

## Rechnen mit der Wechselzahl und der Enzymaktivität

### 1. Rechnungen zur Wechselzahl

**1.1** Eine Enzymlösung besitzt die Stoffmengenkonzentration  $c(\text{Enzym}) = 0,1 \mu\text{mol/L}$ , wobei die Enzymmoleküle bei den gegebenen Bedingungen eine durchschnittliche Wechselzahl von  $t_n = 85000 \text{ 1/s}$  besitzen. In welchem Volumen der Enzymlösung ist die Enzymmenge vorhanden, die in 30 Minuten die Umsetzung von 5 g Substrat katalysiert?  $M(\text{Substrat}) = 120 \text{ g/mol}$ .

**1.2** Das Enzym Acetylcholinesterase spaltet Acetylcholin ( $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_2$ ,  $M = 146,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) in Cholin und Acetat. Die Wechselzahl wird bei der englischen wikipedia mit  $t_n = 7,4 \cdot 10^5 \text{ min}^{-1}$  angegeben. Welche Enzymkonzentration  $c(\text{Enzym})$  liegt in 1,00 mL eines Versuchsansatzes vor, wenn in 30 Sekunden 50  $\mu\text{g}$  Acetylcholin gespalten werden?

**1.3** Urease ist ein Enzym, dass die Spaltung von Harnstoff ( $\text{NH}_2\text{-C(O)-NH}_2$ ) mit Wasser zu Ammoniak und  $\text{CO}_2$  bewirkt. Seine Wechselzahl wird bei wikipedia bei bestimmten Bedingungen mit  $t_n = 3000 \text{ s}^{-1}$  angegeben.

a) Notieren Sie die Reaktionsgleichung für die hydrolytische Spaltung.

b) Welche Massen an Ammoniak und  $\text{CO}_2$  können in 10 Minuten eines Versuchsansatzes mit der angegebenen Wechselzahl entstehen (optimale Versorgung mit Substrat, konstante Reaktionsbedingungen), wenn 10  $\mu\text{g}$  Enzympräparat ( $M(\text{Enzym}) = 500 \text{ kDa}$ , Reinheit des Präparats: 22%) eingesetzt werden?

**1.4** Cellobiase ist ein Enzym dass das Disaccharid Cellobiose ( $M = 342,1 \text{ g/mol}$ , Zwei Glucosemoleküle wurden über eine Kondensationsreaktion miteinander verknüpft) in Glucosemoleküle hydrolytisch spalten kann. Das Molekulargewicht des Enzyms beträgt 184 kDa, die Wechselzahl beträgt  $t_n = 2500 \text{ s}^{-1}$ .

a) Notieren Sie die Reaktionsgleichung.

b) Welche Substratmasse und Produktmassen können 1  $\mu\text{g}$  des reinen Enzyms in 1 Minute spalten bzw. bilden?

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

a) Erklären Sie kurz den Begriff Wechselzahl.

b) Berechnen Sie die Wechselzahl des Enzyms, wenn 10  $\mu\text{g}$  des hochreinen Enzyms ( $M = 30000 \text{ g/mol}$ ) pro Minute 16 mmol  $\text{CO}_2$  umsetzen können.

### 2. Rechnungen zur Enzymaktivität

**2.1** 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  $\mu\text{katal/mg}$ .

a) Rechnen Sie die spezifische Aktivität in die 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?

**2.2** Urease spaltet Harnstoff ( $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$ ,  $M = 60,06 \text{ g/mol}$ ) mit Wasser zu Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) und  $\text{CO}_2$ . Sie besitzt eine Wechselzahl von  $3000 \text{ s}^{-1}$  und eine molare Masse von 480.000 g/mol (480 kDa).

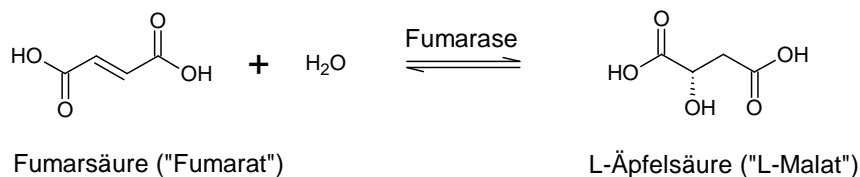
- Notieren Sie die Reaktionsgleichung.
- Welche Stoffmenge Harnstoff (in mmol), können 1  $\mu\text{mol}$  des Enzyms pro Sekunde umsetzen?
- Berechnen Sie die spezifische Aktivität des (hochreinen) Enzyms.

**2.3** Ein Alkoholdehydrogenase-Präparat aus Hefe besitzt unter optimalen Bedingungen die spezifische Aktivität von 250 U/mg. Mithilfe der ADH können die Hefezellen Ethanal ( $M = 44,1 \text{ g/mol}$ ) in Ethanol umwandeln.

- Rechnen Sie die spezifische Aktivität in die Einheit  $\mu\text{katal/g}$  um.
- Wie ist es möglich, dass ein anderes ADH-Präparat in spezifische Aktivität von deutlich unter 250 U/mg besitzt?
- 7 mg des hochreinen Enzympräparats wirken unter optimalen Bedingungen für 10 Minuten auf eine Substratlösung ein. Welche Masse Ethanal wird in dieser Zeit dabei umgesetzt?

**2.4** Eine hochreine Taq-DNA-Polymerase besitzt die spezifische Aktivität von 292000 Units/mg, die Molekülmasse beträgt 94 kDa. Wie viel Enzymmoleküle befinden sich in eine Enzymansatz, wenn er die Aktivität von 2 Enzyme Units besitzt? Ergänzender Hinweis, der Vollständigkeit halber, der für das Rechnen aber nicht weiter relevant ist: Bei der Taq-DNA-Polymerase ist das Unit als die Enzymportion definiert, die bei  $74 \text{ }^\circ\text{C}$  in 30 Minuten 10 nmol (nanomol) Nucleotide in die DNA einbaut. AVOGADRO-Konstante  $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ 1/mol}$

**2.5** Das Enzym Fumarase katalysiert die Umwandlung von Fumarat zu L-Malat und umgekehrt:



- Bei einer Enzym-Elektrophorese ergab sich ein ungefähres Molekülgewicht von 200 kg/mol (200 kDa). Berechnen Sie aus wie viel Aminosäuren das Protein ungefähr aufgebaut ist, wenn man als mittlere Molekülmasse einer Aminoäure ca. 430 g/mol annimmt.
- 12 mg eines Fumarase-Präparats setzten unter optimalen Bedingungen 515  $\mu\text{g}$  Fumarsäure pro Minute zu L-Äpfelsäure um. Berechnen Sie die spezifische Aktivität in Mikrokatal pro Gramm ( $\mu\text{kat/g}$ ) des Präparats. Hinweis:  $M(\text{Fumarsäure})$  selbst berechnen!
- Rechnen Sie die spezifische Aktivität von  $\mu\text{kat/g}$  in Units pro Milligramm (U/mg) um.

### 3. Gemischte Aufgaben

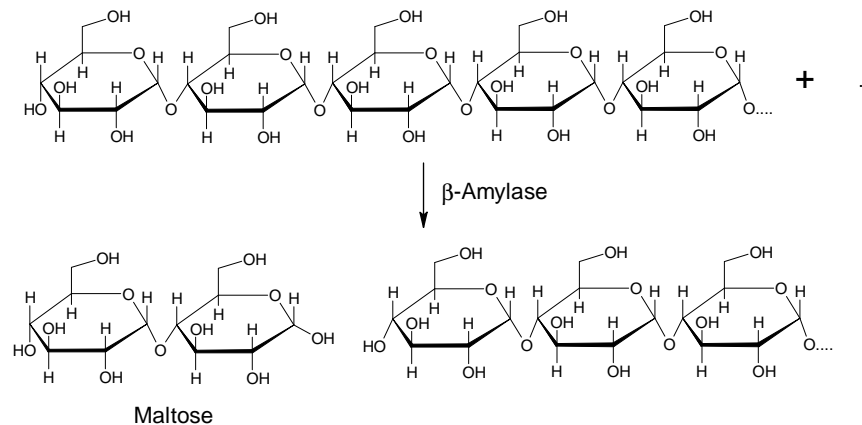
**3.1** Das Enzym Phosphoglucomutase katalysiert die chemische Reaktion von Glucose-1-Phosphat zu Glucose-6-Phosphat bzw. umgekehrt.

- Begründen Sie, zu welcher Enzymklasse das Enzym gehört.
- Bei optimalen Bedingungen wurde die Wechselzahl des 62 kDa schweren Enzyms mit  $1240 \text{ min}^{-1}$  bestimmt. Berechnen Sie die maximal mögliche spezifische Aktivität in U/mg eines hochreinen Präparats.

**3.2** Ein großer, auch überregional bekannter Chemikalien- und Laborbedarf-Lieferant aus Karlsruhe bietet ein  $\beta$ -Amylase-Präparat mit 12 U/mg an. Wie bei manchen Enzymen üblich und notwendig wird hier die Enzymeinheit

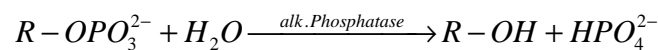
„Unit“ anders als die internationale Enzymeinheit definiert. So ist angegeben „1 Unit entspricht der Enzymmenge, die 1  $\mu\text{mol}$  Maltose pro Minute bei 25°C und pH 4,8 freisetzt (nach Zulkowsky).“

$\beta$ -Amylase (EC-Nummer 3.2.1.2) spaltet vom Kettenende der Amylose/Dextrine jeweils ein Maltosemolekül nach dem anderen ab:



- Erklären Sie, zu welcher Enzymklasse die  $\beta$ -Amylase gehört.
- Welche Masse Maltose ( $M = 342,3 \text{ g/mol}$ ) können unter den gegebenen Bedingungen aus 30 Milligramm Enzympräparat in 30 Minuten bei 25°C und pH 4,8 und optimaler Substratsättigung entstehen?
- Warum kann bei Amylase nicht die übliche Definition der Enzymeinheit ( $\mu\text{mol}$  Substratumsatz pro Minute) benutzt werden bzw. ist ungeeignet?

**3.3** Von vielen verschiedenen Substraten kann die **alkalische Phosphatase** eine Phosphat-Gruppe ( $\text{PO}_4^{3-}$  bzw.  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) abspalten. Allgemeine Reaktionsgleichung:



Alkalische Phosphatase ist ein wichtiges Enzym, dass auch in der Bioanalytik große Anwendung gefunden hat. So wird es z.B. bei vielen ELISA-Tests benutzt, da es durch Phosphatgruppenabspaltung aus pNPP (para-Nitrophenylphosphat) einen Farbstoff bilden kann, dessen Konzentration fotometrisch bestimmt werden kann. 1 Unit ist definiert als die Enzymmenge, die pro Minute 1  $\mu\text{mol}$  pNPP spalten kann:



- Wie groß ist die Aktivität (in Units) in einem Ansatz, wenn in 10 Minuten sich 15 mg Nitrophenol ( $M = 139,1 \text{ g/mol}$ ) bilden?
- Wie groß ist die ungefähre mittlere Wechselzahl des Enzyms (in  $\text{min}^{-1}$ ), wenn sich im Ansatz 300  $\mu\text{g}$  reines Enzym befunden haben?  $M(\text{Enzym}) = 89 \text{ kDa}$

Lösungen (ausführliche Lösungswege unter [www.laborberufe.de](http://www.laborberufe.de))

**1.1** 2,7 mL; **1.2** 0,925 nmol/L; **1.3** 0,35 mg  $\text{CO}_2$  und 0,27 mg  $\text{NH}_3$  **1.4b** 279  $\mu\text{g}$   $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ , 14,7  $\mu\text{g}$   $\text{H}_2\text{O}$  und 293  $\mu\text{g}$   $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ; **1.5** 800000 1/s; **2.1a** 249,6 U/mg; **2.1b** 3,6 mg; **2.2b** 3 mmol; **2.2c** 375 U/mg; **2.3a** 4167  $\mu\text{kat/g}$ ; **2.3c** 0,77 g; **2.4**  $4,4 \cdot 10^{10}$  Enzymmoleküle; **2.5a** 465 AS; **2.5b** 6,17  $\mu\text{kat/g}$ ; **2.5c** 0,37 U/mg; **3.1a** Isomerase; **3.1b** 20 U/mg; **3.2a** Hydrolase; **3.2c** 3,70 g; **3.3a** 10,8 U; **3.3b** 3200  $\text{min}^{-1}$

## Lösungen ohne Gewähr

Wenn Sie einen Fehler entdecken, bitte ich um kurze Mail.

Immer auch die Aufgabenstellung/Nummerierung abgleichen. Manchmal ergen sich Änderungen.

1.1

(1): Zuerst wird die Stoffmenge an Substrat berechnet, die pro Sekunde gebildet werden soll. Dies ist durch einfache Umrechnung möglich, weil die Masse gegeben ist, die in 30 Minuten umgesetzt werden soll und die molare Masse des Enzyms bekannt ist. Dass in die Stoffmenge pro Sekunde umgerechnet wird, hängt damit zusammen, dass die Wechselzahl des Enzyms als Stoffmenge/Zahl pro Sekunde definiert ist. So können diese beide Größen miteinander verrechnet werden (*siehe 2. Schritt*):

(2): Aus der Wechselzahl ist bekannt, welche Stoffmenge Substrat ein mol Enzym pro Sekunde umsetzt (1 mol Enzym setzt 85000 mol Substrat pro Sekunde um). Deshalb kann man durch eine Dreisatzrechnung berechnen, wie viel mol Enzym benötigt werden, um die nach (1) geforderte Substratmenge pro Sekunde umzusetzen.

