

# Ćwiczenia - Biotechnologia Medyczna II rok

## 2024

### SEMESTR I

#### Ćwiczenie 1.

Ćwiczenie wprowadzające

Regulamin BHP i pracowni biochemicznej

Instrukcja obsługi pipet automatycznych i dozowników butelkowych

#### Ćwiczenie 2.

Aminokwasy, peptydy i białka – część teoretyczna.

Zakres materiału:

1. Struktura aminokwasów wchodzących w skład białek (wzory). Podział:
  - a) ze względu na budowę,
  - b) egzogenne - endogenne,
  - c) ketogenne i glukogenne.
2. Aminokwasy niebiałkowe ważne biologicznie – budowa i funkcje. Aminy biogenne.
3. Reakcje charakterystyczne na poszczególne aminokwasy lub grupy aminokwasów. Właściwości amfoteryczne, optyczne i punkt izoelektryczny aminokwasów.
4. Chromatografia cienkowarstwowa aminokwasów.
5. Peptydy: struktura wiązania peptydowego, peptydy naturalne występujące w organizmach, antybiotyki o budowie peptydowej.
6. Budowa cząsteczki białka, struktura I, II, III i IV rzędowa białka, struktura  $\alpha$  i  $\beta$ . Wiązania występujące w poszczególnych strukturach.
7. Białka jako polielektrolity i koloidy, denaturacja i wysalanie. Metody ilościowego oznaczania białek (biuretowa, Bradforda, Lowry'ego, z kwasem bityczoninowym (BCA), fluorymetria, itp.).
8. Metody rozdzielania białek i peptydów (elektroforeza, dializa). Zastosowanie filtracji żelowej do frakcjonowania, oczyszczania i wyznaczania masy cząsteczkowej.
9. Modyfikacje potranslacyjne białek.
10. Przykłady roli biologicznej białek.
11. Budowa i funkcje kolagenu.
12. Budowa i funkcje mioglobiny i hemoglobiny.
13. Budowa i właściwości białek osocza.
14. Cykl mocznikowy.

#### Ćwiczenie 3.

Aminokwasy - struktura, właściwości i funkcje

1. Reakcje wspólne dla wszystkich aminokwasów.
2. Reakcje specyficzne dla poszczególnych aminokwasów.

Zakres materiału:

1. Struktura i klasyfikacja aminokwasów wchodzących w skład białek (wzory).
2. Właściwości chemiczne i fizyczne aminokwasów.

#### Ćwiczenie 4.

Aminokwasy - rozdział metodami chromatograficznymi

1. Chromatografia cienkowarstwowa aminokwasów na żelu krzemionkowym.
2. Identyfikacja nieznanego aminokwasu za pomocą reakcji barwnych.

Zakres materiału:

1. Struktura i klasyfikacja aminokwasów wchodzących w skład białek (wzory).
2. Właściwości chemiczne i fizyczne aminokwasów.
3. Zasady chromatografii cienkowarstwowej.

#### Ćwiczenie 5.

Białka - struktura, właściwości i funkcje.

1. Wykrywanie białek – reakcja biuretowa
2. Wykazanie amfoterycznego charakteru białek
3. Wyznaczanie punktu izoelektrycznego kazeiny

Zakres materiału:

1. Budowa białek, struktura I, II, III i IV rzędowa białka.
2. Peptydy: struktura wiązania peptydowego.
3. Reakcje charakterystyczne białek.
4. Właściwości chemiczne i biologiczne białek.
5. Amfoteryczne właściwości białek.

#### Ćwiczenie 6.

Wysalanie i denaturacja białek. Metody separacji białek.

1. Filtracja żelowa (błękit dekstrynowy 2000, cytochrom c, chromian potasu).
2. Denaturacja białek pod wpływem czynników fizycznych i chemicznych
3. Wysalanie białek przy zastosowaniu siarczanu amonu

Zakres materiału:

1. Metody rozdzielania, analizy jakościowej i ilościowej białek: chromatografia, elektroforeza, wysalanie.
2. Denaturacja białek.
3. Zastosowanie filtracji żelowej do frakcjonowania i oczyszczania mieszanin substancji o różnej masie cząsteczkowej. Wyznaczanie masy cząsteczkowej metodą filtracji żelowej.

