

EnzymeLab

<http://www.biologylab.awlonline.com>

Das Enzyme Lab ist ein virtuelles Labor in dem enzymatische Reaktionen getestet werden können. Dem Benutzer sollen hier in einfacher Form Prinzipien der Enzymkinetik und die experimentelle Laborarbeit vermittelt werden. Man hat dazu die Möglichkeit Reaktionsgeschwindigkeit und die optimalen Arbeitsbedingungen des Enzymes Invertase unter verschiedenen experimentellen Bedingungen zu erarbeiten. Getestet werden kann die Umsatzrate des Enzyms bei unterschiedlichen Temperaturen, unterschiedlichem pH sowie verschiedenen Inhibitor- und Substratkonzentrationen. Die experimentellen Schritte werden in einer Sättigungskurve (Produkt gegen Zeit) ausgegeben und gleichzeitig in einem Experimentbogen übertragen. Zur Auswertung der Experimentreihe kann sich der Benutzer die erfassten Daten als Geschwindigkeits- Zeit Diagramm ausgeben lassen und so den optimalen Arbeitsbereich des Enzymes ermitteln.

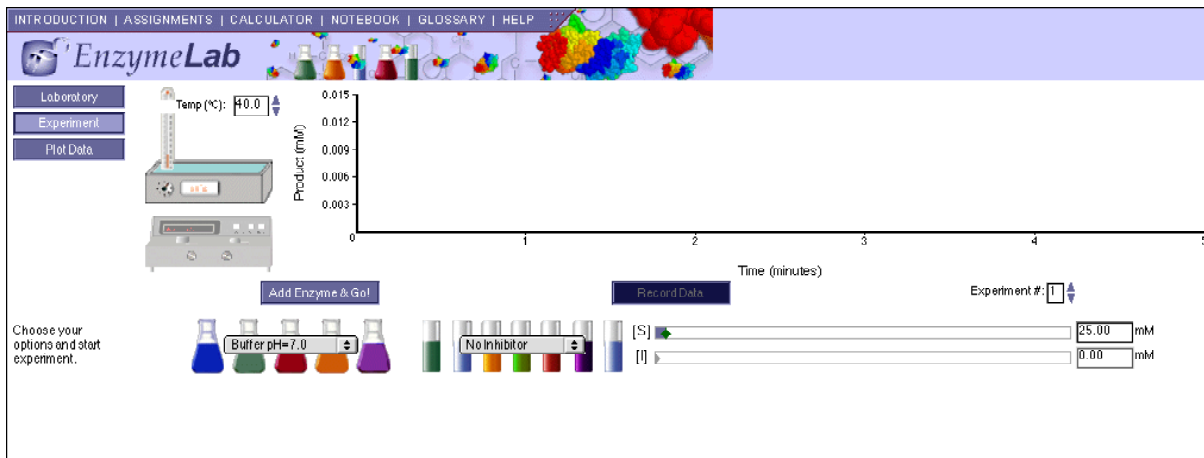
Umgang mit dem Lab



Wird das Enzyme Lab gestartet, erscheint auf dem Bildschirm der virtuelle Arbeitsplatz. Zunächst sollte man sich mit den Utensilien auf dem Labortisch vertraut machen. Durch Anklicken der Abbildungen erhält man Informationen über Funktion und Anwendung der einzelnen Geräte. Hat man sich mit den Arbeitsmaterialien vertraut gemacht kann mit dem Versuch durch anklicken des Experiment Buttons links oben im Fenster begonnen werden.

