

Aktywność enzymatyczna



Źródło obrazu: 123rf.com

Przedział wiekowy	Przedmiot	Podtematy	Wymóg	Realizacja	Przygotowanie
14 lat	Biologia	Aktywność enzymu	••	•	•

Definicja zadania

Uczniowie badają aktywność enzymatyczną katalazy w rozkładzie nadtlenu wodoru w porównaniu z szybkością spontanicznego (niekatalizowanego) rozkładu.

Wprowadzenie

Czym są enzymy?

Komórki muszą przeprowadzać tysiące reakcji chemicznych w bardzo szybkim tempie, aby utrzymać swoje funkcje życiowe. Enzymy są niezbędne do tych procesów. Są to białkowe katalizatory, które przyspieszają odpowiednie reakcje poprzez obniżenie ich energii aktywacji. Kształt enzymu odgrywa kluczową rolę w jego zdolności do katalizowania reakcji.

Enzymy są wysoce specyficzne, co oznacza, że zazwyczaj oddziałują tylko z jednym określonym substratem. Podobnie jak inne katalizatory w reakcjach chemicznych, enzymy nie ulegają zużyciu w trakcie reakcji, lecz umożliwiają przekształcenie substratu w produkt końcowy. W poniższej reakcji można zauważyć, że enzym występuje zarówno przed, jak i po reakcji:



Nadtlenek wodoru (H_2O_2) jest produktem ubocznym oddychania tlenowego w komórkach i odgrywa rolę w sygnalizacji komórkowej oraz apoptozie. Jest on jednak wysoce reaktywny i może prowadzić do powstawania wolnych rodników, które uszkadzają kwasy nukleinowe, dlatego komórki muszą ściśle regulować jego stężenie.

Aby usunąć nadmiar H_2O_2 , komórki wytwarzają enzymy rozkładające nadtlenek wodoru do tlenu (O_2) i wody (H_2O), jak przedstawiono powyżej. W komórkach zwierzęcych enzym ten nazywany jest **katalazą**, a w komórkach roślinnych **peroksydazą**.

Reakcja ta zachodzi spontanicznie, lecz bez udziału enzymów jej szybkość jest bardzo niska. Ta niekatalizowana reakcja stanowi podstawę do przeprowadzenia pierwszego badania kontrolnego.



Materiał i metody

Każdy uczeń lub grupa będzie potrzebować następujących materiałów::

- System do zbierania danych
- [Inteligentny czujnik ciśnienia](#)
- [Mieszadła magnetyczne](#) i pręty do mieszania magnetycznego
- [Butelka z zakrętką](#), 250 ml
- [Korek z otworem](#)
- [Płyta statywu](#) i [pręt statywu](#)
- [Cylinder miarowy](#), 25 ml
- [Podwójna mufka i łapa trójpalczasta](#) i
- [Pipeta](#), 1 ml i [gruszka Peleus](#)
- 1,5% nadtlenek wodoru (H_2O_2), 20 ml
- Zawiesina katalazy, 2 ml

Środki ostrożności

Oprócz standardowych zasad bezpieczeństwa należy przestrzegać następujących wytycznych:

- Zawsze nosić okulary ochronne.
- Podczas korzystania z płyty grzejnej zachować ostrożność, aby uniknąć poparzeń.

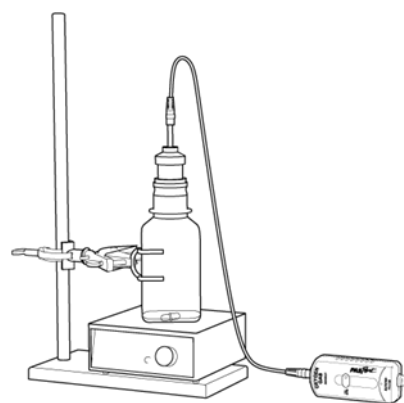
Przeprowadzenie pierwszego badania

Przed zaprojektowaniem i wykonaniem własnego eksperymentu należy przeprowadzić poniższe badanie. Zapisz wszystkie obserwacje, dane, wyjaśnienia i odpowiedzi..

1. Załóż okulary ochronne.
2. Podłącz czujnik ciśnienia do systemu zbierania danych. Przygotuj wykres przedstawiający zmiany ciśnienia w czasie.

Ustaw częstotliwość próbkowania tak, aby pomiar był wykonywany co 15 sekund. Jeśli to możliwe, ustaw automatyczne zatrzymanie po 3 minutach.

3. Skonfiguruj urządzenie zgodnie z ilustracją.
4. Umieść pręcik magnetyczny w butelce na próbki.
5. Za pomocą cylindra miarowego dodaj 20 ml 1,5% H_2O_2 do czystej butelki z próbką o pojemności 250 ml. Jeśli butelka znajduje się na płytce mieszającej, ustawić średnią prędkość mieszania.



6. Dodaj 2 ml katalazy za pomocą pipety, szybko włóż czujnik do otworu butelki i rozpocznij zbieranie danych.

UWAGA: Mieszaninę należy stale mieszać (przy średnim ustawieniu) lub delikatnie obracać butelkę ręcznie, upewniając się, że roztwór nie wejdzie w kontakt z czujnikiem.

7. **Pytanie:** Dlaczego dodanie zawiesiny drożdży spowodowałoby zmianę ciśnienia w butelce z próbką?
8. Skopiuj tabelę 1, aby zapisać wyniki.
9. Po zakończeniu zbierania danych oblicz szybkość reakcji w [odpowiedniej jednostce]/min i zapisz ją w swojej kopii tabeli 1.

10. Spontaniczny rozkład nadtlenu wodoru (H_2O_2) przebiega bardzo wolno - mniej niż **0,5% na dzień**. W kontrolowanym eksperymencie, w którym rozkład mierzono przez kilka dni za pomocą czujnika ciśnienia, uzyskano następujące dane.

Tabela 1: Porównanie szybkości rozkładu nadtlenu wodoru z i bez katalizatora

Czujnik	Szybkość spontanicznego rozkładu	Katalizowana szybkość rozkładu	Wzrost szybkości katalizowanej
Czujnik ciśnienia	$4,26 \times 10^{-5}$ kPa/min.		

- Oblicz, ile razy szybsza jest katalizowana reakcja w porównaniu do spontanicznej.
Wykorzystaj dane z eksperymentu do określenia współczynnika przyspieszenia.
- Wyjaśnij, dlaczego reakcja przebiega znacznie szybciej, gdy obecny enzym.
Odnies się do obniżenia energii aktywacji i mechanizmu działania enzymu.

11. Czy szybkość reakcji była stała przez całe 180 sekund zbierania danych?
Uzasadnij swoją odpowiedź na podstawie zebranych wyników pomiarów.

12. Gdyby reakcja trwała dłużej, czy jej szybkość pozostałaby stała?

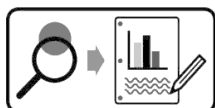
Przedstaw swoje przemyślenia na ten temat i uzasadnij odpowiedź.

- Czy zmniejszająca się ilość substratu (H_2O_2) wpłynęłaby na tempo reakcji?
- Czy enzym mógłby ulec dezaktywacji w trakcie eksperymentu?
- Jakie inne czynniki mogłyby wpłynąć na zmianę szybkości reakcji w dłuższym czasie?

Podaj swoją hipotezę na podstawie danych i mechanizmu działania enzymów.

Projektowanie i przeprowadzanie eksperymentu

Wiele czynników wpływających na strukturę i funkcję enzymów oraz szybkość reakcji katalizowanych przez enzymy łatwo modyfikować. Zidentyfikuj jeden z tych czynników i zaprojektuj eksperyment, aby określić, jak ten czynnik wpływa na szybkość reakcji katalizowanej przez enzymy.



i przeprowadź eksperyment zgodnie z instrukcją "Przeprowadzenie wstępnego badania" lub arkuszem roboczym "Zaprojektowanie i przeprowadzenie eksperymentu". Wypełnij następnie pytania do analiza danych i pytania końcowe.

Projektowanie i realizacja eksperymentu: analiza danych

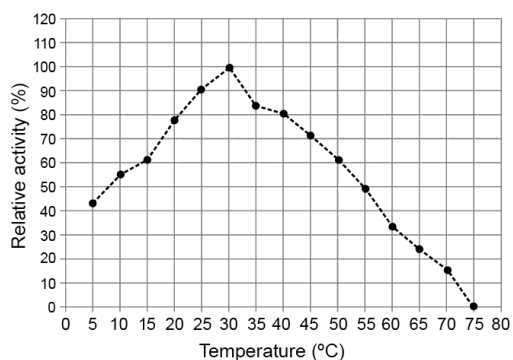
- Zgodnie z obserwacjami i danymi:
 - Opisz, w jaki sposób zmienna niezależna, którą manipulowałeś, wpłynęła na szybkość rozkładu nadtlenu wodoru. Czy dane potwierdzają hipotezę? Uzasadnij swoje twierdzenie danymi z eksperymentu.
 - Wyjaśnij wyniki, korzystając z zebranych danych.
- Czy masz dowody w danych lub z obserwacji, że błąd eksperymentalny lub inne niekontrolowane zmienne wpłynęły na wyniki? Jeśli tak, to czy dane są wystarczająco wiarygodne, aby określić, czy hipoteza została potwierdzona?
- Zidentyfikuj wszelkie nowe pytania, które pojawiły się w wyniku przeprowadzonych badań.

Pytania końcowe

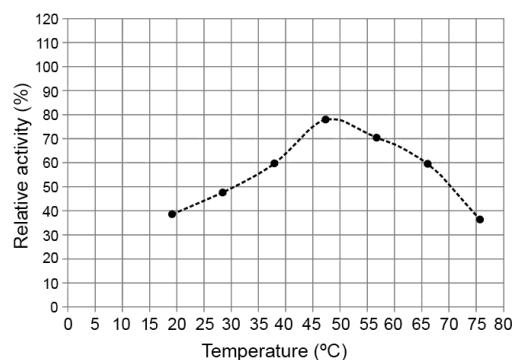
- podwoisz ilość katalazy w początkowym cieście, jak zmieni się szybkość reakcji? Wyjaśnij swoje rozumowanie.
- Wiele organizmów, takich jak grzyby, zwierzęta i rośliny, posiada katalazę.
 - Co to o enzymie?
 - Katalaza to tylko jeden z tysięcy różnych enzymów występujących w komórkach drożdży i innych organizmów. Dlaczego organizmy potrzebują tak wielu różnych rodzajów enzymów?

3. Poniższe wykresy przedstawiają względną aktywność α -amylazy dwóch różnych gatunków. Amylaza jest enzymem, który rozkłada złożone węglowodany (takie jak skrobia) na cukry proste, które następnie wykorzystywane w procesie oddychania komórkowego. Rysunek 1 przedstawia dane uzyskane z próbek α -amylazy z bakterii *Bacillus subtilis* znalezionej w jelitach termitów w południowych Stanach Zjednoczonych.¹

Rysunek 2 przedstawia dane dla próbki α -amylazy z widłonoga *Heliodiaptomus viduus*. Organizm ten występuje głównie w Oceanie Indyjskim wokół kominów hydrotermalnych (wulkanów głębinowych). W każdym eksperymencie enzym był inkubowany w określonej temperaturze, a następnie testowany pod kątem aktywności w regularnych odstępach czasu.²



Rysunek 1: Aktywność amylazy u *Bacillus subtilis*



Rysunek 2: Aktywność amylazy u *Heliodiaptomus viduus*

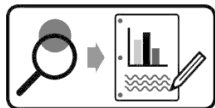
- a. Omów, jak i dlaczego temperatura wpływa na aktywność enzymów.
- b. Wyjaśnij, dlaczego optymalna temperatura dla α -amylazy jest inna dla tych gatunków.

