Substratsättigungskurve eines Enzyms und MICHAELIS-Konstante

CC BY NC SA
↓: laborberufe.de

1. Beeinflussung der Enzymaktivität durch die Substratkonzentration: Die Substratsättigungskurve

Um die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Substratkonzentration zu untersuchen, kann man eine ganze Versuchsreihe starten. In jedem Ansatz immer gleich viel Enzym eingesetzt. einzelnen Ansätzen variierte nur in der Substratkonzentration, die dem Enzym zur Verfügung gestellt werden. Schon nach wenigen Sekunden nach Zugabe des Substrats werden die Reaktionen abgestoppt und die bis dahin umgesetzten Substratmenge bestimmt. Sie sind ein Maß für die jeweilige **Reaktionsgeschwindigkeit (*Enzymaktivität*, *EA*),** *also* wie viel Substrat das Enzym pro Zeitintervall umsetzte.

Die grafische Auftragung zeigt das Ergebnis einer solchen Versuchsreihe. Jeder Ansatz der Reihe ergibt einen Datenpunkt. Wenn man die Datenpunkte zu einer Kurve verbindet, kommt man zu folgendem Verlauf:

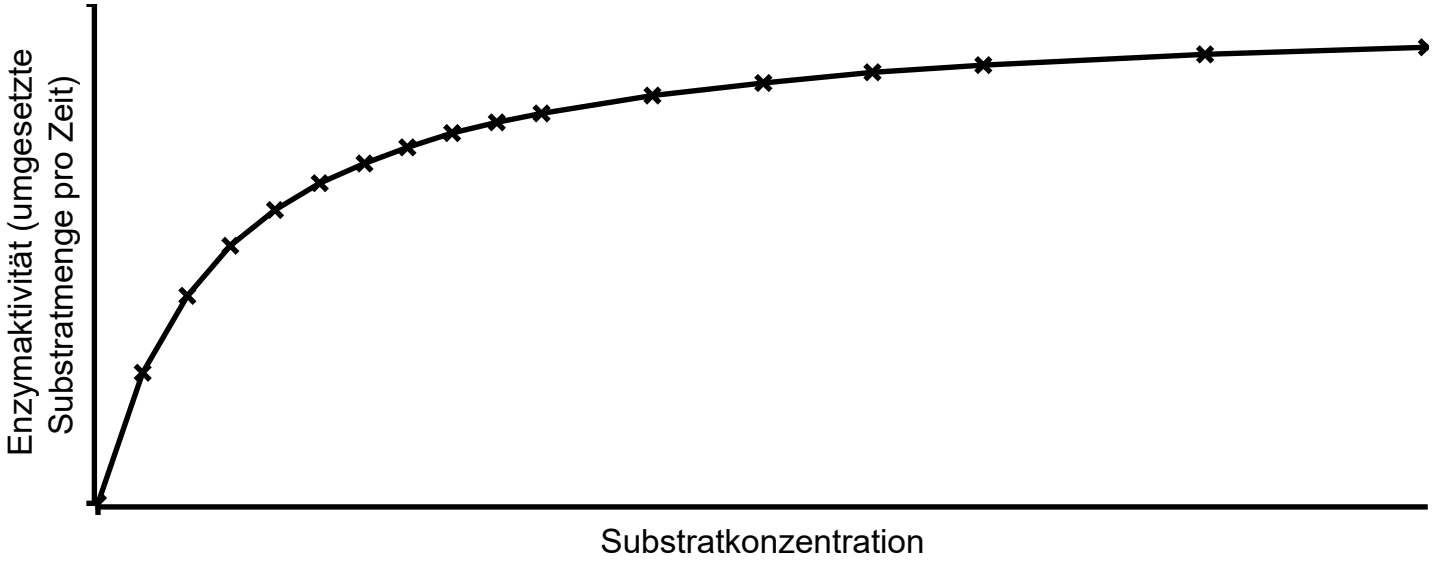


Abb. 1.1 *Substratsättigungskurve eines Enzyms* Q: e W

1.1 *Erklären Sie den Kurvenverlauf der* ***SubstratSÄTTIGUNGSskurve*** *mithilfe der folgenden Abbildung :*

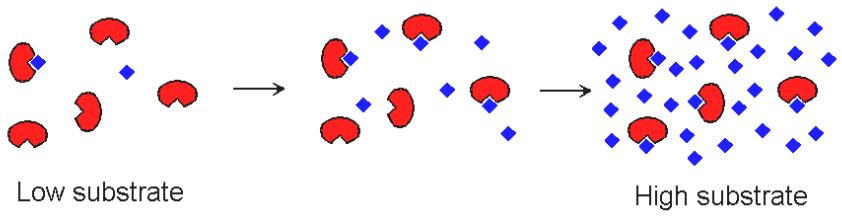


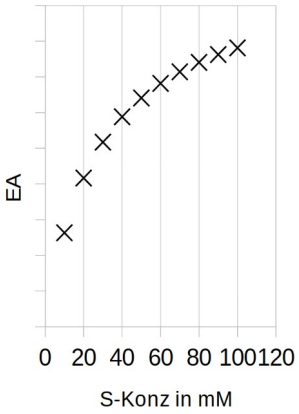
Abb. 1.2: Argumentationshilfe für die Substratsättigungskurve. Quelle: wikimedia.org. TimVickers

1.2 *Bei manchen Enzymen tritt bei sehr hohen Substratkonzentrationen sogar eine Verringerung der Enzymaktivität auf (Substrathemmung). Wie kann man das mechanistisch anhand Abb. 3.2 erklären?*

2. Beispiel Katalase und die MICHAELIS-Konstante eines Enzyms

Die **Katalase** ist ein Enzym, das in fast allen aerob lebenden Organismen zu finden ist, vor allem in der Leber. Sie spaltet das natürlicherweise in den Zellen entstehende, giftige Wasserstoffperoxid zu H_2O und O_2.: $\mathbf{2\,H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O}$

In einer Versuchsreihe wurde immer gleich viel Enzym eingesetzt und dabei die Substratkonzentration von 10 – 100 mmol/L in 10 mM-Schritten variiert. Schon nach wenigen Sekunden wurden alle Reaktionen abgestoppt und die bis dahin entstandenen O_2-Mengen bestimmt. Sie sind ein Maß für die jeweilige **Reaktionsgeschwindigkeit (*Enzymaktivität*, *EA*)**, *also* wie viel Substrat das Enzym pro Zeitintervall umsetzte. Die grafische Auftragung zeigt eine gekrümmte Anordnung der Messpunkte.



Die Kurvenanpassung mit einer App zeigt, dass die Modellfunktion

$$y = \frac{a \cdot x}{b + x}$$

am besten zu den Messpunkten passt. Die optimalen Parameter a und b betragen laut App:

a = 1,0 und b = 28,0.

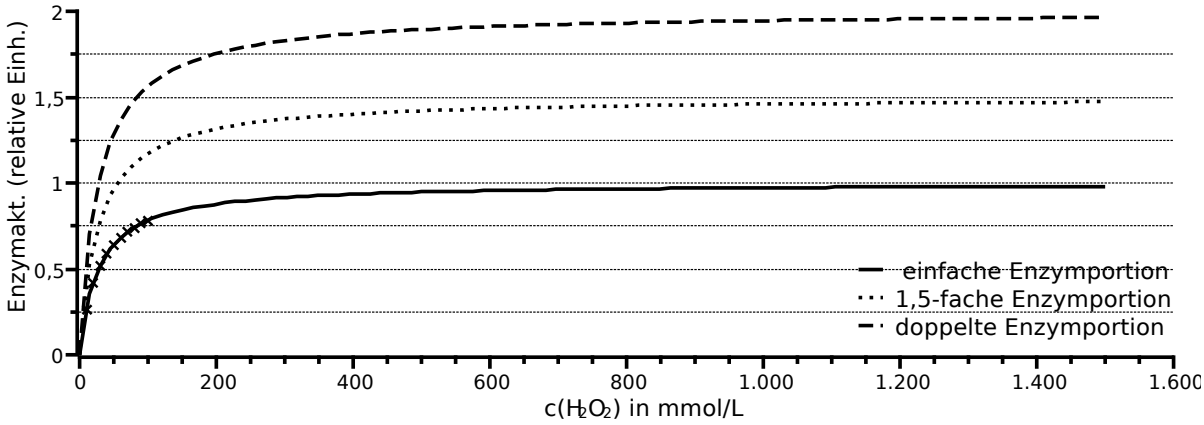
Die Variable x entspricht der S-Konzentration, der y-Wert der Enzymaktivität. Setzt man mit diesen Parametern für x die jeweilige S-Konzentration ein, so resultieren y-Werte die gut zu den an den tatsächlichen gemessenen Enzymaktivitäten passen.

Man kann den Funktionsgraphen auch noch weiter führen, über den tatsächlich genutzten S- Konzentrationsbereich (0 – 100 mM) hinaus. Es ergibt sich die Substratsättigungskurve mit der durchgezogenen Linie in der Abbildung unten *(siehe dort!)*. Man sieht die im tatsächlich gemessenen Konzentrationsbereich auch noch die Kreuze.

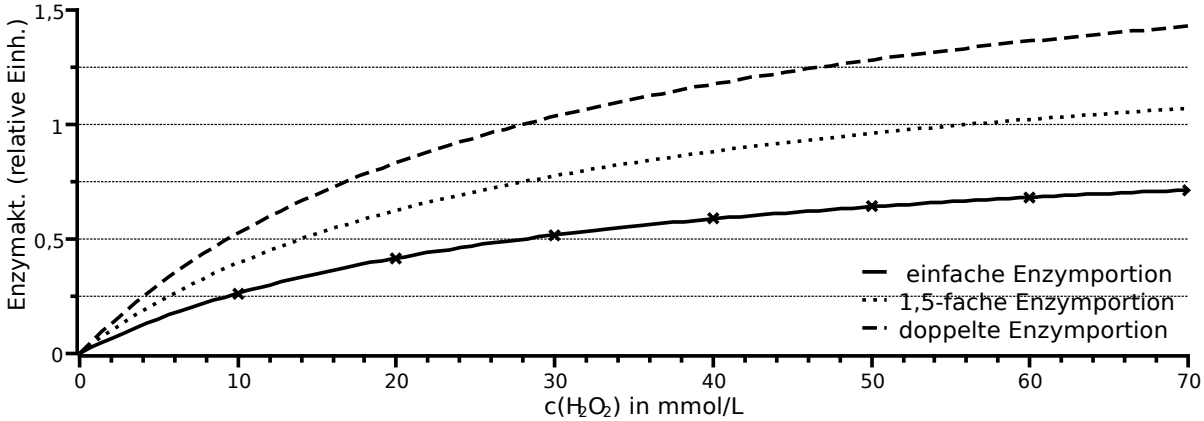
Häufig ist es so, dass die Enzymaktivitäten nur bei relativ niedrigen S-Konzentrationen gemessen werden können. Ein Grund hierfür ist, dass die Substrat-Moleküle sich häufig gar nicht in höheren Konzentrationen lösen lassen. Wie in unserem Beispiel ist experimentell in solchen Fällen nicht die gesamte Kurve zugänglich, sondern nur der linke, stärker gekrümmte Teil.

Solche Kurven, die die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Substratkonzentration darstellen, werden **Substratsättigungskurven** genannt. Man hat die Versuchsreihe zweimal wiederholt, diesmal aber mit der 1,5-fachen und der doppelten Enzymportion. Insgesamt resultierten folgende Substratsättigungskurven.

2.1 Zeichnen Sie als waagrechte Linien die maximalen Enzymaktivitäten (v_{max}) ein, denen sich die Kurven asymptotisch nähern.



*2.2 Die Substratkonzentration bei denen jeweils ½ v_{max} erreicht wird, wird **MICHAELIS-Konstante (K_M)** genannt. Ermitteln Sie den/ die K_M anhand des folgenden feiner aufgelöster Ausschnitts desselben (!) Diagramms.Ergänzen Sie anschließend den Lückentext auf der Folgeseite.*



Es lässt sich erkennen, dass mit steigender …….. auch v_{max} zunimmt. Die ……., also die Substratkonzentration bei der …….. erreicht ist, bleibt dabei unverändert. Der Wert ist für ein bestimmtes Enzym bei gegebenen Rahmenbedingungen konstant. Bei der Katalase beträgt die Michaelis-Konstante bei Messung mit H_2O_2 als Substrat bei optimalen Rahmenbedingungen K_M = …… mmol/L. K_M entspricht dem Parameter …… der Modellfunktion (Michaelis-Menten-Gleichung). Der andere Parameter (…) entspricht …….. . Dieser Wert wird auch theoretisch durch die Substratsättigungskurve nie ganz erreicht. In der Praxis ist das Substrat oft nicht so wasserlöslich, als das man Werte in der Nähe von v_{max} messen kann.

<u>Merke</u>

v_{max} wird nie erreicht, auch theoretisch nicht. Die Kurve nähert sich bei extrem hohen S-Konzentrationen diesem Wert lediglich an. In der Praxis kommt man auch nicht in die Nähe von v_{max}, weil die hierfür notwendigen Substratkonzentrationen sich gar nicht lösen lassen. Trotzdem kann man durch Extrapolation V_{max} und K_M bestimmen.