

TP4 - DYSFONCTIONNEMENT DE L'AMYLASE

Amylase, protéine, peptide, séquence peptique, acides aminés, mutation, anagène, structure tridimensionnelle, site actif, acides aminés, rastop, spécificité de substrat



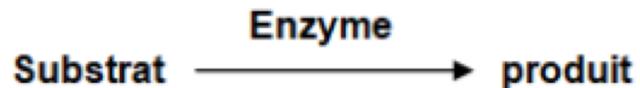
Mise en situation et recherche à mener

Un patient souffrant d'une pathologie des glandes salivaires est dirigé vers un laboratoire. Au cours des tests cliniques réalisés, on constate que sa salive, malgré la présence d'amylase, est pratiquement incapable d'hydrolyser l'amidon. On fait donc l'hypothèse d'un dysfonctionnement de cette amylase.

On cherche à identifier l'origine de ce dysfonctionnement de l'amylase salivaire.

Ressources

Une enzyme est une protéine agissant comme catalyseur biologique. On appelle substrat toute molécule sur laquelle peut agir une enzyme pour accélérer sa transformation en produit :



l'amylase salivaire hydrolyse l'amidon en maltose, glucide constitué de deux glucoses.

La liaison entre l'enzyme et son substrat s'établit au niveau du site actif (zone particulière de l'enzyme, de forme complémentaire au substrat). Seuls certains acides aminés du site actif de l'enzyme assurent une liaison avec le substrat spécifique pour faciliter le déroulement de la réaction.

L'amylase salivaire est une chaîne protéique dont certains acides aminés forment le site actif par repliement de cette chaîne. Dans l'état actuel des connaissances on sait que certains acides aminés du site actif sont indispensables au fonctionnement de l'enzyme :

- acides aminés impliqués dans l'hydrolyse de l'amidon : **Asp197, Glu233, Asp300**
- acides aminés impliqués dans la liaison au substrat : **Trp58, Trp59, Tyr62**

Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée recommandée : 10 minutes)

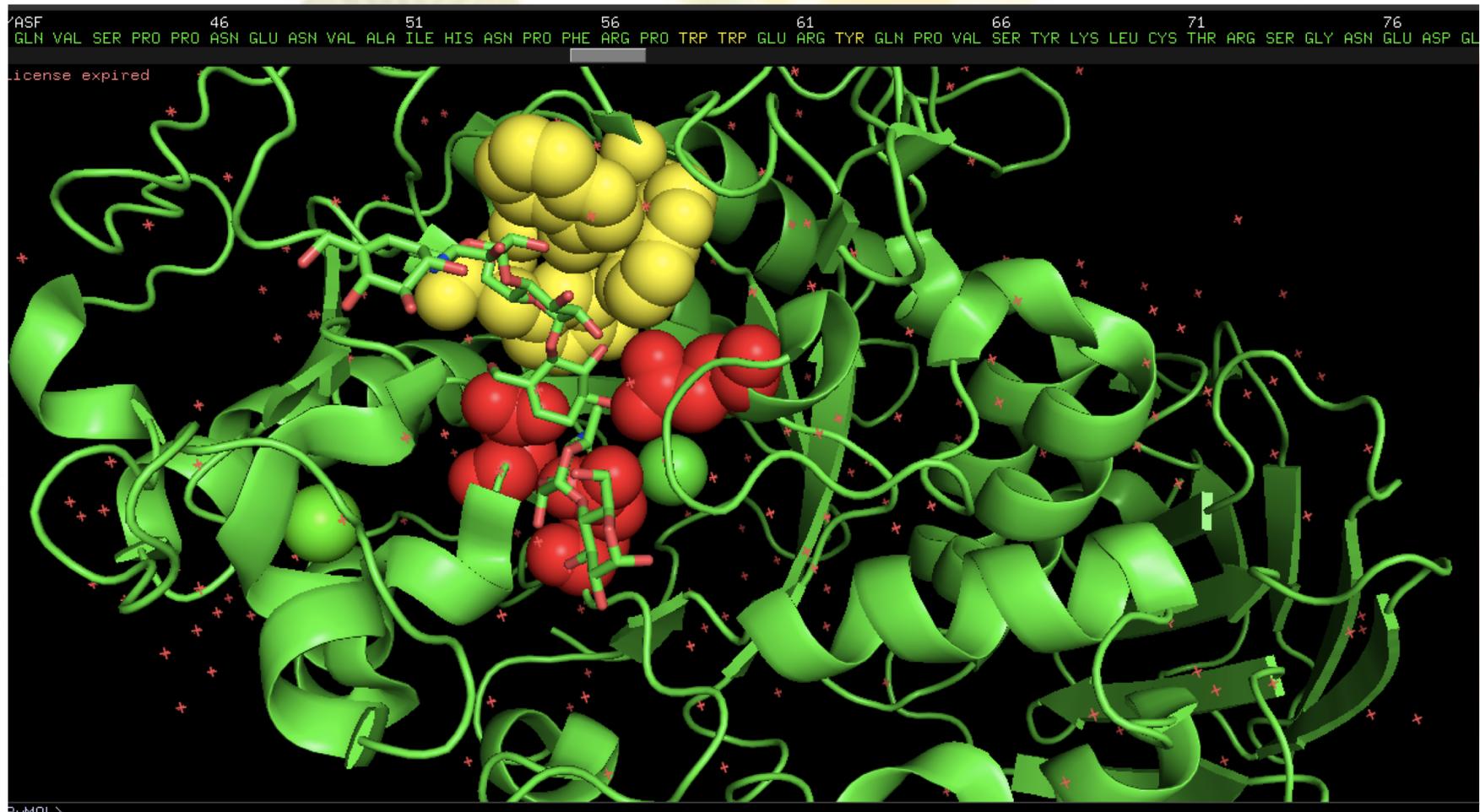
Proposer une stratégie de résolution réaliste, permettant de déterminer l'origine du dysfonctionnement de l'amylase salivaire du patient, en traitant des données moléculaires.

Appeler l'examineur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.

Comparaison, via anagène, des séquences peptidiques de l'amylase d'un témoin sain avec celle du patient

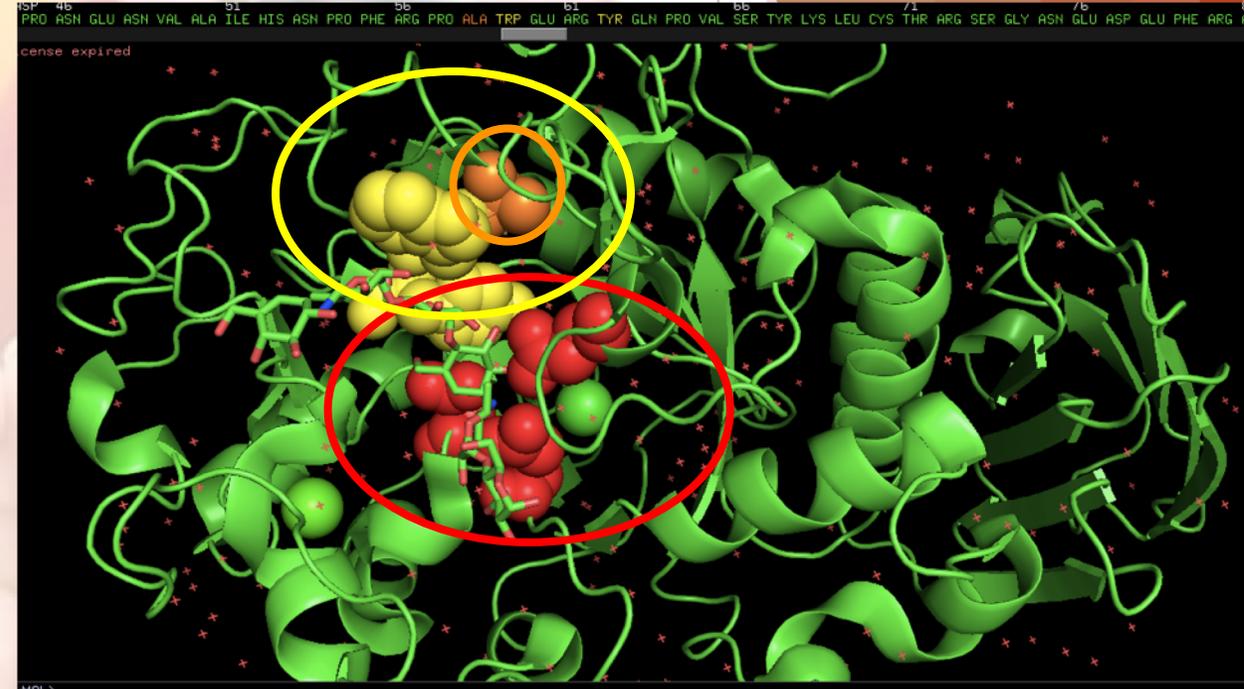
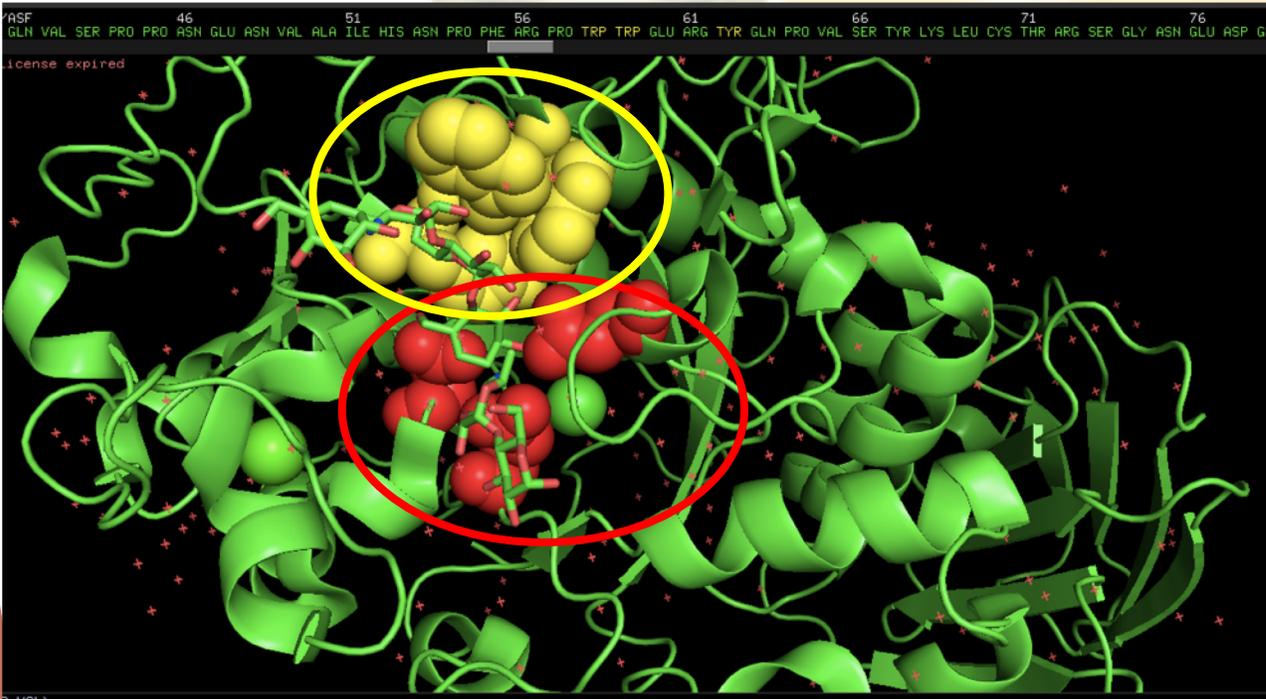


