

# PCII PVK Übungsaufgaben

Janik Schüttler  
janiks@ethz.ch

ETH Zurich — 18. Juni 2019

Dieses Skript beinhaltet Übungsaufgaben für den PCII-Teil des PC-PVKs im FS19. Die meisten Aufgaben sind angepasste ehemalige Prüfungsaufgaben von Prof. Riek und angepasste Übungsaufgaben von Prof. Riek und Prof. Merkt verwendet. Angepasst heisst hierbei, dass ich die ursprünglichen Aufgaben als Vorlage verwendet, teilweise gekürzt und ggf. um neue Aufgabenteile erweitert habe. Ich hoffe, dabei nicht zu viele keine Fehler eingebaut zu haben. Stammen die Fragen zumindest fast original so aus ehemaligen Prüfungen, habe ich die maximal erreichbare Anzahl Punkte vermerkt.

Die meisten der folgenden Angaben finden sich auf jeder Prüfung und sollen auch verwendet werden. Wenn euch in der Prüfung ein Zahlenwert fehlt, kann es gut sein, dass ihr ihn in dieser Tabelle findet.

Avogadro-Konstante	$N_A$	$6.02214 \times 10^{23} \frac{1}{\text{mol}}$
Boltzmannkonstante	$k_B$	$1.38066 \times 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$
Gaskonstante	$R$	$8.31451 \frac{\text{J}}{\text{K} \cdot \text{mol}}$
Elementarladung	$e_0$	$1.60218 \times 10^{-19} \text{C}$
Elektrische Feldkonstante	$\epsilon_0$	$8.85419 \times 10^{-12} \frac{\text{C}}{\text{Vm}}$
Faraday-Konstante	$F$	$9.64853 \times 10^4 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$
Dichte von Wasser	$\rho_{H_2O}$	$998 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Viskosität von Wasser	$\eta_{H_2O}$	$0.9 \times 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{m} \cdot \text{s}}$
durchschnittliche Lipiddichte	$\bar{\rho}_{Lipid}$	$1.1 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
durchschnittliche Proteindichte	$\bar{\rho}_{Prot}$	$1.4 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
durchschnittliche Detergenzdichte	$\bar{\rho}_{Detergenz}$	$1.12 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
durchsch. spezif. Volumen eines Proteins	$\bar{V}_{Prot}$	$0.73 \pm 0.02 \frac{\text{cm}^3}{\text{g}}$
durchsch. Gewicht einer Aminosäure	$\bar{m}_{As}$	115 Da
Masseneinheit Dalton	Da	1Da = $1.66 \times 10^{-27} \text{kg}$
Diffusionskonstante von Natrium Ionen $\text{Na}^+$	$D_{\text{Na}^+}$	$1.95 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$
Diffusionskonstante von Chloridionen $\text{Cl}^-$	$D_{\text{Cl}^-}$	$2.02 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$

# 1 Reaktionsmechanismen und kinetische Geschwindigkeitsgesetze aufstellen

- Reaktionsmechanismen und dazugehörige Differentialgleichungen
- Übersetzen von Texten in Reaktionsmechanismen
- Aufstellen der kinetischen Differentialgleichungen
- Lösungen der Differentialgleichungen
- Gängige Annahmen (Überschuss eines Reaktanden, stationäre Zustände, weit weg vom Gleichgewicht)

## 1.1 ATP Hydrolyse (FS17)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Adenosintriphosphat (ATP) ist ein wichtiger Energiespeicher in allen lebenden Organismen. Bei physiologischen Bedingungen wird ATP zu Adenosindiphosphat (ADP) und anorganischem Phosphat ( $P_i$ ) hydrolysiert mit einer Enthalpieänderung von  $\Delta G_{hyd} = -50 \text{ kJ/mol}$ .

- Schreiben Sie eine mögliche chemische Reaktion für die reversible Hydrolyse von ATP in Wasser auf. (1.5 P)
- Schreiben Sie die dazugehörigen Differentialgleichungen auf. (1.5 P)

## 1.2 Cyclophilin, eine Prolin *cis/trans*-Isomerase (HS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Die Proline *cis/trans*-Isomerisierung von Proteinen und Peptiden wird durch das Enzym Cyclophilin katalysiert.

- Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsmechanismus auf. Vergessen Sie dabei nicht, dass das Peptid selbst isomerisieren kann. (1 P)
- Schreiben Sie die dazugehörigen Differentialgleichungen auf. (1.5 P)
- Wie kann man experimentell die Reaktion vereinfachen und welche Annahmen können Sie treffen, um die Analyse der Reaktion zu vereinfachen? (0.5 P)

## 1.3 Carbonic Anhydrase (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Das 29 kDa schwere Protein Carbonic Anhydrase (CA) katalysiert die Reaktion von Kohlenstoffdioxid und Wasser zu Bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) und Protonen.

- Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsablauf, indem Sie alle beteiligten Reaktanden einbeziehen. (1 P)
- Ist die Reaktion realistisch?
- Schreiben Sie alle dazugehörigen Differentialgleichungen auf. (1.5 P)
- Welche drei vernünftige Annahmen kann man machen, um den Reaktionsverlauf und die dazugehörigen Differentialgleichungen zu vereinfachen? (1 P)

## 1.4 Theoriefragen

- Bei einer Reaktion 1. Ordnung ist die Geschwindigkeitskonstante gleich dem Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten der Hin- und Rückreaktion. Leiten Sie die Beziehung mittels kinetischer Argumente her. (2 P)

