

Enzymkinetik mit Kartoffeln

Zentralkurs Chemie 2003

Matthias Küng

MNG Bern-Neufeld

kueng@gartenstrasse18.ch

Michaelis-Menten-Kinetik

nach Michaelis, L. & Menten, M. (1913) Biochem. Z. 49, 333.



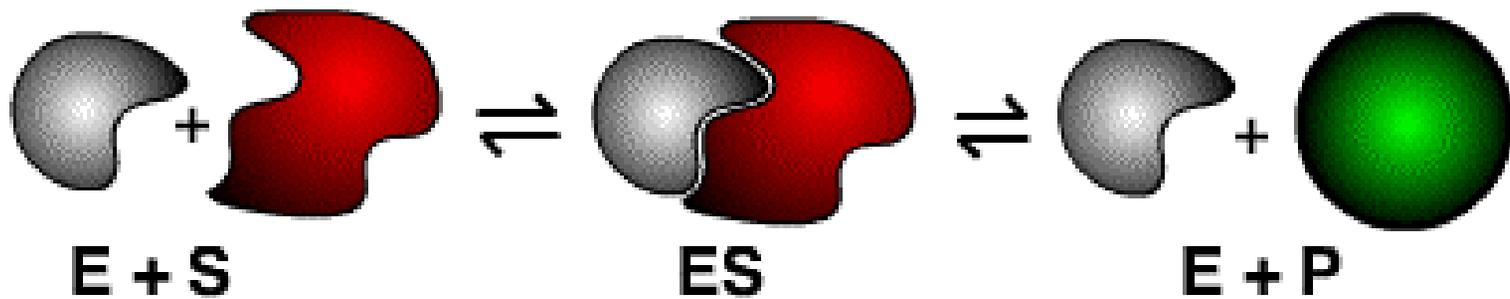
Maud Menten (1879 – 1960)



Leonor Michaelis

Leonor Michaelis (1875 – 1949)

Ausgangslage



Vorwissen – Einbettung im Unterricht

- Chemie der Aminosäuren
- Katalysatoren
- (Auf-)bau von Proteinen;
Wechselwirkungen
- Kooperativität und Allosterie (am Beispiel
von Hämoglobin)
- **Theorie Enzyme und Enzymkinetik**

Ziele

- *Praktische* Biochemie mit einfachen Mitteln
- Anwendung der theoretischen Kenntnisse über Enzymkinetik
- *Eigenständige* Charakterisierung eines Enzym/Substratpaares
- Konfrontation mit alltäglichen Problemen in der naturwissenschaftlichen Laborarbeit

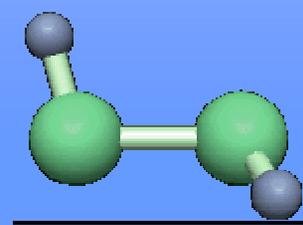
„Chemikalien“

- Kartoffeln:



(Enzym)

- Wasserstoffperoxid:



(Substrat)

