

# KONKURS BIOTECHNOLOGICZNY III EDYCJA

## ZADANIA NA I ETAP KONKURSU

---

### WAŻNE INFORMACJE

1. Wydrukuj treści zadań – każde zadanie na osobnej kartce – w nagłówku wpisz swoje imię i nazwisko.
2. Do każdej kartki z zadaniem dołącz kartkę (kartki) w formacie A4 z odpowiedzią/rozwiązaniem. Część podanej literatury znajdziesz w zakładce ŹRÓDŁA WIEDZY na stronie konkursu <http://www.konkursbiotechnologiczny.ch.pw.edu.pl/>
3. Każda kartka zawierająca odpowiedź/rozwiązanie musi mieć na górze umieszczony numer zadania oraz imię i nazwisko uczestnika konkursu.
4. Odpowiedzi mogą być napisane odręcznie (prosimy o czytelne pismo) lub wydrukowane. Muszą być samodzielnie sformułowane. Procedura Kopiuj/Wklej jest niedopuszczalna.
5. Uporządkuj kartki (zadanie 1-odpowieź, zadanie 2-odpowieź, itd.), włóż do koperty i wyślij pocztą na adres:

Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

ul. Noakowskiego 3

00-664 Warszawa

Z dopiskiem: KONKURS BIOTECHNOLOGICZNY

Termin nadsyłania odpowiedzi: **do 10 stycznia 2020 r.**

- liczy się data stempla pocztowego

*Życzymy dobrej zabawy przy rozwiązywaniu zadań i sukcesu!!!*

*Komitet Organizacyjny  
III Konkursu Biotechnologicznego*

### Zadanie 1 (15 pkt)

W 2018 roku Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii podzielili się Frances Hamilton Arnold (1/2), George Pearson Smith (1/4) i Sir Gregory Paul Winter (1/4). Nagroda została przyznana za ukierunkowaną ewolucję enzymów oraz prezentację peptydów i przeciwciał na powierzchni bakteriofagów.

**A.** Zilustruj za pomocą schematu i objaśnij co to jest ukierunkowana ewolucja enzymów i do czego można ją zastosować. (4 pkt)

**B.** Zreferuj najważniejsze dokonania opisane w artykule Noblistki (Chen K, Arnold FH. Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Jun 15; 90(12): 5618–5622) oraz opisz metodę, która pozwoliła wyselekcjonować bakterie produkujące enzym, subtylizynę E, o pożądanym cechach. (6 pkt)

**C.** Zilustruj za pomocą schematów i objaśnij na czym polega metoda prowadząca do uzyskania fagów prezentujących peptydy/przeciwciała o pożądanym cechach. (3 pkt)

**D.** Podaj najważniejsze według Ciebie zastosowania metod opracowanych przez Noblistów. (2 pkt.)

Proponowane źródła wiedzy:

- <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2018/press-release/>
- <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/10/advanced-chemistryprize-2018.pdf>
- Hupert-Kocurek K, Banaś A, Wojcieszńska D, Guzik U. Ukierunkowana ewolucja enzymów pochodzenia mikrobiologicznego. *Postępy Mikrobiologii* 53(1), 2014, 43-48.
- Borysowski J, Górski A. Zastosowanie metody phage display w eksperymentalnej terapii onkologicznej. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online), 58, 2004, 100–107.
- Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985, 228, 1315-1316.

## Zadanie 2 (6 pkt)

Obecnie duża część naukowego i przemysłowego świata skupiona jest na otrzymywaniu biopaliw, których stosowanie ma na celu zredukowanie negatywnego wpływu na środowisko używanych dotychczas paliw tradycyjnych. Biopaliwa dzielą się na trzy generacje. Trzecia generacja to paliwa otrzymywane z mikroalg i innych mikroorganizmów.

