

BREVET DE TECHNICIEN AGRICOLE
ÉPREUVE TERMINALE N° 2
CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES

Option : Transformation
Spécialité : Laboratoire d'analyses

Durée : 3 heures 30

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Rappel : Au cours de l'épreuve, la calculatrice est autorisée pour réaliser des opérations de calcul, ou bien élaborer une programmation, à partir des données fournies par le sujet.

Tout autre usage est interdit.

Les candidats traiteront chaque partie sur des feuilles séparées

Le sujet comporte **11** pages

PARTIE 1 : BIOLOGIE **10 points**

PARTIE 2 : CHIMIE-BIOCHIMIE **10 points**

Annexe A

L'annexe A est à rendre avec la copie

SUJET

LES PROTEINES HUMAINES

PARTIE 1 : BIOLOGIE

1- Nos cellules fabriquent des protéines (**document 1**).

1.1- Citer le nom des molécules de base permettant la fabrication des protéines et préciser leur origine.

1.2- Certaines de nos cellules sont des cellules sécrétrices. Le **document 2** représente une cellule de ce type. Reporter les légendes sur la copie.

2- Voici le fragment de la séquence S d'un gène responsable de la synthèse d'une chaîne de l'hémoglobine :

A T G G T G C A C C T G séquence S, brin codant ou transcrit

2.1- Donner la définition d'un gène.

2.2- Préciser la localisation des gènes dans la cellule.

2.3- A partir de la séquence S :

- Ecrire la séquence du brin d'ARNm transcrit
- Expliquer la démarche.
- Citer le nom de cette étape.
- Préciser sa localisation dans la cellule.

2.4- En utilisant le **document 3** sur le code génétique :

- Ecrire la séquence d'acides aminés correspondante.
- Citer le nom de cette étape.
- Préciser sa localisation dans la cellule.
- Expliquer les mécanismes permettant la synthèse de la chaîne polypeptidique en indiquant les différents acteurs mis en jeu.

2.5- La protéine d'hémoglobine sous sa forme linéaire n'est pas fonctionnelle.

- Expliquer comment elle devient active.

3- Parmi les protéines humaines, il y a les anticorps ou immunoglobulines (Ig). Le **document 4** représente une IgG.

3.1- Légender le **document 4** en reprenant le schéma sur la copie.

3.2- Les anticorps sont fabriqués et sécrétés par des plasmocytes. Définir le terme plasmocyte.

3.3- Rechercher, dans le **document 1**, une application des anticorps en médecine.

4- Les cellules humaines sont des cellules hétérotrophes.

4.1- Définir l'expression « cellule hétérotrophe ».

4.2- Le **document 5** présente une schématisation de l'activité d'une cellule hétérotrophe, reporter les légendes sur la copie.

4.3- Citer le nom du mécanisme permettant la dégradation du glucose en aérobose à l'aide des mitochondries, puis écrire l'équation-bilan.

4.4- L'ATP est une molécule énergétique universelle. Préciser la composition chimique de cette molécule en indiquant les liaisons riches en énergie.

4.5- Ecrire la réaction d'hydrolyse de l'ATP.

PARTIE 2 : CHIMIE-BIOCHIMIE

1- La méthode du biuret

La méthode du biuret est une méthode générale de dosage des protéines. Ces dernières forment un complexe coloré spécifique en présence de l'ion Cu^{2+} dosable par spectrophotométrie. Le réactif utilisé s'appelle le « réactif de Gornall ».

Dans cet exercice, il s'agit de déterminer la concentration massique des protéines contenues dans une solution inconnue. On élabore dans un premier temps une gamme-étalon à partir d'une solution de protéine de référence (albumine), puis on applique le même protocole à la solution inconnue.

Longueur d'onde de travail

Le **document 6** présente le spectre d'absorption du complexe albumine-ion cuivre II.

1.1- Proposer une longueur d'onde utilisable pour réaliser le dosage. Justifier la réponse.

Gamme-étalon

La gamme-étalon est faite à partir d'une solution d'albumine à $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, selon le protocole décrit ci-dessous :

Tube à essais	a	b	c	d	e	f	g
Volume (μL) d'albumine $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	0	100	200	400	600	800	1000
Volume (μL) de sérum physiologique	1000	900	800	600	400	200	0
Volume (mL) de réactif de Gornall	4	4	4	4	4	4	4
Masse (mg) d'albumine par tube	0	1	2	4	6	8	
Absorbance A	0,000	0,035	0,064	0,124	0,184	0,243	0,296

Rappel : $1 \mu\text{L} = 10^{-6} \text{ L}$

Les tubes à essais sont homogénéisés puis laissés trente minutes avant lecture au spectrophotomètre.

