

# Physikalische Chemie II

Prüfungstag 05.02.2020

## Bitte beachten Sie

- Erlaubt sind 4 Seiten (A4) Zusammenfassung plus ein Periodensystem.
- Erlaubt ist ein Taschenrechner (unprogrammierbar).
- Alle Hilfsmittel, die nicht explizit erlaubt sind, sind verboten!
- Ein Wörterbuch wird nicht als Hilfsmittel betrachtet.
- Alle Arten von Informationsaustausch (elektronisch oder anders) sind verboten!
- Bitte schalten Sie ihr Mobiltelefon ab.
- Wenn Sie eine Frage haben, heben Sie die Hand. Ein Assistent kommt dann zu Ihnen.
- Dauer der Prüfung ist **2 Stunden**.

## Hinweis:

- Am Anfang jeder Aufgabe finden Sie jeweils die dafür erreichbare Maximalpunktzahl.
- Die maximale Note 6 erreichen Sie mit ungefähr 75 % der Punkte.
- Die Note wird berechnet nach der Formel  $Note = 1 + 5 \cdot \left( \frac{\text{gesamte Punkte}}{\text{Anzahl Punkte nötig für Note 6}} \right)$
- Ein korrekter Lösungsweg (Gedanken und Gleichungen) ergibt auch dann Punkte, wenn das numerische Ergebnis falsch ist oder fehlt.
- Falls Sie wissen, dass Ihr Ergebnis falsch ist, schreiben Sie dies bitte dazu. So geben Sie uns zu verstehen, dass Sie sich des Fehlers bewusst sind. Dies wird in entsprechender Weise berücksichtigt.
- Ein numerisches Ergebnis mit fehlenden Masseneinheiten ist falsch (keine Punkte).

Folgende Größen könnten bei der Lösung der Aufgaben hilfreich sein:

Avogadro-Konstante	$N_A$	$6.02214 \times 10^{23} \frac{1}{\text{mol}}$
Boltzmannkonstante	$k_B$	$1.38066 \times 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$
Gaskonstante	$R$	$8.31451 \frac{\text{J}}{\text{K} \cdot \text{mol}}$
Elementarladung	$e_0$	$1.60218 \times 10^{-19} \text{C}$
Elektrische Feldkonstante	$\epsilon_0$	$8.85419 \times 10^{-12} \frac{\text{C}}{\text{Vm}}$
Faraday-Konstante	$F$	$9.64853 \times 10^4 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$
Dichte von Wasser	$\rho_{H_2O}$	$998 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$
Viskosität von Wasser	$\eta_{H_2O}$	$0.9 \times 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{m} \cdot \text{s}}$
durchschnittliche Proteindichte	$\bar{\rho}_{Prot}$	$1.4 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$
durchsch. spezif. Volumen eines Proteins	$\bar{V}_{Prot}$	$0.73 \pm 0.02 \frac{\text{cm}^3}{\text{g}}$
durchsch. Gewicht einer Aminosäure	$\bar{m}_{As}$	115 Da
Masseneinheit Dalton	Da	1Da = $1.66 \times 10^{-27} \text{kg}$
Diffusionskonstante von Natrium Ionen $\text{Na}^+$	$D_{\text{Na}^+}$	$1.95 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$
Diffusionskonstante von Chloridionen $\text{Cl}^-$	$D_{\text{Cl}^-}$	$2.02 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$
Svedberg	S	1S = $10^{-13} \text{s}$
Masseneinheit Dalton	Da	1Da = $1.66 \times 10^{-27} \text{kg}$

