

Exercices cours 004 : Les enzymes

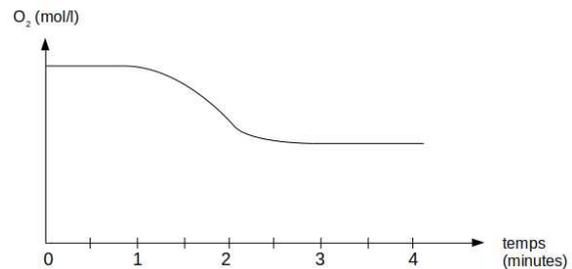
Les énoncés

Exercice 1

La glucose-oxydase est une enzyme qui catalyse l'oxydation du glucose en glucono-delta-lactone et peroxyde d'hydrogène : **glucose + O₂ → glucono-delta-lactone + H₂O₂**

La glucose-oxydase est introduite dans un récipient contenant de l'eau saturée en dioxygène (O₂). On place dans ce récipient une sonde qui permet de suivre l'évolution de la concentration en dioxygène.

Au temps t=1minute, une petite quantité de glucose est introduite. Suite à l'introduction du glucose, on constate que la quantité de dioxygène diminue puis est constante.



Question 1 : que s'est-il passé dans le récipient ? Posez une hypothèse pour expliquer la stagnation de la concentration en dioxygène après la baisse de la concentration en dioxygène.

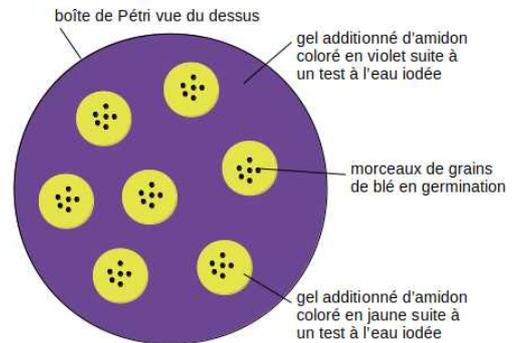
Question 2 : quelle expérience pourrait être réalisée pour tester l'hypothèse proposée à la question 1 ?

Question 3 : Une caractéristique enzymatique est démontrée dans cet exercice : quelle est-elle ?

Exercice 2

L'amidon est une molécule de réserve qui est souvent présente en grande quantité dans les graines. Lors de la germination, les graines hydrolysent l'amidon.

Question 1 : Les graines de blé, c'est à dire, « les grains de blé » sont-ils capables d'hydrolyser l'amidon ? Pour répondre à cette question, on réalise une expérience qui consiste à déposer des morceaux de grains de blé en germination sur une boîte de Pétri (petite boîte de section circulaire peu profonde et transparente) contenant un gel additionné d'amidon. Après quelques jours, un test à l'eau iodée est réalisé (l'eau iodée est jaune ; l'eau iodée en présence d'amidon est violette).



On constate que le gel se colore en violet à l'exception de zones circulaires autour des morceaux de grains de blé en germination qui sont jaunâtres. Que peut-on conclure concernant la capacité des grains de blé en germination à hydrolyser l'amidon ?

Question 2 : Des grains de blé en germination sont prélevés et broyés dans de l'eau distillée. Le mélange est ensuite filtré et le filtrat est récupéré. Lorsque l'on place ce filtrat dans un récipient contenant de l'amidon et que l'on fait un test à l'eau iodée après une heure, on constate que l'eau iodée reste jaune. Que peut-on conclure ?

Question 3 : On se demande maintenant quelle est la nature du produit de l'hydrolyse de l'amidon. On reprend la boîte de Pétri décrite à la question 1 et on récupère le gel de la boîte situé au niveau des morceaux de grains de blé en germination (la partie du gel qui ne s'est pas colorée en violet lors du test à l'eau iodée) et on réalise un test à la liqueur de Fehling. Le test à la liqueur de Fehling est un test qui permet de mettre en évidence la présence de sucres réducteurs. En effet, la liqueur de Fehling est bleue, mais, chauffée en présence de sucres réducteurs (comme les aldoses et parmi eux, le glucose) elle forme un précipité de couleur rouge brique. En présence de sucres non réducteurs (comme l'amidon où les fonctions réductrices des monomères sont engagées dans des liaisons osidiques), la liqueur de Fehling chauffée reste bleue.

