

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ  
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»

КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ  
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Владикавказ 2008

**Составители:** профессор Дзугкоева Ф.С.  
доцент Каряева Э.А.

ассистенты:  
к.м.н. Гурина А.Е;  
Амбарцумян Н.М.;  
Можаева И.В.;  
Дзугкоев С.Г.;  
Такоева Е.А.

**Рецензенты:** зав. кафедрой патологической физиологии  
ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, д.м.н.,  
профессор Хетагурова Л.Г.;  
зав. кафедрой зоологии Северо-Осетинского  
государственного университета  
им. К.Л. Хетагурова, д.б.н.,  
профессор Чопикашвили Л.В.

### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль – 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы – 20 минут.  
Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.
3. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа – 80 минут.
4. Подведение итогов занятия – 15 минут.
5. Всего 135 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студента:**

#### **X. Список используемой литературы**

##### **Обязательная**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. «Биологическая химия», Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ. Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека – М.: Наука 1980.
7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

##### **Дополнительная:**

1. Вельтишев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина 1983.
2. Биологическая химия для студентов пед. факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний**

1. Источники глюкозы крови.
2. Понятие о глюкозе крови и других редуцирующих веществах.  
Пути использования глюкозы в клетке.  
Гормональная регуляция активности ферментов.  
Пути использования глюкозо-6-фосфата в клетке.

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Сахар крови как интегральный показатель углеводного обмена.
2. Синтез и мобилизация гликогена. Гормональная регуляция процесса.
3. Роль гликогенсинтазы и фосфоорилазы в регуляции обмена глюкозы.
4. Глюконеогенез и его значение в поддержании гомеостаза глюкозы крови.
5. Значение инсулина и контринсулярных гормонов в регуляции сахара крови.
6. Биохимические нарушения обмена углеводов при сахарном диабете.
7. Характерные проявления диабетической гиперосмолярной и гипогликемической комы.
8. Диагностика скрытого сахарного диабета. Сахарные кривые.

**Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:**

1. Физиологическая гипогликемия новорожденных.
2. Особенности сахарных кривых у детей.
3. Глюконеогенез у детей.

**РАЗДЕЛ I. «ХИМИЯ БЕЛКА»**

**ЗАНЯТИЕ № 1**

**Тема: ХИМИЯ БЕЛКА. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКОВ, АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ, ОБЩИЕ СВОЙСТВА И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**I. Научно-методическое обоснование темы:**

Молекулярная архитектура живых клеток составляет ту основную черту, которая отличает их от неживой материи. Из всех макромолекул, участвующих в создании этой уникальной биологической суперструктуры, белки играют наиболее значимую роль. Разнообразие белковой структуры и их высокая упорядоченность, удивительная способность к самовоспроизведению, сократимость – неперемный атрибут живой системы. Они не только наиболее щедро представлены в организме человека (составляют более половины растворимого содержимого большей части клеток), но и характеризуются также наибольшим диапазоном вариаций размеров (величины молекулярного веса варьируют от нескольких тысяч до миллионов), формы и физических свойств (от водорастворимых или жирорастворимых до нерастворимых). В этом структурно-функциональном единстве организма, составляющем сущность жизни, белки играют важную роль, незаменимую другими веществами.

**Белки** – высокомолекулярные азотсодержащие вещества, молекулы которых построены из остатков аминокислот.

Жизнь немыслима без обмена веществ, без постоянного обновления составляющих компонентов живого организма, без *анаболизма* и *катаболизма*, в основе которой лежит деятельность катаболически активных белков – ферментов. Таким образом, белки являются основой структуры и функций живой системы. По образному выражению одного из основоположников молекулярной биологии Ф.Крика, белки важны потому, что они могут выполнять самые разнообразные функции:

1. Структурная (пластическая) – белки образуют основу протоплазмы живой клетки, в комплексе с липидами они являются

основным структурным материалом всех цитоплазматических мембран и органелл.

2. Каталитическая – все биохимические реакции катализируются белками-ферментами.

3. Дыхательная – белок крови гемоглобин транспортирует кислород от легких и углекислый газ из клеток органов к легким, т.е. органам дыхания.

4. Транспортная – в транспорте липидов принимают участие альбумины сыворотки крови. Ряд других сывороточных белков образует комплексы с жирами, медью, железом, тироксином, витамином А и др. соединениями, обеспечивая их доставку в соответствующие органы-мишени.

5. Защитная – важнейшие факторы иммунитета – иммуноглобулины и система комплемента являются белками. Процесс свертывания крови, защищающий организм от чрезмерной кровопотери происходит с участием белков свертывающей системы.

6. Сократительная – в акте мышечного сокращения и расслабления участвуют специфические белки мышечной ткани – актин и миозин.

7. Рецепторная – функция восприятия различных воздействий из вне и из внутренней среды осуществляется гликопротеидами.

8. Гормональная – гуморальная регуляция осуществляется белковыми гормонами.

Подсчитано, что в природе существует от  $10^{10}$  до  $10^{12}$  различных белков, обеспечивающих существование  $1,2 \times 10^8$  видов живых организмов. По мнению академика Ю.Овчинникова белки являются «законодателями моды» в организме человека.

Структурными единицами белков являются *аминокислоты*, определяющие индивидуальность белковых молекул и несущие информацию о построении пространственной структуры и функции данного белка. В составе белков в организме человека встречаются 20 аминокислот, 2 амида, т.е. 22 аминокислоты.

Согласно полипептидной теории Фишера  $\alpha$  карбоксильная группа одной аминокислоты взаимодействует с  $\alpha$  аминогруппой другой аминокислоты с выделением элементов молекулы воды и образуется амидная или пептидная связь.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

### Определение сахара крови ортотолуидиновым методом

**Принцип метода:** глюкоза при нагревании с ортотолуидином в растворе уксусной кислоты дает сине-зеленое окрашивание, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы и определяется на фотоэлектрокалориметре.

**Порядок выполнения работы:** В две центрифужные пробирки наливают по 0,9мл 3% раствора трихлоруксусной кислоты, затем в одну из них вносят 0,1 мл крови. В другую – 0,1 мл стандартного раствора глюкозы. Содержимое пробирок перемешивают и центрифугируют при 3000 об/мин. в течение 10 минут. Для определения берут по 0,5 мл надосадочной жидкости из каждой пробирки, вносят в обычные пробирки, добавляют по 4,5 мл ортотолуидинового реактива и помещают пробирки в кипящую водяную баню на 8 минут. Необходимо следить, чтобы вода в бане непрерывно кипела. Вынимают пробирки и охлаждают их водопроводной водой до комнатной температуры. Затем измеряют на фотоэлектрокалориметре оптическую плотность проб в кюветах на 10 мм против воды с красным светофильтром (620нм); поскольку контроль на реактивы на ФЭК равен нулю, окраска ортотолуидинового реактива не развивается.

Содержание глюкозы в опытной пробе рассчитывают по стандартному раствору глюкозы по формуле:

$$c_{\text{оп}} = \frac{c_{\text{ст}} \times E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}}$$

Где  $c_{\text{оп}}$  – концентрация глюкозы в крови в пробе, моль/л

$c_{\text{ст}}$  – концентрация глюкозы в стандартной пробе мг/100мл.

$E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность пробы

$E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандарта глюкозы.

Коэффициент перерасчета в единицы СИ (моль/л) равен 0,555.

Нормальное содержание глюкозы в сыворотке крови человека, определяемое данным методом, колеблется в пределах 3,33-4,99 ммоль-л (60-90 мг%).

- Длительном голодании.
- Почечной глюкозурии.

## II. Цель деятельности студентов на занятии:

### Студент должен знать:

- Понятие о глюкозе крови и других редуцирующих веществах.
- Пути использования глюкозы в клетке.
- Взаимоотношения между процессами катаболизма и анаболизма глюкозы.
- Регуляция углеводного обмена. Роль гормонов.
- Нарушения углеводного обмена: углеводное голодание, сахарный диабет.
- Диагностическое значение сахарных кривых.

### Студент должен уметь:

- Определять содержание глюкозы в крови.
- Интерпретировать полученные результаты.

## III. Содержание обучения.

### Основные вопросы:

- Глюкоза крови как важнейший фактор-метаболит углеводного обмена.
- Роль печени в регуляции уровня сахара крови. Взаимоотношения между процессами катаболизма и анаболизма глюкозы.
- Глюконеогенез (цикл Кори).
- Роль гормонов (инсулина и контринсулярных гормонов) в регуляции резервирования и мобилизации гликогена.
- Нарушение углеводного обмена: углеводное голодание и сахарный диабет.
- Сахарные кривые, их диагностическое значение.

## IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

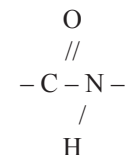
### Лабораторные работы:

Определение сахара крови ортотолуидиновым методом.

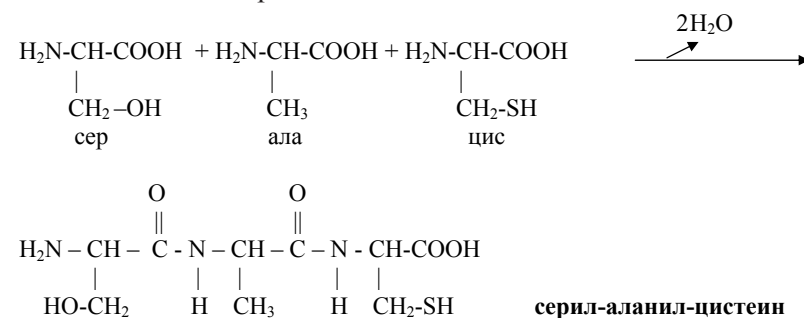
### V. Наименование лабораторной работы.

Неподеленная пара электронов атома азота вступает в сопряжение с  $\pi$  электронами карбонильной группы  $C=O$ , атомы N, C, O образуют жесткую сопряженную систему, находящуюся в одной плоскости.

В составе пептидной группы атом углерода находится в гибризованном состоянии:



Электронное строение предопределяет плоскую, жесткую структуру пептидной связи. Поэтому биосинтез пептидной связи требует притока свободной энергии, тогда как гидролиз идет с высвобождением энергии.



Полипептидная цепь имеет остов или скелет, состоящий из повторяющихся функциональных групп  $-CH-CO-NH-$ , а переменные части включают боковые радикалы, которые и определяют физико-химические свойства белковой молекулы. Помимо пептидной связи иногда встречаются *дисульфидные*.

19 из 20 аминокислот содержат в  $\alpha$ -положении асимметричный атом углерода, с которым связаны 4 разные замещающие группы. В результате эти аминокислоты в природе могут находиться в двух разных изомерных формах L и D. Исключение – глицин, так как его радикал представлен только атомом водорода. В нашем организме присутствуют только L-изомеры аминокислот.

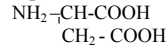
## КЛАССИФИКАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ:

### по химическому строению радикала:

1. Аминокислоты с алифатическими радикалами (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин).

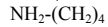
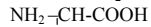
2. Аминокислоты, содержащие в алифатическом радикале замещенную группу:

*карбоксильная* – COOH



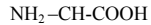
аспарагиновая кислота

*амино-* NH<sub>2</sub>



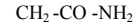
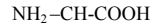
лизин

*тиольная* – SH



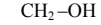
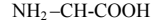
цистеин,

*амидная* – CO-NH<sub>2</sub>



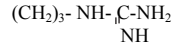
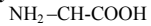
аспарагин

*гидроксильная* – OH

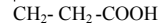
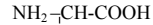


серин

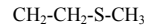
*гуанидиновая* – NH- C= NH



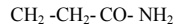
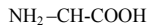
аргинин



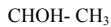
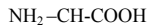
глутаминовая кислота



метионин

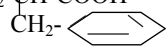
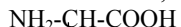


глутамин

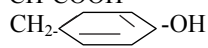
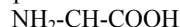


треонин

3. Аминокислоты, содержащие ароматический гомоциклический радикал

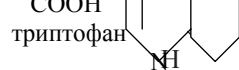
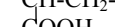
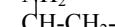
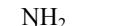


фенилаланин

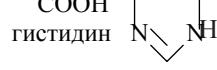


тирозин

4. Аминокислоты, содержащие гетероциклический радикал



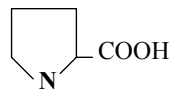
триптофан



гистидин

5. Иминокислоты

пролин



фатным путем окисления играет активация глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции.

Главной причиной стимуляции потребления глюкозы мышечными и жировыми клетками является избирательное повышение проницаемости мембран этих клеток к моносахаридам. Усиление гликолиза, по-видимому, важно не столько для образования энергии, сколько для накопления ацетил-Ко-А, малонил-Ко-А и глицерол-3-фосфата, которые являются предшественниками высших жирных кислот и триацилглицеролов. В печени и адипозных тканях для повышения уровня липогенеза из глюкозы существенную роль играет стимуляция глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции, которая приводит к накоплению восстановленной формы кофермента НАДФ Н<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), необходимого для редуктазных реакций. При этом 3-5% глюкозы превращается в печени в гликоген, а более 30% – накапливается в виде жира в депонируемых органах. Повышение концентрации глюкозы в крови – гипергликемия может быть следствием:

1. Поступления углеводов с пищей (кратковременная алиментарная гипергликемия).

2. Возбуждения ЦНС (эмоциональная гипергликемия).

3. Гиперфункции аденогипофиза (избыток СТГ при акромегалии, болезни Иценко-Кушинга).

4. Гиперпродукции кортизола при опухолях коры надпочечников.

5. Феохромоцитомы – опухоли мозгового слоя надпочечников (гиперпродукции адреналина).

6. Сахарного диабета (недостаточность инсулина). Понижение концентрации глюкозы в крови – гипогликемия – возникает при:

1. Гипофизарной кахексии (пангипопитуитаризм-недостаточность гормона роста).

2. Аддисоновой болезни (первичная недостаточность надпочечников).

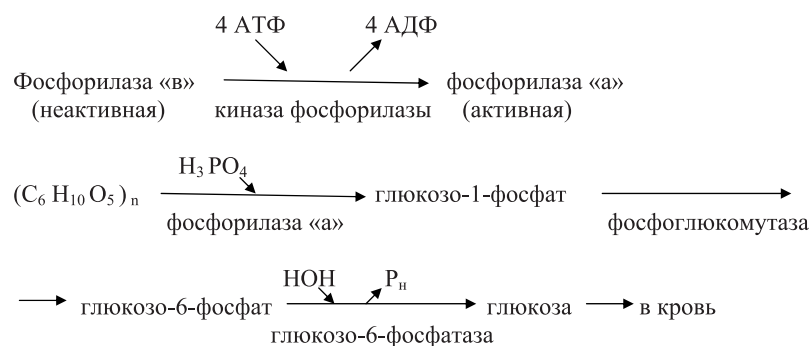
3. Опухолевых поражениях островкового аппарата поджелудочной железы (избыток инсулина).

4. Передозировке инсулина.

5. Болезни Гирке.

но тормозит мобилизацию гликогена и глюконеогенез, а следовательно вызывает снижение концентрации глюкозы в крови (инсулин).

Второй тип гормонов стимулирует распад гликогена и глюконеогенез, а следовательно, вызывает повышение концентрации глюкозы в крови. К гормонам такого типа относятся глюкагон, секретин, ВИП и адреналин, содержание которого возрастает в крови при эмоциональном возбуждении, голоде, длительной работе, под влиянием холодных факторов и т.д. Эти гормоны активируют каскадный механизм регуляции фермента фосфорилазы и распад гликогена:



В мышцах из-за отсутствия глюкозо-6-фосфатазы глюкозо-6-фосфат окисляется до лактата и обеспечивает работающую мышцу энергией.

Гормоны третьего типа стимулируют глюконеогенез в печени, тормозят утилизацию глюкозы различными клетками и, хотя усиливают депонирование глюкозы гепатоцитами, преобладают первые два эффекта, что приводит к повышению концентрации глюкозы в крови. К таким гормонам относятся глюкокортикоиды, СТГ и соматомедины.

Одной из причин утилизации глюкозы в тканях является стимуляция гликолиза, которая осуществляется активацией ключевых ферментов гликолиза (гексо- и глюкокиназы). Определенную роль в стимуляции катаболизма глюкозы инсулином пентозофос-

### По биологическому значению:

1. Незаменимые,
2. Заменяемые
3. Частично заменяемые.

### По растворимости их радикалов в воде:

1. Аминокислоты с неполярными радикалами (гидрофобные) – аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, метионин, фенилаланин, триптофан.
2. Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами: серин, треонин, тирозин, аспарагин, глутамин, цистеин
3. Аминокислоты с полярными отрицательно заряженными радикалами – аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота.
4. Аминокислоты с полярными положительно заряженными радикалами – лизин, аргинин, гистидин

## II. Цель деятельности студентов на занятии

### Студент должен знать:

1. Строение, свойства и функции белков.
2. Понятие заменимые и незаменимые аминокислоты.
3. Общие свойства аминокислот, обусловленные наличием amino- и карбоксильной групп.

### Студент должен уметь:

1. Написать представителей отдельных аминокислот.
2. Определить свойства аминокислот, обусловленные наличием amino- и карбоксильной групп.
3. Определить pH водных растворов аминокислот.
4. Анализировать полученные результаты и делать соответствующие выводы.

## III. Содержание обучения:

### Основные вопросы

1. Основные функции белков:
  - а) структурная (пластическая)
  - б) каталитическая

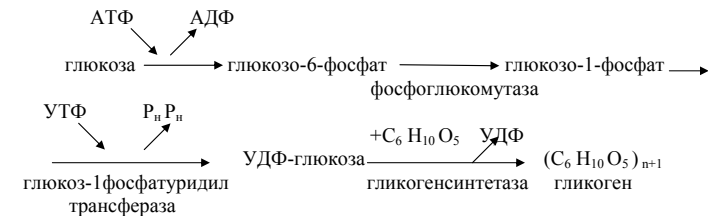
## ЗАНЯТИЕ №5

### Тема: РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В КРОВИ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Интегральным показателем баланса обмена углеводов в организме человека и животных является концентрация глюкозы в крови. Этот показатель стабилен и составляет 4,2-5,3 ммоль/л. Концентрация же сахара (глюкоза и другие редуцирующие вещества несколько больше – 4,4-6,7 ммоль/л или 80-120 мг/100 мл. Поддержание уровня глюкозы в пределах нормы важно потому, что клетки ЦНС, мозгового слоя надпочечников и крови используют ее в качестве источника энергии. Уровень глюкозы в крови зависит, с одной стороны, от притока моносахаридов в кровь из кишечника, печени и почек и, с другой стороны, от его оттока в работающие и депонирующие ткани. Центральным органом, обеспечивающим приток глюкозы в кровь, является печень, в которой происходят процессы мобилизации гликогена и глюконеогенеза.

Отток глюкозы из крови в ткани находится в прямой зависимости от скорости ее транспорта в мышечные, адипозные и лимфоидные клетки, мембраны которых создают барьер для проникновения в них глюкозы. Метаболическая утилизация глюкозы, в свою очередь, зависит от проницаемости цитоплазматических мембран, ключевых ферментов ее распада. Все процессы, сопряженные с транспортом и метаболизмом глюкозы, непосредственно контролируются комплексом гормональных факторов, которые по действию на общее направление обмена и уровень гликемии могут быть условно разделены на 3 типа, первый из которых стимулирует утилизацию глюкозы и ее депонирование в форме гликогена,



- в) транспортная
- г) защитная
- д) сократительная
- е) рецепторная
- ж) гормональная

2. Классификация аминокислот, входящих в состав белков.

3. Общие свойства аминокислот:

- а) свойства аминокислот, обусловленные наличием аминоксигруппы.
- б) свойства аминокислот, обусловленные карбоксильной группой.
- в) кислотно-основные свойства.

#### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

##### Лабораторные работы:

1. Свойства аминокислот, обусловленные наличием аминоксигрупп.
2. Определение  $P_{\text{H}}$  водных растворов аминокислот.

##### Наглядные пособия:

###### Таблицы

1. Классификация аминокислот.

#### V. Наименование лабораторной работы

##### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

##### Свойства аминокислот, обусловленные наличием аминоксигрупп

#### а) реакция аминокислот с азотистой кислотой (Ванслайка)

**Принцип метода:**  $\alpha$ -аминогруппы в аминокислотах могут реагировать с азотистой кислотой, при этом образуются следующие продукты реакции: оксипроизводные аминокислот, свободный азот и вода.



5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука 1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

#### *Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета. (Под редакцией Ермолаева) 1977.

**Методика выполнения:** Берут две микрохимические пробирки. В первую из них вносят шесть капель 5% -ного раствора гликокола и каплю концентрированной азотной кислоты. Во вторую вносят шесть капель воды и одну каплю концентрированной азотной кислоты – контрольная пробирка. В каждую пробирку добавляют по три капли нитрита натрия. В первой пробирке, где имелась аминокислота, отмечается интенсивное выделение пузырьков газообразного азота.

#### ***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **б) реакция аминокислот с нингидрином**

**Принцип метода:**  $\alpha$ -аминокислоты, полипептиды и белки при кипячении с водным раствором нингидрина дают синее и сине-фиолетовое окрашивание. В образовании цветного продукта принимает участие азот аммиака, образующегося из аминогруппы.

**Методика выполнения:** В две пробирки вносят по две капли нингидрина. В первую из них вносят гликокол, во вторую белок. Нагревают пробирки и отмечают появление синего окрашивания. Объяснить менее интенсивное и медленное появление синего окрашивания во второй пробирке. Делается вывод по работе.

#### ***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **в) реакция аминокислот с формальдегидом**

**Принцип метода:** Аминокислоты с формальдегидом дают метиленовые производные. Эта реакция лежит в основе метода формолтитрования Соренсена по определению количества аминогрупп.

**Методика выполнения:** В пробирке к пяти каплям раствора гликокола добавляют одну каплю раствора фенолфталеина и по каплям едкого натра до слабо-розовой окраски (обычно достаточно одной капли). Добавляют пять капель формоловой смеси и встряхивают. Раствор обесцвечивается за счет связывания ами-

ногрупп формальдегидом и реакция сдвигается в кислую сторону. Добавляют до появления розовой окраски по каплям едкого натра. Количество едкого натра, израсходованного на титрование, эквивалентно количеству аминогрупп, связанных формальдегидом.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.**

**Определение  $p_H$  водных растворов аминокислот**

**Принцип метода:** Водные растворы моноаминокарбоновых кислот дают реакцию, близкую к нейтральной, образуя внутреннюю соль.

Моноаминодикарбоновые аминокислоты дают кислые растворы, так как одна карбоксильная группа идет на образование внутренних солей, другая диссоциирует с образованием  $H^+$  ионов.

Диаминомонокарбоновые аминокислоты в водных растворах дают щелочную реакцию, за счет одной аминогруппы свободной.

**Методика выполнения:** В три пробирки вносят по три капли растворов аминокислот: В первую гликокол, во вторую аспарагиновую кислоту, в третью лизин. Затем добавляют в каждую пробирку по пять капель универсального индикатора. Найденные по шкале значения  $p_H$  заносят в таблицу:

№	Аминокислота	$p_H$
1	Гликокол	
2	Аспарагиновая кислота	
3	Лизин	

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний**

6. Апотомический распад глюкозы, его локализация, тканевая специфичность, последовательность реакций окислительной и неокислительной фаз.

7. Значение апотомического распада, как источника восстановительных эквивалентов и пентоз в биосинтетических реакциях.

8. Особенности использования этого процесса у детей раннего постнатального периода.

**Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:**

Соотношение активностей аэробного дихотомического и апотомического пути окисления глюкозы в раннем постнатальном периоде.

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

Программированный письменный самоконтроль – 15 минут.

Разбор теоретических вопросов темы – 20 минут.

Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.

4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов,

самостоятельная работа – 80 минут.

5. Подведение итогов занятия – 15 минут.

6. Всего 135 минут.

**IX. Самостоятельная работа студента:**

**X. Перечень учебной литературы к занятию**

**Обязательная**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.

3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.

цвета, интенсивность окрашивания которых пропорциональна концентрации ПВК.

**Порядок выполнения работы:** Контрольная и опытные пробы ставятся одновременно. Берут 2 пробирки, в две контрольные наливают по 1 мл воды, в опытную – 1 мл мочи. Затем во все пробирки приливают по 1 мл 2,5% спиртового раствора КОН, перемешивают все пробирки одновременно 1 минуту, приливают по 0,5 мл 0,1% раствора 2,4-динитрофенилгидразина, перемешивают и оставляют стоять на 15 минут при комнатной температуре. Фотометрируют на ФЭК против контроля в кюветах на 5 мм с синим светофильтром. Расчет проводят по готовому калибровочному графику, найденную величину умножают на суточный диурез и получают ПВК в суточной моче.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:**

1. Метаболически активная форма витамина В<sub>1</sub> и ее участие в аэробном окислении глюкозы.
2. Роль дегидрогеназ в окислении субстратов.
3. Реакция взаимопревращения пентоз.
4. Механизмы окисления цитоплазматического кофермента НАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>).

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:**

1. Виды аэробного окисления глюкозы.
2. Основные этапы аэробного дихотомического распада углеводов.
3. Челночные механизмы и их биологическая роль.
4. Окислительное декарбоксилирование ПВК, характеристика ферментов и коферментов мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса.
5. Энергетический выход аэробного дихотомического пути окисления глюкозы.

**1. Подберите правильные характеристики**

- |        |        |                                  |
|--------|--------|----------------------------------|
| 1. Иле | 5. Сер | А. Полярная с катионной группой. |
| 2. Асн | 6. Про | Б. Полярная с анионной группой.  |
| 3. Глу | 7. Мет | В. Полярная незаряженная.        |
| 4. Цис | 8. Гис | Г. Неполярная.                   |

Ответ: 1-Г; 2-В; 3-Б; 4-В; 5-В; 6-Г; 7-Г; 8-А.

**2. Подберите правильные характеристики АМК:**

- |        |   |
|--------|---|
| 1. Мет | А. Циклическая аминокислота.                |
| 2. Арг | Б. Гидрокси АК.                             |
| 3. Тре | В. Серосодержащая АК.                       |
| 4. Тир | Г. Диаминомонокарбоновая АМК с (+) зарядом. |
| 5. Вал | Д. Входит в состав фибриллярных белков.     |

Ответ: 1-В; 2-Г; 3-Б; 4- А; 4-Б; 5-Д.

**3. Подберите правильные характеристики АМК:**

- |        |  |
|--------|--|
| 1. Лиз | А. Содержит индольное кольцо               |
| 2. Сер | Б. Иминокислота                            |
| 3. Гис | В. АМК с (+) зарядом                       |
| 4. Три | Г. Входит в состав коллагеновых белков     |
| 5. Про | Д. Входит в состав фосфо- и гликопротеидов |

Ответ: 1-В; 2-Д; 3-В, 4-А; 5-Б, Г

**4. Подберите правильные характеристики АМК**

- |        |                                     |
|--------|-------------------------------------|
| 1. Гис | А. Гидрофильная с анионной группой  |
| 2. Лей | Б. Гидрофильная с катионной группой |
| 3. Сер | В. Гидрофильная незаряженная        |
| 4. Лиз | Г. Гидрофобная                      |
| 5. Глу | Д. Входит в состав альбуминов       |
| 6. Тир |                                     |
| 7. Три |                                     |

Ответ: 1-Б; 2-Г; 3-В; 4-Б; 5-А, Д; 6-В; 7-Г.

**5. Напишите и назовите формулы дипептидов, которые могут быть получены из аминокислот:**

- а) треонина и цистеина

- б) фенилаланина и аспарагина.  
в) аргинина и лейцина.

**7. Напишите формулы протеиногенных аминокислот, содержащих серу.**

**8. Напишите формулы протеиногенных аминокислот, имеющих в своем составе гетероциклическое кольцо.**

**9. Напишите проекционные формулы D и L-фенилаланина.**

**10. Классифицируйте аминокислоты по полярности радикалов:**

- |         |                                  |
|---------|----------------------------------|
| 1. Иле. | А. Полярная с катионной группой. |
| 2. Асн. | Б. Полярная с анионной группой.  |
| 3. Глу. | В. Полярная незаряженная.        |
| 4. Гис. | Г. неполярная.                   |
| 5. Сер. |                                  |

Ответ: 1-Г; 2-В; 3-Б; 4-А; 5-В.

**11. Напишите формулу пентапептида:**

Асп-Вал-Глу-Фен-Лиз.

Обозначьте в пептиде N- и C-концы. Подчеркните пептидные связи.

## **VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний**

1. Что такое белки и какие основные функции они выполняют в животных организмах?
2. Аминокислоты, как структурная единица белка.
3. Классификация аминокислот.
4. Представители алифатических аминокислот и их характеристика. Напишите формулы ациклических аминокислот.
5. Гомоциклические аминокислоты.
6. Гетероциклические аминокислоты и иминокислоты.
7. Рациональная классификация аминокислот, основанная на полярности радикалов.
8. Общие свойства аминокислот.

## **II. Цель деятельности студентов на занятии:**

**Студент должен знать:**

Этапы гексозоди- и гексозомонофосфатного пути окисления глюкозы, их распространение и биологическую роль.

**Студент должен уметь:**

Определять продукт аэробного дихотомического пути окисления глюкозы – пируват в моче, интерпретировать полученные результаты.

## **III. Содержание обучения.**

**Основные вопросы темы:**

1. Важнейшие пути аэробного распада глюкозы.
2. Гексозодифосфатный путь: последовательность реакций до образования пирувата.
3. Окислительное декорбоксилирование пировиноградной кислоты.
4. Судьба ацетил CoA и энергетика аэробного окисления глюкозы.
5. Локализация и последовательность реакций пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

## **IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО**

**Лабораторные работы:**

1. Количественное определение пировиноградной кислоты в моче.

**V. Наименование лабораторной работы.**

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.**

**Количественное определение пировиноградной кислоты в моче**

**Принцип метода:** Пировиноградная кислота (ПВК) взаимодействует с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде, образует 2,4-динитрофенилгидразоны ПВК желто-оранжевого

Возможные пути использования продуктов окислительной части:

НАДН<sup>+</sup> (Н<sup>+</sup>) используется:

Как источник электронов для цепи митохондриального окисления.

Как источник Н<sup>+</sup> для синтеза холестерина и жирных кислот.

Как источник Н<sup>+</sup> для обезвреживания аммиака путем восстановительного аминирования 2-оксoglутарата.

Как источник Н<sup>+</sup> для образования восстановленного глутатиона, стабилизирующего мембраны эритроцитов.

Как источник Н<sup>+</sup> для стероидогенеза.

Рибозо-5-фосфат используется для синтеза гистидина, нуклеозидов и нуклеотидов, и получаемых из них коферментов (НАД, ФАД, HSCoA) и нуклеиновых кислот. Если в клетке одинаково используется и НАДФН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>) и рибозо-5-фосфат, то весь процесс заканчивается окислительной фазой. Когда используется НАДФН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), а рибозо-5-фосфат нет, включается неокислительная фаза, в которой важнейшую роль играют ферменты – ТПФ-зависимые транскетолаза и трансальдолаза и суть которой заключается в обратном превращении пентоз в гептозы.

Из двух пентоз (рибулозо-5-фосфата и ксилулозо-5-фосфата) образуется гептоза – седогептулоза-7-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид.

Реагируя между собой, они образуют тетрозу – эритрозо-4-фосфат и гексозу – фруктозо-6-фосфат.

Тетроза реагирует с еще одной молекулой – ксилулозо-5-фосфата, образуя гексозу – фруктозо-6-фосфат и триозу – 3-фосфоглицериновый альдегид.

Таким образом, из 3 молекул пентоз получаем 2,5 молекулы гексоз, а следовательно, из 6 молекул пентоз получаем 5 гексоз. В раннем постнатальном периоде пентозофосфатный путь используется как энергетический. Образующийся в неокислительной части ФГА не превращается в глюкозо-6-фосфат, а окисляется до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О с одновременным генерированием энергии. НАДФ Н<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>) используется для синтеза холестерина и жирных кислот.

9. Напишите формулы дикарбоновых аминокислот. Дайте им рациональные и тривиальные названия. Обозначьте углеродные атомы греческими буквами.

### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени – 3 часа (135).
2. Переключка – 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы 60 минут.
4. Тестовый опрос – 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов – 10 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студентов**

Определение аминокислотного состава белков и хроматографический анализ УИРС:

1. Методы фракционирования и очистки белков:
  - а) электрофорез;
  - б) ультрацентрифугирование;
  - в) гель-фильтрация.
2. Хроматография аминокислот и значение в клинической биохимии.
3. Изменение белкового состава плазмы крови в онтогенезе.

### **X. Список используемой литературы**

#### **Обязательная**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 с.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. – М.: Наука, 1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. – М.: Мир, 1979.

#### *Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. – М.: Медицина 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

## ЗАНЯТИЕ № 2

### Тема: СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ

#### **I. Научно-методическое обоснование темы:**

Прежде чем рассматривать механизм и значение функций белка, следует ознакомиться с основами его «анатомии». Существует четыре важнейших уровня организации белковых молекул:

**Первичная структура** – это уникальная аминокислотная последовательность, детерминированная генетически и образованная пептидными или амидными связями. В первичной структуре заложен весь план дальнейшей пространственной укладки белковой молекулы.

Правильность полипептидной теории Фишера строения белковой молекулы доказана следующими факторами:

– В природных белках мало титруемых карбоксильных и аминогрупп, поскольку они участвуют в образовании пептидных связей.

– В процессе кислотного или щелочного гидролиза образуются свободные амино – или карбоксильные группы, то же самое происходит под влиянием ферментативного гидролиза, реакция биурета положительная на пептидные связи.

– Рентгеноструктурный анализ подтверждает полипептидную структуру белка, то же самое доказывается возможностью лабораторного синтеза белка. Последовательность аминокислот в первичной структуре определяется методами Сенгера и Эдмана.

**2 этап** – Окислительное декарбоксилирование двух молекул ПВК в митохондриях приводит к образованию 2 НАД Н<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), окисление которых в ЦПЭ служит источником энергии для 6 АТФ.

**3 этап** – Окисление ацетил СоА в ЦЛК образует 2 АТФ субстратным фосфорилированием и восстановленные коферменты (6НАД Н<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), и 2ФАДН<sub>2</sub>) для синтеза еще 22АТФ в ЦПЭ. Следовательно, при полном аэробном окислении глюкозы до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О образуется

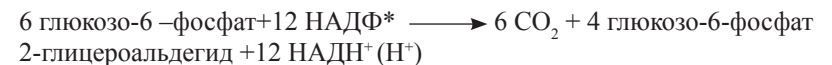
$$8+6+24=38 \text{ АТФ}$$

$$6+6+24=36 \text{ АТФ}$$

в зависимости от характера челночного механизма.

Альтернативным путем аэробного окисления глюкозы является апотомический, пентозофосфатный или гексозомонофосфатный шунт, который начинает функционировать у плода в раннем постнатальном периоде. Сущность этого процесса заключается в отщеплении от глюкозо-6-фосфата первого углеродного атома с образованием СО<sub>2</sub> и пентозо-фосфатов. Особенностью пентозофосфатного пути является то, что в разных тканях он имеет свою специфику, и особенно интенсивно протекает в жировой ткани, печени, лактирующей молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах и семенниках.

Ферменты этого пути локализованы в цитоплазме клетки. Окисление осуществляется путем дегидрирования, акцептором водорода является НАДФ:



Последовательность реакций пентозофосфатного пути можно разделить на две фазы: окислительную и неокислительную.

Окислительная фаза:

Глюкозо-6-фосфат окисляется НАДФ-зависимой дегидрогеназой до 6-фосфоглюконолактона.

6-фосфоглюконолактон гидролизует до 6-фосфоглюконовой килоты.

6-фосфоглюконовая кислота окисляется, декарбоксилируется НАДФ-зависимой дегидрогеназой с образованием рибулозо-5-фосфата.

2. Сопряжение гликолиза и цикла лимонной кислоты происходит на уровне превращения пирувата в ацетил СоА, катализируемого в митохондриях мультиферментным пируватдегидрогеназным комплексом, аналогичным –  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназному комплексу в ЦЛК.

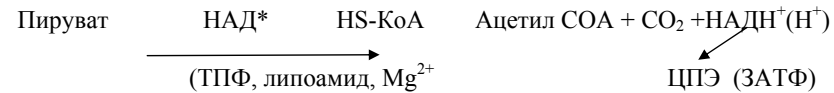
Внутри митохондрий, куда пируват транспортируется из цитоплазмы специальным переносчиком по механизму симпорта с протоном, происходит его окислительное декарбоксилирование, катализируемое тремя ферментами:

Пируватдекарбоксилирующей дегидрогеназой

Дигидролипоилтрансацилазой

Дигидролипоилдегидрогеназой

и пятью коферментами: ТПФ, ЛК, HS-CoA, ФАД, НАД.



3 – этап – цитратный цикл, в котором молекула ацетил СоА окисляется до двух молекул  $\text{CO}_2$ , а освободившийся водород, источниками которого являются субстраты ЦЛК (изоцитрат,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинат и малат) поступают в ЦПЭ, где освобождают энергию, достаточную для синтеза 11 молекул АТФ и образования воды.

В итоге, энергетический выход окисления глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  вычисляется следующим образом:

**1 этап** – гликолиз:

Превращение глюкозы во фруктозо-1,6-дифосфат требует 2 молекулы АТФ. Окисление двух молекул глицероальдегид-3-фосфата в ПВК продуцирует 4 молекулы АТФ субстратным фосфорилированием и 2  $\text{НАДН}^+(\text{H}^+)$ , отдающий  $\text{H}^+$  в митохондрии, либо через малатаспартатный челночный механизм, что генерирует 6 АТФ, либо глицерофосфатный и тогда образуется только 4 АТФ.

Итого:  $6+4-2=8\text{АТФ}$   
 $4+4-2=6\text{АТФ}$ .

В 1953 г. Сенгер в Кембридже впервые открыл последовательность аминокислотных остатков в инсулине (молекулярная масса 5700), спустя несколько лет Мур и Стейн (Нью-Йорк) – других белков в частности, рибонуклеазы с молекулярной массой 13700. Исследование аминокислотной последовательности важно, так как она определяет видовую специфичность белка, то есть одни и те же белки разных видов животных имеют разную аминокислотную последовательность.

Например: инсулин человека в А цепях в положениях

	– 8	9	10
человека	тре	сер	лей
свиньи	тре	сер	лей
лошади	тре	гли	лей
крупного рогатого скота	ала	сер	вал
барана	ала	гли	вал

**Вторичная структура** – это пространственная конфигурация полипептидных цепей, которые стремятся уменьшить свободную энергию, то есть способ скручивания полипептидных цепей в пространстве. Различаем  $\alpha$  спирализацию и  $\beta$ -структуру, беспорядочный клубок.

**$\alpha$  спирализация** – это закручивание полипептидной цепи вокруг мнимого цилиндра по ходу часовой стрелки, поскольку аминокислоты являются L изомерами. Шаг спирали – 5,3 А на каждом витке располагается 3,6 аминокислотных остатка, то есть происходит взаимодействие между 1 и 4 аминокислотным остатком и образование большого числа водородных связей:



Некоторые фибриллярные белки образуют конформацию  **$\beta$ -структуры** – структуры складчатого листа, то есть, последовательный ряд листков, расположенных под углом друг к другу. Она может сформироваться между отдельными полипептидными цепями и может быть параллельной и антипараллельной. Вторичная структура поддерживается большим числом слабых связей, энергия которых мала – от 1 до 7 кал. Слабые связи: водородные, электростатические, гидрофобные, Ван-дер-ваальсовы:

- Слабые связи:
- а) электростатическое взаимодействие;
  - б) гидрофобные взаимодействия неполярных групп;
  - в) водородные связи;

**Третичная структура** – это способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме пространства. Она, прежде всего, зависит от характера боковых групп аминокислотных остатков – радикалов. Каждая из этих групп стремится к наиболее выгодным энергетическим взаимодействиям с другими группами и атомами. Каждая специфическая последовательность аминокислот в полипептидной цепи всегда занимает определенное нативное положение в пространстве, обеспечивающее максимально выгодное число связей между атомами полимера и его окружением. Силы, которые способствуют формированию – это разновидности слабых связей, но поддерживается третичная структура ковалентными дисульфидными связями. Дисульфидные связи не определяют характер свертывания полипептидной цепи, но несомненно стабилизируют конформацию молекулы после завершения процесса свертывания.

Например: фермент рибонуклеаза состоит из одной полипептидной цепи (124 аминокислотных остатка) содержит 4 дисульфидных мостика. В положениях 26-84, 72-65, 40-95, 58-110.

При формировании третичной структуры гидрофобные группировки располагаются во внутренней области молекулы.

Некоторые белки имеют четвертичную структуру. Белковая молекула состоит из отдельных протомеров или субъединиц, каждая из которых имеет свои первичную, вторичную и третичную структуры.

**Четвертичная структура** – это способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой или разной первичной, вторичной, третичной структурой и формирующих единое макромолекулярное образование в структурном и функциональном отношениях.

Эту способность белок приобретает при определенном способе пространственного объединения входящих в его состав

## ЗАНЯТИЕ №4

### Тема: АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Окисление глюкозы в аэробных условиях является основным для энергообразования в организме и протекает прямым дихотомическим (дихотомия – расщепление глюкозы на 2 триозы) путем, который начинает функционировать с 3-4 месяца постнатального периода.

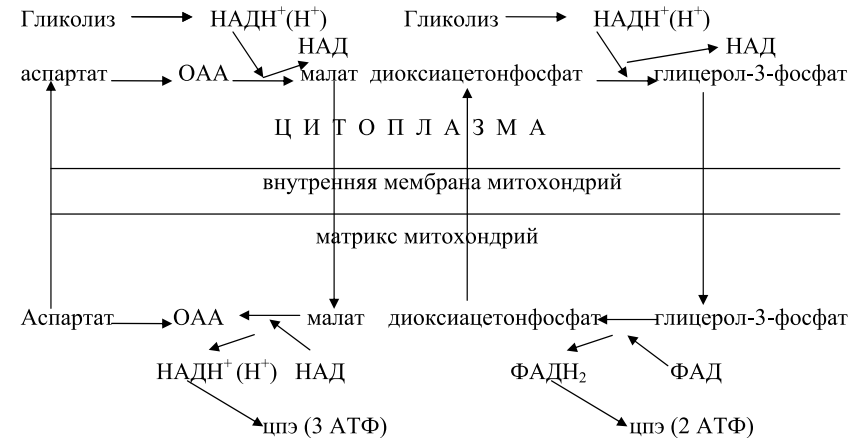
Дихотомический путь представлен тремя блоками реакций:

Окисление глюкозы или гликогена до ПВК;

Окисление ПВК до ацетил-КоА;

Окисление ацетил КоА в цтк и цпэ до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$

Реакции 1 этапа аналогичны гликолизу, однако заканчиваются на образовании пирувата, а освободившийся в ходе оксидоредукции водород  $\text{НАДН}^+(\text{H}^+)$  поступает в митохондрию (а не восстанавливается в цитоплазме ПВК) с помощью глицерофосфатного или малатаспартатного челночного механизма. В первом случае образуется 2 молекулы, а во втором – 3 молекулы АТФ.





### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль – 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы – 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа – 80 минут.
5. Подведение итогов занятия – 15 минут.
6. Всего 135 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студента:**

1. Энергообеспечение работающей мышцы в ходе реакций гликолиза.

### **X. Список используемой литературы**

#### **Обязательная:**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука 1980.
7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. М.: Мир 1979.

#### **Дополнительная:**

8. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. – М. Медицина 1983.
9. Биологическая химия для студентов пед факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

протомеров образовавших молекулу называемую мультимером, (построены из четного числа протомеров от 2 до 4, реже от 6 до 10,12...).

Субъединица – функционально активная часть молекулы мультимерного белка. Молекула гемоглобина состоит из  $\alpha$ -, и  $\beta$ -субчастиц, каждая из которых состоит из 2-х одинаковых  $\alpha$ -, и  $\beta$ -полипептидных цепей т.е. молекула гемоглобина состоит из 4-х полипептидных цепей, каждая из которых окружает группу гем.

Классическим примером олигомерной молекулы является вирус табачной мозаики (гигантская молекула с молекулярной массой  $\approx 40.000.000$ , состоящая из 1 молекулы рибонуклеиновой кислоты и 2130 белковых субъединиц,  $m$  каждой  $\approx 17.500$  длина вируса 300 нм., ширина – 17 нм.).

Многие ферменты обладают четвертичной структурой (фосфоорилаза  $\alpha$ ).

Мультимерным ферментом является лактатдегидрогеназа (катализирует обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную. Этот фермент, благодаря различным сочетаниям субъединиц, может существовать в 5-и формах, такие формы получили название **изоферментов или множественных форм ферментов**.

### **II. Цель деятельности студентов на занятии**

#### **Студент должен знать:**

1. Структурную организацию белковой молекулы.
2. Связи, стабилизирующие структуры белка.
3. Специфические свойства аминокислот.
4. Качественные и количественные реакции.

#### **Студент должен уметь:**

1. Анализировать качественные реакции на определение аминокислот.
2. Определить количественное содержание белка в плазме крови.

### III. Содержание обучения:

#### Основные вопросы

1. Структурная организация белков
  - первичная
  - вторичная
  - третичная
  - четвертичная
2. Специфические свойства аминокислот
3. Методы химического определения белка
4. Определение N-концевых и C-концевых аминокислот

#### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

##### Лабораторные работы:

1. Качественные реакции на определение отдельных аминокислот в белках:
  - а) биуретовая реакция;
  - б) ксантопротеиновая реакция (Мульдера);
  - в) реакция Сакагучи;
  - г) реакция Миллона;
  - д) реакция Адамкевича;
  - е) реакция Фоля.
2. Качественное определение белка по методу Биурета.

#### V. Наименование лабораторной работы

##### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

##### Качественные реакции на определение отдельных аминокислот в белках.

##### а) Биуретовая реакция (обнаружение пептидных связей).

**Принцип метода:** Появление цветного окрашивания при биуретовой реакции вызвано образованием комплексного соединения меди с белком или пептидом.

**Методика выполнения:** к трем каплям раствора белка добавляют одну каплю раствора сульфата меди и три капли едкого натра. Делают выводы по работе.

#### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Экзэргонические и эндэргонические реакции.
2. Источник энергии для синтеза АТФ.
3. Глюкоза, как конечный продукт превращения пищевых углеводов.
4. Пути использования глюкозы в клетке.
5. Фосфорилирование глюкозы, как необходимый этап окисления глюкозы.

#### VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Виды анаэробного распада углеводов в организме.
2. Понятие гликолиз, гликогенолиз, их биологическая роль.
3. Пусковая реакция гликогенолиза.
4. Основные этапы гликолиза и ферменты, осуществляющие реакции процесса.
5. Локализация в клетке.
6. Гликолитическая окислоредукция.
7. Необратимые реакции гликолиза и ферменты, их катализирующие.
8. Лактат – дегидрогеназная реакция, источник «Н» для нее и конечный продукт гликолиза.
9. Реакции накопления энергии в гликолизе.
10. Роль гликолиза и гликогенолиза в энергообразовании.

#### Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

1. Активность ферментов гликолиза у плода и новорожденных.
2. Изменение активности ЛДГ сыворотки крови в онтогенезе.
3. Динамика изменения содержания лактата крови раннего постнатального периода.

### III. Содержание обучения.

#### Основные вопросы:

1. Общая схема источников и путей расходования глюкозы в организме.
2. Анаэробный распад глюкозы, гликогенолиз. Ферменты гликолиза, их локализация. Гликолитическая оксидоредукция; пируват, как акцептор водорода.
3. Субстратное фосфорилирование при гликолизе.
4. Распределение и физиологическое значение анаэробного распада глюкозы. Энергетический выход гликолиза.

### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

#### Лабораторные работы:

1. Качественная реакция на молочную кислоту (реакция Уффельмана).

### V. Наименование лабораторной работы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

#### Качественная реакция на молочную кислоту (реакция Уффельмана)

**Принцип метода:** Молочная кислота в присутствии фенолята железа (реактив Уффельмана), окрашенного в фиолетовый цвет, образует лактат желто-зеленого цвета.

**Порядок выполнения работы:** Мышцы измельчают ножницами и растирают их в ступке с небольшим количеством кварцевого песка в течение 3 минут, прибавив 5 капель воды до получения гомогенной массы. Затем приливают 3 мл воды, перемешивают и фильтруют через смоченную водой вату. 15 капель фильтрата добавляют по каплям к реактиву Уффельмана.

**Предполагаемые результаты:** В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска жидкости переходит в желто-зеленую, т.к. образуется лактат.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **б) Ксантопротеиновая реакция (Мульдера).**

**Принцип метода:** Белки, содержащие тирозин и триптофан (аминокислоты, имеющие в своей молекуле ароматическое кольцо), могут легко нитроваться с образованием окрашенных нитропроизводных.

**Методика выполнения:** Берут три микрохимические пробирки. В первую вносят две капли фенола (раствора), во вторую- две капли раствора тирозина или триптофана, в третью столько же капель раствора белка. В каждую пробирку добавляют по капле азотной кислоты (концентрированной). После нагревания отмечают появление желтого окрашивания.

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **в) Реакция Сакагучи**

**Принцип метода:** Белки в присутствии щелочи дают красное окрашивание с гипобромидом  $\alpha$ -нафтолом. Реакция обусловлена наличием в белке аминокислоты аргинина, имеющей в своем составе гуанидиновую группировку, которая окисляется гипобромидом, соединяясь с нафтолом, образует продукт конденсации красного цвета.

**Методика выполнения:** В одну пробирку наливают пять капель 1% яичного белка, в другую – пять капель 1% раствора желатина. В каждую пробирку добавляют по пять капель 10%-ного едкого натра, три капли 0, 1%-ного спиртового раствора  $\alpha$ -нафтола и по каплям (1-5 капель) 2%-ного раствора гипобромита натрия. Жидкость окрашивается в красный цвет.

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### **г) Реакция Миллона**

**Принцип метода:** Тирозин, содержащий фенольный гидроксил с реактивом Миллона (смесь азотнокислых солей окиси и

закуси ртути) дает красное окрашивание раствора. Эта реакция является специфичной для тирозина при изучении аминокислотного состава гидролизатов белков.

**Методика выполнения:** Берут три микрохимические пробирки. В первую вносят по три капли раствора тирозина, во вторую – столько же белка, в третью – фенола. Добавляют в каждую пробирку по одной капле реактива Миллона и нагревают. В пробирках с тирозином и фенолом возникает кирпично-красное окрашивание, в пробирке с белком – белый осадок, затем краснеет при нагревании.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**д) Реакция Адамкевича**

**Принцип метода:** При взаимодействии триптофана с глиоксиловой кислотой (ледяная уксусная кислота содержит примесь глиоксиловой) образуется соединение фиолетового цвета.

**Методика выполнения:** В одну пробирку вводят три капли раствора триптофана, в другую – три капли раствора белка. В каждую пробирку добавляют по три капли уксусной кислоты и нагревают, не доводя до кипения. После охлаждения добавляют по стенке десять капель концентрированной серной кислоты. При стоянии на границе между кислотой и исследуемой жидкостью появляется фиолетовое окрашивание.

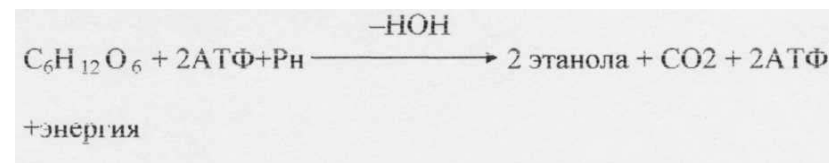
**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**е) Реакция Фоля**

**Принцип метода:** Серосодержащие аминокислоты при кипячении со щелочью теряют серу, которая отщепляется в виде сероводорода. Сероводород взаимодействует со щелочью, образует сульфиды, которые можно обнаружить с помощью ацетата свинца. При добавлении ацетата свинца сульфиды образуют коричневый или черный осадок сульфида свинца.

**Методика выполнения:** В микрохимическую пробирку вносят три капли 0,4%-ного раствора цистеина, в другую – три кап-



Биологическая роль процессов брожения состоит в том, что микроорганизмы, расщепляя своими ферментами углеводы, получают аккумулированную в АТФ энергию, которую они используют для своей жизнедеятельности. В организме человека процесс брожения происходит в толстом кишечнике.

Биологическая роль гликолиза заключается в том, что интенсивно работающие мышцы в условиях недостаточно обеспечивающих их кислородом, получают значительное количество энергии: в процессе гликолиза путем субстратного фосфорилирования синтезируется 4 АТФ. Так как в начале процесса 2 АТФ расходуется на активирование гексозы, то накопление составляет 2 АТФ на каждую молекулу расщепившейся глюкозы. В процессе гликогенолиза путем субстратного фосфорилирования синтезируется 4 АТФ, расходуется 1 АТФ, чистый прирост – 3 АТФ на 1 мол распада гликогена.

**II. Цель деятельности студентов на занятии.**

**Студент должен знать:**

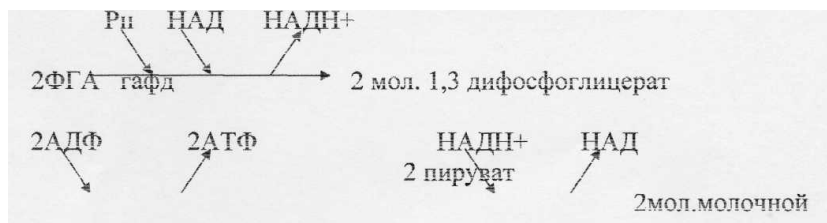
1. Пути расходования глюкозы в организме.
2. Характеристику анаэробного распада глюкозы (характеристику подготовительного этапа).
4. Ферменты гликолиза.
5. Гликолитическую оксидоредукцию.
6. Субстратное фосфорилирование, как источник образования энергии при гликолизе.
7. Энергетический выход гликолиза.

**Студент должен уметь:**

1. Открывать конечные продукты гликолиза.
2. Интерпретировать соответствующие результаты и выводы.

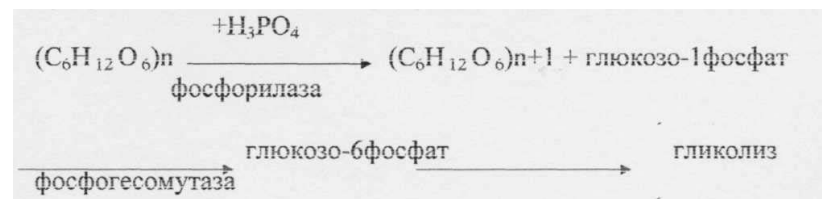
кой связи и второму субстратному фосфорилированию с синтезом 2 АТФ.

Восстановление пирувата в лактат – конечный продукт гликолиза.



Лактат из мышечной клетки диффундирует в кровь, из которой его поглощают сердечная мышца и печень. Сердечная мышца окисляет лактат в пируват и расщепляет дальше через ЦТК, извлекая энергию для сократительной функции. Печень может не только подвергать молочную кислоту окислительному распаду, но и превращать ее в глюкозу.

Гликогенолизом обозначается процесс распада гликогена, который начинается с отщепления в фосфорилазной реакции глюкозо-1-фосфата, в которой фосфоглюкомутаза глюкозо-1-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат, включающийся в гликолиз.



Следовательно, в подготовительной стадии гликогенолиза, в фосфофруктокиназной реакции, расходуется только 1 мол АТФ.

Под брожением понимаем распад глюкозы микроорганизмами в анаэробных условиях. Анаэробное окисление в этом процессе завершается образованием этанола:

ли белка. В каждую пробирку добавляют по три капли 30%-ного едкого натра и осторожно нагревают в течении двух минут. После охлаждения добавляют каплю ацетата свинца.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

### Количественное определение белка по методу Биурета.

Количественные методы определения белка имеют большое значение для диагностики ряда патологических состояний. Знание величины содержания общего белка в плазме крови позволяет не только выявить синдромы гипер- и гипопроteinемии, но и произвести расчет концентрации различных фракций.

**Принцип метода:** Белки сыворотки (плазмы) крови, реагируя в щелочной среде с сернокислой медью, образуют соединения, окрашенные в фиолетовый цвет.

**Методика выполнения:** К 5 мл раствора биуретового реактива добавляют, избегая образования пены, 0, 1 мл сыворотки крови. Через 30 минут пробу колориметрируют на ФЭЖе в кювете с шириной слоя 10мм при зеленом светофильтре (с пропусканием 546 нм). Показатель экстинкции учитывают в сравнении с контрольной пробиркой. Расчет ведут по калибровочной кривой.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Уровни организации белковой молекулы.
2. Первичная структура белка. Теория Фишера.
3. Связи, стабилизирующие первичную структуру.
4. Пространственная конфигурация полипептидной цепи. Вторичная структура и связи ее стабилизирующие.
5. Надвторичная структура. Понятие «домен».
6. Третичная структура белка, связи, стабилизирующие ее, их характеристики.

7. Четвертичная структура белка, понятие об олигомерных белках.

8. Понятие об «изоферментах».

### VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Каково строение белковой молекулы? Что такое  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -структура полипептидной цепи?

2. Дайте определение первичной структуры белка. Какая связь её формирует, как она возникает?

3. Что такое вторичная структура, какие связи ее стабилизируют, изобразите.

4. Дайте определение третичной структуре, какие связи участвуют в ее формировании, как они возникают?

5. Дайте определение четвертичной структуре. Какие связи участвуют в ее формировании.

6. Охарактеризуйте принцип комплементарности при формировании четвертичной структуры.

7. Охарактеризуйте эффект Бора.

8. Какие вещества называют пептидами, как обозначаются концы полипептидной цепи.

9. Опишите ксантопротеиновую реакцию.

10. Опишите реакцию Миллона.

11. Перечислите химические связи, которые могут возникать между функциональными группами радикалов аминокислот внутри одной полипептидной цепи, а также между отдельными полипептидными цепями в белках.

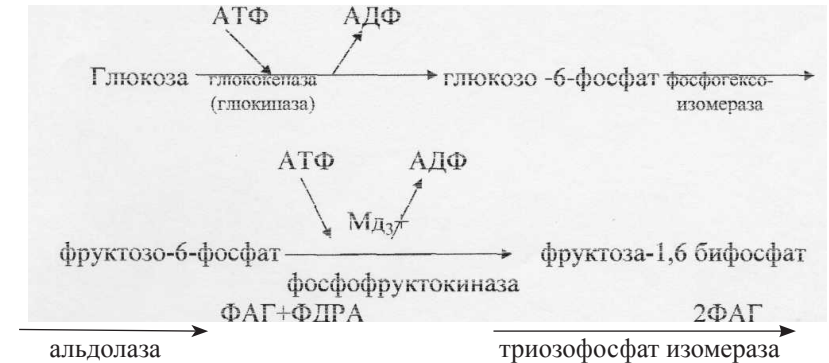
12. Какие белки называют глобулярными, а какие фибриллярными?

### Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

Значение незаменимых аминокислот для формирования детского организма.

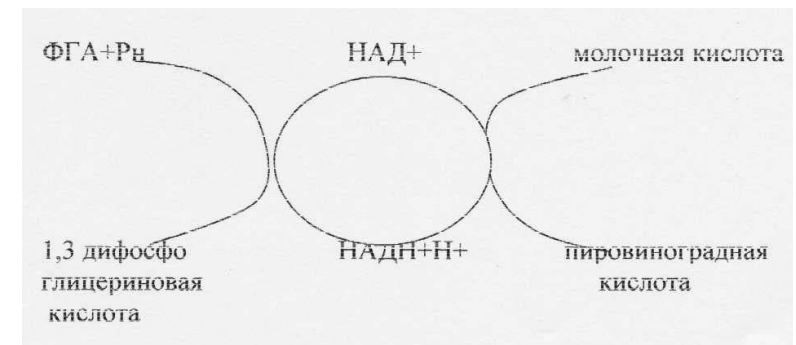
### VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени – 3 часа (135).



Окислительная стадия гликолиза начинается с НАД-зависимой глицеральдегидфосфат-дегидрогеназной реакции, в которой ФГА окисляется до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты с одновременным образованием НАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), восстанавливающим в лактатдегидрогеназной реакции пируват в лактат.

Сопряженное взаимодействие между указанными реакциями гликолиза – «гликолитическая оксидоредукция» – может быть представлена схемой:



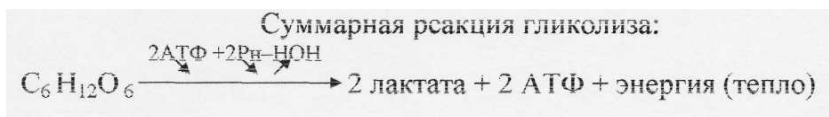
Окисление ФГА сопровождается фосфорилированием, перераспределением энергии и образованием макроэргической связи с последующим синтезом 2 АТФ путем первого субстратного фосфорилирования. Внутримолекулярное окисление фосфоглицерата (енолазная реакция), ведет к возникновению макроэргичес-

## ЗАНЯТИЕ 3

### Тема: КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ, ГЛИКОЛИЗ, ГЛИКОГЕНОЛИЗ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Распад углеводов в клетке является основным (до 56 %) источником энергии для процесса жизнедеятельности. В зависимости от доступности и участия или неучастия кислорода распад углеводов может быть аэробным и анаэробным. В организме человека протекают следующие виды анаэробного окисления глюкозы: гликолиз, гликогенолиз и брожение. Анаэробный гликолиз является основным путем образования энергии в работающей скелетной мышце в условиях дефицита кислорода в эмбриональной ткани, в первые дни постнатального периода, в эритроцитах и клетках злокачественного роста. Ферменты, катализирующие реакции гликолиза, локализованы в гиалоплазме.



Реакции гликолиза протекают в две стадии:

1. Подготовительная.
2. Окислительная.

Подготовительная стадия включает в себя:

1. Активацию гексозы с образованием фруктозо-1,6 – дифосфата;
2. Дихотомический распад активированной гексозы пополам с возникновением двух фосфотриоз: фосфоглицеринового альдегида (ФГА) и фосфодиоксиацетона (ФДОА);
3. Реакции изомеризации указанных фосфотриоз, завершающие первую стадию гликолиза;

2. Переключка – 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы – 60 минут.
4. Тестовый опрос – 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов – 10 минут.

#### IX. Самостоятельная работа студентов

1. Химический состав и химические свойства протаминов и гистонов.
2. Альбумины и глобулины.
3. Самосборка клеточных органелл и вирусных частиц.

#### УИРС:

- 1) Третичная, четвертичная структура белка и их роль в функциональной активности белков.
- 2) Методы качественного определения белка.
- 3) Роль гистонов в синтезе нуклеопротеидов.
- 4) Методы определения N-концевых и C-концевых аминокислот.

#### X. Список используемой литературы

##### Обязательная

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С. Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С. Северина и проф. А.Я. Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 стр.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека М.: Наука, 1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии М.: Мир, 1979.

*Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 с.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека – М.: Наука, 1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. – М.: Мир, 1979.

*Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. – М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета (Под редакцией Ермолаева). 1977.



7. Глюкоза – конечный продукт расщепления пищевых углеводов.

*Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:*

1. Потребность организма ребенка в углеводах.
2. Основной тип пищеварения у детей раннего возраста.

### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль – 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы – 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа – 80 минут.
5. Подведение итогов занятия – 15 минут.
6. Всего 135 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студентов**

1. Пристеночное переваривание углеводов

### **X. Список используемой литературы**

*Обязательная:*

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С. Северина. – М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С. Северина и проф. А.Я. Николаева. – М: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)»

**Тема: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ**

### **I. Научно-методическое обоснование темы:**

Для белков наиболее характерны следующие основные физико-химические свойства: высокая вязкость, диффузия, диализ, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, осмотическое давление, денатурация белков, молекулярная масса белков.

Белки амфотерны, благодаря наличию свободных  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ - групп. Для них характерны все свойства кислот и оснований. Белки обладают явно выраженными гидрофильными свойствами. Растворы белков имеют очень низкое осмотическое давление, высокую вязкость и незначительную способность к диффузии. Белки способны к набуханию в очень больших пределах.

#### **Молекулярная масса белков.**

Белки – высокомолекулярные соединения, в состав которых входят сотни и даже тысячи аминокислотных остатков, объединенных в макромолекулярную структуру. Молекулярная масса колеблется от 6000 до 1000000Д и выше, и зависит от количества полипептидных цепей в составе единой молекулярной структуры белка. Такие полипептидные цепи называют субъединицами. Их молекулярная масса варьирует от 6000 до 100000 и более.

Для огромного количества встречающихся в природе белков химическое строение не выявлено, поэтому основными методами определения молекулярной массы все еще остаются физико-химические методы (гравиметрические, осмометрические, вискозиметрические, электрофоретические, оптические и др.).

Определение молекулярной массы белков методами седиментационного анализа проводят в ультрацентрифугах, в которых удается создать центробежные ускорения (g), превышающие в 200000 и более раз ускорение земного притяжения. Вычисляют по скорости седиментации молекул белка или седиментационному равновесию. По мере перемещения молекул от центра к периферии образуется резкая граница растворитель-белок (регистрируется автоматически). Оптические свойства растворителя и

белка используются при определении скорости седиментации; последнюю выражают через константу седиментации  $S$ , которая зависит как от массы, так и от формы белковой частицы:

$$S = \frac{V}{W^2 \cdot r}$$

где  $V$  – скорость перемещения границы растворитель–белок, см/с;  $W$  – угловая скорость ротора, рад/с,  $r$  – расстояние от центра ротора до середины ячейки с раствором белка, см.

Константа седиментации имеет размерность времени (в сек.). Величина константы седиментации равна  $1 \cdot 10^{-13}$  с, условно принята за единицу и названа сведбергом ( $S$ ).

Значения констант седиментации большинства белков лежат в пределах 1-50  $S$ , хотя в ряде случаев эти значения превышают 100  $S$ . Для вычисления  $M$  необходимы сведения о плотности растворителя и белка и другие согласно уравнению Сведберга:

$$M = \frac{R \cdot T \cdot s}{D(1 - \nu p)}$$

где  $R$  – газовая постоянная орг/(моль град),  $T$  – абсолютная  $t$  (по шкале Кельвина),  $S$  – константа седиментации,  $p$  – плотность растворителя,  $\nu$  – парциальный удельный объем молекулы белка,  $D$  – коэффициент диффузии.

Определение  $M$  белков методом ультрацентрифугирования требует много времени и сложной, дорогостоящей аппаратуры. Разработаны 2 более простых метода (гель-хроматография и электрофорез). При использовании диск-электрофореза в полиакриламидном геле для определения  $M$  белков строят график зависимости между логарифмом молекулярной массы калибровочных белков и подвижностью белковых частиц в полиакриламидном геле, а затем, определив подвижность исследуемого белка, по графику находят его массу.

Электрофорез проводят в присутствии детергента додецилсульфата натрия, т.к. только в этом случае наблюдается прямая пропорциональная зависимость между молекулярной массой и подвижностью белков.

Продукты расщепления крахмала	Результат	
	Окрашивание реактивом Люголя	Реакция Фелинга
Амилдекстрины	Синее	Осадок + $\text{CH}_2\text{O}$ красного цвета
Эритродекстрины	Красное	
Ахродекстрины	Не окрашиваются	
Мальтодекстрины	Не окрашиваются	
Глюкоза		

### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### **VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний**

1. Энергетическая ценность углеводов.
2. Характеристика амилолитических ферментов и их специфичность.
3. Механизм транспорта органических веществ через полупроницаемые мембраны (пассивная диффузия и активный транспорт).

### **VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний**

1. Энергетическая ценность углеводов пищи.
2. Характеристика ферментов, расщепляющих пищевые углеводы в желудочно-кишечном тракте.
3. Понятие о полостном и пристеночном пищеварении и его роль в процессах всасывания.
4. Механизм транспорта моносахаридов из полости кишечника в энтероцит.
5. Вторично активный транспорт моносахаридов в кровь.
6. Реакции взаимопревращения галактозы и фруктозы в глюкозу.

### III. Содержание обучения.

#### Основные вопросы:

1. Основные углеводы пищи, суточная потребность.
2. Переваривание углеводов, ферменты, участвующие в этом процессе.
3. Понятие о полостном и пристеночном пищеварении.
4. Всасывание продуктов расщепления углеводов.
5. Реакции изомерных превращений гексоз.

### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

#### Лабораторные работы:

1. Действие амилазы поджелудочной железы на крахмал.

#### Наглядные пособия:

Таблицы

### V. Наименование лабораторной работы

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

#### Действие амилазы поджелудочной железы на крахмал

**Принцип метода:** метод основан на определении промежуточных продуктов расщепления крахмала – декстринов, которые по разному окрашиваются реактивом Люголя и конечного продукта – глюкозы по ее способности восстанавливать реактив Фелинга.

**Порядок выполнения работы:** В две микрохимические пробирки вносят по 10 капель вытяжки из поджелудочной железы. Содержимое одной пробирки кипятят над спиртовкой, охлаждают. Затем в обе пробирки вносят по 5 капель раствора крахмала и по капле раствора хлористого натрия (активатор амилазы). Пробирки помещают в водяную баню при 37°C. Через каждые 5 минут гидролизат отбирают в отдельные пробирки и реактивом Люголя проверяют появление декстринов по характерному окрашиванию. С остатком гидролизата ставят реакцию Фелинга.

Масс-спектрометрический метод (лазерный десорбционноионизационный метод) позволяет определить М небольших пептидов (инсулин, вазопрессин) и крупных биополимерных молекул и, кроме того, структуру биомолекул.

#### *Форма белковых молекул*

По форме молекул белки делятся на глобулярные и фибриллярные.

Глобулярные белки имеют более компактную структуру, их гидрофобные радикалы в большинстве своем спрятаны в гидрофобное ядро, и они значительно лучше растворимы в жидкостях организма, чем фибриллярные белки (исключение составляют мембранные белки).

Благодаря применению сканирующей микроскопии и рентгеноструктурного анализа удалось в деталях расшифровать не только полную пространственную структуру, форму, но и степень асимметрии белковых молекул во всех трех измерениях.

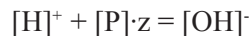
#### *Изоэлектрическая и изоионная точки белков*

В изоэлектрической точке суммарных заряд белков, обладающих амфотерными свойствами, равен 0 и белки не перемещаются в изоэлектрическом поле. Зная аминокислотный состав белка, можно приближенно определить изоэлектрическую точку (pI); pI является характерной константой белков.

Изоэлектрическая точка лежит в пределах от 5,5 до 7,0, что свидетельствует о частичном преобладании кислых аминокислот. Однако в природе имеются белки, у которых значения изоэлектрических точек лежат в крайних значениях pH среды, pI пепсина равна 1, а сальмина – почти 12.

В изоэлектрической точке белки наименее устойчивы в растворе и легко выпадают в осадок.

Раствор белка называется изоионным, если он не содержит никаких других ионов, кроме ионизированных остатков аминокислот белковой молекулы и ионов, образующихся при диссоциации воды. Для освобождения белка от посторонних ионов, раствор пропускают через колонку, наполненную смесью анионо- и катионообменников. Изоионной точкой данного белка принято называть значение pH изоионного раствора этого белка:



где Р – молярная концентрация белка, Z – средний заряд молекулы.

Изоионная точка белка зависит от его концентрации.

### ***Денатурация белков.***

Под влиянием различных физических и химических факторов белки подвергаются свертыванию и выпадают в осадок, теряя нативные свойства. Под денатурацией следует понимать нарушение общего плана уникальной структуры нативной молекулы белка, преимущественно ее третичной структуры, приводящее к потере характерных для нее свойств (растворимость, электрофоретическая подвижность, биологическая активность). Большинство белков денатурирует при нагревании их растворов до 50-60°С.

Наиболее характерным признаком денатурации является резкое снижение или полная потеря белком его биологической активности (каталитической, антигенной или гормональной).

При денатурации белка, вызванной 8М мочевиной или другим агентом, разрушаются в основном нековалентные связи (в частности, гидрофобные взаимодействия и водородные связи).

Дисульфидные связи в присутствии восстанавливающего агента меркаптоэтанола разрываются, в то время как пептидные связи самого остова полипептидной цепи не затрагиваются. В этих условиях разворачиваются глобулы нативных белковых молекул и образуются случайные и беспорядочные структуры.

При непродолжительном воздействии и быстром удалении денатурирующих агентов возможна ренатурация белка с полным восстановлением исходной трехмерной структуры и нативных свойств его молекулы, включая биологическую активность.

При денатурации белковая молекула полностью теряет биологические свойства, демонстрируя тем самым тесную связь между структурой и функцией.

Для практических целей иногда используют процесс денатурации в «мягких» условиях (в условиях низкой t, в присутствии солей, и соответствующем значении pH) например, при получении ферментов или других биологически активных белковых препаратов.

характерен феномен «насыщения». Различие заключается в том, что при активном транспорте субстрат не изменяется, тогда как при ферментативной реакции субстрат превращается в продукт реакции.

В процессе всасывания моносахариды попадают из энтероцита в портальную систему и печень. Важнейшие пищевые гексозы – глюкоза, галактоза, фруктоза, манноза могут взаимопревращаться друг в друга в энтероците и особенно интенсивно в печени.

Галактоземия – это врожденное наследственное заболевание, связанное, с недостаточной активностью в печени фермента гексоза-1-фосфатуридилтрансферазы. Вследствие дефицита этого фермента галактоза, поступающая в организм новорожденного в составе лактозы материнского молока не превращается в глюкозу, концентрация ее в крови повышается и она в тканях восстанавливается альдозоредуктазой в токсический спирт – галактит (дульцит). В результате развивается задержка роста, катаракта (помутнение хрусталика глаза), умственная отсталость. Ребенок специально переводится на безгалактозную диету. При этом необходимая для синтеза гетерополисахаридов и гликопротеидов активная УДФ-галактоза образуется в нужных количествах из УДФ-глюкозы с помощью фермента – эпимеразы.

## **II. Цель деятельности студентов на занятии**

### ***Студент должен знать:***

1. Значение углеводов для организма, включая энергетическое значение.
2. Ферменты, необходимые для гидролитического расщепления углеводов в желудочно-кишечном тракте.
3. Значение полостного и пристеночного пищеварения.
4. Особенности пристеночного пищеварения.
5. Продукты всасывания и взаимопревращения гексоз в гепатоците.

### ***Студент должен уметь:***

1. Определять активность амилазы.
2. Интерпретировать полученные результаты.
3. Сделать соответствующие выводы.

рованными клетками кишечника на поверхности клеточных мембран (пристеночное пищеварение) или внутриклеточно.

Продуктами полного переваривания углеводов пищи являются: глюкоза, фруктоза, галактоза.

Трансцеллюлярный транспорт моносахаридов включает в себя пассивную диффузию и вторично активный транспорт. Пассивно диффундируют молекулы пентоз (кроме ксилозы), а также спирты. Вторично-активный транспорт характерен для галактозы, глюкозы, фруктозы, маннозы и ксилозы. Через мукозную поверхность моносахариды абсорбируются по градиенту концентрации из полости тонкого кишечника в энтероцит. Для ускорения этого переноса функционируют специализированные мембранные белковые переносчики. Этот процесс является облегченной диффузией. Сульфгидрильная группа переносчика гликозилируется на наружной поверхности апикальной мембраны энтероцита, а к другому участку переносчика присоединяется ион  $\text{Na}^+$ . В результате меняется конформация переносчика и глюкоза транспортируется в энтероцит. Эффективность всасывания происходит с различными скоростями. По уменьшению скорости всасывания моносахариды распределяются следующим образом: галактоза – глюкоза – фруктоза – манноза – ксилоза – арабиноза. Глюкоза, галактоза и ксилоза переносятся одной и той же транспортной системой, что объясняет существование конкурентного торможения всасывания (например, галактоза подавляет транспорт глюкозы).

Через базолатеральную мембрану энтероцита  $\text{Na}^+$  активно выталкивается АТФазой за счет энергии гидролиза АТФ, создается градиент, обратный направлению транспорта глюкозы в клетку. Эта энергия гидролиза АТФ используется и для транспорта глюкозы

Таким образом, активный перенос глюкозы через базолатеральную мембрану энтероцита обеспечивается энергосистемами натриевого насоса против градиента концентрации. Этот механизм активного транспорта сходен с ферментативными процессами связывания субстрата с активным центром специализированного белка, скорость соответствующих реакций зависит от концентрации белка-фермента или белка-носителя, то есть для них

## **II. Цель деятельности студентов на занятии**

### ***Студент должен знать:***

1. Основные физико-химические свойства белков.
2. Методы осаждения белка.

### ***Студент должен уметь:***

1. Произвести высаливание белков.
2. Анализировать результаты практических работ.
3. Осаждать белки различными веществами.

## **III. Содержание обучения:**

### **Основные вопросы**

1. Основные физико-химические свойства:
  - а) высокая вязкость
  - б) диффузия, диализ.
  - в) оптическая активность
  - г) подвижность в электрическом поле
  - д) осмотическое давление
  - е) денатурация белков (факторы денатурации)
  - ж) молекулярная масса белков
  - з) необратимое осаждение.
2. Методы осаждения:
  - а) необратимое
    - солями тяжелых металлов
    - алкалоидными реактивами
    - минеральными кислотами
    - органическими кислотами
    - при нагревании
  - б) обратимые реакции осаждения
    - органическими растворителями
    - концентрированными растворами нейтральных солей.

## **IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО**

### **Лабораторные работы:**

1. Осаждение белка солями тяжелых металлов.

2. Осаждение белка алкалоидными реактивами.
3. Осаждение белка конц. минеральными кислотами.
4. Осаждение белка органическими растворителями.
5. Высаливание белков.

**Наглядные пособия:**

*Таблицы*

## **V. Наименование лабораторной работы**

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.**

#### **Разделение белковых фракций методом высаливания**

##### **а). Осаждение белка солями тяжелых металлов**

**Принцип метода:** Соли тяжелых металлов образуют с белками малорастворимые соединения, а в избытке солей наблюдается растворение первоначально выпавшего осадка. Это свойство белков – связывание тяжелых металлов используется в медицинской практике как противоядие при отравлении.

**Методика выполнения:** По две капли раствора белка вносят в три микрохимические пробирки. В первую пробирку добавляют 1 каплю раствора сернокислой меди, во вторую сернокислый цинк, в третью – уксусно-кислый свинец. В выпавшие осадки добавляют остатки данных солей.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

##### **б) Осаждение белка алкалоидными реактивами.**

**Принцип метода:** Алкалоиды нашли применение при лечении ожогов. Обработка алкалоидами поражённой области приводит к денатурации белка и образованию защитного слоя, препятствующего обезвоживанию тканей и проникновению инфекции. Осаждение белка алкалоидными реактивами обусловлено наличием в белке азотистых гетероциклических группировок, аналогичных, тем, которые находятся в молекуле алкалоидов (пиррольных, индольных). Более полное осаждение белка наблю-

## **ЗАНЯТИЕ 2**

**Тема: ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ, ВСАСЫВАНИЕ, ТРАНСПОРТ В КРОВИ**

### **I. Научно-методическое обоснование темы:**

Многие ткани обладают специфической потребностью в глюкозе, которая не обязательно должна поступать с пищей, поскольку в нее легко превращаются другие пищевые углеводы в процессе переваривания. Суточная потребность организма в углеводах составляет 6-7 г. на кг массы тела, а минимальное дневное потребление, предотвращающее кетоз и потерю мышечного белка у человека – 50-100 г. Грудной ребенок должен получать 10-15 г. углеводов на 1 кг/массы тела. Дети старшего школьного возраста – 15 г на кг тела при усиленной мышечной работе. Основным источником углеводов является пища растительного и животного происхождения. Мучные изделия, крупы и картофель поставляют крахмал, пищевой сахар и свекла – сахарозу, злаки – мальтозу, фрукты и мед – фруктозу и глюкозу. Продукты животного происхождения являются источниками лактозы и гликогена.

