

Фамилия _____
Имя _____
Район _____
Шифр _____

Шифр _____

Рабочее место _____

Итого _____ баллов

Задания практического тура регионального этапа XXXIII Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2016-17 уч. год. 11 класс.
ЛАБОРАТОРИЯ БИОХИМИИ

Определение активности ферментов путем количественного измерения концентрации глюкозы

Ход работы. Целью работы является определение активности комплекса ферментов (амилаза + мальтаза), расщепляющего крахмал до глюкозы, в экстракте пророщенных зерновок пшеницы. Для этого пророщенные зерновки прогомогенизировали в буферном растворе и отцентрифугировали. Концентрация белка в супернатанте составила 0,01 мг/мл. После этого к суспензии крахмала (с концентрацией 100 мМ в пересчете на глюкозу) добавили равный объем супернатанта, смесь проинкубировали 10 мин при 25°C, остановили реакцию нагреванием, и смесь профильтровали. Фильтрат находится в пробирке, промаркированной буквой «X». Для определения концентрации глюкозы в фильтрате «X» вам необходимо построить стандартный ряд концентраций глюкозы и провести реакцию с сульфатом меди в щелочной среде (см. Таблицу).

| № пробирки | Концентрация глюкозы, мМ | Объем внесенного 50 мМ раствора глюкозы, мл | Объем внесенного фильтрата «X», мл | Объем добавленной воды, мл | 6% NaOH, мл | 2% CuSO ₄ , мл | Концентрация глюкозы в фильтрате «X» (согласно стандартному ряду) |
|------------|--------------------------|---|------------------------------------|----------------------------|-------------|---------------------------|---|
| 1 | 0 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 2 | 10 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 3 | 20 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 4 | 30 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 5 | 40 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 6 | 50 | | - | | 1,0 | 0,5 | - |
| 7 | X | - | 1,0 | | 1,0 | 0,5 | |
| 8 | X | - | 1,0 | | 1,0 | 0,5 | |

Задание 1 (10 баллов). Заполните **ВСЕ** пустые ячейки в Таблице. В соответствии с Таблицей приготовьте в пробирках 1 - 8 пробы стандартного ряда (объемом 1 мл), содержащие 0 – 50 мМ глюкозы, и две пробы с фильтратом «X», после чего добавьте во все пробирки по 1 мл раствора 6% NaOH и по 0,5 мл 2% раствора сульфата меди. Тщательно перемешайте все пробы и нагрейте на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Сравните пробирки с фильтратом «X» с пробирками стандартного ряда и определите в них концентрацию глюкозы (редуцирующих сахаров).

Задание 2 (5 баллов). Рассчитайте активность комплекса ферментов (в мкмоль глюкозы/мин на 1 мг белка супернатанта) в соответствии с Вашими результатами. Считайте, что все редуцирующие сахара - это глюкоза.

Активность ферментов = _____ мкмоль глюкозы/мин на 1 мг белка

Задание 3 (3 балла). Рассчитайте, сколько процентов связей в крахмале было расщеплено в ходе инкубации. Содержанием крахмала в экстракте зерновок пшеницы можно пренебречь.

Было расщеплено _____ % связей в крахмале.

Задание 4 (2 балла). Какое из приведенных ниже утверждений является верным (неверное зачеркнуть).

- 1) Скорость образования глюкозы лимитируется активностью амилазы.
- 2) Скорость образования глюкозы лимитируется активностью мальтазы.
- 3) Поставленный опыт не позволяет ответить на этот вопрос.