

Enzymes et métabolisme

COURS • S05 • PREMIÈRE

Spécialité de première, programme officiel. Cours original rédigé avec une IA. Le cours de ton enseignant fait foi.

Sommaire du cours

Ce que tu dois savoir faire	1
Cours	2
Exemples résolus	10
Méthodes et pièges	11
Vers le PASS	12
Exercices	12
Corrigés	13

Ce que tu dois savoir faire

- Définir une enzyme comme un catalyseur biologique de nature protéique et expliquer ce qu'est la catalyse.
- Relier la structure tridimensionnelle d'une enzyme, et en particulier son site actif, à sa fonction.
- Distinguer la spécificité de substrat et la spécificité d'action, et les démontrer à partir de résultats expérimentaux.
- Décrire la formation du complexe enzyme-substrat et expliquer pourquoi l'enzyme est retrouvée intacte en fin de réaction.
- Mesurer et calculer une vitesse initiale de réaction à partir d'une courbe d'apparition du produit ou de disparition du substrat.
- Exploiter des courbes montrant l'influence de la température, du pH et de la concentration en substrat sur l'activité enzymatique.
- Expliquer la différence entre inactivation réversible (froid) et dénaturation irréversible (chaleur, pH extrêmes).
- Décrire une voie métabolique comme une succession de réactions catalysées par des enzymes, localisées dans des compartiments cellulaires.
- Distinguer cellules autotrophes et hétérotrophes et situer la photosynthèse et la respiration dans la cellule.
- Relier un phénotype (moléculaire, cellulaire, macroscopique) à l'activité d'une enzyme, donc à un gène et à ses allèles.

Cours

1. Les enzymes : des catalyseurs biologiques de nature protéique

Les cellules réalisent en permanence des milliers de réactions chimiques : hydrolyse des aliments, synthèse de molécules, production d'énergie. À 37 °C et à pH proche de 7, la plupart de ces réactions seraient extrêmement lentes si elles se déroulaient spontanément. Par exemple, l'hydrolyse de l'amidon en glucose dans un tube d'eau à 37 °C prendrait des mois ; dans l'intestin, elle se fait en quelques minutes.

Un **catalyseur** est une substance qui augmente la vitesse d'une réaction chimique sans être consommée par celle-ci et sans modifier le bilan de la réaction : on le retrouve intact à la fin. Un catalyseur ne rend pas possible une réaction impossible ; il accélère une réaction qui pourrait se produire spontanément.

Une **enzyme** est un **catalyseur biologique**. La très grande majorité des enzymes sont des **protéines**, c'est-à-dire des chaînes d'acides aminés (polypeptides) repliées dans l'espace. Leur séquence d'acides aminés est codée par un gène : une enzyme est donc un produit de l'expression du patrimoine génétique.

Les enzymes présentent trois caractéristiques majeures :

- elles agissent en **très faible quantité** : une seule molécule d'enzyme peut transformer des milliers, voire des millions de molécules de substrat par seconde selon les enzymes ;
- elles sont **retrouvées intactes** en fin de réaction et peuvent donc être réutilisées ;
- elles sont **spécifiques** : chaque enzyme catalyse un type de réaction sur un type de molécule.

Vocabulaire : la molécule transformée est le **substrat**, la ou les molécules obtenues sont les **produits**. Le nom d'une enzyme se termine en général par « -ase » et rappelle son substrat ou son action : l'amylase hydrolyse l'amidon (amylum), la lactase hydrolyse le lactose, la glucose oxydase oxyde le glucose, l'ADN polymérase polymérise l'ADN.

Exemple de réaction catalysée :

amidon + eau → maltose (puis glucose), catalysée par l'amylase.

Une enzyme accélère une réaction sans être consommée et sans changer ce qui est produit. Elle agit en quantité infime parce qu'elle est recyclée en permanence.

2. La structure de l'enzyme et le site actif

La fonction d'une protéine dépend de sa **structure tridimensionnelle**, elle-même déterminée par la séquence de ses acides aminés. Une chaîne polypeptidique se replie selon les interactions entre les chaînes latérales (radicaux) de ses acides aminés : liaisons hydrogène, liaisons ioniques, interactions hydrophobes, ponts disulfure entre deux cystéines. Ces liaisons, pour la plupart faibles, maintiennent une forme précise.

Le **site actif** est une petite région de l'enzyme, souvent une poche ou un sillon à sa surface, où se fixe le substrat et où se déroule la réaction. Il ne représente qu'une faible partie de la molécule (quelques acides aminés sur plusieurs centaines). On y distingue deux fonctions :

- le **site de fixation** (ou de reconnaissance) : des acides aminés dont la position et les propriétés chimiques (charge, polarité, taille) sont complémentaires de celles du substrat ; ils assurent la

fixation par des liaisons faibles ;

- le **site catalytique** : quelques acides aminés qui interviennent directement dans la transformation chimique du substrat (rupture ou formation de liaisons).

Point essentiel : les acides aminés du site actif ne sont pas forcément voisins dans la séquence. Ils peuvent être très éloignés dans la chaîne (par exemple le 57^e, le 102^e et le 195^e acide aminé) et ne se trouvent rapprochés que grâce au repliement de la protéine. Toute modification qui altère ce repliement modifie donc le site actif.

Ce qui fait un site actif fonctionnel

une séquence d'acides aminés codée par un gène

un repliement tridimensionnel précis

des acides aminés de fixation complémentaires du substrat

des acides aminés catalytiques qui transforment le substrat

Repères complémentaires, sans séquence causale

Conséquence génétique : une **mutation** du gène codant l'enzyme peut remplacer un acide aminé par un autre. Si cet acide aminé appartient au site actif ou s'il est indispensable au repliement, l'enzyme peut devenir moins active, voire inactive. Si la substitution touche une région sans rôle structural important, l'activité peut rester inchangée. Une mutation silencieuse (même acide aminé, grâce à la redondance du code génétique) ne change pas l'enzyme.

