

Übung 11

Ausgabe 21.05.2018

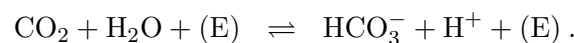
1 Glukose Transport durch eine Zellmembran

Die Aufnahme von Glukose in das Dünndarmepithel wird durch den Na^+ -Ionen Gradienten ermöglicht. Die Konzentration von Na^+ im Darm ist $c_{\text{Na}^+}^a = 140 \text{ mmol/L}$, in der Epithelzelle ist die Konzentration von Na^+ $c_{\text{Na}^+}^i = 40 \text{ mmol/L}$ und das Membranpotential weist $V_m = -80 \text{ mV}$ auf. Die Temperatur im Dünndarm beträgt dabei 37°C .

1. Welcher Transporttyp ist der Na^+ /Glukose Transport?
2. Berechnen Sie auf Grundlage der freien Enthalpien ΔG das maximale Konzentrationsverhältnis $c_{\text{Gluc}}^i/c_{\text{Gluc}}^a$, welches durch dieses Transportsystem überwunden werden kann.
3. Berechnen Sie die freie Enthalpie ΔG , die für einen primären aktiven Transport von Glukose in die Epithelzelle erforderlich wäre (Nettoladung der Glukose $z = 0$). Benützen Sie für die Berechnung das maximale Konzentrationsverhältnis $c_{\text{Gluc}}^i/c_{\text{Gluc}}^a$, das Sie in Teilaufgabe 2 erhalten haben.
4. Berechnen Sie die freie Enthalpie ΔG , die durch den Fluss von Na^+ in die Zelle zustande kommt.
5. In diesem System wäre der Na^+ -Gradient, der für die Aufnahme von Glukose in die Epithelzelle erforderlich ist, schnell zerstört. Wie stellt der Organismus sicher, dass der Na^+ -Gradient konstant bleibt? Wieso wird das in Aufgabenteil 2 berechnete maximale Konzentrationsverhältnis von Glukose nie erreicht?
6. Kommt das Membranpotential von $V_m = -80 \text{ mV}$ nur durch den Na^+ -Gradienten zustande? Wenn nicht, welche weiteren Ionen beeinflussen das Membranpotential einer Zelle?

2 Michaelis-Menten Enzym Kinetik

Die Carboanhydrase ist ein Enzym, das im menschlichen Stoffwechsel eine wichtige Rolle spielt. Es katalysiert die Hydratisierung von Kohlenstoffdioxid zu Kohlensäure, welche nach folgendem Mechanismus abläuft:



Die Geschwindigkeitskonstante der nichtenzymatischen Reaktion beträgt $k = 1 \times 10^{-1} \text{s}^{-1}$. In Anwesenheit des Enzyms erhöht sich die effektive Geschwindigkeitskonstante auf $k_{\text{eff}} = 4 \times 10^6 \frac{\text{mol}}{\text{l s}}$

1. Anhand der Einheiten der Geschwindigkeitskonstanten sehen Sie, dass die empirisch gefundenen Reaktionsordnungen unterschiedlich sind. Geben Sie die jeweiligen Reaktionsordnungen an.
2. Wieso unterscheiden sich die Reaktionsordnungen? Wieso wird keine Reaktion zweiter Ordnung für die unkatalysierte Reaktion beobachtet, obwohl zwei Reaktanden daran beteiligt sind ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) ?
3. Wie hängt die Reaktionsgeschwindigkeit im enzymkatalysierten Fall allgemein von der Substratkonzentration ab, wenn die Reaktion der Michaelis-Menten-Kinetik gehorcht?
4. Unter welcher Voraussetzung folgt daraus die empirisch beobachtete Reaktionsordnung?

De Voe und Kistiakowsky (J. American Chemical Society 83 (1961), 274) studierten die enzymatisch katalysierte Kinetik von CO_2 . In dieser Reaktion geht CO_2 in Hydrogencarbonat über. Dieses wird in den Blutkreislauf transportiert und in den Lungen zu CO_2 umgesetzt. Die folgenden anfänglichen Reaktionsraten für die Hydrolyse von CO_2 wurden bei einer Start-Enzymkonzentration von 3.0 nM bei einer Temperatur von 0.5 °C ermittelt:

Rate $\left[\frac{\text{M}}{\text{s}}\right]$	$[\text{CO}_2]$ [mM]
3.2×10^{-5}	3
5.8×10^{-5}	6
1.02×10^{-4}	12
1.98×10^{-4}	48

5. Bestimmen Sie einen Ausdruck für die maximale Reaktionsgeschwindigkeit v_{max} ausgehend von der Michaelis-Menten-Gleichung:

$$v = \frac{k[\text{E}][\text{S}]}{K_{\text{M}} + [\text{S}]} \quad (1)$$

6. Linearisieren Sie Gleichung 1. Gehen Sie wie folgt vor: Setzen Sie den Ausdruck für v_{max} wieder in Gleichung 1 ein und bilden Sie den Kehrwert der Gleichung.
7. Führen Sie eine lineare Regression durch und bestimmen Sie v_{max} , die Michaelis-Menten-Konstante K_{M} und die Geschwindigkeitskonstante k .

3 Enzymkinetik und Umsatzraten

Das Enzym Acetylcholinesterase katalysiert die Spaltung von Acetylcholin unter Mithilfe von Wasser in Acetat und Cholin. Die Michaelis-Menten Konstante beträgt dabei $K_M = 8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$.

1. Die Acetylcholinesterase besitzt eine Molekülmasse von $M = 2.7 \cdot 10^2$ kDa. Die Aktivität des Enzyms beträgt 10^4 Einheiten pro mg Enzym. Eine Einheit setzt bei Standardbedingungen und Substratsättigung $3.5 \mu\text{mol}$ Substrat pro Minute um.
 - a) Berechnen sie die Umsatzrate k_{cat} (in Einheiten von $[1/\text{s}]$).
 - b) Wie viel Mol Acetylcholin werden pro Minute und Liter bei $[\text{E}]_{\text{tot}} = 3.8 \cdot 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{l}}$ und einer Acetylcholinkonzentration $[\text{S}] = 2.2 \cdot 10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ zu Beginn der Reaktion gespalten?
2. Ist diese enzymatische Katalysation diffusionskontrolliert?
3. Neostigmine ist ein Medikament, welches die Acetylcholinesterase durch Bindung an die Acetylcholinbindungsstelle inhibiert.
Welche Art von Inhibitor ist Neostigmine und wieso?
4. Wie kann man experimentell herausfinden was für ein Inhibitor Neostigmine ist (mit Zeichnung)?