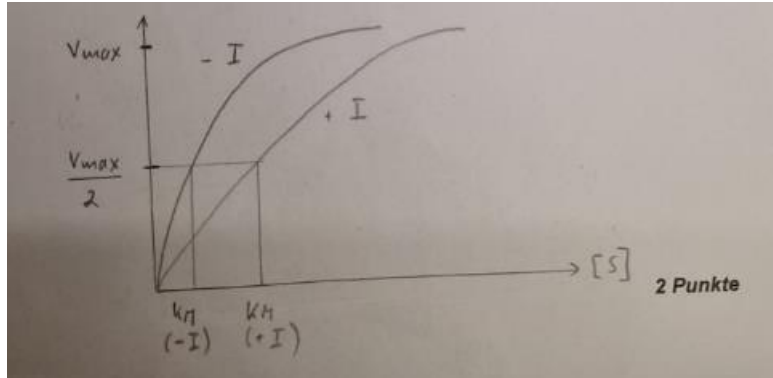


1. Zeichnen Sie schematische Substrat-Sättigungskurven für ein Enzym in An- bzw. Abwesenheit eines kompetitiven Inhibitors. Beschriften Sie dabei die Ordinate und die Abszisse!



2. Die Absorption einer Proteinlösung bei 280nm beträgt 0.4. Wie hoch ist die Konzentration des Proteins bei einer Schichtdicke (d) der Kuvette von 1cm und einem molaren Extinktionskoeffizienten (ϵ_{280}) von $16000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$?

$$A = \epsilon * c * d$$

$$C = A / \epsilon * d = 0.4 / 16000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} * 1\text{cm} = 25 \mu\text{M}$$

3. Zählen sie die Unterschiede zwischen dem Abbau und der Synthese von Fettsäuren auf.

Fettsäureabbau/ beta-Oxidation:

- Mitochondrien
- Coenzym A
- isolierte Enzyme
- NAD^+ , FAD
- L-Form des chiralen Hydroxylacyl-Intermediates

Fettsäuresynthese:

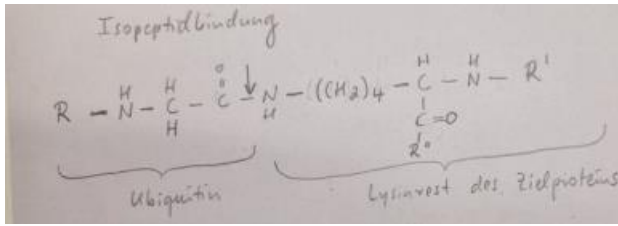
- Cytoplasma
- Acyl-carrier Protein
- Multienzymkomplex Fettsäuresynthese NADPH
- D-Form des Chiralen Hydroxyacyl-Intermediates

4. Ubiquitin ist für den Abbau von Protein essentiell.

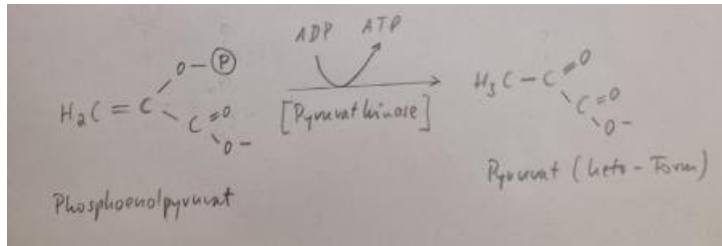
a) Über welche 3 Enzyme gelangt Ubiquitin an das abzubauenende Protein?

- U1: Ubiquitin-aktivierendes Enzym
- U2: Ubiquitin-kondensierendes Enzym
- U3: Ubiquitin-Ligase

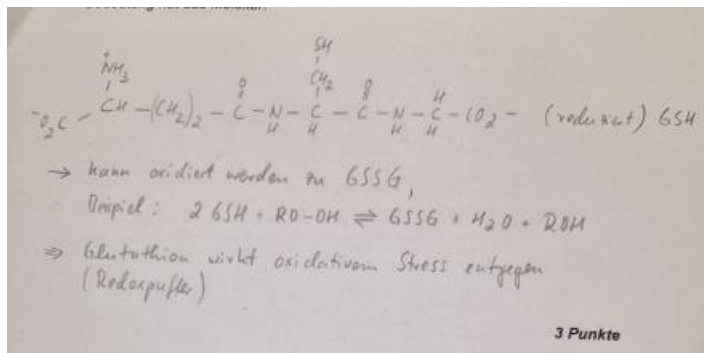
b) welche Art von Bindung wird Ubiquitin mit dem abzubauenenden Protein schlussendlich verknüpft? Zeichnen Sie diese Bindung.



5. Skizzieren sie den zweiten ATP erzeugenden Schritt in der Glykolyse (Strukturformeln für die C-3 Körper) und benennen sie das Enzym, das diesen Schritt katalysiert.



6. Zeichnen Sie Glutathion (gamma-Glutamat-Cystein-Clycin) welche physiologische Bedeutung hat das Molekül?



7. a) Welcher Redox- Cofaktor kann in der genannten Form als Oxidationsmittel an enzymatischen Reaktionen teilnehmen?

NADH
 FMN₂
 FADH₂
 FE³⁺
 Ubichinol

- b) Nennen sie ein Enzym der Atmungskette in dem FMN als Kofaktor vorkommt.
 Complex 1 bzw. NADH-Q - Oxidoreduktase
 c) Wo genau in der Zelle befindet sich das entsprechende Enzym?
 Innere Mitochondrienmembran

8. a) Bei Typ IV der genetisch bedingten Glykogenspeicher-Krankheiten wird ein irreguläres, weniger verzweigtes Glykogen in der Leber gebildet und gespeichert. welches der folgenden Enzyme ist dabei defekt?

Glukose-6-Phosphatase

„Debranching“ Enzym

„Branching“ Enzym

Amylo-1,6 Glykosidase

Glykogensynthase

- b) Warum hat ein weniger verzweigtes Glykogen energetische Nachteile gegenüber dem regulären Glykogen?

Weniger Bereitstellung von Glucose-1-Phosphat pro Zeiteinheit

- c) Welches Enzym ist für die Freisetzung von Glucose-1-Phosphat aus Glykogen verantwortlich?

Glykogen-Phosphorylase

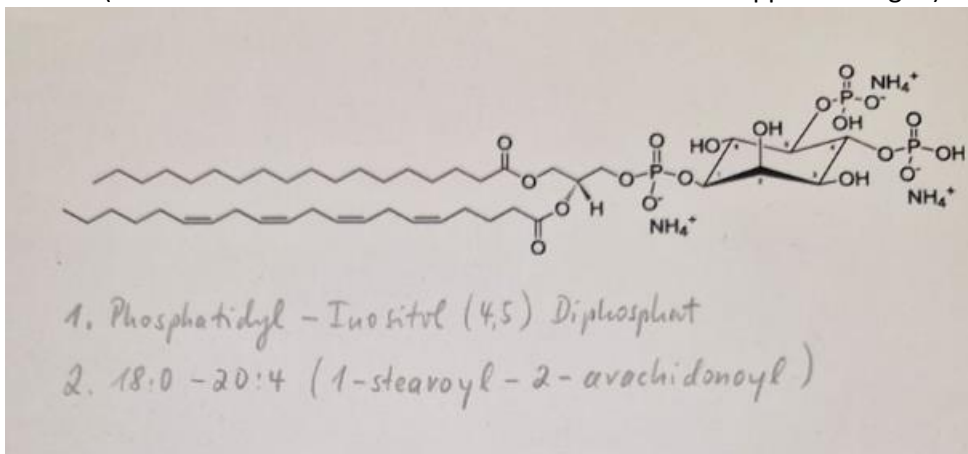
- d) Durch welche kovalente Modifikation wird das Enzym in erster Linie aktiviert?

Phosphorylierung

- e) Nennen sie 2 Gründe, warum in der Muskelzelle die Entstehung von Glucose-1-P beim Glykogenabbau im Vergleich zur Entstehung von Glukose vorteilhaft ist.

Phosphorylierter Zucker kann Muskelzellen nicht verlassen → energetischer Vorteil, wenn Glykolyse ablaufen soll

9. a) Benennen Sie für das Tagesstätte Lipid (1.) die Kopfgruppe und (2.) die Fettsäurereste R1 und R2. (Nomenklatur: Fettsäuren-Kohlenstoffwasserstoffe: Doppelbindungen).



- b) Wie viele Zucker-Gruppen sind in einem Cerebrosid gebunden?

1 Zuckerrest, entweder Glucose oder Galaktose

- d) wie hänge die spontane Krümmung C eines Lipid-Monolayers und der Krümmung-Radius R zusammen?

$C = 1/R$

10. Wie wird der jeweilige aktive Transport energetisiert?

- a) Na^+ /Glucose-Symporter?

Der Na⁺-Gradient aufgebaut durch die Na⁺/K⁺ Pumpe wird ausgenutzt, um Glucose gegen den Konzentrationsgradienten zu transportieren. Dabei müssen 2 Natrium-Ionen entlang des Konzentrationsgradienten transportiert werden, um die benötigte Energie für den Glucosetransport gegen den Konzentrationsgradienten zu liefern.

b) P-Typ Pumpe Lipid-Flippase:

Durch ATP-Bindung und Autophosphorylierung eines konservierten Aspartat-Restes.

c) Bei welchem pH-Unterschied (außen nach innen) wird durch den Protonengradienten ein elektrochemisches Potential über die Membran von 186,3 mV erzeugt? Geben Sie den Rechenweg an! ($R \cdot T / F$ kann mit 0,027 V als Näherung genutzt werden).

$$\Delta P = \Delta \psi - 2,3 \frac{R \cdot T}{F} \Delta pH$$

$$\rightarrow -2,3 \cdot 0,027 V \cdot \Delta pH = 186,3 \text{ mV}$$

$$\rightarrow \Delta pH = 3$$

Biochemiker-Teil: Fragen zum biochemischen Grundpraktikum für Studierende der Biochemie

11. Proteinreinigung (3 Punkte)

a) Formulieren sie die funktionelle Gruppe von einem schwachen Kationen-Austauscher (mit chemischer Formel).

z.B. Carboxymethyl

b) welchen pH-Bereich wählen Sie, um den Liganden an den Kationen-Austauscher zu binden (Begründung).

pH kleiner als pI → Nettoladung = positiv → Bindung an Kationenaustauscher

c) Nennen Sie 2 Möglichkeiten, um den Liganden vom Kationenaustauscher zu eluieren.

12. Membranlipide (1 Punkt)

Phospholipide stellen den Hauptanteil der Membranlipide einer Zelle. Nennen sie die 2 alkoholischen Grundbausteine, von denen sich Phosphorlipide ableiten lassen.

Glycerin, Sphingosin

13. Enzymkinetik (4 Punkte)

die Aktivität der Fructose-6-Phosphat Kinase (PFK) wird in einer Küvette gemessen, die Puffer, ATP, Fructose-6-Phosphat, NAD⁺, Arsenat und die Enzyme Aldolase und Glycerinaldehydphosphat Dehydrogenase (GAPDH) enthält. Nach Start mit 0,1ml (5μg/ml) der PFK-Lösung wird ein $\Delta E / \text{min} = 0,183$ gemessen.

Gesamtvolumen = 2,0 ml; $\epsilon_{340} = 6.2 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$; d = 0,5 cm

a) Warum wird Arsenat zugesetzt?

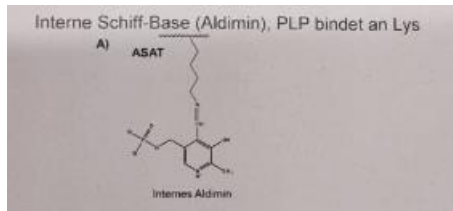
Entkopplung: keine ATP-Erzeugung, NAD⁺ als Messgröße

- b) Berechnen Sie die Volumenaktivität der PFK-Lösung.
 $0,059 [\mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}] = [\text{U}/\text{ml}]$
 Verdünnungsfaktor $f: 2/0,1 = 20 \rightarrow 1,18 [\text{U}/\text{ml}]$
- c) Berechnen Sie die spezifische Aktivität der PFK-Lösung in U/mg Protein.
 $1,18/5 = 0,236 [\text{U}/\mu\text{g}] = 236 \text{ U}/\text{mg}$
- d) Bei Zugabe von p-Hydroxymercuribenzoat oder Jodessigsäure zum Ansatz findet in der Küvette keine Reaktion mehr statt. Geben sie für die Wirkung der beiden zugesetzten Reagenzien eine plausible „chemische“ Erklärung.
 -Bindung an Cystein im aktiven Zentrum
 -Bildung eines Thioesterzwischenprodukts ist nicht mehr möglich

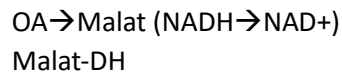
14. Aminotransferasen (2Punkte)

Die Aspartat-Aminotransferase (Asp-AT) ist eine archetypische pyridoxalabhängige Transaminase.

- a) Beschreibe Sie die Bindung zwischen PLP und der Asp-AT in Abwesenheit von Aspartat und geben Sie die chemische Strukturformel an.



- b) IN einem gekoppelten enzymatischen Test soll die Aktivität der Aspartat-Aminotransferase photometrisch bestimmt werden. Geben Sie die Wortgleichung dieser Indikatorreaktion an.



15. NADH (2 Punkte)

- a) Erklären Sie, wie die spektralen Eigenschaften des NADH für einen quantitativen Enzymtest genutzt werden können.

Oxidiert: Adsorption bei 260 nM

Reduziert: Adsorption bei 260/340 nM (Adenin/Nicotinamid) \rightarrow Chinoides System

- b) Geben Sie die chemische Strukturformel von NADH wieder.

