

ЗАНЯТИЕ 3.3

АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ. ПРОТЕИНОГЕННЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ. ВАЖНЕЙШИЕ ПЕПТИДЫ И ПОЛИПЕПТИДЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА.

Азотсодержащие соединения нашего организма представлены нуклеотидами, нуклеиновыми кислотами, белками и аминокислотами, а также низкомолекулярными дериватами аминокислот, такими как холин, карнитин, креатин и др.

Аминокислоты по строению являются органическими карбоновыми кислотами, у которых, как минимум, один атом водорода замещен на аминогруппу. Они являются строительными блоками белковых молекул, но необходимость их изучения кроется не только в данной функции. Некоторые из аминокислот являются источником для образования нейромедиаторов в ЦНС (гистамин, серотонин, гамма-аминомасляная кислота, дофамин, норадреналин), другие сами являются нейромедиаторами (глицин, глутаминовая кислота). Те или иные группы аминокислот необходимы для синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований без которых нет нуклеиновых кислот, используются для синтеза низкомолекулярных биологически важных соединений (креатин, карнитин, карнозин, ансерин и др.). Аминокислота тирозин целиком входит в состав гормонов щитовидной железы и мозгового вещества надпочечников.

С нарушением обмена аминокислот связан ряд наследственных и приобретенных заболеваний, сопровождающихся серьезными проблемами в развитии организма (цистиноз, гомоцистеинемия, лейциноз, тирозинемии и др). Самым известным примером является фенилкетонурия.

Цель занятия: сформировать представление о протеиногенных аминокислотах, их строении, функциях, основных свойствах и биологической роли.

Необходимый исходный уровень: студент должен знать свойства карбоновых кислот и аминов, иметь представление об аминокислотах и их классификации.

Основные понятия темы: протеиногенные аминокислоты, амфотерность, биполярный ион, изоэлектрическое состояние, изоэлектрическая точка, пептидная связь (пептидная группировка), пептиды, полипептиды.

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ

1. Общая характеристика аминокислот. Классификация: по положению аминогруппы, по абсолютной конфигурации молекулы и оптической активности, по участию аминокислот в синтезе белков.

2. Классификация протеиногенных аминокислот: по строению бокового радикала, по кислотно-основным свойствам, по необходимости для организма.

3. Физико-химические свойства аминокислот - кислотно-основный характер: ионизация при $pH=7$ (на примере аланина, серина, аспарагиновой кислоты, лизина), представление об изоэлектрическом состоянии и pI , изменение заряда аминокислоты при изменении pH .

4. Образование пептидной связи. Характеристика пептидной связи и пептидов (представление о N- и C-крае, остове пептидной цепи, вариабельной части, номенклатуре пептидов).

5. Некоторые физиологически значимые пептиды и полипептиды: *глутатион, вазопрессин, окситоцин, глюкагон. (Сообщения студентов).*

6. Цветные реакции на пептидную связь и отдельные аминокислоты в составе белков. (Виртуальный практикум).

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ (домашнее задание)

Задание 1. Напишите основные аминокислоты при $pH=7,0$ и переведите их в изоэлектрическое состояние, учитывая, что $pI_{\text{лиз}}=9,7$, а $pI_{\text{арг}}=10,8$.

Задание 2. Напишите кислые аминокислоты при $pH=7,0$ и переведите их в изоэлектрическое состояние, учитывая, что $pI_{\text{асп}}=2,8$, а $pI_{\text{глю}}=3,2$.

Задание 3. Напишите структуру фенилаланина ($pI=5,5$) при $pH=1,0; 5,5; 7,0$.

Задание 4. Напишите реакцию образования пептида: *глю-мет-вал-арг-три*. Назовите пептид, укажите N- и C-край, выделите пептидные связи, укажите незаменимые аминокислоты в его составе. Определите характер пептида и возможное значение его pI .

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Виртуальный практикум

«Цветные реакции на пептидную связь и отдельные аминокислоты в составе белков»

Опыт 1. Биуретовая реакция на пептидную группировку

В пробирку вносят 1-2мл раствора белка и прибавляют двойной объем 10%-ного раствора гидроксида натрия, хорошо перемешивают и добавляют 2-3 капли 1%-ного раствора сульфата меди (II). Снова тщательно перемешивают.

Наблюдение:

Химическая реакция:

Опыт 2. Реакция Сакагучи (на аргинин)

В пробирку наливают 2мл раствора белка, прибавляют 2мл 10%-ного раствора гидроксида натрия и несколько капель 0,2%-ного спиртового раствора α -нафтола. Хорошо перемешивают содержимое пробирки, приливают 0,5мл раствора гипобромита натрия и вновь перемешивают. Добавляют 1мл 40%-ного раствора мочевины для стабилизации развивающегося оранжево-красного окрашивания (записать уравнение реакции).

Наблюдение:

Химическая реакция:

Опыт 3. Реакция Паули (на гистидин)

К 1 мл 1%-ного раствора сульфаниловой кислоты в 5%-ном растворе соляной кислоты прибавляют 2 мл 0,5%-ного раствора нитрита калия, сильно встряхивают и немедленно прибавляют сначала 2мл 0,01%-ного раствора белка, а затем, после перемешивания, 6мл 10%-ного раствора карбоната натрия. Развивается интенсивная вишнево-красная окраска вследствие реакции азосочетания гистидина и диазопроизводного сульфаниловой кислоты.

Наблюдение:

Химическая реакция:

Опыт 4. Реакция Адамкевича (на триптофан)

В пробирку наливают несколько капель неразбавленного белка прибавляют 2мл ледяной уксусной кислоты. Смесь слегка нагревают для растворения образующегося осадка. Охлаждают пробирку со смесью, а затем, наклонив ее, осторожно по стенке приливают 1мл концентрированной серной кислоты так, чтобы обе жидкости не смешались. При стоянии на границе двух жидкостей появляется красно-фиолетовое кольцо. Окраска возникает за счет

реакции триптофана с глиоксиловой кислотой, всегда присутствующей в уксусной кислоте в виде примеси

Наблюдение:

Химическая реакция:

Опыт 5. Реакция Фоля ("на слабосвязанную серу" - цистеин)

В пробирку наливают 0,5-1мл неразбавленного белка, добавляют двойной объем концентрированного раствора щелочи (30%), помещают в пробирку несколько "кипятильников" и осторожно кипятят смесь (жидкость может выбросить!). К горячей щелочной жидкости приливают раствор плюмбита натрия (к 1мл ацетата свинца добавляют по каплям раствор щелочи до растворения образующегося сначала осадка гидроксида свинца), развивается желто-бурое или черное окрашивание.

Наблюдение:

Химическая реакция:

Опыт 6. Ксантопротеиновая реакция (на тирозин)

К 1мл раствора белка добавляют 5-6 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка или мути от свернувшегося белка. Смесь нагревают. При нагревании раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. При этом осадок почти полностью растворяется.

Наблюдение:

Химическая реакция: