

Цветные реакции белков

Качественные реакции на
остатки аминокислот



Указатель реакций



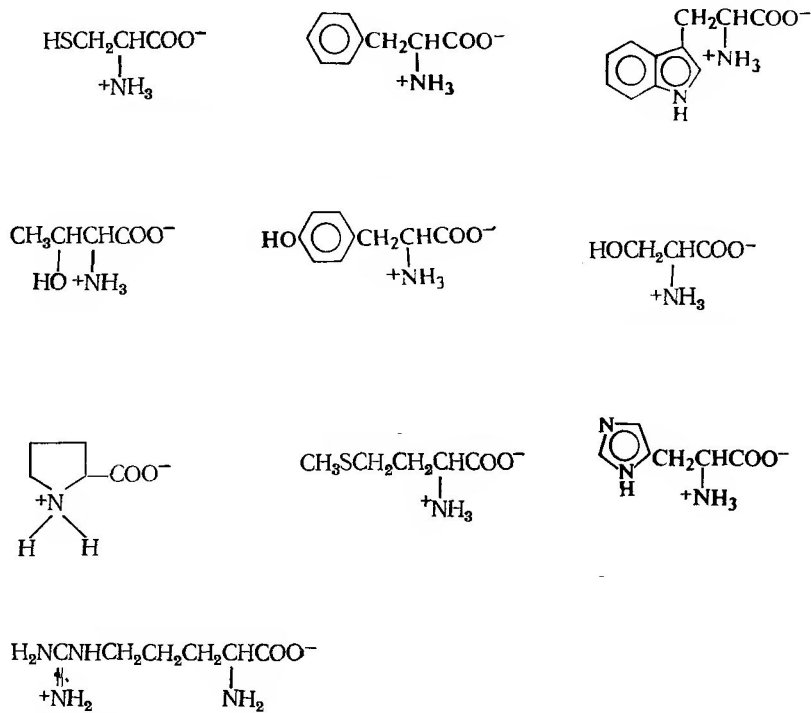
- Биуретовая
 - a) [Уравнение реакции](#)
 - b) [Проведение опыта](#)
- [Нингидриновая](#)
- Ксантопротеиновая
 - a) [Уравнение реакции](#)
 - b) [Проведение опыта](#)
- [Миллона](#)
- [Гопкинса-Коле](#)
- [Диазореакция Паули](#)

Функция качественных реакций



- Для аминокислот, постоянно встречающихся в составе белков, разработано множество цветных (в том числе именных) реакций. Многие из них высокоспецифичны, что позволяет определять ничтожные количества той или иной аминокислоты.
- Надо помнить, что все качественные реакции – это реакции не собственно на белки, а на определенные аминокислоты, входящие в их состав.

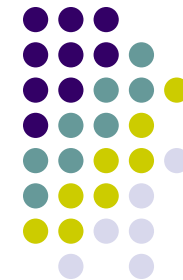
Аминокислоты



- Основной структурной единицей белков служат α-аминокислоты. В состав большинства природных белков входит около 20 α-аминокислот.
- Качественные реакции служат как для определения принадлежности вещества к классу белков, так и для идентификации входящих в его состав аминокислот




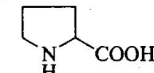
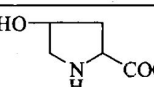
[Наиболее распространённые аминокислоты см. таблицу](#)

Аминокислоты



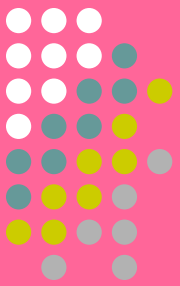
Наиболее распространенные α -аминокислоты

| Название (сокращение) | R | Температура плавления, °C | Изоэлектрическая точка (pI) | pKa |
|---|--|---------------------------|-----------------------------|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>Алифатические аминокислоты</i> | | | | |
| Глицин (гли) | -H | 293 | 5,97 | 2,34; 9,60 |
| Аланин (ала) | -CH ₃ | 297 | 6,02 | 2,35; 9,69 |
| Валин (вал) | -CH(CH ₃) ₂ | 315 | 5,97 | 2,32; 9,62 |
| Лейцин (лей) | -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂ | 337 | 5,98 | 2,36; 9,60 |
| Изолейцин (илей) | -CH-CH ₂ -CH ₃ CH ₃ | 284 | 6,02 | 2,36; 9,68 |
| <i>Оксиаминокислоты</i> | | | | |
| Серин (сер) | -CH ₂ OH | 228 | 5,68 | 2,21; 9,15 |
| Треонин (тре) | -CH-CH ₃ OH | 253 | 6,53 | 2,63; 10,43 |
| <i>Дикарбоновые аминокислоты и их амиды</i> | | | | |
| Аспарагиновая кислота (асп) | -CH ₂ COOH | 270 | 2,97 | 2,09 (α -COOH), 3,86 (β -COOH); 9,82 |
| Аспарагин (аспн) | -CH ₂ CONH ₂ | 236 | 5,41 | 2,02; 8,80 |
| Глутаминовая кислота (глу) | -CH ₂ CH ₂ COOH | 249 | 3,22 | 2,19 (α -COOH), 4,25 (γ -COOH); 9,67 |
| Глутамин (глун) | -CH ₂ CH ₂ CONH ₂ | 185 | 5,65 | 2,17; 9,13 |
| <i>Двухосновные аминокислоты</i> | | | | |
| Лизин (лиз) | -CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂ | 224 | 9,74 | 2,18; 8,95 (α -NH ₂), 10,53 (ϵ -NH ₂) |
| Аргинин (арг) | -CH ₂ CH ₂ CH ₂ NHCNH ₂ NH | 238 | 10,76 | 2,17; 9,04 (α -NH ₂), 12,48 (ион гуанидиния) |

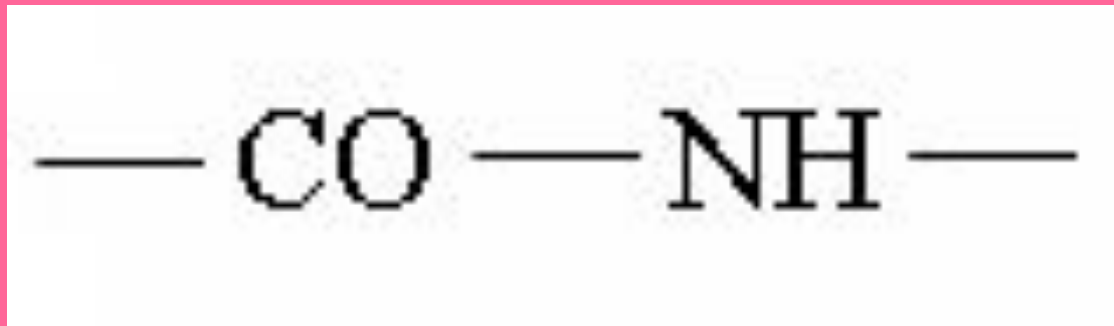
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------------|---|---------------------|------|--|
| Гистидин (гис) | -CH ₂  | 277 | 7,58 | 1,82; 6,0 (имидазол), 9,17 |
| <i>Ароматические аминокислоты</i> | | | | |
| Фенилаланин (фен) | -CH ₂ C ₆ H ₅ | 275 | 5,98 | 1,83; 9,13 |
| Тирозин (тир) | -CH ₂ -  | 344 | 5,65 | 2,20; 9,11 (α -NH ₂), 10,07 (-OH) |
| Триптофан (три) | -CH ₂ -  | 282 | 5,88 | 2,38; 9,39 |
| <i>Серосодержащие аминокислоты</i> | | | | |
| Цистеин (цис-SH) | -CH ₂ SH | 178 (хлоргидрат) | 5,02 | 1,71; 8,33 (-SH), 10,78 (α -NH ₂) |
| Цистин (цис-S-S-цис) | -CH ₂ -S-S-CH ₂ - | 260 | 5,06 | 1,65; 2,26 (COOH); 7,85; 9,85 (α -NH ₂) |
| Метионин (мет) | -CH ₂ CH ₂ -S-CH ₃ | 283 | 5,75 | 2,38; 9,39 |
| <i>Иминокислоты</i> | | | | |
| Пролин (про) |  | 222 | 6,10 | 1,99; 10,60 |
| Окспипролин (опро) | HO-  | 270 | 5,83 | 1,92; 9,73 |

[Вернуться](#)

Биуретовая реакция

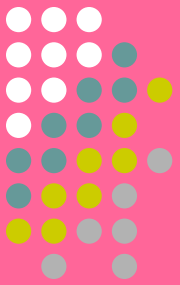


- Определяет наличие пептидной связи в растворе исследуемого соединения.

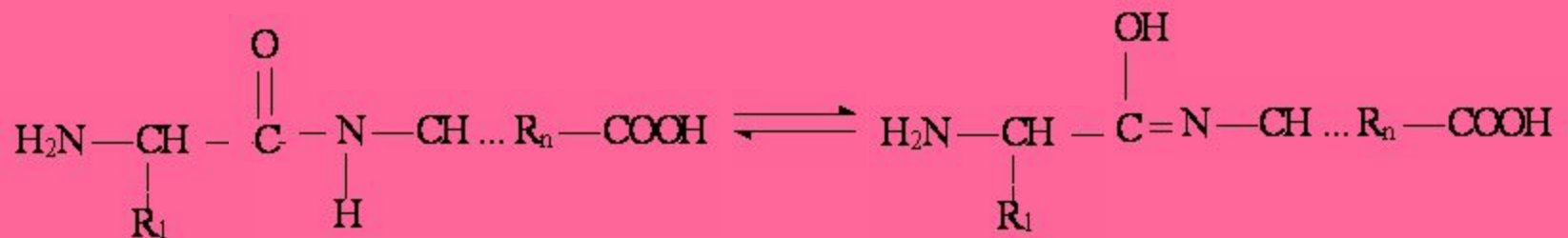


пептидная связь

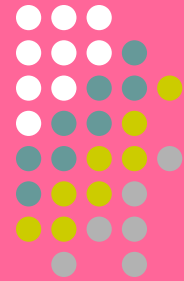
Биуретовая реакция



- Реакция обусловлена образованием биуретового комплекса в результате соединения меди с пептидной группировкой белка.
- В пептидах и белках пептидная связь обычно находится в амидной форме (или кетоформе), но в щелочной среде она переходит в иминольную (енольную):



Биуретовая реакция



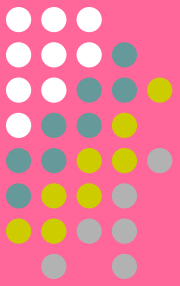
- Биуретовая реакция протекает так:



иминьная форма полипептида

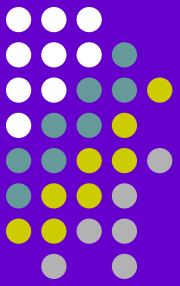
[Вернуться](#)

Биуретовая реакция



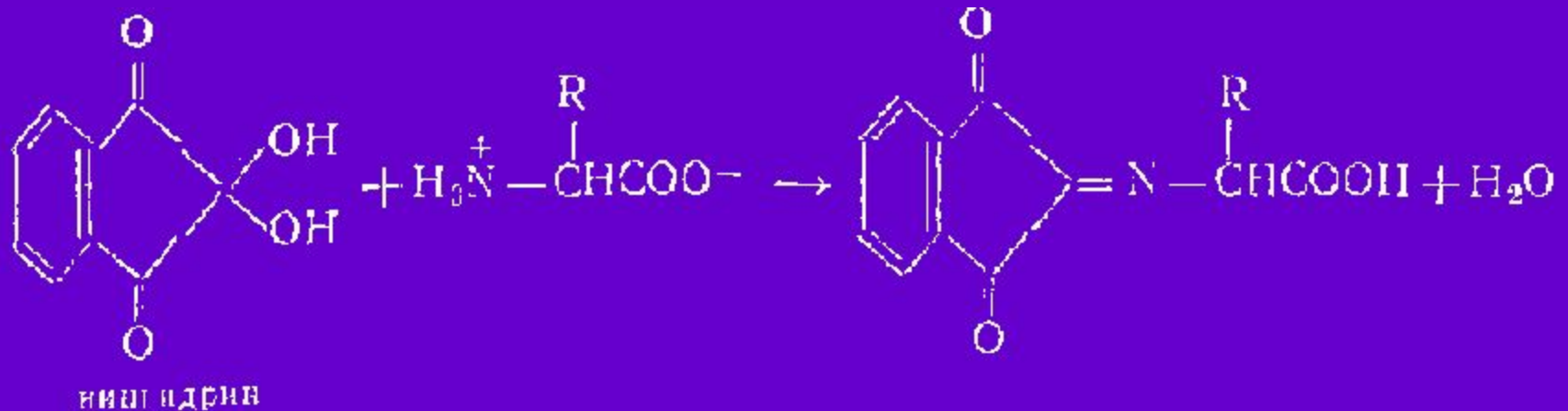
[Вернуться](#)

Нингидриновая реакция

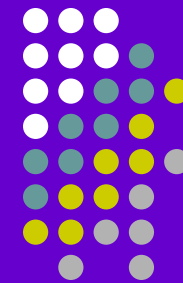


Качественная реакция на α -аминокислоты

- Аминокислота с нингидрином образует продукт конденсации типа азометина



Нингидриновая реакция



- путем перегруппировки



- и гидролиза

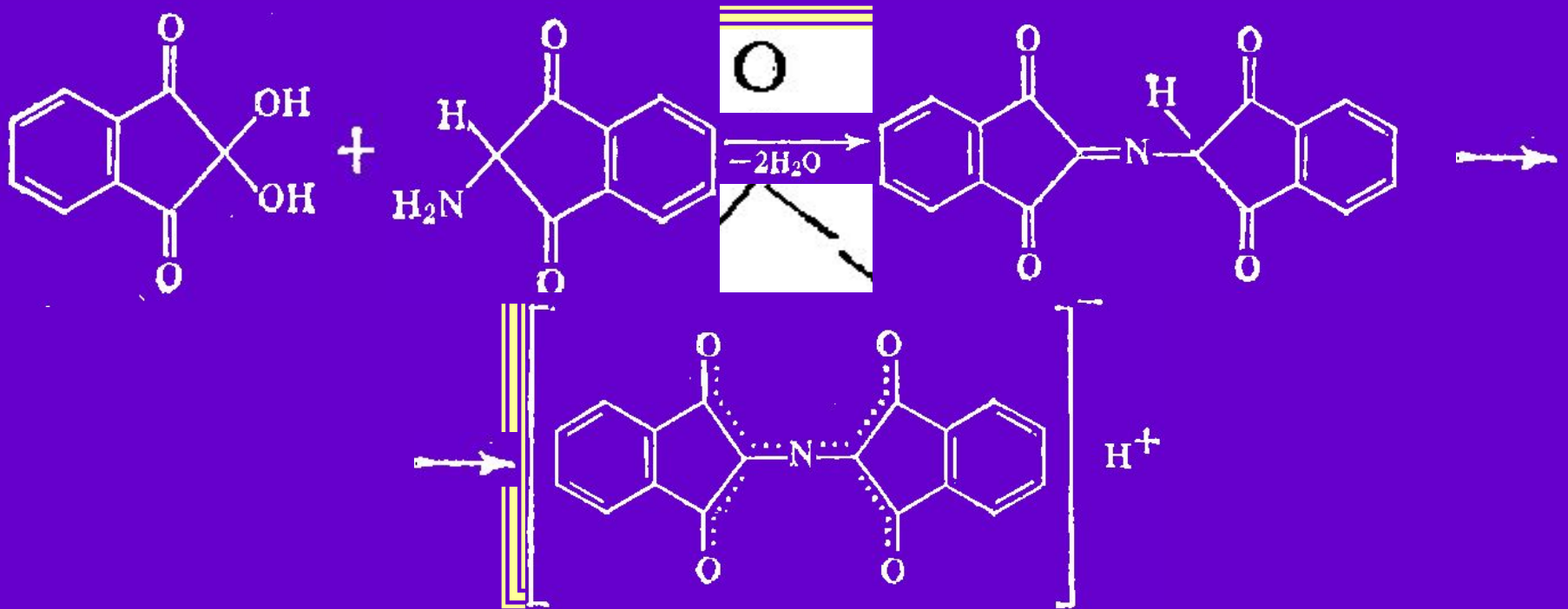


образуется 2-аминоиндандион

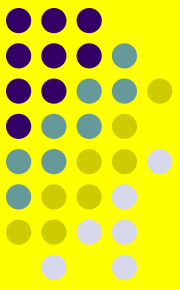
Нингидриновая реакция



- 2-аминоиндандион реагирует с нингидрином и дает краситель.



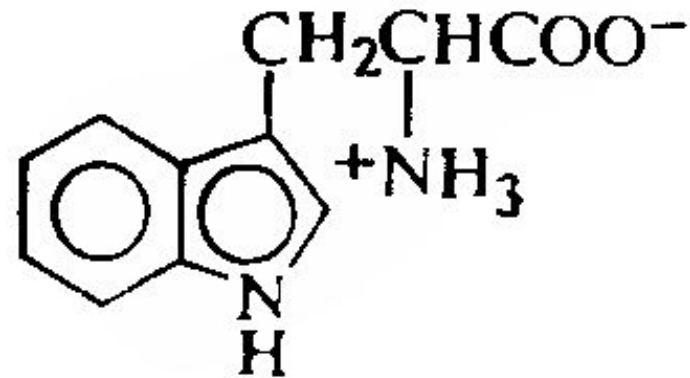
[Вернуться](#)



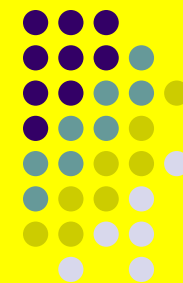
Ксантопротеиновая реакция

Определяет присутствие в белке ароматических и гетероциклических α - аминокислот :

- триптофана,
- фенилаланина,
- тирозина,
- гистидина.

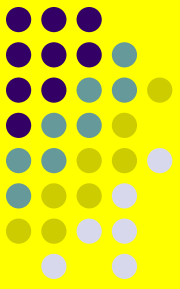


Ксантопротеиновая реакция

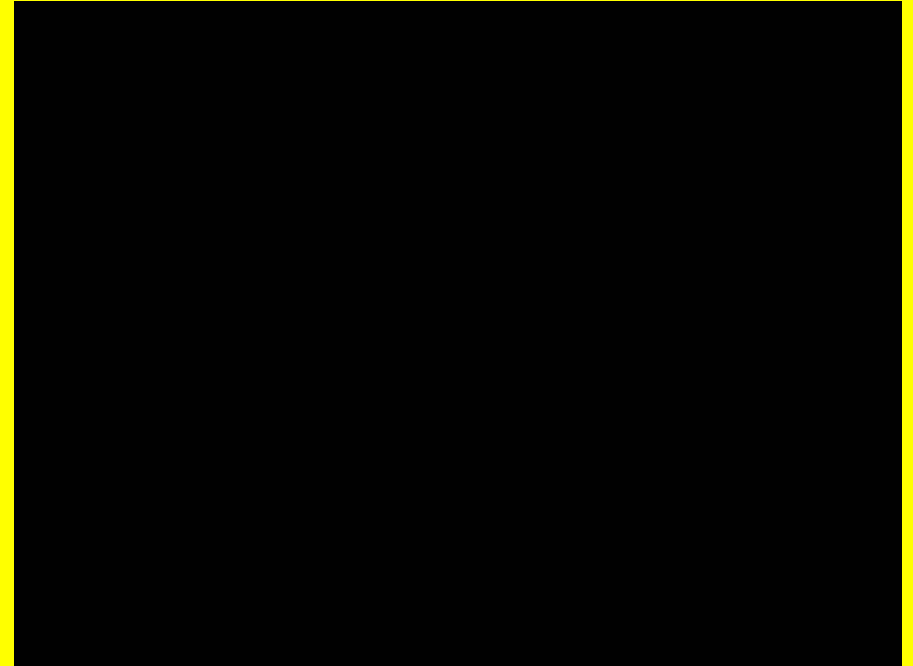


[Вернуться](#)

Ксантопротеиновая реакция

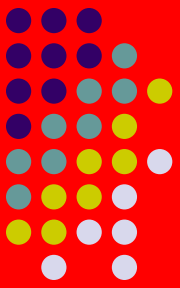


- При действии концентрированной HNO_3 на раствор белка образуется нитросоединение, окрашенное в желтый цвет.

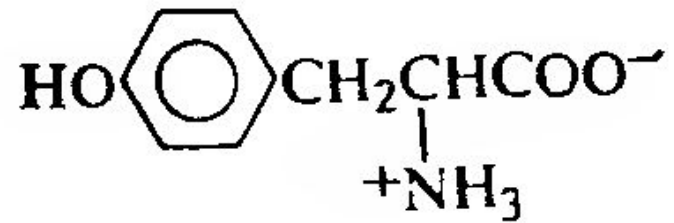


[Вернуться](#)

Реакция Миллона

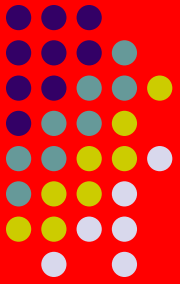


- Это реакция на аминокислоту тирозин

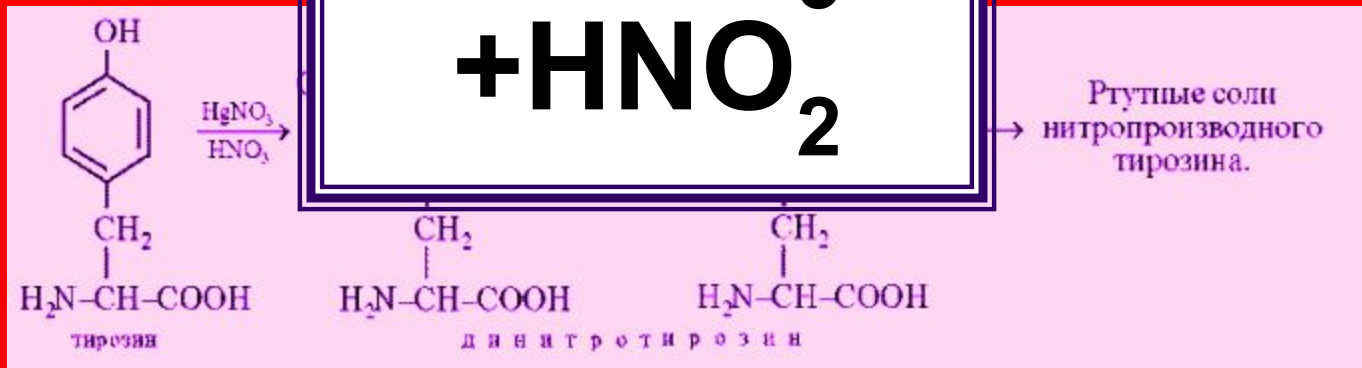




Реакция Миллона



- Реактив Миллона (раствор HgNO_3 и $\text{Hg}(\text{NO}_2)_2$ в разбавленном HNO_2) взаимодействует с аминокислотами с образованием нитропроизводных розовато-красной окраски. Реакция сопровождается образованием примесей $\text{Hg}(\text{NO}_2)_2$ и HgNO_3 в результате окисления HNO_2 .



Рекомендации к проведению опыта



- К 2 мл концентрированного раствора тирозина прибавляют ~1 мл реактива Миллона
- встряхивают
- осторожно нагревают пробирки на пламени спиртовки.

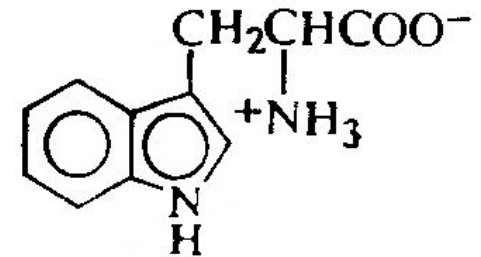
Образуется красное окрашивание.



Реакция Гопкинса–Коле



- Эта реакция определяет аминокислоту триптофан.

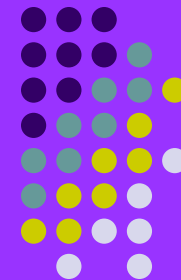




Реакция Гопкинса–Коле

- Из глиоксиловой кислоты под действием концентрированной серной кислоты сначала получается формальдегид:



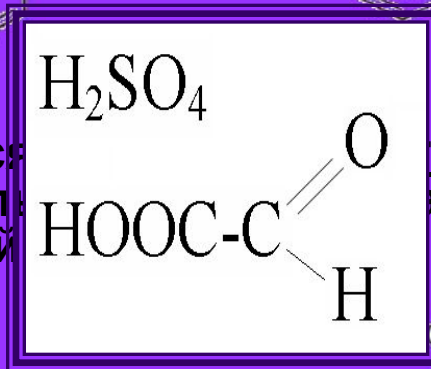


Реакция Гопкинса–Коле

формальдегид затем конденсируется с триптофаном:

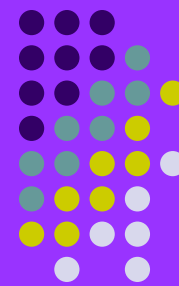


Продукт конденсации окисляется до триптофанилкарбинола, который в присутствии минеральных солей образует соли, окрашенные в сине-фиолетовый цвет.



[Вернуться](#)

Рекомендации к проведению опыта



- Охладить до 0 °С насыщенного раствора щавелевой кислоты
- К 2 г порошка магния (слегка увлажненного) добавить щавелевую кислоту
- Полученный осадок оксалата магния отфильтровать и декантировать небольшим количеством воды.
- Фильтрат подкислить уксусной кислотой и довести до объема 200 мл (полученный раствор хранить в холодильнике!). Это и есть глиоксиловая кислота.
- 1 мл 0,005%-го раствора триптофана смешать с равным объемом глиоксиловой кислоты и к смеси прибавляют 10 капель раствора сульфата меди(II).
- Небольшими порциями добавляют 2–3 мл концентрированной серной кислоты, охлаждая пробирку после приливания очередной порции кислоты током холодной воды (или в ванночке со льдом).
- Полученную смесь оставляют на 10 мин при комнатной температуре, после чего ставят на 5 мин в кипящую водяную баню.

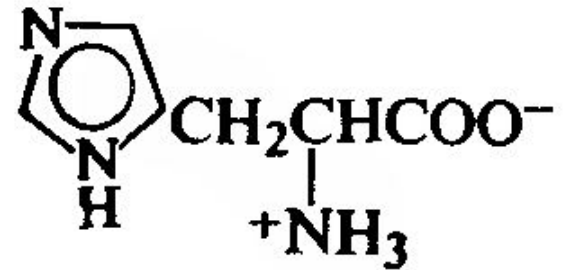
Наблюдается образование сине-фиолетового окрашивания



Реакция Паули (Диазореакция Паули)



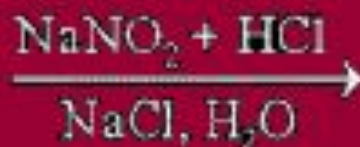
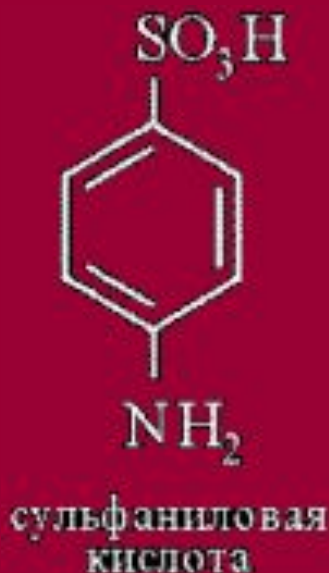
Эта реакция
аминокислоту
ГИСТИДИН.



Реакция Паули (Диазореакция Паули)



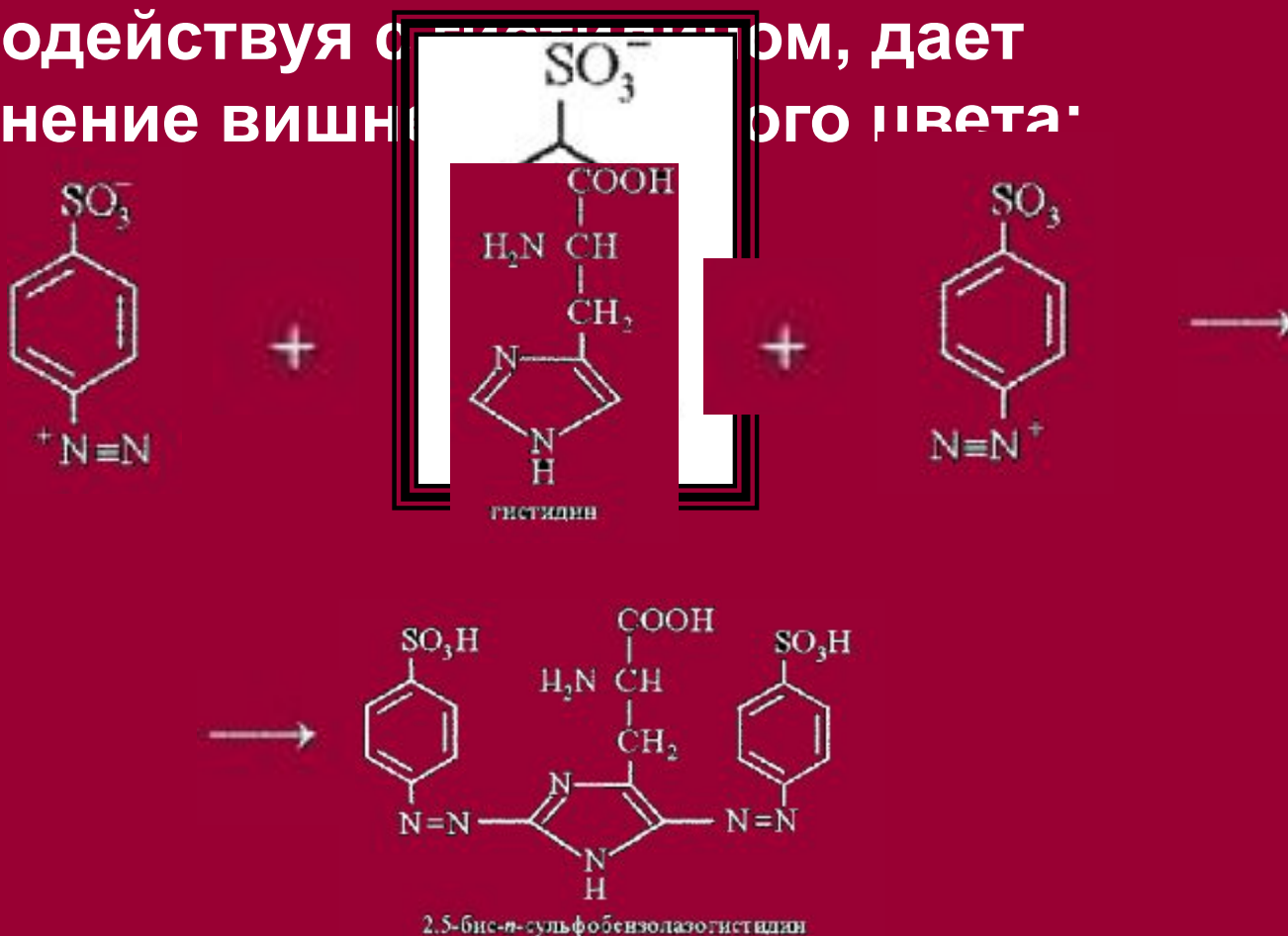
- при взаимодействии кислого раствора сульфаниловой кислоты с нитритом натрия образуется диазобензолсульфоновая кислота:





Реакция Паули (Диазореакция Паули)

- Диазобензолсульфовая кислота, взаимодействуя с гистидином, дает соединение вишневого цвета.



[Вернуться](#)

Рекомендации к проведению опыта



- В пробирку наливают 1 мл 1%-го раствора сульфаниловой кислоты в 5%-м растворе соляной кислоты.
 - Прибавляют 2 мл 0,5%-го раствора нитрита натрия
 - Сильно встряхивают
 - Немедленно приливают 2 мл 0,01%-го раствора гистидина
 - После перемешивания содержимого пробирки сразу приливают 6 мл 10%-го раствора соды.
- Появляется интенсивная вишнево-красная окраска.

