# ФГБОУ ВО «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» СИБАЙСКИЙ ИНСТИТУТ (ФИЛИАЛ) ЕСТЕСТВЕННО-МАТЕМАТИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Утверждено: на заседании кафедры протокол№ 10 от «06» июня 2022 г.

Зав. кафедрой // Ягафарова Г.А.

Согласовано:
Председатель УМК естественноматематического факультета
\_\_\_\_\_\_\_/Суюндуков И.В.

# РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

# Дисциплина Биохимия

(наименование дисциплины)

#### Обязательная часть

(обязательная часть или часть, формируемая участниками образовательных отношений, факультатив)

# программа бакалавриата

#### Направление подготовки

#### 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки

(указывается код и наименование направления подготовки)

Направленность (профиль) подготовки

#### Биология. Химия

(указывается наименование направленности (профиля) подготовки)

Квалификация

бакалавр

(указывается квалификация)

Разработчик (составитель) доцент, к.б.н., доцент (должность, ученая степень, ученое звание)

<u>Обф</u>/Ильбулова Г.Р.

Для приема: 2022 г.

Сибай 2022 г.

Составитель/ составители: Ильбулова Г.Р., к.б.н., доцент

Рабочая программа дисциплины утверждена на заседании кафедры естественных наук протокол от «07» июня 2022 г. № 10.

		изменения,		В	рабочую	программу
утверждены на	заседа	нии кафедры, про	отокол № о	T «»		20 г.
Заведу	ющий :	кафедрой			/ Ягафарова	а Г.А./
Дополнения дисциплины		изменения,	внесенные	В	рабочую	программу
		нии кафедры, про	отокол № о	T «»		20 г.
Заведуюш	ций каф	едрой		/ _		/
Дополнения дисциплины		изменения,	внесенные	В	рабочую	программу
утверждены на	заседа	нии кафедры, про	отокол № о	T «»	,	20 г.
Заведующ	ий кафе	едрой		/ _		/
Дополнения дисциплины		изменения,	внесенные	В	рабочую	программу
		нии кафедры, про	отокол № о	T «»	,	20 г.
Заведующ	ий кафе	едрой		/ _		/

# Список документов и материалов

1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с								
установленными в образовательной программе индикаторами достижения	4							
компетенций								
2. Цель и место дисциплины в структуре образовательной программы	7							
3. Содержание рабочей программы (объем дисциплины, типы и виды учебных	7							
занятий, учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы обучающихся)								
4. Фонд оценочных средств по дисциплине	7							
4.1. Перечень компетенций и индикаторов достижения компетенций с указанием								
соотнесенных с ними запланированных результатов обучения по дисциплине.	7							
Описание критериев и шкал оценивания результатов обучения по дисциплине								
4.2. Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для								
оценивания результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с установленными в								
образовательной программе индикаторами достижения компетенций. Методические	1 1							
материалы, определяющие процедуры оценивания результатов обучения по								
дисциплине.								
5. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины	31							
5.1. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для	31							
освоения дисциплины	) 1							
5.2. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» и								
программного обеспечения, необходимых для освоения дисциплины	31							
6. Материально-техническая база, необходимая для осуществления	32							
образовательного процесса по дисциплине	) 2							

# 1. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с установленными в образовательной программе индикаторами достижения компетенций

По итогам освоения дисциплины обучающийся должен достичь следующих результатов обучения:

Категория	Формируемая	Код и наименование	Результаты обучения
(группа)	компетенция	индикатора достижения	по дисциплине
компетенций	(с указанием кода)	компетенции	
Системное и критическое мышление	УК-1. Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	ИУК 1.1. Знает: методы критического анализа и оценки современных научных достижений; основные принципы критического анализа и синтеза информации; основы системного подхода при решении поставленных задач	Знать - химические основы жизнедеятельности, включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую и практическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;
		ИУК 1.2. Умеет: получать новые знания на основе анализа и синтеза информации; собирать и обобщать данные по научным проблемам, относящимся к профессиональной области; осуществлять поиск информации и применять системный подход для решения поставленных задач; определять и оценивать практические последствия возможных решений задачи.	Уметь пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и перспективы их использования в различных областях народного хозяйства, медицины, фармации.
		ИУК 1.3. Владеет: навыками исследования проблем профессиональной деятельности с применением анализа, синтеза и других методов интеллектуальной деятельности; выявления научных проблем и использования адекватных методов для их решения; формулирования оценочных суждений при решении профессиональных задач	Владетьметодами биохимического исследования

#### 2. Цель и место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина «Биохимия» относится к части, формируемой участниками образовательных отношений Блока 1 учебного плана данного направления подготовки.

Дисциплина изучается на 4курсе в 8 семестре заочной формы обучения.

Цели изучения дисциплины: формирование у студентов целостную систему знаний о химическом составе живых организмов, физико-химических и биологических свойствах природных соединений, основных путях обмена веществ, механизмах регуляции и взаимосвязи метаболических процессов, дать представление о молекулярном уровне организации и функционирования живой материи и тем самым способствовать формированию современной естественно-научной картины мира.

# 3. Содержание рабочей программы (объем дисциплины, типы и виды учебных занятий, учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы обучающихся)

Содержание рабочей программы представлено в Приложении № 1.

# 4. Фонд оценочных средств по дисциплине

# 4.1. Перечень компетенций и индикаторов достижения компетенций с указанием соотнесенных с ними запланированных результатов обучения по дисциплине. Описание критериев и шкал оценивания результатов обучения по дисциплине

Код и формулировка компетенции:

УК-1. Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации,

применять системный подход для решения поставленных задач

		д для решения по			
Код и	Результаты	Крит	ерии оценивания р		
наименовани е индикатора достижения	обучения по дисциплине	2 «Неудовлетвори тельно»	3 «Удовлетворит ельно»	4 «Хорошо»	5 «Отлично»
компетенции  ИУК 1.1. Знает: методы критического анализа и оценки современных научных достижений; основные принципы критического анализа и синтеза информации; основы системного подхода при решении поставленных задач	Знать - химические основы жизнедеятельности , включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;	Не знает химические основы жизнедеятельности , включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;	Несистематизи рованное знание химические основы жизнедеятельнос ти, включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую и практическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;	Сформированн ое, но содержащее отдельные пробелы в знании химические основы жизнедеятельнос ти, включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;	Сформированн ое и систематизиро ванное знание химические основы жизнедеятельнос ти, включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую и практическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;
ИУК 1.2. Умеет: получать новые знания на основе анализа и синтеза информации; собирать и обобщать данные по научным проблемам, относящимся к профессиональн ой области; осуществлять поиск	Уметь пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и перспективы их использования в различных областях народного хозяйства, медицины, фармации.	Демонстрирует поверхностные умения пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и перспективы их использования в различных областях народного хозяйства,	Демонстрирует частичные, фрагментарные, очень поверхностные умения пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и	Сформированн ое, но содержащее отдельные пробелы в умении пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и	Показывает весь комплекс умений пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и перспективы их использования в различных областях

информации и применять		медицины, фармации.	использования в различных	использования в различных	народного хозяйства,
системный			областях	областях	медицины,
подход для			народного	народного	фармации.
решения			хозяйства,	хозяйства,	фирмиции
поставленных			медицины,	медицины,	
задач;			фармации.	фармации.	
определять и			фармации.	фармации.	
оценивать					
практические последствия					
возможных					
решений задачи.					
ИУК 1.3.	<i>Владеть</i> методами	Не	Демонстрирует	Сформированн	Демонстрирует
Владеет:	биохимического		частичные	ое, но	сформированн
навыками	исследования	демонстрирует		· ·	
исследования		навыков	навыки	содержащее	ые навыки
проблем		теоретическими	теоретическими	отдельные	теоретическими
профессиональн		знаниями об	знаниями об	пробелы в	знаниями об
ой деятельности		особенностях	особенностях	навыках	особенностях
с применением анализа, синтеза		строения бактерий,	строения	теоретическими	строения
и других		архей и вирусов и	бактерий, архей и	знаниями об	бактерий, архей и
методов		функцияхих	вирусов и	особенностях	вирусов и
интеллектуально		отдельных	функцияхих	строения	функцияхих
й деятельности;		структур,	отдельных	бактерий, архей и	отдельных
выявления		таксономическом	структур,	вирусов и	структур,
научных		расположении	таксономическом	функцияхих	таксономическом
проблем и		прокариот и	расположении	отдельных	расположении
использования адекватных		вирусов, основных	прокариот и	структур,	прокариот и
методов для их		направлениях в	вирусов,	таксономическом	вирусов,
решения;		систематике	основных	расположении	основных
формулирования		прокариот, о	направлениях в	прокариот и	направлениях в
оценочных		происхождении	систематике	вирусов,	систематике
суждений при		вирусов, пищевых	прокариот, о	основных	прокариот, о
решении		потребностях	происхождении	направлениях в	происхождении
профессиональн		иособенностях	вирусов,	систематике	вирусов,
ых задач		метаболизма	пищевых	прокариот, о	пищевых
		микроорганизмов, о	потребностях	происхождении	потребностях
		взаимоотношениях	иособенностях	вирусов,	иособенностях
		прокариот между	метаболизма	пищевых	метаболизма
		собой,	микроорганизмов	потребностях	микроорганизмов
		сэукариотами и	, 0	иособенностях	, 0
		вирусами, о роли	взаимоотношения	метаболизма	взаимоотношения
		прокариот и	х прокариот	микроорганизмов	х прокариот
		вирусов в	между собой,	, 0	между собой,
		экосистемах и	сэукариотами и	взаимоотношения	сэукариотами и
		биосфере в целом,	вирусами, о роли	х прокариот	вирусами, о роли
		атакже в народном	прокариот и	между собой,	прокариот и
		хозяйстве и	вирусов в	сэукариотами и	вирусов в
		медицине	экосистемах и	вирусами, о роли	экосистемах и
			биосфере в	прокариот и	биосфере в
			целом, атакже в	вирусов в	целом, атакже в
			народном	экосистемах и	народном
			хозяйстве и	биосфере в	хозяйстве и
			медицине.	целом, атакже в	медицине.
				народном	
				хозяйстве и	
				медицине.	

4.2. Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценивания результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с установленными в образовательной программе индикаторами достижения компетенций. Методические материалы, определяющие процедуры оценивания результатов обучения по дисциплине.

Код и наименование индикатора достижения компетенции	Результаты обучения по дисциплине	Оценочные средства
ИУК 1.1. Знает: методы критического анализа и оценки современных научных достижений; основные принципы критического анализа и синтеза информации; основы системного подхода при решении поставленных задач ИУК 1.2. Умеет: получать новые знания на основе анализа и синтеза информации; собирать и обобщать данные по научным проблемам, относящимся к профессиональной	Знать - химические основы жизнедеятельности, включая химическое строение и свойства природных соединений и их комплексов, основные пути и механизмы регуляции метаболизма, биохимические механизмы реализации генетической информации; теоретическую и практическую значимость биохимии и молекулярной биологии, взаимосвязь с другими естественными науками;	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум
области; осуществлять поиск информации и применять системный подход для решения поставленных задач; определять и оценивать практические последствия возможных решений задачи.  ИУК 1.3. Владеет: навыками	Уметь пользоваться новейшими достижениями в области биохимии и молекулярной биологии и перспективы их использования в различных областях народного хозяйства, медицины, фармации.	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум
исследования проблем профессиональной деятельности с применением анализа, синтеза и других методов интеллектуальной деятельности; выявления научных проблем и использования адекватных методов для их решения; формулирования оценочных суждений при решении профессиональных задач	Владетьметодами биохимического исследования	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум

Критериями оценивания экзамена являются баллы, которые выставляются преподавателем за виды деятельности (оценочные средства) по итогам изучения разделов дисциплины.

Шкалы оценивания:

от 45 до 59 баллов – «удовлетворительно»; от 60 до 79 баллов – «хорошо»; от 80 баллов – «отлично».

# Рейтинг – план дисциплины

	Биохимия
	(название дисциплины согласно рабочему учебному плану)
направлені	ие 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями
подготовки	и направленность (профиль) Биология. Химия
курс <u>4</u>	, семестр 8

Виды учебной деятельности	Балл за	Число	Бал	ІЛЫ
студентов	конкретное	заданий за	Минимальный	Максимальный
	задание	семестр		
Модуль	1		10	20
Текущий контроль			5	10
1. Аудиторная работа	1	3	1	3
2. Ответы на теоретические вопросы на	2	3	2	4
семинаре				
3. Доклад и презентация	1,5	2	2	3
Рубежный контроль			5	10
1. Письменная контрольная работа	2	5	5	10
Модуль 2	2		12	25
Текущий контроль			6	15
1. Аудиторная работа	1	3	2	3
2. Ответы на теоретические вопросы на	1,5	4	2	6
семинаре				
3. Доклад и презентация	3	2	2	6
Рубежный контроль			6	10
1. Письменная контрольная работа	1,5	6	6	10
Модуль	3		13	25
Текущий контроль			6	15
1. Аудиторная работа	1	4	2	4
2. Ответы на теоретические вопросы на	1,5	4	2	6
семинаре				
3. Доклад и презентация	2,5	2	2	5
Рубежный контроль			6	10
1. Письменная контрольная работа	1,5	6	6	10
Поощрительны	е баллы			
1. Студенческая олимпиада	5	1	5	5
2. Публикация статей	5	1	5	5
Посещаемость (баллы	вычитаются из	в общей суммы	набранных баллов)	
1. Посещение лекционных			0	-6
занятий				
2. Посещение практических			0	-10
(семинарских, лабораторных				
занятий)				
Итоговый кон		1		
1. Экзамен	30			30
Итого			45	110

### Структура экзаменационного билета:

Экзаменационный билет включает в себя три вопроса: два вопроса, посвящены контролю освоения теоретического материала дисциплины, а третий – практической части.

#### Перечень вопросовдляэкзамена

- 1. Классификация белков. Аминокислотный состав белков. Цветные реакции на белки.
- 2. Физико-химические свойства белков. Изоэлектрическая точка растворов белков.
- 3. Уровни структурной организации белков: первичная, вторичная третичная и четвертичная структуры белков. Связь структуры белка с биологической функцией.
- 4. Аминокислоты: их строение и свойства. Классификация аминокислот. Характер связи аминокислотных остатков в молекуле белка.
- 5. Доменная структура белков. Фолдинг белковых молекул. Понятие о шаперонах.
- 6. Сложные белки и их классификация (примеры).
- 7. Нуклеопротеины: распространение в организме, биологическая роль. Химический состав нуклеопротеинов.
- 8. Структура гемоглобина. Кооперативность действия субъединиц во взаимодействии с кислородом. Аллостерическая регуляция.
- 9. Химическое строение и структура нуклеиновых кислот. Первичная, вторичная и третичная структуры ДНК.
- 10. Рибосомные, информационные и транспортные РНК. Их строение, распространение и биологическая роль.
- 11. Биологические катализаторы. Рибозимы. Ферменты. Понятие об изоферментах.
- 12. Понятие о коферментах. Связь коферментов с витаминами.
- 13. Понятие об активных центрах ферментов: каталитические и регуляторные центры. Аллостерические эффекторы. Активаторы и ингибиторы ферментов.
- 14. Общие свойства ферментов: термолабильность, рН-зависимость, специфичность.
- 15. Зависимость между концентрацией субстрата и скоростью ферментативных реакций. Понятие о константе Михаэлиса.
- 16. Типы ингибирования ферментов: конкурентное и неконкурентное ингибирование.
- 17. Изоферменты и их значение для энзимодиагностики.
- 18. Классификация ферментов, характеристика каждого класса ферментов (примеры).
- 19. Способы внутриклеточной регуляции действия ферментов. Типы ингибирования ферментативной активности.
- 20. Понятие об авитаминозах, гипо- и гипервитаминозах как заболеваниях, связанных с нарушением функции ферментативных систем. Использование витаминов в качестве лечебных препаратов.
- 21. Химия липидов. Строение, классификация, биологическая роль, транспорт в организме.
- 22. Глицерофосфолипиды и сфинголипиды. Строение и биологическая роль.
- 23. Биологическая роль стеринов.
- 24. Общие представления о гормонах. Иерархия гормонов. Синергизм и антагонизм их действия.
- 25. Роль гормонов в регуляции обмена веществ. Механизмы передачи гормонального сигнала.
- 26. Примеры передачи гормонального сигнала посредством белковых рецепторов. Понятие о G-белках и вторичных посредниках.
- 27. Гормоны, проникающие внутрь клетки. Внутриклеточные рецепторы. Регуляция транскрипции.
- 28. Общие пути обмена веществ. Катаболизм и анаболизм основные процессы метаболизма. Роль НАДФ•Н2 и АТФ.

