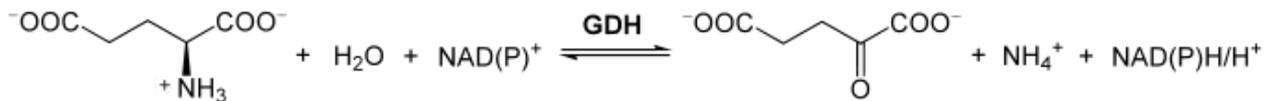


Versuch 6: Spezifität der Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Einführung:

In der Diagnostik spielt die GLDH eine wichtige Rolle, da eine stark erhöhte GLDH-Konzentration im Blut auf Leberschäden bzw. Durchblutungsprobleme der Leber hinweisen. In folgenden Versuchen überprüfen wir die Spezifität dieser Oxidoreduktase.

Reaktion:



Durchführung:

Die Reaktionsgemische wurden wie im Skript erstellt. Es wurde mit einem Photometer bei 360 nm gemessen.

Ergebnisse:

Rückreaktion:

Ansatz	1	2	3	4
ΔE	0,358	0,381	0,374	0,021
Δt [s]	50	40	35	40
$\Delta E/\Delta t$ [s^{-1}]	$7,16 \cdot 10^{-3}$	$9,53 \cdot 10^{-3}$	$1,07 \cdot 10^{-2}$	$5,25 \cdot 10^{-4}$
V_{Probe} [mL]	2,9	2,85	2,8	2,8
V_{Enzym} [mL]	0,1	0,15	0,2	0,2
$\Delta c/\Delta t$ [kat]	0,71	0,62	0,51	0,02

$$\Delta c/\Delta t = ((\Delta E/\Delta t) \cdot V_{\text{Probe}}) / (\epsilon \cdot d \cdot V_{\text{Enzym}}) \rightarrow \text{Einheit: mol / s} \cdot \text{L}$$

Hinreaktion:

Ansatz	1	2	3	4	5	6
ΔE	0,6	0,3	0,51	-	-	-
Δt [s]	30	30	30	30	30	30
$\Delta E/\Delta t$ [s^{-1}]	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	-	-	-
V_{Probe} [ml]	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
V_{Enzym} [ml]	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
$\Delta c/\Delta t$ [kat]	3,67	1,836	3,12	-	-	-

DC:

Aminosäure:	L-Alanin	L-Aspartat	L-Arginin	L-Glutamat	Glycin	L-Leucin
R_f -Werte:	0,531	0,071	0,061	0,217	0,316	0,694
Aminosäure:	L-Prolin	L-Lysin	L-Phenylalanin		Probe 1	Probe 2
R_f -Werte:	0,327	0,071	0,755		0,327	0,071

Diskussion:Rückreaktion:

Im ersten Versuchsteil (Rückreaktion) kann man erkennen, dass der Stoffumsatz mit der ansteigenden Menge an Enzym zunimmt (bei gleicher Substratkonzentration).

Hinreaktion:

Beim zweiten Versuchsteil (Hinreaktion) sieht man, dass die GLDH spezifisch reagiert. So wird nur L-Glutamat als Substrat erkannt. Bei dem Enantiomer D-Glutamat und den Stukturähnlichen L-Aspartat und L-Alanin wird keine Reaktion beobachtet.

Des weiteren ist auch der Elektronenakzeptor spezifisch. So ist der optimale Umsatz bei NAD^+ zu beobachten. Thio- NAD^+ und NADP^+ dienen zwar auch als Elektronenakzeptor, jedoch ist hier der Umsatz niedriger.

DC:

Beim Vergleich von den R_F -Werten kann man vermuten, dass eienr der beiden Aminosäuren in der Probe Prolin ist. Die zweite Aminosäure ist entweder L-Aspartat oder L-Lysin. Da die R_F -WERTE hier gleich ist muss man die Färbung vergleichen. In diesem Fall ist es L-Lysin.