

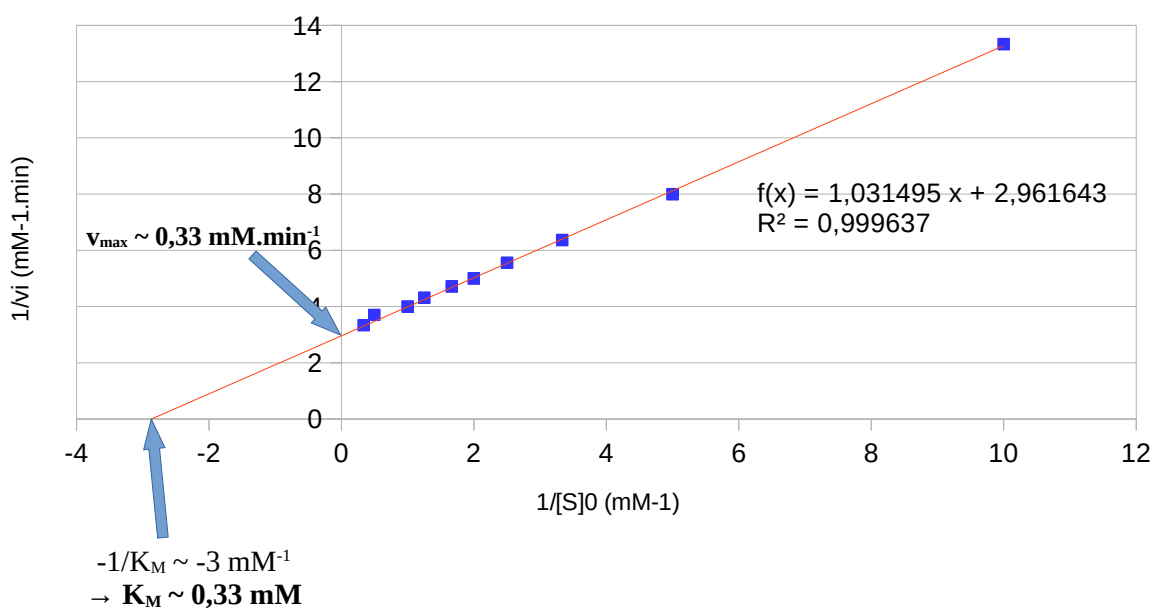
TP révisions 3

Correction

III. Cinétique enzymatique

2. Exercice

La LDH, une enzyme michaelienne
Cinétique en représentation de Lineweaver-Burk



III. Chromatographie d'affinité

- **Rappelez en une phrase l'intérêt de la chromatographie d'affinité.**

Purifier une protéine d'intérêt, en faisant percoler un mélange à travers un gel (colonne) ayant une affinité pour cette protéine.

- **Évaluez la qualité de la purification effectuée dans le document 2.**

Load : l'ensemble des protéines traverse le gel, on récupère des centaines de protéines différentes.

Lavages : les protéines n'ayant pas d'affinité pour le gel sont rincées.

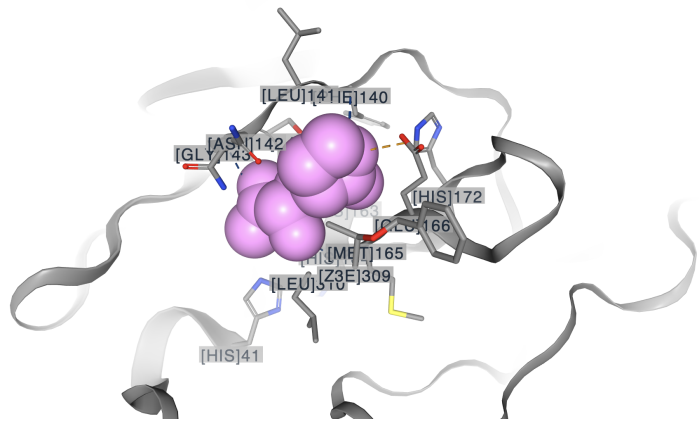
Elution : on détache la protéine d'intérêt du gel, et on récupère une fraction contenant une protéine de 50 kDa, presque pure. Pour la 3^e élution (E3), qui constitue la principale fraction de la protéine d'intérêt, on voit qu'il existe tout de même des impuretés. Selon la précision requise (pourcentage de pureté), on peut valider ou invalider cette méthode de purification.

