

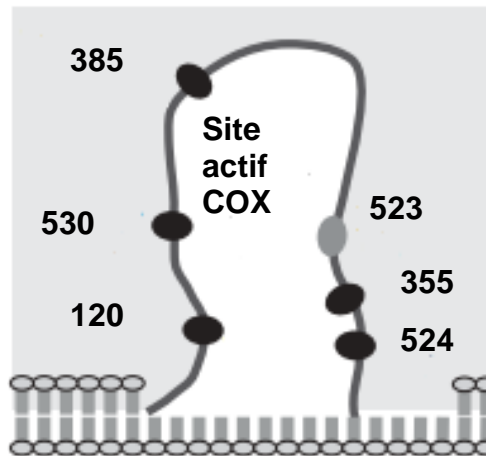
Mise en situation et recherche à mener

Rougeur, chaleur, gonflement et douleur sont des symptômes liés aux médiateurs chimiques de l'inflammation libérés lors de l'inflammation. Celle-ci détruit les pathogènes car de nombreuses substances toxiques sont relâchées par les phagocytes, elle est d'autre part source de douleurs (neurones nociceptifs stimulés par la prostaglandine). A la suite de certaines lésions, comme par exemple une entorse, il est donc important de limiter l'inflammation.

Il s'agira de rechercher le mode d'action d'un anti-inflammatoire, l'ibuprofène (ou l'aspirine)

Ressources

Représentation schématique du site actif de l'enzyme COX et des acides aminés assurant une liaison temporaire avec le substrat spécifique.



ordinateur avec logiciel RASTOP et fichiers « Cox-Acide arachidonique .pdb », cox_ibuprofene.pdb

- Doc1 : la chaîne de biosynthèse des prostaglandines
- Doc 2 : les conditions de synthèse de la cyclo-oxygénase (COX) dans les monocytes ou granulocytes
- Doc 3 : Mode d'action moléculaire des enzymes (3a :généralités, 3b :activité conduisant à la visualisation du complexe ES à partir de Rastop)
- Doc4 : influence de l'ibuprofène sur l'activité de la COX (4a :données expérimentales, 4b :mode d'action moléculaire de l'ibuprofène)

Etape 1-Concevoir une stratégie pour atteindre l'objectif

1- Prendre connaissance des ressources pour proposer une hypothèse sur le mode d'action de l'ibuprofène et une démarche d'investigation permettant de mettre en évidence ce mode d'action.

mettre en œuvre le protocole proposé, présenter les résultats pour les communiquer, répondre à la problématique

2- Mettre en œuvre le protocole fourni afin de **mettre en évidence l'action de l'ibuprofène**

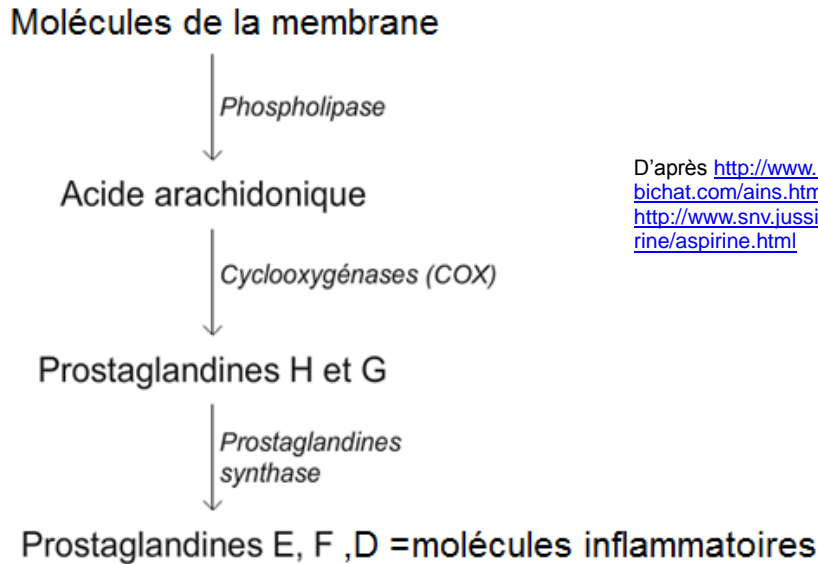
3- Communiquer les résultats pour les présenter (**saies d'écran légendées et titrées**)

4-Exploite les résultats et les ressources pour expliquer l'action anti-inflammatoire de l'ibuprofène.

Fiche document 1**Document 1 : la chaîne de biosynthèse des prostaglandines**

Parmi les molécules synthétisées lors de la réaction inflammatoire aiguë, certaines prostaglandines provoquent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire, et contribuent ainsi à l'apparition des symptômes inflammatoires. Les étapes de la synthèse des prostaglandines à partir de molécules de la membrane d'une cellule sécrétrice sont représentées sur le document suivant :

Remarque: chaque transformation chimique ne peut se produire spontanément : chacune dépend l'activité d'une **enzyme spécifique**.





**Document 2 : les conditions de synthèse de la cyclo-oxygénase (COX) dans les monocytes ou granulocytes**

Des chercheurs travaillant sur la réaction inflammatoire se sont intéressés à l'enzyme cyclooxygénase (=COX).

