

## Aufgaben zur Enzymatik

Viele dieser Aufgaben wurden in den vergangenen Jahren im Rahmen von Klassenarbeiten und/oder Prüfungen gestellt.

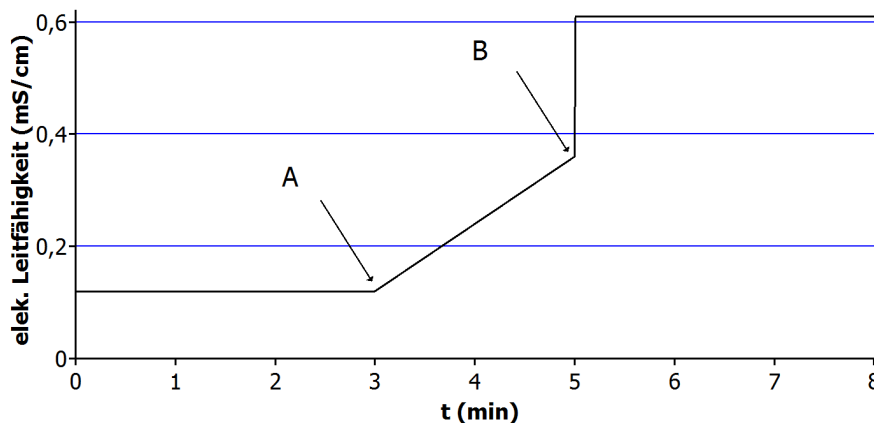
### 1. Grundlagen

1.1. Die Temperatur wird in einem Enzymversuch mit einem typischen Säugetierenzym im Verlauf von 10 Minuten von 10 °C auf 95°C gesteigert und im Verlauf weiterer 10 Minuten wieder auf 35°C gesenkt. Wie verändert sich die Geschwindigkeit/Enzymaktivität im Verlauf des gesamten Experiment? Annahme: Das Enzym ist zu jedem Zeitpunkt optimal mit Substrat versorgt. Geben Sie ein entsprechenden Kurvenverlauf in einem Diagramm an (x-Achse: Zeit, y-Achse: Reaktionsgeschwindigkeit) und erklären Sie die Hintergründe!

1.2. Die Biochemie kennt heute viele tausende Enzyme. Mehrere hunderte solcher Enzyme sind im Zellplasma normalerweise gleichzeitig aktiv. Weshalb ist es dies möglich, ohne dass sich die Enzyme gegenseitig in ihrer Funktion stören/behindern und der geordnete Stoffwechsel in ein Chaos verfällt? Erläutern Sie ausführlich.

1.3 [NUR WENN IM LABOR ODER UNTERRICHT BEHANDELT] Das Enzym Urease spaltet Harnstoff ( $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$ ) hydrolytisch in Ammoniak und Kohlenstoffdioxid. Die Aktivität des Enzyms kann durch die kontinuierliche Messung der elektrischen Leitfähigkeit mit einem Leitfähigkeitsmessgerät erfolgen.

Zum Zeitpunkt A wurde in einer Harnstofflösung eine Spatelspitze Urease gelöst. Zum Zeitpunkt B wurden einige Tropfen konz. Silbernitratlösung zugegeben. Insgesamt ergab sich folgender Verlauf:



- Notieren Sie die Reaktionsgleichung für die enzymatische Reaktion.
- Beschreiben und erklären Sie den Verlauf der Leitfähigkeit.
- Zeichnen Sie die zu erwartende Kurve, wenn zum Zeitpunkt A Silbernitratlösung und zum Zeitpunkt B Urease dazugegeben worden wäre.

### 2. Enzymkinetik, Rechnungen

Rund um enzymatische Berechnungen existiert auch ein eigenes Arbeitsblatt mit dem Titel „*Rechnen mit der Wechselzahl und der Enzymaktivität*“

2.1. a) Zeichnen und erklären Sie den Verlauf der Kurve wenn man die Geschwindigkeit bzw. die Enzymaktivität gegen die Substratkonzentration in ein Diagramm aufträgt.

