

**МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ –
филиал федерального государственного бюджетного образовательного уч-
реждения высшего образования
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии

**РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ
ХИМИИ**

**33.05.01 Фармация (уровень специалитета)
III курс V семестр**

Студент _____

_____ курс _____ группа

Преподаватель _____

Пятигорск, 2021

УДК 577.1 (076.5)

ББК 28.072я73

С 46

Рецензент: Кодониди И.П. д-р ф. н., профессор кафедры органической химии ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ

Скульте И.В., Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Жилина О.М., Парфентьева Е.П.

С 46 Рабочая тетрадь по биологической химии 33.05.01 Фармация (уровень специалитета) III курс V семестр

/ Скульте И.В. [и др.]. – Пятигорск: ПМФИ-филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 2021. – 49 с.

Рабочая тетрадь составлена в соответствии с ФГОС ВО по специальности: 33.05.01 Фармация и рабочей программой для студентов 3-го курса очной формы обучения. В тетрадь включены вопросы для обсуждения на занятиях, список используемой литературы, выполняемая на занятии самостоятельная работа, форма протокола для оформления результатов работы, темы заслушиваемых докладов. Рабочая тетрадь предназначена для самостоятельной аудиторной работы студентов под руководством преподавателя с целью закрепления и усвоения знаний.

УДК 577.1.017 (076)

ББК 28.072я73

Печатается по решению Центральной методической комиссии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ

© ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ- филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 2021

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Темы лабораторных занятий	Вид занятия	Коли- чество часов
1.	Химическое строение белков.	ЛЗ	3
2.	Физико-химические свойства и строение белков.	ЛЗ	3
3.	Сложные белки и их кофакторы.	ЛЗ	3
4.	Нуклеиновые кислоты. Липопротеины.	ЛЗ	3
5.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Структура и биологические функции белков и нуклеиновых кислот.	ЛЗ	3
6.	Роль витаминов в метаболизме и механизме действия ферментов.	ЛЗ	3
7.	Коферментные формы витаминов.	ЛЗ	3
8.	Ферменты, строение, свойства.	ЛЗ	3
9.	Номенклатура и классификация ферментов.	ЛЗ	3
10.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Ферменты и витамины как их кофакторы.	ЛЗ	3
11.	Введение в обмен веществ и энергии.	ЛЗ	3
12.	Биологическое окисление. Лимоннокислый цикл.	ЛЗ	3
13.	Дыхательная цепь ферментов. Антиоксидантная система клетки.	ЛЗ	3
14.	Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Введение в обмен веществ и энергии. Биологическое окисление.	ЛЗ	3
15.	Катаболизм углеводов.	ЛЗ	3
16.	Биосинтез углеводов.	ЛЗ	3
17.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен углеводов.	ЛЗ	3
18.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Структура и биологические функции белков и нуклеиновых кислот. Ферменты и витамины как их кофакторы. Введение в обмен веществ и энергии. Биологическое окисление. Обмен углеводов.	ЛЗ	3

Как пользоваться рабочей тетрадью

1. Ознакомьтесь с содержанием очередного занятия и приведёнными техниками работы.
2. Пользуясь учебниками, лекциями, методическими пособиями подготовьтесь к входному контролю по вопросам для обсуждения и тестированию.

3. Список литературы для подготовки к занятию приведён в конце рабочей тетради.

4. Под руководством преподавателя на занятии студенты заполняют протокол.

5. Преподаватель проверяет протокол и по итогам работы на занятии выставляет оценку в кафедральном журнале.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Прежде чем приступить к самостоятельной работе, необходимо знать некоторые обязательные правила при выполнении биохимических анализов, что позволит избежать несчастных случаев, возможных при работе с ядовитыми и взрывчатыми веществами, концентрированными кислотами и щелочами.

Общие правила.

Все работы в лаборатории проводить в рабочей одежде – халате и шапочке (козылке).

При использовании реактивов обращать внимание на надписи на этикетке. Растворы из разных склянок набирать разными пипетками, пипетки ставить в те склянки, из которых они были взяты, не путать пробки от склянок.

Не пробовать на вкус или на ощупь неизвестные вещества.

Не производить смешивание веществ, результаты реакции между которыми неизвестны.

Работу с выделением ядовитых газов и сильно пахнущими веществами производить в вытяжном шкафу.

Не следует вдыхать выделяющиеся газы непосредственно из пробирки или направлять их в лицо. При подогревании пробирки направлять её отверстие в сторону от себя и товарища.

Ввиду того, что водород, метан, этилен и ацетилен образуют с воздухом взрывчатые смеси, нельзя поджигать их у отверстия газоотводной трубки, не убедившись предварительно, что воздух полностью вытеснен из пробирки.

Не принимать пищу на рабочем месте и во время работы.

При возникновении пожара в лаборатории тушить его, прикрыв пламя тряпкой, одеялом или засыпав песком. Ящики с песком должны быть в каждой лаборатории. Знать места расположения огнетушителей.

Не жечь зря электроплитки и газ.

После работы поставить все реактивы на место, вымыть посуду, убрать рабочий стол. В конце работы обязательно вымыть руки.

С правилами техники безопасности ознакомлен и обязуюсь выполнять

Инструктаж провёл _____

/ _____ /

Занятие 1. Тема: Химическое строение белков.

Цель: изучить общую характеристику белковых веществ, строение и свойства протеиногенных аминокислот, виды химических связей в белковых молекулах, строение пептидов. Научится выполнять биуретовую, нингидриновую, ксантопротеиновую, нитропруссидную реакции, реакцию Миллона и Фоля.

Вопросы для обсуждения.

1. Каков химический состав белков?
2. Какова молекулярная масса белков и как она определяется?
3. Что такое аминокислоты и какие аминокислоты входят в состав белков?
4. Опишите классификацию протеиногенных аминокислот на основе полярности их радикалов, какие типы классификации аминокислот известны и на каких принципах они основаны?
5. Перечислите аминокислоты первого класса и напишите их структурные формулы.
6. Перечислите аминокислоты второго класса и напишите их структурные формулы.
7. Перечислите аминокислоты третьего и четвертого класса и напишите их структурные формулы.
8. Какие аминокислоты называются протеиногенными, а какие свободными?
9. Чем отличаются по свойствам D- аминокислоты от L-аминокислот?
10. Как образуются пептидные связи в белках?
11. Охарактеризуйте пептидную связь с электронной точки зрения.
12. Чем обусловлены цветные реакции на белки и аминокислоты?

Выполняемая работа.

Работа 1. Цветные реакции на функциональные группы белков и аминокислот.

Таблица 1

Качественные (цветные) реакции на функциональные группы белков и аминокислот

Название реакции и выявляемая группа	Исследуемый материал	Употребляемые реактивы	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
1. Биуретовая реакция на наличие пептидных связей	а) яичный белок, р-р, 5 капель б) глицилглицин, 1% р-р, 5 капель в) глицин	а) биуретовый реактив, 2 капли б) -----//-----//----- в) -----//-----//-----		
2. Нингидриновая реакция на α -аминокислоты	а) яичный белок, р-р, 5 капель б) β -аланин, 1% р-р, 5 капель в) α -аланин, 1% р-р, 5 капель	а) 0,5% р-р нингидрина нагреть до кипения б) -----//-----//----- в) -----//-----//-----		
3. Ксантопротеиновая	а) яичный белок, р-р, 5 капель	а) конц. HNO_3 , 3 капли нагреть		

реакция на ароматическое кольцо в аминокислоте	б) тирозин, 1% р-р, 5 капель в) глицин, 1% р-р, 5 капель	до кипения б) ----//-----//----- в) ----//-----//----- добавление NaOH до оранжевого окрашивания		
4. Реакция Миллона на тирозин	а) яичный белок, р-р, 5 капель б) тирозин, 0,1% р-р, 5 капель в) фенилаланин	а) реактив Миллона, 5 капель б) --/-- нагреть до 50° в) ----//-----//-----		
5. Реакция Фоля на аминокислоты, содержащие слабо связанную серу	а) яичный белок, р-р, 5 капель б) цистеин, 1% р-р, 5 капель в) глицин, 1% р-р, 5 капель	а) 5% р-р ацетата свинца, 10 капель, 20% р-р NaOH по каплям до растворения осадка и нагреть до кипения! б) ----//-----//----- в) ----//-----//-----		
6. Нитропруссидная реакция на серосодержащие аминокислоты	а) неразбавленный яичный белок, 5 капель б) метионин, 0,1% р-р, 5 капель в) глицин, 1% р-р, 5 капель	а) 20% р-р NaOH, 10 капель, кипятить! 3 минуты, охладить! 5% р-р нитропруссид натрия, 3 капли б) ----//-----//----- в) ----//-----//-----		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Использование современных физико-химических методов анализа в изучении состава и структуры белков.