EnzymeLab

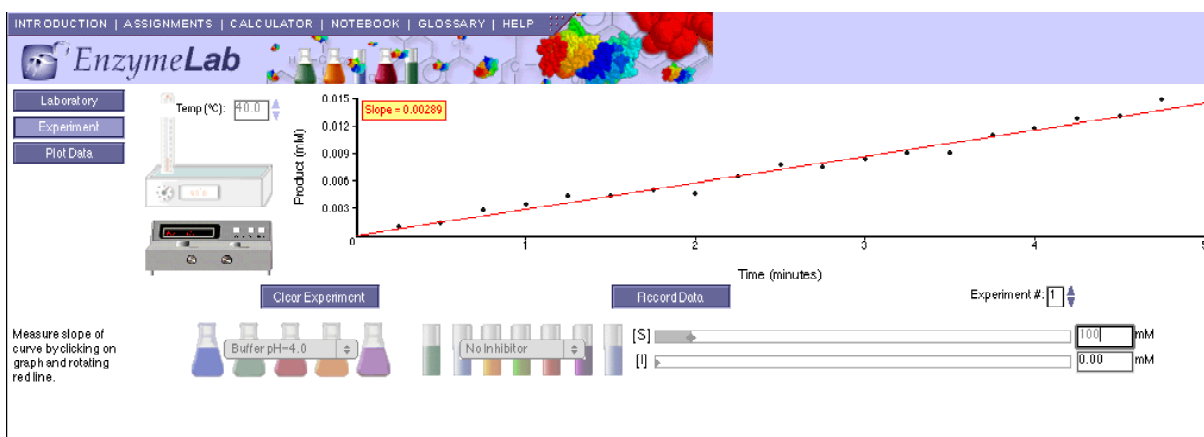
<http://www.biologylab.awlonline.com>



Das Enzyme Lab arbeitet folgendermaßen: In einem Reagenzglas wird mittels Pufferlösung ein konstanter pH für die Substratlösung (Saccharose) hergestellt. Falls gewünscht können außerdem Inhibitoren zugesetzt werden. Im Wasserbad kann das Gemisch nun auf eine bestimmte Temperatur eingestellt werden. Das Experiment wird durch die Zugabe einer Enzymlösung gestartet. Für jeden Versuch zeichnet ein Spektrometer das Absorbtionsspektrum des entstandenen Produkts Glucose bei einer Wellenlänge von 450 nm auf. Die Daten werden als Funktion der Produktkonzentration in Mikromol (mM) gegen Zeit in Minuten (min) im Koordinatensystem angegeben. Die so ermittelten Daten werden nach einer Mittelwertbestimmung in ein Experimentalbum übertragen.

Prinzipielle Vorgehensweise

In Experimenten mit dem Enzyme Lab kann jeweils nur ein Parameter in der Versuchsanordnung verändert werden (Warum?), um die Enzymreaktion zu testen und eine Bestimmung des optimaler Arbeitsbereich durchzuführen. Hierzu wird der jeweilige Parameter (z.B. Temperatur) während des Experiments in kleinen Schritten gesteigert. Wie in realen Experimenten mit Enzymen wird hier das Enzym erst zuletzt durch anklicken des Buttons „Add Enzyme & Go“ in das Reagenzglas gegeben (Warum zuletzt?). Die in der Spektroskopie ermittelte Produktkonzentrationen werden als Punktgerade in einem Koordinatensystem (auf dem Bildschirm neben Wasserbad und Spektrometer) angezeigt. Im Koordinatensystem ist außerdem eine rote Gerade zu sehen die per Mausklick bewegt werden kann. Sie dient der Mittelwertbestimmung der angezeigten Werte und muß durch den ungefähren mittleren Verlauf der Punktgeraden gelegt werden.



EnzymeLab

<http://www.biologylab.awlonline.com>

Anschließend werden die Daten durch Anklicken des Buttons „Record Data“ in das Experimentalbum übertragen. Um die Versuchsreihe fortzusetzen klickt man auf den Button „Clear Experiment“.

Sind alle Daten der Versuchsreihe erfasst, kann die Auswertung des Experimentes beginnen. Dazu klickt man auf den Button „Plot Data“ links oben im Fenster des Enzyme Labs.

