

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

*Кафедра микробиологии и иммунологии  
с курсом биологической химии*

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ  
к лабораторным занятиям по биологической химии  
для студентов 3 курса V семестр  
33.05.01 Фармация (уровень специалитета)**

**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 Министерства здравоохранения Российской Федерации

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

С 46 УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ к лабораторным занятиям по биологической химии для студентов 3 курса V семестр 33.05.01 Фармация (уровень специалитета)

/ Скульте И.В. [и др.]. – Пятигорск: ПМФИ, 2021. –100 с.

Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой дисциплины по биологической химии для студентов 3-го курса направления 33.05.01 Фармация (уровень специалитета) очной формы обучения. В учебно-методическое пособие включены вопросы для обсуждения по темам занятий, примеры тестовых заданий, список используемой литературы, алгоритмы выполняемых на занятиях самостоятельных работ, подробное их описание, формы протоколов для оформления результатов, а также задания для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов.

Пособие призвано помочь структурировать выполняемую работу во время занятий, систематизировать знания по темам.

**УДК 577.1 (076.5)**  
**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

## **Занятие 1. Тема: Химическое строение белков.**

**Цель:** научиться проводить цветные реакции на функциональные группы белков и аминокислот.

### **Задачи:**

- выполнить биуретовую реакцию на пептидную группу;
- нингидриновую реакцию на альфа-аминогруппу;
- ксантопротеиновую реакцию на ароматическое кольцо циклических аминокислот;
- реакцию Милона на тирозин;
- реакцию Фоля на аминокислоты содержащие слабосвязанную серу;
- нитропруссидную реакцию на серусодержащие аминокислоты.

### **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. Каковы физико-химические свойства белков?
9. Какие аминокислоты называются протеиногенными. А какие свободными?
10. Чем отличаются по свойствам D- аминокислоты от L-аминокислот?
11. Как образуются пептидные связи в белках?
12. Охарактеризуйте пептидную связь с электронной точки зрения.
13. Чем обусловлены цветные реакции на белки и аминокислоты?

### **Самостоятельная работа**

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

- а) биуретовая реакция на наличие пептидной связи.
- б) нингидриновая реакция на  $\alpha$ - аминокислоты.

- в) ксантопротеиновая реакция на ароматическое кольцо в аминокислоте.
- г) реакция Милона на тирозин.
- д) реакция Фоля на аминокислоты содержащие слабосвязанную серу.
- е) нитропруссидная реакция на серусодержащие аминокислоты.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершению работы демонстрирует преподавателю и оформляет протокол в рабочей тетради.

### *Методы выполнения*

### Цветные реакции на функциональные группы белков и аминокислот

Таблица 1

Исследуемый материал	Реагенты / Реактивы / операции	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
1	2	3	4
<i>1. Биуретовая реакция на наличие пептидной связи</i>			
а) яичный белок, раствор, 5 капель	Биуретовый реактив, 2 капли	Фиолетовое	Образование комплексного соединения
б) глицилглицин, 1% раствор, 5 капель		Нет	
<i>2. Нингидриновая реакция на α - аминогруппу</i>			
а) яичный белок, раствор, 5 капель	1) 0,5% раствор нингидрина 2) Нагреть до кипения	Синее	Образование окрашенного комплекса
б) β-аланин, 1% раствор, 5 капель		Нет	
в) α-аланин, 1% раствор, 5 капель		Синее	
<i>3. Ксантопротеиновая реакция на ароматическое кольцо в аминокислоте</i>			
а) яичный белок, раствор, 5 капель	1) конц. HNO <sub>3</sub> , 3 капли, 2) нагреть до кипения, 3) добавить NaOH до оранжевого окра-	Желтое	Образование динитропроизводного соединения, переход в хиноидные
б) тирозин, 1% раствор, 5 капель		Желтое	
в) глицин, 1% раствор, 5 капель		Нет	

1	2	3	4
г) фенилаланин, 0,1% раствор, 5 капель	шивания	Желтое	структуры
<i>4. Реакция Миллона на тирозин</i>			
а) яичный белок, раствор, 5 капель	1) реактив Миллона, 5 капель	Красное	Образование ртутной соли нитротирозина
б) тирозин, 0,1% раствор, 5 капель	2) Нагреть до 50°C	Красное	
в) глицин, 1% раствор, 5 капель		нет	
<i>5. Реакция Фоля на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу</i>			
а) яичный белок, раствор, 5 капель	1) 5% раствор ацетата свинца, 10 капель,	Бурое	Образование черного бурого осадка пюмбита серы (сульфида свинца)
б) цистеин, 1% раствор, 5 капель	2) 20% раствор NaOH по каплям до растворения осадка,	Бурое	
в) глицин, 1% раствор, 5 капель	3) нагреть до кипения	Нет	
<i>6. Нитропруссидная реакция на серосодержащие аминокислоты</i>			
а) неразбавленный яичный белок, 5 капель	1) 20% раствор NaOH, 10 капель	Красно-фиолетовое	Образование комплексного соединения
б) метионин, 0,1% раствор, 5 капель	2) прокипятить 3 минуты	Красно-фиолетовое	
в) глицин, 1% раствор, 5 капель	3) Охладить 4) 5% раствор нитропрусида натрия, 3 капли	Нет	

Вывод: с помощью цветных реакций можно обнаружить присутствие белка и различных аминокислот в среде и в лечебных средствах.

### **Итоговый контроль**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Почему биуретовая и нингидриновая реакция являются универсальными для всех белков?
2. Какими цветными реакциями можно обнаружить циклические аминокислоты в белке?

3. Укажите, с помощью, каких реакций можно обнаружить в белке серосодержащие аминокислоты?
4. Какие цветные реакции используются для определения подлинности, фармакопейных препаратов, кислоты глутаминовой и желатина медицинского?
5. Как может быть использован в практической деятельности провизора навык выполнения цветных реакций на аминокислоты и белки?
6. Какая реакция используется для обнаружения  $\alpha$  -  $\text{NH}_2$ - группы?
7. Как называется проба для обнаружения тирозина? Какое при этом образуется окрашивание?
8. Какой материал из исследуемых Вами на занятии дает положительную биуретовую реакцию и почему?
9. Как проводится ксантопротеиновая реакция? Для чего она используется? Какое образуется при этом окрашивание?
10. Какая из перечисленных аминокислот (глицин, тирозин, фенилаланин) дает положительную реакцию с концентрированной азотной кислотой при нагревании?
11. Какой реактив используется для проведения реакции Фоля? Для чего она используется? Какое при этом образуется окрашивание?

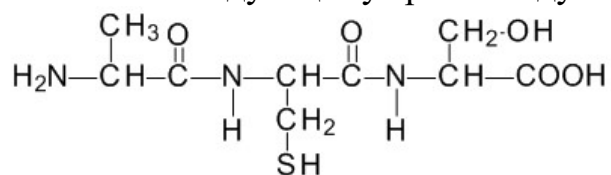
#### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите формулы протеиногенных аминокислот в соответствии с классификацией, основанной на полярности радикалов.
2. Напишите ди-, три- и тетрапептиды с использованием аминокислот разных классов и дайте им название.
3. Перечислите типы химических связей в белковой молекуле.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Использование современных физико-химических методов анализа в изучении состава и структуры белков.

#### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Дайте название следующему трипептиду:



- А – триптофилметионилаланин  
 Б – аланинцистеинсерин  
 В – аланилцистеинилсерин

Г – серилцистеинилаланин  
Д – аланилцистеинилсерил

2. Какие из перечисленных ниже аминокислот применяются как лекарственные вещества?

А – глутаминовая кислота  
Б – метионин  
В – цистеин  
Г – саркозин  
Д – гистидин

3. Какие характерные особенности строения имеют белковые молекулы?

А – имеют высокую молекулярную массу  
Б – мономерами являются альфа-аминокислоты  
В – имеют сложную пространственную структуру  
Г – состоят из нуклеотидов  
Д – в состав входят бета-аминокислоты.

4. Какие из перечисленных ниже аминокислот имеют отрицательно заряженный радикал?

А – триптофан  
Б – глутаминовая кислота  
В – треонин  
Г – аспарагиновая кислота  
Д – аланин

5. При помощи какой связи формируется вторичная структура белков (альфа-спираль)?

А – водородной между атомами кислорода и азота пептидных групп  
Б – пептидной  
В – ионной  
Г – Ван-дер-Вальсовых взаимодействий  
Д – водородной между боковыми радикалами аминокислот



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

**Цель:** научиться методам определения физико-химических свойств белков.

### **Задачи:**

- разделить смесь аминокислот с помощью метода бумажной (восходящей) хроматографии;
- очистить солевой раствор белка от низкомолекулярных примесей с помощью диализа;
- поставить химические реакции, используемые для денатурации белка;
- очистить белковый фарм. препарат от низкомолекулярных примесей.

### **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.

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Хроматографический метод разделения аминокислот.

**Работа 2.** Диализ белков.

**Работа 3.** Исследование денатурации белков.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершении работы демонстрирует преподавателю, производит расчет и оформляет протокол в рабочей тетради.

### **Методы выполнения**

#### **Хроматографический метод разделения аминокислот**

**Принцип метода:** основан на разной скорости передвижения аминокислот по бумаге в зависимости от коэффициента распределения между подвижной и неподвижной фазами растворителя.

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: \_\_\_\_\_

### Диализ белков

**Принцип метода:** основан на способности мембран задерживать макромолекулы белка и пропускать неорганические ионы

Таблица 1

Определяемые компоненты	До диализа		После диализа	
	Внешняя жидкость	Внутренняя жидкость	Внешняя жидкость (диализат)	Внутренняя жидкость
Белок (с биуретовым реактивом, 3-5 капель)	Нет окрашивания	Есть окрашивание	Нет окрашивания	Есть окрашивание
$SO_4^{2-}$ (с 2-3 каплями $BaCl_2$ )	Нет осадка	Есть осадок	Есть осадок	Нет осадка

Вывод: мембрана задерживает переход белковых молекул через мембрану во внешнюю жидкость.

### Исследование денатурации белков

Таблица 2

Исследуемый материал	Денатурирующий фактор	Наблюдаемые изменения	Механизм денатурации белка
1. Раствор яичного белка, 5 капель	Конц. $\text{HNO}_3$ , 10 капель	Белое кольцо на границе жидкостей	Нейтрализация заряда белка и нарушение пространственной структуры белка
2. Раствор яичного белка, 10 капель	Трихлоруксусная кислота, 10% раствор, 2 капли	Осадок	
3. Раствор яичного белка, 10 капель	Сульфат меди, 5% раствор, 2 капли	Осадок	Связывание функциональных групп в радикалах белка с разрушением пространственной структуры
4. Раствор яичного белка, 10 капель	100°C (кипячение)	Осадок	Разрушение пространственной структуры белка

Вывод: Денатурирующие факторы могут быть химической и физической природы.

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Перечислите вещества, которыми можно осадить белки из раствора.
2. Каков механизм осаждения белков минеральными кислотами?
3. Каков механизм осаждения белков солями тяжелых металлов?
4. Для чего применяется диализ?
5. Как можно разделить альбумины и глобулины методом диализа?
6. Для экстракции белков применяются солевые растворы и буферные смеси. Назовите методы, при помощи которых можно отделить белок от экстрагента.
7. На чем основана хроматография аминокислот?
8. Как рассчитывается коэффициент  $R_f$ , от чего он зависит?
9. Что такое коэффициент  $R_f$ ?

10. Какая система была использована Вами для бумажной хроматографии? Укажите подвижную и неподвижную фазы.
11. Почему глутаминовая кислота в данной системе отличается наличием скоростного движения?
12. Какая из аминокислот (аланин, лейцин, глутаминовая кислота) обладает наибольшим  $R_f$  и почему?
13. Как влияют физико-химические свойства на показатель  $R_f$ ?
14. Почему разные аминокислоты имеют определенные значения  $R_f$ ? От чего это зависит?
15. Каким образом Вы доказали что белки не проходят, а низкомолекулярные компоненты проходят через мембрану?
16. Расскажите постановку опыта по очистке белков от низкомолекулярных примесей путем диализа.

#### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Схематично изобразите первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуру белка.
2. Перечислите классы простых белков и назвать их представителей;
3. Изобразите схематично стадии денатурации белка.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Исследования по изучению роли шаперонов в фолдинге белков.

#### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие особенности характерны для пептидной связи?
  - А – свободное вращение атомов вокруг C-N-связи
  - Б – отсутствие вращения вокруг C-N-связи
  - В – является простой одинарной связью
  - Г – является двойной связью
  - Д – способна существовать в двух резонансных формах
  
2. Какие связи участвуют в формировании четвертичной структуры белка?
  - А – дисульфидные
  - Б – пептидные
  - В – нековалентные
  - Г – сложноэфирные
  - Д – ангидридные
  
3. Какие из перечисленных ниже аминокислот входят в состав природных белков?

- А – глутаминовая кислота
- Б – гамма-аминомасляная кислота
- В – альфа-аланин
- Г – бета-аланин
- Д – цитруллин

4. Как называются аминокислоты, которые не синтезируются в организме из других соединений?

- А – протеиногенные
- Б – гидрофильные
- В – заменимые
- Г – гидрофобные
- Д – незаменимые

5. Каков характер водных растворов белков?

- А – истинные растворы
- Б – эмульсии
- В – коллоидные растворы
- Г – гелеподобные растворы
- Д – истинные растворы, обладающие свойствами коллоидных систем

### **Занятие 3. Тема: Сложные белки и их кофакторы.**

**Цель:** научиться методам определения компонентов сложных белков: фосфопротеинов, гликопротеинов, хромопротеинов.

#### **Задачи:**

- выделить казеиноген из молока;
- обнаружить фосфат в казеиногене;
- обнаружить в яичном белке гексозы.