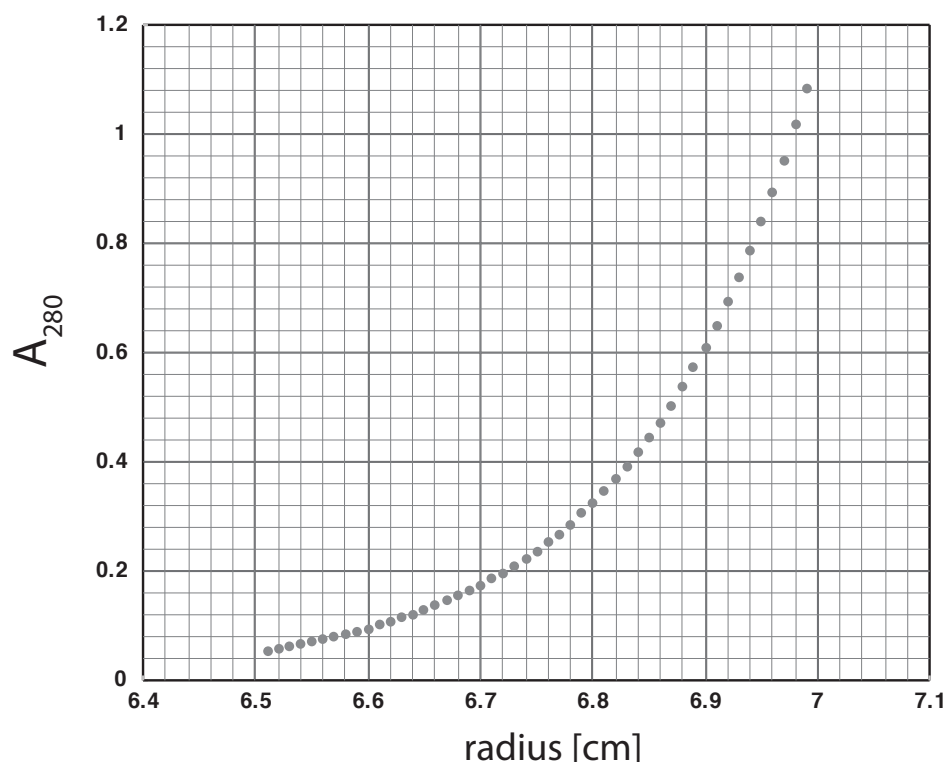
## 1 Allgemein (18 Punkte)

