

Klausur Physikalische Chemie

Prüfungstag 08.08.2012

Bitte beachten Sie

- Erlaubt sind alle schriftlichen Unterlagen, die Sie selbst mitgebracht haben.
- Erlaubt ist ein Taschenrechner.
- Alle Hilfsmittel, die nicht explizit erlaubt sind, sind verboten!
- Alle Arten von Informationsaustausch (elektronisch oder anders) sind verboten!
- Bitte schalten Sie ihr Mobiltelefon ab.
- Wenn Sie eine Frage haben, heben Sie die Hand. Ein Assistent kommt dann zu Ihnen.
- Dauer der Klausur ist **2 Stunden**.
- Für die Bestnote müssen nicht alle Aufgaben gelöst werden.
- Am Anfang jeder Aufgabe finden Sie jeweils die dafür erreichbare Maximalpunktzahl.
- Der Weg ist das Ziel; daher wird der Weg und nicht nur das Ergebnis bewertet.
- Kommentieren Sie bitte ihre Ansätze.
- Falls Sie wissen, dass Ihr Ergebnis falsch ist, schreiben Sie dies bitte dazu. So geben Sie uns zu verstehen, dass Sie sich des Fehlers bewusst sind. Dies wird in entsprechender Weise berücksichtigt.
- Zu jeder Rechnung gehört eine Einheitenkontrolle. Sollte diese fehlen kann nicht die volle Punktzahl erzielt werden.

Folgende Größen könnten bei der Lösung der Aufgaben hilfreich sein:

Avogadro-Konstante	N_A	$6.02214 \cdot 10^{23} \frac{1}{\text{mol}}$
Boltzmannkonstante	k_B	$1.38066 \cdot 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$
Gaskonstante	R	$8.31451 \frac{\text{J}}{\text{K} \cdot \text{mol}}$
Elementarladung	e_0	$1.60218 \cdot 10^{-19} \text{C}$
Elektrische Feldkonstante	ϵ_0	$8.85419 \cdot 10^{-12} \frac{\text{C}}{\text{Vm}}$
Faraday-Konstante	F	$9.64853 \cdot 10^4 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$
Dichte von Wasser	ρ_{H_2O}	$998 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Viskosität von Wasser	η_{H_2O}	$0.9 \cdot 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{m} \cdot \text{s}}$
durchschnittliche Lipiddichte	$\bar{\rho}_{Lipid}$	$1.1 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
durchschnittliche Proteindichte	$\bar{\rho}_{Prot}$	$1.4 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
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
Svedberg	S	1S = 10^{-13} s
Masseneinheit Dalton	Da	1Da = $1.66 \cdot 10^{-27}$ kg

1 Theorie (7 Punkte)

- Beschreiben Sie auf der Basis der Stosstheorie wieso die Reaktion 2. Ordnung $A + A \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} P$ das Gleichgewicht schneller erreicht als die Reaktion 2. Ordnung $A + B \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} P$ wenn die Anfangssubstratkonzentrationen $[A]_0$ und $[B]_0$ so gewählt werden, dass die Endkonzentrationen des Produktes $[P]_{t \rightarrow \infty}$ bei beiden Reaktionen gleich sind. (1 Pkt)
- Vergleichen Sie die Gel-Elektrophorese mit der analytischen Ultrazentrifugation in Bezug zu Proteincharakterisierung (z. Bsp. Proteinmasse), und Proteinauftrennung unter Verwendung der physikalischen Grundlagen der Methoden. (1 Pkt)
- Um das Membranpotential einer Zelle zu messen werden Elektroden mit hoher KCl Konzentration verwendet. Wieso? (1 Pkt)
- 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 Pkt)
- Bei der Michaelis-Menten Kinetik mit $E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} ES \xrightarrow{k_2} E + P$ wird die Näherung des stationären Zustandes für $[ES]$ angenommen, welcher annimmt, dass $\frac{d[ES]}{dt} = 0$ und somit $[ES](t) = \text{konstant}$ ist. Die Michaelis-Menten Gleichung ergibt aber $[ES](t) = \frac{[S](t)[E]_0}{K_M + [S](t)}$. Erklären Sie bitte diese anscheinende Diskrepanz. (1.5 Pkt)
- Wieso ist eine Reaktion erster Ordnung mit Rückreaktion schneller im Gleichgewicht als dieselbe Reaktion ohne Rückreaktion (mit mathematischer Erklärung). Ist diese Beobachtung auch bei einer Reaktion zweiter Ordnung richtig? (1.5 Pkte)

2 Carbonic Anhydrase (1. Teil) (11 Punkte)

Das 29 kDa schwere Protein Carbonic Anhydrase (CA) katalysiert die Reaktion von Kohlendioxid (CO_2) und Wasser zu Bicarbonate (HCO_3^-) und Protonen (H^+). Die Messungen bei $\vartheta = 25^\circ\text{C}$ ergeben eine k_{cat} von $1 \times 10^6 \text{ 1/s}$ und eine Michaelis-Menten Konstante K_M von $1.2 \times 10^{-2} \text{ M}$.

