

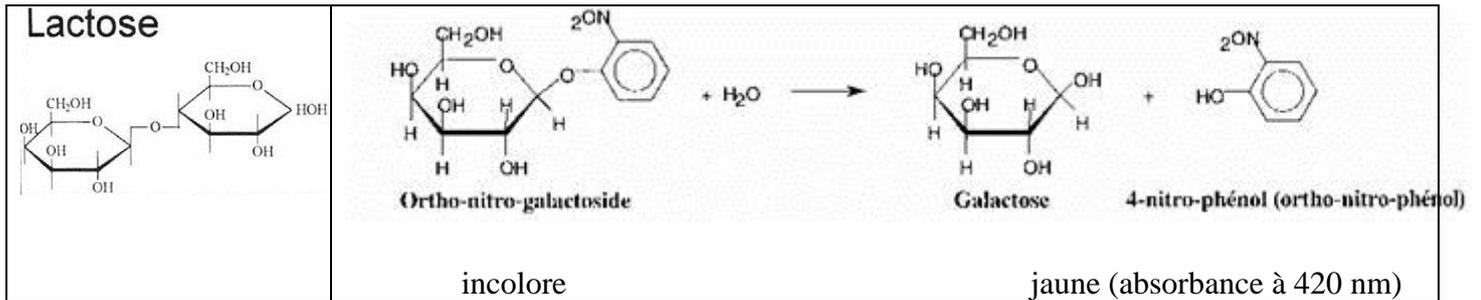
Enzyme et extrêmophiles

Bibliographie : Braz. J. Microbiol. vol.42 no.3 São Paulo July/Sept. 2011

Partie du programme concerné : IC

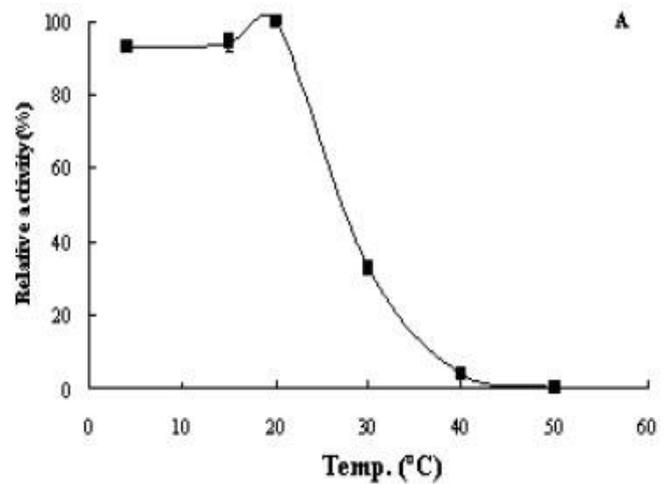
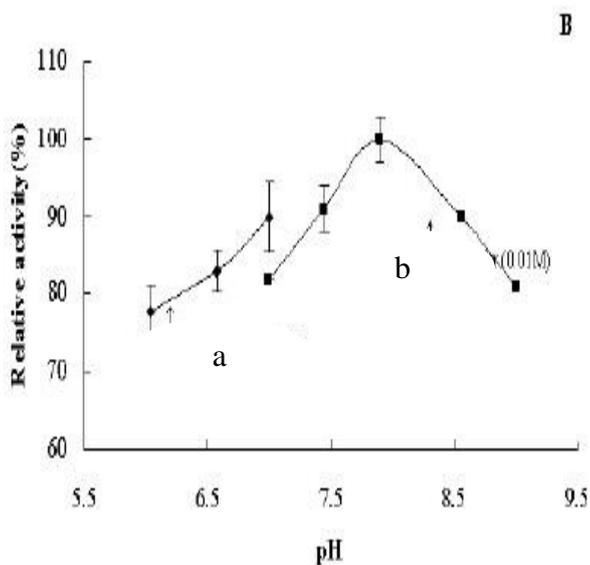
Des Bactéries psychrophiles, qui poussent sur le lactose comme source de carbone, ont été isolées à partir de l'eau de mer polaire Antarctique. Parmi les bactéries psychrophiles isolées, la souche KNOUC808 est capable de croître sur le lactose en dessous de 5 °C.

