

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5 «СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ»

Опыт 1. Действие фермента каталазы на пероксид водорода

Реактивы и оборудование: 3% раствор перекиси водорода, кусочки вареного и сырого картофеля, кусочки вареного и сырого мяса четыре пробирки.

Ход работы: В первую пробирку поместите кусочек вареного картофеля, а во вторую – сырого. В третью пробирку поместите кусочек сырого мяса, а в четвертую – вареного. Во все пробирки прилейте по 1 мл 3%-ного раствора перекиси водорода. К отверстию каждой пробирки поднесите тлеющую лучину.

Вывод: Отметьте и объясните происходящие изменения. Запишите уравнение реакции разложения пероксида водорода под действием каталазы. (Каталаза - это фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз, который защищает организм от токсического действия пероксида водорода.)

Опыт 2. Действие дегидрогеназы на метиленовый синий

Реактивы и оборудование: 0,5% раствора формальдегида, 6 мл некипяченого молока, раствор метиленового синего, 2 мл растительного масла, две пробирки, 2 стакана, водяная баня, нагретая до 35-40 °С, стеклянная трубочка, груша.

Ход работы: Налейте в две пробирки по 3 мл некипяченого молока. Прибавьте 15 капель 0,5%-го формальдегида и 4 капли раствора метиленового синего в каждую пробирку. Отметьте цвет раствора. Прилейте по 1 мл растительного масла в обе пробирки. Одну пробирку поместите в водяную баню, вторую оставьте при комнатной температуре на 5-7 мин. Отметьте цвет раствора. Извлеките пробирку из водяной бани и продуйте воздух через реакционную массу с помощью резиновой груши и стеклянной трубки.

Вывод: Отметьте и объясните происходящие изменения. Запишите уравнение реакции восстановления метиленового синего под действием дегидрогеназы. Какое из веществ является донором водорода в проведенном опыте? (Дегидрогеназы – это группа ферментов из класса оксидоредуктаз, катализирующих перенос протонов от субстрата (органических веществ) и пары электронов — к акцептору).

Опыт 3. Действие липазы

Реактивы и оборудование: Препарат липазы (5-7%-ый раствор панкреатина), растительное масло, 1%-ый раствор гидрокарбонат натрия, 1%-ый спиртовой раствор фенолфталеина, пробирки, пипетки, груши, термостат.

Ход работы: Влейте в две пробирки по 1 мл подсолнечного масла, прибавьте к маслу 4 мл дистиллированной воды, 5 мл гидрокарбоната натрия и энергично встряхните до образования эмульсии. Липаза ускоряет гидролиз только эмульгированных жиров. После эмульгирования прибавьте 5 капель фенолфталеина, затем в одну из пробирок влейте 1 мл препарата липазы, перемешайте. Пробирки поместите в термостат при 38 °С. Проанализируйте цвет раствора в пробирках через некоторое время.

Вывод: Отметьте и объясните происходящие изменения. Напишите уравнение реакции гидролиза триацилглицеридов под действием липазы. (Липаза – это фермент, который быстро гидролизует сложноэфирные связи, находящиеся в 1-ом и 3-ем положении в триацилглицеридах. Гидролиз сложноэфирной связи, находящейся во втором положении протекает очень медленно.)

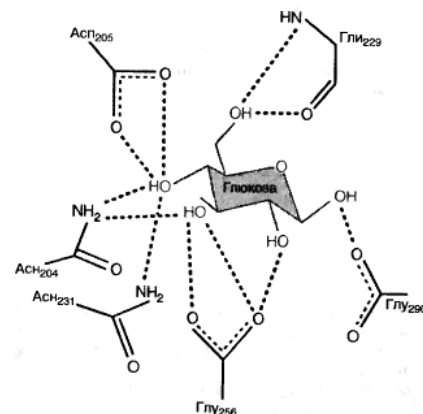
САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

Контрольные вопросы и задания:

1. Окисление глюкозы до углекислого газа и воды протекает с выделением очень большого количества энергии. Как объяснить тот факт, что глюкоза на воздухе вполне устойчива к окислению?
2. На рисунке показано многоточечное комплементарное взаимодействие глюкозы с аминокислотами субстратсвязывающим центром. Глюкокиназа – изофермент печени, катализирующий реакцию фосфорилирования глюкозы.



Рисунок. 1 Взаимодействие глюкозы с аминокислотными остатками в субстратсвязывающем центре.



Ответьте на следующие вопросы:

- a) Какие аминокислотные остатки входят в состав субстратсвязывающего центра? Охарактеризуйте полярность этих радикалов.
- b) Какие связи образуются между глюкозой и функциональными группами аминокислот?
- c) Используя рисунок, подтвердите, что субстратсвязывающий центр глюкокиназы формируются на уровне третичной структуры, а связывание глюкозы многоточечное и комплементарное.

3. Метанол является очень токсичным соединением для организма человека. Прием внутрь всего лишь 30 мл метанола может привести к смерти. Токсичность метанола обусловлена продуктом его метаболизма – формальдегидом. Формальдегид образуется из метанола под действием фермента печени алкогольдегидрогеназы. Одним из способов лечения отравления метанолом является внутривенное введение большого количества этанола, которое у здорового человека вызывает интоксикацию. Объясните, в чем заключается эффективность такого лечения.