- Hydroxylamin-hydrochlorid

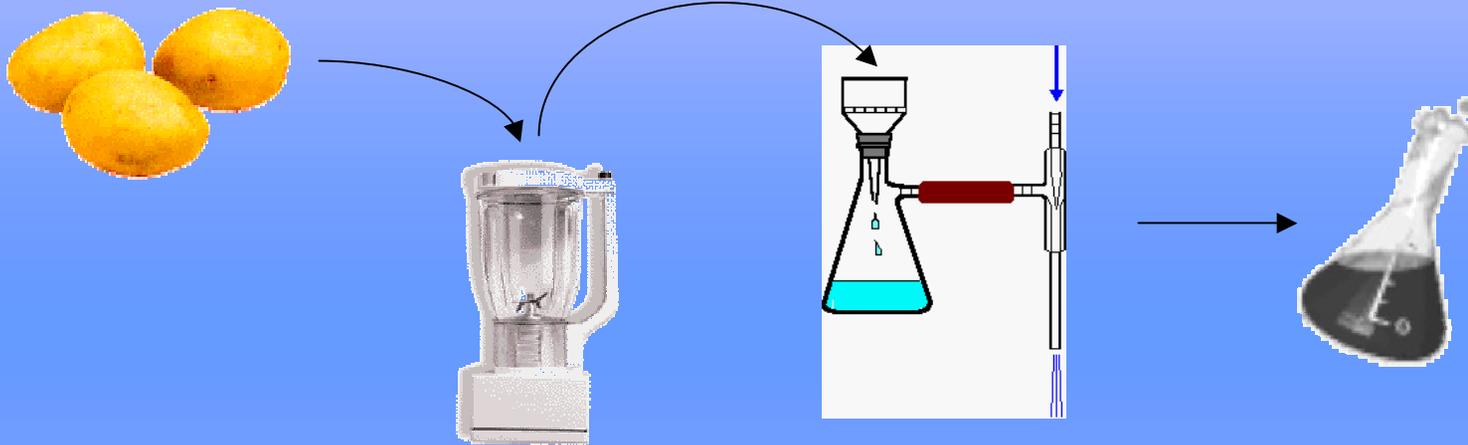


(Inhibitor)

Material (pro Gruppe)

- 15 Bechergläser (100 ml)
- 1 Messzylinder (100 ml)
- Becherglas (500 ml)
- 1 Eisbehälter (Styroporbox)
- 1 Saugflasche inkl. Filternutsche mit Filterpapier
- Indikatorpapier
- Homogenisator (Mixer)
- Pinzette
- Pasteur-Pipetten
- ca. 100 Papierfilter
(Ø 20 mm, Schleicher & Schuell Rundfilter 582/2,
Bestellnr.:300 132)

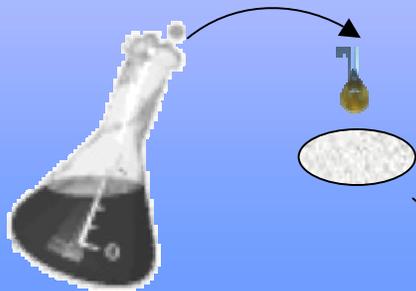
Allgemeines Vorgehen (I)



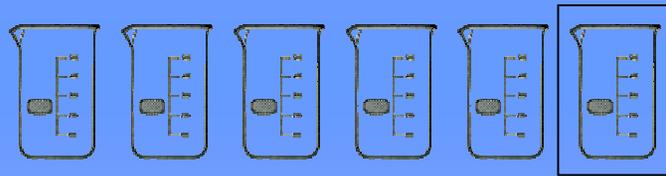
Eine oder zwei Kartoffeln werden geschält, in kleine Würfel geschnitten und in einem Mixer in Eiswasser homogenisiert.

Der Zellsaft wird durch Filtration unter Vakuum von Zelltrümmern befreit und auf Eis aufbewahrt. Er enthält das Enzym Katalase.

Allgemeines Vorgehen (II)



Das Zell-Lysat mit dem Enzym wird auf Papierfilter aufgetragen und in das Becherglas getaucht.



