

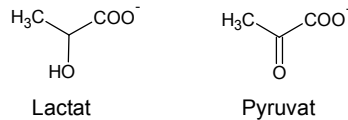
Übungsaufgaben mit Schwerpunkt Enzymatik, Puffer und biochemischen Grundlagen

Die Aufgaben aus der Biologie-Abschlussprüfung Teil 2 erstrecken sich häufig über mehrere Themenfelder. Um Ihnen eine Orientierung zu geben, sind hier einige Beispiele für solche ganzheitlichen Aufgaben.

Nr. 1: Enzymatik

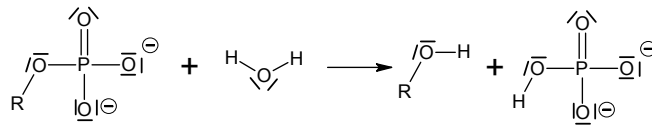
Folgende vier Enzyme besitzen eine große physiologische oder/und labordiagnostische Bedeutung:

Lactat-Dehydrogenase: Dieses Enzym katalysiert (u.a.) die Umwandlung von Lactat in Pyruvat.



Phosphofruktokinase: Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von D-Fruktose-6-Phosphat in D-Fruktose-1,6-Diphosphat.

alkalische Phosphatasen hydrolysieren organische Phosphorsäureester zu freiem Phosphat und Alkoholen. Sie arbeiten am effektivsten in leicht alkalischer Umgebung und kommen in nahezu allen Pflanzen und Tieren vor.



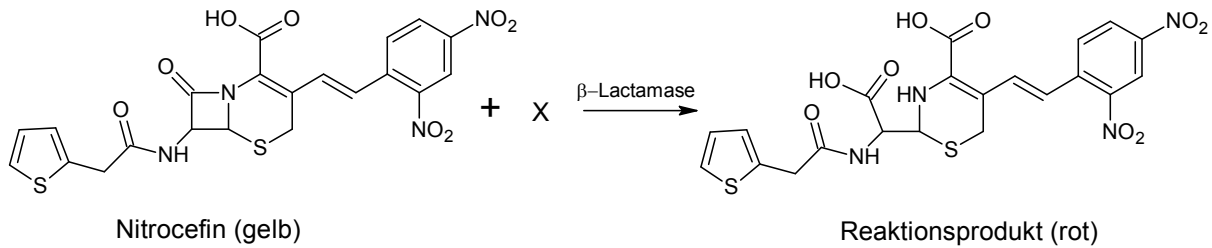
Peroxidasen: Diese Enzyme können Wasserstoffperoxid oder organische Peroxide (ROOH) mit Hilfe von Elektronendonoren vernichten. Bei der Umsetzung von Wasserstoffperoxid (H-O-O-H) entsteht dabei Wasser (H-O-H).

- 1.1 Begründen Sie, welche der angegebenen Enzyme als Cosubstrat ATP oder ADP oder NAD⁺ oder NADH/H⁺ benötigen.
- 1.2 Welche der oben aufgeführten Enzyme besitzen große analytische Bedeutung bei immunologischen Nachweisverfahren? Nur Benennung!
- 1.3 Die spezifische Enzymaktivität eines käuflich erworbenen Präparats an alkalischer Phosphatase beträgt 1600 units/g. Das Enzym katalysiert beispielsweise die hydrolytische Spaltung von *para*-Nitrophenolphosphat (pNpp) in Nitrophenol und Phosphat: $p\text{Npp} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Nitrophenol} + \text{Phosphat}$. Welche Masse an Enzympräparat wird benötigt, wenn sich in 3 Minuten 35 mg Nitrophenol bilden sollen? (M(pNpp) = 219,1 g/mol; M(Nitrophenol) = 139,1 g/mol; M(Phosphat) = 96,0 g/mol; M(H₂O)=18,0 g/mol)
- 1.4 Das Enzym Lactat-Dehydrogenase kann durch Oxalat-Ionen (⁻OOC-COO⁻) kompetitiv gehemmt werden. Erklären Sie den Begriff „kompetitive Hemmung“ und beschreiben Sie das Prinzip eines Experiments, mit dem man einen solchen Hemmmechanismus nachweisen kann.
- 1.5 Wie verändert sich das LINEWEAVER-BURK-Diagramm bei Anwesenheit eines kompetitiven Hemmstoff im Vergleich zum ungehemmten Fall? Zeichnen sie dazu ein vollständig beschriftetes Diagramm mit den beiden Graphen.

