

**Соколова Н.А., Кочетков В.Г.**

Рабочая тетрадь по химии биополимеров.  
Белки. Ферменты

Волжский

2021

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
ВОЛЖСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ (ФИЛИАЛ)  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Соколова Н.А., Кочетков В.Г.

Рабочая тетрадь по химии биополимеров.  
Белки. Ферменты

*Электронное учебно-методическое пособие*



2021

УДК 678.7(07)  
ББК 24.7я73  
Х 465

Рецензенты:

кандидат биологических наук, зам.декана географического факультета, доцент кафедры «Экология» ФГБОУ ВО МПГУ

*Гамага В.В.;*

кандидат технических наук, инженер-технолог цеха полиэтиленовых труб ООО «ПК «ДИА»

*Кравцова Е.В.*

Издается по решению редакционно-издательского совета  
Волгоградского государственного технического университета

Соколова, Н.А.

Рабочая тетрадь по химии биополимеров. Белки. Ферменты. [Электронный ресурс] : учебно-методическое пособие / Н.А. Соколова, В.Г. Кочетков ; Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, ВПИ (филиал) ФГБОУ ВО ВолгГТУ. – Электрон. текстовые дан. (1 файл: 330 КБ). – Волжский, 2021. – Режим доступа: <http://lib.volpi.ru>. – Загл. с титул. экрана.

ISBN 978-5-9948-4066-5

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с рабочей учебной программой курса «Химия биополимеров» для студентов, обучающихся по направлению подготовки 18.03.01 «Химическая технология».

Учебно-методическое пособие содержит методические рекомендации для подготовки студентов к лабораторно-практическим занятиям по химии полимеров по таким крупным разделам, как «Химия белков как биополимеров» и «Ферменты как биополимеры». Приведены краткий теоретический материал, контрольные вопросы и задачи для самостоятельного решения, тестовые задания по этим разделам. Пособие может быть полезны также и студентам других направлений и всем, интересующимся химией биополимеров.

Ил.2, табл. 2, библиограф.: 13 назв.

ISBN 978-5-9948-4066-5

© Волгоградский государственный  
технический университет, 2021  
© Волжский политехнический  
институт, 2021

## Оглавление

Раздел 1. Химия белков как биополимеров.....	4
1.1 Лабораторно-практическое занятие № 1 «Изучение свойств белковых молекул».....	4
1.2 Лабораторно-практическое занятие № 2 – 3 «Изучение свойств белковых молекул».....	11
1.3 Упражнения и задачи по химии белков.....	27
Раздел 2. Ферменты как биополимеры .....	40
2.1 Лабораторно-практическое занятие 4 «Действие ферментов» .....	40
2.2 Лабораторно-практическое занятие №5 «Исследование действия ферментов» .....	52
2.3 Упражнения и задачи по химии ферментов.....	59
3 Список рекомендуемых источников.....	67
Приложение .....	68

## Раздел 1. Химия белков как биополимеров

### 1.1 Лабораторно-практическое занятие № 1 «Изучение свойств белковых молекул»

**Цель работы:** познакомиться с классификацией, строением, физико-химическими свойствами и значением аминокислот, как мономеров полипептидов и белков, физико-химические свойства белков: поведение белков в растворах с различными значениями pH, понятие об изоэлектрической точке.

#### **Теоретическая часть:**

Трудно провести четкую границу между пептидами и белками. Обычно к белкам относят, как правило, высокомолекулярные пептиды, выполняющие основные биологические функции.

Белки выполняют многочисленные функции:

- каталитическая – ферменты 50% от всех белков;
- защитная – иммуноглобулины, антитела, лизоцим;
- транспортная – гемоглобин, трансферрин;
- регуляторная – гормоны инсулин, глюкагон;
- сократительная – актин, миозин;
- структурная – коллаген, эластин;
- резервная – альбумины;
- токсическая (белки вирусов, бактерий, грибов – токсины).

Такие многочисленные функции белков объясняются особенностями белков:

- большое разнообразие структур;
- разнообразие физико-химических свойств;
- образование комплексов с другими классами органических молекул (металлами, углеводами, липидами, нуклеиновыми кислотами);
- белки способны к внутримолекулярным взаимодействиям;
- способность менять пространственную структуру под действием внешних агентов и возвращаться к нативной структуре по окончании действия агентов, если они не были продолжительными и необратимыми.
- в абсолютном своём большинстве белковая природа присуща всем ферментам.

Такие особенности белков объясняются их составом и строением молекул. Элементный состав белков представлен 50-54 % С, 21-23 % О, 15-17 % N, 6-7 % H, 2,5-0,32 % S и возможно до 0,5 % зольных элементов. Наличие в белках 16 % азота позволяет определить количество белка в изучаемой ткани (Метод Кьельдаля, по которому % белка = % N x 6,25). Молекулярная масса белков варьирует от 6000 до 1000000 и выше. Белки – полимеры, состоящие из остатков аминокислот.



Протеиногенные аминокислоты относятся к L-ряду, но плоскость поляризованного света могут вращать либо вправо(+), либо влево(-). Например: правовращающими являются (Ала, Глу, Лиз и др.), а левовращающими являются (Фен, Три, Лей и др.).

Алифатические					Серосодержащие	
глицин (Gly, G)	аланин (Ala, A)	валин <sup>☆</sup> (Val, V)	лейцин <sup>☆</sup> (Leu, L)	изолейцин <sup>☆</sup> (Ile, I)	цистеин (Cys, C)	метионин <sup>☆</sup> (Met, M)
$\begin{array}{c}   \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \\ \text{8,3} \\ \text{pK}_a \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
полярность						
-2,4	-1,9	-2,0	-2,3	-2,2	-1,2	-1,5
Ароматические			Иминокислоты		Нейтральные	
фенилаланин <sup>☆</sup> (Phe, F)	тирозин (Tyr, Y)	триптофан <sup>☆</sup> (Trp, W)	пролин (Pro, P)	серин (Ser, S)	треонин <sup>☆</sup> (Thr, T)	
$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \\ \text{10,1} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{Indole system} \\ \text{индольная система} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{HN} \quad \text{CH}_2 \\   \quad   \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \text{пирролидиновое кольцо} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	
+0,8	+6,1	+5,9	+6,0	+5,1	+4,9	
☆ незаменимые аминокислоты					□ хиральный центр	
Нейтральные		Кислые		Основные		
аспарагин (Asn, N)	глутамин (Gln, Q)	аспарагиновая кислота (Asp, D)	глутаминовая кислота (Glu, E)	гистидин (His, H)	лизин <sup>☆</sup> (Lys, K)	аргинин (Arg, R)
$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \\ \text{4,0} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \\ \text{4,3} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{Imidazole ring} \\ \text{имидазольное кольцо} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \\ \text{10,8} \end{array}$	$\begin{array}{c}   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH}_2 \\ \text{12,5} \end{array}$
+9,7	+9,4	+11,0	+10,2	+10,3	+15,0	+20,0

*Рис.1. Радикалы протеиногенных аминокислот и их полярность*

**Ход работы:**

1. Изучить теоретическую часть.
2. Ответить (письменно) на вопросы
3. Выполнить задания и решить задачи (выдает преподаватель).

**Вопросы:**

1. Аминокислоты – структурные компоненты белковых молекул.

Дайте определение аминокислот.

---

---

---

---

---

---

---

---

2. Элементный состав – перечислить химические элементы, входящие в состав белка, их количественное содержание.

---

---

---

---

---

---

---

---

3. Сколько всего аминокислот может содержаться в белковых молекулах.

---

---

---

---

---

---

---

---

4. Укажите особенности аминокислот, входящие в состав белков, приведите общую формулу.

---

---

---

---

---

---

---

---

5. Перечислите функциональные группы, встречающиеся в различных аминокислотах и напишите их.

---

---

---

---

---

---

---

---



---

6. Напишите по 2-3 примера формул моноаминокарбоновых кислот, моноаминодикарбоновых кислот, диаминомонокарбоновых кислот, аминокислот, содержащих ароматические или гетероциклы.

7. Напишите схему диссоциации аминокислот а) в кислой среде, б) в щелочной среде.

--

8. Белки. Характеристика. Что представляют собой белки? Дайте определение.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

9. Назовите, в каких пределах варьирует молекулярная масса белков, как высокомолекулярных соединений.

---

---

---

---

10. Объясните свойства белков как электролитов?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

11. Что понимают под изоэлектрическим состоянием, изоэлектрической точкой белков. Каково их значение для устойчивости белка в растворе?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

12. Какой заряд несет молекула белка в резкокислой среде и резкощелочной среде?

---

---

---

---

---

---

13. Какие свойства белка характеризуют их как амфотерные электролиты? Приведите схему диссоциации белка в кислой и щелочной среде.

---

---

---

---

---

---

---

---

14. Из раствора, содержащего несколько белков, необходимо выделить один со щелочным значением изоэлектрической точки, не нарушая при этом нативности. Как действовать, располагая набором кислот, основанием и этанолом?

---

---

---

---

---

---

---

---

**Вывод:**

---

---

---

---

---

---

---

---

## 1.2 Лабораторно-практическое занятие № 2 – 3 «Изучение свойств белковых молекул»

**Цель работы:** проведение цветных качественных реакций для обнаружения пептидной связи и отдельных аминокислот в белках, исследование факторов, вызывающих денатурацию и ренатурацию белков, выявление действия биогенных и небιοгенных тяжелых металлов на плазмолиз протоплазмы растительной клетки и коагуляцию белков в растительной и животной клетке.

**Опыт 1. Проведение цветных качественных реакций на аминокислоты белков**

### 1.1. Биуретовая реакция:

Качественная на все без исключения белки, а также продукты их неполного гидролиза, которые содержат не менее двух пептидных связей.

Оборудование и реактивы:

1% раствор белка; 10% раствор гидроксида натрия; 1% раствора сульфата меди ( $\text{CuSO}_4$ ); пробирка

Ход работы: к 1 мл исследуемого 1% раствора белка добавляют равный объем 10% раствора гидроксида натрия ( $\text{NaOH}$ ) и затем 2-3 капли 1% раствора сульфата меди ( $\text{CuSO}_4$ ) разбавленного, почти бесцветного раствора медного купороса.

Запишите свои наблюдения, напишите химическую реакцию.

---

---

---

---

---

## 1.2. Реакция Фоля (цистеиновая реакция)

Это реакция на цистеин и цистин. При щелочном гидролизе «слабосвязанная сера» в цистеине и цистине достаточно легко отщепляется.

### Оборудование и реактивы:

Пробирка; неразбавленный куриный белок; 20% раствор гидроксида натрия; раствор ацетата свинца(II); спиртовка или газовая горелка; лакмусовая бумага.

Ход работы: в пробирку наливают 1 мл неразбавленного куриного белка, прибавляют 2 мл 20%-го раствора гидроксида натрия. Смесь осторожно кипятят (чтобы смесь не выбросило).

При этом выделяется аммиак, который обнаруживается по посинению влажной лакмусовой бумажки, поднесенной к отверстию пробирки (не касаться стенки). Образующийся незначительный осадок растворяется при кипении, а затем добавляют 0,5 мл раствора ацетата свинца(II). Наблюдается выпадение серо-черного осадка сульфида свинца(II) (запишите наблюдения и напишите химическую реакцию):

---

---

---

---

---

---

---

### 1.3. Ксантопротеиновая реакция белков

Эта реакция используется для обнаружения  $\alpha$ -аминокислот, содержащих ароматические радикалы (тирозин, триптофан, фенилаланин). Желатин, например, не содержащий ароматических аминокислот, не дает ксантопротеиновой пробы.

#### Оборудование и реактивы:

Пробирка; 10 % раствор белка куриного яйца; концентрированная азотная кислота; 20 раствор гидроксида натрия.

Ход работы: к 1 мл 10 %-го раствора белка куриного яйца добавляют 0,5 мл концентрированной азотной кислоты. В результате коагуляции белка в содержимом пробирки образуется белый осадок или помутнение. При нагревании раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. При этом осадок почти полностью растворяется в результате гидролиза. После охлаждения добавляют 1–2 мл 20%-го раствора гидроксида натрия (до появления оранжевой окраски раствора).

Запишите свои наблюдения, напишите химическую реакцию.

---

---

---

---

---

---

---

#### 1.4. Нингидриновая реакция

$\alpha$ -Аминокислоты реагируют с нингидрином, образуя сине-фиолетовый комплекс (пурпур Руэмманна), интенсивность окраски которого пропорциональна количеству аминокислоты.

##### Оборудование и реактивы:

Пробирка; водяная баня; 1-10% разбавленный раствор белка куриного яйца; 1% раствор нингидрина в ацетоне.

Ход работы: в пробирку наливают 1 мл 1-10%-го разбавленного раствора белка куриного яйца и 1-2 мл 1%-го раствора нингидрина в ацетоне. Содержимое пробирки перемешивают и в течение 2-3 мин осторожно нагревают на водяной бане до появления сине-фиолетового окрашивания, свидетельствующее о присутствии в белке  $\alpha$ -аминокислот.

