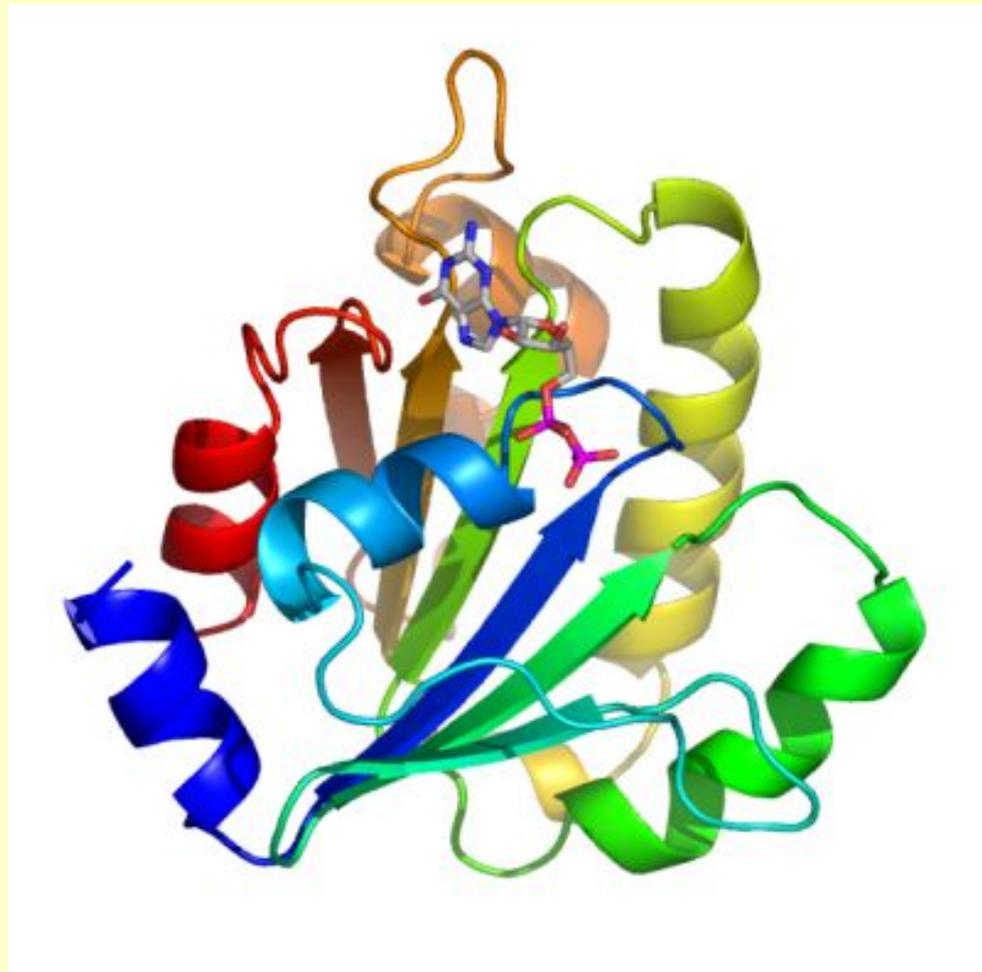


ЛЕКЦИЯ 16

ПЕПТИДЫ. БЕЛКИ



П Л А Н

16.1 Пептиды, образование, электронное и пространственное строение пептидной связи

16.2 Установление первичной структуры пептидов

16.3 Стратегия пептидного синтеза

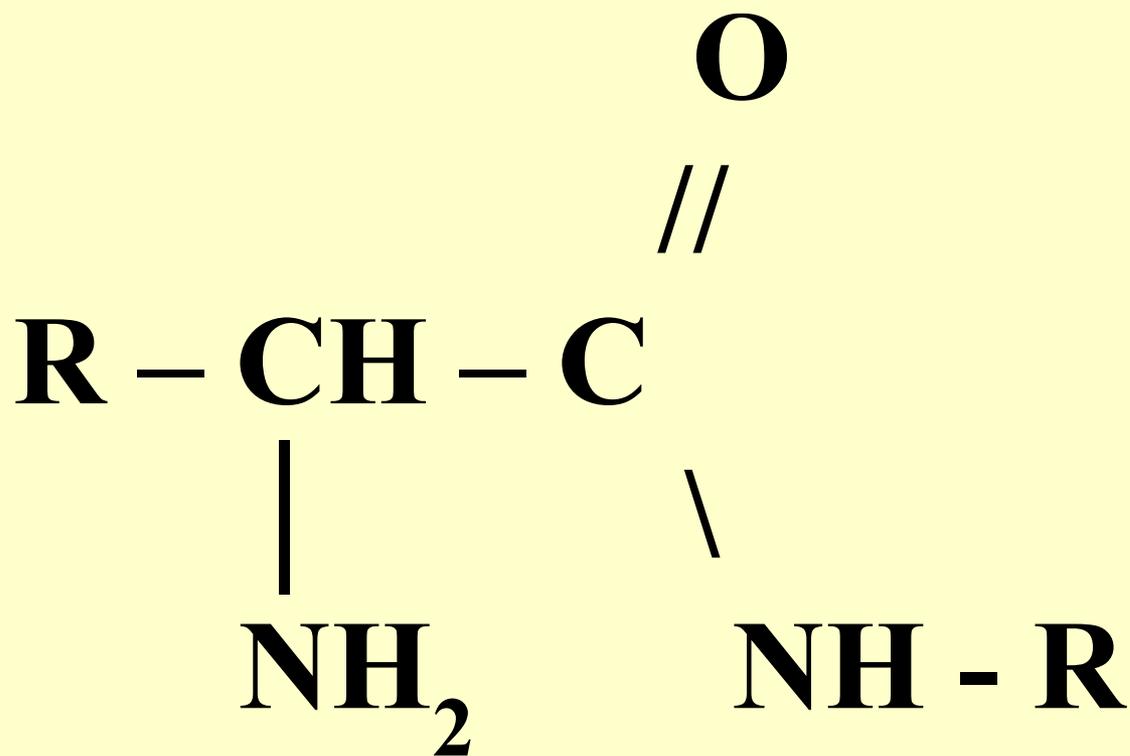
16.4 Белки

16.1 ПЕПТИДЫ

Среди производных α -аминокислот
важнейшими являются амиды,
где замещенная аминогруппа
представляет собой остаток 2-й
аминокислоты

Амиды такого типа называют
пептидами

Общая формула замещенных амидов



Пептиды - природные или
синтетические вещества,
построенные из остатков
 α -аминокислот, соединенных
амидными (пептидными)
связями

**Амидная связь
была названа
пептидной связью
Э. Фишером, он
первым
предположил
первичную
структуру для
белков**

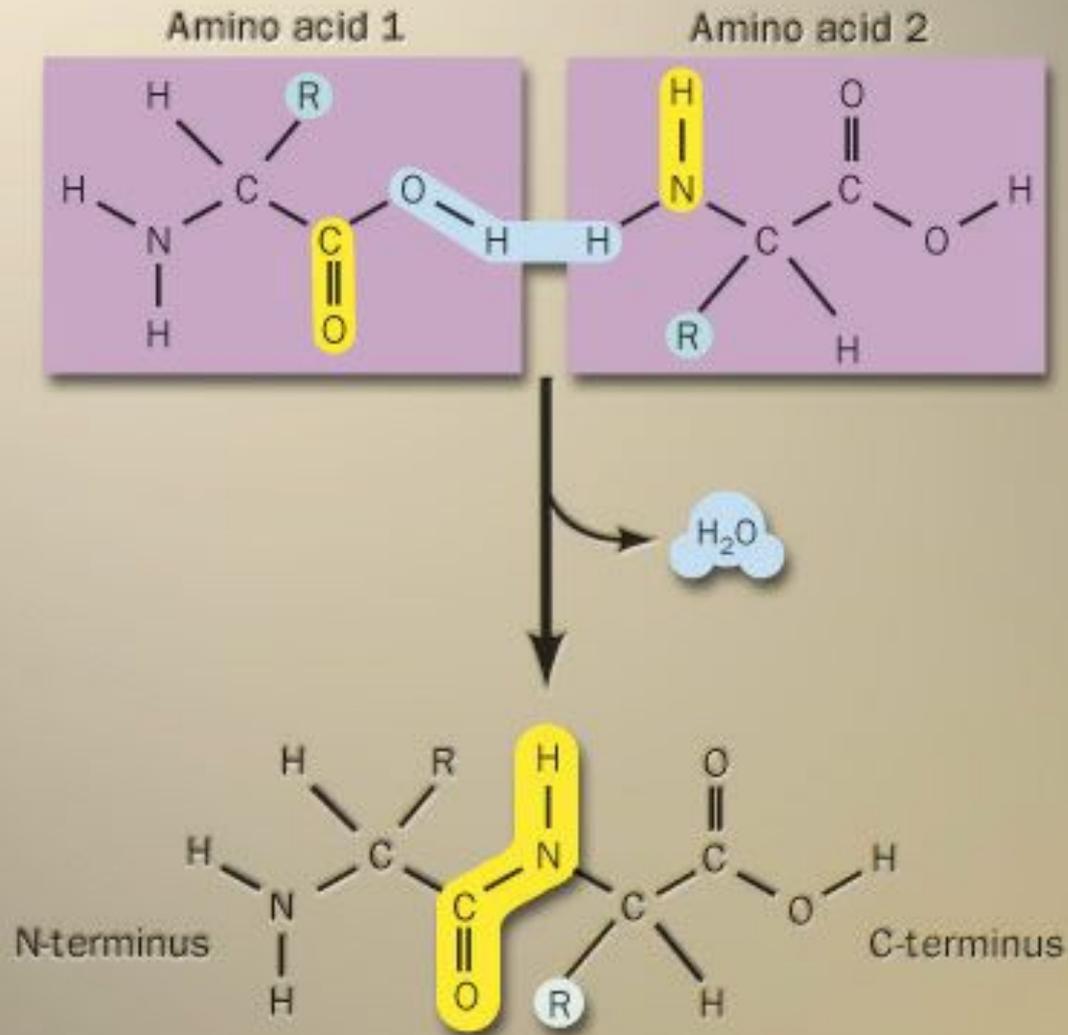


**Э. Фишер
(1852-1919)**

Функции пептидов

- 1. Выполняют функции биорегуляторов различных биологических и физиологических процессов: регулируют тонус сосудов (вазопрессин, ангиотензин), моторику и секрецию ЖКТ (гастрин, холецистокинин), сон, бодрствование, эмоциональное поведение, память, обучение, синаптическую передачу**
- 2. Стимулируют секрецию гормонов гипофиза (АКТГ, соматотропный гормон)**
- 3. Регулируют иммунитет (гормоны тиму-са, тафтсин)**