- Wie gelangt man ausgehend von a) zur Lineweaver-Burk-Auftragung? Zeichnen und beschriften Sie ein solches Diagramm (Größe der Zeichnung: ca. ¼ DIN A4-Seite)

- c) Wie verändert sich die Kurve/Gerade von b), wenn in einem ansonsten gleichen Ansatz zusätzlich ein allosterischer Hemmstoff vorhanden ist. Zeichnen Sie in das Diagramm von b) eine solche Kurve/Gerade ein.

**2.2** Die Carboanhydrase der Erythrozyten katalysiert die Reaktion  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ . Die gehört zu den schnellsten bekannten Enzymen.

- a) Erklären Sie kurz den Begriff Wechselzahl.  
 b) Berechnen Sie die Wechselzahl des Enzyms, wenn 10 µg des hochreinen Enzyms ( $M = 30000 \text{ g/mol}$ ) pro Minute 6,8 mmol  $\text{CO}_2$  umsetzen können. Hinweis: Avogadro-Konstante  $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ 1/mol}$ .

**2.3.** Die Alkoholdehydrogenase (ADH) katalysiert in Hefezellen die Umwandlung von Acetaldehyd (= Ethanal,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ,  $M = 44,1 \text{ g/mol}$ ) in Ethanol. Die spezifische Aktivität eines hochreinen Präparats von Alkoholdehydrogenase beträgt 4,16 µkatal/mg.

- a) Berechnen Sie die spezifische Aktivität in der Einheit U/mg um  
 b) Welche Masse des Enzympräparats muss in einem Versuch eingesetzt werden, um in einem Versuchsansatz 793,8 mg Ethanal in 20 Minuten umzuwandeln.

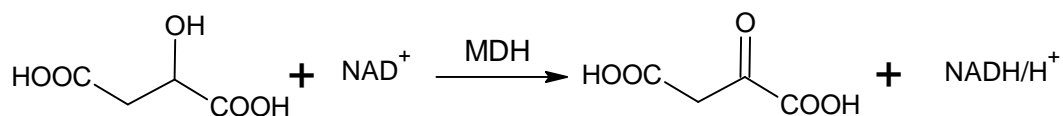
### 3. Enzymklassen

**3.1.** Begründen Sie kurz, zu welchen Enzymklassen diese Enzyme gehören.

- a)  $R-O-PO_3^{2-} + H_2O \xrightarrow[\text{Phosphatase}]{\text{alkalische}} R-OH + HPO_4^{2-}$   
 b)  $D\text{-Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Kinase}} D\text{-Glucose-6-Phosphat} + \text{ADP}$   
 c) Malatdehydrogenase ist ein Enzym, das die chemische Reaktion von Malat (zweifach geladenes Säurerestion der 2-Hydroxy-butandisäure ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ )) zu Oxalacetat (Oxalacetat: zweifach geladenes Säurerestion der 2-Oxobutandisäure ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5$ )) katalysiert. Geben Sie neben der Enzymklasse (incl. Begründung) auch die Reaktionsgleichung incl. Cosubstrat an!

### 4. Gemischte Aufgaben

**4.1** Äpfelsäure kann in einer Probe fotometrisch mit Hilfe des Enzyms Malat-Dehydrogenase (MDH) und  $\text{NAD}^+$  als Cosubstrat bestimmt werden. Das Enzym MDH katalysiert dabei folgende Reaktion:



Äpfelsäure (Malat)

- a) Erklären Sie kurz das Prinzip dieser Bestimmungsmethode.  
 b) Zu welcher Enzymklasse gehört die Malat-Dehydrogenase?  
 c) Zeichnen Sie das passende Lineweaver-Burk-Diagramm, wenn die maximale Enzymaktivität in der Versuchsreihe  $v_{\text{max}} = 9,09 \text{ µmol/min}$  und  $K_M = 0,069 \text{ millimol/L}$  beträgt.

