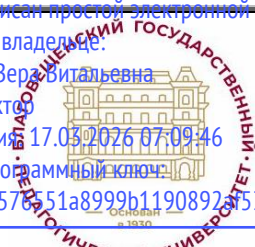
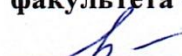


Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Щёкина Вера Битальевна
Должность: Ректор
Дата подписания: 17.03.2026 07:09:46
Уникальный программный ключ:
a2232a55157e576551a8999b1190892af53989420420336ffbf573a434e57789

| | |
|--|---|
|  | МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ |
| | Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Благовещенский государственный педагогический университет» |
| | ОСНОВНАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА Рабочая программа дисциплины |

УТВЕРЖДАЮ

**Декан естественно-географического
факультета ФГБОУ ВО «БГПУ»**



И.А. Трофимова

«26» марта 2025 г.

**Рабочая программа дисциплины
«БИОХИМИЯ»**

**Направление подготовки
44.03.05 ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ
(с двумя профилями подготовки)**

**Профиль
«БИОЛОГИЯ»**

**Профиль
«ХИМИЯ»**

**Уровень высшего образования
БАКАЛАВРИАТ**

**Принята на заседании кафедры химии
(протокол № 6 от «26» мая 2025 г.)**

Благовещенск 2025

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|-----------|
| 1 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА | 3 |
| 2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ | 4 |
| 3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ (РАЗДЕЛОВ) | 6 |
| 4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ (УКАЗАНИЯ) ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ | 15 |
| 5 ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ | 17 |
| 6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ (САМОКОНТРОЛЯ) УСВОЕННОГО МАТЕРИАЛА..... | 52 |
| 7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ | 60 |
| 8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ | 61 |
| 9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ | 61 |
| 10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА | 62 |
| 11 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ | 64 |

1 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

1.1 Цель дисциплины: сформировать фундаментальные знания об особенностях химического состава живой материи и основных процессах ее функционирования, необходимых при подготовке современного учителя биологии.

1.2 Место дисциплины в структуре ООП: Дисциплина «Биохимия» относится к дисциплинам предметного модуля по профилю «Химия» части, формируемой участниками образовательных отношений, блока Б1 (Б1.В.02.04).

Содержание дисциплины базируется на знаниях химии, цитологии, изученных на предыдущих курсах. Материал дисциплины широко используется при изучении дисциплин «Физиология животных и человека», «Физиология растений», «Цитогенетика», «Генетика».

1.3 Дисциплина направлена на формирование следующих компетенций: ПК-2:

- ПК-2. Способен осуществлять педагогическую деятельность по профильным предметам (дисциплинам, модулям) в рамках программ основного общего и среднего общего образования, **индикаторами** достижения которой являются:

- ПК-2.1 Применяет основы теории фундаментальных и прикладных разделов биологии (ботаники, зоологии, микробиологии, генетики, биологии развития, анатомии человека, физиологии растений и животных, общей экологии, теории эволюции) для решения теоретических и практических задач;

- ПК-2.2 Применяет основы теории фундаментальных и прикладных разделов химии (неорганической, аналитической, органической, физической, химии ВМС, химических основ биологических процессов, химической технологии) для решения теоретических и практических задач.

1.4 Перечень планируемых результатов обучения. В результате изучения дисциплины студент должен

- знать:

- химические основы функционирования живых систем;
- состав и свойства основных классов органических соединений, входящих в состав живого организма;

- основные биохимические процессы, протекающие в организмах;

- методы статистической обработки данных и оценки достоверности результатов;

уметь:

- проводить эксперимент с участием биологически активных веществ, в том числе ферментов, анализировать результаты и делать выводы об изменениях, происходящих в живых системах;

владеть:

- представлениями о молекулярных основах жизни и о тех конкретных путях, которыми живая природа решает важнейшие задачи приспособления организма к изменяющимся условиям среды.

1.5 Общая трудоемкость дисциплины «Основы биохимии и молекулярной биологии» составляет 6 зачетных единиц (далее – ЗЕ) (216 часов).

Программа предусматривает изучение материала на лекциях и лабораторных занятиях. Предусмотрена самостоятельная работа студентов по темам и разделам. Проверка знаний осуществляется фронтально, индивидуально.

1.6 Объем дисциплины и виды учебной деятельности

Объем дисциплины и виды учебной деятельности (очная форма обучения)

| Вид учебной работы | Всего часов | Семестр 7 | Семестр 8 |
|--------------------|-------------|-----------|-----------|
| Общая трудоемкость | 216 | 72 | 144 |
| Контактная работа | 108 | 44 | 64 |
| Лекции | 44 | 18 | 26 |

| Вид учебной работы | Всего часов | Семестр 7 | Семестр 8 |
|-------------------------|-------------|-----------|--------------|
| Лабораторные работы | 64 | 26 | 38 |
| Самостоятельная работа | 72 | 28 | 44 |
| Вид итогового контроля: | 36 | Зачет | Экзамен (36) |

2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ

2.1 Очная форма обучения

Учебно-тематический план

| № | Наименование тем (разделов) | Всего часов | Контактная работа | | Самостоятельная работа |
|------------------|---|-------------|-------------------|--------------|------------------------|
| | | | Лекции | Лабораторные | |
| 7 семестр | | | | | |
| | Введение. Предмет и задача биохимии. Методы биохимических исследований. Клетка – функциональная единица живого. Лаб. раб. 1-3: Современные методы исследования. | 16 | 2 | 8 | 6 |
| | Раздел 1 Биомолекулы | 56 | 16 | 18 | 22 |
| 1. | Тема 1.1 Химический состав организмов. Лаб. раб. 5: Качественный анализ продуктов питания на содержание минеральных веществ | 5 | 1 | 2 | 2 |
| 2. | Тема 1.2 Вода в живых системах. Лаб. раб. 6: Исследование биологических жидкостей. | 5 | 1 | 2 | 2 |
| 3. | Тема 1.3 Липиды Лаб. раб. 7-8: Липиды. Выделение, свойства и обнаружение в продуктах питания. | 10 | 2 | 4 | 4 |
| 4. | Тема 1.4 Углеводы Лаб. раб. 9: Углеводы в продуктах питания. | 6 | 2 | 2 | 2 |
| 5. | Тема 1.5 Белки. Классификация белков. Лаб. раб. 10-12: Белки | 20 | 6 | 6 | 8 |
| 6. | Тема 1.6 Нуклеиновые кислоты. Лаб. раб. 13: Обнаружение нуклеиновых кислот | 10 | 4 | 2 | 4 |
| | Итого за 7 семестр | 72 | 18 | 26 | 28 |
| 8 семестр | | | | | |
| 7 | Тема 1.7 Биологически активные вещества. Взаимосвязь витаминов, ферментов и гормонов Лаб. раб. 14-17: Биологически активные вещества | 20 | 6 | 8 | 6 |
| | Раздел 2 Биоэнергетика и метаболизм | 60 | 12 | 20 | 28 |
| 7. | Тема 2.1 Общие понятия об обмене веществ и энергии в организме. Макроэргические соединения. Лаб. раб. 18: Обнаружение макроэргических соединений | 6 | 2 | 2 | 2 |
| 8. | Тема 2.2 Биологическое окисление. Лаб. раб. 19: Биологическое окисление | 8 | 2 | 2 | 4 |
| 9. | Тема 2.3 Водный и минеральный обмен | 2 | - | - | 2 |
| 10. | Тема 2.4 Обмен углеводов. Лаб. раб. 20: Обмен углеводов | 12 | 2 | 4 | 6 |
| 11. | Тема 2.5 Обмен липидов. | 10 | 2 | 4 | 4 |

| | | | | | |
|-----|--|------------|-----------|-----------|-----------|
| | Лаб. раб. 21: Обмен липидов | | | | |
| 12. | Тема 2.6 Обмен белков. Лаб. раб. 22: Обмен белков | 10 | 2 | 4 | 4 |
| 13. | Тема 2.7 Взаимосвязь обмена белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов. Лаб. раб. 23: Анализ продуктов питания на качество. Лаб. раб. 24: Влияние физических упражнений на биохимические процессы в организме. | 12 | 2 | 4 | 6 |
| | Раздел 3 Основы молекулярной биологии | 28 | 8 | 10 | 10 |
| 14. | Тема 3.1 Структура генома про- и эукариот. Лаб. раб. 25-26: Выделение и свойства РНК. Рибонуклеазы | 10 | 2 | 4 | 4 |
| 15. | Тема 3.2 Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Лаб. раб. 27: Выделение и свойства ДНК | 8 | 4 | 2 | 2 |
| 16. | Тема 3.3 Основные механизмы клеточной саморегуляции. Лаб. раб. 28-29: ПЦР-анализ | 10 | 2 | 4 | 4 |
| 17. | Экзамен | 36 | | | |
| | Итого за 8 семестр | 144 | 26 | 38 | 44 |
| | ИТОГО | 216 | 44 | 64 | 72 |

Интерактивное обучение по дисциплине

| № | Наименование тем (разделов) | Вид занятия | Форма интерактивного занятия | Кол-во часов |
|-----------|--|-------------|------------------------------|--------------|
| 7 семестр | | | | |
| 1 | Введение. Современные методы исследования. Электрофорез. Хроматография. | ЛР | Работа в малых группах | 4 ч |
| 2 | Тема 1.5 Белки. | ЛК | Лекция с ошибками | 2 ч |
| 3 | Тема 1.5 Белки. Цветные реакции на аминокислоты и белки. Физико-химические свойства белков | ЛР | Работа в малых группах | 4 ч |
| 4 | Тема 1.6 Нуклеиновые кислоты | ЛК | Лекция-дискуссия | 2 ч |
| | Итого 7 семестр: | | | 12ч |
| 8 семестр | | | | |
| 5 | Тема 1.7 Коферменты. | ЛК | Лекция с ошибками | 2 ч |
| 6 | Тема 2.2 Биологическое окисление | | Лекция-дискуссия | 2 ч |
| 7 | Тема 2.3 Обмен углеводов. | ЛР | Работа в малых группах | 4 ч |
| 8 | Тема 3.2 Репликация | ЛК | Лекция-визуализация | 2 ч |
| 9 | Тема 3.3 ПЦР-анализ. | ЛР | Работа в малых группах | 4 ч |
| | Итого 8 семестр | | | 14 ч |
| | ИТОГО | | | 26 ч |

3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ (РАЗДЕЛОВ)

ВВЕДЕНИЕ

Биохимия – наука о качественном составе, количественном содержании и преобразованиях в процессе жизнедеятельности соединений, образующих живую материю, отличительные особенности живой материи. История развития биохимии. Роль отечественных ученых в развитии биохимии.

Статистическая, динамическая и функциональная биохимия, ее предмет и задачи. Методы биохимических исследований и их характеристика. Использование в биохимии современных физико-химических методов анализа.

Клетка – элементарная единица живого

Современные представления о химическом составе и структуре клетки. Основное вещество цитоплазмы – гиалоплазма – внутренняя среда клетки.

Мембраны клетки и их функции. Молекулярная организация мембран: модель трехслойной липопротеидной мембраны, мозаично-жидкостная (динамическая) модель.

Эндоплазматическая сеть, ее строение и функции (синтез полисахаридов и липидов, накопление и транспорт этих веществ, изоляция и нейтрализация веществ, поступающих в клетку, участие в синтезе белков).

Роль комплекса Гольджи в синтезе веществ, образовании лизосом и формировании плазматической мембраны. Химическая организация лизосом и их участие во внутриклеточном переваривании пищи.

Строение рибосом, их химическая организация и участие в биосинтезе белков.

Митохондрии и их характеристика (размеры, форма, количество, локализация в клетке). Ультраструктурная организация митохондрий: наружная и внутренняя мембраны, кристы, матрикс. Функции митохондрий.

Типы пластид клеток растений: хлоропласты, хромопласты, лейкопласты, пропластиды и их функции. Ультраструктура хлоропластов: наружная и внутренняя мембраны, грани, межгранные пластины (мембраны), матрикс хлоропластов. Строение микротрубочек, их химический состав и функции в клетке.

Строение и функции клеточного центра. Клеточное ядро (размеры, форма) и его химический состав. Значение ядра в жизнедеятельности клетки. Основные структурные компоненты ядра: ядерная оболочка, ядерный сок, хромосомы (хроматин), ядрышко.

Раздел 1. БИОМОЛЕКУЛЫ

Тема 1.1 Химический состав организмов. Постоянно и иногда встречающиеся элементы в составе живой материи. Понятие о макро-, микро- и ультрамикроразделах. Их содержание в живых организмах и биологическая роль. Закономерности распространения элементов в живой природе. Зависимость между биологической ролью элементов и их положением в периодической системе Д.И. Менделеева. Потребность организмов в химических элементах.

Характеристика основных классов химических соединений, входящих в состав живой материи. Содержание белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, минеральных веществ и других соединений в организме (в %). Пластические и энергетические вещества. Биоактивные соединения и их место, и роль в живой природе. Биоконплексы и их значение в явлениях жизнедеятельности.

Тема 1.2 Вода в живых системах. Содержание и распределение воды в организме и клетке. Состояние воды в тканях. Ее биологическая роль.

Вода как растворитель. Растворы и их классификация. Коллоидные растворы. Вода – участник химических реакций. Особые свойства воды в живом организме. Реакция (рН) среды. Кислотно-основное равновесие. Буферные растворы. Понятие о буферной ёмкости. Явление осмоса.

Тема 1.3 Липиды. Общая характеристика класса липидов. Классификация липидов: простые липиды, жиры, воск и стериды; сложные липиды-фосфолипиды и гликолипиды.

Новые виды липидов (диольные липиды). Фосфатидилглицерины. Локализация липидов в клетке и их биологическое значение. Роль липидов в образовании мембран клеток.

Жиры (триглицериды), их структура и разнообразие в природе по качественному составу и соотношению высших жирных кислот (ВЖК). Простые и смешанные триглицериды. Геометрическая изомерия остатков непредельных высших кислот в составе триглицеридов. История открытия и характеристика основных жирных кислот, входящих в состав триглицеридов. Успехи в идентификации ВЖК с нечетным числом углеродных атомов и разветвленным углеродным радикалом. Физико-химические свойства триглицеридов.

Воски. Их состав (перечень ВЖК и высших спиртов) и строение. Биологическая роль восков. Распространение, локализация в организме и функции восков.

Стериды. Их состав и строение, физико-химические свойства. Стероиды, их структура, изомерия (конформации), представители (холестерол, эргостерол, стигмастерол, ситостерол, фукостерол). Характеристика высших жирных кислот, входящих в состав стеридов. Видовая специфичность стеролов и стеридов.

Фосфолипиды, структура их молекул, характеристика высших жирных кислот, азотистых оснований и многоатомных спиртов, входящих в их состав. Распространение фосфолипидов в природе, их биологическая роль.

Гликолипиды, их состав и строение. Цереброзиды и ганглиозиды, функции гликолипидов в тканях и органах.

Тема 1.4 Углеводы. Углеводы – основа существования организмов. Строение и биологические функции углеводов. Биологическое значение углеводов (энергетическая, пластическая, защитная, опорная, регуляторная функции, запас питательных веществ). Специфические функции углеводов.

Общая характеристика углеводов и их классификация в зависимости от числа остатков моносахаридов. Простые углеводы (моносахариды): номенклатура, изомерия, конформации, физические и химические свойства, представители (рибоза, глюкоза, галактоза, манноза, фруктоза, седогептулоза). Сложные углеводы. Дисахариды: типы строения, свойства, представители (сахароза, мальтоза, целлобиоза, лактоза). Восстанавливающие и невосстанавливающие дисахариды. Полисахариды: классификация, химическая структура, свойства. Важнейшие представители (крахмал, гликоген, клетчатка, декстрин, хитин, гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, гепарин).

Тема 1.5 Белки. Роль белков в построении живой материи и процессах жизнедеятельности. Элементарный состав белков.

Методы выделения белков из биологического материала. Способы гомогенизации материала, экстракция белков. Методы фракционирования белков: высаливание, осаждение органическими растворителями, осаждение солями тяжелых металлов, электрофорез, электрофокусировка, хроматография, гельфильтрация. Способы очистки белковых препаратов от низкомолекулярных примесей. Методы определения белковых препаратов.

Молекулярная масса белков. Понятие о химическом и физическом значениях молекулярной массы белков. Методы определения молекулярной массы белков.

Форма белковых молекул и методы ее изучения. Аминокислотный состав белков. Методы гидролиза белка до аминокислот. Качественное и количественное определение аминокислот в гидролизатах белков. Тонкое строение аминокислот по данным рентгеноструктурного анализа. Закономерности содержания аминокислот в белках. Амфотерность и реакционная способность белков. Изoeлектрическое состояние белковой молекулы.

Способ связи аминокислот в белковой молекуле. Работы А.Я. Данилевского и Э. Фишера. Пептиды. Методы синтеза пептидов. Тонкое строение пептидной цепи (валентные углы и расстояние между атомами). Доказательства полипептидной теории строения белковой молекулы.

Структура белковой молекулы. Первичная структура белков. Методы установления первичной структуры белка. Характеристика первичной структуры α и β - цепей инсулина, рибонуклеазы, лизоцима, α и β - цепей гемоглобина и других белков. Первичная структура

и видовая специфичность белков (на примере инсулина и цитохрома). Связь первичной структуры и функций пептидов и белков (на примерах окситоцина, вазопрессина и нормальных и патологических гемоглобинов).

Вторичная структура белков. Понятие об α - и β - конформациях полипептидной цепи. Критерии Л. Полинга и Р. Кори. Параметры α -спирали полипептидной цепи. Правые и левые α -спирали, их реализация в белках и пептидах. Силы, удерживающие полипептидную цепь в α -конформации. Связь первичной и вторичной структур белковой молекулы (понятие о спиралеобразующих и спираленеобразующих сочетаниях аминокислотных остатков). Степень спирализации полипептидных цепей белков.

Третичная структура белков. Методы ее выявления. Работы Дж.Кендрю, М. Перутца и Д.Филлипса по рентгеноструктурному анализу третичной структуры миоглобина, субъединиц гемоглобина и лизоцима. Типы связей, обеспечивающих поддержание третичной структуры белковой молекулы. Гидрофобные зоны («жирная капля») в молекулах глобулярных белков. Полная химическая структура лизоцима и миоглобина. Ориентация радикалов аминокислот в этих белках. Динамичность третичной структуры белков. Самоорганизация третичной структуры белковой молекулы. Этапы самоорганизации, их связь с первичной структурой полипептидной цепи.

Четвертичная структура белков. Субъединицы (протомеры) и эпимолекулы (мультимеры). Конкретные примеры четвертичной структуры белков (инсулин, гемоглобин и т.п.) Типы связей между субъединицами в эпимолекуле. Понятие о контактных площадках у субъединиц, их комплементарности и принципе самосборки эпимолекул. Понятие о самосборке биологических структур.

Физико-химические свойства белков. Денатурация белков. Понятие о нативном белке.

Номенклатура и классификация белков. Простые (протеины) и сложные (протеиды) белки. Характеристика некоторых простых и сложных белков.

Функции белков в организме.

Тема 1.6 Нуклеиновые кислоты. История открытия и изучения нуклеиновых кислот. Химический состав нуклеиновых кислот. Характеристика пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. Минорные основания. β , Д-рибофураноза и β , Д-2-дезоксирибоза в составе нуклеиновых кислот. Два типа нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК). Различия между ДНК и РНК по составу азотистых оснований, характеру углевода, молекулярной массе, локализации в клетке и функции.

ДНК. Методы ее экстракции из биологического материала. Количественное содержание ДНК в организме и локализация ее в клетке. Молекулярная масса и форма молекул ДНК. Нуклеотидный состав ДНК; правила Е. Чаргаффа. Первичная структура ДНК. Полипуриновые и полипиримидиновые фрагменты в молекулах ДНК. Вторичная структура ДНК (модель Дж.Уотсона и Ф.Крика). Принцип комплементарности пуриновых и пиримидиновых оснований и его реализация в структуре ДНК. Третичная структура ДНК. Роль белков гистонов в суперспирализации ДНК.

Рибонуклеиновые кислоты, их классификация (тРНК, рРНК, иРНК, яРНК, в РНК). Сравнительная характеристика видов рибонуклеиновых кислот по молекулярной массе, нуклеотидному составу, локализации и функциям.

Тема 1.7 Биологически активные вещества.

а) Ферменты. Каталитическая функция белков. Черты сходства и различий в действии биокатализаторов (ферментов) и катализаторов иной природы. Роль ферментов в явлениях жизнедеятельности.

Строение ферментов. Ферменты-протеины и ферменты-протеиды. Коферменты. Строение каталитического центра фермента у простых и сложных ферментов. Аминокислоты активных центров у ферментов протеинов. Понятие о субстратном и аллостерическом центрах в молекуле фермента. Взаимодействие перечисленных центров в процессе ферментативного катализа (динамическая модель фермента).

Молекулярная масса ферментов. Их мономерная и мультимерная структура. Общие закономерности структуры ферментов. Множественные формы ферментов. Значение исследования множественных форм ферментов для медицины, генетики и селекции. Полифункциональные ферменты.

Механизм действия ферментов. ES-, ES*- и EP- комплексы, их роль в снижении энергетического барьера реакции. Гипотеза Д. Кошланда. Изменение третичной и четвертичной структуры молекул ферментов в процессе ферментативного катализа. Кинетика ферментативных реакций. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и фермента.

Свойства ферментов: термолабильность, зависимость активности от значения pH среды, ионной силы раствора, специфичность. Активаторы и ингибиторы ферментов. Связь между конформацией ферментов и каталитической активностью.

Номенклатура ферментов. Систематические и рабочие (тривиальные) названия ферментов. Шифры ферментов. Классификация ферментов, ее принципы и современное состояние. Классы ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы. Характеристика основных представителей подклассов перечисленных классов ферментов. Локализация ферментов в клетке. Пространственная разобщенность реакций распада и синтеза в клетке.

б) Коферменты и витамины.

Коферменты (коэнзимы) - органические кофакторы ферментов. Типы связей между коферментами и апоферментами. Роль ионов металлов в образовании связи кофермент-апофермент. Химическая природа и механизм действия некоторых коферментов-переносчиков водорода и электронов (НАД⁺-никотинамидадениндинуклеотидфосфат, ФМН-флавинонуклеотид, флавинадениндинуклеотид), коферментов-переносчиков групп (аденозинтрифосфорная кислота, коэнзим А, пиридоксальфосфат,), коферментов с иными функциями (тиаминпирофосфат,). Коферменты-переносчики групп как субстраты.

Витамины. История их открытия. Роль витаминов в питании человека и животных. Авитаминозы, гиповитаминозы, гипервитаминозы. Роль витаминов в растениях. Витамины как вещества, абсолютно необходимые для нормальной жизнедеятельности любого организма. Соотношение витаминов и коферментов. Классификация и номенклатура витаминов. Витамерия.

Жирорастворимые витамины. Витамин А (ретинол). Химическое строение витаминов А₁ и А₂. Участие витамина А₁ в зрительном акте: тонкая структура ретиналя и возможное значение цис-транс- переходов в утилизации энергии света. Витамин Д₁ (кальциферол). Химическая структура витаминов Д₂ (эргокальциферол) и Д₃ (холекальциферол), их роль в фосфорно-кальциевом обмене. Витамин Е (токоферол). Участие его в окислительно-восстановительных процессах. Витамин К (филлохинон), его отношение к системе свертывания крови. Викасол. Витамин F (комплекс насыщенных жирных кислот).

Водорастворимые витамины. Витамин В₁ (тиамин): химическая природа и механизм действия. Витамин В₂ (рибофлавин), его строение и участие в окислительно-восстановительных реакциях. Витамин В₃ (пантотеновая кислота), участие его в образовании коэнзима А.

Витамин В₅ (никотиновая кислота и амид никотиновой кислоты): структура и участие в переносе атомов водорода в составе НАД⁺. Витамин В₆ (пиридоксин), его формы (пиридоксол, пиридоксаль, пиридоксамин), значение для осуществления реакций переаминирования. Витамин В₁₅ (цианкобаламин). Холин, его функции в качестве поставщика метильных групп.

Витамин С (аскорбиновая кислота), строение ее восстановленной и окисленной форм. Аскорбиген. Роль витамина С в образовании коллагена. Витамин Р (рутин). Взаимообусловленность действий витаминов С и Р. Витамин U. Содержание витаминов в продуктах питания.

Другие биоактивные соединения: авитамины, антибиотики, фитонциды, телергоны, гербициды, дефолианты, ростовые вещества, (важнейшие представители и механизм их действия).

в) Гормоны. История развития учения о гормонах. Определение понятия “гормоны”. Причины обособления гормонов в процессе эволюции живой материи. Номенклатура и классификация гормонов.

Пептидные гормоны: структура и функция. Характеристика важнейших из них (окситоцин, вазопрессин, глюкагон, инсулин, эндорфины и энкефалины, адренкортикотропный гормон, тиреотропин, соматотропный гормон). Механизм действия пептидных гормонов.

