

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**Навчально-науковий центр
«Інститут біології та медицини»
кафедра біохімії**

Т.Галенова, О.Костюк, Н.Нужина, Т.Коваль, Т.Андрійчук, Л.Остапченко

БІОХІМІЯ

РОБОЧИЙ ЗОШИТ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ

**Навчально-методичний посібник
для студентів II курсу
спеціальностей «Біологія» та «Біотехнології та біоінженерія»**

Затверджено на засіданні Вченої ради
ННЦ «Інститут біології та медицини»
протокол №1 від 31 серпня 2022 р.
Голова Вченої ради д.б.н., проф. Остапченко Л.І

Київ-2022

ЗМІСТ

Правила техніки безпеки.....	4
Тема 1: Основні класи органічних сполук: структура і функції (контроль вихідного рівня знань).....	6
Тема 2: Травлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті, механізми всмоктування та транспорту вуглеводів у клітини. Анаеробне перетворення глюкози – гліколіз. Реакції бродіння.....	19
<i>Лабораторна робота 1.</i> Визначення активності α -амілази у біологічних рідинах (по Каравею) із використанням набору реактивів.....	25
Тема 3: Глюконеогенез. Пентозофосфатний шлях.....	27
<i>Лабораторна робота 2.</i> Визначення глюкози у біологічних рідинах глюкозооксидазним методом.....	34
Тема 4: Аеробне перетворення вуглеводів. Цикл Кребса. Дихальний ланцюг та окисне фосфорилування.....	36
<i>Лабораторна робота 3.</i> Вивчення дії сукцинатдегідрогенази.....	43
Тема 5: Катаболізм та біосинтез глікогену. Регуляція обміну глікогену.....	45
<i>Лабораторна робота 4.</i> Визначення активності ізоферментних форм лактатдегідрогенази ЛДГ1, ЛДГ2, як α -гідроксибутиратдегідрогенази (кінетичний УФ метод).....	51
Тема 6: Гідроліз ліпідів в ШКТ, механізми всмоктування та транспорту в клітини. Ліпопротеїни крові. Катаболізм вищих жирних кислот.....	53
<i>Лабораторна робота 5.</i> Вплив жовчі на активність ліпази триацилгліцеролів..	62
Тема 7: Біосинтез насичених і ненасичених жирних кислот. Біосинтез триацилгліцеролів та гліцерофосфоліпідів.....	64
<i>Лабораторна робота 6.</i> Кількісне визначення кетонів у сечі.....	70
Тема 8: Метаболізм сфінголіпідів. Біосинтез холестеролу.....	72
<i>Лабораторна робота 7.</i> Визначення холестеролу у сироватці і плазмі крові ферментативним методом.....	77
Тема 9: Гідроліз білків в ШКТ, механізми всмоктування амінокислот в клітини. Трансамінування, дезамінування, декарбоксилювання амінокислот.....	79
<i>Лабораторна робота 8.</i> Визначення активності аланінамінотрансферази у сироватці крові (метод Райтмана-Френкеля).....	85
<i>Лабораторна робота 9.</i> Визначення активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові (метод Райтмана-Френкеля).....	87
Тема 10: Обмін аміаку в організмі людини. Детоксикація аміаку. Синтез сечовини. Обмін окремих амінокислот.....	89
<i>Лабораторна робота 10.</i> Визначення сечовини у біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом.....	95
Тема 11: Гідроліз нуклеїнових кислот у ШКТ. Обмін нуклеотидів: розпад та біосинтез пуринів та піримідинів.....	97

<i>Лабораторна робота 11. Визначення сечової кислоти у біологічних рідинах.</i>	104
Тема 12: Реплікація ДНК. Молекулярні механізми мутацій та репарації ДНК. Транскрипції РНК.....	106
Тема 13: Біосинтез білка на рибосомах. Етапи, механізм та регуляція трансляції..	114
<i>Лабораторна робота 12. Визначення співвідношення білкових фракцій сироватки крові.....</i>	121
Тема 14: Молекулярні механізми проведення регуляторних сигналів. Вторинні месенджери.....	124
<i>Лабораторна робота 13. Кількісне визначення адреналіну методом Фоліна....</i>	132
Тема 15: Гормони та медіатори.....	134
<i>Лабораторна робота 14. визначення неорганічного фосфору у біологічних рідинах (без депротейнування).....</i>	139
Рекомендована література.....	141

ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

при роботі студентів в учбовій лабораторії

1. В учбовій лабораторії категорично забороняється працювати самостійно, а також потрібно утримуватися від перебування в приміщенні, де працює інша група.

2. Під час перебування в учбовій лабораторії студенти зобов'язані виконувати лише ту діяльність, яка передбачена планом заняття. Категорично забороняються будь-які види активності, які не були попередньо узгоджені та схвалені викладачем або відповідальним персоналом лабораторії (лаборантом).

3. Під час виконання лабораторної роботи необхідно постійно підтримувати порядок на робочому місці та не залишати без нагляду як свої речі, так і учбовий інвентар, який був наданий вам на час виконання лабораторної роботи.

4. Перед тим як приступити до виконання роботи, уважно ознайомтесь із метою завдання та послідовністю виконання експериментальної роботи, а також вивчіть властивості хімічних речовин, використання яких передбачено у відповідній роботі.

5. Під час виконання дослідів особливо уважним необхідно бути при роботі з обладнанням та реактивами:

- при використанні хімічних речовин звертайте увагу на напис на етикетці, а у разі сумніву звертайтеся за допомогою до викладача або лаборанта;
 - хімічні речовини необхідно використовувати в такій кількості та концентрації, які вказані в методичній літературі;
 - для відтворення хімічних реакцій необхідно використовувати такий лабораторний посуд та обладнання, які вказані в методичній літературі;
 - умови виконання експерименту можуть бути змінені лише у разі отримання відповідних вказівок від викладача або лаборанта;
 - при використанні газових або спиртових пальників, рідину в пробірці необхідно прогрівати поступово, спрямовуючи отвір пробірки в напрямку від себе і осіб, які знаходяться поруч. Категорично забороняється заглядати або нахилитися над пробіркою, в якій кипить рідина. Пам'ятайте, що внаслідок перегріву може відбутися викид рідини;
 - категорично забороняється пробувати на смак будь-які хімічні речовини, а також пити з лабораторного посуду. Нюхати речовини у лабораторії потрібно спрямовуючи до себе пари рухом руки;
 - пам'ятайте, що дослід з леткими речовинами проводиться виключно у витяжній шафі;
 - усі дослід, що передбачають використання легкозаймистих речовин (бензол, ефір, спирт тощо), необхідно проводити на відстані від відкритого полум'я і лише у витяжній шафі;
 - при змішуванні концентрованих кислот і води, пам'ятайте: кислоту слід додавати у воду по краплинах, весь час перемішуючи розчин. Майте на увазі, що при розчиненні сульфатної кислоти відбувається нагрівання розчину;
 - розлиті розчини кислот та лугів необхідно засипати піском або нейтралізувати, і лише після цього проводити прибирання.

6. Відразу ж повідомляйте викладача або лаборанта про найменші відхилення від плану заняття та помічені порушення правил безпеки.

7. По закінченню виконання лабораторної роботи необхідно привести в порядок своє робоче місце, вимити посуд. Пам'ятайте, що виливати у загальну каналізацію розчини хімічних реагентів категорично забороняється. Після приведення робочого місця в належний стан, повідомте викладача або лаборанта про закінчення роботи, підпишіть зошит з протоколом заняття і лише після цього ви можете залишити лабораторію.

СУВОРО ЗАБОРОНЯЄТЬСЯ:

1. Залишатися працювати в лабораторії одному.
2. Виконувати експериментальну роботу без наявності спецодягу (лабораторного халату).
3. Їсти, пити та порушувати дисципліну у приміщенні лабораторії.
4. Виконувати експериментальну роботу, не ознайомившись попередньо з деталями ходу роботи та правилами роботи з відповідним обладнанням та матеріалами.
5. Самостійно вносити будь-які зміни у хід експерименту.
6. Вмикати силові та освітлювальні рубильники без дозволу.
7. Проводити роботи з леткими хімічними речовинами у лабораторіях, які не оснащені витяжною шафою, підключеною до загальної вентиляційної мережі.
8. Залишати без догляду запалені газові/спиртові пальники та інші нагрівальні прилади.
9. При використанні скляних піпеток, засмоктувати рідину ротом.
10. Пробувати та смак хімічні реактиви, пити з хімічного посуду.

НЕАКУРАТНІСТЬ, НЕУВАЖНІСТЬ, НЕДОСТАТНЄ ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ХОДОМ ЕКСПЕРИМЕНТУ, ПРАВИЛАМИ РОБОТИ З ПРИЛАДАМИ ТА ВЛАСТИВОСТЯМИ РЕЧОВИН, А ТАКОЖ ПРАВИЛАМИ ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ МОЖЕ ПРИВЕСТИ ДО НЕЩАСНИХ ВИПАДКІВ !!!

ПРИ ВИНИКНЕННІ АВАРІЙНОЇ СИТУАЦІЇ необхідно негайно відключити всі споживачі від джерел живлення; повідомити про те що сталося викладача та лаборантів. Якщо сталася пожежа, приступити до її гасіння наявними засобами пожежогасіння. Якщо є потерпілі, надавати їм першу медичну допомогу; при необхідності викликати невідкладну допомогу, зателефонувавши за номером «103».

НАДАННЯ ПЕРШОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ:

Перша допомога при ураженні електричним струмом. При ураженні електричним струмом необхідно негайно звільнити потерпілого від дії електричного струму, відключивши електроустановку від джерела живлення, а при неможливості відключення – відтягнути його від струмоведучих частин за одяг, застосувавши підручний ізоляційний матеріал. Негайно викликати швидку медичну допомогу.

Перша допомога при кровотечі. Для того, щоб зупинити кровотечу необхідно: підняти поранену кінцівку; кровоточиву рану закрити стерильним перев'язочним матеріалом, за відсутності останнього, для перев'язки можна використати чисту носову хустинку, шматок бавовняної тканини, тощо. Поверх пов'язки під деяким натиском накласти бинт. При сильній кровотечі необхідно перетиснути ушкоджену судину за допомогою згинання кінцівок у суглобах, а також пальцями або джгутом. За необхідності терміново викликати лікаря.

Перша допомога при хімічних опіках. При потраплянні концентрованої кислоти або лугу на шкіру та слизові оболонки очей/ротової порожнини, ушкоджені ділянки необхідно ретельно промити водою, після чого пошкоджену поверхню обробити 5% розчином соди (у разі кислотного опіку) або 1-3% розчином борної/оцтової кислоти (у разі лужного опіку).

Перша допомога при теплових опіках. При опіках вогнем, парою, гарячими предметами ні в якому разі не можна порушувати цілісність пухирів, які утворилися, та перев'язувати опіки бинтом. При опіках першого та другого ступенів обпечене місце слід обробити ватою, змоченою етиловим спиртом, 3% марганцевим розчином або 5% розчином таніну. При опіках третього ступеня, що передбачає більш глибоке ушкодження тканин шкіри, рану необхідно накрити стерильною пов'язкою та викликати лікаря.

Перша допомога при газовому отруєнні. При отруєнні парами шкідливих хімічних речовин людину слід негайно вивести на свіже повітря. При послабленому диханні проводять штучне дихання. Потерпілому слід дати велику кількість молока та забезпечити спокій.

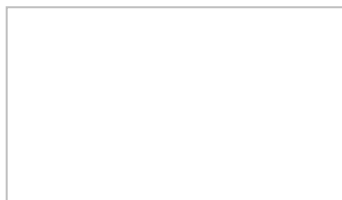
Тема 1. ОСНОВНІ КЛАСИ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК: СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ (КОНТРОЛЬ ВИХІДНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ)

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

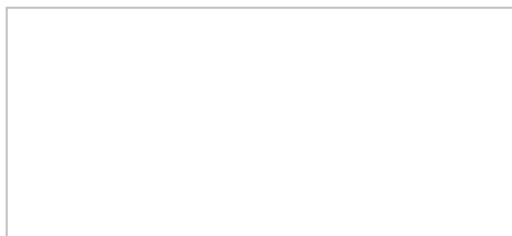
- Загальні поняття органічної хімії:
 - Полярність, гідрофобність і гідрофільність органічних молекул.
 - Кислотні, основні й амфотерні властивості органічних молекул.
 - Функціональні групи у складі органічних молекул та пов'язані з ними фізико-хімічні властивості. Реакція естерифікації.
- Структура та біологічне значення окремих класів органічних речовин:
 - Класифікації та властивості моносахаридів, олігосахаридів і полісахаридів.
 - Загальні уявлення про ліпіди та їх класифікацію. Біологічна роль різних класів ліпідів. Біологічні мембрани та види мембранного транспорту.
 - Класифікації та властивості α -амінокислот. Характеристики пептидного зв'язку. Механізм утворення пептидного зв'язку. Рівні структурної організації білкових молекул.
 - Нуклеозиди, нуклеотиди, нуклеїнові кислоти: особливості структури і складу.
- Загальні закономірності ферментативного каталізу. Молекулярна організація та біологічне значення ферментів.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

Схематично зобразіть структуру молекули води. Коротко поясніть ключові характеристики, що визначають унікальні властивості води (вказіть основні з них):



Схематично зобразіть взаємодію молекул води між собою. Поясніть механізм утворення, властивості та біологічне значення водневого зв'язку:



Дайте визначення наступним термінам:

1. ГІДРОФІЛЬНІСТЬ: _____

2. ГІДРОФОБНІСТЬ: _____

3. АМФОТЕРНІСТЬ: _____

 Поясніть природу та біологічне значення такого явища як **ГІДРОФОБНИЙ ЕФЕКТ**:

 Доповніть таблицю «Загальна характеристика основних функціональних груп, що зустрічаються у складі біологічно важливих молекул»:

Назва	Загальна структурна формула	Назва класу сполук	Характерні властивості та приклади сполук
<i>гідроксильна</i>			
<i>карбоксильна</i>			
<i>карбонільна</i>			
<i>аміно-</i>			
<i>естерна</i>			
<i>амідо-</i>			

 Дайте визначення реакції естерифікації: _____

 Схематично зобразіть загальний принцип реакції:

1. ВУГЛЕВОДИ

 Вкажіть основні біологічні функції вуглеводів:

1. _____
2. _____
3. _____

 Доповніть таблицю «Загальна характеристика моносахаридів»:

Назва	Емпірична та структурна формули	Клас моносахаридів	Загальні властивості та функції
<i>Рибоза</i>			
<i>Дезокси-рибоза</i>			
<i>Глюкоза</i>			
<i>Фруктоза</i>			

 Дайте визначення наступним термінам:

1. *ІЗОМЕРИ*: _____

2. *ЕНАНТІОМЕРИ*: _____

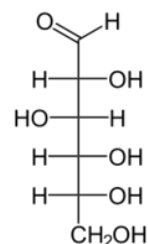
3. *ДІАСТЕРЕОМЕРИ*: _____

4. *ЕПІМЕРИ*: _____

5. *АНОМЕРИ*: _____

✍ Використовуючи лінійну формулу глюкози, виконайте наступні завдання:

1. Позначте у складі молекули глюкози асиметричні атоми вуглецю (C*);
2. Розрахувати кількість можливих стереоізомерів для глюкози: ____;
3. Вкажіть, який з ізомерів глюкози зображено на рисунку (L чи D): ____;
4. Використовуючи наведену формулу глюкози, у пустих боксах нижче зобразіть відповідні ізомери даної молекули:



енантиомер	діастереомер	4-енімер	циклічна формула (β-аномер)

✍ Використовуючи наведені структурні формули моносахаридів – глюкози (Glc), фруктози (Fru), галактози (Gal) – утворіть молекулу трисахариду, яка б відповідала структурі: $\text{Glc}(\beta 1 \rightarrow 4)\text{Gal}(\alpha 1 \rightarrow 4)\text{Fru}$.

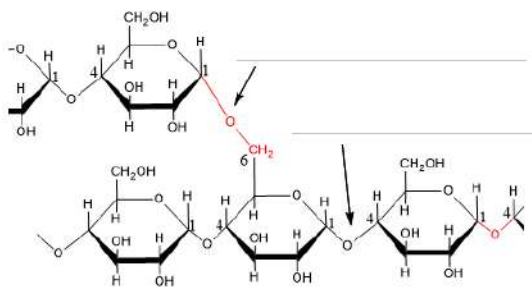
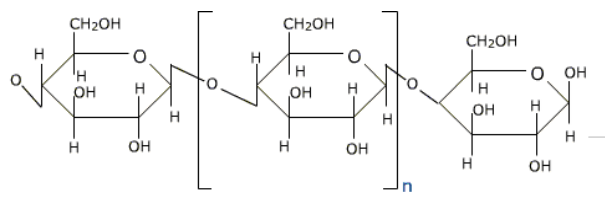
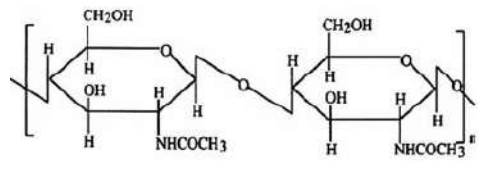
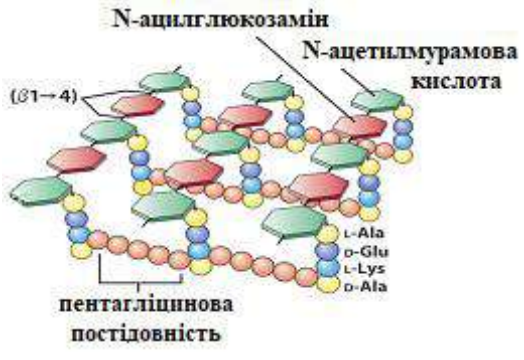
Зобразіть структуру отриманого трисахариду у боксі нижче.



✍ Доповніть таблицю «Біологічно важливі дисахариди»:

Назва	Структурна формула	Мономери	Назва зв'язку

✎ Доповніть таблицю «Біологічно важливі полісахариди»:

Назва	Особливості структури: мономери, природа зв'язку між мономерами	Властивості та біологічне значення
Глікоген		
Крохмаль	Амілоза: Амілопектин:	
Целюлоза		
Хітин		
Муреїн		

2. ЛІПІДИ

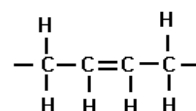
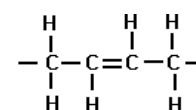
✎ Вкажіть основні біологічні функції ліпідів:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

✎ Доповніть таблицю «Структура та властивості вищих жирних кислот (ВЖК)»:

Тип ВЖК		Будова	Фізико-хімічні властивості	Приклади
<i>Насичені</i>				
<i>Ненасичені</i>	<i>Моно-ненасичені</i>			
	<i>Полі-ненасичені</i>			

✎ Порівняйте структуру та біологічне значення цис- та транс-ізомерів ВЖК:



✎ У полі нижче зобразіть реакції поетапного приєднання ВЖК до молекули гліцеролу. Дайте назву продуктам реакції на кожному етапі:

 Доповніть таблицю «Структура та функції основних класів ліпідів»:

Клас	Структурна формула	Біологічне значення	Приклади
<i>Триацилгліцери</i>			
<i>Гліцерофосфоліпіди</i>			
<i>Сфінголіпіди</i>			
<i>Стероїди</i>			

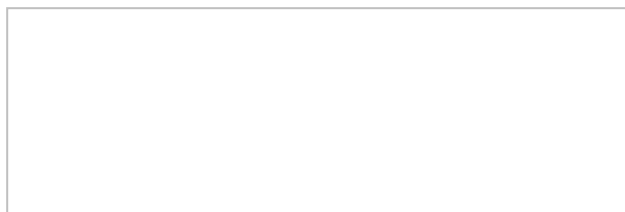
3. БІЛКИ

✍ Вкажіть біологічні функції білків (з прикладами):

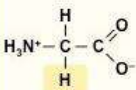
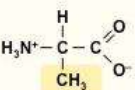
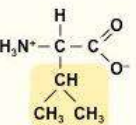
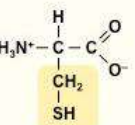
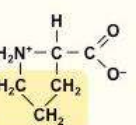
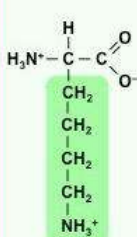
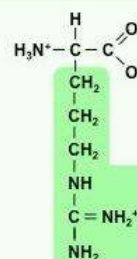
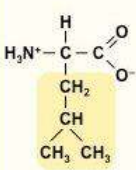
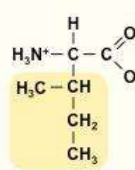
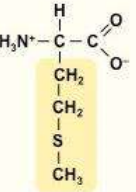
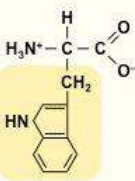
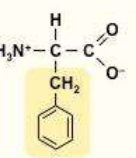
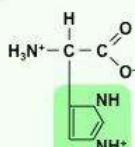
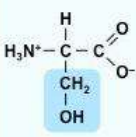
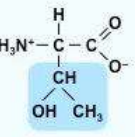
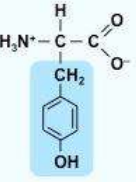
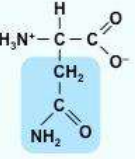
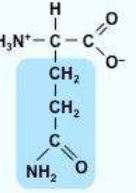
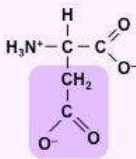
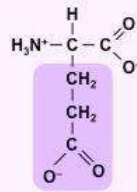
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

✍ Зобразіть загальну структурну формулу амінокислот. Вкажіть назви структурних елементів молекули:

- _____
- _____
- _____
- _____



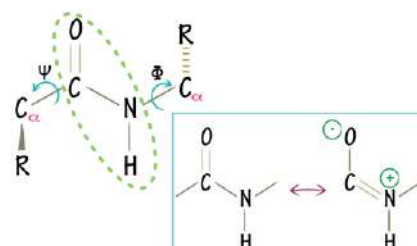
✍ Проаналізуйте структури 20 природних амінокислот та вкажіть групи, на які їх можна класифікувати:

1. _____					3. _____	
 Гліцин (Gly / G)	 Аланін (Ala / A)	 Валін (Val / V)	 Цистеїн (Cys / C)	 Пролін (Pro / P)	 Лізін (Lys / K)	 Аргінін (Arg / R)
 Лейцин (Leu / L)	 Ізолейцин (Ile / I)	 Метіонін (Met / M)	 Триптофан (Trp / W)	 Фенілаланін (Phe / F)	 Гістидин (His / H)	
2. _____					4. _____	
 Серин (Ser / S)	 Треонін (Thr / T)	 Тирозин (Tyr / Y)	 Аспарагін (Asn / N)	 Глутамін (Gln / Q)	 Аспарагінова кислота (Asp / D)	 Глутамінова кислота (Glu / E)

✍ Напишіть реакцію утворення пептидного зв'язку між наведеними амінокислотами:

1) лізин та серин	2) глутамін та пролін

✍ Опишіть властивості пептидного зв'язку:



✍ Доповніть таблицю «Рівні організації білкових молекул»:

	Первинна	Вторинна		Третинна	Четвертинна
Визначення					
Схематичне зображення структури		α -спіраль	β -складка		
Зв'язки, що беруть участь в стабілізації структури					

✍ Дайте визначення терміну «ДЕНАТУРАЦІЯ БІЛКА». Наведіть приклади денатуруючих агентів:

4. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

✎ Вкажіть біологічні функції нуклеїнових кислот та вільних нуклеотидів (з прикладами):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

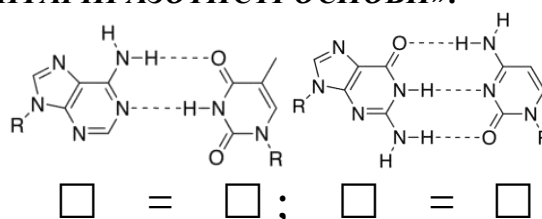
✎ Зобразіть загальну структурну формулу мономера нуклеїнових кислот. Вкажіть основні структурні елементи молекули:

1. _____
2. _____
3. _____

✎ Схематично зобразіть структуру циклічного нуклеотиду (наприклад, 3',5'-цикло-АМФ) та поясніть біологічне значення цих сполук:

✎ Відобразіть реакцію утворення зв'язку між двома вільними нуклеотидами. Вкажіть назву зв'язку, а також 3'- та 5'-кінці в утвореному динуклеотиді:

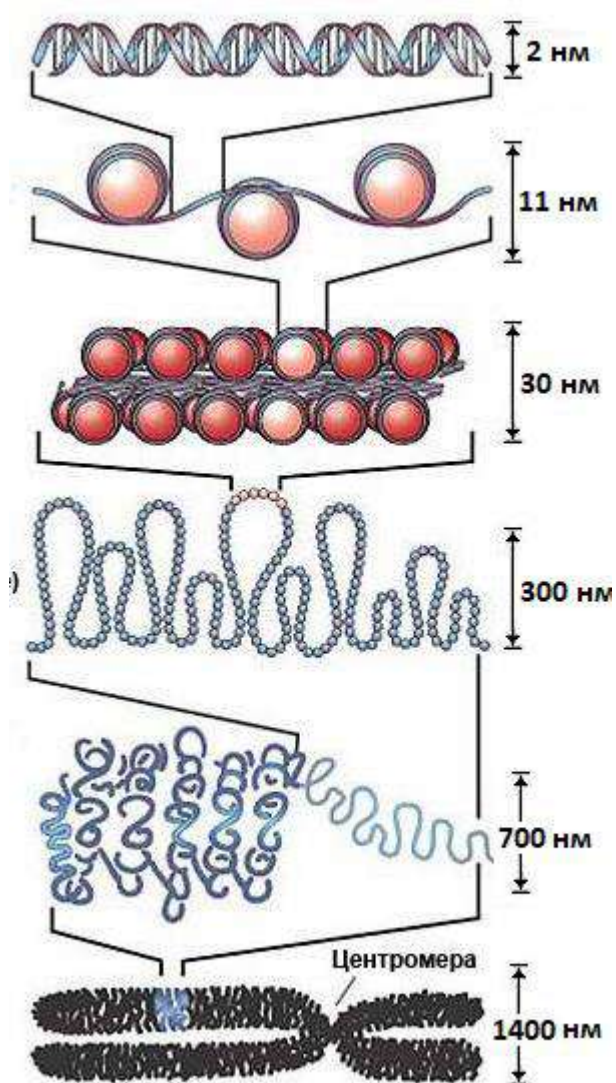
✎ Дайте визначення терміну «КОМПЛЕМЕНТАРНІ АЗОТИСТІ ОСНОВИ»:



✍ Довніть таблицю «Загальна характеристика нуклеїнових кислот»:

	ДНК	РНК		
Пентоза				
Азотисті основи				
Вторинна структура				
Функції		мРНК (іРНК)	рРНК	тРНК

✍ Коротко опишіть послідовність укладки молекули ДНК в компактну структуру – хроматин. Опишіть різницю між термінами «хроматин» / «хромосома»:



1. ділянка подвійної спіралі ДНК

2. нуклеосомний рівень

3. соленоїд

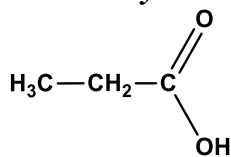
4. петельна структура

5. ділянка конденсованого хроматину

6. метафазна хромосома

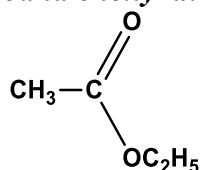
ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

До якого класу біомолекул належить дана сполука:



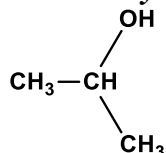
- ☐ Спирти
- ☐ Аміни
- ☐ Кетони
- ☐ Карбонові кислоти
- ☐ Складні ефіри

До якого класу біомолекул належить дана сполука:



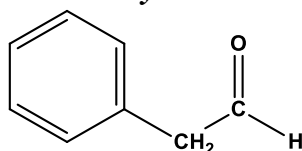
- ☐ Складні ефіри
- ☐ Карбонові кислоти
- ☐ Спирти
- ☐ Прості ефіри
- ☐ Альдегіди

До якого класу біомолекул належить дана сполука:



- ☐ Карбонові кислоти
- ☐ Спирти
- ☐ Альдегіди
- ☐ Феноли
- ☐ Складні ефіри

До якого класу біомолекул належить дана сполука:



- ☐ Карбонові кислоти
- ☐ Спирти
- ☐ Альдегіди
- ☐ Прості ефіри
- ☐ Складні ефіри

Визначте, яку конфігурацію мають більшість природних моносахаридів:

- ☐ A
- ☐ B
- ☐ D
- ☐ L
- ☐ Z

Оберіть складові, які входять до структури сахарози:

- ☐ глюкопіраноза та глюкопіраноза
- ☐ глюкопіраноза та глюкофураноза
- ☐ глюкопіраноза та фруктофураноза
- ☐ глюкофураноза та фруктопіраноза
- ☐ фруктофураноза та фруктофураноза

Визначте, які з перерахованих характеристик притаманні крохмалю:

- ☐ олігосахарид
- ☐ основний резервний вуглевод тварин
- ☐ основний резервний вуглевод рослин
- ☐ полісахарид
- ☐ лінійний
- ☐ має галузнення
- ☐ солодкий на смак вуглевод
- ☐ продукт полімеризації галактози
- ☐ при нагріванні у воді утворює клейстер

Визначте, яка з перерахованих характеристик притаманна хітину:

- ☐ гетерополісахарид
- ☐ лінійний полісахарид
- ☐ входить до складу вищих рослин
- ☐ солодкий на смак
- ☐ складається із залишків N-ацетилгалактозаміну

Оберіть, які ліпіди з наведених належать до групи фосфоліпідів:

- ☐ цереброзид
- ☐ сфінгомелін
- ☐ триацилгліцерол
- ☐ холестерол
- ☐ бджолиний віск

Оберіть НЕПРАВИЛЬНІ

характеристики триацилгліцеролів:

- ☐ входять до складу біологічних мембран
- ☐ у формі протоплазматичного жиру локалізуються в адипоцитах
- ☐ їх гідроліз у кислому середовищі веде до утворення мил
- ☐ мають амфіфільні властивості
- ☐ містять виключно насичені вищі жирні кислоти

Оберіть, яка з перерахованих карбонових кислот є представником мононенасичених жирних кислот:

- ☐ лінолева кислота
- ☐ арахідонова кислота
- ☐ стеаринова кислота
- ☐ олеїнова кислота
- ☐ пальмітинова кислота

Виберіть з переліку амінокислоту, яка має більше одного хірального центру:

- ☐ валін
- ☐ цистеїн
- ☐ метіонін
- ☐ аспарагінова кислота
- ☐ треонін

Оберіть пари амінокислот, які можуть утворити гідروفобні взаємодії між своїми радикалами:

- ☐ Тре-Лей
- ☐ Про-Три
- ☐ Мет-Іле
- ☐ Тир-Ала
- ☐ Вал-Фен

Оберіть пари амінокислот, які можуть утворити водневі зв'язки між своїми радикалами:

- ☐ Сер-Глн
- ☐ Цис-Тре
- ☐ Асп-Ліз
- ☐ Глу-Асп
- ☐ Асн-Тре

Визначте, які зв'язки стабілізують альфа-спіраль та бета-складчастість:

- ☐ водневі
- ☐ дисульфідні
- ☐ ковалентні
- ☐ Ван дер Ваальсові
- ☐ електростатичні

Визначте, у якій формі знаходиться цукор у складі нуклеозидів та нуклеотидів:

- ☐ бензолу
- ☐ пірану
- ☐ фурану
- ☐ імідазолу
- ☐ тіофену

Оберіть типи зв'язків, які виникають між сусідніми парами основ у двоспіральній молекулі ДНК:

- ☐ іонні
- ☐ ковалентні
- ☐ водневі
- ☐ координаційні
- ☐ гідروفобні

Визначте, що з наведеного є нуклеотидним коферментом:

- ☐ піридоксальфосфат
- ☐ токоферол
- ☐ кофермент А
- ☐ метилметіонін
- ☐ біотин

Оберіть азотисті основи, які містять екзоциклічні аміногрупи:

- ☐ аденін
- ☐ гуанін
- ☐ тимін
- ☐ цитозин
- ☐ урацил

Вкажіть, у складі якого типу РНК присутні «кеп» та поліаденілатний «хвіст»:

- ☐ транспортні РНК
- ☐ матричні РНК
- ☐ інтерферуючі РНК
- ☐ малі цитоплазматичні РНК
- ☐ рибосомні РНК

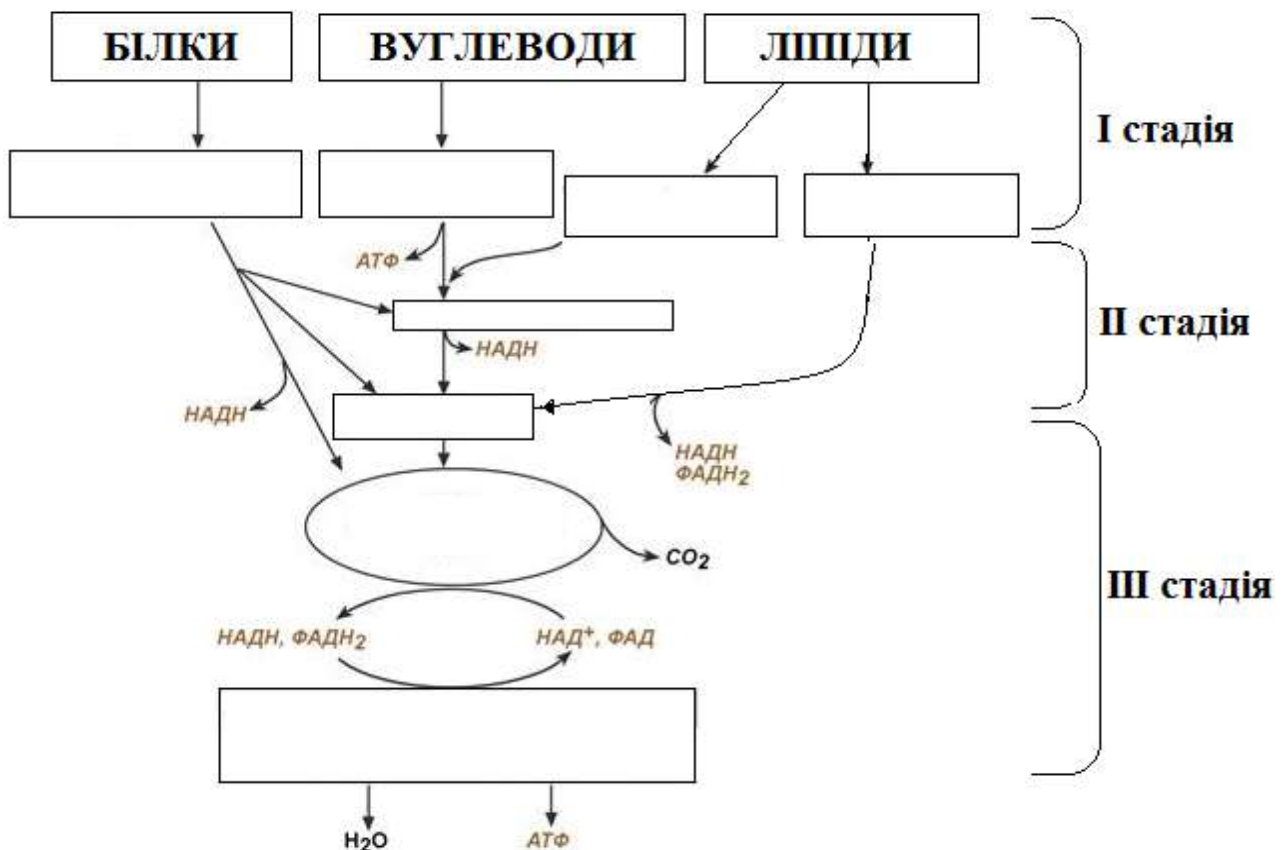
Тема 2. ТРАВЛЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ, МЕХАНІЗМИ ВСМОКТУВАННЯ ТА ТРАНСПОРТУ ВУГЛЕВОДІВ У КЛІТИНИ. АНАЕРОБНЕ ПЕРЕТВОРЕННЯ ГЛЮКОЗИ – ГЛІКОЛІЗ. РЕАКЦІЇ БРОДІННЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

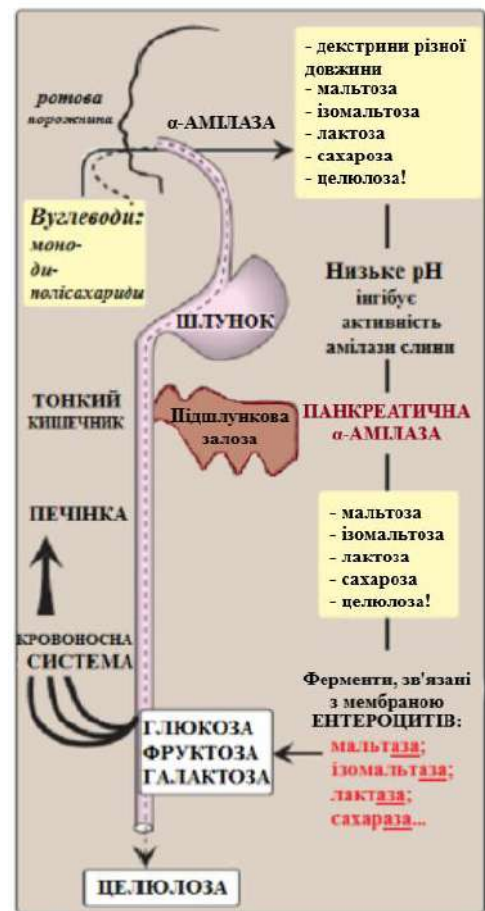
1. Ферменти шлунково-кишкового тракту, які відповідають за травлення вуглеводів: локалізація, рН оптимум і специфічність дії. Спадкові порушення травлення вуглеводів.
2. Всмоктування вуглеводів у шлунково-кишковому тракті.
3. Механізми надходження вуглеводів в клітини. Глюкозні транспортери – ГЛЮТ.
4. Анаеробне окиснення глюкози – гліколіз: послідовність та хімізм ферментативних реакцій, біологічна роль процесу, локалізація в клітині.
5. Енергетичний баланс анаеробного окиснення глюкози. Субстратне фосфорилування в гліколізі.
6. Регуляція гліколізу. Ключові регуляторні ферменти процесу.
7. Можливі шляхи подальшого метаболізму пірвіноградної кислоти за анаеробних та аеробних умов.
8. Різні типи бродіння: хімізм реакцій і біологічне значення процесу.
9. Окисне декарбоксилювання пірвату. Структура, особливості функціонування і механізми регуляції активності пірватдегідрогеназного мультиферментного комплексу.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

Зобразіть загальну схему аеробного катаболізму вуглеводів, ліпідів та білків. Позначте стадії та вкажіть їх клітинну локалізацію.