A partir d'une culture de ces microorganismes, on dose l'activité de la beta galactosidase en utilisant l'ONPG (ortho-nitrophényl-galactoside) comme substrat. Une unité d'activité enzymatique est définie comme l'activité de l'hydrolyse de l'ONPG en mol par min par extrait. On étudie l'effet de la température.



Document 1 : hydrolyse de l'ONPG (ortho-nitrophényl-galactoside)

On étudie ensuite l'effet du pH sur l'activité enzymatique de l'enzyme.

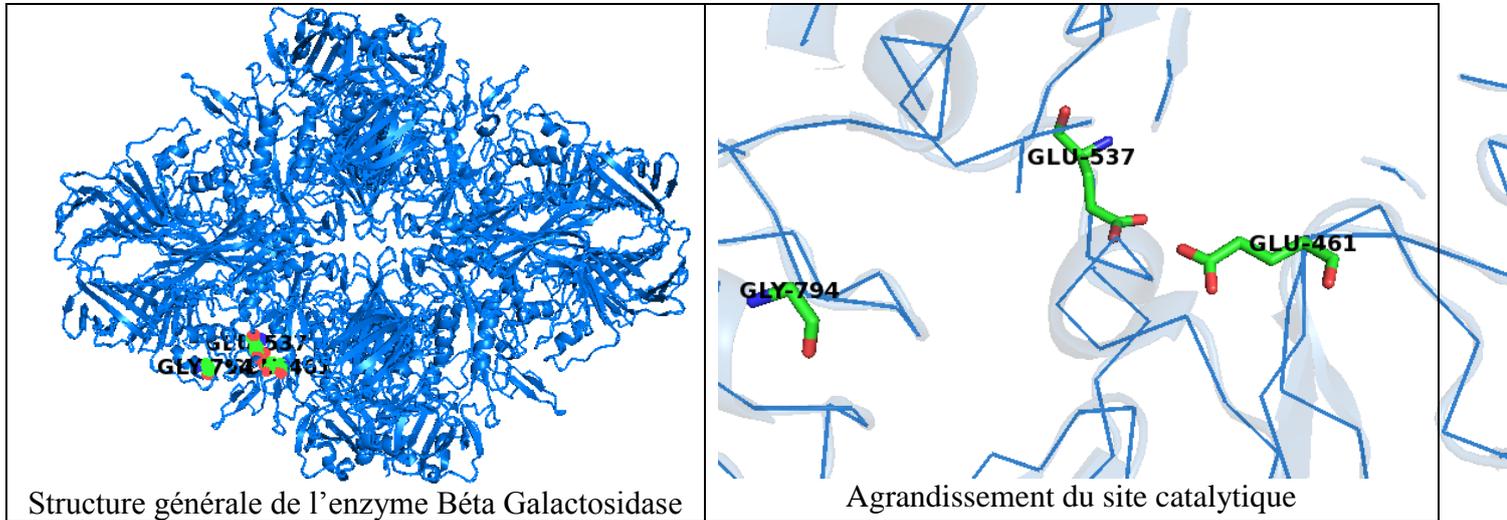


Document 2 : mesure de l'activité enzymatique de la beta galactosidase de KNOUC808 en fonction de la température (tampon sodium -phosphate 0.01M, pH 6,8)

Document 3 : mesure de l'activité enzymatique de la beta galactosidase de KNOUC808 en fonction du pH (a = tampon sodium -phosphate 0.01M, pH 6 à 7 ; b = tampon Tris-HCl 0.01M pH7 à 9, température 4°C)

Document 4 : Structure de la Béta Galactosidase et identification de 3 acides aminés catalytiques

Pour comprendre le fonctionnement précis de cette enzyme chez *E. coli* (bactérie), les chercheurs ont déterminé la structure globale de la protéine et du site catalytique. Quelques résidus semblent importants dans l'activité de l'enzyme comme Gly794, Glu537, Glu461, Glu268 et Asp520. On pense notamment que le résidu Glu 461 est crucial dans la réaction, en tant qu'acide aminé nucléophile.



Pour déterminer quels sont les résidus impliqués, des mutants ponctuels de l'enzyme ont été générés puis on a étudié leur activité enzymatique. L'activité est suivie comme précédemment par la détermination de l'absorbance du 4ONP à 420 nm (en unités arbitraires UA).