Стероидные гормоны: строение, свойства и функциональная активность кортикостерона, тестостерона, эстрадиола. Механизм действия стероидных гормонов. Роль циклического АМФ.

Прочие гормоны: адреналин, тироксин, ауксины, гиббереллины, простагландины. Их строение и механизм действия. Эндемический зоб. Простагландины, их строение, разнообразие и функции.

Взаимосвязь биологически активных веществ.

Раздел 2 БИОЭНЕРГЕТИКА И МЕТАБОЛИЗМ

Тема 2.1 Общие понятия об обмене веществ и энергии в организме. Макроэргические соединения. Современные представления о сущности жизни. Характеристика сущности жизненных явлений с позиции молекулярной биологии, квантовой биохимии, кибернетики, термодинамики, генетики и т.п. Жизнь как биологическая форма движения материи. Критика идеалистических и механических представлений о сущности жизни.

Обмен веществ и энергии – неотъемлемое свойство всего живого. Обмен веществ как закономерный, самосовершающийся процесс превращения материи в живых телах. Анаболизм и катаболизм. Масштабы обмена веществ на земле. Биосфера и ее геохимическая роль. Работы В.И. Вернадского. Промежуточный обмен веществ.

Энергетика обмена веществ. Понятие об уровне свободной энергии в органическом соединении и его изменении в процессе преобразования веществ. Макроэргические соединения и макроэргические связи. Различия в понятиях «энергия связи» и «макроэргическая связь». Важнейшие представители макроэргических соединений: глюкозо-1-фосфат, уридиндифосфоглюкоза, сахароза, ацетилкоэнзим-А, креатинфосфат, аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), фосфоэнолпировиноградная кислота, 1,3-дифосфоглицериновая кислота. Особая роль атомов Р и S в образовании макроэргических связей. Роль АТФ в энергетическом обмене. АТФ как аккумулятор, трансформатор и проводник энергии в процессе ее запасания и расходования в организме. Принципиальное отличие энергетики химических реакций в живой природе от таковой в неживой. Трансформация энергии в живых объектах. Общие принципы организации структур, ответственных за трансформацию энергии.

Тема 2.2 Биологическое окисление. Определение понятия «биологическое окисление». История развития представлений о механизме биологического окисления: теория активирования кислорода К. Шенбайна; перекисная теория А.Н. Баха; концепция дыхательных хромогенов В.И. Палладина и Х. Виланда; выделение и характеристика разнообразных дегидрогеназ; обнаружение цитохромов и цитохромоксидазы (Д. Кейлин и О. Варбург) и признание цитохромной системы доминирующей терминальной дыхательной системы; открытие явления окислительного фосфорилирования (В.А. Энгельгардт).

Классификация процессов биологического окисления. Два типа оксидоредуктаз в клетке: а) обеспечивающих дегидрирование субстратов и передачу атомов водорода и электронов на кислород и другие акцепторы; б) катализирующих реакции непосредственного включения в субстрат кислорода (оксигеназы и гидроксилазы).

Характеристика важнейших оксидоредуктаз первого типа: медьсодержащих оксидаз (аскорбатоксидаза, уреазы, цитохромоксидаза); флавопротеидов (оксидаза L-аминокислот, липоилдегидрогеназа, гликолатоксидаза); НАД⁺ - и НАДФ⁺ -протеидов; железосодержащих

переносчиков электронов (негеминовой природы - ферродоксины и геминовой природы – цитохромы). Ансамбли оксидоредуктаз.

Сопряжение биологического окисления с фосфорилированием. Окислительное фосфорилирование на уровне субстрата (в процессах гликолиза и брожения) и на уровне электронотранспортной цепи. Дыхательная цепь ферментов, осуществляющих сопряжение окисления с фосфорилированием. Шкала редокс-потенциалов компонентов электронотранспортной цепи. Особенности строения дыхательной цепи у эукариотов и прокариотов. Ингибиторы ферментов дыхательной цепи. Локализация окислительного фосфорилирования в клетке. Митохондрии, их структура и функции; строение митохондриальной мембраны; структура элементарных частиц. Гипотезы о механизме сопряжения окисления с фосфорилированием: химическая (Ф. Липманн), конформационная (П.Д. Бойер) и хемиосмотическая (П. Митчелл, В.П. Скулачев). Роль мембранного потенциала. Регуляция окислительного фосфорилирования в митохондриях. Разобщение окисления и фосфорилирования.

Тема 2.3 Водный и минеральный обмен. Понятие о гомеостазе. Водный баланс организмов. Роль почек, легких, кожи, пищеварительной системы и эндокринных желез в водном обмене. Положительный и отрицательный эффект гидратации ионов на степень структурирования воды. Регуляция водного обмена.

Роль минеральных веществ в питании. Соотношение между отдельными химическими элементами. Функции макро-, микро- и ультраэлементов в организме. Участие минеральных веществ в формировании третичной и четвертичной структуры биополимеров. Ферменты-металлопротеиды. Становление ферментов-мультимеров в присутствии ионов Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} и Ca^{2+} . Ионы металлов и возникновение фермент-субстратных комплексов. Минеральные соединения и обмен нуклеиновых кислот, белков, углеводов и липидов. Обмен минеральных веществ и его регуляция.

Тема 2.4 Обмен углеводов. Содержание углеводов в различных продуктах питания. Гидролиз углеводов в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Пути распада полисахаридов и олигосахаридов: α -, β - и γ -амилазы, амило-1,6- глюкозидаза, целлюлаза, хитиназа, гиалуронидаза и др. Гликозидазы. Фосфоролит сложных углеводов: фосфорилазы, их строение и механизм действия. Активирование фосфорилаз при участии циклического АМФ. Метаболизм моносахаридов. Роль реакции фосфорилирования в активировании моносахаридов. Изомеразы фосфорных эфиров моносахаридов и нуклеозидфосфатсахаров. Обмен глюкозо-6-фосфата (дихотомический и апотомический пути, их соотношение в организме). Обмен пировиноградной кислоты (ПВК). Гликолиз и гликогенолиз. Химизм спиртового брожения. Окислительное декарбоксилирование при посредстве мультиэнзимного комплекса. Цикл трикарбоновых кислот и дикарбоновых кислот. Роль активной уксусной кислоты. Энергетический эффект распада углеводов: сопоставление брожения, гликолиза и дыхания по этому показателю.

Биосинтез углеводов. Механизм первичного биосинтеза углеводов в процессе фотосинтеза и хемосинтеза. Его энергетическое обеспечение. Роль восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН). Рибулозо -1,5-дифосфат как акцептор оксида углерода (IV) и источник 3-фосфоглицериновой кислоты. Иные пути акцептирования оксида углерода (IV) при первичном биосинтезе органического вещества (фосфоенол-пируватный и ацил-КоА-карбоксилазный). Схема превращения 3-фосфоглицериновой кислоты во фруктозо-6-фосфат. Особенности биосинтеза простых углеводов у гетеротрофов. Проблема ассиметрического синтеза в живой природе, ее методологическое значение. Трансгликозилирование и его роль в биосинтезе олиго- и полисахаридов. Сопряжение образования гликозидных связей в молекулах олиго- и полисахаридов с распадом связей в донорах гликозильных остатков.

Особая роль нуклеозиддифосфатсахаров в гликозилтрансферазных реакциях, обеспечение специфического биосинтеза олиго-и полисахаридов при их посредстве. Синтез разветвленных молекул полисахаридов (α -глюканветвящая гликозилтрансфераза и механизм

ее действия). Роль полиизопренолфосфатсахаров в биосинтезе полисахаридов и гликопротеидов

Тема 2.5 Обмен липидов. Характеристика продуктов питания по содержанию липидов. Переваривание липидов в ЖКТ. Гидролиз их при участии липазы и алиэстеразы. Регуляция активности липазы при участии ц-АМФ. Роль желчи в эмульгировании жиров и всасывании ВЖК. Синтез собственного жира в стенках кишечника. Обмен глицерина. α - β -окисление ВЖК механизм, локализация в клетке и соотношение в животном и растительном царстве. Обмен ацетил-КоА. Глиоксильный цикл. Механизм биосинтеза ВЖК: малонил-КоА как акцептор ацильных остатков. Строение и механизм действия синтетазы ВЖК. Локализация биосинтеза ВЖК в клетке. Механизм биосинтеза триглицеридов, роль ацилтрансфераз (моно-и диглицеридтрансацилаз) в этом процессе. Фосфатидные кислоты - промежуточные продукты в биосинтезе триглицеридов.

Обмен стероидов. Гидролиз их при участии ферментов. Реакции восстановления и окисления стеролов в организме. Образование стероидов (холевые кислоты, стероидные гормоны и др.)

Пути распада фосфатидов в организме. Характеристика фосфолипаз А, В, С и Д. Обмен холина. Механизм биосинтеза фосфатидов, роль цитидинфосфохолина в этом процессе.

Обмен восков и гликолипидов.

Энергетический эффект окисления триглицеридов и других липидов.

Тема 2.6 Обмен белков. Значение белкового обмена. Азотистый баланс. Содержание белков в продуктах питания. Полноценные белки. Норма белка в питании.

Пути распада белков в ЖКТ и в клетке. Гидролиз белков. Характеристика ферментов, обеспечивающих осуществление гидролиза белков до пептидов и аминокислот. Селективный характер действия пептидпептидогидролаз (трипсина, химотрипсина, пепсина и др.). Объем и скорость обновления белков различных тканей и органов.

Метаболизм аминокислот. Активный перенос аминокислот через клеточные мембраны при посредстве α -глутамилтрансферазы. Преобразование аминокислот по аминокислотной группе, карбоксильной группе и радикалу. Механизм соответствующих реакций и характеристика ферментов, в них участвующих. Обмен аминокислот как источник возникновения биологически активных соединений (биогенных аминов, коферментов, ростовых веществ, витаминов, некоторых гормонов и т.п.). Метаболизм некоторых индивидуальных аминокислот. Пути связывания аммиака в организме. Механизм биосинтеза мочевины (орнитинный цикл). Роль аспарагина и глутамина в связывании аммиака. Пути новообразования аминокислот в природе и их соотношение у различных классов организмов. Первичные и вторичные аминокислоты. Заменяемые, полужаменяемые и незаменимые аминокислоты. Производство синтетических аминокислот. Проблемы искусственной (синтетической) пищи.

Обмен сложных белков. Хромопротеиды. Распад экзогенного и эндогенного гемоглобина. Синтез гемоглобина.

Обмен нуклеопротеидов. Пути распада нуклеиновых кислот до свободных нуклеотидов. Фосфодиэстеразы и их участие в деструкции нуклеиновых кислот. Типы нуклеаз по их отношению к вторичной и третичной структурам субстрата. Механизмы действия рибонуклеазы поджелудочной железы. Селективный характер действия эндорибонуклеаз. Обмен нуклеозидофосфатов. Пути их деструкции. Механизм реакции распада: пуриновых оснований до мочевой кислоты, аллантаина, аллантаиновой кислоты, глиоксильной кислоты и мочевины. Конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых оснований у представителей различных классов животных.

Биосинтез нуклеозид-, нуклеозидди- и нуклеозидтрифосфатов. Образование пиримидинового цикла из NH_3 , CO_2 и аспарагиновой кислоты в присутствии АТФ при участии соответствующих ферментов. Цикл реакций по биосинтезу пуринового кольца из глутамина, глицина, формиата, оксида углерода (IV) и аспарагиновой кислоты сопряженно с распадом

АТФ при каталитическом воздействии ферментов. Уридин-5-монофосфат (УАФ) и инозин-5-монофосфат (ИМФ) как первичные продукты биосинтеза пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов.

УМФ как исходный продукт для биосинтеза УДФ, УТФ, ЦДФ, ЦТФ, δ ТТФ. Механизм превращений ИМФ в АМФ, АДФ, АТФ, δ АТФ, ГМФ, ГТФ и δ ГТФ; регуляция соотношения нуклеозид- и дезоксирибонуклеозидтрифосфатов в клетке. Биосинтез циклического АМФ из АТФ при посредстве аденилатциклазы.

Тема 2.7 Взаимосвязь обмена белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов.

Общие положения о взаимосвязи веществ в организме. Соотношение первичного и вторичного биосинтеза у автотрофных организмов. Центральная роль 3-фосфоглицериновой кислоты. Взаимосвязь превращения веществ у гетеротрофных организмов.

Взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и белков. Первичность возникновения белков и вторичность появления нуклеиновых кислот в процессе развития живой материи. Конкретные формы взаимосвязи обмена белков и нуклеиновых кислот.

Взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и углеводов. Роль 5-фосфорибулозо-1-пирофосфата в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Сопряжение окисления углеводов и биосинтеза нуклеозидтрифосфатов. Нуклеозиддифосфатсахара как коферменты и субстраты в биосинтезе сложных углеводов.

Взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и липидов. Сопряженность фосфорилирования АДФ с окислением ВЖК. Нуклеозиддифосфатхолин как центральный метаболит при биосинтезе фосфатидов.

Взаимосвязь белкового и углеводного обмена. Роль ПВК в осуществлении перехода от углеводов к белкам и обратно. Иные формы связи белкового и углеводного обмена.

Взаимосвязь обмена белков и липидов. Синтез аминокислот за счет превращения ацетил-КоА в глиоксилевом цикле трикарбоновых и дикарбоновых кислот.

Взаимосвязь обмена углеводов и липидов; роль ацетил-КоА в этом процессе. Обмен веществ как единое целое.

Раздел 3 ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Тема 3.1 Структура генома про- и эукариот. Хромосомы – основные структурные и функциональные компоненты ядра. Состав и структура хроматина. Химическая организация: нуклеиновые кислоты и белки. История открытия и изучения нуклеиновых кислот. Доказательства генетической роли ДНК. Методы ее экстракции из биологического материала и способы депротеинизации.

ДНК – носитель наследственной информации и изменчивости. Современные представления о структуре гена. Что такое ген с генетической, биохимической и молекулярной точек зрения. Центральная догма молекулярной биологии. Эволюция понятия один ген – один фермент. Проблема генетического кода. Основные этапы его изучения. Общие свойства генетического кода. Гипотеза качания. РНК-аминокислотный код.

Первичная структура ДНК. Полипуриновые и полипиримидиновые фрагменты в молекулах ДНК и их сблоченность. Работы А.Н. Белозерского. Секвенирование ДНК.

Структура геномов прокариот. ДНК и РНК содержащие вирусы и фаги. Строение нуклеотида. Картирование хромосом бактерий и фагов. Плазмиды. Строение вирусов и их классификация. Проникновение вирусов в клетку.

Структура эукариотических генов. Уникальные гены. Повторяющиеся гены и их биологическая роль. Умеренно повторяющиеся последовательности. Сателлитная ДНК. Палиндромы. Прерывистое строение генов. Значение их в эволюции.

Подвижные генетические элементы генома прокариот и эукариот и эволюция геномов. Бактериальные плазмиды, IS-элементы, транспозоны бактерий и

концепция «эгоистической ДНК». Образование коинтегратов. Механизм перемещения мобильных элементов бактерий. Элементы генома эукариот, представляющие собой продукт обратной транскрипции клеточных РНК (ретропозоны и псевдогены). Подвижные элементы с длинными концевыми повторами (ретротранспозоны). Молекулярные основы мутаций и канцерогенеза. Механизмы индукции опухолевой трансформации клетки. Апоптоз – программируемая клеточная гибель.

Гомеозисные гены. Неядерные геномы. ДНК митохондрий и хлоропластов.

Вторичная структура ДНК. Правила Э. Чаргаффа. Модель двойной спирали ДНК Дж. Уотсона и Ф. Крика. Принцип комплементарности пуриновых и пиримидиновых оснований структуре ДНК. Природа сил, удерживающих молекулу ДНК в биспиральном состоянии. Полиморфизм двойной спирали ДНК.

Физико-химические свойства ДНК. Молекулярная масса, вязкость, оптические свойства, гипохромный эффект, упругость. Денатурация или плавление молекул ДНК. Плавающая плотность. Метод реассоциации в изучении генома эукариот.

Третичная структура ДНК бактерий и вирусов. Сверхспирализация. Третичная структура ДНК и особенности организации хроматина в эукариотических клетках. Гистоны и негистоновые белки. Нуклесомы. Организация нуклесомных фибрилл. Конденсация хроматина и его доменная организация. Метафазные хромосомы. Структура активного хроматина. Понятие о гетеро- и эухроматине.

Рибонуклеиновые кислоты, их классификация (тРНК, рРНК, иРНК, яРНК, вРНК). Сравнительная характеристика видов РНК по молекулярной массе, нуклеотадному составу, локализации и функциям. тРНК, методы их выделения и фракционирования. Изоакцепторные тРНК. Минорные основания тРНК и их значение. Первичная структура тРНК, работы А.А. Баева. Вторичная структура тРНК (модель «клеверный лист»); функциональное значение некоторых участков тРНК, выявленное методом «хирургии молекул» (В. А. Энгельгард, А.А. Баев). Третичная структура тРНК по данным рентгеноструктурного анализа кристаллических препаратов, рРНК, ее содержание и локализация в клетке. Виды рРНК (23-28S, 16-18S и 5S) и их функции. Первичная структура 5S рРНК и 16S рРНК. Закономерности первичной структуры высокомолекулярных рРНК; вторичная и третичная их структуры (рибосомы А.С. Спирина). иРНК, история ее открытия (А.Н. Белозерский и А.С. Спирин). Характерные особенности (молекулярная масса, ДНК-подобие, быстрая обменяемость) бактериальной иРНК. Свойства иРНК высших организмов. иРНК как матрица для специфического биосинтеза белков. Ядерная РНК, молекулярная масса, локализация в ядре. Вирусные и фаговые РНК, успехи в исследовании их структуры и функции. Новый класс РНК, регулирующих активность ферментов.

Тема 3.2 Молекулярные механизмы передачи наследственной информации

Перенос вещества, энергии и информации. Виды передачи генетической информации (репликация, транскрипция и трансляция) и их матричный механизм.

Биосинтез нуклеиновых кислот (репликация ДНК). Консервативный и полуконсервативный механизм репликации ДНК (работы М. Мезельсона и Сталя). Комплементарный механизм, обеспечение специфичности воспроизведения первичной структуры при биосинтезе ДНК.

ДНК-полимеразы и их функции. Основные принципы репликации. Инициация цепей ДНК. Расплетание двойной спирали ДНК в ходе репликации. Белки, принимающие участие в инициации. Роль праймера. Этап элонгации и прерывистый (челночный) синтез ДНК, фрагменты Оказаки. ДНК-лигазы. Реплисома. Повреждения и репарация ДНК. Метилирование и рестрикция. Репликация различных ДНК и её регуляция. Теломерные последовательности ДНК.

Повреждения и репарация ДНК.

Биосинтез рибонуклеиновых кислот (транскрипция). Строение и функции РНК-полимеразы. Роль промоторных участков оперона. Цикл транскрипции (связывание с ДНК, инициация цепи РНК, элонгация, терминация).

Структура транскриптонов и регуляция транскрипции у про- и эукариот. Процессинг первичных транскриптов. Различия процессинга прокариот и эукариот. Полистронный механизм биосинтеза РНК. Информосомы (работы А.С. Спирина) и информомеры (работы Г.П. Георгиева)

как первичные формы существования новообразованных РНК. Сплайсинг и его виды. Рибозимы. Обратная транскрипция.

Биосинтез белка в клетке. Матричный и нематричный механизмы и их соотношение. Строение и функции рибосом. Аминоацильный и пеггидильный центры. Активация аминокислот и связывание их с определенными тРНК. Характеристика аминоацил тРНК-синтетаз: молекулярная масса, специфичность, лабильность, число оборотов, локализация в клетке, аллостерическая регуляция активности при посредстве тРНК. Аминоацил-тРНК, их структура, свойства и функции. Белковые факторы биосинтеза белка. Этап инициации и образование транслирующей рибосомы.

Этапы элонгации. Поступление аминоацил-тРНК в рибосому. Кодон - антикодонное взаимодействие. Реакция транспептидирования. Транслокация. Передвижение матрицы при транслокации. Терминация. Кодоны терминации и последовательность событий. Посттрансляционные изменения (сворачивание, компарментализация и модификация белков). Синтез коллагена. Белковая инженерия. Внеклеточный синтез белков.

Передача наследственной информации у прокариот. Транскрипция и репликация генетического материала. ДНК и РНК содержащие вирусы. Рекомбинация у микроорганизмов. Трансформация, трансдукция, конъюгация и их особенности. Эписомы бактерий.

Тема 3.3 Основные механизмы клеточной саморегуляции. Уровни регуляции жизненных процессов в живой природе: метаболический, оперонный, клеточный, организменный и популяционный.

Метаболический уровень регуляции. Регуляция ферментативных процессов за счет изменения активности ферментов: неспецифическая (температура, рН, ионная сила и т.д.) и специфическая (изостерическая и аллостерическая), регуляция обмена синтеза ферментов (индукция и репрессия).

Оперонный уровень регуляции. Строение оперона. Роль промотора, оператора и гена регулятора. Энхансеры. Механизм действия лактозного оперона. Катаболическая репрессия и роль цАМФ. Механизм действия триптофанового оперона. Аттенуация. Принцип обратной связи в регуляции обмена веществ.

Клеточный уровень регуляции. Проницаемость плазматической и клеточной мембран. Транспорт метаболитов в клетке. Ядерно-цитоплазматические отношения в клетке. Регуляция экспрессии генов путем альтернативного сплайсинга. Транс-сплайсинг. Регуляция при трансляции и посттрансляционном уровне.

Банки нуклеотидных последовательностей, программа «Геном человека». Геномная дактилоскопия. Генетически детерминируемые болезни. Подразделение болезней в соответствии с уровнем структурных повреждений. Заболевания, обусловленные повреждениями на уровне отдельных генов. Нарушения экспрессии генов на различных уровнях как причина наследственных болезней. Генный, транскрипционный, трансляционный и посттрансляционный уровни.

Молекулярные механизмы эволюции, дифференцировки, развития и старения организма. Молекулярные механизмы регуляции клеточного цикла. Программируемая клеточная гибель.

4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ (УКАЗАНИЯ) ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Дисциплина «Основы биохимии и молекулярной биологии» развивает познавательный интерес студентов в области биологии на базе фундаментальных химических знаний. При ее изучении широко используются межпредметные связи.

Данный курс предназначен для формирования биохимического мировоззрения студентов и более глубокой естественнонаучной подготовки выпускников к преподаванию биологических дисциплин в школе. Основные задачи курса заключаются в формировании научного мировоззрения студентов, развитии логического мышления путем установления причинно-следственных связей объективно существующих и проявляющихся в

первичности строения и вторичности свойств и выполняемых функций различных веществ, составляющих основу живой материи.

Данная программа построена в соответствии требованиями Государственного образовательного стандарта высшего образования. В результате изучения курса студент должен знать строение основных классов органических соединений, входящих в состав живого организма, строение и механизм действия биологически активных соединений (витаминов, гормонов, ферментов), особенности пластического и энергетического обменов, их взаимосвязь, роль теоретических знаний биохимии для решения проблем питания, защиты окружающей среды, здравоохранения, сельского хозяйства. Студент должен уметь пользоваться современным оборудованием для проведения биохимических исследований, поставить соответствующий школьной программе демонстрационный эксперимент.

Программа включает введение, разделы статической и динамической биохимии, изучающие классические вопросы, касающиеся характеристики основных классов соединений, входящих в состав живой материи и процессов их обмена. Программой курса предусмотрено чтение лекций, проведение лабораторных работ, выполнение контрольных работ. Содержание изучаемой дисциплины располагает большими возможностями для пропаганды здорового образа жизни.

Лабораторные работы составлены в соответствии с лекционным материалом и учетом возможностей вуза. Большое внимание при этом отводится связи со школьным курсом. Профессионально ориентированный материал способствует формированию мотивации к изучению курса. Освоение биохимии предполагает, помимо проведения лекций и лабораторного практикума, организацию и проведение самостоятельной работы студентов, которая планируется в соответствии с требованиями, предъявляемыми к данному виду деятельности.

Самостоятельная работа проводится с целью углубления знаний по дисциплине и предусматривает чтение студентами рекомендованной литературы и усвоение теоретического материала дисциплины; подготовку к лабораторным работам, выполнению тестовых заданий и сдаче зачета и экзамена.

Для расширения знаний по дисциплине рекомендуется использовать Интернет-ресурсы: проводить поиск информации в рекомендованных ниже базах данных.

