

# Chapitre 3 : Les enzymes, des biomolécules aux propriétés catalytiques

Propriétés des enzymes  
Mode d'action des enzymes

# **1. Les propriétés remarquables des enzymes**

Les enzymes sont des protéines issues de l'expression génétique des cellules.

Elles sont indispensables aux réactions et à la vie des cellules.

Leurs propriétés permettent par ailleurs des applications dans des domaines très variés.

**Problématique générale : Comment agissent les enzymes ? Quelle est l'importance des enzymes pour les cellules ? Le contenu enzymatique d'une cellule dépend-il de sa spécialisation cellulaire ?**

**Activité 9 : les propriétés des enzymes**

Afin de déterminer les propriétés des enzymes, on étudie les réactions d'une enzyme « l'amylase » sur un glucide « l'amidon ».

8 GROUPES (A, B, C, D, E, F, G, H) POUR 8 CONDITIONS EXPÉRIMENTALES - CHAQUE GROUPE VA RÉALISER LE PROTOCOLE ASSOCIÉ À SA LETTRE DE GROUPE. EN FIN DE MANIPULATIONS, CHAQUE GROUPE VA COMPLÉTER L'INTÉGRALITÉ DU TABLEAU DE LA FICHE RÉPONSE AVEC L'ENSEMBLE DES RÉSULTATS DE CHAQUE GROUPE AFIN D'ÉTABLIR LES PROPRIÉTÉS DES ENZYMES.

**EXPÉRIENCES À RÉALISER EN CLASSE :**

**Matériel commun à chaque groupe :** Portoir / 2 tubes à essais (+2 tubes à essais de secours) / Marqueur / 1 solution d'empois d'amidon (sauf pour le groupe H) / 1 bécher / 1 chronomètre / 1 bain marie à 37° C (sauf le groupe E) / Un flacon d'eau iodée / Un flacon de liqueur de Fehling / des gants / Une pipette 5 cm<sup>3</sup> + propipette (poire) / une pipette 1 cm<sup>3</sup> + propipette / Une pince en bois

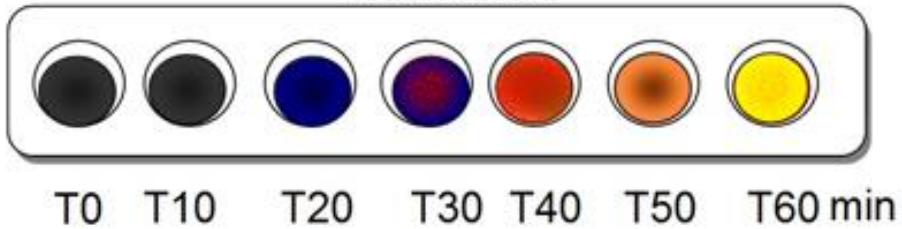
Groupe A	Groupe B	Groupe C	Groupe D	Groupe E	Groupe F	Groupe G	Groupe H
Eau distillée	Amylase	Empois d'amidon + 3 gouttes HCL (0,1 mol/L) 3 gouttes de NaOH (0,1 mol/L) Papier pH	Empois d'amidon + 3 gouttes NaOH (0,1 mol/L) 3 gouttes de HCL (0,1 mol/L) Papier pH	Empois d'amidon à 0°C  Amylase à 0°C  Glace	Empois d'amidon à 0°C  Amylase à 0°C	Amylase (préalablement bouillie par la technicienne de laboratoire puis refroidie)	Saccharose
1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon dans chacun des tubes à essais  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'eau distillée dans chaque tube  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche réponse.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon dans chacun des tubes à essais  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase dans chaque tube.  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche réponse.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon + 3 gouttes d'HCL dans chacun des tubes à essais avec un compte-gouttes  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase dans chaque tube  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Rétablir la neutralité avec 3 gouttes de NaOH => vérifier avec le papier pH.  6- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  7- Relever les résultats.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon + 3 gouttes de NaOH dans chacun des tubes à essais avec un compte-gouttes.  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase dans chaque tube  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Rétablir la neutralité avec 3 gouttes de HCL => vérifier avec le papier pH.  6- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  7- Relever les résultats	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon à 0°C dans chacun des tubes à essais  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase à 0°C dans chaque tube.  3- Plonger les tubes dans de la glace à 0°C.  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche réponse.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon à 0°C dans chacun des tubes à essais  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase à 0°C dans chaque tube.  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche réponse.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon dans chacun des tubes à essais  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase bouillie (puis refroidie) dans chaque tube.  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche.	1- Mettre 5 cm <sup>3</sup> de saccharose dans chacun des tubes à essais.  2- Ajouter 1 cm <sup>3</sup> d'amylase dans chaque tube.  3- Plonger les tubes dans le bain-marie régler à 37°C  4- Chronométrer 7 min et sortir les tubes avec la pince en bois.  5- Mettre une à deux gouttes d'eau iodée dans tube 1 & une à deux gouttes de liqueur de Fehling dans le tube 2.  6- Relever les résultats et compléter le tableau de la fiche réponse.

Groupes	Expériences		Temps (mn)	T°C	Test à l'eau iodée	Test à la liqueur de Fehling	CONCLUSIONS
							(comparez les expériences 2 à 2 en tenant compte de la variation d'un seul paramètre)
A	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon	1 cm <sup>3</sup> d'eau distillée	7	37°C	+	-	C'est l'enzyme <b>amylase</b> qui est responsable de la transformation de l'amidon en sucres réducteurs (glucose), à 37°C
B	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon	1 cm <sup>3</sup> d'amylase	7	37°C	-	+	
C	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon + HCl (acide) (3 gouttes)	1 cm <sup>3</sup> d'amylase	7	37°C	Rétablir la neutralité avant les tests en ajoutant 3 gouttes de NaOH (base)		L'enzyme n'agit ni à un pH acide ni à pH basique (donc agit à <b>pH neutre</b> ) <i>Pour information : pH optimal = 6,9</i>
					+	-	
D	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon + NaOH (base) (3 gouttes)	1 cm <sup>3</sup> d'amylase	7	37°C	Rétablir la neutralité avant les tests en ajoutant 3 gouttes de HCl (acide)		
					+	-	
E	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon à 0°C	1 cm <sup>3</sup> d'amylase à 0°C	7	0°C (glace)	+	-	Le <b>froid empêche la réaction</b> de se faire mais <b>ne dénature pas l'enzyme</b> qui conserve sa fonction
F	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon à 0°C (glace)	1 cm <sup>3</sup> d'amylase à 0°C	7	37°C	-	+	
G	5 cm <sup>3</sup> d'empois d'amidon	1 cm <sup>3</sup> d'amylase bouillie (puis refroidie)	7	37°C	+	-	La <b>chaleur dénature l'enzyme</b> qui perd définitivement sa fonction
H	5 cm <sup>3</sup> de saccharose	1 cm <sup>3</sup> d'amylase	7	37°C	-	-	Une <b>réaction enzymatique est spécifique</b> : l'amylase agit sur l'amidon mais pas le saccharose

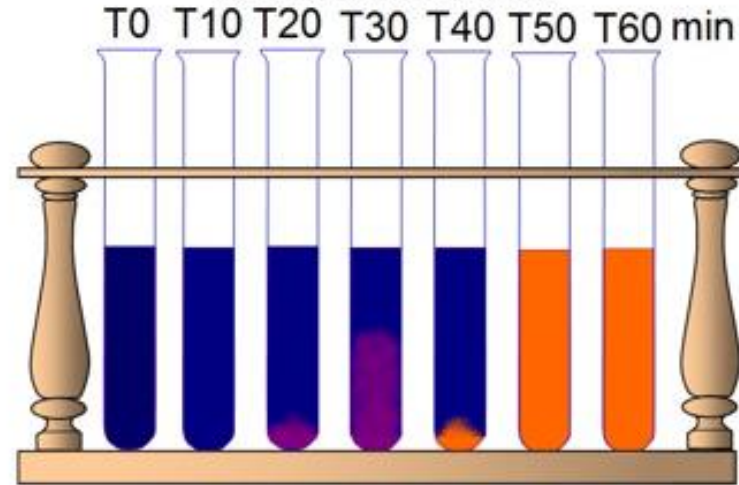
**Document : Digestion de l'amidon par l'acide chlorhydrique à chaud**

On place dans un ballon en verre 200 ml d'empois d'amidon avec 5 ml d'HCl. Le mélange est porté à ébullition pendant 60 mn. Toutes les 10 mn, on effectue un prélèvement (environ 2 ml) sur lequel on pratique les deux tests cités précédemment.

TEST À L'EAU IODÉE



TEST À LA LIQUEUR DE FEHLING



En comparant les résultats des « digestions » par les deux méthodes en présence d'amylase (expériences) et par l'HCl (document), on en déduit que les **propriétés remarquables des enzymes** sont :

- elles **transforment un « substrat » (amidon) en « produit » (glucose)**,
- elles sont **spécifiques de leur substrat** (l'amylase agit sur l'amidon mais pas sur le saccharose),
- elles ont un **fonctionnement maximal pour une température donnée (37° C)**,
- à un **pH optimal** (l'amylase agit à un pH de 7),
- elles **accélèrent (catalysent) les réactions** normalement lentes (l'amylase agit plus vite que l'HCl),
- leur **vitesse de réaction est rapide** (qqs secondes à qqs min),
- le **froid empêche la réaction** mais **ne dénature pas** l'enzyme,
- la **chaleur dénature l'enzyme**.

## Bilan activité 9 :

Les enzymes ont donc des **propriétés précises** et possèdent également une **double spécificité** : une **spécificité d'action** et une **spécificité de substrat**.

*Remarque : Cette double spécificité est utilisée pour les classer et les désigner.*

- Le suffixe « -ase » désigne une enzyme et le nom de l'enzyme désigne la plupart du temps le substrat : *amylase* → enzyme assurant la transformation de l'*amidon*. *Saccharase* → enzyme assurant la transformation du *saccharose*.
- La spécificité d'action permet de les classer dans des catégories. Par ex. l'amylase qui réalise des hydrolyses peut être classée dans la catégorie des **hydrolases** (qui dissocie par l'action de l'eau). Les **synthétases** qui effectuent des liaisons...

Quelques définitions:

**Une enzyme** : une macromolécule de nature protéique (une protéine) ayant des propriétés catalytiques. On parle de biocatalyseur.