Comparaison, via Rastop, de la structure tertiaire de l'amylase d'un témoin sain avec celle du patient



3 acides aminés impliqués dans la liaison au substrat (Trp58, Trp59, Tyr62)

Changement de l'aa 58 chez la patient Trp58 est devenu Ala58



3 acides aminés impliqués dans l'hydrolyse enzymatique (Asp197, Glu233, Asp 300)

Traces écrites

III- Double spécificité des enzymes.

TP 4 dysfonctionnement de l'amylase

A. Une spécificité de substrat

Chaque enzyme n'est capable d'agir que sur un substrat (ou un groupe de substrat). *Par exemple, l'amylase ne peut catalyser que l'hydrolyse de l'amidon et non du glycogène, la saccharase hydrolyse le saccharose. L'hydrolyse du maltose nécessite l'intervention de la maltase et celle du lactose de la lactase. Les enzymes ont donc une spécificité de substrat.*

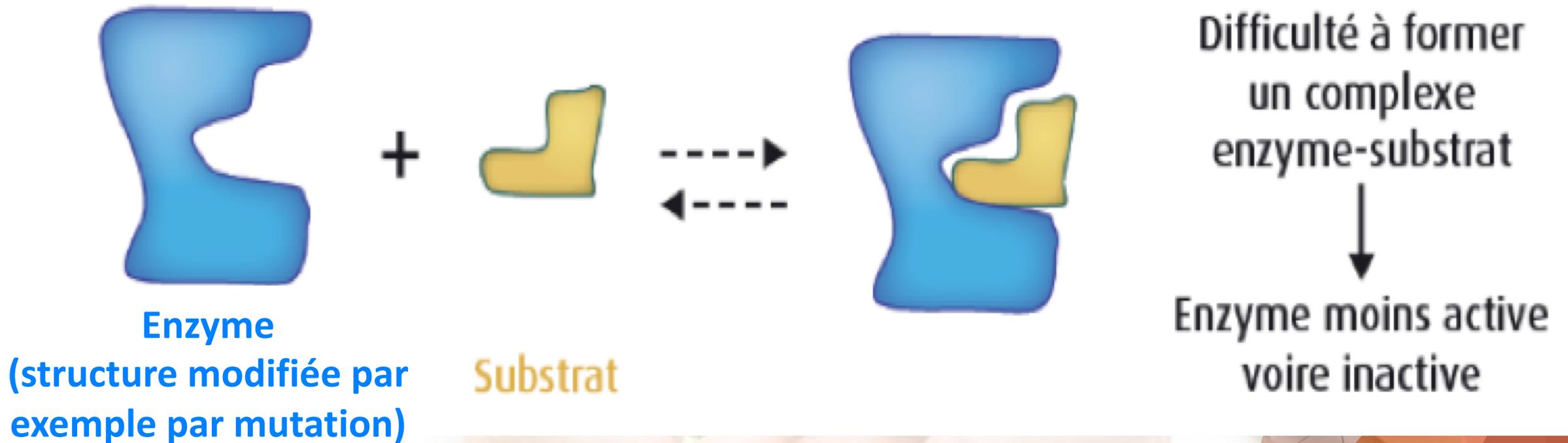
L'enzyme est une protéine (codée par un gène), donc une séquence d'acides aminés formant une structure 3D dans l'espace. De cette structure tridimensionnelle découle une fonction : accueillir un substrat et réaliser une transformation de ce substrat.

Cette propriété s'explique par la conformation tridimensionnelle de l'enzyme. Cette protéine, présente un site actif, poche souvent hydrophobe qui accueille par complémentarité de forme un substrat spécifique. Au sein du site actif, certains acides aminés établissent des liaisons avec le substrat (souvent de faible énergie, mais parfois de forte énergie), c'est le site catalytique.

Des expériences de mutagenèse dirigée sur des gènes codant pour des enzymes ont permis de mettre en évidence les acides aminés directement impliqués dans la catalyse enzymatique.

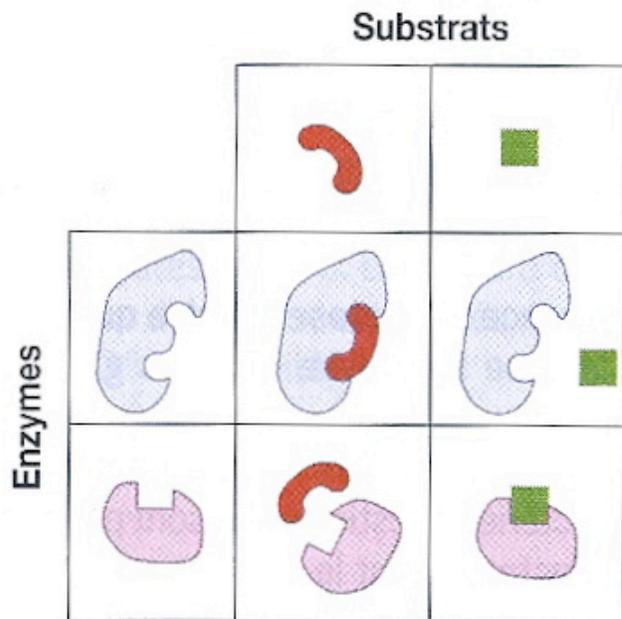
La modification de la structure d'une enzyme suffit à diminuer considérablement (voire à inhiber) son activité catalytique. *Par exemple, une mutation du gène de l'amylase salivaire qui aboutit au changement d'un seul de ses acides aminés (comme le tryptophane remplacé par une alanine en position 58 de la chaîne d'acide aminé) suffit à réduire de 99,5% son activité.*

Importance de la conformation du site actif dans la spécificité de l'enzyme pour son substrat

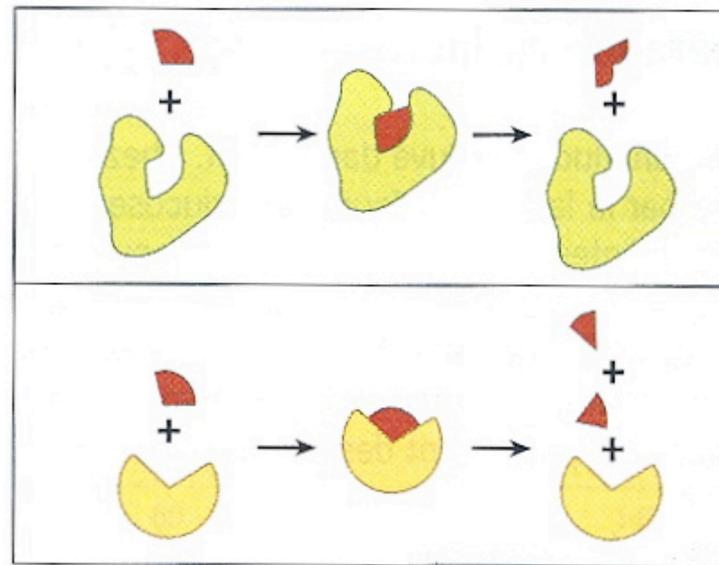


B. Une spécificité d'action

En plus de présenter, une spécificité de substrat, les enzymes ne peuvent catalyser qu'un seul type de réaction sur leur substrat. *Par exemple, la phosphoglucosomérase agit sur le glucose-6-phosphate et catalyse sa conversion en fructose-6-phosphate. La transformation de ce même substrat G-6-P en glucose-1-phosphate (G-1-P) va nécessiter l'intervention d'une autre enzyme, la phosphoglucomutase. Même si elles agissent sur le même substrat ces deux enzymes ne peuvent pas se substituer l'une à l'autre. Les enzymes ont donc également une spécificité d'acti*



Spécificité de substrat : une enzyme ne reconnaît qu'un seul substrat.



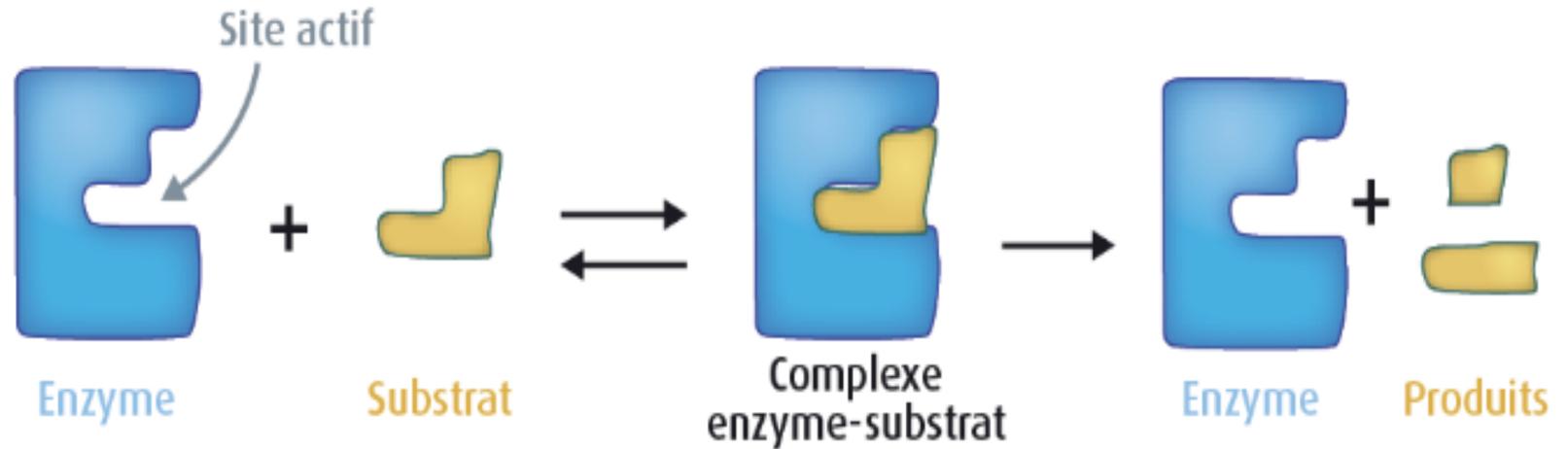
Spécificité d'action : une enzyme ne peut catalyser qu'un seul type de réaction.

