

# **1. Wie viele freie Protonen befinden sich bei pH 7.0 in einer *E. coli* Zelle?**

**Annahme: Das Volumen einer *E. coli* Zelle entspricht einer Kugel mit einem Durchmesser von 1  $\mu\text{m}$ .**

**Kugelvolumen:**      $V = \frac{4}{3} r^3 \pi;$      r : Kugelradius

## **2. Wie hoch ist die Konzentration Protein-gebundener Protonen?**

Wir haben abgeschätzt, dass in einer *E. coli* Zelle bei pH 7.0 nur ca. 30 freie Protonen ( $H^+$ ) vorkommen, während jede *E. coli* Zelle ca. 20000 Ribosomen hat mit einer Molekülmasse von je 2.5 MDa. Wo stecken die restlichen Protonen? Die Antwort ist, dass die meisten Protonen an die basischen Aminosäureseitenketten der zellulären Proteine gebunden sind. Wir rechnen nun aus:

**1. Wie viele Proteinmoleküle kommen in einer *E. coli* Zelle vor?**

**2. Wie viele Protein-gebundene Protonen sind in einer *E. coli* Zelle?**

Verwenden Sie hierzu die folgenden Angaben:

**Proteinkonzentration in der Zelle in g/L: 300 g/L**

**Volumen einer *E. coli* Zelle:  $5.2 \cdot 10^{-16}$  L**

**Durchschnittliche Länge eines Proteins: 300 Aminosäuren**

**Durchschnittliche Masse einer Aminosäure in einem Protein: 110 Da**

**Durchschnittlicher relativer Anteil der basischen Aminosäuren in einem Protein:**

**Lysin: 5.7%; Arginin: 5.0 %**

**3. Eine enzymatisch katalysierte Reaktion wird durch Absorptionsspektroskopie über den zeitlichen Anstieg der spezifischen Absorption des Reaktionsprodukts gemessen. Es gelten folgende Bedingungen:**

**Anfangskonzentration des Substrats: 0.1 mM**

**Konzentration des Enzyms: 0.1  $\mu$ M**

**$K_M$ -Wert des Substrats: 1 mM**

**$k_{cat}$ -Wert des Enzyms: 100 s<sup>-1</sup>**

**Extinktionskoeffizient des Produkts: 6000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>**

**Wie hoch ist die gemessene Anfangsgeschwindigkeit?**

**Wie hoch ist die zeitliche Absorptionszunahme ( $\Delta A/s$ ) im Bereich der Anfangsgeschwindigkeit?**

**Hinweis: Schichtdicke der Küvette = 1 cm**

**4. Ein Protein P bindet seinen Liganden L mit einer Dissoziationskonstante von**

**$K_{\text{Diss}} = 20 \mu\text{M}$ . Es gilt:  $[\text{L}_{\text{tot}}] \gg [\text{P}_{\text{tot}}]$**

- Wie hoch ist der prozentuale Besetzungsgrad des Proteins (% PL) mit dem Liganden bei  $[\text{L}_{\text{tot}}] = 4 \mu\text{M}$ ?**
- Um welchen Faktor müssen Sie die Ligandenkonzentration erhöhen, um einen Besetzungsgrad von 80% zu erreichen?**

**5. Sie möchten eine enzymatisch katalysierte Reaktion bei einer Substratkonzentration von 5  $\mu\text{M}$  mit einer Anfangsgeschwindigkeit von 0.05  $\mu\text{M/s}$  ablaufen lassen. Es gelten die folgenden Bedingungen:**

- $K_M$ -Wert des Substrats: 20  $\mu\text{M}$**
- $k_{\text{cat}}$ -Wert des Enzyms: 500  $\text{s}^{-1}$**
- die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet**

**Sie starten die Reaktion durch Zugabe des Enzyms. Wie hoch muss die Endkonzentration des Enzyms sein?**