

# BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOTECHNOLOGIES

## SCIENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

SESSION 2020

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2 h

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.

L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue » est autorisé

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 12 pages, numérotées de 1 sur 12 à 12 sur 12.

Les données numériques sont indiquées dans chaque exercice.

La correction de l'épreuve tiendra le plus grand compte de la clarté dans la conduite de la résolution et dans la rédaction de l'énoncé des lois, de la compatibilité de la précision des résultats numériques avec celle des données de l'énoncé (nombre de chiffres significatifs), du soin apporté aux représentations graphiques éventuelles et de la qualité de la langue française dans son emploi scientifique.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2020
Sciences physiques et chimiques	BOE1SC	Page : 1/12

La cristallographie des protéines (et plus généralement la bio-cristallographie) est devenue un outil incontournable de la détermination des structures en trois dimensions (3D) des protéines (et des autres macromolécules biologiques). Elle se pratique couramment dans des centres de rayonnement synchrotron comme SOLEIL situé en région parisienne.

Ces centres de recherche (environ une cinquantaine dans le monde) produisent et utilisent la lumière émise par des électrons de grande énergie. Cette lumière, appelée rayonnement synchrotron, couvre un large spectre continu allant du début du domaine de l'infrarouge à la fin du domaine des rayons X.

La cristallographie des protéines nécessite la sélection d'une longueur d'onde adaptée et utilise le phénomène de diffraction.

Le sujet comprend trois parties portant sur :

- l'étude du phénomène de diffraction et des réseaux d'un monochromateur ;
- le dosage pH-métrique, et le dosage conductimétrique d'un acide  $\alpha$ -aminé ;
- la chimie des acides  $\alpha$ -aminés.

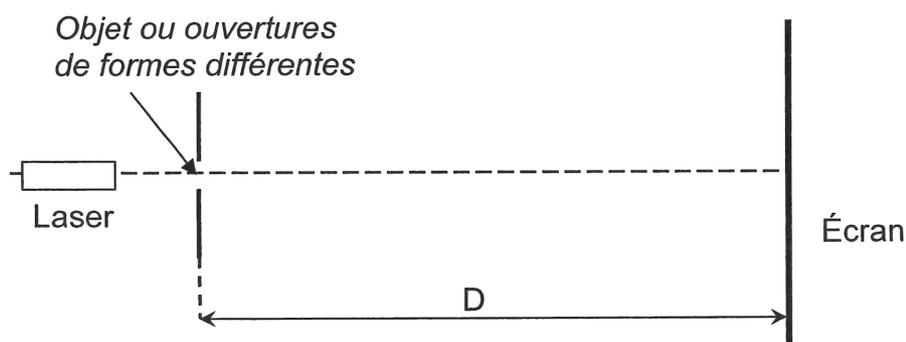
## I. DIFFRACTION ET SÉLECTION D'UNE LONGUEUR D'ONDE (14 points)

Les deux parties sont indépendantes.

### 1. Du phénomène de diffraction à la structure d'une protéine

#### 1.1. Diffraction à travers une fente

En salle de travaux pratiques, on réalise une expérience de diffraction à travers une fente à l'aide du dispositif expérimental schématisé ci-dessous :



La relation donnant la largeur  $d$  de la tache centrale de diffraction à travers une fente de largeur  $a$  est :

$$d = \frac{2 \lambda \cdot D}{a}$$

Lors de cette expérience, on utilise un laser émettant une radiation de longueur d'onde  $\lambda = 635 \text{ nm}$  et une fente de largeur  $a$  inconnue. L'écran est placé à une distance  $D = 1,0 \text{ m}$  de la fente.

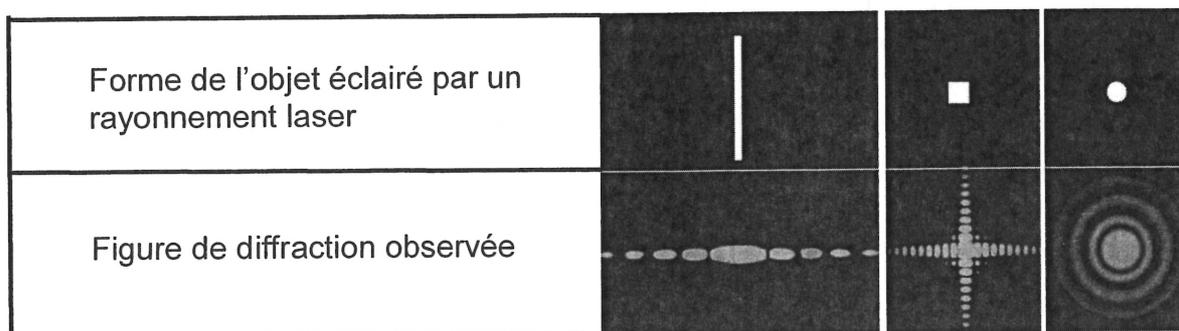
1.1.1. La largeur  $d$  de la tache centrale de diffraction est de  $2,1 \text{ cm}$ .

Déterminer la valeur de la largeur  $a$  de la fente utilisée pour réaliser l'expérience.

$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$

1.1.2. Indiquer comment évolue la largeur  $d$  de la tache de diffraction lorsque la largeur  $a$  de la fente augmente. Justifier la réponse.

1.2. Le même dispositif expérimental est utilisé pour observer les figures de diffraction obtenues avec différents objets. Le document suivant montre les figures obtenues :



Source : d'après Mallette pédagogique « Optique » synchrotron SOLEIL <https://www.synchrotron-soleil.fr>

Ces figures de diffraction dépendent d'au moins deux caractéristiques de l'objet interposé sur le trajet de la lumière.

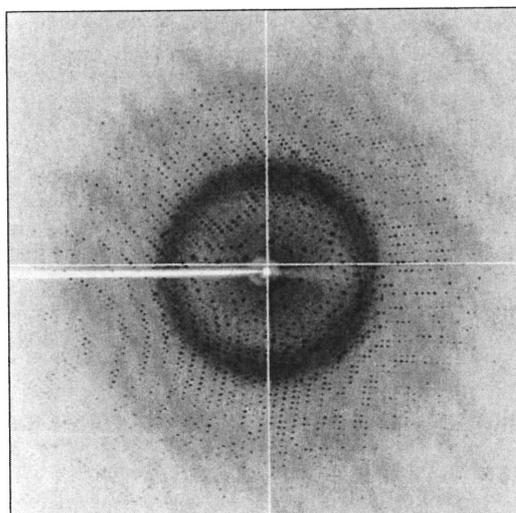
Citer ces deux caractéristiques en vous aidant de la question 1.1.2. et du document ci-dessus.

### 1.3. Application à la cristallographie des protéines

#### Document 1 :

Afin d'obtenir des figures de diffraction exploitables et pouvoir déterminer la structure 3D d'une protéine, une molécule unique n'est pas suffisante, on doit disposer d'un cristal de protéines de bonne qualité, d'où le nom de « cristallographie des protéines ». Dans ces cristaux, les protéines sont empilées de façon identique dans les trois directions de l'espace. Leur obtention peut parfois demander plusieurs mois.

Figure de diffraction d'un cristal de protéine :



Source : d'après synchrotron SOLEIL <https://www.synchrotron-soleil.fr>

#### Document 2 :

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2020
Sciences physiques et chimiques	BOE1SC	Page : 3/12

Pour que le phénomène de diffraction de la lumière par un objet soit correctement observable, la longueur d'onde de la lumière utilisée doit être du même ordre de grandeur que les dimensions de l'objet ou des détails de l'objet étudié.

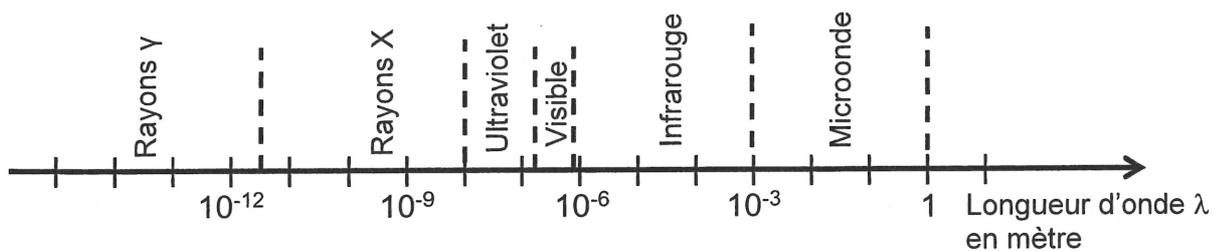
Ordres de grandeur des dimensions de quelques « objets de la chimie et de la biochimie » :

- diamètre d'un atome :  $10^{-10}$  m ;
- dimension d'une protéine en général de  $10^{-9}$  m à  $10^{-10}$  m.

Les clichés de diffraction des cristaux de protéine doivent permettre d'obtenir les distances entre les atomes afin de remonter aux différents acides aminés et à leur enchaînement dans la protéine.

### Document 3 :

Différents domaines des ondes électromagnétiques :



Justifier, à partir des documents 1, 2, 3, l'utilisation des rayons X pour obtenir des clichés de diffraction exploitables et ainsi pouvoir remonter à la structure des protéines.

## 2. Comment sélectionner une longueur d'onde ?

L'élément dispersif du monochromateur servant à sélectionner des rayons X pour la cristallographie des protéines est compliqué à modéliser. Pour simplifier, cette partie portera sur l'étude du réseau d'un monochromateur travaillant dans le domaine des rayons ultraviolets.

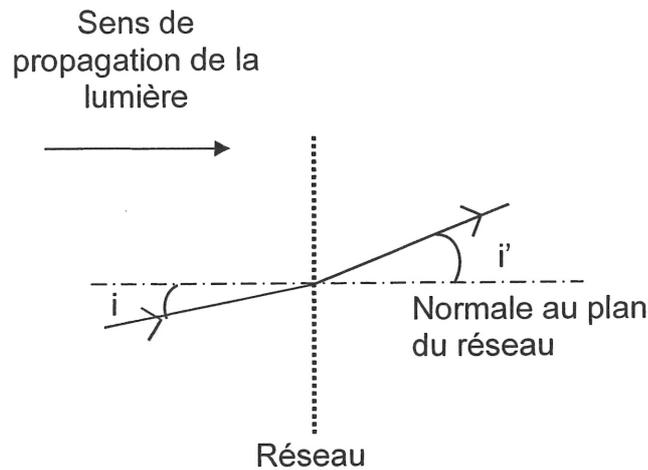
En fonction des besoins, le monochromateur étudié peut utiliser plusieurs réseaux différents :

- réseau 1 : 400 traits par millimètre ;
- réseau 2 : 2 400 traits par millimètre ;
- réseau 3 : 4 500 traits par millimètre.

### Données :

Dans le domaine des rayons ultraviolets on utilise des réseaux par réflexion, mais par souci de simplification, le raisonnement se fera ici avec des réseaux par transmission.

- formule des réseaux par transmission :  $\sin i' - \sin i = k \cdot n \cdot \lambda$  ;
- $k$  : ordre de diffraction ;
- $n$  : nombre de traits par mètre ;
- $\lambda$  : longueur d'onde en mètre.



- énergie d'un photon :  $E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$  ;
- constante de Planck :  $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$  ;
- célérité de la lumière dans le vide  $c = 3,00 \times 10^8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  ;
- électron-volt :  $1 \text{ eV} = 1,60 \times 10^{-19} \text{ J}$

On se placera en incidence normale ( $i = 0^\circ$ ).

Le réglage de la source de lumière permet l'émission de photons d'énergie comprise entre  $E_1 = 13,5 \text{ eV}$  et  $E_2 = 14,5 \text{ eV}$ .

2.1. Montrer que les longueurs d'onde correspondantes à ces énergies sont comprises entre  $\lambda_1 = 92,1 \text{ nm}$  et  $\lambda_2 = 85,7 \text{ nm}$ .

2.2. Le réseau utilisé comporte 2 400 traits par millimètre (réseau 2).  
Pour l'ordre  $k = 1$ , déterminer les angles d'émergence, en degré, pour chacune des deux longueurs d'onde  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ .

2.3. En déduire que l'écart angulaire correspondant est de  $0,9^\circ$ .

2.4. En utilisant le réseau 3 on obtient un écart angulaire de  $1,8^\circ$ . Donner l'intérêt d'utiliser le réseau 3 plutôt que le réseau 2 dans le monochromateur.

2.5. Pour sélectionner une longueur d'onde dans le domaine des rayons X de haute énergie, il faudrait utiliser des réseaux dont le nombre de traits par millimètre est beaucoup plus grand. Justifier cette affirmation.

Un tel réseau est techniquement irréalisable, ceci explique que l'élément dispersif du monochromateur n'est pas un réseau pour ce domaine de longueur d'onde, mais un cristal de silicium.

## II. LA GLYCINE (18 points)

Les trois parties sont indépendantes.

La glycine est un acide  $\alpha$ -aminé qui est produit naturellement par l'organisme, et qui intervient dans la formation de protéines.

### 1. Étude de la molécule de glycine

Données :

Les numéros atomiques de différents atomes sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Atome	H	C	N	O
Numéro atomique	1	6	7	8

La glycine pure est sous la forme d'un solide blanc de formule semi-développée :  
 $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

1.1. Représenter la formule de Lewis de cette molécule.

1.2. En utilisant la méthode VSEPR (ou règle de Gillespie), donner la géométrie autour de l'atome d'azote.

1.3. En solution aqueuse la glycine se trouve sous la forme de zwitterion (ou amphion) noté  $\text{AH}^{+-}(\text{aq})$ . Représenter la formule semi-développée de ce zwitterion.

### 2. La glycine en solution aqueuse

Dans cette partie, le zwitterion sera toujours noté  $\text{AH}^{+-}(\text{aq})$ .

Données :

Toutes les valeurs des grandeurs ci-dessous sont données à 25 °C.

Deux couples acide / base sont associés à la glycine dont les  $\text{pK}_A$  sont :

- couple  $\text{AH}_2^+(\text{aq}) / \text{AH}^{+-}(\text{aq})$  :  $\text{pK}_{A1} = 2,3$  ;
- couple  $\text{AH}^{+-}(\text{aq}) / \text{A}^-(\text{aq})$  :  $\text{pK}_{A2} = 9,6$  ;
- constante d'autoprotolyse de l'eau ou produit ionique de l'eau :  $K_e = 1,00 \times 10^{-14}$ .

2.1. Représenter sur un axe de pH les domaines de prédominance des différentes formes acido-basiques de la glycine.

2.2. Montrer par un calcul que le pH d'une solution aqueuse de glycine est égal à 6,0.

### 3. Dosage de la forme acide de la glycine $\text{AH}_2^+(\text{aq})$

On réalise le dosage d'une solution aqueuse contenant la forme acide de la glycine  $\text{AH}_2^+(\text{aq})$  par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou soude) ( $\text{Na}^+(\text{aq}) + \text{HO}^-(\text{aq})$ ).

Pour cela, on prélève un volume  $V_A = 10,0 \text{ mL}$  de la solution aqueuse contenant la forme acide de la glycine  $\text{AH}_2^+(\text{aq})$  et on y ajoute un volume conséquent d'eau distillée pour faciliter le titrage.

Le titrage est réalisé avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou soude) de concentration molaire  $C_B = 1,00 \times 10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  et est suivi par pH-métrie et par conductimétrie.

Les courbes de titrage sont fournies en **ANNEXE 1 page 10 à rendre avec la copie**.

3.1. On s'intéresse à la première équivalence.

3.1.1. Écrire l'équation de la réaction support du dosage pour cette première équivalence.

3.1.2. Exprimer la constante K de cette réaction, puis donner sa valeur.

3.1.3. En déduire que cette réaction peut effectivement être utilisée pour un dosage. Justifier.

3.1.4. En utilisant l'une ou l'autre des courbes en **ANNEXE 1 page 10 à rendre avec la copie**, déterminer la concentration de la solution en  $\text{AH}_2^+(\text{aq})$ . Expliquer la démarche utilisée.

3.1.5. Indiquer l'espèce chimique majoritaire à la première équivalence. Justifier.

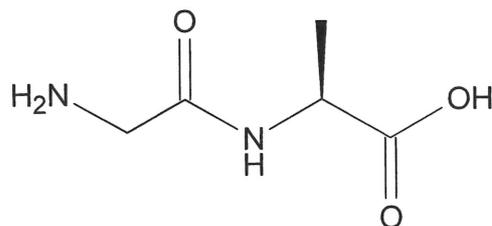
3.2. Entre le graphe représentant le pH en fonction de  $V_B$  et celui donnant la conductance G en fonction de  $V_B$  en **ANNEXE 1 page 10 à rendre avec la copie**, indiquer le graphe qu'il est préférable de choisir pour déterminer la seconde équivalence. Justifier brièvement.

### III. LA CHIMIE ORGANIQUE AUTOUR DES ACIDES $\alpha$ -AMINÉS (18 points)

La première synthèse d'une hormone a été réussie en 1953. C'est celle de l'ocytocine, un peptide composé de neuf acides aminés. Elle agit principalement sur les muscles lisses de l'utérus et des glandes mammaires et joue un rôle dans le déclenchement de l'accouchement.

Dans cette partie seulement deux acides  $\alpha$ -aminés seront associés.

On souhaite former le dipeptide suivant à partir de la glycine et de l'alanine :



On étudiera la synthèse de la glycine, la molécule d'alanine, et la formation de la liaison peptidique entre la glycine et l'alanine. Les trois parties sont indépendantes.

## 1. Synthèse de la glycine

La glycine a pour formule semi-développée :  $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

L'une des voies de synthèse de la glycine fait intervenir la réaction entre l'ammoniac  $\text{NH}_3$  et l'acide chloroéthanoïque  $\text{CH}_2\text{Cl} - \text{COOH}$ .

1.1. Sur l'**ANNEXE 2 page 10 à rendre avec la copie**, compléter le mécanisme de la réaction en indiquant par des flèches courbes les déplacements des doublets d'électrons.

1.2. Écrire l'équation de cette réaction.

1.3. Préciser s'il s'agit-il d'une réaction d'addition, de substitution nucléophile, de substitution électrophile, d'élimination, d'oxydation ou de réduction.

## 2. La molécule d'alanine

Données :

Les numéros atomiques de différents atomes sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Atome	H	C	N	O
Numéro atomique	1	6	7	8

L'alanine a pour formule  $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{COOH}$

2.1.

2.1.1. Indiquer le nombre de stéréoisomères que possède cette molécule. Justifier.

2.1.2. Ces stéréoisomères sont des énantiomères. Justifier.

2.2. Donner la représentation de Fischer de la molécule de (L) - alanine. Expliquer brièvement cette représentation.

2.3. La molécule de (L) - alanine est de configuration S. Donner sa représentation de Cram. Expliquer brièvement les règles utilisées pour déterminer cette configuration.

2.4. Interprétation du spectre RMN de la molécule de (L) - alanine.

Le spectre RMN de la molécule de (L) - alanine est donné en **ANNEXE 4 page 11** et la table des déplacements chimiques en **ANNEXE 5 page 12**.

Les spectres RMN des acides  $\alpha$ -aminés sont réalisés en présence d'une petite quantité d'eau lourde  $\text{D}_2\text{O}$  pour supprimer les signaux relatifs aux noyaux d'hydrogène des groupes

-  $\text{NH}_2$  et -  $\text{COOH}$  (D représente l'isotope de l'hydrogène  $^2_1\text{H}$  qui n'est pas actif en RMN).

Tout se passe comme si ces atomes d'hydrogène n'étaient pas présents et l'interprétation du spectre s'en trouve simplifiée.

Attribuer les deux groupes de signaux observés sur le spectre RMN de la molécule de L - Alanine, aux différents noyaux d'hydrogène de la molécule. Expliquer la multiplicité des signaux.

### 3. Formation de la liaison peptidique entre la glycine et l'alanine

3.1. Sur l'annexe 3 page 10 à rendre avec la copie, entourer la liaison peptidique.

3.2. Écrire en utilisant les formules semi-développées, l'équation de la réaction qui conduit à la formation de ce dipeptide à partir de la glycine et de l'alanine.

3.3. Le produit de la réaction n'est malheureusement pas unique si on mélange sans précautions particulières les deux acides  $\alpha$ -aminés. Trois autres dipeptides peuvent également être formés.

Donner la formule semi-développée de l'un d'entre eux.

3.4. Pour être certain de n'avoir que le produit souhaité, il faut protéger (bloquer) l'une des fonctions sur chacun des acides  $\alpha$ -aminés puis les débloquent (libérer) lorsque la réaction souhaitée est réalisée. Seule sera étudiée la protection du groupe carboxyle de l'alanine en utilisant une réaction qui fait intervenir ce groupement carboxyle. On fait donc réagir l'alanine avec l'alcool benzylique de formule  $C_6H_5 - CH_2 - OH$ .

3.4.1. Écrire l'équation de cette réaction.

3.4.2. Donner le nom de cette réaction.

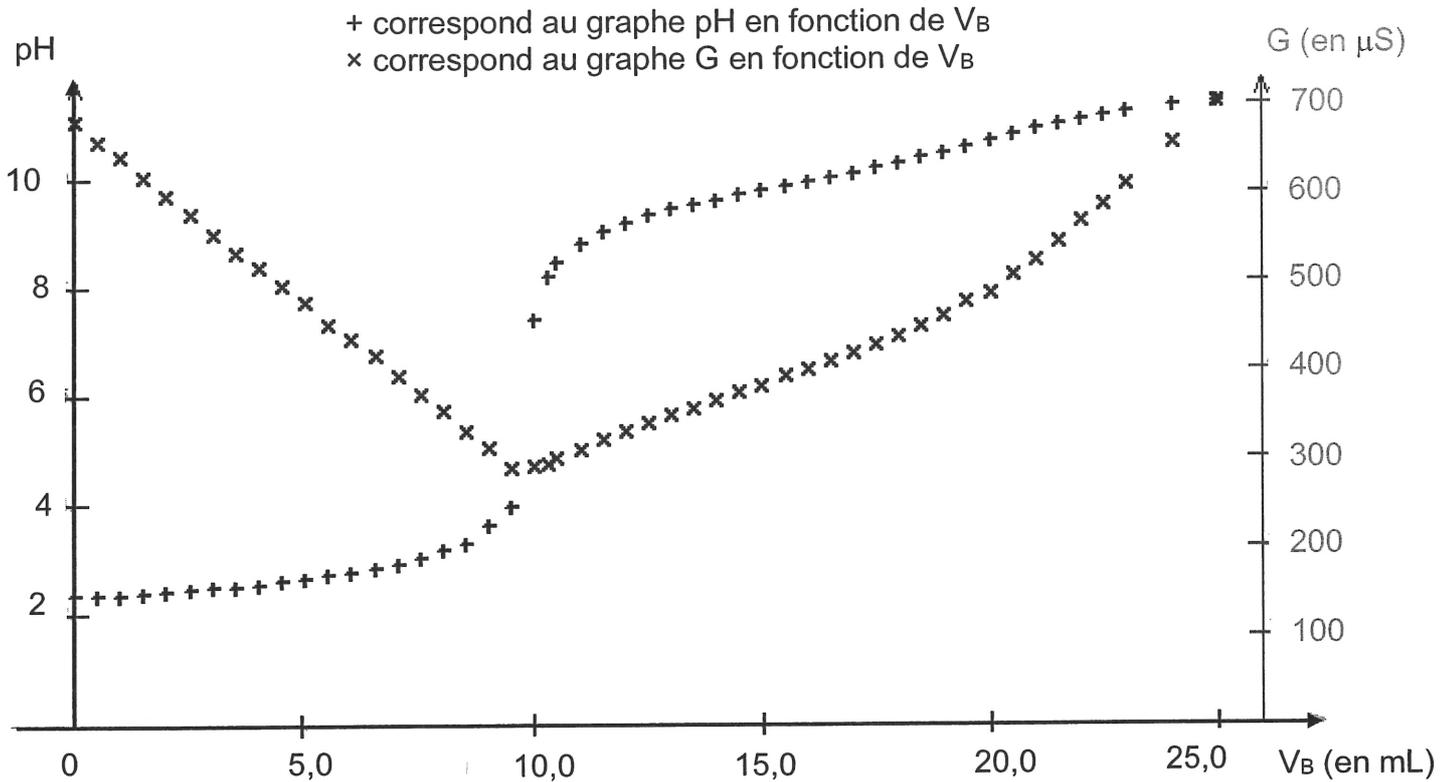
3.4.3. Citer deux des caractéristiques de cette réaction.

3.4.4. Donner le nom de la fonction à bloquer sur la glycine pour être certain d'obtenir le dipeptide souhaité.

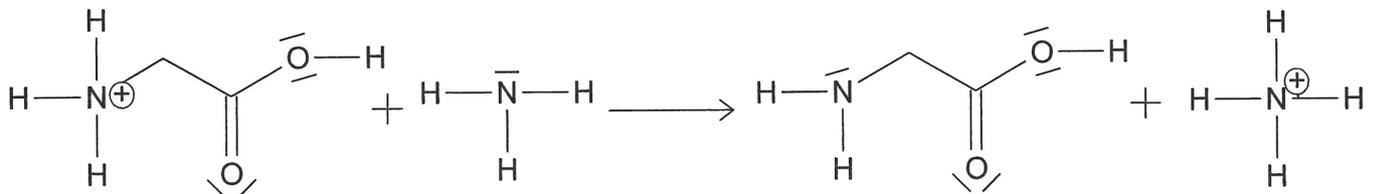
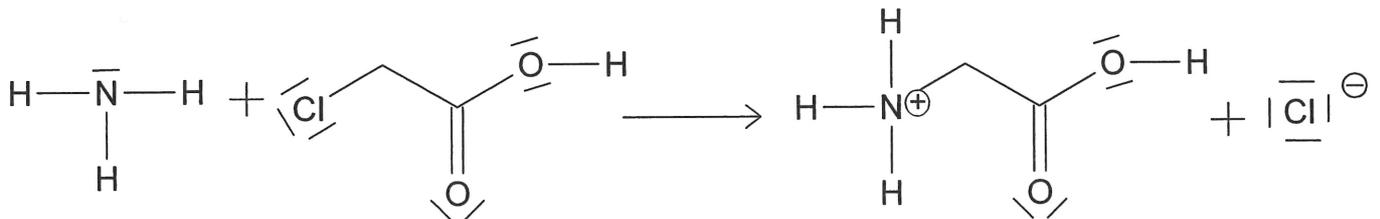


## ANNEXE 1 À RENDRE AVEC LA COPIE

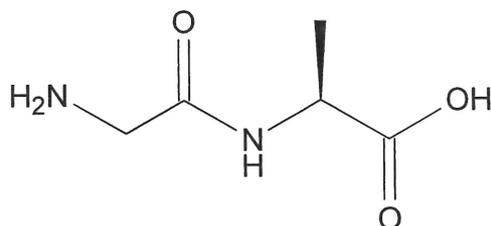
Courbes expérimentales de titrage pH-métrique et conductimétrique de la forme acide de la glycine  $\text{AH}_2^+(\text{aq})$  par une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou soude) de concentration molaire  $C_B = 1,00 \times 10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .



## ANNEXE 2 À RENDRE AVEC LA COPIE



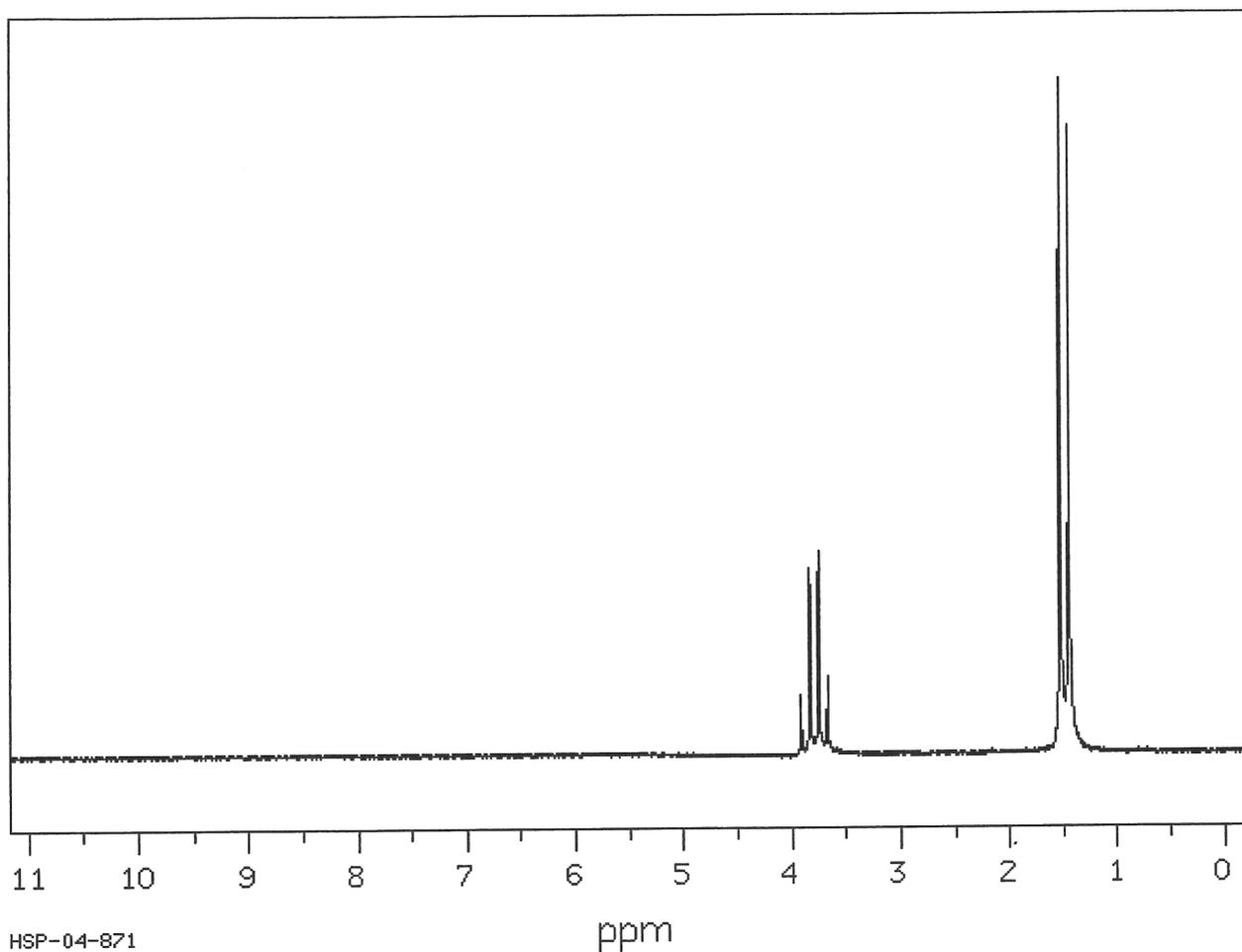
## ANNEXE 3 À RENDRE AVEC LA COPIE





## ANNEXE 4

Le spectre RMN de la molécule de (L)-alanine est donné ci-dessous.





## ANNEXE 5

**Table des déplacements chimiques dans le TMS en RMN <sup>1</sup>H**

