

Thème A : Transmission, variation et expression du patrimoine génétique

Chapitre A5 : Les enzymes, des biomolécules aux propriétés catalytiques

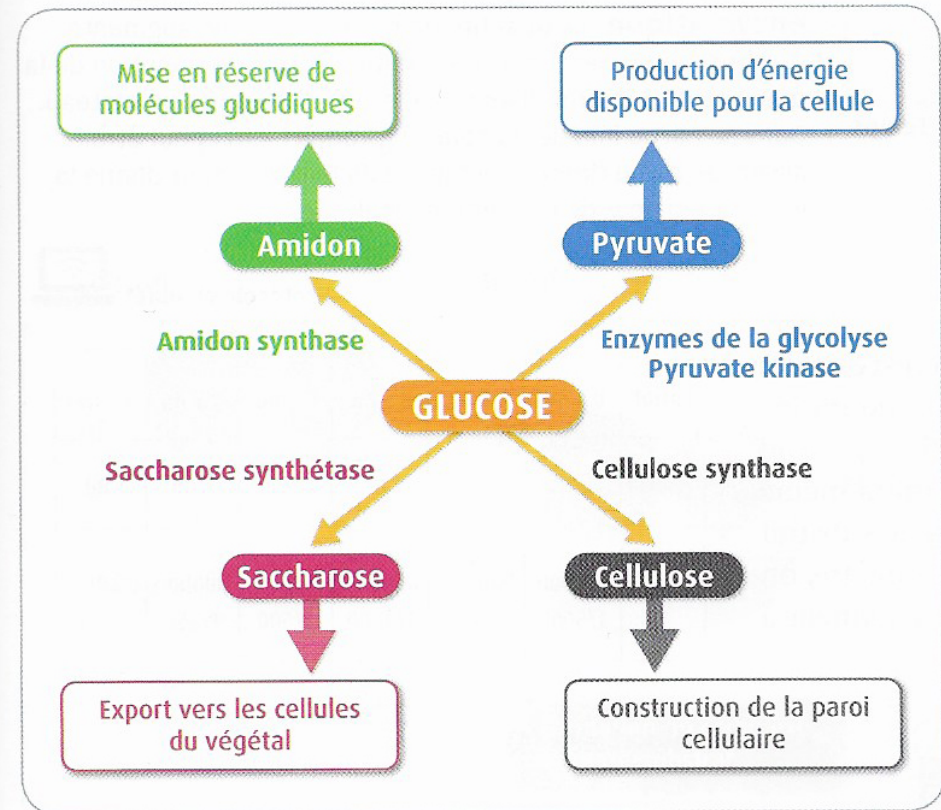
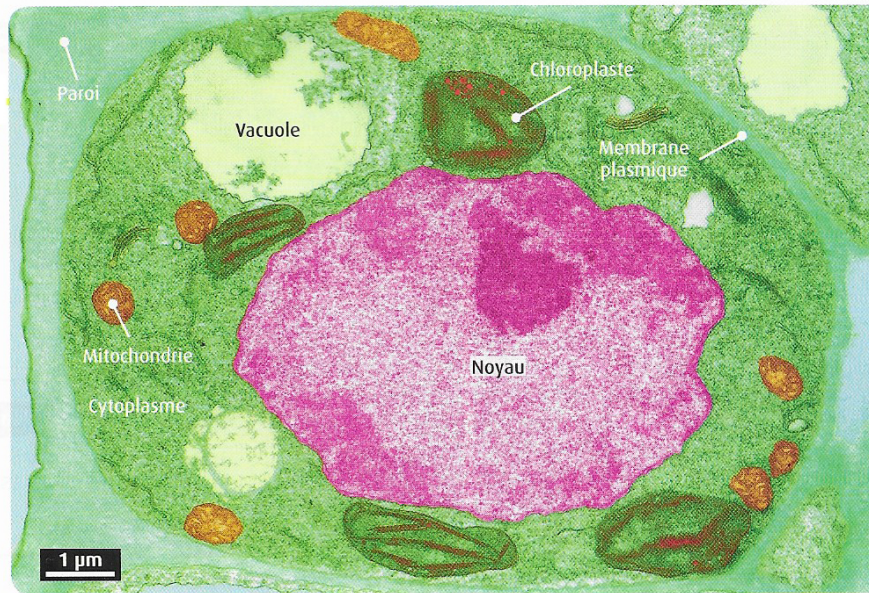
Problématique : *Comment les enzymes participent-elles à la vie cellulaire et à la spécialisation des cellules ?*

I. Les enzymes, des catalyseurs du métabolisme cellulaire

L'intervention de diverses enzymes dans le métabolisme d'une cellule chlorophyllienne

Le métabolisme des glucides dans la cellule végétale chlorophyllienne.

Située le plus souvent dans une feuille, la cellule végétale chlorophyllienne réalise la photosynthèse : grâce à l'énergie lumineuse, elle fabrique des molécules glucidiques. Celles-ci sont ensuite métabolisées dans différents compartiments cellulaires, voire exportées dans l'ensemble du végétal.