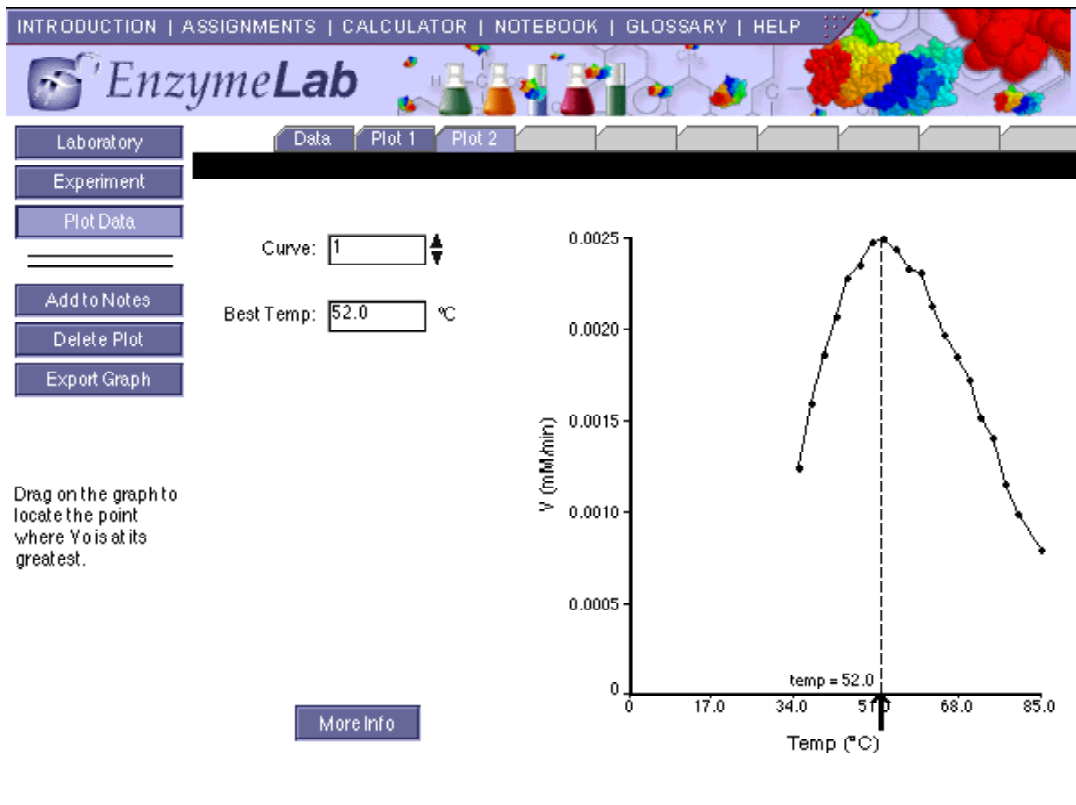
The screenshot shows the EnzymeLab software interface. At the top, there is a navigation bar with links: INTRODUCTION | ASSIGNMENTS | CALCULATOR | NOTEBOOK | GLOSSARY | HELP. Below this is the EnzymeLab logo and a decorative banner with laboratory glassware. On the left side, there is a vertical menu with buttons: Laboratory, Experiment, Plot Data, Add to Notes, Delete Curve, and Delete Selected. The main area contains a form for plotting data with fields for Title, Plot, Data for curve, Plot Type (set to 'Y0 vs. [S]'), Symbol (set to 'Circle'), and Color (set to 'Black'). A 'Plot Selected Data' button is also present. Below the form is a data table with the following columns: Expt, [S], Inhibitor, [I], Temp, pH, and Y0. The table contains 8 rows of data. On the left side of the table, there is a note: 'Shift-Click rows to select data to be plotted. Click column titles to sort data.'

Expt	[S]	Inhibitor	[I]	Temp	pH	Y0
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	3.0	0.00100
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	4.0	0.00289
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	5.0	0.00300
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	6.0	0.00257
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	7.0	0.00217
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	8.0	0.00176
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	9.0	0.00129
1	100.00mM	No Inhibitor	0.00µM	40.0°C	10.0	0.00095

Daraufhin erscheint das obenstehende Fenster. Daten die graphisch erfasst werden sollen (i.d.R. also der komplette Datensatz der Experimentalreihe) müssen in der Tabelle durch Kennzeichen mit der rechten Maustaste markiert werden. Anschließend wird die Art des Plots in dem Feld „Plot Type“ ausgewählt. Nach Betätigung des Buttons „Plot Selected Data“ erhält man eine Funktion die wie im Bild unten aussehen könnte.

EnzymeLab

<http://www.biologylab.awlonline.com>



Der unter der x- Achse zu sehende Pfeil ist per Mausklick beweglich und kann zum genauen Ablesen des optimalen Arbeitsbereiches des Enzyms eingesetzt werden.

EnzymeLab

<http://www.biologylab.awlonline.com>

Aufgabenstellung

Sie sind Mitglied eines Forscherteams, das einen bisher unbekanntem Organismus in einer thermalen Quelle entdeckt hat. Die Temperatur des Gewässers liegt zwischen 50°C und 80°C. Aus dem Bakterium konnten verschiedene Enzyme isoliert werden. In vorangegangenen Versuchen konnten Sie feststellen daß eines der Enzyme die Fähigkeit besitzt Saccarose in Glucose und Fructose aufzuspalten. Es bleibt nun herauszufinden unter welchen Bedingungen das Enzym seinen optimalen Arbeitsbereich hat.

1. Temperatur und Enzymaktivität

Sie wollen ermitteln bei welcher Temperatur das Enzym die höchste Umsatzrate an Substrat erreicht. Sie führen dazu im Enzyme Lab ein entsprechendes Experiment durch. Überlegen Sie sich zunächst in welchem Temperaturbereich das Experiment am sinnvollsten ist und wie groß die Temperaturschritte zwischen den Versuchen gewählt werden sollten. Arbeiten Sie dazu mit einer Substratkonzentration von 90 mM.

