Методическая инструкция для студентов
по теме: «Аминокислоты, пептиды, белки в водных растворах.
Аминокислотные и белковые буферные системы»

Цель занятия: сформировать представление об особенностях строения аминокислот, пептидов и водорастворимых белков и их поведение в водных средах.
Исходный уровень: протолитическая теория Брёнстеда — Лоури; амфотерность органических веществ; сопряжённые кислотно-основные пары буферных систем, уравнение Гендерсона — Хассельбаха, расчёт буферной ёмкости; структурные формулы 20 α-аминокислот
Содержание темы: аминокислоты, пептиды, белки в водных растворах; аминокислотные и белковые буферные системы.
Основные положения:
1. Аминокислоты. Состав, строение, оптические свойства аминокислот.
2. Амфотерные свойства аминокислот.
3. Равновесия в водных растворах аминокислот. Смещение равновесия, понятие pI.
4. Пептиды, белки. Схема образования дипептида.
5. Амфотерность пептидов и белков. Равновесия в водных растворах пептидов и белков.
6. Буферное действие — основной механизм протолитического гомеостаза организма. Сопряжённые кислотно-основные пары в растворах аминокислот. Механизм действия аминокислотных буферных систем. Уравнение Гендерсона — Хассельбаха для аминокислотного буфера.
7. Расчёт соотношения концентраций форм аминокислот в растворах.
8. Белковые буферные системы. Кооперативное действие бикарбонатной, гемоглобиновой и оксигемоглобиновой буферных систем.
9. Электрофорез. Определение заряда белка и направление движения в электрическом поле.
Самоподготовка:кооперативное действие бикарбонатной, гемоглобиновой и оксигемоглобиновой буферных систем (В.И. Слесарев, химия. Основы химии живого. Химиздат, Санкт-Петербург, 2000 г., стр. 197).

Контроль усвоения темы:

1. Напишите схему, отражающую равновесие в водных растворах:
А. серина;
Б. аспарагина;
В. гистидина;
Г. глутаминовой кислоты.
Оцените характер раствора и значения pI этих аминокислот.
2. Напишите схему, отражающую равновесие в водном растворе дипептидов:
А. ала-сер;
Б. про-асп;
В. цис-гис.
Укажите, в какой среде (кислой, щелочной или нейтральной) лежит изоэлектрическая точка этих пептидов. Оцените характер среды раствора этих пептидов.
3. Решите задачи:
1. Рассчитайте соотношение концентраций форм глицина в растворе, полученном после смешивания 100 мл 0,1 М раствора H_2CO_3 и 200 мл0,1 М раствора $NaHCO_3$.
($K_{диcс}$ (H_2CO_3) = 8-10^{-7}; t=37°C pK_{-COOH}(Гли) = 2,35; $pK_{-NH_3^+}$ (Гли) = 9,78; pI(Гли) = 6,1).

Ответ: $\frac{[Гли^{\pm}]}{[Гли^{-}]} = \frac{2400}{1}$.

2. Рассчитайте соотношение концентраций компонентов ацетатного буферного раствора, в котором глицин существует в виде цвиттер-иона (Гли*).
($K_{диcс}$ (CH_3COOH) = 1,8·10^{-5}; pK_{-COOH} (Гли) = 2,35; $pK_{-NH_3^+}$ (Гли) = 9,78; pI (Гли) = 6,1)

Ответ: $\frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = 22,4$.

3. К какому электроду при электрофорезе будет передвигаться белок с pI=9,8 в аммонийном буферном растворе, содержащем 0,06 моль аммиака и 0,03 моль хлорида аммония?
($K_{дисс.}(NH_3) = 1,8 \cdot 10^{-5}$)
Ответ: к катоду.

4. Белок с p*I*=3 поместили в 0,01 М раствор соляной кислоты. Изменится ли направление движения этого белка при электрофорезе, если исходный раствор разбавить в 100 раз?
Ответ: изменится.

5. Имеются два раствора одного и того же белка (p*I*=7,8)
А) 0,01 М раствор аммиака;
Б) раствор, содержащий 0,01 моль аммиака и 0,01 моль хлорида аммония.
Объясните, к одному или к различным электродам при электрофорезе будут двигаться молекулы белка в этих растворах.
($K_{дисс.}(NH_3) = 1,8 \cdot 10^{-5}$)
Ответ: в обоих растворах к катоду.

6. Какой белок будет адсорбироваться при пропускании ацетатного буферного раствора(p*H*=4,75), содержащего смесь белков (пепсин (p*I*=1,0) и трипсин (p*I*=10,8)) через хроматографическую колонку
А) с анионитом; Б) с катионитом?

7. В какой последовательности будут выходить белки из хроматографической колонки с катионитом, если через колонку пропустить аммонийный буферный раствор (p*H*=9,25), содержащий смесь глобулинов крови: α-глобулин (p*I*=4,8), β-глобулин (p*I*=5,2), γ-глобулин (p*I*=6,4)?