

# Enzyme und Enzymkinetik



© K. Oborny/Thieme

## 1 Grundbegriffe der Energetik

### 1.1 Enthalpie, Entropie, freie Enthalpie

#### 1.1.1 Allgemeines

Die Energie, die der Organismus zum Leben benötigt, ist im Körper in Form von chemischen Verbindungen gespeichert. Diese Energie wird bei chemischen Reaktionen freigesetzt oder umgewandelt. Dabei spielen Enzyme eine entscheidende Rolle.

Energie existiert in vielen **Energieformen**: chemische, elektrische, thermische, Lichtenergie, mechanische, elastische usw. Diese lassen sich einer der beiden folgenden Kategorien zuordnen:

- **Potenzielle Energie**: Energie des Zustands oder der Lage; kann u. a. in chemischen Bindungen, Konzentrationsgradienten oder elektrischen Ladungsungleichgewichten gespeichert sein und kann bei einem bestimmten Prozess freigesetzt werden.
- **Kinetische Energie**: Energie der Bewegung; leistet Arbeit, indem sie die Position oder den Bewegungszustand von Materie verändert.

Die Energieformen können innerhalb der beiden Kategorien oder auch über ihre Grenzen hinweg ineinander umgewandelt werden.

All diese Reaktionen zusammengefasst bezeichnet man als **Metabolismus** (Zellstoffwechsel). Die Reaktionen lassen sich in 2 Kategorien einteilen:

- **Anabolische Reaktionen**: Einfache Moleküle werden unter Energiezufuhr zu komplexeren Molekülen verknüpft; die zugeführte Energie wird in den gebildeten chemischen Bindungen gespeichert.
- **Katabolische Reaktionen**: Komplexere Moleküle werden zu einfachen Molekülen abgebaut; dabei wird die in den chemischen Bindungen gespeicherte Energie frei.

Anabolische und katabolische Reaktionen sind häufig miteinander gekoppelt. Dabei wird die bei der katabolischen Reaktion freigesetzte Energie für die anabolische Reaktion genutzt.

### 1.1.2 Energetik chemischer Reaktionen

#### Innere Energie

Jedes System besitzt eine bestimmte Menge an Energie, die man als **innere Energie ( $U$ )** bezeichnet und die die Summe aller möglichen im System vorhandenen Energieformen darstellt. Zur inneren Energie tragen Anziehungs- und Abstoßungskräfte zwischen den Atomen, Molekülen oder Ionen und deren kinetische Energie bei.

Die innere Energie ändert sich, wenn das System mit der Umgebung Energie in Form von **Wärme ( $Q$ )** austauscht und/oder vom System oder am System **Arbeit ( $W$ )**; z. B. Volumenarbeit oder die Veränderung des chemischen Potentials durch eine Änderung der Teilchenzahl) verrichtet wird.

Die innere Energie des geschlossenen Systems kann sich nach dem ersten Hauptsatz aber nur dann ändern, wenn sich gleichzeitig die innere Energie der Umgebung um mindestens den gleichen Wert, aber mit umgekehrten Vorzeichen ändert.

In einem abgeschlossenen System ist die innere Energie dagegen konstant. Möglich ist nur eine Umverteilung der Energiemenge zwischen den im System vorhandenen Energieformen.

#### Enthalpie

Läuft ein Prozess bei konstantem Druck ( $p$ ) ab, dann wird nur ein Teil der inneren Energie für die Arbeit aufgebracht, die die Veränderung des Volumens des Systems bewirkt (Volumenarbeit), der andere Teil wird als Wärme abgegeben oder aufgenommen. Man führt daher eine neue Zustandsgröße ein, die **Enthalpie ( $H$ )**. Die Enthalpie eines Zustands kann man allerdings nicht messen, sondern nur die Differenz zwischen Ausgangs- und Endzustand, die Änderung der Enthalpie ( $\Delta H$ ), auch als **Reaktionsenthalpie** bezeichnet.

Die **Änderung der Enthalpie ( $\Delta H$ )** ist definiert als die Wärmemenge, die bei einer chemischen Umsetzung von einem geschlossenen System aufgenommen oder abgegeben wird, wobei der Druck konstant bleibt und außer einer Volumenarbeit keine andere Arbeit verrichtet wird. Es gilt:

- **$\Delta H > 0$** : die innere Energie der Ausgangssubstanz nimmt während der Reaktion zu; Wärmeenergie wird zugeführt; die Reaktion ist **endotherm**.
- **$\Delta H < 0$** : die innere Energie der Ausgangssubstanz nimmt während der Reaktion ab; Wärmeenergie wird freigesetzt; die Reaktion ist **exotherm**.

Wenn das System Energie abgibt, kennzeichnet man das also mit einem negativen Vorzeichen. Energiezufuhr erkennt man am positiven Vorzeichen.

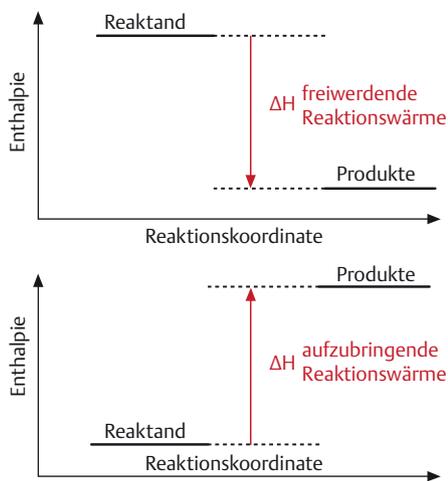


Abb. 1.1 Enthalpieänderung. Oben: exotherme Reaktion; unten: endotherme Reaktion. [Quelle: Boeck, Kurzlehrbuch Chemie, Thieme, 2018]

Die Enthalpie chemischer Substanzen hängt von der Temperatur und vom Druck ab. Deshalb bezieht man sich meist auf Normbedingungen: 25 °C und 101,3 kPa, was durch eine hochgestellte Null am Symbol deutlich gemacht wird:  $\Delta H^0$ .

Eine Verbindung kann auf verschiedenen Wegen entstehen. Der **Satz von Hess** besagt, dass die Reaktionsenthalpie vom Reaktionsweg unabhängig ist.

#### Lerntipp

In der Prüfung könnte dir die Enthalpie in Form der **Verdampfungswärme oder Verdampfungsenthalpie** begegnen. Beschrieben ist eine Verbindung mit einem Siedepunkt von ca. 12 °C, die bei normalem Druck und bei einer Temperatur von ca. 25 °C auf die Haut aufgebracht wird und kühlend wirkt. Du sollst nun unter den angebotenen Antworten diejenige herausfinden, die auf die dabei stattfindende Phasenumwandlung zutrifft. Bei der Verdampfung geht ein Stoff an seinem Siedepunkt vom flüssigen in den gasförmigen Aggregatzustand über. Für diesen Übergang müssen die Anziehungskräfte der Flüssigkeitsteilchen überwunden werden. Dazu ist eine Energiezufuhr in Form von Wärme erforderlich, die Verdampfungsenthalpie, d. h., bei der Verdampfung handelt sich um eine endotherme Reaktion mit  $\Delta H > 0$ .