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов по дисциплине

| № | Наименование раздела (темы) | Формы/виды самостоятельной работы | Количество часов, в соответствии с учебно-тематическим планом |
|----------|---|---|--|
| 1. | Введение | Изучение основной и дополнительной литературы. Выполнение письменной самостоятельной работы (серии). | 6 |
| 2. | Раздел 1. Биомолекулы | Изучение основной и дополнительной литературы. Конспектирование изученных источников. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторной работы. Подготовка отчета по лабораторной работе | 28 |
| 3 | Раздел 2. Биоэнергетика и метаболизм | Изучение основной и дополнительной литературы. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторной работы. Подготовка отчетов по лабораторной работе. | 28 |

| | | | |
|---|---|---|-----------|
| 4 | Раздел 3. Основы молекулярной биологии | Изучение основной и дополнительной литературы. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий) Подготовка отчетов по лабораторной работе. | 10 |
| | Итого | | 72 |

5 ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

Тематический план лабораторных занятий

| № п/п | Тема | Кол-во часов |
|-------|--|--------------|
| | 7 семестр | 26 |
| 1. | Введение. Тема 1 Предмет и задачи биохимии. Современные методы исследований. Лаб. раб. 1-2: Современные методы исследований. Центрифугирование. Фотоколориметрия. Лаб. раб. 3: Хроматография. Лаб. раб. 4: Электрофорез. Упр.: Клетка – функциональная единица живого. Сам. раб.: Основные классы органических соединений | 8 |
| 2 | Раздел 1 Биомолекулы Тема 1.1 Химический состав организмов. Лаб. раб. 5: Качественный анализ продуктов питания на содержание минеральных веществ. Упр.: Минеральный состав живых систем. Сам. раб.: Основные классы органических соединений. | 2 |
| 3 | Тема 1.2 Вода в живых системах. Лаб. раб. 6: Исследование биологических жидкостей. Упр.: Вода. Сам. раб.: Роль микро- и макроэлементов | 2 |
| 4 | Тема 1.3 Липиды Лаб. раб. 7-8: Липиды. Выделение, свойства и обнаружение в продуктах питания. Упр.: Классификация липидов. Сам. раб.: Вода. | 4 |
| 5 | Тема 1.4 Углеводы Лаб. раб. 9: Углеводы в продуктах питания. Упр.: Строение и классификация углеводов. Сам. раб.: Классификация липидов. | 2 |
| 6 | Тема 1.5 Белки. Состав белков. Строение и свойства аминокислот. Строение и физико-химические свойства белков. Сложные белки. Гемоглобин. Лаб. раб. 10: Белки. Цветные реакции на аминокислоты и белки. Лаб. раб. 11: Белки. Физико-химические свойства белков. Упр.: Строение аминокислот и их свойства, механизм образования пептидной связи. Структура белковой молекулы. Лаб. раб. 12: Обнаружение сложных белков Строение гемоглобина, Сам. раб.: Классификация углеводов. Классификация аминокислот (не менее 5) и механизм образования пептидной связи. | 6 |
| 7 | Тема 1.6 Нуклеиновые кислоты. Лаб. раб. 13: Обнаружение нуклеиновых кислот. Упр.: Строение нуклеопротеидов Сам. раб.: Строение сложных белков. Гемоглобин. | 2 |
| | 8 семестр | 38 |
| 8 | Тема 1.7 Биологически активные вещества. Ферменты. Строение и механизм действия ферментов. Витамины. Гормоны. Взаимосвязь ферментов, витаминов и гормонов. Лаб. раб. 14: Биологически активные вещества. Витамины. Количественное обнаружение витамина С йодометрическим методом. Лаб. раб. 15: Биологически активные вещества. Определение активности ферментов и их свойства; Лаб. раб. 16: Биологически активные вещества. Гормоны. Лаб. раб. 17: Биологически активные вещества. Низкомолекулярные метаболиты. Упр.: Структурные формулы витаминов, коферментные группы: ТПФ, НАД, ФАД, Коэнзим-А. Теория | 8 |

| | | |
|----|--|-----------|
| | ферментативного катализа, механизм действия декарбоксилазы и дегидрогеназы. Сам. раб.: Белки-полимеры, белки-коллоиды. Строение ДНК. | |
| 9 | Раздел 2 Биоэнергетика и метаболизм Тема 2.1 Общие понятия об обмене веществ и энергии в организме. Лаб. раб. 18: Обнаружение макроэргических соединений. Упр.: Обмен веществ и энергии. Макроэргические соединения. Сам. раб.: Строение и механизм действия декарбоксилазы. | 2 |
| 10 | Тема 2.2 Биологическое окисление. Лаб. раб. 19: Биологическое окисление Упр.: Строение биологической мембраны митохондрий, роль ферментов биологического окисления. Сам. раб.: Макроэргические соединения. | 2 |
| 11 | Тема 2.4 Обмен углеводов. Лаб. раб. 20: Обмен углеводов. Упр.: Обмен углеводов. Переваривание углеводов в ЖКТ. Анаэробное и аэробное окисление углеводов. Сам. раб.: Синтез АТФ в митохондриях. | 4 |
| 12 | Тема 2.5 Обмен липидов. Лаб. раб. 21: Обмен липидов. Упр.: Обмен жиров. Переваривание жиров в ЖКТ. Окисление глицерина и высших жирных кислот в тканях. Сам. раб.: Анаэробное и аэробное окисление углеводов. | 4 |
| 13 | Тема 2.6 Обмен белков. Лаб. раб. 22: Обмен белков. Упр.: Обмен белков. Переваривание белков в ЖКТ. Пути дезаминирования аминокислот. Образование мочевины. Сам. раб.: Окисление жиров | 2 |
| 14 | Тема 2.7 Взаимосвязь обмена белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов. Лаб. раб. 23: Анализ продуктов питания на качество Лаб. раб. 24: Влияние физических упражнений на биохимические процессы в организме. Упр.: Биохимические процессы в тканях и органах. Сам. раб.: Аэробное окисление. | 6 |
| 15 | Раздел 3 Основы молекулярной биологии. Тема 3.1 Структура генома про- и эукариот. Лаб. раб. 25-26: Выделение и свойства РНК. Рибонуклеазы. Упр.: Первичная и вторичная структура ДНК. Динамичность генома. Третичная структура ДНК. Белки хроматина и его упаковка. Физико-химические свойства ДНК. | 4 |
| 16 | Тема 3.2 Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Лаб. раб. 27: Выделение и свойства ДНК. Упр.: Биосинтез ДНК, РНК и белка. Особенности передачи генетической информации прокариот. Сам. раб.: Строение нуклеиновых кислот. | 2 |
| 17 | Тема 3.3 Основные механизмы клеточной саморегуляции. Лаб. раб. 28-29: ПЦР-анализ. Упр.: Лактозный оперон. Основы генетической инженерии. Сам. раб.: Виды передачи генетической информации. | 4 |
| | Итого | 64 |

Содержание лабораторных работ

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторная работа № 1-2

Тема: Современные методы исследований. Центрифугирование. Фотоколориметрия

Цель: познакомиться с методами экстракции, выделения (центрифугирования) и обнаружения веществ в растительных и животных объектах (фотоколориметрия).

Объект исследования: кровь, капуста, томат, соя, дрожжи, мясо, виноград, красное вино.

Опыт 1. Приготовление растворов хлорида натрия

а) Приготовьте 500 мл 0,15М, 0,15н и 0,15 %-ного раствора хлорида натрия

- б) Приготовьте 250 мл 1М, 1н и 1 %-ного раствора хлорида натрия
 в) Приготовьте 250 мл 2М, 2н и 2 % раствора хлорида натрия
 г) Приготовьте физиологический раствор

Опыт 2. Приготовление ацетатного буфера

Приготовьте исходные растворы, 1н раствор уксусной кислоты и 1н раствор гидроксида натрия.

Для приготовления буферного раствора требуемого значения рН отмеряют указанный объём 1н раствора уксусной кислоты (см. таблицу), прибавляют 50 мл раствор гидроксида натрия и разбавляют дистиллированной водой до 500 мл.

Таблица

| рН | CH ₃ COOH (1н, мл) | рН | CH ₃ COOH (1н, мл) | рН | CH ₃ COOH (1н, мл) |
|-----|----------------------------------|------|----------------------------------|-----|----------------------------------|
| 3,8 | 421,5 | 4,67 | 100,0 | 5,5 | 57,4 |
| 3,9 | 345,1 | 4,7 | 96,8 | 5,6 | 55,9 |
| 4,0 | 284,4 | 4,8 | 87,2 | 5,7 | 54,7 |
| 4,1 | 236,2 | 4,9 | 79,5 | 5,8 | 53,7 |
| 4,2 | 197,9 | 5,0 | 73,4 | 5,9 | 53,0 |
| 4,3 | 167,4 | 5,1 | 68,6 | 6,0 | 52,3 |
| 4,4 | 143,3 | 5,2 | 64,8 | 6,1 | 51,9 |
| 4,5 | 124,1 | 5,3 | 6,7 | 6,2 | 51,5 |
| 4,6 | 108,9 | 5,4 | 69,3 | 6,3 | 51,2 |

Опыт 3. Приготовление 0,1М фосфатного буфера

Исходные растворы: а) 0,2М Na₂HPO₄ · 12H₂O б) 0,2М NaH₂PO₄ · 2H₂O

| рН | 0,2М Na ₂ HPO ₄ | 0,2М NaH ₂ PO ₄ | рН | 0,2М Na ₂ HPO ₄ | 0,2М NaH ₂ PO ₄ |
|-----|--|--|-----|--|--|
| 5,8 | 8,0 | 92,0 | 7,0 | 61,0 | 39,0 |
| 6,0 | 12,3 | 87,7 | 7,2 | 72,0 | 28,0 |
| 6,2 | 18,5 | 81,5 | 7,4 | 81,0 | 19,0 |
| 6,4 | 26,5 | 73,5 | 7,6 | 87,0 | 13,0 |
| 6,6 | 37,5 | 62,5 | 7,8 | 91,5 | 8,5 |
| 6,8 | 49,0 | 51,0 | 8,0 | 94,7 | 5,3 |

После приготовления раствор разбавляют водой до 200 мл.

Опыт 4. Получение экстрактов

а) Получение экстракта капусты

Навеску капусты 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

б) Получение экстракта томата

В цельном плоде томата скальпелем или ножом делают надрез и выпускают околосеменную жидкость. Затем ее процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

в) Получение экстракта мышечной ткани

Навеску мышечной ткани 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

г) Получение экстракта винограда.

Навеску ягод винограда 5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 15 мл дистиллированной воды и в течение 10 минут гомогенизируют, затем экстракт центрифугируют при 3 тыс. об/мин (10 минут) или процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

Опыт 5. Получение экстрактов растворимых белков из семян сои.

Для получения экстрактов белков семян сои навеску материала (500-700 мг или 5 семян) гомогенизируют в фарфоровых ступках в течение 15 мин при температуре $0+5^{\circ}\text{C}$ (ступки ставят в кристаллизаторы со льдом). Растворимые белки экстрагируют 0,15М раствором хлорида натрия. На 5 семян взять 15 мл раствора хлористого натрия (через 5 минут вносить по 5 мл 3 раза).

Полученный экстракт внести в центрифужные пробирки, уравновесить и центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10 минут. Осадок отбросить, а надосадочную жидкость отфильтровать через слой капроновой ткани для удаления липидной пленки и использовать для дальнейшего анализа.

Опыт 6: Определение содержания железа в вине или винограде колориметрическим методом

Оборудование: фотоэлектроколориметр; кюветы, $l = 2$ см, 2 шт; колбы мерные уф 100 мл; пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 мл; фильтры обеззоленные, синяя лента;

Реактивы: основной стандартный раствор железа $\text{FeCl}_3 - 0,1$ г/дм³ (0,1%); пероксид водорода – 30%-ный раствор; серная кислота – 100 г/л., раствор гексацианоферрата(II)калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (10%), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, HCl (разб. в 2 раза).

Объекты исследования: 50 мл красного вина, красный виноград.

Метод основан на измерении интенсивности окраски раствора комплексного соединения трехвалентного железа с гексацианоферратом калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Построение градуировочного графика. В семь мерных колб вместимостью 100см³ вносят 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 см³ основного стандартного раствора железа. В каждую колбу добавляют 5 см³ раствора HCl ; одну каплю раствора H_2O_2 ; 4см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят без добавления раствора железа.

Через 30 минут измеряют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 им (красный светофильтр).

Проведение опыта. 1. Вино фильтруют через складчатый фильтр. В 3 мерные колбы вместимостью 100см³ отбирают пипеткой по 5 см³ вина. В каждую колбу добавляют по 5 см³ раствора HCl , одну каплю раствора H_2O_2 , 4 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят $A_{\text{ср}}$.

2. В две мерные колбы на 50 мл отбирают пипеткой по 2,5 см³ экстракта ягод винограда. В каждую колбу добавляют по 2,5 см³ раствора HCl , одну каплю раствора H_2O_2 , 2 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Доводят до метки (50 мл) дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят $A_{\text{ср}}$.

По градуировочному графику определяют концентрацию железа (мг/дм³) в исследуемых растворах.

Расчет результатов анализа. Концентрацию железа в образце вина (или винограда) (мг/л) рассчитывают по формуле: $C_{\text{Fe},x} = C_{\text{Fe}}^* (V_{\text{K}} / V_{\text{B}})$,

где C_{Fe} – концентрация железа, найденная по градуировочному графику, мг/дм³;

V_K – вместимость мерной колбы, см³;

V_B – объем исследуемого образца вина, взятый на определение, см³.

Вывод:

Лабораторная работа № 3

Тема: Современные методы исследований. Хроматография

Цель: Познакомиться с различными видами хроматографии и их значением в химии и биологии. Гель-фильтрация.

Объект исследования: хлорофилл (традесканция), глюкоза, фруктоза, мед, сахароза, голубой декстран, бихромат калия, яичный альбумин.

Оборудование: вата; фильтровальная и хроматографическая бумага; ватман №1; капилляры; камера для тонкослойной хроматографии; стеклянные пластинки (20смх20см); силуфоловые пластинки; ножницы; воронки; микропипетки; пинцеты; пробирки; цилиндры (10, 100 мл); сушильный шкаф; карандаш; линейка; сефадекс; хроматографические колонки; капельницы; шприцы, длинная стеклянная палочка; колбы конические на 250мл; стаканы химические на 50,100,150мл.

Реактивы: этиловый спирт, 96%; глюкоза, 0,05М раствор; фруктоза, 0,05М раствор; сахароза 0,05М раствор; мед, водный раствор; бутанол; CH_3COOH уксусная кислота, ледяная; анилиндифениламинный реактив (0,25мл анилина, 0,25г дифениламина, 25мл ацетона); H_3PO_4 фосфорная кислота, 85% раствор; целлюлоза в порошке анилинфталатный реактив (0,83г фталевой кислоты и 0,46г анилин в 50мл бутанола, насыщенного водой), БУВ; вазелиновое масло; голубой декстран; дихромат калия $K_2Cr_2O_7$, сухой; гидроксид натрия $NaOH$, 10% раствор; сульфат меди $CuSO_4$, 1% раствор; хлорид натрия $NaCl$, насыщенный раствор; белок куриного яйца, раствор; биуретовый реактив.

Опыт 1. Тонкослойная хроматография на пластинах. Разделение вытяжки хлорофилла на компоненты

Лист традесканции тщательно растирают в ступке с небольшим количеством этанола. Затем фильтруют в пробирку через небольшой слой ваты. Спиртовую вытяжку хлорофилла капилляром нанести на фильтровальную бумагу и хроматографическую бумагу, ватман № 1, а затем разогнать 2-3 каплями спирта. Растворитель продвигаясь между бумажных волокон, разносит окрашенные вещества от пятна во все стороны. В зависимости от природы вещества и его молекулярной массы, на бумаге оказывается несколько колец.

Опыт 2. Разделение углеводов методом тонкослойной хроматографии.

Силуфоловую пластину поделить на равные части и разрезать. От края пластинки отступить 1,2см (линия старта). На линию старта нанести карандашом 4 еле заметных пятна. Метки можно пронумеровать, чтобы запомнить порядок нанесения углеводов. Пластины положить для активации на 10-15 минут в сушильный шкаф при $T=110^{\circ}C$. Хроматографическую камеру заполнить проявителем системы БУВ (4:1:1), так, чтобы высота слоя достигала 0,5-0,7см. Крышку камеры хорошо притереть вазелиновым маслом. На активированную силуфоловую пластинку нанести капиллярами три известных углевода (фруктозу, глюкозу, сахарозу), в 4-ую точку - мед. Диаметр каждого пятна должен быть 1-2мм. Хроматограмму нужно хорошо высушить, затем быстро, но аккуратно поставить в хроматографическую камеру. Через 1,5 часа хроматограмму необходимо вынуть и высушить под тягой в наклонном положении (линией старта наверху). Высушенную хроматограмму протереть через анилидифениловый реактив (10мл реактива смешать с 1мл фосфорной кислоты), затем подсушить под тягой и положить на 7-10 мин в сушильный шкаф при $T=130^{\circ}C$. Зоны углеводов проявляются в виде: разноцветных пятен на белом фоне (глюкоза – серо-голубой; сахароза – коричневый; рибоза – голубой; фруктоза – карминовый).

Для разделения углеводов можно приготовить пластинки 20x10см с тонким слоем целлюлозы. 1г целлюлозы смешивают с 9мл воды и растирают до однородной массы. Затем с помощью пипетки на 10мл наливают суспензию на один край пластинки и, наклоняя пластинку, равномерно распределяют всю суспензию на ее поверхности. Пластинку с сорбентом помещают на горизонтальную поверхность и сушат сначала на воздухе, а затем непосредственно перед работой в сушильном шкафу при 110 °С в течение 10 минут. На расстоянии 1см от края пластины карандашом или иглой намечают 4 едва заметные точки старта и наносят в них с помощью капилляров растворы сахаров. Затем пластинку помещают в хроматографическую камеру, погружая ее стартовым краем в проявитель на 0,5 см. Через 60-90 минут хроматограмму вынимают и опрыскивают анилинфталатным реактивом, после чего выдерживают на воздухе, а затем прогревают в сушильном шкафу при 130 °С в течение 10 минут. Позиции углеводов на хроматограмме выявляются в виде коричневых пятен на светлом фоне.

Опыт 3. Гель-фильтрация

Метод гель-фильтрации является очень удобным для изучения макромолекул, т.к. хроматографическое поведение белков в геле определяется формой и молекулярной массой и не зависит от температуры, рН, ионной силы, состава буфера. Для метода гель-фильтрации используются так называемые молекулярные сита – инертные гидратированные полисахаридные материалы, представляющие собой пористые, гранулы – сефадексы. Их получают чаще из бактериальных полисахаридов. Молекулы разных размеров различают по способности проходить через поры внутри гранул геля. Небольшие молекулы, эффективно проникающие внутрь гранул сквозь поры, проходят через колонку, заполненную гелем, медленнее, чем вещества, молекулы которых велики.

При работе с колонкой необходимо соблюдать несколько правил:

1. Колонку устанавливают в штативе строго вертикально.
2. Над гелем всегда должен находиться слой жидкости, чтобы гель не пересыхал.
3. В колонку постоянно должен поступать раствор через капельницу.
4. При разделении смеси для гель-фильтрации необходимо следить, чтобы в колонке был ток жидкости.

В хроматографическую колонку на стеклянный пористый фильтр вносят небольшой по размеру фильтр, затем воду, которую осторожно шприцем прокачивают через стеклянный фильтр, чтобы удалить воздух. Затем в колонку вносим сефадекс (предварительно перерешать) до половины объема колонки. Когда почти вся жидкость, над гелем уйдет, на поверхность геля нанести 2-3 капли фракционирующего раствора, состоящего из смеси двух веществ: насыщенного раствора голубого декстрана (относительная молекулярная масса=10⁷) и насыщенного раствора дихромата калия (относительная молекулярная масса = 294,22). Фракционирующий раствор должен сначала впитаться гелем, затем к колонке подключают капельницу с изотоническим раствором хлорида натрия (предварительно необходимо отрегулировать ток жидкости). По мере прохождения через колонку изотонического раствора хлорида натрия смесь разделяется на фракции, окрашенные в различные цвета. Каждую фракцию собирают в отдельную пробирку. В соответствии с относительной молекулярной массой быстрее всего элюируется голубой декстран, затем желтый дихромат калия.

Вывод:

Лабораторная работа № 4

Тема: Современные методы исследований. Электрофорез

Цель: Познакомиться с методом экстракции растворимых белков, разделением их в электрическом поле и обнаружением белковых фракций и активности ферментов.

Объекты исследования: семена сои, сыворотка крови.

Оборудование. Прибор для электрофореза, прибор для обесцвечивания красителя, шприцы, пробирки, колбы на 100, 1000мл, дозаторы на 0,1мл и 0,05мл, центрифуга, центрифужные весы и пробирки, ступки с пестиками, воронки, палочки, мельничный газ, пипетки на 5мл, кристаллизаторы со льдом.

Реактивы. Рабочие растворы №1, №2, №3 для приготовления 7,5% геля, бромфеноловый синий, 0,001% раствор, трис-глициновый буфер (рН=8,3), амидовый черный 10Б, 1% в 7% растворе уксусной кислоты CH_3COOH , уксусная кислота CH_3COOH , 7% раствор, ТХУ, 7% раствор, хлорид натрия, 0,15М раствор. пероксид водорода, 0,1%-ный раствор; бензидин в ацетатном буфере (рН=4,7).

Ход работы:

Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) представляет собой один из наиболее удобных методов для анализа смеси белков. Высокая разрешающая способность этого метода определяется тем, что разделение веществ по их электрофоретической подвижности удачно сочетается с эффектом молекулярного сита. Таким образом, скорость движения белковых молекул через гель определяется не только зарядом молекулы, но также ее размером и формой.

Применяемый для электрофореза полиакриламид получают полимеризацией двух мономеров: акриламида и метилен-бис-акриламида в присутствии катализатора, представляющего собой смесь раствора персульфата аммония с тетраметилэтилендиамином (ТЕМЭД). Мономеры и катализаторы сначала смешивают в буфере, а затем заливают в стеклянные трубочки для полимеризации. При этом линейные цепи полиакриламида сшиваются метиленовыми мостиками. Гель обладает ярко выраженными гидрофильными свойствами благодаря наличию в структуре правильно чередующихся амидных групп.

Ход электрофореза. Прибор для электрофореза состоит из двух камер, которые устанавливают одну под другой. В верхней камере укрепляют трубочку с гелем, нижние концы которой опущены в нижнюю камеру. В верхнюю и нижнюю камеры прибора наливают электродный трисглициновый буфер рН 8,3, так, чтобы концы трубочек погружались в буфер в верхней и нижней камер, в центре камеры укреплены электроды: верхний – катод (-), нижний – анод (+).

1. Прибор соединяют с выпрямителем, тщательно соблюдая правильность подключения электродов к соответствующим полюсам выпрямителя (БПЭ) (блок питания электронный).
2. Ручку БПЭ «Электрофорез» устанавливают в крайнее левое положение, тумблер «Сеть» выключают.
3. Подключают БПЭ в сеть с напряжением 220 В.
4. Ручку «Электрофорез» – обесцвечивание устанавливают в положение «Электрофорез». Ручку БПЭ «Режим работы» устанавливают в положение 25-50мА. Ручку БПЭ «Измерение» устанавливают в положение $\times 1$ мА.
5. Включают тумблер «Сеть», при этом должна загореться сигнальная лампочка на панели БПЭ.
6. Поворачивают ручку «Электрофорез» по часовой стрелке до тех пор, пока измерительный прибор не будет показывать ток из расчета 2мА на трубочку (20 мА на десять трубочек); спустя 15 мин увеличивают силу тока на 4 мА на трубочку (40мА на десять трубочек) и поддерживают заданный режим работы до окончания процесса электрофореза. Электрофорез продолжают 1-1,5ч. За это время краситель в виде узкой фиолетовой полоски располагается на 0,5 см выше верхнего конца трубочки.
7. Закончив работу, прибор выключают. Для этого выключают тумблер «Сеть» на БПЭ, отключают БПЭ от сети и камеру от БПЭ.

Буфер из верхней камеры сливают в одну колбу, буфер из нижней камеры в другую. Буферы могут быть использованы до 10 раз (хранят в холодильнике).

Трубочки вынимают из камеры, помещают в пронумерованные пробирки. Гель из них извлекают с помощью воды, вводимой шприцем с длинной иглой между столбиком геля и стенкой трубочки, при этом гель выскальзывает из трубочки. На поверхность геля в каждую трубочку дозатором на 0,05мл наносят белок. Затем шприцем каплю индикатора бромфеноловый синий и шприцем, осторожно буфер (трис-глициновый рН 8,3). Трубочки закрепляют в верхней камере прибора для электрофореза, избегая встряхивания. Втулки с нижних

концов снимают. Проводят разделение белков на приборе для электрофореза.

Столбик геля помещают в пробирку с ТХУ на 10 мин для фиксации белка в геле, а затем в пробирку с красителем на 10 мин для окрашивания и фиксации белковых полос, при этом окрашивается и гель. Затем краситель сливают в склянку (для многократного использования), а гель заливают 7% раствором уксусной кислоты для отмывки от избытка красителя. Пробирки оставляют на сутки, при этом несколько раз заменяют раствор уксусной кислоты. В результате гель обесцвечивается, а белковые полосы остаются окрашенными.

Избыток красителя можно удалить с помощью прибора для обесцвечивания (прибор для электрофореза имеет приставку). В этом случае процесс обесцвечивания занимает 10-20 мин.

Вывод:

РАЗДЕЛ 1. БИОМОЛЕКУЛЫ

Лабораторная работа № 5

Тема: Качественный анализ продуктов питания на содержание минеральных веществ

Цель: Выявить некоторые макро- и микроэлементы в продуктах питания.

Оборудование: штатив с пробирками, пипетки, спиртовки, медная проволока без изоляции с петелькой на конце, шпатель, держатель для пробирок, вата, воронки, фильтровальная бумага, стаканы, ступки с пестиками, фарфоровые чашки. камера с крышкой для хроматографии, пульверизатор, хроматографическая бумага или пластинки с крахмалом (целлюлозой или оксидом алюминия).

Реактивы: растворы $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ (1%), NaOH (10%), BaCl_2 (1%), аммиачный раствор AgNO_3 (1%), $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (3%), конц. раствор NH_3 , NH_3 (10%), CH_3COOH (3%), $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (1%), мурексид (сухой), HCl (1%), конц. HCl, конц. HNO_3 , красная лакмусовая бумага, KSCN (в мерной колбе на 200 мл растворяют 40 г KSCN и доводят до метки), H_2O , 1%-ные растворы: FeCl_3 , CuCl_2 , CoCl_2 , NiCl_2 , раствор гексацианоферрата (II) калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5% и 10%) (желтая кровавая соль), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, ацетон.

Объекты исследования: молоко, сыворотка, белок куриного яйца, тыква, капуста, яблоко, банан, виноград, помидор, чеснок, свекла, лук, картофель, соевая мука, укроп, петрушка, сельдерей, кондитерские изделия и другие продукты.

Ход работы

Опыт 1. Получение экстрактов продуктов питания

Продукты питания (2 г) растирают в ступке с 10 мл воды. Раствор фильтруют. Фильтрат используют в опытах.

Опыт 2. Обнаружение галогенов

а) В петле медной проволоки укрепляют кусочек пористой керамики («кипелку»). Прокаливают этот конец проволоки в несветящейся части пламени спиртовки. Затем погружают петельку в исследуемую жидкость или помещают на нее пробу твердого вещества. Вновь вносят проволоку в несветящуюся часть пламени. Присутствие йода обнаруживается по зеленому, хлора и брома по голубовато-зеленому окрашиванию пламени.

б) Определение хлорид-ионов (Cl^-)

В пробирку вносят 0,2 мл фильтрата и добавляют 8-10 капель аммиачного раствора нитрата серебра. Появляется белый осадок.

Опыт 3. Обнаружение фосфат-ионов (PO_4^{3-})

В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого фильтрата и добавляют 8-10 капель молибденово-кислого аммония. При необходимости подогревают. Появляется осадок желтого цвета при наличии фосфат-ионов.

Опыт 4. Обнаружение катионов кальция (Ca^{2+})

В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого фильтрата, добавляют 5-6 капель 10%-ного раствора NaOH и несколько кристалликов мурексида. При наличии катионов кальция появляется ярко-вишнёвое окрашивание.

Опыт 5. Обнаружение солей меди в растениях

А. 3-5 г измельченного материала помещают в фарфоровую чашку и прибавляют столько же 10%-ного раствора аммиака. При наличии меди появляется синее или синеватое окрашивание.

Б. В химический стаканчик помещают 20-30 г измельченного исследуемого материала, заливают водой (дист.), подкисляют CH_3COOH до кислой реакции, прибавляют по каплям 5%-ный раствор желтой кровяной соли. При наличии меди появляется красно-бурый осадок или красное окрашивание жидкости (от образующегося ферроцианида меди).

Опыт 6. Обнаружение тяжелых металлов в продуктах питания методом хроматографии

50 мл молока упаривают до объема 5-10 мл. Для обнаружения ионов металлов в молоке методом ТСХ на стартовую линию одной пластинки (заранее приготовленной как в Практической работе № 1, Опыт 2) наносят пробы: а) молока; б) нитрата кобальта; в) нитрата никеля, г) хлорида железа (III), д) хлорида меди (II).

Проводят процесс разделения хроматограмм для ионов Fe^{3+} и Cu^{2+} системой растворителей: этанол: соляная кислота, разбавленная в 2 раза (4:1); для ионов Co^{2+} и Ni^{2+} - ацетон: 3М соляная кислота (9:1). Время хроматографирования 20-25 минут. Обнаружить ионы Fe^{3+} и Cu^{2+} можно 10%-ным раствором гексацианоферрата(II) калия, ионы Co^{2+} , Ni^{2+} - конц. аммиаком. Делают выводы о количественном содержании тяжелых металлов в молоке и других продуктах.

Опыт 7. Обнаружение роданидов

В слюне курильщиков содержатся роданиды, которые образуют в кислой среде с хлоридом железа комплексное соединение железа с роданидом красного цвета. В пробирку вносят слюну, добавляют 2 капли соляной кислоты и 0,5 мл хлорида железа (III). В зависимости от интенсивности окраски раствора делают выводы.

Вывод:

Лабораторная работа № 6

Тема: Исследование биологических жидкостей

Цель: Познакомиться с химическим составом живых организмов. Рассмотреть их взаимосвязь с окружающей средой.

Объекты исследования: моча, молоко.

Ход работы:

Опыт 1. Физико-химические свойства мочи

А. Физические свойства

Определение удельного веса мочи

Удельный вес нормальной мочи при температуре 15⁰С составляет 1,010 – 1,025.

Определение удельного веса мочи имеет большое диагностическое значение при сахарном диабете, нарушениях функции почек и ряде других заболеваний. Удельный вес мочи зависит также от количества потребленной воды.

Определение обычно ведут с помощью специальных ареометров небольшого размера, которые называются **урометрами**. Существует два типа урометров: для низкого удельного веса мочи (с делениями от 1,000 до 1,030) и для высокого удельного веса мочи (с делениями от 1,030 до 1,060).

Все определения ведутся обычно при температуре 15⁰С, так как шкала урометров большей частью градуируется на эту температуру. Если моча имеет другую температуру и привести ее к 15⁰С трудно, то на каждые 3⁰ выше этой температуры нужно прибавить, а на каждые 3⁰ ниже – убавить по 0,001 от показания шкалы урометра.

Исследуемую мочу наливают по стенке (во избежание образования пены) в цилиндр и осторожно погружают в нее урометр (в зависимости от объема мочи выбирают тип

урометра). Производят отсчет, беря ту линию на шкале урометра, которая соответствует нижнему мениску.

1. Исследование цвета мочи

Моча обычно бывает **желтого цвета различных оттенков** – от бледно-желтого до красновато-желтого. Цвет нормальной мочи в основном зависит от содержания в ней **урохрома** наряду с небольшим количеством уробилина, копропорфирина, уроэритрина и других пигментов. Интенсивность окраски обычно соответствует удельному весу мочи. Исключение составляет диабет, когда моча при высоком удельном весе слабо окрашена вследствие того, что пигмент разведен большим объемом мочи, удельный вес которого высок из-за содержания сахара. Если моча содержит кровяные пигменты, она окрашена в розоватый или коричневый цвет; при содержании желчных пигментов – в зеленый или желто-коричневый. Окраска мочи может сильно изменяться при употреблении различных лекарственных и некоторых пигментных веществ. Так, после приема пирамидона моча обычно окрашена в красноватый цвет, после приема александрийского листа – в зеленовато-желтый и т.д.

Характеристику цвета мочи обычно дают в следующих выражениях: соломенно-желтый, янтарно-желтый, шафранно-желтый, кроваво-красный, буро-красный, бурый, зеленовато-бурый и т.д.

2. Исследование прозрачности мочи

Свежевыпущенная нормальная моча обычно прозрачна; при стоянии в ней появляется небольшая муть в виде облачка, состоящего в основном из эпителиальных клеток, слизи и т.п. Щелочная моча бывает мутной чаще всего от осадка фосфатов кальция и магния-аммония, выпадающих в щелочной среде. При подкислении эта муть исчезает. Моча богатая мочекислыми солями, при отстаивании образует красноватый осадок, состоящий из кислого мочекислового натрия. В некоторых патологических случаях моча человека выделяется из мочевого пузыря мутной.

Характеристику прозрачности мочи обычно дают в следующих выражениях: прозрачная, мутная, мутноватая и молочно-мутная.

3. Исследование запаха мочи

Запах свежей мочи слабо ароматический, несколько напоминающий запах мясного бульона или свежих яиц. После употребления в пищу хрена или чеснока моча делается зловонной. При наличии большого количества ацетоновых тел моче свойственен «плодовый запах». Загнившая моча, подвергшаяся щелочному брожению, приобретает неприятный едкий запах аммиака.

Запах определяют терминами: нормальный, аммиачный, плодовый (при обилии ацетона).

4. Определение реакции мочи

Реакция мочи зависит от наличия в ней ряда органических и неорганических кислот и оснований.

В значительной мере активная реакция мочи определяется соотношением содержания “кислого” (H_2PO_4^-) и “щелочного” (HPO_4^{2-}) фосфатов.

В норме кислотность мочи зависит от пищи. При обычном питании моча человека имеет слабокислую реакцию (рН около 6). Мясная пища сдвигает реакцию мочи в кислую сторону (**ацидоз**), растительная – в щелочную (**алкалоз**).

Ацидоз возникает вследствие того, что мясная пища богата фосфатами и серой (в белках). Сера в процессе обмена окисляется до серной кислоты и в результате получается перевес кислотных остатков фосфорной и серной кислоты над органическими катионами. Растительная пища наоборот, содержит много неорганических катионов в виде солей неорганических кислот. Так как последние окисляются в организме до углекислоты и воды, то в моче преобладают основания.

При подагре, диабете, лихорадке и других заболеваниях реакция мочи может сдвигаться в кислую сторону от присутствия недоокисленных кислых органических соединений (ацетоновые тела и др.).

Каплю мочи наносят на лакмусовую бумажку. Кислотность мочи может быть кислой, слабокислой, нейтральной, слабощелочной или щелочной.

Б. Химические свойства

1. Реакция на хлорид-ионы

Человек выделяет с мочой в среднем 8 - 15 г хлорида натрия в сутки. Это количество колеблется в зависимости от приема поваренной соли в пищу. Лихорадочные заболевания, а также кахексия (при раке) вызывает задержку хлоридов в организме.

Хлориды в моче можно легко обнаружить по образованию характерного творожистого осадка хлорида серебра.

К 1-2 мл мочи добавляют 0,5-1 мл разведенной азотной кислоты и 8-10 капель нитрата серебра. Осадок хлорида серебра указывает на присутствие хлоридов в моче.

2. Реакция на сульфат-ионы

В среднем человек выделяет в сутки около 2,5 г сульфатов. Сернокислые соли в моче образуются главным образом за счет окисления серы аминокислот: цистеина и метионина, поступающих в организм в составе белков пищи. Повышенное выделение сульфатов с мочой бывает связано с ацидозом.

Помимо неорганических сульфатов, часть серной кислоты выделяется с мочой в виде так называемых эфирно-серных кислот, т.е. эфиров серной кислоты с фенолом, крезолом, индоксилем и другими продуктами бактериального разложения аминокислот в кишечнике. Эфирно-серные кислоты образуются в печени и в значительной мере нейтрализуют ядовитое действие продуктов гниения. Некоторая часть серы не окисляется в организме до сульфатов и выделяется с мочой в виде так называемой нейтральной серы в составе различных соединений.

Сульфаты в моче можно обнаружить по образованию осадка $BaSO_4$ под действием $BaCl_2$ в присутствии соляной кислоты HCl .

К 1-2 мл мочи добавляют 0,5-1 мл разведенной соляной кислоты HCl и 8-10 капель раствора хлорида бария $BaCl_2$. Образование мелкого кристаллического осадка сульфата бария $BaSO_4$ указывает на присутствие солей серной кислоты.

3. Реакция на ионы фосфора

Человек выделяет с мочой в сутки около 2,5 г P_2O_5 в виде фосфатов. Фосфаты мочи главным образом происходят из сложных белков (нуклеопротеидов и фосфопротеидов), а также из фосфатидов и некоторых других пищевых веществ, содержащих фосфор. Повышенное выделение фосфатов с мочой обычно имеет место при обильной белковой пище, и также как и в случае сульфатов, бывает связано с ацидозом.

Фосфаты щелочноземельных металлов выпадают в осадки при подщелачивании мочи и могут быть обнаружены по реакции с молибденовокислым аммонием. Фосфаты щелочных металлов открывают в фильтре путем осаждения магниальной смесью.

В пробирку наливают 3-5 мл мочи добавляют около 1 мл раствора молибденовокислого аммония и нагревают. Выпадает желтый осадок фосфорнокислой соли магния-аммония.

4. Реакция на ионы кальция

В пробирку помещают 1 мл мочи и добавляют 4 капли насыщенного раствора щавелевокислого аммония. Сразу же выпадает осадок щавелевокислого кальция. (Можно обнаружить ионы кальция пробой с мурексидом, при добавлении нескольких кристаллов образуется розовое окрашивание).

5. Качественные реакции на белок в моче

Нормальная моча практически не содержит белка. В действительности в ней имеются следы белка, которые не открываются обычными реакциями, применяемыми в клинической лаборатории. В ряде патологических случаев в моче может появиться заметное количество

белков, начиная с долей грамма до 25 г в сутки. Такое выделение белка с мочой называется альбуминурией.

Различают почечную (истинную) и случайную (ложную) альбуминурию. При истинной альбуминурии белок попадает в мочу в почках. Это указывает чаще всего на заболевания почек или иногда на некоторые формы повышенного кровяного давления. В этих случаях в моче обычно появляется сывороточный альбумин и сывороточный глобулин.

Случайная альбуминурия имеет место при попадании в мочу слизи, крови, гноя и т.п. не из почек.

Цветные реакции мало пригодны для обнаружения белка в моче, так как нормальная и патологическая моча содержит ряд веществ, мешающих этим реакциям.

Для обнаружения в моче белков обычно применяют три реакции на их осаждение: 1) проба кипячением, 2) осаждение концентрированной азотной кислотой, 3) осаждение сульфосалициловой кислотой.

Проба с азотной кислотой более чувствительна, чем проба кипячением, и открывает до 0,0033% белка.

Цветные, но прозрачные кольца на границе могут появиться от изменения мочевых или желчных пигментов под влиянием азотной кислоты. Моча, богатая солями мочевой кислоты, дает кольцо, которое получается не на границе азотной кислоты и мочи, а несколько выше. Моча, богатая мочевиной, может дать осадок, состоящий из плохо растворимой азотнокислой мочевины. Такое кольцо имеет кристаллический вид, кольцо же белка аморфно. Если при повторении реакции мочу предварительно развести водой, то кольца от мочевины не получатся. Наконец, слабо заметная муть может получиться от осаждения муцина мочи. Такая муть располагается не на границе моча - азотная кислота, а выше и не так резко ограничена.

а) Проба с сульфосалициловой кислотой

В пробирку вносят 1мл мочи и добавляют 2 капли 20% раствора сульфосалициловой кислоты. При наличии в моче белка появляется помутнение или осадок.

б) Проба с концентрированной азотной кислотой

В пробирку наливают 1-2 мл концентрированной азотной кислоты HNO_3 и осторожно наслаивают на кислоту 1-2 мл профильтрованной исследуемой мочи. При наличии белка на самой границе двух жидкостей появляется мутный белый слой (кольцо). Если белка в моче мало, то кольцо образуется не сразу, а через 2-4 минуты.

5. Качественные реакции на сахар в моче

В нормальной моче всегда находится глюкоза в незначительных количествах (около 0,02%), которые нельзя обнаружить обычными реакциями, применяемыми при исследовании мочи. После обильного принятия сахара в пищу количество глюкозы в моче может кратковременно увеличиваться (пищевая глюкозурия). Длительное выделение глюкозы с мочой говорит о патологической глюкозурии. Это может быть вызвано заболеванием почек или диабетом.

Количественно глюкозу в моче можно открыть с помощью реакций восстановления **металлов** (Троммера, с фелинговой жидкостью и Ниландера), получением глюкозона или пробой на брожение. Реакции Троммера и Ниландера являются наиболее употребительными для открытия глюкозы в моче.

Следует отметить, что восстанавливать медь в моче может не только сахар, но и другие соединения (мочевая кислота, креатинин, глюкуроновая кислота и др.). Вследствие этого реакции Троммера и с фелинговой жидкостью недостаточно специфичны, в особенности при неточном их проведении. Проба на брожение – доступная и верная реакция на открытие глюкозы в моче. Эта проба специфична для глюкозы, так как дает возможность отличить глюкозу от восстанавливающих веществ неуглеводной природы, от сахаров не способных к брожению (пентоз, которые могут попасть в мочу при соответствующем питании). С

фруктозой и некоторыми другими сахарами (редко встречаются в моче) проба на брожение дает положительную реакцию.

Фруктоза и пентозы, кроме того, могут быть обнаружены в моче при помощи специальных реакций.

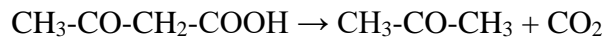
В пробирку наливают 5 мл мочи и добавляют 2 мл 10% раствора NaOH, затем 1-2 капли 5% раствора сульфата меди CuSO_4 (реакция Троммера). Осторожно нагревают верхнюю часть содержимого пробирки до закипания (при продолжительном кипячении медь может быть восстановлена под действием мочевой кислоты и некоторых других соединений). Реакция на глюкозу считается положительной, если желтый осадок гидроксида меди (I) CuOH или красный осадок оксида меди (I) Cu_2O появляется не позже, чем через минуту после прекращения нагревания.

6. Реакции на ацетоновые тела в моче

Ацетоновыми телами называют β -оксималяную кислоту $\text{CH}_3\text{-CH}(\text{OH})\text{-CH}_2\text{-COOH}$, ацетоуксусную кислоту $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COOH}$ и ацетон $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$.

Эти вещества являются продуктами неполного окисления жиров. При нормальном обмене углеводов β -оксималяная кислота и ацетоуксусная кислота окисляются почти полностью.

При нарушении окисления этих веществ они обнаруживаются в моче наряду с ацетоном, который образуется из ацетоуксусной кислоты в результате декарбоксилирования.



ацетоуксусная кислота ацетон

В моче здорового человека содержится обычно незначительное количество ацетоновых тел. Они появляются в моче при нарушениях жирового или углеводного обмена, в частности при диабете, а также при голодании и неправильном режиме питания.

Обнаружение ацетоновых тел в моче дает возможность установить нарушение обмена веществ и неправильный пищевой режим.

При диабете исследования мочи важны не только для диагностики заболевания, но и для контроля эффективности лечения.

Ацетон, ацетоуксусная кислота, β -оксималяная кислота (после окисления ее в ацетоуксусную) обнаруживаются по пурпурно-фиолетовому окрашиванию с нитропруссидом натрия.

Наливают в одну пробирку 1-2 мл раствора ацетона $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$, добавляют 0,4-0,5 мл концентрированной уксусной кислоты CH_3COOH и 5-7 капель раствора нитропрусида натрия $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$. Встряхивают содержимое пробирки и осторожно наклоняют 1-2 мл концентрированного раствора аммиака NH_4OH . В присутствии ацетона образуется пурпурно-фиолетовое кольцо. Проводят эту же реакцию с мочой (вместо ацетона).

7. Качественная реакция на мочевины

Мочевина $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$, главный конечный продукт обмена белков, синтезируется в печени и выводится преимущественно с мочой.

Мочевина представляет собой полный амид угольной кислоты. Мочевина нейтральна на лакмус. С кислотами образует плохо растворимые соли (нитраты и оксалаты).

Под действием фермента уреазы мочевина гидролизуется.



Действием уреазы бактерий объясняется аммиачный запах постоявшей мочи (аммиачное брожение). Гидролиз мочевины можно произвести и нагреванием со щелочами.

В пробирку помещают 1 мл мочи, добавляют 6 капель 10% NaOH и осторожно кипятят. У верхнего края пробирки укрепляют смоченную водой лакмусовую бумажку. Вследствие выделения аммиака, образующегося при гидролизе мочевины, лакмусовая бумажка синее.

Вывод:

Лабораторная работа № 7-8

Тема: Липиды. Выделение, свойства и обнаружение в продуктах питания

Оборудование: штатив с пробирками, пипетки, спиртовки, фильтровальная бумага, стакан (50 мл).

Реактивы: C_2H_5OH , ацетон, раствор $NaOH$ (10%), CCl_4 , H_2O , камфора, раствор лецитина, растворы Na_2CO_3 (10%) и $KMnO_4$ (2%), бензин, спирт, бензол, хлороформ, кристаллический $KHSO_4$ или борная кислота, аммиачный раствор азотнокислого серебра $AgNO_3$, спиртовой раствор йода, крахмальный клейстер, бромная вода, 15%-ный спиртовой раствор щелочи, насыщенный раствор поваренной соли, разбавленные растворы уксусной и серной кислот.

Объект исследования: вареный желток куриного яйца, мозг с гипсом, ядра орехов, семена подсолнуха, облепихи и другие продукты, содержащие жир, а также оливковое, подсолнечное, соевое, льняное, кунжутное, пихтовое, кукурузное, облепиховое масло.

Ход работы:

Опыт 1. Обнаружение жиров в продуктах питания

А. Малое количество исследуемого образца измельчают, помещают в пробирку, добавляют 3-4 мл четыреххлористого углерода и нагревают несколько минут (тяга). Ввиду опасности пожара нельзя применять эфир или ацетон. Несколько капель полученного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги. При наличии жира образуется жирное пятно.

Б. Наливают в химический стакан 20 мл воды, помещают на ее поверхность очень маленькие частицы камфоры, они начинают кружиться («танцуют»). Как только добавляют в воду мельчайшие частицы жира, этот «танец» прекращается.

Опыт 2. Выделение лецитина из желтка куриного яйца

В стакан помещают половину куриного желтка и, помешивая, прибавляют 40 мл горячего спирта. Раствор охлаждают и фильтруют в сухую пробирку. Фильтрат должен быть прозрачным.

Опыт 3. Свойства лецитина

В сухую пробирку вносят 10 капель ацетона и 1-2 капли раствора лецитина. Выпадает осадок. При добавлении лецитина в воду образуется эмульсия. Результат опыта и его объяснение записывают в тетрадь. Чем отличается лецитин по свойствам от других жиров?

Опыт 4. Гидролиз лецитина

В оставшийся фильтрат вносят 2-3 мл гидроксида натрия и нагревают до кипения. **Осторожно!** Исследуют выделяющийся газ. Ощущается запах селедочного рассола (это запах аминов). Сделайте вывод о составе лецитина.

Опыт 5. Сравнение свойств разнообразных масел

Наливают в пробирку 0,5 мл масла, 1 мл раствора карбоната натрия и по каплям добавляют раствор перманганата калия (примерно 2 мл). Содержимое пробирки энергично встряхивают. Отмечают изменение окраски в течение 15 сек, 30 сек и 60 секунд.

Сравнивают объем перманганата калия, который может быть обесцвечен различным маслом (объем масла должен быть одинаковым). Делают вывод о степени неопределенности подсолнечного и оливкового масла.

Опыт 6. Выделение холестерина из мозга.

В сухую пробирку внести 2-5 г мозга + 6 г гипса, прилить 5-6 мл хлороформа, тщательно перемешать, отфильтровать (фильтр смыть хлороформом). (Все пробирки должны быть сухие!)

Качественная реакция на холестерол – реакция Шиффа:

К фильтрату осторожно, по стенке пробирки наложить 1мл серной кислоты (конц.) – на границе раздела фаз – кольцо красного цвета.

Опыт 7. Экстрагирование жира из масличных семян

Смешать 2-3 г семян с чистым речным песком и тщательно растереть в ступке. Измельченные семена поместить в пробирку и прилить 5-6 мл бензина (можно взять другой растворитель, см. опыт 1). Закрывать пробирку пробкой с трубкой-холодильником и нагревать на водяной бане 10-15 минут. Полученный раствор жира отфильтровать, смочить им кусочек бумаги и наблюдать образование жирового пятна на бумаге после испарения растворителя.

Опыт 8 Омыление жиров в водно-спиртовом растворе щелочи

В пробирку поместить 2 г жира и прилить 6 мл 15%-ного спиртового раствора щелочи. Перемешать смесь стеклянной палочкой, пробирку со смесью закрыть пробкой с трубкой-холодильником, поставить в водяную баню и нагревать 12-15 минут до кипения. Омыление вести до тех пор, пока жидкость не станет однородной.

Для определения конца омыления налить в пробирку несколько капель полученной смеси, добавить 6 мл воды и нагревать раствор. Если взятая смесь растворяется в воде, без выделения капель жира, то омыление можно считать законченным. Если в растворе есть капли жира, то смесь продолжить нагревать на водяной бане еще несколько минут.