- 29. Моносахариды, олигосахариды. Важнейшие представители моносахаридов и олигосахаридов животного организма. Химическое строение, биологическая роль.
- 30. Полисахариды. Гликоген, его строение и свойства, распространение и роль в организме. Синтез гликогена и его регуляция.
- 31. Анаэробное расщепление углеводов в организме, его биологическое значение. Энергетический эффект. Понятие о субстратном фосфорилировании.
- 32. Гликолиз. Регуляция. Энергетический эффект анаэробного распада углеводов.
- 33. Глюконеогенез. Энергетический эффект процесса. Регуляция.
- 34. Энергетический эффект анаэробного и аэробного путей распада углеводов.
- 35. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Ферменты и коферменты, участвующие в этом процессе.
- 36. Цикл трикарбоновых кислот. Его биологическое значение. Регуляция. Связь цикла Кребса с процессами биологического окисления. Окислительное фосфорилирование.
- 37. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы в тканях и его биологическая роль.
- 38. Синтез и распад гликогена в печени. Гликогенолиз в мышцах. Регуляция этих процессов.
- 39. Окислительное фосфорилирование. Хемиосмотическая теория П. Митчелла.
- 40. Механизм бета-окисления высших жирных кислот. Роль КоА, карнитина и АТФ в этом процессе.
- 41. Биосинтез высших жирных кислот.
- 42. Холестерин, его биологическая роль. Основные этапы синтеза. Транспорт липидов в организме. Липопротеины сыворотки крови.
- 43. Понятие о биологической ценности белков. Роль белка в питании. Заменимые и незаменимые аминокислоты.
- 44. Общие пути превращения аминокислот в тканях.
- 45. Дезаминирование аминокислот. Механизмы окислительного дезаминирования.
- 46. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
- 47. Трансаминирование аминокислот. Ферменты и коферменты трансаминирования. Трансдезаминирование и трансреаминирование. Диагностическое значение определения аминотрансфераз в сыворотке крови.
- 48. Реакции гидроксилирования и декарбоксилирования ароматических аминокислот.
- 49. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов и их биологическая роль. Распад биогенных аминов. Моноаминоксидазы.
- 50. Пути образования аммиака в организме. Биосинтез мочевины.
- 51. Открытие нуклеиновых кислот и их биологическая роль.
- 52. Общая характеристика строения нуклеиновых кислот.
- 53. Компоненты нуклеиновых кислот. Нуклеозиды. Нуклеотиды. Строение полинуклеотидной цепи
- 54. Физико-химические свойства ДНК. Формы ДНК.
- 55. Первичная и вторичная структура ДНК.
- 56. Третичная структура ДНК у прокариот (на примере E.coli) и эукариот
- 57. Рибонуклеиновые кислоты: физико-химические свойства, характеристика типов.
- 58. Ферменты, используемые в молекулярной биологии.
- 59. Очищение нуклеиновых кислот. Электрофорез на различных носителях.
- 60. Полимеразная цепная реакция. Секвенирование. Векторы и нуклеиновые зонды.
- 61. Репликация у прокариот. Отличия репликации у эукариот.
- 62. Мутации и мутагены. Механизмы репарации ДНК.
- 63. Матричный синтез РНК: транскрипция.
- 64. Посттранскрипционные модификации РНК.
- 65. Генетический код и его характеристики.

- 66. Основные этапы биосинтеза белка. Активация аминокислот.
- 67. Структура рибосом. Рибосомальный синтез полипептидной цепи.
- 68. Посттрансляционные изменения пептидной цепи.
- 69. Регуляция биосинтеза белка на уровне транскрипции. Гипотеза Жакоба и Моно.
- 70. Регуляция биосинтеза белка на уровне трансляции.

#### Образец экзаменационного билета:

Министерство образования и науки Российской Федерации федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Башкирский государственный университет» Сибайский институт (филиал)

Естественно-математический факультет Кафедра естественных наук

# ЭКЗАМЕНАЦИОННЫЙ БИЛЕТ №1

по дисциплине «Биохимия»

Направление «Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки» Профиль «Биология. Химия»

- 1. Классификация белков. Аминокислотный состав белков. Цветные реакции на белки.
- 2. Роль гормонов в регуляции обмена веществ. Механизмы передачи гормонального сигнала.
- 3. Регуляция биосинтеза белка на уровне трансляции.

Утверждено на заседании кафед	ры	, протокол №
	(дата)	
Заведующий кафедрой		
	(подпись)	(Ф.И.О.)

#### Критерии оценки экзамена (в баллах):

- <u>25-30</u> баллов выставляется студенту, если студент дал полные, развернутые ответы на все теоретические вопросы билета, продемонстрировал знание функциональных возможностей, терминологии, основных элементов, умение применять теоретические знания при выполнении практических заданий. Студент без затруднений ответил на все дополнительные вопросы. Практическая часть работы выполнена полностью без неточностей и ошибок;
- <u>17-24</u> баллов выставляется студенту, если студент раскрыл в основном теоретические вопросы, однако допущены неточности в определении основных понятий. При ответе на дополнительные вопросы допущены небольшие неточности. При выполнении практической части работы допущены несущественные ошибки;
- <u>- 10-16</u> баллов выставляется студенту, если при ответе на теоретические вопросы студентом допущено несколько существенных ошибок в толковании основных понятий. Логика и полнота ответа страдают заметными изъянами. Заметны пробелы в знании основных методов. Теоретические вопросы в целом изложены достаточно, но с

пропусками материала. Имеются принципиальные ошибки в логике построения ответа на вопрос. Студент не решил задачу или при решении допущены грубые ошибки;

- <u>1-10</u> баллов выставляется студенту, если ответ на теоретические вопросы свидетельствует о непонимании и крайне неполном знании основных понятий и методов. Обнаруживается отсутствие навыков применения теоретических знаний при выполнении практических заданий. Студент не смог ответить ни на один дополнительный вопрос.

Перевод оценки из 100-балльной в четырехбалльную производится следующим образом:

- отлично от 80 до 110 баллов (включая 10 поощрительных баллов);
- хорошо от 60 до 79 баллов;
- удовлетворительно от 45 до 59 баллов;
- неудовлетворительно менее 45 баллов.

#### Тестовые вопросы

Тестовые задания необходимы для диагностирования хода учебного процесса, выявления динамики последнего и учёта знаний, умений в ходе текущего контроля. Выполнение тестовых заданий способствует своевременному определению пробелов в усвоении материала, повышению общей продуктивности учебного труда. Тестовые задания, относится к определённому фрагменту учебного материала. Тесты для текущего и рубежного контроля выполняются в письменном виде с ограничением времени: по две минуте на задание.

		1	2	3	4	5
1	Регулирующим ферментом гликолиза является:	гексокиназа,	фосфофрукто киназа,	альдолаза,	глицеральдегидфо сфатдегидрогеназа ,	пируватки наза.
2	Реакции, лимитирующие скорость гликолиза:	гексокиназна я,	фосфофрукто киназная,	альдолазн ая,	триозофосфатизом еразная,	пируватки назная.
3	Механизм гипогликемическо го эффекта инсулина:	торможение глюконеогене за,	усиление гликогенолиз а,	активация гликолиза ,	торможение гликогеногенеза,	повышени е проницае мости клеточны х мембран.
4	При действии пируваткиназы необходимы:	ионы магния,	ионы марганца,	ионы калия,	ионы цинка,	ионы серебра.
5	При сахарном диабете наблюдается:	гиперсекреци я инсулина,	гипосекреция инсулина,	гипосекре ция глюкокор тикоидов,	гипосекреция адреналина,	гипосекре ция глюкагона
6	Анаэробный распад углеводов- это:	окисление гликогена до молочной кислоты,	окисление глюкозы до молочной кислоты,	окисление глюкозы до углекисло го газа и воды,	окисление глюкозы до пентозофосфатов,	окисление ацетил- КоА до углекисло го газа и воды.
7	Восстановление пирувата до лактата осуществляется с помощью фермента:	пируватдегид рогеназы,	пируваткиназ ы,	глицераль дегидроф осфатдеги дрогеназы	лактатдегидрогена зы,	фосфофру ктокиназы
8	Молочная кислота	скелетными	почками,	всеми	миокардом,	печенью,

	в качестве источника энергии используется:	мышцами,		перечисле нными органами.		
9	Лактат в качестве субстрата для синтеза глюкозы используется:	скелетными мышцами,	почками,	всеми перечисле нными органами	миокардом,	печенью,
10	Необратимые реакции гликолиза:	альдолазная,	глицеральдег идрофосфатд егидрогеназы	пируватки назная	фосфофруктокина зная,	гексокина зная,
11	Накопление кетоновых тел при сахарном диабете связано:	активацией глюконеогене за,	усиленным кетогенезом,	несбаланс ированнос тью кетогенез а и реализаци и кетоновы х тел.	усиленным протеолизом белков,	с дефицито м глюкозы в тканях,
12	Содержание глюкозы в крови составляет:	2,55- 5,55ммоль/л,	4,44-6,66 ммоль/л,	3,55-6,55 ммоль/л.	3,33-5,55ммоль/л,	2,22-4,44 ммоль/л,
13	Гипергликемия- это:	Повышение содержания глюкозы в крови	Появление глюкозы в моче	Повышен ие содержан ия аминокис лот в крови	Повышение содержания кетоновых тел в крови	Появлени е кетоновых тел в моче
14	Для каких состояний характерна гипергликемия:	тиреотоксико 3,	переохлажде ние,	лечение глюкокор тикоидам и,	острый стресс,	сахарный диабет,
15	В результате окислительного декарбоксилирова ния 2- оксоглутарата образуется:	сукцинат,	оксалоацетат,	щавелево янтарная кислота.	сукцинил-КоА,	ацетил- КоА,
16	Глюконеогенез усиливает:	кортизол,	альдостерон,	глюкагон	адреналин,	инсулин,
17	Коферментом глюкозо- б- фосфатдегидроген азы является:	НАДФ⁺,	ФАД+,	ФМН.	тдФ,	НАД+,
18	Продуктом окислительного декарбоксилирова ния пировиноградной кислоты является:	KoA,	оксалоацетат,	малат.	ацетил-КоА,	молочная кислота,
19	В реакции расщепления фруктозо- 1,6- дифосфата на две фосфотриозы участвуют:	фосфофрукто киназа,	альдолаза,	глицераль дегидфос фатдегидр огеназа.	гексокиназа,	фосфорил аза,
20	Почему препараты инсулина не назначают для приема внутрь:	инактивирую тся соляной кислотой,	выводятся с калом,	подверга ются протеолиз у в	связываются с желчными кислотами,	все ответы верны.

		желудке и	
		кишечник	
		e,	

Критерии оценки тестовых заданий для студентов (в баллах):

Процент правильных ответов	Количество баллов
90 - 100 %	4
80 - 89 %	3
60–79 %	2
45–59 %	1
менее 45%	0

# Вопросы для контроля знаний самостоятельной работы студентов

Тематика самостоятельной работы определяется преподавателем и должна иметь профессионально ориентированный характер и непосредственную связь рассматриваемых вопросов по методике полевого опыта и будущей профессиональной деятельности выпускника, т.е. иметь системно-деятельностную направленность. Тематическая направленность должна требовать активной творческой работы. В ходе выполнения самостоятельной работыпреподаватель обеспечивает консультирование студента.

На самостоятельную проработку выносятся следующие темы:

- 1. Теоретическая и практическая значимость биохимии, связь с другими естественными науками. Краткая история развития биохимии.
- 2. Химическая структура и физико-химические свойства аминокислот. Стереохимия, амфотерность, реакционная способность аминокислот.
- 3. Методы очистки и идентификации белков.
- 4. Гидролиз белков, определение аминокислотного состава. Анализ N- и C-концевых аминокислот.
- 5. Строение, свойства и биологическая роль хромопротеинов (флавопротеины и гемопротеины), гликопротеинов, липопротеинов, металлопротеинов, фосфопротеинов и нуклеопротеинов.
- 6. Изоферменты и множественные формы ферментов.
- 7. Инженерная энзимология.
- 8. Использование ферментов в медицине, промышленности и сельском хозяйстве.
- 9. Особенности строения, изомерии, конформации и биохимических свойств моносахаридов. Производные моносахаридов: кислоты, гликозиды, аминосахара, фосфосахара.
- 10. Практическое использование олиго- и полисахаридов.
- 11. Практическая значимость моносахаридов и их производных.
- 12. Строение и физико-химические свойства природных жирных кислот (насыщенных; моно- и полиеновых).
- 13. Принципы химического строения и функции эйкозаноидов.
- 14. Гликолипиды: цереброзиды и ганглиозиды.
- 15. Структура, свойства, роль в обмене веществ и использование отдельных представителей водорастворимых и жирорастворимых витаминов, провитаминов.
- 16. Макроэргические соединения.
- 17. Энергетический баланс процессов метаболизма.
- 18. Биохимические основы полимеразной цепной реакции.
- 19. Ограниченный протеолиз белков и пептидов.
- 20. Пути образования и распада аминокислот.
- 21. Типы азотистого обмена: аммониотелический, уреотелический и урикотелический.

- 22. Различные типы брожения.
- 23. Ферменты цикла Кребса и последовательность протекания реакций.
- 24. Пентозофосфатный путь обмена углеводов. Окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.
- 25. Транспорт жирных кислот в крови и лимфе, трансмембранный перенос.
- 26. Принципы биосинтеза ацилглицеринов и фосфолипидов.
- 27. Трансмембранный потенциал протонов и работа АТФ-синтетазы.
- 28. Перекисное окисление липидов (ПОЛ).
- 29. Роль активных форм кислорода и ПОЛ в обмене веществ.
- 30. Регуляторы свободно-радикального окисления в клетках.
- 31. Антиоксидантная система организма.
- 32. Химическая природа и роль важнейших гормонов в регуляции обмена веществ и синтеза белков.
- 33. Фолдинг белков. Шапероны. Прионы.
- 34. Регуляция транскрипции у бактерий.
- 35. Проблема недорепликации 3'-концов линейных молекул. Теломеры и теломераза
- 36. Палиндромы. Роль обращенных повторов в геноме.
- 37. Понятие о мобильных генетических элементах
- 38. Вирусные и клеточные онкогены.

Критерии оценки вопросов самостоятельной работы студентов для студентов (в баллах):

Ответы	Количество
	баллов
самостоятельная работа содержательная и сдана с соблюдением всех сроков;	4
работа выполнена правильно на 100 %.	
самостоятельная работа достаточно содержательная и сдана в срок (либо с	3
небольшим опозданием); работа выполнена правильно на 75 %.	
самостоятельная работа малосодержательная и сдана с опозданием (более 4-х	2
дней задержки); работа выполнена правильно на 50 %.	
самостоятельная работа несодержательная и полностью заимствована из сети	1
Интернет и сдана с большим опозданием (более недельной задержки); работа	
выполнена правильно на 25 %.	
студент не представил работу в установленный срок	0

# Темы рефератов

После вводных лекций, в которых обозначается содержание дисциплины, её проблематика и практическая значимость, студентам выдаются возможные темы рефератов в рамках проблемного поля дисциплины, из которых студенты выбирают тему своего реферата, при этом студентом может быть предложена и своя тематика. Тематика реферата должна иметь проблемный и профессионально ориентированный характер, требующий самостоятельной творческой работы. Студенты готовят электронный вариант реферата, а преподаватель обеспечивает консультирование студента по ней.

- 1. Биологические функции аминокислот.
- 2. Фолдинг белков.
- 3. Доменный уровень структурной организации белков.
- 4. Защитные белки.
- 5. Сократительные белки.
- 6. Регуляторные белки.
- 7. Роль ферментов в адаптации организмов к стрессовым воздействиям.
- 8. Функциональная роль витаминов и коферментов.

- 9. Структура и механизм каталитического действия отдельных представителей гидролаз, лиаз, лигаз и изомераз.
- 10. Ферменты в медицине.
- 11. Белковые ингибиторы ферментов.
- 12. Секвенирование ДНК (тесты с использованием ДНК).
- 13. Повреждения первичной структуры ДНК и их причины.
- 14. Полиморфизм двойной спирали ДНК.
- 15. Суперспирализация ДНК и топоизомеразы.
- 16. Упаковка ДНК в хромосомах.
- 17. Теломеры и старение клеток.
- 18. Устранение повреждений в процессе репликации ДНК.
- 19. Биосинтез ДНК на РНК-матрице (обратная транскрипция).
- 20. Как гены контролируют развитие клеток.
- 21. Кодон-антикодоновое взаимодействие в процессе элонгации трансляции.
- 22. Стрессовые белки.
- 23. Механизм трансмембранного переноса глюкозы в клетки.
- 24. Цикл лимонной кислоты и его амфиболическая роль.
- 25. Регуляция метаболизма углеводов в клетке.
- 26. Транспорт веществ через биологические мембраны.
- 27. Биохимия инсулинзависимого сахарного диабета.
- 28. Современные представления о механизме действия пептидных гормонов.
- 29. Современные представления о механизме действия стероидных гормонов.
- 30. Биогенные амины и их общебиологическое значение.
- 31. Механизм действия инсулина.
- 32. Простагландины как биологические регуляторы.
- 33. Фотосинтез.
- 34. Активные формы кислорода и антиоксидантные системы.
- 35. Оперонный уровень регуляции обмена веществ.

#### Критерии оценки рефератов для студентов (в баллах):

- 4 балла выставляется студенту, если выполнены все требования к написанию и защите реферата: обозначена проблема и обоснована её актуальность, сделан краткий анализ различных точек зрения на рассматриваемую проблему и логично изложена собственная позиция. Сформулированы выводы, тема раскрыта полностью, выдержан объём, соблюдены требования к внешнему оформлению, даны правильные ответы на дополнительные вопросы.
- 3 балла выставляется студенту, если основные требования к реферату и его защите выполнены, но при этом допущены недочёты. В частности, имеются неточности в изложении материала; отсутствует логическая последовательность в суждениях; не выдержан объём реферата; имеются упущения в оформлении; на дополнительные вопросы при защите даны неполные ответы.
- 2 балла выставляется студенту, если имеются существенные отступления от требований к реферированию. В частности: тема освещена лишь частично; допущены фактические ошибки в содержании реферата или при ответе на дополнительные вопросы; во время защиты отсутствует вывод.
- 1 балл тема реферата не раскрыта, обнаруживается существенное непонимание проблемы.
- 0 баллов доклад студентом не представлен.