### Entropie

Die **Entropie (S)** beschreibt den Ordnungsgrad eines Systems oder auch die Wahrscheinlichkeit eines Zustands. Ein System strebt immer den maximalen Grad an Unordnung an. Die Zunahme der Entropie kann einen Prozess antreiben. Jede Änderung der Ordnung bedeutet eine Entropieänderung ( $\Delta S$ ). Wie die Enthalpie kann man die Entropie eines Zustands nicht messen, sondern nur die Differenz zwischen Ausgangs- und Endzustand, die **Entropieänderung ( $\Delta S$ )**.

- $\Delta S > 0$ : Die Unordnung des Systems nimmt zu.
- $\Delta S < 0$ : Die Unordnung des Systems nimmt ab.

Ein Beispiel ist der **Übergang des Aggregatzustands** von fest über flüssig nach gasförmig, wobei die Entropie zunimmt. Wassermoleküle, die z. B. im festen Eis eine festgelegte Position haben, bewegen sich im flüssigen Wasser ungeordnet umher. Die maximale Unordnung ist im gasförmigen Zustand erreicht.

Auch die **Zunahme der Teilchenzahl bei einer chemischen Reaktion** führt zur Erhöhung der Entropie. Beim Zerfall von einem Molekül Ammoniumchlorid ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) in 1 Molekül  $\text{NH}_3$  und 1 Mo-

lekül  $\text{HCl}$  entstehen aus einem Teilchen 2 Teilchen, wodurch die Entropie steigt.

### Freie Enthalpie

Ein Kriterium für den spontanen Ablauf von Reaktionen liefert die **freie Enthalpie (G)** (freie Energie, Gibbs' freie Energie, Gibbs-Energie), die die Größen Enthalpie, Entropie und die absolute Temperatur miteinander verknüpft. Die freie Enthalpie ist ein Maß für die nutzbare Energie bzw. die Energie, die zum Verrichten von Arbeit zur Verfügung steht. Der absolute Wert der freien Enthalpie lässt sich nicht messen, wohl aber die **Änderung der freien Enthalpie ( $\Delta G$ )** im Verlauf der Reaktion.

Läuft eine Reaktion in biologischen Systemen bei konstanter Temperatur und konstantem Druck ab, dann wird  $\Delta G$  von 2 thermodynamischen Komponenten bestimmt: der Änderung der Enthalpie ( $\Delta H$ ; Wärmemenge) und der Änderung der Entropie ( $\Delta S$ ; Ordnungsgrad des Systems). Den **mathematischen Zusammenhang dieses Sachverhalts** gibt die **Gibbs-Helmholtz-Gleichung** wieder:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

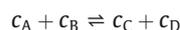
- $\Delta G$  = Änderung der freien Enthalpie
- $\Delta H$  = Änderung der Enthalpie
- $\Delta S$  = Änderung der Entropie
- $T$  = absolute Temperatur in Kelvin, 273 K

Die Kenntnis des  $\Delta G$ -Werts erlaubt eine Voraussage darüber, ob ein Vorgang spontan ablaufen wird oder nicht. Für geschlossene Systeme gilt:

- $\Delta G < 0$ : Die Reaktion läuft spontan ab; sie ist **exergon**.
  - $\Delta G = 0$ : Das System ist im Gleichgewicht.
  - $\Delta G > 0$ : Die Reaktion läuft nicht spontan ab, sie ist **endergon**.
- Je negativer  $\Delta G$ , umso mehr Arbeit vermag das System zu leisten und umso reaktiver ist es.

### 1.1.3 Thermodynamisches Gleichgewicht und die freie Standardenthalpie

Alle chemischen und biochemischen Reaktionen laufen so lange ab, bis ein Gleichgewicht der beteiligten Reaktionspartner erreicht ist. Eine Reaktion, in der die Stoffe A und B in die Stoffe C und D umgewandelt werden, wird folgendermaßen formuliert:



Das **chemische Gleichgewicht** ist ein dynamischer Zustand, bei dem Hin- und Rückreaktion mit gleicher Geschwindigkeit ablaufen und sich die Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer nicht mehr ändern. Quantitativ wird das Gleichgewicht durch das **Massenwirkungsgesetz** beschrieben, wobei die Gleichgewichtskonstante die Lage des Gleichgewichts angibt. Nach dem Massenwirkungsgesetz lautet die **Gleichgewichtskonstante (K)** der Reaktion:

$$K = \frac{c_C \cdot c_D}{c_A \cdot c_B}$$

Ist ein System nicht im Gleichgewicht, dann ist das Bestreben, das Gleichgewicht zu erreichen, eine Triebkraft, die sich in der Änderung der freien Enthalpie  $\Delta G$  ausdrücken lässt.

Unter Standardbedingungen mit  $T = 298 \text{ K}$  (25 °C), einem Druck von 1 atm und einer Konzentration der Reaktionsteilnehmer von 1 mol  $\text{l}^{-1}$  zu Beginn der Reaktion wird die Antriebskraft zur Einstellung des Gleichgewichts als **Änderung der freien Standardenthalpie ( $\Delta G^0$ )** bezeichnet. Für biochemische Reaktionen nimmt man als Standardbedingungen einen pH-Wert von 7 an

und bezeichnet die **Änderung der freien Standardenthalpie bei pH 7** dann als  $\Delta G^0$ .

Über folgende Gleichung stehen die Gleichgewichtskonstante und die Änderung der freien Standardenthalpie in Beziehung:

$$\Delta G^0 = -R T \cdot \ln K'$$

Hierbei sind:

- $\Delta G^0$  = Änderung der freien Standardenthalpie
- $R$  = Gaskonstante ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 8,314 \cdot 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )
- $T$  = Temperatur in Kelvin (298 K, 25 °C)
- $K'$  = Gleichgewichtskonstante

Die folgenden Aussagen gelten für die Standardbedingungen und eine Ausgangskonzentration der Reaktionsteilnehmer von  $1 \text{ mol l}^{-1}$ :

- $K' > 1$ : Dann ist  $\Delta G^0 < 0$  und die Hinreaktion läuft ab.
- $K' = 1$ : Dann ist  $\Delta G^0 = 0$  und das System ist im Gleichgewicht.
- $K' < 1$ : Dann ist  $\Delta G^0 > 0$  und die Rückreaktion läuft ab.

**Beziehung zwischen freier Enthalpie und freier Standardenthalpie.** Die Änderung der freien Standardenthalpie ( $\Delta G^0$ ), wie du sie gerade kennengelernt hast, berücksichtigt allerdings nicht die tatsächlich in einer Zelle vorherrschenden Bedingungen. Es handelt sich um eine Konstante, für die Standardbedingungen definiert wurden (s. o.). Die reale Änderung der freien Enthalpie ( $\Delta G$ ) ist dagegen eine Funktion der vorherrschenden Konzentrationen, die sich zudem im Reaktionsverlauf dem Gleichgewicht nähern, und der herrschenden Temperaturen.