EXPERIENCE : On fait incuber un nombre défini de monocytes et de granulocytes en présence d'une concentration de 10 µg/mL de LPS (molécule de la paroi de nombreuses bactéries) pendant différents temps : 0, 1, 2,5 et 4,5 heures.

On traite ensuite la culture de manière à récupérer le cytoplasme des cellules, et on effectue une électrophorèse destinée à séparer les molécules de COX des autres protéines cytoplasmiques. La coloration des protéines COX donne les résultats suivants

Séparation des enzymes COX du cytoplasme de granulocytes et de monocytes après action du LPS à 10 µg/ml pendant différentes durées D'après <http://www.futura-sciences.com>

	Temps en heures			
	0	1	2,5	4,5
COX isolée : sa quantité est proportionnelle à la dimension et à l'intensité des taches colorées .				

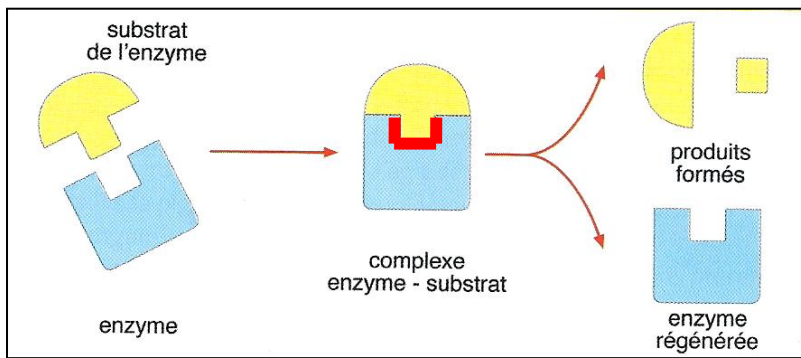
Document 3 : Mode d'action moléculaire des enzymes et de l'ibuprofène

3a- généralités sur le mode d'action moléculaire d es enzymes

- Les enzymes sont des protéines constituées de centaines d'acides aminés
- Pour agir, l'enzyme doit rentrer en contact avec la molécule de substrat qui lui est spécifique pour former un complexe enzyme-substrat. Cette liaison avec la molécule de substrat est suivie de la libération des produits de la réaction

Ce contact s'établit au niveau d'une zone particulière de l'enzyme, zone en creux et complémentaire de forme d'une partie de la molécule de substrat que l'on nomme le **site actif**. Le site actif est constitué de quelques acides aminés qui assurent une liaison temporaire avec le substrat spécifique ce qui permet le déroulement de la réaction

Schéma montrant le mode d'action d'une enzyme



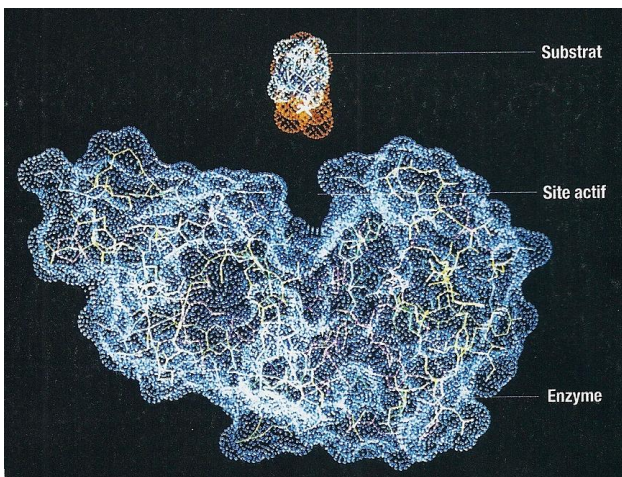
D'après Hachette 1^{ère} S 2006



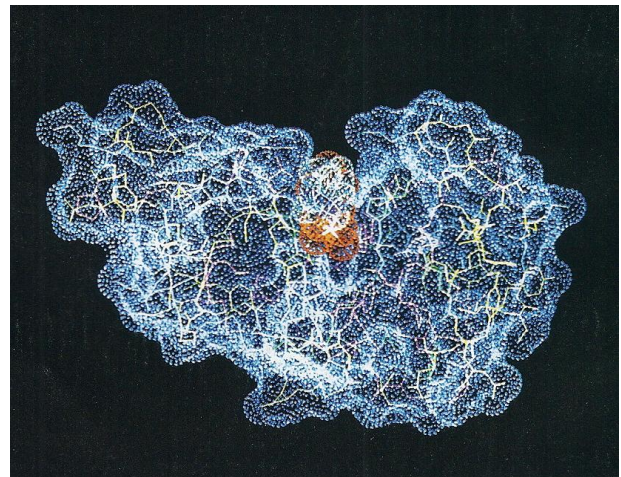
3b-visualisation du complexe COX-acide arachidonique

Charger le complexe Enzyme- substrat « **COX – Acide arachidonique** » (la COX est nommée chaîne A ; l'acide arachidonique est appelé **(ACD700)** et **utiliser** la (les) fiche(s) technique(s) du logiciel pour mettre en évidence judicieusement certaines parties des molécules affichées.

