

Leitprogramm **Enzyme**

Fach:	Biologie
Schultyp:	Gymnasium (alle Typen)
Stufe:	12. Schuljahr (Abschlussjahr)
Bearbeitungsdauer:	12 Lektionen Fundamentum: Kapitel 1 bis 4 Additum: Kapitel 5 bis 6
Autoren:	Irene Brandt Paul Indra Peter Pfister Thomas Oberholzer Kirsten Schlüter Kurt Zoller
Betreuung und Ueberarbeitung:	Dr. Walter Kunz
Fassung vom:	15. März 1995
Schulerprobung:	Kantonsschule Wettingen

© Die Rechte für die Nutzung dieses Leitprogramms liegen bei der ETH
Eidgenössische Technische Hochschule in Zürich

Lehrerinnen und Lehrer in der Schweiz können dieses Lernmaterial für den Gebrauch in ihrer Klasse
kopieren.

Anderweitige Nutzungsrechte, auch auszugsweise,
sind auf schriftliche Anfrage erhältlich durch:
Prof. Dr. K. Frey, ETH Institut für Verhaltenswissenschaft,
Turnerstr. 1, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Einführung

Während den nächsten Stunden werden Sie die Bekanntschaft mit einer der ungewöhnlichsten Stoffklasse der Natur machen.

Ein kurzer Steckbrief dieser Stoffklasse lautet:

Entstanden:	vor ungefähr 3 Milliarden Jahren
Nutzung:	ab 8000 Jahren vor Christi Geburt
Entdeckung:	1833
Taufe:	1876 auf den Namen ENZYME

Dies ist wohl eine nicht ganz alltägliche "Lebensgeschichte". Aber wieso macht man sich die Mühe, ein ganzes Leitprogramm über die Enzyme zu erarbeiten ?

Die Frage lässt sich leicht beantworten! Ohne die Enzyme gäbe es kein Leben auf der Erde. Enzyme bringen chemische Reaktionen zum Laufen, die ohne sie nicht stattfinden könnten.

In den nächsten Stunden werden Sie einiges über die Enzyme lernen. Wir erklären Ihnen, wie Enzyme aussehen und funktionieren. Sie werden verstehen, wieso Enzyme Dinge tun können, wovon Chemiker nur träumen. Sie erhalten aber auch einen Einblick, wo überall sich der Mensch Enzyme zu Nutzen gemacht hat.

Wir wollen aber nicht gleich mit der Tür ins Haus fallen. Zuerst wird Ihnen erklärt, was ein Leitprogramm überhaupt ist.

Wir wünschen Ihnen viel Spass beim Erforschen der Welt der Enzyme.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	2
Inhaltsverzeichnis	3
Arbeitsanleitung	4
Kapitel 1 Grundwissen	6
Kapitel 2 Wirkungsweise der Enzyme	12
Kapitel 3 Kinetik der enzymatischen Reaktionen	24
Kapitel 4 Regelung der Enzymaktivität	33
Kapitel 5 Cofaktoren und Vitamine (Fakultatives Additum)	48
Kapitel 6 Enzyme in Biotechnologie und Medizin (Fakultatives Additum)	62
Anhang 1 Kapitel-Tests für den Tutor	76
Anhang 2 Versuchsanleitungen	88
Anhang 3 Arbeitsblätter	100
Anhang 4 Mediothek für die Schüler	105
Anhang 5 Von den Autoren benutzte Quellen	106

Arbeitsanleitung

No One Man Show ! Leitprogramm - Was soll das ?

Für die nächsten 8 - 12 Stunden werden Sie unter Anleitung dieses Programmes für sich selber arbeiten. Ihr Lehrer hält keine Vorträge. Er wird Sie auch nicht während der Arbeit beaufsichtigen.

Arbeiten Sie Seite für Seite durch. Sie bestimmen Ihr Arbeitstempo. Lassen Sie sich durch schneller arbeitende Mitschüler nicht irritieren. Sie haben genügend Zeit, um das Leitprogramm durchzuarbeiten.

Was erwartet Sie ?

Das Leitprogramm ist in sechs Kapitel unterteilt. Nach 8 Stunden sollten alle die Kapitel 1-4 durchgearbeitet haben. Die weiteren Kapitel enthalten Zusatzinformationen. Sie sind "Zückerli" für Interessierte. Alles wichtige steht aber schon in den Kapiteln 1-4.

Kapitelaufbau

Alle Kapitel sind ähnlich aufgebaut. Zuerst erfolgt ein kurzer Überblick. Dann werden Ihnen die Lernziele des Kapitels mitgeteilt. Beim Durcharbeiten des Kapitels sollten Sie sich die jeweiligen Ziele immer vor Augen halten. Zwischendurch werden Ihnen Kontrollfragen gestellt. Diese dienen Ihnen zur Überprüfung, ob Sie das Gelesene verstanden haben.

Ein Kapitel wird mit dem Kapiteltest abgeschlossen. Melden Sie sich aber erst zu diesem Test, wenn Sie alles verstanden haben.

Wie gehen Sie vor?

Immer wenn von Ihnen eine spezielle Handlung erwartet wird, erscheint ein bestimmtes Symbol.



Dieses Symbol steht für "eine Aufgabe lösen". Die richtige Antwort finden Sie jeweils am Ende des Kapitels.



Dieses Symbol steht für ein Experiment. Um das Leitprogramm anschaulicher zu gestalten, haben wir an bestimmten Stellen Experimente eingebaut.

Sie führen die Experimente in Gruppen durch. Tun Sie sich mit Schülern zusammen, die gleich weit sind.

Gehen Sie ins Labor. Treffen Sie die nötigen Vorbereitungen und führen Sie den Versuch gemäss Anleitung durch.



Dieses Symbol steht für "Benutzung der Handbibliothek". Holen Sie sich die benötigten Informationen aus den angegebenen Büchern.

Hilfe

Was machen Sie, wenn Sie nicht mehr weiter wissen?

Gehen Sie zurück zu einem Punkt, den Sie noch verstanden haben. Wenn Sie wieder stecken bleiben, fragen Sie einen Mitschüler. Falls es mit vereinten Kräften immer noch nicht gehen sollte, wenden Sie sich an den Lehrer. Es könnte ja sein, dass sich trotz grösster Anstrengungen ein Fehler eingeschlichen hat.

Aber nun wollen wir Sie nicht länger auf die Folter spannen. Sie brennen sicher darauf, sich in die Welt der Enzyme zu stürzen.

Kapitel 1

Grundwissen

Worum geht es ?

In der Natur, im täglichen Leben oder gerade jetzt in Ihrem Körper laufen Tausende von chemischen Reaktionen ab. Viele dieser Reaktionen würden ohne die Enzyme gar nicht ablaufen. Leben ist einfach undenkbar ohne die Enzyme. Im ersten Kapitel erarbeiten Sie sich notwendiges Grundwissen.

Was sollten Sie nach Beendigung des 1. Kapitels wissen ?

Lernziele

Sie können den Begriff "Katalysator" umgangssprachlich in einem Satz umschreiben.

Sie sind fähig, den Einfluss der Enzyme auf die Aktivierungsenergie in einfachen Worten zu erklären.

Keine Angst , wenn Sie die Begriffe Katalysator und Aktivierungsenergie nicht verstehen. Lesen Sie ruhig weiter. Am Ende des Kapitels werden Sie die beiden Fragen richtig beantworten können.

Was nun ?

Sie erarbeiten sich zuerst die Grundbegriffe des Leitprogrammes. Unbekannte Begriffe schlagen Sie in einem Lehrbuch nach. Danach folgt ein rein informativer Überblick der Enzymforschung. Wir werden Ihnen erklären, was Enzyme sind und wie sie wirken.

Zwischendurch müssen Sie Kontrollfragen beantworten. Diese dienen Ihnen zur Sicherung des Gelernten. Am Schluss des Kapitels befindet sich die Lernkontrolle. Beantworten Sie die Fragen. Falls Sie die Fragen der Lernkontrolle richtig beantwortet haben und Sie sich sicher fühlen, dann melden Sie sich zum Kapiteltest.

Wichtige Fachbegriffe

Damit alle unter gewissen Begriffen, das gleiche verstehen, müssen wir zunächst einige Definitionen zur Kenntnis nehmen.



In der Handbibliothek Ihres Klassenzimmers finden Sie verschiedene Lehrbücher, in denen Definitionen für die gefragten Begriffe zu finden sind. Schreiben Sie deren Wortlaut heraus oder fassen Sie das Gelesene in eigenen Worten zusammen.

Katalysator:

Katalyse :

Enzym :

Enzyme sind "Biokatalysatoren". Sie werden nur in lebenden Zellen hergestellt.

Geschichte

Nach dem ungewöhnlichen Steckbrief der Enzyme wollen wir Ihnen eine ordentliche Darstellung der Enzymforschung nicht vorenthalten.

Enzyme wurden schon lange verwendet. Lange bevor man etwas Näheres über sie wusste. Man fragte nicht "wieso ?" und "warum ?"! Es funktionierte einfach. Die Ägypter brauchten schon vor 8000 Jahren Enzyme. Mit ihrer Hilfe stellten sie Bier, Wein, Sauerteig, Käse und Joghurt her. Bis ins 19. Jahrhundert hatte der Mensch viele Verwendungen für die Enzyme gefunden. Die Forschung aber hatte die Enzyme noch nicht einmal entdeckt.

1833 beobachtet **Anselme Payen**, dass eine Malzlösung die Auftrennung von Stärke in Glucose stark beschleunigt. Er fand in der Malzlösung den Stoff, der für die Beschleunigung verantwortlich ist. Er nannte ihn Diastase (vom griechischen Wort für "trennen"). Ohne es zu wissen, hatte Anselme Payen das erste Enzym entdeckt.

1876 schlug **Wilhelm Kuhne** vor, die Biokatalysatoren "Enzyme" zu nennen. Enzym bedeutet auf griechisch "Sauerteig". Da das Problem der Biokatalyse von Beginn weg anhand der Hefe untersucht wurde, ist der Schritt von Teig zu Enzym gar nicht so abwegig.

Die Namensgebung der Enzyme erfolgt nach System. Der Name gibt immer einen Hinweis auf die "Tätigkeit" des Enzyms. Entweder beschreibt er die Art der katalysierten Reaktion oder des umgesetzten Ausgangsstoffes. Als Endung wird immer "-ase" verwendet. Ein Enzym, das also Maltose, eine Zuckerart, spaltet, heisst Maltase.

Ab **1910** entstehen Theorien über die Wirkungsweise von Enzymen.

1959 gelang es, ein Enzym zu kristallisieren. Mit diesem Kristall konnten spezielle Röntgenbilder aufgenommen werden. Die Auswertung dieser Bilder ergab die erste dreidimensionale Struktur eines Enzyms.

Erst jetzt sah man, womit man schon Tausende von Jahren gearbeitet hatte.



Am Anfang haben wir die Begriffe Katalysator und Katalyse eingeführt
Wie lautet die Definition für den Begriff Enzym? Wählen Sie eine eigene
Formulierung ohne den Ausdruck Katalysator.

Enzym:.....

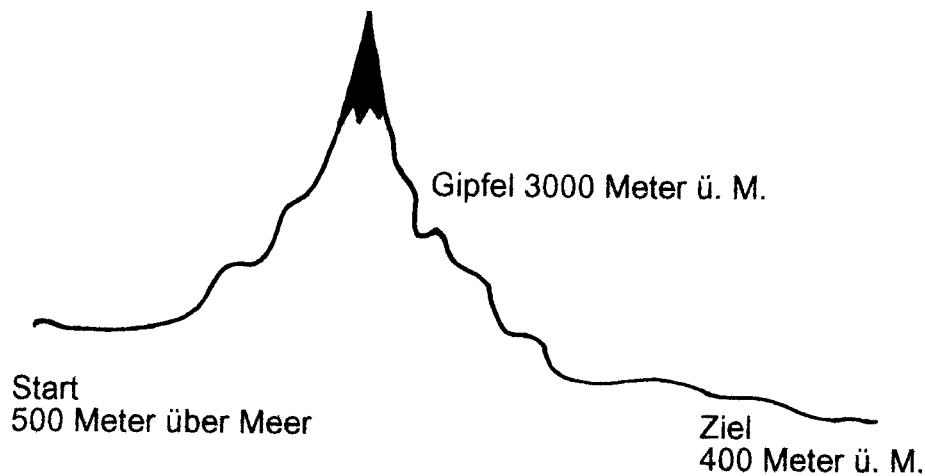
.....

Aufbau der Enzyme

Enzyme bestehen aus einer oder mehreren Ketten einzelner Bausteine. Es gibt 20 verschiedene Bausteine, welche Aminosäuren genannt werden. Somit gehören die Enzyme zur Klasse der Eiweisse. Die Enzyme funktionieren erst, wenn sich die Kette zu einer spezifischen, komplizierten dreidimensionalen Form zusammengeknäuel hat.

Wie funktionieren Enzyme ?

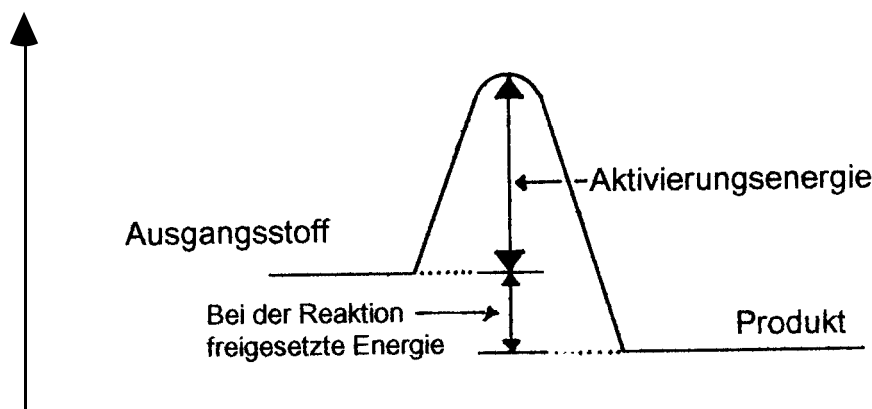
Eine chemische Reaktion ist mit einer Bergwanderung zu vergleichen.



Das Ziel liegt tiefer als der Start. Dazwischen liegt aber ein hoher Berg. Es kostet offensichtlich sehr viel Energie, diesen Berg zu erklimmen.

Den energetischen Verlauf einer Reaktion deuten die Chemiker ganz ähnlich:

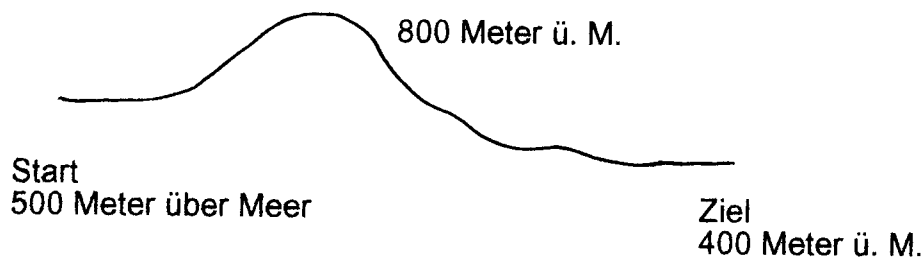
Energieinhalt



Während ein Wanderer von einem hohen Berg redet, spricht ein Chemiker von grosser **Aktivierungsenergie** einer chemischen Reaktion. Ein grosser Unterschied besteht in folgender Tatsache. Sie erinnern sich sicher noch an Ihre letzte Bergwanderung. Sowohl der Aufstieg, wie aber auch der Abstieg hat Sie Schweiß und Energie gekostet. Das ist bei einer chemischen Reaktion anders. Energie muss nur aufgewendet werden, um den "Berg" der Aktivierungsenergie zu erklimmen. Beim Abstieg wird diese Energie wieder freigegeben. In unserem Beispiel liegt das Niveau des Produktes tiefer als das des Ausgangsstoffes. Man muss zwar anfangs einen Aufstieg bewältigen, steigt dann aber auf ein tieferes Niveau ab. Insgesamt wird mehr Energie frei als aufgewendet werden musste (positive Energiebilanz). Diese Energie wird während der Reaktion freigesetzt.

Was macht nun das Enzym ?

Bildlich gesprochen ermöglicht das Enzym dem Wanderer einen weniger hohen Uebergang zu benutzen.



Das Enzym ermöglicht einen Reaktionsweg mit kleinerer Aktivierungsenergie. Die Reaktion läuft folglich schneller ab. Bis zu 100'000x schneller!

Lernkontrolle



Die folgenden Aufgaben dienen der Überprüfung Ihres Wissens. Sie sollen selbständig testen, ob Sie den Stoff dieses Kapitels begriffen haben.

Aufgabe 1.1

Läuft eine Reaktion schneller ab, wenn die Aktivierungsenergie verkleinert wird ?
Begründen Sie Ihre Antwort.

Aufgabe 1.2

Vervollständigen Sie in den betreffenden Tabellenfeldern die Analogien zwischen einer Bergwanderung und einer chemischen Reaktion:

Bergwanderung	Chemische Reaktion
Höhendifferenz Start - Ziel	
	Energieinhalt der Produkte
Höhendifferenz Start - Passübergang	
	Freigesetzte Energie

Aufgabe 1.3

Payen machte seine Entdeckung beim Experimentieren mit Malz- und Stärkelösungen.

Was haben diese Lösungen mit Enzymen zu tun? Ueberlegen Sie sich für die Antwort, aus welchem Naturprodukt Payen diese Lösungen wohl gewonnen hat.

Lösungen zu den Aufgaben Kapitel 1

Aufgabe 1.1

Ihre Antwort ist gut, wenn Sie folgenden Punkt sinngemäss erwähnt haben :

- Die Reaktion kann wesentlich schneller ablaufen, da der "Berg" mit weniger Energieaufwand überwunden werden kann.

Aufgabe 1.2

Die Tabelle sollte mit den korrekten Eintragungen folgendermassen aussehen:

Bergwanderung	Chemische Reaktion
Höhendifferenz Start - Ziel	freigesetzte Energie
Meereshöhe - Ziel	Energieinhalt Produkte
Höhendifferenz Start - Passübergang	Aktivierungsenergie
Höhendifferenz Start - Ziel	freigesetzte Energie

Aufgabe 1.3

Malzlösungen werden aus keimenden Gerstenkörnern hergestellt. In diesen hat es ein stärke-spaltendes Enzym, das den Keimling mit Traubenzucker versorgt.

Kapitel 2

Wirkungsweise der Enzyme

Worum geht es in diesem Kapitel?

Enzyme sind an fast allen Stoffwechselreaktionen beteiligt. In den meisten Zellen werden weit über tausend Reaktionen jeweils durch verschiedene Enzyme katalysiert. Wie können Enzyme in einem derartigen Reaktions-Wirrwarr gezielt wirken? Wie können sie ihre Reaktionspartner in nützlicher Frist finden? Enzyme haben diese Probleme auf raffinierte Weise in den Griff bekommen. Ohne Zweifel müssen Enzyme eine sehr vielfältige Stoffklasse sein. Im weiteren haben sie sich an die unterschiedlichsten Bedingungen angepasst.

Dieses Kapitel wird Ihnen ein Grundverständnis dieser Punkte ermöglichen. Alles in allem sollen Ihnen in diesem Kapitel die Grundlagen für ein besseres Verständnis von Stoffwechselvorgängen vermittelt werden.

Das Vorgehen

Lesen Sie nun zuerst die Lernziele im Kasten. Es wird Ihnen dann rasch klar, wo Sie die Schwerpunkte beim Durcharbeiten dieses Kapitels setzen müssen.

Arbeiten Sie die drei Teile sorgfältig durch. Im dritten Teil können Sie selbständig ein Experiment durchführen. Am Schluss des Kapitels finden Sie wiederum einige Fragen zur Lernkontrolle. Melden Sie sich erst zum Kapiteltest, wenn Sie alle Übungsfragen korrekt beantwortet haben und sich sicher fühlen. Gegebenenfalls müssen Sie kritische Stellen im Kapitel nochmals studieren.

Viel Spass!

Lernziele

Sie können mit einfachen Worten die entscheidenden Punkte für die spezifische Wirkungsweise von Enzymen erklären.

Mindestens drei Enzymklassen sind Ihnen vertraut. Sie können kurz und anschaulich erklären, wie die entsprechenden Reaktionen ablaufen.

Sie kennen die Einflüsse von Temperatur und pH-Wert auf die Aktivität der Enzyme

1. Die Spezifität der Enzyme

Enzyme wirken spezifisch; das heisst, ein Enzym katalysiert in der Regel nur eine bestimmte Reaktion, ausgehend von einem oder mehreren Ausgangsmolekülen. Anders ausgedrückt:

Enzyme sind spezifisch bezüglich der Reaktion und den dazugehörenden Substraten.

Unter Substraten versteht man die Ausgangsstoffe einer enzymatischen Reaktion. Die Substrate reagieren jeweils zu den Produkten.

Damit Enzyme ihre Substratmoleküle finden, haben sie eine charakteristische Oberfläche. Diese ist zerklüftet und besteht aus Hohlräumen und Spalten. Eine solche Spalte bildet das **aktive Zentrum** eines Enzyms. Obwohl das aktive Zentrum nur ein sehr kleiner Teil des ganzen Enzyms ist, befindet sich hier der Ort des Geschehens für die Katalyse.

Die folgenden drei Punkte veranschaulichen modellmässig den Ablauf einer enzymkatalysierten Reaktion:

1. Die Spalten sind bezüglich ihrer **Form** und ihrer **Ladungsverteilung** den entsprechenden Substratmolekülen angepasst.
Um 1890 verglich Emil Fischer das Substrat mit einem **Schlüssel** und das Enzym mit einem **Schloss**. Passen Schlüssel und Schloss zusammen, kommt es zu Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat.
1958 hat dann Daniel Koshland entdeckt, dass einige Enzyme erst nach der Bindung des Substrates die Form des Schlosses annehmen.
2. Die Substratmoleküle können im aktiven Zentrum über Wasserstoffbrücken, Ionenanziehung und kovalente Wechselwirkung eine lockere Verbindung mit dem Enzym eingehen. Es entsteht der sogenannte **Enzym-Substrat-Komplex**.
3. Durch die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes werden bestimmte Bindungen im Substrat geschwächt. Dies ist der eigentliche Auslöser der Reaktion vom Substrat zum Produkt.



Handversuch:

Prüfen Sie, ob das Enzym Urease ausser Harnstoff auch den chemisch sehr ähnlich aufgebauten Thioharnstoff spalten kann.

Die Versuchsanleitung und die nötigen Materialien stehen bereit.

Bilden Sie für die praktische Arbeit eine Vierergruppe.

Resultat: Spaltung von $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ja / nein

Spaltung von $\text{H}_2\text{N}-\text{CS}-\text{NH}_2$ ja / nein

Aufgabe 2.1

Modelle können die Wirklichkeit in der Regel nur bis zu einem gewissen Grad wiedergeben.

Überlegen Sie sich mindestens einen Punkt, wo das Schlüssel-Schloss-Modell nicht der Wirklichkeit entspricht.

2. Enzyme sind mannigfaltig

Enzyme katalysieren, wie bereits ausgesagt, eine grosse Vielfalt von Reaktionen. Aus diesem Grund müssen verschiedene Enzyme je nach Bedarf ganz unterschiedliche Aufgaben übernehmen. Diese Aufgaben lassen sich oft mit Werkzeugen aus dem Alltag vergleichen. Beachten Sie, dass all diese Werkzeuge bei ihrem Gebrauch nicht defekt gehen. Sicher erinnern Sie sich an dieser Stelle an das erste Kapitel: Auch **Enzyme gehen unverändert aus der Reaktion hervor**, die sie katalysiert haben.

Hier nun ein paar Beispiele:

Beispiel	Aufgabe	Enzymklasse	Werkzeug
α -Amylase	spaltet Stärkemoleküle	Hydrolasen	Schere
DNA-Ligase	verknüpft Bausteine der Erbsubstanz DNA	Ligasen	Schraubzwinge
Aminotransferase	überträgt $-NH_2$ von einem Molekül auf ein anderes	Transferasen	Schaufel

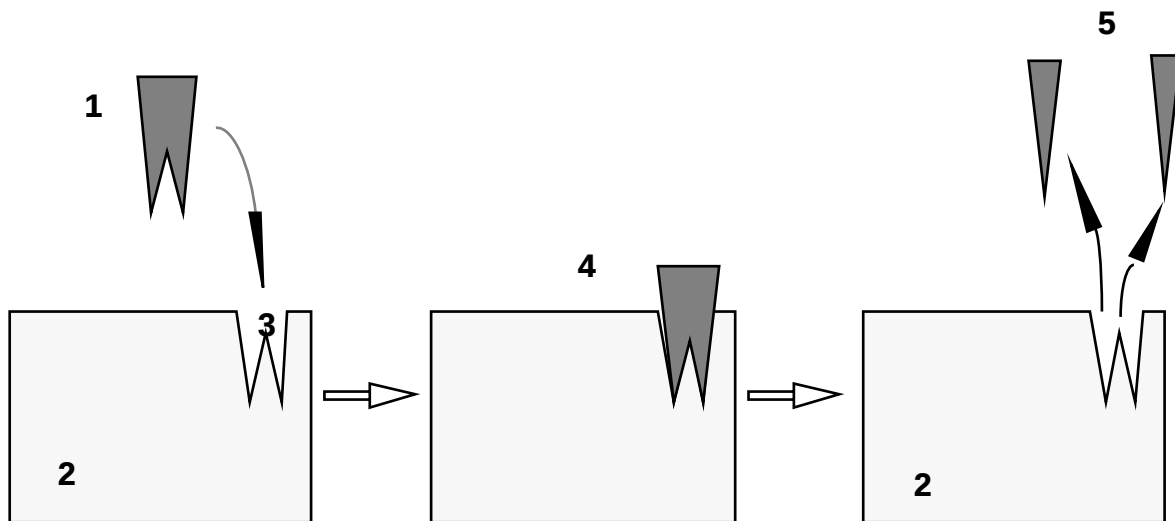
Die schematische Darstellungen auf den folgenden Seiten sollen das Ganze noch verdeutlichen.

Aufgabe 2.2

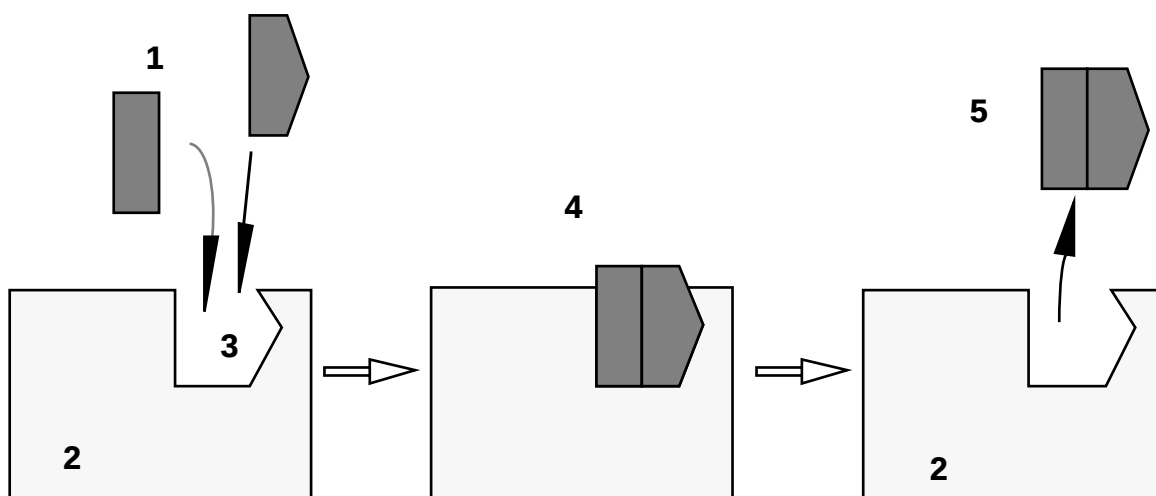
Benennen Sie die auf den folgenden beiden Seiten mit Zahlen versehenen Strukturen mit Begriffen:

Substrat(e) - aktives Zentrum - Produkt(e) - Enzym
Enzym-Substrat-Komplex.