1.2- Justifier l'attente de 30 minutes nécessaire avant la lecture.

1.3- Déterminer la masse (en mg) d'albumine correspondant au tube g. Justifier le calcul.

1.4- Tracer sur papier millimétré la courbe de l'absorbance A en fonction de la masse (en mg) d'albumine par tube.

Echelle :

- Abscisses : $1 \text{ cm} \leftrightarrow 1 \text{ mg}$
- Ordonnées : $1 \text{ cm} \leftrightarrow 0,02$

Essai sur la solution inconnue

La solution inconnue est préparée selon le même protocole :

Tube à essais	h
Volume (μL) de solution inconnue	200
Volume (μL) de sérum physiologique	800
Volume (mL) de réactif de Gornall	4
Absorbance A	0,163

1.5. Déterminer graphiquement la masse (en mg) de protéines contenues dans le tube à essais h. Faire apparaître les traits de lecture sur la courbe étalon.

1.6. En déduire la concentration massique en protéines (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) présentes dans la solution inconnue. Le résultat doit être justifié par un calcul.

2- La structure des peptides

Un anticorps est essentiellement constitué par une structure protéique. L'analyse de leur structure passe par la fragmentation en peptides.

2.1- Définir la structure primaire d'un peptide.

2.2- En vous aidant du **document 7**, écrire la réaction chimique qui aboutit à la formation du tripeptide Ser-Leu-Asp. Toutes les formules seront écrites sous formes semi-développées.

2.3- Sur la formule semi-développée du tripeptide, entourer les liaisons unissant les acides aminés. Donner le nom de ces liaisons.

2.4. Définir le pH_i d'un acide aminé.

2.5- Recopier l'axe ci-dessous sur la copie et écrire les trois formes prédominantes de la sérine en fonction du pH :

pH acide pH isoélectrique pH basique →

3- Séparation de peptides par HPLC

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) permet de séparer les solutés de liquides non volatils. Le schéma de principe d'un appareil HPLC est présenté en **annexe A**.

- 3.1-** Légender l'**annexe A** (à rendre avec la copie) : 4 noms à trouver.
- 3.2-** Justifier le rôle indispensable de la pompe.
- 3.3-** Décrire le principe de fonctionnement de la colonne de chromatographie.
- 3.4-** Citer les deux fonctions essentielles du détecteur. Pour répondre, on notera qu'il est placé entre la colonne et l'enregistreur.
- 3.5-** A l'issue d'une analyse HPLC de peptides, on obtient le chromatogramme présenté en **document 8**.
- 3.5.1-** Donner les valeurs approximatives des temps de rétention des peptides 1 et 2.
- 3.5.2-** La concentration du témoin (pic 1) est de $1,50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. En déduire celle du peptide 2.

4- Solution tampon

Dans le protocole de purification d'un peptide, on souhaite préparer une solution tampon à l'aide d'une solution d'acide éthanoïque de concentration $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

- 4.1-** Indiquer laquelle des deux méthodes proposées ci-dessous pour préparer la solution tampon est correcte. Justifier le choix.
- Méthode a : $10,0 \text{ mL}$ de solution d'acide éthanoïque de concentration $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + 5 mL de solution d'hydroxyde de sodium de concentration $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
 - Méthode b : $10,0 \text{ mL}$ de solution d'acide éthanoïque de concentration $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + 5 mL de solution d'acide chlorhydrique de concentration $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- 4.2-** Déterminer le pH de la solution tampon obtenue.
- 4.3-** Enoncer la propriété essentielle de cette solution.

Donnée :

$\text{pK}_a (\text{CH}_3\text{COOH} / \text{CH}_3\text{COO}^-) = 4,75$

Barème

Biologie

1-	1.1	0,5	2-	2.1	0,25	3-	3.1	1	4-	4.1	0,25
	1.2	1,5		2.2	0,25		3.2	0,25		4.2	1
				2.3	1,25		3.3	0,25		4.3	0,75
				2.4	1,75					4.4	0,25
				2.5	0,25					4.5	0,5

Sciences physiques

1-	1.1	0,5	2-	2.1	0,5	3-	3.1	0,5	4-	4.1	0,5
	1.2	0,25		2.2	1		3.2	0,25		4.2	0,25
	1.3	0,5		2.3	0,25		3.3	0,5		4.3	0,5
	1.4	1		2.4	0,5		3.4	0,5			
	1.5	0,5		2.5	0,75		3.5	0,75			
	1.6	0,5									

DOCUMENT 1

Les protéines humaines

- les protéines, ça se mange, non ?

Oui, elles représentent une partie importante de notre alimentation. Nos cellules fabriquent leurs propres protéines, mais elles ne savent pas en synthétiser toutes les briques, c'est-à-dire les 25 acides aminés nécessaires. Nous avons donc impérativement besoin d'un apport extérieur en protéines. Nous les trouvons essentiellement dans la viande et le poisson, mais certaines catégories de légumes, choisis de manière équilibrée, peuvent tout aussi bien en fournir en quantité suffisante. Récemment, les chercheurs ont démontré que le goût typique de la viande est reconnu par des cellules gustatives très sensibles à la présence d'une seule des briques protéiques, l'acide glutamique. Le besoin d'aliments riches en acides aminés s'est révélé tellement essentiel pour notre survie que l'évolution nous a conduits à développer un sens spécialisé pour les reconnaître. Une fois ingérées, les protéines animales ou végétales sont décomposées dans l'estomac. Une partie des acides aminés est ensuite directement fournie aux cellules pour être incorporée dans de nouvelles protéines humaines.

- comment une protéine devient-elle active ?

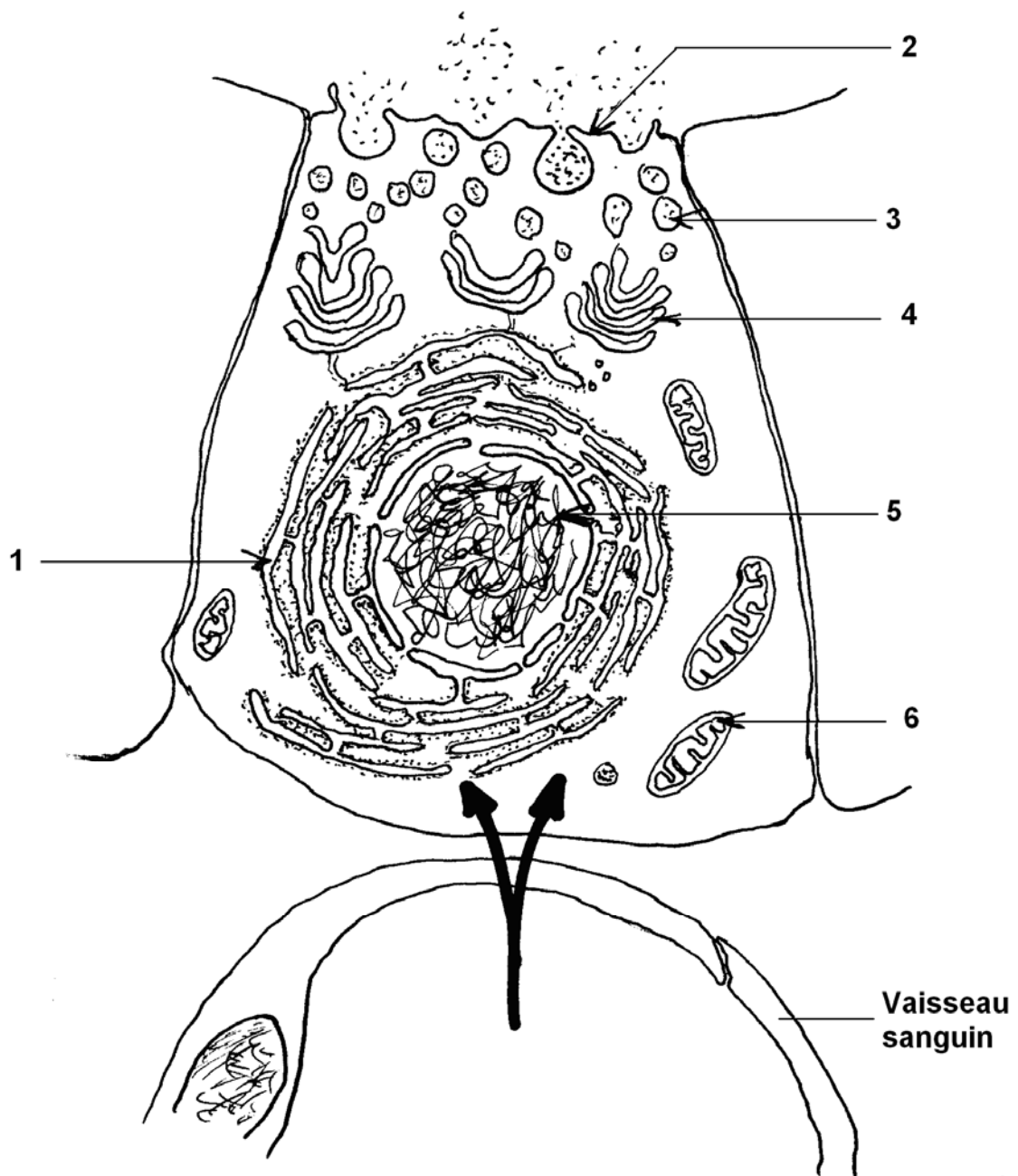
La protéine naissante fabriquée par le ribosome, en sort sous la forme d'une chaîne linéaire, mais elle ne possède pas encore son activité biologique, puisque, pour la plupart des protéines, celle-ci dépend de leur structure spatiale. Pour atteindre sa structure spécifique, la chaîne polypeptidique doit encore se replier dans l'espace. Depuis les années 1970, le repliement des protéines a été le sujet de très nombreuses études : les chercheurs espéraient déchiffrer cet autre « code » qui aurait permis de prédire la structure tridimensionnelle d'une protéine en lisant simplement sa séquence. Malgré tous les efforts accomplis, le problème du repliement des protéines n'est toujours pas résolu. Ce que l'on sait, c'est qu'au cours de son repliement, la chaîne polypeptidique doit approcher une conformation favorable par rapport à l'énergie libre du système, en réalisant un grand nombre de liaisons non covalentes, dites faibles. Dans certains cas, le processus va se dérouler « automatiquement » en moins d'une seconde, mais dans d'autres cas, le repliement sera incorrect et se propagera d'une molécule à une autre, entraînant la formation d'amyloïdes (que l'on observe typiquement chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer). Toutefois, la protéine néosynthétisée va le plus souvent se faire « aider » pour atteindre son repliement fonctionnel en faisant appel à d'autres protéines, les chaperons moléculaires, ou protéines chaperons.

- pour le diagnostic médical, on utilise des enzymes depuis longtemps : par exemple l'uréase permet de déterminer la concentration de l'acide urique dans l'urine pour diagnostiquer la goutte. Plus récemment des anticorps ont été utilisés pour détecter la présence de certaines molécules dans le sang ou les urines et ils peuvent se retrouver jusque dans des produits à utiliser chez soi, par exemple les tests de grossesse. Pour tous ces domaines, les progrès dans le déchiffrement du génome et dans l'analyse du protéome sont porteurs de potentialités thérapeutiques et technologiques considérables.

Extrait de « La Recherche », numéro spécial biologie, septembre 2006

DOCUMENT 2

Cellule sécrétrice



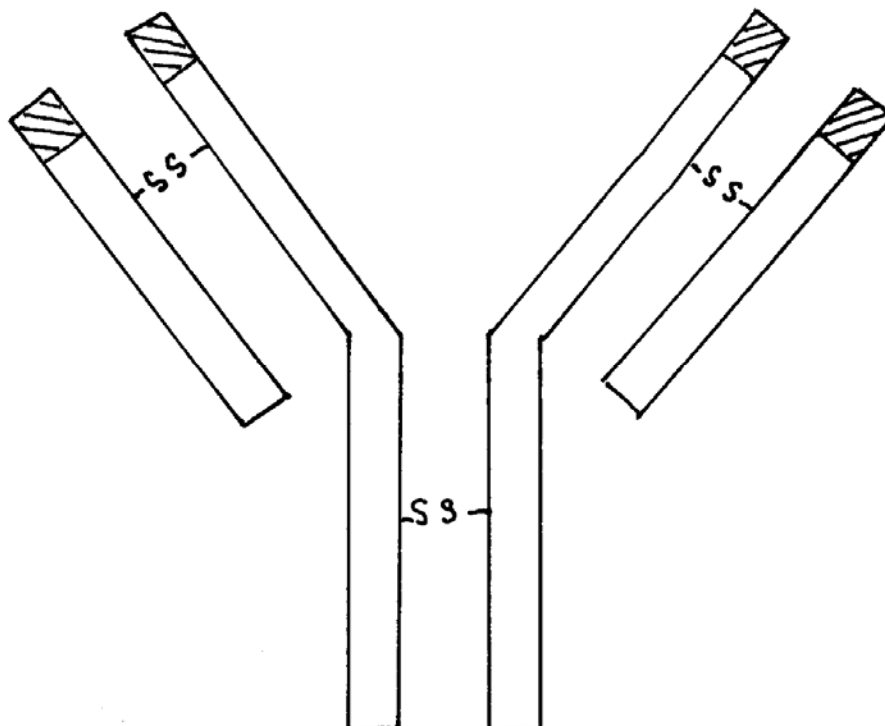
DOCUMENT 3

Code génétique

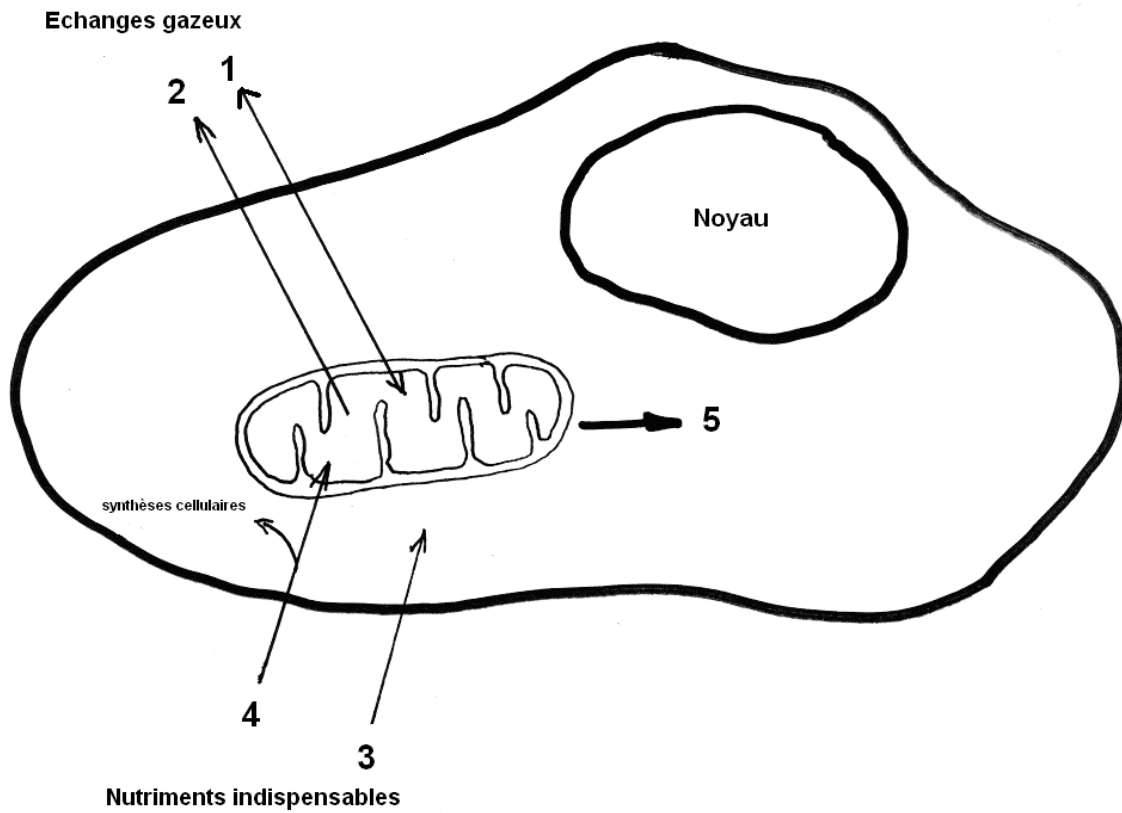
		2 ^{ème} nucléotide					
		U	C	A	G		
1 ^{er} nucléotide	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U	3 ^{ème} nucléotide
		UUC	UCC	UAC	UGC	C	
		UUA	UCA	UAA	UGA	A	
		UUG	UCG	UAG	UGG	G	
	C	CUU	CCU	CAU	CGU	U	
		CUC	CCC	CAC	CGC	C	
		CUA	CCA	CAA	CGA	A	
		CUG	CCG	CAG	CGG	G	
	A	AUU	ACU	AAU	AGU	U	
		AUC	ACC	AAC	AGC	C	
		AUA	ACA	AAA	AGA	A	
		AUG	ACG	AAG	AGG	G	
	G	GUU	GCU	GAU	GGU	U	
		GUC	GCC	GAC	GGC	C	
		GUA	GCA	GAA	GGA	A	
		GUG	GCG	GAG	GGG	G	
	phénylalanine	sérine	tyrosine	cystéine			
	leucine		codon(s)-stop	tryptophane			
	leucine	proline	histidine	arginine			
	méthionine	thréonine	glutamine	sérine			
	valine	alanine	acide aspartique	arginine			
			acide glutamique	glycine			

DOCUMENT 4

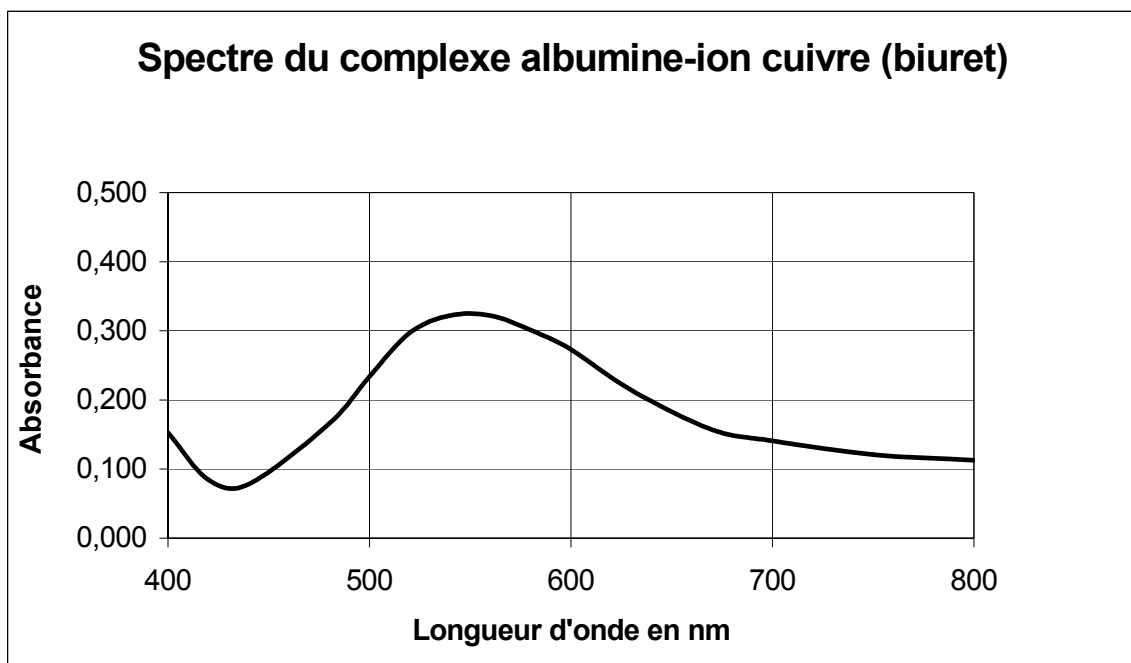
Immunoglobuline G



DOCUMENT 5



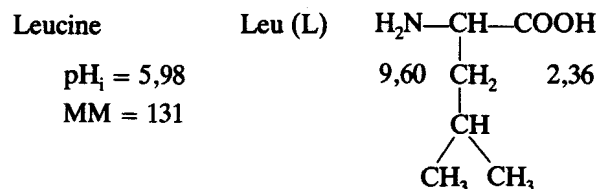
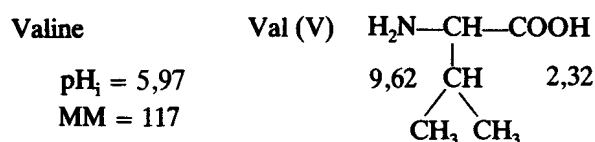
DOCUMENT 6