К полученной густой жидкости добавить насыщенный раствор NaCl. Жидкость мутнеет и выделяется слой мыла, всплывающий на поверхность.

Опыт 9. Проба на ненасыщенные жирные кислоты

К смеси 1 мл растительного масла и 1 мл воды добавить 2 капли спиртового раствора йода. После непродолжительного встряхивания содержимое пробирки проверить на реакцию с крахмалом. Раствор крахмала не дает синего окрашивания, то есть не обнаруживает присутствия свободного йода.

Опыт 10. Определение перекисного окисления липидов (ПОЛ)

Метод 1. Различные токсиканты, в том числе тяжелые металлы, могут вызывать окислительный стресс у растений, стимулируя образование в клетках активных форм кислорода (АФК). Супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$), пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($HO\bullet$) обладают очень высокой агрессивностью и способны повреждать практически все компоненты клетки. Активные радикалы, главным образом $HO\bullet$, взаимодействуя с органическими веществами, образуют гидропероксиды ДНК, белков, липидов (ROOH). Гидропероксиды, также как и пероксиды, химически активны и в ходе метаболизма переходят в спирты, альдегиды, эпоксиды и другие окисленные соединения. Образование ROOH называют перекисным окислением. В липидах в основном в полиненасыщенных жирных кислотах АФК вызывают цепные реакции с накоплением липидных (L^{\cdot}), пероксильных (LOO^{\cdot}), алкоксильных (LO^{\cdot}) и других радикалов. Участие тяжелых металлов с переменной валентностью, таких как медь, железо, кобальт и др. приводит к разветвлению этой цепи. Перекисное окисление липидов является индикаторной реакцией повреждения клеточных мембран. В результате ПОЛ образуются конечные метаболиты (малоновый диальдегид, этан, пентан и др.), реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Приготовление реакционной среды:

На 100 мл H_2O дист.: 10 г трихлоруксусной кислоты и 250 мг тиобарбитуровой кислоты.

Ход работы

Растительный материал (300 мг сырых листьев) растирают в ступке с небольшим количеством реакционной смеси, состоящей из 0,25% раствора тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в 10% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУК). Для лучшего растирания добавляют стеклянный песок. Гомогенат переносят в стеклянную пробирку небольшими порциями реакционной смеси. Конечный объем каждой пробы составляет 4 мл. Пробу перемешивают и помещают в нагретую до $95^{\circ}C$ водяную баню на 30 мин. Затем пробы резко охлаждают, помещая в сосуд с холодной водой (примерно $+10^{\circ}C$). Содержимое проб переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 10 мин при 10000 г. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при $D = 532$ нм и $D = 600$ нм против контроля, содержащего реакционную смесь (0,25% раствор ТБК в 10% растворе ТХУК). Концентрацию ТБК-реагирующих продуктов рассчитывают с учетом коэффициента экстинкции $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A (mM/г сыр.веса) = $(D_{532}-D_{600})/(155*0,3)$

Выводы:**Лабораторная работа № 9****Тема: Качественные реакции на углеводы**

Цель: познакомиться с функциями углеводов, их строением, классификацией и свойствами.

Оборудование: электроплитка, штатив с пробирками, пипетки, ватные фильтры.

Реактивы: конц. серная кислота, α -нафтол, гидроксид меди (II), железосинеродистый калий (0,005н), сернокислый цинк (0,45%) и едкий натрий (0,1н), гипосульфит.

Объект исследования: продукты питания содержащие углеводы: хлеб, картофель, бананы, мандарины, рис, мед, яблоко (зелёное и спелое), виноград, морковь, молоко.

Ход работы:

Опыт 1. Качественный анализ продуктов питания на содержание углеводов

Приготовление вытяжки продуктов

Хлеб, яблоко (зелёное и спелое), тыкву, морковь растирают в ступке до однородной массы, разбавляют водой (1:1). Фасоль, рис тщательно растирают до консистенции муки и разбавляют водой (1:1). Апельсин и помидор нарезают и используют для анализа сок. Мёд разбавляют водой в соотношении (1:1).

а) Обнаружение рибозы

К 0,5 мл вытяжки исследуемого продукта добавляют 2 капли α -нафтола и по стенке пробирки осторожно, без встряхивания, наливают 2 мл конц. серной кислоты. На границе двух жидкостей образуется кольцо красно-зелёного цвета при наличии рибозы.

б) Обнаружение глюкозы в соке растений реакцией Троммера

Яблоко натирают на тёрке, отжимают сок. Разбавляют его водой (1:1). Свежеосаждённый гидроксид меди (II) делят на две части, добавляют к каждой несколько капель разбавленного яблочного сока. Содержимое первой пробирки встряхивают, отмечают изменение. Осадок во второй пробирке нагревают.

в) Обнаружение фруктозы в мёде

В две пробирки наливают по 2 мл реактива Селиванова. Затем в одну пробирку прибавляют 2 капли 5%-ного раствора мёда, а в другую 2 капли 1% раствора глюкозы. Обе пробирки одновременно помещают в водяную баню с температурой воды 80 °С и выдерживают при этой температуре в течение 8 минут. Сравнивают окраску растворов (в пробирке с мёдом появляется розово-красное окрашивание). В пробирке с глюкозой также может появиться окрашивание, но гораздо медленнее.

г) Обнаружение крахмала

Готовят срезы картофеля, яблок, бобов, семян пшеницы, крахмальный клейстер. Обрабатывают их йодом.

Выводы:**Лабораторная работа № 10****Тема: Белки****Цветные реакции на аминокислоты и белки**

Цель: Познакомиться со строением белков.

Объекты исследования: белок яйца, молоко, дрожжи, сыворотка крови, водный раствор аминокислот, раствор тирозина в азотной кислоте.

Белки – важнейшая и необходимая составная часть всех живых организмов. Они составляют главную массу сухого вещества тканей человека и почти всех животных. Это очень сложные, высокомолекулярные соединения, находящиеся в организме в коллоидном состоянии.

Реакции на присутствии белка основаны на открытии в нем тех или иных химических групп и на его физико-химических свойствах. Некоторые реакции присущи не только

белкам, но и другим веществам, содержащим те же группы. Так, ряд цветных реакций на белок является по существу реакциями на ту или иную аминокислоту, входящую в состав белка. Поэтому для установления наличия белка недостаточно какой-нибудь одной реакции. В медицинской точки зрения важно определить белок в моче, а в некоторых случаях также в спинномозговой жидкости и в крови.

Опыт 1. Цветные реакции на белки

Присутствие белка можно обнаружить рядом цветных реакций. Эти реакции свойственны составным частям белка – аминокислотам или образуемым ими группировками. Так полипептиды, а также все пептоны и белки дают биуретовую реакцию, характерную для наличия пептидных связей. Все аминокислоты, полипептиды и белки дают окрашивание (обычно фиолетовое) при нагревании с нингидрином. Некоторые аминокислоты (тирозин, триптофан, фенилаланин, цистин, аргинин, гистидин) и их остатки (например в молекуле белка) дают характерные цветные реакции. В большинстве белков при помощи чувствительных реакций можно обнаружить углеводные компоненты.

а) Нингидриновая реакция (на α -аминокислоты)

Белки, а в еще более сильной степени аминокислоты и полипептиды дают синее или фиолетовое окрашивание с нингидрином (трикетогидриндегидратом). Нингидриновая реакция характерна для аминогруппы в α -положении.

1. В пробирку вносят около 1 мл раствора глицина, добавляют 5-6 капель раствора нингидрина и нагревают. Появляется сине-фиолетовое окрашивание.
2. Также производят нингидриновую реакцию с 1-2 мл раствора белка, взяв 0,3-0,5 мл раствора нингидрина. Получается фиолетовое (иногда фиолетово-розовое) окрашивание; с течением времени раствор синее.

б) Ксантопротеиновая реакция (на циклические аминокислоты)

Подавляющее большинство белков при нагревании с крепкой азотной кислотой дает желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при добавлении щелочи или аммиака. По-гречески «ксантос» - желтый, отсюда название ксантопротеиновой. Такое желтое окрашивание можно наблюдать при попадании крепкой азотной кислоты на кожу, ногти, шерсть и т.п. Эта реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот (тирозина и триптофана), которые содержатся почти во всех белках. При добавлении концентрированной азотной кислоты происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета. Ксантопротеиновую реакцию, помимо белков, дают также многие более простые ароматические соединения (например, фенол).

В пробирку помещают 1 мл раствора белка, приливают 5-6 капель концентрированной азотной кислоты HNO_3 . Появляется осадок свернувшегося (под влиянием кислоты) белка, который окрашивается при нагревании (осторожно!) в желтый цвет. Дают пробирке остыть и осторожно приливают избыток концентрированного раствора аммиака NH_4OH или 20% раствор гидроксида натрия NaOH . Желтая окраска при подщелачивании переходит в оранжевую.

в) Реакции Миллона (на тирозин)

Фенолы, например, карболовая кислота, и их производные дают ртутные соединения красного цвета. Эти соединения получают при нагревании со специально приготовленным раствором ртути в азотной кислоте, содержащей азотистую кислоту.

Большинство белков дают миллоновую реакцию, так как в их состав входит аминокислота тирозин, являющаяся одновременно фенолом.

1. Наливают в пробирку около 1 мл раствора тирозина, приливают около 0,5 мл реактива Миллона и осторожно нагревают. Появляется розовое окрашивание.
2. В пробирку помещают 1-2 мл раствора белка и прибавляют 5-6 капель реактива Миллона. Появляется осадок свернувшегося белка, так как реактив Миллона содержит соли ртути и азотную кислоту. Содержимое пробирки осторожно нагревают. Осадок окрашивается в кирпично-красный цвет. Следует избегать прибавления избытка реактива Миллона, так как

этот реактив содержит азотную кислоту, которая может дать желтое окрашивание (ксантопротеиновую реакцию), маскирующее реакцию Миллона.

3. Проводят аналогичным образом миллонову реакцию с раствором желатина. Если желатин достаточно чист, реакция не получается, так как в молекуле желатина остаток тирозина отсутствует.

г) Реакция Адамкевича (на триптофан)

При добавлении к белку нескольких капель глиоксиловой кислоты на границе с крепкой серной кислотой получается красно-фиолетовое окрашивание. Эта реакция зависит от присутствия в молекуле белка триптофана.

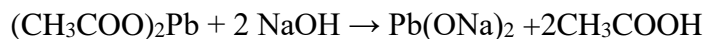
В пробирку помещают несколько капель белка, прибавляют около 1 мл концентрированной уксусной кислоты CH_3COOH и, сильно наклонив пробирку, очень осторожно, по стенке пробирки подслаивают около 1 мл концентрированной серной кислоты H_2SO_4 так, чтобы обе жидкости не смешались. При стоянии на границе двух жидкостей получается красно-фиолетовое кольцо.

д) Реакция Фоля (на серусодержащие аминокислоты: цистин и цистеин)

В состав молекулы большинства белков входят содержащие серу аминокислоты – цистин и цистеин.

При кипячении белка с раствором гидроксида натрия NaOH и ацетатом свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ раствор начинает темнеть. Крепкая щелочь разрушает цистин и цистеин и отщепляет серу в виде сульфида натрия Na_2S .

Ацетат свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ реагирует с гидроксидом натрия NaOH с образованием п्लомбита натрия:



Сульфид натрия Na_2S при взаимодействии с п्लомбитом натрия $\text{Pb}(\text{ONa})_2$ дает черный осадок сульфида свинца PbS :



В одну пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, в другую – 5 капель 1% раствора желатина. В каждую пробирку добавляют по 6 капель реактива Фоля. При интенсивном кипячении жидкость темнеет.

е) Биуретовая реакция (на белок)

В щелочной среде в присутствии солей меди белки дают фиолетовое окрашивание. Окраску дает комплексное соединение меди с пептидными группами: $-\text{CO}-\text{NH}-$. Биуретовая реакция получается также с продуктами неполного гидролиза белка-пептонами и полипептидами.

Свое название биуретовая реакция получила от производного мочевины - биурета, который дает эту реакцию. Биурет образуется при нагревании мочевины с отщеплением от нее аммиака. Биуретовую реакцию дают: аминокислота гистидин и амид аспарагиновой кислоты – аспарагин.

В пробирку помещают около 1 мл раствора белка, 1-2 мл 10% раствора гидроксида натрия NaOH и 1-2 капли 5% раствора сульфата меди CuSO_4 . При взбалтывании образуется фиолетовое окрашивание.

Выводы:

Лабораторная работа № 11

Тема: Белки

Физико-химические свойства белков

Цель: Познакомиться со свойствами белков.

Объекты исследования: белок куриного яйца, молоко, дрожжи, сыворотка крови.

Опыт 1. Высаливание белков

Белки являются гидрофильными коллоидами, их частицы проявляют большое сродство к воде. Водная оболочка не дает белковым частицам соединяться вместе и удерживает их в растворе в устойчивом состоянии.

При добавлении к раствору белков неорганических солей (NaCl, $(\text{NH})_2 \text{SO}_4$ и др.), последние адсорбируются на белковых молекулах, делают их электронейтральными, понижая устойчивость коллоидного раствора. При большой концентрации солей происходит дегидратация белковых частиц, и их осаждение. Таким же действием обладают некоторые органические вещества: спирты, ацетон, эфир.

Осадки белков, полученные высаливанием, могут быть растворены вновь после уменьшения концентрации солей диализом или разведением водой.

А) Осаждение белков сернокислым аммонием

В пробирку наливают 1 мл мясной вытяжки, добавляют 1 мл насыщенного р-ра $(\text{NH})_2 \text{SO}_4$ и перемешивают. Наблюдают помутнение раствора.

Б) Осаждение белков хлоридом натрия и спиртом

В две пробирки наливают по 1 мл яичного белка, затем в одну прибавляют немного хлорида натрия, а в другую спирта и взбалтывают. Наблюдают выпадение мелкого осадка.

Опыт 2. Осаждение белков солями тяжелых металлов

Соли тяжелых металлов в небольших концентрациях легко осаждают белки из растворов, образуя с ними комплексные соединения. Белковые осадки, полученные действием солей тяжелых металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.), нерастворимы в первоначальном растворителе. Такое осаждение следует отнести к необратимым реакциям, связанным с денатурацией белка.

Этим свойством белков пользуются в медицинской практике, употребляя белки (молоко, яйца) как противоядие при отравлении солями ртути, свинца или меди, пока эти соли не успели всосаться.

В 2 пробирки наливают по 1 мл белка, в одну добавляют раствор ацетата свинца, в другую сульфата меди. Наблюдают образование осадков.

Опыт 3. Осаждение белков алкалоидами

При добавлении алкалоидных реактивов (танин, пикриновая кислота, железосинеродистый калий и др.) растворы белков образуют осадки. Это объясняется наличием сходных азотистых группировок как в белках, так и в алкалоидах, которые взаимодействуя между собой, образуют нерастворимые солеобразные соединения. В последних белок является катионом, алкалоид – анионом, поэтому осаждение проводят в кислой среде (частицы белка перезаряжаются и переходят в состояние катионов). В щелочной среде осадки растворяются.

В 2 пробирки наливают по 1 мл белка, подкисляют 0,5 мл уксусной кислоты (1% р-р). В одну добавляют насыщенный раствор танина, в другую – пикриновую кислоту. Наблюдают выпадение белка в осадок.

Опыт 4. Осаждение белков минеральными кислотами

Концентрированные минеральные кислоты вызывают необратимое осаждение белков из растворов, что связано не только с дегидратацией белковых частиц, но и образованием солей в радикалах аминокислот (это ведет либо к перезарядке, либо к потере заряда).

Реакция осаждения белков азотной кислотой применяется при клинических исследованиях мочи.

В 3 пробирки осторожно наливают по 1 мл серной, соляной, азотной кислот. В каждую добавляют по 1 мл белка. На границе двух жидкостей появляется белое кольцо.

Опыт 5. Осаждение белков органическими кислотами

Различные органические кислоты по разному действуют на растворы белков. В практике часто используют для полного осаждения белков трихлоруксусную кислоту (ТХУ). Действуя на белки, она при этом не влияет на продукты распада белков. Это свойство применяют, когда необходимо определить содержание азота продуктов обмена (аминокислот, мочевины и др.)

В пробирку наливают 1 мл белка и добавляют несколько капель р-ра ТХУ (3%). Наблюдают выпадение осадка белка.

Выводы:

Лабораторная работа № 12

Тема: Сложные белки

Обнаружение сложных белков

Цель: Познакомиться с классификацией, строением и свойствами сложных белков и методами их обнаружения.

Объекты исследования: белок яйца, молоко, кровь.

Белки разделяются на две группы: протеины, или простые белки, не содержащие белковых групп, и протеиды, или сложные белки, содержащие, помимо собственно белка, еще и небелковую (простетическую) группу. Среди простых белков животного происхождения чаще всего приходится встречаться с альбуминами и глобулинами. Альбумины растворимы в воде, осаждаются при насыщении раствора сернокислым аммонием, обычно не содержат аминокислоты – глицина. Примерами альбуминов являются альбумины сыворотки крови, молока, яичного белка. Глобулины не растворимы в воде, но растворимы в присутствии нейтральных солей: осаждаются в полунасыщенном растворе сернокислого аммония, т.е. при добавлении к раствору белка равного объема раствора этой соли (насыщенного). К глобулинам относятся белки сыворотки крови, молока, куриного яйца и др.

Среди сложных белков следует отметить: хромопротеиды – соединения белка с пигментами, например гемоглобин; нуклеопротеиды – соединения белка с нуклеиновыми кислотами; фосфопротеиды – белки, содержащие фосфор, например казеин; мукопротеиды (гликопротеиды) – соединения белка со сложными углеводами – мукополисахаридами, например муцин слюны (простые углеводные группировки содержатся во многих белках).

Ход работы:

Опыт 1. Выделение казеина из молока

В молоке до 80% содержится специфический белок – казеин, содержащий фосфор. Этот белок обладает кислыми свойствами и находится в молоке в виде растворимой кальциевой соли. При подкислении казеин выпадает в осадок в виде белых рыхлых хлопьев. Для доказательства наличия фосфора в казеине проводится щелочной гидролиз белка и обнаружение фосфора молибденовым реактивом.

В чистую пробирку наливают 1 мл молока, добавляют 1 мл молибденового реактива и кипятят. В присутствии фосфорной кислоты жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет - $(\text{NH})_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$.

Опыт 2. Обнаружение углеводных компонентов в сложных белках

Многие белки содержат в своем составе углеводные компоненты. В присутствии концентрированной серной кислоты последние дают характерное окрашивание с α -нафтолом. Из углеводов под действием серной кислоты H_2SO_4 образуются фурфурол и его производные.

В пробирку вносят 1 мл слюны, содержащий гликопротеин-муцин, добавляют 0,5 мл α -нафтола. Осторожно (по стенке) приливают 2 мл концентрированной серной кислоты H_2SO_4 , наблюдают фиолетовое окрашивание на границе раздела серной кислоты и белка.

Опыт 3. Обнаружение гемоглобина

а) Получение кристаллов гемина

Гемоглобин является сложным белком, состоящий из глобина и небелковой части – гема. При действии кислот на гемоглобин гем отщепляется и в присутствии солей переходит в гемин, в котором железо трехвалентное.

На предметное стекло наносят каплю крови, размазывая ее по стеклу, подсушивают на газовой горелке. На стекло наносят 1-2 капли уксусной кислоты CH_3COOH с галогенами и осторожно нагревают до закипания. Добавляют еще 1-2 капли уксусной кислоты

CH_3COOH , накрывают покровным стеклом и рассматривают выделившиеся кристаллы гемина под микроскопом при большом увеличении. Результаты опыта зарисовать.

б) Бензидиновая проба на кровь

Эта проба основана на окислении бензидина за счет кислорода перекиси водорода с помощью кровяного пигмента. Получившиеся продукты имеют синюю или зеленую окраску, что служит указанием на присутствие крови. Бензидиновая проба очень чувствительна и проявляется при разбавлении крови 1:200 000.

В пробирку помещают 1 мл сильно разбавленной крови, добавляют 1 мл бензидина и несколько капель перекиси водорода H_2O_2 . Наблюдают появление синего окрашивания, которое переходит в зеленое.

Выводы:

Лабораторная работа № 13

Тема: Нуклеиновые кислоты

Обнаружение нуклеиновых кислот

Цель: познакомиться с составом, биологической ролью, и методами обнаружения нуклеиновых кислот.

Оборудование и реактивы: электроплитка, ступки с пестиками, воронка, фильтровальная бумага, стакан (50 мл, 700 мл), палочка стеклянная, цилиндр на 10 и 25 мл, кристаллизаторы со льдом, центрифуга, пробирки центрифужные, дрожжи сухие, NaCl (растворы 1М и 2М), гидроксида натрия (растворы 0,4% и 10%), сульфат меди (1%), дифениламинный реактив (1%), песок.

Объекты исследования: дрожжи.

Опыт 1. Обнаружение компонентов нуклеопротеидов

Нуклеопротеиды – сложные белки, состоящие из полипептида и нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты представлены мононуклеотидами, состоящими из пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, пентоз и фосфорной кислоты.

а) Биуретовая реакция на полипептиды

К 1 мл гидролизата дрожжей приливают 1 мл 10% раствора гидроксида натрия NaOH и 2-3 капли 5% раствора сульфата меди CuSO_4 . Появляется розово-фиолетовое окрашивание.

б) Проба на азотистые основания

К 1 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли раствора гидроксида аммония NH_4OH и 0,5 мл 1% раствора нитрата серебра AgNO_3 . Нагревают. Через 3-5 минут образуется рыхлый осадок бурого цвета.

в) Проба на пентозы

К 1 мл гидролизата дрожжей прибавляют 0,5 мл раствора α -нафтола и по стенке пробирки 2 мл концентрированной серной кислоты H_2SO_4 . На границе раздела жидкостей наблюдают фиолетовое окрашивание.

г) Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 1 мл гидролизата дрожжей прибавляют 2 мл молибденового реактива и кипятят. После охлаждения на дне пробирки образуется желтый кристаллический осадок фосфорной соли молибдата аммония.

Опыт 2. Выделение и свойства ДНК

В ступку помещают 1 г дрожжей с равным количеством песка, ставят на лед и растирают в течение 15 минут, постепенно добавляя через каждые 5 минут по 5мл 1М-ного раствора хлорида натрия (охлажденного). Образовавшуюся гомогенную массу переносят в центрифужные пробирки, уравнивают их и центрифугируют в течение 15 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают в мерный цилиндр. В цилиндр вносят шестикратный объем воды и медленно тонкой струйкой (по стеклянной палочке) хлорид натрия (2 М р-р) при постоянном помешивании. ДНК выделяется в виде нитей, наматывающихся на стеклянную палочку. ДНК хорошо преломляет солнечный свет и видна на свету.

Переносят в пробирку нити выделенного дезоксирибонуклеопротеида и, помешивая растворяют их в 1 мл 0,4 % р-ра гидроксида натрия. К раствору (15-20 капель) добавляют равный объем дифениламинового реактива. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 15 минут. Освободившаяся при гидролизе дезоксирибоза реагирует с дифениламином и дает синее окрашивание.

Выводы:

8 семестр

Лабораторная работа № 14

Тема: Биологически активные вещества

Количественное обнаружение витамина С йодометрическим методом

Цель: познакомиться с составом, биологической ролью, авитаминозами и содержанием витамина С в продуктах питания.

Оборудование: фарфоровые ступки с пестиками, пипетки градуированные, весы.

Реактивы: спиртовой раствор I_2 (5%), раствор крахмала (1 %), раствор HCl (1%), насыщенный раствор пикриновой кислоты. 2. 10%-ный раствор гидроксида натрия.

Объекты исследования: хлеб белый и черный, дрожжи, лук, яйцо, огурец, морковь, соевая мука, лимон, рыбий жир, чай, яблоко красное и зеленое, капуста свежая и квашеная, томат свежий и соленый, картофель свежий и вареный, шиповник, хвоя сосны или ели, аптечные препараты витаминов.

Ход работы

Опыт 1. Количественное определение содержания витамина С в продуктах питания

Взвешивают 1 г исследуемого продукта и растирают его в ступке, добавляют 5 мл воды, несколько капель крахмала и немного 1% соляной кислоты для инактивации фермента аскорбиноксидазы. В качестве окислителя используют йод. Для удобства 5%-ный раствор йода разбавляют водой в 40 раз, при этом получают 0,125%-ный раствор, 1мл которого соответствует 0,875 мг аскорбиновой кислоты. Затем производят титрование этим раствором йода исследуемой жидкости в ступке до появления устойчивого синего окрашивания крахмала, которое говорит о том, что вся аскорбиновая кислота окислилась. Замечают количество раствора йода, пошедшего на титрование, и производят расчет. Для этого составляют пропорцию, зная, что 1 мл 0,125%-ного раствора йода окисляет 0,875 мг аскорбиновой кислоты. Это можно посмотреть на примере яблока.

