

**Mise en situation et recherche à mener**

À chaque instant, des milliers de réactions chimiques distinctes se produisent dans une cellule. Hors de l'organisme, ces réactions se produisent dans des conditions très différentes. On cherche à comprendre comment ces réactions chimiques sont possibles dans les conditions de la vie. Au cours de ces réactions biochimiques, de nombreux substrats sont sans cesse transformés en produits.

**On cherche à savoir si une même enzyme peut transformer plusieurs substrats différents et la structure dimensionnelle entre l'enzyme et le substrat.**

**Ressources****Matériel :**

- Solution d'empois d'amidon
- Solution d'amylase
- Solution d'ovalbumine
- Solution de pepsine
- Solution d'HCl
- Portoir et tubes à essai
- Bain-marie à 37 °C
- Eau iodée
- Liquueur de Fehling

**Document 1 : Rappels**

- L'amidon est une macromolécule, polymère de glucose, utilisée comme molécule de réserve chez les végétaux. Il permet, après hydrolyse, l'approvisionnement des cellules en glucose. Cette hydrolyse est progressive et libère des molécules de plus en plus courtes pour aboutir à du maltose et un peu de glucose.
- La coloration au lugol (eau iodée) est caractéristique des polymères du glucose : coloration bleu-nuit en présence d'amidon, coloration jaune en son absence.
- La réaction à la liqueur de Fehling permet la mise en évidence de certains petits glucides solubles qualifiés de sucres réducteurs (maltose et glucose par exemple) par la formation d'un précipité rouge brique à chaud.

**Document 2 : La pepsine et l'ovalbumine**

- L'ovalbumine est une protéine contenue dans le blanc d'œuf.
- La pepsine est une enzyme digestive capable de dégrader les protéines à 37 °C et dans des conditions acides :

ovalbumine + pepsine → les protéines responsables de l'aspect trouble de la solution sont hydrolysées et le trouble disparaît.

**Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème**

**Proposer une démarche d'investigation réaliste afin de déterminer si une enzyme peut transformer plusieurs substrats différents.**

*Appeler l'examineur pour vérifier votre proposition et obtenir la suite du sujet.*

*Votre proposition peut s'appuyer sur un document écrit (utiliser votre classeur) et/ou être faite à l'oral.*

**Etape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables**

**Mettre en œuvre le protocole proposé afin de déterminer si l'amylose possède une spécificité de substrat.**

*Appeler le professeur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.*

**Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer**

**Présenter, sous la forme de votre choix, les résultats obtenus, et les traiter pour qu'ils apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.**

*Répondre sur le compte-rendu, appeler le professeur pour vérification de votre production.*

**Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème**

**Exploiter les résultats obtenus et le document complémentaire pour :**

- démontrer qu'une enzyme est spécifique à son substrat
- démontrer que cette spécificité est fragile

*Répondre sur le compte-rendu.*

**Etape 5 : Gérer et organiser son poste de travail**

**En fin de TP :**

- ranger le matériel dans la cuvette et la ramener sur le chariot
- ranger chaise et tabouret
- nettoyer la paillasse

Thème 2 - Expression, transmission et variation du patrimoine génétique  
**ACTIVITE 4 - STRUCTURE ET SPECIFICITE DES ENZYMES**

Fiche-protocole – candidat

**Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel**

**Matériel :**

- Solution d'empois d'amidon
- Solution d'amylase
- Solution d'ovalbumine
- Solution de pepsine
- Solution d'HCl
- Portoir et tubes à essai
- Bain-marie à 37 °C
- Eau iodée
- Liquide de Fehling
- Logiciel amylase

• **Etudes expérimentales de catalyse des glucides et des protéines**

- Réaliser 4 tubes à essai selon le tableau suivant.

Tube n°	1	2	3	4
Contenu	5 mL de solution d'ovalbumine 2 gouttes d'HCl 1 mL d'eau distillée	5 mL de solution d'ovalbumine 2 gouttes d'HCl 1 mL de pepsine	5 mL de solution d'amidon 2 gouttes d'HCl 1 mL d'eau distillée	5 mL de solution d'amidon 2 gouttes d'HCl 1 mL de pepsine
Placer tous les tubes au bain marie à 37°C pendant 30 minutes				

- les réactions se font dans le bain-marie à 37°C : vous pouvez mettre vos tubes avec le substrat (troisième ligne du tableau) dans le bain-marie, puis ajouter le réactif au dernier moment.

*Appeler l'examineur pour contrôle du montage,*

**Attention de bien homogénéiser (mélanger) la solution avant tout test !**

- Au bout de 30 minutes, **observer** l'aspect du contenu des tubes 1 et 2.
- **Ajouter** 10 gouttes d'eau iodée dans les tubes 3 et 4.

*Appeler l'examineur pour contrôle des résultats*

• **Etude du complexe enzyme-substrat de l'amylase avec l'amidon sur libmol**

- Ouvrir le site internet <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/molecules/amylase/>

- Utiliser les fonctionnalités proposées par le site pour observer le contact entre l'amylase et son substrat, l'amidon. *Vous pouvez utiliser le document complémentaire ci-dessous pour exploiter le site internet à la hauteur de ses capacités...*

**Sécurité : RAS**

**Précautions de la manipulation : Attention aux contaminations.**

Thème 2 - Expression, transmission et variation du patrimoine génétique  
**ACTIVITE 4 - STRUCTURE ET SPECIFICITE DES ENZYMES**

*Document complémentaire : Une variante mutée de l'amylase salivaire*

L'amylase salivaire existe sous différentes formes, dont la forme mutée TRP, dont l'acide aminé n°58 est une alanine (Ala) au lieu d'un tryptophane (Trp). Ce tableau représente l'activité enzymatique de différents variants de l'amylase salivaire humaine.

*NB : L'unité enzymatique (symbole U) est une unité d'activité enzymatique représentant la quantité d'enzyme nécessaire pour traiter une micromole de substrat en une minute.*

Variant enzymatique	Activité des enzymes (hydrolyse de l'amidon en U.mg <sup>-1</sup> d'enzyme)
amylase normale	66 212
TRPmut	350