Exercice 3

On s'intéresse à une enzyme digestive produite par le pancréas : la ribonucléase. Cette enzyme est une protéine constituée d'une chaîne non ramifiée de 124 monomères.

Question 1 : Comment nomme-t-on les monomères qui constituent les protéines ? Par quel type de liaisons sont-ils liés les uns aux autres le long de la chaîne protéique ?

Certains de ces monomères peuvent établir des liaisons hydrogènes entre eux (lesquelles sont des liaisons non covalentes) et d'autres peuvent établir des ponts disulfures (qui sont des liaisons covalentes). Quatre ponts disulfures s'établissent ainsi entre certains monomères de la ribonucléase.

Question 2 : Rappelez entre quels types de monomères les ponts disulfure s'établissent.

Lorsque cette enzyme est mise en présence de mercaptoéthanol et d'urée, les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures sont rompus. On constate alors que les capacités catalytiques de l'enzyme sont perdues.

Question 3 : Comment expliqueriez-vous la perte des capacités catalytiques de l'enzyme en présence de mercaptoéthanol et d'urée ? Comment nomme-t-on ce phénomène dans lequel les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures d'une protéine sont perdus ?

On constate que si l'enzyme, qui a été mise en présence de mercaptoéthanol et d'urée, est placée dans un milieu sans mercaptoéthanol et urée, elle retrouve son activité catalytique.

Question 4 : Comment expliqueriez-vous la récupération de l'activité catalytique de cette enzyme ?

Question 5 : Que diriez-vous concernant l'impact du mercaptoéthanol et de l'urée sur les liaisons qui lient les monomères d'une protéine le long de la chaîne protéique ?

Exercices cours 004 : Les enzymes

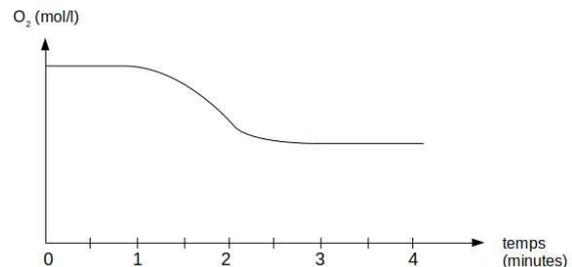
Les corrections

Exercice 1

La glucose-oxydase est une enzyme qui catalyse l'oxydation du glucose en glucono-delta-lactone et peroxyde d'hydrogène : **glucose + O₂ → glucono-delta-lactone + H₂O₂**

La glucose-oxydase est introduite dans un récipient contenant de l'eau saturée en dioxygène (O₂). On place dans ce récipient une sonde qui permet de suivre l'évolution de la concentration en dioxygène.

Au temps t=1minute, une petite quantité de glucose est introduite. Suite à l'introduction du glucose, on constate que la quantité de dioxygène diminue puis est constante.



Question 1 : que s'est-il passé dans le récipient ? Posez une hypothèse pour expliquer la stagnation de la concentration en dioxygène après la baisse de la concentration en dioxygène.

On sait que la glucose-oxydase catalyse l'oxydation du glucose en glucono-delta-lactone et peroxyde d'hydrogène or, dans le récipient où l'on introduit le glucose se trouvent justement du dioxygène et de la glucose-oxydase. La glucose-oxydase va donc catalyser la réaction entre le glucose et le dioxygène ; du glucono-delta-lactone et du peroxyde d'hydrogène vont être produits. Le dioxygène va progressivement disparaître, d'où la diminution de la concentration en dioxygène observée. A un moment donné, la concentration en dioxygène est de nouveau stable. Pourquoi cette concentration en dioxygène est-elle de nouveau stable ? On peut faire la proposition de réponse / hypothèse suivante : la concentration en dioxygène est stable car la réaction catalysée par la glucose oxydase a cessé de se produire du fait que tout le glucose introduit a été transformé en produit.

Question 2 : quelle expérience pourrait être réalisée pour tester l'hypothèse proposée à la question 1 ?

