

Федеральное агентство по образованию Российской Федерации
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Ивановский государственный химико-технологический университет

Практикум по биохимии

Методические указания

Составители: О. А. Петров
 С. Г. Пуховская

Иваново 2006

УДК 577.1 (072)

Практикум по биохимии: Методические указания / Сост.: О. А. Петров, С. Г. Пуховская.; ГОУ ВПО Иван. гос. хим. – технол. ун-т. – Иваново, 2006. – 60 с.

В методических указаниях кратко изложены теоретические положения, касающиеся строения и роли биологически активных молекул в процессах жизнедеятельности. Приведены методики определения и исследования аминокислот, белков, ферментов, а также контрольные работы и задания по основным классам соединений.

Методические указания представляют собой руководство для выполнения практических работ по биологической химии студентами заочной формы обучения по направлению 260100 – «Технология продуктов питания».

Табл. 4.

Ил. 2.

Рецензент доктор химических наук В. А. Козлов (ГОУ ВПО Ивановский государственный химико-технологический университет)

Техн. редактор О. А. Соловьева

Подписано в печать 26. 10. 2006. Формат 60×84 1/16. Бумага писчая.

Усл. печ. л. 3,49. Уч.-изд. л. 3,87. Тираж 100 экз. Заказ

ГОУ ВПО Ивановский государственный химико-технологический университет

Отпечатано на полиграфическом оборудовании кафедры экономики и финансов ГОУ ВПО «ИГХТУ»

153000, г. Иваново, пр. Ф. Энгельса, 7

СОДЕРЖАНИЕ

I. Аминокислоты и белки	4
Лабораторная работа № 1. Качественные реакции на аминокислоты и белки	12
Лабораторная работа № 2. Кислотный гидролиз белков и формоловое титрование по Серенсену	20
Лабораторная работа № 3. Реакции осаждения белков	22
Лабораторная работа № 4. Распределительная хроматография аминокислот на бумаге	24
Контрольные вопросы	27
Контрольная работа №1	29
II. Ферменты, коферменты и витамины	30
Лабораторная работа № 5. Изучение действия ферментов	34
Лабораторная работа № 6. Качественные реакции на водорастворимые витамины	37
Лабораторная работа № 7. Качественные реакции на жирорастворимые витамины	39
Контрольные вопросы	43
III. Углеводы	44
Лабораторная работа № 8. Качественные реакции на углеводы	48
Контрольные вопросы	51
Контрольная работа №2	52
IV. Нуклеиновые кислоты.	53
Лабораторная работа № 9. Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей	58
Контрольные вопросы	60

I. Аминокислоты и белки

Гетерофункциональные соединения, молекулы которых содержат одновременно amino – и карбоксильную группы называются аминокислотами. Общее число, встречающихся в природе аминокислот, достигает 100. При этом в организме человека найдено около 70 аминокислот, из которых 20 входят в состав белков. Они относятся к α-аминокислотам и называются протеиногенными (табл. 1).

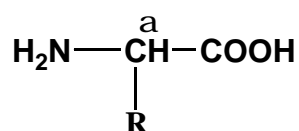


Таблица 1.

Протеиногенные α – аминокислоты

Название	Сокращенное название аминокислоты		Формула
	русское	международное	
1	2	3	4
Глицин	Гли	Gly	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Аланин	Ала	Ala	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Валин	Вал	Val	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Лейцин	Лей	Leu	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Продолжение табл.1

1	2	3	4
Изолейцин	Иле	Ile	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CHCH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $
Серин	Сер	Ser	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array} $
Треонин	Тре	Thr	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $
Цистеин	Цис	Cys	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array} $
Метионин	Мет	Met	$ \begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SCH}_3 \end{array} $
Аспаргиновая кислота	Асп	Asp	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O}=\text{C} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
Аспаргин	Асн	Asn	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
Глутаминовая кислота	Глу	Glu	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array} $