Nr. 2: Nitrocefin und β-Lactamasen

Aus einigen pathogenen Bakterienstämme können β-Lactamasen isoliert werden. Ein künstliches Substrat, das von diesen β-Lactamasen umgesetzt werden kann und in der Medizin diagnostisch genutzt werden kann, ist

das Nitrocefim (siehe Strukturformel in Reaktionsgleichung unten). Bei der Umsetzung von Nitrocefim entsteht ein anders gefärbtes Reaktionsprodukt.



2.1. Erklären Sie kurz, welche Bedeutung β -Lactamasen für die Bakterienstämme haben. Gehen Sie auch darauf ein, worin der diagnostische Nutzen von Nitrocefim liegen könnte.

2.2. Welche Gemeinsamkeiten zeigt Nitrocefim bzgl. seiner Strukturformel mit den natürlichen Substraten von β -Lactamasen? Geben Sie den entsprechenden Strukturformelausschnitt an und benennen Sie diesen.

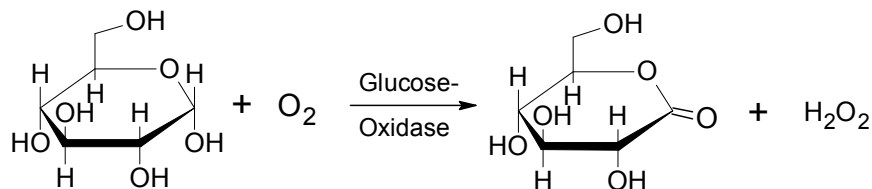
2.3. Leiten Sie aus der Reaktionsgleichung ab, zu welcher Enzymklasse β -Lactamasen gehören. Geben Sie auch an um welche Verbindung es sich bei „X“ (siehe Reaktionsgleichung) handelt. Begründen Sie Ihre Entscheidung kurz.

2.4. Zur Aktivitätsmessung in 100 mL einer β -Lactamase-haltigen Lösung, wurde sie mit einem großen Überschuss an Nitrocefim versetzt. Innerhalb von 3 Minuten nahm die Absorbanz von $A = 0,815$ auf $A = 0,141$ ab ($d = 1$ cm). Der Absorptionskoeffizient von Nitrocefim beträgt bei der Messwellenlänge $\epsilon = 15000$ L/(mol·cm), das Reaktionsprodukt absorbiert bei der gewählten Messwellenlänge nicht. Berechnen Sie die umgesetzte Stoffmenge Nitrocefim und die ungefähre mittlere Enzymaktivität der β -Lactamase im gesamten Ansatz in *Enzyme Units*.

Nr. 3: Analytik und molekularer Bau von Naturstoffen

3.1. Die meisten Bakterienstämme betreiben Glykolyse, einige von ihnen sind zur Milchsäuregärung befähigt. Erklären Sie kurz jeweils die biochemische Bedeutung beider Stoffwechselwege und geben Sie jeweils die Stoffbilanzen an (Edukte, Produkte, Cosubstrate). **[Anm: Wenn diese Stoffwechselwege nicht in meinem Unterricht behandelt wurden, ist diese Teilaufgabe hier nicht mehr relevant]**

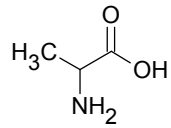
3.2. Die quantitative Glucosebestimmung kann mithilfe des Glucoseoxidase-Tests (GOD-Test) erfolgen. Dabei ist folgende enzymatische Reaktion wichtig:



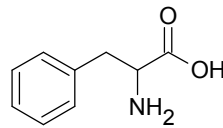
Begründen Sie mithilfe der Oxidationszahlen, dass es sich bei Glucose-Oxidase um eine Oxidoreduktase handelt. Beschreiben Sie auch, wie das entstandene H_2O_2 quantifiziert werden kann.

3.3. Eine Glucose-Stammlösung wurde hergestellt, indem 10 g Glucose-Monohydrat ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) gelöst und im Messkolben auf ein Gesamtvolumen von 1 L gebracht wurden. Welches Volumen an Stammlösung wird benötigt, um 100 mL einer Verdünnung mit $\beta(\text{Glucose}) = 750$ mg/L herzustellen?