## Lösungshinweise ohne Gewähr

Zu vielen Fragen finden sich nur Lösungshinweise.

**In jedem Fall auch die Aufgabenstellung dieser online-Version mit Ihrer Kopie aus dem Unterricht abgleichen. Manchmal gibt es Änderungen, auch in der Nummerierung! Wenn Sie einen Fehler entdecken, bin ich um eine kurze e-Mail dankbar. Die finden sie unter [http://www.laborberufe.de/meine\\_angaben.html](http://www.laborberufe.de/meine_angaben.html)**

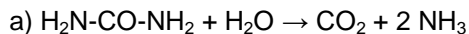
1.1

Zu Beginn greift die RGT-Regel. Erhöht man die T um 10°C so nimmt die Enzymaktivität (Reaktionsgeschwindigkeit) je nach Enzym um das Doppelte bis Dreifache zu. Bis zum Temperaturoptimum verläuft die Zunahme also exponentiell. Als T-Optimum nimmt man z.B. eine bestimmte T im Bereich von 35 °C – 40 °C an. Danach kommt es zu einer Senkung der Enzymaktivität, weil das Enzym denaturiert. Ab ca. 50 °C kommt es zur irreversiblen Denaturierung, die Enzymaktivität fällt auf 0,0 mol/min. Auch bei einer T-Senkung steigt die Enzymaktivität nicht mehr an.

1.2

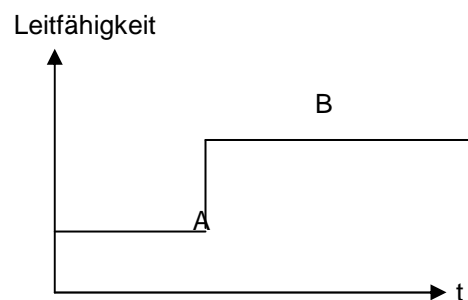
Die Erklärung liegt in der ausgeprägten Substrat- und Wirkungsspezifität der Enzyme.

1.3



b) Die elektrische Leitfähigkeit ist ein Maß für die Ionenkonzentration in der Lösung. Zu Beginn ist sie konstant. Bei Zugabe von Urease beginnt sie kontinuierlich zu steigen, weil die  $\text{CO}_2$  und Ammoniak entstehen, die in wässriger Lösung teilweise in Ionen zerfallen ( $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{HCO}_3^-$ ). Bei Zugabe des Salzes  $\text{AgNO}_3$  nimmt die Ionenleitfähigkeit sprunghaft zu, da das Salz in Ionen dissoziiert vorliegt. Dabei wird jedoch die Urease irreversibel aktiviert, sodass es nicht mehr zu einer kontinuierlichen Zunahme der Leitfähigkeit kommt.

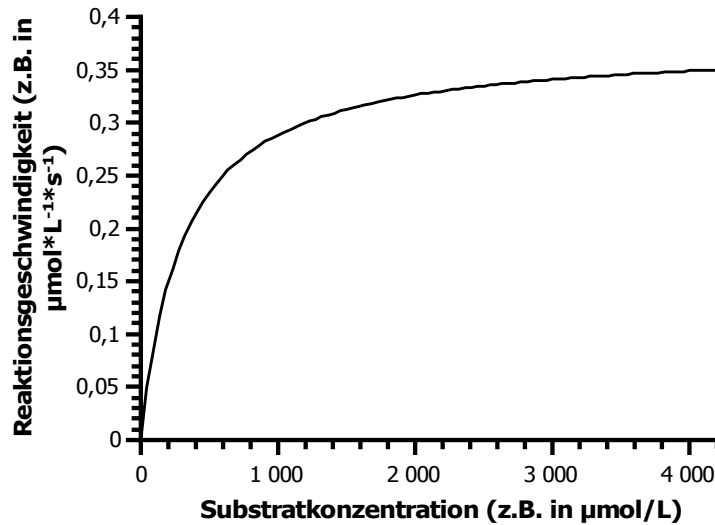
c) Bis zum Punkt A ( $\text{AgNO}_3$ -Zugabe): horizontal. Bei Punkt A senkrechter (sprunghafter) Anstieg, da ein Salz (Ionenverbindung) zugegeben wird. Dann bis zum Punkt B horizontal weiter ( $\rightarrow$  keine weitere Zunahme der Ionenkonzentrationen). Auch nach Urease-Zugabe ändert sich die Ionenleitfähigkeit nicht, da die Urease durch das  $\text{Ag}^+$  irreversibel gehemmt wird.