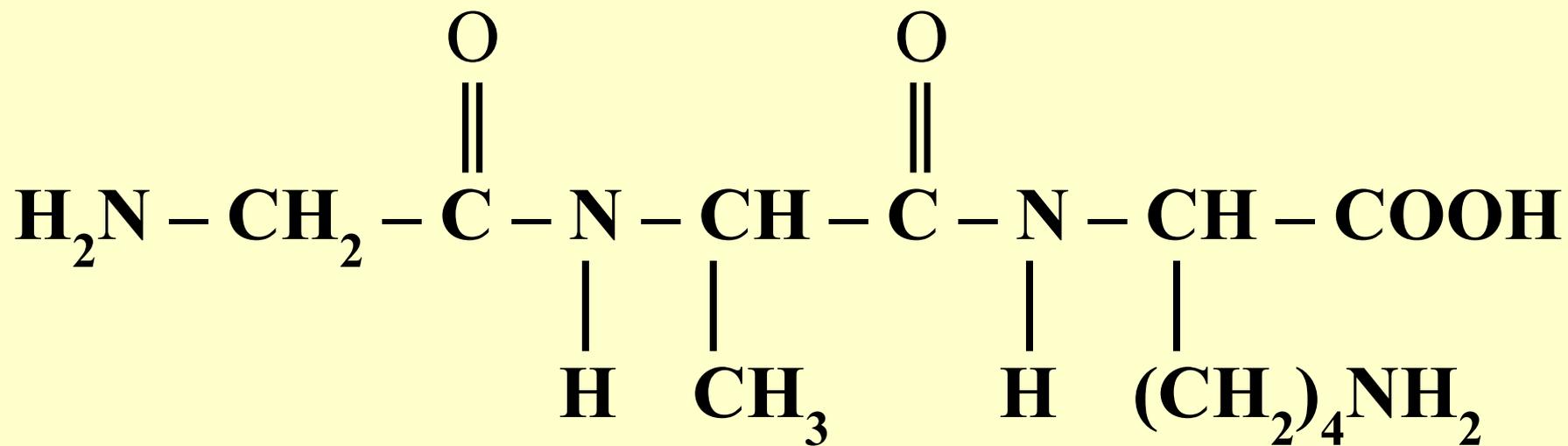
**Пептидную природу имеют
некоторые антибиотики
(циклоспорин А, грамицидины),
алкалоиды, токсины пчел и ос,
змей, ядовитых грибов (фаллоидин
и аманитин бледной поганки),
холерный и ботулинический
ТОКСИНЫ**



Peptide bond

При построении названий пептидов в названии аминокислот окончание **ИН заменяется на **ИЛ**, а название аминокислоты, содержащей свободную карбоксильную группу остается без изменения (для остатка аспарагиновой кислоты – аспартил)**

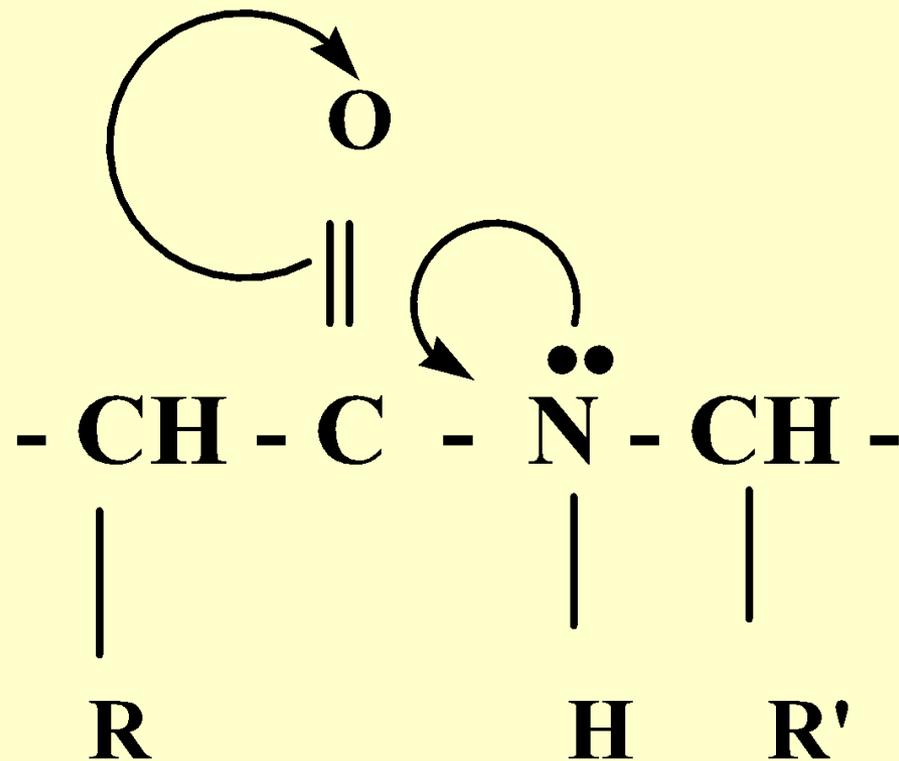
При построении белковых
молекул с диамино- или
дикарбоновыми
аминокислотами в
образовании пептидной связи
участвуют $\alpha\text{-NH}_2$ или $\alpha\text{-COOH}$



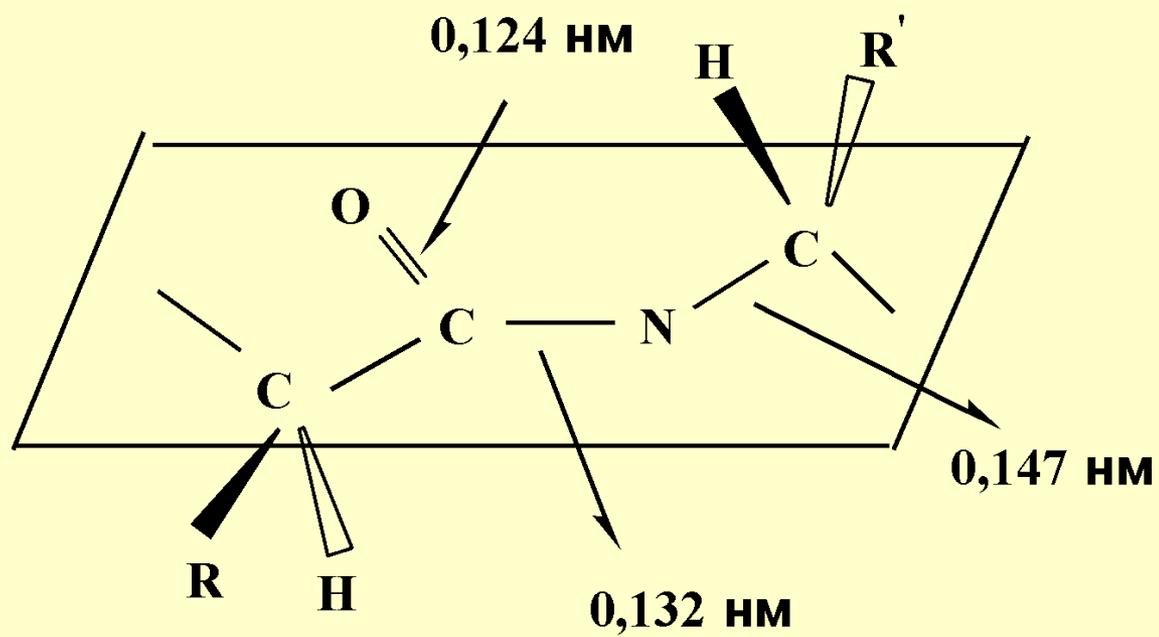
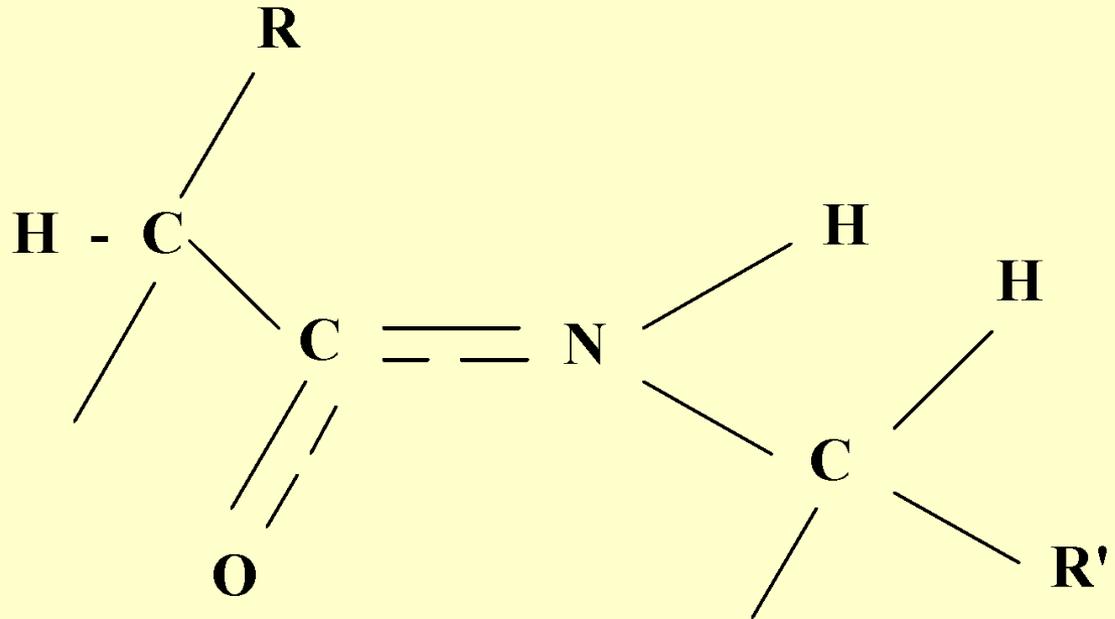
глицилаланилизин