- b) Erklären Sie auf Basis der Stosstheorie, wieso die Reaktion 2. Ordnung  $A + A \rightleftharpoons P$  das Gleichgewicht schneller erreicht als die Reaktion 2. Ordnung  $A + B \rightleftharpoons P$ , wenn die Anfangssubstratkonzentrationen  $[A]_0$  und  $[B]_0$  so gewählt werden, dass die Endkonzentration des Produkts  $[P]_{t \rightarrow \infty}$  bei beiden Reaktionen gleich sind. (FS12) (1 P)
- c) Die Flugzeit  $\tau$  haben wir definiert als die mittlere Zeit eines Gasteilchens zwischen zwei Kollisionen. Wie gross ist die mittlere Zeit bis zur nächsten Kollision eines Gasteilchens, das während der Zeit  $\tau$  kollisionsfrei war (mit Erklärung)? (HS12) (1 P)

### 1.5 Prolin *cis/trans* Isomerisierung (HS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] In dem kurzen Peptidausschnitt mit der Aminosäuresequenz Ala-Phe-Pro-Phe findet spontan die Prolin *cis/trans*-Isomerisierung statt. Die Prolin *cis/trans*-Isomerisierung beschreibt den Prozess der Konfigurationsänderung der Peptidylbindung von Prolin von *trans* nach *cis* und umgekehrt.

- a) Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsmechanismus auf. (1 P)
- b) Ausgehend von 1. schreiben Sie die entsprechenden Differentialgleichungen und Erhaltungsgleichungen auf. (1 P)
- c) Ausgehend von 2. schreiben Sie die zeitaufgelösten Entstehung von  $[\text{Pro}_{\text{trans}}](t)$  auf unter der Annahme, dass zu Beginn des Experiments Prolin nur in der *trans*-Konfiguration vorhanden ist.
- d) Ausgehend von 2. schreiben Sie die zeitaufgelösten Entstehung von  $[\text{Pro}_{\text{trans}}](t)$  auf unter der Annahme, dass zu Beginn des Experiments Prolin nur in der *cis*-Konfiguration vorhanden ist. (0.5 P)

Die Gleichgewichtskonstante  $K_{Gl}$  der Prolin *cis/trans*-Isomerisierung mit  $\text{Pro}_{\text{trans}}$  als Edukt wurde experimentell zu 0.34 bestimmt ( $\text{Pro}_{\text{trans}}$  sei das Edukt). Die Rate  $k_1(\text{trans} \rightarrow \text{cis})$  mit  $0.0018 \text{ s}^{-1}$ .

- e) Geben Sie an, zu wieviel Prozent Prolin in der *trans*-Konfiguration im Gleichgewicht vorkommt. (0.5 P)
- f) Wie lange dauert es, bis die Reaktion im Gleichgewicht ist, wenn zu Beginn des Experiments Prolin nur in der *trans*-Konfiguration vorkommt? (0.5 P)
- g) Bestimmen Sie die Reaktionsrate  $k_{-1}$ . (0.5 P)

Angenommen das Peptid in der *cis*-Konfiguration würde sich spontan und schnell mit einem Protein B einen stabilen Komplex formen.

- h) Erweitern Sie Ihren Reaktionsmechanismus sowie die Differentialgleichungen.
- i) Welche Annahme kann man treffen, um die Differentialgleichungen zu vereinfachen?

### 1.6 HDL Particles (FS16)

[LINK ZUR PRÜFUNG] High density lipid protein (HDL) ist ein wichtiges Biomolekül, welches Cholesterol im Blut transportiert. Es spielt dabei eine wichtige Rolle im Entfernen von Cholesterol im Blut. Es besteht aus zwei ApoA-I Proteinen und einer Lipiddoppelschicht aufgebaut aus

etwa 100 Lipidmolekülen. Das Enzym LCAT ermöglicht durch Bindung an das HDL die Cholesterinkorporation in die Lipiddoppelmembran von HDL durch eine chemische Modifikation an Cholesterol in Cholesteryl Ester.

Für den folgenden Verlauf der Reaktion soll ein möglicher Reaktionsmechanismus aufgeschrieben werden: zwei ApoA-I Proteine bilden zusammen mit Lipiden ein HCL Partikel. An das HDL Partikel bindet das LCAT Enzym. Der LCAT/HDL Komplex bindet ein Cholesterolmolekül. Das Cholesterolmolekül wird modifiziert und im gleichen Schritt in die Lipiddoppelschicht integriert. Das LCAT Enzym trennt sich vom HDL.

- a) Schreiben Sie für die Reaktion einen möglichen Reaktionsmechanismus auf. (3 P)
- b) Notieren Sie die Einheiten der einzelnen Geschwindigkeitskonstanten Ihrer Reaktionsgleichung in Aufgabenteil 1. (1.5 P)
- c) Ausgehend von Aufgabenteil 1 schreiben Sie alle dazugehörigen Differentialgleichungen ( $\frac{dc}{dt}$ ) auf unter der Annahme eines grossen Überschuss von Lipiden. (4 P)

### 1.7 Amyloid Aggregation von $\beta$ -Lactoglobulin (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Bei pH 2 zerfällt das Protein  $\beta$ -Lactoglobulin durch Hydrolyse in entweder die zwei Fragmente A und B oder in die zwei Fragmente C und D. Das Fragment A aggregiert zu einem Nukleationskeim bestehend aus  $m$  Fragmenten  $A_m$ , welche dann durch weitere Bindung von Monomeren A zum Amyloid wächst. Ein Amyloid ist eine spezielle Form eines Aggregates, welches durch Bindung von neuem Peptid (hier das Fragment A) wächst.