Пищевые дисахариды (мальтоза, лактоза, сахароза) и полисахариды (крахмал и гликоген) гидролизуются гликозидазами пищеварительного тракта до мономеров. Полисахариды подвергаются этому процессу ступенчато и поэтому освобождение глюкозы происходит постепенно. Крахмал начинает гидролизываться в ротовой полости  $\alpha$ -амилазой слюны, которая секретируется слюнными железами, до крупномолекулярных декстринов, т. к. фермент атакует внутренние гликозидные связи. После попадания пищи в желудок действие слюнной амилазы прекращается, т.к. пищевой комок пропитывается кислотой, инактивирующей фермент (рН – оптимум амилазы – 6,9-7,0). Крахмал, декстрины, гликоген перевариваются до мономеров в тонком кишечнике панкреатической амилазой до олигосахаридов (разрушаются 1,4 гликозидные связи). Сохранившиеся в точках ветвления 1,6 гликозидные связи гидролизуются панкреатическими амило-1,6- или олиго-1,6- гликозидазами. Мальтоза, лактоза и сахароза гидролизуются соответственно мальтазой, лактазой, сахаразой, синтези-

ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.:Гэотар-мед», 2001. 441 с.

4. Строев Е.А. «Биологическая химия», Москва, 1986.

5. Дзугоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. – М.: Наука, 1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. – М.: Мир, 1979.

#### **Дополнительная:**

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. – М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета (Под редакцией Ермолаева). 1977.

дается при перезарядке белковой молекулы на положительный заряд.

**Методика выполнения:** В три пробирки наливают по 5 капель 1 % яичного белка, по 1 капле 1% уксусной кислоты и по 2-3 капли в первую пробирку 10% раствора пикриновой кислоты, во вторую – насыщенного раствора таннина, в третью – 5% раствора железистосинеродистого калия.

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

#### **в) Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами.**

**Принцип метода:** Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами объясняется как явлением дегидратации белковых частиц, так и нейтрализации их зарядов. В избытке серной и соляной кислот выпавший осадок денатурированного белка растворяется. В избытке азотной кислоты этого растворения не происходит. Возможно, что ион  $\text{NO}_3^-$  мешает перезарядке белковой молекулы. Реакция осаждения белка азотной кислотой используется при клинических исследованиях мочи на присутствие и количественное содержание в ней белка.

**Методика выполнения:** В три пробирки наливают по 15-20 капель концентрированной соляной, серной, азотной кислот. Наклонив пробирку под углом  $45^\circ$ , осторожно по стенке пробирки наливают равный объём белка. Появившийся осадок встряхнуть

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

#### **г) Осаждение белка органическими кислотами**

**Принцип метода:** Трихлоруксусная и сульфасалициловая кислоты являются очень чувствительными специфическими реактивами на белок и поэтому широко используются в клинической практике для доказательства наличия белка в биологических жидкостях, т. е. применяются в диагностических и прогностических целях.

**Методика выполнения:** В две пробирки наливают по 5 ка-

пель 1% белка, в одну пробирку **добавляют 1-2 капли 10% раствора** сульфасалициловой, в другую – 1–2 капли 10% раствора трихлоруксусной кислоты.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

**д) Осаждение белка органическими растворителями.**

**Принцип метода:** Белки не растворимы во многих органических растворителях (спирт, ацетон, эфир и др.). Однако их осаждение происходит только из нейтральных и слабокислых растворов и особенно полно в присутствии электролитов. Органические растворители регидратируют частицы белка, разрушают водную оболочку и, тем самым, понижают их устойчивость в растворе.

**Методика выполнения:** В пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка и 20 капель спирта или ацетона, раствор мутнеет. При добавлении нескольких капель насыщенного раствора хлорида натрия выпадает осадок белка.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**е) Высаливание белков**

**Принцип метода:** Если прибавлять к растворам белка соли щелочных и щелочноземельных металлов (сульфат аммония, сульфат натрия, хлористый натрий, серноокислый магний), то их ионы, несущие заряд противоположный заряду белковых частиц, адсорбируются на последних и, делая их электронейтральными, понижают их устойчивость в растворе. Данный процесс носит название высаливания, и является обратимым процессом.

Осадки белков могут быть вновь растворены после уменьшения концентрации солей диализом или разделением водой.

**Методика выполнения:** В пробирку наливают 20 капель неразведенного яичного белка, добавляют равный объём насыщенного раствора сульфата аммония, содержимое перемешивают, выпадает осадок яичного глобулина.

Осадок отфильтровывают и в фильтрате остается яичный альбумин. Для высаливания альбумина к фильтрату добавляют

Классификация полисахаридов.

Гомополисахариды (крахмал, гликоген, клетчатка). Их структура, свойства, биологическая роль.

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Классификация углеводов.
2. Назовите основные представители моносахаридов.
3. Структура и свойства моносахаридов.
4. Назовите основные представители дисахаридов.
5. Структура и свойства дисахаридов.
6. Структура и свойства крахмала и гликогена.
7. Гетерополисахариды. Основные представители, их биологическая роль.

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени – 3 часа ( 135 минут)
2. Устный разбор материала – 60 мин
3. Проверка конечного уровня знаний – 20 мин
4. Лабораторная работа – 45 мин
5. Оформление протоколов – 10 мин

**IX. Самостоятельная работа.**

Свойства и распространение гликогена как резервного полисахарида.

Участие гиалуроновой и хондроитинсерной кислот в организации и функции межклеточного вещества.

**X. Список используемой литературы:**

**Обязательная:**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. – М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. – 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под



### Гидролиз сахарозы.

В микрохимическую пробирку вносят 3-4 капли раствора сахарозы и 2 капли серной кислоты, нагревают пробирку до кипения. После 1-2 минут нагревания пробирку охлаждают, добавляют 4 капли раствора едкого натра и 1 каплю раствора сульфата меди. Нагревают жидкость до кипения. Освободившиеся при гидролизе моносахариды восстанавливают медь, давая желтое или красное окрашивание.

**Предполагаемые результаты:** Отмечается желтое или красное окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3. Цветные реакции на крахмал и гликоген

**Принцип работы:** В качестве реактива на крахмал и гликоген используется раствор Люголя. Он представляет собой раствор йода и йодистого калия в воде (напомним, что йод образует с йодистым калием легко растворимый в воде комплекс). Крахмал окрашивается раствором Люголя в синий цвет, а гликоген в красно-бурый.

**Порядок выполнения работы.** Вводят в микрохимическую пробирку 3 капли раствора крахмала, прибавляют каплю раствора Люголя, отмечают красно-бурое окрашивание. Сопоставляют это окрашивание с окраской, возникающей при смешивании в пробирке трех капель воды с каплей раствора Люголя.

**Предполагаемые результаты:** Появится красно-бурое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Классификация углеводов.

Моносахариды (альдозы и кетозы). Структура, представители, свойства.

Дисахариды. Их представители, структура и свойства.

измельченный порошок сульфата аммония. Выпавший осадок отфильтровывают, с фильтратом проделывают биуретовую реакцию. Отрицательная реакция указывает на отсутствие белка.

### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Какие физико-химические свойства вы знаете?
2. От чего зависит степень ионизации функциональных групп?
3. Что такое изоэлектрическая точка? Какова биологическая активность и устойчивость в растворе белков, находящихся в изоэлектрическом состоянии?
4. От каких свойств зависит растворимость белков в воде?
5. При какой  $t$  и рН среды можно использовать метод избирательной денатурации?
6. От чего зависит концентрация соли при высаливании белка.
7. Какие принципы положены в основу хроматографических методов?
8. При какой  $t$  производят выделение и очистку белков? С чем это связано?
9. В чем выражается амфотерность белков?
10. От чего зависит заряд частиц белков в растворе?

### VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Физико-химические свойства белка.
2. Сущность процесса денатурации и факторы ее вызывающие.
3. Методы выделения, очистки и фракционирования белков.
4. Что такое ренатурация?
5. Что такое диализ? Для чего служит диализ?
6. Чем обусловлены реакции осаждения белков? Что такое обратимое и необратимое осаждение.

7. Перечислите способы осаждения белков.

### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени: 3 часа (135).
2. Переключки 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы 60 минут.
4. Тестовый опрос 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов 10 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студентов**

1. Определение молекулярной массы белков методами седиментационного анализа.

#### **УИРС**

1. Физико-химические характеристики и функциональные свойства первичной структуры и ее роль в формировании биологической активности белков.

2. Физико-химические характеристики и функциональные свойства вторичной структуры и методы ее изучения.

### **X. Список используемой литературы**

#### **Обязательная**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия, Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука,

**Порядок выполнения работы:** В микрохимической пробирке смешивают по 2 капли исследуемой жидкости и раствора едкого натра. Прибавляют возможно малую каплю раствора сульфата меди и нагревают пробирку.

**Предполагаемые результаты:** Появляется желтое окрашивание. При дальнейшем нагревании возникает оранжевое, а затем красное окрашивание жидкости (образование закиси меди).

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

#### **Реакция Фелинга.**

**Порядок выполнения работы.** Жидкость Фелинга содержит сульфат меди, едкий натр и сегнетову соль. В микрохимическую пробирку вводят 3 капли исследуемой жидкости. Добавляют каплю реактива Фелинга и нагревают.

**Предполагаемые результаты:** Появится желтое или оранжевое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3.**

#### **Восстанавливающие свойства дисахаридов**

**Принцип работы:** Дисахариды, имеющие свободный гликозидный гидроксил (мальтоза, лактоза), дают реакции восстановления металлов. Дисахарид сахароза, не имеющий свободного гликозидного гидроксила, не дает этих реакций.

**Порядок выполнения работы.** Берут 3 микрохимические пробирки, в первую из них наливают 3 капли раствора мальтозы, во вторую – столько же раствора лактозы, а в третью – сахарозы. С содержимым каждой пробирки продельвают реакцию Троммера. Для этого добавляют в каждую пробирку по 1 капле раствора сульфата меди и по 2 капли раствора едкого натра.

**Предполагаемые результаты:** В первой и второй пробирках, где находились дисахариды мальтоза и лактоза, произойдет восстановление меди (появится желтое или красное окрашивание). В третьей пробирке, где налит раствор сахарозы, восстановления нет.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**Студент должен уметь:**

**III. Содержание обучения:**

**Основные вопросы:**

Классификация углеводов.

Строение моносахаридов.

Производные моносахаридов – аминсахара.

Олигосахариды, их структура и свойства.

Классификация полисахаридов. Структурная организация, свойства и биологическое значение представителей гомо- и гетерополисахаридов.

**Дополнительные вопросы:**

Свойства и распространение гликогена как резервного полисахарида.

Представление о строении и функциях углеводной части гликопротеидов. Гликопротеины плазматических мембран.

**IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.**

**Лабораторные работы.**

Восстанавливающие свойства дисахаридов.

Гидролиз сахарозы.

Цветные реакции на крахмал и гликоген.

**V. Наименование лабораторной работы.**

**ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.**

**Реакция Троммера**

**Принцип метода:** Восстанавливающие свойства моносахаридов. Все моносахариды обладают способностью восстанавливать в щелочной среде ионы меди, висмута, серебра и др. Реакция эта обусловлена наличием в молекуле моносахаридов альдегидной группы, которая чрезвычайно легко окисляется, превращаясь в карбоксильную группу, вызывая, тем самым, восстановление металлов.

1980.

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

**Дополнительная**

1. Вельтишев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

## ЗАНЯТИЕ № 4

### Тема: СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

**Сложные белки** – протеиды, состоят из белковой части и небелковой – простетической группы, кофермент, кофактор. В зависимости от характера простетических групп сложные белки классифицируются на:

##### 1. Хромопротеиды:

а) гемопротеиды (гемоглобин, миоглобин, цитохромы, пероксидаза, каталаза).

б) флавопротеиды: ФАД, ФМН (производные витамина В<sub>2</sub>).

в) металлопротеиды: трансферрин, церулоплазмин и др.

##### 2. Нуклеопротеиды:

а) дезоксирибонуклеопротеиды (простетическая группа в виде ДНК);

б) рибонуклеопротеиды (простетическая группа в виде РНК).

3. Фосфопротеиды, то есть содержащие остатки фосфорной кислоты – казеиноген, фосвитин, ихтулин и др.

4. Липопротеиды (хиломикроны, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, ЛПОВП).

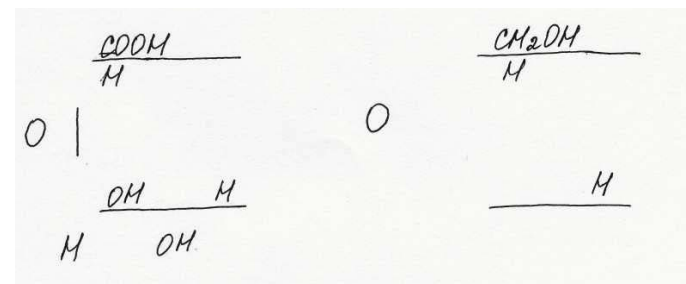
5. Гликопротеиды – цереброзиды, цереброзидсульфатиды, ганглиозиды.

#### Характеристика простетических групп

Гемопротеиды – простетической группой гемопротеидов является гем, производное протопорфирина – форма IX, который состоит из 4 пиррольных колец, соединенных метиновыми (СН) связями. На вершине каждого пиррольного кольца имеется атом азота, который двумя координационными и двумя ковалентными связями присоединяется к двухвалентному железу. В составе гема имеются замещенные радикалы: 4 метильных, 2 винильных и 2 остатка пропионовой кислоты. Следовательно, по химической структуре гем представляет собой 1, 3, 5, 8 тетраметил, 2, 4 дивинил, 6, 7 дипропионовокислый порфирин. Такая структура гема характерна для гемоглобина, миоглобина, цитохрома с и с<sub>1</sub>.

и электростатическая. В состав кислых гликозаминогликанов могут входить гексозамины, уроновые кислоты, уксусная кислота, серная кислота, небольшое количество гексоз (галактоза и иногда сиаловые кислоты).

**Гиалуроновая кислота** состоит из чередующихся (ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты, связанных β-1-4 и β-1-3 гликозидными связями. Общее число мономерных единиц (в молекуле гиалуроновой кислоты) достигает нескольких тысяч, участвует в образовании протеогликановых агрегатов, находящихся в межклеточном веществе соединительной ткани кожи, хряща и др. тканей. Фрагмент гиалуроновой кислоты:



Протеогликановые агрегаты включают в себя полипептидные цепи, хондроитинсульфат, кератансульфат, гепарин и т. д.

**Кератансульфат** включает в свою структуру ацетилглюкозамин, серную кислоту, галактозамин, сиаловые кислоты (связь β (1-4) и β (1-3)). **Гепарин** состоит из глюкуронат-сульфата, ацетилглюкозаминсульфата, уроновой и идуруновой кислоты. Обнаруживается гепарин во многих тканях.

#### II. Цель деятельности студентов на занятии.

##### Студент должен знать:

Классификацию углеводов.

Строение моносахаридов, их свойства.

Производные моносахаридов – аминсахара.

Строение и свойства олигосахаридов (ди-, три- и т.д.).

Структурную организацию, свойства и биологическую роль представителей гомо- и гетерополисахаридов.

Наиболее распространенные олигосахара – дисахариды, состоящие из двух моносахаридов, соединенных гликозидной связью. Мальтоза (солодовый сахар) – состоит из двух остатков  $\alpha$ -D-глюко-пираноз, соединенных  $\alpha$ -1-4-гликозидной связью, лактоза (молочный сахар) состоит из остатка  $\alpha$ -D-глюкозы и  $\beta$ -D-галактозы, соединенных 1,4-гликозидной связью. И мальтоза, и лактоза имеют свободный полуацетальный гидроксил и обладают редуцирующими свойствами. В отличие от них сахароза (тростниковый или свекольный сахар) не имеет свободной полуацетальной группы, состоит из остатков  $\alpha$ -D-глюкопиранозы  $\beta$ -D-фруктофуранозы, не обладает редуцирующими свойствами.

К сложным углеводам относятся полисахариды, которые делятся на гомополисахариды (состоят из одинаковых остатков моносахаридов); кислые и нейтральные гетерополисахариды (состоящие из мономерных единиц разного типа). Наиболее распространенные гомополисахариды – это резервный полисахарид растений – крахмал, состоит смеси двух полимеров  $\alpha$ -D-глюкозы, неразветвленной амилозы (с  $\alpha$ -1-4 гликозидной связью), и разветвленного амилопектина (где остатки глюкозы соединены  $\alpha$ -1,4 гликозидной связью, а в местах ветвления  $\alpha$ -1,6 гликозидной связью).

**Гликоген** (резервный полисахарид человека и высших животных) подобен по своей структуре амилопектину, но более разветвлен и компактен (содержится в печени и мышцах).

**Клетчатка** (целлюлоза) – самый распространенный на земле углевод растений – полисахарид, образованный  $\beta$ -D-глюкозой, соединенных  $\beta$ -1,4 гликозидной связью, в виде неразветвленной цепи.

**Полисахаридбелковые комплексы** – делятся на протеогликаны (до 95% их массы приходится на долю углеводного компонента) и гликопротеины, в которых доля углеводной массы составляет несколько %. В протеогликанах углеводный компонент является полисахаридом (кислые гликозамингликаны) содержащие уоновые кислоты, часто и серную кислоту, представляют собой длинные линейные цепи с повторяющимися дисахаридными фрагментами. Связь с белковой молекулой как ковалентная, так

Гем цитохрома  $a_3$ , или цитохромоксидазы имеет следующие отличия: во втором положении вместо винильного радикала имеет место изопреноидная цепь и в 8 положении метильный радикал замещается на формильную группу C – OH. Гем гемоглобина и миоглобина обладает свойствами взаимодействия с газами в частности с кислородом, который присоединяется через координационную связь, при этом валентность железа не изменяется, то есть гем этих соединений имеет свободную координационную связь. Гемоглобин превращается в оксигемоглобин образуется  $HbO_2$ . На уровне органов и тканей он диссоциирует на кислород и восстановленный гемоглобин, последний присоединяет углекислый газ и превращается в карбогемоглобин. Следовательно, в нормальном здоровом организме существуют следующие формы гемоглобина  $HbO_2$ ,  $HbH$ ,  $HbCO_2$

Кроме этого, гем  $Hb$  обладает способностью реагировать с угарным газом, причем сродство  $Hb$  к угарному газу в 300 раз больше, чем к кислороду. Небольшая примесь угарного газа в закрытом помещении активно связывает железо гема гемоглобина, при этом валентность железа не изменяется, но образуется прочное соединение карбоксигемоглобин, что сопровождается нарушением процесса дыхания. Под влиянием сильных окислителей (анилиновые краски, бертолетова соль, красная кровяная соль, железо)  $Hb$  окисляется и превращается в метгемоглобин (Met(OH)). При этом останавливается тканевое дыхание и наступает удушье – смерть. Гемоглобин был первым белком, полученным в кристаллическом виде, он способен кристаллизоваться, в присутствии соляной кислоты и хлористого натрия образуются кристаллы гемоглобина, которые получены впервые Тейхманом, они имеют видоспецифичность, то есть кристаллы человека имеют ромбическую форму.  $Hb$  животных приобретают другие формы, поэтому данное свойство  $Hb$  используется в судебной практике для идентификации пятен крови человека и животных.

Гем цитохромов в отличие от гема гемоглобина и миоглобина не имеет свободной координационной связи, так как двумя координационными связями присоединяется к белковой молекуле, поэтому железо гема цитохромов может окисляться и восстанавли-

лироваться, принимая и отдавая электроны. На этом свойстве основано участие цитохромов в ЦПЭ.

Флавопротеиды – производные рибофлавина – витамина В<sub>2</sub> в основе структуры простетической группы лежит изоаллоксазиновое кольцо, к которому присоединяется пятиатомный спирт рибитол и активная форма называется ФМН, если через остаток фосфорной кислоты к ФМН присоединяется адениловая кислота, то образуется другой кофермент – ФАД. Оба кофермента участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. ФМН – с ферментами – оксидазами, а ФАД с дегидрогеназами.

### Металлопротеиды.

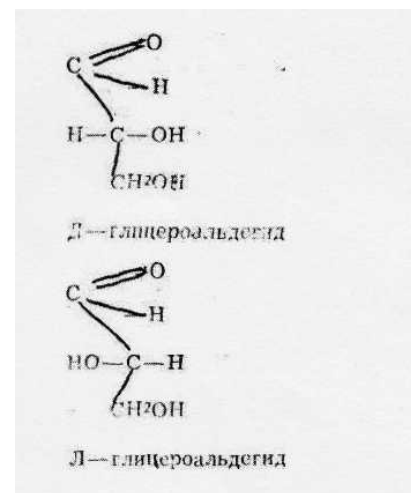
Трансферрин в своем составе имеет атом железа, является транспортной формой железа.

Ферритин – это депонированная форма железа, которая откладывается в энтероците и гепатоците.

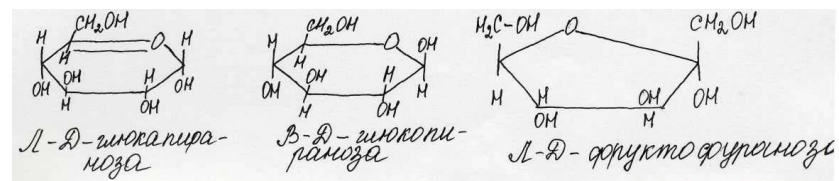
Церрулоплазмин – медь содержащий белок, который принимает участие в метаболизме ионов меди, доставляет их в гепатоцит, подвергается там метаболизму и экскретируется с желчью, поэтому при недостаточности развивается болезнь Вильсона-Коновалова – гепатолентикулярная недостаточность.

**Нуклеопротеины** состоят из белков и нуклеиновых кислот. В природе обнаружено 2 типа нуклеопротеинов, отличающихся друг от друга по составу, размерам и физико-химическим свойствам: дезоксирибонуклеопротеины (ДНП) и рибонуклеопротеины (РНП). У РНП углевод представлен рибозой, у ДНП – дезоксирибозой. Термин «нуклеопротеины» связан с названием ядра клетки, однако ДНП и РНП содержатся и в других субклеточных структурах. ДНП преимущественно локализованы в ядре, а РНП – в цитоплазме. В то же время ДНП открыты в митохондриях, а в ядрах и ядрышках обнаружены также высокомолекулярные РНП.

Биохимики имеют достаточно оснований для утверждения, что природа синтезированных в клетках белков зависит в первую очередь от природы ДНП, точнее ДНК, а свойства живых организмов, как и структурная организация субклеточных органелл,



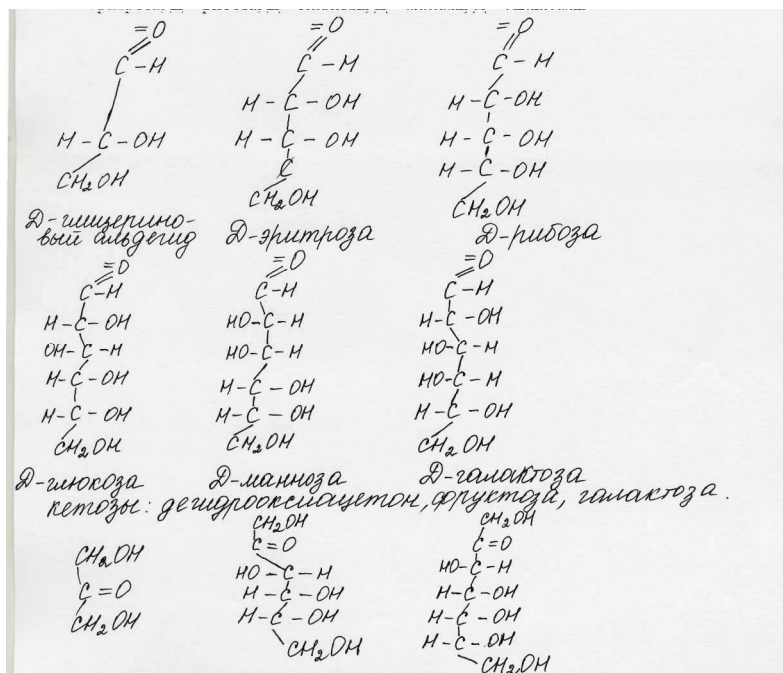
Все природные углеводы, в основном D-ряда. Моносахариды (C<sub>6</sub> и выше) как гетерофункциональные соединения способны на внутримолекулярное взаимодействие между карбонильной и спиртовой группой с образованием циклических полуацеталей шестичленных и пятичленных фураноз. Каждый твердый препарат углеводов представляет собой какую-либо циклическую форму, но при растворении эта форма может превращаться в другие циклические структуры до достижения определенного их соотношения, при этом меняется величина удельного вращения раствора – этот процесс называется мутаротацией. Например, глюкоза находится в растворе преимущественно в виде L- и β-глюкопираноз, а фруктоза больше в виде фуранозного цикла.



Полуацетатный гидроксил альдоз отличается реакционной способностью и может замещаться с образованием гликозидов.

Моносахариды – это простейшие углеводы, в названии которых имеется окончание -оза.

Наиболее распространены альдозы: D-глицериновый альдегид, D-эритроза, D-рибоза, D-глюкоза, D-манноза, D-галактоза.



Изомерия моносахаридов обусловлена: наличием альдегидной и кетонной группы (альдозы и кетозы), присутствием центра (возникновением оптически активных стереоизомеров (D и L формы), образованием циклических структур, появлением аномерного хирального атома углевода в процессе циклизации ( $\alpha$  и  $\beta$ -аномеры), возможностью вращения атомных групп вокруг одинарных связей (конформационная изомерия).

D и L-конфигурации (зеркальные изомеры) отличаются расположением гидроксильной группы у последнего хирального атома углерода. Обе конфигурации могут быть в виде левовращающего (-) и правовращающего (+) изомера.

клеток и целостного организма, определяются свойствами синтезированных белков.

ДНК хранит наследственную информацию. Подтверждением этого служит явление трансформации, наблюдаемое у бактерий и открытое также в культуре клеток человека. Сущность заключается в превращении одного генетического типа клеток в другой путем изменения природы ДНК. С нуклеопротеинами и соответственно нуклеиновыми кислотами непосредственно связаны такие биологические процессы, как митоз, мейоз, эмбриональный и злокачественный рост.

У большинства клеток эукариот, когда ядро находится в интерфазе, из ДНК и белковых молекул образуются филаменты – нити, имеющие меняющуюся толщину (в среднем около 10 нм, реже 2 нм). Толщина филаментов определяется наличием или отсутствием белков, окружающих двухспиральную структуру ДНК, а длина их – молекулярной массой ДНК. Известно, что одна хромосома содержит одну молекулу ДНК, имеющую длину несколько сантиметров. ДНП входит в состав мононуклеосом, являющихся составной частью хромосомы. В состав хроматина входят молекула ДНК, пять различных классов белков-гистонов и так называемые негистоновые белки. Количество ДНК в ядре составляет до 6 пг на одну клетку у животных. У E.coli содержание ДНК равно 0,01 пг.

