

Лабораторное занятие № 10.

Тема: Аминокислоты, пептиды, белки.

Вопросы для рассмотрения:

1. Аминокислоты, входящие в состав белков. Строение, номенклатура. Стереизомерия. Кислотно-основные свойства, биполярная структура. Классификация с учетом различных признаков: по химической природе радикала и содержащихся в нем заместителей (алифатические, ароматические, гетероциклические, содержащие гидроксильную, карбонильную или амидную группу, серусодержащие), по полярности радикалов, по кислотно-основным свойствам, биологическая классификация.

2. Химические свойства α -аминокислот. Образование внутрикмоплексных солей. Реакции этерификации, ацилирования, алкилирования, образования иминов, амидов: аспарагина, глутамина (АСН, ГЛН). Взаимодействие с азотистой кислотой и формальдегидом, значение этих реакций для анализа аминокислот.

3. Биологически важные реакции, протекающие в нашем организме.

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

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

III. специфические превращения аминокислот (на примере метионина);

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

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

6. Восстановительное аминирование на примере α -кетоглутаровой кислоты

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

Выполнить следующие 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.

3. Напишите следующие уравнения реакций

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

Лабораторная работа

Опыт 1 Биуретовая реакция (реакция Пиотровского)

Открывает пептидную связь в белке.

Принцип метода: Биуретовая реакция обусловлена образованием биуретового комплекса (хелатного) 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). Прodelать реакцию с водным раствором мяса.

Результат

Химизм процесса

Вывод

Опыт 2 Осаждение белков солями тяжелых металлов

Принцип метода: соли 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

Опыт 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 синее.

Результат

Химизм процесса

Вывод

Опыт 4 Ксантопротеиновая реакция белков (Мульдера)

Принцип метода: ксантопротеиновая реакция доказывает присутствие в белке ароматических аминокислот (ТРИ, ФЕН, ТИР). При обработке раствора белка концентрированной азотной кислотой появляется желтое окрашивание (реакция нитрования), которое при добавлении щелочи переходит в оранжевое.

Материалы: белки (растворы), концентрированная азотная кислота, концентрированный раствор щелочи.

Ход работы. К 1 мл раствора белка добавляют 0,5 мл концентрированной азотной кислоты. Затем осторожно нагревают смесь на спиртовке до кипения в течение 1 мин. При этом раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. Охладив смесь, осторожно по каплям добавляют к 1 мл концентрированного раствора щелочи. Выпадает осадок ярко-оранжевого цвета.

Результат

Химизм процесса

Вывод

Опыт 5. Реакция на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу (реакция Фоля на ЦИС)

Принцип метода: сульфгидрильные группы SH в белке или пептиде подвергаются щелочному гидролизу, в результате чего происходит отщепление серы в виде сульфида свинца, который с плюмбатом дает черный или бурый нерастворимый осадок сульфида свинца PbS

Материалы: белки, реактив Фоля, пробирки, спиртовка

Ход работы: К 1 мл раствора белка добавляют 1 мл реактива Фоля, встряхнуть, прокипятить, дать постоять 2 мин. При этом появляется черный или бурый осадок сульфида свинца PbS.

Результат

Химизм процесса

Вывод