Wie  $\Delta G$  und  $\Delta G^0$  miteinander in Beziehung stehen, zeigt folgende Gleichung:

$$\Delta G = \Delta G^0 + R T \cdot \ln \frac{c_C \cdot c_D}{c_A \cdot c_B}$$

Hierbei sind:

- $\Delta G$  = Änderung der freien Enthalpie
- $\Delta G^0$  = Änderung der freien Standardenthalpie
- $R$  = Gaskonstante ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 8,314 \cdot 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )
- $T$  = Temperatur in Kelvin (298 K = 25 °C)
- $c_A$ ,  $c_B$ ,  $c_C$  und  $c_D$  sind die realen Anfangskonzentrationen der Reaktanden bzw. Produkte.

Der Einfachheit halber nimmt man an, dass die Reaktion zwar unter Standardbedingungen mit  $T=298 \text{ K}$  (25 °C),  $\text{pH}=7$  und einem Druck von  $p=1 \text{ atm}$  abläuft, dass aber die Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer nicht identisch sind.

Unter **biochemischen Standardbedingungen** mit einer Konzentration der Reaktanden und Produkte von  $1 \text{ mol l}^{-1}$  ist  $\Delta G = \Delta G^0$ .

Hat eine Reaktion dagegen das **Gleichgewicht** erreicht, dann fehlt die treibende Kraft und das System leistet keine Arbeit mehr. Es gilt  $\Delta G = 0$ . Die Gleichung lautet:

$$0 = \Delta G = \Delta G^0 + R T \cdot \ln \frac{c_C \cdot c_D}{c_A \cdot c_B} \quad (1)$$

Im Gleichgewicht entspricht der Quotient der Konzentrationen außerdem  $K'$ , also der Gleichgewichtskonstante unter biochemischen Standardbedingungen. Nach Umstellung erhält man folgende Gleichung:

$$\Delta G^0 = -R T \cdot \ln K'$$

Wenn man den Faktor für die Umwandlung des natürlichen in den dekadischen Logarithmus berücksichtigt, gilt:

$$\Delta G^0 = 2,303 R T \cdot \log K'$$

Reaktionen mit einem positiven  $\Delta G^0$  können ablaufen, solange  $\Delta G$  negativ ist. Dies wird erreicht, wenn der Term  $R T \cdot \ln ([\text{Produkte}]/[\text{Reaktanden}])$  in Gleichung (1) negativ ist und sein Betrag

größer ist als der von  $\Delta G^0$ . Zum Beispiel können Produkte aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt werden, indem sie aus der Zelle transportiert werden oder bei einer Anschlussreaktion als Substrate dienen, um den Quotienten unter einem Wert weit unter 1 zu halten.

Die Änderung der freien Standardenthalpie ( $\Delta G^0$  bzw.  $\Delta G^0$ ) steht auch mit der Differenz der Standardredoxpotenziale ( $\Delta E^0$  bzw.  $\Delta E^0$ ) der Reaktionspartner in Verbindung.

#### Lerntipp

Das IMPP bezeichnet die **Änderung der freien Enthalpie** oder auch die **Änderung der freien Standardenthalpie** auch einfach als **freie Enthalpie**. In den Fragen stehen jedoch noch die Formelzeichen  $\Delta G$  oder  $\Delta G^0$ . Insofern ist klar, was gemeint ist.

#### IMPP-Fakten

! Das **Verdampfen von Flüssigkeiten** an ihrem Siedepunkt, also der Übertritt vom flüssigen in den gasförmigen Zustand, ist **endotherm** und es gilt:  $\Delta H > 0$ .

!!  $\Delta H < 0$ : die Reaktion ist **exotherm**.

! Ändert sich der Aggregatzustand von **fest** über **flüssig** nach **gasförmig**, nimmt die **Entropie** des Systems zu.

! Eine **Zunahme der Teilchenzahl** bei einer chemischen Reaktion führt zur Erhöhung der **Entropie**.

!! Die freie Enthalpie lässt sich mit der **Gibbs-Helmholtz-Gleichung** berechnen:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

$\Delta G < 0$ : Die Reaktion ist **exergon**.

! Befindet sich eine Reaktion im **Gleichgewicht**, ist  $\Delta G = 0$ .

## 1.2 Rechenbeispiele

### 1.2.1 Rechenbeispiel 1

In der Prüfung erhältst du möglicherweise folgende Angaben: Eine Reaktion läuft unter Normdruck an. Die Reaktionsenthalpie ist  $\Delta H = 130 \text{ kJ mol}^{-1}$ , die Entropieänderung  $\Delta S = 0,13 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ . Du sollst nun den Einfluss der Temperatur auf den Verlauf der Reaktion abschätzen. Hat sie einen Einfluss und wenn ja, welchen?

**Lösungsweg:** Um die richtigen Schlussfolgerungen zu ziehen, musst du die Gibbs-Helmholtz-Gleichung kennen:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

Dabei bedeutet ein Wert von  $\Delta G > 0$  eine endergone, also nicht spontan ablaufende Reaktion. Ein Wert von  $\Delta G < 0$  bedeutet eine exergone und damit spontan ablaufende Reaktion. Wie du siehst, hängt es u. a. von der Temperatur ab, ob die Reaktion endergon oder exergon verläuft. Damit hast du schon einmal 2 Antworten ausgeschlossen. Bei welcher Temperatur läuft die Reaktion dann aber endergon oder exergon ab? Damit  $\Delta G < 0$  wird, muss das Produkt  $T \cdot \Delta S$  größer sein als  $\Delta H$ . Angeboten werden 3 Temperaturen – 300 K, 1000 K und 1500 K. Setzt du diese mit den anderen Werten in die Gleichung ein, dann erhältst du:

$$\Delta G = 130 \text{ kJ mol}^{-1} - 300 \text{ K} \cdot 0,13 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 91 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ (endergon)}$$

$$\Delta G = 130 \text{ kJ mol}^{-1} - 1000 \text{ K} \cdot 0,13 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 0 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ (Gleichgewicht)}$$

$$\Delta G = 130 \text{ kJ mol}^{-1} - 1500 \text{ K} \cdot 0,13 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = -65 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ (exergon)}$$

**Lösung:** Bei  $T = 1500 \text{ K}$  ist die Reaktion exergon.

## 1.2.2 Rechenbeispiel 2

Für eine gegebene Reaktion gilt bei Normaldruck:  $\Delta H = 152 \text{ kJ mol}^{-1}$  und  $\Delta S = 0,2 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ . Verläuft die Reaktion bei 1500 K exergon oder endergon?

**Lösungsweg:** Auch hier musst du die Gibbs-Helmholtz-Gleichung kennen:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

Du kannst durch Überschlagen auf die Lösung kommen. Bei einem Wert von  $\Delta G > 0$  handelt es sich um eine endergone Reaktion, bei einem Wert von  $\Delta G < 0$  um eine exergone Reaktion. Wenn man für  $T$  1500 K einsetzt, dann ist das Produkt  $T \cdot \Delta S$  auf jeden Fall größer als  $\Delta H$ , sodass  $\Delta G < 0$  und die Reaktion exergon ist.

