

TP 2 : Propriétés des enzymes et étude du complexe enzyme substrat

Compétence travaillée : Rédiger un compte rendu

Situation initiale : Les enzymes sont des biocatalyseurs. De très nombreuses réactions chimiques se déroulent dans l'organisme.

Questions : Une enzyme peut-elle catalyser différentes réactions et peut-elle agir sur différents substrats ? Quelles sont les propriétés structurales de ces protéines particulières ?

Matériel : pepsine, amylase, empois d'amidon, solution d'ovalbumine, eau iodée, HCl, papier pH, pipette plastique, 6 tubes à essai, bain marie, eau distillée, pipette de 5mL, stylo, pipette de 1 mL (ou autre), Rastop avec fichiers CPASUB, site seul et mut_cpasub.

I – Comparaison de l'activité de deux enzymes digestives sur deux substrats

1 – Présentation

La pepsine est une enzyme gastrique qui catalyse l'hydrolyse des protéines. Son pH et sa température d'action optimale sont respectivement de 2 et 37°C.

Quant à l'amylase, on ne la présente plus !!!!

On réalise 6 tubes à essai contenant chacun 5 mL de substrat et 1 mL d'enzyme ou d'eau distillée. On place ces tubes à 37°C pendant 20 minutes. (penser à abaisser le pH des tubes avec pepsine). Après 20 minutes, observer l'aspect des tubes 1 à 3 et ajouter une goutte d'eau iodée dans les tubes 4 à 6 et observer.

Contenu des tubes

Tube	Contenu
1	Ovalbumine + pepsine
2	Ovalbumine + amylase
3	Ovalbumine + eau distillée
4	Amidon + pepsine
5	Amidon + amylase
6	Amidon + eau distillée

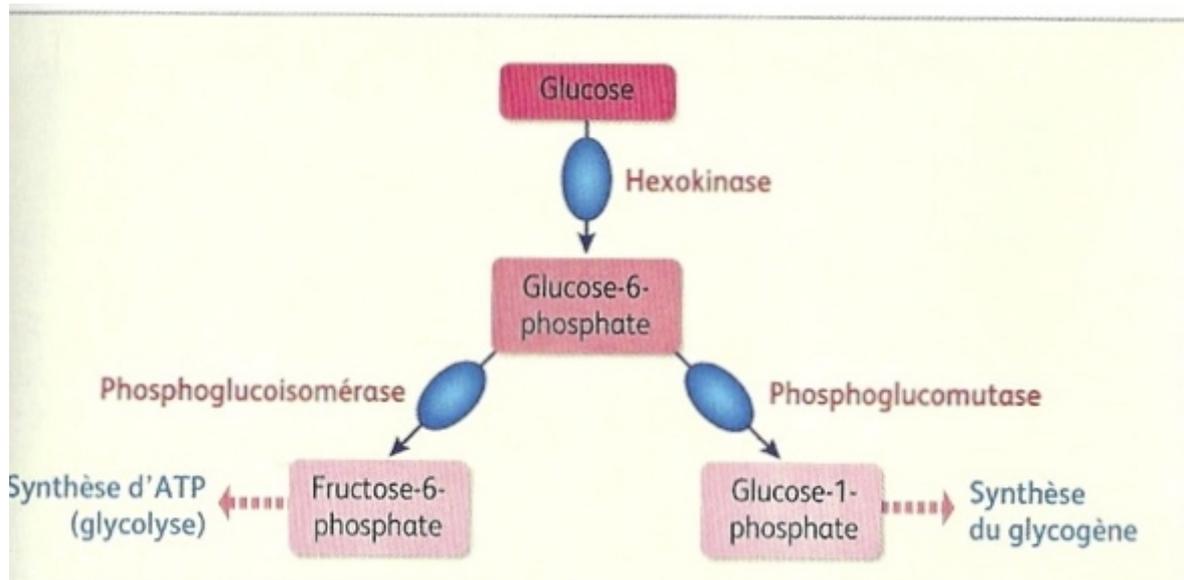
2 – Interprétations

- A quoi servent les tubes 3 et 6 ?
- Interpréter les résultats
- Quelle est la propriété des enzymes mise en évidence ici ?

II – La spécificité d'action

A partir de l'étude détaillée du document ci-dessous, définir ce qu'est la spécificité d'action des enzymes.

Dans les cellules, le glucose est rapidement transformé en glucose-6-phosphate. Le G6P est le substrat de deux enzymes : la phosphoglucomutase et la phosphoglucoisomérase.



Expérience :

On dispose chez la levure de deux souches, *pgi1* et *pgm1/2*, mutées pour les gènes codant respectivement la phosphoglucoisomérase et la phosphoglucomutase.

On s'intéresse ici à la capacité des deux souches mutantes à réaliser les différentes réactions chimiques de transformation du glucose 6P.

Molécules	Concentration intracellulaire (en nmol/mg de matière sèche)		
	Souche sauvage	Mutant <i>pgi1</i>	Mutant <i>pgm 1/2</i>
Glucose 6P initial	123	123	123
Glucose 6P	2.07	76.2	75,7
Fructose 6P	0.43	<0.1	0.43
ATP	5.3	0.87	5.3
Glucose 1P	0.7	0.9	0.2
Glycogène	7.2	8.5	0.7

Concentrations intracellulaires de quelques métabolites chez une souche de levure sauvage, chez la souche *pgi1* et chez la souche *pgm1/2*

Emettre une hypothèse pour expliquer les spécificités d'action (II) et de substrat (I)

III – Le complexe enzyme-substrat

La carboxypeptidase (CPA) est une enzyme pancréatique impliquée dans la digestion des chaînes peptidiques. Son substrat est le dipeptide (Gly-Tyr) dont elle catalyse l'hydrolyse pour donner deux acides aminés libres.

Certains individus ont une CPA inactive ne parvenant pas à fixer ou à catalyser la transformation du substrat.

On souhaite donner une explication moléculaire de cette inactivité et en retrouver l'origine.

1 – L'enzyme et son substrat

- Ouvrir le fichier Rastop **CPASUB** (molécule de CPA avec son substrat)
- En utilisant judicieusement le logiciel faire apparaître de deux couleurs différentes la CPA et son substrat (S).

2 – Le site actif

- Ouvrir le fichier Rastop **site seul** (fichier donnant les acides aminés du site actif de la CPA)
- Faire apparaître ces acides aminés en boules et bâtonnets
- Faire apparaître leur légende sous forme d'étiquette (nom et position dans la molécule de CPA)
- Emettre une hypothèse sur la cause moléculaire de l'inactivité de la CPA et donc sur son origine.

2 – Effet d'une modification de la structure du site actif

- Ouvrir le fichier Rastop **mut_cpasub** (molécule de CPA inactive)
- Afficher et faire apparaître la CPA et le substrat de deux couleurs différentes
- En utilisant les fonctionnalités du logiciel, faire apparaître d'une **couleur différente** et en **sphères**, les acides aminés différents de la Cpa inactive.

A partir de ces observations expliquer l'origine de l'inactivité enzymatique.

Conclusion

Donner l'origine de la spécificité enzymatique