Подпись преподавателя _____

Занятие 2. Тема: Физико-химические свойства и строение белков.

Цель: изучить уровни структурной организации белков и связи их стабилизирующие. Выучить классификацию простых белков и характеристику отдельных их групп; физико-химические свойства белков, явление денатурации и факторы денатурации. Научиться рассчитывать R_f для каждой аминокислоты; выполнять биуретовую реакцию, подтверждающую наличие пептидных связей в молекуле белка; проводить реакцию, подтверждающую наличие низкомолекулярных соединений, проводить химические реакции, используемые для денатурации белка.

Вопросы для обсуждения.

1. Структурная организация белковых молекул.
2. Химические связи, стабилизирующие первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуру белка.
3. Классификация простых белков с характеристикой их отдельных групп.
4. Физико-химические свойства белков.
5. Денатурация белков.

Выполняемая работа.

Работа 1. Хроматографический метод разделения аминокислот.

1. Зарисовать полученную хроматограмму после обработки раствором нингидрина:

2. Рассчитать значение R_f для каждой аминокислоты по формуле:

$$R_f = \frac{a}{b},$$

где, a - расстояние от места нанесения раствора смеси аминокислот (линия старта) до центра пятна конкретной аминокислоты; b — путь, пройденный растворителем от линии старта до его фронта после окончания хроматографии, мм.

$R_{f1} =$

$R_{f2} =$

$R_{f3} =$

Вывод: _____

Работа 2. Диализ белков

Принцип метода: _____

Определяемые компоненты	До диализа		После диализа	
	Внешняя жидкость	Внутренняя жидкость	Внешняя жидкость (диализат)	Внутренняя жидкость
Белок (проведение реакции с биуретовым реактивом, 3-5 капель)				
SO ₄ ²⁻ (проведение реакции с 2-3 каплями BaCl ₂)				

Вывод: _____

Работа 3. Исследование денатурации белков

Принцип метода: _____

Исследуемый материал	Денатурирующий фактор	Наблюдаемые изменения	Механизм денатурации белка
1. Раствор яичного белка, 5 капель	Конц. HNO ₃ , 10 капель		
2. Раствор яичного белка, 10 капель	Трихлоруксусная кислота, 10% раствор, 2 капли		
3. Раствор яичного белка, 10 капель	Сульфат меди, 5% раствор, 2 капли		
4. Раствор яичного белка, 10 капель	100°C (кипячение)		

Вывод: _____

Работа 4. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Исследования по изучению роли шаперонов в фолдинге белков.

Подпись преподавателя _____

Занятие 3. Тема: Сложные белки и их кофакторы.

Цель: изучить классификацию сложных белков; строение и свойства хромопротеинов; фосфопротеинов и углеводсодержащих белков. Научиться выполнять биуретовую реакцию, подтверждающую наличие пептидных связей в молекуле белка; ставить бензидиновую пробу на геминую группу гемоглобина; реакцию Миллона на углеводный компонент гликопротеина яичного белка; молибденовую пробу для определения остатка фосфорной кислоты в гидролизате казеиногена.

Вопросы для обсуждения.

1. Привести классификацию сложных белков.
2. Охарактеризуйте строение хромопротеинов, укажите простетические группы хромопротеинов.
3. Охарактеризуйте строение и функции производных бета-каротина, изоаллоксазина, порфирина, напишите их структурные формулы.
4. Фосфопротеины, особенности их строения и роль в организме.
5. Строение протеогликанов (мукопротеинов), их функции в организме, представители протеогликанов.
6. Гликопротеины, особенности строения, функции в организме, представители гликопротеинов.
7. Иммуноглобулины (антитела), особенности строения, образования и функции в организме.

Выполняемая работа.

Работа 1. Химическая природа небелковых компонентов белков-протеидов.

Таблица 1

Название сложного белка	Название определяемого компонента	Используемые материалы, реактивы и приемы	Наблюдаемые изменения	Принцип реакции
Гемпротеины	Определение гемина	1 мл разведенной в 5000 раз крови, кипячение, охлаждение + 5 капель раствора бензидина + 5 капель раствора пероксида водорода		
	Определение белка	5 капель разведенной в 5000 раз крови + 3 капли биуретового реактива		
Фосфопротеины	Выделение казеиногена из молока	1) 4мл разведенного молока; 2) 1 каплю конц. уксусной кислоты; 3) фильтрование, промывка дважды дистиллированной водой; 4) 3 капли биуретового реактива + часть осадка (казеиногена)		
	Гидролиз казеиногена	1) остаток казеиногена 2) 4мл 10% р-ра NaOH		

		3) кипячение 10-15 мин		
	Определение белка	1) 5 капель гидролизата 2) 3 капли биуретового реактива		
	Определение фосфата	1) 5 капель фильтрата 2) 20 капель молибденового реактива 3) кипячение		
Гликопротеины	Определение углеводов (гексозы)	10 кап. раствора яичного белка + 3 капли раствора альфа-нафтола 1% + 20 капель серной кислоты (конц.)		
	Определение белка в растворе яичного белка	1) 5 капель раствора яичного белка 2) 3 капли биуретового реактива		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления об особенностях функционирования олигомерных белков на примере гемоглобина.

Подпись преподавателя _____

Занятие 4. Тема: Нуклеиновые кислоты. Липопротеины.

Цель: изучить классификацию сложных белков, строение и свойства липопротеинов и нуклеопротеинов, особенности получения и свойства липосом. Научиться проводить реакцию с ацетоном, подтверждающую наличие фосфатидилхолина; получать из фосфатидилхолина липосомы и идентифицировать их под микроскопом; проводить гидролиз нуклеопротеинов дрожжей и поставить качественные реакции на компоненты нуклеопротеинов (белок, пуриновые основания, пентозу и фосфорную кислоту).

Вопросы для обсуждения.

1. Приведите классификацию сложных белков.
2. Охарактеризуйте строение и функции липопротеинов.
3. Охарактеризуйте строение и функции плазматических липопротеинов.
4. Охарактеризуйте строение и функции биомембран.
5. Укажите основные классы мембранных липидов, охарактеризуйте их особенности.
6. Опишите мембранные белки, укажите их основные группы и функции.
7. Опишите жидкостно-мозаичную модель мембран.
8. Опишите функции мембран.
9. Что такое липосомы? Как они создаются и используются в фармации и медицине?
10. Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания, их структурные формулы.
11. Строение и функции ДНК, структурная формула отрезка ДНК.
12. Строение и функции РНК, структурная формула отрезка РНК.
13. Особенности строения свободных нуклеотидов; структурная формула АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ.
14. Уровни структурной организации ДНК, их характеристика.
15. Особенности строения двойной спирали ДНК.
16. Видовая специфичность ДНК

Выполняемая работа.

Работа 1. Выделение фосфатидилхолина из яичного желтка.

Реактивы:

спирт 96%; ацетон.

Оборудование:

пробирки, водяная баня, термометр, бумажные фильтры.

Материал: яичный желток.

Ход определения

1. Поместить в пробирку 0,5-1,0 г (1/6 часть) яичного желтка, добавить 5,0 мл кипящего спирта (для этого спирт предварительно помещают в водяную баню с температурой 75-78° С), перемешивать содержимое пробирки 8-10 минут.
2. По окончании извлечения жидкость фильтруют через бумажный фильтр. С фильтратом проводят реакцию на фосфатидилхолин с ацетоном, для чего к 10 каплям ацетона прибавляют по каплям фильтрат. Постепенно жидкость мутнеет вследствие осаждения нерастворимого в ацетоне фосфатидилхолина.

Работа 2. Получение липосом.

Реактивы: фосфатный буфер рН 6,8.

Оборудование: пробирки, микроскоп, предметные стекла.

Материал: спиртовой раствор фосфатидилхолина.

Метод основан на способности фосфолипидов образовывать на поверхности раздела двух фаз (вода-липиды) очень тонкий бимолекулярный слой, приобретающий сферическую форму.

Ход работы

К 3-4 мл полученного ранее спиртового раствора фосфатидилхолина добавляют равный объем фосфатного буфера с рН 6,8 и интенсивно диспергируют (встряхивают) в течение не менее 10 минут.

