

Eingangsklausur zum Praktikum „Technische Methoden der Biologie“ SS 2005

am 19.04.2005, 15:00-16:00 Uhr

Prof. Dr. Stephan Nußberger

Name: Matrikel-Nr.: Semester:

Ich will am Praktikum teilnehmen:

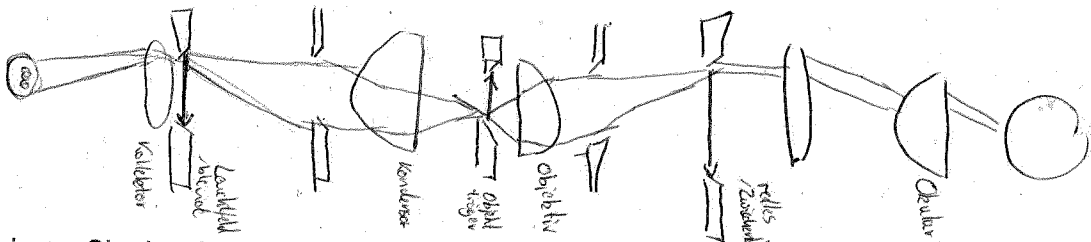
☐ Ja☐ Nein

Außer einem Taschenrechner und einem DIN A4 Blatt mit Formeln sind keine sonstigen Hilfsmittel erlaubt! Bitte nicht mit Bleistift schreiben! Studierende der technischen Biologie, die die Klausur bestehen, müssen den Biophysik-Teil der Orientierungsprüfung nicht mehr mitschreiben!

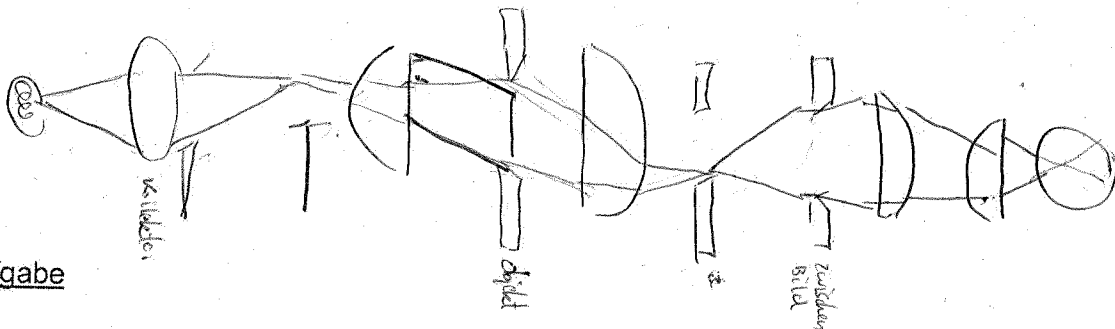
1. Aufgabe

a) Wie viele Linsen benötigen Sie mindestens für ein einfaches zusammengesetztes Mikroskop mit Beleuchtungseinrichtung?

b) Skizzieren Sie den *Abbildungsstrahlengang* und die Lage der Linsen schematisch!



c) Skizzieren Sie den *Beleuchtungsstrahlengang* für Köhlersche Beleuchtung!



2. Aufgabe

Das Objektiv eines Lichtmikroskops hat eine Brennweite von 3 mm. Es erzeugt 14.7 cm von seinem zweiten Brennpunkt entfernt ein reelles Zwischenbild. Sie betrachten dieses Bild mit einem Okular mit Brennweite 51 mm.

a) Wie weit ist der Gegenstand von der Objektivlinse entfernt?

- b) Wie groß ist die Vergrößerung des Objektivs?

$$\frac{b-f}{f} = v$$

- c) Wie groß ist die Vergrößerung des Okulars?

Gehen Sie von davon aus, dass der Nahpunkt des Auges des Betrachters bei 25 cm liegt.

- d) Wie groß ist die Gesamtvergrößerung?

$$v_{ok} \times v_{obj} = v_{ges}$$

3. Aufgabe

Sie sedimentieren einen bakteriellen Zellaufschluss in einer Laborzentrifuge in einem Schwenkbecherrotor bei 40.000 Upm (Umdrehungen pro Minute). Die Becher haben eine Länge von 3 cm und sind bei einem Radius von 5 cm in den Rotor eingehängt.