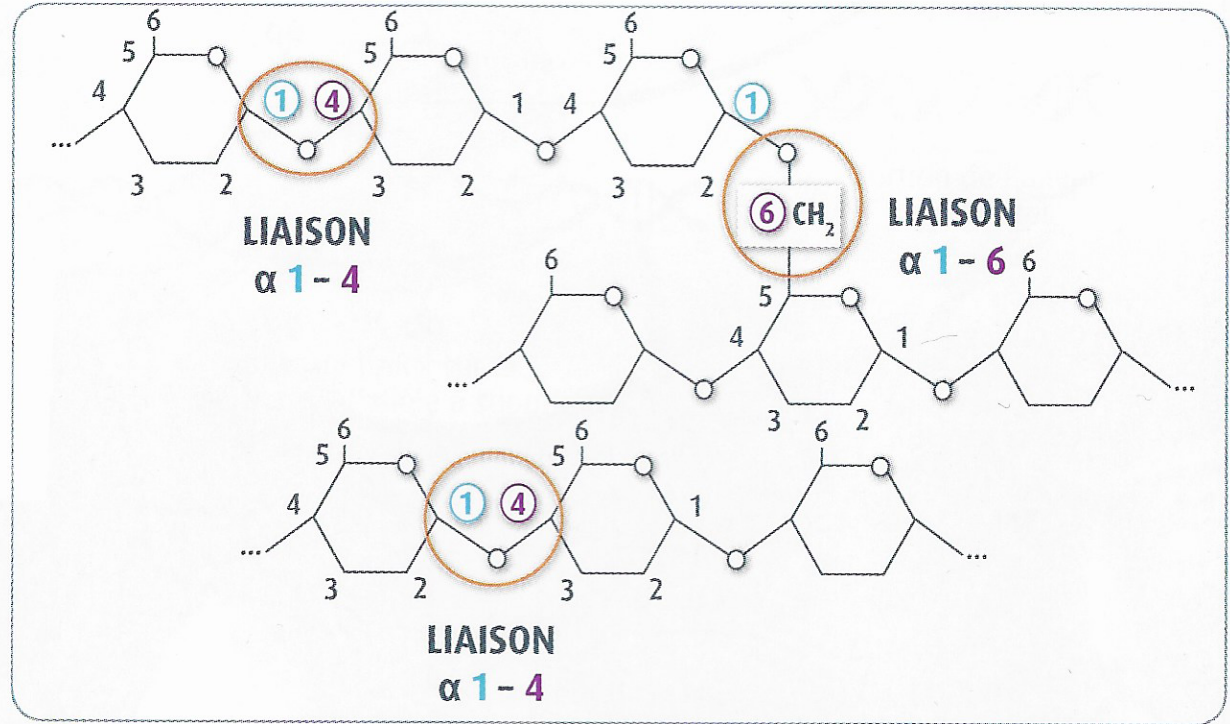


Différents devenirs d'une même molécule, le glucose, dans une cellule végétale chlorophyllienne. De façon générale, une enzyme catalyse un seul type de réaction chimique. En fonction des enzymes par lesquelles il est pris en charge, le glucose aura des devenirs différents dans la cellule végétale chlorophyllienne.

Activité découverte du fonctionnement des enzymes : cas de l'amylase



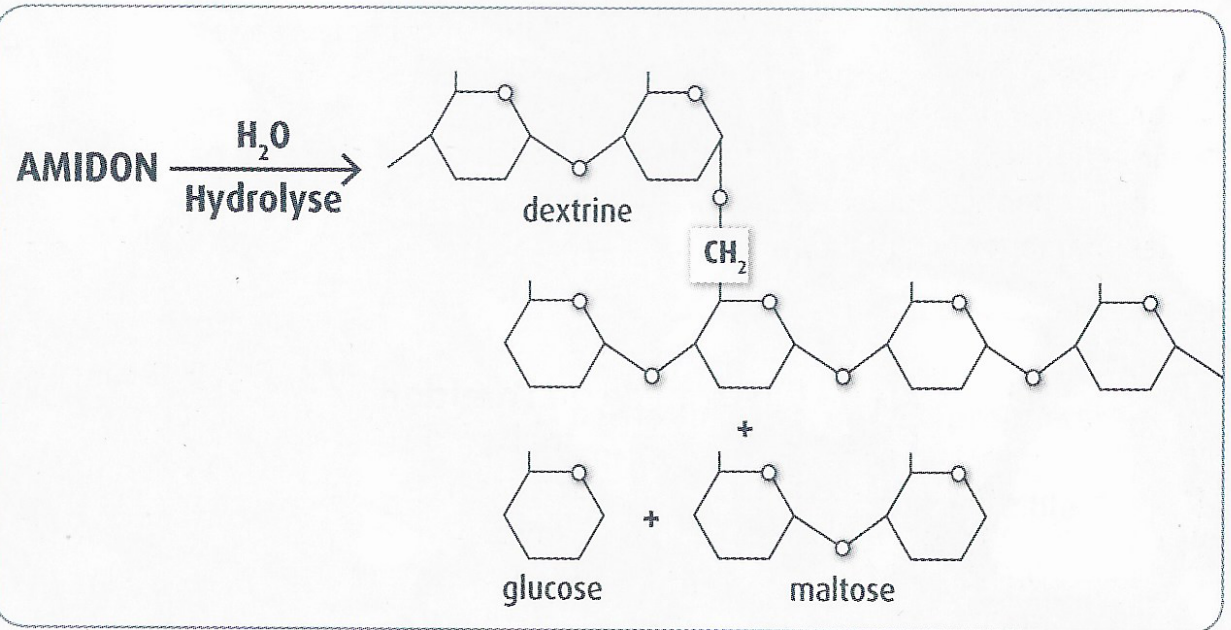
1 Modélisation 3D d'une protéine enzymatique: l'amylase. Comme toutes les protéines, les enzymes sont constituées d'un enchaînement d'acides aminés et dotées d'une structure tridimensionnelle spécifique. L'une d'entre elles, l'amylase salivaire humaine, contient 511 acides aminés. D'autres organes chez les humains et d'autres organismes, animaux, végétaux ou bactériens, produisent aussi de l'amylase.



2 Schéma d'une molécule d'amidon. L'amidon est un glucide de réserve présent notamment dans le tubercule de pomme de terre. C'est un mélange de polymères de glucoses, ramifiés et non ramifiés. Au sein de l'amidon, les liaisons qui unissent les molécules de glucose sont qualifiées de $\alpha 1-4$ et $\alpha 1-6$. Les chiffres correspondent au numéro des atomes de carbone dans la molécule de glucose.

L'hydrolyse de l'amidon. 3

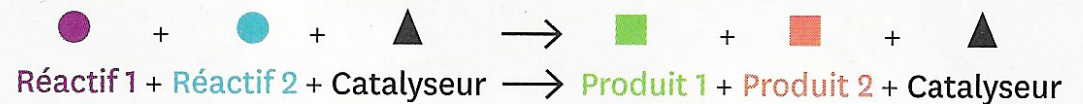
Lorsque la pomme de terre germe et commence à produire de nouvelles tiges, elle puise dans ses réserves. L'amidon est alors décomposé en plus petites molécules glucidiques, utilisables par les cellules, via une réaction qualifiée d'hydrolyse. En laboratoire, plusieurs mois sont nécessaires pour que des molécules d'amidon en solution soient dégradées spontanément en leurs éléments constitutifs.



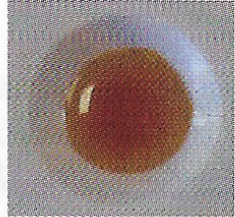
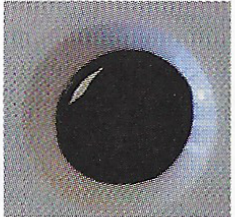
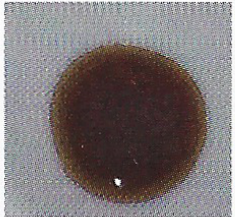
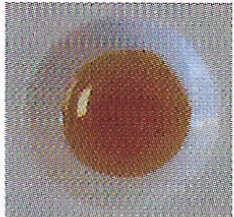
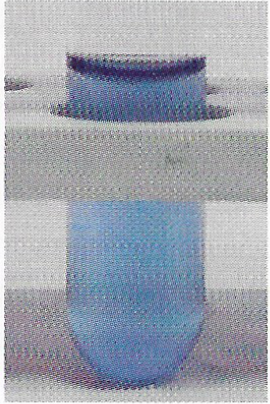
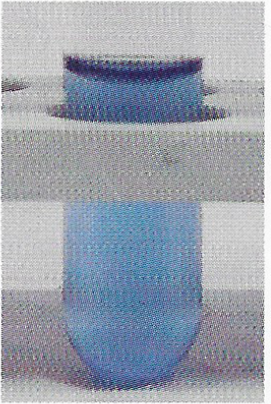
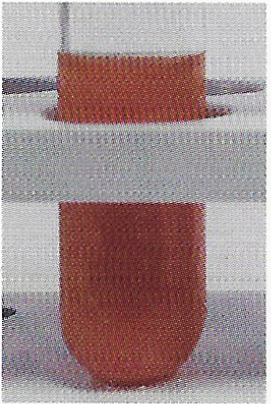
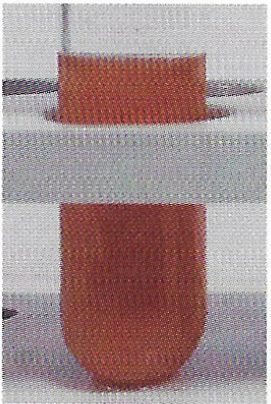
Lors d'une réaction chimique, des molécules appelées réactifs (ou substrats) sont transformées en molécules différentes, nommées les produits.



Un catalyseur est une molécule qui, ajoutée en petite quantité dans le milieu, accélère une réaction chimique. Il est intact à la fin de la réaction.



4 Définition d'un catalyseur.

	Eau	Amidon	Dextrine	Maltose, Glucose
Eau iodée				
Liquueur de fehling				

5 Quelques résultats de tests d'identification de molécules glucidiques.

L'eau iodée et la liqueur de Fehling permettent de mettre en évidence la présence de diverses molécules glucidiques. Ni l'acide chlorhydrique, ni l'amylase ne sont colorés spécifiquement par l'eau iodée. Ils ne réagissent pas non plus au test à la liqueur de Fehling. Lorsque la dextrine, le glucose ou le maltose réagit avec la liqueur de Fehling, il y a formation d'un précipité rouge brique.

Expérience	Test à l'eau iodée	Test à la Liqueur de fehling
Amidon + Amylase à 35 °C		
Amidon + Amylase à 90 °C		
Amidon + Eau à 35 °C		
Amidon + Eau à 90 °C		
Amidon + acide chlorhydrique à 35 °C		
Amidon + acide chlorhydrique à 90 °C		<p>Formation d'un léger précipité rouge au fond du tube</p>

Résultats de l'hydrolyse de l'amidon 7 en présence d'acide chlorhydrique ou d'amylase. Les tests à l'eau iodée et à la liqueur de Fehling pour les expériences « amidon + amylase à 90 °C », « amidon + eau à 35 °C », « amidon + eau à 90 °C » et « amidon + acide chlorhydrique à 35 °C » donnent les mêmes résultats.

