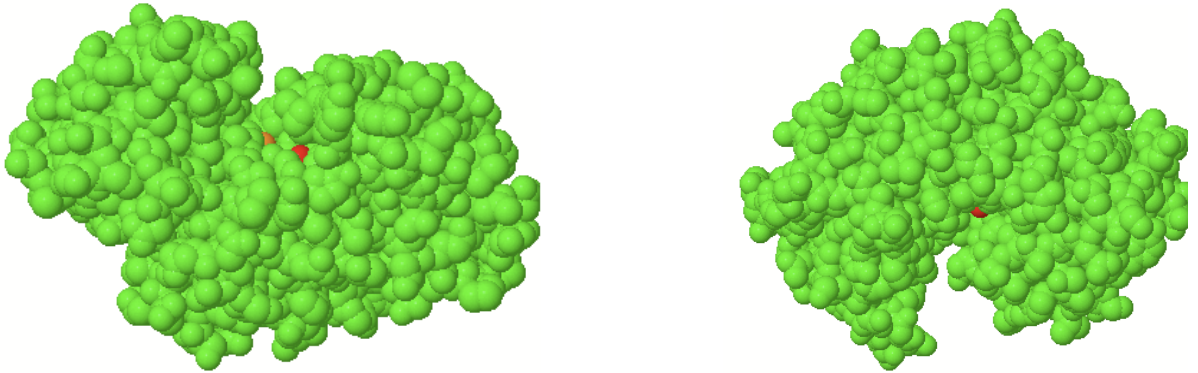
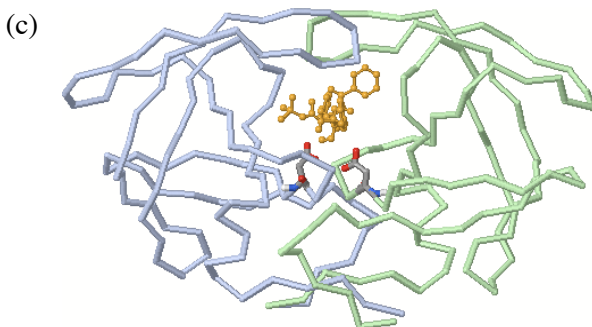


Lösungen zu den Aufgaben des Arbeitsblatts 5.2

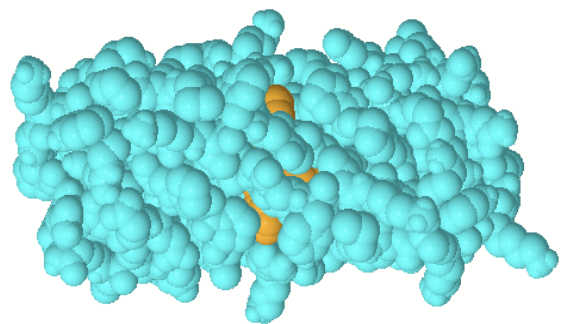
- (1) Aktives Zentrum eines Enzyms am Beispiel der sauren Protease Pepsin:
https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_1
- Das aktive Zentrum bilden 2 Aspartat-Reste (rot: Asp 32; orange: Asp 215).
 - Als Substrat dienen Proteine respektive AS-Ketten (Peptide).
 - Pepsin spaltet beiderseits von Tyr- und Phe-Resten, langsamer auch saure Aminosäuren und Leucin.
 - Enzymtasche und aktives Zentrum (rot/orange) von Pepsin aus verschiedenen Perspektiven:



- Zum Spalten der Peptidbindung wird Wasser benötigt (umgekehrt wird ja bei der Bildung einer Peptidbindung Wasser abgespalten).
 - Als nukleophiles Teilchen bindet Wasser über ein stark negativ polarisiertes O-Atom ans positiv polarisierte Carbonyl-C-Atom der Peptidbindung einer Aminosäure (AS).
 - Als Produkte entstehen 2 AS-Kettenbruchstücke. Das eine Bruchstück hat ein freies Carboxylende, das andere ein freies Aminoende.
 - Eine Protease ist ein Enzym, welches Proteine (also ein Eiweiss mit sehr langen AS-Ketten) spaltet. Die Spaltung der Peptidbindung geschieht unter Einbau von Wasser (Hydrolyse). Die Proteasen können als Unterklasse der Peptidasen betrachtet werden. Peptidasen spalten Peptidbindungen gleich welcher AS-Kettenlänge.
- (2) Blockierung des aktiven Zentrums der HIV-Protease durch einen Inhibitor:
https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_2
- Gemeinsamkeiten zu Pepsin: Ebenfalls eine Peptidase mit 2 Aspartat-Resten als aktives Zentrum. Allerdings liegen hier die 2 AS nicht auf der gleichen Polypeptidkette, sondern je auf einer Polypeptidkette.
 - Die viralen Proteine werden von den befallenen Zellen als ein grosses (nicht-funktionelles) Polyprotein synthetisiert, das dann durch die HIV-Protease in die viralen (funktionellen) Proteine zerlegt wird. Protease-Inhibitoren wirken antiviral, da sie durch Bindung an die HIV-Protease die Spaltung des Polyproteins in die viralen Proteine verhindern und so die Vermehrung des Virus hemmen.



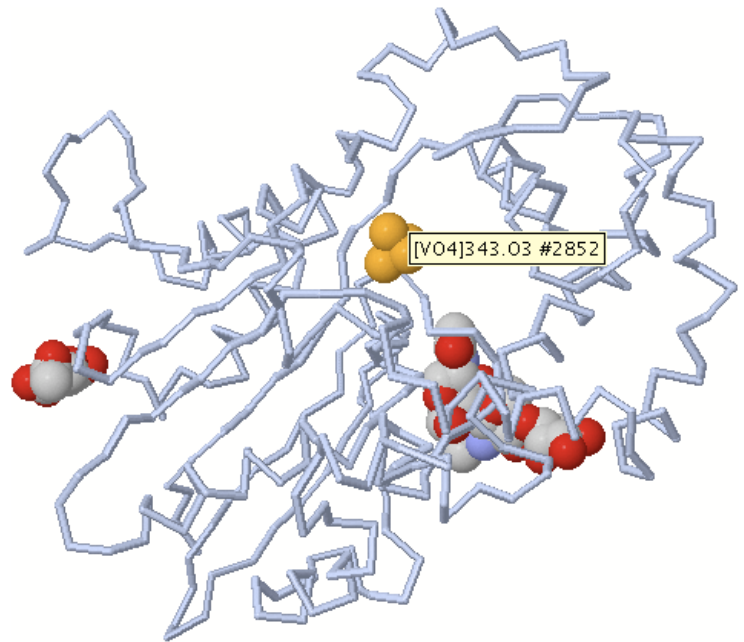
HIV-Protease (bestehend aus 2 Polypeptidketten in Stäbchendarstellung: lila/grün) mit 2 Aspartat-Resten (in den Farben der Atome) als aktives Zentrum sowie dem Inhibitor ARQ (orange, Kugel-Stäbchen-Darstellung).



HIV-Protease (türkis) mit dem Inhibitor ARQ (orange), hier beide in Kugeldarstellung.

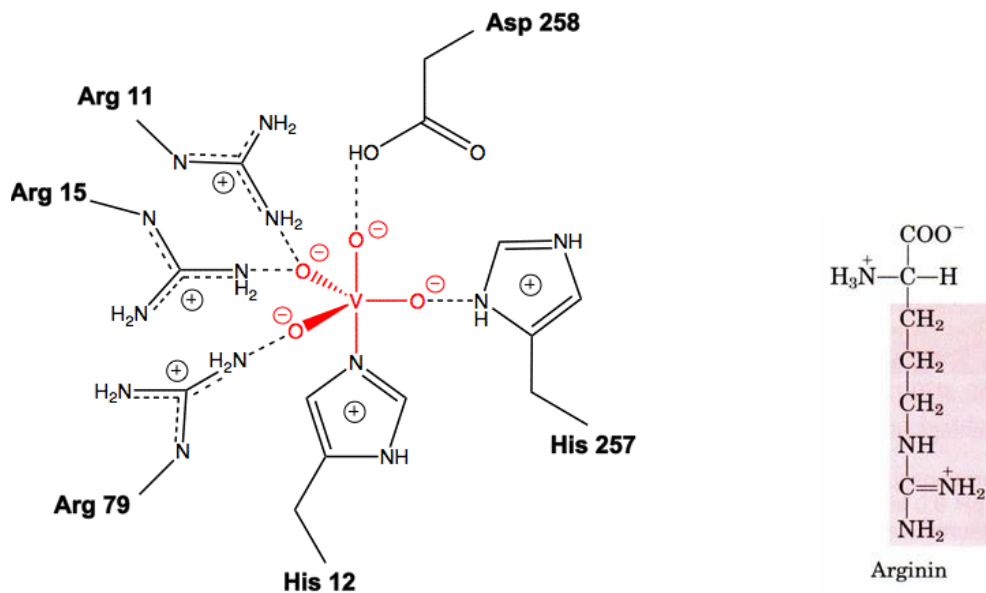
- (3) Blockierung des aktiven Zentrums eines Enzyms mit Schwerpunkt auf die Bindungsverhältnisse zwischen Inhibitor und aktivem Zentrum – Bsp.: Inhibition der Phosphatase durch Vanadat (VO_4^{3-}).
https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_3

- (a) (i) Das natürliche Substrat einer Phosphatase ist ein Molekül der Form R-O-PO_3 . Phosphatasen erkennen Phosphatgruppen (PO_4) und spalten unter Einbau von Wasser (Hydrolyse) Phosphat (PO_4^{3-}) ab. Der Inhibitor Vanadat (VO_4^{3-}) zeigt die gleiche Grundstruktur (Form und Grösse) und dieselbe Ladungsverteilung.
- (ii) Die Phosphatase ist ein Glykoprotein, da sie an ihrer Oberfläche Kohlenhydratgruppen aufweist.



Das Enzym Phosphatase (lila) mit Inhibitor Vanadat VO_4^{3-} (orange) und kovalent gebundenen Kohlenhydratgruppen (Kalottendarstellung). Bei den Kohlenhydraten handelt es sich um die Zucker N-Acetylglucosamin (NAG) und β -D-Mannose (BMA).

- (b) Bindungsverhältnisse des Inhibitors Vanadat zum aktiven Zentrum:



3 der negativ geladenen Sauerstoffatome des Vanadat-Ions wechselwirken mit dem positiv geladenen N-Atom von 3 Argininresten und 1 Histidinrest (ionische Wechselwirkung); in der Darstellung ist die positive Ladung bei den Argininresten über mehrere Atome delokalisiert dargestellt (gestrichelte Linien), in der rechten Abbildung ist zur Verdeutlichung das ganze Argininmolekül mit lokalisierter Ladung an einer NH_2 -Gruppe des Rests abgebildet.

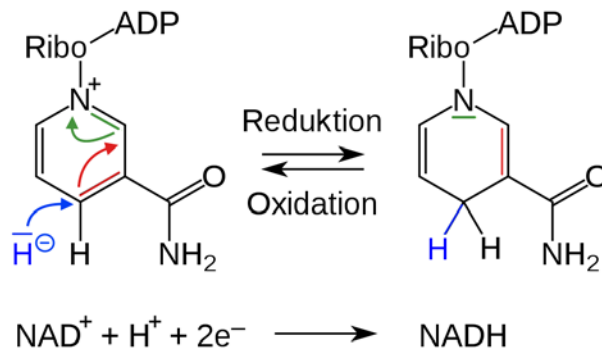
Ion-Dipol-Wechselwirkung tritt zwischen 1 negativ geladenen Sauerstoffatom des Vanadat-Ions und 1 H-Atom der Carboxylgruppe eines Asparaginsäurerests auf (bei tiefem pH liegt diese Gruppe protoniert vor, also als COOH -Gruppe, und nicht wie bei pH 7 deprotoniert als COO^- (Aspartat)).

Das Vanadium-Atom selbst ist kovalent an ein N-Atom eines Histidinrests des aktiven Zentrums gebunden.

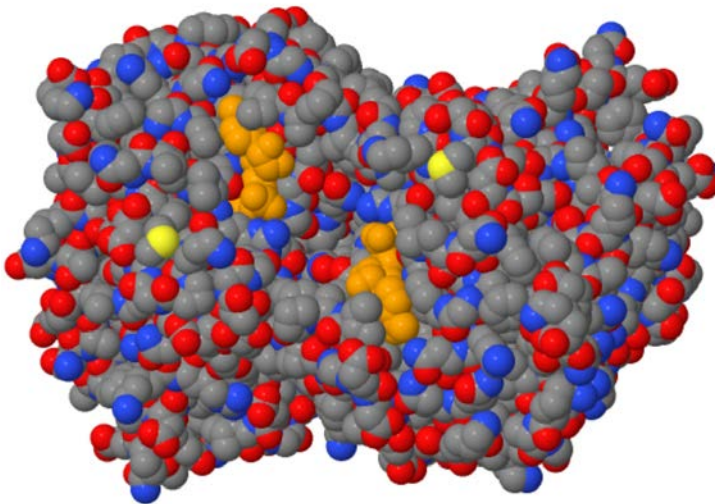
- (4) Enzyme und ihre Coenzyme – Bsp.: NAD⁺ als Wasserstoffakzeptor respektive Elektronenakzeptor am Beispiel der Malatdehydrogenase (Visualisierung zu Seite 55):

https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_4

- (a) Formale Darstellung der Elektronen- respektive Wasserstoffbeladung (H⁻) von NAD⁺:



- (b) Das Enzym Malatdehydrogenase bestehend aus 2 Untereinheiten mit je einer Bindungsstelle für das Coenzym NAD (orange) und das Substrat Malat (nicht dargestellt):



- (c) Im katalytischen Zentrum entsteht NADH aus NAD⁺. NADH kann deshalb nur über die Bindung ans allosterische Zentrum die Aktivität der Malatdehydrogenase regulieren. NADH wirkt somit als allosterischer Inhibitor.
- (5) Konformationsänderungen bei Enzymen – Bsp: Triacylglycerin-Lipase:
https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_5
- (a) Ein helikaler Bereich macht eine deutliche Bewegung.
- (b) Diese Helix verdeckt in der geschlossenen Konformation das aktive Zentrum, wodurch das aktive Zentrum geschützt wird (aber auch keine katalytische Arbeit verrichten kann).
- (6) Induced-Fit-Modell – Bsp.: Hexokinase und ihr Substrat Glucose:
https://media.kswillisau.ch/docs/ch/mau/sol/enzyme/sol_enzyme.html#card1_6
- (a) Das Induced-Fit-Modell ergänzt das Schlüssel-Schloss-Modell und besagt, dass bei einigen Enzymen das aktive Zentrum erst nach Bindung des Substrates die dazu komplementäre Form einnimmt.
- (b) Domänenbewegung des Enzyms Hexokinase bei Bindung des Substrats Glucose:
<https://www.youtube.com/watch?v=XXkWvQ43uLc>