Каплю полученной жидкости – взвеси липосом – наносят на предметное стекло и микроскопируют при малом увеличении (объектив 8).

Наблюдают липосомы в виде везикул.

Таблица 1

Принцип метода: _____

Название сложного белка	Название определяемого компонента	Используемые реактивы, материалы и приемы	Наблюдаемые изменения	Принцип реакции
Липо-протеины	Выделение фосфатидилхолина	0,5 г. яичного желтка + 5,0 мл кипящего этилового спирта, перемешивание 10 мин, фильтрация, 5 кап. фильтрата + 10 кап. ацетона		
	Получение липосом	3 мл фильтрата раствора фосфатидилхолина + 3 мл фосфатного буфера рН=6,8, интенсивное встряхивание 10 мин, микроскопия капли жидкости (объектив 8)		

Вывод: _____

Работа 3. Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей с идентификацией их компонентов.

Таблица 2

Название определяемых компонентов	Проводимые реакции	Употребляемые реактивы	Наблюдаемое окрашивание или осадок	Продукты реакции
Полипептиды	биуретовая проба	5 капель гидролизата + 10 капель 10% раствора NaOH + 1 капля 1% раствора сульфата меди		
Пуриновые основания	серебряная проба	10 капель гидролизата + 1 капля конц. аммиака + 5 капель 1% раствора серебра азотно-кислого		
Пентозы	реакция Молиша	10 капель гидролизата + 3 капли 1% раствора альфа-нафтола + 20 кап. конц. серной кислоты		
Фосфорная кислота	молибденовая проба	5 капель гидролизата + 20 капель молибденового реактива, кипячение		

Вывод: _____

Работа 4. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Новейшие разработки ДНК-технологий в создании лекарственных препаратов.

Подпись преподавателя _____

Занятие 5. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Структура и биологические функции белков и нуклеиновых кислот.

Цель: закрепить теоретические знания по разделу и провести контроль усвоения навыков и умений.

Вопросы к итоговому занятию.

1. Какие химические элементы входят в состав живого организма? На какие группы они подразделяются?
2. Какие химические элементы составляют 99% массы большинства клеток? Какие свойства элементов объясняют их роль в живом организме?
3. Какие основные органические и неорганические соединения входят в состав живых организмов? Какое значение воды в живом организме?
4. В каком виде находятся в биологических жидкостях основные органические соединения?
5. Каковы особенности строения макромолекул и какова их функциональная специализация в живом организме?
6. Что такое белки? Каков их элементарный состав и функции в организме?
7. Что такое аминокислоты? Каковы их физико-химические свойства?
8. Какова классификация аминокислот, основанная на полярности радикалов:
 - а) назовите и напишите формулы аминокислот первого класса;
 - б) назовите и напишите формулы аминокислот второго класса;
 - в) назовите и напишите формулы аминокислот третьего и четвертого класса.
9. Как образуется пептидная связь в белковых молекулах, охарактеризуйте пептидную связь с электронной точки зрения. Напишите схему полипептидной цепи.
10. Перечислите химические связи, которые могут возникать между радикалами аминокислот внутри одной полипептидной цепи, а так же между полипептидными цепями в белках.
11. Уровни организации белковых молекул:
 - а) охарактеризуйте первичную и вторичную структуру белков;
 - б) охарактеризуйте третичную и четвертичную структуру белков;
 - в) охарактеризуйте надвторичные структуры и структурные домены;
 - г) фолдинг, белки шапероны.
12. Физико-химические свойства белков:
 - а) каков характер водных растворов белков? Явление Тиндаля. Назовите факторы, уменьшающие стабилизацию белков в растворе;
 - б) обратимое и необратимое осаждение, денатурация и ренатурация белков;
 - в) белки как амфотерные электролиты, изоэлектрическая точка белков, электрофорез белков.
13. Классификация простых белков: назовите классы протеинов, охарактеризуйте протамины и гистоны; охарактеризуйте альбумины и глобулины; охарактеризуйте проламины, глютеины и протеиноиды.

14. Что такое сложные белки (протеиды, смешанные макромолекулы)?
Приведите классификацию сложных белков, назовите небелковые компоненты каждого класса.
15. Охарактеризуйте хромопротеины:
- а) назовите простетические группы хромопротеинов, производные изоаллоксазина, бетакаротина, порфина, напишите их формулы;
 - б) назовите представителей хромопротеинов, охарактеризуйте строение гемоглобина;
 - в) каковы биологические функции хромопротеинов?
16. Охарактеризуйте структуру и биологические функции липопротеинов (липид-белковых комплексов).
17. Транспортные липопротеины плазмы крови, их строение и функции.
18. Биологические мембраны: основные классы мембранных липидов, их свойства, участие в формировании бимолекулярного слоя.
19. Роль холестерина в формировании жидко-кристаллической структуры липидного бислоя биомембран.
20. Жидко-кристаллическая структура липидного бислоя биомембран. Текучесть мембран.
21. Проницаемость биомембран. Способы переноса веществ через мембраны.
22. Состав белков биомембран и их характеристика.
23. Жидкостно-мозаичная модель биомембран Сингера-Николсона.
24. Характеристика функций биомембран.
25. Мембраноподобные структуры (липосомы), их создание и использование в фармации.
26. Охарактеризуйте структуру и биологические функции фосфопротеинов и металлопротеинов.
27. Охарактеризуйте структуру и биологические функции гликопротеинов (углевод-белковых комплексов) – протеогликанов и собственно гликопротеинов, охарактеризуйте строение и функции иммуноглобулинов.
28. Охарактеризуйте структуру и биологические функции нуклеопротеинов.
29. Что такое нуклеиновые кислоты, ДНК, РНК? Какова их локализация в клетке и биологическая роль? Виды РНК.
30. Перечислите и напишите формулы азотистых оснований и пентоз, входящих в структуру нуклеиновых кислот. Что такое нуклеозиды? Что такое нуклеотиды?
31. Напишите формулы и названия моонуклеотидов РНК (рибонуклеотиды).
32. Напишите формулы и названия моонуклеотидов ДНК (дезоксирибонуклеотиды).
33. Что такое первичная структура нуклеиновых кислот? Что такое вторичная структура нуклеиновых кислот? Какими химическими связями они стабилизируются? Что такое третичная структура нуклеиновых кислот?
34. Опишите строение ДНК:
- а) сколько полинуклеотидных цепей составляют одну молекулу, как связаны между собой?

б) охарактеризуйте понятия «комплементарные антипараллельные полинуклеотидные цепи»;

в) изложите правила Чаргаффа – закономерности химического состава ДНК.

35. Перечислите виды РНК и опишите биологическую роль каждого вида.

36. Назовите нуклеотиды, не входящие в структуру нуклеиновых кислот и принимающие участие в обмене веществ (нуклеозид – 5' - моно-, ди-, трифосфаты). Каковы их важнейшие функции? Циклические ГМФ и АМФ, их структура и функции.

Выполняемая работа.

В полученных контрольных пробах провести идентификацию их содержимого: аминокислоты, простые и сложные белки. Для этого с каждой пробой провести следующие качественные реакции: а) биуретовую реакцию; б) нингидриновую реакцию; в) ксантопротеиновую реакцию; г) бензидиновую пробу; д) реакцию с α – нафтолом.

Работа 1. Идентификация содержимого полученной пробы.

Таблица 1

Название реакции	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
Биуретовая реакция	№А		
	№Б		
	№В		
Нингидриновая реакция	№А		
	№Б		
	№В		
Ксантопротеиновая реакция	№А		
	№Б		
	№В		
Бензидиновая проба (определение гемина)	№А		
	№Б		
	№В		
Определение гексозы	№А		
	№Б		
	№В		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные концепции о механизмах транспорта веществ через биологические мембраны.

Подпись преподавателя _____

Занятие 6. Тема: Роль витаминов в метаболизме и механизме действия ферментов.

Цель: изучить роль витаминов в организме; витаминеры и антивитамины; участие витаминов в обмене веществ; классификацию витаминов. Научиться выполнять качественные реакции на жирорастворимые и водорастворимые витамины.

Вопросы для обсуждения.

1. Роль витаминов для жизнедеятельности организма, гипо – и гипервитаминоз.
2. Что представляют собой витамины по химической структуре, их классификация.
3. Что называется витаминами и антивитаминами?
4. В чем выражается нарушение баланса витаминов в организме?
5. Характеристика отдельных групп водорастворимых витаминов (структура и функции) .
6. Характеристика отдельных групп жирорастворимых витаминов (структура и функции).

Выполняемая работа.

Работа 1. Качественные реакции на водорастворимые и жирорастворимые витамины.

Таблица 1

Название витамина	Материалы, реактивы, ход определения	Принцип метода	Наблюдаемое окрашивание
Вит. А, <i>Ретинол</i> , Антиксерофтальмический	2 капли рыбьего жира в хлороформе + 5 капель конц. серной кислоты (выполняют на чашке Петри)		
Вит. Е, альфа-токоферол, антистерильный	5 кап 0,1% спиртового р-ра токоферола + 10 капель конц. азотной кислоты. Аккуратно перемешать.		
Вит. В ₁ , <i>тиамин</i> , антиневритный	К 5 кап 1% сульфаниловой кислоты прибавить 5 кап 5% р-ра нитрита натрия, 5 кап 5% р-ра тиамин и по стенке пробирки 10 кап 10% р-ра натрия карбоната.		
Вит. В ₂ , <i>рибофлавин</i> , витамин роста	10 кап рибофлавина + 15-20 кап конц. соляной кислоты и 1 гранулу металлического цинка. Оставить в штативе.		

Вит. В ₆ , <i>пиридоксин</i> , антидерматитный	5 капель 1% р-ра пиридоксина + 5 капель 1% р-ра хлорида железа (III)		
Вит. Р, <i>рутин</i> , капилляро-укрепляющий	100 мг сухого чая залить 30 мл воды, кипятить 3 мин. К 5 каплям полученной жидкости прилить 5 капель 1% р-ра хлорида железа (III).		
Вит. С, аскорбиновая кислота, антискорбутый	К 20 каплям 1% аскорбиновой кислоты добавлять по 1 капле 0,001н р-ра натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола		
Вит К, <i>викасол</i> антигеморрагический	К 10 каплям 0,05% р-ра викасола + 5-7 капли 0,025% р-ра цистеина + 1 каплю 10% р-ра едкого натра. Нагреть!		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные сведения об использовании витаминов в качестве антиоксидантов.

Подпись преподавателя _____

Занятие 7. Тема: Коферментные формы витаминов.

Цель: изучить роль витаминов в организме. Научиться выполнять количественное определение аскорбиновой кислоты в растительном сырье.

Вопросы для обсуждения.

1. Биологическая роль водорастворимых витаминов.
2. Классификация витаминов по лечебно-профилактическому действию.
3. Взаимодействие витаминов в организме.
4. Витамины и их коферментные формы как лекарственные средства.
5. Антивитамины. Представители.
6. Механизм действия антивитаминов и их использование в качестве лекарственных препаратов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение витамина С в растительных объектах.

Таблица 1

Принцип метода: _____

Материал	НСl 2%	H ₂ O	Фильтрат	2,6 дихлор- фенол- индофенол	Расчет
	5мл х3 раза	до 100 мл	10 мл		$X = \frac{0,088 \cdot V \cdot 100 \cdot 1000}{10 \cdot B}$
Капуста или картофель 1г	.	Фильтрат 10 мл помещают в стаканы для титрования	Количество мл, пошедшее на титрование до появления ро- зового окра- шивания, сохраняющего- ся в течение 30 сек		где, X - содержание аскорбиновой кислоты. мг/кг 0,088 - масса аскорбиновой кислоты, соответствующая 0,001 М раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола; 100 – разведение взятой пробы; 1000 – коэффициент пересчета на 1 кг сырья; 10 – объем жидкости, взятой на титрование; V – объем 2,6-дихлорфенолиндофенола, пошедшего на титрование, мл; B – навеска исследуемого материала.

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления о роли витаминов в регуляции метаболических процессов в организме.

Подпись преподавателя _____

Занятие 8. Тема: Ферменты, строение, свойства.

Цель: изучить общее понятие о ферментах, их роли и значении в жизнедеятельности организма; строение ферментов; свойства ферментов. Научиться поставить реакции, подтверждающие специфичность действия ферментов, зависимость скорости ферментативной реакции амилазы от количества фермента, температуры, наличия активаторов и ингибиторов ферментов. Сравнить действие амилазы и соляной кислоты на гидролиз крахмала. Проанализировать результаты определений, сформулировать выводы.

Вопросы для обсуждения.

1. Роль ферментов в жизнедеятельности организма.
2. Особенности строения ферментов-протеидов и ферментов-протеинов.
3. Понятия и организация активного, субстратного и аллостерического центров.
4. Неспецифические и специфические свойства ферментов.
5. Коферменты, их виды, апофермент, холофермент.
6. Механизм действия ферментов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Зависимость скорости ферментативной реакции от количества фермента. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры. Специфичность действия амилазы. Активаторы и ингибиторы амилазы.

Принцип метода: _____

Таблица 1

Материал исследования	Дополнительные условия проведения реакций	Наблюдаемое окрашивание	Выявляемые продукты
1. Амилаза разведенная 1:5– 1мл	4мл 1% раствора крахмала, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 2 капли йода в иодиде калия		
2. Амилаза разведенная 1:10– 1мл	Условия реакции те же		
3. Амилаза разведенная 1:50 – 1мл	Условия реакции те же		
1. Кипяченая исходная амилаза– 5 капель	10 капель 1% раствора крахмала, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 2 капли йода в иодиде калия		
2. Исходная амилаза–	Условия реакции те же		

5 капель			
3.Исходная амилаза – 5 капель	10 капель 1% раствора крахмала, экспозиция 10 минут в ледяной бане, + 2 капли йода в иодиде калия		
1.Исходная амилаза – 5 капель	10 капель 1% раствора крахмала, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 5 ка- пель реактива Фелинга. Нагреть до кипения!		
2.Исходная амилаза – 5 капель	10 капель 2% раствора сахарозы, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 5 капель реактива Фелинга. Нагреть до кипения!		
1.Исходная амилаза– 5 капель	20 капель 0,5% раствора крахмала + 10 капель дистиллированной воды, экспози- ция 10 минут при комнатной температуре, + 2 капли йода в иодиде калия		
2.Исходная амилаза – 5 капель	20 капель 0,5% раствора крахмала + 10 капель 1% раствора хлорида натрия, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 2 капли йода в иодиде калия		
3.Исходная амилаза – 5 капель	20 капель 0,5% раствора крахмала + 10 капель сульфата меди, экспозиция 10 минут при комнатной температуре, + 2 капли йода в иодиде калия		

Вывод: _____

Работа 2. Сравнительное действие альфа-амилазы слюны и соляной кислоты на реакцию гидролиза крахмала.

Таблица 2

Принцип метода: _____

№ пробирки и ее содержимое	Условия гидролиза	Проба с йодом		Выявляемые продукты
		метод	окрашивание	
№1 1мл воды + 5мл 1% раствора крахмала	Водяная баня 38°C 15 минут (или термосотат)	5 капель гидролизата + 1-2 капли раствора йода в иоди- де калия		
№2 1мл 10% раствора HCl	Водяная баня 100°C 15 минут	5 капель гидролизата + 1-2 капли		

+ 5мл 1% раствора крахмала		раствора йода в иодиде калия		
№3 1мл исходной амилазы + 5мл 1% раствора крахмала	Водяная баня 38°С 15 минут (или термостат)	5 капель гидролизата + 1-2 капли раствора йода в иодиде калия		

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Достижения в области изучения механизма действия ферментов.

Подпись преподавателя _____

Занятие 9. Тема: Номенклатура и классификация ферментов.

Цель: изучить номенклатуру и классификацию ферментов; характеристику отдельных классов ферментов. Научиться количественно определять активность альфа-амилазы в сыворотке крови амилокластическим методом. Проанализировать результаты определений, сформулировать выводы.

Вопросы для обсуждения.

1. Номенклатура ферментов. Принципы, положенные в основу номенклатуры ферментов.
2. Классификация ферментов, на чем она основана, тривиальные и систематические названия ферментов.
3. Характеристика классов ферментов и основных подклассов оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лиаз, изомераз.
4. Применение ферментов в медицине. Ферментодиагностика и ферментотерапия.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение активности α - амилазы в сыворотке крови амилокластическим методом.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные исследования по изучению кинетики ферментативных реакций.