- A. Wyjaśnij dlaczego mikroalgi wykorzystuje się do produkcji biopaliw. **(2 pkt)**
- B. Obecnie mikroalgi hodowane są głównie na dwa sposoby – w zbiornikach otwartych oraz fotobioreaktorach. Narysuj schemat obu metod hodowli oraz porównaj ich wady i zalety. **(2 pkt)**
- C. Podaj przykłady zastosowania mikroalg w innych dziedzinach przemysłu. Wyjaśnij dlaczego mikroalgi mogą być wykorzystywane w zaproponowanych przez Ciebie dziedzinach. **(2 pkt)**

Proponowane źródła wiedzy:

- Och B, Łaska G. Mikroalgi substratem do produkcji biopaliw. W: *Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska*. Kotowski Andrzej, Piekarska Katarzyna, Kaźmierczak Bartosz (red). Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej 2015
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* Vol. 101, no. 2, 87–96. 2006. Doi: 10.1263/jbb.101.87

### Zadanie 3 (10 pkt)

Pewien naukowiec, Leonard Hayflick z Instytutu Wistar w Filadelfii (Pensylwania, USA), próbował w latach 60-tych ubiegłego wieku prowadzić hodowle komórkowe w warunkach *in vitro*. W tym celu izolował ludzkie komórki embrionalne i hodował je w odpowiednich warunkach w laboratorium. Szybko okazało się, że komórki takie mogą podzielić się tylko określoną liczbę razy, a następnie wchodzą w fazę starzenia (ang. senescence), pomimo obecności w pożywce niezbędnych czynników wzrostowych. Zjawisko to zwane „**limitem Hayflicka**” obaliło twierdzenie laureata Nagrody Nobla Alexisa Carrela, że prawidłowe komórki somatyczne są nieśmiertelne.

- A. Wyjaśnij, co stanowi główną przyczynę „limitu Hayflicka”. (2 pkt)
- B. Zdefiniuj szerzej pojęcie terminu „senescence” i jakie są przyczyny istnienia tego zjawiska. Zilustruj na wykresie ograniczony potencjał podziałowy prawidłowych komórek somatycznych. (3 pkt)
- C. Jak sądzisz, czy w ludzkim organizmie znajdują się komórki, które są nieśmiertelne? Jeśli tak, to podaj przykłady takich komórek. Czy hipotetyczna „nieśmiertelność” komórek somatycznych byłaby korzystna dla organizmu wielokomórkowego, a może wręcz przeciwnie? Uzasadnij odpowiedź. (2 pkt)
- D. W wielu laboratoriach na świecie prowadzone są badania z wykorzystaniem linii komórkowych. Istnieją banki (kolekcje) linii komórkowych, takie jak np. ATCC (ang. American Type Culture Collection), w których można zakupić dowolną linię komórkową. Podaj trzy przykłady innych banków (kolekcji), w których można zakupić linie komórkowe. (1 pkt)
- E. Opisz, w jaki sposób można uzyskać (wyprowadzić) linię komórkową i jaka jest różnica pomiędzy linią ustaloną a ciągłą. (2 pkt)

Proponowane źródła wiedzy:

- Sosińska P., Mięka-Pietrasik J., Książek K. Molekularne podstawy komórkowego starzenia: fenomen Hayflicka 50 lat później. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online) 70, 2016, 231-242.
- Sikora E., Bielak-Żmijewska A., Mosieniak G. Czym jest i czym nie jest starzenie komórki? *Postępy Biochemii* 64 (2), 2018, 110 - 118.
- Stokłosowa S. Hodowla komórek i tkanek, PWN.

#### Zadanie 4 (15 pkt)

Przeciwciała (immunoglobuliny) to białka, które są produkowane przez komórki układu odpornościowego i charakteryzują się zdolnością do swoistego łączenia się z antygenem. Immunoglobuliny występują u wszystkich kręgowców i biorą udział w tzw. odporności humoralnej. Specjalna budowa przeciwciał umożliwia im wykształcanie miejsc wiążących antygeny występujące np. na powierzchni atakujących mikroorganizmów. Przeciwciała są też szeroko stosowane jako narzędzia biologii molekularnej, umożliwiając detekcję badanych białek (immunodetekcja).

