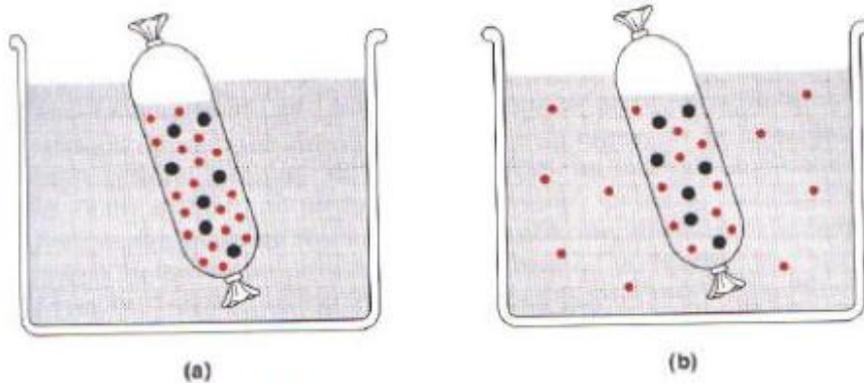


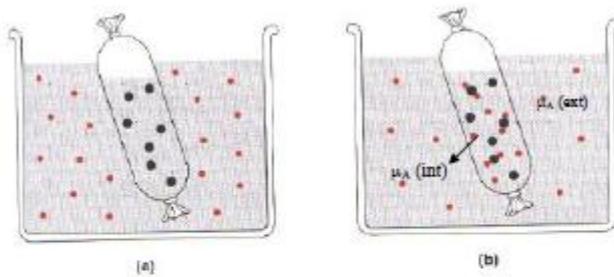
## 1.7 Liaison de petites molécules aux macromolécules

- Parmi les phénomènes les plus étudiés en biochimie, on retrouve l'interaction de petites molécules et d'ions métalliques avec les récepteurs ou sites spécifiques de protéines et d'acides nucléiques.
- Exemples d'interactions: anticorps-antigène  
antibiotique-oligonucléotide  
substrat (ou inhibiteur)-enzyme  
O<sub>2</sub>-hémoglobine
- La dialyse (membrane semi-perméable) est souvent utilisée pour suivre l'interaction de petites molécules avec des macromolécules:



- macromolécule M
- petite molécule A  
(substrat, médicament, hormone, anticorps, gaz ...)

- La liaison d'une petite molécule A à une macromolécule M est étudiée par la méthode de dialyse jusqu'à l'équilibre:



- À l'équilibre, le potentiel chimique de A de chaque côté de la membrane est donné par:

$$\mu_{A, \text{ libre, intérieur}} = \mu_{A, \text{ extérieur}}$$

- À l'équilibre, la concentration de A de chaque côté de la membrane est donc:

$$[A]_{(\text{libre, intérieur})} = [A]_{(\text{extérieur})}$$

- La concentration totale de A à l'intérieur de la membrane est la somme des molécules de A libres en solution et des molécules A liées aux macromolécules:

$$[A]_{(\text{intérieur})} = [A]_{(\text{libre, intérieur})} + [A]_{(\text{liée, intérieur})}$$

ou 
$$[A]_{(\text{liée, intérieur})} = [A]_{(\text{intérieur})} - [A]_{(\text{libre, intérieur})}$$

- À l'équilibre, 
$$[A]_{(\text{liée, intérieur})} = [A]_{(\text{intérieur})} - [A]_{(\text{extérieur})}$$

ou  $[A]_{\text{(liées aux macromolécules)}} = [A]_{\text{(côté macromolécules)}} - [A]_{\text{(côté solvant)}}$

- Nous avons ainsi défini la concentration des molécules de A liées aux macromolécules en termes de la différence de 2 quantités mesurables: la concentration totale de A de chaque côté de la membrane à dialyse.
- La constante d'équilibre et le nombre de sites d'interaction peuvent être calculés à partir de la concentration totale de macromolécules,  $[M]_{\text{totale}}$ , et les concentrations de molécules de A liées et de A libres à l'équilibre.

### 1.7.1 Un site d'interaction par macromolécule



- La constante d'équilibre pour l'association de A avec M est donnée par:

$$K_a = \frac{[MA]}{[M] \cdot [A]}$$

ou  $[MA]$  = concentration du complexe à l'équilibre =  $[A]_{\text{(liée, intérieur)}}$

$[M]$  = concentration de macromolécules libres à l'équilibre  
 =  $[M]_{\text{totale}} - [A]_{\text{(liée, intérieur)}}$

$[A]$  = concentration de molécules de A libres à l'intérieur de la membrane à l'équilibre  
 =  $[A]_{\text{(extérieur)}}$

- Donc, la constante d'équilibre s'exprime de la façon suivante:

$$K_a = \frac{[A]_{\text{liée}}}{([M]_{\text{totale}} - [A]_{\text{liée}}) \cdot [A]_{\text{extérieur}}}$$

