

Activité 10 : Le fonctionnement des enzymes

Les protéines enzymatiques telles que l'amylase sont des catalyseurs biologiques: elles accélèrent la vitesse d'une réaction (transformation d'un substrat en un produit) dans des conditions compatibles avec la vie et en restant inchangées à la fin de la réaction. Chaque cellule contient des milliers d'enzymes qui catalysent, en permanence et de façon simultanée, des milliers de réactions chimiques différentes. Compte tenu de cette diversité d'enzymes, les parents de l'enfant (cas clinique de l'activité précédente) s'étonnent que l'inactivation d'une seule enzyme puisse empêcher l'hydrolyse de l'amidon et induire son accumulation intestinale.

Utilisez et exploitez les ressources dont vous disposez pour rédiger un compte rendu, destiné aux parents, expliquant les mécanismes et les causes possibles de l'inactivation d'une enzyme; recherchez parmi ces causes possibles celle qui est effective chez l'enfant.

Votre compte rendu sera accompagné de captures d'écran de vos modélisations moléculaires judicieusement présentées et légendées.

A: Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant tester l'hypothèse selon laquelle une enzyme donnée serait spécifique d'un substrat donné et / ou d'une action donnée. Analysez les résultats fournis.

Matériel: Empois d'amidon. Solution d'ovalbumine (protéine du blanc d'oeuf). 2 Enzymes: 1 solution d'amylase. 1 solution de pepsine. Lugol (eau iodée). Liqueur de Fehling. 1 portoir. 6 tubes à essais. 6 verres de montres. 1 pipette de 1 ml. 1 pipette de 10 ml 1 Bain Marie . Bec benzène.

L'ovalbumine est la protéine du blanc d'œuf. Une solution d'ovalbumine présente une certaine opacité. Si l'ovalbumine est hydrolysée (rupture des liaisons péptidiques qui unissent les acides aminés , ce qui libère les acides aminés de la protéine), la solution devient translucide.

Ce que je fais:

Comment je le fais:

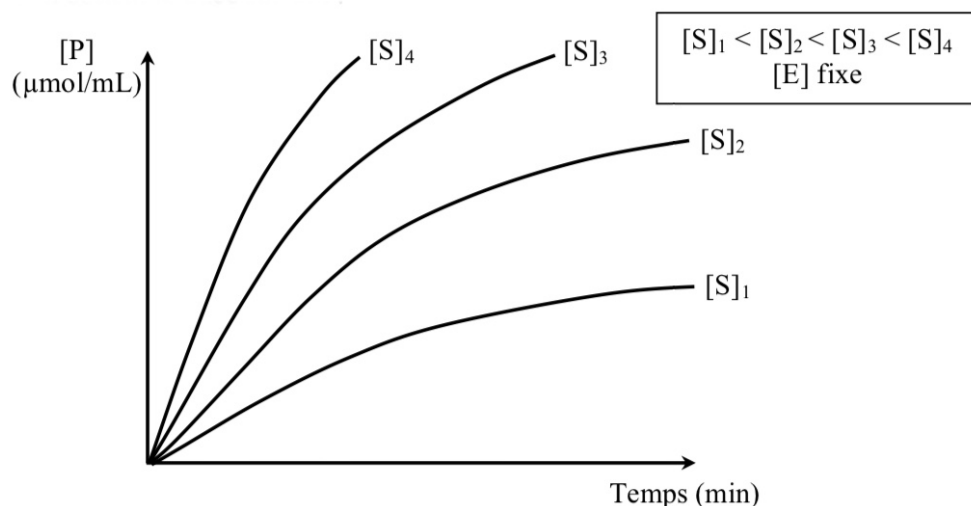
	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6
Amidon						
Ovalbumine						
Amylase						
Pepsine						
Eau distillée						

Résultats attendus:

B: Expliquer la spécificité des enzymes pour leur substrat.

L'étude de la cinétique d'une réaction enzymatique permet de mesurer la quantité de produit formé (ou la quantité de substrat consommé) en un temps donné et donc de mesurer la vitesse de la réaction. C'est au début de la réaction que la vitesse est la plus rapide et est assimilable à une droite.