H_2O_2 wird unter verschiedenen Bedingungen in Bechergläsern gelöst vorgelegt



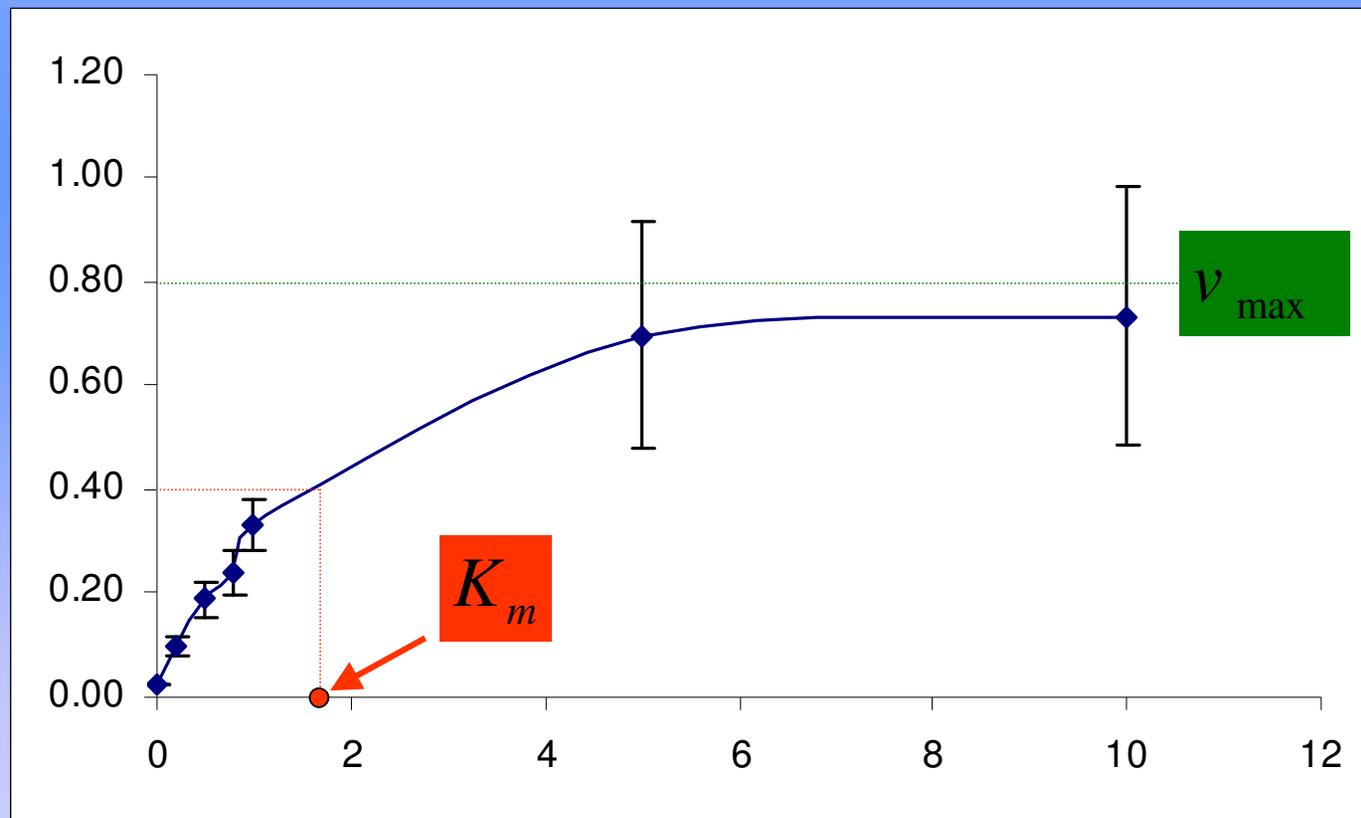
Die Auftauchzeit wird als Funktion der verschiedenen Reaktionsparameter (pH, H_2O_2 -Konzentration) etc. aufgetragen.

Ziele des Versuchs

- Präparation eines „Enzymextrakts“
- Aufnahme einer Substratsättigungskurve
- Bestimmung von K_m
- pH-Abhängigkeit der Enzymaktivität
- Enzymhemmung, Bestimmung des Hemmtyps
- Diskussion der Resultate

