

Frage 1: Wie machen Sie Zucker auf einer DC Platte sichtbar ? Zum einen rein praktisch, zum Anderen: Was passiert dabei chemisch ?

Sie und er besprühen die Platte mit Thymol in relativ konzentrierter Schwefelsäure und inkubieren bei hoher Temperatur.

Dabei zerlegt die Schwefelsäure alles in Monosaccharide, die in Furfurale umgewandelt werden. Diese reagieren mit dem Phenol (z.B. Thymol) zu einem Farbstoff. Aber vielleicht war das nur in meiner Jugend so.

Frage 2: Wozu können Sie einen Hanes-Plot verwenden. Welchen Vorteil hat er ?

Der Hanes-Plot ist eine Alternative zum Lineweaver-Burk Plot. Aufgrund der Wahl der Achsen sind die Messwerte besser verteilt und man vermeidet die Überbetonung gerade jener Werte (kleine [S]), die besonders fehlerbehaftet sind. Einfach gesagt: Das Ergebnis ist verlässlicher.

Frage 3: Auf Ihrer HPLC Säule könnte folgendes gestanden sein: ODS, 5 μm , 60 Å. Was bedeutet das alles ?

Schade um die vielen langweiligen Stunden vor dem Kastl, nicht ?

Also:

ODS ... octadecyl silica; also ein Synonym für C18-Kieselgel = übliche reversed-phase Säule

5 μm ist nicht der Säulendurchmesser

60 Å ist nicht die Säulenlänge - auch bei sehr kleinen HETP-Werten würde ein Trennstrecke von 6 nm sehr kurz sein !

5 μm ... gibt die mittlere Größe der Gelpartikel einer Chromatographie-Matrix an

60 Å gibt die mittlere Porengröße des Gels an (das reicht z.B. für die alles bis hin zu Peptiden mit bis zu ca. 5000 Da)

Frage 4: Mit welchem Protein haben Sie Ihre Proteinbestimmungstest kalibriert ?

ICH weiss es eigentlich nicht, aber offenbar doch mit Rinderserumalbumin, engl.: bovine serum albumin = BSA

Frage 5:

Zur Kalibration einer Aktivitätsbestimmung setzen Sie anstelle der 417 μL Substratlösung Produktlösungen verschiedener Konzentration ein. Bei Zugabe einer 4 mM Produktlösung ergibt sich eine Absorption von 0.637.

a) Welche Menge an Produkt war in diesem Kalibrationsansatz ?1.668..... μmol

Für die Aktivitätsbestimmung setzen Sie 376.2 μL Puffer, 417 μL Substratlösung und 200 μL Enzymlösung ein.

Sie inkubieren für 20 min und messen die Absorption. Die 1 : 200 Verdünnung Ihres Enzyms ergibt eine Absorption von - rein zufällig - 0.637, was sich irgendwie ganz gut trifft.

b) Welche Menge an Produkt hat das Enzym pro min erzeugt ?0.0834..... μmol

c) Drücken Sie dieses Ergebnis in Internationalen Units aus:

Im Ansatz waren 0.0834..... U an Enzym.

d) Daher wies die untersuchte Enzymlösung die Aktivität von83.4..... U/mL auf.

Frage 6:

Bei der Bestimmung einer Oxidase pipettieren Sie 800 μL Substratlösung, 800 μL Puffer und 400 μL einer 1 : 40 verdünnten Enzymlösung. Der molare Extinktionskoeffizient des Produktes beträgt $12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Welche Konzentration und Menge an Produkt hat der Messansatz, wenn die Absorption nach 5 min Inkubation 0.6 beträgt ?

a) Der Messansatz war0.05..... mM an Produkt.

1 M 12000 \rightarrow 1 mM 12 \rightarrow 0.1 mM 1.2; 0.6 entspricht daher 0.05 mM

b) Der Messansatz enthielt ...0.1..... μmol Produkt.

und das in einem Volumen von 2 mL, da 1 mL 0.05 μmol enthält ist alles klar.

c) Der Messansatz enthielt0.02..... U an Enzym.

d) Die ursprüngliche Enzymlösung wies eine Aktivität von $0.02 * 2.5 * 40 = 2$.. U/mL auf.