

Étude 4 : La spécificité des enzymes

Les protéines exprimées dans la cellule peuvent avoir des fonctions biologiques variées, en particulier la réalisation de réaction chimique par les **enzymes**. Les enzymes sont des **biocatalyseurs** (catalyseurs biologiques) qui accélèrent les réactions chimiques. Chaque enzyme peut transformer une molécule appelée **substrat** en une autre molécule appelée produit. Par exemple, l'amylase et la pepsine participent à la digestion des aliments.

Problématique : *Comment les enzymes permettent-elles de digérer spécifiquement certains aliments ?*

On cherche à identifier la spécificité d'action et la spécificité de substrat de diverses enzymes impliquées dans l'alimentation (amylase, pepsine).

Matériel et données

- Solutions purifiées d'enzymes digestives : amylase (salive et sucs pancréatiques) et pepsine (protéase pancréatique qui agit dans l'estomac)
- Solutions de substrats alimentaires : amidon, ovalbumine (sa présence est identifiée par un trouble dans la solution, sa dégradation rend le liquide transparent)
- Réactifs : eau iodée (coloration bleue en présence d'amidon), Liqueur de Fehling (précipité rouge brique en présence de glucides simples).
- Bain marie à 37°C, tubes à essai, HCl 1M, eau distillée

Déroulement de l'activité

➤ **ETAPE 1** : Proposez une stratégie expérimentale afin de déterminer si l'amylase et la pepsine peuvent digérer les mêmes molécules (substrats)

Appelez le professeur pour vérification

➤ **ETAPE 2** : Mettez en oeuvre le(s) protocole(s) proposé(s)

Appelez le professeur pour vérification

➤ **ETAPE 3** : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée.

- Analysez les résultats obtenus et utilisez les documents 1 à 3 pour compléter votre travail
- Présentez les résultats sous une forme qui vous semble la plus adaptée

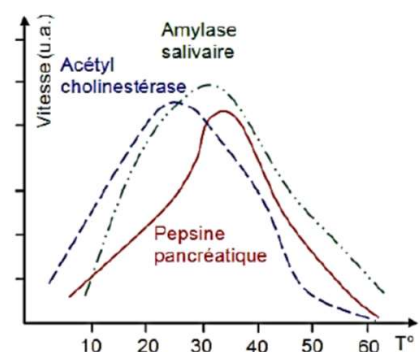
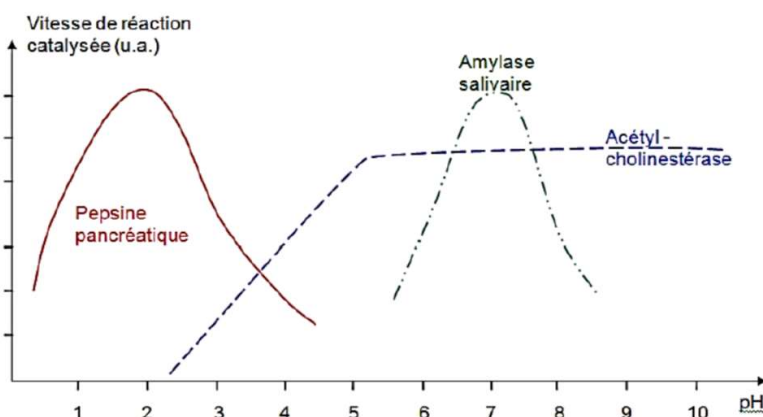
➤ **ETAPE 4** : Répondez au problème initial et identifier le niveau de spécificité des enzymes

- Rédigez un texte qui répond au problème.

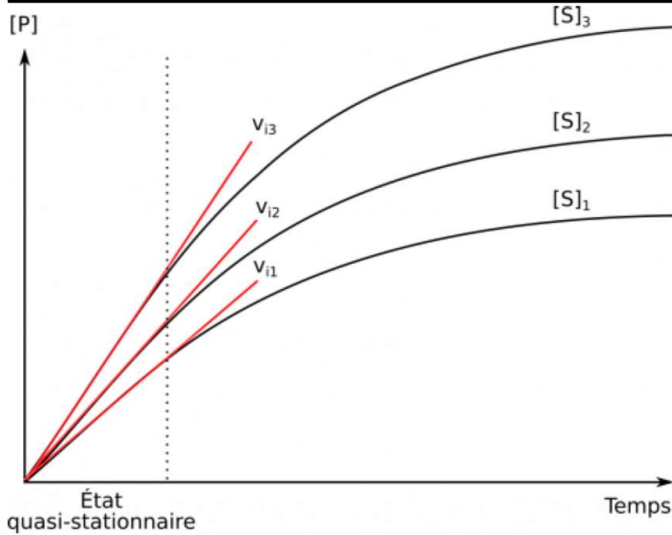
➤ **En fin de séance, rangez le matériel et nettoyez la pailasse**

Document 1 : L'effet du pH et de la température sur l'action de diverses enzymes

La plupart des enzymes fonctionnent pour une température et un pH donnés (**température optimale** et **pH optimal**). Néanmoins, d'autres enzymes peuvent supporter des conditions de pH ou de température variable. Généralement, ces conditions optimales sont celles du milieu naturel de l'enzyme. La plupart des enzymes ont donc des conditions optimales autour de 35°C et pH 7. De plus, les températures et pH extrêmes ont tendance à dégrader les enzymes (structure protéique).



