

# Lösung 11

Musterlösung zum Übungsblatt 11 vom 21.5.2018

## 1 Glukose Transport durch eine Zellmembran

1. Der Unterschied des  $\text{Na}^+$  elektrochemischen Potentials zwischen den beiden Seiten der Membran ist eine Energiequelle, um Glukose gegen ihren chemischen Potentialgradient zu transportieren. Aus diesem Grund ist es ein Aktives Transport System. Da es weder ATP noch andere chemische Energie braucht, ist es ein sekundärer aktiver Transport oder Cotransport. Da  $\text{Na}^+$  und Glukose in die gleiche Richtung transportiert werden, ist es ein Symport.
2. Der Transport von Glukose in die Epithelzelle gegen den Konzentrationsgradienten ist mit dem Fluss von  $\text{Na}^+$  gekoppelt. Die Bedingung, die für einen solchen Cotransport von Glukose erfüllt sein muss, ist:

$$\Delta G_{\text{Gluc}} + \Delta G_{\text{Na}^+} < 0 \quad (1)$$

oder

$$\Delta G_{\text{Gluc}} < -\Delta G_{\text{Na}^+}. \quad (2)$$

Für  $\Delta G$  des Transports verwenden wir die Differenz des elektrochemischen Potentials:

$$\Delta \tilde{\mu} = RT \ln \frac{c''}{c'} + zF(\varphi'' - \varphi') \quad (3)$$

Unter Berücksichtigung der Ladungen (Glukose:  $z = 0$ ,  $\text{Na}^+$ :  $z = 1$ ) und der Definition des Membranpotential,  $V_m = \varphi_i - \varphi_a$ , kann Gl.(2) wie folgt ausgedrückt werden:

$$\underbrace{RT \ln \frac{[\text{Gluc}]_i}{[\text{Gluc}]_a}}_{\text{chemisches Potential}} < \underbrace{-RT \ln \frac{[\text{Na}^+]_i}{[\text{Na}^+]_a}}_{\text{chemisches Potential}} - \underbrace{F V_m}_{\text{elektrisches Potential}} \quad (4)$$

$$\frac{[\text{Gluc}]_i}{[\text{Gluc}]_a} < \frac{[\text{Na}^+]_a}{[\text{Na}^+]_i} e^{-FV_m/RT} \quad (5)$$

$$\frac{[\text{Gluc}]_i}{[\text{Gluc}]_a} < \frac{140 \text{ mmol/L}}{40 \text{ mmol/L}} e^{-96500 \text{ C/mol} \cdot (-0.08) \text{ V} / (8.3145 \text{ J/Kmol} \cdot 310 \text{ K})} \quad (6)$$

$$\frac{[\text{Gluc}]_i}{[\text{Gluc}]_a} < 69.9 \quad (7)$$

Das maximale Konzentrationsverhältnis  $[\text{Gluc}]_i/[\text{Gluc}]_a$ , welches mit diesen Bedingungen ( $T=37^\circ\text{C}$ ) erreicht werden kann, ist:  $[\text{Gluc}]_i/[\text{Gluc}]_a \approx 70$ .

3. Die freie Enthalpie, die für einen primären aktiven Transport von Glukose mit dem maximalen Konzentrationsverhältnis von 69.9 benötigt wird, ist gegeben durch:

$$\Delta G_{\text{Gluc}}^{\text{max}} = RT \ln \left\{ \frac{[\text{Gluc}]_i}{[\text{Gluc}]_a} \right\}^{\text{max}} \quad (8)$$

$$= 8.3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} \cdot 310 \text{ K} \cdot \ln 69.9 \quad (9)$$

$$= 10.9 \text{ kJ mol}^{-1} \quad (10)$$

4. Die freie Enthalpie, die durch den Fluss von Natriumionen in die Zelle freigesetzt wird, ist gegeben durch

$$\Delta G_{\text{Na}^+} = RT \ln \frac{[\text{Na}^+]_i}{[\text{Na}^+]_a} + zFV_m \quad (11)$$

$$= 8.3145 \text{ J/mol K} \cdot 310 \text{ K} \cdot \ln \frac{40 \text{ mmol/L}}{140 \text{ mmol/L}} - 9.65 \times 10^4 \text{ C/mol} \cdot 0.08 \text{ V} \quad (12)$$

$$= -10.9 \text{ kJ mol}^{-1} \quad (13)$$

Das ist gemäss Gleichung (2) das Negative von  $\Delta G_{\text{Gluc}}^{\text{max}}$ .