(3) Zum Schluss wird berechnet, in welchem Volumen Enzymlösung, die nach (2) erforderliche Enzymmenge enthalten ist.

Zu (1): 5 g Substrat  $\hat{=}$  0,0416667 mol (werden in 30 Minuten umgesetzt)

Pro Sekunde umgesetzte Stoffmenge Substrat  $n(\text{Substrat}) = 0,041667 \text{ mol} : 1800 \text{ s} \approx 2,315 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$   
Substrat pro Sekunde.

Zu (2):

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \quad \hat{=} \quad 85000 \text{ mol S. pro Sek.} \\ x \text{ mol E.} \quad \hat{=} \quad 2,315 \cdot 10^{-5} \text{ mol S. pro Sek.} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \\ x \text{ mol E.} \end{array}} \right\} x = 2,7235 \cdot 10^{-10} \text{ mol E.}$$

Zu (3):

$$c(E.) = \frac{n(E.)}{V(Lsg)} \Rightarrow V(Lsg) = \frac{n(E.)}{c(E)} = \frac{2,7235 \cdot 10^{-10} \text{ mol}}{0,1 \cdot 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{L}}} \approx 2,7 \cdot 10^{-3} \text{ L} \hat{=} 2,7 \text{ mL}$$

Es werden 2,7 mL der Enzymlösung verwendet.

1.2.

(1) Zuerst wird berechnet, welche Stoffmenge Acetylcholin im Versuchsansatz pro Minute gespalten wird. Die Berechnung erfolgt bei dieser Aufgabe auf der Basis von Minuten als Zeiteinheit, weil auch die Wechselzahl pro Minute angegeben ist.

(2) Durch die Angabe der Wechselzahl ist bekannt, welche Stoffmenge an Substrat 1 mol Enzym pro Minute spalten kann. Mit dem Dreisatz kann berechnet werden, welche Stoffmenge Enzym also vorhanden sein muss, um die bei (1) berechnete Stoffmenge zu spalten.

(3) Mit der Beziehung  $c = n/V$  kann nun die Enzymkonzentration berechnet werden.

Zu (1):  $50 \mu\text{g Acetylcholin} = 3,4218 \cdot 10^{-7} \text{ mol}$  werden in 30 Sekunden gespalten. => Pro Minute werden also  $6,8436 \cdot 10^{-7} \text{ mol Acetylcholin}$  gespalten.

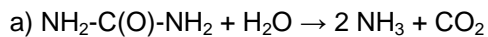
Zu (2):

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad 7,4 \cdot 10^5 \text{ mol S. pro Min.} \\ x \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad 6,8436 \cdot 10^{-7} \text{ mol S. pro Min.} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \\ x \text{ mol E.} \end{array}} \right\} \quad x = 9,248 \cdot 10^{-13} \text{ mol E.}$$

Zu (3):  $c(\text{Enzym}) = n(\text{Enzym}) : V(\text{Lsg}) = 9,248 \cdot 10^{-13} \text{ mol} : 0,001 \text{ L} \approx 9,25 \cdot 10^{-10} \text{ mol/L} = 0,925 \text{ nmol/L}$

### 1.3.



b)

(1) Aus der Wechselzahl ist bekannt, welche Stoffmenge Harnstoff 1 mol des Enzyms in 1 Sekunde spalten kann. So kann mit dem Dreisatz berechnet werden, welche Stoffmenge  $2,2 \mu\text{g Enzym}$  ( $\triangleq 4,4 \cdot 10^{-12} \text{ mol}$ ) in 1 Sekunde spalten können. Anmerkung: Man geht von  $2,2 \mu\text{g}$  reinen Enzyms aus, da die Reinheit 22% beträgt (22 % von  $10 \mu\text{g}$  sind  $2,2 \mu\text{g}$ ).

(2) Nun kann mit dem Dreisatz die Stoffmenge an Harnstoff berechnet werden, die in 10 Minuten gespalten wird.

(3) Mit den Koeffizientenverhältnissen der Reaktionsgleichung kann angegeben werden, welche Stoffmengen  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  entstehen und diese in die Massen umgerechnet werden.