На титрование 1 г яблока ушло 0,6 мл раствора йода. Составляют пропорцию:

1 мл йодного раствора - 0,875 мг аскорбиновой кислоты

0,6 мл ----- X -----

$$X = 0,6 \cdot 0,875 / 1 = 0,525 \text{ (мг)}$$

Итак, в 1 г яблока содержится 0,525 мг аскорбиновой кислоты. Тогда в 100 г яблока содержится $0,525 \cdot 100 = 52,5$ (мг) аскорбиновой кислоты. Полученные результаты анализируют, сравнивают между собой и с суточной потребностью организма в витамине С, равной 50-70 мг.

Заполните таблицу:

| Продукт (1 г) | йода на 1 г продукта (мл) | Витамина С в 1 г продукта (мг) | Витамина С в 100 г продукта (мг) | Суточная норма продукта (г) (70 мг вит С) |
|------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| 1. | | | | |
| 2. | | | | |

Выводы:

Лабораторная работа № 15

Тема: Биологически активные вещества

Определение активности ферментов и их свойства

Цель: Познакомиться с методами обнаружения активности ферментов и их свойствами.

Оборудование: фарфоровые ступки с пестиками, пипетки градуированные, весы.

Реактивы: спиртовой раствор I_2 (5%), раствор крахмала (1 %), раствор HCl (1%), насыщенный раствор пикриновой кислоты. 2. 10%-ный раствор гидроксида натрия.

Объекты исследования: слюна, соевая мука, дрожжи, картофель, кровь, яблоко, молоко, пепсин желудочного сока, мясо.

Ход работы:

I. Определение активности ферментов

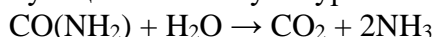
а) Гидролазы

Опыт 1. Обнаружение активности амилазы слюны

В пробирку вносят 1 мл слюны, 1 мл раствора крахмала, 2-3 капли йода (йод в йодистом калии), отмечают окраску. Перемешивают и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^{\circ}C$. Результаты опыта, уравнение гидролиза крахмала, вывод записывают.

Опыт 2. Обнаружение активности уреазы сои

Уреаза – фермент, гидролизующий мочевины по уравнению:



Уреазы содержится в некоторых бактериях, много уреазы в бобах сои. При стоянии мочи в ней развиваются бактерии, содержащие уреазу, от действия которой мочевина начинает выделять аммиак, и моча становится щелочной (аммиачное брожение мочи).

Уреазы является очень устойчивым ферментом и активна в довольно широких пределах рН. Оптимум ее действия находится близко к нейтральной среде.

В пробирку вносят 1 шпатель соевой муки, 2 мл раствора мочевины и 2-3 капли фенолфталеина, перемешивают и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^{\circ}C$. Отмечают окраску содержимого пробирки. Результаты опыта, уравнение гидролиза мочевины, вывод записывают.

Опыт 3. Обнаружение активности сахаразы дрожжей

В пробирку вносят 1 мл гидролизата дрожжей, 1 мл раствора сахарозы, перемешивают 1-2 минуты. Затем проводят реакцию Троммера, отмечают окраску раствора. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахарозы, вывод записывают.

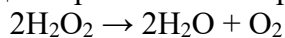
Опыт 4. Обнаружение активности пепсина желудочного сока

В пробирку помещают 0,5 мл желудочного сока, несколько кусочков мяса и ставят на водяную баню на 10 минут. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахарозы, вывод записывают.

б) Оксидоредуктазы

Опыт 5. Обнаружение активности каталазы крови

Каталаза – фермент, участвующий в разложении пероксида водорода:



Каталаза широко распространена и содержится в большем или меньшем количестве во всех тканях и жидкостях организма. Биологическая роль каталазы заключается в разрушении вредной для организма перекиси водорода, которая накапливается в тканях при окислительных процессах.

В пробирку наливают 1 мл разбавленной крови и 1 мл пероксида водорода H_2O_2 . Наблюдают изменения в пробирке.

Результаты опыта, уравнение реакции, вывод записывают.

Опыт 6. Обнаружение активности тирозиназы (фенилоксидазы)

Чистый сырой картофельный клубень очищают от кожуры. Верхние слои клубня кусочками нарезают в ступку (2 г). Добавляют 10 мл дистиллированной воды, растирают содержимое ступки и фильтруют. Наливают в пробирку 2-3 мл раствора тирозина, добавляют 1-2 мл отфильтрованной водной вытяжки из картофеля, встряхивают и ставят пробирку на водяную баню при $+37^{\circ}C$. Периодически встряхивают пробирку для лучшего соприкосновения раствора с кислородом воздуха. Окраска постепенно становится розовато-красной,

бурой и через 1-2 часа переходит в черную. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахаразы, вывод записывают.

Опыт 7. Определение активности пероксидазы

Пероксидазы – ферменты, вызывающие окисление ряда веществ за счет кислорода перекиси водорода или других перекисей. Реакцией на присутствие пероксидаз служит реакция окисления растворимого в воде пирогаллола в бурый нерастворимый и выпадающий в осадок пурпурогаллин

В пробирку помещаем 1-2 мл водной вытяжки картофеля, добавляют несколько капель пирогаллола и перекиси водорода H_2O_2 .

в) Дегидрогеназы

Опыт 8. Обнаружение активности сукцинатдегидрогеназы

В две пробирки помещают мышечную ткань, в одну приливают 1 мл янтарной кислоты, в другую 1 мл дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют 2-3 капли метиленовой сини, наслаивают растительное масло и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^0 C$. Отмечают изменение окраски содержимого пробирки. Результаты опыта, механизм действия фермента, вывод записывают.

Опыт 9. Обнаружение активности дегидрогеназы молока

В пробирку наливают 1 мл свежего молока, 1 мл формальдегида и 2-3 капли метиленовой сини, перемешивают и наслаивают растительное масло. Наблюдают изменение интенсивности окраски.

II. Определение активности ферментов

Опыт 10. Влияние pH среды на активность амилазы слюны

В три пробирки приливают по 1 мл растворов соответственно: NaOH, HCl, H_2O . В каждую добавляют по 1 мл раствора крахмала и слюны, перемешивают и ставят на водяную баню на 5 минут при температуре $+37^0 C$. Затем во все пробирки приливают по 2-3 капли йода. Наблюдения и вывод записывают.

Опыт 11. Специфичность ферментов

В одну пробирку наливают 1 мл свежего раствора крахмала, в другую 1 мл раствора сахарозы, в обе добавляют по 1 мл дрожжевого гидролизата, перемешивают и ставят на водяную баню на 5 минут при температуре $+37^0 C$. Затем проводят реакцию Троммера с содержимым обеих пробирок. Результаты опыта и вывод записывают

Выводы:

Лабораторная работа № 16

Тема: Биологически активные вещества

Гормоны

Цель: Познакомиться с методами обнаружения гормонов и их свойствами.

Оборудование: фарфоровые ступки с пестиками, пипетки градуированные, весы.

Реактивы: спиртовой раствор I_2 (5%), раствор крахмала (1 %), раствор HCl (1%), насыщенный раствор пикриновой кислоты. 2. 10%-ный раствор гидроокиси натрия.

Объекты исследования: инсулин, адреналин, слюна, мясо.

Опыт 1. Качественные реакции на инсулин

а) Обнаружение пептидных связей.

К 0,5 мл инсулина прибавляют 0,5 мл гидроксида натрия и 1 каплю сульфата меди. Перемешивают. Записывают наблюдения.

б) Обнаружение ароматических аминокислот.

К 0,5 мл инсулина прибавляют 5-6 капель концентрированной азотной кислоты до появления мути от свернувшегося белка. При нагревании и раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет.

в) Обнаружение цистеина.

В пробирку вносят 0,5 мл инсулина, затем добавляют двойной объем концентрированного раствора щелочи и 0,5 мл уксуснокислого свинца. Нагревают. Записывают наблюдения.

Опыт 2: Качественные реакции на адреналин

К 0,5 мл адреналина прибавляют 2 мл воды и 1 каплю раствора хлорида железа(III). Содержимое пробирки окрашивается в изумрудно-зеленый цвет. От прибавления 1 капли 10% раствора аммиака окраска переходит в вишнево-красную, а затем в коричневую.

Опыт 3: Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы

Вносят в пробирку слюну (1 мл) и разводят ее водой в 10 раз. Берут для опыта 3 пробирки. В первую вносят 10 капель воды, во вторую 8 капель воды и 2 капли 1%-ого раствора NaCl, в третью 8 капель воды и 2 капли 1%-ого раствора CuSO₄. Затем во все пробирки вносят по 5 капель крахмала и по 20 капель разбавленной слюны. Даем раствору постоять 5 минут. В это время готовим еще три пробирки. В каждую вносим по 1 мл дистиллированной воды и по 1 капле J₂ в KJ, а затем добавляем 2-3 капли содержимого опытных пробирок соответственно. Наблюдают изменение окраски йода в пробирках. Делают выводы, какие ионы активируют, а какие ингибируют амилазу. Почему перед приемом пищи полезно съесть немного квашеной капусты?

Опыт 4. Активирование сукцинатдегидрогеназы мышц фосфатами.

В две пробирки помещают мышечную ткань, в одну приливают 1 мл янтарной кислоты, затем в одну добавляют 1 мл фосфатного буфера, в другую 1 мл дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют 2-3 капли метиленовой сини, наслаивают растительное масло и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре +37⁰С. Отмечают изменение окраски содержимого пробирки. Результаты опыта, механизм действия фермента, вывод записывают.

Выводы:

Лабораторная работа № 17

Тема: Биологически активные вещества

Низкомолекулярные метаболиты

Цель: Обнаружить алкалоиды, дубильные вещества и гормоны в растительных объектах.

Оборудование и реактивы: штатив с пробирками, фильтровальная бумага, воронка для фильтрования; раствор йода в йодиде калия, раствор танина, раствор соляной кислоты (10%), серная кислота (раствор), сульфат железа (II),

Объекты исследования: перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы, кора дуба, ивы, листья брусники и облепихи, растворы адреналина и инсулина.

Ход работы:

Опыт 1: Обнаружение алкалоидов.

1. Готовят водную вытяжку из исследуемых объектов (перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы).

2. Вытяжку фильтруют.

3. Фильтр подкисляют и обрабатывают раствором йода в йодиде калия.

Наблюдают образование шоколадно-коричневого осадка двойной соли алкалоидов. Причем, скорость развития осадка и его количества различны, т.к. различно содержание алкалоидов в исследуемых объектах.

Результаты исследования оформляют в виде таблицы, поскольку данная методика позволяет провести качественный анализ. Данные о процентном содержании алкалоидов в растениях берут из литературы.

4. Раствор танина (1 г танина, 1 г спирта и 8 частей воды) подкисляют серной кислотой. Алкалоиды выпадают в осадок.

5. На млечный сок семейства маковых (мак, чистотел) действуют 10%-ным раствором соляной кислоты. Выпадают кристаллики в виде звездочек, призм, игл, окрашенные в оранжевый или желто-коричневый цвет. Реакция наглядна на свежем материале.

Опыт 2: Обнаружение дубильных веществ.

Для приготовления отваров растительного сырья (коры дуба, ивы, листьев брусники, облепихи) материал измельчают (размер частиц 3-5 мм) помещают сырье в эмалированную посуду, добавляют воды (1:10), накрывают крышкой и ставят на водяную баню. Если сырье - стебли и листья растений, то время приготовления 15 минут, если кора или корни - 30 минут. Раствор охладить, процедить и использовать в работе.

К полученным растворам приливают несколько капель водного раствора сульфата железа (II). В присутствии дубильных веществ жидкость становится почти черной или приобретает синевато-зеленоватый оттенок.

Выводы:**Раздел 2. БИОЭНЕРГЕТИКА И МЕТАБОЛИЗМ****Лабораторная работа № 18**

Тема: Обнаружение макроэргических соединений

Цель: Познакомиться с понятием обмена веществ и энергии, строением макроэргических соединений, видами биологического окисления.

Объект исследования: дрожжи, мясо, моча.

Ход работы:**Опыт 1.** Анализ АТФ.

а) Обнаружение аденина.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли аммиачного раствора оксид серебра. Затем раствор нагревают.

б) Обнаружение рибозы.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 0,5 мл α -нафтола, а затем осторожно, по стенке пробирки, не перемешивая 0,5 мл конц. серной кислоты. В результате взаимодействия образуются зелёное и малиновое кольца.

в) Обнаружение фосфорной кислоты.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли раствора молибдата аммония в азотной кислоте. Пробирку нагревают (осторожно, не кипятить). Жидкость окрашивается в жёлтый цвет, а затем выпадает осадок.

Опыт 2. Обнаружение креатина и креатинина.

В пробирку помещают 0,5 мл мясной вытяжки или мочи, добавляют 1 каплю 10 % раствора гидроксида натрия и 1 каплю пикриновой кислоты. Появляется оранжево-красная окраска.

Выводы:**Лабораторная работа № 19****Тема: Биологическое окисление**

Цель: Познакомиться с видами биологического окисления.

Объект исследования: дрожжи, мясо, рыба, моча.

Опыт 1. Использование неорганического фосфата для синтеза АТФ.

Лопаточку дрожжей и лопаточку глюкозы внести в пробирку. Добавить 5 мл дистиллированной воды и 10 мл фосфатного буфера, хорошо встряхнуть. Через 15 минут определить содержание фосфатов. Отмерить 3 мл смеси в цилиндр на 25 мл, осадить белки 2 мл 10 % раствора ТХУ, нейтрализовать 10 % раствором гидроксида аммония в присутствии капли фенолфталеина до слабозеленой реакции. Прилить 0,5 мл молибдата аммония. Встряхнуть, прилить 0,25 мл 1 % раствора аскорбиновой кислоты (свежеприготовленной), перемешать и долить водой до 10 мл (это первая проба). Затем через 30 минут выполнить вторую пробу, затем третью. Наблюдаем синюю окраску разной интенсивности.

Опыт 2. Количественное определение фосфата в мышцах.

Навеску 1 г мышц хорошо растереть в ступке, прибавить 5 мл дистиллированной воды и 2 мл 10 % раствора ТХУ. Отфильтровать раствор через фильтр в пробирку. Отмерить 2

мл фильтрата и внести в колбу на 50 мл. Разбавить дистиллированной водой до $\frac{1}{2}$ колбы, внести одну каплю фенолфталеина, 10 % аммиаком до слабозеленой окраски и выполнить реакцию на определение неорганического фосфата. (1 мл молибдата аммония, 0,5 мл 1 % раствора аскорбиновой кислоты, тщательно перемешать и довести водой до метки). Если есть осадок, то через 15 минут отфильтровать. Определяем на ФЭК при красном фильтре ($\lambda=670$ нм, $l=10$ мм). По калибровочному графику определить содержание фосфатов в мышцах.

Выводы:

Лабораторная работа № 20

Тема: Обмен углеводов

Цель: познакомиться с перевариванием углеводов в ЖКТ, рассмотреть пути окисления глюкозы в клетке, вычислить энергетический эффект окисления углеводов.

Оборудование и реактивы: ареометр, стеклянный цилиндр (100 и 250 мл), пипетки, колбы конические (200 и 250 мл), воронка, химический стакан, технические весы, Ступка; фарфоровая чашка; мерные цилиндры вместимостью 10 и 50 см³; капельница, водяная баня, воронка, химический стакан, технические весы, раствор CuSO₄ (5%), раствор NaOH (0,1%), спиртовой раствор фенолфталеина (2%), HCl (конц.), щелочной раствор уксуснокислого свинца (4%). Насыщенный раствор пикриновой кислоты. 10%-ный раствор гидроксида натрия, глюкоза (1%), крахмал (1%), сахароза (1%),

Объекты исследования: слюна, мышца, молоко (свежее).

Ход работы:

Опыт 1. Переваривание углеводов амилазой слюны

В пробирку вносят 0,5 мл р-ра амилазы, добавляют 1 мл 1% р-ра крахмала, помещают на 30 минут на водяную баню. К содержимому пробирки добавляют 2-3 капли сульфата меди и 8-10 капель гидроксида натрия, р-р нагревают. Появление оранжевой окраски свидетельствует о появлении в растворе молекул глюкозы.

Опыт 2. Обнаружение молочной кислоты

В пробирку внести 0,5мл раствора фенола, добавляют такое же количество хлорида трехвалентного железа. К появившемуся фиолетового цвета содержимому пробирки добавить несколько капель молока. Появление зеленовато-коричневой окраски свидетельствует о присутствии в молоке молочной кислоты.

Опыт 3. Качественная реакция на пировиноградную кислоту

В пробирку наливают 1мл раствора, содержащего пировиноградную кислоту, и добавляют 0,5мл 0,1% раствора 2,4-дифенилгидрозина. Перемешивают и через 5 минут добавляют 2,5мл водонасыщенного тимола. Содержимое пробирки встряхивают и оставляют в вертикальном положении для расслоения тимола и воды. Верхний слой отбирают пипеткой в другую пробирку и добавляют 2мл 2,5% спиртового раствора едкого калия. В течение нескольких минут образуется характерное окрашивание.

Опыт 4. Анализ хлеба на качество

а) Органолептическое исследование хлеба.

При органолептическом исследовании хлеба устанавливают особенности его внешнего вида, цвет, вкус, запах, толщину корок, вид мякиша.

Б) Физико-химическое исследование.

В точно известном объеме хлебного мякиша путем сминания уничтожают поры и определяют объем смятой части мякиша. Пористость вычисляют по разнице объемов в процентах. Вырезают мякиш в виде куба, имеющего стороны в 3 см. Вырезанный мякиш сминают и делят на части, скатывают в плотные шарики диаметром 0,5 см-1 см.

Затем в цилиндр наливают 25-30 см³ воды или растительного масла, осторожно погружают в него шарики и отмечают деление, до которого поднялся уровень жидкости.

Из полученного объема вычитают объем воды или масла и получают объем хлеба, не содержащего пор.

Вычитая полученный объем смятого мякиша из 27 см^3 получают объем пор в вычисленной пористости в процентах к 27 см^3 хлеба, взятого для исследования.

Пример расчета:

Уровень воды или масла в цилиндре после погружения смятых шариков повысился на 15 см. Следовательно, в 27 см^3 хлеба содержится

$$27 - 15 = 12 \text{ (см}^1\text{) пор.}$$

На 27 см^3 приходится 12 см^3 пор

$$100 \text{ ----- } x$$

$$12 * 100$$

$$X = \text{-----} = 44,4(\%)$$

27

В) Определение кислотности хлеба.

Кислоты из хлебного мякиша извлекают водой и затем определяют в хлебной вытяжке кислотность путем титрования 0,1% раствором щелочи. Результат вычисляют в градусах кислотности. Градусы кислотности определяются числом см^3 нормальной щелочи, пошедшей на нейтрализацию кислот в 100 г хлеба.

На технических весах отвешивают 50 г хлебного мякиша, измельчают и помещают в банку с притертой пробкой. Небольшими порциями прибавляют 250 мл дистиллированной воды и размельчают хлеб до однородной кашицы и оставляют стоять в течение часа. Через 1 час отбирают хлебную вытяжку (50 мл) и прибавляют 2-3 капли индикатора (фенолфталеина) и титруют 0,1% раствором щелочи до ярко-розового оттенка. Пример расчета:

На титрование хлебной вытяжки пошло 8,9 мл щелочи, а на титрование 250 мл пойдет $3,9 \cdot 5 = 44,5$ (мл). Это количество щелочи необходимо для нейтрализации кислот, полученных из 50 г хлеба, а в 100 г хлеба это будет соответствовать $44,5 \cdot 2 = 89$ (мл) 0,1% щелочи или 8,9 нормальной щелочи, следовательно, кислотность хлеба равна 8,9 градусов

Выводы:

Лабораторная работа № 21

Тема: Обмен липидов

Цель: познакомиться со строением, биологической ролью и классификацией липидов перевариванием жиров в ЖКТ, превращением глицерина, высших карбоновых кислот в клетке и продуктами их обмена. Рассчитать энергетический эффект окисления жиров.

Оборудование и реактивы: ареометр, стеклянный цилиндр (100 и 250 мл), пипетки, колбы конические (200 и 250 мл), воронка, химический стакан, технические весы, ступка; фарфоровая чашка; мерные цилиндры вместимостью 10 и 50 см^3 ; капельница, водяная баня, воронка, химический стакан, технические весы, раствор CuSO_4 (5%), раствор NaOH (0,1%), спиртовой раствор фенолфталеина (2%), HCl (конц.), щелочной раствор уксуснокислого свинца (4%). Насыщенный раствор пикриновой кислоты. 10%-ный раствор гидроксида натрия.

Объекты исследования: растительное масло, молоко, мозг, желток яйца.

Ход работы:

Опыт 1. Гидролиз жира липазой и роль желчи

Гидролиз жиров удобнее всего наблюдать при помощи липазы панкреатического сока. В качестве субстрата лучше всего взять молоко, жир которого, находясь в эмульгированном состоянии, быстро расщепляется на глицерин и жирные кислоты. Последние можно оттитровать щелочью.

1. В 2 колбы (№1 и 2) отмерить цилиндром по 10 мл молока и добавить в каждую по 0,5 мл вытяжки липазы (панкреатин). В колбу №1 добавить 2 капли желчи (для активирования липазы).
2. Быстро перемешать содержимое каждой колбы. Отобрать по 1 мл жидкости и перенести их в 2 другие колбы (для титрования).
3. Первые две колбы (№1 и 2) поместить в водяную баню при +37⁰С.
4. В колбы для титрования прибавить по 5 мл воды (дист.) и по 2 капли р-ра фенолфталеина.
5. Оттитровать содержимое каждой колбы 0,1 н щелочью до слабо-розового окрашивания при непрерывном и тщательном помешивании. По окончании титрования записать результаты; содержимое вылить, и колбы помыть.
6. Еще 3-4 раза через каждые 15 минут взять из колбы №1 и 2 пробы по 1 мл и оттитровать их с водой и фенолфталеином, как описано выше.
7. Сравнить объемы 0,1 н щелочи, пошедшие на титрование каждой пробы из колб №1 и 2, и, отложив их по времени, вычертить кривые расщепления жира.

Так как гидролиз идет постепенно, количество освобождающихся жирных кислот нарастает во времени. Желчь (собственно соли желчных кислот) имеет большое значение для переваривания даже такого сильно эмульгированного жира, как жир молока. Роль желчи для переваривания других жиров еще важнее, так как, помимо активации липазы, желчь переводит жиры в эмульгированное состояние (а также способствует всасыванию жирных кислот). При недостаточном поступлении желчи в кишечник жиры переходят в кал почти неизмененными.

Опыт 2. Эмульгирование жиров.

В 4 сухие пробирки поместить по 0,5 мл подсолнечного масла, добавить по 0,5 мл в 1 пробирку р-р мыла, во – вторую – р-р карбоната натрия 10%, в третью – желчь, в четвертую – воду. Содержимое пробирок интенсивно перемешать. Эмульсия образуется в трех первых пробирках.

Опыт 3. Качественная реакция на желчные кислоты.

В пробирку внести 8-10 капель желчи, добавить 0,5 мл р-ра сахарозы 1% и осторожно по стенке пробирки серную кислоту (конц.). Р-р не встряхивать. Появление кольца коричневого цвета подтверждает присутствие в растворе желчных кислот.

Опыт 4. Исследование молока

Органолептическое исследование молока.

Задание: определите цвет, запах, вкус, консистенцию исследуемого образца. В норме цвет свежего молока должен быть белым со слегка желтоватым оттенком. Запах "молочный", вкус слегка сладковатый. Консистенция должна быть в меру густой, не должна быть водянистой или слизистой.

Определение удельного веса (плотности) молока

Для определения удельного веса (плотности) молока пользуются ареометром. А так как удельный вес зависит от температуры, то одновременно определяем и последняя при помощи термометра. Измерение ведут при температуре молока, равной 20° С.

Плотность цельного молока колеблется в пределах от 1,029 до 1,034. Так как обычно изменяются только две последние цифры удельного веса, то принято выражать его двумя последними цифрами в так называемых градусах плотности (29°, 34°).

Исследуемое молоко тщательно перемешивают и наливают в стеклянный цилиндр в количестве около 200 мл. Затем в цилиндр опускают ареометр. Он должен свободно плавать и не касаться стенок цилиндра.

Показания записывают, когда ареометр примет устойчивое положение и установится температура молока. Отсчет производят, но верхнему краю мениска.

Определение кислотности молока.

Кислотность молока выражают количеством мл 0,1% раствора щелочи, пошедшим на нейтрализацию кислот, содержащихся в 100 мл молока при индикаторе фенолфталеине. Обозначается кислотность молока в градусах.

Молоко перемешивают, отбирают пипеткой 10 мл и вливают в колбу на 100 -150 мл, прибавляют 20 мл дистиллированной воды, 2-3 капли фенолфталеина, перемешивают и титруют 0,1% раствором щелочи до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 минуты.