Hier die Rechnung:

$$\Delta G = 152 \text{ kJ mol}^{-1} - 1500 \text{ K} \cdot 0,2 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = -148 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ (exergon)}$$

**Lösung:** Die Reaktion ist exergon.

## 1.3 Energiereiche Verbindungen

### 1.3.1 Allgemeines

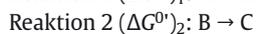
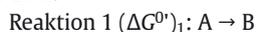
Die Übertragung von ganzen Gruppen von Atomen wie einer Phosphatgruppe, eines Zuckerrestes oder einer Methylgruppe auf einen Akzeptor ist ein Reaktionsprinzip, das in der Zelle häufig anzutreffen ist. Lieferanten für die Gruppen sind meist Coenzyme wie *S*-Adenosylmethionin (Methylgruppendonator) oder PAPS (Sulfatgruppendonator), aber auch ATP, das als Überträger von Phosphoryl-, Pyrophosphoryl- und Adenylylgruppen dient und, wie du unten sehen wirst, eine besondere Bedeutung für die Zelle hat.

Über die Leichtigkeit, mit der diese Gruppen übertragen werden, gibt das **Gruppenübertragungspotenzial** Auskunft, dessen Maß die Änderung der freien Standardenthalpie ( $S. 7$ ) bei pH 7 ( $\Delta G^0$ ) für die Hydrolyse der kovalenten Bindung zwischen Donator und Gruppe ist. Verbindungen mit einem hohen Gruppenübertragungspotenzial können durch energetische Kopplung endergone Reaktionen ermöglichen.

### 1.3.2 Prinzip der energetischen Kopplung von Reaktionen

Die **energetische Kopplung** von Stoffwechselreaktionen über ein gemeinsames Zwischenprodukt, an der häufig Enzyme beteiligt sind, ist für die Energieumwandlung in Organismen extrem wichtig.

Es gibt viele Beispiele für Reaktionen, bei denen Reaktionsfolgen auftreten: Aus A entsteht B, dieses reagiert dann gleich weiter zu C.



Die freie Standardenthalpie der Gesamtreaktion erhält man, indem man die  $\Delta G^0$ -Werte der Teilreaktionen addiert. Voraussetzung dafür, dass eine solche gekoppelte Reaktion auch tatsächlich ablaufen kann, ist, dass  $|\Delta G^0|$  der exergonen Reaktion größer ist als  $|\Delta G^0|$  der endergonen Reaktion, damit  $\Delta G^0$  der Gesamtreaktion negativ bleibt.

### 1.3.3 ATP als Energiewährung der Zelle

Im Zellstoffwechsel stammt die freie Enthalpie bzw. freie Standardenthalpie bei gekoppelten biochemischen Reaktionen häufig aus der Hydrolyse von Phosphoanhydridbindungen (Phosphorsäureanhydridbindungen) wie sie in ATP (Adenosintriphosphat, siehe **Abb. 10.5**) vorkommen. ATP gilt als Energiewährung der Zelle, da es Katabolismus und Anabolismus miteinander verbindet.

Zellen nehmen Nährstoffmoleküle auf, in deren Bindungen freie Enthalpie gespeichert ist. Sie bauen die Nährstoffmoleküle im Katabolismus ab und verwenden die frei werdende freie Enthalpie, um aus ADP und  $P_i$  ATP zu bilden. ATP gibt dann einen Teil der in ihm gespeicherten chemischen Energie bei endergonen Vorgängen ab.

ATP ist aufgebaut aus Adenin, Ribose und 3 Phosphatresten. Der erste Phosphatrest ist mit der Ribose verestert. Die Phosphatreste selber sind über **Säureanhydridbindungen** miteinander verbunden. Energiereich sind vor allem die beiden Säureanhydridbindungen zwischen den 3 Phosphatresten, weil sie leicht gespalten und die Phosphatreste auf andere Moleküle übertragen werden können. Das heißt, dass bei einer energetisch gekoppelten Reaktion ausreichend Energie freigesetzt wird, um die abgespaltene Gruppe direkt mit einem anderen Molekül zu verbinden. Man bezeichnet ATP und andere Nucleosidtriphosphate daher als energiereiche Verbindungen oder, korrekter, Verbindungen mit einem hohen **Phosphorylgruppen-Übertragungspotenzial**. Diese Änderung der freien Standardenthalpie für die Hydrolyse von ATP in ADP und  $P_i$  beträgt etwa  $-30,5 \text{ kJ mol}^{-1}$  und ist somit negativ. Die Reaktion ist daher exergon.

### 1.3.4 Weitere Verbindungen mit hohem Gruppenübertragungspotenzial

Die **Übertragung von Phosphorylgruppen** ist eine wichtige Form der Energieumwandlung in Zellen und spielt in Stoffwechselwegen eine zentrale Rolle. Neben ATP gibt es weitere Verbindungen, die bereitwillig eine Phosphorylgruppe abgeben. So kann Phosphoenolpyruvat zu Pyruvat hydrolysiert werden. **1,3-Bisphosphoglycerat besitzt eine Anhydridbindung, die hydrolysiert wird.**

Anhand der Änderung der freien Standardenthalpie ( $\Delta G^0$ ) für die Hydrolyse lassen sich Phosphorylgruppen-Übertragungspotenziale unterschiedlicher Verbindungen miteinander vergleichen (**Tab. 1.1**). Es gilt: Je mehr Energie unter Standardbedingungen bei der Hydrolyse freigesetzt wird, je negativer also  $\Delta G^0$  ist, umso höher ist das Potenzial der Verbindung, die Phosphorylgruppe zu übertragen.

ATP kann durch Übertragung einer Phosphorylgruppe Verbindungen herstellen, die einen positiveren  $\Delta G^0$ -Wert besitzen. Es kann selbst aber auch von Verbindungen mit einem negativeren  $\Delta G^0$ -Wert, wie Kreatinphosphat, gebildet werden. Man bezeichnet diese Form der ATP-Synthese durch Übertragung von Phosphorylgruppen von phosphorylierten Zwischenprodukten auf ADP auch als **Substratkettenphosphorylierung** (im Gegensatz zur oxidativen Phosphorylierung in der Atmungskette).

Tab. 1.1 Verbindungen mit hohem Gruppenübertragungspotenzial. Succinyl-CoA und Acetyl-CoA übertragen Acylgruppen auf Akzeptormoleküle, die übrigen Verbindungen übertragen Phosphorylgruppen.

energiereiche Verbindung	Gruppenübertragungspotenzial ( $\Delta G^0$ ) (kJ mol <sup>-1</sup> )
Phosphoenolpyruvat	-61,9
1,3-Bisphosphoglycerat	-49,3
ATP ( $\rightarrow$ AMP + PP <sub>i</sub> )	-45,6
Succinyl-CoA	-43,3
Kreatinphosphat	-43,0
ADP ( $\rightarrow$ AMP + P <sub>i</sub> )	-32,8
Acetyl-CoA	-31,4
ATP ( $\rightarrow$ ADP + P <sub>i</sub> )	-30,5
Glucose-3-phosphat	-20,9
PP <sub>i</sub> ( $\rightarrow$ P <sub>i</sub> + P <sub>i</sub> )	-19,3
AMP ( $\rightarrow$ Adenosin + P <sub>i</sub> )	-14,2
Fructose-6-phosphat	-15,9
Glucose-6-phosphat	-13,8
Glycerin-3-phosphat	-9,2

**Beispiel: Bildung von Glucose-6-phosphat aus Glucose.** Die mit  $\Delta G^0 = -30,5$  kJ mol<sup>-1</sup> stark exergone Hydrolyse von ATP kann an endergone Prozesse gekoppelt sein. Ein Beispiel für eine solche Reaktion ist die Phosphorylierung von Glucose zu Glucose-6-phosphat in der Hexokinase-Reaktion der Glykolyse.

