

**Lösungsvorschläge und Erläuterungen zum
Abschlusstest Kurs 8 - 10**

Name: Lea Rah

Frage 1: Was ist die spezifische Enzymaktivität ? Welche Bestimmung müssen Sie zu ihrer Berechnung durchführen ?

Hier bin ich zu faul
Nur die Rechnungen sind erklärt.

Frage 2: Welche stationäre Phase war auf ihrer Dünnschichtplatte ? Welche Bindungseigenschaften hat eine solche Phase ?

Frage 3: Wie und warum macht man bei einer Enzymbestimmung einen Blindwert ? Woraus speist sich dieser Wert ?

Frage 4: Woraus besteht bei der SDS-PAGE der Probenpuffer und welche Aufgabe hat jede dieser Komponenten ?

Frage 5:

HEUTE OHNE RECHNER !!!!

Hier möchte ich Sie für die Ästhetik der Einfachheit begeistern. Alles was man hier braucht ist Omas gute alte Schlussrechnung, oder, wie man jenseits des Inns sagt, den Dreisatz.

Bei der Bestimmung einer Peroxidase pipettieren Sie 1200 μL Peroxidlösung, 400 μL Puffer und 400 μL einer 1 : 100 verdünnten Enzymlösung. Der molare Extinktionskoeffizient des Produktes beträgt $3.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Welche Konzentration und Menge an Produkt hat der Messansatz, wenn die Absorption nach 10 min Inkubation 1.5 beträgt ?

Zum Aufwärmen: Gesetze kann man als Rechenregeln betrachten. Man kann sie aber auch „begreifen“, intuitiv verstehen, was oft die Lösung erleichtert. So ist das hier. Leider ist ja die Absorption dimensionslos. Wir wollen ihr aber die Einheit Bärli (Lambert-Beer) geben. Dann haben wir einen Ex.koff von 3000 Bärli pro M und cm = 3000 Bärli pro M. Dann sieht man schon, dass man für eine 1 M Lösung 3000 Bärli messen würde – wenn das möglich wäre. Für eine 1 mM Lösung somit 3 Bärli

Die virtuellen Absorptionen 1 M bzw. 1 mM Lösungen betragen: 3000.... / 3....

Wenn wir jetzt 1.5 Bärli messen, war also die Lösung nur halb so konz.

a) Der Messansatz war0.5..... mM an Produkt.

Jetzt müssen wir das Volumen der Lösung in der Küvette ermitteln: $1200 + 400 + 400 = 2000 \mu\text{L} = 2 \text{ mL}$

b) Der Messansatz enthielt .. $2 \times 0.5 \mu\text{mol} = 1 \dots \mu\text{mol}$ Produkt.

Pro Minute also ein Zehntel

c) Der Messansatz enthielt 0.1..... U an Enzym.

Diese 0.1 U sind in 0.4 mL enthalten, 1 mL enthielte somit das 2.5-fache (das war die schwierigste Rechnung hier. Jede(r, der die das hier einen Rechner braucht, sollte sich schon ziemlich genieren – Ein bisserl mehr intellektuellen Stolz hätte ich Euch schon zugetraut ! Ausnahmen werden gewürdigt). Dann noch die Verdünnung

d) Die ursprüngliche Enzymlösung wies eine Aktivität von25 U/mL auf.

Frage 6:

Zur Kalibration einer Aktivitätsbestimmung setzen Sie anstelle der 200 μL Substratlösung Produktlösungen verschiedener Konzentration ein. Bei Zugabe einer 15 mM Produktlösung ergibt sich eine Absorption von 0.414.

Alles entscheidend: Welches Volumen ? $\rightarrow 0.2 \text{ mL}$

Also: 15 mM in 1 L

15 μmol in 1 mL

1.5 μmol in 0.1 mL, also 3 μmol in 0.2 mL

a) Welche Menge an Produkt war in diesem Kalibrationsansatz ? ... 3 μmol

Für die Aktivitätsbestimmung setzen Sie 400 μL Puffer, 300 μL Substratlösung und 300 μL

Enzymlösung ein. Sie inkubieren für 10 min und messen die Absorption. Die 1 : 20 Verdünnung Ihres Enzyms ergibt eine Absorption von – Zufall aber auch ! - ebenfalls 0.414.

b1) Welche Menge an Produkt hat das Enzym pro min erzeugt ?0.3.....
μmol

b2) Wieviele Units an Enzym enthielt dieser Ansatz (ausgehend von der Definition der Internationalen Einheit)

..... 0.3 U Enzym im Ansatz

0.3 U ware in 0.3 mL --- also war 1 U in 1 mL der unverdünnten Lösung, Mal Verdünnung =

d) Daher wies die untersuchte Enzymlösung die Aktivität von20..... U/mL auf.