

**Activité 1 : Mise en évidence de la spécificité de substrat : exemple de la lactase**

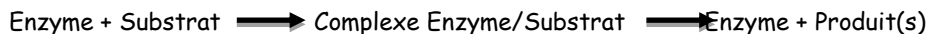
Lorsque nous buvons du lait, le lactose présent est rapidement hydrolysé par une enzyme présente dans nos cellules : la lactase.  
Chloé, élève de première, s'interroge : la lactase peut-elle agir uniquement sur le lactose ou peut-elle avoir un autre substrat.

**On cherche à déterminer, par expérimentation, si la lactase peut catalyser aussi l'hydrolyse d'un autre sucre : le saccharose.**

Documents ressources

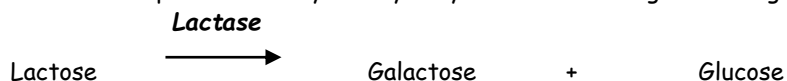
**Document 1 : Principe d'une réaction enzymatique**

Au cours d'une réaction enzymatique, l'enzyme transforme un substrat en produit(s) sans être modifiée, selon la réaction bilan suivante :

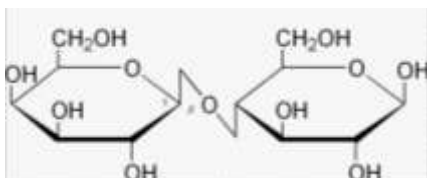


Pour que cette réaction ait lieu, l'enzyme spécifique au substrat doit être mise en contact avec lui

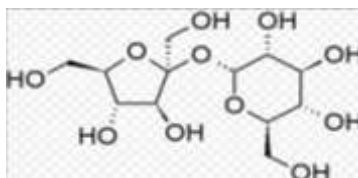
La lactase est capable de catalyser l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.



**Document 2 : Représentation moléculaire du lactose et du saccharose (molécules de la famille des glucides)**



Galactose      Glucose  
**Lactose**



Fructose      Glucose  
**Saccharose**

- Le lactose est un glucide composé d'un galactose et d'un glucose.
- Le saccharose est un glucide composé d'un fructose et d'un glucose.

**Document 3 : Techniques d'identification et réactifs spécifiques de différents glucides**

Molécules / Réactifs	Glucose	Lactose	Saccharose
<b>Eau iodée</b>	- jaune	- jaune	- jaune
<b>Liquueur de Fehling (à chaud : 80°C)</b>	+ Précipité rouge brique	+ Précipité rouge brique	- bleu
<b>Bandelette glucose</b> (lecture des résultats colorés réalisée grâce au mode d'emploi fourni sur la boîte)	+	-	-

**+ test positif**  
**- test négatif**



# Matériel et protocole d'utilisation du matériel

## Matériel :

- solution de différents glucides
- solution de lactase
- eau distillée
- bandelette glucose
- tubes à essai
- pipettes
- bain marie à 37°C
- marqueur
- chronomètre

Afin de déterminer si la lactase peut hydrolyser le saccharose :

**LIRE TOUT LE PROTOCOLE AVANT DE SE LANCER**

- **Mettre à chauffer** votre bain marie à 37°C.
- **Préparer** les tubes 1 et 2 tels que proposés dans le tableau. **ATTENTION : l'enzyme se met en dernier.**

	Nature du substrat		Enzyme	Température
	Lactose	Saccharose	Lactase	
Tube 1	10 mL		1 mL	37°C
Tube 2		10 mL	1 mL	37°C

- Pour chaque tube, **faire** immédiatement un test glucose en prélevant 1 goutte de la solution et en la déposant sur la bandelette glucose, puis immédiatement aussi, **mettre** les 2 tubes à 37°C et **déclencher** le chronomètre pour 5 minutes.

- **Réaliser** un nouveau test glucose à la fin de l'expérience pour chacun des tubes.

**Appelez l'enseignant pour vérification des résultats**

Sécurité (logo et signification)

RAS

Précautions de la manipulation



Dispositif d'acquisition et de traitement d'images

(si disponible)



## Activité 2 : Modélisation de la fixation du substrat sur une enzyme

On a vu précédemment que les enzymes avaient une spécificité de substrat. Elles ne catalysent que la transformation d'un substrat bien précis. Grâce à 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 ce qui a permis de comprendre cette spécificité de substrat.

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

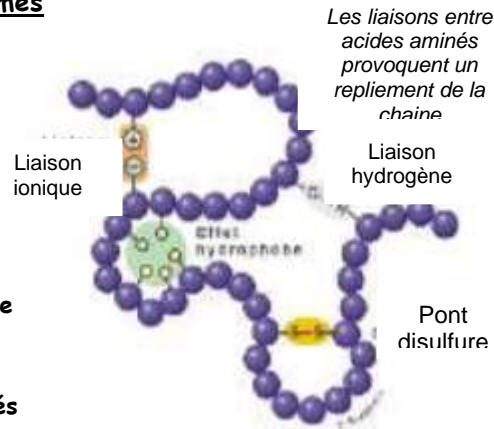
### Document 1 : Mode d'action des enzymes

Pour catalyser la réaction, l'enzyme doit rentrer en contact avec la molécule de substrat pour former un complexe enzyme-substrat.

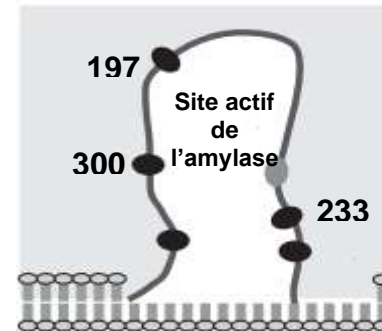
Cette liaison avec la molécule de substrat produits de la réaction.