C. La catalyse passe par l'état transitoire d'un complexe enzyme-substrat

Au cours de la réaction enzymatique, les enzymes forment une association étroite avec leur substrat pour constituer un **complexe enzyme-substrat**. Ce complexe est transitoire : il se dissocie une fois la réaction réalisée en libérant l'enzyme et les produits de la réaction.



Dans des conditions de température et de pH optimales



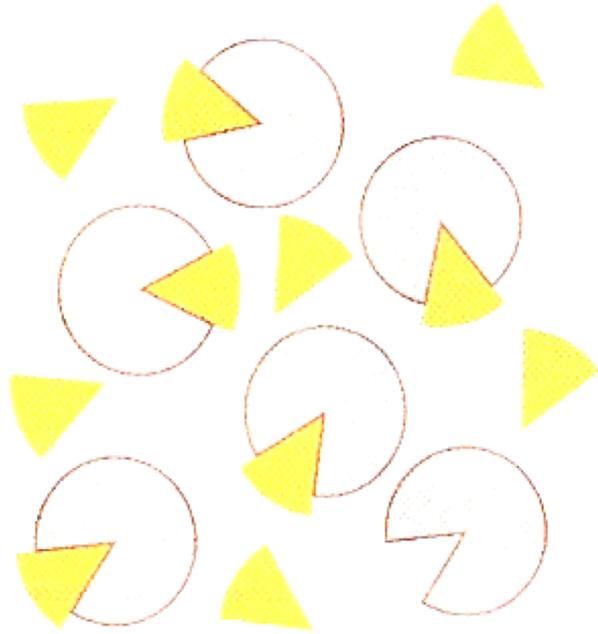
Manuel SVT spécialité Belin, 2012

IV- La cinétique enzymatique.

La vitesse à laquelle les réactions enzymatiques se produisent dépend de nombreux facteurs. Toutes les conditions du milieu qui vont faciliter la rencontre entre les enzymes et leur substrat et donc la formation des complexes enzymes-substrat, ont pour effet une augmentation de la vitesse de la catalyse enzymatique.

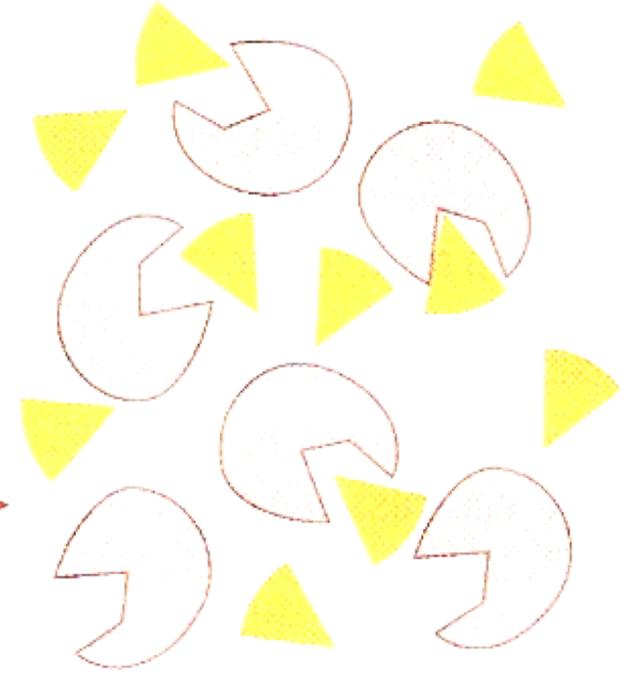
Une enzyme est active dans une gamme de pH étroite autour d'un optimum. En dehors de ces conditions, la variation de pH modifie les charges ioniques portées par les acides aminés de l'enzyme ce qui déforme l'enzyme (on parle de dénaturation). Si les acides aminés sont modifiés, la catalyse enzymatique est bloquée.

