

THÈME : TRANSMISSION, VARIATION ET EXPRESSION GÉNÉTIQUE
Chapitre : Les enzymes, des biomolécules aux propriétés catalytiques

2

Les propriétés des enzymes

1ère spé

➤ **Objectifs**

- Étudier l'interaction enzyme-substrat en comparant les vitesses initiales des réactions et faisant varier soit la concentration en substrat ; soit en enzyme. Utiliser des tangentes à t_0 pour calculer la vitesse initiale.
- Étudier les relations enzyme-substrat au niveau du site actif par un logiciel de modélisation moléculaire.

| ➤ Compétences et capacités travaillées | Fragile 1 critère sur 3 | Intermédiaire 2 critères sur 3 | Avancé 3 critères sur 3 (avec aide) | Expert 3 critères sur 3 (sans aide) |
|--|--|---|--|---|
| PRATIQUER DES DÉMARCHES SCIENTIFIQUES | | | | |
| 3. Raisonner, argumenter conclure en exerçant des démarches scientifiques et un sens critique | <ul style="list-style-type: none"> - Des faits sont identifiés mais n'ont pas été transformés en arguments. - Réponse explicative absente ou incohérente | <ul style="list-style-type: none"> - Quelques arguments sont construits à partir des faits (informations et/ou connaissances). - Absence de réponse ou réponse non cohérente avec le problème posé. | <ul style="list-style-type: none"> - Des arguments sont construits à partir des faits (informations et/ou connaissances). - Réponse explicative cohérente avec le problème posé. | <ul style="list-style-type: none"> - Suffisamment d'arguments sont construits à partir des faits, pour répondre à la question posée. - Réponse explicative cohérente avec le problème scientifique et complète. |

Mise en situation : Chaque enzyme peut transformer une molécule appelée substrat en une autre molécule appelée produit.

Question scientifique : Comment une enzyme transforme-t-elle son substrat ?

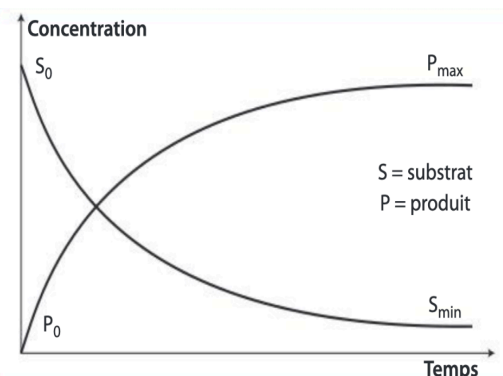
PARTIE 1 : LA CINÉTIQUE ENZYMATIQUE



En 1913, le biochimiste allemand Leonor Michaelis et la médecin canadienne Maud Menten émettent une hypothèse fondamentale sur le mode d'action des enzymes alors que la structure des protéines n'est pas encore connue. Ils pensent que l'enzyme E et le substrat S commencent par se lier pour former un complexe enzyme-substrat ES. Ce complexe qui donnerait ensuite le produit P et l'enzyme restait intacte.

Document 1 : L'équation de la catalyse enzymatique par Michaelis-Menten .

La transformation d'un substrat en un produit par une enzyme peut être mesurée au cours du temps. La représentation graphique de cette transformation prend généralement la forme d'une hyperbole (pour la quantité de substrat transformé S comme pour celle de produit P). Elle permet de voir que la réaction ralentit avec le temps et d'évaluer la vitesse initiale, utile pour comparer des enzymes.



Document 2 : Évolution de la quantité de substrat et de produit en fonction du temps .

1. Écrire l'équation du déroulement d'une réaction enzymatique.



