

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Г. КОРОЛЕНКА

Факультет природничих наук та менеджменту
Кафедра хімії та методики викладання хімії

Навчальний посібник для проведення лабораторних занять та самостійної роботи з дисципліни

«Біохімія»

підготовки здобувачів освітнього ступеня «бакалавр»

Галузь знань	01 Освіта / Педагогіка
Спеціальність	014 Середня освіта
Предметна спеціальність	014.05 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)
Освітня програма	«Середня освіта (Біологія та здоров'я людини). Фізична реабілітація»



2023 рік

УДК 577.1(075.8)

*Затверджено на засіданні Вченої ради Полтавського національного педагогічного
університету імені В.Г. Короленка
(протокол №14 від 30 червня 2023 року)*

Укладачі:

кандидат педагогічних наук, доцент кафедри хімії та методики викладання хімії
Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка Стрижак
Світлана Володимирівна

старший викладач кафедри хімії та методики викладання хімії Полтавського
національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка Куленко Олена
Анатоліївна

РЕЦЕНЗЕНТИ:

кандидат хімічних наук, доцент, професор кафедри біотехнології та хімії
Полтавського державного аграрного університету Крикунова Валентина Юхимівна.

кандидат педагогічних наук, доцент, доцент кафедри хімії та методики викладання
хімії Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка
Криворучко Аліна Валеріївна.

Стрижак С.В., Куленко О.А.

Біохімія : навчальний посібник. – Полтава: ПНПУ імені В. Г. Короленка, 2023. – 55 с.

Навчальний посібник містить матеріал для підготовки до лабораторних занять та самостійної роботи здобувачів освіти спеціальності 014.05 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини). Фізична реабілітація: теоретичні питання для самостійної підготовки студентів, методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт, завдання для самостійної роботи, приклади розв'язування завдань, контрольні питання та список рекомендованої літератури для підготовки.

© Стрижак С.В., Куленко О.А. 2023

© Полтавський національний педагогічний
університет імені В.Г. Короленка, 2023

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 1.

Білки, амінокислоти їх будова та властивості. Якісні реакції на амінокислоти та білки.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Обладнання хімічної лабораторії та його призначення.
2. Правила роботи в лабораторії. Основні вимоги з техніки безпеки. Перша допомога при нещасних випадках.
3. Функції білків.
4. Хімічний склад білків, методи його визначення.
5. Амінокислоти: класифікація, фізико-хімічні властивості, методи виділення та ідентифікації.
6. Основні типи хімічних зв'язків, які приймають участь в стабілізації будови білків та їх структурних компонентів.
7. Принципи структурної організації білкових молекул.
8. Природні пептиди їх синтез поза організмом.
9. Характеристика конформацій поліпептидів.
10. Третинна структура, її зв'язок з первинною структурою.
11. Залежність функцій білків від третинної структури.
12. Четвертинна структура, поняття про субодиниці та контактні площадки.
13. Фізико-хімічні властивості білків.
14. Методи визначення молекулярної маси.
15. Методи виділення та ідентифікації, критерії чистоти білків.
16. Класифікація білків.

Практична частина

Якісні реакції на амінокислоти

Радикали амінокислот винятково різноманітні. Це дає можливість для виявлення більшості амінокислот використовувати кольорові реакції. Багато з них дуже чутливі і високо-специфічні, що дозволяє відкривати незначні кількості тієї чи іншої індивідуальної амінокислоти в складі складних сумішей, біологічних рідинах, гідролізатах білків і т.п. Деякі кольорові реакції знаходять застосування для кількісного визначення амінокислот.

Устаткування та реактиви: водяна баня, термометр лабораторний, ванночка з льодом, тримачі для пробірок, мірні циліндри на 10 мл, піпетки мірні на 1 і 5 мл, пробірки скляні хімічні; тирозин (порошок), сірчана кислота (2,5%-на), реактив Мілона, аргінін (0,01%-ний), гідроксид натрію (10%-ний), α -нафтол (0,2%-ний) у спирті, гіпоброміт, сечовина (40%-на), сульфанілова кислота (1%-на) у соляній кислоті (5%-на), нітрит калію (0,5%-ний), гістидин (0,01%-ний), карбонат натрію (10%-ний), триптофан (0,005%-ний), гліоксилова кислота, сульфат міді (0,04 М), сірчана кислота (конц.), пролін (0,01%-ний), нінгидрин (1%-ний) в ацетоні (95%-ному), пролін (0,01%-ний) у крижаній оцтовій кислоті, гліцин (0,01%-ний); розчин о-фталевого діальдегіду, метіонін (0,02%-ний), нітропрусид натрію (10%-ний), гідроксид натрію (14,3 н.), суміш соляної ($\rho=1,19$) і фосфорної (85%-на) кислот 9:1.

Кольорова реакція на тирозин (реакція Мілона). У пробірці до декількох кристалів тирозину додають 5 мл 2,5%-го розчину сірчаної кислоти і перемішують до повного розчинення. Доливають 1 мл реактиву Мілона, струшують і залишають стояти при кімнатній температурі. Через якийсь час розчин забарвлюється в криваво-червоний колір. Для прискорення появи кольору розчин можна злегка підігріти.

Кольорова реакція на аргінін (реакція Сакагучі). У пробірку наливають 2 мл 0,01%-ного розчину аргініну, додають 2 мл 10%-ного розчину гідроксиду натрію і декілька крапель 0,2%-ного спиртового розчину α -нафтолу. Добре перемішують вміст пробірки, доливають 0,5 мл розчину гіпоброміту і знову перемішують. Негайно додають 1 мл 40%-ного розчину сечовини для стабілізації оранжево-червоного забарвлення, яке швидко розвивається.

Кольорова реакція на гістидин (реакція Паулі). До 1 мл 1%-ного розчину сульфанілової кислоти в 5%-ному розчині соляної кислоти додають 2 мл 0,5%-ного розчину нітриту калію, сильно струшують і негайно доливають спочатку 2 мл 0,01%-ного розчину гістидину, а потім, після перемішування вмісту пробірки, 6 мл 10%-ного розчину карбонату натрію. Розвивається інтенсивне вишнево-червоне забарвлення.

Кольорова реакція на триптофан (реакція Гопкінса-Коле). 1 мл 0,005%-ного розчину триптофану змішують у пробірці з рівним об'ємом розчину гліоксилової кислоти і додають 10 крапель 0,04 М розчину сульфату міді (II). Доливають невеликими порціями (по декілька крапель) 2–3 мл концентрованої сірчаної кислоти, охолоджуючи пробірку щоразу під водопровідним краном чи, краще, у ванночці з льодом. Залишають на 10 хв. при кімнатній температурі і ставлять

на 5 хв. у киплячу водяну баню. Розвивається синьо-фіолетове забарвлення.

Кольорова реакція на метіонін (по Мак-Карті і Саллівану). До 5 мл 0,02%-ного розчину метіоніну додають при помішуванні спочатку 1 мл 14,3 Н. розчину гідроксиду натрію, а потім 0,3 мл 10%-ного розчину нітропрусиду натрію. Суміш нагрівають 10 хв. на водяній бані при температурі 35–40°C. Потім охолоджують 2 хв. у крижаній воді і додають при помішуванні 5 мл суміші соляної і фосфорної кислот. Суміш збовтують 1 хв. і охолоджують у воді кімнатної температури протягом 10 хв. Розвивається яскраве червоно-фіолетове забарвлення.

Кольорова реакція на гліцин (реакція Циммермана). До 2 мл 0,01%-ного розчину гліцину рН=8,0, доливають 0,5 мл водного розчину о-фталевого діальдегіду. Реакційна суміш негайно забарвлюється в яскраво-зелений колір. Через кілька хвилин випадає зелений осад.

Кольорова реакція на пролін з нінгідрином. У пробірці до 3 мл 0,01%-ного розчину проліну додають декілька крапель 1%-ного розчину нінгідрину у 95%-ному ацетоні. Вміст пробірки перемішують і нагрівають на водяній бані при 70°C 5 хв. Розвивається яскраво-жовте забарвлення в результаті виникнення продукту конденсації проліну з нінгідрином.

Якісні реакції на білки

Методи якісного виявлення білків ґрунтовані на двох типах реакцій: а) по пептидних зв'язках білкової молекули; б) по амінокислотних її радикалах.

Прикладом реакції першого типу служить біуретова реакція. Прикладами реакцій другого типу є численні кольорові реакції на радикали амінокислот, деякі з них розглянуті раніше, а інші будуть наведені нижче. За характером кольорових реакцій другого типу можна судити до деякої міри про будову білків.

Устаткування та реактиви: центрифуга, баня водяна, термометр лабораторний, фільтри паперові, марля, набір пробірок скляних хімічних, піпетки, градузовані на 10 мл, склянки скляні лабораторні з носиком на 100 і 250 мл, лійки скляні, лакмусовий папір; свіже яйце, свіже яловиче м'ясо, молоко, пшеничне борошно, хлорид натрію (10%-ний), сульфат амонію (насич.), гідроксид натрію (10%-ний і 30%-ний), сульфат міді (1%-ний), нінгідрин (1%-ний) в ацетоні (95%-ному), α -нафтол (0,2%-ний спиртовий розчин), гіпоброміт натрію, реактив Міллона, крижана оцтова кислота, сірчана, соляна й азотна кислоти (конц.), желатина (розчин), гліоксалева кислота, формальдегід (2,5%-ний), нітрит натрію (0,05%-ний і 0,5%-ний), сульфанілова кислота (1%-на), карбонат натрію (10%-ний), соляна кислота (5%-на), нітропрусид натрію (5%-ний), аміак (конц.), пікринова кислота (насич.), карбонат натрію.

Приготування розчинів білків для проведення якісних реакцій

Нерозбавлений білок курячого яйця. Відокремлюють білок трьох курячих яєць від жовтків. Вважаючи, що маса білка в одному яйці в середньому дорівнює 33 г, одержують близько 100 мл нерозбавленого розчину білків курячого яйця. Цей розчин містить 88% води, 1% вуглеводів і 0,5% мінеральних речовин; інше припадає на білок. Таким чином, отриманий нерозбавлений білок курячого яйця являє собою приблизно 10%-ний розчин білка.

Розведений розчин яєчного альбуміну. Білок одного курячого яйця після відділення від жовтка добре збивають і потім змішують у колбі при струшуванні з десятикратним об'ємом дистильованої води. Розчин фільтрують через подвійний шар змоченої водою марлі чи шматок випраної полотнини, поміщених у лійку. Відфільтровують розчин яєчного альбуміну; в осаді залишається яєчний глобулін. З огляду на те, що концентрація альбуміну в білку курячого яйця складає близько 6%, отриманий розведений розчин яєчного альбуміну є приблизно 0,5%-ним.

Білки м'яса. Поміщають у склянку 40–50 г пропущеного через м'ясорубку знежиреного м'яса, додають 80–100 мл 10%-ного розчину хлориду натрію і залишають суміш стояти 15–20 хв. при частому помішуванні. Відфільтровують через паперовий складчастий фільтр чи через подвійний шар марлі. У розчині міститься головним чином м'язовий альбумін і глобулін.

Білки молока. До 50 мл свіжого молока додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію. При цьому випадають в осад глобуліни і казеїн. Відфільтровують через складчастий паперовий фільтр розчин альбумінів.

Рослинний альбумін. 25 г. пшеничного борошна змішують з 100 мл дистильованої води і суміш струшують протягом 1 години. Розчин центрифугують і надосадову рідину фільтрують через складчастий фільтр. Відфільтрований прозорий розчин містить переважно альбуміни пшеничних зерен.

Якісні реакції на білки

Виявлення в молекулах білків пептидних зв'язків (біуретова реакція). До 1–2 мл розведеного розчину білка додають подвійний об'єм 30%-ного розчину гідроксиду натрію, добре перемішують і додають 2–3 краплі 1%-ного розчину сульфату міді. Знову ретельно перемішують.

Розвивається червоно-фіолетове забарвлення. При малому вмісті білка чутливість реакції можна підвищити, нашаровуючи на розчин білка в лузі 1 мл 1%-ного розчину сульфату міді. При стоянні на границі двох шарів з'являється фіолетове кільце.

Нінгідрінова реакція. До 2–3 мл розведеного розчину білка доливають 3–4 краплі 1%-ного розчину нінгідрину в 95%-ному розчині ацетону. Розчин перемішують і ставлять у водяну баню при 70 градусах на кілька хвилин. Розвивається синьо-фіолетове забарвлення.

Ксантопротеїнова реакція. До 1 мл розчину білка додають 5–6 крапель концентрованої азотної кислоти до появи білого осаду чи каламуті від білка. При нагріванні розчин і осад забарвлюються в яскраво-жовтий колір. При цьому осад цілком розчиняється. Суміш охолоджують і обережно додають до розчину, який має кислу реакцію, не збовтуючи, по краплях надлишок концентрованого гідроксиду амонію чи лугу до лужної реакції. Осад кислотного альбумінату, що спочатку випадає, розчиняється, і рідина забарвлюється в яскраво-жовтогарячий колір.

Ксантопротеїнова реакція відбувається тільки при наявності в білках залишків ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину і триптофану). Желатина, наприклад, не містить ароматичних амінокислот і не дає ксантопротеїнової проби.

Реакція з пікриною кислотою. До 2 мл розведеного розчину білка додають 0,5 г карбонату натрію, додають 1 мл насиченого водного розчину пікринової кислоти, перемішують і нагрівають у полум'ї пальника кілька хвилин. Жовте забарвлення розчину поступово переходить у червоне внаслідок відновлення пікринової кислоти в пікرامінову. Дана кольорова реакція на білок малоспецифічна.

Реакція Сакагучі. Наливають у пробірку 2–3 мл розведеного розчину білка, додають 1 мл 10 %-ного розчину гідроксиду натрію і слідом за цим декілька крапель 0,2%-ного спиртового розчину α -нафтолу. Перемішують, доливають 0,5 мл розчину гіпоброміту натрію і знову перемішують. Розвивається оранжево-червоне забарвлення. Поява забарвлення обумовлена взаємодією α -нафтолу в присутності окислювача з гуанідиновими групами радикалів аргініну в молекулі білка.

Реакція Міллона. До 0,5–1 мл нерозбавленого білка курячого яйця додають подвійний об'єм реактиву Міллона. Білок звертається під дією солей ртуті й азотної кислоти, що входять у реактив, утворюючи згусток білого кольору. При нагріванні пробірки в полум'ї пальника осад забарвлюється в кармінно-червоний колір. Реакцію Міллона дають усі білки, що містять у своїй молекулі залишок тирозину.

Реакція Адамкевича. Наливають у пробірку кілька крапель нерозбавленого білка і додають 2 мл крижаної оцтової кислоти, до якої додають небагато гліоксилової кислоти. Суміш злегка нагрівають до розчинення осаду, що утворюється. Охолоджують пробірку із сумішшю, а потім, сильно нахиливши її, обережно, по стінці доливають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти так, щоб обидві рідини не змішалися. При стоянні на границі двох рідин утворюється червоно-фіолетове кільце. Желатина не дає цієї реакції, тому що вона не містить амінокислоти триптофану, від присутності якого залежить ця реакція.

Реакція Вуазене. До 2 мл розведеного розчину білка в пробірці додають одну краплю 2,5%-ного розчину формальдегіду. Змішують і додають 6 мл чистої концентрованої соляної кислоти (густина не менш 1,175), після чого знову перемішують. Через 10 хв. додають при збовтуванні 10 крапель 0,5%-ного розчину нітриту натрію. Розвивається інтенсивне синьо-фіолетове забарвлення. Реакція Вуазене також протікає тільки з тими білками, що містять у своїй молекулі триптофан.

Реакція Паулі. До 1 мл 1%-ного розчину сульфанілової кислоти в 5%-ному розчині соляної кислоти доливають 2 мл 0,5%-ного розчину нітриту натрію, сильно струшують і негайно додають спочатку 2 мл розведеного розчину білка, а потім, після перемішування вмісту пробірки, 6 мл 10%-ного розчину карбонату натрію. Після змішування розчинів розвивається вишнево-червоне забарвлення. Виникнення забарвлення зумовлене наявністю в білковій молекулі залишків гістидину і тирозину.

Нітропрусидна реакція. У пробірку беруть 3 мл розведеного розчину білка, доливають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію і 2–3 краплі 5%-ного розчину нітропрусиду натрію. Потім розчин підлужують декількома краплями концентрованого розчину аміаку. Якщо в білку присутній цистеїн, то відбувається реакція, у результаті якої розвивається пурпурове

забарвлення.

Реакції осадження білків

До складу білків входять різноманітні амінокислотні радикали, тому білки вступають у взаємодію з багатьма сполуками (кислотами, іонами металів, спиртами і т.п.), а також конкурують з ними за молекули розчинника (води). У багатьох випадках результатом зазначених процесів є випадання білків в осад. Для проведення реакцій осадження білків користуються розчинами білків, приготовленими раніше.

Устаткування та реактиви: фільтри паперові, лійки скляні, набір пробірок скляних хімічних; розчини білків, сульфат амонію (кристал., і насич.), оцтова кислота (1%-на і 10%-на), хлорид натрію (насич.), гідроксид натрію (10%-ний), азотна, соляна, сірчана й оцтова кислоти (конц.), трихлороцтова кислота (5%-на), сульфосаліцилова кислота (20 %-на), сульфат міді (5%-ний), ацетат свинцю (5%-ний), фенол (насич.), формалін, етиловий спирт, вольфрамат натрію (10%-ний), сірчана кислота (0,66 н.).

Висолювання білків сульфатом амонію. Наливають у пробірки 1–1,5 мл розчину білка, додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію і злегка струшують суміш. З'являється каламуть від осаду глобулінів. Мутну рідину фільтрують через сухий складчастий фільтр. Частину прозорого фільтрату нагрівають до кипіння і спостерігають звертання альбумінів, що знаходяться в розчині. До іншої частини фільтрату додають при перемішуванні надлишок сульфату амонію в порошок до припинення його розчинення. З'являється каламуть чи пластівці альбуміну, що випадає в осад, (порівняти з вихідним фільтратом). Осадження білків солями є оборотним процесом, і при додаванні води білки знову розчиняються.

Денатурація білків при нагріванні. У п'ять пробірок наливають по 2 мл розчину білка: а) Нагрівають вміст першої пробірки. Осад білка утворюється ще до того, як рідина закипить. б) Додають у другу пробірку одну краплю 1%-ного розчину оцтової кислоти і нагрівають. Пластивчастий осад білка випадає скоріше і повніше внаслідок того, що в результаті підкислення рН розчину наблизився до ізоелектричної точки білка. в) Додають у третю пробірку близько 0,5 мл 10%-ного розчину оцтової кислоти і нагрівають. Осад білка не утворюється: навіть при кип'ятінні. г) Додають у четверту пробірку близько 0,5 мл 10%-ного розчину оцтової кислоти та декілька крапель насиченого розчину хлориду натрію і нагрівають. Утворюється осад білка. д) Додають у п'яту пробірку близько 0,5 мл розчину гідроксиду натрію і нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

Випадання білків в осад при нагріванні – звертання – характерне майже для всіх білків (виключення складає желатина, яка не руйнується при нагріванні). Особливо легко і більш повно відбувається осадження білка в слабкокислому середовищі, поблизу від ізоелектричної точки. У нейтральному і сильнокислому середовищах осадження білків йде значно гірше, а в лужному середовищі зовсім не спостерігається. На відміну від осадження солями білків при нагріванні – денатурація білків – необоротна.

Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами. У три сухі пробірки наливають по 1–2 мл концентрованих азотної, сірчаної і соляної кислот. Потім, нахиливши кожну пробірку, обережно по стінці доливають у неї з піпетки по 0,5 мл досліджуваного розчину білка так, щоб він не змішувався з кислотою. У місці зіткнення двох рідин з'являється білий аморфний осад білка. При струшуванні осад, що випав при дії азотної кислоти, збільшується, а осад, що випав при дії соляної і сірчаної кислот, розчиняються в їхньому надлишку. Желатина не осаджується мінеральними кислотами. Концентровані мінеральні кислоти викликають необоротне осадження білків. Це пов'язано як з дегідратацією білкових молекул, так і з денатурацією білка.

Осадження білків органічними кислотами. У дві пробірки наливають по 2–3 мл розчину білка і додають в одну з них декілька крапель 5%-ного розчину трихлороцтової кислоти, в іншу – декілька крапель 20%-ного розчину сульфосаліцилової кислоти. В обох випадках спостерігається випадання осаду білка. Сульфосаліцилова і трихлороцтова кислоти є чутливими і специфічними реактивами на білок. Трихлороцтова кислота осаджує тільки білки і не осаджує продукти розпаду білка й амінокислоти, тому нею користуються для повного видалення білків з біологічних рідин (наприклад, сироватки крові). У цих умовах продукти розпаду білків залишаються в розчині.

Осадження білків солями важких металів. У дві пробірки наливають 1–1,5 мл досліджуваного розчину білка і повільно, по краплях при струшуванні додають в одну з них розчин сульфату міді, а в іншу – розчин ацетату свинцю. Випадає пластивчастий осад внаслідок утворення малорозчинної солеподібної сполуки (із сіллю міді – блакитного кольору, із сіллю

свинцю – білого кольору). При надлишку реактиву осад знову розчиняється. Солі важких металів викликають необоротне осадження білків, утворюючи з ними нерозчинні у воді сполуки.

Осадження білків фенолом і формаліном. У дві пробірки, що містять по 1–2 мл розчину білка, додають: у першу – рівний об'єм насиченого водного розчину фенолу, а в другу – рівний об'єм формаліну. В обох пробірках випадає осад білка. Від дії фенолу осад випадає швидше.

Осадження білків спиртом. У пробірку наливають 1–1,5 мл розчину білка і додають небагато кристалічного хлориду натрію. Доливають поступово туди ж 5–6 мл етилового спирту. Випадає пластівчастий осад білка внаслідок дегідратації білкових молекул при додаванні спирту.

Осадження білків вольфраматом натрію. До 3 мл розчину білка додають 0,5 мл 0,66 н. розчину сірчаної кислоти і після перемішування – 0,5 мл 10%-ного розчину вольфрамату натрію. Випадає осад. Вольфрамат натрію – один із кращих осаджувачів білків. Його часто застосовують у лабораторній практиці для депротеїнізації біологічних рідин і екстрактів. Однак, він осаджує також деяку кількість діамінокислот.

Розділення альбумінів і глобулінів методом діалізу і висолювання

Устаткування та реактиви. Ступка фарфорова; воронка скляна; стакан скляний лабораторний з носиком на 1 л; колодієвий мішечок для діалізу; марля; фільтри паперові; хлорид натрію (10%-ний); нітрат срібла (1%-ний); сульфат амонію; гідроксид натрію (10%-ний); сульфат міді (1%-ний); сульфат амонію (насич.); м'язова тканина.

Альбуміни і глобуліни є найбільш поширеними в природних об'єктах білками. За звичай вони зустрічаються разом, і відділення їх один від одного основане на різній їх розчинності у воді і різній здатності до висолювання мінеральними солями.

Альбуміни розчинні у воді і в концентрованих розчинах солей (осідають лише при більш ніж 50%-ному насиченні розчину сіллю), а глобуліни розчинні тільки в розчинах солей середньої концентрації (8 – 15%-них). В розчинах з більш високою і більш низкою концентрацією солі розчинність глобулінів зменшується.

Отримання сольової витяжки білка. 10 г подрібненої (пропущеної через м'ясорубку) м'язової тканини розтирають при помішуванні в ступці протягом 10 – 15 хвилин з 40 – 50 мл 10%-ного розчину хлориду натрію. Утворюється однорідна напіврідка маса, яку фільтрують через подвійний шар марлі. Перші каламутні краплі фільтрату зливають знову на фільтр і повторно фільтрують до отримання фільтрату без зважених частинок. Фільтрування йде повільно. Одержують близько 15 – 20 мл прозорого опалесцюючого забарвленого в рожево-червоний колір розчину. В отриманій сольовій витяжці білка містяться глобуліни і альбуміни, які далі розділяють методом діалізу або висолювання.

Діаліз сольової витяжки м'язової тканини. Метод діалізу оснований на нездатності великих білкових частинок проникати крізь пори напівпроникних перетинок (штучні колоїдні і целофанові мембрани, природні тваринні і рослинні перетинки), тоді як інші молекули і іони легко проходять через них. Методом діалізу користуються для очищення розчинів високомолекулярних сполук від солей та інших речовин. Білковий розчин, очищений цим методом, називається діалізованим.

Прилади, які використовуються для діалізу, називаються діалізаторами. Найпростішим діалізатором може бути мішечок целофану або колодію, поміщений в стакан з дистильованою водою. Для більш повного і швидкого здійснення діалізу вода в стакані повинна бути проточною або періодично замінюватися новою.

Виготовлення діалізатора. Вирізують з целофану круг діаметром 9 – 12 см. Складають його у формі мішечка, вставляють в отвір скляну трубку (завдовжки 5 – 6 см і діаметром 0,5 – 0,8 см) так, щоб верхній кінець трубки виступав з мішечка на 2 – 3 см, а нижній був занурений всередину на $\frac{1}{3}$ мішечка. Мішечок туго зав'язують на трубці шнурком. До роботи діалізатор слід зберігати наповненим водою і зануреним за допомогою тримача для пробірок в стакан з водою. Мішечок повинен бути підвішений так, щоб він не торкався стінок і дна стакана. Перед роботою воду з діалізатора виливають.

За допомогою воронки з тонко відтягнутим кінцем вливають в діалізатор 10 мл (не більше половини об'єму мішечка) отриманого фільтрату сольової витяжки і занурюють мішечок в літровий стакан з дистильованою водою. Через 5 – 10 хвилин відбирають піпеткою деяку кількість води із стакана і переконаються в наявності там хлорид-іонів (реакція з розчином нітрату срібла) і у відсутності білка (біуретова або міллонова реакція на білки). Змінивши воду в стакані, якщо реакція на хлорид-іони яскраво була виражена, продовжують діаліз, час від часу перевіряючи

реакцію на хлорид-іони і білок і міняючи воду через кожні 5 – 10 хвилин.

Через 1,5 – 2 години проба на хлорид-іони стає негативною або дуже слабкою. Це свідчить про завершення діалізу, тобто про майже повну дифузію солі з діалізатора в зовнішній розчинник. У мішечку до цього часу прозорий раніше фільтрат каламутніє, унаслідок випадання в осад глобулінів, нерозчинних в дистильованій воді.

Мішечок виймають із стакана і вміст його фільтрують через паперовий фільтр. На фільтрі залишаються глобуліни, у фільтрат переходять альбуміни. Проробляють біуретову реакцію і доводять наявність обох білків в осаді і фільтраті.

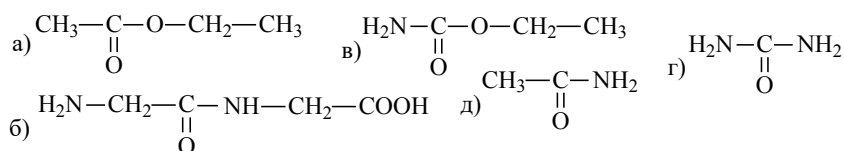
Для осадження альбумінів до фільтрату додають порошкоподібний сульфат амонію до насичення розчину. За таких умов альбуміни випадають в осад. Останній фільтрують через сухий паперовий фільтр. При повному насиченні сульфатом амонію в розчині не залишається білка в чому можна переконатися, провівши біуретову реакцію на білки з невеликою порцією фільтрату.

Висолювання м'язових білків. Розділення білків сольової витяжки здійснюють також методом висолювання, який оснований на здатності альбумінів і глобулінів осідати при різній концентрації солей. До сольової витяжки, отриманої з м'язової тканини, додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію. Випадає осад глобулінів. Розчин фільтрують і фільтрат насичують, додаючи сульфат амонію. Випадає осад альбумінів.

Завдання до лабораторно-практичної роботи №1 I модуля.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення:

1. Нейтральною амінокислотою є: а) аргінін; б) лізин; в) аланін; г) аспарагінова кислота; д) гістидин.
2. Нінгідринний реактив використовують для виявлення: а) глюкози; б) α -амінокислот; в) нуклеїнових кислот; г) полісахаридів; д) холестерину.
3. Оптичною активністю не володіє: а) лейцин; б) аланін; в) гліцин; г) цистеїн; д) аргінін.
4. Сульфурвмісною амінокислотою є: а) треонін; б) гомоцистеїн; в) триптофан; г) глутатіон; д) тирозин.
5. У складі білків постійно зустрічається: а) оксипролін; б) валін; в) γ -аміномасляна кислота; г) β -аланін; д) норлейцин.
6. Дисульфідний зв'язок містить амінокислота: а) лізин; б) метіонін; в) гомоцистеїн; г) цистин; д) цистеїн.
7. Амінокислотою не є: а) лейцин; б) валін; в) холін; г) лізин; д) аланін.
8. У процесі гідролізу білка: а) зменшується кількість вільних COOH -груп; б) збільшується кількість вільних аміногруп; в) різко падає рН розчину; г) утворюються пептидні зв'язки; д) виділяється газоподібний азот.
9. Пептидом, що містить залишки β -аланіну й гістидину й виявлений у м'язах всіх хребетних, є: а) карнозин; б) креатин; в) брадикінін; г) окситоцин; д) глутатіон.
10. Пептидом, що містить залишки α -аміномасляної кислоти, є: а) глутатіон; б) карнозин; в) офтальмова кислота; г) фалоїдин; д) вазопресин.
11. Пептидний зв'язок містить:



12. В ізоелектричній точці білок: а) має найменшу розчинність; б) має найбільший ступінь іонізації; в) є катіоном; г) є аніоном; д) денатурований.
14. Кератин є: а) глобуліном; б) пептидом; в) гістоном; г) протеїноідом.
15. Білки характеризуються: а) амфотерними властивостями; б) відсутністю специфічної молекулярної конфігурації; в) збереженням структури молекули при нагріванні; г) нездатністю кристалізуватися; д) відсутністю здатності обертати площину поляризації.
10. Простетична група гемоглобіну являє собою: а) три гемінові угруповання, що оточують атом заліза; б) чотири гемінові угруповання, з'єднані з Fe^{3+} ; в) протопорфірин IX; г) чотири пірольні кільця, з'єднані Fe^{3+} ; д) чотири алкільовані пірольні кільця, сполучені з метиновими угрупованнями й Fe^{2+} .
17. Простетична група молекули гемоглобіну зв'язана з білковою частиною через залишки: а)

гістидину; б) валіну; в) гліцину; г) аспарагінової кислоти; д) аргініну.

18. Молекулярна маса білків варіює в межах: а) від 1 до 500; б) від 500 до 1000; в) від 1000 до 5000; г) від 5000 до 100 000; д) від 5000 до десятків мільйонів.

19. Для визначення молекулярної маси білка практично неможливо застосувати метод: а) осмометричний; б) криоскопічний; в) гельфільтрації; г) ультрацентрифугування; д) електрофорезу в градієнті концентрації поліакриламідного гелю.