- a) Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsablauf der einzelnen Teilreaktionen auf. (1.5 P)
- b) Begründen Sie, wieso die Rückreaktion vernachlässigt werden können. (0.5 P)
- c) Schreiben Sie die dazugehörigen Differentialgleichungen unter Vernachlässigung der Rückreaktion auf. (1.5 P)
- d) In dem obigen Reaktionsmechanismus mit Reaktionsgleichungen hat man vernachlässigt, dass Fibrillen der Grösse  $A_i$  brechen können in kleinere  $A_j$  und  $A_{i-j}$ -Stücke durch die Reaktion  $A_i \xrightarrow{k_f} A_j + A_{i-j}$ . Schreiben Sie die dazugehörigen Differentialgleichung für alle  $A_i$  nur für diese Subreaktion auf. Beachten Sie dabei, dass  $A_i$  auch entstehen können durch Bruch eines grösseren Fragments. (1 P)

## 2 Reaktionsordnung, Molekularität, verallgemeinerte Halbwertszeiten

### 2.1 Theoriefragen

- a) Wieso ist bei einer Folgereaktion ohne Rückreaktion  $A \xrightarrow{k_1} B \xrightarrow{k_2} P$  mit  $k_1 > k_2$  die zweite Teilreaktion der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion? (0.5 P)
- b) Erklären Sie allgemein und anhand eines Beispiels den Unterschied zwischen Reaktionsordnung und Molekularität.
- c) Was ist eine pseudo-Ordnung-Reaktion?
- d) Wie stehen Lebenszeit und Reaktionskonstante miteinander in Zusammenhang?

## 2.2 Molekularitäten und Reaktionsordnungen

Geben Sie die Molekularitäten und Reaktionsordnungen aller in Kapitel 1 besprochener Reaktionen an.

## 2.3 ATP Hydrolyse, Fortführung von 1.1 (FS17)

Die Publikation von Mildvan (1997) dokumentiert eine Reaktionskonstante pseudo-1.-Ordnung von der ATP-Hydrolyse in Wasser von  $4 \cdot 10^{-9}$  1/s bei pH 7.

- Ist ATP in Wasser bei pH 7 stabil? (1 P)
- Wieso hat Mildvan eine Reaktionskonstante pseudo-1.-Ordnung publiziert? (1 P)
- Berechnen Sie die dazugehörige (richtige) Reaktionskonstante 2. Ordnung. (1 P)

## 2.4 Verallgemeinerte Halbwertszeiten

Betrachten Sie eine Reaktion, die Stoff  $X$  verbraucht.

- Angenommen Ihnen wäre die allgemeine Zeitabhängigkeit der Konzentration von  $X$ , d.h.  $c_X(t)$  bekannt. Sie wollen die Zeit  $t_\gamma$  berechnen, zu der nur noch um  $0 < \gamma < 1$  so viel Stoff  $X$  vorhanden ist wie zu Beginn ( $t = 0$ ) der Reaktion. Geben Sie eine allgemeine Formel für  $t_\gamma$  in Abhängigkeit von  $c_X(t)$  an.  
*Hinweis: Sie müssen (und können allgemein) diese Formel nicht nach  $t_\gamma$  auflösen. Eine implizite Gleichung genügt.*

Nehmen Sie nun an, dass die Reaktion durch  $X + A \xrightarrow{k} P$  gegeben ist.

- Bestimmen Sie  $t_\gamma$  unter Zusätzlichen Annahme, dass  $c_X = c_A$ .
- Bestimmen Sie  $t_\gamma$  unter Zusätzlichen Annahme, dass  $A$  im grossen Überschuss vorliegt ist.
- Hängen die Ergebnisse jeweils von der Anfangskonzentration  $c_X(0)$  ab? Können Sie allgemein sagen, bei welchen Reaktionstypen  $t_\gamma$  von  $c_X(0)$  (un)abhängig ist?

Es sei nun zu Beginn der Reaktion  $c_X = c_A = 5 \text{ M}$  und  $k = 0.2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

- Bestimmen Sie die Zeit  $t_d$ , zu der Stoff  $X$  um 80% verglichen mit seiner Anfangskonzentration abgesunken ist.

## 2.5 Prolin *cis/trans* Isomisierung, Fortführung von 1.5 (HS12)

- Wie lange dauert es, bis 20% alles Prolins in der *cis*-Konfiguration vorkommt, falls alle Proline zu Beginn in der *trans*-Konfiguration vorlagen? (0.5 P)
- Wie lange dauert es, bis die Hälfte aller Proline in der *cis*-Konfiguration vorkommen? (0.5 P)

## 3 Michaelis-Menten

### 3.1 Theoriefragen

- Wie kann man experimentell eine kompetitive Enzymhemmung von einer unkompetitiven Hemmung unterscheiden? (FS17, FS16) (2 P)

- b) Schreiben Sie den Michaelis-Menten-Mechanismus sowie die Michaelis-Menten-Gleichung auf. Welche Annahmen trifft die Michaelis-Menten-Kinetik?

### 3.2 Corticotropin Releasing Factor (CRF) und sein Rezeptor I (HS10)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Der CRF-Rezeptor ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor (GPCR). Durch Bindung des Hormons CRF wird er aktiviert. Um die Bindungsaffinität von CRF an den CRF-Rezeptor zu messen, wird ein kompetitives Experiment mit einem radioaktiven Antagonisten durchgeführt. Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsmechanismus und die dazugehörigen kinetischen Differentialgleichungen auf. (2 P)

### 3.3 Carbonic Anhydrase, Fortführung von 1.3 (FS12)

Die Messung bei  $T = 25\text{ °C}$  ergeben  $k_{cat} = 1 \cdot 10^6\text{ 1/s}$  und eine Michaelis-Menten-Konstante  $K_M = 1.2 \cdot 10^{-2}\text{ M}$ .