Расчет: Например, на нейтрализацию кислот в 10 мл молока пошло 2 мл 0,1% раствора щелочи. Определение кислотности производят путем умножения числа мл 0,1% раствора щелочи, израсходованной на титрование 10 мл. Так как для исследования было взято 10 мл молока, а расчет ведется на 100 мл, следовательно, в данном случае кислотность молока равна $2 \cdot 10 = 20^\circ$. Практически свежим молоко считается до 22 градусов.

Выводы:

Лабораторная работа № 22

Тема: Обмен белков

Цель: познакомиться со строением, биологической ролью и перевариванием белков в ЖКТ, превращением аминокислот в клетке и продуктами их обмена. Рассчитать энергетический эффект окисления белков.

Оборудование и реактивы: стеклянный цилиндр (100 и 250 мл), пипетки, колбы конические (200 и 250 мл), воронка, химический стакан, технические весы, Ступка; фарфоровая чашка; мерные цилиндры вместимостью 10 и 50 см³; капельница, водяная баня, воронка, химический стакан, технические весы, раствор CuSO₄ (5%), раствор NaOH (0,1%), спиртовой раствор фенолфталеина (2%), HCl (конц.), щелочной раствор уксуснокислого свинца (4%). Насыщенный раствор пикриновой кислоты. 10%-ный раствор гидроокиси натрия.

Объекты исследования: моча, мясо, яйцо, мочевины.

Опыт 1. Ферментативный гидролиз белков, роль соляной кислоты.

В 4 пробирки поместить мышечную ткань. Прилить в 1-ю – 2 мл соляной кислоты (2%); во 2-ю – пепсин кислый; в 3-ю – пепсин нейтральный; в 4-ю – пепсин щелочной. Установить пробирки в водяную баню на 10-20 минут, затем провести биуретовую реакцию во 2-й, 3-й, 4-й пробирках.

Результаты опыта, уравнение гидролиза белка и вывод записать.

Опыт 2. Качественные реакции на мочевины. Получение кристаллов азотнокислой мочевины.

1. На предметное стекло поместить несколько кристаллов мочевины, прибавить каплю воды и осторожно покачать стекло до растворения мочевины.

2. Добавить каплю азотной кислоты – образуются кристаллы азотнокислой мочевины. Закрывать покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом при увеличении в 200-250 раз. Зарисовать.

Опыт 3. Качественные реакции на мочевины. Получение кристаллов щавелевокислой мочевины.

Получить кристаллы, как в опыте 2, нанося на предметное стекло вместо азотной кислоты р-р щавелевой кислоты. Рассмотреть кристаллы под микроскопом при увеличении в 50 раз. Зарисовать.

Опыт 4. Качественная реакция на карнозин.

Поместить в пробирку 0,5 г мышечной кашицы, добавить 2 мл воды, перемешать. Прилить 2 мл р-ра сульфосалициловой кислоты для осаждения белка. Осадок белка отфильтровать. Прилить в пробирку 0,5 мл фильтрата, добавить 1 мл диазореактива и 2 мл р-ра соды. Наблюдать оранжево-красное окрашивание.

Опыт 5. Обнаружение яиц качественной реакцией

Наличие яиц определяют в овощных и крупяных котлетах и запеканках, полуфабрикатах из муки (тесто), оболочке блинчиков (полуфабрикат).

Метод основан на взаимодействии креатинина, содержащегося в желтках яиц, с раствором пикриновой кислоты, в результате которого образуется пикрат креатинина, имеющий оранжево-красный цвет.

5-10 г пробы растирают в ступке с небольшим количеством дистиллированной воды, заливают 25...50 см³ дистиллированной воды и настаивают в течение 20...25 мин, помешивая содержимое ступки в течение первых 10 мин каждые 2-3 мин, затем из отстоявшейся жидкости сливают в фарфоровую чашку 5-10 см³, добавляют 2-3 см³ насыщенного раствора пикриновой кислоты и пять-шесть капель 10 %-ного раствора гидрата окиси натрия.

При наличии яиц вытяжка окрашивается в оранжево-красный цвет, который постепенно усиливается.

Опыт 6. Исследование мяса

Органолептическое исследование.

Определяют внешний вид, цвет, консистенцию, запах, состояние жира, костного мозга, а также качество бульона при варке.

Пробная варка. Мясо весом 50 г моют, кладут в посуду с холодной водой, накрывают крышкой и подвергают варке до степени готовности. Далее определяют запах бульона и вкус мяса. Если после пробной варки бульон имеет приятный специфический запах, прозрачен, то, следовательно, мясо доброкачественное и может употребляться в пищу. Если же после пробной варки бульон мутный, содержит хлопья, имеет неприятный запах, то мясо признается непригодным для употребления.

Химическое исследование на свежесть (с сернокислой медью).

Навеску мяса 20 г растирают в ступке и помещают в коническую колбу (150-200 мл), заливают 60 мл дистиллированной воды. Колбу закрывают часовым стеклом и ставят на 30 минут на кипящую водяную баню. Горячий бульон фильтруют через слой марли или ваты толщиной 0,5 см в пробирку, помещенную в холодную воду. После фильтрации фильтрат должен быть без хлопьев.

В чистую пробирку берут 2 мл профильтрованного бульона, добавляют 3 капли 5 %-ного водного раствора сернокислой меди. Пробирку встряхивают и ставят в штатив. Результат реакции снимают через 5 минут. Если бульон остается прозрачным - мясо свежее. Если мясо сомнительной свежести, то отмечается появление хлопьев в пробирке.

Опыт 7. Исследование рыбы на свежесть

Органолептическое исследование свежей рыбы. Доброкачественная свежая рыба имеет блестящую чешую, плотно прилегающую к ткани, брюшко не вздутое и не запавшее, жабры темно-красного цвета без неприятного запаха, плотную консистенцию.

Химическое исследование свежей рыбы. Процессы гниения в свежей рыбе обнаруживают, но выделению аммиака и сероводорода, а также по реакции мышечной ткани на лакмус.

а) Определение содержания аммиака

Небольшой кусочек рыбы навешивают на крючок и помещают в широкую пробирку с 3-4 мл концентрированной соляной кислоты. Пробирку закрывают пробкой. Расстояние от крючка с рыбой до соляной кислоты должно быть 1-2 см. При выделении аммиака из рыбы в пробирке через несколько секунд образуется белое облачко хлористого аммония. Интенсивность реакции оценивается как отрицательная (-), слабо положительная (+) (быстро исчезающее расплывчатое облачко), положительная (++) (быстро появляющееся устойчивое облачко), резко положительная (+++) (облачко появляется немедленно после внесения рыбы в пробирку).

б) Определение содержания сероводорода.

В коническую колбу на 50-100 мл помещают 15-25 г фарша исследуемой рыбы. В колбу опускают в вертикальном положении полоску фильтровальной бумаги с нанесенными на нее 3-4 каплями раствора уксуснокислого свинца. Полоску бумаги закрепляют на расстоянии 1 см от фарша пробкой. Колбу, закрытую пробкой, оставляют на 15 минут,

после чего оценивают результаты. В случае порчи рыбы выделяющийся сероводород на местах нанесения уксуснокислого свинца образует темные пятна.

Интенсивность реакции оценивают как отрицательную (-), следы (- +), слабopоложительную (+) (бурое окрашивание, но краям капли), положительную (+ +) (бурое окрашивание по всей капле), резко положительную (+ + +) (темное окрашивание).

Выводы:

Лабораторная работа № 23

Тема: Анализ продуктов питания на качество

Цель: Познакомиться с химическим составом молока, яиц, мяса и рыбы и провести экспертизу на их качество.

Оборудование и реактивы: ареометр, стеклянный цилиндр (100 и 250 мл), пипетки, колбы конические (200 и 250 мл), воронка, химический стакан, технические весы, Ступка; фарфоровая чашка; мерные цилиндры вместимостью 10 и 50 см³; капельница, водяная баня, воронка, химический стакан, технические весы, раствор CuSO₄ (5%), раствор NaOH (0,1%), спиртовой раствор фенолфталеина (2%), HCl (конц.), щелочной раствор уксуснокислого свинца (4%). Насыщенный раствор пикриновой кислоты. 10%-ный раствор гидроксида натрия.

Ход работы:

Исследование молока

Опыт 1. Органолептическое исследование молока.

Задание: определите цвет, запах, вкус, консистенцию исследуемого образца. В норме цвет свежего молока должен быть белым со слегка желтоватым оттенком. Запах "молочный", вкус слегка сладковатый. Консистенция должна быть в меру густой, не должна быть водянистой или слизистой.

Опыт 2. Определение удельного веса (плотности) молока

Для определения удельного веса (плотности) молока пользуются ареометром. А так как удельный вес зависит от температуры, то одновременно определяем и последняя при помощи термометра. Измерение ведут при температуре молока, равной 20° С.

Плотность цельного молока колеблется в пределах от 1,029 до 1,034. Так как обычно изменяются только две последние цифры удельного веса, то принято выражать его двумя последними цифрами в так называемых градусах плотности (29°, 34°).

Исследуемое молоко тщательно перемешивают и наливают в стеклянный цилиндр в количестве около 200 мл. Затем в цилиндр опускают ареометр. Он должен свободно плавать и не касаться стенок цилиндра.

Показания записывают, когда ареометр примет устойчивое положение и установится температура молока. Отсчет производят, но верхнему краю мениска.

Опыт 3. Определение кислотности молока.

Кислотность молока выражают количеством мл 0,1% раствора щелочи, пошедшим на нейтрализацию кислот, содержащихся в 100 мл молока при индикаторе фенолфталеине. Обозначается кислотность молока в градусах.

Молоко перемешивают, отбирают пипеткой 10 мл и вливают в колбу на 100 -150 мл, прибавляют 20 мл дистиллированной воды, 2-3 капли фенолфталеина, перемешивают и титруют 0,1% раствором щелочи до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 минуты.

Расчет: Например, на нейтрализацию кислот в 10 мл молока пошло 2 мл 0,1% раствора щелочи. Определение кислотности производят путем умножения числа мл 0,1% раствора щелочи, израсходованной на титрование 10 мл. Так как для исследования было взято 10 мл молока, а расчет ведется на 100 мл, следовательно, в данном случае кислотность молока равна $2 \cdot 10 = 20^\circ$. Практически свежим молоко считается до 22 градусов.

Выводы:

Лабораторная работа № 24

Тема: Влияние физических упражнений на биохимические процессы в организме

Цель: Познакомиться с химическим составом мышечной ткани, энергетическим обменом в мышечной клетке и рассмотреть влияние физических нагрузок на биохимические процессы.

Оборудование и реактивы: штатив с пробирками, аммиачный раствор азотнокислого серебра, р-р хлорида бария (5%), р-р молибденово-кислого аммония (3%), мурексид сухой, р-р NaOH (10%), р-р CuSO₄ (1%), мясная вытяжка; универсальная индикаторная бумага, хроматографическая бумага, нингидрин (0,1% спиртовой).

Ход работы:

Опыт 1. Определение неорганических соединений в мышечной ткани:

- а) хлорид-ионов (Cl⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель раствора нитрата серебра;
- б) сульфат-ионов (SO₄²⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель хлорида бария;
- в) фосфат-ионов (PO₄³⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель молибденовокислого аммония. Затем нагревают раствор.
- г) катионов кальция (Ca²⁺): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта, добавляют 5-6 капель 10% раствора щелочи и несколько пылинок мурексида.

Опыт 2. Определение органических соединений в мышечной ткани:

- а) реакция на белок: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель 10% раствора щелочи и 1-2 капли 1% раствора CuSO₄. Наблюдают фиолетовое окрашивание;
- б) реакция на глюкозу: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель 10%-ного раствора щелочи и 1-2 капли 1%-ного раствора CuSO₄. Нагревают. Наблюдают желтое окрашивание;
- в) реакция на молочную кислоту: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта, добавляют 0,5 мл раствора фенола, затем такое же количество хлорида железа (III). Появляется зеленовато-коричневая окраска.

Опыт 3. Определение продуктов анаэробного окисления.

Смачивают индикаторную универсальную бумагу слюной. Отмечают значение рН. Выполняют в течение 50-60 секунд силовые упражнения (приседания, отжимания). Снова смачивают индикаторную универсальную бумагу слюной и отмечают значение рН, сравнивая показатели рН. Делают вывод о состоянии буферной системы своего организма.

Опыт 4. Определение продуктов аэробного окисления.

На полоске хроматографической бумаги с одного края ставят карандашом точку, а затем отпечаток большого пальца (левой руки). В течение 1,5-2 минут выполняют рукой силовые упражнения и наносят отпечаток (этого же пальца) с противоположного края. Бумагу опускают в раствор нингидрина и помещают в сушильный шкаф или сушат над горячей электроплиткой. По четкости отпечатков судят о количестве выделившегося пота.

Выводы:

Раздел 3 ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Лабораторная работа № 25-26

Тема: Выделение и свойства РНК. Рибонуклеазы

Оборудование и реактивы: электроплитка, пробирки с воздушным холодильником, стаканы (500, 800 мл), ступки с пестиками, песок, лед воронки, вата; дрожжи, NaOH (р-р 10%), CuSO₄ (р-р 1%), амм. раствор AgNO₃ (р-р 2%), NaCl (1М и 2М), H₂SO₄ (конц. и р-р 5%), α-нафтол (р-р 1% спиртовой), молибденовый реактив, диэтиловый эфир, NaOH (р-р 0,04%), лакмус, СН₃СООН (р-р 5%), тимол (спиртовой 1% р-р), индикатор универсальный. спектрофотометр, центрифуга, дозаторы, термостат, 1%-ная дрожжевой РНК, 0,2 М ацетатный буфер (рН=5,6), спиртово-магниевый осадитель (0,19 г. MgCl₂, 90 мл этанола, 10 мл воды).

Опыт 1. Выделение и свойства РНК.

Ход работы:

1 г дрожжей в ступке смешивают со смесью, (0,5 мл эфира и 0,5 мл воды), добавляют равное количество песка и тщательно растирают в течение 10-15 минут, приливая 5-10 мл 0,4%-ного раствора едкого натра. После чего смесь фильтруют через сладчатый фильтр или кусочек ваты. К фильтрату добавляют небольшими порциями 5% раствор уксусной кислоты до слабо кислой реакции (до полного осаждения нуклеопротеида). Осадок отделяют на центрифуге в течение 10 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования осадок переносят в большую пробирку, добавляя 1 мл 10% р-ра серной кислоты. Пробирку закрывают пробкой с воздушным холодильником, ставят на кипящую водяную баню на 1-1,5 часа, закрыв пробирку ватой. После охлаждения гидролизат фильтруют и с фильтратом проводят качественные реакции на составные части нуклеопротеидов.

1. Биуретовая реакция на полипептиды

В пробирку вносят 10 капель дрожжевого гидролизата и равный объем 10%-ного раствора гидроксида натрия, затем 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди. Перемешивают и по появлению сине-фиолетовой окраски судят о наличии белка.

2. Серебряная проба на пуриновые основания

К 10 каплям дрожжевого гидролизата по каплям добавляют равное количество 2%-ного аммиачного раствора азотнокислого серебра. Через 2-3 минуты выпадает осадок серебряных солей пуриновых оснований бурого цвета (содержимое пробирки не перемешивать).

Реакция протекает по следующему уравнению:



3. Качественная реакция на пентозу (реакция Молиша)

К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 3 капли 1% спиртового р-ра тимола, перемешивают и по стенке пробирки осторожно приливают 20-30 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется продукт конденсации фурфурола с тимолом - красного цвета. При взаимодействии концентрированной серной кислоты с пентозами или гексозами происходит их дегидратация: из пентоз образуется фурфурол, а из гексоз – оксиметилфурфурол, которые дают с тимолом продукт конденсации красного цвета.

5. Качественная реакция на углеводы

К 5 каплям дрожжевого гидролизата добавляют 3 капли 0,2% спиртового р-ра α -нафтола, а затем (осторожно, не перемешивая) 8-10 капель конц. серной кислоты. В результате на границе раздела фаз образуются зеленое и малиновое кольца.

6. Качественная реакция на дезоксирибозу и рибозу

К 5 каплям гидролизата дрожжей добавляют дифениламинный реактив, пробирку выдерживают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. С дезоксирибозой реактив дает синее окрашивание, а с р-ром рибозы – зеленое. Образуется сине-зеленое окрашивание гидролизата.

7. Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 10 каплям дрожжевого гидролизата добавляют равный объем раствора молибденового реактива. Пробирку нагревают (осторожно), жидкость окрашивается в желтый цвет, затем при охлаждении образуется мелко-кристаллический осадок лимонно-желтого цвета.

Опыт 2: Определение удельной активности рибонуклеазы.

Ход работы:

Субстратом для определения РНКазной активности служила высокополимерная РНК из дрожжей. Инкубационная смесь содержала 0,1 мл соевого экстракта, содержащего РНКазу, 0,4 мл 1%-ной дрожжевой РНК в 0,2 М ацетатном буфере (рН=5,6). Инкубацию проводили при 37⁰С в течение 45 минут. После чего негидролизованную РНК осаждали, добавляя к пробам по 1 мл) спиртово-магниевый осадитель (0,19 г. MgCl₂, 90 мл этанола,

10 мл воды. Затем пробирки ставили на 1 час на лед для лучшего формирования осадка, который удаляли центрифугированием при 2000 об/мин. В течение 10 мин. Из супернатанта отбирали пробы по 0,5 мл, к каждой прибавляли по 3 мл воды и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 260 нм против воды. Параллельно обрабатывали контрольную пробу, в которую спиртово-магниевый осадитель вносили до ферментного раствора.

За единицу активности принимали такое количество фермента, которое вызывает увеличение поглощения раствора на единицу оптической плотности при 260 нм в мин.

$$A_{уд} = (\Delta E_{260} * V_1 * V_2) / (V_3 * t * W)$$

ΔE_{260} – прирост экстинкции опытной пробы по отношению к контрольной.

t – Время инкубации (в мин.)

V_1 – объем после разбавления.

V_2 – объем пробы после осаждения РНК спиртово-магниевым раствором.

V_3 – объем пробы, взятой для разбавления.

W – масса белка (фермента в пробе) в мг.

Выводы:

Лабораторная работа № 27

Тема: Выделение и свойства ДНК

Цель: познакомиться с методами выделения и обнаружения ДНК из дрожжей и ее строением

Оборудование и реактивы: электроплитка, ступки с пестиками, воронка, фильтровальная бумага, стакан (50 мл, 700 мл), палочка стеклянная, цилиндр на 10 и 25 мл, кристаллизаторы со льдом, центрифуга, пробирки центрифужные, дрожжи сухие, NaCl (растворы 1М и 2М), гидроксида натрия (растворы 0,4% и 10%), сульфат меди (1%), дифениламиноновый реактив (1%), песок.

Ход работы:

Опыт 1. В ступку помещают 1 г дрожжей с равным количеством песка, ставят на лед и осторожно растирают 2 М р-ром хлорида натрия в течение 5 минут а затем растирают еще в течение 15 минут, постепенно добавляя через каждые 5 минут по 3 мл 1М раствора хлорида натрия (охлажденного). Образовавшуюся гомогенную массу переносят в центрифужные пробирки, уравнивают их и центрифугируют в течение 15 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают в мерный цилиндр. В цилиндр вносят шестикратный объем воды и медленно тонкой струйкой (по стеклянной палочке) при постоянном помешивании. ДНК выделяется в виде нитей, наматывающихся на стеклянную палочку. ДНК хорошо преломляет солнечный свет и видна на свету.

Опыт 2. Переносят в пробирку нити выделенного дезоксирибонуклеопроптеида и, помешивая растворяют их в 1 мл 0,4 % р-ра гидроксида натрия. К раствору (15-20 капель) добавляют равный объем дифениламинового реактива. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 15 минут. Освободившаяся при гидролизе дезоксирибоза реагирует с дифениламином и дает синее окрашивание.

Выводы:

Лабораторная работа № 28-29

Тема: Выделение ДНК и ее обнаружение методом ПЦР-анализа

Оборудование и реактивы: Термостат для пробирок типа Эппендорф ТЕРМО 24-15, Микроцентрифуга-вортекс ТЭТА-2, амплификатор АМПЛИ-4, УФ-бокс, Прибор для горизонтального электрофореза НИП-300, видеосистема «VITran» с компьютером для сканирования гелей, набор автоматических пипеток (дозаторов), буфер ЛБ, буфер ОБ-1, буфер ОБ-2, буфер ТЕ, сорбент, пробирки «ПЦР-ядро», ПЦР-растворитель, смесь праймеров, положительный контроль, буфер для электрофореза, агароза, бромистый этидий, краска-лидер.

Опыт 1: Выделение ДНК сои

ДНК определяли с помощью наборов реагентов «*ЛЕС-ПЦР ядро*» производства ООО «Компания Биоком» (Москва). Реагенты предназначены для специфической амплификации и детекции гена наиболее распространенного белка сои лектина.

Пробоподготовка

1. В пробирку вносили немного исследуемой пробы. Добавляли лизирующий буфер, а затем пробу гомогенизировать до однородного состояния.
2. Пробирку с полученным гомогенатом помещали в термостат на 40 мин при температуре 65°C.
3. Встряхивали содержимое на вортексе и затем центрифугировали при 10 тыс. оборотов в минуту. Надосадочную жидкость перенесли в чистую пробирку.
4. Добавляли в пробу сорбента и тщательно перемешивали, используя центрифугу на 10 тыс об/мин.
5. Надосадочную жидкость удаляли, а к осадку добавляли буфер ОБ-1 и центрифугировали при 2 тыс об/мин несколько секунд.
6. Надосадочную жидкость удаляли и вновь промывали выделенную ДНК.
7. Добавляли буфер ОБ-2 и вновь центрифугировали при 2 тыс об/мин, затем надосадочную жидкость удаляли.
8. Осадок сушили в термостате.
9. Добавляли к осадку буфер ТЕ, встряхивали на вортексе, помещали в термостат на 10 минут и центрифугировали при 10 тыс об/мин.
10. Надосадочную жидкость переносили в чистую пробирку.

Выводы:

6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ (САМОКОНТРОЛЯ) УСВОЕННОГО МАТЕРИАЛА

6.1 Оценочные средства, показатели и критерии оценивания компетенций

| Индекс компетенции | Оценочное средство | Показатели оценивания | Критерии оценивания сформированности компетенций |
|--------------------|------------------------------|---|---|
| ПК-2 | Отчет по лабораторной работе | Низкий уровень – неудовлетворительно «2» | ставится, если студент допустил 3-4 ошибки (в проведении лабораторной работы, в объяснении, в оформлении наблюдений и выводов, по технике безопасности), которые не исправляются даже по указанию преподавателя. |
| | | Пороговый уровень – удовлетворительно «3» | а) если студентом допущены одна-две существенные ошибки (в ходе эксперимента, в объяснении, в оформлении работы, по технике безопасности, в работе с веществами и приборами), которые исправляются с помощью преподавателя; б) подбор оборудования, объектов, материалов, а также работы по началу опыта провел с помощью преподавателя; в) в ходе проведения опыта и измерений были допущены ошибки в описании наблюдений, формулировании выводов; г) допускает грубую ошибку в ходе эксперимента (в объяснении, в оформлении работы, в соблюдении правил техники безопасности при работе с материалами и оборудованием), которая исправляется по требованию преподавателя. |

| | | | |
|------|---|--|---|
| | | Базовый уровень – хорошо «4» | а) работа выполнена правильно, без существенных ошибок, сделаны выводы; б) допустимы: неполнота проведения или оформления эксперимента, одна-две несущественные ошибки в проведении или оформлении эксперимента, в правилах работы с веществами и приборами. |
| | | Высокий уровень – отлично «5» | а) работа выполнена полно, научно грамотно, логично описаны наблюдения; правильно, без существенных ошибок, поставлена цель и сделаны выводы; б) эксперимент осуществлен по плану с учетом техники безопасности и правил работы с веществами и приборами; в) имеются организационные навыки (поддерживается чистота рабочего места и порядок на столе, экономно используются реактивы); г) в представленном отчете правильно и аккуратно выполнил все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления и правильно выполнил анализ погрешностей. |
| | Тест | Низкий уровень – до 60 баллов (неудовлетворительно) | за верно выполненное задание тестируемый получает максимальное количество баллов, предусмотренное для этого задания, за неверно выполненное – ноль баллов. После прохождения теста суммируются результаты выполнения всех заданий. Подсчитывается процент правильно выполненных заданий теста, после чего этот процент переводится в оценку, руководствуясь указанными критериями оценивания. |
| | | Пороговый уровень – 61-75 баллов (удовлетворительно) | |
| | | Базовый уровень – 76-84 баллов (хорошо) | |
| | | Высокий уровень – 85-100 баллов (отлично) | |
| ПК-2 | Устный и письменный опрос на лабораторном занятии | Низкий уровень – неудовлетворительно «2» | Студент обнаруживает незнание большей части соответствующего вопроса, допускает ошибки в формулировке определений, искажающие их смысл, беспорядочно и неуверенно излагает материал. Оценка «неудовлетворительно» отмечает такие недостатки в подготовке, которые являются серьезным препятствием к успешному овладению последующим материалом. |
| | | Пороговый уровень – удовлетворительно «3» | Студент обнаруживает знание и понимание основных положений вопроса, но: 1) излагает материал неполно и допускает неточности в определении понятий или формулировке правил; |

| | | | |
|---|--|---|--|
| | | | 2) не умеет достаточно глубоко и доказательно обосновать свои суждения и привести свои примеры; 3) излагает материал непоследовательно и допускает ошибки в языковом оформлении излагаемого. |
| | | Базовый уровень – хорошо «4» | 1) в ответе допущены малозначительные ошибки и недостаточно полно раскрыто содержание вопроса; 2) если допущено 1-2 недочета в последовательности и языковом оформлении излагаемого. |
| | | Высокий уровень – отлично «5» | 1) студент полно излагает материал, дает правильное определение основных понятий; 2) обнаруживает понимание материала, может обосновать свои суждения, применить знания на практике, привести необходимые примеры не только из учебника, но и самостоятельно составленные; 3) излагает материал последовательно и правильно с точки зрения норм литературного языка. |
| Самостоятельные письменные работы (серии) | | Низкий уровень – неудовлетворительно «2» | студент допустил число ошибок и недочетов превосходящее норму, при которой может быть выставлена оценка «3» |
| | | Пороговый уровень – удовлетворительно «3» | студент правильно выполнил не менее половины работы или допустил: не более двух грубых ошибок; или не более одной грубой и одной негрубой ошибки и одного недочета; или не более двух-трех негрубых ошибок; или одной негрубой ошибки и трех недочетов; или при отсутствии ошибок, но при наличии четырех-пяти недочетов. |
| | | Базовый уровень – хорошо «4» | студент выполнил работу полностью, но допустил в ней: не более одной негрубой ошибки и одного недочета или не более двух недочетов |
| | | Высокий уровень – отлично «5» | работа выполнена без ошибок, указаны все формулы, ферменты, протекающие реакции приведены полностью. |
| | | | |

6.2 Промежуточная аттестация студентов по дисциплине

Промежуточная аттестация является проверкой всех знаний, навыков и умений студентов, приобретённых в процессе изучения дисциплины. Формой промежуточной аттестации по дисциплине является экзамен.