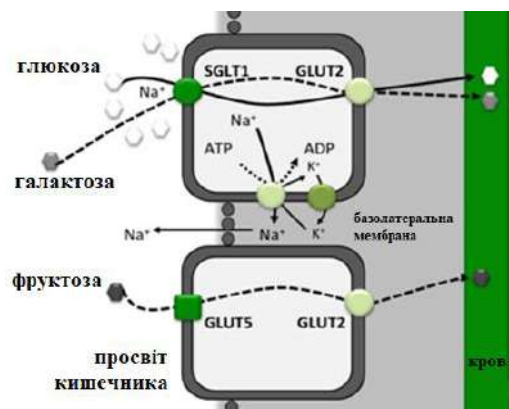


 Опишіть основні етапи травлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті:
Вкажіть основні ферменти, їх локалізацію в ШКТ та особливості механізму дії.

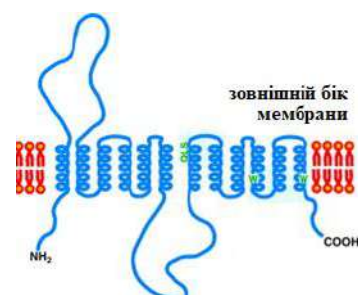


 **Опишіть основні механізми транспорту вуглеводів у клітини:**

Система активного транспорта:



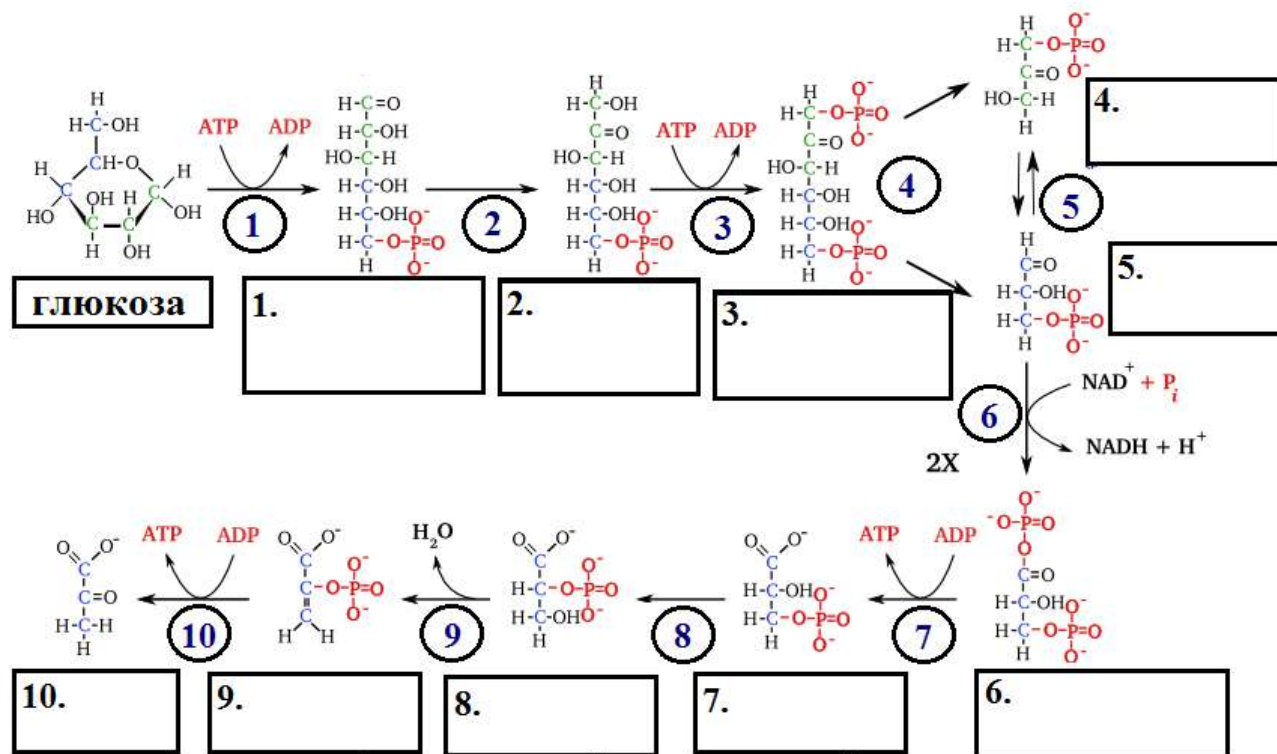
Полегшена дифузія за участі переносників класу ГЛЮТ:



ГЛЮТ

✍ Дайте визначення терміну «ГЛІКОЛІЗ»:

✍ Доповніть схему гліколізу назвами відповідних метаболітів та ферментів:



Ферменти гліколізу:

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1) <input type="text"/> | 6) <input type="text"/> |
| 2) <input type="text"/> | 7) <input type="text"/> |
| 3) <input type="text"/> | 8) <input type="text"/> |
| 4) <input type="text"/> | 9) <input type="text"/> |
| 5) <input type="text"/> | 10) <input type="text"/> |

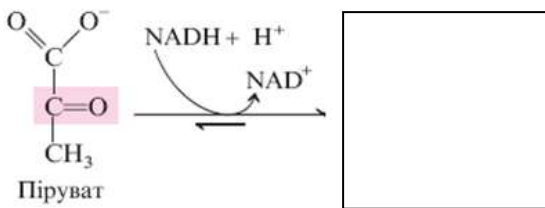
✍ Запишіть загальне рівняння гліколізу:

✍ Проаналізуйте енергетичний вихід гліколізу:

✍ Вкажіть основні регуляторні ферменти гліколізу та шляхи впливу на їх активності:

Опишіть можливі шляхи подальшого перетворення кінцевого метаболіту гліколізу – пірвіноградної кислоти (пірувату):

1) За анаеробних умов (наприклад, у м'язових клітинах та клітинах деяких бактерій):

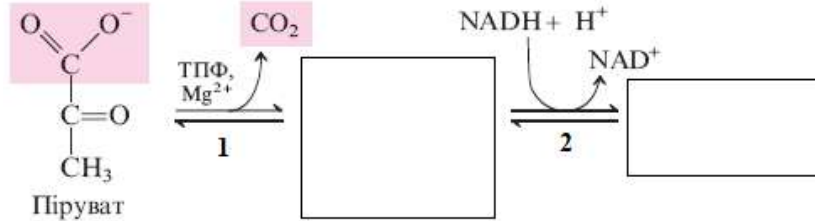


Фермент: _____

Продукт реакції: _____

Біологічне значення: _____

2) За анаеробних умов (наприклад, у дріжджах):



Ферменти:

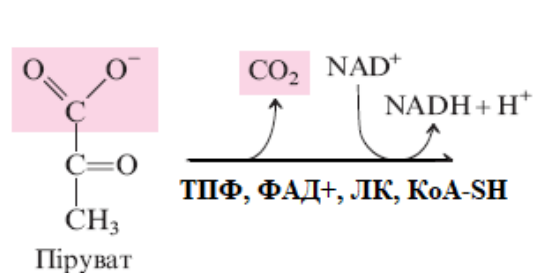
1) _____

2) _____

Продукти реакції: _____

Біологічне значення: _____

3) За аеробних умов (у еукаріотичних клітинах):

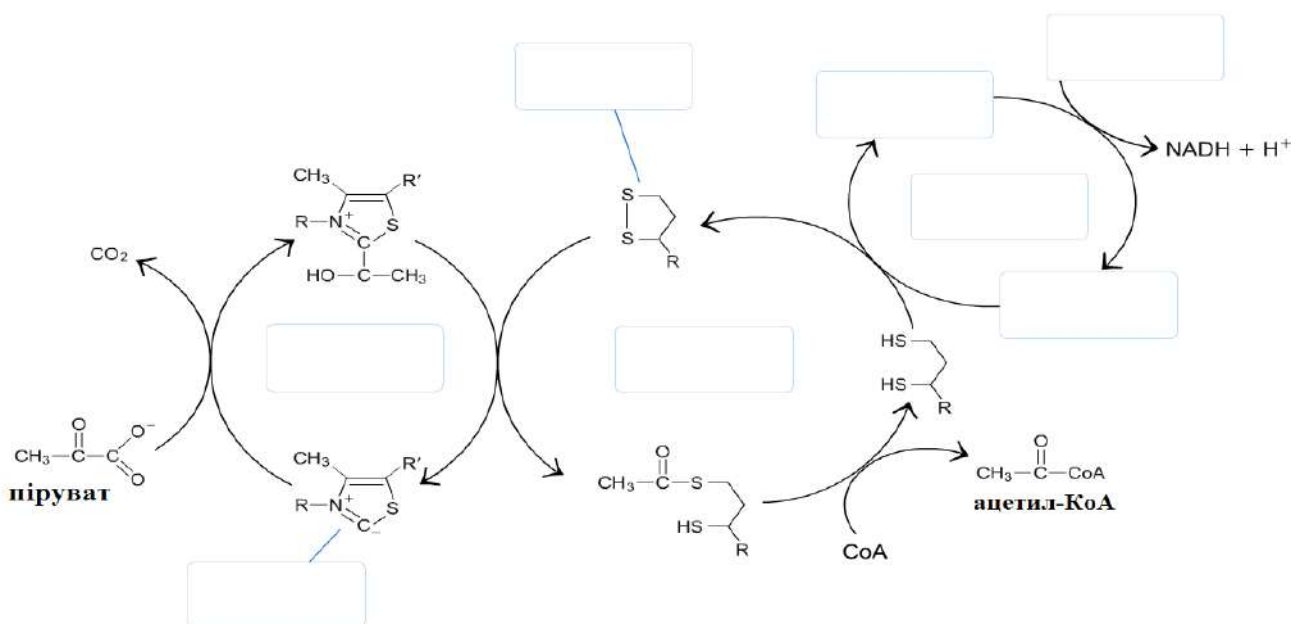


Фермент: _____

Продукт реакції: _____

Біологічне значення: _____

Доповніть схему «Функціонування піруватдегідрогеназного комплексу»:



📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Знайдіть відповідність ферментів, що діють у ШКТ, та субстратів:

- | | |
|---|----------------|
| ☐ мальтаза | А. Крохмаль |
| ☐ ізомальтаза | Б. Лактоза |
| ☐ лактаза | В. Сахароза |
| ☐ сахараза | Г. Ізомальтоза |
| ☐ панкреатична амілаза | Д. Мальтоза |
| ☐ амілаза слини | |

Визначте, які глікозидні зв'язки розщеплює панкреатична амілаза:

- | | |
|--|--|
| ☐ α -1 $\rightarrow$ 2 | ☐ β -1 $\rightarrow$ 4 |
| ☐ β -1 $\rightarrow$ 2 | ☐ α -1 $\rightarrow$ 6 |
| ☐ α -1 $\rightarrow$ 4 | ☐ β -1 $\rightarrow$ 6 |

Оберіть відповідність продуктів гідролітичного розщеплення відповідних дисахаридів і ферментів, що каталізують реакції:

- | | |
|--|------------------------|
| ☐ мальтоза (мальтаза) | А. Галактоза + глюкоза |
| ☐ ізомальтоза (ізомальтаза) | Б. Глюкоза + глюкоза |
| ☐ сахараза (сахароза) | В. Глюкоза + фруктоза |
| ☐ лактаза (лактоза) | |

Визначте клас ферментів, які розщеплюють вуглеводи в ШКТ:

- | | |
|--|------------------------------------|
| ☐ оксидоредуктази | ☐ ізомераз |
| ☐ трансферази | ☐ гідролази |
| ☐ ліази | ☐ лігази |

Які моносахариди утворюються в ШКТ під час перетравлення полі- і дисахаридів:

- ☐ моносахариди, фруктозо-1,6-дифосфат, галактоза, пентоза, сахароза
- ☐ сахароза, глюкоза, рибоза, мальтоза, лактоза
- ☐ глюкоза, фруктоза, галактоза, маноза, пентоза
- ☐ глюкоза, фруктоза, молочна, яблучна та бурштинова кислоти
- ☐ фруктозо-1,6-дифосфат, рибозо-5-фосфат

Визначте, в яких реакціях гліколізу витрачається АТФ:

- ☐ реакція фосфорилування глюкози, яка каталізується гексокіназою
- ☐ ізомеризація гексозо-6-фосфатів, що каталізується фосфоглюкомутазою
- ☐ утворення фруктозо-1,6-дифосфату
- ☐ утворення двох тріоз під дією ферменту альдолази

Які з наведених ферментів каталізують оборотні реакції гліколізу:

- ☐ фруктозодифосфатаза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ альдолаза
- ☐ фосфогліцеромутаза
- ☐ ентерокіназа

Оберіть, яке біологічне значення має гліколіз:

- ☐ генерування енергії за рахунок розщеплення глюкози
- ☐ синтез біологічно-активних сполук
- ☐ постачання будівельних блоків для реакцій синтезу
- ☐ регулювання вмісту глюкози – основного метаболічного «палива»

Визначте з перерахованих незворотну реакцію гліколізу:

- ☐ альдолазна
- ☐ глюкозо-6-фосфатізомераза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ піруваткіназа
- ☐ лактатдегідрогеназа

Визначте, в яких реакціях гліколізу утворюється АТФ:

- ☐ лактатдегідрогеназа
- ☐ енолаза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ альдолазна
- ☐ фосфогліцераткіназа
- ☐ піруваткіназа
- ☐ гексокіназа

Визначте, яким шляхом утворюється етиловий спирт у клітинах дріжджів:

- ☐ кетодезоксифосфоглюконатним
- ☐ глюконовокислим
- ☐ пентозофосфатним
- ☐ гліколітичним
- ☐ гліцеральдегідним

Зазначте ферменти та коферменти піруватдегідрогенального комплексу, які беруть участь у перетворенні піровиноградної кислоти в ацетил-КоА в аеробних умовах:

- ☐ дегідрогеназа дигідроліполоїєвої кислоти
- ☐ ацетилтрансфераза
- ☐ ФАД, тіамініпрофосфат і ліпоєва кислота
- ☐ НАД і КоА-SH
- ☐ піруватдекарбоксилаза

Оберіть фермент, що лімітує швидкість гліколізу:

- ☐ гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа
- ☐ енолаза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ фосфогліцераткіназа
- ☐ тріозофосфатізомераза

Оберіть, які з наведених сполук є алостеричними регуляторами гліколізу:

- ☐ АМФ
- ☐ АТФ
- ☐ фруктозо-6-фосфат
- ☐ цитрат
- ☐ піруват

Визначте, як відбувається транспорт глюкози в клітини слизової оболонки кишечника:

- ☐ за участю білків-переносників
- ☐ шляхом активного транспорту, коли її концентрація в просвіті кишечника нижча, ніж у клітинах
- ☐ шляхом простої дифузії, якщо її концентрація в клітинах низька
- ☐ незалежно від інсуліну

Лабораторна робота 1

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ α -АМІЛАЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (ПО КАРАВЕЮ) ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАБОРУ РЕАКТИВІВ

α -АМІЛАЗА (діастаза, α -1,4-D-глюканглюкано-гідролаза; КФ 3.2.1.1) належить до класу гідролаз, що каталізують гідроліз полісахаридів, які містять α -D-глюкозу, до простих моно- і дисахаридів (мальтоза, глюкоза). Розриваються зв'язки між α -1 і 4 атомами вуглецю, зв'язки в полісахаридах між α -1 і 6 атомами вуглецю не атакуються ферментом. Висока активність α -амілази виявляється в печінці, скелетних м'язах, у мікрроворсинках ентероцитів, слізній рідині, секреті молочних залоз. Активність ферменту виявлена також у різних пухлинах. Найбільш багаті на амілазу підшлункова і слинні залози. Амілаза секретується в кров головним чином із цих органів. Плазма крові людини містить α -амілазу двох ізозимних типів: панкреатичну (Р-тип), яка виробляється підшлунковою залозою, і слинну (S-тип), яка продукується слинними залозами. У кожному з цих типів амілаз є декілька ізоформ.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Оцінка активності амілази в сироватці крові і сечі широко застосовується для діагностики захворювань підшлункової залози. *Підвищення активності α -амілази* є високоспецифічним при гострому і хронічному панкреатиті. Окрім цього, гіперамілаземія може бути викликана нирковою недостатністю, гострими станами черевної порожнини, пухлинами легенів і яєчників, патологією слинних залоз, захворюваннями жовчовивідних шляхів, хронічним алкоголізмом і споживанням опіатів. *Зниження активності α -амілази* вказує на екзогенну недостатність підшлункової залози при атрофії ацинарної тканини і фіброзі органу у хворих з хронічною формою захворювання.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

У присутності α -амілази крохмаль гідролізується до похідних, що не дають кольорової реакції з йодом. Зміна інтенсивності забарвлення йод-крохмального комплексу пропорційна активності ферменту в пробі, що аналізується.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **640 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Термостат сухоповітряний з механічною циркуляцією повітря (надалі термостат), який забезпечить інкубацію пробірок при температурі +37°C.
3. Пробірки місткістю 10 мл.
4. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми від 0,01 до 0,1 мл та від 0,1 до 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Субстратно-буферний розчин.** Цей розчин готується попередньо шляхом змішування розчину субстрату (10 % розчин крохмалю) та буферного розчину (0,2 М натрій-фосфатний буфер, pH 7,0) у співвідношенні 1:24.
2. **Розчин йоду 0,1 н.** Для приготування даного розчину необхідно 1,27 г йоду та 3,0 г йодистого калію розчинити у 100 мл дистильованої води.
3. **Розчин концентрату інгібітора.**
4. **Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма, сеча (за необхідності може бути розведена в 10 разів).

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба, дотримуючись описаних умов:</i>		
Реактиви	Пробірки	
	Бланк (Б)	Тест (Т)
1. Субстратно-буферний розчин	0,50 мл	0,50 мл
<i>Прогрійте пробірки 10 хв при + 37 °С у термостаті. Наступні реагенти необхідно вносити у термостатовані пробірки.</i>		
2. Проба (сироватка крові)	-	0,01 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок. Помістіть пробірки у термостат (+ 37 °С) на 10 хв. Додайте до пробірок наступні реактиви:</i>		
3. Розчин інгібітора	4,50 мл	4,50 мл
4. Проба (сироватка крові)	0,01 мл	-
5. Розчин йоду	0,05 мл	0,05 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок.</i>		
<i>Виміряйте (не пізніше, чим через 10 хв) оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і холостої проби ($E_{\text{бланк}}$) за довжини хвилі 640 нм проти дистильованої води. Остаточне забарвлення реакційної суміші може бути від світло-коричневого до синьо-зеленого залежно від активності α-амілази. Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 10 хв. Запишіть результати вимірювань: $E_{\text{бланк}}$ _____ $E_{\text{тест}}$ _____</i>		

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Активність } \alpha\text{-амілази, мг / (с } \cdot \text{ л)} = \frac{E_{\text{бланк}} - E_{\text{тест}}}{E_{\text{бланк}}} \times 66,6 \times K; \text{ де}$$

$E_{\text{бланк}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності холостої і дослідної проб, відповідно;

K – коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений).

НОРМАЛЬНІ МЕЖІ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТУ ПРИ +37°C

Сироватка, плазма крові: 3,3 - 8,9 мг/(с · л)

Сеча: до 44 мг/(с · л)

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ. ПЕНТОЗОФОСФАТНИЙ ШЛЯХ.

📖 ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Біосинтез глюкози — глюконеогенез: субстрати, ключові ферменти, реакції, внутрішньоклітинна локалізація, фізіологічне значення процесу. Енергетичне забезпечення глюконеогенезу.
2. Взаємозв'язок і реципрокна (взаємна) регуляція гліколізу і глюконеогенезу в організмі. Глюкозо-лактатний (*цикл Корі*) і глюкозо-аланіновий (*цикл Феліга*) цикли.
3. Окисні та неокисні реакції пентозофосфатного шляху (ПФШ): хімізм реакцій, ключові ферменти та біологічне значення. Особливості функціонування ПФШ у різних тканинах.
4. Метаболічний шлях та ферментативні реакції перетворення фруктози та галактози в організмі людини.
5. Спадкові ензимопатії, пов'язані з генетичними дефектами синтезу ферментів ПФШ, метаболізму фруктози і галактози.

📖 ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 Дайте визначення терміну «ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ»:

 Запишіть загальне рівняння глюконеогенезу:

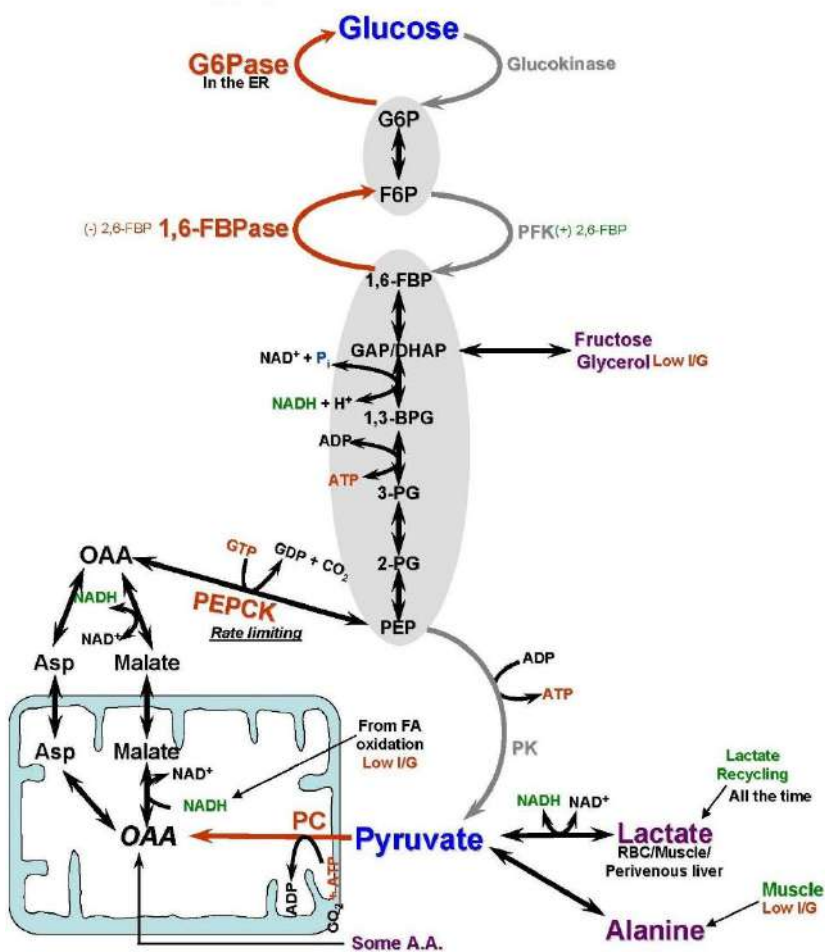
 Опишіть біологічне значення глюконеогенезу:

 Які біомолекули можуть бути субстратом в реакціях глюконеогенезу:

 Які біомолекули НІКОЛИ не використовуються як субстрат в реакціях глюконеогенезу:

✍ Вкажіть три обхідні реакції для глюконеогенезу та ферменти, які їх каталізують:

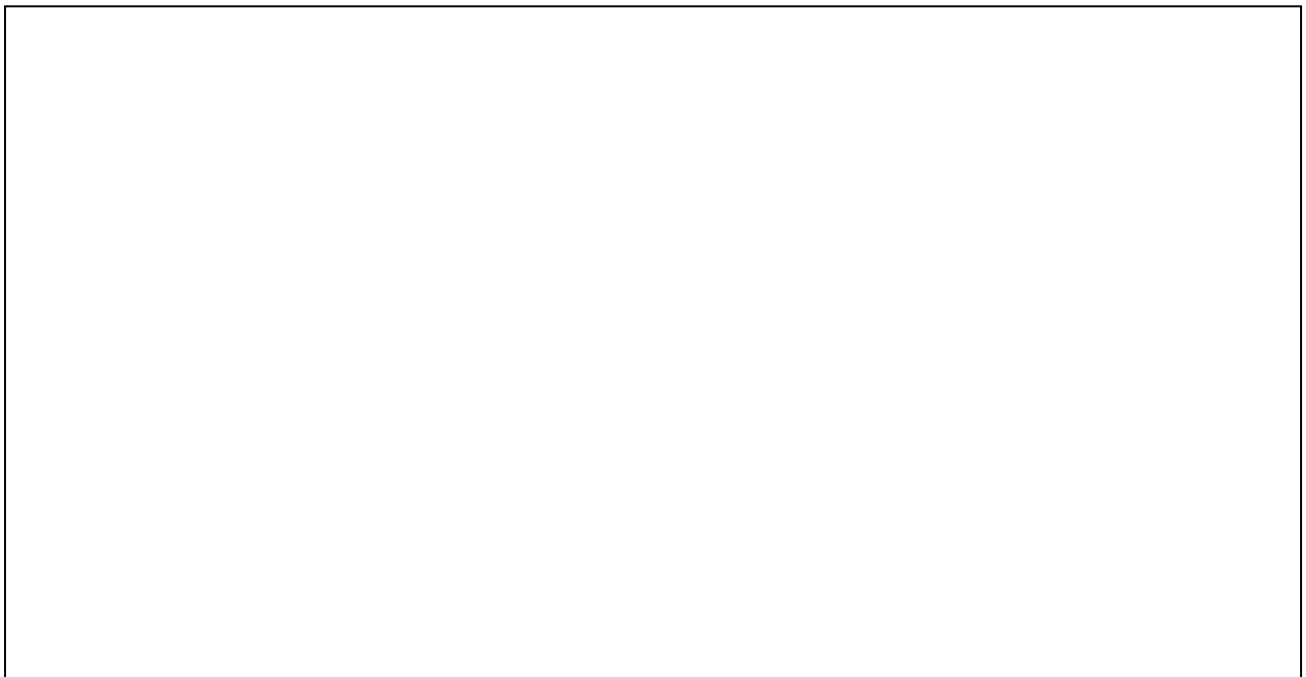
1)



2)

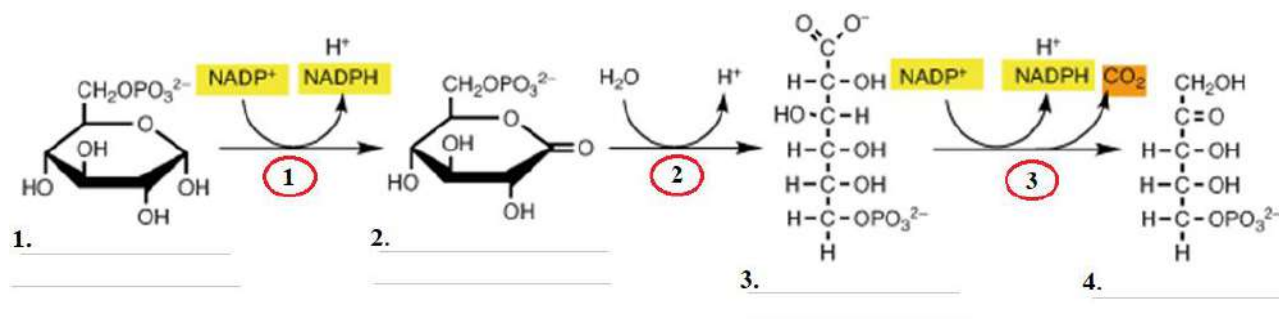
3)

✍ Схематично покажіть взаємозв'язок гліколізу і глюконеогенезу (цикл Корі):



 Дайте визначення терміну «ПЕНТОЗОФОСФАТНИЙ ШЛЯХ»:

 Доповніть схему окисної стадії пентозофосфатного шляху (ПФШ):



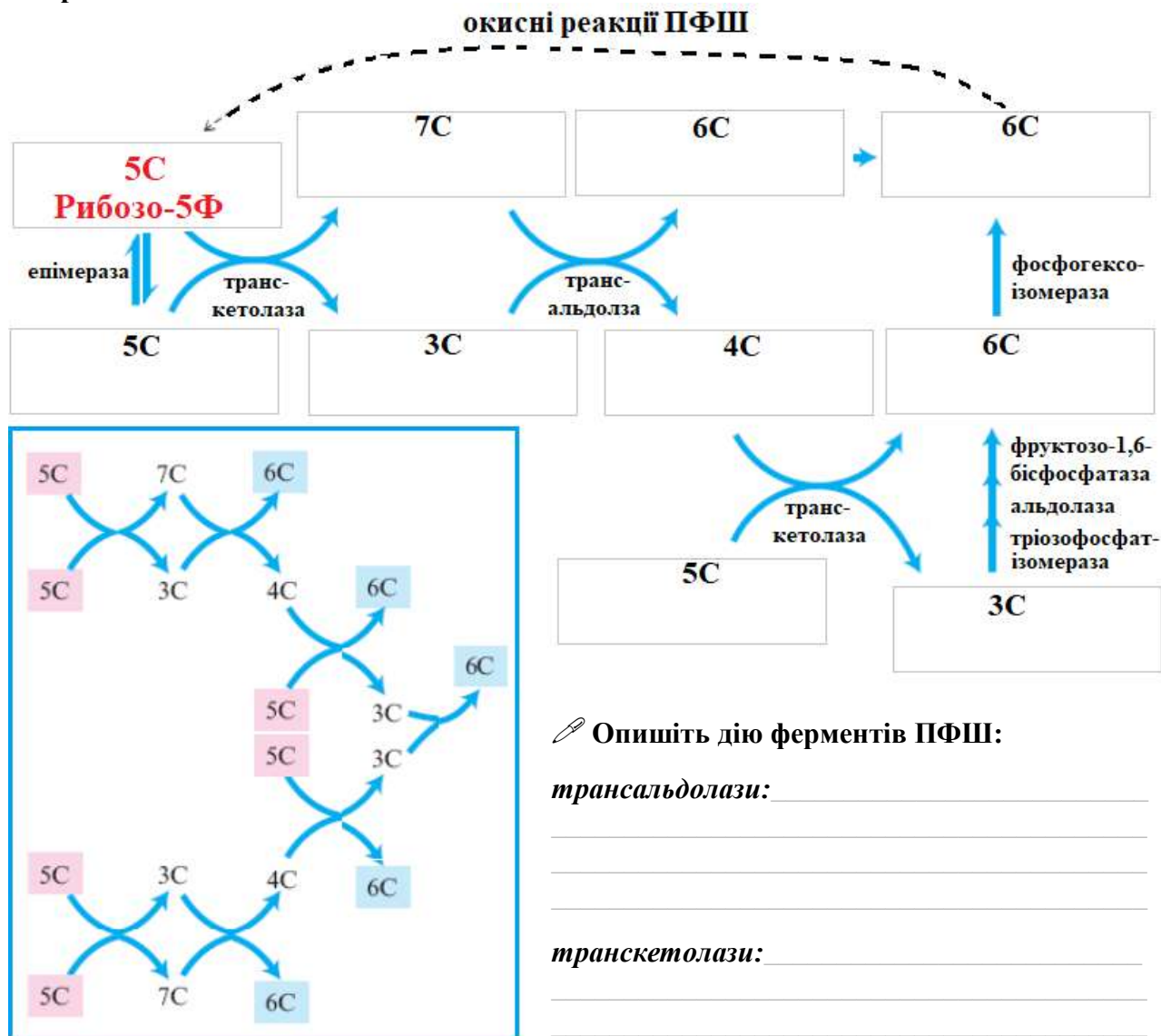
Ферменти:

 **Запишіть загальне рівняння окисної стадії ПФШ:**

 Коротко поясніть біологічне значення окисної стадії ПФШ:

 Що ви знаєте про патологічний стан, пов'язаний з дефіцитом глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази в організмі людини:

✍ Доповніть схему неокисних реакцій пентозофосфатного шляху назвами відповідних інтермедіатів:



✍ Опишіть дію ферментів ПФШ:

трансальдолази: _____

транскетолази: _____

✍ Запишіть сумарне рівняння окиснення глюкозо-6-фосфату в ПФШ з урахуванням неокисних реакцій:

✍ Коротко поясніть біологічне значення неокисних реакцій ПФШ:

✍ Використовуючи схему, наведену нижче, поясніть шляхи включення інших моносахаридів до гліколітичного шляху:



✍ Поясніть наступні терміни:

«Лактазна недостатність»

«Непереносимість фруктози»

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Оберіть, які сполуки є головними субстратами гліюконеогенезу:

- ☐ піруват
- ☐ гліюкоген
- ☐ лактат
- ☐ гліцерин
- ☐ крохмаль
- ☐ гліюкогенні амінокислоти

Які з перерахованих речовин можуть бути субстратами для гліюконеогенезу:

- ☐ оксалоацетат
- ☐ гліцерин
- ☐ піруват
- ☐ ацетил-КоА
- ☐ α -кетоглутарат
- ☐ сукцинат

Оберіть сполуку, яка НЕ є джерелом атомів вуглецю для синтезу гліюкози:

- ☐ аланін
- ☐ аспартат
- ☐ ацетил-КоА
- ☐ гліцерол
- ☐ малат

Визначте, де найбільш інтенсивно протікає процес гліюконеогенезу:

- ☐ в головному мозку
- ☐ в серці
- ☐ в печінці
- ☐ в нирках
- ☐ в скелетних м'язах

Оберіть фермент, який НЕ є регуляторним ферментом гліюконеогенезу:

- ☐ піруваткарбоксилаза
- ☐ фосфогліцеральдегіддегідрогеназа
- ☐ фосфоенолпіруваткарбоксикіназа
- ☐ фруктозо-1,6-бісфосфатаза

