Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département: Sciences biologiques

Module : Enzymologie Approfondie

TD n° 2 Interaction protéine-ligand

Exercice 01:

Une protéine à une affinité de liaison pour son ligand (un peptide) de Ka = 2.10^5 M^{-1} à pH 5,0 et à une température de 25 ° C.

1-A quelle concentration du ligand correspond à la moitié de la protéine liée ?

2-Quelle est la fraction de saturation de la protéine qui est liée au ligand à une concentration de 1,25 µM (rappel): (1 µM = 10^{-6} M)?

3-A quelle concentration de ligand sera liée à 80% avec la protéine ?

4-Lorsque le pH a été élevé à 6,5, le K_d a augmenté de 20 µM. La liaison est-elle plus serrée ou plus faible à ce pH par rapport à pH 5,0? Expliquer pourquoi.

Exercice 02

On étudié une enzyme de métabolisme de tryptophane, l'une des substrats (ligand) de cet enzyme est le tryptophane lui-même. On veut déterminer le nombre de site de fixation, après l'incubation de l'enzyme dont la concentration est constant 5.10^{-6}M avec des concentrations variables de tryptophane marqué au C^{14} en trouve les résultats présentés dans le (tableau 01) : A partir de ces valeurs,

-Calculer le nombre de site de fixation de tryptophane par molécule d'enzyme et le K_d pour le complexe enzyme-tryptophane.

Tableau 1.

[Tryptophane] lié.10^{-6} M	**[Tryptophane] .10^{-6} M libre**			
1	0,56			
2	1,23			
4	3,40			
5,55	6			
7	11,70			
9	43,7			

Exercice 03

La fixation du calcium sur la désoxyribonucléase est étudiée par filtration sur gel à pH=9. On peut ainsi déterminer le nombre d'ions Ca^{2+} fixés par molécule d'enzyme pour différentes concentrations initiales de calcium.

Le tableau suivant en donne les valeurs :

Tableau 2

[Ca^{2+}] libre (µM)	**[Ca^{2+}] lié à l'enzyme (µM)**			
2,5	0,25			
5	0,4			
10	0,75			
20	1,25			
50	2,2			
100	3			
200	3,4			
500	4			

Exercice 04

On étudie l'effet de la concentration de coenzyme [NADH, H^+] sur la fixation de ce coenzyme sur l'alcool déshydrogénase avec une concentration d'enzyme 3. 10^{-5}M.
On obtient les résultats présentés dans le (tableau 03)

-Calculez le nombre de site de fixation de NADH, H+ par molécules d'enzyme ?
-Le KD du complexe enzyme-coenzyme ?

Tableau 03

[NADH, H] lie .10^{-6} M	**[NADH, H+] libre .10^{-9} M**	**Enzyme 10^{-5} M**		
9	5,67	3		
8,4	4,12	3		
7,65	2,83	3		
5,2	1,35	3		
2,91	0,49	3		