

1. EnzymeLab kennenlernen

V 1.2; III 7.3.04

1 Starten Sie einen Browser und gehen Sie zu der obigen Internetadresse!

Klicken Sie in der Liste der Labore auf den Button „EnzymeLab“!

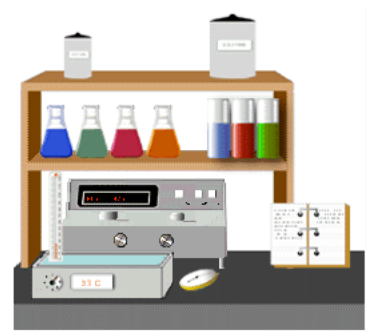
Geben Sie Ihren „Login name“ und Ihr Passwort ein!

Auf der Informationsseite klicken Sie auf „Start“; Das Applet wird heruntergeladen.

2 Auf der Startseite sehen Sie das Labor:

Klicks auf die verschiedenen Gefäße oder Geräte liefern Erklärungen

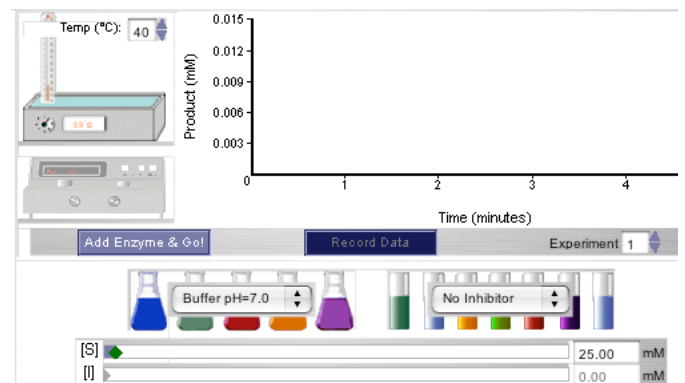
Links sehen sie ein Bedienungsmenü:



3 Starten Sie ein Experiment!

Hier sehen Sie die verschiedenen Parameter, die man verändern kann:

Temperatur und pH-Wert,
Substrat- und Inhibitorkonzentration
([S]; [I])



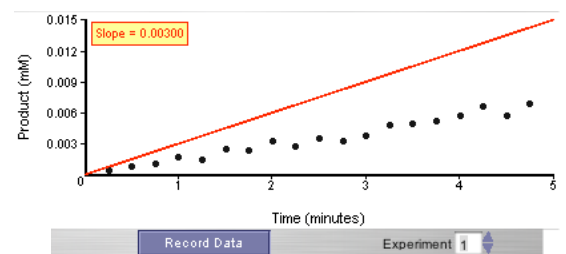
4 Führen Sie ein Experiment durch!

- Parameter wählen, **Add Enzyme & Go!** klicken und laufen lassen.

- Das Ergebnis ist eine Serie von Messpunkten: Außerdem wird eine rote Ausgleichsgerade gezeigt, die man mit der Maus ziehen kann, bis sie zu den Messwerten passt.

- Ihre Steigung ("slope") liefert **einen** der gesuchten Werte für die Geschwindigkeit v der Reaktion!

- Bestimmen Sie weitere v -Werte; jeweils vorher „Record Data“ und „Clear Experiment“ anklicken.



5 Auswertung: **Plot Data**

2. Anwendung: Optimierung industrieller Fermenter

V 1.2; 7.3.04

1 Problem

Die Invertase soll industriell eingesetzt werden um in einem großen Fermenter aus Rübenzucker (Saccharose) Traubenzucker (Glucose) und Fruchtzucker (Fructose) zu gewinnen.

Dazu müssen die optimalen Bedingungen für die Funktion der Invertase bestimmt werden.

**Sie sollen herausfinden,
bei welchem pH-Wert und welcher Temperatur
der Fermenter „gefahren“ werden muss!**

2 Arbeitsmethode

Am besten arbeiten Sie in 2 Gruppen:

Gruppe A sucht das Temperaturoptimum in neutralem Medium (pH 7.0).