Вкажіть спільний фермент процесу гліюколізу і гліюконеогенезу:

- ☐ гексокіназа
- ☐ піруваткіназа
- ☐ фосфогліцеролкіназа
- ☐ альдолаза
- ☐ піруваткарбоксилаза

Оберіть вірні відповіді щодо перетворення пірувату в оксалоацетат у процесі гліюконеогенезу:

- ☐ протікає в цитоплазмі
- ☐ протікає в мітохондріях
- ☐ включає реакцію карбоксилування
- ☐ не вимагає витрат АТФ
- ☐ протікає в цитоплазмі і мітохондріях

Який з перерахованих процесів дозволяє, навіть за умов відносно тривалого голодування (2-3 тижні), підтримувати вміст гліюкози в крові в межах норми:

- ☐ ліполіз
- ☐ гліюколіз
- ☐ пентозофосфатний цикл
- ☐ гліюконеогенез
- ☐ цикл трикарбонових кислот

Оберіть, за участю якого ферменту під час гліюконеогенезу в печінці відбувається утворення вільної гліюкози з гліюкозо-6-фосфату:

- ☐ аденілатциклази
- ☐ кінази фосфорилази b
- ☐ гліюкозо-6-фосфатази
- ☐ фосфорилази a
- ☐ фосфорилази b

Оберіть гормон, який посилює процес гліюконеогенезу:

- ☐ інсулін
- ☐ тестостерон
- ☐ кортизол
- ☐ фолікулостимулюючий гормон
- ☐ лютеїнізуючий гормон

Оберіть метаболічний шлях, в якому утворюються вуглеводи, що використовуються для біосинтезу нуклеїнових кислот:

- ☐ гліюколіз
- ☐ гліюконеогенез
- ☐ гліюкогеноліз
- ☐ пентозофосфатний шунт
- ☐ цикл Корі
- ☐ цикл Феліга

Визначте, в якій із тканин найбільш активно протікають реакції пентозофосфатного шунта:

- ☐ головний мозок
- ☐ кіркова речовина нирок
- ☐ кісткова тканина
- ☐ молочна залоза
- ☐ печінка
- ☐ скелетні м'язи

Назвіть перший фермент пентозофосфатного шляху перетворення глюкози:

- ☐ альдолаза
- ☐ транскетолаза
- ☐ фосфорилаза
- ☐ трансальдолаза
- ☐ глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

Визначте, яка із перерахованих сполук є коферментом глюкозо-6-фосфатдегідрогенази:

- ☐ тіамінпірофосат
- ☐ НАДФ⁺
- ☐ ФМН
- ☐ НАД⁺
- ☐ АТФ

Зазначте другу фазу (стадію) пентозофосфатного шляху окиснення вуглеводів:

- ☐ послідовне перетворення гексоз на пентози
- ☐ декарбоксилування кетокислот
- ☐ окисна
- ☐ відновна
- ☐ неокисна (взаємоперетворення ряду цукрофосфатів на глюкозо-6-фосфат)

Назвіть регуляторний фермент пентозофосфатного шляху:

- ☐ глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
- ☐ глюконолактоназа
- ☐ 6-фосфоглюконатдегідрогеназа
- ☐ фосфорибозоізомераза
- ☐ рибулозофосфатепімераза
- ☐ транскетолаза
- ☐ трансальдолаза
- ☐ глюкозофосфатізомераза
- ☐ тріозофосфатізомераза
- ☐ альдолаза
- ☐ фруктозодифосфатаза

Вкажіть сполуки – продукти транскетолазної реакції пентозофосфатного шляху:

- ☐ ксилулозо-5-фосфат
- ☐ гліцеральдегід-3-фосфат
- ☐ еритрозо-4-фосфат
- ☐ 6-фосфоглюконолактон
- ☐ фруктозо-6-фосфат

Оберіть реакцію, яку каталізує трансальдолаза:

- ☐ глюкозо-6-фосфат + НАДФ⁺ → 6-фосфоглюконат + НАДФН + Н⁺ ксилулозо-5-фосфат + рибозо-5-фосфат → гліцеральдегід-3-фосфат + седогептулозо-7-фосфат
- ☐ 6-фосфоглюконат + НАДФ⁺ → рибулозо-5-фосфат + НАДФН + Н⁺ + CO₂;
- ☐ гліцеральдегід-3-фосфат + седогептулозо-7-фосфат → фруктозо-6-фосфат + еритрозо-4-фосфат

Вкажіть клас ферментів, до якого належать альдолази:

- ☐ трансфераз
- ☐ ліаз
- ☐ лігаз
- ☐ оксидоредуктаз
- ☐ ізомераз
- ☐ гідролаз
- ☐ транслоказ

Визначте, з якої речовини безпосередньо утворюється кетопентоза – рибулозо-5-фосфат:

- ☐ із фруктозо-6-фосфату
- ☐ із фруктозо-1,6-дифосфату
- ☐ із глюкозо-6-фосфату
- ☐ із еритрозо-4 фосфату
- ☐ із 6-фосфоглюконової кислоти

Назвіть основну функцію пентозофосфатного шляху в еритроцитах:

- ☐ утворення НАДФН + Н⁺
- ☐ утворення рибозо-5-фосфату
- ☐ розщеплення пентозофосфатів
- ☐ синтез АТФ
- ☐ утворення ФАДН₂

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ГЛЮКОЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНИМ МЕТОДОМ

ГЛЮКОЗА, з фізіологічної точки зору, є найважливішим представником вуглеводів. Вона є основним джерелом енергії для всіх клітин і тканин організму. Необхідна для тканин мозку, працюючих м'язів, зокрема серця. У здорової людини надлишок глюкози в крові, за участі гормону підшлункової залози – інсуліну, перетворюється на глікоген в печінці або на резервні жири. При нестачі інсуліну виникає цукровий діабет.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Підвищення концентрації глюкози у сироватці або плазмі крові: *Первинне:* цукровий діабет (у дорослих і дітей). *Фізіологічне:* енергійні фізичні вправи, сильні емоції, викид адреналіну при ін'єкціях, шоці, опіках, інфекції. *Ендокринні захворювання:* феохромоцитома, тиреотоксикоз, акромегалія, гігантизм, синдром Кушинга, глюкагонома, соматостатинома. *Захворювання підшлункової залози:* гострий і хронічний панкреатит, панкреатит при паротиті, муковісцидозі, гемохроматозі, пухлина підшлункової залози.

Гіпоглікемія: *Захворювання підшлункової залози:* пухлина острівкових клітин, дефіцит глюкагону. *Пухлини:* рак наднирників, рак шлунку, фібросаркома. *Тяжкі захворювання печінки.* *Отруєння* (наприклад, миш'яком, тетрахлоридом вуглецю, хлороформом, цинхофеном, фосфором, алкоголем, саліцилатами, фенформіном, антигістамінними препаратами). *Ендокринні захворювання:* хвороба Аддісона, гіпотиреоз. *У дітей:* недоношеність; діти, народжені від матерів, хворих на цукровий діабет; кетотична гіпоглікемія. *Захворювання, пов'язані з дефіцитом ферментів:* синдром Гірке, галактоземія, "хвороба кленового сиропу", порушення толерантності до фруктози.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окиснюється киснем повітря до глюконової кислоти та пероксиду водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **510 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Термостат, який забезпечує інкубацію пробірок при температурі +37° С.
3. Пробірки місткістю 10 мл.
4. Піпетки, які дозволяють точно відміряти об'єми 0,02 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Розчин ферментів.** Цей розчин містить такі реагенти: пероксидазу (2200 U/л), α ,D-глюкозооксидазу (18000 U/л), 4-амінофеназон (110 мг/л), стабілізатори, активатори.
2. **Стандартний (калібрувальний) розчин глюкози.** Вміст глюкози у даному розчині становить 1800 мг на 1 л (10 мМ розчин глюкози).
3. **Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма, сеча. Якщо вміст глюкози в сироватці крові або плазмі вище 25 ммоль/л, її необхідно розвести фізіологічним розчином (0,9% NaCl) у 5 разів і повторити дослідження.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба, К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба.</i>			
<i>У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:</i>			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. NaCl 0,9%	0,02 мл	-	-
2. Стандартний р-н глюкози	-	0,02 мл	-
3. Проба (сироватка крові)	-	-	0,02 мл
4. Розчин ферментів	2,00 мл	2,00 мл	2,00 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок.</i>			
<i>Помістіть пробірки у термостат (+37° С) на 12 хв або залиште при кімнатній температурі (від +18° С до +25° С) на 20 хв.</i>			
<i>Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 510 нм проти холостої проби (Бланк).</i>			
<i>Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 60 хв.</i>			
<i>Запишіть результати вимірювань:</i>			
$E_{\text{контроль}}$ _____			
$E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація глюкози, ммоль/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 10 \times K; \quad \text{де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно;

10 – концентрація глюкози в стандартному розчині (10 ммоль/л);

K – коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений).

НОРМАЛЬНІ МЕЖІ КОНЦЕНТРАЦІЇ ГЛЮКОЗИ

У сироватці, плазмі крові:

- новонароджені 1,7 - 3,3 ммоль/л;
- діти 3,3 - 5,6 ммоль/л;
- дорослі 12-60 років 4,1 - 5,9 ммоль/л.

У цільної крові: 3,5 - 5,3 ммоль/л.

У сечі: 0,1 - 0,8 ммоль/л.

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

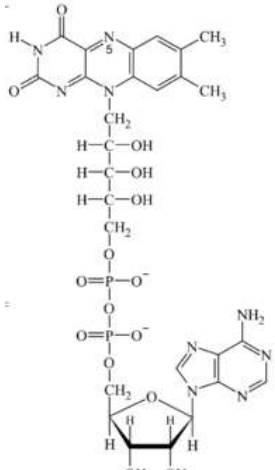
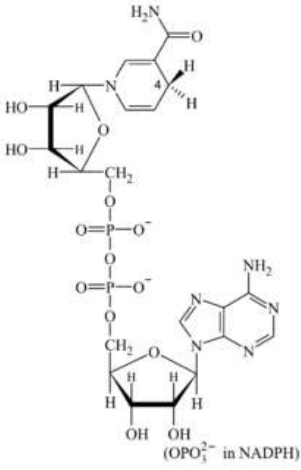
підпис

дата

АЕРОБНЕ ПЕРЕТВОРЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ. ЦИКЛ КРЕБСА. ДИХАЛЬНИЙ ЛАНЦЮГ ТА ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ.

1. Загальна характеристика та біологічне значення циклу Кребса.
2. Послідовність та хімізм реакцій циклу Кребса.
3. Особливості функціонування та молекулярна організація α -кетоглутарат-дегідрогеназного мультиферментного комплексу.
4. Сумарний енергетичний баланс циклу Кребса.
5. Анаплеротичні та амфіболічні реакції циклу Кребса.
6. Регуляція циклу Кребса: ключові регуляторні ферменти, їх активатори й інгібітори.
7. Основні компоненти та молекулярна організація дихального ланцюга в мітохондріях: редокс-потенціали компонентів дихального ланцюга.
8. Шляхи включення відновлювальних еквівалентів у дихальний ланцюг мітохондрій.
9. Окисне фосфорилування. Коефіцієнт окисного фосфорилування, пункти спряження окиснення та фосфорилування.
10. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування – молекулярний механізм генерації АТФ у процесі біологічного окиснення: основні положення.
11. АТФ-синтаза мітохондрій, будова та принципи функціонування.
12. Інгібітори транспорту електронів та роз'єднувачі окисного фосфорилування, їх біомедичне значення.
13. Мікросомальне окиснення: цитохром P₄₅₀, молекулярна організація ланцюга переносу електронів.
14. Активні форми кисню і механізми їх інактивації.

 Опишіть структуру та поясніть біологічне значення молекул, зображених нижче:

ФАД	НАД(Ф)
	



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____



 Використовуючи схему циклу Кребса, наведену вище, виконайте наступні завдання:

Зазначте початкові субстрати для циклу Кребса:

Зазначте ключові ферменти циклу Кребса і опишіть їх регуляцію:

1.

2.

3.

Вкажіть метаболіти циклу Кребса, що беруть участь в окисному декарбоксилюванні:

Вкажіть фермент циклу Кребса, який каталізує субстратне фосфорилування:

Вкажіть ферменти, що каталізують окисне декарбоксилювання в циклі Кребса, і наведіть тип реакції:

Вкажіть тип реакції, в якій залучено сукциніл-КоА як вихідний субстрат:

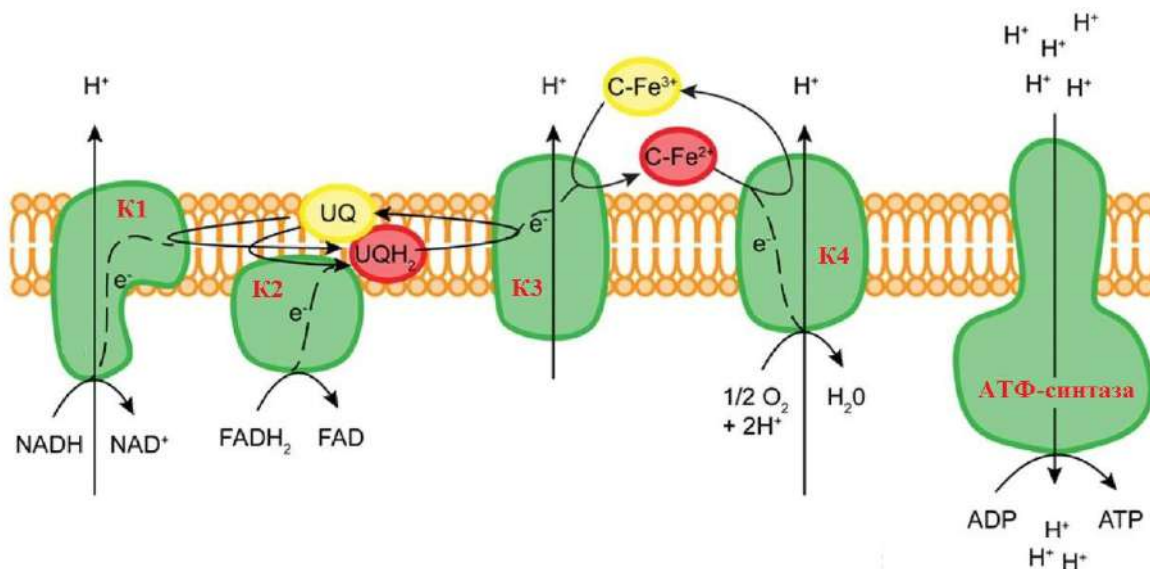
Вкажіть ферменти циклу Кребса, активність яких дозволяє утворити відновлену форму НАД⁺:

Вкажіть фермент циклу Кребса, активність якого дозволяє утворити відновлену форму ФАД:

Перерахуйте кінцеві продукти циклу Кребса в розрахунку на 1 цикл:

Перерахуйте всі трикарбонові кислоти в циклі Кребса:

✍ Використовуючи наведену нижче схему, заповніть таблицю «Молекулярна організація дихального ланцюга мітохондрій».



	Назва комплексу	Компоненти	Функції
<i>K1</i>			
<i>K2</i>			
<i>K3</i>			
<i>K4</i>			
<i>АТФ-синтаза</i>			

 Поясніть механізм дії та біологічне значення інгібіторів та роз'єднувачів ЕТЛ:

Інгібітори

Роз'єднувачі

 Використовуючи схему ЕТЛ, позначте ділянки дихального ланцюга, на яких діють інгібітори електронного транспорту, окисного фосфорилування та роз'єднувачі. Поясніть механізм дії, заповнивши таблицю.

Субстрат	Молекулярна мішень/механізм дії
ротенон	
анестетики	
малонат	
пієрицидин А	
2,4-динітрофенол	
сірководень	
антиміцин А	
секонал	
чадний газ	
ацетилсаліцилова кислота	
амітал	
олігоміцин	
амобарбітал	
Т ₃ , Т ₄	
ціаніди	
дикумарин	

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Оберіть, до якого типу окиснення належить ЦТК:

- ☐ аеробне
- ☐ анаеробне
- ☐ β -окиснення
- ☐ пентозний цикл

Оберіть, в якому вигляді накопичується енергія в ЦТК:

- ☐ ацетил-КоА
- ☐ креатинфосфат
- ☐ АТФ
- ☐ НАДН+H⁺

Оберіть субклітинні структури, в яких протікають реакції ЦТК:

- ☐ ядро
- ☐ рибосоми
- ☐ цитоплазма
- ☐ мітохондрії

Визначте перетворення, які відбуваються в другій реакції ЦТК:

- ☐ ацетил-КоА сполучається з оксалоацетатом і перетворюється на цитрил-КоА
- ☐ ацетил-КоА окиснюється до CO₂ і H₂O
- ☐ цис-аконітова кислота за участі аконітази перетворюється на ізоцитрат
- ☐ цитрат дегідратується в цис-аконітат, який приєднує воду, перетворюючись на ізоцитрат

Визначте, які метаболічні порушення за передозування барбітуратами можуть призвести до ацидозу:

- ☐ блокування електронного транспорту через НАДН-КоQ-редуктазу
- ☐ роз'єднання дихання та окисного фосфорилування
- ☐ стимуляція поглинання кисню
- ☐ інгібування функції АТФ-синтази
- ☐ гальмування цитохромоксидази дихального ланцюга

Оберіть ділянки спряження окиснення (перенесення електронів) та фосфорилування (синтезу АТФ) у дихальному ланцюзі:

- ☐ Комплекси I, V
- ☐ Комплекси I, II, III
- ☐ Комплекси I, III, IV
- ☐ Комплекси I, II, III, IV
- ☐ Комплекси I, II, III, IV, V

Визначте, на яких клітинних структурах локалізовані ферменти перенесення електронів і протонів:

- ☐ плазматична мембрана
- ☐ внутрішня мембрана мітохондрій
- ☐ зовнішня мембрана мітохондрій
- ☐ рибосоми та лізосоми

Оберіть вірне визначення процесу окисного фосфорилування:

- ☐ фосфорилування АДФ з утворенням АТФ за участю окисних ферментів
- ☐ синтез АТФ із АДФ і F_n з використанням енергії, яка звільняється під час окиснення речовин у клітинах, поєднаний з перенесенням електронів по дихальному ланцюгу
- ☐ перенесення електронів і протонів по дихальному ланцюгу з подальшим фосфорилуванням макроергічних сполук
- ☐ синтез макроергічних сполук за рахунок енергії окиснення ліпідів, білків і вуглеводів

Визначте біологічне значення дихального ланцюга в мітохондріях:

- ☐ перенесення електронів на цитохроми
- ☐ перетворення речовин і енергії
- ☐ забезпечення клітин НАД⁺ і ФАД⁺
- ☐ окиснення речовин до CO₂ і H₂O
- ☐ перенесення атомів водню із НАДН+H⁺ на кисень з утворенням АТФ і H₂O

Оберіть вірне визначення процесу субстратного фосфорилування:

- ☐ синтез АТФ шляхом перенесення макроергічного фосфатного зв'язку із залишком фосфату від конкретного субстрату на АДФ
- ☐ синтез макроергічних сполук за рахунок енергії макроергічних зв'язків АТФ
- ☐ перенесення електронів і протонів по ланцюгу ферментів із подальшим фосфорилуванням субстратів
- ☐ фосфорилування субстрату за рахунок енергії макроергічних зв'язків АТФ

Визначте локалізацію перебігу реакції окисного фосфорилування:

- ☐ в ядрі
- ☐ у мітохондріях
- ☐ на плазматичній мембрані
- ☐ у рибосомах

Визначте сполуку, яка не входить до складу дихального ланцюга:

- ☐ цитохроми
- ☐ піруват
- ☐ залізо-сірчані білки
- ☐ НАД, ФМН
- ☐ убіхінон

Оберіть фермент циклу Кребса, що є флавопротеїном:

- ☐ сукцинатдегідрогеназа
- ☐ малатдегідрогеназа
- ☐ фумаратгідратаза
- ☐ ізоцитратдегідрогеназа
- ☐ аконітаза

Оберіть об'єднання субодиниць комплексу F_1 ферменту АТФ-синтази, за участю яких безпосередньо відбувається синтез АТФ:

- ☐ $3\alpha, 3\beta$
- ☐ α, β
- ☐ $2\alpha, 2\beta$
- ☐ α, β, γ
- ☐ γ, δ, ϵ

Оберіть простетичну групу, яка входить до складу IV комплексу дихального ланцюга (цитохромоксидази):

- ☐ ФМН, Fe-S
- ☐ Fe-S, гем
- ☐ Fe-S
- ☐ Гем, Cu
- ☐ ФАД

Оберіть регуляторний фермент циклу Кребса:

- ☐ цитратсинтаза
- ☐ сукцинатдегідрогеназа
- ☐ малатдегідрогеназа
- ☐ піруваткарбоксилаза
- ☐ фумаратгідратаза

Назвіть фермент дихального ланцюга, активність якого різко знижується при отруєнні чадним газом:

- ☐ цитохромоксидаза
- ☐ сукцинатдегідрогеназа
- ☐ НАДН-дегідрогеназа
- ☐ АТФ-синтетаза

Оберіть конкурентний інгібітор сукцинатдегідрогенази:

- ☐ малат
- ☐ маленова кислота
- ☐ фумарат
- ☐ оксалоацетат
- ☐ сукцинат

Оберіть, дефіцит яких іонів призведе до порушення процесів тканинного дихання:

- ☐ магнію, фтору
- ☐ заліза, міді
- ☐ хрому, кальцію
- ☐ йоду, фтору
- ☐ натрію і калію

Оберіть речовину, яка не є субстратом тканинного дихання:

- ☐ ізоцитрат
- ☐ малат
- ☐ α -кетоглутарат
- ☐ сукцинат
- ☐ лактат

ВИВЧЕННЯ ДІЇ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ

СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗА (СДГ, дегідрогеназа бурштинової кислоти) є ферментом класу оксидоредуктаз. СДГ за хімічною структурою флавопротеїн, білкова частина якого ковалентно пов'язана з коферментом – флавінаденіндинуклеотидом (ФАД). Фермент містить вісім атомів негемованого заліза і лабільні атоми сірки. СДГ широко представлена в рослинних і тваринних клітинах, де локалізована у внутрішній мембрані мітохондрій.

Сукцинатдегідрогеназа є одночасно компонентом дихального ланцюга мітохондрій і одним із найважливіших ферментів циклу трикарбонових кислот, де каталізує оборотне окиснення бурштинової кислоти (сукцинату) до фумарової кислоти.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Сукцинатдегідрогеназа є однією з ключових ланок енергозабезпечення клітини (окиснення 1 моля бурштинової кислоти призводить до синтезу 2 молей аденозинтрифосфату (АТФ)), а також забезпечення інших біосинтетичних процесів клітини, зокрема, глюконеогенезу, де вона бере участь в утилізації сукцинату, що утворюється в результаті роботи гліюксилатного циклу. Оцінка дії даного ферменту свідчить про енергетичний і метаболічний стани організму.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Для визначення дії сукцинатдегідрогенази як акцептор можна використати 2,6-дихлорфеноліндофенол або його натрієву сіль. У водному розчині окиснена форма натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу забарвлена в синій колір, відновлена форма — безбарвна. Сукцинатдегідрогеназна активність визначається за зміною інтенсивності забарвлення розчину натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу.

ОБЛАДНАННЯ

1. Пробірки місткістю 10 мл.
2. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми від 0,1 до 1 мл.
3. Термостат, який забезпечить інкубацію пробірок при температурі +38 °С.

РЕАКТИВИ

1. Проба. Тканина (поперечносмугасті м'язи).
2. Фосфатний буфер із рН 7,4 (змішують 81 мл 0,2 моль/л розчину Na_2HPO_4 , 19 мл 0,2 моль/л NaH_2PO_4 і загальний об'єм розчину доливають дистильованою водою до 200 мл).
3. 5%-й розчин бурштинової кислоти.
4. 0,1%-й розчин гідроксиду натрію (NaOH).
5. 0,001 моль/л розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу.
6. Дистильована вода.

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

[illegible]

data

Тема 5.

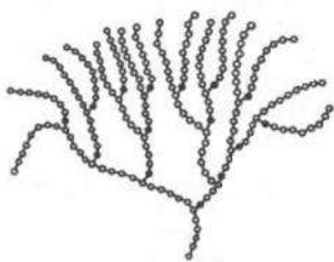
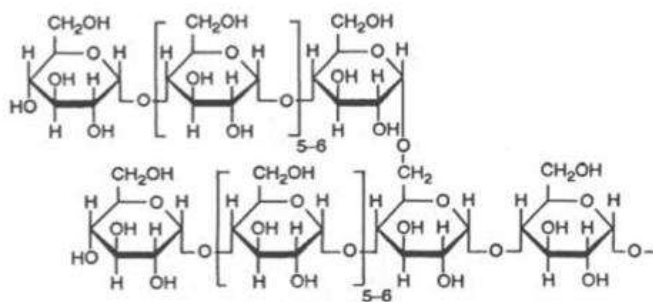
КАТАБОЛІЗМ ТА БІОСИНТЕЗ ГЛІКОГЕНУ. РЕГУЛЯЦІЯ ОБМІНУ ГЛІКОГЕНУ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Структура та біологічне значення глікогену.
2. Послідовність реакцій розщеплення глікогену – глікогеноліз.
3. Послідовність реакцій біосинтезу глікогену – глікогенез.
4. Каскадні механізми цАМФ-залежної регуляції активностей глікогенфосфорилази та глікогенсинтази. Гормональна регуляція обміну глікогену в м'язах та печінці.
5. Генетичні порушення ферментів метаболізму глікогену: глікогенози, аглікогенози.
6. Механізм регуляції концентрації глюкози в крові. Поняття гіпер- та гіпоглікемії.
7. Патології обміну вуглеводів.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

Опишіть структуру молекули глікогену.



Поясніть біологічний сенс галуження молекули глікогену та його посилення, порівняно з аналогічним полісахаридом рослин – крохмалем:

✍ Запишіть загальне рівняння синтезу глікогену:

✍ Запишіть загальне рівняння глікогенолізу:

для клітин печінки:

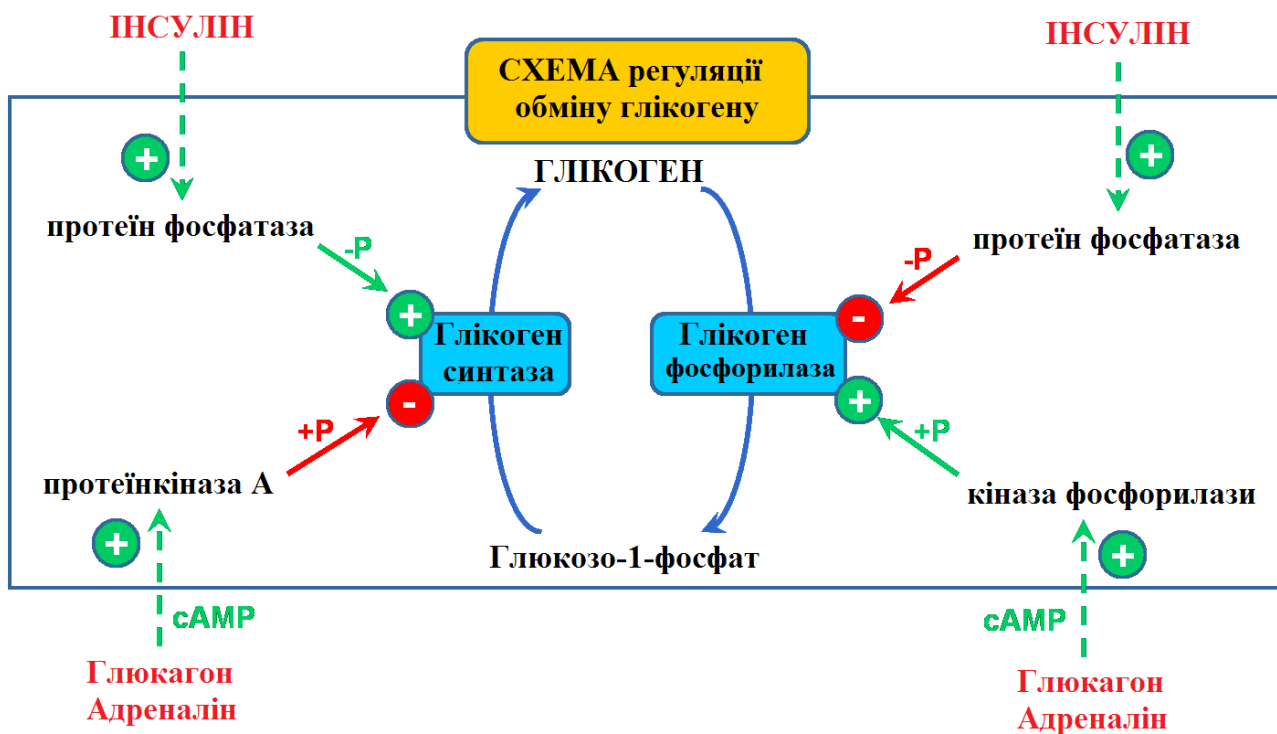
для м'язових клітин:

✍ Зазначте ключові ферменти метаболізму глікогену:

1.

2.

✍ Використовуючи схему, наведену нижче, поясніть механізм регуляції обміну глікогену:



 Заповніть таблицю «Гормональна регуляція метаболізму глікогену у м'язах і печінці»:

Орган	Гормон	Вплив (↑ або ↓)		Механізм впливу
		глікогеноліз	глікогенез	
<i>М'язи</i>				
<i>Печінка</i>				

 На підставі результатів перорального глюкозотолерантного тесту побудуйте глікемічні криві і зробіть висновок про стан здоров'я пацієнтів:

	Пацієнт	1	2
	Концентрація глюкози у сироватці крові, ммоль/л		
Час, хв	30	4,6	6,6
	60	5,3	7,2
	90	6,2	8,3
	120	7,6	11,2
	150	5,5	10,8
	180	4,3	9



📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ ☑:

Зазначте, за рахунок чого забезпечується гіпоглікемічний ефект інсуліну:

- ☐ сприяє транспорту глюкози через клітинну мембрану всередину клітини
- ☐ пригнічує синтез шунтових ферментів глюконеогенезу (обхідні реакції)
- ☐ активує процеси внутрішньоклітинного розщеплення глюкози
- ☐ забезпечує фосфорилування глюкози

У дитини при споживанні свіжого молока відбуваються розлади травного тракту. При цьому споживання інших продуктів, які містять вуглеводи, не викликає подібних порушень. Відсутність якого ферменту може бути причиною вищезазначених розладів?

- ☐ фосфоглюкомутази
- ☐ глікогенсинтази
- ☐ лактази
- ☐ гексокінази
- ☐ глюкозо-6-фосфатізомерази

Оберіть правильну послідовність реакцій глікогенезу:

- ☐ глюкоза → Г-1-Ф → Г-6-Ф → УДФ-глюкоза → глікоген
- ☐ фруктоза → Ф-6-Ф → L-лактат → глікоген
- ☐ глюкоза → Г-6-Ф → Ф-6-Ф → L-лактат → глікоген
- ☐ глюкоза → Г-6-Ф → Г-1-Ф → УДФ-глюкоза → глікоген
- ☐ глюкоза → Г-6-Ф → Ф-6-Ф → Р-5-Ф → глікоген

Оберіть реакцію, яка характерна для синтезу глікогену:

- ☐ реакція глікозилювання
- ☐ утворення нуклеотидцукру
- ☐ фосфорилування глюкози до глюкозо-1-фосфату за участі глюкостінази
- ☐ два тріозофосфати конденсуються в глюкозу

Оберіть метаболіт синтезу глікогену:

- ☐ гліцеральдегід-3 фосфат
- ☐ ацетил-SКоА
- ☐ УДФ-глюкоза
- ☐ глюкозо-1,6-бісфосфат
- ☐ фруктозо-1,6-бісфосфат

Оберіть фермент, що активує специфічну кіназу фосфорилази:

- ☐ протеїнкіназа
- ☐ аденілатциклаза
- ☐ гуанілатциклаза
- ☐ фосфодіестераза
- ☐ фосфорилаза

Відмітьте фермент, який бере участь в утворенні глюкозо-1-фосфату із глікогену:

- ☐ фосфоглюкоізомераза
- ☐ фосфатаза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ фосфорилаза
- ☐ гексокіназа

Визначте наслідки дефіциту глюкозо-6-фосфатази в печінці:

- ☐ накопичення глікогену в печінці
- ☐ гіперглікемія
- ☐ збільшення кількості лактату в крові
- ☐ глюкозурія

Оберіть коректне твердження щодо процесу катаболізму глікогену в м'язах:

- ☐ підтримує сталість глюкози в крові між прийомами їжі
- ☐ стимулюється адреналіном
- ☐ стимулюється інсуліном
- ☐ відбувається з використанням енергії УТФ
- ☐ відбувається з використанням енергії ГТФ

Визначте, які ферменти беруть участь в синтезі глікогену з глюкози в печінці:

- ☐ глюкокіназа
- ☐ глікогенсинтаза
- ☐ фосфорилаза
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза

Оберіть регуляторний фермент процесу глікогенолізу:

- ☐ глікогенфосфорилаза
- ☐ глікогенсинтаза
- ☐ глюкокіназа
- ☐ фосфоглюкомутаза
- ☐ оліготрансфераза
- ☐ аміло-1,6-глікозидаза

Визначте, яким молекулярним механізмом регулюється активація глікогенфосфорилази:

- ☐ фосфорилуванням
- ☐ дефосфорилуванням
- ☐ метилюванням
- ☐ гідроксилуванням
- ☐ декарбоксилуванням

Виконайте «ланцюгове» завдання:

Оберіть гормон, який посилює процес депонування енергетичного матеріалу при надмірному надходженні вуглеводів в організм:

- ☐ глюкагон
- ☐ альдостерон
- ☐ адреналін
- ☐ інсулін
- ☐ кальцитонін

Визначте, які зміни метаболізму виникають в органах-мішенях під впливом обраного гормону:

- ☐ посилення синтезу глікогену в печінці
- ☐ посилення розпаду глікогену в печінці та м'язах
- ☐ збільшення швидкості надходження глюкози у тканини
- ☐ пришвидшення глюконеогенезу у печінці

Лабораторна робота 4

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ІЗОФЕРМЕНТНИХ ФОРМ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЯК α -ГІДРОКСИБУТИРАТДЕГІДРОГЕНАЗИ (кінетичний УФ метод)

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ або L-лактат:NAD-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27) – фермент, який бере участь в реакціях анаеробного перетворення вуглеводів. Лактатдегідрогеназа каталізує перетворення пірувату у лактат, при цьому окиснюючи НАДН+Н⁺ до НАД⁺. Фермент представлений п'ятьма ізоформами. Активною формою лактатдегідрогенази є тетрамер. Кожен мономер містить активний центр. В організмі ссавців є два різні типи субодиниць ЛДГ (Н і М); вони дещо відрізняються за амінокислотою послідовністю та каталітичними властивостями і можуть утворювати тетрамери у будь-якому співвідношенні. У міокарді містяться переважно тетрамери, що складаються із чотирьох Н-субодиниць (від англ. *Heart*), у печінці та скелетних м'язах переважає М₄ ЛДГ (від англ. *Muscle*).

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

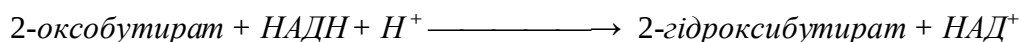
Лактатдегідрогеназа присутня у всіх клітинах організму, але найбільш високий вміст спостерігається в печінці, серці, нирках, скелетних м'язах і еритроцитах.

α -гідроксибутиратдегідрогеназа (α -ГБДГ) – це ізофермент лактатдегідрогенази (ЛДГ), який як додатковий субстрат використовує α -гідроксибутират.

Порівняно з іншими ізоферментами ЛДГ α -ГБДГ більшою мірою присутній в серцевому м'язі і, отже, чутливіший і більш специфічний при діагностиці інфаркту міокарда.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

УФ-метод, який базується на оптимізованому стандартному методі відповідно до вимог DGKC (Німецького Товариства Клінічної Хімії), є модифікованим відповідно до рекомендацій SCE (Скандинавського комітету по ензимам).



НАДН+Н⁺ та НАД⁺ – дві форми β -нікотинамідаденіндинуклеотиду.

2-оксобутират перетворюється у 2-гідроксибутират з одночасним окисненням НАДН+Н⁺. Швидкість зменшення абсорбції за 340 нм, яка пов'язана з окисненням НАДН+Н⁺, прямо пропорційна активності α -ГБДГ (ЛДГ₁ і менше ЛДГ₂) у пробі.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **340 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,04 та 1 мл.
3. Пробірки місткістю 10 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Субстратно-буферний розчин.** Цей розчин готується попередньо шляхом змішування розчину субстрату (НАДН+Н⁺ з концентрацією 16 мг/мл, приготований на 0,01 н гідроксиді натрію) та буферного розчину α -ГБДГ (62,5 мМ Трис-буфер, рН 7,4, що містить 2-оксобутират (3,75 ммоль/л) та ЕДТО (6,25 ммоль/л) у співвідношенні 1:4.
2. **Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма, сеча. Гемоліз неприпустимий!!!

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

Відміряйте субстратно-буферний розчин у скляну пробірку	
Реактиви	Об'єм, мл
1. Субстратно-буферний розчин	2,0
Інкубуйте 10 хв при 25°C та перенесіть до кювети спектрофотометра. Потім в кювету додайте:	
2. Проба (сироватка крові)	0,04
Обережно перемішайте вміст. Вимірюйте оптичну щільність проби (E) за довжини хвилі 340 нм з інтервалом 1 хв протягом 3 хв проти дистильованої води. Запишіть результати вимірювань: $E_{0хв}$ _____ $E_{1хв}$ _____ $E_{2хв}$ _____ $E_{3хв}$ _____	

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахувати середнє значення зміни екстинції за 1 хв ($\Delta E/хв$)

$\Delta E/хв =$ _____

Для одержання активності в МО/л помножте значення $\Delta E/хв$ на коефіцієнт, що дорівнює 8095 (який відповідає температурному режиму експерименту: +25 °C).

Активність ЛДГ (МО/л) = _____

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ АКТИВНОСТІ ЛДГ

У сироватці, плазмі крові: 55-140 МО/л.

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

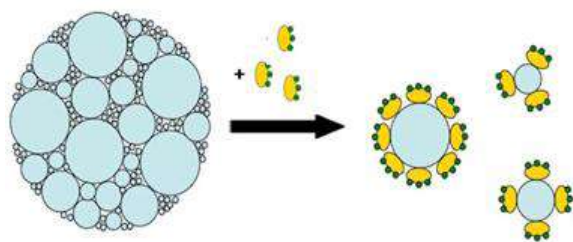
**ГІДРОЛІЗ ЛІПІДІВ В ШКТ, МЕХАНІЗМИ
ВСМОКТУВАННЯ ТА ТРАНСПОРТУ В КЛІТИНИ.
ЛІПОПРОТЕЇНИ КРОВІ. КАТАБОЛІЗМ ВИЩИХ
ЖИРНИХ КИСЛОТ. КЕТОНОВІ ТІЛА.**

- 1 Гідроліз ліпідів в шлунково-кишковому тракті.
- 2 Механізми всмоктування ліпідів, ресинтез триацилгліцеролів (ТАГ) в ентероцитах та циркуляторний транспорт ліпідів в організмі.
- 3 Класи ліпопротеїнів крові: хімічний склад, утворення, біологічна роль, методи фракціонування; апопротеїни.
- 4 Катаболізм триацилгліцеролів у жировій тканині: послідовність реакцій, механізми регуляції активності ТАГ-ліпази. Нейрогуморальна регуляція ліполізу.
- 5 Окиснення жирних кислот (ЖК) за механізмом β -окиснення: біологічна роль, основні етапи, активація жирних кислот. Роль карнітину в транспорті жирних кислот у мітохондрії.
- 6 Послідовність ферментативних реакцій β -окиснення. Енергетика β -окиснення жирних кислот.
- 7 Катаболізм гліцеролу: ферментативні реакції, біоенергетика.
- 8 Кетонові тіла. Реакції біосинтезу та утилізації кетонових тіл, їх фізіологічне значення.

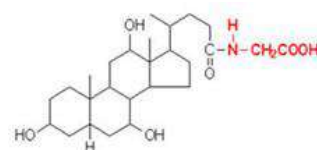
 Опишіть основні етапи та
ліпідів у ШКТ (основні фер
локалізація в ШКТ та ос
механізму дії):



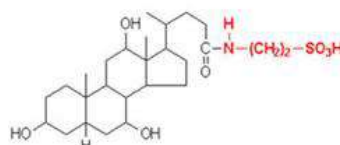
✍ Опишіть біологічне значення процесу ЕМУЛЬСИФІКАЦІЇ ліпідів та механізм, що його забезпечує:



✍ З якими особливостями структури жовчних кислот пов'язана властивість емульсифікувати ліпідні глобули:



глікохолева кислота



таурохолева кислота

✍ Заповніть таблицю «Класи ліпопротеїнів плазми крові»:

Назва класу ліпопротеїнів		Місце синтезу	Біологічна роль
за щільністю	основні характеристики		

✍ Зобразіть схему циркуляції ліпопротеїнів різної щільності в організмі:

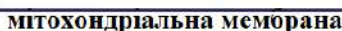


1.

2.

3.

4.



 Коротко опишіть особливості катаболізму нетипових жирних кислот.

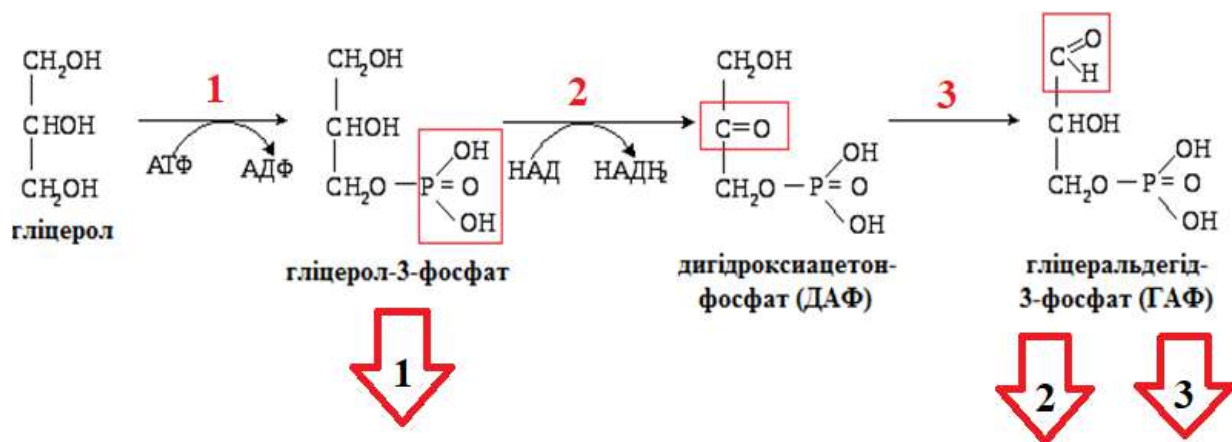
1. Жирні кислоти, які містять подвійний зв'язок:

2. Жирні кислоти, які містять непарну кількість атомів карбону:

 Коротко опишіть особливості метаболізму молекули гліцеролу:

Ферменти:

1. _____
2. _____
3. _____



 Проаналізуйте шляхи використання метаболітів гліцеролу:

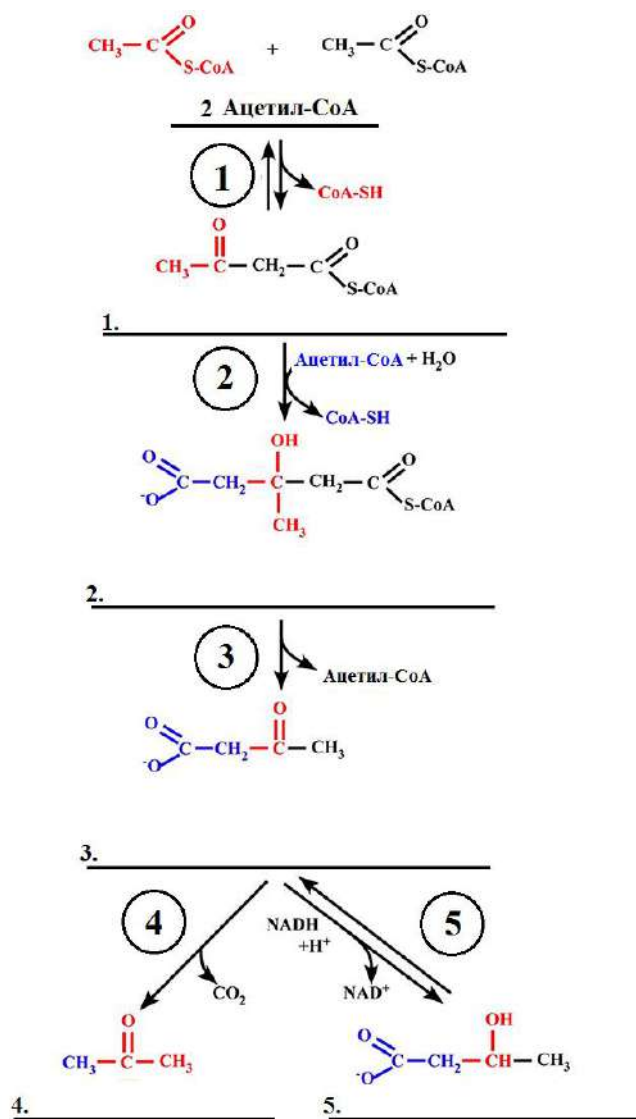
1. _____

2. _____

3. _____

✍ Дайте визначення терміну “КЕТОГЕНЕЗ”:

✍ Доповніть схему синтезу кетонових тіл назвами відповідних продуктів реакцій (1-5) та ферментів (1-5):



Ферменти процесу:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

✍ Які з продуктів реакцій належать до кетонових тіл?

1. _____
2. _____
3. _____

✍ Охарактеризуйте функції кетонових тіл в організмі:

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

✍ Дайте визначення наступним термінам:

«КЕТОЗ» _____

«КЕТОАЦИДОЗ» _____

✍ Поясніть причини гіперпродукції кетонових тіл при цукровому діабеті:

- _____
- _____
- _____

 Проаналізуйте енергетичний вихід реакцій повного окиснення наступних молекул (з урахуванням окисного фосфорилування):

1 молекула β -гідроксибутирату:

1 молекула гліцеролу:

1 молекула стеаринової кислоти:

1 молекула тристеарину:

1 молекула ліноленової кислоти:

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Оберіть місце синтезу та назву ліпопротеїнів, маркером яких є апопротеїн В-100:

- ☐ в печінці, хіломікрони
- ☐ в печінці, ліпопротеїни дуже низької щільності
- ☐ в кишечнику, ліпопротеїни низької щільності
- ☐ в печінці, ліпопротеїни проміжної щільності
- ☐ в ендотелії, ліпопротеїни високої щільності

Визначте речовини, які в нормі зустрічаються у складі змішаних міцел у шлунково-кишковому тракті:

- ☐ триацилгліцероли
- ☐ ефіри холестеролу
- ☐ жовчні кислоти
- ☐ ейкозаноїди
- ☐ воски

Оберіть речовини, для яких характерна рециркуляція між печінкою та кишечником:

- ☐ фосфоліпіди
- ☐ моноацилгліцероли
- ☐ триацилгліцероли
- ☐ лізофосфоліпіди
- ☐ жовчні кислоти

Зазначте фактори, які активують ферменти гідролізу ліпідів у шлунково-кишковому тракті:

- ☐ трипсин
- ☐ жовчні кислоти
- ☐ холестерол
- ☐ коліпаза
- ☐ ентерокиназа

Вкажіть кількість основних типів ліпопротеїнів, які циркулюють у крові:

- ☐ 2
- ☐ 3
- ☐ 4
- ☐ 10

Оберіть ліпопротеїни, які забезпечують транспорт холестеролу від тканин до печінки:

- ☐ хіломікрони
- ☐ ліпопротеїни дуже низької щільності
- ☐ ліпопротеїни низької щільності
- ☐ ліпопротеїни проміжної щільності
- ☐ ліпопротеїни високої щільності

Оберіть речовини, які ресинтезуються в ентероцитах кишечника:

- ☐ триацилгліцероли
- ☐ жирні кислоти
- ☐ жовчні кислоти
- ☐ кетонів тіла
- ☐ фосфоліпіди

Визначте, скільки циклів β -окиснення необхідно для повного перетворення на ацетил-КоА стеаринової кислоти:

- ☐ 7
- ☐ 18
- ☐ 9
- ☐ 8
- ☐ 4

Зазначте, який посередник забезпечує транспорт активованих жирних кислот із цитоплазми до мітохондрій:

- ☐ малат
- ☐ цитрат
- ☐ карнітин
- ☐ оксалоацетат
- ☐ кофактор ацилування (КоА)

Оберіть коферменти, які беруть участь в β -окисненні жирних кислот:

- ☐ піродоксальфосфат
- ☐ нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
- ☐ флавінмононуклеотид
- ☐ тіамінпірофосфат
- ☐ флавінаденіндинуклеотид
- ☐ нікотинамідаденіндинуклеотид

Зазначте умови, за яких активується процес β -окиснення ЖК в працюючих скелетних м'язах:

- ☐ накопичення НАДН + H^+
- ☐ накопичення НАД⁺
- ☐ збільшення концентрації ацетил-КоА в мітохондріях
- ☐ накопичення АТФ
- ☐ гіпоксія, що спостерігається в перші хвилини роботи м'язів

Оберіть речовину, що належить до кетонових тіл:

- ☐ ацетоацетат
- ☐ сукцинат
- ☐ ацетил-КоА
- ☐ піруват
- ☐ міристат

Зазначте умови, за яких активується синтез кетонових тіл:

- ☐ збільшення концентрації ЖК в крові
- ☐ збільшення концентрації інсуліну в крові
- ☐ збільшення концентрації глюкози в крові
- ☐ пришвидшення процесу ЦТК
- ☐ збільшення кількості АТФ в клітині

ВПЛИВ ЖОВЧІ НА АКТИВНІСТЬ ЛІПАЗИ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ

ЛІПАЗА ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ (клас ферментів – гідролази) активується в дванадцятипалій кишці шляхом приєднання до неї коліпази. Ліпаза каталізує відщеплення залишків жирних кислот біля першого та третього атомів вуглецю молекули триацилгліцеролу, внаслідок чого утворюється суміш 2-моноацилгліцеролів і калієвих або натрієвих солей жирних кислот (мил).

Гідролізу триацилгліцеролів передують їх емульгування під дією солей жовчних кислот (кон'югатів холевої і хенодезоксихолевої кислот із гліцином та таурином), які діють як детергенти, знижуючи поверхневий натяг жирових крапель, завдяки чому вони розпадаються до дрібних міцел.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Зміни активності ліпази триацилгліцеролів можуть свідчити про порушення певних ланок ліпідного обміну. *Зниження активності ліпази* викликає панкреатогенну стеаторею, яка може бути викликана хронічним панкреатитом, спадковою гіпоплазією підшлункової залози. Вміст жовчних пігментів у калі при таких станах супроводжується зниженням вмісту вільних жирних кислот і значним збільшенням нерозщеплених жирів. Порушення травлення, емульгування і всмоктування ліпідів можуть спостерігатися також при захворюваннях печінки, жовчного міхура або жовчних шляхів.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Активність ліпази визначають за кількістю вільних жирних кислот, що утворюються в результаті гідролізу жиру.

ОБЛАДНАННЯ

1. Колби.
2. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми від 0,1 до 1 мл, від 1 мл до 10 мл.
3. Бюретки для титрування.
4. Термостат, який забезпечить інкубацію пробірок при температурі +38 °С.

РЕАКТИВИ

1. Проба. Кип'ячене і розведене водою (1:1) молоко.
2. Панкреатин.
3. Жовч.
4. Розчин фенолфталеїну.
5. 0,05 н розчин гідроксиду натрію (NaOH).
6. Дистильована вода.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні колби.</i>			
Реактиви	Колби		
	1	2	3
1. Проба (молоко)	8,5 мл	8,5 мл	8,5 мл
2. Панкреатин (ліпаза)	-	0,5 мл	0,5 мл
3. Жовч	-	-	1,0 мл
4. Дистильована вода	1,5 мл	1,0 мл	-
Обережно перемішайте вміст колб. Помістіть колби у термостат (38 °C) на 15 хв. Через 15 хв з кожної колби відберіть по 5 мл суміші у відповідні 3 чисті колби (позначити як 1', 2', 3'), решту залиште у термостаті ще на 30 хв. Додайте до колб наступний реактив.			
5. Розчин фенолфталеїну	2 краплі	2 краплі	2 краплі
Обережно перемішайте вміст колб. Починайте титрування 0,05 н розчином NaOH до появи слабко рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30 с. Через 30 хв у колби, що залишились у термостаті, додайте наступний реактив.			
6. Розчин фенолфталеїну	2 краплі	2 краплі	2 краплі
Обережно перемішайте вміст колб. Починайте титрування 0,05 н розчином NaOH до появи слабо рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30 с.			

РЕЗУЛЬТАТИ

Про ферментативну активність ліпази судять по кількості розчину лугу, витраченого на титрування. Дані занесіть у таблицю нижче, порівнюючи активність ліпази в пробах за наявності та відсутності жовчі.

Таблиця. Кількість 0,05 н розчину NaOH, витраченого на титрування дослідних проб

Умови досліджу	№ колби	К-сть NaOH, мл	№ колби	К-сть NaOH, мл
		15 хв		45 хв
Молочний жир – ліпаза – жовч	1'		1	
Молочний жир + ліпаза – жовч	2'		2	
Молочний жир + ліпаза + жовч	3'		3	

ВИСНОВОК (порівняти активність ліпази у трьох колбах за інкубації 15 хв – колби 1', 2', 3' та 45 хв – колби 1, 2, 3)

ПІБ викладача

підпис

дата

Тема 7.

БІОСИНТЕЗ НАСИЧЕНИХ І НЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ. БІОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ ТА ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДІВ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

- 1 Біосинтез вищих жирних кислот: метаболічні джерела, регуляція, ферментативні реакції синтезу пальмітату.
- 2 Елонгація насичених жирних кислот (ЖК), утворення моно- і поліненасичених жирних кислот в організмі людини.
- 3 Біосинтез триацилгліцеролів (ТАГ): субстрати, послідовність реакцій, ферментне забезпечення.
- 4 Біосинтез фосфоліпідів у тканинах людини.
- 5 Особливості ліпогенезу і ліполізу в жировій тканині; взаємозв'язок з метаболізмом вуглеводів; гормональна регуляція.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

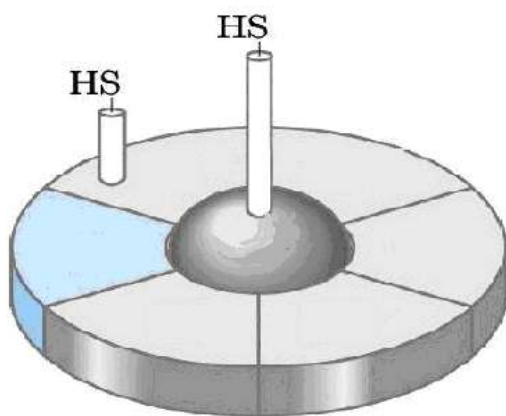
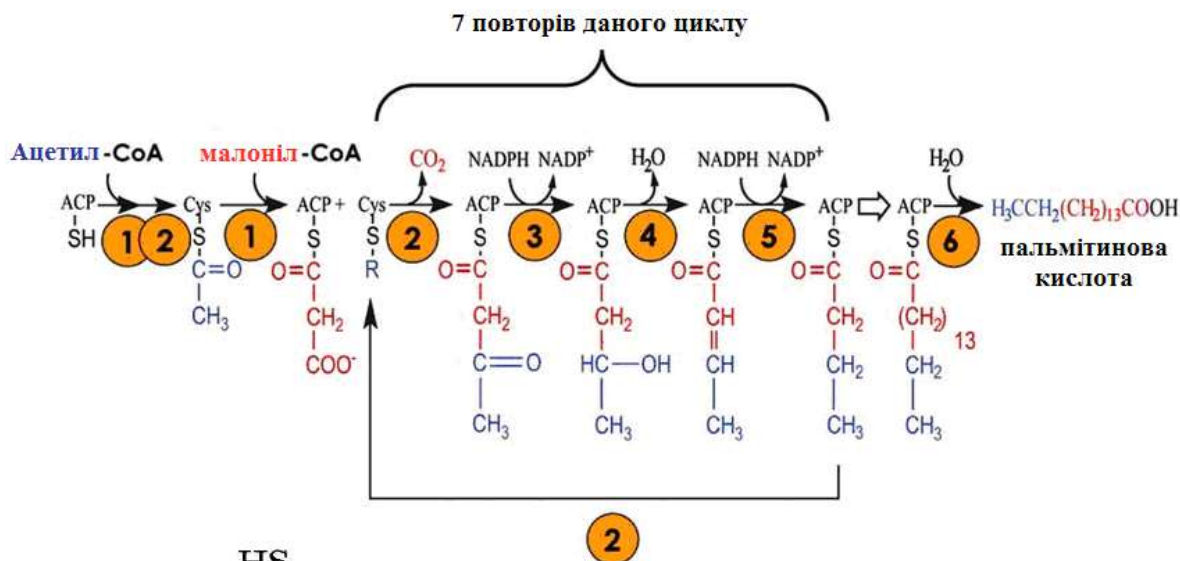
✍ Доповніть схему транспорту ацетил-КоА крізь мітохондріальну мембрану в цитоплазму назвами відповідних ферментів та транспортерів (1-9). Використовуючи схему, опишіть процес та механізм відновлення пулу мітохондріального оксалоацетату:



Ферменти та транспортери:

- | | |
|----------|----------|
| 1. _____ | 5. _____ |
| 2. _____ | 6. _____ |
| 3. _____ | 7. _____ |
| 4. _____ | 8. _____ |
| | 9. _____ |

✎ Доповніть схему синтезу жирних кислот назвами відповідних ферментів (1-6). Використовуючи схему, опишіть процес:



Ферменти процесу:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

✎ Запишіть загальне рівняння процесу синтезу жирних кислот (на прикладі пальмітинової кислоти):

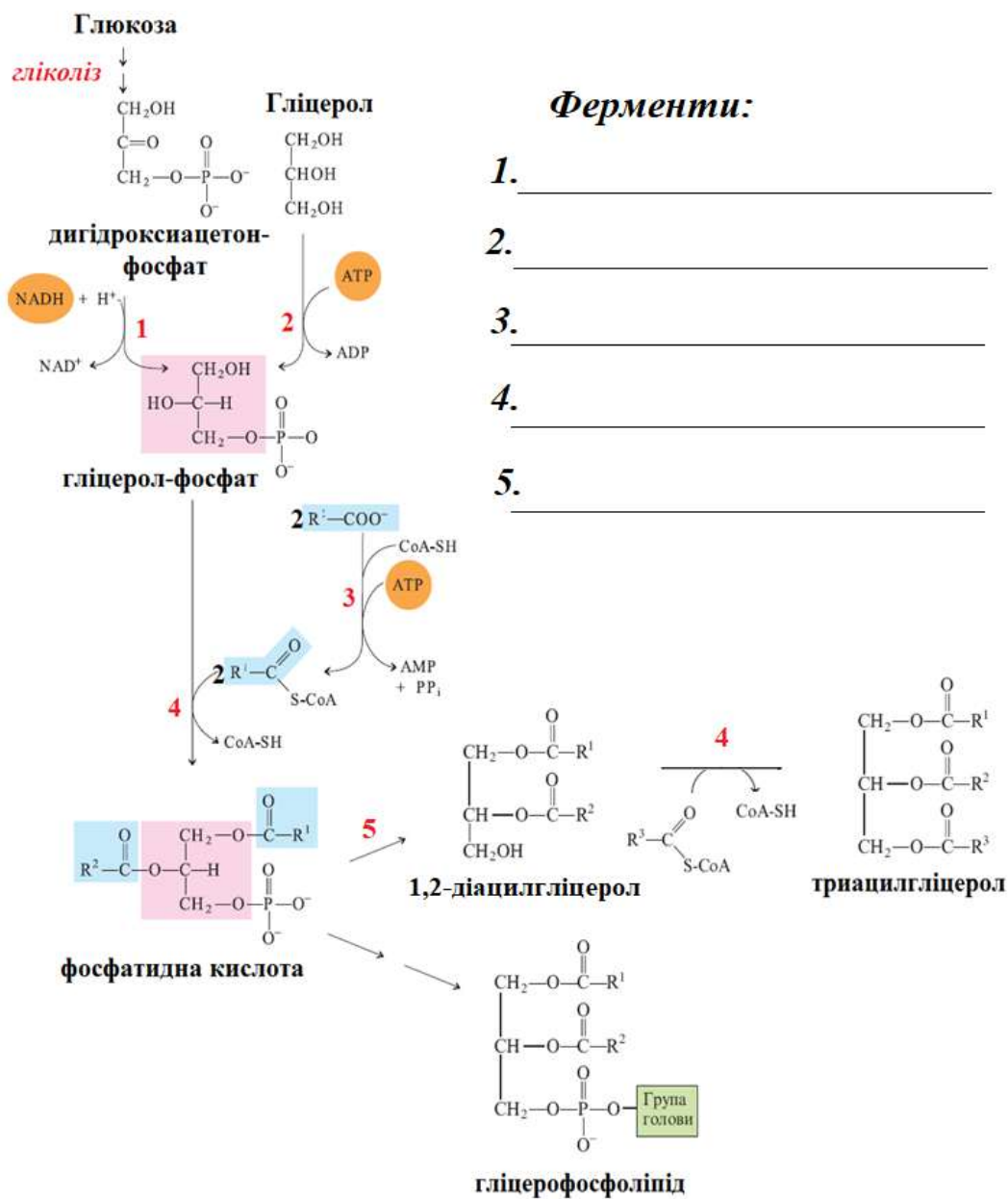
✎ Поясніть походження молекули малоніл-КоА. Вкажіть фермент та опишіть хімізм реакції:

✎ Поясніть біологічне значення наступних ферментів:

Елонгаза ЖК

Десатураза ЖК

✍️ Поясніть механізм синтезу триацилгліцеролів та інших гліцерофосфоліпідів. Доповніть схему назвами відповідних ферментів:



 **Зобразіть схему регуляції ліполізу під дією адреналіну та інсуліну.**



 **Поясніть напрямок метаболічних змін обміну ТАГ в адипоцитах людини за умов одночасної дії на організм факторів стресу та кофеїну:**

 **Поясніть напрямок метаболічних змін обміну ТАГ в адипоцитах людини за умов одночасної дії кофеїну та підвищеної концентрації інсуліну:**

 **Відомо, що при голодуванні зменшується співвідношення концентрації інсулін/контрінсулярні гормони в напрямку, насамперед, підвищення концентрації глюкагону. Поясніть зміни метаболізму ТАГ в адипоцитах за умов голодування.**

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Оберіть умови, за яких спостерігається посилення синтезу жирних кислот:

- ☐ вплив інсуліну
- ☐ вплив адреналіну
- ☐ голодування
- ☐ накопичення значної кількості пальмітоїл-КоА
- ☐ переважання вмісту АМФ над АТФ в клітинах

Визначте, у вигляді якого метаболіту надлишковий мітохондріальний ацетил-КоА потрапляє до цитоплазми для синтезу жирних кислот:

- ☐ пірувату
- ☐ малату
- ☐ цитрату
- ☐ оксалоацетату
- ☐ ацетил-КоА

Оберіть кофактор ацетил-КоА-карбоксилази:

- ☐ біотин
- ☐ пантотеїнат
- ☐ кобаламін
- ☐ тетрагідрофолат
- ☐ піридоксин

Оберіть речовини, що є попередниками утворення ЦДФ-діацилгліцеролу:

- ☐ діацилгліцерол+ЦДФ
- ☐ триацилгліцерол+ЦДФ
- ☐ гліцерол+ЦТФ
- ☐ фосфогліцерол+ЦДФ
- ☐ фосфатидна кислота+ЦТФ

Оберіть, яка макроергічна сполука забезпечує активацію під час синтезу фосфоліпідів:

- ☐ АТФ
- ☐ ГТФ
- ☐ УТФ
- ☐ ЦТФ
- ☐ дАТФ

Зазначте, який фермент є регуляторним у процесі синтезу жирних кислот:

- ☐ ацил-КоА-синтетаза
- ☐ ацетил-КоА-карбоксилаза
- ☐ синтаза жирних кислот
- ☐ карнітинацилтрансфераза

Визначте ферменти, які необхідні для синтезу триацилгліцеролів із фосфатидної кислоти:

- ☐ гліцеролкіназа
- ☐ гліцеролфосфатдегідрогеназа
- ☐ фосфатаза
- ☐ ацилтрансфераза

Зазначте фосфоліпід, які синтезуються ЦДФ-діацилгліцерольним шляхом:

- ☐ фосфатидилінозитол
- ☐ фосфатидилсерин
- ☐ фосфатидилетаноламін
- ☐ фосфатидилхолін

Вкажіть місце локалізації синтезу фосфатидної кислоти:

- ☐ гладенький ЕПР
- ☐ мітохондрії
- ☐ апарат Гольджі
- ☐ шорсткий ЕПР
- ☐ пероксисоми

Оберіть речовини, що беруть участь у синтезі фосфогліцероліпідів:

- ☐ 1,2-діацилгліцерол
- ☐ фосфатидна кислота
- ☐ сфінгозин
- ☐ цитидинтрифосфат
- ☐ жовчні кислоти

Оберіть, який продукт утворюється при декарбоксилюванні фосфатидилсерину:

- ☐ фосфатидилінозитол
- ☐ фосфатидилетаноламін
- ☐ фосфатидилхолін
- ☐ фосфатидилгліцерол
- ☐ сфінгомиелін

Визначте позамітохондріальний алостеричний активатор синтезу жирних кислот:

- ☐ авідин
- ☐ АТФ
- ☐ НАДФН+H⁺
- ☐ CO₂
- ☐ цитрат

Вкажіть місце ресинтезу триацилгліцеролів:

- ☐ жирова тканина
- ☐ ентероцити
- ☐ печінка
- ☐ шлунок

Оберіть вітамін, необхідний для роботи АПБ пальмітатсинтазного ферментного комплексу:

- ☐ тимін
- ☐ рибофлавін
- ☐ біотин
- ☐ пантотенова кислота
- ☐ піридоксин

Оберіть фермент, який бере участь в біосинтезі ненасичених жирних кислот:

- ☐ десатураза
- ☐ циклооксигеназа
- ☐ ліпооксигеназа
- ☐ тіолаза

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОНОВИХ ТІЛ У СЕЧІ

КЕТОНОВІ ТІЛА – три метаболічні продукти: β -оксибутират ($\text{CH}_3\text{—CHON—CH}_2\text{—COO}^-$), ацетоацетат ($\text{CH}_3\text{—CO—CH}_2\text{—COO}^-$) та ацетон ($\text{CH}_3\text{—CO—CH}_3$). Утворюються головним чином в мітохондріях печінки. Є продуктами неповного окиснення карбонових кислот, вуглеводів, кетогенних амінокислот. Організм (клітини мозку, серця, скелетних м'язів) використовує кетонів тіла головним чином як джерело енергії, частково – для синтезу стеролів, карбонових кислот, фосфатидів, замінних амінокислот. Невелика кількість кетонів тіл виводиться з організму з сечею, видихуванням повітрям і материнським молоком.

У здорової людини в крові вміст кетонів тіл становить – 1,3-185 мкмоль/л (1,5-20 мг/л), з сечею виділяється 20-40 мг кетонів тіл на добу.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Збільшення концентрації кетонів тіл в крові – кетонемія, а також поява їх в сечі – кетонурія – спостерігаються при голодуванні, лихоманці, алкогольній інтоксикації, інфекційних захворюваннях. При цукровому діабеті концентрація кетонів тіл зростає в десятки разів, що є наслідком активації ліполізу – мобілізації жирних кислот, гальмування ЦТК, дефіциту оксалоацетату, що призводить до накопичення ацетил-КоА. Кетонемія і кетонурія при цукровому діабеті свідчать про декомпенсацію метаболічних порушень (розвиток ацидозу).

Зниження вмісту кетонів тіл у сечі клінічного значення не має.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Ацетон має властивість утворювати фіолетове кільце в присутності нітропрусида натрію ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$) та концентрованої оцтової кислоти при нашаруванні аміаку.

Швидкість утворення кільця залежить від концентрації ацетону.

ОБЛАДНАННЯ

1. Штатив із пробірками місткістю 10 мл.
2. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єм від 0,1 до 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. Проба. Сеча.
2. 10%-й розчин нітропрусида натрію.
3. Концентрована оцтова кислота.
4. 50%-й розчин сульфату амонію.
5. Концентрований розчин аміаку.
6. Дистильована вода.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки.								
Реактиви	Пробірки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. Дистильована вода	-	1 мл	1 мл	1 мл	1 мл	1 мл	1 мл	1 мл
2. Проба (сеча)	1 мл	1 мл	-	-	-	-	-	-
Обережно перемішайте вміст другої пробірки і перенесіть в наступну за схемою								
З останньої восьмої пробірки 1 мл суміші вилийте для зрівнювання об'єму з іншими пробірками. Таким чином, сеча в пробірках, починаючи з другої, буде мати розведення у 2, 4, 8 і т.д. разів. Додайте до пробірок наступні реактиви:								
3. 50%-й розчин сульфату амонію	по 8 крапель							
4. Концентрована оцтова кислота	по 8 крапель							
5. 10%-й розчин нітропрусиду натрію	по 8 крапель							
Обережно перемішайте вміст всіх пробірок. Обережно по стінках, починаючи з останньої пробірки, нашаровуйте розчин концентрованого аміаку (реактив відбирайте піпеткою обережно під витяжною шафою)								
6. Концентрований розчин аміаку	по 1 мл							
Спостерігаючи за пробірками, відмітьте ту з них, де при максимальному розведенні сечі між 3 і 4 хв ще помітне фіолетове кільце на межі рідин.								

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Концентрація ацетону в сечі, мг/добу = $0,85 \times a \times 15$; де

0,85 – емпіричне число,

a – розведення сечі,

15 – перерахунок на добову сечу (1500 мл).

НОРМАЛЬНІ МЕЖІ КОНЦЕНТРАЦІЇ АЦЕТОНУ

Поява кільця між 3 і 4 хв відповідає вмісту 0,0085 г/л ацетону.