Document 2 : Etude de la vitesse de réaction en fonction de la concentration en substrat

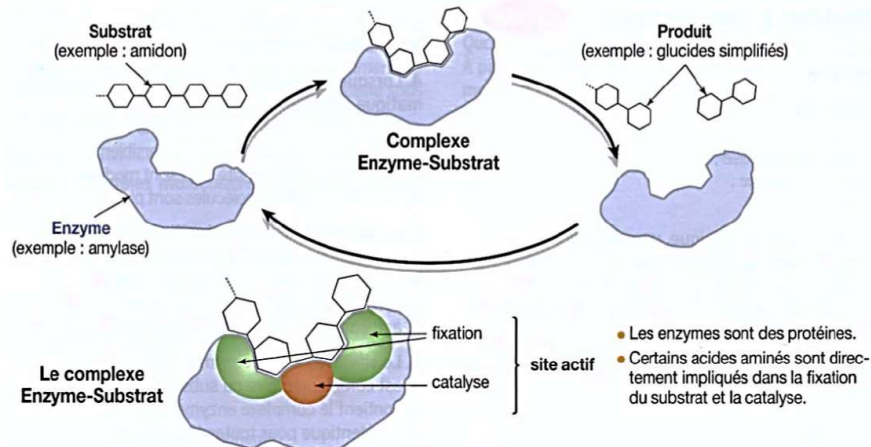


Le graphique ci-contre montre la concentration de produits [P] formés par une solution d'enzyme mais avec 3 concentrations croissantes de substrat $[S]_1$, $[S]_2$ et $[S]_3$.

Plus la concentration en substrat augmente, plus la concentration en produits augmente. On en déduit que l'enzyme fonctionne plus rapidement. On peut mesurer cette vitesse par le coefficient directeur de la **tangente à l'origine** ($v_{i1} < v_{i2} < v_{i3}$).

Malgré tout, si on augmente la concentration au-delà de $[S]_3$, la vitesse de la réaction n'augmentera pas : il y a un phénomène de **saturation** de l'enzyme. Ceci permet de déduire que le substrat doit se fixer dans une poche de l'enzyme appelé **site actif**.

Document 3 : Schéma montrant le mode d'action d'une enzyme



PROTOCOLE SPECIFICITE DE SUBSTRAT DES ENZYMES

1. Préparer 6 tubes à essai comme décrit dans le tableau suivant :

Tubes	Contenu
1	4 ml d'ovalbumine + 20 gouttes de pepsine + quelques gouttes d'acide
2	4 ml d'ovalbumine + 20 gouttes d'amylase
3	4 ml d'ovalbumine + 20 gouttes d'eau
4	4 ml d'amidon + 20 gouttes de pepsine + quelques gouttes d'acide
5	4 ml d'amidon + 20 gouttes d'amylase
6	4 ml d'amidon + 20 gouttes d'eau

- Bien **agiter** les tubes pour les mélanger
- Mettre les 6 tubes au bain-marie à 37°C** pendant 20 mn.
- A la fin de l'expérience
 - Observez le niveau de trouble des tubes 1, 2 et 3
 - Ajoutez 1 goutte d'eau iodée dans les tubes 4, 5 et 6.

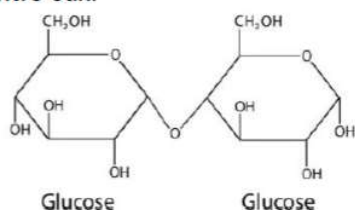
PROTOCOLE SPECIFICITE D'ACTION DES ENZYMES

(ne sera pas réalisé en TP)

Dans notre expérience, on a pu identifier que l'amidon était dégradé par une enzyme spécifique. Cependant, on ne sait pas quel est le produit formé lors de cette réaction enzymatique. Pour ce faire, on a réalisé différentes expériences pour déterminer quelles sont les molécules produites par deux enzymes : l'amylase et la maltase.

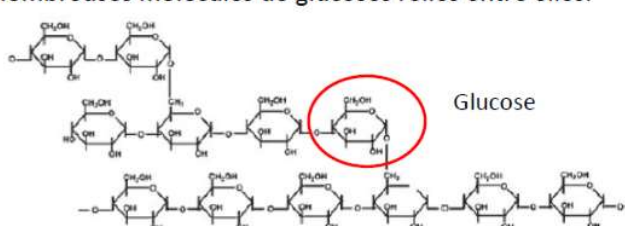
MALTOSE

Le maltose est un glucide formé de 2 glucoses reliés entre eux.



AMIDON

L'amidon est un glucide complexe formé de très nombreuses molécules de glucoses reliés entre elles.



A partir des formules chimiques des deux glucides ci-dessus, on peut penser que l'amylase et la maltase pourraient avoir le même produit et ainsi former du glucose toutes les deux. On a alors réalisé les séries d'expériences suivantes.

Tube et conditions	Test glucose (0 min)	Test glucose (5 min)	Test glucose (10 min)
① Tube Amidon seul	Négatif	Négatif	Négatif
② Tube Amidon + Amylase	Négatif	Négatif	Négatif
③ Tube Maltose seul	Négatif	Négatif	Négatif
④ Tube Maltose + Maltase	Négatif	2 g/L	5 g/L
⑤ Tube Amidon + Amylase + Maltase	Négatif	2 g/L	5 g/L

- A partir de ces résultats, déterminez quels sont les produits des deux enzymes et expliquez en quoi cela nous permet de dire que les enzymes ont une spécificité d'action.