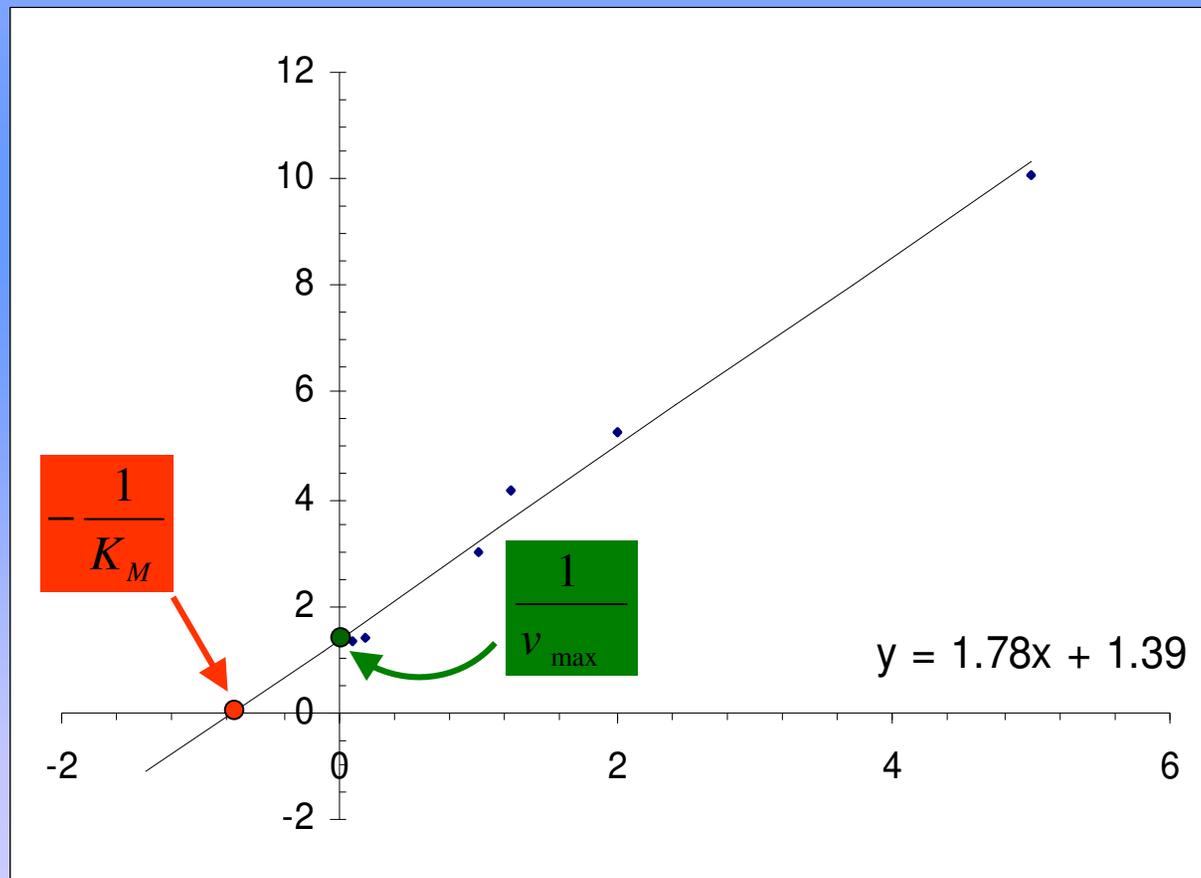
Typische Resultate (I)