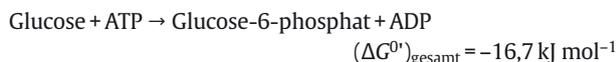
Reaktion 1:



Reaktion 2:



Gesamtreaktion:



Reaktion 2 ist so stark exergon, dass die Gesamtreaktion ebenfalls exergon ist und ablaufen kann.

#### IMPP-Fakten



- ! Der erste Phosphatrest des ATPs ist mit der Ribose über eine **Phosphorsäureesterbindung** verbunden.
- ! ATP enthält **energiereiche Säureanhydridbindungen**, die leicht gespalten werden können. Dabei werden oft Phosphatmoleküle auf andere Moleküle übertragen.
- ! Die **Hydrolyse von ATP** zu ADP und Phosphat ist **exergon** und die freie Enthalpie unter Standardbedingungen ( $\Delta G^0$ ) ist **negativ**.
- ! Bei der **Hydrolyse von ATP** zu ADP und Phosphat beträgt die **freie Enthalpie** unter Standardbedingungen ( $\Delta G^0$ ) etwa **-30 kJ mol<sup>-1</sup>**.
- ! Die **gemischte Anhydridbindung** aus Carbonsäure und Phosphat im 1,3-Bisphosphoglycerat hat ein hohes Gruppenübertragungspotenzial.
- ! **Kreatinphosphat** hat ein **hohes Phosphatgruppenübertragungspotenzial**, welches über dem von ATP ( $\rightarrow$  ADP + P<sub>i</sub>) steht.

## 2 Enzymkinetik

### 2.1 Michaelis-Menten-Gleichung und Lineweaver-Burk-Diagramm

#### 2.1.1 Allgemeines

Ein entscheidendes Merkmal von lebenden Organismen ist die Fähigkeit, unterschiedliche Energieformen (S.5), wie die von elektrochemischen Gradienten, chemischen Bindungen oder auch Bewegungsenergie usw., ineinander umwandeln zu können. Eine wesentliche Rolle bei dieser Umwandlung spielen Enzyme. Diese erhöhen die **Reaktionsgeschwindigkeit**.

In Organismen werden Reaktionen, die nichtkatalysiert sehr langsam ablaufen würden, nicht durch Zufuhr von Wärme beschleunigt, sondern durch Enzyme. Enzyme sind **Biokatalysatoren**. Die Stoffe, die von einem Enzym umgesetzt werden, heißen **Substrate**. Bei fast allen Enzymen handelt es sich um **Proteine**. Allerdings besitzen auch einige Ribonucleinsäuren katalytische Aktivität. Sie werden als **Ribozyme** bezeichnet.

Enzyme erleichtern die Bildung eines **Übergangszustands** und senken die **Aktivierungsenergie** für die katalysierte Reaktion. Indem sie einen alternativen Reaktionsweg ermöglichen, können Enzyme die Geschwindigkeit einer Reaktion um den Faktor 10<sup>10</sup> und mehr steigern.

Wichtig für das Verständnis der Wirkungsweise von Enzymen ist, dass sie zwar die Einstellung des Gleichgewichts, das sich in der Gleichgewichtskonstante ( $K$ ) ausdrückt, beschleunigen, dieses aber nicht verschieben. Außerdem haben sie keinen Einfluss darauf, ob eine Reaktion zu bestimmten Produkten stattfinden kann oder nicht. Aussagen hierüber lässt nur die Änderung der freien Enthalpie einer Reaktion (S.6) ( $\Delta G$ ) zu.

Ein sehr bedeutender Ansatz, Enzymfunktionen zu verstehen, ist die Untersuchung der Geschwindigkeit enzymkatalysierter chemischer Reaktionen, die man als **Enzymkinetik** bezeichnet.

#### 2.1.2 Michaelis-Menten-Modell

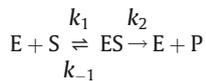
Die **Reaktionsgeschwindigkeit** lässt sich am besten untersuchen, indem man die **Zunahme des Reaktionsprodukts** verfolgt. Stellt man die Produktkonzentration als Funktion der Zeit grafisch dar, erhält man eine hyperbolische Kurve, bei der die Produktkonzentration einen Maximalwert erreicht. Zu diesem Zeitpunkt finden keine Nettoveränderungen der Konzentration von Substrat (und Produkt) mehr statt, das Reaktionsgleichgewicht ist erreicht.

Um Untersuchungen zu vereinfachen, beschränkt man sich bei kinetischen Experimenten auf die Messung der **Anfangsgeschwindigkeit  $V_0$** . Diese wird von der Steigung der Kurve zu Reaktionsbeginn bestimmt, wenn die Rückreaktion noch vernachlässigbar ist.

Trägt man nun die Anfangsgeschwindigkeit  $V_0$  als Funktion der **Substratkonzentration  $c_S$**  auf (jeweils bei konstanter Enzymmenge), ergibt sich eine hyperbolische Kurve, die sich asymptotisch der **Maximalgeschwindigkeit  $V_{\text{max}}$**  der Reaktion annähert. In diesem Bereich der Substratkonzentration sind alle katalytischen Zentren der Enzyme besetzt. Bei niedriger Substratkonzentration nimmt  $V_0$  dagegen zunächst proportional mit der Substratkonzentration zu, wie man an dem linearen Anstieg der

Kurve im Bereich geringer Substratkonzentrationen erkennen kann.

Anfang des vergangenen Jahrhunderts entwickelten Leonor Michaelis und Maud Menten ein Modell, das diese Zusammenhänge erklärt. Das Modell geht davon aus, dass bei der Umsetzung eines Substrats zum Produkt ein **Enzym-Substrat-Komplex (ES)** als Übergangsform entsteht. Das Enzym (E) bindet das Substrat (S) mit der Geschwindigkeitskonstante  $k_1$ . Der gebildete ES-Komplex kann dann mit der Geschwindigkeitskonstante  $k_1$  wieder in E und S zerfallen. Alternativ werden mit der Geschwindigkeitskonstante  $k_2$  das unveränderte Enzym und das Produkt (P) freigesetzt. Da zu Beginn der Reaktion keine Rückreaktion von E und P stattfindet bzw. das Produkt im Stoffwechsel i. d. R. gleich weiterreagiert, lautet die Gleichung:



Die Geschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion ist von den Enzym- und Substratkonzentrationen wie auch den Geschwindigkeiten der Einzelschritte abhängig. Um diesen Zusammenhang mathematisch auszudrücken, stellen wir zunächst fest, dass die Katalysegeschwindigkeit von der Bildung des Produkts (P) aus dem Enzym-Substrat-Komplex (ES) limitiert wird. Die **Katalysegeschwindigkeit  $V_0$**  ist gegeben durch:

$$V_0 = k_2 \cdot c_{ES} \quad (1)$$

Diese Gleichung sagt aus, dass die Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes abhängt. Die Konzentration von ES wird ausgedrückt durch die Bildungs- und die Zerfallsgeschwindigkeit des ES-Komplexes:

- Bildungsgeschwindigkeit für ES:  $ES = k_1 \cdot c_E \cdot c_S$
- Zerfallsgeschwindigkeit für ES:  $ES = (k_{-1} + k_2) \cdot c_{ES}$

Da man für die Berechnung von einem Fließgleichgewicht (**steady state**) ausgeht, bei dem Bildung und Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes gleich groß sind, ergibt sich:

$$k_1 \cdot c_E \cdot c_S = k_{-1} + k_2 \cdot c_{ES}$$

Diese Gleichung lässt sich umformen zu:

$$\frac{c_E \cdot c_S}{c_{ES}} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Die Verrechnung von konstanten Faktoren (hier die Geschwindigkeitskonstanten der Teilreaktionen) ergibt wiederum einen konstanten Wert, der die Bezeichnung **Michaelis-Konstante ( $K_M$ )** erhalten hat:

$$K_M = \frac{c_E \cdot c_S}{c_{ES}} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (2)$$

Die Michaelis-Konstante ist aber auch ein Maß für die Stabilität des Enzym-Substrat-Komplexes: Zerfällt der Komplex leicht, sind also  $k_{-1}$  und  $k_2$  hoch, dann ist auch  $K_M$  hoch. Ist dagegen  $k_1$  hoch, d. h., wenn der Komplex leicht gebildet wird und stabil ist, ist  $K_M$  niedrig.

Die Michaelis-Konstante ist unter bestimmten Bedingungen auch ein Maß für die Affinität eines Enzyms zu „seinem“ Substrat: Im Allgemeinen ist  $k_2$  sehr viel kleiner als  $k_{-1}$ . Das heißt, dass der ES-Komplex wesentlich rascher wieder in E und S dissoziiert, als P gebildet wird. In diesem Fall ( $k_2 \ll k_{-1}$ ) gilt näherungsweise, dass  $K_M$  der Dissoziationskonstante des ES-Komplexes entspricht:

$$K_M = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

Eine einfache Berechnung des  $K_M$ -Werts ist möglich, wenn die **Enzymerhaltungsgleichung** berücksichtigt wird. Sie sagt aus, dass das Enzym (wie jeder Katalysator) bei der Reaktion nicht verbraucht wird. Die Konzentration an freiem Enzym  $c_E$  ist somit die Differenz der gesamten Enzymmenge  $c_{E_{\text{gesamt}}}$  und der Enzymmenge, die im ES-Komplex gebunden ist  $c_{ES}$ :

$$c_E = c_{E_{\text{gesamt}}} - c_{ES} \quad (3)$$

Ersetzt man die freie Enzymmenge in Gleichung (2) durch den Ausdruck in (3), so ergibt sich:

$$c_{ES} = c_{E_{\text{gesamt}}} \cdot \frac{c_S}{K_M + c_S} \quad (4)$$

Setzt man diesen Ausdruck nun in Gleichung (1) ein, dann ergibt sich:

$$V_0 = k_2 \cdot c_{E_{\text{gesamt}}} \cdot \frac{c_S}{K_M + c_S} \quad (5)$$

Die **Maximalgeschwindigkeit  $V_{\text{max}}$**  der Reaktion wird erreicht, wenn alle katalytischen Bindungsstellen des Enzyms mit Substrat gesättigt sind, wenn also  $c_{ES} = c_{E_{\text{gesamt}}}$  ist. Der Substratumsatz ist dann direkt proportional zur Enzymmenge und es gilt:

$$V_{\text{max}} = k_2 \cdot c_{E_{\text{gesamt}}} \quad (6)$$

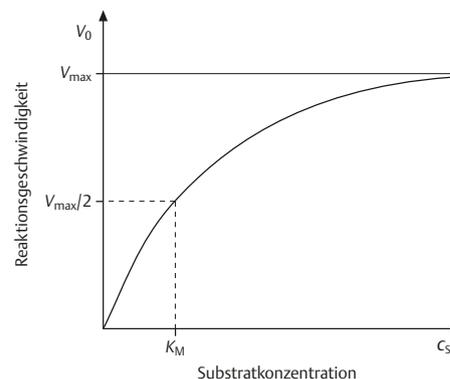
Ersetzt man den Ausdruck  $k_2 \cdot c_{E_{\text{gesamt}}}$  in Gleichung (5) durch den Ausdruck in Gleichung (6), so ergibt sich die **Michaelis-Menten-Gleichung**:

$$V_0 = \frac{V_{\text{max}} \cdot c_S}{K_M + c_S}$$

Die Geschwindigkeit der Enzymreaktion, d. h. der Umsatz pro Zeiteinheit, lässt sich experimentell für jede beliebige Substratkonzentration bestimmen. Sie wird maximal, wenn ein sehr hoher Substratüberschuss vorhanden ist. Somit kann man auch den  $K_M$ -Wert relativ leicht ermitteln.

Aus Gleichung (7) lässt sich ableiten, dass  $V_0$  den Wert  $V_{\text{max}}/2$  annimmt, wenn  $c_S = K_M$  ist. In Worten:  $K_M$  entspricht der Substratkonzentration, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit die Hälfte ihres maximalen Werts erreicht.

Diese Folgerung aus der Michaelis-Menten-Gleichung zeigt, dass der  $K_M$ -Wert die Dimension einer Substratkonzentration hat und bei der grafischen Auftragung von  $V_0$  gegen  $c_S$  als der Abszissen(x)-Wert erscheint, der bei halbmaximaler Geschwindigkeit aus der experimentell ermittelten Kurve abgelesen werden kann.



**Abb. 2.1 Michaelis-Menten-Kinetik.** Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion in Abhängigkeit von der Substratkonzentration nach Michaelis-Menten.  $V_{\text{max}}$  = Maximalgeschwindigkeit;  $K_M$  = Michaelis-Konstante [Quelle: Königshoff, Brandenburger, Kurzlehrbuch Biochemie, Thieme, 2018]

Die **Michaelis-Konstante**  $K_M$  ist von einigen Faktoren wie Temperatur und pH-Wert abhängig und hat folgende Eigenschaften:

- $K_M$  ist die **Substratkonzentration**, bei der die **halbmaximale Geschwindigkeit** ( $V_{\max}/2$ ) einer Reaktion erreicht ist, also  $K_M = c_S$ , wenn  $V_0 = V_{\max}/2$ . Je höher der  $K_M$ -Wert, desto höher ist die Substratkonzentration, die benötigt wird, um  $V_{\max}/2$  zu erreichen.  $K_M$  ist die Substratkonzentration, bei der die Hälfte der aktiven Zentren der vorhandenen Enzymmoleküle besetzt ist.  $K_M$  hat die Dimension einer Substratkonzentration (z. B.  $\text{mol l}^{-1}$  oder auch  $\text{mmol l}^{-1}$ ).
- $K_M$  ist ein Maß für die Affinität des Enzyms zu seinem Substrat (niedriger  $K_M$ -Wert = hohe Affinität; hoher  $K_M$ -Wert = niedrige Affinität).
- $K_M$  ist unabhängig von Enzym- und Substratkonzentration.
- $K_M$  kann für verschiedene Substrate eines Enzyms unterschiedlich groß sein.

Bei einem erniedrigten  $K_M$ -Wert (z. B. aufgrund einer Mutation des Enzyms) wird also weniger Substrat benötigt, um  $V_{\max}/2$  zu erreichen. Meist führt ein genetischer Defekt jedoch zu einer Erhöhung des  $K_M$ -Werts und niedrigerem  $V_{\max}$ , sodass das Enzym weniger effizient arbeitet.

### 2.1.3 Lineweaver-Burk-Diagramm

Die Bestimmung von  $V_{\max}$  und des  $K_M$ -Werts durch die Auftragung von  $V_0$  gegen  $c_S$  ist prinzipiell möglich. Allerdings nähert sich die Kurve nur asymptotisch der Maximalgeschwindigkeit, ohne diese jemals zu erreichen. Die Werte lassen sich daher nur durch Extrapolieren bestimmen. Abhilfe schafft hier die Umwandlung der Michaelis-Menten-Gleichung in eine Geradengleichung, indem man von beiden Seiten der Michaelis-Menten-Gleichung die Kehrwerte bildet:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{c_S} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Trägt man nun  $1/V_0$  gegen  $1/c_S$  auf (doppelt reziproke Auftragung, Lineweaver-Burk-Diagramm), dann erhält man eine Gerade. Für diese Gerade gilt:

- **Steigung** entspricht  $K_M/V_{\max}$ .
- **y-Achsenabschnitt** entspricht  $1/V_{\max}$ .
- **x-Achsenabschnitt** entspricht  $-1/K_M$ .

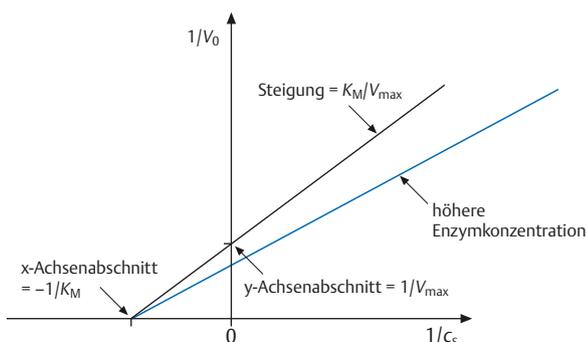


Abb. 2.2 Doppelt reziproke Darstellung einer Enzymkinetik (Lineweaver-Burk-Diagramm). Dargestellt sind die Werte von 2 Messungen bei unterschiedlichen Enzymkonzentrationen. [Quelle: Königshoff, Brandenburg, Kurzlehrbuch Biochemie, Thieme, 2018]

Führt man die Messung bei einer höheren Enzymkonzentration durch, ergibt sich eine Gerade, die denselben Ursprung hat wie die ursprüngliche Gerade (der  $K_M$ -Wert verändert sich nicht), aber einen kleineren y-Achsenabschnitt ( $V_{\max}$  ist erhöht).

#### Lerntipp

In der Prüfung wurde eine Abbildung wie die unten präsentiert, zusammen mit der Information, dass die beiden gezeigten Geraden aus der Enzymmessung des Magensafts eines Patienten und der einer Kontrolllösung hervorgegangen sind. Welche Schlüsse lassen sich aus den Geraden ziehen?

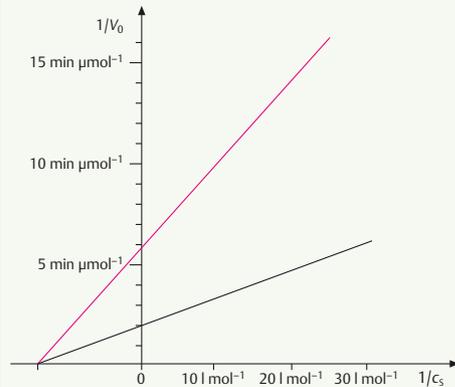


Abb. 2.3 Enzymaktivität in 2 Enzymlösungen im Lineweaver-Burk-Diagramm. Die Messung des Magensafts der Patientin ist rot dargestellt, die der Kontrollenzymlösung schwarz.

Der gemeinsame Ursprung auf der x-Achse bedeutet, dass der  $K_M$ -Wert gleich ist.

Der steilere Verlauf der Gerade aus der Messung mit dem Patientenmagensaft bedeutet, dass die Aktivität des enthaltenen Enzyms geringer ist als in der Kontrolllösung. In diesem Fall kann man sogar sagen, dass sie etwa ein Drittel beträgt. Diesen Wert kannst du auch berechnen (laut Rechenbeispiel (S. 12) sind es etwa 33 %).

**Wechselzahl.** Die Wechselzahl oder **molare Aktivität** (Turnover, Einheit:  $\text{s}^{-1}$ ) gibt an, wie viele Substratmoleküle pro Zeiteinheit und bei vollständiger Sättigung des Enzyms mit Substrat von einem Enzymmolekül umgesetzt werden, und sie sagt etwas über die Leistungsfähigkeit eines Enzyms aus.

**Enzymaktivität.** Die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion wird als Stoffumsatz pro Zeiteinheit angegeben ( $\text{mol s}^{-1}$ ). Die **katalytische Einheit** der Enzymaktivität ist **Katal (kat)**. Diese SI-Einheit soll die **Unit (U)** als Einheit für die Enzymaktivität unter standardisierten Bedingungen (pH-Optimum, Substratsättigung,  $25^\circ\text{C}$ ) ersetzen. U wird aber immer noch angewendet.

Ein **kat** entspricht einem Stoffumsatz von einem Mol Substrat pro Sekunde unter Standardbedingungen:  $1 \text{ kat} = 1 \text{ mol s}^{-1} = 6 \cdot 10^7 \text{ U}$ .

Eine **U** entspricht einem Stoffumsatz von einem Mikromol Substrat pro Minute unter Standardbedingungen:  $1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol min}^{-1} = 16,67 \cdot 10^{-9} \text{ kat} = 16,67 \text{ nkat}$  (nanokat).

Eine weitere verwendete Einheit ist die **internationale Einheit (I.E. oder I.U.** von international unit; keine SI-Einheit). Sie ist prinzipiell identisch zu U, wird jedoch v. a. als Maßeinheit für die Wirkung einer medizinisch verwendeten Substanz verwendet.