Подпись преподавателя _____

Таблица 1

Определение активности альфа-амилазы в сыворотке крови унифицированным методом

Принцип метода:

Расчет $(E_k - E_{оп}) \cdot 0,01 \cdot 2 \cdot 1000$	
$X = E_k \cdot 0,1 = \text{г/ч} \cdot \text{л}$	
ФЭК крас- ный свето- фильтр, 1 см, против воды	$E_k =$
Дист. вода	до 50 мл
Р-р йода в К I	0,5 мл
Дист. вода	40,0 мл
Содер- жимое пробирки	0,2 мл
№ кол- бы	№1 кон- троль
НСI 1М	-
Термо- стат 37°C	30 мин
Сыво- ротка крови	0,1 мл
НСI 1М	0,1 мл
Сыво- ротка крови	-
Тер- мос- тат 37°C	10 мин
NaCl 30 г/л	0,1 мл
Фос- фатный буфер 0,1М рН=7,2	0,3 мл
Краш -мал	0,5 мл
№ про- бир- ки	№1 кон- троль
	№2 опы- т
	$E_{оп} =$
	до 50 мл

Вывод:

В норме активность альфа амилазы сыворотке крови 15 -30г/ч*л

Занятие 10. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Ферменты и витамины как их кофакторы.

Цель: закрепить теоретические знания по теме. Провести анализ свойств ферментов в контрольных пробах. Дать правильные ответы на тестовые задания по разделу.

Вопросы для обсуждения.

1. Какие вещества называются ферментами? Какова их роль в жизнедеятельности организма?
2. Как используются ферменты в медицине, фармации и др. областях хозяйства?
3. Какова химическая природа ферментов? На какие группы по химическому строению они подразделяются? Приведите номенклатуру.
4. Охарактеризуйте строение холофермента и взаимодействие его частей.
5. Охарактеризуйте строение ферментов – протеинов. Каталитический, субстратный и аллостерический центры – их строение и функции.
6. Выделение и идентификация ферментов из сырья, определение их активности, единица каталитической активности ферментов.
7. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В₁, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
8. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В₂, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
9. Охарактеризуйте химическую природу и биологические функции витамина С. Напишите его формулу.
10. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В₃, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
11. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В₅, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
12. Охарактеризуйте химическую природу и биологические функции витамина В₆. Напишите формулу его коферментов
13. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина Н, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
14. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В_с, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
15. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу убихинона и охарактеризуйте его биохимические функции.

16. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Приведите примеры коферментов – протеидов, производных порфирина, эфиров моносахаридов, ионов металлов.
17. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу S-аденозинметионина, укажите его биохимические функции.
18. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу ФАФС, АТФ и укажите их биохимические функции.
19. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу УДФГК, УДФГ и укажите их биохимические функции.
20. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу ЦДФХ и укажите его биохимические функции.
21. Охарактеризуйте механизм действия водорастворимых витаминов. Что такое авитаминозы? Приведите их характеристику.
22. Приведите лечебно – профилактическую классификацию витаминов.
23. Гипо – и гипервитаминозы, причина их возникновения.
24. Перечислите и назовите основные стороны биологического действия витаминоподобных веществ.
25. Охарактеризуйте механизм участия в обмене веществ витаминов Е и К.
26. Охарактеризуйте механизм участия в обмене веществ витаминов А и D.
27. Охарактеризуйте строение ферментов мультимеров на примере лактатдегидрогеназы.
28. Охарактеризуйте мультиэнзимную систему, ее регуляторный фермент. Какие бывают модуляторы для регуляторного фермента?
29. Опишите компартментарность ферментов в клетке.
30. Опишите механизм действия ферментов. В чем сущность теории Михаэлиса – Ментен?
31. Как образуется фермент – субстратный комплекс? Какие процессы в нем происходят?
32. Охарактеризуйте свойства ферментов и факторы, влияющие на скорость ферментативной реакции.
33. Перечислите специфические и неспецифические свойства ферментов.
34. Опишите активирование и ингибирование активности ферментов и их виды. Приведите примеры.
35. Охарактеризуйте виды специфичности ферментов.
36. Назовите принципы, лежащие в основе классификации и номенклатуры ферментов. Систематические и тривиальные названия ферментов. Шифр.
37. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 1-ый класс.
38. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 2-ый класс. Примеры.
39. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 3-ый класс. Примеры.
40. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 4-ый класс. Примеры.
41. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 5-ый класс. Примеры.

42. Назовите классификацию ферментов. Охарактеризуйте 6-ой класс. Примеры.

43. Лечебное применение ферментов.

44. Диагностическое применение ферментов.

Контроль практических навыков и умений.

Провести анализ свойств ферментов в пробах.

Работа 1. Доказать одно из свойств ферментов

а) зависимость активности ферментов от температуры среды;

б) зависимость активности ферментов от концентрации фермента и субстрата;

в) зависимость активности ферментов от наличия активаторов и ингибиторов ферментов;

г) специфичность действия ферментов.

Таблица 1

Свойства ферментов	Условия проведения реакций	Наблюдаемое окрашивание	Продукты	
Зависимость активности ферментов от температуры				
Зависимость активности ферментов от концентрации фермента и субстрата				
Зависимость активности ферментов от наличия активаторов и ингибиторов ферментов				
Специфичность действия ферментов				

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Достижения энзимологии в создании новых лекарственных средств.

Подпись преподавателя _____

Занятие 11. Тема: Введение в обмен веществ и энергии.

Цель: изучить роль и назначение обмена веществ и энергии, биохимию питания и пищеварения.

Научиться определять кислотные компоненты и активность пепсина желудочного сока и суметь дать диагностическую оценку изучаемых показателей желудочного сока.

Вопросы для обсуждения.

1. Определение обмена веществ и энергии.
2. Характеристика катаболизма и анаболизма.
3. Понятие макроэргических связей и макроэргических соединений.
4. Роль АТФ в обмене веществ.
5. Понятие общего и межклеточного обмена веществ.
6. Характеристика стадий катаболизма и анаболизма. Амфиболические пути метаболизма.
7. Энергетическая характеристика стадий катаболизма и анаболизма.
8. Характеристика особенностей пищеварения белков, углеводов, липидов в различных отделах пищеварительного тракта.
9. Характеристика состава желудочного сока.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение кислотных компонентов желудочного сока.

Определение кислотных компонентов желудочного сока Принцип метода определения кислотности желудочного сока:

Принцип метода определения молочной кислоты:

Материал	Количество мл NaOH (0,1 М р-р), пошедшего на титрование 5 мл желудочного сока			Единицы кислотности (ммоль/мл) на 100 мл желудочного сока				Проба Уфельмана на молочную кислоту: 20 кап. р-ра фенола + 1 кап. р-ра FeCl ₃ , + желудочный сок №3 до каплям до изменения окраски
	до I пункта (оранжевое окрашивание)	до II пункта (лимонно-желтое окрашивание)	до III пункта - (розовое окрашивание)	Свободная HCl (Норма 20-40 ЕД)	Общая HCl	Связанная HCl (норма 5-20ЕД)	Общая кислотность (норма 40-60ЕД)	
Желудочный .сок №1-5 мл + 1-2кап. п-диметиламиноазо-бензола +2кап. фенолфталеина	X ₁ =?мл	Y ₁ =?мл	Z ₁ =?мл	$A_1 = \frac{X_1 * 100}{5}$	$B_1 = \frac{Y_1 + Z_1 * 100}{5}$	C ₁ =B ₁ -A ₁	$D_1 = \frac{Z_1 * 100}{5}$	Фиолетовое окрашивание
Желудочный .сок №2-5 мл + 1-2кап. п-диметиламиноазо-бензола +2кап. фенолфталеина	X ₂ =?мл	Y ₂ =?мл	Z ₂ =?мл	$A_2 = \frac{X_2 * 100}{5}$	$B_2 = \frac{Y_2 + Z_2 * 100}{5}$	C ₂ =B ₂ -A ₂	$D_2 = \frac{Z_2 * 100}{5}$	Желто – зеленое окрашивание

Вывод:

Работа 2. Количественное определение пепсина в желудочном соке
(по Пятницкому).

Таблица 2

Принцип метода:

Исследуемый Материал	Реактивы	Время створаживания в секундах	Расчет количества единиц пепсина в 1 мл желудочного сока
Желудочный сок 0,1 мл при 25°C	Молочно- ацетатная смесь, 5 мл при 25°C	15 сек.	$X = 60 \text{ сек} * 15 = 4 \text{ ед.}$ в 0,1 мл желудочно- го сока, а в 1 мл сока $= 4 * 10 = 40 \text{ ед}$ или $40 * 0,01 \text{ мг}$ кристал- лического пепсина = 0,4 мг кристалличе- ского пепсина

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления об амфиболических путях метаболизма.