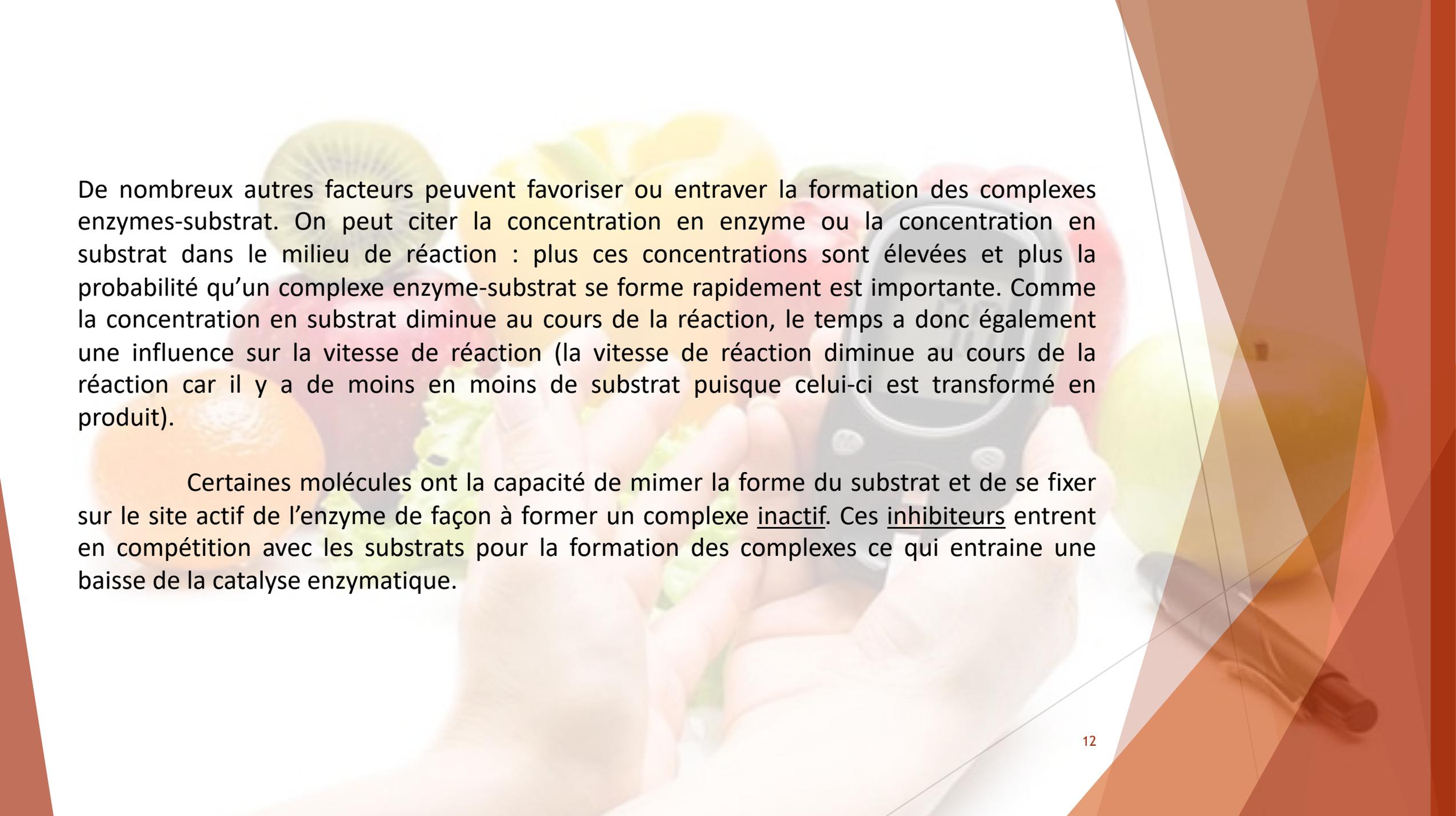
Une augmentation de la température entraîne un accroissement de l'agitation des molécules en solution et donc des probabilités de rencontre entre l'enzyme et le substrat. Cependant, au-delà d'une température optimale, l'agitation moléculaire propre à l'enzyme déstabilise sa structure c'est-à-dire que l'enzyme est déformée (on parle de dénaturation), réduisant la vitesse enzymatique. Si la température dépasse une valeur critique, des modifications irréversibles se produisent.



◀ **Conditions optimales :**
nombreux complexes
enzyme-substrat formés.

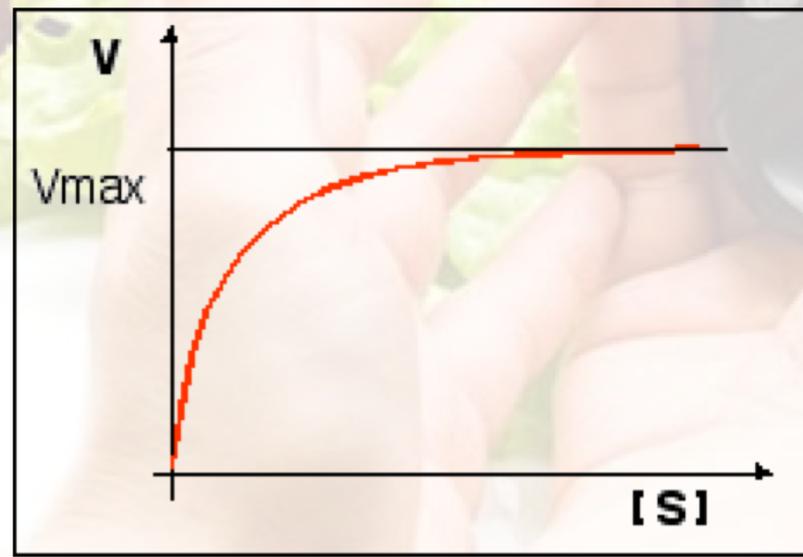
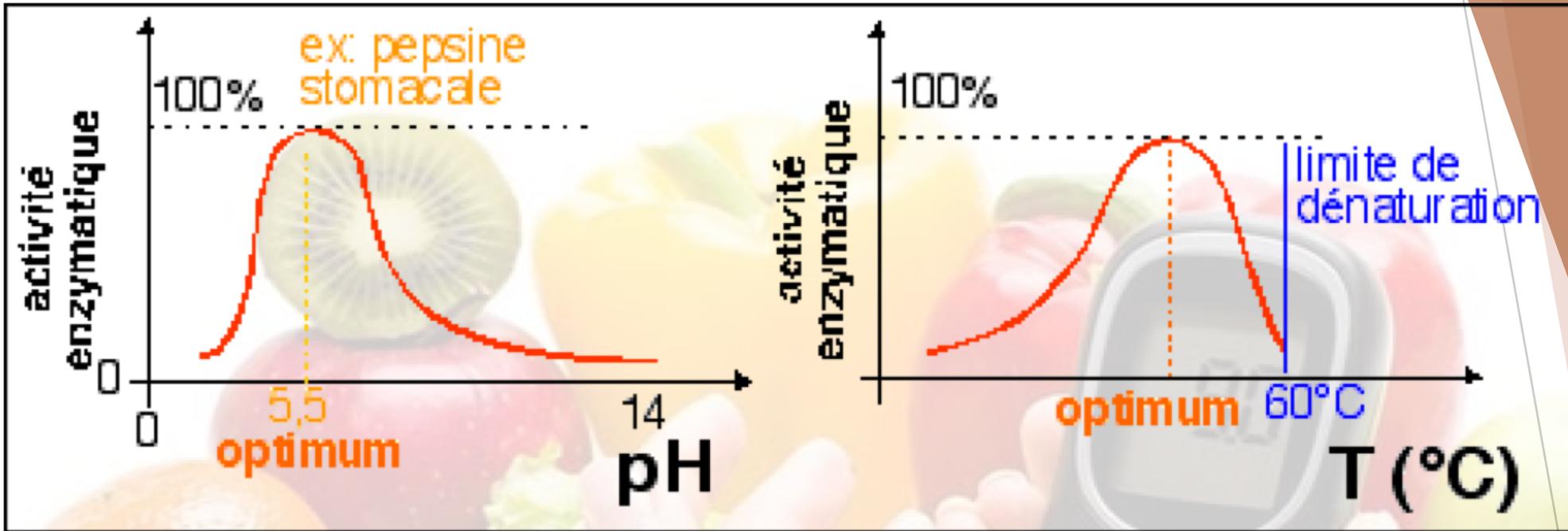
**Variations de pH, de
température :** enzymes
modifiées, peu de complexes
enzyme-substrat formés.