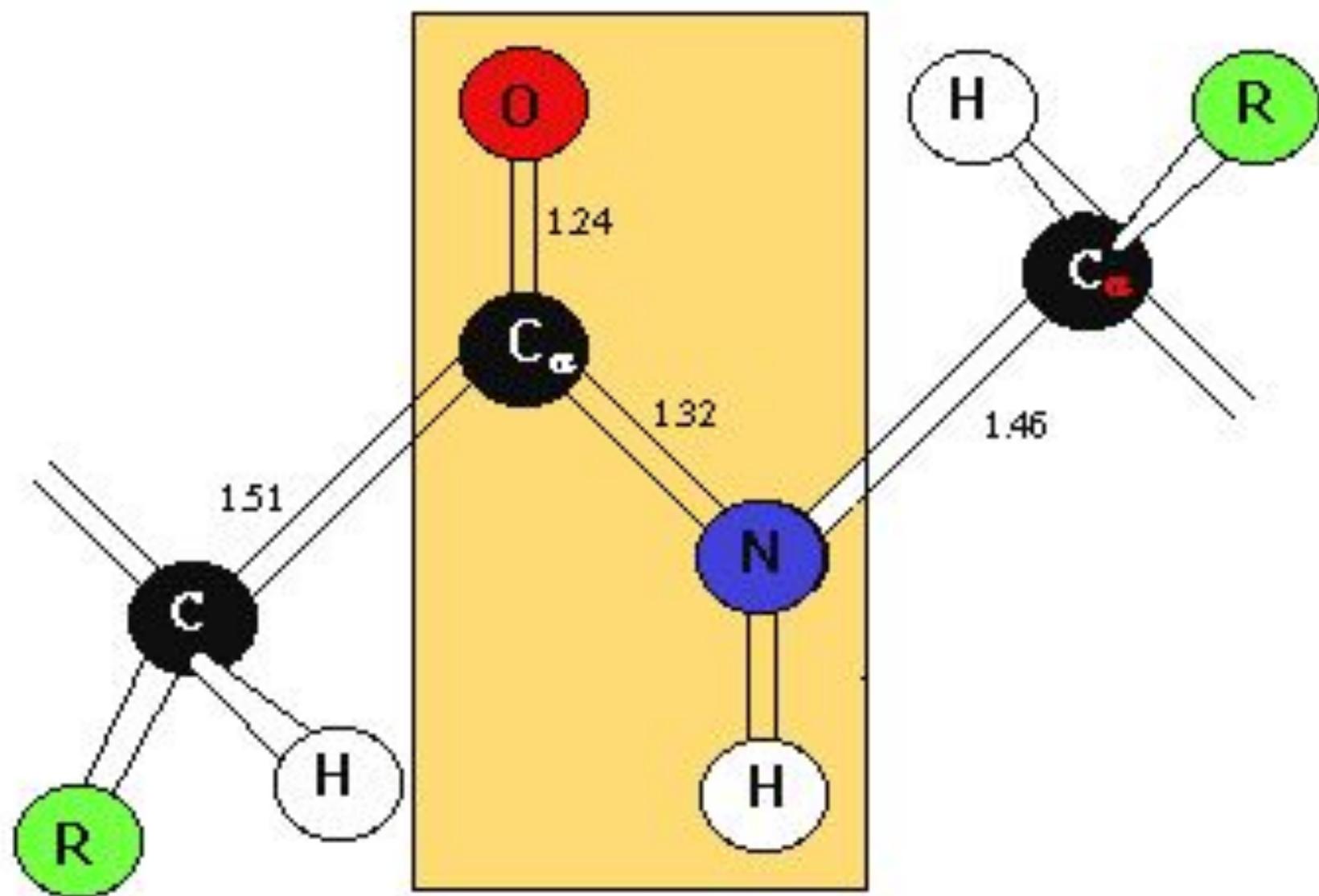
В проявлении биологических функций пептидов и белков важно их пространственное строение. Оно определяется электронным строением пептидной группы

**р, π - сопряжение в пептидной группе
приводит к частичной двоесвязанности
С-N связи, что затрудняет вращение
вокруг этой связи**



**Такая частичная двоесвязанность
C-N связи означает, что пептидная
группа представляет собой
плоский участок пептидной цепи,
рядом с которым находятся атомы
C своеобразные шарниры где
возможно вращение вокруг связей
C - C и N - C**

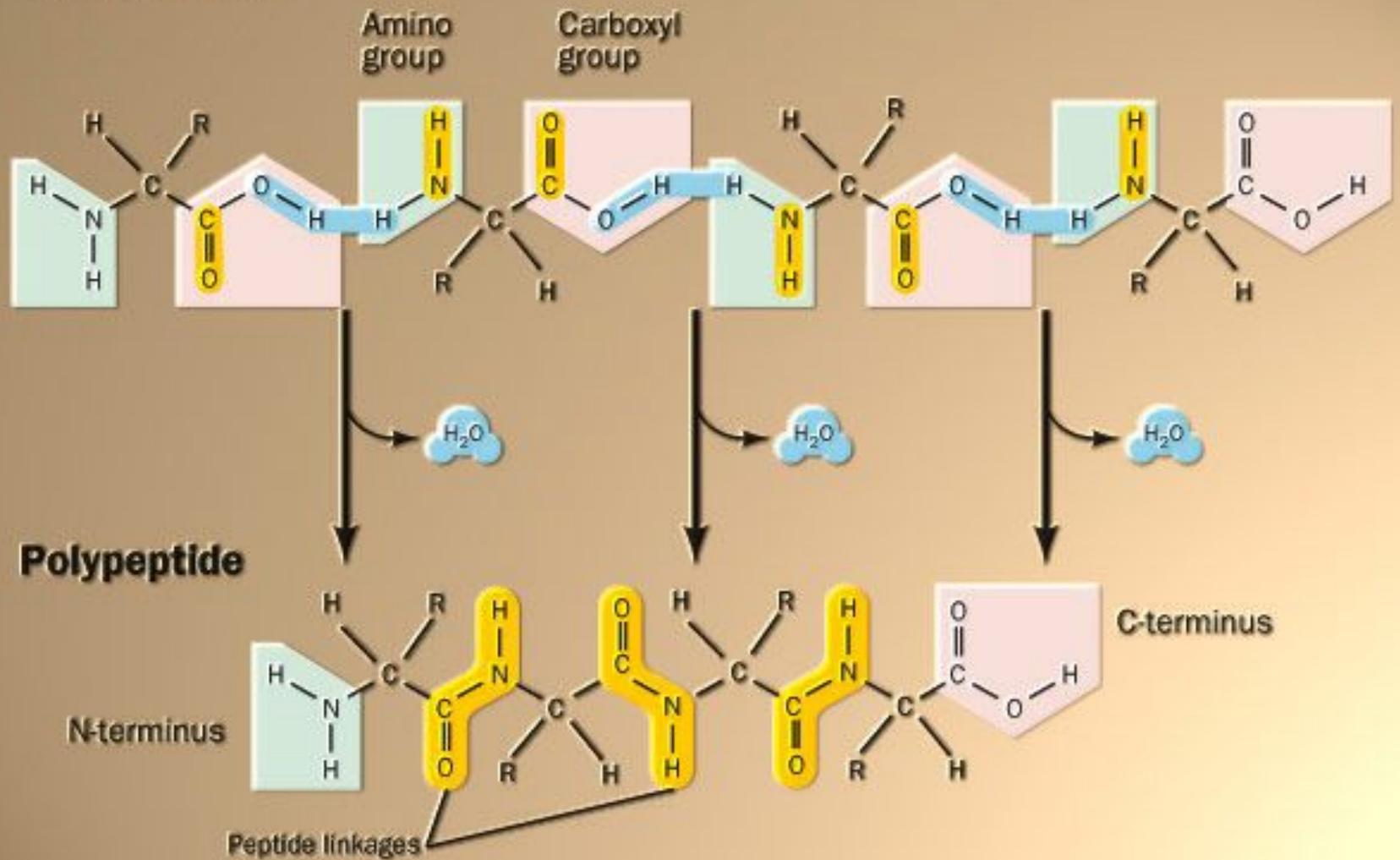




**Химические свойства пептидов
вытекают из их амидной
природы, они способны
гидролизоваться в кислой и
щелочной средах, в организме
гидролиз осуществляется при
участии ферментов - протеиназ**

Первичная структура пептидов и белков- последовательность остатков α -аминокислот