Подпись преподавателя _____

Занятие 12. Тема: Биологическое окисление.

Цель: изучить роль и процессы биологического окисления в организме, значение, функции и реакции ЛКЦ. Научиться количественно определять активность каталазы по Баху и Зубковой и обнаруживать активность дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышечной ткани.

Вопросы для обсуждения.

1. Определение биологического окисления; аэробное и анаэробное окисление.
2. Понятие редокс-потенциала и его значение в биологической окислительно-восстановительной системе.
3. Характеристика стадий биологического окисления; понятие первичного субстрата биохимического окисления; центральные пути метаболизма.
4. Характеристика пируватдегидрогеназной системы.
5. Характеристика цикла лимонной кислоты.
6. Энергетическая характеристика стадий биологического окисления.

Выполняемая работа.

Работа 1. Количественное определение каталазы крови по Баху и Зубковой.

Работа 2. Обнаружение дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышцах.

Дегидрогеназы лимоннокислого цикла, например, изолимонной и янтарной кислот, можно обнаружить в тканях, беря в качестве субстрата соответствующие кислоты, а в роли акцептора водорода – электронов и протонов – метиленовую синь. Критерием присутствия дегидрогеназ является обесцвечивание метиленовой сини т.к. этот органический краситель при восстановлении переходит в лейкосоединение. При исследовании каталитического действия изоцитратдегидрогеназы в качестве субстрата можно использовать лимонную кислоту, которая изомеризуется в изолимонную под влиянием фермента аконитазы, содержащегося в кашице наряду с другими ферментами цикла трикарбоновых кислот.

Ход работы

1. В три пронумерованные пробирки вносят шпателем примерно равные количества мышечной кашицы.
2. В первую пробирку добавляют 10 кап. раствора цитрата натрия, во вторую – 10 кап. сукцината натрия, в третью – контрольную – 10 кап. 20% р-ра сульфосалициловой кислоты. Если между кусочками мышц остались пузырьки воздуха, их удаляют стеклянной палочкой.

В каждую из трех пробирок добавляют по 10 кап. вазелинового масла. Вазелиновое масло покрывает поверхность раствора, благодаря чему создаются анаэробные условия и тем самым предотвращается окисление восстановленных соединений кислородом воздуха.

3. Пробирки помещают в термостат или водяную баню при температуре 37 °С. Отмечают постепенное обесцвечивание метиленовой сини в пробирках с раствором цитрата и сукцината натрия. В контрольной пробирке метиленовая синь не обесцвечивается, т.к. фермент был инактивирован добавлением сульфосалициловой кислоты.

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Обобщенные научные сведения по изучению ферментов и коферментов в регуляции окислительно-восстановительных процессов в организме.

Подпись преподавателя _____

Количественное определение каталазы крови

Принцип метода:

Пробы (в стан- кан- чиках)	Разве- денная кровь 1:1000	Дист. вода	H ₂ O ₂ 1%р-р	H ₂ SO ₄ , 10 % р-р	Экспози- ция	H ₂ O ₂ 1%р-р	H ₂ SO ₄ 10 %р-р	Количество 0,1 М р-ра КмпО ₄ мл пошедшего на титров.(до розового ок- рашивания)	Расчет
Опыт	1мл	7мл	2мл	-	30 мин При комнт- ной темпера- туре	-	5 мл	V= A=	Кагалазное число (КЧ)=(А-В) *1.7
Кон- троль	1мл	7мл	-	5 мл		2мл	-		

Вывод:

в норме каталазное число = 10-15.

Обнаружение дегидрогеназ цикла Кребса

Принцип метода:

№ про- бы	Мышеч- ная ткань	3% р-р цитрата натрия	3%р-р сукцината натрия	20 % р-р сульфосали- циловой ки- слоты	0,002%р-р метиленовой сини	Вазели- новое масло	Инкуба- ция при 37°С	Окрашивание раствора
№1	На конце шпателя	10 ка- пель	-	-	10 капель	10 ка- пель	30 мин	
№2	На конце шпателя	-	10 ка- пель	-	10 капель	10 ка- пель	30 мин	
№3	На конце шпателя	-	-	10 капель	10 капель	10 ка- пель	30 мин	

Вывод:

Занятие 13. Тема: Дыхательная цепь ферментов. Антиоксидантная система клетки.

Цель: изучить строение и функционирование митохондриальной дыхательной цепи ферментов. Механизм окислительного фосфорилирования, процесс свободно-радикального окисления. Научиться определять количественно активность пероксидазы в растительном сырье и обнаруживать действие полифенолоксидазы (качественная реакция).

Вопросы для обсуждения.

1. Понятие тканевого дыхания.
2. Особенности строения цепи дыхательных ферментов в митохондриях.
3. Механизм сопряжения фосфорилирования АДФ с окислительным процессом в дыхательной цепи.
4. Хемоосмотическая гипотеза сопряжения фосфорилирования и окисления.
5. Характеристика оксидазного и оксигеназного типов окисления.
6. Характеристика свободнорадикального окисления и его роль в развитии патологических состояний.
7. Роль антиоксидантов и их использование в качестве лекарственных препаратов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение активности пероксидазы в растительном материале.

Работа 2. Исследование действия полифенолоксидазы.

Полифенолоксидаза ускоряет реакцию окисления фенолов (например, адреналина) в присутствии кислорода. Активность полифенолоксидазы обнаруживают по изменению окраски раствора за счет образования продуктов окисления адреналина.

Ход работы

Для получения ферментного препарата полифенолоксидазы сырой картофельный клубень очищают от кожуры, верхний слой клубня в количестве 2,0 г. кусочками нарезают в ступку, растирают с 10 мл дистиллированной воды и фильтруют через два слоя марли или через складчатый фильтр из бумаги. Фильтрат содержит как полифенолоксидазу, так и пероксидазу и поэтому может быть использован в работе по определению активности пероксидазы и активности полифенолоксидазы.

В 2 пробирки отмеривают по 1 мл полученного фильтрата. Содержимое первой пробирки кипятят в течение 2-х минут и затем охлаждают в струе водопроводной воды. В обе пробирки добавляют по 0,5 мл 0,1% р-ра адреналина, содержимое пробирок перемешивают для лучшего соприкосновения с воздухом и помещают в термостат. Постепенно в одной из пробирок под действием полифенолоксидазы жидкость изменяет свою окраску за счет образования продуктов окисления адреналина – вначале адренохрома, а затем типа меланина.

В пробирке, где фермент инактивирован кипячением, цвет жидкости не меняется.

Таблица 1

Исследование действия пероксидазы

Принцип метода: _____

Исследуемый материал (приготовление водной вытяжки)	Фильтрат водной вытяжки	Ацетатный буфер 0,1 М р-р рН=5,4	Р-р бензидина 0,92 г/л	H ₂ O ₂ 0,03% р-р после помещения в ФЭК, λ=750нм	Время реакции (достижение значения E=0,25 на ФЭКе)	$x = \frac{\Delta E * 25 * 100}{0,1 * t * d} = \frac{15625}{t}$
100 мг растительного материала (капуста) + 10 мл дистиллированной воды, растирание в ступке, помещение в колбу и доведение водой до объема 25 мл, настаивание 10 мин, фильтрация	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	-	x=[с ⁻¹ /кг]
	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл		

Вывод: _____

Таблица 2

Исследование действия полифенолоксидазы

Принцип метода: _____

Исследуемый материал (приготовление водной вытяжки)	№ пробирки	Фильтрат водной вытяжки	0,1 % р-р адреналина	Термостат 37°С	Изменение окраски
1,0 клубня картофеля; 10 мл дистиллированной воды; растирание в ступке, фильтрация	№ 1	1 мл Кипятить 2-3 мин	1 мл	10-15 мин	
	№ 2	1 мл	1 мл	10-15 мин	

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Научные разработки в изучении механизмов окислительного фосфорилирования АДФ.

Подпись преподавателя _____

Занятие 14. Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Введение в обмен веществ и энергии. Биологическое окисление.

Цель: закрепить теоретические знания по разделу провести контроль усвоения навыков и умений.

Вопросы для выполнения контрольной работы.

