une activité enzymatique.

La réaction est suivie à pH et température constants, avec une quantité suffisante de substrat pour que sa concentration ne limite pas la vitesse mesurée. Il faut relever la vitesse initiale, dans la portion linéaire de la courbe, avant que l'épuisement du substrat ou l'accumulation des produits ne modifie la réaction. Le protocole autorise une température ambiante à 37 °C, maintenue identique pendant les incubations.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Mesurer la vitesse initiale en phase linéaire, à pH et température constants, avec le substrat en excès.

2.3 - Détermination de l'activité spécifique du tPA

Question 2.3.3. Proposer une composition pour un tube permettant de réaliser le zéro du spectrofluorimètre.

Le blanc contient les réactifs du dosage, mais pas l'échantillon qui apporte l'enzyme. Selon les volumes du protocole, remplacer les 50 µL d'échantillon par 50 µL de tampon de dosage, puis ajouter 50 µL de solution substrat. Ce tube de 100 µL sert à régler le zéro et à tenir compte du signal de fond des réactifs en l'absence de

tPA.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Blanc : 50 µL de tampon de dosage et 50 µL de solution substrat, sans échantillon enzymatique.

2.3.4 - Mesure sur un surnageant de culture

Question 2.3.4.1. Expliquer comment s'assurer que la mesure est bien réalisée en période initiale.

Après avoir mélangé les réactifs, démarrer immédiatement la mesure continue de fluorescence, comme le prescrit le protocole. Tracer IF en fonction du temps et examiner le début de la courbe. La mesure est en période initiale si les premiers points forment une portion linéaire, avant une éventuelle courbure. La pente calculée sur cette portion correspond à la vitesse initiale.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Vérifier que le début de la courbe IF en fonction du temps est linéaire et en calculer la pente.

Question 2.3.4.2. Rappeler la définition de la concentration d'activité catalytique b.

La concentration d'activité catalytique b est l'activité catalytique rapportée au volume de solution. Elle exprime la quantité de matière de substrat transformée par unité de temps et par unité de volume, dans les conditions définies du dosage. L'unité demandée ici est le nkat·L^{-1}.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> b est l'activité catalytique par volume de solution, exprimée ici en nkat·L^{-1}.

Question 2.3.4.3. Dans les conditions de mesure et à partir de la relation $b = k \times \Delta IF/\Delta t$ et des données fournies, montrer que $k = 55,56$.

La pente d'étalonnage est de 0,60 UF par µmol·L^{-1}. Une pente de 1 UF·min^{-1} correspond donc à 1/0,60 µmol·L^{-1}·min^{-1} d'AMC. La conversion en nkat·L^{-1} multiplie par 1 000/60 ; le mélange réactionnel contient deux fois moins d'échantillon que le volume final, d'où le facteur 2. Ainsi, $k = 2 \times 1\,000/(0,60 \times 60) = 55,56$.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> $k = 55,56$, donc $b = 55,56 \times \Delta IF/\Delta t$ en nkat·L^{-1}.

Question 2.3.4.4. Pour un surnageant testé donnant ΔIF/Δt = 9 UF.min⁻¹, calculer sa concentration d'activité catalytique b.

La relation établie est b = k × ΔIF/Δt. Pour la pente mesurée de 9 UF·min⁻¹, le calcul donne b = 55,56 × 9 = 500,04 nkat·L⁻¹. Compte tenu de l'arrondi du facteur k, on retient environ 500 nkat·L⁻¹, soit 0,50 µkat·L⁻¹.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> b ≈ 500 nkat·L⁻¹, soit 0,50 µkat·L⁻¹.

Question 2.3.4.5. Définir l'activité spécifique zsp, puis la calculer pour le surnageant dont la concentration protéique est de 20 mg.L⁻¹.

L'activité spécifique zsp est le rapport entre la concentration d'activité catalytique et la concentration massique totale en protéines. La concentration protéique de 20 mg·L⁻¹ vaut 0,020 g·L⁻¹. En utilisant b = 500,04 nkat·L⁻¹, on obtient 25 002 nkat·g⁻¹, soit 25,002 µkat·g⁻¹. L'arrondi approprié est 25,0 µkat·g⁻¹.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> zsp = b/[protéines] = 25,0 µkat·g⁻¹.

2.3 - Détermination de l'activité spécifique du tPA

Question 2.3.5. Comparer l'activité spécifique du surnageant à celle de la fraction purifiée, mesurée à 250 µkat.g⁻¹, et conclure sur l'enrichissement obtenu en fin de purification.

