

Module : Enzymologie Approfondie

TD n° 2 Interaction protéine-ligand

Exercice 01:

Une protéine a une affinité de liaison pour son ligand (un peptide) de $K_a = 2.10^5 \text{ M}^{-1}$ 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): ($1 \mu\text{M} = 10^{-6} \text{ M}$)?

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_a 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 03: (tableau 01)

On étudie 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 constante 5.10^{-6} M avec des concentrations variables de tryptophane marqué au C^{14} on 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 | | | |