

Фамилия	_____	Шифр	_____
Имя	_____		
Регион	_____		
Шифр	_____	Вариант №	_____

**ЗАДАНИЯ**  
**практического тура XXVI Всероссийской олимпиады**  
**школьников по биологии. Белгород – 2010 г.**  
**11 класс. Лаборатория Биохимии.**

**Сначала внимательно прочтите все задания!**  
**Будьте аккуратны при работе с кислотой и щелочью!**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ГЛИКОЛИЗА**  
**В ГОМОГЕНАТЕ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ**

**Описание эксперимента.** Скелетные мышцы кролика были измельчены и прогомогенизированы в буферном растворе для получения мышечного экстракта. После центрифугирования экстракта при 100000×g был получен супернатант, содержащий белки растворимой фракции цитоплазмы скелетных мышц, в том числе **все ферменты гликолиза**. К **9 мл** слабозабуференного раствора, содержащего глюкозу, НАД<sup>+</sup> и все необходимые минеральные соли, был добавлен **1 мл** полученного супернатанта, после чего смесь инкубировали **10 мин** и останавливали реакцию нагреванием на кипящей водяной бане. Смесь была профильтрована, и **по 1 мл полученного фильтрата** было перенесено в колбочки для титрования (стоят на столах, на колбочках указан номер рабочего места). В пробирку №1 поместили **1 мл** исходного супернатанта, используемого в эксперименте.

**Оборудование и реактивы:** Штатив с пробирками, пипетки, бюретка с **0,01 н раствором NaOH**, химический стакан для слива, 2 колбочки для титрования, раствор фенолфталеина, биуретовый реактив (**пробирка №2**), дистиллированная вода, **стандартный ряд** пробирок сравнения (стоит на столе), в которые было добавлено **0, 1, 2, 3, 4 и 5 мг белка** и биуретовый реактив.

**Ход работы:**

**Задание 1 (5 баллов).** Перенесите **0,5 мл** супернатанта из пробирки №1 в пустую пробирку и добавьте **2 мл биуретового реактива** из пробирки №2. После развития окраски (через 20-30 минут) сравните свою пробирку со стандартным рядом и определите в ней **содержание белка**. Рассчитайте **концентрацию белка** в исходном супернатанте. Внесите результаты в Таблицу.

Содержание белка в пробе	Размерность, единицы	Концентрация белка в исходном супернатанте	Размерность, единицы

**Задание 2 (10 баллов).** Пока в биуретовой реакции развивается окраска, определите **концентрацию** кислоты, образовавшейся в ходе реакций гликолиза в описанном эксперименте. Для этого в одну из колбочек для титрования добавьте **дистиллированную воду (до метки)** и **1-2 капли** раствора фенолфталеина. Установите уровень NaOH в бюретке на произвольную исходную отметку и аккуратно, по каплям, проведите титрование до появления розовой окраски. Запишите в Таблицу, **сколько миллилитров щелочи** потребовалось для нейтрализации кислоты.

**Повторите титрование еще раз, взяв вторую колбочку для титрования.**

Зная нормальность NaOH в бюретке, рассчитайте в фильтрате **нормальность** кислоты, образовавшейся в ходе эксперимента). Зная, какая кислота образуется в процессе гликолиза, и считая, что она диссоциирует полностью, рассчитайте **молярную** концентрацию образовавшейся кислоты. Результаты занесите в Таблицу.

	Миллилитры щелочи	Нормальная концентрация кислоты	Молярная концентрация кислоты	Среднее значение молярной концентрации
Проба 1				
Проба 2				

**Задание 3 (3 балла).** Рассчитайте **количество** кислоты в 1 мл фильтрата. Исходя из описания эксперимента, рассчитайте **активность ферментов гликолиза** в микромолях в минуту на 1 мг белка. Результаты внесите в Таблицу.

Количество кислоты в 1 мл раствора в пробирке №1	Размерность, единицы	Активность ферментов гликолиза	Размерность (микромоль/мин на 1 мг белка)

**Задание 4 (2 балла).** Исходя из полученных Вами результатов, рассчитайте количество глюкозы, расщепившейся в ходе эксперимента, и количество образовавшегося при этом АТФ. Результаты внесите в Таблицу.

Количество расщепившейся глюкозы	Размерность, единицы	Количество синтезированной АТФ	Размерность, единицы

**Закончив работу, штативы и заполненные листы ответов оставьте на рабочем месте и позовите преподавателя, который примет Вашу работу.**

**Для записей и расчетов используйте свободное место внизу и обратную сторону листов с заданием!**