



La relation structure - fonction des protéines



Travaux des Actions Académiques Mutualisées

Niveau

- Première STL

Thème du programme

- **Thème 1** : Les systèmes vivants présentent une organisation particulière de la matière
- **Partie 1.5.**: Les molécules des organismes vivants présentent des structures et propriétés spécifiques

Situations pédagogiques

- Séquence d'apprentissage permettant de comprendre l'importance de la structure des protéines pour exercer leur fonctions.

Liens internet

- Aucune connexion internet nécessaire. Applications incluses dans le document.

Compétences B2i

- **Domaine 1** : s'approprier l'environnement informatique de travail.
- **Domaine 3** : créer, produire, traiter et exploiter des données.
- **Domaine 4** : S'informer et se documenter.

Matériels TICE

- Un poste PC par binôme
- Une connexion internet éventuelle afin de rechercher des compléments d'informations par recherche documentaire.
- Logiciel de traitement de texte et un tableur.

Mots clés

- Protéines, expérience d'Anfinsen, structure primaire, structure secondaire, structure tertiaire, activité catalytique, dialyse, enzyme.



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).



Activité n° 1 : Mise en évidence de la relation "structure - fonction"

Objectifs

- Comprendre la notion que la fonction d'une protéine et son activité dépend de sa structure, à travers l'expérience d'Anfinsen

Durée conseillée

- 50 minutes

Consignes

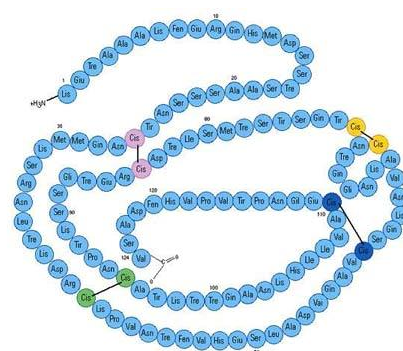
- Réaliser les animations et répondre aux questions

Compétences

- Comprendre la relation structure-fonction des protéines.
- Réaliser une expérience et suivre les indications données
- Analyser des expériences et exploiter des données

Présentation de la ribonucléase.

La ribonucléase est une petite protéine à activité enzymatique. Elle a pour fonction d'hydrolyser les molécules d'ARN. Elle est constituée de 124 acides aminés et à un poids moléculaire de 12500 Kda. Sa structure tertiaire est maintenue par 4 ponts disulfures entre des cystéines de la chaîne polypeptidique.



Activité : Réalisation de l'expérience d'Anfinsen

1. Dénaturation de la ribonucléase

« Que se passe-t-il si on dénature la ribonucléase ? Sera-t-elle encore active ? »

Vous disposez d'une protéine : la ribonucléase auquel vous ajoutez les agents dénaturants urée + bêta-mercaptoéthanol afin d'observer leur effets sur la structure et l'activité de la ribonucléase.

Ces agents dénaturants transforment les ponts disulfures des cystéines, en deux groupements réduits -SH sur ces mêmes cystéines.

**Instructions :**

Pour réaliser l'animation appuyer sur le bouton « play »

- **Etape 1 : ajout de la ribonucléase**
- **Etape 2 : ajout des agents dénaturants**
- **Etape 3 : ajout du substrat.**

■ 4 tubes sont ainsi réalisés :

- Tube 1 : ribonucléase + eau + ARN
- Tube 2 : ribonucléase + agents dénaturants (urée et bêta-mercaptoéthanol) + ARN
- Tube 3 : ribonucléase + urée + ARN
- Tube 4 : ribonucléase + β -mercaptoéthanol + ARN

**Analyse des résultats de l'animation :**

1. Observer et décrire la structure de l'enzyme dans chaque tube.
2. Noter l'activité enzymatique mesurée pour chaque tube.

2. Résultats historiques de l'expérience d'Anfinsen

Voici les résultats de l'expérience d'Anfinsen. Ces résultats représentent l'activité catalytique de la ribonucléase, en pourcentage, en fonction de la concentration en protéine réduite en mg.mL^{-1} c'est à dire protéine dénaturée.