- a) Wie gross ist die maximale Ratenkonstante der dazugehörigen Reaktion pseudo-2.-Ordnung bei kleiner Substatkonzentration? (1 P)
- b) Was sind die maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten der Carbonic Anhydrase bei einer Enzym-Konzentration von  $1\text{ }\mu\text{M}$  und  $10\text{ }\mu\text{M}$ ? Interpretieren Sie die Resultate. (1 P)

### 3.4 Cyclophilin, eine Prolin *cis/trans*-Isomerase, Fortführung von 1.2 (HS12)

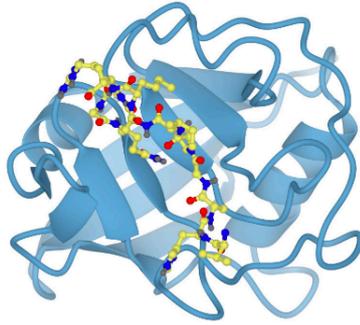
- a) Kann man diese komplexe Reaktion mit einer Michaelis-Menten-Kinetik beschreiben (mit Begründung)? (0.5 P)
- b) Unter der Annahme, dass der Reaktionsablauf von Cyclophilin durch eine Michaelis-Menten-Kinetik beschrieben werden kann mit  $k_{cat}(trans \rightarrow cis)$  von  $620\text{ 1/s}$  und  $K_M(trans \rightarrow cis)$  von  $220\text{ }\mu\text{M}$  bestimmen Sie die maximale Reaktionsgeschwindigkeiten von Cyclophilin bei einer Enzymkonzentration von  $1\text{ }\mu\text{M}$ . (1 P)

Interessanterweise hat man experimentell festgestellt, dass es zusätzlich für  $k_{cat}(trans \rightarrow cis) = 620\text{ 1/s}$  und  $K_M(trans \rightarrow cis) = 220\text{ }\mu\text{M}$  auch die entsprechenden Konstanten der Rückreaktion  $k_{cat}(cis \rightarrow trans) = 680\text{ 1/s}$  und  $K_M(cis \rightarrow trans) = 80\text{ }\mu\text{M}$  gibt.

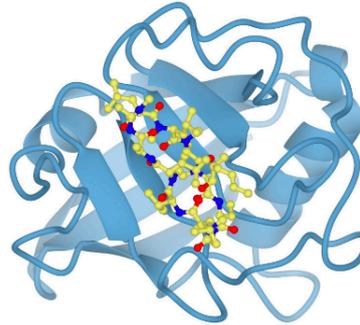
- c) Wie ist es möglich, dass es sowohl  $K_M(trans \rightarrow cis)$  als auch  $K_M(cis \rightarrow trans)$  gibt? (0.5 P)
- d) Die Michaelis-Menten-Kinetik vernachlässigt allgemein Rückreaktionen. Wie erklären Sie das im Wissen, dass in diesem Fall eine Rückreaktion existiert?
- e) Können Sie erklären, ob die Reaktion  $trans \rightarrow cis$  oder  $cis \rightarrow trans$  predominant ist? (0.5 P)

Das Medikament mit dem Inhaltsstoff Cyclosporin ist ein wichtiges Medikament bei Organtransplantationen. Es ist ein potenter Inhibitor von Cyclophilin mit einer Bindungsaffinität von  $K_I$  von  $37\text{ nM}$ .

CYCLOPHILIN COMPLEXED WITH  
A FRAGMENT OF HIV-1 GAG PROTEIN



CYCLOPHILIN COMPLEXED WITH CYCLOSPORIN



- f) Auf der Basis der 3D-Strukturen von Komplex Cyclophilin mit einem Peptid Substrat und von Cyclophilin mit Cyclosporin, um was für einen Inhibitor handelt es sich (mit Begründung)? (0.5 P)
- g) Um wieviel ändert sich die Michaelis-Menten-Konstante von Cyclophilin in Anwesenheit von  $1 \mu\text{M}$  Cyclosporin? Was bedeutet diese Änderung der Michaelis-Menten Konstante für den Reaktionsablauf? (0.5 P)

### 3.5 Adenosin Kinase (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Mehr als eine halbe Million Menschen sterben jährlich an der Schlafkrankheit. Ein neuer Weg im Kampf gegen die Schlafkrankheit ist die Entwicklung potenter Moleküle, die Adenosin Kinase vom Parasit *T. brucei* binden. Diese Kinase katalysiert die Phosphorylierung von Adenosin zu Adenosin-Monophosphat (AMP) in Anwesenheit von  $Mg^{2+}$  unter Verwendung von ATP als Phosphoryl-Donor.

- a) Schreiben Sie einen möglichen katalytischen Reaktionsverlauf der Adenosin-Kinase unter Berücksichtigung der Michaelis-Menten-Kinetik und aller Edukte und nennen Sie Ordnung der Teilreaktionen. (1.5 P)
- b) Ist diese Reaktion wahrscheinlich? (0.5 P)
- c) Beschreiben Sie einen realistischen Mechanismus und schreiben Sie den Reaktionsmechanismus auf. (1 P)
- d) Schreiben Sie alle dazugehörigen Differentialgleichungen des vereinfachten Reaktionsmechanismus auf. (1 P)

Man hat herausgefunden, dass Adenosin die Adenosin-Kinase auto-inhibieren kann durch Bindung an die ATP-Bindungsstelle.

- e) Gilt dann noch die Michaelis-Menten-Kinetik? (0.5 P)
- f) Um was für einen Typ von Inhibitor (kompetitiv, unkompetitiv, nicht-kompetitiv) handelt es sich? (0.5 P)

### 3.6 Leber Alkoholdehydrogenase (LADH) (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Der katalytische Teil der Reaktion des Abbaus von Ethanol durch den Komplex  $[\text{LADH} + \text{NAD}^+]$  wurde im Details untersucht und folgt der Michaelis-Menten-Kinetik

mit einem  $K_M$  von 0.44 mM und einem  $k_{cat}$  von  $10 \text{ min}^{-1}$ . Die Dichte von Methanol ist 791.9 g/l, die Dichte von Ethanol ist 789.0 g/l.