## IMPP-Fakten



- !  $K_M$  ist ein **Maß für die Affinität** eines Enzyms.
- !!! Bei **Substratsättigung** ist die **Maximalgeschwindigkeit  $V_{\max}$**  einer enzymkatalysierten Reaktion direkt proportional abhängig von der **Enzymkonzentration**.
- ! Die **Geschwindigkeit der Enzymreaktion**, d. h. der Umsatz pro Zeiteinheit, lässt sich experimentell für jede **beliebige Substratkonzentration** bestimmen. Bei einer gegebenen Substratkonzentration kann die Reaktionsgeschwindigkeit aus dem Michaelis-Menten-Diagramm **abgelesen** werden.
- !!!! Die **Michaelis-Menten-Gleichung** musst du beherrschen und damit rechnen können:

$$V_0 = \frac{V_{\max} \cdot c_S}{K_M + c_S}$$

- !  $K_M$  ist die **Substratkonzentration**, bei der die **halbmaximale Geschwindigkeit  $V_{\max}/2$**  einer Reaktion erreicht ist.
- ! Die **Einheit** der Michaelis-Konstante ist die der Substratkonzentration: **mol l<sup>-1</sup>**.
- ! Je höher der  $K_M$ -Wert, desto höher ist die **Substratkonzentration**, die benötigt wird, um  $V_{\max}/2$  zu erreichen.
- !  $K_M$  ist **unabhängig** von der Enzym- und der **Substratkonzentration**.
- ! Die Michaelis-Konstante  $K_M$  kann für **verschiedene Substrate** eines Enzyms unterschiedlich groß sein.
- ! Bei einem **erniedrigten  $K_M$ -Wert** wird weniger **Substrat** benötigt, um  $V_{\max}/2$  zu erreichen.
- ! Bei Mutationen in für ein Enzym codierenden Genen sprechen ein **erhöhter  $K_M$ -Wert** und/oder eine **verringerte  $V_{\max}$**  (im Vergleich zum Wildtyp-Enzym) für eine **weniger effiziente** Enzymvariante.
- ! In einem **Lineweaver-Burk-Diagramm** wird auf der **y-Achse  $1/V_0$**  und auf der **x-Achse  $1/c_S$**  aufgetragen.
- ! Ein **größerer y-Achsenabschnitt** im Lineweaver-Burk-Diagramm bedeutet eine geringere Maximalgeschwindigkeit ( $V_{\max}$ ) und damit auch eine **geringere Enzymaktivität**.
- ! **Enzymaktivität** wird u. a. in **Units (U)** gemessen: Eine U entspricht einem Stoffumsatz von einem Mikromol Substrat pro Minute unter Standardbedingungen: **1 U = 1  $\mu\text{mol min}^{-1}$**

## 2.2 Rechenbeispiele

### 2.2.1 Rechenbeispiel 1

In der Prüfung musst du ggf. wissen, um wie viel die Reaktionsgeschwindigkeit bei doppelter Enzymkonzentration zunimmt, sofern eine Substratsättigung vorliegt.

**Lösungsweg:** Bei Substratsättigung sind alle katalytischen Zentren des Enzyms besetzt, die Reaktionsgeschwindigkeit ist also proportional zur Enzymmenge. Eine Verdopplung der Enzymkonzentration bedeutet eine Zunahme der Konzentration um 100%. Daher nimmt auch die Reaktionsgeschwindigkeit um 100% zu.

**Lösung:** 100%

### 2.2.2 Rechenbeispiel 2

In der Prüfung kann dir ein Lineweaver-Burk-Diagramm präsentiert werden, das 2 Enzymkinetiken darstellt (siehe Abb. 2.3): Die erste Kinetik wurde mit dem Magensaft einer Patientin gemessen (Gerade I, die die y-Achse bei 6 min  $\mu\text{mol}^{-1}$  schneidet), die zweite mit einem Kontrollenzym (Gerade II, die die y-Achse

bei 2 min  $\mu\text{mol}^{-1}$  schneidet). Beide Geraden haben auf der x-Achse denselben Ursprung. Wie hoch ist die Aktivität der Kontrolllösung im Vergleich mit der Aktivität in der Probe?

**Lösungsweg:** Die Enzymaktivität (S. 11) ist  $V_{\max}$  mit der Einheit  $\mu\text{mol min}^{-1}$  oder auch U. Du kannst  $1/V_{\max}$  aus dem Diagramm ablesen und erhältst die Information auch in der Aufgabenstellung.

Die Enzymaktivität im Magensaft (I) beträgt  $\frac{1}{6} \mu\text{mol min}^{-1} = 0,167 \mu\text{mol min}^{-1} = 0,167 \text{ U}$

Die Enzymaktivität in der Kontrolllösung (II) beträgt  $\frac{1}{2} \mu\text{mol min}^{-1} = 0,5 \mu\text{mol min}^{-1} = 0,5 \text{ U}$

Die Aktivität der Kontrolllösung ist mit 0,5 U gleich 100%; 0,167 U sind etwa 33%.

**Lösung:** Die Enzymaktivität im Magensaft beträgt etwa 33% der Aktivität des Kontrollenzym.

### 2.2.3 Rechenbeispiel 3

Es wird danach gefragt, wie hoch die Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion nach der Michaelis-Menten-Gleichung ist, wenn die Substratkonzentration dem Zweifachen des  $K_M$ -Werts entspricht ( $c_S = 2 \cdot K_M$ ). Verlangt sind Werte in Prozent von  $V_{\max}$ .

**Lösungsansatz:** Die Gleichung lautet:

$$V_0 = \frac{V_{\max} \cdot c_S}{K_M + c_S}$$

Ersetze in der Gleichung  $c_S$  durch  $2 \cdot K_M$ :

$$V_0 = \frac{V_{\max} \cdot 2 \cdot K_M}{K_M + 2 \cdot K_M}$$

$$V_0 = V_{\max} \cdot \frac{2 \cdot K_M}{3 \cdot K_M}$$

$$V_0 = \frac{2}{3} V_{\max} = 0,667 V_{\max}$$

**Lösung:** Die Reaktionsgeschwindigkeit  $V_0$  bei  $c_S = 2 \cdot K_M$  ist ca. 66% von  $V_{\max}$ .

### 2.2.4 Rechenbeispiel 4

Gegeben ist die Michaelis-Konstante einer mutierten Glucokinase. Sie ist 4 mmol l<sup>-1</sup>. Außerdem erhältst du die Information, dass Insulin schon ab einer Reaktionsgeschwindigkeit der Glucokinase von ca. 20% der Maximalgeschwindigkeit in signifikanter Menge freigesetzt wird. Gefragt wird nach der Glucosekonzentration, bei der das der Fall ist.

**Lösungsweg:** Wende auch hier die Michaelis-Menten-Gleichung an. Gegeben sind die Reaktionsgeschwindigkeit ( $V_0 = 0,2 V_{\max}$ ) wie auch der  $K_M$ -Wert von 4 mmol l<sup>-1</sup>. Gesucht ist die Substratkonzentration  $c_S$ .

$$V_0 = \frac{V_{\max} \cdot c_S}{K_M + c_S}$$

Löse die Gleichung nach  $c_S$  auf:

$$V_0 (K_M + c_S) = V_{\max} \cdot c_S$$

$$0,2 V_{\max} (K_M + c_S) = V_{\max} \cdot c_S$$

$$0,2 (K_M + c_S) = c_S$$

$$0,2 K_M + 0,2 c_S = c_S$$