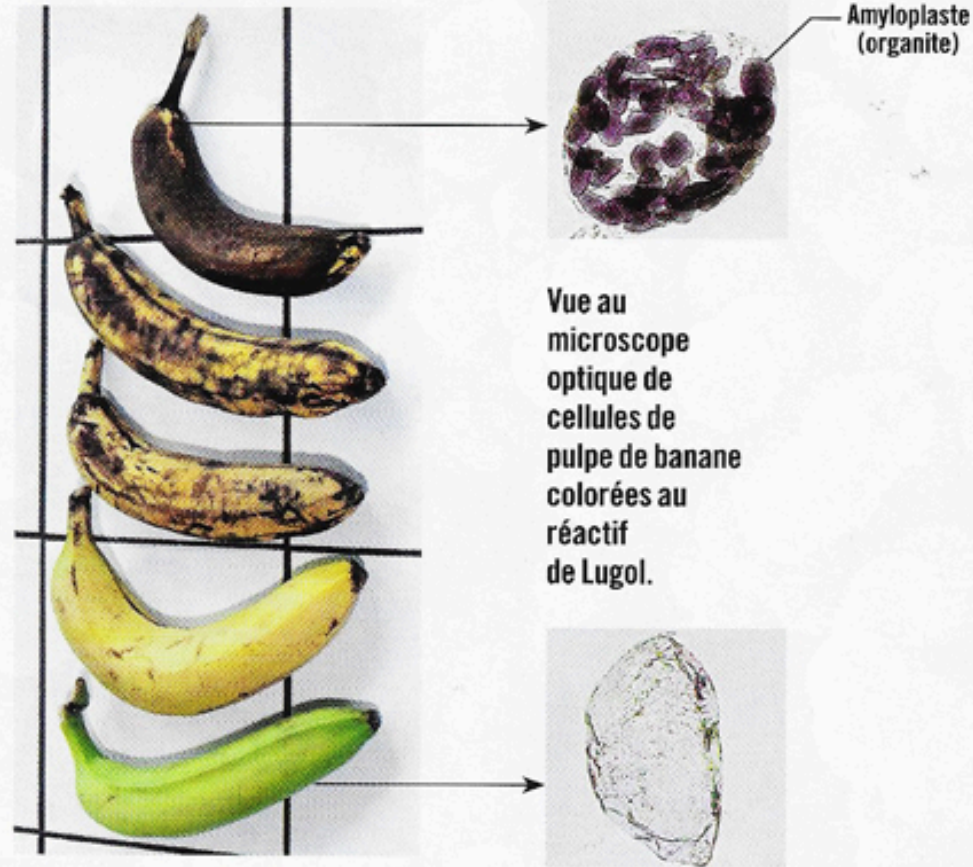
II. La spécificité des enzymes

Activité A5-1 :

Document 1 : Comparaison de bananes mûres et de bananes non mûres

Cahier de labo

- Peler la banane et couper un morceau de 3 cm de long.
 - Écraser le morceau dans un bol avec une fourchette jusqu'à obtenir une bouillie presque liquide.
 - Placer une goutte de cette préparation sur une lame puis ajouter une goutte de solution d'eau iodée.
 - Recouvrir d'une lamelle.
 - Observer au microscope optique.
- Fiche méthode 1

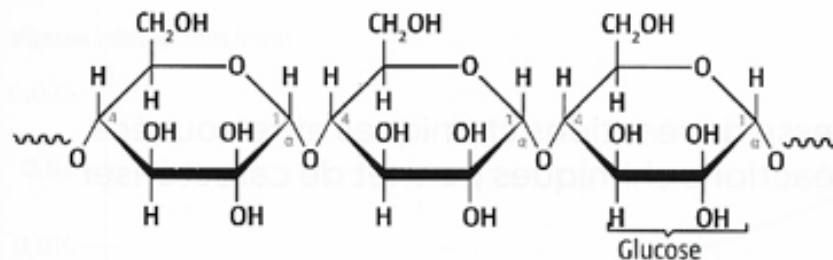


Activité A5-1 :

Document 2 : Composition en amidon, glucose et fructose de la pulpe de banane à différents stades de maturation

Stade	Couleur de la peau	Amidon (%)	Glucose + Fructose (%)
1	Vert sombre	61,7	0,2
2	Vert clair	58,6	1,3
3	Vert avec des points jaunes	42,4	10,8
4	Plus vert que jaune	39,8	11,5
5	Plus jaune que vert	37,6	12,4
6	Entièrement jaune	9,7	15
7	Jaune avec des points noirs	6,3	31,2
8	Plus jaune que noir	3,3	33,8
9	Plus noir que jaune	2,6	33,6

Document 3 : Molécule d'amidon



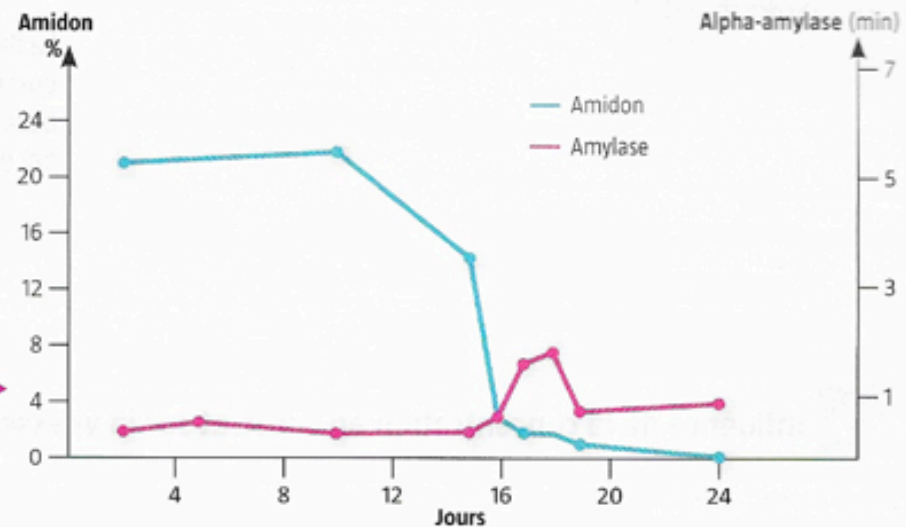
L'amidon est formé par association d'un grand nombre de glucoses. L'**hydrolyse** de l'amidon peut être rendue possible par une protéine à activité enzymatique, l'amylase, en dextrines (enchaînement de quelques glucoses) et en maltose (association de deux glucoses). Dextrines et maltose peuvent ensuite être hydrolysés en glucose.