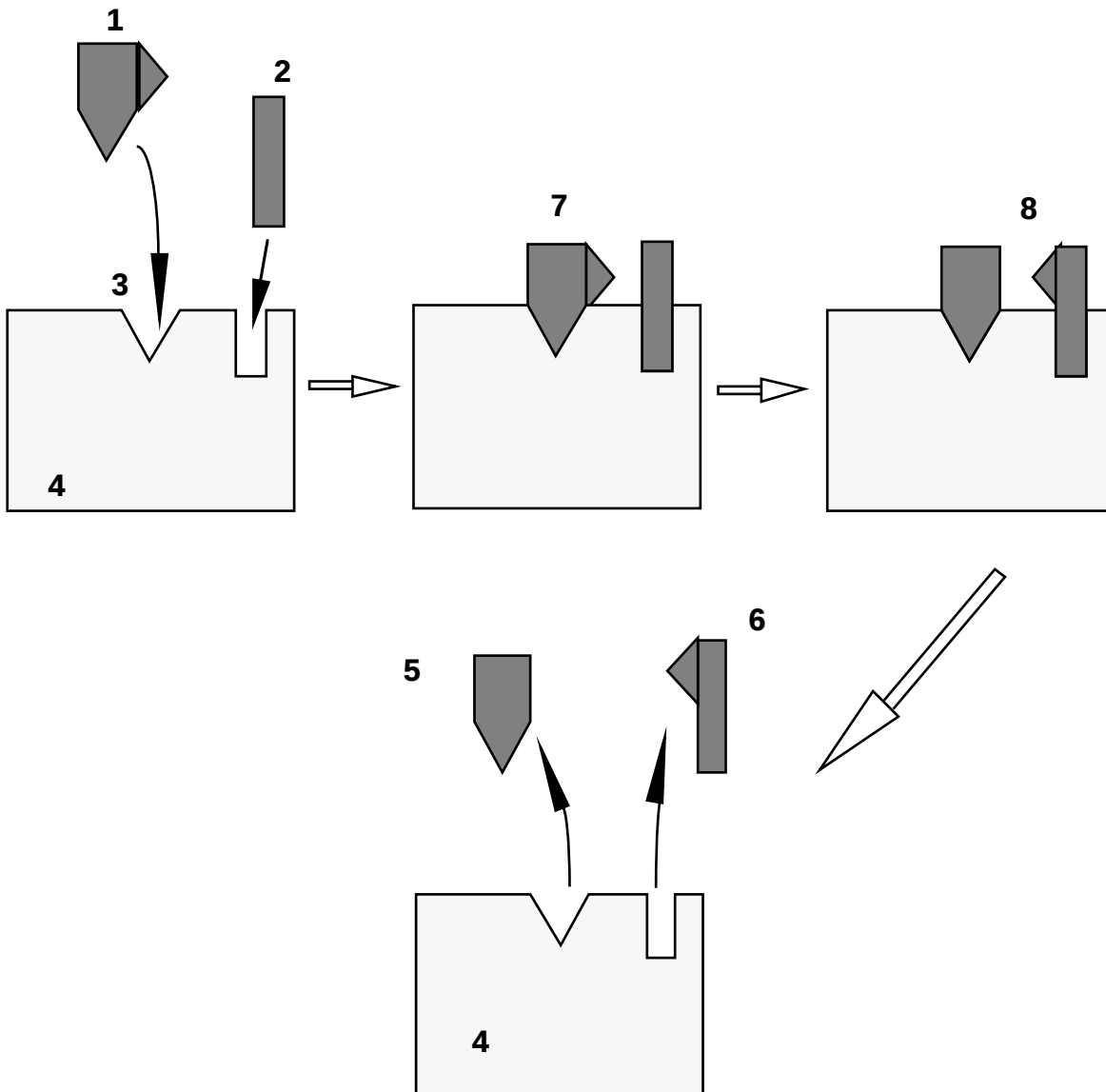
1. Hydrolase:



2. Ligase:



3. Transferase:



Wenn man von Enzymen spricht, werden oft nur solche genannt, die als Scheren wirken. Hier sehen Sie, dass Enzyme auch andere Aufgaben übernehmen können.

3. Temperatur- und pH-Abhängigkeit von Enzymen

Enzyme können nur effizient wirken, wenn die Reaktionsbedingungen auf sie abgestimmt sind. Dabei sind zwei Faktoren von besonders grosser Bedeutung:

1. **Temperatur**
2. **pH-Wert** (Protonenkonzentration)

Wir wollen in diesem Teil in erster Linie auf den Einfluss der Temperatur auf die Enzymwirkung untersuchen.

Experiment: Temperaturabhängigkeit der α -Amylase

Eine Kartoffelknolle enthält 17-24% **Stärke** (=Amylum). Stärke ist ein pflanzlicher Reservestoff und besteht aus langen Ketten von Zuckermolekülen. Eine solche Kette ist spiralförmig aufgewunden. Lagert sich Jod in diese Struktur ein, so wird die Stärke blau sichtbar.

Die α -**Amylase** ist ein Speichelenzym. Sie ist in der Lage Stärke zu "zerschneiden" (vgl. Teil 2). Werden die Kettenmoleküle in kleine Stückchen zerschnitten, verschwindet auch die blaue Farbe wieder.



Bilden Sie für die nun folgende praktische Arbeit eine Vierergruppe. Sicher finden Sie 3 Kolleginnen, die mit dem Studium des Leitprogramms gleich weit sind wie Sie.

Verlangen Sie die Versuchsanleitung und die Materialien und führen Sie die beschriebenen Versuche durch.

Aufgabe 2.3



Vergleichen Sie Ihre Resultate auch mit denjenigen anderer Gruppen.

Stimmen Ihre experimentellen Resultate mit den folgenden Gesetzmässigkeiten überein?

.....
.....

Durch Erhöhung der Temperatur werden Enzymreaktionen beschleunigt. Dazu formulierte der niederländische Chemiker **van t'Hoff** im letzten Jahrhundert eine Faustregel:

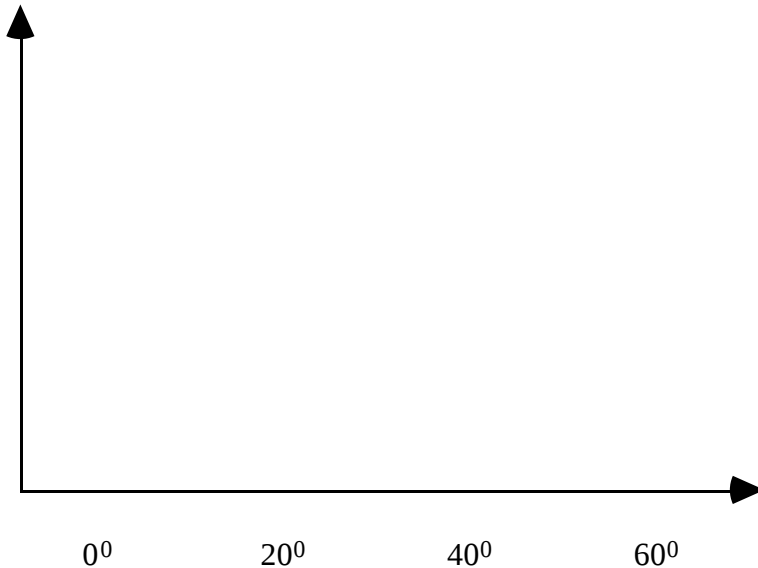
Bei einer Temperaturerhöhung um 10°C steigt die Reaktionsgeschwindigkeit auf das Doppelte bis Dreifache.

Diese Faustregel wird in der Literatur oft auch als **RGT-Regel** bezeichnet. (**R**eaktionsgeschwindigkeit-**T**emperatur-**R**egel)

Achtung: Diese Regel gilt nicht unbegrenzt! (vgl. weiter unten)

Zusammenfassung des Experiments:**Säulengraphik**

(Reaktionsgeschwindigkeit/Temperatur)

RGT-Regel:**Aufgabe 2.4**

Wird die Faustregel von van t'Hoff durch die Resultate aus **Ihrem** Versuch unterstützt?

Berechnen Sie die Quotienten der Reaktionsgeschwindigkeiten zwischen den einzelnen 10°C-Intervallen.

Was ist zu tun, wenn Sie das Experiment aus irgend einem Grund nicht durchführen konnten?

Nehmen Sie an, dass bei 20°C die blaue Färbung des Versuchsansatzes nach 2 Minuten verschwand. Berechnen Sie die Reaktionszeiten für die Temperaturen 0 und 40°C.

Beachten Sie nun noch folgende Sachverhalte:

1. **Enzyme sind Proteine** (= Eiweisse). Proteine sind **gegenüber hohen Temperaturen sehr instabil**. Bereits ab ca. 50°C kann ihre Zerstörung einsetzen. Dabei verändert sich in erster Linie ihre dreidimensionale Struktur und damit ihre charakteristische Oberfläche (aktives Zentrum!). Folglich ist es natürlich auch mit der Fähigkeit zur Katalyse vorbei.

2. Für Enzymreaktionen gibt es ein **Temperaturoptimum**. Dieses liegt bei Enzymen, die in unserem Körper beheimatet sind, in der Regel bei etwa 37°C. Viele Enzyme haben sich also derart auf unseren Organismus spezialisiert, dass sie bei Körpertemperatur am effizientesten katalysieren.

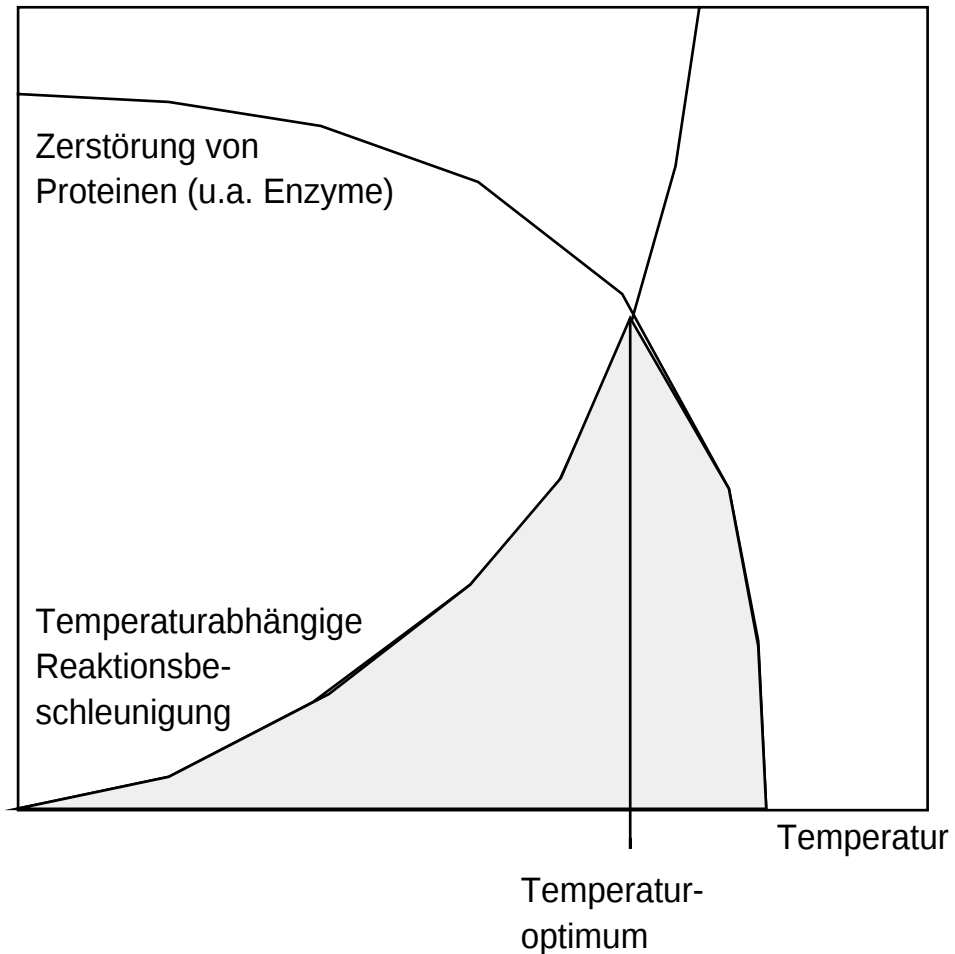
Auch in anderen Organismen haben sich Enzyme an die Bedingungen angepasst.

Beispiel: Gewisse Bakterien leben bei extremen Temperaturen in heißen Quellen. Das Temperaturoptimum von Enzymen solcher Bakterien kann über 70°C liegen. Selbstverständlich müssen diese Enzyme eine ausserordentliche thermische Stabilität aufweisen. Das heisst, sie werden auch bei derart hohen Temperaturen noch nicht zerstört.

Grundsätzlich nimmt also die Enzymaktivität mit steigender Temperatur zu. Diese Zunahme wird aber dadurch begrenzt, dass Enzyme zum Teil schon ab 50°C an Wirkung einbüßen, da ihre Zerstörung einsetzt.

Dieser Befund wird auch in der folgenden Darstellung deutlich:

Enzymaktivität



Analoge Versuche mit entsprechenden Schlussfolgerungen könnten nun auch für die Protonenkonzentration durchgeführt werden. Für jede Enzymreaktion gibt es auch ein **pH-Optimum**.

Beispiel: Die α -Amylase wirkt im Mund. Hier liegt der pH-Wert um 7. Es ist deshalb naheliegend, dass auch das pH-Optimum der α -Amylase bei pH 7 liegt. Gelangt die α -Amylase in den Magen, verliert Sie aufgrund der veränderten pH-Bedingungen ihre Aktivität.

Damit ein Enzym effizient wirken kann, müssen die Reaktionsbedingungen im Bereich des Optimums liegen. Bei starken Abweichungen kann es unter Umständen zum unwiederbringlichen Funktionsverlust des Enzyms kommen.

Aufgabe 2.5



Schätzen Sie die Lage des Temperatur- und pH-Optimums von Pepsin.

Pepsin ist ein eiweisspaltendes Enzym (=Protease) unseres Magens.

.....

.....

.....

.....

Lösungen zu den Übungsaufgaben

Aufgabe 2.1

1. Schlüssel und Schloss passen nur bezüglich ihrer Form zusammen. Bei Enzymen kommen Aspekte wie die Ladungsverteilung dazu.
2. Bei Enzymreaktionen wird der "Schlüssel" durch das "Schloss" verändert. Dies ist beim richtigen Schlüssel natürlich nicht der Fall.

Aufgabe 2.2

Die gesuchten Begriffe sind bei folgenden Ziffern einzusetzen:

	Hydrolase	Ligase	Transferase
Substrat(e)	1	1	1,2
Produkt(e)	5	5	5,6
Enzym	2	2	4
aktives Zentrum	3	3	3
Enzym-Substrat-Komplex	4	4	7,8

Aufgabe 2.3

Gründe für die unterschiedlichen Messwerte der Gruppen:

- Die Versuchsansätze enthielten unterschiedliche Stärkemengen
- Die Enzymkonzentration im Speichel verschiedener Personen sind unterschiedlich gross

Aufgabe 2.4

Falls Sie das Experiment nicht selber durchführen konnten, sollten Ihre Berechnungen folgende Resultate ergeben:

Bei 0°C müsste die Reaktionszeit 8 - 18 min betragen.

Bei 40°C müsste die Reaktionszeit 13-30 sec betragen.

Gemäss der RGT-Regel läuft eine Reaktion bei einer Temperaturerhöhung von 10°C um den Faktor 2-3 schneller ab. Bei einer Temperaturänderung von 20°C hat der Faktor einen Wert von 4-9.

Aufgabe 2.5

Bei der Protease Pepsin müssten die Optima bei folgenden Werten liegen:

Temperatur: ca. 37°C (Körpertemperatur)
 pH-Wert: ca. 2 (Magensaft ist stark sauer)

Lernkontrolle



Die folgenden Aufgaben dienen der Überprüfung Ihres Wissens. Sie sollen selbständig testen, ob Sie den Stoff dieses Kapitels begriffen haben.

Wenn Sie alle Aufgaben dieser Lernkontrolle gelöst haben, vergleichen Sie Ihre Antworten mit den Lösungen auf der folgenden Seite.

Aufgabe 2.6

Sie kennen die Begriffe Enzym und aktives Zentrum. Welches ist die grössere Struktur?

Aufgabe 2.7

Worin sind sich Fischer und Koshland mit ihren Modellen einig?

Aufgabe 2.8

Erklären Sie anschaulich in etwa drei Sätzen, wie eine durch Hydrolasen katalysierte Enzymreaktion abläuft.

Nennen Sie einen Vertreter aus der Enzymklasse der Hydrolasen, den Sie in diesem Kapitel kennengelernt haben.

Aufgabe 2.9

Welche gegenläufigen Einflüsse hat die Temperatur auf die Aktivität von Enzymen?

Was hat dies zur Folge?

Antworten Sie in wenigen Sätzen.

Aufgabe 2.10

Bei wechselwarmen Tieren bestimmt die Umgebung die Körpertemperatur. Diese Tiere fressen bei niedrigen Temperaturen deutlich weniger als sonst. Unter anderem gibt es dafür Gründe, die mit Enzymen in Verbindung gebracht werden können.

Äussern Sie sich dazu fachkundig in etwa drei Sätzen.

Wenn Sie sich sicher fühlen, können Sie sich jetzt bei Ihrem Lehrer zum Kapiteltest melden. Vergessen Sie nicht, die Auswertung des Experiments mitzunehmen.

Lösungen zu den Aufgaben der Lernkontrolle

Aufgabe 2.6

- a) Enzym > aktives Zentrum
- b) Substrat < Enzym

Aufgabe 2.7

In einem Enzym-Substrat-Komplex passen Substrat und Enzym wie Schlüssel und Schloss zusammen.

Aufgabe 2.8

Hydrolasen bilden eine lockere Bindung zu einem Substratmolekül. Durch die Schwächung bestimmter Bindungen im Substrat zerfällt dieses in zwei Teile. Die Produkte lösen sich vom Enzym. Somit ist die Hydrolase unverändert für die nächste Reaktion bereit.

Beispiel: α -Amylase

Aufgabe 2.9

Grundsätzlich wird die Enzymaktivität durch Erhöhung der Temperatur gesteigert. Gemäss van t'Hoff nämlich um den Faktor zwei bis drei pro zehn Grad Temperaturerhöhung.

Ab ca. 50°C können Enzyme ihre Funktionstüchtigkeit unwiederbringlich verlieren.

Als Folge gibt es für Enzyme ein Temperaturoptimum. Es liegt dort, wo die Aktivität schon stark gesteigert ist, die Zerstörung aber noch nicht eingesetzt hat.

Aufgabe 2.10

Gemäss der Regel von van t'Hoff wissen wir, dass Enzyme bei einer Temperaturniedrigung um 10°C etwa 2 bis 3mal langsamer wirken.

Kühlt sich nun der Körper eines wechselwarmen Tieres ab, arbeiten alle Enzyme deutlich langsamer. Dies macht sich in erster Linie in der Verdauung bemerkbar. Da Nahrung nun langsamer verstoffwechselt wird, kann weniger davon aufgenommen werden.

Kapitel 3

Die Kinetik enzymatischer Reaktionen

1. Uebersicht

Die Arbeitsgeschwindigkeit eines Enzyms:

Wissenschaftler haben herausgefunden, dass ein Enzym bei einer bestimmten Substratkonzentration optimal arbeitet. Jedes Enzym hat eine charakteristische Maximalgeschwindigkeit für die Substratumsetzung.

Was Sie aus den ersten zwei Kapiteln schon wissen:

Sie haben erfahren, dass Enzyme Reaktionen beschleunigen können. Dabei verändert ein Enzym ein entsprechendes Substrat. Es wurde Ihnen gezeigt, dass die Aktivität eines Enzyms von der Temperatur und dem pH-Wert abhängig ist. Die Reaktion zwischen Enzym und Substrat kann also verschieden schnell ablaufen.

Was lernen Sie in diesem Kapitel?

Sie erfahren in diesem Kapitel Genaueres über die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen. Sie werden herausfinden, dass jedes Enzym in einer bestimmten Zeit eine genau definierte Menge Substrat umsetzen kann. Dabei erfahren Sie, wie 1913 die Biochemiker Leonor Michaelis und Maud Menten eine Konstante für Enzym-Substrat-Reaktionen definiert haben. Danach untersuchen Sie, wie die Reaktionsgeschwindigkeit des Enzyms Urease von der Konzentration des Substrates Harnstoff beeinflusst wird. Sie machen dazu in Zweiergruppen einen Versuch und werten ihn aus.

Lernziele:

Sie kennen die Bedeutung der Reaktionsgeschwindigkeit für die Enzyme.

Sie wissen, dass die Reaktionskinetik den Ablauf chemischer Reaktionen untersucht.

Sie verstehen, wie die Kinetik durch Aenderung der Substratmenge beeinflusst werden kann.

Sie können für das Enzym Urease die Michaelis-Menten-Konstante bestimmen.

Wie weiter?

Mit Hilfe der folgenden Seiten können Sie sich das nötige Wissen zum Erreichen dieser Ziele aneignen.

Wir beschäftigen uns als erstes mit der Reaktionsgeschwindigkeit.

2. Die Bedeutung der Reaktionsgeschwindigkeit für die Enzyme

Im zweiten Kapitel haben Sie erfahren, dass die Enzymaktivität von der Temperatur und dem pH-Wert abhängig ist. Das Enzym α -Amylase ist wie jedes Enzym bei seinem Temperatur- und pH-Optimum am aktivsten. Die Reaktion zwischen der Stärke und der α -Amylase läuft hier am raschesten ab. Oder anders gesagt: Die Reaktionsgeschwindigkeit ist am grössten. Ohne α -Amylase würde der Abbau der Stärke auch stattfinden, aber ein Vielfaches an Zeit benötigen. Die α -Amylase beschleunigt also den Abbau der Stärkemoleküle gewaltig.

Aufgabe 3.1



Berechnen Sie zunächst, wieviele Stärkemoleküle von einem einzigen Amylasemolekül in einer Minute gespalten werden können.

Man fand, dass 1g Amylase unter optimalen Bedingungen pro Minute 11,4 kg Stärke spalten kann. Die Molmasse der Amylase beträgt ca. 42'500 g, diejenige der Stärke können Sie mit 25'000 g annehmen.

Falls Sie sich diese Aufgabe nicht zutrauen, können Sie den Lösungsweg am Schluss des Abschnittes finden. Wagen Sie eine Schätzung, bevor Sie das Resultat nachschlagen.

Merke: Die Reaktionsgeschwindigkeit gibt an, wie schnell ein Enzym ein Substrat umsetzen kann. Je rascher dies geschieht, umso grösser ist die Reaktionsgeschwindigkeit.

Wie weiter?

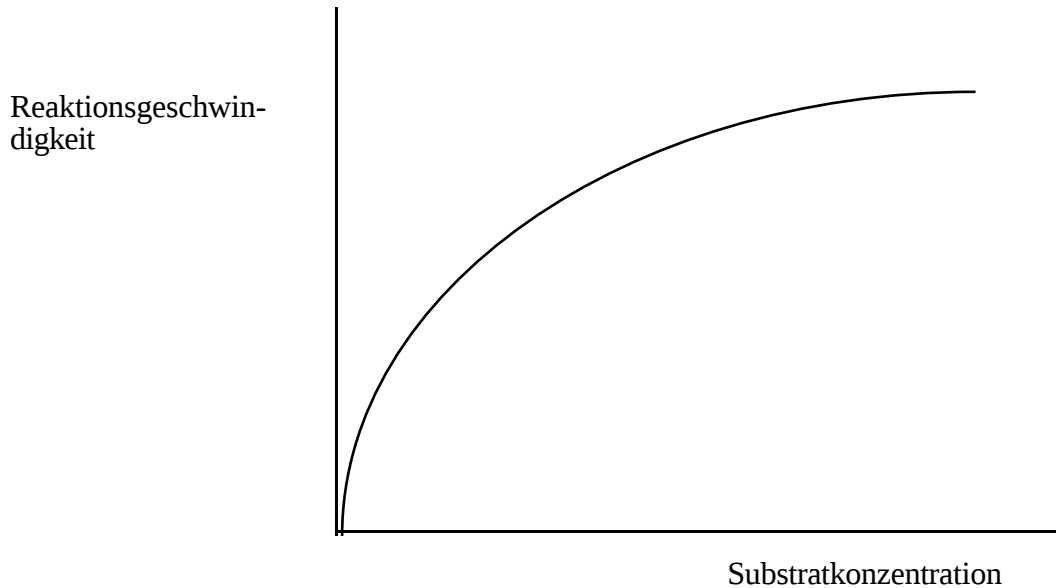
Sie kennen jetzt die maximale Reaktionsgeschwindigkeit für einen einzelnen Enzym-Substrat-Komplex, nämlich den Amylase-Stärke-Komplex. Wie wurde diese maximale Reaktionsgeschwindigkeit herausgefunden? Dies ist das Thema des nächsten Abschnittes.

3. Bestimmung der maximalen Geschwindigkeit v_{max}

Die Wissenschaftler untersuchen die Reaktionskinetik des Enzym-Substrat-Komplexes. Sie suchten Antworten auf die Frage: "Wie verlaufen die chemischen Reaktionen in Abhängigkeit von äusseren Bedingungen?" Es wurde herausgefunden, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei optimalen Temperatur- und pH-Bedingungen von der zur Verfügung stehenden Substratkonzentration abhängig ist. Die Amylase arbeitet dann optimal, wenn jedes einzelne Enzymmolekül die maximal mögliche Anzahl Substratmoleküle umsetzt.

Merke: Die Enzymkinetik wird von der Substratkonzentration beeinflusst.

Die Enzymkinetik der Amylase kann grafisch dargestellt werden. Auf der X-Achse (Abszisse) wird die Konzentration des Substrates Stärke und auf der Y-Achse (Ordinate) die Reaktionsgeschwindigkeit angegeben.



Aufgabe 3.2



Welche Gesetzmässigkeiten lassen sich aus dem Kurvenverlauf herauslesen?

Bei welcher Substratkonzentration arbeitet das Enzym optimal?

.....

.....

.....

.....

Wie weiter?

Sie haben festgestellt, dass es bei der Bestimmung der optimalen Substratkonzentration Schwierigkeiten gibt: Man kann nicht genau angeben, bei welcher Konzentration die maximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht wird.

Die Biochemiker Michaelis und Menten haben sich mit diesem Problem beschäftigt und fanden eine Lösung:

4. Die Michaelis-Menten-Konstante

Die beiden Biochemiker stellten fest, dass die Enzyme mit verschiedenen Geschwindigkeiten arbeiten. Wenn ein Enzym sehr gut zum Substrat passt, kann es auch einfacher und damit schneller ins aktive Zentrum gelangen. Sie wissen aus dem zweiten Kapitel, dass das Substrat im aktiven Zentrum verändert wird.

Michaelis und Menten haben eine Konstante definiert, die anzeigt, wie gut ein Enzym und sein Substrat zusammenpassen. Oder genauer gesagt: Die Michaelis-Menten-Konstante K_M gibt an, bei welcher Substratkonzentration das Enzym mit halber Maximalgeschwindigkeit arbeitet.

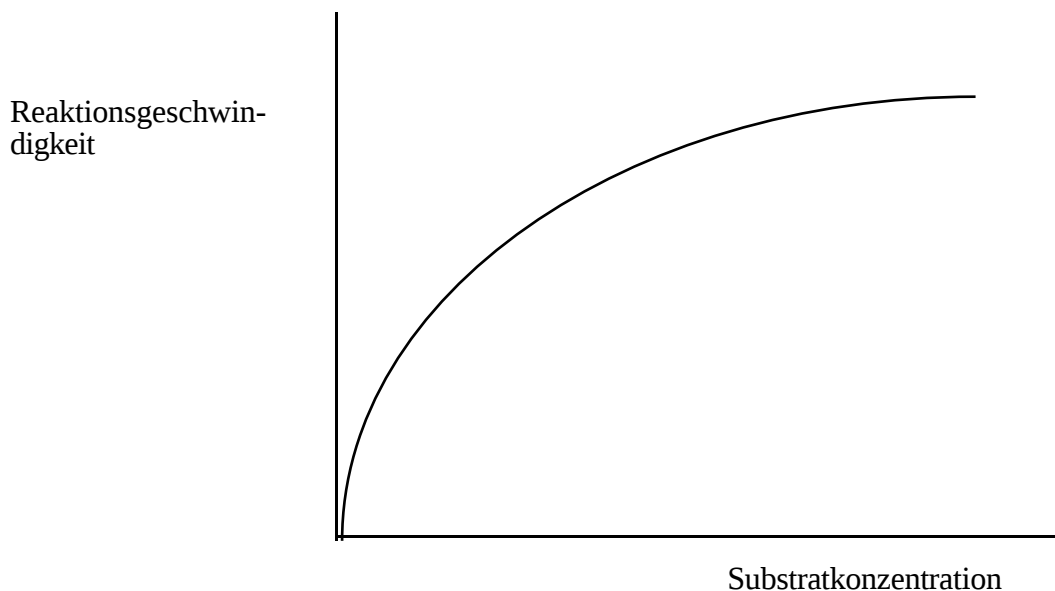
Wie ist das zu verstehen?

Sie finden nochmals eine Grafik, welche die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion von der Substratkonzentration veranschaulicht.

Verfahren zur Bestimmung der MM-Konstanten

Führen Sie das im folgenden beschriebene Verfahren in der unten vorbereiteten Grafik praktisch durch:

- Markieren Sie auf der Y-Achse den Wert von $v_{\max}$
- Halbieren Sie diesen Wert und ermitteln Sie durch Zeichnen achsenparalleler Linien die zugehörige Substratkonzentration.
- Bezeichnen Sie die so gefundene Konzentration mit K_M .
Diesen Konzentrationswert bezeichnet man als **Michaelis-Menten-Konstante**.



Merke: Die Michaelis-Menten-Konstante ist diejenige Substratkonzentration, bei welcher die Reaktion mit halbmaximaler Geschwindigkeit abläuft.
 K_M hat also die Einheit einer Konzentration: [mol/l]

Wie weiter?

Repetieren Sie nun das neu Gelernte: Wenn Sie sich über die Bedeutung der Michaelis-Menten-Konstante noch nicht im Klaren sind, so studieren Sie diesen Abschnitt nochmals.



Sie können zur Repetition auch Bücher aus der Handbibliothek verwenden.

Empfehlung: *Biologie heute SII*, S 47.

Setzen Sie sich nun mit einer Nachbarin zusammen und versuchen Sie folgenden Fragen zu beantworten:

Aufgabe 3.3

Was sagt ein kleiner bzw. grosser K_M -Wert über die Enzymaktivität aus?

Wie wirkt sich gutes Zusammenpassen von Enzym und Substrat auf den K_M -Wert aus?

Die Michaelis-Menten-Theorie beschreibt den Zusammenhang der Reaktionsgeschwindigkeit und der Substratkonzentration wie folgt:

$$v = v_{\max} \times [S] / ([S] + K_M)$$

Aufgabe 3.4

Nehmen wir an, ein Enzym hätte $K_M = 0,5$ und $v_{\max} = 1$

Zeichnen Sie mit diesen Angaben den Graphen für die Reaktionskinetik. Beschriften Sie die Achsen und tragen Sie K_M und $v_{\max}$ ein.

Der theoretische Teil ist damit abgeschlossen. Mit einem Versuch können Sie nun die Enzymaktivität der Urease untersuchen.

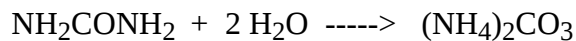
Sie arbeiten dazu wiederum in Vierergruppen.

5. Versuch zur Kinetik der Urease

Im folgenden Versuch überwachen und beobachten Sie eine Enzymreaktion. Insbesondere schauen Sie den Einfluss der Substratkonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit an.

Als Enzym verwenden wir **Urease**. Das Substrat ist Harnstoff (gelöst in Wasser). Die chemische Formel für Harnstoff lautet: NH_2CONH_2 .

Urease ermöglicht folgende Reaktion:



Der Stoff auf der rechten Seite besteht aus zwei Ammonium- (NH_4^+) und einem Karbonation (CO_3^{2-}). Die Entstehung dieser Ionen hat einen Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit des Reaktionsgemisches zur Folge. Durch das Messen dieser Grösse lässt sich der Ablauf der Reaktion leicht verfolgen.

Das Leitfähigkeitsmessgerät produziert eine Wechselspannung. Die Elektroden bestehen aus zwei voneinander getrennten Platinblechen, die ins Messgut eintauchen. Je mehr Ionen dieses enthält, desto grösser ist die Stromstärke. Die elektrische Leitfähigkeit ist der reziproke Wert der Stromstärke und wird in der Einheit *Siemens* angegeben.



Verlangen Sie die Versuchsanleitung und führen Sie den Versuch durch. Wenn alle Geräte und Reagentien vorbereitet sind, brauchen Sie dazu etwa 20 Minuten.

Falls Sie aus irgend einem Grund das Experiment nicht selbst durchführen können, bekommen Sie vom Lehrer die Messresultate, die wir bei der Vorbereitung dieses Leitprogrammes feststellten.

Zusammenfassung des Versuchs

Wir erhielten für das harnstoffspaltende Enzym Urease folgende MM-Konstante (Achtung: Als Einheit der Konzentration ist mol/l gewünscht):

$$K_M = \quad \quad \text{mol/l}$$

Literaturwert: $K_M = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$

Lösungen zu den Übungsaufgaben

Aufgabe 3.1

1g Amylase setzt pro Minute 11,4 kg Stärke um.

1 mol Amylase setzt also $42'500 \times 11'400\text{g} = 4,845 \times 10^8\text{g}$ Stärke um.

1 mol Stärke wiegt $25'000\text{g}$ / $4,845 \times 10^8\text{g}$ Stärke sind 19'380 Mol.

Ein Amylasemolekül spaltet pro Minute ca. 19'400 Stärkemoleküle.

Aufgabe 3.2

Der Zusammenhang ist nicht linear (keine Proportionalität). Ab einer gewissen Substratkonzentration bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit konstant.

Die optimale Konzentration kann nicht genau aus der Grafik gelesen werden.

Aufgabe 3.3

Bei kleinem K_M ist die Enzymaktivität hoch und umgekehrt.

Wenn Enzym und Substrat gut zusammenpassen, resultiert ein kleiner K_M -Wert.

Aufgabe 3.4

Aus den vorgegebenen Angaben (MM-Gleichung, K_M , $v_{\max}$) bekommt man folgende Wertetabelle, mit der sich die Kurve zeichnen lässt:

[S] / v	0 / 0	0,25 / 0,33	0,5 / 0,5	1 / 0,67
	2 / 0,8	4 / 0,89	10 / 0,95	

Beschriftung: Siehe Abschnitt 4

Lernkontrolle



Wenn Sie folgende Aufgaben selbständig lösen können, haben Sie das Wesentliche dieses Kapitels verstanden.

Die Antworten finden Sie auf der nächsten Seite.

Entsprechen Ihre Antworten den Lösungen, können Sie den Kapiteltest verlangen. Wenn dem nicht so ist, studieren Sie den entsprechenden Abschnitt nochmals

Aufgabe 3.5

Was versteht man unter der Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion?

Geben Sie eine einfache Definition in eigenen Worten.

Aufgabe 3.6

Mit welchen Aspekten eines enzymatischen Vorganges befasst sich die Reaktionskinetik?

Ein Satz genügt.

Aufgabe 3.7

Nehmen wir an, eine enzymatische Reaktion laufe mit maximaler Reaktionsgeschwindigkeit ab. Welche der folgenden Aussagen ist dann richtig?

- a) Alle Enzyme arbeiten optimal
- b) Alle Enzyme arbeiten, es hat jedoch zuviel Substrat
- c) Nicht alle Enzyme arbeiten, es hat zu wenig Substrat

Aufgabe 3.8

Versuchen Sie mit eigenen Worten eine Definition für K_M zu schreiben!

Aufgabe 3.9

Ist die Michaelis-Menten-Konstante temperaturabhängig?

Begründen Sie Ihre Antwort!

Lösungen zur Lernkontrolle

Aufgabe 3.5

Reaktionsgeschwindigkeit: Menge Substrat, die pro Zeiteinheit umgesetzt wird.

Aufgabe 3.6

Die Kinetik untersucht den Einfluss von äusseren Faktoren (Konzentration, Temperatur, ...) auf den zeitlichen Verlauf einer Reaktion.

Wir haben uns in diesem Kapitel nur mit der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration auseinandergesetzt.

Aufgabe 3.7

Die Aussagen a) und b) sind richtig.

Aufgabe 3.8

Vergleichen Sie mit der Definition in den Unterlagen und entscheiden Sie selbst, ob Ihre eigene Formulierung gut ist.

Notfalls wenden Sie sich an den Lehrer.

Aufgabe 3.9

K_M ist temperaturabhängig. Die RGT-Regel gilt für alle chemischen Vorgänge unabhängig von Edukt - oder Substratkonzentrationen.

Kapitel 4

Hemmung und Aktivierung von Enzymen

Einführung

Worum geht es?

Bisher haben Sie gelernt, was Enzyme sind und wie sie arbeiten. In diesem Kapitel werden Sie nun erfahren, dass Enzyme ihre Arbeit nicht immer gleich gut verrichten. Denn sie arbeiten mal langsamer und mal schneller. Auch bei optimalen pH- und Temperaturbedingungen werden sie in ihrer Arbeit gehemmt oder gefördert. Diesen beiden Gebieten wollen wir uns jetzt zuwenden:

der **Enzymhemmung** und der **Enzymaktivierung** (= Enzymförderung).

Warum ist dieses Kapitel wichtig?

Enzyme befinden sich in grosser Zahl in unserem Körper. Sie haben die Aufgabe, Stoffe umzusetzen. Der Bedarf an bestimmten Stoffen ist nicht immer gleich gross. Die Arbeit der Enzyme muss diesem wechselnden Bedarf angepasst sein. Wollen Sie verstehen, wie diese Anpassung funktioniert? - Dann müssen Sie dieses Kapitel lesen.

Lernziele

Sie wissen, dass die Enzymaktivität durch hemmende oder aktivierende Stoffe verändert werden kann.

Sie kennen die beiden Arten von Hemmungen und können diese unterscheiden.

Sie wissen, wie die Michaelis-Menten-Kinetik bei Enzymhemmung aussieht.

Im Gegensatz zu den übrigen Kapiteln dieses Leitprogramms steht an einigen Stellen die Aufforderung, ein Arbeitsblatt zu konsultieren. Dieses finden Sie am Schluss des Textteils, vor den Lösungen der Übungsaufgaben.

Gehen Sie nach dem Lösen der betreffenden Aufgaben jeweils wieder an den Ausgangspunkt im Leitprogramm zurück.

1. Enzymhemmung

Bei der Enzymhemmung wird ein Enzym in seiner Arbeit behindert. Diese Hemmung wird durch hemmende Stoffe (= **Inhibitoren**.) verursacht. Man unterscheidet zwei verschiedene Hemmtypen. Wir nennen sie Hemmtyp I und Hemmtyp II.

1.1. Hemmtyp I

Theorie

a) Der Inhibitor

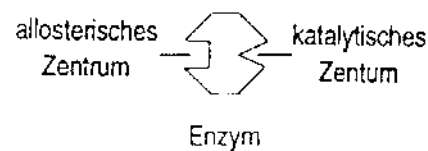
Der Inhibitor ist räumlich anders gebaut als das Substrat. Der Inhibitor hat also **keine Substratähnlichkeit**.



b) Das Enzym

Das Enzym hat 2 Zentren. Das erste Zentrum kennen Sie schon. Es ist das Reaktionszentrum (= **katalytisches Zentrum**). Hier bindet das Substrat.

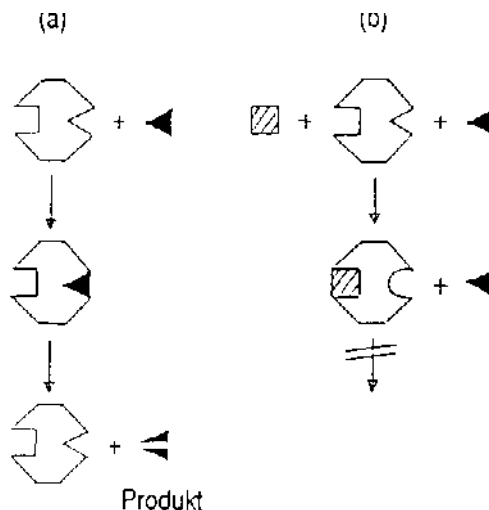
Das zweite Zentrum ist räumlich (= sterisch) anders (= allooe) gebaut als das katalytische Zentrum. Es heisst deshalb das "anders gebaute" (= **allosterisches Zentrum**) Hier bindet der Inhibitor.



c) Wie funktioniert Hemmtyp I

(a') Ist kein Inhibitor vorhanden, läuft alles ganz normal ab: Das Substrat bindet an das katalytische Zentrum des Enzyms und wird zum Produkt umgesetzt.

(b') Ist ein Inhibitor anwesend, passiert folgendes: Der Inhibitor bindet an das allosterische Zentrum des Enzyms. Dadurch wird die räumliche Struktur des katalytischen Zentrums verändert. Das Substrat kann nicht mehr an das katalytische Zentrum binden.



Beachten Sie :

Wenn ein Substrat an das katalytische Zentrum des Enzyms gebunden hat, wird dadurch nicht das allosterische Zentrum verändert. Der Inhibitor kann also immer an das Enzym binden und dieses hemmen.

d) Namensgebung

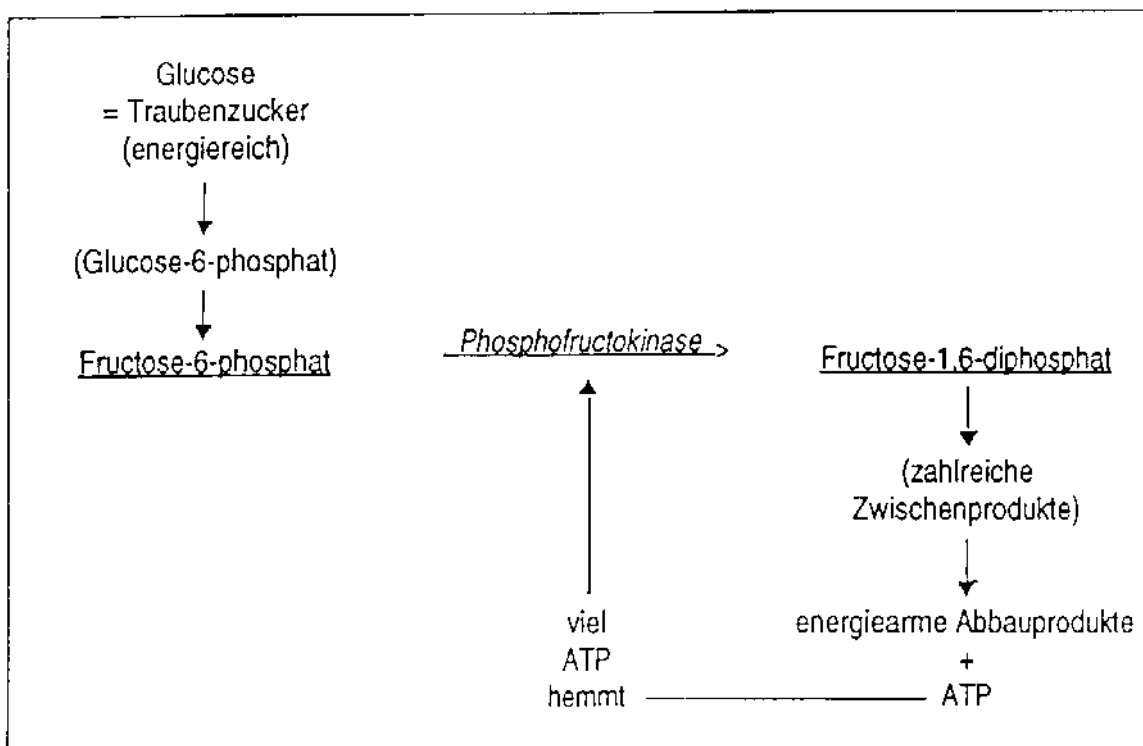
Der Inhibitor bindet an das "anders gebaute" (= allosterische Zentrum) eines Enzyms. Deshalb nennt man diesen Hemmtyp auch **allosterische Hemmung**.

Beispiel für die allosterische Enzymhemmung

In allen Lebewesen finden Stoffwechselprozesse statt. Für viele Reaktionen ist Energie notwendig. Die Zellen gewinnen diese Energie durch den Abbau von Glucose (Traubenzucker). Die dabei freigesetzte Energie wird zur Bildung eines bestimmten chemischen Stoffes verwendet. Dieser kann die Energie innerhalb der Zelle hin- und hertransportieren und sie anderen zellulären Stoffwechselprozessen zur Verfügung stellen. Diesen Energietransportstoff nennt man **ATP** (Adenosintriphosphat).

Das wichtigste Enzym beim Glucose-Abbau ist die **Phosphofructokinase**. Warum ist dieses Enzym so wichtig ? Weil damit reguliert wird, wieviel Energie in einer Zelle freigesetzt wird. Wenn eine Zelle viel Energie freigesetzt hat, wird folglich viel ATP gebildet. Wenn viel ATP vorliegt, ist ein weiterer Glucoseabbau nicht notwendig. Das Enzym Phosphofructokinase kann jetzt also gehemmt werden. Dieses geschieht durch einen Inhibitor. Der Inhibitor ist in diesem Fall ATP, also das Produkt der Reaktion.

ATP ist anders gebaut als das Substrat der Phosphofructokinase. ATP bindet deshalb an das allosterische Zentrum des Enzyms. Es liegt also eine allosterische Hemmung vor.



Aufgabe 4.1



Nehmen Sie das Arbeitsblatt 4.1 zur Hand (Anhang III).

Welche dieser Abbildungen zeigt die allosterische Hemmung?

Beschriften Sie die betreffende Zeichnung mit: Name des Hemmtyps, Zentren des Enzyms, Begriffe Inhibitor und Substrat.

1.2. Hemmtyp II

Theorie

a) Der Inhibitor

Der Inhibitor ist ähnlich gebaut wie das Substrat des Enzyms. Der Inhibitor hat also **Substratähnlichkeit**.

b) Das Enzym

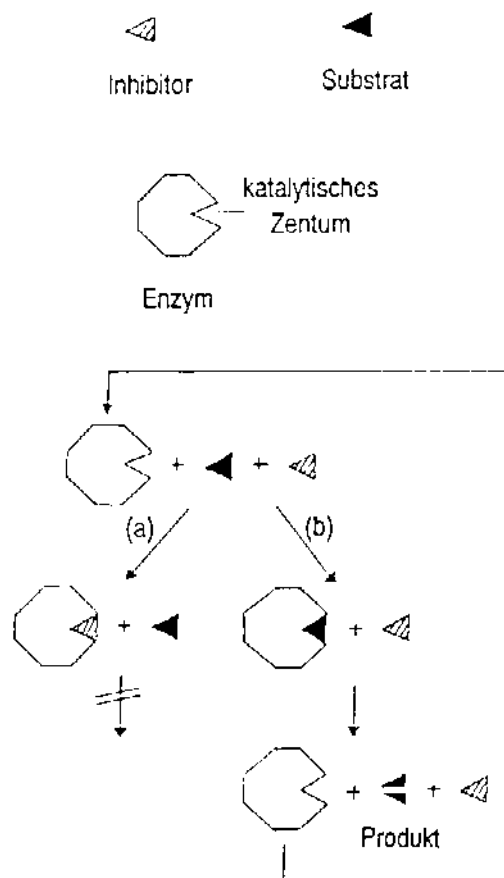
Das Enzym hat nur 1 Zentrum. Es ist das Reaktionszentrum (= **katalytisches Zentrum**). Hier bindet das Substrat; hier bindet aber auch der Inhibitor!

c) Wie funktioniert Hemmtyp II

Substrat und Inhibitor sind räumlich ähnlich gebaut. Darum können beide an das katalytische Zentrum des Enzyms binden. Es gibt also 2 mögliche Reaktionen:

(a) Es bindet ein Inhibitor ans Enzym. Das Enzym wird gehemmt.

(b) Es bindet ein Substrat ans Enzym. Das Substrat wird zum Produkt umgesetzt. Das katalytische Zentrum des Enzyms ist nun wieder frei. An dieses Zentrum kann jetzt erneut ein Substrat oder ein Inhibitor binden.



d) Namensgebung

Sie wissen, was der Inhibitor macht. Der Inhibitor und das Substrat **konkurrieren** (= lat. competere) um das katalytische Zentrum eines Enzyms. Deshalb nennt man diesen Hemmtyp auch **kompetitive Hemmung**.



Ein Beispiel sollen Sie diesmal selbst beschreiben. Natürlich nicht ohne Hilfe!

Arbeitsblatt 4.2 (Anhang III) zeigt einen sehr interessanten Fall. Lesen Sie den Text und schreiben Sie eine kurze Zusammenfassung davon.

Beispiel für eine kompetitive Enzymhemmung:

Enzym:

Hemmung durch:

Anwendung:

Aufgabe 4.1. (Fortsetzung)

Nehmen Sie nochmals das Arbeitsblatt 4.1 zur Hand (Anhang III).

Welche der Abbildungen zeigt eine kompetitive Hemmung?

Beschriften Sie die entsprechende Zeichnung mit: Name des Hemmtyps, Zentren des Enzyms, Begriffe Inhibitor und Substrat.

2. Enzymaktivierung

Bei der Enzymaktivierung wird ein Enzym in seiner Arbeit gefördert. Diese Aktivierung wird durch aktivierende Stoffe (= **Aktivatoren**) gefördert.

2.1. Allosterische Aktivierung**Theorie**

a) Der Aktivator

Der Aktivator ist räumlich anders gebaut als das Substrat. Der Aktivator hat also **keine Substratähnlichkeit**.



Aktivator



Substrat

b) Das Enzym

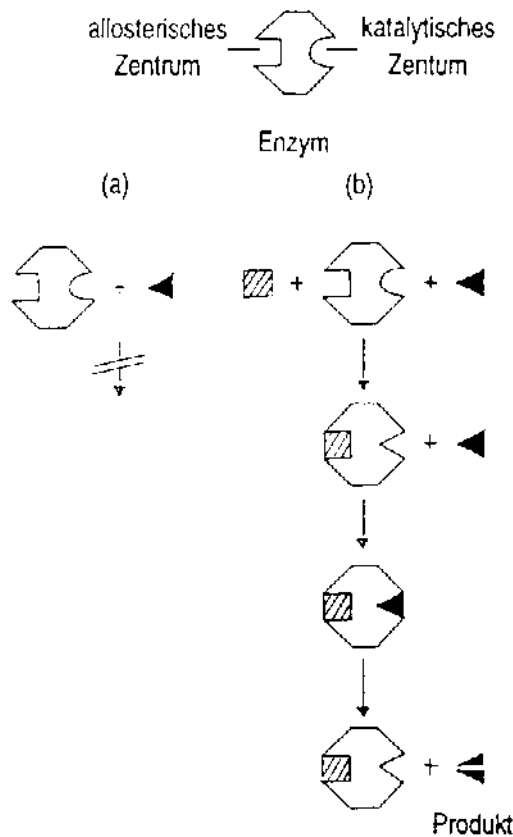
Das Enzym hat 2 Zentren: ein **katalytisches Zentrum** und ein **allosterisches Zentrum**.

c) Wie funktioniert die allosterische Aktivierung?

(a') Ist kein Aktivator vorhanden, setzt das Enzym das Substrat nicht oder nur langsam um.

(b') Ist ein Aktivator anwesend, dann passiert folgendes:

Der Aktivator bindet an das allosterische Zentrum des Enzyms. Dadurch wird die räumliche Struktur des katalytischen Zentrums verändert. Nun kann das Substrat an das katalytische Zentrum binden. Es wird zum Produkt umgesetzt.

**Beispiel**

Erinnern Sie sich noch an die Phosphofruktokinase? Wenn nicht, dann lesen Sie nochmals das Beispiel für die allosterische Hemmung durch.

