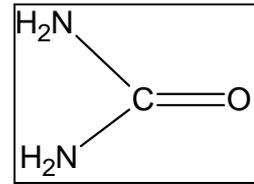


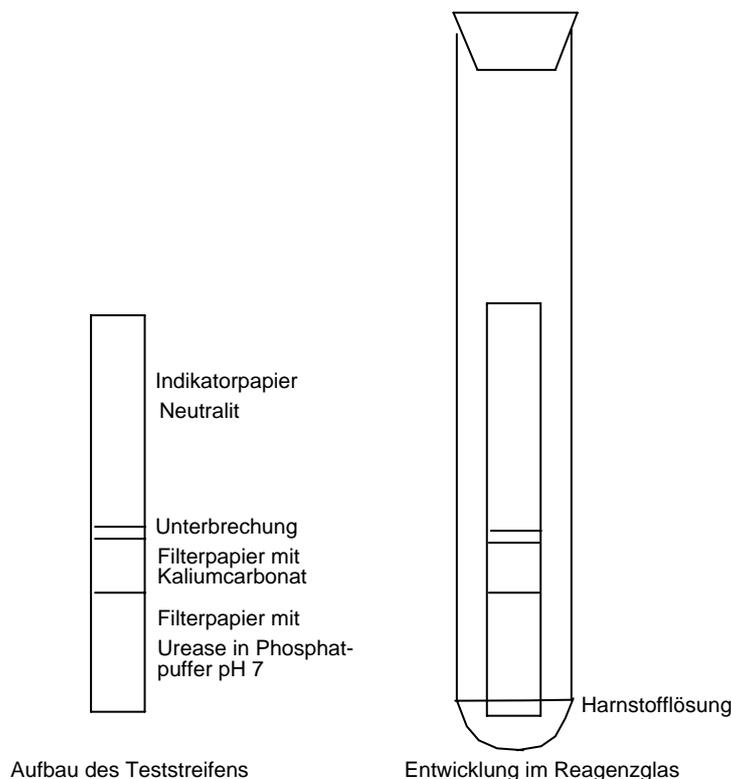
## Aufgabe: Enzyme und ihre Anwendung in der Diagnostik

Für die Diagnose von Erkrankungen der Niere ist die quantitative Bestimmung von Harnstoff im Serum wichtig. (Menschen scheiden ca. 8 kg Harnstoff pro Jahr aus).



Ein einfacher Schnelltest (Teststreifen) ist im Prinzip wie folgt aufgebaut:

Auf einem Plastikstreifen wird ein 2 cm langes Filterpapier mit doppelseitigem Klebeband aufgeklebt, dann wird ein etwa 1 mm breiter Spalt als Diffusionssperre eingerichtet und darüber folgt (ebenfalls auf doppelseitigem Klebeband) ein 3 cm langer Indikatorpapierstreifen (Neutralit von Merck). Der obere Teil des Filterpapiers wird mit einem Tropfen einer 10 % Kaliumcarbonatlösung getränkt, der untere Teil mit einer Ureaselösung 3 mg/ml. Das Indikatorpapier wird leicht mit Wasser aus einem Zerstäuber besprüht.



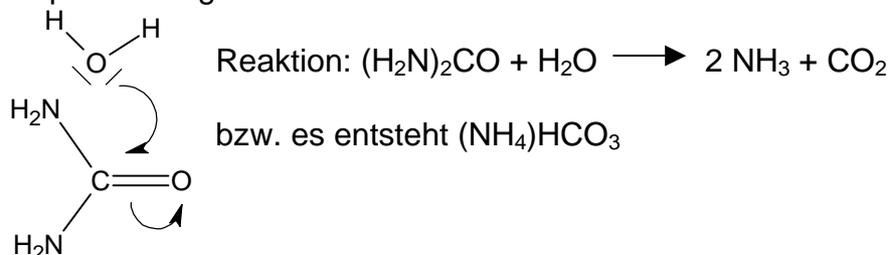
Entwicklung: Der Test dauert etwa 10 Minuten. Dabei wird der Teststreifen in einem mit einem Gummistopfen geschlossenen Reagenzglas vorsichtig in eine Harnstofflösung gestellt. Ein weiterer Versuch wird mit destilliertem Wasser anstelle der Harnstofflösung angesetzt. Der Teststreifen darf nicht an den Rändern mit dem Reagenzglas in Berührung gebracht werden.

Beobachtungen: Nur im Reagenzglas mit Harnstofflösung färbt sich das Indikatorpapier von unten nach oben zunehmend blaugrün. Erwärmt man das Reagenzglas mit der Hand beschleunigt sich die Färbung des Indikatorpapiers.