Pour tester l'hypothèse, on peut dérouler le raisonnement suivant :

- si l'hypothèse posée est exacte, à savoir que la concentration en dioxygène est stable car la réaction catalysée par la glucose oxydase a cessé de se produire du fait que tout le glucose introduit a été transformé en produit
- et que je fais l'expérience qui consiste à introduire de nouveau du glucose dans le récipient
- alors, je m'attends à voir de nouveau la concentration en dioxygène diminuer puis redevenir stable une fois que tout le glucose aura été transformé en produit.

Exercices cours 004 : Les enzymes

Lorsque l'expérience est faite, on observe une diminution de la concentration en dioxygène qui se stabilise ensuite.

Les résultats observés sont semblables aux résultats attendus et l'hypothèse est donc retenue.

Question 3 : Une caractéristique enzymatique est démontrée dans cet exercice : quelle est-elle ?

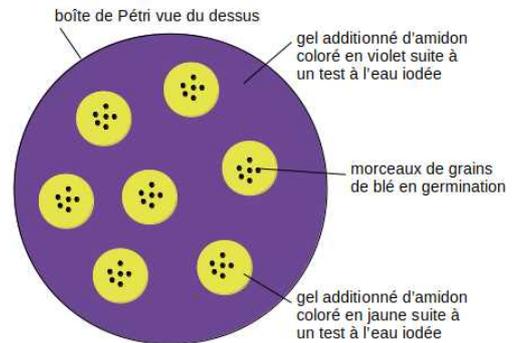
La caractéristique ou propriété mise en évidence dans cet exercice est le fait que les enzymes ne sont pas transformées en produit lors de la catalyse d'une réaction chimique, on dit classiquement qu'elles ressortent intactes d'une catalyse et qu'elles sont de ce fait de nouveau disponibles pour une autre catalyse.

Cette caractéristique était un implicite dans le raisonnement proposé aux questions précédentes.

Exercice 2

L'amidon est une molécule de réserve qui est souvent présente en grande quantité dans les graines. Lors de la germination, les graines hydrolysent l'amidon.

Question 1 : Les graines de blé, c'est à dire, « les grains de blé » sont-ils capables d'hydrolyser l'amidon ? Pour répondre à cette question, on réalise une expérience qui consiste à déposer des morceaux de grains de blé en germination sur une boîte de Pétri (petite boîte de section circulaire peu profonde et transparente) contenant un gel additionné d'amidon. Après quelques jours, un test à l'eau iodée est réalisé (l'eau iodée est jaune ; l'eau iodée en présence d'amidon est violette).



On constate que le gel se colore en violet à l'exception de zones circulaires autour des morceaux de grains de blé en germination qui sont jaunâtres. Que peut-on conclure concernant la capacité des grains de blé en germination à hydrolyser l'amidon ?

Nous tentons de répondre à la question : les grains de blé en germination sont-ils capables d'hydrolyser l'amidon. La proposition de réponse ou hypothèse est que les grains de blé en germination sont capables d'hydrolyser l'amidon. Le cœur du raisonnement hypothético-déductif est alors le suivant : si l'hypothèse est correcte, c'est à dire que si les grains de blé en germination peuvent hydrolyser l'amidon et que je fais l'expérience qui consiste à mettre des morceaux de grains de blé en germination en contact avec de l'amidon, alors je m'attends à observer la disparition de l'amidon dans les zones où les morceaux de grains de blé en germination sont en contact avec l'amidon. On peut préciser que pour faire cette expérience, on va laisser plusieurs jours les morceaux de grains de blé en germination sur l'amidon de la boîte de Pétri et que l'on fera ensuite un test à l'eau iodée. Dans ce cas, sachant que l'eau iodée devient violette au contact de l'amidon et reste jaune quand il n'y a pas d'amidon, alors, on s'attend donc à observer une couleur violette là où se trouve de l'amidon et jaune là où il n'y a pas d'amidon, c'est à dire, à observer une couleur jaune là où se trouvent les morceaux de grains de blé en germination et une couleur violette à distance des morceaux de grains de blé en germination.

L'expérience est faite. Les résultats observés sont les suivants : lors du test à l'eau iodée, le gel de la boîte de Pétri se colore en violet à l'exception des zones où se trouvent les morceaux de grains de blé en germination qui sont jaunes.