4 Amino acids



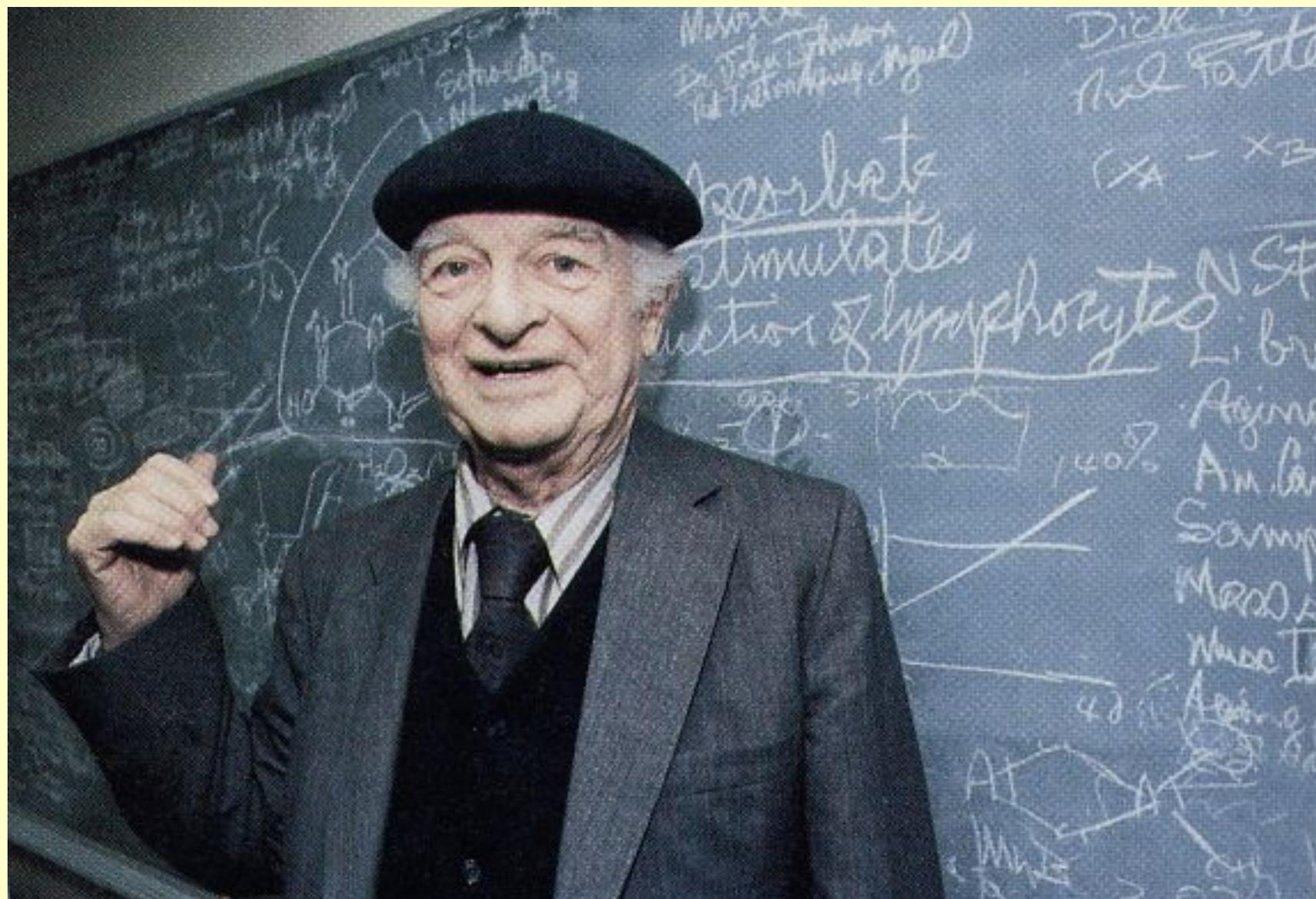
Polypeptide

Вторичная структура пептидов

**- пространственное
расположение цепи
(конформация), фиксируемое
водородными связями.**

**Отдельные участки цепи
образуют α -спираль, что
впервые было показано**

Полингом



**В одном витке спирали умещаются
3,6 аминокислотных остатка, т.е.
каждая аминокислота связывается с
5-ой по счету в первичной
последовательности. Например, в
последовательности Гли - Ала - Фен -
Глу - Сер - Ала остаток глицина
образует водородную связь с
остатком серина**

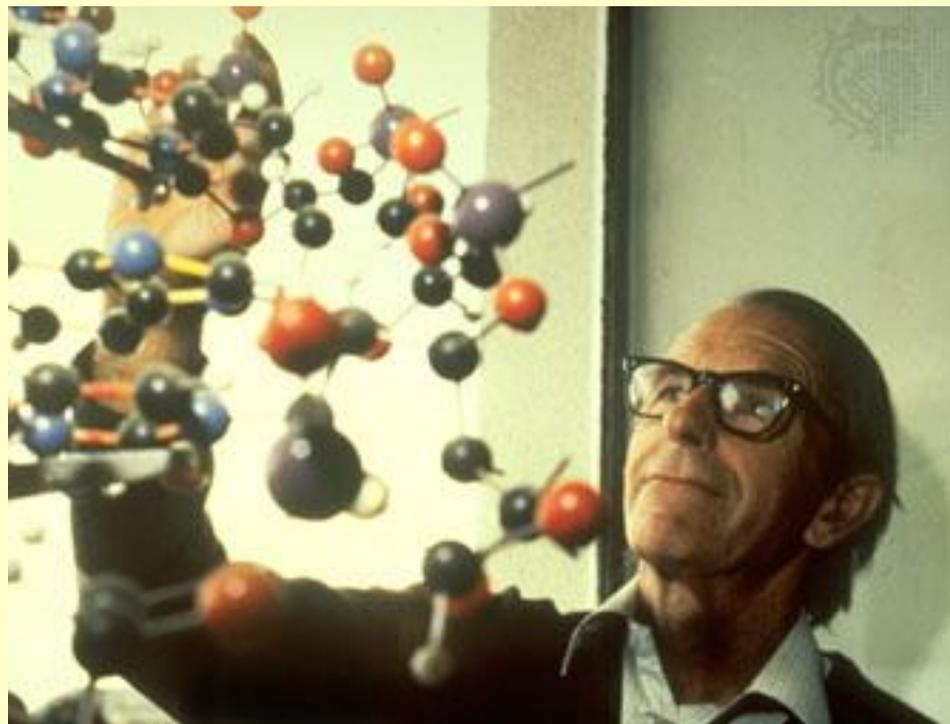
В пептидах возможны другие виды взаимодействий, приводящие к стабилизации цепи в пространстве: ионные между заряженными группами COO^- и NH_3^+ ковалентные связи S - S за счет окисления групп SH остатков цистеина

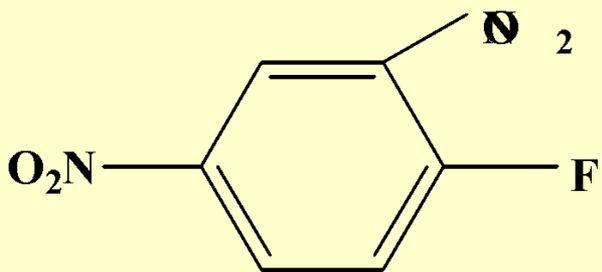
16.2 Установление первичной структуры пептидов

Первичная структура пептидов и белков определяется путем последовательного отщепления α -аминокислот с какого-либо конца макромолекулярной цепи и их идентификации

Метод Сенгера -
один из первых методов с 2,4-
динитрофторбензолом (ДНФБ)

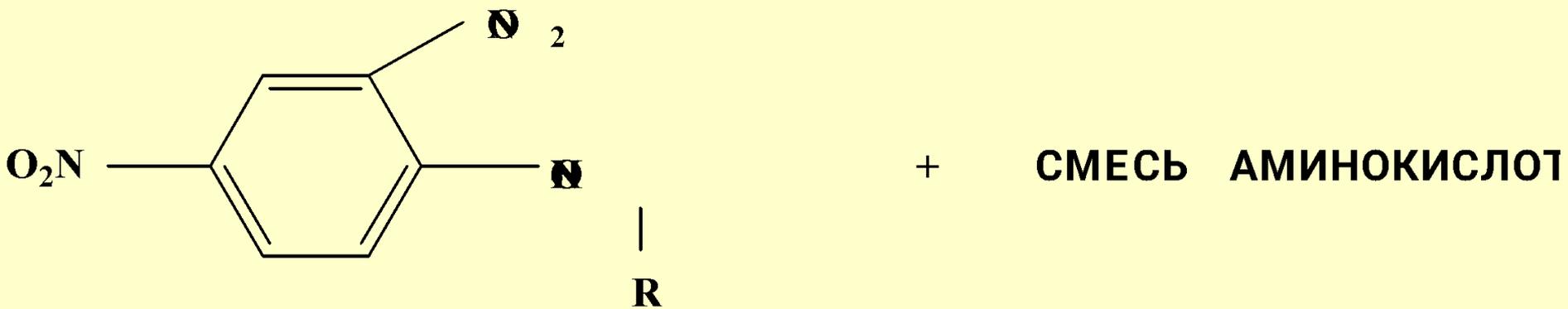
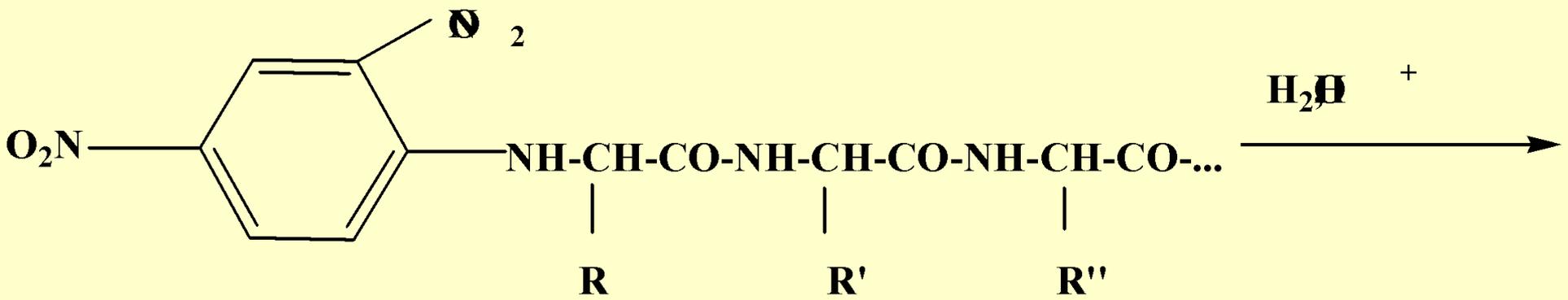
Ф. Сенгер