#### **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.

#### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Выделение казеиногена из молока.

**Работа 2.** Обнаружение фосфата в казеиногене.

**Работа 3.** Обнаружение гема гемпротеинов крови.

**Работа 4.** Обнаружение в яичном белке гексоз.

## *Методы выполнения*

### Химическая природа сложных белков

Таблица 1

Название определяемого компонента	Используемые материалы, реактивы и приемы	Наблюдаемые изменения	Принцип реакции
1	2	3	4
<i>Фосфопротеины</i>			
Выделение казеиногена молока	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 4 мл разведенного молока;</li> <li>2) 1 капля конц. уксусной кислоты;</li> <li>3) фильтрование, промывка дважды водой дист.;</li> <li>4) 3 капли биуретового реактива;</li> <li>5) добавить часть осадка (казеиногена)</li> </ol>	Фиолетовое окрашивание	Образование комплексного соединения
Гидролиз казеиногена	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) остаток казеиногена;</li> <li>2) 4мл 10% раствора NaOH;</li> <li>3) кипячение 10-15 мин</li> </ol>	Фиолетовое окрашивание	Образование комплексного соединения
Определение белка	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 5 капель гидролизата;</li> <li>2) 3 капли биуретового реактива</li> </ol>	Фиолетовое окрашивание	Образование комплексного соединения
Определение фосфата	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) остаток гидролизата;</li> <li>2) 1 капля фенолфталеина;</li> <li>3) по 1 капле 10% раствора HNO<sub>3</sub> до обесцвечивания;</li> <li>4) фильтрование;</li> <li>5) 5 капель фильтрата;</li> <li>6) 20 капель молибденового реактива;</li> <li>7) кипячение</li> </ol>	Желтый осадок	Образование фосфорно-молибденового аммония
<i>Гемпротеины</i>			
Определение гемина	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 1 мл разведенной в 5000 раз крови,</li> <li>2) кипячение,</li> <li>3) охлаждение</li> <li>4) 5 капель раствора бензидина;</li> <li>5) 5 капель раствора пероксида водорода</li> </ol>	Сине-зеленое окрашивание	Образование комплексного соединения

1	2	3	4
Определение белка	1) 5 капель разведенной в 5000 раз крови; 2) 3 капли биуретового реактива	Фиолетовое окрашивание	Образование комплексного соединения
<i>Гликопротеины</i>			
Определение гексозы в яичном белке	1) 5 капель раствора яичного белка; 2) 10 капель 1% раствора альфа-нафтола; 3) 20 капель конц. серной кислоты (по стенке пробирки)	Красно-фиолетовое окрашивание	Образование продукта конденсации
Определение белка в растворе яичного белка	1) 5 капель раствора яичного белка; 2) 3 капли биуретового реактива	Фиолетовое окрашивание	Образование комплексного соединения

Вывод: использование анализов на белковый фрагмент и на простетические группы позволяет определить природу сложных белков.

### **Итоговый контроль**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Какая реакция проводится на небелковую группу гемоглобина?
2. Как проводится реакция на геминовую группу? Какие используются реактивы? Какое окрашивание развивается?
3. Каким образом Вы доказали белковую природу гемоглобина?
4. Как называется реакция на небелковую часть гемопротеинов?
5. Какие особенности имеет бензидиновая проба?
6. Почему казеиноген молока осаждается в слабокислой среде?
7. Какой процесс происходит при кипячении казеиногена со щелочами?
8. Каким реактивом определяют присутствие фосфорной кислоты?
9. Как проводится реакция Молиша?
10. На какой реакции основано качественное определение гликопротеинов?
11. Какое практическое значение имеет качественное определение небелковых компонентов сложных белков?
12. Можно ли обнаружить углеводные компоненты гликопротеинов без гидролиза?



13. В каком белке Вы обнаруживали фосфорную кислоту? Какую использовали для этого реакцию?
14. В каком белке Вы обнаружили углеводы? Что наблюдали в результате реакции?
15. В каком биологическом материале содержится казеиноген? К каким белкам они относятся?

#### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Перечислите классы сложных белков и назовите их представителей.
2. Напишите структурные формулы бета-каротина, изоаллоксазина и порфирина.
3. Схематично изобразите строение иммуноглобулина G.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления об особенностях функционирования олигомерных белков на примере гемоглобина.

#### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие из перечисленных ниже белков относятся к фосфопротеидам?

А – казеин  
Б – пепсин  
В – альбумин  
Г – фосфоорилаза  
Д – овомукоид

2. Какие функции выполняет гемоглобин крови?

А – транспорт газов  
Б – детоксикация чужеродных соединений  
В – адсорбирование и транспорт жиров  
Г – поддержание кислотно-щелочного равновесия крови  
Д – образование тромба

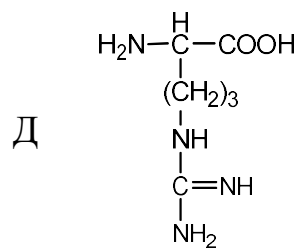
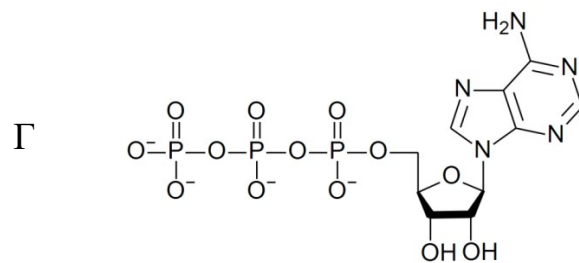
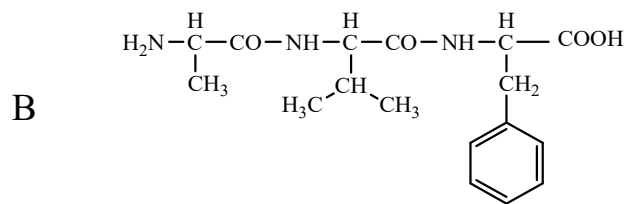
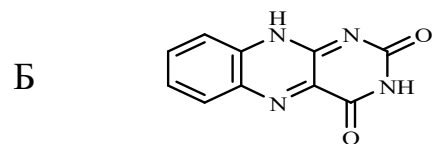
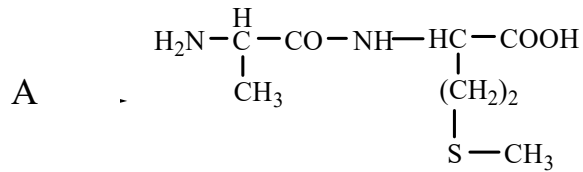
3. Что такое металлопротеиды?

А – простые белки, адсорбирующие металлы  
Б – сложные белки, в состав которых входят ионы металлов  
В – простые белки, участвующие в транспорте металлов  
Г – сложные белки, катализирующие окислительно-восстановительные реакции  
Д – сложные белки, осаждаемые концентрированными растворами нейтральных солей щелочных металлов

4. Какую функцию выполняют липопротеиды сыворотки крови?

- А – транспортируют липиды
- Б – транспортируют газы
- В – участвуют в гидролизе жиров
- Г – участвуют в синтезе жиров
- Д – образуют резерв липидов

5. Какое из этих соединений является простетической группой хромопротеинов?



#### **Занятие 4. Тема: Нуклеиновые кислоты. Липопротеины.**

**Цель:** научиться методам определения компонентов сложных белков: нуклеопротеинов и липопротеинов.

#### **Задачи:**

- поставить реакцию подтверждающую наличие фосфатидилхолина (реакция с ацетоном);
- получить из фосфатидилхолина липосомы и идентифицировать их под микроскопом;
- провести гидролиз нуклеопротеинов дрожжей;
- поставить качественные реакции на компоненты нуклеопротеинов (белок, пуриновые основания, пентозу и фосфорную кислоту).

#### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Выделение фосфатидилхолина из яичного белка.

**Работа 2.** Получение липосом.

**Работа 3.** Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей с идентификацией их компонентов.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершении работы демонстрирует преподавателю и оформляет протокол в рабочей тетради.

#### **Методы выполнения**

##### **Выделение фосфатидилхолина из яичного желтка**

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<sup>0</sup>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.

##### **Получение липосом**

**Принцип метода:** 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.

### Гидролиз нуклеопротеинов и определение их компонентов

Таблица 1

Проводимые реакции	Реагенты / реактивы для проведения реакции	Наблюдения	Продукты реакции
<i>Полипептиды</i>			
Биуретовая проба	1) 5 кап. гидролизата дрожжей 2) 10 кап. 10% раствора NaOH 3) 1 кап. 1% раствора сульфата меди	Фиолетово – красное окрашивание	Комплексное соединение меди с пептидной группировкой
<i>Пуриновые основания</i>			
Серебряная проба	1) 10 кап. гидролизата дрожжей 2) 1 кап. конц. аммиака 3) 5 кап. 1% раствора серебра азотнокислого	Бурый осадок	Серебряные производные пуриновых оснований
<i>Пентозы</i>			
Реакция Молиша	1) 10 кап. гидролизата дрожжей 2) 3 кап. 1% раствора альфа-нафтола 3) 20 кап. конц. серной кислоты	Красное окрашивание	Продукты конденсации с $\alpha$ -нафтолом
<i>Фосфорная кислота</i>			
Молибденовая проба	1) 5 кап. гидролизата дрожжей 2) 20 кап. молибденового реактива, кипячение	Лимонно-желтое окрашивание	Комплексное соединение фосфорномолибденового кислого аммония

**Вывод:** в состав нуклеопротеидов входят полипептиды, пуриновые основания, пентозы и фосфорная кислота.

Выделение фосфатидилхолина и получение липосом

Таблица 2

Название сложного белка	Название определяемого компонента	Используемые материалы, реактивы и приемы	Наблюдаемые изменения
Липопро-теины	Выделение фосфатидилхолина	0,5 г яичного желтка + 5,0 мл кипящего этилового спирта, перемешивание 10 минут, фильтрация, 5 капель фильтрата + 10 капель ацетона	Образование осадка
	Получение липосом	3 мл фильтрата раствора фосфатидилхолина + 3 мл фосфатного буфера pH=6,8, интенсивное встряхивание 10 минут, микроскопия капли жидкости (объектив 8)	Образование визикул

Вывод: фосфолипиды (фосфатидилхолин яичного желтка) способны образовывать на границе двух фаз (вода-липиды) очень тонкий бислой, приобретающий сферическую форму.

## **Итоговый контроль**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Как выделяется фосфотидилхолин из яичного белка?
2. Каким образом проводится идентификация фосфотидилхолина?
3. На чем основан метод получения липосом?
4. Как выглядят липосомы под микроскопом?
5. Опишите работу по получению липосом.
6. Как проводится гидролиз нуклеопротеинов?
7. На какие компоненты распадаются нуклеопротеины при неполном гидролизе?
8. На какие компоненты распадаются при полном гидролизе нуклеиновые кислоты?
9. Перечислите азотистые основания, входящие в структуру нуклеиновых кислот и назовите те, которые открывают серебряной пробой.
10. Опишите реакцию Молиша и назовите компоненты нуклеиновых кислот, которые открывают этой реакцией.
11. Опишите молибденовую пробу и назовите компоненты ДНК, которые открываются этой пробой.
12. Какая используется проба для определения полипептидного компонента нуклеопротеинов?
13. Какое окрашивание образуется при положительной реакции Молиша?
14. Какое окрашивание образуется при положительной молибденовой пробе?
15. Какие реактивы используются для проведения серебряной пробы, молибденовой пробы и реакции Молища?
16. Перечислите компоненты гидролиза нуклеопротеинов и те реакции, при помощи которых они выявляются?

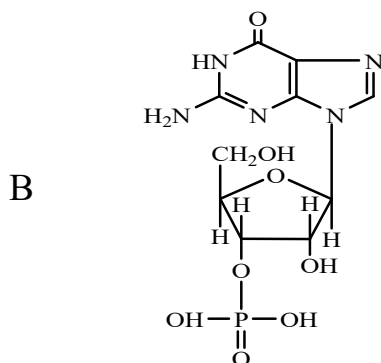
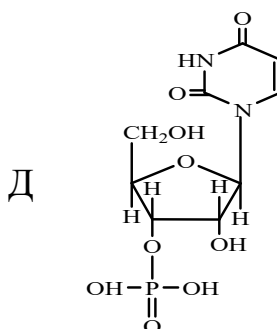
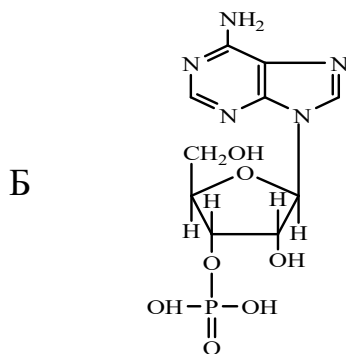
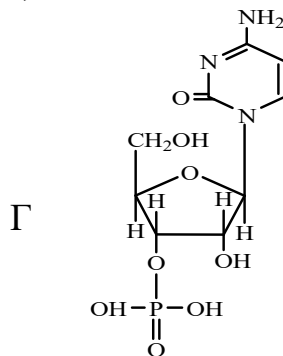
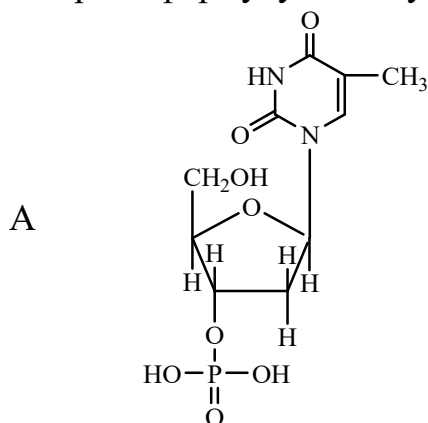
### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Перечислите плазмемные липопротеины.
2. Перечислите основные липидные компоненты биомембран.
3. Перечислите мембранные белки.
4. Приведите формулы и названия нуклеотидов ДНК и РНК.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Новейшие разработки ДНК-технологий в создании лекарственных препаратов.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Выберите формулу мононуклеотида, входящего только в состав ДНК:



2. Назовите соединения, образующиеся при полном гидролизе нуклеиновых кислот:

- А – азотистые основания
- Б – дезоксирибоза
- В – аминокислоты
- Г – рибоза
- Д – фосфорная кислота

3. Что представляет собой первичная структура РНК и ДНК?

