

# Versuch 5

## Kinetik der Kaliumaufnahme durch Getreidewurzeln

Till Biskup

Matrikelnummer: 155567

15. Juni 2000

### 1 Aufgaben

1. Geben Sie die Kaliumkonzentration an, die am Ende der ersten Meßserie im Medium festgestellt wurde. Gehen sie davon aus, daß die Kaliumkonzentration im Cytoplasma höher als 50 mM ist und nehmen Sie unter dieser Voraussetzung anhand Ihrer Rechnung zur Hypothese eines stoffwechselunabhängigen Kalium-Uniports Stellung!
2. Stellen Sie anhand der ersten Kurve fest, in welchem Konzentrationsbereich die Kaliumaufnahme rate konzentrationsunabhängig verläuft. Der Zeitverlauf und die Konzentrationsabhängigkeit der Kaliumaufnahme sind im Zusammenhang mit der MICHAELIS-MENTEN-Gleichung zu interpretieren.
3. Vergleichen Sie die Zeitverläufe der Kaliumaufnahme in den untersuchten Medien und leiten Sie Schlußfolgerungen zur Spezifität des Kaliumtransportsystems ab.

### 2 Meßergebnisse

#### Kaliumaufnahmemessung

$t / \text{min}$	$[\text{K}^+] / \mu\text{M}$
0	40
10	21.9
20	8.5
30	2.5
40	2.0
50	0.8
60	0.4

#### Einfluß von Calciumchlorid

$t / \text{min}$	$[\text{K}^+] / \mu\text{M}$
0	37.0
10	24.0
20	11.2
30	4.9
40	2.4

#### Einfluß von Natriumchlorid

$t / \text{min}$	$[\text{K}^+] / \mu\text{M}$
0	43.3
10	26.9
20	15.8
30	8.3
40	8.4

#### Einfluß von Rubidiumchlorid

$t / \text{min}$	$[\text{K}^+] / \mu\text{M}$
0	41.0
10	40.2
20	40.7
30	36.5
40	33.1

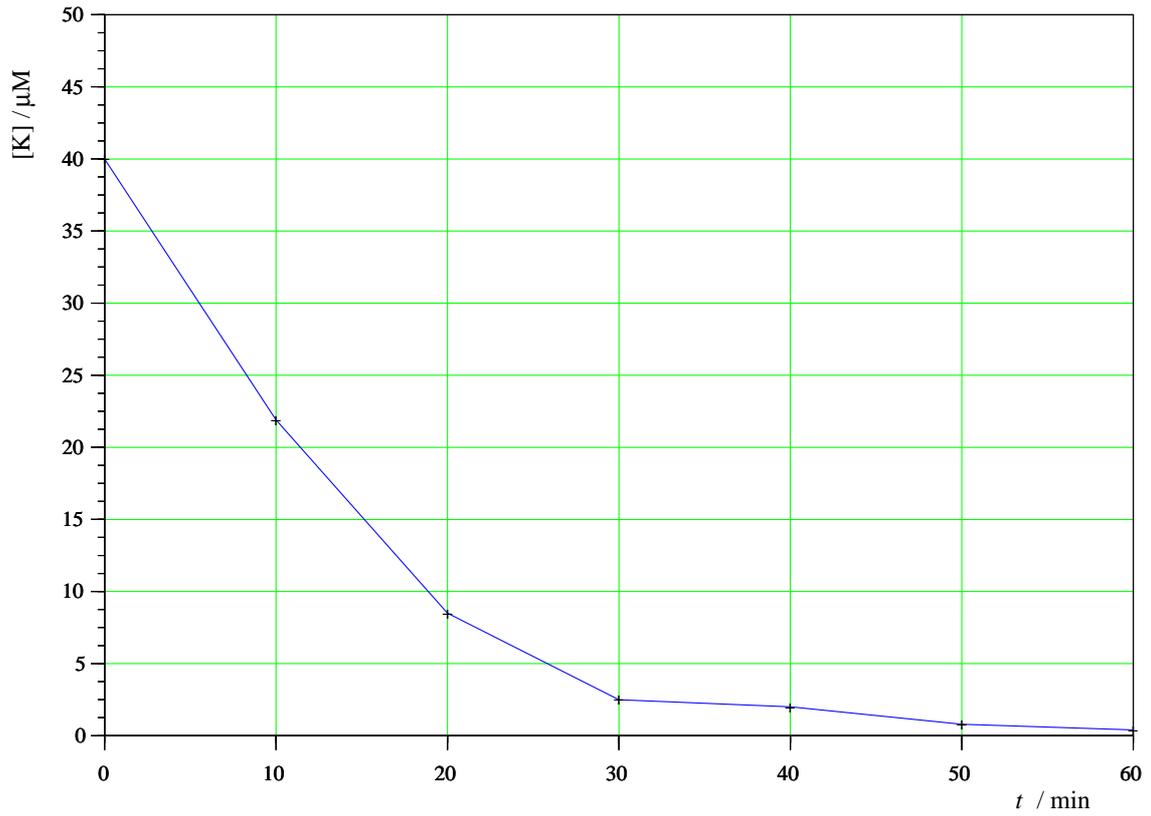


Abbildung 1: Kaliumaufnahmemessung

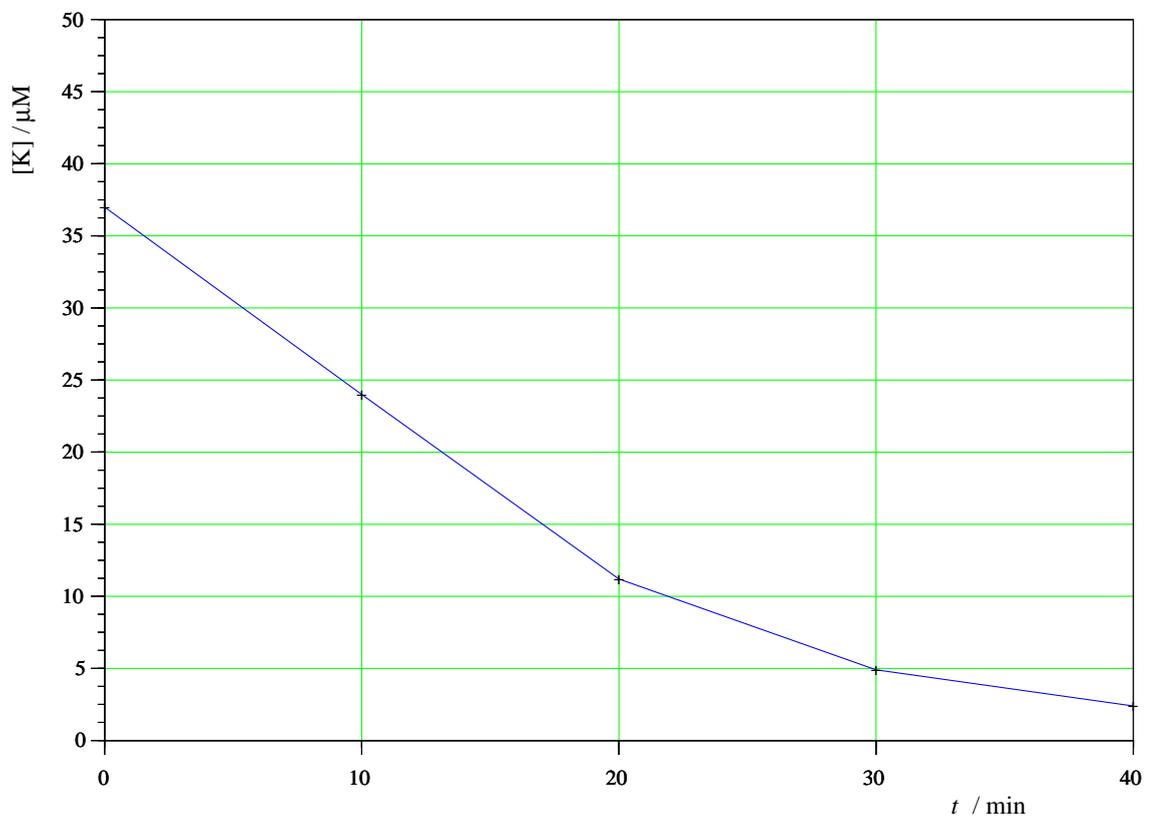


Abbildung 2: Kaliumaufnahmemessung, Einfluß von Calciumchlorid

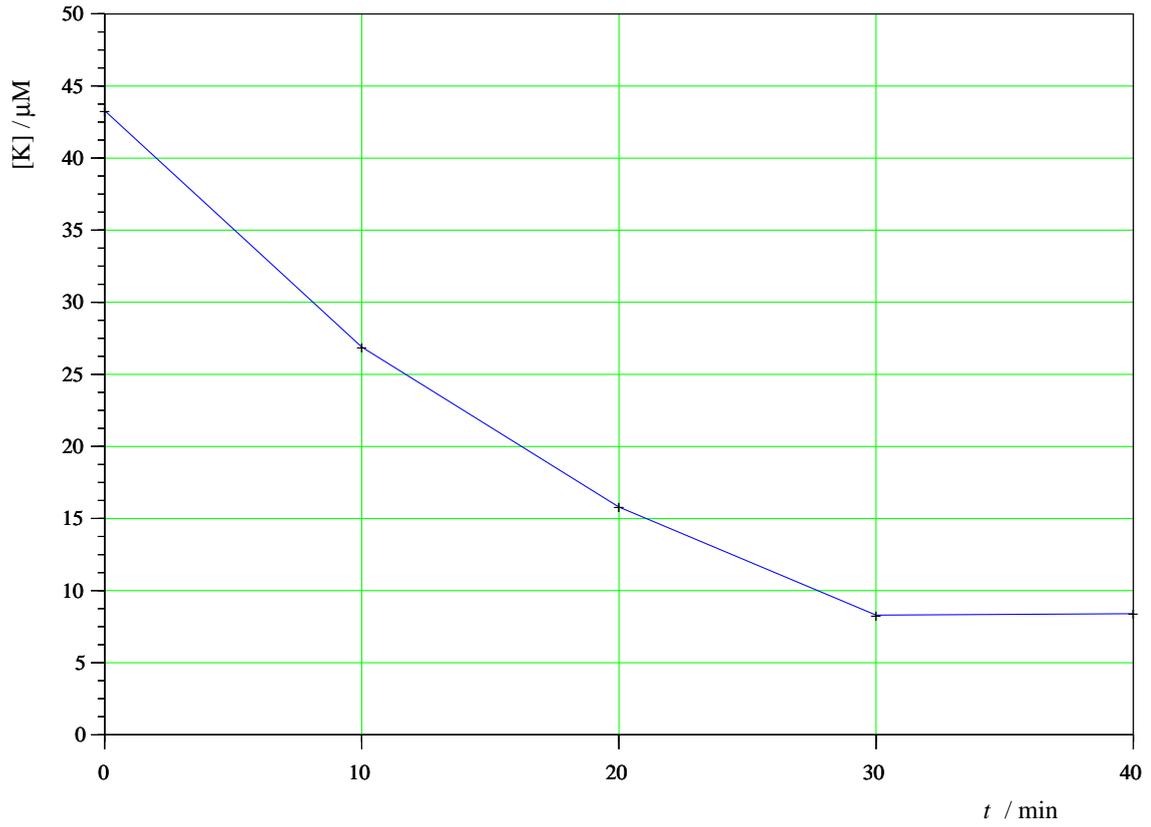


Abbildung 3: Kaliumaufnahmemessung, Einfluß von Natriumchlorid

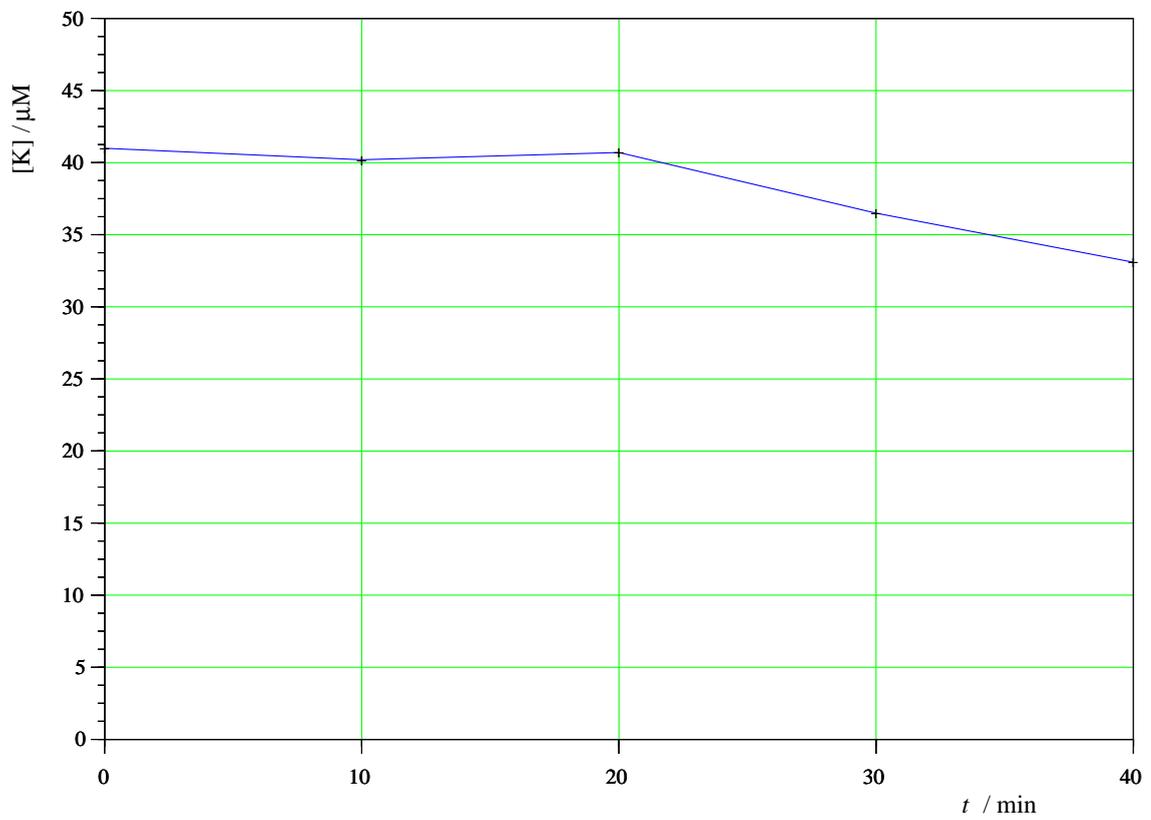


Abbildung 4: Kaliumaufnahmemessung, Einfluß von Rubidiumchlorid

## 3 Berechnungen

### 3.1 Verhältnis der Kaliumionenkonzentrationen

Berechnung des Verhältnis zwischen den Kaliumionenkonzentrationen in der Zelle und der Kaliumionenkonzentration des Mediums für den Fall, daß die Kaliumionen durch ein passives Uniportsystem in die Zelle aufgenommen werden, die elektrische Potentialdifferenz am Plasmalemma 180 mV beträgt und ein Gleichgewicht erreicht wurde. Im folgenden gehe ich davon aus, daß zwischen dem elektrochemischen Potential des extrazellulären und intrazellulären Kaliums keine elektrochemische Potentialdifferenz besteht:

$$\Delta\mu = RT(\ln c_i - \ln c_o) + zF \cdot \Psi_i - \Psi_o = 0$$

Hieraus folgt für die Anwendung der NERNST-Gleichung:

$$\Psi_i - \Psi_o = 2.303 \cdot \frac{RT}{zF} \log \left( \frac{c_i}{c_o} \right)$$

Bei Raumtemperatur gilt annähernd:

$$2.303 \cdot \frac{RT}{zF} = 60 \text{ mV}$$

Daraus folgt für das Verhältnis der Konzentrationen zueinander:

$$\log \left( \frac{c_i}{c_o} \right) = \frac{\Psi_i - \Psi_o}{2.303 \cdot \frac{RT}{zF}} = \frac{180 \text{ mV}}{60 \text{ mV}}$$

$$\frac{c_i}{c_o} = 10^3$$

Das bedeutet, daß durch ein passives Uniportsystem unter den durch die Parameter gegebenen Bedingungen eine maximale Anreicherung des Kaliums in der Zelle von  $10^3$  gegenüber dem Außenmedium erreicht werden kann.

### 3.2 MICHAELIS-MENTEN-Kinetik der Kaliumaufnahme

Geschwindigkeitsgesetz einer enzymatischen Reaktion (MICHAELIS-MENTEN-Gleichung)

$$v = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Linearisierung (LINEWEAVER-BURK-Plot)

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Werte nach linearer Regression<sup>1</sup>

$$K_m = 7.59 \mu\text{M}$$

$$v_{\max} = 7.65 \mu\text{M} \cdot (10 \text{ min})^{-1}$$

---

<sup>1</sup>unter Nichtberücksichtigung des sichtbar falschen Wertes

## 4 Diskussion

### 4.1 Stellungnahme zum stoffwechselunabhängigen Kalium–Uniport

Die Kalium–Konzentration  $[K^+]$  betrug am Ende der ersten Meßserie  $0.4 \mu\text{M}$ . Unter der Voraussetzung, daß die Kalium–Konzentration im Cytoplasma höher als  $50 \text{ mM}$  ist, ergibt sich eine Konzentrationsdifferenz in der Dimension  $10^5$ . Diese ist um zwei Dimensionen größer als die oben berechnete mögliche Konzentrationsdifferenz für ein passives Uniportsystem von  $10^3$ . Daraus folgt, daß die gemessene Konzentrationsdifferenz zwischen Medium und Cytoplasma nicht ausschließlich über einen passiven und damit stoffwechselunabhängigen Kalium–Uniport erklärt werden kann. Es ist also davon auszugehen, daß aktive, stoffwechselabhängige Prozesse ebenfalls am Aufbau des Kalium–Konzentrationsgradienten in der Wurzel beteiligt sind.

### 4.2 Konzentrationsunabhängigkeit der Kalium–Aufnahme

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, konnte eine wirkliche Konzentrationsunabhängigkeit der Kaliumaufnahme im Versuch nicht nachvollzogen werden, auch wenn man aus Abb. 1 bis zu einer Konzentration von ca.  $10 \mu\text{M}$  auf eine solche schließen könnte. Der Abfall der Kaliumaufnahme<sup>2</sup>, gemessen als Abnahme der Kalium–Konzentration im Medium, ist im Rahmen der MICHAELIS–MENTEN–Gleichung interpretierbar (vgl. Abb. 5).

$$v = \frac{d[K]}{dt} \qquad [v] = \mu\text{M} \cdot (10 \text{ min})^{-1}$$

Reaktionsgeschwindigkeit	
$[K^+] / \mu\text{M}$	$v / \mu\text{M} \cdot (10 \text{ min})^{-1}$
21.9	18.1
8.5	13.4
2.5	6.0
2.0	0.5
0.8	1.2
0.4	0.4

Allgemein besagt das von MICHAELIS und MENTEN aufgestellte Geschwindigkeitsgesetz der enzymatischen Reaktion, daß die Reaktionsgeschwindigkeit  $v$  innerhalb bestimmter Grenzen mit Erhöhung der Konzentration zunimmt. Im vorliegenden Versuch stellt sich diese Abhängigkeit als Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit — gemessen als Abnahmerate der Kalium–Konzentration im Medium — mit zunehmender Laufzeit des Versuches dar.

### 4.3 Spezifität des Kalium–Transportsystems

Wie aus den Abbildungen 2 und 3 hervorgeht, hat die Anwesenheit von Calcium– oder Natriumionen nur einen geringen Einfluß auf die Kaliumaufnahme der Wurzel. Rubidium beeinflußt dagegen die Kaliumaufnahme beträchtlich. Vergleicht man die Ionenradien dieser Elemente miteinander, stellt man fest, daß Rubidium diesbezüglich Kalium am nächsten kommt.

<sup>2</sup>und damit der Reaktionsgeschwindigkeit  $v$  der enzymatischen Reaktion der Kaliumaufnahme in die Wurzel

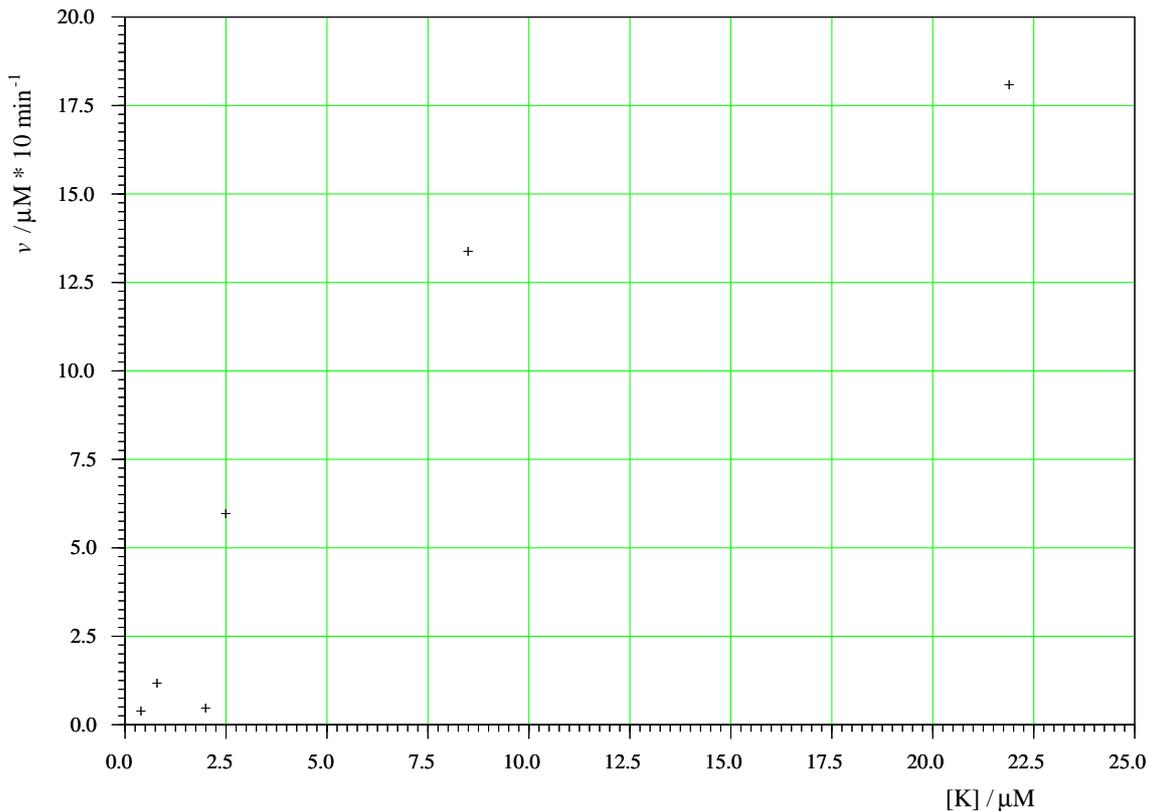


Abbildung 5: MICHAELIS–MENTEN–Auftragung der Kaliumaufnahme

Ionenradien <sup>3</sup>	
Ion	Radius / nm
$\text{K}^+$	0.133
$\text{Ca}^{2+}$	0.118
$\text{Na}^+$	0.097
$\text{Rb}^+$	0.147

Daraus und aus der Tatsache, daß die Differenz in den Ionenradien zwischen Kalium und Rubidium nur 0.001 nm kleiner ist als die zwischen Kalium und Calcium, schließe ich, daß das Kaliumtransportsystem verhältnismäßig spezifisch ist. Außerdem wirkt sich die Spezifität stärker gegenüber kleineren Ionenradien aus.

Als Ergebnis ergibt sich für die Pflanze eine optimale Anpassung an die Ionenverhältnisse im Boden, da Rubidium dort nur in sehr geringen Mengen vorkommt und daher als allosterischer Hemmer keine Rolle spielt.

## Fehlerbetrachtung

Der Eindruck klarer Ergebnisse wird bei genauerer Betrachtung getrübt. So war es mir anhand der experimentell ermittelten Daten nicht möglich, mittels Geradenausgleich im LINEWEAVER–BURK–Plot (Abb. 6) und anschließender Rücktransformation rechnerisch zu einer sinnvollen Regressionskurve für die MICHAELIS–MENTEN–Auftragung der Kaliumaufnahme (Abb. 5) zu gelangen.

<sup>3</sup>aus: STÖCKER, H.: Taschenbuch der Physik. Harri Deutsch, Thun und Frankfurt am Main <sup>3</sup>1998

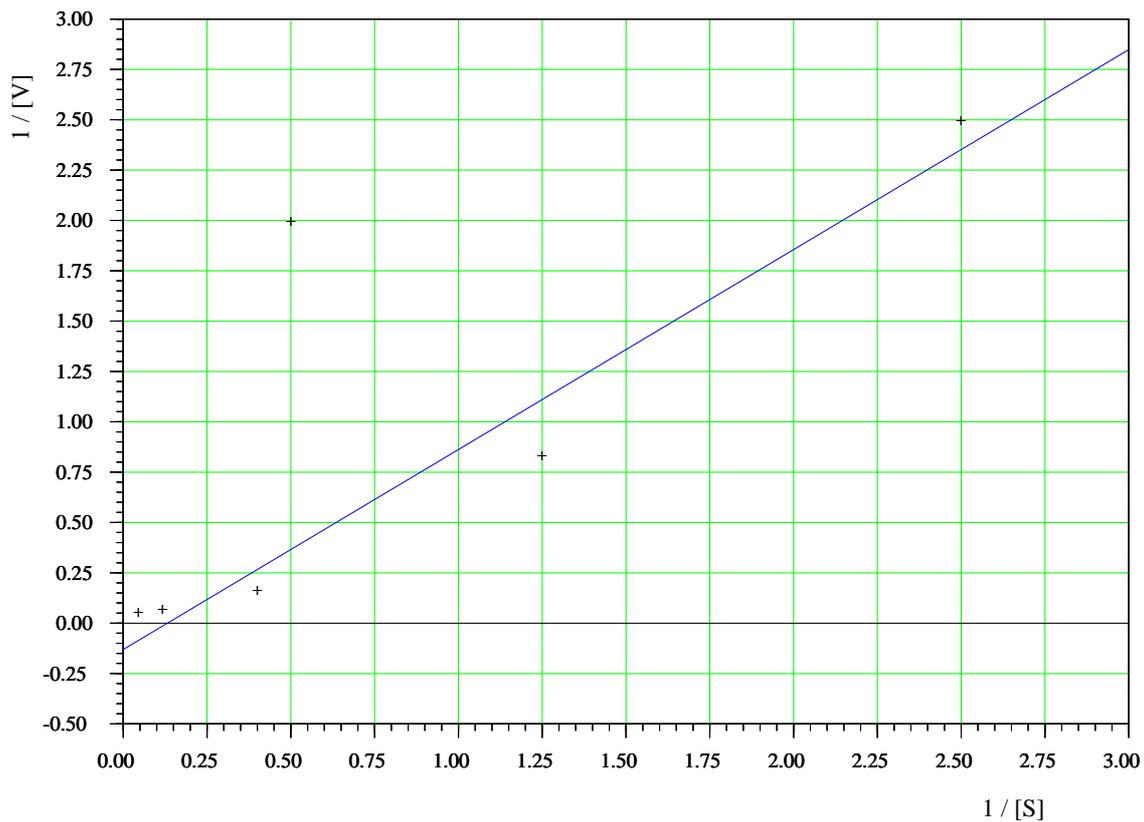


Abbildung 6: LINEWEAVER–BURK–Auftragung der Kaliumaufnahme

Des weiteren sind bei der Kaliumaufnahmemessung (Abb. 1) im flachen Kurvenverlauf ab einer Konzentration von ca.  $3 \mu\text{M}$  sowie bei der Beeinflussung der Kaliumaufnahme durch Rubidiumchlorid (Abb. 4) für den dritten Meßpunkt Unregelmäßigkeiten festzustellen.

Als mögliche Fehlerquelle kommen hier m. E. nur die Probleme mit dem Flammphotometer in Betracht — Fehler bei der Herstellung der Lösungen können sich nur im Bereich von wenigen Promille bewegen —, das ich wegen seiner ständigen Ausfälle und der erschwerten Bedienbarkeit als unverlässlich bezeichnen und somit auch seine Verlässlichkeit bei den Meßdaten in Zweifel ziehen möchte.

**Fazit** Auch wenn aus den Versuchsergebnissen hervorgeht, daß ein passiver Kalium–Uniport die beobachteten Phänomene nicht ausreichend erklären kann, kann aufgrund der oben begründeten Zweifel an der Zuverlässigkeit der experimentellen Daten keine gültige Schlußfolgerung gezogen werden, ohne den Versuch unter besonderer Beachtung des möglichen Fehlers durch das Flammphotometer zu wiederholen.