1. Wieso haben Reaktionen 2. Ordnung im Gegensatz zu Reaktionen 1. Ordnung eine obere Grenze der Reaktionsgeschwindigkeit und wie ist diese limitiert. (2 Pkte)
2. Wie kann man experimentell eine nicht kompetitive Enzymhemmung von einer unkompetitiven Hemmung unterscheiden? (2 Pkte)
3. Ein Frosch, der sich am Rand eines Teiches gesonnt hat, kann schneller schwimmen als sein Kamerad, der sich unter dem 4°C-Wasser versteckt hat. Geben Sie eine physikalische Erklärung dafür. (2 Pkte)
4. Zeichnen Sie detailliert mit Anmerkungen eine Membran die aus einer negativ geladenen Lipid-Doppelschicht besteht (2 Pkte)
5. Wieso verbraucht die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase chemische Energie für den Transport von K<sup>+</sup> durch die Membran, aber ein K<sup>+</sup> Kanal nicht? (2 Pkte)
6. Beschreiben Sie anhand der Stosstheorie, warum die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion  $A + A \xrightarrow{k} P$  höher ist als bei der Reaktion  $B + C \xrightarrow{k} P$ . Betrachten Sie den Fall, in dem  $[P]_0 = 0$  und  $k$  und  $[P]_{t \rightarrow \infty}$  für beide Reaktionen gleich sind. (2 Pkte)
7. Der Sedimentationskoeffizient ist definiert als das Verhältnis zwischen der Geschwindigkeit, mit der sich ein Partikel bewegt, und dem angelegten Zentrifugal- oder Gravitationsfeld ( $s = \frac{v}{g}$ ). Ausgehend von dieser Definition leiten Sie die Gleichung  $s = \frac{Dm(1 - \bar{V}\rho_{F1})}{kT}$  her. (2 Pkte)
8. Warum wird die Elektrode zur Membranpotential-Messung mit einer 3 M KCl-Lösung gefüllt. Markieren Sie die beiden richtigen Gründe. (1 Pkt. für genau zwei richtigen Gründen, sonst 0 Pkt)
  - (a) Weil die Diffusionskonstante von K<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> Ionen sehr ähnlich sind, wird das Diffusionspotential an der Elektrode vernachlässigbar klein.
  - (b) Die hohe Konzentration der Ionen ist notwendig, damit der KCl Konzentrationsgradient das Diffusionspotential bestimmt.
  - (c) Die hohe Konzentration der Ionen ist notwendig, um den Diffusionspotential-Einfluss des KCl Konzentrationsgradienten zu minimieren.
  - (d) Kalium- und Chloridionen sind kugelförmig.
9. Wie kann es sein, dass ein geladenes Protein in einem elektrischen Feld nicht ständig beschleunigt wird? (Achtung: 1 Pkt für die richtige Antwort, aber -1 Pkt für eine falsche Antwort)
  - (a) Weil das elektrische Feld proportional zur Ladung des Proteins ist.
  - (b) Weil die Reibungskraft proportional zur Geschwindigkeit des Proteins ist.
  - (c) Weil die Reibung Wärme erzeugt.
  - (d) Weil der Reibungskoeffizient proportional zum Radius des Proteins ist
10. Der Ethanolabbau im Körper ist eine Reaktion Pseudo 0. Ordnung, da (Achtung: 1 Pkt für die richtige Antwort, aber -1 Pkt für eine falsche Antwort)
  - (a) der Alkohol bis auf 0% abgebaut wird.
  - (b) diese Reaktion eine negative Gibbsche freie Reaktionsenthalpie  $\Delta_R G$  hat.
  - (c) die am Alkoholstoffwechsel beteiligten Enzyme einen niedrigen  $K_M$ -Wert haben und daher immer mit Substrat gesättigt sind.
  - (d) Die Alkoholkonzentration im Blut annähernd konstant ist.
11. Welche der folgenden Gleichungen beschreibt nicht ein System, das ein Gleichgewicht der Kräfte oder Flüsse erreicht hat (Achtung: 1 Pkt für die richtige Antwort, aber -1 Pkt für eine falsche Antwort)
  - (a) Driftgeschwindigkeit eines Ions in Wasser unter einem elektrischen Feld,  $\vec{v} = -D \frac{zF}{RT} \frac{d\varphi}{dx}$
  - (b) Goldman Gleichung  $V_m = \frac{kT}{ze} \ln \left( \frac{P_{K^+} n_{K^+}^a + P_{Na^+} n_{Na^+}^a + P_{Cl^-} n_{Cl^-}^i}{P_{K^+} n_{K^+}^i + P_{Na^+} n_{Na^+}^i + P_{Cl^-} n_{Cl^-}^a} \right)$
  - (c) Nernst Gleichung,  $V_m = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c^a}{c^i}$
  - (d) Nernst-Planck Gleichung,  $\Phi = -D \left( \frac{dc}{dx} + \frac{qN}{kT} \frac{d\varphi}{dx} \right)$

## 2 Membranprotein-X (13 Punkte)

Membranprotein-X (MPX) ist ein membranassoziiertes Protein, das aus einer unbekanntem Anzahl von zwei unterschiedlichen Peptiduntereinheiten  $U_1$  (900 Aminosäuren) und  $U_2$  (1300 Aminosäuren) besteht. MPX ist auch ein Enzym, das die Reduktion von Sauerstoff zu Wasser durch die Zugabe von zwei Protonen katalysiert. Um dieses Protein zu erforschen, wurde es mit dem Detergens LDAO aus der Lipidmembran extrahiert und bildet nun einen Protein-Detergens-Komplex.

1. Was kann man aus der SDS-Gel Elektrophorese von MPX lernen? Insbesondere kann man mit der SDS-Gel Elektrophorese herausfinden, in welchem oligomeren Zustand MPX vorliegt (mit Erklärung)? (1 Pkte)
2. Mit einer Lösungsmitteldichte von  $\rho = 1.073 \text{ g/cm}^3$  wurde der Protein-Detergens-Komplex in der analytischen Ultrazentrifuge bei  $37^\circ \text{ C}$  und 4000 rpm mittels Gleichgewichtszentrifugation gemessen (Abbildung 1).



**Abbildung 1** – Die Absorption der Membranprotein-X ( $y$ -Achse) wird als Funktion des radialen Abstandes  $r$  von der Zentrifugenachse ( $x$ -Achse) aufgetragen.