**Un catalyseur** : une espèce chimique qui augmente la vitesse de transformation sans figurer dans l'équation de la réaction et sans modifier la composition du système à l'état final.

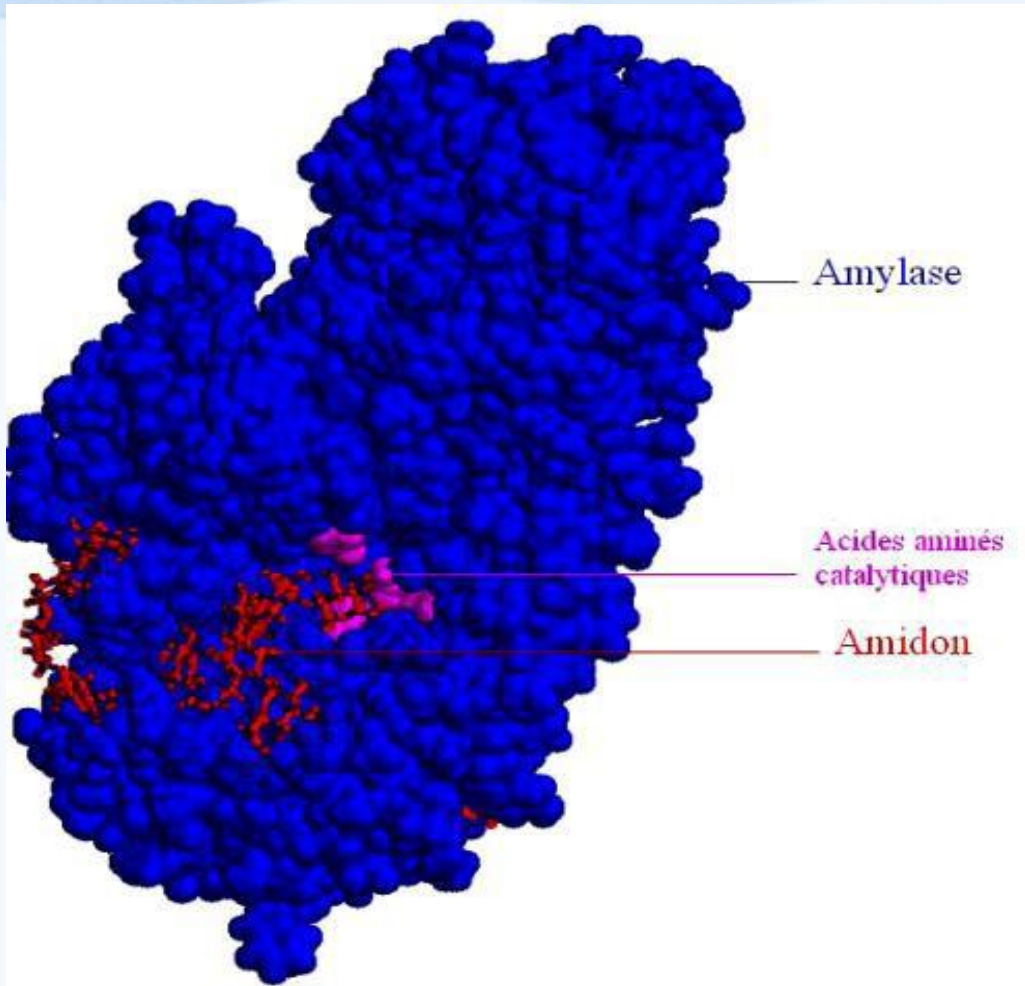
**Substrat** : molécule dont l'enzyme catalyse la modification.

**Produit** : molécule obtenue après catalyse enzymatique d'un substrat.



**Comment expliquer que l'action d'une enzyme est spécifique de son substrat ?**

## Activité 10 : Mode d'action des enzymes



Les enzymes sont donc des **catalyseurs biologiques**. **L'amylase catalyse l'hydrolyse de l'amidon** au cours de la digestion. Le **site actif** de l'amylase permettant cette hydrolyse comporte **3 acides aminés importants** : **le 233, le 300 et le 197**. On connaît une **amylase mutée** pour laquelle **l'hydrolyse de l'amidon est impossible**.

**Problème posé : Comment expliquer l'absence d'activité enzymatique de l'amylase mutée et la spécificité de substrat d'une enzyme ?**

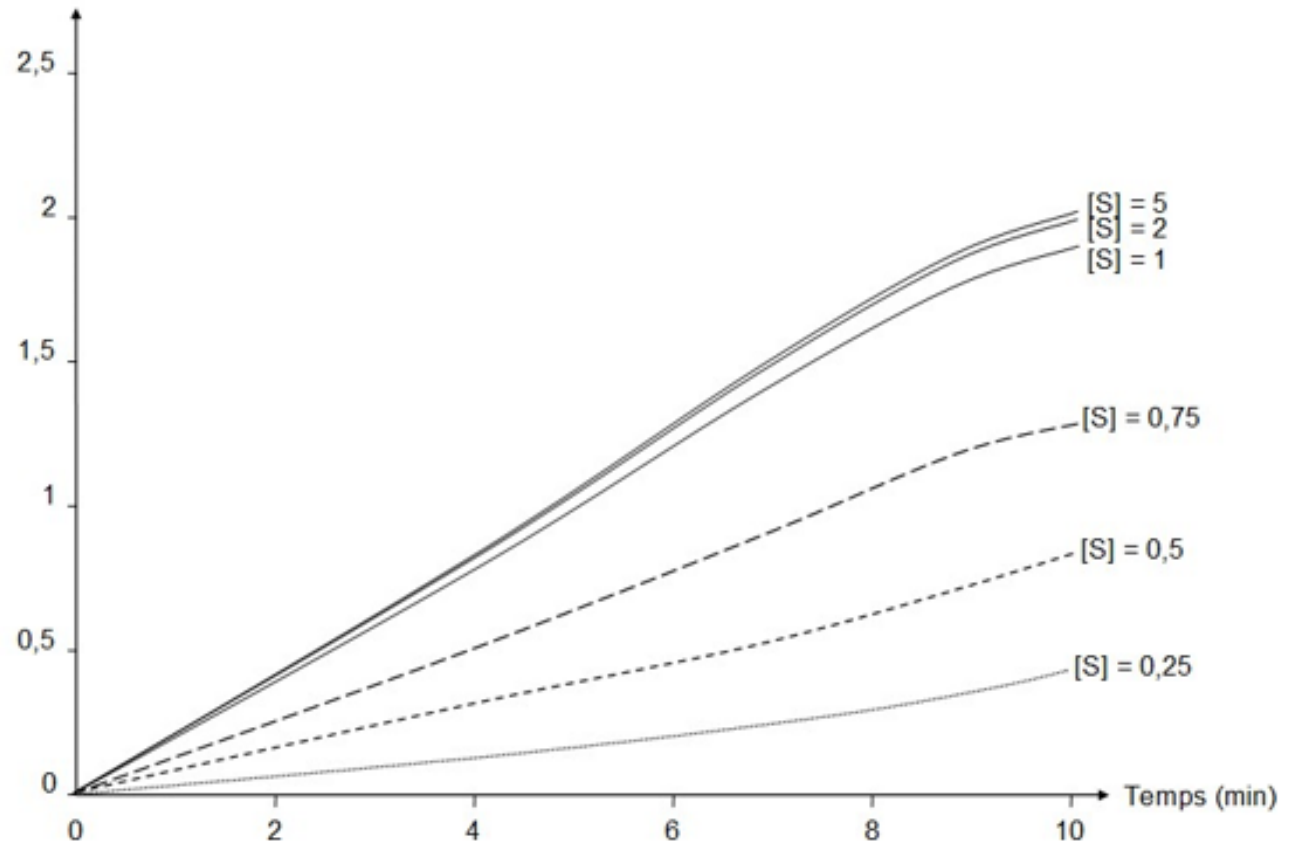
## Document 1 : La saturation des enzymes

- Lorsque la concentration d'enzymes est augmentée, pour une concentration d'enzyme définie, on constate que la vitesse de la réaction se stabilise. C'est la

**saturation de l'enzyme.**

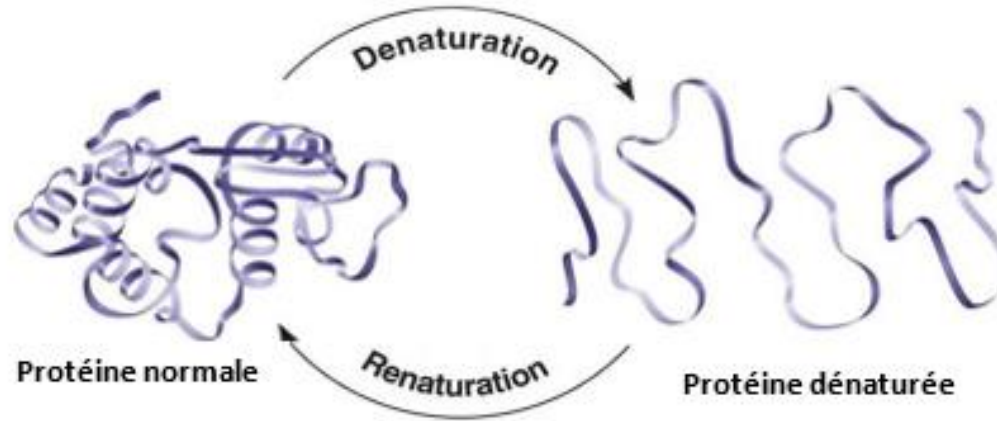
- La saturation observée suggère que les substrats, bien que très fortement présents, ne peuvent plus être transformés par l'enzyme. On émet donc l'hypothèse que le substrat doit se fixer sur l'enzyme, au niveau d'une zone particulière nommée **site actif.**

Quantité de produit formé (U.A.)