- A. Omów właściwości przeciwciał, które warunkują ich swoistość wobec określonego antygeny. Jak myślisz, czy nasz organizm jest w stanie wytworzyć miliardy różnych przeciwciał, zakładając, że istnieją miliardy potencjalnych antygenów, z którymi możemy się zetknąć? Uzasadnij odpowiedź. **(3 pkt)**
- B. Wyjaśnij różnicę pomiędzy przeciwciałami poliklonalnymi a przeciwciałami monoklonalnymi. **(3 pkt)**
- C. Omów jedną z technik biologii molekularnej, w której stosuje się immunodetekcję. **(6 pkt)**
- D. Podaj przykłady tzw. "leków biologicznych" otrzymywanych na bazie przeciwciał monoklonalnych i opisz krótko na jakie schorzenia/choroby są one stosowane oraz podaj przybliżony zysk jaki odnotowały koncerny farmaceutyczne w roku 2018 dla najlepiej sprzedającego się preparatu zawierającego dane przeciwciało. **(3 pkt)**

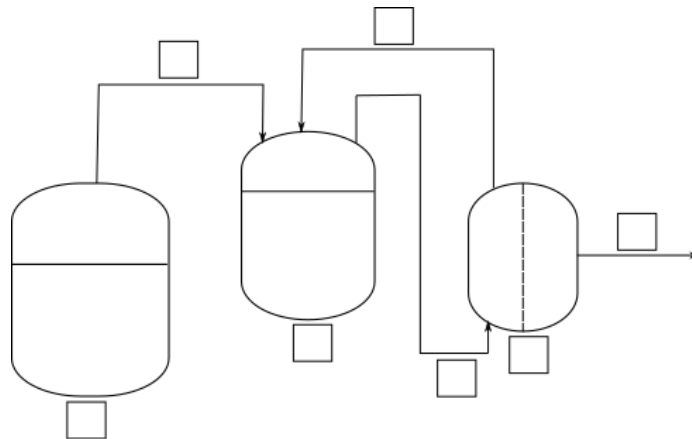
Proponowane źródła wiedzy:

- Alberts B. i wsp. *Podstawy Biologii Komórki*, cz.I, PWN
- Allison L.A. *Podstawy Biologii Molekularnej*, WUW
- Gołąb J., Jakóbiński M., Lasek W., Stokłosa T. *Immunologia*. PWN
- Top 15 Best-Selling Drugs of 2018". *GEN - Genetic Engineering and Biotechnology News*. 2019-03-11

### Zadanie 5 (7 pkt)

W przemysłowych procesach biotechnologicznych istotną rolę odgrywają różnego rodzaju membrany. W warunkach laboratoryjnych stosuje się je np. w metodzie hodowli wstępnej bakterii mlekowych w procesie zintegrowanym prowadzonym w bioreaktorze membranowym, w którym stanowią one kluczowy element. Jest to proces zintegrowany, ponieważ bioreaktor ten spełnia jednocześnie dwie funkcje: hodowli i separacji.

Rysunek przedstawia uproszczony schemat stanowiska badawczego.



- A. W wyznaczone miejsca na rysunku wpisz litery odpowiadające poniższym zbiornikom i strumieniom: **(1 pkt)**
- Zbiornik ze świeżą pożywką
  - Bioreaktor
  - Mieszanina pohodowlana
  - Permeat
  - Retentat
- B. Posługując się wzorami literowymi, zapisz bilans molowy oraz bilans przepływu powyższego bioreaktora. **(2 pkt)**
- C. Wyjaśnij dlaczego w produkcji kwasu mlekowego korzystne jest zastosowanie reaktora membranowego. Jakie mogą być wady tej metody? **(2 pkt)**
- D. Podaj dwa sposoby pozwalające zachować sterylność w powyższym układzie. **(1 pkt)**
- E. Napisz jaki rodzaj filtracji jest wykorzystywany w tym procesie. Podaj trzy inne dziedziny przemysłu, w których także wykorzystuje się ten rodzaj filtracji oraz po jednym przykładzie procesu dla każdej z nich. **(1 pkt)**

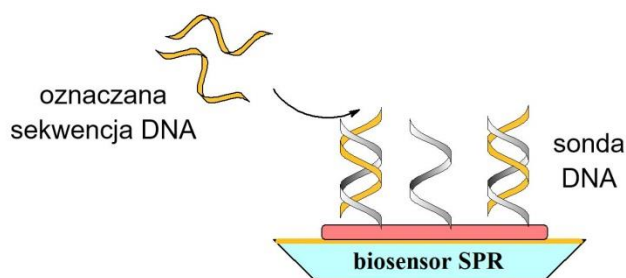
Proponowane źródła wiedzy:

- Praca zbiorowa pod redakcją Włodzimierza Bednarskiego i Jana Fiedurka *Podstawy biotechnologii przemysłowej*, WNT, Warszawa 2007.
- Szewczyk K. W., *Technologia biochemiczna*, Oficyna Wydawnicza PW, Warszawa 1998, rozdziały: 8.4 str. 95-97 i 12.3 str. 171-172.

### Zadanie 6 (10 pkt)

Biosensory składają się z przetwornika oraz warstwy receptorowej - czułego elementu biologicznego (np. przeciwciała, specyficznej sekwencji kwasu nukleinowego, aptameru peptydowego). Poza selektywnym wiązaniem analitu, biosensor musi umożliwiać „zmierzenie” ilości oznaczanej substancji związanej przez warstwę receptorową. Na tej podstawie możliwe jest obliczenie stężenia substancji w mierzonej próbce.

Do wykrywania związanego przez biosensor analitu wykorzystywane jest najczęściej tzw. znakowanie cząsteczką stanowiącą źródło sygnału analitycznego (np. enzymem, cząsteczką o właściwościach fluorescencyjnych, nanocząstką itp.), co jednak znacząco wydłuża czas analizy. Coraz bardziej popularną alternatywę dla znakowania stanowią tzw. „biosensory bezznacznikowe” (ang. *label-free*), w których samo wiązanie analitu powoduje pojawienie się mierzalnego sygnału, np. zmiany masy związanej z powierzchnią biosensora. Właśnie na tej zasadzie działają m. in. biosensory DNA wykorzystujące reakcję hybrydyzacji DNA-DNA i detekcję tzw. rezonansu plazmonów powierzchniowych (ang. *surface plasmon resonance*, SPR). Zasadę działania takiego biosensora zilustrowano na poniższym schemacie.

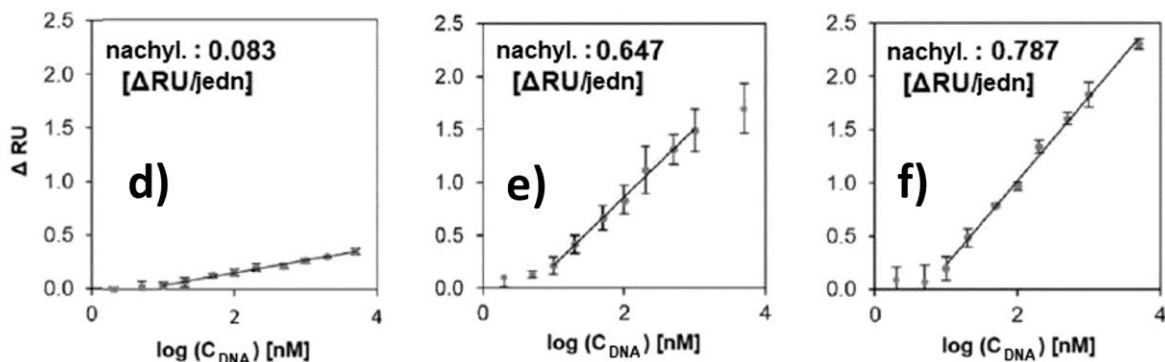


#### **schemat biosensora SPR z warstwą receptorową DNA**

Poniżej przedstawiono trzy krzywe kalibracji dla tego samego biosensora SPR, odpowiadające różnym wykrywanym specyficznym sekwencjom DNA: a) fragmentowi ssDNA maczugowca błonicy o długości 10 zasad (w pełni komplementarny do zaimmobilizowanej sondy), b) innemu fragmentowi ssDNA maczugowca błonicy o długości 15 par zasad (fragment wiążący o długości 10 zasad w pełni komplementarny do zaimmobilizowanej sondy), c) fragmentowi ssDNA o długości 10 zasad z pojedynczą mutacją punktową w obrębie sekwencji wiążącej się z sondą ( $\Delta RU$  to mierzony sygnał odpowiadający zmianie kąta rezonansowego SPR – ang. *resonance unit*)