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 assurent une liaison temporaire avec le substrat** spécifique pour permettre le déroulement de la réaction.



### Document 2 : Représentation schématisée 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.

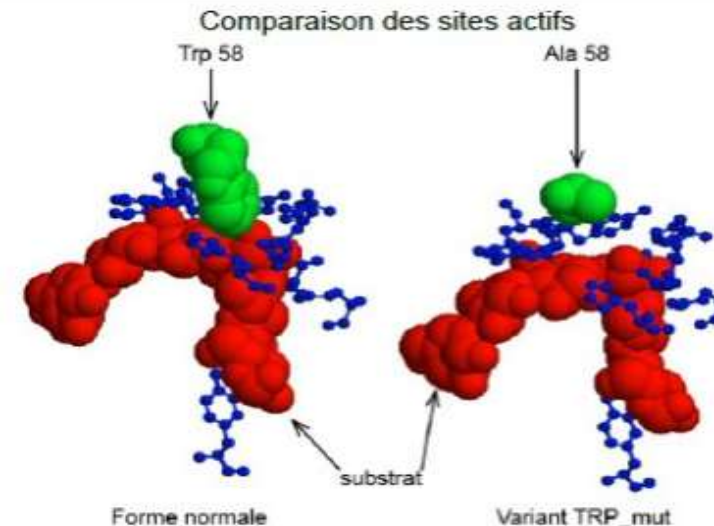
Libmol est un logiciel permettant de visualiser les molécules en 3D ( <https://libmol.org/> ).

### Document 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



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

6- 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 (Asp197Ala)**

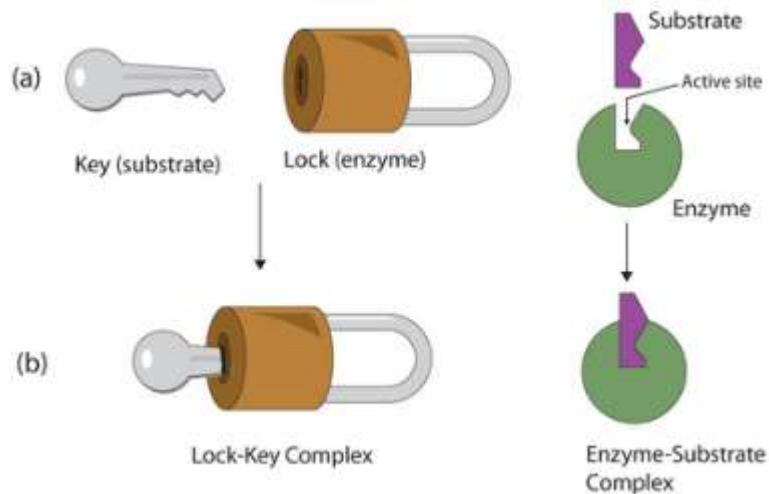
- **Mettre en évidence** les acides aminés du site actif (séquence/chercher l'acide aminé/inverser/colorer/ afficher en sphère)
- **Faire** une capture d'écran judicieuse.

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

**Appeler le professeur pour vérification et impression**

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

Aide à la compréhension : système clé/serrure = fixation enzyme/substrat



# Visualisation de molécules avec LibMol.org

**Sélection par éditeur de commande**

**Sélections prédéfinies**  
Le bouton masque ou montre le composant

**Représentations de la sélection**

**Colorations de la sélection**

**Aide contextuelle (au survol d'une commande)**

**Remarque :** la sélection active et ses propriétés apparaissent en bleu

**Espace de travail**  
Hémoglobine humaine oxygénée

Chaines : A B C D

**Réglages :** couleur arrière-plan, plan de coupe,...

**Capture d'écran**

**Mesures**

**Survol à la souris :** nom de l'atome du résidu et de la molécule

**Clic gauche :** rotation  
**Clic droit :** translation  
**Molette :** zoom

**Code couleur de la dernière coloration utilisée**  
**Affichage des noms au survol**

**% atomes sélectionnés et masqués (surbrillance au survol)**

A	B	C	D
VAL	VAL	VAL	VAL
LEU	HIS	LEU	HIS
SER	LEU	SER	LEU
PRO	THR	PRO	THR
ALA	PRO	ALA	PRO
ASP	GLU	ASP	GLU
LYS	GLU	LYS	GLU
THR	LYS	THR	LYS
ASN	SER	ASN	SER
VAL	ALA	VAL	ALA
LYS	VAL	LYS	VAL
ALA	THR	ALA	THR
ALA	ALA	ALA	ALA
TRP	LEU	TRP	LEU
GLY	TRP	GLY	TRP
LYS	GLY	LYS	GLY
...	...	...	...

Tout    Aucun    Inverse

Sphères    Boules et bâtonnets    Masquer/Montrer

**Mode séquence**

**Chaînes du modèle.** En bleu, chaîne entièrement sélectionnée

**Clic droit :** masquer/montrer un résidu ou une chaîne

**Survol d'un résidu ou d'une chaîne :** identification et mise en surbrillance

Les résidus sélectionnés apparaissent en **bleu**

**Sélections prédéfinies**

**Modes de représentation appliqués à la sélection**

**Couleurs appliquées à la sélection**

**Mesures de distances et d'angles**

**Choisir le type de mesure**  
**Activer la mesure des distances**

**Effacer les mesures réalisées**

Repérage en rouge, des atomes choisis pour la mesure (cliquer pour sélectionner)

**Éditeur de commandes**

Saisir la commande de sélection  
Valider la sélection réalisée  
Fermer l'éditeur  
Nombre d'atomes (également en surbrillance)

Suggestions correspondantes aux lettres en cours de frappe

Après validation, la sélection devient un bouton éditable