Zu 1:

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad 3000 \text{ mol Harnstoff pro Sek.} \\ 4,4 \cdot 10^{-12} \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad x \text{ mol Harnstoff pro Sek.} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ mol E.} \\ 4,4 \cdot 10^{-12} \text{ mol E.} \end{array}} \right\} \quad x = 1,32 \cdot 10^{-8} \text{ mol Harnstoff pro Sek.}$$

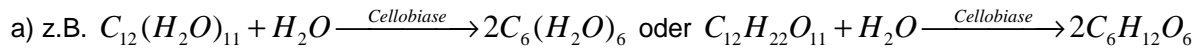
Zu 2:

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{lcl}
 1,32 \cdot 10^{-8} \text{ mol Harnstoff.} & \hat{=} & 1 \text{ Sek.} \\
 \times & & \\
 x \text{ mol Harnstoff} & \hat{=} & 600 \text{ Sek.}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{lcl} 1,32 \cdot 10^{-8} \text{ mol Harnstoff.} \\ \times \\ x \text{ mol Harnstoff} \end{array}} \right\} x = 7,92 \cdot 10^{-6} \text{ mol Harnstoff in 10 Min (600 Sek.)}$$

Zu 3: Aus den Koeffizientenverhältnissen folgt: Wenn  $7,92 \cdot 10^{-6}$  mol Harnstoff gespalten werden, entstehen  $7,92 \cdot 10^{-6}$  mol  $\text{CO}_2$  (das sind ca. 0,35 mg  $\text{CO}_2$ ) und  $1,584 \cdot 10^{-5}$  mol  $\text{NH}_3$  (das sind ca. 0,27 mg  $\text{NH}_3$ ).

1.4.



b)

(1) Durch die Wechselzahl ist bekannt, welche Substrat-Stoffmenge 1 mol Enzym pro Sekunde spalten kann. Mit Dreisätzen lässt sich berechnen, welche Substrat-Stoffmenge die hier gegebene Enzymportion ( $1 \mu\text{g} \hat{=} 5,43 \cdot 10^{-12}$  mol) in 1 Minute umsetzt.

(2) Mit den Koeffizientenverhältnissen der Reaktionsgleichung werden die benötigten Massen berechnet.

Zu 1:

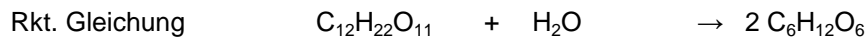
Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{lcl}
 1 \text{ mol E.} & \hat{=} & 2500 \text{ mol Cellob. pro Sek.} \\
 5,43 \cdot 10^{-12} \text{ mol E.} & \hat{=} & x \text{ mol Cellob. pro Sek.}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{lcl} 1 \text{ mol E.} \\ 5,43 \cdot 10^{-12} \text{ mol E.} \end{array}} \right\} x \approx 1,36 \cdot 10^{-8} \text{ mol Cellob. pro Sek.}$$

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{lcl}
 1,36 \cdot 10^{-8} \text{ mol Cellob.} & \hat{=} & 1 \text{ Sek.} \\
 x \text{ mol Cellob.} & \hat{=} & 60 \text{ Sek.}
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{lcl} 1,36 \cdot 10^{-8} \text{ mol Cellob.} \\ x \text{ mol Cellob.} \end{array}} \right\} x \approx 8,15 \cdot 10^{-7} \text{ mol Cellob. in 1 Min (60 Sek.)}$$

Zu 2:



(Schritt 1)

gegebene Stoffmenge  $8,15 \cdot 10^{-7}$   
(mol)

mit Koeffizientenverhältnis berechnete Stoffmengen [mol]

	$8,15 \cdot 10^{-7}$	$1,63 \cdot 10^{-6}$
--	----------------------	----------------------

Umrechnung in die Massen [g]

	<b>ca. 279 <math>\mu\text{g}</math></b>	<b>14,7 <math>\mu\text{g}</math></b>
	<b>ca. 294 <math>\mu\text{g}</math></b>	

1.5.

a) Die Wechselzahl entspricht der durch 1 Enzymmolekül pro Sekunde gespaltenen Anzahl an Substratmolekülen. Sie entspricht damit vom Zahlenwert her, der von 1 mol Enzymmolekülen pro Sekunde umgesetzten Substratmenge (in mol).

b) Da bekannt ist, welche Enzymmenge vorliegt und welche Stoffmenge CO<sub>2</sub> sie pro Minute umsetzen kann, lässt sich mit Dreisätzen auf eine Enzymmenge von 1 mol und auf Zeitdauer von 1 Sekunde umrechnen. Der so erhaltene Zahlenwert entspricht der gesuchten Wechselzahl.

