



## СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	4
Правила поведения в учебной лаборатории .....	6
Занятие № 1. Тема «Методы изучения белковых структур» .....	7
Занятие № 2. Тема «Фотометрические методы определения анали- тов в биологических образцах» .....	13
Занятие № 3. Тема «Методы количественного определения белков» ..	21
Занятие № 4. Тема «Методы определения активности ферментов»	32
Занятие № 5. Тема «Методы определения мочевины в крови и моче» ....	36
Занятие № 6. Тема «Методы определения количества билирубина в крови» .....	41
Занятие № 7. Тема «Методы определения количества глюкозы в крови» .....	43
Занятие № 8. Тема «Методы определения количества холестерина в крови» .....	47
Занятие № 9. Тема «Использование технологии ПЦР в медицинских исследованиях» .....	51
Занятие № 10. Тема «Иммунохимический анализ» .....	56
Рекомендуемая литература .....	63

## ВВЕДЕНИЕ

Биохимия — одна из фундаментальных дисциплин медицинского образования. Целью изучения дисциплины является получение знаний о закономерностях метаболических процессов в организме, о молекулярных механизмах, их регуляции в норме и при нарушении под влиянием факторов окружающей среды.

Освоение курса «Биохимия» включает изучение путей взаимопревращения белков, липидов, углеводов; основных катаболических и анаболических метаболических путей обмена веществ; особенностей матричных биосинтезов, функционирования ферментов, биологически активных веществ; процессов обеспечения энергией живого организма. Студенты должны приобрести навыки получения и интерпретации биохимических лабораторных данных, самостоятельного выполнения основных биохимических методов на современной клинико-диагностической аппаратуре с целью диагностики и понимания механизмов патогенеза заболеваний. Во время практических занятий активно формируются навыки работы в коллективе, умение анализировать и обобщать полученную информацию, убеждение в потребности постоянного самосовершенствования профессиональных знаний.

Темы лабораторных занятий выбраны с учетом целесообразности освещения всех основных тем курса нормальной и клинической биохимии. Каждому практическому занятию предшествует объяснение преподавателя, знакомящего студентов с обзором методов исследования конкретного химического соединения, сравнением аналитической надежности методов и возможности их выполнения с использованием соответствующей высокотехнологичной аппаратуры.

В конце занятия подводятся итоги, предусматривающие оценку качества выполненной студентом работы, обсуждение допущенных им ошибок. Если лабораторное занятие предусматривало сравнение различных биохимических подходов к определению, то делается вывод о преимуществе того или иного подхода к исследованию, использованию той или иной технологии. Результаты лабораторного анализа сравниваются с нормальными значениями, что позволяет сделать вывод о наличии отклонений от нормы и знакомит студентов с медицинской терминологией.

Данное учебное пособие способствует закреплению теоретического материала, иллюстрирует применение биохимических знаний в практической работе современного врача, направлено на формирование профессиональных компетенций (ПК):

ПКА-2. Понимает закономерности функционирования здорового организма человека и механизмы обеспечения здоровья с позиции

теории функциональных систем, особенности регуляции функциональных систем организма человека при патологических процессах.

ПКП-8. Умеет формулировать предварительный диагноз пациента и составлять план лабораторных и инструментальных обследований пациента, определять очередность, объем содержания и последовательность диагностических мероприятий.

ПКП-9. Способен направить пациента на лабораторное обследование при наличии медицинских показаний в соответствии с действующими порядками оказания медицинской помощи, клиническими рекомендациями (протоколами лечения) по вопросам оказания медицинской помощи с учетом стандартов медицинской помощи и обосновать необходимость и объем лабораторного исследования.

ПКП-13. Способен интерпретировать результаты сбора информации о заболевании пациента, данные, полученные при лабораторном и инструментальном обследовании пациента, данные, полученные при консультациях пациента врачами-специалистами, умеет анализировать полученные результаты обследования пациента, при необходимости обосновывать и планировать объем дополнительных исследований.

ПКП-19. Способен оценить эффективность и безопасность применения лекарственных препаратов, медицинских изделий, лечебного питания и иных методов лечения.

## **ПРАВИЛА ПОВЕДЕНИЯ В УЧЕБНОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

В лаборатории на протяжении занятия необходимо находиться в медицинском халате и сменной обуви (бахилы). Волосы должны быть аккуратно подобраны. В помещении лаборатории категорически запрещается принимать пищу и класть пищевые продукты на рабочие столы.

Лабораторные работы проводятся с использованием наборов реагентов для клинико-диагностических лабораторий. В качестве биологического материала используется контрольный материал (коммерческие сыворотки) с известным содержанием компонентов. Для работы используются одноразовые пробирки и наконечники, которые в конце работы сбрасываются в специальную емкость. При попадании реактивов на кожу необходимо вымыть это место с мылом. При пролипании раствора поверхность должна быть вытерта тряпкой.

После использования все дозаторы должны находиться на штативах, все флаконы с реактивами — на рабочем месте в закрытом состоянии.

Студенты должны бережно относиться к лабораторной мебели и оборудованию.

## Занятие № 1.

### Тема «Методы изучения белковых структур»

*Цель занятия:* ознакомиться с методами выделения индивидуальных белков из биологических образцов, с методами определения молекулярной массы и структуры белка; обсудить технику выполнения, преимущество и эффективность методических подходов.

#### 1. Методы выделения белков из тканей

Для разрушения тканей используются разнообразные методы:

- гомогенизация;
- вибрация;
- ультразвук;
- осмотический шок;
- замораживание/оттаивание.

##### *1.1. Метод гомогенизации*

Разрушение тканей осуществляется методом гомогенизации. Для этого применяются различные технические средства: ножевые гомогенизаторы, стеклянные гомогенизаторы с тефлоновым или стеклянным пестиком. Выбор прибора зависит от консистенции ткани и необходимой степени ее измельчения (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Механический гомогенизатор тканей и стеклянный гомогенизатор с тефлоновым пестиком

Для защиты белков от повреждения необходимы следующие условия гомогенизации:

- низкая температура;
- буферные растворы;

- комплексообразователи;
- поверхностно-активные вещества;
- ингибиторы протеаз.

## 1.2. Методы дифференциального центрифугирования и экстракции

Данные методы используются для выделения белков из субклеточных органелл (рис. 1.2).

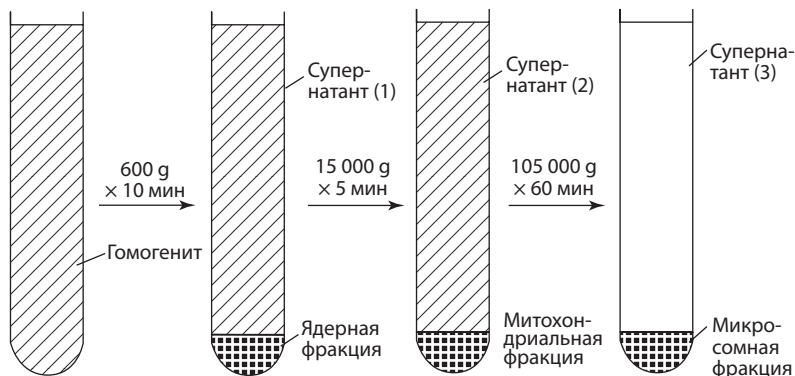


Рис. 1.2. Основные фракции субклеточных органелл, полученные методом дифференциального центрифугирования (Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. — М.: Мир, 1993. — С. 15)

Большинство белков тканей хорошо растворимы в 8–10 % растворах солей. При экстракции белков широко применяют различные буферные смеси с определенными значениями рН среды, органические растворители, а также неионные детергенты — вещества, разрушающие гидрофобные взаимодействия между белками и липидами и между белковыми молекулами.

## 1.3. Технология рекомбинантной ДНК

Технология рекомбинантной ДНК является самым современным методом получения белков. Техника генной инженерии включает несколько последовательных процедур:

- искусственный синтез достаточного количества копий по известной структуре гена;
- встраивание этого гена в генетический элемент, способный к репликации (вектор);