

T.D. ENZYMOLOGIE 2
" Interaction Protéine - Ligand"

EXERCICE N°: 1

La fixation de la déshydroluciférine (DHL) sur la luciférase a été suivie par mesure de fluorescence. Le tableau suivant donne le nombre de molécules de DHL fixée par luciférase, pour différentes concentrations de DHL libre:

[DHL] libre (μ M)	20	8	4,5	3	2,25	1,4	0,75	0,6
Nombre de DHL fixée	1,81	1,58	1,36	1,17	1,03	0,8	0,52	0,44

Calculer le nombre maximal de DHL que l'on peut fixer sur la luciférase, et la constante de dissociation de ces sites de fixation.

EXERCICE N°: 2

L'équilibre de fixation des ions calcium sur la désoxyribonucléase, à pH 9, a été étudié par la méthode de filtration sur gel. On a pu ainsi déterminer le nombre d'ions Ca^{2+} fixés par molécule d'enzyme, pour différentes concentrations de Ca^{2+} libre :

[Ca^{2+} libre] (μ M)	500	200	100	50	20	10	5	2.5
Nombre d'ions Ca^{2+} fixés par molécule d'enzyme	4	3.4	3	2.2	1.15	0.75	0.4	0.25

Déterminer le nombre de sites de fixation des ions calcium sur la désoxyribonucléase et leur constante de dissociation.

EXERCICE N°: 3

La fixation de la triiodothyronine (T3) sur la pré-albumine a été étudiée par dialyse à l'équilibre, en utilisant de la T3 marquée à l'iode¹²⁵I. La concentration de pré-albumine dans le sac de dialyse était $0.77\mu\text{M}$. lorsque l'équilibre était réalisé, les concentrations de T3 ont été mesurées à l'intérieur et à l'extérieur du sac de dialyse:

[T3] à l'extérieur du sac de dialyse (nM)	33	76	110	121	190	265
[T3] à l'intérieur du sac de dialyse (nM)	265	460	560	600	750	880

Déterminer le nombre de sites de fixation de la triiodothyronine sur la préalbumine et la constante d'équilibre d'association.