VI. Réviser les logiciels classiques

2. Exercice

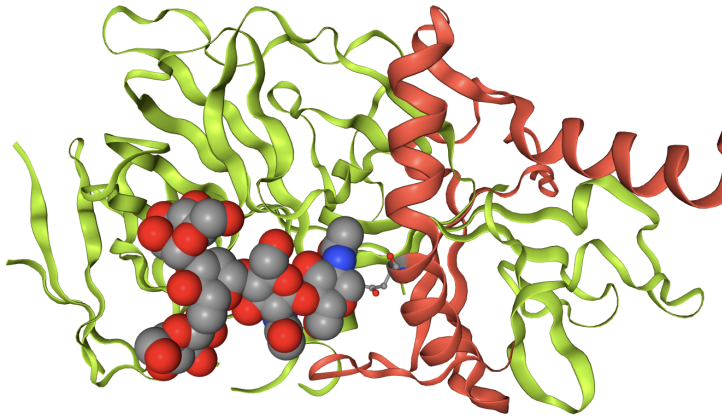
- **Téléchargez 2Z3C (une enzyme du SARS-CoV2) et mettez en évidence l'interaction entre l'enzyme et son inhibiteur.**

En rose : l'inhibiteur (KCQ) ; les acides aminés de la protéine (en gris) qui interagissent avec sont nommés, et les liaisons faibles représentées.



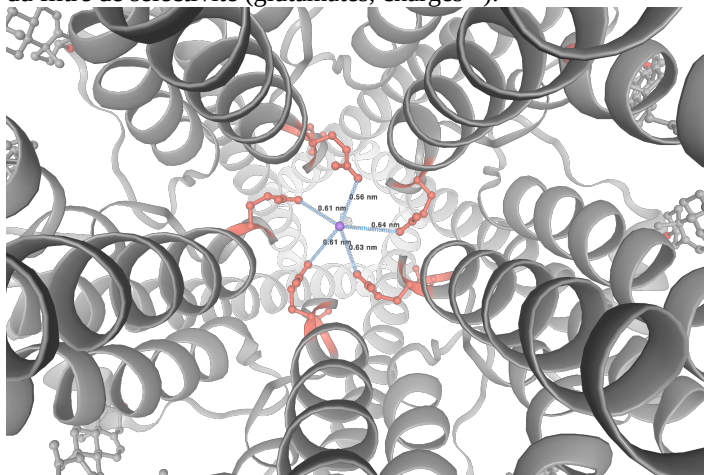
- **Téléchargez 5JQ3 (protéine du virus Ebola) et montrez que cette protéine est glycosylée.**

En vert et orangé : les deux chaînes de la protéine ; en boules : un glucide ; en bâtonnets : l'asparagine 263, qui est liée à ce glucide.



- **Téléchargez 6PV7 (récepteur nicotinique) et traitez la de façon à montrer que sa structure est adaptée à sa fonction de canal à Na^+ .**

En gris, la protéine ; on y distingue les hélices α du filtre de sélectivité. En violet : ion Na^+ ; en orangé : 5 acides aminés du filtre de sélectivité (glutamates, chargés $-$).



VII. Construire une phylogénie (max. de parcimonie)

Les séquences sont *a priori* remarquablement **homologues**, dans la mesure où l'alignement est aisé (seuls quelques nucléotides diffèrent). On rappelle la méthode :

1. On identifie un groupe externe (ou extragroupe).
2. On définit **par défaut** l'ensemble des caractères de l'extragroupe comme étant **plésiomorphes** (= ancestraux) ; ici, l'extragroupe est le poisson, dont on sait qu'il n'est pas un tétrapode, contrairement aux 3 autres.
3. On complète une matrice de caractère, en notant 1 (ou 2, 3...) les états de caractères dérivés.
4. On élimine les caractères non informatifs :
 - les caractères plésiomorphes chez les trois espèces à classer
 - les caractères apomorphes chez les trois espèces à classer
 - les caractères qui ne sont apomorphes que chez une des 3 espèces à classer
5. On conserve uniquement les autres caractères, dits **informatif**.
6. On peut alors placer les événements (0 → 1 : apparition d'une apomorphie ; 1 → 0 : réversion = retour à une plésiomorphie) sur les arbres proposés, et sélectionner le plus parcimonieux.