5. Natrium wird mit Hilfe einer  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase unter Aufwendung von Energie in Form von ATP aus der Zelle gepumpt. Der einzige Schritt in diesem System, welcher Energie in Form von ATP benötigt, ist das Aufrechterhalten des  $\text{Na}^+$ -Gradienten. Die Epithelzelle hat auf der einen Seite Kontakt zum Darmlumen und auf der anderen Seite zu den Kapillaren des Blutkreislaufs. Glukose wird kontinuierlich mit einem passiven Transport in das Blut abgegeben und im Körper verteilt, dadurch wird das maximale Konzentrationsverhältnis von Glukose nie erreicht.
6. Das Membranpotential, welches nur durch den  $\text{Na}^+$ -Gradienten verursacht würde, lässt sich mit der Nernst Gleichung berechnen:

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_a}{c_i} \quad (14)$$

Wenn das Membranpotential nur durch Natrium zustande käme, wäre  $V_m$  in diesem Fall +33 mV. Das Membranpotential wird hauptsächlich durch einen  $\text{K}^+$ -Gradienten hervorgerufen. Wenn das Membranpotential nur durch Natriumionen aufgebaut würde, wäre es positiv, was für eine Zelle tödlich wäre.

## 2 Michaelis-Menten Enzym Kinetik

1. Die Einheit der Reaktionsgeschwindigkeit lautet  $[v] = \frac{\text{mol}}{\text{l s}}$ . Aus dem Vergleich der Einheiten der angegebenen Geschwindigkeitskonstanten mit den Geschwindigkeitsgesetzen 0. und 1. Ordnung,

$$v_{0.\text{Ord.}} = k_0 \quad (15)$$

$$v_{1.\text{Ord.}} = k_1 c, \quad (16)$$

ergibt sich für die unkatalysierte Reaktion eine beobachtete Reaktionsordnung von 1 und für die enzymkatalysierte Reaktion eine beobachtete Reaktionsordnung von 0.

- Die beobachteten Reaktionsordnungen hängen von den Reaktionsbedingungen ab. Eine enzymatisch katalysierte Reaktion kann pseudo-nullter Ordnung sein (im Bezug auf das Substrat), wenn die Enzyme vollkommen gesättigt sind. In dieser Situation würde Hinzufügen von weiterem Substrat die Enzyme nicht schneller arbeiten lassen und die Reaktionsgeschwindigkeit  $v_{\max}$  ist maximal. Grundsätzlich hängt die Reaktionsgeschwindigkeit immer noch von der Enzymkonzentration ab (siehe Gleichung (20) unten), aber da das Enzym ein Katalysator und nicht ein Reaktant ist, wird es häufig bei der Beschreibung der effektiven Geschwindigkeit ignoriert.

Die nicht katalysierte Reaktion ist in der Tat abhängig von der Wasserkonzentration. Da diese Reaktion aber mit einem grossen Überschuss an Wasser geschieht, ändert sich die Konzentration vom Wasser nicht signifikant während der Reaktion. Aus diesem Grund hängt die effektive Geschwindigkeit nur von der Konzentration von  $\text{CO}_2$  ab. Die Wasserkonzentration wird als konstant angenommen und mit der eigentlichen Geschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung zusammengefasst und ergibt dann die effektive Geschwindigkeitskonstante 1. Ordnung.

- Nach der Michaelis–Menten-Kinetik gilt für die Reaktionsgeschwindigkeit

$$v = \frac{k_2 [\text{E}]_0 [\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}, \quad (17)$$

d.h. die Substratkonzentration  $[\text{S}]$  geht sowohl im Zähler als auch im Nenner in die Geschwindigkeitskonstante ein.  $K_M$  ist die Michaelis-Konstante.

- Geht man von einer Substratkonzentration  $[\text{S}] \gg K_M$  aus, so kann  $K_M$  im Nenner von Gl. (17) gegenüber  $[\text{S}]$  vernachlässigt werden und man kann  $[\text{S}]$  kürzen. Damit erhält man eine Reaktion 0. Ordnung in  $[\text{S}]$ , d.h. die Reaktionsgeschwindigkeit hängt nicht von der Substratkonzentration ab.

$$v = k_{\text{eff}} = k_2 [\text{E}]_0. \quad (18)$$

Chemisch bedeutet dies, dass alle aktiven Taschen der vorhandenen Enzyme mit Substrat belegt sind. Geschwindigkeitsbestimmend wird in diesem Fall nur die eigentliche Reaktionsgeschwindigkeit des Substrat-Enzym Komplexes zum Produkt und freiem Enzym. Das vorgeschaltete Gleichgewicht  $\text{E} + \text{S} \rightleftharpoons \text{ES}$  liegt durch den

Überschuss an Substrat quasi vollständig auf der rechten Seite und ist für die Gesamtgeschwindigkeit der Reaktion irrelevant.

5. Durch Umformen erhält man für das Michaelis-Menten-Gesetz:

$$v = \frac{k[E]_0}{\frac{K_M}{[S]} + 1} \quad (19)$$

$$v_{\max} = k[E]_0 \quad \text{falls } [S] \rightarrow \infty \quad (20)$$

6. Einsetzen von  $v_{\max}$  und den Kehrwert der Gleichung bilden ergibt:

$$\underbrace{\frac{1}{v}}_y = \underbrace{\frac{1}{v_{\max}}}_q + \underbrace{\frac{K_M}{v_{\max}}}_m \underbrace{\frac{1}{[S]}}_x \quad (21)$$

7. Führt man eine lineare Regression mit den Daten für die Gleichung 21 durch, erhält man für die Steigung  $m = 84.43 \text{ s}$  und für den Achsenabschnitt  $q = 3084.5 \text{ s M}^{-1}$ .

Dann erhält man mit

$$v_{\max} = \frac{1}{q} = 3.24 \cdot 10^{-4} \text{ M s}^{-1} \quad (22)$$

$$K_M = m v_{\max} = \frac{m}{q} = 2.73 \cdot 10^{-2} \text{ M} \quad (23)$$

$$k = \frac{v_{\max}}{[E]_0} = 1.08 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1} \quad (24)$$

### 3 Enzymkinetik und Umsatzraten

1. a) Die Masse der Acetylcholinesterase beträgt

$$M = 270 \text{ kDa} = 270 \text{ kg mol}^{-1} = 2.7 \cdot 10^8 \text{ mg mol}^{-1}.$$

Die Aktivität  $a$  beträgt  $10^4$  Einheiten pro mg oder

$$10^4 \frac{\text{Einheiten}}{\text{mg}} \cdot 2.7 \cdot 10^8 \frac{\text{mg}}{\text{mol}} = 2.7 \cdot 10^{12} \frac{\text{Einheiten}}{\text{mol}}.$$

Eine Einheit setzt  $3.5 \mu\text{mol}$  Substrat um pro Minute oder  $1 \text{ Einheit} = \frac{3.5}{60} \cdot 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{s}}$ . Alles zusammen ergibt ein Umsetzungsrate

$$k_{\text{cat}} = a = 2.7 \cdot 10^{12} \frac{\text{Einheiten}}{\text{mol}} = 2.7 \cdot 10^{12} \frac{\frac{3.5}{60} \cdot 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{s}}}{\text{mol}} = 157500 \text{ s}^{-1}.$$

Somit werden also pro Enzym Acetylcholinesterase maximal 157'500 Moleküle Substrat umgesetzt (da das Enzym bei dieser Geschwindigkeit gesättigt ist).

b) Mit der Michaelis-Menten Gleichung erhält man

$$\begin{aligned}
 v &= \frac{k_{\text{cat}}[S][E]_0}{K_M + [S]} \\
 &= \frac{157500 \frac{1}{s} \cdot 2.2 \cdot 10^{-7} \frac{\text{mol}}{l} \cdot 3.8 \cdot 10^{-4} \frac{g}{l} \cdot \frac{\text{mol}}{270 \cdot 10^3 g} \cdot 60 s}{8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{mol}}{l} + 2.2 \cdot 10^{-7} \frac{\text{mol}}{l}} \frac{1}{\text{min}} \\
 &= 3.65 \cdot 10^{-6} \frac{M}{\text{min}} = 3.65 \frac{\mu M}{\text{min}}
 \end{aligned}$$

2. In der Vorlesung wurde gezeigt, in welcher Grössenordnung das Verhältnis zwischen katalytischer Reaktionskonstante und Michaelis-Menten Reaktionskonstante liegen muss, damit eine Reaktion diffusionskontrolliert ist. Für die hier berechneten Werte findet man

$$k_{\text{cat}}/K_M = \frac{157500 \frac{1}{s}}{8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{mol}}{l}} = 1.97 \cdot 10^8 \frac{1}{M \cdot s}$$

Damit ist die Reaktion fast diffusionskontrolliert (von diffusionskontrolliert spricht man, sobald  $k \approx 10^9 - 10^{11} M^{-1} s^{-1}$ ).

3. Da laut Aufgabenstellung das Medikament nur an die Acetylcholinbindungsstelle bindet (und nicht an den ACE-AC-Komplex) handelt es sich um einen kompetitiven Inhibitor.
4. Man kann mit der Form der Lineweaver-Burk Kurve argumentieren (in der Vorlesung behandelt). Dann kommt es auf die Schnittpunkte der Geraden mit  $[I] = 0$  und  $[I] > 0$  an. Man kann aber auch mit der Grafik im Skript auf Seite 112 argumentieren. Dann kann man die Geschwindigkeit bei verschiedenen Substratkonzentrationen messen. Tut man dies auch ohne Hemmung, dann kann man schon mal kompetativ von den anderen unterscheiden (dann ist  $v_{\text{max}}$  gleich der ungehemmten Reaktion). Wenn dies nicht zutrifft, kann man  $K_M$  aus dem Geschwindigkeitsgesetz unter Kenntnis der Anfangs-Enzymkonzentration bestimmen. Damit wird zwischen unkompetitiver und nicht-kompetitiver Hemmung unterschieden.