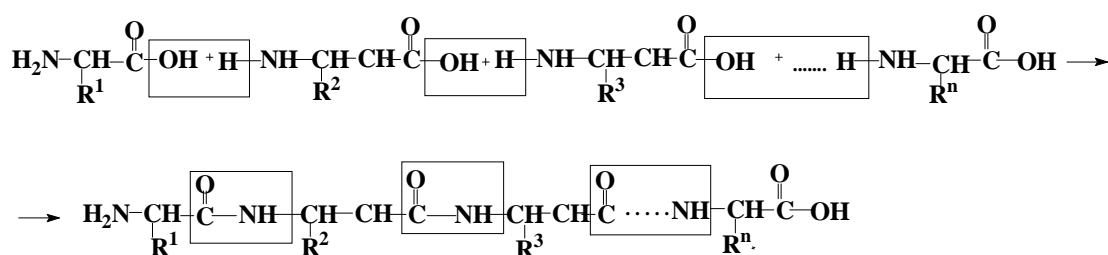
Окончание табл. 1

1	2	3	4
Глутамин	Глн	Gln	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
Лизин	Лиз	Lys	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O}=\text{C} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
Аргинин	Арг	Arg	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{O}=\text{C} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
Фенилаланин	Фен	Phe	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} $
Тирозин	Тир	Tyr	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array} $
Триптофан	Три	Trp	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array} $
Гистидин	Гис	His	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2 \end{array} $
Пролин	Про	Pro	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{C}_4\text{H}_7\text{N} \end{array} $

Одновременное присутствие в молекулах α-аминокислот аминной и карбоксильной групп обуславливает их способность вступать в реакции поликонденсации, которые приводят к образованию пептидных (амидных) связей между мономерными звеньями.

В результате такой реакции образуются биоорганические полимеры – белки (протеины). Они содержат свыше 100 аминокислотных остатков и имеют молекулярную массу от 10000 до нескольких миллионов. Чередование аминокислотных остатков в молекуле белка неповторимо и строго специфично. Специфичность белков определяется аминокислотным составом и аминокислотной последовательностью.

Аминокислотный состав – это природа и количественное соотношение входящих в них α-аминокислот, а аминокислотная последовательность, т. е. порядок чередования α-аминокислотных остатков – это первичная структура белка:



Кроме первичной в белковых молекулах выделяют вторичную, третичную и четвертичную структуры.

Под вторичной структурой белка подразумевают конформацию полипептидной цепи, т. е. способ её скручивания или складывания в соответствии с программой, заложенной в первичной структуре, в α -спираль или β -структуру. Ключевую роль в стабилизации этой структуры играют водородные связи, которые в α -спирали образуются между карбонильными атомами кислорода каждого первого и атомом водорода NH-группы каждого пятого α -аминокислотных остатков (рис.1).

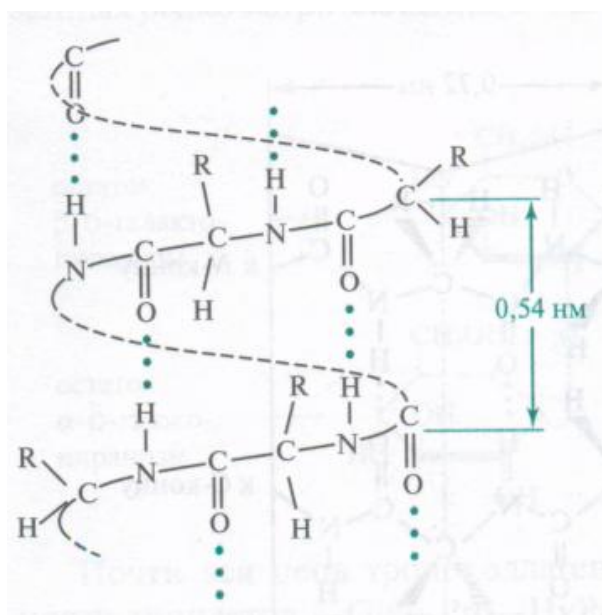


Рис.1. Вторичная структура белка (α -спираль)

В отличие от α -спирали β -структура образована за счёт межцепочечных водородных связей между соседними участками полипептидной цепи (рис. 2).