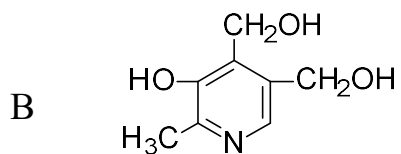
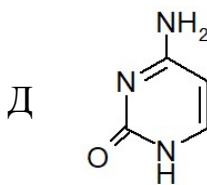
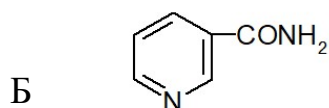
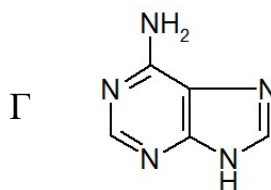
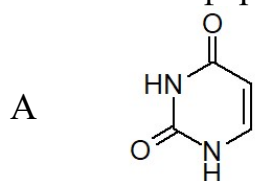
- А – альфа-спираль

- Б – линейная полинуклеотидная цепь
- В – двойная полинуклеотидная цепь
- Г – суперспираль
- Д – бета-структура

4. Что такое моноклеотид?

- А – мономерное звено нуклеиновых кислот
- Б – азотистое основание, соединенное с пентозой
- В – фосфорный эфир нуклеозида
- Г – азотистое основание, соединенное с пентозой и  $H_3PO_4$
- Д – азотистое основание, соединенное с  $H_3PO_4$

5. Укажите формулы пиримидиновых азотистых оснований:





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

**Цель:** закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Структура и биологические функции белков. Аминокислоты, простые и сложные белки. Нуклеиновые кислоты. Биомембраны. Иммуноглобулины.

### **Задачи:**

- определить наличие аминокислот, простого или сложного белка в контрольных пробах.

### **Вопросы для обсуждения**

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 возникнуть между радикалами аминокислот внутри одной полипептидной цепи, а также между полипептидными цепями в белках.
11. Уровни организации белковых молекул.
  - а) охарактеризуйте первичную и вторичную структуру белков,
  - б) охарактеризуйте третичную и четвертичную структуру бел-

- ков,
- в) охарактеризуйте надвторичные структуры и структурные домены,
- г) фолдинг, белки шапероны.
12. Физико-химические свойства белков:
- а) каков характер водных 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, глютелины 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, бета-каротина, 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 мембран. 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 фосфопр-

- теинов и металлопротеинов.
27. Охарактеризуйте структуру и биологические функции гликопротеинов (углеводбелковых 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 назовите моонуклеотиды 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 азотистые основания», «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.

### **Самостоятельная работа**

Идентификация содержимого полученной пробы. Качественные реакции на функциональные группы белков и аминокислот, небелковых компонентов сложных белков.

## 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		
Реакция с $\alpha$ -нафтолом. Определение гексозы	№А		
	№Б		
	№В		

### Итоговый контроль усвоения материала

Контроль практических умений и навыков проводится путем выполнения контрольных проб.

#### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите трипептиды из разных классов протеиногенных аминокислот.
2. Приведите примеры образования ковалентных и нековалентных связей в молекулах белков.
3. Схематично изобразите четыре уровня структурной организации белков.
4. Напишите структурные формулы небелковой части хромопротеинов и нуклеопротеинов (ДНК и РНК).
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные концепции о механизмах транспорта веществ через биологические мембраны.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Что является фактором стабилизации белковых молекул в водных растворах?
  - А – ионная сила раствора
  - Б – заряд белковой молекулы
  - В – гидратная оболочка белковой молекулы
  - Г – ионы  $\text{Ca}^{2+}$
  - Д – ионы тяжелых металлов
2. Чем отличаются аномальные типы гемоглобина от нормального?
  - А – сродством к кислороду
  - Б – аминокислотным составом
  - В – количеством полипептидных цепей в молекуле
  - Г – аминокислотной последовательностью
  - Д – количеством аминокислот
3. Что является структурной основой большинства биологических мембран?
  - А – гликопротеиды
  - Б – фосфолипидный бислой
  - В – фосфопротеиды
  - Г – триглицериды
  - Д – холестерин
4. Что называется третичной структурой белков?
  - А – пространственное расположение полипептидной цепи в виде компактного тела
  - Б – линейная полипептидная цепь
  - В – альфа-спираль
  - Г – пространственное расположение связанных между собой полипептидных цепей
  - Д – конформация в виде складчатого слоя
5. Какие азотистые основания входят в состав ДНК?
  - А – аденин
  - Б – урацил
  - В – тимин
  - Г – цитозин
  - Д – гуанин

## **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.

### **Задачи:**

- поставить качественные реакции на жирорастворимые витамины;
- поставить качественные реакции на 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).

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Качественные реакции на водорастворимые и жирорастворимые витамины.

1. Проба на ретинол (витамин А).
2. Качественная реакция на токоферол (витамин Е).
3. Обнаружение тиамин (витамин В<sub>1</sub>).
4. Качественная реакция на рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>).
5. Качественная реакция на рутин (витамин Р).
6. Качественная реакция на пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>).
7. Качественная реакция на аскорбиновую кислоту (витамин С).
8. Качественная реакция на викасол.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершении работы продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

## Методы выполнения

### Качественные реакции на витамины.

Таблица 1

Материалы и реактивы	Принцип метода	Наблюдаемое окрашивание
1	2	3
<i>Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический)</i>		
В сухую пробирку: 1) 2 кап. рыбьего жира в смеси с хлороформом 2) 2 кап. конц. серной кислоты	Отщепление воды от ретинола с образованием окрашенного продукта	Голубое переходящее в буро – красное
<i>Витамин Е (альфа-токоферол, антистерильный)</i>		
В сухую пробирку: 1) 5 кап. раствора токоферола 2) 10 кап. конц. азотной кислоты	Образование соединения хиноидной структуры	Красное
<i>Витамин В<sub>1</sub> (тиамин, антинеуритный)</i>		
В сухую пробирку: 1) 5 кап. 1% раствора сульфаниловой кислоты, 2) 5 кап. 5% раствора нитрита натрия, 3) 5 кап. 10% раствора карбоната натрия, 4) 1-2 кап. раствора тиамин, 5) встряхивание	Образование комплексного соединения	Желтое переходящее в оранжево – красное
<i>Витамин Р (рутин, капилляроукрепляющий)</i>		
В колбу: 1) 100 мг чая, 2) 15 мл воды дистиллированной, 3) кипячение 3 мин., 4) слить, разбавить равным количеством воды. В одну пробирку: 5) 1мл жидкости 6) 2-3 кап. раствора хлорида железа (III). В другую пробирку: 7) 5 кап. рутина 8) 12 кап. 1% раствора хлорида	Образование комплексного соединения	Зеленое

1	2	3
железа (III)		
<i>Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин, витамин роста)</i>		
В пробирку: 1) 10 кап. раствора рибофлавина, 2) 5 кап. конц. HCl, 3) зернышко металлического цинка	Восстановление рибофлавина	Обесцвечивание
<i>Витамин В<sub>6</sub> (пиридоксин, антидерматитный)</i>		
В пробирку: 1) 5 кап. раствора пиридоксина, 2) 5 кап. 1% раствора хлорида железа (III)	Образование комплексной соли типа фенолята железа	Красное
<i>Викасол</i>		
В пробирку: 1) 5 кап. раствора викасола, 2) 5 кап. 0,25% раствора цистеина, 3) 1 кап. 10% раствора гидроксида натрия	Изменение окрашивания в присутствии цистеина в щелочной среде	Лимонно – желтое
<i>Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный)</i>		
В пробирку: 1) 5 кап. раствора аскорбиновой кислоты, 2) по каплям 0,001н раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенол	Образование лейкоформы 2,6 – дихлорфенолиндофенола	Обесцвечивание

**Вывод:** с помощью качественных реакций на витамины можно установить их наличие.

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала занятия проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Как проводятся качественные реакции на витамины А и Е?
2. Каков принцип реакций на витамины А и Е?
3. Как проводятся реакция на витамины В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub>?
4. Каков принцип реакции на витамины В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub>?
5. Как проводятся реакции на витамины Р и С?
6. Каков принцип реакции на витамины Р и С?
7. Как проводится реакция на витамин В<sub>6</sub>?
8. Каков принцип реакции на витамин В<sub>6</sub>?
9. Как проводится реакции на викасол?



10. Каков принцип реакции на викасол?

**Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Приведите химические формулы жирорастворимых витаминов А, Д, Е, К, и укажите их основные биохимические функции.
2. Приведите химические формулы водорастворимых витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>с</sub>, Н, Р, С и укажите их основные биохимические функции.
3. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные сведения об использовании витаминов в качестве антиоксидантов.

**Проверь себя:**

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какое соединение является наиболее активным провитамином «А»?

- А – бета-каротин
- Б – эргокальциферол
- В – токоферол
- Г – альфа-каротин
- Д – холекальциферол

2. Какие нарушения могут иметь место при авитаминозе «Е»?

- А – нарушение сперматогенеза и эмбриогенеза
- Б – развитие анемии
- В – помутнение хрусталика
- Г – дерматиты

3. Укажите витаминоподобные вещества:

- А – пангамовая кислота
- Б – пировиноградная кислота
- В – ретинол
- Г – викасол
- Д – тиамин

4. Какой витамин образуется в организме при облучении ультрафиолетовыми лучами?

- А – викасол
- Б – токоферол
- В – холекальциферол
- Г – ретинол
- Д – аскорбиновая кислота

5. Какой витамин синтезируется микрофлорой кишечника?

А – витамин А

Б – витамин Д

В – витамин Е

Г – витамин В<sub>6</sub>

Д – витамин В<sub>2</sub>

## **Занятие 7. Тема: Коферментные формы витаминов.**

**Цель:** изучить роль витаминов в организме. Научиться выполнять качественные реакции на жирорастворимые и водорастворимые витамины.

### **Задачи:**

- провести количественное определение витамина С в лекарственных растениях и препаратах.

### **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.

**Работа 1.** Количественное определение аскорбиновой кислоты в растительном сырье.

## Методы выполнения

### Количественное определение аскорбиновой кислоты в исследуемом материале

**Принцип метода:** основан на способности аскорбиновой кислоты к окислительно-восстановительным превращениям. В ходе превращения аскорбиновой кислоты происходит восстановление 2,6 –дихлорфенолиндофенола с образованием его лейкоформы.

Таблица 1

Исследуемый материал (сырье)	Вытяжка	Объем 2,6-дихлорфенолиндофенола, пошедшего на титрование, в мл	Содержание аскорбиновой кислоты (мг/кг)
1) 0,5 г сырья, растереть в ступке с 5 мл 2% раствора HCl, 2) отфильтровать в мерную колбу на 100 мл, 3) довести объем дистиллированной водой до метки	10 мл		

Вывод:

Расчет проводится по формуле:

$$X = \frac{0,088 \cdot V \cdot 100 \cdot 1000}{10 \cdot B} =$$

где, X – содержание аскорбиновой кислоты, мг/кг;

0,088 – масса аскорбиновой кислоты, соответствующая 1 мл 0,001М 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 (сырья), г.

## Итоговый контроль

Контроль усвоения материала занятия проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип методики количественного определения аскорбиновой кислоты в растительном материале?
2. Как получают вытяжку из растительного материала?
3. Как проводится титрование вытяжки?
4. Приведите формулу расчета содержания аскорбиновой кислоты в растительном материале и объясните ее.
5. Опишите ход количественного определения аскорбиновой кислоты в растительном материале.
6. Какое практическое значение имеет определение аскорбиновой кислоты в сырье и препаратах?

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Укажите коферментные формы витаминов в качестве лекарственных средств.
2. Приведите химические формулы коферментных форм витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>с</sub>, Н.
3. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления о роли витаминов в регуляции метаболических процессов в организме.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Укажите, какие из приведенных ниже витаминов являются водорастворимыми:

- А – тиамин
- Б – рибофлавин
- В – антиксерофтальмический
- Г – антианемический
- Д – антисеборейный

2. Укажите, какие из приведенных ниже витаминов являются жирорастворимыми:

- А – биотин
- Б – пиридоксин
- В – токоферол
- Г – ретинол

Д – кальциферол

3. Назовите активную форму витамина Д:

А – ретиналь

Б – 1,25-дигидроксиолекальциферол

В – альфа-, бета-, гамма-токоферолы

Г – холестерин

Д – эргостерин

4. Какие из приведенных ниже витаминоподобных веществ являются водорастворимыми:

А – холин

Б – карнитин

В – убихинон

Г – липоевая кислота

Д – оротовая кислота

5. Какая циклическая структура лежит в основе витамина В<sub>2</sub>?

А – изоаллоксазин

Б – пиримидин

В – циклопентанпергидрофенантрен

Г – тиазол

Д – пурин

## **Занятие 8. Тема: Ферменты, строение, свойства.**

**Цель:** научиться методам определению кинетических свойств ферментов и специфичности их действия.

### **Задачи:**

- 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.

### **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.

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Кинетика ферментативных реакций на примере  $\alpha$ -амилазы:

- а) зависимость скорости реакции от количества фермента;
- б) зависимость скорости ферментативной реакции от температуры;
- в) специфичность действия амилазы;
- г) активаторы и ингибиторы  $\alpha$ -амилазы.