Gruppe B sucht das pH-Optimum bei der „default“-Temperatur 40°C.

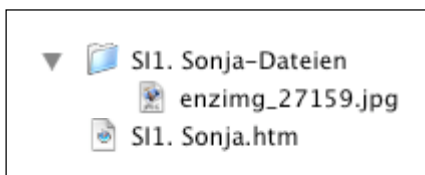
3 Datensicherung

„Exportieren“ (=Speichern) bzw. drucken Sie die Ergebnisse für die weitere Arbeit zu Hause oder in der nächsten Stunde.

Das Programm speichert eine .htm-Seite (hier: S11.Sonja.htm), die Ihre eingegebenen Ergebnisse enthält (hier: Versuchsnummer und Best Temp) sowie einen Verweis auf das Bild.

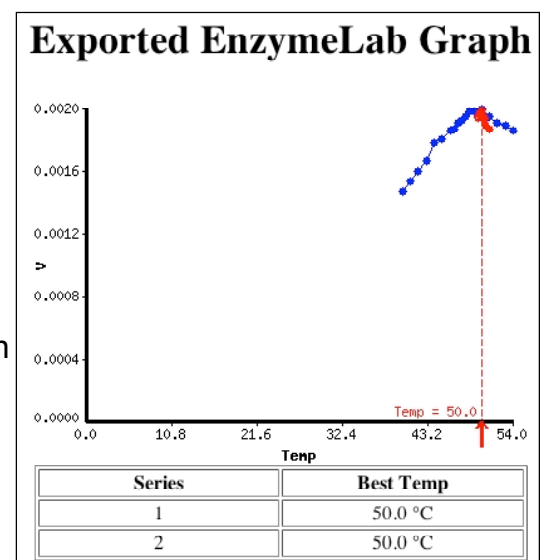
Auf derselben Ebene wird ein Ordner „Dateiname-Dateien“ (hier: S11.Sonja-Dateien)

mit den Grafiken im .jpeg-Format abgelegt (mit automatischem Namen, hier: „enzimg_27159.jpg“)



4 Validierung der Ergebnisse

Tauschen Sie die Ergebnisse zwischen den Gruppen aus und überprüfen Sie, bei welchen Werten das **gemeinsame** Optimum für beide Faktoren liegt!!



5 Abschlussgutachten

Formulieren Sie ein „Gutachten“, in dem auch angegeben wird, welche „Ertragseinbuße“ (als Prozent der Produktmenge) die Firma hat, wenn die Temperatur um 1° (oder 5°) bzw. der pH-Wert um 0,5 schwankt.

Welche Regelungspräzision würden Sie den Technikern also vorgeben?

3. Theorie: Michaelis – Menten – Kinetik

V 1.2; 7.3.04

1 Problem

Die Invertase gibt es in verschiedenen Versionen aus verschiedenen Organismen. Außerdem kann man sie gentechnisch verändern bzw. „verbessern“.

Aber was ist eine „besseres“ oder „schlechteres“ Enzym?

2 Literatur

Stryer: Biochemie. Spektrum-Verlag 1995 (5.Auflage) S.495

Bickel u.a.: Natura 3. Klett-Verlag 1995 S.48f

Bayrhuber u.a.: Linder Biologie. Metzler/Schroedel 1998 (21.Auflage) S.121ff

Weber: Biologie Oberstufe Gesamtband. Cornelsen 2002 S.66ff

Sie sollen herausfinden, wie gut die hier vorgestellte Invertase ist!

3 Arbeitsmethode

Arbeiten Sie wieder in 2 Gruppen:

Beide Gruppen variieren die Substratkonzentration.

(Schieber benutzen oder besser rechts Zahlen eingeben und mit „enter“ bestätigen)

Gruppe A arbeitet bei den „default“ - Einstellungen 40° und pH 7,0

[S] 

Gruppe B arbeitet mit den vom Kurs erarbeiteten Optima.