#### Ćwiczenie 7.

Metody ilościowego oznaczania białek.

1. Oznaczanie ilościowe białka metodą biuretową.
2. Oznaczanie ilościowe białka metodą Lowry'ego.

Zakres materiału:

1. Metody ilościowego oznaczania białek.
2. Prawo Lamberta-Beera, własności spektralne aminokwasów aromatycznych, kolorymetria
3. Metody rozdzielania, analizy jakościowej i ilościowej białek: chromatografia, elektroforeza, wysalanie.
4. Zastosowanie filtracji żelowej do frakcjonowania i oczyszczania mieszanin substancji o różnej masie cząsteczkowej.
5. Wyznaczanie masy cząsteczkowej metodą filtracji żelowej.

## Ćwiczenie 8.

### KOŁOKWIUM I.

#### AMINOKWASY, PEPTYDY, BIAŁKA.

1. Struktura aminokwasów wchodzących w skład białek.
2. Aminokwasy niebiałkowe ważne biologicznie - wzory.
3. Podziały aminokwasów: a) ze względu na budowę, b) egzogenne - endogenne, c) ketogenne i glukogenne.
4. Reakcje charakterystyczne na poszczególne aminokwasy lub grupy aminokwasów.
5. Chromatografia cienkowarstwowa aminokwasów.
6. Właściwości amfoteryczne aminokwasów.
7. Peptydy: struktura wiązania peptydowego, peptydy naturalne występujące w organizmach, antybiotyki o budowie peptydowej.
8. Budowa cząsteczki białka, struktura I, II, III i IV rzędowa białka, struktura a i b, struktura kolagenu. Wiązania występujące w poszczególnych strukturach.
9. Białka jako polielektrolity i koloidy.
10. Denaturacja białek.
11. Metody ilościowego oznaczania (biuretowa, Lowry'ego, etc.) i rozdzielania białek (elektroforeza, wysalanie, sączenie molekularne).
12. Metody rozdziałów białek i peptydów.
13. Sekwencjonowanie białek i peptydów.
14. Budowa i właściwości białek osocza.
15. Hemoglobina i mioglobina jako przykłady białek złożonych.
16. Cykl mocznikowy.

## Ćwiczenie 9.

Cukry proste, dwucukry i wielocukry – część teoretyczna.

Zakres materiału:

1. Monosacharydy: podział, znaczenie fizjologiczne, właściwości fizyczne i chemiczne. Charakterystyczne reakcje monosacharydów (wzory łańcuchowe i taflowe). Izomeria: D i L, anomery  $\alpha$  i  $\beta$ , izomeria optyczna, epimery.
2. Disacharydy: redukujące i nieredukujące. Ważniejsze reakcje chemiczne (wzory).
3. Polisacharydy: glikogen, skrobia, dekstryny, mukopolisacharydy.
4. Polisacharydy: celuloza, inulina, glikoproteiny.
5. Fermentacja alkoholowa i inne jej rodzaje. Otrzymywanie osazonów cukrów prostych i dwucukrów.
6. Metody ilościowego oznaczania cukrów.
7. Glikoliza i utlenianie pirogronianu.
8. Cykl Krebsa.
9. Glukoneogeneza.
10. Szlak pentozofosforanowy.
11. Synteza glikogenu.
12. Katabolizm glikogenu.

### Ćwiczenie 10.

Cukry proste - struktura, właściwości i funkcje.

1. Reakcje charakterystyczne na cukry proste:
  - a) Próby redukcyjne.
  - b) Reakcje barwne z mocnymi kwasami.

Zakres materiału:

1. Struktura i klasyfikacja cukrów prostych (wzory łańcuchowe i taflowe).
2. Monosacharydy: podział, znaczenie fizjologiczne.
3. Izomeria: enancjomery D i L, anomery  $\alpha$  i  $\beta$ , epimery.
4. Właściwości fizyczne i chemiczne cukrów prostych.

