

## TD22- Modélisation 3D de la relation enzyme-substrat

Les enzymes sont des protéines issues de l'expression génétique des cellules. Elles sont indispensables aux réactions et à la vie des cellules. On sait qu'au cours d'une réaction enzymatique, le substrat se transforme progressivement (phénomène progressif nécessitant 3 à 5 minutes) en présence de l'enzyme qui reste inchangée. On cherche à comprendre les interactions entre l'enzyme et le substrat.

La structure de certaines enzymes est connue. Par la technique de la cristallographie aux rayons X, les scientifiques ont élaboré des modèles moléculaires de l'enzyme seule ou de l'enzyme avec son substrat. On cherche à comprendre au niveau moléculaire les interactions enzyme-substrat.

**Objectif de connaissance:** Comprendre la relation entre la structure 3D d'une enzyme et sa fonction

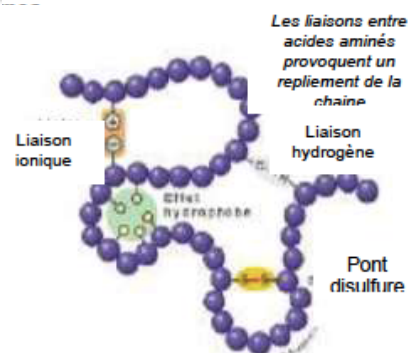
**Objectifs de savoir faire:** Utilisation du logiciel libmol. Modélisation 3D d'une protéine. Observer, analyser, déduire.



### Documents de référence

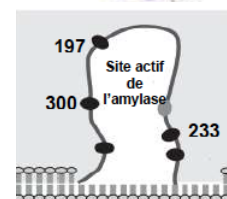
#### Doc.1. Mode d'action des enzymes

Pour catalyser la réaction, l'enzyme doit rentrer en contact avec la molécule de substrat pour former un complexe enzyme-substrat. Cette liaison avec la molécule de substrat conduit à la libération des produits de la réaction. Ce contact s'établit au niveau du site actif qui est une zone particulière de l'enzyme, complémentaire de forme de la molécule de substrat. Des études de biologie moléculaire ont déterminé que seuls certains acides aminés du site actif, dont on connaît la position, assurent une liaison temporaire avec le substrat spécifique pour permettre le déroulement de la réaction.



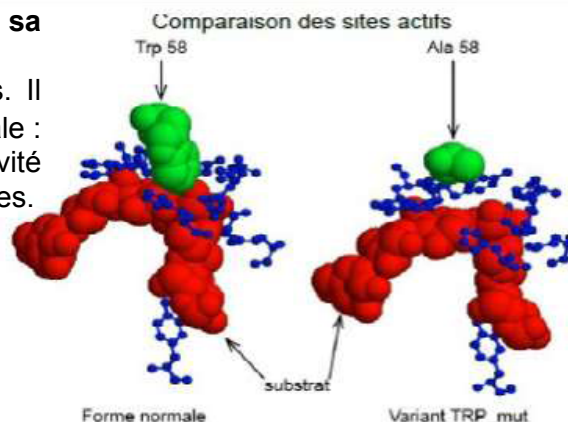
#### Doc.2. Représentation schématique du site actif de l'amylase et des acides aminés assurant une liaison temporaire avec l'amidon

Les numéros correspondent à la position des acides aminés du site actif dans la protéine. Libmol est un logiciel permettant de visualiser les molécules en 3D (<https://libmol.org/>).



#### Doc.3. Modification des acides aminés de l'amylase et effet sur sa spécificité :

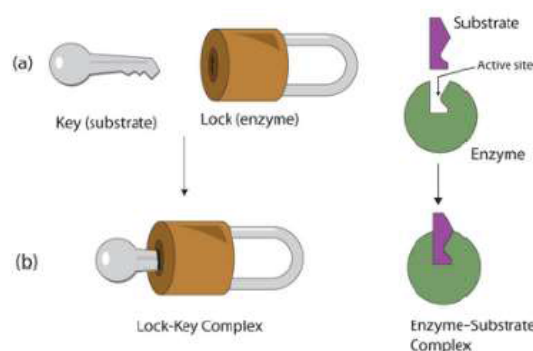
L'amylase salivaire humaine existe sous différentes formes variantes. Il existe une forme qui présente une seule différence avec la forme normale : l'acide aminé 58 est une alanine au lieu d'être un tryptophane. L'activité des deux enzymes ainsi que la structure 3D des sites actifs sont connues.



Activité de deux variants de l'amylase salivaire humaine

ariant enzymatique	Activité des enzymes (hydrolyse d'amidon en U.mg <sup>-1</sup> d'enzyme)
Amylase salivaire normale	66212
Amylase salivaire modifiée	350

#### Doc.4. Aide à la compréhension : système clé/serrure = fixation enzyme/substrat





## Modélisation de la fixation du substrat sur une enzyme

**Activité 1 : On cherche à comprendre, par visualisation de molécules en 3D, pourquoi l'amylase modifiée a une activité très faible.**

1- Afficher le logiciel Libmol, à ouvrir sur internet. (Voir fiche technique ci-dessous)

2- En utilisant les fonctionnalités de Libmol, ouvrir en les recherchant :

- l'amylase pancréatique porcine en complexe avec des molécules d'amidon

• Identifier l'amylase et le fragment d'amidon (glucide) dans le complexe enzyme substrat. (chaîne/colorer par nature/ mettre amidon en sphère)

• Mettre en évidence les acides aminés du site actif (séquence/chercher et cliquer sur l'acide aminé/inverser/colorer/ afficher en sphère)

• Faire une capture d'écran judicieuse.

- l'amylase pancréatique humaine mutée (Asp 197Ala)

• Mettre en évidence les acides aminés du site actif (séquence/chercher l'acide aminé/inverser/colorer/ afficher en sphère)

• Faire une capture d'écran judicieuse.

3- Légender et titrer vos modélisations moléculaires en 3D.

*Appeler le professeur pour vérification et impression*

4- A partir de l'exploitation de vos résultats et du document 3, expliquer pourquoi l'amylase modifiée a une activité réduite.