- A. Przyporządkuj do poszczególnych doświadczeń (a,b,c) odpowiednie krzywe kalibracji (d,e,f) i uzasadnij, z czego mogą wynikać różnice w charakterze krzywych (ich nachyleń). Jak sądzisz, czy podobne różnice byłyby możliwe do zaobserwowania w przypadku detekcji wykorzystującej znakowanie (np. fluorescencyjne)? (3 pkt)

(imię i nazwisko)



### krzywe kalibracji biosensora DNA z detekcją SPR

- B. Techniki bezznacznikowe, oprócz zastosowania w biosensorach do oznaczania stężeń ważnych bioanalitów, mogą zostać wykorzystane również do szeroko pojętych badań oddziaływań między cząsteczkami biologicznymi. Wskaż, jakie inne informacje na temat oddziaływań międzycząsteczkowych (np. DNA-DNA czy przeciwciało-antygen) można uzyskać za pomocą technik bezznacznikowych. Z czego wynika ich przewaga nad technikami wykorzystującymi znaczniki? (4 pkt)
- C. Biosensor DNA wykorzystujący zjawisko hybrydyzacji powinien cechować się zdolnością do wielokrotnego, odwracalnego wiązania specyficznej, oznaczanej sekwencji. Wiedząc, jakie zjawisko jest odpowiedzialne za wiązanie analitu, zaproponuj dwa przykłady strategii regeneracji warstwy receptorowej. Uzasadnij odpowiedź w 1-2 zdaniach. (3 pkt)

Proponowane źródła wiedzy:

- Grabowska I, Górniak N, Brzózka Z. Chipy DNA, PCR oraz do proteomiki, Rozdział 12, w: *Mikrobioanalitika*, Brzózka Zbigniew (red.), 2009, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, ISBN 978-83-7207-809-4, ss. 218-234.
- Sankiewicz A., Puzan B., Gorodkiewicz E., BioczuJNIKI SPRI – narzędzie diagnostyczne przyszłości. *Chemik*, 6 (2014) 528 (pdf online)  
[http://miesiecznikchemik.pl/wp-content/uploads/2015/01/chemik\\_2014\\_06-2.pdf](http://miesiecznikchemik.pl/wp-content/uploads/2015/01/chemik_2014_06-2.pdf)
- Wang J., From DNA biosensors to gene chips, *Nucl. Acid. Res.*, 28 (2000) 3011  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC108456/pdf/gkd480.pdf> (open access)
- Strony internetowe: <https://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/Biosensory/>



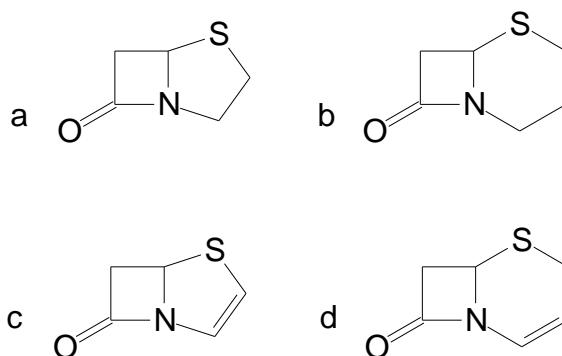
### **Zadanie 7 (10 pkt)**

Przeczytaj artykuły proponowane jako źródła wiedzy i odpowiedz na następujące pytania:

A. Nazwij struktury przedstawione na poniższym rysunku.

Wskaż, która struktura występuje w naturalnych penicylinach, a która w naturalnych cefalosporynach.