Wie Sie wissen, ist ATP der Energietransportstoff innerhalb der Zelle. Er liefert die Energie für die zellulären Stoffwechselprozesse. Bei dieser Energieabgabe zerfällt ATP in energiearmes ADP (Adenosindiphosphat) und einen Phosphatrest (= P):

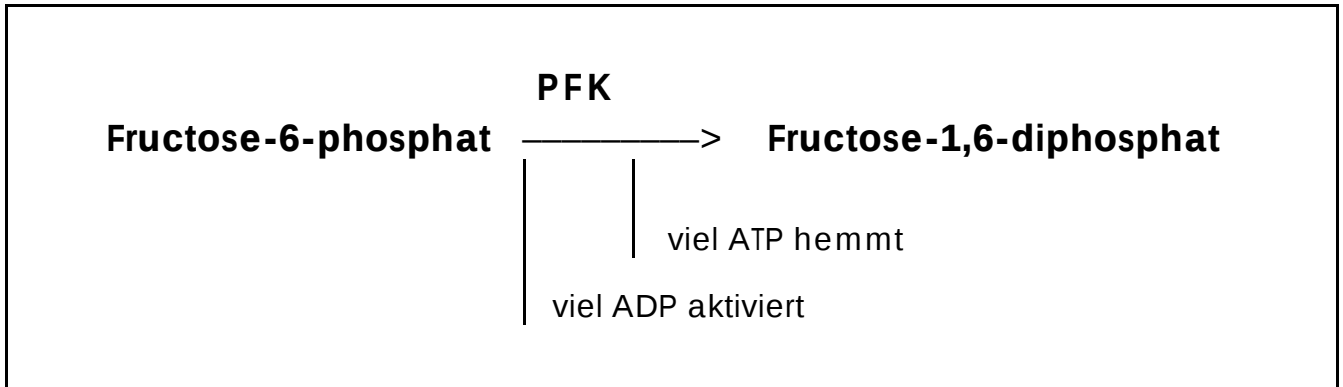


Liegt in einer Zelle wenig ATP und viel ADP vor, so herrscht Energiemangel. ADP hat nun die Eigenschaft, dass es die Energiebereitstellung anregt. Es wirkt dabei als Aktivator der Phosphofruktokinase. Dadurch wird der Glucoseabbau wieder angekurbelt. Es wird erneut ATP gebildet.

Zusammenfassung: Regulation der Phosphofruktokinase (PFK)

ATP ist der allosterische Inhibitor der Phosphofruktokinase.

ADP ist der allosterische Aktivator der Phosphofruktokinase.

**Das sollten Sie für die nächsten Kapitel behalten:**

ATP = Energietransportstoff innerhalb der Zelle

ADP = Abbauprodukt von ATP, entsteht bei Energieverbrauch

Aufgabe 4.1 (Fortsetzung)

Nehmen Sie nochmals das Arbeitsblatt 4.1 zur Hand (Anhang III)

Welche der Abbildungen zeigt eine allosterische Aktivierung?

Beschriften Sie die entsprechende Zeichnung: Name des Aktivierungstyps, Zentren des Enzyms, Begriffe Aktivator und Substrat.

Aufgabe 4.2

Kann ein Aktivator mit einem Substrat um die Bindungsstelle am katalytischen Zentrum eines Enzyms konkurrieren?

Begründen Sie Ihre Antwort in zwei Sätzen.

3. Die Michaelis-Menten-Kinetik (=MMK)

Sie wissen, wie die Enzymaktivität von der Substratkonzentration abhängt. Man bezeichnet diesen Zusammenhang auch als Michaelis-Menten-Kinetik oder kurz MMK. Es interessiert uns nun, wie sich die MMK bei Enzymhemmung verändert. Doch bevor wir dieses Problem angehen, wollen wir das Wichtigste kurz wiederholen.

3.1 Wiederholung

Was ist die **Aktivität** eines Enzyms? Sie sollten die Antwort kennen. Beantworten Sie die Frage für sich und vergleichen Sie dann mit folgendem:

Die Aktivität ist gewissermassen die Leistung eines Enzyms. Sie gibt an, wieviel Substrat in einer bestimmten Zeiteinheit umgesetzt wird. Die Aktivität entspricht der Reaktionsgeschwindigkeit

Wird ein Enzym gehemmt, dann setzt es weniger Substrat pro Zeiteinheit um. Seine Aktivität sinkt. Wird ein Enzym aktiviert, dann setzt es mehr Substrat pro Zeiteinheit um. Seine Aktivität steigt. Dabei ist die Aktivität sozusagen eine charakteristische Eigenschaft des Enzyms. Hemmung und Aktivierung sind dagegen Einflüsse, die von aussen auf das Enzym einwirken. Aktivierung und Aktivität - beide Begriffe hören sich ähnlich an. Sie bedeuten aber etwas ganz Verschiedenes!

Hier wollen wir die Begriffe Hemmung und Aktivierung nebeneinander darstellen

<u>Hemmung</u>	<u>Aktivierung</u>
sinkende Enzymaktivität	steigende Enzymaktivität

3.2 Wie sieht die Situation aus, wenn kein Inhibitor anwesend ist?

In einer Lösung befinden sich Enzym und Substrat. Immer wenn ein Substrat-Teilchen auf ein Enzym trifft, wird es gebunden und umgesetzt. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit der Enzyme $v_{\max}$ ist erreicht, wenn alle Enzyme in der Lösung mit Arbeit beschäftigt sind. Das heisst: Jedes Enzym bindet sofort ein neues Substrat, wenn es das vorhergehende Substrat umgesetzt hat.

3.3. Wie sieht die Situation aus, wenn ein Inhibitor anwesend ist?

Sie haben eben gelesen, dass ein Inhibitor die Aktivität eines Enzyms beeinflusst. Folglich verändert sich damit auch die MMK. Es ergeben sich also andere Werte für $v_{\max}$ und K_M . Wir nennen die neuen Werte $v'_{\max}$ und K'_M .

Was passiert, wenn ein allosterischer Inhibitor anwesend ist?

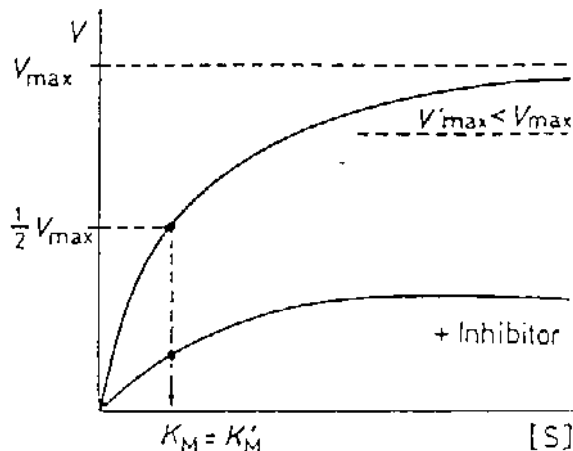
Der Inhibitor bindet an das allosterische Zentrum des Enzyms. Er hemmt dadurch das Enzym. Im Idealfall werden so viele Enzyme gehemmt wie Inhibitor-Teilchen anwesend sind.

Auswirkungen auf $V_{\max}$

Durch den Inhibitor werden einige Enzymteilchen gehemmt. Sie können dadurch kein Substrat mehr umsetzen. Somit wird $v_{\max}$ **nicht erreicht**. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit verringert sich zu $v'_{\max}$.

Die allosterische Hemmung kann gut mit folgender Situation verglichen werden:

Angenommen ein Betrieb hat zehn Arbeitskräfte. Sechs davon werden durch Krankheit am Arbeiten gehindert. Nun sind nur noch vier Personen aktiv. Dadurch wird in diesem Betrieb nur noch 40% der normalen Produktion geleistet.



Auswirkungen auf $1/2 V_{\max}$

Für die halbe maximale Reaktionsgeschwindigkeit gilt das gleiche: Jedes v wird um den gleichen Prozentsatz verringert. $1/2 v_{\max}$ und $1/2 v'_{\max}$ werden jedoch bei der gleichen Substratkonzentration erreicht.

$$\begin{array}{rcl} v'_{\max} & < & v_{\max} \\ 1/2 v'_{\max} & < & 1/2 v_{\max} \\ K'_M & = & K_M \end{array}$$

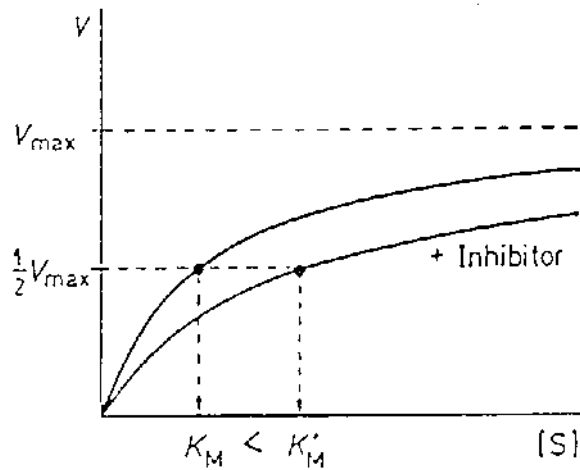
Der K_M -Wert ändert sich also nicht

Was passiert, wenn ein kompetitiver Inhibitor anwesend ist?

Der Inhibitor konkurriert mit dem Substrat. Beide wollen an das katalytische Zentrum des Enzyms binden. Wenn das Substrat schon ans Enzym gebunden hat, dann geht der Inhibitor leer aus. D.h., es werden weniger Enzyme gehemmt als Inhibitoren anwesend sind.

Auswirkungen auf $v_{\max}$

$V_{\max}$ kann erreicht werden! Das geht aber nur bei sehr grossen Mengen an Substrat. Wie? - Im Vergleich zu der riesigen Substratmenge ist der Anteil an Inhibitoren verschwindend klein. Jedes Enzym stösst sofort auf ein Substrat. Danach trifft es gleich auf ein weiteres. Der Inhibitor hat praktisch keine Gelegenheit ans Enzym zu binden. Dadurch arbeitet das Enzym mit voller Leistung. Die Hemmung kann also durch sehr hohe Substratkonzentrationen aufgehoben werden.



Auswirkungen auf $1/2 v_{\max}$

Es gilt dasselbe wie für $v_{\max}$. Die halbe maximale Reaktionsgeschwindigkeit wird erreicht, aber erst bei einer höheren Substratkonzentration

Der K_M -Wert ist folglich **grösser**.

$$\begin{aligned} v'_{\max} &= v_{\max} \\ 1/2 v'_{\max} &= 1/2 v_{\max} \\ K'_M &> K_M \end{aligned}$$

Aufgabe 4.3



Was ist der Unterschied zwischen Aktivität und Aktivierung?

Schreiben Sie die Antwort mit eigenen Worten!

Aufgabe 4.4

Schauen Sie sich die beiden Abbildungen an. Es sind darauf verschiedene MMK zu sehen

Zeichnen Sie für die Kurven jeweils $1/2 v_{\max}$ und K_M bzw. $1/2 v'_{\max}$ und K'_M ein.

Welche Kurve stellt die MMK für die allosterische bzw. die kompetitive Hemmung dar?

Abb. (a)

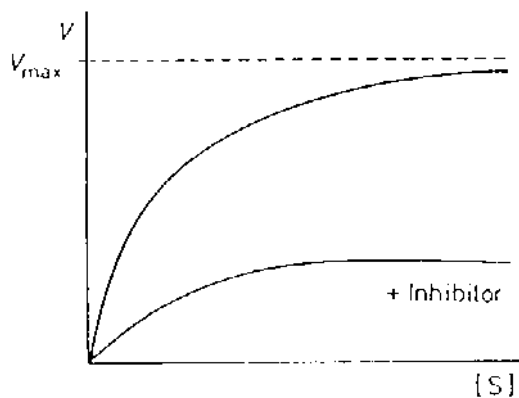
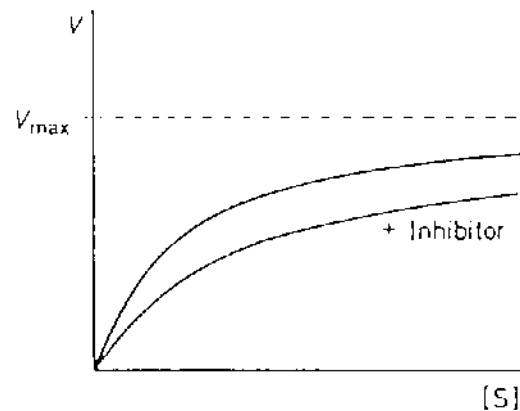


Abb. (b)

**Aufgabe 4.5**

Wie verändert sich die MMK bei allosterischer und kompetitiver Hemmung?

Füllen Sie hierzu die Tabelle aus. Als Antworten sind möglich: "wird kleiner", "wird grösser" oder "bleibt gleich"

Wie verändert sich	allosterische Hemmung	kompetitive Hemmung
$v_{\max}$		
$1/2 v_{\max}$		
K_M		

Lösungen zu den Übungsaufgaben

Aufgabe 4.1

allosterische Hemmung -> Abb. (c)
kompetitive Hemmung -> Abb. (b)
allosterische Aktivierung -> Abb. (a)

Die Beschriftung der Zeichnungen finden Sie in den entsprechenden Abschnitten

Aufgabe 4.2

Nein! - Würde der Aktivator an das katalytische Zentrum binden, so wäre er ein kompetitiver Inhibitor. Er nähme dem Substrat die Bindungsstelle am Enzym weg.

Aufgabe 4.3

Aktivität beschreibt die Arbeitsleistung eines Enzyms. Mit anderen Worten: Aktivität besagt, ob ein Enzym viel oder wenig Substrat in einer bestimmten Zeit umsetzt.

Aktivierung bedeutet eine Steigerung dieser Arbeitsleistung.

Aufgabe 4.4

allosterische Hemmung -> Abb. (a)
kompetitive Hemmung -> Abb. (b)

$1/2 v_{\max}$ und K_M wie in den entsprechenden Abschnitten.

Aufgabe 4.5

Wie verändert sich	allosterische Hemmung	kompetitive Hemmung
$v_{\max}$	wird kleiner	bleibt gleich
$1/2 v_{\max}$	wird kleiner	bleibt gleich
K_M	bleibt gleich	wird grösser

Lernkontrolle



Die folgenden Aufgaben dienen der Überprüfung Ihres Wissens. Sie sollen selbständig testen, ob Sie den Stoff dieses Kapitels begriffen haben.

Aufgabe 4.6

Wodurch wird die Enzymaktivität verändert ?

Schreiben Sie mindestens 2 Stichworte auf. (In diesem Leitprogramm haben Sie bisher vier Gründe kennen gelernt).

Aufgabe 4.7

Vergleichen Sie die beiden Hemmtypen. Ergänzen Sie die nachfolgende Tabelle. In einigen Fällen brauchen Sie nur mit 'ja' oder 'nein' zu antworten.

		Hemmtyp I	Hemmtyp II
Name des Hemmtyps			
Inhibitor-eigenschaften	Substratähnlichkeit		
	Bindung an welches Zentrum		
	Konkurrenz mit Substrat		
Enzym-eigenschaften	Anzahl und Namen der Zentren		
MM-Konstante	$v_{\max}$ wird erreicht		
	Hemmung kann durch erhöhte [S] aufgehoben werden		

Aufgabe 4.8

Friedrich hat eine verbotene Frucht gegessen. Sie enthält eine gefährliche Substanz, die an sich ungiftig ist, aber im Körper durch das Enzym X zu einem giftigen Produkt umgesetzt wird.

Sie wollen Friedrich helfen. Sie wissen, dass das Enzym X sowohl durch einen allosterischen als auch durch einen kompetitiven Inhibitor gehemmt werden kann.

Welchen der beiden Inhibitoren würden Sie für eine schnelle, umfassende Enzymhemmung einsetzen? Begründen Sie Ihre Antwort mit etwa drei Sätzen.

Aufgabe 4.9

Die MMK eines Enzyms ist in An- und Abwesenheit seines Inhibitors bestimmt worden. Dazu wurde bei verschiedenen Substratkonzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit gemessen. In der folgenden Tabelle sehen Sie die Ergebnisse.

Substratkonzentration [S]	Geschwindigkeit ($\mu\text{mol/min}$) ohne Inhibitor	Geschwindigkeit ($\mu\text{mol/min}$) mit Inhibitor
$0,3 \times 10^{-5} \text{ M}$	10,4	4,1
$0,5 \times 10^{-5} \text{ M}$	14,5	6,4
$1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	22,5	11,3
$3,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	33,8	22,6
$9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	40,5	33,8

- Zeichnen Sie anhand der Messwerte die MMK für das Enzym - ohne und mit Inhibitoreinfluss. Nutzen Sie dabei das unten vorgegebene Koordinatensystem.
- Lesen Sie aus ihrer Zeichnung die Werte für $1/2v_{\text{max}}$ und K_M bzw. für $1/2v'_{\text{max}}$ und K'_M ab.
- Welcher Hemmtyp liegt vor? Begründen Sie Ihre Antwort mit einem Satz.



Lösungen zur Lernkontrolle

Aufgabe 4.6

Die Enzymaktivität wird verändert durch:

- Inhibitoren (allosterische und kompetitive)
- Aktivatoren
- Temperatur
- pH-Wert

Aufgabe 4.7

Vergleichen Sie die beiden Hemmtypen. Ergänzen Sie die nachfolgende Tabelle. In einigen Fällen brauchen Sie nur mit 'ja' oder 'nein' zu antworten.

		Hemmtyp I	Hemmtyp II
Name des Hemmtyps		<i>allosterisch</i>	<i>kompetitiv</i>
Inhibitor-eigenschaften	Substratähnlichkeit	<i>nein</i>	<i>ja</i>
	Bindung an welches Zentrum	<i>allosterisches</i>	<i>katalytisches</i>
	Konkurrenz mit Substrat		
Enzym-Eigenschaften	Anzahl und Namen der Zentren	2 <i>allosterisch</i> <i>katalytisch</i>	1 <i>katalytisch</i>
MM-Konstante	$v_{\max}$ wird erreicht	<i>nein</i>	<i>ja</i>
	Hemmung kann durch erhöhte [S] aufgehoben werden	<i>nein</i>	<i>ja</i>

Aufgabe 4.8

Man müsste den allosterischen Inhibitor einsetzen. Jedes Inhibitormolekül kann ein Enzym hemmen. Bei einem kompetitiven Inhibitor wäre dies nicht so, da er mit dem Substrat um die Bindung an das Enzym konkurriert.

Aufgabe 4.9

a) Die Kurve 'mit Inhibitor' verläuft am Anfang flacher und hat am Ende $v_{\max}$ noch nicht ganz erreicht. Die Annäherung an $v_{\max}$ ist aber deutlich sichtbar.

- b)
- | | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|
| $1/2 v_{\max} = 20 \mu\text{mol/min}$ | $K_M = 0,8 \times 10^{-5} \text{ M}$ |
| $1/2 v_{\max} = 20 \mu\text{mol/min}$ | $K_M = 2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ |

c) Kompetitive Hemmung; $v_{\max}$ wird bei entsprechend hohen Substratkonzentrationen erreicht.

Kapitel 5

Cofaktoren und Vitamine

1. Uebersicht

Erinnern Sie sich noch an die Seefahrer- und Piratengeschichten, die Sie in Ihrer Jugend gelesen haben? Schon damals lernten Sie, dass die Matrosen nach mehreren Wochen oder Monaten auf hoher See oft an Skorbut litten. Vielleicht wurde Ihnen schon damals erklärt, dass es sich dabei um eine Krankheit handelt, die durch Vitamin C-Mangel hervorgerufen wird und dass sich diese Krankheit zum Beispiel durch Essen von Zitronen vermeiden lässt.

Seither haben Sie noch einige weitere Vitamine kennengelernt. Doch vermutlich ist Ihnen weniger geläufig, weshalb Vitaminmangel zu diesen gravierenden Erkrankungen führen kann und was Vitamine überhaupt mit unserem Thema "Enzyme" zu tun haben.

Ich möchte Sie nun mit den beiden zentralen Begriffen dieses Kapitels konfrontieren. Es handelt sich um die Begriffe "Cofaktoren" und "Coenzyme".

Unter **Cofaktoren** versteht man alle Substanzen, welche neben der Proteinkette für die Aktivität eines Enzyms unerlässlich sind. Cofaktoren können Metallionen oder organische Moleküle sein. Die organischen Moleküle nennt man auch **Coenzyme**. Diejenigen Teile der Coenzyme, welche vom Organismus nicht synthetisiert werden können, sind die schon angesprochenen **Vitamine**.

In diesem Kapitel werden wir die Rolle einiger ausgewählter Cofaktoren für die Funktion von Enzymen behandeln. Nach jedem Abschnitt werden Sie das Gelernte anhand einiger Fragen oder eines Fazits repetieren. Und am Schluss des Kapitels durchlaufen Sie eine Lernkontrolle.

Lernziele

Sie kennen die Begriffe Vitamine, Cofaktoren und Coenzyme.
Sie sind in der Lage, diese Begriffe zueinander in Beziehung zu setzen sowie sie gegeneinander abzugrenzen.

Sie können jemandem erklären, wieso ein höherer Organismus ca. 2000 Enzyme, aber nur ungefähr drei Dutzend Cofaktoren benötigt.

Sie begreifen, dass ein Nikotinsäuremangel schwerwiegende Folgen für das Funktionieren einer Zelle haben kann.

2. Begriffe



Lesen Sie nun den Anfang von Kapitel 10 aus Lehninger, *Prinzipien der Biochemie* (Seiten 275-276).

Sie finden diesen Text auch im Anhang III dieses Leitprogramms.

Nach der Lektüre der angegebenen Seiten sollten Ihnen die Begriffe "Cofaktor", "Coenzym", "Vitamin" und "Spurenelement" einigermaßen klar sein.

Lösen Sie nun die folgenden drei Übungsaufgaben. Wenn Sie bei der Beantwortung Schwierigkeiten haben sollten, so greifen Sie ruhig wieder auf die angegebenen Unterlagen zurück.

Übungsaufgaben:



Die Aufgaben sind so gestellt, dass sie sich in wenigen Sätzen beantworten lassen.

Bitte nicht nur in Stichworten antworten!

Die Lösungen der Aufgaben finden Sie am Ende dieses Kapitels.

Aufgabe 5.1

Die Begriffe "Cofaktor" und "Coenzym" stehen in einer hierarchischen Beziehung zueinander. Wie ordnen Sie den Begriff "Spurenelemente" in dieses System ein?

Aufgabe 5.2

Erklären Sie den Zusammenhang zwischen den Begriffen "Vitamin" und "Coenzym".

Aufgabe 5.3

Was kann geschehen, wenn jemand zuwenig von einem bestimmten Vitamin (zum Beispiel Nikotinsäure) aufnimmt? In Ihrer Antwort sollten die Begriffe "Coenzym" oder "Cofaktor" vorkommen.

Anmerkung zu diesem Abschnitt

Diese Anmerkungen gehören nicht zum Lernstoff. Sie werden hier nur angegeben, um allfälligen Unklarheiten vorzubeugen.

Die Begriffe "Vitamine", "Coenzyme", "Cofaktoren" und "Spurenelemente" sind historisch entstanden und nie eindeutig definiert worden. Wir verwenden sie hier so, wie sie im Biochemie-Lehrbuch von Albert L. Lehninger gebraucht werden. Lehninger schrieb die wohl bekanntesten und am weitesten verbreiteten Biochemielehrbücher. Es kann aber durchaus sein, dass in anderen Schriften diese Begriffe nicht so streng voneinander abgegrenzt werden.

Bisher könnte der Eindruck entstanden sein, dass die Vitamine immer Vorläufermoleküle von Coenzymen seien. Dies ist nicht der Fall. Nicht alle Vitamine werden vom Körper zu Coenzymen weitersynthetisiert. Gewisse Vitamine (zum Beispiel Vitamin D) werden zwar im Körper weiter verändert, doch bezeichnet man diese Produkte nicht als Coenzyme. Andere Vitamine (wie das schon angesprochene Vitamin C) wirken ohne jegliche Veränderung schon als Cofaktor, doch auch in diesen Fällen spricht man dann nicht von Coenzymen.

Weshalb führt Vitamin C-Mangel zu Skorbut?

Vitamin C (chemischer Name Ascorbinsäure) ist ein organisches Molekül. Die meisten Tierarten können es selber synthetisieren, nur für einige Affen, die Meerschweinchen und den Menschen ist es ein Vitamin.

Die Wirkung von Vitamin C ist sehr kompliziert und bis heute nur in einigen Fällen aufgeklärt. So vermutet man unter anderem eine starke krebshemmende Wirkung. Auch beeinflusst es vermutlich das Immunsystem, möglicherweise in ähnlicher Weise wie Aspirin. Doch genaues darüber ist noch nicht bekannt.

Was den Skorbut betrifft, so weiss man heute einiges über das Wirken von Vitamin C. Skorbut entsteht dadurch, dass die wichtigsten Bindegewebsproteine nicht wunschgemäss synthetisiert werden können. Bei einigen wichtigen Bindegewebsproteinen werden gewisse Aminosäuren zusätzlich hydroxyliert (mit einer OH-Gruppe versehen), was das Vitamin C ermöglicht. Ohne diese Hydroxylierung der entsprechenden Proteine wird das Bindegewebe weniger fest und die Zähne beginnen auszufallen.

3. Allgemeine Wirkungsweise der Cofaktoren

Lesen Sie den nun folgenden Text. Es ist mir nicht wichtig, dass Sie jedes Detail verstehen. Doch sollte Ihnen am Schluss klar sein, was unter dem Stichwort "Fazit" nochmals wiederholt wird.

Cofaktoren sind für die Wirkungsweise vieler Enzyme unerlässlich. Es sind wichtige Substanzen, welche die zu katalysierende Reaktion oft erst ermöglichen. Wie Sie im ersten Abschnitt gelernt haben, teilt man die Cofaktoren in Coenzyme und in Spurenelemente auf. Diese Aufteilung ist speziell in bezug auf die Wirkungsweise der Cofaktoren sinnvoll.

Spurenelemente sind, von einigen Ausnahmen abgesehen, Metallionen wie zum Beispiel Eisen-, Kupfer- oder Zinkionen, um die am häufigsten zu nennen. Diese Metallionen sind in Enzyme eingelagert, wo sie am katalytischen Vorgang direkt beteiligt sind.

Im Fall von Eisen wechselt die Oxidationszahl oft zwischen +2 und +3 ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$), im Fall von Kupfer zwischen +1 und +2 ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$). Bei Zink und Mangan bleibt die Oxidationszahl immer bei +2. In Abschnitt 4 werden Sie an einem Beispiel sehen, wie Zink bei der Katalyse wirkt, ohne dabei verändert zu werden.

Coenzyme haben im Gegensatz zu Spurenelementen ein viel breiteres Wirkungsspektrum. Ueberhaupt ist die Bezeichnung "Coenzyme" äusserst verwirrend. Sie suggeriert, dass Coenzyme wie Enzyme wirken. Doch dies ist falsch. Coenzyme wirken viel eher als zweite Substrate. Sie werden während der katalysierten Reaktion chemisch verändert und erst viel später wieder in die alte Form zurückgeführt. Dies ganz im Gegensatz zu den Enzymen, die aus der katalysierten Reaktion unverändert hervorgehen.

Die Funktion der Coenzyme ist nicht einheitlich. Immerhin ist Ihnen gemeinsam, dass sie als Zwischenträger wirken, mit deren Hilfe chemische Gruppen übertragen werden. So transportieren Nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) und Flavin-adenin-dinukleotid (FAD) Elektronen, das Coenzym A transportiert kleinere Kohlenstoffketten usw. Will man die Funktion jedes einzelnen Coenzym begreifen, so muss man notgedrungen jedesmal seine spezifischen Aufgaben verstehen lernen. Wir werden uns daher auf eines der wichtigsten Coenzyme, das Nikotinamid-adenin-dinukleotid, konzentrieren.

Fazit: Spurenelemente sind in die beteiligten Enzyme eingelagert und wirken dort am Katalysemechanismus mit.

Coenzyme sind eigentlich eher zweite Substrate. Sie werden während der Enzymreaktion chemisch verändert. Ihre Funktion liegt darin, dass sie als Zwischenträger für spezielle chemische Gruppen wirken.