- a) Bei welcher Konzentration von Ethanol ist die Reaktionsgeschwindigkeit von  $\frac{1}{2}v_{max}$  bei einer Enzymkonzentration von  $1 \mu\text{M}$  und  $10 \mu\text{M}$ ? (0.5 P)

Dieselbe Alkoholdehydrogenase baut Methanol ab mit einem  $K_M$  von 2.2 mM und einem  $k_{cat}$  von  $10 \text{ min}^{-1}$ . Dabei entsteht jedoch giftiges Formaldehyd.

- b) Wieso kann man Ethanol gebrauchen, um eine Methanolvergiftung zu lindern? (0.5 P)  
 c) Wieviel Ethanol müssen Sie einem Methanol-vergifteten Patienten geben, der 25 mM Methanol getrunken hat, damit das giftige Produkt zehn mal verlangsamt hergestellt wird? (1 P)

Pyrazol ist ein Inhibitor für die Alkoholdehydrogenase.

[ethanol](mM)	$v$ ( $\mu\text{M}/\text{min}$ ) ohne Pyrazol	$v$ ( $\mu\text{M}/\text{min}$ ) mit Pyrazol
0.66	1.35	0.52
1	1.51	0.69
2	1.81	1.03
8	2.12	1.69

- d) Die in der Tabelle stehenden Daten gemessen mit  $25 \mu\text{M}$  LADH in Abwesenheit und in Anwesenheit von  $10 \mu\text{M}$  Pyrazol sollen in einem Lineweaver-Burk-Plot aufgetragen werden. (1 P)  
 e) Durch den Vergleich der beiden Plots bestimmen Sie den Inhibitor Typ. (0.5 P)  
 f) Aus dem Lineweaver-Burk-Plot bestimmen Sie  $K_M$  und  $v_{max}$  von Ethanol. (1 P)  
 g) Berechnen Sie  $v_{max}$  auch mittels anderen gegebenen Angaben und vergleichen Sie mit dem vorherig berechneten  $v_{max}$ . (0.5 P)

## 4 Diffusion und die Fickschen Gesetze

### 4.1 Theoriefragen

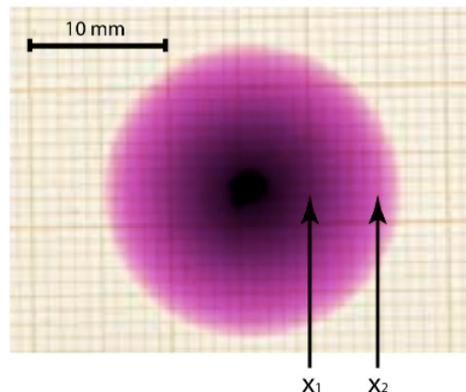
- a) Wie lautet das 1. Ficksche Gesetz?  
 b) Wie lautet das 2. Ficksche Gesetz?  
 c) Beschreiben die Fickschen Gesetze Gleichgewichtsprozesse (mit Begründung)?  
 d) Wieso unterliegen sowohl Diffusion und Viskosität als auch Wärmeleitfähigkeit ähnlichen Gesetzmässigkeiten? (2 P)  
 e) Die Wärmeleitfähigkeit ist gegeben durch  $\kappa = \frac{1}{2}N_0\lambda\langle v \rangle k_B$ . Die Wärmeleitfähigkeit ist aber nicht von der Konzentration der Teilchen  $N_0$  abhängig. Wieso? (1 P)  
 f) Die Viskosität eines Gases ist gegeben durch  $\eta = \frac{1}{3}N_0\lambda\langle v \rangle m$ . Die Viskosität ist aber nicht von der Konzentration der Teilchen  $N_0$  abhängig. Wieso? (FS12) (0.5 P)  
 g) Was ist der Zusammenhang zwischen der Nernst-Planck-Gleichung und dem 1. Fick'schen Gesetz?

## 4.2 Corticotropin Releasing Factor (CRF) und sein Rezeptor I, Fortführung von 3.2 (HS10)

Berechnen Sie die Diffusionskonstante von CRF in Wasser. Verwenden Sie dabei das strukturelle Wissen, dass CRF eine Helix mit Durchmesser  $20 \text{ \AA}$  formt. Nehmen Sie auch an, dass CRF kugelförmig ist. (1 P)

## 4.3 Kaliumpermanganat in Wasser (HS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Wenn ein Stück Kaliumpermanganat ( $\text{K}^+\text{MnO}_4^-$ ) bei  $20^\circ\text{C}$  in Wasser gelegt wird, sieht man nach 5 Stunden folgendes Bild.



