

Hydrolazy (fosfataza zasadowa)

Zadanie 1

Fosfataza hydrolizuje fenylofosforan dwusodowy. Ilość uwolnionego fenolu (miara aktywności enzymu) oznacza się kolorymetrycznie z odczynnikiem Folina-Ciocalteau.

Jednostka Kinga - Armstronga wyraża się w mg fenolu uwolnionego z fenylofosforanu dwusodowego przez enzym w 100ml surowicy lub plazmy nasienia w temp. 37°C w ciągu 15min. przy pH=10 dla fosfatazy zasadowej.

Wykonanie:

Probówka	0	1	2
Substrat dla fosfatazy zasadowej	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³
Osocze	-	0.2 cm ³	0.2 cm ³

Inkubacja 30 min. W temp 37°C.

Osocze	0.2 cm ³	-	-
Odczynnik Folina	1.8 cm ³	1.8 cm ³	1.8 cm ³

Wirowanie w wirówce laboratoryjnej przez 15 min..

Supernatant	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³
15% Na ₂ CO ₃	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³

Inkubacja 10 min. w 37°C

Odczytać absorbancję prób 0,1,2 wobec wody destylowanej przy długości fali 600nm.

Obliczenia

Obliczenie aktywności enzymu:

$$\Delta E = E_B - E_K$$

$$\Delta E \times 1,6 \times 100 \times 7,09 = 1134,4 \times \Delta E = Iu/l$$

Lublin, 9.09.2015.