ДФБ



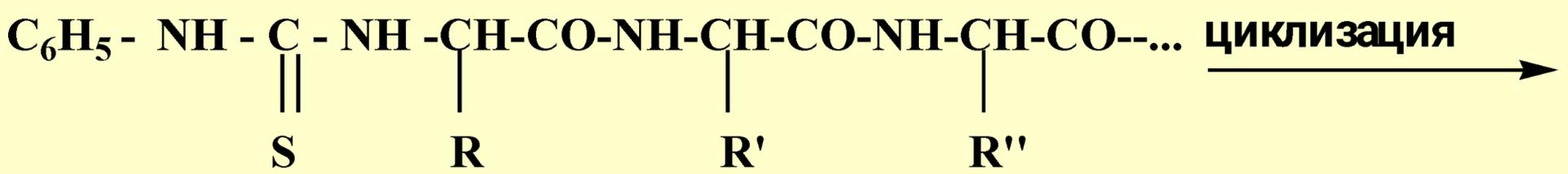


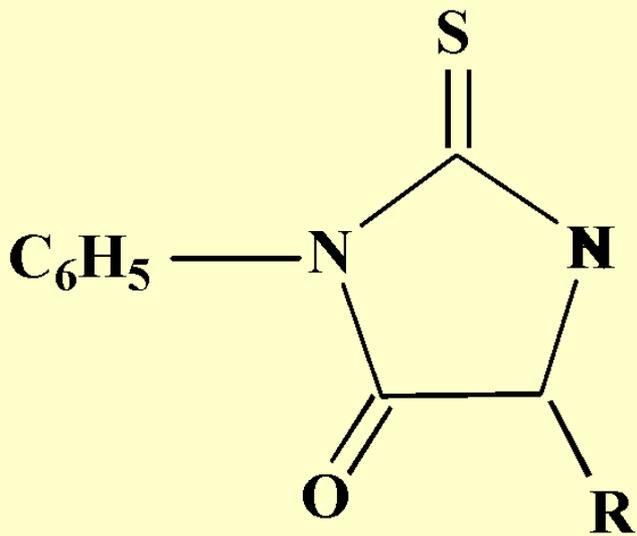
Метод Эдмана

с фенилизотиоцианатом (ФТГ)

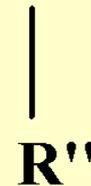
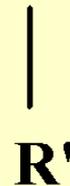


Преимуществом этого метода является то, что при отщеплении каждой N-концевой α -аминокислоты, оставшаяся часть пептидной молекулы не разрушается. Такие же операции можно повторять дальше до полного определения первичной структуры. Этот метод получил название «деградация по Эдману» (1950 год)





+



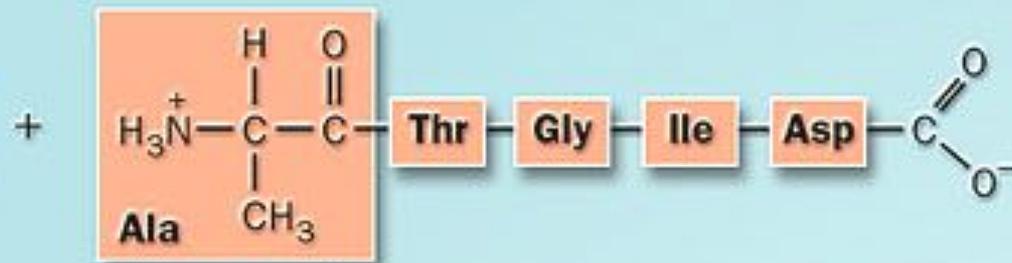
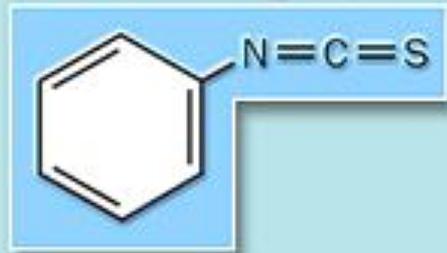
укороченный полипептид

**ФТГ-производное
(фенилтиогидантоиновое)**

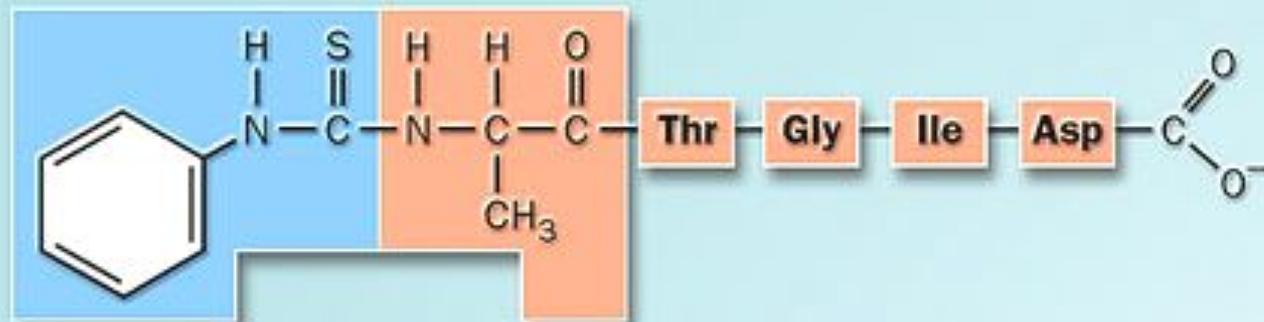
**Метод Эдмана лежит в основе
автоматического прибора -
секвенатора (sequence от
английского - последовательность),
аминокислотный анализатор.
Полученное на каждой стадии
производное идентифицируется
либо ГЖХ либо ТСХ или
жидкостной хроматографией**

Edman Degradation Reactions

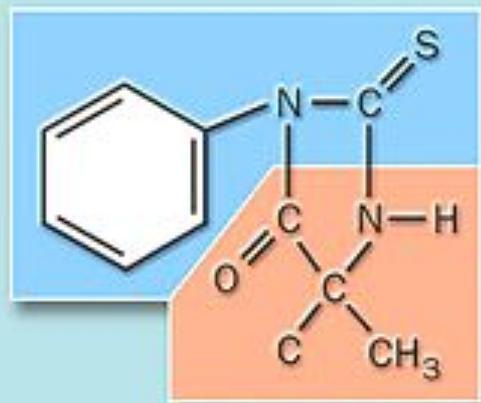
Phenyl isothiocyanate
(Edman's reagent)



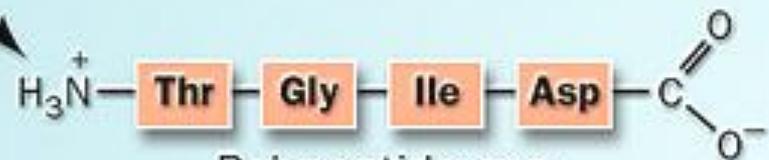
+ Weak alkali



+ Weak acid



PTH-Alanine



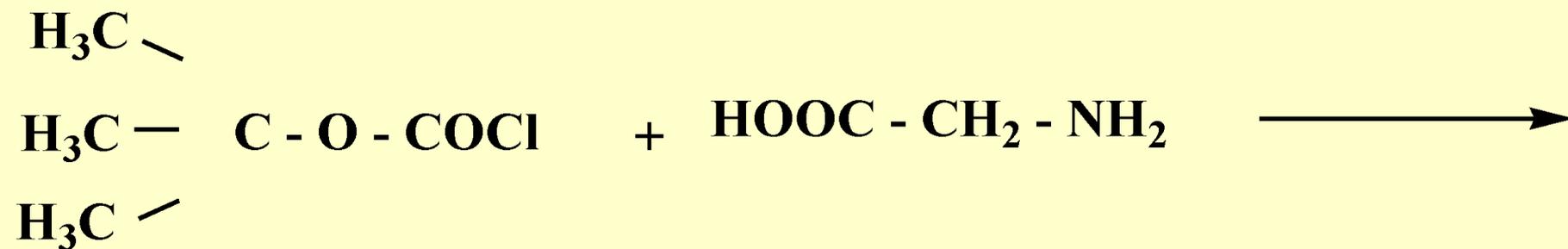
Polypeptide one
residue shorter

16.3 Стратегия пептидного синтеза

Схематично рассмотрим синтез
дипептида **ГЛИ – ЛЕЙ**

Для осуществления синтеза пептида с
заданной последовательностью
аминокислот необходимо выполнить
ряд последовательных операций

Первый этап синтеза - защита амино группы одной аминокислоты. С помощью реакций ацилирования в аминогруппу вводят электроноакцепторный заместитель. По окончании синтеза эту защиту снимают

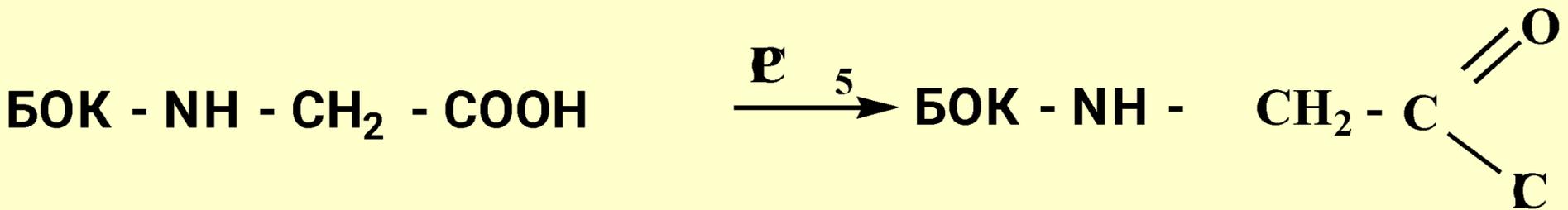


трет-бутоксикарбонилхлорид

Глицин

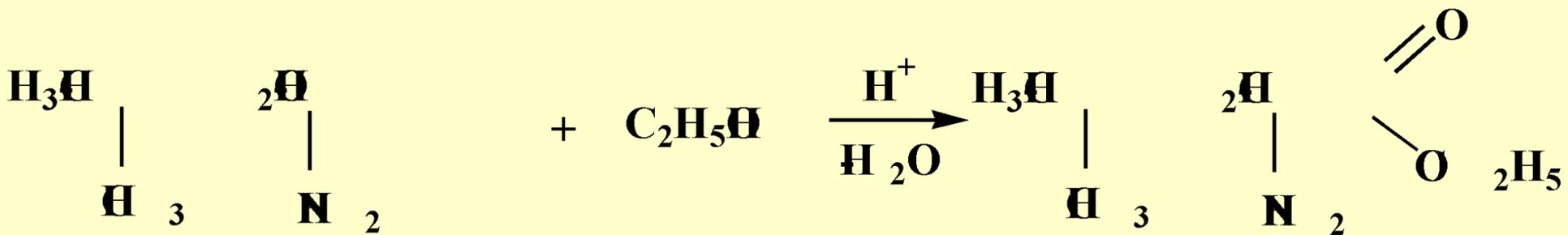


Второй этап синтеза – активация карбокси– N –защищенного глицина



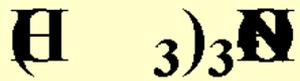
Третий этап синтеза - защита

карбоксильной группы второй аминокислоты -
можно осуществить с помощью реакции
этерификации