4 Grafische Auswertung („plot data“)

Wählen Sie den Diagrammtyp „ v_o vs. [S]“!

Mit den Schiebern (Pfeilen) an **beiden** Achsen können Sie eine Ausgleichskurve finden. Ergänzen Sie Ihre Versuchsdaten, so dass eine möglichst genaue Übereinstimmung mit einer der einstellbaren Kurven erzielt werden kann.

Lesen Sie die Werte von v_{max} und K_m ab!

Versuchen Sie eine Interpretation! *Notfalls* befragen Sie Ihr Schulbuch!

5 Interpretation

v_{max} liegt bei und bedeutet:

K_m liegt bei und bedeutet:

Erläuterung der Enzymabhängigkeit von der Substratkonzentration auf die Rückseite!

6 Ergebnis

Vergleiche die gemessenen Zahlen mit denen anderer Enzyme aus dem Internet oder der Literatur.

Für einen noch besseren Vergleich benötigt man die „Wechselzahl“ der Invertase.

Dazu hier demnächst mehr.

4a. Theorie: Mathematik und Lineweaver- Burk- Diagramm

V 1.2; III 7.3.04

soon to come:

1 Die Michaelis-Menten-Gleichung

- Gleichung
- Bezug zu K_m
- Überlegungen für sehr kleine und sehr große $[S]$

2 Das Lineweaver-Burk-Diagramm - eine „doppelt reziproke“ Darstellung

- Herleitung
- Interpretation nach klassischer „Schulmathematik-Schreibweise“
- Nutzung zur Bestimmung von v_{max} und K_m

4b. Experiment: Inhibition und Lineweaver- Burk- Diagramm

V 1.2; III 7.3.04

1 Problem

Enzyme werden durch „Inhibitoren“ in ihrer Aktivität behindert oder gesteuert.

Eine „Behinderung“ des Hämoglobins liegt vor, wenn man CO einatmet;
Schwermetalle hemmen viele Enzyme, Medikamente sollen es gezielt tun.

Die Inhibitoren wirken auf ganz verschiedene Weise.

**Sie sollen die in EnzymeLab angebotenen Inhibitoren
auf ihre Wirkungsweise testen.**

2 Vorgehensweise

Bilden Sie 3 Gruppen; jede Gruppe beschäftigt sich mit einem der Inhibitoren:
Acarbose, DRI-Inhibitor B und I-Arabinose.

Ein Versuch besteht in der Erstellung eines Lineweaver-Burk-Diagramms mit
einer Konzentration Ihres Inhibitors.

Sie müssen also das ganze Spektrum geeigneter Substratkonzentrationen durchmessen.
Die pH- und Temperaturwerte sollten von allen Kursteilnehmern einheitlich verwendet werden;
entweder Sie nehmen die „default“-Werte (pH=4,0; t=40°) oder die von Ihnen vorher
bestimmten Optima.

Sie sollten ca. 4 solche Versuche durchführen, also Diagramme zu 4 verschiedenen Inhibitor-
konzentrationen erstellen.

3 Sicherung zur Auswertung

Berechnen Sie für jedes Diagramm aus den mit den Schiebern eingestellten Werten für
 $1/v_{\max}$ und $1/K_m$ mit dem „Calculator“ des EnzymeLab oder Ihrem Taschenrechner die
Werte für v_{\max} und K_m und tragen Sie sie in die entsprechenden Felder ein.

Speichern Sie jedes Diagramm unter einem sprechenden Namen! (z.B. Inhib_1_Vorname)

4 Auswertung

Vergleichen Sie die Diagramme sowie die Werte von v_{\max} und K_m untereinander!

Was ändert sich?

Informieren Sie sich (noch einmal) über die Modellvorstellung einer Enzym geförderten
Reaktion und erarbeiten Sie Vermutungen, wie und wo die Inhibitoren eingreifen!

Vergleichen Sie mit den Hemmungstypen, die in der Literatur beschrieben sind!