Concentration en ribonucléase réduite (en mg.mL^{-1})	0,5	1	2,5	5	7
Activité catalytique (en %)	95	77	65	29	8

1. Ouvrir un fichier Excel ou autre tableur.
2. Entrer les valeurs dans un tableau.
3. Tracer la droite représentant l'activité catalytique de la ribonucléase en fonction de la concentration de ribonucléase réduite

3. Renaturation de la ribonucléase par dialyse

« La protéine dénaturée peut-elle retrouver sa fonction ou est-elle définitivement perdue ? »

L'objectif de l'expérience est de séparer les constituants d'un mélange, en l'occurrence la ribonucléase, et les agents dénaturants : l'urée et le bêta-mercaptoéthanol., afin d'observer si la ribonucléase retrouve sa structure native ainsi que sa fonction. Pour cela le mélange est placé dans un boudin dans un milieu favorisant la sortie des agents dénaturants. La ribonucléase reste piégé dans le boudin.



Animation : **a venir**

Dialyse : un boudin contenant la ribonucléase et les agents dénaturants, dans trois types de milieu : hypotoniques, hypertonique, isotonique.

Consignes : Placer le tube 2 dans le boudin à dialyse et choisissez le milieu adapté pour éliminer les agents dénaturants.

Vous réaliserez 2 tubes :

Tube 1 : ribonucléase + eau

Tube 2 : ribonucléase traitée à la dialyse + eau

Dans l'animation, montrer le trajet des molécules, la ribonucléase retenue par le filtre et les agents bien plus petits qui passent la membrane. Travail sur 3 milieux : un milieu hypotonique, un milieu hypertonique, et un milieu isotonique.

Questions :

1. Observer la structure de l'enzyme dans les tubes 1 et 2.
2. Noter l'activité enzymatique pour chaque tube.



Questions

- 1- Rappeler ce que sont les structures primaire, secondaire et tertiaire d'une protéine.
- 2- Le β -mercaptoéthanol et l'urée sont des agents dénaturants, expliquer leur action.
- 3- Décrire les structures de la ribonucléase avant et après dénaturation puis après renaturation.
- 4- Expliquer ce que désigne l'activité catalytique. Comment appelle-t-on la partie de la protéine responsable de cette activité ?
- 5- Analyser l'activité catalytique de chacune au cours de la dénaturation.
- 6- Donner la signification des termes suivants : hypotonique, hypertonique et isotonique. Justifier l'utilisation du milieu choisi.
- 7- Que pouvez-vous dire de l'activité enzymatique après la dialyse.
- 8- Conclure quant à la relation « structure fonction » des protéines.
- 9- Pourquoi dit-on que : « l'information nécessaire à la protéine pour retrouver sa conformation native est contenue dans la structure primaire de la protéine ? »



Icône pour télécharger une application



Activité n° 1 éléments de corrections

Activité : Réalisation de l'expérience d'Anfinsen

1. Dénaturation de la ribonucléase

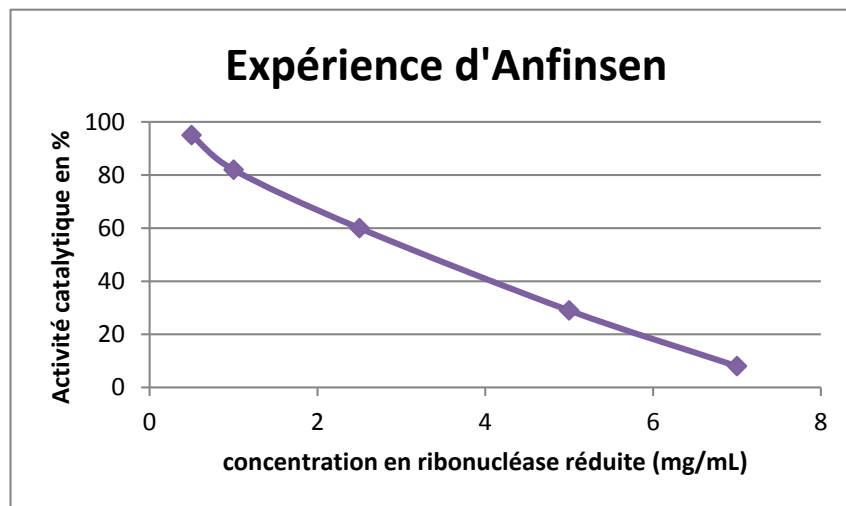
Observer les résultats :