	a	b	c	d	e	fg
agame :	GT A TGGC T CGAGCATT T GGCAT CC CTG C GCGTGTTTAC AT CACACGAGGTA					
poisson :	GT C TGG C CGAGCATT T GGCAT CC CTG T GCGTGTTTAC AA CACACGAGGTA					
humain :	GT C TGG C CGAGCATT T GGCAT AC CTG T GCGTGTTTAC A -CACACGAGGTA					
poulet :	GT A TGGC T CGAGCATT A GGCAT AC CTG C GCGTGTTTAC CT CACACGAGGTA					

Pour chacun des caractères :

	poisson	agame	humain	poulet
a	0	1	0	1
b	0	1	1	1
c	0	0	0	1
d	0	0	1	1
e	0	1	0	1
f	0	0	0	1
g	0	1	2	1

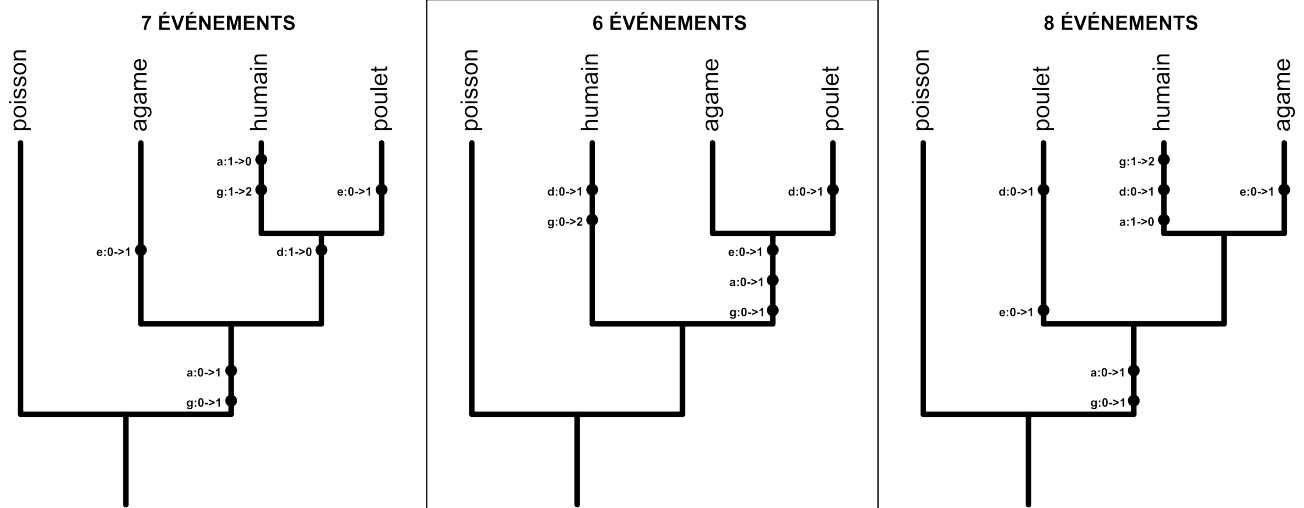
Un caractère est **informatif si et seulement si** il est à l'**état dérivé** pour au **minimum deux espèces** à classer, mais **pas toutes**. Donc :

- b est **non informatif** (car dérivé chez les trois espèces à classer)
- c et f sont **non informatifs** (car dérivés chez une seule espèce)

Donc :

	poisson	agame	humain	poulet
a	0	1	0	1
d	0	0	1	1
e	0	1	0	1
g	0	1	2	1

On place les événements sur les arbres, ce qui donne :



L'arbre n°2 est le plus parcimonieux, donc celui que l'on va retenir comme étant le plus probable. NB : il est cohérent par rapport aux connaissances actuelles de la phylogénie des tétrapodes (le groupe oiseaux + « reptiles » correspondant au groupe monophylétique des sauropsides)