Запишите свои наблюдения, напишите химическую реакцию.

---

---

---

---

---

---

---

---

#### 1.5. Реакция Адамкевича (на присутствие в белках триптофана)

Реакция основана на способности триптофана взаимодействовать в кислой среде с альдегидами глиоксиловой кислоты (являющейся примесью к концентрированной уксусной кислоте) с образованием окрашенных продуктов конденсации. Желатин не дает этой реакции, т.к. он не содержит триптофана.

Оборудование и реактивы:

Пробирка; спиртовка или газовая горелка; ледяная уксусная кислота; глиоксиловая кислота; концентрированная  $H_2SO_4$ .

Ход работы: в пробирку наливают несколько капель неразбавленного белка и прибавляют 2 мл. ледяной уксусной кислоты и несколько капель глиоксиловой кислоты. Смесь слегка нагревают до растворения образующегося осадка, охлаждают и, сильно наклонив пробирку, осторожно по стенке приливают концентрированную  $H_2SO_4$  так, чтобы обе жидкости не смешивались. Через 5-10 минут на границе раздела двух слоев наблюдают образование красно-фиолетового кольца.

Запишите свои наблюдения, напишите химическую реакцию.

---

---

---

---

---

---

---

---

### **1.6. Реакция Сакагучи**

Эта реакция на аминокислоту аргинин основана на взаимодействии аргинина с  $\alpha$ -нафтолом в присутствии окислителя.

Оборудование и реактивы:

Пробирка; 1% разбавленный раствор белка куриного яйца; 10% раствор гидроксида натрия; 0,2% спиртовой раствор  $\alpha$ -нафтола; гипобромита натрия (гипохлорит натрия); 40% раствор мочевины.

Ход работы: к 2 мл. 1%-го разбавленного раствора белка куриного яйца добавляют 2 мл. 10%-го гидроксида натрия (NaOH) и несколько капель 0,2%-ного спиртового раствора  $\alpha$ -нафтола. Содержимое пробирки хорошо



перемешивают. Затем приливают 0,5 мл. гипобромита натрия (NaBrO) или гипохлорита натрия (натрий хлорноватистокислый – NaOCl), перемешивают. Тотчас появляется красное, постепенно усиливающееся окрашивание. Немедленно добавляют 1 мл 40%-го раствора мочевины для стабилизации, быстро развивающегося оранжево-красного окрашивания.

Запишите свои наблюдения, напишите химическую реакцию.

---

---

---

---

---

---

***Опыт 2. Определение изоэлектрической точки желатина по минимуму набухания***

Вода в организме человека составляет 65%. Частицы гидрофильных белков окружены водной оболочкой, которая образуется за счет гидрофильных групп, расположенных на поверхности частицы. Поэтому белки находятся в коллоидном состоянии в виду их способности к набуханию. В изоэлектрической точке белка набухание минимально, так как общий заряд белка равен нулю.

Оборудование и реактивы:

Пробирка – 3 шт.; желатина; буферные растворы с рН=1,0; 4,7; 9,0; линейка.

Ход работы: в три пробирки вносят по 0.2 г порошка желатина и добавляют по 1 мл буферных растворов с рН=1,0; 4.7; 9,0. Осторожно встряхивают и оставляют стоять на 1 ч. Определяют высоту геля в пробирках. Зарисовывают результаты и делают выводы о значении ИЭТ по минимуму набухания.

---

---

---

---

---

---

---

### ***Опыт 3. Реакции осаждения белковых молекул***

Известно, что белки в растворе сохраняются в природном состоянии за счёт факторов устойчивости, к которым относятся заряд белковой молекулы и гидратная (водная) оболочка вокруг нее. Удаление этих факторов приводит к склеиванию этих молекул белка и выпадению в осадок. Осаждение белков может быть обратимым и необратимым в зависимости от природы используемых реактивов.

*Обратимое осаждение* – при этом процессе под воздействием факторов осаждения белки выпадают в осадок, но после прекращения действия этих факторов белки вновь переходят в растворимое состояние и приобретают свои нативные свойства. Одним из видов обратимого осаждения белков является высаливание.

*Необратимое осаждение* белков связано с глубокими нарушениями структуры белков (вторичной и третичной) и потерей ими нативных свойств. Такие изменения белков можно вызвать кипячением, действием концентрированных растворов минеральных и органических кислот, солями тяжелых металлов.

Денатурация белка (*необратимое осаждение*) сводится к разрушению третичной и частично вторичной структуры белковой молекулы в результате разрыва водородных связей и потере им биологических или нативных свойств. При необратимых реакциях осаждения белки

претерпевают глубокие изменения и не могут быть растворимы в первоначальном растворителе. К необратимым реакциям относятся осаждение белка солями тяжелых металлов, минеральными и органическими кислотами, алкалоидными реактивами и осаждение при кипячении.

Для *высаливания белков* из растворов применяются хлорид натрия, сульфат натрия, ацетат натрия, сульфат магния, ацетат калия, хлорид кальция, нитрат кальция и сульфат аммония. Некоторые из перечисленных солей высаливают белки не только при насыщении ими раствора; определенные белки высаливаются и при достаточно низких концентрациях солей. К таким солям относится сульфат аммония. Условия, при которых происходит осаждение сульфатом аммония, настолько характерны для отдельных белков (за редкими исключениями), что это свойство белков можно сравнить с растворимостью, характеризующей кристаллические вещества.

Белки состоят из аминокислот и поэтому обладают амфотерными свойствами. При растворении белков в воде ион водорода, появляющийся в результате диссоциации карбоксильной группы, присоединяется к аминогруппе. Поэтому белковые молекулы несут как положительные, так и отрицательные заряды. Величина заряда определяется количеством ионогенных групп. При определенном значении рН суммарный электрический заряд молекулы белка становится равным нулю. Такое значение рН называется *изоэлектрической точкой* (рI). В изоэлектрической точке растворы белков имеют минимальную устойчивость, поскольку они лишены основного стабилизирующего фактора – заряда и поэтому легко выпадают в осадок. Определить изоэлектрическую точку белка можно, определив рН, при котором раствор белка имеет наибольшее помутнение. У большинства белков изоэлектрическая точка лежит в слабокислой среде.

### **3.1. Высаливание белков хлоридом натрия и сульфатом магния**

#### **Оборудование и реактивы:**

Пробирка – 2 шт.; 1% раствор белка; кристаллический хлорид натрия; кристаллический сульфат магния; разбавленная уксусная кислота; фильтровальная бумага.

Ход работы: в 2 пробирки наливают по 5 мл 1% раствора белка, прибавляют при перемешивании до полного насыщения (когда часть кристаллов остается нерастворенной, несмотря на взбалтывание) в одну пробирку тонко измельченного хлорида натрия, в другую – сульфата магния. Через несколько минут в двух пробирках появляется осадок *глобулинов*. Осадки отфильтровывают и к фильтрату добавляют несколько капель разбавленной уксусной кислоты (СН<sub>3</sub>СООН) – в слабокислой среде выпадают *альбумины*, поскольку рН раствора альбуминов приблизится к *изоэлектрической точке*.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3.2. Высаливание белков сульфатом аммония

#### Оборудование и реактивы:

Пробирка; неразведённый яичный белок; насыщенный раствор сульфата аммония; кристаллический сульфат аммония; фильтровальная бумага.

Ход работы: в пробирку наливают 30 капель неразведённого яичного белка и добавляют равное количество насыщенного раствора сульфата аммония. Содержимое пробирки перемешивают. При этом осаждаются альбуминовая фракция белков.

Получают полунасыщенный раствор сульфата аммония и также смешивают (1:1) с яичным белком, при этом глобулиновая фракция осаждаётся, а альбуминовая остаётся в растворе. Последнюю отфильтровывают, затем смешивают с порошком сульфата аммония до тех пор, пока не прекратится растворение соли, при этом выпадает осадок – альбумины. К образовавшимся осадкам (глобулинов и альбуминов) добавляют воду и наблюдают их растворение. Это доказывает, что высаливание – процесс обратимый.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3.3. Денатурация белков при нагревании

Выпадение белков в осадок при нагревании характерно почти для всех белков (исключение составляет желатина, не свёртывающаяся при нагревании).

#### Оборудование и реактивы:

Пробирки – 5 шт.; белок куриного яйца; 1% раствор уксусной кислоты; 10% раствор уксусной кислоты; насыщенный раствор хлорида натрия; 10% раствор щелочи; спиртовка или газовая горелка.

Ход работы: в 5 пробирок наливают по 2 мл. белка: первую пробирку нагревают, осадок появляется еще до того, как жидкость закипит. Во

вторую пробирку добавляют 1 каплю 1%-ного раствора уксусной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) и нагревают. Хлопьевидный осадок белка выпадает скорее и полнее, чем в первой пробирке вследствие того, что при подкислении рН раствора приблизится к изоэлектрической точке белка (заряд белка = 0). В третью пробирку добавляют 0,5 мл. 10%-ной уксусной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) и нагревают. Осадок не образуется даже при кипении. В четвертую пробирку добавляют 0,5 мл. 10%-ной уксусной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) и несколько капель насыщенного раствора хлорида натрия и нагревают. Осадок есть. В пятую пробирку добавляют 0,5 мл. 10% раствора щелочи и нагревают. Осадок не образуется даже при кипячении.

Результаты опыта и выводы записывают в таблицу 1.

Таблица 1

№ пробирки	Среда	Наблюдаемые изменения	Выводы
1.	Нейтральная		
2.	Слабокислая (1% раствор $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
3.	Кислая (10% раствор $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
4.	Кислая (10% раствор $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaCl}$ )		
5.	Щелочная (10% раствор $\text{NaOH}$ )		

### 3.4. Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

Концентрированные минеральные кислоты вызывают необратимые осаждения белков. Это связано как с дегидратацией белковых молекул, так и с денатурацией белка.

Концентрированные минеральные кислоты вызывают денатурацию белка за счёт удаления факторов устойчивости белка в растворе (заряд и гидратная оболочка) и образуют комплексные соли белка с кислотами. Ортофосфорная кислота осадка не дает.

В избытке всех минеральных кислот, за исключением азотной, выпавший осадок белка растворяется. По-видимому, это происходит в результате перезарядки молекул белка и частичного их гидролиза.

При добавлении избытка азотной кислоты растворения осадка не происходит.

Оборудование и реактивы:

Пробирки – 3 шт.; азотная кислота; соляная кислота; серная кислота; раствор белка куриного яйца.

Ход работы: в 3 пробирки наливают по 1мл. минеральных кислот: азотной, серной и соляной. Затем осторожно по стенке пробирки пипеткой наливают по 0,5 мл раствора белка так, чтобы он не смешивался с кислотой. В месте соприкосновения двух жидкостей появляется белый аморфный осадок белка.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### **3.5. Осаждение белков спиртом**

Продолжительный контакт белка со спиртом ведет к необратимому осаждению, денатурации, в результате этого выпадает хлопьевидный осадок белка вследствие дегидратации белковых молекул при добавлении спирта.

Реакция осаждения белка спиртом или кратковременным действием спирта обратима при охлаждении. Если осадок быстро отделить от спирта, то белок может сохранить нативное состояние.

Оборудование и реактивы:

Пробирка; раствор белка куриного яйца; кристаллический хлорид натрия; этанол.

Ход работы: в пробирку наливают 1 мл. раствора белка, добавляют немного кристаллического хлорида натрия, приливают туда же постепенно 3-4 мл. этилового спирта.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3.6. Осаждение белков солями тяжелых металлов

Осаждение белков солями тяжелых металлов в отличие от высаливания происходит при небольших концентрациях солей. Белки при взаимодействии с солями тяжелых металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.) адсорбируют их, образуя солеобразные и комплексные соединения, растворимые в избытке этих солей (за исключением солей  $\text{AgNO}_3, \text{HgCl}_2$ ), но нерастворимые в воде. Растворение осадка в избытке солей называется адсорбционной пептизацией. Данное явление происходит вследствие возникновения одноименного положительного заряда на частицах белка. Если при разбавлении осадок не растворяется, значит, реакция практически необратимая. Ионы металлов, способные образовывать нерастворимые соединения с белками, для нас являются токсичными.

Оборудование и реактивы:

Пробирки – 2 шт.; раствор белка куриного яйца; раствор сульфата меди; раствор ацетата свинца.

Ход работы: В 2 пробирки наливают по 1 мл. раствора белка и медленно по каплям при встряхивании прибавляют в одну 2-3 капли раствора сульфата меди, в другую ацетата свинца. В обеих пробирках выпадает хлопьевидный осадок вследствие образования малорастворимого солеобразного соединения голубого (с  $\text{CuSO}_4$ ) и белого (с  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ) цвета.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3.7. Осаждение белков фенолом и формалином

Фенол и формалин вызывают необратимую денатурацию белка: образуются малорастворимые продукты конденсации, уплотняется его консистенция, резко снижается растворимость и т.д. На этом основано применение фенола и формалина для дезинфекции, так как эти вещества

вызывают денатурацию белков живых клеток и, следовательно, их отмирание.

