

# Protokoll Bakteriorhodopsin Experiment

Yannick Falkenhain Ricarda Künne Margareta Neuhaus

30. Juni 2024

## Inhaltsverzeichnis

## Bakteriorhodopsin Konzentration

Um die Bakteriorhodopsin Konzentration zu bestimmen, muss zunächst die Extinktion bestimmt werden. Dafür werden die Daten aus der Absorptionsmessung analysiert.

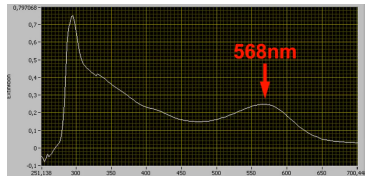
### Extinktion

Zunächst muss jedoch die Streuintensität abgezogen werden, dafür wird eine Baseline Intensität bestimmt.

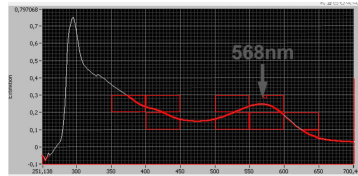
Die Baseline wird mithilfe von Matlab gefittet um eine genauere Approximation zu erhalten. Die Form der Baseline ist

$$I_{\text{Background}} = a \cdot x^4 + b$$

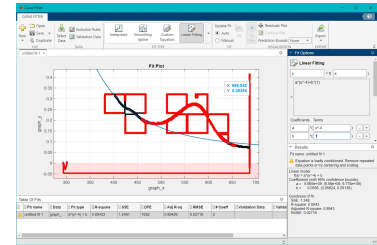
Angehangen sind die Ergebnisse des Fits, zur Datenermittlung wurde ein Edgefinder auf das Bild des Spektrums angewandt. Die Daten wurden dann händisch aussortiert und nur die schwarzen Datenpunkte zum Fitten verwendet.



(a) Spektrum der Absorptionsmessung



(b) Detektion der Daten



(c) Fit des Hintergrunds

Abbildung 1: Prozess um Hintergrund zu bestimmen

Der daraus ermittelte Wert für den Hintergrund ist

$$y_{\text{Background}} = 0,1229.$$

Der Wert für die Extinktion ergibt sich aus der Differenz der Daten

$$E_{\text{Peak}} = 0,2773 - 0,1229 = 0,1544 \quad (1)$$

### Konzentration der bR Probe

Zur Bestimmung wird das Lambert-Beersche Gesetz verwendet und umgestellt

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d,$$

$$c = \frac{E}{\epsilon \cdot d}$$

mit

$$\epsilon = 63.000 \frac{\text{L}}{\text{mol cm}}, \text{ und } d = 1 \text{ cm}.$$

Die Konzentration in der die Messung vorgenommen wurde ist daher

$$c = 2.45 \times 10^{-6} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Da der Überstand vorher mit Wasser im Verhältniss 1:5 verdünnt wurde beträgt die eigentliche Konzentration des Überstandes das fünffache also

$$c_{\text{Überstand}} = 1.225 \times 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Die Konzentration des Überstandes ist nochmal verschieden von der Konzentration in der Bakterienpaste. Um den Überstand zu erhalten wurden 200  $\mu\text{L}$  Paste mit 1 mL Wasser und 200  $\mu\text{L}$  DNase verdünnt. Das Wasser dient hierbei als Auslöser eines osmotischen Schock wodurch die Zellen aufplatzen. Die DNase wird hierbei hinzugefügt um die Restliche DNA der Zellen aufzulösen und die Viskosität der Probe zu verringern. Dadruch ist es auch einfach die Lösung vorsichtig zu durchmischen. Dies ergibt ein Verhältniss von 1:7. Daher ist die Konzentration der Paste

$$c_{\text{Paste}} = 8.575 \times 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Die Menge an Bakteriorhodopsin in dem Überstand kann durch einfach bestimmt werden mithilfe der Konzentration und des Volumens

$$n = 200 \mu\text{L} \cdot 8.575 \times 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 1.7715 \times 10^{-8} \text{ mol.}$$

Analog dazu lässt sich die Masse des Bakteriorhodopsin bestimmen

$$m = 1.7715 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot 26 \times 10^3 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 0.461 \text{ mg}$$