

## Versuch 7: Bestimmung spezifischer Aktivität der alkalischen und sauren Phosphatase mittels Retinsäure induzierter Säugetierzellen

### Einführung:

In diesem Versuch untersuchen wir, ob die Zellen, welche mit Retinsäure behandelt wurden, eine höhere Konzentration an alkalische Phosphatase aufweisen. Als Kontrolle nutzen wir Zellen, die nicht mit Retinsäure behandelt wurde. Außerdem prüfen wir, ob auch die Genexpression der sauren Phosphatase durch Retinsäure induziert wird. Im Allgemeinen kontrolliert die Retinsäure viele Genexpressionen und wird mithilfe von Oxidation des Vitamins A im Körper synthetisiert.

### Durchführung:

Versuchsteil 2: Aktivität der alkalischen Phosphatase:

$$E_{1aRA+} = 0,302 \quad E_{2aRA+} = 0,322$$

$$E_{1aRA-} = 0,03 \quad E_{2aRA-} = -0,03$$

Versuchsteil 3: Aktivität der sauren Phosphatase:

$$E_{1sRA+} = 0,064 \quad E_{2sRA+} = 0,065$$

$$E_{1sRA-} = 0,104 \quad E_{2sRA-} = 0,104$$

### Ergebnisse:

Versuchsteil 1: Es haben sich rote Kristalle bei dem RA+ Ansatz gebildet. Der RA- Ansatz blieb unverändert.

Versuchsteil 2:

In die Formel:  $(U/ml) = \Delta E / \Delta t * V_{Ges} / (V_E * d * \epsilon)$

$$aRA+ = 1,03 * 10^3 \text{ } \mu\text{mol} / \text{min} * \text{L}$$

$$aRA- = 0 \text{ } \mu\text{mol} / \text{min} * \text{L}$$

Versuchsteil 3:

$$sRA+ = 0,064 * 10^3 \text{ } \mu\text{mol} / \text{min} * \text{mL}$$

$$sRA- = 0,103 \text{ } \mu\text{mol} / \text{min} * \text{mL}$$

### Diskussion:

Versuchsteil 1:

Die roten Kristalle bei dem RA+ Ansatz lassen vermuten, dass die Phosphatase das Phosphat vom Substrat abgespalten hat. Das freie Phosphat hat nun ein Salz mit dem Fast red gebildet, welches ausgefallen ist.

Versuchsteil 2:

Wir haben gemessen, dass die alkalische Phosphatase eine Aktivität von  $1,03 * 10^3 \text{ } \mu\text{mol} / \text{min} * \text{L}$  besitzt. Diese RA+ Zellen haben wie erwartet einen Stoffumsatz gezeigt. Die RA- Zellen im Gegensatz haben keinen Stoffumsatz (bzw. Extinktionsänderung)

Versuchsteil 3:

Es sollte gezeigt werden, dass die Retinsäure nur Einfluss auf die Genexpression der alkalischen Phosphatase hat. Daher sollten die Umsätze der RA+ und RA- Zellen gleich sein. In unseren Messungen stimmte das nicht ganz überein, die RA+ Zellen hatten weniger Stoffumsatz. Dies kann eventuell auf Fehler im Ansetzen der Lösungen zurückgeführt werden.