4. Genauere Betrachtung der Wirkungsweise von Nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD)



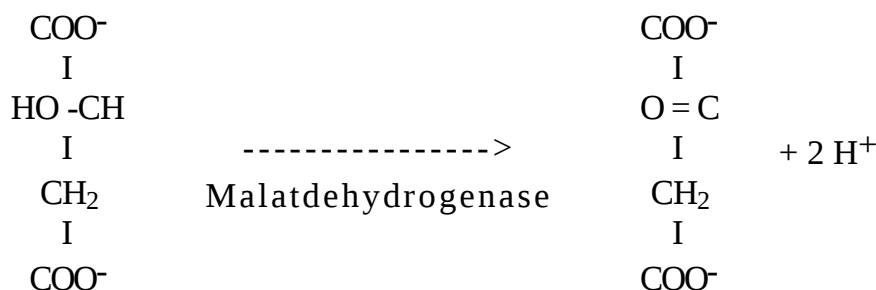
Holen Sie in der Handbibliothek ein Lehrbuch und schlagen Sie die Strukturformel von NAD nach!

Wie schon der Name sagt, besteht dieses Molekül aus zwei Nukleotid-Einheiten mit Adenin und Nikotinamid als stickstoffhaltige Basen. Wichtig für die eigentliche Funktion als Coenzym ist nur der Nikotinamid-Teil, das heisst das ursprüngliche Vitamin. Der Rest dient "nur" dazu, dem Enzym die Erkennung und Positionierung seines Coenzym zu erleichtern.

Notieren Sie hier die Strukturformel von NAD. Bezeichnen Sie die oben aufgeführten Untereinheiten.

Das Coenzym NAD kommt als NAD^+ in oxidiert und NADH in reduzierter Form vor. Wie wir schon besprochen haben, wirken Coenzyme als Zwischenträger für chemische Gruppen. NAD transportiert in der reduzierten Form Hydridionen (H^-). Hydridionen sind in der Zelle so instabil, dass man NADH auch als Elektronenträger bezeichnen kann. Das Hydridion stammt von einem Substrat und wird von der entsprechenden Dehydrogenase abgespalten.

Ein Beispiel dazu ist die von der Malat-Dehydrogenase katalysierte Reaktion:



Vom Malation (=Aepfelsäureion) werden zwei H-Atome abgespalten. Eines wird als Proton freigesetzt, das andere als Hydridion H^- an NAD^+ gehängt.

Dies ist eine Reaktion aus dem Abbau von Traubenzucker (Zellatmung). Die mit der Nahrung aufgenommenen C-Atome werden nach und nach oxidiert und am Schluss als CO_2 ausgeatmet. Die dabei zurückgehaltenen Elektronen werden zum Teil als Hydridionen an NAD^+ gekoppelt und später in einer komplizierten Kettenreaktion zur Energiegewinnung verwendet. Letztlich werden die Elektronen der Hydridionen dazu verwendet, elementaren Sauerstoff zu reduzieren. Die bei dieser Reaktion freiwerdende Energie wird nicht einfach freigesetzt, sondern zum Aufbau von ATP verwendet.

Aufgabe 5.4:



In gewissen Lehrbüchern steht, dass NAD ein Zwischenträger für Wasserstoffatome ist. Nehmen Sie Stellung zu dieser Aussage!

5. Nachweis von Dehydrogenasen in Hefezellen



Wir wollen nun mit einem Experiment nachweisen, dass es in Hefezellen wasserstoffübertragende Systeme (Dehydrogenasen / NAD^+) gibt.

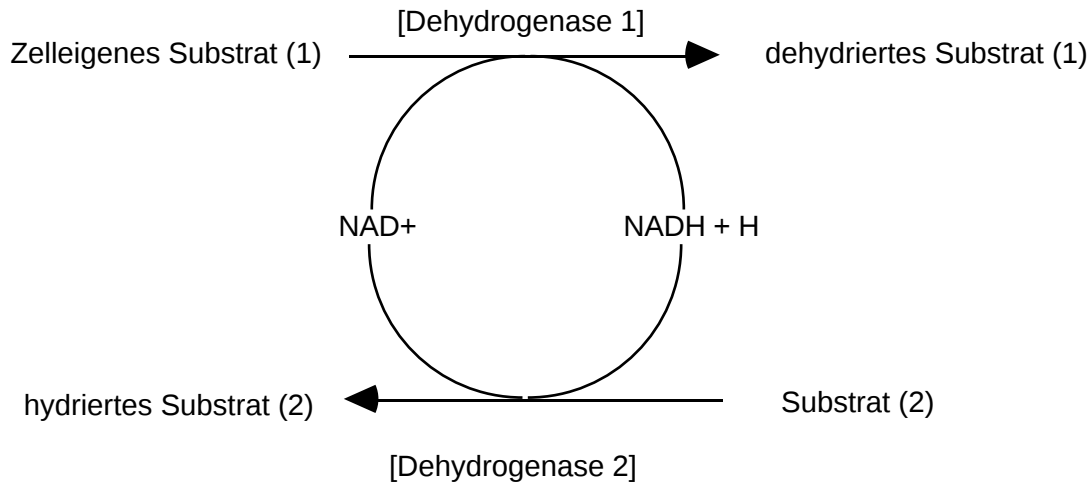
Vorerst sollten Sie sich die für das Verständnis des Versuchs notwendigen Grundlagen aneignen!

Wie kann man feststellen, wie innerhalb der Zellen Wasserstoff von einem Substrat auf ein anderes übertragen wird?

Es gibt dazu einen verblüffend einfachen Trick: Wir bieten der Zelle eine Substanz an, die leicht Wasserstoff aufnimmt und dabei ihre Farbe ändert. Ein solcher Wasserstoffakzeptor ist das als Farbstoff für die Mikroskopie bekannte Methyleneblau. Dieses ist in der hydrierten Form farblos und wird daher auch Leucomethyleneblau genannt. Offenbar sind nicht alle Dehydrogenasen streng substratspezifisch; das eingeschleuste Methyleneblau ist ein synthetisches Molekül, kommt in der Natur nicht vor. Da der Farbstoff sehr leicht reduzierbar ist, wird er gegenüber den zelleigenen Wasserstoffakzeptoren bevorzugt. Seine Entfärbung bleibt erhalten, da es in den Zellen keine Leucomethyleneblau-Dehydrogenase gibt, was weiter nicht erstaunlich ist.

Durch diesen zunächst irreversiblen Vorgang verlieren die Zellen laufend Wasserstoff. Damit zu Beginn des Versuchs sicher eine ausreichende Menge an dehydrierbaren Substraten (Wasserstoffspendern) vorhanden sind, setzen wir bei einem Ansatz etwas Ethanol (Alkohol) zu; dieses Substrat wird nach der Abgabe von 2 H-Atomen zu Acetaldehyd oxidiert.

Der Vorgang der Wasserstoffübertragung lässt sich mit folgendem Schema veranschaulichen:



Aufgabe 5.5



Zeichnen Sie obiges Schema nochmals; beschriften Sie es nun aber mit den Substanzen, die wir im Versuch verwenden werden (Ethanol, Methylenblau).



Damit sollten Sie unseren Versuch verstehen können. Bilden Sie mit drei Mitschülern eine Arbeitsgruppe und führen Sie den Versuch gemäss Anleitungsblatt durch.

Möglicherweise hat Ihre Lehrerin aus Zeitgründen den Versuch bereits angesetzt, sodass Sie ihn nur noch auswerten müssen.

Zusammenfassung des Versuchs:

Entfärbung war in folgenden Ansätzen zu beobachten: Nr. / Nr. / Nr.

Keine Entfärbung gab es bei den Ansätzen: Nr. / Nr. / Nr.

Erklärung dazu:

.

.

.

Die Entfärbung erfolgt (wenn überhaupt) nicht in allen Ansätzen gleich rasch. Bei unserem Versuch verlief die Reaktion bei Nr. .. am schnellsten.

Erklärung dazu:

.

.

Aufgabe 5.6



Es ist Ihnen sicher aufgefallen, dass bei den sonst entfärbten Ansätzen die obersten Milimeter der Flüssigkeit leicht bläulich bleiben.

Wie kann dies erklärt werden?

6. Genauere Betrachtung der Wirkungsweise des Zinkions am Beispiel der Carboxypeptidase A

(fakultativer Abschnitt)

In diesem Abschnitt werden Sie nun am Beispiel der Carboxypeptidase A und Zink als ihrem Cofaktor lernen, wie Spurenelemente als Cofaktoren wirken können. Sie werden mit der für die Biochemie typischen Art des Darstellens und des Denkens konfrontiert. Es ist aber völlig klar, dass Sie das alles nicht vollständig verstehen können. Wichtig ist es daher nicht, dass Sie am Ende des Abschnitts den ganzen Reaktionsmechanismus kennen, sondern dass Sie die unterschiedliche Wirkungsweise im Vergleich zum Coenzym NAD^+ verstehen.

Die Carboxypeptidase A ist ein Verdauungsenzym, das Eiweissketten (Proteine) in ihre Aminosäuren zerlegt. Synthetisiert wird es in der Bauchspeicheldrüse, gelangt dann von dort in den Dünndarm, wo es an der Proteinverdauung mitbeteiligt ist. Das Enzym spaltet vom Carboxylende (...-COO^-) der Proteinkette eine Aminosäure nach der andern ab, bis das gesamte Protein verdaut ist. Selbstverständlich ist die Carboxypeptidase A nicht das einzige proteinsplattende Enzym, sondern es wirkt im Verbund vieler proteinverdauender Enzyme.

Die räumliche Struktur der Carboxypeptidase A wurde schon Ende der sechziger Jahre aufgeklärt; das Enzym besteht aus einer Polypeptidkette von 307 Aminosäuren, hat die Form eines Ellipsoids und enthält ein sehr fest gebundenes Zinkion, das für die Funktion des Enzyms unerlässlich ist.

Wenn Sie die Struktur der Carboxypeptidase A ganz genau kennen lernen wollen, empfehle ich Ihnen einen Blick ins Lehrbuch "Biochemie" von L. Stryer (Seiten 227-230).

Abbildung 9.29 dieses Buchs zeigt Ihnen auch recht genau, wie das Zinkion gebunden ist. Drei Aminosäuren (nämlich Glutaminsäure Nr. 72 sowie zweimal Histidin Nr. 69 und Nr. 196) bilden mit ihren negativ geladenen Gruppen drei elektrostatische Bindungen zum zweifach positiv geladenen Zinkion. Auf diese Weise sitzt das Zinkion fest in der Proteinhülle.

Sobald die Carboxypeptidase A ein zu spaltendes Peptid gebunden hat, ändern sich die Bindungsverhältnisse. Nun werden plötzlich andere Aminosäuren wichtig (nämlich hauptsächlich Glutaminsäure Nr. 270 und Tyrosin Nr. 248). Zusammen mit dem Zinkion und dem Peptid, das heisst dem Substrat, bilden diese Aminosäuren den wesentlichen Teil des Enzym-Substrat-Komplexes.

Doch welche Rolle spielt nun das Zinkion? Es zieht sehr stark an den Elektronen des Sauerstoffatoms der Carbonylgruppe (-CO-) die endständige Aminosäure mit der zu bearbeitenden Proteinkette verbindet. Durch diese Wirkung des Metallions wird das Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe so von Elektronen "entblösst", dass die negativ geladenen Teile der Glutaminsäure Nr. 270 und das Proton des Tyrosins Nr. 248 das Peptid an dieser Stelle angreifen können. Dies führt sehr schnell zur Spaltung der Peptidbindung und zur Freisetzung einer Aminosäure. Danach wird der Enzym-Substrat-Komplex aufgelöst und das Enzym nimmt wieder seine Ausgangsstruktur ein.

Abbildung 9.33 zeigt schliesslich, wie die Spaltung des Substrates (Proteinkette) im Detail ablaufen könnte.

Uebungsaufgaben

Die folgenden drei Aufgaben sind so gestellt, dass sie sich mit zwei bis drei Sätzen beantworten lassen.

Geben Sie stets auch eine Begründung zu Ihren Antworten.

Aufgabe 5.7

Wie beurteilen Sie den Bindungstyp zwischen den Aminosäuren und dem Zinkatom? Haben diese Bindungen eher kovalenten Charakter oder sind es eher elektrostatische Wechselwirkungen?

Aufgabe 5.8

Welche Rolle spielt das eine Sauerstoffatom der Glutaminsäure Nr. 270 bei der Peptidspaltung?

Aufgabe 5.9

Welcher Schritt der Katalyse würde verunmöglicht, wenn eine Carboxypeptidase A kein Zinkatom enthielte?

Lösungen zu den Uebungsaufgaben

Aufgabe 5.1

Cofaktor ist der Oberbegriff. Coenzyme sowie Spurenelemente sind Cofaktoren.

Aufgabe 5.2

Bei den Vitaminen handelt es sich um diejenigen Teile der Coenzyme, die vom betreffenden Organismus nicht selbst synthetisiert werden können, also mit der Nahrung aufgenommen werden müssen.

Aufgabe 5.3

Dies kann dazu führen, dass der Körper nur eine ungenügende Menge eines bestimmten Coenzym synthetisieren kann. Damit können die beteiligten Enzyme ihre Aufgaben nicht wunschgemäß durchführen, und der Organismus kann irgendwo Schäden erleiden.

Aufgabe 5.4

Meiner Meinung nach sind beide Ansichten richtig. Tatsächlich wird ein Hydridion (H^-) transportiert. Das H^- in wässriger Lösung aber nur ein theoretisch vorkommendes Teilchen ist, kann man vereinfachend auch von Wasserstoffatomen sprechen.

Aufgabe 5.5

Die allgemeinen Begriffe sollten wie folgt ersetzt sein:

allgemeiner Begriff:

zelleigenes Substrat (1)
dehydriertes Substrat (1)
Substrat (2)
hydriertes Substrat (2)
Dehydrogenase (1)

spezieller Begriff:

Ethanol (Alkohol)
Acetaldehyd
Methylenblau
Leucomethylenblau
Alkoholdehydrogenase

Aufgabe 5.6

Leucomethylenblau gibt den aufgenommenen Wasserstoff an den Sauerstoff der Luft ab, mit welchem er zu Wasser reagiert.

Es entsteht somit wieder Methylenblau. Der Luftsauerstoff kann nur einige Millimeter in die Flüssigkeit hinein diffundieren.

(stark vereinfachte Erklärung)

Aufgabe 5.7

Das Zinkatom liegt als zweifach positiv geladenes Ion (Zn^{2+}) vor. Es teilt keine Elektronen mit den benachbarten Aminosäuren; daher haben die Wechselwirkungen mit den Sauerstoff- und Stickstoffatomen eindeutig elektrostatischen Charakter. Wobei allerdings zu sagen ist, dass jede elektrostatische Bindung auch kovalenten Charakter hat, der Übergang vom einen zum anderen Typus nicht exakt abgegrenzt ist.

Aufgabe 5.8

Die Sauerstoffatome der Glutaminsäure greifen den "nun beinahe nackten" Kohlenstoffkern an. Da Kohlenstoff nicht 5 kovalente Bindungen machen kann, wird die Bindung zum Stickstoffatom der nächsten Aminosäure gelöst.

Aufgabe 5.9

Eine schwierige Frage! Vermutlich wäre schon die Substraterkennung und Substratbindung verunmöglicht. Sicher würde aber keine Peptidspaltung stattfinden.

Lernkontrolle



Mittlerweile kennen Sie das Vorgehen ja bestens. Lösen Sie die Aufgaben der Lernkontrolle selbständig. Kontrollieren Sie Ihre Antworten anhand der auf der nächsten Seite enthaltenen Lösungen.

Wenn Sie keine Probleme hatten, können Sie sich zum Kapiteltest melden; ansonsten müssen Sie die unklaren Bereiche nochmals überarbeiten.

Aufgabe 5.10

Wieso zieht das Zinkion sehr viel stärker an den Elektronen, als dies alle andern Teile des Enzymmoleküls können?

Aufgabe 5.11

Die Alkoholdehydrogenase ist eines jener Enzyme, die für ihr Funktionieren NAD^+ als Coenzym benötigen. Bei der von der Alkoholdehydrogenase katalysierten Reaktion wird Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) oxidiert und NAD^+ reduziert. Die katalysierte Reaktion hat also sehr viel Ähnlichkeit mit jener der Malatdehydrogenase.

Obwohl die Reaktion der Alkoholdehydrogenase im Text nicht beschrieben ist, sollten Sie mit den obigen Angaben in der Lage sein, nun die vollständige Reaktionsgleichung aufzustellen. Welche Produkte entstehen bei dieser Reaktion?

Aufgabe 5.12

NAD wirkt als Transporteur von Hydridionen, Zink wirkt direkt bei der Katalyse. Strukturell sind die beiden Substanzen völlig verschieden.

Doch was haben Zink und NAD^+ gemeinsam?

Aufgabe 5.13

Schüttelt man einen entfärbten Ansatz des Hefezellen-Dehydrogenase-Versuches kräftig, so tritt wieder Blaufärbung auf. Erklären Sie dieses Phänomen!

Aufgabe 5.14

Das Dehydrogenase-Experiment gelingt auch, wenn man statt Hefezellen rohe Kartoffelstücke verwendet.

Was schliessen aus diesem Sachverhalt? Warum müssen es rohe Kartoffelstücke sein?

Lösungen zur Lernkontrolle

Aufgabe 5.10

Es gibt zwar auch andere Proteinteile, die positiv geladen sind und an denen Elektronen ziehen können (z.B. die Aminosäuren Asparagin und Lysin). Das Zinkion ist aber zweifach positiv geladen und relativ klein, sodass seine Ladung sehr "konzentriert" vorliegt.

Aufgabe 5.11

Es entstehen Acetaldehyd ($\text{H}_3\text{C-CHO}$) und zwei NADH. Acetaldehyd ist übrigens dafür verantwortlich, dass man sich nach starkem Alkoholgenuss am nächsten Tag nicht besonders wohl fühlt.

Aufgabe 5.12

Gemeinsam ist eigentlich nur die Funktion als Cofaktor. Das heisst, ohne Zn^{2+} bzw. NAD würden die betreffen Enzyme ihre katalytische Aktivität verlieren.

Aufgabe 5.13

Durch das Schütteln kommt das Leucomethylenblau mit Luftsauerstoff in vorübergehenden Kontakt. Dieser reagiert mit dem Wasserstoff; es bildet sich wieder Methylenblau was zur Rückkehr der blauen Farbe führt.

Aufgabe 5.14

Wasserstoffübertragungsvorgänge finden bei der Zellatmung statt. Dieser Vorgang liefert für die Zelle die energiereiche Verbindung ATP und findet in nahezu allen lebenden Zellen in gleicher Art und Weise statt.

Die Kartoffelstücke müssen roh sein, da die Dehydrogenasen als Enzyme durch höhere Temperaturen zerstört werden.

Kapitel 6

Gärungsvorgänge

1. Übersicht

Thema

Sie sind nun fast am Ende unseres Leitprogramms angelangt. Sie haben bis jetzt sehr viel Theorie über die Enzyme gelesen. Vielleicht haben Sie sich dabei schon folgendes gefragt :

**Kann man die Enzyme auch ausserhalb von Zellen einsetzen?
Wo treffe ich im Alltag überhaupt auf Enzyme?**

Es ist anzunehmen, dass alle Leser dieses Leitprogramms realisiert haben, dass die Enzyme für das Überleben der Organismen von zentraler Bedeutung sind. Es gibt aber auch viele Enzymanwendungen in unserem Leben, die uns gar nicht bewusst sind. Denn was haben ein kühles Bier, ein feiner Kuchen, ein Joghurt oder ein Muskelkater nach intensivem Jogging Gemeinsames ? Auf den ersten Blick gar nichts. Aber halt! Klar, bei allen Beispielen sind Enzyme im Spiel.

Vorgehen

Das Ziel dieses Kapitels ist, Sie vorerst mit der alkoholischen Gärung vertraut zu machen. Dieser Vorgang ist heute eine der wichtigsten Anwendungen von Enzymen. Die Herstellung von Alkohol als Genussmittel und vor allem auch als Rohstoff für die chemische Industrie hat eine enorme wirtschaftliche Bedeutung. In diesem Zusammenhang möchte ich auch auf die Wirkung des Alkohols im Menschen eingehen. Mit einem Experiment werden die Alkoholgehalte verschiedener Getränke bestimmt. Schliesslich bekommen Sie Einblicke in Ablauf und Bedeutung der Milchsäuregärung.

Lernziele :

Nach dem Studium dieses Kapitels können Sie, einem Mitschüler den Ablauf der alkoholische Gärung erklären.

Sie wissen, warum grössere Alkoholmengen für den Menschen schädlich sind.

Sie können das Prinzip der enzymatischen Alkoholbestimmung auf einem Blatt skizzieren. Zudem sind Sie in der Lage, die Resultate zu interpretieren.

Sie wissen in welchen Punkten die Milchsäuregärung von der alkoholischen Gärung abweicht.

2. Gärung geht uns alle an

Als vor rund 3,2 Milliarden Jahren die ersten Mikroorganismen auf unserem Planeten auftraten, begann auch der tägliche Kampf um die lebensnotwendige Energie. Denn Leben ist ein aktiver Zustand. Es muss ununterbrochen Arbeit verrichtet werden. Arbeit braucht bekanntlich Energie. Es gibt bis heute drei grundlegende Arten der Energiegewinnung. Es sind dies die Photosynthese, die Atmung und die Gärung. Von diesen drei Möglichkeiten ist die **Gärung die älteste und einfachste Form der Energieerzeugung**. Dennoch hat sie sich bis heute gehalten. Dies ist doch recht erstaunlich. Die Evolutionstheorie lehrt uns ja, dass alles Schwache und nicht so effiziente ausgeschaltet wird. Wieso ist dies bei der Gärung nicht geschehen? Steckt da mehr dahinter als man zunächst sieht ? Wir werden es in Kürze wissen.

Dies ist aber nicht der einzige Grund, weshalb ich mit Ihnen über die Gärung sprechen möchte. Es gibt bereits viele Anwendungen, die weit über den eigentlichen Sinn der Gärung hinausgehen. Diese Anwendungen gehen uns alle an. Insgeheim profitieren wir sogar gerne davon. Denn wer von uns liebt nicht ein feines Joghurt zum Morgenessen? Wer von uns trinkt nicht einmal genüsslich einen guten Tropfen zu einem köstlichen Essen?

Daneben ist die Gärung so etwas wie die Wiege der modernen Biochemie.

Verlauf der alkoholischen Gärung

Doch nun haben wir Sie lange genug auf die Folter gespannt. Stellen wir uns also folgende Frage :

Wie läuft die alkoholische Gärung ab?

Die alkoholische Gärung ist nur eine, aber wohl **die bekannteste Gärungsreaktion**. Bei ihr entsteht im Endeffekt ein wirtschaftlich so wichtiges Produkt wie der Alkohol (=Ethanol).

Die alkoholische Gärung wird von **Hefen** durchgeführt. Im Fachjargon heissen die Hefen *Saccharomyces* und gehören zu den Pilzen. Die bekanntesten Hefen sind die Bäckerhefe und die Brauhefe.

Normalerweise gewinnen die Hefen ihre Energie durch Atmung. Also auf dieselbe Art wie wir dies auch tun. Im Gegensatz zum Menschen können die Hefen aber auch ohne Sauerstoff überleben. In diesem sogenannten anaeroben (= sauerstofffreien) Milieu wechseln die Hefen in der Energiegewinnung von der Atmung zur Gärung.

Gärung findet also nur in Abwesenheit von Sauerstoff statt !!

Der Sinn der Gärung ist somit die **Energiegewinnung ohne Sauerstoff**. Wie viele Lebewesen haben auch die Hefen als Grundnahrung Zucker. Der weitaus am meisten verwendete Zucker ist die Glucose. Daraus gewinnen Hefen ihre Energie. Sie verwenden dieses Substrat sowohl beim Atmen, als auch beim Gären.

Wenn sowohl die Atmung als auch die Gärung mit demselben Substrat beginnen, scheint es logisch, dass beide Prozesse mit denselben Reaktionen starten. In der Tat ist dies auch so. Erst nach einigen gemeinsamen Reaktionsschritten, trennen sich die beiden Pfade der Energiegewinnung. Welche Richtung dann weiterverfolgt wird, hängt von der Anwesenheit des Sauerstoffs ab.

Den Anfang der Gärungsreaktionen kennen Sie wahrscheinlich schon. Es handelt sich um die 10 Reaktionsschritte der **Glykolyse** (erster Teil des Traubenzuckerabbaus). Ich möchte hier nicht näher auf die Glykolyse eingehen. Sie brauchen von diesen Reaktionen lediglich zu wissen, dass dabei aus einem Glucosemolekül zwei Moleküle Brenztraubensäure (=Pyruvat) entstehen und zur Uebernahme des frei werdenden Wasserstoffs 2 NAD^+ nötig sind.

Auffällig an der Glycolyse ist, dass alle Zwischenprodukte Verbindungen mit Phosphorsäureresten darstellen. Dadurch wird gewissermassen die Energie dieser Verbindungen konserviert, bis sie bei der Reaktion mit ADP auf ATP übertragen wird. Bei der Glycolyse können pro Glucosemolekül 2 Moleküle ATP gebildet werden.



Falls Sie den Sachverhalt genauer wissen wollen, können Sie ein Biochemie-Lehrbuch zur Hand nehmen.

Aufgabe 6.1



Zeigen Sie anhand der Summenformeln von Glucose und Brenztraubensäure, dass bei der Glycolyse H-Atome von einem Coenzym übernommen werden müssen. (Die beiden Formeln finden Sie in jedem Biologie-Lehrbuch)

Bei der Glykolyse gewinnt die Zelle also pro Molekül Glucose :

Zwei Moleküle ATP, zwei reduzierte Coenzyme NADH/H^+ und zwei Moleküle Brenztraubensäure.

Nun stehen wir also am Scheideweg. Von diesem Punkt der Glykolyse aus, können wir den Prozessen der Atmung oder der Gärung folgen. Da wir uns aber in sauerstofffreiem (anaerobem) Milieu befinden, brechen wir zur Gärung auf. Atmung kann ja nur mit Sauerstoff funktionieren. Beim weiteren Abbau muss auf folgendes geachtet werden:

Wir haben bei der Glykolyse unter anderem zwei NADH/H^+ erhalten. Diese müssen wir irgendwie wieder in den ursprünglichen Zustand zurückführen. Geschieht dies nicht, kommt die ganze Glykolyse zum Erliegen. Irgendwann fehlt dann nämlich das NAD^+ , welches wir für den Abbau brauchen. So hat der weitere Verlauf der Gärung den Zweck, das **NAD^+ zu recyclieren**. Bei der Atmung kann dabei noch mehr Energie als bei der Gärung gewonnen werden.

Nun können wir auch die beiden letzten Schritte der alkoholischen Gärung verstehen. Wir sind von der Glykolyse her gekommen und bei der Brenztraubensäure stehen geblieben. Von hier haben wir noch zwei Schritte bis zum Alkohol:

- Von der Brenztraubensäure (Pyruvat) wird durch die Pyruvat-Decarboxylase ein Molekül CO_2 abgespalten. Es entsteht Acetaldehyd.
- Das NADH/H^+ aus der Glykolyse reduziert den Acetaldehyd zu Alkohol (Ethanol). So sind wir am Ende der alkoholischen Gärung angelangt.