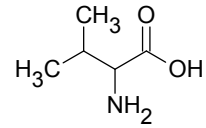
3.4. Erläutern Sie kurz den Bau von Proteinen und geben Sie den Strukturformelausschnitt folgender Primärstrukturausschnitts eines Proteins an: ...Ala-Val-Phe-... (siehe Abb. unten)



Alanine (Ala)



Phenylalanine (Phe)



Valine (Val)

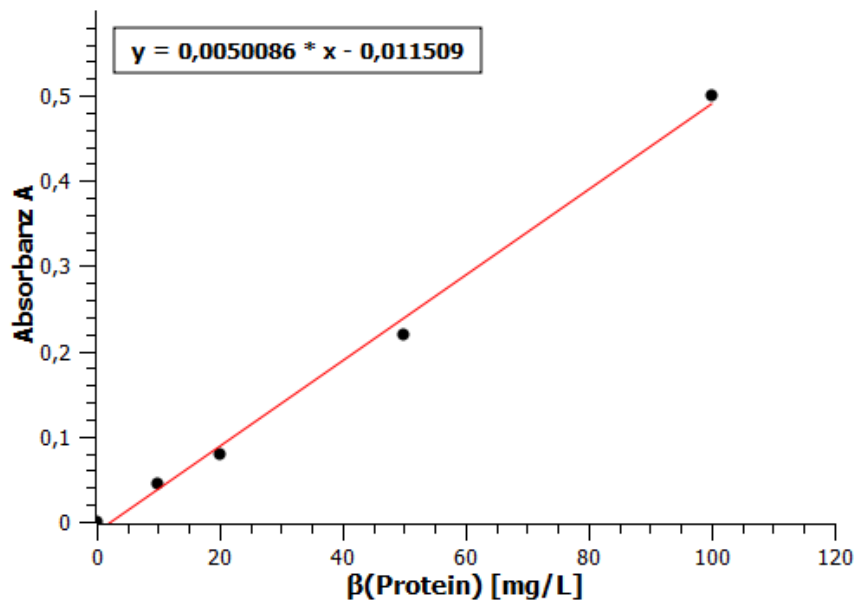
Frage 4: Proteine und Enzyme

Bei einer Proteinbestimmung nach LOWRY wurde aus einer BSA-Stammlösung mit $\beta(\text{BSA}) = 1 \text{ g/L}$ jeweils 1,5 mL folgender Kalibrierlösungen hergestellt: 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L

4.1 Welches Volumen an Stammlösung ist einzusetzen, um 1,5 mL der Verdünnung mit 20 mg/L zu bekommen?

4.2 Trägt man die gemessenen Absorbanzen der Verdünnungen gegen $\beta(\text{Protein})$ in mg/L auf, erhält man unten stehende Kalibriergerade (incl. Kalibriergeradengleichung). 150 μL einer Probelösung wurden auf 2,5 mL verdünnt und die Absorbanz anschließend mit $A = 0,351$ bestimmt. Berechnen Sie $\beta(\text{Protein})$ in der Probelösung.

4.3 Berechnen Sie den spezifischen Absorptionskoeffizienten in $\text{L}/(\text{g}\cdot\text{cm})$.



4.4 In verschiedenen Bakterien und Pflanzen findet sich ein Enzym, das die Umwandlung von Nitrat-Ionen (NO_3^-) in Nitrit-Ionen (NO_2^-) katalysiert. Das Enzyme wird durch Iodat-Ionen (IO_3^-) kompetitiv gehemmt.

4.4.1. Zeichnen Sie in einem vollständig beschrifteten Diagramm die Substratsättigungskurve des ungehemmten Enzyms und die Substratsättigungskurve für das gleiche Enzym bei Anwesenheit von Iodat-Ionen ein. Erklären Sie kurz in Worten den jeweiligen Verlauf der Kurven.

4.4.2. Begründen Sie, zu welcher Enzymklasse das vorgestellte Enzym gehört und welche Cosubstrate durch diese Enzyme benötigt werden bzw. in Frage kommen.

4.4.3. Nennen Sie zwei weitere Enzymklassen und jeweils ein dazugehöriges Beispiel für ein Enzym.