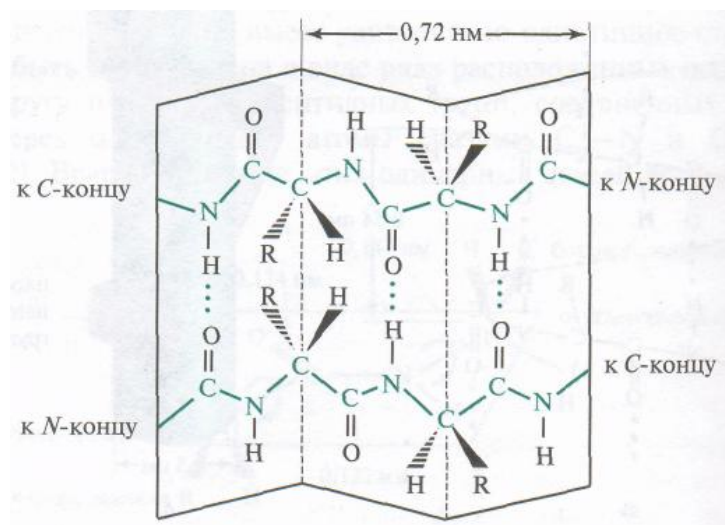


Рис. 2. Вторичная β -структура белка.

Особенности вторичной структуры белка во многом определяются аминокислотным составом (табл. 2)

Таблица 2

Некоторые аминокислоты, определяющие тип вторичной структуры белка

α -спираль	β -структура
Аланин	Валин
Глутаминовая кислота	Изолейцин
Глутамин	Треонин
Лейцин	Тирозин
Лизин	Фенилаланин
Метионин	
Гистидин	

Под третичной структурой белка (субъединицей) подразумевают пространственную ориентацию полипептидной цепи в опреде-

ленном объеме, которая включает элементы вторичной структуры. Она стабилизируется за счет различных взаимодействий (рис. 3), в которых участвуют боковые радикалы α -аминокислотных остатков, находящихся в линейной полипептидной цепи на значительном удалении друг от друга, но сближенные в пространстве за счет изгибов цепи.

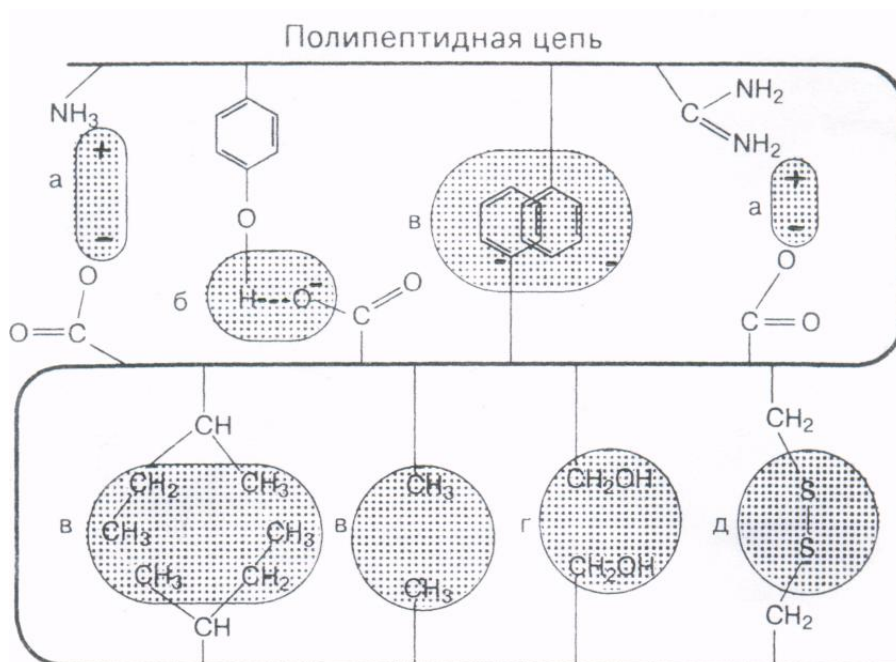


Рис. 3. Типы взаимодействий, стабилизирующие третичную структуру белка

Под четвертичной структурой белка подразумевают ассоциированные между собой две или более субъединиц, ориентированных в пространстве. Четвертичная структура поддерживается за счет во-