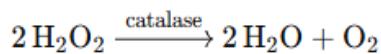


TP 2 : Vitesse et structure : deux clés du fonctionnement enzymatique

CONTEXTE :

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 : eau oxygénée) est un sous-produit toxique du métabolisme cellulaire, notamment lors des réactions d'oxydation dans les mitochondries et les peroxysomes.

Pour éviter son accumulation, les cellules disposent de la **catalase**, une enzyme très efficace capable de transformer rapidement le H_2O_2 en **eau et dioxygène** :



Cette enzyme est présente dans de nombreux tissus animaux (ex. foie) et végétaux (ex. pomme de terre).

Son activité enzymatique peut être mise en évidence par le **déplacement de dioxygène**, mesuré à l'aide d'un capteur ExAO.

De plus, la catalase étant une **protéine**, sa structure tridimensionnelle est sensible à la chaleur : une dénaturation provoque la perte d'activité enzymatique.

Comment montrer que la catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène, et que son activité dépend de sa structure protéique ?

CONSIGNES :

PARTIE A : Appropriation du contexte, proposition d'une stratégie et activité pratique

- **Elaborer une stratégie de résolution** qui permette de vérifier que la catalase est une enzyme qui permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène, et que son activité dépend de sa structure protéique et de la concentration du substrat.

Après l'avoir rédigée communiquer la, au professeur.

- **Mettre en œuvre le protocole**

Appeler le professeur avant de lancer une acquisition avec l'EXAO

PARTIE B : Présentation et interprétation des résultats ; conclusion

- **Présenter et traiter les résultats obtenus, sous la forme de votre choix et les interpréter** (tout sauf du texte)
- **Conclure, à partir de l'ensemble des données**, que la catalase est une enzyme qui permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène, et que son activité dépend de sa structure protéique et de la concentration du substrat.

Matériel :

- Console ExAO + Bioréacteur + capteur de dioxygène (O_2)
- Logiciel d'acquisition
- balance
- Foie cru, foie bouilli, pomme de terre crue
- Solutions de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 10 volumes, et à 20 volumes
- 2 pro pipettes et pipettes graduées 5 ml
- Pince, ciseaux, scalpel, balance, bêchers, coupelle
- Eau distillée

Protocole expérimental :

1. **Brancher** la console ExAO et **lancer** le logiciel d'acquisition.
2. **Régler le capteur de dioxygène** sur une acquisition de 90 secondes (1 mesure par seconde).
3. **Réaliser chaque montage les uns après les autres**
 - **Montage 1** : 2 mL peroxyde d'hydrogène à 10 volumes + 5 g de **foie cru** coupé en petits morceaux
 - **Montage 2** : 2 mL peroxyde d'hydrogène à 10 volumes + 5 g de **foie bouilli** coupé en petits morceaux
 - **Montage 3** : 2 mL peroxyde d'hydrogène à 10 volumes + 5 g de **pomme de terre crue** coupé en petits morceaux
 - **Montage 4** : 2 mL peroxyde d'hydrogène à 20 volumes + 5 g de **foie cru** coupé en petits morceaux
4. Mettre dans un premier temps le foie ou la pomme de terre au fond du bioréacteur.
5. Lancer la mesure
6. **Introduire le peroxyde d'hydrogène après 20 secondes.**
7. Une fois l'enregistrement réalisé, **tracez la tangente** avec le logiciel et **noter l'équation** de la tangente
8. Après chaque acquisition : **cocher la case pour faire un nouvel enregistrement sur le même graphique** et réaliser le montage suivant après avoir rincer la cuve à l'eau distillée (puis recommencer les étapes 4 à 8)

Précaution d'utilisation :