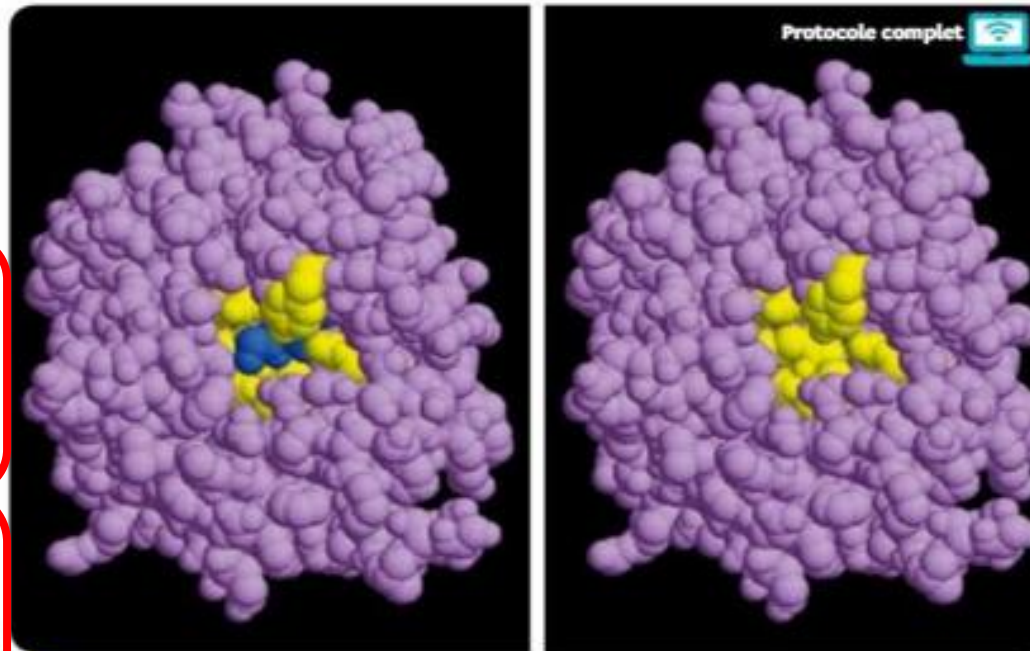
## Document 2 : La découverte du site actif

- La plupart des enzymes sont sensibles à de fortes températures ou aux variations de pH. En effet, les protéines perdent alors leur structure tridimensionnelle (3D). On parle de **dénaturation** des protéines. Ce processus est généralement réversible lorsque les conditions reviennent à la normale : on parle alors de **renaturation** des protéines.



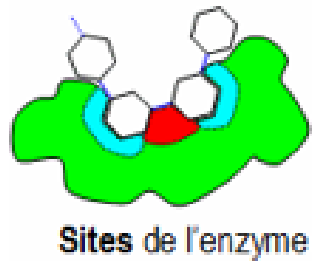
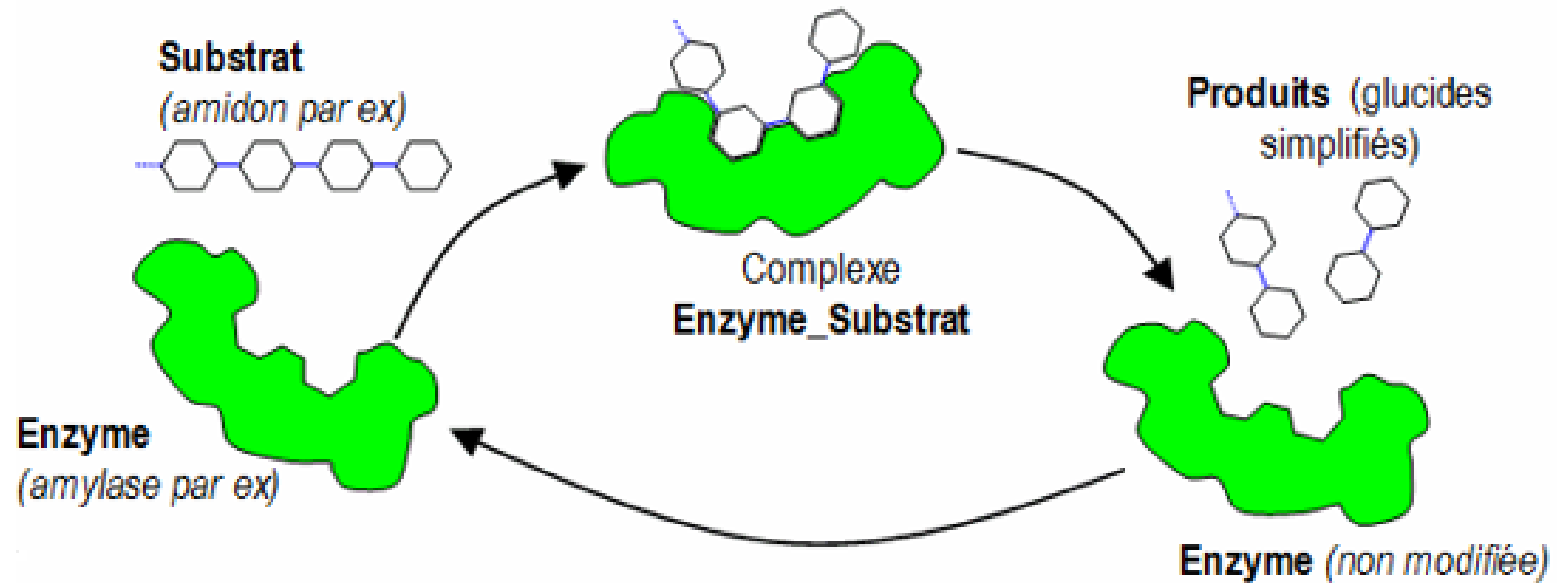
- La dénaturation des enzymes prouve qu'une enzyme fonctionnelle doit posséder une forme 3D bien particulière. En effet, le site actif est une poche dont la **forme est complémentaire** de celle du substrat. Ceci permet la spécificité de substrat (reconnaissance).

- De plus, le site actif comprend des acides aminés qui peuvent interagir avec le substrat pour permettre la catalyse enzymatique. Ce sont des **acides aminés catalytiques**.



**4** L'enzyme carboxypeptidase visualisée par un logiciel de modélisation moléculaire, seule ou avec son substrat. Au sein de l'enzyme, le repliement des chaînes d'acides aminés crée une zone qui permet d'accueillir le substrat (en bleu) et d'établir une interaction étroite avec lui. Cette zone (en jaune dans l'image) est appelée le site actif.

### Document 3 : Le principe de la catalyse enzymatique



**1 : site de fixation**  
(reconnaissance)

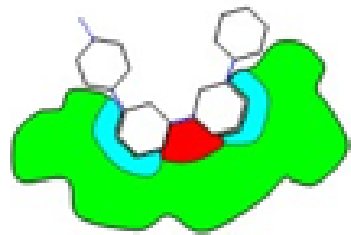
**2 : site de catalyse**

**1+2= Site actif**

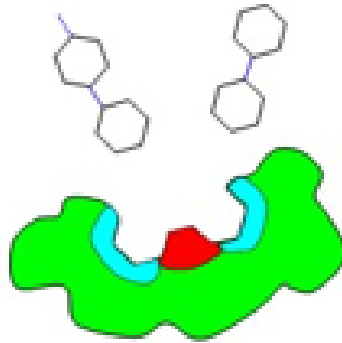
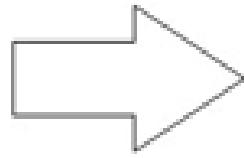
• Le site actif présente 2 types d'acides aminés :

- **les acides aminés structuraux** : ils permettent de donner la forme du site actif et contribuent à la spécificité de substrat. En effet, le substrat est reconnu et se fixe au site actif.
- **Les acides aminés catalytiques** : ils sont responsables de la réaction enzymatique en interagissant avec le substrat.

## Document 4 : L'action des mutations sur le site actif



Enzyme normale



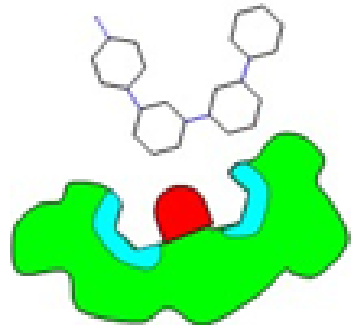
Catalyse enzymatique  
(Enzyme fonctionnelle)



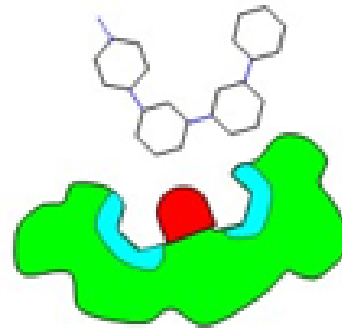
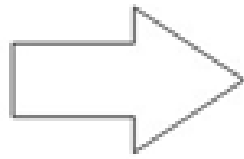
1 : site de fixation  
(reconnaissance)

2 : site de catalyse

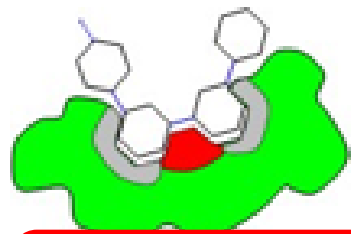
1+2= Site actif



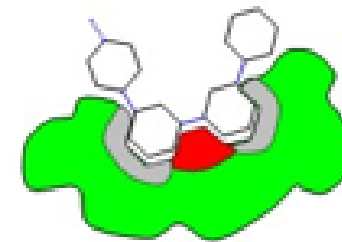
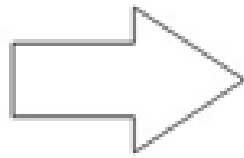
Modification des acides  
aminés catalytiques



Pas de catalyse  
enzymatique



Modification de la  
forme du site



Pas de catalyse  
enzymatique

• Les mutations peuvent donc affecter soit :

➤ Les acides aminés catalytiques, ce qui fait que le substrat est reconnu (fixation) mais ne peut pas être transformé en produit.

➤ Les acides aminés structuraux, ce qui implique que le substrat n'est plus reconnu.

## ➤ ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale

Proposez une démarche pour identifier la nature de la mutation portée par l'amylase mutée.

Ce qu'on fait = On va chercher à comprendre l'origine de cette impossibilité à hydrolyser l'amidon en glucose.

*(Hypothèse à noter dans le compte-rendu =>)* Si une enzyme doit se fixer, par son site actif, sur son substrat pour fonctionner, on suppose alors que pour l'amylase mutée, le site actif de l'enzyme n'est pas fonctionnel et ne permet pas de fixer le substrat, l'amidon (son hydrolyse en glucose sera alors impossible).

### Comment on le fait =

Pour vérifier notre hypothèse, nous devons **comparer la structure des sites actifs d'une amylase fonctionnelle et d'une amylase mutée**. Nous allons **cibler la comparaison sur l'étude de les 3 acides aminés importants du site actif de l'amylase : le 233, le 300 et le 197**, à l'aide du **logiciel Geniegen 2** permettant de comparer les séquences nucléotidiques du gène de l'amylase fonctionnelle et de celui de l'amylase mutée, du **logiciel Libmol** permettant de comparer la configuration spatiale des deux enzymes et des informations apportées par les documents 2, 3 et 4.