- a) Formulieren Sie die Bewegungsgleichung (Differentialgleichung) der Partikel während der Zentrifugation unter Berücksichtigung aller wesentlichen Kräfte.

$$m \cdot \frac{dv(t)}{dt} = \gamma \cdot \frac{dx}{dt}$$

- b) Wie lange muss mindestens zentrifugiert werden, um 70S-Ribosomen vollständig zu sedimentieren? Hinweis: 1 Svedberg =
- 10^{-13}
- s.

$$s = \frac{v_{drift}}{a} = \frac{m}{\gamma} \cdot s \cdot \omega = v_{drift} \cdot \omega$$

$$a = \omega^2 \cdot r \quad \omega = 2\pi \cdot f$$

$$s = 70 \cdot 10^{-13} \text{ s} \quad \omega = 2\pi \cdot 40000 \text{ rpm} = 666,7 \text{ s}^{-1}$$

$$a = 666,7^2 \cdot 0,05 \text{ m} = 22222,2 \text{ m/s}^2$$

$$s = \frac{v_{drift}}{a} \Rightarrow v_{drift} = s \cdot a = 70 \cdot 10^{-13} \cdot 22222,2 = 1,555 \cdot 10^{-8} \text{ m/s}$$

$$v_{drift} = \omega \cdot r \cdot \sin(\theta) \Rightarrow \sin(\theta) = \frac{v_{drift}}{\omega \cdot r} = \frac{1,555 \cdot 10^{-8}}{666,7 \cdot 0,05} = 4,67 \cdot 10^{-6}$$

$$\theta = \arcsin(4,67 \cdot 10^{-6}) \approx 4,67 \cdot 10^{-6} \text{ rad}$$

$$t = \frac{\theta}{\omega} = \frac{4,67 \cdot 10^{-6}}{666,7} = 7,01 \cdot 10^{-9} \text{ s}$$

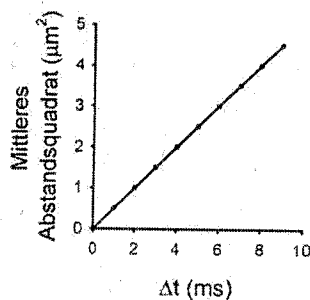
$$t = 7,01 \cdot 10^{-9} \text{ s} \cdot 60 \cdot 60 \cdot 24 = 0,00000094 \text{ h} \approx 1,3 \text{ h}$$

- c) Prokaryontische Ribosomen bestehen aus einer kleinen 30S- und einer großen 50S-Untereinheit. Warum sedimentiert das gesamte Ribosom (70S) schneller als die Summe seiner Untereinheiten?

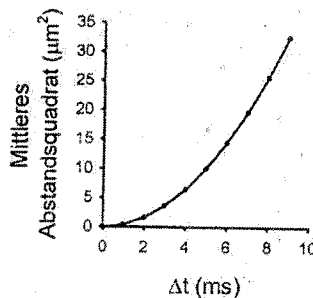
weil die Sedimentation von der Masse u. der Oberfläche abhängt
da 30S u. 50S als einzelne Teile eine größere Oberfläche
als das @ 70S Ribosomen haben sedimentiert die Summe
langsamer

4. Aufgabe

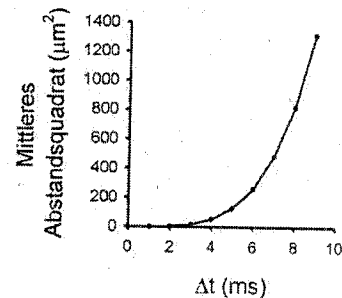
Mittels Videomikroskopie wurde die Trajektorie von sich bewegenden Vesikeln in einem Neuron beobachtet. In den unten gezeigten Skizzen sind die *mittleren quadratischen* Verschiebungen über die Zeit (MSD/ Δt Plot) von drei Klassen von Vesikeln dargestellt.



A



B



C

- a) Um welche Art von Transportprozessen muss es sich dabei jeweils handeln? Erläutern Sie ihre Antwort anhand der entsprechenden Gleichungen!

A:

B:

C:

- b) Welche der dargestellten Bewegungsformen kommt in der Zelle praktisch *nicht* vor? Begründen Sie Ihre Antwort!

5. Aufgabe

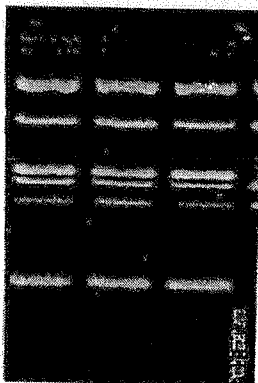
Sie wollen eine DNA-Probe in einem Agarosegel *elektrophoretisch* auftrennen.

- a) Auf welchen *physikalischen* Prinzipien beruht die Auftrennung der Probe? Welche Kräfte wirken auf die Probe?