**Работа 2.** Сравнительное действие амилазы и HCl на гидролиз крахмала.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по заверению работы продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

### *Методы выполнения*

**Свойства ферментов (зависимость скорости ферментативных реакций от количества ферментов, от температуры, от активаторов и ингибиторов, специфичности ферментов)**

Таблица 1

Материал исследования	Дополнительные условия проведения реакций	Наблюдаемое окрашивание	Выявляемые продукты
1	2	3	4
Альфа-амилаза разведенная 1:5 – 1мл	1) 4 мл 1% раствора крахмала, 2) экспозиция 10 минут при комнатной температуре, 3) 1 капля йода в иодиде калия	Желтое	Ахродекстрины
Альфа-амилаза разведенная 1:10 – 1 мл	Условия реакции те же	Красное	Эритродекстрины
Альфа-амилаза разведенная 1:50 1001:100 – 1мл	Условия реакции те же	Синее	Крахмал
Кипяченая исходная альфа-амилаза	Условия реакции те же	Синее	Крахмал
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	Условия реакции те же	Красное	Эритродекстрины
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	1) 10 капель 1% раствора крахмала, 2) экспозиция 10 минут проба во льду, 3) 1 капля йода в иодиде калия	Синее	Крахмал
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	1) 10 капель 1% раствора крахмала, 2) экспозиция 10 минут при комнатной температуре, 3) 5 капель реактива Фелинга, 4) нагреть до кипения	Красный осадок	Восстанавливающий дисахарид



1	2	3	4
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 10 капель 2% раствора сахарозы,</li> <li>2) экспозиция 10 минут при комнатной температуре,</li> <li>3) 5 капель реактива Фелинга,</li> <li>4) нагреть до кипения</li> </ol>	Синее	Невосстанавливающий дисахарид
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 20 капель 0,5% раствора крахмала,</li> <li>2) 10 капель воды дистиллированной,</li> <li>3) экспозиция 10 минут при комнатной температуре,</li> <li>4) 1 капля йода в иодиде калия</li> </ol>	Красное	Эритродекстрины
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 20 капель 0,5% раствора крахмала,</li> <li>2) 10 капель 1% раствора хлорида натрия,</li> <li>3) экспозиция 10 минут при комнатной температуре,</li> <li>4) 1 капля йода в иодиде калия</li> </ol>	Желтое	Ахродекстрины
Исходная альфа-амилаза – 5 капель	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 20 капель 0,5% раствора крахмала,</li> <li>2) 10 капель 1% раствора сульфата меди (II),</li> <li>3) экспозиция 10 минут при комнатной температуре,</li> <li>4) 1 капля йода в иодиде калия</li> </ol>	Синее	Крахмал

Вывод: активность ферментов зависит от их количества, температуры, наличия активаторов и ингибиторов и специфичности.

## Сравнительное действие альфа-амилазы и соляной кислоты на реакцию гидролиза крахмала

**Принцип метода:** основан на изучении скорости гидролиза крахмала, определяемого по убыли субстрата (крахмала).

Таблица 2

Пробирки и ее содержимое	Условия гидролиза	Проба с йодом		Выявляемые продукты
		Методика	Окрашивание	
№1 1 мл воды + 5мл 1% раствора крахмала	Водяная баня 38°C, 15 минут (или термостат)	5 капель гидролизата + 1-2 капли раствора йода	Синее	Крахмал
№2 1 мл 10% раствора HCl + 5мл 1% раствора крахмала	Водяная баня 100°C, 15 минут	5 капель гидролизата + 1-2 капли раствора йода	Фиолетовое	Амилдекстрин
№3 1 мл исходной амилазы + 5 мл 1% раствора крахмала	Водяная баня 38°C, 15 минут (или термостат)	5 капель гидролизата + 1-2 капли раствора йода	Желтое	Ахродекстрины

**Вывод:** ферментативный гидролиз превосходит кислотный гидролиз крахмала

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каким образом можно измерить активность  $\alpha$ -амилазы?
2. Каким образом выявляются продукты расщепления крахмала?
3. Как можно определить стадию расщепления крахмала?
4. Покажите работу по изучению зависимости скорости ферментативной реакции от количества ферментов. Объясните полученные результаты.
5. Покажите работу по изучению специфичности действия  $\alpha$ -амилазы. Объясните полученные результаты.

6. Покажите работу по изучению действия активаторов и ингибиторов амилазы. Объясните полученные результаты.
7. Как зависит активность фермента от температуры? Как вы это доказали?
8. Как зависит активность фермента от его количества? Как вы это доказали?
9. Какое вещество является активатором  $\alpha$ -амилазы? Ингибитором? Как Вы это доказали?
10. Является ли сахароза субстратом  $\alpha$ -амилазы? Как Вы это доказали?
11. Какие ферменты находятся в слюне? Какие вещества являются их субстратами?
12. Какая реакция используется для обнаружения глюкозы?
13. Какие продукты выявляет проба с йодом?
14. На какое соединение проводится проба Фелинга? Как она выполняется?
15. В каком случае расщепление крахмала идет более интенсивно: под влиянием HCl или  $\alpha$ -амилазы? Как Вы это доказали?
16. Какие продукты выявляет проба с крахмалом?

#### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Перечислите особенности строения ферментов – протеидов и ферментов – протеинов.
2. Дайте определение понятиям: активный центр, субстратный центр и аллостерический центр.
3. Укажите специфические и неспецифические свойства ферментов.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Достижения в области изучения механизма действия ферментов.

#### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие ферменты называются ферментами-протеинами?
  - А – ферменты, построенные из альфа-аминокислот
  - Б – ферменты, состоящие из простетической группы и апофермента
  - В – ферменты, построенные из аминокислот и нуклеотидов
  - Г – ферменты, состоящие из альфа- и бета-аминокислот
  - Д – ферменты, состоящие из коферментов
  
2. Назовите функцию коферментов:
  - А – определяет специфичность действия ферментов-протеидов
  - Б – является непосредственным исполнителем химической реакции

- В – ингибирует активность ферментов-протеинов
- Г – повышает активность фермента
- Д – повышает устойчивость апофермента к денатурации

3. Какая часть фермента называется апоферментом?

- А – термостабильная часть молекулы фермента
- Б – термолабильная часть молекулы фермента-протеида
- В – небелковая часть молекулы фермента протеида
- Г – термолабильная белковая часть молекулы фермента-протеида, определяющая специфичность и усиливающая каталитическое действие добавочной группы (кофермента)
- Д – белковая часть молекулы фермента

4. Что называется мультиэнзимной системой?

- А – система ферментов, катализирующих комплекс биохимических реакций
- Б – система, состоящая из двух ферментов, катализирующих одну реакцию
- В – комплекс, состоящий из нескольких ферментов, катализирующих определенную последовательность реакций, при этом продукт предыдущей реакции является субстратом для следующего фермента
- Г – система ферментов, катализирующих реакции с определенным стереоизомером
- Д – система ферментов, катализирующих определенный тип реакций

5. Назовите авторов теории, объясняющей механизм действия ферментов:

- А – теория Жакоба и Моно
- Б – теория Михаэлиса и Ментена
- В – теория Крепса
- Г – теория Варбурга
- Д – гипотеза Митчела

## **Занятие 9. Тема: Номенклатура и классификация ферментов.**

**Цель:** научиться методам количественного определения ферментов.

**Задачи:**

- количественно определить активность  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови амилокластическим методом.

### **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.

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Определение активности  $\alpha$  - амилазы в сыворотке крови амилокластическим методом.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершению работы продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

## Методы выполнения

### Определение активности альфа-амилазы в сыворотке крови унифицированным методом

**Принцип метода:** основан на фотометрическом определении убыли крахмала в ходе реакции гидролиза его альфа-амилазой сыворотки крови.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Номер пробирки	
	№ 1 контроль	№ 2 опыт
Крахмал	0,5 мл	0,5 мл
Фосфатный буфер 0,1М, рН=7,2	0,3 мл	0,3 мл
NaCl, 30 г/л	0,1 мл	0,1 мл
Термостат, 37°C	10 мин	
Сыворотка крови	-	0,1 мл
HCl 1 М раствор	0,1 мл	-
Сыворотка крови	0,1 мл	-
Термостат, 37°C	30 мин	
HCl 1 М раствор	-	0,1 мл
Номер колбы		
	№ 1 контроль	№ 2 опыт
Содержимое пробирки	0,2 мл	0,2 мл
Вода дистиллированная	40 мл	40 мл
Раствор йода в йодиде калия	0,5 мл	0,5 мл
Вода дистиллированная	До 50 мл	До 50 мл
ФЭК красный светофильтр, 1 см, против воды	$E_k=?$	$E_{оп}=?$

Расчет:

$$X = \frac{(E_k - E_{оп}) \cdot 0,01 \cdot 2 \cdot 1000}{E_k \cdot 0,1} = ? \text{ г/ч*л}$$

Вывод: в норме активность альфа амилазы сыворотке крови 15 -30г/ч\*л

## Итоговый контроль

Контроль усвоения материала занятия осуществляется в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Принцип метода определения активности  $\alpha$ -амилазы и ход определения.
2. Практическое значение количественного определения  $\alpha$ -амилазы.
3. Каким образом проводится постановка опытной пробы?
4. Каким образом проводится постановка контрольной пробы?
5. Какие условия необходимо создать для определения активности  $\alpha$ -амилазы?
6. Почему оптическая плотность опытного раствора ниже, чем в контроле?
7. В каких единицах определяется активность  $\alpha$ -амилазы?
8. При каких заболеваниях наблюдается гипо- и гиперамилаземия?
9. Какова активность  $\alpha$ -амилазы крови в норме?
10. Какая реакция используется для окрашивания крахмала? Как зависит оптическая плотность от интенсивности окрашивания?
11. Каким образом рассчитывается активность  $\alpha$ -амилазы?
12. Укажите, при каких условиях Вы проводили измерение экстинкции на приборе?

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Изложите основные положения теории Михаэлиса – Ментена.
2. Перечислите классы ферментов и укажите основные подклассы в каждом из них.
3. Перечислите основные принципы, положенные в основу номенклатуры и классификации ферментов.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные исследования по изучению кинетики ферментативных реакций.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Что представляют собой изоферменты?

А – ферменты, состоящие из нескольких субъединиц

Б – ферменты, состоящие из одной субъединицы

В – ферменты, отличающиеся друг от друга по степени активности, некоторым физико-химическим свойствам, аминокислотному составу и аминокислотной последовательностью

Г – ферменты, отличающиеся различной локализацией в тканях и органах

Д – ферменты, существующие в виде нескольких изомеров, отличающихся между собой по комбинации протомеров

2. Что такое мультимер?

А – фермент, построенный из субъединиц

Б – неактивная форма фермента

В – фермент, катализирующий определенную реакцию

Г – фермент, катализирующий несколько реакций

Д – фермент, состоящий из белкового комплекса и атома металла

3. Что называется обратимостью действия ферментов?

А – способность ферментов катализировать как прямую, так и обратную реакцию

Б – способность ферментов не изменять свои свойства по действием физико-химических факторов

В – способность фермента восстанавливать свои свойства после прекращения воздействия на него

Г – способность фермента сохранять свои каталитические свойства вне организма

Д – способность фермента катализировать только необратимую реакцию

4. Какой класс ферментов требует участия АТФ в реакциях синтеза?

А – трансферазы

Б – гидролазы

В – лигазы

Г – оксидоредуктазы

Д – изомеразы

5. Укажите правильный перечень номеров классов ферментов соответственно классификации и номенклатуре ферментов:

А – 1-оксидоредуктазы, 2-трансферазы, 3-гидролазы, 4-лиазы, 5-изомеразы, 6-лигазы

Б – 1-трансферазы, 2-лиазы, 3-лигазы, 4-оксидоредуктазы, 5-гидролазы, 6-изомеразы

В – 1-лигазы, 2-гидролазы, 3-оксидоредуктазы, 4-лиазы, 5-изомеразы, 6-трансферазы

Г – 1-оксидоредуктазы, 2-изомеразы, 3-гидролазы, 4-трансферазы, 5-лиазы, 6-лигазы

Д – 1-трансферазы, 2-лигазы, 3-гидролазы, 4-оксидоредуктазы, 5-изомеразы, 6-лигазы



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

**Цель:** закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Ферменты и витамины как их кофакторы.

### **Задачи:**

- доказать зависимость активности ферментов от температуры, концентрации фермента, наличия активаторов и ингибиторов ферментов;
- доказать специфичность действия ферментов.

### **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 – протеидов. 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 В<sub>1</sub>, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
8. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В<sub>12</sub>, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
9. Охарактеризуйте химическую природу и биологические функции витамина В<sub>2</sub>. Напишите формулу его коферментов
10. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В<sub>3</sub>, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
11. Охарактеризуйте химическую природу коферментов. Напишите формулу витамина В<sub>5</sub>, его коферментную формулу и охарактеризуйте биохимические функции.
12. Охарактеризуйте химическую природу и биологические функции витамина В<sub>6</sub>. 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<sub>6</sub>, 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 антивитамины? 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 – Ментена?
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-ый 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			

### Итоговый контроль

Контроль практических умений и навыков проводится путем выполнения контрольных заданий по выявлению 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;
- г) специфичность действия ферментов.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат по завершении работы продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Напишите коферментные формы водорастворимых витаминов и укажите их участие в биохимических процессах.
2. Перечислите особенности строения ферментов- протеинов и ферментов-протеидов.
3. Опишите этапы в механизме действия ферментов.
4. Приведите уравнения реакций с участием ферментов трансфераз, гидролаз, лиаз, изомераз, лигаз.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Достижения энзимологии в создании новых лекарственных средств.

### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Как используются ферменты в медицине?

- А – определение ферментов с целью установления диагноза
- Б – использование ферментов в качестве лекарственных препаратов
- В – использование ферментов для получения лекарственных препаратов
- Г – использование ферментов в качестве химических реагентов
- Д – использование ферментов при анализе активности препаратов

2. Назовите общие свойства ферментов и неорганических катализаторов:

- А – катализируют только энергетически возможные реакции
- Б – в процессе реакции не расходуются
- В – они не изменяют направление реакции
- Г – действуют в ничтожно малых количествах
- Д – действуют в широком интервале температур

3. Дайте определение энергии активации:

- А – энергия активации – это дополнительное количество энергии, необходимое для вступления молекул вещества в химическую реакцию
- Б – это энергия, необходимая для преодоления энергетического барьера реакции
- В – энергия активации – энергия, которая выделяется в ферментативных реакциях
- Г – энергия активации – это энергия, которой обладают все молекулы вещества

Д – энергия активации – это энергия, необходимая для перевода молекул вещества в активированное состояние при данной температуре

4. Назовите особенности оксидоредуктаз:

А – ферменты образуют в клетке системы

Б – при небольшом наборе коферментов они способны катализировать большое количество реакций

В – реакции с участием этих ферментов идут с поглощением энергии

Г – реакции идущие с участием этих ферментов идут с высвобождением энергии

Д – для протекания реакций, катализируемых этими ферментами, необходим кислород

5. Назовите механизм действия неконкурентных ингибиторов:

А – тормозят реакцию, связываясь с каталитическими группами активного центра ферментов, при этом они не препятствуют связыванию субстрата с ферментом

Б – тормозят реакцию, влияя на процесс связывания субстрата с ферментом

В – тормозят реакцию, связываясь с ферментом вне активного центра, изменяя конформацию активного центра, тем самым мешая взаимодействию субстрата с активным центром фермента

Г – тормозят реакцию, взаимодействуя с аллостерическим центром фермента

Д – будучи сходным по структуре с субстратом, ингибитор препятствует образованию фермент-субстратного комплекса, связываясь с активным центром фермента

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

**Цель:** научиться методам качественного и количественного определению компонентов желудочного сока.

### **Задачи:**

- определить количественно кислотные компоненты желудочного сока (общую кислотность; общую, свободную и связанную соляную кислоту): провести титрование желудочного сока с двумя индикаторами, рассчитать кислотность;
- поставить качественную реакцию на молочную кислоту;
- определить количественно активность пепсина по Пятницкому.

### **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 межучного обмена веществ.
6. Характеристика стадий катаболизма, анаболизма.
7. Амфиболические пути метаболизма.
8. Энергетическая характеристика стадий катаболизма и анаболизма.
9. Характеристика особенностей пищеварения белков, углеводов, липидов в различных отделах пищеварительного тракта.
10. Характеристика состава желудочного сока.

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Определение кислотных компонентов желудочного сока: а) определение содержания общей, свободной, связанной соляной кислоты и общей кислотности; б) качественная реакция на молочную кислоту в желудочном соке (реакция Уффельмана).

**Работа 2.** Количественное определение пепсина в желудочном соке по Пятницкому.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты по завершении работы демонстрируют преподавателю, производят расчет и оформляют протокол.

## *Методы выполнения*

### **Определение кислотных компонентов желудочного сока**

**Принцип метода:** основан на определении кислотных веществ желудочного сока путем титрования их раствором гидроксида натрия с использованием индикаторов: *n*-диметиламиноазобензол (переход окраски при рН 2,3-4,2) и фенолфталеина (переход окраски при рН 8,2-10,0). По изменению окраски от красной к оранжевой индикатора *n*-диметиламиноазобензола определяется свободная HCl, а по переходу окраски от бесцветной к розовой-общая кислотность желудочного сока.

**Принцип метода:** основан на способности молочной кислоты в присутствии фенолята железа (III), образовывать соль лактата железа желто – зеленого цвета.

Проведение опытов представлено в таблице ниже.



### Определение кислотных компонентов желудочного сока

Таблица 1

Количество мл NaOH (0,1 M раствор), пошедшего на титрование 5 мл желудочного сока		Единицы кислотности (ммоль/мл) на 100 мл желудочного сока				Проба Уффельмана на молочную кислоту: 1) 20 кап. раствора фенола 2) +1 кап. раствора FeCl <sub>3</sub> , + 3) + желудочный сок №3 по 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)	
$X_1 = ?$ мл	$Y_1 = ?$ мл	$Z_1 = ?$ мл	$A_1 = X_1 * 100 / 5$	$Y_1 + Z_1 * 100$ $B_1 = 2 / 5$	$C_1 = B_1 - A_1$	$D_1 = Z_1 * 100 / 5$
$X_2 = ?$ мл	$Y_2 = ?$ мл	$Z_2 = ?$ мл	$A_2 = X_2 * 100 / 5$	$Y_2 + Z_2 * 100$ $B_2 = 2 / 5$	$C_2 = B_2 - A_2$	$D_2 = Z_2 * 100 / 5$

**Вывод:** в желудочном соке №1 общая кислотность – 50 ед, свободная HCl – 30 ед, связанная HCl – 10 ед, что соответствует нормальным показателям кислотности желудочного сока, а в соке №2 соответственно 70ед, 50 ед, 30 ед, что выше нормы, в соке №3 присутствует молочная кислота.

## Количественное определение пепсина в желудочном соке (по Пятницкому)

**Принцип метода:** створаживание молочно – ацетатной смеси при рН 5 и температуре 25°С происходит строго параллельно его переваривающей способности. За единицу пепсина принимается, то его количество, которое при указанных условиях створаживает 5 мл молочно-ацетатной смеси за 60 сек. Это условная единица приблизительно соответствует 0,01 мг кристаллического пепсина.

Таблица 2

Исследуемый материал	Реактивы	Время створаживания в секундах	Расчет количества единиц пепсина в 1 мл желудочного сока
Желудочный сок 0,1 мл при 25°С	Молочно – ацетатная смесь, 5 мл при 25°С	15 сек	$X = 60 \text{ сек} * 15 = 4 \text{ ед.}$ в 0,1 мл желудочного сока, а в 1 мл сока = $4 * 10 = 40 \text{ ед}$ или $40 * 0,01 \text{ мг}$ кристаллического пепсина = 0,4 мг кристаллического пепсина

Вывод: в соке содержится 40 ед (или 0,4 мг кристаллического) пепсина, что соответствует норме.

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. На чем основан метод определения кислотных компонентов желудочного сока?
2. Какие жидкости используются для титрования желудочного сока?
3. Какие изменения окраски регистрируют в процессе титрования?
4. Опишите ход определения кислотных компонентов желудочного сока?
5. О чем свидетельствует отсутствие HCl и пепсина в желудочном соке?
6. Что такое ахиллия?
7. Что принимают за единицу кислотности?
8. Что такое гипохлоргидрия?
9. Что такое гиперхлоргидрия?
10. Какова нормальная величина общей кислотности, свободной HCl, связанной HCl?
11. Как проводится качественная реакция на молочную кислоту?

12. Как рассчитать общую кислотность? Общую  $\text{HCl}$ ? Связанную  $\text{HCl}$ ?
13. При каком заболевании наблюдается повышенная кислотность желудочного сока?
14. На что указывает присутствие молочной кислоты в желудочном соке?
15. При каком заболевании наблюдается понижение кислотности в желудочном соке?

#### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Дайте определение обмена веществ и энергии.
2. Охарактеризуйте стадии катаболизма.
3. Охарактеризуйте стадии анаболизма
4. Охарактеризуйте амфиболические пути метаболизма.
5. Охарактеризуйте функции промежуточного обмена веществ.
6. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления об амфиболических путях метаболизма.

#### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Амфиболические пути метаболизма это:  
А – превращение углеводов  
Б – центральные метаболические пути  
В – превращение липидов  
Г – превращение белков  
Д – превращение нуклеиновых кислот
2. Наибольшее выделение энергии происходит:  
А – на первой стадии катаболизма  
Б – на третьей стадии анаболизма  
В – на третьей стадии катаболизма  
Г – на второй стадии анаболизма  
Д – на второй стадии катаболизма
3. Какие из перечисленных веществ подвергаются превращениям на первой стадии катаболизма?  
А – аминокислоты  
Б – белки  
В – липиды  
Г – жирные кислоты

Д – ацетил-КоА

4. К какому из перечисленных типов химических реакций относится превращение полимеров в мономеры на первой стадии катаболизма?

А – гидролиз

Б – дегидрирование

В – изомеризация

Г – окислительное декарбоксилирование

Д – дезаминирование

5. Какие из перечисленных субстратов могут при своем метаболизме превращаться в пируват?

А – глюкоза

Б – глицерин

В – жирные кислоты

Г – лейцин

Д – аспарагиновая кислота

## **Занятие 12. Тема: Биологическое окисление.**

**Цель:** научиться методам качественного и количественного определения ферментов биологического окисления.

**Задачи:**

- количественно определить активность каталазы крови по Баху и Зубковой;
- объяснить диагностическое значение определения активности каталазы крови;
- обнаружить активность дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышечной ткани по обесцвечиванию метиленовой сини.

### **Вопросы для обсуждения**

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

### **Самостоятельная работа**

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

**Работа 2.** Обнаружение дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышцах.

### ***Методы выполнения***

#### **Обнаружение дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышцах**

**Принцип метода:** 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, так как 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 капель раствора цитрата натрия, во вторую – 10 капель сукцината натрия, а в третью – контрольную – 10 капель 20 % раствора сульфосалициловой кислоты. Если между кусочками мышц остались пузырьки воздуха, их удаляют стеклянной палочкой.
3. В каждую из пробирок добавляют по 10 капель раствора метиленовой сини и по 10 капель вазелинового масла. Вазелиновое масло покрывает поверхность раствора, благодаря чему создаются анаэробные условия и тем самым предотвращается окисление восстановленных соединений кислородом воздуха.
4. Пробирки помещают в термостат или водяную баню при температуре 37°C. отмечают постепенное обесцвечивание метиленовой сини в пробирках с раствором цитрата и сукцината натрия. В контрольной пробирке метиленовая синь не обесцвечивается, так как фермент был инактивирован добавлением сульфосалициловой кислоты.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты по завершению работы демонстрируют преподавателю, производят расчет.

Таблица 1

### Количественное определения каталазы крови

**Принцип метода:** основан на определении количества  $H_2O_2$ , разложившей каталазой за определенное время, выделяемое по разности количества  $KMnO_4$  израсходованного на титрование до и после действия каталазы.

Пробы	Разведенная кровь 1:1000	Дист. вода	$H_2O_2$ 1% раствор	$H_2SO_4$ , 10% раствор	Экспозиция	$H_2O_2$ 1% раствор	$H_2SO_4$ 10% раствор	Количество 0,1 М раствора $KMnO_4$ , мл пошедшего на титрование (до розового окрашивания)
Опыт	1 мл	7 мл	2 мл	-	30 мин при комнатной температуре	-	5 мл	$B = ?$
Контроль	1 мл	7 мл	-	5 мл		2 мл	-	$A = ?$

Расчет:

$$\text{Каталазное число (КЧ)} = (A - B) * 1,7 = ? \text{ мг}$$

Вывод: в норме каталазное число = 10-15.

## Обнаружение дегидрогеназ лимоннокислого цикла в мышцах.

**Таблица 2**

**Принцип метода:** основан на восстановлении метиленовой сини в лейкоформу атомами водорода, передаваемыми дегидрогеназами с субстратов изоцитрата и сукцината.

№ про-бы	Мышечная ткань	3% раствор цитрата натрия	3% раствор сукцината натрия	20 % раствор сульфосалициловой кислоты	0,002% раствор метиленовой сини	Вазелиновое масло	Инкубация при 37°C	Окрашивание раствора
№1	На конце шпателя	10 кап.	-	-	10 кап.	10 кап.	30 мин	Обесцвечивание
№2	На конце шпателя	-	10 кап.	-	10 кап.	10 кап.	30 мин	Обесцвечивание
№3	На конце шпателя	-	-	10 кап.	10 кап.	10 кап.	30 мин	Синий

**Вывод:** мышечная ткань содержит дегидрогеназы цикла Кребса



## Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола.

Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип количественного определения каталазы крови по методу Баха и Зубковой?
2. Опишите ход определения активности каталазы.
3. Для чего используется серная кислота в процессе определения активности каталазы?
4. Для чего используется 0,1 Н раствор  $KMnO_4$  при определении каталазной активности?
5. В каких единицах выражают активность каталазы?
6. Как рассчитывают каталазное число?
7. Объясните клинико-диагностическое значение определения активности каталазы крови.
8. В чем состоит принцип обнаружения дегидрогеназ лимоннокислого цикла в опыте с мышечной тканью?
9. Какие вещества являются донорами и какие акцепторами  $H^+$  и электронов водорода?
10. Что является источником ферментов лимоннокислого цикла в данном опыте?
11. Какова роль метиленовой сини в процессе обнаружения дегидрогеназ лимоннокислого цикла?
12. Какие вещества служат субстратами дегидрирования в этом опыте?
13. Какую роль выполняет сульфосалициловая кислота?
14. Что является критерием присутствия дегидрогеназ ЛКЦ?
15. Какие дегидрогеназы ЛКЦ вы обнаружили в данном опыте?

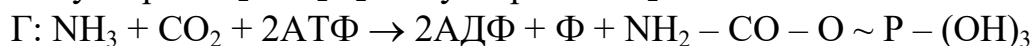
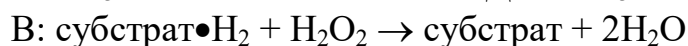
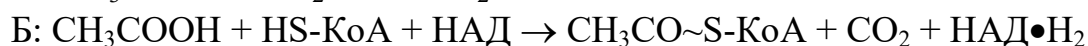
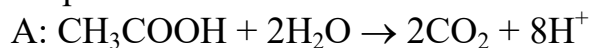
### Задание для самостоятельной работы студентов.