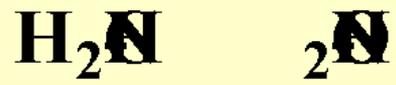


Лейцин

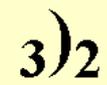
Пятый этап синтеза - завершающий – снятие защиты



Изобутилен

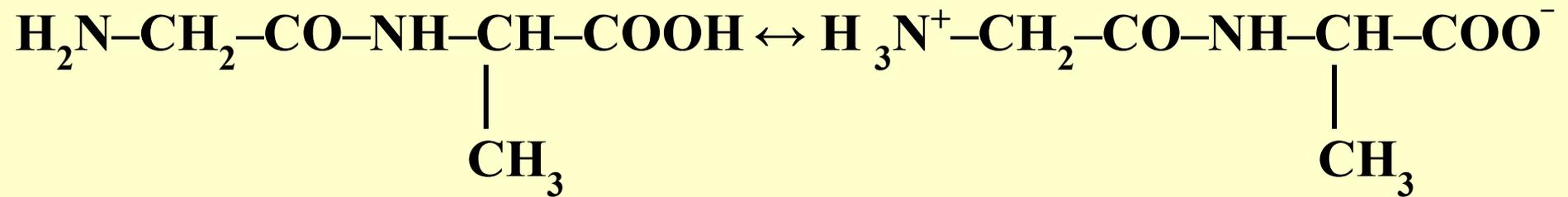


ГЛИ-ЛЕЙ



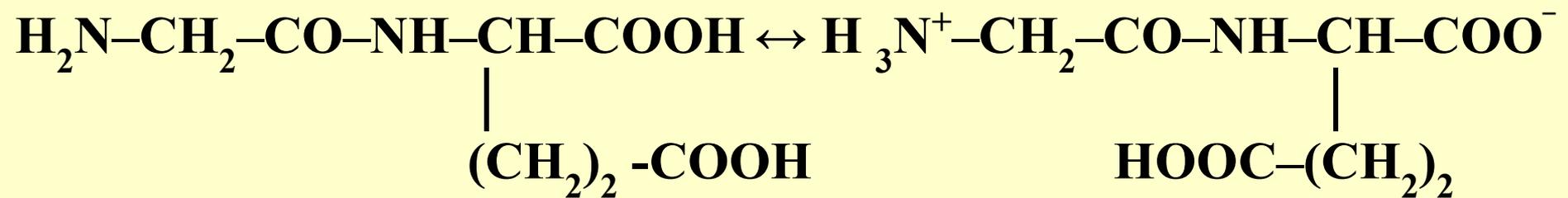
Пептиды и белки - полиэлектролиты

ГЛИ - АЛА



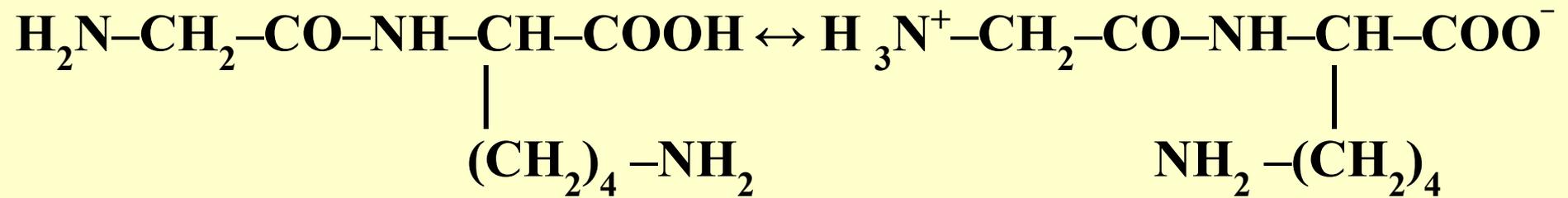
ИЭТ находится в области $\text{pH} \approx 7$

ГЛИ - ГЛУ



ИЭТ находится в области $\text{pH} < 7$

ГЛИ - ЛИЗ



ИЭТ находится в области $\text{pH} > 7$

16.4 БЕЛКИ

Белки - высокомолекулярные азотсодержащие биологические макромолекулы, состоящие из биогенных α , L-аминокислот, связанных в линейную последовательность пептидными (амидными) связями

**Простейший белок –
полипептид, содержащий в
своей структуре не менее 70
аминокислотных остатков**

Белки – важнейшие компоненты клетки, на их долю приходится не менее 50% сухого веса. Они осуществляют реализацию генетической информации, построение структур клетки и организма, протекание метаболических процессов, иммунную защиту организма

Биологическая роль белков

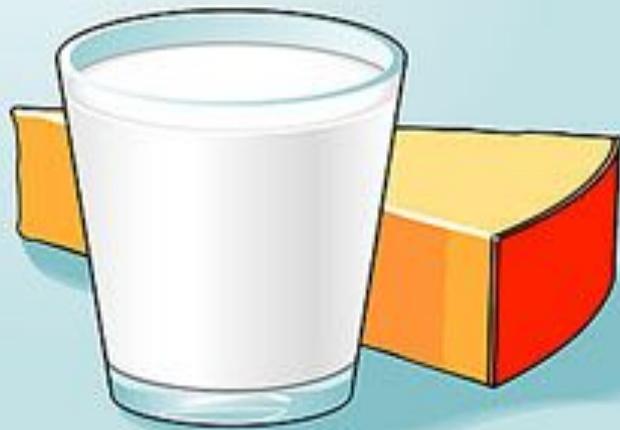
1. Каталитическая функция
2. Питательная (резервная)
3. Транспортная
4. Защитная функция
5. Сократительная
6. Структурная
7. Энергетическая
8. Гормональная

**Пищевую ценность белка
определяют содержанием
незаменимых аминокислот -
не синтезируются в организме**

**ВАЛИН, ЛЕЙЦИН,
ИЗОЛЕЙЦИН, ТРЕОНИН,
МЕТИОНИН,
ФЕНИЛАЛАНИН,
ТРИПТОФАН, ЛИЗИН**

Гистидин и аргинин частично заменяемые аминокислоты

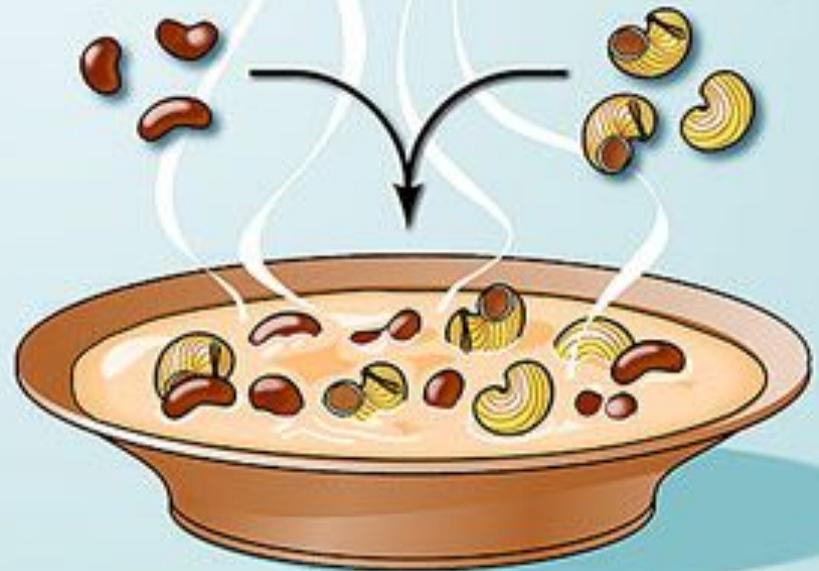
Essential amino acids



Milk

Beans (rich in lysine)

Grains (rich in methionine)

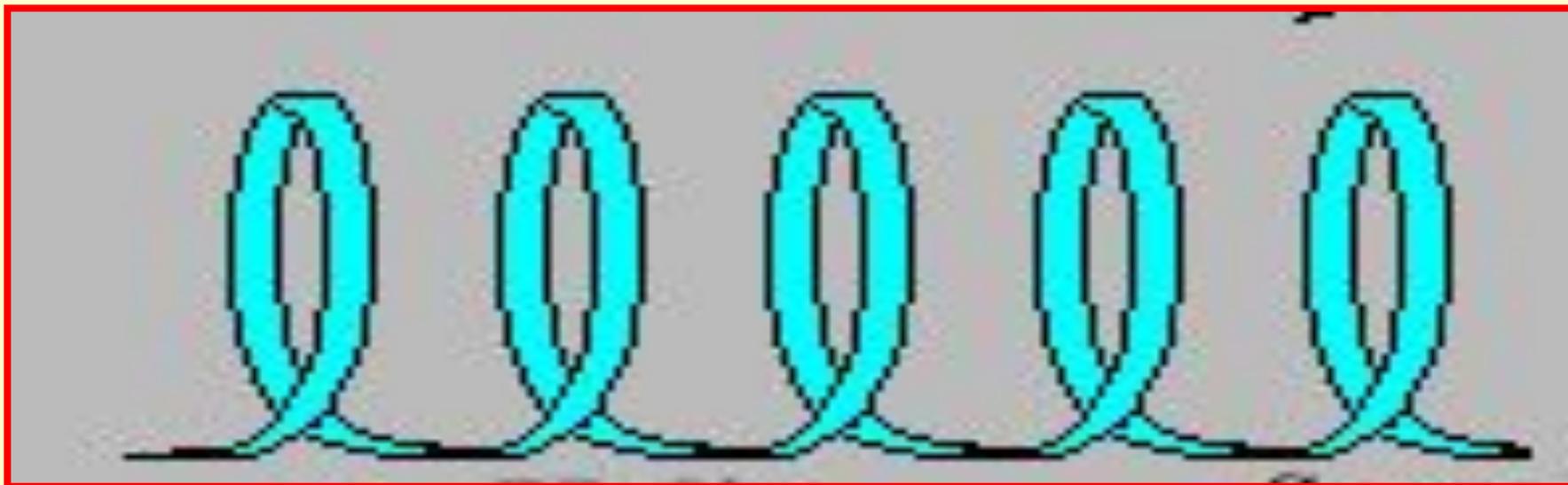


Pasta e fagioli (pasta and beans, a healthy Italian soup)

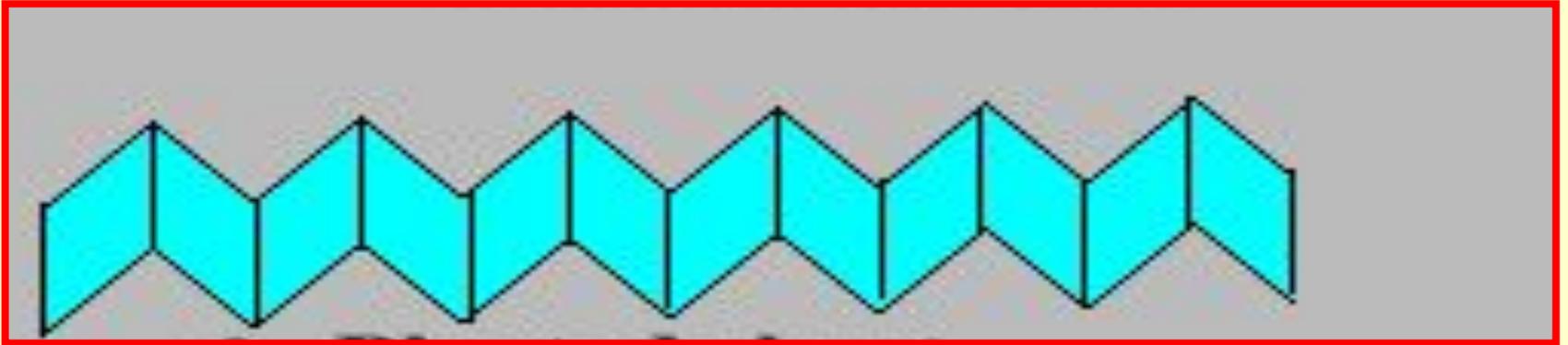
Первичная структура – линейная последовательность биогенных аминокислот, связанных пептидными связями. Первичная структура определяет и более высокие уровни организации белковых молекул. Зная первичную структуру можно последовательно получить белок синтетически (впервые был синтезирован инсулин, впоследствии многие другие белки, так широкое распространение получили синтетические полипептиды для лечения СПИДА, многих других заболеваний)

Вторичная структура – локальная конформация полипептидной цепи, возникающая в результате вращения отдельных ее участков, приводящая к скручиванию, складыванию или изгибу этого участка цепи. Вторичная структура может быть представлена α -спиралью, β -структурой (структура складчатого листа)

α -Спираль



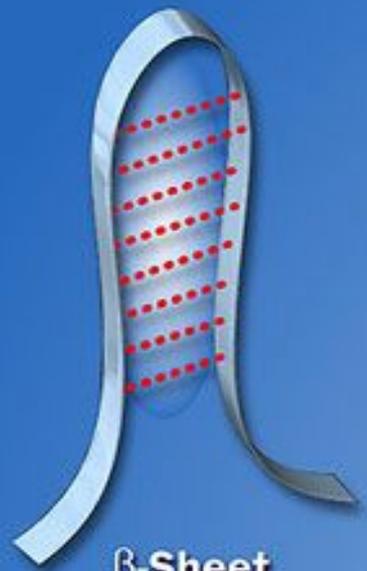
β – Структура (складчатого листа)



Hydrogen bonding



α -Helix



β -Sheet



Electrostatic attraction



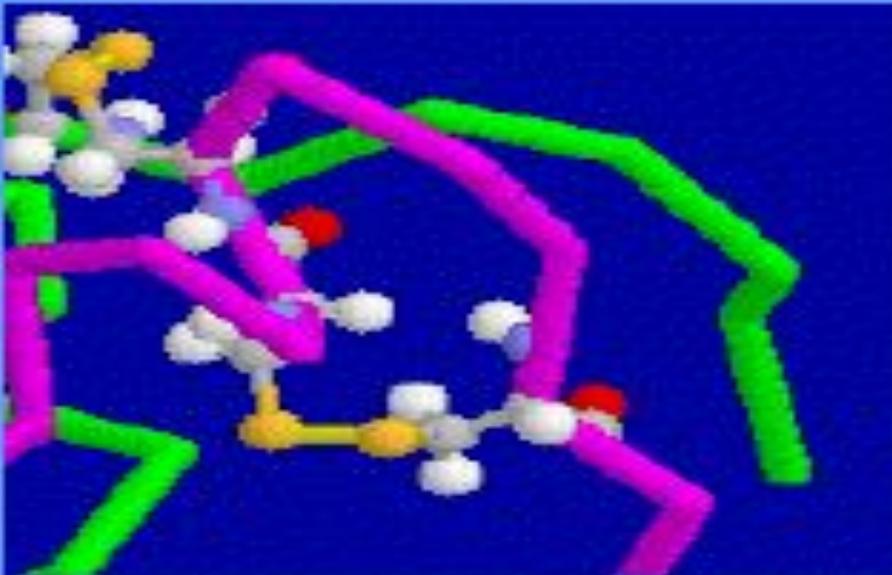
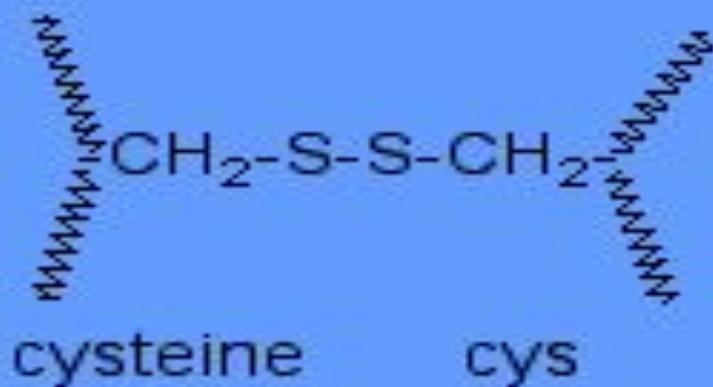
Hydrophobic interaction



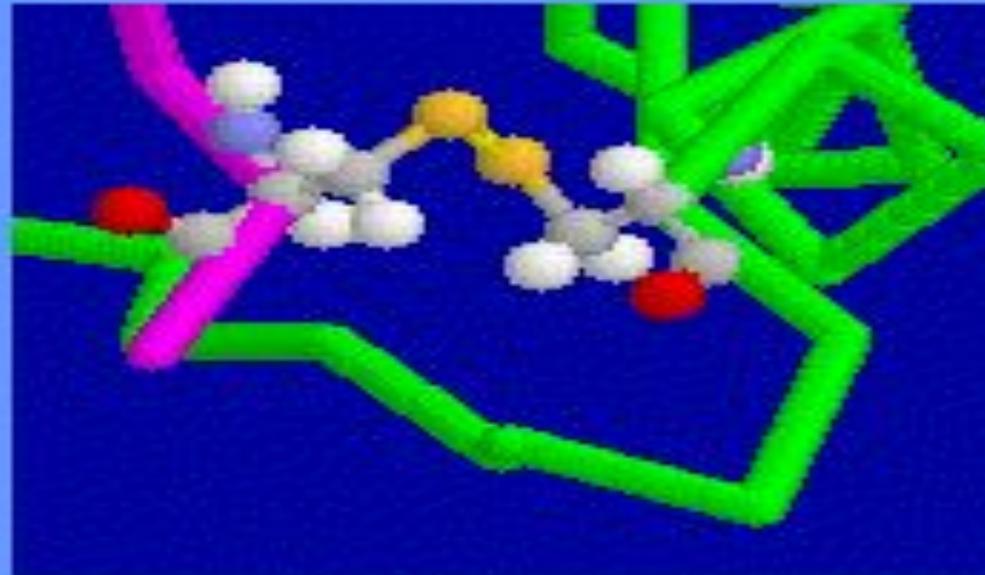
Metal-ion coordination

Третичная структура - конформация (расположение в пространстве) всей полипептидной цепи. В ее формировании и стабилизации принимают участие все виды взаимодействий: гидрофобное, вандервальсово, электростатическое (ионное), дисульфидные ковалентные связи. Наиболее значимыми являются гидрофобное взаимодействие и дисульфидные связи

Tertiary Structure - Disulfide Bonds

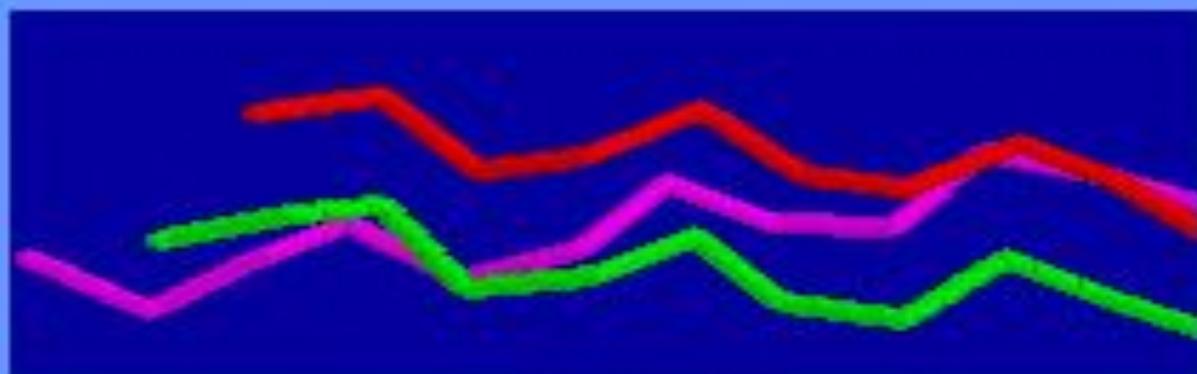


Loop in single
chain

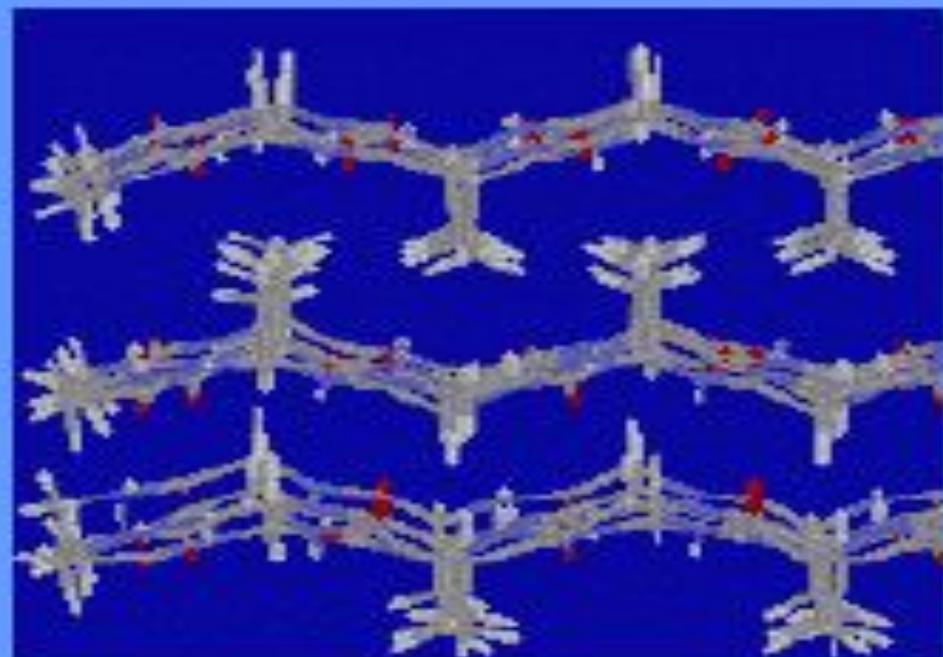


Join two chains

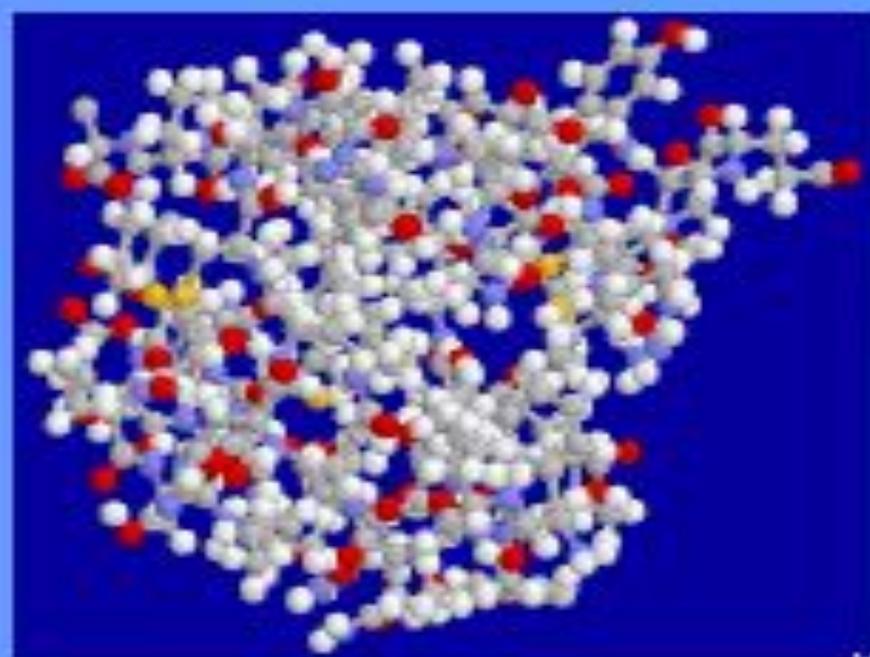
Quaternary Protein Structure



Collagen



Silk



Insulin

Четвертичная структура белка- способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей (одинаковых или разных) с третичной структурой, приводящей к формированию единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования (мультимера)

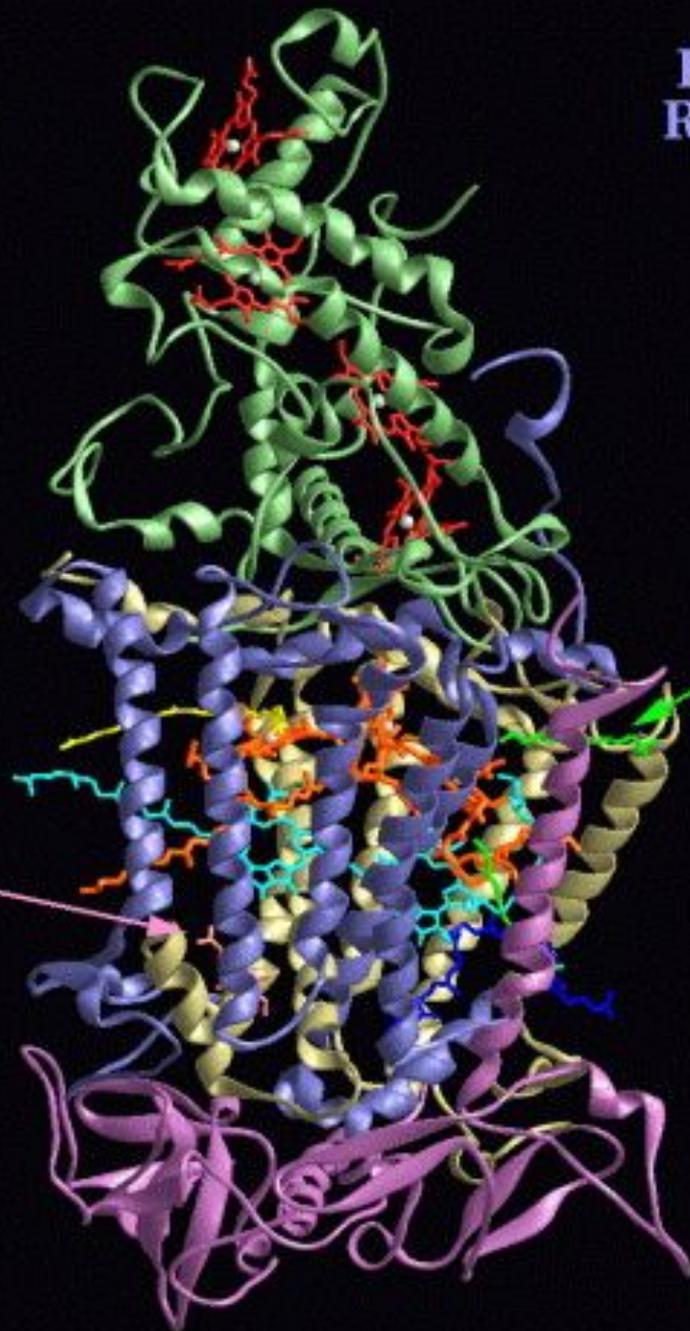
Photosynthetic Reaction Center

- C chain
- L chain
- M chain
- H chain

- Protoporphyrin IX
- Bacteriochlorophyll B
- Bacteriopheophytin B
- Dihydro-neurosporene
- Menaquinone-7

Ubiquinone-1

Lauryl dimethylamine-ox



Каждая отдельная полипептидная цепь в структуре мультимера называется **протомером. Протомеры стерически комплементарны и связывают структуру нековалентными связями. Гемоглобин состоит из нескольких симметрично построенных частиц (одинаковых полипептидных цепей), обладающих одинаковой первичной, вторичной и третичной структурой**

Гемоглобин – белок эритроцитов, относится к группе гемопротеинов, участвует в транспорте газов в организме. В качестве простетической группы содержит гем (железопропорфин). Представляет собой гетерогенный тетрамер, состоящий из двух идентичных α -цепей и двух идентичных β -цепей, соединенных солевыми мостиками. Каждая цепь, образующая комплекс с группой гема очень сходна с молекулой миоглобина – белка мышечной ткани, переносящего кислород и состоящего из одной полипептидной цепи

Молекула гемоглобина в отличие от миоглобина обнаруживает ряд существенных особенностей:

1 Кислород связывается молекулой гемоглобина кооперативно, т.е. связывание одной молекулы O_2 облегчает связывание трех последующих молекул O_2 ;

Молекула гемоглобина способна воспринимать информацию из окружающей среды, и как следствие, изменять сродство к кислороду, т.е. белки это не жесткие, а конформационно подвижные динамические структуры

Физико-химические свойства белков

Белки образуют коллоидные растворы, рассеивают проходящий свет, обладают гидрофильными свойствами, способны связывать воду, что приводит к набуханию и образованию гелей. В животных тканях белки могут связывать до 80 - 90 % воды. Белки обладают амфотерными свойствами. Белки из-за больших размеров не могут проникать через полупроницаемые мембраны, на этом свойстве основан метод очистки белков - диализ

Денатурация – процесс разрушения природной макроструктуры белков под влиянием ряда факторов: химических веществ (фенол, мочеви́на), повышенной температуры, изменения рН среды, облучения УФО или рентгеновскими лучами и т.д. При денатурации разрушаются нековалентные связи, что приводит к изменению биологических свойств белков.

Цветные реакции белков

обусловлены наличием в растворе белка
аминокислоты отдельных групп или
определенных связей

БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ - появление
синего окрашивания при действии на
белок щелочи и разбавленного раствора
сульфата меди (II). Окраска обусловлена
наличием пептидной связи CO-NH

НИНГИДРИНОВАЯ РЕАКЦИЯ -

появление фиолетового окрашивания

при взаимодействии с нингидрином -

обусловлена наличием свободных

аминогрупп в молекуле белка, а также

наличием пептидной амидной связи

КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ -
появление желто-коричневого
окрашивания при действии
концентрированной азотной кислотой -
обусловлена наличием в белках
циклических аминокислот тирозина и
триптофана

РЕАКЦИЯ МИЛОНА -

- при действии на белок смеси азотно- и азотистокислых солей ртути, белок вначале выпадает в осадок, а затем при нагревании окрашивается в кирпично-красный цвет - обусловлена наличием в молекуле белка **тирозина**

РЕАКЦИЯ АДАМКЕВИЧА -

при действии на белок

концентрированной уксусной кислоты

с примесью глиоксиловой кислоты на

границе раздела появляется темно-

фиолетовое кольцо - обусловлена

наличием триптофана

РЕАКЦИЯ ФОЛЯ -

нагревание белка со щелочью и солью свинца приводит к выпадению черного осадка - обусловлена наличием в белке серусодержащих аминокислот **цистеина и метионина**

**Благодарим
за внимание !**