### Ćwiczenie 11.

Dwucukry - struktura, właściwości i funkcje.

1. Reakcje dwucukrów redukujących i nieredukujących.
2. Hydroliza dwucukrów.
3. Fermentacja alkoholowa.
4. Otrzymywanie osazonów cukrów prostych i dwucukrów.

Zakres materiału:

1. Struktura, klasyfikacja i właściwości dwucukrów
2. Disacharydy: podział, znaczenie fizjologiczne.
3. Właściwości fizyczne i chemiczne dwucukrów.
4. Dwucukry redukujące i nieredukujące

### Ćwiczenie 12.

Wielocukry - struktura, właściwości i funkcje.

1. Reakcja skrobi z jodem.
2. Wysalanie skrobi.
3. Właściwości redukujące skrobi, hydroliza enzymatyczna skrobi.
4. Rozpuszczalność i hydroliza celulozy.

Zakres materiału:

1. Struktura, klasyfikacja i właściwości wielocukrów (wzory).
2. Właściwości fizyczne i chemiczne wielocukrów.
3. Hydrolityczna degradacja polisacharydów.
4. Reakcje ogólne i swoiste dla wielocukrów.
5. Polisacharydy: podział (homoglikany, heteroglikany), znaczenie fizjologiczne.

### Ćwiczenie 13.

Cukry – analiza jakościowa i ilościowa

1. Oznaczanie ilościowe monocukrów.
2. Identyfikacja nieznanego cukru za pomocą reakcji barwnych.

Zakres materiału:

1. Struktura, klasyfikacja i właściwości cukrów (wzory).
2. Właściwości fizyczne i chemiczne cukrów.
3. Reakcje ogólne i swoiste dla cukrów.
4. Metody ilościowego oznaczania cukrów.

### Ćwiczenie 14.

KOŁOKWIUM II

CUKRY

1. Wzory łańcuchowe i taflowe mono- i oligosacharydów.
2. Izomeria: D i L, anomery a i b, izomeria optyczna, epimery.
3. Monosacharydy: podział, znaczenie fizjologiczne.
4. Disacharydy: redukujące i nieredukujące. Ważniejsze reakcje chemiczne.
5. Polisacharydy: glikogen, skrobia, celuloza, inulina, dekstryny - budowa, znaczenie glikoprotein, mukopolisacharydy.
6. Glikoliza i utlenianie pirogronianu.
7. Glukoneogeneza.
8. Synteza glikogenu.
9. Katabolizm glikogenu.
10. Szlak pentozofosforanowy.

### Ćwiczenie 15.

ZALICZENIE

## SEMESTR II

### Ćwiczenie 1.

Enzymy – część teoretyczna.

Zakres materiału:

1. Budowa i funkcje enzymów. Mechanizm działania. Jednostki aktywności enzymatycznej (aktywność właściwa, molekularna, międzynarodowa).
2. Klasyfikacja enzymów. Koenzymy poszczególnych klas enzymów.
3. Kinetyka reakcji enzymatycznych. Pojęcia: szybkości maksymalnej i stałej Michaelisa. Szybkość reakcji enzymatycznej i czynniki wpływające na jej wartość.
4. Rodzaje inhibicji reakcji enzymatycznych.
5. Regulacja aktywności enzymów.
6. Izoenzymy (Izoenzymy (na przykładzie LDH, CK, fosfataz).
7. Enzymy - markery struktur komórkowych. Znaczenie diagnostyczne enzymów.
8. Katalityczne cząsteczki RNA.

### Ćwiczenie 2.

Izolowanie inwertazy z drożdży.

Zakres materiału:

1. Zasady izolowania enzymów.
2. Budowa i funkcja enzymów.
3. Klasy enzymów (przykłady reakcji dla każdej z klas).
4. Enzymy - markery struktur komórkowych.

### Ćwiczenie 3.

Kinetyka reakcji enzymatycznych (część I).

1. Oznaczanie cukrów redukujących z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym (DNS) i zastosowanie tej metody do oznaczania aktywności inwertazy. - Wykreślenie krzywej wzorcowej.
2. Badanie wpływu różnych stężeń inwertazy na szybkość hydrolizy sacharozy.

