

1.2.3 Mechanizmy reakcji bionieorganicznych Kinetyka reakcji enzymatycznych

Małgorzata Brindell

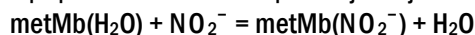
1. **Przedmiot:** chemia koordynacyjna, chemia biologiczna.
2. **Kurs:** pracownia specjalizacyjna, kinetyka.
3. **Rodzaj zajęć:** seminarium + zajęcia laboratoryjne.
4. **Czas trwania:** 8 h.
5. **Adresaci:** studenci studiów II stopnia, chemia, specjalizacja: chemia biologiczna (zajęcia 1 i 2) oraz chemia koordynacyjna (tylko zajęcia nr 1).
6. **Sposób organizacji:** Kurs złożony jest z cyklu spotkań o zróżnicowanej tematyce. Zajęcia prowadzone są w małych grupach liczących od 6 do 8 osób, każdy temat prowadzony jest przez inną osobę. Spotkania podzielone są na dwie części: krótkie zajęcia seminaryjne (do 45 min) i zajęcia laboratoryjne.
7. **Cel ogólny zajęć:**
 - zapoznanie studentów z aparaturą badawczą wykorzystywaną w badaniach kinetyki reakcji chemicznych, głównie ze spektrofotometrem UV-Vis oraz techniką zatrzymanego przepływu z detektorem UV-Vis;
 - nauka planowania przebiegu eksperymentów (wykorzystania dostępnych środków i ograniczonego czasu);
 - utrwalenie wiedzy nabytej podczas poprzednich kursów (np. chemii nieorganicznej, fizycznej czy biochemii);
 - przygotowanie studentów do samodzielnego opracowania i redagowania otrzymanych wyników w formie adekwatnej do wymagań, np. w formie artykułu naukowego, raportu itp.

8. Zastosowana metoda, wprowadzona innowacja:

Innowacja wprowadzona na obu zajęciach laboratoryjnych dotyczy głównie wymaganej **formy** pisemnego raportu. Każdy student zobowiązany jest napisać sprawozdanie w formie **artykułu naukowego** z zajęć pierwszych (*Mechanizmy reakcji bionieorganicznych*) oraz **raportu/opinii dla firmy** z branży przetwórstwa owoców i warzyw w odpowiedzi na jej pytanie na drugich zajęciach (*Kinetyka reakcji enzymatycznych*). Firma, zleciła zbadanie, czy witaminą C można zastąpić sole siarczanów(IV) w zapobieganiu brązowienia świeżych owoców i warzyw.

9. Opis ćwiczeń:

Pierwsze zajęcia laboratoryjne dotyczą badania kinetyki reakcji metmioglobiny (metMb) z jonami NO_2^- . Głównym zadaniem studentów jest wyznaczenie stałych szybkości reakcji odwracalnego wiązania NO_2^- do metmioglobiny oraz (na podstawie uzyskanych wyników) zaproponowanie mechanizmu poniższej reakcji:



W celu zaliczenia ćwiczenia studenci zobowiązani są do napisania raportu w formie artykułu naukowego opisującego wykonane przez nich pomiary. Artykuł powinien składać się z kilku podstawowych części, takich jak: krótkiego streszczenia, wprowadzenia, części eksperymentalnej, części przedstawiającej wyniki, dyskusji oraz podsumowania. Tytuł artykułu także musi pochodzić od studentów.

Drugie zajęcia laboratoryjne dotyczą badania kinetyki reakcji enzymatycznej oraz wpływu inhibitorów na katalizowaną reakcję. Do badań wybrano enzym tyrozynazę. W przeprowadzonym eksperymencie obserwuje się przebieg reakcji enzymatycznej, śledząc powstawanie dopachromu z L-DOPA na podstawie zmiany absorbancji przy 475 nm.** Głównym zadaniem studentów jest wyznaczenie stałej Michaelisa i maksymalnej szybkości reakcji katalizowanej przez tyrozynazę oraz sprawdzenia wpływu inhibitorów na kinetykę reakcji. Istotnym jest również wyznaczenie efektywności witaminy C jako inhibitora tyrozynazy, znalezienie IC_{50} (stężenie inhibitora, które powoduje 50% inhibicję enzymu) oraz porównania go z używanym do tej pory inhibitorem, siarczanem(IV) sodu.

W celu zaliczenia ćwiczenia studenci zobowiązani są do napisania raportu/opinii dla firmy, w którym odpowiedzą na pytanie, czy można użyć witaminy C do zapobiegania brązowienia świeżych owoców i warzyw oraz przedstawią odpowiednie dane potwierdzające ich opinię.

10. Wnioski z zastosowania metody/innowacji, jej zalety i wady:

Studenci nieczęsto spotykają się z inną formą pisemnego raportu z wykonanego ćwiczenia, niż standardowe sprawozdanie. Zalety tego rozwiązania to:

- przygotowanie studentów do selekcji i oceny ważności informacji - niektóre otrzymane dane eksperymentalne są kluczowe i muszą zostać umieszczone w raporcie, a o niektórych wystarczy jedynie wspomnieć bez szczegółowego opisu;
- przygotowanie studentów do pisania o własnej pracy laboratoryjnej (co będzie niezbędne w przyszłości, jeśli podejmą pracę w wyuczonym zawodzie);

*Ćwiczenie opracowano na podstawie publikacji w „J. Inorg. Biol. Chem.” 7 (2002) 165, gdzie można znaleźć warunki eksperymentalne, opis pomiarów oraz opracowanie wyników.

**Warunki eksperymentalne: substrat – 20 mM DOPA, enzym tyrozynaza, 0.1 M bufor cytrynianowy pH 6.6, inhibitory: witamina C, siarczanu(IV) sodu.

- uniknięcie problemu plagiatu – ponieważ każdorazowo warunki przeprowadzania pomiarów, a tym samym wyniki są nieco inne, a jednocześnie różnice pochodzą z odmiennych planów pracy proponowanych przez daną grupę studencką.