3. Le complexe enzyme-substrat et la double spécificité

3.1. Le complexe enzyme-substrat

La catalyse passe par la formation d'un **complexe enzyme-substrat** (noté E-S), transitoire, dans lequel le substrat est fixé au site actif. Le mécanisme se résume ainsi :



1. Le substrat rencontre l'enzyme au hasard des déplacements moléculaires (agitation thermique).
2. S'il est complémentaire du site de fixation, il s'y lie par des liaisons faibles : c'est le complexe E-S.
3. Les acides aminés du site catalytique transforment le substrat en produit(s).
4. Le ou les produits, n'étant plus complémentaires, se détachent ; l'enzyme est libérée intacte et peut fixer une nouvelle molécule de substrat.

Le cycle catalytique

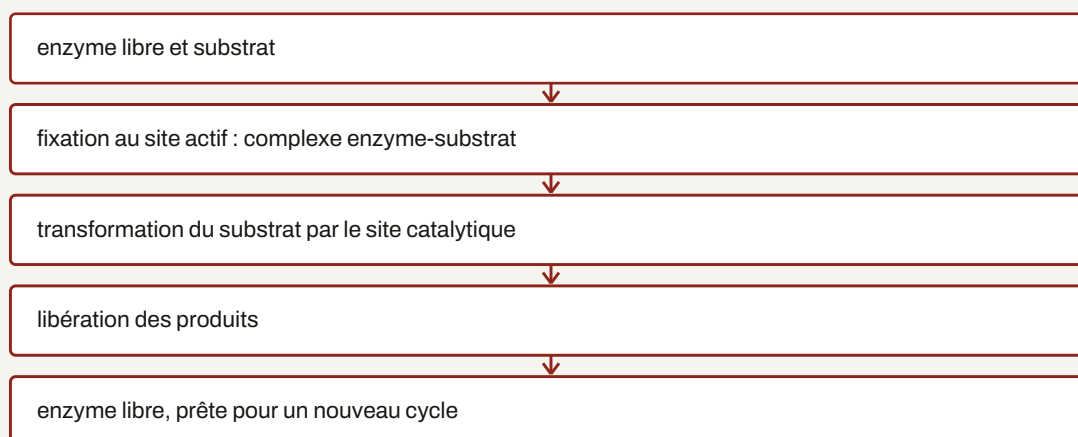


Schéma de principe original • lire les conditions et limites dans le texte

Le complexe E-S a été mis en évidence par l'observation de molécules d'enzymes fixées à leur substrat (cristallographie, microscopie) et par des cinétiques montrant que la vitesse plafonne quand tous les sites actifs sont occupés (voir partie 4).

Deux modèles décrivent la fixation :

- le modèle « **clé-serrure** », historique : le site actif a une forme rigide exactement complémentaire du substrat ;
- le modèle de l'**ajustement induit**, plus juste : la fixation du substrat provoque une légère déformation de l'enzyme, qui épouse alors étroitement le substrat. On sait aujourd'hui que les enzymes sont des molécules souples.

3.2. La spécificité de substrat

Une enzyme ne fixe qu'un substrat ou une famille de substrats de structure très proche : c'est la **spécificité de substrat**. Elle repose sur la complémentarité de forme et de propriétés chimiques entre le substrat et le site de fixation.

Exemple : la glucose oxydase oxyde le glucose mais pas le galactose ni le fructose, alors que ces trois oses ont la même formule brute $C_6H_{12}O_6$. La seule différence de position d'un groupement hydroxyle suffit à empêcher la fixation. De même, la saccharase hydrolyse le saccharose mais pas le maltose ni le lactose, qui sont pourtant aussi des diholosides.

3.3. La spécificité d'action

Pour un substrat donné, une enzyme ne catalyse qu'un seul type de réaction : c'est la **spécificité d'action**. Elle dépend des acides aminés du site catalytique.

Exemple : le glucose peut subir de nombreuses transformations dans une cellule. La glucose oxydase l'oxyde en acide gluconique ; l'hexokinase le phosphoryle en glucose-6-phosphate. Même substrat, deux enzymes, deux réactions différentes.

Double spécificité : le site de fixation détermine QUEL substrat est pris en charge ; le site catalytique détermine QUELLE réaction est réalisée.

3.4. Démontrer une spécificité expérimentalement

La démarche consiste à faire varier une seule chose à la fois et à comparer avec des témoins :

- pour la spécificité de substrat : la même enzyme est mise en présence de plusieurs substrats proches, dans les mêmes conditions ; on recherche le produit ou la disparition de chaque substrat ;
- pour la spécificité d'action : le même substrat est mis en présence de plusieurs enzymes ; on identifie des produits différents.

Les tests usuels au lycée : l'**eau iodée** (lugol) colore l'amidon en bleu-noir ; sa disparition signe l'hydrolyse de l'amidon. La **liqueur de Fehling** chauffée donne un précipité rouge brique en présence de sucres réducteurs (glucose, maltose, lactose, mais pas saccharose). Les **bandelettes test** au glucose détectent spécifiquement le glucose. Les capteurs (sonde à dioxygène, colorimètre) permettent des mesures en continu.

Un **témoin sans enzyme** est indispensable pour montrer que la transformation est due à l'enzyme et non à une réaction spontanée. Un **témoin avec enzyme bouillie** montre que l'activité dépend de l'intégrité de la protéine.

4. La vitesse de réaction et l'influence de la concentration en substrat

4.1. Mesurer une vitesse

La **vitesse** d'une réaction enzymatique est la quantité de substrat transformé (ou de produit formé) par unité de temps. Elle s'exprime par exemple en $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ ou en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$.

On suit au cours du temps la concentration en produit $[P]$ (courbe croissante) ou en substrat $[S]$ (courbe décroissante). La courbe obtenue n'est pas une droite : sa pente diminue avec le temps, car le substrat s'épuise (et parfois le produit inhibe la réaction). On mesure donc la **vitesse initiale** V_0 , c'est-à-dire la pente de la tangente à la courbe à l'origine ($t = 0$), ou de la partie quasi rectiligne du début de la courbe.

$V_0 = \Delta[P] / \Delta t$ sur la partie initiale rectiligne.

On utilise la vitesse initiale parce qu'au début la concentration en substrat est connue (c'est celle qu'on a introduite) et que le produit n'a pas encore eu d'effet. Cela permet de comparer proprement des expériences entre elles.

4.2. Influence de la concentration en substrat

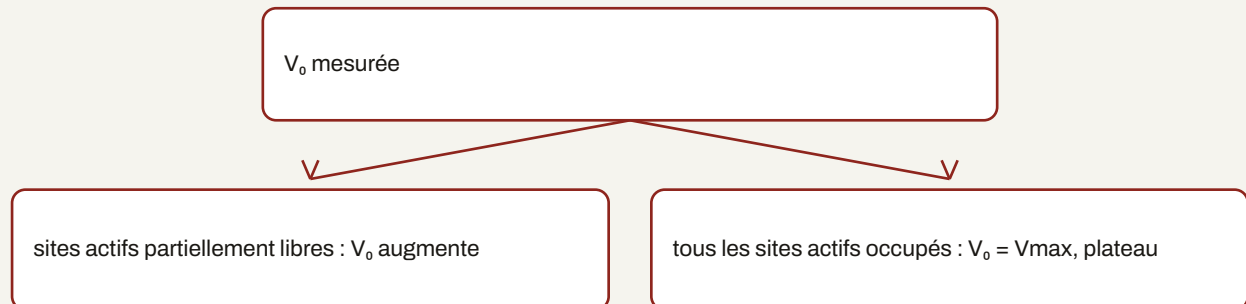
On réalise une série d'expériences avec la même quantité d'enzyme et des concentrations initiales en substrat croissantes, puis on mesure V_0 pour chacune. La courbe $V_0 = f([S])$ a une allure caractéristique :

- pour les faibles concentrations, V_0 augmente presque proportionnellement à $[S]$: plus il y a de substrat, plus les rencontres avec les sites actifs sont fréquentes ;
- puis l'augmentation ralentit ;
- enfin V_0 atteint un **plateau** : la **vitesse maximale** V_{max} . Tous les sites actifs sont occupés en permanence : on dit que l'enzyme est **saturée**. Ajouter du substrat ne sert plus à rien, car le facteur limitant est désormais le nombre de molécules d'enzyme et la vitesse à laquelle chacune réalise un cycle.

Cette saturation est un argument majeur en faveur de l'existence du complexe enzyme-substrat : si l'enzyme ne fixait pas le substrat, il n'y aurait pas de plateau.

Si l'on double la quantité d'enzyme, V_{max} double (il y a deux fois plus de sites actifs), à substrat non limitant. En revanche la forme de la courbe est conservée.

Quand on ajoute du substrat



Deux branches distinctes • ce schéma ne relie pas les deux issues entre elles

5. Influence de la température et du pH

5.1. La température

La courbe de l'activité enzymatique en fonction de la température est en cloche asymétrique :

- à basse température (proche de 0 °C), l'activité est très faible : les molécules s'agitent peu, les rencontres enzyme-substrat sont rares. L'enzyme est **inactivée mais pas détruite** : si on la réchauffe, elle retrouve son activité. C'est une inactivation **réversible**. C'est ce qui permet de conserver des aliments au réfrigérateur ou des enzymes au congélateur ;
- quand la température augmente, l'agitation moléculaire augmente, les rencontres sont plus fréquentes et la vitesse croît ;
- l'activité est maximale à la **température optimale** (souvent autour de 37 à 40 °C pour les enzymes humaines) ;
- au-delà, l'activité chute rapidement : l'agitation thermique rompt les liaisons faibles qui maintiennent la structure tridimensionnelle. La protéine se déplie, le site actif est déformé : c'est la **dénaturation**, en général **irréversible**. Une enzyme bouillie puis refroidie ne retrouve pas son activité.

La température optimale dépend de l'organisme : l'ADN polymérase de la bactérie *Thermus aquaticus*, qui vit dans des sources chaudes, a un optimum vers 72 °C et résiste à 95 °C (elle est utilisée dans la PCR). Les enzymes de poissons des eaux polaires sont actives près de 0 °C.

5.2. Le pH

Le pH modifie l'état d'ionisation des chaînes latérales de certains acides aminés (groupements acides et basiques, qui gagnent ou perdent un proton). Cela change :

- les liaisons ioniques qui maintiennent la structure ;
- les charges des acides aminés du site actif, donc la fixation du substrat et la catalyse.

Chaque enzyme a un **pH optimal**, en général cohérent avec le milieu où elle agit :

Enzyme	Lieu d'action	pH optimal approximatif
pepsine	estomac	2
amylase salivaire	bouche	6,8 à 7
trypsine	intestin grêle	8
phosphatase alcaline	os, foie	9 à 10

De part et d'autre de l'optimum, l'activité diminue. Des variations modérées sont réversibles ; des pH extrêmes entraînent une dénaturation irréversible. Ainsi, l'amylase salivaire est inactivée dans l'estomac acide, et la pepsine n'agit plus dans l'intestin où le pH est voisin de 8.

Froid : inactivation réversible (moins de rencontres, structure intacte). Chaleur excessive et pH extrêmes : dénaturation, souvent irréversible (structure et site actif détruits).

5.3. Les autres facteurs (pour aller plus loin)

L'activité enzymatique dépend aussi de la présence de certains ions ou petites molécules indispensables (cofacteurs, par exemple le Mg^{2+} pour de nombreuses enzymes) et peut être diminuée par des **inhibiteurs**, molécules qui se fixent sur l'enzyme. Certains médicaments et poisons agissent ainsi : l'aspirine inhibe une enzyme qui produit des médiateurs de l'inflammation, certains antibiotiques inhibent des enzymes bactériennes.

6. Le métabolisme : des réactions enzymatiques en chaîne

6.1. Définitions

Le **métabolisme** est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme ou une cellule. On distingue :

- l'**anabolisme** : réactions de synthèse de molécules complexes à partir de molécules simples (synthèse de protéines, de glycogène, de lipides) ; il consomme de l'énergie ;
- le **catabolisme** : réactions de dégradation de molécules complexes en molécules plus simples (hydrolyse, respiration) ; il libère de l'énergie, dont une partie est récupérée sous forme d'ATP.

Une **voie métabolique** est une succession de réactions, chacune catalysée par une enzyme spécifique, le produit de l'une servant de substrat à la suivante :

$A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$, catalysées respectivement par les enzymes E1, E2, E3.

Les molécules intermédiaires (B, C) sont des **métabolites**. Si une enzyme de la chaîne est absente ou inactive, le produit final n'est plus fabriqué et le métabolite situé juste avant le blocage s'accumule. C'est le principe de nombreuses maladies métaboliques.

Une voie métabolique

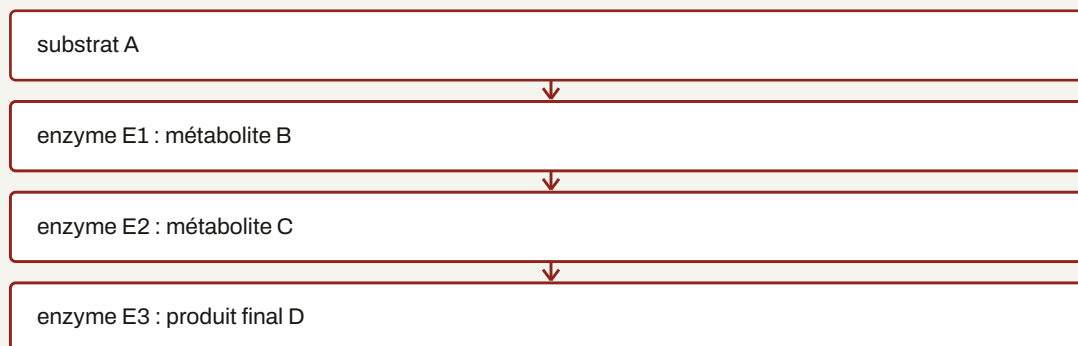


Schéma de principe original • lire les conditions et limites dans le texte

6.2. Une compartimentation cellulaire

Les enzymes ne sont pas réparties au hasard : chaque voie se déroule dans un compartiment précis (cytoplasme, mitochondrie, chloroplaste, réticulum endoplasmique). Cette compartimentation concentre les enzymes et leurs substrats et sépare des voies qui s'opposeraient (synthèse et dégradation d'une même molécule).

6.3. Cellules autotrophes et hétérotrophes

Selon la source de leur matière organique, on distingue :

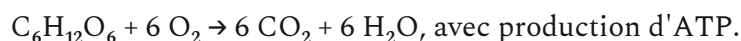
- les **cellules autotrophes** (cellules chlorophylliennes des végétaux, algues, cyanobactéries) : elles fabriquent leur matière organique à partir de matière minérale (CO_2 , eau, ions) grâce à l'énergie lumineuse. C'est la **photosynthèse**, qui se déroule dans les **chloroplastes** ;
- les **cellules hétérotrophes** (cellules animales, champignons, cellules non chlorophylliennes des plantes comme celles des racines) : elles doivent prélever de la matière organique dans leur milieu.

Bilan simplifié de la photosynthèse :



Le glucose produit peut être stocké sous forme d'amidon dans le chloroplaste.

Toutes les cellules, autotrophes comprises, dégradent de la matière organique pour obtenir l'énergie dont elles ont besoin. En présence de dioxygène, la **respiration cellulaire**, dont l'essentiel se déroule dans les **mitochondries**, oxyde complètement le glucose :



Une cellule chlorophyllienne éclairée réalise donc à la fois la photosynthèse et la respiration ; à l'obscurité, elle ne fait plus que respirer. Ces deux voies sont constituées de dizaines de réactions enzymatiques. Leur étude détaillée relève de la classe de Terminale.

7. Du gène au phénotype par les enzymes

Le **phénotype** est l'ensemble des caractères observables d'un individu, à trois échelles : **moléculaire** (protéines présentes et leur activité), **cellulaire** (fonctionnement et aspect des cellules), **macroscopique** (caractères de l'organisme). Comme beaucoup de caractères dépendent de molécules fabriquées par des voies métaboliques, ils dépendent des enzymes, donc des gènes qui les codent et de leurs allèles.

Exemple 1 : la **phénylcétonurie**. Le gène PAH code la phénylalanine hydroxylase, enzyme du foie qui transforme la phénylalanine (acide aminé apporté par l'alimentation) en tyrosine. Certains allèles mutés codent une enzyme inactive.

- Phénotype moléculaire : enzyme non fonctionnelle.
- Phénotype cellulaire : la phénylalanine n'est plus transformée et s'accumule ; des dérivés toxiques se forment.
- Phénotype macroscopique : en l'absence de prise en charge, atteinte du développement du système nerveux. Un dépistage néonatal systématique est réalisé en France, et un régime pauvre en phénylalanine dès la naissance limite l'accumulation. C'est un exemple où l'environnement (l'alimentation) influence le phénotype.