÷ numérateur et dénominateur par  $[M]_{\text{totale}}$

$$K_a = \frac{[A]_{\text{lié}} / [M]_{\text{totale}}}{\frac{([M]_{\text{totale}} - [A]_{\text{lié}})}{[M]_{\text{totale}}} \cdot [A]_{\text{extérieur}}}$$

$$K_a = \frac{[A]_{\text{lié}} / [M]_{\text{totale}}}{(1 - [A]_{\text{lié}} / [M]_{\text{totale}}) \cdot [A]_{\text{extérieur}}}$$

- $[A]_{\text{lié}} / [M]_{\text{totale}}$  est le nombre moyen de molécules de A liées par macromolécule  
 $[A]_{\text{lié}} / [M]_{\text{totale}} = v$

$$\therefore K_a = \frac{v}{(1-v) \cdot [A]_{\text{extérieur}}}$$

ou  $\frac{v}{[A]_{\text{extérieur}}} = K_a \cdot (1-v) = K_a - K_a \cdot v$  (équation de Scatchard)

- Un graphique de  $v / [A]_{\text{extérieur}}$  en fonction de  $v$  donne une droite avec une pente égale à  $-K_a$  et une ordonnée égale à  $K_a$ .

### 1.7.2 N sites d'interaction par macromolécule

- Jusqu'à présent, nous avons supposé qu'un maximum de 1 molécule de A interagit avec 1 macromolécule. Donc,  $v$  varie de 0 à 1.
- Par contre, plusieurs macromolécules possèdent plusieurs sites d'interactions et  $v$  peut varier de 0 à  $N$ , le nombre de sites d'interaction par macromolécule.

- Si les sites d'interaction sont tous identiques et indépendants (et l'interaction de A avec 1 site n'a pas d'effet sur l'interaction avec un autre site), on peut remplacer  $v$  (pour un site d'interaction) dans l'équation de Scatchard par  $v/N$ :

$$\frac{v/N}{[A]_{\text{extérieur}}} = K_a - K_a \cdot v/N$$

$\times N$ :

$$\frac{v}{[A]_{\text{extérieur}}} = NK_a - K_a v$$

- Un graphique de  $v/[A]_{\text{extérieur}}$  en fonction de  $v$  donne une droite avec une pente égale à  $-K_a$  et une ordonnée égale à  $NK_a$  (voir Figure B1).
- Si le graphique de Scatchard ne donne pas une ligne droite, ceci indique que les sites d'interaction ne sont pas identiques ou indépendants. On trouve souvent une déviation de la relation linéaire pour les valeurs élevées de  $v$ . Ceci indique que la liaison des premières molécules de A ne change pas beaucoup les propriétés de la macromolécule. Par contre, lorsque de plus en plus de molécules de A sont liées à la macromolécule, des interactions entre ces molécules ou un changement de conformation sont fort probables. Ces effets influencent la liaison d'autres molécules de A à la macromolécule.
- L'équation de Scatchard est souvent utilisée pour étudier l'interaction de petites molécules avec des protéines et l'ADN. On peut suivre l'interaction par plusieurs méthodes, mais la dialyse jusqu'à l'équilibre est une méthode très pratique. Il faut seulement déterminer la concentration de A à l'extérieur de la membrane à dialyse (côté du solvant) et la valeur de  $v$  qui est reliée à la concentration de A liée à la macromolécule.

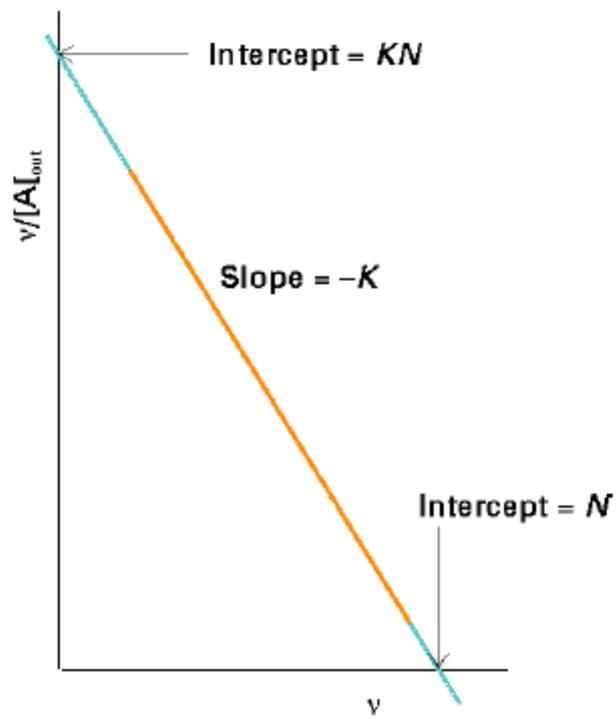


Figure B1 Le graphique de Scatchard pour  $N$  sites d'interaction