Относительно белкового состава ДНП известно, что все 5 классов гистонов различаются по размерам, аминокислотному составу и величине заряда (всегда положительный). Выделяют гистоны, богатые лизином (H1), молекулярная масса которых составляет в среднем 20000, и богатые аргинином с мол. массой до 15000.

### Фосфопротеиды.

К белкам этого класса относятся казеиноген молока, вителлин, вителлинин и фосвитин, выделенные из желтка куриного яйца; ихтулин, содержащийся в икре рыб. Большое количество фосфопротеинов содержится в клетках ЦНС. Характерной особенностью структуры фосфопротеинов является то, что фосфорная кислота оказывается связанной сложноэфирной связью с белко-

вой молекулой через гидроксильные группы β-оксиаминокислот, главным образом серина и в меньшей степени треонина. На 1 молекулу белка приходится 2-4 остатка фосфата. В клетках фосфопротеины синтезируются в результате пространственной модификации, подвергаясь фосфорилированию при участии протеинкиназ. Фосфопротеины содержат органически связанный, лабильный фосфат абсолютно необходимый для выполнения клеткой ряда биологических функций. Они являются ценным источником энергетического и пластического материала в процессе эмбриогенеза и дальнейшего постнатального роста и развития организма.

**Липопротеины** – состоят из белка и простетической группы, представленной каким-либо липидом. В составе ЛП открыты нейтральные жиры, свободные жирные кислоты, фосфолипиды, холестериды. ЛП входят в состав клеточной мембраны и внутриклеточных биомембран ядра, митохондрий, микросом (структурированные ЛП), а также присутствуют в свободном состоянии (в плазме крови). Различают ЛП сыворотки крови низкой плотности, очень низкой плотности, высокой плотности, очень высокой плотности и промежуточной плотности.

К ЛП относятся тромбопластический белок ткани легких, липовителлин желтка куриного яйца, некоторые фосфолипиды молока и т.д. ЛП участвуют в структурной, комплексной организации миелиновых оболочек, нервной ткани, хлоропластов, фоторецепторной и электронно-транспортной систем, палочек и колбочек сетчатки.

Большинство ЛП синтезируются в печени или слизистой оболочке кишечника. Они содержат гидрофобное липидное ядро, окруженное полярными липидами и оболочкой из белков, получивших название апобелков. Различают восемь типов апобелков (апо-А1, АП, В, С1, СII, СIII, D, E). Обычно ЛП содержат до 5% углеводов ( глюкоза, галактоза, гексозамины, фукоза, сиаловая кислота), поэтому некоторые из них являются и гликопротеинами.

**Гликопротеины** – сложные белки, содержащие, помимо простого белка или пептида, группу гетероолигосахаридов(или гликоконъюгатов). В их состав входит углеводный компонент (гликановая фракция), ковалентно связанный с неуглеводной частью

## РАЗДЕЛ IV. «ОБМЕН УГЛЕВОДОВ»

### ЗАНЯТИЕ № 1

#### Тема: СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА УГЛЕВОДОВ

##### I. Научно-методическое обоснование темы:

Углеводы являются полиоксиальдегидами (альдозы) или полиоксикетонами (кетозы) и их производными. Большинство углеводов имеют эмпирическую формулу  $(C_nH_{2n}O)_n$ , но не все они удовлетворяют этому соотношению. В организме человека и высших животных углеводы выполняют прежде всего энергетическую и пластическую функции, они также необходимы для функционирования генетического аппарата (пентозы в нуклеиновых кислотах) для биологического катализа (пентозы в коферментах), для детоксикационных процессов (парные синтезы с участием глюкуроновой кислоты), для иммунологических регуляторных процессов (углеводы в составе иммуноглобулинов, рецепторов и ряда гормонов), для смазки трущихся поверхностей. По химической структуре углеводы делят на три основных класса: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.



- триозы (C<sub>3</sub>)
- тетрозы (C<sub>4</sub>)
- пентозы (C<sub>5</sub>)
- гексозы (C<sub>6</sub>)
- гептозы (C<sub>7</sub>)



## Х. Список используемой литературы:

### **Обязательная**

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.
2. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
3. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред.Е.С.Северина. – М.: Гэотар-мед, 2003.784 с.
4. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 стр.
5. Конспект лекций.

### **Дополнительная:**

1. Страйер Л. Биохимия. – Москва, 1985. Т.1,2,3.
2. Ленинджер Л. Биохимия. – Москва, 1986. Т.1,2,3.
3. Гринстейн Б., Гринстейн А. Наглядная биохимия. – М., Гэотар-мед, 2000. 120 с.
4. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия. – М.: Медицина, 2000. 164 с.
5. Биохимические основы патологических процессов (Под ред. Е.С.Северина). – М.: Медицина, 2000. 304 с.
6. Мак Мюррей У. Обмен веществ у человека. – Москва, 1980.

(агликановая фракция), представленной белком, пептидом, аминокислотой или липидом. Нарушение реакции гликозилирования двух главных классов гликоконъюгатов (гликопротеинов и ганглиозидов) приводит или к накоплению предшественников этих веществ, или к синтезу «укороченных» сахарных цепей гликоконъюгатов. При взаимодействии между некоторыми вирусами и клетками-мишенями главную роль играют углеводные компоненты. Помимо гликопротеинов различают также протеогликаны, состоящие из белка и гликозаминогликанов (или мукополисахаридов). Они состоят из цепей сложных углеводов: аминсахаров, уроновых кислот, серной кислоты и отдельных моносахаридов. Типичными гликозаминогликанами являются гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота и гепарин.

К гликопротеинам относят большинство белковых гормонов, секретируемых в жидкие среды организма вещества, мембранные сложные белки, все антитела (иммуноглобулины), белки плазмы крови, молока, овальбумин, интерфероны, факторы комплемента, группы крови, рецепторные белки и др.

Они выполняют специфические функции: обеспечивают клеточную адгезию, молекулярное и клеточное узнавание, антигенную активность опухолевых клеток, оказывают защитное и гормональное, а также антивирусное действие.

Синтез гликопротеинов осуществляется в рибосомах эндоплазматического ретикула (в цитронах), затем присоединяются сахарные цепи (постсинтетическое гликозилирование), и далее белок транспортируется до биомембран клетки и включается в состав мембранных белков или секретируется. Синтезированные гликопротеины далее переносятся в аппарат Гольджи, где осуществляются окончательное гликозилирование и сортировка по назначению.

## II. Цель деятельности студентов на занятии

### **Студент должен знать:**

1. Классификацию сложных белков.
2. Нуклеопротеиды, характер простетических групп.
3. Глико- и липопротеиды.

4. Хромопротеиды. Характер простетических групп, представители.

5. Фосфопротеиды, структура, представители.

**Студент должен уметь:**

1. Обнаружить в гидролизате дрожжей:

- а) полипептиды Биуретовым методом;
  - б) пуриновые и пиримидиновые основания серебряной пробой;
  - в) пентозу качественной реакцией;
  - г) фосфорную кислоту молибденовой пробой.
2. Обнаружить геминовую группировку гемоглобина бензидиновым методом.

**III. Содержание обучения:**

**Основные вопросы:**

- 1. Общая характеристика сложных белков.
- 2. Классификация сложных белков
- 3. Структура и свойства простетических групп.
- 4. Физико-химические свойства сложных белков.
- 5. Строение и свойства липопротеидов, гликопротеидов, фосфопротеидов, металлопротеидов, хромопротеидов, нуклеопротеидов.

**IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО**

**Лабораторные работы:**

- 1. Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей.
  - а) Биуретовая реакция на полипептиды;
  - б) Серебряная проба на пуриновые и пиримидиновые основания;
  - в) Качественная реакция на пентозу;
  - г) Молибденовая проба на фосфорную кислоту.
- 2. Качественное определение геминовой группировки гемоглобина.
- 3. Открытие углеводного компонента в белке (реакция Моли-

**11 вопрос: Сколько АТФ может синтезироваться в реакциях ЦТК?**

- |                                  |              |
|----------------------------------|--------------|
| 1. Оксалоацетат – цитрат         | А – 3 АТФ    |
| 2. Цитрат – изоцитрат            | Б – 2 АТФ    |
| 3. Изоцитрат – 2-оксоглутарат    | В – 1 АТФ    |
| 4. 2-оксоглутарат – сукцинил-КоА | Г – Ни одной |
| 5. Сукцинил-КоА – сукцинат       |              |
| 6. Сукцинат – фумарат            |              |
| 7. Фумарат – малат               |              |
| 8. Малат – оксалоацетат          |              |

**Ответы на тестовые задания**

**1 вопрос:** 3.

**2 вопрос:** 3.

**3 вопрос:** 1-А, 2-А, 3-А, 4-А, 5-А, 6-Б, 7-Б, 8-В.

**4 вопрос:** 1-Д, 2-А, 3-Б, 4-З, 5-Ж, 6-В, 7-Е, 8-Г.

**5 вопрос:** 4.

**6 вопрос:** 1-В, 2-В, 3-Б, 4-Б, 5-В, 6-А, 7-В, 8-Б.

**7 вопрос:** 5.

**8 вопрос:** 3 и 4.

**9 вопрос:** 4.

**10 вопрос:** 1-В, 1-Г, 2-Б, 2-Е, 3-Д, 4-А.

**11 вопрос:** 1-Г, 2-Г, 3-А, 4-А, 5-В, 6-Б, 7-Г, 8-А.

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

- 1. Общий бюджет времени – 3 часа (135 минут)
- 2. Устный разбор материала – 60 мин
- 3. Проверка конечного уровня знаний – 20 мин
- 4. Лабораторная работа – 45 мин.
- 5. Оформление протоколов – 10 мин

**IX. Самостоятельная работа студентов**

- 1. Анаболическая функция ЦТК
- 2. Изменение ЦТК в условиях гипоксии

3. Изоцитрат.
4. 2-оксоглутарат.
5. Сукцинил-КоА.
6. Сукцинат.
7. Фумарат.
8. Малат.

**8 вопрос. Указать 2 метаболита ЦТК, при декарбоксилировании которых освобождается  $\text{CO}_2$ :**

1. Оксалоацетат.
2. Цитрат.
3. Изоцитрат.
4. 2-оксоглутарат.
5. Сукцинил КоА.
6. Сукцинат.
7. Фумарат.
8. Малат.

**9 вопрос: Указать неверное положение в катаболической роли ЦТК:**

1. Интеграция катаболизма АМК, глюкозы, глицерола, СЖК.
2. Генерация восстановленных коферментов:  $\text{НАДН}^+\text{H}^+$  и  $\text{ФАДН}_2$ .
3. Образование  $2\text{CO}_2$ .
4. Образование кетоновых тел.
5. Образование I макроэргического фосфата субстратным фосфорилированием.

**10 вопрос: Амфиболическая роль ЦТК. Составьте пары между метаболитами ЦТК и синтезируемыми из них веществами.**

- |                   |                           |
|-------------------|---------------------------|
| 1. Оксалоацетат   | А. Гем                    |
| 2. Цитрат         | Б. Минерализованные ткани |
| 3. 2-оксоглутарат | В. Глюкоза                |
| 4. Сукцинил-КоА   | Г. Асп                    |
|                   | Д. Глу                    |
|                   | Е. СЖК                    |

ша).

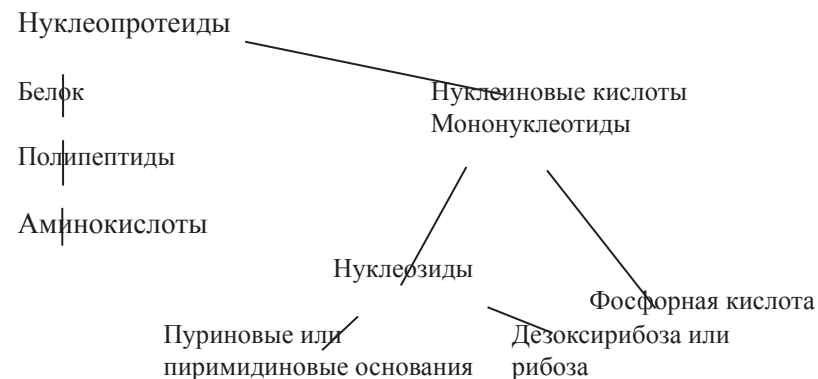
4. Обнаружение фосфата в казеине.

## V. Наименование лабораторной работы

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

#### Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей.

При непродолжительном гидролизе нуклеопротеиды распадаются на белок и нуклеиновые кислоты, а при продолжительном гидролизе белка нуклеиновые кислоты распадаются на основные компоненты, что можно представить в виде следующей схемы.



Для изучения химического состава нуклеопротеидов проводят кислотный гидролиз дрожжей, поскольку они очень богаты нуклеопротеидами. Эта часть работы подготавливается заранее лаборантом, так как на гидролиз тратится много времени (1 час). Студент же прodelьвает качественные реакции на составные части нуклеопротеидов в готовом гидролизате.

#### а) Биуретовая реакция на полипептиды.

**Методика выполнения:** К 5 каплям гидролизата приливают по каплям 10%-го раствора едкого натра, до щелочной реакции (по лакмусу), затем по 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**б) Серебряная проба на пуриновые и пиримидиновые основания.**

**Принцип метода:** при взаимодействии пуриновых и пиримидиновых оснований с азотнокислым серебром, образуется аморфный осадок серебряных солей пуриновых и пиримидиновых оснований.

**Методика выполнения:** Для открытия пуриновых и пиримидиновых оснований отфильтровывают в пробирку 3 капли гидролизата, добавляют к ним 2 капли раствора серебряных солей пуриновых и пиримидиновых оснований.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**в) Качественная реакция на пентозу.**

**Принцип метода:** Моносахариды обладают способностью восстанавливать в щелочной среде ионы меди, серебра и др. Реакция эта обусловлена наличием в молекуле моносахаридов альдегидной группы, которая легко окисляется, вызывая тем самым, восстановление металлов.

**Методика выполнения:** К 3 каплям гидролизата добавляют 3 капли 10%-ного едкого натра, 4 капли реактива Фелинга и нагревают до кипения. Появление желтого осадка указывает на наличие в гидролизате углевода.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**г) Молибденовая проба на фосфорную кислоту**

**Принцип метода:** Молибденовый реактив с фосфорной кислотой дает продукт реакции – фосфорномолибденовокислый аммоний (желтый кристаллический осадок).

**Методика выполнения:** К 10 каплям гидролизата приливают

6. Превращение пирувата в ацетил-КоА.
7. Распад ацетил-КоА до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .
8. Превращение ацетил-КоА в холестерол

**4 вопрос: Укажите последовательность (1-8) метаболитов ЦТК.**

- |                   |   |
|-------------------|---|
| А. Цитрат         | 1 |
| Б. Изоцитрат      | 2 |
| В. Сукцинат       | 3 |
| Г. Малат          | 4 |
| Д. Оксалоацетат.  | 5 |
| Е. Фумарат        | 6 |
| Ж. Сукцинил-КоА   | 7 |
| З. 2-оксoglутарат | 8 |

**5 вопрос: Указать локализацию ЦТК в клетке:**

1. Плазматическая мембрана.
2. Цитозоль.
3. Митохондриальные мембраны.
4. Митохондриальный матрикс.
5. Эндоплазматический ретикулум (ЭР).

**6 вопрос: Составьте пары между субстратами ЦТК и генерируемыми НАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>) И ФАДН<sub>2</sub>.**

- |                    |                                     |
|--------------------|-------------------------------------|
| 1. Оксалоацетат    | А. ФАДН <sub>2</sub> .              |
| 2. Цитрат          | Б. НАДН <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> |
| 3. Изоцитрат       | В. Ни тот, ни другой                |
| 4. 2-оксoglутарат. | Г. Оба.                             |
| 5. Сукцинил-КоА    |                                     |
| 6. Сукцинат.       |                                     |
| 7. Фумарат.        |                                     |
| 8. Малат           |                                     |

**7 вопрос: Какой метаболит ЦТК образует макроэргический фосфат субстратным фосфорилированием:**

1. Оксалоацетат.
2. Цитрат.

16. Назовите ингибиторы этих ферментов.
17. Какова энергоценность ЦТК ?
18. Назовите субстраты, которые являются донорами атомов водорода для функционирования дыхательной цепи.
19. В чем заключается амфиболическая роль ЦТК?
20. Какие последствия может иметь удаление интермедиатов из цикла ЦТК для использования в реакциях синтеза?
21. Как предотвращается такая возможность?
22. Назовите одну из наиболее важных реакций такого типа.

## **VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний**

**1 вопрос: При катаболизме АМК, глюкозы глицерола и свободных жирных кислот (СЖК) образуется общий метаболит:**

1. Пируват.
2. Лактат.
3. Ацетил-Ко-А.
4. Ацетоацетил-КоА.
5. Оксалоацетат.

**2 вопрос: В цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) полностью расщепляется:**

- Пируват.  
Лактат.  
Ацетил-Ко-А.  
Ацетоацетил-Ко-А.  
2-оксоглутарат.

**3 вопрос: Метаболическим процессам подобрать соответствующее определение:**

- |                                  |                                    |
|----------------------------------|------------------------------------|
| 1. Распад АМК до пирувата.       | А. Специфический путь катаболизма. |
| 2. Распад глюкозы до пирувата.   | Б. Общий путь катаболизма.         |
| 3. Распад глицерола до пирувата. | В. Ни то, ни другое.               |
| 4. Распад СЖК до ацетил-КоА.     |                                    |
| 5. Распад АМК до ацетил-КоА.     |                                    |

20 капель молибденового реактива и кипятка. После охлаждения в пробирке появляется желтый кристаллический осадок.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.**

### **Качественное определение геминовой группировки гемоглобина**

**Принцип метода:** Реакция обусловлена способностью гемоглобина катализировать окисление бензидина перекисью водорода. Бензидин при этом окисляется в парахинодиимин и жидкость приобретает синюю окраску, при стоянии – красную. Очень чувствительная реакция для обнаружения минимальных количеств крови и имеет широкое применение в судебной медицине (аналогично протекает реакция с Гваяковой кислотой).

**Методика выполнения:** К 2 каплям разведенной крови добавляют 4 капли бензидина, встряхивают содержимое пробирки и добавляют 4 капли перекиси водорода.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.**

### **Открытие углеводного компонента в белке (Реакция Молиша)**

**Принцип метода:** Гликопротеиды помимо кислот имеют углеводный компонент, который можно обнаружить с помощью нафтола. Образующийся при этом комплекс дает розово-фиолетовое окрашивание.

**Методика выполнения:** К 5 каплям 10% яичного белка добавляют 3 капли 0,2% раствора α-нафтола и 20 капель концентрированной серной кислоты.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.**

## Обнаружение фосфата в казеине

**Принцип метода:** Фосфопротеиды при щелочном гидролизе распадаются на фосфат и белок.

**Методика выполнения:** К нескольким зернышкам казеина в пробирке добавить 8 капель раствора едкого натрия и кипятить 30 секунд. После охлаждения проводят реакции на продукты гидролиза.

1. Обнаруживают белок биуретовой реакцией.
2. Определяют фосфат с помощью молибденового реактива.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Дайте определение сложным белкам.
2. Классификация сложных белков.
3. Назовите представителей гемопротеидов.
4. Напишите структуру гема гемоглобина и охарактеризуйте его связи.
5. Охарактеризовать структурную организацию гемоглобина.
6. Что такое эффект Бора.
7. Гемоглобинозы и их характеристика.
8. Флавопротеиды, их представители и характеристика.
9. Нуклеопротеиды, строение, свойства, представители.
10. Липопротеиды, классификация и их биологическая функция.
11. Фосфопротеиды структура и биологические функции.
12. Гликопротеиды, строение, представители и биологические функции.

### VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Как классифицируются сложные белки? Что такое простетическая группа? Перечислить простетические группы всех классов сложных белков.
2. Охарактеризуйте хромопротеиды. Каково строение и био-

малоновой кислоты, 5 капель 3% раствора янтарной кислоты и 5 капель 0,1 н раствора NaOH. Во все пробирки добавляют по 1 мл 0,001 н раствора 2,6 – дихлорфенолиндофенол и содержимое пробирок перемешивают, пробы помещают в термостат при 37 °С на 40 минут.

**Предполагаемые результаты:** В опытной пробирке, жидкость почти бесцветная, сравнивают ее с контролем и с пробиркой, где находится конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы – малоновая кислота. Время обесцвечивания 2,6 – дихлорфенолиндофенола в присутствии янтарной кислоты характеризует активность сукцинатдегидрогеназы.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Какой общий метаболит образуется из аминокислот, глюкозы и жирных кислот?
2. Какова дальнейшая судьба ацетил КоА?
3. Что такое ЦТК?
4. Почему процесс называется циклическим (циклом)?
5. Где протекает ЦТК?
6. Из скольких стадий состоит ЦТК?
7. Какова катаболическая роль ЦТК?
8. Как происходит регенерация окисленных форм коферментов НАД<sup>+</sup> и ФАД?
9. Какой фермент среди ферментов ЦТК локализован на внутренней митохондриальной мембране.
10. Напишите стадию ЦТК в ходе которой прямо выделяется энергия метаболизма (субстратное фосфорилирование)
11. Назовите второй путь регенерации ГДФ.
12. Какие ферменты и коферменты участвуют в реакции окислительного декарбоксилирования α-оксоглутаровой кислоты?
13. Какие витамины участвуют в реакциях ЦТК?
14. Назовите регуляторные ферменты ЦТК.
15. Назовите положительные аллостерические эффекторы (активаторы этих ферментов).

### Лабораторные работы:

Определение активности сукцинатдегидрогеназы и изучение конкурентного ингибирования.

### Наглядные пособия:

#### Таблицы

Цикл трикарбоновых кислот.

### V. Наименование лабораторной работы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

##### Определение активности сукцинатдегидрогеназы и изучение конкурентного ингибирования

**Принцип метода:** Сукцинатдегидрогеназа в качестве кофермента содержит ФАД – флавинадениндинуклеотид. Активность фермента зависит от наличия в нем сульфгидрильных групп (SH) и атомов железа. Действие фермента может происходить и в анаэробных условиях, если к янтарной кислоте добавить 2,6 –дихлорфенолиндофенол или метиленовый синий, являющийся акцептором водорода и превращающийся в восстановленную бесцветную форму, что и является показателем активности фермента. Конкурентное торможение сукцинатдегидрогеназной активности вызывает малоновая кислота, являющаяся структурным аналогом янтарной кислоты.

**Методика выполнения:** Мышечную ткань (свежую) около 1 г измельчают ножницами и растирают в ступке с небольшим количеством воды (2-3 мл) в течение 1 минуты. Затем мышечную кашицу переносят на двойной слой марли, помещенной на воронку, промывают водой, помещают на фильтровальную бумагу и высушивают. В 3 пробирки наливают по 3 мл фосфатного буфера (рН 7,4) и помещают в них по 0,1 г мышечной кашицы. Затем в опытную пробирку добавляют 5 капель 3% раствора янтарной кислоты (для нейтрализации) и 5 капель 0,1 н раствора NaOH, а в контрольную пробирку приливают 10 капель дистиллированной воды, в третью пробирку добавляют 5 капель 3% раствора

логическая роль гемоглобина? Назовите соединения гемоглобина с  $O_2$ , CO, что такое метгемоглобин?

3. Назовите ферменты, относящиеся к хромопротеидам.

4. Каково строение и биологическое значение фосфопротеидов? Назовите представителей фосфопротеидов.

5. Каково строение и биологическое значение металлопротеидов? Назовите представителей металлопротеидов.

6. Каково строение и биологическое значение гликопротеидов? Назовите представителей гликопротеидов.

7. Каково строение и биологическая роль липопротеидов

8. Что такое нуклеопротеиды? Каково их строение?

9. Какова биологическая роль нуклеопротеидов? Какие протеины входят в состав нуклеопротеидов и какова особенность их аминокислотного состава?

10. Какие нуклеиновые кислоты входят в состав нуклеопротеидов? Чем отличаются по своему строению ДНК и РНК.

### VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени – 90 минут.

2. Вступительная беседа – 10 минут.

3. Разбор теоретических вопросов темы – 30 минут.

4. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 10 минут.

5. Выполнение лабораторных работ 10 минут.

6. Заключение (обобщение по занятию): проверка протоколов, задание на дом – 10 минут.

### IX. Самостоятельная работа студентов

1. Гидролиз сложных белков.

2. Нуклеопротеиды и их химическое строение.

3. Строение и свойства ДНК.

4. Строение и свойства РНК,

5. Химическое строение гемоглобина

6. Свойства гемоглобина и его производных.

7. Строение и свойства липопротеидов, гликопротеидов, фосфопротеидов, металлопротеидов.

### УИРС.

1. Структурно-аномальные гемоглобины. Гемоглинопатии.
2. Особенности структуры гемоглобина, кооперативность связывания кислорода и дыхательная функция.

## **Х. Список используемой литературы**

### **Обязательная**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. «Биологическая химия», Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека М.: Наука, 1980.
7. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

### **Дополнительная**

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина 1983.
2. Биологическая химия для студентов пед факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

аллостерическими эффекторами (активаторами этих ферментов) являются – НАД<sup>+</sup>, АДФ и АМФ; ингибиторами этих ферментов являются НАДН<sup>+</sup>, АТФ, сукцинил КоА.

Нарушение функционирования данного процесса, изменение концентрации субстратов приводит к различным патологическим процессам, нарушению образования АТФ. Поэтому студенту необходимо знать и понимать всю важность данного процесса, его химизм и регуляцию.

### **Цель деятельности студентов на занятии.**

#### **Студент должен знать:**

1. Схему катаболизма основных пищевых веществ.
2. Цикл Кребса: последовательность реакций, характеристику ферментов.
3. Связь ЦТК и ЦТЭ. Регуляцию.
4. Анаболическую роль ЦТК.

#### **Студент должен уметь:**

1. Определить активность сукцинатдегидрогеназы и изучить конкурентное ее ингибирование.

## **II. Содержание обучения.**

### **Основные вопросы:**

1. Пути унификации энергетических субстратов.
2. Цикл Кребса – общий путь катаболизма белков, жиров, углеводов.
3. Химические реакции цикла трикарбоновых кислот, краткая их характеристика.
4. Ферменты, катализирующие реакции цикла Кребса и краткая их характеристика.
5. Связь реакций цикла Кребса с дыхательной цепью.
6. Постадийный и общий энергетический эффект цикла Кребса.

## **III. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.**



## РАЗДЕЛ 2. «ФЕРМЕНТЫ»

### ЗАНЯТИЕ № 1

#### Тема: СТРОЕНИЕ И ОБЩИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

##### I. Научно-методическое обоснование темы:

Основу жизнедеятельности любого организма составляют биохимические процессы.