# Темы лабораторных работ.

#### Тема 1. Аминокислоты, пептиды, белки.

Анализ аминокислотного состава белков при помощи цветных реакций – 4 часа

В лабораторной практике для идентификации, полуколичественного определения белков и отдельных аминокислот очень часто используются цветные реакции. В цветных реакциях происходит взаимодействие специфических реактивов с функциональными группами радикалов аминокислот, входящих в состав белков, или с пептидными группировками. Цветные реакции на белки проводят параллельно с растворами двух белков яичного белка (1) и желатина (2). Результаты оформляют в виде таблицы.

# Работа №1. Биуретовая реакция на белки.

В щелочной среде раствор белка при добавлении разбавленного раствора сульфата меди окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Окраска обусловлена образованием комплексов ионов меди с пептидными группами белка. Биуретовую реакцию дают все белки, а также олигопептиды, содержащие не менее двух пептидных связей.

Ход работы: В одну пробирку наливают 5 капель раствора яичного бежа, в другую-5 капель раствора желатина. В каждую пробирку добавляют по 5 капель 10% раствора NaOH и по 1 капле 1 % раствора CuS04. В обеих пробирках наблюдают устойчивое синефиолетовое окрашивание. Оформление работы. Результаты опыта вносят в таблицу.

# Работа №2. Реакция на ароматические аминокислоты (реакция нитрования).

При нагревании с крепкой азотной кислотой растворы белка окрашиваются в желтый цвет Реакция обусловлена наличием в белках циклических аминокислот: фенил аланина, тирозина, триптофана - и основана на образовании нитропроизводных этих аминокислот: После подщелачивания раствором NH4OH желтое окрашивание переходит в оранжевое (образуются аммонийные соли хиноидной структуры). Реакцию с азотной кислотой дают почти все белки, за исключением тех, в которых отсутствуют перечисленные аминокислоты.

Ход работы: В одну пробирку наливают 5 капель раствора яичного белка, во вторую — 5 капель раствора желатина. В обе пробирки добавляют по 3-5 капель концентрированный азотной кислоты и нагревают. В первый пробирке образуется белый осадок, который при нагревании окрашивается в желтый цвет и постепенно растворяется (происходит гидролиз белка), при этом раствор приобретает желтую окраску. Пробирки охлаждают, к охлажденному раствору добавляют (осторожно!) по 10 капель концентрированного раствора аммиака или 30% раствора гидроксида натрия и наблюдают изменение окраски растворов вследствие образования аммонийной соли динитротирозина. Результаты опыта вносят в таблицу. Образование желтых пятен на коже при попадании азотной кислоты обусловлено этой реакцией.

#### Работа №3. Реакция на тирозин (реакция Миллона)

Реакция обусловлена наличием в белках аминокислоты тирозина. При нагревании или продолжительном стоянии раствора белка с реактивом Миллона (раствор нитратов ртути (1) и (2) в HNO3 с примесью HNO2) образуется осадок, окрашенный сначала в розовый, а затем в кроваво-красный цвет. Реактив Миллона дает окрашивание почти со всеми фенолами.

Ход работы: В 3 пробирки наливают по 5капель: в 1-ю - раствора яичного белка, во 2-ю -раствора желатина, в 3-ю - раствора тирозина. Во все пробирки добавляют по 2-3 капли реактива Миллона и осторожно нагревают. Наблюдают изменение окраски растворов и записывают в таблицу.

#### Работа №4. Реакция на цистеин (реакция Фоля).

При добавлении к раствору белка раствора гидроксиданатрия, ацетата свинца и последующим кипячении раствор начинает темнеть. Реакция обусловлена присутствием в белке цистеиновых и полуцестеиновых остатков, которые при нагревании в присутствии

крепкой щелочи разрушаются с образованием сульфида натрия: Ацетат свинца реагирует со щелочью с образованием плюмбита натрия: Сульфид натрия при взаимодействии с плюмбитом дает черный осадок сульфида свинца:

Ход работы:В одну пробирку наливают 5капель 1 % раствора яичного белка, в другую -5капель 1 % раствора желатина В каждую пробирку добавляют по 5 капель 30% раствора гидроксида натрия и по 1 капле 5% раствора ацетата свинца. При интенсивном кипячении жидкость в пробирках с яичным белком темнеет, так как образуется черный осадок сульфида свинца. В пробирке с желатином черного осадка не образуется, так как желатин не содержит серосодержащих аминокислот. Результаты опыта записывают в таблицу.

#### Тема 2. Ферменты

# Работа №1. Выяснить влияние рН среды на активность фермента амилазы слюны

В три пронумерованные пробирки вносят по 2 мл фосфатного буфера с различным значением рН (5,59; 6,81; 8,04).

Затем в пробирки добавляют по 1мл 1% p-ра крахмала и по 0,5 мл разбавленного (1:10) p-ра слюны и ставят их в водяную баню при температуре 37оС на 10 минут. Каждую минуту из 2-й пробирки берут каплю жидкости и смешивают с каплей p-ра йода на предметном стекле. Это повторяют до тех пор, пока проба из 2-й пробирки даст краснобурое окрашивание. Через 1-2 минуты после этого во все пробирки добавляют по 2-3 капли раствора йода.

# Работа №2. Определение общей активности креатинкиназы в сыворотке крови кинетическим методом

(KK) Принцип метода: Креатинкиназа катализирует обратимое фосфорилирование АДФ в присутствии креатинфосфата с образованием АТФ и креатина. Фермент гексокиназа (ГК) катализирует фосфорилирование глюкозы АТФ с образованием АДФ и глюкозо-6-фосфата. Затем глюкозо-6-фосфат под действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) окисляется ДО 6-фосфоглюконата c одновременным восстановлением НАД+ до НАДН. Кинетическое спектрофотометрическое определение КК основано на регистрации возрастания оптической анализируемой пробы при длине волны 340 нм. Скорость увеличения оптической плотности пробы при длине волны 340 нм прямо пропорциональна активности КК в ней.

#### Оборудование и реагенты:

- 1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 340 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;
- 2. Секундомер;
- 3. Автоматические пипетки на 25 мкл и 1000 мкл;
- 4. Сыворотка крови;
- 5. Дистиллированная вода;
- 6. Рабочий реагент (креатинфосфат -30 ммоль/л, АДФ -2,0 ммоль/л, D-глюкоза -20 ммоль/л, НАД+ -2,0 ммоль/л, ГК ->2500 Е/л, Г6ФДГ ->2000 Е/л, буфер (рН  $6,7\pm0,1)$  -100 ммоль/л).

Рабочий реагент годен для применения, если его оптическая плотность не выше 0,7 единиц оптической плотности при длине волны 340 нм.

#### Проведение анализа

Перед проведением анализа реагенты следует прогреть до температуры измерения (37°C).

Добавить в кювету	Опытная проба
1. Сыворотка	25 мкл

2. Рабочий реагент	1 мл
--------------------	------

Перемешать содержимое пробирки и включить секундомер. Измерить оптическую плотность пробы против дистиллированной воды при длине 340 нм ровно через 2 мин. Повторить измерение 2 раза с интервалом 1 мин. Рассчитать изменение оптической плотности за каждую минуту а затем вычислить среднее измерение оптической плотности в минуту ( $\Delta$ o.п./мин).

#### Расчет

Расчет по фактору активности КК проводят по формуле:  $\Delta$ о.п./мин  $\times$  1,025  $\times$  1000

АКК 
$$(E/\pi)$$
 = ----- =  $\Delta$ о.п./мин × 6592,

 $6,22 \times 0,025 \times 1,0$ 

где ∆о.п./мин – среднее изменение опт.плотн. в минуту;

1,025 — общий объем раствора в кювете;1000 — коэффициент перевода мл в л;6,22 — коэффициент миллимолярного поглощения НАДН;0,025 — объем сыворотки в мл;1,0 — длина оптического пути.

При внесении каких-либо изменений в перечисленные параметры фактор следует пересчитать. Если активность КК превышает 1500 Е/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемую сыворотку следует развести 1:1 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 2.

Повышение активности КК может быть вызвано и другими причинами, например: употреблением алкоголя, отравлением снотворным, внутривенным введением ряда лекарственных препаратов.

# Работа №3. Определение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови кинетическим методом

**Принцип метода:** Аланинаминотрансфераза (АЛТ) катализирует обратимое трансаминирование L-аланина в L-глутамат с образованием пировиноградной кислоты. Далее пировиноградная кислота под действием лактатдегидрогеназы (ЛДГ) восстанавливается до D-лактата с одновременным окислением НАДН до НАД<sup>+</sup>.

АЛТ   
 L-Аланин + 
$$\alpha$$
-кетоглутарат <----> L-глутамат + Пируват   
 ЛДГ   
 Пируват + НАДН + Н $^+$  <----> D-Лактат + НАД $^+$ 

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности АЛТ основано на регистрации падения оптической плотности анализируемой пробы при длине волны 340 нм. Скорость снижения оптической плотности пробы при длине волны 340 нм прямо пропорциональна активности АЛТ в ней. Линейность метода: 4-280 Е/л.

*Норма*: мужчины − < 41 Е/л (37°С);женщины − < 31 Е/л (37°С).АЛТ в сыворотке сохраняет стабильность при комнатной температуре (18-25°С) в течение 24 часов, при замораживании (-20°С) в течение 3 месяцев.

**Оборудование и реагенты:** Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 340 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°C.

- 1. Секундомер;
- 2. Автоматические пипетки на 100 мкл и 1000 мкл;
- 3. Сыворотка крови / гепаринизированная или ЭДТА плазма;
- 4. Реагент 1 (L-аланин 500 ммоль/л, ЛДГ  $\geq$  1200 Е/л в ТРИС-буфере (рН 7,5 $\pm$ 0,1) 100 ммоль/л);
- 5. Реагент 2 (α-кетоглутарат 15 ммоль/л, НАДН 0,18 ммоль/л);
- 6. Монореагент (смешать 4 части реактива 1 с одной частью реактива 2).

Монореагент годен для применения при условии хранения его в темноте при температуре 2-8°C в течение 4 недель.

#### Проведение анализа.

Перед проведением анализа реагенты следует прогреть до температуры измерения (37°C).

Добавить в кювету	Опытная проба
1. Сыворотка	100 мкл
2. Монореагент	1 мл

Перемешать содержимое пробирки и включить секундомер. Измерить оптическую плотность пробы против воздуха при длине 340 нм ровно через 1 минуту. Повторить измерение 3 раза с интервалом 1 мин. Рассчитать изменение оптической плотности за каждую минуту а затем вычислить среднее измерение оптической плотности в минуту ( $\Delta$ о.п./мин).

#### Расчет

Расчет по фактору активности АЛТ проводят по формуле:

$$\Delta$$
о.п./мин × 1,100 × 1000   
  $A_{\rm AЛT}$  (Е/л) = ------ =  $\Delta$ о.п./мин × 1745,  $6,30 \times 0,100 \times 1,0$ 

где  $\Delta$ о.п./мин — среднее изменение оптической плотности в минуту;1,100 — общий объем раствора в кювете в мл;1000 — коэффициент перевода мл в л;6,30 — коэффициент миллимолярного поглощения НАДН;0,100 — объем сыворотки в мл;1,0 — длина оптического пути.Значение фактора для расчета активности АЛТ можно взять из таблицы:

Длина волны	Температура реакции 25-30°C	Температура реакции 37°C
340 нм	952	1745
334 нм	971	1780
365 нм	1765	3235

При внесении каких-либо изменений в перечисленные параметры фактор следует пересчитать. Если активность АЛТ превышает 280 Е/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемую сыворотку следует развести 1:9 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 10.

*Клинико-диагностическое значение:* АЛТ в высоких концентрациях присутствует в клетках печени и в меньшей степени в скелетных мышцах, почках и сердце. Наиболее часто повышение активности АЛТ в сыворотке отмечается при острых заболеваниях печени и желчных путей. У больных острыми вирусными гепатитами активность фермента резко повышается в ранние сроки болезни, обычно за 5-2 дня до появления

желтухи. Пик активности АЛТ приходится на момент появления желтухи и нормализуется к исходу 8-й недели болезни. Длительное незначительное увеличение активности АЛТ в сыворотке часто свидетельствует о хроническом процессе заболевания (хронический гепатит, цирроз.

# Работа №4. Определение активности аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови кинетическим методом

**Принцип метода:** Аспартатаминотрансфераза (АСТ) катализирует обратимое трансаминирование L-аспартата в L-глутамат с образованием щавелевоуксусной кислоты. Далее щавелевоуксусная кислота под действием малатдегидрогеназы (МДГ) восстанавливается до малата с одновременным окислением НАДН до НАД<sup>+</sup>.

#### **ACT**

L-Аспартат + α-кетоглутарат <----> L-глутамат + Оксалоацетат

#### ΜДГ

Оксалоацетат + 
$$HAДH + H^+ < ----> Малат +  $HAД^+$$$

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности АСТ основано на регистрации уменьшения оптической плотности анализируемой пробы при длине волны 340 нм. Скорость снижения оптической плотности пробы при длине волны 340 нм прямо пропорциональна активности АСТ в ней. *Линейность метода*: до 300 Е/л.*Норма*: 8-40 Е/л (37°С);

ACT в сыворотке сохраняет стабильность при комнатной температуре (18-25°C) в течение 4 дней, при замораживании (-20°C) в течение 14 дней.

### Оборудование и реагенты:

- 1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 340 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;
- 2. Секундомер;
- 3. Автоматические пипетки на 100 мкл и 1000 мкл;
- 4. Сыворотка крови негемолизированная;
- 5. Реагент ( $\alpha$ -кетоглутарат 12 ммоль/л, L-аспартат 200 ммоль/л, НАДН 0,2 ммоль/л, МДГ  $\geq 600 \text{ E/л в ТРИС-буфере (рН 7,8<math>\pm 0,1$ ),100 ммоль/л);
- 6. Дистиллированная вода.

Реагент годен для применения при условии хранения его при температуре 2-8°C в течение 10 дней.

#### Проведение анализа

Перед проведением анализа реагенты следует прогреть до температуры измерения (37°C).

Добавить в кювету	Опытная проба
1. Сыворотка	100 мкл
2. Реагент	1 мл

Перемешать содержимое пробирки и включить секундомер. Измерить оптическую плотность пробы против дистиллированной воды при длине 340 нм ровно через 1 минуту. Повторить измерение 3 раза с интервалом 1 мин. Рассчитать изменение оптической плотности за каждую минуту а затем вычислить среднее измерение оптической плотности в минуту ( $\Delta$ 0.п./мин).

#### Расчет

Расчет по фактору активности АСТ проводят по формуле:

$$\Delta$$
о.п./мин × 1,1 × 1000 $A_{ACT}$  (Е/л) = ----- =

#### $\Delta$ o.п./мин × 1768,6,22 × 0,1 × 1,0

где  $\Delta$ о.п./мин — среднее изменение оптической плотности в минуту; 1,1 — общий объем раствора в кювете в мл; 1000 — коэффициент перевода мл в л; 6,22 — коэффициент миллимолярного поглощения НАДН; 0,1 — объем сыворотки в мл; 1,0 — длина оптического пути. При внесении каких-либо изменений в перечисленные параметры фактор следует пересчитать. Если активность АСТ превышает 300E/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемую сыворотку следует развести 1:1 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 2.

Клинико-диагностическое значение: АСТ в высоких концентрациях присутствует в клетках сердечной мышцы, печени, почках и эритроцитах. Поражение любого из этих органов и тканей может привести к значительному повышению активности АСТ в сыворотке. Наиболее резкие изменения в каталитической концентрации АСТ наблюдаются при поражении сердечной мышцы. При остром инфаркте миокарда увеличение активности АСТ обычно начинается через 6-12 часов после возникновения боли, достигает максимума через 24-48 часов, а затем постепенно падает, возвращаясь в норму через 4-5 дней с начала приступа. Если в течение нескольких дней нормализации активности фермента не происходит, то это свидетельствует о расширении зоны инфаркта и является плохим прогностическим признаком. Умеренное повышение активности АСТ в сыворотке характерно для хронических и инфильтративных болезней печени (цирроз, механическая желтуха, метастазы опухоли в печени), а также при поражении скелетной мускулатуры (прогрессирующая мышечная дистрофия, разможжение мышц, травма).

# Коэффициент Де Ритиса

Коэффициент Де Ритиса — это отношение активностей АСТ/АЛТ. В норме он равен 0,6-0,8. При вирусных гепатитах его значения варьируют в пределах 0,2-0,5. В разгар болезни коэффициент Де Ритиса может вырасти до 1,0 (активности АСТ и АЛТ очень высоки) и выше — это плохой прогностический признак, свидетельствующий о наступлении дистрофии печени.Значение коэффициента Де Ритиса при обтурационных желтухах, циррозах и хронических заболеваниях печени, как правило, > 1, при этом наблюдается незначительное повышение активности ферментов АСТ и АЛТ.

