

Die „*Gehschule*“ ist ein Teil der Biochemischen Übungen für das Bakkalaureat LMBT. Aus organisatorischen Gründen wird dieser Test gleichzeitig mit bzw. ab jetzt (Feb. 2015) im Anschluss an die Prüfung aus Grundlagen der Biochemie angeboten. Die Gehschule beginnt jeweils 90 min nach der VO-Prüfung (also bei der Türe auf Einlaß warten). Jene, die schon bei der VO-Prüfung sitzen, können sitzen bleiben oder zwischendurch den Saal verlassen.

Das Abschneiden bei der Gehschule hat keinen Einfluß auf die Vorlesungsprüfung. Der Test muss jedoch positiv absolviert werden, um das Anrecht auf einen Übungsplatz zu erwerben, obschon im Ausnahmefall Bewerber mit negativem Test auch aufgenommen werden.

Eigentlich haben Sie all diese einfachen Rechnungen schon einmal gelernt. Um sicherzustellen, dass Sie im Biochemie Labor diese grundlegenden Kenntnisse rasch anwenden können, gibt es diese Auffrischung. Der Einfachheit und dem geringen Stoffumfang steht die hohe Anforderung gegenüber, dass Sie mindestens 3 von 4 Rechnungen bewältigen müssen.

Beachten Sie, dass ein Ergebnis ohne Angabe der Einheit als nicht völlig richtig gilt.

Typische Fragen für den Gehschul-Teil:

Typ 1: Mengen und Konzentrationen:

Für enzymkinetische Untersuchungen legen Sie 0.2 mL einer 5 mM Substratlösung vor. Der fertige Inkubationsansatz hat ein Volumen von 2 mL.

a) Welche Substratkonzentration findet das Enzym vor ? (1 P.)

0.2 mL aufgefüllt auf 2 mL ... 10-faches Volumen, 1/10 der Konzentration ... 0.5 mM

b) Welche Substratmenge ist in dem Ansatz ? (2. P)

Geben Sie das Ergebnis in der Einheit nmol an.

0.5 mM bzw. 0.5 mmol/L bedeutet 0.5 μ mol pro mL, d.h. 1 μ mol in 2 mL

Für eine Enzymbestimmung machen Sie eine Kalibrationskurve. Dafür setzen Sie 100 μ L einer 0.4 mM Lösung des Produkts ein und fügen dann allerlei Reagentien zu, sodaß Sie auf ein Endvolumen von 1.2 mL kommen. Welche Menge an Produkt befindet sich nun in dem Meßansatz ? Geben Sie das Ergebnis in der Einheit nmol an.

1.2 mL sind das 12-fache von 0.1 mL

In 50 μ L einer Lösung sind 200 pmol Substanz enthalten. Welche Konzentration hat diese Lösung? Wählen Sie eine geeignete Einheit um das Ergebnis ohne allzuvielen Stellen vor oder nach dem Komma angeben zu können.

50 μ L ... 200 pmol

100 μ L ... 400 pmol

1 mL ... 4000 pmol = 4 nmol

1 L ... 4 μ mol Antwort: 4 μ M

Anmerkung: Hier wird auch auf die Kenntnis und Verwendung der Sub-Einheiten mL, μ L, bzw. mmol, μ mol, nmol, pmol und fmol Wert gelegt. Selbstverständlich sollte die Unterscheidung zwischen Konzentration (M oder mol/L) und Menge (mol) sein.

Ich empfehle sehr grundsätzlich die Verwendung von einfachen Schlußrechnungen gegenüber Formeln, die Sie nicht mehr intuitiv verstehen können.

Typ 2: Prozentangaben

Sie sollen eine 0.2 % (w/v) Lösung eines Proteins herstellen. Wieviel von diesem Protein müssen Sie für 50 ml Lösung einwiegen ?

Annahme: 100 g entsprechen 100 mL
100 % sind somit 50 g
1 % sind 0.5 g
0.2 % sind 0.1 g oder 100 mg

Für die Elektrophorese müssen sie 10 %-iges (w/v) Natriumpersulfat herstellen. Wieviel müssen Sie für 100 µL Lösung einwiegen ? Auch Rechengang !

100 % sind 100 mg
10 % sind 10 mg

Sie sollen eine 0.1 % Lösung eines Proteins herstellen. Wieviel von diesem Protein müssen Sie für 10 mL Lösung einwiegen ?