Для оценивания результатов освоения дисциплины применяются следующие критерии оценивания.

Критерии оценивания устного ответа на экзамене

Оценка «5» (отлично) ставится, если студент:

1. полно раскрыто содержание материала билета;
2. материал изложен грамотно, в определенной логической последовательности, точно используется терминология;
3. показано умение иллюстрировать теоретические положения конкретными примерами, применять их в новой ситуации;
4. продемонстрировано усвоение ранее изученных сопутствующих вопросов, сформированность и устойчивость компетенций, умений и навыков;

5. ответ прозвучал самостоятельно, без наводящих вопросов;
6. допущены одна – две неточности при освещении второстепенных вопросов, которые исправляются по замечанию.
7. правильно решена расчетная задача.

Оценка «4» (хорошо) ставится, если:

ответ студента удовлетворяет в основном требованиям на оценку «5», но при этом имеет один из недостатков:

1. в изложении допущены небольшие пробелы, не искажившие содержание ответа;
2. допущены один – два недочета при освещении основного содержания ответа, исправленные по замечанию экзаменатора;
3. допущены ошибка или более двух недочетов при освещении второстепенных вопросов, которые легко исправляются по замечанию экзаменатора.
4. в расчетной задаче допущена ошибка.

Оценка «3» (удовлетворительно) ставится, если:

1. неполно или непоследовательно раскрыто содержание материала, но показано общее понимание вопроса и продемонстрированы умения, достаточные для дальнейшего усвоения материала;
2. имелись затруднения или допущены ошибки в определении понятий, использовании терминологии, исправленные после нескольких наводящих вопросов;
3. при неполном знании теоретического материала выявлена недостаточная сформированность компетенций, умений и навыков, студент не может применить теорию в новой ситуации.
4. решение расчетной задачи вызывает затруднения.

Оценка «2» (неудовлетворительно) ставится, если:

1. не раскрыто основное содержание учебного материала;
2. обнаружено незнание или непонимание большей или наиболее важной части учебного материала;
3. допущены ошибки в определении понятий, при использовании терминологии, которые не исправлены после нескольких наводящих вопросов.
4. не сформированы компетенции, умения и навыки.
5. расчетная задача не решена.

Вопросы к экзамену

1. Клетка – элементарная частица живого. Гиалоплазма – внутренняя среда клетки. Ее строение и свойства.
2. Минеральный обмен. Макро- и микроэлементы, их роль в обмене веществ.
3. Роль воды в живой природе.
4. Классификация липидов. Строение и биологическая роль.
5. Роль углеводов в живой природе. Классификация, строение и свойства
6. Аминокислоты. Строение. Классификация. Свойства. Биологическая роль.
7. Характеристика пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. Строение мононуклеотидов.
8. Современные представления о структуре нуклеиновых кислот. Первичная структура ДНК. Принцип комплементарности в строении ДНК. Биологическая роль.

Белки

9. Белки. Строение. Характеристика и биологическое значение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры.
10. Роль белков в построении живой материи и осуществлении процессов жизнедеятельности. Примеры. Элементарный состав и молекулярная масса белков. Сущность пептидной теории строения белка.
11. Физико-химические свойства белков. Белки – коллоиды, их амфотерные и буферные свойства. Изоэлектрическая точка белка. Диализ.

12. Понятие о нативном белке. Сущность процессов высаливания и денатурации.
13. Классификация белков. Строение и характеристика простых белков. Примеры.
14. Классификация сложных белков. Строение, характеристика и биологическая роль.
15. Сложные белки – хромопротеиды. Строение и свойства гемоглобина. Роль в обмене веществ. Изомеризация мультимерных белков.
16. Сложные белки – нуклеопротеиды. Сходство и различие нуклеиновых кислот. Их биологическая роль.
17. Строение и роль биологических мембран. Сложные белки липопротеиды.

Витамины

18. Витамины. Классификация. Их значение в обмене веществ. Примеры. Строение коферментной группы.
19. Витамин В₁. Строение ферментов декорбоксилаз. Значение в обмене веществ.
20. Витамин В₂. Участие в обмене веществ. Строение ФАД. Механизм действия.
21. Витамин РР. Участие НАД⁺ в обменных процессах.
22. Витамин С. Строение. Участие в обмене веществ.
23. Витамин А. Строение. Участие в обмене веществ. Каротины.
24. Витамин Е. Строение. Роль в обмене веществ.
25. Строение HS-КоА. Роль в обмене веществ.

Ферменты

26. Химическая природа ферментов. Примеры ферментов протеинов и протеидов.
27. Свойства ферментов: термолюбильность, зависимость действия от рН среды, специфичность, отличие от неорганических катализаторов. Регуляция активности ферментов.
28. Механизм действия ферментов. Примеры. Теория ферментативного катализа.
29. Коферменты. Строение и биологическая роль. Связь с витаминами. Примеры.
30. Классификация ферментов. Примеры. Механизм действия.
31. Флавиновые ферменты. Роль в тканевом дыхании. Строение коферментной группы ФАД. Механизм действия.
32. Характеристика декарбоксилазы. Строение и механизм действия. Биологическая роль.
33. Строение НАД⁺, механизм действия. Биологическая роль.
34. Строение простых ферментов. Строение и механизм действия лизоцима.

Гормоны

35. Гормоны. Классификация. Примеры, роль в организме. Простогландины.
36. Гормоны пептидной природы. Строение, механизм действия и роль в организме.
37. Стероидные гормоны. Примеры. Строение. Механизм действия и роль в организме.
38. Гормоны, производные аминокислот.
39. Взаимосвязь витаминов, гормонов и ферментов.

Обмен веществ и энергии

40. Круговорот веществ в природе. Закон сохранения материи и энергии. Приложение его к биологическому миру.
41. Макроэргические соединения.
42. Современные представления о биологическом окислении.
43. Синтез АТФ.
44. Развитие учения о биологическом окислении. Работы Баха, Палладина, роль работ академика Энгельгардта о связи биологического окисления с фосфорилированием. Строение внутренней мембраны митохондрий.
45. Переваривание углеводов по ходу ЖКТ. Характеристика ферментов, участвующих в гидролизе углеводов.
46. Переваривание жиров по ходу ЖКТ. Роль желчи в переваривании жиров. Строение желчных кислот.
47. Переваривание белков по ходу ЖКТ. Механизм действия гидролаз. Проферменты.
48. Гликолиз. Анаэробное окисление углеводов. Энергетический эффект.
49. Аэробное окисление углеводов. Энергетический эффект.

50. Обмен пировиноградной кислоты (ПВК). Пируватдегидрогеназный комплекс.
51. Строение гликогена. Синтез углеводов в печени. Участие УДФ в этом процессе.
52. Окисление глицерина в тканях. Энергетическая ценность окисления жиров.
53. Окисление высших карбоновых кислот в тканях (β -окисление).
54. Роль цикла Кребса в аэробном окислении.
55. Синтез высших жирных кислот, участие малонил-КоА. Строение и механизм действия синтетазы высших карбоновых кислот.
56. Синтез жира в стенке кишечника. Специфичность жиров. Резервный и протоплазматический жир.
57. Переаминирование. Сущность процесса.
58. Пути превращения аминокислот в организме. Синтез мочевины.
59. Значение ацетил-КоА в осуществлении перехода от углеводов к жирам, белкам и обратно.
60. Взаимосвязь между обменом белков, жиров и углеводов

Основы молекулярной биологии

61. Современные методы исследования: электрофорез, хроматография,
62. Современные методы исследования: ПЦР-анализ.
63. Строение хромосомы. Белки хроматина. Упаковка ДНК в хромосомах.
64. Строение нуклеиновых кислот.
65. Первичная структура ДНК. Строение мононуклеотидов.
66. Вторичная структура ДНК.
67. Строение и роль рРНК.
68. Строение и роль тРНК.
69. Строение и роль иРНК.
70. Строение и роль рибосом.
71. Виды переноса генетической информации.
72. Биосинтез ДНК.
73. Биосинтез РНК.
74. Созревание пре-мРНК.
75. Биосинтез белка.
76. Основные механизмы клеточной саморегуляции.
77. Регуляции синтеза белка.
78. Механизм действия гормонов пептидной природы.
79. Механизм действия стероидных гормонов.
80. Современные представления о природе гена. Концепция 1 ген \rightarrow 1 белок. Понятие об аллелях.
81. Мозаичная структура генома.
82. Генетический код.
83. Непостоянство генома.
84. Молекулярные основы мутаций.
85. Опухолевая трансформация клеток. Онкогены. Апоптоз.
86. Молекулярные механизмы самозащиты генетической системы клетки.
87. Репарация ДНК.
88. Подвижные элементы генома.
89. Нарушения экспрессии генов на различных уровнях как причина наследственных болезней.
90. Изоферменты, их роль в организме.

6.3 Оценочные средства для проверки уровня сформированности компетенции:

ПК-2

Тесты содержат следующие типы заданий

| Тип задания | № задания | Вес задания (балл) | Результат оценивания (баллы, полученные за выполнение задания / характеристика правильности ответа) |
|---|------------|--------------------|---|
| задания закрытого типа с выбором одного правильного (1 из 4) | 1, 2, 3 | 1 балл | 1 б - полное правильное соответствие; 0 б - остальные случаи |
| задания закрытого типа с выбором нескольких правильных ответов (3 из 6) | 4, 5, 6, 7 | 2 балла | 2 б – полное правильное соответствие (последовательность вариантов ответа может быть любой); 1 б – если допущена одна ошибка / ответ правильный, но не полный; 0 б – остальные случаи |
| задания закрытого типа на установление соответствия (4 на 4) | 8, 9 | 2 балла | 2 б – полное правильное соответствие; 1 б – если допущена одна ошибка / ответ правильный, но не полный; 0 б – остальные случаи |
| задание закрытого типа на установление последовательности | 10, 11 | 2 балла | 2 б – полное правильное соответствие; 1 б – если допущена одна ошибка / ответ правильный, но не полный; 0 б – остальные случаи |
| задания открытого типа с кратким ответом | 12, 13 | 3 балла | 3 б – полное правильное соответствие; 0 б – остальные случаи. |
| задания открытого типа с развернутым ответом | 14, 15 | 5 баллов | 5 б – полное правильное соответствие; если допущена одна ошибка/неточность / ответ правильный, но не полный - 3 балла; если допущено более одной ошибки / ответ неправильный / ответ отсутствует – 0 баллов |

| Формируемая компетенция | Индикаторы сформированности компетенции |
|---|--|
| ПК-2. Способен осуществлять педагогическую деятельность по профильным предметам (дисциплинам, модулям) в рамках программ основного общего и среднего общего образования | <ul style="list-style-type: none"> • ПК-2.1 Применяет основы теории фундаментальных и прикладных разделов биологии (ботаники, зоологии, микробиологии, генетики, биологии развития, анатомии человека, физиологии растений и животных, общей экологии, теории эволюции) для решения теоретических и практических задач; • ПК-2.2 Применяет основы теории фундаментальных и прикладных разделов химии (неорганической, аналитической, органической, физической, химии ВМС, химических основ биологических процессов, химической технологии) для решения теоретических и практических задач. |

Задание 1. Вазопрессин – это:

- Антибиотик, активный против пневмококков.
- Циклический декапептид.
- Продукт, образующийся при гидролизе белков.
- Гормон, стимулирующий сокращение гладких мышц кровеносных сосудов и регулирующий водный обмен.

Ответ: г

Задание 2. Каталаза ускоряет реакцию:

- а) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{A}$
- б) $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$
- в) $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- г) $\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$

Ответ: в

Задание 3. Гемоглобин – это белок, выполняющий:

- а) Регуляторную функцию.
- б) Транспортную функцию.
- в) Сократительную функцию.
- г) Структурную функцию.

Ответ: б

Задание 4. Укажите, какие типы связей поддерживают третичную структуру белка:

- а) Дисульфидные мостики
- б) Ионные связи
- в) Водородные связи
- г) Пептидные связи
- д) Ковалентные связи
- е) Гликозидные связи

Ответ: а, б, в

Задание 5. Какие функции выполняет гемоглобин?

- а) Транспорт O_2 из лёгких в ткани
- б) Транспорт H^+ из тканей в лёгкие
- в) Поддержание постоянства рН крови
- г) Транспорт CO_2 из лёгких в ткани
- д) Синтез гормонов
- е) Сократительная функция

Ответ а, б, в

Задание 6. Какие утверждения верны для ферментов?

- а) Являются катализаторами
- б) Избирательно взаимодействуют с веществами
- в) Уменьшают энергию активации реакции
- г) Изменяют свободную энергию реакции
- д) Не входят в состав мембран
- е) Всегда являются белками

Ответ а, б, в

Задание 7. Какие гормоны относятся к стероидным?

- а) Адреналин
- б) Андрогены
- в) Инсулин
- г) Кортизол
- д) Тестостерон
- е) Тироксин

Ответ: б, г, д

Задание 8. Установите соответствие между классами ферментов и реакциями:

1. Оксидоредуктазы : Окислительно-восстановительные
2. Гидролазы : Гидролитического распада
3. Трансферазы : Переноса функциональных групп
4. Изомеразы : Взаимопревращения субстратов

Задание 9. Установите соответствие между витаминами и заболеваниями:

1. Витамин В₁ : Бери-бери
2. Витамин С : Цинга
3. Витамин D : Рахит
4. Витамин РР : Пеллагра

Задание 10. Установите последовательность этапов каталитического действия фермента:

- 1) Присоединение субстрата к активному центру
- 2) Образование фермент-субстратного комплекса
- 3) Изменение конформации субстрата
- 4) Завершение реакции и освобождение продукта

Задание 11. Установите последовательность формирования структур белка:

- 1) Первичная структура
- 2) Вторичная структура
- 3) Третичная структура
- 4) Нативная конформация

Задание 12. Какой заряд имеет пептид Глу – Лиз – Вал – Асп при рН 7,0?

Ответ: 0

Задание 13. Сколько молекул АТФ образуется при аэробном окислении одной молекулы глюкозы?

Ответ: 36–38 молекул АТФ

Задание 14. Опишите роль ферментов в биохимических реакциях. Чем они отличаются от небелковых катализаторов?

Пример ответа: Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы, которые ускоряют химические реакции в клетке, снижая энергию активации. Они обладают высокой специфичностью, работают в мягких условиях (температура, рН), регулируются аллостерическими механизмами. В отличие от неорганических катализаторов, ферменты подвержены денатурации и работают в узком диапазоне условий.

Задание 15. Объясните, как нарушения структуры белка влияют на его функцию. Приведите примеры.

Пример ответа: Нарушение структуры белка (денатурация) приводит к потере его биологической функции. Например, при нагревании белок теряет третичную структуру, что приводит к инактивации ферментов. Мутации в первичной структуре гемоглобина вызывают серповидноклеточную анемию, нарушая транспорт кислорода.

7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ

Информационные технологии – обучение в электронной образовательной среде с целью расширения доступа к образовательным ресурсам (теоретически к неограниченному объему и скорости доступа), увеличения контактного взаимодействия с преподавателем, построения индивидуальных траекторий подготовки и объективного контроля и мониторинга знаний студентов.

В образовательном процессе по дисциплине используются следующие информационные технологии, являющиеся компонентами Электронной информационно-образовательной среды БГПУ:

- Официальный сайт БГПУ;
- Система электронного обучения ФГБОУ ВО «БГПУ»;
- Электронные библиотечные системы;
- Мультимедийное сопровождение лекций и практических занятий.
- Мультимедийная обучающая программа «Биохимия с упражнениями и задачами» (электронное приложение к учебнику «Биохимия»: учебник для вузов / под ред. Е. С. Северина. – 3-е изд., испр.– М. : ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 779 с.).

8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ

При обучении лиц с ограниченными возможностями здоровья применяются адаптивные образовательные технологии в соответствии с условиями, изложенными в разделе «Особенности реализации образовательной программы для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья» основной образовательной программы (использование специальных учебных пособий и дидактических материалов, специальных технических средств обучения коллективного и индивидуального пользования, предоставление услуг ассистента (помощника), оказывающего обучающимся необходимую техническую помощь и т. п.) с учётом индивидуальных особенностей обучающихся.

9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ

9.1 Литература

1. Биохимические основы жизнедеятельности человека: учеб. пособие для студ. вузов / [Ю.Б. Филиппович и др.]. – М. : Владос, 2005. - 404, [4] (84 экз).
2. Коничев, А. С. Молекулярная биология: учебник для студ. вузов, обучающихся по спец. "Биология" / А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова. – 2-е изд., испр. – М.: Академия, 2005. – 396 с. (93 экз.).
3. Иваченко Л. Е. Введение в молекулярную биологию / Л. Е.Иваченко, С. И. Лаврентьева; ФГБОУ ВО БГПУ. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2016. – 108 с. (15 экз.).
4. Иваченко, Л. Е. Современные методы исследования в молекулярной биологии и биотехнологии – учебное пособие / Л. Е. Иваченко, С. И. Лаврентьева. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2017. – 120 с. (15 экз.).
5. Биологическая химия: учеб. пособие для студ. вузов / [Ю. Б. Филиппович [и др.]]; под ред. Н. И. Ковалевской. – М.: Академия, 2009. – 254 с. (5 экз.)
6. Коничев, А. С. Основные термины молекулярной биологии : учеб. пособие для студ. вузов / А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова. – М.: КолосС, 2006. – 187 с. (5 экз.).
7. Кунижев, С. М. Краткий словарь биохимических терминов / С. М. Кунижев. – М.: Вузовская книга, 2005. – 85 с. (5 экз)
8. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие / В. В. Рогожин. – СПб.: Лань, 2006. – 256 с. (5 экз).

9.2 Базы данных и информационно-справочные системы

1. Федеральный портал «Российское образование» – <http://www.edu.ru>.
2. Портал Электронная библиотека: диссертации – <http://diss.rsl.ru/?menu=disscatalog>.
3. Портал научной электронной библиотеки – <http://elibrary.ru/defaultx.asp>.
4. Сайт о химии <http://www.xumuk.ru/>
5. Популярная библиотека химических элементов
<https://web.archive.org/web/20161021151915/http://n-t.ru/ri/ps/>
6. Электронная библиотека МГУ по химии <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/>

9.3 Электронно-библиотечные ресурсы

1. Polpred.com Обзор СМИ/Справочник <http://polpred.com/news>.
2. ЭБС «Юрайт» <https://urait.ru>.

10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА

Для проведения занятий лекционного и семинарского типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации используются аудитории, оснащённые учебной мебелью, аудиторной доской, компьютером(рами) с установленным лицензионным специализированным программным обеспечением, коммутатором для выхода в электронно-библиотечную систему и электронную информационно-образовательную среду БГПУ, мультимедийными проекторами, экспозиционными экранами, учебно-наглядными пособиями (таблицы, мультимедийные презентации). Для проведения лабораторных занятий также используется **Учебная лаборатория биологической химии**, укомплектованная следующим оборудованием:

- Комплект аудиторной мебели
- Комплект столов лабораторных
- Пюпитр
- Аудиторная доска
- Компьютер с установленным лицензионным специализированным программным обеспечением
- Мультимедийный проектор
- Экспозиционный экран
- Вертикальная камера для электрофореза (1 шт.)
- КФК-2 (1 шт.)
- Облучатель бактериологический (1 шт.)
- Одноканальная пипетка (4 шт.)
- Весы для уравнивания пробирок (1 шт.)
- Весы лабораторные ЕК-410 (1 шт.)
- Микроскоп «Биолам» (1 шт.)
- Прибор для гельэлектрофореза (2 шт.)
- Термостат (2 шт.)
- Фотоэлектроколориметр (1 шт.)
- Хроматограф (1 шт.)
- Центрифуга (2 шт.)
- Поляриметр (1 шт.)
- Секундомер (1 шт.)
- Спектрофотометр ПЭ- 5400УФ (1 шт.)
- Холодильник LG Electronics (1 шт.)
- Водяная баня (1 шт)
- Сушильный шкаф (1 шт)
- Вытяжной шкаф (1 шт)
- Люксометр (1шт)
- рН-метр (1 шт)
- Прибор для определения удельной активности каталаз газометрическим методом (1 шт)
- Штативы для пробирок, химическая посуда и нагревательные приборы
- Химические реактивы по тематике лабораторных работ
- Учебно-наглядные пособия, мультимедийные презентации по учебной дисциплине.

Используется также **Лаборатория экологической биохимии и биотехнологии**, укомплектованная следующим оборудованием:

- Амплификатор «AMPLY-4» (2 шт)
- Весы HR-60 (аналитические) (1 шт)
- Видеосистема для регистрации агарозных гелей (1 шт)
- Компьютер (2 шт)
- Настольная центрифуга (2шт)
- Облучатель бактерицидный ОББ-92 У с ламп. (4 шт)
- Облучатель ОБН(2шт)
- Одноканальная пипетка (6 шт)
- Принтер (1 шт)
- МФУ RICOH (1 шт)
- Центрифуга / вортекс ТЕТА 2 (3 шт)
- Источник напряжения для электрофореза (1 шт)
- Набор для обнаружения ДНК лектина ЛЕС ПЦР-ядро. (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК NOS ПЦР-ядро (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК 35 S ПЦР-ядро (1 шт)
- Холодильный агрегат ПГИЖ. 697411.001-01 (1 шт)
- Холодильник «Морозко 3» (1 шт)
- Холодильник (1 шт)
- Термостат TERMO (1 шт).
- Прибор для вертикального электрофореза с охлаждением BIO-RED PROTEAN II-xi Cell (1 шт)
 - Прибор для горизонтального электрофореза (1шт)
 - Система «ViTran Photo»

Самостоятельная работа студентов организуется в аудиториях оснащенных компьютерной техникой с выходом в электронную информационно-образовательную среду вуза, в специализированных лабораториях по дисциплине, а также в залах доступа в локальную сеть БГПУ, в лаборатории психолого-педагогических исследований и др.

Используемое программное обеспечение: Microsoft®WINEDUperDVC AllLng Upgrade/SoftwareAssurancePack Academic OLV 1License LevelE Platform 1Year; Microsoft®OfficeProPlusEducation AllLng License/SoftwareAssurancePack Academic OLV 1License LevelE Platform 1Year; Dr.Web Security Suite; Java Runtime Environment; Calculate Linux.

Разработчик: Иваченко Л.Е., доктор биологических наук, профессор кафедры химии.

11 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2026/2027 уч. г.

Рабочая программа дисциплины пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2026/2027 учебном году на заседании кафедры (протокол № ____ от ____ 2026 г.). В РПД внесены следующие изменения и дополнения:

| | |
|--------------------------|-----------|
| № изменения: | |
| № страницы с изменением: | |
| Исключить: | Включить: |
| | |