**Лабораторное занятие № 2**

**ТЕМА:** СТРОЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ

СВОЙСТВА БЕЛКОВ

**Обоснование темы:** Белки – важнейший пластический материал клеток живого организма, по структуре являются полимерами, состоящими из низкомолекулярных веществ, мономеров – аминокислот. Знание структурной организации и свойств белковых молекул необходимо для понимания основных специфических функций (каталитической, транспортной, регуляторной, рецепторной и др.), благодаря которым, белкам принадлежит решающая роль во всех процессах жизнедеятельности. Вместе с тем, знания, полученные при изучении физико-химических свойств белков, таких как растворимость, гидрофильность, амфотерность, полиэлектролитные свойства, способность образовывать коллоидные растворы, участвовать в создании и поддержании коллоидно-осмотического (онкотического) давления, а также выделение белков из раствора при различных способах осаждения, высаливания, денатурации используются в медицине для диагностических целей, получения и очистки белковых лекарственных препаратов, в экспериментальных исследованиях.

**Цель:** знать уровни пространственной организации белковой молекулы;

изучить основные свойства белка в растворе: растворимость, гидратацию, ионизацию белков в растворе, обратимое осаждение белков из растворов, открывать качественно белок в слюне с концентрированной НNО3 и концентрированной сульфосалициловой кислотой, уметь количественно определять белок в слюне с помощью тест – полоски «Альбуфан»

**Необходимый исходный уровень:**

Из школьного курса знать:

1. Строение аминокислот

2. Характеристика пептидной связи

3. структуры организации молекулы белка

**Основные понятия темы: у**ровни организации белковой молекулы, физико-химические свойства белков, обратимое осаждение белков из раствора. денатурация, ренатурация

**Вопросы к занятию**

1. Белки: элементный и аминокислотный состав. Физиологическая роль белков.
2. Строение белков. Первичная структура, значение аминокислотной последовательности для биологической функции белка
3. Вторичная структура белка, ее основные типы: альфа спираль, бета складчатая структура. Связи, стабилизирующие вторичную структуру.
4. Третичная структура белка. Типы связей, стабилизирующих эту структуру. Глобулярные и фибриллярные белки
5. Четвертичная структура, кооперативность протомеров (на примере белка гемоглобина)
6. Физико – химические свойства белков: ионизация белков в растворе, гидротация, растворимость, подвижность в электрическом поле
7. Осаждение белков из растворов. Механизм обратимого осаждения белков (высаливание), факторы и механизм, вызывающие обратимое осаждение.
8. Понятие о денатурации, свойства денатурированного белка. Ренатурация. Практическое использование осаждения в медицинской практике.

**Методические указания**

**к Практической части занятия**

***«СБОР СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ»***

Смешанная слюна (ротовая жидкость) отбирается следующим образом: ополоснуть ротовую полость водой, далее обследуемому предлагают наклонить подбородок к груди и собирать слюну в подставленную пробирку. В некоторых случаях для стимуляции слюноотделения могут быть применены пищевые раздражители – лимон, клюква, апельсин или растворы 5% лимонной и 1% уксусной кислот. Взятую слюну помещают в холодильник без замораживания. Далее перед началом исследования отделяют осадок от надосадочной жидкости центрифугированием или фильтрованием через бумажный фильтр. Центрифугирование проводят при 3000 об/мин 10 минут.

**Лабораторная работа№1. «Качественная реакция на обнаружение белка в слюне с концентрированной азотной кислотой»**

**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 слюны.

Результат:

Вывод:

**Лабораторная работа № 2. «Качественная реакция на обнаружение белка в слюне с концентрированной сульфосалициловой кислотой»**

**Принцип метода**:

Концентрированная органическая сульфосалициловая кислота вызывает денатурацию белка и необратимое осаждение. Выпадение белка в виде осадка или мути связано с дегидратацией белковых частиц и образованием комплексных солей белка с кислотами.

Ход работы:

К 1 мл слюны приливают 3 капли 20% сульфосалициловой кислоты. При наличии белка в слюне образуется белый осадок.

Результат:

Вывод:

**Лабораторная работа № 3**. **Количественное определение белка в слюне с помощью диагностической тест - полоски «альбуфан»**

**Принцип метода:**

Тест основан на изменении цвета кислотно-основного индикатора под влиянием белков (от желтого через зеленый до синего).

ХОД РАБОТЫ:

Взять тест - полоску, не касаясь руками зоны индикации полоски, опустить в исследуемую слюну на 1-2 секунды, приблизительно через 60 секунд сопоставить окраску зон индикации с соответствующей цветной шкалой.

Клинико-диагностическое значение определения белка в слюне: количество белка в слюне может изменяться в зависимости от состояния полости рта. При кариесе, восстановительных процессах в полости рта, гингивитах, стоматитах, язвенных болезнях желудка и др. содержание белка возрастает, особенно ГП муцина, который выполняет защитные функции и играет роль в процессах пищеварения.

Результат:

Вывод:

Вопросы для самоконтроля:

1. Повторить типы связей в молекулах белка.
2. Знать образование ди-, три- и полипептидов и их название.
3. Заполнить таблицу

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

1. Решить ситуационные задачи:

1.Изоэлектрическая точка белка 5,5. Какой заряд приобретает данный белок при рН 3 и при рН 6,5? (Изобразить схематично изменение заряда молекулы белка при указанных значениях рН).

2. Для обработки инфицированных корневых каналов используют ватные тампоны, пропитанные формальдегидом. Объясните целесообразность применения формальдегида, если известно, что он проникает в дентиновые канальцы корня и взаимодействует с альбуминами. Для этого: а) объясните, что такое денатурация белка, укажите, какие структурные уровни организации белка изменяются при этом;

б) перечислите типы связей, которые разрушаются при денатурации, приведите примеры аминокислот, образующих такие связи;

в) как называется функциональный участок белка, обеспечивающий реализацию за его функции;

г) объясните, изменится ли биологическая активность альбумина после взаимодействия с формальдегидом и почему

основная Литература:

1. Конспект лекций
2. Вавилова Т.В. ,Медведев А.Е. Биологическая химия. Биохимия полости рта -М.: «ГЭОТАР-МЕД», 2014.-554с.
3. Биохимия / под ред .Е.С. Северина. – М.: ГЭОТАР – МЕД, 2009. – 759с
4. Ершов, Ю. А.  Биохимия человека: учебник для вузов/ Ю. А. Ершов. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2020. — 466 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-02577-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. —URL:  https://urait.ru/bcode/423741

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Чиркин А.А. Биохимия / А.А.Чиркин. Е.О.Данченко - М.: Медицина, 2010.- 605 с.