

## TP 3 : Influence de la concentration de substrat sur l'activité enzymatique

**Compétence travaillée :** A3, A4, A5, B1, B2, B3, C6

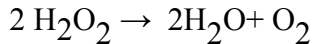
**Situation initiale :** Les enzymes sont des biocatalyseurs. Ce sont des protéines.

La présence d'un site actif, spécifique d'un substrat, au niveau de l'enzyme est responsable de sa fonction catalytique.

La fixation du substrat sur l'enzyme permet une augmentation considérable de la vitesse de réaction.

Les peroxydases sont des enzymes spécifiques du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée).

Les peroxydases participent à la protection des cellules contre les peroxydes, très toxiques, en catalysant la réaction :



La peroxydase est contenue dans le navet.

$\text{H}_2\text{O}_2$  sera utilisé à différentes concentrations.

**Problématique :** Formuler la problématique après avoir lu la situation initiale.

*Aide :* Quelle est l'enzyme ?

Quel est le substrat ?

Quel est le produit ?

Que mesure le capteur de montage ?

**Hypothèse :** A formuler

### I – Extraction de l'enzyme (fait par Rodolphe)

- Broyer les morceaux de navets.
- Mélanger, filtrer, récupérer le filtrat qui contient la peroxydase, le conserver au froid.

### II – Dilution du $\text{H}_2\text{O}_2$

Vous disposez d'une solution de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 10 volumes. Vous allez effectuer vous-mêmes les dilutions nécessaires pour obtenir les bonnes concentrations données dans le tableau au suivant :

Mesure n°	1	2	3	4	5	6
$\text{H}_2\text{O}_2$ (en volumes)	0,5	1	2,5	5	7,5	10

### III – Protocole expérimental

- Introduire du filtrat dans la cuve du bioréacteur.
- Placer la sonde oxymétrique dans le réacteur (dans le liquide) en respectant les consignes données par M. MORAND, en particulier l'agitateur ne doit pas toucher la membrane de la sonde. Mettre en route l'agitation (lentement).
- Dans le logiciel, opter pour l'option menu « généraliste » ; durée des mesures = 3 min.
- Démarrer la mesure.

- Préparez une seringue contenant **0,1 mL** de  $H_2O_2$  à 0,5 volume. Au bout **d'une minute**, injecter les **0,1 mL** de  $H_2O_2$  et repérer cet instant sur l'écran en appuyant sur la touche espace. La sonde mesure la quantité d' $O_2$  formé en fonction du temps.
- A la fin de la mesure, arrêter l'agitateur, sortir le couvercle du réacteur, vider le contenu de la cuve et rincer couvercle et cuve à l'eau distillée (attention à l'agitateur). Commencer une nouvelle mesure avec une autre concentration en superposant la courbe suivante (chaque courbe est nommée).
- A la fin des six mesures, vous pouvez sauvegarder et imprimer votre fichier.

#### IV - Résultats

- Calculez la vitesse initiale de chaque réaction, (c'est-à-dire la quantité de produit formé au début de la réaction en mg/L/sec). Elle correspond à la pente de chaque courbe après l'injection (la pente vous est donnée en utilisant « outil - tangente »). Les courbes dans les premières dizaines de secondes peuvent être assimilées à des droites.
- Noter ces valeurs des vitesses initiales dans le tableau ci-dessous et tracez la courbe  $V_i = f$  ([substrat]): la vitesse d'action de l'enzyme en fonction de la concentration en Substrat.
- Interpréter cette courbe. Votre hypothèse initiale est-elle validée ?

Mesure n°	1	2	3	4	5	6
$H_2O_2$ (en volumes)	0,5	1	2,5	5	7,5	10
Vitesse initiale de la réaction						

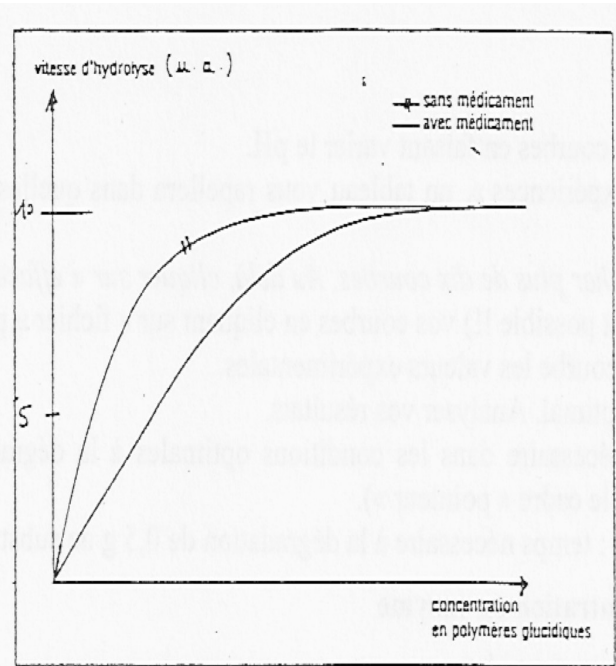
#### V – Inhibiteur enzymatique

Après un repas riche en glucide, les effets conjugués de la digestion et de l'absorption intestinale entraînent une élévation transitoire du taux de glucose dans le sang. Pour un régime alimentaire équivalent, ces pics de glucose sont plus élevés chez une personne atteinte de diabète. En effet, les cellules de ces malades prélèvent plus difficilement le glucose dans le sang. Pour éviter les effets néfastes de cette augmentation de glucose, le médecin a prescrit au malade un médicament agissant au niveau intestinal.

L' $\alpha$ -glucosidase est une enzyme qui, située à la surface des cellules intestinales, hydrolyse normalement les polymères glucidiques.

- Analyser le document 1.
- Utiliser le modèle du document 2 pour expliquer comment, chez le diabétique, le médicament limite le pic de glucose sanguin qui suit normalement le repas.

**Doc 1** : activité de l'  $\alpha$ -glucosidase en présence et en absence de médicament



**Doc 2** : Modèle de l'action du médicament

