**Тема 2.4: «ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА»**

Цель занятия

1. Знать основной механизм образования СО2 – окислительное декарбоксилирование кетокислот (на примере ПВК);

2. Знать характеристику пируватдегидрогеназного комплекса

3. Знать химизм окислительного декарбоксилирования ПВК по стадиям

4. Знать химизм ЦТК и его биологическую роль.

5. Знать механизмы регуляции общих путей катаболизма.

Необходимый исходный уровень:

Из курса биоорганической химии знать реакции декарбоксилирования кетокислот, дегидрирование оксикислот и других органических кислот.

Основные понятия темы: общий путь катаболизма - окислительное декарбоксилирование пирувата, цикл трикарбоновых кислот, субстратное фосфорилирование, анаболические и анаплеротические функции ЦТК, гипоэнергетические состояния.

**ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ**

1. Окислительное декарбоксилирование пирувата – общий (основной) путь образования центрального ключевого метаболита.

2. Характеристика пируватдегидрогеназного мультиферментного комплекса (состав ферментов, коферментов), катализирующего окислительное декарбоксилирование ПВК.

3.Химизм окислительного декарбоксилирования ПВК (написать схему уравнений реакций по стадиям).

4.Биологическое значение окислительного декарбоксилирования ПВК. Энергетическая ценность процесса. Регуляция.

5.ЦТК – цикл Кребса (лимоннокислый цикл), химизм реакций (субстраты, ферменты, коферменты, продукты реакций).

6.Взаимосвязь ЦТК с терминальной стадией биологического окисления - тканевым дыханием (ЦТЭ I и II типа).

7.Биологическое значение ЦТК - общего циклического универсального механизма катаболических превращений всех групп веществ. Регуляция ЦТК.

8. Витамин В1-тиамин, антиневритный - строение, свойства, механизм каталитического действия, признаки гипо- и авитаминоза.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ЗАНЯТИЯ**

## **Лабораторная работа 1**

***Количественное определение АТФ в мышечной ткани***

*Принцип метода*: метод основан на том, что два последних остатка фосфорной кислоты в АТФ, богатые энергией, легко отщепляются при непродолжительном гидролизе в кислой среде (лабильно связанный фосфор). Количество фосфора определяют по цветной реакции с молибдатом аммония в присутствии аскорбиновой кислоты.

*Ход работы:*

1 этап: Приготовление мышечного экстракта

0,5 г. мышечной кашицы помещают в пробирку, стоящую в ледяной бане, и добавляют в нее 5 мл охлажденного раствора ТХУ. Содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой для экстрагирования АТФ в течение 5 мин. Экстракт фильтруют в пробирку, стоящую в ледяной бане

2 этап: Гидролиз АТФ

В две мерные пробирки отбирают по 0,5 мл безбелкового фильтрата. Первая пробирка – контрольная, вторая – опытная.

В опытную пробирку добавляют 1 мл 1 моль/л НСl, закрывают фольгой и помещают в кипящую водяную баню на 10 мин для гидролиза фосфорных связей. Затем раствор охлаждают и добавляют 1 мл 1 моль/л NаОН. В контрольную пробирку без предварительного кипячения добавляют 1 мл 1 моль/л раствора НСl и 1 мл 1 моль/л NаОН. В опытную и контрольную пробирки добавляют дистиллированной воды до 10 мл.

3 этап: Количественное определение фосфора

Из обеих пробирок отбирают по 5 мл жидкости, переносят в две пробирки и добавляют в каждую по 0,5 мл раствора молибдата аммония, по 0,5 мл раствора аскорбиновой кислоты и по 2 мл дистиллированной воды. Смесь в каждой пробирке быстро перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре ровно 10 мин.

Затем пробы колориметрируют на ФЭКе при длине волны 670 нм против воды в кювете с толщиной слоя 1 см. Расчет проводят по калибровочному графику и используя формулу:

С= А ∙ 3,3 ∙400 ∙100 ,

Где С – содержание макроэргических соединений в пересчете на 1 мг АТФ в 100 г сырой ткани, мг/100 г; А – содержание АТФ в пробе, мг; 3,3 ∙400 – коэффициент пересчета на 1 г ткани с учетом разведения растворов.

Результат:

**ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

Выполните следующие задания:

1.Напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата.

2.Назовите все витамины, входящие в состав ПВК-ДГ мультиферментного комплекса. Выпишите формулы этих витаминов (В1, В2, В3, РР).

3.Напишите по стадиям уравнения химических реакций ЦТК (назвать субстраты, ферменты, коферменты, продукты реакции).

4. Укажите, на какой стадии ЦТК происходит синтез АТФ? Механизм образования АТФ (субстратное фосфорилирование).

5.Назовите конечные продукты превращения ацетил – СоА в ЦТК и какова их дальнейшая судьба?

6. Какова судьба восстановленных кофакторов (3 НАДН∙Н+, ФАДН2)?

7. В чем заключается особая роль ЩУК в метаболизме различных веществ?

Решите задачу

Больные алкоголизмом получают основную массу калорий со спиртными напитками. У них может возникнуть характерный недостаток тиамина (синдром Вернике - Корсакова), при котором наблюдаются нарушения функций нервной системы, психозы, потеря памяти. Со снижением содержания какого фермента это связано.

ОСНОВНАЯ УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами [Текст]: учебник / под ред. С.Е. Северина. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2012.-622 с.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия [Текст]: руководство к практическим занятиям / под ред. Н.Н. Чернова. -М.:ГЭОТАР-Медиа, 2009, 240 с.

2. Биохимия [ Текст]: учеб. для вузов / Т.Л. Алейникова, Л.В. Авдеева, Л.Е. Андрианова и др.; под ред. Е.С. Северина. – 4-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. -784 с.

3. Биохимия витаминов [Электронный ресурс]: учебное пособие / С. Н. Афонина [и др.]., 2015. - 130 с. on-line. **Внутренняя ЭБС ОрГМУ**

4. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В трех томах. / Д.Нельсон, М Кокс. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2011.- т.1 -682 с.

5. Николаев, А.Я. Биологическая химия [Текст] : учеб. для студентов мед. вузов / А.Я. Николаев.- 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицинское информ. Агентство, 2007.- 568 с.