Die Intensität der Farbe in der Abbildung ist bei einem Abstand von  $1 \text{ cm}$  vom Zentrum viermal schwächer als bei  $0.5 \text{ cm}$ . Die Intensität der Farbe ist proportional zur Permanganatkonzentration. Berechnen Sie die Diffusionskonstante. (1 P)

## 4.4 Eine einsame Frage, die nirgendwo sonst hingepasst hat

Wieso misst man den Blutdruck und inwiefern könnte dieser eine Aussage über den Durchmesser von Blutgefäßen haben? (HS16) (2 P)

# 5 Berechnung der Geschwindigkeitskonstante

## 5.1 Theoriefragen

- Erklären Sie in Worte, was eine diffusionskontrollierte Reaktion ist. (FS17) (1 P)
- Beschreiben Sie in eigenen Worten die Arrhenius-Gleichung. (HS09) (1 P)
- Erklären Sie die Theorie des Übergangszustandes in Worten. (HS16) (2 P)
- Zeigen Sie, dass die Geschwindigkeitskonstante einer diffusionskontrollierten Reaktion der Form  $2A \rightarrow B$  unabhängig vom Radius  $r_A$  der beteiligten Moleküle ist. (FS16) (2 P)
- Kann eine Reaktion zweiter Ordnung schneller als eine diffusionskontrollierte Reaktion sein? (FS12) (1 P)
- Kann eine Reaktion erster Ordnung schneller als eine diffusionskontrollierte Reaktion sein? (FS12)
- Wieso haben Reaktionen 2. Ordnung im Gegensatz zu Reaktionen 1. Ordnung eine obere Grenze der Reaktionsgeschwindigkeit und wie ist diese limitiert? (HS10) (1 P)

## 5.2 Corticotropin Releasing Factor (CRF) und sein Rezeptor I, Fortführung von 3.2 und 4.2 (HS10)

Der  $K_S$  von CRF mit seinem Rezeptor ist 22 nM. Im Folgenden wollen wir durch ein paar Annahmen die dazugehörigen Reaktionskonstanten für das Binden ( $k_1$ ) und Lösen ( $k_{-1}$ ) des Hormons an den Rezeptor berechnen.

- Berechnen Sie den Radius des CRF-Rezeptor-Detergent-Komplexes anhand der Diffusionskonstante von  $D = 2.0 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$  unter der Annahme, dass der Komplex kugelförmig ist. (0.5 P)
- Berechnen Sie aus der in 4.2 berechneten Diffusionskonstante von CRF, der Diffusionskonstante des CRF-Rezeptors  $D = 2.0 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ , dem Durchmesser von CRF von 20 Å und dem vorher ermittelten Radius des Rezeptors die  $k_1$ -Rate des Rezeptors unter der Annahme, dass die Reaktion diffusionskontrolliert ist. (1 P)
- Berechnen Sie nun die  $k_{-1}$ -Rate. Was beschreibt diese Rate konkret? (1 P)

## 5.3 ATP Hydrolyse, Fortführung von 1.1 (FS17)

Vier publizierte Ratenkonstanten der ATP-Hydrolyse in Wasser sind in der Tabelle unten aufgeführt.

$T$ [°C]	$k$ [ $\text{s}^{-1}$ ]	Referenz
23	$4 \times 10^{-9}$	Mildvan, 1997
50	$5 \times 10^{-7}$	Milburn et al., 1985
60	$2 \times 10^{-6}$	Admirall und Herschlag, 1995
80	$1 \times 10^{-5}$	Tetas und Lowenstein, 1963

- Erklären Sie in Worte, wieso die Reaktionsrate der ATP-Hydrolyse temperaturabhängig ist. (1 P)
- Basierend auf den tabellierten Werten schreiben Sie eine mögliche Gleichung für  $k(T)$  auf. Wie heisst diese Gleichung? (1 P)
- Basierend auf den tabellierten Werten berechnen Sie die Aktivierungsenergie der ATP-Hydrolyse. Erwähnen Sie Ihre getroffenen Annahmen. (3 P)

## 6 Massenberechnung mit der Diffusionskonstante und über Zentrifugation

### 6.1 Kaliumpermanganat in Wasser, Fortführung von 4.3 (HS12)

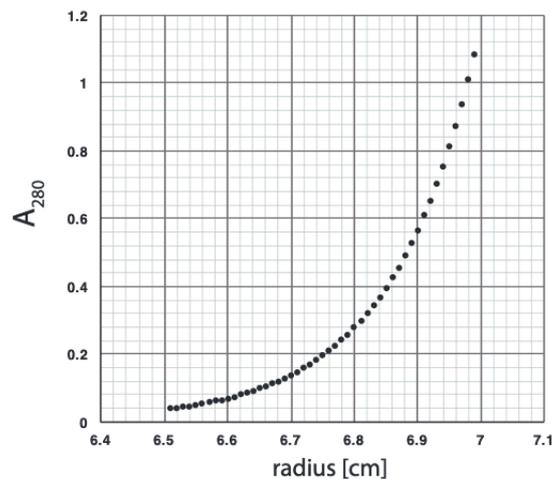
- Berechnen Sie die Grösse des Permanganat-Moleküls aus der zuvor berechneten Diffusionskonstante. Welche Annahmen müssen Sie treffen? (1 P)
- Die chemische Formel des Permanganations ist  $\text{MnO}_4^-$ . Schätzen Sie aufgrund der chemischen Formel die Grösse von  $\text{MnO}_4^-$  ab. Wieso geben die beiden Ansätze unterschiedliche Werte? (1 P)

## 6.2 Charakterisierung der ATP-Synthase (FS17)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Die F1Fo-ATPase ist ein grosser Membranproteinkomplex, welcher durch einen Rotationsmechanismus den Protonengradient mit der Synthese von ATP koppelt. Die F1-Einheit ist ein löslicher Proteinkomplex bestehend aus einigen Untereinheiten. Die F1-Einheit katalysiert die ATP Synthese (oder ATP-Hydrolyse) via drei equivalenter Stellen. Die F0-Einheit ist ein Membranproteinkomplex, welcher die Bewegung der Protonen mit der katalytischen F1-Einheit koppelt. Beide Einheiten F1 und F0 können einzeln stabil isoliert werden

- a) Berechnen Sie die Masse des F1-Komplexes anhand des Diffusionskoeffizienten  $D = 5.36 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$  gemessen bei  $37^\circ\text{C}$  in wässriger Lösung. Welche Annahmen müssen Sie treffen für Ihre Rechnung? (2 P)

Eine Gleichgewichts-Analytische-Ultrazentrifugation des F1-Komplexes bei 5000 rpm ist in der Figur unten gezeigt.



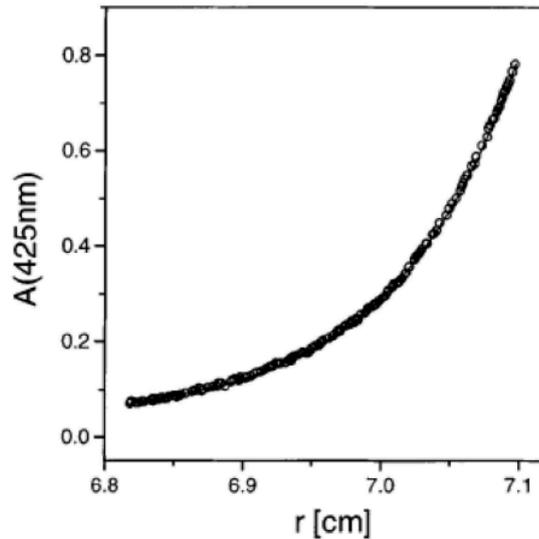
- b) Berechnen Sie das Molekulargewicht des F1-Komplexes anhand der Gleichgewichtszentrifugation. (1.5 P)
- c) Welche Annahmen haben Sie für die Rechnung getroffen? (0.5 P)
- d) Kommentieren Sie die verschiedenen Ergebnisse. (0.5 P)

## 6.3 Das Molekulargewicht des Membranproteins Cytochrome-C-Oxidase (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Das 252 Aminosäuren grosse Membranprotein Cytochrome-C-Oxidase von *P. dentificans* wird mit dem Detergenz LDAO aus der Membran gelöst und formt jetzt einen Detergenz-Membranprotein-Komplex.

- a) Die Sedimentationsgeschwindigkeit des Membranprotein-Detergenzkomplexes von Cytochrome-C-Oxidase wird in der analytischen Ultrazentrifuge in Wasser bei  $T = 300 \text{ K}$  gemessen. Der dazugehörige Sedimentationskoeffizient ist  $s = 5.0 \text{ S}$ , der Diffusionskoeffizient  $D = 9 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ . Unter der Annahme, dass der Komplex ein Protein typisches spezifisches Volumen hat, berechnen Sie das Molekulargewicht des Membranprotein-Detergenzkomplexes. (0.5 P)
- b) Können Sie aus dem berechneten Wert den molekularen Zustand von Cytochrome-C-Oxidase aufgelöst in Detergenzien bestimmen? (0.5 P)

- c) Mit einer Lösungsmitteldichte von  $\rho = 1.054 \text{ g/cm}^3$  wurde der Membranprotein-Detergenzkomplex von Cytochrome-C-Oxidase in der analytischen Ultrazentrifuge bei  $T = 300 \text{ K}$  und  $\nu = 6400 \text{ rpm}$  mittel Gleichgewichtszentrifugation gemessen. Die dazugehörige Messung ist unten gezeigt. Die Absorption der Cytochrome-C-Oxidase (respektive des an die Oxidase gebundenen Chromophores, y-Achse) wurde entlang des Zentrifugenbeckers (x-Achse, r ist der Radius weg von der Zentrifugenachse) gemessen. Entnehmen Sie zwei von Ihnen ausgesuchte Punkte und bestimmen Sie das Molekulargewicht von Cytochrome-C-Oxidase. (2 P)



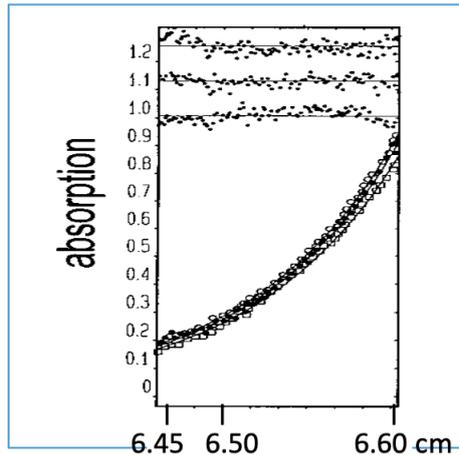
#### 6.4 $\alpha$ -Synuclein (HS16)

[LINK ZUR PRÜFUNG]  $\alpha$ -Synuclein ist ein 140 langes lösliches Protein aktiv in Neuronen und anderen Zellen, welche in aggregierter/ verklumpter Form in der Erkrankung Parkinson in sogenannten Lewi-Bodies auftritt.

Um zu bestimmen, in welchem oligomeren Zustand  $\alpha$ -Synuclein funktionell ist, wurde der Diffusionskoeffizient mit  $D_{syn} = 9.1 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$  (bei  $10^\circ \text{C}$  in verdünnter wässriger Lösung) gemessen.

- Bestimmen Sie mit dem gemessenen Wert die Diffusionskoeffizienten das mögliche Molekulargewicht von  $\alpha$ -Synuclein. (2 P)
- Bestimmen Sie das Molekulargewicht unter der Annahme eines mittleren Gewichts einer Aminosäure von 115 kDa. (0.5 P)
- In welchem oligomeren Zustand befindet sich  $\alpha$ -Synuclein in Lösung? (0.5 P)

Eine andere Gruppe hat den oligomeren Zustand mit analytischer Ultrazentrifugation bei 27,000 rpm und bei  $10^\circ \text{C}$  wie in der Abbildung gemessen.



d) Bestimmen Sie nun den oligomeren Zustand.

