

Ингибирование фермента (отравление ферментов) с Cobra SMARTsense



Химия

Органическая химия

Биохимия

Биология

Биохимия

Прикладные науки

Медицина

Биохимия



Уровень сложности

средний



Размер группы

2



Время подготовки

10 Минут



Время выполнения

45+ Минут

PHYWE
excellence in science

Общая информация

Описание

PHYWE
excellence in science

Экспериментальная установка

При ферментативном гидролизе мочевины в водном растворе получаются углекислый газ и аммиак. Ионы этих соединений повышают проводимость раствора. Скорость гидролиза мочевины ферментом уреазой может быть определена путем измерения проводимости. Добавляя подходящий ингибитор, фермент может быть отравлен так, что субстрат больше не преобразуется.

Дополнительная информация (1/3)

PHYWE
excellence in science

Предварительные знания



Студенты и учащиеся должны быть знакомы с понятиями ингибирования субстрата, энзимолита мочевины и функцией ферментов. Они также должны знать, как действует ингибитор.

Принцип



Ионы нитрата серебра вызывают необратимое ингибирование уреазы.

Дополнительная информация (2/3)

PHYWE
excellence in science

Цель



Ученики и студенты должны понимать, что, помимо обратимого торможения, существует также необратимое торможение ингибитором.

Задачи



Учащиеся и студенты должны определить скорость гидролиза мочевины, измерив проводимость, а затем отравить фермент, добавив подходящий ингибитор.

Дополнительная информация (3/3)

PHYWE
excellence in science

Более подробная информация о результатах

Когда уреазы действует на мочевины, субстрат распадается на диоксид углерода и аммиак. Поскольку в водном растворе образуются ионы, за ходом протекающей реакции можно следить, измеряя проводимость. В течение первых 300 с проводимость постоянно увеличивается в результате активности фермента. Добавление раствора нитрата серебра первоначально приводит к резкому увеличению проводимости за счет ионов серебра и нитрата. Однако в дальнейшем график больше не показывает дальнейшего увеличения проводимости. Причина этого - необратимое ингибирование уреазы ионами серебра, т.е. фермент отравлен. Таким образом, оборот субстрата больше не может происходить.

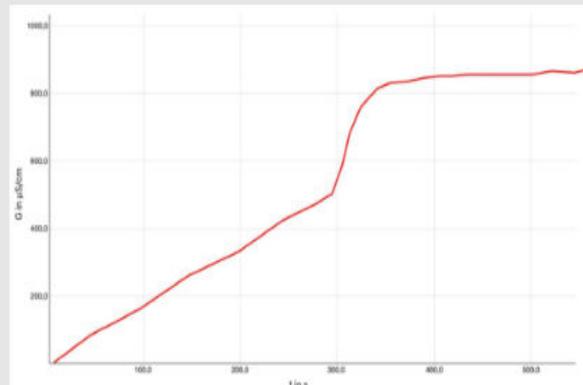


Диаграмма проводимости-времени гидролиза мочевины уреазой до и после отравления

Инструкции по технике безопасности

PHYWE
excellence in science



- Нитрат серебра ("адский камень") - сильно коррозионно-агрессивное твердое вещество. Пыль раздражает органы дыхания. Под действием влаги и света из него выделяется азотная кислота. Получающееся серебро создает типичные черные пятна. В случае пожара нитрат серебра оказывает разжигающее действие, выделяя кислород.
- Не вдыхайте пыль. Избегать контакта с глазами и кожей. Носите соответствующую защитную одежду, перчатки и защитные очки.
- Тщательно промойте пораженную кожу и глаза большим количеством воды, при этом веки должны быть широко открыты. В случае травм глаза немедленно обратитесь к врачу. В случае несчастного случая или плохого самочувствия немедленно обратитесь к врачу. При вдыхании: свежий воздух, оставлять дыхательные пути свободными. В случае одышки: доставить к врачу в полусидячем положении.
- К этому эксперименту применяются общие инструкции по безопасному проведению экспериментов при преподавании естественных наук.

Теория

При ферментативном гидролизе мочевины в водном растворе получаются углекислый газ и аммиак. Ионы этих соединений повышают проводимость раствора. Скорость гидролиза мочевины ферментом уреазой может быть определена путем измерения проводимости. Добавляя подходящий ингибитор, фермент может быть отравлен так, что субстрат больше не преобразуется.

Помимо фермента, ингибиторы также могут связываться с субстратом и, таким образом, значительно снижать скорость реакции. Нитрат серебра, использованный в этом эксперименте, связывается с ферментом (уреазой). Ионы серебра тем самым ингибируют (подавляют) уреазу, что называется отравлением фермента.

Оборудование

Позиция	Материал	Пункт No.	Количество
1	Cobra SMARTsense - Проводимость, 0...20000 $\mu\text{S/cm}$, 0...100°C (Bluetooth)	12922-00	1
2	Магнитная мешалка, цилиндрическая, 30 мм	46299-02	1
3	Magnetic stirrer with heating, stainless steel, digital, 280 °C, 100-1500 rpm	FHO-RSM10HS	1
4	Манипулятор для магнитных мешалок	35680-03	1
5	Портативные весы, OHAUS PS121, 300 г / 0,01 г	49241-93	1
6	Подставка для штатива Бунзена, 210x130 мм, h=750 мм	37694-00	1
7	Двойная муфта	02043-00	1
8	Универсальный зажим	37715-01	1
9	Мензурка, высокая, 100 мл	46026-00	8
10	Мензурка, низкая, 250 мл	46054-00	1
11	Мерная пипетка, 1 мл	36575-00	1
12	Мерная пипетка, 20 мл	36579-00	1
13	Шаровая пипетка	36592-00	1
14	Микролитровый шприц, 100 мкл	02606-00	1
15	Шпатель, спец. сталь, l=150 мм	33393-00	1
16	Промывалка, пластмасса, 500 мл	33931-00	1
17	Мочевина, 250 г	30086-25	1
18	Уреаза, глицериновый раствор, 50%, 10 мл	31924-03	1
19	Нитрат серебра, крист., 25 г	30222-04	1
20	Вода, дистиллирован., 5 л	31246-81	1
21	measureAPP - бесплатное измерительное программное обеспечение всех пр	14581-61	1