### Ce qu'on attend =

**Si notre hypothèse est vérifiée, alors nous nous attendons à observer une mutation de la séquence nucléotidique du gène de l'amylase non fonctionnelle, mutation qui modifiera la structure primaire de l'enzyme (protéine) et donc la configuration spatiale du site actif de l'enzyme (cas d'étude), rendant impossible la fixation de l'amidon et par conséquent la réaction enzymatique d'hydrolyse de l'amidon en glucose.** Nous devons donc trouver que l'action d'une enzyme sur son substrat dépend de leur complémentarité.

➤ ETAPE 3 : Présentez et exploitez vos observations (logiciels + docs) selon une forme judicieuse dans votre compte-rendu

Amylase pancréatique  
 Amylase pancréatique mutée

	610	615	620	625	630	635	640	645	650	655	660	665	670	675	680													
	3	AC	ATT	GGT	GTT	GCA	GGG	TTC	AGA	CTT	GAT	GCT	TCC	AAG	CAC	ATG	TGG	CCT	GG	AGA	CAT	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	3	AC	ATT	GGT	GTT	GCA	GGG	TTC	AGA	CTT	GCT	GCT	TCC	AAG	CAC	ATG	TGG	CCT	GG	AGA	CAT	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA

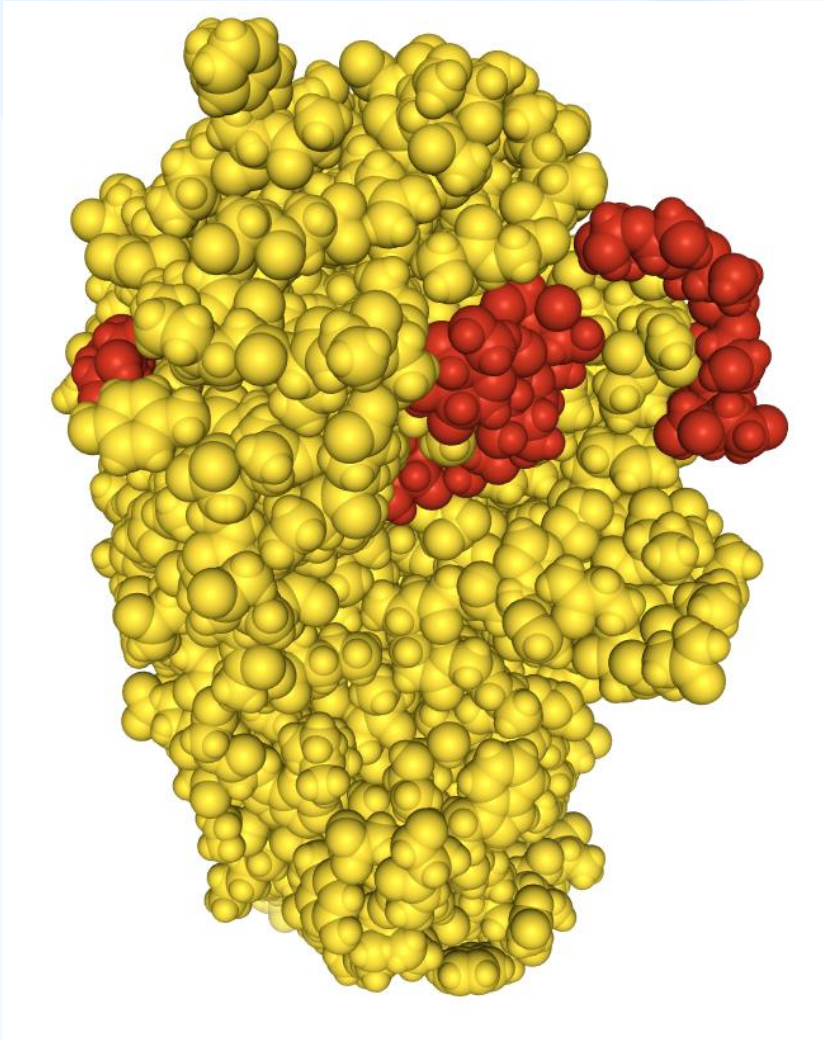
Les deux **allèles** codant pour l'amylase pancréatique fonctionnelle ou mutée sont formés de **1536 paires de nucléotides**, sur le **chromosome 1** pour l'espèce *Homo sapiens* (d'après « *Informations sur une séquence* »). Une seule différence apparaît entre ces deux allèles : une substitution en **635<sup>e</sup>** position : un nucléotide à **cytosine** remplace un nucléotide à **adénine**.

Amylase pancréatique  
 Amylase pancréatique mutée  
 Amylase pancréatique ARN  
 Amylase pancréatique mutée ARN  
 Amylase pancréatique ARN PRO  
 Amylase pancréatique mutée ARN PRO

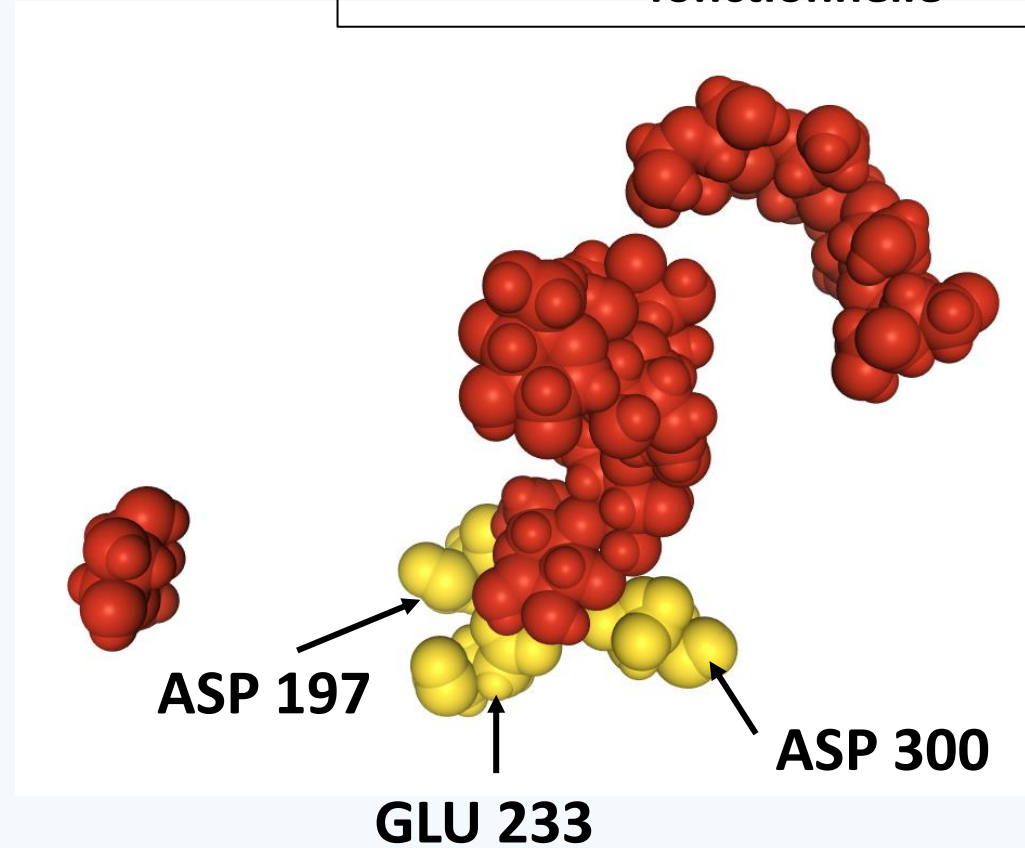
	205		210		215		220																			
	ATT	GGT	GTT	GCA	GGG	TTC	AGA	CTT	GAT	GCT	TCC	AAG	CAC	ATG	TGG	CCT	GG	AGA	CAT	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	ATT	GGT	GTT	GCA	GGG	TTC	AGA	CTT	GCT	GCT	TCC	AAG	CAC	ATG	TGG	CCT	GG	AGA	CAT	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	AUU	GGU	GUU	GCA	GGG	UUC	AGA	CUU	GAU	GUU	CCU	AAG	CAC	AUG	UGG	CCU	GG	AGA	CAU	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	AUU	GGU	GUU	GCA	GGG	UUC	AGA	CUU	GCU	GUU	CCU	AAG	CAC	AUG	UGG	CCU	GG	AGA	CAU	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	Ile	Gly	Val	Ala	Gly	Phe	Arg	Leu	Asp	Ala	Ser	Lys	His	Met	Trp	Pro	Gly	Asp	Ile	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA
▲	Ile	Gly	Val	Ala	Gly	Phe	Arg	Leu	Ala	Ala	Ser	Lys	His	Met	Trp	Pro	Gly	Asp	Ile	AAA	GGC	AAT	TTT	TGG	ACA	AA

En ce qui concerne l'**ARN**, cette différence entraîne une **substitution d'un nucléotide à guanine** pour l'amylase **mutée** à la place d'un **nucléotide à uracile** pour l'amylase **fonctionnelle** dans le cas du brin transcrit. Pour les **séquences d'acides aminés** des deux protéines, là aussi, on relève une **différence dans la séquence primaire** de ces protéines : en 212<sup>e</sup> position, une **alanine (ALA)** remplace un **acide aspartique (ASP)**.

**Amylase pancréatique fonctionnelle  
avec son substrat : l'amidon (en rouge)**



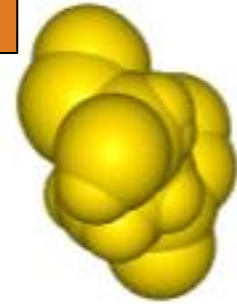
**Acides aminés du site actif de l'amylase  
fonctionnelle**



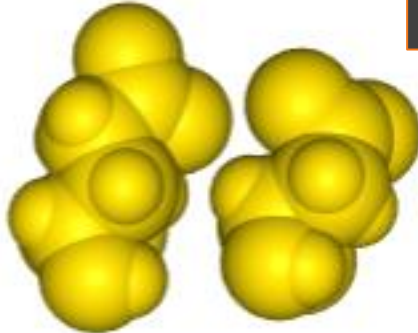
L'amylase fonctionnelle est une **protéine de forme globulaire, légèrement allongée.**

## ACIDES AMINÉS DU SITE ACTIF DE L'AMYLASE FONCTIONNELLE

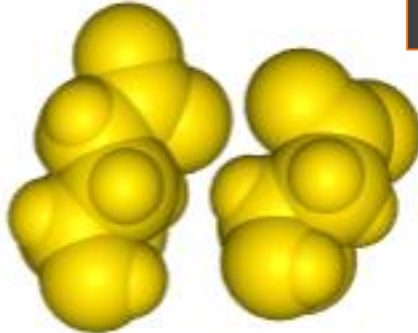
Acide  
aspartique  
ASP 300



Acide  
aspartique  
ASP 197



Acide  
glutamique  
GLU 233

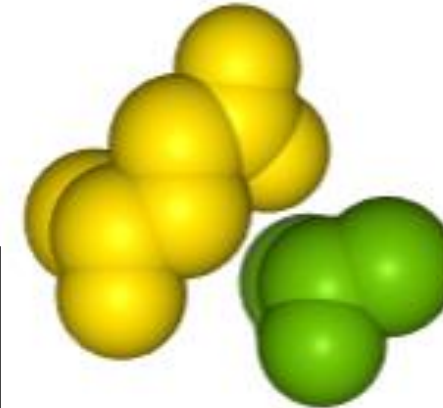


## ACIDES AMINÉS DU SITE ACTIF DE L'AMYLASE NON FONCTIONNELLE

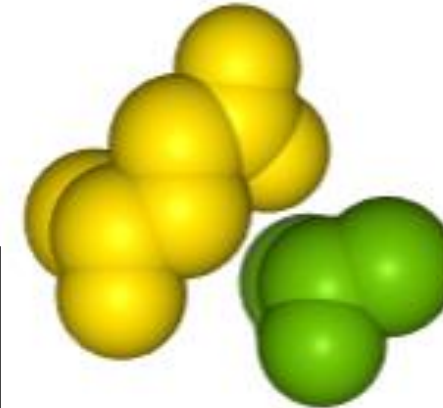
Acide  
aspartique  
ASP 300



Alanine  
ALA 197



Acide  
glutamique  
GLU 233



Pour l'amylase mutée, une seule différence : une alanine en position 197 à la place de l'acide aspartique => modification de la séquence primaire de la protéine enzymatique.

Grâce au logiciel de séquençage Genieen 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**.

*(Transition =>) On peut se demander ce que va entraîner cette modification de la structure primaire de l'enzyme sur sa configuration spatiale. Nous allons le vérifier grâce à l'utilisation du logiciel de modélisation moléculaire Libmol en comparant les configurations spatiales de l'amylase fonctionnelle et de l'amylase 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 le doc.4, que lorsque les acides aminés structuraux sont modifiés par mutation, le substrat peut ne plus être reconnu. De plus, on sait également d'après le doc. 3 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.**

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.

*RQ. Vous noterez une différence dans la position de la mutation obtenue avec Geniegen et Libmol (212 pour l'un, 197 pour l'autre). Même si la mutation est la même ce changement de position reste inexpliquée. On peut supposer une erreur dans l'un des deux logiciels utilisés.*

➤ ETAPE 4 : Conclure sur l'origine de l'absence d'activité de l'amylase mutée et sur la spécificité de substrat d'une enzyme.

**Présenter la conclusion finale**

**En conclusion**, l'absence d'activité enzymatique, c'est-à-dire, pour notre cas d'étude, l'absence de la digestion (hydrolyse) de l'amidon en glucose par l'amylase mutée, s'explique par la mutation d'un nucléotide au niveau du gène codant pour l'amylase, mutation qui est à l'origine de la modification de la structure primaire de l'enzyme et donc de sa configuration spatiale au niveau du site actif, empêchant la reconnaissance de son substrat, l'amidon et par conséquent son action.

La spécificité de substrat d'une enzyme s'explique ainsi par la complémentarité de forme entre la configuration spatiale du site actif de l'enzyme et celle de son substrat.

**La séquence des acides aminés conditionne la configuration spatiale de l'enzyme par suite de l'établissement de diverses liaisons entre les acides aminés plus ou moins voisins.** ( Ces liaisons sont des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques, des ponts disulfures.)

**L'activité d'une enzyme repose sur sa configuration spatiale.**

Une modification de la configuration spatiale de la protéine enzymatique peut entraîner une disparition de l'activité de l'enzyme.

Des changements de la structure primaire peuvent donc modifier l'activité de l'enzyme : **ces modifications peuvent être dues à des mutations génétiques, des facteurs de l'environnement (température, pH).**

**Par sa séquence d'acides aminés (structure primaire), l'enzyme possède une configuration spatiale qui régit le mécanisme de reconnaissance du substrat.**

Le **site actif** de l'enzyme est constitué de cavités dues au repliement de la protéine.

Le **site actif** comprend **un site de reconnaissance au substrat et un site catalytique.**

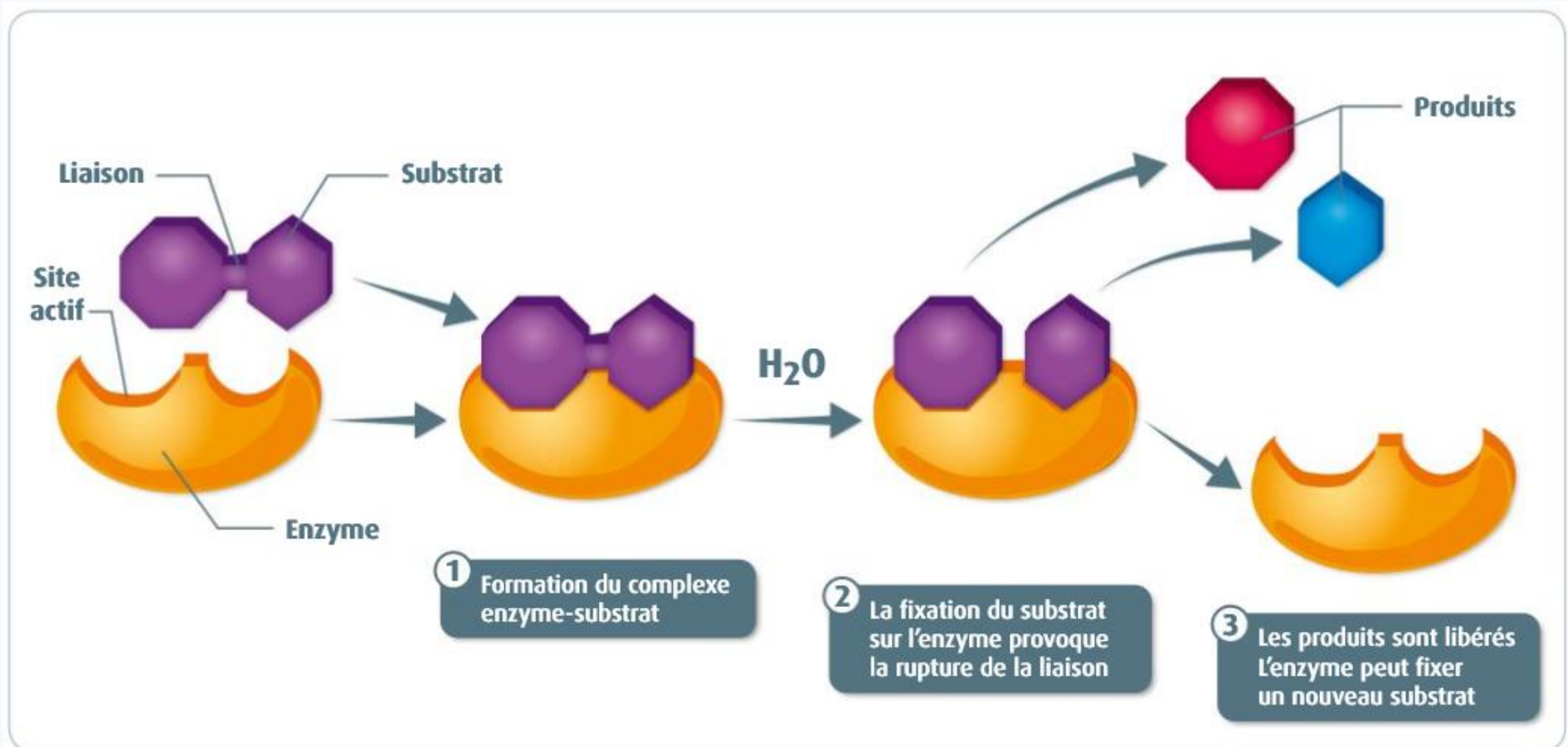
- **Le site de reconnaissance ou site de fixation montre une complémentarité de forme avec une portion du substrat.**

Ainsi, la majorité des enzymes ne peut agir que sur un seul substrat.

- **Le site catalytique permet la réalisation de la réaction.** Une enzyme ne peut catalyser qu'un seul type de réaction biochimique.

Les enzymes présentent donc **une double spécificité** : spécificité liée au substrat en relation avec le site de reconnaissance et spécificité d'action en relation avec le site catalytique.

L'association entre l'enzyme et son substrat est étroite mais transitoire : le complexe enzyme-substrat, favorise (catalyse) la transformation par l'enzyme du substrat en produit. Une fois les produits libérés de l'enzyme, celle-ci n'est pas modifiée et peut fixer un nouveau substrat.



**5** La formation d'un complexe entre l'enzyme et son substrat. Un modèle a été proposé pour décrire l'interaction entre une enzyme et son substrat : une association étroite mais transitoire, le complexe enzyme-substrat, favorise la transformation par l'enzyme du substrat en produit et accélère donc la réaction chimique considérée.

# La cinétique enzymatique

L'activité d'une enzyme s'évalue en mesurant la **vitesse** de la réaction catalysée.

Au cours d'une réaction enzymatique, la quantité de **substrat** diminue au fur et à mesure de son déroulement, tandis que celle du (ou des) **produit(s)** augmente.

