

# **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

## **Вводная часть и материал по теме «аминокислоты и белки»**

**Т.В. ЖАВОРОНОК**  
**проф. кафедры биохимии и**  
**молекулярной биологии СибГМУ**

# Предмет биохимии

**Биологическая химия** –

наука о химических основах жизни  
(о химической структуре и превращениях молекул, составляющих живое).

**Жизнь** – макромолекулярная система, осуществляющая регулируемый обмен веществ и энергии, а также самовоспроизведение.

# Основные разделы биохимии

- **Статическая биохимия** – изучает химический состав организма, структуру и свойства молекул живых тканей
- **Динамическая биохимия** – изучает химические реакции живого организма, их взаимосвязь и регуляцию, сопряженные с ними превращения энергии
- **Функциональная биохимия** – изучает каким образом биохимические превращения реализуются в функции органов. Другими словами – рассматривает биохимические процессы, лежащие в основе жизнедеятельности отдельных тканей и органов, проявления их специфической функции
- **Клиническая биохимия** – прикладной раздел. Чтобы освоить клиническую биохимию необходимо знание основ биохимии. **Предмет клинической биохимии** – нарушения химических процессов в организме и методы выявления этих нарушений для их устранения или исправления

# Задачи биохимии

## Биохимия изучает:

- строение и функции молекул живой клетки
- структуру и функции надмолекулярных образований
- механизмы поступления во внутреннюю среду пластических и биологически активных материалов (в том числе их утилизацию и детоксикацию)
- механизмы высвобождения, накопления и использования энергии
- механизмы воспроизведения

**МЕТАБОЛИЗМ = катаболизм + анаболизм**  
**распад) (синтез)**

**Метаболический путь** — это совокупность реакций, ответственных за **синтез** сложных соединений из более простых и за **распад** соединения до конечных продуктов.

Сложные биохимические процессы или метаболические пути могут проявляться на уровне целого организма (сокращение мышц и др.), органов, тканей, клеток

# Структурная иерархия в молекулярной организации клеток



# Последовательность изучения биохимических процессов (функции и метаболизм биомолекул):

- на уровне целого организма
- изолированные перфузируемые органы
- тканевые срезы
- целые клетки
- гомогенат
- изолированные клеточные органеллы
- субфракционирование органелл
- выделение и характеристика метаболитов и ферментов
- клонирование генов, кодирующих ферменты и другие белки

В середине XX века произошли три события, в результате которых биохимия и клеточная биология стали развиваться отдельно.

- **1)** разработка методов **разрушения клеток в сравнительно мягких условиях**, позволяющих сохранить функции их компонентов;
- 2)** распространение **высокоскоростных ультрацентрифуг с охлаждением** для разделения компонентов разрушенных клеток;
- 3)** распространение **электронных микроскопов.**

---

Электронная микроскопия выявила множество ранее неизвестных или плохо различимых клеточных компонентов

---

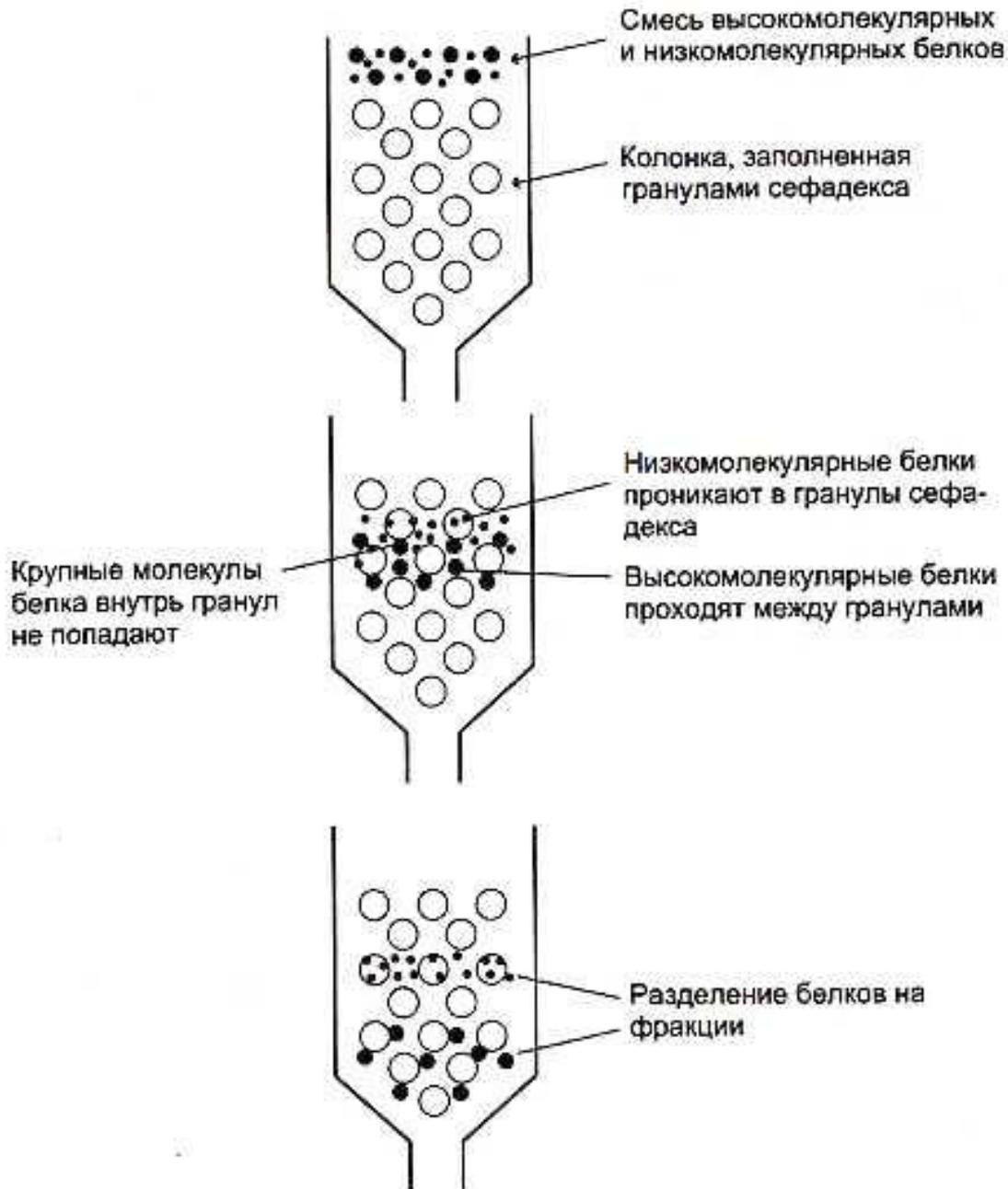
Разрушение клеток и ультрацентрифугирование позволили разделить эти компоненты и провести исследование *in vitro*.

# Основные методы разделения и очистки биомолекул

## методы разделения

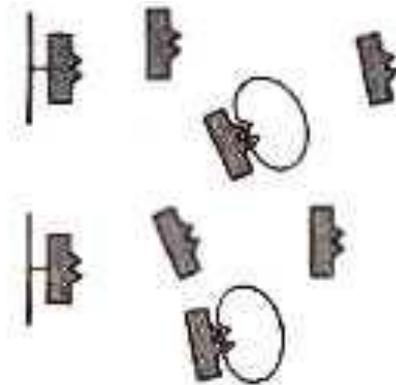
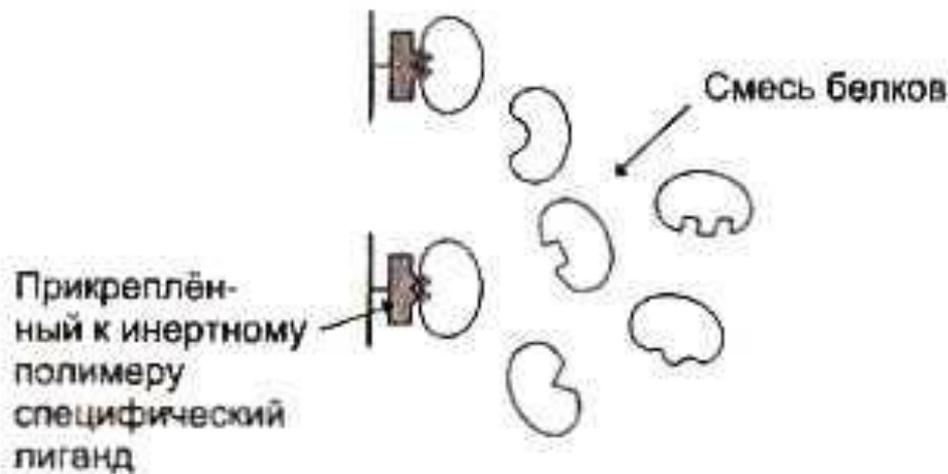
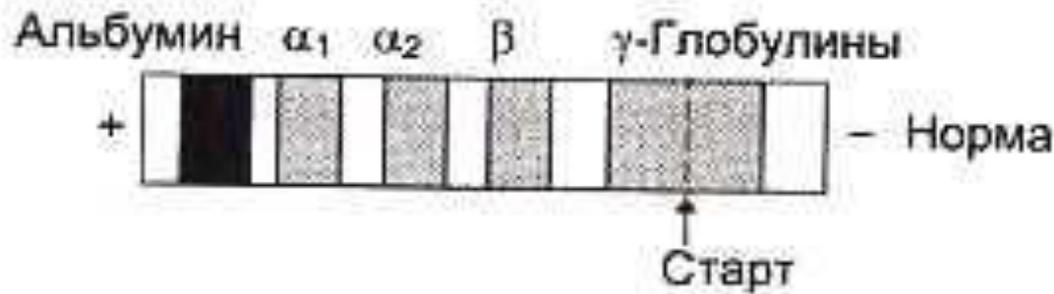
- **Фракционирование солями** (обратимое осаждение)
- **Электрофорез:**  
На бумаге, В крахмальном геле, В ацетатцеллюлозе, В агарозе, В полиакриламиде, В полиакриламиде с додецилсульфатом натрия, Высоковольтный
- **Хроматография:**  
Бумажная, Ионообменная (анионо- и катионообменная), Аффинная, Тонкослойная, Газо-жидкостная, Жидкостная под высоким давлением
- **Гель-фильтрация**
- **Ультрацентрифугирование**

Белки, липиды разделяют с учётом физико-химических свойств, используя одну или ряд методик



Гель-  
 фильтрация:  
 1) для  
 разделения  
 белков  
 2) для очистки  
 белков от низко-  
 молекулярных  
 примесей

# Методы разделения белков



**После разделения биомолекулы очищают от низкомолекулярных и иных примесей**

## **Методы очистки (белков)**

- **Диализ**
- **Гель-хроматография**
- **Кристаллизация**
- **Ультрафильтрация**

# После очистки биомолекул определяют их структуру

## Основные методы:

- Элементный анализ
- Спектроскопия в УФ-, видимой, ИК- областях, ЯМР-спектроскопия
- Кислотный или щелочной гидролиз
- Использование ферментов с известной специфичностью (протеаз, нуклеаз, гликозидаз) для расщепления изучаемых молекул
- Масс-спектрометрия
- Специфические методы секвенирования (белков или нуклеиновых кислот)
- Рентгеновская кристаллография

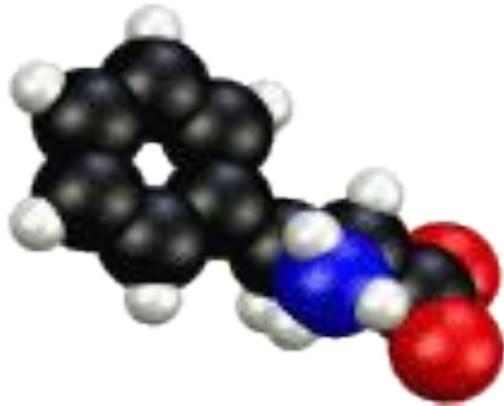
- Очень важно определить количество искомого компонента в биологическом материале, но иногда бывает достаточно его просто обнаружить
- Широко распространены, востребованы:
  - Спектрофотометрический анализ
  - Иммуноферментный анализ
  - Иммунофлюоресцентный анализ
  - Радиоиммунный анализ
  - Анализ на основе полимеразно-цепной реакции

# **Жизнь** – водная форма существования белковых тел

- Информация об организме записана **в генах**
- Реализация информации и поддержание жизнедеятельности организма основана на построении **белков из аминокислот**

- В апреле 2000 года было закончено непосредственное секвенирование генома человека
- В июле 2000 года на 18 международном конгрессе по биохимии и молекулярной биологии директор фирмы «Celera Genomics» J. Craig Venter сообщил о более или менее окончательном варианте непрерывного сиквенса генома человека

**Beyond the Genomics –  
что за геномикой?**



# Протеомика

это изучение белков и их взаимодействия в живых организмах

- Термин происходит от двух хорошо известных в биохимии терминов: "PROTEins" и "genOMe" и впервые был использован в 1995 г

**От 30.000 до 40.000 генов**  
определяет состав тела человека

Число **протеинов** в 10 раз больше –  
более 300.000

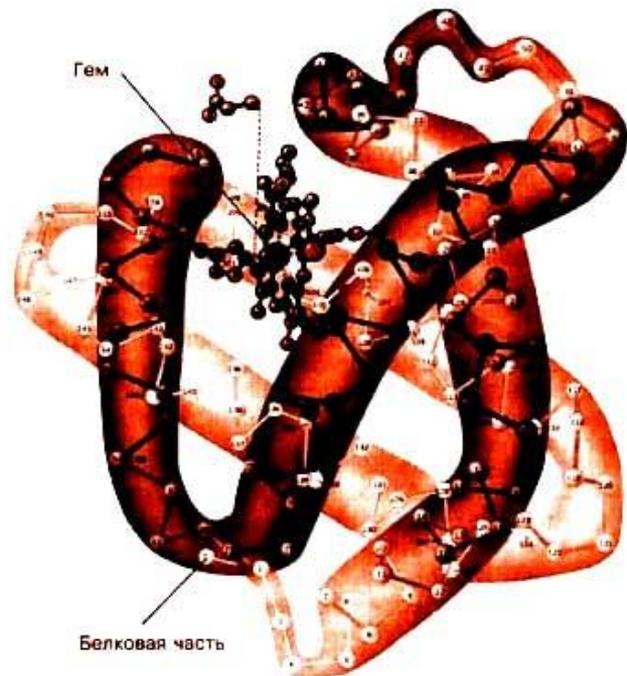
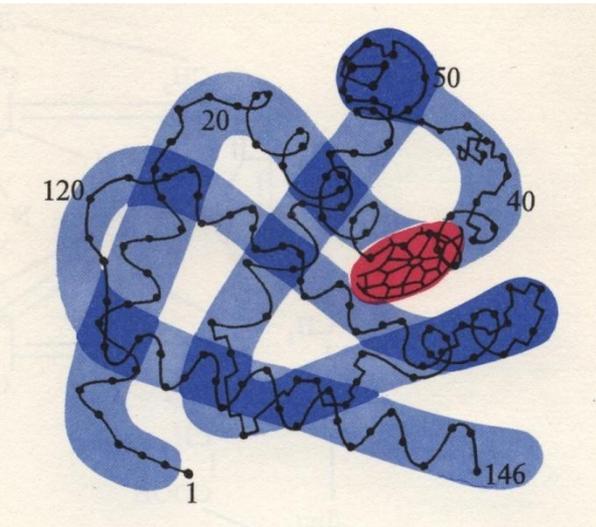
В каждой клетке **реакции модификации**  
могут увеличить число белков до 10-20 млн

**Протеины взаимодействуют друг с другом,**  
число таких взаимодействий не поддается  
подсчету

**ПРОТЕОМИКА → МЕТАБОЛОМИКА**

- **Геномная карта человека** одинакова для всех клеток организма:  
23 хромосомы, один и тот же набор генов. Исключение – половые клетки.
- **В случае протеомной карты человека** – общности нет.
- Каждая клетка, каждая ткань, каждая биологическая жидкость должна иметь собственную протеомную карту.

# Белки в организме



- По количеству белки занимают 1 место среди макромолекул клетки: 25% от её сырого веса, не менее 45-50% – от сухого
- Чем активнее в тканях обменные процессы, тем выше содержание белка. В мышцах, лёгких, почках – белка в 3 раза больше, чем в костях, зубах)
- В организме человека более 5 млн. различных белков
- На функционировании белков основаны все важнейшие процессы жизнедеятельности организма

# Роль белков в организме

Белки играют ведущую роль в жизни клетки  
Их классифицируют по функциональной роли:

- **Структурные** - формируют остов костной и соединительной тканей, клеточных органелл
- **Ферменты** - катализируют химические реакции
- **Сократительные** - определяют работу мышц, расхождение хромосом при делении клетки, движение клетки во время хемотаксиса
- **Регуляторные** - контролируют биосинтез белка и нуклеиновых кислот, являются гормонами
- **Рецепторные** - передают гормональные сигналы, нервное возбуждение, инициируют хемотаксис
- **Транспортные** - активно переносят кислород, ионы, липиды, сахара и аминокислоты
- **Защитные** - являются основой гуморального иммунитета, участвуют в свертывании крови, защите от микробов
- **Специальные** - преобразуют и утилизируют энергию, поступающую в организм
- Белки - важный фактор питания. Собственные белки организма - это **питательный резерв** (в первую очередь используются белки плазмы крови)

# БЕЛКИ

- Белки называют протеинами (от греческого **protos** - первый, важнейший)
- **Белки** - высокомолекулярные азотсодержащие полимеры из **аминокислот**, соединенных пептидной связью (-CO-NH-)

# Аминокислоты

## по оптической активности

- (-)лево-, (+)правовращающие изомеры АК. Меняют направление вращения плоскости поляризации проходящего через раствор поляризованного света за счёт 2-х вариантов расположения химических групп вокруг асимметричного атома С (хиральный центр).

## по абсолютной конфигурации молекулы

- L-форма и D-форма аминокислоты.

Деление на лево- и право- вращающие изомеры не соответствует делению на L-формы и D-формы.

**В белки млекопитающих включаются только L-изомеры аминокислот.**

Постепенно оптические изомеры подвергаются самопроизвольной неферментативной **рацемизации: L-форма переходит в D-форму**

У детей в формировании зубов участвует только L-аспартат. В зубной эмали, дентине скорость рацемизации L-аспартата  $\approx 0,1\%$  в год. Учитывая её, **определяют возраст тканей** (возраст долгожителей в сомнительных случаях и т.п.) Для ископаемых останков исследование рацемизации аминокислот в белке используют вместе с радиоизотопным методом.

## По строению бокового радикала (R):

- ациклические и циклические (ароматические - ФЕН, ТИР, ТРИ; неароматические – ПРО, ГИС)
- моноаминодикарбоновые - в состав R дополнительно входит карбокси-группа (-COOH)
- диаминомонокарбоновые - в состав R входит дополнительная аминная группа (-NH<sub>2</sub>)
- оксиаминокислоты - в состав R входит гидроксильная группа (OH)
- серосодержащие - в состав R входит группа: сульфгидрильная (SH), S-метильная (-S-CH<sub>3</sub>)

## ПО КИСЛОТНО-ОСНОВНЫМ СВОЙСТВАМ (электрохимическая)

- нейтральные
- кислые
- основные

## по полярности радикалов при обычных физиологических условиях очень важная классификация

- 1. Неполярные (гидрофобные) –**  
алифатические, часть ароматических
- 2. Полярные (гидрофильные):**
  - а) незаряженные**
  - б) заряженные (+) или (-)**

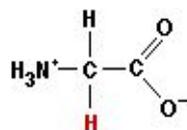
# 1. Аминокислоты с неполярными или гидрофобными R-группами:

Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp, Pro

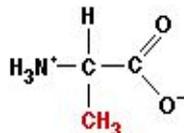
Характеризуются низкой (по сравнению с другими типами аминокислот) растворимостью в воде

## Общие функции:

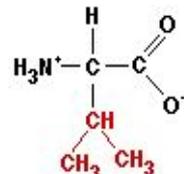
- Формируют компактное внутреннее ядро, стабилизирующее структуру белка в водных средах организма;
- Участвуют в формировании межсубъединичных контактов;
- Организуют гидрофобные контакты с определенными лигандами.



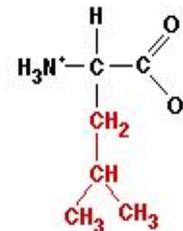
Glycine (Gly)



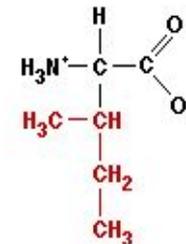
Alanine (Ala)



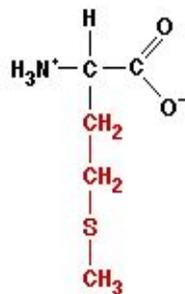
Valine (Val)



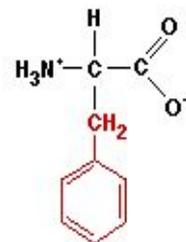
Leucine (Leu)



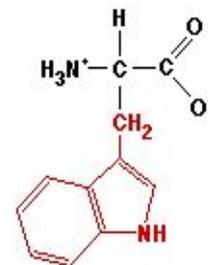
Isoleucine (Ile)



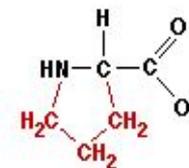
Methionine (Met)



Phenylalanine (Phe)



Tryptophan (Trp)



Proline (Pro)

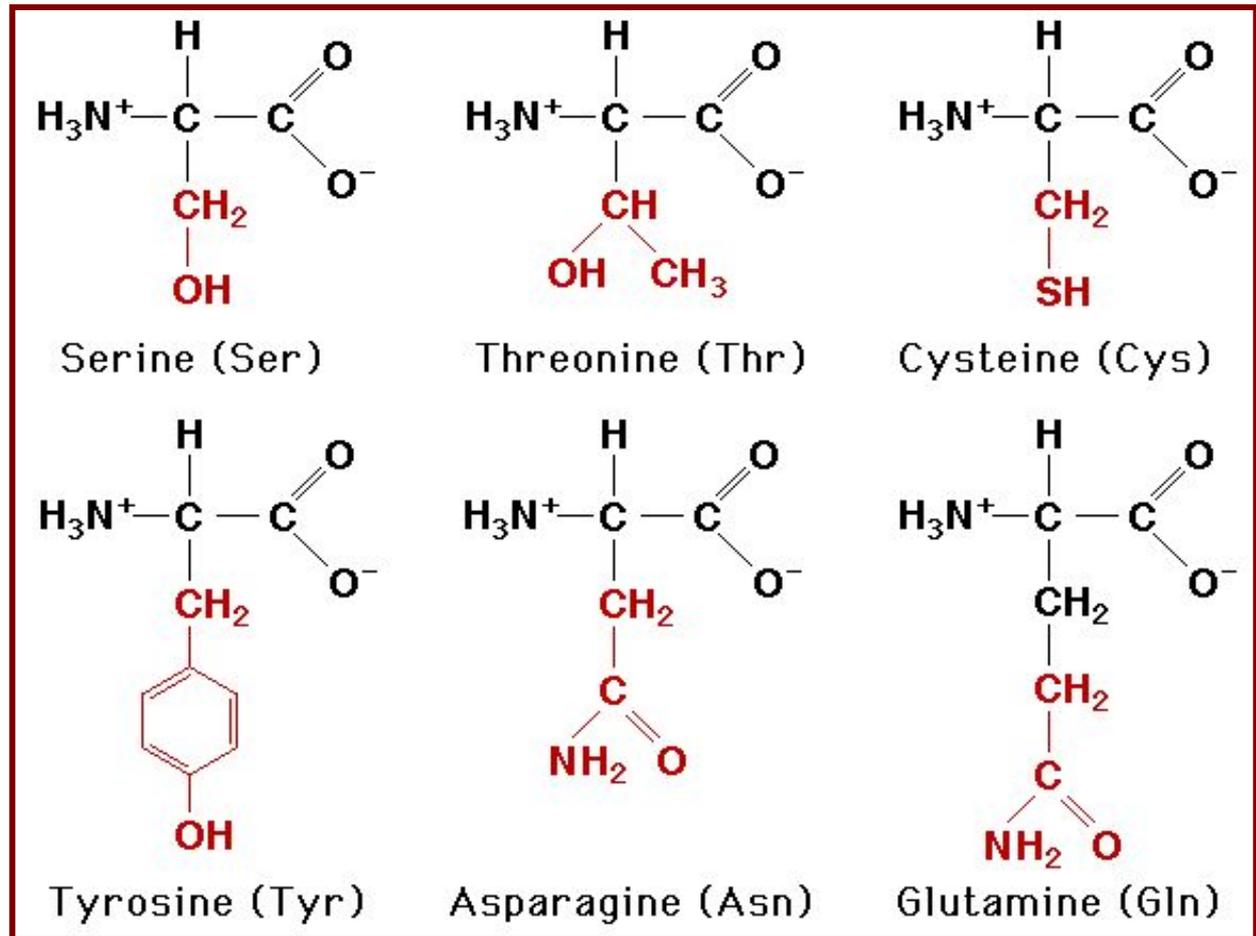
## 2а. Аминокислоты с полярными незаряженными R-группами:

Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln

Характеризуются относительно высокой растворимостью в воде

Общие функции:

- Участвуют в образовании **водородных связей** внутри белка.
- Участвуют в образовании **водородных связей** с другими молекулами

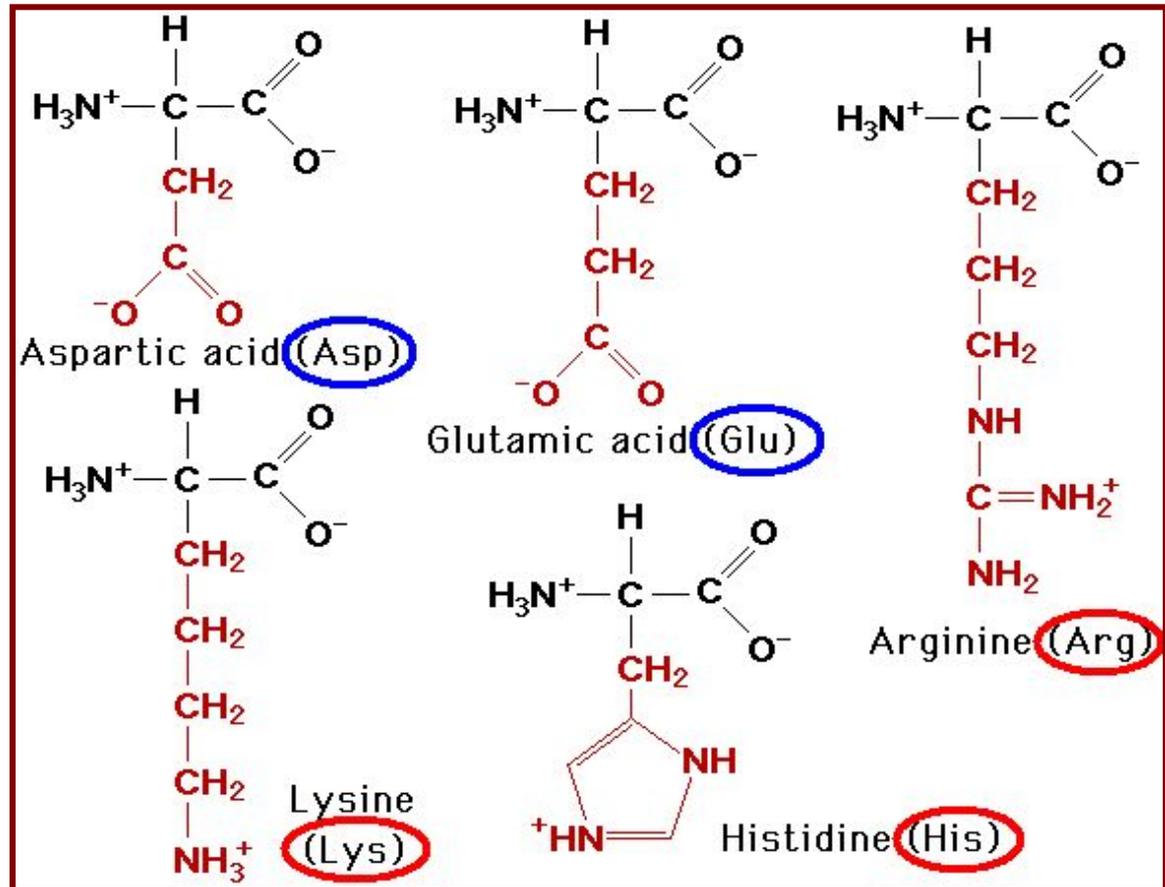


## 26. Аминокислоты с полярными заряженными R-группами:

(-) заряд Asp, Glu; (+) заряд Arg, Lys, His  
Характеризуются наличием заряда при физиологических значениях pH и высокой растворимостью в воде

Общие функции:

- Участвуют в образовании водородных связей;
- Обеспечивают ионные взаимодействия внутри белка;
- Обеспечивают ионные взаимодействия с другими молекулами.



# Трехбуквенные и однобуквенные обозначения аминокислот (англоязычные)

Amino acid	3L code	1L code
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic acid	Glu	E
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lis	K

Amino acid	3L code	1L code
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V
Any amino acid		X
Asn/Asp	Asx	B
Gln/Glu	Glx	Z

# Биологическая классификация аминокислот

## По необходимости для организма

- **заменимые** – поступают с пищей или синтезируются в организме из аминокислот, поступающих в избытке
- **незаменимые** – не могут синтезироваться в организме и должны поступать с пищей
  - **Абсолютно незаменимы для человека:**  
*Met, Phe, Leu, Ile, Val, Thr, Trp, Lys*  
метионин, фенилаланин, лейцин, изолейцин, валин, треонин, триптофан, лизин
  - *His* и *Arg* незаменимы лишь у детей (т.е. для детей незаменимых АК на две больше: +гистидин и +аргинин)
  - *Cys* и *Tyr* условно заменимые – зависят от незаменимых АК (т.е. образуются только из *Met* и *Phe*, соответственно).

Недостаток незаменимых АК (полноценного белка) –  
болезнь квашиоркор

# Роль отдельных аминокислот

- **Глутаминовая кислота** – активирующий медиатор мозга, преобразуется в тормозной медиатор ГАМК, переносит аммиак; придает продуктам (лапша и др. – китайская кухня) вкус мяса, D-форма – грибной вкус. Применяют при гипоксии, язвенной болезни.  
Биохимик Кэтрин Рид (Katherine Reid) из Сан-Франциско избавила дочь от ряда симптомов аутизма, обнаружив, что у детей в некоторых случаях минимизировать симптомы аутизма может диета, исключая глутамат натрия (сообщение Fox News).
- **Аспарагиновая кислота** переносит аммиак, участвует в синтезах (пиримидинов, мочевины). Применяют при аритмии сердца.
- **Метионин** – иницирующий кодон синтеза белка, донор метильной группы, участвует в детоксикации
- **Глицин** – тормозной медиатор ЦНС, улучшает метаболизм в тканях мозга, нормализует сон: лечат хронический алкоголизм (успокаивающее), назначают студентам в сессию, при повышенном внутричерепном давлении и др.
- **Лизин** – «стоматологическая» аминокислота, активно работает в белках зуба, кости: применяют при заболеваниях зубов

# Основные физико-химические свойства аминокислот (+по органич.химии)

- 1) Оптически активны (право- и левовращающие).
- 2) Заряд. АК – амфотерные электролиты, сочетают свойства и кислот и оснований. Если общий заряд АК = 0, она находится в изоэлектрическом состоянии. ИЭТ (pI) – величина рН, когда заряд АК = 0.
- 3) Зависимость заряда АК от величины рН среды. В основе - способность АК принимать и отдавать  $H^+$ . Заряд у АК меняется: нейтральные (-1,0,+1), кислые (-2,-1,0,+1), основные (-1,0,+1,+2).
- 4) Растворимость АК в воде зависит от полярности бокового радикала (гидрофилен/гидрофобен), рН среды, электролитов среды (ионной силы  $\mu$ -ра).

# Общие физико-химические свойства белков

- Гидрофильность, способность к набуханию, растворимость в воде
- Амфотерность
- Подвижность в электрическом поле
- Оптическая активность
- Поглощение УФ-лучей
- Коллоидные свойства

# Коллоидные свойства белков

- **Онкотическое давление** – перемещение воды в места с бóльшей концентрацией белка
- **Вязкость растворов** вследствие сил сцепления между молекулами
- **Светорассеяние** (светящийся конус Тиндаля)
- **Незначительная диффузия** – в основном из-за высокой молекулярной массы
- **Не проникают через полупроницаемую мембрану** – свойство лежит в основе метода диализа, который используют в аппарате «искусственная почка» при лечении больных почечной недостаточностью

## Растворимость белка зависит от:

- реакции среды (рН), т.к. у белка есть ИЭТ (изоэлектрическая точка)
- ионной силы раствора (ионы Na, K и др.)
- температуры раствора

## Факторы устойчивости белка в растворе:

- **Заряд белка**
- **Гидратная оболочка**
- Молекулярная масса
- Форма молекулы

# Осаждение белков:

- 1) Высаливание** – одна из обратимых реакций осаждения белка из раствора с помощью больших концентраций нейтральных солей ( $\text{NaCl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ )
- Происходит: а) дегидратация молекул, б) устранение их заряда
  - Осажденные белки снова растворяются при добавлении того же растворителя

Разные белки осаждаются при разных концентрациях одной и той же соли. Поэтому высаливание используют для разделения растворённых белков. Так можно разделить альбумины и глобулины сыворотки крови

## 2) Водоотнимающие средства

- Белки необратимо осаждаются ацетоном, этанолом с участием водоотнимающих механизмов, когда происходит дегидратация молекул. Белок лишается гидратной оболочки, но не заряда. Растворимость резко снижается.
- Применение в медицине этанола как антисептика во многом основано на обезвоживании и «высушивании» микроорганизмов.

## 3) Изменение pH

- С изменением pH постепенно происходит:
  - а) снижение заряда и дегидратация белка – растворимость снижается, в изоэлектрической точке заряд исчезает и белок осаждается,
  - б) или увеличение заряда и гидратация белка – его растворимость растёт.

# ДЕНАТУРАЦИЯ БЕЛКА –

осаждение с нарушением пространственной структуры и потерей биологических свойств белка

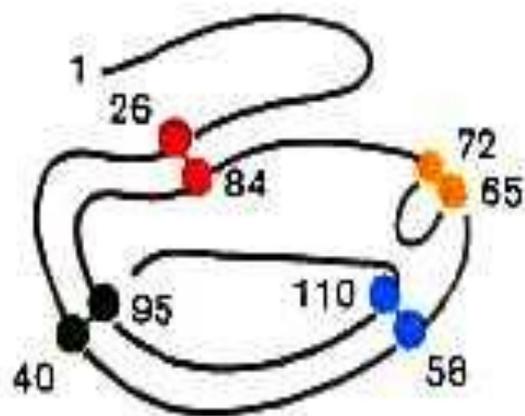
- **Происходит:** разрыв слабых связей и разрушение нативной структуры белка. Растворение в первоначальном растворителе уже невозможно.
- **Факторы денатурации** по своей природе бывают:
  - Физические** – механические и термические воздействия, ультрафиолетовое и микроволновое излучение, ионизация заряженными частицами.
  - Химические** – соли тяжёлых металлов, алкалоиды нарушают полярные связи; концентрированные минеральные и органические кислоты, щелочи дают водородные связи с пептидными группами; органические растворители нарушают водородные связи и ведут к дегидратации.
  - Биологические.**

# Денатурация бывает: необратимая и обратимая

- **НЕОБРАТИМО** осаждение солями тяжёлых металлов, алкалоидами, концентрированными минеральными и органическими кислотами, щелочами; воздействие высокой  $t^{\circ}\text{C}$ , УФО
- **РЕНАТУРАЦИЯ БЕЛКА** возможна только при сохранении его первичной структуры и после его помещения (или возвращения) в условия, оптимальные (или допустимые) для существования и функционирования этого белка.  
При ренатурации:
  - 1) белок сворачивается в нативную конформацию и
  - 2) его биологическая активность восстанавливается

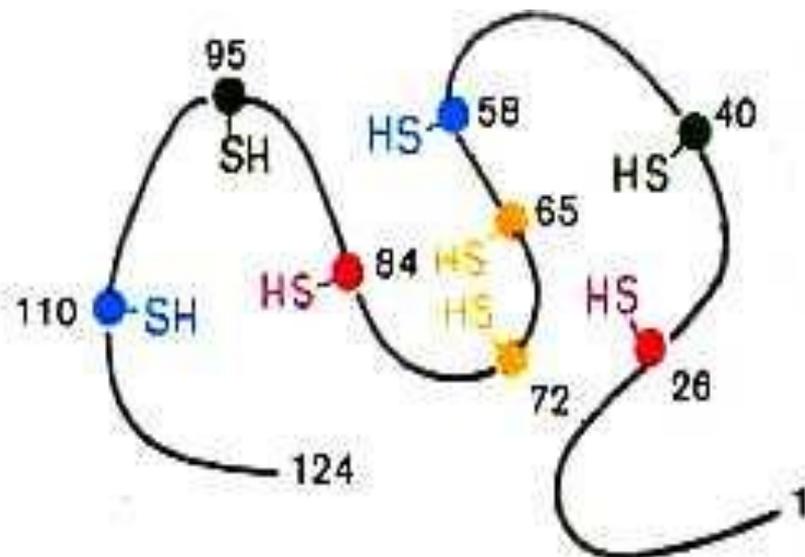
## Связь первичной структуры, конформации и функциональной активности белка – опыты Merrifield и Anfinsen (1964 г.)

- Меррифилд синтезировал *in vitro* молекулу РНК-азы из 124 аминокислот.
- Денатурированная, раскрученная спираль рибонуклеазы не имеет ферментативной активности.
- При ренатурации восстанавливается конформация белка, что ведет к восстановлению его ферментативной функции.
- См. рисунок на следующем слайде



Нативная рибонуклеаза

8 М Мочевина и β-меркаптоэтанол

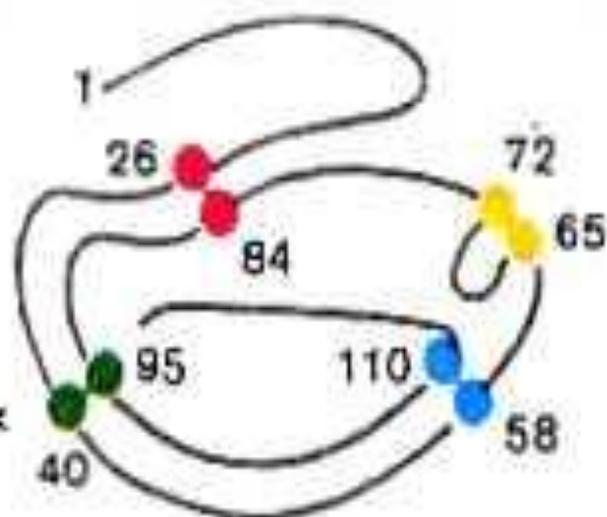


Денатурированная восстановленная рибонуклеаза

Денатурированная восстановленная рибонуклеаза

Диализ для удаления мочевины и β-меркаптоэтанола

Окисление воздухом сульфгидрильных групп восстановленной рибонуклеазы

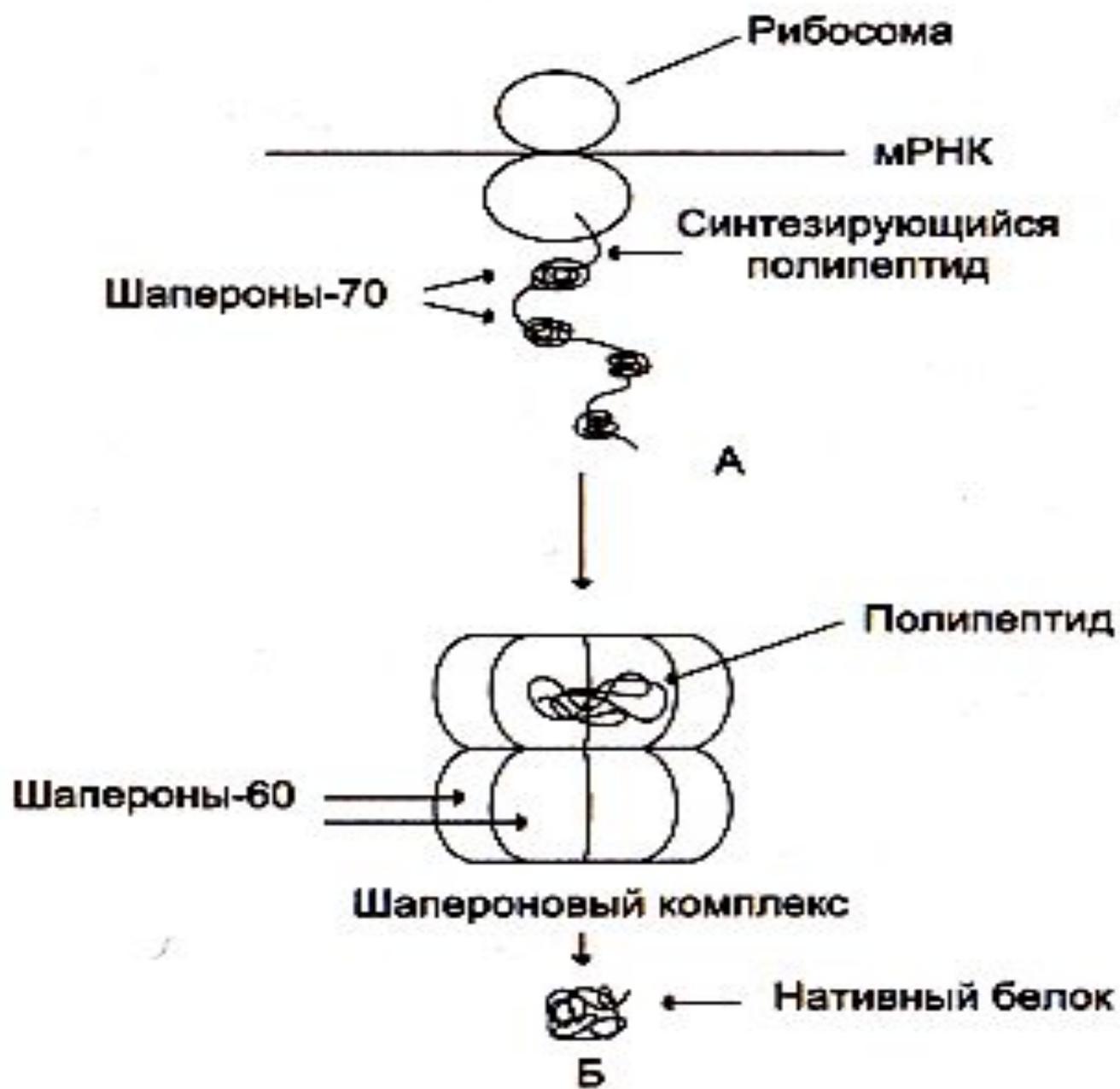


Нативная рибонуклеаза

- **Фолдинг** – процесс спонтанного сворачивания синтезированной полипептидной цепи в уникальную пространственную структуру. В результате фолдинга на внешней поверхности глобулы белка формируются полости активных центров, места контакта субъединиц белка друг с другом, с регуляторами, плазматическими мембранами клеток.
- **Рефолдинг** – восстановление нативной конформации белка после денатурирующих воздействий и возврата в оптимальные для него условия.
- Часто для рефолдинга нужно участие специальных белков-«нянек» – **шаперонов**.

# Шапероны

- **Шапероны** – белки-«няньки», они окружают вновь синтезируемый белок, отграничивают его от окружающего пространства и контактов с другими молекулами.
- **Шапероны** – комплексы из нескольких белковых субъединиц, формирующих бочонок с внутренней полостью, где перебираются все возможные конформации созревающих белков до достижения наиболее выгодной.
- **Шапероны** разделяют на 6 классов по их молекулярной массе (от 110 до 15 кДа)
- **Фолдинг** энергозатратен, поэтому в составе комплексов шаперонов есть белки с АТФ-азной активностью.
- **Шапероны**, как и другие белки, могут быть
  - **конститутивными** (постоянно нарабатываются) и
  - **адаптивными** (появляются в условиях патологии по мере необходимости – белки теплового шока (hsp)).



# Практическое использование

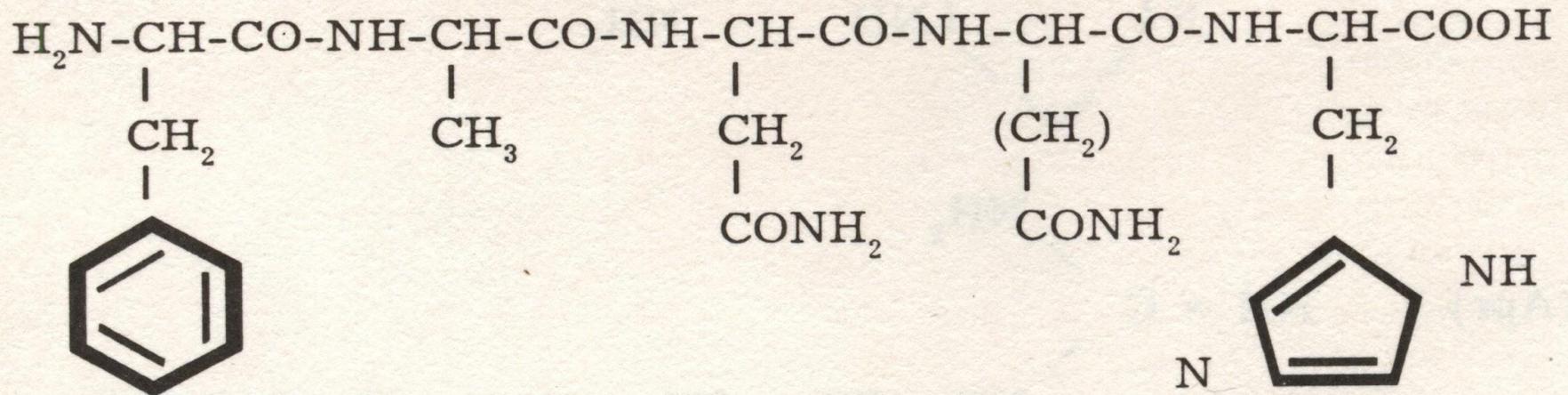
- При отравлениях рекомендуют использовать сырой яичный белок и некипяченое молоко для связывания денатурирующего агента в ЖКТ.
- Денатурацию применяют в лабораториях КЛД при проведении биохимических анализов:
  - белки крови осаждают трихлоруксусной кислотой (затем в надосадке определяют различные небелковые компоненты – углеводы, липиды),
  - белки патологической мочи осаждают сульфосалициловой кислотой и определяют их количество
- В клинической диагностике используют **осадочные пробы (тимоловую и Вельтмана) для оценки устойчивости белка в растворе** при воспалительных и др. заболеваниях (**см. пробы в лабораторном практикуме**)

# Пространственная организация белковой молекулы

- С одной стороны: полипептид – понятие химическое, а белок – биологическое.
- С другой стороны: белки – полипептиды, способные формировать и поддерживать в пространстве конкретную структуру, которая и определяет функцию белка.
- **Номенклатура** зависит от размера:
  - Пептиды: олигопептид – «несколько» АК (до 10 АК)  
полипептид – «много» АК (до 50 АК)
  - Белки: минимальная длина – около 50 АК;  
средняя длина – 100-400 АК;  
максимальная длина – более 1000 АК.

# Первые пептиды синтезировал в 1913 году Эмиль Фишер

## Как называть пептид ?



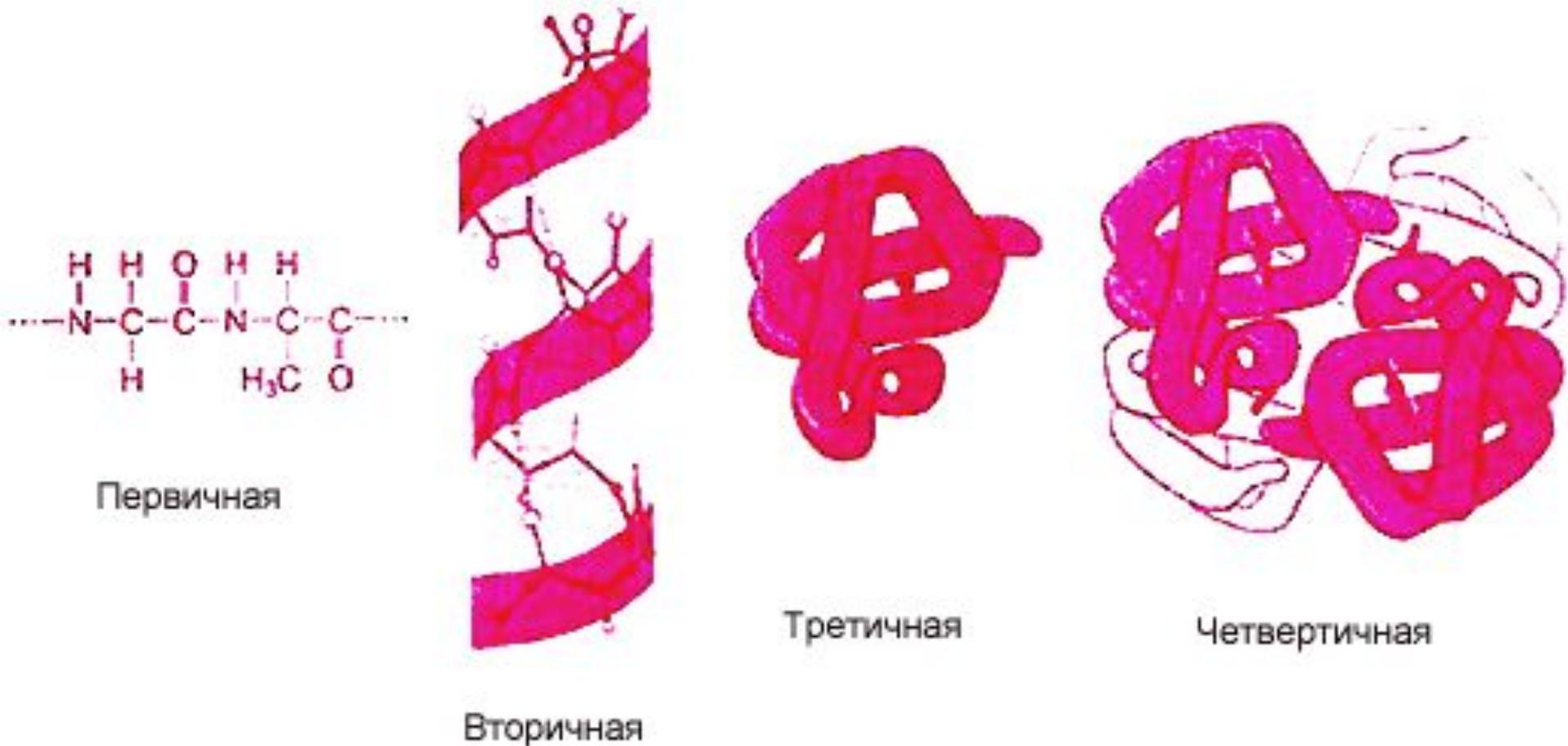
N-полюс

C-полюс

фенилаланил-аланил-аспарагинил-глутаминил-гистидин

# УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ БЕЛКА

Датский ученый Кай Ульрик Линдерстрем-Ланг (K. Linderstrem-Lang) предложил рассматривать четыре уровня организации белковой молекулы



- Каждая полипептидная цепь имеет единственную энергетически выгодную и функционально активную конформацию.
- В то же время пространственная конформация такой цепи лабильна и в определенных пределах подвижна. Например, изменения происходят:
  - 1) функциональные
  - 2) под влиянием условий среды
- Четыре уровня организации белковых молекул отличаются природой поддерживающих их связей (виды, сила, регулярность и количество связей).

# Первичная структура белка -

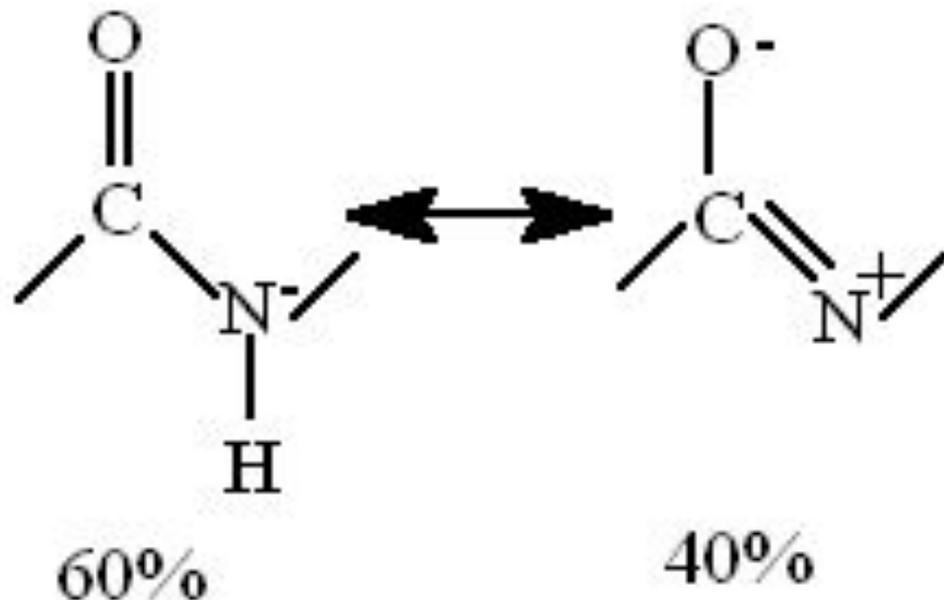
открыта в **1898** году профессором казанского университета **А.Я. Данилевским**

- **это кодируемая нуклеотидами ДНК последовательность аминокислот, соединённых пептидными связями.**
- Она закреплена генетически, уникальна для каждого белка, определяет все последующие уровни организации белка
- Зная расположение аминокислот, можно просчитать возможность образования связей и их силу, а значит и пространственную структуру белка

# Свойства пептидной связи

Пептидная связь между углеродом –COOH группы одной АК и азотом –NH<sub>2</sub> группы другой АК

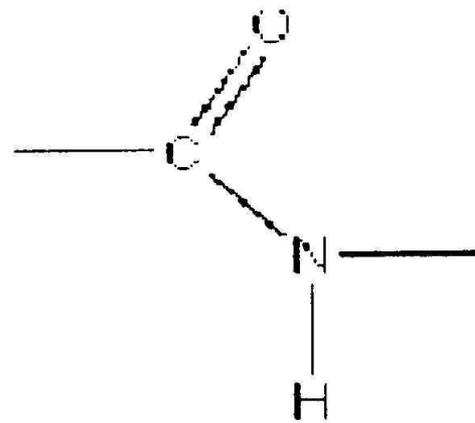
- **жёсткая, ковалентная, копланарная**: все атомы пептидной группы находятся в одной плоскости, причём атомы **Н и О – в транс-положении** (по разные стороны от пептидной связи), боковые радикалы аминокислот также в транс-положении.
- **Прочная** – гидролиз при 100<sup>0</sup>С в 6N HCl, за 6 часов
- Имеет **кето-форму и енольную** (в щелочной среде) **форму**



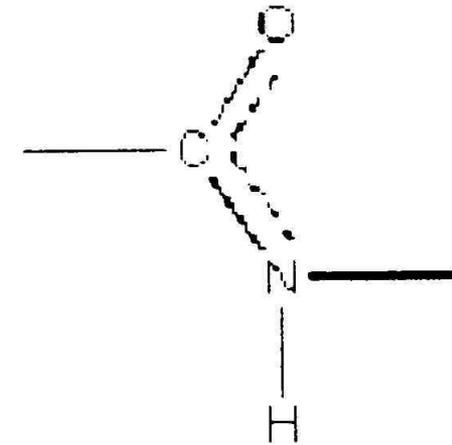
- В структурных формулах связь С–N изображают в виде одинарной, но она короткая (длина **1,32 Å**) и **носит характер частично двойной**.

- Плоская 3-х центровая сопряженная структура атомов O,C,N **препятствует вращению** вокруг С–N.

Гибкость молекул белка обеспечивают соседние связи.



Пептидная связь



Резонанс придает обеим связям частично двойной характер

- Пептидная связь **может образовать 2 водородные связи с другими группами** (исключение – пролин)



Образуется:

- 1) при участии пептидил-трансферазы на рибосомах (матричный биосинтез белков),
- 2) при внерибосомальном ферментативном синтезе *in vivo* и *in vitro* (нематричный синтез пептидов).

# Проведение анализа первичной структуры белковых молекул

- Определение аминокислотного состава белка:
  - гидролиз белка в жестких условиях,
  - хроматографическое разделение АК,
  - идентификация и количественный анализ АК.
- Определение последовательности аминокислот в белках (пептидах) **методом Эдмана**:
  - расщепляют крупный белок на пептиды;
  - метят N-концевую АК фенилизотиоцианатом;
  - отделяют N-концевую АК в виде циклического производного;
  - выделяют и идентифицируют N-концевую АК.

Инсулин – первый «расшифрованный» белок  
**Фредерик Сенгер**  
(Нобелевская премия по химии 1958г.)

# Вторичная структура белка

- это пространственное расположение полипептидной цепи (спирали, складчатости и другие формы) безотносительно к типам боковых радикалов, их конформации
- Регулярная, периодическая структура создается вращением радикалов аминокислот вокруг  $\alpha$  – C атома. Белки имеют форму фибрилл, жгутов или образуют слои.

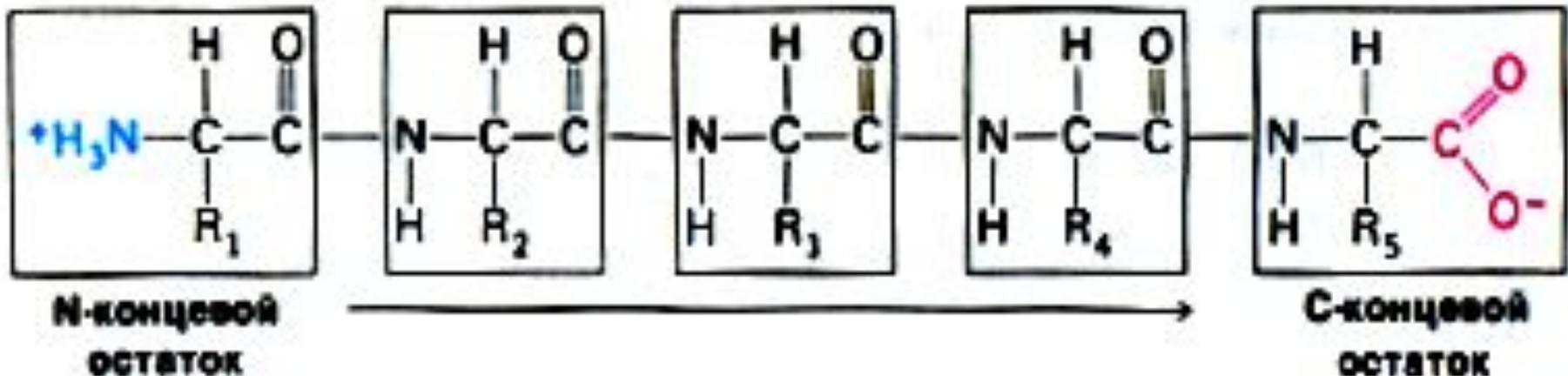
- Связи, стабилизирующие вторичную структуру:

1) **водородные связи** (в большинстве белков, но есть исключения)

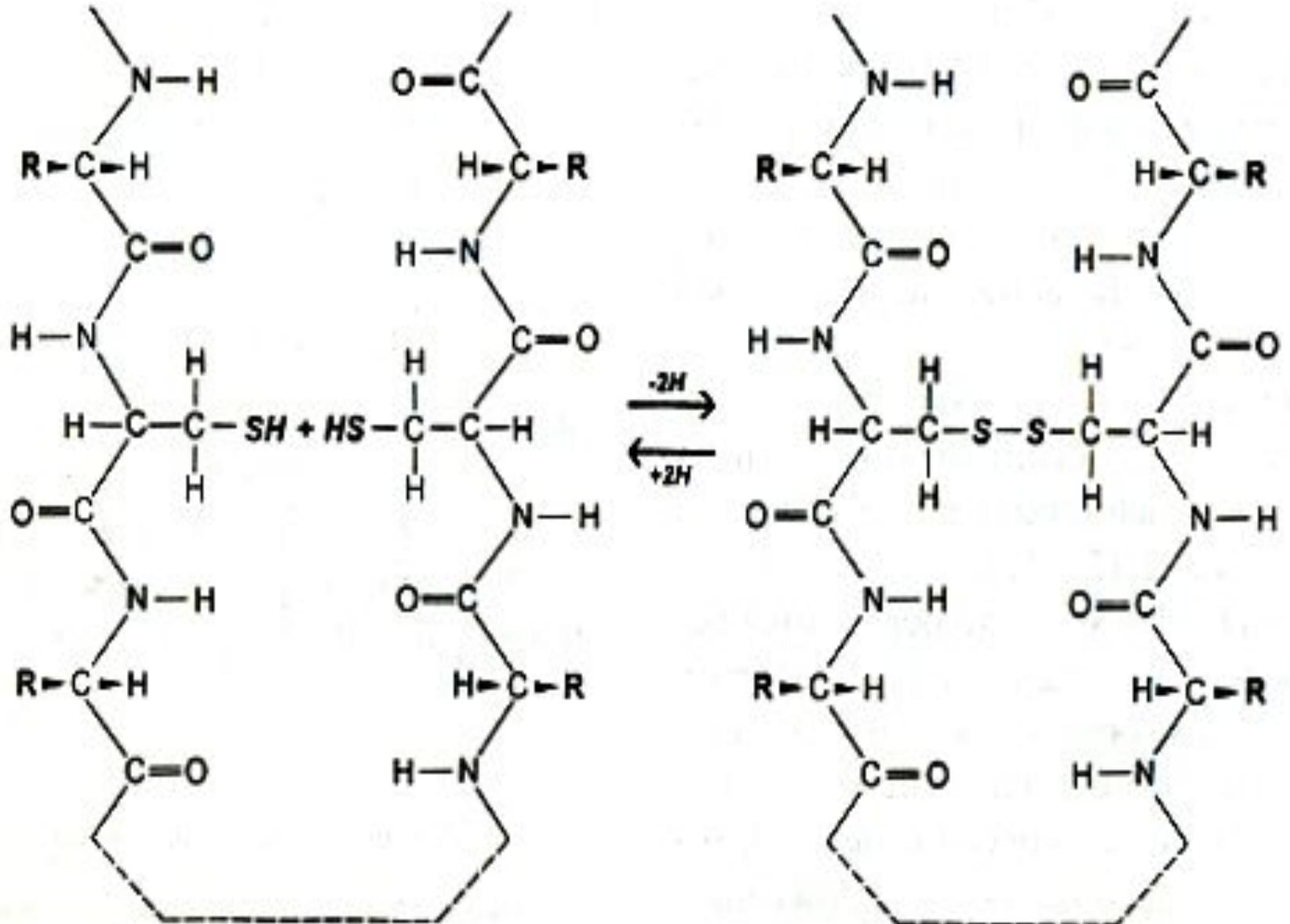
между атомами пептидных связей – амидными (-N-H) и карбонидными (-C=O) группами.

1–4 связь – виток спирали,

1–3 связь – поворот на 180°)



## 2) **дисульфидные мостики** между остатками цистеина



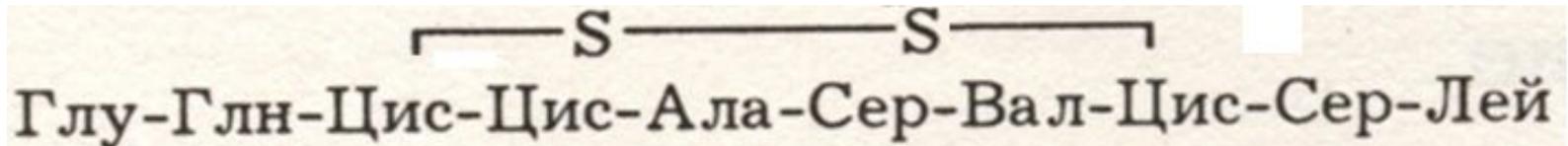
- SS-связь образуется при **спонтанном окислении SH-групп** сближающихся остатков **цистеина** первичной структуры.
- Связь разрушается при восстановлении или еще более сильном окислении

Цис-Цис-Ала-Сер-Вал-



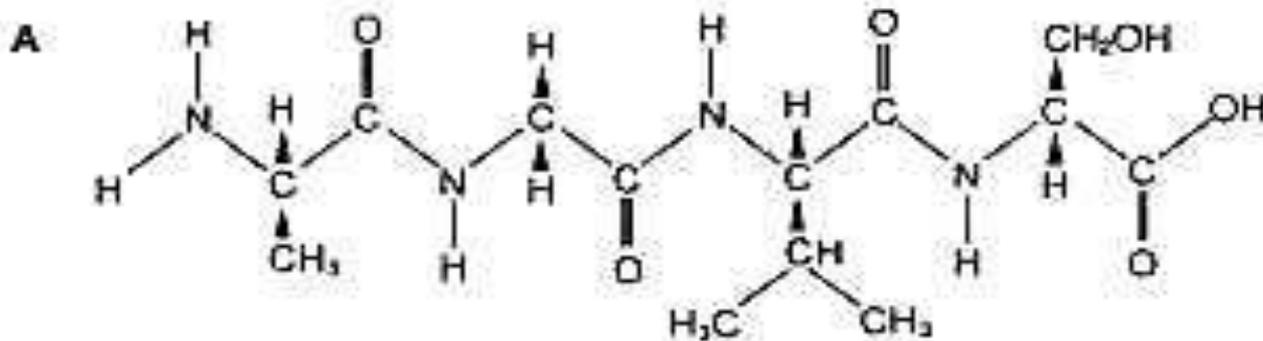
фрагменты двуцепочной молекулы бычьего инсулина

Лей-Цис-Гли-Сер-Гис-Лей-



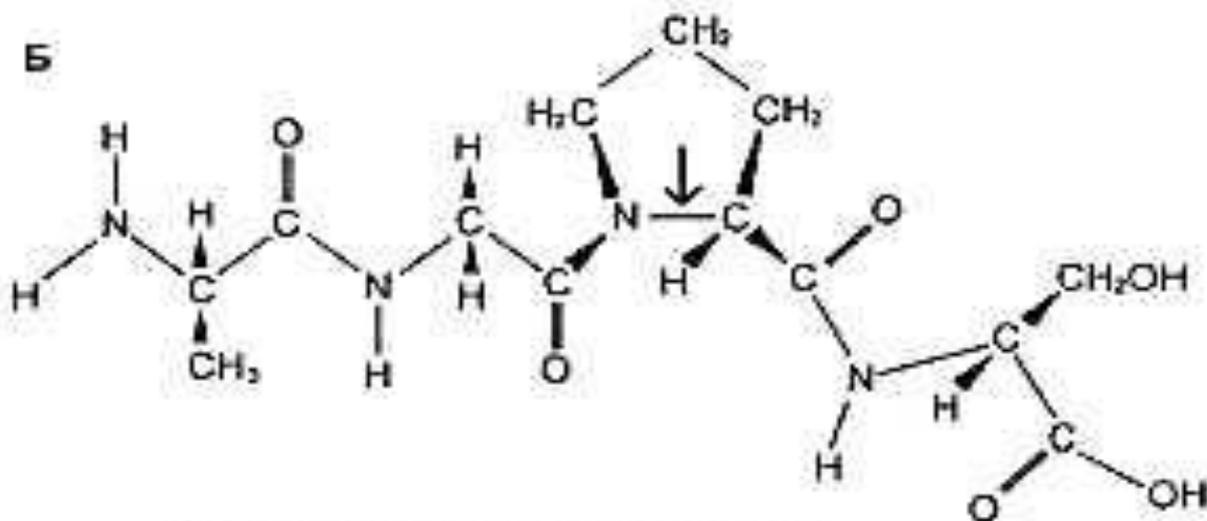
**Особенно много SS-связей в секретируемых белках**

### 3) Стерические взаимодействия множества колец пролина и ОН-пролина (в коллагене I типа ~1/4 всех аминокислот – пролин и гидроксипролин)



Аланил-глицин-валил-серин

Обычный белок

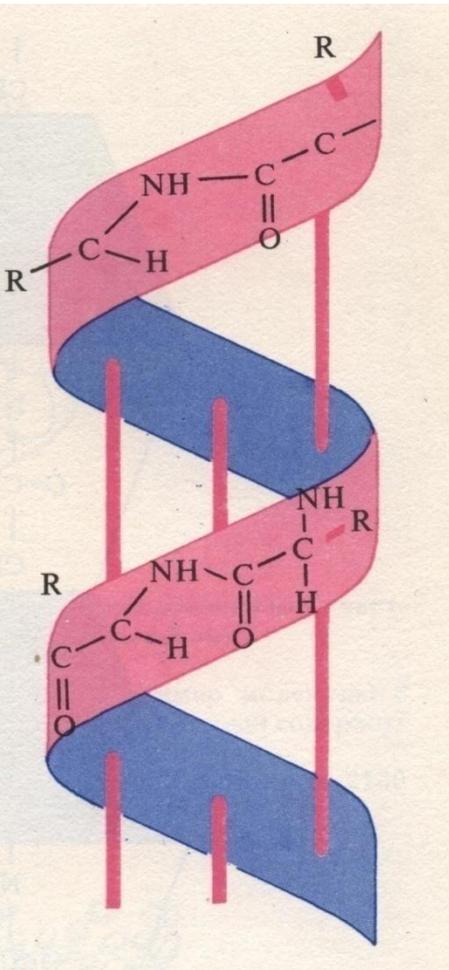


Аланил-глицил-пролил-серин

Стерическое напряжение гидрофобных колец Pro

# Первые модели вторичной структуры белка предложили **Л.Полинг и П.Кори**

расчёт и экспериментальные доказательства  **$\alpha$ -спирали**

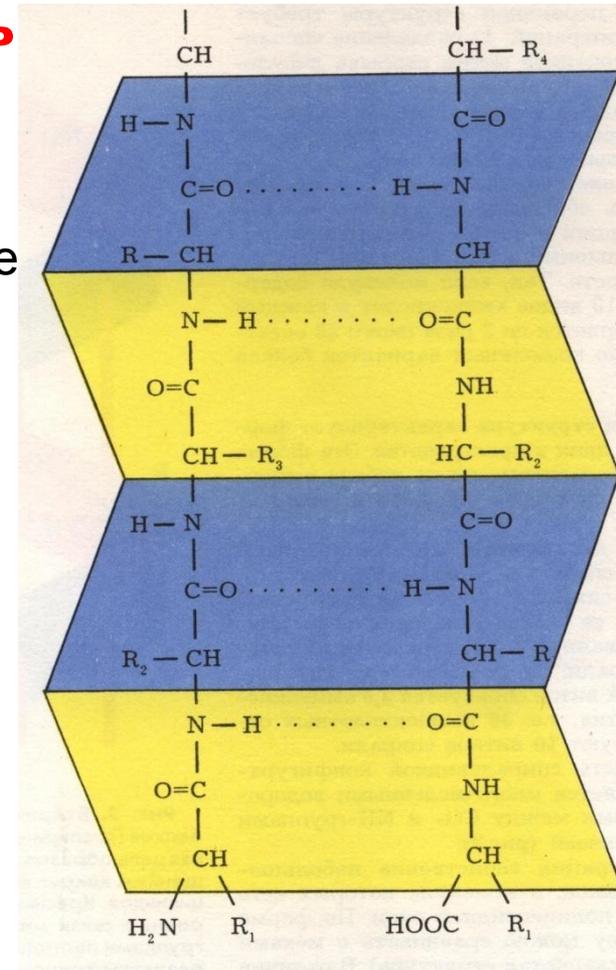


## правозакрученная **$\alpha$ -спираль**

- Водородные связи замыкаются между каждой первой и четвертой аминокислотой, в их образовании участвуют все пептидные группы
- Альфа-спираль образуется самопроизвольно и является наиболее устойчивой конформацией с минимумом свободной энергии

## складчатый **$\beta$ -слой**

$\beta$ -слои почти полностью вытянуты параллельно или антипараллельно



**$\alpha$ -спираль:** правозакрученная (чаще для L-аминокислот) или левозакрученная, полный виток спирали 5,4 Å (3,6 остатка аминокислот), угол подъема  $26^\circ$ .

Водородные связи расположены параллельно оси спирали.

Степень спирализации в полипептидах может быть от 0 до 80–90%. Чем больше степень спирализации, тем больше форма молекулы приближается к фибриллярной.

**$\beta$ -складчатость:** водородные связи расположены перпендикулярно оси полипептида или нескольких цепей (параллельных или антипараллельных). В пространстве образуются слоистые структуры.

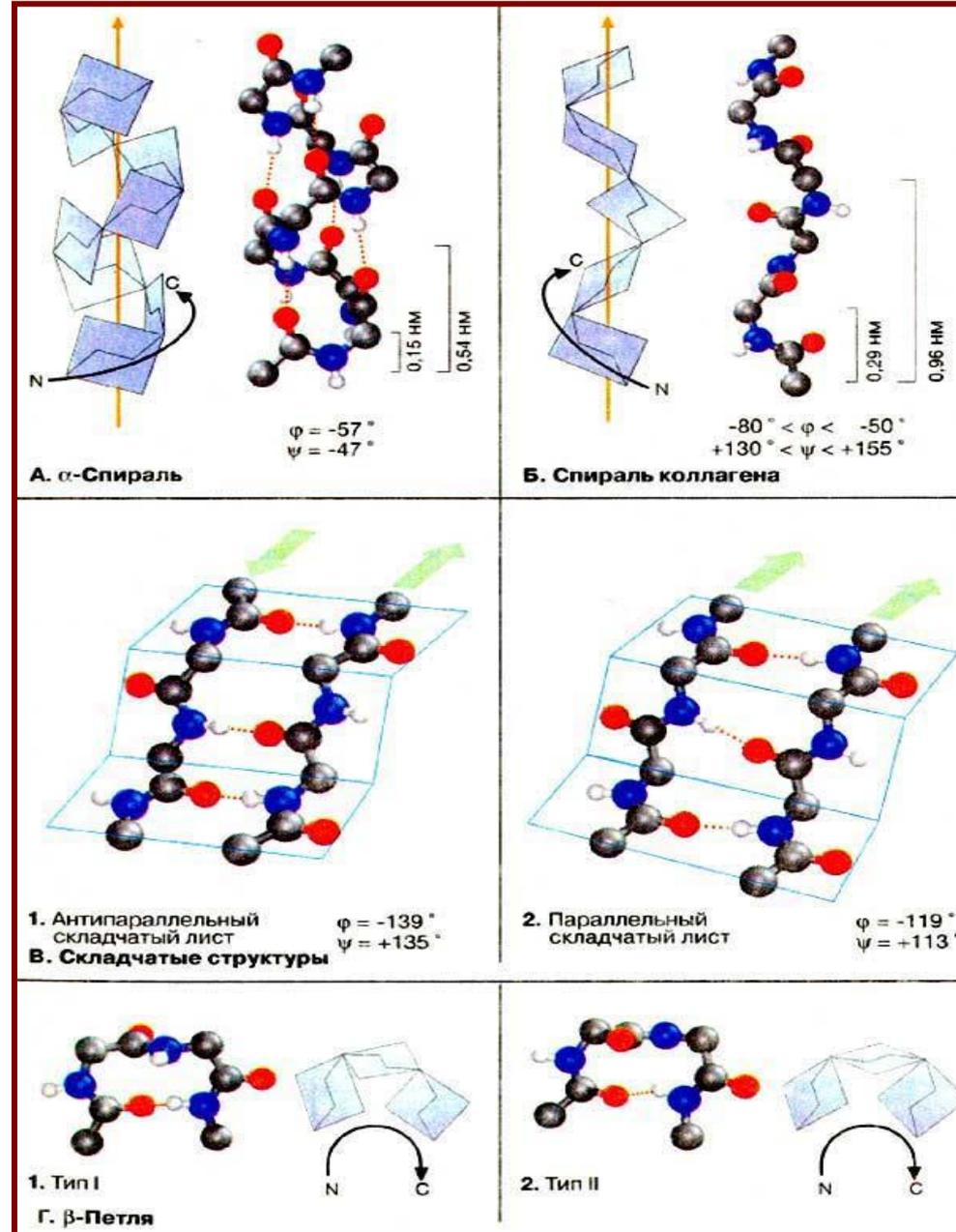
# Типы вторичной структуры белка

## Регулярные структуры:

- **Спирали**
  - $\alpha$ -спираль;
  - коллагеновая спираль (похожа на L-полипролиновую);
  - спираль 3/10;
  - $\pi$ -спираль.
- **$\beta$ -слои**
  - параллельный
  - антипараллельный

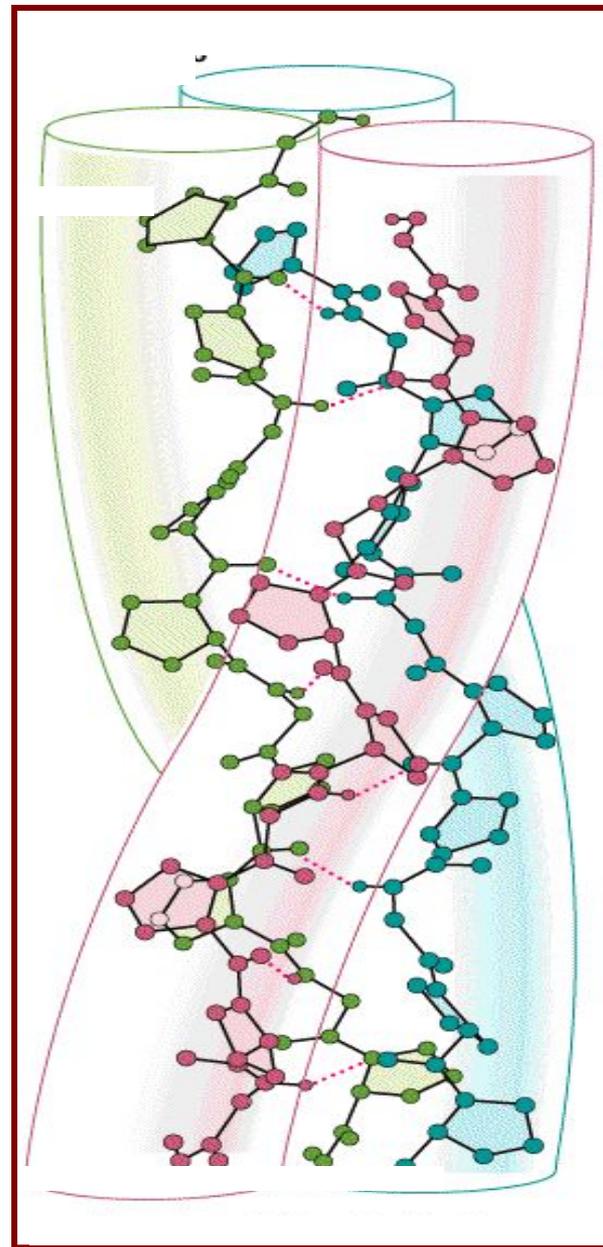
## Нерегулярные структуры:

- **Изгибы** – элементы из 3 АК (часто Pro и Gly); изгиб поворачивает цепь на  $180^\circ$ ; стабилизируется одной водородной связью; практически всегда оказывается на поверхности глобулы.
- **$\beta$ -петли** – из 3 АК (типы I и II)



# Коллагеновая спираль

- Левая, а не правая спираль;
- Число АК-остатков на виток = 3;
- Структурные повторы (Gly-X-Y)<sub>n</sub>: Gly – в центре спирали, а X, Y – Часто Pro, OH-Pro (1/4 всех аминокислот);
- В отличие от правой α-спирали здесь **образование водородных мостиков невозможно**, т.к. у Pro и OH-Pro нет H в составе пептидной связи –NH–); **стабилизирована стерическим взаимодействием гидрофобных колец Pro и OH-Pro;**
- По строению схожа с L-полипролиновой спиралью;
- Структура **дополнительно стабили- зирована** за счет скручивания трех левых α-цепей в правую тройную суперспираль – тропоколлаген (третичную структуру) → см.рисунок



# Вторичная структура белка

- Радикалы глутамина, метионина, аланина, лейцина тяготеют к образованию  $\alpha$ -спиралей; вал, тирозин, иле – к  $\beta$ -складчатой структуре.
- Более того, **возможны взаимные переходы  $\alpha$ - и  $\beta$ - структур.**

**В щелочной среде, при нагревании происходит разрыв водородных связей, восстановление дисульфидных мостов, растягивание спирали:  $\alpha$ -кератин превращается в  $\beta$ -кератин и «гладкие» волосы становятся «волнистыми».**

- **В различных белках есть разные структурные мотивы (единицы скручивания):  $\alpha\alpha$ -  $\alpha\beta$ -  $\beta\beta$ -.**

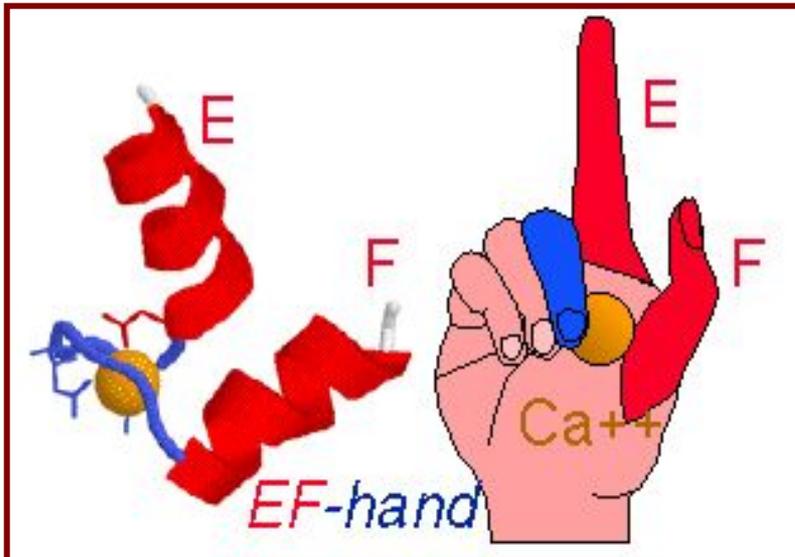
# Супервторичная структура (мотив)

- Супервторичная структура - специфичная комбинация вторичных структур, имеющая особенную топологию и организованная в характерную трехмерную структуру, что чаще всего связано с определенными функциями.

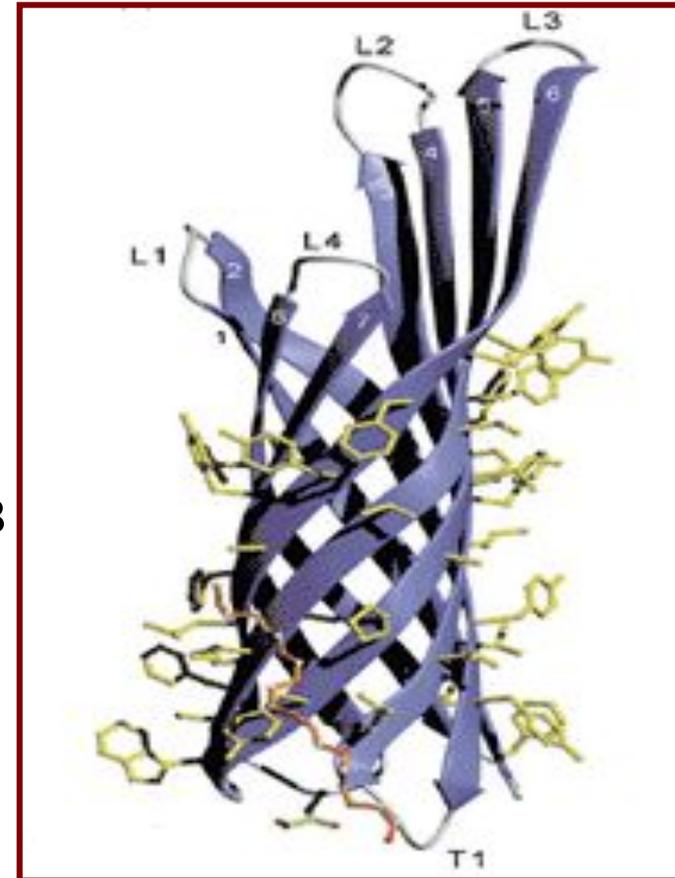
Виды:  $\alpha\alpha$ -,  $\alpha\beta$ -,  $\beta\beta$ -

## $\alpha\alpha$ -МОТИВ

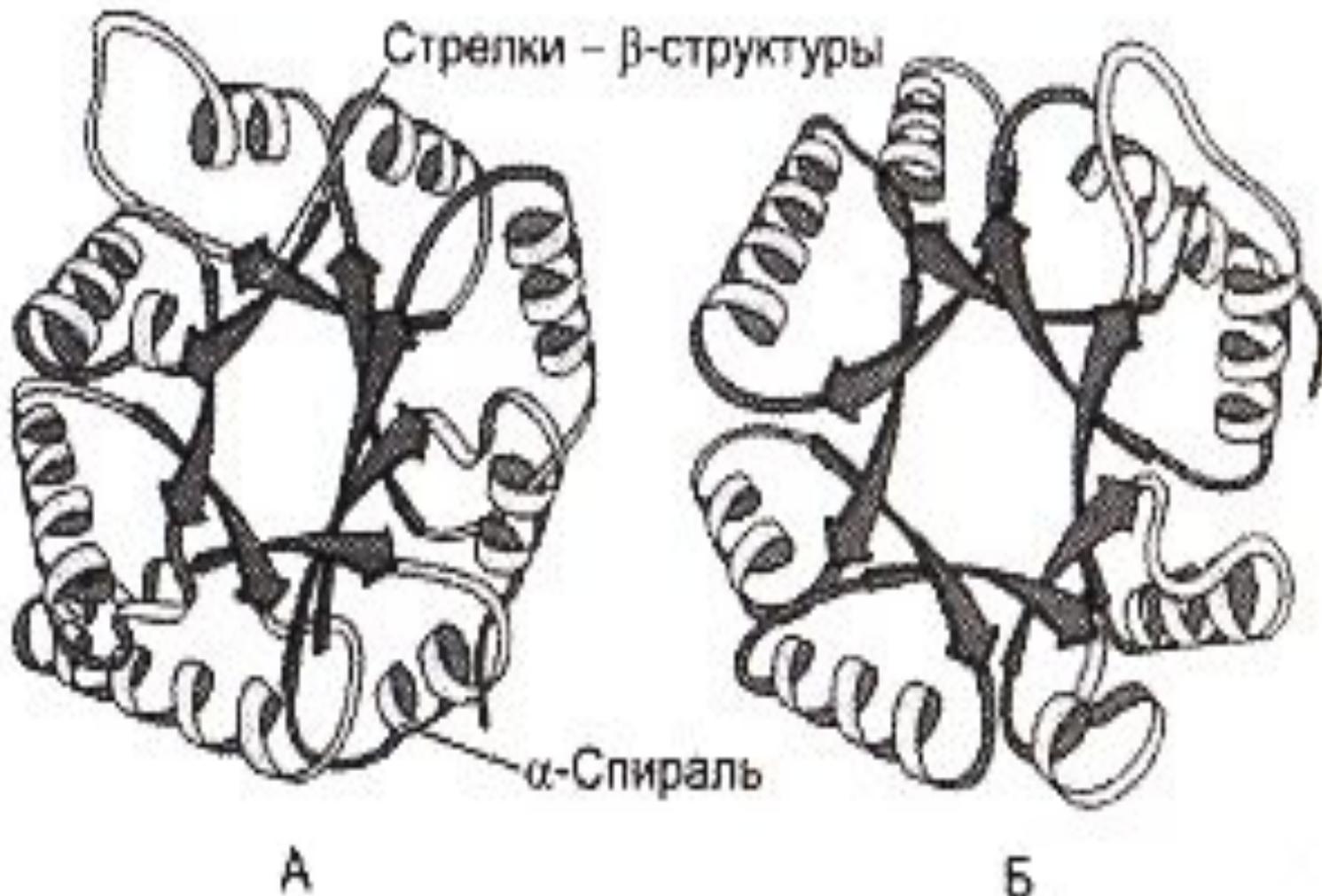
Са-связывающих белков (кальмодулин ...)



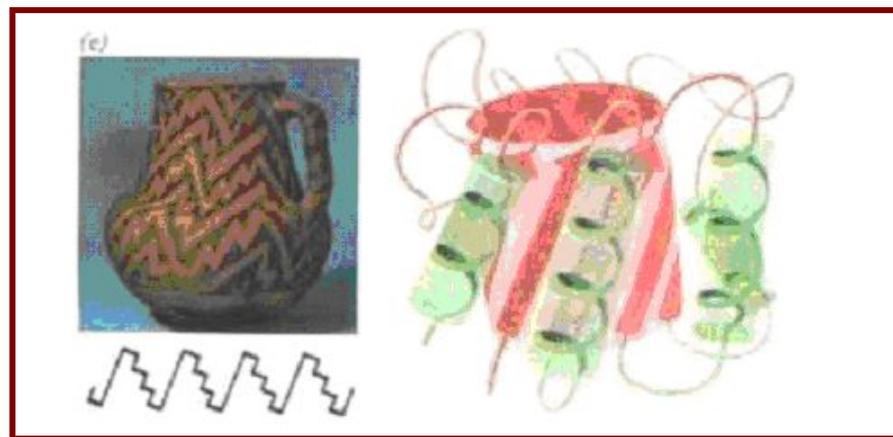
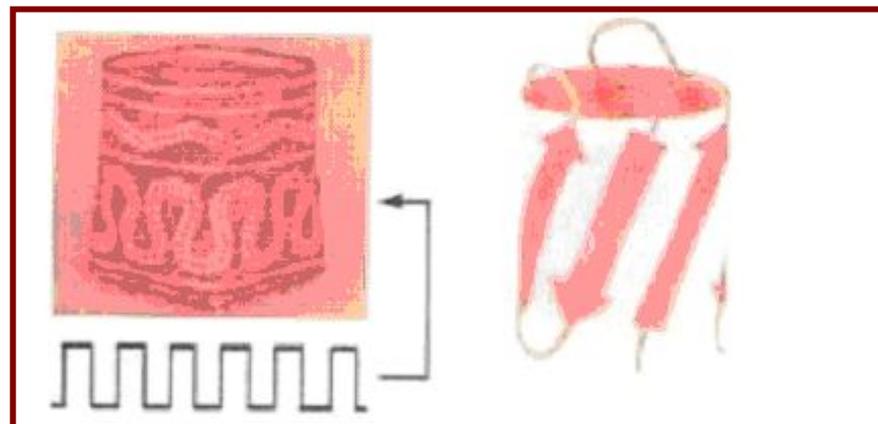
$\beta\beta$ -МОТИВ –  
 $\beta$ -бочонок  
некоторых  
транс-  
мембран-  
ных белков  
(порин ...)



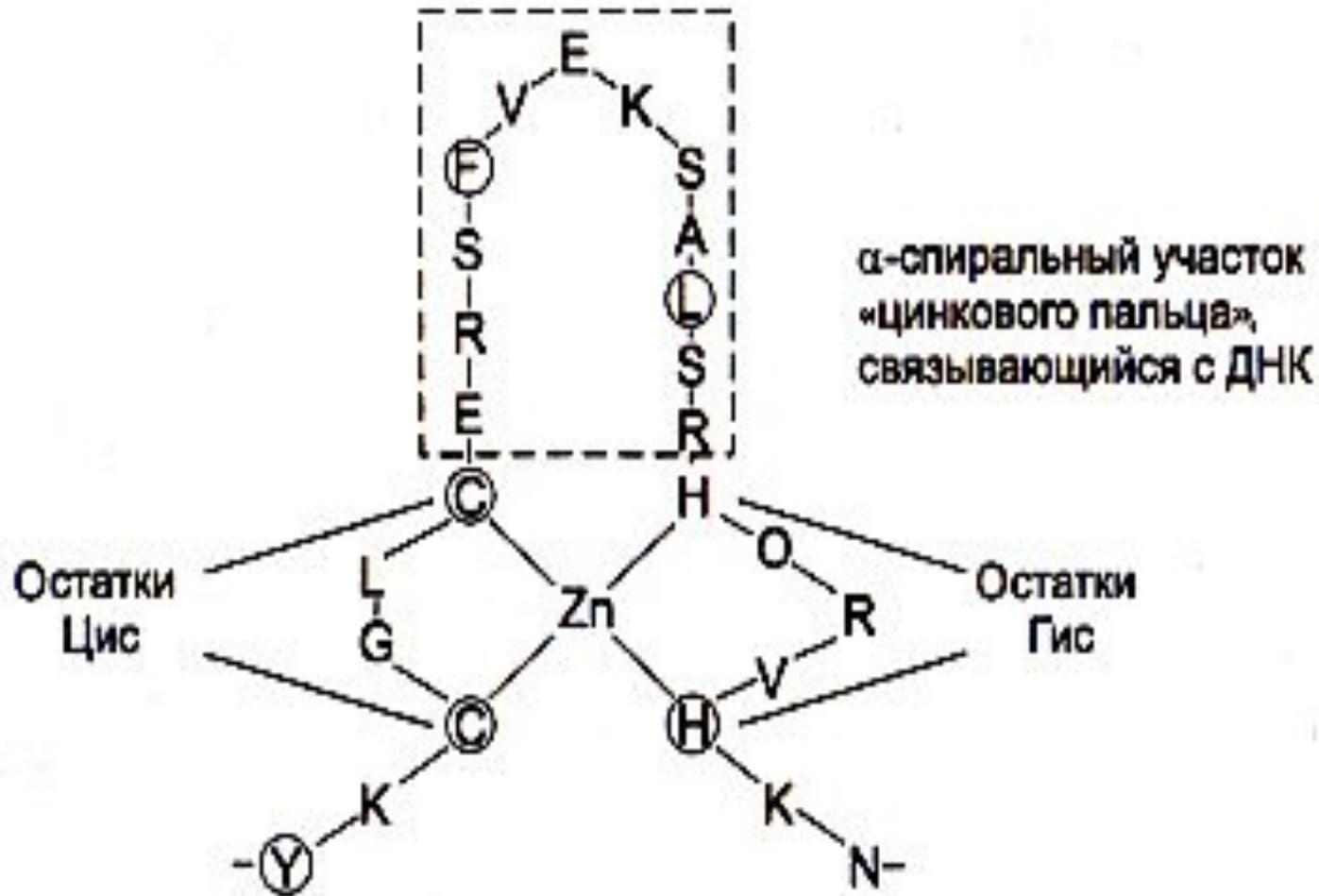
# $\beta$ -бочонки – вид сверху



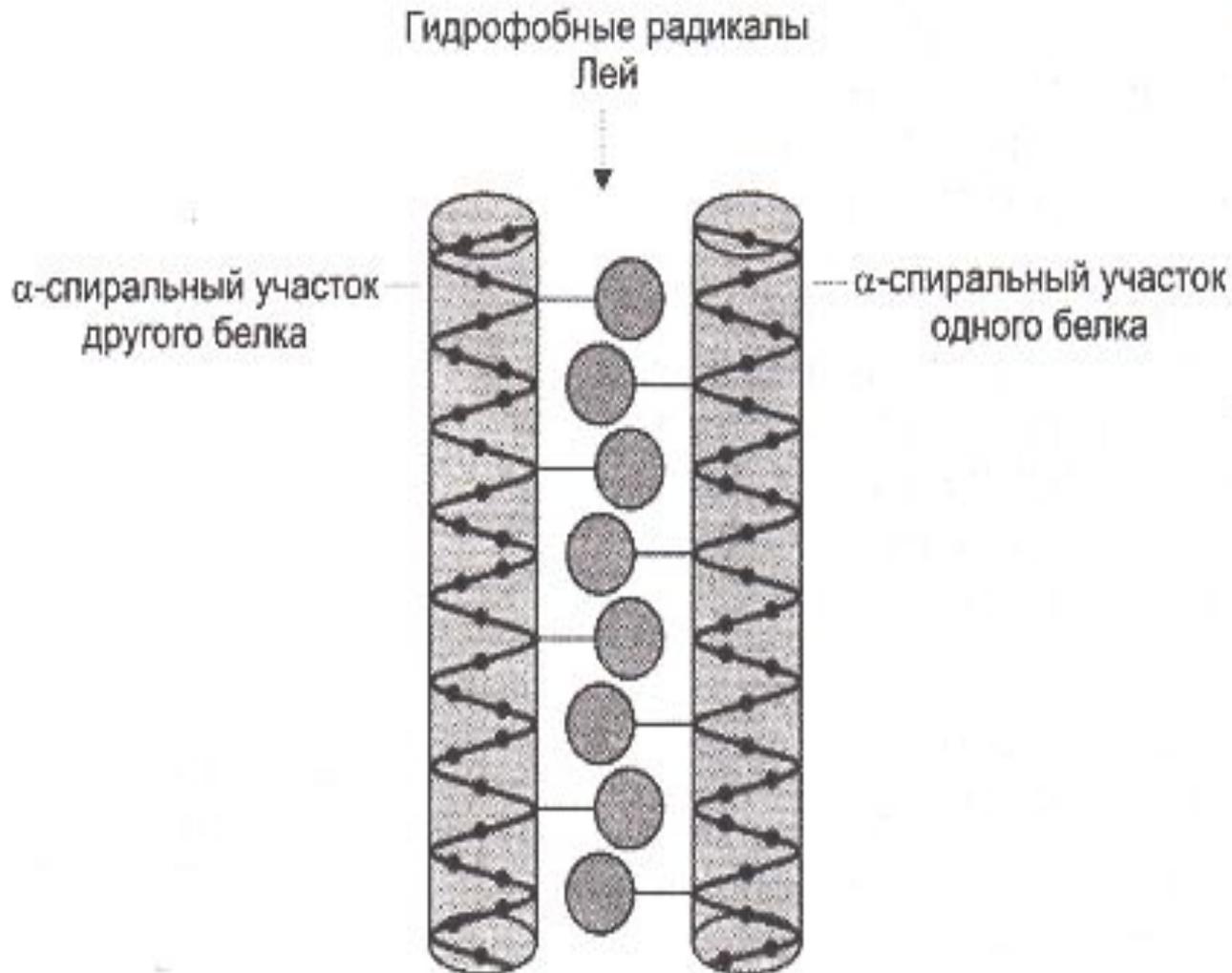
# Типы $\beta$ -бочонков

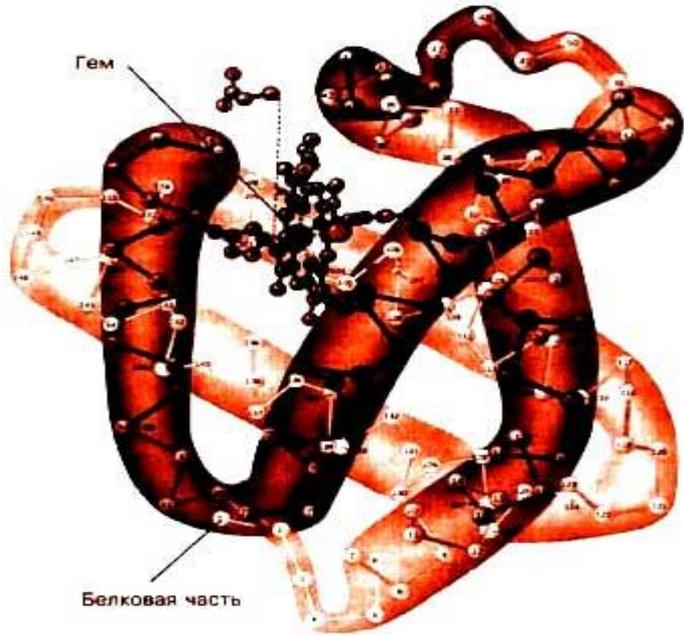


# Супервторичные структуры - цинковые пальцы



# Супервторичные структуры – лейциновые застёжки

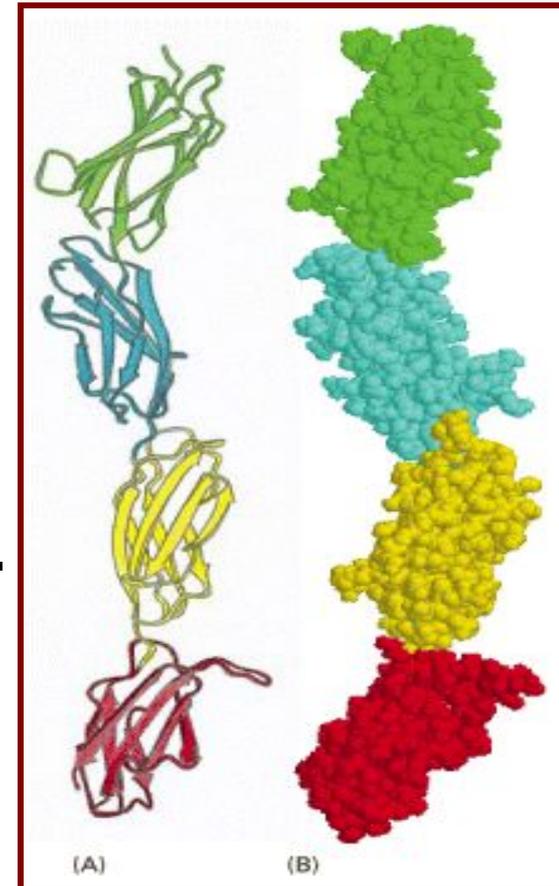




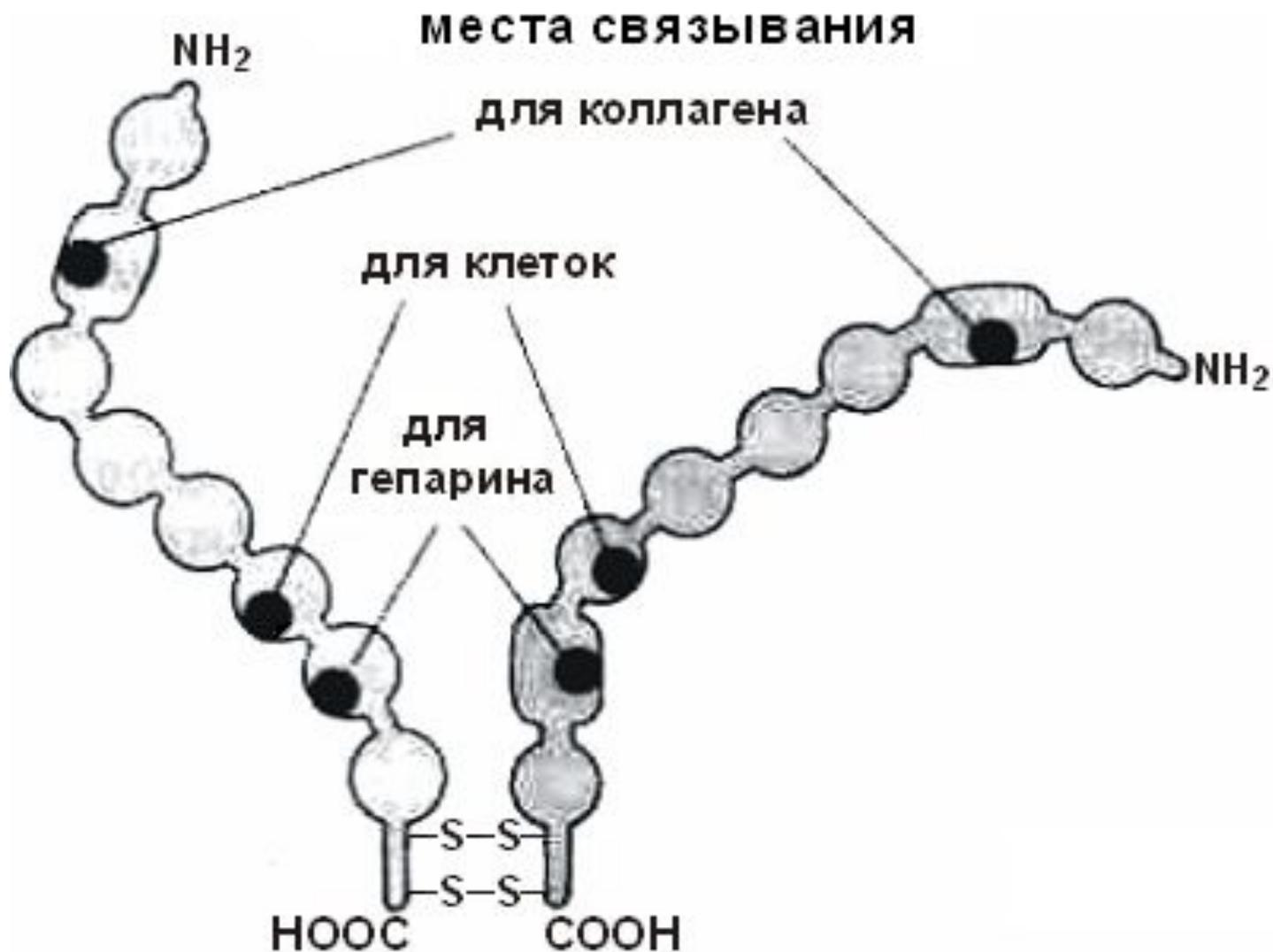
# Третичная структура белка -

это пространственное расположение спиралей и складчатостей в виде глобулы

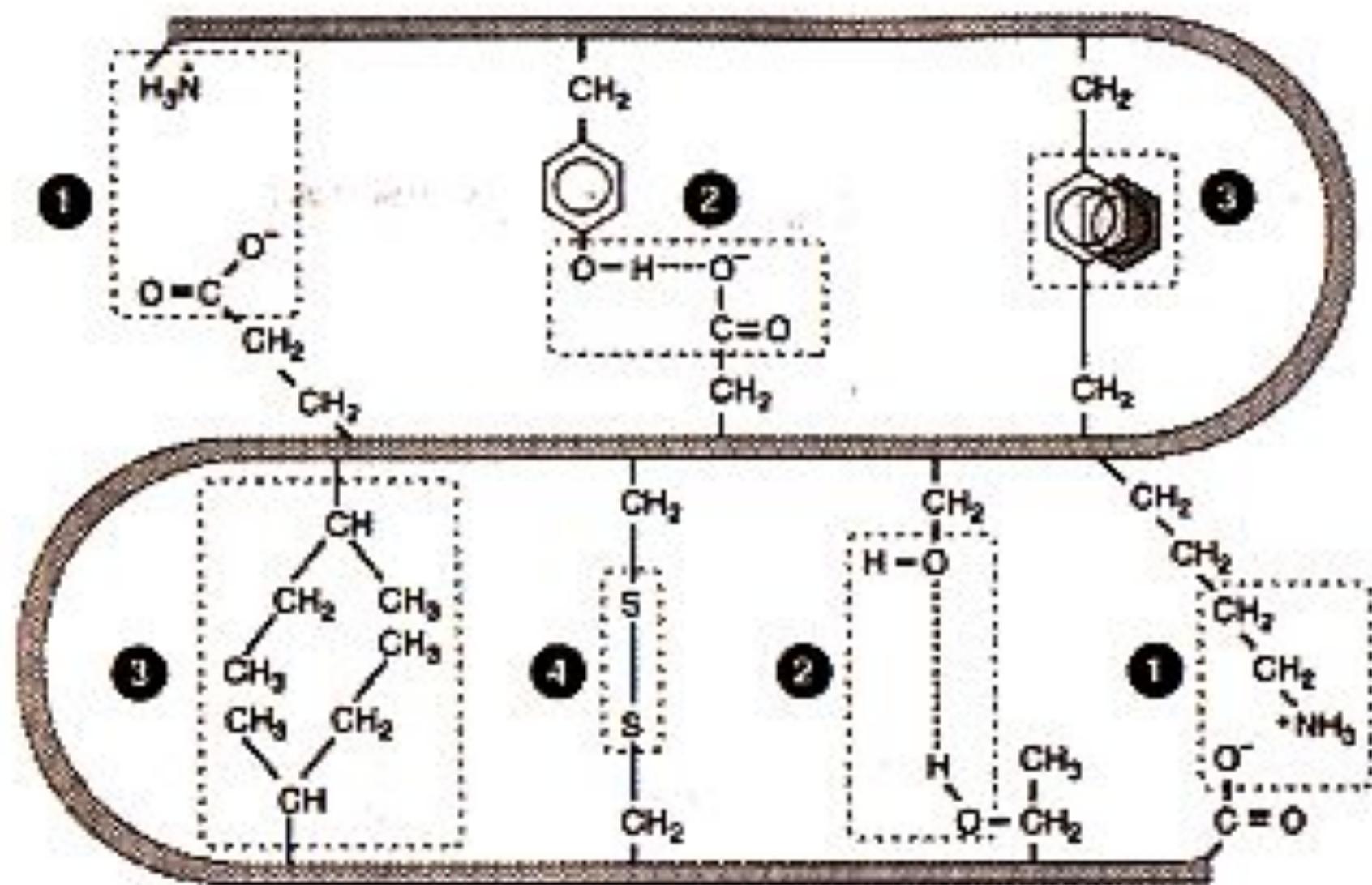
- Третичная структура обычно включает несколько компактных глобул, называемых **доменами**. Между собой они связаны тонкими короткими перемычками – аморфными вытянутыми полипептидными цепями.
- **Пример: Молекула миоглобина** (сверху). **Фрагмент молекулы фибронектина**, протяженная белковая структура из линейно расположенных модулей-доменов (внизу).



# Димер молекулы фибронектина



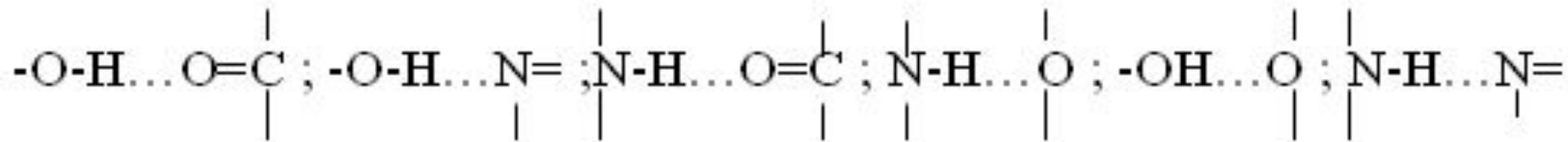
- **Третичная структура белка.**  
Функциональное значение:  
**с её появлением у белка возникают новые свойства – биологические**  
**(например, у ферментов – каталитические)**
- Третичная структура стабилизирована различными связями между остатками аминокислот, далеко отстоящих друг от друга. Это связи:
  - 1) **ионные,**
  - 2) **водородные,**
  - 3) **гидрофобные,**
  - 4) **дисульфидные**
  - 5) **Ван-дер-ваальсовы**



# Характеристика нековалентных связей в молекулах белка

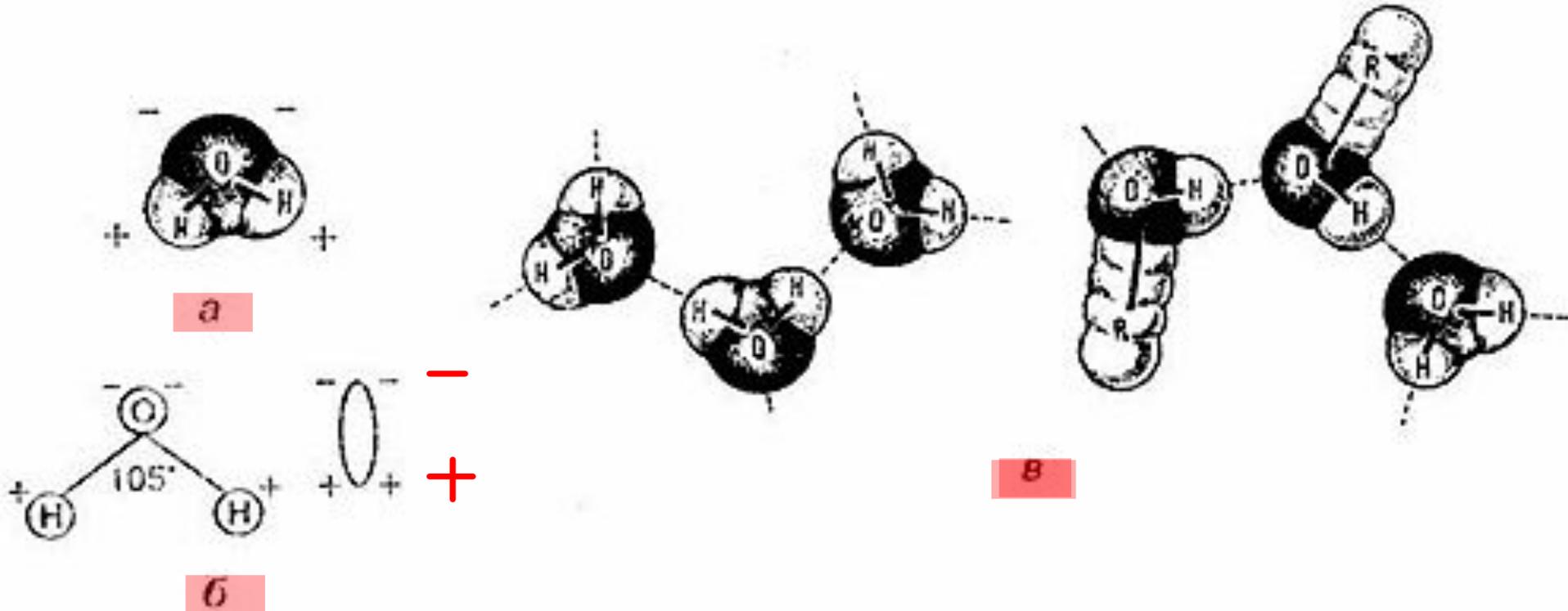
Для стабилизации структуры органических молекул в пространстве помимо сильных ковалентных взаимодействий существуют слабые силы

- 1) ВОДОРОДНЫЕ: во вторичной – основа, есть в третичной и четвертичной структурах белка. Как более электроотрицательные, атомы **O** и **N** стремятся притянуть электроны атома **H**, поэтому на **H** образуется частично положительный заряд. Водородные связи образуют полярные (-OH, -SH, -NH) и заряженные группы (-COO<sup>-</sup>, -NH<sub>2</sub><sup>+</sup>)...



**а** - молекулярная модель молекулы  $H_2O$ .

**б** - хотя молекула  $H_2O$  в целом нейтральна, у неё возникает дипольный момент и две соседние молекулы воды могут притягиваться



**в** - гидратация за счет образования водородных связей между молекулами воды и другими соединениями (спирт).

## 2) Ван-дер-ваальсовы взаимодействия

- **Ван-дер-ваальсовы силы** – понятие собирательное.
- Это силы, которые возникают при взаимодействии полярных молекул (как правило, они с ароматическими кольцами). Эти силы очень слабые, но обладают важным свойством – аддитивностью, т.е. суммируясь, они могут вызвать электростатические взаимодействия больших фрагментов в молекуле белка или больших молекул друг с другом (например, фермент-субстрат и т.д.)

### 3) ИОННЫЕ СВЯЗИ

- Во многих молекулах притяжение электронов атомами неодинаково.

В этих случаях один или несколько электронов может **перейти** от одного атома к другому, тогда атомы удерживаются в молекуле за счет **электростатических сил**.

Такие связи называют ионными.

Например: молекула NaCl,  
взаимодействие amino- и карбокси- групп  
(в растворе группы находятся в заряженном состоянии **-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>** и **-COO<sup>-</sup>**, что зависит от pH)

## 4) Гидрофобные взаимодействия

- Длинные углеводородные цепочки (в белках и жирах) не могут образовывать с водой водородные связи и нерастворимы в воде.
- Около таких гидрофобных участков между молекулами воды усиливается образование Н-связей. Вода приобретает льдоподобную структуру и выталкивает гидрофобные участки.
- Если в белке подобных участков несколько, то они ориентируются внутрь молекулы и объединяются в гидрофобное ядро, а гидрофильные аминокислоты остаются снаружи.

# Белки с четвертичной структурой

## - надмолекулярные образования

Макромолекула (Мм более 50 kDa) состоит из 2-х и более белков с третичной структурой, способна к самосборке, у неё появляются **НОВЫЕ** биологические свойства, не характерные для третичной структуры.

- Каждый белок-участник с третичной структурой при его включении в четвертичную называют **СУБЪЕДИНИЦЕЙ** или **ПРОТОМЕРОМ**. Они могут быть одинаковыми (фосфоорилаза) и разными (ЛДГ, КФК, Hb)
- Биологический смысл появления четвертичной структуры белка – **экономия** “генетического материала”
- Для белков с четвертичной структурой характерны дополнительные **эффекты: КООПЕРАТИВНЫЙ** (взаимопомощь протомеров при выполнении функции) и **АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ** (регуляторные взаимодействия, не затрагивающие активные центры молекул)

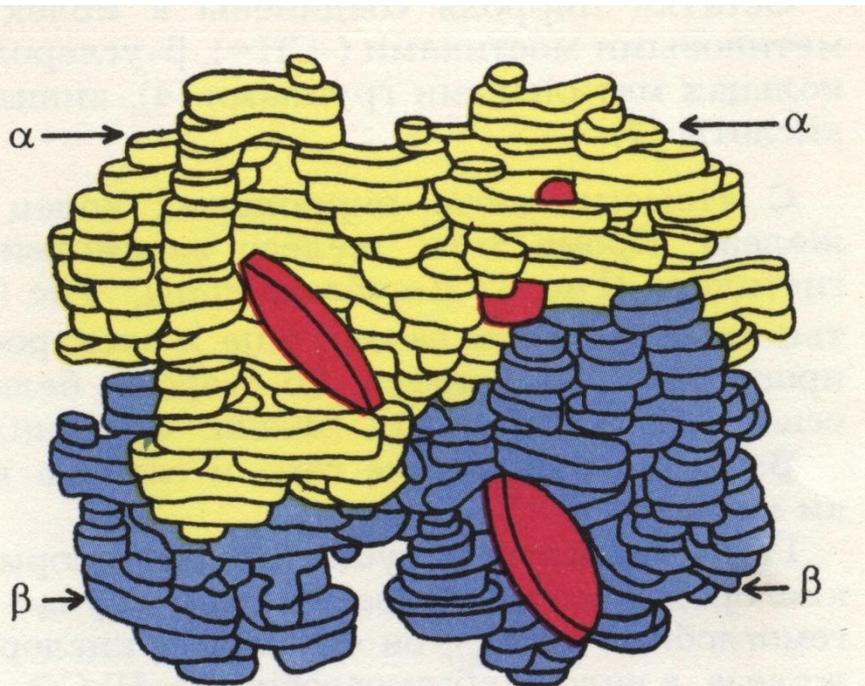
# Функциональное значение четвертичной структуры белка

- 1. Объединение нескольких взаимосвязанных функций в одной структуре**  
(РНК-полимераза, полиферментные комплексы)
- 2. Архитектурная функция**  
(24 субъединицы ферритина формируют полость для хранения оксида железа)
- 3. Обеспечение множественных взаимодействий белка с протяженными структурами**  
(антитела (Ig), некоторые ДНК-связывающие белки)
- 4. Регуляторная функция**  
(В основе лежит способность передавать конформационные перестройки одной субъединицы на другие – глобины в гемоглобине;  $\alpha, \beta, \gamma$  в G-белках)

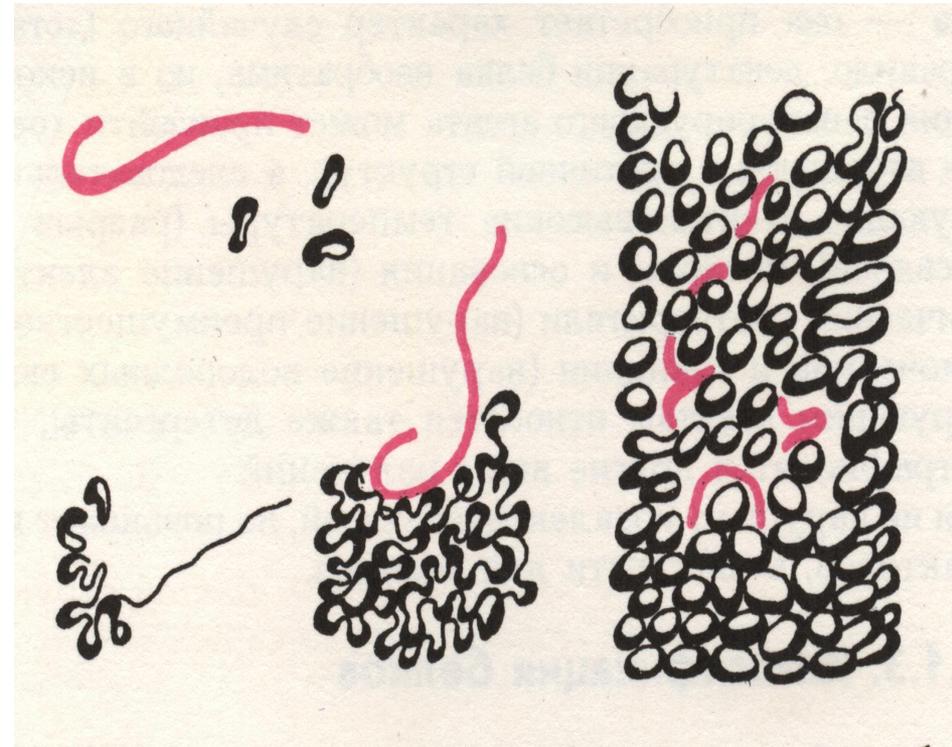
- **Множество белков-ферментов имеет четвертичную структуру и состоит из чётного числа протомеров.**
- В образовании и стабилизации четвертичной структуры участвуют те же **слабые нековалентные связи**, что и при образовании третичной, но в основном водородные и электростатические. Дисульфидных ковалентных связей нет.
- Четкой границы между третичной и четвертичной структурой провести нельзя.

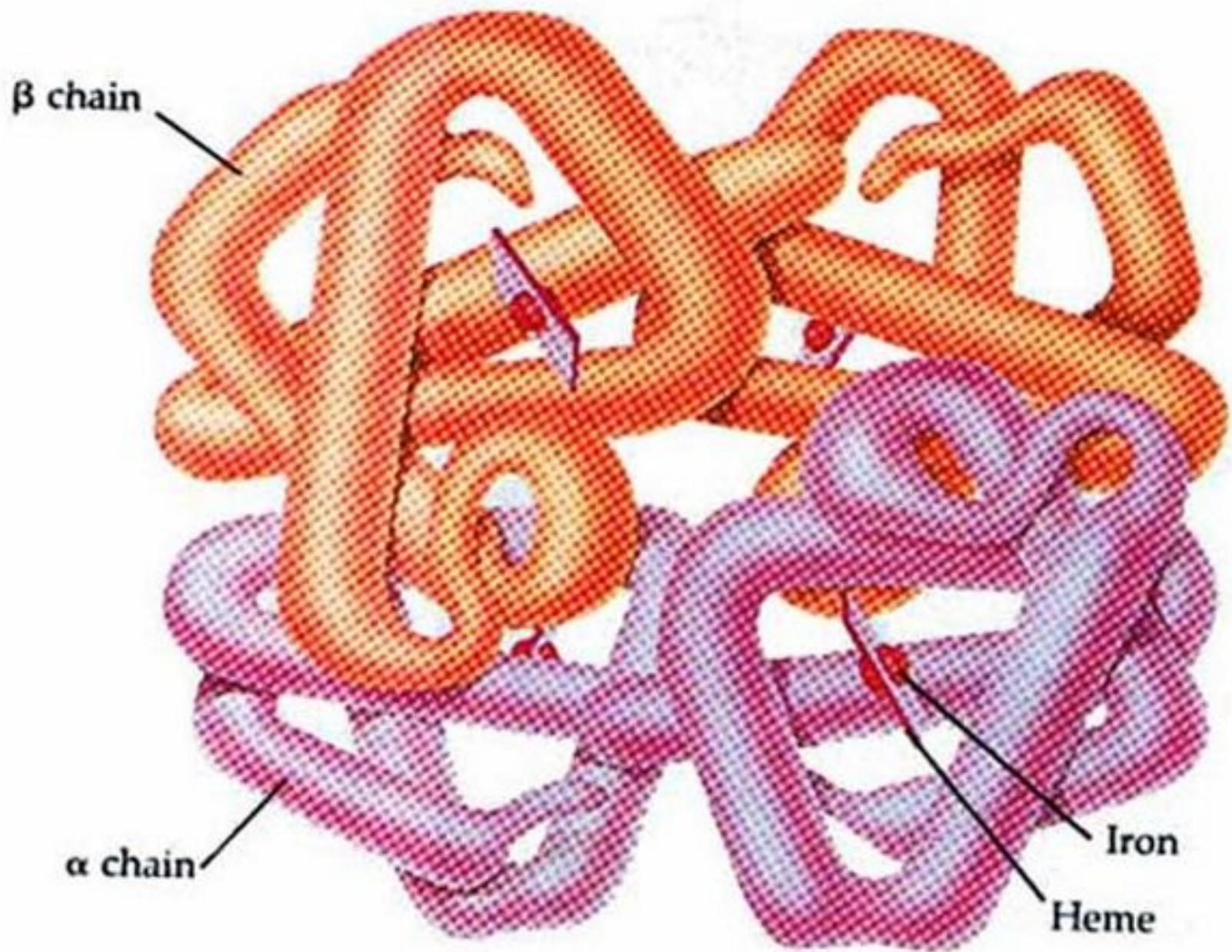
# Примеры четвертичной структуры отдельных белков

- Расположение  $\alpha$  и  $\beta$  цепей белка и гема в четвертичной структуре гемоглобина (4 субъединицы)



- Четвертичная структура белка вируса табачной мозаики (2130 субъединиц)





Hemoglobin

# Важные характеристики белков

- Белки бывают **конституциональными** (синтезируются присутствуют всегда) и **индуцибельными** (их синтез индуцируется при определенных условиях), кроме того у белков присутствует:
  - **Видовая специфичность.** Филогенетически близкие организмы имеют сходные по строению белки. Белки, выполняющие одинаковые функции у организмов разных видов также очень похожи.
  - **Индивидуальная специфичность.** Организм опознает чужеродные белки.
  - **Разные молекулярные формы белков.** Значимые и незначимые замены отдельных аминокислот.

# КЛАССИФИКАЦИИ БЕЛКОВ

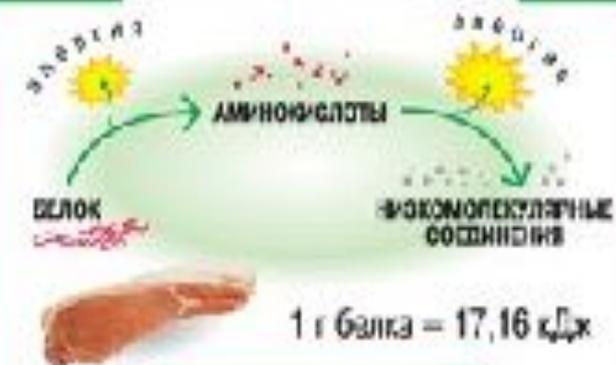
- **I По физико-химическим свойствам**
- а) **основные** (содержат много АРГ, ЛИЗ протонируются)
- **кислые** (преобладают карбоксильные группы АСП, ГЛУ)
- **нейтральные**
- б) **полярные** (гидрофильные)
- **неполярные** (гидрофобные)
- **II По форме молекул**
- **глобулярные**
- **фибриллярные**
- **III Структурная классификация**
- **простые** (состоят только из аминокислотных остатков)
- **сложные** (белок и небелковая простетическая группа)

# IV Функциональная классификация (по биологическим функциям)

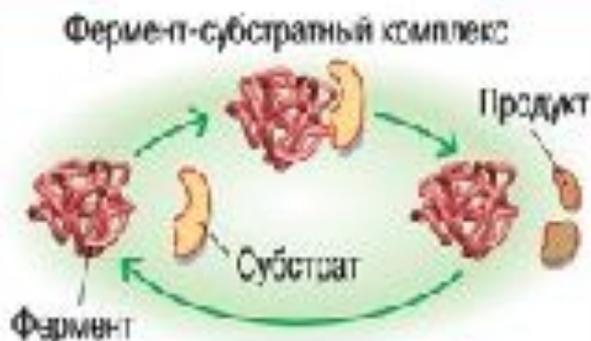
- Структурная – коллаген, эластин, кератины
- Каталитическая – ферменты
- Сократительная – актин, миозин
- Гормональная – инсулин
- Регуляторная – кальмодулин, в регуляции генов – гистоны, негистоновые белки ядра
- Защитная – фибрин, иммуноглобулин, интерферон
- Транспортная – гемоглобин (кислород), альбумины (билирубин, жирные кислоты...), трансферрин (Fe)
- Резервная и питательная (энергетическая) – яичный альбумин, молоко, белки печени и крови при голодании

# Примеры функций белков

## ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ



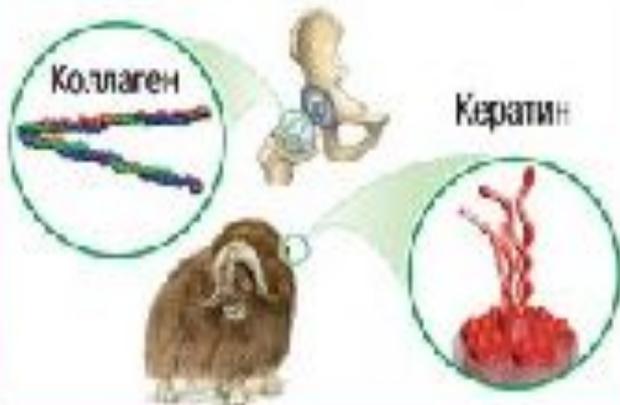
## КАТАЛИТИЧЕСКАЯ



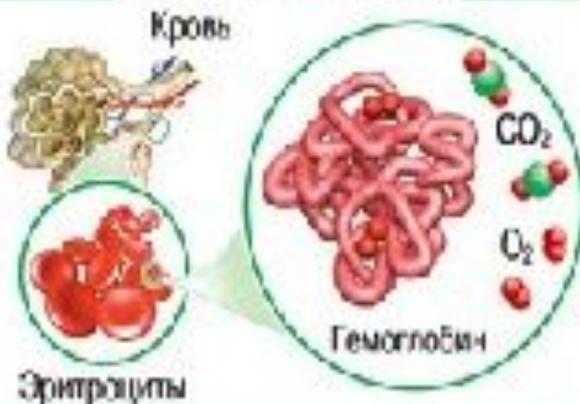
## ЗАЩИТНАЯ



## СТРОИТЕЛЬНАЯ



## ТРАНСПОРТНАЯ



## ДВИГАТЕЛЬНАЯ

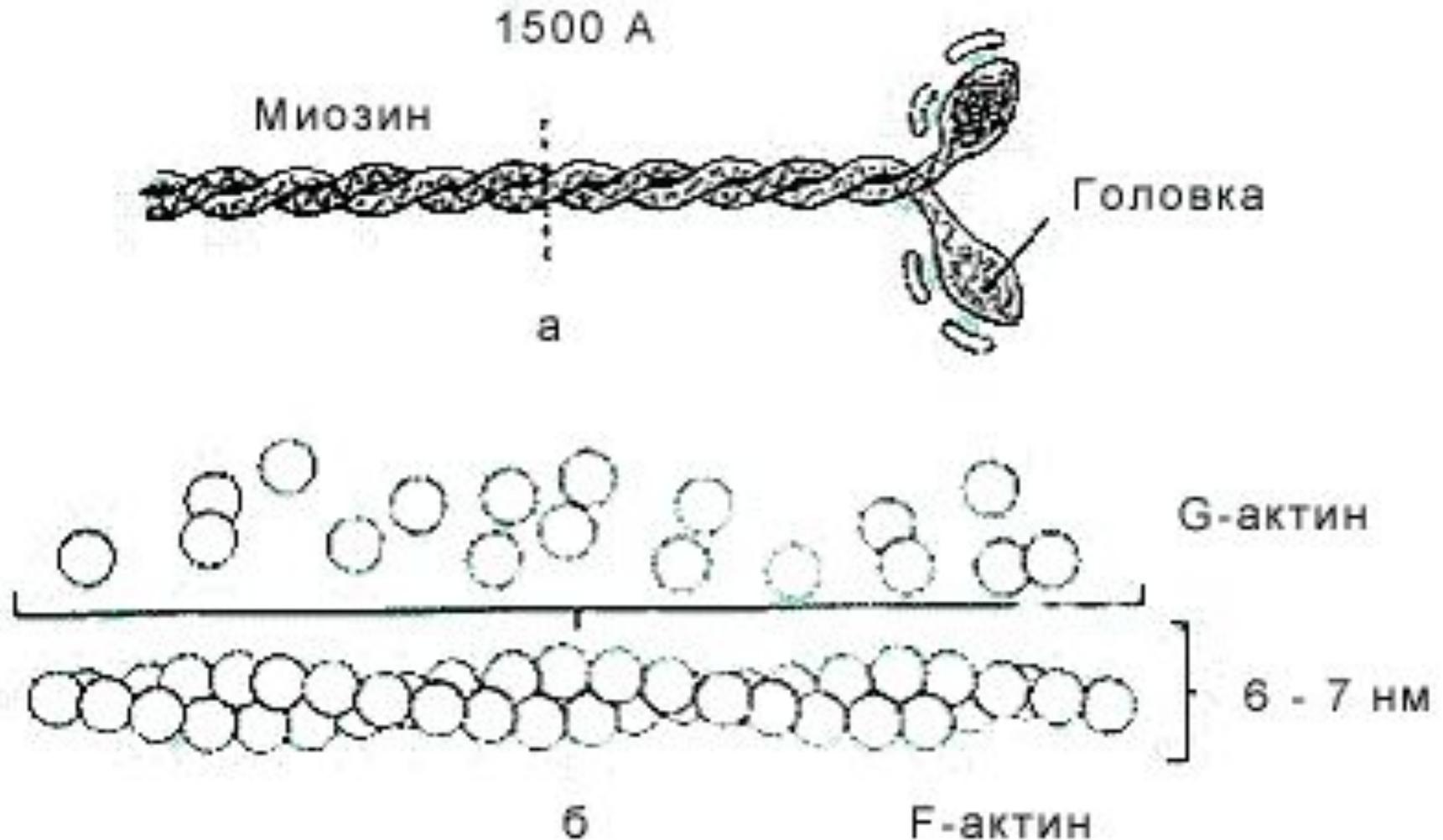


# Классификация ПРОСТЫХ БЕЛКОВ

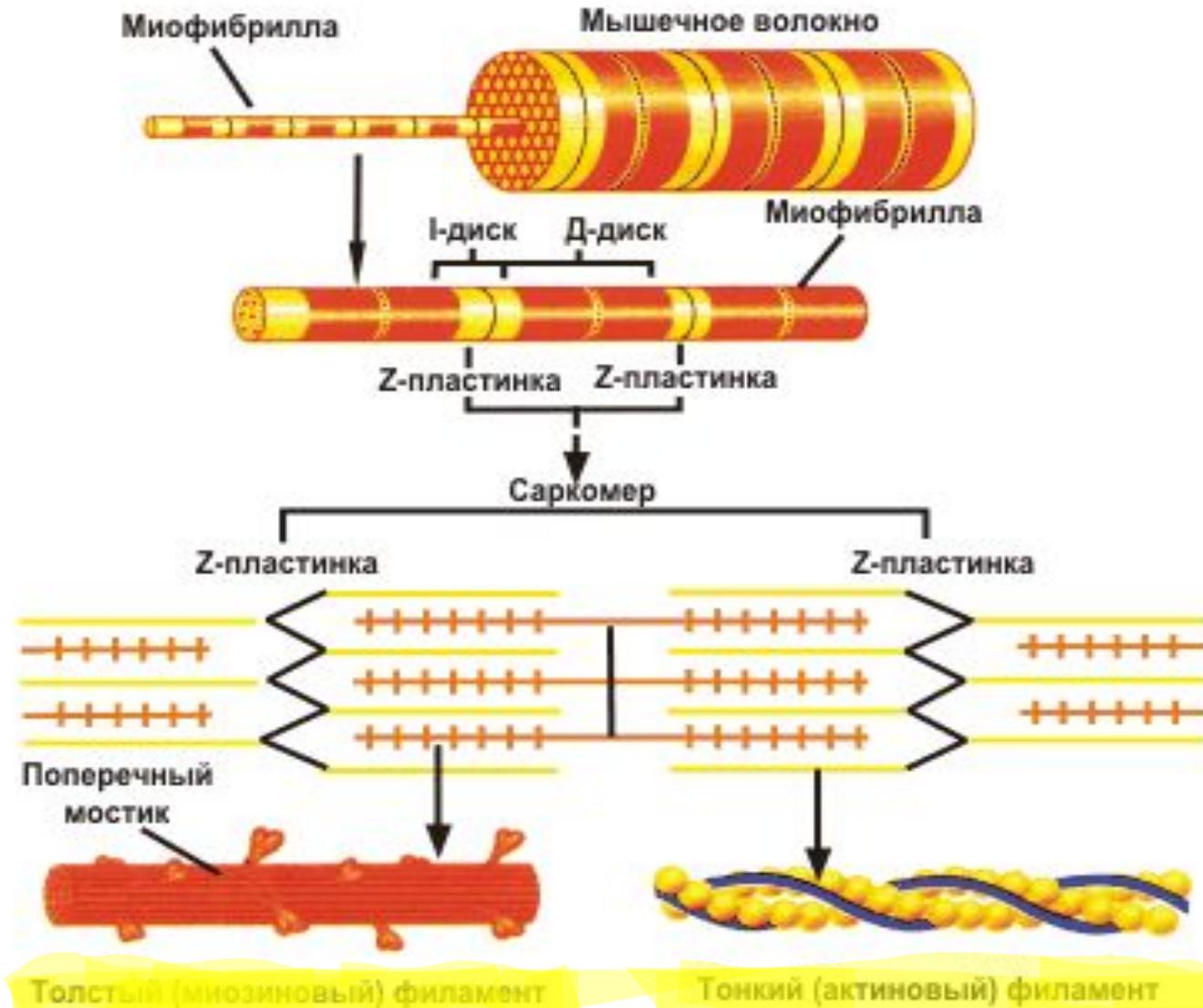


# Фибриллярные растворимые белки

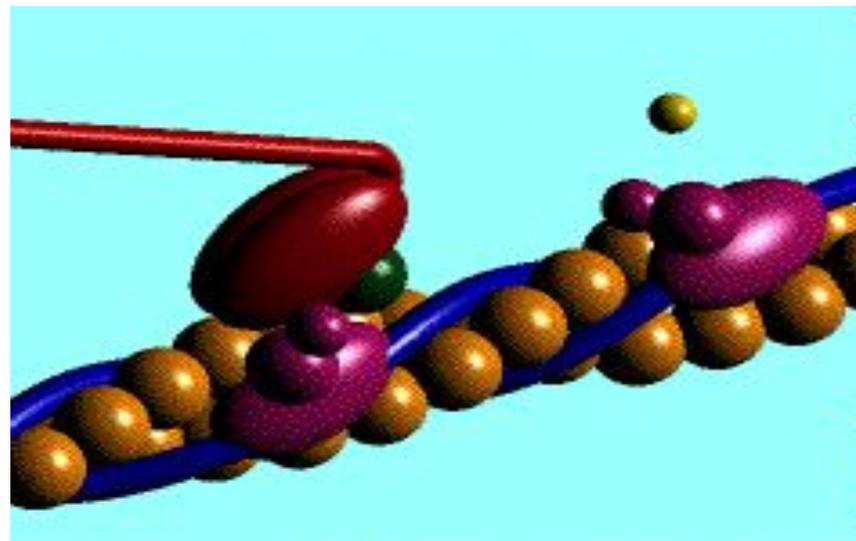
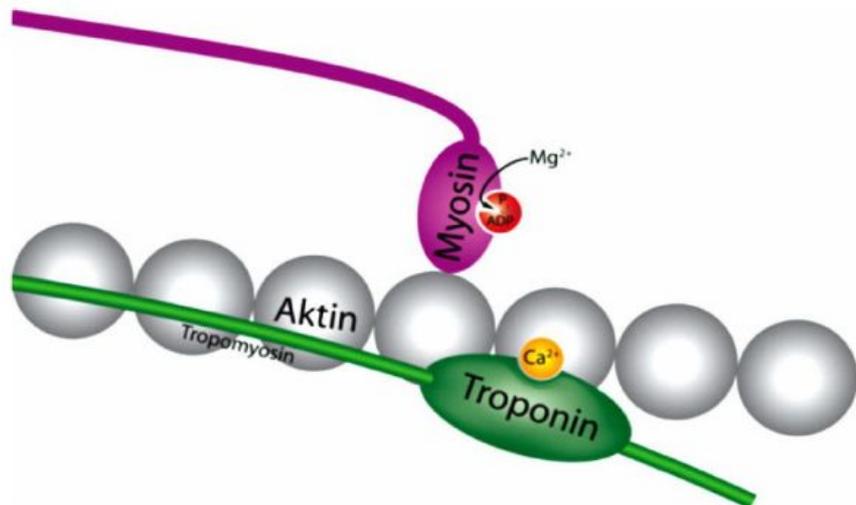
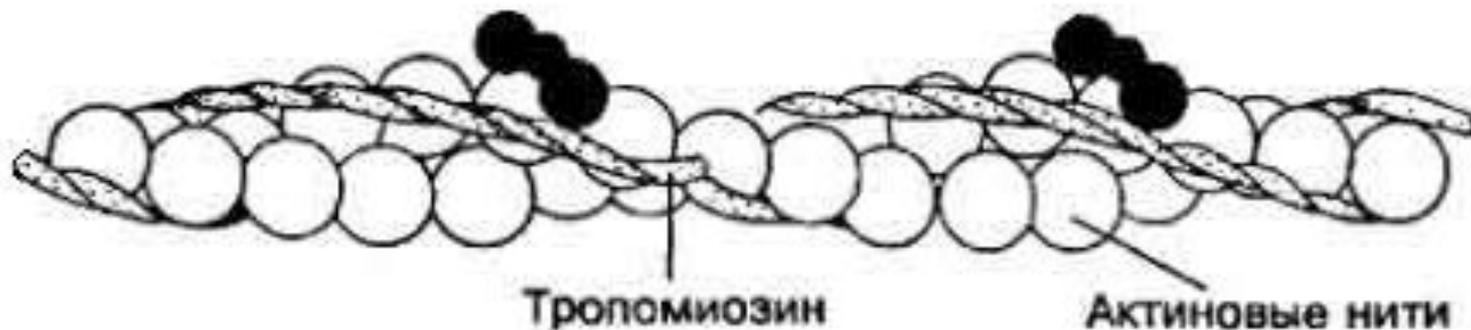
**Актин, миозин** - уникальные сократительные белки



# Построение мышечного волокна



# Организация актина и миозина в рабочий комплекс



[http://img.liveinternet.ru/images/attach/4/10994/10994019\\_actin.gif](http://img.liveinternet.ru/images/attach/4/10994/10994019_actin.gif)

# Фибриллярные нерастворимые белки

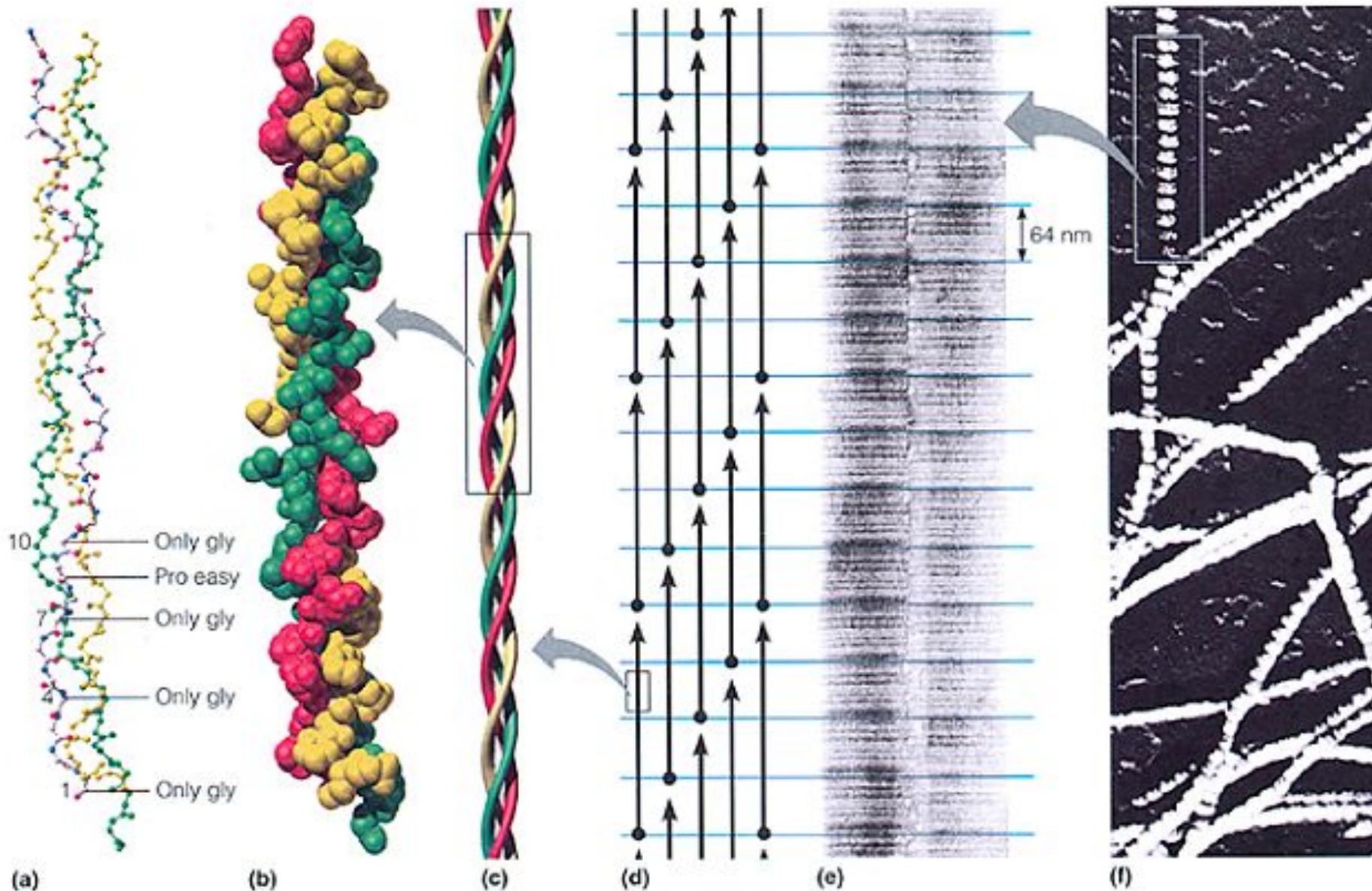
## Склеропротеины: кератин, коллагены, эластин,

**фиброин** и др. Нерастворимы в воде, солевых растворах; составляют наружный покров тела животных; есть в зубах, соединительной и нервной тканях (нейрокератин), скелете. В них повышено содержание ПРО, ГЛИ, ГЛУ, АЛА, важен ЛИЗ



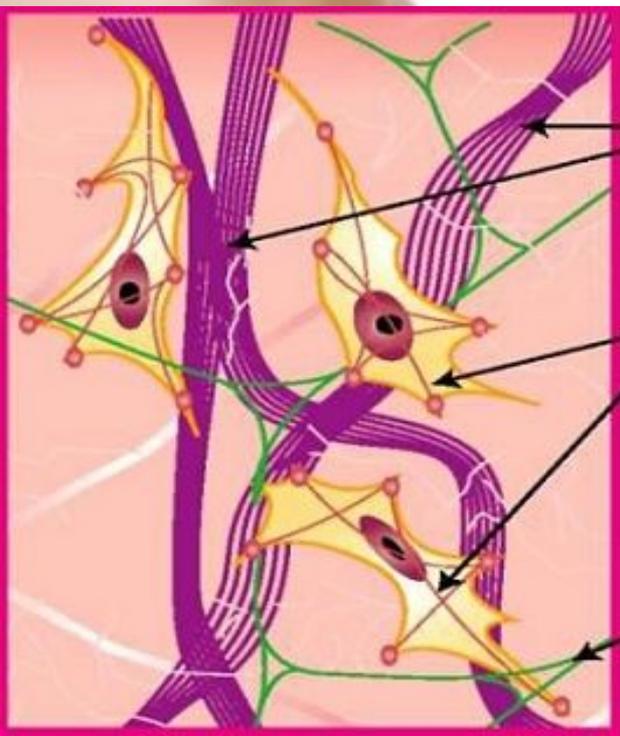
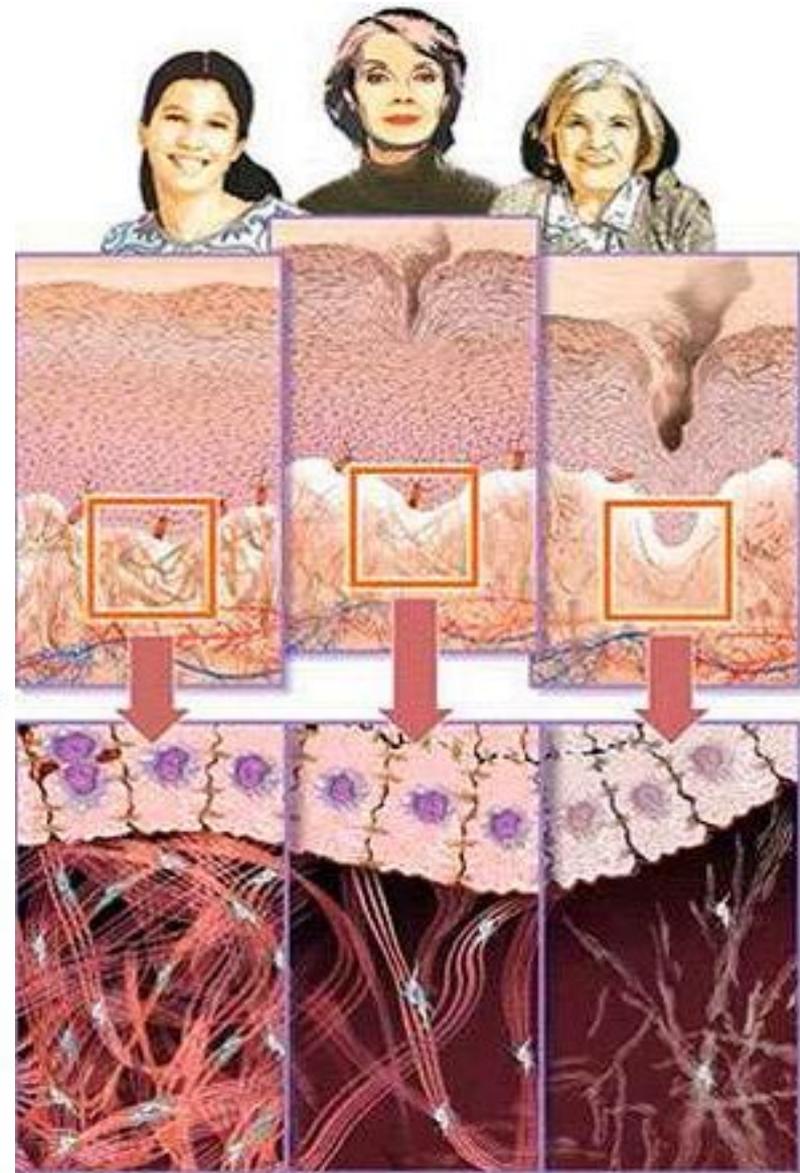


# Построение коллагенового волокна





**С возрастом  
в коже  
снижается  
содержание  
коллагена,  
эластина,  
протео-  
гликанов**

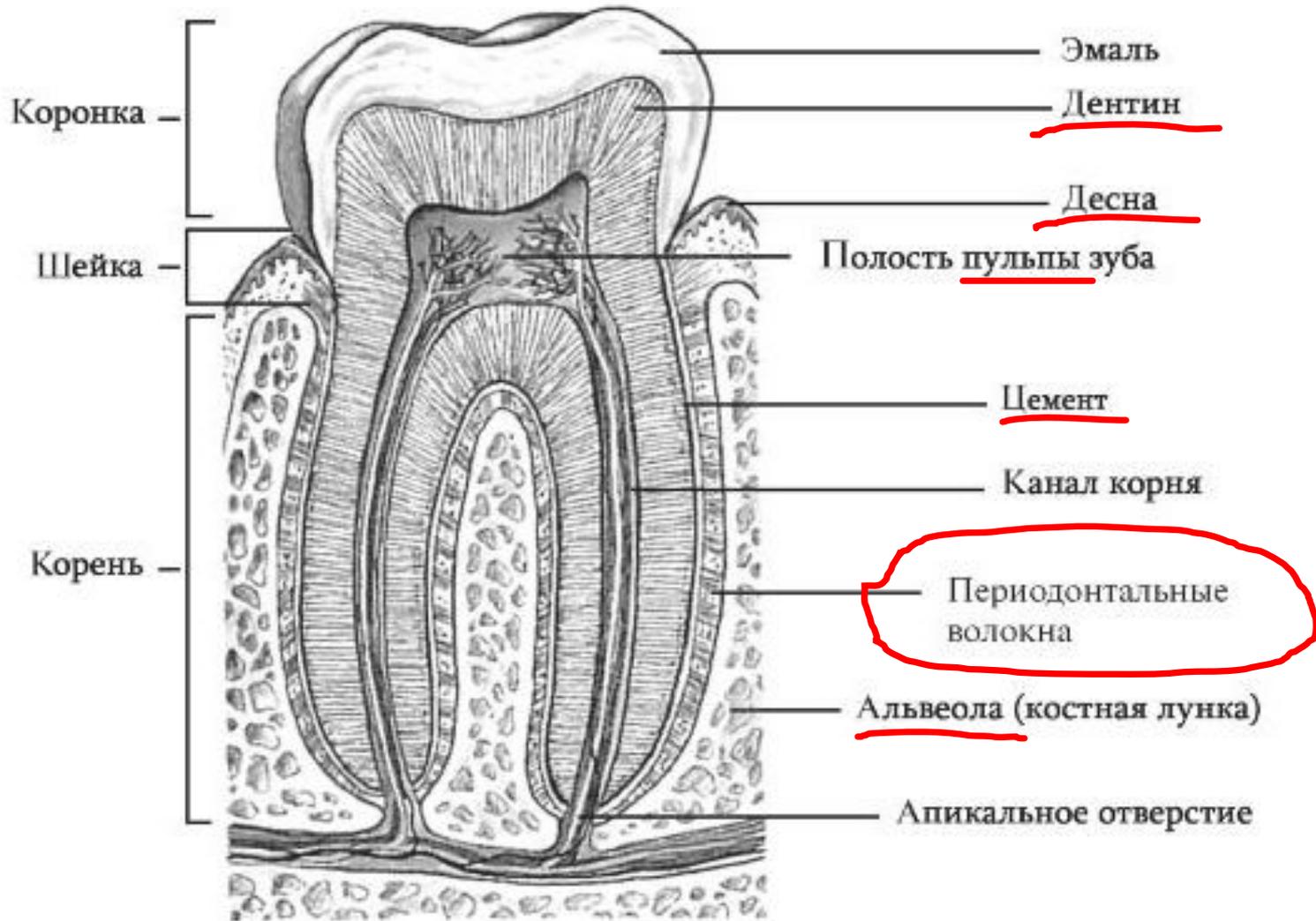


*Фибриллы коллагена*

*Фибробласты*

*Волокна  
эластина*

**Дентин, цемент, пульпа, костная альвеола содержат коллаген. Периодонт - комплекс тканей, в состав которого входят коллагеновые волокна**



# Глобулярные белки плазмы крови –

это простые белки, глико- и металло-протеины

## Электрофоретическое разделение и распределение белков плазмы крови по фракциям

**A** – альбумины  
(транстиретин и др.)

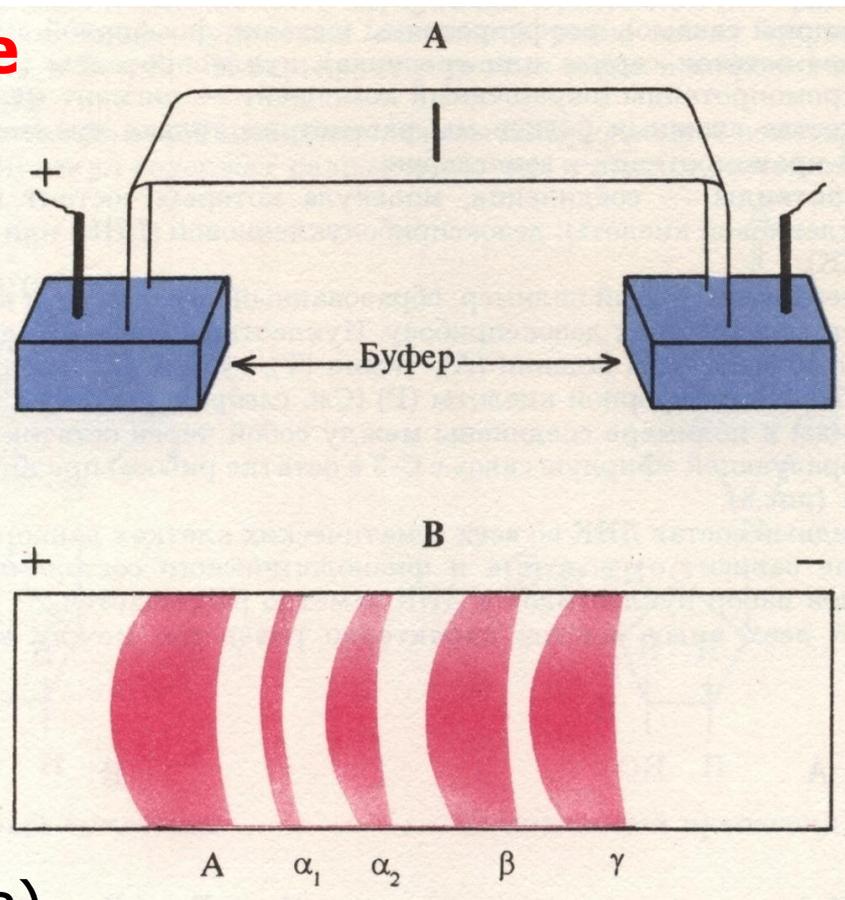
### Глобулины:

**$\alpha_1$**  – протеиназный ингибитор  
(антитрипсин)

**$\alpha_2$**  – церулоплазмин  
(транспорт ионов Cu)

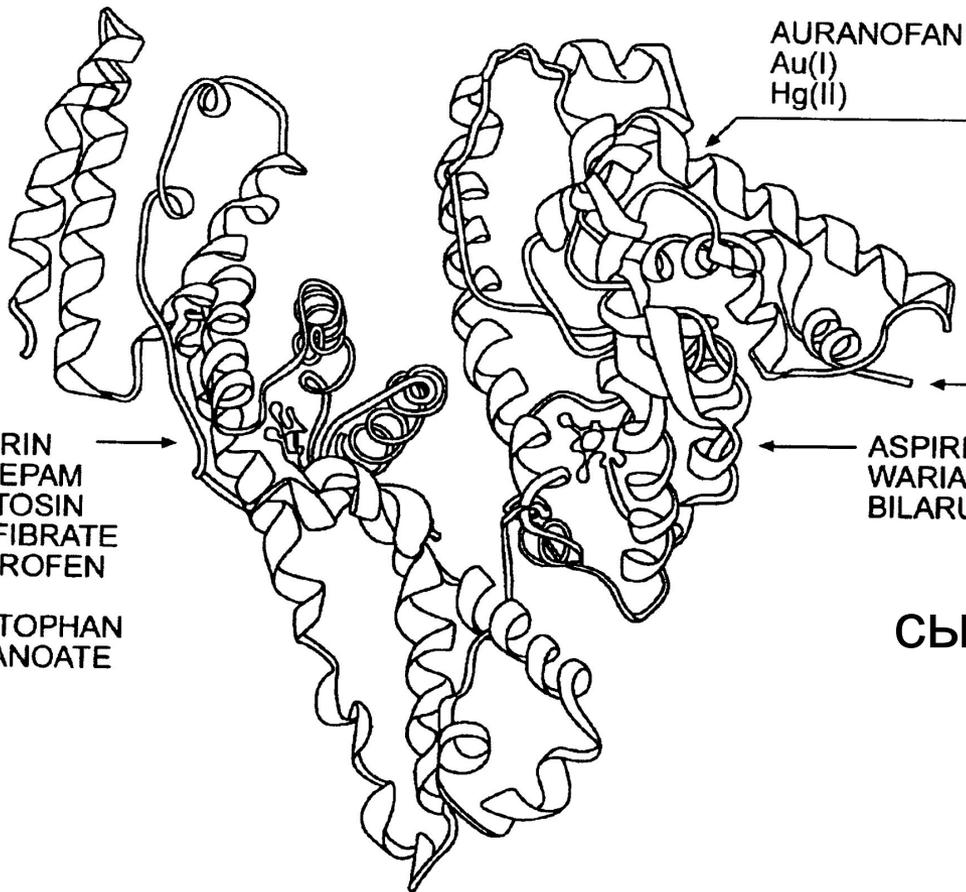
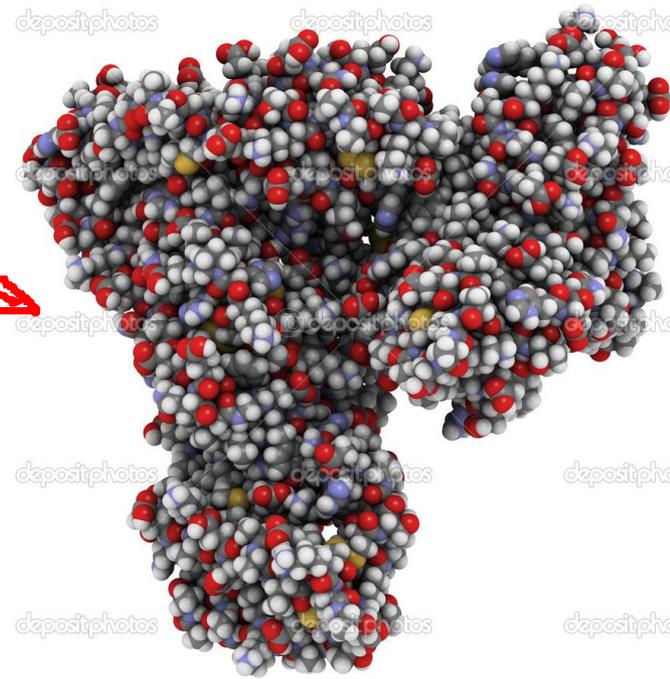
**$\beta$**  – трансферрин  
(транспорт Fe)

**$\gamma$**  – иммуноглобулины (антитела)

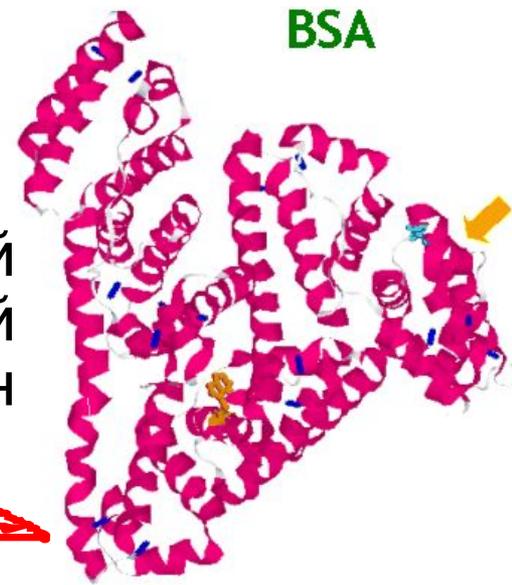


# • Сывороточный альбумин человека

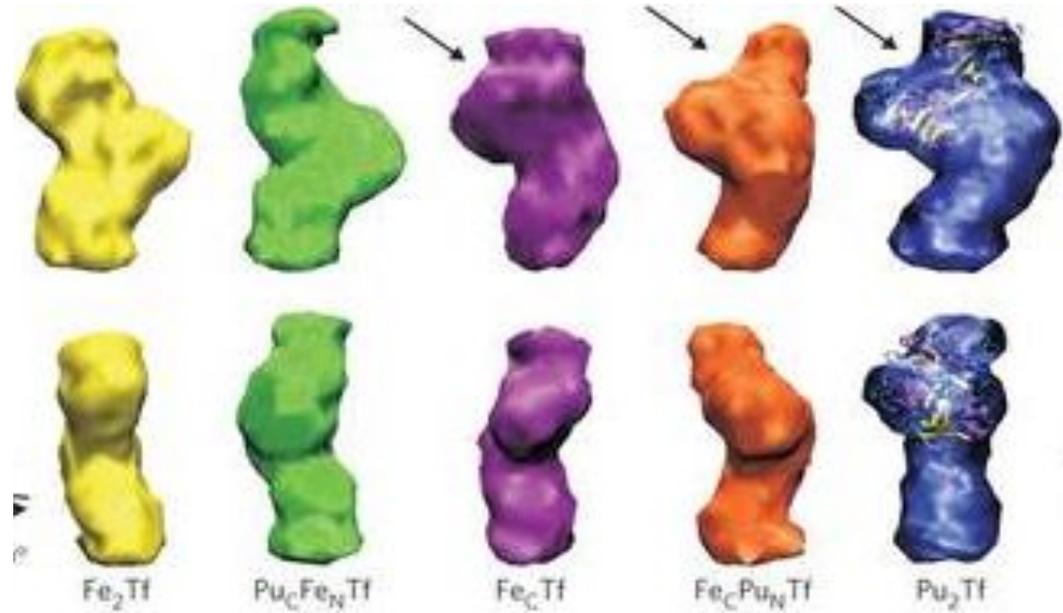
## Места связывания альбумина с транспортируемыми молекулами



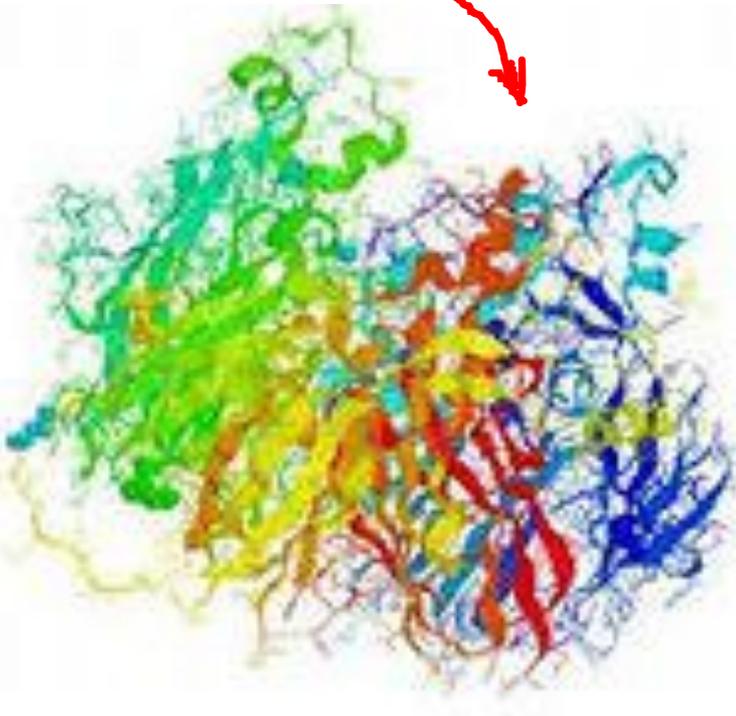
Бычий сывороточный альбумин



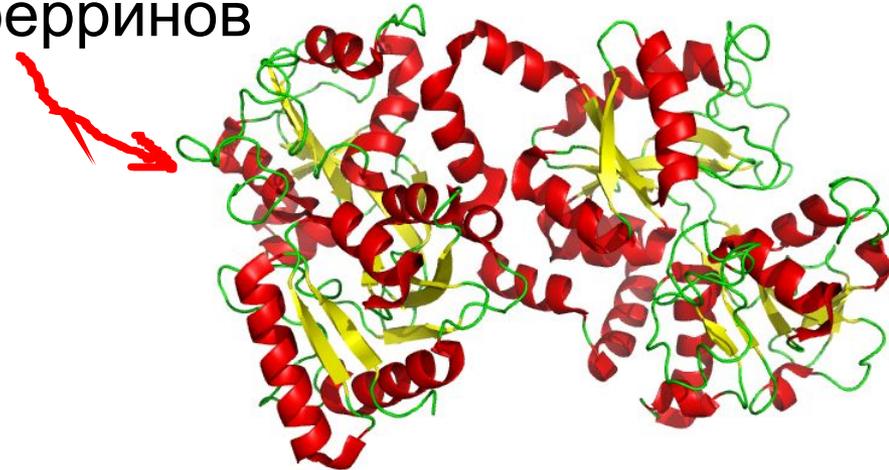
# Пространственное строение комплексов металл-трансферрин



## Строение церулоплазмина

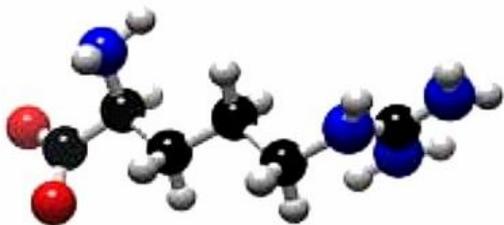


## Белок лактоферрин из семейства трансферринов



# Простые глобулярные белки

- **Проламины, глютелины** – простые белки растительной природы. Пищевое значение. Находятся в зернах различных хлебных злаков. Особенность – растворимы в 60-80% спирте, но нерастворимы в воде и абсолютном этаноле. Представитель – глиадин, составляющий главную часть клейковины. Содержат ПРО,ГЛУ. Проламины богаты АРГ.
- **Протамины** – простые белки, не содержат серы, у некоторых видов играют роль гистонов, подобны им по свойствам (в составе  $\approx 80\%$  АРГ). Находятся в сперматозоидах, выполняют структурную роль.

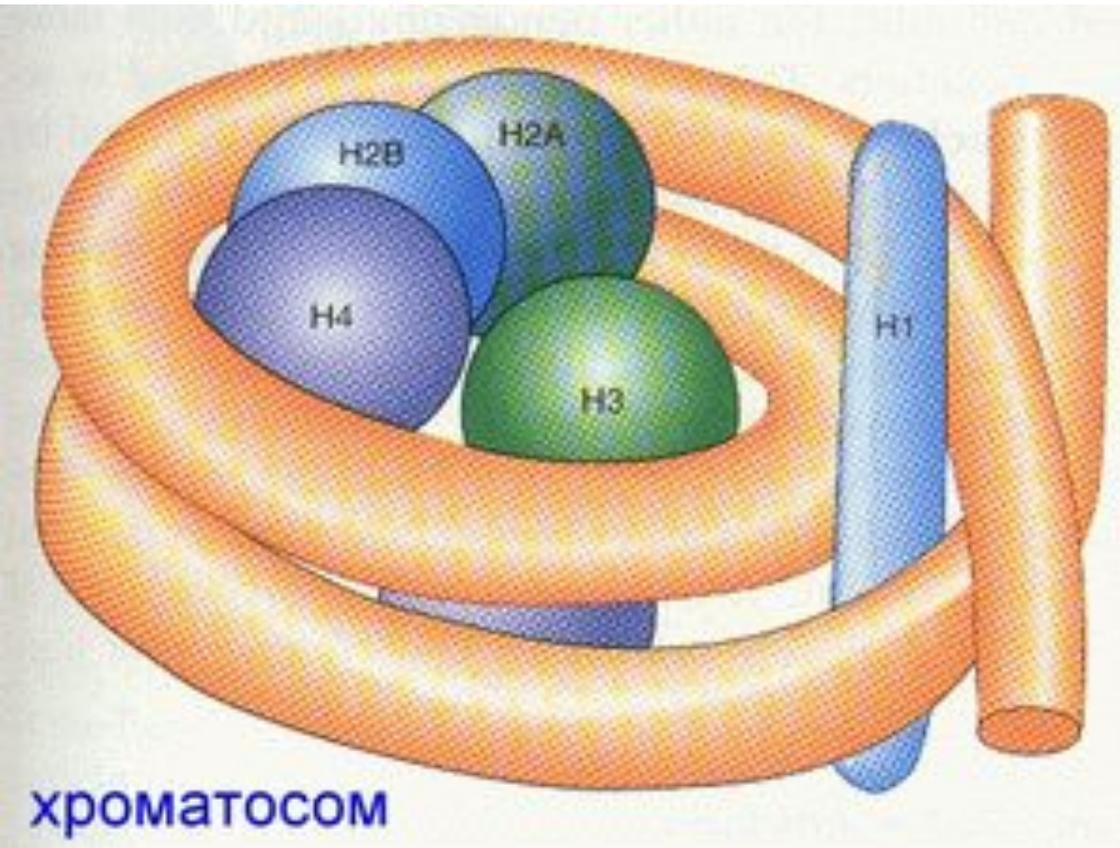


Аргинин



Взаимодействие  $\alpha$ -спирали протамин с ДНК.

# Гистоны – простые белки, связанные с ДНК (≈50% хроматина, масса ≈24 кД)



Регулируют гены, нейтрализуют “-” заряд фосфатов в составе ДНК

## 4 вида гистонов:

**H1** (очень много ЛИЗ)

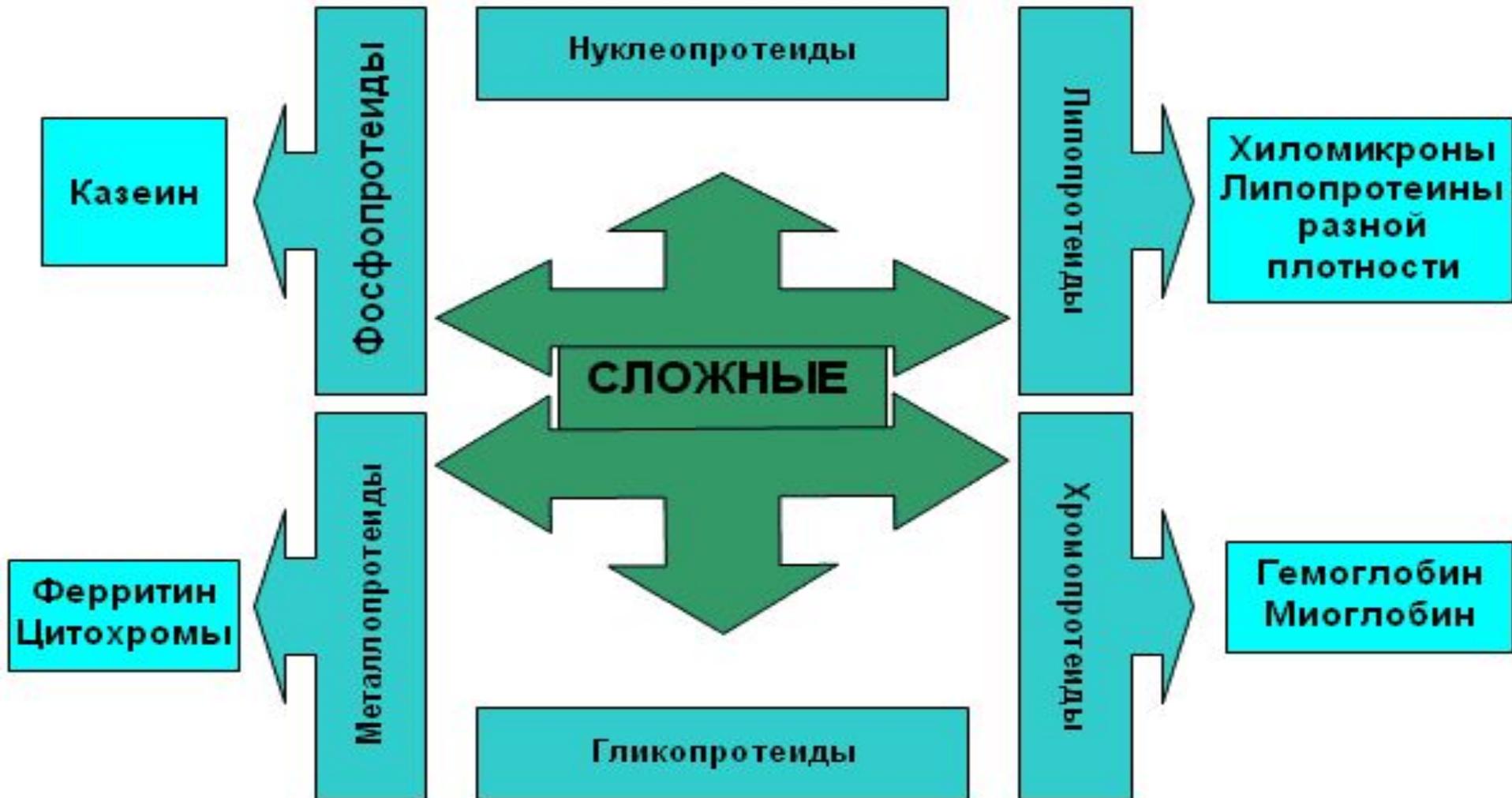
**H2a** и **H2b** (умеренно богаты ЛИЗ и АРГ)

**H3** (умеренно АРГ, ЛИЗ, ЦИС)

**H4** (умеренно АРГ, ЛИЗ, гли)

ДНК 2 раза оборачивает октамер гистонов, всё скрепляет гистон-1 (белок-шпилька)  $[2 \times (H2a + H2b + H3 + H4) = 8] + H1$

# СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

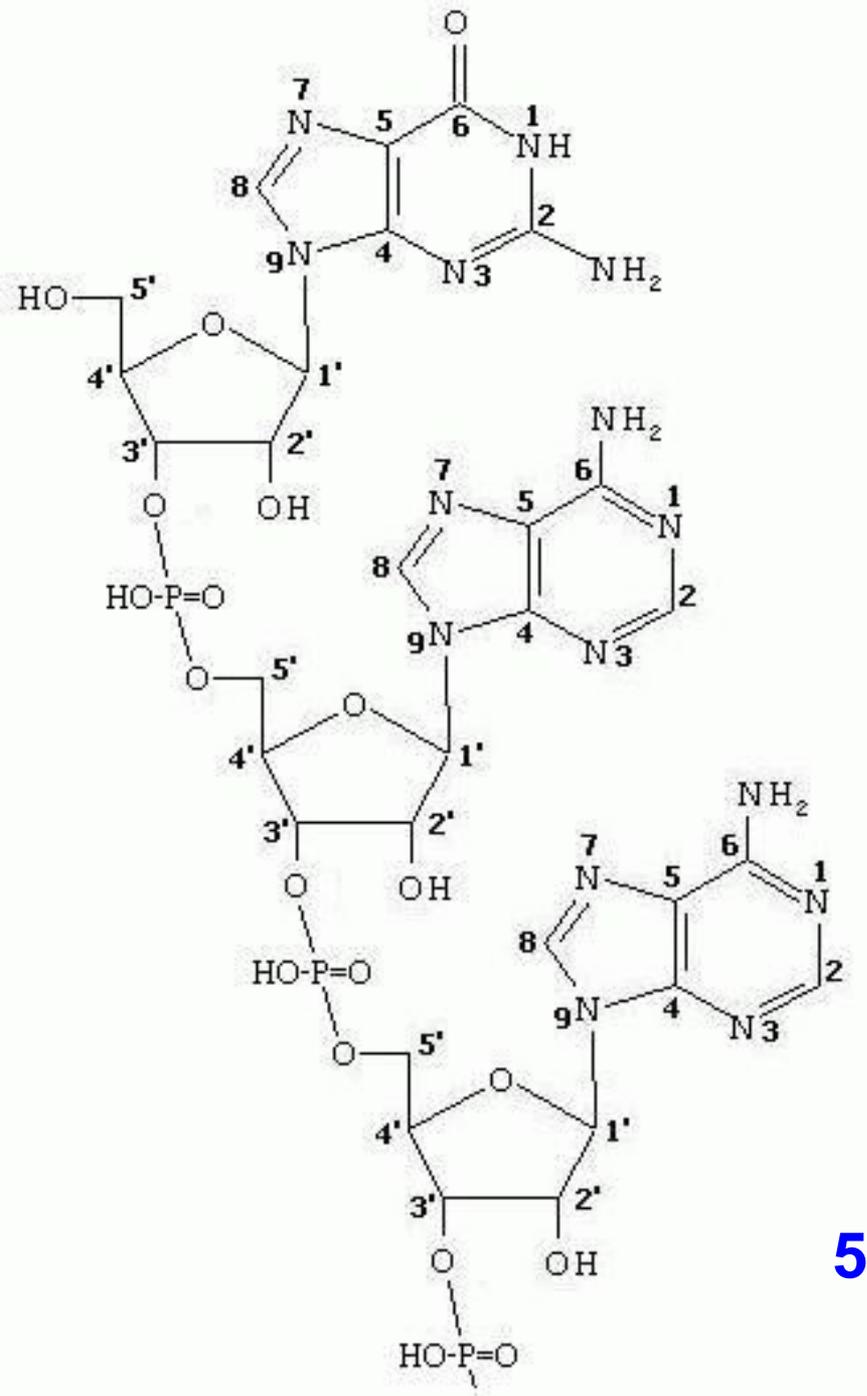


# Нуклеопротеины

- Небелковая часть нуклеопротеинов – **нуклеиновые кислоты.**

- рРНК вступает в комплекс со специфическими рибосомальными белками в рибосомах.
- иРНК в комплексе со стабилизирующими белками цитоплазмы образует информосомы.
- ДНК в комплексе с гистонами составляет хроматин ядра. В хромосомах есть негистоновые кислые белки. Их гораздо меньше, чем гистонов по количеству, но они очень разнообразны (несколько сотен). Это структурные белки укладки хромосом, ферменты синтеза, ряд белков-регуляторов.

- Нуклеиновые кислоты – полимеры из нуклеотидов, каждый из них содержит фосфорную кислоту, сахар (рибозу или дезоксирибозу), азотистое основание пуринового или пиримидинового ряда (аденин, гуанин, цитозин, тимин или урацил). Связаны нуклеотиды через фосфорную кислоту, которая придаёт НК свойства полианиона.
- Белки-гистоны, протамины нуклеопротеинов имеют «+» заряд и уравновешивают «-» заряд фосфора нуклеиновых кислот.



**Нуклеиновая кислота –  
полинуклеотид**

**Основа -  
САХАРОФОСФАТНЫЙ  
ОСТОВ**

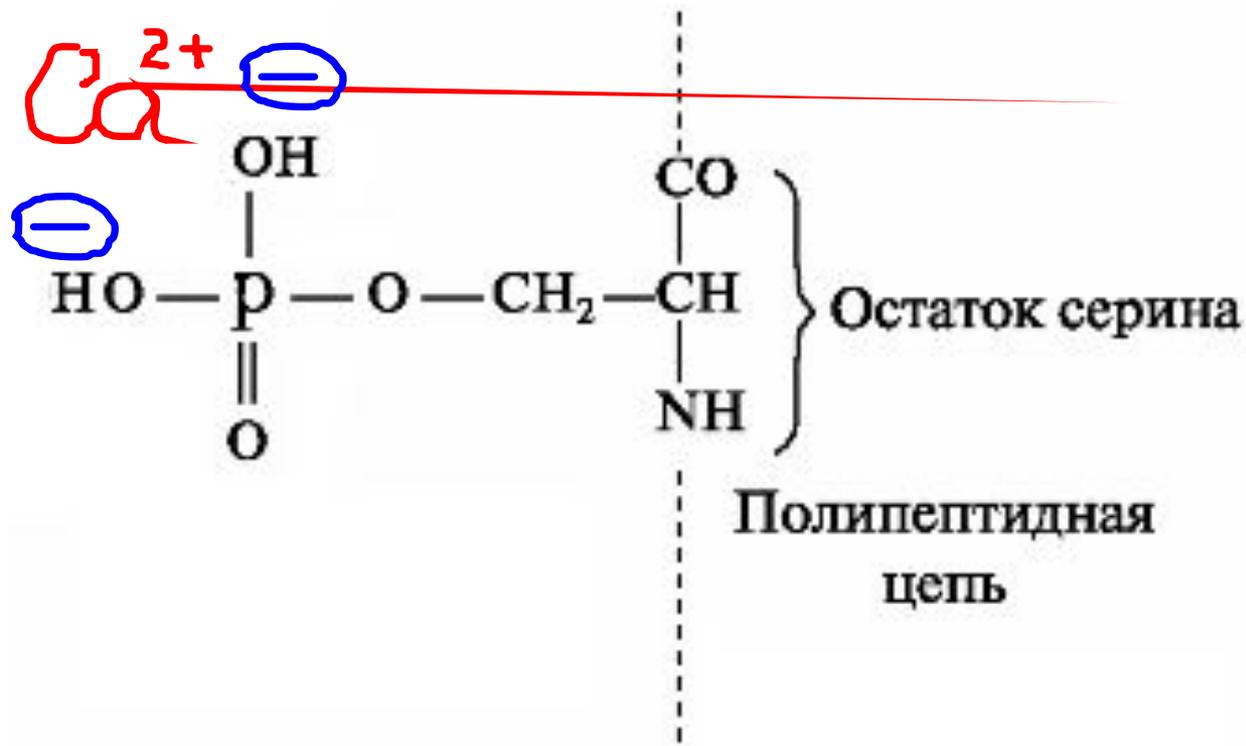
**с азотистыми основаниями  
в качестве боковых групп**

**5'-HO-G-A-A-3'**

# Фосфопротеины

Белки фосфорилируются через боковые радикалы аминокислот, имеющих ОН-группу: СЕР, ТРЕ, ТИР. В противоположность протаминам, гистонам с их основными свойствами, фосфат придаёт белкам выраженный

кислый  
характер.



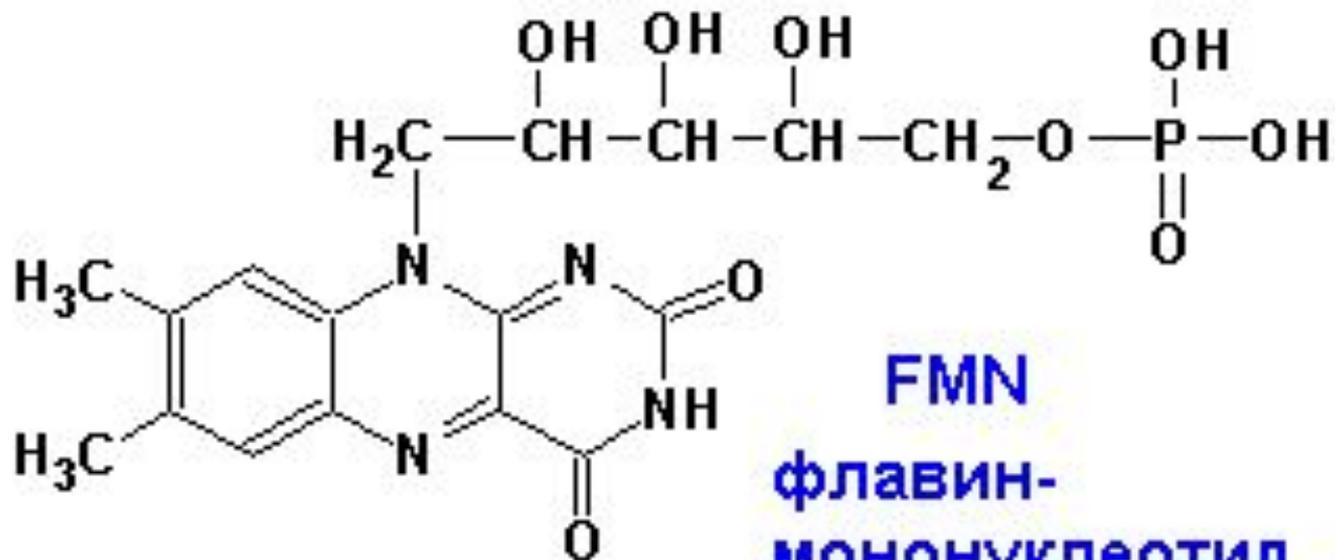
# Значение фосфопротеинов

- В кости, зубах фосфопротеины **концентрируют  $\text{Ca}^{2+}$** , что важно для минерализации. Так, в интертубулярном дентине есть специфический белок **фосфофорин**, состоящий на 40% из АСП и на 50% из СЕР (почти все остатки серина эстерифицированы фосфатом).
- Фосфорилирование для белка - часто **способ активации или ингибирования**. Пример: **ферменты синтеза/распада гликогена**.
- ЦНС богата **структурными** фосфопротеинами.
- В составе **казеина** молока, **вителлина** желтка и **овоальбумина** куриного яйца фосфорная кислота является структурным компонентом.

# Хромопротеины

- Сочетание белков с окрашенными веществами: флаво-, гемо-, ретинальпротеины и другие
- **Флавопротеины:** окислительно-восстановительные ферменты, их небелковый компонент – витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин) в виде ФМН или ФАД.  
ФМН – фосфорилированный витамин,  
ФАД – к ФМН присоединён АМФ
- **Гемопроотеины:** их небелковый компонент – гем.
  - 1) **ферменты:** каталаза ( $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2\uparrow$ ), цитохромы дыхательной цепи митохондрий ( $\text{aa}_3$ ,  $\text{b}$ ,  $\text{cc}_1$ ), микросомальной цепи окисления ( $\text{P}_{450}$ )
  - 2) **неферментативные белки** миоглобин, гемоглобин

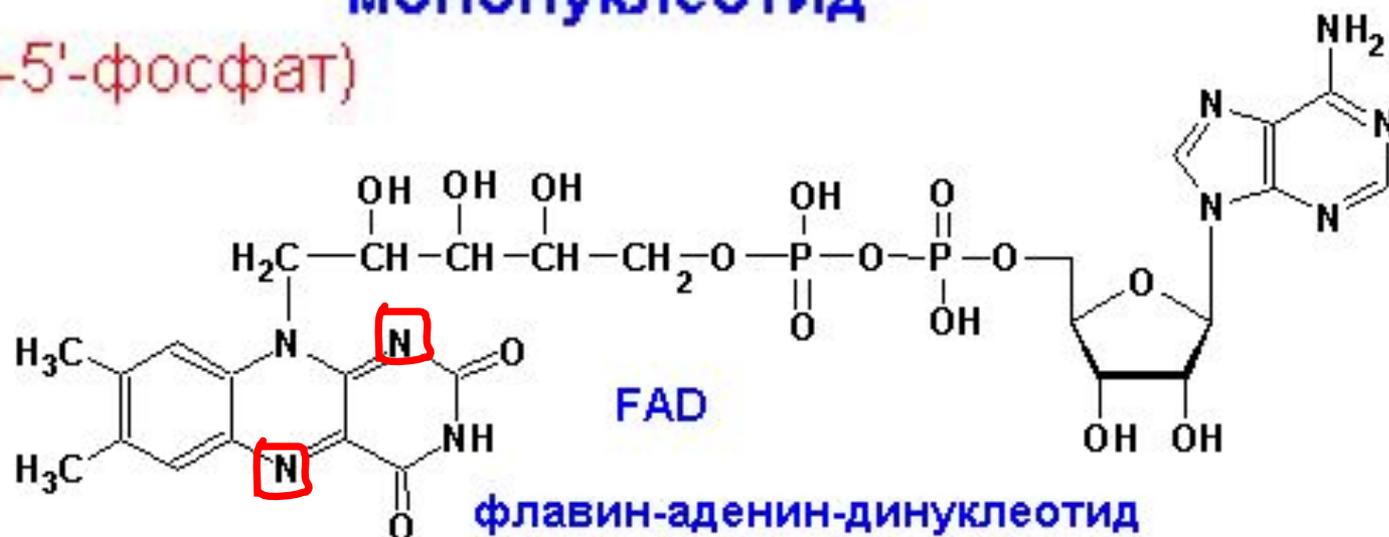
# Витамин В<sub>2</sub> – рибофлавин



FMN

флавин-  
моноклеотид

(рибофлавин-5'-фосфат)

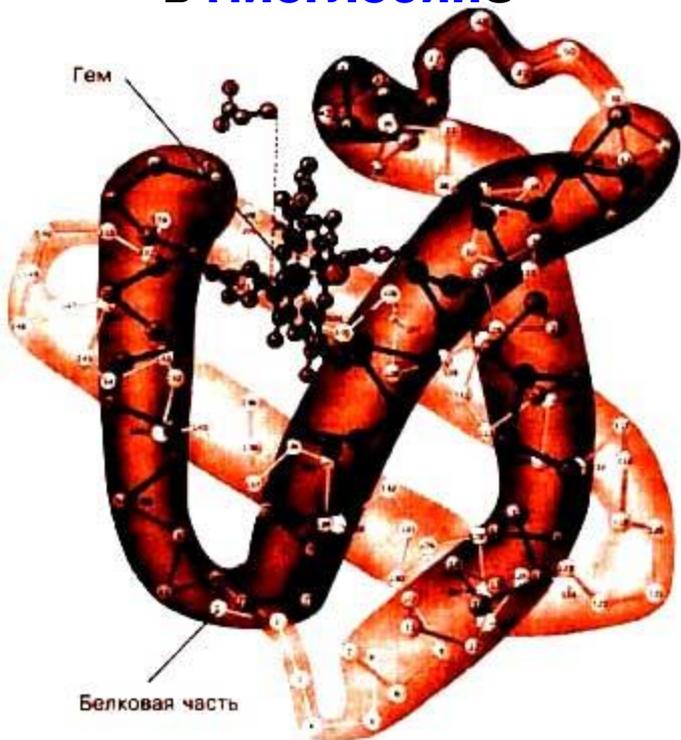


FAD

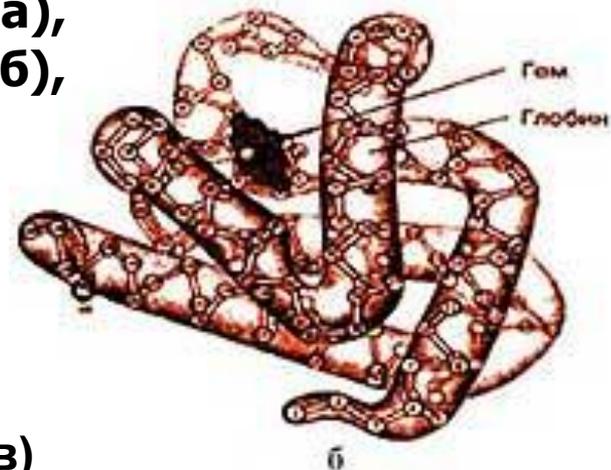
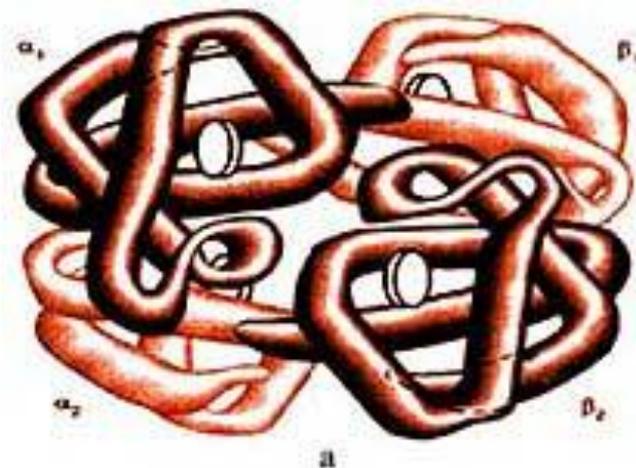
флавин-аденин-динуклеотид

# строение гемоглобина и миоглобина

Расположение гема  
и белковой части  
в **миоглобине**

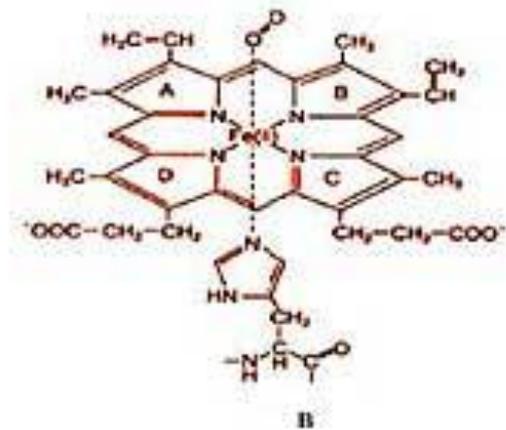


**гемоглобин** (а),  
его субъединица (б),



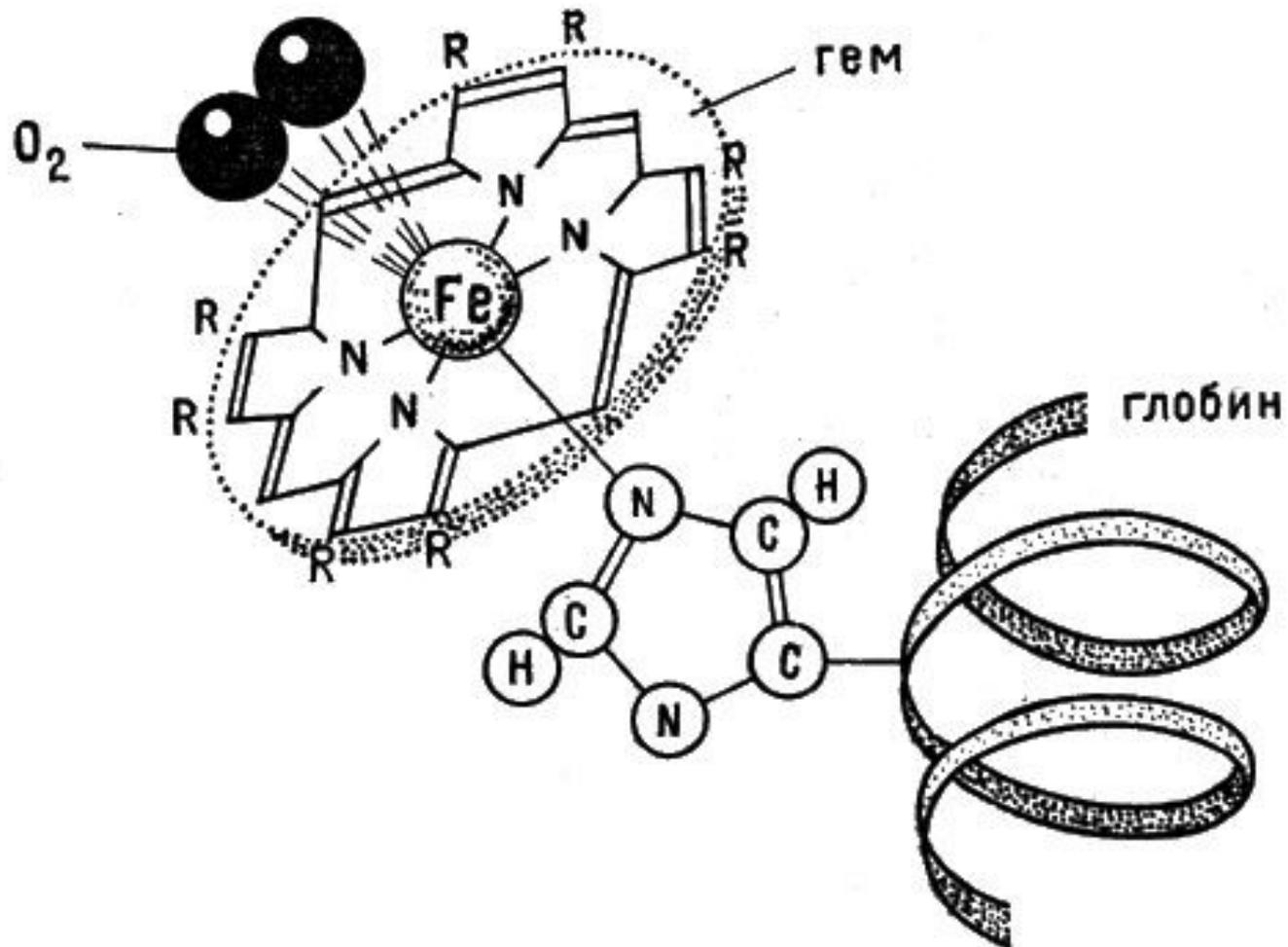
**структура гема** (в)

Связь Fe в геме с:  
1) молекулой  
кислорода  
2) боковым  
радикалом



**ГИСТИДИНА** в белке

# Связь гема с глобином и молекулой кислорода



# Металлопротеины

- Содержат ионы одного или нескольких металлов. Характерна связь ионов с Асп, Глу, Цис, Гис белка (см «цинковые пальцы», в *Hb*: связь Fe с Гис белка).

## Функции металлопротеинов.

1) являются ферментами (*Cu, Zn-СОД, Mn-СОД*).

Металлы функционируют в активном центре фермента:

- никель – кофактор *уреазы*, расщепляющей мочевину на аммиак и углекислый газ;
- ванадий – кофактор *нитратредуктазы*

2) транспортируют металлы,

3) хранят металлы (наиболее важно связывание металлов переменной валентности Fe, Cu и др.).

Например, в отношении *Fe*: *ферритин* – депо Fe, *трансферрин* – транспортирует ионы железа.

Часто к металлопротеинам относят Гемопроотеины (*гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза и др.*)

# Липопротеины (ЛП)

- Это белки, соединённые с липидами

1) **транспортные ЛП** крови. Это надмолекулярные структуры, содержат все классы липидов и белки, контакт через гидрофобные связи.

**Функция** – перенос триацилглицеролов и холестерина по организму с током крови.

**Строение** – гидрофобные липиды (ТАГ, эфиры холестерина) окружены оболочкой из амфифильных фосфолипидов, холестерина и А,В,С,Д- апобелков. Снаружи оболочка ЛП гидрофильна.

**Классы трансп. липопротеинов:** хиломикроны (ХМ), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП или пре- $\beta$ -ЛП), низкой плотности (ЛПНП или  $\beta$ -ЛП), высокой (ЛПВП или  $\alpha$ -ЛП) плотности.

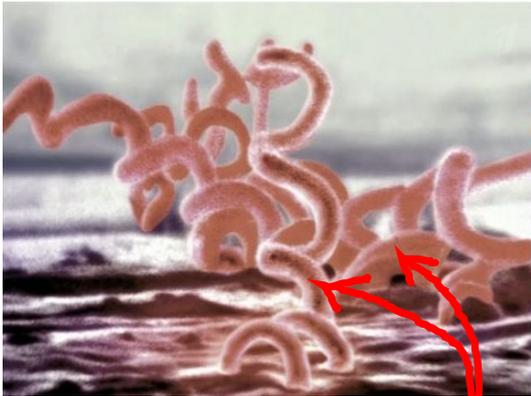
В ряду транспортных ЛП постепенно снижается количество ТАГ, возрастает количество ФЛ и белка.

**транспортные  
ЛП крови**



## 2) **структурные ЛП** мембран (не путать 1и2!)

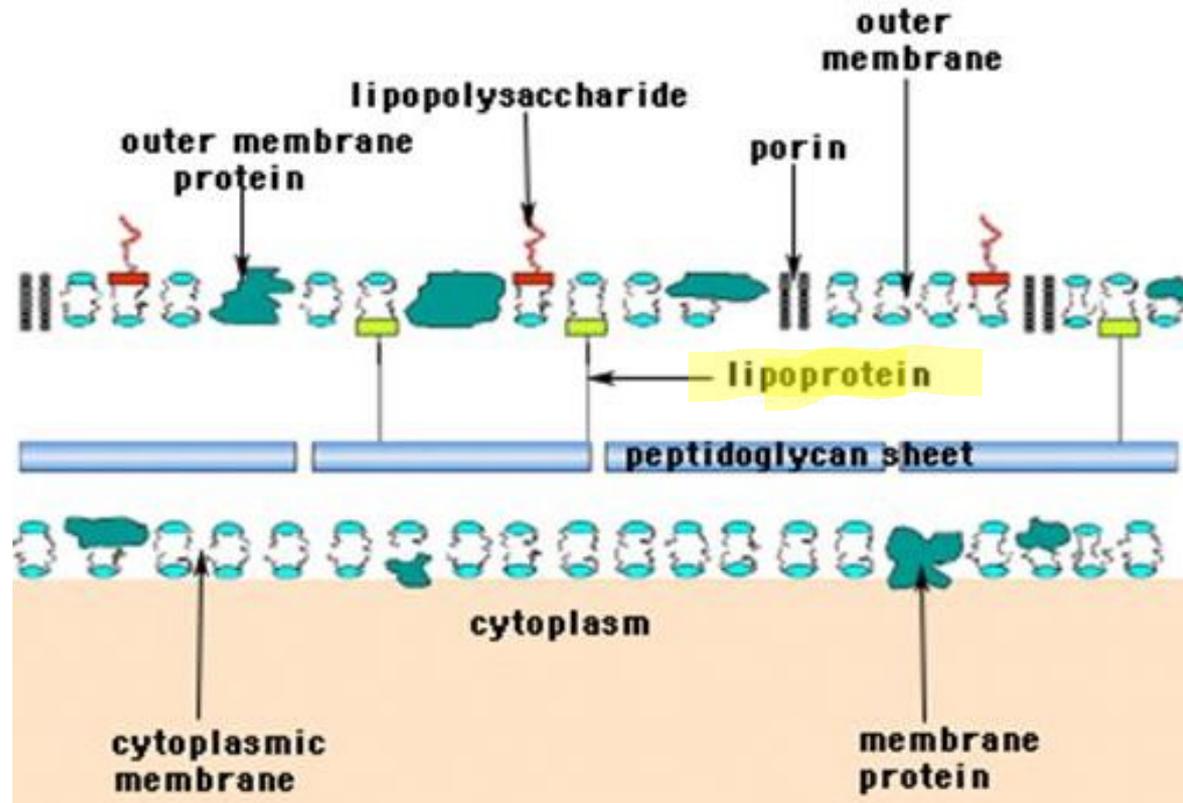
есть в тканях зуба, кости. В мембране липопротеины осуществляют **функции**: - механической целостности



Пример:

наружная стенка бледной трепонемы состоит из липопротеинов и белков.

Липопротеины поддерживают механическую целостность мембраны, а встроенные в мембрану белки – это специфические рецепторы, определяющие способность бактерии к поражению определенных клеток организма).

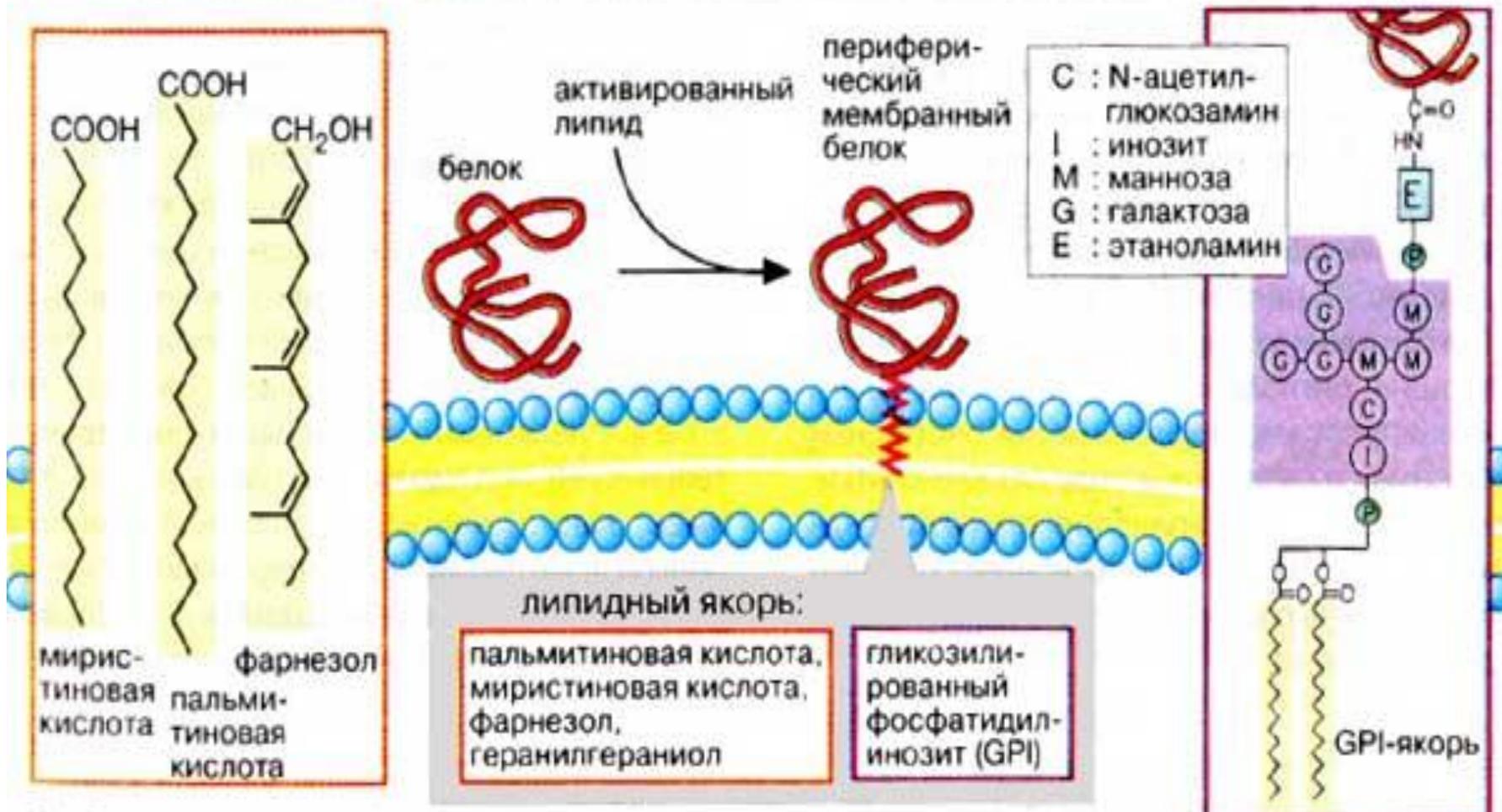


Н  
Ы  
а  
В  
с

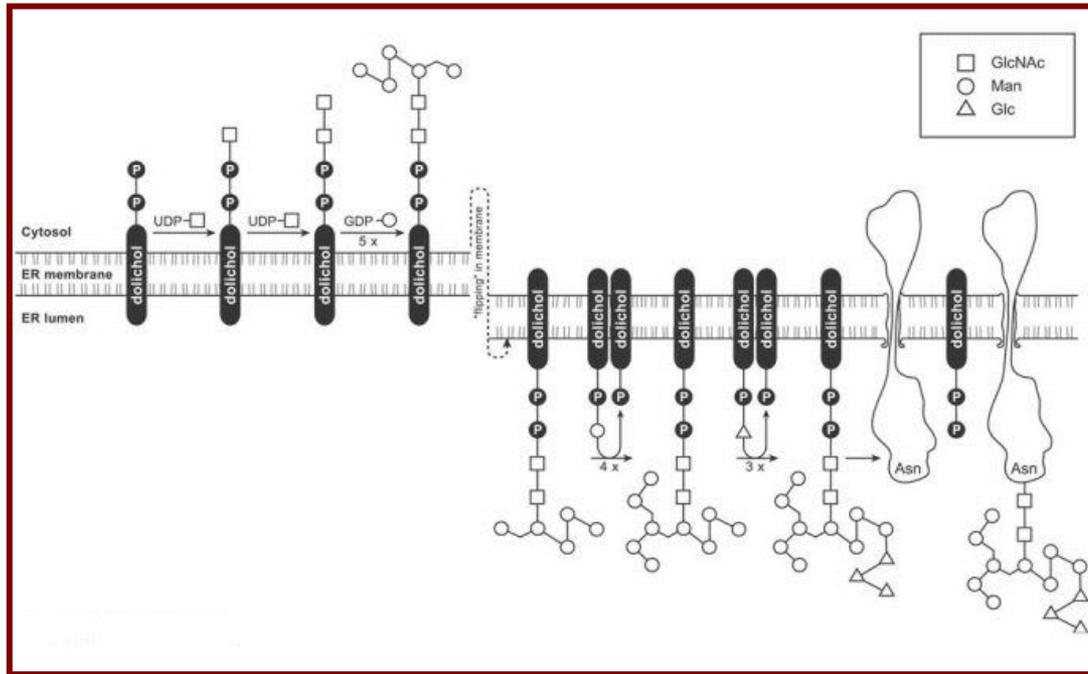
а  
н  
у  
б  
е  
д

# - заякоривания белков в мембране

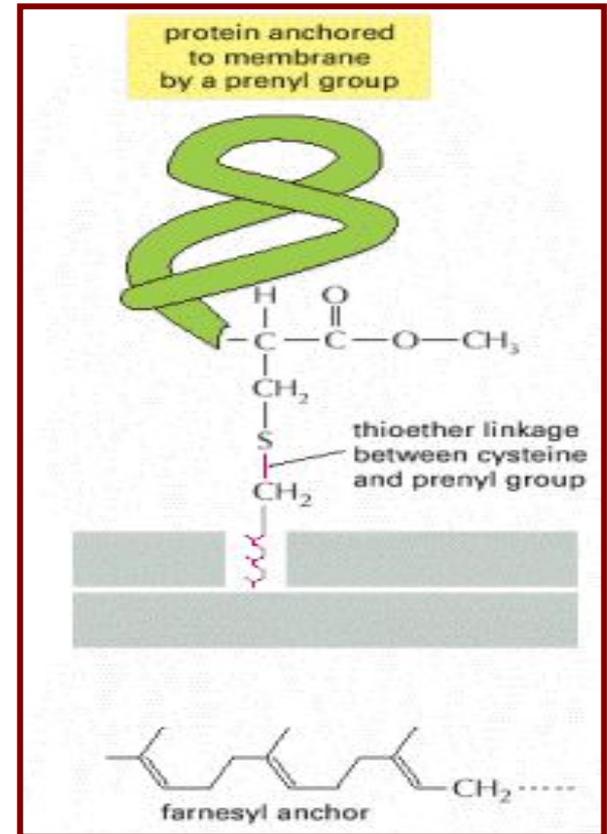
(связи: через  $\text{NH}_2$ -группу этаноламина, тиоэфирная связь между цистеином и пренильной группой изопреноидного липидного якоря и другие)



# Начальные этапы N-гликозилирования в ЭТР



# Пренилирование белков в мембране клетки



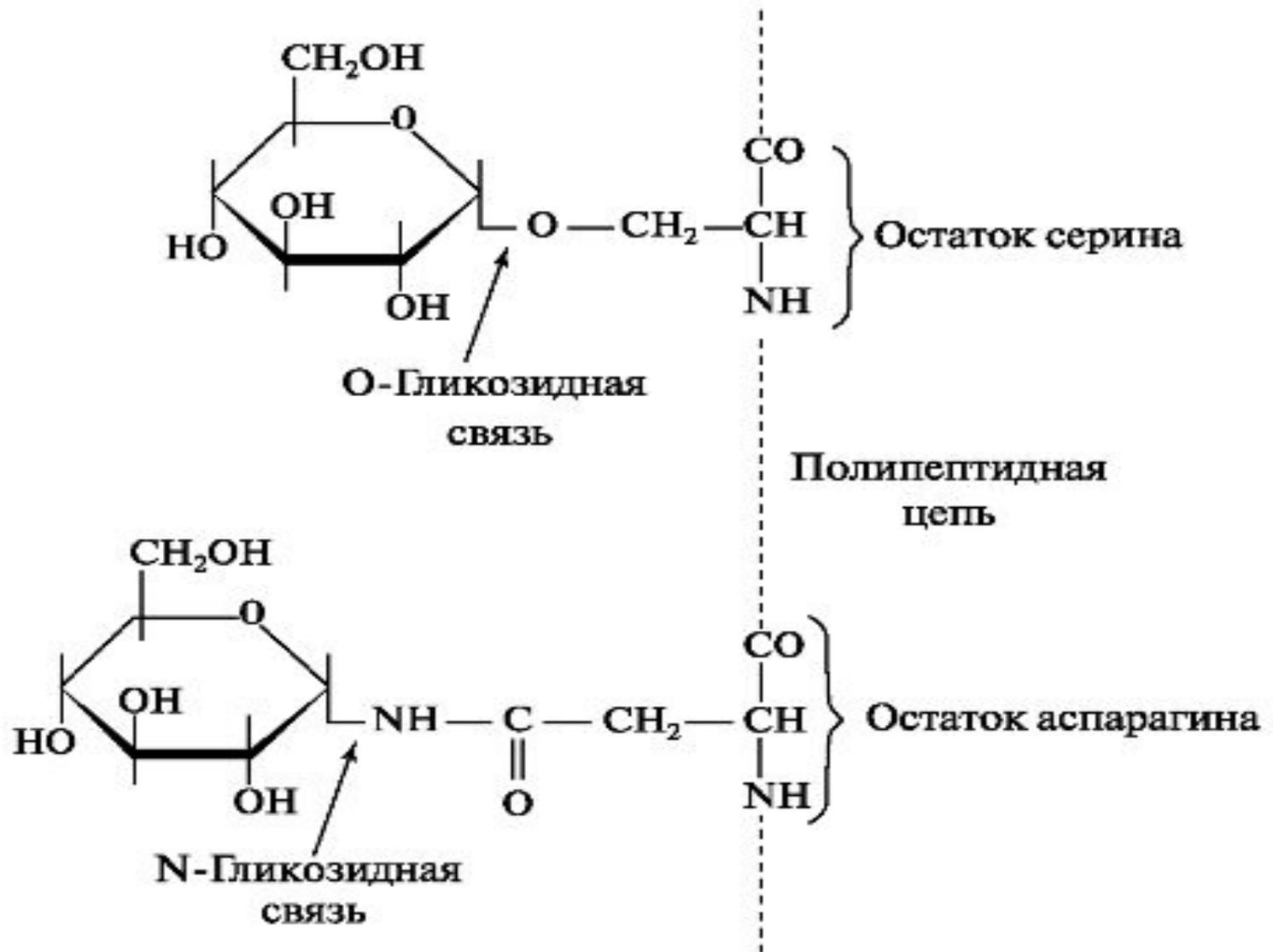
- Синтез сложного олигосахарида, связанного с мембраной через «липидный якорь» **долихолдифосфат** ( $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-P-P-dolichol}$ );
- Перенос олигосахарида на белок, связь с белком через **АСН**

- Если в качестве «липидного якоря» **изопреноид фарнезил**, **то** преимущественная **ориентация белков - вне клетки**.
- Связь с белком через **ЦИС**

# Гликопротеины, протеогликаны

- Содержат углеводную часть, соединённую с белком ковалентно через боковые радикалы СЕР, ТРЕ (атом О) или АСН (атом N).
- Сахарная часть защищает белок от протеолиза, придаёт белку новые свойства (биологическую активность, заряд, растворимость, устойчивость к  $t^{\circ}\text{C}$ ), влияет на взаимодействие с мембранами клеток и трансмембранный перенос, является важным компонентом межклеточных контактов.

# O- и N-гликозидные связи

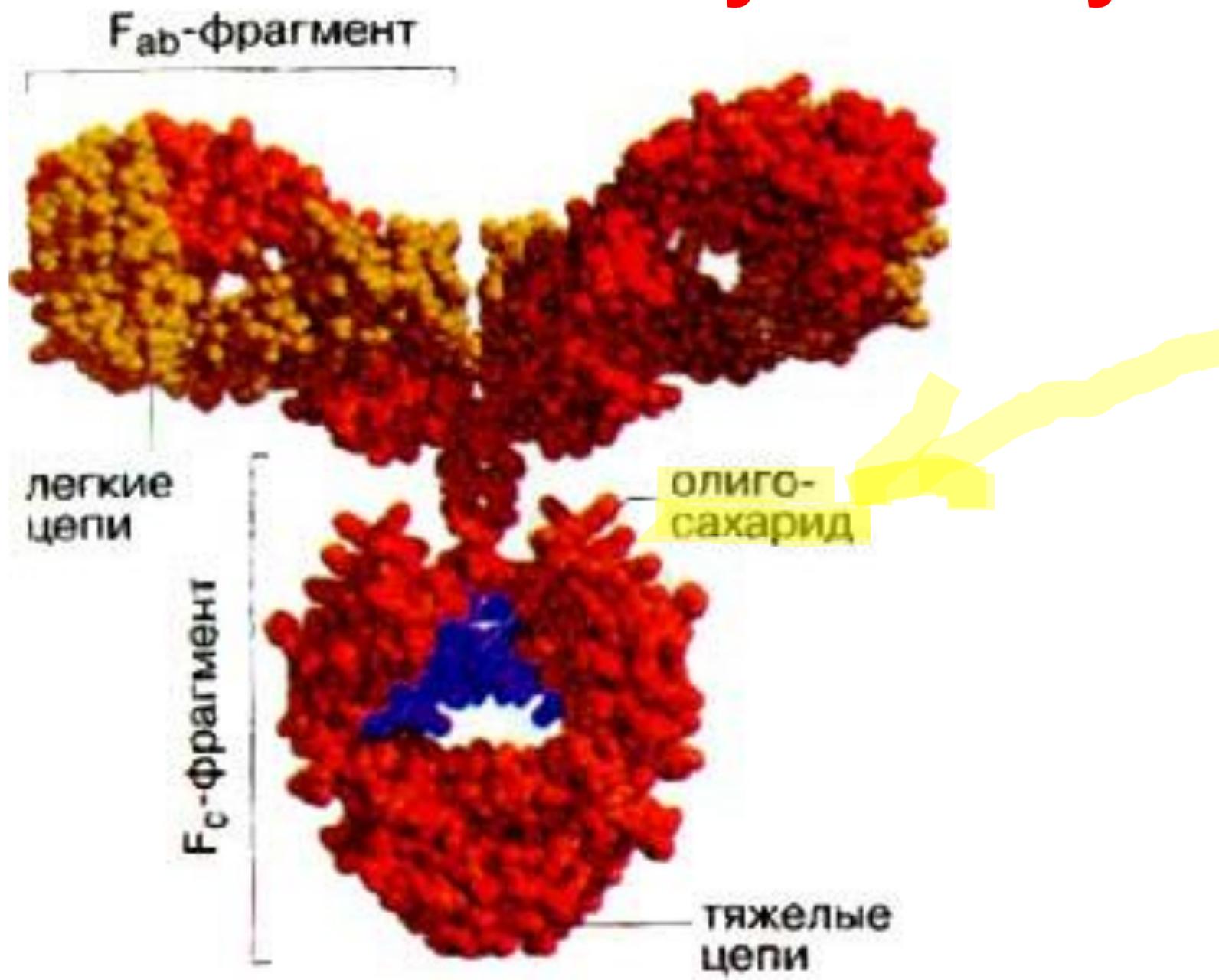


# Структурные различия 2-х классов белково-углеводных комплексов

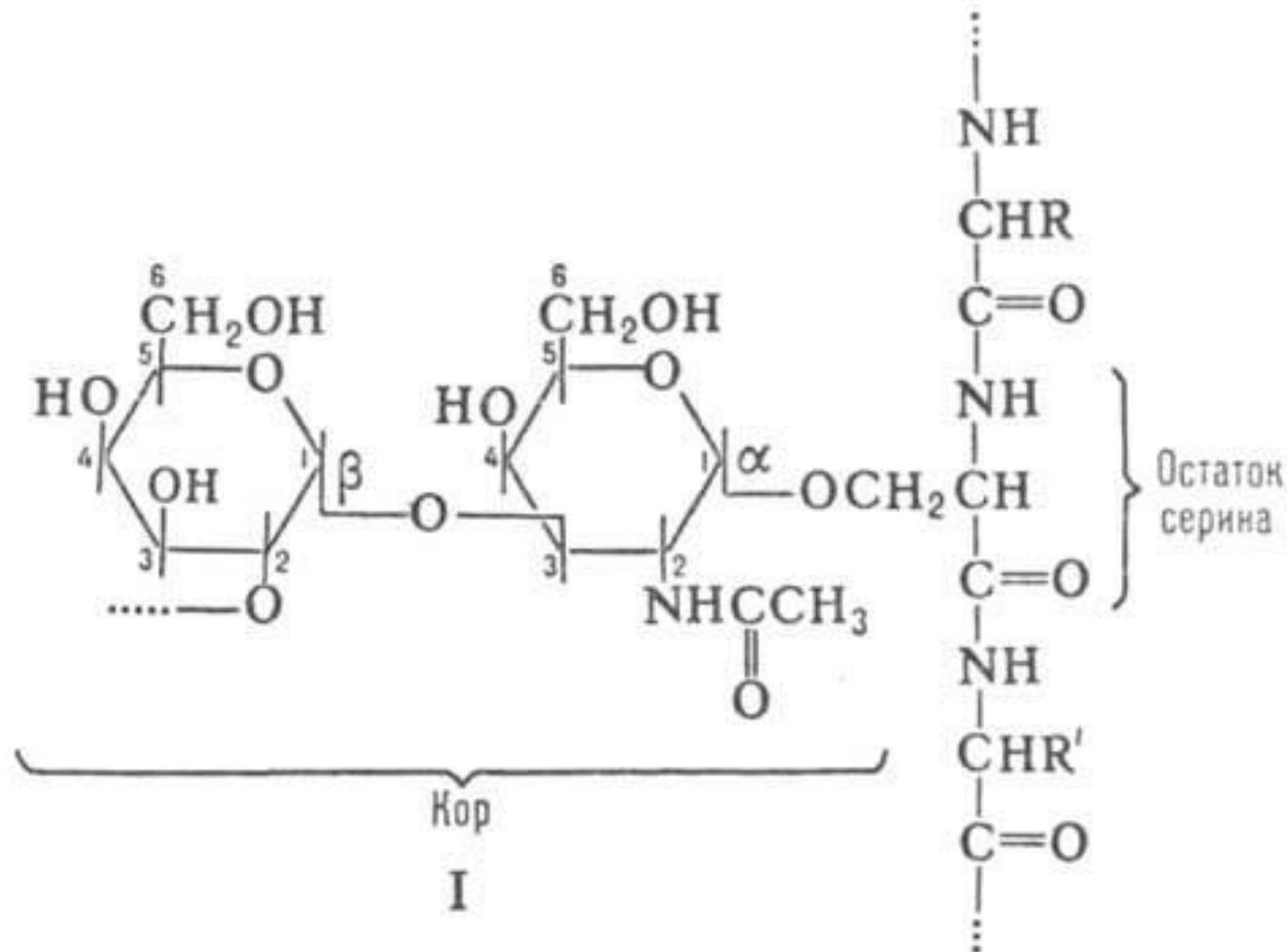
- В **гликопротеинах** чаще всего 10-20% углеводов в виде коротких цепей из простых и амино-сахаров, нет уроновых сахарных кислот.
- В **протеогликанах** 85-90% углеводов в виде очень длинных полимерных сахарных цепей гликозаминогликановой природы, содержащих уроновые кислоты.

- В **гликопротеинах** углевод обычно второстепенен, не входит в активные функциональные участки белка.
- Гликопротеины:
  - гормоны (ТТГ, АКТГ),
  - белки соединительной ткани, кости и зуба (коллаген, фибронектин, ламинин и др.),
  - транспортные белки (трансферрин и др.),
  - белки свёртывающей сист. (фибриноген),
  - белки иммунной системы (Ig A, M, G, D, E),
  - белки групп крови,
  - составная часть рецепторов клеток.

# Иммуноглобулин G

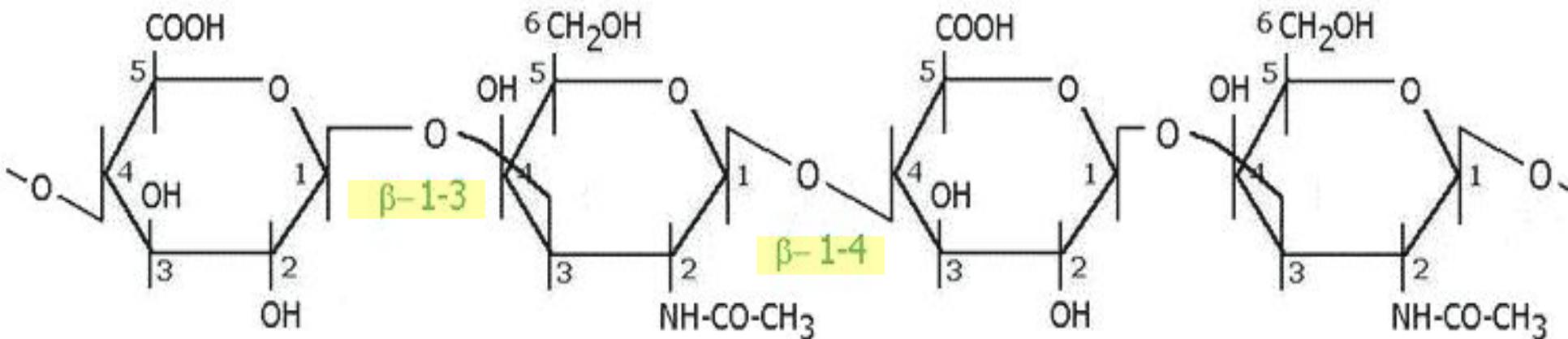


Широко распространено соединение белковой части  
 ГП с углеводной посредством связи СЕР с  
 дисахаридом (N-ацетилгалактозамин-галактоза-...)



- В **протеогликанах** основная часть – цепи полимерных углеводов из кислых гетерополисахаридов (их структурным мономером является дисахарид из уроновой кислоты и аминосахара). Такие полимеры называют «гликозаминогликаны», их 6 видов: гиалуроновая кислота, хондроитин-, кератан-, дерматан-, гепаран- сульфаты и гепарин.
- Протеогликаны – базовый компонент межклеточного матрикса соединительной ткани, костей, тканей зуба, базальных мембран, смазки суставов, тканей глаза. Протеогликаны притягивают воду, создают тургор тканей.

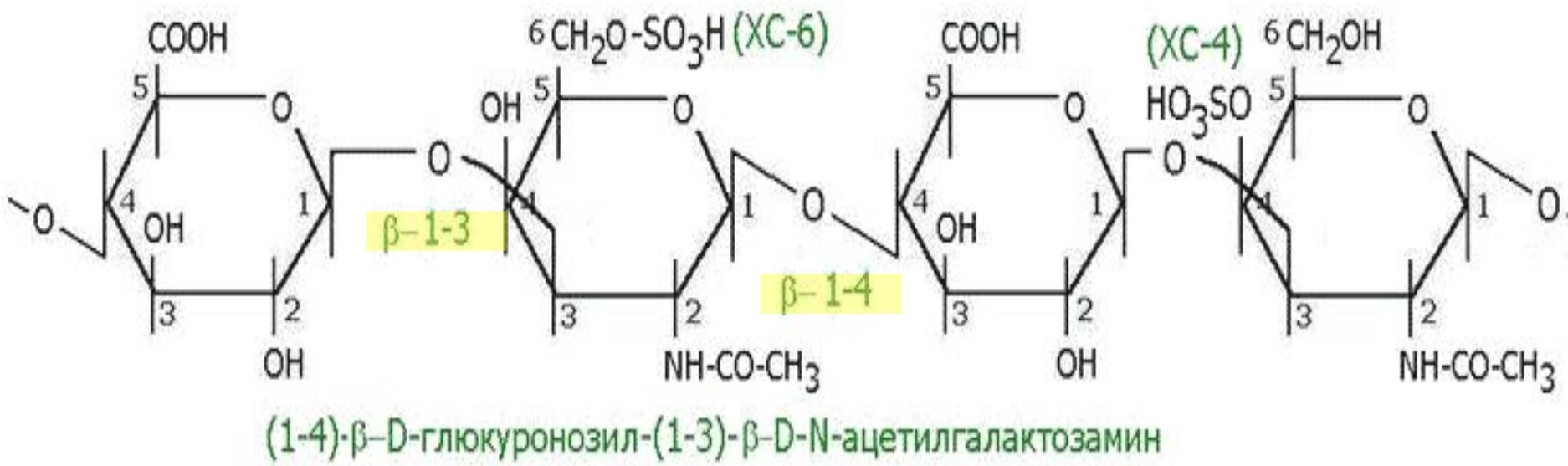
## ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА



- **линейный полимер из глюкуроновой кислоты и ацетилглюкозамина.**

Входит в состав клеточных стенок, синовиальной жидкости, стекловидного тела глаза, обволакивает внутренние органы, является желеобразной бактерицидной смазкой. Важный составной элемент кожи, хрящей, сухожилий, костей, зубов ... основное вещество послеоперационных рубцов (спайки, рубцы – препарат «гиалуронидаза» )

## ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТЫ- 6 И -4



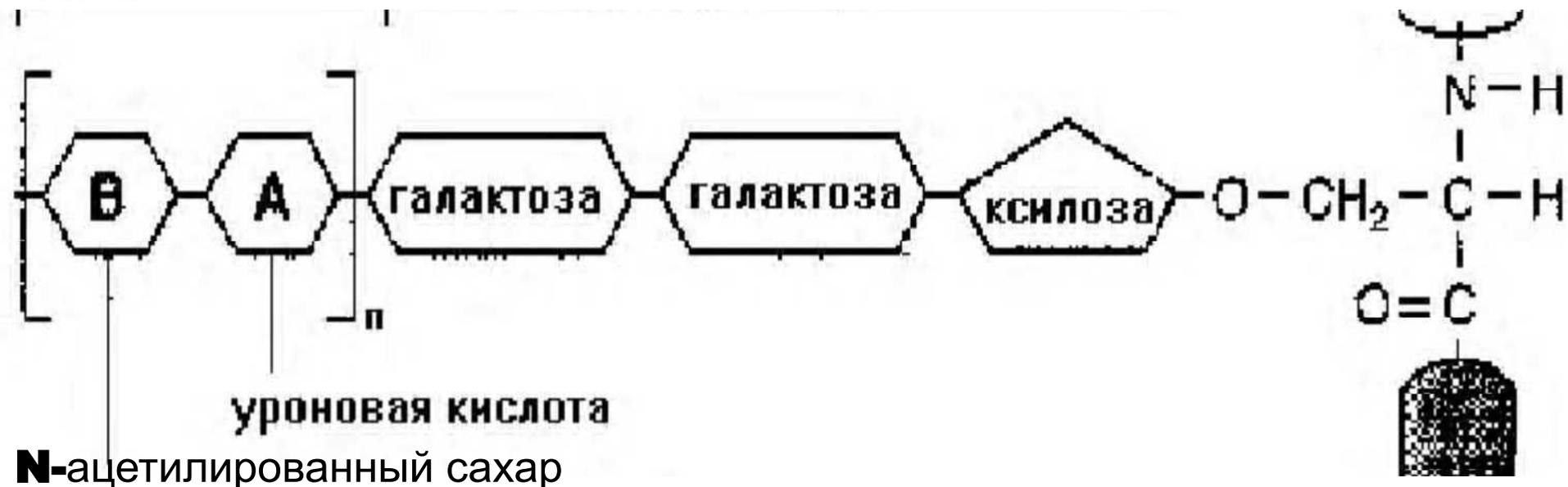
разветвленные сульфатированные полимеры из **глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина.**

Основные компоненты хрящей, сухожилий, роговицы глаза, содержатся в коже, костях, зубах, пародонте.

ГАГ соединены с белком (его называют коровым, от “core” - сердце) через блок («кор») из простых сахаров,

Я  
В  
К  
О  
Ж  
е  
К

Гликозаминогликан - связывающий трисахарид (КОР) - серин корового белка



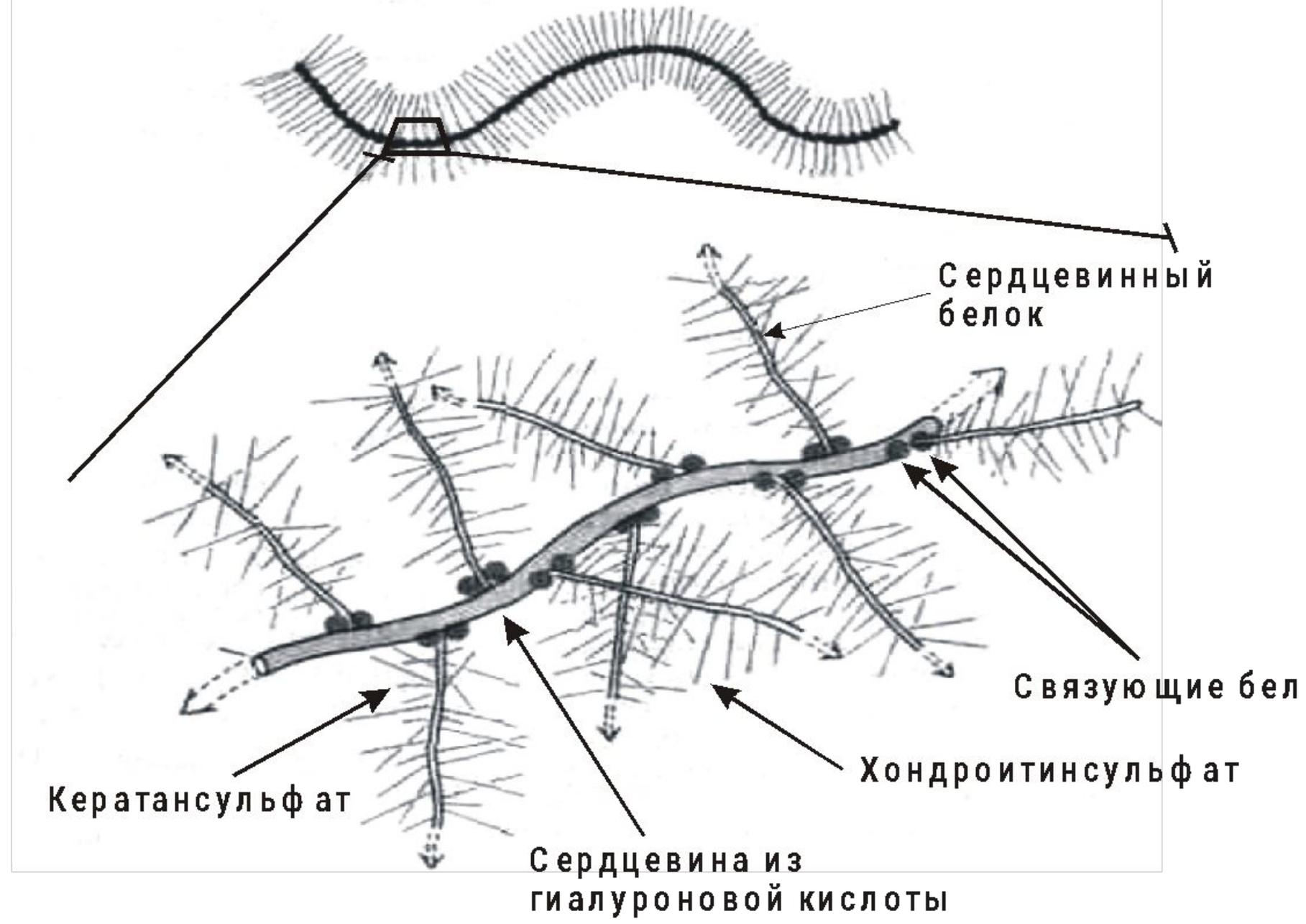
## Связь ГАГ-полисахаридов с коровым белком:

1. O-гликозидная между СЕР и ксилозой
2. O-гликозидная между СЕР(ТРЕ) и N-ацетилглюкозамином
3. N-гликозиламидная между АСН и N-ацетилглюкозамином

## Классификация протеогликанов:

- I) Большие (агрекан, версикан);
- II) Малые, богатые ЛЕЙ;
- III) Мембранные: 1) ПГ клеточных и 2) ПГ базальных мембран)

Протеогликановый агрегат



Сердцевинный белок

Связующие белки

Хондроитинсульфат

Кератансульфат

Сердцевина из гиалуроновой кислоты