Modèle moléculaire du complexe enzyme –substrat avec RASTOP (D'après livre Hatier 1^{ère} S 2001)



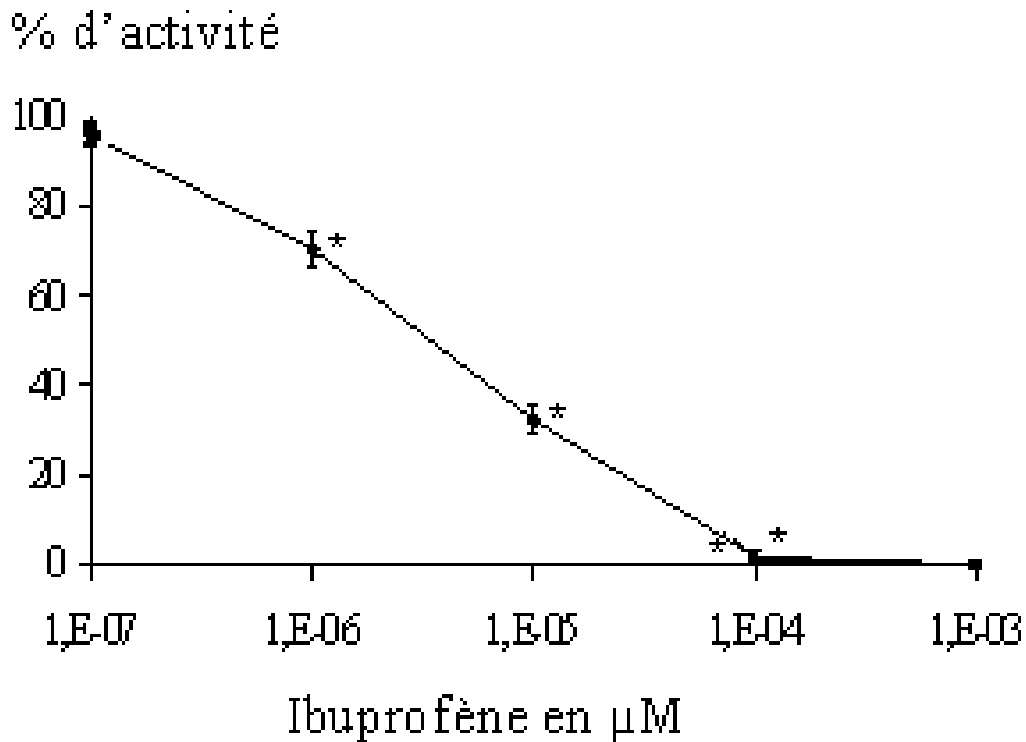
Enzyme avant le contact avec le substrat



complexe enzyme-substrat

Document 4 : L'ibuprofène un anti-inflammatoire**4a : données expérimentales :**

On mesure de l'activité de l'enzyme COX en présence de concentrations croissantes d'ibuprofène (10^{-7} à 10^{-3} μM).



En absence d'ibuprofène, on mesure l'activité d'une quantité 'Q' de COX et on lui attribue la valeur 100% d'activité.

On ajoute ensuite à la même quantité 'Q' de COX une quantité 'q' d'ibuprofène, puis on mesure l'activité de l'enzyme (c'est à dire la synthèse de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique).

http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/medecine-1/d/etude-de-la-reaction-inflammatoire-partie-2_205/c3/221

4b – données fournies par les études de biologie moléculaire

Des études de biologie moléculaire ont montré que la molécule d'ibuprofène se fixe sur les acides aminés 120 (Arginine) de la COX et de ce fait interagit avec les acides aminés 385 (tyrosine) et 530 (sérine) de l'enzyme.

PROTOCOLE

I-Traiter et comparer les modèles moléculaires proposés afin d'identifier les molécules de chaque complexe.(affichage mosaïque)

Dans les modèles moléculaires pour RASTOP :

- « cox_ibuprofene.pdb», et « cox_acide_arachidonique.pdb présentent l'enzyme COX liée à un fragment soit de l'acide arachidonique, soit de l'ibuprofène

Mettre en évidence les différentes chaînes composant les molécules de chacun des fichiers proposés



Désignation des molécules dans l'éditeur de commande :

Dans les deux modèles, « cox_acide_arachidonique.pdb», « cox_ibuprofene.pdb»

La molécule d'acide arachidonique = ACD

La molécule d'ibuprofène =IBP

On attend à ce que les élèves :

Distinguent par une couleur et un mode de représentation différents la COX et son substrat / la COX et l'ibuprofène

II-Traiter et comparer les modèles moléculaires proposés, afin de localiser les acides aminés assurant une liaison temporaire entre l'enzyme et son substrat et mettre en évidence l'action de l'ibuprofène .(affichage mosaïque)



On attend à ce que les élèves :

Distinguent par une couleur différente les acides aminés du site actif sur les molécules déjà mises en évidence

Remarque : Avant d'imprimer mettre le « fond » en blanc (palette de couleurs)