



Problématique

L'activité précédente a montré qu'une enzyme était spécifique d'un **substrat** ; elle reconnaît donc une molécule (ou un ensemble de molécules). Par ailleurs, elle est spécifique d'une **action** : cela peut être une lyse de la molécule, une polymérisation, des échanges d'ions, etc. Grâce à ces 2 propriétés essentielles, les protéines enzymatiques permettent indirectement la réalisation des phénotypes (moléculaire à macroscopique). Les questions à aborder sont :

Comment expliquer la réalisation de la réaction catalytique et l'influence des facteurs environnementaux sur cette réaction chimique ?

Objectifs

- ☉ **Saisir** des informations (résultats d'expériences (ExAO : Serenis, visionneuse de molécules, logiciel « Lactase »)
- ☉ **Manipuler** (ExAO : logiciel « Serenis »)
- ☉ **Maîtriser** l'outil informatique (visionneuse de molécules « Rastop » ou « Molusc »)
- ☉ **Comprendre** le mécanisme de la réaction catalytique et les influences environnementales sur ce mécanisme

Production attendue	Critères de réussite	Conseils de réalisation
<ul style="list-style-type: none"> ☉ un texte d'une trentaine de lignes intégrant un tableau, un graphique (dégagés de l'expérience ExAO) et un schéma pour répondre à la problématique. ==> supports n°1 à n°8. 	<ul style="list-style-type: none"> ● le graphique imprimé est complété (titre, légendes...), ● le tableau présente les valeurs de la vitesse initiale des réactions en fonction de la concentration du substrat (eau oxygénée), ● le schéma annoté et commenté présente la relation enzyme-substrat, ● le texte commente la variation de la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration du substrat, explique la valeur constante de la vitesse initiale pour une concentration importante du substrat, précise le relation moléculaire enzyme-substrat et l'influence de 2 facteurs environnementaux, le pH (support n°6) et la température (support n°7) sur l'activité enzymatique. 	<ul style="list-style-type: none"> ● réaliser le protocole proposé (support n°1), imprimer et annoter l'enregistrement des 6 courbes obtenues, faire le calcul pour chacune des 6 courbes de la vitesse initiale de la réaction (V_i) puis construire la courbe $V_i = f([substrat])$ ● schématiser la forme général de l'enzyme et du substrat emboîté dans l'enzyme (supports n°2 et 3), les liaisons hydrogène, les ponts dissulfure, les acides aminés du site actif. ● expliquer l'évolution de la vitesse pour les faibles puis les fortes concentrations de substrat en fonction de la disponibilité des enzymes au cours de la réaction. ● prendre en compte : les conditions du milieu, la charge des acides aminés, la forme de l'enzyme, l'activité de son site actif (supports n°4 et 5)...

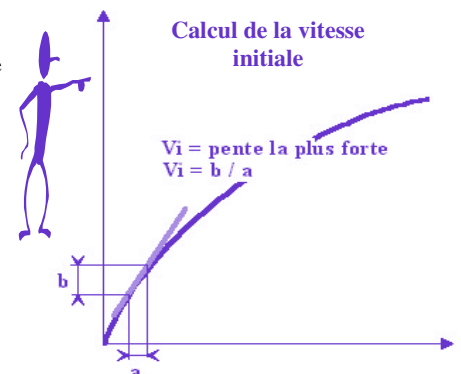
Supports

1 : ExAO : étude expérimentale de l'influence de la concentration d'un substrat (H_2O_2) sur la vitesse d'une réaction enzymatique (désoxygénation par la Catalase du Navet) ; logiciels « Serenis ». La catalase est une enzyme se trouvant dans le cytoplasme des cellules de navet et de radis. Cette enzyme catalyse la vitesse de décomposition de l'eau oxygénée (H_2O_2) selon la réaction suivante :



La sonde oxygène du dispositif EXAO mesure la quantité de produit qui se forme dans l'enceinte du bio réacteur.

- **Préparer** la solution de catalase du navet : **peser** dans du papier aluminium 20 g de navet râpé, le **broyer** dans un mortier à l'aide du pilon dans un tampon à pH=7,2, puis **filtrer** et **recupérer** le filtrat dans un bécher de 200 mL ; après avoir obtenu 50 mL de filtrat, **compléter** le volume à 200 ML à l'aide du tampon à pH 7,2.
- **Réaliser** successivement pour les 6 concentrations de substrat (en commençant par la concentration la plus faible) la mesure de l' O_2 dégagé par la réaction par le protocole suivant : **placer** l'enzyme (catalase) dans le bio réacteur (**remplir** les 2/3 du volume du bio réacteur), **agiter** modérément (à l'aide de l'agitateur magnétique) et **installer** la sonde O_2 ; **prélever** 0,4 mL de substrat à l'aide d'une micro seringue, **chasser** l'air éventuel et **ramener** le volume de la micro-seringue à 0,2 mL ; **paramétrer** le logiciel (temps : 3 minutes) ; **démarrer** la manipulation et au temps 30 secondes **injecter** le substrat ; après chaque manipulation, **laver** soigneusement bio réacteur et sonde en veillant à ne pas perdre l'agitateur magnétique, **choisir** la conservation des graphiques précédemment obtenus et **recommencer** le protocole avec une nouvelle concentration de substrat.
- Le logiciel « Serenis » permet le calcul de la vitesse initiale en affichant la droite tangente à chaque courbe : **relever** les coefficients directeurs de ces droites (on peut aussi le calculer comme indiqué ci-contre).
- En cas de déveine, **demander** un document de secours



Voir suite des documents au verso



Supports (suite)

2 : Site SVT : relation enzyme -substrat (exemple de la *carboxypeptidase*)

3 : Site SVT : effet d'une mutation sur la relation enzyme substrat (exemple de la *carboxypeptidase*)_

4 : Site SVT : effet d'un inhibiteur sur la relation enzyme substrat (exemple de la *carboxypeptidase*)_

5 : Site SVT : effet de la dénaturation d'une protéine sur l'activité enzymatique (exemple de la *carboxypeptidase*) _

6 : Logiciel « lactase » :

- Choisir l'option « en savoir plus » puis « mécanisme de la réaction enzymatique » .

7 : Logiciel « lactase » : étude du pH (les signes + et - localisés au niveau de l'enzyme symbolisent les charges de la protéines en fonction du pH)

- Choisir un pH de 8 puis **cliquer** sur le bouton « recommencer l'expérience »,
- Choisir un pH de 2 puis **cliquer** sur le bouton « recommencer l'expérience »,
- Choisir un pH de 11 puis **cliquer** sur le bouton « recommencer l'expérience »,

8 : Logiciel « lactase » : étude de la température

- Choisir une température de 0°C puis **cliquer** sur le bouton « recommencer l'expérience » et **poursuivre** l'étude en augmentant la température de 5°C à chaque fois.