

11 КЛАСС

БИОХИМИЯ С ОТВЕТАМИ

Работа в лаборатории «Биохимия» занимает 45 минут; максимальная оценка – 20 баллов. Задание включает в себя две части – «определение биологических молекул в молоке» и «изучение работы ферментов». Рекомендуемое время для выполнения каждой части – 20 – 25 минут. Из оборудования и реактивов в лаборатории на каждого участника требуется:

1. 4 чистые пробирки;
2. 2-3 чистые пипетки на 1 – 2 мл;
3. Резиновая груша или насадка на пипетки;
4. Газовая горелка (на 1 – 2 участников) или водяная баня (1 – 2 на лабораторию);
5. Молоко (5 – 6 мл);
6. Экстракт картофеля (1 – 2 мл);
7. 6% раствор NaOH;
8. 2,5 % раствор CuSO_4 или раствор Бенедикта, но подписать его рекомендуется как CuSO_4 ;
9. Раствор Люголя;
10. Концентрированная азотная кислота;
11. 5 % раствор перекиси водорода.

Картофельный экстракт рекомендуется приготовить следующим образом: клубень картофеля (примерно 30 г) измельчают, к полученному пюре прибавляют воду или 50 мМ Трис-Cl/ К-фосфатный буфер, pH 6 – 7 (из расчета 100 мл на 30 г растительной ткани), тщательно перемешивают 1 – 2 мин. Гомогенат центрифугируют 5 мин при 10 000 g, используют полученный супернатант. При отсутствии необходимого оборудования, экстракт можно заменить гомогенатом, профильтрованным через марлю (4-6 слоев).

Задание 1. Обнаружение биологических молекул в молоке.

Участникам предлагается провести качественные реакции для определения присутствия тех или иных молекул в исследуемом образце. 4 чистые пробирки рекомендуется пронумеровать заранее или предложить это сделать самим участникам в начале работы (для этого им необходимо предоставить маркер, химический карандаш, наклейки или др.). Для проведения реакции Троммера и ксантопротеиновой реакции требуется нагревание. В том случае, если в лаборатории используются водяные бани, каждому участнику следует оставить на своей пробирке еще и инициалы и отдать ее преподавателю, чтобы не перепутать пробы. Забирают пробирки с инкубации через 1 – 2 мин под контролем преподавателя.

После проведения всех качественных реакции, участник должен позвать преподавателя, чтобы тот проверил его работу. Преподаватель ставит в графе «отметка преподавателя» знак «+» напротив соответствующей реакции, если определение прошло успешно (фиолетовое окрашивание в пробе 1, оранжево-красный осадок в пробе 2, нет изменений в пробе 3, желтый осадок в пробе 4) и знак «-», если нет.

За каждую ячейку таблицы ставится 0,5 балла, Максимальное количество баллов за строку - 2. Образец заполнения таблицы и рекомендуемые баллы за различные ответы представлены ниже:

	Реакция	Искомое вещество	Механизм реакции	Присутствие вещества (+/-)	Отметка преподавателя
--	---------	------------------	------------------	----------------------------	-----------------------

1	Добавьте 2 мл NaOH и 1 – 2 капли CuSO ₄	углевод – 0 баллов; сахар – 0,25 балла; редуцирующие сахара - 0,5 балла, или глюкоза – 0,5 балла; или лактоза – 0,5 балла.	Окисление альдегидной группы CuO; обязательно уравнение реакции (0,5).	+ (0,5)	+ (0,5)
2	Добавьте 2 мл NaOH и 1 – 2 капли CuSO ₄ ; нагрейте раствор	пептид – 0,5 балла; или белок – 0,5 балла.	Образование комплекса с медью в щелочной среде; желательно рисунок комплекса (0,5).	+ (0,5)	+(0,5)
3	Добавьте 1 – 2 капли раствора Люголя	крахмал – 0 баллов. Гликоген – 0,5 балла. Если написано – ненасыщенные жирные кислоты – баллы не снимаются, но и не добавляются.	Образование комплекса с полисахаридной цепью (0,5).	- (0,5)	+(0,5)
4	Добавьте 1 – 2 капли HNO ₃ , нагрейте раствор	Белок – 0,25 балла; ароматические аминокислоты – 0,5 балла	Нитрование ароматических колец; обязательно уравнение реакции с остатком фенилаланина или тирозина (0,5).	+ (0,5)	+(0,5)

Белый цвет молока объясняется рассеянием света жировыми каплями, присутствующими в молоке.

Задание 2. Изучение работы ферментов.

Рекомендуемые ответы представлены ниже:

2.1. Запишите уравнение реакции: $2\text{H}_2\text{O}_2 = \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (0,5 балла); $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{A} = \text{AH}_2 + \text{O}_2$ (0,5 балла); вместо А можно записать аскорбат и/или глутатион. (1)

2.2. Какой (какие) фермент(ы) катализируют эту (эти) реакцию (-ии): каталаза (0,5 балла); пероксидаза (0,5 балла). (1)

2.3. Какие функции выполняют эти ферменты в живых клетках: защита от активных форм кислорода (0,75 балла); если упомянута пероксидаза, то, как минимум, одна из функций пероксидаз - участие в обмене аминокислот, окислении жиров, фотодыхании и др. (0,25 балла). (1)

2.4. К суспензии клеток некоторого прокариотического организма добавили несколько капель перекиси водорода, однако выделения газа не наблюдали. Какой вывод можно сделать о метаболизме этого организма: этот микроорганизм – анаэроб.(1)

2.5. 3 г проростков злака измельчили и смешали с 10 мл воды, после чего взвесь процедили через марлю, отцентрифугировали, осадок отбросили, а супернатант собрали. К 1 мл супернатанта был добавлен перекись водорода. За первые 30 секунд реакции выделилось 2 мл газа. Рассчитайте активность фермента, осуществляющего исследуемую реакцию, в проростке злака:

2 мл газа соответствуют 0,09 ммоль кислорода (1 балл). За минуту выделяется 0,18 ммоль кислорода. Активность фермента в экстракте – 0,18 ммоль

продукта/мин*мл (1 балл). В 1 мл экстракта содержится такое же количество фермента, что и в 0,3 г растительной ткани. Следовательно, удельная активность фермента составляет 0,6 ммоль/мин*г ткани (1 балл). (3)

2.6. На рисунке изображен проросток злака. Из разных частей проростка (1 – 3) были приготовлены экстракты, после чего была определена активность исследуемого фермента в каждой из этих фракций. Расположите фракции в порядке возрастания активности фермента: (4)

2<3<1 по 1 баллу за правильную позицию; 1 балл за объяснение.

Наибольшая активность наблюдается в листе и coleoptile, так как там интенсивно протекают процессы дыхания, и фотосинтез. Наименьшая активность наблюдается в эндосперме, так как там наименее интенсивно протекают окислительные процессы.