1. Что такое обмен веществ и энергии, его назначение.
2. Что называется катаболизмом и анаболизмом.
3. Взаимосвязь гетеротрофных и аутоотрофных организмов.
4. Энергетика обмена веществ макроэргические связи и соединения, роль АТФ в обмене веществ.
5. Характеристика промежуточного обмена и его функции
6. Характеристика стадий катаболизма
7. Характеристика стадий анаболизма
8. Характеристика амфиболических путей метаболизма (центральных путей).
9. Стадии освобождения энергии при катаболизме и их характеристика
10. Особенности пищеварения в различных отделах пищеварительного тракта.
11. Понятие о сбалансированном рациональном питании.
12. Что такое биологическое окисление, аэробное и анаэробное окисление.
13. Что такое редокс-потенциал, и каково его значение в биологических окислительно-восстановительных системах.
14. Характеристика стадий биологического окисления и центральных путей метаболизма.
15. Что такое первичные субстраты биологического окисления и как они образуются.
16. Реакции превращения пировиноградной кислоты в процессе окислительно-годекарбоксилирования.
17. Характеристика лимоннокислого цикла.
18. Реакции дегидрирования лимоннокислого цикла и их энергетический выход.
19. Характеристика пиридин - и флавинзависимых дегидрогеназ.
20. Схема окисления субстратов с участием пиридинпротеинов, флавопротеинов, каталазы, пероксидазы, цитохромов.
21. Характеристика главного и побочного путей биологического окисления субстратов.
22. Состав и функционирование дыхательной цепи митохондрий.
23. Характеристика окислительного, субстратного и фотосинтетического фосфорилирования и их роль в метаболизме.
24. Механизм окислительного фосфорилирования с точки зрения хемоосмотической гипотезы Митчелла.
25. Строение митохондрий и их роль в организме.
26. Реакции глицерофосфатного и малатного челночных механизмов переноса атомов водорода через митохондриальную мембрану и их роль в процессе биологического окисления.

27. Характеристика свободно-радикального окисления.
 28. Антиоксидантные системы организма.
 29. Использование антиоксидантов в медицине, антиоксидантные препараты.

Выполняемая работа.

Проведение количественного анализа активности пероксидазы или каталазы в контрольной пробе.

Работа 1. Исследование действия пероксидазы.

Работа 2. Количественное определения каталазы крови.

Таблица 1

Исследование действия пероксидазы

Принцип метода: _____

Исследуемый материал (приготовление водной вытяжки)	Фильтрат водной вытяжки	Ацетатный буфер 0,1 М р-р рН=5,4	Р-р бензидина 0,92 г/л	H ₂ O ₂ 0,03% р-р после помещения в ФЭК, λ=750нм	Время реакции (достижение значения E=0,25 на ФЭКе)	$x = \frac{\Delta E * 25 * 100}{0,1 * t * d} = \frac{15625}{t} = ?$
100 мг растительного материала (капуста) + 10 мл дистиллированной воды, растирание в ступке, помещение в колбу и доведение водой до объема 25 мл, настаивание 10 мин, фильтрация	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	-	x=[с ⁻¹ /кг]
	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл		

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные аспекты изучения свободно-радикальных процессов в норме и при патологии.

Подпись преподавателя _____

Таблица 2

Количественное определение каталазы крови

Принцип метода:

Пробы (в ста- кан- чиках)	Разведен- ная кровь 1:1000	Дист. вода	H ₂ O ₂ 1%/р-р	H ₂ SO ₄ , 10 % р-р	Экспозиция	H ₂ O ₂ 1%/р-р	H ₂ SO ₄ 10 %р-р	Количество 0,1 М р-ра КмпО ₄ в мл пошедшего на титрование до розового окра- шивания)	Расчет
Опыт	1мл	7мл	2мл	-	30 мин при комнт- ной температуре	-	5 мл	V=	Каталазное число $(КЧ) = (A-B) * 1,7$ = мг
Кон- троль	1мл	7мл	-	5 мл		2мл	-	A=	

Занятие 15. Тема: Катаболизм углеводов.

Цель: изучить переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте, пути превращения углеводов в тканях, гликогенолиз и гликолиз (реакции, ферменты), особенности спиртового брожения.

Научиться выполнять качественные реакции на углеводы и метаболиты углеводного обмена (молочная кислота, CO_2 , этанол).

Вопросы для обсуждения.

1. Переваривание углеводов.
2. Пути превращения углеводов в тканях организма.
3. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов.
4. Гликогенолиз и гликолиз (уравнения реакций, ферменты).
5. Значение анаэробного пути распада углеводов и его переключение на аэробный путь.
6. Особенности спиртового брожения.

Выполняемая работа.

Работа 1. Определение конечных продуктов гликогенолиза.

Таблица 1

Принцип метода: _____

№ пробирки	Фосфатный буфер pH=8	1% раствор крахмала	10% раствор ТХУ-к-ты	Измельченная мышца	Вазелиновое масло	Термостат 37°C	10% раствор ТХУ-к-ты	Реакция Уффельмана на молочную кислоту
№ 1 контроль	3,0 мл	1,0 мл	20 кап	0,5-1,0 г	3-5 капли	1 час	-	
№ 2 опыт	3,0 мл	1,0 мл	-	0,5-1,0 г	3-5 капли	1 час	20 кап	

Вывод: _____

Работа 2. Спиртовое брожение.

Таблица 2

Принцип метода: _____

Аппаратура	Материал для брожения		Обнаружение CO ₂		Обнаружение этанола	
	дрожжи	5% раствор глюкозы	10% раствор NaOH	наблюдаемые изменения	10 % раствор иода в иодиде калия	наблюдаемый результат реакции
Бродильный сосуд	1,0 г	20 мл растирать в ступке	налить до краев в сосуд		3-5 капель в 1 мл фильтрата содержимого сосудика, нагреть	

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные данные об этапах пентозофосфатного пути распада углеводов в организме.

Подпись преподавателя _____

Занятие 16. Тема: Биосинтез углеводов.

Цель: изучить пентозофосфатный цикл превращения глюкозы, его основные закономерности и взаимосвязь с гликолизом, биохимическую функцию. Пути синтеза углеводов. Глюконеогенез. Синтез гликогена. Изучить нарушения и регуляцию обмена углеводов; научиться выполнять качественные реакции и количественное определение глюкозы.

Вопросы для обсуждения.

1. Пентозофосфатный цикл.
2. Взаимоотношение пентозофосфатного цикла с гликолизом.
3. Биологическая функция пентозофосфатного цикла и пути использования его продуктов в других биохимических процессах
4. Пути синтеза углеводов.
5. Глюконеогенез.
6. Обходные реакции глюконеогенеза.
7. Ферменты глюконеогенеза.
8. Биологическая роль глюконеогенеза.
9. Синтез гликогена и его механизм.
10. Регуляция обмена углеводов.
11. Нарушение обмена углеводов.

Выполняемая работа.

Работа 1. Качественные реакции на глюкозу (методическая разработка).

Реакция Троммера: в пробирку наливают 0,5 мл исследуемой жидкости и добавляют равный объем едкого натра. Затем по каплям приливают раствор сульфата меди до появления не исчезающей мути (гидроокиси меди). Нагревают пробирку на песочной или водяной бане. Появление желтого окрашивания (гидрат закиси меди), переходящего в красное (закись меди), указывает на положительную реакцию.

Реакция Фелинга: к 1 мл исследуемой жидкости прибавляют равный объем жидкости Фелинга и нагревают. При положительной реакции наблюдается образование красной закиси меди.

Реакция Ниландера: в пробирку наливают примерно 20 капель исследуемой жидкости, добавляют 20 капель реактива Ниландера и осторожно кипятят 1-2 минуты. Появляется коричневое, возможно, черное окрашивание от образования осадка металлического висмута.

Таблица 1

Качественные реакции на глюкозу

Название реакции	Принцип метода	Исследуемая жидкость	10% р-р NaOH	1%р-р CuSO ₄	Жидкость Фелинга	Реактив Ниландера	Окрашивание
Реакция Троммера		5 капель	5 капель	5 капель	-	-	
Реакция Фелинга		10 капель	-	-	5-10кап. Нагреть!	-	
Реакция Ниландера		10 капель	-	-	-	5-10 кап. Кипятить!	

Вывод: _____

Работа 2. Количественное определение глюкозы в крови.