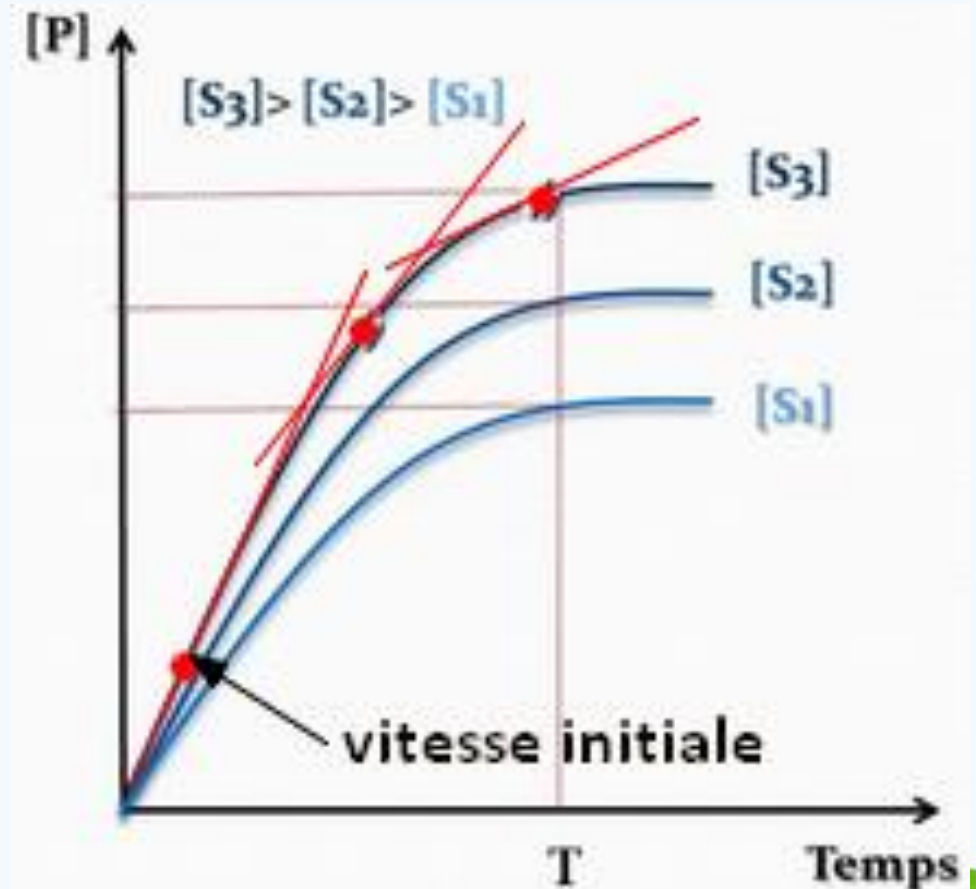
La **vitesse de la réaction** est donc la quantité de substrat transformé ou la quantité de produit apparu par unité de temps.

Quelle que soit la concentration en substrat, on constate toujours que cette vitesse diminue au cours du temps : à chaque instant, elle correspond à la pente (coefficient directeur) de la tangente à la courbe en ce point.

La **vitesse maximale** d'une réaction enzymatique ( $V_{i_{max}}$ ) est donc la **vitesse initiale de la réaction** (= la vitesse dans les premières secondes de la réaction).

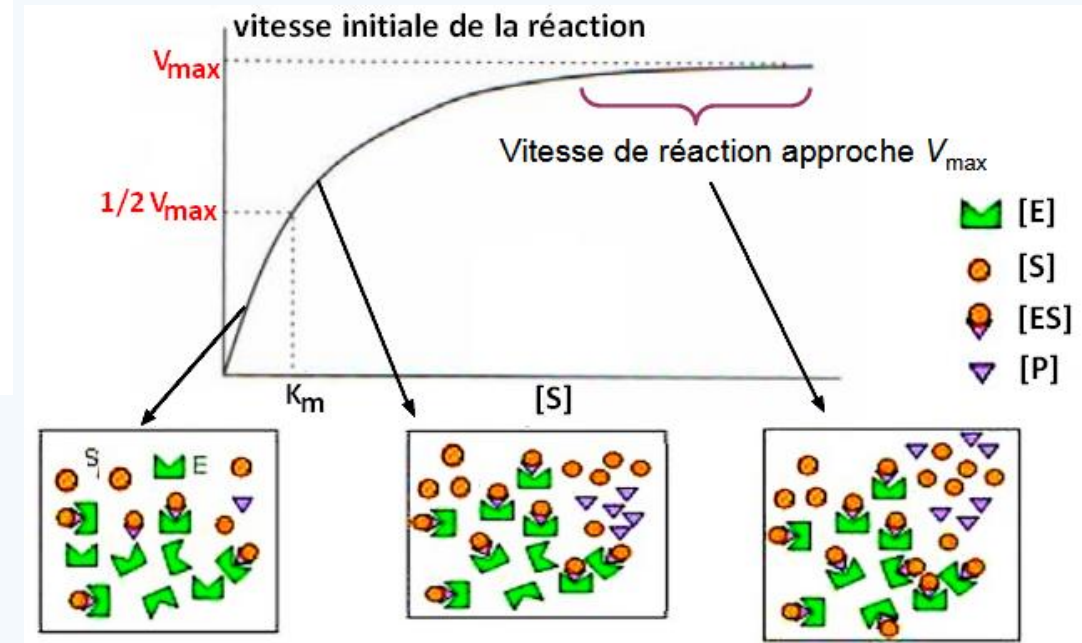
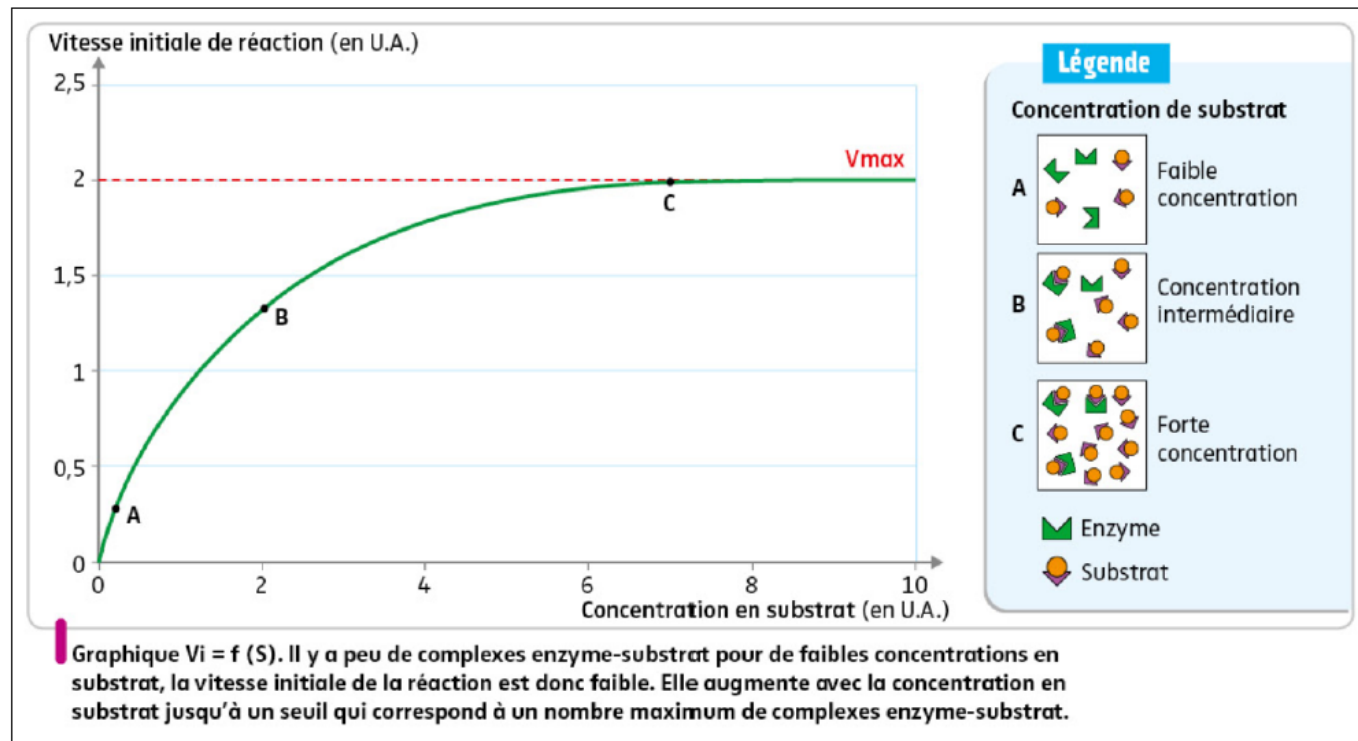
On peut évaluer la vitesse de la réaction par la méthode graphique des tangentes. Pour cela, on réalise un graphique montrant la concentration de produit formé au cours du temps. **La vitesse est alors évaluée par la tangente à l'origine  $V_i$** . Plus la pente de la tangente  $V_i$  est forte, plus la vitesse est importante.

Vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en substrat



La vitesse de la réaction varie :

## 1- En fonction de la concentration en substrat

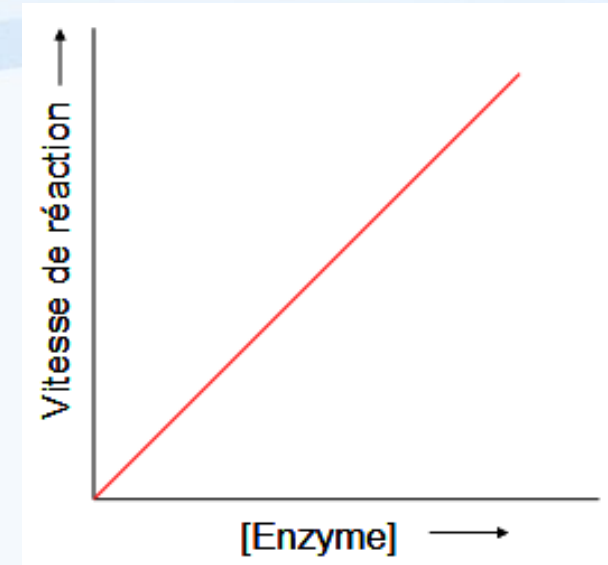


Pour une concentration fixe de l'enzyme, un graphique qui exprime  $V_{i_{max}} = f[S]$  montre une courbe qui présente un **plateau** à partir d'une certaine concentration en substrat élevée. À partir de ce moment, la vitesse de la réaction enzymatique est proche de la **vitesse maximale** ( $V_{max}$ ).

## 2- En fonction de la **concentration en enzyme**

Lorsque la concentration en enzyme est inférieure à celle du substrat, la vitesse de la réaction est proportionnelle à la concentration de l'enzyme : on obtient une **fonction  $V_{i_{\max}} = f[E]$  linéaire**.

La vitesse de réaction augmente lorsque la concentration de l'enzyme augmente et ceci est vrai pour n'importe quelle enzyme.



La **vitesse de la réaction** varie donc selon plusieurs paramètres :

- Elle est **forte au début de la réaction** et diminue avec le temps (moins de substrats présents) -
- Elle augmente quand on augmente la concentration en enzymes ou la concentration en substrat, mais à une concentration importante, la vitesse n'augmente plus : c'est la **saturation**.

Il faut donc des quantités raisonnables d'enzyme et de substrat, ce qui suggère la **formation d'un complexe ENZYME – SUBSTRAT** et permet de confirmer que les enzymes se lient au substrat via un **site actif**.

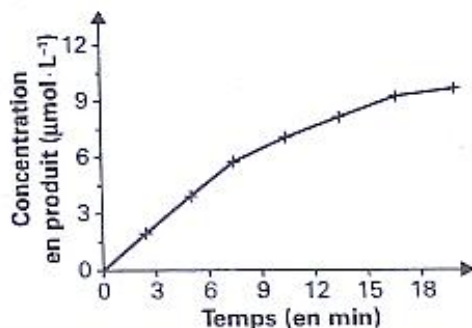
# Méthode

## Calculer la vitesse initiale d'une réaction enzymatique

L'activité d'une enzyme peut être caractérisée par sa vitesse initiale de réaction ( $v_i$ ) : la vitesse à laquelle l'enzyme catalyse la réaction de transformation du substrat en produit, en début de réaction. **Calculer la vitesse initiale de la réaction enzymatique ci-contre.**

### Doc Concentration en produit formé au cours du temps

Une enzyme est placée au contact de son substrat dans un bécher à  $t = 0$  min.



### CONSEILS

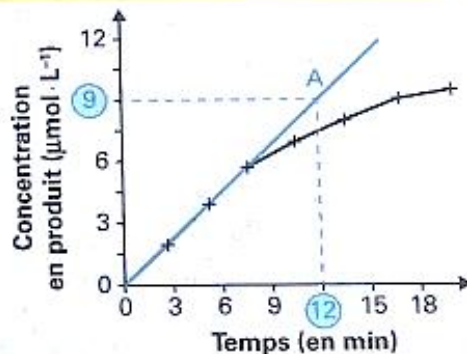
- Étape 1** Tracer la tangente à la courbe au début d'expérience.
- Étape 2** Choisir un point A situé sur cette tangente, par exemple à  $t = 12$  min.
- Étape 3** Calculer la pente de la tangente à l'aide des coordonnées de A.
- Étape 4** Exprimer la vitesse initiale avec les unités adéquates.

### SOLUTION

**Étape 1** La pente de la tangente à la courbe représente la vitesse de réaction. Elle est maximale en début d'expérience.

**Étapes 2 et 3** La pente de la tangente est donnée par  $y_A/x_A = 9/12 = 0,75$ .

**Étape 4** La vitesse de réaction est égale à  $0,75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ .



Une vidéo pour mieux comprendre le calcul de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique :

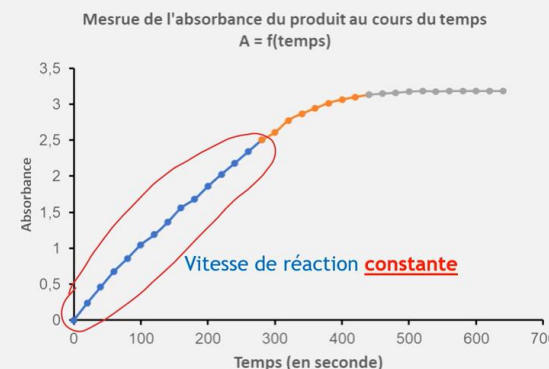
[https://youtu.be/j\\_Ysv\\_UzVzc](https://youtu.be/j_Ysv_UzVzc)

## Etude de la cinétique enzymatique



A quel moment peut-on déterminer la vitesse de la réaction ?

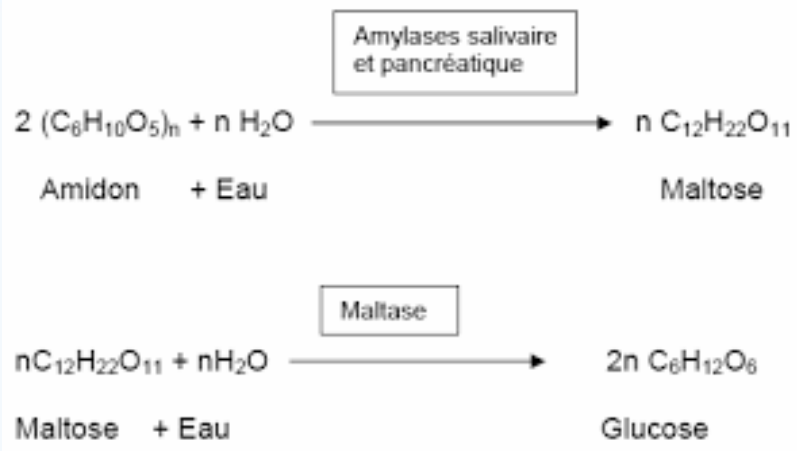
- Mesure de la vitesse en **période initiale**
- Mesure d'une **vitesse initiale ( $v_i$ )**
- Vitesse initiale = vitesse la plus élevée



Après un repas riche en glucides, 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 équivalent ces pics de glucose sont plus importants chez une personne atteinte de diabète. Cet excès de glucose peut avoir des conséquences graves à long terme. Il existe toutefois un médicament que l'on peut donner pour certains patients atteints de diabète. Ce médicament a comme principe actif l'acarbose

**A partir des documents, expliquez comment l'acarbose peut diminuer les pics glycémiques à la suite d'un repas.**

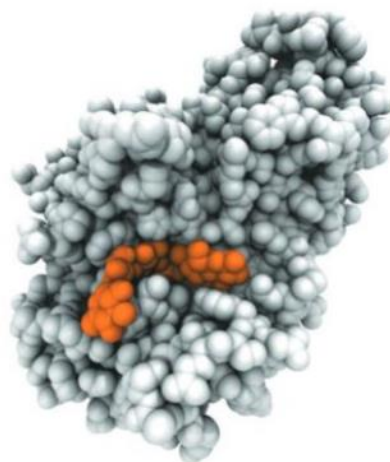
Document 1 : La réaction d'hydrolyse de l'amidon par les enzymes digestives



DOC 3 Modèles moléculaires de l'amylase en présence d'amidon ou en présence d'acarbose.

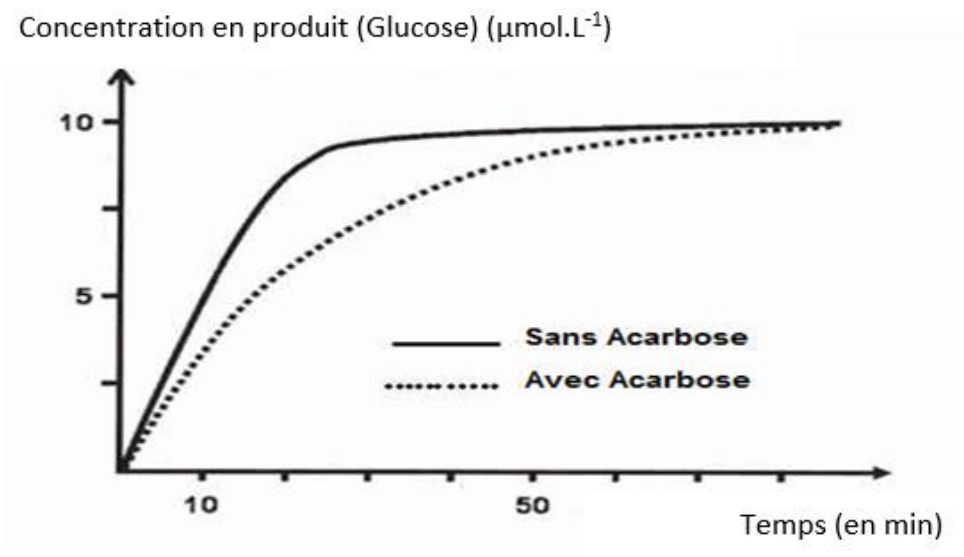


Amylase (blanc) et amidon (rouge)

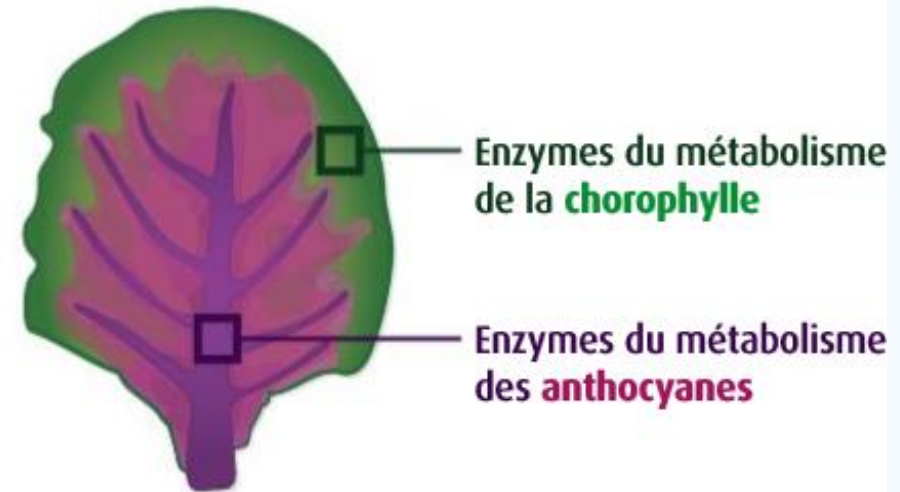
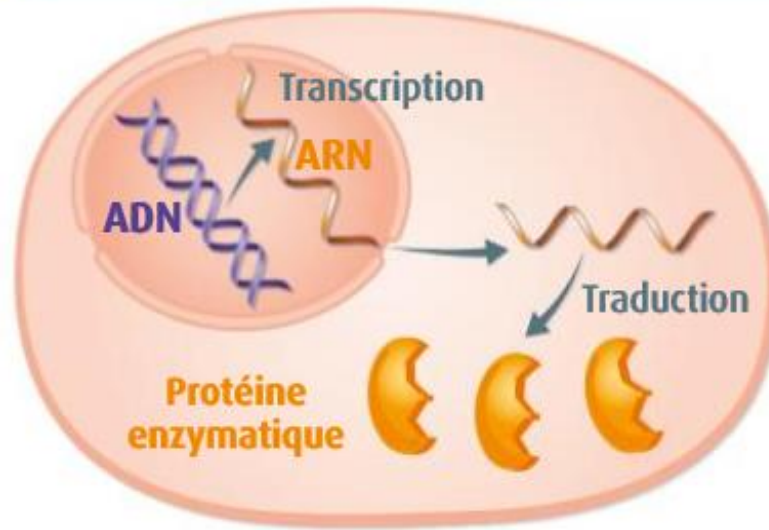


Amylase (blanc) et acarbose (orange)

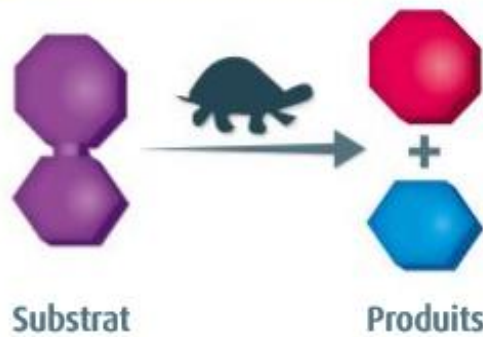
Doc. 2 : Variations de la vitesse d'hydrolyse de l'amylase pancréatique (enzyme agissant dans l'intestin), en absence ou en présence d'acarbose.