Les résultats observés sont semblables aux résultats attendus : l'hypothèse est confirmée : les grains de blé en germination sont capables d'hydrolyser l'amidon.

Question 2 : Des grains de blé en germination sont prélevés et broyés dans de l'eau distillée. Le mélange est ensuite filtré et le filtrat est récupéré. Lorsque l'on place ce filtrat dans un récipient contenant de l'amidon et que l'on fait un test à l'eau iodée après une heure, on constate que l'eau iodée reste jaune. Que peut-on conclure ?

Dans ce cadre, l'hypothèse est que le filtrat issu des grains de blé en germination contient une enzyme capable de digérer l'amidon. Si cette hypothèse est exacte et que l'on fait une expérience consistant à mettre le filtrat en présence d'amidon et à réaliser un test à l'eau iodée, alors, on s'attend à ce que l'eau iodée conserve sa couleur jaune. L'expérience est faite, elle est décrite dans l'énoncé de la question 2 et les résultats observés sont que l'eau iodée conserve sa couleur jaune. Les résultats observés étant semblables aux résultats attendus, l'hypothèse est confirmée : le filtrat issu des grains de blé en germination contient une enzyme capable de digérer l'amidon.

Question 3 : On se demande maintenant quelle est la nature du produit de l'hydrolyse de l'amidon. On reprend la boîte de Pétri décrite à la question 1 et on récupère le gel de la boîte situé au niveau des morceaux de grains de blé en germination (la partie du gel qui ne s'est pas colorée en violet lors du test à l'eau iodée) et on réalise un test à la liqueur de Fehling. Le test à la liqueur de Fehling est un test qui permet de mettre en évidence la présence de sucres réducteurs. En effet, la liqueur de Fehling est bleue, mais, chauffée en présence de sucres réducteurs (comme les aldoses et parmi eux, le glucose) elle forme un précipité de couleur rouge brique. En présence de sucres non réducteurs (comme l'amidon où les fonctions réductrices des monomères sont engagées dans des liaisons osidiques), la liqueur de Fehling chauffée reste bleue.

On sait que l'amidon est un polymère de glucose. On se demande si l'hydrolyse de l'amidon par les grains de blé en germination conduit à la libération de monomères réducteurs qui sont des glucoses. L'hypothèse est que l'hydrolyse de l'amidon par les grains de blé en germination conduit à la libération de monomères réducteurs qui sont des glucoses. Si cette hypothèse est exacte et que l'on fait une expérience consistant à faire un test à la liqueur de Fehling sur le gel de la boîte de Pétri qui est resté jaune suite au test à l'eau iodée, alors, on s'attend à observer un précipité rouge brique. L'expérience est réalisée. Suite au test à la liqueur de Fehling, on observe la présence d'un précipité rouge brique : ce sont les résultats observés. Les résultats observés sont semblables aux résultats attendus, conclusion : l'hypothèse est retenue, l'hydrolyse de l'amidon par les grains de blé en germination conduit à la libération de monomères réducteurs qui sont vraisemblablement (compte-tenu de nos connaissances) des glucoses.

Exercice 3

On s'intéresse à une enzyme digestive produite par le pancréas : la ribonucléase. Cette enzyme est une protéine constituée d'une chaîne non ramifiée de 124 monomères.

Question 1 : Comment nomme-t-on les monomères qui constituent les protéines ? Par quel type de liaisons sont-ils liés les uns aux autres le long de la chaîne protéique ?

Les monomères des protéines sont les acides aminés. Dans une chaîne protéique, les acides aminés sont liés les uns aux autres par des liaisons peptidiques qui sont des liaisons covalentes.

Certains de ces monomères peuvent établir des liaisons hydrogènes entre eux (lesquelles sont des liaisons non covalentes) et d'autres peuvent établir des ponts disulfures (qui sont des liaisons covalentes). Quatre ponts disulfures s'établissent ainsi entre certains monomères de la ribonucléase.

Question 2 : Rappelez entre quels types de monomères les ponts disulfure s'établissent.

Les ponts disulfures s'établissent entre des acides aminés soufrés appelés cystéines (vu dans la chimie du vivant, partie II).