- a) Entwickeln Sie eine Hypothese welchen Einfluß eine steigende Temperatur auf die Aktivität eines Enzyms hat. Was erwarten Sie im Experiment? Begründen Sie ihre Vermutungen.
- b) In jedem Versuchsteil wird Ihnen eine Funktion des entstandenen Produktes gegen die Zeit ausgegeben. Hätten Sie diesen Kurvenverlauf erwartet? Begründen Sie ihre Antwort.
- c) Auswertung der Versuchsdaten: Betrachten Sie die Funktion der Reaktionsgeschwindigkeit V_0 des Enzyms gegen die Temperatur. Bei welcher Temperatur hat das Enzym seinen optimalen Arbeitsbereich?
- d) Betrachten Sie den Kurvenverlauf der Funktion. Ist der Kurvenverlauf symmetrisch oder asymmetrisch? Wie kommt dieser Kurvenverlauf zustande? Erarbeiten Sie eine Hypothese.
- e) Überlegen Sie sich welchen Einfluss eine veränderte (höher oder niedriger) Substratkonzentration auf die Ergebnisse Ihres Temperaturversuchs haben könnte. Formulieren Sie eine Hypothese und überprüfen Sie ihre Vermutungen anschließend mit dem Enzyme Lab. Bei welcher Temperatur führen Sie den Versuch sinnvollerweise durch? Bevor Sie mit dem Experiment beginnen müssen Sie in dem Feld Experiment (über dem Schieberegler der Substratkonzentration) eine 2 eintragen da ansonsten die neu erarbeiteten Ergebnisse an ihr vorangegangenes Experiment angereicht werden.

EnzymeLab

<http://www.biologylab.awlonline.com>

2. pH und Enzymaktivität

Sie wollen ermitteln bei welchem pH das Enzym die höchste Umsatzrate an Substrat erreicht. Sie führen dazu im Enzyme Lab ein entsprechendes Experiment durch. Überlegen Sie sich zunächst wie groß die Schritte der pH Veränderung zwischen den Versuchen gewählt werden sollten. Arbeiten Sie mit einer Substratkonzentration von 90 mM.

- Entwickeln Sie eine Hypothese welchen Einfluß ein steigender pH auf die Aktivität eines Enzyms hat. Was erwarten Sie im Experiment? Begründen Sie ihre Vermutungen.
- In jedem Versuchsteil wird Ihnen eine Funktion des entstandenen Produktes gegen die Zeit ausgegeben. Hätten Sie diesen Kurvenverlauf erwartet? Begründen Sie ihre Antwort.
- Auswertung der Versuchsdaten: Betrachten Sie die Funktion der Reaktionsgeschwindigkeit V_0 des Enzyms gegen den pH. Bei welchem pH hat das Enzym seinen optimalen Arbeitsbereich?
- Betrachten Sie den Kurvenverlauf der Funktion. Ist der Kurvenverlauf symmetrisch oder asymmetrisch? Wie kommt dieser Kurvenverlauf zustande? Erarbeiten Sie eine Hypothese.
- Überlegen Sie sich welchen Einfluss eine veränderte (höher oder niedriger) Temperatur auf die Ergebnisse Ihres Versuchs haben könnte. Formulieren Sie eine Hypothese und überprüfen Sie ihre Vermutungen anschließend mit dem Enzyme Lab. In welchem pH Bereich arbeiten Sie am sinnvollsten? Bevor Sie mit dem Experiment beginnen müssen Sie in dem Feld Experiment (über dem Schieberegler der Substratkonzentration) eine 2 eintragen da ansonsten die neu erarbeiteten Ergebnisse an ihr vorangegangenes Experiment angereicht werden.

3. Diskussion und Auswertung

Nachdem Sie die Auswertung ihrer Versuche abgeschlossen haben schauen Sie sich die unten stehende Tabelle an. Diskutieren Sie mit den Mitgliedern der anderen Gruppe darüber, mit welchem Enzym Sie die Versuche durchgeführt haben. Formulieren Sie gemeinsam eine Begründung Ihrer Vermutung. Kennen Sie das Enzym eventuell von anderen Organismen? Wie könnte es der Organismus geschafft haben den Arbeitsbereich des Enzyms zu modifizieren?

Enzymart	Produzierender Mikroorganismus	Arbeitsbereich
A Amylase	Aspergillus niger, Bacillus subtilis	pH 6.5-7 35°C-37°C
Lipase s	Pseudomonas spec., verschiedene Pilze	pH 8.0 40°C
Invertase	Aspergillus oryzae	pH 5.0 ca. 50°C