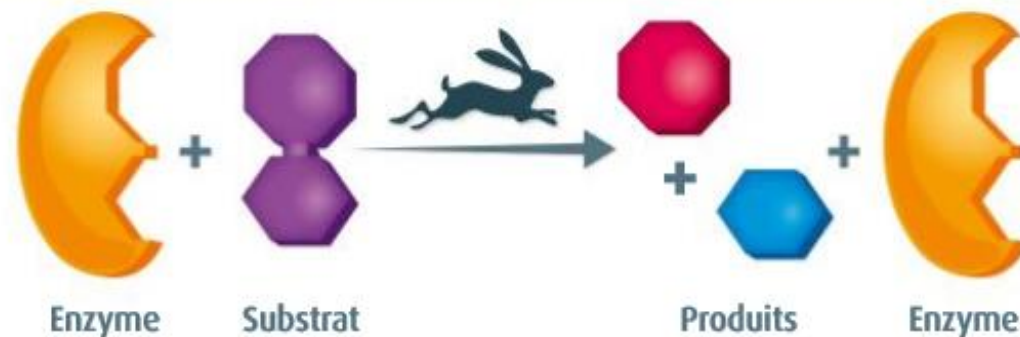
Une enzyme est une protéine issue de l'expression du patrimoine génétique d'une cellule et un marqueur de la spécialisation cellulaire



Une enzyme est un catalyseur de réaction chimique

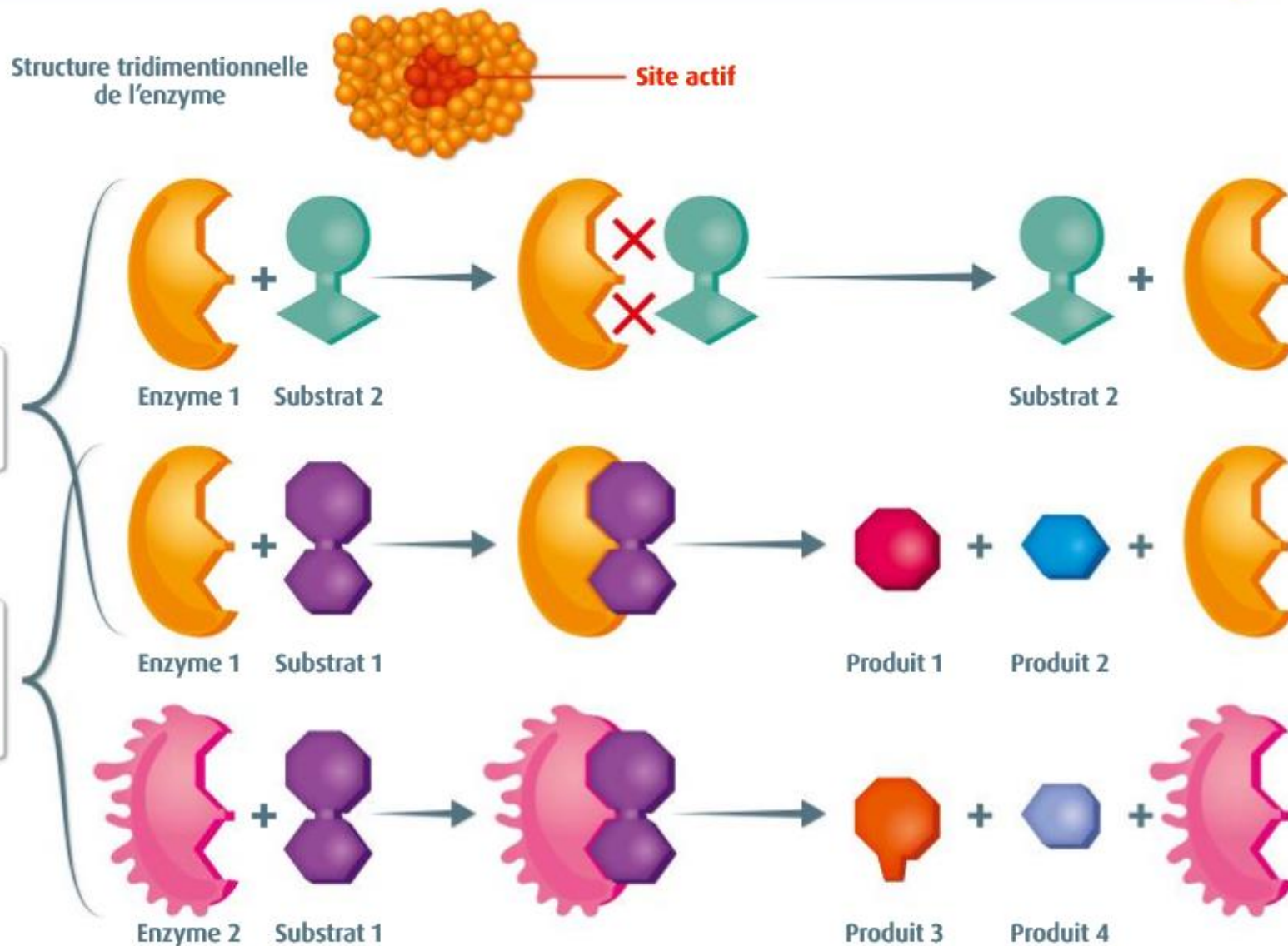


Réaction en absence d'enzyme



Réaction en présence d'enzyme

# La structure tridimensionnelle de l'enzyme permet une interaction avec un ou des substrats et explique sa double spécificité





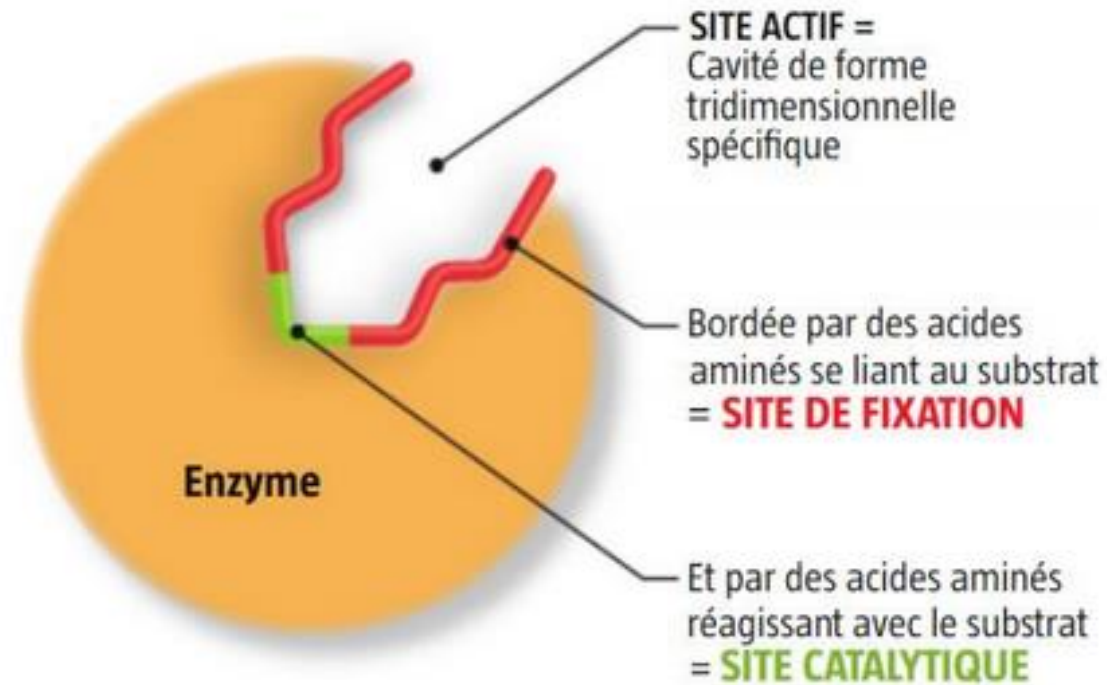
Enzyme

Substrat

Complexe  
Enzyme-Substrat

Produit

Enzyme retrouvée  
intacte en fin de réaction



## VOCABULAIRE

**Catalyseur** : espèce chimique qui augmente la vitesse de transformation sans figurer dans l'équation de la réaction et sans modifier la composition du système à l'état final

**Enzyme** : macromolécule de nature protéique ayant des propriétés catalytiques. On parle de biocatalyseur.

**Substrat** : molécule dont l'enzyme catalyse la modification

**Produit** : molécule obtenue après catalyse enzymatique d'un substrat

### SITE ACTIF =

**Site de reconnaissance** : partie du site de fixation de l'enzyme dont les Acides aminés réalisent des liaisons faibles avec le substrat =

**Site de catalyse ou site catalytique** : partie du site actif dont les acides aminés sont responsables de la transformation du substrat en produit

**Vitesse de réaction** : quantité de substrat dégradé ou de produit par unité de temps. Vitesse initiale de réaction : vitesse de réaction, en début de réaction