Exemple 2 : l'**albinisme**. La tyrosinase transforme la tyrosine, par plusieurs étapes, en mélanine, pigment de la peau, des poils et de l'iris. Un allèle muté codant une tyrosinase inactive empêche la synthèse de mélanine : peau et cheveux très clairs, sensibilité à la lumière.

Exemple 3 : la **tolérance au lactose** chez l'adulte dépend du maintien de l'expression du gène de la lactase après le sevrage, déterminé par certains allèles. Sans lactase, le lactose n'est pas hydrolysé dans l'intestin grêle et il est fermenté par les bactéries du côlon.

La chaîne de raisonnement à maîtriser est donc :

Du génotype au phénotype

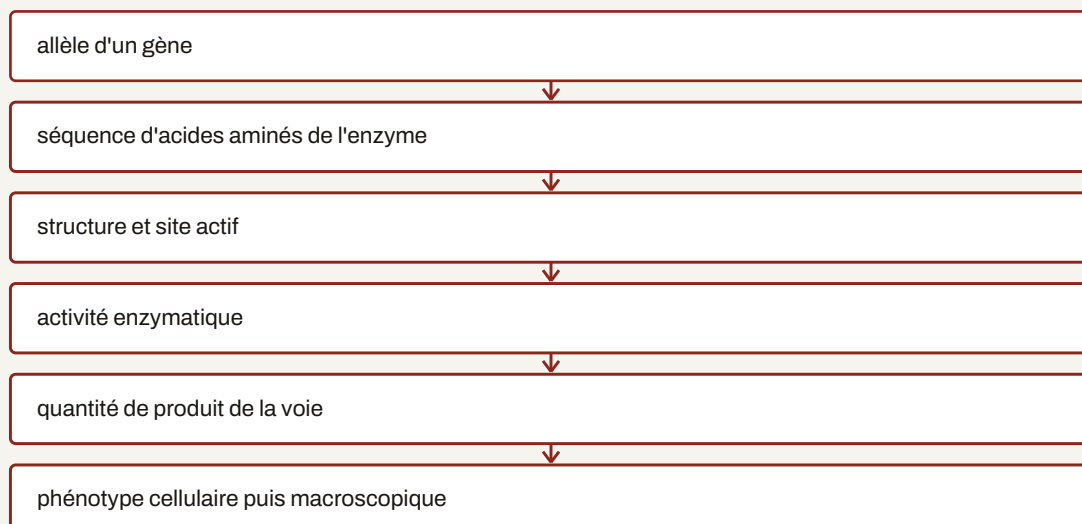


Schéma de principe original • lire les conditions et limites dans le texte

Les allèles sont souvent **récessifs** dans ce type de maladie : une seule copie fonctionnelle du gène produit suffisamment d'enzyme pour que la voie fonctionne normalement. Il faut donc deux allèles mutés pour que le phénotype apparaisse.

Exemples résolus

Exemple 1 : démontrer la spécificité de substrat de la glucose oxydase

Énoncé. On place dans quatre tubes à 37 °C et pH 7 une solution de glucose oxydase. On ajoute au temps $t = 0$ respectivement du glucose (tube 1), du galactose (tube 2), du fructose (tube 3), toutes ces solutions à $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Le tube 4 contient du glucose sans enzyme. Une sonde mesure la concentration en dioxygène dissous, consommé par la réaction d'oxydation. Résultats après 5 minutes : tube 1 : la concentration en O_2 passe de 0,25 à $0,05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; tubes 2, 3 et 4 : elle reste à $0,25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Exploiter ces résultats.

Résolution.

1. Je saisis les données : seul le tube 1 voit sa concentration en O_2 diminuer, de $0,25 - 0,05 = 0,20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ en 5 minutes.
2. J'interprète le témoin : dans le tube 4 (glucose sans enzyme), aucune consommation de dioxygène. L'oxydation du glucose n'est donc pas spontanée dans ces conditions : la consommation du tube 1 est due à l'enzyme.
3. Je compare les tubes 1, 2, 3 : seul le paramètre « nature du substrat » change. Le glucose est oxydé, le galactose et le fructose ne le sont pas, alors que ces trois oses ont la même formule brute $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.
4. Je relie à la structure : la fixation au site actif exige une complémentarité précise de forme et de groupements chimiques ; une différence de disposition des atomes suffit à empêcher la formation du complexe enzyme-substrat.
5. Conclusion : la glucose oxydase présente une spécificité de substrat : elle n'agit que sur le glucose parmi les oses testés.

Exemple 2 : calculer et comparer des vitesses initiales

Énoncé. On suit la formation de maltose par l'amylase à partir d'amidon à 37 °C. La quantité de maltose formée (en $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) est : $t = 0 \text{ min} : 0$; $t = 1 \text{ min} : 1,2$; $t = 2 \text{ min} : 2,4$; $t = 3 \text{ min} : 3,4$; $t = 5 \text{ min} : 4,6$; $t = 10 \text{ min} : 5,5$. On recommence avec une concentration en amidon deux fois plus grande et on obtient une vitesse initiale de $2,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Puis avec une concentration quatre fois plus grande : $2,4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. a) Calcule la vitesse initiale de la première expérience. b) Explique la forme de la courbe au cours du temps. c) Interprète l'évolution des trois vitesses initiales.

Résolution. a) La partie initiale est rectiligne entre 0 et 2 min (1,2 puis 2,4 : augmentation constante de 1,2 par minute). $V_0 = \Delta[P] / \Delta t = (2,4 - 0) / (2 - 0) = 1,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. b) Entre 2 et 3 min, le gain n'est plus que de 1,0 ; entre 5 et 10 min, de 0,9 en 5 min. La pente diminue parce que le substrat est consommé : sa concentration baisse, les rencontres enzyme-substrat deviennent moins fréquentes. La courbe tend vers un palier quand le substrat est épuisé. c) Concentration $\times 1 : 1,2$; $\times 2 : 2,2$; $\times 4 : 2,4$. Doubler $[S]$ presque double V_0 (sites actifs encore partiellement libres). Doubler encore $[S]$ n'augmente plus que de $2,4 - 2,2 = 0,2$, soit environ 9 % : on approche de la saturation. La vitesse tend vers V_{max} , proche de $2,4$ à $2,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, quand tous les sites actifs sont occupés.

Exemple 3 : distinguer inactivation et dénaturation

Énoncé. Une solution d'amylase est répartie en trois lots. Lot A : maintenu à 37 °C. Lot B : placé 15 min à 0 °C, puis ramené à 37 °C. Lot C : placé 15 min à 90 °C, puis ramené à 37 °C. On ajoute de l'amidon à chaque lot (à 37 °C) et on teste à l'eau iodée toutes les minutes. Résultats : lots A et B : plus de coloration bleu-noir après 6 min ; lot C : coloration bleu-noir persistante après 30 min. Un lot D, maintenu à 0 °C pendant le test, reste bleu-noir après 30 min. Exploiter.

Résolution.

1. L'eau iodée colore l'amidon : la disparition de la coloration signe la disparition de l'amidon, donc son hydrolyse.
2. Lot A : témoin, enzyme active à 37 °C, amidon hydrolysé en 6 min.
3. Lot D : à 0 °C pendant le test, pas d'hydrolyse : le froid empêche l'activité (agitation moléculaire trop faible).
4. Lot B : après un passage à 0 °C puis retour à 37 °C, l'activité est identique à celle du témoin. L'effet du froid est donc réversible : l'enzyme n'a pas été détruite.
5. Lot C : après 90 °C puis retour à 37 °C, aucune activité. La chaleur a rompu les liaisons faibles maintenant la structure tridimensionnelle ; le site actif est déformé et la protéine ne retrouve pas sa forme en refroidissant.
6. Conclusion : le froid inactive l'amylase de façon réversible, une température élevée la dénature de façon irréversible.

Méthodes et pièges

- Pour exploiter une expérience, suis toujours le même ordre : je vois (données chiffrées), je compare (au témoin, en ne changeant qu'un paramètre), j'en déduis (lien avec la structure de l'enzyme).
- Cherche le témoin sans enzyme : sans lui, tu ne peux pas affirmer que la transformation est catalysée.
- Ne confonds pas spécificité de substrat (une enzyme, plusieurs substrats testés) et spécificité d'action (un substrat, plusieurs enzymes et plusieurs produits).
- La vitesse initiale se lit sur la partie rectiligne du début de la courbe, pas entre le premier et le dernier point. Donne toujours une unité (par exemple $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$).
- Le plateau d'une courbe $[P] = f(t)$ signifie que le substrat est épuisé ; le plateau d'une courbe $V_0 = f([S])$ signifie que l'enzyme est saturée. Ce sont deux plateaux différents, ne les confonds pas.
- N'écris jamais que le froid « tue » ou dénature l'enzyme : il ralentit les rencontres, c'est réversible.
- Ne dis pas qu'une enzyme « meurt » : une protéine n'est pas vivante, elle est dénaturée.
- L'optimum de pH ou de température n'est pas toujours 37 °C ou pH 7 : relie-le au lieu d'action de l'enzyme ou au milieu de vie de l'organisme.
- Pour une maladie métabolique, raisonne sur la voie : le métabolite situé avant l'enzyme déficiente s'accumule, le produit situé après manque.
- Une mutation ne rend pas toujours l'enzyme inactive : tout dépend de l'acide aminé touché et de sa place dans la structure.

Vers le PASS

En PASS, l'enzymologie devient quantitative. La courbe $V_0 = f([S])$ est décrite par l'équation de Michaelis et Menten, avec deux paramètres que tu devras calculer et interpréter : V_{max} et la constante de Michaelis (K_m), qui traduit l'affinité de l'enzyme pour son substrat. Tu étudieras la représentation en double inverse de Lineweaver et Burk, les différents types d'inhibition (compétitive, non compétitive), la notion d'énergie d'activation et la régulation des enzymes (allostérie, phosphorylation). Ces notions servent directement en pharmacologie : de nombreux médicaments sont des inhibiteurs enzymatiques, et les dosages d'enzymes dans le sang (transaminases, lipase) servent au diagnostic. Les voies du métabolisme (glycolyse, cycle de Krebs, chaîne respiratoire) sont aussi au programme de biochimie.

Suite en PASS : Catalyse et cinétique enzymatique

Exercices

Niveau 1 : s'entraîner

1. Donne la définition d'une enzyme, puis cite trois propriétés qui la distinguent d'un réactif ordinaire.
2. Associe chaque enzyme à son substrat et à son produit : amylase, lactase, saccharase, glucose oxydase. Substrats proposés : saccharose, amidon, glucose, lactose. Produits proposés : glucose et fructose, maltose, glucose et galactose, acide gluconique.
3. Une courbe donne la quantité de produit formé : 0 μmol à 0 s, 15 μmol à 30 s, 30 μmol à 60 s, 40 μmol à 90 s, 44 μmol à 120 s. Calcule la vitesse initiale en $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ puis en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$.
4. Explique pourquoi les acides aminés du site actif peuvent être éloignés dans la séquence de la protéine.
5. Vrai ou faux, en justifiant : a) une enzyme est consommée au cours de la réaction ; b) à 0 °C, une enzyme est dénaturée ; c) chaque enzyme a un pH optimal égal à 7.