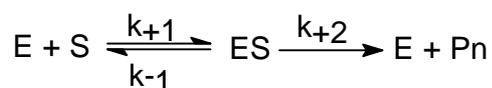
- Beschreiben Sie die Reaktionen, die dieser Methode zugrunde liegen!
- Welche Forderungen müssen an einen solchen Schnelltest gestellt werden?
- Schnelltests könnten zunehmend zur Selbstdiagnose von Krankheiten eingesetzt werden. Erörtern Sie kurz das für und wieder!

### Mögliche Lösungen

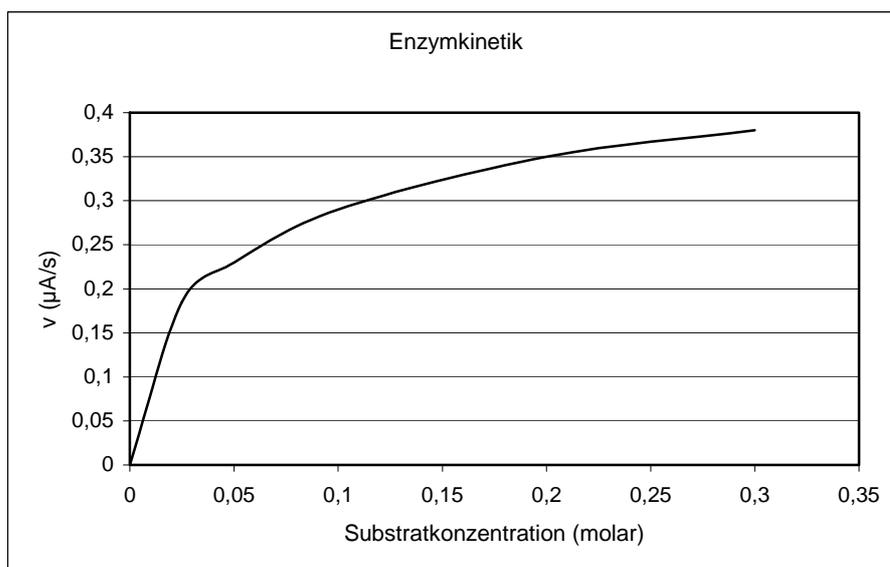
Wie die Blaufärbung belegt, entsteht offensichtlich ein Gas, welches im feuchten Indikatorpapier löslich ist und dieses blau durch eine alkalische Reaktion färbt. Harnstoff ist das Diamid der Kohlensäure. Amide sind thermodynamisch und kinetisch sehr stabil. Sie können z. B. nur durch Säurekatalyse bei hohen Temperaturen zersetzt werden. Ihre Struktur ist Mesomerie stabilisiert. Daher ist der nukleophile Angriff eines Wassermoleküls sehr erschwert – wie bei der Hydrolyse der Peptidbindung.



Es handelt sich hier um eine nicht statistische Reaktion, die der Arrhenius-Vorstellung der Reaktion genügt, sondern um eine Reaktion, die über einen Enzym/Substrat-Komplex führt. Hier gilt nicht, je mehr Moleküle im Reaktionsgemisch vorhanden sind, desto schneller läuft die Reaktion, sondern die Reaktionsgeschwindigkeit ist limitiert durch die Komplexbildung mit dem Enzym im aktiven Zentrum. Die maximale Geschwindigkeit ist erreicht, wenn alle aktiven Zentren mit Substratmolekülen besetzt sind (Michaelis/Menten Kinetik).



Enzyme sind Biokatalysatoren und beschleunigen eine chemische Reaktion, indem sie die Aktivierungsenergie herabsetzen. Dazu lagern sie das Substrat (Harnstoff) in ihr aktives Zentrum ein, binden es dort z.B. durch eine Komplexbildung.



Es gibt eine maximale Reaktionsgeschwindigkeit, die Michaeliskonstante ist die Dissoziationskonstante des Enzym/Substrat Komplexes und entspricht der Substratkonzentration, bei der die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht wird.

Die Indikatorreaktion wird durch den entstehenden gasförmigen Ammoniak ausgelöst. Durch die alkalische Reaktion der Kaliumcarbonatlösung wird Ammoniak gasförmig ausgetrieben, gelangt über die Diffusionssperre zum Indikatorpapier und färbt dieses zunehmend blau.

Die Spezifität des Schnelltests muss gewährleistet sein. Da die Indikatorreaktion nur auf Laugen spezifisch ist, dürfen natürlich keine andere gasförmige Produkte gebildet werden, die ebenfalls mit Indikatorpapier alkalisch reagieren (Störreaktionen).

Schnelltests können zur Eigendiagnose von Krankheiten gebraucht werden und können in der Hand eines Laien zu falschen Schlussfolgerungen hinsichtlich möglicher Erkrankungen führen. Dadurch kann es unter Umständen zu Kurzschlussreaktionen kommen.

Andererseits liefern sie schnelle und zuverlässige Indikationen in der Medizin und erlauben so eine Diagnose zu stellen.