Практически все реакции в живом организме протекают с участием природных биокатализаторов, называемых ферментами или энзимами. Они представляют собой высокоспециализированный класс веществ белковой природы, используемых живыми организмами для осуществления многих тысяч взаимосвязанных химических реакций, включая синтез, распад и взаимопревращение разнообразия и огромного множества химических соединений.

Жизнь и многообразие ее проявлений – сложная совокупность химических реакций, катализируемых специфическими ферментами. Важнейшим свойством живого организма является обмен веществ, ускоряющим и направляющим аппаратом, основой молекулярных механизмов которого являются ферменты.

Учение о ферментах выделено в самостоятельную науку – энзимологию или ферментологию. Теоретические и практические достижения энзимологии занимают ведущее место в решении многих проблем биохимии и молекулярной биологии, включая их сравнительное и эволюционное рассмотрение.

Энзимология в своем современном физико-химическом и молекулярном понимании решает две главные, неразрывно связанные между собой проблемы, касающиеся, с одной стороны структурной макромолекулярной организации ферментов, с другой – природы химических взаимодействий, лежащих в основе ферментативного катализа.

Изучение ферментов имеет огромное значение для любой области биологии: химической, пищевой и фармацевтической индустрии, занятых приготовлением катализаторов, антибиотиков,

энергодающий процесс в организме человека, не происходит без участия ЦТК.

ЦТК – это циклический процесс, так как он начинается с конденсации оксалоацетата и ацетил КоА и заканчивается образованием оксалоацетата. Протекает в матриксе митохондрий и состоит из 8 стадий.

Катаболическая роль ЦТК заключается в том, что в результате взаимодействия ацетил КоА с оксалоацетатом в серии реакций освобождается 2 молекулы  $\text{CO}_2$  и генерируется оксалоацетат, а так же образуются восстановленные эквиваленты в виде 3 молекул НАДН<sup>+</sup> и 1 молекулы ФАДН<sub>2</sub>.

НАД<sup>+</sup> и ФАД регенерируются путем транспорта электронов в цепи реакций, в которой терминальным акцептором электронов служит кислород. Именно поэтому цикл лимонной кислоты представляет собой аэробный (кислородзависимый) путь. Энергоценность ЦТК-12 молекул АТФ, из них 11 молекул образуется в результате окислительного фосфорилирования и 1 молекула АТФ путем субстратного фосфорилирования.

ЦТК выполняет также амфиболическую роль, которая заключается в следующем: цитрат,  $\alpha$ -оксоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат в ЦТК превращаются в оксалоацетат, а из оксалоацетата может образоваться глюкоза; цитрат участвует в процессах синтеза жирных кислот; цитрат способен связывать ионы кальция и участвовать в процессах его переноса и отложения. (минерализации); путем трансаминирования из оксалоацетата образуется аспарагиновая кислота, которая используется в биосинтезе пиримидинов, а из  $\alpha$ -оксоглутарата – глутаминовая кислота; сукцинил КоА участвует в синтезе порфиринов (гема); сукцинил КоА является донором HS КоА в реакции образования активной формы ацетоацетата (кетонное тело); ацетилКоА представляет собой метаболический источник всех атомов углерода, используемых в синтезе жирных кислот, каротиноидов и стероидов; энергия АТФ используется в реакциях анаболизма.

ЦТК – это регулируемый процесс. К регуляторным ферментам относятся: цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа,  $\alpha$ -оксоглутаратдегидрогеназный комплекс. Положительными

витаминов, лекарственных препаратов и других биологически-активных веществ.

Успехи общей и молекулярной энзимологии способствуют развитию медицинской энзимологии, цели и задачи которой связывают с решением проблем энзимопатологии, энзимодиагностики и энзимотерапии

## II. Цель деятельности студентов на занятии.

### *Студент должен знать:*

1. Роль ферментов, значение ферментов в химических реакциях как биокатализаторов;
2. Структурную организацию ферментов;
3. Понятие о коферментах, кофакторах и простетических группах;
4. Значение активного центра в ферментативном катализе, специфичность действия ферментов;
5. Отличие ферментативного катализа от действия неорганических катализаторов;
6. Механизм и кинетику ферментативного катализа.

### *Студент должен уметь:*

1. Определять активность амилазы слюны;
2. Определять влияние различных температурных режимов на активность амилазы слюны;
3. Определять специфичность действия амилазы слюны и сахаразы дрожжей;
4. Исследовать влияние реакции среды на активность пепсина желудочного сока;
5. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

## III. Содержание обучения.

1. Структурная организация ферментов. Понятие «апофермент» и «холофермент».
2. Кофермент, кофактор и простетическая группа. Их роль в ферментативном катализе.

## Тема: ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА – ЦИКЛ КРЕБСА

### I. Научно-методическое обоснование темы:

Общим метаболитом, который образуется из аминокислот, глюкозы и жирных кислот является ацетилКоА.

Освобождение энергии в организме человека это многоступенчатый процесс, включает три основных этапа:

Расщепление полимеров (углеводов, белков, липидов) в желудочно-кишечном тракте до мономеров: моносахаридов, жирных кислот и глицерина, аминокислот и других веществ.

Превращение мономеров в промежуточные соединения, которое происходит в клетках тканей, то есть специфические пути катаболизма: глюкоза, глицерин, аминокислоты превращаются в пируват, а пируват окисляется до ацетил КоА. Жирные кислоты в процессе  $\beta$ -окисления продуцируют ацетил КоА, аминокислоты распадаются до следующих метаболитов:  $\alpha$ -кетоглутарата, оксалоацетата, фумарата, сукцинила КоА.

Общие пути катаболизма: биологическое окисление, сопряженное с окислительным фосфорилированием и ЦТК, в которых полностью окисляется ацетил КоА до  $2\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . При этом в реакциях окисления отщепляются протоны и электроны, переносимые в дыхательной цепи и генерирующие энергию АТФ.

Таким образом, в результате путей унификации энергетических субстратов образуется один общий метаболит, основной субстрат цикла Кребса – ацетил КоА. Он может поступить в ЦТК (цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса, лимоннокислый цикл), использоваться в синтезе холестерина, жирных кислот и кетонных тел.

*Цикл Кребса* – это центральный метаболический путь углевода, входящего в состав всех основных классов биомолекул и основной источник метаболической энергии в форме АТФ. Это «котел», в котором сгорают белки, липиды, углеводы. Это основной процесс, который поставляет ионы водорода для цепи транспорта электронов для продукции энергии в виде АТФ. Ни один

ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

3. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия. – М.: Медицина, 2000. 164 с.

4. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 с.

5. Конспект лекций.

#### *Дополнительная*

1. Ленинджер Л. Биохимия. – Москва, 1986 (Т.1,2,3).

2. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия. – М.: Гэотар, Медицина, 2000. 120 с.

3. Биохимические основы патологических процессов (Под ред. Е.С.Северина). – М.: Медицина, 2000. 304 с.

4. Вельтишев Ю.В., Князев Ю.А. Обмен веществ у детей. Москва, 1983.

3. Реагирующая часть фермента «апофермент». Свойства активного центра, специфичность действия ферментов.

4. Особенности ферментативного катализа.

5. Механизм ферментативного катализа. Теории Фишера и Кошленда.

6. Кинетика ферментативных реакций. Закон Михаэлиса-Ментен.

7. Зависимость скорости ферментативных реакций от  $t$  и  $pH$ .

#### **IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.**

##### **Лабораторные работы:**

1. Определение активности амилазы слюны.

2. Определение влияния различных температурных режимов на активность амилазы слюны.

3. Определение специфичности действия амилазы слюны и сахаразы дрожжей.

4. Исследование влияния реакций среды на активность пепсина желудочного сока.

#### **V. Наименование лабораторной работы.**

##### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.**

##### **Определение активности амилазы слюны**

**Принцип работы:** Амилаза слюны относится к классу гидролаз и ускоряет гидролиз полисахаридов (например, крахмала). Действие амилазы слюны на гидролитическое расщепление крахмала можно обнаружить по определению конечных продуктов этой ферментативной реакции.

**Порядок проведения работы.** В две пробирки вносят: в первую – 10 капель слюны, во вторую – 10 капель желудочного сока. Затем в обе пробирки приливают по 10 капель 0,5% раствора крахмала и помещают на 10 минут в водяную баню при 37°. Далее пробирки извлекают, помещают в штатив и добавляют по 3 капли раствора Люголя. При надобности проверить конец гидролиза крахмала реакцией Феллинга.

*Схема протокола*

Исследуемый фермент	Объект исследования	Субстрат	Условия реакции	Результаты реакции с йодом	Результаты реакции Феллинга
амилаза	слюна	крахмал	37°-10'		

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2.**

**Определение влияния различных температурных режимов на активность амилазы слюны**

**Принцип работы:** В работе выявляется чувствительность фермента к температуре, при которой протекает ферментативная реакция. Для многих ферментов максимальная ферментативная скорость наблюдается при 38-40° С. При нагревании выше 70° С ферменты-белки, подвергаясь денатурации, теряют свойства биологических катализаторов. При низких температурах ферменты хорошо сохраняются, но скорость ферментативного катализа резко падает.

**Порядок проведения работы.** В 3 пробирки вносят по 10 капель слюны и 10 капель 0,5% раствора крахмала и помещают в водяную баню при 37° на 10 минут первую пробирку, вторую – на 10 минут в кипящую водяную баню, третью ставят на 10 минут на лед. Затем пробирки помещают в штатив и добавляют по 5 капель раствора Люголя. Результаты вносят в таблицу.

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции с йодом
		Температура	Время	
1. Амилаза	Крахмал	37°	10'	
2. Амилаза	//	100°	10'	
3. Амилаза	//	0°	10'	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**26 вопрос:** 1-Б, 2-А, 3-А, 4-В, 5-В.

**27 вопрос:** 1-А; 2-А; 3-А; 4-Б; 5-Б; 6-Б; 7-Б; 8-Б.

**Решите ситуационные задачи**

**Задача № 1**

В суспензию митохондрий добавили малат и АДФ. Как будут изменяться концентрации этих веществ при инкубации? Какие продукты из них образуются? Какие ферменты катализируют эти реакции? Какой может быть максимальная величина коэффициента Р/О ?

**Задача № 2**

В суспензию митохондрий добавили малат, АДФ.и 2,4 динитрофенол. Как будут изменяться концентрации этих веществ при инкубации? Какие продукты из них образуются? Какие ферменты катализируют эти реакции? Какой может быть максимальная величина коэффициента Р/ О

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени – 3 часа (135 минут)
2. Устный разбор материала – 60 мин
3. Проверка конечного уровня знаний – 20 мин
4. Лабораторная работа – 45 мин
5. Оформление протоколов – 10 мин

**IX. Вопросы для самостоятельного изучения**

1. Токсическое действие кислорода: перекисное окисление липидов.
2. Обезвреживание токсических форм кислорода.

**X. Список используемой литературы:**

**Обязательная**

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.
2. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под

**27 вопрос:** Составьте пары между соединениями и их прооксидантным или антиоксидантным эффектом.

Вит. Д<sub>3</sub>,  
НАДФН<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>.  
Fe<sup>2+</sup>.  
Se<sup>2+</sup>.

Вит А.  
Вит. Е.  
Стероидные гормоны.  
Альбумины.

А. Прооксиданты;  
Б. Антиоксиданты.

**Ответы:**

**1 вопрос:** I.

**2 вопрос:** 4.

**3 вопрос:** 4.

**4 вопрос:** 4.

**5 вопрос:** 1-Г; 2-А; 3-А; 4-А; 5-В; 6-А; 7-Б; 8-Б; 9-Г; 10-Г.

**6 вопрос:** 5.

**7 вопрос:** 3.

**8 вопрос:** 1-В, 2-Г, 3-А, 4-Б.

**9 вопрос:** 3.

**10 вопрос:** 5.

**11 вопрос:** 5.

**12 вопрос:** 5.

**13 вопрос:** 5.

**14 вопрос:** 4.

**15 вопрос:** 4.

**16 вопрос:** 4.

**17 вопрос:** 1-Б; 2-В; 3-А.

**18 вопрос:** 1-Г, 2-В, 3-Б, 4-А, 5-Д.

**19 вопрос:** 4.

**20 вопрос:** 3.

**21 вопрос:** 1-Д, 2-А, 3-Б.

**22 вопрос:** 3.

**23 вопрос:** 5.

**24 вопрос:** 4.

**25 вопрос:** 4.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3. Определение специфичности амилазы слюны и сахаразы дрожжей

**Принцип работы:** Способность катализировать только определенные химические реакции есть важное свойство ферментов. Эта высокая специфичность объясняется участием в образовании фермент-субстратного комплекса лишь определенных функциональных групп, входящих в состав ферментов. Амилаза ускоряет гидролиз лишь полисахаридов, а сахараза расщепляет только дисахарид сахарозу. Гидролиз соответствующих субстратов специфичными ферментами определяем по обнаружению конечных продуктов гидролиза реакцией Феллинга.

**Порядок выполнения работы.** В 2 пробирки вносят: в первую – 10 капель раствора крахмала, во вторую – 10 капель сахарозы. В обе пробирки добавляют по 5 капель амилазы слюны и помещают смеси в водяную баню при 37° С. Через 10 минут пробирки вынимают, охлаждают водой и в каждую пробирку добавляют по 5-6 капель раствора Феллинга. Пробирки нагревают и отмечают результаты. Параллельно аналогичную работу проделывают с другим ферментом – сахаразой дрожжей.

*Схема протокола*

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции Феллинга
		Температура	Время	
Амилаза	крахмал	37°	10'	
Амилаза	сахароза	//	10'	
Сахараза	крахмал	37°	10'	
Сахараза	сахароза	//	10'	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4.**  
**Исследование влияния реакции среды**  
**на активность пепсина желудочного сока**

**Принцип работы:** Оптимум рН для пепсина желудочного сока определяют при взаимодействии последнего с фибрином при различных значениях рН среды.

**Порядок выполнения работы.** В три пробирки наливают по 5мл буферного раствора с различными значениями рН. В каждую пробирку вносят по кусочку (20-30мг) окрашенного фибрина или яичного белка. Тщательно размешать и внести по 30мг пепсина. Инкубировать в течение 15-20 минут при 37° С, периодически помешивая смесь. Полученные результаты внести в протокол.

Фермент	Схема буф. рН	Субстрат	Условия реакции	Раствор фибрина
Пепсин	2	Фибрин	37°:15-25'	
//	7	//	//	
//	9	//	//	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

1. Ферменты как биокатализаторы. Охарактеризовать биологическую роль ферментов.

2. Ферменты простые и сложные. Дайте определение понятия «апофермент», «холофермент», «кофермент», «кофактор» и «простетическая группа».

3. Перечислите и охарактеризуйте коферменты – производные витаминов.

4. Назовите металлы, которые выполняют роль кофактора.

5. Назовите функции белковой части молекулы фермента.

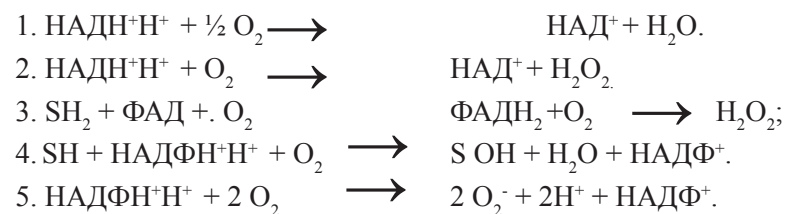
6. Понятие об активном центре, свойства активного центра; охарактеризуйте участие активного центра в ферментативном катализе.

2. Торможение синтеза АТФ.
3. Рассеивание энергии усиленного окисления в виде тепла.
4. Все верно.
5. Верно 1, 2.

**23 вопрос: Процессы разобщения наиболее активно протекают:**

1. В адипоцитах.
2. В бурой жировой ткани.
3. В скелетных мышцах.
4. В печени.
5. Верно 2,3,4.

**24 вопрос: Указать реакцию микросомального окисления (МО):**



**25 вопрос: Где локализовано микросомальное окисление?**

1. В цитозоле.
2. В митохондриях.
3. В цитоплазматической мембране.
4. В эндоплазматическом ретикулуме.
5. В ядре.

**26 вопрос: Укажите активные формы кислорода, обезвреживаемые следующими ферментами:**

1. Супероксиддисмутаза.
2. Каталаза. А. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;
3. Глутатионпероксидаза. Б. O<sub>2</sub><sup>-</sup>;
4. Глутатионредуктаза В. Ни то, ни другое.
4. НАДФН-оксидаза.

**18 вопрос:** Укажите, на какие комплексы ферментов действуют ингибиторы ЦТЭ и окислительного фосфорилирования:

- |                              |                             |
|------------------------------|-----------------------------|
| 1. CO, CN <sup>-</sup>       | А – I-комплекс;             |
| 2. Антимидин А.              | Б – II-комплекс             |
| 3. Малоновая кислота.        | В – III-комплекс;           |
| 4. Барбитураты, прогестерон. | Г – IV-комплекс;            |
| 5. Олигомицин.               | Д – H <sup>+</sup> АТФ-аза. |

**19 вопрос:** Выработка АТФ окислительным фосфорилированием снижается:

1. При ингибировании ферментов цпэ.
2. При ингибировании окислительного фосфорилирования.
3. При разобщении окислительного фосфорилирования.
4. Все верно.
5. Верно 1 и 2.

**20 вопрос:** Разобщение окислительного фосфорилирования – это:

1. Торможение транспорта e в ЦТЭ.
2. Торможение синтеза АТФ.
3. Нарушение образования  $\Delta \mu H^+$ , приводящее к усилению транспорта e и снижению синтеза АТФ.
4. Все верно.
5. Верно 1 и 2.

**21 вопрос:** Составить пары между названиями веществ и типами разобщителей:

- |                                     |                 |
|-------------------------------------|-----------------|
| 1. Желчные кислоты, этиловый спирт. | А. Протонофоры; |
| 2. Свободные жирные кислоты.        | Б. Ионофор;     |
| 3. Валиномицин, грамицидин.         | В. Детергенты.  |

**22 вопрос:** Указать причину пирогенного эффекта при действии разобщителей.

1. Ускорение транспорта e.

7. Особенности ферментативного катализа; отличие ферментов от неорганических катализаторов.

8. Что называют энергетическим барьером реакции? Что такое «энергия активации», понятие «переходное состояние».

9. Назовите и охарактеризуйте две теории действия ферментов.

10. Изобразите схематически протекание реакции превращения субстрата в продукт реакции по теории промежуточных соединений.

11. Объясните в общем виде механизм действия ферментов, исходя из теории фермент-субстратной комплементарности.

12. В чем заключается биологическая роль ступенчатости биохимических процессов в живых организмах?

13. С помощью каких связей происходит присоединение субстрата к активному центру фермента, какого значение «многоочечного» контакта фермента с субстратом?

14. В чем сущности кислотно-основного, а также нуклеофильного и электрофильного катализа ферментативных реакций?

15. Назовите нуклеофильные группы. Радикалы каких аминокислот встречаются в активном центре?

16. Что представляют собой электрофильные группы, встречающиеся в активном центре ферментов, как они действуют в акте катализа?

17. Перечислите факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.

18. Как изменяется скорость ферментативной реакции при изменении концентрации фермента.

19. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Закон Михаэлиса-Ментен.

20. Что такое константа Михаэлиса и ее биологическая роль.

21. Как изменяется скорость ферментативной реакции при изменении температуры, что такое термоллабильность?

22. Зависимость ферментативной активности от рН. Чем обусловлено влияние рН среды на скорость ферментативной реакции. Укажите оптимум рН для следующих ферментов: пепсин, трипсин, амилаза.

## VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Охарактеризуйте ферменты как биокатализаторы. Опишите строение ферментов. Дайте определение простым и сложным ферментам.

2. Классификация ферментов по химической структуре и биологической роли.

3. Написать несколько коферментов, производных витаминов – НАД, ФАД, ФМН; охарактеризовать их реагирующую часть молекулы.

4. Охарактеризовать коферменты, производные витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, фолиевой кислоты; написать структуры и объяснить, в каких процессах метаболизма они участвуют.

5. Охарактеризовать и написать формулы биотина, липоевой кислоты и в каких процессах метаболизма они участвуют.

6. Охарактеризовать роль аскорбиновой кислоты. Коферментом каких ферментов она является.

7. Назовите кобамидные коферменты. Производным какого витамина являются. Какова функция ферментов, содержащих кобамидные коферменты.

8. Чем отличается ферментативный катализ от неферментного.

9. Охарактеризуйте реагирующую часть апофермента. Опишите, как формируется активный центр, из каких групп состоит, какими свойствами обладает.

10. Охарактеризуйте влияние температурного режима и pH на активность ферментов.

## VIII. Хронокарта учебного занятия.

1. Программированный письменный самоконтроль – 15 минут.

2. Разбор теоретических вопросов темы – 20 минут.

3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.

## 14 вопрос: Что такое окислительное фосфорилирование?

1. Окисление НАДН<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>, ФАДН<sub>2</sub> некоторых субстратов и транспорт их на O<sub>2</sub>.

2. Перекачивание Н<sup>+</sup> от НАДН<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>, КоQН<sub>2</sub> из матрикса митохондрий в межмембранное пространство.

3. Образование энергии мембраны в виде Δ μ Н<sup>+</sup>.

4. Аэробный митохондриальный процесс трансформации энергии в виде Δ μ Н<sup>+</sup> в энергию АТФ.

5. Все верно.

## 15 вопрос: Укажите неверное положение в функции Н<sup>+</sup>-АТФ-азы:

1. Дозированный транспорт Н<sup>+</sup> из межмембранного пространства через F<sub>0</sub> в F<sub>1</sub>.

2. Образование на F<sub>1</sub> Р<sub>i</sub>: за счет связывания 2Н<sup>+</sup> с НРO<sub>4</sub><sup>2-</sup> и отнятия Н<sub>2</sub>O.

3. Фосфорилирование АДФ с помощью Р<sub>i</sub> в АТФ на F<sub>1</sub>.

4. Транспорт АТФ из матрикса в межмембранное пространство.

5. Гидролиз АТФ в матриксе митохондрий, ведущий к повышению энергоснабженности (Δ μ Н<sup>+</sup>) мембраны.

## 16 вопрос: Коэффициент фосфорилирования отражает:

1. Количество перекаченных Н<sup>+</sup>.

2. Количество поглощенного O<sub>2</sub>.

3. Количество синтезированного АТФ.

4. Отношение количества использованного Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub> (на фосфорилирование АДФ в АТФ) к количеству поглощенного кислорода (O).

5. Все верно.

## 17 вопрос: Составьте пары между величинами Р/0 и реакциями окисления соответствующих коферментов (субстратов).

1. НАДН<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> → НАД<sup>+</sup> А-1

2. ФАДН<sub>2</sub> → ФАД Б-3

Аскорбат → Дегидроаскорбат В-2



**9 вопрос: Последовательность расположения комплексов ферментов в ЦТК обусловлена:**

1. Строением комплексов ферментов.
2. Сродством комплексов ферментов к липидам мембраны.
3. Величиной их окислительно-восстановительных потенциалов.
4. Все верно.
5. Все неверно.

**10 вопрос: Роль ЦТЭ заключается:**

1. Восстановление  $O_2$ .
2. Образование эндогенной  $H_2O$ .
3. Перекачивание  $H^+$  в межмембранное пространство.
4. Образование электрохимического трансмембранного потенциала.
5. Все верно.

**11 вопрос: Укажите компоненты  $\Delta \mu H^+$**

1. Разность электрического потенциала ( $\Delta \mu H^+$ ) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством – электрический компонент.
2. Величины окислительно-восстановительных потенциалов комплексов ферментов ЦТЭ.
3. Величина рН в матриксе митохондрий.
4. Разность концентрация  $H^+$  ( $\Delta pH$ ) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством – химический компонент.
5. Верно 1 и 4.

**12 вопрос: Укажите комплексы ЦТЭ, образующие  $\Delta \mu H^+$ :**  
1-I; 2-II; 3-III; 4-IV; 5-I,3,4.

**13 вопрос: Трансформация  $\Delta \mu H^+$  в АТФ происходит:**

1. I комплексе ЦТЭ.
2. II комплексе ЦТЭ.
3. III комплексе ЦТЭ.
4. IV комплексе ЦТЭ.
5. H-АТФ-синтетазе.

4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов – 85 минут, (самостоятельная работа)
  5. Подведение итогов занятия – 10 минут.
- Всего – 135 минут.

**IX. Самостоятельная работа студентов.**

1. Современные представления о механизмах каталитической деятельности ферментов.
2. Структурная организация рибонуклеазы.
3. Желтухи новорожденных, вызванные энзимопатиями.

**X. Список используемой литературы**

**Обязательный:**

1. Березов Т.Т. Биохимия. 1998.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003.
3. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

**Дополнительный:**

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

## ЗАНЯТИЕ № 2

### Тема: РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. АКТИВАТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Активность ферментов в организме человека и высших животных регулируется, что обеспечивает приспособление интенсивности обмена веществ к скорости протекания жизненных процессов. Регуляция скорости ферментативных реакций в клетке – основной механизм не только контроля и координации метаболических путей, но и особенностей течения метаболизма в клетках различных органов и их адаптация к изменениям окружающей среды.

Живая клетка – открытая система, постоянно обменивающаяся с внешней средой веществами и энергией: в нее поступают питательные вещества, которые подвергаются превращению и используются в качестве строительного и энергетического материала, из клеток выводятся конечные продукты метаболизма. В многоклеточном организме клетка реагирует не только на изменение окружающей среды, но и на функциональную активность соседних клеток, она стремится сохранить неизменным свой внутренний состав – клеточный гомеостаз.

Среди всех метаболических путей, протекающих в организме, выделяют катаболизм и анаболизм (обмен веществ).

Катаболизм – распад сложных веществ до простых с высвобождением энергии.

Анаболизм – синтез из простых более сложных органических веществ.

Метаболические пути согласованы между собой по месту, времени и интенсивности протекания. Эта согласованность протекания обеспечивается сложными и многообразными механизмами регуляции.

Скорость ферментативной регуляции, как и активность фермента, в значительной степени определяется так же присутствием в среде активаторов и ингибиторов: первые повышают скорость реакции, а вторые – тормозят. Активирующее влияние на скорость

1. Гидролиз пищевых веществ в пищеварительном тракте.
  2. Гликолиз.
  3. Окислительное декарбоксилирование пирувата.
  4. Образование кетоновых тел.
  5. Реакции ЦТК.
  6. Образование мочевой кислоты.
  7. Образование холестерина.
  8. Образование фосфолипидов.
  8. Выделение  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  из организма.
  8. Связывание  $\text{O}_2$  в легких.
- А. Катаболизм.  
Б. Анаболизм.  
В. Амфиболический.  
Г. Не относится ни к какому типу.

