

Тема: Дыхание

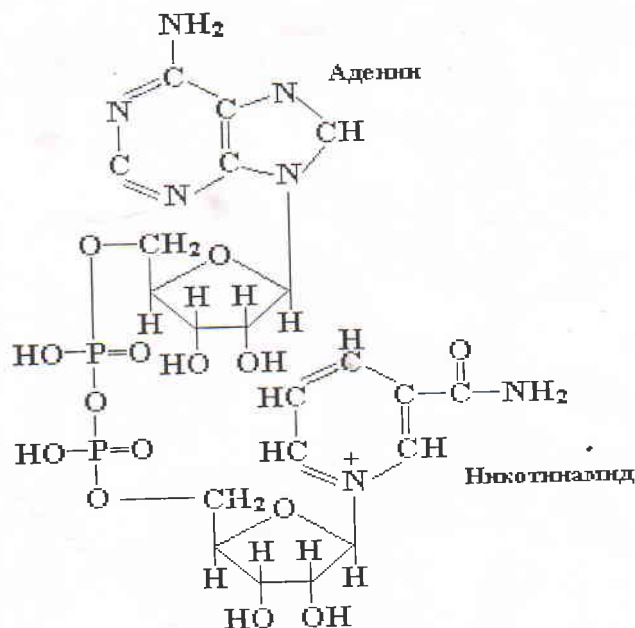
Обнаружение дегидрогеназ в растительном материале

Ферментные системы дыхания

Дегидрогеназы – ферменты, катализирующие дегидрирование дыхательного субстрата. Они активируют определенные атомы водорода субстрата, придавая им способность переходить с субстрата на соответствующий акцептор с более высоким редокс-потенциалом. Акцептором водорода и электронов может быть кислород или какое-то соединение, участвующее в цепи переноса электронов и водорода. Дегидрогеназы, у которых акцептором электронов является кислород, называют аэробными дегидрогеназами, нередко их по праву называют оксидазами, т.к. они выполняют оксидазные функции, передавая водород и электроны на кислород. Акцептором водорода и электронов от анаэробных дегидрогеназ служат промежуточные переносчики водорода.

По своей химической природе дегидрогеназы бывают **пиридиновыми** и **флавиновыми**. В своем составе они имеют белковую часть – апофермент и кофермент.

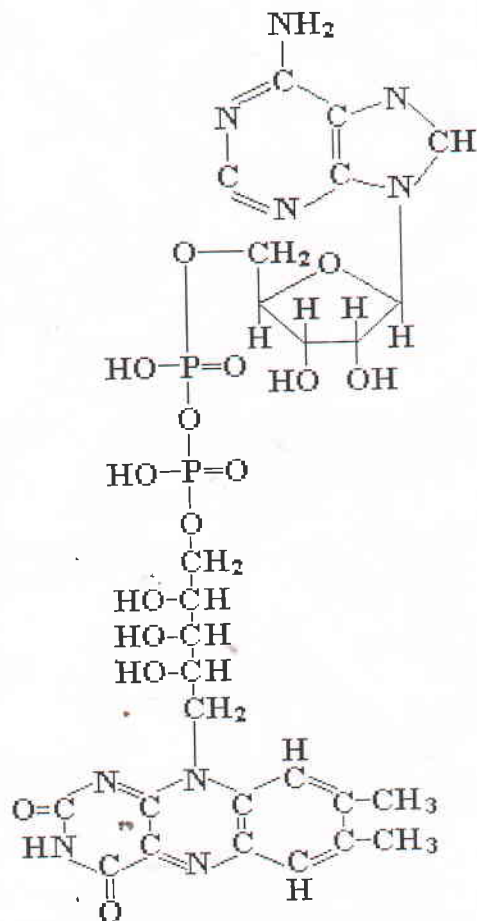
Коферментами **пиридиновых дегидрогеназ** могут быть **НАД** (никотинамидадениндинуклеотид) или **НАДФ** (никотинамидадениндинуклеотид-фосфат).



Никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺)

К НАД-зависимым дегидрогеназам относятся, например, лактатдегидрогеназа, исоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа; к НАДФ-зависимым – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа и др.

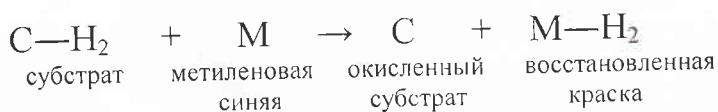
Флавиновые дегидрогеназы в составе кофермента содержат производные рибофлавина (витамина В₂). Два, обычно отмеченные звездочками, атома азота – ключевые атомы в каталитической реакции. К ним присоединяется 2H⁺, в результате чего кофермент восстанавливается.



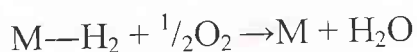
Флавидинуклеотид (ФАД)

Коферментами **флавиновых ферментов** могут быть или ФМН (флавинмоноклеотид), или ФАД (флавидинуклеотид). Среди флавиновых дегидрогеназ встречаются аэробные и анаэробные ферменты. К первой группе относятся: сукцинатдегидрогеназа и ряд флавиновых ферментов промежуточного переноса электронов и водорода, например, редуктаза цитохрома С, хинонредуктаза и глутатионредуктаза. Многие флавиновые ферменты осуществляют оксидазные функции, например, глюкозооксидаза, оксидазы L-аминокислот, ксантинооксидаза, оксидаза гликолевой кислоты и липооксидаза. Флавиновые дегидрогеназы нередко содержат металлы – Со, Мо, Ро, Си. При окислении кофермента два атома водорода переносятся от молекулы восстановленного кофермента на молекулу акцептора. Эти атомы водорода могут присоединяться или отрываться от него по одному.

Для определения активности дегидрогеназ часто используют искусственные акцепторы водорода, например, метиленовую синюю, которая при восстановлении переходит в бесцветную лейкоформу:



При соприкосновении с молекулярным кислородом лейкоформа метиленовой синей самопроизвольно окисляется и вновь приобретает окраску:



Поэтому данный опыт нужно проводить без доступа воздуха.

Оборудование и материалы:

- 1) наклюнувшиеся семена гороха или нута;
- 2) дистиллированная вода;
- 3) пробирки с пробками;
- 4) водяная баня;
- 5) термометр;
- 6) фарфоровые чашки (чашки Петри);
- 7) раствор метиленовой синей (5мг/л).

Ход работы:

Очистить от кожуры 10-12 наклюнувшихся семян гороха и разделить их на семядоли. Половину материала поместить в колбу с водой и кипятить в течение 3 мин для разрушения ферментов. Затем поместить обе порции в пробирки и залить раствором метиленовой синей. Через 5-10 мин, когда семядоли интенсивно окрасятся, слить раствор краски, тщательно промыть материал водой, после чего заполнить пробирки до краев дистиллированной водой и закрыть пробками. Поставить пробирки в термостат или в водяную баню при 25-30°C.

Отметить обесцвечивание семядолей в одной из пробирок, после чего вытряхнуть семена в фарфоровую чашку (без воды), оставить на воздухе и наблюдать восстановление окраски.

Описать результаты опыта и сделать соответствующие выводы