Activité A5-1 :

Document 4 : Expression de l'alpha-amylase au cours de la maturation de la banane

On mesure l'évolution de la quantité d'alpha-amylase et d'amidon au sein des cellules de banane au cours de leur maturation.

Évolution de la quantité d'alpha-amylase (rouge) et d'amidon (bleu) au cours de la maturation de la banane.



Activité A5-1 :

PROTOCOLE : Etude expérimentale de l'hydrolyse de l'amidon

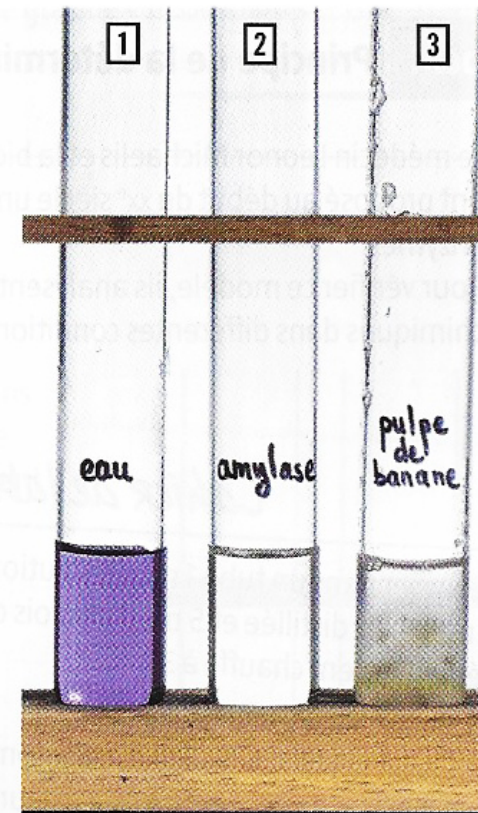
Cahier de labo

- Prendre environ 3 cm de pulpe de banane mûre, écraser avec une fourchette jusqu'à obtenir une bouillie presque fluide.
- Dans 3 tubes à essai, verser 5 mL d'empois d'amidon à 6 g/L puis placer les tubes au bain-marie à 37 °C.
- Laisser 5 minutes.
- Ajouter : 1 mL d'eau distillée (tube 1) ; 1 mL d'amylase (tube 2) et 1 mL de pulpe de banane mûre (tube 3).
- Agiter par retournement et replacer les tubes au bain-marie.
- Au bout de 15 minutes, mettre 3 gouttes d'eau iodée (colorant permettant une coloration bleu noir de l'amidon).

L'hydrolyse spontanée de l'amidon est possible, mais se réalise à une vitesse très lente. L'hydrolyse de l'amidon par l'acide chlorhydrique, **catalyseur** chimique, peut se faire en quelques minutes si celle-ci est effectuée à 100 °C.

Catalyseur Substance chimique capable d'augmenter la vitesse d'une réaction, sans en changer ni le sens ni le résultat, et retrouvée intacte à la fin de la réaction.

Hydrolyse Réaction chimique dans laquelle une liaison est rompue par action d'une molécule d'eau.



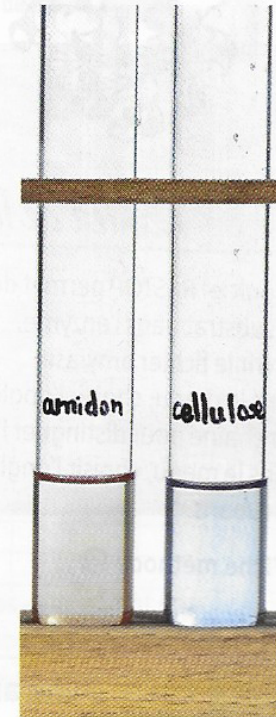
Activité A5-1 :

PROTOCOLE : Comparaison de la spécificité des catalyseurs chimiques et enzymatiques

Cahier de labo

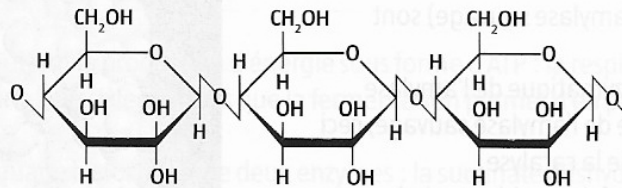
- Verser dans un tube à essai :
 - 5 mL de solution d'amidon 6g/L (tube A) ;
 - 5 mL de solution de cellulose 6g/L (tube C).
 - Ajouter 1 mL d'amylase dans chaque tube.
- Laisser au bain-marie à 37 °C pendant 20 minutes.
- Faire un test à la liqueur de Fehling.
Cette solution de couleur bleue devient rouge après chauffage en présence de maltose (association de deux molécules de glucose).

Comme l'amidon, la cellulose est un polymère de glucose très abondant dans les tissus végétaux. On teste l'action de l'amylase sur la cellulose en la comparant à celle sur la molécule d'amidon.



L'acide chlorhydrique, HCl, catalyseur chimique, accélère la vitesse des réactions d'hydrolyse mais aussi des réactions de déshydratation et des réactions de polymérisation (association de plusieurs molécules simples entre elles). L'amylase ne catalyse qu'une réaction d'hydrolyse.

La cellulose peut être hydrolysée par des enzymes particuliers appelés « cellulases » et produits par des microorganismes présents dans la panse des ruminants.



▲ Molécule de cellulose.

Une expérience de mise en évidence de la spécificité de substrat des enzymes

Activité pratique

La pepsine est une enzyme produite par l'estomac. Comme l'amylase, elle intervient dans l'hydrolyse de macromolécules alimentaires en nutriments* solubles.