L'activité spécifique du surnageant est de 25,002 µkat·g⁻¹ à partir du résultat précédent. La fraction purifiée atteint 250 µkat·g⁻¹. Le rapport entre ces valeurs donne le facteur d'enrichissement spécifique au cours de la purification. La fraction finale présente donc une activité par gramme de protéines environ dix fois supérieure à celle du surnageant initial.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'activité spécifique est multipliée par environ 10 après purification.

3. Chaîne respiratoire et métabolisme anaérobie

Lors d'un AVC ischémique, l'obstruction artérielle prive les cellules cérébrales de dioxygène et de glucose, ce qui perturbe la chaîne respiratoire et les voies métaboliques. Les questions portent sur les complexes respiratoires, le complexe F0F1 et les voies anaérobies représentées dans un schéma à compléter.

3.1 - Chaîne respiratoire

Question 3.1.1. Indiquer sur la copie la signification des lettres A, B, C, D et E du document 9.

Repère	Signification
A	Espace intermembranaire
B	Membrane mitochondriale interne
C	Matrice mitochondriale
D	ADP + phosphate inorganique (Pi)
E	ATP

D et E correspondent aux molécules entrant dans la synthèse d'ATP et à son produit, au niveau de l'ATP synthase.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> A : espace intermembranaire ; B : membrane interne ; C : matrice ; D : ADP + Pi ; E : ATP.

Question 3.1.2. Nommer le type de réactions mises en jeu au niveau des complexes I, II, III et IV.

Les complexes I, II, III et IV réalisent des réactions d'oxydoréduction, avec transfert d'électrons entre transporteurs. Les coenzymes réduits $NADH,H^+$ et $FADH_2$ cèdent leurs électrons ; au complexe IV, le dioxygène est l'accepteur final et est réduit en eau.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Réactions d'oxydoréduction et transferts d'électrons ; O_2 est réduit en H_2O au complexe IV.

Question 3.1.3. Expliquer le passage des protons au niveau des complexes I, III et IV.

Les électrons circulant dans la chaîne libèrent de l'énergie. Les complexes I, III et IV l'utilisent pour transférer les protons H^+ de la matrice vers l'espace intermembranaire, à l'encontre de leur gradient. Ce gradient électrochimique est ensuite exploité par l'ATP synthase lorsque les protons retournent vers la matrice.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les complexes I, III et IV pompent les H^+ vers l'espace intermembranaire, créant le gradient qui permet la synthèse d'ATP.

Question 3.1.4. Rappeler le nom du complexe moléculaire F0F1 et présenter le rôle respectif de ses parties F0 et F1.

F_0F_1 est l'ATP synthase. La partie F_0, intégrée à la membrane interne, permet le passage des protons vers la matrice. Leur flux entraîne le fonctionnement de F_1, qui catalyse la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique.

✓ RÉPONSE À RETENIR

F_0F_1 : ATP synthase ; F_0 laisse passer les H^+, F_1 synthétise l'ATP.

Question 3.1.5. Préciser les conséquences d'un défaut d'approvisionnement en O_2.

En absence d'O_2, le complexe IV ne peut plus transférer les électrons à leur accepteur final. Le transfert d'électrons dans la chaîne et le pompage des protons s'interrompent.

- Le gradient protonique s'effondre et la phosphorylation oxydative ne produit plus d'ATP.
- La glycolyse anaérobie prend le relais, avec un faible rendement en ATP et production de lactate.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La chaîne respiratoire et la phosphorylation oxydative s'arrêtent ; la production d'ATP chute et le métabolisme anaérobie prend le relais.

3.2 - Métabolisme anaérobie

Question 3.2.1. Indiquer le nom des voies métaboliques 1 et 2 représentées dans le document 10.

La voie 1 est la glycolyse, qui dégrade le glucose en acide pyruvique. La voie 2 est la fermentation lactique, qui réduit l'acide pyruvique en acide lactique. Elle régénère le NAD^+ nécessaire à la poursuite de la glycolyse.

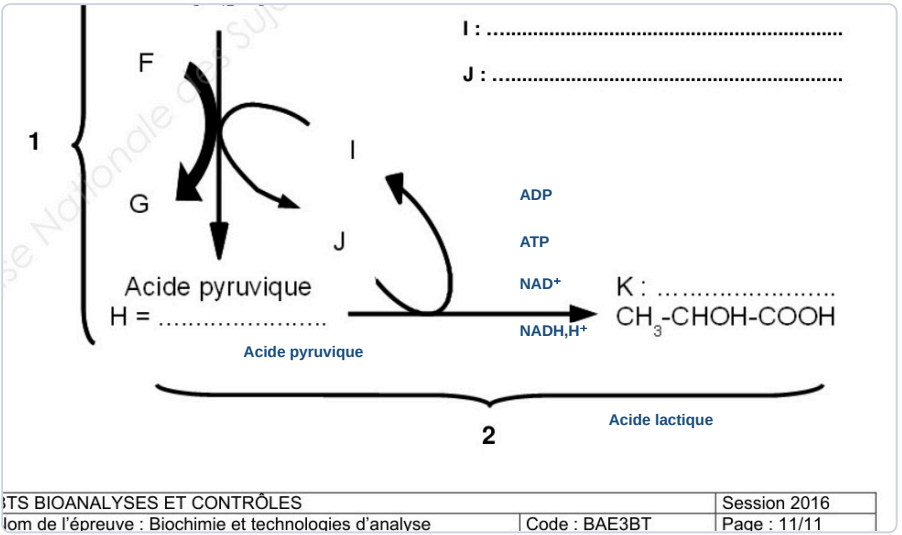
✓ RÉPONSE À RETENIR

1 : glycolyse ; 2 : fermentation lactique.

Question 3.2.2. **Renseigner les repères de F à K sur le document 10, à rendre avec la copie.**

Dans la glycolyse, l'ADP est utilisé pour former de l'ATP, tandis que le NAD^+ est réduit en $NADH,H^+$. La fermentation réduit l'acide pyruvique en acide lactique et réoxyde le $NADH,H^+$ en NAD^+. Le repère H complète le nom déjà indiqué sur le schéma.

Document 10 complété



✓ **RÉPONSE À RETENIR**

F : ADP ; G : ATP ; H : acide pyruvique ; I : NAD^+ ; J : $NADH,H^+$; K : acide lactique.

Question 3.2.3. **Conclure sur l'intérêt de cette voie en cas d'AVC ischémique.**

La glycolyse permet de produire rapidement un peu d'ATP sans dioxygène. La fermentation lactique régénère le NAD^+, indispensable à la poursuite de cette glycolyse. Cette production énergétique peut donc se maintenir temporairement dans les cellules ischémiées, mais elle reste faible et s'accompagne d'une production de lactate.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

La glycolyse anaérobie maintient temporairement une faible production d'ATP, avec production de lactate.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2016)

Bilan de l'épreuve : Épreuve E3, unité U31, du BTS Bioanalyses et contrôles, session 2016, code BAE3BT, d'une durée de 3 heures et de coefficient 3. Elle étudie l'Actilyse® et son principe actif, le tPA, dans le contexte des AVC ischémiques. Les compétences évaluées couvrent la biochimie des protéines, la SDS-PAGE, le dosage fluorimétrique et le métabolisme énergétique.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Le tPA clive le plasminogène en plasmine, qui dégrade la fibrine du caillot et peut aussi favoriser le passage du tPA simple chaîne à sa forme double chaîne.
- En SDS-PAGE, le SDS dénature les protéines et leur confère une charge négative ; le DTT réduit les ponts disulfure entre chaînes.
- En période initiale, la vitesse enzymatique correspond à la pente de la portion linéaire de l'évolution du signal au cours du temps.
- La chaîne respiratoire crée un gradient de protons que le complexe F0F1 utilise pour produire de l'ATP.

Points de vigilance & attentes du jury

- Respecter l'orientation conventionnelle N-terminale vers C-terminale lors de l'écriture d'une séquence peptidique.
- Pour interpréter un gel, relier la migration à la masse moléculaire et tenir compte de la présence ou de l'absence de DTT.
- Vérifier les unités et les facteurs de dilution avant de calculer l'activité catalytique ou l'activité spécifique.
- Sur les schémas à compléter, lire les flèches, les légendes et les compartiments avant d'identifier les molécules et les flux.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment obtenir une solution fille d'AMC à 40 µmol.L^{-1} à partir de l'étalon à 4 mmol.L^{-1} ?

La solution mère est 100 fois plus concentrée que la solution fille. Prélevez un volume de solution mère égal au centième du volume final, puis complétez avec le tampon 1X jusqu'au volume final choisi.

Q : Pourquoi le tPA donne-t-il des profils différents en présence ou en absence de DTT ?

Le DTT réduit les ponts disulfure et peut séparer des chaînes maintenues ensemble par ces liaisons. Sans DTT, les chaînes liées restent associées et migrent comme une entité de masse moléculaire supérieure.

Q : Comment organiser le temps pour traiter les calculs et les documents à rendre ?

Répartissez les trois heures en fonction des points des trois parties : 27,5, 19,5 et 13. Gardez du temps pour vérifier les unités et compléter les documents demandés, qui sont à rendre avec la copie.

Q : Qu'attend le jury pour les calculs d'activité enzymatique ?

Présentez la relation utilisée, les conversions d'unités, les valeurs substituées et le résultat avec son unité. Pour la vitesse initiale, exploitez la portion linéaire du signal et respectez les conditions de mesure indiquées.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2016/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2016 - 1-Sujet.pdf
Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

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.