

## Versuch 1: Cytochrom C im Redoxgleichgewicht

### Einführung:

In physiologischen Elektronentransportketten sind oftmals Cytochrome involviert. Cytochrom C insbesondere soll hier untersucht werden. Mit der prosthetischen Gruppe „Häm“ werden Elektronenaufnahmen und -abgaben ermöglicht. In ersten Versuch werden wir das oxidierte Cytochrom C aus der Lösung mit Ascorbat reduzieren. Dabei soll eine Extinktionsänderung als Konzentrationsäquivalent dienen.

Im zweiten Versuch werden wir die reduzierte Form mit der Cytochromoxidase reoxidieren. Im Anschluss werden wir dann die Cytochromoxidase mit Cyanid-Ionen deaktivieren.

### Durchführung:

#### Versuchsteil 1:

$$c_0 = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$$

$$E_{\text{Ox}} = 0,088$$

$$E_{\text{Red}} = 0,25$$

$$d = 1 \text{ cm}$$

$$\epsilon_{\text{Redox}} = 19.448 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

#### Versuchsteil 2:

siehe Schreiberverlauf

#### Versuchsteil 3:

siehe Schreiberverlauf

### Ergebnisse:

#### Versuchsteil 1:

$$c_0 = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$$

$$c_{V1} = 8,33 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$$

$$\epsilon_{\text{Redox}} = 19.448 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

#### Versuchsteil 2:

Start: 0,00

nach Ascorbatzugabe: 0,190

nach SMP-Zugabe: 0,090

nach Cyanid-Zugabe: 0,189

$$c_{V2X} = E / \epsilon \cdot d$$

$$c_{V2A} = 9,77 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$$

$$c_{V2B} = 4,63 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$$

$$c_{V2C} = 9,72 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$$

Versuchsteil 3:

Absorptionsmaxima der Peaks aus Probe 1:

<u>Peak</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
$\lambda$ [nm]	356,25	407,0	532,7	692
Bande		$\gamma$ (Soret)	$\alpha/\beta$	Puffer

Absorptionsmaxima der Peaks aus Probe 2:

<u>Peak</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
$\lambda$ [nm]	334,5	421,5	520,6	552,0	692
Bande		$\gamma$ (Soret)	$\beta$	$\alpha$	Puffer

**Diskussion:**Versuchsteil 1:

Hier haben wir den Extinktionskoeffizienten errechnet, der für die weiteren Rechnungen benötigt wurde.

Versuchsteil 2:

In diesem Versuch haben wir den Wechsel von Absorptionen gemessen. Als erstes wurde das Cytochrom mit Hilfe des Antioxidant „Ascorbat“ reduziert (Extinktionszunahme). Im Anschluss wurde es mit dem Enzym Cytochromoxidase reoxidiert, so dass die Extinktion wieder abnahm. Durch eine irreversible Hemmung mithilfe von Cyanidionen (binden an das Zentralion der prosthetischen Gruppe der Cytochromoxidase) haben wir die Cytochromoxidase ausgeschaltet, so dass die Extinktion wieder in die Nähe des Ausgangswertes stieg.

Versuchsteil 3:

Die reduzierte Form des Cytochroms weist eine hohe Extinktionsbande bei 550nm auf (die oxidierte Form hat hier nur eine sehr geringe Absorption). Die quantitativen Messungen, die wir also bei dieser Wellenlänge getätigt haben, machen also Sinn. :-)

Bei der Lösung 1 mit Cytochrom C (im oxidiertem Zustand) und Puffer kann man vier Banden erkennen (s. Ergebnisse). Bei der zweiten Lösung, welche noch zusätzlich Ascorbat enthielt, hat das reduzierte Cytochrom C nun eine Bande mehr.