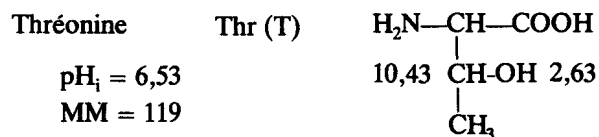
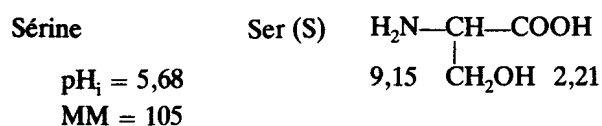
DOCUMENT 7

Quelques acides aminés

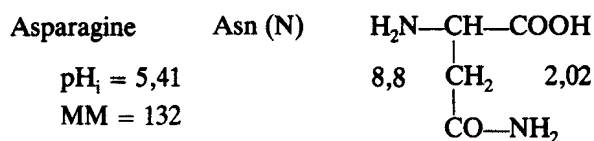
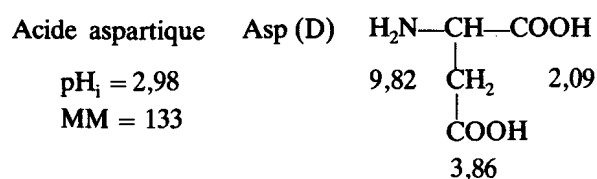
Acides monoaminés monocarboxyliques (sous la formule à droite : pK_{a_1} ; à gauche : pK_{a_2} ; masse molaire MM en g.mol^{-1})