Niveau 2 : type bac

6. On teste l'action de la pepsine sur l'ovalbumine (protéine du blanc d'œuf) à 37 °C. Tube 1 : pH 2 ; tube 2 : pH 7 ; tube 3 : pH 2, pepsine préalablement bouillie ; tube 4 : pH 2, sans pepsine. Après 1 h, le blanc d'œuf a disparu seulement dans le tube 1. a) Indique le rôle des tubes 3 et 4. b) Interprète le résultat du tube 2. c) Explique en quoi le résultat est cohérent avec le lieu d'action de la pepsine.
7. On mesure la vitesse initiale d'une enzyme pour différentes concentrations en substrat (en $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) : 0,5 $\rightarrow$ 2,0 ; 1 $\rightarrow$ 3,4 ; 2 $\rightarrow$ 5,0 ; 5 $\rightarrow$ 6,6 ; 10 $\rightarrow$ 7,4 ; 20 $\rightarrow$ 7,8 ; 40 $\rightarrow$ 8,0 (vitesses en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$). a) Décris l'évolution de V_0 . b) Estime V_{max} . c) Explique à l'échelle moléculaire la forme de la courbe. d) Prévois la valeur de V_0 pour 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ si l'on double la quantité d'enzyme.
8. Le gène PAH code la phénylalanine hydroxylase. Chez un enfant porteur de deux allèles mutés, on mesure dans le sang 1 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de phénylalanine (valeur habituelle inférieure à 120 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). a) Calcule le rapport entre ces deux valeurs. b) Explique ce résultat en précisant le phénotype aux échelles moléculaire, cellulaire et macroscopique. c) Explique pourquoi un régime pauvre en phénylalanine modifie le phénotype sans modifier le génotype.

9. On mesure l'activité d'une enzyme de bactérie (en % de l'activité maximale) en fonction de la température : 20 °C : 10 ; 40 °C : 30 ; 60 °C : 70 ; 75 °C : 100 ; 85 °C : 80 ; 95 °C : 60 ; 100 °C : 40. a) Détermine la température optimale. b) Formule une hypothèse sur le milieu de vie de cette bactérie. c) Propose une expérience permettant de savoir si la baisse d'activité à 100 °C est réversible.

Niveau 3 : vers le PASS

10. Une enzyme possède un site actif comportant une histidine en position 57, un aspartate en position 102 et une sérine en position 195. Trois mutants sont étudiés : mutant A, sérine 195 remplacée par une alanine : fixation du substrat normale mais aucune transformation ; mutant B, substitution d'un acide aminé en position 189, au fond de la poche de fixation : l'enzyme ne fixe plus son substrat habituel mais fixe une autre molécule ; mutant C, substitution en position 30, en surface, loin du site actif : activité normale. Interprète chaque résultat en termes de site de fixation, site catalytique et spécificités.
11. Dans une voie métabolique $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$, catalysée par E1, E2 et E3, on étudie trois souches mutantes d'un champignon incapables de fabriquer D. La souche 1 pousse si l'on ajoute B, C ou D au milieu. La souche 2 pousse si l'on ajoute C ou D, pas B. La souche 3 pousse seulement si l'on ajoute D. a) Identifie l'enzyme déficiente chez chaque souche. b) Indique quel métabolite s'accumule chez la souche 2.
12. QCM (une ou plusieurs réponses exactes). À propos d'une enzyme présente en quantité fixe, lorsque la concentration en substrat devient très grande : A. la vitesse initiale devient proportionnelle à la concentration en substrat ; B. tous les sites actifs sont occupés ; C. la vitesse initiale double si l'on double la quantité d'enzyme ; D. ajouter un substrat ne change plus la vitesse initiale ; E. l'enzyme est dénaturée.
13. Une enzyme catalyse 600 000 réactions par minute et par molécule. Une solution en contient $2,0 \times 10^{-9}$ mol. a) Calcule le nombre de molécules d'enzyme ($N_A = 6,0 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$). b) Calcule la quantité de substrat transformée en 1 seconde, en mol, à saturation. c) Explique pourquoi cette valeur illustre le fait qu'une enzyme agit en très faible quantité.

Corrigés

1. Une **enzyme est un catalyseur biologique, le plus souvent de nature protéique, qui accélère une réaction chimique sans être consommée**. Trois propriétés : elle agit en très faible quantité ; elle est retrouvée intacte en fin de réaction, donc réutilisable ; elle est spécifique de son substrat et de la réaction catalysée. Un réactif, lui, est consommé et apparaît dans le bilan de la réaction.
2. Amylase : amidon $\rightarrow$ maltose. Lactase : lactose $\rightarrow$ glucose et galactose. Saccharase : saccharose $\rightarrow$ glucose et fructose. Glucose oxydase : glucose $\rightarrow$ acide gluconique. **Chaque nom d'enzyme rappelle son substrat (amylum, lactose, saccharose, glucose).**
3. La partie rectiligne va de 0 à 60 s (15 μmol par tranche de 30 s). $V_0 = (30 - 0) / (60 - 0) = 0,50 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$. En minutes : $0,50 \times 60 = 30 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$. $V_0 = 0,50 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} = 30 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$. Au-delà de 60 s, la pente diminue (10 puis 4 μmol par 30 s) car le substrat s'épuise : ces points ne doivent pas servir au calcul.
4. La chaîne d'acides aminés se replie dans l'espace sous l'effet de liaisons faibles (hydrogène, ioniques, hydrophobes) et de ponts disulfure entre ses acides aminés. Ce repliement rapproche des acides aminés éloignés dans la séquence. **Le site actif est une structure spatiale, créée par le repliement, et non un segment continu de la séquence.**