Дополнительное оборудование

PHYWE
excellence in science

Позиция	Номер артикля	Назначение
1		мобильное устройство (смартфон/планшет)
2	14581-61	measureAPP
3		Бумажные полотенца

PHYWE
excellence in science

Подготовка и выполнение работы

Подготовка (1/3)

PHYWE
excellence in science

Для измерения проводимости необходимы датчик Cobra SMARTsense-Проводимость и measureAPP. Проверьте, активирован ли «Bluetooth» на Вашем устройстве (планшете, смартфоне) (приложение можно бесплатно скачать в App Store - QR-коды ниже). Теперь откройте приложение measureAPP на своем устройстве



measureAPP для

операционных систем Android



measureAPP для

операционных систем iOS

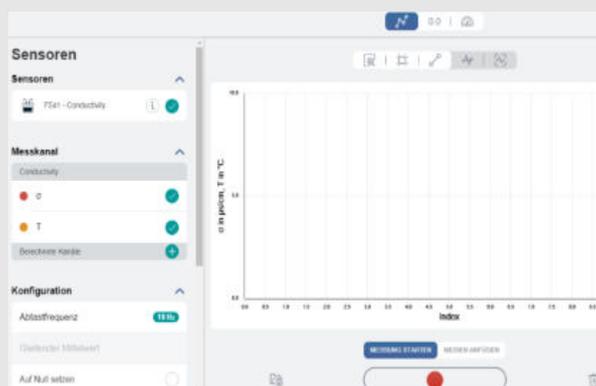


measureAPP для

Планшетов и ПК с Windows 10

Подготовка (2/3)

PHYWE
excellence in science



measureApp
в версии Windows 10

- Включите датчик проводимости SMARTsense, нажав и удерживая кнопку питания.
- Подключите датчик к устройству в приложении measureAPP в разделе «Измерение», как показано на рисунке слева.
- Датчик проводимости SMARTSense теперь отображается в приложении.

Подготовка (3/3)

PHYWE
excellence in science

Подготовка к проведению эксперимента

Растворы, необходимые для эксперимента, готовятся следующим образом:

- 1,6% раствор мочевины: отмерьте 2,00 г мочевины в мензурку объемом 250 мл и растворите в 123,00 г дистиллированной воды (каждый раз перед началом эксперимента готовьте свежий раствор).
- 1% раствор нитрата серебра: отмерьте 0,50 г нитрата серебра в мензурку объемом 100 мл и растворите в 49,50 г дистиллированной воды.

Соберите экспериментальную установку, как показано на рисунке справа.



Экспериментальная установка

Выполнение работы

PHYWE
excellence in science

- Добавьте 40 мл 1,6 % раствора мочевины в мензурку объемом 100 мл путем двойного пипетирования с помощью мерной пипетки объемом 20 мл, затем поместите в мензурку стержень для магнитной мешалки
- Поместите стакан на магнитную мешалку и погрузите зонд проводимости в раствор.
- Установите мешалку на среднюю скорость перемешивания (внимание: магнитная мешалка не должна ударяться об электрод электропроводности).
- С помощью микролитрового шприца добавьте 50 мкл раствора уреазы и сразу начните измерение, нажав кнопку "Пуск".
- За ходом протекания реакции можно визуальнo проследить в программе measureAPP.
- Через 300 с после начала реакции добавьте объемной пипеткой 1 мл 1% раствора нитрата серебра.
- Через 600 с завершите измерение и сохраните его.



Протокол

Задача 1

Заполните пробелы в тексте

При воздействии мочевины на уреазу субстрат разлагается на углекислый газ и . этих соединений повышают проводимость раствора.

Скорость гидролиза мочевины ферментом уреазой может быть определена путем измерения . Добавление раствора нитрата серебра изначально приводит к резкому проводимости за счет ионов серебра и нитрата.

Задача 2

Выберите правильное утверждение.

Добавив подходящий ингибитор, фермент может быть отравлен так, что будет преобразовываться больше субстрата

Добавление ингибитора, например, нитрата серебра, не оказывает никакого влияния на субстрат.

Добавив подходящий ингибитор, фермент можно отравить и преобразовать в другой, что приведет к уменьшению или увеличению оборота субстрата.

Добавив подходящий ингибитор, фермент может быть отравлен так, что субстрат больше не будет преобразован .

Задача 3

Выберите правильные утверждения.

Необратимое ингибирование фермента также называют отравлением.

Обратимое ингибирование фермента также называют отравлением.

Уреаза необратимо ингибируется ионами серебра в нитрате серебра.

Уреаза обратимо ингибируется ионами серебра в нитрате серебра.

Проверить

Слайд	Оценка/Всего
Слайд 16: отравление ферментом	0/4
Слайд 17: Экспонент	0/1
Слайд 18: Ферментативные запреты	0/2

Всего  0/7

 Решения

 Повторить