1. Охарактеризуйте понятия - биологическое окисление, аэробное и анаэробное окисление.
2. Опишите стадии биологического окисления.
3. Приведите уравнение реакции превращения пировиноградной кислоты в процессе окислительного декарбоксилирования.
4. Приведите уравнения реакций лимоннокислого цикла.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Обобщенные научные сведения по изучению ферментов и коферментов в регуляции окислительно-восстановительных процессов в организме.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Каким суммарным уравнением можно выразить процессы, протекающие в цикле Кребса?



2. Что такое биологическое окисление?

А – это процесс ступенчатого окисления субстратов с последующей передачей электронов и протонов по цепи дыхательных ферментов на кислород

Б – это процесс окисления исходных пищевых полимеров лимоннокислого цикла до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$

В – это процесс дегидрирования субстратов лимоннокислого цикла до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$

Г – это процесс анаэробного окисления первичных субстратов биологического окисления до ацетил-КоА

Д – это процесс гидролитического распада исходных пищевых полимеров до составляющих их мономеров

3. Какой вид биологического окисления называется анаэробным?

А – если роль акцептора водорода выполняет не кислород, а другое вещество

Б – если роль акцептора водорода выполняет кислород

В – если роль акцептора водорода выполняют хиноидные структуры

Г – если окисление протекает в присутствии ингибиторов дегидрогеназ

Д – если окисление протекает с использованием лишь одного атома кислорода

4. Перечислите субстраты цикла Кребса, подвергающиеся гидратации:

А – изолимонная, цисаконитовая, щавелевоуксусная кислота

Б – лимонная, изолимонная, цисаконитовая, фумаровая, щавелевоуксусная кислота

В – изолимонная, альфа-кетоглутаровая, янтарная, яблочная кислота

Г – лимонная, изолимонная, янтарная кислота

Д – цитрил-КоА, фумаровая кислота

5. Перечислите в порядке участия дегидрогеназы цикла Кребса:

- А – пируватдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, оксалоацетатдегидрогеназа
- Б – изоцитратдегидрогеназа, альфа-кетоглутаратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа
- В – дигидролипоилдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, пируватдегидрогеназа, малатдегидрогеназа
- Г – пируватдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, фумаратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа
- Д – пируватдегидрогеназа, цисаконитатдегидрогеназа, цитратдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа

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

**Цель:** научиться методам качественного и количественного определения ферментов биологического окисления в растительном материале.

### **Задачи:**

- определить количественно активность пероксидазы в продажном препарате или растительном материале (капуста);
- обнаружить действие полифенолоксидазы картофеля по изменению окраски продуктов окисления адреналина.

### **Вопросы для обсуждения**

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

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Определение активности пероксидазы в растительном материале.

**Работа 2.** Исследование действия полифенолоксидазы.

### **Методы выполнения**

#### **Исследование действия полифенолоксидазы**

**Принцип метода:** 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

1. 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.
2. В 2 пробирки отмеривают по 1 мл полученного фильтрата.
3. Содержимое первой пробирки кипятят в течении 2-х минут и затем охлаждают в струе водопроводной воды.
4. В обе пробирки добавляют по 0,5 мл 0,1% раствора 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.
5. В пробирке, где фермент инактивирован кипячением, цвет жидкости не изменяется.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты по завершению работы демонстрируют преподавателю, производят расчет и оформляют протокол.

### Исследование действия полифенолоксидазы

**Принцип метода:** на образовании под влиянием полифенолоксидазы продуктов окисления адреналина – адренохрома и веществ типа меланина темного цвета.

Таблица 1

Исследуемый материал (приготовление водной вытяжки):		
1) 1,0 г клубня картофеля;		
2) 10 мл дистил. воды;		
3) растирание в ступке;		
4) фильтрация.		
Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробирки	
	№1	№2
Фильтрат водной вытяжки	1 мл кипятить 2-3 мин	1 мл
0,1 % раствор адреналина	1 мл	1 мл

Термостат 37°C	10-15 мин	10-15 мин
Изменение окраски	Нет	Темное окрашивание

Вывод: в клубнях картофеля содержится полифенолоксидаза.

## Определение активности пероксидазы

### Ход работы

1. Приготовление водной вытяжки:  
100 мг растительного материала (капуста) растирают в ступке с 10 мл дистиллированной воды, полученную кашицу помещают в мерную колбу на 25 мл, объем доводят до метки тем же растворителем. Оставляют настаиваться 10 мин. Отфильтровывают по истечении времени через бумажный фильтр.
2. Работа с фильтратом.  
2 мл фильтрата водной вытяжки помещают в кювету ФЭК толщиной 2 см. Добавляют к нему ацетатного буфера (0,1 М раствора, pH=5,4) и раствора бензидина (0,02 г/л) по 2 мл. После установки кюветы в ФЭК, добавляют 0,03 % раствор пероксида водорода и засекают время истечения реакции (E=0,25).
3. Расчет активности пероксидазы проводят по формуле:

$$X = \frac{\Delta E \cdot 25 \cdot 100}{0,1 \cdot t \cdot d} = \frac{15625}{t} = ? \text{ Е с/кг}$$

Примечание: X – активность пероксидазы,  
 $\Delta E$  – изменение эстинции (0,25),  
t – время реакции, сек,  
d – толщина слоя кюветы (2 см),  
1000 – пересчёт г в кг,  
0,1 – навеска в г,  
2 – объём пробы (аликвота), мл,  
25 – объём мерной колбы, мл

Вывод: активность пероксидазы равна ? Е с/кг

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. На чем основан метод определения пероксидазы?
2. Напишите уравнение реакции окисления бензидина пероксидазой?
3. Опишите ход определения пероксидазы?
4. Какую функцию (пероксидазную или оксидазную) проявляет фер-

- мент в реакции окисления бензидина?
5. Каково практическое использование определения активности пероксидазы?
  6. На чем основано исследование действия полифенолоксидазы?
  7. К какой группе оксидоредуктаз относится полифенолоксидаза?
  8. Опишите ход определения полифенолоксидазы?
  9. Какие соединения образуются при окислении адреналина полифенолоксидазой?

### **Задание для самостоятельной работы студентов**

1. Напишите схему дыхательной цепи ферментов митохондрий.
2. Охарактеризуйте главные и побочные пути биологического окисления.
3. Охарактеризуйте механизм окислительного фосфорилирования.
4. Приведите уравнения реакций глицерофосфатного и малатного челночных механизмов переноса атомов водорода через митохондриальную мембрану.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные разработки в изучении механизмов окислительного фосфорилирования АДФ.

### **Проверь себя:**

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие главные виды оксидоредуктаз участвуют в образовании митохондриальной дыхательной цепи?  
А – пиридинпротеиды и флавопротеиды  
Б – флавопротеиды и цитохромы  
В – пиридинпротеиды и цитохромы  
Г – пиридинпротеиды и биотинзависимые белки  
Д – пиридоксальзависимые ферменты и цитохромы
2. Что является продуктом свободно-радикальных процессов окисления?  
А – насыщенные жирные кислоты  
Б – ненасыщенные жирные кислоты  
В – вода и углекислый газ  
Г – радикалы, перекиси, альдегиды  
Д – аммиак
3. Чем определяется последовательность оксидоредуктаз дыхательной цепи?  
А – величиной протонного градиента  
Б – особенностью химической структуры оксидоредуктаз

- В – величиной редокс-потенциала оксидоредуктаз
- Г – напряжением и расслаблением химических связей метаболитов внутренней мембраны митохондрий
- Д – наличием интермедиатов, воспринимающих энергию богатых энергией электронов

4. Какой тип фосфорилирования сопряжен с функционированием цепи дыхательных ферментов?

- А – фосфорилирование белковых молекул
- Б – хемосинтетическое фосфорилирование
- В – фосфосинтетическое фосфорилирование
- Г – окислительное фосфорилирование
- Д – субстратное фосфорилирование

5. Что является движущей силой в образовании АТФ в процессе окислительного фосфорилирования?

- А – проницаемость внутренней мембраны для протонов
- Б – существование интермедиаторов как посредников в реализации энергии в метаболической форме
- В – «напряжение и релаксация» молекул, встроенных в мембрану митохондрий
- Г – фосфорилирование на уровне субстратов цепи дыхательных ферментов
- Д – протонный градиент, возникающий на внутренней мембране



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

**Цель:** закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Введение в обмен веществ и энергии. Характеристика промежуточного обмена веществ. Биологическое окисление.

### **Задачи:**

- провести анализ активности пероксидазы или каталазы в контрольной пробе.

### **Вопросы к контрольной работе**

1. Что такое обмен веществ и энергии, его назначение.
2. Что называется катаболизмом и анаболизмом.
3. Взаимосвязь гетеротрофных и аутотрофных 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. Особенность пищеварения в различных отделах пищеварительного тракта.
11. Понятие о сбалансированном рациональном питании.
2. Что такое биологическое окисление, аэробное и анаэробное окисление.
3. Что такое редокс-потенциал, и каково его значение в биологических окислительно-восстановительных системах.
4. Характеристика стадий биологического окисления и центральных путей метаболизма.
5. Что такое первичные субстраты биологического окисления и как они образуются.
6. Реакции превращения пировиноградной кислоты в процессе окислительного декарбоксилирования.
7. Характеристика лимоннокислого цикла.
8. Реакции дегидрирования лимоннокислого цикла и их энергетический выход.
9. Характеристика пиридин - и флавінзависимых дегидрогеназ.
10. Схема окисления субстратов с участием пиридинпротеинов, флавопротеинов, каталазы, пероксидазы, цитохромов.
11. Характеристика главного и побочного путей биологического окис-

- ления субстратов.
12. Состав и функционирование дыхательной цепи митохондрий.
  13. Характеристика окислительного, субстратного и фотосинтетического фосфорилирования и их роль в метаболизме.
  14. Механизм окислительного фосфорилирования с точки зрения хемосмотической гипотезы Митчелла.
  15. Строение митохондрий и их роль в организме.
  16. Реакции глицерофосфатного и малатного челночных механизмов переноса атомов водорода через митохондриальную мембрану и их роль в процессе биологического окисления.
  17. Характеристика свободно-радикального окисления.
  18. Антиоксидантные системы организма.
  19. Использование антиоксидантов в медицине, антиоксидантные препараты.

### **Выполняемая работа**

Проведение количественного анализа активности пероксидазы или каталазы в контрольной пробе.

Каждый студент выполняет индивидуальное задание. Результат по завершению работы демонстрируют преподавателю, производят расчет и оформляют протокол.

## Исследование действия пероксидазы

Таблица 1

Принцип метода: \_\_\_\_\_

Исследуемый материал (приготовление водной вытяжки)	Фильтрат водной вытяжки	Ацетатный буфер 0,1 М раствор рН=5,4	Раствор бензидина 0,92 г/л	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,03% раствор после помещения в ФЭК, λ=750нм	Время протекания реакции (достижение значения E=0,25 на ФЭКе)
1) 100 мг растительного материала (капуста)	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	-
2) 10 мл дистиллированной воды, 3) растирание в ступке, 4) помещение в колбу и доведение водой до объема 25 мл, 5) настаивание 10 мин, фильтрация	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл	

$$x = \frac{\Delta E * 25 * 100}{0,1 * t * d} = \frac{15625}{t} = ?$$

x = [с<sup>-1</sup>/кг]

Вывод:

## Количественное определение каталазы крови

Принцип метода:

Пробы (в стакан- чиках)	Разве- денная кровь 1:1000	Дист. вода	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1% раствор	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 10 % раствор	Экспози- ция	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1% раствор	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10 % раствор	Количество 0,1 М раствора КмпО <sub>4</sub> в мл пошедшего на титрование (до розового окрашивания)	Расчет
Опыт	1 мл	7 мл	2 мл	-	30 мин при ком- натной темпера- туре	-	5 мл	V=	Каталазное число (КЧ)= (A-B) *1,7 = мг
Контроль	1 мл	7 мл	-	5 мл		2 мл	-	A=	

Вывод:

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Перечислите стадии биологического окисления и охарактеризуйте их.
2. Приведите уравнения реакций превращения пировиноградной кислоты в процессе окислительного декарбоксилирования.
3. Приведите уравнения реакций лимоннокислого цикла.
4. Напишите схему дыхательной цепи ферментов митохондрий.
5. Охарактеризуйте виды фосфорилирования.
6. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные аспекты изучения свободно-радикальных процессов в норме и при патологии.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Назовите метаболиты цикла Кребса, подвергающиеся декарбоксилированию:  
А – щавелевоянтарная кислота  
Б – лимонная кислота  
В – изолимонная кислота  
Г – альфа-кетоглутаровая кислота  
Д – янтарная кислота
2. Какова химическая природа цитохромов?  
А – гемопротеиды  
Б – пиридинпротеиды  
В – флавопротеиды  
Г – пиридоксальзависимые белки  
Д – биотинзависимые белки
3. Назовите первый субстрат дегидрирования цикла Кребса:  
А – яблочная кислота  
Б – альфа-кетоглутаровая кислота  
В – янтарная кислота  
Г – лимонная кислота  
Д – изолимонная кислота
4. Что такое субстратное фосфорилирование?  
А – образование макроэргических связей АТФ на уровне субстрата  
Б – преобразование энергии тканевого дыхания в энергию фосфатных связей АТФ  
В – преобразование энергии квантов света в энергию фосфатных связей АТФ

- Г – фосфорилирование белковых молекул с участием ферментов-протеинкиназ
- Д – фосфорилирование циклических нуклеотидов

5. Что такое свободное окисление?