#### Тема 3. Углеводы

Определение концентрации глюкозы в крови ферментативным методом (с помощью прибора контроля уровня глюкозы в крови ONE TOUCH BASIC PLUS)

Принцип метода: Система контроля уровня глюкозы в крови ^ ONE TOUCH BASIC PLUS предназначена для определения уровня глюкозы в цельной крови в домашних и клинических условиях. Система включает в себя прибор ONE TOUCH BASIC PLUS, тест-полоски, ланцеты и флакон с контрольным раствором. Тест основан на глюкозооксидазной реакции, специфичной для глюкозы. На любые другие сахара тест не реагирует. После нанесения крови на тест-полоску компоненты последней реагируют с кровью в следующей последовательности:

#### Глюкозооксидаза

#### Глюкоза + $2H_2O + O_2$ ------> Глюконовая кислота+ $H_2O_2$

Пероксид водорода реагирует с хромогеном (4-аминоантипирин) с образованием красителя хинонимина:

#### Пероксидаза

# $H_2O_2 + 4$ -Аминоантипирин + ГБС -----> Хинонимин + $4H_2O$

Интенсивность окраски пятна при длине волны 505 нм прямо пропорциональна концентрации глюкозы в нем. *Линейность метода*: до 33,3 ммоль/л. *Норма*: Цельная

кровь — 3,3-5,5 ммоль/л (18-25°С); Сыворотка — 3,8-6, $\underline{1}$ ммоль/л. *Оборудование и реагенты:* 

- 1. ПриборONE TOUCH BASIC PLUS;
- 2. тест-полоски;
- 3. ланцеты;
- 4. Стандарт (контрольный раствор 4,8-6,8 ммоль/л).

# Проведение анализа

Включить прибор. На экране автоматически появится результат предыдущего теста.

- 1. Установить код нажатием кнопки «С». Номер кода на приборе должен совпадать с номером кода на флаконе с тест-полосками.
- 2. Ввести тест-полоску в прибор до упора.
- 3. Проколоть палец с помощью нового стерильного ланцета.
- 4. Аккуратно нанести каплю крови на зону теста.
- 5. Получить точный результат через 45 секунд (дата, время, уровень глюкозы в ммоль/л).

Хотя система **ONE TOUCH BASIC PLUS** требует малого количества крови, очень важно, чтобы капля крови была достаточно большой и закрывала полностью зону теста. Данный прибор не предназначен для диагностики сахарного диабета и для измерения уровня глюкозы в крови у новорожденных детей в возрасте до 4 недель. Если результаты анализа ниже 3,3 ммоль/л, на экране появится надпись «опасно врач» — следует немедленно принять меры вместе с лечащим врачем при гипогликемии. Если результат выше 33,3 ммоль/л, на экране прибора появится надпись «НІ опасно врач», что указывает на недопустимо высокую концентрацию глюкозы в крови (острая гипергликемия) и требуется немедлиное обращение к врачу. Для проверки правильности показаний прибора (минимум 1 раз в неделю) можно использовать проверочную тест-полоску или контрольный раствор:

Контроль с помощью проверочной тест-полоски	Контроль с помощью контрольного раствора
1. Включить прибор	1. Включить прибор
2. Ввести проверочную полоску стороной 1 вверх	2. Убедится, что номер на экране совпадает с номером на флаконе с тест-полосками. Вставить тест-полоску.
3. При появлении записи на экране «Нанеси пробу» извлечь проверочную полоску	3. Хорошо встряхнуть флакон с контрольным раствором.
4. Когда на экране прибора появится надпись «введи стор.2», ввести проверочную полоску стороной 2.	4. Нанести каплю контрольного раствора на зону теста
5. Прибор покажет результат.	5. Прибор покажет результат через 45 секунд.

*Клинико-диагностическое значение:* Увеличенные уровни глюкозы в крови (гипергликемия) характерны для сахарного диабета, гиперфункции щитовидной железы, гипофиза и надпочечников. Концентрация глюкозы в крови ниже нормы (гипогликемия)

наблюдается при инсулин-секретирующих опухолях, микседеме, гипофункции гипофиза, гипофункции надпочечников, и в случае введения пациенту сверхбольшой дозы инсулина.

#### Тема 4. Липиды.

# Определение содержания триацилглицеролов сыворотке крови ферментативным методом

**Принцип метода:**Метод определения триацилглицеролов (ТАГ) основан на реакции их гидролитического расщепления под действием фермента липазы. Высвободившийся глицерол далее ферментативно окисляется с образованием перекиси водорода. Перексид водорода реагирует с хромогеном под действием пероксидазы с образованием окрашеного хинонимина.

#### Липаза

Триацилглицеролы -----> Глицерол + Жирные кислоты

ГК

Глицерол + АТФ -----> Глицерол-3-фосфат + АДФ

ГФО

Глицерол-3-фосфат +  $O_2$  -----> Дигидроксиацетонфосфат +  $H_2O_2$ 

ПО

# H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-аминоантипирин + трибромгидроксибензоат ----> Хинонимин + 2H<sub>2</sub>O

Интенсивность образующейся окраски прямо пропорциональна содержанию триацилглицеролов в пробе. *Линейность метода*: до 11, 4 ммоль/л. *Норма*: 0,6-2,3 ммоль/л. Триацилглицеролы в негемолизированной сыворотке сохраняют стабильность при температуре хранения  $2-8^{\circ}$ С в течение нескольких дней.

#### Оборудование и реагенты:

- 1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 540 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;
- 2. Секундомер;
- 3. Автоматические пипетки на 10 мкл и 1000 мкл;
- 4. Сыворотка крови;
- 5. Дистиллированная вода;
- 6. Рабочий реагент (АТФ -1 ммоль/л, 4-аминоантипирин -0,4 ммоль/л, глицеролфосфатоксидаза (ГФО) ->2000 Е/л, липаза ->200 000 Е/л, глицеролкиназа (ГК) ->6000 Е/л, пероксидаза ->500 Е/л в буфере);
- 7. Калибратор калибровочный раствор триацилглицеролов, 2,28 ммоль/л.

#### Проведение анализа

Добавить в пробу:	Холостая проба	^ Калибровочная проба	Опытная проба
1. Калибратор		10 мкл	
2. Сыворотка		-1	10 мкл
3. Реагент	1 мл	1 мл	1 мл

Перемешать тщательно содержимое пробирок и инкубировать при температуре  $37^{\circ}$ С в течение 5 минут или при комнатной температуре  $(18-25^{\circ}\text{C})$  – в течение 15 минут. Измерить оптическую плотность опытной  $(D_{\text{on}})$  и калибровочной  $(D_{\text{калиб}})$  проб против холостой пробы при длине волны 540 нм. Окраска раствора стабильна в течение 30 минут.

#### Расчет

Содержание триацилглицеролов в сыворотке рассчитывают по стандарту (калибратор) по формуле:

$${f A}_{
m on}{f C}$$
 (ммоль/л) = ------ ×  ${f C}_{
m калиб}$ 

где С — концентрация триацилглицеролов в анализируемой пробе, ммоль/л;  $A_{\text{оп}}$  — оптическая плотность опытной пробы;  $A_{\text{калиб}}$  — оптическая плотность калибровочной пробы;  $C_{\text{калиб}}$  — концентрация триацилглицеролов в калибраторе, ммоль/л. При содержании триацилглицеролов в пробе свыше 11,4 ммоль/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемую сыворотку следует развести 1:1 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 2.

*Клинико-диагностическое значение:* ТАГ определяют для типирования эссенциальных гиперлипопротеинемий. Например, гиперлипопротеинемия типа IIA отличается высоким уровнем холестерина в сыворотке по сравнению с типом IIB, для которой характерно высокие уровни холестерина и ТАГ.

Повышение уровня ТАГ в сыворотке бывает и при других заболеваниях (переломы костей, нефротический синдром, гипотиреоз, алкоголизм), но диагностического значения в этих случаях не имеет.

Иногда, при несвоевременном заборе биоматериала, можно обнаружить алиментарную гипертриглицеридемию, характеризующуюся высокими концентрациями ТАГ после приема жирной пищи.

# <u>Лабораторная работа № 9.</u> Определение концентрации общего холестерола в сыворотке крови ферментативным методом

**Принции метода:** Эфиры холестерола под действием фермента холестеролэстеразы распадаются на холестерол и жирные кислоты. Холестерол окисляется холестеролоксидазой с образованием перекиси водорода. Пероксид водорода реагирует с хромогеном с образованием окрашенного вещества (хинонимин):

Эстераза

Эфиры холестерола -----> Холестерол + Жирные кислоты

Оксидаза

Холестерол + О2 -----> Холест-4-ен-3-он + Н2О2

#### Пероксидаза

#### $2H_2O_2 + \Gamma FA + 4$ -Амноантипирин -----> Хинонимин + $4H_2O$

Интенсивность окраски раствора при длине волны 550 нм прямо пропорциональна концентрации холестерола в нем. *Линейность метода*: до 19,4 ммоль/л. *Норма*: Сыворотка крови - < 5,2 ммоль/л (37°C).

#### Оборудование и реагенты:

- 1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 550 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;
- 2. Секундомер;
- 3. Автоматические пипетки на 10 мкл и 1000 мкл;
- 4. Сыворотка крови;
- 5. Реагент (холестеролэстераза, холестеролоксидаза  $\geq$  50 Е/л, пероксидаза  $\geq$  1000 Е/л, 4-аминоантипирин 0,3 ммоль/л);
- 6. Стандарт (Холестерол 5,2 ммоль/л);
- 7. Дистиллированная вода.

#### Проведение анализа

Добавить в кювету	Опытная проба	^ Холостая проба	Стандартная проба
1. Сыворотка	10 мкл		
2. Стандарт			10 мкл
3. Дистиллиро- ванная вода		10 мкл	
4. Реагент	1 мл	1 мл	1 мл

Перемешать содержимое каждой пробирки. Инкубировать 10 мин при температуре  $37^{\circ}$ С. Измерить оптическую плотность опытной и стандартной проб против холостой пробы при длине волны 550 нм ( $\Delta$ A). Окраска стабильна в течение 30 минут.

# Расчет

Расчет по стандарту концентрации холестерола в сыворотке проводят по формуле:

$$\Delta A_{on}C$$
 (ммоль/л) = ----- ×  $C_{cr}$ ,  $\Delta A_{cr}$ 

где  $\Delta A_{\text{оп / ст}}$  – оптическая плотность опытной пробы и стандартной, соответственно;  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандарта (ммоль/л). Если концентрация холестерола превышает 19,4 ммоль/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемый образец (сыворотка или моча) следует развести 1:1 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 2.

**Клинико-диагностическое значение:** Уровни холестерола важны в диагностике и классификации гиперлипопротеинемий. Концентрация холестерина в сыворотке указывает на работу печени, билиарного тракта, всасывание в кишечнике. Высокие концентрации холестерина говорят об угрозе ишемической болезни сердца, о нарушении тиреоидной функции и заболеваниях надпочечников.

# Определение концентрации общего холестерола в сыворотке крови ферментативным методом

**Принции метода:** Эфиры холестерола под действием фермента холестеролэстеразы распадаются на холестерол и жирные кислоты. Холестерол окисляется холестеролоксидазой с образованием перекиси водорода. Пероксид водорода реагирует с хромогеном с образованием окрашенного вещества (хинонимин):

Эстераза

Эфиры холестерола -----> Холестерол + Жирные кислоты

Оксидаза

Холестерол + О2 -----> Холест-4-ен-3-он + Н2О2

Пероксидаза

Интенсивность окраски раствора при длине волны 550 нм прямо пропорциональна концентрации холестерола в нем.

Линейность метода: до 19,4 ммоль/л.

*Норма*:Сыворотка крови - < 5,2 ммоль/л (37°С).

#### Оборудование и реагенты:

- 1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 550 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;
- 2. Секундомер;
- 3. Автоматические пипетки на 10 мкл и 1000 мкл;
- 4. Сыворотка крови;
- 5. Реагент (холестеролэстераза, холестеролоксидаза  $\geq$  50 Е/л, пероксидаза  $\geq$  1000 Е/л, 4-аминоантипирин 0,3 ммоль/л);
- 6. Стандарт (Холестерол 5,2 ммоль/л);
- 7. Дистиллированная вода.

# Проведение анализа

Добавить в кювету	Опытная проба	^ Холостая проба	Стандартная проба
1. Сыворотка	10 мкл		
2. Стандарт			10 мкл
3. Дистиллиро- ванная вода		10 мкл	
4. Реагент	1 мл	1 мл	1 мл

Перемешать содержимое каждой пробирки. Инкубировать 10 мин при температуре  $37^{\circ}$ С. Измерить оптическую плотность опытной и стандартной проб против холостой пробы при длине волны 550 нм ( $\Delta A$ ). Окраска стабильна в течение 30 минут.

#### Расчет

Расчет по стандарту концентрации холестерола в сыворотке проводят по формуле:

$$\Delta A_{\text{оп}} C$$
 (ммоль/л) = -----  $\times C_{\text{ст}}$ ,  $\Delta A_{\text{ст}}$ 

где  $\Delta A_{\text{оп}}$  /  $_{\text{ст}}-$  оптическая плотность опытной пробы и стандартной,м соответственно;

 $C_{cr}$  – концентрация стандарта (ммоль/л). Если концентрация холестерола превышает 19,4 ммоль/л (точка вне зоны линейности калибровочного графика), анализируемый образец (сыворотка или моча) следует развести 1:1 физиологическим раствором и повторить измерение, а полученный результат расчета умножить на 2.

*Клинико-диагностическое значение:* Уровни холестерола важны в диагностике и классификации гиперлипопротеинемий. Концентрация холестерина в сыворотке указывает на работу печени, билиарного тракта, всасывание в кишечнике. Высокие концентрации холестерина говорят об угрозе ишемической болезни сердца, о нарушении тиреоидной функции и заболеваниях надпочечников.

# Тема 5. Нуклеиновые кислоты.

Основы метода полимеразной цепной реакции Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод, который позволяет найти в исследуемом клиническом материале небольшой участок генетической информации любого организма, специфичный только для данного вида организмов, среди огромного количества других участков и многократно размножить его.

*Принцип метода:* Метод ПЦР основан на естественной репликации ДНК, включающей расплетение двойной спирали ДНК, расхождение нитей ДНК и

комплиментарное дополнение обеих. Репликация ДНК в ПЦР-методе может начаться не в любой точке, а только в определенных стартовых блоках – коротких двунитевых участках ДНК. Суть метода заключается в том, что, маркируя такими блоками специфический только для данного вида организмов участок ДНК, можно многократно воспроизвести (амплифицировать) именно этот участок. Для того чтобы осуществить такой процесс in vitro (в пробирке), используют две генетические пробы, называемые праймерами, которые служат в качестве затравки для синтеза выбранного участка ДНК. При внесении в исследуемую пробу праймеры подобно паре генетических детективов прочесывают раствор в поисках участка, которому они комплементарны и, следовательно, присоединится, образовав двунитчатый стартовый способны участок. присоединения праймеров (отжиг) начинается воспроизведение специфического фрагмента ДНК с помощью фермента Тад-полимеразы. Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат в качестве матрицы для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации – это и есть цепная полимеразная реакция в ПЦР-методе. В результате ее количество копий специфического участка ДНК увеличивается в геометрической прогрессии и через 25 циклов амплификации синтезируются 10<sup>6</sup> копий фрагмента. В течение 30-40 циклов нарабатывается количество ДНК, достаточное, чтобы визуально учитывать результаты реакции после электрофореза в агарозном геле. Протекание ПЦР (т.е. переход от стадии к стадии и от цикла к циклу) регулируется изменением температуры рабочей смеси:

А)**температура денатурации ДНК** является функцией ионной силы используемого буфера;

Б)**температура отжига** — температура, при которой возможно связывание праймера с матрицей, зависит от длины праймера и его первичной структуры;

В)температура элонгации, зависит от типа используемой ДНК-полимеразы.

*Чувствительность*: очень высокая: около 10 бактериальных клеток, в то время как чувствительность иммунологических и микроскопических тестов колеблется в пределах  $10^3$ - $10^6$  клеток. *Специфичность*: 100 %.

Для ПЦР-анализа пригоден любой материал, в том числе и гистологические препараты. Количество исследуемого материала составляет несколько десятков мл, но при низкой концентрации возбудителя может быть увеличен в сотни и тысячи раз за счет необходимости экстракции ДНК и РНК. Исследуемый материал можно дезинфицировать химической или термической обработкой в момент его забора, и, следовательно исключается возможность инфицирования персонала в процессе проведения ПЦР. Оборудование и реагенты: В настоящее время метод ПЦР автоматизирован, довольно прост в исполнении и доступен любой молекулярно-биологической лаборатории. Для получения ответа на интересующие вопросы диагностики достаточно лишь смешать в пробирке:

- 1. ДНК-мишень, 10 нг/мкл;
- 2. Праймеры короткие олигонуклеотиды (20-30 нукл.) затравки, комплиментарные 3'-концевым последовательностям антипараллельных цепей ДНК гена, 2 шт., концентрация каждого 5 пмоль/мкл;
- 3. Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты 4 типов, смесь 2мМ;
- 4. *Таq*-ДНК-полимераза термостабильная, 5 Е/мкл (название свое фермент получает по имени штамма-продуцента);
- 5. ПЦР-буфер (ТРИС-буфер (рН 8.4), 200мM; KCl, 500мM; 0.01% Tween 20);
- 6. раствор MgCl<sub>2</sub>,25mM;
- 7. Вода деионизованная;
- 8. Программируемый термостат (амплификатор), который по заданной программе автоматчески проводит смену температур реакционной среды.

Определение можно проводить в разнообразном клиническом материале (кровь, сыворотка, лаважные массы, мокрота, слюна, желудочный сок, биопсийный материал, мазки, смывы) и в материале, получаемом из объектов внешней среды (вода, почва).

#### Проведение анализа

ПЦР состоит из 3 основных процедур:

- 1. подготовки исследуемой пробы материала (изоляция ДНК или РНК);
- 2. собственно ПЦР;
- 3. детекция продукта ПЦР (амплифицированной ДНК).

Пятью основными компонентами ПЦР являются следующие: а) фермент Taq-ДНК-полимераза; б) пара олигонуклеотидных праймеров; в) 4 типа дезоксинуклеозидтрифосфатов (dATФ, dГТФ, dЦТФ, dТТФ); г) копируемая ДНК; д) ионы  $Mg^{+2}$  .Вспомогательными компонентами являются буферный раствор и минеральное масло. Поскольку праймеры каждый раз встраиваются в амплифицируемые фрагменты ДНК-матрицы (амплификоны), то они в реакционной смеси ПЦР присутствуют в избытке. Как правило, праймеры для ПЦР-детекции инфекционных возбудителей создают на консервативные участки их ДНК, которые редко подвергаются генетическим перестройкам. Поиски таких участков осуществляют при помощи специальных компьютерных программ. Результаты получают через несколько часов, то есть в течение одного рабочего дня.

Клинико-диагностическое значение: ПЦР в настоящее время является наиболее совершенным диагностическим методом, позволяющим выявлять единичные клетки возбудителей многих инфекционных заболеваний за счет амплификации специфических для этих возбудителей фрагментов ДНК. ПЦР позволяет обнаруживать патогенные для человека бактерии и вирусы даже в тех случаях, когда другими способами (иммунологическим, бактериологическим, микроскопическим) их выявление невозможно. Тест-системы на основе ПЦР эффективны при диагностике трудно культивируемых, не культивируемых и персистирующих форм патогенных бактерий. С этим приходится сталкиваться при латентных и хронических инфекциях, а также при тестировании объектов внешней среды. Метод позволяет определять число копий возбудителя в пробе и тем самым контролировать виремию или бактеремию в процессе лечения. Метод также пригоден для выявления носителей дефектных генов (например ген HbS серповидно-клеточной анемии). ПЦР-диагностикумы, в отличие от иммунологических тест-систем, позволяют избежать проблем, связанных с перекрестно-реагирующими антигенами, тем самым обеспечивая абсолютную специфичность определения патогенного организма.

**Организация лабораторного практикума.** Работы выполняются одновременно двумя студентами с получением индивидуальных заданий. Лабораторные работы выполняются студентами по индивидуальным графикам согласно методическим указаниям к лабораторным работам, составленным по единому плану: перечень вопросов для подготовки к лабораторным работам, сущность методики, список литературы.

Критерии оценки лабораторной работы (в баллах):

- 6 баллов выставляется студенту, если им была проделана лабораторная и представлен отчет по выполненной работе.
- 4 баллов выставляется студенту, если им была проделана лабораторная и не представлен отчет по выполненной работе.
- 2 баллов выставляется студенту, если им не была проделана лабораторная и представлен отчет по выполненной работе.

#### Вопросы для обсуждения на практических занятиях

Биохимия - наука о веществах, которые входят в состав живой природы, и их превращениях, лежащих в основе разнообразных проявлений жизнедеятельности. Теоретическая и практическая значимость биохимии, связь с другими естественными науками. Краткая история развития биохимии.

# Тема 2. Аминокислоты, пептиды, белки

Классификация аминокислот. Химическая структура и физико-химические свойства аминокислот. Стереохимия, амфотерность, реакционная способность аминокислот. Характеристика пептидной связи. Принципы организации и биологическая роль пептидов.

Распространение в биообъектах, разнообразие, биологическая роль белков. Физико-химические свойства белков. Методы очистки и идентификации белков. Принципы структурно-функциональной организации белков. Методы изучения структуры белков. Первичная структура белков. Гидролиз белков, определение аминокислотного состава. Анализ N- и C-концевых аминокислот. Вторичная структура белков - α-спирали и β-структуры. Строение и функциональная роль доменов. Третичная структура. Фолдинг белков Глобулярные и фибриллярные белки. Четвертичная структура белков. Надмолекулярные белковые комплексы. Характеристика связей, стабилизирующих структуру белков. Денатурация и ренатурация белков.

Классификация белков. Простые и сложные белки. Строение, свойства и биологическая роль хромопротеинов (флавопротеины и гемопротеины), гликопротеинов, липопротеинов, металлопротеинов, фосфопротеинов и нуклеопротеинов.

#### Тема 3. Ферменты

Особенности биокаталитических процессов. Принципы структурной организации ферментов. Активные и регуляторные центры. Роль коферментов и простетических групп в биокатализе. Коферментные формы витаминов. Участие металлов в ферментативных процессах.

Механизм действия ферментов. Кинетика ферментативных реакций. Каталитические параметры. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, от рН и температуры. Активация и ингибирование ферментов. Единицы ферментативной активности. Изоферменты и множественные формы ферментов. Принципы регуляции ферментативных реакций. Классификация и номенклатура ферментов. Инженерная энзимология. Использование ферментов в медицине, промышленности и сельском хозяйстве.

#### Тема 4. Нуклеозиды, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты

Распространение и локализация в биообъектах, разнообразие, состав, биологическая роль. Азотистые основания. Углеводные компоненты. Химическое строение, функции и использование природных и синтетических нуклеозидов и нуклеотидов.

Структурная организация олигонуклеотидов, полинуклеотидов (нуклеиновых кислот). Характеристика первичной структуры ДНК. Формы двойной спирали ДНК. Связи, стабилизирующие структуру ДНК. Принцип комплементарности. Одно- и двуцепочечные, кольцевые и линейные молекулы ДНК.

Структура, свойства и функции матричных, рибосомальных и транспортных РНК. Физико-химические свойства ДНК и РНК.

#### Тема 5. Углеводы

Классификация и номенклатура. Биологическая роль и распространение в природе. Особенности строения, изомерии, конформации и биохимических свойств моносахаридов. Производные моносахаридов: кислоты, гликозиды, аминосахара, фосфосахара. Практическая значимость моносахаридов и их производных.

Олигосахариды. Строение, свойства и биологическая роль основных природных дисахаридов.

Полисахариды: гомо- и гетерогликаны. Строение, свойства и значение крахмала, гликогена, целлюлозы, хитина. Гетерогликаны. Классификация, распространение и биологическая роль. Протеогликаны. Гликозаминогликаны. Практическое использование олиго- и полисахаридов.

#### Тема 6.Липиды

Строение, физико-химические свойства и функциональная роль липидов. Классификация и номенклатура жирных кислот. Строение и физико-химические свойства природных жирных кислот (насыщенных; моно- и полиеновых). Принципы химического строения и функции эйкозаноидов.

Ацилглицерины. Воски. Фосфолипиды: глицерофосфолипиды и сфингомиелины. Гликолипиды: цереброзиды и ганглиозиды. Стероиды: структура, свойства важнейших представителей (холестерол желчные кислоты, стероидные гормоны, витамины группы Д). Биологическая роль и практическое использование липидов.

#### Тема 7.Витамины

Классификация и номенклатура витаминов. Структура, свойства, роль в обмене веществ и использование отдельных представителей водорастворимых и жирорастворимых витаминов, провитаминов.

#### Тема 8. Динамическая б иохимия

Введение в обмен веществ и энергии. Макроэргические соединения. АТФ и другие нуклеозидтрифосфаты. Важнейшие биохимические принципы метаболизма как совокупности реакций биосинтеза, превращений и распада биомолекул. Энергетический баланс процессов метаболизма.

#### Тема 9. Метаболизм ДНК и РНК

Расщепление нуклеиновых кислот нуклеазами. Принципы распада и биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

Биосинтез ДНК и РНК. Репликация ДНК: биохимические механизмы и биологическая роль. Биохимические основы полимеразной цепной реакции. Биохимические механизмы и биологическая роль транскрипции.

#### Тема 10. Метаболизм белков, пептидов, аминокислот

Биосинтез белков и пептидов: локализация и биологическая роль. Активация аминокислот, образование аминоацил-тРНК. Функции мРНК в синтезе белка. Этапы процесса трансляции. Посттрансляционная биохимическая модификация белков и пептидов в клетках. Ферментативный гидролиз белков. Протеолитические ферменты. Ограниченный протеолиз белков и пептидов.

Заменимые и незаменимые аминокислоты. Пути образования и распада аминокислот. Механизм и биологическое значение переаминирования. Процессы дезаминирования и декарбоксилирования аминокислот. Образование и транспорт аммиака. Восстановительное аминирование. Амиды и их физиологическое значение. Биосинтез мочевины. Типы азотистого обмена: аммониотелический, уреотелический и урикотелический.

#### Тема11.Обмен углеводов

Превращение и всасывание углеводов в пищеварительном тракте. Принципы метаболизма олиго- и полисахаридов. Синтез и распад гликогена. Взаимопревращения моносахаридов. Анаэробный и аэробный распад углеводов. Биохимия гликолиза. Гликогенолиз. Различные типы брожения. Глюконеогенез. Характеристика обходных реакций гликолиза.

Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Пируватдегидрогеназный комплекс. Амфиболический цикл трикарбоновых кислот. Ферменты цикла Кребса и последовательность протекания реакций. Восстановление НАД и ФАД, фосфорилирование на уровне субстрата. Эффект Пастера.

Пентозофосфатный путь обмена углеводов. Окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.

Энергетическая характеристика аэробной и анаэробной фазы углеводного обмена.

#### Тема 12. Обмен липидов

Расщепление и всасывание липидов в желудочно-кишечном тракте. Роль желчи. Транспорт жирных кислот в крови и лимфе, трансмембранный перенос. Пути окисления жирных кислот. β-окисление жирных кислот: механизм, пластическая и энергетическая роль.

Синтез жирных кислот. Мультиферментный комплекс синтетазы жирных кислот. Принципы биосинтеза ацилглицеринов и фосфолипидов.

# Тема 13. Энергетика биохимических процессов

Основные понятия биохимической термодинамики.

Классификация реакций биологического окисления. Принципы структурнофункциональной организации электрон-транспортной (дыхательной) цепи митохондрий. НАД- и НАДФ-зависимые дегидрогеназы, флавиновые ферменты, убихинон, цитохромы и цитохромоксидаза. Механизмы сопряжения окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. Трансмембранный потенциал протонов и работа АТФ-синтетазы.

Пути потребления кислорода в ферментативных реакциях. Активные формы кислорода. Перекисное окисление липидов (ПОЛ). Роль активных форм кислорода и ПОЛ в обмене веществ. Регуляторы свободно-радикального окисления в клетках. Антиоксидантная система организма.

# Тема 14. Интеграция и регуляция обмена веществ

Уровни регуляции метаболизма. Гуморальная регуляция. Химическая природа и роль важнейших гормонов в регуляции обмена веществ и синтеза белков. Особенности механизмов действия стероидных и белковых гормонов. Внутриклеточные посредники и их роль в проведении и усилении гормонального сигнала.

Внутриклеточная локализация биохимических процессов. Принципы регуляции метаболизма в клетках и в организме. Взаимосвязь углеводного, липидного и белкового обменов. Обмен веществ как единая система процессов.

#### Тема 15. Молекулярная биология

Определение предмета "молекулярная биология". Этапы развития. Основные открытия. Принципы строения и основные функции биополимеров. Нуклеиновые кислоты. Генетический код. Транскрипция у прокариот. Регуляция транскрипции у бактерий. Особенности транскрипции у эукариот. Процессинг mPHK эукариот. Строение иммуноглобулинов, их классификация и функции. Трансляция. Репликация ДНК. Основные принципы и механизмы у про и эукариот. Проблема недорепликации 3'-концов линейных молекул. Теломеры и теломераза. Основные репарабельные повреждения в ДНК и принципы их исправления. Уровни организации хроматина у эукариот. Организация эукариотического генома. Понятие о мобильных генетических элементах. Молекулярные механизмы канцерогенеза.

Критерии оценки лабораторной работы (в баллах):

- 4 балла выставляется студенту, если выполнены все задания лабораторной работы, студент четко и без ошибок ответил на все контрольные вопросы.
- 3 балла выставляется студенту, если выполнены все задания лабораторной работы; студент ответил на все контрольные вопросы с замечаниями.
- 2 балла выставляется студенту, если выполнены все задания лабораторной работы с замечаниями; студент ответил на все контрольные вопросы с замечаниями.
- 1 балла выставляется студенту, если выполнил неправильно задания лабораторной работы; студент ответил на контрольные вопросы с ошибками или не ответил на контрольные вопросы.
- 0 балла выставляется студенту, за отсутствие лабораторной работы.

#### Задания для письменной контрольной работы

Контрольная работа представляет собой ответы на предложенные вопросы. При написании работы важно не увлекаться второстепенными проблемами, следует точно и по возможности кратко отвечать на поставленный вопрос.

#### Вариант 1

- 1. Классификация белков. Общая характеристика протеинов.
- 2. Лактоза и мальтоза. Химическое строение, свойства.
- 3. Специфические свойства ферментов, отличающие их от небиологических катализаторов.

#### Вариант 2

- 1. Молекулярная масса белков, методы ее определения (вискозиметрия, диффузия, ультрацентрифугирование).
- 2. Сахароза. Химическое строение и свойства. Ферментативный гидролиз сахарозы.
- 3.Витамин РР, химическое строение, свойства. Участие в построении коферментов.

# Вариант 3

- 1.Современные представления о структуре белка. Типы связей, сохраняющие пространственную конфигурацию белковой молекулы.
- 2.Строение и химические свойства трегалозы, целлобиозы. Какие промежуточные и конечные продукты образуются при гидролизе клетчатки?
- 3. Классификация ферментов. Характеристика гидролаз.

# Вариант 4

- 1. Написать формулы и указать пептидные связи следующих трипептидов: а) аланиллизил-цистеина, б) глутамил-гистидил-триптофана, в) фенилаланил-лейцил-аргинина.
- 2. Химическое строение, свойства и биологическая роль крахмала и клетчатки.
- 3.Общая характеристика оксидоредуктаз. Анаэробные и аэробные дегидрогеназы. Химическое строение коферментов.

#### Вариант 5

- 1.Первичная структура белковой молекулы. Типы связей, формирующие первичную структуру белка.
- 2. Строение и свойства дисахаридов.
- 3. Написать формулы коферментов, в состав которых входит адениловая кислота.

#### Вариант 6

- 1. Химический состав белков.
- 2. Фосфолипиды, их формулы, свойства и применение в пищевой промышленности.
- 3. Витамины, входящие в состав ферментов. Привести примеры.

# Вариант 7

- 1. Фракционирование белков (электрофорез, хроматография, высаливание). Осаждение белков. Нативные и денатурированные белки.
- 2. Моносахариды гексозы и их производные: гексозамииы и гексофосфорные эфиры.
- 3. Витамины, входящие в состав ферментов. Привести примеры.

# Вариант 8

- 1.Третичная и четвертичная структура белка. Связи, формирующие пространственную конфигурацию белковой молекулы.
- 2. Физико-химические свойства моносахаридов, изображение гексоз с помощью перспективных формул.
- 3. Классификация ферментов. Характеристика изомераз.

#### Вариант 9

- 1.Классификация и характеристика аминокислот. Написать формулы незаменимых аминокислот.
- 2.Строение и химические свойства глюкозы, маннозы, галактозы и фруктозы. D- и L-ряды моносахаридов.

3. Рибофлавин (витамин В2), особенности структуры, обусловливающие его биологические свойства. Коферменты, содержащие рибофлавин.

#### Вариант 10

- 1. Физические и химические свойства белков. Полноценный белок.
- 2. Пектиновые вещества, структура, свойства, использование в пищевой промышленности.
- 3.Общая характеристика и классификация липидов. Жиры: строение, свойства, распространение в природе.

# Вариант 11

- 1.Пептиды и полипептиды. Получить два тетрапептида из следующих аминокислот: серина, метионина, лецина, фенилаланина.
- 2. Общая характеристика и классификация углеводов. Образование углеводов в растениях.
- 3.Одно- и двухкомпонентные ферменты. Простетические группы ферментов. Химическое строение важнейших коферментов.

#### Вариант 12

- 1. Белки как амфотерные электролиты. Изоэлектрическая точка белков.
- 2.Сахароза и мальтоза. Строение, свойства. Объяснить, почему сахароза не дает реакции на карбонильную группу.
- 3. Принцип классификации ферментов. Характеристика классов.

# Вариант 13

- 1. Денатурация белков, обратимая и необратимая. Причины, вызывающие денатурацию белков.
- 2.Написать формулы важнейших моносахаридов гексоз в ациклической и циклической форме и указать их химические свойства.
- 3. Современные данные о химической природе ферментов. Коферменты, их связь с витаминами. Привести примеры.

### Вариант 14

- 1.Классификация и характеристика сложных белков. Строение простетической группы нуклеопротеидов.
- 2.Витамины В1 и В2, их строение, роль в обмене веществ. Пищевые источники этих витаминов. Какие коферменты содержат эти витамины?
- 3. Липиды, общие свойства и особенности структуры. Отличие простых липидов от сложных. Привести примеры.