Оборудование и реактивы:

Пробирки – 2 шт.; раствор белка куриного яйца; насыщенный водный раствора фенола; формалин.

Ход работы: в две пробирки наливают по 1 мл. белка, добавляют в 1-ю столько же насыщенного водного раствора фенола, а во 2-ю – равный объем формалина. В обеих пробирках выпадает осадок белка. От действия фенола осадок выпадает быстрее.

Записать наблюдения и сделать выводы:

---

---

---

---

---

---

---

---

***Опыт 4. Влияние солей тяжелых металлов на плазмолиз протоплазмы растительной клетки***

Соли тяжелых металлов в водной среде распадаются на ионы. Все ионы металлов могут быть разделены на две группы: биогенные (Cu, Zn, Co, Mn, Fe и др.) и небιοгенные (Pb, Hg, Sn, Ni, Al, Cd, Sr, Cs и др.). Среди последней группы ионы стронция и цезия действуют как биогенные при замене в органических веществах кальция на стронций и калия на цезий. Биогенные ионы входят в состав ферментных систем, которые обеспечивают регуляцию всех процессов в клетке и организме. Поэтому их ПДК значительно выше, чем у небιοгенных. При поступлении в растения воздушным (через устьица) или капельным (роса, туман, слабые осадки) путями определенная доза биогенных тяжелых металлов включается в состав ферментных систем, что стимулирует метаболические процессы. Так, медь входит в состав ферментов, участвующих в процессах темновых реакций фотосинтеза, способствует поглощению других элементов; цинк входит в состав ферментов, расщепляющих белки, увеличивает устойчивость растений к жаре, засухе, болезням. Лишь при более высоких концентрациях они действуют как токсиканты.

Оборудование и реактивы:

Листья традесканции или другого растения; вода дистиллированная; микроскоп, предметные и покровные стекла; водяная баня; скальпель или лезвие; 5 % раствор  $\text{CuSO}_4$ ; 5 % раствор  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ .

Ход работы:

- 1) С поверхности листа традесканции делается несколько срезов эпидермиса, состоящего из 1-2 слоев окрашенных клеток.
- 2) Помещаем срезы по отдельности и капли воды на предметные стекла, закрываем покровными стеклами и устанавливаем в микроскоп.
- 3) Определение начала и характера плазмолиза клетки под действием одинаковых концентраций биогенных и небιοгенных солей:



- а) заменяем воду в препаратах 5 % раствором  $\text{CuSO}_4$  на одном предметном стекле и таким же раствором  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  на другом;  
 б) оставляем клетки в растворе солей на 15 мин.

Зарисовать и записать наблюдения, сделать выводы.

5 % раствор $\text{CuSO}_4$ до нагревания	5 % раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ до нагревания

- 4) Препараты, в которых вода заменена на раствор соли, выдерживаем 10 мин на водяной бане при температуре  $40\text{ }^\circ\text{C}$ , после чего рассматриваем их в микроскоп (зарисовываем и записываем наблюдения и делаем выводы).

5 % раствор $\text{CuSO}_4$ после нагревания	5 % раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ после нагревания

--	--

Форма протопласта при отделении от клеточных стенок в растворах плазмолитиков зависит от вязкости протоплазмы. Если вязкость ее низкая, протопласт приобретает округлую форму. При более высокой вязкости поверхность протопласта при плазмолизе принимает вогнутую форму. При очень высокой вязкости протоплазмы происходит судорожный плазмолиз. Показателем вязкости служит время, прошедшее с момента погружения объекта в плазмолитик до появления выпуклой формы плазмолиза. Чем больше время плазмолиза, тем выше вязкость протоплазмы. При нагревании препарата с растениями происходит усиление явления плазмолиза за счет увеличения вязкости протопласта.

**Вывод:**

---



---



---



---



---



---



---



---

***Опыт 5. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков***

Работа наглядно показывает действие солей биогенных и небιοгенных тяжелых металлов на животные и растительные белки, выявляет разницу в реакции тех и других. Белки с тяжелыми металлами образуют комплексы, нерастворимые в воде.

Оборудование и реактивы:

Пробирки – 8 шт.; 5 % раствор сульфата меди (II); 5 % раствор нитрата свинца (II); раствор растительного белка (лучше из муки бобовых культур); белок куриного яйца.

Ход работы:

1) готовим серию растворов сульфата меди  $CuSO_4$  и нитрата свинца  $Pb(NO_3)_2$  из исходного 5 % раствора (2,5 %; 1,25 %; 0,62 %);

2) в 8 пробирок пипеткой вносим по 1 мл животного белка, а в другие 8 – по 1 мл растительного белка (для обеих солей всего 8 растворов); в каждую пробирку добавляем по 2 капли одного из указанных растворов испытуемой соли.

3) наблюдаем коагуляцию на темном фоне (кусочек черной бумаги, доска и др.);

4) записываем наблюдения и делаем выводы;

Соль	Тип белка	Концентрация раствора			
		5 %	2,5 %	1,25 %	0,62 %
Сульфат меди $\text{CuSO}_4$	Животный белок (белок куриного яйца)				
	Растительный белок (гороховая мука)				
Нитрат свинца $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	Животный белок (белок куриного яйца)				
	Растительный белок (гороховая мука)				

5) при действии 2,5 % и 1,25 % раствора сульфата меди на животный и растительный блок происходит их коагуляция. При действии 0,62 % раствора нитрата свинца коагуляция наступает в обоих случаях;

б) ответить на следующие вопросы:

1. На какой из видов белков (животный или растительный) сильнее всего действует: а)  $\text{CuSO}_4$  – \_\_\_\_\_

б)  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  – \_\_\_\_\_

2. Какая соль (свинца или меди) сильнее действует:

а)                    на                    животный                    белок                    –

б)                    на                    растительный                    белок                    –

**Выводы:**

---



---



---



---



---

### 1.3 Упражнения и задачи по химии белков

#### *Задачи по химии белков (по вариантам)*

##### **Вариант 1.**

1. Напишите реакцию взаимодействия с азотистой кислотой ряда гидроксизина.
2. Каплю раствора, содержащего смесь глицина, аланина, глутамата, нанесли на середину электрофоретической бумаги, смочили буфером рН 6,0 и приложили электрическое напряжение. Укажите, в каком направлении (к катоду, аноду или останутся на старте) будут двигаться отдельные аминокислоты.
3. Гемоглобин крови человека содержит 0,34% железа. Вычислить минимальную молекулярную массу гемоглобина.

##### **Вариант 2.**

1. Напишите реакцию взаимодействия с азотистой кислотой ряда тирозина.
2. Каплю раствора, содержащего смесь лизина, аргинина и гистидина, нанесли на середину электрофоретической бумаги, смочили буфером рН 6,0 и приложили электрическое напряжение. Укажите, в каком направлении (к катоду, аноду или останутся на старте) будут двигаться отдельные аминокислоты.
3. Белок содержит 0,5% глицина. Рассчитать минимальную молекулярную массу белка, если  $M_r$  глицина равна 75. Определить количество аминокислотных остатков в белке.

##### **Вариант 3.**

1. Напишите реакцию взаимодействия с азотистой кислотой ряда глицина.
2. Изоэлектрическая точка белка – миозина мышц равна 5. К какому электроду будет перемещаться миозин в электрическом поле при рН: 2 и 7?
3. Трипептид, выделенный из токсина змей, состоит из трех незаменимых аминокислот серосодержащей, гетероциклической и гидроксилсодержащей. Напишите этот трипептид.

##### **Вариант 4.**

1. Напишите реакцию взаимодействия с азотистой кислотой ряда валина.
2. В растворе содержится смесь белков: глобулин (рI 7), альбумин (рI 4,9) и коллаген (рI 4,0). При каком значении рН можно электрофоретически разделить эти белки?
3. В белке содержится 0,67% серы. Вычислите молекулярную массу белка.

##### **Вариант 5.**

1. Напишите реакцию взаимодействия с азотистой кислотой ряда изолейцина.

2. При каком значении рН раствора вы стали бы разделять ферменты А и В со значениями изоэлектрических точек  $IЭТ(A) = 6,4$ ,  $IЭТ(B) = 6,0$ .

3. Белок содержит 0,7% аланина. Рассчитать минимальную молекулярную массу белка. Определить количество аминокислотных остатков в белке.

#### **Вариант 6.**

1. Напишите реакцию взаимодействия глицина с HCL и NaOH.

2. При каком значении рН можно разделить ферменты А и Б с изоэлектрическими точками 5 и 8

3. По данным количественного аминокислотного анализа в белке содержится 0,67% цистеина. Рассчитайте минимальную молекулярную массу альбумина.

#### **Вариант 7.**

1. Напишите реакцию взаимодействия аланина с HCL и NaOH.

2. Определите к какому электроду при электрофорезе будут двигаться макроионы  $\beta$ -лактоглобулина в среде буферного раствора с рН = 8,6, если изоэлектрическая точка белка 5,2?

3. Инсулин человека содержит 0,29% серы. Вычислить минимальную молекулярную массу инсулина.

#### **Вариант 8.**

1. Напишите реакцию взаимодействия фенилаланина с HCL и NaOH.

2. Изоэлектрическая точка белка миозина равна 5,0. При каких значениях рН: 2,4,5 или 7 электрофоретическая подвижность будет наибольшей?

3. Белок содержит 0,72% серина. Рассчитать минимальную молекулярную массу белка. Определить количество аминокислотных остатков в белке.

#### **Вариант 9.**

1. Напишите уравнение реакций взаимодействия с уксусным альдегидом и валина.

2. По направлению к какому электроду будут двигаться аминокислоты: глицин, лизин, аспарагиновая кислота, если проводить электрофорез при рН 5,0?

3. По данным количественного аминокислотного анализа в белке содержится 0,49% метионина. Рассчитайте минимальную молекулярную массу альбумина.

#### **Вариант 10.**

1. Напишите уравнение реакций взаимодействия с уксусным альдегидом, изолейцина.

2. рI гемоглобина 6,68. Известно, что рН в эритроцитах равен 7,25. Какой заряд имеют молекулы гемоглобина при этом значении?

3. Миозин человека содержит 0,28% железа. Вычислить минимальную молекулярную массу миозина.

Вариант № \_\_\_\_

**Задание 1.**

**Задание 2.**

**Задание 3.**

--

**Строение и физико-химические свойства белков как биополимеров.**

**Тест 1**

**1. Вторичная структура белка– это...** (поставьте любой знак напротив правильного ответа)

А) Определенная последовательность аминокислот в цепи	
Б) Спирализованная конфигурация полинуклеотидной цепи	
В) Спирализованная конфигурация полипептидной цепи	
Г) Комплекс их нескольких субъединиц	

**2. Факторы, препятствующие осаждению белковых молекул в растворе: ....**

А) электрический заряд	
Б) высокая молекулярная масса	
В) гидратная оболочка	
Г) оптическая активность	
Д) большие размеры частиц	

**3. Выберите один наиболее полный ответ. В белках водородные, ионные, гидрофобные связи участвуют в образовании:**

А) Вторичной структуры	
Б) Третичной структуры	
В) Супервторичной структуры	
Г) Первичной структуры	
Д) Конформации	

**4. Соли тяжелых металлов (ртути, мышьяка, свинца) являются ядами для организма. Они связываются с сульфидными группировками белков. Назовите структуру белков, которая разрушается под действием солей тяжелых металлов.**

А) Первичная	Б) Вторичная	В) Третичная	Г) Четвертичная

**5. В каком ответе все названные химические соединения относятся к аминокислотам?**

А) Тубулин, коллаген, лизоцим	
Б) Лизин, триптофан, аланин	
В) Холестерин, прогестерон, стеариновая кислота	
Г) Валин, мальтаза, кератин	
Д) Сахароза, лактоза, глицин	
Е) Аденин, тимин, гуанин	

**6. Первичные структуры разных белков отличаются друг от друга по ряду признаков. Найдите эти признаки среди ответов и укажите особенность строения, по которой разные белки, наоборот, похожи друг на друга.**

А) Количество аминокислот	
---------------------------	--

Б) Количественное соотношение аминокислот разных видов	
В) Последовательность соединения аминокислот друг с другом	
Г) Структура химических связей, участвующих в формировании последовательности аминокислот	

**7. Сколько видов аминокислот входит в состав природных белков?**

А) 10	Б) 15	В) 20	Г) 25	Д) 46	Е) 64

**8. Приведите пример белка, состоящего из нескольких полипептидных цепей.**

А) Трипсин	Б) Пепсин	В) Миоглобин	Г) Коллаген

**9. Каким терминам называется потеря белком своей естественной пространственной структуры?**

А) Спирализация	Б) Конденсация	В) Денатурация
Г) Дисперсия	Д) Репарация	Е) Дегенерация

**10. К какому виду химических связей относят пептидную связь?**

А) Ионные	Б) Водородные	В) Ковалентные	Г) Гидрофобные

**11. Как называется структура белка, представляющая собой спираль, в которую свёрнута цепочка из аминокислот?**

А) Первичная	Б) Вторичная	В) Третичная	Г) Четвертичная

**12. Назовите в молекуле аминокислот химическую группировку, которая придаёт одним аминокислотам гидрофильные, а другие – гидрофобные свойства.**

А) Аминогруппы	
Б) Радикал	
В) Карбоксильная группа	
Г) Гидроксильная группа	

**13. Какая структура белковой молекулы определяет специфическую биологическую активность белка?**

А) Первичная	Б) Вторичная	В) Третичная	Г) Четвертичная

**14. Положительным зарядом в радикальной части обладают аминокислоты**

А) Аспарагин	Б) Глутамин	В) Лизин	Г) Глутамат	Д) Гистидин

**15. Изoeлектрическая точка белка зависит от**

А) Наличия гидратной оболочки	
Б) Суммарного заряда	
В) Наличия водородных связей	



Г) Наличия спиральных участков в молекуле	
Д) Всех перечисленных параметров	

**16. Олигомерные белки**

А) Проходят через полупроницаемую мембрану	
Б) Не содержат $\beta$ -спиральных участков	
В) Состоят из нескольких полипептидных цепей	
Г) Не обладают четвертичной структурой	
Д) Соответствуют всем вышеуказанным утверждениям	

**17. Аминокислоты с незаряженными радикалами**

А) Треонин	Б) Триптофан	В) Аргинин	Г) Гистидин	Д) Серин

**18. Методом ионообменной хроматографии нельзя разделить**

А) Глутамат и лизин	
Б) Глутамат и лейцин	
В) Лейцин и лизин	
Г) Лейцин и валин	
Д) Валин и глутамат	

**19. Денатурация белка всегда сопровождается**

А) Нарушением третичной структуры белка	
Б) Гидролизом пептидных связей	
В) Появлением окраски	
Г) Образованием функциональных комплексов с другими белками	
Д) Потерей нативных биологических свойств	

**20. Нингидриновая реакция отрицательная с**

А) Простыми белками	
Б) Дипептидами	
В) Трипептидами	
Г) Свободными аминокислотами	
Д) Карбоновыми кислотами	

**21. Смесь белков с различной молекулярной массой можно разделить**

А) Гель-фильтрацией	
Б) Ультрафильтрацией через фильтры с молекулярным размером пор	
В) Диализом	
Г) Ультрацентрифугированием	
Д) Высаливанием	

**22. Положительную реакцию Фоля дает**

А) Триптофан	Б) Гистидин	В) Тирозин	Г) Треонин	Д) Цистеин

**23. Наиболее прочные связи в молекуле белка**

А) Пептидные	
Б) Дисульфидные	
В) Водородные	
Г) Ионные	
Д) Гидрофобные	

**24. Напишите структурную формулу пентапептида следующего строения: Гис – Глу– Про – Фен – Сер**

**25. Разделение белков методом электрофореза основано на их различии по \_\_\_\_\_**

**26. Дан фрагмент пентапептидной цепи: серил-лизил-лейцил-цистеил-валин. Выберите аминокислоты, которые могут участвовать в образовании:**

- |                                 |                          |
|---------------------------------|--------------------------|
| А – Водородной связи            | 1. Серин      4. Цистеин |
| Б – Ионной связи                | 2. Лизин      5. Валин   |
| В – Гидрофобного взаимодействия | 3. Лейцин                |

А	Б	В

**27. Конформация белковой молекулы может изменяться под воздействием различных факторов. Какие из перечисленных факторов могут:**

А – регулировать биологическую активность белков	1. Изменение температуры от 0 <sup>0</sup> до 40 <sup>0</sup> С
Б – вызывать денатурацию белка	2. Повышение температуры от 50 <sup>0</sup> до 100 <sup>0</sup> С
	3. Взаимодействие с природными лигандами
	4. Действие солей тяжелых металлов
	5. Действие солей щелочноземельных металлов
А	Б

**28. Для изучения первичной структуры белка применяется метод:**

А) Хроматографии	
Б) Рентгеноструктурного анализа	
В) Определение коэффициента поступательного трения	
Г) Определение характеристической вязкости	

**29. Изоэлектрическая точка гемоглобина равна 6,8. Куда мигрирует данный белок в среде с рН=3,0 при электрофорезе?**

А) Мигрирует к катоду	
Б) Остается на линии старта	
В) Образует биполярный ион	
Г) Мигрирует к аноду	

**30. Укажите суммарный заряд в нейтральной среде для тетрапептида глицил-аспарагил-лизил-гистидин:**

А) Положительный	Б) Отрицательный	В) Нейтральный

**31. Какой процесс сопровождается потерей белком гидрофильных и приобретением гидрофобных свойств:**

А) Гидролиз	Б) Денатурация	В) Диссоциация	Г) Седиментация

**32. Какие из перечисленных ниже факторов могут вызвать денатурацию белка:**

А) Температура выше 60 <sup>0</sup> С	
Б) Взаимодействие с лигандом (субстратом, эффектором-регулятором, кофактором)	
В) Отщепление части полипептидной цепи при действии протеолитических ферментов	
Г) Значительные изменения рН	
Д) Изменение модификации белков (присоединение фосфатной, метильной или ацетильной группировки к молекуле белка)	
Е) Действие солей тяжёлых металлов	
Ж) Действие солей щёлочноземельных металлов	

**Строение и физико-химические свойства белков как биополимеров.**

**Тест 2**

**1. Выберите один неправильный ответ. К слабым связям, участвующих в образовании нативных белков относятся:**

А) Пептидные	Б) Водородные	В) Гидрофобные	Г) Ионные

**2. Изoeлектрическая точка белка – это....**

А) Значение рН, при котором белок электронейтрален	
Б) Значение рН, при котором он теряет нативную конформацию	
В) Концентрация ионов водорода, при которой белок в электрическом поле движется к аноду	
Г) Концентрация ионов водорода, при которой белок в электрическом поле движется к катоду	

**3. Выберите один неправильный ответ. К слабым связям, участвующим в образовании нативных белков, относятся:**

А) Пептидные	
Б) Водородные	
В) Гидрофобные	
Г) Ионные	
Д) Ван-дер-ваальсовы взаимодействия	

**4. Какое из следующих утверждений подходит белковым структурам:**

А) $\beta$ -конфигурация не присуща глобулярным белкам	
Б) В стабилизации $\alpha$ -спирали главным образом участвуют гидрофобные взаимодействия	
В) Глобулярные белки имеют склонность складываться в конфигурацию, охраняющую гидрофобные части цепочки внутри молекулы	
Г) Протомеры в полимерных белках соединяются ковалентными связями	
Д) Первичная структура белка не влияет на образование нативной третичной структуры	

**5. Назовите белок, выполняющий ферментативную функцию.**

А) Гормон роста	Б) Фибрин	В) Инсулин	Г) Актин	Д) Трипсин

**6. Белки как полимеры имеют особенности, по которым существенно отличаются от каких полисахаридов, как гликоген и крахмал. Найдите эти особенности среди ответов и укажите признак, который такой особенностью НЕ является**

А) Очень большое число мономеров	
Б) Являются линейными полимерами	

В) Иная структура мономеров	
Г) Мономеры белка отличаются друг от друга	

**7. Назовите функциональные группы соседних аминокислот в белке, между которыми образуется пептидная связь**

А) Радикалы	
Б) Карбоксильная группа и аминогруппа	
В) Радикал и ион водород	
Г) Карбоксильные группы	
Д) Карбоксильная группа и радикал	
Е) Аминогруппа и радикал	

**8. В каком ответе все названные химические соединения являются белками?**

А) Сахароза, инсулин, урацил	
Б) Фенилаланин, глюкагон, пепсин	
В) Глюкоза, фруктоза, гликоген	
Г) Каталаза, глюкагон, кератин	
Д) Рибоза, тимин, актин	

**9. Назовите все химические группировки, одинаковые у всех аминокислот, входящих в состав природных белков**

А) Только аминогруппа и карбоксильная группа	
Б) Водород и радикал	
В) Водород, аминогруппа и карбоксильная группа	
Г) Радикал, аминогруппа и карбоксильная группа	

**10. Каким термином называется процесс образования первичной структуры белка?**

А) Транскрипция	
Б) Трансляция	
В) Редупликация	
Г) Диссимиляция	
Д) Полимеризация	

**11. Укажите химическую группировку, которая НЕ входит в качестве радикала ни в одну из аминокислот, встречающихся в природных белках**

А) $-SH$	Б) $-COOH$	В) $-NH_2$	Г) $-H_2PO_4$	Д) $-H$

**12. Какие структуры молекул белка способны нарушаться при денатурации, а затем вновь восстанавливаются:**

А) Первичная	Б) Вторичная	В) Третичная	Г) Четвертичная

**13. Укажите элементарный состав белков:**

А) С, Н	Б) С, Н, О, N, S, P	В) С, Н, N, О	Г) вся таблица Менделеева

**14. Гидрофобные аминокислоты**

А) Глутамин	Б) Валин	В) Треонин	Г) Фенилаланин	Д) Изолейцин
-------------	----------	------------	----------------	--------------

--	--	--	--	--

**15. Биуретовая реакция будет положительной для**

А) Простых белков	Б) Дипептидов	В) Трипептидов	Г) Раствора аминокислот	Д) Желатины

**16. Гидрофильные аминокислоты**

А) Глутамин	Б) Серин	В) Аргинин	Г) Фенилаланин	Д) Аспарагин

**17. Денатурацию белка вызывает добавление**

А) Концентрированной азотной кислоты	
Б) Сульфата меди	
В) Азотнокислого серебра	
Г) Концентрированной щелочи	
Д) Сульфата аммония	

**18. Третичную структуру белков стабилизируют связи**

А) Сложноэфирные	
Б) Гидрофобные	
В) Водородные	
Г) Ионные	
Д) Дисульфидные	

**19. Молекулярную массу белков можно определить**

А) По аминокислотному составу	
Б) Диализом	
В) Ионообменной хроматографией	
Г) Колориметрически	
Д) Гель-фильтрацией	

**20. Альбумины растворимы в**

А) Дистиллированной воде	
Б) Фосфатном буфере, pH=6,8	
В) Полунасыщенном растворе сульфата аммония	
Г) Полунасыщенном растворе сульфата меди	
Д) Насыщенном растворе сульфата аммония	

**21. Положительную ксантопротеиновую реакцию дают**

А) Фенилаланин	Б) Метионин	В) Триптофан	Г) Аргинин	Д) Аспарагин

**22. Для очистки белков от солей используют методы**

А) Гель-фильтрации	
Б) Диализа	
В) Бумажной хроматографии	
Г) Гидролиза	
Д) Все вышеперечисленные	

**23. Расположите элементы структуры белковой молекулы в последовательности, в которой они возникают при синтезе белка и формировании его нативной конформации**

А) Объединение протомеров в олигомерный белок	
Б) Формирование $\alpha$ -спиралей и $\beta$ -складчатых участков	
В) Образование пептидных связей	
Г) Образование гидрофобных, водородных и ионных связей между радикалами аминокислот	

**24. Напишите структурную формулу пентапептида следующего строения: Вал – Гли–Тре – Ала – Гли**

--

**25. В основе метода гемодиализа лежит разделение высокомолекулярных соединений от низкомолекулярных примесей с помощью \_\_\_\_\_**

**26. Определите, как будут вести себя при электрофорезе в нейтральной среде следующие аминокислоты:**

1. Лизин	2. Триптофан	А – Двигается к аноду
3. Аспарат	4. Глутамат	Б – Двигается к катоду
5. Фенилаланин	6. Гистидин	В – Останутся на линии старта
А	Б	В

**27. Какие свойства белка обусловлены наличием в их структуре карбокси- и аминогрупп?**

А) Гидрофильность и агрегативная неустойчивость	
Б) Термолабильность и растворимость	
В) Способность к электрофорезу и реакциям осаждения	
Г) Амфотерность и способность к электрофорезу	

**28. Белки характеризуются:**

А) Амфотерными свойствами	
Б) Отсутствием специфической молекулярной организации	
В) Охранением структуры молекулы при кипячении	
Г) Неспособностью кристаллизоваться	

**29. Как будет мигрировать белок при проведении электрофореза в условиях, когда рН раствора имеет более щелочное значение, чем ИЭТ?**

А) К аноду	
Б) К катоду	
В) Остаётся на месте старта	
Г) Образует биполярный ион	

**30. Укажите направление движения пептида лиз-гли-ала-лей в процессе электрофореза на бумаге при рН=7.0:**

А) К катоду	Б) К аноду	В) Останется на старте

**31. Специфичность белков обусловлена:**

А) Аминокислотным составом, их чередованием	
Б) Содержанием альфа-спирализованных и бета-складчатых участков	
В) Наличием определённых кластеров	
Г) Наличием небелкового компонента	

**32. Состояние белка, при котором число основных функциональных групп равно числу кислотных, называется:**

А) Амфотерным	
Б) Изоэлектрическим	
В) Изоэлектронным	
Г) Изостатическим	



## Раздел 2. Ферменты как биополимеры

### 2.1 Лабораторно-практическое занятие 4 «Действие ферментов»

**Цель работы:** Изучить особенности ферментов как биополимеров, сходства и отличия с неорганическими катализаторами.

**Теоретическая часть:**

Ферментами (энзимами) называют специфические белки, обладающие каталитическим действием. Они входят в состав всех клеток и тканей живых организмов и способны катализировать реакции как внутри организма, так и при оптимальных условиях вне его (например, свертывание молока пепсином, сычужным ферментом, гидролиз сахарозы и т.п.). Поэтому ферментативные реакции используют в промышленности при синтезе этилового и бутилового спиртов, уксусной, молочной и лимонной кислот, сорбита, витамина С и др. Ферментативные процессы используют в хлебопекарной и кондитерской промышленности, в виноделии, пивоварении, при дублении кож и т.д. Ферменты являются посредниками между организмом и окружающей средой, обеспечивают адаптацию организма к изменяющимся условиям (авторегуляторы). Ферменты синтезируются в клетках живых организмов постоянно. Подобно неорганическим катализаторам ферменты повышают скорость химических реакций за счет понижения энергии активации. Однако делают они это с более высокой эффективностью ( в  $10^5$ - $10^{12}$  раз) при температуре 36-50 °С и рН близких к 7,0.

Одна молекула фермента может вызвать превращение нескольких миллионов молекул субстрата – веществ, претерпевающих химическое превращение при участии фермента. Каждый фермент в клетке катализирует одну или несколько (сходных) реакций. Так как в клетке идут тысячи различных реакций, в метаболизме участвуют множество ферментов.

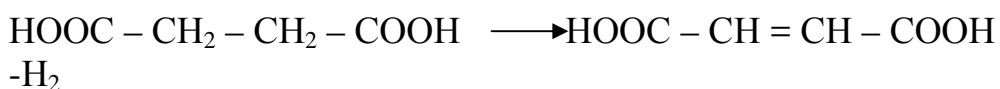
По своей химической природе ферменты являются белками, поэтому обладают всеми свойствами белков: термолабильностью, амфотерностью, способностью образовывать коллоидные растворы, обладают электрофоретической подвижностью, высокой специфичностью, подвергаются высаливанию и денатурации и т.д. Наряду с этим, ферментам присущи и некоторые, только для них характерные, свойства: высокая специфичность, действие при определенном значении рН среды и др.

Названия ферментам даются по разным номенклатурам:

- Тривиальная – в основе – случайное название (папаин, пепсин);
- Рациональная – к названию субстрата добавляют суффикс АЗА: амилаза – фермент гидролиза крахмала, протеаза – гидролиз белка, уреазы – гидролиз, распад мочевины;

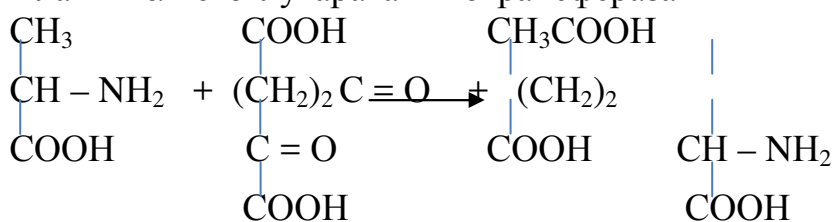
- По названию простетической группы: геминфермент, перидоксальфермент;
- По типу катализируемой реакции и характеру субстрата:

Сукцинатдегидрогеназа



- Международная – название субстрата + название реакции + название акцептора, к которому переносится группировка атомов

Аланин- $\alpha$ -кетоглутаратаимнотрансфераза



Аланин       $\alpha$ -кетоглутаровая      ПВК      глутамин  
кислота

Основой классификации ферментов служит тип катализируемой реакции. Согласно данной классификации ферменты делят на шесть классов:

1. *Оксидоредуктазы* (катализируют окислительно-восстановительные реакции).
2. *Трансферазы* (катализируют реакции межмолекулярного переноса атомов, групп атомов, радикалов).
3. *Гидролазы* (катализируют расщепление внутримолекулярных связей органических молекул с участием воды).
4. *Изомеразы* (катализируют взаимопревращения оптических и геометрических изомеров).
5. *Лиазы* (катализируют разрыв связей C-O, C-C, C-N, а также обратимые реакции отщепления различных групп от субстратов негидролитическим путем).
6. *Лигазы* (катализируют синтез органических веществ из двух исходных молекул с использованием энергии распада АТФ).

Классы состоят из подклассов, подклассы из подподклассов.

В организме каждая химическая реакция протекает на определенном энергетическом уровне, при определённой энергии активации. Ферменты снижают энергию активации путем увеличения числа активированных молекул, которые становятся реакционными на более низком энергетическом уровне. Ферментативная реакция – это многостадийный процесс. Механизм действия всех ферментов одинаков:

1 стадия – между ферментом и субстратом возникает комплексное соединение.

На первой стадии происходит сближение и ориентация, а также устанавливается индуцированное комплементарное соответствие между ферментом и субстратом, в результате образуется фермент-субстратный комплекс (ES).

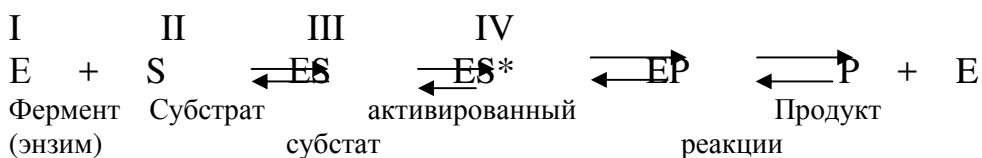
2 стадия – активация – субстрат под действием фермента становится более активным.

На второй стадии возникает напряжение и деформация субстрата, в результате чего происходит сдвиг электронной плотности, изменение степени поляризации, связи в молекуле субстрата деформируются и легко распадаются.

3 стадия – химическая реакция.

В процессе образования фермент-субстратного комплекса достигается переходное состояние, характеризующееся низкой энергией активации, в результате чего образуется новый продукт, а после его диссоциации фермент возвращается в исходное состояние.

4 стадия – разрушение комплекса.



Фермент к субстрату должен подходить как «ключ к замку», где замок – фермент, а ключ – субстрат.

Скорость ферментативного процесса описывается уравнением Михаэлиса-Ментен, связывающего концентрацию субстрата [S] с начальной скоростью  $V_0$  :

$$V_0 = V_{\max} [S] / K_m + S$$

где  $V_{\max}$  – максимальная скорость;  $K_m$  – константа Михаэлиса; [S] – концентрация субстрата.

В большинстве случаев о количестве ферментов судят по его активности.

Согласно Международной номенклатуре, ферментативную активность выражают в каталах (сокращённо –кат). Один катал – есть каталитическая активность способная осуществлять реакцию со скоростью, равной 1 моль в секунду.

Также для выражения активности используются единицы активности фермента (Е). 1Е катализирует превращение субстрата со скоростью 1мкмоль/мин при оптимальных условиях. 1Е =16,67 нкат.

Удельная активность фермента выражается числом единиц Е на 1мг белка, концентрация фермента в растворе – числом единиц Е на 1мл.

Удельную активность можно рассчитать по формуле:

$$E_{\text{уд}} = E_{\text{мол}} \cdot 1000 / M_r$$

Где  $E_{\text{уд}}$  – удельная активность;  $E_{\text{мол}}$  – молярная (молекулярная) активность;  $M_r$  – относительная молярная масса фермента.

Молярная активность (или число оборотов) выражается числом молей субстрата, реагирующего с 1 молем фермента за 1 мин.

На активность ферментов оказывают влияние температура, рН среды, ионная сила растворов. Так как ферменты по химической природе являются белками, повышение температуры свыше 45-50°C приводит к тепловой денатурации и ферменты инактивируются (исключение – миокиназа мышц, папаин). Низкие температуры не разрушают ферменты, а только приостанавливают их действие. Оптимальная температура для проявления активности фермента равна 37-40°C.

На активность ферментов оказывает влияние реакция среды. Значение рН среды, при котором фермент проявляет максимальную активность, называют оптимумом рН среды для действия данного фермента. РН-оптимум действия ферментов лежит в пределах физиологических значений 6,0-8,0. Исключения: пепсин, рН-оптимум которого равен 2,0; аргиназа – рН-оптимум равен 10,0.

Ферменты обладают специфичностью. Различают несколько видов специфичности:

1. Абсолютная специфичность – фермент взаимодействует только с одним субстратом. Например, уреазы ускоряет гидролиз мочевины, но не расщепляет тиомочевину.
2. Стереоспецифичность – фермент взаимодействует с определенным оптическим и геометрическим изомером.
3. Абсолютная групповая специфичность – ферменты специфичны в отношении характера связи, а также тех соединений, которые образуют эту связь. Например,  $\alpha$ -амилаза расщепляет  $\alpha$ -гликозидную связь в молекуле мальтозы, состоящей из двух молекул глюкозы, но не расщепляет молекулу сахарозы, состоящую из молекулы глюкозы и молекулы фруктозы.
4. Относительная групповая специфичность. В этом случае ферменты специфичны только в отношении связи, но безразличны к тем соединениям, которые образуют эту связь. Например, протеазы ускоряют гидролиз пептидных связей в различных белках, липазы ускоряют расщепление сложноэфирных связей в жирах.

Ферменты являются протеинами (когда белок является готовым катализатором) или протеидами (когда фермент становится активным при присоединении специального кофактора, протеиды среди ферментов встречаются гораздо чаще).

Простые ферменты состоят из аминокислот. К ним относятся ферменты желудочно-кишечного тракта –  $\alpha$ -амилаза, пепсин, трипсин, липаза и др. Все эти ферменты относятся к 3 классу – гидролаз.

В ферментах-протеидах как двухкомпонентных системах небелковой частью (кофактором, простетической группой) являются ионы металлов или органические вещества, связанные с белковой частью (апоферментом). Некоторые ферменты взаимодействуют со своими субстратами только в сочетании с другими соединениями, непосредственно не связанными с ферментом и называемые коферментами. Кофермент обычно не является

белком, а представляет собой органическую молекулу более простого строения, чем фермент. Коферменты – это органические вещества, которые прочно связаны с белковой частью. Образование активного комплекса апофермент-кофермент – обратимо. Например, НАД-зависимые дегидрогеназы состоят из белка и коферментов НАД, НАДФ, производных витамина РР. Оксидоредуктазы используют в качестве кофакторов  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ , киназы  $Mg^{2+}$ ; для глутатионпероксидазы – фермента, обезвреживающего перекись водорода, требуется селен. Простетическая группа – это коферменты, которые прочно (часто ковалентно) связаны с апоферментом. Например, флавиновые дегидрогеназы состоят из белка и простетических групп ФАД, ФМН, производных витамина В<sub>2</sub>. Связывание кофермента с ферментом происходит на специфическом участке – кофермент связывающем домене. У разных ферментов домены одинаковы, если они содержат один и тот же кофактор. Активный центр – это относительно небольшой участок, расположенный в узком гидрофобном углублении (щели) поверхности молекулы фермента, непосредственно участвующий в катализе. Активный центр – это точная пространственная организация больших ансамблей, построенных из аминокислотных остатков: серин – ОН группа; цистеин – SH группа; лизин – NH<sub>2</sub> группа; гистидин – имидазольное кольцо; глутаминовая, аспарагиновая кислоты – COOH группа. По первичной структуре эти аминокислотные остатки располагаются на различном расстоянии друг от друга, при образовании вторичной, третичной структур аминокислотные остатки сближаются, формируя активный центр.

Активный центр включает субстратсвязывающий участок, который отвечает за специфическое комплементарное связывание субстрата, и каталитический участок непосредственного химического взаимодействия.

В активный центр сложных ферментов входит участок для связывания кофактора. Регуляторные (аллостерические) ферменты помимо активного центра имеют аллостерический центр. К аллостерическому центру могут присоединяться гормоны или продукты реакции. Это приводит к изменению структуры активного центра. Эти вещества называются аллостерическими эффекторами (модификаторами). Эффекторы могут быть положительными (усиливают действие фермента) и отрицательными (блокируют действие фермента). Каталитически активный комплекс «фермент – кофактор» называется холоферментом. Апофермент определяет направленность или специфичность действия фермента.

На скорость химических реакций оказывают влияние различные вещества. По характеру влияния вещества подразделяются на активаторы, увеличивающие активность ферментов, и ингибиторы (парализаторы), каталитические яды, подавляющие активность ферментов.

Активирование ферментов могут вызывать:

1. Присутствие кофакторов – ионы металлов  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , АТФ, липоевая кислота
2. Частичный их протеолиз.

Ферменты желудочно-кишечного тракта вырабатываются в виде неактивных форм – зимогенов. Под влиянием различных факторов происходит отщепление пептида с формированием активного центра и зимоген превращается в активную форму фермента. Этот вид активирования предохраняет клетки желудочно-кишечного тракта от самопереваривания.

3. Фосфорилирование и дефосфорилирование. Например:  
неакт. Липаза + АТФ → липаза-фосфат (акт. Липаза);  
липсаза-фосфат+H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> → липсаза (неакт. Липсаза)

Ингибиторы по характеру своего действия подразделяются на обратимые и необратимые. В основе такого деления лежит прочность соединения ингибитора с ферментом. Обратимые ингибиторы – это соединения, которые нековалентно взаимодействуют с ферментом и могут отщепляться от фермента. Необратимые ингибиторы (каталитические яды) – это соединения, которые образуют ковалентные, прочные связи с ферментом.

Необратимое ингибирование может быть специфическим и неспецифическим. При специфическом ингибировании ингибиторы тормозят действие определенных ферментов, связывая отдельные функциональные группы активного центра. Например, тиоловые яды ингибируют ферменты, в активный центр которых входят SH-группы; угарный газ (СО) ингибирует ферменты, имеющие в активном центре Fe<sup>2+</sup>. Неспецифические ингибиторы тормозят действие всех ферментов. К ним относятся все денатурирующие факторы (высокая температура, органические и минеральные кислоты, соли тяжелых металлов и др.). Обратимое ингибирование может быть конкурентным. При этом ингибитор является структурным аналогом субстрата и конкурирует с ним за связывание в субстратсвязывающем участке активного центра. Отличительная особенность конкурентного ингибирования состоит в том, что его можно ослабить или полностью устранить, повысив концентрацию субстрата.

Например, сукцинатдегидрогеназа (СДГ) – фермент цитратного цикла, дегидрирует сукцинат, превращая его в фумарат. Малонат, который структурно похож на сукцинат, связывается в активном центре СДГ, но не может дегидрироваться. Поэтому малонат – конкурентный ингибитор СДГ.

Многие лекарственные препараты являются конкурентными ингибиторами ферментов. Например, сульфаниламидные препараты, являясь структурными аналогами парааминобензойной кислоты (ПАБК) – основного фактора роста болезнетворных микроорганизмов, конкурируют с ней за связывание в субстратсвязывающем участке активного центра фермента. На этом основано противомикробное действие сульфаниламидных препаратов.

Регуляция по типу обратной связи (аллостерическая регуляция активности ферментов). В некоторых многоступенчатых метаболических путях конечный продукт ингибирует регуляторный (аллостерический)

фермент процесса. При повышении концентрации продукта реакции «Z» он занимает аллостерический центр регуляторного фермента «E<sub>1</sub>». Это приводит к изменению конформации активного центра «E<sub>1</sub>», в результате чего фермент «E<sub>1</sub>» ингибируется и не может соединиться с субстратом «A». Эта регуляция обеспечивает адаптацию организма к изменяющимся условиям.

Изоферменты – это множественные формы одного и того же фермента. Изоферменты катализируют одну и ту же реакцию, но отличаются по аминокислотному составу и некоторым физико-химическим свойствам (молекулярной массе, электрофоретической подвижности и др.). Например, фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ) существует в пяти формах: ЛДГ<sub>1</sub>, ЛДГ<sub>2</sub>, ЛДГ<sub>3</sub>, ЛДГ<sub>4</sub>, ЛДГ<sub>5</sub>.

Практическое использование ферментов столкнулось с большими трудностями. Первое – это сложность и дороговизна получения достаточных количеств ферментов в чистом виде. Кроме того, ферменты быстро теряют свою активность под действием различных факторов (изменение кислотности среды, температуры, солевого состава и др.).

Группой под руководством отечественного ученого И. Березина впервые были созданы иммобилизованные ферменты.

Под иммобилизацией ферментов понимают их физическое (адсорбционное) или химическое (ковалентное) связывание с матрицей носителя, которая защищает фермент от инактивирующих воздействий, но в минимальной степени влияет на функционирование его активных центров. Для получения иммобилизованных ферментов используется ограниченное число как органических, так и неорганических носителей. К носителям предъявляются следующие требования:

- высокая химическая и биологическая стойкость;
- высокая химическая прочность;
- достаточная проницаемость для фермента и субстратов, пористость, большая удельная поверхность;
- возможность получения в виде удобных в технологическом отношении форм (гранул, мембран);
- легкая активация;
- высокая гидрофильность;
- невысокая стоимость.

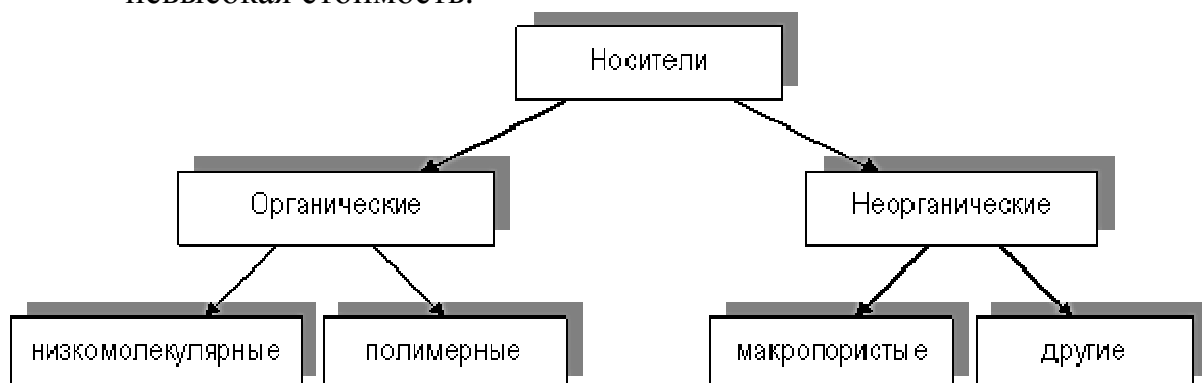


Рис. 2. Классификация носителей для иммобилизованных ферментов

Разработаны несколько видов иммобилизации. Наиболее распространены реакции ацилирования, в которые могут вступать amino-, окси- и некоторые другие группы белка, при этом чаще всего реакция протекает по аминокетильным остаткам. Очень распространена реакция образования азометиновой связи (оснований Шиффа) между альдегидными группами носителя и аминокетильными группами белка.

Преимущества иммобилизованных ферментов перед нативными предшественниками:

1. Гетерогенный катализатор легко отделим от реакционной среды, что дает возможность остановить реакцию в любой момент, использовать фермент повторно, а также получать чистый от фермента продукт.

2. Ферментативный процесс с использованием иммобилизованных ферментов можно проводить непрерывно, регулируя скорость катализируемой реакции и выход продукта.

3. Модификация фермента целенаправленно изменяет его свойства, такие как специфичность (особенно в отношении макромолекулярного субстрата), зависимость каталитической активности от pH, ионного состава и других параметров среды, стабильность к денатурирующим воздействиям.

4. Можно регулировать каталитическую активность иммобилизованных ферментов путем изменения свойств носителя действием физических факторов, таких как свет и звук. Иммобилизовать ферменты можно как путем связывания на нерастворимых носителях, так и путем внутримолекулярной или межмолекулярной сшивки белковых молекул низкомолекулярными бифункциональными соединениями, а также путем присоединения к растворимому полимеру.

Особенно ощутимый вклад иммобилизованные ферменты внесли в тонкий органический синтез, в анализ, в медицину, в процессы конверсии энергии, в пищевую и фармацевтическую промышленности.

***Ход работы:***

1. Изучить теоретическую часть.
2. Ответить (письменно) на вопросы.
3. Выполнить задания и решить задачи (выдает преподаватель).

***Вопросы:***

1. Что такое ферменты?

---

---

---

---

---

---

---

2. Перечислите свойства ферментов.

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

3. В чем выражается специфичность ферментов?

---

---

---

---

---

---

---

---

4. Что лежит в основе механизма взаимодействия субстрата и фермента?

---

---

---

---

---

---

---

---

5. Каковы принципы номенклатуры ферментов?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

6. Назовите классы ферментов и укажите реакции, которые они катализируют (с конкретными примерами)

---

---

---



---

10. При нагревании раствора, содержащего гексокиназу, фермент постепенно утрачивает свою каталитическую активность. Почему?

---

---

---

---

---

11. Ферментативная активность лизоцима максимальна при  $\text{pH}=5,2$  и уменьшается как при снижении, так и при повышении этого количества  $\text{pH}$ . Объясните почему?

---

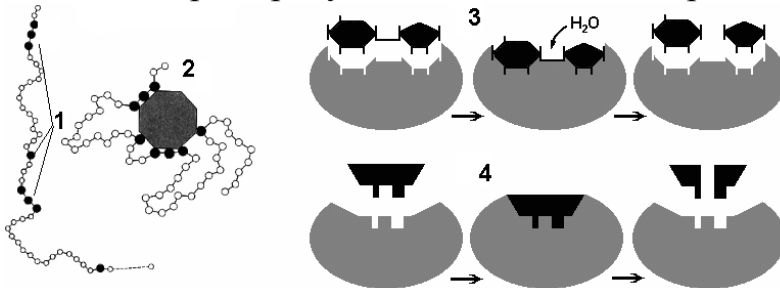
---

---

---

---

12. Рассмотрите рисунок и ответьте на вопросы:



1. Что обозначено на рисунке под цифрами 1 — 4?

---

---

---

---

---

2. Как называется участок фермента, взаимодействующий с молекулой субстрата?

---

---

---

---

---

3. Какая структура у белков-ферментов?

---

---

---

---

---

---

4. Почему при изменении температуры и рН изменяется каталитическая активность ферментов?

---

---

---

---

5. Почему ферменты специфичны?

---

---

---

---

**13.** Напишите схемы реакций, катализируемых следующими ферментами (в соответствии с вариантом):

1. Сахараза
2. Уреаза
3. Глутамат: оксалоацетат аминотрансфераза
4. Аланинаминогидролаза
5. Цитидингликозидаза
6. Ацетилхолинэстераза
7. Пируватдекарбоксилаза
8. АТФ: глюкозафосфаттрансфераза
9. Лактатдегидрогеназа
10. Мальтаза

--	--

**5 Установите соответствие**

Регуляция активности фермента:	Механизм регуляции:
1) увеличение количества ферментативного белка	а) взаимодействие с белковыми ингибиторами
2) уменьшение активности протеиназ	б) действие протеинкиназ
3) модификация ферментативной активности в результате фосфорилирования белка	в) индукция генов
4) активация проферментов	г) ограниченный протеолиз

1	2	3	4

**Вывод:**

---



---



---



---



---



---

**2.2 Лабораторно-практическое занятие №5  
«Исследование действия ферментов»**

**Цель работы:** Научиться выделять ферменты из биологического материала, определять общие свойства ферментов: специфичность, влияние температуры и pH среды на активность ферментов.

**Работа 1. Выделение ферментов и обнаружение их действия**

Источником для получения ферментов служат различные биологические объекты: свежие и свежемороженые животные и растительные ткани, семена растений, биологические жидкости, микроорганизмы. Извлекают ферменты из этих объектов посредством экстрагирования водой, водными растворами глицерина, нейтральных солей, буферными растворами при одновременном механическом

разрушении клеточных структур. Выделяют ферменты при температуре близкой к нулю. Хранят растворы ферментов только в холодильнике, причем и в этих условиях они быстро теряют активность.

В связи с тем, что процедура выделения индивидуальных ферментов чрезвычайно сложна, работу часто проводят с так называемыми ферментными препаратами, представляющими собой частично очищенные ферменты или вытяжки из биологических объектов.

Вещество, превращение которого вызывает фермент, называют субстратом; выдерживание субстрата с ферментом – инкубацией. О присутствии фермента в биологическом объекте или вытяжке из него судят по превращению соответствующего субстрата.

Амилазы – ферменты, ускоряющие реакцию гидролиза крахмала. Они содержатся в тканях животных и растений, микроорганизмах, слюне, молоке, крови и др. жидкостях организма. Высокой амилазной активностью обладают слюна и солод.

Слюна и другие пищеварительные соки животных и человека, являются концентрированными растворами ферментов. В слюне содержится  $\alpha$ -амилаза – фермент гидролизующий крахмал.

### ***Опыт 1. Обнаружение амилазы в слюне определение ее активности***

#### **Оборудование и реактивы:**

2 пробирки; водяная баня; термометр; 1% раствор хлорида натрия; раствор  $\alpha$ -амилазы; 1 % раствор крахмала; раствор Люголя;

**Ход работы.** Хорошо прополоскать ротовую полость, вымыть пробирку проточной водой, набрать в рот 2-3 мл раствора с массовой долей хлорида натрия 1 % и держать 4-5 мин. Полученный таким образом раствор слюны собирают в пробирку и используют как раствор  $\alpha$ -амилазы.

Для обнаружения амилазы в слюне и определения её активности, из полученного раствора отливают около 1 мл во вторую чистую пробирку и приливают двойной объем 1 % раствора крахмала и содержимое перемешивают путем плавного одностороннего переворачивания пробирки, закрыв её пальцем. Смесь фермента с субстратом инкубируют на водяной бане при температуре 37-38 °С в течение 10 мин.