Dlaczego wymienione grupy antybiotyków nazywamy ogólnie antybiotykami  $\beta$ -laktamowymi? Uzasadnij w kilku zdaniach. (2 pkt)



B. Opisz mechanizm działania penicylin na komórki bakteryjne.

Dlaczego penicylina silniej działa na bakterie Gram-dodatnie niż na bakterie Gram-ujemne? Czy penicyliny działają na komórki ssaków? Uzasadnij odpowiedź. (4 pkt)

C. Oporność bakterii na antybiotyki – zjawisko naturalne czy wywołane przez działalność ludzi. Przedstaw zwięźle swój pogląd na ten temat, napisz też jakie widzisz możliwości przeciwdziałania szkodliwym skutkom tego zjawiska. (4 pkt)

Proponowane źródła wiedzy:

- Główna M. Przegląd mechanizmów działania i oporności na antybiotyki hamujące biosyntezę ściany komórkowej, *Acta Uroboroi – w kręgu epidemii*, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, **2018**, 134
- Godziszewska J., Guzek D., Głąbski K., Wierzbicka A., *Postępy Hig. Med. Dośw.* (on line), **2016**; 70:803-810
- Jabłoński A., Zębek S., Mokrzycka A., Wybrane mechanizmy oporności bakterii na chemioterapeutyki, *Medycyna Wet.* 2010, 66, 449
- Ratlege C. red., *Podstawy Biotechnologii*, rozdział 18, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, **2011**

.....  
(imię i nazwisko)

### **Zadanie 8 (15 pkt – po 0,3 pkt na enzym)**

Pewien biotechnolog, pracujący na co dzień w renomowanej firmie farmaceutycznej, dostał od swoich przełożonych zadanie opracowania biosyntezy kilku kluczowych bloków budulcowych wykorzystywanych do produkcji substancji czynnych leków. Dołącz do jego zespołu i pomóż mu zaprojektować chemoenzymatyczne syntezy ww. związków w taki sposób, aby było to możliwe z zastosowaniem poniżej wymienionych enzymów jako biokatalizatorów. Zwróć proszę uwagę, że część enzymów, którymi dysponował biotechnolog, może zostać użyta przez Ciebie na różnych etapach zaproponowanej syntezy więcej niż tylko raz. Rozwiązania tego zadania należy formułować w ten sposób, że w ramki zamieszczone nad danymi reakcjami proszę wpisać skrótowe nazwy enzymów umieszczone w tabeli poniżej.

<b>Enzym (pełna nazwa)</b>	<b>Enzym (nazwa skrótowa)</b>
Lipaza	Lip
Hydrolaza 6-oksokamforowa	OCH
$\beta$ -galaktozydaza	$\beta$ -GAL
Ene-reduktaza	ER
Lakkaza	Lac
Esteraza	EST
Aldolaza	Ald
Transketolaza	TKT
Nitrylaza	NIT
Dehalogenaza halohydrynowa	HHDHs
Deaminaza L-treoninowa	DEA-THR
Oksydaza alditolowa	AIOX
Fosfataza	Pho
Dekarboksylaza kwasu ferulowego	FDC
Izomeraza L-arabinozy	AL
Hydrolaza epoksydowa	SpEH
chloroperoksydaza	CPO
Dehydrogenaza mleczanowa	LDH
Syntaza acetomleczanowa	ALS
Monooksygenaza styrenowa	SMO
Monoaminooksydaza	MAO
Dekarboksylaza $\alpha$ -acetomleczanowa	$\alpha$ -ALD
Dehydrogenaza aldehydowa	EcALDH
$\alpha$ -Transaminaza	$\alpha$ -TA
Oksydaza $\alpha$ -hydroksykwasu Dehydrogenaza kwasu L-migdałowego	$\alpha$ -HO albo MADH
Katalaza	CAT
Syntaza norkoklauryny	NCS
Dehydrogenaza ksantynowa	XDH
Dehydrataza dihydroksykwasowa	DHAD
Oksydaza alkoholu wanilinowego	VAOX
Dehydrogenaza alaniny	ALADH
Amoniakolizyzy L-tyrozyny	TAL
Monooksygenaza Baeyera-Villigera	BVMO
Fenololizyzy tyrozynowa	TPL
Monooksygenaza P450	MO-P450
Dehydrogenaza alkoholowa	ADH
Dehydrogenaza <i>prim</i> -alkoholowa	prim-ADH





.....  
(imię i nazwisko)

Proponowane źródła wiedzy:

- <https://www.brenda-enzymes.org/>
- <https://www.beilstein-strenda-db.org/strenda/>

### **Zadanie 9 (6 pkt – po 2 pkt za każde uzasadnienie)**

Lipazy (hydrolazy triacylogliceroli, EC 3.1.1.3) w warunkach fizjologicznych, odpowiedzialne są za katalizowanie reakcji hydrolizy estrów glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych. Odgrywają one przy tym zasadniczą rolę w metabolizmie tłuszczów oraz lipoprotein. *In vitro*, w środowisku niewodnym (na przykład w rozpuszczalnikach organicznych) lipazy katalizują takie reakcje, które nie zachodzą w komórce *in vivo*. Są to biegnące oddzielnie, następczo lub równolegle reakcje otrzymywania lub hydrolizy estrów innych niż triacyloglicerole (np. estrów tiolowych, amidów i wodoronadtlenków kwasów karboksylowych). Na poniższym schemacie zaprezentowano reakcję estryfikacji 1-rzędowego alkoholu aromatycznego (2-fenyletanolu) katalizowaną lipazami w rozpuszczalnikach organicznych.



Gdzie: R = Alkil.

Reakcja ta jest możliwa do przeprowadzenia za pomocą różnych reagentów spełniających rolę donora grupy acylowej. W poniższej tabeli wskaż odczynnik, który będzie najlepiej nadawał się do tych celów oraz krótko uzasadnij swój wybór (proszę wymienić co najmniej trzy zalety wytypowanego donora acylu oraz napisać reakcję katalizowanego procesu z uwzględnieniem produktów ubocznych).

#### **Powszechnie stosowane donory grupy acylowej:**

<b>Kwasy karboksylowe:</b>	<b>Estry oksymów:</b>	<b>Bezwodniki:</b>
<b>Estry alkilowe:</b>	<b>Estry cyjanometylowe:</b>	<b>Estry enoli:</b>
<b>Tioestry:</b>	<b>Estry 2,2,2-trihaloetylowe:</b>	

Proponowane źródło wiedzy:

- Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*; Springer, 1997.

.....  
(imię i nazwisko)

### Zadanie 10 (6 pkt)

Wyobraź sobie, że jesteś studentem/studentką Biotechnologii. Jesteś w laboratorium i chcesz przygotować mieszaninę X potrzebną Ci do przeprowadzenia eksperymentu biochemicznego.

Mieszanina X ma stanowić roztwór wodny o końcowej objętości 200 ml i zawierać:

- 50 mM bufor Tris-HCl o pH 8,0
- 0,05% Triton X-100 (v/v)\*
- 50 nmoli dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (zredukowana forma – NADH)
- 20 µg/ml fluorku fenylometylosulfonylu (PMSF)
- 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

\*roztwór objętościowo-objętościowy

W laboratorium znalazłeś/aś:

- Opakowanie Trisu firmy Roth (nr katalogowy 5429.3) – przygotuj sobie roztwór wyjściowy: 0,5 M bufor Tris-HCl o pH 8,0
- Roztwór 10% Tritonu X-100 (v/v)
- Opakowanie NADH firmy Sigma-Aldrich (nr kat. N1161) – korzystając z informacji producenta przygotuj sobie roztwór wyjściowy NADH, który będzie 1000x bardziej stężony niż w mieszaninie X
- Roztwór PMSF o stężeniu 20 mg/ml
- Butelka 96% kwasu siarkowego cz.d.a.\* firmy Roth (nr kat. 4623.3)
- Butelka kwasu solnego 37% cz.d.a. firmy Roth (nr kat. 4625.1)
- Woda dejonizowana

\*cz.d.a. – czysty do analiz

Znajdź w internecie lub innych źródłach wszystkie potrzebne dane i krok po kroku opisz, podając sposób rozumowania i obliczenia, w jaki sposób przygotujesz roztwory wyjściowe, oraz mieszaninę X.

Proponowane źródła wiedzy:

- Zgirski A., Gondko R. Obliczenia biochemiczne. PWN
- <http://www.molekularna.pl/> - zakładka Biologia molekularna (podpowiedź jak zrobić bufor trisowy)