

Experiment zur Enzymkinetik

Beitrag von „Wollsocken80“ vom 7. Oktober 2020 19:55

Eine Frage an alle, die Chemie bzw. Biologie in der Oberstufe unterrichten: Hat jemand von euch schon mal eine vollständige Michaelis-Menten-Kinetik im Experiment gemacht? Auf den "üblichen" Seiten, also Blume & Co., findet man meist das Beispiel Urease beschrieben, deren Aktivität sich über den Farbumschlag von Phenolphthalein verfolgen lässt. Als maximale Substratkonzentration wird meist sowas wie 0.3 mol/L Harnstoff angegeben. Jetzt war meine Idee, im Lehrerexperiment vielleicht nicht gerade den ganzen Kurvenverlauf vorzukaspern sondern eine Verdoppelung im niedrigen Konzentrationsbereich und eine Verdoppelung im hohen Konzentrationsbereich zu zeigen in der Hoffnung, dass man dann sieht, dass man bei hohen Konzentrationen eben keinen Unterschied mehr sieht. Problem: Ich habe den übeln Verdacht, dass die Urease bei zu hohen Harnstoffkonzentrationen (also jenseits der 0.3 mol/L) stirbt. Harnstoff --> Chaotrop --> Enzymtod?

Ich weiss, dass die Kollegen in der Bio das nicht im Experiment machen sondern einfach nur die Kurve zeigen und dann vielleicht noch einen Reagenzglasversuch zur Enzymhemmung. Irgendwie finde ich das aber auch ein bisschen blöd wenn man den Unterschied zwischen einer allosterischen und einer kompetitiven Hemmung gar nicht so wirklich sieht. Also gehemmt ist in dem Fall dann ja einfach gehemmt. Man müsste irgendwie sehen können, dass die kompetitive Hemmung bei hohen Substratkonzentrationen wieder aufgehoben wird, aber da beobachte ich das gleiche Phänomen: Urease stirbt an der insgesamt zu hohen Harnstoff-Konzentration.

Alternativ wird noch Lactase mit so einem derivatisierten Galactose-Dings beschrieben, das wird gelb, wenn es gespalten wird. Mein Bauchgefühl sagt mir, dass das besser geeignet ist, aber das Galactose-Dings ist teuer und darum wüsste ich einfach gerne, ob es sich lohnt, das zu bestellen. Wenn's also jemand kennt, das wäre toll 😊

Beitrag von „ernsthaft“ vom 9. Oktober 2020 16:55

Kommt drauf an. Hast du ein Fotometer, Küvetten und Pipetten?

Du kannst auch den Versuch mit der alkalischen Phosphatase und p-Nitrophenylphosphat machen, welches dann zu dem farbigen (gelblichen) p-Nitrophenol umgewandelt wird. Der Versuch klappt immer.

Beitrag von „Ummmon“ vom 9. Oktober 2020 18:50

Alternativ, wie wäre es mit Katalase und Wasserstoffperoxid? Kann man auch ganz gut (halb-)quantitativ auswerten.