По истечении указанного времени наличие фермента и его активность определяют пробой с йодом: в пробирку вносят 1-2 капли раствора Люголя (по 1 капле на 1 мл содержимого) и встряхивают. По окраске, появившейся в пробирке, можно сделать вывод о продуктах реакции и активности фермента.

В таблице 2 приведены продукты гидролиза крахмала, их названия и окраски с йодом.

Таблица 2

#### Продукты гидролиза крахмала

Крахмал и продукты его гидролиза	Молекулярная масса продуктов гидролиза	Окраска с раствором Люголя
----------------------------------	--	----------------------------

Крахмал	1 млн. и более	Синяя
Амилодекстрины	10 тыс.	Фиолетовая
Эритродекстрины	От 6 до 4 тыс.	Красно-коричневая
Ахродекстрины	3700	Оранжевая
Мальтодекстрины	1000	Желтая
Мальтоза	342	Желтая

По результатам реакции сделать вывод о глубине гидролиза и активности ферментов.

**Вывод:**

---



---



---



---



---



---

### *Опыт 2. Действие каталазы на пероксид водорода*

Оборудование и реактивы:

6 пробирок; спички; пероксид водорода; кусочек сырого мяса (говядина); кусочек сырого картофеля; измельченный на терке картофель; кусочек отварного мяса (говядина); кусочек отварного картофеля лучинка.

Ход работы:

1. В 5 пробирок налили по 2 мл раствора пероксида водорода.
2. В первую пробирку опустили кусочек сырого мяса. Через несколько секунд к отверстию пробирки поднесли тлеющую лучинку, наблюдаем вспыхивание и горение лучинки.
3. Во вторую пробирку опустили кусочек сырого картофеля и поднесли тлеющую лучинку.
4. В третью пробирку опустили измельченный на терке картофель и поднесли тлеющую лучинку.
5. В четвертую и пятую пробирки опустили по кусочку вареного мяса и картофеля.

Конечный продукт гидролиза – мальтоза – может быть обнаружен реакцией Троммера или Фелинга. (Будет изучаться на лабораторной работе, посвященной углеводам).

№ пробирки	Продукт, содержащий фермент	Наблюдения
1	сырое мясо	
2	кусочек сырого картофеля	

3	тертый картофель	
4	вареное мясо	
5	вареный картофель	

**Вывод:**

---



---



---



---



---

## **Работа 2. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов**

Значительное влияние на активность ферментов оказывает присутствие в тканях ряда химических соединений. Одни из них повышают активность энзимов (активаторы), другие – подавляют ферментативную реакцию (ингибиторы или парализаторы). Так, например, ферментативная активность амилазы слюны повышается под влиянием хлорида натрия, панкреатической липазы – желчных кислот, пепсина – соляной кислоты и т.д. Из ингибиторов ферментов известны цианид-ионы (для некоторых «геминовых» ферментов), фосфоорганические соединения (для эстераз), ионы тяжелых металлов –  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  – (для большинства ферментов) и другие. Указанные действия активаторов и парализаторов связаны в основном с влиянием этих веществ на структуру активного центра ферментов, что ведет к изменению способности ферментов связывать субстрат (образовывать фермент-субстратные комплексы). Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов удобно наблюдать на примере амилазы слюны, которая активируется хлоридом натрия и ингибируется сульфатом меди (II).

### **Опыт 3. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны**

Активаторы стимулируют действие ферментов, но в отличие от коферментов не принимают участия в реакции.

Оборудование и реактивы:

3 пробирки; термостат; слюна; дистиллированная вода; 1-% раствор хлорида натрия; 1% раствор сульфата меди (II), раствор крахмала; раствор йода;



Ход работы: в 3 пробирки наливают по 1 мл слюны. В первую пробирку добавляют 2 капли воды, во вторую – 2 капли 1% раствора NaCl, в третью – 2 капли 1% раствора CuSO<sub>4</sub>. После этого в каждую пробирку добавляют по 10 капель крахмала. Пробирки ставят в термостат с температурой 37°C на 5 минут. Затем во все пробирки добавляют по одной капле раствора йода, перемешивают, наблюдают окраску и определяют, в какой пробирке действует активатор или ингибитор. Можно в каждую пробирку добавить воды (примерно 2 мл) и перемешать (окраска будет нагляднее).

Результаты работы:

№ пробы	1. H <sub>2</sub> O	2. NaCl	3. CuSO <sub>4</sub>
Окрашивание с йодом			

**Вывод:**

---



---



---



---

### Работа 3. Влияние различных факторов на активность ферментов

#### *Опыт 4. Влияние температуры на активность ферментов*

Наиболее доступным для исследования влияния различных факторов на активность ферментов является фермент, содержащийся в слюне человека – амилаза. Он участвует в процессе пищеварения, катализирует реакцию гидролиза крахмала. В зависимости от активности амилазы конечным продуктом гидролиза могут быть различные по длине фрагменты молекулы крахмала, вплоть до глюкозы – мономера крахмала.

В лабораторной практике продукты гидролиза крахмала под действием амилазы определяют по окраске реакционной среды с йодом: глюкоза не образует окрашенных соединений с йодом, поэтому при полном гидролизе окраска раствора при добавлении йода желтая (цвет разбавленного раствора йода). Если крахмал не гидролизовался, то реакционная среда при добавлении йода окрашивается в синий цвет (цвет йодкрахмального комплекса с иодом). Промежуточные продукты гидролиза дают окраску от фиолетовой до розовой в зависимости от длины фрагмента молекулы крахмала.

Оборудование и реактивы:

8 пробирок; баня со льдом; водяная баня; термометр; предметные стекла; раствор крахмала; раствор слюны; раствор йода;

Ход работы:

- 1) Наливают в 4 пробирки по 0,5 мл раствора крахмала. Еще в 4 пробирки наливают по 0,5 мл слюны (разбавленной в 10 раз).
- 2) Берут первую пару пробирок (одна с ферментом, другая – с крахмалом) и помещают в баню со льдом. Вторую пару оставляют при комнатной

температуре. Третью пару пробирок помещают на водяную баню при температуре (40° С), а четвертую – в кипящую баню.

- 3) Через 10 минут содержимое каждой пары пробирок сливают вместе, тщательно перемешивают и оставляют стоять еще 10 мин. В тех же условиях.
- 4) Из третьей пробирки отбирают 3 капли жидкости и проделывают реакцию с каплей йода на стекле. Если появляется синее окрашивание, растворы оставляют стоять еще 10 мин. И после этого повторяют реакцию с йодом на стекле. Затем добавляют 2 капли раствора йода во все пробирки и наблюдают за появлением окрашивания.

Результаты работы:

№ пробирки	Температура инкубации, °С	Окрашивание с йодом
1	0	
2	20	
3	40	
4	100	

**Вывод:**

---

---

---

---

---

---

---

---

***Опыт 5. Влияние реакции среды на активность ферментов и определение оптимума рН для амилазы слюны***

Для разных ферментов существует свой оптимум рН в кислой, щелочной и нейтральной среде, при которой фермент наиболее активен. Например, для ферментов желудочного сока (пепсина) оптимум рН 1,5 – 2,5, для фермента печени (аргиназы) оптимум рН 9,5 и т.д. Для амилазы слюны оптимум рН 6,8; в кислой и щелочной среде активность амилазы снижается. Оптимум рН для амилазы слюны можно определить при взаимодействии ее с крахмалом при различных значениях рН среды.

Оборудование и реактивы:

7 пробирок, термостат; буферные растворы с рН 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0; 0,5% раствор крахмала; раствор слюны; раствор йода

Ход работы: берут 6 пробирок и в каждую из них наливают по 2 мл буферного раствора с различным значением рН: 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0. Затем приливают по 1мл0,5% раствора крахмала и по 1 мл разведенной слюны.

Перемешивают содержимое пробирок и помещают их в термостат при температуре 38°С на 10 минут. Затем во все пробирки приливают по 1 капле раствора йода, перемешивают, наблюдают окраску и отмечают рН (оптимум рН), при котором амилаза действует наиболее активно. Целесообразно в каждую пробирку добавить немного воды, перемешать и окраска будет более наглядной.

Результаты работы:

№ пробы	1	2	3	4	5	6
рН						
Окрашивание с йодом						

**Вывод:**

---

---

---

---

---

**Общие выводы по лабораторно-практическому занятию №5:**

---

---

---

---

---

---

---

## 2.3 Упражнения и задачи по химии ферментов

### *Задачи по ферментам (по вариантам)*

#### **Вариант 1**

1. В реакцию вступило  $10^{-6}$  М фермента, для которого характерно  $6 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта.

2. При какой концентрации субстрата фермент, для которого максимальная скорость превращения субстрата составляет 40 мкмоль/мин, а величина  $K_m = 0,002 \text{ М}$ , будет работать со скоростью равной  $1/8$  максимальной.

3. При добавлении в среду 0,002 мкмоль кристаллического фермента лактатдегидрогеназы наблюдается превращение субстрата со скоростью 9,6 мкмоль в минуту. Подсчитайте молярную активность (число оборотов) фермента.

Молярная активность (число оборотов) – это количество молекул субстрата, превращаемое одной молекулой фермента за единицу времени. Молярная активность выражается в единицах Кат/г-моль фермента, либо Е/мкмоль фермента.

#### **Вариант 2**

1. В реакцию вступило  $10^{-5}$  М фермента, для которого характерно  $3,5 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта.

2. Рассчитайте концентрацию меди (%) в медьсодержащем ферменте аскорбатоксидазе ( $M = 150$  тыс), если каждая молекула содержит 6 атомов меди.

3. Сколько граммов субстрата с молекулярной массой 672 г/моль может преобразовать фермент, если его активность составляет 5нКат, а время инкубации – 20 сек.

Катал – количество фермента, преобразующее моль субстрата в секунду (моль/сек).

#### **Вариант 3**

1. В реакцию вступило  $10^{-7}$  М фермента, для которого характерно  $7 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта.

2. Рассчитайте молекулярную массу дигидрооратдегидрогеназы, в состав которой входит 2 атома железа при содержании последнего 0,18%.

3. Относительная молекулярная масса пируваткарбоксилазы –  $M_r = 183$  тыс. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,2 \cdot 10^3 \text{ Е}$ .

#### Вариант 4

1. В реакцию вступило  $10^{-6}$  М фермента, для которого характерно  $2,8 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта.
2. В состав сукцинатдегидрогеназы сердца входят 8 атомов железа при содержании последнего 0,22%. Рассчитайте молекулярную массу фермента.
3. Относительная молекулярная масса альдолазы –  $M_r = 142$  тыс. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет 30 Е.

#### Вариант 5

1. В реакцию вступило  $10^{-4}$  М фермента, для которого характерно  $4,6 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта.
2. Рассчитайте молекулярную массу протомеракристаллической каталазы, представляющего протеид с активной группой в виде железопорфирированного комплекса с одним атомом железа, если концентрация железа в кристаллической каталазе равна 0,12%.
3. Относительная молекулярная масса пируваткиназы –  $M_r = 237$  тыс. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет 26 Е.

#### Вариант 6

1. Относительная молекулярная масса пируваткарбоксилазы ( $M_r$ ) 183 кДа. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,2 \cdot 10^3 \text{ Е}$ .
2. Фермент карбоангидраза в концентрации  $10^{-6}$  М катализирует образование 0,6М  $\text{H}_2\text{CO}_3$  в секунду, согласно реакции:  $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ . Определите число оборотов характерное для фермента.
3. Относительная молекулярная масса цитохром – С-редуктазы –  $M = 75$  тыс. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,73 \cdot 10^2 \text{ Е}$ .

#### Вариант 7

1. Относительная молекулярная масса фермента ( $M_r$ ) 265 кДа. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,5 \cdot 10^3 \text{ Е}$ .
2. Для карбоангидразы характерно  $6 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов. Рассчитайте концентрацию фермента (в молях) необходимую для образования 0,6 М  $\text{H}_2\text{CO}_3$  в секунду, согласно реакции  $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ .
3. Рассчитайте удельную активность каталазы ( $M_r=252$  тыс.), если его молекулярная активность составляет  $5 \cdot 10^6$ .

### Вариант 8

1. Относительная молекулярная масса фермента ( $M_r$ ) 155 кДа. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,6 \cdot 10^4 E$ .

2. Рассчитайте концентрацию образующегося продукта (в молях) в ферментативной реакции  $H_2O + CO_2 \rightleftharpoons H_2CO_3$ , катализируемой карбоангидразой, если в реакцию вступило  $10^{-6}$  фермента. Для карбоангидразы характерно  $6 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$  оборотов.

3. Рассчитайте удельную активность лактатдегидрогеназы ( $M_r=140$  тыс.), если его молекулярная активность составляет  $3,7 \cdot 10^4$ .

### Вариант 9

1. Относительная молекулярная масса фермента ( $M_r$ ) 175 кДа. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,2 \cdot 10^3 E$ .