- Schreiben Sie einen möglichen Reaktionsablauf indem Sie alle beteiligten Reaktanden einbeziehen. Nennen Sie auch die Ordnungen der Teilreaktionen. (1 Pkt)
- Schreiben Sie alle dazugehörenden Differentialgleichungen auf. (1.5 Pkte)
- Welche drei vernünftigen Annahmen kann man machen, um den Reaktionsverlauf und die dazugehörenden Differentialgleichungen zu vereinfachen? (1 Pkt)

Für Aufgabenteil 4 - 8 wird nun angenommen, dass die besprochene Reaktion der Michaelis-Menten Kinetik folgt.

- Wie gross ist die maximale Ratenkonstante der dazugehörenden pseudo 2. Ordnung Reaktion bei kleiner Substratkonzentration? (1 Pkt)
- Können Sie abschätzen ob diese Reaktion beinahe diffusionskontrolliert ist (total 3.5 Pkte)? Diese Aufgabe lösen wir in fünf Unteraufgaben:
 - Sie müssen zuerst den Radius dieses Proteins abschätzen, in dem Sie die mittlere Dichte eines Proteins verwenden und annehmen, dass das Protein eine Kugel ist. (0.5 Pkte)
 - Unter der Annahme, dass das Protein kugelförmig ist, können Sie jetzt aus dem Radius den Diffusionskoeffizienten in Wasser bei $T = 25^\circ\text{C}$ bestimmen. Vergleichen Sie Ihren geschätzten Wert mit dem experimentell bestimmten Wert von $6 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ und argumentieren Sie. (1 Pkt)
 - Schätzen Sie den Radius von CO_2 . (0.5 Pkte)

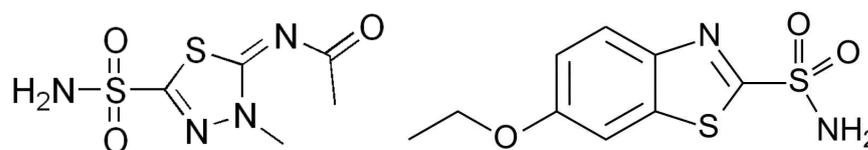
- (d) Berechnen Sie jetzt mittels der ermittelten Diffusionskonstanten des Proteins (oder der gegebenen Diffusionskonstante von $6 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$), der gegebenen Diffusionskonstante von CO_2 von $1.8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$, sowie der ermittelten Radien die diffusionslimitierte Rate, und vergleichen Sie diese mit der unter (4) berechneten Rate. (1 Pkt)
- (e) Wieso könnte man die Diffusionskonstante vom Protein in (d) vernachlässigen (0.5 Pkte)?
6. Was sind die maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten der Carbonic Anhydrase bei einer Enzymkonzentration von $1 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$. Interpretieren Sie die Resultate. (1 Pkt)
7. Bei welcher Konzentration von CO_2 ist die Reaktionsgeschwindigkeit $\frac{1}{2}v_{max}$ bei einer Enzymkonzentration von $1 \mu\text{M}$ und $10 \mu\text{M}$. Interpretieren Sie die Lösungen zueinander? (1 Pkt)
8. Wenn während der Reaktion von 1 ml 1 nM Carbonic Anhydrase durch konstante Zufuhr die CO_2 Konzentration bei 50 mM konstant gehalten wird, wieviel Bicarbonate entsteht nach 10 Minuten? (1 Pkt)

3 Inhibitoren von Carbonic Anhydrase (2. Teil) (5 Punkte)

Die Michaelis-Menten Reaktion der Carbonic Anhydrase wurde in Aufgabe zwei besprochen ($k_{cat} = 1 \times 10^6 \text{ 1/s}$, $K_M = 1.2 \times 10^{-2} \text{ M}$ bei $T = 25^\circ\text{C}$). Es gibt Carbonic Anhydrase Inhibitoren, die als Medikamente gegen Glaucoma eingesetzt werden. Wir schauen uns die folgenden zwei Inhibitoren an:

	Löslichkeit in Wasser	Transcorneal Permeabilität	K_I
Methazolamide	4 mM	0.5 cm/h	7 nM
Ethoxzolamide	0.04 mM	20 cm/h	0.5 nM

