

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ЩОДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«БІОХІМІЯ, ЕКОЛОГІЯ З ОСНОВАМИ ГІГІЄНИ»
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ
ЗІ СПЕЦІАЛЬНОСТЕЙ: 014.11 – «СЕРЕДНЯ ОСВІТА
(ФІЗИЧНА КУЛЬТУРА)»,
227 – «ФІЗИЧНА ТЕРАПІЯ, ЕРГОТЕРАПІЯ»
ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «БАКАЛАВР»

КРЕМЕНЧУК 2020

ЗМІСТ

Вступ	4
1. Перелік лабораторних робіт	5
Лабораторна робота № 1 Будова та властивості амінокислот та білків.....	5
Лабораторна робота № 2 Ферменти та коферменти. Класифікація.....	8
Лабораторна робота № 3 Будова гему та значення гемових білків. Синтез гему та його регуляція.....	11
Лабораторна робота № 4 Вуглеводи. Класифікація та загальна характеристика.....	17
Лабораторна робота № 5 Цикл трикарбонових кислот.....	20
Лабораторна робота № 6. Основи радіаційної гігієни.....	22
2. Критерії оцінювання знань студентів	28
Список літератури	29

ВСТУП

Ці методичні розробки можуть бути використані студентами денної форми навчання в процесі практичної підготовки до занять під час вивчення курсу «Біохімія, екологія з основами гігієни».

Основними завданнями вивчення навчальної дисципліни «Біохімія, екологія з основами гігієни» є сформувати у студентів спеціальностей 014.11 – «Середня освіта (Фізична культура)» та 227 – «Фізична терапія, ерготерапія» систему теоретичних знань про обмін речовин та ознайомити з гігієнічними засобами, що використовуються для зміцнення здоров'я та працездатності населення; з профілактичними заходами щодо захворювань.

Виконання звіту до кожної лабораторної роботи надає можливість студентові втілювати теоретичні знання в практичну діяльність. Слід зазначити, що розв'язання запропонованих завдань потребує відповідних знань студентів, умінь працювати з довідковою фаховою літературою.

Після кожної лабораторної роботи є контрольні питання та відповідна література із зазначеними сторінками.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студенти повинні

знати:

- загальні біохімічні закономірності, що лежать у підґрунті процесів обміну речовин в організмі людини;
- вплив забрудненого середовища на здоров'я людини;
- основні елементи здорового способу життя, гігієнічні чинники, оздоровчі сили природи, заходи щодо профілактики захворювань людини;

уміти:

- визначати біохімічні діагностичні показники;
- орієнтуватися в екологічних проблемах і ситуаціях у системі стандартів, правил, норм, які регламентують взаємовідносини людини і природи;
- використовувати гігієнічні засоби та природні чинники в усіх формах оздоровчої та фізкультурно-масової роботи.

ПЕРЕЛІК ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Лабораторна робота № 1

Тема. Будова та властивості амінокислот та білків

Мета роботи: вивчити будову та властивості амінокислот та білків; кольорові реакції, за допомогою яких здійснюють якісний хімічний аналіз білків. У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

- знати структуру, класифікацію та функції білків;
- уміти писати формули амінокислот, виконувати кольорові реакції.

Короткі теоретичні відомості

Білки (протеїни) – найважливіший клас біомолекул, з наявністю яких, а також нуклеїнових кислот, пов'язують саму хімічну сутність життя в умовах Землі. Білки є біополімерами, що складаються з двадцяти L-амінокислот, які утворилися в умовах хімічної еволюції на етапі «переджиття» (П. Тейяр де Шарден) і становлять разом з нуклеотидами молекулярну абетку будь-якої живої клітини. Амінокислоти в білках сполучені пептидними зв'язками C–N. Число залишків амінокислот, які входять до пептидного ланцюга, буває дуже значним, тому відносні молекулярні маси білків можуть досягати кількох мільйонів.

До поширених білків належать альбумін (міститься в курячих яйцях), гемоглобін (у крові людини), казеїн (у коров'ячому молоці), міоглобін та міозин (у м'язах). Білки є одними з найважливіших біологічних речовин: вони необхідні для життєдіяльності організмів. Серед білків виділяють прості білки, або протеїни, пептидні ланцюги яких створюються тільки L-амінокислотами, і складні білки, або протеїди, які складаються із залишків L-амінокислот та небілкових речовин. Головний внесок у становлення уявлень про пептидну будову білкових молекул зроблено видатним німецьким хіміком органіком та біохіміком Е. Фішером.

Сучасні експериментальні методи надали можливість встановити структуру природних білків. Розрізняють первинну, вторинну, третинну і четвертинну структури білка. Первинна структура білка – це структура пептидного ланцюга, тобто амінокислотний склад і послідовність черговості залишків амінокислот у ланцюгу білкової молекули. Пептидний ланцюг має певну просторову форму, яка становить вторинну структуру білка. У природних білках пептидний ланцюг має форму спіралі, звичайно її називають L-спіраллю. Спіралеподібна форма молекули зберігається завдяки виникненню водневих зв'язків між атомами водню і кисню в пептидній групі, які розміщуються між витками спіралі. Водночас, L-спіраль може займати певне положення в просторі, яке визначає третинну структуру білка. Таке положення білкової молекули також пов'язане з наявністю водневих зв'язків. Білкові молекули, які мають певне просторове розміщення (третинну структуру), називають глобулами. Під четвертинною структурою білка розуміють просторове розташування самих глобул. Свою біологічну функцію білки виконують за умови, що зберігаються вторинна і третинна структури. Руйнування третинної і вторинної структур називається денатурацією білка. Під час денатурації зберігається тільки первинна структура білка, тобто пептидний ланцюг. Денатурацію білків може викликати дія хімічних речовин (кислот, лугів, спиртів, ацетону), нагрівання, підвищений тиск, радіоактивне опромінення.

Білки виконують різні функції: ферментативну, структурну, рецепторну, транспортну, захисну, рухову, сигнальну (гормональну), енергетичну (1 г білка – 17,2 кДж енергії). Білки – важлива частина харчування тварин і людини, оскільки ці організми не можуть синтезувати повний набір амінокислот і повинні отримувати частину з них із білковою їжею. У процесі травлення протелітичні ферменти руйнують спожиті білки, розкладаючи їх до рівня амінокислот, які використовуються під час біосинтезу білків організму або піддаються подальшому розпаду для отримання енергії. Білки є необхідним компонентом харчових продуктів. У процесі приготування їжі (кип'ятіння,

смаження тощо) вони звичайно денатуруються: в такому вигляді вони легше перетравлюються. Білки, які людина вживає з їжею, зазнають гідролізу. Амінокислоти, що утворилися, йдуть на побудову білків організму. Білки входять до складу багатьох лікарських препаратів.

Порядок виконання

1. Виконати кольорові реакції, за допомогою яких здійснюють якісний хімічний аналіз білків: а) біуретова реакція – дія на білок розчину лугу і розчину сульфату міді (II), при цьому розчин набуває фіолетового забарвлення; б) ксантопротеїнова реакція (для білків, що містять бензольні ядра) – дія концентрованої азотної кислоти з появою жовтого забарвлення. У разі добавляння лугу жовте забарвлення змінюється на оранжеве; в) цистеїнові реакція (для білків, що містять сірку) – кип'ятіння розчину білка з ацетатом свинцю (II) з появою чорного забарвлення; г) реакція Меллона (для білків, що містять фрагменти фенолу) – кип'ятіння розчину білка з реактивом Меллона (розчином, який містить $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ і HNO_2) з появою червоного забарвлення; д) реакція з нітропрусидом натрію (для білків, що містять групи – SH), з яким білки дають червоне забарвлення в аміачному середовищі.

2. Зробити аналіз якісного хімічного складу білків у проведених реакціях.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Написати формули двадцяти L-амінокислот.
3. Описати процес гідролізу та денатурації білка.

Контрольні питання

1. Наведіть загальну формулу білка.
2. Чому білки складаються лише з α -амінокислот?
3. Що таке структури білка? Які вони бувають?
4. Опишіть різновиди вторинної структури білка.
5. У чому вимірюється розмір молекули білка?
6. Які основні хімічні властивості білків?

7. Наведіть якісні реакції на білки.
8. Які функції виконують білки в живих організмах?
9. Що означає поняття незамінної амінокислоти або білка?
10. Що таке денатурація білка? Чим вона характеризується?

Література: [1].

Лабораторна робота № 2

Тема. Ферменти та коферменти. Класифікація

Мета роботи: вивчити поняття «ферменти», «коферменти» та їх класифікацію. У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

- знати специфічність ферментів, модель «ключ–замок», модель індукованої відповідності;
- уміти визначати класи та записувати коди ферментів.

Короткі теоретичні відомості

Ферменти, або ензими, – органічні каталізатори білкової або РНК природи, які утворюються в живих організмах, здатних прискорювати перебіг хімічних реакцій в організмі. Ферменти каталізують більшість хімічних реакцій, які відбуваються в живих організмах. Вони можуть мати від одного до кількох поліпептидних ланцюгів – субодиниць. Кожен із ферментів має один або більше активних центрів, які визначають специфічність хімічної реакції, що каталізується цим ферментом. Окрім активного центру деякі ферменти мають алостеричний центр, який регулює роботу активного центру. Ферментативна реакція також може регулюватися іншими молекулами, як білкової природи, так і іншими – активаторами та інгібіторами. Біохімічні реакції відбуваються за участю ферментів за нормального тиску, температури, у слабкокислому, нейтральному чи слаболужному середовищі.

Терміни «фермент» і «ензим» можна використовувати як синоніми. Але наука про ферменти називається ензимологією, а не ферментологією (ймовірно, щоб не змішувати корені слів латинської і грецької мов).

Функції ферментів. Ферменти є біологічними каталізаторами, вони наявні в усіх живих клітинах і сприяють перетворенню одних речовин (субстратів) на інші (продукти). Ферменти мають функцію каталізаторів практично в усіх біохімічних реакціях, що відбуваються в живих організмах, – ними каталізується близько 4000 окремих біореакцій. Ферменти відіграють надзвичайно важливе значення у всіх процесах життєдіяльності, скеровуючи та регулюючи обмін речовин організму. Для ферментів характерним є те, що їх синтез та каталітична активність контролюється на генетичному рівні, а також за участю низькомолекулярних сполук-субстратів або продуктів реакції. Подібно до всіх каталізаторів, ферменти прискорюють як пряму, так і зворотню реакцію, знижуючи енергію активації процесу. Хімічна рівновага при цьому не зсувається ні в прямий, ні у зворотний бік. Відмінність ферментів від небілкових каталізаторів полягає у їх високій специфічності – константа дисоціації деяких субстратів з білком-ферментом може досягати менш ніж 10⁻¹⁰ моль/л. Ферменти широко використовуються і в народному господарстві – у харчовій, текстильній промисловості, у фармакології.

Класифікація ензимів. За типом реакцій, що каталізують, ферменти поділяються на 6 класів згідно з ієрархічною класифікацією ферментів (КФ або ЕС – Enzyme Commission code). Класифікацію було запропоновано Міжнародним союзом біохімії і молекулярної біології (International Union of Biochemistry and Molecular Biology). Кожен клас містить підкласи, так що фермент описується сукупністю чотирьох чисел, розділених крапками. Наприклад, пепсин має код КФ 3.4.23.1. Перше число описує клас реакцій, що каталізує фермент:

КФ 1: Оксидоредуктази – ферменти, що каталізують окислення або відновлення. Приклад: каталаза, алкогольдегідрогеназа.

КФ 2: Трансферази – ферменти, що каталізують перенесення хімічних груп з однієї молекули субстрата на іншу. Серед трансфераз особливо виділяють кінази, що переносять фосфатну групу зазвичай з молекули АТФ.

КФ 3: Гідролази – ферменти, що каталізують гідроліз хімічних зв'язків.

Приклад: естерази, пепсин, трипсин, амілаза, ліпопротеїніліпаза.

КФ 4: Ліази – ферменти, що каталізують розрив хімічних зв'язків без гідролізу з утворенням подвійного зв'язку в одному з продуктів.

КФ 5: Ізомерази – ферменти, що каталізують структурні або геометричні зміни в молекулі субстрату.

КФ 6: Лігази – ферменти, що каталізують утворення хімічних зв'язків між субстратами завдяки гідролізу АТФ. Приклад: ДНК-полімераза.

Кофактори ферментів. Деякі ферменти виконують каталітичну функцію самі собою, без додаткових компонентів. Проте є ферменти, яким для здійснення каталізу необхідні компоненти небілкової природи. Кофактори можуть бути як неорганічними молекулами (іони металів, залізо-сірчані кластери та інші), так і органічними (наприклад, флавін або гем). Органічні кофактори, які постійно (назавжди) пов'язані з ферментом, називають також простетичними групами.

Кофактори органічної природи, що здатні відділятися від ферменту, називають коферментами. Фермент, який вимагає наявності кофактора для здійснення каталітичної активності, але не пов'язаний з ним, називається апоферментом. Апофермент у комплексі з кофактором носить назву голоферменту. Більшість кофакторів пов'язана з ферментом нековалентними, але досить міцними взаємодіями. Є і такі простетичні групи, що пов'язані з ферментом ковалентно, наприклад, тіамінпірофосфат у складі ферменту піруватдегідрогенази.

Порядок виконання

Вивчити й навчитися визначати класи ферментів: КФ 1: оксидоредуктази – ферменти, що каталізують окислення або відновлення; КФ 2: трансферази – ферменти, що каталізують перенесення хімічних груп з однієї молекули субстрату на іншу; КФ 3: гідролази – ферменти, що каталізують гідроліз хімічних зв'язків; КФ 4: ліази – ферменти, що каталізують розрив хімічних

зв'язків без гідролізу з утворенням подвійного зв'язку в одному з продуктів; КФ 5: ізомерази – ферменти, що каталізують структурні або геометричні зміни в молекулі субстрату; КФ 6: лігази – ферменти, що каталізують утворення хімічних зв'язків між субстратами через гідроліз АТФ.

2. Визначити та записати у звіті, до яких класів відносяться ферменти: каталаза, алкогольдегідрогеназа, естерази, пепсин, трипсин, амілаза, ліпопротеїніліпаза, ДНК-полімераза.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Схематично зобразити модель «ключ-замок» з утворенням короткоживучого фермент-субстратного комплексу.
3. Описати модель індукованої відповідності.
4. Охарактеризувати рівняння ферментативних реакцій Міхаеліса–Ментен.

Контрольні питання

1. Що таке ензими?
2. Що таке субодиниця ферменту?
3. Наведіть функції ферментів.
4. Що означає поняття специфічності ферментів?
5. Опишіть принципи класифікації ензимів.
6. Як формуються назви ферментів?
7. Як описується кінетика ферментативних реакцій?
8. Чим визначається активність ферментів?
9. Опишіть модель індукованої відповідності ферменту і субстрату.
10. Що таке кофактор ферменту?

Література: [5].

Лабораторна робота № 3

Тема. Будова гему та значення гемових білків. Синтез гему та його

регуляція

Мета роботи: вивчити будову, синтез гему, особливості гемоглобіну: структуру, властивості, похідні. У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

- знати характеристику захворювань, які виникають у разі порушення синтезу гему; нормативні показники кількості гемоглобіну у чоловіків і жінок;
- уміти визначати кількість гемоглобіну за методом Салі.

Короткі теоретичні відомості

Гемоглобін (Hb) – складний білок класу хромопротеїнів, який є гемопротеїном. Гемоглобін має дві основні фізіологічні функції: 1) дихальну – бере участь у транспорті кисню та вуглекислого газу; 2) забезпечує сталість рН (гемоглобінова буферна система є найбільш потужною системою підтримки рН крові). Hb – це олігомерний білок, який складається з чотирьох субодиниць, або протомерів. Кожна субодиниця містить гем, що пов'язаний з білковою частиною через залишок гістидину. До складу молекули Hb входять по два поліпептидних ланцюги різних видів. Так, основний гемоглобін дорослої людини – HbA₁ (96–99 % усього гемоглобіну) – містить два α- та два β-ланцюги (α₂β₂). Також у крові міститься HbA₂ (α₂δ₂), вміст якого становить 2–3 %, фетальний гемоглобін HbF (α₂γ₂), кількість якого – 2–3 %. Частина HbA₁ глікозильована – це глікозильований гемоглобін HbA_{1c}, який утворюється через неферментативне глікування гемоглобіну залишками глюкози. Нормальна концентрація HbA_{1c} – 4–7 %. У чоловіків концентрація гемоглобіну в нормі становить 130–160 г/л, у жінок – 120–150 г/л.

Похідні гемоглобіну. До заліза, яке міститься в молекулі Hb, приєднується кисень – утворюється оксигемоглобін – HbO₂ (валентність заліза не змінюється, воно залишається двовалентним). У вигляді HbO₂ транспортується значна частина кисню. Інтенсивність утворення HbO₂ залежить від парціального тиску крові, значення рН, концентрації CO₂ та вмісту 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ). Різниця парціального тиску O₂ між альвеолярним повітрям та

міжклітинною рідиною, куди кисень потрапляє з крові, дорівнює 65 мм рт. ст. Ця значна різниця забезпечує перехід кисню із альвеол у кров і далі – в міжклітинну рідину. Крім того, функціонування цитохромоксидази дихального ланцюга призводить до безперервного використання кисню і зниження парціального тиску кисню в мітохондріях до 4–5 мм рт. ст. Отже, практично створюється «кисневий вакуум» у мітохондріях, що спрямовує потік кисню в клітини. Зв'язування гемоглобіну з різними лігандами, такими як H^+ (у разі зниження рН) та CO_2 , призводить до конформаційних змін у молекулі гемоглобіну і змінює спорідненість Hb до кисню. У тканинах CO_2 витісняє O_2 з гемоглобіну, в легенях, навпаки, кисень витісняє CO_2 з крові в альвеолярне повітря. Це явище відоме під назвою ефект Бора. Цей ефект також бере участь у регуляції рН крові. У капілярах тканин відбувається приєднання протона до гемоглобіну, і, отже, це запобігає закисненню середовища. Крім того, в тканинах збільшення кількості H^+ (під час утворення вугільної кислоти із CO_2) знижує спорідненість Hb до кисню. Гемоглобін, який віддає кисень, має назву дезоксигемоглобін, або відновлений гемоглобін (Hb). Приєднання вуглекислого газу призводить до утворення карбогемоглобіну $HbCO_2$ (CO_2 з'єднується з N-кінцевими групами гемоглобіну). У складі цього похідного транспортується до 20 % CO_2 .

Молекула гемоглобіну може утворювати комплекси з іншими газами. Так, комплекс гемоглобіну з чадним газом – карбоксигемоглобін ($HbCO$) є міцною сполукою. Спорідненість Hb до CO у 200 разів вище, ніж до кисню, тому утворення карбоксигемоглобіну блокує утворення оксигемоглобіну і транспорт кисню. Саме тому навіть незначні кількості чадного газу в повітрі є небезпечними для життя. У крові людини, яка живе у місті, концентрація карбоксигемоглобіну становить менше ніж 2 %. У крові людей, які палять, ця концентрація зростає до 10 %. За деяких патологічних станів, наприклад, у разі отруєння потужними окисниками (перманганат калію, бертолетова сіль, сульфаніламідні препарати та ін.), залізо у складі гему окиснюється до

тривалентного стану – утворюється метгемоглобін MetHb. Цей похідний гемоглобіну не може пов'язувати кисень. У нормі в еритроцитах міститься до 2 % метгемоглобіну, який утворюється через аутоокиснення. Така незначна кількість не пригнічує газообміну. Накопиченню метгемоглобіну перешкоджає функціонування ферменту метгемоглобінредуктази, яка відновлює MetHb. Метгемоглобінемія (підвищення концентрації MetHb) може мати спадкові особливості (у разі дефіциту метгемоглобін редуктази) та розвиватися внаслідок надходження в організм значної кількості окисників – нітритів, аніліну, нітробензолу та ін. (розвивається гостра токсична метгемоглобінемія).

У разі порушення синтезу гемоглобіну виникають гемоглобінопатії й таласемії, які мають спадкову особливість і належать до «молекулярних хвороб». Гемоглобінопатії є наслідком зміни кількісного або якісного амінокислотного складу поліпептидних ланцюгів гемоглобіну, тому вони належать до якісних гемоглобінопатій. Таласемії зумовлені порушенням швидкості синтезу поліпептидних ланцюгів гемоглобіну без зміни їх структури, тому вони ще мають назву кількісні гемоглобінопатії. Деколи спостерігається наявність цих двох патологій у одного хворого.

Для гемоглобінопатій і таласемій характерний синдром еритропатій, який супроводжується: скороченням тривалості життя еритроцитів, підвищеним гемолізом, порушенням функцій еритроцитів. Відомо близько 300 аномальних гемоглобінів, але не всі патології мають клінічні прояви. Перші аномальні гемоглобіни називали за літерами латинського алфавіту, але, оскільки існує велика кількість патологічних форм, до назв цих гемоглобінів почали включати назви місць їх відкриття (Москва, Boston) або назви шпиталів. Найчастіше при гемоглобінопатіях спостерігаються гемоглобіни S, C, D, E, H. HbS – гемоглобін, у якому в 6-му положенні β -ланцюга глютамінова кислота (Глу) замінена на валін (Вал). Валін має неполярний радикал, тому така заміна призводить до зниження розчинності гемоглобіну. Внаслідок синтезу HbS змінюється структура еритроцитів – кристалізація гемоглобіну у вигляді тектоїдів

супроводжується розтягненням оболонки і вони набирають форми серпа. Тому ця патологія має назву серпоподібно-клітинна анемія. Унаслідок цього спостерігаються підвищення в'язкості крові, зменшення швидкості кровотоку, зниження механічної резистентності еритроцитів – вони втрачають здатність проходити через дрібні капіляри. Такі еритроцити застряють у капілярах, руйнуються і утворюють тромби, наслідком чого є хронічна капілярнопатія. HbC – гемоглобін, у якому в 6-му положенні β -ланцюга глютамінова кислота (Глу) замінена на лізин (Ліз). Цей гемоглобін також кристалізується в еритроцитах, які гемолізують, результатом чого є розвиток анемії. Високий вміст HbC призводить до розвитку легкої форми гемолітичної анемії. HbD – гемоглобін, в 121-му положенні бета-ланцюга якого глютамінова кислота (Глу) замінена на глютамін (Глн). У разі високого вмісту такого аномального гемоглобіну розвивається легка форма гемолітичної анемії. HbE – гемоглобін, у 26-му положенні β -ланцюга якого глютамінова кислота (Глу) замінена на лізин (Ліз). Унаслідок дефіциту нормальних β -ланцюгів за симптоматикою ця гемогло-бінопатія подібна до β -таласемії і супроводжується розвитком мікроцитарної гіпохромної анемії та наявністю мішенеподібних еритроцитів. Бувають також більш тяжкі форми цієї патології, які супроводжуються вираженою спленомегалією. HbM – існує група гемоглобінів, у яких структурний дефект (амінокислотна заміна) перешкоджає відновленню метгемоглобіна до гемоглобіну. У таких гемоглобінах метгемоглобінредуктаза не може відновити тривалентне залізо до двовалентного стану, тому в еритроцитах спостерігається накопичення метгемоглобіну.

Таласемії (греч. *thalassa* – море і гемо...) – це найбільш поширені спадкові захворювання людини. Залежно від того, порушення синтезу яких ланцюгів гемоглобіну спостерігається за цією патологією, таласемії прийнято поділяти на дві групи: α - та β -таласемії. Альфа-таласемія обумовлена порушенням синтезу α -ланцюгів Hb (унаслідок делеції або інактивації одного з чотирьох генів альфа-ланцюгів глобіну). Бета-таласемія розвивається внаслідок порушення

синтезу β -ланцюгів. У разі альфа-таласемії в організмі дорослої людини формуються бета⁴тетрамери – це гемоглобін Н (HbH). Ці тетрамери нестабільні, крива дисоціації оксигемоглобіну не має S-подібної форми. У хворих спостерігається мікроцитарна гіпохромна анемія. Гемолітичні прояви захворювання обумовлені кількістю таких тетрамерів. У разі бета-таласемії надлишок α -ланцюгів гемоглобіну не утворює тетрамерів, α -ланцюги Hb пов'язуються з мембранами еритроцитів та пошкоджують їх. Гомо- та гетерозиготи мають різні за тяжкістю клінічні прояви. Варіації симптомів можуть бути від тяжкої анемії з клінічною симптоматикою, яка не дозволяє людині жити довше, ніж до 20 років (анемія Кулі), до легкої мікроцитарної анемії.

Порядок виконання

Студенти навчаються визначати кількість емоглобіну за методом Салі. *Матеріали і обладнання.* Фотоелектроколориметр, гемометр, капілярна піпетка на 20 мкл, піпетки для води, скляна паличка, децинормальний розчин НСІ, дистильована вода, спирт, вата, пробірки.

Визначення кількості гемоглобіну за методом Салі. Гемометр ГС-3 складається із штатива з трьома гніздами. Задня стінка штатива являє собою пластинку із білого скла. В бокові гнізда вставлені однакові запаяні пробірки (кольорові стандарти). В середнє гніздо вставлена градуйована пробірка для досліджуваної крові. На пробірку нанесена шкала, яка показує кількість гемоглобіну.

У градуйовану пробірку наливають децинормальний розчин НСІ до нижньої кругової мітки (0,2 мл). У капілярну піпетку набирають 0,02 мл крові. Кров, яка залишилась на кінчику капіляра, видаляють ваткою. Опускають капіляр на дно градуйованої пробірки і обережно видують із нього кров так, щоб верхній шар розчину залишався прозорим. Потім два-три рази обережно промивають капіляр, набираючи розчин із верхнього прозорого шару. Виймають капіляр із пробірки, ретельно перемішують її вміст скляною

паличкою і ставлять у штатив. Через 5 хв. до розчину по краплях додають дистильовану воду і перемішують скляною паличкою до отримання однакового забарвлення зі стандартом. Поділка на шкалі, до якої піднялась рідина, покаже кількість гемоглобіну в грамах на 100 мл крові.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Скласти порівняльну характеристику гемоглобінопатій і таласемій, занести до таблиці й зробити висновки.
3. Визначити гемоглобін у осіб чоловічої та жіночої статі, порівняти з нормальними показниками, зробити висновки і занести до протоколу.

Контрольні питання

1. Які речовини забезпечують виконання кров'ю її функцій?
2. Як білкові фракції крові впливають на її фізико-хімічні властивості?
3. Охарактеризуйте альбуміни.
4. Охарактеризуйте глобуліни.
5. Що таке імуноглобуліни?
6. Опишіть методіку фракціонування білків крові.
7. Опишіть структуру гемоглобіну.
8. Поясніть поняття таласемії.
9. Які групи ферментів присутні в крові?
10. Які речовини в крові називають індикаторними?

Література: [8].

Лабораторна робота № 4

Тема. Вуглеводи. Класифікація та загальна характеристика

Мета роботи: вивчити класифікацію та загальну характеристику вуглеводів.

У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

– знати характеристику полісахаридів та моносахаридів, надати приклади представників;

– уміти складати та записувати формули простих та складних полісахаридів.

Короткі теоретичні відомості

Надзвичайно важливими хімічними сполуками живих організмів є вуглеводи. Вони широко поширені в природі, в рослинному світі вони складають 70–80 % з розрахунку на суху речовину, у тварин вміст значно менше – 2 % маси тіла. Значення їх надзвичайно важливе, що і підтверджується різноманітними функціями, виконуваними вуглеводами.

Енергетична – головний вид клітинного палива, основне джерело енергії для організму. Вуглеводи є основним джерелом енергії для організму, забезпечуючи його на 60 %. Для діяльності мозку – єдиним постачальником енергії є глюкоза. Під час повного розпаду, 1 г вуглеводів виділяється 4,1 ккал.

Пластична – входять до складу оболонок клітин і субклітинних утворень, містяться у всіх органах і тканинах.

Функція запасних поживних речовин. Вуглеводи мають здатність накопичуватися в організмі у вигляді крохмалю в рослин і глікогену (печінка, м'язи) у тварин.

Захисна функція – в'язкі секрети, які виділяються різними залозами оберігають стінки порожніх органів від механічних пошкоджень і проникнення патогенних бактерій.

Регуляторна функція – такий вуглевод, як клітковина, бере участь у активації перистальтики кишечника.

Специфічна функція – проведення нервових імпульсів, утворення антитіл. За хімічною природою вуглеводи – це органічні речовини, що складаються з вуглецю, кисню і водню в співвідношенні 1:2:1. Їх поділяють на: моносахариди – прості цукри, що складаються з однієї молекули. Серед них розрізняють тріози, тетрази, пентози, гексози; олігосахариди – молекули яких містять від 2 до 10 залишків моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками (сахароза); полісахариди – високомолекулярні вуглеводи, що складаються з великої

кількості моносахаридів (крохмаль, глікоген). Полісахариди поділяються на гомо- та гетерополісахариди. Гомополісахариди мають у своєму складі моносахариди тільки одного виду. Гетерополісахариди – це комплекси різних видів моносахаридів і їх похідних (наприклад, мукополісахариди). З огляду функціонального призначення полісахариди також можуть бути розділені на структурні (целюлоза) і резервні (крохмаль, глікоген).

Порядок виконання

Студенти вивчають вуглеводний обмін в організмі людини. Вуглеводний обмін в організмі людини складається в основному з таких процесів: розщеплення в шлунково-кишковому тракті до моносахаридів, що надходять з їжею ди- і полісахаридів; усмоктування в кров у кишечнику; синтез і розпад глікогену (печінка); анаеробне розщеплення глюкози: гліколіз – без участі кисню; взаємоперетворення гексоз; аеробний метаболізм пірувату – за участю кисню, цикл Кребса; глюконеогенез – утворення вуглеводів з неуглеводних продуктів.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Схематично зобразити етапи вуглеводного обміну.
3. Записати процес гліколізу: стадії гліколізу, ферменти, послідовні реакції, продукти цієї реакції.
4. Описати процес глюконеогенезу на прикладі молочної або піровиноградної кислот.

Контрольні питання

1. Що таке вуглеводи? Які їх характерні особливості?
2. Наведіть функції вуглеводів в організмі людини.
3. Як утворюються полісахариди?
4. Опишіть ізомерію глюкози.

5. Опишіть цикл Корі.
6. Чому вуглеводи в організмі накопичуються у вигляді полісахаридів?
7. Як синтезується і як розщеплюється глікоген?
8. Який енергетичний ефект розщеплення молекули глюкози?
9. Як регулюється гліколіз та глікогенез?

Література: [6].

Лабораторна робота № 5

Тема. Цикл трикарбонних кислот

Мета роботи: вивчити характеристику циклу трикарбонних кислот (Кребса), основні стадії дихального ланцюга.

У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

- знати основні реакції циклу Кребса, етапи енергетичного обміну;
- уміти пояснити зв'язок катаболізму та анаболізму; спряження ендергонічних та екзергонічних реакцій.

Короткі теоретичні відомості

Цикл трикарбонних кислот (цикл Кребса, цитратний цикл) – центральна частина загального шляху катаболізму, циклічний біохімічний процес аеробних організмів, під час якого відбувається перетворення двох- і трьохвуглецевих сполук, що утворюються як проміжні продукти в живих організмах під час розпаду вуглеводів, жирів і білків, до CO_2 . При цьому звільнений водень прямує в ланцюг тканинного дихання, де надалі окислюється до води, беручи безпосередню участь у синтезі універсального джерела енергії – АТФ.

Цикл Кребса – це ключовий етап дихання всіх клітин, що використовують кисень (аеробне дихання), центр перетину безлічі метаболічних шляхів в організмі. Окрім значної енергетичної функції циклу відводиться також і істотна пластична функція, тобто це важливе джерело молекул-попередників, з

яких під час інших біохімічних перетворень синтезуються такі важливі для життєдіяльності клітини з'єднання, як амінокислоти, вуглеводи, жирні кислоти та ін. Цикл перетворення лимонної кислоти в живих клітинах був відкритий і вивчений німецьким біохіміком Гансом Кребсом, за цю свою роботу він (спільно з Фріцем Ліпманом) був удостоєний Нобелівської премії з фізіології та медицини 1953 року. У еукаріотів всі реакції циклу Кребса протікають усередині мітохондрій, причому ферменти, що їх каталізують, окрім одного, знаходяться у вільному стані в мітохондріальному матриксі, виняток складає сукцинатдегідрогеназа, яка локалізується на внутрішній мітохондріальній мембрані, вбудовуючись у ліпідний бішар. У прокаріотів реакції циклу протікають у цитоплазмі.

Узагальнена схема циклу Кребса подана нижче. Загальне рівняння одного обороту циклу Кребса:



До циклу залучають і деякі амінокислоти. Процес їх окиснення починається з їх дезамінування, тобто відщеплення аміногрупи. Решта вуглецевого ланцюга піддається подальшим перетворенням і в кінці кінців набуває вигляду цикла Кребса. Так, наприклад, аланін після дезамінування надає піровиноградну кислоту. Глутамінова кислота – альфа-кетоглутарову, а аспарагінова – щавлевооцтову. Ці три амінокислоти залучаються до циклу Кребса безпосередньо. Інші амінокислоти, крім реакції дезамінування, мають пройти ще кілька додаткових реакцій, перш ніж вони зможуть брати участь у циклі Кребса.

Порядок виконання

Студенти ознайомлюються з кисневим (аеробним етапом) метаболізму, який передбачає цикл Кребса та електронтранспортний ланцюг, відбувається у мітохондріях. На цьому етапі органічні речовини окиснюються до вуглекислого газу, а всі відщеплені від них електрони та протони переносяться на кисень, унаслідок чого утворюється вода. На цьому етапі відбувається як субстратне

так і окисне фосфорилування й синтезується найбільша кількість АТФ. Вивчають узагальнену схему циклу Кребса.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Зобразити узагальнену схему циклу Кребса.
3. Описати комплекси дихального ланцюга мітохондрій: комплекс I, комплекс II, комплекс III, комплекс IV.

Питання для самоперевірки

1. Що таке енергетичний обмін?
2. Наведіть етапи енергетичного обміну?
3. Що таке активовані переносники?
4. Поясніть спряження ендергонічних та екзергонічних реакцій.
5. Чи можуть ферменти змінити енергію Гіббса для реакції?
6. Що таке метаболічні шляхи?
7. Як здійснюється регуляція метаболічних шляхів?
8. Поясніть зв'язок катаболізму та анаболізму.
9. Опишіть цикл Кребса. Де він протікає?
10. Розкрийте основні стадії дихального ланцюга.

Література: [1].

Лабораторна робота № 6

Тема. Основи радіаційної гігієни

Мета роботи: вивчити санітарно-гігієнічні, екологічні та соціальні наслідки радіаційних та ядерних аварій.

У результаті проведення лабораторної роботи студенти повинні:

- знати основи радіаційної безпеки; місцеві променеві реакції та пошкодження;
- уміти розрізняти гостру та хронічну променеву хворобу; оволодіти навичками користування дозиметрами і радіометрами.

Короткі теоретичні відомості

Радіаційна гігієна – галузь гігієнічної науки і санітарної практики, метою якої є забезпечення безпеки для працівників з джерелами іонізуючої радіації та для населення в цілому.

Завдання радіаційної гігієни передбачають: санітарне законодавство в галузі радіаційного чинника; запобіжний і поточний санітарний нагляд за об'єктами, що використовують джерела іонізуючої радіації; гігієна й охорона праці персоналу, що працює з джерелами іонізуючої радіації та персоналу, який працює в суміжних приміщеннях і на території контрольованих зон; контроль за рівнями радіоактивності об'єктів навколишнього середовища (атмосферного повітря, повітря робочої зони, води водойм, питної води, харчових продуктів, ґрунту та інших); контроль за збором, зберіганням, видаленням та знешкодженням радіоактивних відходів чи їх похованням тощо.

Радіоактивність – спонтанне перетворення ядер атомів хімічних елементів зі зміною їх хімічної природи або енергетичного стану ядра, яке супроводжується ядерними випромінюваннями.

Радіонуклід – радіоактивний атом з певним масовим числом і зарядом (атомним номером). Ізотопи радіоактивні – радіоактивні атоми з однаковим зарядом (атомним номером) і різними масовими числами, тобто з однаковою кількістю протонів та різною кількістю нейтронів у ядрі.

Види ядерних перетворень: розпад – характерний для важких (з великим масовим числом) елементів і заключається у вильоті з ядра атома-частинки – за своєю природою ядра гелію (2 протони і 2 нейтрони), внаслідок чого з'являється ядро нового хімічного елемента з масовим числом, меншим на 4, і зарядом, меншим на 2: $Ra \rightarrow Rn + He$.

Втративши частинку, ядро атома знаходиться у збудженому стані з надлишком енергії, яка виділяється у вигляді випромінювання, тобто розпад завжди супроводжується випромінюванням.

Електронний розпад – процес, за яким з ядра атома (з одного із нейтронів) вилітає електрон, унаслідок чого цей нейтрон перетворюється в протон, у зв'язку з чим утворюється новий елемент з тим же масовим числом і з зарядом, більшим на одиницю: $K e^{-1} + Ca +$.

З якісної сторони ядерні перетворення характеризуються: видом розпаду, видом випромінювання, періодом напіврозпаду – терміном, за який розпадається половина вихідної кількості атомів (згідно із законом радіоактивного розпаду, число атомів N , що розпадається за термін t , пропорційно вихідній кількості атомів): $N = N_0 e^{-t}$.

З огляду гігієни та вибору методів дезактивації радіоактивних відходів, усі радіонукліди поділяють на короткоживучі ($T_{1/2} < 15$ діб) і довгоживучі ($T_{1/2} > 15$ діб): короткоживучі витримують у відстійниках до зниження активності, а потім спускають у загальну каналізацію чи вивозять, а довгоживучі – вивозять і хоронять у спеціальних могильниках.

Кількісна міра радіоактивного розпаду – активність (Q) – це кількість розпадів атомів за одиницю часу.

Одиниця активності в системі Si – беккерель (Бк) – один розпад за секунду (s^{-1}). Унаслідок того, що ця одиниця дуже мала, користуються похідними – кілобеккерель (кБк), мегабеккерель (МБк).

Позасистемна (застаріла) одиниця активності – кюрі (Кі) – це активність 1 г хімічно чистого радію, дорівнює $3,7 \times 10^{10}$ Бк (розпадів за сек.). Ця одиниця, навпаки, дуже велика, тому користуються похідними – мілікюрі (мКі), мікрокюрі (мкКі), пікокюрі (пкКі).

Для радіонуклідів, яким властиве γ -випромінювання, активність виражають також через гама-еквівалент – відношення γ -випромінювання цього радіонукліда до γ -випромінювання радію. Розрахована гама-постійна радію – 8,4 р/годину – це потужність дози, яку створює γ -випромінювання 1 мг радію на відстані 1 см через платиновий фільтр товщиною 0,5 мм.

Міліграм-еквівалент радію (мг-екв. Ra) – одиниця активності радіонукліда,

γ -випромінювання якого еквівалентне (рівноцінне) γ -випромінюванню 1 мг Ra на відстані 1 см через платиновий фільтр 0,5 мм.

Іонізувальне випромінювання з якісної сторони характеризується: видом випромінювання: корпускулярні (α , β , n), електромагнітні (γ -, рентгєвські: характеристичне при K-захваті, гальмівне – в рентгенівській трубці); енергією випромінювання, яка в системі Si вимірюється у джоулях (Дж) (це енергія, необхідна для підняття температури 1 дм³ дистильованої води на 1°C); проникальною здатністю (довжиною пробігу) – відстанню, яку воно проходить у середовищі, з яким взаємодіє (в м, см, мм, мкм); іонізувальною здатністю: повною – кількістю пар іонів, які утворюються на всій довжині пробігу частинки чи кванта; лінійною щільністю іонізації – кількістю пар іонів, які припадають на одиницю довжини пробігу.

Позасистемна практична одиниця – електрон-вольт (eV) – це енергія, яку набуває електрон в електростатичному полі з різницею потенціалів 1 В. Ця одиниця дуже мала, тому користуються похідними: кілоелектрон-вольт (KeV), мегаелектрон-вольт (MeV).

Кількісними характеристиками іонізувальних випромінювань є дози (Д).

Розрізняють таке.

1. Поглинуту дозу – кількісь енергії іонізувального випромінювання, поглинутої одиницею маси опромінюваного середовища. Одиницею вимірювання поглинутої дози в системі Si є грей (Гр). Грей – поглинута доза опромінення, яка дорівнює енергії 1 джоуль, поглинутій в 1 кг маси середовища: 1 Гр = 1 Дж/кг. Позасистемна (застаріла) одиниця поглинутої дози – рад. 1 рад = 0,01 Гр = 100 ерг енергії на 1 г маси середовища.

Поглинута доза у повітрі – міра кількості іонізувального випромінювання, яке взаємодіє з повітрям. Вимірюється також у Дж/кг маси повітря, тобто в Греях.

Застаріле поняття поглинутої дози у повітрі – експозиційна доза, під якою розуміють об'ємну щільність іонізації повітря. Одиницею експозиційної дози використовувався рентген (Р). Рентген – доза рентгенівського або

γ-випромінювання, від якої в 1 см³ сухого стандартного повітря (0 °С, 760 мм рт. ст., маса 0,001293 г) утворюється 2,08 10⁹ пар іонів. Похідні одиниці – мілірентген (мР), мікрорентген (мкР).

2. Потужність поглинутої у повітрі дози (ППД) – підвищення дози за одиницю часу, або рівень радіації. Вимірюється: в системі Si Гр/годину; - позасистемна (застаріла) одиниця – рентген на годину (Р/год), мілірентген на годину (мР/год), мікрорентген на секунду (мкР/сек). Унаслідок того, що усі нині використовувані дозиметричні прилади градуйовані у цих одиницях, то ними ще користуються, але результати вимірювання потрібно перераховувати в системні (грей-, мілі-, мікро-, наногрей/годину): 1 мР/год = 8,73 мкГр/год = 6,46 мкЗв/год.

3. Еквівалентна доза (Н) – доза будь-якого виду іонізувального випромінювання, яка викликає такий же біологічний ефект, як стандартне (еталонне) рентгенівське випромінювання з енергією 200 КеВ.

Для розрахунку еквівалентної дози використовують радіаційний зважувальний чинник (W_R) – коефіцієнт, що враховує відносну біологічну ефективність різних видів іонізувальних випромінювань. Для рентгенівського, гама-, бета-випромінювань різних енергій він дорівнює 1, для α-частинок та важких ядер віддачі – 20, для нейтронів з енергією < 10 КеВ – 5; 10-100 КеВ – 10; 100 КеВ – 2 МеВ – 20; 2-20 МеВ – 10; > 20 МеВ – 5. $H = D W_R$

Одиницею еквівалентної дози є зіверт (Зв) – це доза будь-якого виду іонізувального випромінювання, що надає такий же біологічний ефект, як один грей стандартного рентгенівського випромінювання (з енергією 200 КеВ). На практиці користуються також похідними – мілізіверт (мЗв), мікросіверт (мкЗв).

Ефективна доза – це сума еквівалентних доз, одержаних окремими органами і тканинами під час нерівномірного опромінення організму, помножених на тканинні зважувальні чинники, які дорівнюють: для гонад – 0,20; для червоного кісткового мозку, легень, шлунку – 0,12; інших органів і тканин – 0,05.

Одиницею виміру ефективних доз також є зіверт.

Колективна еквівалентна та колективна ефективна дози – це суми відповідних індивідуальних доз окремих контингентів населення (персоналу підприємств атомної промисловості, атомної енергетики, населення, що проживає в межах контрольованих зон, які вимірюються в людино-зівертах і використовуються для прогнозування стохастичних (імовірних) ефектів опромінення – лейкозів, інших злоякісних новоутворень.

Порядок виконання

Студенти вивчають фізичні, технологічні та організаційні засади радіаційної гігієни. Засади радіаційної безпеки. Організація роботи та оснащення лабораторії радіологічного відділення для проведення радіометричних та дозиметричних досліджень. Дозиметрія іонізуючих випромінювань.

Зміст звіту

1. Назва та мета роботи.
2. Описати етіологію, патогенез, клініку, діагностику, лікування, профілактику гострої променевої хвороби.
3. Описати етіологічні чинники, патогенез, клініку, діагностику, лікування, профілактику, реабілітацію хронічної променевої хвороби.
4. Охарактеризувати методи визначення впливу малих доз радіації на організм людини та мінімізації шкідливої дії опромінення.

Питання для самоперевірки

1. Біологічна дія іонізуючих випромінювань.
2. Санітарно-гігієнічні наслідки радіаційних аварій.
3. Протирадіаційний і соціальний захист населення та персоналу ядерних об'єктів під час радіаційних аварій
4. Місцеві променеві реакції та пошкодження.

Література: [2–4].

2 КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

Шкала оцінок		
Оцінка за національною шкалою (екзамен)	Проміжок за накопичувальною бальною шкалою	Оцінка ECTS
Зараховано	90–100	A відмінно
	82–89	B дуже добре
	74–81	C добре
	64–73	D задовільно
	60–63	E достатньо
Не зараховано	35–59	FX незадовільно (дозволяється перескладання, але не більш ніж на E)
	1–34	F неприйнятно (повторне вивчення дисципліни)

Вид контролю	Максимальний бал
Відвідування лабораторних занять	5
Контрольні тести	5 (детальний розподіл балів здійснюється в робочій навчальній програмі)
Захист лабораторного заняття	4 (детальний розподіл балів здійснюється в робочій навчальній програмі)
Усього	30

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна:

1. Димитриев А. Д., Амбросьева А. Д. Биохимия: учебное пособие. М.: ИТК «Дашков и К», 2013. 350 с.
2. Даценко І. І., Денисюк О. Б. Загальна гігієна. Львів: Світ, 2001. 471 с.
3. Дуган О. М., Статюха Г. О. Екологія. К.: Університет «Україна», 2004. 176 с.
4. Запольський А. К., Салюк А. І. Основи екології // за ред. К. М. Ситника. К.: Вища школа, 2004. 382 с.
5. Копильчук Г. П., Волощук О. М., Марченко М. М. Біохімія: навч. посібник для біолог. спец. вищ. навч. закл. Чернівці: Рута, 2004. 224 с.
6. Меньшиков В. В., Волков Н. И. Биохимия: учебник для институтов ФК. М.: Советский спорт, 2004. 624 с.
7. Орлова Н. Я. Фізіологія та біохімія харчування. К.: Київ. держ. торг.-екон. ун-т, 2001. С. 5–24.
8. Хмельевский Ю. В., Усатенко О. К. Основные биохимические константы человека в норме и при патологии. К.: Здоровье, 1987. 250 с.