Lorsque cette enzyme est mise en présence de mercaptoéthanol et d'urée, les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures sont rompus. On constate alors que les capacités catalytiques de l'enzyme sont perdues.

Question 3 : Comment expliqueriez-vous la perte des capacités catalytiques de l'enzyme en présence de mercaptoéthanol et d'urée ? Comment nomme-t-on ce phénomène dans lequel les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures d'une protéine sont perdus ?

La perte des capacités catalytiques de l'enzyme s'explique par la perte de la structure tridimensionnelle de l'enzyme. Quand cette structure tridimensionnelle est perdue, le site actif de l'enzyme est perdu et il n'y a plus d'interaction possible avec le substrat.

On nomme dénaturation cette perte des liaisons hydrogènes et des ponts disulfures, il s'agit plus précisément de la perte de la conformation tridimensionnelle.

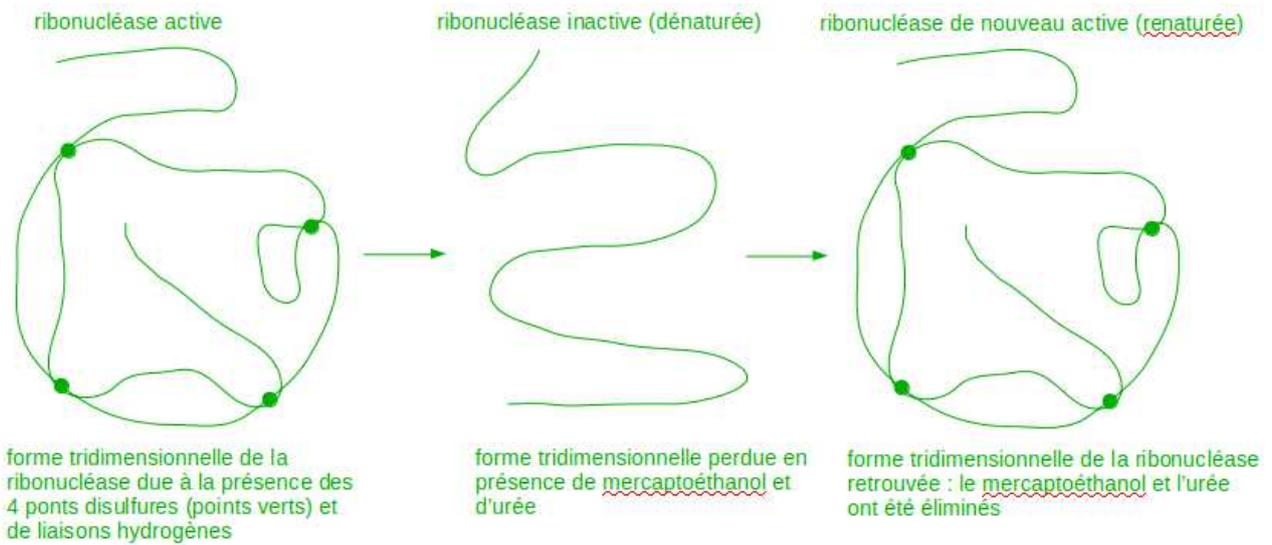
On constate que si l'enzyme, qui a été mise en présence de mercaptoéthanol et d'urée, est placée dans un milieu sans mercaptoéthanol et urée, elle retrouve son activité catalytique.

Question 4 : Comment expliqueriez-vous la récupération de l'activité catalytique de cette enzyme ?

L'enzyme retrouve son activité catalytique car elle se renature, c'est à dire, qu'elle retrouve sa forme tridimensionnelle et donc son site actif.

Exercices cours 004 : Les enzymes

La schématisation suivante peut être proposée pour comprendre ce qui s'est produit durant l'ensemble de l'expérience.



Question 5 : Que diriez-vous concernant l'impact du mercaptoéthanol et de l'urée sur les liaisons qui lient les monomères d'une protéine le long de la chaîne protéique?

Le mercaptoéthanol et l'urée n'ont pas eu d'impact sur les liaisons peptidiques si bien que la séquence de l'enzyme a été préservée tout au long de l'expérience.