2. Карбоангидраза эритроцитов, имеющая молекулярную массу 30 тыс, катализирует обратимую реакцию гидратации  $CO_2$ :

$H_2O + CO_2 = H_2CO_3$ , которая играет важную роль в транспорте  $CO_2$  из тканей в лёгкие. Рассчитайте число оборотов карбоангидразы, если при оптимальных условиях 10 мкг чистой карбоангидразы катализируют гидратацию 0,30 г  $CO_2$  в 1 мин при  $37^\circ C$ .

3. Рассчитайте удельную активность карбоангидразы ( $M_r=30$  тыс.), если его молекулярная активность составляет  $0,96 \cdot 10^8$ .

### Вариант 10

1. Относительная молекулярная масса фермента ( $M_r$ ) 210 кДа. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если его удельная активность составляет  $1,4 \cdot 10^3 E$ .

2. Фермент (10 мкг) с молекулярной массой 500000 г/моль превращает 9,6 мкмоль субстрата в минуту при температуре  $25^\circ C$ . Подсчитайте число оборотов.

3. Рассчитайте удельную активность бутирил-СоА-дегидрогеназы ( $M_r=200$  тыс.), если его молекулярная активность составляет  $1,3 \cdot 10^4$ .

## Строение и свойства ферментов

### Тест 1

#### 1. Классификация ферментов основана на ...

А) типе катализируемой реакции	
Б) органной принадлежности	
В) субклеточной локализации	
Г) кинетической характеристике	

#### 2. Функция якорного участка активного центра фермента - ...

А) превращение субстрата	
Б) временное связывание регулятора	
В) поддержание конформации активного центра	
Г) связывание субстрата	

#### 3. Функция аллостерического центра фермента - ...

А) связывание регуляторов	
Б) связывание субстрата	
В) катализ превращения субстрата	
Г) связывание кофермента	

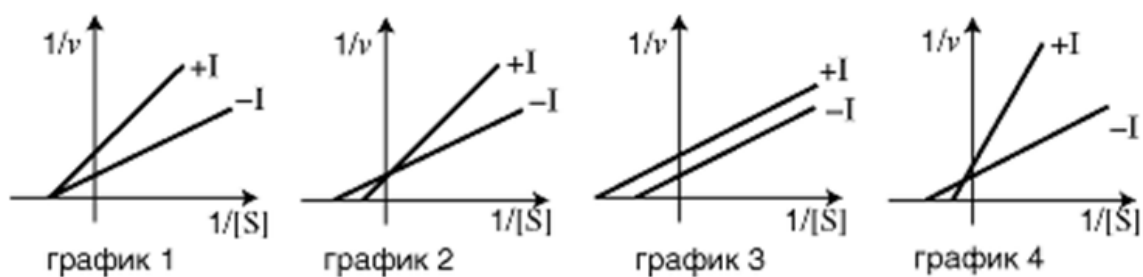
#### 4. Активация ферментов может осуществляться путем ....

А) блокирования активного центра	
Б) удаления кофермента	
В) диссоциации субъединиц	
Г) ограниченного протеолиза	
Д) фосфорилирования	
Е) переаминирования	

#### 5. Обратимость ферментативной реакции зависит

А) от температуры	
Б) от ионной силы раствора	
В) от термодинамического состояния системы	
Г) от концентрации фермента	
Д) от величины рН	

#### 6. Установите соответствие между типом ингибирования ферментативной реакции и его графическим изображением



- А. Конкурентное  
 Б. Неконкурентное  
 В. Смешанное  
 Г. Бесконкурентное

1	2	3	4

**7. Фермент амилазу относят**

оксидоредуктазы	гидролазы	лиазы	синтетазы	изомеразы

**8. Смесь ферментов нельзя разделить методом**

А) высаливания	
Б) диализа	
В) гель-фильтрации	
Г) электрофореза	
Д) ионообменной хроматографии	

**9. Превращение альдоз в кетозы катализирует фермент из класса**

оксидоредуктаз	трансфераз	гидролаз	изомераз	лиаз

**10. Активировать ферменты может**

А) ингибитор	
Б) аллостерический активатор	
В) продукт реакции	
Г) кофактор	
Д) изменение pH	

**11. Один катал - это**

А) количество фермента, катализирующее образование 1 моль продукта в секунду при стандартных условиях	
Б) число молекул субстрата, превращающихся на 1 молекуле фермента за 1 с	
В) число единиц активности фермента, приходящееся на 1 мг белка в препарате фермента	
Г) количество фермента, вызывающее превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях	
Д) активность фермента по отношению к наилучшему субстрату	

**12. Необратимая модификация фермента происходит**

А) при аллостерической регуляции	
----------------------------------	--



Б) при конкурентном ингибировании	
В) при активации проферментов	
Г) при неконкурентном ингибировании	

**13. Одна международная единица ферментативной активности - это**

А) количество фермента, катализирующее образование 1 моль продукта в секунду при стандартных условиях	
Б) число молекул субстрата, превращающихся на 1 молекуле фермента за 1 с	
В) число единиц активности фермента, приходящееся на 1 мг белка в препарате фермента	
Г) количество фермента, вызывающее превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях	
Д) активность фермента по отношению к наилучшему субстрату	

**14. Специфичность сложных ферментов определяется**

А) коферментом	
Б) апоферментом	
В) аллостерическим эффектором	
Г) всеми вышеперечисленными факторами	

**15. Молекулярная активность (число оборотов) фермента - это**

А) количество фермента, катализирующее образование 1 моль продукта в секунду при стандартных условиях	
Б) количество молекул субстрата, превращающихся на 1 молекуле фермента за 1 с	
В) число единиц активности фермента, приходящееся на 1 мг белков в препарате фермента	
Г) количество фермента, вызывающее превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях	
Д) активность фермента по отношению к наилучшему субстрату	

**16. Изменение pH среды может сопровождаться**

А) разрывом пептидных связей в молекуле фермента	
Б) изменением суммарного заряда молекулы фермента	
В) изменением заряда субстрата	
Г) диссоциацией молекулы фермента	
Д) денатурацией фермента	

**17. Скорость ферментативной реакции повышается**

А) при уменьшении температуры	
Б) при увеличении количества фермента	
В) при денатурации фермента	
Г) при недостатке кофермента	
Д) при добавлении специфического активатора	

**18. Ферменты увеличивают скорость реакции**

А) повышая энергию активации реакции	
Б) уменьшая изменение свободной энергии ( $\Delta G$ ) в ходе реакции	

В) понижая энергию активации реакции	
Г) изменяя константу равновесия реакции	

**19. Удельная активность фермента - это**

А) количество фермента, катализирующее образование 1 моль продукта в секунду при стандартных условиях	
Б) число молекул субстрата, превращающихся на 1 молекуле фермента за 1 с	
В) число единиц активности фермента, приходящееся на 1 мг белка в препарате фермента	
Г) количество фермента, вызывающее превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях	
Д) активность фермента по отношению к наилучшему субстрату	

**20. Верное суждение**

А) витамины являются кофакторами многих ферментов	
Б) все белки являются биологическими катализаторами, ферментами	
В) при замерзании происходит необратимая денатурация ферментов	
Г) ренатурация – утрата трехмерной конфигурации белка без изменения первичной структуры	

**II. Определите, верно ли утверждение.**

1. Специфичность действия сложных ферментов определяется коферментом.
2. Активный центр фермента состоит из субстратсвязывающего и каталитического участков.
3. Скорость ферментативной реакции не зависит от концентрации субстрата.
4. Ферменты ускоряют протекание как прямой, так и обратной реакции.
5. Скорость ферментативной реакции всегда увеличивается с увеличением рН среды.
6. Пепсин обладает абсолютной специфичностью действия.
7. В процессе ферментативной реакции всегда происходит образование фермент-субстратного комплекса.
8. Скорость ферментативного процесса зависит от количества присутствующего фермента.
9. На активность фермента влияют ионы тяжелых металлов.
10. Ферменты можно разделить методом высаливания сульфатом аммония.
11. Известны ферменты, обладающие стереоспецифичностью действия.
12. Действие некоторых лекарственных препаратов связано с ингибированием отдельных ферментов.
13. Все ферменты состоят из субъединиц.

14. Константа Михаэлиса выражается в единицах концентрации субстрата.

15. Изоферменты катализируют одну и ту же химическую реакцию.

16. В основе классификации ферментов лежит тип катализируемой реакции.

18. Изоферменты имеют различную электрофоретическую подвижность.

19. Лигазы осуществляют расщепление соединений по двойным связям.

20. Существуют мультиферментные комплексы.

21. Константа Михаэлиса изменяется в присутствии конкурентного ингибитора.

22. Скорость ферментативной реакции можно измерять по изменению свойств молекулы кофермента.

23. Ингибирование фермента всегда необратимо.

24. Препараты очищенных ферментов используют в терапевтических целях.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24

### 3 Список рекомендуемых источников

#### 3.1 Основная литература

1. Химия биополимеров [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие / Н.А. Соколова, В.Г. Кочетков, О.М. Новопольцева, В.Ф. Каб-лов; ВПИ (филиал) ВолгГТУ. – Волжский, 2018. – 126 с. –Режим доступа: <http://lib.volpi.ru>.
2. Химия полимеров [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие / Сост. В.Ф. Каблов, О.М. Новопольцева, Н.А. Соколова, В.Г. Кочетков; ВПИ (филиал) ВолгГТУ., 2017. – 85 с.–Режим доступа: <http://lib.volpi.ru>.
3. Биотехнологические методы в промышленности и экологии [Электронный ресурс]: учебное пособие / Н.А. Соколова, В.Г. Кочетков-Волжский: ВПИ (филиал) ВолгГТУ, 2020 г.– 78 с. – Режим доступа: <http://lib.volpi.ru>.
4. Химия и технология полимеров [Электронный ресурс]: учеб. пособие / И.Н. Хлобжева, Н.А. Соколова. – Волжский: ВПИ (филиал) ВолгГТУ, 2017. – 61 с. – Режимдоступа: <http://lib.volpi.ru>.
5. Введение в химическую технологию полимеров [Электронный ресурс]: учеб. пособие: Ч. 2 / В.Ф. Каблов и др. – Волгоград: ВолгГТУ, 2017. – 158 с. – Режимдоступа: <http://lib.volpi.ru>.

#### 3.2 Дополнительная литература

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебник.– М.: Медицина, 1998.– 704 с.
2. Биоорганическая химия: Учебное пособие / Д.Г. Кнорре, Т.С. Годови-кова, С.Д. Мызина, О.С. Федорова. – Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2011. – 480 с.
- 3.Биохимические основы химии биологически активных веществ: учебное пособие / Л. В. Коваленко. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 229 с.
4. Биссвангер Х. Практическая энзимология. Пер. с англ. – М.:БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 328 с.
5. Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 815с.
6. Теоретические и практические основы проведения электрофореза белков в полиакриламидном геле / Стручкова И.В., Кальясова Е.А: Электронное учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 60 с.
7. Шлейкин А.Г., Скворцова Н.Н., Бландов Н.Н. Прикладная энзимология. СПб: Университет ИТМО, 2019. – 160 с.
8. Шугалей, И.В., Гарабаджиу А.В. Химия белка. Учебное пособие. – СПб.: Проспект Науки, 2010. – 200 с.

**Приложение**  
**Титульный лист рабочей тетради**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
ВОЛЖСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ (ФИЛИАЛ)  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Факультет « \_\_\_\_\_ Инженерно-экономический \_\_\_\_\_ »

Кафедра « Химическая технология полимеров и промышленная экология \_\_\_\_\_ »

**Рабочая тетрадь по химии биополимеров**  
**Белки. Ферменты**

Выполнил	ст. группы _____	_____		
Проверил	ст. преподаватель	ФИО студента Соколова Н.А.		
Раздел рабочей тетради		Отметка о выполнении и раздела	Отметка о сдаче отчета по лабораторно-практическому занятию	Итог
1.1 Лабораторно-практическое занятие № 1 «Изучение свойств белковых молекул»				
1.2 Лабораторно-практическое занятие № 2-3 «Изучение свойств белковых молекул»				
2.1 Лабораторно-практическое занятие № 4 «Действие ферментов»				
2.2 Лабораторно-практическое занятие №5 «Исследование действия ферментов»				

Волгоград, 2021

Электронное учебное издание

Наталья Александровна **Соколова**  
Владимир Григорьевич **Кочетков**

Рабочая тетрадь по химии биополимеров. Белки. Ферменты

*Учебное пособие*

*Электронное издание сетевого распространения*

Редактор Н.И. Матвеева

Темлан 2021 г. Поз. № 12.

Подписано к использованию 21.09.2021. Формат 60x84 1/16.

Гарнитура Times. Усл. печ. л. 4,03.

Волгоградский государственный технический университет.  
400005, г. Волгоград, пр. Ленина, 28, корп. 1.

ВПИ (филиал) ВолгГТУ.  
404121, г. Волжский, ул. Энгельса, 42а.