# Вариант 15

- 1. Аминокислоты, строение, свойства, классификация. Написать формулы всех белковых
- 2. Строение трегалозы и сахарозы. Чем характеризуется трегалозный тип связи? Инверсия сахарозы и ее использование в пищевой промышленности.
- 3.Понятие о ферментах как о белковых веществах, обладающих каталитическими функциями. Активный центр ферментов. Основные положения ферментативного катализа.

# Вариант 16

- 1. Какими свойствами характеризуются белки?
- 2.Что такое гликозиды? Как определить принадлежность гликозида к D- или L-ряду? Написать перспективные формулы метил- $\alpha$ -D-глюкопиранозы и этил- $\beta$ -D-фруктофуранозы.
- 3.Классификация липидов. Строение и свойства жиров, стероидов, воска. Написать их формулы.

#### Вариант 17

- 1.Полноценные и неполноценные белки. Незаменимые аминокислоты, их биологическая роль и химическое строение (дать формулы).
- 2. Что такое мутаротация моносахаридов? Какими процессами обусловлено это явление?
- 3.Ингибиторы и активаторы ферментов.

#### Вариант 18

- 1.Классификация белков. Простые белки: альбумины, глобулины, протамины, гистоны, протеиноиды.
- 2. Трисахариды, тетрасахариды. Строение, свойства, продукты гидролиза.
- 3. Написать формулы витаминов С и Р. Указать характер связи между ними в обмене веществ и их биологическую роль. Их пищевые источники.

#### Вариант 19

- 1. Написать формулы всех встречающихся в белках аминокислот.
- 2.Полисахариды. Крахмал: строение, свойства, распространение в природе.
- 3. Провитамины и витамины. Образование витаминов D из эргостерола.

#### Вариант 20

- 1. Качественные реакции на белки. Приведите формулы циклических аминокислот.
- 2.Классификация углеводов, их биологическое значение, строение и свойства олигосахаридов.
- 3.Витамины группы А. Строение, биологическая роль, провитамины. Как идет преобразование провитамина в витамин?

#### Вариант 21

- 1. Написать структурные формулы и назвать дипептиды, получаемые из следующих аминокислот: а) гистидина и цистина, б) триптофана и лизина, в) изолейцина и цистеина, г) серина и глутамина.
- 2. Химические и физические свойства крахмала, гликогена и целлюлозы. Указать черты сходства и различия в их строении и свойствах.
- 3. Витамины, классификация. Провитамины, антивитамины и антагонисты витаминов.

#### Вариант 22

- 1.Классификация белков. Сложные белки: хромопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды, металлопротеиды, нуклеопротеиды. Строение простетических групп нуклеопротеидов.
- 2. Крахмал, перспективная формула фрагмента молекулы амилопектина. Указать отличие в строении и свойствах амилозы и амилопектина.
- 3. Классификация липидов. Химическое строение жиров и стеридов.

#### Вариант 23

- 1.Вторичная структура белков:  $\alpha$ -спираль,  $\beta$ -складка. Какие связи формируют вторичную структуру белка?
- 2. Написать ациклическую и циклическую формулы α-D-глюкозы.
- 3. Химическое строение фосфолипидов. Их биологическое значение.

# Вариант 24

- 1.Охарактеризуйте белки как амфотерные электролиты. Что такое изоэлектрическая точка белка?
- 2. Сахароза и лактоза. Строение и свойства. Почему лактоза восстанавливает реактив Фелинга, а сахароза нет?
- 3. Что такое коферменты? Роль витаминов в построении коферментов. Привести формулы важнейших коферментов: НАД, НАДФ, ФАД, фосфопиридоксаля (ФП).

#### Вариант 25

- 1. Продукты неполного гидролиза белков. Номенклатура и строение ди-, три-, тетрапептидов. Привести примеры. Что такое полипептиды? Качественные реакции на пептидную связь.
- 2. Моносахариды гексозы. Химическое строение, стереоизомерия моноз. Написать проекционные формулы моноз, эпимерных D-глюкозе.
- 3. Назовите и напишите формулу коферментной системы, в состав которой входит пантотеновая кислота. Роль КоА в обмене веществ.

Ответы	Количество баллов
студент представил контрольную работу в установленный срок и оформил ее в строгом соответствии с требованиями; использовал рекомендованную и дополнительную учебную литературу. При выполнении упражнений показал высокий уровень знания лексикограмматического материала по заданной тематике, проявил творческий подход при ответе на вопросы, умение глубоко анализировать проблему и делать обобщающие выводы; выполнил работу грамотно с точки зрения поставленной задачи, т.е. без ошибок и недочетов или допустил не более одного недочета.	5
студент представил контрольную в установленный срок и оформил ее в соответствии с требованиями; использовал рекомендованную и дополнительную литературу; при выполнении упражнений показал хороший уровень знания лексико-грамматического материала по заданной тематике, практически правильно сформулировал ответы на поставленные вопросы, представил общее знание информации по проблеме; выполнил работу полностью, но допустил в ней: а) не более одной негрубой ошибки и одного недочета б) или не более двух недочетов.	3
студент представил работу в установленный срок, при оформлении работы допустил незначительные отклонения от требований; показал достаточные знания по основным темам контрольной работы; использовал рекомендованную литературу; выполнил не менее половины работы или допустил в ней а) не более двух грубых ошибок, б) или не более одной грубой ошибки и одного недочета, в) или не более двух-трех негрубых ошибок, г) или одной негрубой ошибки и трех недочетов, д) или при отсутствии ошибок, но при наличии 4-5 недочетов.	2
студент не представил работу в установленный срок	0

# Вопросы для коллоквиума

- 1 В процессе спиртового брожения на 1 моль распавшейся глюкозы высвобождается 235 620 Дж, при гликолизе 1 моль глюкозы высвобождается 199 080 Дж. В каждом случае 53 800 Дж высвободившейся энергии запасается в макроэргических связях 2 моль АТФ. Рассчитайте коэффициенты полезного действия спиртового брожения и гликолиза.
- 2. Определите число молекул АТФ, синтезированных при полном окислении пяти молекул глюкозы по дихотомическому пути.
- 3. Напишите уравнение реакции окислительного декарбоксилирования изолимонной кислоты. Сколько молекул АТФ может синтезироваться при условии сопряжения этой реакции с фосфорилированием АДФ?
- 4. В ядерных белках-гистонах содержится большое количество аминокис-лотных остатков аргинина и лизина, а в белке крови альбумине много остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот. Ответьте на вопросы: а) в каких средах (>, < или =7,0) лежит ИЭТ этих белков? б) с каким из 2 белков может взаимодействовать Ca2+?
- 5. Определите суммарный заряд пентапептида при рН 7,0: Глу-Арг-Лиз-Вал-Асп. Как изменится суммарный заряд этого пептида: а) при рН«7,0; б) при рН »7,0. Напишите формулу данного пентапептида и все возмож-ные пептиды, состоящие из тех же аминокислот.

- 6. Определите ИЭТ пептида (>, < или =7,0) Про-Лиз-Тир-Глн-Три. Напишите формулу данного пентапептида и все возможные пептиды, состоящие из тех же аминокислот.
- 7. Определите ИЭТ пептида (>, < или =7,0) Ала-Сер-Глу-Асн-Мет. Напи-шите формулу данного пентапептида и все возможные пептиды, состоящие из тех же аминокислот.
- 8. Сравните направление движения в электрическом поле двух пептидов при рН 7,0 (к катоду или аноду): а) Вал-Глу-Ала; б) Лей—Асн—Арг. Напишите их формулы.
- 9. Сравните растворимость двух пептидов при рН 7,0: Сер—Цис—Глу—Тир—Асп; Вал—Арг—Мет—Фен—Тир. Напишите их формулы.
- 10. Выберите методы, с помощью которых можно разделить смесь белков на индивидуальные белки; укажите физико-химические свойства белков, лежащие в основе каждого метода.

Название белка	Молекулярная масса, Д	ТЄИ
Церулоплазмин	151000	4,4
ү-Глобулин	150 000	6,3 5,2
β-Лактальбумин	37 000	5,2
1		

- 11. Ферменты гексокиназа и глюкокиназа катализируют одну и ту же реакцию: Глюкоза + АТФ  $\rightarrow$  Глюкозо-6-фосфат + АДФ а) Изобразите в виде графиков (в одной системе координат) зависимость скорости от концентрации глюкозы для обоих ферментов, если известно, что Кm для гексокиназы составляет  $\sim 0.04$  ммоль/л, а для глюкокиназы  $\sim 10$  ммоль/л.б) Отметьте на графиках Vmax и Km. Дайте определение этим величинам. Как характеризует фермент Km?в) Для какого из ферментов при одинаковой концентрации глюкозы скорость ферментативной реакции будет больше? Почему?
- 12. В полипептидной цепи между радикалами аминокислот могут возникать химические связи. Выберите пары аминокислот, радикалы которых могут образовать связи и укажите тип связи. 1. Сер, Асн 2. Ала, Вал 3. Глу, Асп 4. Гис, Асп 5. Цис, Ала 6. Сер, Глн.
- 13. Напишите пептид: Сер Глу Про Лиз Гис.
- а) Подберите свойство радикала для каждой из аминокислот пептида:
- 1. Гидрофильный с анионной группой
- 2. Гидрофильный с катионной группой
- 3. Гидрофильный незаряженный
- 4. Гидрофобный
- б) Какие аминокислоты пептида соответствуют следующим характеристи-кам:
- 1. С концевая аминокислота
- 2. Иминокислота
- 3. Диаминомонокарбоновая кислота
- в) Какой суммарный заряд имеет данный пептид. Что такое изоэлектрическая точка белка и в какой среде лежит ИЭТ данного пептида?
- 14. Напишите пептид: Глу Арг Тир Асп Мет.
- а) Подберите свойство радикала для каждой из аминокислот пептида:
- 1. Гидрофильный с анионной группой
- 2. Гидрофильный с катионной группой
- 3. Гидрофильный незаряженный
- 4. Гидрофобный
- б) Какие аминокислоты пептида соответствуют следующим характеристикам:
- 1. N концевая аминокислота
- 2. Аминокислота, содержащая гуандииновую группу
- 3. Моноаминодикарбононая аминокислота
- в) Какой суммарный заряд имеет данный пептид при pH=7. Что такое изоэлектрическая точка белка, и какова ИЭТ данного пептида (>7, =7или <7)?
- 15. Изобразите в виде графика зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

- а) Отметьте на графиках Vmax и Km. Дайте определение этим величинам. Как характеризует фермент Km?
- б) Используя данные о зависимости скорости реакции (V) от концентрации субстрата (S), представленные в таблице, оцените приблизительно значения Vmax и Km.

Концентрация субстрата (S)	Скорость реакции (V)
мкмоль/л	мкмоль/мин
0,2	15
0,4	21
0,8	28
1,6	30

- 16. В полипептидной цепи между радикалами аминокислот могут возни-кать химические связи. Выберите пары аминокислот, радикалы которых могут образовать связи и укажите тип связи. 1. Асп, Три 2. Асн, Тре 3. Арг, Лиз 4. Глу, Гис 5. Мет, Иле 6. Цис, Глн.
- 17. В полипептидной цепи между радикалами аминокислот могут возникать химические связи. Выберите пары аминокислот, радикалы которых могут образовать связи и укажите тип связи. 1. Асп, Лиз 2. Вал, Тре 3. Арг, Гис 4. Глу, Сер 5. Три, Иле 6.Тре, Глн.
- 18. Фермент сахараза может катализировать следующие реакции:

Сахараза +  $H2O \rightarrow \Gamma$ люкоза +  $\Phi$ руктоза

Раффиноза + Н2О → Галактоза + Глюкоза + Фруктоза

- а) Изобразите в виде графиков (в одной системе координат) зависимость скорости реакции, катализируемой сахарозой, от концентрации субстрата сахарозы (Km = 0.05 ммоль/л) и раффинозы (Km = 2.00 ммоль/л), если считать Vmax одинаковой (10 ммоль · n-1 · мин-1).
- б) Отметъте на графиках Vmax и Km. Дайте определение этим величинам. Как характеризует фермент Km?
- в) В каком случае при одинаковой концентрации субстратов (например, 0,1 ммоль/л) скорость ферментативной реакции будет больше? Почему?
- 19. Содержание азота в серине составляет 13,3%. Вычислите молекулярную массу серина, если известно, что в молекуле серина содержится один атом азота.
- 20. Лизин содержит 19,17% азота. Вычислите молекулярную массу лизина, если известно, что в молекуле лизина содержатся два атома азота.
- 21. Определите изоэлектрическую точку следующих аминокислот: глицина,  $\alpha$ -аланина,  $\beta$ -аланина, изолейцина, саркозина и двух дипептидов: глицилглицина и глицилаланина при 25°C, зная, что значения рКа при указанной температуре соответственно равны:
- 22. Рассчитайте значения изоэлектрических точек глицина, аспарагиновой кислоты и лизина. Значения рКа для указанных аминокислот следующие:

Соединение	pKat	рКа2	рКа3
Глицин	2,4	9,7	-
Аспарагиновая кислота	1,9	3,7	9,6
Лизин	2,2	8,9	10,5

В каких позициях от линии старта окажутся перечисленные аминокислоты после их электрофоретического фракционирования в буферной системе с pH = 6.5?

- 23. Смесь аминокислот, содержащая валин, лейцин, аспарагиновую кислоту, лизин, гистидин и серин, была подвергнута фракционированию методом электрофореза на бумаге при pH = 6,2. Какие из указанных аминокислот будут перемещаться к катоду, к аноду или останутся на линии старта и почему?
- 24. Тетрапептид содержит в своем составе аланин, лизин, пролин и валин. В результате реакции тетрапептида с динитрофторбензолом и последующего гидролиза ДНФ-пептида 6 н. раствором соляной кислоты был получен ДНФ-аланин. Гидролиз тетрапептида трипсином дает два соединения, одно из которых окрашивается нингидрином в синефиолетовый, а другое в желтый цвет. Какова первичная структура тетрапептида?

- 25. В гидролизате пептида найдены ала, вал, глу, фен, тир, гли, лиз, лей, мет и NH3. При обработке пептида по методу Сэнджера выявлен ДНФ-аланин, карбоксипептидазой глицин. В триптическом гидролизате обнаружено два пептида: первый состоит из вал, ала, глн, лиз, фен; второй из мет, гли, лей, тир и при обработке по Сэнджеру дает ДНФ-лейцин. В химотриптическом гидролизате найдено три пептида: первый содержит мет, гли; второй вал, ала, фен, глн; третий лей, тир, лиз. Выведите на основании всей совокупности данных первичную структуру исходного пептида.
- 26. Высчитайте объем 0,2 М раствора гидроксида калия, необходимого для нейтрализации 200 мл 0,1 М раствора солянокислого глицина.
- 27. Рассчитайте объем 0,2 М раствора гидроксида калия, необходимого для титрования 200 мл 0,15 М раствора аспарагиновой кислоты, находящейся в изоэлектрической точке.
- 28. Раствор, содержащий триптофан и тирозин в 0,1 н. растворе гидроксида натрия, имеет оптическую плотность 0,500 при 294,5 нм и 0,700 при 280 нм (ширина кюветы 1 см). Какова концентрация этих двух аминокислот?
- 29. Раствор L-лейцина (3,0 г в 50 мл 6 н. раствора HC1) имеет угол вращения  $+1,81^{\circ}$  при толщине слоя жидкости 20 см. Вычислите удельное вращение [a]20D и молярное вращение (M) L-лейцина (в 6 н. растворе HC1).
- 30. Антитоксический псевдоглобулин лошади был подвергнут ультрацентрифугированию до и после обработки пепсином. Константы седиментации были 5,7\*10-13 сек, соответственно равны 7,2\*10-13 и a коэффициенты лиффузии соответственно 3,9\*10-7 и 5,8\*10-7 см2/сек. Плотность воды при 20°C равна 0,9982. Удельный парциальный объем этого белка составляет 0,745. Как изменилась молекулярная масса псевдоглобулина после обработки его пепсином?
- 31. При изучении алкогольдегидрогеназы печени лошади были получены следующие данные: константа седиментации 4,88 единиц Сведберга; коэффициент диффузии 6,5\*10-7 см2/сек, удельный парциальный объем 0,751; плотность растворителя 0,998. Вычислите молекулярную массу фермента.
- 32. Изучение седиментации и диффузии альбумина человека привело к следующим показателям: s20 = 4,24\*10-13 сек; D20 = 6,32\*10-7 см2/сек. Плотность воды при  $20^{\circ}$ C 0,9982, а удельный парциальный объем альбумина 0,733. Вычислите молекулярную массу указанного белка.
- 33. Раствор, содержащий 0,102 г белка в 100 мл раствор обработали 2,4-динитрофторбензолом. Полученный раствор ДНК белка имеет величину оптической плотности, равную 0,5 при 360 нм. Рассчитайте молекулярную массу белка, если в тех же условиях коэффициент молярной экстинкции моно-ДНФ-белка равен 1,61\*104 л/моль\*см, а белок в своем составе содержит три полипептидные цепи.
- 34. Выведите эмпирическую и молекулярную формулы пептида, если в ходе анализа было установлено, что содержание глицина в пептиде составляет 0.3 г, аланина 0.18 г, фенилаланина 0.33 г. Молекулярная масса пептида равна  $1050 \pm 25$ .
- 35. Раствор 0,3 г полиаланина в 100 мл воды развивает осмотическое дав-ление 7,85 мм рт. ст. при 25 °C. Рассчитайте молеку¬лярную массу поли-аланина и коэффициент поликонденсации аланина в его составе.
- 36. Гемоглобин содержит 0,34% железа. Высчитайте минимальную молекулярную массу гемоглобина.
- 37. По аналитическим данным гемоглобин лошади содержит: Fe 0,335%, S 0,390%; гемоглобин свиньи: Fe 0,400%, S 0,480%. Определите минимальные молекулярные массы гемоглобинов этих двух видов живот-ных.
- 38. Содержание меди в гемоцианине, выделенном из разных видов жи-вотных, таково: рак 0,32%, омар 0,34%, осьминог 0,38%, улитка 0,29%, мечехвост 0,173%. Рассчитайте и сравните минимальные молекулярные массы гемоцианинов разного происхождения.

- 39. Гемоглобин быка содержит 0,336% железа, 0,48% серы и 4,24% ар-гинина. Вычислите минимальную молекулярную массу гемоглобина быка, число атомов Fe и S, а также остатков аргинина в нем.
- 40. Молекулярная масса ДНК-полимеразы равна 109 000. Вычислите количество аминокислотных остатков в составе молекулы указанного белка.
- 41. Белок содержит 0,58% триптофана. Чему равна минимальная молекулярная масса этого белка?
- 42. Белок содержит 0,8% цистеина. Вычислите минимальную молекулярную массу этого белка.
- 43. Содержание триптофана, тирозина и  $\beta$ -оксиглутаминовой кислоты в глутелине пшеницы соответственно равно: 1,68, 4,5 и 1,8%. Используя эти данные, вычислите минимальную молекулярную массу глутелина и число остатков указанных аминокислот в его молекуле.
- 44. 1 г белка содержит 0.025\*10-3 мМ концевых  $\alpha$ -аминогрупп. Вычислите минимальную молекулярную массу этого белка.
- 45. При определении молекулярной массы рибонуклеазы методом ультрацентрифугирования получены следующие величины: 13 100; 13 640; 13 400; 13 250; 13 790. Вычислите среднее квадратичное отклонение и среднюю ошибку опыта. Представьте данные о молекулярной массе рибонуклеазы в виде  $M \pm m$ .
- 46. Общая кислотная емкость яичного альбумина равна 8,7\*10-4 экв/г. Молекулярная масса этого белка, найденная методом диффузии и седиментации, равна 43 800. Рассчитайте число катионных групп в молекуле этого белка.
- 47. Сывороточный альбумин имеет общую кислотную и основную емкость 72\*10-5 и 70\*10-5 экв на 1 г соответственно. Молекулярная масса указанного белка равна 67 100. Вычислите число анионных и катионных групп в молекуле сывороточного альбумина.
- 48. Эдестин (белок семян конопли) имеет общую кислотную емкость 134\*10-5 экв/г и молекулярную массу 309 000 (по данным седиментационного анализа). Рассчитайте число катионных групп в молекуле эдестина.
- 49. Общая кислотная и основная емкости на 1 г миогена соответственно равны 1,35\*10-3 и 1,28\*10-3 экв. Рассчитайте и сопоставьте минимальную массу, исходя из приведенных выше данных по титрованию этого белка.
- 50. Используя обозначения: К катод, А анод, С- линия старта, укажите направление перемещения при электрофорезе следующих белков: а) тропомиозин в буферной системе с pH = 5,1; б) гемоглобин pH = 4,8; в) рибонуклеаза pH = 4,2; 9,5 и 11,3, учитывая, что изоэлектрическая точка тропомиозина 5,1, гемоглобина 6,8 и рибонуклеазы 9,45.
- 51. При каких значениях pH наиболее целесообразно электрофоретическое фракционирование нижеперечисленных белковых смесей: а) миозина и гемоглобина; б) уреазы и гемоглобина; в) щелочной фосфатазы, сыворо-точного альбумина и уреазы; г) цитохрома с и гемоглобина, если изо-электрическая точка миозина 5,4; щелочной фосфатазы 4,5; гемоглобина 6,8; уреазы 5,0; цитохрома с 10,65.
- 52. Как изменится электрофоретическая подвижность белка (изоэлектрическая точка его равна 6,8, фракционирование ведется при pH = 7,0), если в его молекуле: а) глу заменен на вал; б) лиз заменен на глу; в) глу заменен на лиз; г) вал заменен на глу; д) гис заменен на арг.
- 53. При исследовании Ф. Сэнджером первичной структуры цепи А инсули-на быка было показано, что она содержит 21 аминокислотный остаток, а именно гли, ала, вал2, лей2, иле, цис4, асп2, глу4, сер2, тир2. Обработка полипептида динитрофторбензолом с последующим гидролизом привела к ДНФ-глицину, карбоксипептидазой к аспарагиновой кислоте. При дейст-вии на цепь А инсулина быка пепсином были получены пептиды: глу-цис-цис-ала-сер-вал, гли-иле-вал-глу, асп-тир-цис-асп, тир-глу-лей-глу; химотрипсином сер-лей-тир, глу-лей-глу-асп-тир, цис-асп, гли-иле-вал-глу-глу-

цис-цис-ала-сер-вал-цис. Исходя из этих данных, выведите первичную структуру цепи А инсулина быка.

- 54. Вычислите в нанометрах длину молекулы рибонуклеазы, содержащей 124 аминокислотных остатка, если она: а) существует полностью в α-спиральной конфигурации, б) совершенно линейна, в) доля спиральной конфигурации равна 17%.
- 55. В клетке кишечной палочки содержится 108 молекул белка со средней молекулярной массой, равной 40 000. Вычислите общую длину всех по-липептидных цепей, находящихся в одной клетке кишечной палочки, если полипептидные цепи имеют α-спиральную конфигурацию.
- 56. Белковая часть вируса табачной мозаики состоит из 2130 субъединиц, с молекулярной массой 17 500 каждая. Вычислите общую длину всех полипептидных цепей, если доля спиральной конфигурации в них равна 30%.
- 57. Лактатдегидрогеназа, строение которой изучено методом рентгено-структурного анализа, состоит из четырех субъединиц, с молекулярной массой 35 000 каждая (311 аминокислотных остатков в субъединице). В структуре каждой субъединицы имеется 8 аспиральных участков, содержащих в сумме 109 аминокислотных остатков. Рассчитайте степень спирализации, характерную для лактатдегидрогеназы.
- 58. Молекула папаина (растительная протеиназа) содержит в своем составе 211 аминокислотных остатков. Псевдокристаллическая часть молекулы папаина состоит из четырех коротких α-спиралей, каждая из которых содержит 10 аминокислотных остатков, и фрагмента полипептидной цепи из 9 аминокислотных остатков, находящегося в β-конформации. Определите количество аминокислотных остатков, составляющих аморфную часть молекулы папаина, и степень спирализации, характерную для данного белка.
- 59. Рентгеноструктурный анализ (разрешение 0,2 нм) показал, что в молекуле карбоксипептидазы около 30% аминокислотных остатков включены в состав α-спиралей, а 20% сосредоточены в зоне, образованной регулярно повторяющимися складками вытянутой полипептидной цепи. Рассчитайте количество аминокислотных остатков, находящихся в аморфной части молекулы, а также в ее α-спиральной области и складчатой зоне, если общее число аминокислотных остатков в молекуле карбоксипептидазы равно 255.
- 60. Г. Хюфнер экспериментально определил, что 1 г гемоглобина соединяется с 1,34 мл кислорода при нормальных условиях. Гемоглобин содержит 0,335% железа. Используя эти данные, оцените молярные соотношения кислорода и железа в гемоглобине при полном насыщении его кислородом.
- 61. Гемоглобин взаимодействует с кислородом с образованием комплекса, в котором на 4 моль кислорода приходится 1 моль гемоглобина. Вычислите число молекул гемоглобина, необходимое для переноса 1 мл кислорода (у. н.).
- 62. 50 мг овальбумина (молекулярная масса 54 000) было растворено в 20 мл фосфатного буфера (рH=7,0). После обработки белка проназой рН раствора уменьшился до 6,8. Потребовалось 2,5 мл 0,01 М раствора гидроксида натрия для доведения рН раствора до 7,0. Какова молярность фосфатного буфера? Какое число пептидных связей (на 1 моль белка) распалось в результате обработки альбумина проназой?
- 63. Приведите уравнение реакции, раскрывающее механизм участия убихинона в окислительно-восстановительных процессах в организме.
- 64. Представьте в виде схемы реакцию декарбоксилирования пировиноградной кислоты с участием тиаминпирофосфата.
- 65. Напишите уравнение реакции окисления витамина B1 в тиохром гексациано-(III)-ферратом калия в щелочной среде.
- 66. Напишите уравнение реакции перехода окисленной формы никотинамидадениндинуклеотида в восстановленную.

- 67. Выразите системой химических уравнений механизм реакции переаминирования аспарагиновой и пировиноградной кислот с участием пи-ридоксальфосфата.
- 68. Приведите схему переноса оксиметильной группы на глицин с участием 5,8,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты.
- 69. Напишите уравнение реакции биосинтеза ацетилхолина. Приведите тривиальное название фермента, катализирующего данную реакцию, и ука-жите класс и подкласс, к которому он относится.
- 70. Напишите уравнение реакции превращения янтарной кислоты в фумаровую при участии флавопротеида (назовите фермент), и составьте схему переноса атомов водорода на убихинон и далее электронов с помощью цитохромной системы на кислород.
- 71. Напишите уравнение реакции синтеза пантотеновой кислоты и назови-те фермент, ускоряющий этот процесс.
- 72. Напишите уравнения реакций декарбоксилирования лизина и щавеле-воуксусной кислоты и отметьте особенности ферментов, катализирующих данные процессы.
- 73. Составьте схему превращений, указав ферменты, ускоряющие соот-ветствующие этапы процесса: Аспарагин → аспарагиновая кислота → фумаровая кислота → яблочная кислот.
- 74. Составьте превращения в соответствии со схемой: Глутаминовая кислота → α-кетоглутаровая кислота → янтарная кислота → фумаровая кислота → яблочная кислота. Укажите ферменты, ускоряющие отдельные этапы реакции.
- 75. Дайте названия ферментам, ускоряющим превращениям: Аргинин →орнитин →путресцин. Укажите, к каким классам и подклассам относятся эти ферменты.
- 76. Молекулярная масса пируваткарбоксилазы равна 183 000. Рассчитайте молекулярную активность фермента, если известно, что его удельная активность составляет 1,2\*103 Е.
- 77. Рассчитайте удельную активность каталазы ( $M = 252\ 000$ ) и лактатдегидрогеназы ( $M = 140\ 000$ ), если известно, что молекулярная активность этих ферментов при температуре 25°C, оптимальном pH и полном насыщении субстратом равна 5\*106 и 3.7\*104 соответственно.
- 78. Количество распавшегося под действием каталазы пероксида водорода соответствует 14,7 мл 0,1 н. раствора перманганата калия. Вытяжка каталазы, взятая для опыта в количестве 20 мл, была приготовлена из 0,25 г моркови. Опыт проводили в течение 30 мин. Определите активность фермента, содержащегося в 1 г моркови.
- 79. Число нейтральных, основных и кислых аминокислотных остатков в составе лизоцима, рибонуклеазы и цитохрома с таково:
- Рассчитайте процентное содержание неполярных, основных и кислых аминокислотных остатков от общего числа аминокислотных остатков в составе указанных белков и выведите закономерности состава перечисленных ферментов в этом отношении.
- 80. Рассчитайте удельную активность карбоангидразы (M = 30 000), гексокиназы (M = 45 000) и альдолазы (M = 142 000), зная, что их молекулярная активность равна 0.96\*108, 1.7\*104 и 4.2\*103 соответственно.
- 81. Определите, в каком состоянии находится HS-группа цистеина (pKa = 8,33) и имидазольный радикал гистидина (pKa=7,12) в молекуле гексокиназы в условиях оптимального pH (8,3—8,6) действия этого фермента.
- 82. Рассчитайте активность каталитических центров каталазы, лактатдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы (молекулярная активность их соответственно равна 5\*106; 3,7\*104 и 2,7\*104), если известно, что число их у первый двух ферментов равно четырем, а у последнего двум.
- 83. Определите удельную активность пируваткиназы ( $M=237\,000$ ), цитохрома с редуктазы ( $M=75\,000$ ) и бутирил-КоА-дегидрогеназы ( $M=200\,000$ ), исходя из значения их молекулярной активности 6\*103, 1,3\*104 и 2\*103 соответственно.
- 84. Активность аланин-аминотрансферазы определяют колориметрически по количеству динитрофенилгидразона пировиноградной кислоты, образующегося при реакции

- переаминирования α-кетоглутаровой кислоты и аланина. Рассчитайте активность аланинаминотрансферазы в исходной вытяжке, если известно, что инкубацию проводили в течение 30 мин с 1 мл разведенной в 50 раз вытяжки фермента, причем получили количество динитрофенилгидразона, соответствующее 44 мг пировиноградной кислоты.
- 85. Рассчитайте молекулярную массу дигидрооротатдегидрогеназы, в состав которой входит 2 атома железа при содержании последнего 0,18%.
- 86. В состав сукцинатдегидрогеназы входят 8 атомов железа при содержании последнего 0,56%. Рассчитайте молекулярную массу фермента.
- 87. Рассчитайте среднюю длину (мм) двухцепочечных молекул ДНК, находящихся в одной клетке у различных представителей животного мира, если известно количество нуклеотидных пар (в млн.) в составе клеточной ДНК: а) млекопитающие 5500; б) амфибии 6500; в) рыбы 2000; г) птицы 2000; д) ракообразные 2800; е) моллюски 1100; ж) губки 100; з) грибы 20; и) бактерии 2.
- 88. Клетка печени крысы содержит 9,1\*1012 г ДНК. Допуская, что вся ДНК равномерно распределена между 42 хромосомами и существует в каждой хромосоме в виде единой молекулы, рассчитайте длину двухцепочечной ДНК (см), находящейся в одной хромосоме (число Авогадро равно 6\*1023).
- 89. Молекулярная масса фрагмента ДНК равна 500 000. Рассчитайте объем фрагмента молекулы ДНК (нм3) при условии, что она имеет форму цилиндра.
- 90. В составе рибосомы кишечной палочки содержится по одной молекуле 23 S, 16 S и 5S РНК. Рассчитайте процентное соотношение трех видов РНК в рибосоме кишечной палочки.
- 91. Температура плавления ДНК линейно зависит от содержания ГЦ-пар в ее составе, и эта зависимость имеет вид: Тпл = 69.3 + 0.41A, где A содержание ГЦ-пар (%). Рассчитайте температуру плавления образцов ДНК в стандартных солевых растворах, выделенных из различных бактерий, содержание ГЦ-пар в которых соответственно равно: а) 37.6; б) 47.6; в) 55.9; г) 61.0; д) 71.2.
- 92. Рассчитайте коэффициент молярной экстинкции аденина, если раствор, содержащий 500 мкг аденина в 100 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия, имеет оптическую плотность 0,458 при 262 нм (ширина кюветы равна 1 см). Молекулярная масса аденина 135.
- 93. Водный раствор, содержащий 57,8 мг/л натриевой соли УТФ, имеет оптическую плотность 1,014 при 262 нм (рH = 7,0). Вычислите коэффициент молярной экстинкции указанного вещества в этих условиях. Молекулярная масса натриевой соли УТФ равна 586.
- 94. Коэффициент молярной экстинкции аденина в 0,1 н. растворе соляной кислоты при 262,5 нм равен 13,4\*10-3 л/моль\*см. Вычислите величину оптической плотности раствора аденина, содержащего 5 мкг основания в 1 мл раствора. Молекулярная масса аденина равна 135.
- 95. Рассчитайте величину оптической плотности (ширина кюветы 1 см; pH =7,0) следующих растворов: а) 67.5\*10-3 мМ раствора цитозина при 260 нм; б) 9.0\*10-3 мМ раствора урацила при 260 нм, если коэффициенты молярной экстинкции для этих оснований при 260 нм (pH = 7.0) равны 5.55\*103 и 8.2\*103 л/моль\*см соответственно.
- 96. Рассчитайте молярную концентрацию: а) раствора гуанина, если оптическая плотность его при 260 нм, рH = 7,0 равна 0,625; б) раствора тимина, если оптическая плотность его при 260 нм, рH = 7,0 равна 0,075. Ширина кюветы 1 см. Коэффициент молярной экстинкции гуанина равен 7,2\*103 л/моль\*см, тимина 7,4\*103 л/моль\*см.
- 97. Образец РНК гидролизовали 0,5 н. раствором гидроксида калия. Полученный раствор рибонуклеотидов использовали для определения нуклеотидного состава исследуемой РНК методом колоночной хроматографии. Этим методом удалось разделить ЦМФ и УМФ, тогда как АМФ и ГМФ не разделились и были элюированы с колонки суммарно одним пиком. Оптическая плотность раствора, содержащего АМФ и ГМФ, равна 1,047 при 260

нм и 0,292 при 280 нм. Определите концентрации АМФ и ГМФ в растворе (необходимые данные см. в табл.).