Acides aminés hydroxylés

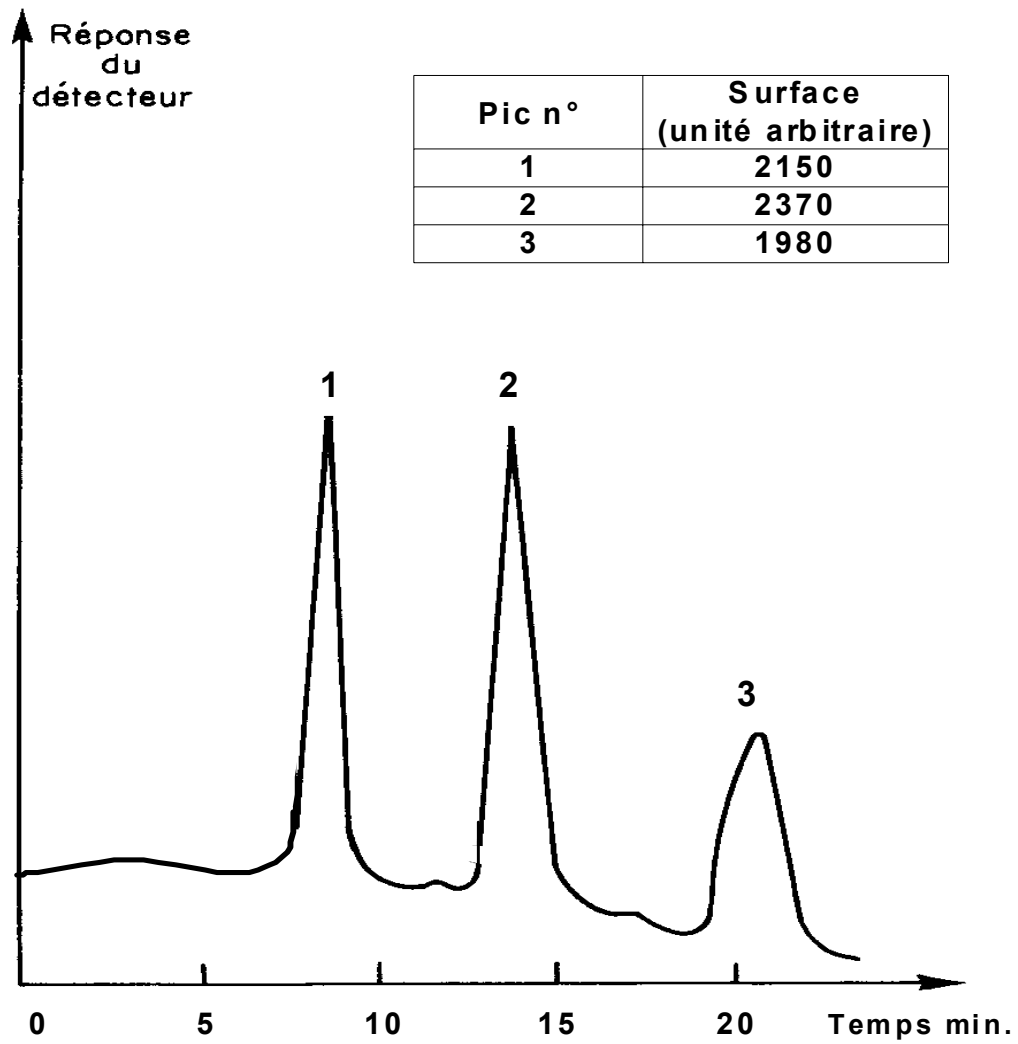


Acides aminés dicarboxyliques et leurs amides



Source : TD de biochimie – Coutouly, Klein, Meyer – Doin 2002

DOCUMENT 8



Le pic 1 correspond à un témoin interne de concentration connue et le pic 2 correspond au peptide étudié.

MEX
Nom :
(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

Date de naissance :

19