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

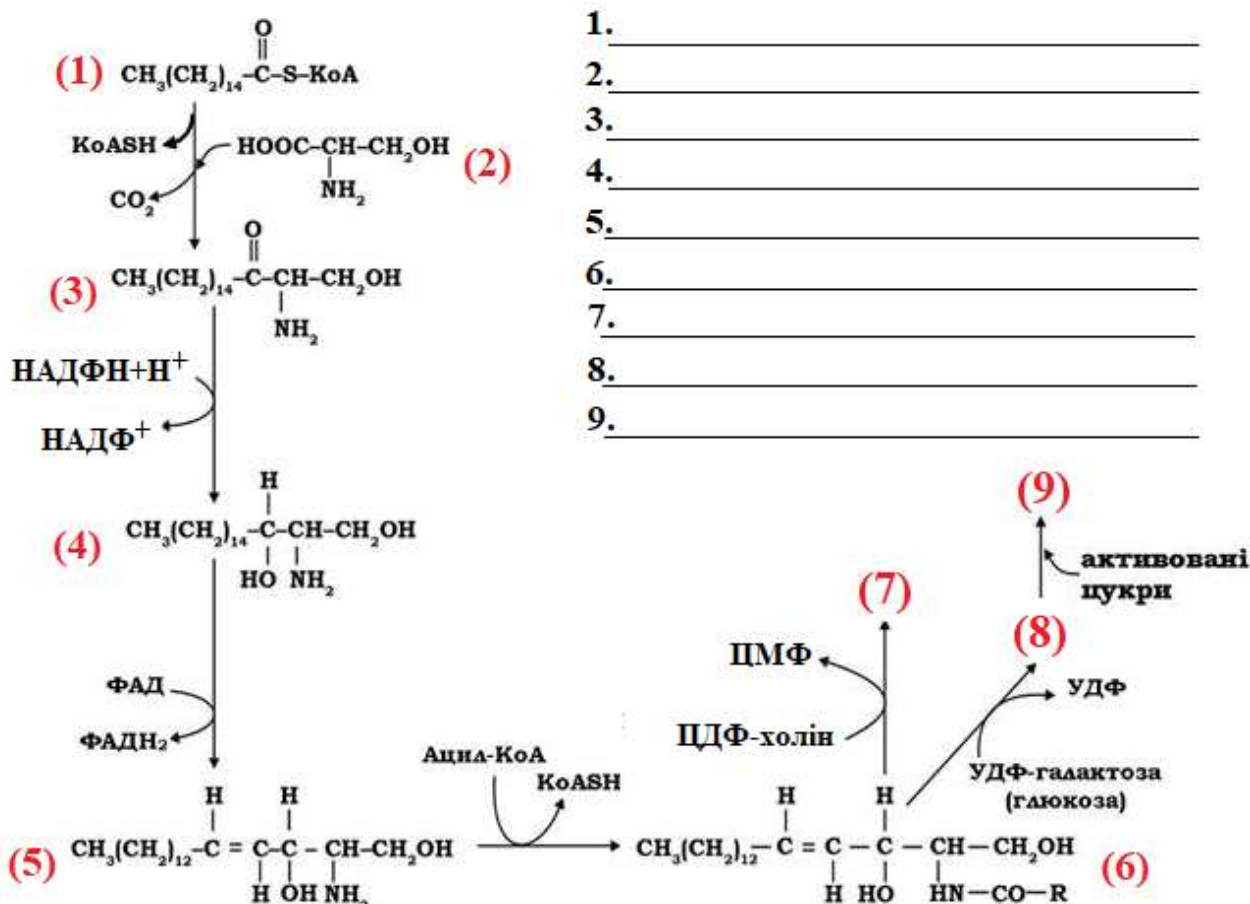
МЕТАБОЛІЗМ СФІНГОЛІПІДІВ. БІОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛУ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Метаболізм сфінголіпідів.
2. Біосинтез холестеролу: метаболічні попередники, схема послідовності реакцій, регуляція синтезу.
3. Шляхи біотрансформації холестеролу: етерифікація; синтез жовчних кислот, стероїдних гормонів, вітаміну D₃; екскреція холестеролу із організму.
4. Роль цитохрому Р-450 в біотрансформації фізіологічно активних стероїдів.

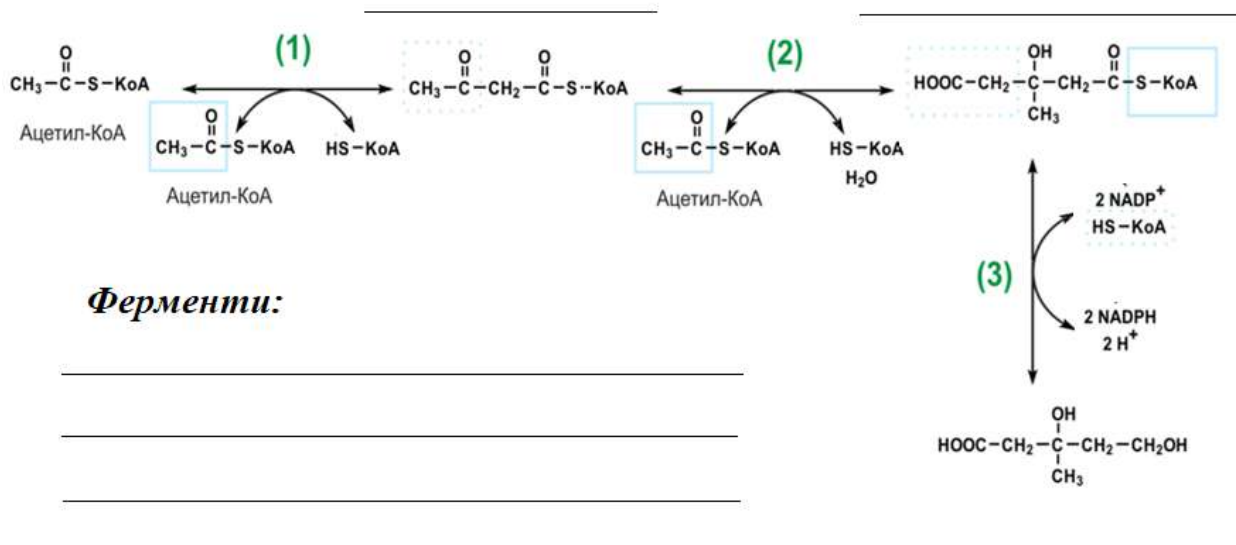
ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

Доповніть схему синтезу сфінголіпідів назвами відповідних метаболітів та опишіть процес:

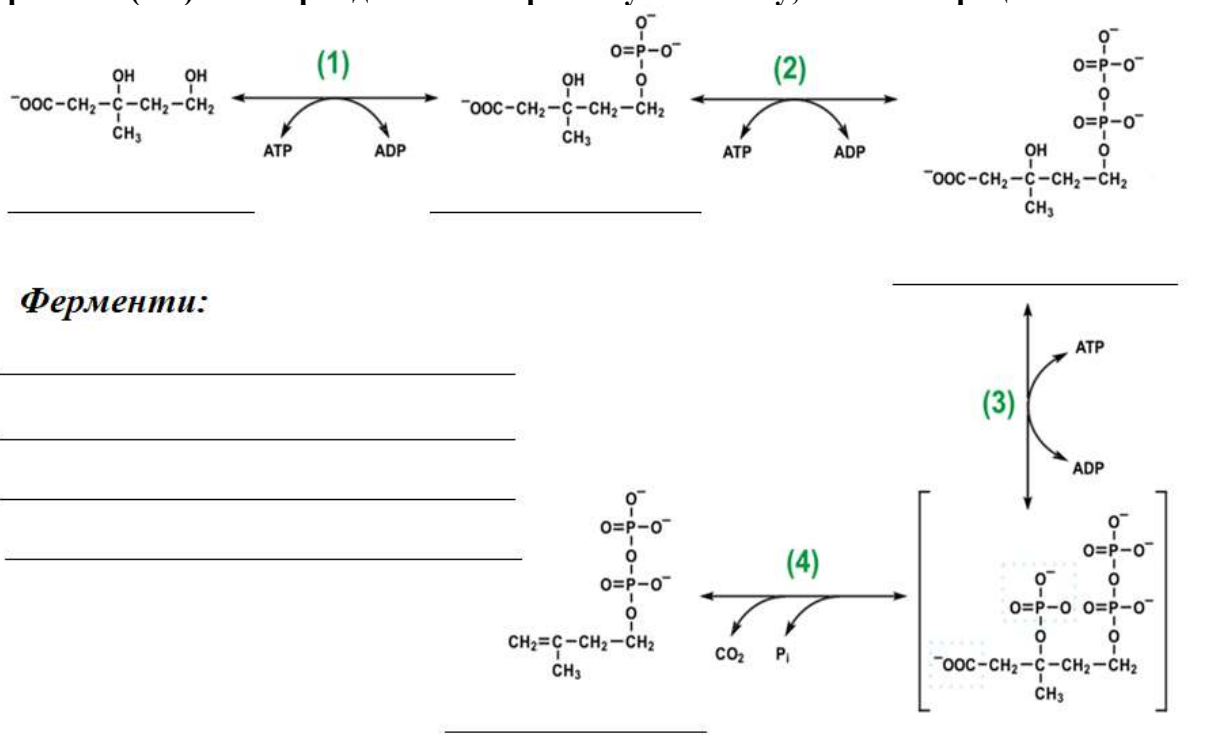


Коротко опишіть біологічне значення сфінголіпідів:

✎ Доповніть схему синтезу мевалонової кислоти назвами відповідних ферментів (1-3) та інтермедіатів. Використовуючи схему, опишіть процес:



✎ Доповніть схему утворення активованих ізопренових одиниць назвами відповідних ферментів (1-4) та інтермедіатів. Використовуючи схему, опишіть процес:



📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Зазначте речовину, яка є структурним попередником всіх атомів карбону в холестеролі:

- ☐ малоніл-КоА
- ☐ CO₂
- ☐ гліцин
- ☐ ацетил-КоА
- ☐ сукциніл-КоА

Вкажіть, подібно до синтезу яких речовин йдуть перші стадії синтезу холестеролу:

- ☐ кетонових тіл
- ☐ ЖК
- ☐ глікогену
- ☐ ТАГ
- ☐ ФЛ

Визначте, які з перерахованих сполук є проміжними метаболітами в синтезі холестеролу:

- ☐ β-гідроксиметилглутарил-КоА
- ☐ малоніл-КоА
- ☐ мевалонат
- ☐ ергостерол
- ☐ фарнезилпірофосфат
- ☐ ізопентеніліпірофосфат
- ☐ сквален

Оберіть коффермент окисно-відновних реакцій біосинтезу холестеролу:

- ☐ НАДН+H⁺
- ☐ ФАДН₂
- ☐ глутатіон-SH
- ☐ НАДФН+H⁺
- ☐ ФМНН₂

Оберіть сполуку, яка є першим продуктом циклізації сквалена на шляху біосинтезу холестеролу:

- ☐ фарнезилпірофосфат
- ☐ меваленова кислота
- ☐ ланостерол
- ☐ холестерол
- ☐ ацетоацетил-КоА
- ☐ гераніліпірофосфат

Визначте, до якого класу належить фермент синтезу холестеролу, що каталізує реакцію перетворення меваленової кислоти на 3-фосфо-5-дифосфомевалонат:

- ☐ трансферази
- ☐ ліази
- ☐ лігази
- ☐ оксидоредуктази
- ☐ ізомерази
- ☐ гідролази
- ☐ транслотази

Оберіть твердження, які вірно характеризують фермент ЛХАТ (лецитин-холестерол-ацилтрансфераза):

- ☐ каталізує реакцію гідролізу ефірів холестеролу
- ☐ каталізує реакцію етерифікації холестеролу
- ☐ має найбільшу активність в хіломікронах
- ☐ має найбільшу активність в ЛПВЩ
- ☐ сприяє переміщенню холестеролу з поверхневого шару ліпопротеїнів всередину міцели

Визначте, якими шляхами відбувається регуляція синтезу ендogenous холестеролу:

- ☐ екзогенний холестерол активує гідроксиметилглутарил-КоА-редуктазу
- ☐ надлишок екзогенного холестеролу пригнічує синтез ендogenous холестеролу
- ☐ надлишок екзогенного холестеролу стимує синтез ендogenous холестеролу
- ☐ швидкість синтезу регулюється за механізмом зворотного зв'язку
- ☐ ендogenous холестерол пригнічує активність гідроксиметилглутарил-КоА-редуктази

Оберіть ліпопротеїни, в яких холестерол має атерогенні властивості:

- ☐ ліпопротеїни високої щільності
- ☐ ліпопротеїни дуже низької щільності
- ☐ ліпопротеїни низької щільності
- ☐ ліпопротеїни проміжної щільності
- ☐ хіломікрони

Оберіть твердження, що є НЕ характерним для холестеролу:

- ☐ є структурним компонентом мембран
- ☐ використовується як субстрат для синтезу кортизолу
- ☐ окиснюється до CO_2 і H_2O
- ☐ використовується як субстрат для синтезу холевої кислоти
- ☐ використовується як субстрат для синтезу вітаміну D_3

Оберіть, які речовини є структурними попередниками при синтезі сфінгозинової основи *de novo*:

- ☐ серин
- ☐ треонін
- ☐ пальмітоїл-КоА
- ☐ пальмітоолеїл-КоА

Оберіть коферменти окисно-відновних реакцій синтезу сфінголіпідів:

- ☐ НАД^+
- ☐ $\text{НАДН} + \text{H}^+$
- ☐ $\text{НАДФН} + \text{H}^+$
- ☐ ФАД
- ☐ ФАДН_2
- ☐ ФМН

Лабораторна робота 7

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ХОЛЕСТЕРОЛУ У СИРОВАТЦІ І ПЛАЗМІ КРОВІ ФЕРМЕНТАТИВНИМ МЕТОДОМ

ХОЛЕСТЕРОЛ є високомолекулярним стероїдом, що містить структуру циклопентанпергідрофенантрону.

У організм людини холестерол надходить з їжею, але велика його частина синтезується ендогенно в печінці. Холестерол є компонентом клітинних мембран, попередником стероїдних гормонів і жовчних кислот. Холестерол транспортується в плазмі крові ліпопротеїнами, виділяється в незміненому вигляді в жовч або, після трансформації, у вигляді жовчних кислот. Приблизно 10% населення страждає на гіперхолестеролемію.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Рівень холестеролу в крові підвищується при наступних захворюваннях і станах: захворювання печінки; внутрішньо та позапечінковий холестаз; панкреатит, новоутворення підшлункової залози; захворювання нирок (нефротичний синдром, гломерулонефрит); цукровий діабет; гіпотиреоз; спадкові дефекти (нездатність виробляти ліпопротеїнліпазу, дефіцит рецепторів ЛПНЩ). Підвищення рівня холестеролу прямо пропорційно збільшенню ризику розвитку атеросклерозу і ураженню коронарних і периферичних судин. **Гіпохолестеролемія** відмічається при хворобі Танжера, цирозі і злоякісних новоутвореннях печінки, синдромі мальабсорбції, гіпертиреозі, недостатності харчування та ін.

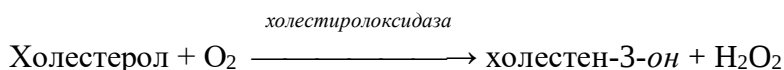
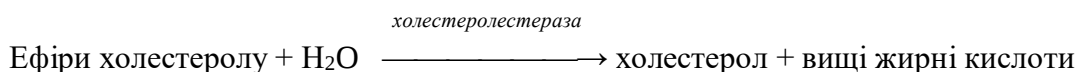
РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ холестеролу у сироватці крові

- діти 0-12 років: 2,95 – 5,30 ммоль/л;
- дорослі 12-40 років: 3,08 – 6,94 ммоль/л;
- дорослі 40-70 років: 3,81 – 7,85 ммоль/л.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Холестерол сироватки крові під дією холестеролоксидази окиснюється киснем повітря до холестерен-3-ону та пероксиду водню. Останній під дією пероксидази утворює з фенолом та 4-аміноантипірином (4-амінофеназоном) хінонімін рожево-червоного кольору. Інтенсивність рожево-червоного або бузкового забарвлення реакційного розчину пропорційна концентрації холестеролу.

Послідовність реакцій у процесі визначення концентрації холестеролу:



ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **500 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Термостат, який забезпечує інкубацію пробірок при температурі +37 °С.
3. Пробірки місткістю 10 мл.
4. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,02 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Ферментний реагент.** Цей розчин містить суміш ферментів: холестеролестеразу ≥ 150 Од/л, холестеролоксидазу ≥ 100 Од/л, пероксидазу ≥ 5 кОд/л, а також реагенти 0,3 мМ 4-амінофеназон, 3, мМ фенол та 30 мМ Трис.
2. **Стандартний розчин холестеролу.** Концентрація холестеролу в даному розчині становить 5,17 ммоль/л.
3. **Проба.** Свіжа сироватка крові. Якщо концентрація холестеролу в пробі вище, ніж 19,4 ммоль/л, то пробу варто розвести фізіологічним розчином і провести аналіз повторно. Отриманий результат помножити на ступінь розведення.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба; К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. Ферментний Ензимний реагент	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
2. NaCl 0,9%	0,02 мл	-	-
3. Стандартний р-н холестеролу	-	0,02 мл	-
4. Проба (сироватка крові)	-	-	0,02 мл
Обережно перемішайте вміст пробірок. Помістіть пробірки у термостат (+37°C) на 10 хв або залиште при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 20 хв. Важливо! Уникайте прямого потрапляння сонячних променів на пробірки під час інкубації. Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 500 нм проти холостої проби (Бланк). Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 60 хв у темряві. Запишіть результати вимірювань: $E_{\text{контроль}}$ _____ $E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація холестеролу, ммоль/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 5,17; \text{ де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно;
5,17 – концентрація холестеролу у стандартному розчині, ммоль/л.

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

Тема 9.

ГІДРОЛІЗ БІЛКІВ В ШКТ, МЕХАНІЗМИ ВСМОКТУВАННЯ АМІНОКИСЛОТ В КЛІТИНИ. ТРАНСАМІНУВАННЯ, ДЕЗАМІНУВАННЯ, ДЕКАРБОКСИЛУВАННЯ АМІНОКИСЛОТ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

- 1 Гідроліз білків в шлунково-кишковому тракті. Специфічність дії різних протеаз.
- 2 Загальні шляхи перетворення вільних амінокислот до кінцевих продуктів.
- 3 Декарбоксилювання амінокислот: ферменти, фізіологічне значення. Окиснення біогенних амінів.
- 4 Трансамінування амінокислот: реакції, біохімічне значення, механізм дії амінотрансфераз.
- 5 Деамінування амінокислот: типи деамінування, послідовність реакцій. Глутаматдегідрогеназна реакція, її значення і регуляція.
- 6 Механізм непрямого деамінування амінокислот.
- 7 Шляхи перетворення безазотистих залишків амінокислот. Поняття про глюкогенні та кетогенні амінокислоти.

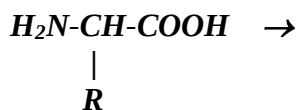
ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 Доповніть таблицю інформацією щодо функціонування основних пептидаз ШКТ людини. Зазначте які з них належать до екзо-, а які до ендопептидаз.

Активна форма	Коротка інформація	Специфічність дії
Пепсин	місце синтезу _____ профермент _____ активатор _____	
Трипсин	місце синтезу _____ профермент _____ активатор _____	
Хімотрипсин	місце синтезу _____ профермент _____ активатор _____	
Карбокси-пептидази А і Б	місце синтезу _____ профермент _____	
Амінопептидази	місце синтезу _____	
Ди- і три-пептидази	місце синтезу _____	

 Доповніть рівняння реакцій загальних шляхів метаболізму амінокислот:

1. ДЕКАРБОКСИЛЮВАННЯ:



Фермент: _____

Кофермент: _____

 Які біогенні аміни утворюються при декарбоксилюванні наступних амінокислот:

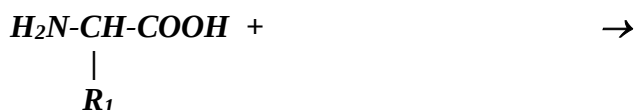
глутамінова кислота $\rightarrow$ _____

гістидин $\rightarrow$ _____

тирозин $\rightarrow$ _____

триптофан $\rightarrow$ _____

2. ТРАНСАМІНУВАННЯ:



Фермент: _____

Кофермент: _____

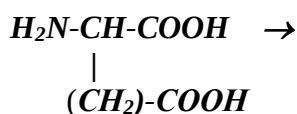
3. ОКИСНЕ ДЕЗАМІНУВАННЯ ДЛЯ D-АМІНОКИСЛОТ:



Фермент: _____

Кофермент: _____

4. ОКИСНЕ ДЕЗАМІНУВАННЯ ДЛЯ ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ:



Фермент: _____

Кофермент: _____

 Схематично зобразіть механізм реакцій непрямого дезамінування (трансдезамінування):

 **Зобразіть реакцію, що каталізує аланінамінотрансфераза (АлАТ). Опишіть механізм та біологічне значення даної реакції:**

 **Зобразіть реакцію, що каталізує аспартатамінотрансфераза (АсАТ). Опишіть механізм та біологічне значення даної реакції:**

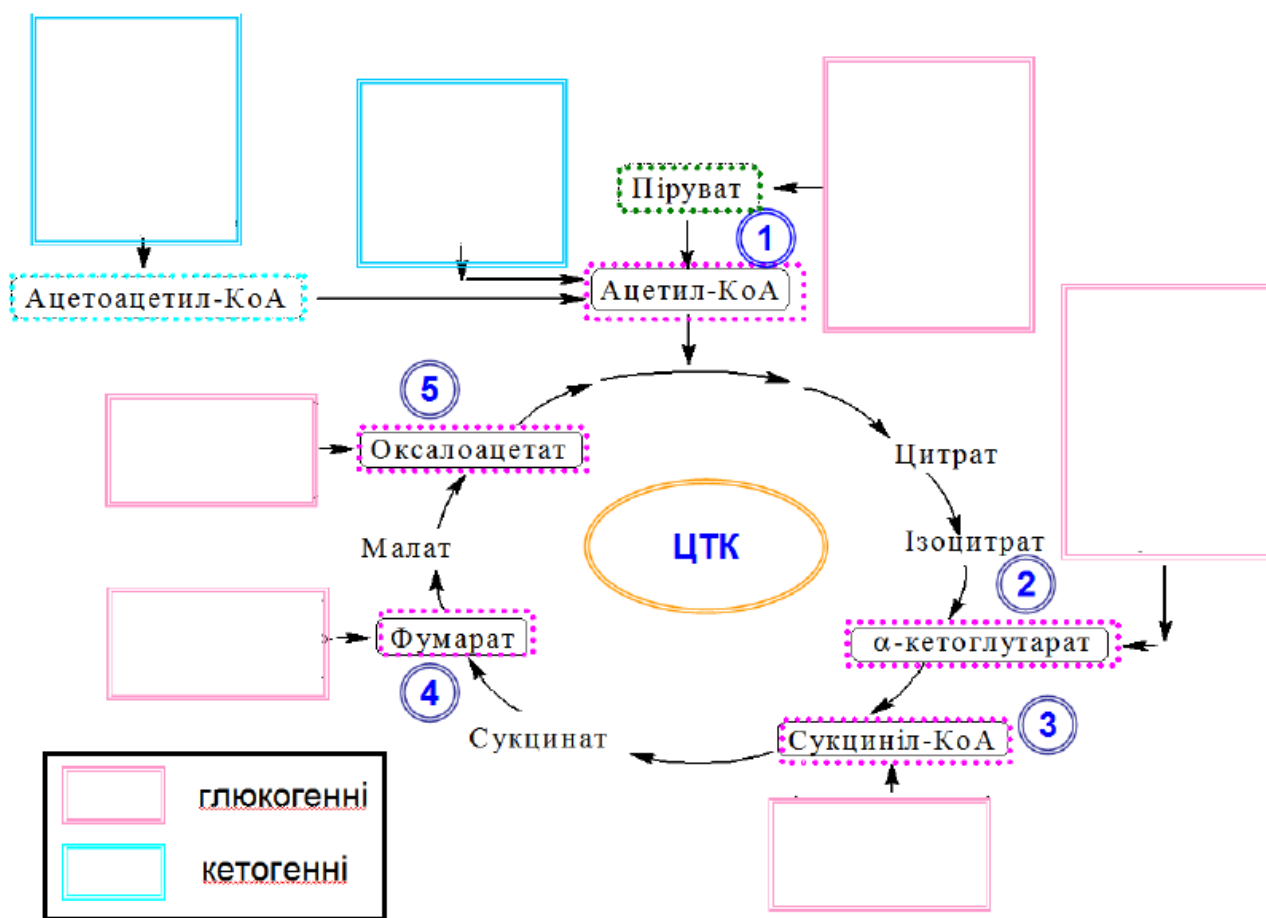
 **Поясніть клініко-діагностичне значення визначення показників активності АлАТ та АсАТ в сироватці крові за різних патологічних станів:**

 **Яке захворювання можна передбачити у пацієнта, якщо коефіцієнт де Рітиса складась:**
А) 6,0

Б) 0,5

В) 1,3

✍ Опишіть шляхи включення безазотистого залишку різних амінокислот в цикл Кребса:



✍ Дайте визначення терміну «ГЛЮКОГЕННІ АМІНОКИСЛОТИ» та перерахуйте їх:

✍ Дайте визначення терміну «КЕТОГЕННІ АМІНОКИСЛОТИ» та перерахуйте їх:

✍ Дайте визначення терміну «ГЛЮКОКЕТОГЕННІ АМІНОКИСЛОТИ» та перерахуйте їх:

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ ☑:

Порівняйте два ферменти шлунково-кишкового тракту:

- | | |
|---|----------------------|
| ☐ відносяться до екзопептидаз | А. Амінопептидаза |
| ☐ синтезуються в підшлунковій залозі | Б. Карбоксипептидаза |
| ☐ синтезуються в активній формі | |

Вкажіть послідовність подій, що відбуваються при активації протеолітичних ферментів:

- ☐ утворення нових слабких зв'язків
- ☐ формування активного центру
- ☐ відщеплення пептиду з N-кінця
- ☐ зміна первинної структури ферменту
- ☐ зміна просторового розташування амінокислотних залишків поліпептидного ланцюга

Визначте, які умови необхідні для всмоктування амінокислот у тонкому кишечнику:

- ☐ слаболужне середовище
- ☐ наявність транспортних систем
- ☐ наявність іонів Na
- ☐ наявність жовчних кислот
- ☐ енергія АТФ

Вкажіть спосіб регуляції протеолітичних ферментів шлунково-кишкового тракту:

- ☐ хімічна модифікація
- ☐ конкурентна активація
- ☐ субстратна активація
- ☐ обмежений протеоліз

Оберіть вірне визначення ролі HCl шлункового соку:

- ☐ має бактерицидну дію
- ☐ здійснює частковий протеоліз білків їжі
- ☐ денатурує білки їжі
- ☐ забезпечує всмоктування білків

Знайдіть відповідність пептидних зв'язків, що будуть розщеплюватися відповідними протеазами (літери) у шлунково-кишковому тракті:

- | | |
|---|----------------------|
| ☐ відщеплює C-кінцеві амінокислоти; | |
| ☐ відщеплює N-кінцеві амінокислоти; | |
| ☐ гідролізує зв'язки, що утворюються ароматичними амінокислотами: -X---ФЕН-, -X---ТИР-, -ЛЕЙ---ФЕН-. | А. Амінопептидаза |
| ☐ гідролізує пептидні зв'язки, утворені полярними зарядженими амінок-ми: -ЛІЗ---X-; -АРГ---X- | Б. Пепсин |
| | В. Трипсин |
| | Г. Карбоксипептидаза |

Визначте, які зв'язки розщеплюються в пептиді зазначеними ферментами:

- ☐ карбоксипептидаза
- ☐ хімотрипсин
- ☐ трипсин
- ☐ пепсин



Оберіть специфічну систему транспорту ряду амінокислот:

- | | |
|--|--|
| ☐ екзоцитоз | ☐ первинно-активний транспорт |
| ☐ вторинно-активний транспорт | ☐ ендоцитоз |
| ☐ полегшена дифузія | |

Оберіть, яка амінокислота утворюється в реакції трансамінування між аланіном та α -кетоглутаратом:

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| ☐ аспартат | ☐ цистеїн |
| ☐ глутамат | ☐ метіонін |
| ☐ серин | |

Оберіть фермент, залучений у реакції окисного дезамінування:

- | | |
|--|--|
| ☐ ксантиноксидаза | ☐ алкогольдегідрогеназа |
| ☐ лактатдегідрогеназа | ☐ глутаматдегідрогеназа |
| ☐ дофамінгідроксилаза | ☐ аланінаміотрансфераза |

Оберіть спосіб інактивації біогенних амінів:

- ☐ трансамінування
- ☐ окисне дезамінування
- ☐ метилювання
- ☐ фосфорилування

Оберіть коферменти дезамінування амінокислот:

- ☐ НАД⁺
- ☐ ФАД
- ☐ ФМН
- ☐ ТПФ
- ☐ КоА

Оберіть характеристики, що є властивими трансаміназам:

- ☐ взаємодіють із двома субстратами
- ☐ використовують піридоксальфосфат як кофермент
- ☐ використовують АТФ як джерело енергії
- ☐ локалізовані в мітохондріях і цитозолі клітин
- ☐ каталізують необернену реакцію

Оберіть кофермент, який бере участь у процесі відновного амінування α -кетоглутарату:

- ☐ НАД⁺
- ☐ НАДФ⁺
- ☐ НАДН+Н⁺
- ☐ ФАД
- ☐ ФАДН₂
- ☐ ФМНН₂

Оберіть амінокислоту, яка піддається внутрішньомолекулярному дезамінуванню в організмі людини:

- ☐ гліцин
- ☐ глутамін
- ☐ гістидин
- ☐ тирозин
- ☐ триптофан

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (МЕТОД РАЙТМАНА-ФРЕНКЕЛЯ) ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАБОРУ РЕАКТИВІВ

АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ (АлАТ) каталізують утворення глютамінової кислоти з 2-оксоглутарата (α -кетоглутарат) шляхом перенесення аміногрупи від аланіну. У нормі АлАТ присутня в багатьох тканинах, але найбільші концентрації визначаються в печінці і нирках, менші – у міокарді, скелетних м'язах і підшлунковій залозі.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Рівень сироваткової АлАТ підвищується при гепатиті та інших захворюваннях печінки, що супроводжуються некрозом гепатоцитів: інфекційному мононуклеозі, холестазі, цирозі, метастатичній карциномі печінки, білій лихоманці і при призначенні різних лікарських засобів, таких як опіати, саліцилати або ампіцилін.

Серцевий м'яз містить незначну кількість АлАТ порівняно з АсАТ. Тому рівень активності АлАТ у сироватці крові при інфаркті міокарда звичайно залишається в межах норми, якщо тільки в результаті застійних явищ повторно не уражається печінка.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ в сироватці крові:

Активність аланінамінотрансферази складає (0,1-0,68) мкмоль/(мл · год) при +37 °С.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-глютамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинкції, то спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **546 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Термостат, який забезпечує інкубацію пробірок за температури +37 °С.
3. Пробірки місткістю 10 мл.
4. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,02; 0,2 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Субстратно-буферний розчин.** Цей розчин містить наступні компоненти: 0,2 М L-аланін та 2-оксоглутарат, приготовані на 0,1 М фосфатному буфері.
2. **Розчин гідроксиду натрію.** Концентрація NaOH у даному розчині становить 4 моль/л.
3. **Стоп-реагент.** Цей розчин містить 2,4-динітрофенілгідразин з концентрацією 1 ммоль/л.
4. **Проба.** Сироватка крові. Матеріал стабільний протягом 3 діб за температури від +2°C до +8°C. Активність ферменту в сироватці крові знижується після 3 діб зберігання за температури від +18°C до +25°C – на 10%. Сироватку слід зберігати за температури від –8°C до -20°C. УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ!

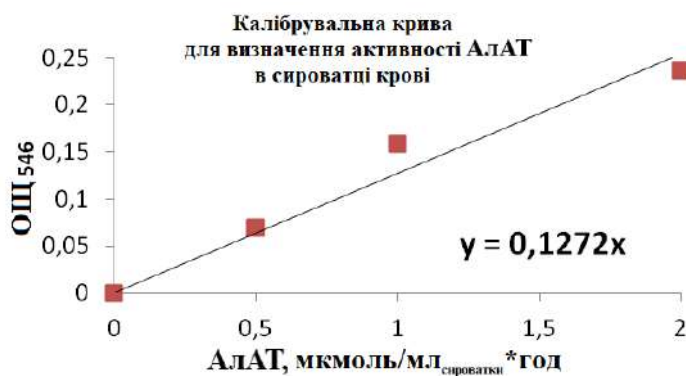
ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться відповідно до схеми, наведеної в таблиці:

Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба, Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:		
Реактиви	Пробірки	
	Бланк (Б)	Тест (Т)
1. Субстратно-буферний розчин	0,2 мл	0,2 мл
Помістіть пробірки у термостат (+37°C) на 5 хв.		
2. Стоп реагент	0,2 мл	-
3. Проба (сироватка крові)	0,04 мл	0,04 мл
Помістіть пробірки у термостат (+37°C) на 30 хв.		
4. Стоп реагент	-	0,2 мл
Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 20 хв.		
4. Розчин NaOH	2,0 мл	2,0 мл
Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 20 хв.		
Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) за довжини хвилі 546 нм проти холостої проби (Бланк).		
Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 60 хв.		
Запишіть результат вимірювань:		
$E_{\text{тест}}$ _____		

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Використовуючи калібрувальну криву, наведену нижче, встановіть активність АЛат в сироватці крові (мкмоль/(мл · год)).



ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (МЕТОД РАЙТМАНА-ФРЕНКЕЛЯ) ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАБОРУ РЕАКТИВІВ

АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ (АсАТ) каталізують утворення глютамінової кислоти з 2-оксоглутарата (α -кетоглутарат) шляхом перенесення аміногрупи від аспарагінової кислоти. У нормі АсАТ присутня в багатьох тканинах, але найбільші концентрації визначаються в серцевих м'язах, печінці, а також в нирках, підшлунковій залозі, селезінці, скелетних м'язах.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Рівень сироваткової АсАТ підвищується при гепатиті та інших захворюваннях печінки, що супроводжуються некрозом гепатоцитів: інфекційному мононуклеозі, холестазі, цирозі, метастатичній карциномі печінки, білій лихоманці і при призначенні різних лікарських засобів, таких як опіати, саліцилати або ампіцилін; після інфаркту міокарду, при важкій коронарній недостатності, при захворюваннях скелетних м'язів (наприклад, що прогресує мускульна дистрофія), при гострому панкреатиті та інших захворюваннях.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ в сироватці крові:

Активність аспартатамінотрансферази (0,1-0,45) мкмоль/(мл · год) при +37 °С.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією АсАТ, утворюються L-глютамінова та шавелевооцтова кислоти, остання самовільно декарбоксилюється з утворенням піровиноградної кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, то спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **546 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Термостат, який забезпечує інкубацію пробірок при температурі +37 °С. Можливо використання сухоповітряного термостата з механічною циркуляцією повітря.
3. Пробірки місткістю 10 мл.
4. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,02, 0,2 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Субстратно-буферний розчин.** Цей розчин містить наступні компоненти: 0,1 М L-аспарагінову кислоту та 2 М 2-оксоглутарат, приготовані на 0,1 М фосфатному буфері.
2. **Розчин гідроксиду натрію.** Концентрація NaOH у даному розчині становить 4 моль/л.
3. **Стоп-реагент.** Цей розчин містить 2,4-динітрофенілгідразин з концентрацією 1 ммоль/л.
4. **Проба.** Сироватка. Матеріал стабільний протягом 3 діб за температури від +2°C до +8°C. Якщо зберігати сироватку при кімнатній температурі, активність ферментів знижується. Активність ферменту в сироватці знижується після 3 діб зберігання за температури від +18°C до +25°C – на 10%. Сироватку слід зберігати за температури від – 8°C до -20°C. УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ!

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба, Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:		
Реактиви	Пробірки	
	Бланк (Б)	Тест (Т)
1. Субстратно-буферний розчин	0,2 мл	0,2 мл
Помістіть пробірки у термостат (+37°C) на 5 хв.		
2. Стоп реагент	0,2 мл	-
3. Проба (сироватка)	0,04 мл	0,04 мл
Помістіть пробірки у термостат (+37°C) на 30 хв.		
4. Стоп реагент	-	0,2 мл
Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 20 хв.		
4. Розчин NaOH	2,0 мл	2,0 мл
Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 5-10 хв.		
Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) за довжини хвилі 546 нм проти холостої проби (Бланк).		
Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 60 хв.		
Запишіть результат вимірювань:		
$E_{\text{тест}}$ _____		

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Використовуючи калібрувальну криву, наведену нижче, встановіть активність АсАт у сироватці крові (мкмоль/(мл · год)).



ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

Тема 10.

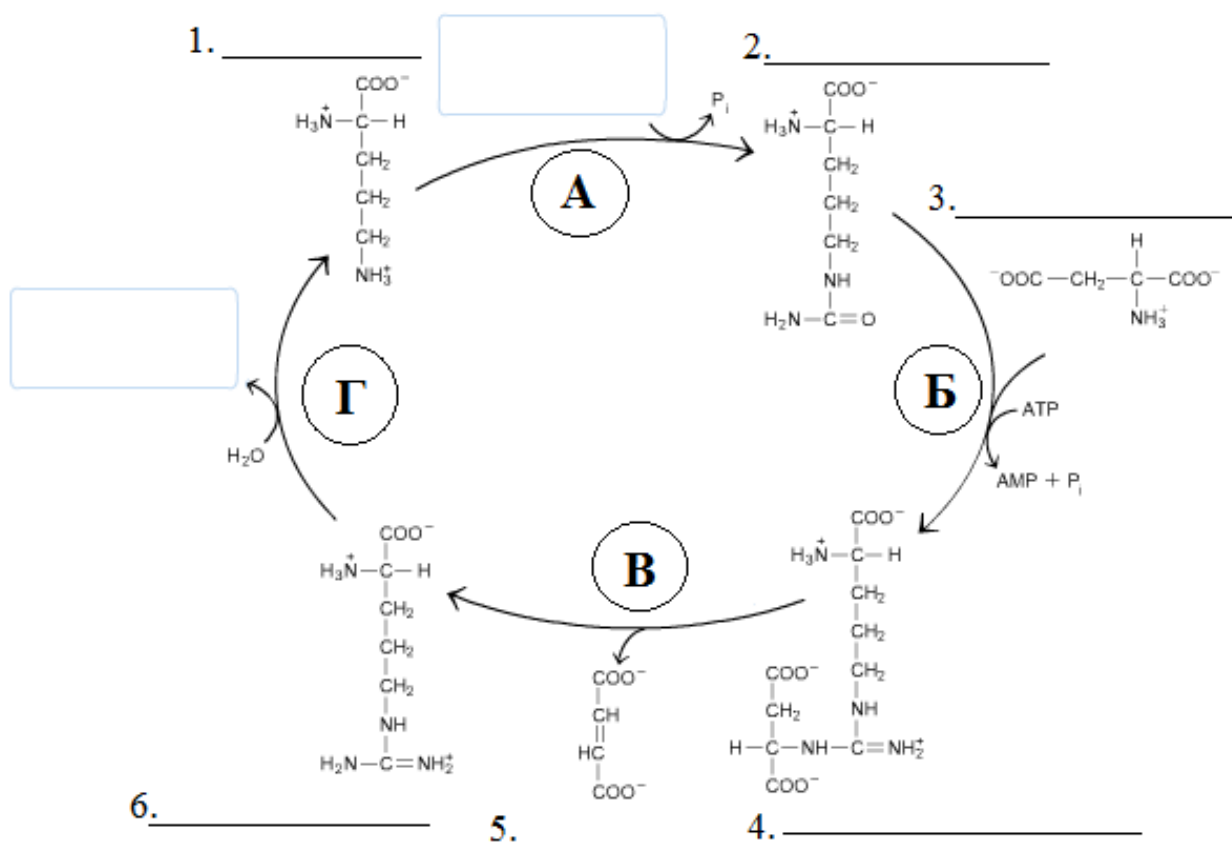
ОБМІН АМІАКУ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ. ДЕТОКСИКАЦІЯ АМІАКУ. СИНТЕЗ СЕЧОВИНИ. ОБМІН ОКРЕМИХ АМІНОКИСЛОТ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Шляхи утворення аміаку в організмі.
2. Токсичність аміаку та механізм його знешкодження.
3. Циркуляторний транспорт аміаку.
4. Біосинтез сечовини: біологічна роль, регуляція, локалізація процесу, послідовність реакцій.
5. Зв'язок орнітинового циклу з циклом Кребса. Порушення циклу сечовини (циклу Кребса-Гензелейта).
6. Спеціалізовані шляхи обміну ациклічних та циклічних амінокислот. Обмін сірковмісних амінокислот: реакції метилювання.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

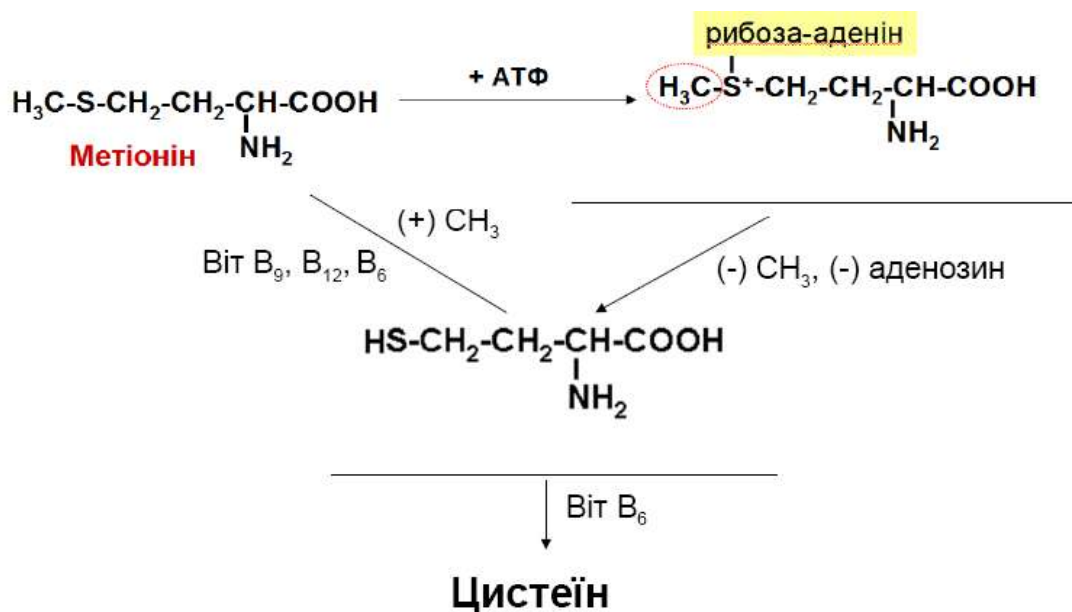
Доповніть схему ОРНІТИНОВОГО ЦИКЛУ назвами відповідних інтермедіатів (1-6), ферментів (А-Г) та напишіть формули вихідного субстрату та кінцевого продукту:



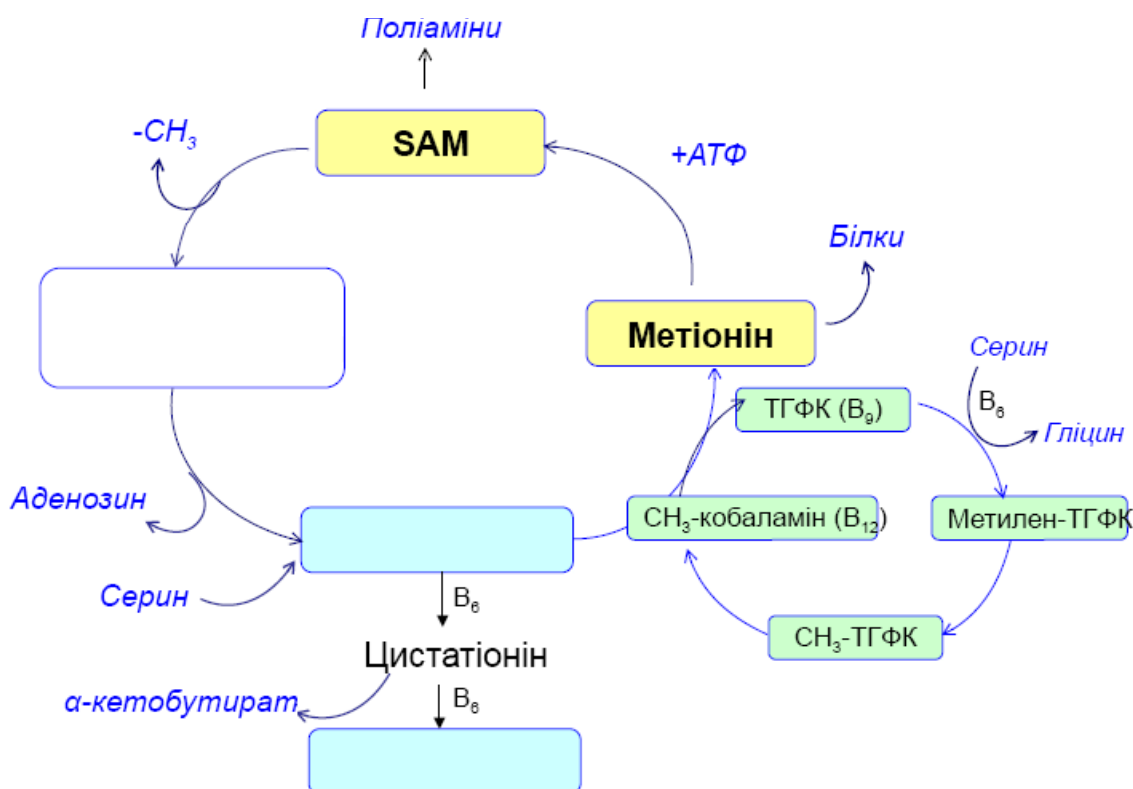
Ферменти:

- А. _____
- Б. _____
- В. _____
- Г. _____

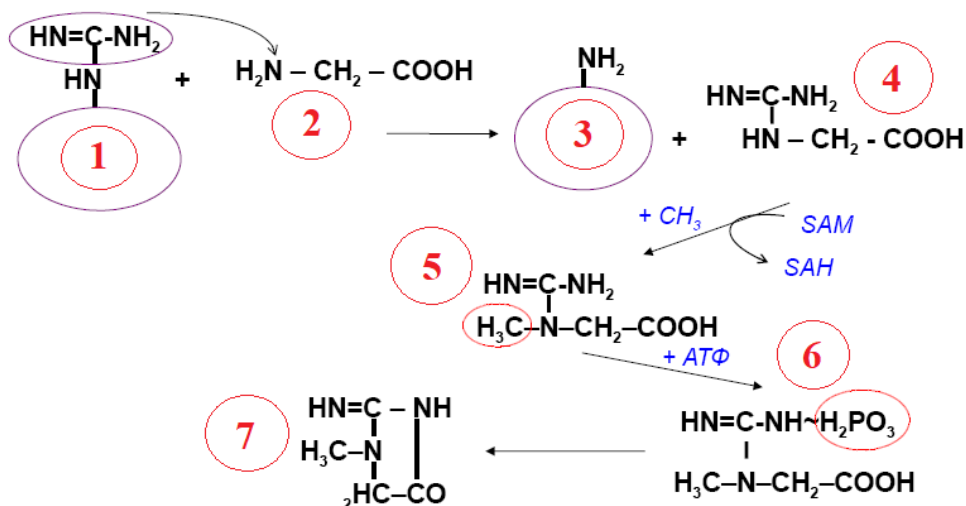
✎ Доповніть схему метаболізму метіоніну назвами відповідних інтермедіатів та ферментів, що каталізують зображені реакції:



✎ Опишіть біологічне значення циклу активного метилу та процес регенерації метіоніна. Які патологічні стани асоційовані з порушенням обміну даної амінокислоти:



✎ Доповніть схему обміну креатину назвами основних метаболітів:

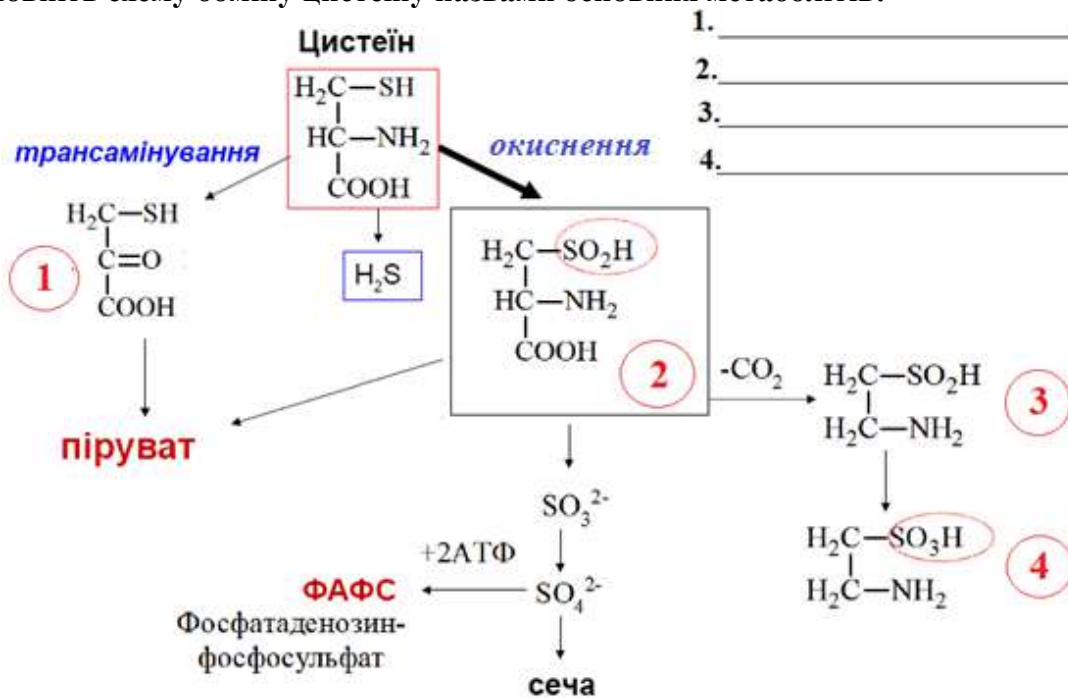


1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

5. _____
6. _____
7. _____

✎ Опишіть функції та клініко-діагностичне значення окремих метаболітів обміну креатину:

✎ Доповніть схему обміну цистеїну назвами основних метаболітів:



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

 Заповніть таблицю «Генетичні аномалії обміну амінокислот»:

Назва патології	Назва амінокислоти	Дефектний фермент	Зміни біохімічних показників крові і сечі	Основні метаболічні і фізіологічні наслідки для організму
<i>гомоцистеїнурія</i>				
<i>лейциноз</i>				
<i>фенілкетонурія</i>				
<i>алкаптонурія</i>				
<i>альбінізм</i>				
<i>хвороба Хартнупа</i>				
<i>цистинурія</i>				
<i>гістидинемія</i>				
<i>цистиноз</i>				

 Опишіть коротко, що ви знаєте про хворобу кленового сиропу: патогенез, ключові симптоми та можливі наслідки:

TESTОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Зазначте процеси, що супроводжуються утворенням аміаку в організмі:

- ☐ дезамінування амінокислот
- ☐ знешкодження біогенних амінів окисним шляхом
- ☐ розпад сечовини
- ☐ амінування α -кетоглутарату

Зазначте шлях знешкодження аміаку в клітинах мозку:

- ☐ синтез сечовини
- ☐ утворення солей амонію
- ☐ трансдезамінування
- ☐ внутрішньомолекулярне дезамінування
- ☐ синтез креатину
- ☐ перетворення глутамату на глутамін
- ☐ неокисне дезамінування

Визначте сполуку, яка є кінцевим продуктом знешкодження аміаку:

- ☐ глутамін
- ☐ аспарагін
- ☐ карбамоїлфосфат
- ☐ сечовина
- ☐ сечова кислота

Визначте, як змінюється концентрація сечовини в крові у пацієнта із захворюванням печінки:

- ☐ зменшиться
- ☐ збільшиться
- ☐ не зміниться

Оберіть фермент, який каталізує регенерацію орнітину в циклі Кребса-Гензелейта:

- ☐ карбамоїлфосфатсинтетаза
- ☐ аргіназа
- ☐ орнітинкарбамоїлтрансфераза
- ☐ аргініносукцинатсинтетаза
- ☐ аргініносукцинатліаза

Оберіть спільний метаболіт процесів синтезу сечовини і ЦТК:

- ☐ сукциніл-КоА
- ☐ сукцинат
- ☐ аспартат
- ☐ фумарат
- ☐ малат

Оберіть амінокислоти, що беруть участь у синтезі креатину:

- ☐ аргінін
- ☐ лейцин
- ☐ метіонін
- ☐ серин
- ☐ гліцин
- ☐ глутамін

Оберіть спільний метаболіт у синтезі метіоніну і треоніну:

- ☐ серин
- ☐ гомоцистеїн
- ☐ гомосерин
- ☐ цистеїн
- ☐ цистатіонін

Визначте, у метаболічні перетворення яких амінокислот залучена монооксигеназа:

- ☐ тирозину
- ☐ аспарагіну
- ☐ глутаміну
- ☐ фенілаланіну
- ☐ метіоніну

Визначте амінокислоту, продуктами гнильного розпаду в кишечнику якої є скатол і індол:

- ☐ тирозин
- ☐ фенілаланін
- ☐ триптофан
- ☐ гістидин
- ☐ пролін
- ☐ треонін
- ☐ метіонін

Оберіть амінокислоту, продуктом метаболізму якої є γ -аміномасляна кислота:

- ☐ гістидин
- ☐ аспарагінова кислота
- ☐ глутамінова кислота
- ☐ глутамін
- ☐ аспарагін

Оберіть кофермент моноамінооксидази (МАО):

- ☐ НАД⁺
- ☐ ФАД
- ☐ НАДН⁺
- ☐ ТПФ
- ☐ ПФ

Визначте патологію, яка виникає при вродженому дефекті синтезу ферменту гомогентизинат-1,2-діоксигенази:

- ☐ фенілкетонурія
- ☐ хвороба Паркінсона
- ☐ алкаптонурия
- ☐ альбінізм
- ☐ гомоцистинурия

Визначте, порушення обміну якої амінокислоти викликає захворювання на альбінізм:

- ☐ метіоніну
- ☐ серину
- ☐ цистеїну
- ☐ тирозину
- ☐ триптофану

ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВИНИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ДІАЦЕТИЛМОНООКСИМНИМ МЕТОДОМ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ НАБОРУ РЕАКТИВІВ

СЕЧОВИНА синтезується в печінці як продукт дезамінування амінокислот. Елімінація сечовини є основним шляхом екскреції азоту.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Підвищена концентрація сечовини виявляється в наступних випадках: порушення функції нирок: зниження ниркової перфузії (застійна серцева недостатність, виснаження запасів солей і води при блювоті, проносі, підвищеному діурезі або потовиділенні); шок; у поєднанні з підвищеним катаболізмом білка (шлунково-кишкова кровотеча, гострий інфаркт міокарду, стрес, опіки), гострі або хронічні інтерстиціальні захворювання нирок, обтурація сечових шляхів, дієта з високим вмістом білка.

Зниження концентрації сечовини викликають: дієта з низьким вмістом білка і високим – вуглеводів, підвищена утилізація білка для синтезу (у пізні терміни вагітності, у дітей у віці до 1 року, при акромегалії), парентеральне харчування, важкі захворювання печінки, отруєння ліками, порушення всмоктування (целиакія).

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

у сироватці, плазмі крові людини: 1,7-8,3 ммоль/л

у сечі людини: 333-583 ммоль/добу.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Сечовина утворює з діацетилмонооксимом у присутності іонів Fe^{3+} і тіосемікарбазиду комплекс червоного кольору, по інтенсивності забарвлення якого визначають її концентрацію.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **546 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Водяна баня, яка забезпечує інкубацію пробірок при температурі $+100^{\circ}\text{C}$.
3. Низько-швидкісна центрифуга, що може забезпечити 3000 об/хв (для депротейнування проб).
4. Пробірки місткістю 10 мл.
5. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,1 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Розчин діацетилмонооксиму.**
2. **Розчин тіосемікарбазиду.**
3. **Стандартний (калібрувальний) розчин сечовини.** Концентрація сечовини в даному розчині становить 10 ммоль/л.
4. **Розчин трихлороцтової кислоти (5%.ТХО кислота).**
5. **Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма крові, вільні від гемолізу, або сеча, яку попередньо необхідно розвести в 100 разів дистильованою водою. При концентрації сечовини в пробі більше 25 ммоль/л її необхідно розвести дистильованою водою і повторити дослідження. Результат помножити на розведення.

Важливо! Гемолітичні і ліпемічні сироватки крові депротейнують. Для цього 0,1 мл сироватки крові змішують із 0,9 мл розчину ТХО кислоти і центрифугують 5 хв. Таким же чином обробляють калібрувальний розчин. Для досліду відбирають 0,1 мл центрифугату і проводять дослідження так само, як для сироватки крові без депротейнування. Таким чином можна досліджувати цільну кров. Результат множать на коефіцієнт розведення ($\times 10$).

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба, К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:</i>			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. Проба (сироватка крові)	-	-	0,1 мл
2. Стандартний розчин сечовини	-	0,1 мл	-
3. NaCl, 0,9%	0,1 мл	-	-
4. Розчин тіосемікарбазиду	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
5. Розчин діацетилмонооксиму	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
Закрийте пробірки кришками. Обережно перемішайте вміст пробірок. Помістіть пробірки у водяну баню (+100 °С) точно на 10 хв. Охолодіть пробірки під холодною проточною водою протягом 5 хв. Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 546 нм проти холостої проби (Бланк). Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 15 хв. Запишіть результати вимірювань: $E_{\text{контроль}}$ _____ $E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація сечовини ммоль/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 10 \times K; \quad \text{де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно;
10 – концентрація сечовини в стандартному розчині (10 ммоль/л);
К - коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений).

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

Тема 11.

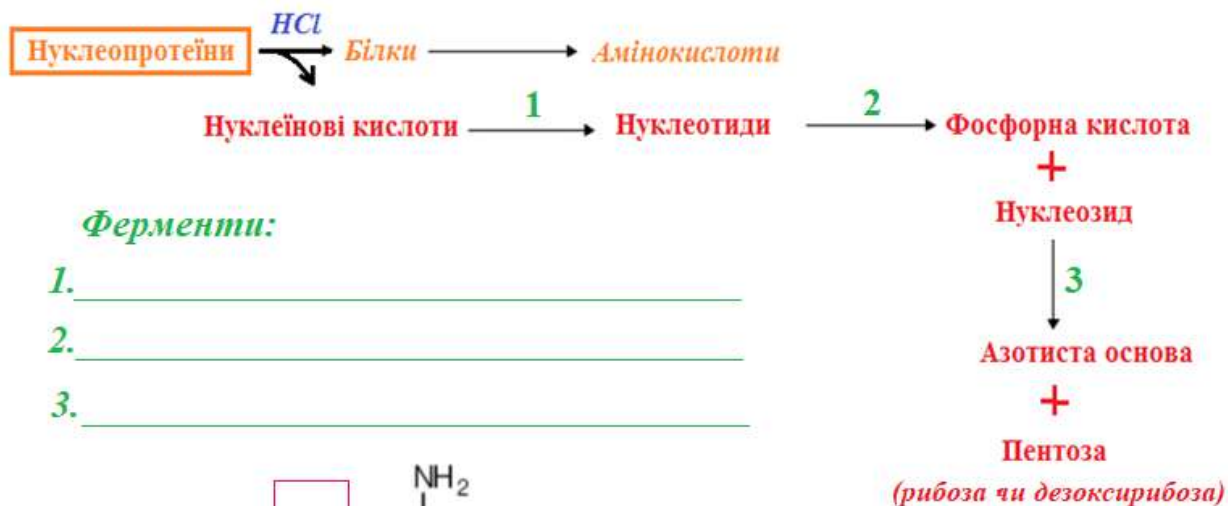
ГІДРОЛІЗ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ У ШКТ. ОБМІН НУКЛЕОТИДІВ: РОЗПАД ТА БІОСИНТЕЗ ПУРИНІВ ТА ПІРИМІДИНІВ

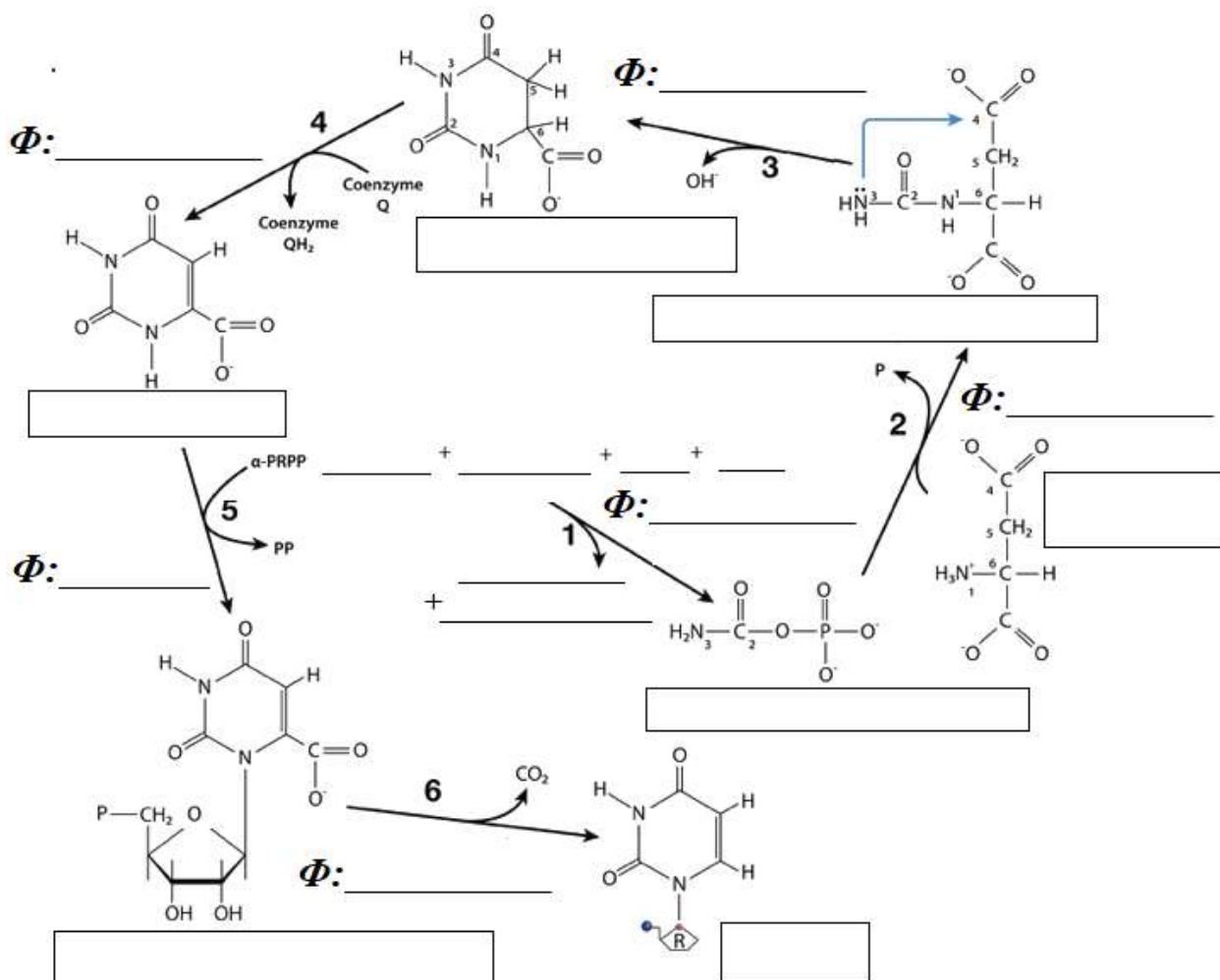
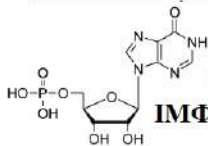
ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Гідроліз нуклеїнових кислот у шлунково-кишковому тракті.
2. Біосинтез пуринових нуклеотидів: схема утворення ІМФ. Джерела окремих атомів у молекулі пурину.
3. Утворення АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ.
4. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: реакції утворення УМФ, УДФ, УТФ та ЦТФ.
5. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів, інгібітори біосинтезу дТМФ як терапевтичні засоби.
6. Катаболізм нуклеотидів. Реакції розщеплення пуринових та піримідинових нуклеотидів.
7. Регуляція метаболізму пуринових та піримідинових нуклеотидів. Спадкові порушення метаболізму нуклеотидів.

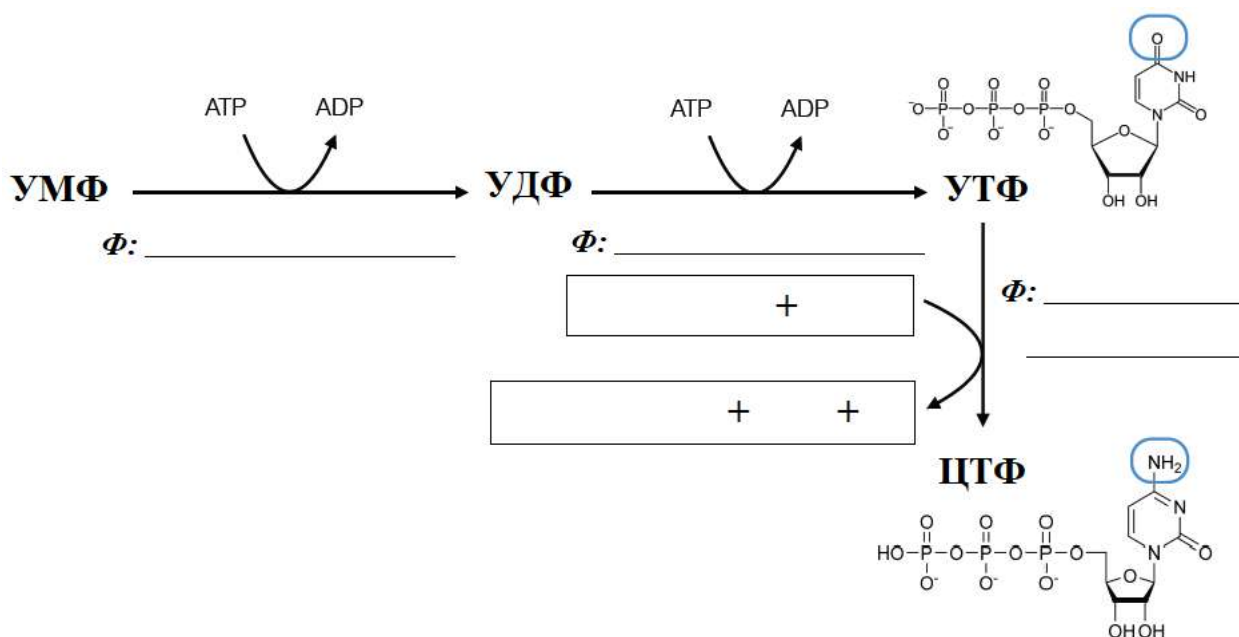
ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

✎ Доповніть схему назвами ферментів, залучених до процесу гідролізу нуклеїнових кислот:

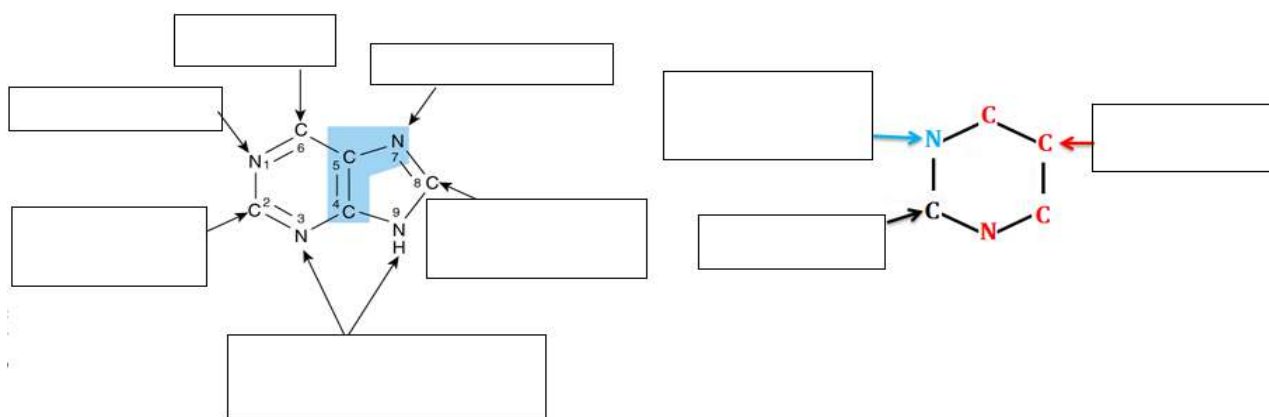




✎ Доповніть схему біосинтезу піримідинових нуклеотидів (УТФ та ЦТФ) назвами відповідних інтермедіатів та ферментів (Ф):



✎ Зазначте джерела атомів у складі пуринових і піримідинових азотистих основ:

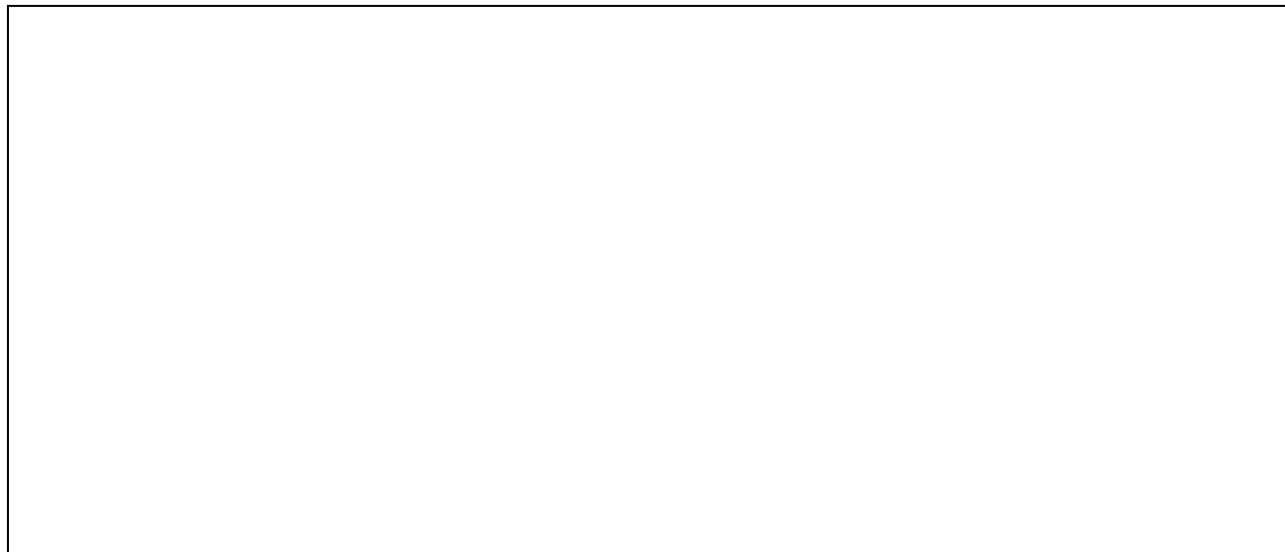


✎ Зобразіть схему катаболізму піримідинових нуклеотидів. Вкажіть кінцеві продукти та основні шляхи регуляції процесу:

 Вкажіть можливі кінцеві продукти катаболізму пуринових нуклеотидів у різних організмів:

*структурна формула
сечової кислоти*

 Зобразіть схему катаболізму пуринових нуклеотидів. Вкажіть ділянки, метаболічне підсилення яких може призвести до розвитку подагри.



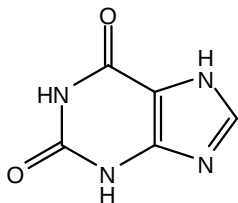
 Поясніть біохімічну основу використання алопуринолу для лікування подагри:

 Напишіть рівняння реакції, яка порушується при синдромі Леша-Ніхана. Вкажіть фермент, дефіцит якого є причиною даного патологічного стану:

 Поясніть молекулярну причину, а також метаболічні та фізіологічні наслідки оротової ацидурії (оротацидурії). В чому полягає терапія цього захворювання?

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ ☑:

Оберіть вірну назву основи:



- | | |
|--------------------------|---------------------|
| ☐ | гіпоксантин |
| ☐ | ксантин |
| ☐ | сечова кислота |
| ☐ | сечовина |
| ☐ | гліоксилова кислота |

Встановіть відповідність ферментів та реакцій (літери), які вони каталізують:

- | | |
|--|---|
| А. Реакція окиснення пуринів | |
| Б. Фосфоролітичний розпад N-глікозидного зв'язку | ☐ аденіндезаміназа |
| В. Дезамінування гуаніну | ☐ гуаніндезаміназа |
| Г. Дезамінування аденіну | ☐ нуклеозидфосфорилаза |
| | ☐ ксантиноксидаза |

Визначте сполуку, яка утворюється при дезамінуванні аденіну:

- | | |
|--------------------------------------|---|
| ☐ гуанін | ☐ сечова кислота |
| ☐ гіпоксантин | ☐ урацил |
| ☐ ксантин | |

Визначте донора водню в реакціях відновлення рибонуклеотидів до дезоксирибонуклеотидів:

- | | |
|--|--|
| ☐ НАДН | ☐ тіоредоксин |
| ☐ ФАДН ₂ | ☐ ліпоєва кислота |

Визначте вірну послідовність етапів біосинтезу нуклеїнових кислот:

- ☐ біосинтез Пур- та Пір-нуклеозидмонофосфатів
- ☐ полімеризація нуклеотидтрифосфатів у полі(дезокс)рибонуклеотиди – РНК та ДНК
- ☐ перетворення рибонуклеозидфосфатів на відповідні дезоксирибонуклеозидфосфати (для синтезу ДНК)
- ☐ утворення нуклеотидтрифосфатів з монофосфатів внаслідок послідовного їх фосфорилування

Оберіть ферменти, за участі яких відбувається синтез пуринових нуклеотидів за умов реутилізації азотистих основ:

- ☐ карбамоїлфосфатсинтетази
- ☐ нуклеозиддифосфокінази
- ☐ аденінфосфорибозилтрансферази
- ☐ гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансферази

Оберіть, для якого біосинтезу є необхідним 5-фосфорибозил-1-пірофосфат:

- ☐ пуринових і піримідинових нуклеотидів
- ☐ піримідинових нуклеотидів
- ☐ пуринових нуклеотидів

Оберіть сполуки, які є донорами азоту в синтезі пуринових нуклеотидів:

- | | |
|-----------------------------------|--|
| ☐ гліцин | ☐ аланін |
| ☐ глутамін | ☐ форміл-ТГФК (тетрагідрофолієва кислота) |
| ☐ аспартат | |

Оберіть сполуки, які є донорами азоту в синтезі піримідинових нуклеотидів:

- ☐ гліцин
- ☐ глютамін
- ☐ аспартат
- ☐ аланін
- ☐ форміл-ТГФК (тетрагідрофолієва кислота)

Визначте шляхи, якими синтезується тимідиловий нуклеотид:

- ☐ ацетилювання
- ☐ дезамінування
- ☐ дефосфорилювання
- ☐ метилювання
- ☐ фосфорилювання

Оберіть сполуку, яка бере участь в утворенні дезоксирибонуклеозиддифосфатів з рибонуклеозиддифосфатів:

- ☐ цистеїн
- ☐ ацетил-КоА
- ☐ тіоредоксин
- ☐ метіонін
- ☐ серин

Визначте донора NH_2 -групи при синтезі АМФ з інозинової кислоти:

- ☐ сечовина
- ☐ аспарагінова кислота
- ☐ аспарагін
- ☐ карбамоїлфосфат
- ☐ солі амонію

Оберіть тип реакції, за яким відбувається перетворення рибонуклеотидів у дезоксирибонуклеотиди:

- ☐ окиснення
- ☐ відновлення
- ☐ гідроксилювання
- ☐ дегідратація
- ☐ дегідрування

Оберіть кінцевий продукт розпаду пуринових основ у людини:

- ☐ ксантин
- ☐ гіпоксантин
- ☐ алантоїн
- ☐ сечова кислота
- ☐ сечовина

Визначте, проміжним продуктом синтезу яких сполук є оротова кислота:

- ☐ пуринових нуклеотидів
- ☐ піримідинових нуклеотидів
- ☐ гема
- ☐ холестеролу
- ☐ кетонових тіл

ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

СЕЧОВА КИСЛОТА є основним продуктом катаболізму пуринів у людському організмі, що надходять частково з їжею і частково в наслідок синтезу *in vivo*. Їжа, багата пуринами (печінка, нирки), а також важка фізична робота може викликати підвищення рівня сечової кислоти.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Причинами виникнення *гіперурикемії* є: подагра; ниркова недостатність; синдром Леша-Ніхена; полікістоз нирок; хронічна свинцева нефропатія; після поширеного ураження тканин (підвищений розпад нуклеопротейнів); підвищений обмін нуклеопротейнів (наприклад, при мієлоїдній лейкемії, перниціозній анемії, отруєнні стрихніном).

Гіпоурикемія асоціюється з наступними захворюваннями і станами: хвороба Вільсона-Коновалова (гепатоцеребральна дистрофія); синдром Фаншоні; деякі злоякісні новоутворення; ксантинурія; синдром патологічної секреції антидіуретичного гормону; нестача аденозіндеамінази, пуринів, а також нуклеозидфосфорилази; дієта, бідна пуринами.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

Сироватка: діти молодше 12 років:	119 – 327 мкмоль/л
дорослі 12-60 років:	246 – 452 мкмоль/л (чоловіки)
	137 – 393 мкмоль/л (жінки)
дорослі 60-90 років:	250 – 476 мкмоль/л (чоловіки)
	208 – 434 мкмоль/л (жінки)

Сеча: 1,48-4,43 ммоль/доба

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Сечова кислота в лужному середовищі відновлює фосфорновольфрамівий реактив у барвник синього кольору. Інтенсивність забарвлення реакційного розчину пропорційна кількості сечової кислоти в аналізуємій пробі.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **650 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Низько-швидкісна центрифуга, що може забезпечити 3000 об./хв.
4. Пробірки місткістю 10 мл.
5. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,05, 0,2 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. **Фосфорновольфрамівий реактив.** Цей розчин містить 0,12 М Na_2WO_4 , 0,43 М H_3PO_4 та 0,29 М Li_2SO_4 .
2. **Розчин каталізатору.**
3. **Вольфрамат натрію** (0,3 М Na_2WO_4)
4. **Стандартний (калібрувальний) розчин сечової кислоти.** Концентрація сечової кислоти в даному розчині становить 300 мкмоль/л.
5. **Розчин карбонату натрію** (10% Na_2CO_3).
6. **Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма крові, вільні від гемолізу або сеча, яку попередньо необхідно розвести в 10 раз дистильованою водою.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба; К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. Дистильована вода	2,70 мл	2,40 мл	2,40 мл
2. Проба (сироватка)	-	-	0,30 мл
3. Стандартний р-н сечової кислоти	-	0,30 мл	-
4. Розчин каталізатору	0,15 мл	0,15 мл	0,15 мл
5. Розчин вольфрамату натрію	0,15 мл	0,15 мл	0,15 мл
Обережно перемішайте вміст пробірок. Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 10 хв. Відцентрифугуйте пробірки при 3000 об./хв протягом 10 хв, використовуйте отриманий супернатант у подальших стадіях експерименту.			
6. Супернатант	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
7. Розчин карбонату натрію	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
8. Фосфорновольфрамовий реагент	0,3 мл	0,3 мл	0,3 мл
Обережно перемішайте вміст пробірок. Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 30 хв. Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 650 нм проти холостої проби (Бланк). Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 30 хв. Запишіть результати вимірювань: $E_{\text{контроль}}$ _____ $E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація сечової кислоти, мкмоль/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 300; \quad \text{де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно,
300 – концентрація сечової кислоти в стандартному розчині (300 мкмоль/л).

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

Тема 12.

РЕПЛІКАЦІЯ ДНК. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ МУТАЦІЙ ТА РЕПАРАЦІЇ ДНК. ТРАНСКРИПЦІЯ РНК.

✎ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

- 1 Біологічне значення реплікації ДНК.
- 2 Напівконсервативний механізм реплікації.
- 3 Загальна схема біосинтезу ДНК. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів.
- 4 Молекулярні механізми реплікації ДНК: особливості синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК. Фрагменти Оказаки.
- 5 Особливості реплікації геному вірусів.
- 6 Регуляція експресії генів прокаріотів. Будова *lac*-оперону *E.coli*: структурні та контрольні (CAP-сайт і *lac*-оператор) гени; промотор, оператор; регуляторний ген та утворення білкових репресорів.
- 7 Особливості будови та експресії геному еукаріотів. Молекулярна організація ДНК еукаріотів (екзони, інтрони; послідовності, що повторюються).
- 8 Загальна схема та ферменти синтезу РНК (транскрипції). РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів.
- 9 Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції; система транскрипційних сигналів – промоторні послідовності, ехансери, атенюатори, сайленсери. Ковалентна модифікація гістонів та негістонових білків як один із механізмів контролю експресії генів.
- 10 Процесинг – посттранскрипційна модифікація РНК.
- 11 Мутації: геномні, хромосомні, генні (точкові); роль у виникненні ензимопатії та спадкових хвороб людини. Біохімічні механізми дії мутагенів.
- 12 Біологічне значення та механізми репарації ДНК.

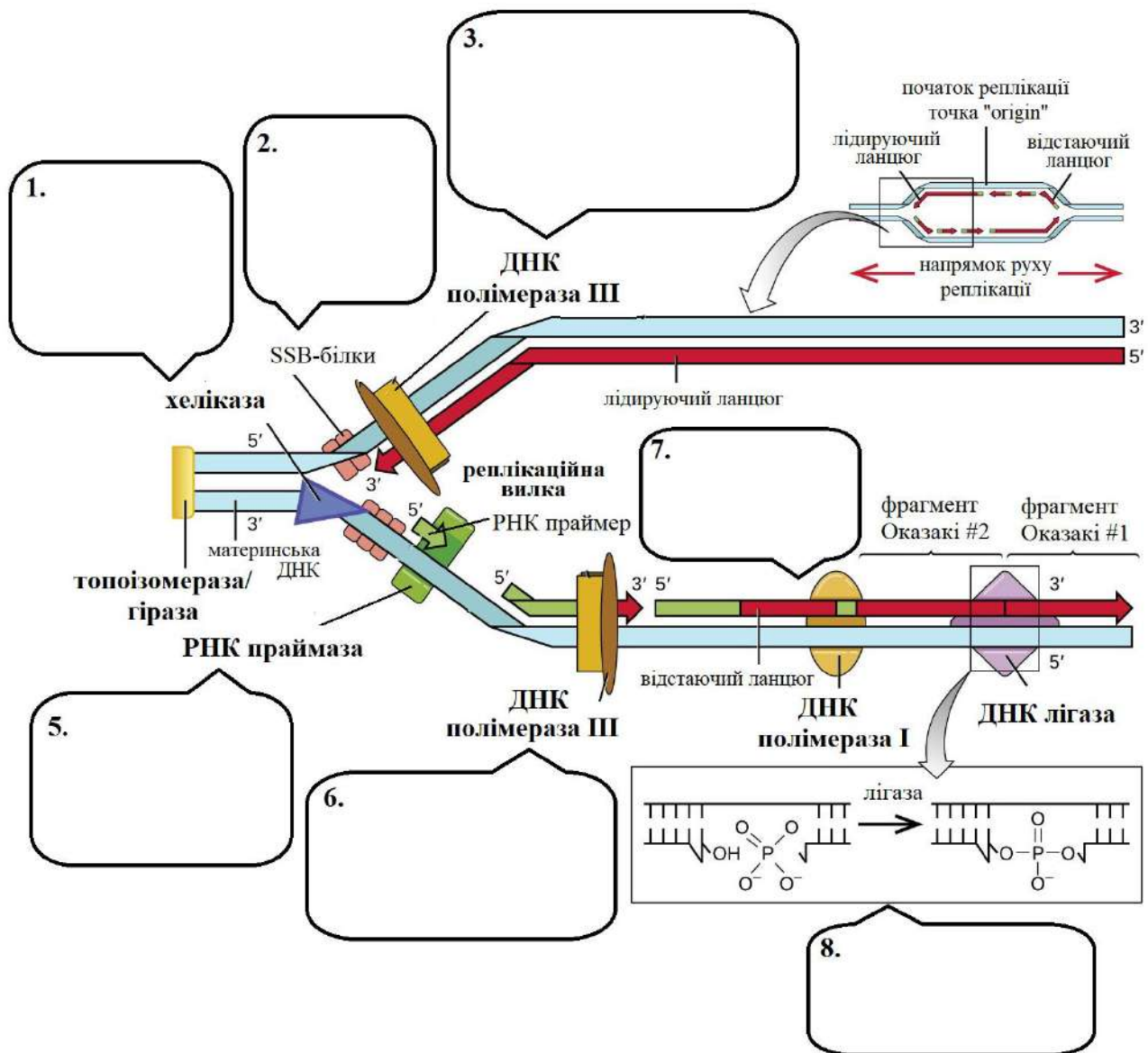
✎ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 **Опишіть біологічне значення процесу реплікації ДНК:**

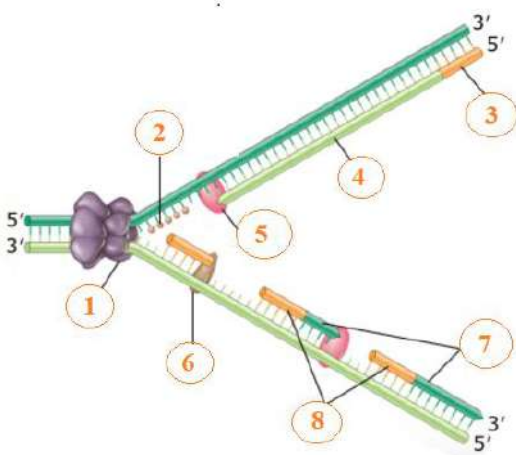
 **Коротко опишіть умови, необхідні для реалізації процесу реплікації ДНК:**

1. Локалізація в клітині – _____
2. Період клітинного циклу – _____
3. Матриця – _____
4. Будівельний матеріал – _____
5. Макроерги – _____
6. Основний фермент – _____

Опишіть коротко послідовність етапів процесу реплікації ДНК:



Доповніть схему назвами компонентів процесу реплікації ДНК:



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____

 **Опишіть функції ферментів, залучених до процесу реплікації ДНК:**

Фермент	Функції
<i>ДНК-хеліаза</i>	
<i>ДНК-топоізомераза</i>	
<i>РНК-праймаза</i>	
<i>ДНК-полімераза</i>	
<i>ДНК-лігаза</i>	

 **Опишіть біологічне значення процесу транскрипції РНК:**

 **Коротко опишіть умови, необхідні для реалізації процесу транскрипції РНК:**

1. Локалізація в клітині —

2. Період клітинного циклу —

3. Матриця —

4. Будівельний матеріал —

5. Макроерги —

6. Основний фермент —

 Дайте визначення терміну «ГЕН»:

 Поясніть функціональне призначення наступних компонентів:

ОПЕРАТОР –

ПРОМОТОР –

ГЕН-РЕГУЛЯТОР –

РЕПРЕСОР –

ІНТРОН –

ЕКЗОН –

 Зобразіть структуру *lac*-оперону та поясніть механізм його функціонування:

- А. Перелічіть структурні компоненти лактозного оперону *E.coli*.
- Б. Опишіть послідовність подій після внесення лактози в середовище.
- В. Опишіть послідовність подій після вичерпання лактози в середовищі.
- Г. Які переваги мікроорганізми отримують від цього механізму регуляції?

 Заповніть таблицю «ПРОЦЕСИНГ МОЛЕКУЛИ мРНК»:

Тип	Визначення (коротко)	Біологічне значення
<i>кепування</i>		
<i>поліаденілування</i>		
<i>сплайсинг</i>		

 Схематично зобразіть механізм сплайсингу за участю мРНК. Поясніть процес:

 Поясніть наступний феномен: «Генетичний апарат людини містить близько 30 тис. генів, а кількість варіантів антитіл досягає мільйонів. Який механізм використовується для утворення нових генів, що відповідають за синтез такої кількості антитіл?»

 Дайте визначення терміну «МУТАЦІЙНА МІНЛИВІСТЬ»:

 Заповніть таблицю «ГЕНЕТИЧНІ МУТАЦІЇ»:

Тип		Визначення		Приклад		
точкові мутації	нейтральні			ДНК	TTC	TTT
				РНК	AAG	⇒ AAA
				Білок	Lys	Lys
	міссенс			ДНК	TTC	TGC
				РНК	AAG	⇒ ACG
				Білок	Lys	Thr
	нонсенс			ДНК	TTC	ATC
				РНК	AAG	⇒ UAG
				Білок	Lys	STOP
Мутації, пов'язані зі зсувом рамки зчитування	вставка (інсерція)		ДНК	GGT-CTC-CTC	GGT-GCT-CCT-C	
			РНК	CCA-GAG-GAG	⇒ CCA-CGA-GGA-G	
	випадіння (делеція)		ДНК	GGT-CTC-CTC	GGT-C..C-CTC	
			РНК	CCA-GAG-GAG	⇒ CCA-GGG-AG..	
Хромосомні мутації	делеція			ABCDEF ⇒ AB..DEF		
	дуплікація			ABCDEF ⇒ ABBCDEF		
	інверсія			ABCDEF ⇒ ABECDF		
	транслокація			ABCDEF	ABCdef	
Геномні мутації	анеуплоїдія			$2n \Rightarrow 2n+1$ або $2n-1$		
	поліплоїдія			$2n \Rightarrow 3n$		
	аутополіплоїдія					
	аллополіплоїдія					

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Визначте, який тип реплікації є характерним для живої природи:

- ☐ консервативна
- ☐ напівконсервативна
- ☐ дисперсна

Визначте ферменти, які беруть участь в ініціації реплікації:

- | | |
|---|---|
| ☐ РНК-залежна РНК-полімераза | ☐ ДНК-лігаза |
| ☐ ДНК-праймаза | ☐ ДНК-хеліказа |
| ☐ ДНК-полімераза I | ☐ РНК-полімераза |

Визначте фермент, який бере участь у процесі транскрипції:

- ☐ ДНК-полімераза III
- ☐ рибонуклеаза H
- ☐ РНК-полімераза
- ☐ пептидил-трансфераза
- ☐ ДНК-праймаза

Визначте, яка реакція залучена до процесингу попередників мРНК еукаріотів:

- ☐ поліаденілювання 3'-кінця мРНК
- ☐ екзонуклеазна реакція за участю РНКаз Р
- ☐ ДНК-полімеразна реакція
- ☐ поліубіквітинування
- ☐ екзонуклеазна реакція за участю РНКаз D

Вкажіть необхідні умови для процесу реплікації:

Субстрати:

- ☐ дезоксинуклеозидмонофосфати
- ☐ дезоксинуклеозиддифосфати
- ☐ дезоксинуклеозидтрифосфати
- ☐ нуклеозиди
- ☐ азотисті основи

Матриця:

- ☐ пептид
- ☐ мРНК
- ☐ ДНК

Ферменти:

- ☐ ДНК-полімераза
- ☐ РНК-полімераза
- ☐ праймаза

Вкажіть необхідні умови для процесу транскрипції:

Субстрати:

- ☐ азотисті основи
- ☐ нуклеозиди
- ☐ нуклеозидтрифосфати
- ☐ нуклеозиддифосфати
- ☐ нуклеозидмонофосфати

Матриця:

- ☐ амінокислоти
- ☐ ДНК
- ☐ тРНК

Місце синтезу:

- ☐ цитозоль
- ☐ ядро
- ☐ мітохондрії

Зазначте види ферментативної активності ДНК-полімерази I Escherichia coli:

- ☐ праймазна
- ☐ 5'-екзонуклеаза
- ☐ полімеразна
- ☐ теломеразна
- ☐ 3'-екзонуклеаза

Оберіть назву процесу вирізання інтронів і зшивання екзонів еукаріотичних мРНК під час їх дозрівання:

- ☐ реплікація
- ☐ транскрипція
- ☐ пруфрідинг
- ☐ трансляція
- ☐ сплайсинг

Визначте, в яких органелах локалізуються маленькі рибонуклеопротейни, залучені до сплайсингу:

- ☐ апараті Гольджі
- ☐ ЕПР
- ☐ лізосомах
- ☐ пероксисомах
- ☐ ядрах

Вкажіть, за участю якого фактора відбувається розпізнавання промотора прокаріотів:

- ☐ α
- ☐ β
- ☐ γ
- ☐ δ
- ☐ σ

Визначте, в який із періодів клітинного циклу відбувається реплікація ядерної ДНК:

- ☐ G₁
- ☐ S
- ☐ G₂
- ☐ M
- ☐ G₀

Оберіть, які білки НЕ беруть участі в утворенні реплікаційної вилки:

- ☐ ДНК-хелікази
- ☐ SSB-білки
- ☐ ДНК-полімерази
- ☐ APCази
- ☐ ДНК-лігази

Зазначте вид ферментативної активності зворотної транскриптази:

- ☐ РНК-залежна ДНК-полімеразна
- ☐ дезоксирибонуклеазна
- ☐ ДНК-залежна РНК-полімеразна
- ☐ НАД-залежна ДНК-полімеразна
- ☐ Пептидилтрансферазна

Тема 13.

БІОСИНТЕЗ БІЛКА НА РИБОСОМАХ. ЕТАПИ, МЕХАНІЗМ ТА РЕГУЛЯЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ.

▣ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Генетичний (біологічний) код: основні властивості. Таблиця генетичного коду.
2. Компоненти матричної білоксинтезуючої системи.
3. Транспортні РНК та активація амінокислот. Аміноацил-тРНК-синтетази.
4. Етапи та механізм трансляції: ініціація, елонгація, термінація. Ініціюючі та термінуючі кодони мРНК; роль білкових факторів у трансляції.
5. Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів.
6. Молекулярні механізми контролю трансляції. Вплив біологічно активних сполук на процеси трансляції (антибіотиків, дифтерійного токсину тощо).

▣ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 Охарактеризуйте властивості генетичного коду:

ТРИПЛЕТНІСТЬ: _____

ДИСКРЕТНІСТЬ: _____

СПЕЦИФІЧНІСТЬ: _____

ВИРОДЖЕНІСТЬ: _____

УНІВЕРСАЛЬНІСТЬ: _____

Наявність СТОП-КОДОНІВ: _____

 Опишіть механізм активації амінокислот і утворення аміноацил-тРНК:

 Заповніть таблицю «Особливості будови і функцій аміноацил-тРНК-синтетаз»

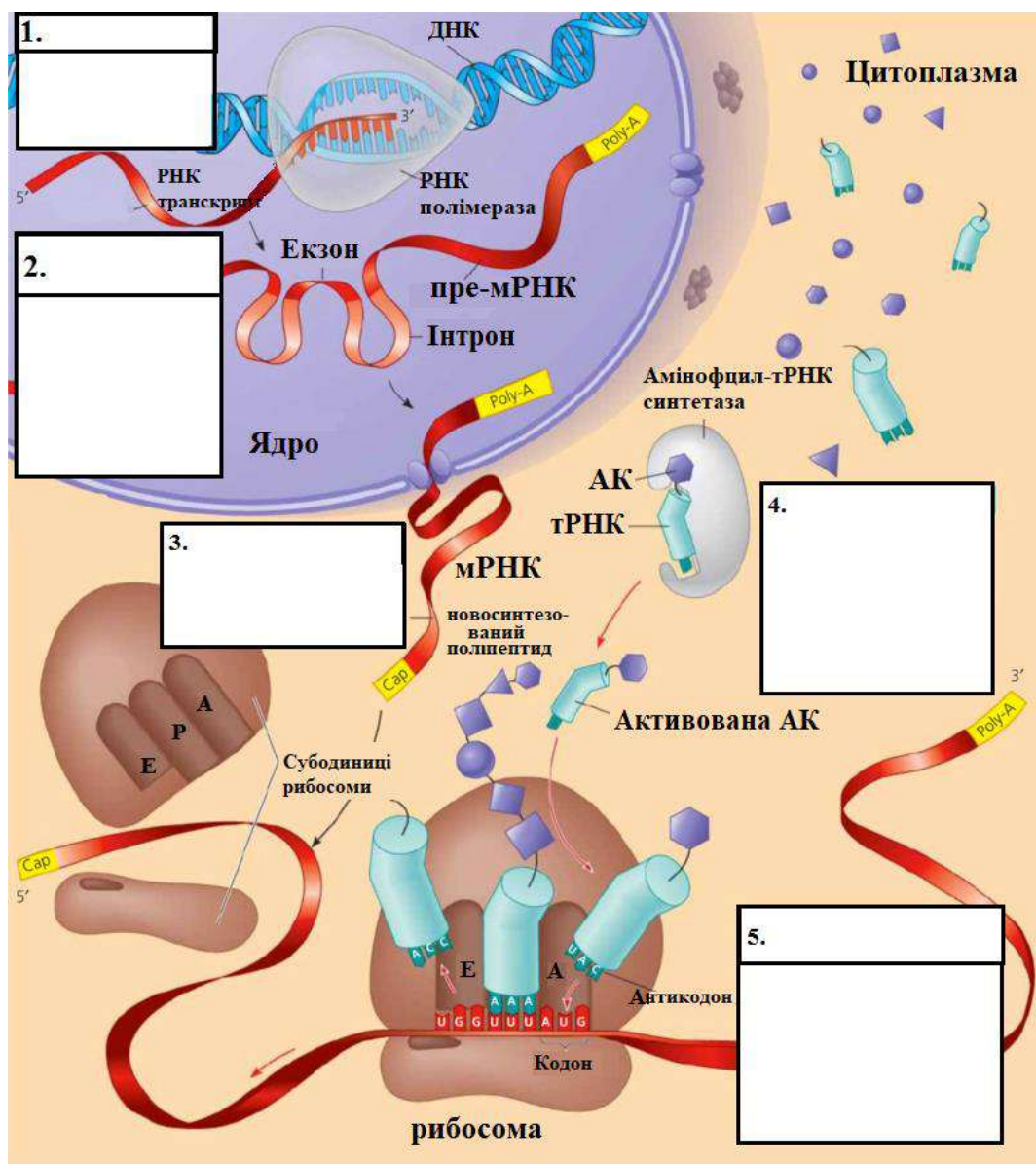
	<i>I клас АРСаз</i>	<i>II клас АРСаз</i>
<i>ОН-група рибози залишку аденозину</i>		
<i>кількість білкових субодиниць</i>		
<i>структура аміноацилюючого домену</i>		
<i>амінокислоти, які активуються</i>		

 Коротко опишіть механізм корекції помилок на етапі рекогніції:

 Заповніть таблицю «Структурні характеристики про- та еукаріотичних рибосом»

<i>Ознаки</i>	<i>Прокаріоти</i>	<i>Еукаріоти</i>
<i>константа седиментації цілої рибосоми</i>		
<i>константа седиментації великої субодиниці</i>		
<i>константа седиментації малої субодиниці</i>		
<i>кількість молекул рРНК</i>		
<i>кількість білків</i>		
<i>локалізація</i>		

Опишіть коротко послідовність етапів процесу синтезу білка



 Заповніть таблицю “Етапи синтезу білка”:

<i>Назва етапу</i>	<i>Молекулярні компоненти, що забезпечують його проходження</i>	<i>Ферменти етапу</i>	<i>Результат етапу</i>	<i>Антибіотики, що впливають на процес</i>

 Перерахуйте реакції модифікації білків з конкретними прикладами:

 Опишіть процес спрямування білків до місця локалізації:

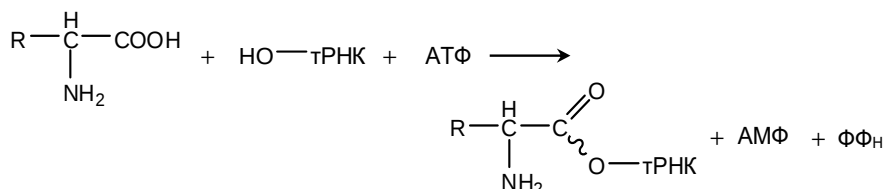
📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Матричний біосинтез білка відбувається з залученням:

- ☐ комплексу Гольджі
- ☐ пероксисом
- ☐ хромосом
- ☐ рибосом
- ☐ лізосом

Визначте фермент, який каталізує наступну реакцію:

- ☐ ДНК-лігаза
- ☐ аміноацил-тРНК-синтетаза
- ☐ РНК-полімераза
- ☐ топоізомераза
- ☐ ДНК-полімераза III



Оберіть ініціаторну аміноацил-тРНК у прокаріотів:

- ☐ аланіл-тРНК
- ☐ метіоніл-тРНК
- ☐ треоніл-тРНК
- ☐ формілметіоніл-тРНК

Специфічне розміщення стартового кодону АУГ в Р-центрі прокаріотичної рибосоми забезпечує:

- ☐ послідовність Козак
- ☐ бокс Прибнова
- ☐ послідовність Шайна–Дальгарно
- ☐ бокс Хогнесса
- ☐ HMG- бокс

Оберіть білковий фактор, залучений до перебігу елонгаційного циклу:

- ☐ RF-3
- ☐ eIF-4F
- ☐ RF-1
- ☐ IF-2
- ☐ EF-G

Визначте, яке з наведених тверджень є вірним:

- ☐ біосинтез білка є енергоємним процесом
- ☐ субодиниці рибосом виконують однакові функції
- ☐ білковими факторами трансляції є білки рибосом
- ☐ адапторну функцію виконує мРНК
- ☐ інгібітори біосинтезу білка – виключно антибіотики

Оберіть універсальний механізм тотальної регуляції трансляції в еукаріотів:

- ☐ фосфорилування фактора ініціації eIF-2
- ☐ АДФ-рибозилування фактора елонгації eEF-2
- ☐ протеоліз фактора ініціації eIF-3
- ☐ глутамінування фактору елонгації eEF-1A
- ☐ протеоліз фактора ініціації eIF-4G

Який з наведених процесів НЕ є етапом власне трансляції:

- ☐ утворення аміноацил-тРНК
- ☐ ініціація синтезу білка
- ☐ елонгація поліпептидного ланцюга
- ☐ синтез маленьких ядерних РНК
- ☐ термінація синтезу білка

Визначте, до якого класу відносяться ферменти, долучені до синтезу аміноацил-тРНК:

- ☐ трансферази
- ☐ ліази
- ☐ лігази
- ☐ оксидоредуктази
- ☐ ізомерази
- ☐ гідролази

Визначте молекулярні фактори фолдингу:

- ☐ протеїндисульфідізомераза
- ☐ Hsp70
- ☐ убіквітинлігаза
- ☐ пептидилпроліл-цис-транс-ізомераза
- ☐ Hsp60

Оберіть коректні твердження щодо процесу деградації білків:

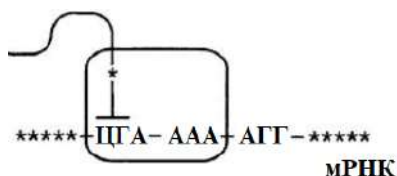
- ☐ реалізується системою полісом
- ☐ проходить у лізосомах
- ☐ долучає кальпаїни
- ☐ відбувається в системі протеасоми
- ☐ реалізується пероксисомами

Знайдіть відповідність між інгібіторами трансляції та функціями, які вони виконують (літери):

- ☐ тетрацикліни
- ☐ інтерферони
- ☐ циклогексимід
- ☐ хлорамфенікол

- А. інгібує реакцію транслокації
- Б. перешкоджають експресії вірусних генів у клітинах еукаріотів
- В. блокує пептидилтрансферазну функцію рибосоми
- Г. порушують кодон-залежне зв'язування аміноацил-тРНК з А-центром рибосом

Виконайте «ланцюгове» завдання:



1) визначте, який етап біосинтезу білка зображено на рисунку:

- ☐ ініціація
- ☐ елонгація
- ☐ термінація

2) оберіть, яка амінокислота (у складі пептидил-тРНК) дислокується в Р - центрі рибосоми:

- ☐ Лей
- ☐ Фен
- ☐ Мет
- ☐ Арг

3) визначте наступну стадію біосинтезу білка:

- ☐ утворення пептидного зв'язку
- ☐ елонгація
- ☐ транслокація
- ☐ зв'язування аміноацил-тРНК

4) оберіть, який з перерахованих процесів буде йти далі:

- ☐ утворення пептидного зв'язку
- ☐ термінація
- ☐ транслокація
- ☐ зв'язування аміноацил-тРНК

5) визначте з перерахованого подальший процес:

- ☐ утворення пептидного зв'язку
- ☐ термінація
- ☐ транслокація
- ☐ зв'язування аміноацил-тРНК

6) визначте стадію, яка настає після входження в А-центр рибосоми кодону УАГ:

- ☐ елонгація
- ☐ ініціація
- ☐ термінація
- ☐ транслокація

ВИЗНАЧЕННЯ СПІВВІДНОШЕННЯ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ СИРОВАТКИ КРОВІ

ОСНОВНІ БІЛКОВІ ФРАКЦІЇ: *Альбуміни*: беруть участь у підтримці онкотичного тиску крові; у транспорті вуглеводів, ліпідів, гормонів, пігментів; можуть виконувати резервну та пластичну функції. *Глобуліни*: гетерогенна суміш білків, в якій виділяють α -, β - та γ -глобуліни. Кожна з цих фракцій містить специфічні білки, які виконують певні біохімічні функції. *α -глобуліни* за допомогою електрофорезу на папері розподіляються на дві фракції: α_1 - та α_2 -глобуліни. До *α_1 -глобулінів* належать α_1 -антитрипсин, α_1 -кислий глікопротеїн, альфа-фетопроєїн та інші. До *α_2 -глобулінів* належать гаптоглобін, α_2 -макроглобулін, церулоплазмін, С-реактивний білок. *β -глобуліни*: до складу цієї фракції входять трансферин, гемопексин, β_2 -мікроглобулін, ліпопротеїни низької щільності, компоненти системи комплементу (С3). *γ -глобуліни* є фракцією, що містить основну масу антитіл (імуноглобулінів), які забезпечують гуморальну захисну реакцію організму.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

У нормі альбуміно-глобулінове співвідношення (А/Г коефіцієнт) складає 1,2-2. Розмір цього показника значно знижується при хронічних дифузійних ураженнях печінки (хронічному гепатиті та цирозі), а також при запаленнях та злоякісних процесах.

СПІВВІДНОШЕННЯ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ У СИРОВАТЦІ ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ

Білкові фракції	Середні показники за О. О. Покровським (відносний вміст, %)
Альбуміни	56,6 – 66,8
Глобуліни	
α_1	3,0 – 5,6
α_2	6,9 – 10,5
β	7,3 – 12,5
γ	12,8 – 19,0

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Заснований на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують різні білкові фракції сироватки крові з утворенням дуже дрібної суспензії. За ступенем каламутності розчинів роблять висновок про співвідношення білків у дослідному матеріалі.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **640 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Пробірки місткістю 10 мл.
3. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,5 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

1. Основний фосфатний буфер «О» - 3,347 М, рН 6,5;
2. Фосфатний буфер (ФБ №1) - 3,084 М, рН 6,5;
3. Фосфатний буфер (ФБ №2) - 2,496 М, рН 6,5;
4. Фосфатний буфер (ФБ №3) - 2,359 М, рН 6,5;
5. Фосфатний буфер (ФБ №4) - 1,959 М, рН 6,5;
6. Фосфатний буфер (ФБ №5) - 1,622 М, рН 6,5;
7. **Проба.** Розчин сироватки крові, який готують безпосередньо перед експериментом згідно з процедурою, описаної нижче (див. розділ «Проведення аналізу»).

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Попередня підготовка проби:

У чистій сухій пробірці змішайте наступні реагенти:

- 1,05 мл дистильованої води;
- 5,25 мл основного фосфатного буферу «О»;
- 0,7 мл сироватки крові.

Вміст пробірки перемішайте 5-6-кратним перевертанням її, уникаючи утворення при цьому бульбашок повітря.

Отриманий розчин використовують у подальших стадіях експерименту як «ПРОБУ».

Важливо! Перед додаванням «Проби» до кожної наступної пробірки дану суміш ще раз ретельно перемішують, від цього залежить точність вимірювань.