5. a) **Faux** : l'enzyme est retrouvée intacte et peut catalyser de nouveaux cycles ; c'est le substrat qui est consommé. b) **Faux** : à 0 °C, l'agitation moléculaire est faible et les rencontres enzyme-substrat sont rares, mais la structure est conservée ; l'activité revient au réchauffement (inactivation réversible). c) **Faux** : le pH optimal dépend de l'enzyme et de son milieu d'action (environ 2 pour la pepsine, 8 pour la trypsine).
6. a) Le tube 4 (sans pepsine) montre que l'ovalbumine ne disparaît pas spontanément à pH 2 : l'acidité seule ne suffit pas à l'hydrolyser en 1 h. Le tube 3 (pepsine bouillie) montre que l'activité nécessite une enzyme dont la structure est intacte. **Ensemble, ils prouvent que la disparition dans le tube 1 est due à l'activité catalytique de la pepsine.**
- b) À pH 7, la pepsine est présente mais n'agit pas : à ce pH, l'ionisation de certains acides aminés est modifiée, ce qui altère la structure et le site actif. **La pepsine est inactive à pH neutre.** c) La pepsine agit dans l'estomac, dont le contenu est très acide (pH voisin de 2). **Son pH optimal acide est adapté à son lieu d'action**, et elle devient inactive quand le chyme passe dans l'intestin, où le pH est voisin de 8.
7. a) V_0 augmente avec $[S]$, fortement au début (de 2,0 à 3,4 quand $[S]$ passe de 0,5 à 1), puis de moins en moins (de 7,8 à 8,0 entre 20 et 40 mmol·L⁻¹) : la courbe tend vers un plateau.
- b) **V_{max} est voisine de 8,0 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$** (légèrement supérieure, la courbe continuant à monter très faiblement). c) À faible $[S]$, de nombreux sites actifs sont libres : chaque ajout de substrat augmente le nombre de complexes enzyme-substrat formés par unité de temps. À forte $[S]$, tous les sites actifs sont occupés en permanence : l'enzyme est saturée, la vitesse ne dépend plus que du nombre de molécules d'enzyme et de la vitesse de chaque cycle. d) À 40 mmol·L⁻¹, l'enzyme est quasiment saturée : la vitesse est proportionnelle au nombre de sites actifs. Doubler la quantité d'enzyme double donc V_0 : $V_0 \approx 2 \times 8,0 = 16 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$.
8. a) $1\,200 / 120 = 10$. **La phénylalaninémie est au moins 10 fois supérieure à la valeur habituelle.**
- b) Phénotype moléculaire : les deux allèles mutés codent une phénylalanine hydroxylase inactive (ou très peu active). Phénotype cellulaire : dans les cellules du foie, la phénylalanine n'est plus convertie en tyrosine, elle s'accumule et passe dans le sang. Phénotype macroscopique : sans prise en charge, l'accumulation perturbe le développement du système nerveux. **Le blocage d'une étape de la voie entraîne l'accumulation du substrat de l'enzyme déficiente.** c) Le génotype (deux allèles mutés) ne change pas, l'enzyme reste inactive. Mais si l'apport alimentaire de phénylalanine est réduit, celle-ci s'accumule beaucoup moins. **Le phénotype dépend à la fois du génotype et de l'environnement, ici l'alimentation.**
9. a) **La température optimale est d'environ 75 °C** (100 % d'activité).
- b) Une enzyme encore active à 95 °C et optimale vers 75 °C suggère que **la bactérie vit dans un milieu chaud** (source thermique, cheminée hydrothermale) : ses enzymes ont des structures stables à haute température. c) Placer un lot d'enzyme à 100 °C pendant 15 min, le ramener à 75 °C, puis mesurer son activité, en comparant avec un témoin resté à 75 °C. **Si l'activité redevient égale à celle du témoin, la baisse était réversible ; si elle reste faible, l'enzyme a été dénaturée de façon irréversible.**

10. Mutant A : la fixation est normale donc le site de fixation est intact ; l'absence de transformation montre que **la sérine 195 appartient au site catalytique**, responsable de la spécificité d'action. Mutant B : l'acide aminé 189, au fond de la poche, participe au **site de fixation** : sa modification change la complémentarité, donc la **spécificité de substrat** (perte du substrat habituel, fixation d'un autre). Mutant C : l'acide aminé 30 n'intervient ni dans la fixation ni dans la catalyse, et sa substitution ne perturbe pas le repliement global : **activité normale**. Ces trois mutants illustrent qu'un site actif est formé d'acides aminés éloignés dans la séquence (57, 102, 189, 195), rapprochés par le repliement.
11. a) Raisonnement : une souche pousse si l'on ajoute un métabolite situé APRÈS son blocage. Souche 1 : pousse avec B, donc elle ne sait pas fabriquer B : **E1 est déficiente**. Souche 2 : pousse avec C mais pas avec B, donc elle ne sait pas transformer B en C : **E2 est déficiente**. Souche 3 : pousse seulement avec D : **E3 est déficiente**.
- b) Chez la souche 2, B n'est plus transformé : **le métabolite B s'accumule**.
12. **Réponses B, C et D**. A est faux : la proportionnalité ne s'observe qu'aux faibles concentrations. B est vrai : c'est la saturation. C est vrai : à saturation, $V_0 = V_{\max}$ est proportionnelle au nombre de sites actifs, donc à la quantité d'enzyme. D est vrai : V_0 a atteint son plateau. E est faux : la concentration en substrat ne dénature pas l'enzyme ; la saturation n'altère pas sa structure.
13. a) $N = n \times N_A = 2,0 \times 10^{-9} \times 6,0 \times 10^{23} = 1,2 \times 10^{15}$ **molécules d'enzyme**.
- b) Chaque molécule réalise $600\,000 / 60 = 1,0 \times 10^4$ réactions par seconde. Quantité transformée en 1 s : $2,0 \times 10^{-9} \text{ mol} \times 1,0 \times 10^4 = 2,0 \times 10^{-5}$ **mol de substrat par seconde**. c) La quantité de substrat transformée en une seule seconde est 10 000 fois plus grande que la quantité d'enzyme présente, et en une minute elle est 600 000 fois plus grande. **Comme l'enzyme est recyclée à chaque cycle, une quantité infime suffit à transformer beaucoup de substrat.**