Das war doch gar nicht so schwierig?

Betrachten wir die alkoholische Gärung nochmals im Überblick:

Die Glucose wird über die Glykolyse zu Pyruvat abgebaut. Von dort machen wir noch zwei Schritte zur Recyclierung des NAD^+ . Nur so können wir die Glykolyse überhaupt immer wieder von neuem beginnen. Als Abfallprodukt fällt Ethanol an. Diese Substanz kann die Hefe nicht mehr weiter abbauen. Sie scheidet den Alkohol zu unserem Nutzen aus.

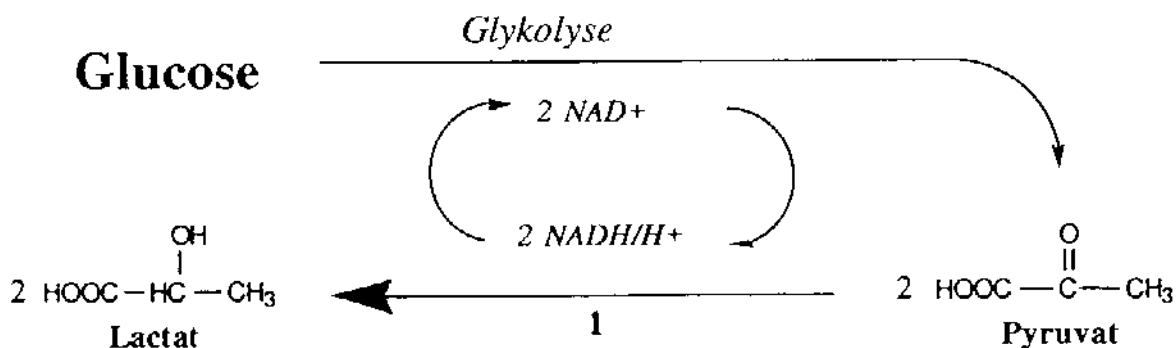


Abb 1. Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte der alkoholischen Gärung. Das Ausgangssubstrat ist Glucose, das Endprodukt Ethanol.

Enzyme: 1 Pyruvatdecarboxylase
2 Alkoholdehydrogenase

Aufgabe 6.2

In der Abbildung 1 wurden zwei Enzyme erwähnt. Es sind dies die Pyruvatdecarboxylase und die Alkoholdehydrogenase. Wie Sie aus den vorangehenden Kapiteln wissen, stehen die Namen der Enzyme für die Reaktion, die sie katalysieren.

Können Sie sich unter den beiden Namen etwas vorstellen ? Können Sie beschreiben, was für eine Reaktion die beiden Enzyme katalysieren ?

Diese Frage ist etwas schwierig. Darum geben wir Ihnen zwei Hinweise:

Überlegen Sie sich, für was der erste Teil des Namens steht. Dann schauen Sie sich obiges Schema an. Sie sehen vielleicht, was dort von Schritt zu Schritt verändert wurde. So können Sie sich die Reaktion vorstellen.

Lassen Sie sich durch diese Frage aber nicht entmutigen. Wenn Sie die Antwort nicht finden, schauen Sie die Lösung am Schluss dieses Kapitels nach. Es ist aber wichtig, dass Sie die Antwort dann verstehen. Diese beiden Enzyme sind im ganzen Gärungsvorgang von entscheidender Wichtigkeit.

Nun ist es aber Zeit, von einer zweiten Anwendung zu sprechen. Sie wissen jetzt wie Alkohol hergestellt wird. Die eben beschriebenen Reaktionen kann man auch zur Analytik einsetzen. Wie dies geschieht, möchten wir Ihnen in einem Experiment zeigen. In diesem Experiment geht es um den Nachweis von Alkohol in Flüssigkeiten. Dieser Nachweis hat eine grosse praktische Bedeutung, weil es immer mehr zum Missbrauch von Alkohol in unserer Gesellschaft kommt. In der Gerichtsmedizin (Blutalkoholbestimmung), der klinischen Chemie, Lebensmittelchemie und Biochemie hat das nächste Experiment eine grosse praktische Bedeutung.

3. Bestimmung des Alkoholgehaltes von Getränken

Ziel des Versuches:



Wir wollen eine Methode zur Bestimmung des Alkoholgehaltes von Flüssigkeiten kennenlernen. Es ist eine einfache, aber effiziente Methode. Gerade deshalb wird sie oft angewandt.

Theorie zum Versuch:

In diesem Versuch machen wir uns die Reaktionsspezifität der Alkoholdehydrogenase zu Nutze. Sie wissen, dass Enzyme eine Reaktion in beide Richtungen katalysieren können. Die Alkoholdehydrogenase kann also auch Ethanol in Acetaldehyd umwandeln. Das Gleichgewicht liegt aber auf der Seite des Ethanols. Dies können wir aber ändern, indem wir den entstehenden Acetaldehyd irreversibel mit einer anderen Reaktion abbinden. So kann die Rückreaktion nicht stattfinden, Ethanol reagiert vollständig zu Acetaldehyd (vgl. Abbildung 3).

Wieso machen wir dies ?

Bei der Rückreaktion wird NAD^+ zu NADH/H^+ umgewandelt. Werden diese beiden Moleküle mit Licht einer bestimmten Frequenz bestrahlt, können sie dieses Licht absorbieren. Das NADH/H^+ nimmt hauptsächlich UV-Licht von der Wellenlänge $\lambda = 340 \text{ nm}$ auf, und lässt sich damit leicht identifizieren. Die Lichtabsorption ist umso grösser, je mehr Moleküle vorhanden sind. Wir können somit durch Messung der Absorption bestimmen, wieviele Moleküle NADH/H^+ in der Lösung vorliegen. Diese Menge ist abhängig von der Anzahl Moleküle Ethanol, die von der Alkoholdehydrogenase umgewandelt wurden, also von der Menge Alkohol, die in der Lösung war. So können wir über die Mengenbestimmung von NADH/H^+ die Alkoholmenge ermitteln.

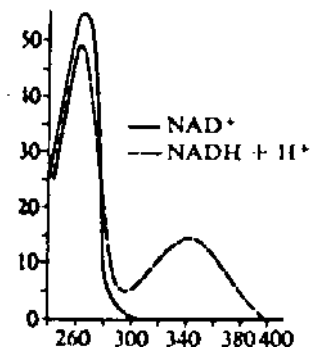


Abb. 2:
Absorption von NAD^+ und NADH/H^+ bei verschiedenen Wellenlängen (nm)

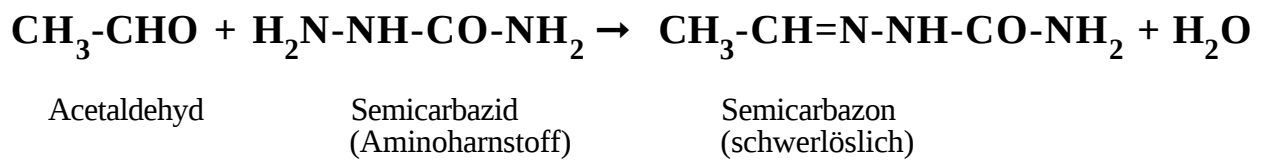


Abb. 2 : Darstellung der Semicarbazidreaktion.

Bei dieser Reaktion wird Acetaldehyd irreversibel gebunden. Dadurch kann die Rückreaktion vom Acetaldehyd zum Alkohol nicht mehr stattfinden. Dadurch läuft die Katalyse von Alkohol zu Acetaldehyd durch die Alkoholdehydrogenase vollständig ab.

Durchführung des Versuches :

Wir wollen den Alkoholgehalt von vier Getränken bestimmen. Dies führen wir in den üblichen Vierergruppen durch. Dabei kann jedes Gruppenmitglied den Alkoholgehalt eines Getränkes ermitteln.

Die Reaktion von Ethanol zu Acetaldehyd und weiter mit dem Semicarbazid zu Semicarbazon wird etwa eine Stunde dauern. In dieser Zeit bitte ich Sie, weiter im Leitprogramm zu lesen.

Beziehen Sie jetzt vom Lehrer die Arbeitsanleitung, gehen Sie ins Labor und starten Sie die Experimente.

Ergebnisse der Alkoholbestimmungen:

Getränk (*)	Alkoholgehalt
	Vol%
	Vol%
	Vol%
	Vol%

(*)Typ, Herkunft

Ihr Kommentar zu den gefundenen Werten?

4. Anwendungen der Gärungsreaktionen in der Industrie

Neben der alkoholischen Gärung gibt es noch einige andere Gärungsarten. Diese laufen alle sehr ähnlich ab. Nur gerade die organischen "Abfallprodukte" sind etwas unterschiedlich. Doch es ist nicht schwer herauszufinden, welches das organische Ausscheidungsprodukt einer Gärung ist. Das Ausscheidungsprodukt gibt nämlich der Gärungsart den Namen.

Bevor wir uns mit den Folgen des Alkohols in unserem Körper befassen, möchte ich noch kurz auf die zweite wichtige Gärungsart eingehen. Es ist dies die Milchsäuregärung. Bei der Milchsäuregärung entsteht also als Endprodukt Milchsäure. Ich möchte Ihnen keine grosse Theorie über die Milchsäuregärung geben. Dennoch finde ich es wichtig, dass Sie die formale Beschreibung der Milchsäuregärung kennen. Sie sehen dann, dass diese Gärungsart sehr ähnlich abläuft wie die alkoholische Gärung.

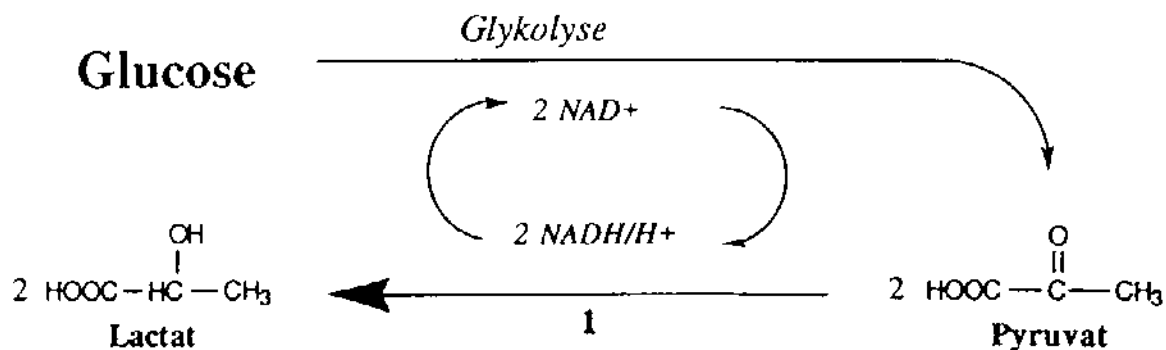


Abb. 4 : Formale Beschreibung der Milchsäuregärung
Enzym : 1 = Lactatdehydrogenase

Es geht mir bei der Besprechung der Milchsäuregärung darum, dass Sie das grosse Anwendungsspektrum der Gärungen etwas abschätzen können. So verstehen Sie vielleicht die Bedeutung der Gärungen in der Industrie und in Ihrem Körper besser.

Die Milchsäuregärung ist wohl die Gärungsart mit dem grössten Anwendungsspektrum. Zum einen macht man sich im Haushalt die konservierenden Eigenschaften der Ausscheidungsprodukte zunutze. Andererseits dienen die Gärungsabfälle auch als Geschmacksveredler. In der milchverarbeitenden Industrie spielen die Milchsäurebakterien zusätzlich als Säurebildner eine wichtige Rolle. Mit ihrer Hilfe können Sauerrahm, Quark, Buttermilch und sogar Joghurt hergestellt werden.

Die Bäcker verwenden Milchsäurebakterien zur Sauerteigerstellung. Sogar Metzger kennen die Vorteile der Gärung. So werden Rohwürste (Salami, Cervelat) mit Hilfe von Milchsäurebakterien produziert. Durch Bildung von Milchsäure sinkt der pH-Wert. Dies wirkt konservierend auf die betreffenden Wurstwaren.

Aber eigentlich müssen wir gar nicht so weit suchen. Auch wir Menschen können die Milchsäuregärung durchführen. Bei einer sportlichen Höchstleistung kommen wir ja recht schnell ausser Atem. Dies ist natürlich schlecht, da zur Energiefreisetzung Sauerstoff benötigt wird, und dieser nicht in der erforderlichen Menge aufgenommen werden kann. Hier setzt nun in den Muskeln die Milchsäuregärung ein. Dadurch wird ATP auf einem anderen Stoffwechselweg produziert. Dies hat aber den Nachteil, dass sich Milchsäure (Lactat) in den Muskeln ansammelt.

Zusammenfassende Erklärung der Gärungsvorgänge

Gärung ist also die Sammelbezeichnung für jegliche Formen von anaeroben, energieliefernden Stoffwechselvorgängen. Ein wichtiges Zwischenprodukt fast aller Gärungen ist Pyruvat (Brenztraubensäure). Die von der Zellatmung her bekannte Glycolyse findet also auch bei den Gärungen statt. Mit der Gärung lässt sich nur 1/20 der bei der Zellatmung anfallenden Energie gewinnen. Das Ziel der letzten Reaktionsschritte ist es, den NAD^+ -Pool der Zelle wieder zu erneuern. Würde dieser ausfallen, wäre die Zelle nicht mehr in der Lage organische Substrate abzubauen. Die Abfallprodukte (Ethanol, Milchsäure u.a.m.) werden ausgeschieden.

Gärungen werden in der Industrie oft zur Genussmittelveredelung eingesetzt. So wird z.B. Alkohol, Joghurt, Quark und Brot mit Hilfe von Gärungsvorgängen hergestellt.

Aufgabe 6.3



Beantworten Sie nun eine nicht ganz einfache Frage:

Brenztraubensäure wird gelegentlich als "Stoffwechseldrehscheibe" bezeichnet.

Geben Sie eine Begründung zu dieser Ausdrucksweise.

5. Die Folgen von Alkohol für unseren Körper

Sie wissen jetzt wie Alkohol entsteht. Es scheint mir wichtig, dass Sie auch wissen, welche Wirkungen der Alkohol in unserem Körper hat. Alkoholkonsum ist, wie Sie sicher wissen, die häufigste Form von Drogenmissbrauch.

Die Alkoholaufnahme ins Blut erfolgt durch Diffusion. Normalerweise diffundieren rund 20% der aufgenommenen Alkoholmenge durch die Magenschleimhaut und der Rest durch die Dünndarmschleimhaut. Die maximale Konzentration im Blut ist 30 bis 60 Minuten nach der Alkoholaufnahme erreicht. Vom Blut aus diffundiert der Alkohol relativ rasch weiter ins Gewebe. Der grösste Teil wird anschliessend in der Leber vernichtet. Dennoch kann sich unter Umständen viel Alkohol in der Grosshirnrinde ansammeln.

Nur ein sehr geringer Teil des Alkohols wird unverändert ausgeschieden. Es sind dies nicht einmal 10 %. Der erste Abbauschritt in der Leber erfolgt mit Hilfe der Alkoholdehydrogenase. Dieses Enzyme kennen wir bereits. Es ist eines der Schlüsselenzyme beim Auf- und Abbau des Alkohols. Der Alkohol wird durch die Dehydrogenase zu Acetaldehyd oxidiert. Hier setzt ein weiteres Enzym ein und wandelt den Acetaldehyd zu Essigsäure um. Die Essigsäure gelangt nun entweder in den Citratcyclus (zweiter Teil der Zellatmung) oder in die Fettsäuresynthese.

Bei diesem effizienten enzymatischen Abbau des Alkohols stellt sich ein grosses Problem: Es wird sehr NAD^+ verbraucht. Das NAD^+ ist aber auch für viele andere Reaktionen sehr wichtig. Wird nun zuviel Alkohol getrunken, braucht die Leber viel zu viel NAD^+ für den Alkoholabbau. Dies führt zu Problemen im Stoffwechsel. Da der Citratcyclus ebenfalls viel NAD^+ braucht, kommt dieser fast zum Erliegen. Dafür wird der Fettsäurestoffwechsel der Leber angeregt. Dabei wird nämlich NAD^+ recycelt. Dies kann zur Verfettung der Leber führen. Viel schlimmer ist aber, wenn der Alkoholabbau selbst ins Stocken gerät. Dann sammelt sich Acetaldehyd an. Diese Substanz ist für uns sehr toxisch. Der Acetaldehyd kann erst wieder von der Aldehyddehydrogenase abgebaut werden, wenn genügend NAD^+ vorhanden ist. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 5 dargestellt:

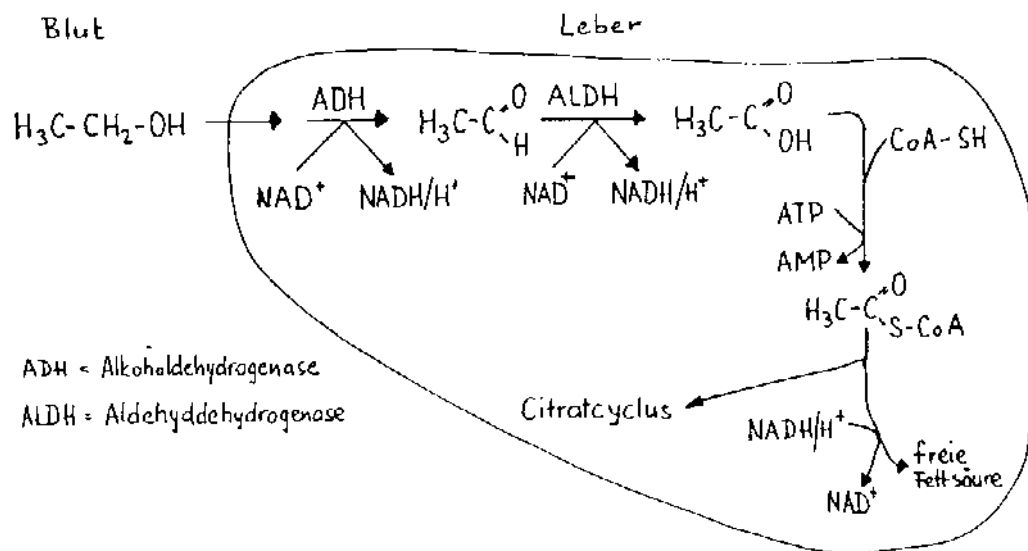


Abb. 5 : Alkoholabbau im Lebergewebe

Aufgabe 6.4



Zum Schluss nochmals eine Aufgabe zur Wissenssicherung:
Fassen Sie die in diesem Text mitgeteilten schädlichen Wirkungen von Alkohol auf den menschlichen Organismus in eigenen Sätzen zusammen.

Lösungen der Übungsaufgaben

Aufgabe 6.1

Die Formel für Glucose lautet $C_6H_{12}O_6$, diejenige von Brenztraubensäure $C_3H_4O_3$. Glucose wird zu 2 Molekülen Brenztraubensäure abgebaut; es fehlen 4 H-Atome.

Aufgabe 6.2

Pyruvatdecarboxylase Der Name sagt uns, dass Pyruvat (=Brenztraubensäure) als Substrat dient. Primär wird von diesem CO_2 abgespalten. "De" steht für weg, "carboxy" bedeutet CO_2 und "ase" kennzeichnet die Enzyme.

Alkoholdehydrogenase Der Name sagt, dass Alkohol das Substrat dieses Enzyms ist. Es spaltet vom Alkohol zwei Wasserstoffatome ab. "de" bedeutet wieder weg und "hydrogen" heisst Wasserstoff. Aus Alkohol entsteht somit Acetaldehyd.

Der Reaktionspfeil zeigt in der Abbildung in die falsche Richtung. Enzyme können Hin- und Rückreaktion katalysieren. In unserem Fall liegt das Gleichgewicht eindeutig auf der Seite des Alkohols. Aus historischen Gründen heisst das Enzym aber Alkoholdehydrogenase und nicht Acetaldehydhydrogenase.

Aufgabe 6.3

Brenztraubensäure entsteht bei der Glycolyse. Sie kann in unterschiedlicher Richtung weiter verwendet werden: So ist sie Ausgangsstoff für die Zellatmung, die verschiedenen Gärungen und die Fettsäuresynthese.

Aufgabe 6.4

Auswirkungen von Alkohol auf den menschlichen Körper (soweit im Leitprogramm erwähnt; die Liste ist unvollständig!):

- Beeinträchtigung der Grosshirnzellen
- Giftigkeit des Acetaldehydes (entsteht aus Alkohol)
- Stoffwechselstörungen durch hohen NAD^+ -Verbrauch
- Verfettung der Leber

Lernkontrolle

Wenn Sie folgende Aufgaben selbständig lösen können, haben Sie das Wesentliche dieses Kapitels verstanden. Die Antworten finden Sie auf der nächsten Seite.



Sie kennen mittlerweile das Vorgehen: Entsprechen Ihre Antworten den Lösungen, können Sie den Kapiteltest verlangen. Wenn dem nicht so ist, so studieren Sie den entsprechenden Abschnitt nochmals.

Aufgabe 6.5 Stichwort "Gärung"

Bei dieser Aufgabe sollen Sie einige wichtige Punkte der alkoholischen Gärung beschreiben. Als Ausgangsstoff verwenden wir jeweils Glucose.

- Nennen Sie zwei für die Gärung wichtige Enzyme.
- Weshalb sind diese Enzyme für die Gärung wichtig? Nennen Sie die Reaktionen, die sie katalysieren.
- Unter welchen Bedingungen betreiben die Hefezellen Gärung? Begründen Sie den Sachverhalt.
- Vergleichen Sie den Energiegewinn bei der Gärung mit demjenigen der Zellatmung.

Aufgabe 6.6 Stichwort "Milchsäuregärung"

Sie wissen, dass nicht nur Milchsäurebakterien Glucose zu Lactat vergären können. Auch Muskelzellen tun dies vor allem bei körperlichen Höchstleistung. Dazu unsere Fragen:

- Damit Muskelzellen auch durch Gärung Energie gewinnen können, brauchen sie ein spezifisches Enzym. Wie heisst dieses Enzym? Unter welchen Bedingungen ist es aktiv?
- Was für eine Reaktion katalysiert dieses Enzym?
- Weshalb braucht es überhaupt ein solches Enzym. Die Zelle könnte doch viel einfacher Pyruvat ausscheiden. Oder etwa doch nicht ?

Aufgabe 6.7 Stichwort "Bestimmung des Alkoholgehaltes"

Schildern Sie in einigen Sätzen das Prinzip der enzymatischen Alkoholbestimmung. Erwähnen Sie die Vor- und Nachteile dieser Methode.

Lösungen zur Lernkontrolle

Aufgabe 6.5

- a) Es sind dies die Pyruvatdecarboxylase und die Alkoholdehydrogenase.
- b) Von der Brenztraubensäure (Pyruvat) wird durch die Pyruvatdecarboxylase ein Molekül CO_2 abgespalten. Es entsteht Acetaldehyd. Das NADH aus der Glykolyse reduziert Acetaldehyd zu Ethanol. Die Reaktion wird von der Alkoholdehydrogenase katalysiert. Würden diese beiden Enzyme das Pyruvat nicht noch weiter abbauen, könnte der NAD^+ -Pool nicht erneuert werden. Dies würde bedeuten, dass die Glykolyse früher oder später zum Erliegen käme.
- c) Die Gärung kann nur unter anaeroben Bedingungen, d.h. bei Abwesenheit von Sauerstoff ablaufen.
- d) Die Hefezellen gewinnen aus der gleichen Menge Glucose mit der Gärung rund 20 mal weniger Energie als bei der Atmung.

Aufgabe 6.6

- a) Das Enzym heisst Lactatdehydrogenase. Es ist nur unter anaeroben Bedingungen aktiv. Gärungsvorgänge laufen nur bei Abwesenheit von Sauerstoff ab.
- b) Lactatdehydrogenase katalysiert die Reaktion von Pyruvat zu Lactat. Dabei wird der NAD^+ -Pool wieder aufgefüllt.
- c) Würde der letzte Schritt der Milchsäuregärung nicht gemacht, so würde kein NAD^+ recycelt. Dies wäre verheerend, denn dann käme irgendwann die Glykolyse in der Zelle zum Erliegen. Dies, weil kein NAD^+ mehr für den Abbau vorhanden wäre. Darum muss Pyruvat von der Lactatdehydrogenase abgebaut werden.

Aufgabe 6.7

Prinzip der Bestimmung:

Man setzt der alkoholhaltigen Lösung einen Ueberschuss an NAD^+ und Alkoholdehydrogenase zu. Das Enzym überträgt von den Alkoholmolekülen 2 H-Atome an das Coenzym NAD^+ . Der entstehende Acetaldehyd muss von einer zusätzlichen Reaktion gebunden werden, damit sich kein Gleichgewicht einstellt und alle Alkoholmoleküle von der enzymatischen Reaktion erfasst werden. Aus dem NAD^+ entsteht NADH/H^+ , welches UV-Licht einer bestimmten Wellenlänge stark absorbiert. Diese Absorption ist abhängig von der NADH/H^+ -Menge; durch Vergleich mit dem Verhalten von Lösungen mit bekanntem Alkoholgehalt kann auf die NADH/H^+ - bzw. Alkoholkonzentration geschlossen werden.

Vorteile der Methode: Erfassung kleiner Mengen, Genauigkeit, einfache Durchführung, billig

Nachteile: Dauert ca. 1 Stunde

Anhang 1: Kapitel-Tests für den Tutor

Test zu Kapitel 1

Aufgabe 1.1

Umschreiben Sie den Begriff "Katalysator" in einem Satz.

Aufgabe 1.2

Erklären Sie in einfachen Worten den Einfluss der Enzyme auf die Aktivierungsenergie.

Aufgabe 1.3

- Aussagen:
1. Jedes Enzym ist ein Katalysator.
 2. Jeder Katalysator ist ein Enzym.

Welche Aussage ist richtig bzw. falsch? Begründen Sie Ihre Antworten stichwortartig.

Antworten zu Kapiteltest 1

Aufgabe 1.1

Ein Stoff, der eine Reaktion beschleunigt, ohne dass er selber verbraucht wird.

Aufgabe 1.2

Folgender Punkt muss sinngemäss erwähnt werden :
Es wird ein neuer Reaktionsweg mit niedrigerer Aktivierungsenergie ermöglicht.

Aufgabe 1.3

Aussage 1 ist richtig.

Die Begründung ist gut, wenn einer der folgenden Punkte sinngemäss aufgezählt wurde:

- Enzyme gehören zur nächst grösseren Klasse der Katalysatoren. Diese Aussage lässt sich nicht umkehren.
- Ein Autokatalysator (oder ein anderes Beispiel) ist kein Enzym. Folglich ist Aussage 2 falsch. Von der Definition her weiss man, dass ein Enzym ein Biokatalysator ist.