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк (холоста проба), 1-5– тестові зразки. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:</i>						
Реактиви	Пробірки					
	Б	1	2	3	4	5
1. Дистил. вода	2,5 мл	-	-	-	-	-
2. ФБ 1-5	-	2,5 мл ФБ1	2,5 мл ФБ2	2,5 мл ФБ3	2,5 мл ФБ4	2,5 мл ФБ5
3. Проба	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок.</i> <i>Залиште пробірки при кімнатній температурі (від + 20 °C до + 25 °C) на 15 хв.</i> Важливо! Ретельно перемішуйте вміст кожної пробірки безпосередньо перед вимірюванням. <i>Виміряйте оптичну щільність дослідних проб (E₁₋₅) за довжини хвилі 640 нм проти холостої проби (Бланк).</i> <i>Запишіть результати вимірювань:</i> E₁_____ E₂_____ E₃_____ E₄_____ E₅_____						

Приклад розрахунку: для простоти розрахунку отримані значення оптичних щільностей множимо на 100, одержуємо (E) “1”-ї проби - 78, (E) “2”-ї - 35, (E) “3”-ї - 30, (E) “4”-ї - 24, (E) “5”-ї - 13. Обчислюємо фракцію альбумінів $78 - 35 = 43$, глобулінів: α_1 $35 - 30 = 5$, α_2 $30 - 24 = 6$, β $24 - 13 = 11$, $\gamma = 13$. Отриману суму фракцій $43 + 5 + 6 + 11 + 13 = 78$ приймаємо за 100 %, 43 - за X %, тоді $X = (100 \cdot 43) / 78 = 55,1$ % альбумінів і т.д.

Для вираження результату в абсолютних відсотках суму фракцій приймаємо за концентрацію загального білка в г %, визначеного біуретовим методом, тоді вміст кожної фракції буде відповідати її концентрації в г %.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Обрахуйте відносний вміст білкових фракцій, використовуючи алгоритм, наведений у таблиці. Запишіть до таблиці свої розрахунки, а також кінцевий результат.

Протеїнова фракція	Формула для розрахунку	Результат обрахунку	Загальна сума для всіх фракцій	Загальну суму фракцій прийміть за 100% і розрахуйте відносний вміст (%) для кожної окремої фракції
<i>альбуміни</i>	E1-E2			
<i>$\alpha 1$-глобуліни</i>	E2-E3			
<i>$\alpha 2$-глобуліни</i>	E3-E4			
<i>β-глобуліни</i>	E4-E5			
<i>γ-глобуліни</i>	E5			

ВИСНОВОК

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

ПІБ викладача

nidnuc

data

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПРОВЕДЕННЯ РЕГУЛЯТОРНИХ СИГНАЛІВ. ВТОРИННІ МЕСЕНДЖЕРИ

📖 ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Класи гормонів: білково-пептидні гормони; гормони-похідні амінокислот; гормони стероїдної природи; біорегулятори – похідні арахідонової кислоти.
2. Мішені гормональної дії; типи реакцій клітин на дію гормонів. Рецептори гормонів: мембранні (іонотропні, метаботропні) та цитозольні рецептори.
3. Молекулярно-клітинні механізми дії білково-пептидних гормонів та біогенних амінів. Каскадні системи передачі сигналу у системі: рецептор → G-білок → вторинний посередник → протеїнкіназа. Месенджерні функції циклічних нуклеотидів.
4. Месенджерні функції системи Ca^{2+} /кальмодулін та фосфоінозитидів.
5. Серинові, треонінові та тирозинові протеїнкінази.
6. Послідовність процесів у реалізації молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів.
7. Будова та властивості цитозольних рецепторів для стероїдів та тиронінів. Молекулярна організація регуляторних сайтів ДНК, що взаємодіють з гормональними рецепторами.

📖 ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 **Опишіть основні властивості гормонів:**

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

 **Коротко опишіть біологічне значення гормонів:**

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

 **Охарактеризуйте гормони згідно з функціональною класифікацією:**

1. Ефекторні гормони: _____

2. Тропні гормони: _____

3. Рилізінг-гормони: _____

 Охарактеризуйте гормони згідно з їх хімічною природою (з прикладами):

1. _____

2. _____

3. _____

 Схематично відобразіть та опишіть два основні механізми передачі гормонального сигналу (з прикладами):

Мембранний (позаклітинний) механізм дії	Цитозольний (внутрішньоклітинний) механізм дії

 Охарактеризуйте рецептори гормонів, заповнивши таблицю:

Тип рецептора	Характеристика	Гормони
<i>іонотропні</i>		
<i>метаботропні</i>		
<i>рецептори-ферменти</i>		
<i>цитозольні</i>		

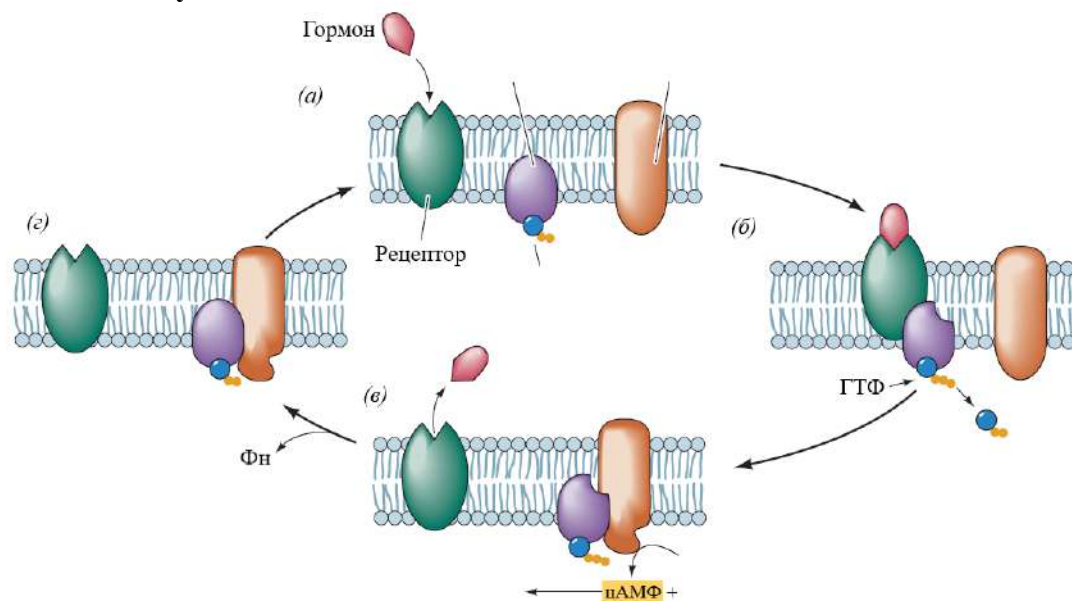
 Перерахуйте основні компоненти аденілатциклазного комплексу:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

 Заповніть таблицю «Характеристика найважливіших G-білків»

G-білок	Сигнальні гормони	Ефектор	Ефект	Локалізація
G_s				
G_i				
G_q				
G_t				
G_{olf}				
G_g				

✎ Доповніть схему активації/дезактивації аденілатциклази та поясніть механізм:

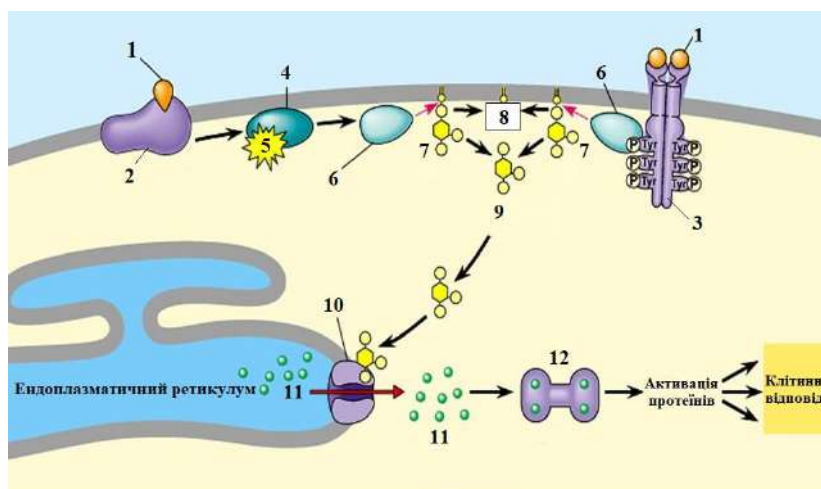


✎ Поясніть механізм активації протеїнкінази А та біологічне значення аденілатциклазної системи передачі гормонального сигналу:

✎ Назвіть шляхи припинення гормонального сигналу за аденілатциклазного каскаду:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____

✎ Доповніть схему інозитолфосфатної системи передачі гормонального сигналу назвами відповідних компонентів (1-12). Використовуючи схему, опишіть процес:



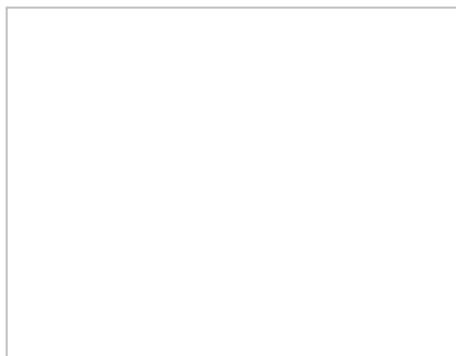
✎ Використовуючи наведену вище схему, вкажіть первинні і вторинні месенджери (цифру):

Первинні месенджери: _____ Вторинні месенджери: _____

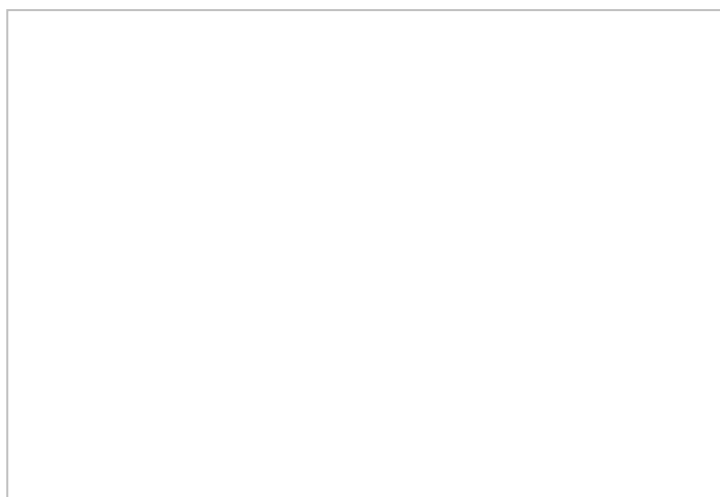
✎ Назвіть шляхи припинення гормонального сигналу за інозитолфосфатного каскаду:

Інактивація ІФ-3	Інактивація ДАГ

 **Зобразіть структуру рецептора інсуліну та поясніть механізм дії гормону:**



 **Схематично відобразіть передачу гормонального сигналу стероїдними рецепторами та поясніть механізм дії:**



 **Поясніть, за яким шляхом – позаклітинним чи внутрішньоклітинним найшвидше реалізується дія гормонів. Наведіть конкретні приклади.**

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Оберіть сполуки, що є вторинними посередниками гормонального сигналу:

- ☐ діацилгліцероли
- ☐ триацилгліцероли
- ☐ лейкотрієни
- ☐ тромбосани
- ☐ всі перераховані вище сполуки

Встановіть послідовність процесів каскадного механізму передачі гормонального сигналу:

- ☐ фосфорилування ферменту
- ☐ взаємодія гормону зі специфічним рецептором
- ☐ активація протеїнкінази
- ☐ утворення цАМФ
- ☐ активація аденілатциклази
- ☐ включення в роботу білка -трансдуктора

Оберіть сполуку, яка є попередником вторинних месенджерів і субстратом для фосфоліпази С:

- ☐ інозитол-1,4,5-трифосфат
- ☐ інозитол-4,5-дифосфат
- ☐ фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат
- ☐ діацилгліцерол
- ☐ фосфатидилінозитол-3,4,5-трифосфат

Оберіть вірне твердження щодо фіболових ефірів:

- ☐ вони є супресорами пухлин
- ☐ вони є активаторами протеїнкінази А
- ☐ вони є активаторами фосфоліпази С
- ☐ вони є інгібіторами протеїнкінази С
- ☐ вони є активаторами протеїнкінази С

Оберіть фермент, результатом дії якого є утворення 5'-АМФ:

- ☐ аденілатциклаза
- ☐ гуанілатциклаза
- ☐ фосфодіестераза
- ☐ рибозилциклаза
- ☐ 2',5'-олігоаденілатсинтаза

Оберіть фермент, який шляхом дефосфорилування інактивує внутрішньоклітинну тригліцеридліпазу:

- ☐ фосфорилаза
- ☐ протеїнкіназа
- ☐ протеїнфосфатаза
- ☐ глікогенсинтаза

Із наведеного переліку виберіть фермент, що є компонентом інозитолфосфатного сигнального каскаду:

- ☐ протеїнкіназа А
- ☐ фосфодіестераза
- ☐ інозитол-1,4,5-трифосфат
- ☐ Gq-білок
- ☐ діацилгліцерол

Оберіть фермент, що є компонентом сигнального каскаду, стимульованого вазопресином:

- ☐ гуанілатциклаза
- ☐ фосфоліпаза С
- ☐ рецепторна тирозина протеїнкіназа
- ☐ аденілатциклаза
- ☐ протеїнкіназа С

Оберіть характерні ознаки стероїдних гормонів:

- ☐ активують G-білки
- ☐ проникають в клітину
- ☐ зв'язуються з мембранними рецепторами
- ☐ стимулюють синтез мРНК
- ☐ беруть участь у всіх перерахованих вище процесах

Оберіть гормони, дія яких опосередкована G-білками:

- ☐ адреналін
- ☐ гідрокортизон
- ☐ глюкагон
- ☐ норадреналін
- ☐ трийодтиронін

Оберіть гормони, які зв'язуються з мембранними рецепторами:

- ☐ глюкагон
- ☐ кальцитонін
- ☐ кортизол
- ☐ інсулін
- ☐ адреналін

Зазначте властивості, характерні для аденілатциклази:

- ☐ мембранний фермент
- ☐ цитоплазматичний фермент
- ☐ активується G-білками
- ☐ каталізує утворення цАМФ
- ☐ містить гем

Зазначте властивості, характерні для білка-трансдуктора (G-білок):

- ☐ має спорідненість до аденілатциклази, пов'язаний з ГДФ
- ☐ має спорідненість до аденілатциклази, пов'язаний з ГТФ
- ☐ пов'язаний з ГТФ, має спорідненість до гормон-рецепторного комплексу
- ☐ має спорідненість до фосфоліпази C, пов'язаний з ГТФ
- ☐ ковалентно пов'язаний з ГТФ

Оберіть, який фермент каталізує реакцію утворення інозитол-1-,4-,5-трифосфату і діацилгліцеролу з фосфатидилінозитол-4-5-фосфатом:

- ☐ фосфоліпаза C
- ☐ ліпаза A1
- ☐ ліпаза A2
- ☐ ліпаза D
- ☐ фосфоліпаза P

Оберіть вірні твердження щодо протеїнкінази A:

- ☐ АТФ-залежна
- ☐ АМФ-залежна
- ☐ цАМФ-залежна
- ☐ зв'язує 1 молекулу активатора
- ☐ зв'язує 2 молекули активатора
- ☐ зв'язує 4 молекули активатора
- ☐ має 2 субодиниці
- ☐ має 4 субодиниці
- ☐ має 6 субодиниць
- ☐ здійснює фосфорилування глікогену
- ☐ є ферментом з абсолютною специфічністю

Оберіть вірні твердження щодо протеїнкінази C:

- ☐ активується Ca^{2+}
- ☐ активується ІФ3
- ☐ активується ФІФ2
- ☐ активується фосфатидилсерин
- ☐ активується ДАГ
- ☐ активація можлива за активності фосфоліпази C
- ☐ активація можлива за активності фосфоліпази D
- ☐ є ферментом з абсолютною специфічністю
- ☐ здійснює фосфорилування глікогену

Встановіть відповідність між гормонами та характером їх дії:

- А. стероїдні гормони
- Б. пептидні гормони
- В. ейкозаноїди
- Г. ацетилхолін
- Д. всі сигнальні молекули

- ☐ взаємодіють з цитоплазматичними рецепторами
- ☐ впливають на метаболізм в клітинах-мішенях
- ☐ беруть участь в ауто- і паракринній системі регуляції

Встановіть відповідність між рецептором гормону та його властивістю:

- Рецептор:
- А. інсуліну
 - Б. адреналіну
 - В. стероїдного гормону

- ☐ «заякорений» білок
- ☐ цитоплазматичний білок
- ☐ здатний виявляти ферментативну активність
- ☐ може взаємодіяти з G-білком
- ☐ під час активації взаємодіє з фосфоліпазою C

Оберіть твердження, яке порушує послідовність подій при функціонуванні G-білків:

- ☐ комплекс гормон-рецептор взаємодіє з Gs-білком
- ☐ знижується спорідненість Gs-білка до ГДФ і збільшується до ГТФ
- ☐ субодиниця α -ГТФ взаємодіє з аденілатциклазою
- ☐ відбувається дисоціація Gs-білка на α -ГТФ і димер $\beta\gamma$
- ☐ субодиниця α дефосфорилує ГТФ і утворюється Gs-ГДФ

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АДРЕНАЛІНУ МЕТОДОМ ФОЛІНА

АДРЕНАЛІН – катехоламін, біогенний амін, біосинтез якого відбувається в мозковій речовині надниркових залоз і в інших скупченнях хромафінних клітин з амінокислоти тирозину. В основі хімічної структури адреналіну лежить ядро пірокатехіна. Джерелом метильної групи є активна форма метіоніну – S-аденозилметіонін.

Адреналін – це білий дрібнокристалічний порошок, важко розчиняється в холодній воді, легше - в гарячій. Водні розчини гормону мають лужну реакцію, легко розкладаються при нагріванні, на повітрі і під дією світла, забарвлюючись при цьому спочатку в рожевий, червоний, а потім у коричнево-бурий колір.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Адреналін впливає на різні фізіологічні процеси й обмінні реакції. Він активує ферментну систему, каталізує глікогеноліз, що веде до підвищення рівня глюкози в крові. Екзогенне введення адреналіну в організм викликає гіперглікемію, глікозурію, збільшення концентрації вільних жирних кислот (активує ліполіз). Ефект дії адреналіну при введенні у кров схожий з ефектами збудження симпатичного відділу нервової системи – посилення серцевої діяльності, підвищення артеріального тиску тощо.

Збільшення екскреції адреналіну відзначається при феохромоцитомі (пухлина мозкового шару наднирників), гіпертонічній хворобі (в період кризів), при гострому інфаркті міокарда, гепатитах і цирозах печінки, шизофренії, загостренні виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки, а також за інтенсивного фізичного навантаження та гострого і хронічного стресу.

Екскреція адреналіну з сечею знижена при колагенозах, паркінсонізмі, гострих лейкозах, інфекційних захворюваннях, що гостро протікають.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

В основу методу покладено колориметричне визначення інтенсивності забарвлення з реактивом Фоліна. До складу реактиву Фоліна входять солі фосфорновольфрамової та фосформолібденової кислот. Ці солі під час взаємодії з адреналіном відновлюються з утворенням оксидів металів з нижчими валентностями, комплекси яких забарвлюються в синій колір.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **650 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Пробірки (мірні) місткістю 10 мл.
3. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми від 0,5мл до 1 мл, від 1 мл до 10 мл.
4. Мірні колби об'ємом 25 мл.

РЕАКТИВИ

1. Стандартний (калібрувальний) розчин адреналіну. Концентрація адреналіну в даному розчині становить 0,04 мг/мл.
2. 10%-вий свіжовиготовлений розчин Na_2CO_3 .
3. Реактив Фоліна.
4. Проба. Досліджуваний розчин.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться відповідно до схеми, наведених в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба; К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:</i>			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. Стандартний розчин адреналіну	-	0,5 мл	-
2. Досліджуваний розчин	-	-	0,5 мл
3. Дистильована вода	0,5 мл	-	-
4. Розчин Na_2CO_3	2 мл	2 мл	2 мл
5. Реактив Фоліна	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок Залиште пробірки при кімнатній температурі (від +20 °C до +25 °C) на 5 хв. Додайте наступний реактив.</i>			
6. Розчин Na_2CO_3	2,25 мл	2,25 мл	2,25 мл
<i>Інтенсивно перемішайте вміст пробірок.</i> <i>Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 650 нм проти холостої проби (Бланк). Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 30 хв.</i> <i>Запишіть результати вимірювань:</i> $E_{\text{контроль}}$ _____ $E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація адреналіну, мг/мл} = C_0 \times \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}}; \text{ де}$$

C_0 – масова концентрація адреналіну в стандартному розчині;

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно.

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

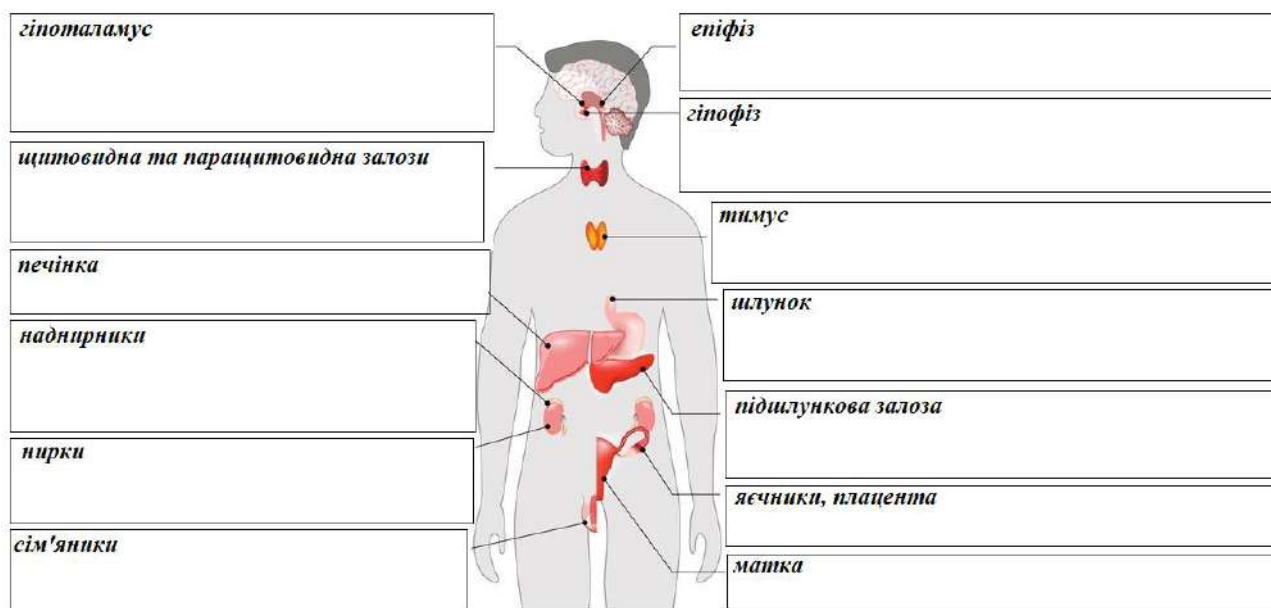
дата

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ:

1. Гормони гіпоталамо-гіпофізарної системи. Ліберини та статини гіпоталамуса.
2. Гормони передньої частки гіпофіза (група пептидних гормонів, група глікопротеїнів та родина проопіомеланокортину (ПОМК)).
3. Гормони задньої частки гіпофіза – вазопресин та окситоцин.
4. Гормони підшлункової залози – інсулін та глюкагон.
5. Гормони травного каналу – гастрин, холецистокінін, секретин.
6. Гормони щитоподібної залози: структура, біосинтез та біологічні ефекти T_3 та T_4 .
7. Гормони, залучені до регуляції метаболізму Ca^{2+} та фосфатів в організмі (паратгормон, кальцитріол, кальцитонін). Клініко-біохімічна характеристика порушень Ca^{2+} гомеостазу.
8. Біогенні аміни з гормональними та медіаторними властивостями: будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії. Катехоламіни – адреналін, норадреналін, дофамін. Індоламіни – серотонін, мелатонін. Гістамін.
9. Ейкозаноїди: загальна характеристика; номенклатура, біосинтез. Біологічні та фармакологічні властивості ейкозаноїдів, їх клінічне застосування.
10. Стероїдні гормони: номенклатура, класифікація. Схема генезу стероїдних гормонів.
11. Стероїдні гормони кори надниркових залоз (C_{21} -стероїди) – глюкокортикоїди та мінералокортикоїди – фізіологічні та біохімічні ефекти.
12. Жіночі статеві гормони: фізіологічні та біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції.
13. Чоловічі статеві гормони (C_{19} -стероїди): фізіологічні та біохімічні ефекти.
14. Клінічне застосування аналогів та антагоністів гормонів.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

 Доповніть таблицю назвами відповідних гормонів та гормоноподібних речовин:



 Заповніть таблицю «Структура та біологічне значення основних гормонів»:

Залоза	Основні гормони	Структура	Біологічна функція
<i>Гіпоталамус</i>			
<i>Гіпофіз</i>	<i>Передня доля</i>		
	<i>Задня доля</i>		
<i>Епіфіз</i>			
<i>Щитовидна залоза</i>			

Паращитовидна залоза			
Підшлункова залоза			
Надниркові залози	кірковий шар		
	мозковий шар		
Жіночі статеві залози, плацента			
Чоловічі статеві залози			

📖 ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ 📖:

Оберіть властивості гормонів, що відрізняють їх від інших біологічних регуляторів:

- ☐ діють за дуже низьких концентрацій
- ☐ діють через специфічні регулятори
- ☐ надходять в клітини-мішені з крові
- ☐ секретуються спеціальними ендокринними клітинами
- ☐ володіють відносною стабільністю

Класифікуйте гормони відповідно до їх хімічної структури:

- | | | |
|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| ☐ кортизол | ☐ трийодтиронін | ☐ альдостерон |
| ☐ соматотропін | ☐ кальцитонін | ☐ норадреналін |
| ☐ глюкагон | ☐ вазопресин | ☐ тироксин |
| ☐ окситоцин | ☐ паратгормон | ☐ естріол |
| ☐ тестостерон | ☐ адреналін | ☐ пролактин |

- А. пептидні гормони
- Б. стероїдні гормони
- В. похідні амінокислот

Поєднайте назви гормонів з місцем їх синтезу:

- | | | |
|--|--|--------------------------------------|
| ☐ адреналін | ☐ кортизол | ☐ вазопресин |
| ☐ соматотропін | ☐ норадреналін | ☐ тироксин |
| ☐ глюкагон | ☐ адренокортикотропний гормон | ☐ альдостерон |
| ☐ окситоцин | ☐ інсулін | ☐ пролактин |
| ☐ трийодтиронін | | ☐ кальцитонін |

- | | |
|---|---------------------------------|
| А. нейрогіпофіз (задня частка гіпофізу) | Г. мозкова речовина наднирників |
| Б. щитоподібна залоза | Д. кіркова речовина наднирників |
| В. аденогіпофіз | Е. підшлункова залоза |

Поєднайте гормони та процеси, які вони регулюють:

- | | | |
|--------------------------------------|---|--|
| ☐ кальцитонін | ☐ естрогени | А. обмін Са і Р |
| ☐ інсулін | ☐ трийодтиронін | Б. репродуктивна функція |
| ☐ тестостерон | ☐ кальцитріол | В. обмін вуглеводів |
| ☐ тироксин | ☐ соматотропін | Г. ріст і розвиток організму |
| ☐ адреналін | ☐ фолікулостимулюючий гормон | Д. водно-сольовий обмін |
| ☐ альдостерон | ☐ прогестерон | Е. готує організм до роботи в стресових умовах та в період адаптації |
| ☐ паратгормон | ☐ норадреналін | |
| ☐ глюкагон | | |

З перерахованих тверджень виберіть ті, які вірно характеризують:

- А. ліберини
- Б. статини

- | | |
|---|---|
| ☐ стимулюють секрецію гормонів гіпофіза | ☐ похідні амінокислот |
| ☐ пригнічують секрецію гормонів гіпофіза | ☐ низькомолекулярні пептиди |
| | ☐ синтезуються гіпофізом |
| | ☐ синтезуються гіпоталамусом |

Оберіть етап біосинтезу тиреоїдних гормонів, який каталізується ферментом тиреопероксидазою (йодидпероксидазою):

- ☐ поглинання йоду щитоподібною залозою
- ☐ синтез тиреоглобуліну
- ☐ утворення моно- та дийодтирозину в складі тиреоглобуліну
- ☐ утворення Т3 шляхом дейодування Т4
- ☐ гідроліз тиреоглобуліну із вивільненням Т3 і Т4

Зазначте, яка речовина є головним стимулятором всмоктування кальцію у кишечнику:

- ☐ 25-оксихолекальциферол
- ☐ 1-оксихолекальциферол
- ☐ холекальциферол
- ☐ 1,25-диоксихолекальциферол
- ☐ кальцитонін

Вкажіть, який із перерахованих гормонів є похідним ненасичених жирних кислот:

- ☐ гастрин
- ☐ інсулін
- ☐ простагландини
- ☐ соматостатин
- ☐ тиреотропін
- ☐ секретин
- ☐ вазопресин

Оберіть ознаки гіпертиреозу:

- ☐ підвищення температури тіла
- ☐ зниження температури тіла
- ☐ ожиріння
- ☐ схуднення

Встановіть відповідність гормонів та типу їх рецепторів:

- | | |
|--------------------------------------|---|
| ☐ тироксин | А. рецептори з тирозинкіназною активністю |
| ☐ інсулін | Б. рецептори з активністю факторів транскрипції |
| ☐ адреналін | В. рецептори-модулятори G-білків |
| ☐ вазопресин | |
| ☐ прогестерон | |
| ☐ глюкагон | |

У хворої жінки з низьким артеріальним тиском після парентерального введення гормону відбулося підвищення артеріального тиску і також підвищився рівень глюкози та ліпідів в крові. Оберіть гормон, який було введено:

- | | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| ☐ глюкагон | ☐ прогестерон |
| ☐ адреналін | ☐ вазопресин |
| ☐ інсулін | ☐ тиреотропін |

Оберіть гормон, який знижує швидкість ліполізу в жировій тканині:

- | | |
|--|---------------------------------------|
| ☐ соматотропін | ☐ інсулін |
| ☐ адреналін | ☐ норадреналін |
| ☐ гідрокортизон | |

ВИЗНАЧЕННЯ НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФОРУ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (БЕЗ ДЕПРОТЕЇНУВАННЯ)

ФОСФОР є одним з найважливіших хімічних елементів для організму людини. Близько 85 % фосфору міститься в організмі у вигляді солей фосфату кальцію в неорганічній частині кістки. Решта частини фосфору включена в естерифікацію проміжних продуктів обміну цукрів, а також входить до складу фосфоліпідів, фосфопротеїнів, нуклеїнових кислот і нуклеотидів. Цей макроелемент бере участь практично у всіх хімічних і фізіологічних реакціях організму. Він необхідний для здорової структури кісток і зубів. Засвоєнню цього макроелементу сприяє вітамін D.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Концентрація фосфору в сироватці крові характеризується циркадним ритмом (найвищі значення пізно вранці, найнижчі ввечері) і залежить від таких чинників, як дієта (вуглеводна), присутність антацидів, які зв'язують фосфат, і зміна рівнів СТГ (соматотропний гормон), інсуліну та функції нирок. Можливі також сезонні коливання з максимальним рівнем у травні і червні (найнижчі рівні зимою).

Гіпофосфатемія може бути викликана переходом фосфору із позаклітинної рідини у внутрішньоклітинну, підвищеною екскрецією крізь нирки (дефекти каналців нирок, гіперпаратиреоз) або втратою через ШКТ (пронос, блювота), і зниженим всмоктуванням в кишечнику. **Гіперфосфатемія** зазвичай виникає в результаті ниркової недостатності або гіпопаратиреозу.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ

Сироватка

Новонароджені:	1,45 - 2,91 ммоль/л
Діти, 10 діб-24 міс.:	1,45 - 2,16 ммоль/л
Діти, 24 міс. – 12 років:	1,45 - 1,78 ммоль/л
Дорослі 12-60 років:	0,87 - 1,45 ммоль/л
Чоловіки старше 60 років:	0,74 - 1,20 ммоль/л
Жінки старше 60 років:	0,90 - 1,32 ммоль/л

Сеча

Дорослі:	29 - 48 ммоль/доб
----------	-------------------

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Неорганічний фосфат утворює із молібденовою кислотою, у сильно кислому середовищі, фосфомолібденову кислоту, яка відновлюється в присутності заліза (II) у молібденову синь. Білки, які осаджуються індикаторним реагентом, розчиняються при додаванні стабілізатора - триетаноламіну. Оптична щільність реакційного розчину пропорційна концентрації неорганічного фосфору в пробі.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів за довжини хвилі **620 нм** та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Пробірки місткістю 10 мл.
3. Піпетки, які дозволять точно відміряти об'єми 0,05 та 1 мл.

РЕАКТИВИ

- 1. Індикаторний реагент.** Цей розчин містить 40 мМ молібдат амонію приготовлений на 1,1 н сульфатній кислоті.
- 2. Розчин стабілізатора.** Цей розчин містить 3,42 М триетаноламін.
- 3. Стандартний (калібрувальний) розчин фосфору.** Концентрація фосфору в даному розчині становить 1,615 ммоль/л.
- 4. Проба.** Свіжа сироватка крові, гепаринізована плазма (натщесерце, не допускати гемолізу), сеча, спинномозкова рідина.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці:

<i>Відміряйте реактиви у зазначеній послідовності у відповідні пробірки, попередньо позначені як Б – бланк/холоста проба; К – контрольний зразок/калібрувальна проба; Т – тестовий зразок/дослідна проба.. У ході дослідження дотримуйтеся описаних умов:</i>			
Реактиви	Пробірки		
	Бланк (Б)	Контроль (К)	Тест (Т)
1. Проба (сироватка крові)	-	-	0,05 мл
2. Стандартний розчин фосфору	-	0,05 мл	-
3. Дистильована вода	0,05 мл	-	-
4. Індикаторний реагент	1 мл	1 мл	1 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок. Залиште пробірки при кімнатній температурі (від + 20 °С до + 25 °С) на 15 хв. Додайте до пробірок:</i>			
5. Розчин стабілізатора	1 мл	1 мл	1 мл
<i>Обережно перемішайте вміст пробірок. Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 620 нм проти холостої проби (Бланк). Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 15 хв. Запишіть результати вимірювань:</i>			
$E_{\text{контроль}}$ _____			
$E_{\text{тест}}$ _____			

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Концентрація фосфору, ммоль/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 1,615; \text{ де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільності контрольної і дослідної проби, відповідно,
1,615 – концентрація фосфору в стандартному розчині (ммоль/л).

ВИСНОВОК

ПІБ викладача

підпис

дата

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Остапченко Л.І. та ін. Біохімія: Підручник для студентів ВНЗ. – К.: Київський університет, 2012. – 798 с.
2. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю.Д., Васильєв О.М. та ін. Біохімія: Підручник. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2002. – 480 с.
3. Pratt C.W., Cornely K. Essential Biochemistry, 3rd Edition, 2014.
4. Moran L.A., Horton H.R., Scrimgeour K.G., Perry M.D. Principles of Biochemistry, 5th ed., 2012.
5. Voet D., Voet J.G., Pratt C.W. Fundamentals of Biochemistry: life at the molecular level, 5th ed., 2016.
6. Nelson D. Lehninger Principles of Biochemistry: International Edition - W.H. Freeman; 8th edition, 2021.- 1328 p.

Додаткова література:

1. Губський Ю.І., Ніженковська І.В., Корда М.М., та ін. Біологічна хімія. Підручник.– Вінниця: Нова книга, 2021. – 648 с.
2. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія: Підручник. – Х.: Основа, Видавництво НФАУ, 2000. – 608 с.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: Підручник. – Т.: Укрмедкнига, 2001. – 736 с.
4. Rodwell V.W., Bender D. A., Botham K. M., Kennelly P. J., Weil P. A. Harper's Illustrated Biochemistry, 30th ed., 2016.
5. Harvey R.A., Ferrier D.R. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry, 8th ed., 2021.