L'expérience suivante a pour objectif de déterminer si ces deux enzymes peuvent catalyser l'hydrolyse des mêmes substrats.

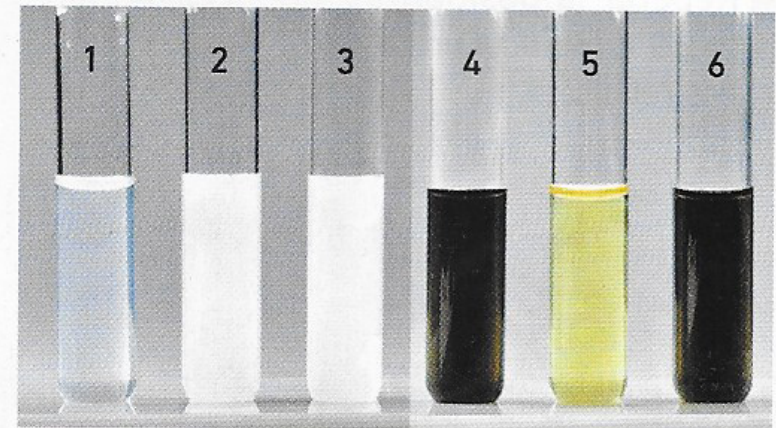
Protocole expérimental

On dispose des produits suivants : précipité d'ovalbumine (protéine de blanc d'œuf), empois d'amidon, amylase, pepsine, acide dilué.

- Préparer six tubes en réalisant les mélanges indiqués dans le tableau ci-contre (4 mL de substrat + 20 gouttes de solution enzymatique ou d'eau, suivant les cas).
- Placer les tubes au bain-marie à 35 °C pendant 20 minutes environ.
- À la fin de l'expérience, ajouter une goutte d'eau iodée aux tubes 4, 5 et 6.

Remarque : la pepsine n'agissant qu'en milieu acide, ajouter quelques gouttes d'acide dilué aux tubes 1 et 4 pour abaisser le pH.

Tube	Contenu
1	Ovalbumine + pepsine
2	Ovalbumine + amylase
3	Ovalbumine + eau
4	Amidon + pepsine
5	Amidon + amylase
6	Amidon + eau



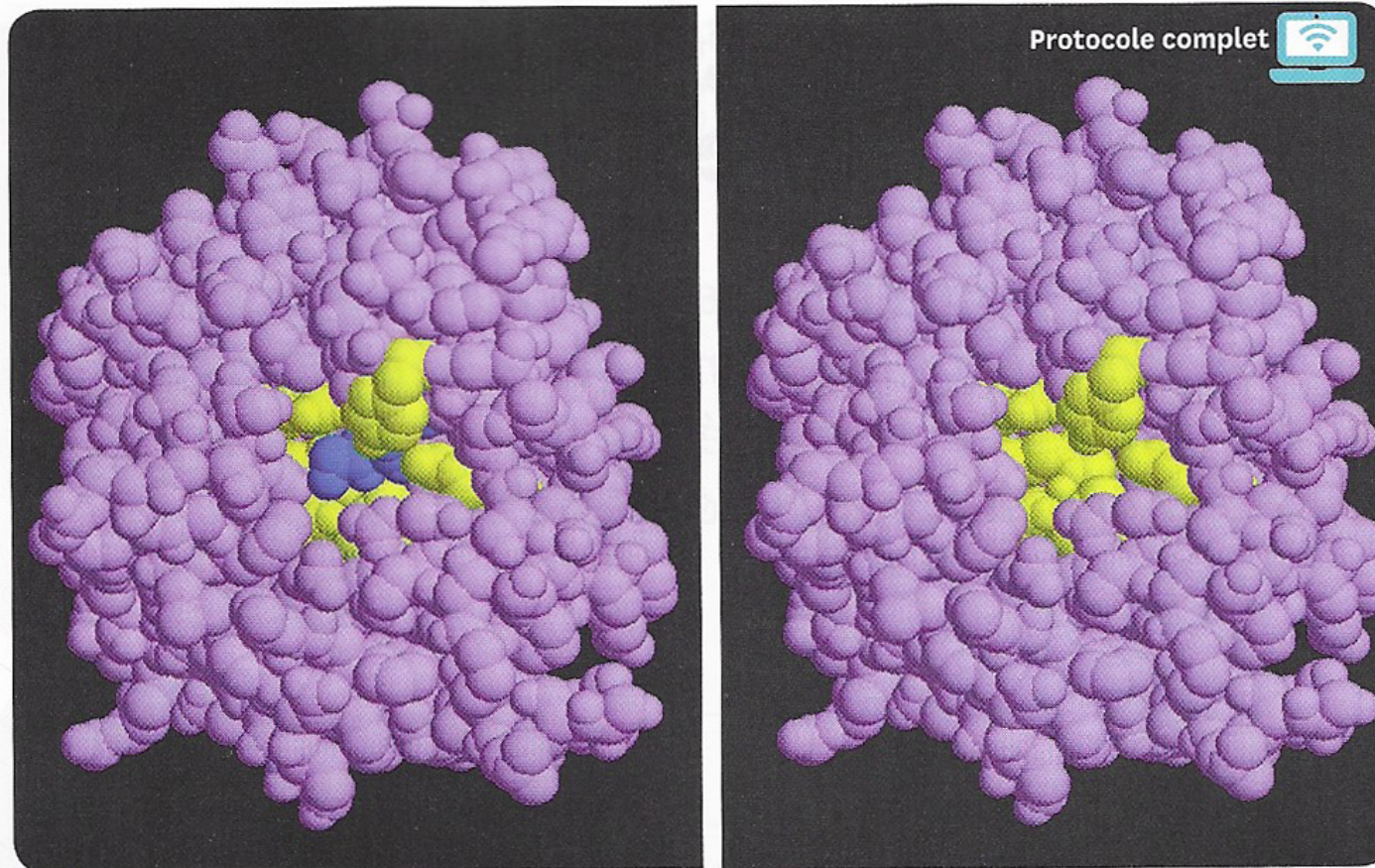
A Résultats obtenus.