- Zoom sur les tubes pour observer la ribonucléase

- Tube 1 : ribonucléase complètement formée
- Tube 2 : structure primaire de la ribonucléase uniquement.
- Tube 3 : structure déformée perte des liaisons hydrogènes.
- Tube 4 : structure primaire, perte des ponts disulfures.

- Activité de l'enzyme 100% dans le tube 1, activité nulle dans le tube 2 et 4, activité enzymatique intermédiaire dans les tubes 3.

2. Résultats historique de l'expérience d'Anfinsen



3. Renaturation de la ribonucléase par dialyse

Observer les résultats :

Zoom sur le tube purifié pour observer la structure de la ribonucléase

- Tube 1 : ribonucléase dénaturée et pas d'activité enzymatique
- Tube 2 : ribonucléase complètement renaturée et Activité de l'enzyme environ 80%



- 1- Structure primaire = enchainement d'acide aminé ; structure secondaire = repliement de la chaine polypeptidique en feuillet ou hélice ; structure tertiaire = repliement de la structure secondaire et formation de liaisons covalente et hydrogène.
- 2- Le β -mercaptoéthanol = réduit les ponts disulfures, création de groupement $-SH$.
l'urée : rompt les liaison hydrogènes
- 3- - **avant dénaturation** : Ribonucléase : tube 1 : structure fonctionnelle
- **Dénaturation** :
Ribonucléase + urée + β -mercaptoéthanol : tube 2 = protéine dénaturée
Ribonucléase + urée : structure tertiaire disparaît, liaison hydrogène absente
Ribonucléase + β -mercaptoéthanol : tube 4 = protéine dénaturée : structure tertiaire disparaît, pont disulfure (liaison covalente) absent donc la protéine n'est plus repliée.
- Après **renaturation** par dialyse, les ponts disulfures et les liaisons hydrogènes sont reformées.
- 4- Activité catalytique = capacité d'une enzyme à réaliser une réaction
partie de la protéine responsable de cette activité = site catalytique.
- 5- Avant dénaturation, 100% d'activité catalytique = structure normale et protéine fonctionnelle.
En présence d'urée ou β -mercaptoéthanol faible activité catalytique
En présence d'urée + β -mercaptoéthanol : activité catalytique faible
De plus avec la courbe on voit que plus la concentration de ribonucléase réduite augmente, moins on a d'activité catalytique.
- 6- Milieu hypotonique : peu concentré en soluté ; milieu hypertonique très concentré en soluté, milieu isotonique : milieu de même concentration en soluté (par rapport à un autre milieu)
Le milieu choisi doit être hypotonique de façon à ce que l'urée et le β -mercaptoéthanol se déplace du milieu où se trouve la ribonucléase (le boudin) vers le milieu extérieur qui est hypotonique.
- 7- Après renaturation (dialyse), la protéine retrouve une activité enzymatique maximale
- 8- La structure de la protéine est nécessaire car si la protéine n'est pas correctement formée, il n'y a pas d'activité, elle n'est pas fonctionnelle. Quand la protéine est dans sa conformation native, elle retrouve son activité. La fonction de la protéine est donc étroitement liée à sa structure.
- 9- La séquence primaire de la protéine contient toutes les informations nécessaires pour que la protéine retrouve sa conformation native et ses propriétés catalytiques, même après une dénaturation. Réaction spontanée, sans apport d'énergie.



Renseigner ici le temps réel de mise en œuvre du TRAAM par les élèves, traitement global ou partiel d'un scénario en précisant alors les activités exploitées.

Cliquez ici pour taper du texte.



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).