$$10 \mu \text{ E.} \triangleq 3,333 \cdot 10^{-10} \text{ mol E.}$$

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{l} 3,333 \cdot 10^{-10} \text{ mol E.} \triangleq 16 \cdot 10^{-3} \text{ mol CO}_2 \text{ pro Min.} \\ 1 \text{ mol E.} \triangleq x \text{ mol CO}_2 \text{ pro Min.} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 3,333 \cdot 10^{-10} \text{ mol E.} \\ 1 \text{ mol E.} \end{array}} \right\} x \approx 4,8 \cdot 10^7 \text{ mol CO}_2 \text{ pro Min.}$$

Dreisatz (Schlussrechnung):

$$\begin{array}{l} 4,8 \cdot 10^7 \text{ mol CO}_2 \triangleq 60 \text{ Sek.} \\ x \text{ mol CO}_2 \triangleq 1 \text{ Sek} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 4,8 \cdot 10^7 \text{ mol CO}_2 \\ x \text{ mol CO}_2 \end{array}} \right\} x \approx 800000 \text{ mol CO}_2 \text{ pro Sek.}$$

Die Wechselzahl von Carboanhydrase beträgt bei diesem Ansatz also 800000 1/s.

2.1

a)

$$4,16 \frac{10^{-6} \text{ kat}}{\text{mg}} = 4,16 \frac{10^{-6} \text{ mol}}{\text{mg} \cdot \text{s}} = 4,16 \frac{10^{-6} \cdot 10^6 \mu \text{mol}}{\text{mg} \cdot \frac{1}{60} \text{ min}} = 249,6 \frac{\mu \text{mol}}{\text{mg} \cdot \text{min}} = 249,6 \frac{\text{U}}{\text{mg}}$$

b) Umrechnung in eine Stoffmenge: 793,8 mg Ethanal (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)  $\triangleq$  0,018019 mol  $\triangleq$  18019  $\mu$ mol

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Stoffmenge, die pro Minute umgesetzt werden soll

$$\begin{array}{l} 18019 \mu \text{mol.} \triangleq 20 \text{ Min.} \\ x \triangleq 1 \text{ Min.} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 18019 \mu \text{mol.} \\ x \end{array}} \right\} x \approx 901 \mu \text{mol}$$

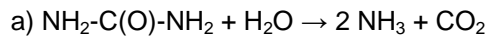
Pro Minute sollen 901  $\mu$ mol umgesetzt werden (901 Units)

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der erforderlichen Masse an Enzympräparat

$$\begin{array}{l} 249,6 \text{ Units} \triangleq 1 \text{ mg Enzympräparat} \\ 901 \text{ Units} \triangleq x \text{ mg Enzympräparat} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 249,6 \text{ Units} \\ 901 \text{ Units} \end{array}} \right\} x \approx 3,6 \text{ mg Enzympräparat}$$

Es werden 3,6 mg Enzympräparat benötigt.

## 2.2



b) Da die Wechselzahl  $3000 \text{ s}^{-1}$  beträgt, gilt: 1 Enzymmolekül kann pro Sekunde 3000 Substratmoleküle umsetzen. 1  $\mu\text{mol}$  Enzymmoleküle können also pro Sekunde 3000  $\mu\text{mol}$  Harnstoff umsetzen. Das sind 3 mmol Harnstoff.

c) 1  $\mu\text{mol}$  ( $\hat{=}$  0,48 g) Enzym können pro Sekunde 3000  $\mu\text{mol}$  Substrat umsetzen.  $\Rightarrow$  Pro Minute können durch diese Enzymportion folglich 180000  $\mu\text{mol}$  Substrat umgesetzt werden. 0,48 g Enzym besitzen also die Aktivität von 180000 Units.

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Aktivität pro Milligramm

$$\begin{array}{rcl} 180000 \text{ Units} & \hat{=} & 0,48 \text{ g Enzym} \\ x & \hat{=} & 0,001 \text{ g Enzym} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{rcl} 180000 \text{ Units} \\ x \end{array}} \right\} x \approx 375 \text{ Units}$$

Die spezifische Aktivität beträgt 375 U/mg. (Da in der Aufgabenstellung nicht angegeben, hätte man die spezifische Aktivität auch in anderen Einheiten angeben können: kat/g, kat/mg, U/g).