Titre : Équation d'une réaction enzymatique

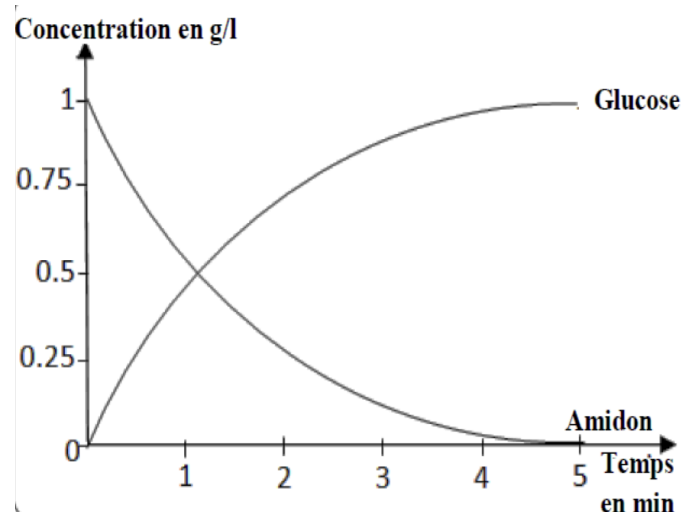
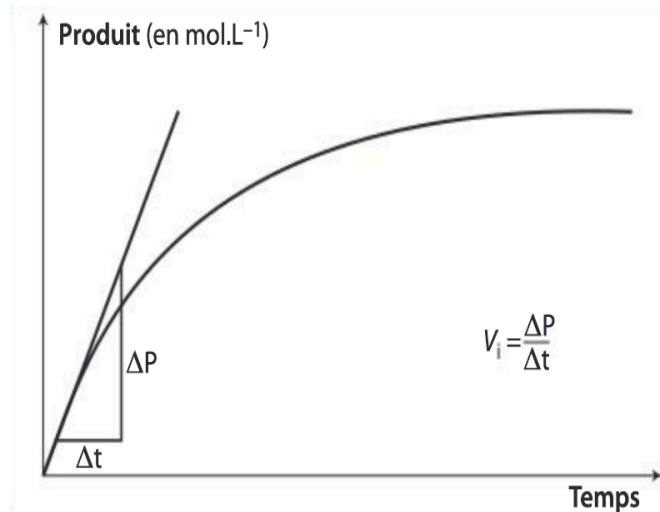
2. À partir du logiciel Diastase 2, déterminer l'effet de la concentration en enzymes et de la concentration en substrat sur la réaction enzymatique.

La vitesse de la réaction varie selon plusieurs paramètres :

- La concentration en substrat : plus elle est forte, plus la vitesse de réaction est importante (forte au début de la réaction, faible voire nulle en fin de réaction).
Si la concentration en substrat est trop forte, il y aura saturation de l'enzyme.

- La concentration enzyme : plus les enzymes sont nombreuses, plus elles peuvent réaliser un grand nombre de réaction et plus la vitesse est importante.
Il faut donc des quantités raisonnables (équilibre) d'enzyme et de substrat pour que la réaction ait lieu convenablement.

La vitesse initiale V_i de la réaction est déterminée par la concentration de substrat et d'enzyme. La tangente permet de calculer V_i . Elle va donc être appréciée en concentration de produit "apparu" ou de substrat "disparu" en fonction du temps.



Document 2 : Évolution de la quantité de substrat et de produit en fonction du temps .

3. Calculer la vitesse initiale de l'hydrolyse de l'amidon en glucose.

$$V_i = 0,5 \text{ g/L/min}$$

PARTIE 2 : LE MODE D'ACTION DES ENZYMES

4. À partir des logiciels GÉNIEGEN 2 et LIBMOL, expliquer l'absence de l'activité catalytique de l'amylase mutée.

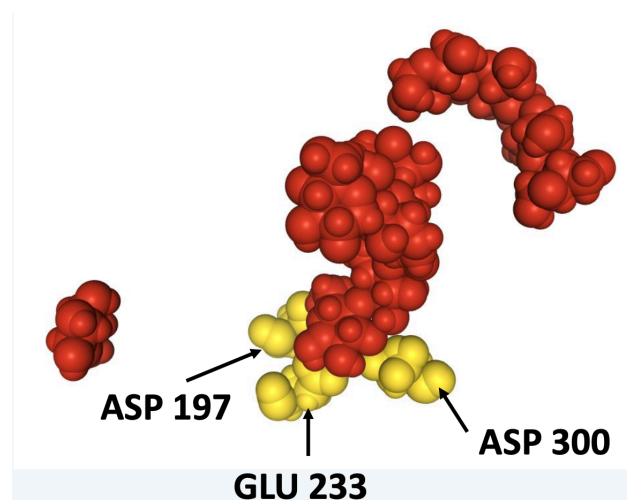
Grâce au logiciel de séquençage Geniegen 2, on constate que le gène de l'amylase pancréatique muté comporte une mutation d'un nucléotide à la position 635, il s'agit d'une mutation par substitution : une Cytosine à la place d'une Adénine.

Cette modification va se répercuter tout au long des étapes de la synthèse protéique qui conduit à former l'enzyme « amylase ». Ainsi, après transcription, le brin d'ARN muté comportera à cette position une Guanine à la place d'un Uracile et cela modifiera, à la traduction de l'ARN en acides aminés, un acide aminé dans la chaîne polypeptidique constitutive de la protéine enzymatique « l'amylase ». Il y a aura, en position 212 dans la chaîne polypeptidique de l'amylase mutée, une Alanine à la place d'un acide Aspartique, en position 212, dans la chaîne polypeptidique de l'amylase fonctionnelle. Cette modification d'un acide aminé, due à une mutation génétique par substitution, modifie donc la structure primaire de l'enzyme mutée.

| | 205 | 210 | 215 | 220 |
|--|---|-------------------------|-----|-----|
| <input type="checkbox"/> Amylase pancréatique | ATTGGTGTTGCAGGGTTCAGACTTGCTTCC | AAGCACATGTGGCCTGGAGACAT | | |
| <input type="checkbox"/> Amylase pancréatique mutée | ATTGGTGTTGCAGGGTTCAGACTTGCTTCC | AAGCACATGTGGCCTGGAGACAT | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Amylase pancréatique ARN | AUUGGUGUUGCAGGGUUCAGACUU | AAGCACAUUGGCUUGGAGACAU | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Amylase pancréatique mutée ARN | AUUGGUGUUGCAGGGUUCAGACUU | AAGCACAUUGGCUUGGAGACAU | | |
| <input type="checkbox"/> Amylase pancréatique ARN PRO | Ile Gly Val Ala Gly Phe Arg Leu Asp Ala Ser Lys His Met Trp Pro Gly Asp Ile | | | |
| <input type="checkbox"/> Amylase pancréatique mutée ARN PRO | Ile Gly Val Ala Gly Phe Arg Leu Ala Ala Ser Lys His Met Trp Pro Gly Asp Ile | | | |

Titre : Capture d'écran de Géniegen 2 comparant l'amylase pancréatique saine et mutée.

En comparant la configuration spatiale de la molécule au niveau du site actif de l'amylase fonctionnelle et de celui de l'amylase muté, on remarque que la mutation entraîne le changement d'un acide aminé (l'Alanine 197 à la place de l'Acide Aspartique 197) et modifie la configuration spatiale de la molécule au niveau du site actif. Or on sait, d'après les documents, que lorsque les acides aminés structuraux sont modifiés par mutation, le substrat peut ne plus être reconnu. De plus, on sait également que le site actif d'une enzyme est composé de deux parties : un site de reconnaissance qui doit être complémentaire à une portion de son substrat pour pouvoir s'y fixer et permettre aux acides aminés catalytiques du site de catalyse d'établir la réaction enzymatique, transformant le substrat en produit.



Titre : Capture d'écran de Libmol illustrant le site catalytique du site actif de l'amylase pancréatique.

On peut ainsi en déduire que l'amylase mutée ne pourra pas se fixer sur l'amidon du fait de la modification de son site actif à la suite d'une mutation empêchant la reconnaissance de l'amidon et la réaction biochimique d'hydrolyse en glucose.