

**Abschlusstest Kurs 3**

**Name:** ..... **Anastasius Krampus** .....

**Frage 1:** Welches Laufmittel haben Sie für die DC von Zuckern eingesetzt. Welchen Effekt erwarten Sie, wenn Sie mehr Wasser ins Laufmittel mischen würden ?

..... Wasser ist - so wie auch das Kieselgel - sehr polar und konkurriert daher besonders effektiv. Sprich, mit mehr Wasser wandern polare Substanzen wie Zucker sicherlich weiter.

**Frage 2:** Was waren Substrat und Produkt bei Ihrem Enzym-Aktivitätsbestimmungs-Beispiel und was war die chemische Grundlage der Messung der Produktbildung ?

Das wissen nur Sie selber.

**Frage 3:** Was war Ihre Aufgabenstellung beim HPLC Beispiel ? Speziell: Wie haben Sie die Analyten detektiert ?

Detto, ich kann aber nachsehen !

**Frage 4:** Welche zwei blauen Farben haben Sie bei der Elektrophorese verwendet und wozu jeweils ?

Coomassie-Blau und Bromphenolblau. Hoffentlich klar !

**Frage 5:**

Zur Kalibration einer Aktivitätsbestimmung setzen Sie anstelle der 500 µL Substratlösung Produktlösungen verschiedener Konzentration ein. Bei 2 mM ergibt sich eine Absorption von 1.235.

- a) Welche Menge an Produkt war in diesem Kalibrationsansatz ? ..... 1 ..... µmol  
 Also, wir haben eine 2 mM Lösung, d.h. 1 L enthält 2 mmol. Es geht aber darum, wieviel in 0.5 mL ist. (1 mL ... 2 µmol .....). RECHNUNG:  $2 \times 0.5$  bzw.  $2 / 2 = 1$

Für die Aktivitätsbestimmung setzen Sie 1300 µL Puffer, 500 µL Substratlösung und 200 µL Enzymlösung ein. Sie inkubieren für 10 min und messen die Absorption. Die 1 : 300 Verdünnung Ihres Enzyms ergibt eine Absorption von - rein zufällig - auch 1.235.

- b) Welche Menge an Produkt hat das Enzym pro min erzeugt ? ..... 0.1 ..... µmol/min (U)  
 Dieselbe Extinktion bedeutet unserer Probe enthält dieselbe Menge an Produkt, also 1 µmol. Dieses wurde in 10 min erzeugt. RECHNUNG:  $1 / 10 = 0.1$

- c) Die verdünnte Lösung wies daher pro mL welche Aktivität auf ? ... 0.5 ..... U/mL  
 Der Enzymansatz enthielt 0.2 L von der Enzymverdünnung. 1 mL enthielt somit das 5-fache. RECHNUNG:  $0.1 \times 5 = 0.5$

- d) Daher wies die Original-Enzymlösung die Aktivität von ..... 150 ..... U/mL auf.  
 Jetzt kommt der schwierigste Teil. Die Verdünnung war 1 : 300.  
 RECHNUNG:  $0.5 \times 300$  bzw.  $300 / 2 = 150$

**Frage 6:**

Bei der Bestimmung einer Peroxidase pipettieren Sie 400 µL Peroxidlösung, 900 µL Puffer und 200 µL einer 1 : 100 verdünnten Enzymlösung. Der molare Extinktionskoeffizient des Produktes beträgt  $1100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Welche Konzentration und Menge an Produkt hat der Messansatz, wenn die Absorption nach 15 min Inkubation 0.66 beträgt ?

- a) Der Messansatz war ..... 0.6 ..... mM an Produkt.  
 Schluss mit Rechner ! Schlussrechnen ! Eine 1 M Lösung hätte !!! eine Abs von 1100  
 1 mM hat daher 1.1; 0.1 mM somit 0.11  
 Jetzt sieht man schon Abs von 0.66 ist 0.6 mM

- b) Der Messansatz enthielt ..... 0.9 ..... µmol Produkt.  
 Hier zählt der Gesamte Messansatz:  $0.9 + 0.4 + 0.2 = 1.5 \text{ mL}$   
 Wenn 1 L 0.6 mmol enthält, enthält 1 mL 0.6 µmol. RECHNUNG:  $0.6 \times 1.5 = 0.9$

- c) Der Messansatz enthielt ..... 0.06 .... U an Enzym.  
 RECHNUNG:  $0.9 / 15 = \dots$  das ist schon schwieriger ! Mit der Hilfskonstruktion, dass  $0.9 \times 100 = 90$  ist geht es leichter:  $90 / 15 = 6$ . Jetzt wieder zurück,  $6 / 100 = 0.06$ .

- d) Die ursprüngliche Enzymlösung wies eine Aktivität von ..... 30 ... U/mL auf.  
 Jetzt auf 1 mL und dann mal Verdünnung. RECHNUNG:  $0.06 \times 5 = 0.3$ ;  $0.3 \times 100 = 30$