



Till vänster: illustration av enzymet katalas som är ett protein.
Till höger: små kuber av potatis och morot.

Undersökning av katalas

– Jämförelse av enzymaktivitet hos potatis och morot

(Lärrarhandledning)

I en klassisk laboration för att undersöka enzymet katalas används ofta bitar av lever från något djur. Här används istället potatis och morot som källor till enzymet. Syftet med laborationen är att utmana förmågan att utvärdera en systematisk undersökning och att stifta bekantskap med ett livsviktigt enzym som är intressant även ur ett evolutionärt perspektiv.

I elevinstruktionen ges bakgrundsfakta om katalas, samt en styrd laborationsinstruktion. I korthet kan vi här konstatera att hur snabbt en cell kan göra sig av med väteperoxid beror på mängden katalasenzym, samt olika miljöfaktorer så som temperatur, pH och salthalt då dessa kan påverka formen på enzymet och därmed dess effektivitet. Reaktionen kan studeras genom att mäta tiden det tar för en bit växtvävnad att flyta upp från botten av en lösning med väteperoxid. Det är en indirekt metod för att få syn på enzymaktiviteten i cellerna genom hur snabbt de bildar syrgas. Metoden har ett antal problem och felkällor, vilket gör att resultaten måste tolkas med stor försiktighet, men med syftet att väcka frågor om metodens tillförlitlighet fungerar den bra.



Säkerhet och riskbedömning

- Väteperoxid är ett reaktivt ämne som kan ge hud- och ögonskador. (se vita fingrar i bild till vänster). Använd en låg koncentration av väteperoxid (3-5 % fungerar), glasögon samt eventuellt handskar.
- Lakta försiktighet vid användning av kniv samt hantering av kokhett vatten för att undvika skär- och brännskador.
- Avfallshantering: rester av väteperoxid kan hällas och spolas ut i vasken. Potatis- och morotsbitar kan komposteras eller slängas i brännbart.

Materiel

- En potatis och en morot
- Kniv/fruktkniv, skärbräda och linjal
- Vattenkokare/vatten
- Lite hushållspapper
- 3 st glas/koppar
- Tidtagarur/Miniräknare (mobil)
- Papper och penna
- Pincett
- Skyddsglasögon
- Bänkkunderlägg
- Handskar
- Liten glasbägare (20 ml)
- Väteperoxid (3-5%)
- mm-papper (eller använd Excel)

Uppgift 1

Undersök katalas funktion hos potatis och morot i olika temperaturer.

Detta är frågeställningen som instruktionen är skriven för. Lägg gärna till att eleverna ska formulera en hypotes innan de genomför experimentet.

Elevinstruktionen är helt styrd och anger precis vad som ska göras och i vilken ordning. Om man hinner rekommenderar vi att låta växtmaterialen ligga längre tid (än 3 minuter) i de olika temperaturerna som testas.

Förväntade resultat är att de potatis- och morotsbitar som legat tillräckligt länge i kokhet vatten flyter upp betydligt långsammare än de som legat i kallt och fingervarmt vatten (proteiner denatureras/förstörs vid högre temperaturer). Man kan få lite olika resultat vid jämförelser mellan de två växtmaterialen. Det viktiga är att eleverna använder de resultat som de får till sin fortsatta diskussion.

Uppgift 2

Varför har kuberna av potatis och morot flutit upp?

Frågan ställs för att eleverna ska klargöra hur mätmetoden fungerar (underlätta förståelse för eventuella brister i metoden). Kuberna flyter upp på grund av att det bildas gasbubblor (med syrgas) i kanterna. Vissa gasbubblor släpper ju från kuberna, men de bubblor som vid en given tidpunkt finns kvar i kanten bidrar till flytförmågan hos kuberna.

