1) Protein/Liganden-Bindungsgleichgewichte (4 P)

Eine wässrige Lösung enthält ein Protein P und seinen Liganden L. Die Gesamtkonzentration von L in der Lösung ist 0.1 M und wesentlich grösser als die Gesamtkonzentration von P ([Ltot] >> ([Ptot]). Nach Einstellung des Bindungs-gleichgewichts ist das Protein zu 20% mit dem Liganden besetzt.

- Berechnen Sie die Dissoziationskonstante (KDiss) des Protein-Ligandenkomplexes.

- Wie hoch müsste die Ligandenkonzentration sein, um einen Besetzungsgrad von 90% zu erreichen?

2) Enzymkinetik

a) Vervollständigen Sie die folgenden Diagramme (2 P)



b) Ein Enzym E katalysiert die Umwandlung eines Substrats S zum Produkt P. Es gelten folgende Bedingungen:

- Die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet, und die Rückwärtsreaktion P→S ist vernachlässigbar.

- Die katalysierte Reaktion wird durch Zugabe von Enzym zum Substrat gestartet.

- Gesamtkonzentration des Enzyms: [Etotal] = 1 . 10-8 M.

- Anfangskonzentration des Substrats: [S] = KM.

- Gemessene Anfangsgeschwindigkeit der Bildung von P: vi = 2 . 10-4 M s-1.

Berechnen Sie den kcat-Wert des Enzyms (Einheit: s-1) (1.5 P).

3. Welche der folgenden Aussagen sind richtig bzw. falsch (bitte ankreuzen) (2.5 P)?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| richtig | falsch |  |
| □ | □ | Energetisch ungünstige Reaktionen können in der Zelle ablaufen, wenn nur das Weiterreagieren des weniger stabilen Produkts enzymatisch katalysiert wird, so dass dieses aus dem Gleichgewicht gezogen wird. |
| □ | □ | Die Anfangsgeschwindigkeit von Reaktionen zweiter Ordnung verdoppelt sich, wenn die Anfangskonzentrationen verdoppelt werden. |
| □ | □ | Die Zeit, die ein Molekül braucht, um in der Zelle über eine bestimmte Distanz zu diffundieren, steigt linear mit der Distanz. |
| □ | □ | Der Hill Koeffizient von 2.8 für Hämoglobin bedeutet, das es keine Zustände von Hämoglobin gibt, in denen die vier Sauerstoffbindestellen nur teilweise besetzt sind. |
| □ | □ | Enzymkatalysierte Reaktionen: In Anwesenheit eines kompetitiven Inhibitors kann vmax bei sehr hohen Substratkonzentrationen immer noch erreicht werden. |
| □ | □ | Unkompetitive Inhibitoren können nur an den Enzym/Substratkomplex binden. Dadurch wird die Wechselwirkung zwischen Enzym und Substrat stabilisiert und der apparente KM-Wert ist in Gegenwart des Inhibitors kleiner als der KM-Wert in Abwesenheit des Inhibitors. |
| □ | □ | Wenn eines Molekül in zwei Zuständen vorkommt und im Gleichgewicht deren Verhältnis 1000:1 ist, ist die Energiedifferenz zwischen den Zuständen 17.1 kJ/mol bei 25°C. |

Protein/Liganden Bindungsgleichgewichte:

Zu einer Proteinlösung (Proteinkonzentration = konstant) wird schrittweise immer mehr Ligand zugegeben. Die Dissoziationskonstante des Protein/Ligandenkomplexes ist 10-8 M. Zeichnen Sie in das folgende Diagramm qualitativ den Anstieg des Besetzungsgrades Y nach Gleichgewichtseinstellung als Funktion der Ligandenkonzentration ein, und zwar für die Fälle [P] = 10-7, 10-8 und 10-9 M.



Kompetitive Enzyminhibition:

Zeichnen Sie (qualitativ) die Michaelis-Menten Diagramm für die folgenden Fälle:

i) kein kompetitiver Inhibitor; ii) in Gegenwart niedriger und iii) in Gegenwart hoher Konzentrationen eines kompetitiven Inhibitors.



Nicht-kompetitive Enzyminhibition:

Zeichnen Sie (qualitativ) die Michaelis-Menten Diagramm für die folgenden Fälle:

i) kein kompetitiver Inhibitor; ii) in Gegenwart niedriger und iii) in Gegenwart hoher Konzentrationen eines nicht-kompetitiven (allosterischen) Inhibitors.



Sie möchten den publizierten KM- und kcat-Wert eines Enzyms für ein bestimmtes Substrat überprüfen (KM = 1 M, kcat = 200 s-1). Die Produktbildung lässt sich über die Zunahme der Absorption bei 360 nm bestimmen, der molare Extinktionskoeffizient des Produkts ist 6000 M-1cm-1. Wie muss für den Fall, dass die publizierten Daten stimmen, bei einer Küvette mit 1 cm Schichtdicke die Enzymkonzentration gewählt werden, dass bei [S] = KM die Absorptionszunahme nach Mischen von Enzym und Substrat 0.05 min-1 beträgt?