## 2.3

$$\text{a) } 250 \frac{\text{U}}{\text{mg}} = 250 \frac{\mu\text{mol}}{\text{min} \cdot \text{mg}} = 250 \frac{\mu\text{mol}}{60\text{s} \cdot 10^{-3} \text{g}} = 4167 \frac{\mu\text{mol}}{\text{s} \cdot \text{g}} = 4167 \frac{\mu\text{kat}}{\text{g}}$$

b) Die spezifische Aktivität ist ein Maß für die Reinheit eines Enzyms. Beim anderen Präparat wurde z.B. einige Reinigungsschritte weg gelassen, z.B. um die empfindlichen Enzymmoleküle zu schonen. Ein weiterer Erklärungsansatz ist, dass ein anderer Isotyp des Enzyms (Varianten eines Enzyms mit unterschiedlicher Primärstruktur) vorliegt, dessen natürliche Aktivität schwächer ist.

c)

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Aktivität von 7 Milligramm Enzym

$$\begin{array}{rcl} 250 \text{ Units} & \hat{=} & 1 \text{ mg Enzym} \\ x \text{ Units} & \hat{=} & 7 \text{ mg Enzym} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{rcl} 250 \text{ Units} \\ x \text{ Units} \end{array}} \right\} x \approx 1750 \text{ Units}$$

$\Rightarrow$  Pro Minute werden also 1750  $\mu\text{mol}$  Ethanal umgesetzt.  $\Rightarrow$  In 10 Minuten werden somit 17500  $\mu\text{mol}$  Ethanal ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ) umgesetzt. Das sind ca. 0,77 g Ethanal.

## 2.4

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Enzymmasse mit der Aktivität von 2 Units

$$\begin{array}{rcl} 292000 \text{ Units} & \hat{=} & 1 \text{ mg Enzym} \\ 2 \text{ Units} & \hat{=} & x \text{ mg Enzym} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{rcl} 292000 \text{ Units} \\ 2 \text{ Units} \end{array}} \right\} x \approx 6,849 \cdot 10^{-6} \text{ mg}$$

Umrechnung in eine Stoffmenge:

$$n(\text{Enzym}) = \frac{m(\text{Enzym})}{M(\text{Enzym})} \approx \frac{6,849 \cdot 10^{-6} \cdot 10^{-3} \text{ g}}{94000 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \approx 7,287 \cdot 10^{-14} \text{ mol}$$



Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Anzahl der Enzymmoleküle (mit AVOGADRO-Konstante)

$$\begin{array}{l} 6,022 \cdot 10^{23} \quad \triangleq \quad 1 \text{ mol Enzym} \\ x \quad \triangleq \quad 7,287 \cdot 10^{-14} \text{ mol Enzym} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 6,022 \cdot 10^{23} \\ x \end{array}} \right\} x \approx 4,4 \cdot 10^{10}$$

2.5

a)

$$N(AS) = \frac{M_{\text{gesamt}}}{M(AS)} = \frac{200000 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{430 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \approx 465 AS$$

b) Schritt 1: Da die Aktivität des Enzyms in der Einheit Mikromol pro Sekunde berechnet werden soll, wird zuerst die Stoffmenge Substrat in  $\mu\text{mol}$  berechnet. Hierfür wird die Molekülmasse von Fumarsäure benötigt, die man durch Zusammenzählen der einzelnen Atommassen errechnen kann. Aus der Strukturformel kann man die hierfür benötigte Summenformel ableiten:  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$

$$n(\text{Fumarsäure}) = \frac{m(\text{Fumarsäure})}{M(\text{Fumarsäure})} = \frac{515 \cdot 10^{-6} \text{ g}}{116 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 4,43966 \cdot 10^{-6} \text{ mol} = 4,43966 \cdot 10^{-6} \cdot 10^6 \mu\text{mol} = 4,43966 \mu\text{mol}$$

Schritt 2: Die bei Schritt 1 berechnete Stoffmenge entspricht einer Reaktionszeit von 1 Minute (vgl. Aufgabenstellung). Da aber Mikrokatal einer Reaktionszeit von Mikromol pro Sekunde entspricht, wird berechnet, welche Stoffmenge in einer Sekunde umgesetzt wird.

$$A = \frac{n(\text{Fumarsäure})}{t} = \frac{4,43966 \mu\text{mol}}{60 \text{ s}} = 0,073994 \frac{\mu\text{mol}}{\text{s}} = 0,073994 \mu\text{kat}$$

Schritt 3: Zur Berechnung des spezifischen Aktivität wird die Aktivität durch die Masse an Enzympräparat geteilt. Man könnte alternativ auch die Aktivität pro Gramm Präparat auch mit Dreisatz/Schlussrechnung berechnen.

