Лабораторное занятие № 6

**Тема 2.3: «Аминокислоты. Пептиды, белки»**

Цель занятия:

Сформировать и закрепить у студентов знание строения, классификации, физико - химических свойств аминокислот, биологически важных химические реакции протекающие в живом организме. Знать понятие о белках и пептидах, строении белков и связях формирующих первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуру.

*Необходимый исходный уровень.*

Из школьного курса студент должен знать строение некоторых аминокислот, понятие о белках.

*Основные понятия темы:* аминокислоты, пептиды, белки качественные реакции на некоторые аминокислоты.

**Вопросы к занятию:**

1. Аминокислоты, входящие в состав белков. Строение, номенклатура. Стереоизомерия. Кислотно-основные свойства, биполярная структура. Классификация: по химической природе радикала, по полярности радикалов, по кислотно-основным свойствам, биологическая классификация.

2. Химические свойства α-аминокислот. Образование внутрикомплексных солей. Реакции этерификации, ацилирования, алкилирования, образования иминов, амидов: аспарагина, глутамина (АСН, ГЛН).

3. Биологически важные биохимические реакции, протекающие в организме.

I.по α-NH2 группе*: а)* трансаминирование; б) дезаминирование

II. по α-СООН группе декарбоксилирование (образование биогенных аминов);

III. специфические превращения аминокислот (на примере метионина);

4. Понятие о трансаминировании, строение кофактора ПАЛФ (роль витамина В6 в этом процессе). Механизм трансаминирования. Схема реакции на примере АЛТ и АСТ. Биологическая роль процесса трансаминирования.

5. Понятие о дезаминировании. Виды дезаминирования: окислительное, гидролитическое, внутримолекулярное, восстановительное (на примерах ГЛУ, СЕР, ГИС, АЛА). Биологическая роль дезаминирования.

6. Восстановительное аминирование на примере α-кетоглутаровой кислоты

7. Превращение по α-СООН группе - декарбоксилирование α -аминокислот, образование биогенных аминов (коламина, гистамина, триптамина, серотонина, кадаверина, дофамина, ГАМК). Биологическая роль биогенных аминов.

8. Понятие о пептидах и белках. Электронное и пространственное строение пептидной (амидной) связи. Кислотный, щелочной и ферментативный гидролиз белков. Установление аминокислотного состава белков с помощью современных физико-химических методов.

9. Понятие о первичной, структуре белка.

10. Понятие о вторичной структуре белка, α - спираль и β - складчатая структура, связи, формирующие вторичную структуру.

11.Понятие о третичной, нативной конформации белка (глобулярные и фибриллярные белки), связи, формирующие третичную структуру.

12. Понятие о четвертичной структуре белка на примере белка Нb гемоглобина (Нb) , связи, которые формируют четвертичную структуру.

Хронокарта занятия

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Этапы и содержание занятия | Используемые методы (в т.ч., интерактивные) | Время, мин. |
| 1.  2. | Организационный момент.  Объявление темы, цели занятия, выяснение непонятных вопросов.  Текущий письменный контроль на входе | Вводная беседа. | 5  10 |
| 4. | Устный опрос  Отработка практических умений и навыков. Проведение лабораторных работ | демонстрационное | 15  50 |
| 3 | Заключительная часть занятия:  Обобщение, выводы по теме.  Контроль качества формируемых компетенций (их элементов) студентов по теме занятия. Проверка тетрадей. |  | 10 |

**Лабораторная работа №1 Биуретовая реакция (реакция Пиотровского)**

**Открывает пептидную связь в белке.**

**Принцип метода:** Биуретовая реакция обусловлена образованием биуретового комплекса (халатного) в результате соединения меди с пептидной группировкой белка. В щелочной среде раствор белка при взаимодействии с ионами меди приобретает сине-фиолетовый цвет, а продукты неполного гидролиза его (пептиды) дают розовое окрашивание.

**Материалы**: белки (растворы), концентрированный раствор щелочи, раствор сернокислой меди.

**Ход работы**. **А)**. К 2 мл раствора белка добавляют равный объем концентрированного раствора щелочи, перемешать и затем каплю (не больше!) раствора сернокислой меди. Жидкость окрашивается в ярко-фиолетовый цвет, который заметен даже в окрашенной водной вытяжке из мяса.

**Б)**. Проделать реакцию с водным раствором мяса.

Результат

Химизм процесса

Вывод

**Лабораторная работа №2 Осаждение белков солями тяжелых металлов**

**Принцип метода: с**оли тяжелых металлов уже в очень малых концентрациях вызывают денатурацию и необратимое осаждение белка, образуя с ними нерастворимые в воде солеобразные соединения.

Данная практическая работа используются, как противоядие при отравлениях организма солями тяжелых металлов.

**Материалы**: белки (растворы), насыщенный водный раствор сернокислой меди, 20%-ный водный раствор уксуснокислого свинца.

**Ход работы**. Поместив в две пробирки по 2 мл исследуемого раствора белка, добавляют в одну из них раствор сернокислой меди, а в другую – раствор уксуснокислого свинца. Добавление реактива в обоих случаях производят медленно, по каплям, при встряхивании. Первоначально образуется хлопьевидный осадок или раствор мутнеет вследствие выделения малорастворимого соединения белка с солью меди (голубого цвета) или с солью свинца (белого цвета). При дальнейшем добавлении реактива осадок снова растворяется.

Результат

Химизм процесса

Вывод

**Лабораторная работа №3 Нингидриновая реакция на α-аминокислоты.**

**Принцип метода:** аминокислоты, белки и пептиды при кипячении с водным раствором нингидрина дают синее или сине-фиолетовое окрашивание, с образованием основания Шиффа.

**Материалы:** белки, водный раствор нингидрида 0.5%, спиртовка, пробирки.

**Ход работы:** к 1мл раствора белка добавляют 1мл 0,5% раствора нингидрина и кипятят 1-2мин. В пробирке появляется розово-фиолетовое окрашивание, а с течением времени раствор синеет.

Результат:

Химизм процесса:

Вывод:

**Упражнения**

1.Напишите проекционные формулы Фишера энантиомеров α- аминокислот, назовите по ИЮПАК и ЗН. Выберите из них незаменимые.

1. АЛА 5. ИЛЕ 9. ЛИЗ 13. ЦИС

2 ВАЛ 6. ТРЕ 10. АРГ 14. МЕТ

3. СЕР 7. АСП 11. ФЕН 15. ГЛИ

4. ЛЕЙ 8. ГЛУ 12. ТИР 16. ГИС

2. Напишите следующие уравнения реакций

1) переаминирования щавелевоуксусной кислоты с аланином.

2) переаминирования α-кетоглутаровой кислоты с АСП, ТИР.

3) окислительного дезаминирования ГЛУ.

4) восстановительное аминирование α-кетоглутаровой кислоты.

5) Образования солей (в ионной форме): ЛЕЙ, ЦИС.

6) Образования хелатного соединения: АЛА, ЛЕЙ.

7) «Защиты» карбоксигруппы: ИЛЕ, ВАЛ.

8) «Защиты» аминогруппы: ТИР, ТРИ.

Вопросы для самоконтроля

I. Напишите следующие уравнения реакций

Декарбоксилирование 1. ЛИЗ 2. ГИС 3. 5-гидрокси ТРИ 4. ГЛУ 5. 3,4-дигидроксифенилаланина

Дезаминирование. 1. ГЛУ 2. СЕР 3.ГИС 4. АЛА

Образования дипептидов 1. ГЛИ-ГЛУ 2. АЛА-ЦИС

Образования трипептидов. 1. ЛЕЙ-ВАЛ-ФЕН 2. ЛИЗ-ТРИ-ГИС 3. ЦИС-ГЛИ-АСП

*Укажите С- и N- концы пептидов, приведите строение внутренней соли. При каком значении рН находится ИЭТ данных пептидов.*

II. Ответить на тестовые задания.

**1. Моноаминомонокарбоновые кислоты:**

а) ЛИЗ; б) ВАЛ; в) АСП; г) ФЕН;

АРГ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТИР.

**2. Моноаминодикарбоновые кислоты:**

а) ЛИЗ; б) ВАЛ; в) АСП; г) ФЕН;

АРГ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТИР.

**3. Диаминомонокарбоновые кислоты:**

а) ЛИЗ; б) ВАЛ; в) АСП; г) ФЕН;

АРГ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТИР.

**4. Ароматические α - аминокислоты:**

а) ЛИЗ; б) ВАЛ; в) АСП; г) ФЕН;

АРГ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТИР.

**5. Гетероциклические α - аминокислоты:**

а) ЦИС; б) ГИС; в) аспарагин; г) треонин

МЕТ. ТРИ. глутамин. серин.

**5. Серусодержащие α - аминокислоты:**

а) ЦИС; б) ВАЛ; в) АСП; г) ФЕН;

МЕТ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТИР.

**6. Гидроксисодержащие моноаминомонокарбоновые кислоты:**

а) ЛИЗ; б) ВАЛ; в) АСП; г) СЕР;

АРГ. ЛЕЙ. ГЛУ. ТРЕ.

**7. Незаменимые α - аминокислоты:**

1) ГЛИ; 2) АЛА; 3) ВАЛ; 4) ЛЕЙ; 5) СЕР; 6) ИЛЕ; 7) ЦИС; 8) ТРЕ; 9) АСП; 10) МЕТ; 11) ГЛУ; 12) ФЕН; 13) ТИР; 14) ТРИ; 15) ГИС; 16) ЛИЗ

а) 3,4,6,8,10,12,14,16; б) 1,2,5,7,9,11,13,15.

**8. К нейтральным α - аминокислотам (pI=pH=7) относятся:**

а) ГИС; б) АСП; в) ВАЛ;

АРГ; ГЛУ; МЕТ;

ЛИЗ. ЦИС. ТРИ.

**9. К кислым α - аминокислотам (pI<pH=7) относятся:**

а) ГИС; б) АСП; в) ВАЛ;

АРГ; ГЛУ; МЕТ;

ЛИЗ. ЦИС. ТРИ.

**10. К основным α - аминокислотам (pI>pH=7) относятся:**

а) ГИС; б) АСП; в) ВАЛ;

АРГ; ГЛУ; МЕТ;

ЛИЗ. ЦИС. ТРИ.

Основная учебная литература:

1. Ершов, Ю. А.  Биохимия человека : учебник для академического бакалавриата / Ю. А. Ершов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 374 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-02577-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/444080>

2. Конспект лекции.

Дополнительная литература:

1. Тюкавкина, Н. А.Биоорганическая химия: [Текст]: учебник / Н. А. Тюкавкина, Ю.И. Бауков, С. Э. Зурабян. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 416 с. 2. Тюкавкина, Н. А.: [Текст]: руководство к лабораторным занятиям по биоорганической химии / под ред. Н. А. Тюкавкиной. - М.: Медицина, 1985, 285 с.

3. Тюкавкина, Н. А. Биоорганическая химия: [Текст]: учебник / Н.А.Тюкавкина, Ю.И.Бауков. – 6-е изд., исп.- М.: Дрофа, 2007. - 542 с.