Coulombkräfte
Reibungskräfte

Prinzip: ~~positive~~ je größer die Ladung und je kleiner die Molekülgröße desto höher ist die Geschwindigkeit: $\frac{F}{f} = v_{drift} = \frac{q \cdot E}{f}$

- b) In der unten stehenden Abbildung ist ein typisches DNA-Gel zu sehen. Die DNA-Proben wurden oben im Bild aufgetragen. In welche Richtung wanderte die DNA? Zeichnen Sie in die unten stehende Abbildung die *Polarität* der Elektrophorese ein! Begründen Sie Ihre Antwort!



DNA wandert zum + Pol

DNA = Säure → neg. Ladung

+

6. Aufgabe

In einer Nervenzelle wird die Na^+/K^+ -ATPase mit dem Gift des südamerikanischen Pfeilgiftfrosches Ouabain blockiert. Durch Reizung der Nervenzelle werden *Aktionspotentiale* ausgelöst.

- a) Wie wirkt sich die Deaktivierung der ATPase auf das *Ruhepotential* der Zelle *unmittelbar* nach Zugabe von Ouabain aus? Begründen Sie Ihre Antwort!

Das Ruhepotential verringert sich geht also näher an 0V ran.

~~Beim Aktionspotential fließt Na^+ in die Zelle und K^+ heraus.~~

Beim AP fließt Na^+ in die Zelle u K^+ heraus.

Die ATPase pumpt anschließend Na^+ aus der Zelle u K^+ wieder hinein um den Grundzustand herzustellen.

Ist die ATPase gehemmt, geht das Ruhepotential immer mehr auf 0V zu da die pos. Ladung nicht mehr die Zelle verlässt.

b) Berechnen Sie, wie viele Ionen während eines Aktionspotentials über die Zellmembran fließen!

- Gehen Sie davon aus, die Zelle habe Kugelgestalt und ein Volumen von 0.5 pLiter (10^{-12} l).
- In der Zellmembran befinden sich 1000 Na^+ -Kanäle, die bei einem Aktionspotential für 1 ms öffnen, bevor sie wieder inaktivieren. Die Leitfähigkeit eines einzelnen Kanals im offenen Zustand betrage 20 pS.
- Die Schwelle für das Öffnen der Na^+ -Kanäle und die Auslösung eines Aktionspotentials liegt bei -50 mV. Bei Membranpotentialen unterhalb dieser Schwelle sind alle Na^+ -Kanäle geschlossen.
- Vor der Zugabe von Ouabain gilt:
 $[\text{Na}^+]_{\text{innen}} = 10 \text{ mM}$, $[\text{Na}^+]_{\text{außen}} = 150 \text{ mM}$; $[\text{K}^+]_{\text{innen}} = 150 \text{ mM}$, $[\text{K}^+]_{\text{außen}} = 10 \text{ mM}$.
- Die osmotischen Bedingungen in der Zelle ändern sich nicht, d.h. mit jedem Na^+ -Ion, das über die Zellmembran fließt, wird auch ein K^+ -Ion über die Membran verschoben.
- $e = 1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$, $k = 1.38 \times 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$, $T = 297 \text{ K}$, $N_A \approx 6 \times 10^{23}$

$$U \cdot G = I = 50 \text{ mV} \cdot 20 \text{ pS} = 1 \cdot 10^{-12} \text{ A} \quad A = \frac{C}{s}$$

$$1 \cdot 10^{-12} \cdot 1 \cdot 10^{-3} = 1 \cdot 10^{-15} \text{ C} \quad \frac{Q}{e} = \frac{1 \cdot 10^{-15} \text{ C}}{1.6 \cdot 10^{-19}} = 6250 \frac{\text{Na}^+}{\text{kanal}}$$

$$1000 \cdot 6250 = \underline{\underline{6250000 \text{ Na}^+ \text{-Ionen}}}$$

c) Zusatzaufgabe: Schätzen Sie ab, wie viele Aktionspotentiale in der Zelle nach Zugabe von Ouabain ausgelöst werden können. Begründen Sie Ihre Antwort rechnerisch!

$$[\text{Na}^+]_{\text{a}} = [\text{Na}^+]_{\text{innen}}$$

$$150 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,5 \cdot 10^{-12} \text{ l} = 7,5 \cdot 10^{-14} \text{ mol}$$

$$10 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,5 \cdot 10^{-12} \text{ l} = 5 \cdot 10^{-15}$$

$$\frac{6250000}{6 \cdot 10^{23}} \approx \underline{\underline{1,04 \cdot 10^{-17} \text{ mol}}}$$

$$\frac{7,5 \cdot 10^{-14} - 5 \cdot 10^{-15}}{1,04 \cdot 10^{-17}} = 6730,77 \approx \underline{\underline{6730 \text{ AP}}}$$