**ЗАНЯТИЕ 1**

**ТЕМА 1.1 «СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ»**

УЧЕБНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ (УИРС)

Цель занятия*:*

1.Закрепить знания из курса биоорганической химии о биологической роли белков, аминокислотном составе, строении и методах изучения аминокислотного состава белков.

2.Освоить некоторые методы выделения белков из мышечной ткани (гомогенизация, центрифугирование).

3.Проанализировать аминокислотный состав выделенных из мышечной ткани белков, используя цветные реакции на белки и аминокислоты.

*Необходимый исходный уровень:*

Из курса биоорганической химии студент должен знать:

* строение и свойства аминокислот,
* цветные реакции на белки и аминокислоты.

Основные понятия темы: белки, строение белков, функции белков, методы изучения аминокислотного состава белков.

**ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ**

1. Белки: элементный и аминокислотный состав. Физиологическая роль белков.
2. Гидролиз белков (кислотный, щелочной, ферментативный, полный и частичный).
3. Анализ аминокислотного состава белков с помощью цветных реакций (биуретовой, нингидриновой, ксантопротеиновой, Фоля). Хроматографические методы изучения аминокислотного состава гидролизатов белков.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ занятия**

**Лабораторная работа 1**

***Выделение белков из мышечной ткани***

*Принцип метода:* белки миофибрилл не растворяются в воде, но их можно экстрагировать из мышечной ткани солевыми растворами с концентрацией солей 0,5 моль/л. При экстракции белков мышечной ткани 5% раствором КCl извлекается не только миофибриллярные белки, но и саркоплазматические.

Ход работы: для разрушения клеток 2 г измельченной ножницами мышечной ткани помещают в ступку, добавляют 2 мл 5% раствора КCl и растирают до гомогенного состояния. Продолжая экстракцию белков, добавляют еще 3 мл раствора 5% КCl и растирают кашицу в течение 5 мин, затем еще раз добавляют 5 мл 5% раствора КCl и растирают 5 мин. Полученный экстракт сливают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 15 мин при 3000 об/мин. При этом осаждаются обломки клеток, неразрушенные целые клетки, волокна соединительной ткани. Надосадочную жидкость (супернатант), содержащую экстрагированные мышечные белки, сливают в чистую пробирку. С экстрактом проделывают цветные реакции.

**Лабораторная работа 2**

***Цветные реакции на белки и аминокислоты***

***Биуретовая реакция***

*Принцип метода:* пептидные группы белков и полипептидов образуют в щелочной среде с ионами меди (II) комплексное соединение фиолетового цвета с красным или синим оттенком в зависимости от числа пептидных связей в белке. Биуретовая реакция положительна с белками и пептидами, имеющими не менее двух пептидных связей.

*Ход работы:* в пробирку наливают 10 капель раствора белка, 10 капель 10% раствора NaOH и 2 капли 1 % раствора CuSO4

*Результат:*

*Вывод:*

**Нингидриновая реакция**

*Принцип метода*: при взаимодействии нингидрина с α-аминогруппой аминокислот и аминокислотных остатков пептидов, белков образуется окрашенный комплекс синего или сине-фиолетового цвета.

*Ход работы:* в пробирку наливают 10 капель раствора белка, добавляют 5 капель 0,2% раствора нингидрина и нагревают 30 секунд.

*Результат:*

*Вывод:*

**Ксантопротеиновая реакция**

*Принцип метода:* при взаимодействии аминокислот и аминокислотных остатков полипептидов, содержащих ароматическое кольцо, с концентрированной азотной кислотой образуются динитропроизводные соединения желтого цвета. В щелочной среде они переходят в хиноидные структуры оранжевого цвета.

*Ход работы:* в пробирку наливают 10 капель раствора белка и прибавляют 5 капель концентрированной азотной кислоты, осторожно нагревают до появления желтой окраски. Затем охлаждают содержимое пробирки и осторожно прибавляют 20-25 капель 20% раствора NaOH.

*Результат:*

*Вывод:*

**Реакция Фоля**

*Принцип метода:* при взаимодействии серусодержащих аминокислот с реактивом Фоля при нагревании образуется черный или бурый осадок сульфида свинца. Метионин не дает положительной реакции Фоля, т.к. сера в нем прочно связана.

*Ход работы:* в пробирку наливают 10 капель раствора белка, 10 капель реактива Фоля. Смесь осторожно нагревают.

*Результат:*

*Вывод:*

Результаты работы оформляют в виде таблицы:

*Качественные реакции на белки и аминокислоты*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Название реакции | Исследуемый белок | Наблюдаемое окрашивание | Результат(+) (-) | Вывод  |
| 1 | Нингидриновая  |  |  |  |  |
| 2 | Биуретовая |  |  |  |  |
| 3 | Ксантопротеиновая |  |  |  |  |
| 4 | Реакция Фоля |  |  |  |  |

**Вопросы для самоконтроля**

1. Заполните таблицу: «Классификация аминокислот по полярности радикалов»

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Свойства радикала | Полное и сокращенное название аминокислот | Строение аминокислот | Название функциональных групп радикалов |
| 1. гидрофобные |  |  |  |
| 2. гидрофильные |  |  |  |
| А) незаряженные |  |  |  |
| Б) анионные |  |  |  |
| В) катионные |  |  |  |

1. Повторите классификацию и строение аминокислот (знать формулы)
2. Повторите типы связей в молекулах белка. Пептидная связь
3. Напишите ди-, три- и полипептиды и дайте им названия.
4. Повторите методы изучения аминокислотного состава белков с помощью цветных реакций и хроматографии.

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