

Les enzymes, des biomolécules aux propriétés catalytiques

Connaissances

Les protéines enzymatiques sont des catalyseurs de réactions chimiques spécifiques dans le métabolisme d'une cellule.

La structure tridimensionnelle de l'enzyme lui permet d'interagir avec ses substrats et explique ses spécificités en termes de substrat et de réaction catalytique.

Notions fondamentales : catalyse, substrat, produit, spécificité.

Objectifs : il s'agit de montrer que les enzymes, issus de l'expression génétique d'une cellule, sont essentiels à la vie cellulaire et sont aussi des marqueurs de sa spécialisation.

Capacités

- Étudier les relations enzyme-substrat au niveau du site actif par un logiciel de modélisation moléculaire
- Concevoir et réaliser des expériences utilisant des enzymes et permettant d'identifier leurs spécificités.
- Étudier des profils d'expression de cellules différenciées montrant leur équipement enzymatique.
- Étude de l'interaction enzyme-substrat en comparant les vitesses initiales des réactions et faisant varier soit la concentration en substrat ; soit en enzyme. Utilisation des tangentes à t_0 pour calculer la vitesse initiale.

Faits et observations

Expériences :

- de spécificité enzyme substrat
- d'influence des conditions du milieu sur la réaction enzymatique (T° PH concentration en substrat ou en enzyme)

Modèles moléculaires:

- La séquence d'AA du site actif de deux enzymes différente n'est pas la même
- dysfonctionnement des enzymes liée à la mutation du gène qui les code donc à leur séquence d'AA
- Influence sur le site actif de ces mutations liaison substrat site actif

Modèle conceptuel

Les protéines enzymatiques sont des biocatalyseurs

Elles sont spécifiques d'un substrat

Leur conformation 3D de leur site actif permet leur interaction avec le substrat

Certains paramètres (pH T° élevée) modifient cette conformation empêchant la catalyse

La vitesse de la réaction catalysée dépend de condition du milieu cellulaire (quantité de substrat, température)

(l'état de condensation de l'ADN détermine) le profil d'expression des gènes dans la cellule détermine l'équipement enzymatique d'une cellule différenciée et donc ses spécificités

Progression

Modèle empirique: Etude expérimentale de la catalyse enzymatique: comparer hydrolyse deux catalyseurs HCl et enzyme

Modèle empirique: Etude expérimentale de la spécificité de substrat: enzyme avec différents substrats

Modèle empirique: Etude expérimentale de la réaction enzymatique en fonction des conditions du milieu (Température, pH, [S], [E])

Modèles moléculaires: comparer les séquences d'aa du site actif d'une enzyme défailante et active et comparer les acides aminés du site actif sur enzyme 3D

Modèles empiriques: étude du protéome de différentes cellules de l'organisme (analyse de résultats de puce à protéines ou d'électrophorèse bidimensionnelle sur gel)

Concepts: Les protéines enzymatiques sont des biocatalyseurs
Elles sont spécifiques d'un substrat
La vitesse de la réaction catalysée dépend de condition du milieu cellulaire (quantité de substrat, température...)

Concepts: Leur conformation 3D de leur site actif permet leur interaction avec le substrat
Certains paramètres (pH T° élevée) modifient cette conformation empêchant la catalyse

Concepts: Les enzymes présentes dans une cellule sont des marqueurs de la spécialisation cellulaire

Activité

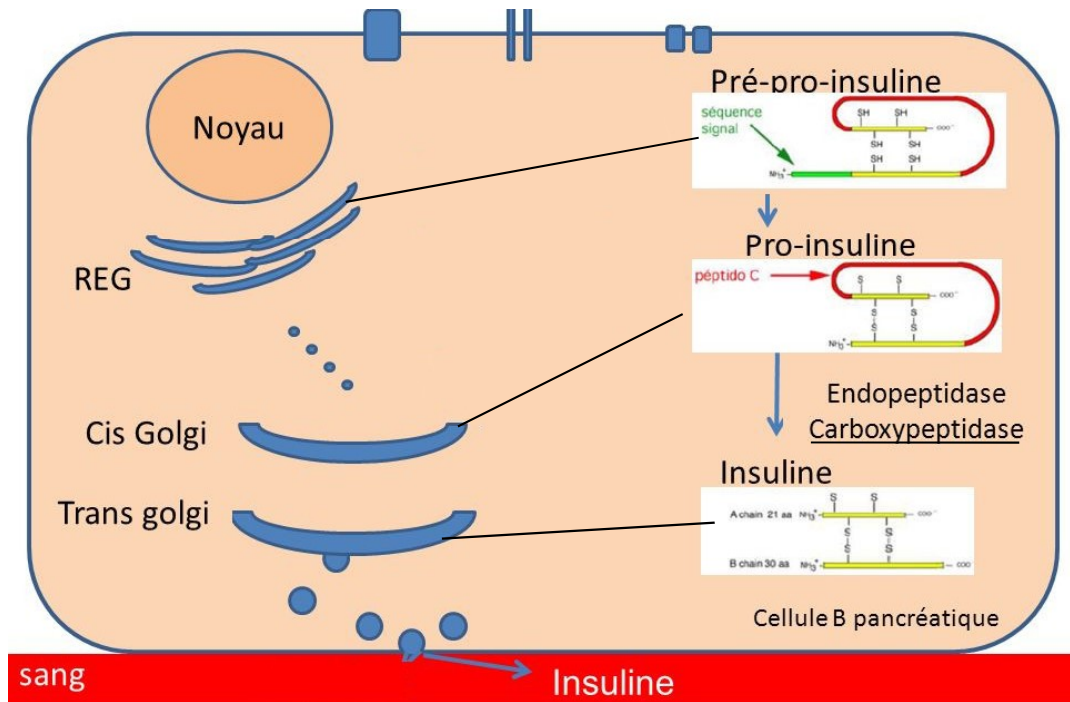
Modèles moléculaires: comparer les séquences d'aa du site actif d'une enzyme défailante et active et comparer les acides aminés du site actif sur enzyme 3D / Utiliser le logiciel Rastop et Anagène

Mise en situation et recherche à mener:

Un patient souffre d'un déficit de production d'insuline. Cette molécule est une hormone de nature protéique qui intervient dans la régulation de la glycémie. Après de nombreux examens, on constate que le pancréas assure correctement la production de la proinsuline (forme inactive) mais qu'elle n'est pas transformée en hormone active appelée insuline. Cette dernière étape de la synthèse de l'insuline est assurée par une enzyme appelée carboxypeptidase. On fait l'hypothèse d'un dysfonctionnement de cette carboxypeptidase.

On cherche à vérifier si cette incapacité du pancréas à transformer la proinsuline en insuline est la conséquence d'un dysfonctionnement de la carboxypeptidase du patient.

Chaîne de biosynthèse de l'insuline dans une cellule pancréatique



Production and secretion of insulin by the pancreatic b-cell, C. Magan, A. Ktorza, EMC-Endocrinologie 2005

Ressource1 : structure et fonctionnement de la carboxypeptidase

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.

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.

La carboxypeptidase 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 :

- Trois acides aminés, **His69**, **Glu72**, **His196** participent à la catalyse de la réaction chimique.
- Trois acides aminés **Arg145**, **Tyr248** et **Glu270** jouent le rôle de site de fixation du substrat.

Ressource 2 : séquence d'acides aminés et modèle tridimensionnel d'une carboxypeptidase fonctionnelle et de celle du patient

Vous disposez :

- d'un Fichier .edi présentant les séquences d'acides aminés d'une carboxypeptidase fonctionnelle et de celle du patient que vous pouvez exploiter avec le logiciel anagène
 - d'un fichier .pdb présentant les modèles tridimensionnels d'une carboxypeptidase fonctionnelle liée au substrat (proinsuline) et de celle du patient liée au substrat

Étape A: Proposer une stratégie et le mettre en oeuvre:

A partir des ressources fournies vous proposerez et mettrez en oeuvre une stratégie pour montrer que le déficit de production d'insuline est bien lié à un dysfonctionnement de la carboxypeptidase chez ce patient

Étape B: Présenter les résultats et répondre au problème posé

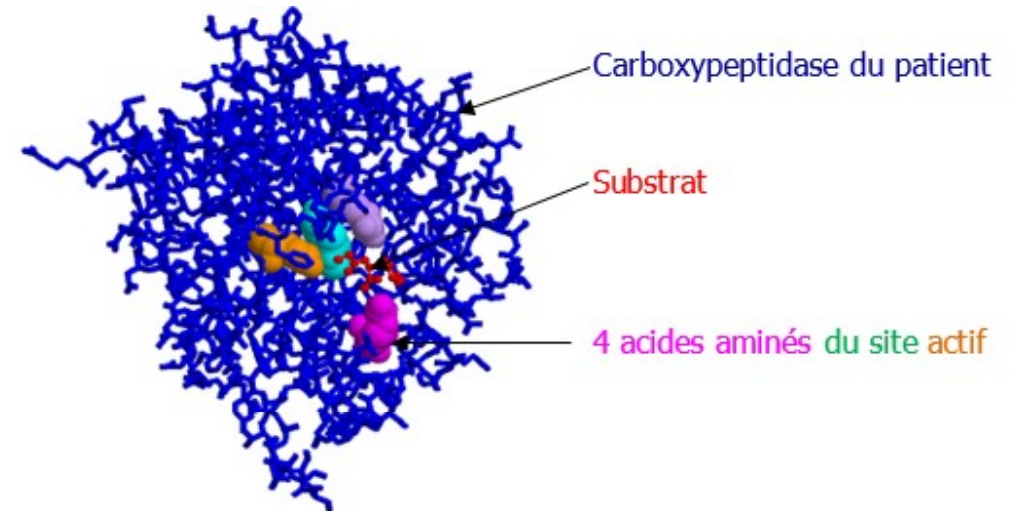
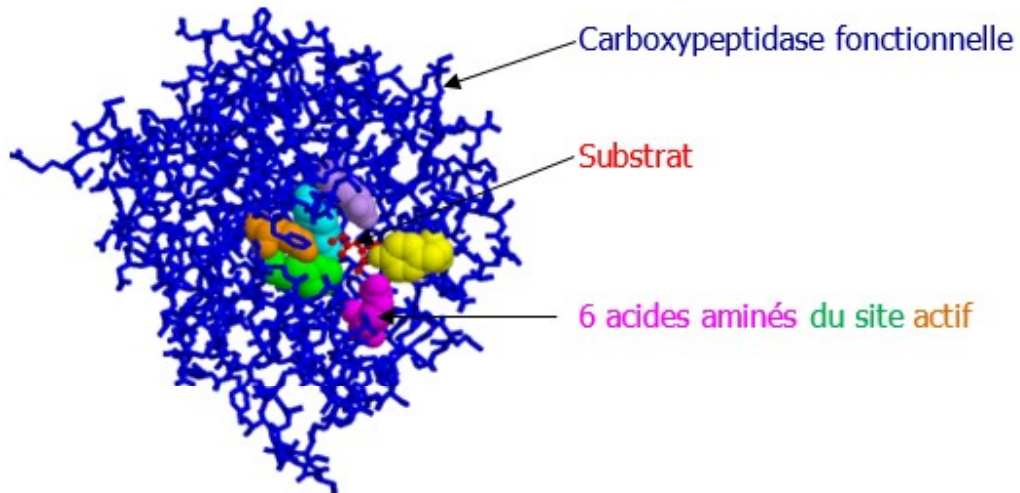
Sous la forme de choix, vous présenterez les données issues de l'exploitation des ressources que vous traiterez et exploiterez afin expliquer le dysfonctionnement de la carboxypeptidase du patient.

Document de secours : proposition de démarche

Vous réaliserez une comparaison de la séquence d'acides aminés de la carboxypeptidase fonctionnelle et de celle du patient à l'aide du logiciel anagène pour mettre en valeur les différences.

Puis vous traiterez les modèles moléculaires tridimensionnels des deux carboxypeptidases liées au substrat avec le logiciel rastop pour mettre en valeur les acides aminés fonctionnels du site de catalyse et le substrat afin d'expliquer le dysfonctionnement de la carboxypeptidase du patient.

Document secours présentation des résultats



carboxypeptidase fonctionnelle visualisation avec Rastop

carboxypeptidase du patient visualisation avec Rastop

Comparaison simple

Traitement	•	•	0	
CPA_MUT	•	•	0	HisProGlySerProIleAspValArgValProGlyProSerI
CPA	•	•	0	- - - - - His- - - - -

Sélection : 0/3 lignes

Comparaison simple

Traitement	•	•	0	
CPA_MUT	•	•	0	aGlySerLeuGlyCysIleGlyValAspPi
CPA	•	•	0	- - - Tyr- - - - -

Sélection : 0/3 lignes

Comparaison avec Anagène de la séquence d'acides aminés de la carboxypeptidase fonctionnelle (CPA) et de la carboxypeptidase du patient (CAP MUT)