Test zu Kapitel 2

Aufgabe 2.1

- a) Was löst im Endeffekt eine enzymkatalysierte Reaktion aus?
- b) Wie kommt der Autor dieses Kapitels dazu, Hydrolasen mit Scheren zu vergleichen? Geben Sie wenigstens zwei gute Gründe für diesen Vergleich an.
- c) Ein Arzt verschreibt einer Patientin mit Verdauungsbeschwerden ein Enzympräparat. Es handelt sich dabei um Verdauungsenzyme, die ihre Wirkung im Dünndarm entfalten sollen. Warum wurden diese Enzyme vom Hersteller in Kapseln eingeschlossen, welche sich erst im Dünndarm auflösen?
Argumentieren Sie dazu in mindestens zwei Sätzen.

Beachte:	pH im Magen	ca. 2
	pH im Dünndarm	ca. 8

Aufgabe 2.2

- a) Damit ein Enzym-Substrat-Komplex entstehen kann, muss ein Substrat in erster Linie bezüglich zweier Eigenschaften dem Enzym entsprechen. Welche?
- b) Wie kommt der Autor dieses Kapitels dazu, Ligasen mit Schraubzwingen zu vergleichen? Geben Sie wenigstens zwei gute Gründe an.
- c) Viele Lebensmittel werden zur Lagerung eingefroren. Dadurch werden unter anderem enzymatische Veränderungen an den Esswaren stark verlangsamt. Kommentieren Sie diesen Befund in ca. drei Sätzen.

Aufgabe 2.3

- a) Bezüglich welcher Kriterien sind Enzyme spezifisch?
- b) Wie kommt der Autor dieses Kapitels dazu, Transferasen mit Schaufeln zu vergleichen? Geben Sie wenigstens zwei gute Gründe an.
- c) In Restaurants werden einem manchmal riesige aber trotzdem sehr zarte Wiener Schnitzel serviert. Diese wurden zum Teil vor dem Kochen mit Enzymen behandelt. Man verwendet dazu Enzyme, die das Protein Kollagen spalten. Aus Kollagen bestehen nämlich grösstenteils die zähen Fasern im Fleisch. Warum greifen diese Enzyme nicht das Kollagen in unserem Körper an, wenn wir ein gebratenes Schnitzel zu uns nehmen?

Argumentieren Sie in etwa zwei Sätzen.

Antworten zu Kapiteltest 2

Aufgabe 2.1

- a) Durch die Ausbildung des Enzym-Substrat-Komplexes werden bestimmte Bindungen im Substrat geschwächt.
- b)
 - Hydrolasen binden ein Substratmolekül.
Eine Schere wird an einem Blatt Papier angesetzt.
 - Hydrolasen spalten ein entsprechendes Substratmolekül.
Die Schere schneidet ein Blatt entzwei.
 - Hydrolasen gehen unverändert aus der Enzymreaktion hervor.
Die Schere kann ebenfalls erneut gebraucht werden.
- c) Die betroffenen Verdauungsenzyme haben ein pH-Optimum von etwa 8. Sie könnten unter den sauren Bedingungen im Magen Schaden nehmen. Zudem würden sie dort wahrscheinlich von eiweissabbauenden Magenenzymen verdaut.

Aufgabe 2.2

- a) Form und räumliche Anordnung von Teilladungen.
- b) Ligasen bringen zwei oder mehr Substratmoleküle zusammen. Eine Schraubzwinge drückt zwei mit Leim bestrichene Holzstücke zusammen.
Ligasen ermöglichen eine Verbindung zwischen den Substratmolekülen. Eine Schraubzwinge hält die Holzstücke zusammen, bis der Leim trocken ist.
Ligasen gehen unverändert aus der Enzymreaktion hervor. Die Schraubzwinge kann ebenfalls erneut gebraucht werden.
- c) Lebensmittel können durch verschiedenste Enzymreaktionen verdorben werden. Bei tiefen Temperaturen sind Enzyme deutlich weniger aktiv als sonst. Eine Abschätzung anhand der Regel von van t'Hoff ergibt, dass bei -20°C Enzymreaktionen ca. 16-81mal langsamer ablaufen als bei Raumtemperatur von 20°C .

Aufgabe 2.3

- a) Enzyme sind spezifisch bezüglich der Reaktion und der Substrate.
- b) Transferasen binden zwei Moleküle, zwischen denen ein Molekülteil übertragen werden soll.
Mit einer Schaufel macht sich ein Bauarbeiter zwischen einem Haufen Sand und einer Schubkarre mit Zement zu schaffen.
Transferasen übertragen einen Teil des Moleküls A auf das Molekül B. Zudem bauen die Proteasen des Magensaftes die Eiweissmoleküle ab. Mit der Schaufel wird ein Teil des Sandes in die Schubkarre mit Zement gegeben.
Transferasen gehen unverändert aus der Enzymreaktion hervor. Die Schaufel kann ebenfalls von einem anderen Bauarbeiter für die gleiche Arbeit verwendet werden.
- c) Die Enzyme werden beim Kochen derart hohen Temperaturen ausgesetzt, dass sie dabei ihre Form und somit ihre Katalysefähigkeit unwiederbringlich verlieren. Folglich besteht für uns keine Gefahr mehr von Seiten dieser Enzyme.

Test zu Kapitel 3

Aufgabe 3.1

Nennen Sie 3 Faktoren, welche die Reaktionskinetik eines Enzyms beeinflussen können!

Aufgabe 3.2

Welche Auswirkung hat ein Abweichen von der optimalen Temperatur auf den K_M - Wert?

Aufgabe 3.3

Welchen K_M - Wert werden Enzyme haben, die an den Schaltstellen des Stoffwechsels wirken? Begründen Sie Ihre Antwort in ein bis zwei Sätzen.

Aufgabe 3.4

Welche Geräte und Chemikalien brauchen Sie, um K_M der Urease zu bestimmen?

Aufgabe 3.5

Beschreiben Sie in einigen Sätzen, wie wir K_M der Urease bestimmt haben.

Antworten zu Kapiteltest 3

Aufgabe 3.1

Temperatur, pH-Wert, Substratkonzentration, Enzymkonzentration.

Aufgabe 3.2

Der K_M -Wert wird grösser.

Aufgabe 3.3

Der K_M -Wert ist relativ klein. Bereits bei geringer Substratkonzentration wird eine grosse Reaktionsgeschwindigkeit erreicht. Die Enzymaktivität ist hoch.

Aufgabe 3.4

Geräte:	LF-Messgerät, Elektrode, Magnetrührer
Chemikalien:	Harnstofflösung (Substrat) und Urease (Enzym)

Aufgabe 3.5

Harnstofflösungen mit verschiedenen Konzentrationen (0,1 bis 1%) werden mit 0,01% Urease versetzt. Während 5 Minuten wird die Leitfähigkeit gemessen. Die Leitfähigkeitsänderungen zwischen der 2. und 3. Versuchsminute werden gegen die Substratkonzentration aufgetragen. K_M wird grafisch bestimmt (bei $1/2v_{\max}$).

Test zu Kapitel 4

Aufgabe 4.1

- a) Welche Enzym-Eigenschaft wird durch Inhibitoren oder Aktivatoren verändert?
- b) In welchem Sinne wird diese Enzym-Eigenschaft verändert?

Aufgabe 4.2

Lesen Sie den folgenden Text durch. Die Überschrift und der erste Satz stimmen. Ansonsten enthält der Text 4 sachliche Fehler. Verbessern Sie diese. Dabei müssen Sie die falschen Wörter durch die richtigen ersetzen.

ATP - Ein allosterischer Inhibitor der Phosphofructokinase

Die Phosphofructokinase ist ein Enzym mit 2 Zentren: einem katalytischen und einem allosterischen Zentrum. ATP bindet an das katalytische Zentrum. Denn ATP ist räumlich ähnlich gebaut wie das Substrat des Enzyms. Durch die Bindung von ATP wird die Phosphofructokinase in ihrer Aktivität gefördert. Es liegt also eine allosterische Aktivierung vor.

Aufgabe 4.3

Karl arbeitet im Labor. Er startet folgenden Versuch: Das Enzym X soll sein Substrat mit maximaler Geschwindigkeit umsetzen. Dafür hat Karl die entsprechenden Mengen an Substrat und Enzym eingesetzt. Doch trotzdem verläuft die Reaktion nur schleppend. Die Maximalgeschwindigkeit wird nicht erreicht. In seiner Verzweiflung gibt Karl immer mehr Substrat in die Lösung. - Und siehe da: Bei einer ungewöhnlich hohen Substratmenge arbeitet das Enzym endlich mit Maximalgeschwindigkeit.

Wie kommt es zu dem Verhalten des Enzyms? - Sie beantworten diese Frage, indem Sie auf folgende Punkte eingehen: (Als Antwort reichen zu jedem Punkt 1-2 Sätze)

- a) Ist ein Störfaktor in der Lösung? Wenn ja, welcher?
- b) Wie senkt der Störfaktor die maximale Arbeitsgeschwindigkeit des Enzyms?
- c) Warum wird die Maximalgeschwindigkeit schliesslich doch noch erreicht?

Aufgabe 4.4

Die MMK eines Enzyms ist in An- und Abwesenheit seines Inhibitors bestimmt worden. Dazu wurde bei verschiedenen Substratkonzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit gemessen. In der folgenden Tabelle sehen Sie die Ergebnisse.

[S]	Geschwindigkeit ($\mu\text{mol/min}$)	
	ohne Inhibitor	mit Inhibitor
$0,3 \times 10^{-5} \text{ M}$	10,4	2,1
$0,5 \times 10^{-5} \text{ M}$	14,5	2,9
$1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	22,5	4,5
$3,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	33,8	6,8
$9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$	40,5	8,1

- Zeichnen Sie anhand der Messwerte die MMK für das Enzym - mit und ohne Inhibitoreinfluss. Nutzen Sie dabei das unten abgebildete Koordinatensystem.
- Lesen Sie aus ihrer Zeichnung die Werte für $1/2v_{\text{max}}$ und K_M bzw. für $1/2v'_{\text{max}}$ und K'_M ab.
- Welcher Hemmtyp liegt vor? Begründen Sie Ihre Antwort mit einem Satz.

Antworten zu Kapiteltest 4

Aufgabe 4.1

- a) die Enzymaktivität
- b) Inhibitoren senken die Enzymaktivität. Aktivatoren steigern die Enzymaktivität.

Aufgabe 4.2

Die korrigierten Wörter sind *kursiv* gedruckt.

ATP - Ein allosterischer Inhibitor der Phosphofructokinase

Die Phosphofructokinase ist ein Enzym mit 2 Zentren: einem katalytischen und einem allosterischen Zentrum. ATP bindet an das *allosterische* Zentrum. Denn ATP ist räumlich *anders* gebaut als das Substrat des Enzyms. Durch die Bindung von ATP wird die Phosphofructokinase in ihrer Aktivität *gehemmt*. Es liegt also eine allosterische *Hemmung* vor.

Aufgabe 4.3

- a) ein kompetitiver Inhibitor
- b) Der kompetitive Inhibitor konkurriert mit dem Substrat um die Bindung ans katalytische Zentrum des Enzyms.
- c) Es ist so viel Substrat vorhanden, dass jedes Enzym sogleich auf ein solches Teilchen trifft. Der Inhibitor hat keine Gelegenheit ans Enzym zu binden.

Aufgabe 4.4

- a) Die Kurve 'mit Inhibitor' ist generell sehr flach; $v'_{\max}$ beträgt nur 1/5 von $v_{\max}$.
- b) $1/2v_{\max} = 20 \mu\text{mol/min}$ $K_M = 0,8 \times 10^{-5} \text{ M}$
 $1/2v'_{\max} = 4 \mu\text{mol/min}$ $K'_M = 0,8 \times 10^{-5} \text{ M}$
- c) Allosterische Hemmung; denn $v_{\max}$ wird auch bei entsprechend hohen Substratkonzentrationen nicht erreicht.

Test zu Kapitel 5

Aufgabe 5.1

Coenzyme kommen im Körper oft nur in Spuren vor. Wie werden im Allgemeinen Coenzyme und Spurenelemente unterschieden?

Aufgabe 5.2

Kinasen sind eine Klasse von Enzymen, die mit Hilfe von ATP ihre Substrate phosphorylieren. ATP verliert dabei eine Phosphatgruppe und wird zu ADP, das Substrat ist dann irgendwo phosphoryliert. Die Kinase besitzt sowohl eine Bindungsstelle für das Substrat als auch für ATP.

Könnte man also nicht mit gutem Grund ATP in die Liste der Coenzyme aufnehmen? Begründen Sie Ihre Antwort!

Aufgabe 5.3

Jede Dehydrogenase hat ihr eigenes Substrat. So hat die Malat-Dehydrogenase Malat als Substrat, die Alkoholdehydrogenase Ethanol. Die Umsetzung erfolgt bei allen Dehydrogenasen aber mit Hilfe von NAD^+ .

Wäre es für die Regulierung des gesamten Stoffwechsels nicht sehr viel genauer, wenn es für jede Dehydrogenase auch ein spezifisches Coenzym gäbe? Begründen Sie Ihre Antwort!

Antworten zu Kapiteltest 5

Aufgabe 5.1

Coenzyme sind per Definition organische Substanzen.

Als Spurenelemente werden vor allem im Körper selten vorkommende Metallionen bezeichnet. Es gibt aber auch nicht metallische Elemente, die unter die Gruppe der Spurenelemente fallen wie zum Beispiel Selen.

Aufgabe 5.2

Ja. Dass dies nicht der Fall ist, hat wohl eher historische Gründe. Das ATP steht exakt in demselben Verhältnis zu seiner Kinase wie NAD^+ zu seiner Dehydrogenase.

Aufgabe 5.3

Nein. Der grosse Nutzen bei der Verwendung nur weniger Coenzyme liegt darin, dass dies das Zusammenwirken der einzelnen Enzymreaktionen und letztlich des gesamten Stoffwechsels erst ermöglicht. So wie wir im täglichen Leben unsere Einkäufe immer mit denselben Zahlungsmitteln begleichen, so verhält es sich auch beim Stoffwechsel.

Test zu Kapitel 6

Aufgabe 6.1

Gärung:

Beim Brotbacken werden oft auch Bäckerhefen eingesetzt. Dies hat zur Folge, dass das Brot schön aufgeht.

Können Sie den Grund dafür nennen ?

Aufgabe 6.2

Gärung:

Erklären Sie die alkoholische Gärung ausgehend von der Glucose. Nennen Sie alle wichtigen Enzyme. Beschreiben Sie auch, was diese tun.

Bitte verwenden Sie keine Formelschreibweise.

Aufgabe 6.3

Experimente:

Sie arbeiten in einem Labor. Jemand hat Buttermilch vorbeigebracht. Die betreffende Person möchte gerne wissen, wie hoch der Lactat-Gehalt ist.

Beschreiben Sie dazu einen Experimentvorschlag !

Antworten zu Kapiteltest 6

Aufgabe 6.1

Hefen betreiben in anaerobem Milieu Gärung. Lässt man den geformten Teig einige Zeit ruhen, so entstehen Alkohol und Kohlendioxid. Der Alkohol verdunstet bei den Backtemperaturen. Das Kohlendioxid hingegen sammelt sich in kleinen Gasbläschen an. Diese treiben den Teig auf, machen ihn locker.

Aufgabe 6.2

Die Glucose wird über die Glycolyse zu Pyruvat abgebaut. Jetzt folgen zwei Reaktionsschritte zur Recyclierung des NAD^+ . Nur so kann die Glycolyse überhaupt über längere Zeit ablaufen. Die wichtigsten Enzyme sind dabei die Pyruvatdecarboxylase und die Alkoholdehydrogenase. Als Abfallprodukt entsteht Ethanol. Diese Substanz kann die Hefe nicht weiter abbauen. Sie muss den Alkohol zu unserem Nutzen ausscheiden.

Aufgabe 6.3

Lactatdehydrogenase kann auch Lactat zu Pyruvat umsetzen. Nur verläuft diese Reaktion wahrscheinlich genau so schlecht, wie die Umkehrreaktion von Alkohol zu Acetaldehyd. Wenn ich ein System finde, bei welchem ich das Gleichgewicht auf die Seite von Pyruvat ziehen kann, kann ich mit der Mengenummessung genau gleich verfahren wie bei der Alkoholbestimmung. Ich messe die Menge des entstandenen NADH/H . Diese korreliert mit der Menge Lactat. So kann ich indirekt die Lactat-Menge bestimmen.

Anhang 2: Versuchsanleitungen

Reaktionsspezifität des Enzyms Urease

(Versuchsanleitung zu Kapitel 2)

Erforderliche Materialien pro Gruppe:

- Urease (fest), kleiner Spatel.
***Wichtig:** das Enzym muss frisch und voll funktionsfähig sein!*
- Phenolphthaleinlösung (in Pipettenfläschchen)
- Harnstoff und Thioharnstoff
(je eine Spatelspitze in Reagenzglas, RG mit Harnstoff ist markiert, beide RG in Becherglas)
- Spritzflasche mit dest. Wasser

Versuchsprinzip

Harnstoff hat die chemische Formel $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$. Das Enzym Urease spaltet den Harnstoff unter Wasserverbrauch an den beiden eingezeichneten Bindungen. Es entstehen basische Produkte, die vom Indikator Phenolphthalein mit einer Farbänderung angezeigt werden.

Ändert der Indikator seine Farbe nicht, so wurde das Substratmolekül durch die Urease nicht verändert.

Vorgehen:

1. Geben Sie zu den Reagenzgläsern mit Harnstoff bzw. Thioharnstoff je ca. 10 ml dest. Wasser (RG zu etwa 1/3 füllen). Schütteln Sie die RG, sodass sich die beiden Substanzen lösen.
2. In beide RG sind nun 3 Tropfen Phenolphthaleinlösung zuzufügen. Wiederum muss gut gemischt werden.
3. Nun fügen Sie jedem RG wenig Urease zu (Spatelspitze); mischen Sie das Enzympulver durch Schütteln in die Flüssigkeit.
4. Warten Sie einige Minuten bis sich eine Farbreaktion einstellt.

Auswertung

- Übertragen Sie das Versuchsergebnis ins Leitprogramm.
- Beachten Sie den geringen Unterschied zwischen Harnstoff und Thioharnstoff. Worin besteht er?

Temperaturabhängigkeit der α -Amylase

(Versuchsanleitung zum Kapitel 2)

Erforderliche Materialien pro Gruppe:

- Stärkelösung (1%), dest. Wasser
- Pufferlösung pH 7 (39 ml 1/15 M KH_2PO_4 + 61 ml 1/15 M Na_2HPO_4)
- Becherglas (50 ml), 2 Messzylinder (10 ml), 2 Pasteur-Pipetten
- 24 Reagenzgläser (in Gestell)
- Thermometer, Uhr, Etiketten für 8 RG
- Jodjodkalium-Lösung (nach Lugol, in Pipettenfläschchen)

Pro Klasse sind 2 Wasserbäder (40 bzw. 60 °C) sowie ein Becherglas (1000 ml) mit Eiswasser bereitzustellen.

Vorgehen:

1. Das für die stärke-spaltende Enzym α -Amylase ist in unserem Speichel enthalten. Eine Person nimmt 20 ml dest. Wasser in den Mund und behält es dort für 2 Minuten. Diesen verdünnten Speichel verteilen Sie gleichmässig auf 4 Reagenzgläser (ca. 5 ml pro RG).
2. In vier weitere RG geben Sie je 5 ml Stärke- und 2 ml Pufferlösung.
3. Je ein RG mit Substrat (Stärke/Puffer) und Enzym (verd. Speichel) bringt man auf die Temperaturen 0 (Eiswasser), 20 (Zimmertemperatur), 40 und 60 °C (Wasserbäder).
4. Nachdem die RG-Inhalte die vorgesehenen Temperaturen angenommen haben, starten Sie die Reaktionen durch Zusammengiessen von Substrat und Enzym (Temperatur des Gemisches muss konstant bleiben).
5. In Abständen von 1-2 Minuten entnimmt man den Reaktionsgemischen ca. 1 ml Flüssigkeit und gibt diese sowie ein Tropfen Lugollösung in ein RG. Die Farbreaktion wird protokolliert (entsprechende Farbe in Tabelle eintragen).
6. Eine Versuchsreihe ist beendet, wenn die Stärke abgebaut ist (Gelb- statt Violettfärbung) oder die Versuchsdauer von 15 Minuten abgelaufen ist.

Achtung: Für einen Versuch (alle Temperaturen) muss der verdünnte Speichel **einer** Person verwendet werden. Beginnen Sie mit den Messungen bei 20 °C ; in der Zwischenzeit können die übrigen Ansätze die Temperatur ihrer Umgebung annehmen. Kontrollieren Sie die Temperaturen mit dem Thermometer und halten Sie diese in der Tabelle fest. Bei zweckmässiger Organisation kann ein Zweierteam gleichzeitig 2 Messreihen (Temperaturen) betreuen. Falls Sie keine vernünftigen Werte bekommen (zu langsam oder zu schnell) muss die Stärkekonzentration geändert (verkleinert oder erhöht) werden.

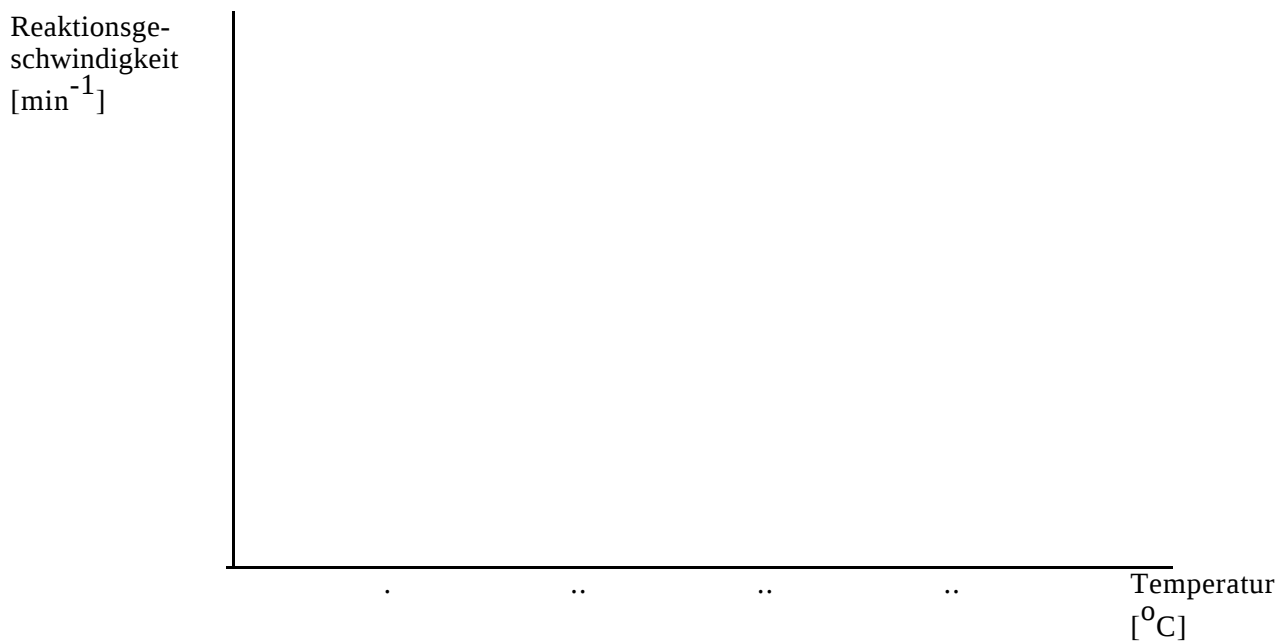
Resultate:

Geben Sie die Farben des Jod-Stärke-Komplexes an. Berechnen Sie die Reaktionsgeschwindigkeiten (reziproker Wert der benötigten Zeit)

Temperatur [°C]	Farbreaktionen nach x Minuten							RG [min ⁻¹]
	1	2	4	6	8	10	15	
0	...	...	...	...	...	...	...	
20	...	...	...	...	...	...	...	
40	...	...	...	...	...	...	...	
60	...	...	...	...	...	...	...	

Auswertung:

Stellen Sie die Resultate als Säulengrafik dar:



Stimmt das Experiment mit der Theorie überein?

Vergleichen Sie mit den Resultaten der anderen Gruppen!
Worauf führen Sie die Unterschiede zurück?

Nehmen Sie dieses Blatt zum Kapiteltest mit bzw. geben Sie es dem Tutor ab, wenn der Test schriftlich durchgeführt wird.

Reaktionskinetik der Urease

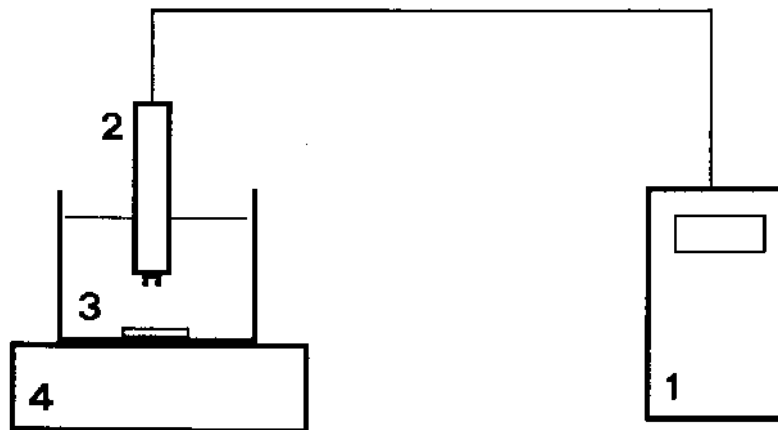
(Versuchsanleitung zum Kapitel 3)

Erforderliche Materialien pro Gruppe:

- Leitfähigkeitsmessgerät (mit Bereich μS)
- Magnetrührer, Rührstab, Uhr
- Becherglas (50 ml), Messzylinder (25 ml), Pipette (1 ml)
- Harnstofflösungen (0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,5%, 1%; 20 ml pro Ansatz)
- Urease (1% Suspension in dest. Wasser, frisches Enzym verwenden!)

Versuchsanordnung:

- 1 LF-Messgerät
- 2 LF-Elektrode
- 3 Enzym-Substrat-Gemisch
- 4 Magnetrührer



Vorgehen:

Jede Gruppe untersucht die Leitfähigkeitszunahme bei zwei verschiedenen Harnstoffkonzentrationen. Sprechen Sie sich gegenseitig ab, so dass in der Klasse alle Konzentrationen berücksichtigt werden.

1. Messen Sie 20 ml Harnstofflösung ab und richten Sie die Versuchsanordnung gemäss Zeichnung ein (Elektrode eintauchen, Rührwerk und Messgerät einschalten, LF-Wert ablesen).
2. Starten Sie die Reaktion durch Zugabe von 1 ml Enzymsuspension.
3. Lesen Sie in den Intervallen 0,5 / 1 / 2 / 3 / 4 / 5 Minuten die Leitfähigkeitswerte ab und tragen Sie diese in die Tabelle ein (Rückseite).
4. Wenn die Messreihe beendet ist, schalten Sie die Geräte aus, giessen das Enzym-Substrat-Produkt-Gemisch aus und reinigen alles, damit Sie oder eine andere Gruppe neue Messungen durchführen können.