V2: Substratsättigungskurve



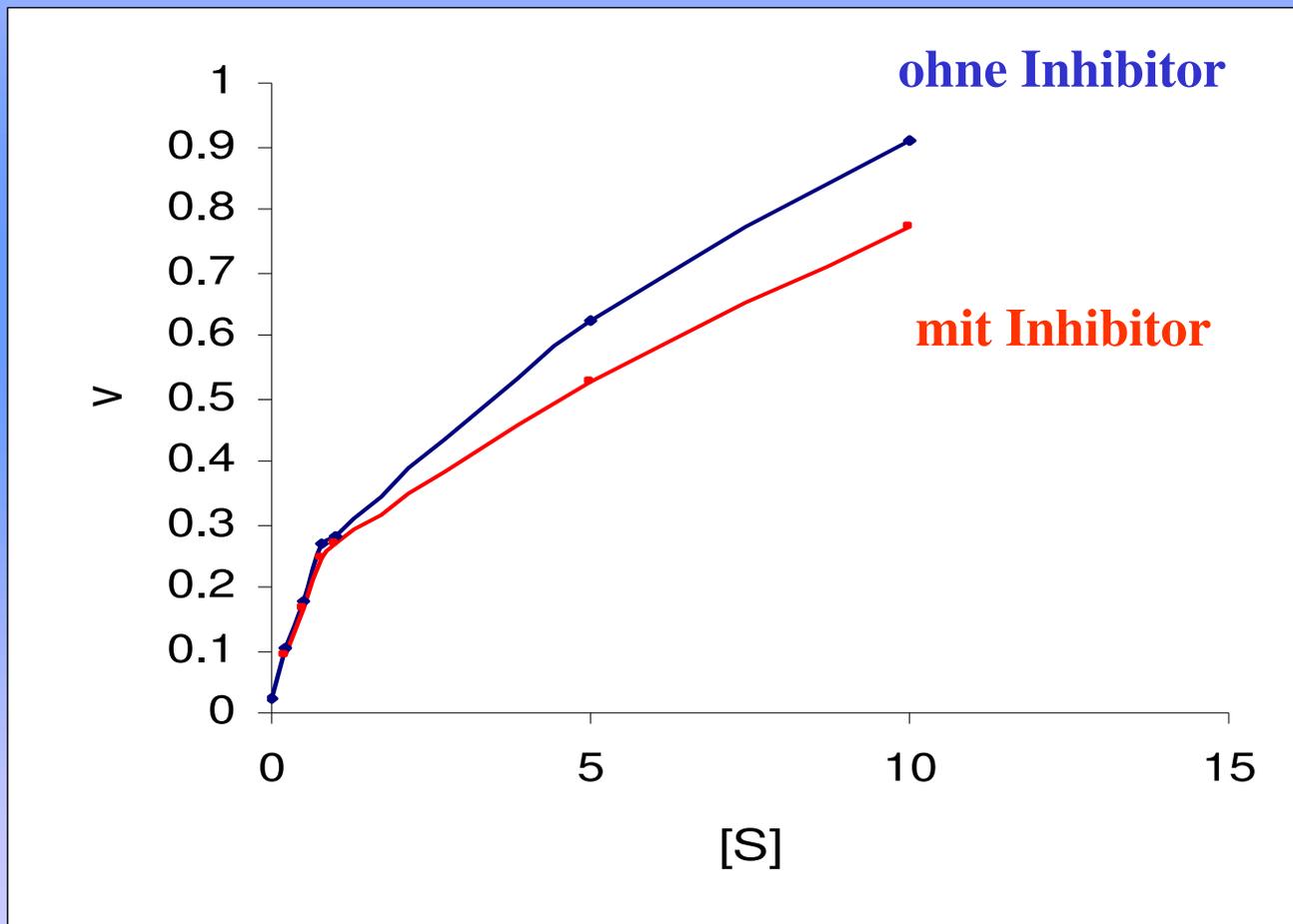
Typische Resultate (II)