Uppgift 3

Diskutera era resultat utifrån följande punkter:

- Jämför de olika staplarna, är det någon skillnad mellan olika temperaturer?
[Här beror svaret på elevernas resultat.](#)
- Hur påverkas katalas av de olika temperaturerna?
[Se kommentar under uppgift 1 för förväntade resultat.](#)
- Finns det någon skillnad mellan enzymaktiviteten i morot och potatis? Vilken i så fall och vad kan det bero på?
[Här kan man ju tänka sig flera olika tänkbara förklaringar till en observerad skillnad. Dels kan det bero på en skillnad i enzymernas effektivitet per molekyl så att säga - eller så beror det på mängden katalas i de olika typerna av vävnad som studerats. Det kan också vara ett resultat av någon annan faktor som påverkar själva mätmetoden. Se fråga om felkällor.](#)

Uppgift 4

Ta upp relevanta felkällor, det vill säga sådana problem med metoden som kan ha haft betydande inverkan på resultaten. Förklara hur de felkällor ni tar upp har påverkat resultaten. [Här kan man peka på att metoden bygger på flytförmåga och att det kan vara olika densitet på potatis och morot som gör att det krävs mer/mindre gasbubblor för att få dem att lyfta i vätskan. Det är ett exempel på förklaring som innebär att det är svårt att jämföra olika typer av växtmaterial med denna metod.](#)

Uppgift 5

Studera diagrammet till höger.

Läs följande påståenden om svamparten *Aspergillus terreus*. Ta ställning till om påståendena stämmer eller inte och motivera hur du tänker.

- Arten förekommer i många olika typer av livsmiljöer

Kan stämma om överlevnaden är kopplad till funktionen hos katalas eftersom den verkar fungera i ett brett pH-område. Men det kan vara andra faktorer än pH som begränsar arten (t ex tillgång till vatten). Katalas är också bara ett av många enzymer, det räcker inte att bara titta på ett enzym för att säkert säga att påståendet stämmer för hela arten.

- Arten är specialiserad på livsmiljöer där pH är lågt (sura jordar)

Stämmer inte om vi med låga pH menar väldigt låga som under pH 4. Men om vi säger att allt under 7 är surt så stämmer det delvis då katalas fungerar ända ner till pH 4. Samtidigt visar diagrammet att katalasenzymet fungerar bättre i högre pH-områden än lägre. Om arten skulle vara specialiserad till låga pH skulle man kanske förvänta sig att även katalasenzymets pH-optimum låg mer mot lägre pH än vad diagrammet visar.

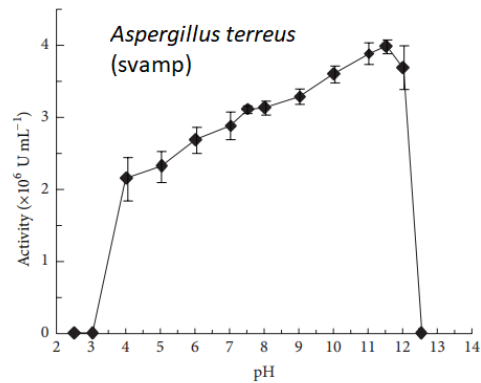
- Arten är känslig för pH i sin livsmiljö

Inte så känslig jämfört med många andra organismer som nog har smalare område i pH-skalan som de klarar av att leva i. Här är ändå pH-spannet rätt stort 4-12 och artens katalasystem verkar kunna fungera i både sura och basiska miljöer. Det verkar alltså inte finnas någon tydlig anpassning till bättre funktion i låga pH-värden. Men återigen, samma reservation som i första påståendet (att vi här enbart ser funktionen hos ett enzym och att arten som helhet beror av många olika proteiners funktion).

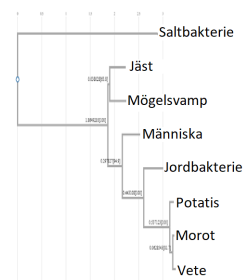
Uppgift 6

Nedan visas en tabell för olika organismer och inom vilket pH-område som deras katalas-enzym fungerar. Till höger visas ett släkträd baserat på likheter i aminosyra-sekvenserna (ordningen på aminosyrorna) i katalas-enzymerna.

Organism	pH-område (för katalas)
Jordbakterie (<i>Bacillus firmus</i>)	8-11
Saltbakterie (<i>Halobacterium</i> sp)	5.5-8.5
Människa (<i>Homo sapiens</i>)	6-8
Jäst (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	6-8
Mögelsvamp (<i>Aspergillus terreus</i>)	4-12
Vete (<i>Triticum aestivum</i>)	5.5-9
Potatis (<i>Solanum tuberosum</i>)	4.5-9
Morot (<i>Daucus carota sativus</i>)	?



Vatsyayan, P., & Goswami, P. (2016). Highly active and stable large catalase isolated from a hydrocarbon degrading *Aspergillus terreus* MTCC 6324. *Enzyme Research*, 2016, 4379403-4379403. doi:10.1155/2016/4379403



Vilket pH-område skulle man kunna förvänta sig som hypotes för morot? Motivera ditt svar. En tänkbar hypotes är liknande område som närbesläktade arter, vete 5,5-9 och potatis 4,5-9. I släkträdet visas likheter baserat på just enzymet katalas byggnad (ordning på aminosyror). Om man antar att funktionen är kopplad till strukturen så kanske likheten kan tyda på liknande toleransområde för enzymet hos morot. Om det går att koppla direkt till släktskapsträdet borde man kanske välja den som ser mest lik ut: vete och ta området 5.5-9. En invändning kan vara att det inte säkert behöver vara så, eftersom små genetiska förändringar kan orsaka stor effekt på enzymets struktur (t ex om förändringen sker i ett område i enzymet som är avgörande för funktionen, jfr aktiv yta).

Uppgift 7

Om man tänker evolution – hur kan man förklara att människans katalas har ett smalt pH-område medan mögelsvampens och potatisens katalas har ett brett pH-område? Använd evolutionära begrepp i dina förklaringar.

Vissa arter kan ha anpassats till en miljö som har ett relativt stabilt pH. Individer som har haft andra katalas-varianter som ger tålighet mot exempelvis lågt pH har inte haft någon selektiv fördel, snarare tvärtom så har de selekterats bort.

Organism	pH-område (för katalas)
Människa (<i>Homo sapiens</i>)	6-8
Mögelsvamp (<i>Aspergillus terreus</i>)	4-12
Potatis (<i>Solanum tuberosum</i>)	4.5-9

Anpassning genom naturligt urval kan användas som förklaringsmodell. Hos människa verkar katalas i en organism som har en inre miljö som håller miljöfaktorerna/omgivningen relativt konstant (homeostas). För jordlevande organismer sker en interaktion med omgivningen mer direkt och pH-variationen i marken är förmodligen större än inuti en människas kropp. Människans katalas kan ha fått ett smalare pH-optimum på grund av stabiliserande selektion (motriktade selektionstryck). Det kan ju också bero på att djurgrenen i livets träd redan från tidig gemensam anfader av slump eller selektion fått ett katalasenzym med betydligt smalare pH-optimum än vad som finns inom svamparnas och växternas respektive grenar i livets träd.



Anpassningar mer mot generalist – alltså tålighet mot breda förhållanden bygger förmodligen på att miljön varierar mycket så att variationen inom arten har bibehållits över tid och om de parar sig över långa avstånd kan förmågan klara breda pH-områden spridas inom hela arten.

Uppgift 8

Varför finns enzymet katalas hos så många olika organismer?

Bakgrundsteori i elevinstruktionen ger några ledtrådar. Exempelvis att väteperoxid är ett ämne som cellerna/organismerna bildar på grund av fettnedbrytning. Då metabolism och energiomvandling är något som alla celler behöver så bildas förmodligen väteperoxid i de flesta celler och därmed blir det viktigt att alla celler i alla organismer också har ett system (katalas) för att reglera mängden av ämnet som är skadligt i högre koncentrationer.