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

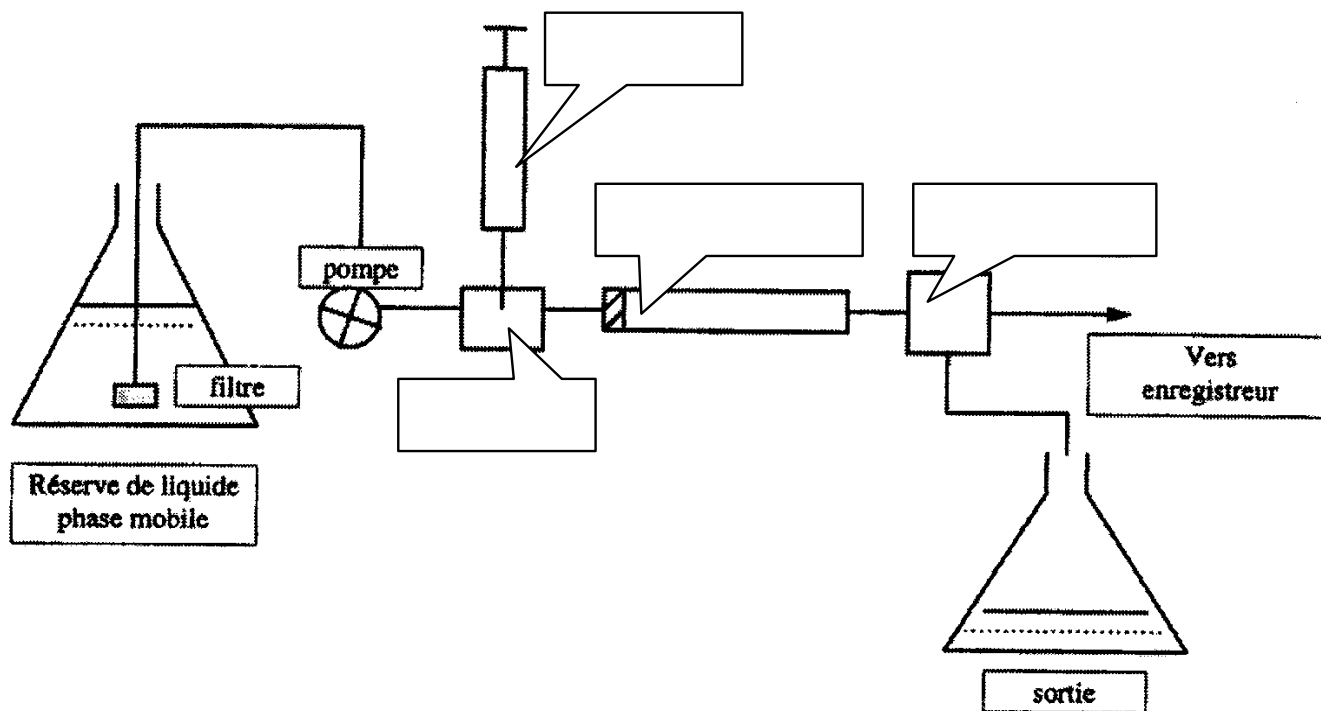
Date :

N° ne rien inscrire

ANNEXE A (à compléter et à rendre avec la copie)

N° ne rien inscrire

Schéma de principe d'un appareil HPLC



EXAMEN

Spécialité ou Option :

ÉPREUVE :

Date de naissance :

Centre d'épreuve :

Date :



N° du sujet choisi (1)
ou repère de l'épreuve

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire