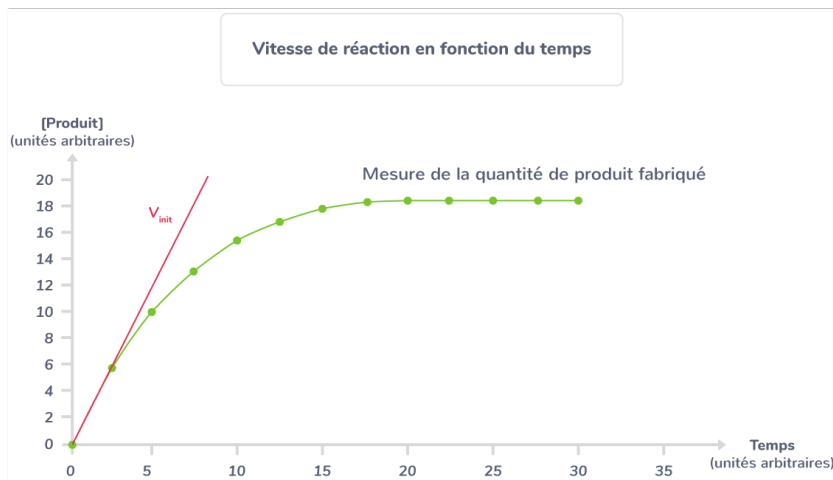


Le mode d'action d'une enzyme : la contribution de Michaelis et Menten

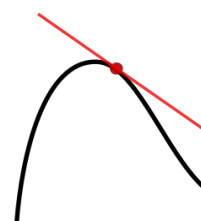
A - PARTIE 1 :

Compétences : mobiliser des connaissances pour expliquer

On mesure la quantité de produit d'une réaction enzymatique au cours du temps :



Point mathématique : la tangente à une courbe en un point est la droite qui n'entre en contact avec la courbe qu'au niveau de ce point
Exemple :



La vitesse de la réaction à un moment déterminé est donnée par pente (= coefficient directeur) de la tangente à la courbe en ce point (exemple : sur le graphique est tracée la tangente à la courbe au point (0 ;0) ; la pente de cette droite donne la vitesse de la réaction étudiée à l'instant t_0 (quantité de produit fabriqué en fonction du temps)).

Consignes	compétences
Q1. Tracer la tangente au temps 10 et au temps 20. Comparer ces vitesses à la vitesse initiale.	<i>Utiliser un outil mathématique – Relever des informations</i>
Q2. Décrire l'évolution de la quantité de produit au cours du temps.	<i>Relever des informations</i>
Q3. Expliquer ce qui est observé à partir de 20 u.a. de temps.	<i>Mobiliser des connaissances pour expliquer.</i>

B - PARTIE 2 :

En 1913, on connaît le fait que des enzymes transforment des substrats, mais on ne connaît pas la structure des protéines. Le biochimiste allemand Leonor Michaelis et la médecin canadienne Maud Menten émettent une hypothèse fondamentale sur le mode d'action de l'enzyme : ils pensent que l'enzyme E et le substrat S commencent par se lier pour former un complexe enzyme-substrat. Ce complexe donnerait ensuite le produit P et libérerait l'enzyme pour une nouvelle réaction.

Ils formalisent la réaction sous la forme suivante :



(E=enzyme, S = substrat, P = produit, ES = complexe enzyme-substrat)



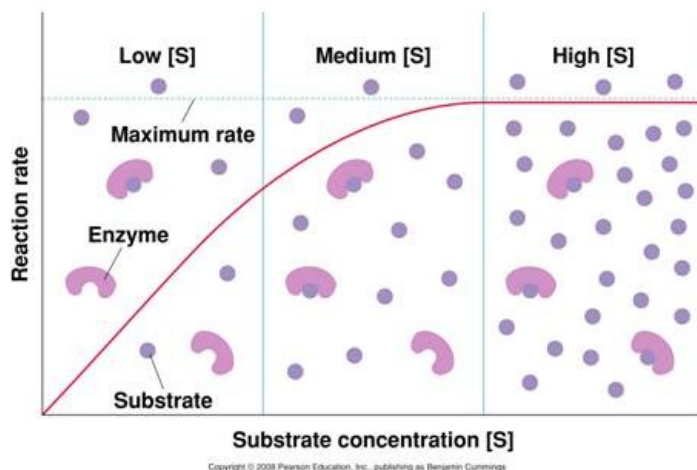
Leonor Michaelis
(16 de enero de 1875 - 8 de octubre de 1949)



Maud Menten
(Port Lambton, Ontario, 20 de marzo de 1879 - 26 de julio de 1960)

Si leur hypothèse est valide, alors la vitesse initiale de la réaction devrait augmenter si on augmente la quantité de substrat présent dans le milieu, car alors il y aurait une plus grande probabilité de formation du complexe ES (l'enzyme aurait plus de « chance » de rencontrer un substrat et de s'y lier).
(voir document)

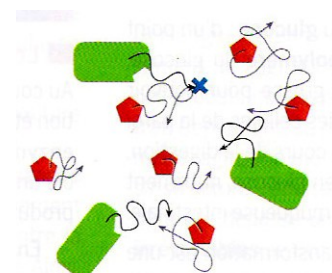
Document : Rapport théorique entre concentration en substrat et vitesse de réaction, à concentration constante en enzyme



Rappel :

Dans un milieu gazeux ou liquide, les molécules sont en mouvement dont les directions sont aléatoires. On parle d'agitation moléculaire. La probabilité de rencontre de deux molécules dépendra de la vitesse d'agitation et des quantités moléculaires.

Plus la température du milieu est importante, plus l'agitation moléculaire est importante.

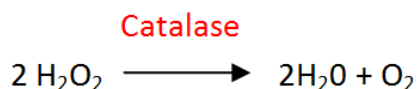


Modélisation de la trajectoire de molécules d'enzymes (en vert) et de substrats (en rouge)

Étude expérimentale :

Dans les cellules, l'oxygène se combine avec d'autres éléments pour former des molécules très réactives qui dégradent les composants cellulaires, provoquant ainsi le vieillissement et des mutations dans l'ADN. La catalase est une enzyme produite par la quasi totalité des êtres vivants et présente dans toutes les cellules. Elle permet de limiter les effets du stress oxydatif dus à la formation d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) : H_2O_2 . La catalase accélère la réaction de destruction de l' H_2O_2 , selon la réaction suivante :

Cette enzyme est une des plus rapides et plus efficaces connues : elle détruit plusieurs dizaines de millions de molécules d' H_2O_2 par seconde.

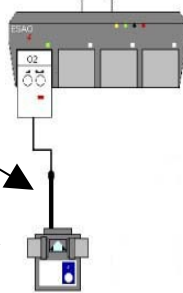


Consignes	Compétences
1. Mettre en œuvre le protocole fourni.	Mettre en œuvre un protocole – Respecter les consignes
2. Intégrer vos résultats dans le tableau collaboratif :	Traiter des résultats
3. Tracer rapidement le graphique $V_i = f(C_{\text{substrat}})$ pour déterminer si les valeurs sont cohérentes par rapport au modèle théorique. Sinon, éliminer du tableau les valeurs non pertinentes.	
4. Lorsque tous les binômes ont intégré leurs données, récupérer le tableur. Si des résultats manquent de fiabilité, les supprimer. Compléter en ajoutant les formules de calcul des moyennes et des écarts-types.	
5. A partir des résultats, discuter de l'hypothèse de Michaelis et Menten.	Exploiter des résultats

Étude de la cinétique d'une réaction enzymatique par Ex.AO. : la catalase

Matériel :

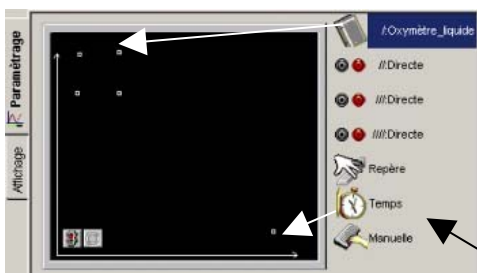
- C - Interface Ex.AO. avec oxymètre
- D - Sonde à dioxygène
- E - Gamme de solutions de H₂O₂
- F - Pipettes de 10 ml
- G - Bioréacteur avec barreau aimanté
- H - Seringue à insuline
- I - Extrait de catalase (jus de navet)



Déterminer la pente

Menu « Outil/Droite »; cliquer gauche sur le point où on veut connaître la pente ; maintenir le clic et en déplaçant la souris, ajuster l'orientation de la droite pour avoir la tangente. L'équation de la tangente s'affiche dans un cadre gris en bas de la fenêtre contenant le graphique :
 $= at+b$. Le coefficient directeur a correspond à la pente.

Protocole à mettre en œuvre :

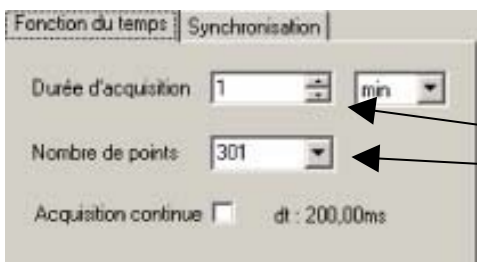


- Vérifier que l'oxymètre est branché sur le boîtier.
- Vérifier que la sonde à oxygène est branchée sur l'oxymètre.

A- Préparation de l'interface



- Démarrer l'Atelier Scientifique. Sélectionner le menu généraliste.
- Déplacer l'icône de l'oxymètre sur l'un des petits carrés blancs en haut et à gauche sur l'axe des ordonnées. Vérifier que le capteur mesure O₂ dans l'eau, et non dans l'air
- Déplacer l'icône du chronomètre en bas et à droite sur l'axe des abscisses.
- Indiquer la durée d'acquisition : 10 min
- Indiquer le nombre de points désiré : 300



B- Mise en place des solutions

- A l'aide d'une pipette, introduire dans la cuve centrale du bioréacteur 6 ml de solution enzymatique.
- Placer un barreau magnétique dans le bioréacteur. Mettre en route l'agitation à vitesse modérée.
- Fermer le bioréacteur et placer la sonde à dioxygène dans l'orifice gauche ou droit. Vérifier qu'elle trempe dans la solution et ne gêne pas la rotation de l'agitateur. Boucher tous les autres orifices sauf un petit.
- Préparer 0,5 ml de la solution de H₂O₂ la moins concentrée dans une seringue à insuline.
- Mettre en place la seringue sur le bioréacteur **sans injecter**.

C- Mesures (Penser à enregistrer régulièrement votre fichier sous la forme catalase_nom1_nom2)

- Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert. Donner un nom et valider.
- Au bout de 30 secondes, injecter l'H₂O₂. Mettre un repère en cliquant quelques secondes sur la barre « espace » du clavier.
- Quand les mesures montrent un plateau, cliquer sur le feu rouge pour stopper l'acquisition.
- Soulever avec précaution le dessus du bioréacteur et le poser sur le verre à pied.
- **Après avoir récupéré le barreau aimanté**, vider et rincer la cuve. La remettre en place.
- Réaliser une nouvelle mesure en reprenant à l'étape 9 mais en choisissant une solution plus concentrée.

ATTENTION : après avoir cliqué sur le feu vert, choisir « Nouvelle manipulation » pour ne pas effacer les mesures précédentes.

- En fonction du temps disponible, réaliser 3 à 5 mesures avec d'autres concentrations de H₂O₂.
- Enregistrer votre graphique sous la forme catalase_nom1_nom2
- Déterminer la pente (Outil/Tangente) de chaque courbe en début de réaction : elle correspond à la vitesse initiale de réaction.
- Titrer le graphique et annoter vos courbes en indiquant la concentration et la pente (Affichage/annotations).
- **Après avoir récupéré et rendu le barreau aimanté**, remettre le poste en l'état.