

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Челябинский государственный университет»



**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ  
к лабораторным занятиям по дисциплине  
«Биологически активные соединения  
в эволюции млекопитающих»  
для студентов биологического факультета  
по направлению подготовки 06.03.01 «Биология»  
(квалификация: академическая степень «бакалавр»)**

**Часть 2**

Челябинск  
Издательство Челябинского государственного университета  
2018

УДК 577  
ББК Е902  
М545

Одобрено учебно-методической комиссией биологического факультета  
Челябинского государственного университета

#### Составители

- Ю. М. Зырянова*, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «ЧелГУ»;  
*Д. С. Сташкевич*, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «ЧелГУ»;  
*Н. М. Лисун*, кандидат педагогических наук, доцент кафедры химии, экологии и методики обучения химии ФГБОУ ВО «ЮУрГГПУ».

#### Рецензент

- Ю. Ю. Филиппова*, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВО «ЧелГУ»

**Методические рекомендации** к лабораторным занятиям по дисциплине «Биологически активные соединения в эволюции млекопитающих» для студентов биологического факультета по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» (квалификация: академическая степень «бакалавр») : в 2 ч. Ч. 2 / сост. Ю. М. Зырянова, Д. С. Сташкевич, Н. М. Лисун. Челябинск : Изд-во Челяб. гос. ун-та, 2018. 39 с.

Методические рекомендации предназначены для самостоятельной и аудиторной работы студентов 2-го курса биологического факультета, направление подготовки 06.03.01 «Биология» (квалификация: академическая степень «бакалавр») по дисциплине «Биологически активные соединения в эволюции млекопитающих». Методические рекомендации включают в себя лабораторные работы, вопросы для самоподготовки к практическим занятиям, задания для самопроверки, вопросы для итогового контроля.

УДК 577.3(075.8)  
ББК Е902.51я73-5

© Челябинский государственный  
университет, 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |    |
|---|----|
| Введение .....  | 5  |
| Тема № 6. Липиды. Липопротеины .....  | 6  |
| Вопросы для итогового контроля по теме<br>«Липиды. Липопротеины» .....                            | 13 |
| Тема № 7. Нуклеотиды. Нуклеиновые кислоты.<br>Нуклеопротеиды .....                                | 15 |
| Вопросы для итогового контроля по теме<br>«Нуклеотиды. Нуклеиновые кислоты. Нуклеопротеиды» ..... | 19 |
| Тема № 8. Хромопротеиды .....   | 20 |
| Тема № 9. Витамины и витаминоподобные вещества .....  | 28 |
| Список рекомендуемой литературы .....   | 38 |

## ВВЕДЕНИЕ

---

---

Учебная работа по дисциплине «Биологически активные соединения в эволюции млекопитающих» проводится в форме лекций, лабораторных занятий, а также самостоятельной работы студентов.

Освоение теоретического материала осуществляется в ходе лекций, изучения текстовых источников и электронных ресурсов по отдельным темам дисциплины.

Закрепление теоретических знаний осуществляется за счет проработки материала на основе вопросов для самоподготовки, выполнения лабораторных работ, заданий для самопроверки, контрольных работ, написания конспектов, рефератов, создания электронного сопровождения отдельных изучаемых вопросов.

В ходе проведения лабораторных занятий студенты приобретают практические навыки планирования биохимического эксперимента, работы с оборудованием, реактивами, осваивают методы качественного и количественного определения основных классов биологически активных веществ, экспериментально изучают их свойства.

Самостоятельная работа студентов состоит в теоретической подготовке к лабораторным занятиям, решении ситуационных задач, изложенных в данных учебно-методических рекомендациях, подготовке к контрольным работам и зачету. В ходе выполнения заданий для самопроверки студенты закрепляют и совершенствуют знания по отдельным разделам дисциплины, а также систематизируют их на основе внутри- и межпредметных связей, применяют полученные знания и навыки при анализе ситуации (подготовка к решению ситуационных задач), формируют навыки адаптации научных знаний и умений в области биохимии биологически активных веществ к целям и задачам профессиональной деятельности.

## ТЕМА № 6.

### ЛИПИДЫ. ЛИПОПРОТЕИНЫ

#### Лабораторная работа № 4. Липиды

**Цель работы:** экспериментально изучить отдельные свойства липидов.

##### Опыт 1. Эмульгирование жира

Процесс эмульгирования жиров необходим для их переваривания, а также лежит в основе производства многих жировых продуктов. В результате действия эмульгаторов понижается поверхностное натяжение на границе «жир/вода».

**Ход работы.** В пять пробирок налить по 0,5 мл растительного масла. Добавить в пробирки следующие вещества:

| Номер пробирки | Вещество                                     |
|----------------|--|
| 1 (контроль)   | 1 мл дистиллированной воды                   |
| 2              | 1 мл желчи                                   |
| 3              | 1 мл раствора яичного белка                  |
| 4              | 1 мл 1%-го раствора мыла                     |
| 5              | 1 мл 1%-го раствора $\text{Na}_2\text{CO}_3$ |

Все пробирки тщательно встряхнуть и через 3—4 минуты отметить устойчивость эмульсии. Расположить исследуемые вещества в порядке уменьшения их эмульгирующей способности.

##### Опыт 2. Омыление жиров

Работа основана на том, что в присутствии щелочи при нагревании происходит гидролиз жира, в результате чего образуется мыло (калиевая или натриевая соль высших жирных кислот).

**Ход работы.** В небольшую фарфоровую чашечку поместить 0,5 мл растительного масла и 4 капли 35%-го раствора гидроксида натрия. Стеклопалочкой тщательно перемешивать щелочь с маслом до получения однородной эмульсии. Поставить чашечку на электрическую плитку и при незначительном подогревании и постоянном перемешивании получить однородную, прозрачную, слегка желтоватую жидкость. Добавить 2 мл дистиллированной воды и вновь нагреть, тщательно перемешивая смесь до полного упаривания воды. Снять чашечку с электрической плитки. В процессе охлаждения отметить образование маленьких кусочков белого мыла.

#### Вопросы для самоподготовки

1. Высшие жирные кислоты: структура, классификация, распространенность в природе.

2. Общая характеристика липидов. Классификация липидов. Локализация липидов в клетке и в организме. Биологическое значение липидов.

3. Жиры (триглицериды), их структура и разнообразие в природе по качественному составу и соотношению высших жирных кислот. Высшие жирные кислоты, входящие в состав триглицеридов (насыщенные и ненасыщенные). Физические и химические свойства триглицеридов.

4. Воски. Их состав (перечень высших жирных кислот и высших спиртов) и строение. Биологическая роль восков. Характеристика отдельных представителей.

5. Стериды. Их состав и строение, физические и химические свойства. Стероиды, их структура, представители. Характеристика высших жирных кислот, входящих в состав стеридов.

6. Фосфолипиды: структура молекулы, характеристика высших жирных кислот, азотсодержащих соединений и многоатомных спиртов, входящих в их состав. Фосфатиды, их физические и химические свойства. Распространение фосфолипидов в природе, их биологическая роль.

7. Гликолипиды, их состав и строение. Функции гликолипидов, локализация в организме.

8. Биорегуляторы липидной природы: стероидные гормоны, гормоноподобные вещества — производные высших жирных кислот (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены).

9. Структурные липопротеины. Их участие в построении биомембран.

10. Липопротеины плазмы крови. Их строение. Разделение липопротеинов плазмы крови на фракции. Состав фракций. Участие липопротеинов в транспорте и запасании липидов.

### Задания для самопроверки

1. Заполните таблицу:

| № | Название липидов   | Функции | Характеристика функций |
|---|--|---------|------------------------|
| 1 | Свободные жирные кислоты   |         |                        |
| 2 | Желчные кислоты  |         |                        |
| 3 | Стериды  |         |                        |
| 4 | Фосфолипиды  |         |                        |
| 5 | Гликолипиды  |         |                        |
| 6 | Липидоподобные вещества:<br>жирорастворимые витамины;<br>эйкозаноиды |         |                        |

2. Жирные кислоты с 18 углеродными атомами имеют следующие точки плавления: стеариновая кислота  $+69,6^\circ$ ; олеиновая кислота  $+13,4^\circ$ ; линолевая кислота  $-5^\circ$  и линоленовая кислота  $-11^\circ\text{C}$ . Какими структурными особенностями определяется та или иная температура плавления этих кислот? Объясните, какова молекулярная основа определенной направленности в изменении температуры плавления.

3. Некоторые из применяемых в кулинарии жиров, например сливочное масло, быстро портятся при хранении на воздухе при комнатной температуре, тогда как свойства твердых жиров типа маргарин в аналогичных условиях меняются мало. Почему?

4. Почему пищевое растительное масло, несмотря на большое содержание ненасыщенных жирных кислот, достаточно долго не портится?

5. Методом газожидкостной хроматографии изучен состав жирных кислот подкожного жира человека и подкожного жира барана. Какой из вариантов соответствует подкожному жиру человека?

- а) С16: 0—20 %      б) С16: 0—35 %  
С18: 0—5 %      С18: 0—20 %  
С18: 1—55 %      С18: 1—35 %  
С18: 2—10 %      С18: 2—3 %

6. Напишите уравнение реакции щелочного гидролиза трипальмитоилглицерина.

7. В процессе приготовления майонеза фосфатидилхолин (лецитин) из яичных желтков переходит в растительное масло, что стабилизирует соус и не позволяет ему расслаиваться. Объясните, почему это происходит.

8. Назовите продукты, образующиеся при мягком гидролизе разведенным раствором едкого натрия следующих соединений:

- а) 1-стеароил-2,3-дипальмитоилглицерол;  
б) 1-пальмитоил-2-олеилфосфатидилхолин.

9. Как будут заряжены при pH 7,0:

- а) фосфатидилхолин;  
б) фосфатидилэтанолламин;  
в) фосфатидилсерин?

10. Произрастающие в засушливых районах суккуленты обычно покрыты восковым налетом. Как это способствует выживанию растений?

11. После гидролиза липида в гидролизате были обнаружены следующие соединения: глицерин, жирные кислоты,  $\beta$ -галактоза. К какому классу принадлежит липид? Приведите структурную формулу.

12. Приведите структуру исходного липида, соответствующего составу смеси, полученной при полном гидролизе фосфолипидов: глицерин, пальмитиновая кислота, стеариновая кислота, неорганический фосфат, холин.

13. Все мембранные липиды представляют собой амфипатические соединения, т. е. содержат как гидрофобные, так и гидрофильные группы. Например, в молекуле фосфатидилхолина гидрофобную часть образуют две цепочки жирных кислот, а гидрофильную — фосфохолиновая кислота. Назовите структурные компоненты, играющие роль гидрофобных и гидрофильных группы в каждом из указанных ниже мембранных липидов:

- а) Фосфатидилэтаноламин;
- б) Сфингомиелин;
- в) Галактоцереброзид;
- г) Ганглиозид;
- д) Холестерол.

14. Липидные бислои, сформированные на границе двух водных фаз, обладают следующими важными свойствами: они образуют двумерные пленки; края этих пленок замыкаются сами на себя; в результате самозапечатаывания образуются замкнутые структуры — липосомы.

- а) объясните, какими свойствами липидов обусловлены эти свойства бислоев;
- б) каково биологическое значение этих свойств и как они связаны со структурой биологических мембран?

15. Липидный бислой клеточной мембраны предохраняет клетки от быстрой потери ионов  $K^+$ ,  $Cl^-$  и  $Mg^{2+}$ . Почему?

16. В отличие от цитоплазматических белков многие включенные в мембрану белки практически не поддаются экстракции из мембраны в водный раствор. Тем не менее такие белки удается все же отделить от мембраны и получить в растворенном виде, если в раствор, используемый для экстракции, добавить додецилсульфат натрия или какой-либо другой детергент, например холат натрия. На чем основан этот прием?

17. Изучение различных мембранных гликопротеинов показывает, что остатки сахаров всегда располагаются на наружной поверхности мембраны. Одно из возможных объяснений этого явления состоит в том, что именно остатки сахаров обеспечивают асимметричную ориентацию гликопротеина в мембране. Почему остатки сахаров локализируются на наружной поверхности мембраны, а не внутри ее?

18. Согласно основной гипотезе мембранологии (т. е. науки о мембранах), для нормального функционирования мембран составляющие их липиды должны быть в жидком состоянии. Подтверждением этой гипотезы служит тот факт, что соотношение жирных кислот в бактериальных мембранах зависит от условий роста бактерий. Так, если бактерии растут при пониженной температуре, у них увеличивается относительное содержание ненасыщенных жирных кислот (по отношению к насыщенным). И наоборот, если бактерии растут при повышенной температуре, уровень ненасыщенных жирных кислот (по отношению к насыщенным) оказывается ниже нормы.

а) подумайте, почему для нормального функционирования интактной бактериальной мембраны мембранные липиды должны находиться в жидком состоянии;

б) объясните, почему обнаруженные изменения в соотношении насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в зависимости от температуры роста подтверждают гипотезу о текучем состоянии мембран.

19. Как и почему изменяется фосфолипидный состав мембран в процессе подготовки животных к зимней спячке?

20. Важнейшим компонентом сурфактанта — липопротеина, выстилающего альвеолы и необходимого для нормальной работы легких, является дипальмитоилфосфатидилхолин. Напишите его структурную формулу. Фосфатидилхолины, входящие в состав цитоплазматических мембран клеток, отличаются по составу жирных кислот от этого фосфатидилхолина. Укажите, в чем состоит это отличие.

21. Предшественником простагландинов является арахидоновая кислота, которая отщепляется от фосфолипидов под действием фосфолипазы  $A_2$ . Напишите эту реакцию, используя в качестве субстрата фосфатидилхолин.

22. Напишите реакцию образования сложного эфира холестерина с пальмитиновой кислотой.

23. Молекула холестерина легко встраивается в бислои мембран. Существует механизм защиты клеток от избытка холестерина — это реакция его этерификации; образованный продукт не удерживается в мембране. Как изменится содержание холестерина в бислое при снижении активности этерифицирующего фермента?

24. Укажите продукты, образующиеся при гидролизе перечисленных липидов:

- |                                 |   |
|---------------------------------|---|
| 1) лецитин<br>(фосфатидилхолин) | а) глицерин + жирные кислоты                      |
| 2) сфингомиелин                 | б) высокомолекулярный спирт + жирная кислота      |
| 3) жиры                         | в) сфингозин + жирная кислота + простой сахар     |
| 4) воска                        | г) сфингозин + жирная кислота + $H_3PO_4$ + холин |
| 5) цереброзиды                  | д) глицерин + жирная кислота + $H_3PO_4$ + холин  |

25. Подберите к каждому типу липидов и их производных соответствующую функцию:

- |                     |  |
|---------------------|--|
| 1) триацилглицерины | а) источник энергии, структурные компоненты других липидов |
| 2) жирные кислоты   | б) запасная форма источника энергии                        |
| 3) сфингомиелины    | в) структурный компонент мембран                           |
| 4) простагландины   | г) регуляторы тонуса гладкой мускулатуры                   |

- |                         |                               |
|-------------------------|-------------------------------|
| 5) таурохолевая кислота | д) антигеморрагический фактор |
| 6) витамин Е            | е) эмульгатор                 |
| 7) витамин К            | ж) антиоксидант               |

26. Для каждого типа липопротеинов подберите соответствующий состав:

- |                |  |
|----------------|--|
| 1) ЛПВП        | а) ~ 90 % триацилглицеринов и 2 % белков                 |
| 2) Хиломикроны | б) ~ 50 % эфиров холестерина и холестерина               |
| 3) ЛПНП        | в) ~ 50 % белков и 20 % эфиров холестерина и холестерина |
| 4) ЛПОНП       | г) ~ 10 % белков и 50—55 % триацилглицеринов             |

### Вопросы для итогового контроля по теме «Липиды. Липопротеины»

1. Общая характеристика класса липидов. Классификация липидов: простые липиды — жиры, воски и стериды; сложные липиды — фосфолипиды и гликолипиды. Локализация липидов в клетке и их биологическое значение.

2. Жиры (триглицериды), их структура и разнообразие в природе по качественному составу и соотношению высших жирных кислот. Простые и смешанные триглицериды. Геометрическая изомерия остатков непредельных высших кислот в составе триглицеридов и форма молекул триглицеридов. Высшие жирные кислоты, входящие в состав триглицеридов (насыщенные и ненасыщенные). Физические и химические свойства триглицеридов.

3. Воски. Их состав (перечень высших жирных кислот и высших спиртов) и строение. Биологическая роль восков. Представители: спермацет; пчелиный, карнаубский, монтанный воски. Распространение, локализация в организме и функция восков.

4. Стериды. Их состав и строение, физические и химические свойства. Стероиды, их структура, представители (холестерол, эргостерол, стигмастерол, ситостерол, фукостерол). Характеристика

высших жирных кислот, входящих в состав стеридов. Видовая специфичность стеролов и стеридов.

5. Фосфолипиды: структура молекулы, характеристика высших жирных кислот, азотистых оснований и многоатомных спиртов, входящих в их состав. Фосфатиды, их физические и химические свойства. Распространение фосфолипидов в природе, их биологическая роль.

6. Гликолипиды, их состав и строение. Функции гликолипидов в тканях и органах.

## ТЕМА № 7. НУКЛЕОТИДЫ. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ. НУКЛЕОПРОТЕИДЫ

---

---

### Лабораторная работа № 5. Качественное обнаружение компонентов гидролизата РНК-протеина

**Цель работы:** изучить качественные реакции, доказывающие химическое строение РНК-протеина.

#### **Опыт 1. Обнаружение пуриновых азотистых оснований**

Работа основана на способности пуриновых азотистых оснований нуклеиновых кислот (аденина и гуанина) образовывать **серебряные соли** при взаимодействии с **аммиачным раствором оксида серебра**.

**Ход работы.** В пробирку налить 2 мл гидролизата РНК-протеина. Приливать по каплям крепкий раствор аммиака до щелочной реакции по индикатору. Затем добавить равный объем заранее приготовленного аммиачного раствора оксида серебра. Для ускорения процесса содержимое пробирки нагреть на водяной бане. По мере нагревания отметить образование **осадка** серебряных солей пуриновых оснований, имеющего **бурую окраску**. Написать уравнения соответствующих реакций.

**Приготовление аммиачного раствора оксида серебра:** к 2 мл 1%-го раствора нитрата серебра (или другой соли серебра) добавить 1—2 капли 5%-го раствора гидроксида аммония. Появляющийся сначала белый осадок быстро становится бурым вследствие образования оксида серебра. К смеси при встряхивании продолжить добавление по каплям 5%-го раствора гидроксида аммония до растворения осадка. При этом образуется аммиачный раствор оксида серебра.

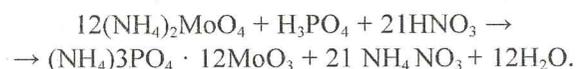
### Опыт 2. Обнаружение рибозы реакцией Фелинга

Реактив Фелинга (Фелингова жидкость) представляет собой смесь равных объемов водного раствора сульфата меди (Фелинг 1) и щелочного раствора сегнетовой соли (Фелинг 2). Имеет ярко синюю окраску. Готовится непосредственно перед использованием. В присутствии рибозы (или другого редуцирующего соединения) происходит гидролиз реактива Фелинга с выделением гидроксида меди (II), который, окисляя углевод, восстанавливается до оксида меди (I), имеющего кирпично-красный цвет.

**Ход работы:** к 1 — 2 мл исследуемого раствора добавить равный объем Фелинговой жидкости и смесь нагреть до начинающегося кипения. При наличии редуцирующего соединения отметить образование **кирпично-красного осадка** оксида меди (I).

### Опыт 3. Обнаружение фосфорной кислоты

Работа основана на качественной реакции ортофосфорной кислоты с молибдатом аммония. Реакция протекает согласно следующему уравнению:



**Ход работы.** К 2 мл молибдата аммония в азотной кислоте добавить 1 мл испытуемого раствора (гидролизата РНК-протеина). Смесь слегка нагреть. Отметить образование осадка фосфоромолибдата аммония, имеющего **желто-зеленую окраску**.

### Опыт 4. Обнаружение белка биуретовой реакцией

Реакция основана на образовании хелатного (внутрикомплексного) соединения ионов меди (II) с двумя пептидными связями, находящимися в лактимной форме и выступающих в роли полидентантных лигандов. Интенсивность и оттенок окраски зависит от количества пептидных связей. В случае пептона (смесь несложных пептидов) развивается розово-фиолетовое окрашивание. Данная реакция является **универсальной** для обнаружения соединений белковой природы.

**Ход работы.** К 1 мл раствора белка добавить 1 мл 10% раствора едкого натрия и 2 капли 1% раствора сульфата меди. Отметить появление **сине-фиолетовой окраски**.

### Вопросы для самоподготовки:

1. Химический состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Характеристика пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Главные и минорные (иногда встречающиеся) пуриновые и пиримидиновые основания. D-рибоза и D-2-дезоксирибоза в составе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Структура и биологические функции нуклеотидов.

2. Типы нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК). Различия между ДНК и РНК по составу главных и минорных оснований, характеру углевода, молекулярной массе, локализации в клетке и функциям.

3. Уровни структурной организации нуклеиновых кислот. Первичная структура нуклеиновых кислот. Вторичная структура ДНК. Двойная спираль ДНК (модель Уотсона-Крика). Взаимодействия между азотистыми основаниями в нуклеиновых кислотах. Третичная структура ДНК.

4. Структура и функции РНК. Общие принципы макромолекулярной структуры РНК. Характеристика тРНК, рРНК, мРНК; особенности структуры, биологические функции. Малые РНК.

### Задания для самопроверки

1. Изобразите структуру нуклеозидов и нуклеотидов, в состав которых входят:

- а) аденин + рибоза;
- б) гуанин + дезоксирибоза;
- в) цитозин + дезоксирибоза;
- г) тимин + дезоксирибоза;
- д) урацил + рибоза.

Назовите нуклеозиды и нуклеотиды.

2. Напишите формулы 5-оксиметилцитозина, 1-метилгуанина, 5,6-дигидроурацила, 2-метиладенина. В каких нуклеиновых кислотах встречаются подобные минорные азотистые основания?

3. Напишите уравнение реакции гидролиза УМФ. Дайте название продуктам реакции.

4. Показать фрагмент вторичной структуры ДНК, если одна из цепей содержит адениловый, тимидиловый и цитидиловый нуклеотиды.

5. Показать фрагмент вторичной структуры акцепторного стебля тРНК, если одна из цепей содержит адениловый, уридиловый и гуаниловый нуклеотиды.

6. Фрагмент молекулы ДНК состоит из 1000 нуклеотидов, из них адениловых нуклеотидов 23 %. Определите количество гуаниловых, тимидиловых и цитидиловых нуклеотидов, длину фрагмента и число полных витков.

7. Дана молекула ДНК с относительной молекулярной массой 69 000, из них 8625 приходится на долю адениловых нуклеотидов. Найдите количество всех нуклеотидов в этой ДНК. Определите длину этого фрагмента.

8. Длина участка молекулы ДНК составляет 34 нм, гуаниловых нуклеотидов 20 %. Определите молекулярную массу участка, численное содержание других нуклеотидов и число водородных связей в участке ДНК.

9. Определите количество водородных связей во фрагментах ДНК, где одна цепь содержит последовательность:

а) ГТЦАТГГАТАГТЦЦАТ;

б) ТЦГАГТАЦЦТГТГАТЦЦ.

Какой из фрагментов ДНК легче плавится?

## Вопросы для итогового контроля по теме «Нуклеотиды. Нуклеиновые кислоты. Нуклеопротеиды»

1. Типы нуклеиновых кислот: ДНК и РНК (сходство и отличие по структуре и биологической роли).
2. Первичная структура нуклеиновых кислот.
3. Вторичная структура ДНК, правила Чаргаффа.
4. Третичная структура ДНК.
5. Виды РНК. Макромолекулярная структура РНК.

## ТЕМА № 8. ХРОМОПРОТЕИДЫ

---

---

### Лабораторная работа № 6. Хромопротеиды

**Цель работы:** изучить строение хромопротеидов на примере гемоглобина, провести реакции, обнаруживающие гемоглобин и присутствие в нем ионов железа.

#### Опыт 1. Качественное обнаружение железа в гемоглобине

Реакция основана на образовании ионами железа окрашенных комплексных соединений.

**Ход работы.** Несколько капель дефибринированной крови выпаривают досуха в небольшой фарфоровой чашке (под тягой), обугливают и озоляют, добавляя 2—3 капли концентрированной азотной кислоты и продолжая нагревание до образования сухого остатка. При этом гем, являясь органическим веществом, разрушается, а железо переходит в состав золы.

Сухой остаток соскабливают и полученный порошок переносят в пробирку. Добавляют 20 капель 10%-го раствора соляной кислоты и взбалтывают в течение нескольких минут для растворения осадка и получения  $\text{FeCl}_3$ .

Содержимое пробирки поделить на две части и проделать реакции на  $\text{Fe}^{3+}$ :

- 1) К одной части жидкости добавить по каплям 5%-й раствор  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  до появления зеленого или синего окрашивания вследствие образования берлинской лазури, которая затем может выпасть в виде синего осадка.
- 2) К другой части жидкости добавляют по каплям 5%-й раствор  $\text{KCNS}$  до появления розового или красного окрашивания, указывающего на образование роданистого железа.

#### Опыт 2. Качественное обнаружение гемоглобина

Реакция основана на пероксидазных свойствах гемоглобина, то есть на его способности разлагать пероксид водорода с образованием атомарного кислорода, который окисляет амидопирин с образованием продукта, имеющего розовую окраску.

**Ход работы.** В пробирку налить 1 мл 5%-го спиртового раствора амидопирина. Добавить 1 мл дефибринированной крови, разбавленной в 1000 раз, 4-5 капель 30%-го раствора уксусной кислоты и 4—5 капель 3%-го раствора пероксида водорода. Отметить появление розовой окраски, что свидетельствует о присутствии гемоглобина.

**Примечание:** аналогично можно обнаружить гемоглобин с использованием бензидина, продукт окисления которого имеет синюю окраску.

#### Опыт 3. Получение кристаллов гемина

При нагревании высушенной крови с ледяной уксусной кислотой кровяной пигмент распадается на глобин и гематин. Гематин при действии хлористого водорода, возникающего при взаимодействии хлористого натрия (имеющегося в крови или добавленного) и уксусной кислоты, переходит в хлорпроизводное — гемин. Последний выкристаллизовывается при остывании.

**Ход работы.** Пипеткой наносят на предметное стекло каплю крови и размазывают ее краем другого предметного стекла (полученный мазок не должен быть очень тонким). Кровь высушивают над пламенем горелки (температура должна быть не более 60 °С). После полного высушивания добавляют 1—2 капли ледяной уксусной кислоты, накрывают покровным стеклом и осторожно нагревают на маленьком пламени до закипания кислоты.

По охлаждении препарат рассматривают под микроскопом и зарисовывают форму кристаллов. Если кристаллов гемина обнаружить не удастся, то вводят под покровное стекло еще 1—2 капли ледяной уксусной кислоты, поднося пипетку к краю покровного стекла, и вновь нагревают.

Перед обработкой ледяной уксусной кислотой добавляют один маленький кристаллик хлористого натрия.

## Вопросы для самоподготовки

1. Классификация хромопротеидов.
2. Гемопротеиды: ферментные и неферментные.
3. Структура гема.
4. Гемоглобин. Его оксигенирование. Транспорт двуокиси углерода. Патологические производные гемоглобина. Мутантные гемоглобины.
5. Миоглобин: отличие от гемоглобина, биологическая роль.
6. Ферментные гемопротеиды: цитохромы Кейлина, цитохромоксидаза, цитохром P450. Их структура, механизм действия, биологическая роль. Каталаза и пероксидаза.

## Задания для самопроверки

1. Основная функция белка — гемоглобина А (HbA) — транспорт кислорода к тканям. В популяции людей известны множественные формы этого белка с измененными свойствами и функцией — так называемые аномальные гемоглобины. Например, установлено, что гемоглобин S, обнаруженный в эритроцитах больных серповидно-клеточной анемией (HbS), имеет низкую растворимость в условиях низкого парциального давления кислорода (как это имеет место в венозной крови). Это приводит к образованию агрегатов данного белка. Белок утрачивает свою функцию, выпадает в осадок, а эритроциты приобретают неправильную форму (некоторые из них образуют форму серпа) и быстрее обычного разрушаются в селезенке. В результате развивается серповидно-клеточная анемия.

Единственное различие в первичной структуре HbA и HbS обнаружено в N-концевом участке  $\beta$ -цепи гемоглобина. Сравните N-концевые участки  $\beta$ -цепи и покажите, как изменения в первичной структуре белка влияют на его свойства и функции.

|      |                                  |   |   |   |   |   |   |
|------|----------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| 1    | 2                                | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| HbA: | Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Глу-Глу-Лиз- |   |   |   |   |   |   |
| HbS: | Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Вал-Глу-Лиз- |   |   |   |   |   |   |

Для этого:

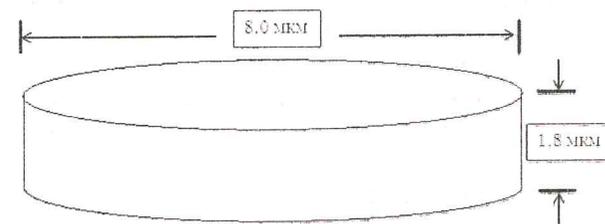
- а) напишите формулы аминокислот, по которым различаются HbA и HbS сравните свойства этих аминокислот (полярность, заряд);
- б) сделайте вывод о причине снижения растворимости и нарушении транспорта кислорода в ткани.

2. Первое указание на то, что белки по молекулярной массе намного превосходят известные в то время органические соединения, было получено более 100 лет назад. Например, уже тогда было известно, что гемоглобин содержит 0,34 вес. % железа.

а) исходя из этой информации, определите минимальную молекулярную массу гемоглобина.

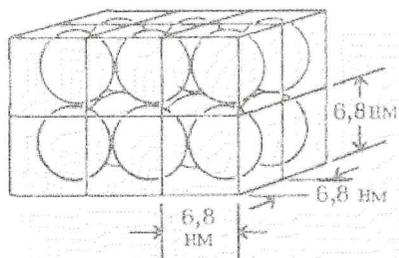
б) последующие эксперименты показали, что истинная молекулярная масса гемоглобина равно 64 500. Какую информацию отсюда можно извлечь о числе атомов железа в гемоглобине?

3. В крови человека содержится 160 г гемоглобина на 1 л крови. На 1 мл крови приходится около  $5,0 \cdot 10^9$  эритроцитов. Хотя каждый эритроцит имеет форму двояковогнутого диска, для простоты расчетов мы будем рассматривать их просто как цилиндры следующих размеров:



- а) рассчитайте, какое количество гемоглобина (по весу) содержится в одном эритроците.
- б) рассчитайте, сколько молекул гемоглобина содержится в одном эритроците;
- в) рассчитайте объем одного эритроцита.
- г) гемоглобин — глобулярный белок, молекула которого имеет диаметр 6,8 нм. Определите, какую долю объема всех эритроцитов занимает гемоглобин;

д) отношение общего объема гемоглобина к общему объему эритроцита (см. выше пункт «г») не дает четкого представления о том, насколько тесно упакованы в клетке молекулы гемоглобина. Следует помнить, что при упаковке сферических молекул пустое пространство между сферами всегда составляет значительную долю общего объема. Исходя из предположения, что гемоглобин в эритроците упакован в виде кубической решетки, как показано на рисунке:



рассчитайте общий объем решетки, занятой молекулами гемоглобина в одном эритроците, и сравните его с объемом эритроцита. Ответьте на вопрос, насколько тесно упакованы молекулы гемоглобина в эритроците;

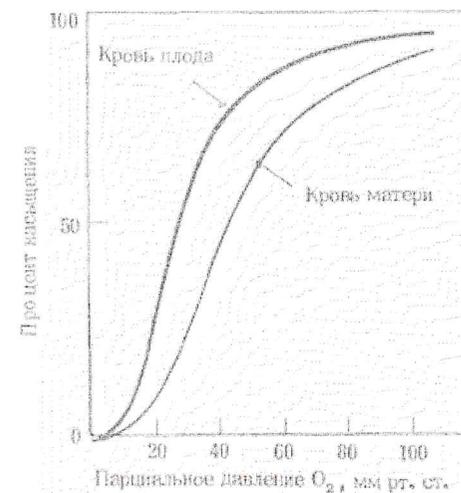
е) в свете вашего ответа на предыдущий вопрос оцените, расположены ли молекулы гемоглобина в эритроцитах достаточно близко друг от друга, чтобы взаимодействовать между собой. Если да, то может ли взаимодействие между молекулами гемоглобина S в серповидных эритроцитах повлиять на их форму?

4. При изучении транспорта кислорода у беременных самок было показано, что кривые насыщения гемоглобина кислородом в крови матери и плода, полученные в одних и тех же условиях, сильно различаются. Это явление обусловлено присутствием в эритроцитах плода гемоглобина F ( $\alpha_2\gamma_2$ ), который по своей структуре отличается от обычного гемоглобина A ( $\alpha_2\beta_2$ ), содержащегося в эритроцитах матери.

а) какой гемоглобин обладает при физиологических условиях более высоким сродством к кислороду — гемоглобин A или гемоглобин F? Поясните ответ;

б) какое физиологическое значение имеет тот факт, что два гемоглобина обладают разным сродством к кислороду? Поясните ответ;

в) если из препаратов гемоглобина A и F тщательно удалить весь 2,3-дифосфоглицерат (ДФГ), кривые их насыщения кислородом сместятся влево (т. е. сродство гемоглобинов к кислороду повысится).



Однако у гемоглобина A сродство к кислороду при этом становится выше, чем у гемоглобина F. Если в препараты гемоглобина вновь добавить ДФГ, то кривые насыщения кислородом примут прежний вид, показанный на рисунке. Какое влияние оказывает ДФГ на сродство гемоглобина к кислороду? Как на основе приведенной выше информации можно объяснить различие в сродстве к кислороду у гемоглобинов матери и плода?

5. При хранении в холодильнике двух проб крови, одна из которых содержала гемоглобин C, а другая гемоглобин S, были потеряны соответствующие наклейки. Как определить, в какой пробе содержится гемоглобин C, а в какой гемоглобин S (см. таблицу)?

### Некоторые мутантные гемоглобины человека

| Мутантный гемоглобин            | Нормальный остаток и его положение в цепи | Остаток, появляющийся в мутантном белке |
|---------------------------------|---|---|
| <b><math>\alpha</math>-цепь</b> |   |   |
| I                               | 16 Lys                                    | Glu                                     |
| G <sub>Гондлулу</sub>           | 30 Glu                                    | Gln                                     |
| Норфолк                         | 57 Gly                                    | Asp                                     |
| M <sub>Бостон</sub>             | 58 His                                    | Tyr                                     |
| G <sub>Филадельфия</sub>        | 68 Asn                                    | Lys                                     |
| O <sub>Индонезия</sub>          | 116 Glu                                   | Lys                                     |
| <b><math>\beta</math>-цепь</b>  |   |   |
| C                               | 6 Glu                                     | Lys                                     |
| S                               | 6 Glu                                     | Val                                     |
| G <sub>Сан-Хосе</sub>           | 7 Glu                                     | Gly                                     |
| E                               | 26 Glu                                    | Lys                                     |
| M <sub>Саскатун</sub>           | 63 His                                    | Tyr                                     |
| Цюрих                           | 63 His                                    | Arg                                     |
| M <sub>Мицуки</sub>             | 67 Val                                    | Glu                                     |
| D <sub>Пенджаб</sub>            | 121 Glu                                   | Gln                                     |

Примечание. Мутации чаще всего обозначают название города или местности, где они были обнаружены. Серповидную форму клеток вызывает только гемоглобин S. Другие мутантные гемоглобины характеризуются иными функциональными изменениями.

6. Курильщик, выкуривая одну сигарету, пропускает через свои легкие 20 л дыма, содержащего опасные для здоровья вещества, в том числе и угарный газ. Как влияет угарный газ на функционирование Hb и его способность доставлять кислород тканям? Почему длительное пребывание человека в задымленном помещении вызывает вялость, сонливость и сниженную работоспособность?

7. Роль миоглобина в запасании тканями кислорода.

а) Ткани животных содержат около 70% (по весу) воды. Концентрация кислорода в тканевой воде в норме составляет  $3,5 \cdot 10^{-5}$  М. Рассчитайте, какое количество кислорода может быть запасено в 1 кг ткани в виде растворенного в воде газа;

б) в большинстве тканей млекопитающих содержится миоглобин, предназначенный для запасания кислорода. У человека наи-

большее количество миоглобина содержится в ткани сердца, где он составляет 0,7 % (по весу) всей массы ткани. Рассчитайте, какое количество кислорода (в граммах) может быть запасено в 1 кг сердечной мышечной ткани человека. Сравните полученное значение с ответом на вопрос, поставленный в пункте а);

в) в скелетных мышцах морских млекопитающих, способных длительно находится под водой, содержится намного больше миоглобина, чем у всех остальных позвоночных, причем его концентрация пропорциональна длительности погружения животного в воду. В свежем тюленьем мясе, находившемся какое-то время на воздухе, оказалось 0,15 г кислорода на 1 кг сырого веса. Рассчитайте процентное содержание миоглобина в мышцах тюленя.

## ТЕМА № 9.

### ВИТАМИНЫ

### И ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА

---

---

#### Лабораторная работа № 7.

#### Методы качественного и количественного определения витаминов

**Цель работы:** изучить методы качественного и количественного определения витаминов.

##### Опыт 1. Качественное обнаружение ретинола (витамина А)

Для обнаружения витамина А в объекте могут быть использованы реакции с хлороформным раствором треххлористой сурьмы, концентрированной серной кислотой и сульфатом железа (II).

Реакция Друммонда с концентрированной серной кислотой

**Ход работы.** В сухую пробирку по стенке налить 3 капли масляного раствора витамина А или рыбьего жира. Вслед за этим сюда же осторожно добавить 1 каплю концентрированной серной кислоты. В месте соприкосновения витамина А с серной кислотой появляется **фиолетовое окрашивание, переходящее в вишнево-красное.**

##### Опыт 2. Качественное обнаружение токоферола (витамина Е)

Для обнаружения витамина Е может быть использована реакция с хлоридом железа (III), которая основана на **окислении α-токоферола**, в результате чего продукт окисления приобретает **хиноидную структуру**, что сопровождается изменением окраски.

**Ход работы.** В сухую пробирку внести 0,5 мл спиртового раствора витамина Е и добавить 0,5 мл 1%-го раствора хлорида железа

(III). Тщательно перемешать содержимое пробирки. Отметить появление **красного окрашивания.**

##### Опыт 3. Качественное обнаружение тиамин (витамина В<sub>1</sub>)

В основе реакции лежит способность витамина В<sub>1</sub> в щелочной среде с **диазореактивом** (смесь солянокислого или сернокислого раствора сульфаниловой кислоты с раствором нитрита натрия) образовывать **сложное комплексное соединение.**

**Ход работы.** В пробирку налить 2 мл диазореактива и добавить небольшое количество порошка или 0,5 мл раствора тиамин. **Осторожно** по стенке пробирки наслоить 1 мл 20%-ного раствора бикарбоната натрия. На границе двух жидкостей отметить появление кольца, имеющего **оранжевую или красную окраску.**

##### Опыт 4. Качественное обнаружение рибофлавина (витамина В<sub>2</sub>)

Метод основан на способности рибофлавина **восстанавливаться молекулярным водородом**, образующимся при взаимодействии металлического цинка с концентрированной соляной кислотой.

**Ход работы.** В пробирку налить 1 мл раствора витамина В<sub>2</sub>, добавить 0,5 мл концентрированной соляной кислоты и опустить кусочек металлического цинка. Выделяющийся водород реагирует с рибофлавином, восстанавливая его, и жидкость постепенно окрашивается в розовый цвет за счет образования промежуточного соединения — родофлавина, а затем **обесцвечивается** за счет образования **лейкоформы рибофлавина.**

При взбалтывании обесцвеченного раствора лейкофлавин вновь окисляется кислородом воздуха в рибофлавин, имеющий желтую окраску.

##### Опыт 5. Качественное обнаружение никотиновой кислоты, или никотинамида (витамина РР)

Метод основан на образовании медной соли витамина РР при нагревании его с раствором **ацетата меди.**

**Ход работы.** В пробирку внести 5—10 мг витамина РР и растворить при нагревании в 1—2 мл 10%-го раствора уксусной кислоты. К нагретому до кипения раствору добавить 1—2 мл 5%-го раствора

ацетата меди. Жидкость становится мутной, окрашивается в голубой цвет, а при стоянии выпадает **синий осадок** медной соли никотиновой кислоты.

#### Опыт 6. Качественное обнаружение пиридоксина (витамина В<sub>6</sub>)

При взаимодействии пиридоксина с **хлорным железом** раствор окрашивается в красный цвет вследствие образования **комплексной соли типа фенолята железа**.

**Ход работы.** В пробирку налить 1 мл водного раствора витамина В<sub>6</sub> и добавить 2 капли 5%-го раствора хлорида железа (III). После встряхивания отметить окрашивание жидкости в **красный цвет**.

#### Опыт 7. Качественное обнаружение аскорбиновой кислоты (витамина С) и доказательство ее редуцирующей способности

Качественные реакции на аскорбиновую кислоту позволяют установить наличие данного витамина в продуктах питания, биологических объектах и лекарственных препаратах.

Аскорбиновая кислота обладает высокой редуцирующей активностью, т. е. способностью, окисляясь, восстанавливать другие соединения. Именно это свойство витамина С лежит в основе реакций, используемых для его обнаружения.

##### 1. Реакция с $K_3Fe(CN)_6$ .

Аскорбиновая кислота в щелочной среде восстанавливает  $K_3Fe(CN)_6$  в  $K_4Fe(CN)_6$ , который можно обнаружить при добавлении хлорида железа (III).

**Ход работы.** В пробирку налить 1 мл раствора витамина С, добавить 0,5 мл 10%-го раствора КОН и 0,5 мл 5%-го раствора  $K_3Fe(CN)_6$ . Содержимое пробирки перемешать и добавить 0,5 мл 10%-го раствора HCl и 0,5 мл 1%-го раствора  $FeCl_3$ . Отметить образование **осадка берлинской лазури**, имеющего **синюю окраску**.

##### 2. Реакция Фелинга.

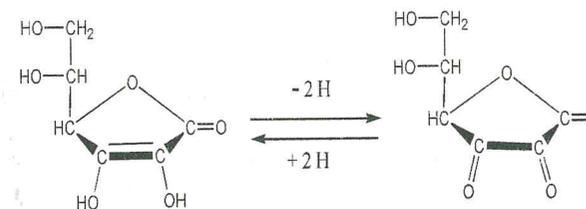
Реактив Фелинга (Фелингова жидкость) представляет собой смесь равных объемов водного раствора сульфата меди (Фелинг 1) и щелочного раствора сегнетовой соли (Фелинг 2). Имеет ярко синюю окраску. Готовится непосредственно перед использованием.

В присутствии редуцирующего соединения происходит гидролиз реактива Фелинга с выделением гидроксида меди (II), который, окисляя аскорбиновую кислоту, восстанавливается до оксида меди (I), имеющего кирпично-красный цвет.

**Ход работы:** к 1—2 мл исследуемого раствора добавить равный объем Фелинговой жидкости и смесь нагреть до начинающегося кипения. При наличии редуцирующего соединения отметить образование **кирпично-красного осадка** оксида меди (I).

#### Опыт 8. Количественное определение витамина С методом йодиметрического титрования

Метод основан на редуцирующих свойствах аскорбиновой кислоты. При титровании йодом витамин С окисляется, образуя дегидроаскорбиновую кислоту.



Аскорбиновая кислота

Дегидроаскорбиновая кислота

**Ход работы. Подготовка экстракта витамина С из пищевых продуктов.**

2 г капусты или картофеля натереть на тёрке или мелко нарезать и растереть в ступке с небольшим количеством кварцевого песка. В ступку добавить 10 мл 2%-го раствора HCl. Хорошо перемешанную массу отфильтровать через стеклянную воронку с ватой в коническую колбу на 50—100 мл. Массу на фильтре промыть несколькими каплями дистиллированной воды.

##### Йодиметрическое титрование.

К фильтрату в колбе добавить 1 мл 0,5%-го раствора крахмала (индикатор) и титровать 0,003N раствором  $I_2$  до появления **синего окрашивания**.

### Расчет.

При расчете содержания витамина С в продукте необходимо использовать формулу определения массы при помощи титра по определяемому веществу

$$M = n \cdot \text{Э} \cdot V / 1000,$$

где **n** — молярная концентрация эквивалента йода;

**Э** — молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты в г, равная в данном случае **88** г;

**V** — объем титрующего раствора йода, в мл.

Для пересчета на процентное содержание витамина С, т. е. в 100 г продукта, необходимо использовать следующую формулу:

$$X = M \cdot 1000 / 2.$$

Полученный результат сравнить с **нормой**: содержание витамина С в **капусте** составляет **45 мг%**, а в **картофеле** — **20 мг%**.

### Опыт 9. Количественное определение витамина С с использованием 2,6-дихлорфенолиндофенола

Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол, что сопровождается изменением окраски: 2,6-дихлорфенолиндофенол в щелочной среде имеет синюю окраску, в кислой — красную, а при восстановлении обесцвечивается.

**Ход работы.** 1 г биологического объекта (капусты или картофеля) измельчить в ступке с кварцевым песком, постепенно добавляя 2 мл дистиллированной воды. Перенести содержимое ступки в мерную колбу на 25 мл. Наливая в ступку небольшие порции воды, тщательно смыть осадок со стенок и перенести жидкость в колбу. Объем довести до метки 25 мл. Смесь оставить при комнатной температуре на 10 минут.

Вытяжку витамина С отфильтровать через бумажный фильтр. В коническую колбочку налить 2 мл фильтрата, добавить 2—3 капли 10%-го раствора соляной кислоты и 2—3 мл дистиллированной воды. Содержимое колбочки оттитровать 0,001Н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 сек.

### Расчет.

Количество мл 2,6-дихлорфенолиндофенола, затраченное на титрование исследуемого раствора, эквивалентно содержанию витамина С в титруемой жидкости. Молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты равна 88 г. В 1 мл 0,001Н раствора содержится 0,088 мг витамина С. Для расчета необходимо использовать следующую формулу:

$$X = (0,088 \cdot V \cdot 25 \cdot 100) / (2 \cdot 1) \text{ (мг\%)},$$

где **X** — содержание аскорбиновой кислоты в мг%;

**V** — объем титрующего раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, в мл;

**1** — количество вещества в г, взятое для анализа;

**2** — количество мл вытяжки, взятое для титрования;

**25** — общее количество мл вытяжки;

**100** — количество г биологического объекта, взятое для вычисления процентного содержания.

Полученные результаты сравнить с **нормой**: содержание витамина С в **капусте** составляет **45 мг%**, а в **картофеле** — **20 мг%**.

### Вопросы для самоподготовки

1. Витамины как вещества, абсолютно необходимые для нормальной жизнедеятельности организма.
2. Витаминоподобные вещества.
3. Классификация витаминов и витаминоподобных веществ.
4. Распространение в пищевом сырье и суточная потребность. Биологические функции витаминов и витаминоподобных веществ. Пути метаболизма витаминов. Причины и симптомы гипер-, гипо- и авитаминозов.
5. Жирорастворимые витамины. Витамин А (ретинол). Участие витамина А в зрительном акте. Витамин Д<sub>1</sub> (кальциферол). Структура витаминов Д<sub>2</sub> (эргокальциферол) и Д<sub>3</sub> (холекальциферол), их роль в фосфорно-кальциевом обмене. Витамин Е (токоферол). Участие его в окислительно-восстановительных процессах. Витамин К (филлохинон), его отношение к системе свертывания крови.
6. Водорастворимые витамины. Витамины В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота), В<sub>5</sub> (РР) (никотиновая

кислота и амид никотиновой кислоты), В<sub>6</sub> (пиридоксин), В<sub>12</sub> (цианкобаламин). Витамин С (аскорбиновая кислота), строение ее восстановленной и окисленной форм. Фолиевая кислота, ее производное — тетрагидрофолиевая кислота. Витамин Н (биотин).

7. Витаминоподобные вещества: убихинон, витамин F (комплекс ненасыщенных жирных кислот), холин, биофлавоноиды, инозит, липоевая кислота, карнитин, оротовая, пангамовая, парааминобензойная кислоты, S-метилметионин.

### Задания для самопроверки

1. Составить таблицу «Витамины и витаминоподобные вещества»:

| Все названия и обозначения                       | Суточная потребность | Пищевые источники, устойчивость к нагреванию и химическим факторам | Структура витамина | Структура кофермента | Механизмы влияния на метаболизм, биохимические функции | Механизмы и симптомы развития гипо- и авитаминоза | Механизмы и симптомы развития гипервитаминоза |
|--|----------------------|--|--------------------|----------------------|--|---|---|
| <i>Жирорастворимые витамины</i>                  |                      |  |                    |                      |  |   |   |
|  |                      |  |                    |                      |  |   |   |
| <i>Водорастворимые витамины</i>                  |                      |  |                    |                      |  |   |   |
|  |                      |  |                    |                      |  |   |   |
| <i>Жирорастворимые витаминоподобные вещества</i> |                      |  |                    |                      |  |   |   |
|  |                      |  |                    |                      |  |   |   |
| <i>Водорастворимые витаминоподобные вещества</i> |                      |  |                    |                      |  |   |   |
|  |                      |  |                    |                      |  |   |   |

2. Витамины А и D можно применять сразу за один прием в таком количестве, которого достаточно для поддержания их нормального уровня в течении нескольких недель; витамины же группы В необходимо принимать значительно чаще. Почему?

3. В эксперименте голуби, содержащиеся на особой диете, утрачивали координацию движений и способность удерживать тело в равновесии (т. е. развивался полиневрит). Уровень пирувата в крови и мозге этих птиц значительно превышал нормальный. Это состояние проходило, если голубям давали мясо. Объясните эти наблюдения.

4. Объясните, почему работа в горячих цехах значительно повышает потребность в витаминах.

5. При переходе на рацион с высоким содержанием белка организм начинает испытывать повышенную потребность в витамине В<sub>6</sub>. Объясните механизм этого явления.

6. При расследовании дорожно-транспортного происшествия было установлено, что водитель страдает гиповитаминозом. Это стало причиной столкновения двух автомобилей в ночное время. Недостаток какого витамина привел к трагедии?

7. Объясните целесообразность приема витамина Е и его аналогов специалистами, работающими в зоне повышенной радиации.

8. Недостаток никотиновой кислоты в пище приводит к заболеванию — пеллагре.

а) суточная потребность взрослого человека в никотиновой кислоте, составляющая 7,5 мг, уменьшается, если в пище содержится большое количество аминокислоты триптофана. Что можно сказать о взаимосвязи между никотиновой кислотой и триптофаном на основе этого наблюдения?

б) В конце прошлого и в начале нашего столетия пеллагра была довольно распространенным заболеванием, особенно в сельских местностях на юге США, где люди употребляли в пищу мало мяса, а питались в основном кукурузой. Объясните, почему такое питание приводило к недостаточности никотиновой кислоты?

9. *Lactobacillus casei* — представители семейства бактерий, используемых для получения таких продуктов брожения, как йогурт, квашенная капуста и соленья, не способны синтезировать

рибофлавин. Характерное свойство этих бактерий заключается в том, что они получают энергию за счет расщепления глюкозы до молочной кислоты. Какой метод количественного определения рибофлавина вы предложили бы исходя из этой информации?

10. Бактерии *Lactobacillus casei* растут на простой культуральной среде, содержащей витамины рибофлавин и пиридоксин и четыре аминокислоты. Если в культуральную среду добавить полный набор аминокислот и рибофлавин, то количество пиридоксина, необходимого для оптимального роста бактерий, сократится на 90%. Объясните, почему это происходит.

11. Яйца можно держать в холодильнике от четырех до шести недель, не опасаясь, что они испортятся. Если же отделить яичные желтки от белков, то они быстро испортятся даже при низкой температуре.

а) Почему портятся желтки?

б) Как вы объясните тот факт, что наличие яичных белков предотвращает порчу желтков?

в) Какую пользу с биологической точки зрения приносит птицам такой способ защиты яиц?

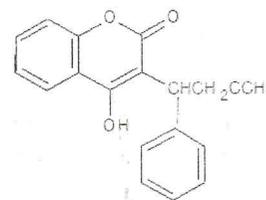
12. Бактерии *Streptococcus faecalis*, обитающие в толстом кишечнике нуждаются в фолиевой кислоте. Если в питательной среде содержатся аденин и тимин, то бактерии могут хорошо расти и при отсутствии фолиевой кислоты. Почему бактерии нуждаются в фолиевой кислоте? Почему потребность в фолиевой кислоте исчезает у бактерий при добавлении в культуральную среду аденина и тимина?

13. Недостаточность витамина А вызывает ксерофтальмию — заболевание, сопровождающееся потерей зрения; для более ранних стадий характерны сухость и тусклость роговицы глаза. Дети в значительно большей степени подвержены этому заболеванию, чем взрослые. В тропических странах от ксерофтальмии слепнут десятки тысяч детей в возрасте от 18 до 36 месяцев. В то же время у взрослых, добровольно находившихся в течении двух лет на диете без витамина А, отмечалось лишь ослабление зрения в условиях по-

ниженной освещенности. После введения витамина А этот дефект зрения быстро исчезал. Объясните, чем обусловлены различия в проявлении недостаточности витамина А у взрослых и детей.

14. У больных с поврежденными почками, несмотря на нормально сбалансированную диету, часто развивается почечная остеодистрофия — рахитоподобное заболевание, сопровождающееся интенсивной деминерализацией костей. Какой витамин участвует в минерализации костей? Почему повреждение почек приводит к деминерализации?

15. Варфарин — продажный препарат, применяемый для борьбы с грызунами, является мощным антагонистом витамина К; его введение в организм блокирует действие витамина К.



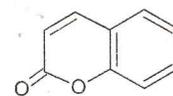
Варфарин

а) предложите молекулярный механизм действия варфарина в качестве антагониста витамина К;

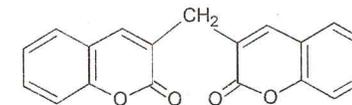
б) объясните, почему скормливание грызунам варфарина приводит к их гибели;

в) если коров или лошадей кормить неправильно приготовленным клевером, то у них развивается заболевание, сопровождающееся сильными внутренними кровотечениями.

Было установлено, что причиной этого служит дикумарол — вещество, образующееся в результате действия микроорганизмов на кумарин — обычный компонент клевера. В клинической практике дикумарол используют для лечения больных с острым тромбозом (образование кровяных сгустков, закупоривающих просвет сосуда). Объясните принцип этого лечения.



Кумарин



Дикумарол

## СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

### Основная литература

1. Биохимия : учеб. для вузов / Л. В. Авдеева и др. ; под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 759 с.
2. Коваленко, Л. В. Биохимические основы химии биологически активных веществ : учеб. пособие. — М. : Лаборатория знаний, 2015. — 323 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/70702>.
3. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 1. Основы биохимии, строение и катализ : учеб. пособие / Д. Нельсон, М. Кокс ; под ред. А. А. Богданова и С. Н. Кочеткова ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой, Е. М. Молочкиной, В. В. Белова. — М. : Лаборатория знаний, 2017. — 749 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/103034>.

### Дополнительная литература

4. Биохимия и молекулярная биология : учеб.-метод. пособие. — Ставрополь : СКФУ, 2015. — 94 с. — URL: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=457873>.
5. Благовещенский, А. В. Биохимия растений / А. В. Благовещенский. — М. ; Л. : Гос. химико-технол. изд-во, 1934. — 462 с. — URL: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=470372>.
6. Глухарева, Т. В. Биохимия : учеб. пособие : в 2 ч. Ч. 2. Основные регуляторы и биологические жидкости человеческого организма / Т. В. Глухарева, И. С. Селезнева. — Екатеринбург : УрФУ, 2016. — 115 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/98437>.
7. Джафаров, М. Х. Стероиды. Строение, получение, свойства и биологическое значение, применение в медицине и ветеринарии : учеб. пособие / М. Х. Джафаров, С. Ю. Зайцев, В. И. Максимов. —

- СПб. : Лань, 2010. — 288 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/127>.
8. Дмитриев, А. Д. Биохимия / А. Д. Дмитриев. — М. : Дашков и К°, 2012. — 168 с. — URL: <http://znanium.com/go.php?id=415230>.
  9. Малкова, О. В. Основы биохимии : учеб. пособие / О. В. Малкова, О. А. Петров, М. Е. Ключева. — Иваново : ИГХТУ, 2009. — 48 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/4508>.
  10. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 2. Биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс. — М. : Лаборатория знаний, 2015. — 693 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/90237>.
  11. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 3. Пути передачи информации : учеб. пособие / Д. Нельсон, М. Кокс ; под ред. А. А. Богданова и С. Н. Кочеткова ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой, О. В. Ефременковой. — М. : Лаборатория знаний, 2017. — 451 с. — URL: <https://e.lanbook.com/book/103035>.
  12. Титов, В. Н. Клиническая биохимия жирных кислот, липидов и липопротеинов / В. Н. Титов. — М. ; Тверь : Триада, 2008. — 272 с. — URL: <http://znanium.com/go.php?id=451702>.
  13. Титов, В. Н. Клиническая биохимия: курс лекций : учеб. пособие. / В. Н. Титов. — М. : Инфра-М, 2018. — 441 с. — URL: <http://znanium.com/go.php?id=942773>.
  14. Шамраев, А. В. Биохимия : учебное пособие / А. В. Шамраев. — Оренбург : ОГУ, 2014. — 186 с. — URL: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=270262>.
  15. Фоминых, В. Л. Биохимия : учеб.-метод. пособие для организации самостоят. работы студентов в соответствии с технологией модуль. обучения / В. Л. Фоминых, Е. В. Тарасенко, О. Н. Денисова. — Йошкар-Ола : ПГТУ, 2014. — 144 с. — URL: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=439171>.

### Периодические издания

16. Биохимия : журнал. — Ежемес.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**  
к лабораторным занятиям по дисциплине  
«Биологически активные соединения  
в эволюции млекопитающих»  
для студентов биологического факультета  
по направлению подготовки 06.03.01 «Биология»  
(квалификация: академическая степень «бакалавр»)

**Часть 2**

**Составители:** Зырянова Юлия Макаровна, Сташкевич Дарья Сергеевна,  
Лисун Наталья Михайловна

Корректурa *Е. С. Меньшиной*  
Компьютерная верстка *Е. С. Меньшиной*

Подписано в печать 24.12.18.  
Усл. печ. л. 2,3. Уч.-изд. л. 1,6.  
Тираж 100 экз. Заказ 545.  
Бесплатно

Челябинский государственный университет  
454001, Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129

Издательство Челябинского государственного университета  
454021, Челябинск, ул. Молодогвардейцев, 57б