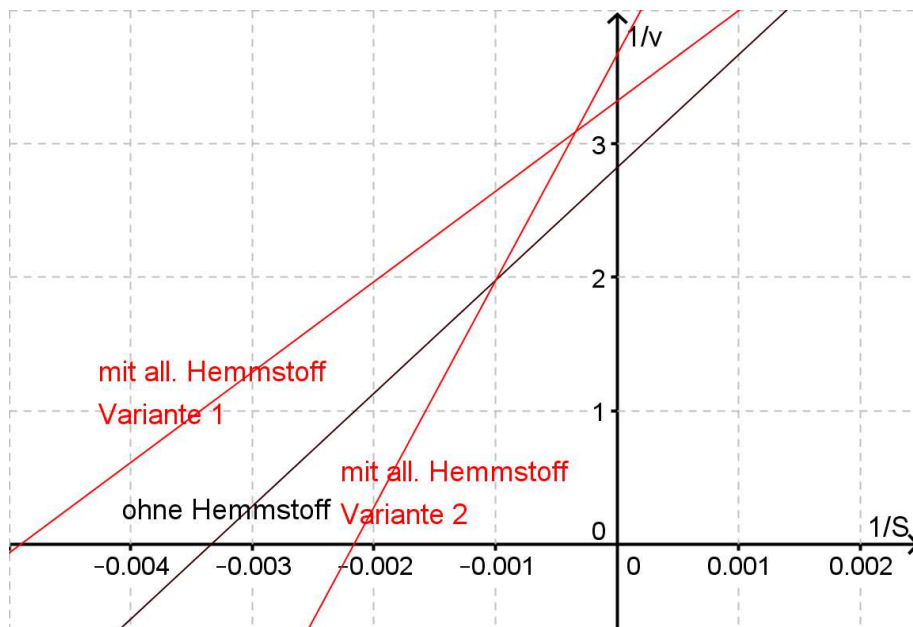
2.1

Es resultiert eine Substratsättigungskurve. Beispiel für eine Kurve mit  $v_{\text{max}} = 0,375 \mu\text{mol/L}$  und  $K_M = 300 \mu\text{mol/L}$

## Substratsättigungskurve



Trägt man die Substratkonzentration und die Reaktionsgeschwindigkeit reziprok auf, so gelangt man zum entsprechenden Lineweaver-Burk-Diagramm.



c) Bei einer allosterischen Hemmung wird  $v_{\max}$  kleiner, da ja eine *Hemmung* eintritt! Wenn  $v_{\max}$  kleiner wird, dann wird  $1/v_{\max}$  größer. D.h. die Gerade hat bei Anwesenheit eines allosterischen Hemmstoff hat auf jeden Fall einen größeren y-Achsenabschnitt. Der  $K_M$ -Wert kann größer, gleich oder kleiner sein, so dass man keine Aussage über den x-Achsenabschnitt machen kann. (*Hinweis: Es gibt hier auch genauere Differenzierungen, die aber im Unterricht nicht behandelt wurden*).