III. La structure tridimensionnelle des enzymes

Le site actif

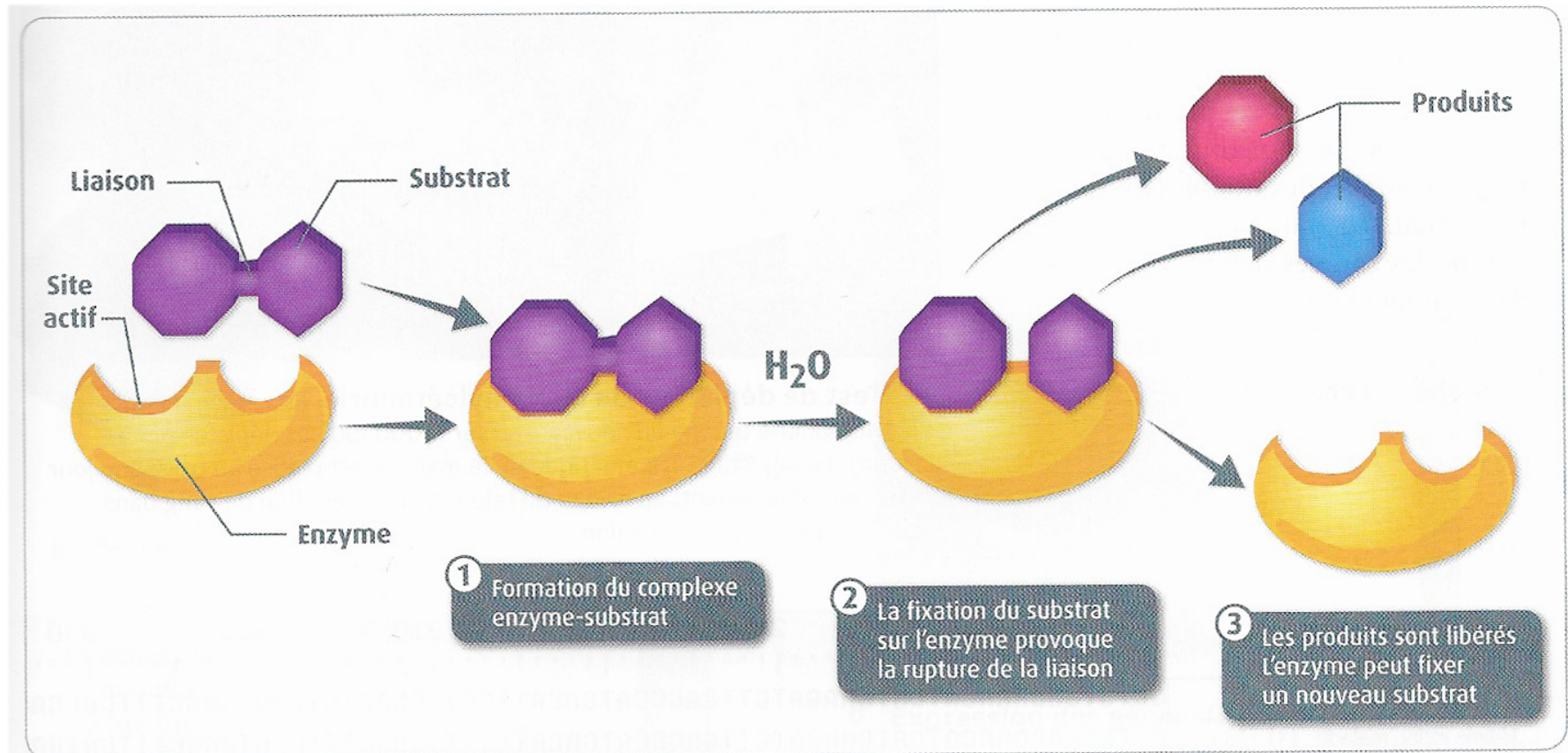
Les carboxypeptidases sont des enzymes **pancréatiques ou intestinales** présentes dans le **duodénum**.

Elles hydrolysent des protéines en enlevant un acide aminé à la fois à l'extrémité du polypeptide.



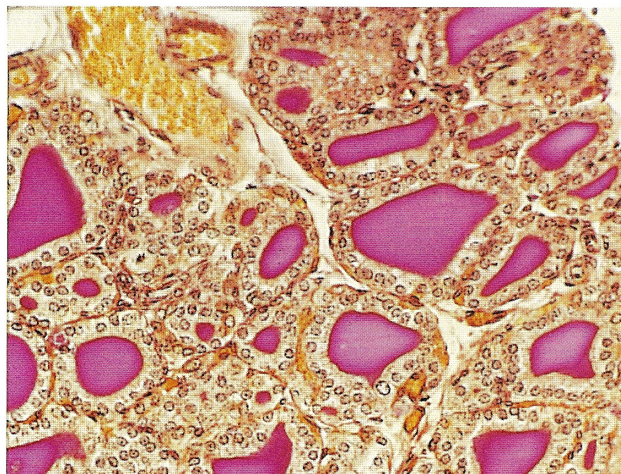
L'enzyme carboxypeptidase visualisée par un logiciel de modélisation moléculaire, seule ou avec son substrat. Au sein de l'enzyme, le repliement des chaînes d'acides aminés crée une zone qui permet d'accueillir le substrat (en bleu) et d'établir une interaction étroite avec lui. Cette zone (en jaune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

La formation du complexe enzyme-substrat



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.