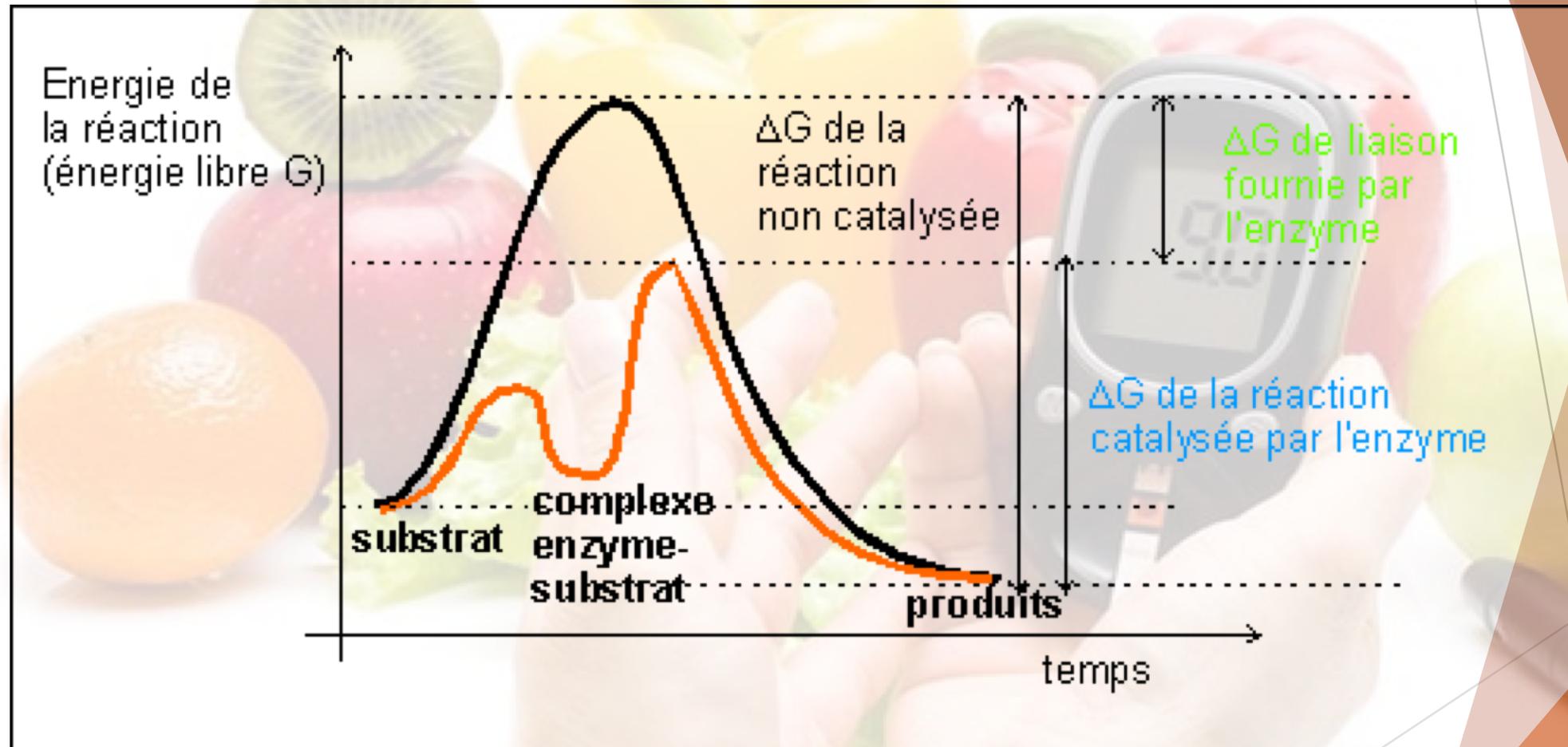


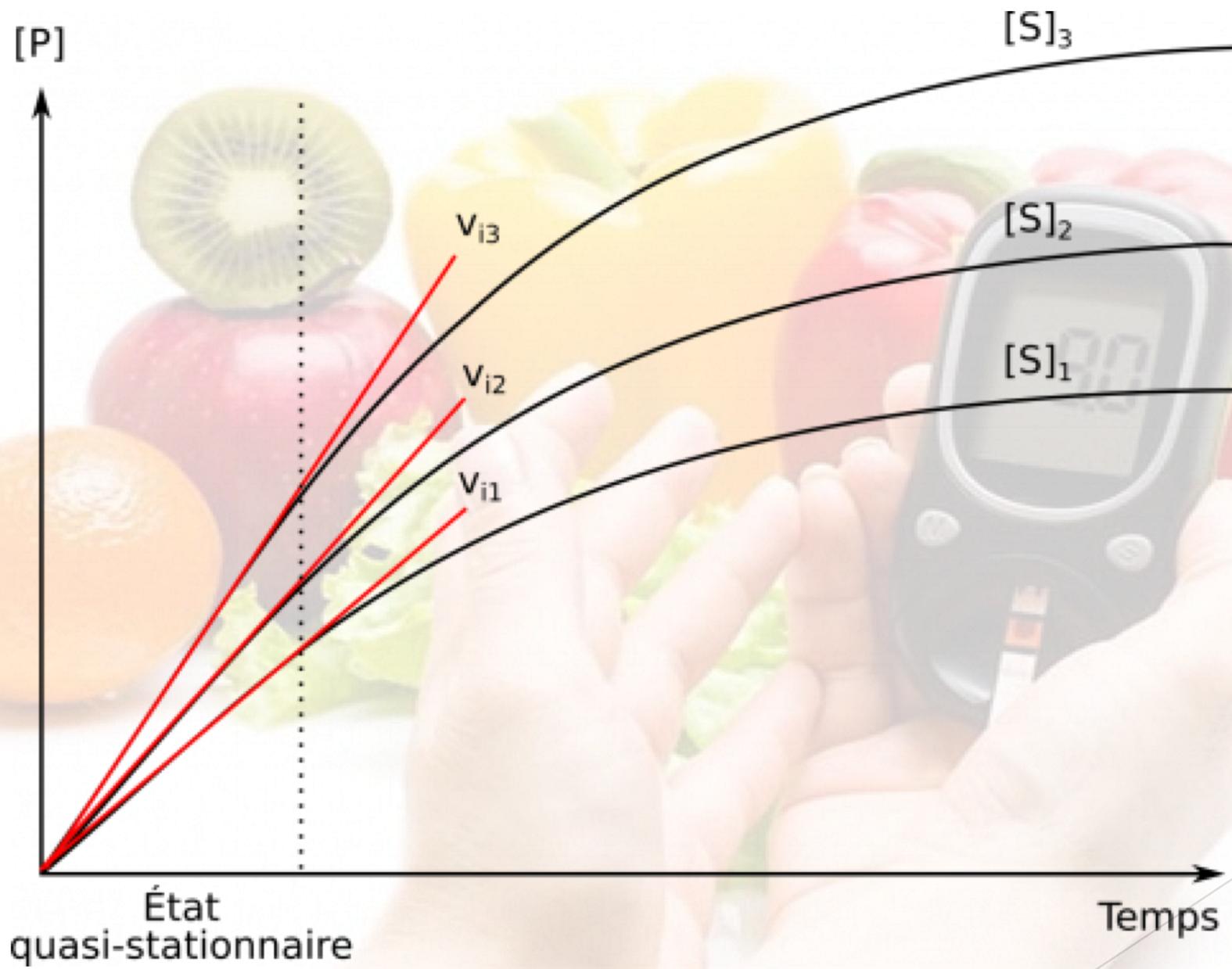


De nombreux autres facteurs peuvent favoriser ou entraver la formation des complexes enzymes-substrat. On peut citer la concentration en enzyme ou la concentration en substrat dans le milieu de réaction : plus ces concentrations sont élevées et plus la probabilité qu'un complexe enzyme-substrat se forme rapidement est importante. Comme la concentration en substrat diminue au cours de la réaction, le temps a donc également une influence sur la vitesse de réaction (la vitesse de réaction diminue au cours de la réaction car il y a de moins en moins de substrat puisque celui-ci est transformé en produit).

Certaines molécules ont la capacité de mimer la forme du substrat et de se fixer sur le site actif de l'enzyme de façon à former un complexe inactif. Ces inhibiteurs entrent en compétition avec les substrats pour la formation des complexes ce qui entraîne une baisse de la catalyse enzymatique.







Conclusion

Les glucides à grosses molécules des aliments sont transformés en glucose grâce à l'action d'enzymes digestives. Les enzymes sont des protéines qui catalysent des transformations chimiques spécifiques (ici celles de la digestion).

La quantité de glucose sanguin dépend directement de l'apport de glucose par digestion des aliments. La glycémie, c'est-à-dire la concentration en glucose dans le sang, est un paramètre important du milieu intérieur : en effet, le glucose est la source énergétique principale de l'organisme (et même exclusive pour les cellules nerveuses). Une baisse sévère de la glycémie a des conséquences graves telles que des pertes de connaissance. À l'inverse, une hausse de la glycémie est également néfaste pour la santé (diabète et infarctus du myocarde).