## 2.2

a) Die Wechselzahl (turnover number) gibt an, wie viel Substratmoleküle pro Enzymmolekül pro Zeiteinheit umgesetzt wird. Meist gibt man die Wechselzahl pro Sekunde an. Einheit:  $s^{-1}$

b) Die Avogadro-Konstante wird für das Rechnen nicht unbedingt benötigt!

10  $\mu\text{g}$  Enzym entsprechen  $3,3333 \cdot 10^{-10}$  mol Enzym. Diese Stoffmenge setzt 6,8 mmol (=  $6,8 \cdot 10^{-3}$  mol)  $\text{CO}_2$  um.

Es wird die  $2,04 \cdot 10^7$ -fache Substratmenge umgesetzt, wie Enzymmenge vorhanden ist.

Mit anderen Worten (Variante 1): Pro mol Enzym werden also  $2,04 \cdot 10^7$  mol  $\text{CO}_2$  umgesetzt.

Mit anderen Worten (Variante 2): Pro Molekül Enzym werden pro Minuten  $2,04 \cdot 10^7$  CO<sub>2</sub>- Moleküle umgesetzt. Die Wechselzahl beträgt also  $t_n = 2,04 \cdot 10^7 \text{ min}^{-1}$  ODER  $t_n = 340000 \text{ s}^{-1}$

2.3

a)

$$4,16 \frac{\mu\text{katal}}{\text{mg}} = 4,16 \frac{\frac{\mu\text{mol}}{\text{s}}}{\text{mg}} = 4,16 \frac{\frac{1}{60} \text{min}}{\text{mg}} = 249,6 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mg} \cdot \text{min}} = 249,6 \frac{U}{\text{mg}}$$

b)

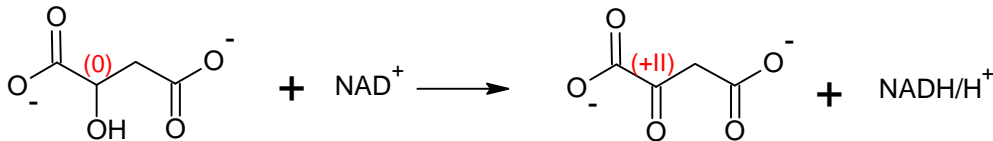
793,8 mg Ethanal entsprechen 0,018 mol Ethanal. Das sind 18000 μmol Ethanal. Pro Minute müssen also 900 μmol Ethanal umgewandelt werden. Die eingesetzte Enzymportion muss also 900 Units besitzen. Wenn die spezifische Aktivität 249,6 U pro mg beträgt, müssen 3,6 mg eingesetzt werden.

3.1.

3.1. a) Es handelt sich um eine Hydrolase, da ein Molekül unter dem Einfluss von Wasser gespalten wird.

3.1. b) Es handelt sich um eine Transferase, da eine Molekülgruppe (hier: Phosphat) von einem Molekül (hier: ATP) auf ein anderes Molekül (hier: D-Glucose) übertragen wird.

3.1.c)



Es handelt sich um eine Redoxreaktion, denn Oxalat wird oxidiert (das 2. C-Atom gibt zwei Elektronen ab). Als Elektronenempfänger dient das Cosubstrat NAD<sup>+</sup>, was zu NADPH/H<sup>+</sup> reduziert wird. Die Malatdehydrogenase ist damit eine Oxidoreduktase.

4.1

a) Es handelt sich um den optischen Test. Es wird fotometrisch die Umwandlung von NAD<sup>+</sup> zu NADH/H<sup>+</sup> verfolgt. Die Absorbanz bei ca. 340 nm nimmt im Verlauf der Reaktion zu, die Absorbanz bei ca. 260 nm ab. Diese Absorbanzänderungen sind ein Maß für den Gehalt an Äpfelsäure.

b) Oxidoreduktase.

c) Schnittpunkt mit x-Achse: -1/kM, Schnittpunkt y-Achse: 1/v<sub>max</sub>. Einheit x-Achse: L/mmol, Einheit y-Achse: min/μmol