Hier sind m/v % gemeint.

Sie sollen ungefähr 100 mL einer 20 % (w/w) Lösung von Saccharose herstellen. Wie gehen Sie vor ?

Sie legen 20 g Saccharose vor und füllen auf der Waage auf 100 g auf. Die Lösung wird nicht genau 100 mL haben.

Anmerkung: Hier sollen Sie zwischen die verschiedenen Prozentangaben (w/w, w/v und v/v bzw. auf Deutsch m/m, m/v und v/v) verstehen.

(Überlegen Sie sich auch, ob Sie bei sehr kleinen Volumina überhaupt ganz korrekt vorgehen können und wie man dieses Problem praktisch lösen könnte.)

Typ 3: Molarität von konzentrierten Lösungen

Sie brauchen 500 mL einer 50 mM Phosphorsäure. Sie haben eine konzentrierte Phosphorsäure mit 85 % Gehalt und einer Dichte von 1.71 kg/l. Die Molmasse von Phosphorsäure beträgt 98 g/mol. Wie gehen Sie vor ?

Die Prozentangaben bedeuten hier immer Massenprozent
1 L = 1710 g
85 % davon sind Phosphorsäure = 1453.5 g
dividiert durch 98 g/mol ergeben sich 14.83 mol, die in 1 L enthalten sind
Sie wollen 500 mL einer 50 mM P-säure, d.h. Sie brauchen 25 mmol
1 mL enthält 14.83 mmol, daher enthalten 1.69 mL die gewünschte Menge.

Berechnen Sie die Molarität von 69 % Schwefelsäure (M = 98 g/mol; 1 L = 1.60 kg)

69 % von 1600 g/L = 1104 g/L, $1104 \text{ g/L} / 98 \text{ g/mol} = 11.265 \text{ mol/L}$

Anmerkung: Hier sollten Sie insbesondere auch wissen, welche Art von Prozenten gemeint sind.

Rechentip: Masse eines Liters (in g) x Prozent / 100 = g Stoff je Liter

Typ 4: Puffer

Sie sollen 2 L eines 0.1 M TRIS/HCl-Puffer von pH 8.3 herstellen. Sie haben alle möglichen Sachen im Labor, unter anderem natürlich Tris-hydroxymethylaminomethan ($M = 121$), Natriumhydroxid ($M = 40$), conc. HCl ($M = 36$), ca. 4 M HCl, Waagen, Pipetten, pH-Meter etc. Wie gehen Sie vor?

Zunächst müssen Sie die nötige Menge an Tris einwiegen, das sind 0.2 mol bzw. 24.2 g. Dann fast auffüllen, Mit HCl-Lösung beliebiger Konzentration pH einstellen, auf Marke auffüllen.

Welche Ionen sind für die Pufferwirkung eines Phosphat-Puffers bei pH 7.0 verantwortlich ?



Sie sollen 1 Liter eines 0.1 M Tris / Acetat Puffers von pH 7.5 herstellen. Wie gehen Sie dabei vor? [M(Tris) = 121, M(Essigsäure) = 60 ... was immer Sie dann brauchen].

Wie oben

Sie sollen 2 L eines 25 mM Na-Acetat Puffer von pH 4.9 herstellen. Sie haben alle möglichen Sachen im Labor, unter anderem Na-Acetat tri-hydr. ($M = 136$), Essigsäure ($M = 60$), Natriumhydroxid ($M = 40$), Waagen, Pipetten, pH-Meter etc. Wie gehen Sie vor?

Vorlegen der Essigsäure (50 mmol, also 3 g) und einstellen mit Na-Lauge. Sollte auf der Flasche oder hier etwas von 99.x % stehen, ignorieren Sie es einfach.

Sie sollen 800 mL eines 50 mM Na-Phosphat-Puffers von pH 7.6 herstellen. Es gibt conc. Phosphorsäure ($M = 136$), NaH_2PO_4 ($M = 156$), Na_2HPO_4 ($M = 178$), Salzsäure ($M = 36,5$), Natronlauge ($M = 40$), Waagen, Pipetten, pH-Meter etc. Wie gehen Sie vor ?

Vorlegen von NaH_2PO_4 (40 mmol = 6.24 g) und Einstellen mit Natronlauge

Anmerkung: Die Molarität eines Puffers ergibt sich aus der Summe der Konzentration der puffernden Ionen.