- А – окисление не связанное с накоплением энергии АТФ
- Б – синтез АТФ за счет энергии квантов солнечного света
- В – окисление субстратов в дыхательной цепи ферментов, сопряженное с аккумуляцией энергии в макроэргических связях АТФ
- Г – монооксигеназное окисление соединений, связанное с их одновременным гидроксигированием
- Д – окисление, связанное с накоплением энергии в макроэргических связях АТФ

## **Занятие 15. Тема: Катаболизм углеводов.**

**Цель:** научиться методам качественного определения углеводов и метаболитов углеводного обмена.

### **Задачи:**

- провести качественные реакции на углеводы и метаболиты углеводного обмена;
- доказать опытным путем протекание в мышцах процесса гликогенолиза в анаэробных условиях по обнаружению молочной кислоты;
- доказать опытным путем наличие спиртового брожения в дрожжевых клетках в анаэробных условиях по образованию  $\text{CO}_2$  и этанола.

### **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 реакции, ферменты).
5. Значение анаэробного пути распада углеводов и его переключение на аэробный путь.
6. Особенности спиртового брожения.

### **Самостоятельная работа**

**Работа 1.** Определение промежуточных и конечных продуктов обмена углеводов.

**Работа 2.** Спиртовое брожение.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты по завершению работы демонстрирует преподавателю и оформляет протокол.

## *Методы выполнения*

### **Гликогенолиз**

**Принцип метода:** основан на определении конечного продукта гликолиза – молочной кислоты.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробирки	
	№1 контроль	№2 опыт
Фосфатный буфер рН=8	3,0 мл	3,0 мл
1% раствор крахмала	1,0 мл	1,0 мл
10 % раствор ТХУ - кислоты	20 капель	-
Измельченная мышца	0,5-1,0 г	0,5-1,0 г
Вазелиновое масло	3-5 кап.	3-5 кап.
Термостат, 37°C	1 час	1 час
10 % раствор ТХУ - кислоты	-	20 кап.
Реакция Уффельмана на молочную кислоту	Фиолетовое окрашивание	Желто-зеленое окрашивание

**Вывод:** конечным продуктом гликогенолиза является молочная кислота.



Таблица 2

## Спиртовое брожение

Принцип метода: основан на определении конечных продуктов брожения:  $\text{CO}_2$  и этанола.

Аппаратура	Материал для брожения		Обнаружение $\text{CO}_2$		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	Налить до краев в сосуд и перемешать	Выделение пузырьков газа	Добавить 3-5 капель к фильтрату, бродильного сосуда . Нагреть	Запах йодоформа

Вывод: конечными продуктами спиртового брожения являются  $\text{CO}_2$  и этанол.

## Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков порядок выполнения работы по обнаружению процесса гликогенолиза в мышцах?
2. Какие соединения являются конечными продуктами гликогенолиза?
3. В чем заключается принцип реакции Уффельмана на молочную кислоту?
4. Каков порядок выполнения работы для доказательства процесса спиртового брожения?
5. Какие соединения являются продуктами спиртового брожения?
6. Как проводится обнаружение  $\text{CO}_2$ ?
7. Как проводится обнаружение этанола?
8. Каким образом можно доказать, что в мышцах протекает процесс гликогенолиза?
9. Какие для этого необходимо создать условия?
10. Каким образом можно доказать, что в клетках дрожжей протекает процесс спиртового брожения? Какие условия нужно для этого создать?

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Приведите уравнения реакций гликогенолиза и рассчитать его энергетический итог.
2. Приведите уравнения реакций гликолиза и рассчитать его энергетический итог.
3. Приведите уравнения реакций спиртового брожения углеводов.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные данные об этапах пентозофосфатного пути распада углеводов в организме.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Укажите энергетический итог и конечные продукты аэробного распада 1 моля глюкозы у человека и животных:  
А – 2 молекулы АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$ , молочная кислота  
Б – 4 молекулы АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$   
В – 15 молекул АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$ , мочевины  
Г – 38 молекул АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$   
Д – 24 молекулы АТФ,  $\text{H}_2\text{O}$ , пировиноградная кислота

2. Какова судьба НАД•Н<sub>2</sub>, образовавшегося при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида в анаэробных и в аэробных условиях при дихотомическом распаде глюкозы?

А - НАД•Н<sub>2</sub> в аэробных условиях восстанавливает пируват до молочной кислоты

Б - НАД•Н<sub>2</sub> в аэробных условиях поступает в дыхательную цепь ферментов и там окисляется

В - НАД•Н<sub>2</sub> в анаэробных условиях восстанавливает пируват до молочной кислоты

Г - НАД•Н<sub>2</sub> поступает в лимоннокислый цикл и там окисляется в аэробных условиях

Д - НАД•Н<sub>2</sub> в анаэробных условиях используется в оксигеназных реакциях

3. Каково значение гликолиза для организма?

А – гликолиз дает большое количество энергии

Б – гликолиз является источником энергии в отсутствие кислорода

В – гликолиз дает 2 молекулы АТФ

Г – гликолиз играет важную энергетическую роль при гипоксии

Д – гликолиз служит в организме источником лактата

4. Каково основное значение пентозофосфатного пути окисления глюкозы?

А – поставляет НАД•Н<sub>2</sub> и пировиноградную кислоту

Б – поставляет НАДФ•Н<sub>2</sub> и рибозо-5-фосфат

В – образует 3-фосфоглицериновый альдегид

Г – поставляет богатые энергией электроны для синтетических процессов

Д – образует фруктозо-6-фосфат

5. Укажите фермент, катализирующий следующую реакцию гликолиза: глюкозо-6-фосфат → фруктозо-6-фосфат:

А – гексокиназа

Б – альдолаза

В – фосфогексоизомераза

Г – фосфогексокиназа

Д – пируваткиназа

## Занятие 16. Тема: Биосинтез углеводов.

**Цель:** научиться методам качественного и количественного определения глюкозы.

### **Задачи:**

- поставить качественные реакции на глюкозу в моче;
- определить количественно содержание глюкозы в крови.

### **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.

### **Самостоятельная работа**

#### **Методы выполнения**

**Работа 1.** Качественные реакции на глюкозу.

**Реакция Троммера:** в пробирку наливают 0,5 мл исследуемой жидкости и добавляют равный объем гидроксида натрия. Затем по каплям приливают раствор сульфата меди до появления исчезающей мути (гидроокиси меди (II)). Нагревают пробирку на песочной или водяной бане. Появление красно-оранжевого окрашивания осадка (оксида меди (I)), указывает на положительную реакцию.

**Реакция Фелинга:** к 1 мл исследуемой жидкости прибавляют равный объем реактива Фелинга и нагревают. При положительной реакции наблюдается образование красно-оранжевого осадка оксида меди (I).

**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 в результате образования осадка металлического висмута.

**Работа 2.** Количественное определение содержания глюкозы в крови.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты по завершению работы демонстрирует преподавателю и оформляют протокол.

### Качественные реакции на глюкозу

Таблица 1

Принцип метода	Исследуемая жидкость	Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Наблюдения
<i>Реакция Троммера</i>			
Восстановление гидроксида меди (II) до оксида меди (I) или гидроксида меди (I)	5 капель	1) 10% раствор NaOH – 5 капель, 2) 1% раствор CuSO <sub>4</sub> - 5 капель, 3) Нагревание	Красный или желто-оранжевый осадок
<i>Реакция Фелинга</i>			
Восстановление гидроксида меди (II) до оксида меди (I)	10 капель	1) 5-10 капель реактива Фелинга, 2) Нагревание	Красный или желто-оранжевый осадок
<i>Реакция Ниландера</i>			
Восстановление гидроксида висмута в металлический висмут	10 капель	1) реактив Ниландера 5-10 капель, 2) Прокипятить	Черно- бурый

Вывод: с помощью качественных реакций Триммера, Фелинга, Ниландера можно установить наличие в жидкости глюкозы.

Таблица 2

### Определение содержания глюкозы в крови бензокаиновым методом

**Принцип метода:** основан на способности глюкозы при нагревании с бензокаином в растворе уксусной кислоты давать желто-оранжевое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна концентрации глюкозы.

№ пробирки	Исходный материал для получения фильтрата	фильтрат	Бензокаиновый реактив	Водяная баня 100°С	ФЭК, синий светофильтр, кювета 0,5 см, против воды	Расчет
№1 опыт	1,8 мл ТХУ (30г/л р-р) + 0,2 мл сыворотки №2, перемешать, через 5-10 мин фильтровать	0,5 мл	2,0 мл	20 мин	$E_{0-1} = ?$	$X = \frac{E_0 * 5,55}{E_c}$ ммоль/л
№2 опыт	1,8 мл ТХУ (30г/л р-р) + 0,2 мл сыворотки №1, перемешать, через 5-10 мин фильтровать	0,5 мл	2,0 мл	20 мин	$E_{0-2} = ?$	
№3 стандарт	1,8 мл ТХУ (30г/л р-р) + 0,2 мл стандартного раствора глюкозы, (5,55 ммоль/л) перемешать без фильтрации	0,5 мл	2,0 мл	20 мин	$E_c = ?$	

**Вывод:** Норма 3,3 – 5,5 ммоль/л. Содержание глюкозы в пробирке №1 = ? ммоль/л, в пробирке №2 = ? ммоль/л

## Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип реакции Троммера?
2. Каков принцип реакции Фелинга?
3. Каков принцип реакции Ниландера?
4. О чем свидетельствует наличие глюкозы в моче?
5. Каков принцип метода определения содержания глюкозы в крови бензокаиновым методом?
6. Как рассчитать содержание глюкозы в крови?
7. Какова норма содержания глюкозы в крови ?
8. Какова диагностическая значимость определения содержания глюкозы в крови?
9. При каких заболеваниях наблюдается понижение содержания глюкозы в крови?
10. При каких заболеваниях наблюдается повышение глюкозы в крови?
11. Как называется повышенное и пониженное содержание глюкозы в крови?

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Охарактеризуйте различия аэробного и анаэробного путей окисления углеводов; основные закономерности пентозофосфатного пути распада углеводов.
2. Напишите схему общего центрального пути биосинтеза углеводов из не углеводных предшественников (из пировиноградной кислоты).
3. Приведите уравнения реакций синтеза гликогена.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Исследования по изучению механизмов регуляции гликолиза и глюконеогенеза.

### Проверь себя:

**ЗАДАНИЕ:** Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какое соединение занимает ключевое положение в обмене углеводов?

- А – глюкозо-6-фосфат
- Б – фруктозо-1,6-дифосфат
- В – 3-фосфоглицериновый альдегид
- Г – фруктозо-6-фосфат
- Д – пировиноградная кислота

2. Какие гормоны повышают уровень сахара в крови?

- А – глюкагон
- Б – адреналин
- В – инсулин
- Г – вазопрессин
- Д – АКТГ

3. Какой углевод является непосредственным предшественником синтеза гликогена и с каким веществом он вступает в реакцию?

- А – глюкоза и АТФ
- Б – глюкозо-1-фосфат и УТФ
- В – глюкозо-6-фосфат и УТФ
- Г – фруктозо-6-фосфат и АТФ
- Д – рибозо-5-фосфат и ЦТФ

4. Что такое глюконеогенез?

- А – распад глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$
- Б – превращение глюкозы в лактат
- В – превращение глюкозы в пируват
- Г – образование глюкозы из пентоз
- Д – образование глюкозы из неуглеводных предшественников

5. Каково содержание глюкозы в крови в норме?

- А – 2,3 – 2,8 ммоль/л
- Б – 3,0 – 5,0 ммоль/л
- В – 0,8 – 1,0 ммоль/л
- Г – 3,32 – 5,55 ммоль/л
- Д – 6,0 – 7,5 ммоль/л



## **Занятие 17. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен углеводов.**

**Цель:** закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Обмен углеводов.

### **Задачи:**

- определить качественно наличие глюкозы в моче в контрольных пробах;
- определить количественно содержание глюкозы в крови в контрольных пробах.

### **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.
5. Гликолиз, уравнения реакций и ферменты гликолиза, две стадии гликолиза, энергетический итог.
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.

### **Самостоятельная работа**

Каждый студент проводит определения в задаче, предложенной преподавателем. Результаты работы по завершению демонстрирует преподавателю и оформляет протокол.

**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: \_\_\_\_\_

### Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки результатов определений в задачах.

### Задание для самостоятельной работы студентов

1. Приведите уравнения реакций гликогенолиза и гликолиза.
2. Рассчитайте их энергетический итог.
3. Напишите основные этапы пентозофосфатного пути распада углеводов.
4. Напишите схему пути биосинтеза углеводов.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления о биохимических аспектах нарушения углеводного обмена.

### Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Каково значение гликолиза для организма?

А – гликолиз дает большое количество энергии

Б – гликолиз является источником энергии в отсутствие кислорода

В – гликолиз дает 2 молекулы АТФ

Г – гликолиз играет важную энергетическую роль при гипоксии

Д – гликолиз служит в организме источником лактата

2. Каково основное значение пентозофосфатного пути окисления глюкозы?

- А – поставляет НАД•Н<sub>2</sub> и пировиноградную кислоту
- Б – поставляет НАДФ•Н<sub>2</sub> и рибозо-5-фосфат
- В – образует 3-фосфоглицериновый альдегид
- Г – поставляет богатые энергией электроны для синтетических процессов
- Д – образует фруктозо-6-фосфат

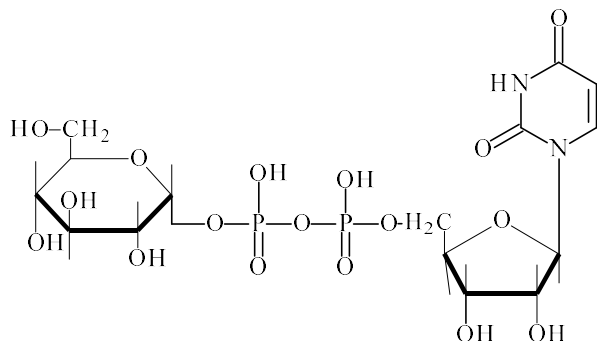
3. Где происходит переваривание углеводов и почему?