- Vergleichen Sie die aufgelisteten Eigenschaften der Inhibitoren und kommentieren Sie. (1 Pkt)
- In der Krystalstruktur sieht man, wie der Inhibitor Methazolamide in der Naeh des Zn^{2+} Ions bindet, welches die aktive Stelle des Enzymes ist. Aufgrund dieser strukturellen Daten, um was für einen Inhibitor handelt es sich? (0.5 Pkte)
- Aufgrund der in (2) bestimmten Typ von Inhibitor, bestimmen Sie die apparenten Grössen v'_{max} und K'_M bei einer Methazolamidekonzentration von $7 \mu\text{M}$ und einer Enzymkonzentration von $1 \mu\text{M}$ (Falls Sie keine Antwort für (2) geben konnten, so wählen Sie einen beliebigen Typ von Inhibitor für diese Rechnung). (1 Pkt)
- Unter der Annahme, dass der relative Unterschied der Wasserlöslichkeit der beiden Inhibitoren (Tabelle oben) umgekehrt proportional zum relativen Unterschied des Membran-Wasser Verteilungsgleichgewichts ist, berechnen Sie den relativen Unterschied der Permeabilitätskoeffizienten der beiden Inhibitoren. Vergleichen Sie Ihren berechneten Wert mit den ermittelten Werten in der Tabelle für transcorneale Permeabilität. (1 Pkt)
- Bitte begründen Sie den aus der Tabelle entnommenen grossen Unterschied im Permeabilitätskoeffizienten von Faktor 40 der beiden Inhibitoren qualitativ mittels den chemischen Strukturen in Abbildung 1. (1 Pkt)



Methazolamide

Ethoxzolamide

Abbildung 1:

4 Das Molekulargewicht des Membranproteins Cytochrome C oxidase (5 Punkte)

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.

1. Erklären Sie bitte, wieso dieses Protein oder dieser Protein-Detergenzkomplexe unter einem elektrischen Feld in der SDS-Gel Elektrophorese wandert. Gilt die Nernst-Planck-Gleichung für die Proteinflussdichte bei der SDS-Gel Elektrophorese, und wenn ja in welchem Zusammenhang ist diese relevant? (1 Pkt)
2. Kann man mit der SDS-Gel Elektrophorese herausfinden, in welchem molekularen Zustand (z. Bsp. Monomer oder Dimer) Cytochrome C Oxidase existiert (mit Erklärung)? (0.5 Pkte)
3. Die Sedimentationsgeschwindigkeit des Membranprotein-Detergenzkomplexes von Cytochrome C Oxidase wird nun in der analytischen Ultrazentrifuge in Wasser bei $T = 300\text{ K}$ gemessen. Der dazugehörige Sedimentationskoeffizient ist $s = 5.0\text{ S}$ und der Diffusionskoeffizient ist $9 \times 10^{-7}\text{ cm}^2/\text{s}$. Unter der Annahme, dass der Komplex ein Protein typisches spezifisches Volumen hat, berechnen Sie bitte das Molekulargewicht des Membranprotein-Detergenz Komplexes. (0.5 Pkte)
4. Können Sie aus dem in (3) bestimmten Wert den molekularen Zustand (z. Bsp. Monomer oder Dimer) von Cytochrome C Oxidase aufgelöst in Detergenzien bestimmen? (0.5 Pkte)
5. Mittels der analytischen Ultrazentrifuge ist es möglich die exakte Masse nur des Membranproteins zu bestimmen. Erklären Sie bitte, wie man den Detergenzanteil in der Messung eliminieren kann. (0.5 Pkte)
6. 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 $\nu = 6400\text{ rpm}$ mittels Gleichgewichtszentrifugation gemessen (Mayer et al., 1999). Die dazugehörige Messung ist unten gezeigt (Abbildung 2). Die Absorption der Cytochrome C Oxidase (respektive, des an die Oxidase gebundenen Chromophores, y-Achse) wurde entlang des Zentrifugenbechers (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 Pkte)
7. Nehmen Sie an, dass um Mitternacht ein Stromausfall passiert, kurz bevor die Messung gemacht worden wäre. Sie kommen am nächsten Morgen um 0900 Uhr ins Labor und bemerken dass die Zentrifuge gestoppt hat. Können Sie jetzt noch die Absorbptionsmessungen machen? Wie erwarten Sie, würde diese aussehen? (0.5 Pkte)

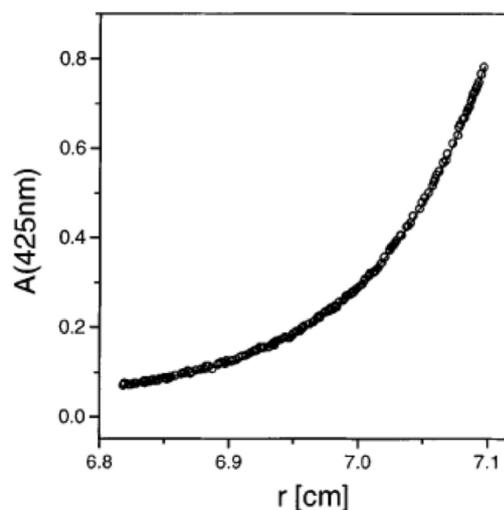


Abbildung 2: