**Тема 3.2 Анаэробный гликолиз. Глюконеогенез.**

***Цель занятия***

- изучить анаэробные процессы катаболизма углеводов: гликолиз и гликогенолиз, а также глюконеогенез;

- познакомиться с методами определения метаболитов гликолиза в мышечной ткани.

***Студент должен знать:***

- реакции анаэробного гликолиза, гликогенолиза и их биологическую роль;

- химизм обходных путей глюконеогенеза, его регуляцию и биологическую роль.

***Студент должен уметь:***

- определять метаболиты углеводного обмена в биологическом материале

***Необходимый исходный уровень:***

Из курса органической химии студент должен знать:

- химические свойства моносахаридов.

**Вопросы для самоподготовки**

Важнейшие пути превращения глюкозы в клетке.

Гликолиз. Общая характеристика процесса. Этапы гликолиза.

Химизм и характеристика I этапа гликолиза.

Химизм и характеристика II этапа гликолиза.

Химизм и характеристика III этапа гликолиза: гликолитической оксидоредукции.

Судьба восстановленного кофактора НАДНН+, образовавшегося на стадии окисления 3ФГА.

Ключевые ферменты гликолиза (гексокиназа, фосфофруктокиназа, пируваткиназа). Аллостерическая регуляция гликолиза.

Гликогенолиз. Общая характеристика, этапы, химизм, эенргетический эффект.

Судьба лактата в организме. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори).

Глюконеогенез, понятие, основные субстраты, химизм обходных путей глюконеогенеза. Аллостерическая регуляция глюконеогенеза.

**Практическая часть занятия**

**Лабораторная работа 1**

***Получение безбелкового фильтрата***

*Ход работы:* 0,5 г измельченной мышцы помещают в пробирку с 5 мл холодного раствора ТХУ и экстрагируют на льду в течение 10 минут, интенсивно помешивая палочкой. Затем приливают к смеси 5 мл дистиллированной воды и фильтруют через бумажный фильтр.

**Лабораторная работа 2**

***Обнаружение метаболитов гликолиза в безбелковом мышечном экстракте.***

*а) Открытие триозофосфатов.*

1. В пробирку наливают 0,5 мл. безбелкового экстракта, 0,5 мл. 2 N раствора NaOH, смешивают, инкубируют 5 мин. при комнатной температуре. При этом триозофосфаты подвергаются гидролизу с высвобождением неорганического фосфата.

2. В пробирку добавляют 0,5 мл 2 N раствора НСI, 0,5 мл молибденово-кислого аммония, 0,5 мл 1% раствора гидрохинона и 0,2 мл 20% раствора Na2SO4.

3.Хорошо перемешивают и помещают пробу в кипящую водяную баню на 5 мин. Жидкость приобретет синюю окраску, обусловленную наличием в ней неорганического фосфора. Темно-синий цвет объясняется образованием фосфорно-молибденовой кислоты, которая восстанавливается гидрохиноном и сернокислым натрием, превращаясь в молибденовую синь.

*Результат:*

*Вывод:*

*б) Открытие фруктозодифосфата при помощи реакции Селиванова*

*Ход работы:* в пробирку вносят 0,5 мл безбелкового мышечного экстракта и 2 мл реактива Селиванова (раствор резорцина и концентрированной соляной кислоты). Перемешивают и помещают пробу в водяную баню на 5-10 мин. Жидкость при наличие фруктозодифосфата окрасится в вишнево-красный цвет, интенсивность окраски которого зависит от концентрации фруктозодифосфата в экстракте.

*Результат:*

*Вывод:*

**Лабораторная работа 3**

***Открытие молочной кислоты***

*Ход работы*: в пробирку наливают 1 мл реактива Уфельмана (смесь фенола и хлорного железа) и добавляют 5 -10 капель безбелкового экстракта. Фиолетовое окрашивание переходит в зеленовато-желтое. Лактат, реагируя с фенолятом железа, имеющим зеленовато-желтую окраску, образует молочно-кислое железо.

*Результат*:

*Выво*д:

**Практическая значимость работы**

Методы позволяют обнаружить в биологическом материале продукты гликолиза, что позволяет оценить интенсивность протекания гликолиза в тканях.

**Вопросы для самоконтроля**

***Решить ситуационные задачи****.*

* + - 1. Один спортсмен пробежал на соревнованиях дистанцию 100 м, а другой - 5000 м. у кого из них выше содержание лактата в крови и почему?
      2. Оттекающий с кровью от скелетной мускулатуры лактат окисляется в сердечной мышце до СО2 и Н2О. Почему лактат не окисляется в скелетной мышце?
      3. При исследовании активности ферментов углеводного обмена высокая активность отмечалась фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-дифосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы в печени и почках. Что это за ферменты и почему именно в этих *тканях?*

***Основная учебная литература***

1. Чиркин, А.А. Биохимия: Учебное руководство/ А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. - М.: Мед. лит., 2010.-624 с.

***Дополнительная литература***

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / под ред. С. Е. Северина. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 624 с.
2. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В трех томах. / Д.Нельсон, М Кокс. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2011.- т.1 -682 с.
3. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т.2: Биоэнергетика и метаболизм / Д.Нельсон, М Кокс; пер. с анг. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2014. -636с.