	Коэффициент молярной экстинкции (рH=7,0; ширина кюветы $1$ <i>см</i> ) при длине волны							
	260 нм 280 нм							
АМФ	15,4×103	2,5×103						
ГМФ	11,7×103	2,5×103 7,7×103						

- 98. Длина молекулы ДНК кишечной палочки составляет 1100 мкм. Время генерации одного поколения кишечной палочки достигает 30 мин. Вычислите скорость редупликации ДНК в клетке кишечной палочки, выразив ее числом нуклеотидных пар, наращиваемых в течение минуты.
- 99. Фрагменты одной цепи ДНК имеют следующие последовательности нуклеотидов: а) ГЦААТГГГЦТАТ; б) АЦТАГТГЦЦА; в) ГЦТ5МЦАГГАТ. Какую нуклеотидную последовательность имеют комплементарные фрагменты второй цепочки той же молекулы?
- 100. Определите нуклеотидную последовательность участков молекулы РНК, синтезированной с помощью РНК-полимеразы, если затравка имела следующие нуклеотидные фрагменты: а) АТЦГААЦТАЦГ; б) ЦТТАГГЦ-ТАЦЦ; в) ТГАЦАГТААГЦГ. 101. В мРНК содержание аденина, цитозина, гуанина и урацила составляет 22, 27, 23 и 28% соответственно. Рассчитайте нуклеотидный состав участка двухцепочечной ДНК, на котором был осуществлен синтез указанной мРНК.
- 102. В клетках кишечной палочки (по данным С. Спигельмана и его сотрудников, использовавших метод гибридизации клеточной ДНК с рРНК) суммарная зона транскрипции 23 S рРНК (М = 1,1\*106 дальтон) составляет 0,2% от клеточной ДНК, масса которой равна 3\*109 дальтон. Второй тип рРНК (коэффициент седиментации 16 S, молекулярная масса 5,5\*105) транскрибируется в зоне ДНК, не совпадающей с таковой для транскрипции 23 S рРНК, причем указанная зона занимает 0,1% от всей клеточной ДНК. Рассчитайте, синтез, какого числа молекул 16 S и 23 S рРНК потенциально возможен одновременно.
- 103. В бесклеточной системе с помощью полинуклеотидфосфорилазы из УДФ и АДФ, взятых в соотношении: а) 5:1 и б) 1:5, синтезированы полинуклеотиды. Рассчитайте в процентах содержание триплетов УЗ, У2А, УА2 и А3 в составе этих полинуклеотидов.
- 104. Фрагмент цепочки ДНК, имеющий последовательность нуклеотидов АГЦТАТ, был обработан азотистой кислотой. Какая нуклеотидная последовательность возникнет после двух циклов его репликации?
- 105. Фрагмент цепочки ДНК, имеющий последовательность нуклеотидов ЦГААТЦГТА, был обработан гидроксиламином. Какая нуклеотидная последовательность возникнет после двух циклов его репликации?
- 106. Подсчитайте количество молекул АТФ, которые сберегает клетка в результате биосинтеза ГТФ, если образование последнего происходит не заново, а из гуанина.
- 107. В культуре клеток человека (HeLa) цикл редупликации хромосом продолжается 6 ч. Средняя хромосома содержит ДНК с суммарной длиною около 3 см. Число хромосом у человека равно 46. Рассчитайте количество участков ДНК, реплицирующихся одновременно в хромосомном аппарате культуры тканей клеток человека, если средняя скорость редупликации составляет 30 мкм/мин.
- 108. Суточная потребность человека в L-триптофане составляет 0,25 г. Рассчитайте количество серотонина, образовавшегося из суточной дозы триптофана у здоровых и страдающих злокачественным новообразованием людей, если установлено, что в первом случае на это расходуется лишь 1 % триптофана, содержащегося в пище, а во втором 60%.

- 109. Скорость включения аминокислот в альдолазу у животных в 1,8 раза выше, чем при включении в фосфорилазу. Определите, сколько радиоактивного аланина включается в тот и другой фермент через 12 ч после инъекции, если установлено, что в течение часа в альдолазу включается 12 мкг аланина.
- 110. В течение часа под действием оксидазы L-аминокислот из яда гремучей змеи 102 мг триптофана превратилось в соответствующую кетокис-лоту. Определите количество пировиноградной кислоты, высвобождающейся из аланина, инкубированного с ферментом в течение часа, если известно, что активность L-оксидазы яда гремучей змеи по отношению к аланину в 205 раз ниже, чем для триптофана.
- 111. На титрование в спиртовом растворе 10 мг неизвестной монокарбоновой кислоты было затрачено 3,5 мл 0,01 н. спиртового раствора гидроксида натрия. Рассчитайте молекулярную массу этой кислоты.
- 112. Рассчитайте йодное число масла, зная, что навеска масла составляла 0.375 г, а на титрование было израсходовано 5.8 мл 0.1 н. раствора гипосульфита в контроле и 3.8 мл в опыте.
- 113. Рассчитайте кислотное число масла, если навеска его составляла 0,2521 а, а на титрование было затрачено 1,2 мл 0,1 н. раствора гидроксида калия.
- 114. Содержание железа в кристаллической каталазе равно 0,12%. Рассчитайте молекулярную массу протомера кристаллической каталазы, представляющего протеид с активной группой в виде железопорфиринового комплекса с одним атомом железа.
- 115. Рассчитайте процентное содержание меди в гемоцианине медьсодержащем белке крови омара, если известно, что молекулярная масса его равна 780 000 и на одну молекулу приходится 20 атомов меди.

#### Вопросы к коллоквиуму

- 1. Репликация. Общая характеристика. Типы репликации. Ферменты и белки, участвующие в репликации.
- 2. Последовательность событий репликации. Образование репликационной вилки и репликационного глазка. Понятие о ведущей и отстающей цепи ДНК.
- 3. Особенности репликации у эукариот. Исправление ошибок при репликации.
- 4. Транскрипция. Общая характеристика, сопоставление с репликацией. Промоторы, терминаторы, транскриптон. Основной фермент транскрипции.
- 5. Основные этапы транскрипции.
- 6. Трансляция. Понятие. Подразделение на этапы и их характеристика.
- 7. Мутации. Классификация. Факторы, вызывающие точковые мутации, и их эффект на структуру ДНК.

#### Критерии оценки (в баллах):

- 4 балла выставляется, если студент показывает глубокое и прочное усвоение программного материала. Дает полные, последовательные, грамотные и логически излагаемые ответы.
- 3 балла выставляется, если студент показывает знание программного материала, при ответе недостаточно правильных формулировок.

Критерии оценки обсуждения вопросов коллоквиума (в баллах):

4 балла - глубокое и прочное усвоение программного материала; полные, последовательные, грамотные и логически излагаемые ответы при видоизменении задания;

свободно справляющиеся с поставленными задачами, знания материала; правильно обоснованные принятые решения; владение разносторонними навыками и приемами выполнения практических работ.

- 3 балла знание программного материала, грамотное изложение, без существенных неточностей в ответе на вопрос; правильное применение теоретических знаний; владение необходимыми навыками при выполнении практических задач.
- 2 балла усвоение основного материала при ответе допускаются неточности; при ответе недостаточно правильные формулировки; нарушение последовательности в изложении программного материала; затруднения в выполнении практических заданий.
- 1 балл не знание программного материала, при ответе возникают ошибки; затруднения при выполнении практических работ.

#### 5. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

### 5.1. Перечень основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины

#### Основная литература:

- 1. Барышева, Е. Теоретические основы биохимии : учебное пособие / Е. Барышева, О. Баранова, Т. Гамбург ; Министерство образования и науки Российской образовательное Федерации, Государственное учреждение профессионального образования «Оренбургский государственный университет». -ОГУ, 2011. 360 To [Электронный ресурс].-Оренбург c. же URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=259198 (08.06.2015).
- 2. Барышева, Е. Практические основы биохимии: учебное пособие / Е.Барышева, О.Баранова, Т.Гамбург; Министерство образования и науки Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет». Оренбург: ОГУ, 2011. 217 с. То же [Электронный ресурс]. URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=259197 (08.06.2015).
- 3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Учебное пособие для ВУЗов. / Под ред. С.Е. Северина, А.Я. Николаева. Москва: Гэотар-мед, 2001. 448 с.
- 4. Биохимия: задачи и упражнения для самостоятельной работы студентов. / Под ред. А.С. Коничева. Москва: КолосС, 2007. 140 с.

### Дополнительная литература

- 5. Основы статической и динамической биохимии : курс лекций / Сибирский государственный университет физической культуры и спорта, Кафедра медико-биологических основ физической культуры и спорта ; сост. О.Н. Кудря, Л.Н. Тюрина и др. Омск : Издательство СибГУФК, 2010. 173 с. : табл., ил. ; То же [Электронный pecypc]. URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=274881(08.06.2015).
- 6. Новиков, Н.Н. Биохимия ферментов : учебное пособие / Н.Н. Новиков ; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Российский Государственный Аграрный Университет МСХА им. К. А. Тимирязева. М. : Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2010. 106 с. : схем. ISBN 978-5-9675-0432-7 ; То же [Электронный ресурс]. URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=145007 (08.06.2015).Бохински Г. Современная биохимия. М., Мир, 1988 г.
- 7. Пинчук, Л.Г. Биохимия / Л.Г. Пинчук, Е.П. Зинкевич, С.Б. Гридина; под ред. А.В. Дюмина. Кемерово : Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2011. 364 с. ISBN 978-5-89289-680-1; То же [Электронный ресурс].

  URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=141519 (08.06.2015).Димитриев, А.Д. Биохимия : учебное пособие / А.Д. Димитриев, Е.Д. Амбросьева; Издательско-торговая корпорация «Дашков и К°». М.: Дашков и Ко, 2012. 166 с.

: ил., табл., схем. - ISBN 978-5-394-01790-2 ; То же [Электронный ресурс]. - URL: http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=114131 (08.06.2015).

### 5.2. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» и программного обеспечения, необходимых для освоения дисциплины

- 1. ЭБС «Университетская библиотека онлайн»;
- 2. ЭБС издательства «Лань»;
- 3. ЭБС «Электронный читальный зал»;

### 6. Материально-техническая база, необходимая для осуществления образовательного процесса по дисциплине

Наименование специализированных	Вид занятий	Наименование оборудования, программного обеспечения			
аудиторий, кабинетов,					
лабораторий					
1	2	3			
1. Учебная аудитория для	Лекции	Аудитория № 306. Лаборатория микробиологии и			
проведения занятий	Практические занятия	биохимии			
лекционного типа:	Самостоятельная работа	Учебная и специализированная мебель,			
аудитория № 306.	F	технические средства обучения, учебное			
Лаборатория		оборудование, трибуна, наборы			
микробиологии и		демонстрационного оборудования и учебно-			
биохимии (учебно-		наглядные пособия с тематическими			
лабораторный корпус)		иллюстрациями, доска, лабораторное			
2.Учебная аудитория для		оборудование, мультимедиа-проектор BenQ			
проведения занятий		MX660, экран настенный Classic Norma 244*183,			
семинарского типа:		микроскопы Биомед 2, весы аналитические и			
аудитория № 306.		электронные, холодильник, анализатор,			
Лаборатория		термостат ТС-1/180СПУ, центрифуга ОПН-3М,			
микробиологии и		шкаф вытяжной, шкаф для хранения хим.			
биохимии (учебно-		реактивов, информационные, пособия, реактивы,			
лабораторный корпус).		реагенты, красители, питательные среды,			
3.Учебная аудитория для		демонстрационные плакаты.			
проведения курсового		Аудитория № 309			
проектирования		Учебная и специализированная мебель и			
(выполнения курсовых		технические средства обучения, учебная мебель,			
работ): аудитория № 309		учебно-наглядные пособия, доска, компьютеры			
(учебно-лабораторный		объединенные в локальную сеть с выходом в			
корпус).		Интернет – 15 шт.			
4. Учебная аудитория для		Аудитория № 313			
проведения групповых и		Учебная и специализированная мебель, трибуна,			
индивидуальных		учебно-наглядные пособия, доска, компьютеры			
консультаций: аудитория		(7 шт.) с возможностью подключения к сети			
№ 306. Лаборатория		«Интернет» и обеспечением доступа в			
микробиологии и биохимии (учебно-		электронную информационно-образовательную среду Сибайского института (филиала) БашГУ,			
лабораторный корпус).		сеть Wi-Fi, мультимедиа проектор, экран.			
5.Учебная аудитория для		Аудитория № 325			
текущего контроля и		Учебная и специализированная мебель,			
промежуточной		технические средства обучения, учебное			
аттестации: аудитория №		оборудование, в том числе: трибуна, компьютеры			
306. Лаборатория		(12 шт.) с выходом в сеть «Интернет» и			
микробиологии и		обеспечением доступа в электронную			
биохимии (учебно-		информационно-образовательную среду			
лабораторный корпус).		Сибайского института (филиала) БашГУ,			
6.Помещениядля		мультимедиа проектор, экран.			
самостоятельной работы:		Аудитория № 248			
аудитория № 313 (учебный		Учебная и специализированная мебель,			
корпус), аудитория № 325		компьютеры – 10 шт. с возможностью			

<ul> <li>(учебно-лабораторный корпус), аудитория № 248</li> <li>(учебно-лабораторный корпус).</li> <li>7. Помещениядля хранения и профилактического обслуживания учебного</li> </ul>	подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду Сибайского института (филиала) БашГУ, стенд «Мир ПК», учебнонаглядные пособия. Аудитория № 305 Учебная мебель, учебно-наглядные пособия
обслуживания учебного оборудования: аудитория №305 (учебно-	Учебная мебель, учебно-наглядные пособия
лабораторный корпус).	

# ФГБОУ ВО «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» СИБАЙСКИЙ ИНСТИТУТ (ФИЛИАЛ) ЕСТЕСТВЕННО-МАТЕМАТИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОЧЕЙ ПРОГРАММЫ

## дисциплины *Биохимия* на 6 семестр

### очная форма обучения

Вид работы	Объем дисциплины
Общая трудоемкость дисциплины (ЗЕТ / часов)	4/144
Учебных часов на контактную работу с преподавателем:	29,7
лекций	32
практических/ семинарских	46
лабораторных	-
контроль самостоятельной работы (КСР)	-
других (групповая, индивидуальная консультация и иные виды	
учебной деятельности, предусматривающие работу обучающихся	
с преподавателем) (ФКР)	1,2
Учебных часов на самостоятельную работу обучающихся (СР)	37,8
Учебных часов наподготовку к	
экзамену/зачету/дифференцированному зачету (Контроль)	22

Форма контроля:

экзамен – 6 семестр

№ <u>°</u> п/ п	Тема и содержание	Форма изучения материалов: лекции, практические занятия, семинарские занятия, лабораторные работы, самостоятельная работа и трудоемкость (в часах)		Основная и дополнительн ая литература, рекомендуем ая студентам (номера из	Задания по самостояте льной работе студентов	Форма текущего контроля успеваемости (коллоквиумы, контрольные работы, компьютерные		
		ЛК	ПР	ЛР	СР	списка)		тесты и т.п.)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	8 семестр Аминокислоты, пептиды, белки	2	4		10	1-7	Задания по самостояте льной работе студентов	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара,
2.	Ферменты	2	4		10	1-7	Задания по самостояте льной работе студентов	коллоквиум Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум
3.	Углеводы	2	4		10	1-7	Задания по самостояте льной работе студентов	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум
4.	Липиды	3	4		10	1-7	Задания по самостояте льной работе студентов	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара, коллоквиум
5.	Метаболизм белков, пептидов, аминокислот	2	4		10	1-7	Задания по самостояте льной работе студентов	Тестовые задания, письменная контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной

								работы студентов,
								раооты студентов, обсуждение
								вопросов
								семинара,
								коллоквиум
6.	Обмен углеводов	2	4		10	1-7	Задания по	Тестовые задания,
0.	Оомен углеводов	2	4		10	1-/	самостояте	письменная
							льной	контрольная
							работе	работа, реферат,
							студентов	задания для
							студентов	самостоятельной
								работы студентов,
								обсуждение
								вопросов
								семинара,
								коллоквиум
7.	Обмен липидов	2	4		10	1-7	Задания по	Тестовые задания,
			•		10	1 /	самостояте	письменная
							льной	контрольная
							работе	работа, реферат,
							студентов	задания для
							•	самостоятельной
								работы студентов,
								обсуждение
								вопросов
								семинара,
								коллоквиум
8.	Энергетика биохимических	2	4		10	1-7	Задания по	Тестовые задания,
	процессов						самостояте	письменная
							льной	контрольная
							работе	работа, реферат,
							студентов	задания для
								самостоятельной
								работы студентов,
								обсуждение
								вопросов
								семинара,
9.	Нуклеиновые кислоты.	2	1		10	1 7	Запання по	Коллоквиум
٦.	Генетический код.	2	4		10	1-7	Задания по самостояте	Тестовые задания, письменная
	Транскрипция. Трансляция						льной	контрольная
	транскрипция. трансляция						работе	работа, реферат,
							студентов	задания для
							21,4011100	самостоятельной
								работы студентов,
								обсуждение
								вопросов
								семинара,
								коллоквиум
1	Репликация ДНК.	2	4		10	1-7	Задания по	Тестовые задания,
0.							самостояте	письменная
							льной	контрольная
							работе	работа, реферат,
							студентов	задания для
								самостоятельной
								работы студентов,
								обсуждение
								вопросов
								семинара,
								коллоквиум
1	Организация	2	4		5,7	1-7	Задания по	Тестовые задания,
1.	эукариотического генома.						самостояте	письменная

				льной работе студентов	контрольная работа, реферат, задания для самостоятельной работы студентов, обсуждение вопросов семинара,
					коллоквиум
Всего часов:	32	46	37,8		
Всего по дисциплине	32	46	37,8		