#### 6 вопрос: Цепь тканевого дыхания (ЦТД) или цепь транспорта электронов (ЦТЭ) это:

1. НАД<sup>+</sup> – зависимые дегидрогеназы.
2. НАДН – дегидрогеназы.
3. ФАД – зависимые дегидрогеназы.
4. ФАД – зависимые оксидазы.

Совокупность комплекса ферментов, транспортирующих электроны (e) от НАДН<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>, ФАДН<sub>2</sub> и некоторых субстратов на  $\text{O}_2$  и одновременно перекачивающих Н<sup>+</sup> из матрикса митохондрий в межмембранное пространство.

#### 7 вопрос: ЦТЭ локализована:

1. В матриксе митохондрий.
2. Во внешней мембране митохондрий.
3. Во внутренней мембране митохондрий.
4. В мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭР).
5. В цитозоле.

#### 8 вопрос: Подберите пары между комплексами ферментов ЦТЭ и соответствующими названиями:

- I – комплекс    А. Ко Q Н<sub>2</sub>/цитохром С-оксидоредуктаза.  
II – комплекс    Б. Цитохромоксидаза (цитохром С/ $\text{O}_2$  – оксидоредуктаза).  
III – комплекс    В. НАДН/КоQ-оксидоредуктаза.  
IV – комплекс    Г. Сукцинат/КоQ-оксидоредуктаза.

1. Распад пищевых веществ до мономеров под действием пищеварительных компонентов.
2. Распад всосавшихся пищевых веществ и структурно-функциональных компонентов клетки до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  – катаболизм.
3. Использование энергии пищевых веществ.
4. Использование энергии структурно-функциональных компонентов клетки.
5. Синтез структурно-функциональных компонентов клетки – анаболизм.

**2 вопрос: В результате пищеварения происходит:**

1. Гидролиз пищевых биополимеров до мономеров.
2. Образование продуктов, лишенных видовой специфичности.
3. Всасывание продуктов, лишенных видовой специфичности.
4. Все верно.
5. Все неверно.

**3 вопрос: Катаболизм и анаболизм связаны между собой:**

1. Общими промежуточными метаболитами. Образующейся при катаболизме энергией.
2. Образующимися при катаболизме восстановительными эквивалентами.
3. Все верно.
4. Все неверно.

**4 вопрос: Основное значение амфиболических реакций:**

- Гидролиз пищевых биополимеров.
- Гидролиз внутриклеточных биополимеров до мономеров.
- Образование энергии в ходе катаболических реакций.
- Связывание катаболических и анаболических процессов.
- Синтез специфических биополимеров.

**5 вопрос: Составить пары: название биохимических процессов, их тип.**

ферментативной реакции оказывают разнообразные вещества органической и неорганической природы.

Основными способами регуляции активности ферментов являются: активирование и ингибирование.

Активирование протекает по типу срочной регуляции и хронической адаптации.

К срочной (быстрой) регуляции относятся:

1. Ковалентная модификация;
2. Частичный протеолиз;
3. Ассоциация-диссоциация;
4. Белок-белковые взаимодействия;
5. Аллостерическая регуляция.

Хроническая адаптация – дорепрессорное действие на синтез белка-фермента.

Ингибирование бывает обратимое и необратимое. Обратимое ингибирование в свою очередь разделяют на конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное. Ферменты применяют в медицине:

1. Ферменты и наследственная патология – энзимопатология, т.е. дефицит отдельных ферментов является причиной наследственных заболеваний.

2. Ферменты применяются с целью диагностики заболеваний (энзимодиагностика) – трансферазы АсАТ, АлАТ. Определение их активности используется для диагностики патологии сердца и печени.

3. При их отсутствии или недостатке (наследственном или приобретенном) например, ферменты пищеварительного тракта (пепсин, трипсин, липаза) входят в состав лекарств, улучшающих пищеварение.

4. Для специфического разрушения некоторых продуктов обмена, тромбов, участков омертвевшей ткани на ранах.

5. Многие лекарственные ферментные препараты при онкопатологии оказывают свое терапевтическое действие по механизму конкурентного ингибирования, т.е. являются антиметаболитами.

## II. Цель деятельности студентов на занятии.

### *Студент должен знать:*

1. Как регулируется интенсивность протекания химической реакции;
2. Виды регуляции (ингибирование и активирование);
  - а). Виды ингибирования: понятие об антиметаболитах;
  - б). Виды срочного (быстрого) активирования и хронической адаптации;
  - в). Аллостерическая регуляция – основной вид регуляции метаболических процессов и уровни регуляторной активности ферментов;
3. Использование ферментов в медицине.

### *Студент должен уметь:*

1. Определять влияние активатора и неспецифического ингибитора на активность амилазы слюны;
2. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

## III. Содержание обучения

### **Основные вопросы:**

1. Регуляция активности ферментов: ингибирование и активирование.
2. Виды активирования по типу срочной и быстрой регуляции и хронической адаптации.
3. Виды ингибирования: необратимое и обратимое, конкурентное и неконкурентное. Понятие об антиметаболитах.
4. Регуляторные ферменты и их роль в биологических процессах.
5. Аллостерическая регуляция олигомерных ферментов. Аллостерические «эффекторы» или «модуляторы».
6. Влияние положительных и отрицательных эффекторов.
7. Регуляция в клетке концентрации ферментных молекул.
8. Уровни регуляции активности ферментов.
9. Ферменты и медицина – энзимопатология, энзимодиагностика, энзимотерапия и др.

9. Напишите реакцию окисления субстрата НАД<sup>+</sup>-зависимой дегидрогеназой.

10. Напишите реакцию окисления НАДН флавиновым ферментом.

11. Напишите реакцию окисления ФМН Н<sub>2</sub> с помощью убихинона.

12. Напишите окисление восстановленного убихинона.

13. Что такое цитохромы? Какие разновидности участвуют в цепи транспорта электронов? Чем цитохромоксидаза отличается от цитохромов?

14. Что такое эндогенная вода? Сколько ее образуется за сутки в организме человека? Какова роль каталазы и глутатионпероксидазы?

15. Что мы понимаем под окислительным фосфорилированием? Что такое коэффициент фосфорилирования P/O?

16. В чем суть хемиосмотической теории сопряжения окисления с фосфорилированием.

17. Что такое трансмембранный электрохимический градиент? Из каких компонентов он складывается?

18. Какие участки дыхательной цепи обеспечивают сопряжение окисления и фосфорилирования?

19. Что представляет собой сопрягающее устройство?

20. Какие вещества являются разобщающими агентами?

21. Что представляет собой укороченная Ц.Т.Э.?

22. Сколько молекул АТФ возникает при прохождении по ней 2 электронов?

23. Что такое короткие нефосфорилированные цепи и где они функционируют?

## VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

### **Тестовый контроль**

**1 вопрос: Указать неверное положение в определении метаболизма.**

воды перестанут быть окрашенными. Почти бесцветную мышечную кашичу отжимают между листами фильтровальной бумаги. Полученная кашича содержит цитохромоксидазу, комплекс цитохромов и некоторые дегидрогеназы. Отмытую мышечную кашичу делят на 2 части. Одну часть оставляют на фильтровальной бумаге, а другую часть (контрольная проба) помещают в пробирку, заливают 1 мл дистиллированной водой, кипятят 1 минуту, затем охлаждают пробирку и осторожно сливают жидкость, а мышечную кашичу стеклянной палочкой переносят на фильтровальную бумагу. Затем на обе порции мышечной кашичи наносят по 2-3 капли реактива НАДИ, представляющего собой смесь диметилпарафенилендиамин и  $\alpha$ -нафтол в щелочной среде.

**Предполагаемые результаты:** Спустя несколько минут после добавления реактива НАДИ, непрокипяченная мышца постепенно окрашивается в синий цвет в результате образования индоферного голубого продукта окисления и конденсации  $\alpha$ -нафтола и NN – диметилпарафенилендиамин

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Назовите виды энергообеспечения процессов жизнедеятельности?
2. В каких процессах в организме человека затрачивается энергия?
3. Этапы расщепления органических веществ, которые приводят к освобождению энергии.
3. Схема унификации энергетических субстратов.
4. Что такое биологическое окисление?
5. Что такое цепь транспорта электронов, ее биологическая роль и локализация в клетке?
6. Назовите основные компоненты дыхательной цепи.
7. От чего зависит последовательность расположения комплексов в дыхательной цепи? Что такое редокс-потенциал?
8. Напишите схему полной дыхательной цепи. Обозначьте места выбрасывания протонов на наружную поверхность мембраны.

10. Единицы измерения активности ферментов – удельная активность ферментов.

#### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

##### Лабораторные работы:

1. Влияние активатора и неспецифического ингибитора на активность амилазы слюны.

#### V. Наименование лабораторной работы.

##### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

##### Влияние активатора и неспецифического ингибитора на активность амилазы

**Принцип работы:** Определяется активность амилазы слюны по Вольгельмуту при добавлении к реагирующей смеси определенных компонентов (хлористый натрий, сернокислая медь).

**Порядок выполнения работы:** В 10 пробирок наливают по 1мл воды, затем в 1 пробирку вносят 1мл разведенной в 10 раз слюны. Тщательно перемешивают и 1мл смеси вносят во 2 пробирку, раствор перемешивают и 1мл смеси вносят в 3 пробирку и т.д. Из 10 пробирки 1мл смеси вылить.

Таким образом, разведения будут:

Пробир.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Развед.	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240

Во все пробирки добавить по 2мл крахмала. В пробирки первого ряда добавить по 1мл  $H_2O$ . В пробирки второго ряда – по 1мл NaCl. В пробирки третьего ряда – по 1мл  $CuSO_4$ .

Все пробирки помещают на 30 минут в водяную баню при 38°. Затем пробирки охлаждают и прибавляют по капле р-ра Люголя. Результаты оформить в виде схемы-рисунков.

#### **VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

1. Как регулируется скорость протекания биохимических процессов в клетке? Начальные уровни регуляции биохимических процессов.

2. Ингибирование активности ферментов. Понятие об ингибиторах. Ингибирование обратимое и необратимое.

3. Назовите виды обратимого ингибирования; охарактеризуйте каждый вид обратимого ингибирования.

4. Чем характеризуется необратимое ингибирование ферментов?

5. Конкуренентное ингибирование. Антиметаболиты.

6. Что такое активаторы ферментов? Каков механизм их действия?

7. Какие вещества называются проферментами? Биологический смысл образования некоторых ферментов в неактивной форме.

8. Охарактеризуйте виды активирования: диссоциация и ассоциация ферментных молекул.

9. Какие ферменты называются регуляторными? Какую роль они играют в биохимических процессах?

10. Аллостерическая регуляция. Аллостерические эффекторы или модуляторы. Их характеристика.

11. Регуляция концентрации ферментативной молекулы (III уровень регуляции ферментативной активности).

12. Охарактеризуйте ферменты конститутивные, индуцибельные и репрессируемые.

13. Высший уровень регуляции ферментативной активности в организме.

14. Какими путями гормоны могут влиять на активность ферментов?

Пробирки химические  
Пипетки  
Лабораторная посуда  
Реактивы

#### **Слайды**

Энергетический обмен. Цепь транспорта электронов

– схема унификации энергетических субстратов

– переносчики дыхательной цепи

– ферментные комплексы дыхательной цепи

– реакции окисления в дыхательной цепи

– схема полной дыхательной цепи

– возможные варианты восстановления O<sub>2</sub>

#### **V. Наименование лабораторной работы**

##### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1. Качественная реакция на цитохромоксидазу**

**Принцип метода:** Цитохромоксидаза – оксидоредуктаза, катализирующая перенос электронов непосредственно на кислород, содержит железопорфириновый комплекс (гем) и ионы меди. Цитохромоксидаза (дыхательный фермент Варбурга) прочно связана с клеточной структурой. При извлечении белков из тканей фермент остается в нерастворившемся осадке. Цитохромоксидаза способна окислять при участии кислорода воздуха некоторые соединения, в частности диметилпарафенилендиамин и α-нафтол (реактив НАДИ). При окислении двух последних соединений образуется цветной продукт – индофеноловый голубой. Мышца, где цитохромоксидаза инактивирована тепловой денатурацией окрашивания не дает.

**Методика выполнения:** Берут 5 г свежих скелетных мышц, освобождают от жировой ткани, измельчают ножницами и тщательно растирают в ступке в течение 10 минут с четырехкратным объемом дистиллированной воды. Мышечную кашицу фильтруют через двойной слой марли и многократно промывают твердый остаток дистиллированной водой до тех пор, пока промывные

**Студент должен уметь:**

1. Провести качественную реакцию на цитохромоксидазу
2. Интерпретировать результаты эксперимента.

**III. Содержание обучения**

**Основные вопросы:**

1. Понятие о биологическом окислении
2. Набор переносчиков электронов в дыхательной цепи. Проблема донора и акцептора электронов.
3. Понятие об электрохимическом потенциале.
4. Окислительное фосфорилирование, факторы, необходимые для данного процесса.
5. Теория сопряжения биологического окисления и окислительного фосфорилирования. Локализация пунктов сопряжения в дыхательной цепи.
6. Коэффициент P/O и возможные его значения.
7. Альтернативные пути переноса электронов.

**IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО**

**Лабораторные работы:**

Качественная реакция на цитохромоксидазу.

**Наглядные пособия:**

**Таблицы**

1. Пути образования ацетил-КоА.
2. Взаимосвязь липидов, углеводов и белков в процессах обмена веществ.
3. Схема дыхательной цепи.
4. Окислительное фосфорилирование.
5. Превращение НАД в НАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>).
6. Превращение ФАД в ФАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>).

**Средства ТСО**

Кодоскоп

Доска

Водяная баня

15. Что понимают под энзимопатологией? Типы энзимопатологий.

16. На чем основана энзимодиагностика? Характеристика индикаторных или органоспецифических ферментов.

17. Охарактеризуйте изменения ферментативной активности в сыворотке крови при патологических состояниях: рахит, поражение поджелудочной железы, некроз миокарда и др.

18. Энзимотерапия. Назовите типы препаратов, используемых для энзимотерапии.

19. В чем заключается сущность действия лекарственных веществ?

20. Ферменты как мишени действия лекарственных веществ.

21. Ферменты как химические реагенты.

22. Методы обнаружения ферментов в биологических средах.

23. В каких единицах выражается активность ферментов?

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Регуляция активности биохимических процессов в клетке.

2. Как ингибируется активность ферментов? Обратимое и необратимое ингибирование.

3. Виды обратимого ингибирования. Охарактеризовать каждый из них.

4. Охарактеризуйте необратимое ингибирование ферментов.

5. Антиметаболиты и конкурентное ингибирование.

6. Механизм действия активаторов ферментов.

7. Что такое проферменты и биологический смысл их образования.

8. Охарактеризовать процесс диссоциации и ассоциации ферментативных молекул.

9. Характеристика аллостерической регуляции, аллостерических эффекторов или модуляторов.

10. Что такое индуцибельные, конститутивные и репрессируемые ферменты?

11. Пути влияния гормонов на активность ферментов.

12. Типы энзимопатологий.

13. Энзимодиагностика, органоспецифические или индикаторные ферменты, их характеристика.

14. Энзимотерапия, ферменты-мишени действия лекарственных веществ.

15. Единицы выражения активности ферментов, удельная активность ферментов.

### **VIII. Хронокарта учебного занятия.**

1. Программированный письменный самоконтроль-15 минут.

2. Разбор теоретических вопросов темы-20 минут.

3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ – 5 минут.

4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов – 85 минут (самостоятельная работа).

5. Подведение итогов занятия – 10 минут.

Всего 135 минут.

### **IX. Самостоятельная работа студентов.**

1. Классификация ферментов по биологическому значению. Значение органоспецифических ферментов в диагностике различных патологий (энзимодиагностика).

2. Энзимодиагностика патологии рака предстательной железы и первичного рака печени.

3. Энзимодиагностика патологии почек.

4. Врожденные и приобретенные энзимопатии.

### **X. Список используемой литературы**

#### **Обязательный:**

1. Березов Т.Т. Биохимия. 1998.

2. Северин Е.С. Биохимия. 2003.

3. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами. 2001.

4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

5. Учебно-методическое пособие: «Ферменты».

ранного потенциала с последующим использованием ее для фосфорилирования АДФ, то есть синтеза АТФ. Протонный градиент создается путем выталкивания ионов водорода в трех участках дыхательной цепи: при переходе электронов с ФМН  $H_2$  через FeS-белок на КоQ, при переходе электронов с КоQH<sub>2</sub> через FeS-белок на цитохром  $c_1$  и при транспорте электронов от цитохрома  $a_3$  к  $O_2$ . Эти участки обозначены как пункты сопряжения.

*Сопрягающее устройство* является биохимической системой, осуществляющей фосфорилирование АДФ (синтез АТФ) за счет энергии протонного потенциала. Локализовано оно в грибковидных выступах внутренней мембраны митохондрий. Одна часть – это белковый канал ( $F_0$ ), другая – ( $F_1$ ) – это фермент  $H^+$ -АТФ-синтетаза. Поток протонов через сопрягающее устройство сопровождается разряд мембраны и выделение свободной энергии, обуславливает синтез АТФ из АДФ и  $H_3PO_4$ . При этом происходит либо активирование фосфата, либо конформационные изменения белка.

Эти процессы являются общими для всех органических субстратов, именно они нарабатывают энергию для процессов жизнедеятельности, нарушение которых приводит к развитию патологических процессов. Поэтому очень важно для студентов знать основы биоэнергетики, процесс биологического окисления и окислительного фосфорилирования.

### **II. Цель деятельности студентов на занятии**

#### **Студент должен знать:**

1. Общие представления об обмене энергии: катаболические и анаболические процессы.

2. Процесс биологического окисления и сопряженного с ним окислительного фосфорилирования.

3. Цепь транспорта электронов: основные переносчики. Ферментные комплексы дыхательной цепи.

4. Токсическое действие кислорода: перекисное окисление липидов. Обезвреживание токсических форм кислорода.



ранного электрохимического потенциала, возникающего при освобождении энергии электронов в процессе миграции их по дыхательной цепи к вдыхаемому  $O_2$ .

*Коэффициент фосфорилирования* (P/O) это соотношение количества израсходованного на синтез АТФ фосфора  $H_3PO_4$  и поглощенного  $O_2$ . Он выражает эффективность функционирования цепи транспорта электронов: чем выше коэффициент, тем больше синтезируется АТФ в расчете на пару переносимых электронов. В полной дыхательной цепи коэффициент равен 3, в случае же укороченной равен 2.

Согласно *хемиосмотической гипотезе Митчела-Скулачева* основным фактором сопряжения окисления и фосфорилирования является *протонный градиент*. Часть энергии электронов окисленного субстрата в процессе их миграции по дыхательной цепи трансформируется в энергию трансмембранного электрохимического потенциала, создаваемого путем перекачки протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. В дальнейшем протоны через канал сопрягающего устройства возвращаются в матрикс (закрывается протонный цикл), концентрация протонов выравнивается, мембрана разряжается, а энергия трансмембранного электрохимического градиента используется для синтеза АТФ.

*Трансмембранный электрохимический потенциал* и протонный потенциал, протон – движущая сила ( $\Delta \mu H$ ) – это градиент концентрации ионов водорода и электрических зарядов по обе стороны внутренней мембраны митохондрий. Этот потенциал складывается из разности электрических зарядов ( $\Delta \psi$ ) равной около 0,206 и градиента ионов водорода ( $\Delta pH$ ) – около 0,056. Общая величина  $\Delta \mu H = 0,25$  в. Протонный потенциал возникает путем перекачки  $H^+$  из матрикса в межмембранное пространство за счет энергии транспорта электронов. В каждой точке сопряжения и фосфорилирования в межмембранное пространство поступает не менее 2  $H^+$ .

Под сопряжением понимают превращение энергии транспорта электронов в промежуточную форму – в энергию трансмемб-

#### *Дополнительный:*

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
4. Ленинджер. Биохимия.
5. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
6. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

## РАЗДЕЛ III. «ВИТАМИНЫ»

### ЗАНЯТИЕ № 1

#### Тема: ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

##### I. Научно-методическое обоснование темы:

**Витамины** – это органические низкомолекулярные биологически активные вещества, не синтезирующиеся в клетках организма человека (за исключением нескольких), поступающие из внешней среды и принимающие участие в биологическом катализе, процессах роста и воспроизведения.

Источниками витаминов являются пищевые продукты, а также синтез их микрофлорой кишечника.

В организме человека могут синтезироваться: витамин РР в печени из триптофана и витамин Д<sub>3</sub> (в печени и коже) из холестерина, в печени из каротиноидов возникает ретинол, а также в небольшом количестве (приблизительно 20%) образуется холин (в составе лецитинов), микрофлорой кишечника – В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, РР, фолиевая кислота, пантотеновая кислота, К, биотин. В организм человека витамины могут поступать в виде предшественников – провитаминов, примерами служат для ретинола – каротиноиды, для витамина Д<sub>3</sub> – 7-дегидрохолестерин, для витамина Д<sub>2</sub> – эргостерин.

Суточная потребность витаминов ничтожно мала, измеряется миллиграммами и даже микрограммами. Так, взрослым в сутки необходимо 50-100 мг витамина С, 1- 2,5 мг фолиевой кислоты, 150-250 мкг биотина, 2-5 мкг кобаламина. Потребность человека в витаминах зависит от возраста, качества питания, состояния организма, условий жизни и деятельности.

В номенклатуре витаминов используется обозначение их буквами латинского алфавита, применяются также наименования, отражающие их клиническое действие, иногда в названии отражают химическое строение и распространенность витамина. Например, В<sub>12</sub> - кобаламин – антианемический витамин, В<sub>1</sub> - тиамин – антиневритный, РР (В<sub>3</sub>) – никотиновая кислота (ниацин) – антипеллагрический витамин.

Ферментный комплекс 3 называется КоQ Н – цитохром с – оксидоредуктаза (комплекс вс) и передает электроны от КоQ на цитохром с.

4. Ферментный комплекс 4 – цитохромоксидаза, катализирует перенос электронов от цитохрома с на кислород. В этот комплекс входят цитохром а и а<sub>3</sub>, содержащие два гема и два иона Cu<sup>2+</sup>, которые меняя валентность с Cu<sup>2+</sup> на Cu<sup>+</sup> и обратно, принимают и отдают электроны на цитохром а<sub>3</sub>, электроны присоединяются к ионам Cu<sup>2+</sup>, а от них на O<sub>2</sub>

Дыхательная цепь локализуется во внутренней мембране митохондрий и располагается асимметрично.

Последовательность расположения компонентов дыхательной цепи определяется большей или меньшей выраженностью у них окислительной и восстановительной способности, которая характеризуется *окислительно-восстановительным потенциалом* (редокс потенциал). Чем отрицательнее редокс – потенциал, чем сильнее восстанавливающая способность, то есть способность отдавать электроны, тем большей энергией эти электроны обладают. Наибольшей окислительной способностью (принимать электроны) обладает O<sub>2</sub>, и его редокс-потенциал имеет наибольшую величину.

Она достигает в ЦПЭ – 1,2 в, что соответствует освобождению 220 кДж энергии в расчете на 1 моль Н<sup>+</sup> (52,7 ккал/моль) в стандартных условиях измерения. В физиологических же условиях в клетке эти величины составляют 380 кДж или 90 ккал/моль).

Митохондриальная дыхательная цепь *укорачивается* в том случае, если субстрат дегидрируется сразу флавиновым ферментом (с коферментом ФАД). При этом электроны и протоны с такого субстрата сразу передаются через ФАД убихинону.

Редокс-потенциал у подобных субстратов выше, чем у тех, которые окисляются НАД<sup>+</sup>-зависимой дегидрогеназой, запас энергии у электронов меньше, поэтому трансмембранный потенциал возникает меньшей величины и вследствие этого синтезируется меньшее количество АТФ (2 молекулы).

*Окислительным фосфорилированием* называется синтез АТФ путем фосфорилирования АДФ, используя энергию трансмемб-

ложнения химической структуры), активного транспорта веществ через мембраны, механической работы (мышечное сокращение), а так же для генерирования электрического тока и иногда света (биолюминесценция)

Носителями энергии являются электроны, формирующие связи между атомами в органических субстратах. Для использования этой энергии необходимо расщепление молекул субстрата и освобождение энергии электронов. Источником этой энергии являются процессы биологического окисления, сопряженного с окислительным фосфорилированием, происходящим в организме человека и животных.

*Биологическое окисление* – это окисление ионов водорода молекулярным кислородом с образованием эндогенной воды. Основным источником энергии являются соединения ионов водорода, отщепляемого от распадающегося субстрата с  $O_2$  в дыхательной цепи.

*Дыхательная цепь (цепь переноса электронов)* представляет собой биохимическую систему во внутренней мембране митохондрий, состоящую из ряда переносчиков электронов и протонов, транспортирующих электроны от окисляющегося субстрата к вдыхаемому кислороду. Дыхательная цепь в процессе миграции по ней электронов обеспечивает постепенную (ступенчато) отдачу им своей избыточной энергии, которая частично (40-50%) переходит в энергию трансмембранного электрохимического потенциала, а затем аккумулирует в синтезирующиеся молекулы АТФ. Часть энергии электронов (50-60%) расходуется в виде тепла, что необходимо для поддержания температуры тела. Происходит сопряжение процессов биологического окисления и окислительно-фосфорилирования.

Основной путь переноса электронов и протонов (полная дыхательная цепь) включает в себя 4 ферментных комплекса:

Комплекс 1 – называется НАДН – КоQ (убихинон)- оксидоредуктаза и обеспечивает передачу электронов от НАДН  $H^+$  к КоQ.

Комплекс 2 – сукцинат – КоQ -оксидоредуктаза – катализирует перенос электронов от сукцината (ацилов жирных кислот) на КоQ.

Витамины делятся на водорастворимые и жирорастворимые. К *водорастворимым* относятся  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ,  $B_{15}$ , РР, С, биотин, пантотеновая кислота, фолиевая кислота, липоевая кислота, иногда также холин, инозит и др., к *жирорастворимым* – А, Д, Е, К, F. В организме человека имеются витаминopodobные вещества: холин, инозит, липоевая кислота, витамин  $B_{15}$ , витамин U, карнитин, убихинон, оротовая кислота.

Витамины выполняют важные функции в организме человека. Так, роль водорастворимых витаминов заключается в том, что они принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях, выполняют роль коферментов, соединяющихся со специальными белками с образованием биологических катализаторов – ферментов, в трансферазных реакциях, входят в состав мультиферментных комплексов, являются переносчиками цепи транспорта электронов.