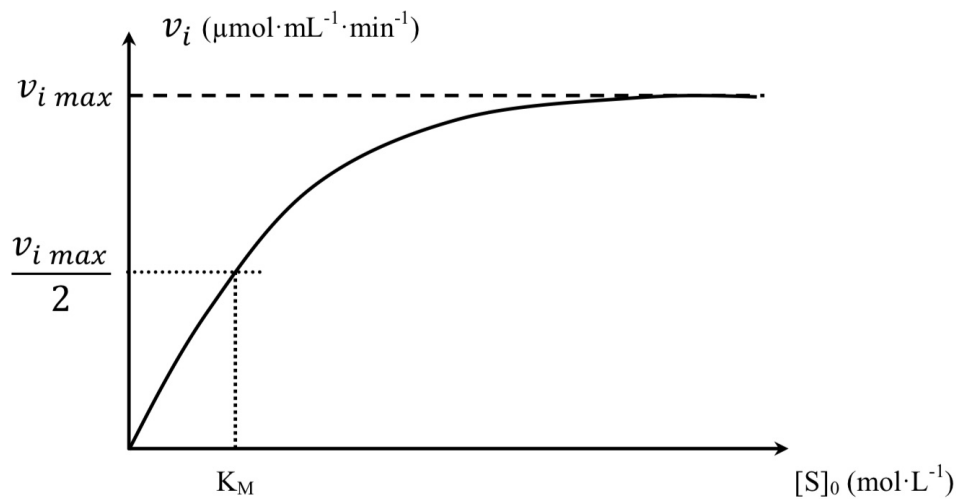
Influence de la concentration en substrat sur la cinétique d'apparition du produit:



Si on réalise successivement plusieurs cinétiques avec la même concentration initiale en enzyme, au même pH et à la même température mais avec des concentrations en substrat croissantes, on obtient le tracé ci-contre.

Plus la concentration en substrat est grande, plus la vitesse initiale est importante mais pour des concentrations en substrat saturantes, la vitesse initiale atteint une valeur maximale appelée vitesse initiale maximale et notée V_{max} .

Évolution de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat:



On peut représenter la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en substrat pour une concentration en enzyme fixe.

On montre ainsi que la vitesse initiale croît de moins en moins vite lorsque la concentration en substrat augmente. La vitesse de la réaction atteint une vitesse maximale à partir d'une certaine concentration en substrat. Ceci suggère que au delà d'une certaine concentration en substrat, toutes les molécules d'enzymes sont occupées et la vitesse ne peut plus augmenter. Il y aurait donc une liaison temporaire entre l'enzyme et son substrat.

Utilisez le logiciel Rastop (Fichier amylase_amidon.pdb) pour réaliser une ou des modélisations moléculaires judicieusement présentées et légendées afin de tester l'hypothèse selon laquelle la catalyse enzymatique reposerait sur la formation d'une liaison temporaire entre l'enzyme et son substrat (formation d'un complexe enzyme - substrat)

Attention : dans ce fichier, l'amidon n'a pas de nom de chaîne, mais seulement un nom de résidu : GLC705

C: Recherchez les causes possibles d'une inactivation enzymatique.

Données relatives à l'enfant malade:

Température	pH intestinal	Séquence amylase	Modèle moléculaire amylase
37°C	6,3	Fichier Anagene: amylasep.edi	Fichier Rastop: amylase_pancreatique_enfant.pdb

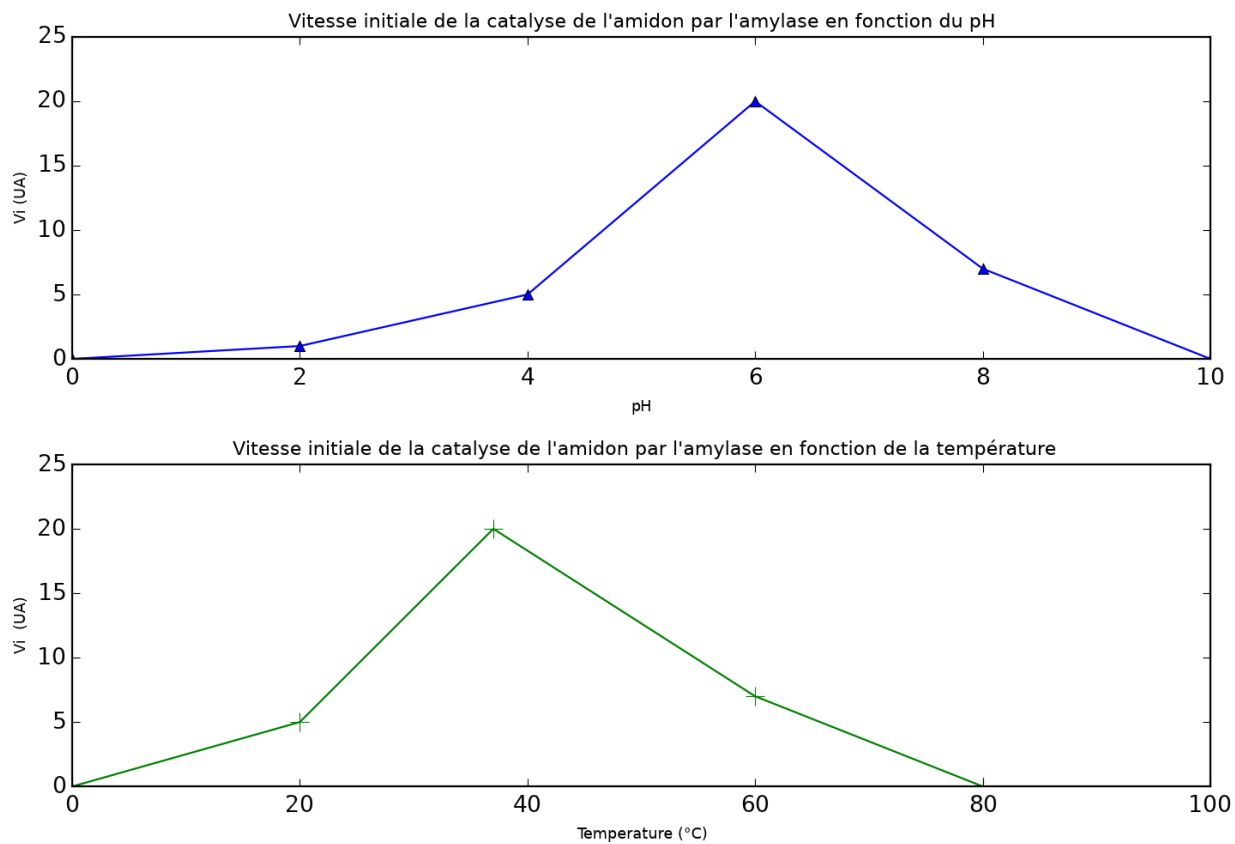
Aide Rastop:

En utilisant les commandes **restrict**, ou **restrict within** dans l'éditeur de commande il est possible de sélectionner une partie isolée d'une molécule.

Exemple : Pour afficher uniquement les atomes situés dans un rayon de 3,5 Å autour de la valine 6 de la chaîne H: - Sélectionner toute la molécule (icône carrée bleu turquoise) - Cliquer sur **Atomes**, **Colorer par**, **CPK** Puis sur **Editer**, **Commande**. Taper: **restrict within** (3.5,6:h) Cliquer sur **OK**. Afficher en sphères.

Attention : si le rayon choisi est un nombre entier, toujours le taper suivi d'un point et d'un zéro (3.0,6:h)

On étudie la cinétique de la catalyse de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase en fonction du pH et de la température.



Exploitez les ressources ci-dessus pour rechercher les causes possibles de l'inactivation de l'amylase chez l'enfant.

Une représentation moléculaire (avec Rastop) et une identification des acides aminés de l'enzyme en contact avec le substrat est attendue.