Таблица 2

Принцип метода: _____

№ пробы	Исходный материал для получения фильтрата	Фильтрат	Бензокаиновый реактив	Водяная баня 100°С	ФЭК, λ=440нм, кювета 0,5см против воды	Расчет
№1 опыт	1,8 мл ТХУ (30 г/л раствор) + 0,2 мл сыворотки №1, перемешать, через 5-10 мин фильтровать	0,5 мл	2,0 мл	20 мин	E _{оп-1} =	$x = \frac{E_{оп} * 5,55}{E_{ст}}$ ммоль/л
№2 стандартный раствор	0,9 мл ТХУ (30 г/л раствор) + 0,1 мл стандартного раствора глюкозы, перемешать	0,5 мл	2,0 мл	20 мин	E _{ст} =	

Использовать только сухие и чистые пробирки! Норма: 3,3- 5,5 ммоль/л

Вывод: _____

Работа 3. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Исследования по изучению механизмов регуляции гликолиза и глюконеогенеза.

Подпись преподавателя _____

Занятие 17. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме:

Обмен углеводов.

Цель: 1. Закрепить теоретические знания по теме.

2. Провести контроль усвоения навыков и умений.

Вопросы для обсуждения.

1. Значение углеводов для жизнедеятельности организма.
2. Где происходит пищеварение углеводов и как оно происходит, роль амилаз, их виды; ферменты, расщепляющие дисахариды; всасывание моносахаридов в кишечнике?
3. Катаболизм углеводов в тканях: анаэробное и аэробное превращение углеводов, дихотомический и апотомический пути.
4. Гликогенолиз, уравнения реакций и ферменты гликогенолиза, энергетический итог гликогенолиза.
5. Гликолиз, уравнения реакций и ферменты гликолиза, две стадии гликолиза, энергетический итог гликолиза.
6. Спиртовое брожение углеводов.
7. Пентозофосфатный цикл распада глюкозо-6-фасфата, основные его этапы и значение, суммарное уравнение реакции.
8. Биосинтез углеводов. Глюконеогенез, общий центральный путь биосинтеза глюкозы из пировиноградной кислоты.
9. Синтез гликогена из глюкозы в печени.
10. Нейрогуморальная регуляция углеводного обмена.
11. Роль печени в углеводном обмене.
12. Расчёт энергетического выхода анаэробного и аэробного пути распада 1 молекулы глюкозы.

Выполняемая работа.

В полученных контрольных пробах провести идентификацию их содержимого.

Работа 1. Идентификация содержимого полученной пробы.

Таблица 1

Название реакции	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
Реакция Троммера	№А		
	№Б		
	№В		
Реакция Ниландера	№А		
	№Б		
	№В		
Реакция Уффельмана	№А		
	№Б		
	№В		

Вывод: _____

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Современные представления о биохимических аспектах нарушения углеводного обмена.

Подпись преподавателя _____

Занятие 18. Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Структура и биологические функции белков и нуклеиновых кислот. Ферменты и витамины как их кофакторы. Введение в обмен веществ и энергии. Биологическое окисление. Обмен углеводов.

Цель: Закрепление теоретические знания по темам:

1. Введение в биохимию. Структура и биологические функции белков. Аминокислоты, простые и сложные белки. Нуклеиновые кислоты. Биомембраны. Иммуноглобулины.

2. Ферменты и витамины как их кофакторы.

3. Введение в обмен веществ и энергии. Характеристика промежуточного обмена веществ. Биологическое окисление.

4. Обмен углеводов.

Работа 1. Проведение итогового тестирования.

Работа 2. Заслушивание докладов с презентацией по теме: Исследования по изучению механизмов трансмембранного транспорта моносахаридов в клетки.

Рекомендуемая литература			
Основная литература			
	Авторы, составители	Заглавие	Издательство, год
1.	Северин Е.С.	Биохимия: учебник [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.
2.	Василенко Ю.К.	Биологическая химия: учеб. пособие	М.: МЕДпресс, 2011, 432 с.
3.	Под ред. Е.С. Северина	Биологическая химия с упражнениями и задачами: учеб.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 624с.
4.	Василенко Ю.К.	Биологическая химия: учеб. пособие-CD- диск [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	М.: МЕДпресс, 2014
5.	Зезеров Е.Г.	Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций	М.:МИА, 2014, 456 с.
Дополнительная литература			
1.	Под ред. Е. С. Северина	Биохимия учебник / под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, 768 с.
2.	Северин Е.С.	Биохимия: учебник/ под ред. Е. С. Северина. - 3-е изд., испр. и доп.	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007, 704 с.
3.	Под ред. Северина Е.С., Николаевой А.Я.	Биохимия: краткий курс с упражнениями и задачами: учеб. пособие	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005, 784 с.
4.	Василенко Ю.К.	Краткий курс биологической химии для студентов заочного отделения фармвузов :учеб. пособие	Пятигорск: ПГФА, 2010, 176 с.
5.	Комов В.П.	Биохимия: учеб.	М.: Дрофа, 2004, 640 с.
6.	Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.	Биологическая химия: учеб. - 3-е изд., испр. и доп.	М.: Медицина, 2004, 704 с.
7.	Уилсон К., Уолкер Дж.	Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии	Бином, 2015, 848 с.
8.	Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович О.Л.	Патологическая биохимия	Бином, 2015, 448 с.
9.	Коваленко Л.В.	Биохимические основы химии биологически активных веществ	Бином, 2013, 229 с.
10.	Рослый И.М.	Биохимические показатели в медицине и биологии	М.: МИА, 2015, 612с.

11.	Маршалл В.Дж.	Клиническая биохимия	Бином. Лаборатория знаний, 2015, 408 с.
Методические разработки			
1.	Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П.	Тестовые задания с ответами и комментариями по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019
2.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П.	Методические рекомендации студентов к лабораторным занятиям по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс V семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
3.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П., Сидорская С.Ю., Темирбулатова А.М., Сигарева С.С., Куличенко Е.О.	Сборник заданий по биологической химии для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс V семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
4.	Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П., Сидорская С.Ю., Темирбулатова А.М., Сигарева С.С., Куличенко Е.О.	Методические рекомендации для самоконтроля знаний студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс V семестр [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019.
5.	Василенко Ю.К., Доркина Е.Г., Скульте И.В., Темирбулатова А.М.	Основные понятия и термины биохимии в фармации : учебное пособие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru	Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2020.
Электронные образовательные ресурсы			
1.	Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с. ил. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		
2.	Биохимия. Практикум.: учебное пособие. Чернов Н.Н., Смирнова И.П., Березов Т.Т./ Под ред. Н.Н. Чернова. - Феникс, 2017.: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		
3.	Биологическая химия с упражнениями и задачами. учеб. / Под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. -624 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru		

Журналы	
1.	Биохимия
2.	Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии
3.	Бюллетень экспериментальной биологии и медицины
4.	Экспериментальная и клиническая фармакология
Программное обеспечение	
Перечень лицензионного программного обеспечения. Реквизиты подтверждающего документа	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Microsoft Office 365. Договор с ООО СТК «ВЕРШИНА» №27122016-1 от 27 декабря 2016 г. 2. Kaspersky Endpoint Security Russian Edition. 100149 Educational Renewal License 1FB6161121102233870682. 100 лицензий. 3. Office Standard 2016. 200 лицензий OPEN 96197565ZZE1712. 4. Microsoft Open License :66237142 OPEN 96197565ZZE1712. 2017 5. Microsoft Open License : 66432164 OPEN 96439360ZZE1802. 2018. 6. Microsoft Open License : 68169617 OPEN 98108543ZZE1903. 2019. 7. Операционные системы OEM, OS Windows XP; OS Windows 7; OS Windows 8; OS Windows 10. На каждом системном блоке и/или моноблоке и/или ноутбуке. Номер лицензии скопирован в ПЗУ аппаратного средства и/или содержится в наклеенном на устройство стикере с голографической защитой. 8. Система автоматизации управления учебным процессом ООО «Лаборатория ММИС» 9. Доступ к личному кабинету в системе «4Portfolio». Договор № В-21.03/2017 203 от 29 марта 2017 10. Доступ к личному кабинету в системе «ЭИОС» 11. Система электронного тестирования VeralTest Professional 2.7. Акт предоставления прав № ИТ178496 от 14.10.2015 (бессрочно) 	

Учебное издание

Скульте Ирина Валерьевна
Лужнова Светлана Алексеевна
Василенко Юрий Киприанович
Жилина Оксана Михайловна
Парфентьева Елена Пантелеевна

**Рабочая тетрадь
по биологической химии 33.05.01 Фармация
(уровень специалитета) III курс V семестр**

Подписано в печать «__» _____ 2021.

Формат ____ . Бумага кн. - журнальная.

Печать ротапунктная. Усл. печ. ____.

Уч.- изд.л. ____.

Тираж _____ заказ _____

ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ- филиал ФГБОУ ВО
ВолгГМУ

357532, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11.

