**Ćwiczenie 1. BIAŁKA SUROWICY – cz. 1**

* Oznaczanie ilościowe białka metodą Lowry'ego (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Metody ilościowego oznaczania białek: biuretowa, mikrobiuretowa, spektrofotometryczna, Lowry'ego i Bradforda. Frakcje białek surowicy, stężenia białka całkowitego i poszczególnych frakcji, funkcje białek.

**Ćwiczenie 2. BIAŁKA SUROWICY – cz. 2**

* Wykrywanie białek metoda western-blot I (wykonanie wg. instrukcji)
* Elektroforeza na octanie celulozy białek surowicy krwi (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Metody oznaczania białek: immunoenzymatyczne, radioimmunologiczne.

Przeciwciała budowa ogólna, klasy i ich rola. Otrzymywanie przeciwciał mono- i poliklonalnych.

**Ćwiczenie 3. BIAŁKA SUROWICY – cz. 3**

* Wykrywanie białek metoda western-blot II (wykonanie wg. instrukcji)
* Ocena densytometryczna (wykonanie wg. instrukcji)

**Ćwiczenie 1. KWASY NUKLEINOWE I NUKLEOPROTEINY - cz. 1**

* Izolowanie DNA metodą fenolową (wykonanie wg. instrukcji)
* Oznaczanie stężenia DNA, stopnia jego czystości oraz określenie termicznego efektu hiperchromowego (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny: Budowa nukleotydów, kwasów nukleinowych, chromatyny i chromosomu. DNA jako materiał genetyczny. Replikacja DNA, transkrypcja, translacja. Geny i ich struktura. Spektrofotometria kwasów nukleinowych. Denaturacja DNA. Termiczny efekt hiperchromowy DNA.

**Ćwiczenie 2. KRZEPNIĘCIE KRWI**

* Wpływ stężenia jonów wapniowych i jonów wodorowych na szybkość powstawania skrzepu rekalcynowego (wykonanie wg. instrukcji)
* Wykreślanie krzywych polimeryzacji fibryny w zależności od stężenia fibrynogenu (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny: Osoczowe czynniki krzepnięcia krwi, rodzaje, właściwości. Rola jonów wapnia i witaminy K. Wewnątrz- i zawnątrzpochodny układ krzepnięcia, czynniki kontaktu. Czynnik tkankowy (TF). Fibrynogen – budowa, mechanizm aktywacji. Rola czynnika XIII. Antytrombina III, Białko C i S. Płytki krwi i ich funkcja. Fibrynoliza: plazminogen, aktywatory i inhibitory, inhibitory aktywatorów plazminogenu. Kliniczny aspekt krzepnięcia krwi, Hemofilia A i B.

**Ćwiczenie 3. LIPOPROTEINY OSOCZA**

* Oznaczanie całkowitych triacylogliceroli (wykonanie wg. instrukcji)
* Oznaczanie cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu we frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL) (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Lipidy - budowa i klasyfikacja. Lipoproteiny - charakterystyka, transport i magazynowanie lipidów. Transport cholesterolu za pośrednictwem lipoprotein. Enzymy związane z przemianami lipoprotein. Cholesterol a miażdżyca. Kwasy żółciowe.

**Ćwiczenie 1. KINETYKA REAKCJI ENZYMATYCZNYCH - cz. 1**

* Wyznaczanie szybkości początkowej reakcji hydrolizy sacharozy w zależności od pH środowiska reakcji (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Enzymy: budowa, nazewnictwo, klasyfikacja, aktywność, jednostki aktywności. Szybkość reakcji enzymatycznych. Czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznych. Kofaktory reakcji enzymatycznych (ATP, aktywny metyl, aktywny siarczan, CoA, biotyna, H4-folian, pirofosforan tiaminy, fosforan pirydoksalu, UDP, CDP).

**Ćwiczenie 2. KINETYKA REAKCJI ENZYMATYCZNYCH - cz. 2**

* Wyznaczanie zależności szybkości reakcji hydrolizy sacharozy od stężenia enzymu (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Regulacja aktywności enzymów. Enzymy regulatorowe. Proenzymy (zymogeny). Efektory allosteryczne. Hamowanie przez sprzężenie zwrotne. Układy (kompleksy) wieloenzymowe.

**Ćwiczenie 3. KINETYKA REAKCJI ENZYMATYCZNYCH - cz. 3**

* Oznaczanie stałej Michaelisa (Km) dla -fruktofuranozydazy (wykonanie wg. instrukcji)
* Oznaczanie inhibicji kompetycyjnej -fruktofuranozydazy przez glicerol (wykonanie wg. instrukcji)

Materiał teoretyczny:

Stała Michaelisa (Km). Równania i wykresy: Michaelisa-Menten i Lineweavera-Burka. Znaczenie Km w enzymologii. Odwracalne hamowanie aktywności enzymów: kompetycyjne i niekompetycyjne, allosteryczne. Hamowanie nieodwracalne.

**Ćwiczenie 1. OZNACZANIE GLUKOZY**

Materiał teoretyczny:

- podział węglowodanów, węglowodany o znaczeniu fizjologicznym i klinicznym

- glikoliza (lokalizacja, przebieg, regulacja, bilans energetyczny), fosforylacja substratowa i oksydacyjna, dekarboksylacja oksydacyjna, pirogronian i glukozo 6-fosforan jako węzłowe metabolity, wejście fruktozy i galaktozy do szlaku glikolizy, rola 2,3-BPG w regulacji transportu tlenu

- glukoneogeneza (lokalizacja, przebieg, reakcje obejścia, regulacja)

- cAMP i jego rola w regulacji glikolizy i glukoneogenezy

- szlak pentozofosforanowy (lokalizacja, rola szlaku), znaczenie NADPH

**Ćwiczenie 2. CIAŁA KETONOWE I MOCZNIK**

Materiał teoretyczny:

- Beta-oksydacja kwasów tłuszczowych

- Ketogeneza (lokalizacja, przebieg, regulacja , ciała ketonowe, znaczenia, aspekt kliniczny)

- Cykl mocznikowy (lokalizacja, przebieg, regulacja, zaburzenia przebiegu; znaczenie kliniczne mocznika)

**Ćwiczenie 3. OZNACZANIE BILIRUBINY CAŁKOWITEJ, AspAT oraz AlAT**

Materiał teoretyczny:

-Porfiryny, biosynteza hemu, porfirie, katabolizm hemu, barwniki żółciowe, przemiany bilirubiny w wątrobie i jelicie (urobilinogen), hiperbilirubinemie, żółtaczki, znaczenie diagnostyczne oznaczania bilirubiny w surowicy i moczu.

- transaminacja oraz reakcje katalizowane przez aminotransferazy, aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparginowa, wskaźnik de Ritisa