$$A_{\text{spez}} = \frac{A}{m(\text{Präparat})} = \frac{0,073994 \mu\text{kat}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ g}} \approx 6,17 \frac{\mu\text{kat}}{\text{g}}$$

c)

$$6,17 \frac{\mu\text{kat}}{\text{g}} = 6,17 \frac{10^{-6} \text{ kat}}{10^3 \text{ mg}} = 6,17 \frac{10^{-6} \cdot 60 \cdot 10^6 U}{10^3 \text{ mg}} \approx 0,37 \frac{U}{\text{mg}}$$

3.1

a) Es handelt es sich um eine Isomerase, weil Glucose-6-Phosphat und Glucose-1-Phosphat isomer zueinander sind und sich nur in der Position der Phosphatgruppe unterscheiden.

b) 1 Molekül Enzym wandelt pro Minute 1240 Moleküle Substrat um. 1 mol Enzymmoleküle ( $\triangleq 62000 \text{ g} \triangleq 62 \cdot 10^6 \text{ mg}$ ) wandelt somit pro Minute 1240 mol ( $1240 \cdot 10^6 \mu\text{mol}$ ) Moleküle um. Die Aktivität von  $62 \cdot 10^6 \text{ g}$  Enzympräparat liegt also bei  $1240 \cdot 10^6$  Enzyme Units.

$$A_{\text{spez}} = \frac{A}{m(\text{Präparat})} = \frac{1240 \cdot 10^6 \text{ U}}{62 \cdot 10^6 \text{ mg}} = 20 \frac{\text{U}}{\text{mg}}$$

### 3.2

a)  $\beta$ -Amylase gehört zu den Hydrolasen, weil die Maltoseeinheit hydrolytisch abgespalten ist. Das erkennt man an der Reaktionsgleichung an der Spaltungsstelle:  $\dots\text{C-O-C}\dots + \text{HOH} \rightarrow \dots\text{C-OH} + \text{HO-C}\dots$

b) Wenn 1 mg die Aktivität von 12 Units besitzt ( $A_{\text{spez}} = 12 \text{ U/mg}$ ), dann besitzen 30 Milligramm die Aktivität von 360 Units. Pro Minute werden also 360  $\mu\text{mol}$  Maltose gebildet. In 30 Minuten bilden sich damit 10800  $\mu\text{mol}$  Maltose.

$$m(\text{Maltose}) = n(\text{Maltose}) \cdot M(\text{Maltose}) = 10800 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot 342,3 \text{ g/mol} \approx 3,70 \text{ g.}$$

c) Das Enzym spaltet kein genau definiertes Substratmolekül mit z.B. gegebener molarer Masse. Es kann sich beim Substrat z.B. um Amylose oder auch um Dextrine mit unterschiedlicher Länge handeln. Da kein exakt definiertes Substratmolekül angegeben werden kann, definiert man hier die Enzyemeinheit zweckmäßiger mit der Stoffmenge an sich bildendem Produkt (und nicht Substrat). Eines der Produkte ist nämlich exakt definiert: Es bildet sich stets um Maltose. Man kann also bei diesem Enzym nicht von „ $\mu\text{mol}$  Substratumsatz pro Minute“ sprechen, weil das Substrat variabel ist.

### 3.3

a) 15 mg Nitrophenol sind 107,84  $\mu\text{mol}$  Nitrophenol. Zur Bildung dieser Stoffmenge müssen auch 107,84  $\mu\text{mol}$  pNPP gespalten werden. Pro Minute spalten sich also 10,784  $\mu\text{mol}$  pNPP. Die Aktivität beträgt somit  $A = 10,784 \text{ U} \approx 10,8 \text{ U}$ .

$$b) n(\text{Enzym}) = \frac{m(\text{Enzym})}{M(\text{Enzym})} = \frac{300 \cdot 10^{-6} \text{ g}}{89000 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 3,37 \cdot 10^{-9} \text{ mol Enzym.}$$

Diese Enzymmenge kann pro Minute 10,784  $\mu\text{mol}$  pNPP spalten (siehe auch Ergebnis aus a).

Dreisatz (Schlussrechnung): Berechnung der Stoffmenge Substrat pro mol Enzym

$$\begin{array}{l} 3,37 \cdot 10^{-9} \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad 10,784 \cdot 10^{-6} \text{ mol Substrat} \\ 1 \text{ mol E.} \quad \triangleq \quad x \text{ Substrat} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 3,37 \cdot 10^{-9} \text{ mol E.} \\ 1 \text{ mol E.} \end{array}} \right\} x \approx 3200 \text{ mol}$$

1 mol Enzym kann pro Minute 3200 mol Substrat spalten. Bzw. 1 Enzymmolekül kann pro Minute 3200 Substratmoleküle spalten.  $\Rightarrow t_n = 3200 \text{ min}^{-1}$ .