Eigene Messwerte:

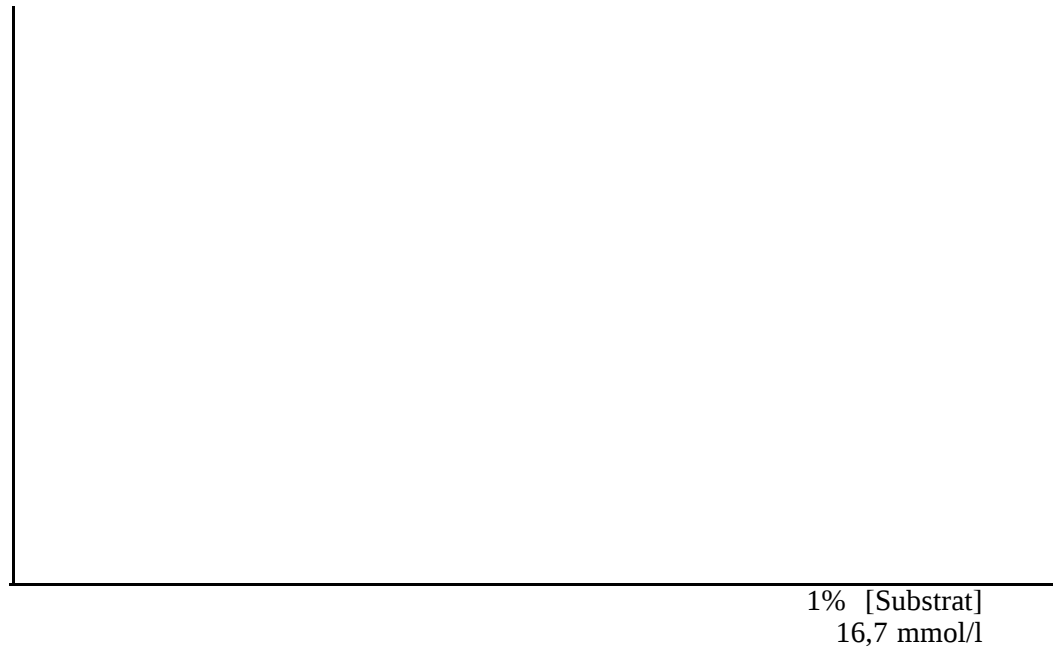
	Harnstoffkonzentration (in%)				
Zeit in Min.	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0
0					
0,5					
1					
2					
3					
4					
5					
$\Delta \text{LF } 3 - 2$					

Auswertung:

Als Mass für die Reaktionsgeschwindigkeit verwenden wir die Differenz der Leitfähigkeiten zwischen der Messung nach 2 und 3 Minuten.

Stellen Sie die Resultate graphisch dar und bestimmen Sie K_M für den Urease-Harnstoff-Komplex!

LF-Differenz
[$\mu\text{S}/\text{min}$]



Resultat : $K_M =$ mmol/l

Messwerte eines Vorversuchs:

	Harnstoffkonzentration (in%)				
Zeit in Min.	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0
0	002	002	002	002	004
0,5	052	064	076	078	083
1	073	094	113	116	182
2	110	146	178	182	193
3	143	192	237	244	256
4	175	238	293	299	316
5	204	280	345	355	374
$\Delta \text{LF } 3 - 2$					

Auswertung:

Als Mass für die Reaktionsgeschwindigkeit verwenden wir die Differenz der Leitfähigkeiten zwischen der Messung nach 2 und 3 Minuten.

Stellen Sie die Resultate graphisch dar und bestimmen Sie K_M für den Urease-Harnstoff-Komplex!

LF-Differenz
[$\mu\text{S}/\text{min}$]



Resultat : $K_M =$ mmol/l

Nachweis von Alkoholdehydrogenase in Hefezellen

(Versuchsanleitung zum Kapitel 5)

Erforderliche Materialien pro Gruppe:

- Hefesuspension (ca. 2%, 15 ml)
- Methylenblaulösung (0,001%, 20 ml)
- Ethanollösung (0,1 mol/l, 6 ml)
- 4 Reagenzgläser in Gestell
- 2 Messpipetten (5 ml), Etiketten

Vorgehen:

Nummerieren Sie 4 Reagenzgläser und geben Sie die Substanzen gemäss folgender Tabelle zu (alle Mengen in ml):

Probe Nr.	1a	1b	2	3
Hefesuspension	5	5	5	0
dest. Wasser	3	3	0	5
Methylenblau	5	5	5	5
Ethanollösung	0	0	3	3

Stellen Sie die gut gemischten Proben ins Wasserbad und beobachten Sie, wieviel Zeit bis zur Entfärbung benötigt wird. Achten Sie besonders darauf, bei welcher Probe die blaue Farbe zuerst verschwindet. Die Beobachtungszeit wird auf 10 Minuten beschränkt.

Was passiert, wenn man ein entfärbtes Reagenzglas schüttelt? (Verwenden Sie dazu eine der beiden Proben Nr. 1)

Resultate und Auswertung

- a) Erklären Sie die unterschiedlichen Entfärbungszeiten! Beachten Sie die Erörterungen im Leitprogramm.

Probe 1a/1b Entfärbungszeit: min

 Erklärung:

Probe 2 Entfärbungszeit: min

Erklärung:

.

.

Probe 3 Entfärbungszeit: min

Erklärung:

- b) Beim Schütteln eines entfärbten Reagensglases ist folgendes zu beobachten:
-
- Erklärung:
-

Übertragen Sie nun eine Zusammenfassung dieses Versuchs ins Leitprogramm.

Bestimmung des Alkoholgehaltes von Getränken

(Versuchsanleitung zum Kapitel 6)

Erforderliche Materialien pro Gruppe:

4 Getränke in folgenden Verdünnungen:

Schnaps	1 ml in 999 ml Wasser	(1 : 1000)
Wein	1 ml in 199 ml Wasser	(1 : 200)
Bier	1 ml in 99 ml Wasser	(1 : 100)
alkoholfreies Bier	1 ml in 9 ml Wasser	(1 : 10)

Glycin-NAPP-Semicarbazid-Puffer (75 mmol/l, 300 ml):

5 g $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ + 0,5 g Glycin + 2,5 g Semicarbazidhydrochlorid
in 250 ml Wasser lösen. Mit 2 M NaOH auf pH 8,7 einstellen und mit Wasser zu
300 ml auffüllen

NAD^+ -Lösung (25 mmol/l, 5 ml)

Alkoholdehydrogenase (200 $\mu\text{g/ml}$, 5 ml)

4 Reagenzgläser, verschliessbar, Gestell

Messpipetten (1 x 10 ml, 3 x 1 ml)

UV-Photometer (320 - 360 nm)

Eichgraphik für 0 / 0,01 / 0,02 / 0,05 / 0,10% Ethanollösung
zugehörige Küvetten

Vorgehen:

- Jede Gruppe untersucht den Alkoholgehalt eines Getränkes. Man benötigt dazu drei verschiedene Verdünnungen (Ausgangsverdünnung / 1 + 1 / 1 + 2) und eine Nullprobe. Nemen Sie 4 Reagenzgläser, nummerieren Sie diese und geben Sie folgende Substanzen zu (Mengenangaben in ml):

Probe Nr.	0	1	2	3
Puffer	10	10	10	10
NAD^+	0,5	0,5	0,5	0,5
verd. Getränk	0	0,2	0,4	0,8
Wasser	0,8	0,6	0,4	0

- Geben Sie in alle 4 Reazgläser 0,5 ml Alkoholdehydrogenase zu verschliessen Sie diese und mischen Sie die Inhalte. Lassen Sie die RG 30 Minuten bei 20 °C stehen.
- In der Zwischenzeit machen Sie sich mit der Bedienung des Photometers vertraut und arbeiten weiter im Leitprogramm (Abschnitte 4 und 5).

4. Nach Ablauf der Reaktionszeit müssen die Extinktionswerte der Proben Nr. 1-3 gemessen werden. Füllen Sie eine Messküvette mit der Nullprobe (Nr. 0). Setzen Sie diese ins Photometer und stellen Sie den Extinktionswert 0.000 ein. (Diese Probe enthält ja kein NADH/H⁺, das von der Oxidation des Alkohols stammt.)
5. Nun müssen die Proben Nr. 1-3 gemessen werden (Extinktionswerte gegen Nullprobe). Füllen Sie jeweils etwas Flüssigkeit in eine weitere Küvette ein und setzen Sie diese ins Photometer. Notieren Sie die abgelesenen Werte in der Auswertungstabelle.
6. Für die Berechnung des Alkoholgehaltes des Getränks verwenden wir denjenigen Ansatz, der einen mittleren Extinktionswert aufweist (0.30 bis 0.80). Anhand der Eichgraphik (spezifisch für diese Methode und das verwendete Photometer) können für die Extinktionswerte die zugehörigen Alkoholkonzentrationen herausgelesen werden. Der Alkoholgehalt der betreffenden Probe muss dann noch mit den beiden Verdünnungsfaktoren (für Probe und Getränk) multipliziert werden. Das Resultat zeigt den Alkohol des Getränkes in Volumenprozenten an.

Auswertungstabelle

	Rotwein	Bier	alkfr. Bier	
Extinktion				
Alkoholgehalt Probe [Vol%]				
Verdünnungsfaktor Probe				
Verdünnungsfaktor Getränk				
Alkoholgehalt Getränk [Vol%]				

Uebertragen Sie den Alkoholgehalt des von Ihnen analysierten Getränks in die Tabelle des Leitprogramms. Besorgen Sie sich die Untersuchungsergebnisse der anderen Gruppen und tragen Sie diese ebenfalls in die Tabelle ein.

Vergleichen Sie die von Ihnen ermittelten Alkoholkonzentrationen mit den Angaben des Herstellers.

Welche Vorschriften macht die Lebensmittelverordnung für den von Ihnen untersuchten Getränketyp? (siehe Anhang III)

Nehmen Sie dieses Blatt zum Kapiteltest mit bzw. geben Sie es dem Tutor ab, wenn der Test schriftlich durchgeführt wird.

Beispiele von Alkoholbestimmungen

(Kopiervorlage)

Extinktionen von Standardlösungen

Alkoholkonzentration [Vol%] 0 0,01 0,02 0,05 0,10

Extinktionswerte

Eichgrafik



Bestimmungen

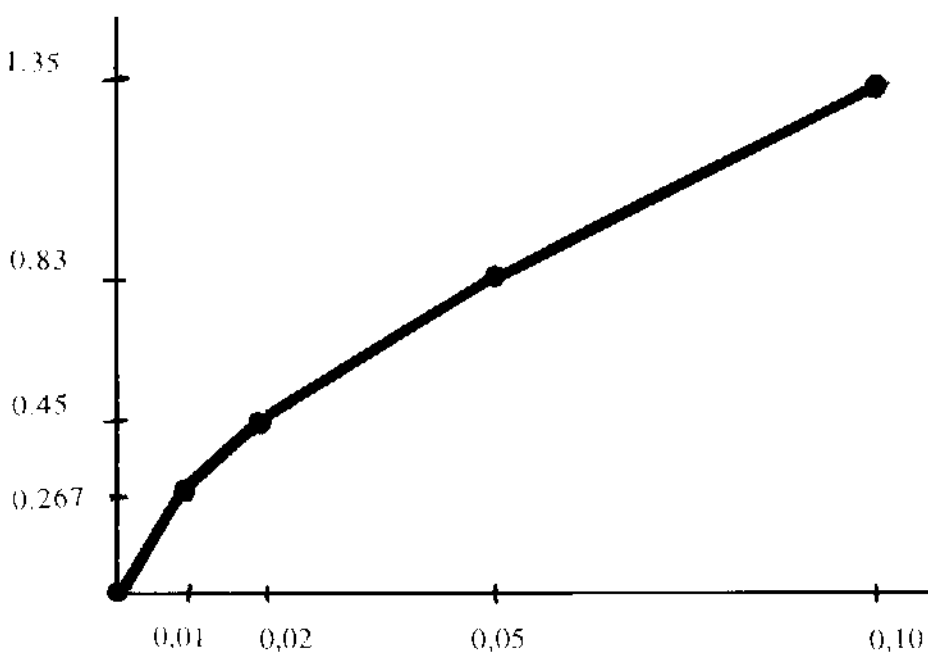
	Rotwein	Bier	alk. fr. Bier	Schnaps
Extinktion				
Alkoholgehalt Probe (Vol%)				
Verdünnungsfaktor Probe				
Verdünnungsfaktor Getränk				
Alkoholgehalt Getränk				

Beispiele von Alkoholbestimmungen (Anstelle eigener Messung)

Extinktionen von Standardlösungen

Alkoholkonzentration [Vol%]	0	0,01	0,02	0,05	0,10
Extinktionswerte	0	0.267	0.45	0.83	1.35

Eichgrafik



Bestimmungen

	Rotwein	Bier	alk. fr. Bier	
Extinktion	0,55	0,311	0,86	
Alkoholgehalt Probe (Vol%)	0,0288	0,013	0,0538	
Verdünnungsfaktor Probe	2	4	1	
Verdünnungsfaktor Getränk	200	100	10	
Alkoholgehalt Getränk	11,5	5,2	0,54	

Anhang 3: Arbeitsblätter

Arbeitsblatt 4.1

(Kapitel 4 / Uebungsaufgabe 4.1)

Abbildung a

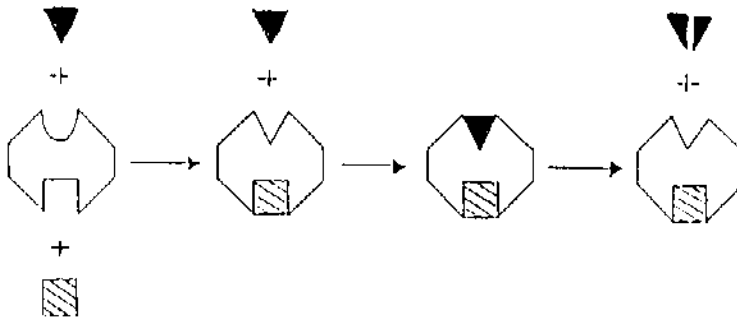


Abbildung b

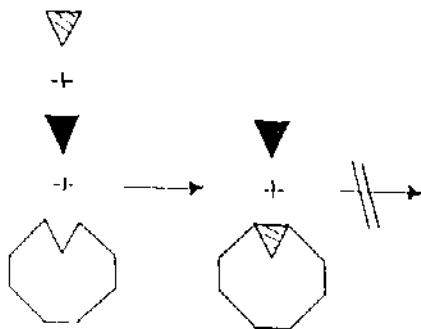
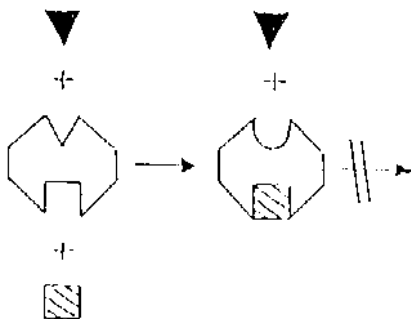


Abbildung c

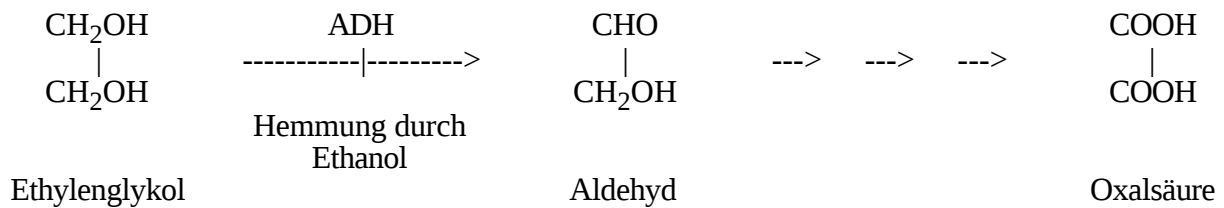


Arbeitsblatt 4.2

(Kapitel 4)

Ethanol wird therapeutisch als kompetitiver Inhibitor bei Ethylenglykolvergiftungen verwendet

Pro Jahr sterben ungefähr 50 Menschen an Vergiftung durch Ethylenglykol, einem Bestandteil von Frostschutzmitteln für Kraftfahrzeuge (Weinskandale!). Dabei ist diese Substanz selbst nicht tödlich giftig. Die Schäden werden vielmehr durch ein Oxidationsprodukt, die Oxalsäure, hervorgerufen; die Ablagerung von Oxalatkristallen bewirkt nämlich schwere Nierenschäden. Der erste Schritt bei der Umwandlung ist die Oxidation von Ethylenglykol zu einem Aldehyd durch die Alkohol-Dehydrogenase (ADH). Diese Reaktion lässt sich durch Verabreichung einer nahezu toxischen Menge von Ethanol wirksam hemmen. Der Effekt beruht darauf, dass Ethanol als konkurrierendes Substrat wirkt und die Oxidation des Ethylenglykols zum Aldehyd blockiert. Das Ethylenglykol wird dann ohne Komplikationen ausgeschieden. Ethanol wird auch bei der Behandlung von Vergiftungen mit Methanol (Holzgeist) genutzt.



Die Bildung von Oxalsäure aus Ethylenglykol wird durch Ethanol gehemmt.

aus: Stryer L.: *Biochemie*. Heidelberg 1991, Neubearbeitung.
Spektrum Akademischer Verlag GmbH.

Arbeitsblatt 5

(Kapitel 5)

Die Rolle von Vitaminen und Spurenelementen für die Funktion von Enzymen

Viele Enzyme benötigen für ihre katalytische Aktivität einen Cofaktor, der keine Proteinstruktur besitzt. Der Cofaktor kann entweder ein organisches Molekül - d.h. ein Coenzym - oder ein anorganischer Bestandteil - wie z.B. ein Metall-Ion - sein. Bei einigen Enzymen nimmt der Cofaktor direkt am katalytischen Vorgang teil, bei anderen dient er nur vorübergehend als Träger einer spezifischen funktionellen Gruppe, die er vom Substrat über-nimmt. Die Cofaktoren von Enzymen kommen in jeder Zelle nur in sehr kleinen Mengen vor, doch sind sie für die Wirkung vieler Enzyme essentiell, und sie spielen daher im Zellstoffwechsel eine bedeutende Rolle.

In diesem Kapitel werden wir die chemischen Eigenschaften und die Funktion dieser Substanzen untersuchen. Wie wir werden, sind die Vitamine essentielle Vorstufen verschiedener Coenzyme. Vitamine sind organische Nährstoffe, die in kleinen Mengen mit der menschlichen und tierischen Nahrung aufgenommen werden müssen und die zum Wachstum und für eine optimale Funktion des Organismus notwendig sind. Die Entdeckung der Vitamine und ihrer lebenserhaltenden Bedeutung bei der Prävention und Behandlung von Ernährungsmängeln ist einer der wichtigsten Beiträge der Biochemie für die Medizin und das menschliche Wohlbefinden. Ein ebenso wichtiger Fortschritt wurde durch die Erforschung der Wirkungsweise von Vitaminen und essentiellen Mineralien für die Aktivität von Enzymen erreicht. Dies hat sehr viel zum Verständnis der Zusammenhänge zwischen Ernährung und Gesundheit beigetragen.

Vitamine sind essentielle organische Mikronährstoffe

Da Vitamine in der menschlichen Ernährung pro Tag nur in Milligramm- oder Mikrogramm-Mengen benötigt werden, bezeichnet man sie als *Mikronährstoffe*. Dieser Begriff dient zur Unterscheidung von den *Makronährstoffen*, also Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten, die in der menschlichen Ernährung in grossen Mengen - in Hunderten oder wenigstens Dutzenden von Gramm pro Tag - notwendig sind. Makronährstoffe werden in grossen Mengen zur Energiegewinnung, zur Herstellung organischer Vorstufen vieler Körperbestandteile sowie zur Bereitstellung von Aminosäuren für die Synthese von Körperproteinen benötigt. Vitamine dagegen sind nur in kleinen Mengen notwendig, da sie katalytische Wirkung haben und somit zahlreiche chemische Umwandlungen von Makronährstoffen ermöglichen, die wir zusammen als Zellstoffwechsel bezeichnen. Die aktiven Formen der Vitamine sind - wie die Enzyme - in den Geweben nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden.

Man weiss heute, dass für ein normales Wachstum und eine normale Funktion des Organismus in der menschlichen Nahrung und der vieler Tierspezies 13 verschiedene Vitamine notwendig sind. Zusätzlich werden die Makronährstoffe - Kohlenhydrate, Fette und Proteine - benötigt. Die Bezeichnung "Vitamine" erhielt zunächst ein organischer Mikronährstoff, der zur Verhinderung der Vitaminmangelkrankung *Beriberi* notwendig ist. Diese Krankheit trat vorwiegend in Ländern auf, deren Bevölkerung sich von Reis ernährt. Da dieser Faktor die Eigenschaften einesamins besass, nannte ihn Casimir Funk - ein polnischer Biochemiker, der ihn zuerst isolieren konnte - "Vitamin". Der Name bedeutet "lebenswichtiges Amin". Später fand man jedoch, dass nicht alle essentiellen organischen Mikronährstoffe Amine sind.

Fast alle bekannten Vitamine kommen in den Zellen aller Tiere und der meisten Pflanzen und Mikroorganismen vor und führen überall dieselben wichtigen biologischen Funktionen aus. Nicht alle bekannten Vitamine sind jedoch für die Ernährung aller Tierspezies notwendig. Vitamin C muss z.B. von Menschen, Affen, Meerschweinchen und bestimmten Fledermäusen mit der Nahrung aufgenommen werden, die meisten anderen Tiere benötigen es jedoch nicht, denn sie besitzen Enzyme, die Vitamin C aus seiner Vorstufe, der Glucose, herstellen können. Der Name Vitamin bezeichnet daher allgemein eine Gruppe organischer Substanzen, die in sehr kleinen Mengen an der normalen Funktion der Zellen teilnehmen und von einigen Organismen nicht selber synthetisiert werden können. Diese Organismen müssen daher die betreffenden Substanzen aus exogenen Quellen aufnehmen.

aus: Lehninger A.L.: *Prinzipien der Biochemie*. Walter de Gruyter, Berlin/New York, 1987

Arbeitsblatt 6

(Kapitel 6)

Vorschriften betreffend den Alkoholgehalt von Getränken

(Lebensmittelverordnung des Schweizerischen Bundesrates vom 26.5.1936 / Stand 1.7.1984)

(Die Nummern bezeichnen die Artikel der LMV)

Fruchtsäfte (inklusive Konzentrate, Nektare, Sirupe, Limonaden)

249 Alle Typen dürfen höchstens 0,7 Vol% Ethanol enthalten.

Alkoholfreie Getränke

281/282 **Alkoholfreier Wermut** darf höchstens 0,7 Vol% Ethanol enthalten. Verdünnter alkoholfreier Wermut darf höchstens 0,5 Vol% Ethanol enthalten.

283/284 Analoge Bestimmungen gelten für **alkoholfreie Bitter**.

288 **Alkoholfreies Bier** darf höchstens 0,7 Vol% Ethanol enthalten. Die Sachbezeichnung muss lauten "alkoholfreies Bier"; zusätzliche Bezeichnungen sind nicht statthaft.

Traubenmost, Sauser

332 Sauser darf nur vom 10. September bis 30. November in Verkehr gebracht werden. Angegorener pasteurisierter Traubensaft muss 0,7 bis 2,0 Vol% Ethanol enthalten; er ist mit "Traubensaft im Gärstadium pasteurisiert, leicht alkoholhaltig" zu bezeichnen.

Wein

334 Wein muss mindestens 8 Vol% Ethanol enthalten (die aus unvergorenem Zucker zu erwartende Alkoholmenge nicht inbegriffen).
Wein darf nicht mit Ethanol versetzt werden (verstösst auch gegen das Bundesgesetz betreffend das Verbot von Kunstwein und Kunstmost).

336 Der Alkoholgehalt muss auf der Etikette angegeben sein; die Toleranz beträgt 0,5 Vol%.

357 Bei **ausländischen Süssweinen**, die durch Zufügen von eingedicktem Traubensaft hergestellt wurden, wird eine Ethanolzugabe toleriert (bis ca. 18-20 Vol%); massgebend sind die Vorschriften des Ursprungslandes.

363 **Wermut** muss 15,5-18 Vol% Ethanol enthalten; Wermutlikör >18 Vol%.

Obstwein / Most

- 370 Teilweise vergorener Obstwein (halbsüss) muss mit der Angabe "leicht alkoholhaltig" versehen sein.
- 371 Most muss mindestens 4 Vol% Ethanol enthalten.
- 373 Alkoholzugabe ist verboten (gilt als Kunstmost).

Bier

- 377/378 Alkoholzugabe ist nicht ausdrücklich verboten.
- 380 Leichtbier darf höchstens 3,0, kohlenhydratarmes Bier höchstens 4,5 Vol% Ethanol enthalten.

Spirituosen

- 396 **Trinkbranntweine** müssen mindestens 40 Vol% Ethanol enthalten; bei der Abgabe an Konsumenten darf er maximal 55 Vol% betragen. Verdünnung mit Wasser ist gestattet.
- 406 Der Alkoholgehalt muss auf der Flaschenetikette in Vol% angegeben sein.
- 394 Alkoholzugabe ist unter bestimmten Bedingungen gestattet (maximal soviel wie im betreffenden Erzeugnis bereits vorhanden ist; Sachbezeichnung ist Weinbrandverschnitt, Rumverschnitt, ...)
- 401/403 **Liköre** und **Bitter** müssen mindestens 20 Vol% Ethanol enthalten (Ausnahme: Alte Spezialitäten).

Anhang 4: Mediothek für die Schüler

Im Klassenzimmer sollten mehrere Exemplare folgender Bücher greifbar sein:

Miram W., Scharf K.-H.: *Biologie heute S II*, Kapitel 1, 2, 6
Neubearbeitung, Hannover 1988, Schroedel

oder ein vergleichbares Mittelschul-Biologie-Lehrbuch

Lehninger, A.L.: *Prinzipien der Biochemie* Kapitel 5 (*)
Berlin/New York 1987, Walter de Gruyter

Stryer L.: *Biochemie* (Neubearbeitung) Kapitel 5 (*)
Heidelberg 1991, Spektrum Akademischer Verlag

(*) Auszüge in Anhang 3 enthalten oder fakultativ

Anhang 5: Von den Autoren benutzte Quellen

Alberts B. et al.: *Molekularbiologie der Zelle*, Weinheim 1986
(VCH-Verlag)

Fuchs K.: *Experimentelle Physiologie*, Frankfurt 1974
(Diesterweg, Salle, Quelle & Meyer, Sauerländer)

Gruss P. et al.: *Industrielle Mikrobiologie* (2. Auflage), Heidelberg 1985
(Spektrum Akademischer Verlag)

Hassinger H., Wiebusch R.: *Experimentelle Enzymologie*, Frankfurt 1977 (Diesterweg, Salle, Sauerländer)

Lehninger A.L.: *Prinzipien der Biochemie*, Berlin/New York 1987
(Walter de Gruyter)

Linder H.: *Biologie* (20. Auflage), Stuttgart 1989
(Metzler / Poeschel)

Mackean/Strey: *Experimente zur Biologie - Enzyme*, Köln 1977
(Aulis)

Miram W., Scharf K.-H.: *Biologie heute S II* (Neubearbeitung), Hannover 1988 (Schroedel)

Stryer L.: *Biochemie* (Neubearbeitung), Heidelberg 1991
(Spektrum Akademischer Verlag)