¹ Femi-Ola, T. O.; Olowe, B. M. Characterisation of Alpha Amylase from *Bacillus subtilis* BS5 Isolated from *Ameritermes evuncifer* Silvestri. *Research Journal of Microbiology* 6 (2011): 140-146.

² Dutta, T.K.; Jana, M; Pahari, P. R; Bhattacharya, T. The Effect of Temperature, PH, and Salt on Amylase in *Heliodiaptomus viduus* (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). *Turkish Journal of Zoology* 30 (2006): 187-195.

Arkuszy roboczy "Projektowanie i przeprowadzanie eksperymentu"

Wiele czynników wpływających na strukturę i funkcję enzymów oraz szybkość reakcji katalizowanych przez enzymy łatwo modyfikować. Zidentyfikuj jeden z tych czynników zaprojektuj eksperyment, aby określić, jak ten czynnik wpływa na szybkość reakcji katalizowanej przez enzymy.



Zaprojektuj i przeprowadź eksperyment, korzystając z poniższych wskazówek.

1. W oparciu o wiedzę na temat enzymów i reakcji, jakie czynniki środowiskowe (abiotyczne lub biotyczne) mogą wpływać na szybkość reakcji katalizowanych przez enzymy?
2. Stwórz podstawowe pytanie: Wybierz jeden ze zidentyfikowanych czynników, który można przetestować i opracuj testowalne pytanie dla swojego eksperymentu.
3. Jak uzasadnisz swoje główne pytanie? Dlaczego jest ono biologicznie ważne, istotne lub interesujące?
4. Co będzie zmienną niezależną w eksperymencie? Opisz, w jaki sposób ta zmienna będzie manipulowana w eksperymencie.
5. Jaka jest zmienna zależna eksperymentu? Opisz sposób gromadzenia i przetwarzania danych w eksperymencie.
6. Postaw testowalną hipotezę (jeśli... to...).
7. Które warunki muszą być stałe w eksperymencie? Jeśli to możliwe, określ te wartości ilościowo.
8. Ile eksperymentów jest przeprowadzanych dla każdej grupy eksperymentalnej? Uzasadnij swój wybór.
9. Co będziesz porównywać lub obliczać? Jaką analizę przeprowadzisz, aby ocenić swoje wyniki i hipotezy?
10. Opisz co najmniej 3 potencjalne źródła błędów, które mogą mieć wpływ na dokładność lub wiarygodność danych.

11. Wykorzystaj poniższe miejsce, aby stworzyć przegląd eksperymentu. Zapisz kroki procedury. (Ktoś inny lub inna grupa powinna być w stanie powtórzyć proces i osiągnąć podobne wyniki).

Bibliografia:

- [Biblioteka cyfrowa PASCO](#)
- Femi-Ola, T. O.; Olowe, B. M. Characterisation of Alpha Amylase from Bacillus subtilis BS5 Isolated from Ameritermes evuncifer Silvestri. Research Journal of Microbiology 6 (2011): 140-146.
- Dutta, T.K.; Jana, M; Pahari, P. R; Bhattacharya, T. The Effect of Temperature, PH, and Salt on Amylase in Heliodiaptomus viduus (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). Turkish Journal of Zoology 30 (2006): 187-195.

Katalog zdjęć:

PASCO

<https://de.123rf.com/>

Ta instrukcja została utworzona w kwietniu 2019 r.

Należy pamiętać, że nasze instrukcje testowe mają charakter wyłącznie orientacyjny. Nasze instrukcje dotyczące eksperymentów zostały przygotowane z naszą najlepszą wiedzą i przekonaniem. Nie zastępują one jednak profesjonalnego przygotowania do lekcji. Nie ponosimy odpowiedzialności za ich poprawność, kompletność i aktualność i prosimy o sprawdzenie odpowiednich oświadczeń i źródeł przed ich rozpowszechnieniem.