Zakres materiału:

1. Budowa i klasyfikacja enzymów. Mechanizm działania.
2. Swoistość i specyficzność reakcji enzymatycznych.
3. Jednostki aktywności enzymatycznej (aktywność właściwa, molekularna, międzynarodowa).
4. Kinetyka reakcji enzymatycznych. Pojęcia: szybkości maksymalnej i stałej Michaelisa.
5. Szybkość reakcji enzymatycznej i czynniki wpływające na jej wartość.
6. Równanie Michaelisa-Menten i Lineweavera-Burka.
7. Reakcja katalizowana przez inwertazę.
8. Zasada metody oznaczania aktywności inwertazy.

#### Ćwiczenie 4.

Kinetyka reakcji enzymatycznych (część II).

1. Wyznaczenie szybkości początkowych reakcji
2. Wyznaczenie maksymalnej szybkości reakcji ( $V_{\max}$ )
3. Wyznaczanie stałej Michaelisa ( $K_m$ ) dla reakcji hydrolizy sacharozy katalizowanej przez invertazę

Zakres materiału:

1. Budowa i klasyfikacja enzymów. Mechanizm działania.
2. Jednostki aktywności enzymatycznej.
3. Kinetyka reakcji enzymatycznych.
4. Szybkość reakcji enzymatycznej i czynniki wpływające na jej wartość.
5. Rodzaje inhibicji reakcji enzymatycznych.
6. Allosteryczna regulacja aktywności enzymatycznej.
7. Doświadczalne wyznaczanie stałej Michaelisa.

#### Ćwiczenie 5.

Witaminy – część teoretyczna.

Zakres materiału:

1. Klasyfikacja, nazewnictwo, natura chemiczna witamin.
2. Charakterystyka witaminy C (rola antyoksydacyjna, kofaktor enzymów).
3. Omówienie witamin z grupy B: B1, B2, B3, B5-reakcje, w których biorą udział.
4. Omówienie witamin z B6, B9, B12- reakcje, w których biorą udział.
5. Witaminy A oraz karotenoidy (rola antyoksydacyjna, ligandy receptorów jądrowych).
6. Witamina D3 (synteza, rola).
7. Witaminy K (rola).
8. Witaminy E (rola).
9. Biotyna (rola, udział w reakcjach).

#### Ćwiczenie 6.

Witaminy – wykrywanie i oznaczanie.

1. Kolorymetryczna metoda oznaczania witaminy C w materiale biologicznym.
2. Wykrywanie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach.

Zakres materiału:

1. Klasyfikacja witamin.
2. Struktura i funkcja witamin (wzory).
3. Metody oznaczania witaminy C.
4. Reakcje charakterystyczne dla witamin rozpuszczalnych w tłuszczach.

## Ćwiczenie 7.

### KOLOKWIUM III.

#### ENZYMY, WITAMINY

1. Budowa i funkcja enzymów. Mechanizm działania.
2. Swoistość i specyficzność reakcji enzymatycznych.
3. Klasy enzymów (przykłady reakcji dla każdej z klas).
4. Koenzymy poszczególnych klas enzymów.
5. Zagadnienia kinetyki reakcji enzymatycznych.
6. Inhibicja reakcji enzymatycznych: kompetycyjna, niekompetycyjna, akompetycyjna.
7. Allosteryczna regulacja aktywności enzymatycznej.
8. Czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznej.
9. Jednostki aktywności enzymatycznej (aktywność właściwa, molekularna, międzynarodowa).
10. Enzymy - markery struktur komórkowych.
11. Zasady izolowania enzymów.
12. Izoenzymy.
13. Regulacja aktywności enzymów.
14. Struktura, klasyfikacja i właściwości witamin.
15. Witaminy jako koenzymy. Skutki niedoboru witamin.