- А – в ротовой полости при слабощелочной реакции среды
- Б – в желудке при кислой реакции среды
- В – в кишечнике при щелочной реакции среды
- Г – в ротовой полости при слабокислой реакции среды
- Д – в желудке при щелочной реакции среды

4. Назовите фермент, катализирующий данную реакцию гликогенолиза: (глюкоза)<sub>n</sub> + фосфат → глюкозо-1-фосфат + (глюкоза)<sub>n-1</sub>

- А – фосфоглюкомутаза
- Б – фосфоорилаза
- В – глюкокиназа
- Г – фосфогексоизомераза
- Д – альдолаза

5. Назовите данное соединение и его роль в обмене углеводов:



- А – УДФГ
- Б – ЦДФГ
- В – АТФ
- Г – участвует в синтезе глюкозы
- Д – участвует в синтезе гликогена

**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.

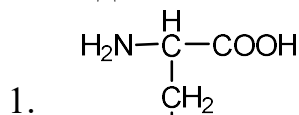
**Задание для самостоятельной работы студентов**

Подготовьте доклад с презентацией по теме: Исследования по изучению механизмов трансмембранного транспорта моносахаридов в клетки.

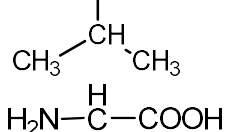
**Проверочные тесты по темам занятий**

**ЗАДАНИЕ:** Ниже приведено две колонки слов и фраз, найдите правильное соответствие буквенных и цифровых положений.

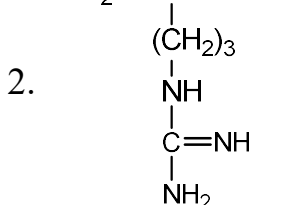
1. Найдите соответствие между названием аминокислоты и ее формулой:



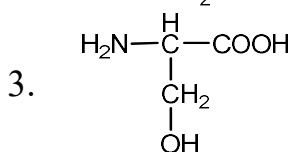
А. Аргинин

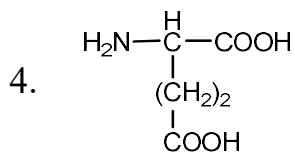


Б. Лейцин



В. Глутаминовая кислота





Г. Серин

2. Укажите соответствие:

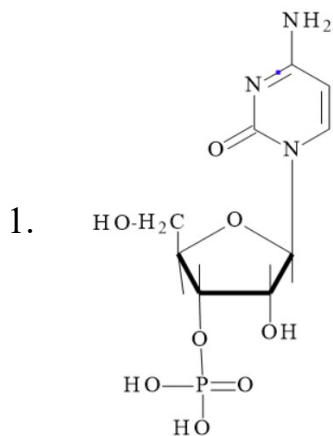
*Сывороточные липопротеиды*

1. Хиломикроны
2. Альфа-липопротеиды (ЛПВП)
3. Пре – бета - липопротеиды (ЛПОНП)
4. Бета-липопротеиды (ЛПНП)

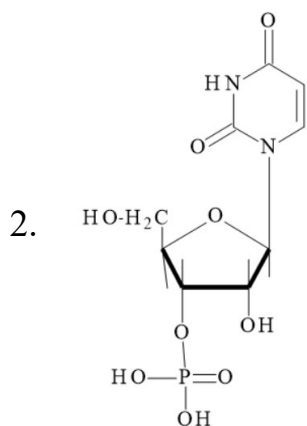
*Соотношение содержания белка и липидов*

- А – содержание 10% белка и 90% липидов  
 Б – содержание 2% белка, 98% липидов  
 В – содержание 22% белка, 78% липидов  
 Г – содержание 50% белка, 50% липидов

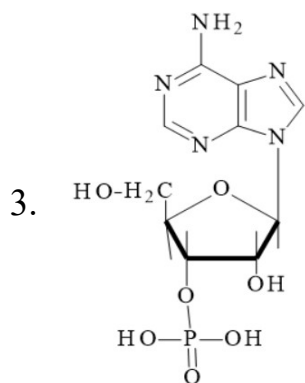
3. Укажите формулы и дайте название следующих моонуклеотидов, входящих в состав РНК:



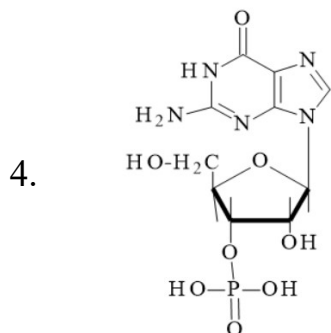
А. Уридинмонофосфат (УМФ)



Б. Цитидинмонофосфат (ЦМФ)



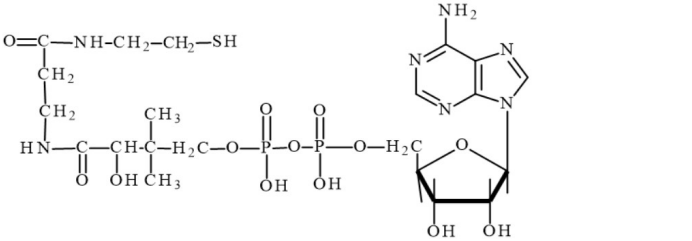
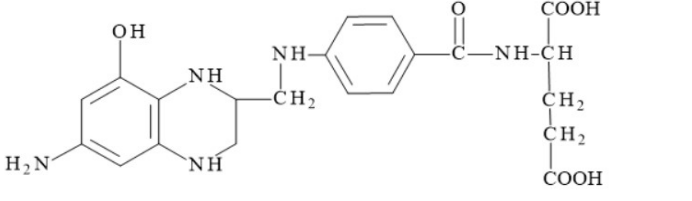
В. Аденозинмонофосфат (АМФ)



Г. Гуанозинмонофосфат (ГМФ)

4. В каких типах реакция участвуют коферменты?

<p>1.</p>		<p>А - в реакция карбоксилирования, транскарбоксилирования</p>
<p>2.</p>		<p>Б - в окислительно-восстановительных реакциях</p>

3.		В - в реакция переноса ацильных и ацетильных групп
4.		Г - в реакциях переноса одноуглеродных фрагментов

5. Найдите соответствие:

*Название класса фермента*

*Определение функции ферментов*

1 – оксидоредуктазы

А – ферменты, катализирующие реакции окисления восстановления

2 – трансферазы

Б – ферменты, катализирующие реакции переноса различных групп от одной молекулы к другой

3 – гидролазы

В – ферменты, катализирующие разрыв связи в субстратах с участием воды

4 – лигазы

Г – ферменты, катализирующие реакции негидролитического разрыва связи в субстратах

5 – изомеразы

Д – ферменты, катализирующие соединение двух молекул с использованием энергии фосфатной связи

6. Подберите каждой пронумерованной дегидрогеназе лимоннокислого цикла соответствующий кофермент, обозначенный буквой.

*Название фермента:*

*Название кофермента:*

1. Малатдегидрогеназа

А – ТПФ

2. Исоцитратдегидрогеназа

Б – НАД

3. Альфа-кетоглутаратдегидрогеназа

В – ФАД

4. Сукцинатдегидрогеназа

Г – HS-KoA

5. Фумаратгидратаза

Д – липоевая кислота

7. Укажите представителей следующих классов простых белков:

1. Протамины

А. Глиадин

2. Гистоны

Б. Глобин

3. Глютелины

В. Оризенин

4. Проламины

Г. Сальмин

8. Укажите классы, к которым относятся следующие простые белки:

- |             |                |
|-------------|----------------|
| 1. Глютенин | А. Глютелины   |
| 2. Гордеин  | Б. Протамины   |
| 3. Скумбрин | В. Проламины   |
| 4. Коллаген | Г. Протеиноиды |

9. Укажите характерные особенности физико-химических свойств простых белков:

- |              |  |
|--------------|--|
| 1. Протамины | А. Растворимы в воде, осаждаются насыщенным раствором сернокислого аммония |
| 2. Альбумины | Б. Обладают выраженными щелочными свойствами                               |
| 3. Глютелины | В. Нерастворимы в воде, растворяются в спирте                              |
| 4. Проламины | Г. Нерастворимы в воде, растворяются в разведенных щелочах                 |

10. К какому из перечисленных типов превращений, обозначенных цифрами, подвергаются ниже перечисленные субстраты лимоннокислого цикла, имеющие буквенное обозначение?

*Тип реакции:*

1. Дегидрирование
2. Гидратация
3. Тиолиз
4. Декарбоксилирование
5. Изомеризация

*Субстраты лимоннокислого цикла:*

- |                              |
|------------------------------|
| А – изоцитрат                |
| Б – щавелевоянтарная кислота |
| В – малат                    |
| Г – фумарат                  |
| Д – сукцинат                 |

11. К каким ферментам биологического окисления, обозначенным буквами, соответствуют перечисленные характеристики, обозначенные цифрами?

*Название фермента:*

- |   |
|---|
| А – дигидролипоилдегидрогеназа                |
| Б – альфа-кетоглутаратдегидрогеназа           |
| В – сукцинатдегидрогеназа                     |
| Г – фумаратгидратаза                          |
| Д – изоцитратдегидрогеназа декарбоксилирующая |

*Характеристика фермента:*

1. Фермент является промежуточным участником окисления пирувиноградной кислоты
2. Фермент является ФАД-зависимой дегидрогеназой
3. Данный фермент – белок-олигомер, состоящий из трех протомеров
4. Фермент является регуляторным ферментом цикла Кребса
5. Фермент обладает стереохимической специфичностью



12. Какой из перечисленных коферментов, обозначенный буквами, обслуживает соответствующую оксидоредуктазу тканевого дыхания, обозначенную цифрами.

<i>Название кофермента:</i>	<i>Название фермента:</i>
А – гем с координационным атомом $Fe^{2+}$	1. НАД• $H^+$ -дегидрогеназа
Б – гем с координационным атомом $Cu^{2+}$	2. Цитохром с
В – ФМН	3. Цитохром b
Г – ФАД	4. Цитохром а
Д – НАД	5. Цитохром а <sup>3</sup>

13. Найдите соответствие названия типов реакции, обозначенных цифрами и уравнений реакций, обозначенных буквами.

<i>Название типа реакции:</i>	<i>Уравнение реакции:</i>
1. Пероксидазный	А: $RH + O_2 \rightarrow ROOH$
2. Оксидазный	Б: $SH_2 + 1/2O_2 \rightarrow S + H_2O$
3. Моноксигеназный	В: $S + O_2 \rightarrow SO_2$
4. Пероксидное окисление ненасыщенных жирных кислот	Г: $RH_2 + SH + O_2 \rightarrow R + SOH + H_2O$
5. Диоксигеназный	Д: $SH_2 + O_2 \rightarrow S + H_2O_2$

14. Найдите соответствие:

<i>Название фермента гликолиза:</i>	<i>Название субстрата фермента:</i>
1. Фосфоглицераткиназа	А – 2-фосфоглицериновая кислота
2. Енолаза	Б – 1,3-дифосфоглицерат
3. Альдолаза	В – фруктозо-1,6-дифосфат
4. Пируваткиназа	Г – 2-фосфоенолпируват
5. Гексокиназа	Д – фосфодиоксиацетон

15. Укажите соответствие:

<i>Название субстрата гликолиза:</i>	<i>Название продукта гликолиза:</i>
1. пируват	А – фруктозо-1,6-дифосфат
2. 1,3-дифосфоглицерат	Б – глюкозо-6-фосфат
3. фруктозо-6-фосфат	В – молочная кислота
4. 2-фосфоенолпируват	Г – 3-фосфоглицериновая кислота

## Рекомендуемая литература

### Основная:

1. Северин Е.С. Биохимия: учебник М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.studmedlib.ru](http://www.studmedlib.ru)
2. Василенко Ю.К. Биологическая химия: учеб. пособие. М.: МЕДпресс, 2011, 432 с.
3. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учеб. Под ред. Е.С. Северина М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 624с.
4. Василенко Ю.К. Биологическая химия: учеб. пособие- М.: МЕДпресс, 2014, CD- диск [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)
5. Зезеров Е.Г. Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций. М.:МИА, 2014, 456 с.

### Дополнительная:

1. 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. Биохимия: краткий курс с упражнениями и задачами: учеб. пособие. Под ред. Северина Е.С., Николаевой А.Я. 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 специальности 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета). - Пятигорск:

- Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019 . [Электронный ресурс] – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)
2. Методические рекомендации студентов к лабораторным занятиям по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр / Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П./ - Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)
  3. Сборник заданий по биологической химии для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр // Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В. и др. - Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)
  4. Методические рекомендации для самоконтроля знаний студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр // Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В. и др. - Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)
  5. Основные понятия и термины биохимии в фармации : учебное пособие / Василенко Ю.К., Доркина Е.Г., Скульте И.В. и др. Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2020. - [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.pmedpharm.ru](http://www.pmedpharm.ru)

#### **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](http://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](http://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](http://www.studmedlib.ru)

**Учебное издание**

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

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ**

**к лабораторным занятиям по биологической химии  
для студентов 3 курса V семестр  
33.05.01 Фармация (уровень специалитета)**

Подписано в печать «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021г.

Формат \_\_\_\_\_. Бумага кн. - журнальная.

Печать ротاپринтная. Усл. печ. \_\_\_\_\_.

Уч.- изд.л. \_\_\_\_\_.

Тираж \_\_\_\_\_ заказ \_\_\_\_\_

**ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ- филиал  
ФГБОУ ВО ВолгГМУ**

357532, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11.