IV. Les enzymes, des marqueurs de la spécialisation cellulaire



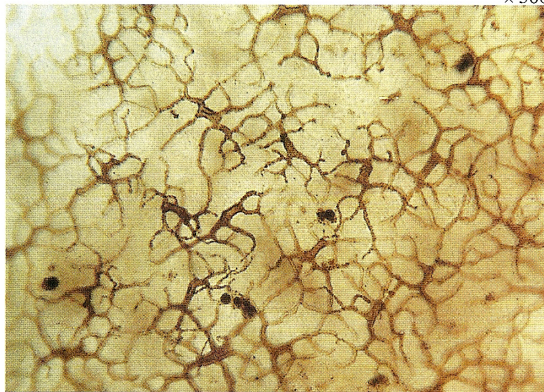
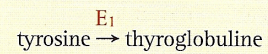
× 240

La tyrosine est un acide aminé utilisé par de nombreuses cellules. Selon le type cellulaire, cette molécule intervient dans des réactions chimiques différentes.

Les réactions sont présentées ici de façon très simplifiée.

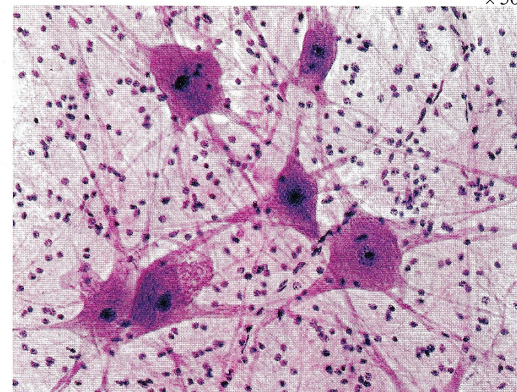
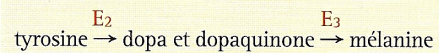
Les différentes enzymes impliquées dans les réactions sont notées E₁, E₂, etc.

Dans une cellule thyroïdienne :
production d'une hormone*



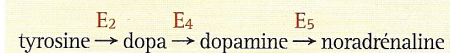
× 300

Dans un mélanocyte : production du pigment de la peau



× 300

Dans un neurone : production d'un neurotransmetteur*



Activité A5-3 : Exemple de la phénylcétonurie

Question : En mettant en relation les informations apportées par ces données, déterminez l'origine de la phénylcétonurie et proposez un traitement pour cette maladie.

Les caractéristiques de la phénylcétonurie.

La phénylcétonurie est une maladie affectant un nouveau né sur 17 000 et responsable d'une altération mentale progressive importante (dégénérescence des cellules nerveuses) en l'absence de traitement approprié. Certains sujets atteints sont caractéristiques par la pâleur de leur visage et la couleur claire de leurs yeux et de leurs cheveux.

Les voies de transformation de la phénylalanine.

La phénylalanine est un acide aminé d'origine alimentaire, présent en grande quantité dans les protéines animales. Dans l'organisme, la phénylalanine est transformée par le foie en un autre acide aminé, la tyrosine. Cette tyrosine sert, elle-même, à la fabrication de mélanine. La mélanine est un pigment noir présent en plus ou moins grande quantité dans les cellules de la peau, de l'iris de l'œil et à la base du cheveu et du poil.

Chez une personne non malade, la conversion de la phénylalanine en tyrosine est possible grâce à une enzyme appelée PAH.

L'accumulation de phénylalanine dans le sang est très toxique pour les neurones non matures du cortex cérébral (avant 6 ans) et peut entraîner leur destruction ou empêcher leur fonctionnement.



2 **Test de dépistage de la phénylcétonurie.** En France, la phénylcétonurie touche un nouveau-né sur 17000 (50 cas dépistés par an environ). Le dépistage systématique de la maladie est réalisé au troisième jour de vie par prélèvement, au niveau du talon, d'un échantillon de sang dans lequel on dose la phénylalanine.

Dosage de la phénylalanine dans le plasma et l'urine de différents individus.

	Plasma		Urine	
	Individu normal	Individu atteint	Individu normal	Individu atteint
Phénylalanine (mg pour 100mL)	1 à 2	15 à 63	30	300 à 1000

Les causes de la phénylcétonurie.

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de découvrir les causes de la phénylcétonurie. Dans 63% des familles touchées, cette anomalie correspond à une différence dans une protéine appelée PAH, comportant 452 acides aminés, dont la synthèse est contrôlée par un gène, pouvant présenter deux allèles.

	270	280	290	300	310	320	330
Allèle individu sain	GCTCTGACAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGTCCATGAGCTTTCACGAA						
Allèle indiv. malade	GCTCTGACAAACATCATCAAGATCTTGAGGCATGACATTGGTGCCACTGTCCATGAGCTTTCATGAA						
Prot. individu sain	AlaLeuThrAsnIleIleLysIleLeuArgHisAspIleGlyAlaThrValHisGluLeuSerArg						
Prot. individu malade	AlaLeuThrAsnIleIleLysIleLeuArgHisAspIleGlyAlaThrValHisGluLeuSer						

3 Portions de séquence des PAH d'un individu sain et d'un individu atteint de phénylcétonurie et portions de séquences des allèles correspondants. Les individus atteints de phénylcétonurie possèdent deux allèles mutés de ce gène qui sont chacun à l'origine d'une PAH non fonctionnelle.

Position de la mutation	Diminution de l'activité de l'enzyme		
	Légère	Modérée	Forte
Dans le site actif	20 %	0 %	80 %
Dans un autre domaine que le site actif	54 %	6 %	40 %

4 L'impact de différentes mutations sur l'activité de la phénylalanine hydroxylase. Il existe de nombreuses mutations de la PAH.