Schritt 1) Welches ist das puffernde Ion ?

Schritt 2) Saure Puffer: Welche saure Form des Puffers lässt sich gut dosieren (Essigsäure, Na- oder K-dihydrogenphosphat etc.)

Basische Puffer: Welche basische Form kann man nehmen (Tris ...)

Schritt 3) Menge berechnen

Schritt 4) Mit Gegenion auf richtigen pH bringen.

Bei Prüfung lieber noch ein paar Worte mehr verlieren, wie Sie das machen !

Typ 5: Extinktionskoeffizient :

NADH hat einen Extinktionskoeffizienten von ca. $6000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. In Ihrem Ansatz von 1 mL steigt die Konzentration in 1 min um 0.12.

a) Welcher Konzentration an NADH entspricht die Veränderung

Wenn nichts anderes angegeben, dann wurde eine 1 cm Standardküvette verwendet.

Der Ex-koeff. bedeutet, dass eine 1 M Lösung eine A von 6000 hätte.

1 mM somit 6

0.1 mM somit 0.6

0.01 mM... 0.06 d.h. A von 0.12 entspricht 0.02 mM

b) Wieviel NADH entsteht pro Minute ?

Konzentrationsanstieg von 0.02 mmol pro Liter und Minute.

Der Ansatz hat 1 mL, d.h. 0.02 μmol oder 20 nmol entstehen pro Minute.

Eine Substanz hat einen molaren Extinktionskoeffizienten von $6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Welche Konzentration hat eine Lösung dieser Substanz, wenn Sie eine Extinktion von 0.3 aufweist?

5 μM

Wenn eine 1 mM Lösung einer Substanz eine Extinktion von 1 aufweist, welchen molaren Extinktionskoeffizienten ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) hat diese Substanz ?

1000

Anmerkung: Wenn nicht anders definiert, misst man mit 1 cm Strahlengang. Sie können das Lambert-Beer Gesetz benutzen oder sich einfach vorstellen, dass der Extinktionskoeffizient die (theoretische) Absorption einer 1 M Lösung angibt.

Typ 6: Verdünnungen

Sie haben eine 200 mM Lösung von Phantasol. Davon nehmen Sie 0.1 mL und fügen 1.9 mL Wasser dazu. Wieviel Phantasol befindet sich in dieser Probe ? Wie würden Sie ein solche Verdünnung nennen ?

0.1 mL einer 200 mM Lösung enthalten 20 μmol ; das ändert sich durch die Zugabe von Wasser nicht. Verdünnung 1 : 20

Sie mischen 0.2 mL einer 5 mM Beispielin-Lösugn mit 3.8 mL Wasser. Wieviel des Stoffes ist in dem Gemisch und welche Konzentration hat es ? Wie würden Sie ein solche Verdünnung nennen ?

1 μmol ; 0.25 mM, 1 : 20,

Sie verdünnen eine 2 mM Lösung von Ascorbinsäure 1:5. Welche Stoffmenge befindet sich dann in 200 μL ?

Konz. ist 0.4 mM = 0.4 mmol / L bzw. 0.4 μmol / mL
80 nmol in 200 μL

Anmerkung: Wenn Sie ein richtiges Ergebnis wollen, machen Sie eine Schlußrechnung. Ansonsten können Sie natürlich auch das Mischungskreuz einsetzen.

Typ 7: Molmasse:

Sie haben 3.5 mg eines Proteins mit einer Molmasse von 70.000 eingewogen. Wieviel μmol und wieviel nmol sind das ?

70.000 g sind 1 mol
70 g sind 1 mmol
70 mg sind 1 μmol . 7 mg sind 100 nmol, 3.5 mg sind 50 nmol

Ein Protein hat eine Molmasse von 50 kDa. Welche Menge und welche Konzentration enthält ist eine Lösung dieses Proteins, wenn 0.5 mL 25 μg enthalten. (Bitte in mmol, μmol , nmol etc. oder mM, μM oder nM angegeben)

0.5 mL enthalten 25.000 ng
50.000 ng sind 1 nmol d.h. wir haben 0.5 nmol in 0.5 mL
1 nmol in 1 mL ... 1 μM

Anmerkung: Was Da und kDa bedeutet ist wohl klar, zur Sicherheit: 1 Da = 1 g/mol.