## 7 Permeabilitätskoeffizient

### 7.1 a-Synuclein-Membran-Interaktion (HS16)

[LINK ZUR PRÜFUNG] a-Synuclein kann mit Lipidmembranen interagieren. Durch Interaktion von a-Synuclein mit einer negativ geladenen Membran verändern sich die Membraneigenschaften. Dazu misst man die zeitabhängige Konzentration einer Substanz in Liposomen in Abwesenheit und Anwesenheit von a-Synuclein bei einer Konzentration von a-Synuclein von  $10 \mu\text{M}$  nach Zugabe der Substanz in den Puffer zu  $10 \mu\text{M}$ . Nach 10 Sekunden findet man in Anwesenheit von a-Synuclein 3 Mal mehr Substanz in den Liposomen als in Abwesenheit. Um wieviel ändert sich der Permeabilitätskoeffizient der Substanz, falls a-Synuclein in der Lösung präsent ist? (2 P)

*Hinweis: Vereinfachen Sie die Funktion  $e^{at} \approx 1 + at$*

### 7.2 Kaliumpermanganat in Wasser, Fortführung von 4.3 (HS12)

Es wird angenommen, dass bei 1.6 cm vom Zentrum eine typische Lipid-Doppelmembran die pinke (Bild grau dargestellt) Lösung umschließt. Der Verteilungskoeffizient des Permanganations ist 0.01.

- Um wieviel wird der Fluss der Permanganations verringert unter der Annahme, dass die mittlere freie Weglänge innerhalb der Membran und in der wässrigen Lösung gleich ist. (1 P)
- Wie gross ist der Permeabilitätskoeffizient der Permanganations? Nehmen Sie dafür die typische Geometrie einer Lipid-Doppelmembran an. (0.5 P)

*Hinweis: Der Diffusionskoeffizient wurde bereits in Aufgabe 4.3 berechnet.*

## 8 Membranpotential

### 8.1 a-Synuclein-Membran-Interaktion, Fortführung von 7.1 (HS16)

Da die Permeabilität der Liposomen sich durch die Interaktion mit a-Synuclein ändert, wird die Konsequenz dessen auf die Membranpotential nachfolgend bestimmt. Dabei soll das Membranpotential einer Nervenzelle in An- und Abwesenheit bei einer Temperatur von  $37^\circ\text{C}$  bestimmt

werden. Das Verhältnis der Permeabilitätskoeffizienten sei  $P_{K^+} : P_{Na^+} : P_{Cl^-} = 1 : 0.04 : 0.45$  und folgende Konzentrationen sind intra- und extrazellulär bekannt:

$$\begin{array}{ll} [Na^+]_i = 11 \text{ mM} & [Na^+]_e = 144 \text{ mM} \\ [K^+]_i = 120 \text{ mM} & [K^+]_e = 4 \text{ mM} \\ [Cl^-]_i = 0.001 \text{ mM} & [Cl^-]_e = 2 \text{ mM} \end{array}$$

- Bestimmen Sie das Membranpotential der Nervenzelle unter Berücksichtigung der Angaben in Abwesenheit von a-Synuclein. (1.5 P)
- Bestimmen Sie das Membranpotential der Nervenzelle in Anwesenheit von a-Synuclein mittels der Beobachtung aus 7.1, dass a-Synuclein die Membrandiffusion um einen Faktor 3 ändert (mit Erklärung). (1 P)

## 8.2 $Na^+/K^+$ -ATPase (FS12)

[LINK ZUR PRÜFUNG] Die Aufnahme von Glukose in das Dünndarmepithel wird durch den Cotransport mit  $Na^+$ -Ionen ermöglicht. Damit würde aber auf Dauer das elektrochemische Potential  $\Delta\tilde{\mu}_{Na^+}$  auf Null absinken. Es muss somit einen Prozess geben, der die  $Na^+$ -Konzentration im Zellinnern niedrig hält, da sonst kein Aktionspotential mehr gebildet werden kann. Diese Aufgabe übernimmt die  $Na^+/K^+$ -Pumpe, auch  $Na^+/K^+$ -ATPase genannt, indem sie unter Verbrauch einer ATPs 3  $Na^+$ -Ionen nach aussen und gleichzeitig 2  $K^+$ -Ionen nach innen transportiert.

Die Ionenkonzentrationen im Dünndarmepithel seien gegeben durch

Ion	$Na^+$	$K^+$	$Cl^-$
Cytoplasma	20 mM	135 mM	5 mM
Serum	120 mM	5 mM	115 mM

Die drei Ionen haben in Wasser eine Diffusionskonstante von  $D_{Na^+} = 1.47 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ ,  $D_{K^+} = 1.82 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$  und  $D_{Cl^-} = 8.23 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$ .

- Welche Art von Transport führt die ATPase durch und wie nennt man allgemein solch einen Transport durch die Membran? (0.25 P)
- Braucht es Energie, um die Ionenkonzentration konstant zu halten? (0.25 P)
- Schreiben Sie die Formel der Energiebilanz für diesen Transport auf. (0.5 P)
- Berechnen Sie das Membranpotential im Gleichgewicht unter der Annahme, dass die Ionen eine ähnliche Lipidlöslichkeit besitzen. Die Diffusionskonstante innerhalb der Membran kann durch die entsprechende Diffusionskonstante im Wasser approximiert werden. (1 P)
- Berechnen Sie die elektrochemischen Potentiale der Natrium- und Kalium-Ionen. (1 P)
- Aus dem letzten Aufgabenteil sehen Sie, dass  $\Delta\tilde{\mu}_{K^+}$  signifikant kleiner ist als  $\Delta\tilde{\mu}_{Na^+}$ , obwohl sie doch ähnliche Konzentrationsgradienten haben. Wie erklären Sie diese Tatsache? (0.5 P)