Так, витамин  $B_1$  (тиамин, антиневритный, аневрин, анейрин) в составе тиаминдифосфата (ТДФ, ТПФ) участвует в окислительном декарбоксилировании  $\alpha$ -кетокислот (пировиноградной кислоты (ПВК),  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты), а так же в транскетотазной реакции, в неокислительном декарбоксилировании пирувата.

Витамин  $B_2$  (рибофлавин) является предшественником коферментов ФМН (флавиномононуклеотид), ФАД (флавинадениндинуклеотид). В составе коферментов ФМН и ФАД участвует в окислительно-восстановительных реакциях (перенос  $H^+$ ). Соответствующие ферменты – дегидрогеназы, оксидазы имеют общее название флавиновые ферменты.

Разновидностями витамина  $B_6$  являются пиридоксин (пиридоксол), пиридоксаль, пиридоксамин. Витамин  $B_6$  (пиридоксин, антидерматитный) предшественник кофермента пиридоксальфосфат (ПФ). Принимает участие в реакциях трансаминирования аминокислот, декарбоксилирования аминокислот, взаимопревращении D и L -форм аминокислот.

Разновидностями витамина РР являются никотиновая кислота и никотинамид (антипеллагрический витамин). Из витамина РР возникают никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотина-

мидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). В составе НАД и НАДФ витамин РР участвует в окислительно-восстановительных реакциях. Соответствующие ферменты – дегидрогеназы, редуктазы. Ниацин переносит водород с субстрата на акцептор при участии НАД и НАДФ.

Витамин С (аскорбиновая кислота, антикорбутный витамин) может находиться в организме человека в восстановленной и окисленной (дегидроаскорбиновая кислота) формах. Принимает активное участие в окислительно-восстановительных реакциях. Как кофактор, совместно с железом, участвует в гидроксилации лизина и пролина, необходимых для созревания коллагена.

Недостаточность или избыток витаминов приводит к тяжелым нарушениям обмена веществ. Существует понятие: *гиповитаминозы* – недостаточная обеспеченность организма витаминами, *авитаминоз* – состояние, возникающее при полном прекращении поступления витаминов в организм, *гипервитаминоз* – состояние, возникающее при чрезмерно большом поступлении витаминов, *полиавитаминозом* называется состояние, развивающееся вследствие прекращения поступления в организм нескольких витаминов одновременно. Недостаточность витаминной функции в организме может возникать вследствие недостаточности поступления витамина с пищевыми продуктами, изменения нормальной микрофлоры кишечника (заболевания желудочно-кишечного тракта, подавление нормальной микрофлоры лекарственными препаратами, нарушения всасывания, например, жирорастворимые витамины при патологии печени, нарушение транспортировки витаминов кровью, нарушение превращения витаминов в активную форму (коферменты), нарушение взаимодействия кофермента с белком, нарушение синтеза белковой части фермента, а также вследствие воздействия антивитаминов.

Из организма с мочой постоянно выделяются продукты метаболизма (деградации) ферментов и витаминов, в некотором количестве и свободном состоянии.

Гипо-, гипер-, авитаминозы могут привести к необратимым последствиям обмена веществ, поэтому знание биологической роли витаминов необходимо для врачей всех специальностей.

**Тема: ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ**

**I. Научно-методическое обоснование темы:**

В зависимости от вида использования энергии все организмы делятся на *фототрофные* (использование энергии солнечного излучения) и *хемотрофные* (использование энергии химических веществ). К фототрофным относят все растения, к хемотрофам – животных и человека.

Живые организмы находятся в постоянной и неразрывной связи с окружающей средой. Эта связь осуществляется в процессе обмена веществ, который включает *3 этапа*: поступление веществ в организм, метаболизм и выделение конечных продуктов из организма.

Поступление веществ происходит в результате дыхания и питания. В желудочно-кишечном тракте происходит переваривание (гидролиз полимеров – белков, полисахаридов, липидов и других сложных органических веществ) до мономеров.

Момеры всасываются и включаются в промежуточный обмен, который состоит из 2 типов реакций: катаболизма и анаболизма.

*Катаболизм* – процесс расщепления органических молекул до конечных продуктов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и мочевины). Реакции сопровождаются выделением энергии.

*Анаболизм* объединяет биосинтетические процессы, в которых простые строительные блоки соединяются в сложные макромолекулы, необходимые для организма. В этих реакциях используется энергия, освобождающаяся при катаболизме.

Процессы катаболизма в клетках животных и человека сопровождаются потреблением кислорода, который необходим для реакций окисления. В результате этих реакций происходит освобождение энергии, которая необходима организмам в процессе жизнедеятельности для осуществления различных видов работы. Энергия необходима для поддержания температуры тела, выполнения химической работы (синтез органических соединений, ус-

## IX. Самостоятельная работа студентов

Структура и биологическая роль витамина Е (токоферола)

Структура и биологическая роль витамина К (филлохинона).

Зарисовать и заполнить таблицу по жирорастворимым витаминам:

Наименование витамина	Химическая природа	Структура витамина	Суточная потребность	Распространение в природе	Биологическая роль

## X. Список используемой литературы

### Обязательная

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. – М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.

3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.

5. Дзугоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.

### Дополнительная

1. Страйер Л. Биохимия. Москва, 1985. Т. 1, 2, 3.

2. Ленинджер Л. Биохимия. Москва, 1986. Т. 1, 2, 3.

3. Уайт А. Основы биохимии. Москва, 1981.

4. Мак Мюррей У. Обмен веществ у человека. Москва, 1980.

5. Вельтишев Ю.В., Князев Ю.А. Обмен веществ у детей. Москва, 1983.

6. Е.С.Северин, Т.Л.Алейникова, Е.В.Осипов Биохимия. М.: Медицина, 2000. 164 с.

7. Биохимические основы патологических процессов (под ред. Е.С.Северина). М.: Медицина, 2000. 304 с.

## I. Цель деятельности студентов на занятии

### Студент должен знать:

1. Классификацию витаминов;
2. Структуру витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, С), природные источники, суточную потребность, их коферментную функцию и участие в метаболических процессах.
3. Нарушения обмена веществ и патологические состояния, возникающие при недостаточности данных витаминов.

### Студент должен уметь:

1. Провести качественные реакции на витамины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>.
2. Обнаружить альдегидоксидазу в молоке.
3. Определить количество витамина С в капусте и картофеле.

## I. Содержание обучения:

### Основные вопросы:

Классификация витаминов.

Химическая структура, природные источники, суточная потребность и биологическая роль витаминов:

- В<sub>1</sub> (тиамин),
- В<sub>2</sub> (рибофлавин),
- В<sub>6</sub> (пиридоксин),
- РР (амид никотиновой кислоты),
- С (аскорбиновая кислота).

3. Патологические состояния, возникающие при недостаточности или избытке витаминов в организме человека (гипо-, гипер- и авитаминозы)

4. Методы определения витаминов

## II. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

### Лабораторные работы:

1. Реакция окисления тиамин В<sub>1</sub>.
2. Качественная реакция на витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин).
3. Обнаружение альдегидоксидазы в молоке.
4. Количественное определение витамина С.

### Наглядные пособия:

#### Таблицы

1. Витамины В<sub>12</sub>.
2. Авитаминоз РР.
5. Химический состав и калорийность молока.

### V. Наименование лабораторной работы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

##### Реакция окисления тиамин В<sub>1</sub>

**Принцип метода:** В щелочной среде тиамин окисляется в тиохром феррицианидом калия, тиохром обладает синей флюоресценцией при ультрафиолетовом облучении.

**Методика выполнения:** К 1 капле 5%раствора тиамин прибавляют 5-10 капель 10% раствора едкого натра, 1-2 капли 5% раствора феррицианида калия, взбалтывают и слегка нагревают

**Предполагаемые результаты:** Происходит окрашивание смеси в желтый цвет в результате окисления тиамин в тиохром, который в щелочном растворе при облучении ультрафиолетом обладает интенсивной синей флюоресценцией.

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

##### Качественная реакция на витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин)

**Принцип метода:** Окисленная форма витамина В<sub>2</sub> – желтое флюоресцирующее в ультрафиолетовых лучах вещество. Реакция на витамин В<sub>2</sub> основана на способности его легко восстанавливаться; при этом раствор витамина В<sub>2</sub>, обладающий желтой окраской, приобретает сначала розовый цвет за счет образования промежуточных соединений, а затем обесцвечивается, т. к. восстановленная форма витамина В<sub>2</sub> бесцветна

**Методика выполнения:** В пробирку наливают 10 капель раствора В<sub>2</sub>, добавляют 5 капель концентрированной хлористоводородной кислоты и опускают зёрнышко металлического цинка.

4. Охарактеризуйте биологическую роль витамина А.
5. Назовите симптомы гиповитаминоза А.
6. Каких представителей витаминов группы D Вы знаете? Назовите провитамины.
7. Каковы основные источники витамина D в организме человека? Его суточная потребность.
8. Назовите активные формы витамина D
9. Какие соединения относятся к кальцитриолам? Где и как происходит их синтез?
10. Какова биологическая роль витамина D<sub>3</sub>?
11. Охарактеризуйте основные проявления гиповитаминоза D<sub>3</sub> и механизм их появления.
12. Какие появляются изменения при гипервитаминозе D?
13. Какие витамины относятся к витаминам группы К? Назовите его водорастворимый аналог.
14. Назовите пищевые источники витамина К и их суточную потребность.
15. Какова биологическая роль витамина К?
16. Какие симптомы характерны для гиповитаминоза К?
17. Какие симптомы характерны для гипервитаминоза К?
18. Назовите авитамины К.
19. Какие соединения относятся к витаминам Е?
20. Назовите пищевые источники витамина Е и их суточную потребность.
21. Какова биологическая роль витамина Е.?
22. Какие симптомы характерны для гиповитаминоза Е.?
23. Какие соединения относят к витаминам F?
24. Какова суточная потребность витамина F?
25. Для каких физиологических процессов необходимы полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты?

### VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени – 3 часа (135 минут).
2. Устный разбор материала – 60 мин.
3. Проверка конечного уровня знаний – 20 мин.
4. Лабораторная работа – 45 мин.
5. Оформление протоколов – 10 мин.

**Предполагаемые результаты:** Содержимое пробирки приобретает красное окрашивание  
Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.

##### Качественная реакция на искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол)

**Принцип метода:** Раствор викасола в щелочной среде при добавлении цистеина окрашивается в желто-оранжевый цвет.

**Методика выполнения:** В сухую пробирку берут 5 капель раствора викасола, добавляют 5 капель раствора цистеина и 1 каплю 10% раствора едкого натрия

**Предполагаемые результаты:** появляется желтое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Что такое жирорастворимые витамины?
2. Какие жирорастворимые витамины Вы знаете?
3. Назовите источники жирорастворимых витаминов.
4. Какие жирорастворимые витамины могут синтезироваться в организме человека?
5. Какие провитамины этой группы Вы знаете? Из чего могут синтезироваться жирорастворимые витамины?
6. Судьба жирорастворимых витаминов в организме.

#### VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какие формы витамина А существуют в организме человека?
2. Назовите пищевые источники витамина А, его провитамины и их суточную потребность.
3. Опишите процесс превращения провитамина – β-каротина в витамин А, сколько молекул образуется?

**Предполагаемые результаты:** Происходит выделение пузырьков водорода, жидкость постепенно розовеет, затем обесцвечивается.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.

##### Обнаружение альдегидоксидазы в молоке

**Принцип метода:** По химической природе альдегидоксидазы являются флавопротеидами, способными окислять альдегиды (например, формальдегид). При добавлении к некипяченному молоку формальдегида и метиленового синего, названный фермент окисляет формальдегид в муравьиную кислоту, а освобожденный при этом водород передается на метиленовый синий, восстанавливая его в бесцветное соединение.

**Методика выполнения:** В 2 пронумерованные пробирки наливают по 15 капель молока. Молоко в пробирке 1 кипятят, после чего охлаждают. В каждую пробирку вносят по капле раствора формальдегида и по капле раствора метиленового синего. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и добавляют в каждую пробирку по 5 капель вазелинового масла, чтобы создать анаэробные условия. Пробирки помещают в водяную баню при 37°C.

**Предполагаемые результаты:** Отмечают постепенное обесцвечивание метиленовой сини в пробирке 2. Пробирка 1, содержащая кипяченое молоко, является контрольной, в ней обесцвечивание метиленового синего не произошло, т. к. фермент разрушен нагреванием.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

#### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.

##### Количественное определение витамина С

**Принцип метода:** Метод основан на способности витамина С восстанавливать 2,6 – дихлорфенолиндофенол, который в кислой среде имеет красную окраску, а при восстановлении обесц-

вечивается; в щелочной среде окраска синяя. Для предохранения витамина С от разрушения исследуемый раствор титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6 дихлорфенолиндофенолом до появления розового окрашивания.

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в капусте, картофеле, хвое и др. используют формулу:

$$X = \frac{0,088 \times A \times \Gamma \times 100}{B \times B}$$

где

X – содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г продукта,

0,088 – содержание аскорбиновой кислоты; мг,

A – результат титрования 0,001 г раствором 2,6 – дихлорфенолиндофенола (мл)

B – объём экстракта, взятый для титрования (мл),

B – количество продукта, взятое для анализа (г),

Г – общее количество экстракта (мл),

100 – пересчет на 100 г продукта.

**Методика выполнения:**

**а) Определение содержания витамина С в капусте.**

Отвешивают 1 г капусты на весах, растирают в ступке с 2 мл 10% раствора хлористоводородной кислоты + 8 мл воды, фильтруют, берут 2 мл вытяжки, титруют 2,6 – дихлорфенолиндофенолом до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 сек. Вычисляют содержание аскорбиновой кислоты в 100 г капусты по формуле, указанной выше;

**б) определение содержания витамина С в картофеле.**

Отвешивают 5 г картофеля, растирают в ступке с 20 каплями 10% раствора хлористоводородной кислоты. Постепенно приливают дистиллированную воду – 15 мл. Полученную массу сливают в стаканчик, ополаскивают ступку водой, сливают её по стеклянной палочке в стаканчик и титруют 0,001 н раствором 2,6 – дихлорфенолиндофенола до розовой окраски. Вычисляют по формуле.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1. Качественная реакция на витамин А (ретинол)

**Принцип метода:** Раствор витамина А образует с серной кислотой эфирное соединение красно-бурого цвета.

**Методика выполнения:** В сухую пробирку отмеривают 3 капли рыбьего жира в хлороформе и добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты.

**Предполагаемые результаты:** Появляется красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в красно-бурое.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2. Качественная реакция на витамин Д (холекальциферол)

**Бромхлороформная проба**

**Принцип метода:** Витамин Д, содержащийся в рыбьем жире, при взаимодействии с раствором брома в хлороформе приобретает зеленовато-голубую окраску.

**Методика выполнения:** В сухую пробирку вносят 2-3 капли рыбьего жира или 1 каплю концентрата витамина Д и 2-4 капли раствора брома в хлороформе (1:60).

**Предполагаемые результаты:** В присутствии витамина Д постепенно появляется зеленовато-голубое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3. Качественная реакция на витамин Е (α-токоферол)

**Реакция с хлоридом железа**

**Принцип метода:** Раствор α-токоферола окисляется хлоридом железа в токоферилхинон и раствор окрашивается в красный цвет.

**Методика выполнения:** В сухую пробирку берут 5 капель 0,1% раствора спиртового витамина Е (α-токоферол), прибавляют 0,5 мл 1% раствора хлорида железа, перемешивают.



2. Нарушения обмена веществ и патологические состояния, возникающие при недостаточности данных витаминов.

**Студент должен уметь:**

1. Обнаружить в биологической среде витамины А, Д, Е (качественные реакции), искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол).
2. Показать, что он дает такие же качественные реакции.

**III. Содержание обучения:**

**Основные вопросы**

1. Структура витамина А и его провитаминов, природные источники, суточная потребность, биологическая роль, участие в метаболических процессах.
2. Структура витамина Д и его провитаминов, природные источники, суточная потребность, биологическая роль, участие в метаболических процессах, роль в обмене фосфора и кальция.
3. Нарушение обмена веществ при рахите.

**IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.**

**Лабораторные работы:**

1. Качественная реакция на витамин А (ретинол).
2. Качественная реакция на витамин Д (кальциферол).
3. Качественная реакция на витамин Е (токоферол).
4. Качественная реакция на искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол).

**Наглядные пособия:**

**Таблицы**

1. Авитаминоз D/
2. Цикл родопсина в сетчатке глаза.

**V. Наименование лабораторной работы**

**Предполагаемые результаты:** В норме в капусте содержание витамина С = мг/100 мл, в картофеле – мг/100 мл  
Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний**

1. Что такое витамины?
2. Назовите источники витаминов для человека.
3. Какие витамины могут синтезироваться в организме человека?
4. Какие витамины синтезируются микрофлорой кишечника?
5. Что такое провитамины? Назовите их.
6. Какие вещества являются незаменимыми факторами питания?
7. Какими единицами измеряется суточная потребность человека в витаминах и от каких факторов зависит потребность человека в различных витаминах?
8. Какие принципы используются для номенклатуры витаминов?
9. Как классифицируются витамины?
10. Назовите витаминоподобные вещества.
11. Назовите и охарактеризуйте типы нарушений (заболеваний), связанных с количественным нарушением обеспечения организма витаминами.
12. Что такое гипо-, гипер-, авитаминозы?
13. Назовите и кратко охарактеризуйте причины недостаточности витаминной функции в организме.
14. В каких единицах выражается содержание витамина в пищевых продуктах?
15. Какую функцию выполняют витамины в организме? Опишите кратко их взаимосвязь с ферментом (коферментом).
16. Судьба витаминов в организме.
17. Что такое антивитамины?

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:**

1. Напишите формулу витамина В<sub>1</sub> и дайте еще 3 названия данного витамина.

2. Назовите природные источники тиамин, укажите его суточную потребность.
3. Какова роль тиамин в обмене веществ? Назовите коферменты, которые из него возникают и напишите их.
4. Напишите декарбоксилирование и окисление  $\alpha$ -кетокислоты (пировиноградной кислоты) при участии ТПФ. Какие ферменты содержат в качестве кофермента ТПФ?
5. Каковы проявления авитаминоза  $B_1$ ?
6. Напишите формулу витамина  $B_2$ , дайте ему другое название.
7. Какие продукты богаты витамином  $B_2$ ? Назовите его суточную потребность.
8. Какова роль витамина  $B_2$  в обмене веществ?
9. Назовите коферменты, которые из него возникают. Напишите формулы коферментов ФМН и ФАД.
10. Напишите реакцию переноса водорода с субстрата на акцептор при участии ФАД (ФМН).
11. Назовите важнейшие симптомы  $B_2$ -авитаминоза.
12. Витамин  $B_6$ , назовите его разновидности, напишите структуру.
13. В каких пищевых продуктах содержится много витамина  $B_6$ ? Его суточная потребность.
14. Какова биологическая роль витамина  $B_6$ ?
15. Назовите коферменты, которые возникают из витамина  $B_6$ , в каких реакциях принимают участие эти коферменты?
16. Назовите важнейшие симптомы  $B_6$  авитаминоза.
17. Как иначе называется витамин  $B_{12}$ ? Дайте еще два наименования. Опишите основные структурные компоненты его молекулы.
18. Назовите коферменты, возникающие из витамина  $B_{12}$ .
19. В каких пищевых продуктах много витамина  $B_{12}$  (кобаламина)? Его суточная потребность?
20. Что такое внешний и внутренний факторы Касла? Каковы химическая природа, место образования и роль внутреннего фактора?
21. Назовите важнейшие симптомы недостаточности витамина  $B_{12}$

гидроксиапатитов на коллагеновых волокнах минерализованных тканей.

К витаминам *группы К* относят витамин  $K_1$  – филлохинон, содержится в растениях; витамин  $K_2$  – метакхинон, содержится в тканях животных. Витамин К является кофактором  $\gamma$ -глутамат карбоксилазы, катализирует реакцию карбоксилирования глутаминовой кислоты в процессе синтеза факторов свертывающей системы крови Ф-II, Ф-VII, Ф-IX, Ф-X; и процессах минерализации костей и дентина зубов – синтез остеокальцина и матриксного  $\gamma$ -карбоксилглутаматсодержащего белка, участвующих в процессах минерализации этих тканей. Водорастворимым аналогом витамина К является фармакологический препарат викасол.

Основными представителями *витамина Е* являются  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -токоферолы. Наиболее распространен и активен  $\alpha$ -токоферол.  $\alpha$ -токоферол является антиоксидантом, то есть прерывает перекисное окисление липидов. Антиоксидантную функцию витамин Е выполняет совместно с селеном и цистеином. При гиповитаминозе Е наблюдается стерильность у взрослых, анемия у недоношенных младенцев.

*К витаминам F* относят полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты: линолевая, линоленовая, арахидоновая, которые содержатся в растительных маслах. Для физиологических процессов необходимы полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты, которые являются компонентами глицерофосфолипидов мембран; участвуют в образовании этерифицированного холестерина в ЛПВП (антиатерогенное действие); из полиеновых жирных кислот (в основном арахидоновой и пентаеновой кислот) образуются: простаноиды – простагландины, простациклины и тромбоксаны и лейкотриены.

## II. Цель деятельности студентов на занятии.

### *Студент должен знать:*

1. Структуру витаминов А, Д, Е, К, F, природные источники, суточную потребность, их биологическую роль в организме человека и участие в метаболических процессах.

## Занятие № 2

### Тема: ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Жирорастворимые витамины – это витамины, растворимые в жирах или органических растворителях. Они играют важную роль в организме человека. Поступают извне с пищей, но могут и синтезироваться в организме из предшественников. Основными представителями являются : витамин А (ретинол), витамин Д (холекальциферол), витамин Е (токоферол), витамин К (нафтахинон), витамин F.

**Витамин А** (ретинол, ретиналь, ретиноевая кислота, антиксерофтальмический). Большое количество витамина А содержат сливочное масло, молоко, яичный желток, печень трески. Поступает он в организм в виде провитаминов  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  – каротинов. Витамин А участвует в темновом зрении, регулирует дифференцировку эпителия, выполняет коферментную функцию, необходим для стабилизации клеточных мембран; является антиоксидантом, регулируя синтез хондроитинсульфата, влияет на рост костей, зубов, сперматогенез, влияет на образование Т- и В-лимфоцитов.

Представителями витаминов **группы D** являются Витамин D<sub>2</sub>-эргокальциферол; витамин D<sub>3</sub>-холекальциферол, которые синтезируются из провитаминов: эргостерол – провитамин D<sub>2</sub>, содержится в грибах, растениях и 7-дегидрохолестерол – провитамин D<sub>3</sub>, содержится в животных продуктах. Активные формы витамина D – это кальцитриолы: 1,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>- 1,25 дигидрокси-холекальциферол, 24,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>- 24,25 дигидрокси-холекальциферол.

25 (ОН) D<sub>3</sub> образуется в печени, 1,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> и 24,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> – вначале в печени, затем в почках. В почках участвует в образовании 1,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> 1- $\alpha$ -гидроксилаза. Кальцитриолы поддерживают постоянство концентрации кальция и фосфата в крови несколькими путями: в стенке тонкого кишечника 1,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> индуцирует синтез кальцийсвязывающих белков, необходимых для всасывания кальция в кишечнике; усиливает действие паратиринна на реабсорбцию кальция в почках; влияет на образование

22. Какие существуют разновидности РР? Напишите структурную формулу, назовите его.

23. В каких пищевых продуктах особенно много никотиновой кислоты? Суточная потребность данного витамина.

24. Назовите коферменты, которые возникают из витамина РР.

25. Какова роль ниацина в обмене веществ?

26. Назовите важнейшие симптомы пеллагры.

27. Какими формами представлен витамин С? Напишите структурную формулу.

28. Назовите основные пищевые источники витамина С, его суточную потребность.

29. В каких реакциях участвует витамин С?

30. Как называется авитаминоз С? Основные признаки цинги, опишите нарушение обмена веществ.

31. Поясните смысл названия витамина – фолиевой кислоты и назовите структурные компоненты молекулы этого витамина.

32. Назовите основные источники фолиевой кислоты, ее суточную потребность.

33. Опишите, как данный витамин превращается в кофермент.

34. Какова роль фолацина в обмене веществ?

35. Каковы симптомы недостаточности фолиевой кислоты?

#### Задача № 1.

К врачу обратился больной 28 лет с жалобами на частые расстройства функции кишечника, ослабление памяти, появление темной пигментации на тыльной стороне кистей. Недостаточность какого витамина можно предположить у больного? Обоснуйте ответ.

#### Задача № 2.

В клетках печени идет интенсивный синтез белка, для которого необходимы аминокислоты, образующиеся в результате трансаминирования. Назовите какой витамин в виде какого кофермента участвует в этой реакции.

### Задача № 3.

В процессах работы живой клетки потребовалось усиление окислительно-восстановительных реакций. Необходимость в каких витаминах при этом возникает?

### Задача № 4.

Человек, находящийся преимущественно на углеводной диете бедной белками, стал замечать у себя усиленное сердцебиение, слабость, утомляемость, чувство страха, снижение чувствительности конечностей, боли по ходу нервов. В чем причина этих проявлений? Обоснуйте ответ.

### Задача № 5

Почему недостаток фолиевой кислоты и витамина В<sub>12</sub> приводит к развитию анемии?

### Задача № 6.

Почему при гиповитаминозе С наблюдается кровоточивость мелких сосудов?

## VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени – 3 часа (135 минут)
2. Устный разбор материала – 60 мин
3. Проверка конечного уровня знаний – 20 мин
4. Лабораторная работа – 45 мин
5. Оформление протоколов – 10 мин

## IX. Самостоятельная работа студентов

Суточная потребность, распространение в природе, биологическая роль витаминов:

- В<sub>12</sub> (кобаламин),
- В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота),
- В<sub>15</sub> (пангамовая кислота),
- Н (биотин),
- В<sub>с</sub> (фолиевая кислота),
- U (противоязвенный).

Зарисовать и заполнить таблицу по водорастворимым витаминам:

Наименование витамина	Химическая природа	Структура витамина	Суточная потребность	Распространение в природе	Название и структура кофермента	Биологическая роль

## X. Список используемой литературы

### Обязательная

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. – М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.

Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

3. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.

4. Дзугоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.

### Дополнительная

1. Страйер Л. Биохимия. Москва, 1985. Т.1,2,3.

2. Ленинджер Л. Биохимия. Москва, 1986. Т.1,2,3.

3. Уайт А. Основы биохимии. Москва, 1981.

4. Мак Мюррей У. Обмен веществ у человека. Москва, 1980.

5. Вельтишев Ю.В., Князев Ю.А. «Обмен веществ у детей». Москва, 1983.

6. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия. М.: Медицина, 2000. 164 с.

7. Биохимические основы патологических процессов (под ред. Е.С.Северина). М.: Медицина, 2000, 304 с.