## Ćwiczenie 8.

### Kwasy nukleinowe – część teoretyczna.

#### Zakres materiału:

1. Struktura i funkcje DNA.
2. Struktura, funkcje i rodzaje RNA.
3. Budowa chromatyny. Organizacja jądrowego materiału genetycznego.
4. Białka związane z DNA i RNA i właściwości nukleoprotein. Izolowanie nukleoprotein i RNA.
5. Właściwości spektralne kwasów nukleinowych. Denaturacja i renaturacja DNA.
6. Enzymy nukleolityczne.
7. Techniki stosowane we współczesnej genetyce molekularnej i inżynierii genetycznej (wybrane przykłady):
  - a) metody rozdziału kwasów nukleinowych (techniki elektroforetyczne),
  - b) amplifikacja DNA (replikacja a PCR),
  - c) sekwencjonowanie DNA (metoda Sangera),
  - d) klonowanie.
8. Synteza nukleotydów purynowych.
9. Synteza nukleotydów pirymidynowych.
10. Katabolizm nukleotydów purynowych
11. Katabolizm nukleotydów pirymidynowych.



### Ćwiczenie 9.

Izolowanie RNA z drożdży.

Zakres materiału:

1. Struktura kwasów nukleinowych (wzory).
  - a) wzory zasad purynowych i pirymidynowych występujących w RNA i DNA, nukleozydów i nukleotydów.
  - b) struktura oligonukleotydów (rybo- i 2'-deoksyrybo-).
2. Podstawowe cechy struktury RNA i DNA.
3. Struktura nukleosomu, histony i ich rola w stabilizacji struktury nukleosomu.
4. Podstawowe różnice pomiędzy organizacją genomu pro- i eukariotycznego
5. Pozachromosomalny materiał genetyczny
6. Białka związane z DNA i RNA.
7. Właściwości nukleoprotein.
8. Izolowanie nukleoprotein. Metody wykorzystywane do izolowania DNA i RNA.

### Ćwiczenie 10.

Kwasy nukleinowe - struktura, właściwości i funkcje.

1. Ilościowe oznaczanie RNA z drożdży metodą kolorymetryczną z orcyną
2. Analiza chemiczna preparatów kwasów nukleinowych:
  - Rozpuszczalność kwasów nukleinowych
  - Tworzenie kompleksów z barwnikami
  - Odróżnianie DNA od RNA
  - Kwaśna hydroliza RNA
3. Spektrofotometria kwasów nukleinowych – widma absorpcyjne, oznaczanie czystości preparatów kwasów nukleinowych

Zakres materiału:

1. Struktura kwasów nukleinowych.
2. Analiza chemiczna preparatów kwasów nukleinowych.
3. Właściwości spektralne kwasów nukleinowych.
4. Denaturacja DNA:
  - efekt hiperchromowy,
  - temperatura topnienia.
5. Enzymy nukleolityczne, endonukleazy restrykcyjne
6. Techniki stosowane we współczesnej genetyce molekularnej i inżynierii genetycznej.
  - a) metody rozdziału i charakterystyki DNA
    - wirowanie w gradiencie gęstości,
    - metody chromatograficzne,
    - techniki elektroforetyczne,
  - b) amplifikacja DNA,
  - c) sekwencjonowanie DNA,
  - d) klonowanie

### Ćwiczenie 11.

Tłuszcze i cholesterol – część teoretyczna.

Zakres materiału:

1. Budowa, rola i podział tłuszczów.
  - a) Tłuszcze proste
  - b) Tłuszcze złożone
2. Właściwości fizykochemiczne tłuszczów: rozpuszczalność, zmydlanie, wysalanie mydła, wydzielanie wolnych kwasów tłuszczowych, wykrywanie tłuszczu, jełczenie, wykrywanie sterydów, liczby właściwe tłuszczów
3. Transport i magazynowanie lipidów w organizmie.
4. Utlenianie kwasów tłuszczowych.
5. Biosynteza kwasów tłuszczowych.
6. Budowa i funkcje cholesterolu. Rola cholesterolu w organizmie człowieka.
7. Biosynteza cholesterolu i jej regulacja.

### Ćwiczenie 12.

Tłuszczowce - struktura, właściwości i funkcje.

1. Wykrywanie glicerolu – próba akroleinowa.
2. Zmydlanie tłuszczów.
3. Otrzymywanie mydła nierozpuszczalnego.
4. Wysalanie mydła.
5. Wydzielanie wolnych kwasów tłuszczowych.
6. Rozpuszczalność tłuszczów.
7. Jełczenie aldehydowe – próba Kreisa.

Zakres materiału:

1. Struktura kwasów tłuszczowych i lipidów (wzory).
2. Budowa i podział lipidów.
3. Właściwości fizykochemiczne tłuszczów:
  - rozpuszczalność
  - zmydlanie, wysalanie mydła
  - wykrywanie tłuszczu
  - jełczenie
  - liczby właściwe tłuszczów

### Ćwiczenie 13.

Cholesterol - struktura, właściwości i funkcje.

1. Wykrywanie cholesterolu
  - Próba Salkowskiego
  - Próba Liebermanna-Burcharda
2. Ilościowe oznaczanie cholesterolu metodą Ilcy'ego.

Zakres materiału:

1. Podział steroidów.
2. Budowa i funkcje cholesterolu.
3. Właściwości fizykochemiczne cholesterolu.
4. Rola cholesterolu w organizmie człowieka.

## Ćwiczenie 14.

### KOŁOKWIUM IV.

#### KWASY NUKLEINOWE I LIPIDY.

1. Struktura kwasów nukleinowych.
2. Struktura chromosomu bakteryjnego i eukariotycznego; pozachromosomalny materiał genetyczny
3. Białka związane z DNA i RNA.
4. Właściwości nukleoprotein.
5. Izolowanie nukleoprotein.
6. Izolowanie RNA (met. Schmidta i Thannhausera)
7. Analiza chemiczna preparatów kwasów nukleinowych.
8. Właściwości spektralne kwasów nukleinowych.
9. Denaturacja DNA.
10. Enzymy nukleolityczne.
11. Techniki stosowane we współczesnej genetyce molekularnej i inżynierii genetycznej.
  - a) metody rozdziału i charakterystyki DNA:
    - wirowanie w gradiencie gęstości,
    - metody chromatograficzne,
    - techniki elektroforetyczne,
  - b) amplifikacja DNA,
  - c) sekwencjonowanie DNA,
  - d) klonowanie.
12. Zastosowanie technik inżynierii genetycznej w diagnostyce i terapii chorób uwarunkowanych genetycznie.
13. Synteza nukleotydów purynowych.
14. Synteza nukleotydów pirymidynowych.
15. Katabolizm nukleotydów purynowych
16. Katabolizm nukleotydów pirymidynowych.
17. Budowa i podział lipidów
18. Właściwości fizykochemiczne tłuszczów:
  - a. rozpuszczalność
  - b. zmydlanie, wysalanie mydła
  - c. wydzielanie wolnych kwasów tłuszczowych,
  - d. wykrywanie tłuszczu
  - e. jełczenie
  - f. wykrywanie sterydów
  - g. liczby właściwe tłuszczów
16. Transport i magazynowanie lipidów w organizmie.
17. Utlenianie kwasów tłuszczowych.
18. Biosynteza kwasów tłuszczowych.
19. Budowa i funkcje cholesterolu. Rola cholesterolu w organizmie człowieka.
20. Biosynteza cholesterolu i jej regulacja.

## Ćwiczenie 15.

### ZALICZENIE

---

# Literatura

1. Iwona Żak. Chemia medyczna.
2. Streyer L., Biochemia.
3. Bańkowski E. Biochemia
4. Ferrier D.R., Biochemia
5. Murray R.K. i wsp. Biochemia Harpera.
6. Kłyszajko-Stefanowicz L., Ćwiczenia z biochemii.
7. Zgirski A., Gondko R., Obliczenia biochemiczne.
8. Lehninger A. Biochemia.
9. Filipowicz B., Więckowski W., Biochemia.
10. Węgleński P., Genetyka molekularna.
11. Kłyszajko-Stefanowicz L., Cytobiochemia.
12. Brown T.A. Genomy