**Тема 1.1 Физико-химические свойства белков и методы их выделения**

***Цель занятия***

-изучить основные свойства белка: растворимость, гидратация, ионизация белков в растворе, осаждение белков из растворов (обратимое и необратимое).

***Студент должен уметь:***

- открывать качественно белок в моче (пробой Геллера и с сульфосалициловой кислотой);

- количественно определять белок в моче с помощью тест - полоски «Альбуфан».

- осаждать белки с помощью солей тяжелых металлов.

***Необходимый исходный уровень***

**Из курса органической химии** студент должен знать:

- физико-химические свойства белков;

- уровни организации белковой молекулы

**Вопросы для самоподготовки**

1. Строение белков: первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры.
2. Физико-химические свойства белков: ионизация в растворе, гидратация и растворимость.
3. Осаждение белков из растворов. Механизм обратимого осаждения белка, факторы, вызывающие обратимое осаждение белков.
4. Денатурация белков: факторы, вызывающие денатурацию, механизм тепловой денатурации белков. Свойства денатурированного белка
5. Практическое использование обратимого и необратимого осаждения белков в медицине.
6. Ренатурация (ренативация).
7. Выделение и очистка белков.

**Практическая часть занятия**

**Лабораторная работа 1**

***Качественная реакция на обнаружение белка в моче - проба Геллера***

*Принцип метода:* концентрированная минеральная кислота НNO3 вызывает денатурацию белка и образует комплексные соли белка с кислотой. На границе двух слоев жидкостей образуется осадок в виде небольшого белого кольца.

*Ход работы:*в пробирку наливают 1 мл концентрированной НNO3, наклоняют пробирку под углом 450 и осторожно по стенке пипеткой наслаивают 1мл мочи.

*Результат:*

*Вывод:*

**Лабораторная работа 2**

***Качественная реакция на обнаружение белка в моче***

***с концентрированной сульфосалициловой кислотой***

*Принцип метода:* концентрированная органическая сульфосалициловая кислота вызывает денатурацию белка. Выпадение белка в виде осадка или мути связано с дегидратацией белковых частиц и образованием комплексных солей белка с кислотами.

*Ход работы:* к 1 мл мочи приливают 3 капли 20% сульфосалициловой кислоты. При наличии белка в моче образуется белый осадок.

*Результат:*

*Вывод:*

**Лабораторная работа 3**

***Количественное определение белка в моче с помощью тест – полоски «Альбуфан»***

*Принцип метода:* тест основан на изменении цвета кислотно-основного индикатора под влиянием белков. Проба наиболее чувствительна к альбумину и реагирует на его присутствие в моче при концентрации 0,1-0,15 г/л.

*Ход работы:* не касаясь реактивной зоны руками, тест-полоску опускают на 1-2 секунды в исследуемую мочу так, чтобы зона была смочена. Затем удаляют излишки мочи с полоски и приблизительно через 1 минуту сравнивают окраску зоны индикации с цветной шкалой.

*Результат:*

*Вывод:*

**Лабораторная работа 4**

***Осаждение белков солями тяжелых металлов***

*Принцип метода:* при взаимодействии функциональных групп боковых радикалов аминокислот в молекуле белка с ионами тяжелых металлов, которые адсорбируются на поверхности белковой молекулы, разрушается пространственная структура белка и происходит его денатурация с последующим образованием осадка.

*Ход работы:* в две пробирки наливают по 10 капель раствора белка. Затем в первую пробирку прибавляют по каплям 5% раствор ацетата свинца, во вторую - 5% раствор сульфата меди.

*Результат:*

*Вывод:*

**Практическая значимость работы**

На явлениях денатурации белков основаны приемы и методы асептики, антисептики, дезинфекции и дезинсекции в медицине, пастеризация и консервирование в пищевой промышленности. Свойство белков связывать тяжелые металлы используется в медицинской практике: белки применяют при отравлении солями ртути, свинца, меди как противоядие

**Вопросы для самоконтроля**

1. Заполнить таблицу

|  |  |
| --- | --- |
| Уровень структурной  организации белка | Типы связей, стабилизирующих  данную структуру |
| 1 – ая структура  2 – ая структура  3 – ая структура  4 – ая структура |  |

2. Ответить на вопросы и решить задачу:

а) Какие связи могут образовываться между следующими парами аминокислот, входящих в состав белка:

аспарагиновая кислота - лизин

цистеин - цистеин

аланин - лейцин

серин - глутаминовая кислота

б) Изоэлектрическая точка белка 5,5. Какой заряд приобретает данный белок при рН 3 и при рН 6,5?

3. Какой заряд несут белки сыворотки крови, если ИЭТ альбуминов равна 4,7, глобулинов - 6,7, а рН крови – 7,4?

4. В какой области находится ИЭТ трипептида вал-асп-ала? Написать ионное состояние трипептида при рн=7,0

***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.

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