

TP1 – ACTIVITE ENZYMATIQUE

L'amylase est une enzyme digestive, elle est produite dans la salive et dans le pancréas. Les enzymes sont des protéines, elles sont formées d'une ou plusieurs molécules séquencées d'acides aminés.

ACTIVITE 1 : On cherche à connaître le rôle de l'amylase sur la dégradation de l'amidon.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel biologique :

- Empois d'amidon (1g/l)
- Solution d'amylase
- Solution HCl
- Pissette d'eau
- Eau iodée
- Plaquettes
- Comptes-gouttes

- Vous disposez d'un bécher contenant 50 ml d'empois d'amidon, préparez 6 tubes à essais
- Tube 1 : 10ml d'empois d'amidon + 3 ml d'HCl immédiatement placé dans le bain marie à 100°C
- Tube 2 : 10 ml d'empois d'amidon + 3 ml d'HCl à 35°C
- Tube 3 : 10 ml d'empois d'amidon + 3 ml d'amylase à 35°C
- Tube 4 : 10 ml d'empois d'amidon + 3 ml d'eau à 35°C

Pour chacun des tubes, vous devrez faire des prélèvements toutes les 3 minutes, et réaliser immédiatement un test à l'eau iodée

Prélèvements à **t=0, t=3mn, t=6mn, t=9mn, t=12mn, t=15mn, t=18mn t=21mn**

1°) Présentez vos résultats sous une forme scientifique (notez l'intensité de la coloration avec des + : coloration violet intense++++ → coloration pâle + et pas de coloration -) puis montrez que l'action des enzymes présente un intérêt biologique. Justifiez alors le terme de biocatalyseur utilisé pour qualifier une enzyme (référez-vous à vos connaissances de chimie sur les catalyseurs).

ACTIVITE 2 : quelle propriété de l'amylase (et des enzymes en général) leur permet d'agir sur le réactif ?

Vous allez utiliser un logiciel de visualisation des molécules RASTOP. Ouvrez RASTOP.

<ouvrir> - sur le bureau dossier TP enzymes-TSspe. Choisissez dans un premier temps 2 molécules : amylase salivaire humaine 1MFV et Amylase_amidon.3L2L

<Fenêtre> - <mosaïque> : vous obtenez à l'écran les deux molécules en représentation fil de fer. Pour chacune d'elle <atome> - <colorer par> - <chaîne>

Amylase salivaire humaine : amylase bleue et 2 molécules analogues structuraux de l'amidon (de polymère du glucose)

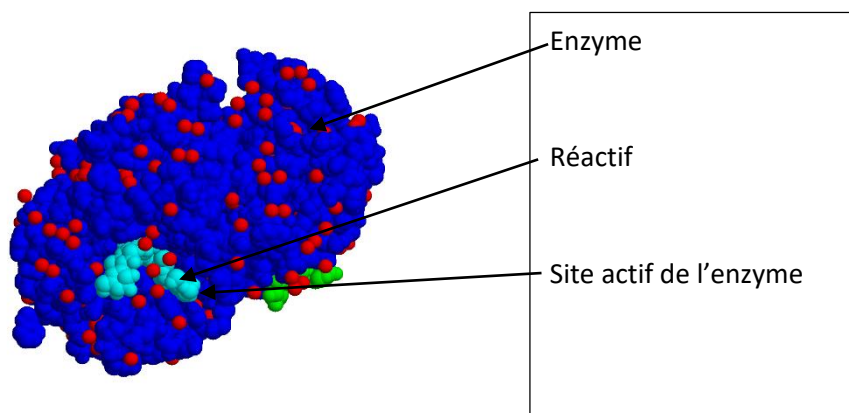
Amylase_amidon : bleu foncé amylase (chaîne A) en bleu ciel polymère de 6 glucoses (chaîne B) et en vert polymère de 3 Glucose (chaîne C). B et C sont des analogues structuraux de l'amidon

Pour chaque molécule <propriété> - <protéique> - icône <en boule>

Ouvrez la palette de couleur, avec l'ascenseur dernière ligne : fond et choisissez la couleur blanche.

Observez l'écran et

1°) Copiez et importez l'image dans votre fichier, légendez-la et notez vos observations.



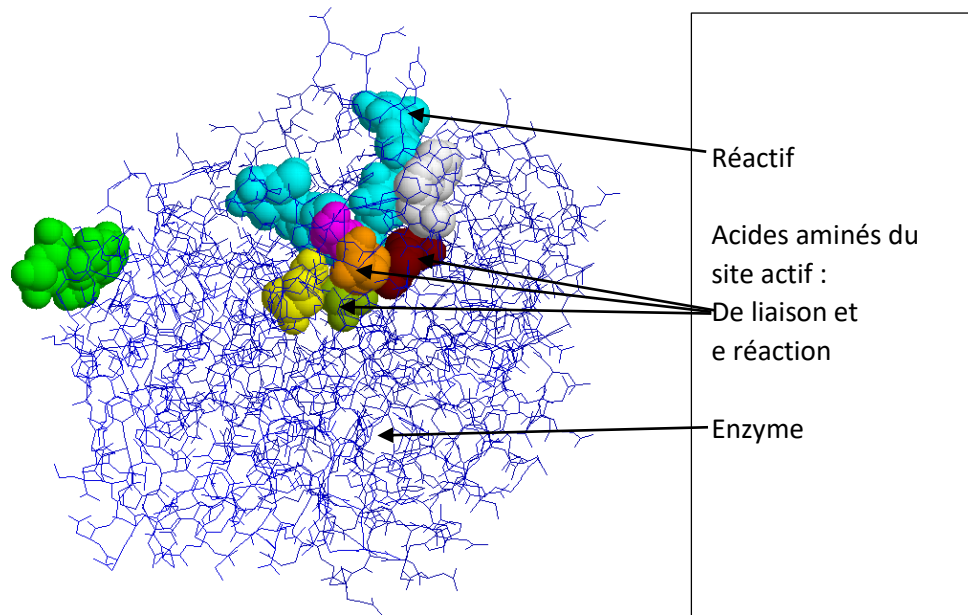
Conservez la molécule 1MFV – revenir à la présentation fil de fer

Vous allez repérer certains acides aminés de l'amylase : Trp 59 (blanc), Tyr 62 (marron), Asp 197 (vert), His 299 (orange), Glu 233 (jaune) et Asp 300 (rose).

<Éléments>, descendez l'ascenseur jusqu'à la liste des acides aminés : vous choisissez 1 (par ex Trp) puis cliquez sur l'icône 

Vous tapez le numéro correspondant puis vous validez :  en haut à gauche. Vous choisissez les couleurs proposées avec la palette des couleurs et <en boule>. Reproduisez la même chose pour tous les aa de la liste

2°) Copier l'image et importez-la, légendez-la et observez-la.



3°) Si vous avez le temps, ouvrez l'amyase_acarbose 1ppi et expliquez pourquoi en présence d'acarbose l'activité de l'amyase diminue fortement.