20. Для фракціонування й очищення білків знаходить обмежене застосування метод: а) ізоелектричного осадження; б) кристалізації; в) препаративного електрофорезу; г) висолювання; д) осадження органічними розчинниками.

21. Швидкість гельфільтрації білків залежить: а) від величини заряду білкової молекули; б) від форми білкової молекули; в) від величини оптичного обертання; г) від величини молекулярної маси; д) від розчинності білка.

22. У формуванні третинної структури білкової молекули беруть участь перераховані нижче зв'язки й взаємодії за винятком: а) іонних зв'язків; б) координаційних зв'язків; в) водневих зв'язків; г) гідрофобних взаємодій; д) ковалентних зв'язків.

23. β -Структура поліпептидного ланцюга яскраво представлена в молекулі: а) сироваткового альбуміну; б) міоглобіну; в) параміозину; г) фіброїну шовку; д) гемоглобіну.

24. Найбільшим ступенем α -спіралізації володіє поліпептидний ланцюг у молекулі: а) міоглобіну; б) рибонуклеази; в) лізоциму; г) хімотрипсिनотену; д) пепсину.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі $A > B$; $B > A$; $A = B$.

1. А. Вміст негативно заряджених груп у молекулі амінокислоти в ізоелектричній точці. Б. Вміст позитивно заряджених груп у молекулі амінокислоти в ізоелектричній точці.

2. А. Значення рН в ізоелектричній точці лізину. Б. Значення рН в ізоелектричній точці гліцину.

3. А. Розчинність альбумінів у воді. Б. Розчинність глобулінів у воді.

4. А. Розчинність проламінів у воді. Б. Розчинність проламінів у 70%-ному спирті.

5. А. Основність гістонів. Б. Основність протамінів.

6. А. Розчинність альбумінів у міцних сольових розчинах. Б. Розчинність глобулінів у міцних сольових розчинах.

7. А. Вміст глутамінової кислоти в проламінах. Б. Вміст глутамінової кислоти в протамінах.

8. А. Молекулярна маса клупеїну. Б. Молекулярна маса рибонуклеази.

9. А. Число дисульфідних містків у субодиниці молекули інсуліну. Б. Число дисульфідних містків у молекулі рибонуклеази.

10. А. Кількість субодиниць у молекулі гемоглобіну. Б. Кількість субодиниць у молекулі вірусу тютюнової мозаїки.

11. А. Число амінокислотних залишків у молекулі окситоцину. Б. Число амінокислотних залишків у молекулі вазопресину.

12. А. Число амінокислотних залишків у молекулі глутатіону. Б. Число амінокислотних залишків у молекулі карнозину.

13. А. Кількість амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі субодиниць гемоглобіну типу α . Б. Кількість амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі субодиниць гемоглобіну типу β .

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Білки містять атоми карбону, водню, кисню й нітрогену; б) вміст нітрогену в білках коливається 14 до 20%; в) при гідролізі білка утворюється деяка кількість аміаку; г) білки складаються головним чином з амінокислот.

2. а) Взаємодія амінокислоти з нітритною кислотою супроводжується виділенням молекулярного азоту; б) у результаті взаємодії амінокислоти з нінгідрином утворюється аміак і жирна кислота; в) карбоксильна група амінокислот може брати участь у перетвореннях, що ведуть до утворення складних ефірів, хлорангідридів, амідів; г) аміногрупи амінокислот не можуть бути ацетильовані.

3. а) Біуретову реакцію дають всі амінокислоти; б) біуретову реакцію дає глутатіон; в) біуретову реакцію дають дипептиди; г) біуретову реакцію дають, як правило, трипептиди й білки.

4. а) Більшість зв'язків між амінокислотами в білках – водневі; б) нативні білки містять дуже

невелику кількість вільних α -аміногруп, але їх багато утворюється в результаті гідролізу білків; в) при кислотному гідролізі білків звільняється велика кількість α -аміногруп і дуже невелика кількість карбоксильних груп; г) селективний гідроліз білків дає амінокислоти й пептиди.

5. а) Білки проявляють колоїдні властивості; б) на властивості білків не впливають зміни рН і підвищення температури середовища; в) білки містять вільні аміногрупи, що належать ϵ -аміногрупі залишку лізину, і вільні карбоксильні групи, що належать залишкам аспарагінової й глютамінової кислот; г) специфічні властивості амінокислот обумовлені наявністю пептидних зв'язків у них.

6. а) Розташування амінокислот у поліпептидних ланцюгах носить закономірний характер; б) для білків характерна найвища специфічність первинної структури; в) всі амінокислоти, які містяться в білках і пептидах, належать до L-ряду; г) наявність у білкових молекулах яких-небудь інших ковалентних зв'язків крім пептидних, являє собою вкрай рідке явище.

7. а) Число дисульфідних містків у різних білках різне, але для кожного даного білка число й розташування цих містків служить специфічною характеристикою; б) білки не здатні відповідати на зовнішній вплив закономірною зміною конфігурації молекули; в) 2 N. розчин гідроксиду натрію при 100 °C протягом 8 год. не здатний гідролізувати пептидні зв'язки білка; г) для білків характерне різноманіття фізичних і хімічних перетворень.

8. а) Гемоглобін має молекулярну масу в 4 рази більшу, ніж міоглобін; б) гемоглобін містить одне гемінове угруповання; в) із чотирьох поліпептидних ланцюгів гемоглобіну дві – зовсім однакові; г) кожна із субодиниць молекули гемоглобіну нагадує за своєю третинною структурою молекулу міоглобіну.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Оксилізін. Б. Серин. В. Триптофан. Г. Пролін. Д. Гістидин. а) Містить кільце індолу; б) мінорна амінокислота; в) α -амінокислота; г) α -аміно- β -оксипропіонова кислота; д) містить кільце імідазолу.

2. А. β -аланін. Б. Метіонін. В. Аргінін. Г. Треонін. Д. Тирозин. а) Амінокислота, що містить гуанідинове угруповання; б) міститься у природних пептидах – карнозині й ансерині; в) сульфурвмісна амінокислота; г) оксиамінокислота; д) α -аміно- β -параоксифенілпропіонова кислота.

3. А. Реакція Міллона. Б. Реакція Сакагучі. В. Нітропруссидна реакція. Г. Реакція із гліоксильною кислотою. Д. Реакція Фоліна. а) Характерна для білків, що містять аргінін; б) здійснюється з білками, що містять радикали, які здатні відновити фосфорновольфраміву й фосфорномолібденову кислоти; в) відбувається з білками, що містять тирозин; г) використовується для визначення триптофану в білках; д) позитивна з білками, де є вільні HS-Групи.

4. А. Фосген. Б. Карбобензоксигрупа. В. Третиннобутил-*n*-нітрофенілкарбонат. Г. Дикетопіперазин. а) Видаляється каталітичним дегідруванням; б) реагує з бензиловим спиртом, утворюючи карбобензоксихлорид; в) утворюється при тривалому нагріванні розчину гліцину; г) служить для захисту аміногрупи, виділяючись при взаємодії гідриду бром у оцтовій кислоті.

5. А. Фенілтіогідантоїновий метод. Б. Метод динітрофенілування за Сенджером. В. Лейцинамінопептидаза. Г. Метод Акаборі. Д. Карбоксипептидаза. а) Використовується для визначення N-кінцевих амінокислот у білках і пептидах без гідролізу інших пептидних зв'язків; б) використовується для ензиматичного визначення N-кінцевої амінокислоти в білках і пептидах; в) використовується для визначення N-кінцевих амінокислот у білку, вимагаючи повного гідролізу останнього; г) застосовується для визначення чергування амінокислотних залишків у білках, починаючи із C-кінцевої амінокислоти; д) використовується для визначення C-кінцевої амінокислоти в білках і пептидах.

6. А. Альбуміни. Б. Протаміни. В. Глобуліни. Г. Гістони. Д. Проламіни. а) Добре розчинні у воді; б) містять не менше 30% основних амінокислот; в) нерозчинні у воді, розчинні в 70 – 80%-ному спирті; г) нерозчинні у воді й сольових розчинах помірних концентрацій; д) містять 80 – 90% аргініну.

7. А. Феритин. Б. Кератин. В. Казеїн. Г. Хітин. Д. Нуклеопротейд. а) Фосфопротейд, у якого фосфорна кислота приєднується до молекули білка складно-ефірним зв'язком по місцю гідроксильних груп оксиамінокислот; б) білок, що містить у своєму складі 20% заліза і є депо останнього в організмі тварин; в) обов'язковий компонент ядерного матеріалу й цитоплазми; г) кутикулярний глікопротейд; д) містить велику кількість цистину.

8. А. Родопсин. Б. Вірус тютюнової мозаїки. В. Міоглобін. Г. Хлорофіл. Д. Інсулін. а) Рибонуклеопротейд, який містить 6% РНК; б) простетична група білка, яка приймає участь у фотосинтезі; в) хромопротейд, наявний у паличках сітківки ока й визначає гостроту сутінкового зору; г) білок м'язів

сваців, який зв'язує кисень; д) білок з гормональною активністю, який бере участь у регуляції вуглеводного обміну.

9. А. Протопорфірин. Б. Фосфорна кислота. В. Ферипротопорфірин. Г. Фосфатиди. Д. Феропротопорфірин IX. а) складова частина внутрішньоклітинних мембран; б) простетична група пепсину; в) простетична група гемоглобіну, міоглобіну, еритрокруорину, каталази, пероксидази, цитохромів групи b г) складова частина простетичної групи гемоглобіну, міоглобіну, цитохромів; д) гемін.

10. А. Розчинність білка. Б. Осмотичний тиск білкових розчинів. В. Швидкість седиментації білків. а) залежить від величини молекулярної маси білка; б) залежить від величини рН і йонної сили розчину; в) залежить від числа розчинених молекул.

11. А. Ковалентні зв'язки. Б. Іонні зв'язки й гідрофобні взаємодії. В. Внутрішньо-молекулярні водневі зв'язки. Г. Міжмолекулярні водневі зв'язки. а) Здійснюють зв'язок між білковою й небілковою складовими в молекулах ліпопротеїдів; б) використовуються при з'єднанні амінокислот у білковій молекулі; в) беруть участь у підтримці складчастої β-структури поліпептидного ланцюга; г) підтримують α-спіральну конфігурацію поліпептидного ланцюга.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Напишіть структурну формулу наступного пептиду: (NH₂)глі-глі-про-три-мет-(глу)₅-алатир-глі-три-мет-асп-фен(OH). Укажіть, які сполуки утворяться в результаті дії на нього бромціану, з огляду на те, що останній розщеплює пептидний зв'язок, утворений метіоном, перетворюючи метіонін у гомосерин-лактон.

2. Напишіть структурну формулу наступного пептиду: (H₂N)сер-тир-сер-мет-глу-гіс-фен-арг-три-глі-ліз-про-вал(OH). Який заряд несе молекула цього пептиду у водному розчині? Укажіть, які сполуки утворяться при дії трипсину на цей пептид.

3. Укажіть, які пептиди утворюються при дії хімотрипсину на поліпептид, що має первинну структуру: (H₂N)сер-тир-мет-глу-гіс-фен-арг-три-глі-ліз-про-вал-(ліз)₂-(арг)₂-про-вал-ліз-вал-тир-про-асп-глі-ала-глу-асп-ала-глу-лей-ала-глу-ала-фен-про-лей-глу-фен(OH). Напишіть рівняння реакцій взаємодії отриманих пептидів з динітрофторбензолом і гідролізу ДНФ-пептидів 6 Н. розчином соляної кислоти. Які ДНФ-амінокислоти утворюються в результаті реакції.

4. Напишіть рівняння реакцій, що протікає за такою схемою:



Назвіть сполуки, що утворюються у результаті цих реакцій.

5. Вміст нітрогену в серині становить 13,3%. Обчисліть молекулярну масу серину, якщо відомо, що в молекулі серину міститься один атом нітрогену.

6. Лізин містить 19,17% нітрогену. Обчисліть молекулярну масу лізину, якщо відомо, що в молекулі лізину містяться два атоми нітрогену.

7. Суміш амінокислот, яка містить валін, лейцин, аспарагінову кислоту, лізин, гістидин і серин, піддали фракціонуванню методом електрофорезу на папері при рН = 6,2. Які із зазначених амінокислот будуть переміщуватися до катоду, до аноду або залишаться на лінії старту?

8. Тетрапептид містить у своєму складі аланін, лізин, пролін і валін. У результаті реакції тетрапептиду з динітрофторбензолом і наступним гідролізом ДНФ-пептиду 6 Н. розчином соляної кислоти був отриманий ДНФ-аланін. Гідроліз тетрапептиду трипсином дає дві сполуки, одна з яких зафарбовується нінгідрином у синьо-фіолетовий, а інша – у жовтий колір. Яка первинна структура тетрапептиду?

9. У гідролізаті пептиду знайдені ала, вал, глу, фен, тир, глі, ліз, лей, мет і NH₃. При обробці пептиду за методом Сенджера виявлений ДНФ-аланін, карбоксипептидазою – гліцин. У триптичному гідролізаті виявлено два пептиди: перший складається з вал, ала, глі, ліз, фен; другий – з мет, глі, лей, тир і при обробці за Сенджером дає ДНФ-лейцин. У хімотриптичному гідролізаті знайдено три пептиди: перший містить мет, глі; другий – вал, ала, фен, глі; третій – лей, тир, ліз. Виведіть на підставі всієї сукупності даних первинну структуру вихідного пептиду.

10. Розрахуйте об'єм 0,2 М розчину гідроксиду калію, необхідного для нейтралізації 200 мл 0,1 М розчину солянокислого гліцину.

11. Розрахуйте об'єм 0,2 М розчину гідроксиду калію, необхідного для титрування 200 мл 0,15 М розчину аспарагінової кислоти, яка перебуває в ізоелектричній точці.

12. Амінокислоти кількісно визначають за реакцією з нінгідрином, вимірюючи об'єм газу CO₂, який виділяється у результаті реакції: а) Розрахуйте кількість молів CO₂, отриманого в результаті

реакції нінгідрину з 0,1 г фенілаланіну; б) знайдіть об'єм газу CO₂, отриманого в результаті реакції з нінгідрином 10⁻⁴ моль амінокислоти (температура 25 °С, тиск 741 мм рт. ст.).

13. Молекулярна маса ДНК-полімерази дорівнює 109000. Обчисліть кількість амінокислотних залишків у складі молекули зазначеного білка.

14. Білок містить 0,58% триптофану. Чому дорівнює мінімальна молекулярна маса цього білка?

15. Білок містить 0,8% цистеїну. Обчисліть мінімальну молекулярну масу цього білка.

16. Обчисліть у нанометрах довжину молекули рибонуклеази, яка містить 124 амінокислотних залишки, якщо вона: а) існує повністю в α-спіральной конфігурації, б) зовсім лінійна, в) частка спіральної конфігурації дорівнює 17% (1 нм = 10 Å.).

17. У клітині кишкової палички міститься 10⁶ молекул білка із середньою молекулярною масою, рівною 40000. Обчисліть загальну довжину всіх поліпептидних ланцюгів, що перебувають в одній клітині кишкової палички, якщо поліпептидні ланцюги мають α-спіральну конфігурацію.

18. Білкова частина вірусу тютюнової мозаїки складається з 2130 субодиниць, з молекулярною масою 17 500 кожна. Обчисліть загальну довжину всіх поліпептидних ланцюгів, якщо частка спіральної конфігурації в них дорівнює 30%.

19. Лактатдегідрогеназа, будову якої вивчено методом рентгеноструктурного аналізу, складається із чотирьох субодиниць, з молекулярною масою 35000 кожна (311 амінокислотних залишків у субодиниці). У структурі кожної субодиниці є 8 α-спіральних ділянок, що містять у сумі 109 амінокислотних залишків. Розрахуйте ступінь спіралізації, характерну для лактатдегідрогенази.

20. Молекула папаїну (рослинна протеїназа) містить у своєму складі 211 амінокислотних залишків. Псевдокристалічна частина молекули папаїну складається із чотирьох коротких α-спіралей, кожна з яких містить 10 амінокислотних залишків, і фрагмента поліпептидного ланцюга з 9 амінокислотних залишків, що перебуває в β-конформації. Визначите кількість амінокислотних залишків, що становлять аморфну частину молекули папаїну, і ступінь спіралізації, характерну для даного білка.

21. Рентгеноструктурний аналіз (0,2 нм) показав, що в молекулі карбоксипептидази близько 30% амінокислотних залишків включені до складу α-спіралей, а 20% – зосереджені в зоні, утвореній регулярно повторюваними складками витягнутого поліпептидного ланцюга. Розрахуйте кількість амінокислотних залишків, що перебувають в аморфній частині молекули, а також у її α-спіральной області й складчастій зоні, якщо загальне число амінокислотних залишків у молекулі карбоксипептидази дорівнює 255.

22. Гемоглобін взаємодіє з оксигеном із утворенням комплексу, у якому на 4 моль оксигену доводиться 1 моль гемоглобіну. Обчисліть число молекул гемоглобіну, необхідне для перенесення 1 мл кисню (н.у.).

23. 50 мг овалбуміну (молекулярна маса 54000) було розчинено в 20 мл фосфатного буфера (рН = 7,0). Після обробки білка проназою рН розчину зменшився до 6,8. Потрібно було 2,5 мл 0,01 М розчину гідроксиду натрію для доведення рН розчину до 7,0. Яка молярність фосфатного буфера? Яке число пептидних зв'язків (на 1 моль білка) розпалося в результаті обробки альбуміну проназою?

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 2.

Ферменти. Якісні реакції на ферменти.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Ферменти, як біологічні каталізатори, загальна характеристика.
2. Хімічна природа ферментів. Прості і складні ферменти.
3. Класифікація коферментів і простетичних груп.
4. Активатори і інгібітори ферментів.
5. Активний центр ферментів: будова, властивості функції.
6. Механізм дії ферментів.
7. Кінетика ферментативних реакцій.
8. Ізоферменти.
9. Активність ферментів і фактори, які впливають на активність ферментів.
10. Номенклатура і класифікація ферментів.
11. Характеристика класів ферментів.
12. Локалізація ферментів у клітині. Імобілізовані ферменти.

Практична частина

Відкриття амілази в слині

Устаткування та реактиви: водяна баня, пластинка порцелянова, лійка скляна, колба конічна на 100 мл; циліндр мірний з носиком на 50 мл; склянки лабораторні на 100 мл (2 шт.), клейстер крохмальний (1%-ний), йод (1%-ний) у йодиді калію (3%-ному), фелінгова рідина.

Приготування розведеної слини. Рот обполіскують 2–3 рази водою для видалення залишків їжі. Відміряють циліндром 50 мл дистильованої води й обполіскують нею рот протягом 3–5 хв. у кілька прийомів. Зібрану рідину (приблизно 50–60 мл) фільтрують через вату і фільтрат використовують для роботи.

Гідроліз крохмалю під дією амілази слини. У дві пробірки наливають по 5 мл крохмального клейстеру й в одну з них – 5 мл води, а в іншу – 5 мл розчину слини. Обидві пробірки зі скляними паличками, зануреними в них, одночасно поміщають у водяну баню при 40°C. Через 1 хв. від кожної суміші відбирають за допомогою скляної палички по краплі рідини і змішують їх окремо з краплею йоду, заздалегідь нанесеної на пластинку. Повторюють узяття проб через 2, 4, 6 і 8 хв. Забарвлення з йодом проб із пробірки, що містить слину, змінюється від синього до синьо-фіолетового, буро-червоного, червоного і, нарешті, жовтого.

До вмісту пробірки зі слиною додають 1–2 мл фелінгової рідини і суміш нагрівають до початку кипіння. Утворюється червоний осад оксиду міді (I) за рахунок відновлення гідроксиду міді (II) мальтозою і низькомолекулярними декстринами, що утворилися. Контрольна проба в тих же умовах не відновлює гідроксид міді (II) в оксид міді (I).

Відкриття пероксидази (донор: H_2O_2 -оксидоредуктаза; КФ 1.11.1.7) у картоплі

Устаткування та реактиви: терка, сира картопля, пірогалол (1%-ний); пероксид водню (2%-ний).

Картоплю натирають на терці. Невелику її кількість, не віджимаючи, переносять у пробірку, додають 1–2 мл 1 %-ного розчину пірогалолу і 1–2 краплі 2%-ного розчину пероксиду водню. При стоянні випадає жовто-бурий осад пурпурогаліну. Багаторазове дегідрування (окислення) пірогалолу і ряду проміжних продуктів на шляху до пурпурогаліну здійснюється за участю пероксидази, яка щоразу передає зняті атоми водню на пероксид водню.

Відкриття тирозинази (о-дифенол: O_2 -оксидоредуктаза; КФ 1.10.3.1) у картоплі

Устаткування та реактиви: водяна баня, терка, воронка Бюхнера з зовнішнім діаметром 100 мм, піпетка з однією міткою на 1 мл, марля, картопля сира, тирозин (насич.).

Картоплю натирають на терці, віджимають через кілька шарів марлі й отриманий екстракт негайно фільтрують на воронці Бюхнера. У пробірку наливають 1 мл екстракту, 2–3 краплі розчину тирозину, перемішують і поміщають пробірку у водяну баню, нагріту до 40°C. Час від часу пробірку струшують для кращого зіткнення рідини в пробірці з повітрям. Забарвлення суміші стає рожево-червоним, потім бурим і через 1–2 години чорним, тому що під дією тирозинази (монофенолоксидази) тирозин перетворюється через забарвлені в червоний колір проміжні продукти в чорний азотовмісний пігмент – меланін.

Вплив температури на активність амілази слини

Устаткування та реактиви: водяна баня, термометр лабораторний, піпетки 1 мл, 2 мл, палички скляні, пластинка порцелянова, слина розведена (пригот. див. вище), крохмаль (1%-ний), йод (0,3%-ний) у йодиді калію (3%-ному), гідроксид натрію (10%-ний), сульфат міді (1%-ний).

У чотири пронумеровані пробірки наливають по 2 мл 1%-ного розчину крохмалю. Пробірку 1 поміщають у киплячу водяну баню, пробірку 2 – у водяну баню при 40°C, пробірку 3 залишають при кімнатній температурі і пробірку 4 поміщають у лід. Через 10 хв., коли вміст пробірок набуде заданої температури, в усі пробірки додають по 0,5 мл розведеної в 10 разів слини, перемішують за допомогою скляної палички і залишають у тих же умовах. Спостереження за ходом гідролізу крохмалю ведуть по реакції з йодом. Для цього наносять на порцелянову пластинку кілька крапель розчину йоду в йодиді калію і змішують їх із краплями суміші з кожної пробірки, беручи проби через 1, 2, 4, 6, 8, 10 і 12 хв. За зміною забарвлення крохмалю з йодом судять про ступінь гідролізу крохмалю в кожній пробірці. Результати спостережень заносять у таблицю, позначаючи буквою “с” (синє забарвлення) позитивну пробу з йодом на крохмаль, буквою “к” – позитивну пробу на декстрини (забарвлення червоних тонів) і буквою “ж” – негативну пробу (жовте забарвлення йоду). На підставі отриманих даних зробіть висновок про величину температурного оптимуму для амілази слини.

№	t, °C	Реакція з йодом після закінчення часу (хв.)
---	-------	---

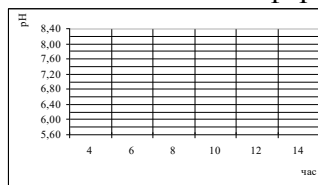
пробірки		1	2	4	6	8	10	12
1	100							
2	40							
3	15 – 20							
4	0							

Вплив рН середовища на активність ферментів

Устаткування та реактиви: водяна баня, термометр лабораторний, пластинка порцелянова, бюретки прямі з краном на 50 мл (2 шт.), піпетки з однією міткою на 1 мл (2 шт.), палички скляні (4 шт.), слина розведена, дигідрофосфат калію $1/15M$ і гідрофосфат натрію $1/15M$, крохмаль (0,5%-ний), йод (0,3%-ний) у йодиді калію (3%-ному).

Серії розчинів з визначеними значеннями рН одержують, використовуючи фосфатний буфер. Дві бюретки заповнюють $1/15M$ розчином дигідрофосфату натрію і $1/15M$ розчином гідрофосфату калію. Розчини змішують у визначених співвідношеннях таким чином, що в кожній пробірці одержують по 5 мл буферної суміші з величинами рН: 5,59; 6,98; 7,38; 8,04. У кожну з чотирьох пробірок додають по 1 мл 0,5%-ного розчину крохмалю, 1 мл розведеної в 10 разів слини і ретельно перемішують вміст за допомогою скляної палички. Далі всі пробірки, не виймаючи з них скляних паличок, поміщають у водяну баню, нагріту до 40°C. Через 3–5 хв. із усіх пробірок паличками наносять на порцелянову пластинку по краплі суміші, поруч з попередньо вже нанесеними на неї краплями розчину йоду. Краплі з'єднують і, якщо спостерігається розходження у забарвленні з йодом у дослідних пробах, пробірки виймають з бані, охолоджують і додають у кожну по 3–4 краплі розчину йоду в йодиді калію. При відсутності помітного розходження у забарвленні проб з йодом на порцеляновій пластинці продовжують нагрівання пробірок у водяній бані ще кілька хвилин, а потім знову випробують на пластинці проби на ступінь розщеплення крохмалю. Цю операцію повторюють доти, поки не відбудеться помітних зрушень у забарвленні проб з йодом.

Продовжують інкубацію всіх проб у присутності доданого йоду і для кожної з них відзначають час, коли зникне синє забарвлення (закінчення амілолітичного розщеплення). Отримані результати виражають графічно: по осі абсцис наносять значення рН дослідів, а по осі ордината – час розщеплення крохмалю при відповідних значеннях рН. З'єднуючи крапки лінією, одержують криву, яка характеризує залежність активності ферменту від значення рН середовища.



Завдання до лабораторно-практичної роботи №2 I модуля.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

- Абсолютну специфічність до субстрату проявляє фермент: а) лізоцим; б) карбоксипептидаза; в) уреаза; г) хімотрипсин; д) папаїн.
- Фермент піруваткіназа відноситься до класу: а) лігаз; б) гідролаз; в) оксидоредуктаз; г) трансфераз; д) ізомераз.
- Ацетил-КоА-карбоксилаза є: а) ліазою; б) гідролазою; в) трансферазою; г) лігазою; д) ізомеразою.
- Серин та гістидин утворюють каталітичний центр: а) лізоциму; б) алкогольдегідрогенази; в) хімотрипсину; г) аспартат-аміотрансферази; д) цитохромоксидази.
- Майже всі реакції перетворення амінокислот пов'язані з участю коферменту: а) тіамінпірофосфату; б) піридоксальфосфату; в) нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату; г) флавінаденіндинуклеотиду; д) біотину.
- Тіамінпірофосфат, ліпоєва кислота й коензим А одночасно входять як коферменти до складу: а) синтетази вищих жирних кислот; б) лактатдегідрогенази; в) глутаматдегідрогенази; г) піруватдегідрогенази декарбоксилюючої; д) каталази.
- Іони Mn^{2+} є активатором ферменту: а) карбоксипептидази; б) малатдегідрогенази (декарбоксилюючої); в) карбоангідрази; г) амілази; д) фосфорилази.
- Дж. Самнер у 1926 р. уперше одержав у кристалічному стані фермент: а) аспарагіназу; б) уреазу; в) аргіназу; г) глутаміназу; д) гексокіназу.

13. Пепсин проявляє оптимальну активність при рН: а) 1,5 – 2,5; б) 4 – 5; в) 6 – 7; г) 8 – 9; д) 10 – 11.

14. Фермент уреаза за міжнародною номенклатурою має систематичну назву: а) ациламід-амідогідролаза; б) аспартат-аміак-ліаза; в) карбамід-амідогідролаза; г) гуанідинацетат-уреогідролаза; д) карбамоїлфосфат: L-аспартат-карбамоїлтрансфераза.

15. Ферменти, які каталізують внутрішньо-молекулярне перенесення груп, називаються: а) гідроксилазами; б) мутазами; в) кіназами; г) рацемазами; д) оксигеназами.

16. Формілтрансферазні реакції протікають за участю коферменту: а) піридоксальфосфату; б) тіамінпірофосфату; в) коензиму А; г) тетрагідрофолієвої кислоти; д) флавінаденіндинуклеотиду.

17. Простетичною групою родопсину – рецепторного білка сітківки ока – є: а) рибофлавін; б) кальциферол; в) ретиналь; г) токоферол; д) філохінон.

18. Ділянка молекули ферменту, відповідальна одночасно й за приєднання речовини, що піддається ферментативній дії, і за здійснення ферментативного каталізу, називається: а) каталітичним центром; б) активним центром; в) субстратним центром; г) алостеричним центром; д) гідрофобним центром.

19. Серин, гістидин, глутамінова кислота й тирозин утворюють активний центр ферменту: а) лізоциму; б) ацетилхолінестерази; в) альдолази; г) аспартат-амінотрансферази; д) цитохромоксидази.

20. Цитидинтрифосфат стосовно аспартат-карбамоїл-трансферази є: а) алостеричним інгібітором; б) індиферентною речовиною; в) конкурентним інгібітором; г) інгібітором необоротної дії; д) активатором.

21. Важливою особливістю пептид-пептидогідролаз є вибірковий (селективний) характер їхньої дії на пептидні зв'язки в білковій молекулі. Зокрема, хімотріпсин вибірково прискорює гідроліз пептидних зв'язків, утворених: а) дикарбоновими амінокислотами; б) аргініном і лізином; в) ароматичними амінокислотами; г) лейцином і гліцином; д) метіоніном і валіном.

22. Реакція, що протікає відповідно до рівняння $R_1-O-R_2 + H_3PO_4 \rightarrow R_1OPO_3H_2 + R_2-OH$, є реакцією: а) гідролізу; б) протеолізу; в) фосфоролізу; г) трансметилування; д) ізомеризації.

23. Перетворення: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ здійснюється за участю: а) оксигенази; б) каталази; в) пероксидази; г) оксидази; д) НАД-залежної дегідрогенази.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті, і дайте відповідь у формі: А > Б, Б > А; А = Б.

1. А. Швидкість гідролізу крохмалю в присутності 10%-ної сульфатної кислоти при 100 °С. Б. Швидкість гідролізу крохмалю в присутності амілази при 37°С.

2. А. Каталітична активність каталази в реакції розкладання пероксиду водню. Б. Каталітична активність заліза в реакції розкладання пероксиду водню.

3. А. Молекулярна маса уреази. Б. Молекулярна маса каталази.

4. А. Кількість субодиноць у молекулі каталази. Б. Кількість протомерів у фрагменті ($M = 250\,000$) молекули глутаматдегідрогенази.

5. А. Швидкість реакції при повному насиченні ферменту субстратом (і умовах оптимального рН і температури). Б. Швидкість реакції при відсутності повного насичення ферменту субстратом (і умовах оптимального рН і температури).

6. А. Температурний оптимум каталітичної активності ферментів тваринного походження. Б. Температурний оптимум каталітичної активності ферментів рослинного походження.

7. А. Оптимальне значення рН середовища для пепсину. Б. Оптимальне значення рН середовища для трипсину.

8. А. Число індивідуальних ферментів у мультиензимному комплексі піруватдегідрогенази декарбоксилюючої. Б. Число індивідуальних ферментів у мультиензимному комплексі синтетази вищих жирних кислот.

9. А. Експериментальні значення K_m (константи Міхаеліса) для реакцій за участю одного субстрату. Б. Експериментальні значення K_m для реакцій за участю двох субстратів.

10. А. Міцність зв'язку простетичної групи з білковою частиною ферменту. Б. Міцність зв'язку коферменту з апоферментом.

11. А. Каталітична активність апоферменту. Б. Каталітична активність холоферменту.

12. А. Специфічність апоферменту. Б. Специфічність коферменту.

13. А. Ензиматична активність ферменту. Б. Ензиматична активність преферменту (зимогену).

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Більшість ферментів проявляє максимальну активність при рН, близькому до нейтрального; б) всі ферменти проявляють максимальну активність при рН = 7; в) усі пептид-пептидогідролази проявляють максимальну активність при рН = 1,5 – 2,5; г) всі ліпази проявляють максимальну активність при рН = 8 – 9.

2. а) Систематична назва гексокінази (глюкокінази) – АТФ: глюкоза-6-фосфотрансфераза; б) систематична назва піруваткінази – АТФ: піруват-фосфотрансфераза; в) глюкозо-6-фосфат-ізомераза – тривіальна назва D-глюкозо-6-фосфат-фосфогідролази; г) альдолаза – тривіальна назва кетозо-1-фосфат-альдегід-ліази.

3. а) Трансферази – ферменти, що прискорюють реакції переносу атомних груп і молекулярних залишків від однієї сполуки до іншої; б) кінази – ферменти, що прискорюють реакції переносу ацильних залишків; в) ізомерази – ферменти, які каталізують внутрішньо-молекулярні перетворення (перенесення атомів і груп атомів, зміна їхнього просторового положення в молекулі й т.п.); г) мутази – ферменти, які каталізують міжмолекулярну міграцію атомів і атомних груп.

4. а) Всі реакції декарбоксилування протікають в організмі за участю піридоксальфосфату; б) у реакції декарбоксилування піровиноградної кислоти бере участь тіамінпірофосфат; в) перенесення ацильних залишків здійснюється за допомогою коензиму А; г) всі дегідрогенази переносять атоми водню із субстрату на кисень.

7. а) Провідну роль у механізмі ферментативного каталізу відіграє утворення фермент-субстратного комплексу; б) величина субстратної константи не залежить від природи субстрату й ферменту; в) значення субстратної константи відбиває ступінь спорідненості субстрату й ферменту; г) чим вище значення субстратної константи, тим більша спорідненість ферменту до субстрату.

8. а) Першою фазою біокаталітичного процесу є утворення фермент-субстратного комплексу; б) константа Міхаеліса (K_m) завжди трохи вища за числове значення, ніж субстратна константа (K_s); в) викликаючи денатурацію ферменту, конкурентний інгібітор різко зменшує швидкість ферментативної реакції; г) швидкість ферментативної реакції не залежить від концентрації фермент-субстратного комплексу.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Оксидаза. Б. Дегідрогеназа. В. Каталаза. Г. Пероксидаза. Д. Гідратаза. а) Прискорює реакцію: $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2H_2O + A$; б) каталізує перетворення: $R-CH_2-CH(OH)-R' \rightarrow R-CH=CH-R' + H_2O$; в) прискорює процес: $AH_2 + O_2 \rightarrow A + H_2O_2$; г) забезпечує каталітичне прискорення реакції: $AH_2 + B = A + BH_2$; д) каталітично підвищує швидкість реакції: $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$.

2. А. Фумаратгідратаза. Б. Альдолаза. В. Пантотенатсинтезаза. Г. Цитохром. Д. Оксидаза. а) Переносить атоми водню або електрони безпосередньо на атоми кисню; б) вуглець-кисень-ліаза; в) прискорює синтез фрагмента коензиму А; г) вуглець-вуглець-ліаза; д) оксидоредуктаза, яка містить залізопорфірин як простетичну групу.

3. А. Естерази. Б. Пептид-пептидогідролази. В. Гідроліази. Г. Вторинні дегідрогенази. Д. Гідроксилази. а) Прискорюють негідролітичні реакції розпаду органічних сполук по зв'язках вуглець-кисень; б) каталізують окислення органічних сполук молекулярним киснем з утворенням гідроксильної групи; в) діють на складно-ефірні зв'язки; г) використовують відновлені НАД і НАДФ як субстрати; д) каталізують гідроліз невеликого числа внутрішніх пептидних зв'язків у білковій молекулі.

4. А. Гідролаза. Б. Ліаза. В. Трансфераза. Г. Ізомераза. Д. Оксидоредуктаза. а) Каталізує перетворення: метилмалоніл-КоА + піруват \rightarrow пропіоніл-КоА + ЩОК; б) прискорює реакцію: УДФ-глюкоза \rightarrow УДФ-галактоза; в) забезпечує прискорення реакції: ЩОК \rightarrow ПВК + CO_2 ; г) каталітично прискорює процес: $H_2N-CO-NH_2 + H_2O \rightarrow CO_2 + 2NH_3$; д) каталітично підвищує швидкість реакції: лактат + НАД \rightarrow ПВК + НАД- H_2 .

5. А. Метилтрансфераза. Б. Ацилтрансфераза. В. Гликозилтрансфераза. Г. Амінотрансфераза. Д. Фосфотрансфераза. а) Прискорює реакцію: S-аденозилметіонін + гістамін \rightarrow S-аденозилгомоцистеїн + 1-метилгістамін; б) каталізує перетворення: АТФ + НАД \rightarrow НАДФ + АДФ; в) каталітично прискорює процес: L-тирозин + 2-оксоглутарат \rightarrow n-оксифенілпіруват + L-глутамат; г) забезпечує прискорення реакції: ацетил-КоА + гліцин \rightarrow N-ацетилгліцин + КоА; д) каталітично підвищує швидкість реакції: УДФ-глюкоза + D-фруктозо-6-фосфат \rightarrow УДФ + сахарозо-6-фосфат.

6. А. Пепсин. Б. Трипсин. В. Хімотрипсин. Г. Карбоксипептидаза. Д. Амінопептидаза. а) Специфічно прискорює реакцію розриву пептидних зв'язків у молекулі білка або пептиду, починаючи із С-кінцевої амінокислоти; б) є ендопептидазою, що каталізує розщеплення пептидних зв'язків, в утворенні яких беруть участь ароматичні й дикарбонові амінокислоти; в) каталізує гідроліз широкого спектра ацилпохідних, маючи максимальну активність у тому випадку, коли карбоксильна група, що бере участь в утворенні пептидного зв'язку, належить ароматичній амінокислоті; г) представляє ендопептидазу, що прискорює реакцію розщеплення пептидних зв'язків, в утворенні яких беруть участь карбоксильні групи основних амінокислот; д) є екзопептидазою, що каталізує східчасте розщеплення поліпептидних ланцюгів, починаючи з їх N-Кінця.

7. А. Гексокіназа. Б. β -Амілаза. В. Трипсин. Г. Ліпаза. Д. Аспарагіназа. а) Амідаза; б) естераза ефірів карбонових кислот; в) глікозидаза; г) фосфотрансфераза; д) пептид-пептидогідролаза.

8. А. Мультимер. Б. Мультиензим. В. *ES*-Комплекс. Г. Ізозим. Д. Симплекс. а) Сполука ферменту й субстрату; б) сполука ферону й агону; в) білок (фермент), побудований із субодиниць; г) комплекс декількох ферментів, що працюють як єдиний ензим; д) одна з форм фермента-мультимеру.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Представте у вигляді схеми реакцію декарбоксилювання пірвіноградної кислоти за участю тіамінпірофосфату.

2. Напишіть рівняння реакції переходу окисленої форми нікотинамідаденіндинуклеотиду у відновлену.

3. Виразіть системою хімічних рівнянь механізм реакції переамінування аспарагінової й пірвіноградної кислот за участю піридоксальфосфату.

4. Напишіть рівняння реакції гідролізу α ,D-Глюкопіранозил- β ,D-Фруктофуранозиду. Укажіть, до якого підкласу відноситься фермент, що прискорює цю реакцію, і наведіть його тривіальну, систематичну й історичну назви.

5. Приведіть схему, яка пояснює східчастий характер дії аміно- і карбоксипептидаз; назвіть підклас і підпідкласи, до яких дані ферменти відносяться.

11. Напишіть рівняння нижченаведених реакцій: а) Ацетил-КоА + глутамінова кислота \rightarrow HS-КоА + N-ацетил-глутамінова кислота; б) 2-фосфо-D-гліцерат \rightarrow 3-фосфо-D-гліцерат; в) АТФ + ПВК + CO₂ \rightarrow АДФ + H₃PO₄ + ЩОК. Назвіть ферменти, що прискорюють ці реакції, і вкажіть, до якого класу й підкласу відноситься кожний з них.

12. Напишіть рівняння реакції біосинтезу ацетилхоліну. Приведіть тривіальну назву ферменту, який каталізує дану реакцію, і вкажіть клас і підклас, до якого він відноситься.

13. Напишіть рівняння реакції перетворення янтарної кислоти у фумарову за участю флавопротеїду (назвіть фермент) і складіть схему перенесення атомів водню на убіхінон й далі на електрони за допомогою цитохромної системи на кисень.

14. Напишіть рівняння реакції синтезу пантотенової кислоти й назвіть фермент, що прискорює цей процес.

15. Напишіть рівняння реакцій декарбоксилювання лізину й щавелевооцтової кислоти й відзначте особливості ферментів, які каталізують дані процеси.

16. Складіть схему перетворень, указавши ферменти, що прискорюють відповідні етапи процесу: аспарагін \rightarrow аспарагінова кислота \rightarrow фумарова кислота \rightarrow яблучна кислота.

17. Складіть перетворення у відповідності зі схемою: глутамінова кислота \rightarrow α -кетоглутарова кислота \rightarrow янтарна кислота \rightarrow фумарова кислота \rightarrow яблучна кислота. Укажіть ферменти, що прискорюють окремі етапи реакції.

18. Дайте назви ферментам, що прискорюють перетворення: аргінін \rightarrow орнітин \rightarrow путресцин. Укажіть, до яких класів і підкласів ставляться ці ферменти.

19. Молекулярна маса піруваткарбоксилази дорівнює 183000. Розрахуйте молекулярну активність ферменту, якщо відомо, що його питома активність становить $1,2 \cdot 10^3 E$.

20. Розрахуйте питому активність каталази ($M = 252\ 000$) і лактатдегідрогенази ($M = 140\ 000$), якщо відомо, що молекулярна активність цих ферментів при температурі 25 °С, оптимальному рН і повнім насиченні субстратом дорівнює $5 \cdot 10^6$ і $3,7 \cdot 10^4$ відповідно.

21. Кількість пероксиду водню, що розпався під дією каталази, відповідає 14,7 мл 0,1 Н. розчину перманганату калію. Витяжка каталази, узята для досліду в кількості 20 мл, була виготовлена з 0,25 г моркви. Дослід проводили протягом 30 хв. Визначите активність ферменту, що міститься в 1 г моркви.

22. Число нейтральних, основних і кислих амінокислотних залишків у складі лізоциму, рибонуклеази й цитохрому *c* таке:

Найменування ферменту	Амінокислотні залишки			
	усього	нейтральні	основні	кислі
Лізоцим з курячого яйця	129	38	17	37
Рибонуклеаза з підшлункової залози бика	124	36	18	27
Цитохром із цвілевого гриба	107	45	18	21

Розрахуйте процентний вміст неполярних, основних і кислих амінокислотних залишків від загального числа амінокислотних залишків у складі зазначених білків і виведіть закономірності сполуки перерахованих ферментів щодо цього.

23. Розрахуйте питому активність карбоангідази ($M = 30\ 000$), гексокінази ($M = 45\ 000$) і альдолази ($M = 142\ 000$), знаючи, що їхня молекулярна активність дорівнює $0,96 \cdot 10^8$, $1,7 \cdot 10^4$ і $4,2 \cdot 10^3$ відповідно.

24. Визначте, у якому стані перебуває HS-Група цистеїну ($pK_a = 8,33$) та імідазольний радикал гістидину ($pK_a = 7,12$) у молекулі гексокінази в умовах оптимального рН ($8,3 - 8,6$) дії цього ферменту.

25. Розрахуйте активність каталітичних центрів каталази, лактатдегідрогенази й алкогольдегідрогенази (молекулярна активність їх відповідно дорівнює $5 \cdot 10^6$, $3,7 \cdot 10^4$ і $2,7 \cdot 10^4$), якщо відомо, що їх число у перших двох ферментів дорівнює чотирьом, а в останнього – двом.

26. Визначте питому активність піруваткінази ($M = 237\ 000$), цитохрому *c*-редуктази ($M = 75\ 000$) і бутирил-КоА-дегідрогенази ($M = 200\ 000$), виходячи зі значень їхньої молекулярної активності $6 \cdot 10^3$, $1,3 \cdot 10^4$ і $2 \cdot 10^3$ відповідно.

27. При визначенні активності кислої фосфатази за Покровським і Щербаковою вимірюють кількість *n*-нітрофенолу, який утворюється при ферментативному гідролізі *n*-нітрофенілфосфату. Розрахуйте активність кислої фосфатази у вихідному екстракті, якщо відомо, що в результаті утворилося $214\ \mu\text{моль}$ *n*-нітрофенолу, а інкубацію вели з $1\ \text{мл}$ розведеного в 100 разів екстракту ферменту протягом 30 хв при $37\ ^\circ\text{C}$.

29. Активність аланін-амінотрансферази визначають колориметрично за кількістю динітрофенілгідрозону піровиноградної кислоти, що утворюється при реакції переамінування α -кетоглутарової кислоти й аланіну. Розрахуйте активність аланін-амінотрансферази у вихідній витяжці, якщо відомо, що інкубацію проводили протягом 30 хв із $1\ \text{мл}$ розведеної в 50 разів витяжки ферменту, причому одержали кількість динітрофенілгідрозону, який відповідає $44\ \text{мг}$ піровиноградної кислоти.

30. Розрахуйте молекулярну масу дигідрооротатдегідрогенази, до складу якої входить 2 атоми заліза при вмісті останнього 0,18%.

31. До складу сукцинатдегідрогенази входять 8 атомів заліза при вмісті останнього 0,56%. Розрахуйте молекулярну масу ферменту.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 3.

Нуклеїнові кислоти, будова властивості, функції Виділення рибонуклопротеїдів та дезоксирибонуклеопротейдів з біологічного матеріалу та якісні реакції на продукти їх гідролізу.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Хімічний склад нуклеїнових кислот. Будова нуклеотидів.
2. Будова нуклеїнових кислот.
3. Поняття про первинну структуру ДНК.
4. Специфічний склад ДНК, як основна систематична ознака.
5. Закономірності будови ДНК еукаріот і прокаріот.
6. Оперон. Будова, властивості, функції.
7. Вторинна і третинна структури ДНК.
8. Способи спіралізації ДНК.
9. Рибонуклеїнові кислоти (РНК).
10. Властивості нуклеїнових кислот.
11. Денатурація і ренатурація. Гібридизація ДНК.
12. Хімічні реакції нуклеїнових кислот.

13. Мутагени. Репарація пошкоджень ДНК.
14. Функції нуклеїнових кислот.

Практична частина

Виділення рибонуклеопротейдів (РНП) з дріжджів і якісне визначення продуктів їх гідролізу (білка, рибози, пуринових основ та фосфорної кислоти)

Нуклеопротейди – складні білки, простетичною групою яких є нуклеїнові кислоти – ДНК або РНК. У дезоксирибонуклеопротейдах (ДРНП) і рибонуклеопротейдах (РНП) нуклеїнові кислоти і білки зв'язані один з одним в основному сольовими зв'язками, які можуть легко дисоціювати, що і відбувається достатньо часто в процесі виділення ДРНП і РНП, особливо у момент дії концентрованих розчинів солей.

Устаткування та реактиви. Центрифуга; колба круглодонна довгогорла на 100 мл зі зворотним прямим повітряним холодильником; ступка (діаметр 110 мм); стакан скляний лабораторний з носиком на 200 мл; циліндр мірний на 50 мл; воронка скляна (діаметр 7 – 8 см); паличка скляна; пробірки скляні хімічні; пісок промитий і прожарений; пекарські або пивні дріжджі; гідроксид натрію (0,4%-ний і 10%-ний); оцтова кислота (10%-на); лакмусовий папір; соляна кислота. (конц.); сульфат міді (1%-ний); реактив Міллона; орциновий реактив; розчин флороглюцина; фелінгова рідина; аміак (конц.); нітрат срібла (1%-ний); молібдат амонію; магnezіальна суміш; діетиловий ефір; сірчана кислота (10%-на).

Для виділення рибонуклеопротейдів можна використовувати пекарські пресовані дріжджі, але краще узяти пивні дріжджі, які спочатку тривало відмивають від суслу водопровідною водою, а потім фільтрують на бюхнеровській воронці.

10 г дріжджів змішують у ступці з сумішшю з 2 мл ефіру і 2 мл води, додають 5 г піску і ретельно розтирають, підливаючи до розтертої маси невеликими порціями 40 – 50 мл 0,4%-ного розчину гідроксиду натрію. Розтирання продовжують ще протягом 15 – 20 хвилин. Після цього осад або фільтрують або, краще, відділяють шляхом центрифугування. Центрифугат зливають в стакан і до нього додають невеликими порціями (по 0,5 мл) 10%-ну оцтову кислоту до слабокислої реакції по лакмусу (5 – 6 мл). Отриманий осад нуклеопротейдів відділяють центрифугуванням.

Гідроліз нуклеопротейдів. Одним з найпростіших способів розкладання рибонуклеопротейдів є нагрівання їх протягом 1 години при 100°C в 10%-ному розчині сірчаної кислоти. Перш за все відбувається розщеплення нуклеопротейдів на білки і нуклеїнові кислоти. Далі білки гідролізуються до амінокислот, але в цих умовах гідроліз білка буде незначний. Рибонуклеїнові кислоти в цих умовах розщеплюються з утворенням піримідинових нуклеотидів, пуринові ж нуклеотиди розпадаються до пуринів, рибози і фосфорної кислоти.

В колбу для гідролізу (із зворотним повітряним холодильником) поміщають осад нуклеопротейдів і 20 мл 10%-ного розчину сірчаної кислоти. Колбу закривають пробкою з повітряним холодильником (трубка завдовжки 70 см і діаметром 0,7 – 0,8 см) і суміш кип'ятять на сітці протягом 1 години, підтримуючи тільки слабе кипіння. Гідролізат фільтрують і в прозорому розчині визначають наявність складових нуклеопротейдів.

Білки знаходять за допомогою біуретової або реакції Міллона. **Пентозу** (рибозу) знаходять по реакції з орцином або флороглюцином (або шляхом відновлення міді в розчині фелінгової рідини). До 1 мл реактиву (орцина або флороглюцина) додають половинний об'єм гідролізату, 1 мл конц. соляної кислоти і нагрівають до кипіння. В першому випадку з'являється зелене забарвлення, в другому – рожево-червоне. При нагріванні з 20%-ною соляною кислотою рибоза дегідратується і перетворюється у фурфурол. Останній конденсується з орцином або флороглюцином з утворенням забарвлених сполук. Дезоксирибоза не дає цієї реакції. **Пуринові основи** знаходять по їх реакції з аміачним розчином оксиду срібла. До 2 мл гідролізату підливають по краплях міцний розчин аміаку до лужної реакції по лакмусу і додають рівний об'єм наперед приготованого аміачного розчину оксиду срібла. Поступово утворюється осад срібних солей пуринових основ. **Фосфорну кислоту** знаходять за допомогою молібдата амонію або магnezіальної суміші: 1) До 2 мл розчину молібдату амонію в азотній кислоті додають 1 мл досліджуваного розчину. Суміш злегка нагрівають. Утворюється жовто-зелений осад фосфоромолібдату амонію $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$. 2) До 2 мл гідролізату поступово додають концентрований розчин аміаку до різкого запаху, після чого додають рівний об'єм магnezіальної суміші. Утворюється кристалічний осад (потирання скляною паличкою) фосфату магній-амонія MgNH_4PO_4 .

Виділення дезоксирибонуклеопротейдів (ДРНП) з селезінки і проведення якісних

реакцій на продукти їх гідролізу

Дезоксирибонуклеопротейди виділяють з тканин, багатих клітинними ядрами (щитовидна залоза, селезінка, сперматозоїди і т.д.). ДРНП розчиняються в розчинах солей середньої концентрації, наприклад в хлориді натрію (1М), з утворенням в'язких розчинів і знову осідають при розведенні останніх (до 0,15М) у вигляді волоконного нуклеопротейду.

Устаткування та реактиви. Центрифуга; водяна баня; дерев'яні палички з насічками; циліндр мірний на 50 або 100 мл; високий стакан скляний лабораторний з носиком, на 500 мл; ступка (діаметр 110 мм); селезінка (або інший орган); пісок промитий і прожарений; соляна кислота (1 н.); хлорид натрію (0,1 М і 2 М); гідроксид натрію (0,4%-ний); дифеніламін; рибоза (1%-на); фуксинсірчана кислота.

В ступці розтирають 2 – 3 г селезінки з рівною кількістю піску, додають спочатку 5 мл охолодженого 2 М розчину хлориду натрію, а потім поступово малими порціями 50 мл охолодженого 1 М розчину хлориду натрію. Розтирання продовжують 10 – 15 хвилин у ступці, при постійному охолодженні льодом. Масу, що утворилася, переносять в центрифужні пробірки і центрифугують 15 хвилин. Вимірявши об'єм отриманого центрифугата, вливають його в шестикратний об'єм води тонким струменем, поволі розмішуючи рідину дерев'яною паличкою. Нуклеопротейд, що виділився у вигляді ниток намотується на дерев'яну паличку.

Якщо нитки ДРНП не утворилися, а виділився осад, то слід дати відстоятися осадку, обережно злити з нього весь прозорий відстій, а залишок рідини піддати центрифугуванню. Осад після центрифугування досліджують на вміст в ньому ДНК.

Реакція з дифеніламіном. Дезоксирибонуклеїнову кислоту знаходять по її реакції з дифеніламіном, який з дезоксирибозою дає синє забарвлення. Рибонуклеїнова кислота (або рибоза), на відміну від ДНК, дає з цим реактивом зелене забарвлення.

У пробірку переносять небагато осаду ДНК і розчиняють його в 1 – 2 мл 0,4%-ного розчину гідроксиду натрію. До розчину додають рівний об'єм розчину дифеніламіну і суміш нагрівають на киплячій водяній бані близько 10 – 15 хвилин. З'являється синє забарвлення розчину. В іншій пробірці нагрівають з дифеніламіном розчин рибози, до якого додано 1 – 2 мл 0,4%-ного розчину луку. Суміш забарвлюється в зелений колір.

Реакція з фуксинсірчаною кислотою. Дезоксирибонуклеїнова кислота після м'якого кислотного гідролізу при взаємодії з фуксинсірчаною кислотою забарвлюється у фіолетовий колір. У результаті кислотного гідролізу відбувається розпад глікозидних зв'язків з пуриновими основами. Утворюється апуринова ДНК з відкритою формою дезоксирибози, що містить вільну альдегідну групу. Відкрита форма 2-дезоксирибози вступає в реакцію з фуксинсірчаною кислотою по альдегідній групі. Глікозидні зв'язки рибози, що входить до складу рибонуклеїнової кислоти, не піддаються гідролізу в тих м'яких умовах, в яких він йде у дезоксирибонуклеїнової кислоти.

У центрифужну пробірку беруть невелику кількість дезоксирибонуклеопротейда або дезоксирибонуклеїнової кислоти, додають 2 мл 1 н. розчину соляної кислоти, нагрітої до 60°C, і пробірку ставлять у водяну баню на 10 хвилин при 60°C. Після охолодження центрифугують, зливають кислоту і до осаду додають фуксинсірчану кислоту. Через деякий час з'являється фіолетове забарвлення осаду.

Завдання до лабораторно-практичної роботи № 3 I модуля.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. При повному кислотному гідролізі нуклеїнових кислот виникають всі перераховані речовини, окрім: а) фосфорної кислоти; б) пентози; в) пуринових основ; г) аденозинтрифосфорної кислоти; д) аденіну.

2. У складі РНК міститься: а) рамноза; б) фруктофураноза; в) β,D-рибофураноза; г) β,D-галактоза; д) β,D-2-дезоксирибофураноза.

3. У результаті лужного гідролізу РНК утворюються: а) суміш нуклеозид-2'- і 3'-монофосфатів; б) нуклеозид-5'-монофосфати; в) нуклеозид-3',5'-циклофосфати; г) нуклеозид-2'- монофосфати; д) нуклеозид-3'-монофосфати.

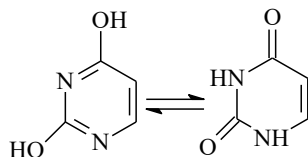
4. До складу ДНК деяких фагів входить: а) рамноза; б) ксилулоза; в) фруктоза; г) сорбоза; д) глюкоза.

5. Тільки до складу РНК (але не ДНК) входить основа: а) тимін; б) цитозин; в) урацил; г) гуанін; д) аденін.

6. Нуклеїнові кислоти мають абсорбційний максимум в області 240 – 270 нм. Абсорбція їх у цій області обумовлена наявністю в складі нуклеїнових кислот: а) водневого зв'язку; б) рибози; в)

гетероциклічних основ; г) фосфодієфірного зв'язку; д) фосфорної кислоти.

7. Сполуки, що характеризуються структурами:



є: а) оптичними ізомерами; б) *цис*-, *транс*-ізомерами; в) геометричними ізомерами; г) таутомерними формами; д) конформаційними ізомерами.

8. Із цитозином не сполучається водневими зв'язками; а) ксантин; б) гуанін; в) гіпоксантин; г) 5-оксиметилцитозин; д) 2-амінопурін.

9. У складі тРНК не зустрічається: а) тіоурацил; б) сечова кислота; в) гіпоксантин; г) N₍₄₎-ацетилцитозин; д) 6-аміноізопентеніладенін.

10. На один виток подвійної спіралі ДНК доводиться таке число пар основ: а) 5; б) 10; в) 15; г) 20; д) 100.

11. Нуклеїнові кислоти – лінійні полімери, у яких нуклеотидні залишки з'єднані за допомогою: а) водневих зв'язків; б) іонних зв'язків; в) 3',5'-фосфодієфірних зв'язків; г) координаційних зв'язків; д) інших зв'язків.

12. У молекулі ДНК число залишків аденіну завжди дорівнює числу залишків: а) тиміну; б) гуаніну; в) цитозину; г) ксантина; д) урацилу.

13. Полідезоксирибонуклеотидні ланцюги у біспіральній молекулі ДНК, крім водневих зв'язків, утримуються: а) електростатичними взаємодіями; б) ковалентними зв'язками; в) гідрофобними взаємодіями; г) координаційними зв'язками; д) всіма зазначеними вище.

14. Водневі зв'язки не виникають між: а) А – Т; б) А – У; в) Г – Ц; г) Г - 5МЦ; д) Г - А.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті і дайте відповідь у формі: А > Б; Б > А, А = Б.

1. А. Гіперхромний ефект у ДНК. Б. Гіперхромний ефект у РНК.

2. А. Гіперхромний ефект в одноланцюгових полінуклеотидів. Б. Гіперхромний ефект у дволанцюгових полінуклеотидів.

3. А. Вміст тиміна в ДНК. Б. Вміст тиміна в тРНК.

4. А. Молекулярна маса тРНК. Б. Молекулярна маса рРНК.

5. А. Вміст РНК у рибосомах. Б. Вміст РНК у розчинній частині цитоплазми.

6. А. Вміст РНК у ядрі. Б. Вміст РНК у цитоплазмі.

7. А. Вміст Г–Ц-пар (%) у тРНК дріжджів. Б. Вміст Г–Ц-пар (%) у рРНК дріжджів.

8. А. Величина питомого оптичного обертання динуклеотиду. Б. Величина питомого оптичного обертання полінуклеотиду.

9. А. Температура плавлення ДНК зі вмістом Г–Ц-пар, рівним 50% .Б. Температура плавлення ДНК зі вмістом Г–Ц-пар, рівним 58%.

10. А. Коефіцієнт поліконденсації нуклеотидних залишків у молекулі рРНК. Б. Коефіцієнт поліконденсації нуклеотидних залишків у молекулі тРНК.

11. А. Співвідношення РНК/ДНК у клітині при високому рівні біосинтезу білка в ній. Б. Співвідношення РНК/ДНК у клітині при низькому рівні білкового синтезу в ній.

12. А. Число нуклеотидних ланок у РНК із молекулярною масою $5 \cdot 10^5$. Б. Число нуклеотидних ланок у ДНК із молекулярною масою $5 \cdot 10^5$.

13. А. Частка метильованих нуклеотидів у складі рРНК, Б. Частка метильованих нуклеотидів у складі тРНК.

15. А. Розмаїтість мінорних основ у РНК. Б. Розмаїтість мінорних основ у ДНК.

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Нуклеотиди є мономерними одиницями нуклеїнових кислот; б) у складі ДНК бактеріофагів виявлений 5-оксиметилцитозин, іноді зв'язаний глікозидним зв'язком із залишками глюкози; в) метильовані пуринові й піримідинові основи виявлені тільки в складі РНК; г) у складі тРНК міститься нуклеозид урацилу – псевдоуридин, який має 3-глікозидний зв'язок.

2. а) РНК представлена одноланцюговим полірибонуклеотидом, біспіралізованим на деяких ділянках; б) РНК легко розщеплюється під дією не надто концентрованого лугу; в) у розчині з

високою іонною силою РНК повністю спіралізована; г) РНК не володіє гіперхромним ефектом.

3. а) РНК і ДНК містять у своїй молекулі однакові пуринові основи; б) РНК і ДНК містять у своїй молекулі однакові піримідинові основи; в) тільки в РНК виявлений 5-метилцитозин; г) тільки в складі ДНК є мінорні пуринові й піримідинові основи.

4. Пуринові й піримідинові основи, що входять до складу нуклеїнових кислот: а) є слабкими кислотами; б) є слабкими основами; в) здатні поглинати ультрафіолетові промені; г) здатні до лактам-лактимної і енамін-кетамінної таутомерії.

5. а) Нуклеотидний склад ДНК змінюється в онтогенезі й залежить від фізіологічного стану організму; б) вміст ДНК у клітинах залежить від ступеня їх плідності; в) вміст пуринів у складі ДНК дорівнює вмісту піримідинів; г) послідовність нуклеотидів в одному ланцюзі ДНК однозначно визначає таку ж послідовність в іншому ланцюзі.

6. Вторинна структура ДНК характеризується такими параметрами: а) один ниток дезоксиполінуклеотидної біспіралі містить 10 пар нуклеотидних залишків; б) відстань між залишками сусідніх дезоксирибонуклеотидів становить 0,56 нм; в) крок спіралі дорівнює 0,34 нм; г) зовнішній діаметр біспіралного дезоксиполірибонуклеотида дорівнює 1 нм.

7. Молекула тРНК: а) представлена невеликим полірибонуклеотидом з молекулярною масою близько 25 000; б) в 75% випадків починається залишком 5'-фосфогуанілової кислоти; в) завжди завершується триплетом – фЦфЦфА; г) незважаючи на присутність мінорних основ, має високий ступінь внутрішньо-ланцюгової комплементарності.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. 6-амінопурин. Б. 6-оксипурин. В. 2,6,8-триоксипурин. Г. 2, 6-диоксипіримідин. Д. 5-метил-2,6-диоксипіримідин. а) Тимін; б) урацил; в) гіпоксантин; г) аденін д) сечова кислота.

2. А. Пуринова основа. Б. Піримідинова основа. В. Нуклеозид. Г. Нуклеотид. Д. Рибонуклеїнова кислота. а) Аденілова кислота; б) РНК; в) аденозин; г) аденін; д) урацил.

3. А. Глутамін. Б. β-аланін. В. АТФ. Г. НАД. Д. Карбамід-фосфат. а) Потрібно для біосинтезу нуклеозидтрифосфатів; б) необхідний для синтезу оротової кислоти; в) продукт розпаду урацилу й цитозину; г) необхідний для перетворення ксантозин-5'-монофосфата в гуанозин-5'-монофосфат; д) необхідний для перетворення інозинової кислоти в ксантилову кислоту.

4. А. N-Формілтетрагідрофолієва кислота. Б. Тиоредоксин. В. Аспарагін. Г. Аміак. Д. Карбамінова кислота. а) Служить донором атомів водню для відновлення рибози при перетворенні рибонуклеозиддифосфата в дезоксирибонуклеозиддифосфат; б) є джерелом аміногрупи при біосинтезі аденілової кислоти; в) представляє один з кінцевих продуктів розпаду урацилу й цитозину; г) здійснює перенесення формільного залишку на аміногрупу 5-фосфорибозилгліцинаміда в процесі біосинтезу пуринових нуклеотидів; д) використовується як джерело аміногрупи при біосинтезі цитидилової кислоти.

5. А ДНК. Б. рРНК. В. іРНК. Г. вРНК. Д. тРНК. а) Є складовою частиною вірусів; б) відрізняється високою метаболічною активністю в бактерій; в) забезпечує кодування амінокислот при біосинтезі білків; г) в основному локалізована в ядрі; д) є структурною основою рибосоми.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Для визначення молекулярної маси ДНК використовується метод електронної мікроскопії. У його основі лежить вимірювання довжини молекули ДНК, що визначають у нанометрах ($1 \text{ нм} = 10^{-7} \text{ см}$) діленням довжини зображення нитки ДНК на кінцеве збільшення знімка. Кінцеве збільшення являє собою добуток первинного збільшення, яке одержують на негативі, і збільшення при фоторепродукції. При первинному збільшенні мікроскопа 20 000x і збільшенні репродукції 5x середня довжина ниток ДНК на мікрофотографії становить 231,2 мкм. Розрахуйте довжину нитки й молекулярну масу ДНК, якщо остання перебуває: а) в «В-формі» (на кожний виток спіралі доводиться 10 пар нуклеотидів); б) в «А-формі» (крок спіралі має довжину 2,81 нм і утворений 11 парами нуклеотидів). Молекулярна маса (А + Т) пар й (Г + Ц) пар нуклеотидів дуже близькі й становлять у середньому величину, рівну 654.

2. Розрахуйте молекулярну масу й кількість нуклеотидних залишків у ДНК фагів, якщо довжина нерозгалуженої подвійної спіралі: а) ДНК фага ФХ174 (її дволанцюгової реплікативної форми) дорівнює 2,0 мкм; б) ДНК фага λ – 17,5 мкм; в) ДНК фага Т2 – 63 мкм.

3. Розрахуйте кількість нуклеотидних пар у відрізку подвійної спіралі ДНК довжиною 1 мкм, що перебуває: а) в «А-формі» і б) в «В-формі» (необхідні дані для розрахунку див. в умові

завдання № 1).

4. «В-форма» кристалічної ДНК стійка в умовах 97%-й відносної вологості. Якщо вологість знизити до 76 %, то відбувається різкий перехід «В-форми» ДНК в «А-форму». Остання містить 11 нуклеотидів на виток спіralи із кроком 2,81 нм. Обчисліть, на яку величину (мкм) зміниться довжина фрагмента ДНК, молекулярна маса якого дорівнює 1 000 000, якщо з «В-форми» вона перейде в «А-форму».

5. Розрахуйте середню довжину (мм) дволанцюгових молекул ДНК, що перебувають в одній клітині в різних представників тваринного світу, якщо відома кількість нуклеотидних пар (у млн.) у складі клітинної ДНК: а) ссавці – 5500; б) амфібії – 6500; в) риби – 2000; г) птахи – 2000; д) ракоподібні – 2800; е) молюски – 1100; ж) губки – 100; з) гриби – 20; і) бактерії – 2.

6. Клітина печінки пацюка містить $9,1 \cdot 10^{12}$ з ДНК. Допускаючи, що вся ДНК рівномірно розподілено між 42 хромосомами й існує в кожній хромосомі у вигляді єдиної молекули, розрахуйте довжину дволанцюгової ДНК (см), що перебуває в одній хромосомі (число Авогадро дорівнює $6 \cdot 10^{23}$).

7. Молекулярна маса фрагмента ДНК дорівнює 500 000. Розрахуйте об'єм фрагмента молекули ДНК (нм³) за умови, що вона має форму циліндра.

8. У складі рибосоми кишкової палички міститься по одній молекулі 23S, 16S і 5S РНК. Розрахуйте процентне співвідношення трьох видів РНК у рибосомі кишкової палички.

9. Температура плавлення ДНК лінійно залежить від вмісту ГЦ-пар в її молекулі, і ця залежність має вигляд: $T_{пл} = 69,3 + 0,41A$, де А – вміст ГЦ-пар (%). Розрахуйте температуру плавлення зразків ДНК у стандартних сольових розчинах, виділених з різних бактерій, вміст ГЦ-пар в якій відповідно дорівнює: а) 37,6; б) 47,6; в) 55,9; г) 61,0; д) 71,2.

10. Температура плавлення ДНК, виділеної із проростків пшениці, дорівнює 90 °С. Розрахуйте вміст ГЦ- і АТ-пар у відсотках у цієї ДНК (дані про залежність $T_{пл}$ від вмісту ГЦ-пар в ДНК див. у попередньому завданні).

11. Визначите коефіцієнт специфічності ДНК різних організмів, якщо відомо (див. табл.) вміст (Г + Ц) (%) у складі їх ДНК. Відзначте, до якого типу відноситься ДНК зазначених видів.

Об'єкт дослідження	Вміст (Г+Ц) (%) у складі ДНК	Коефіцієнт специфічності ДНК	Тип ДНК
Людина	39,7		
Миша	44,7		
Курка	42,0		
Осетер	42,0		
Шовковичний шовкопряд	44,4		
Восьминіг	35,2		
Пшениця	48,4		
Сосна	89,4		
Зелена водорість	03,8		
Дріжджі	35,7		
Кишкова паличка	52,2		

12. Одна з петель тРНК одержала назву «псевдоуридинової», або Г–Т–ψ–Ц–Ц–А (або Г)-петлі. Припускають, що саме ця петля важлива для взаємодії тРНК із 60S субодиноцею рибосоми, тому що 5S РНК, яка входить до складу 50S субодиноці, містить комплементарний цій петлі пентануклеотид. Визначите склад і послідовність нуклеотидних залишків у ділянці 5S РНК, комплементарному «псевдоуридиновій» петлі тРНК.

13. Валінова тРНК із дріжджів, первинна структура якої розшифрована А.А. Баєвим і його співробітниками, містить 77 нуклеотидних залишків у молекулі. Акцепторний кінець цієї тРНК біспіралізований найбільшою мірою – 7 пар нуклеотидів. В антикодонівій петлі в спіралізованій області перебувають 5 пар нуклеотидів. «Псевдоуридинова» петля також має 5 пар нуклеотидів, що сполучаються водневими зв'язками. В «дигідроуридиновій» петлі біспіралізована частина включає 3 пари нуклеотидних залишків. Розрахуйте у відсотках частку нуклеотидних залишків, які перебувають у біспіралізованих областях молекули й підтримують вторинну структуру дріжджової валінової тРНК.

14. Розрахуйте коефіцієнт молярної екстинкції аденіну, якщо розчин, що містить 500 мкг аденіну в 100 мл 0,1 н. розчину гідроксиду натрію, має оптичну густину 0,458 при 262 нм (ширина

кювети дорівнює 1 см). Молекулярна маса аденіну 135.

15. Водний розчин, що містить 57,8 мг/л натрієвої солі УТФ, має оптичну густину 1,014 при 262 нм (рН = 7,0). Обчисліть коефіцієнт молярної екстинкції зазначеної речовини в цих умовах. Молекулярна маса натрієвої солі УТФ дорівнює 586.

16. Коефіцієнт молярної екстинкції аденіну в 0,1 н. розчині соляної кислоти при 262,5 нм дорівнює $13,4 \cdot 10^{-3}$ л/моль/см. Обчисліть величину оптичної густини розчину аденіну, що містить 5 мкг основи в 1 мл розчину. Молекулярна маса аденіну дорівнює 135.

17. Розрахуйте величину оптичної густини (ширина кювети 1 см; рН в 7,0) наступних розчинів: а) $67,5 \cdot 10^{-3}$ мМ розчину цитозину при 260 нм; б) $9,0 \cdot 10^{-3}$ мМ розчину урацилу при 260 нм, якщо коефіцієнти молярної екстинкції для цих основ при 260 нм (рН = 7,0) рівні $5,55 \cdot 10^3$ і $8,2 \cdot 10^3$ л/моль/см відповідно.

18. Розрахуйте молярну концентрацію: а) розчину гуаніну, якщо оптична густина його при 260 нм, рН = 7,0 дорівнює 0,625; б) розчину тиміна, якщо оптична густина його при 260 нм, рН = 7,0 дорівнює 0,075. Ширина кювети 1 см. Коефіцієнт молярної екстинкції гуаніну дорівнює $7,2 \cdot 10^3$ л/моль/см, тиміна – $7,4 \cdot 10^3$ л/моль/см.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 4.

Вітаміни. Гормони. Кількісне визначення вітаміну С.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Загальні відомості.
2. Жиророзчинні вітаміни.
3. Водорозчинні вітаміни.
4. Вітаміноподібні речовини.
5. Загальна характеристика гормонів.
6. Гормони гіпоталамуса.
7. Гормони гіпофіза.
8. Гормони епіфіза.
9. Гормони щитовидної залози.
10. Гормон паращитовидної залози.
11. Гормон навколівушної залози.
12. Гормон вилочкової залози.
13. Гормони підшлункової залози.
14. Чоловічі статеві гормони.
15. Жіночі статеві гормони.
16. Гормони кори наднирників.
17. Гормони мозкової речовини наднирників.
18. Гормоноїди.

Практична частина

Кількісне визначення вітаміну С

Кількісне визначення вітаміну С в досліджуваному матеріалі здійснюють за допомогою 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використовуючи його титрований розчин. По кількості реактиву, витраченого на окислення вітаміну С, визначають вміст останнього в аналізованому матеріалі.

Устаткування та реактиви. Бюретки прями з краном на 5 мл (2 шт.), пінетки з однією міткою на 2, 5 і 20 мл, колби конічні на 50 і 100 мл, склянки скляні лабораторні на 100 мл (4 шт.), колби мірні на 100 мл (2 шт.), циліндр вимірювальний з носиком на 250 мл, ступка порцелянова з зовнішнім діаметром 110 мм, скло годинникове, пісок кварцовий, картопля, морква, томатний сік, шипшина, соляна кислота (5%-на), 2,6-дихлорфеноліндофенол (0,001 н.), метафосфорна кислота (2%-на і 4%-на), аскорбінова кислота (0,1%-на), йодат калію (0,001 н.), йодид калію, крохмаль (1%-ний), йодид калію (5%-ний), пероксид водню (3%-ний).

Визначення титру розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Встановлення титру приблизно 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу проводять по аскорбіновій кислоті в день роботи. Беруть 2 мл 0,1%-ного розчину аскорбінової кислоти і розчиняють у 50 мл 2%-ного розчину метафосфорної кислоти (чи сірчаної кислоти); 5 мл цього розчину титрують 2,6-дихлорфеноліндофенолом до появи рожевого забарвлення. Відзначають витрачений на титрування об'єм реагенту. Негайно ж після цього такий же об'єм розчину аскорбінової кислоти титрують з іншої мікробюретки титрованим розчином йодату калію (0,001 н.). До розчину аскорбінової

кислоти перед титруванням додають кілька кристалів (не більш 0,1 г) йодиду калію і 5 крапель 1%-ного розчину крохмалю. Титрування ведуть обережно до появи ледь помітного синього забарвлення і відзначають витрачений на титрування об'єм йодату калію. Оскільки, в першому і в другому випадку були відтитровані однакові об'єми аскорбінової кислоти, то, кількості витрачених йодату калію і реагенту еквівалентні один одному. Оскільки, 1 мл 0,001 н. розчину йодату калію еквівалентний 0,088 мг аскорбінової кислоти, то титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу (у міліграмах аскорбінової кислоти) дорівнює:

$$T = 0,088 \times \frac{V_2}{V_1}$$

де V_1 і V_2 – об'єми розчинів 2,6-дихлорфеноліндофенолу та йодату калію, відповідно витрачені на титрування рівних об'ємів розчину аскорбінової кислоти.

Приготування екстракту з рослинного матеріалу. Нарізають досліджуваний матеріал (картопля, морква) дрібними шматочками. 10 г матеріалу переносять у ступку і ретельно розтирають з невеликою кількістю кварцового піску, додаючи маленькими порціями 4%-ний розчин метафосфорної кислоти до одержання рідкої кашки. Суміш кількісно переносять у мірну колбу на 100 мл. Ступку і маточку ретельно обмивають 4%-ним розчином метафосфорної кислоти, зливають у ту ж мірну колбу, стежачи за тим, щоб були витрачені всі 50 мл метафосфорної кислоти (кінцева концентрація її повинна бути 2%; у випадку відсутності метафосфорної кислоти її замінюють 5%-ним розчином соляної кислоти з кінцевою її концентрацією в 2,5%). Після цього вміст мірної колби доводять до мітки дистильованою водою, добре перемішують і фільтрують через складчастий фільтр чи центрифугують. Отриманий екстракт повинен бути зовсім прозорим.

Визначення вмісту аскорбінової кислоти в екстракті. У дві конічні колби на 50 мл беруть піпеткою по 10 мл отриманого екстракту рослинного матеріалу. В одній із проб руйнують вітамін С кип'ятінням у присутності декількох крапель пероксиду водню. Вміст колб титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу. При наявності в екстракті вітаміну С розчин знебарвлюється, а при подальшому додаванні індикатора забарвлюється в рожевий колір, тому що вся аскорбінова кислота в пробі вже окислена і фарба більше не відновлюється. У пробі, де вітамін С був зруйнований, від додавання декількох крапель індикатора з'являється рожеве забарвлення. Результати титрування записують і повторюють роботу з новою порцією того ж екстракту. На підставі середньої величини титрування, отриманої з 2–3 визначень, обчислюють кількість вітаміну С за формулою:

$$C = 100 \times \frac{V_1 \times V \times T}{a \times V_2}$$

де C – вміст аскорбінової кислоти (у мг%); T – титр 2,6-дихлорфеноліндофенолу в міліграмах аскорбінової кислоти; V – об'єм екстракту (у мл); a – маса досліджуваного матеріалу (у г); V_1 – витрачений об'єм реагенту при титруванні (у мл); V_2 – об'єм титруемого розчину (у мл).

В результаті знаходять кількість вітаміну С в міліграмах на 100 г досліджуваного продукту. За даним методом визначають тільки відновлену форму аскорбінової кислоти.

Завдання до лабораторно-практичної роботи №4 I модуля

(А) ГОРМОНИ

На кожен незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. У 1855 р. англійський лікар Т.А. Аддісон установив, що руйнування наднирників є причиною виникнення: а) базедової хвороби; б) захворювання «бері-бері»; в) «бронзової» хвороби; г) діабету; д) поліневриту.

2. Гормон, що синтезується в острівковій тканині підшлункової залози, називається: а) тестостероном; б) тироксином; в) паратгормоном; г) адреналіном; д) інсуліном.

3. Місцем біосинтезу пептидних гормонів є: а) наднирники; б) щитовидна залоза; в) сім'яники; г) навколочитовидні залози, підшлункова залоза, гіпофіз і слизистої органів травлення; д) яєчники.

4. Стероїдні гормони є похідними: а) багатоатомних спиртів; б) поліциклічних спиртів; в) амінокислот; г) вуглеводів; д) білків.

5. У 1953 р. В. дю-Віньо зі співробітниками (одночасно з Г. Туппі) запропонували повну структурну формулу гормону: а) інсуліну; б) вазопресину; в) окситоцину; г) глюкагону; д) гастрину.

6. Двадцятидев'ятичленний пептид, що синтезується в α -клітинах острівкової частини

підшлункової залози, є: а) меланоцитстимулюючим гормоном; б) глюкагоном; в) інсуліном; г) адренкортикотропним гормоном; д) гормоном росту.

7. Паратгормон – білок, який синтезується навколощитовидними залозами, має молекулярну масу: а) 6000; б) 27 000; в) 30 000; г) 9000; д) 36 000.

8. Гормон адреналін, що являє собою катехоламін, стимулює активність ферменту: а) фосфатази; б) амілази; в) нуклеази; г) аденілциклази; д) глікогенсинтетази.

9. Для підтримки балансу електролітів важливий: а) інсулін; б) кортикостерон; в) холестерин; г) глюкагон; д) прогестерон.

10. Гормоном, що регулює водний баланс і осмотичний тиск плазми крові, а також стимулює скорочення гладеньких м'язів судин, є: а) вазопресин; б) окситоцин; в) гастрин; г) адренкортикотропін; д) тиреотропін.

11. Цукровий діабет, що характеризується підвищеним вмістом глюкози в крові (гіперглікемія), розвивається при недостатньому рівні біосинтезу в організмі гормону: а) глюкагону; б) тиреотропіну; в) інсуліну; г) окситоцину; д) тироксину.

12. Вміст катіонів кальцію й аніонів фосфорної й лимонної кислот у крові регулює: а) гормон росту; б) паратгормон; в) кортикотропний гормон; г) адреналін; д) альдостерон.

13. Діоксифенільний радикал, який є джерелом кольорової реакції із хлоридом заліза (III), міститься в складі: а) тироксину; б) адреналіну; в) адренохрому; г) тиреотропіну; д) інсуліну.

14. Речовина гормональної природи, яка утворюється при розкладі триптофану й впливає на процес порушення нервової системи, є: а) гістаміном; б) ангіотензином; в) серотоніном; г) гібереліном; д) кінетином.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті і дайте відповідь у формі $A > B$; $B > A$, $A = B$.

1. А. Вміст гідроксильних груп у молекулі кортикостерона. Б. Вміст гідроксильних груп у молекулі альдостерону.

2. А. Вміст спиртових груп у молекулі альдостерону. Б. Вміст спиртових груп у молекулі гідрокортизону.

3. А. Кількість кортикостерона, який утворюється в нормі протягом доби в наднирниках людини. Б. Кількість альдостерону, що синтезується в нормі в наднирниках людини.

4. А. Вміст гідрокортизону в периферичній крові людини. Б. Вміст альдостерону у венозній крові людини.

5. А. Число амінокислотних залишків у складі молекули окситоцину. Б. Число амінокислотних залишків у складі молекули вазопресину.

6. А. Кількість амінокислотних залишків у молекулі гастрину. Б. Кількість амінокислотних залишків у молекулі глюкагону.

7. А. Кількість амінокислотних залишків у молекулі інсуліну. Б. Кількість амінокислотних залишків у молекулі паратгормону.

8. А. Молекулярна маса гормону росту мавпи. Б. Молекулярна маса соматотропного гормону людини.

9. А. Гормональна дія лівообертаючого ізомеру адреналіну. Б. Гормональна дія правообертаючого ізомеру адреналіну.

10. А. Вміст адреналіну в мозковому шарі наднирників людини. Б. Вміст норадреналіну в мозковому шарі наднирників людини.

11. А. Вміст йоду в тироксині. Б. Вміст йоду в йодтироніні.

12. А. Вміст аміногруп у молекулі серотоніна. Б. Вміст аміногруп у молекулі гістаміна.

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Хімічна номенклатура гормонів більш прийнятна для практичних цілей, ніж тривіальна; б) тривіальна назва, як правило, не відбиває походження гормону; в) хоча хімічна природа більшості гормонів з'ясована, воліють користуватися тривіальними назвами; г) зручніше користуватися хімічною номенклатурою пептидних гормонів, ніж тривіальною.

2. а) Адреналін, кортикостерон, альдостерон і тироксин входять у групу адренальних гормонів; б) окситоцин, вазопресин, соматотропін, адренкортикотропін, тиреотропін і гонадотропіни складають групу гіпофізарних (або пітуїтарних) гормонів; в) інсулін, глюкагон і паратгормон належать до групи панкреатичних гормонів; г) тестостерон, естрадіол і альдостерон належать до

групи статевих гормонів.

3. а) При недостатньому надходженні кортикостерона в кров наступають порушення в загальному обміні речовин, які призводять до підвищення кров'яного тиску; б) при недостатності альдостерону розвивається «бронзова» хвороба й настає різке порушення мінерального обміну; в) при дефіциті тестостерону в дорослих особин підвищується біосинтез білків; г) естрадіол виробляється в сім'яниках, і його надлишок в організмі сприяє розвитку ожиріння.

4. а) Припускають, що естрадіол активізує трансгідрогеназу, яка прискорює реакцію перенесення водню з НАДФ·Н₂ на НАД⁺; б) установлено, що стероїдні гормони не впливають на проникність оболонки клітин; в) виявлено, що стероїдні гормони в комах не впливають на синтез інформаційних рибонуклеїнових кислот; г) є відомості, що стероїдні гормони безпосередньо взаємодіють із ДНК, яка має високу спорідненість до них.

5. а) Окситоцин містить цикл, що замикається в результаті виникнення дисульфідного зв'язку між 1-м і 7-м залишками цистеїну в його молекулі; б) розмикання дисульфідного містка в молекулі окситоцину супроводжується зростанням його активності; в) найважливіше значення для біологічної дії окситоцину має залишок амідованої аспарагінової кислоти, що займає 5-е положення в молекулі; г) наявність вільної гідроксильної групи в залишку тирозину в молекулі окситоцину сприяє зниженню його фізіологічної активності.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Тироксин. Б. Кортикостерон, гідрокортизон і альдостерон. В. Інсулін і глюкагон. Г. Гастрин і секретин. Д. Окситоцин, вазопресин, соматотропін і тиреотропін. а) Входять у групу пептидних гормонів, які секретує слизова оболонка шлунка й кишечника; б) виявлений у тиреоглобуліні, який утворюється в щитовидній залозі; в) утворюють групу пітуїтарних або гіпофізарних гормонів; г) входять у групу гормонів пептидної природи, що синтезуються в підшлунковій залозі; д) становлять групу адренальних (за тривіальною номенклатурою), або стероїдних (за хімічною номенклатурою), гормонів, що синтезуються в наднирниках.

2. А. Кортикостерон. Б. Гідрокортизон. В. Альдостерон. Г. Тестостерон. Д. Естрадіол. а) Є типовим мінералокортикостероїдом, що не проявляє майже ніякого впливу на обмін вуглеводів; б) впливає на обмін вуглеводів, білків і нуклеїнових кислот, зокрема активізує дезоксирибонуклеази; в) сприяє нормальному обміну глікогену в м'язах і печінці, підтримці в нормі вмісту глюкози й залишкового азоту в крові, забезпечує нормальну екскрецію й усмоктування йонів Na⁺ і K⁺ у ниркових каналцях; г) належить до типових глюкокортикостероїдів; д) стимулює розвиток вторинних статевих ознак в особин чоловічої статі.

3. А. Кортикостерон. Б. Прогестерон. В. Адреналін. Г. Цитокінін. Д. Паратгормон. а) Стимулює окислення янтарної й глутамінової кислот і гідроліз АТФ у мітохондріях; б) займає центральне положення в біосинтезі стероїдних гормонів; в) має великий ступінь спорідненості до фосфоліпідної складової внутрішньоклітинних мембран, легко проникає у фосфоліпідні моношари ліпопротеїдів, складових основи мембранного апарата клітини; г) є фітогормоном; д) стимулює розклад глікогену до глюкози.

4. А. Перетворення холестеролу. Б. Біосинтез стероїдних гормонів. В. Вивільнення окситоцину й вазопресину. Г. Синтез α-меланоцитостимулюючого гормону вівці. Д. Біосинтез інсуліну. а) Здійснюється з попередників у результаті ферментативного гідролізу; б) може розглядатися як один зі шляхів новоутворення стероїдних гормонів; в) відбувається при участі ферменту глутатіонтрансгідрогенази; г) може йти з Ацетил-КоА, минаючи холестерол, що дозволяє припускати наявність загального попередника в стероїдних гормонів і холестеролу; д) може бути здійснений при дії пепсину на адренкортикотропний гормон.

5. А. Окситоцин. Б. Вазопресин. В. Гастрин. Г. Глюкагон. Д. Інсулін. а) Сприяє деструкції глікогену, впливаючи на реакцію фосфоролізу; б) використовується в медицині для полегшення пологів, тому що забезпечує скорочення м'язів матки; в) підсилює анаболічні процеси й, зокрема, сприяє біосинтезу глікогену; г) стимулює секрецію шлункового соку; д) регулює водний баланс організму й осмотичний тиск плазми крові.

6. А. Адренкортикотропний гормон. Б. Меланоцитостимулюючий гормон. В. Паратгормон. Г. Тиреотропін. Д. Гормон росту. а) Стимулює діяльність щитовидної залози; б) підвищує активність наднирників у біосинтезі глюкокортикостероїдів; в) регулює вміст йонів кальцію, фосфорної й лимонної кислот у крові; г) володіє анаболічною дією, підвищуючи рівень біосинтезу білків, ДНК, РНК і глікогену; д) змінює ступінь агрегації пігменту в клітині.

7. А. Ангіотензин. Б. Серотонін. В. Гістамін. Г. Гетероауксин. Д. Кінетин. а) Прискорює ріст

коріння рослин; б) підвищує кров'яний тиск у нирках внаслідок звуження ниркових артерій; в) прискорює процес клітинного ділення, сприяючи біосинтезу нуклеїнових кислот і білків; г) при введенні в організм викликає болочі відчуття; д) здатний звужувати судини, у зв'язку із чим використовується для попередження й зупинки кровотеч.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Наведіть схему особистої участі естрадіолу в реакції активування трансгідрогенази, яка прискорює реакцію перенесення водню з НАДФ·Н₂ на НАД⁺.

2. Напишіть рівняння реакцій перетворення холестеролу відповідно до нижченаведеної схеми: холестерол → прогестерон → 11-дезоксикортикостерон → кортикостерон → альдостерон.

3. Здійсніть перетворення прогестерону відповідно до нижченаведеної схеми: прогестерон → 17-оксипрогестерон → андростендіон → тестостерон.

4. Представте у формулах перетворення відповідно до наступної схеми: прогестерон → 17-оксипрогестерон → 17-оксикортикостерон.

5. Напишіть рівняння реакцій, що відповідають схемі: адреналін → адреналінхінон → адренохром → адренолютин.

6. Наведіть схему біосинтезу адреналіну з тирозину через окситирамін і назвіть ферменти, які прискорюють стадії цього процесу.

7. Дайте схему біосинтезу ізопропіладреналіну з тирозину через діоксифенілсерин.

8. Наведіть схему перетворення тироксину, яка відбиває можливу його участь в окисно-відновних процесах.

9. У печінці, наднирниках і кишечнику ссавців відзначена наявність активної сульфокінази, яка здійснює кон'югацію стероїдів із сульфатною кислотою. Кон'юговані стероїди мають відношення до контролю біосинтезу й метаболізму стероїдних гормонів *in vivo*, вони утворюються у відповідності зі схемою: 1) АТФ + йон сульфату [SO₄]²⁻ ↔ аденозин-5'-фосфосульфат (АФС) + пірофосфат; 2) АФС + АТФ ↔ аденозин-3'-фосфат-5'-фосфосульфат (ФАФС) + АДФ; 3) ФАФС + R-OH → (сульфокіназа) → ROSO₃H + фосфоаденозинфосфат. Користуючись наведеною схемою, напишіть рівняння реакції біосинтезу естрадіолу-3-сульфату.

10. Стероїди виводяться з організму тварин здебільшого у вигляді глюкуронідів. З'єднання їх із глюкуроною кислотою відбувається в печінці за участі глюкуронілтрансферази: УДФ-α-глюкуронова кислота + R-OH → (глюкуронілтрансфераза) → УДФ + R-β-глюкуронід. Залишок глюкуронової кислоти може з'єднуватися з будь-якою вільною гідроксильною групою стероїдів. Напишіть рівняння реакції біосинтезу естрадіолглюкуроніду.

11. Стероїдний гормон екдизон є регулятором метаморфози комах. Одна з ранніх ознак дії екдизону – поява характерних пупків на хромосомах комах, а потім збільшення активності ДОФА-декарбоксилази – ферменту, необхідного для синтезу з тирозину N-ацетилдофаміну, який відповідає за склеротизацію кутикули комах. РНК, виділена з епідермальних клітин личинок *Calliphora*, які одержували екдизон, має властивість стимулювати утворення ДОФА-декарбоксилази при додаванні її в белоксинтезуючу систему з рибосом печінки. Який висновок можна зробити про механізм дії екдизону?

12. У гіпоталамусі виявлене сімейство нових речовин, які регулюють секрецію гормонів передньої частки гіпофіза й названих релізинг-факторами. Невеликі розміри молекул релізинг-факторів, відсутність у них видової специфічності й стійкість їх до дії протеолітичних ферментів дозволяють розглядати ці сполуки як своєрідні універсальні хімічні агенти, за допомогою яких здійснюється взаємозв'язок нервової й ендокринної систем організму. У цей час установлена структура ряду релізинг-факторів, у тому числі тиротропін-релізинг-фактора (ТРФ), який представлений трипептидом, що включає залишки піроглутамінової кислоти, гістидину й пролінамиду: (піро)глу-гіс-про(NH₂). Напишіть структурну формулу тиротропін-релізинг-фактора.

13. У наднирниках за добу утворюється 0,35 мг альдостерону, що становить 1,5% від суми кортикостероїдів. Розрахуйте кількість кортикостерона й 17-оксикортикостерона, якщо відомо, що вміст їх від суми кортикостероїдів становить 75%.

14. Розрахуйте процентний вміст кисню в молекулі естрадіолу й у молекулі тестостерону. Який з названих гормонів є більш окисленою сполукою?

15. Вміст адреналіну в мозковому шарі наднирників людини становить 0,05% від маси наднирників. Розрахуйте кількість адреналіну в наднирниках, якщо відомо, що вміст норадреналіну в наднирниках дорівнює 0,005%, що становить 0,5 мг.

16. Розрахуйте вміст йоду в молекулі тироксину й визначите добову потребу в ньому, якщо відомо, що добова потреба в тироксині становить 0,33 мг.

(Б) ВІТАМІНИ

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. Пантотенова кислота є складовою частиною: а) ліпсової кислоти; б) глутатіону; в) тіамінпірофосфату; г) коензиму А; д) тетрагідрофолієвої кислоти.

2. Майже всі реакції перетворення амінокислот пов'язані з участю коферменту: а) тіамінпірофосфату; б) піридоксальфосфату; в) нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату; г) флавінаденіндинуклеотиду; д) біотину.

3. Вітамін В₂ є складовою частиною коферменту: а) піридоксальфосфату; б) біотину; в) нікотинамідаденіндинуклеотиду; г) флавінаденіндинуклеотиду; д) тіамінпірофосфату.

4. Простетичною групою родопсину – рецепторного білка сітківки ока – є: а) рибофлавін; б) кальциферол; в) ретиналь; г) токоферол; д) філохінон.

5. Окисне декарбоксілювання піровиноградної кислоти здійснюється за участю вітаміну: а) А; б) В₁; в) В₆; г) В₁₂; д) D.

II. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Тіамін являє собою заміщений піридин; б) рибофлавін – 6, 9-риботилізоалоксазин; в) гем – сполука, утворена залізом і протопорфірином; г) біотин – похідне біциклічної сполуки, що складається з імідазольного й тіофенового циклів.

2. а) При взаємодії вітаміну С з гексаціано-(III)-фератом калію й хлоридом заліза (III) у кислому середовищі з'являється буре забарвлення; б) при взаємодії вітаміну С з 2,6-дихлорфеноліндофенолом у слаболужному середовищі забарвлений у синій колір індикатор знебарвлюється; в) при взаємодії вітаміну В₁ з діазореактивом у лужному середовищі виникає жовте забарвлення, що переходить у рожеве; г) при взаємодії вітаміну D з аніліном з'являється фіолетове забарвлення.

3. а) Вітамін Е є похідним стеролів; б) молекула вітаміну А містить як структурні елементи ізопреноїдні фрагменти; в) вітамін Е представляє один з найсильніших природних антиоксидантів; г) вітамін А володіє антиксерофтальмічною дією.

III. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Нікотинамід. Б. Тіамін. В. Рибофлавін. Г. Пантотенова кислота. Д. Піридоксальфосфат. а) Містить кільце тіазолу; б) є складовою частиною коферменту, здатного приєднувати й віддавати атоми водню по ізоалоксазоновому циклу; в) синтезується в організмі тварин із триптофану; г) бере участь як кофермент у реакціях трансамінування, декарбоксілювання й рацемізації амінокислот; д) входить до складу коензиму А.

2. А. Ціанкобаламін. Б. Убіхінон. В. Філохінон. Г. Вікасол. Д. Пангамова кислота. а) Алкільоване похідне нафтохінону; б) N,N-диметилгліцил-6-глюконова кислота; в) є похідним диметоксиметилбензохінону; г) містить відновлені пірольні кільця, диметилбензімідазол, α-D-Рибофуранозу й кобальт; д) бісульфітна сполука метилнафтохінону, яка синтезована у 1942 р. академіком А.В. Палладіним.

3. А. Карнітин. Б. Аскорбінова кислота. В. Біотин. Г. Рутин. Д. Амід нікотинової кислоти. а) за хімічною будовою є 2,3-ендіол-L-гулоно-1,4-лактоном; б) впливає на проникність капілярів; в) являє собою похідне β-піридинкарбонової кислоти; г) є β-окси-γ-триметиламіномасляною кислотою; д) є коферментом у реакції карбоксілювання.

4. А. Скорбут. Б. Поліневрит. В. Ксерофтальмія. Г. Рахіт. Д. Пелагра. а) Захворювання рогівки ока, викликане А-авітамінозом; б) порушення нормального відкладення фосфату кальцію в кістковій тканині через відсутність кальциферолів; в) В₁-авітаміноз; г) поліавітаміноз, викликаний відсутністю вітамінів РР і В₆ і залежний від кількості триптофану в дієті; д) хвороба, що виражається в підвищенні проникності й крихкості кровоносних судин внаслідок недостатності вітаміну С.

5. А. Реакція з аніліном. Б. Реакція з гексаціано-(III)-фератом калію. В. Реакція з 2,6-дихлорфеноліндофенолом. Г. Реакція з 2,4-динітрохлорбензолом. Д. Реакція з диізопропілфторфосфатом. а) Використовується для кількісного визначення вітаміну С; б) застосовується для відкриття вітаміну РР (червоно-фіолетове забарвлення); в) служить для визначення тіаміну (блакитна флуоресценція в УФ-променях); г) призводить спочатку до появи зеленого, а потім до червоного забарвлення за наявності вітаміну D; д) є методом індикації серину у складі активного центру

ферменту.

6. А. Нікотинова (6-піридинкарбонова) кислота. Б. Нікотин. В. Піридоксин. Г. метилнафтохинон-1,4. Д. Глюкоза. а) Умовна назва вітаміну В₆, представленого піридоксалем, піридоксалем і піридоксаміном; б) за назвою метинон (вітамін К₃) застосовується в медицині; в) антипелагричний вітамін, що утворюється при окисненні нікотину нітратною кислотою; г) служить вихідною речовиною при синтезі вітаміну С; д) алкалоїд, що міститься в листі і корінні тютюну.

7. А. Вітамін В₂ (рибофлавін). Б. Вітамін В₁₂ (ціанкобаламін). В. Вітамін В₁ (тіамін). Г. Вітамін В_с (фолієва кислота). Д. Вітамін В₃ (пантотенова кислота). а) Представлений голчастими кристалами жовтого кольору, які розкладаються при температурі 250°C, обмежено розчинними у воді й спирті й нерозчинними в ефірі, ацетоні й хлороформі; б) утворює дрібні безбарвні кристали гіркої смаку, добре розчинні у воді; в) характеризується голчастими кристалами кармінно-червоного кольору; г) дає розчин яскраво-жовтого кольору, який володіє жовто-зеленою флуоресценцією; д) являє собою важку, ясно-жовту маслянисту рідину, добре розчинну у воді.

ІV. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Наведіть схему обміну вітаміну А за участі його в акті зору й поясніть причину переходу *транс*-форми ретиналю в *11-цис*-ретиналь.

2. Напишіть рівняння реакції окиснення β-токоферолу до β-токоферилхінону (β-токохінону).

3. Наведіть рівняння реакції, яке розкриває механізм участі убіхінону в окисно-відновних процесах в організмі.

4. Напишіть рівняння реакції окиснення вітаміну В₁ у тіохром гексаціано-(ІІІ)-фератом калію в лужному середовищі.

5. Виразіть системою хімічних рівнянь механізм реакції переамінування аспарагінової й піровиноградної кислот за участю піридоксальфосфату.

6. Приведіть схему перенесення оксиметильної групи на гліцин за участю 5,6,7,8-тетрагідрофолієвої кислоти.

7. Напишіть рівняння реакції синтезу пантотенової кислоти й назвіть фермент, що прискорює цей процес.

8. Визначите вміст вітаміну С у яблуці (%), якщо відомо, що на титрування 25 мл екстракту, взятого з 50 мл витяжки (отримана з 10 г яблука), пішло 5,2 мл 0,001 Н. розчину 2,6-дихлоріндофенолу. Напишіть рівняння реакції взаємодії вітаміну С з 2,6-дихлоріндофенолом.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 5.

Вуглеводи їх обмін у живих організмах. Виділення і визначення пектинових речовин **Питання для самостійної підготовки студентів:**

1. Структура, властивості, класифікація, функції в живих організмах.
2. Синтез (глікогенез, гліконеогенез) і розклад глікогену.
3. Анаеробне розщеплення вуглеводів: глікогеноліз, гліколіз, спиртове бродіння.
4. Аеробне перетворення вуглеводів (Окислювальне декарбоксилювання).
5. Цикл трикарбонових кислот (Цикл Кребса).
6. Пентозний (апотомічний) цикл.
7. Обмін піровиноградної кислоти.
8. Співвідношення між аеробним і анаеробним процесами перетворення вуглеводів.
9. Біосинтез дисахаридів.
10. Регуляція вуглеводного обміну.

Практична частина

Виділення і визначення пектинових речовин

Пектинові речовини – високомолекулярні сполуки, широко розповсюджені в рослинах. Молекулярна маса пектинових речовин коливається від 50 000 до 300 000. Вони є цементуючими сполуками, свого роду клеєм, що скріплює рослинні клітини; завдяки своїм гідрофільним властивостям охороняють рослини від висихання, позитивно впливають на посухостійкість і забезпечують тургор. Головна складова частина пектинових речовин – полігалактуронова чи пектова, кислота. Метильована по карбоксильній групі полігалактуронова кислота називається пектиною чи розчинним пектином. Характерною властивістю пектину є його здатність утворювати драгли в присутності кислоти і цукру. Ця властивість широко використовується в кондитерській промисловості.

Устаткування та реактиви: шафа сушильна, центрифуга, баня водяна, піпетка з однією міткою на 25 мл, колби мірні на 250 і 500 мл, ступка порцелянова (діаметр 90 мм), колба конічна на 500 мл із притертим холодильником, стаканчик для зважування (бюкс), соляна кислота (0,3 н.), оцтова кислота (1 н.), гідроксид натрію (0,1 н.), цитрат амонію (1%-ний), хлорид кальцію (2 н.), нітрат срібла (1%-ний), пісок кварцовий.

Виділення розчинного пектину. 25 г свіжого матеріалу (яблука, цукровий буряк) розтирають з битим склом чи кварцовим піском у порцеляновій ступці до однорідної маси, переносять у конічну колбу на 500 мл, заливають 100 мл води, нагрітої до 45°C (не вище), і витримують (при періодичному збовтуванні) 30 хв. при цій же температурі на водяній бані. Потім колбу щільно закривають каучуковою пробкою й енергійно збовтують 15–20 хв. Після цього вміст колби центрифугують при 3000 г протягом 10–15 хв. і збирають прозорий розчин пектину. Для забезпечення повноти екстракції розчинного пектину осад повторно заливають 75 мл води й одержують другий екстракт; утретє заливають 50–60 мл води, щораз відокремлюючи розчинний пектин від осаду центрифугуванням. Екстракти поєднують, доводячи їхній загальний об'єм до 250 мл. Розчинний пектин визначають пектатним методом (див. нижче).

Визначення кількості розчинного пектину по пектату кальцію. Для кількісного визначення пектину часто користуються методом, основаним на гідролізі пектинових речовин і осадженні полігалактуринової кислоти у вигляді пектату кальцію. У конічну колбу чи хімічну склянку ємністю 500 мл відміряють піпеткою 25 мл розчину пектину (див. вище) і доливають 100 мл 0,1 н. розчину гідроксиду натрію. Залишають на 30 хв. для омилення розчинного пектину, який переходить у натрієву сіль пектинової кислоти. Потім додають 50 мл 1 н. розчину оцтової кислоти й одержують вільну пектинову (полігалактуринову) кислоту. До отриманої в такий спосіб пектинової кислоти через 5 хв. додають 50 мл 2 н. розчину хлориду кальцію і залишають стояти 1 годину. За цей час випадає осад пектату кальцію. Осад промивають гарячою водою на зваженому фільтрі (фільтр попередньо багаторазово промивають водою і висушують до постійної маси в сушильній шафі при 100°C) доти, поки не стане негативною реакція на хлорид-іон з 1%-ним розчином нітрату срібла. Осад разом з фільтром поміщають у бюкс і доводять до постійної маси в сушильній шафі при 100°C. По різниці між первісною масою фільтра і масою його з пектатом кальцію знаходять вміст останнього в 25 мл розчину пектату. Вміст пектинової кислоти обчислюють за формулою:

$$C = \frac{x \times V \times 92}{a \times V_1}$$

де С – вміст пектинової кислоти (у %); х – кількість знайденого пектату кальцію (у г); а – наважка досліджуваного рослинного матеріалу (у г); V_1 – об'єм фільтрату, взятого для омилення й осадження в ньому пектату кальцію (у мл), V – початковий об'єм розчину пектину (у мл); 92 – коефіцієнт перерахування (у %), обчислений виходячи з того, що пектат кальцію містить 8% кальцію.

Якісне виявлення пектинових речовин (реакція Ерліха)

Устаткування та реактиви: баня водяна, баня масляна, лійка Бюхнера, чашка для випарювання, колба конічна з притертим холодильником, сірчана кислота (1%-на); карбонат барію, вугілля тваринне, етанол, ацетат свинцю.

3 г рослинного матеріалу нагрівають протягом 30 хв. із 10–20 об'ємами 1%-ного розчину сірчаної кислоти в колбі з притертим холодильником при 145°C на масляній бані. Потім гідролізат змішують з надлишковою кількістю карбонату барію і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 15 хв. Осади сульфату барію і карбонату барію відфільтровують і фільтрат випарюють. Розчин обробляють тваринним вугіллям, фільтрують і змішують із трьома об'ємами етилового спирту. Отриманий пластівчастий осад відфільтровують, розчиняють у воді і змішують з надлишком ацетату свинцю. При нагріванні на водяній бані за наявності галактуринової кислоти утворюється цегляно-червоний осад.

Завдання до лабораторно практичного заняття № 1 II модулю.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. Атом вуглецю є асиметричним, якщо він має: а) чотири різних замісники; б) чотири атоми водню; в) подвійний зв'язок; г) потрійний зв'язок; д) два різних замісники.

2. Сполука оптично активна, якщо вона: а) забарвлена; б) безбарвна; в) містить асиметричний атом; г) побудована симетрично; д) має потрійний зв'язок.

3. Моносахариди D-Ряду генетично зв'язані: а) з D-Глюкозою; б) з D-Фруктозою; в) з D-Гліцериновим альдегідом; г) з D-Аланіном; д) з D-Рибозою.

4. Глюкоза й манноза – епімери, тобто вони: а) за просторовою будовою є дзеркальними відображеннями один одного; б) належать до підкласів альдоз і кетоз відповідно; в) є

редуючими цукрами; г) відрізняються просторовим розташуванням водню й гідроксильної групи на сусідньому з альдегідною групою вуглецевому атомі; д) обертають площину поляризації світла в протилежному напрямку на однаковий кут.

5. Глюкоза є: а) кетогексозою; б) дисахаридом; в) альдопентозою; г) альдогексозою; д) кетопентозою.

6. Фруктоза є: а) кетогексозою; б) альдогексозою; в) кетопентозою; г) альдопентозою; д) дисахаридом.

7. Полісахаридом, який складається із залишків фруктози, є: а) целюлоза; б) інулін; в) глікоген; г) декстран; д) хітин.

8. У результаті кислотного гідролізу сахарози одержують: а) тільки глюкозу; б) глюкозу й манозу; в) манозу й фруктозу; г) фруктозу й рибозу; д) фруктозу й глюкозу.

9. При повному гідролізі крохмалю утворюється: а) амілоза; б) фруктоза; в) глюкоза; г) рибоза; д) глюкозо-6-фосфат.

10. Продуктом кислотного гідролізу глікогену є: а) глюкозо-6-фосфат; б) глюкозо-1-фосфат; в) глюкоза; г) фруктозо-6-фосфат; д) рибозо-5-фосфат.

11. При розчиненні цукрів відбувається із часом зміна кута обертання до певної рівноважної величини. Це явище одержало назву: а) поляризації; б) амфотерності; в) мутаротації; г) конформаційної ізомерії; д) іонізації.

12. Реакція: АТФ + глюкоза → АДФ + глюкозо-6-фосфат здійснюється за участю: а) альдолази; б) фосфоглюкомутази; в) фосфорилази; г) фруктокінази; д) глюкокінази.

13. Ферментами гліколізу є всі перераховані, окрім: а) енолази, б) фосфорилази; в) піруваткінази; г) фосфоглюкомутази; д) глюкокінази.

14. Ферментом, що не бере участь у гліколізі, є: а) альдолаза; б) фосфорилаза; в) енолаза; г) піруваткіназа; д) фосфоглюкомутаза.

15. Для перетворення фруктозо-6-фосфату у фруктозо-1,6-дифосфат, окрім відповідного ферменту, необхідний: а) АДФ; б) НАДФ; в) коензим А; г) АТФ; д) фруктозо-1-фосфат.

16. Коферментом глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази є: а) НАД; б) НАДФ; в) ФМН; г) ФАД; д) тіамініпрофосфат.

17. Гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа містить у зв'язаному з білком стані: а) НАД; б) НАДФ; в) АТФ; г) Cu^{2+} ; д) ФМН.

18. Перетворення глюкозо-6-фосфату у фруктозо-1,6-дифосфат здійснюється в присутності: а) фосфоглюкомутази й фосфорилази; б) фосфоглюкомутази й альдолази; в) глюкозофосфат-ізомерази й фосфоглюкомутази; г) глюкозофосфат-ізомерази й альдолази; д) фосфоглюкомутази й фосфоглюкомутази.

19. Розклад фруктозо-1,6-дифосфата на дві фосфотріози каталізують ферменти: а) енолаза; б) альдолаза; в) тріозофосфат-ізомераза; г) фруктозодифосфатаза; д) глюкозофосфат-ізомераза.

20. Взаємоперетворення глюкозо-1-фосфату й глюкозо-6-фосфату каталізує фермент: а) глюкозо-6-фосфатаза; б) енолаза; в) глюкозофосфат-ізомераза; г) фосфоглюкомутаза; д) фосфоглюкомутаза.

21. Окисне декарбоксилювання піровиноградної кислоти здійснюється за участю: а) тільки тіамініпрофосфата; б) тільки ФАД; в) тільки ліпоєвої кислоти; г) тільки коензима А; д) всіх перерахованих коферментів.

22. Глюкозо-6-Фосфат перетворюється в рибулозо-5-фосфат у результаті каталітичної дії: а) глюкозофосфат-ізомерази; б) глюконолактонази; в) глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази; г) глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази й декарбоксилюючої фосфоглюконатдегідрогенази; д) глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази, глюконолактонази й декарбоксилюючої фосфоглюконатдегідрогенази.

23. Реакцію утворення глюкозо-1-фосфату із глікогену прискорює фермент: а) глюкокіназа; б) фосфоглюкомутаза; в) фосфорилаза; г) фосфатаза; д) глюкозофосфат-ізомераза.

24. Дегідратація 2-фосфогліцеринової кислоти з утворенням 2-фосфоенолпіровиноградної кислоти: а) прискорюється тріозофосфат-ізомеразою; б) гальмується йонами магнію; в) вимагає АТФ; г) супроводжується підвищенням енергетичного рівня фосфатного зв'язку в продукті реакції; д) активується іоном фтору.

25. Повне окислення молекули глюкози по дихотомічному шляху за участю циклу ди- і трикарбонових кислот в окисненні пірувата, а малатного човникового механізму переносу

позамітохондріального НАД·Н і сполучення його з фосфорилуванням, супроводжується біосинтезом макроергічних зв'язків у кількості: а) 12; б) 30; в) 35; г) 38; д) 100.

26. При гліколізі 1 моль глюкози дає: а) 1 моль АТФ; б) 2 моль АТФ; в) 8 моль АТФ; г) 30 моль АТФ; д) 50 моль АТФ.

27. Взаємодія рибозо-5-фосфату із ксилулозо-5-фосфатом, що супроводжується утворенням седогептулозо-7-фосфату й 3-фосфогліцеринового альдегіду, є: а) реакцією трансглікозування; б) реакцією трансфосфорилування; в) транскетолазною реакцією; г) трансальдолазною реакцією; д) реакцією трансамінування.

28. Перенесення фосфатної групи від фосфоенолпірувата на АДФ із утворенням пірувата й АТФ каталізується: а) піруваткіназою; б) кіназою фосфорилази; в) гексокіназою; г) карбаматкіназою; д) фосфогліцераткіназою.

29. Окисне декарбокисилування піровиноградної кислоти в аеробних умовах закінчується утворенням: а) ацетил-КоА; б) молочної кислоти; в) α -кетоглутарової кислоти; г) фумарової кислоти; д) лимонної кислоти.

30. УДФ-глюкоза окислюється ферментативно в УДФ-глюкуронат у присутності: а) АТФ; б) ФМН; в) НАДФ; г) ФАД; д) НАД.

31. Синтез ГТФ у циклі ди- і трикарбонових кислот сполучений з перетворенням: а) α -кетоглутарової кислоти в янтарну; б) фумарової кислоти в яблучну; в) янтарної кислоти у фумарову; г) з лимонної кислоти в α -кетоглутарову; д) лимонної кислоти в *цис*-аконітову.

32. Метаболітом циклу ди- і трикарбонових кислот є: а) піровиноградна кислота; б) оцтова кислота; в) пропіонова кислота; г) β -оксимаєляна кислота; д) ізолимонна кислота.

33. Ацетил-КоА конденсується із щавелевооцтовою кислотою за допомогою ферменту з утворенням: а) піровиноградної кислоти; б) лимонної кислоти; в) янтарної кислоти; г) α -кетоглутарової кислоти; д) *цис*-аконітової кислоти.

34. У циклі ди- і трикарбонових кислот не спостерігається реакція: а) дегідратації лимонної кислоти з утворенням *цис*-аконітової кислоти; б) окисного декарбокисилування α -кетоглутарової кислоти з утворенням сукциніл-КоА; в) гідратації фумарової кислоти; г) декарбокисилування лимонної кислоти з утворенням оксалосукцината; д) дегідрування янтарної кислоти.

35. У мітохондріях локалізовані ферменти: а) тільки цитохромоксидаза; б) тільки аконітатгідратаза; в) тільки сукцинатдегідрогеназа; г) тільки малатдегідрогеназа; д) всі перераховані.

36. Малонова кислота блокує: а) перетворення янтарної кислоти у фумарову; б) перетворення *цис*-аконітової кислоти; в) обмін яблучної кислоти; г) утворення АТФ; д) реакцію конденсації ацетату із щавелевооцтовою кислотою.

37. Перетворення глюкозо-6-фосфату в глікоген через глюкозо-1-фосфат вимагає наявності фосфоглюкомутази, затравки, а також: а) енолази; б) фосфорилази; в) аміло-1,6-глюкозидази; г) глюкозо-6-фосфатази; д) альдолази.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і В), наведені в кожному пункті і дайте відповідь у формі: А > В; В > А; А = В.

1. А. Кількість глюкози, отриманої при гідролізі одного моля лактози. В. Кількість глюкози, отриманої при гідролізі одного моля мальтози.

2. А. Число α -1,4'-глікозидних зв'язків у молекулі глікогену. В. Число α -1,6'-глікозидних зв'язків у молекулі глікогену.

3. А. Середня довжина 1,4'-поліглікозидних фрагментів у молекулі глікогену. В. Середня довжина 1,4'-поліглікозидних фрагментів у молекулі крохмалю.

4. А. Молекулярна маса препаратів амілози. В. Молекулярна маса препаратів амілопектину.

5. А. Молекулярна маса м'язової фосфорилази А. В. Молекулярна маса м'язової фосфорилази В.

6. А. Співвідношення НАД·Н/НАД у клітині в аеробних умовах. В. Співвідношення НАД·Н/НАД у клітині в анаеробних умовах.

7. А. Число точок сполучення окислення з фосфорилуванням на рівні субстрату при гліколізі. В. Число точок сполучення окислення з фосфорилуванням на рівні субстрату при глікогенолізі.

8. А. Енергетичний ефект окислення піровиноградної кислоти до CO_2 і H_2O . В. Енергетичний ефект гліколізу.

9. А. Енергетичний ефект перетворення сукциніл-КоА в янтарну кислоту в циклі ди- і

трикарбонових кислот. Б. Енергетичний ефект перетворення α -кетоглутарової кислоти в сукциніл-КоА в циклі ди- і трикарбонових кислот.

10. А. Енергетичний ефект перетворення фумарової кислоти в щавелевооцтову кислоту в циклі ди- і трикарбонових кислот. Б. Енергетичний ефект перетворення ізолимонної кислоти в α -кетоглутарову кислоту в циклі ди- і трикарбонових кислот.

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) При відновленні альдоз і кетоз утворюються багатоатомні спирти; б) циклічні форми моносахариду в розчині, як правило, різко переважають над відкритою ланцюговою формою; в) глікозидний гідроксил моносахариду набагато активніше вступає в хімічні реакції, ніж інші гідроксильні групи молекули; г) рацемати моносахаридів оптично неактивні внаслідок молекулярної симетрії.

2. Моносахариди представлені: а) безбарвними рідинами; б) неполярними сполуками; в) речовинами, погано розчинними в органічних розчинниках; г) сполуками, добре розчинними у воді.

3. а) Полісахариди – високомолекулярні сполуки, що містять залишки моносахариду тільки одного виду; б) продуктами гідролізу багатьох полісахаридів є гексози й їх похідні; в) за хімічною будовою дисахариди є глікозидами моносахаридів, агліконами яких служать також залишки моносахаридів; г) всі дисахариди мають кільцасто-ланцюгову таутомерію.

4. а) Вміст глікогену в тканині визначають шляхом її обробки гарячим 30%-ним лугом, осадженням глікогену з отриманого розчину етиловим спиртом, наступним кислотним гідролізом осаду й кількісним визначенням мальтози, що утворюється; б) глікоген повністю гідролізується в присутності β -Амілази; в) глікоген – білий аморфний порошок, легко розчиняється у воді з утворенням опалесцентних розчинів; г) глікоген легко гідролізується міцним гарячим розчином лугу.

5. а) Фосфорні ефіри моносахаридів – метаболічно інертні сполуки; б) аномери не мають оптичної активності; в) найбільш стійкими конформаціями піранозного циклу моносахаридом є креслоподібні; г) початковим етапом обміну глюкози в організмі є фосфорилювання її з утворенням глюкозо-6-фосфата.

6. а) Для біосинтезу 1,3-дифосфогліцеринової кислоти необхідний неорганічний фосфат; б) дегідрогеназа фосфогліцеринового альдегіду містить як кофермент НАД, який може бути вилучений при обробці ферменту активованим вугіллям; в) одна зі стадій гліколізу заключається в окисненні глюкозо-6-фосфату у фосфоглюконову кислоту; г) при перетворенні 2-фосфогліцеринової кислоти в піровиноградну відбувається сполучення окислення з фосфорилюванням на рівні субстрату.

7. а) Фосфорилаза містить піридоксальфосфат як кофермент; б) молекулярна маса фосфорилази В дорівнює половині молекулярної маси фосфорилази А; в) фосфорилаза В може бути частково активована 5'-АМФ; г) активація фосфорилази В у фізіологічних умовах здійснюється за допомогою ферменту, який називається кіназою фосфорилази В.

8. а) α -глікозидаза прискорює реакцію гідролізу α -глікозидів, у тому числі мальтози; б) всі відомі амілази розщеплюють тільки α -1,4'-глікозидні зв'язки; в) сахараза каталізує гідроліз сахарози, що супроводжується зміною кута обертання площини поляризації світла із правого на лівий (явище інверсії обертання); г) аміло-1,6-глікозидаза характерна для тваринних тканин.

9. а) Характерною рисою апотомічного шляху розкладу глюкозо-6-фосфату є повне окислення глюкози незалежно від циклу ди- і трикарбонових кислот; б) у процесі апотомічного розкладу глюкозо-6-фосфату накопичується НАДФН; в) апотомічний шлях розпаду глюкозо-6-фосфату має більш високий енергетичний ефект, ніж гліколіз; г) апотомічний шлях розпаду глюкозо-6-фосфату призводить до утворення як метаболітів фосфорних ефірів моносахаридів із числом вуглецевих атомів від 3 до 7.

10. а) Реакції окислення в циклі ди- і трикарбонових кислот характеризуються наявністю однієї точки сполучення окислення з фосфорилюванням на рівні субстрату; б) на окислення кожного ацетильного залишку в циклі ди- і трикарбонових кислот затрачається п'ять атомів кисню; в) у циклі ди- і трикарбонових кислот чотири реакції дегідрування; г) на одному з етапів циклу ди- і трикарбонових кислот утворюється щавлева кислота.

11. а) При гліколізі сполучення синтезу АТФ із окисленням здійснюється на стадії дії альдолази

на фруктозо-1,6-дифосфат; б) перетворення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти в 3-фосфогліцеринову кислоту супроводжується синтезом молекули АТФ; в) утворення пірувата з 2-фосфоенолпірувата пов'язане з переносом фосфатної групи від фосфоенолпірувата на АДФ із утворенням АТФ; г) перехід 2-фосфогліцеринової кислоти в 2-фосфоенолпіруват супроводжується синтезом молекули АТФ.

12. а) При глікогенолізі АТФ витрачається на етапі перетворення фруктозо-6-фосфату у фруктозо-1,6-дифосфат; б) окислення 3-фосфогліцеринового альдегіду в 1,3-дифосфогліцеринову кислоту супроводжується витратою АТФ; в) перетворення глюкозо-1-фосфату в глюкозо-6-фосфат призводить до розпаду АТФ на АДФ і фосфорну кислоту; г) фосфороліз оліго- і полісахаридів вимагає наявності АТФ.

13. а) При гліколізі 3-фосфогліцеринова кислота утворюється в результаті окислення 3-фосфогліцеринового альдегіду; б) у результаті дії тріозофосфат-ізомерази на фосфодіокси-ацетон утворюється 3-фосфогліцеринова кислота; в) перетворення 2-фосфогліцеринової кислоти при участі енолази приводить до утворення 3-фосфогліцеринової кислоти; г) у процесі фотосинтезу першим стабільним продуктом фіксації CO₂ є 3-фосфогліцеринова кислота.

14. а) Глюкозо-6-Фосфат в організмі утворюється з фосфоглюконової кислоти при каталітичній дії фосфоглюконатдегідрогенази; б) при каталітичній дії глюкозофосфат-ізомерази на фруктозо-6-фосфат утворюється глюкозо-6-фосфат; в) глюкокіназа прискорює перенесення залишку фосфорної кислоти від молекули АТФ до глюкози з утворенням глюкозо-6-фосфату; г) із глюкозо-1-фосфату при каталітичній дії фосфоглюкомутази утворюється глюкозо-6-фосфат.

15. а) Фруктозо-6-фосфат виникає при гліколізі в результаті реакції ізомеризації глюкозо-6-фосфату; б) при каталітичній дії альдолази на фруктозо-1,6-дифосфат утворюється фруктозо-6-фосфат; в) трансальдолазні й транскетолазні реакції при апотомічному розпаді глюкозо-6-фосфату призводять в остаточному підсумку до утворення фруктозо-6-фосфату; г) глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна реакція апотомічного розпаду глюкозо-6-фосфату призводить до утворення 6-фосфоглюконолактона.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Альдотріоза. Б. Кетотріоза. В. Похідне моносахарида. Г. Олігосахарид. Д. Полісахарид. а) Гліцериновий альдегід; б) хітин; в) діоксиацетон; г) глюконова кислота; д) мальтоза.

2. А. Декстран. Б. Хітин. В. N-Ацетилглюкозамін. Г. Хондротинсульфат. Д. Гепарин. а) Складова частина хряща, що розпадається при гідролізі до глюкуронової кислоти й N-Ацетилгалактозамінсульфата; б) полісахарид, що перешкоджає згортанню крові у тварин і людини; в) полісахарид, елементарною структурною одиницею якого є N-Ацетил-β, D-глюкозамін, з'єднаний β-1,4'-глікозидними зв'язками в лінійну молекулу; г) полісахарид, що продукується деякими видами бактерій і є вихідною сполукою для одержання сефадексів; д) структурний елемент гіалуронової кислоти й гепарину.

3. А. Фурфурол. Б. Цукрова кислота. В. D-Сорбіт. Г. Мурашина кислота. Д. D-Манніт. а) Продукт відновлення глюкози воднем у присутності нікелю; б) продукт дегідратації пентоз сильними мінеральними кислотами; в) продукт відновлення D-Фруктози; г) продукт окислення глюкози нітратною кислотою; д) продукт окислення глюкози перйодатом.

4. А. Аміло-1,6-глюкозидаза. Б. α-глюкан-розгалуджуюча-глікозилтрансфераза. В. Фосфорилаза. Г. Кіназа фосфорилази. Д. Глюкозо-6-фосфатаза. а) Каталізує перенесення частини поліглікозидного ланцюга у 1,4-глюкана з положення 4 у положення 6; б) розщеплює α-1,4'-зв'язки в глікогені; в) розщеплює α-1,6'-зв'язки в амілопектині; г) активує фосфорилазу В шляхом її фосфорилування; д) каталізує реакції утворення вільної глюкози як при біосинтезі її в процесі глюконеогенеза, так і при розпаді глікогену.

5. А. Трансальдолаза. Б. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа. В. Пентозофосфат-ізомераза. Г. Пентозофосфат-епімераза. Д. Транскетолаза. а) Містить як кофермент НАДФ; б) прискорює реакцію перетворення рибулозо-5-фосфату в ксилулозо-5-фосфат; в) каталізує утворення молекули седогептулозо-7-фосфату з рибозо-5-фосфату й ксилулозо-5-фосфату; містить тіамінпірофосфат як кофермент і катіони двовалентних металів; г) забезпечує каталітичне перенесення залишку діоксиацетону від кетози – донора (седогептулозо-7-фосфату або фруктозо-6-фосфату) на альдозу – акцептор (3-фосфогліцериновий альдегід або еритрозо-4-фосфат); д) каталізує перетворення рибозо-5-фосфату у рибулозо-5-фосфат.

6. А. НАД. Б. НАДФ. В. НАД і НАДФ. Г. Не НАД, не НАДФ. а) Кофермент ізоцитратдегідрогенази; б) кофермент малатдегідрогенази; в) кофермент сукцинатдегідрогенази; г) кофермент глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Обчисліть об'єм молекули глюкози (нм^3), якщо густина її $1,56 \text{ г/см}^3$. Молекулярна маса глюкози дорівнює 180,16.
2. Водний розчин, що містить 0,388 г цукру в 100 мл, має осмотичний тиск, рівний 380 мм.рт ст. при температурі 10°C . Визначте молекулярну масу цукру.
3. При обробці 100 мг препарату целюлози періодатом утворилося 0,001 ммоль мурашиної кислоти. Розрахуйте середнє число залишків глюкози в молекулах целюлози, що міститься в препараті, якщо відомо, що при окисленні целюлози періодатом з її кінцевого глюкозного залишку, який не відновлюється, утворюється 1 моль мурашиної кислоти, з кінцевого залишку, що відновлюється – 2 моль мурашиної кислоти, при окисленні проміжних ланок відбувається розрив зв'язку між другим і третім атомами вуглецю кожного глюкозного залишку, але мурашина кислота не утворюється.
4. При обробці 100 мг препарату амілози періодатом утворилося 0,003 ммоль мурашиної кислоти. Визначте число залишків глюкози, що входять до складу молекул амілози, яка міститься в препараті.
5. 15,2 г глікогену метилювали, а потім отриманий продукт гідролізували. У результаті зазначеної обробки утворилося 8,9 ммоль 2,3-диметилглюкози. Розрахуйте: а) частку залишків глюкози (%), які мають α -1,6'-глікозидний зв'язок; б) число залишків глюкози, що доводиться на один α -1,6'-глікозидний зв'язок; в) кількість 2,3,6-триметилглюкози (ммоль), яка утворилася в результаті зазначеної обробки глікогену; г) число залишків глюкози в молекулі глікогену з молекулярною масою останнього, рівною $1,8 \cdot 10^6$.
6. Складіть, включаючи необхідні процеси фосфорилювання, сумарні рівняння реакцій перетворення: а) D-Фруктози в молочну кислоту; б) D-Маннози в 2-фосфоенолпіровиноградну кислоту; в) глюкозо-1,6-дифосфата в етанол і оксид вуглецю (IV).
7. Назвіть сполуки, які можуть утворитися при дії м'язової альдолази на суміш, що складається із фруктозо-1,6-дифосфата, D-гліцеринового альдегіду й ацетальдегіду.
8. Напишіть сумарне рівняння реакції перетворення фруктозо-1,6-дифосфата в 2-фосфоенолпіровиноградну кислоту в присутності арсеніту, якщо відомо, що останній гальмує реакції фосфорилювання.
9. Напишіть сумарне рівняння реакції повного окислення фруктозо-6-фосфату в процесі гліколізу й реакцій циклу ди- і трикарбонових кислот (за умови, що позамітохондріальний НАД \cdot Н переноситься усередину мітохондрії за допомогою малатного човникового механізму).
10. Напишіть сумарне рівняння реакції перетворення $^{14}\text{C}(3)$ -глюкози в рибозо-5-фосфат. Який вуглецевий атом рибозо-5-фосфату буде міченим?
11. Напишіть сумарне рівняння реакції ресинтезу глюкозо-6-фосфату з рибозо-5-фосфату при апотомічному розпаді вуглеводів. Відзначте, який (або які) атом вуглецю глюкозо-6-фосфату буде міченим, якщо в рибозо-5-фосфату таким був перший вуглецевий атом.
12. Напишіть сумарне рівняння реакції окислення лимонної кислоти в циклі ди- і трикарбонових кислот, знаючи, що сукцинатдегідрогеназа повністю загальмована малоновною кислотою.
13. Малонова кислота й субстрати, що містять радіоактивний ізотоп вуглецю, були додані до м'язового гомогенату. З інкубаційного середовища виділили проміжні продукти циклу ди- і трикарбонових кислот. Визначте позицію мітки в метаболітах циклу ди- і трикарбонових кислот, якщо: а) $^{14}\text{C}(3)$ - 3-фосфогліцериновий альдегід \rightarrow α -кетоглутарову кислоту; б) $^{14}\text{C}(2)$ -оцтова кислота \rightarrow лимонну кислоту; в) $^{14}\text{C}(6)$ - фруктозо-6-фосфат \rightarrow янтарну кислоту.
14. Яка концентрація молочної кислоти в розчині (моль), якщо він має рН, рівний 5,3? Константа дисоціації молочної кислоти дорівнює $1,38 \cdot 10^{-4}$.
15. Дихальний коефіцієнт – це відношення об'ємів вуглекислого газу, що утворюється, і кисню, що поглинається. Визначте величину дихального коефіцієнта при повному окисленні: а) глюкози, б) піровиноградної кислоти, в) щавелевооцтової кислоти, г) α -кетоглутарової кислоти, д) лимонної кислоти.
16. Реакції, пов'язані з асиміляцією вуглекислого газу в зелених рослинах, були детально вивчені за допомогою методу радіоактивної мітки. Зелений листок протягом короткого відрізка часу освітлювали в присутності $^{14}\text{CO}_2$, а потім виділяли з нього: а) глюкозо-6-фосфат, б) рибозо-5-

фосфат, в) 3-фосфогліцеринний альдегід. Відзначте, у яких позиціях у зазначених сполуках виявиться мітка.

17. Складіть сумарне рівняння реакції біосинтезу глюкози з пірвіноградної кислоти.

18. Складіть сумарне рівняння реакції біосинтезу глюкози з лимонної кислоти.

19. Складіть сумарне рівняння реакції збільшення поліглікозидного ланцюга глікогену на один залишок глюкози, якщо остання утворилася з пірвіноградної кислоти. Скільки макроергічних фосфатних зв'язків розпадається при здійсненні цієї реакції?

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 6.

Ліпіди їх обмін у живих організмах. Визначення констант жирів.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Біологічна роль ліпідів в організмі.
2. Перетравлювання та всмоктування ліпідів.
3. Жири, їх гідроліз. Перетворення гліцерину в організмі.
4. Ресинтез, біосинтез, ліполіз.
5. Механізм α - та β -окислення вищих жирних кислот.
6. Обмін ацетил-КоА.
7. Гліоксилевий цикл.
8. Механізм біосинтезу вищих жирних кислот.
9. Синтез тригліцеридів.
10. Обмін холіну.
11. Механізм біосинтезу фосфатидів.
12. Гліколіпіди, їх склад та будова.
13. Регуляція ліпідного обміну.

Практична частина

Визначення насиченості жирів

Ненасиченість жиру залежить від присутності у його складі ненасичених жирних кислот. Ненасичені сполуки легко приєднують по два атоми галогену по місцю кожного подвійного зв'язку. За звичай ступінь ненасиченості визначають йодним числом. Йодне число вимірюється кількістю грамів йоду, яка приєднується до 100 г жиру.

Йодне число є одним з найважливіших хімічних показників для масел (жирів). Воно дозволяє судити про ступінь ненасиченості масла (жиру), про схильність його до висихання, згіркнення та інших змін, що відбуваються при зберіганні і переробці харчових і технічних масел.

З подвійними зв'язками, окрім йоду, реагують також і інші галогени – хлор і бром. Проте вони не тільки приєднуються по подвійних зв'язках, але і заміщають атоми водню в радикалі. Йод же реагує переважно з подвійними зв'язками.

Порівняння ненасиченості різних жирів.

Устаткування та реактиви. Ваги торзійні; мікробюретка; пробірки скляні хімічні; піпетка з однією міткою на 3 мл; хлороформ; йод (0,001 н.) у хлороформі; різні жири (коров'яче масло, свиняче сало, соняшникова олія, маргарин).

Відважують у пробірки по 0,5 г різних жирів (свиняче сало, коров'яче масло, маргарин, соняшникова олія). Розчиняють кожний жир у 3 мл хлороформу і титрують з мікробюретки 0,001 н. розчином йоду в хлороформі до виразного рожевого забарвлення. Записують об'єм розчину йоду, що пішов на насичення кожного виду жиру. Розташовують досліджені жири по зменшенню ступеня насиченості.

Визначення йодного числа

Устаткування та реактиви. Ваги аналітичні; пробірки скляні хімічні; піпетка градуйована на 10 мл; колби конічні на 250 мл з пробками (2 шт.); бюретка з краном на 25 мл; циліндр мірний на 100 мл; рослинне масло; спирт етиловий; розчин йоду (0,2 н.) в спирті (96%-ному); (25,4 г йоду переносять в мірну колбу на 1000 мл і розчиняють в спирті); розчин тіосульфату (0,1 н.); крохмаль (0,5%-ний).

У суху конічну колбу місткістю 250 мл з пришліфованою скляною пробкою поміщають досліджуване масло. Наважку беруть на аналітичних терезах таким чином: зважують склянку (з-під пеніциліну) з маслом і піпеткою в пробці, потім відміряють піпеткою в колбу 3 – 4 краплі масла і знову зважують склянку. По різниці мас визначають величину наважки масла в колбі. В колбу додають 25 мл спирту для розчинення наважки. Якщо масло погано розчиняється, можна

підігріти колбу на водяній бані. В другій колбі ставлять «сліпий дослід» (контроль), тобто беруть в неї тільки 25 мл спирту. В кожну колбу (дослід і контроль) додають по 12,5 мл 0,2 н. спиртового розчину йоду (з бюретки), змішують, підливають по 100 мл дистильованої води і добре струшують, закривши пробкою. Через 5 хвилин вміст колб відтитровують 0,1 н. розчином тіосульфату спочатку до появи слабо-жовтого забарвлення, а потім, додавши 1 мл розчину крохмалю, титрують до зникнення синього забарвлення.

Різниця між кількістю 0,1 н. розчину тіосульфату, який був витрачений на титрування дослідів і контролю, є показником кількості йоду, зв'язаного з наважкою масла. Йодне число (в г) обчислюють за формулою:

$$\text{Йодне число} = \frac{(V_1 \times V_2) \times 0,0127 \times 100}{a}$$

де V_1 – кількість 0,1 н. розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, який витратився на титрування контролю (в мл); V_2 – кількість 0,1 розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, який витратився на титрування в досліді (в мл); 0,0127 – титр тіосульфату по йоду; a – наважка жиру (в г).

Розбіжності в паралельних дослідів допускаються лише в десятих частках одержуваних йодних чисел.

Визначення кислотного числа жирів

Кислотне число характеризує кислотність жиру і вимірюється кількістю міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Кислотне число разом з іншими фізико-хімічними показниками характеризує якість масла. Наприклад, якщо масло було отримано із зрілого насіння, то вільних жирних кислот в ньому мало, в маслі ж з незрілого насіння вміст вільних жирних кислот значно більший. При зберіганні масла спостерігається гідроліз гліцеридів, який призводить до накопичення вільних жирних кислот, тобто до зростання кислотності. Підвищена кислотність масла вказує на зниження його якості.

Метод визначення кислотного числа оснований на тому, що вільні жирні кислоти, які є в маслі, відтитровують 0,1 н. розчином КОН. Титрування краще проводити гідроксидом калію, а не гідроксидом натрію, оскільки калієве мило, що утворюється, краще розчиняється в умовах дослідів.

Устаткування та реактиви. Ваги аналітичні; колба конічна на 50 або 100 мл; циліндри мірні на 10 або 25 мл; піпетка з однією міткою на 1 або 2 мл; бюретка з краном на 25 або 50 мл; суміш спирту з сірчанним ефіром (1:1); гідроксид калію (0,1 н.) в спирті (96%-ному); масло рослинне або жир тваринний.

Наважку масла для визначення беруть на аналітичних терезах по різниці мас (як і в попередньому досліді). Для визначення кислотного числа наважку жиру (масла) в 2 – 3 г, зважену на аналітичних терезах, поміщають в конічну колбу місткістю 50 – 100 мл і розчиняють в 10 – 15 мл нейтральної суміші спирту і ефіру (1 : 1). Для нейтралізації до суміші спирту і ефіру (1:1) додають 3 – 4 краплі фенолфталеїну і потім по краплях 0,1 н. спиртовий розчин гідроксиду калію, до появи слабого рожевого забарвлення. Після розчинення жиру вносять 1 – 2 краплі розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 н. спиртовим розчином гідроксиду калію до слабо-рожевого забарвлення. Забарвлення після збовтування не повинно зникати протягом 0,5 – 1 хвилин.

Кислотне число обчислюють за формулою:

$$\text{Кислотне число} = \frac{V \times T}{a}$$

де V – кількість (в мл) 0,1 н. розчину КОН, який був витрачений на титрування узяті наважки жиру; T – титр 0,1 н. розчину гідроксиду калію (в мг); a – наважка жиру (в г).

Визначення числа омилення жирів

Числом омилення називається кількість міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації як вільних, так і зв'язаних (у формі гліцеридів) жирних кислот, що містяться в 1 г масла.

Вміст вільних жирних кислот у маслі характеризується кислотним числом (див. вище), а вміст зв'язаних у вигляді ефірів кислот – ефірним числом, тобто кількістю міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації жирних кислот, що утворюються при омиленні ефірних зв'язків в 1 г масла.

Експериментально ефірне число визначається по різниці між числом омилення та кислотним числом.

Устаткування та реактиви. Ваги аналітичні: водяна баня; колби конічні на 50 мл із зворотними холодильниками (2 шт.); піпетки з однією міткою на 1 мл; бюретки з краном на 25 або 50 мл (2 шт); гідроксид калію (0,5 н.) в спирті (90%-ному); соляна кислота (0,5 н, титрована); фенолфталеїн (1%-ний).

В одну колбу місткістю 50 мл вносять 0,5 г жиру, відваженого на аналітичних терезах, а в іншу – 0,5 мл води. Потім в обидві колби додають з бюретки по 15 мл 0,5 н. спиртового розчину гідроксиду калію. Колби закривають пробками зі зворотними повітряними холодильниками (довжина 70 см) і нагрівають на киплячій водянній бані протягом 30 – 40 хвилин при періодичному струшуванні. Стежать, щоб рідина в колбі слабо кипіла і щоб верхня частина трубки не нагрівалася. Після закінчення омилення в кожну колбу додають по 15 – 20 мл води, по 3 – 4 краплі фенолфталеїну і титрують 0,5 н. розчином соляної кислоти до зникнення рожевого забарвлення (визначають кількість лугу, що не зв'язався). Виходячи з того, що 1 мл 0,5 н. розчину гідроксиду калію відповідає його масі у 28 мг, розрахунок числа омилення проводять за формулою:

$$\text{Число омилення} = \frac{(V_1 - V_2) \times 28}{a}$$

де V_1 – кількість (в мл) 0,5 н. розчину HCl, який був витрачений на титрування контролю (колба з водою); V_2 – кількість (в мл) 0,5 н. розчину HCl, який був витрачений на титрування досліду (колба з жиром); a – наважка жиру (в г).

Завдання до лабораторно-практичної роботи № 2 II модуля.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. Ліпіди – природні органічні сполуки: а) добре розчинні у воді; б) нерозчинні в бензені; в) нерозчинні в сульфатному ефірі; г) розчинні в жиророзчинниках; д) розчинні в кислотах.

2. Складні ефіри вищих жирних кислот із гліцерином, вищими або поліциклічними спиртами становлять групу: а) складних ліпідів; б) ліпоїдів; в) простих ліпідів; г) фосфатидів; д) гліколіпідів.

3. Складні ліпіди поряд із залишками багатоатомних спиртів і вищих жирних кислот включають також у свою молекулу залишки: а) поліамінополікарбонових кислот; б) поліізопреноїдів; в) поліциклічних спиртів; г) азотистих основ або вуглеводів і фосфорної кислоти; д) пептидів.

4. Ліпіди у вигляді комплексів з білками входять до складу: а) синтетази вищих жирних кислот; б) вірусу тютюнової мозаїки; в) рибонуклеопротейдних часток; г) мультиензимних комплексів; д) мембранного апарата клітини.

5. Фосфоліпідом є: а) ланолін; б) кефалін; в) пальмітохолестерид; г) спермацет; д) цереброзид.

6. Линолева й ліноленова кислоти складають найбільшу фракцію вищих жирних кислот: а) кокосового масла; б) арахісового й соєвого масел; в) рапсового масла; г) лляного, конопляного й соняшникового масел; д) пальмового масла.

7. Охороняє волосся й шкіру тварин від дії води віск: а) спермацет; б) бджолиний; в) кармаубський; г) ланолін; д) монтанний.

8. У 1867 р. К.С. Дьяконовим уперше була встановлена наявність у лецитинах азотистого інгредієнта: а) коламіну; б) холіну; в) серину; г) треоніну; д) спермідину.

9. При відділенні сфінголіпідів від інших фосфоліпідів використовують їх виборче відношення до розчинника: а) чотирьоххлористому вуглеці; б) бензені; в) сульфатному ефірі; г) бензину; д) сірковуглеці.

10. α -складноєфірні зв'язки в молекулах тригліцеридів піддаються ферментативному гідролізу за участі: а) фосфоліпази; б) алістерази; в) ліпази; г) неспецифічної естерази; д) ацетилхолінестерази.

11. Гліцерин, що утворюється при розкладі тригліцеридів, незалежно від шляху його подальшого перетворення в організмі насамперед: а) окислюється; б) фосфорилується; в) відновлюється; г) метилюється; д) ацилюється.

12. Вищі жирні кислоти в процесі їхнього деструктивного обміну руйнуються переважно шляхом: а) відновлення; б) ω -окислення; в) β -окислення; г) α -окислення; д) декарбоксілювання.

13. Мультиензим, здатний здійснити весь цикл реакцій біосинтезу вищої жирної кислоти, одержав назву: а) гідратази вищих жирних кислот; б) синтетази вищих жирних кислот; в) ацилтрансферази; г) трансацилази; д) ацетил-КоА-карбоксилази.

14. При біосинтезі вищих жирних кислот у мембрані ендоплазматичного ретикулуму клітини вуглекислий газ використовується: а) для утворення пірувата; б) при перетворенні малоніл-КоА в β -кетобутирил-КоА; в) для синтезу $\text{CH}_3\text{CO}-\text{CoA}$ з одновуглецевих фрагментів; г) для АТФ – залежного синтезу малоніл-КоА з ацетил-КоА; д) при переході β -кетואцилпохідних у β -

оксиацилпохідні.

15. Фосфатидна кислота синтезується в результаті: а) фосфорилювання гліцерину; б) відновлення фосфодіоксиацетону; в) гідролізу складних ефірів; г) розщеплення фосфо-ангідридів вищих жирних кислот; д) трансацилювання гліцерофосфату.

16. Серед продуктів деструкції холестеролу найбільш окисленими є: а) дигідрохолестероли; б) 7,12-діоксидигідрохолестероли; в) стероїдні гормони; г) холеві кислоти; д) 7-оксидигідрохолестероли.

17. У результаті дії пірофосфомевалонатдекарбоксилази (дегідратууючої) на пірофосфомевалонову кислоту утворюється: а) малоніл-КоА; б) диметилалілпірофосфат; в) β -метилглутарил-КоА; г) ізопентенілпірофосфат; д) геранілпірофосфат.

18. Лізолецитин утворюється з лецитину за участю: а) фосфоліпази С; б) фосфоліпази А; в) фосфоліпази В; г) фосфоліпази D; д) ліпази.

19. Донором фосфохоліну при біосинтезі фосфатидів є: а) уридиндифосфохолін; б) цитидиндифосфохолін; в) гуанозиндифосфохолін; г) аденозиндифосфохолін; д) тимідиндифосфохолін.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті, і дайте відповідь у формі: А > Б, Б > А; А = Б.

1. А. Точка плавлення тригліцеридів, які містять залишки ненасичених кислот і кислот з коротким вуглецевим ланцюгом. Б. Температура плавлення тригліцеридів, які містять залишки вищих насичених карбонових кислот.

2. А. Швидкість гідролізу α -складноефірних зв'язків у тригліцеридах під дією панкреатичної ліпази. Б. Швидкість гідролізу β -складноефірних зв'язків в тригліцеридах під дією специфічної ліпази.

3. А. Розчинність ліпідів за відсутності солей жовчних кислот у кишечнику. Б. Розчинність ліпідів за наявності солей жовчних кислот – таурохолату й глікохолату натрію.

4. А. Температура плавлення барячого жиру. Б. Температура плавлення свинячого жиру.

5. А. Йодне число лінолевої кислоти. Б. Йодне число олеїнової кислоти.

6. А. Співвідношення стеролів і стероїдів у печінці тварин. Б. Співвідношення стеролів і стероїдів у жовчі.

7. А. Вміст холестеролу в сірій речовині мозку. Б. Вміст холестеролу в білій речовині мозку.

8. А. Вміст фосфатидилхолінів у природних об'єктах. Б. Вміст фосфатидилсеринів у природних об'єктах.

9. А. Вміст залишків фосфорної кислоти в молекулі фосфатидилхоліну. Б. Вміст залишків фосфорної кислоти в молекулі фосфатидилсерину.

10. А. Швидкість біологічного окислення жирних кислот з довгим вуглецевим ланцюгом за наявності карнітину. Б. Швидкість біологічного окислення вищих жирних кислот за відсутності карнітину.

11. А. Вплив гідрокарбонату на окислення вищих жирних кислот в організмі. Б. Вплив гідрокарбонату на синтез вищих жирних кислот в організмі.

12. А. Активність ацетил-КоА-карбоксилази за наявності цитрату й ізоцитрату. Б. Активність ацетил-КоА-карбоксилази за наявності пальмітил-КоА.

13. А. Число молекул малоніл-КоА, необхідних для синтезу пальмітинової кислоти. Б. Число молекул малоніл-КоА, необхідних для синтезу пальмітоолеїнової кислоти.

14. А. Інтенсивність синтезу ненасичених вищих кислот в аеробних умовах. Б. Інтенсивність синтезу ненасичених вищих кислот в анаеробних умовах.

15. А. Число ізопреноїдних груп у двох молекулах фарнезилпірофосфата. Б. Число ізопреноїдних груп у молекулі сквалену.

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) Гідроліз 8-моногліцеридів відбувається за участю специфічних ліпаз; б) першою реакцією в обміні тригліцеридів є їх ферментативний гідроліз; в) при гідролізі тригліцеридів за наявності алістерази спочатку розпадаються α -складноефірні зв'язки; г) у результаті гідролізу β -моногліцериду утворюється гліцерин і дві молекули вищої жирної кислоти.

2. а) Продуктом окислення гліцерофосфату в організмі є фосфодіоксиацетон; б) гліцерофосфатдегідрогеназа як кофермент містить ФАД; в) вищі жирні кислоти в організмі

руйнуються переважно шляхом β -окислення; г) ацил-КоА-дегідрогеназа містить як кофермент нікотинамідаденіндинуклеотид.

3. а) У реакціях β -окислення вищих жирних кислот КоА виконує каталітичну функцію; б) дві молекули ацетил-КоА конденсуються з утворенням вільної ацетооцтової кислоти й виділенням однієї молекули вільного КоА; в) одним зі шляхів обміну ацетил-КоА є взаємодія його з кето-формою щавелевооцтової кислоти й утворення цитрил-КоА; г) ацил-КоА є універсальним донором ацильних груп у реакціях ацилювання в організмі.

4. а) На біосинтез мевалонової кислоти затрачаються три молекули ацетил-КоА; б) мевалонова кислота є β,δ -діокси- β,β -диметилвалеріаною кислотою; в) пірофосфомевалонова кислота ферментативно декарбоксілюється з утворенням ізопентенілпірофосфата; г) біосинтез поліізопреноїдів відбувається з ізопентенілпірофосфата й диметилалілпірофосфата.

5. а) Фосфатиди розпадаються при гідролізі на їх складові структурні одиниці – вищі жирні кислоти, фосфорну кислоту й гліцерин; б) при дії на лецитин фосфоліпази С утворюється лізолецитин; в) при дії гліцерофосфорилхолін-діестерази на α,L -гліцерилфосфорилхолін утворюються холін і α -фосфогліцерин; г) у нервовій тканині тварин ацетилхолін виконує роль макроергічної сполуки.

6. а) Синтез цитидиндифосфохоліну в організмі здійснюється без участі ферменту; б) при біосинтезі фосфатидів до вільної гідроксильної групи дигліцериду приєднується залишок холіну; в) бетаїн є донором метильних груп у реакціях трансметилування; г) у клітині фосфатиди зосереджені головним чином у мембранних структурах.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів і фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Ліпіди. Б. Стериди. В. Фосфоліпіди. Г. Гліколіпіди. Д. Тригліцериди. а) У хімічному відношенні є збірною групою органічних сполук; б) є складними ефірами вищих жирних кислот і гліцерину; в) містять, окрім залишків вищих кислот, гліцерину (або інших багатоатомних спиртів), фосфорну кислоту й азотисті основи; г) представляють складні ефіри вищих жирних кислот і поліциклічних спиртів; д) містять поряд із залишками багатоатомного спирту й вищої жирної кислоти також вуглеводний залишок.

2. А. Йодне число. Б. Кислотне число. В. Ефірне число. Г. Число омилення. а) Дозволяє оцінити вміст вільних жирних кислот у жирі; б) свідчить про вміст у жирі суми вільних і зв'язаних (у формі тригліцеридів і ін.) жирних кислот; в) характеризує ступінь ненасиченості жирів; г) виявляє вміст у жирі зв'язаних складноєфірних зв'язків залишків жирних кислот.

3. А. Ізовалеріанова кислота. Б. Каприлова кислота. В. Лауринова кислота. Г. Міристинова кислота. Д. Бегенова кислота. а) Виявлена вперше в арахісовому маслі; б) міститься у великій кількості в лавровому маслі; в) переважає в кокосовому маслі; г) має непарне число атомів вуглецю й виявлена у жирі печінки дельфіна; д) знайдена в маслі мускатного горіха.

4. А. Гідролітичне розщеплення. Б. Гідрогенізація. В. Акролеїнова проба. Г. Реакція утворення біхолестадиєну. Д. Реакція із хлоридом кадмію. а) Проводиться для визначення в складі ліпідів гліцерину; б) є якісною реакцією на лецитин; в) представляє початкову реакцію в обміні жирів, стеридів і фосфатидів; г) полягає у відновленні ненасичених залишків вищих жирних кислот, що супроводжується переходом рідких жирів у тверді; д) є якісною пробою на холестерол.

5. А. Ліпаза. Б. Гліцерокиназа. В. Холестеролестераза. Г. Фосфоліпаза С. Д. Холинацетилтрансфераза. а) Прискорює гідроліз стериду на жирну кислоту й поліциклічний спирт; б) каталізує одну з найважливіших реакцій обміну холіну в нервовій тканині тварин; в) представляє гідролазу ефірів гліцерину; г) прискорює реакцію гідролізу фосфатидилхоліну на 1,2-дигліцерид і холінфосфат; д) прискорює реакцію фосфорилювання вільного гліцерину.

6. А. α -Гліцерофосфат. Б. Ацил-КоА. В. L, β -Оксистеарил-КоА. Г. Транс-дегідроацил-КоА. Д. Ацетил-КоА. а) Виникає як безпосередній продукт реакції β -окислення вищих жирних кислот; б) представляє субстрат дії стереоспецифічної еноїл-КоА-гідратази; в) утворюється в результаті активування вищих жирних кислот за наявності АТФ і ацил-КоА-синтетази; г) є кінцевим продуктом розпаду вищих жирних кислот у результаті їх β -окислення; д) окислюється в процесі обміну речовин за участі гліцерофосфатдегідрогенази до діоксиацетонфосфату.

7. А. Ацетоацетил-КоА. Б. Ацетил-КоА. В. Мевалонова кислота. Г. Цитрил-КоА. Д. Гліоксилова кислота. а) Утворюється як перший продукт при деструктивному обміні ацетил-КоА; б) перетворюється в метилглутарил-КоА, з'єднуючись із молекулою ацетил-КоА; в) синтезується з β -метилглутарил-КоА; г)

шунтує більшу частину циклу три-і дикарбонових кислот, з'єднуючись із молекулою ацетил-КоА; д) є кінцевим продуктом β-окислення вищих жирних кислот.

8. А. Малоніл-КоА. Б. CO₂. В. КоА. Г. Фосфатидна кислота. Д. α,β-дигліцерид. а) Є найважливішим коферментом ацилтрансфераз; б) синтезується в якості першого специфічного попередника при біосинтезі вищих жирних кислот; в) представляє безпосередньо етерифікований попередник тригліцериду; г) є ключовим метаболітом у синтезі ряду простих і складних ліпідів; д) акцептується ферментативно на циклічно повторюваних етапах біосинтезу вищих жирних кислот, але ніколи не виявляється в їх молекулі.

9. А. β-Метилглутарил-КоА. Б. Геранілпірофосфат. В. Фарнезилпірофосфат. Г. Ланостерол. Д. Сквален. а) Виникає в результаті реакції перенесення радикала геранілу з геранілпірофосфата на ізопентенілпірофосфат; б) є найважливішим безпосереднім попередником поліциклічних спиртів; в) утворюється в результаті циклізації сквалену, що супроводжується міграцією метильної групи з положення 8 у положення 13; г) відновлюється в мевалонову кислоту з вивільненням КоА; д) утворюється в результаті реакції конденсації ізопентенілпірофосфата й диметилалілпірофосфата.

10. А. Ліпопротеїди. Б. Фосфоліпіди. В. Тригліцериди. Г. Інозитфосфоліпіди. Д. Гангліозиди. а) Зосереджені в гіалоплазмі клітин й використовуються для окислення в енергетичних цілях; б) містять нейрамінову кислоту й її похідні, що відіграють значну роль у здійсненні імунохімічних процесів в організмі; в) містяться у великій кількості в мієлінових оболонках нервових волокон спинного мозку; г) представляють найпоширенішу форму існування ліпідів у клітин; д) є переважним компонентом ліпопротеїдного комплексу мембран.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. До складу свинячого жиру входять тригліцериди: трипальмітин, триолеїн, пальмітодіолеїн, пальмітостеароолеїн. Напишіть формули перерахованих тригліцеридів.

2. У кокосовому й пальмовому маслах знайдені стеародипальмітин, олеодипальмітин, міристоридипальмітин і пальмітодиміристин. Напишіть формули перерахованих тригліцеридів.

3. З деяких бактерій і рослин були виділені жирні кислоти, що містять циклопропенове кільце (стеркулова кислота) і циклопентенове кільце (хаульмугрова кислота). Напишіть формули названих кислот.

4. Напишіть формули лауринової, міристинової, пальмітоолеїнової, арахідонової і бегенової кислот.

5. Спермацет черепних порожнин кашалота представлений пальмітиновоцетиловим ефіром і олеїновоолеїловим ефіром. Напишіть хімічні формули цих ефірів.

6. Напишіть формули холестерану, холестеролу, холестеранолу, нолевої кислоти. Укажіть генетичний взаємозв'язок між перерахованими сполуками.

7. Напишіть формули холестеролпальмітату, ергостеролстеарату й стигмастерололеату.

8. Напишіть рівняння перших двох реакцій перетворення лінолевої кислоти перед її вступом на шлях β-окислення. Назвіть ферменти, що беруть участь у цих реакціях.

9. Напишіть рівняння реакції синтезу кефаліну з дипальмітина й ЦДФ-коламіну за наявності етаноламінфосфотрансферази.

10. Розрахуйте процентний вміст холіну в лецитині, цитидиндифосфохоліні й ацетилхоліні.

11. Розрахуйте процентний вміст фосфору у фосфатидилдипальмітині.

12. Для визначення загальної кількості ліпідів у насінні використовують метод екстракції їх хлороформ-метанольною сумішшю. Паралельно з екстракцією ліпідів у насінні визначають вміст води, тому що вона теж екстрагується цією сумішшю й може бути прийнята за жири. Розрахуйте вміст ліпідів (на абсолютно суху речовину) у насінні рапсу, якщо в аналіз взяли 3,75 г повітряно-сухого насіння з вмістом води в ньому 4,5%, а вихід абсолютно сухої речовини після екстракції склав 1,35 г.

13. Вміст ліпідів у насінні льону (вологість 7,5%) визначали за методом Сокслета. Маса пакетика з повітряно-сухою наважкою до екстракції склала 4,9644 г, після екстракції – 3,5882 г. Маса пакетика без насіння – 0,8315 г. Розрахуйте процентний вміст жиру в абсолютно сухому матеріалі.

14. На титрування в спиртовому розчині 10 мг невідомої монокарбонової кислоти було витрачено 3,5 мл 0,01 Н. спиртового розчину гідроксиду натрію. Розрахуйте молекулярну масу цієї кислоти.

15. Розрахуйте йодне число масла, знаючи, що наважка масла становила 0,375 г, а на титрування було витрачено 5,8 мл 0,1 Н. розчину гіпосульфіту в контролі й 3,8 мл – у досліді.

16. Розрахуйте кислотне число масла, якщо наважка його становила 0,2521 г, а на титрування було витрачено 1,2 мл 0,1 N. розчину гідроксиду калію.

ЛАБОРАТОРНЕ ЗАНЯТТЯ № 7.

Білки їх обмін у живих організмах. Визначення ізоелектричної точки желатини.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Гідроліз білків, характеристика ферментів гідролізу.
2. Метаболізм амінокислот.
3. Перетворення амінокислот.
4. Шляхи зв'язування аміаку в організмі.
5. Біосинтез білка; біосинтез пептидів; біосинтез окремих амінокислот.
6. Молекулярні механізми специфічності біосинтезу білків.
7. Генетичний код: особливості генетичного коду.
8. Генна інженерія і біосинтез білка.
9. Матричний і нематричний синтез білка, їх співвідношення.
10. Роль рибосом у біосинтезі білка, їх будова.
11. Етапи трансляції.
12. Регуляція синтезу білка.
13. Особливості проміжного обміну складних білків.
14. Механізм синтезу сечовини.
15. Регуляція білкового обміну.

Практична частина

Визначення ізоелектричної точки желатини

Реактиви та устаткування: піпетки з поділками на 1 – 5 мл, хімічні пробірки, розчин ацетату натрію (0,1 н), розчини оцтової кислоти (1н, 0,1 н), желатина (1%-на), етанол.

Готують серію з шести пробірок. Реактиви у пробірки додають згідно зі схемою:

Розчини, кількість в мл	Номери пробірок					
	1	2	3	4	5	6
CH ₃ COONa, 0,1н	1	1	1	1	1	1
CH ₃ COOH, 0,1 н	0,12	0,25	0,5	1	2	—
CH ₃ COOH, 1 н	—	—	—	—	—	0,4
H ₂ O, дист.	1,88	1,75	1,5	1	—	1,6
Желатина, 1%	1	1	1	1	1	1

Перемішують вміст пробірок. Додають із піпетки (повільно при перемішуванні) в перші чотири пробірки етиловий спирт до появи незникаючої протягом 3–5 хвилин легкої муті. В решту пробірок додають стільки спирту, скільки його було добавлено в пробірку № 4. Спостерігають через 30 хвилин помутніння розчинів, яке позначають за наступною схемою:

приклад	номери пробірок					
	1	2	3	4	5	6
pH	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1
Помутніння	—	—	++	+++	+–	—
власний дослід	номери пробірок					
	1	2	3	4	5	6
pH	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1
Помутніння						

Завдання до лабораторно-практичної роботи №3 II модуля.

I. На кожну незакінчену фразу виберіть одне вірне завершення.

1. Серед субклітинних структур головна роль у забезпеченні гідролізу білків належить: а) мітохондріям; б) ендоплазматичному ретикулу; в) лізосомам; г) ядерцю; д) апарату Гольджі.
2. Гідроліз білка тільки до пептидів здійснюється за наявності: а) трипсину; б) аргінази; в) карбоксипептидази; г) уреаз; д) нуклеотидилтрансферази.
3. У процесі обміну амінокислот найбільш енергійно протікає окисне дезамінування: а) аланіну; б) аспарагінової кислоти; в) лізину; г) глутамінової кислоти; д) гліцину.
4. Внутрішньомолекулярне дезамінування α-амінокислот прискорює: а) дегідрогеназа; б) аміакліаза; в) гідролаза; г) амінотрансфераза; д) ізомераза.

5. Як продукти дезамінування α -амінокислот у природі найбільше широко представлені: а) ненасичені кислоти; б) граничні кислоти; в) α -оксикислоти; г) α -кетокислоти; д) альдокислоти.

6. β -аланін є: а) складовою частиною кадаверину; б) продуктом декарбоксилування α -аміномасляної кислоти; в) продуктом декарбоксилування аспарагінової кислоти й складовою частиною пантотенової кислоти; г) складовою частиною β -амінопропіонітрилу; д) продуктом β -декарбоксилування аспарагінової кислоти.

7. Тирозин в організмі перетворюється у біологічно активну сполуку: а) кортикотропін; б) інсулін; в) глюкагон; г) адреналін; д) тестостерон.

8. М. Хогленд відкрив ферментативний процес активування амінокислот за допомогою: а) ГТФ; б) УТФ; в) УДФ; г) АТФ; д) ЦТФ.

9. У зв'язаному з аміноацил-тРНК-синтетазою стані аміноациладенілати: а) легко вступають у реакції з амінокислотами; б) взаємодіють із амінокислотними радикалами ферменту; в) у крайній інертні; г) не реагують із тРНК; д) розпадаються до амінокислоти й АМФ.

10. Ферменти, що активують амінокислоти, були виділені М. Хоглендом з надосадової рідини, отриманої після ультрацентрифугування гомогената, шляхом: а) висолування; б) хроматографії; в) електрофореза; г) осадження при $\text{pH} = 5$; д) діалізу.

11. В інституті молекулярної біології АН СРСР у 1963 – 1967 р. під керівництвом академіка А.А. Баєва розшифрована первинна структура: а) фенілаланінової тРНК; б) аланінової тРНК; в) серинової тРНК; г) валінової тРНК; д) гліцинової тРНК.

12. Молекулярна маса тРНК лежить у межах: а) від 5900 до 10 000; б) від 12 000 до 40 000; в) від 50000 до 100 000; г) від 120 000 до 150 000; д) від 150 000 до 175 000.

13. При перенесенні амінокислоти з аміноациладенілата на кінцевий залишок аденозина молекули тРНК утворюється: а) пептидний зв'язок; б) дисульфідний зв'язок; в) водневий зв'язок; г) складноестерний зв'язок; д) амідний зв'язок.

14. Специфічний біосинтез білка в клітинах здійснюється за допомогою: а) комплексу Гольджі; б) пероксисом; в) хромосом; г) рибосом; д) лізосом.

15. У підтримці стабільності 70S і 80S рибосом у клітині беруть участь йони: а) Pb^{2+} ; б) Fe^{2+} ; в) Zn^{2+} ; г) Mg^{2+} ; д) Cu^{2+} .

16. Рибосоми прокариотів мають константу седиментації: а) 80S; б) 78S; в) 70S; г) 100S; д) 50S.

17. Лінійно впорядкована сукупність нуклеотидів, яка контролює синтез функціонально зв'язаних один з одним білків, називається: а) цистроном; б) опероном; в) кодоном; г) антикодоном; д) оператором.

18. У складі рибосомальних білків міститься: а) близько 25% ароматичних амінокислот; б) приблизно 25% діамінокислот; в) багато цистеїну; г) більше 40% дикарбонових кислот; д) 15% триптофану.

19. Беззмичтовними кодонами є: а) ЦГУ; ЦГЦ; ЦГА; б) УГЦ; ГАА; ЦАЦ; в) УУУ; УУЦ; УГГ; г) УГА; УАА; УАГ; д) УАУ; УАЦ; ГГ.

II. Зіставте два твердження або показника (позначені буквами А і Б), наведені в кожному пункті, і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

1. А. Реакційна здатність вільних аміноациладенілатів. Б. Реакційна здатність аміноациладенілатів у зв'язаному з ферментом стані.

2. А. Вплив іонів Mg^{2+} на активність аміноацил-тРНК-синтетаз. Б. Дія іонів Co^{2+} на активність аміноацил-тРНК-синтетаз.

3. А. Стійкість аміноацил-тРНК у слаболужному середовищі. Б. Стійкість аміноацил-тРНК у кислому середовищі.

4. А. Інтенсивність біосинтезу білка на рибосомах, зв'язаних з ендоплазматичною мережею клітини. Б. Швидкість біосинтезу білка на вільних рибосомах.

5. А. Стійкість 70 – 80 S рибосом при 0,001 M концентрації іонів магнію. Б. Стійкість 70 – 80 S рибосом у присутності агентів, які зв'язують двозарядні катіони.

6. А. Розміри 70 S рибосом. Б. Розміри 80S рибосом.

7. А. Процентний вміст нуклеїнових кислот у рибосомах 70 S. Б. Процентний вміст нуклеїнових кислот у рибосомах 80 S.

8. А. Константа седиментації (молекулярна маса) РНК, виділеної з 50S субодиниць рибосом. Б. Константа седиментації (молекулярна маса) РНК, виділеної з 30S субодиниць рибосом.

9. А. Стійкість вільних рибосом до зниження концентрації іонів магнію. Б. Стійкість рибосом, зв'язаних з іРНК, до зниження концентрації іонів магнію.

10. А. Число можливих кодонів при дуплетному кодї. Б. Число можливих кодонів при триплетному кодї.

11. А. Імовірність біосинтезу функціональних білків за матричним механізмом. Б. Імовірність біосинтезу функціональних білків за однією з пептидних схем.

12. А. Швидкість відновлення білків плазми кровї людини. Б. Швидкість відновлення білків печінки людини.

13. А. Добова норма синтезу гемоглобіну в людини. Б. Добова норма синтезу м'язових білків у людини.

III. Виберіть із нижченаведених тверджень правильні.

1. а) α -хімотрипсин належить до числа екзопептидаз; б) трипсин і хімотрипсин володіють однаковою субстратною специфічністю; в) реакція перетворення претрипсину в трипсин супроводжується відщепленням гексапептида; г) карбоксипептидази А, У і С не відрізняються специфічністю дії при відщепленні С-кінцевих амінокислот.

2. а) Первинними є всі замінні амінокислоти; б) первинними амінокислотами є аланін, глутамінова кислота й аспарагінова кислота; в) попередником треоніну є глутамінова кислота; г) незамінними для тварин є лейцин, ізолейцин, валін, метіонін, тирозин, лізин, гістидин.

3. а) Існує єдиний шлях біосинтезу цистеїну; б) взаємодія гомоцистеїну із серином – важлива проміжна ланка в ланцюзі реакцій перетворення метіоніну в цистеїн; в) первинні амінокислоти виникають переважно шляхом прямого амінування відповідних ненасичених кислот; г) переамінування є найважливішою реакцією в біосинтезі переважної більшості амінокислот.

4. а) Кінцеві продукти азотистого обміну в різних біологічних видів однакові; б) у ссавців головним кінцевим продуктом азотистого обміну є сечовина; в) одним з етапів біосинтезу сечовини є гідроліз аргініну; г) проміжний продукт біосинтезу сечовини – аргініносукцинат – розпадається на фумарат і сукцинат під дією ферменту аргініносукцинат-гідролази.

5. а) Сутність запропонованої Ф. Лементом у 1958 р. адапторної гіпотези зводиться до приписування адапторної функції рибосомній РНК; б) аналоги й гомологи амінокислот, наприклад селенометіонін (аналог метіоніну) або азетидин-2-карбонова кислота (гомолог проліну), украй рідко включаються в поліпептидний ланцюг замість відповідних їм амінокислот; в) висока субстратна специфічність аміноацил-тРНК-синтетаз зводить до мінімуму помилки при біосинтезі білка; г) специфічність акцептування амінокислот різними тРНК визначається кінцевою послідовністю нуклеотидів фЦфЦфА в молекулі останніх.

6. а) Біосинтез білка йде тільки за допомогою 50S субодиниць рибосоми, без участі 30S субодиниць; б) рибосоми 70S мають середній діаметр близько 18 нм; в) комплекс рибосом та іРНК називається полісомою; г) для позаклітинної системи, здатної до ефективного синтезу білка, необхідна строго певна концентрація іонів Mg^{2+} .

7. а) Поліцитидилова кислота у позаклітинній системі служить матрицею для синтезу полілізіна; б) поліаденілова кислота за тих же умов (а) кодує синтез поліпроліну; в) М. Ніренберг виявив, що полі-У у позаклітинній системі білкового синтезу є матрицею для синтезу поліфенілаланіну; г) роботи Г. Корана зі співробітниками забезпечили повну розшифровку коду білкового синтезу.

8. а) Рибосомальний біосинтез білка контролюється численними білковими факторами; б) вважають, що на одній рибосомі, яка входить до складу полісоми, синтезується один поліпептидний ланцюг; в) енергія, необхідна для просування іРНК по рибосомі, звільняється в процесі гідролізу АТФ; г) ініціювання трансляції здійснюється одним з беззмістовних кодонів.

IV. Виберіть правильні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) і значеннєвих завершальних пропозицій (позначені буквами а, б, в, г, д).

1. А. Аспарагінова й глутамінова кислоти. Б. Аспарагін і глутамін. В. Аланін, аспарагінова й глутамінова кислоти. Г. Лізин і триптофан. Д. Орнітин і цитрулін. а) Метаболіти циклу біосинтезу сечовини; б) первинні амінокислоти; в) акцептують аміак у момент його утворення в клітині; г) незамінні для людини; д) є джерелами мобільного азоту.

2. А. β -Декарбоксілювання аспарагінової кислоти. Б. Декарбоксілювання діамінокислот. В. α -

Декарбоксілювання глутамінової кислоти. Г. Окислення фенілаланіну. Д. Деметилування S-аденозилметіоніну. а) Обумовлює біосинтез аланіну; б) призводить до утворення тирозину; в) забезпечує утворення β-аміномасляної кислоти; г) сприяє протіканню реакцій трансметилування; д) дає діаміни, які володіють високою фізіологічною активністю.

3. А. Тирозин. Б. Триптофан. В. Цистеїн. Г. Треонін. Д. Лейцин. а) Утворює дисульфідні зв'язки в білках і пептидах; б) є попередником гормону адреналіну; в) здатний розщеплюватися з утворенням ацетальдегіду й гліцину; г) може перетворюватися в β-метилглутарил-S-КоА – важливий проміжний продукт у біосинтезі стеролів; д) є джерелом ніотинової й індолілоцтової кислот.

4. А. Гліцин. Б. Аргінін. В. Тирозин. Г. Триптофан. Д. Серин. а) При ферментативному окисненні утворює пігмент – меланін; б) є попередником серотоніну – речовини, яка володіє вазопресорною дією; в) при ферментативному альдольному розщепленні утворює гліцин і формальдегід; г) використовується при біосинтезі порфіринового ядра; д) при ферментативному гідролізі вивільняє орнітин, необхідний для функціонування циклу біосинтезу сечовини.

5. А. Активування амінокислот. Б. Утворення аміноациладенілатів з амінокислот. В. Активний транспорт амінокислот через мембрани. Г. Біосинтез аміноацил-tРНК. Д. Пептидилтрансферазна реакція. а) Є початковим етапом активування амінокислот; б) полягає в їхній взаємодії з аденозинтрифосфорною кислотою й tРНК за участі аміноацил-tРНК-синтетази; в) відбувається на заключному етапі активування амінокислот; г) здійснюється за допомогою β-глутамілтрансферазного циклу, відкритого А. Майстером зі співробітниками; д) є одним з етапів (кроків) циклічного процесу біосинтезу білка в транслуючій рибосомі.

6. А. Активна рибосома. Б. 5S РНК. В. 16S і 23S РНК. Г. дРНК. Д. Пептидил-tРНК. а) Вивільняється при дисоціації рибосоми на субодиниці, не містить мінорних основ і необхідна для реасоціації 50S субодиниці білків і 23S РНК; б) є структурною основою РНП-тяжів 30S і 50S субодиниць рибосоми; в) є високомолекулярним попередником мРНК, що частково розпадається в процесі «дозрівання» у ядрі клітини; г) наявний у транслуючій рибосомі, подовжуючись на один амінокислотний залишок після кожного робочого циклу останньої; д) формується з 30S і 50S субодиниць, мРНК, формілметіоніл- або метіоніл-tРНК і факторів ініціації трансляції в присутності Mg^{2+} .

7. А. Полісома. Б. Поліуридилова кислота. В. Поліаденілова кислота. Г. Поліцитидилова кислота. Д. Поліпептид. а) Будується шляхом послідовного утворення пептидних зв'язків, починаючи з N-кінця; б) є комплексом рибосом і мРНК із константою седиментації в кілька сотень одиниць Сведберга; в) у позаклітинній системі білкового синтезу М. Ніренберга кодує синтез поліфенілаланіну; г) у позаклітинній системі білкового синтезу М. Ніренберга кодує синтез полілізину; д) у позаклітинній системі білкового синтезу М. Ніренберга кодує синтез поліпроліну.

8. А. Трансляція. Б. Термінація. В. Елонгація. Г. Транскрипція. Д. Ініціація. а) Запуск біосинтезу білка в активній рибосомі за допомогою формілметіоніл-tРНК або метіоніл-tРНК і ряду білкових факторів; б) переклад полінуклеотидного коду в задану послідовність амінокислотних залишків у білку за допомогою активної рибосоми; в) завершення біосинтезу білка на рибосомальному апараті клітини за допомогою білкових факторів, взаємодіючих з транслуючою рибосомою; г) багаторазово циклічно повторюваний процес нарощування довжини поліпептидного ланцюга щоразу на один амінокислотний залишок у рибосомі; д) передача інформації від ДНК на РНК у процесі біосинтезу другої на першій як матриці.

9. А. Універсальність коду. Б. Квазідуплетність коду. В. Неперервність коду. Г. Виродженість коду. Д. Неперекриваємість коду, а) Заключається в здатності однієї й тієї ж амінокислоти кодуватися декількома триплетами основ; б) виражається в збереженні незмінним «змісту» кодонів для всіх живих істот на Землі; в) полягає в лінійно впорядкованому розташуванні кодонів у мРНК при відсутності яких-небудь нуклеотидних залишків між ними; г) проявляється у формальній його триплетності при дуплетності по суті; д) означає компонування триплетів, при якій прикордонні основи сусідніх триплетів не є загальними.

V. Проведіть відповідні перетворення й розв'яжіть розрахункові завдання.

1. Які діаміни утворюються в результаті декарбоксілювання лізину, тирозину, гістидину й триптофану? Напишіть рівняння реакцій декарбоксілювання названих амінокислот і вкажіть ферменти, що прискорюють дані процеси.

2. Наведіть схему окисного дезамінування глутамінової кислоти й укажіть фермент, що прискорює цей процес.

3. Напишіть рівняння реакцій, що протікають у відповідності зі схемою: глутамінова кислота \rightarrow γ -напівальдегід глутамінової кислоти \rightarrow пролін. Укажіть ферменти.

4. Наведіть рівняння реакцій, що характеризують різноманіття шляхів біосинтезу α -аланіну. Назвіть ферменти.

5. Запропонуйте ймовірну схему утворення орнітину із глутамінової кислоти. Назвіть ферменти.

6. Напишіть рівняння реакцій, що протікають за наступною схемою: гомосерин \rightarrow цистатіон \rightarrow гомоцистеїн \rightarrow метіонін. Укажіть ферменти, що прискорюють перераховані реакції.

7. В обміні речовин більша роль належить реакціям трансметилування, що здійснюються за участі S-аденозилметіоніну. Напишіть рівняння реакцій, що протікають за схемою: метіонін \rightarrow S-аденозилметіонін \rightarrow саркозин.

8. Багато біологічно активних речовин виникають в організмі в результаті обміну триптофану. Наведіть схему перетворення триптофану через кінуренін і 3-оксиантранілову кислоту в нікотинатрибонуклеотид, що є проміжним продуктом у біосинтезі нікотинамідаденіндинуклеотида.

9. Напишіть рівняння реакцій, що протікають за схемою: гетероауксин \rightarrow триптофан \rightarrow серотонін. Укажіть ферменти, що здійснюють прискорення реакцій утворення цих біологічно активних речовин із триптофану.

10. Наведіть схему активування амінокислоти при біосинтезі білка. Скільки ферментів бере участь у прискоренні цього процесу.

11. До 10 мл розчину желатини додали 1 мл розчину панкреатину, інкубували протягом 1 год і взяли для визначення амінного азоту 5 мл реакційної суміші. Роботу вели мідним методом Попі й Стивенса. Загальний обсяг розчину після всіх обробок склав 25 мл. На титрування взяли 10 мл фільтрату, затративши при цьому 2,52 мл 0,01 Н розчину гіпосульфїта (за винятком контролю). Знаючи, що 1 мл розчину гіпосульфїту відповідає 0,28 мг азоту, розрахуйте кількість α -амінного азоту в реакційній суміші після інкубації.

12. Як встановлено за допомогою методу ізотопної мітки, джерелом всіх атомів азоту гема гемоглобіну є гліцин. Розрахуйте кількість гліцину, необхідну для біосинтезу простетичної групи гемоглобіну, що міститься в 100 мл крові, якщо відомо, що концентрація пігменту в крові дорівнює 0,077%.

13. Цистеїндесульфгідразна реакція за допомогою ферменту, виділеного з печінки, нирок і підшлункової залози ссавців і представляючого собою поліфункціональний піридоксальфосфатпротеїд, здійснюється із цистином, цистеїном, гомоцистеїном і цистатіоніном. За даними дослідів із застосуванням ^{36}S , вона виражається у випадку цистеїну наступним рівнянням: Цистеїн + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ піруват + H_2S + NH_3 . Визначите кількість утворених аміаку й сірководню, якщо відомо, що розпаду піддалося 242 мг цистеїну, причому реакція зупинилася після виділення сірководню в кількості, рівній 45% від теоретичного виходу.

14. Добова потреба людини в L-Триптофані становить 0,25 г. Розрахуйте кількість серотоніну, який утвориться із добової дози триптофану в здорових і страждаючих злякисними новоутвореннями людей, якщо встановлено, що в першому випадку на це витрачається лише 1 % триптофану, що міститься в їжі, а в другому – 60%.

15. Швидкість включення амінокислот в альдолазу у тварин в 1,8 рази вища, ніж при включенні у фосфорилазу. Визначите, скільки радіоактивного аланіну включається в той і інший фермент через 12 год. після ін'єкції, якщо встановлено, що протягом години в альдолазу включається 12 мкг аланіну.

16. Протягом години під дією оксидази L-амінокислот з отрути гримучої змії 102 мг триптофану перетворилося у відповідну кетокислоту. Визначите кількість піровиноградної кислоти, яка утворюється з аланіну, інкубованого з ферментом протягом години, якщо відомо, що активність L-оксидази отрути гримучої змії стосовно аланіну в 205 разів нижча, ніж для триптофану.

17. Розрахуйте час синтезу однієї молекули гемоглобіну ($M = 68\ 000$; α -ланцюг – 141 амінокислотний залишок; β -ланцюг – 146 амінокислотних залишків) у ретикулоцитах кролика, виходячи з припущення, що нарощування поліпептидного ланцюга здійснюється зі швидкістю 2

амінокислотних залишки в 1 сек, а синтез α -і β -ланцюгів іде одночасно.

18. А.В. Погосова й інші досліджували дію 8 М сечовини на включення ^{14}C -тироzinу й ^{14}C -метіоніну в альбумін. Їх дані наведені в таблиці.

Амінокислоти	Включення амінокислоти в альбумін (імн/хв на 5 мг білка)	
	без сечовини	з сечовиною
^{14}C -Метіонін	397	400
^{14}C -Тирозин	615	283

Розрахуйте, на скільки відсотків гальмує або активує сечовина включення в альбумін: а) метіоніну; б) тирозину.

19. Синтетичні полірибонуклеотиди, використані М. Ніренбергом й іншими для розшифровки якісного складу кодонів, одержували за допомогою ферменту полінуклеотидфосфорилази, використовуючи високі вихідні концентрації нуклеозидифосфатів, наприклад УДФ і АДФ. При цьому в сополімері УА можливе виникнення чотирьох типів триплетів) складених з 3У, 2УА, У2А і 3А, співвідношення яких і полінуклеотиді залежить від співвідношення УДФ і АДФ у вихідній суміші. Розрахуйте ймовірність вмісту триплетів УУА, УАА й ААА щодо триплету УУУ, частота якого приймається за 100, при вмісті УДФ і АДФ у вихідній реакційній суміші 0,83 і 0,166 моль відповідно.

20. Розрахуйте вміст триплетів УУГ, УГГ і ГГГ щодо триплету УУУ, частота якого приймається за 100, при вмісті УДФ і ГДФ у вихідній суміші, рівному 0,75 і 0,25 моль відповідно.

21. Розрахуйте ймовірність вмісту триплетів УУЦ, УЦЦ і ЦЦЦ щодо триплету УУУ, частота якого приймається за 100, при вмісті УДФ і ЦДФ у вихідній суміші, рівному 0,80 і 0,20 моль відповідно.

22. Розрахуйте число нуклеотидних залишків у РНК вірусу – сателіта вірусу некрозу тютюну і її молекулярну масу, якщо відомо, що число амінокислотних залишків у білковій субодиниці, синтез якої кодується цією РНК, дорівнює 400.

23. У лабораторії Ф. Ліппмана розшифрований мультиензимний механізм біосинтезу пептидів без участі рибосом і мРНК. З'ясовано, що активування амінокислот при цьому на першому етапі призводить до виникнення аміноациладенілата, а на другому – тіоефірів по HS-групам білків, що утворюють мультиензимний комплекс. Складіть схему реакції активування амінокислот при мультиензимному механізмі біосинтезу білка.

24. Синтетичний сополімер УГ зі співвідношенням У:Г = 1:4 у позаклітинній системі білкового синтезу стимулює включення валіну із частотою 23%. Визначите якісний склад кодона валіну.

25. Використовуючи дані про код білкового синтезу, укажіть за допомогою літерних позначень можливі варіанти послідовності нуклеотидних залишків у фрагменті іРНК, який відповідальний за біосинтез пептидного фрагмента, первинна структура якого відповідає структурі вазопресину.

26. Користуючись літерними позначеннями, укажіть можливу послідовність нуклеотидних залишків в обох ланцюгах фрагмента молекули ДНК і у фрагменті молекули іРНК, що кодують біосинтез фрагмента білка з первинною структурою ...ала-тре-ліз-асн-сер...

27. Якщо фрагмент молекули білка має структуру ...сер-ала-тир-лей-асп..., то яка можлива структура фрагмента іРНК для нього і який можливий перелік антикодонів тРНК, що беруть участь у біосинтезі цього фрагмента білкової молекули?

28. Транскрибуєма у процесі біосинтезу іРНК ділянка ланцюга ДНК має первинну структуру - А-Ц-А-А-Т-А-А-А-А-Г-Т-Т-Г-Ц-Ц-Ц-. Як зміниться первинна структура фрагмента білка, що кодується цим фрагментом ДНК, якщо із зазначеної ділянки ДНК випаде залишок аденілової кислоти, що займає центральне положення?

29. Фіброїн шовку шовковичного шовкопряда містить 43,6% гліцину, 29,7% аланіну, 16,2% серину й 12,8% тирозину. На підставі вмісту амінокислот у даному білку І. Сузукі й Д. Браун у 1972 р. розраховали нуклеотидний склад іРНК, яка є матрицею для біосинтезу фіброїну. Аналіз вмісту нуклеотидів у складі виділеної із шовковиділяючої залози іРНК, що кодує біосинтез фіброїну, повністю підтвердив передбачені значення. Виходячи з наведених вище даних по амінокислотному складу фіброїну шовку й користуючись таблицею коду білкового синтезу, обчисліть вміст гуаніну в іРНК для біосинтезу фіброїну шовку.

30. При дослідженні синтезу гемоглобіну в ретикулоцитах кролика було показано, що рибосоми

об'єднуються на іРНК у полісоми, кожна з яких містить 6 рибосом. Білкові субодиниці молекули гемоглобіну типу α представлені поліпептидним ланцюгом з 141 амінокислотного залишку, а β - з 146. Розрахуйте кількість нуклеотидних ланок іРНК, що доводяться на одну рибосому в полісомах, де йде біосинтез α і β поліпептидних ланцюгів субодиниць гемоглобіну.

31. Лас-оперон кишкової палички кодує первинну структуру трьох ензимів, зв'язаних із засвоєнням і обміном β -галактозидів і, зокрема, лактози. Цистрон першого ензиму – β -галактозидази – має розмір 1,26 мкм; цистрон другого ензиму – пермеази (каталізує проникнення лактози усередину клітини із середовища культивування), так само як і цистрон третього ензиму – тіогалактозид-трансацилази (здійснює перетворення галактози), характеризуються довжиною по 0,30 мкм. Зони промотору й оператора в сумі становлять 0,14 мкм. Розрахуйте молекулярні маси Лас-оперону кишкової палички й кодованих ним білків.

Лабораторне заняття № 8.

Нуклеїнові кислоти їх обмін у живих організмах. Визначення амінного азоту мідним способом

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Біосинтез нуклеїнових кислот.
2. Біосинтез пуринових нуклеотидів.
3. Біосинтез піримідинових нуклеотидів.
4. Матричний синтез нуклеїнових кислот; синтез ДНК.
5. Синтез РНК на матриці РНК.
6. Біосинтез РНК на матриці ДНК.
7. Розпад нуклеїнових кислот в тканинах.
8. Контроль і регуляція обміну нуклеїнових кислот.

Практична частина

Визначення амінного азоту мідним способом

Устаткування та реактиви: фільтри паперові, колби мірні на 25 мл (2 шт.), піпетки з міткою на 1, 2 і 10 мл, бюретки прями з краном на 25 чи 50 мл, лійки для фільтрування, колби конічні на 100 мл (4 шт.), циліндр мірний з носиком на 10 мл, розчин хлориду міді (II) (27,3 г у 1 л розчину), розчин фосфату натрію, боратний буферний розчин, суспензія фосфату міді (змішують один об'єм розчину хлориду міді (II) із двома об'ємами розчину фосфату натрію і доливають два об'єми боратного буфера, суспензію готують тільки перед роботою в необхідному об'ємі), тимолфталейн (0,25%-ний) в етиловому спирті (50%-ному); 0,1 н. розчин тіосульфату натрію (з цього розчину розведенням готується 0,01 н. розчин, титр якого встановлюють по точному розчину 0,01 н. йодиду калію), крохмаль (1%-ний); йодид калію (10%-ний); оцтова кислота (конц.); гідроксид натрію (0,5 н.); гліцин (1 %-ний).

У мірну колбу на 25 мл беруть 2 мл досліджуваного розчину (1%-ний розчин гліцину), додають 2 краплі тимолфталейну і по краплях 0,5 н. розчин гідроксиду натрію до слабо-блакитного забарвлення (рН розчину 10,2). Після цього додають 10 мл суспензії фосфату міді, добре перемішують. При зникненні осаду варто додати ще 5 мл суспензії. Розчин у колбі доводять до мітки водою, ретельно перемішують – багаторазовим перекиданням колби й відфільтровують надлишок фосфату міді через щільний фільтр. Фільтрат повинен бути зовсім прозорим. Цього домагаються багаторазовим фільтруванням. З фільтрату піпеткою беруть дві проби по 10 мл у конічні колби для титрування, підкислюють 0,4 мл концентрованої оцтової кислоти, додають 6–8 мл 10%-ного розчину йодиду калію і йод, що виділився, титрують 0,01 і. розчином гіпосульфиту. Крохмаль у кількості 1–2 мл (20–40 крапель) на 100 мл розчину додають в той момент, коли титруєми розчин набуде солом'яно-жовтого забарвлення. Титрування продовжують до зникнення синього забарвлення, що з'явилося після додавання розчину крохмалю.

Ставлять контрольне визначення, у якому замість глікоколу беруть такий же об'єм води. Кількість гіпосульфиту, витрачений на контрольний розчин, віднімають з такого в досліді.

Хімізм процесу при визначенні амінного азоту мідним способом зводиться до наступного. При взаємодії натрієвої солі гліцину чи інших амінокислот із суспензією фосфату міді утворюється зафарбована в синій колір добре розчинна комплексна мідна сіль гліцину або інших амінокислот.

У фільтраті після відділення надлишку фосфату міді виявляються лише мідні солі амінокислот (за винятком цистину, мідна сіль якого нерозчинна), і, отже, по кількості міді, що перейшла у фільтрат, можна визначити вміст амінокислот.

При додаванні до фільтрату концентрованої оцтової кислоти остання витісняє з мідної солі

більш слабку амінокислоту.

Під дією йодоводевої кислоти, що утворилася з йодиду калію в кислому середовищі, іон міді зі ступенем окиснення +2 відновлюється; утворюючи нерозчинний йодид міді (I) і вільний йод. Внаслідок нерозчинності йодиду міді (I) у слабокислому середовищі цей процес також йде до кінця. Таким чином, кількість вільного йоду еквівалентна кількості мідних солей амінокислот. Концентрацію вільного йоду визначають титруванням з гіпосульфідом.

За рівнянням реакції 0,5 моль йоду, що виділився, відповідає 1 моль міді, що у свою чергу еквівалентний 28 г амінного азоту. З іншого боку, 0,5 моль йоду реагує з одним грам-еквівалентом гіпосульфїту. Отже, один грам-еквівалент гіпосульфїту відповідає 28 г амінного азоту. Звідси 1 мл 0,01 н. розчину гіпосульфїту відповідає 0,28 мг амінного азоту.

Множенням величини 0,28 мг на витрачений об'єм 0,01 н. розчину гіпосульфїту (мінус контроль) одержують кількість міліграмів амінного азоту в узятому об'ємі (10 мл) випробуваного розчину. Після цього роблять перерахування на весь об'єм розчину в колбі і порівнюють знайдену кількість амінного азоту з тим, що повинен бути в 2 мл досліджуваного розчину глікоколу.

Завдання до лабораторно-практичної роботи №4 II модуля.

1. Які хімічні сполуки утворюються під час повного кислотного гідролізу нуклеїнових кислот:
а) пуринові основи; б) нуклеозидтрифосфорні кислоти; в) пентози; г) фосфорна кислота; д) піримідинові основи? Напишіть їх формули.
2. Який вуглевод входить до складу РНК: а) β -D-рибофураноза; б) рамноза; в) β -D-фруктофураноза; г) β -D-2-дезоксирибофураноза; д) β -D-галактопіраноза? Напишіть формулу.
3. Який вуглевод входить до складу ДНК: а) β -D-глюкопіраноза; б) β -D-фруктофураноза; в) β -D-рибофураноза; г) β -D-2-дезоксирибофураноза; д) D-арабіноза? Напишіть формулу.
4. Які азотисті основи містяться в складі РНК: а) піримідин; б) аденін; в) тимін; і) цитозин; д) урацил? Напишіть їх формули,.
5. Які азотисті основи входять до складу ДНК: а) пурин; б) гуанін; в) аденін; г) тимін; д) цитозин? Напишіть їх формули.
6. Які піримідинові основи є мінорними: а) цитозин; б) урацил; в) 5-метилцитозин; г) тимін; д) 2-оксиметилцитозин? Напишіть їх формули.
7. Які пуринові основи є мінорними: а) аденін; б) гуанін; в) 2-метиладенін; г) 1-метилгуанін; д) пурин? Напишіть їх формули.
8. Напишіть у двох таутомерних формах (кето-енольна) такі основи: а) гуанін; б) урацил; в) цитозин.
9. Які сполуки є нуклеозидами: а) аденозин; б) 2-дезокситимідин; в) аденінрибонуклеозидмонофосфат; г) циклічна аденілова кислота; д) цитидин? Напишіть їх формули.
10. Яка сполука є нуклеотидом: а) 2'-дезоксигуанозин; б) уридин-5'-фосфорна кислота; в) дезоксицитидин-5'-фосфорна кислота; г) уридин; д) аденілова кислота? Напишіть їх формули.
11. Які сполуки є рибонуклеозидтрифосфатами: а) АДФ; б) ГТФ; в) ЦТФ; г) АТФ; д) УМФ? Напишіть їх формули.
12. Які сполуки є дезоксирибонуклеозиддифосфатами: а) дГДФ; б) дАТФ; в) УДФ; г) дЦТФ; д) дУДФ? Напишіть їх формули.
13. За рахунок чого нуклеїнові кислоти мають абсорбційний максимум у ділянці 240 – 270 нм: а) водневого зв'язку; б) рибози; в) фосфорної кислоти; г) гетероциклічних сполук; д) фосфоефірного зв'язку?
14. Аденозин-5'-трифосфат за будовою подібний до аденозин-5-фосфату, але відрізняється від нього тим, що до його залишку фосфорної кислоти послідовно приєднується ще два залишки фосфорної кислоти. Напишіть формулу АТФ.
15. Під час гідролізу гуанозин-5'-трифосфату слабким розчином лугу одержується гуанозин-5'-фосфат і пірофосфат. Напишіть рівняння цієї реакції.
16. У процесі гідролізу нуклеїнової кислоти одержують суміш кислот, серед яких є цитидилова та уридилова. Напишіть формули цих кислот.
17. Нуклеотиди під впливом ферментів зазнають гідролізу. Аденозинмонофосфат за участю ферменту АМФ-нуклеозидази утворює аденін і D-рибозо-5-фосфат. Напишіть рівняння цієї реакції.

18. Яка сполука є кінцевим продуктом обміну пуринових основ у людини: а) пурин; б) сечова кислота; в) ксантин; г) гіпоксантин; д) алантоїн? Напишіть формулу.
19. Які сполуки утворюються під час катаболізму піримідинових основ: а) піримідин; б) β-амінокислоти; в) NH₃; г) CO₂; д) сечовина?
20. У яких процесах беруть участь нуклеази: а) захист клітини від сторонніх нуклеїнових кислот; б) окисне фосфорилування; в) трансляція; г) реплікація; д) утворення нуклеотидних коферментів; є) дозрівання (процесинг) попередників РНК?
21. Які зв'язки розщеплює фосфодіестераза зміїної отрути: а) ефірний між 3'-гідроксильним кінцем та фосфорною кислотою, в ДНК; б) складноефірний між фосфорною кислотою та 5'-гідроксильним кінцем фосфодіефірних містків у ДНК; в) ефірний між 3'-гідроксильним кінцем (і фосфорною кислотою в РНК)?
22. Які ферменти є ендонуклеазами: а) рибонуклеаза з підшлункової залози бика; б) фосфодіестераза зміїної отрути; в) дезоксирибонуклеаза з підшлункової залози бика; г) фосфодіестераза з селезінки бика?
23. Які ферменти беруть участь у синтезі сечової кислоти з пуринових основ: а) урикооксидаза; б) ксантиноксидаза; в) аденінаміногідролаза; г) гуанінаміногідролаза?
24. Які тварини належать до урикотелітичних: а) амфібії; б) риби; в) птахи; г) ссавці; д) рептилії?
25. Які амінокислоти беруть участь у біосинтезі пуринових основ: а) аланін; б) гліцин; в) аспарагін; г) лізин; д) глутамін?
26. Яка сполука є початковою в біосинтезі аденілової та гуанілової кислот: а) інозинова кислота; б) α-5-фосфорибозил-1-пірофосфат; в) α-D-рибозо-5-фосфат; г) карбамоїлфосфат; д) гіпоксантин?
27. Яка сполука з інозинової кислоти є джерелом аміногруп під час біосинтезу аденілової кислоти: а) аспартат; б) глутамін; в) гліцин; г) аспарагін; д) карбамоїлфосфат?
28. У результаті якої реакції утворюється оротова кислота: а) урацил + НАД⁺; б) карбамоїлфосфат + аспартат + НАД⁺; в) інозин-5-фосфат + НАД⁺ + глутамін; г) карбамоїлфосфат + глутамін; д) уридилова кислота + НАД⁺?
29. Напишіть збалансоване рівняння синтезу оротату з глутаміну, CO₂ і аспартату.
30. У якому положенні виявиться ¹⁴C у оротовій кислоті, якщо вирощувати клітини за наявності невеликої кількості рівномірно міченого ¹⁴C-сукцинату?
31. Попередником якої сполуки є оротова кислота: а) уридилової кислоти; б) цитидилової кислоти; в) піримідинової основи; г) аденілової кислоти; д) гуанілової кислоти?
32. Попередником яких сполук є інозинова кислота: а) цитидилової кислоти; б) аденілової кислоти; в) гуанілової кислоти; г) уридилової кислоти; д) пуринової основи?
33. Яка сполука утвориться внаслідок окисного дезамінування аденіну: а) гуанін; б) гіпоксантин; в) ксантин; г) сечова кислота; д) алантоїн? Напишіть формулу.
34. Яка кількість макроергічних фосфатних зв'язків використовується під час біосинтезу аденілової кислоти?
35. Назвіть основні біосинтетичні реакції, в яких бере участь 5-фосфорибозил-1-пірофосфат.
36. Які сполуки є субстратами для ДНК-полімерази: а) дАМФ, дГМФ, дЦМФ, дТМФ; б) дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ; в) АТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ; г) дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дУТФ; д) дАДФ, дЦДФ, дГДФ, дТДФ?
37. Які атоми в структурі пуринового кільця синтезуються за участю тетрагідрофолієвої кислоти: а) 1-й та 6-й; б) 2-й та 8-й; в) 7, 8-й та 9-й; г) 3-й та 9-й; д) 6-й та 8-й?
38. Яким чином рибоза перетворюється на дезоксирибозу: а) за рахунок розриву глікозидного зв'язку; б) на рівні нуклеозиддифосфатів; в) за участю тіоредоксинової системи; г) за рахунок відновленої форми НАД⁺; д) на рівні мононуклеотидів?
39. З яких стадій складається процес біосинтезу ДНК (I) і РНК (II): а) біосинтез пуринових і піримідинових рибонуклеозид-5'-фосфатів; б) перетворення рибонуклеозид-5'-фосфатів на відповідні дезоксирибонуклеотиди; в) фосфорилування дезоксирибонуклеозид-5'-монофосфатів з утворенням трифосфатів; г) полімеризація дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатів за наявності ДНК-матриці; д) полімеризація рибонуклеозид-5'-трифосфатів за допомогою ДНК-залежної РНК-полімерази?

40. Утворення пуринових і піримідинових рибонуклеотидів регулюється механізмами зворотного зв'язку. Які сполуки регулюють біосинтез за типом негативного зворотного зв'язку: а) АМФ і ГМФ; б) ЦТФ; в) УМФ; г) дАТФ; д) інозинова кислота?
41. Наявність яких сполук необхідна для функціонування ДНК-полімерази: а) іонів Mg^{2+} ; б) ДНК-матриці; в) затравочної ДНК із 3'-ОН кінцем; г) чотиридезоксинуклеотид-5'-трифосфатів; д) оротової кислоти?
42. Як називаються ферменти, які каталізують утворення нуклеозидди- та нуклеозидтрифосфатів: а) кінази; б) нуклеозид-5'-фосфокінази; в) нуклеозидмонофосфаткінази; г) пірофосфорилази; д) фосфорибозилтрансферази?
43. Які ферменти інгібуються антибіотиком актиноміцином D: а) РНК-репліказа; б) ДНК-полімераза; в) ДНК-залежна РНК-полімераза; г) ревертаза; д) полінуклеотидфосфорилаза?
44. Які спільні попередники та ферменти необхідні для синтезу провідного та відстаючого ланцюгів під час реплікації ДНК?
45. Які сполуки регулюють транскрипцію в еукаріотів: а) репресор; б) індуктор; в) гістони; г) гормони; д) цАМФ?
46. Які сполуки необхідні для продуктивної дії РНК-полімерази (транскриптази): а) чотири рибонуклеозид-5'-трифосфати; б) ДНК-затравка; в) іони Mg^{2+} ; г) РНК-затравка?
47. Які сполуки необхідні для продуктивної дії РНК-полімерази (реплікази): а) чотири рибонуклеозид-5'-трифосфати; б) чотири рибонуклеозид-5'-дифосфати; в) РНК-затравка; г) ДНК-затравка?
48. Яка реакція є реакцією метилювання: а) 5-метил-дЦДФ \rightarrow дТДФ; б) УМФ \rightarrow ЦМФ; в) дТМФ \rightarrow дТДФ; г) дУМФ \rightarrow дТМФ; д) УДФ \rightarrow дЦДФ?
49. ДНК-полімерази можуть виявляти та виправляти помилки у послідовності поліпептидного ланцюга, а РНК-полімерази такої здатності, мабуть, не мають, хоча помилка в розташуванні навіть однієї основи під час реплікації та транскрипції може призвести до хибного синтезу білка. Дайте біологічне пояснення цієї відмінності.
50. Порівняйте ДНК-полімеразу I та РНК-полімеразу E. coli за такими властивостями: а) субодинична структура; б) активовані попередники; в) напрям елонгації ланцюга; г) нуклеазна активність; д) збереження матриці; е) потреба у затравці; є) енергетика реакції елонгації.
51. ДНК гібридується з матричними (інформаційними) РНК, які транскрибовані з цієї ДНК. Як пояснити той факт, що з усіма відомими мРНК може гібридуватися не більше 50 % усієї ДНК?
52. У еукаріотів гени рибосомних РНК транскрибуються одночасно з утворенням загального високомолекулярного попередника рибосомної РНК (45S). На які функціонально активні молекули розділяється цей попередник у процесі дозрівання (процесингу)?
53. Однією з посттранскрипційних модифікацій матричної РНК є «кепування» у 5'-термінальній структурі молекули. Що таке кеп, яке його значення? Напишіть формулу кепу.
54. Як можна синтезувати полінуклеотид, подібний до мпїч, який би кодував переважно залишки фенілаланіну та невелику кількість залишків лейцину й серину? Які ще амінокислоти, але в значно менших кількостях, могли б кодуватися подібним полінуклеотидом?
55. Розрахуйте середнє число нуклеотидних пар на один мікрометр подвійної спіралі ДНК.
56. Розрахуйте середнє число нуклеотидних пар на $1 \cdot 10^6$ одиниць маси подвійної спіралі ДНК.
57. Вирахуйте середню довжину (у нанометрах) і середню молекулярну масу генів, які кодують: а) тРНК (90 мононуклеотидних залишків); б) рибонуклеазу (124 амінокислотних залишків); в) міозин (1800 амінокислотних залишків).
58. Розрахуйте масу (в грамах) подвійної спіралі ДНК, яка має довжину, що дорівнює відстані від Землі до Місяця (384 000 км).
59. Порівняйте довжину гена з довжиною поліпептидного ланцюга, що кодується цим геном. Ланцюг містить 150 амінокислотних залишків і перебуває в α -спіральной конфігурації.
60. Яку нуклеотидну послідовність мають фрагменти одного ланцюга ДНК, якщо послідовність нуклеотидів другого: а) АЦТЦТАГГЦ; б) ТТАГАЦЦАЦ; в) ЦГТ5МЦАГТЦА?
61. Яка нуклеотидна послідовність ділянок молекули РНК, що синтезована за допомогою РНК-полімерази, якщо затравка має такі нуклеотидні фрагменти: а) ТАЦЦТТЦАТЦГТ; б) ГЦААТГЦГЦАТ; в) АЦТГАТЦЦА?

62. Визначте співвідношення А/Т, Г/Ц, (А+Т)/(Г+Ц) у новоутвореному полінуклеотидному фрагменті після одноразової реплікації олігонуклеотиду складу АЦАТАЦГАТ, якщо затравкою є всі чотири дезоксинуклеозидтрифосфати.
63. Розрахуйте нуклеотидний склад ділянки дволанцюгової ДНК якщо у мРНК вміст аденіну, цитозину, гуаніну та урацилу становить 21, 25, 24 і 30 % відповідно.

Лабораторне заняття № 9 - 10.

Вода і обмін води. Мінеральні речовини та їх обмін. Обмін речовин як єдине ціле.

Контроль і регуляція метаболізму.

Питання для самостійної підготовки студентів:

1. Значення і розподіл води в організмі людини і тварин.
2. Обмін води.
3. Загальна характеристика мінеральних речовин.
4. Обмін мінеральних речовин.
5. Значення і обмін деяких хімічних елементів.
6. Взаємозв'язок і взаємообумовленість реакцій обміну речовин.
7. Взаємозв'язок обміну нуклеїнових кислот із обміном інших речовин.
8. Утворення нейтральних жирів із вуглеводів.
9. Утворення вуглеводів із жирів.
10. Утворення білків із вуглеводів.
11. Єдність обміну речовин в організмі.
12. Регуляція на рівні мембрани.
13. Регуляція за участю циклічного АМФ (цАМФ).
14. Метаболітний рівень регуляції.
15. Оперонний рівень регуляції.
16. Клітинний рівень регуляції.
17. Організменний і популяційний рівень регуляції

Завдання до лабораторно-практичної роботи №5 II модуля.

1. Які хімічні сполуки утворюються під час повного кислотного гідролізу нуклеїнових кислот: а) пуринові основи; б) нуклеозидтрифосфорні кислоти; в) пентози; г) фосфорна кислота; д) піримідинові основи? Напишіть їх формули.
2. Який вуглевод входить до складу РНК: а) β -D-рибофураноза; б) рамноза; в) β -D-фруктофураноза; г) β -D-2-дезоксирибофураноза; д) β -D-галактопіраноза? Напишіть формулу.
3. Який вуглевод входить до складу ДНК: а) β -D-глюкопіраноза; б) β -D-фруктофураноза; в) β -D-рибофураноза; г) β -D-2-дезоксирибофураноза; д) D-арабіноза? Напишіть формулу.
4. Які азотисті основи містяться в складі РНК: а) піримідин; б) аденін; в) тимін; і) цитозин; д) урацил? Напишіть їх формули,.
5. Які азотисті основи входять до складу ДНК: а) пурин; б) гуанін; в) аденін; г) тимін; д) цитозин? Напишіть їх формули.
6. Які піримідинові основи є мінорними: а) цитозин; б) урацил; в) 5-метилцитозин; г) тимін; д) 2-оксиметилцитозин? Напишіть їх формули.
7. Які пуринові основи є мінорними: а) аденін; б) гуанін; в) 2-метиладенін; г) 1-метилгуанін; д) пурин? Напишіть їх формули.
8. Напишіть у двох таутомерних формах (кетто-енольна) такі основи: а) гуанін; б) урацил; в) цитозин.
9. Які сполуки є нуклеозидами: а) аденозин; б) 2-дезокситимідин; в) аденінрибонуклеозидмонофосфат; г) циклічна аденілова кислота; д) цитидин? Напишіть їх формули.
10. Яка сполука є нуклеотидом: а) 2'-дезоксигуанозин; б) уридин-5'-фосфорна кислота; в) дезоксицитидин-5'-фосфорна кислота; г) уридин; д) аденілова кислота? Напишіть їх формули.

Навчальна та наукова література

Основна:

1. Губський, Ю. І. Біологічна хімія : Підруч. для студ. / Ю. І. Губський. – К. – Т. : Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
2. Копильчук, Г. П. Біохімія : Навч. посіб. для студ. біологічних спец. вищих навч. закл. / Г. П. Копильчук, О. М. Волощук, М. М. Марченко ; Чернівецький нац. ун-т ім. Ю. Федьковича. – Чернівці : Рута, 2004. – 224 с.
3. Практикум з біологічної хімії : навч. посіб. / за ред. Жегунова Г. Ф.; Харків. держ. зооветеринарна академія. – Х. : "Бурун і К", 2014. – 304 с.
4. Куленко О.А. Біохімія : Методичні рекомендації до лабораторних робіт. – Полтава, 2023. – 56 с.
5. Куленко О.А. Основні біохімічні та біоорганічні методи дослідження / О.А. Куленко // Хімія, біотехнологія, екологія та освіта : зб. матер. VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Полтава, 16 – 17 травня 2022 р. : – Полтава, 2022. – С. 58 – 65.
6. Куленко О.А. Застосування природних амінокислот та їх синтетичних аналогів / О.А. Куленко // Крок у науку: дослідження у галузі природничо-математичних дисциплін та методик їх навчання : зб. наук. праць Всеукр. науково-практ. конф. студентів, аспірантів і молодих учених, м. Чернігів 20 листопада 2020 р. : Чернігів, 2020. – С. 32.
7. Куленко О.А. Біологічний вплив вітаміну D на організм людини / О.А. Куленко // Харківський природничий форум : зб. наук. праць V Міжнарод. конф. молодих учених : м. Харків, 19 – 20 травня 2022 р. : – Харків, 2022. – С. 259 – 262. Секція «Хімія та біохімія». https://drive.google.com/drive/folders/1R6nBAP1OeMTEBIh8O5rpG6xSEx2_0vx?usp=sharing
8. Куленко О.А. Оцінка біологічного впливу ванадію та його сполук на навколишнє середовище / О.А. Куленко // Екологічні проблеми навколишнього середовища та раціонального природокористування в контексті сталого розвитку : зб. наук. праць III-ї Міжнарод. науково-практ. конф., м. Херсон 22 – 23 жовтня 2020. – С. 373 – 377.
9. Стрижак С.В., Куленко О.А. Біологічний вплив вітаміну С на організм людини / С.В. Стрижак, О.А. Куленко // Актуальні задачі хімії: дослідження і перспективи : зб. наук. праць V Всеукр. наукової конф., м. Житомир 15 квітня 2021 р., Житомир, 2021. – С. 223 – 224.
10. Куленко О.А. Отримання рослинних екстрактів у косметичній промисловості / О.А. Куленко // XV Менделєєвські читання : зб. наук. праць Всеукр. наук.-практ. конф. : м. Полтава, 2 березня 2022 р. : – Полтава, 2022. – С. 31 – 34.
11. Куленко О.А. Функціонально-технологічні властивості харчових барвників / О.А. Куленко // XV Менделєєвські читання : зб. наук. праць Всеукр. наук.-практ. конф. : м. Полтава, 2 березня 2022 р. : – Полтава, 2022. – С. 34 – 38.
12. Куленко О.А. Біологічний вплив вітаміну В₁ на організм людини / О.А. Куленко // Методика навчання природничих дисциплін у середній та вищій школі : XXX Каришинські читання : міжнар. наук.-практ. конф., м. Полтава 25 – 26 травня 2023 р. : зб. наук. праць – Полтава : Астроя, 2023. – С. 139 – 142.
13. Куленко Р.А., Шинкаренко В.І., Куленко О.А. Біохімічні складові якості зерна кукурудзи гібридів Ріонеер в умовах лівобережного лісостепу / Р.А. Куленко, В.І. Шинкаренко, О.А. Куленко // XVI Менделєєвські читання : зб. наук. праць Всеукр. наук.-практ. конф. : м. Полтава, 14 – 15 березня 2023 р. : – Полтава, 2023. – С. 52 – 53.

Додаткова:

1. Біохімія: Тестовий контроль знань: Навч. пос. / Кучеренко М.Є., Пашенко О.Ю. та ін. – К.: Либідь, 1995. – 344 с.
2. Боечко Ф.Ф. Біологічна хімія: Навч. пос. 2-ге видання, перероб. і доповн. – К.: Вища школа., 1995. – 536 с.
3. Кучеренко М.Є., та ін. Біохімія. Програмований контроль знань із застосуванням ЕОМ. – К.: Либідь, 1993. – 203 с.
4. Кучеренко М. Є. Сучасні методи біохімічних досліджень : Учбовий посібник / М. Є. Кучеренко, Ю. Д. Бабенюк, В. М. Войніцький. – К. : Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.

Інформаційне забезпечення

1. Український освітній портал <http://osvita.ua/school/technol/>
2. <http://www.iupac.org/> Міжнародне товариство IUPAC
3. www.chem.msu.su - Інформаційна мережа CHEMNET.
4. <http://www.isi.bids.ac.uk>
5. <http://www.shef.ac.uk/~chem/chemdex/>
6. <http://www.chemconnect.com/library/journals/journals-j.html>
7. <http://www.ch.cam.ac.uk/ChemJournals.html>
8. <http://chemweb.com/>
9. <http://molsim.vei.co.uk/>

Теми для наукових студій (рефератів)

1. Хімічний склад живих організмів.
2. Макро- та мікроелементи
3. Біохімічна характеристика субклітинних структур.
4. Методи біохімічних досліджень та їх характеристика.
5. Потреба організмів в хімічних елементах.
6. Організм і середовище
7. Фракціонування клітинних компонентів.
8. Білки. Історія відкриття та вивчення будови і властивостей.
9. Пептиди. Синтез пептидів поза організмом.
10. Форма білкових молекул та методи її визначення. Поняття про протомери, мультимери. Кооперативний ефект олігомерних білків. Денатурація та ренатурація білків. Поняття про нативний білок.
11. Функції білків в організмі.
12. Історія відкриття та вивчення ферментів.
13. Механізм дії ферментів Промислове одержання та практичне використання ферментів
14. Історія відкриття вітамінів.
15. Роль вітамінів у харчуванні людини та тварин
16. Поняття про інші біологічно активні речовини.
17. Антивітаміни, антибіотики.
18. Історія відкриття та успіхи в дослідженні структури та функцій нуклеїнових кислот.
19. Обмін речовин та енергії - невід'ємна частина живого.
20. Масштаби обміну речовин на Землі Регуляція біосинтезу нуклеїнових кислот в організмі Регуляція біосинтезу Білків.
21. Нематричний біосинтез білків (роботи Ф. Ліпмана Проблема асиметричного синтезу в живій природі, її методологічне значення
22. Особливості біосинтезу вуглеводів.
23. Біосинтез вуглеводів у гетеротрофів
24. Природа мутацій. Хімічні мутації.
25. Наслідки мутацій по відношенню до структури і функцій білків.
26. Механізм окислення вищих жирних кислот-окислення, його локалізація в клітині та співвідношення в тваринному та рослинному царстві
27. Стериди, їх будова та функції.
28. Обмін стеринів
29. Коротка історія уявлень про біологічне окислення.
30. Локалізація окислювального фосфорилування в клітині.
31. Дихальний ланцюг каталізаторів.
32. Поняття про редокс-потенціал, механізм передачі протонів та електронів по дихальному ланцюгу.