- (a) Warum wurde die Lösungsmitteldichte auf  $1.073 \text{ g/cm}^3$  angepasst und wie wurde dies vermutlich realisiert? (1 Pkte)
  - (b) Verwenden Sie die Daten aus Abbildung 1, um das Molekulargewicht von MPX zu bestimmen. (2 Pkte)
3. Ausgehend vom Ergebnis von Aufgabe 2, was ist der oligomere Zustand von MPX in LDAO? (1.5 Pkte)
  4. Nehmen Sie an, dass um Mitternacht ein Stromausfall passiert, kurz bevor die Messung gemacht worden wäre. Sie kommen am nächsten Morgen um 0900 Uhr ins Labor und bemerken dass die Zentrifuge gestoppt hat. Ist es sinnvoll, die Zentrifuge neu zu starten und die Absorptionsmessungen sofort durchzuführen? Wie erwarten Sie, würde dies aussehen? Geben Sie eine Erklärung und Machen Sie eine Skizze auf dem Bild. (1.5 Pkte)
  5. Warum wird der Diffusionskoeffizient nicht benötigt, um die Masse von MPX durch Gleichgewichtszentrifugation zu berechnen? (1 Pkt)

6. Was ist das "Gleichgewicht" bei der Gleichgewichtszentrifugation und wie kann man sicher sein, dass sich die Probe vor der Messung tatsächlich im Gleichgewicht befindet? (1 Pkt)
7. Die Rate der Wasserproduktion mit  $10\mu\text{M}$  MPX in LDAO wurde bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen gemessen (Tabelle 1). Unter der Annahme, dass das Enzym der Michaelis-Menten-Kinetik folgt, verwenden Sie die Daten in Tabelle 1 zur Berechnung von  $K_M$  und  $k_{\text{cat}}$ . (2 Pkte)

$c_{\text{O}_2}$ [M]	$v$ [ $\text{Ms}^{-1}$ ]
$50 \times 10^{-6}$	$2.0 \times 10^{-8}$
$100 \times 10^{-6}$	$3.3 \times 10^{-8}$
$200 \times 10^{-6}$	$5.0 \times 10^{-8}$
$400 \times 10^{-6}$	$6.7 \times 10^{-8}$

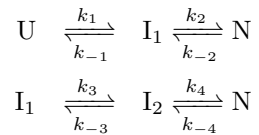
**Tabelle 1** – rate of  $\text{H}_2\text{O}$  production at  $10\mu\text{M}$  Protein X

8. Was wäre die maximale Wasserproduktionsrate (d.h. wenn das Enzym mit  $\text{O}_2$  gesättigt ist), falls nur  $2\mu\text{M}$  MPX vorhanden waren. (1 Pkt)
9. Die Daten in der Tabelle 1 wurden bei pH 7.2 gemessen. Die Kinetik wurde ebenfalls bei pH 6.0 gemessen, wobei beobachtet wurde, dass die  $k_{\text{cat}}$  bei pH 6.0 um den Faktor 10 höher ist als bei pH 7.2. Was ist die wahrscheinliche Ursache für die pH-Abhängigkeit von  $k_{\text{cat}}$ ? (1 Pkt)

### 3 Proteinfaltung (8 Pkt.)

Der Übergang der variablen Domäne eines Antikörpers vom ungefalteten in den gefalteten nativen Zustand verläuft über einen Zwischenzustand.

1. Detaillierte Messungen einer Forschungsgruppe zeigen, dass am Verlauf der Faltung der Antikörperdomäne zwei Zwischenprodukte mit folgendem Mechanismus beteiligt sind:



Schreiben Sie die dazugehörigen Ratengleichungen für die Konzentrationen von  $\text{I}_1$  und  $\text{I}_2$ . (2 Pkt)

2. Was für eine Ordnung haben die einzelnen Reaktionsschritte? (1 Pkt)
3. Was kann man experimentell tun und theoretisch annehmen (aus strukturbiologischer Sicht) um das Studium der Reaktion (und damit auch die Reaktionsgleichungen) zu vereinfachen? (1 Pkt)
4. Eine zweite Forschungsgruppe (Team 2) untersuchte denselben Faltungsprozess, verwendete aber eine spektroskopische Technik, die nicht zwischen den  $\text{I}_1$ - und  $\text{I}_2$ -Zwischenprodukten unterscheiden konnte, d.h. beide scheinen ein einziges Zwischenprodukt zu sein. Welchen Faltungsmechanismus würde Team 2 vorschlagen? (1 Pkt)
5. Die Diffusionskonstanten der 12 kDa schweren Antikörperdomäne in Wasser bei Raumtemperatur (25° C) im ungefalteten und gefalteten Zustand sind  $D_{\text{U}} = 2.5 \cdot 10^{-7} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$  und  $D_{\text{N}} = 1.2 \cdot 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ . Was ist der Hauptgrund der unterschiedlichen Diffusionskonstanten? (1 Pkt)
6. Die Faltung der gereinigten Antikörperdomäne wurde mit dem Denaturierungsmittel Harnstoff untersucht. So wurde eine hohe Konzentration von Harnstoff zur Entfaltung des Proteins verwendet, gefolgt von einer rapiden Verdünnung der Lösung, um die denaturierende Wirkung des Harnstoffs zu entfernen und den Faltungsprozess zu initiieren. Wie unterscheidet sich der oben beschriebene Faltungsprozess von dem, der in einer lebenden Zelle stattfindet? (1 Pkt)
7. Der Faltungsprozess eines gereinigten Proteins im Reagenzglas ist wesentlich langsamer als derjenige, der in vivo in einer lebenden Zelle abläuft. Was ist eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied? (1 Pkt)

## 4 Ionenfluss und Membranpotential (9 Punkte)

Ein Liposom gefüllt mit einer NaCl Konzentration von 15 mM wird in eine wässrige Lösung mit einer NaCl Konzentration von 150 mM bei einer Temperatur von  $T = 37^\circ\text{C}$  gegeben. Die Diffusionskoeffizienten für die Ionen in Wasser unter diesen Bedingungen seien gegeben mit  $D_{\text{Na}^+} = 2.02 \times 10^{-5}\text{cm}^2/\text{s}$  and  $D_{\text{Cl}^-} = 1.98 \times 10^{-5}\text{cm}^2/\text{s}$ .

1. Wie gross ist das Gleichgewichtsmembranpotential unter der Annahme, dass die Membranpermeabilität beider Ionensorten gleich und vernachlässigbar klein ist? (2 Pkte)

Nun wird ein chloridselektiver Ionenkanal in die Membran eingesetzt.

2. Wie hoch ist das Gleichgewichtsmembranpotential bei geöffnetem Kanal? (2 Pkte)

Betrachten wir noch einmal das ursprünglich in Afgabenteil 1 beschriebene Liposom. Anstelle eines chloridselektiven Ionenkanals werden zwei Membranproteine in das Liposom integriert. Das erste Protein agiert als  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  Ionenpumpe und bringt unter konstantem Fluss gegeben durch  $J_{\text{Na}^+} = J_{\text{Cl}^-} = 5 \times 10^7$  Ionen/s Ionen ins Innere des Liposomes, während das zweite Protein eine zylindrische Öffnung mit einem Radius von 2 nm und einer Länge von 10 nm in die Liposommembran macht. Die Pumpe bringt also  $\text{Na}^+$  ad  $\text{Cl}^-$  Ionen ins Innere des Liposomes. Die Ionen können aber auch durch die Pore des 2. Membranproteins und frei diffundieren. Nachdem die Pumpe eine gewisse Zeit gepumpt hat, wird ein stationärer Zustand erreicht.

3. Wie hoch ist der elektrische Strom, der in diesem stationären Zustand durch die Membran fliesst? (1 Pkt)
4. Was ist die Konzentration von NaCl im Liposom in diesem stationären Zustand? (Tipp: Für diese Berechnung ist der Unterschied in den Diffusionskoeffizienten für  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  vernachlässigbar klein und somit können beide auf den gleichen Wert angenähert werden.  $\text{Na}^+$  als auch  $\text{Cl}^-$  Ionen mit  $2 \times 10^{-9}\text{m}^2/\text{s}$  die gleichen Diffusionskonstanten haben). (2 Pkte)
5. In der in Aufgabe 4 beschriebenen Situation liegt ein kleines elektrisches Potential über der Membran. Was ist der physikalische Ursprung dieses Potentials und wie gross ist dieses Potential? Falls Sie Aufgabe 4 nicht lösen konnten, nehmen Sie an, dass die Konzentration im Inneren des Liposoms 200 mM ist. (2 Pkte).