V2: Lineweaver-Burk-Plot, Bestimmung von v_{\max} und K_m



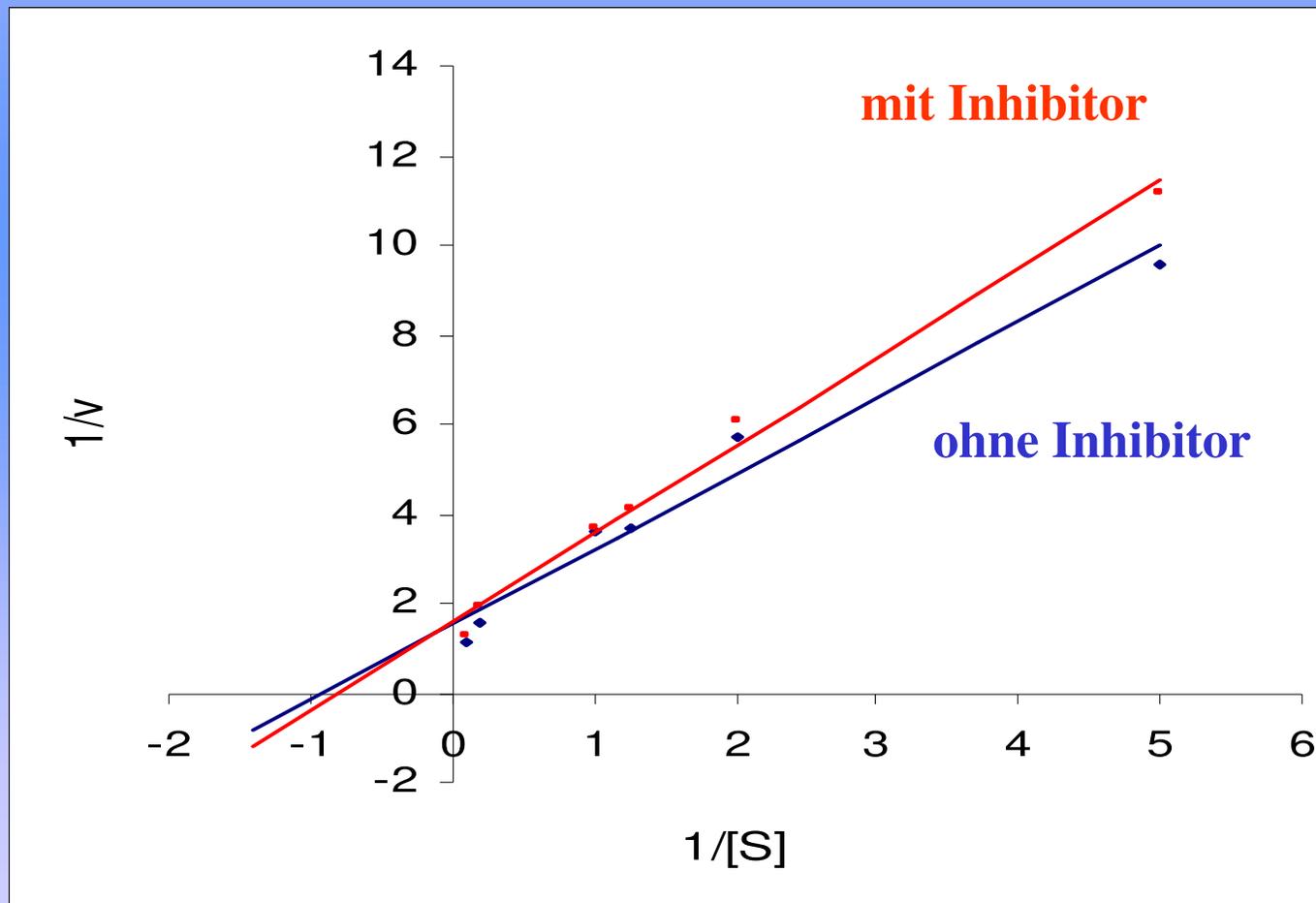
Typische Resultate (III)

V4: Enzymhemmung



Typische Resultate (IV)

V4: Enzymhemmung: Bestimmung des Hemmtyps



Probleme - Bemerkungen

- Zeitlicher Aufwand
- Kartoffelsorten, Jahreszeit
- Fehlerquote, „Handling“, Zeiteinteilung
- Hemmtyp
- „Enttäuschung“ vs. realer Laboralltag
- Optimierung → Maturarbeit!

Infos - Literatur

- **Originalliteratur:**

Nichols, B.A.D. und Cholewiak, L.B. (1991) in “Tested studies for laboratory teaching” 12 (Goldman C.A. ed.) pp. 88-99

- **Katalase:**

<http://www.worthington-biochem.com/manual/C/CTL.html>

- **Simulation Enzymkinetik**

http://www.oup.co.uk/best.textbooks/chemistry/pchem7/living_graphs/P726C12.html

Dokumentendownload

<http://www.gartenstrasse18.ch/webdocs/...>

- Originalliteratur (pdf):
...EnzymkinetikKatalaseoriginal.pdf
- Praktikumsvorschrift Kü (pdf):
...EnzymkinetikKatalasePraktikumsvorschrift.pdf
- Präsentation (pdf):
...EnzymkinetikKatalasePraesentation.pdf

Matthias Küng

Gartenstrasse 18

3074 Muri

MNG Bern-Neufeld

Bremgartenstrasse 132/133

kueng@gartenstrasse18.ch

www.gartenstrasse18.ch

Weitere Infos unter