

СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Svetlana Protopop
doctor în științe medicale,
conferențiar universitar

Биохимия

(bios – жизнь) – химия жизни;

наука о структуре химических веществ, входящих в состав живой материи, их превращении и физико-химических процессах, лежащих в основе жизнедеятельности.

Задачи биохимии – полное понимание на молекулярном уровне природы всех химических процессов, связанных с жизнедеятельностью клеток.

Биохимия

Структурная биохимия – изучает структуру химических веществ, входящих в состав живых организмов.

Динамическая биохимия исследует превращения веществ в организме.

Функциональная биохимия изучает химические процессы, лежащие в основе жизнедеятельности.

Структурная биохимия – разделы

1. Биоэлементы и биомолекулы. Вода.
2. Аминокислоты. Белки.
3. Нуклеиновые кислоты.
4. Углеводы.
5. Водорастворимые витамины.
6. Липиды.
7. Стероидные вещества.
8. Жирорастворимые витамины.
9. Биологические мембраны.

Особенности живой материи

1. Высокий уровень структурной организации.
2. Способность к преобразованию и использованию энергии.
3. Обмен веществ с окружающей средой и саморегуляция химических превращений.
4. Передача генетической информации.

АМИНОКИСЛОТЫ.
ПОЛИПЕПТИДНАЯ ТЕОРИЯ
СТРОЕНИЯ БЕЛКОВ

АМИНОКИСЛОТЫ

- гетерофункциональные соединения, содержащие аминогруппу и карбоксильную группу (производные карбоновых кислот, у которых один атом водорода замещен на аминогруппу).
- В зависимости от положения аминогруппы различают α -, β -, γ -аминокислоты.
 - В природе существует около 300 аминокислот.

Аминокислоты (АК)

```
graph TD; A[Аминокислоты (АК)] --> B[Протеиногенные – входят в состав белков (α-АК)]; A --> C[Непротеиногенные – не присутствуют в белках]; B --> D[Кодируемые генетическим кодом АК – 20 АК]; B --> E[Модифицированные посттрансляционно – производные некоторых кодируемых АК];
```

Протеиногенные –
входят в состав
белков (**α-АК**)

Непротеиногенные
– не присутствуют
в белках

Кодируемые
генетическим кодом АК
– 20 АК

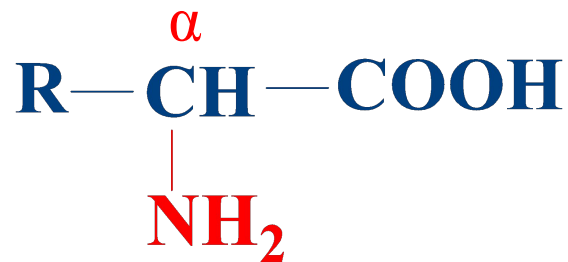
Модифицированные
посттрансляционно –
производные некоторых
кодируемых АК

α -АМИНОКИСЛОТЫ

– производные карбоновых кислот, у которых один атом водорода в α -положении замещен на аминогруппу.



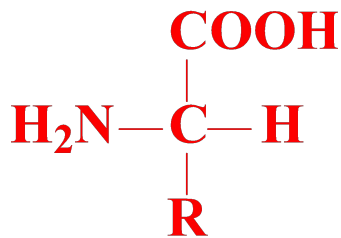
Карбоновая кислота



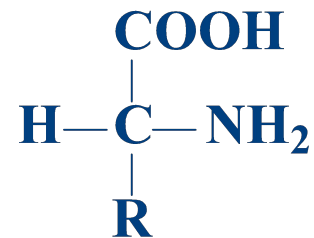
АМИНОКИСЛОТА

Стереоизомерия аминокислот

- За исключением глицина, у всех аминокислот 4 группы, связанные с α -углеродным атомом, различны.
- Протеиногенные АК имеют абсолютную конфигурацию L-глицеральдегида и поэтому являются L- α -аминокислотами.



L- α -аминокислота



D- α -аминокислота

Классификация аминокислот

- Структурный принцип

1. Алифатические аминокислоты:

А. Моноаминомонокарбоновые – Gly, Ala, Val, Leu, Ile.

В. Моноаминодикарбоновые – Asp, Asn, Glu, Gln.

С. Диаминомонокарбоновые – Lys, Arg.

Д. Гидроксиаминокислоты – Ser, Thr.

Е. Тиоаминокислоты – Cys, Met.

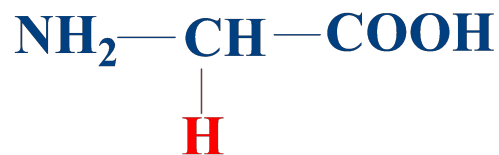
2. Циклические аминокислоты:

А. Ароматические – Phe, Tyr.

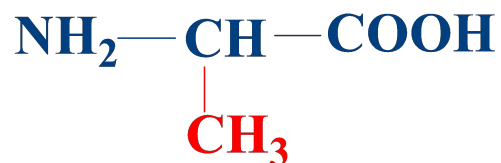
В. Гетероциклические – Trp, His, Pro.

Структура алифатических аминокислот

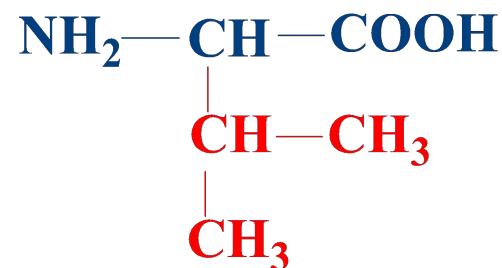
А. Моноаминомонокарбоновые АК



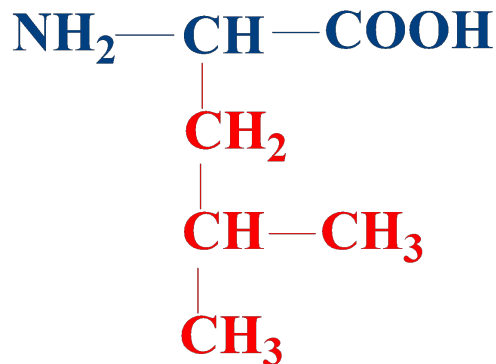
Глицин (Gly)



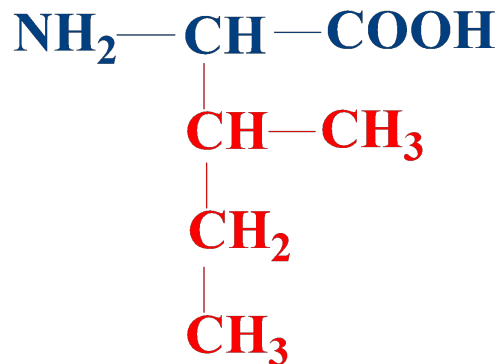
Аланин (Ala)



Валин (Val)



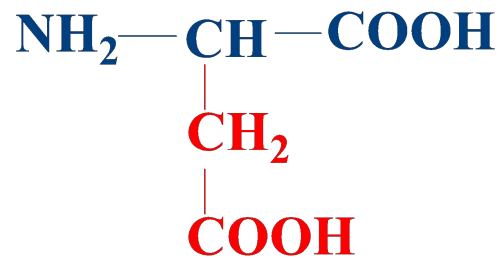
Лейцин (Leu)



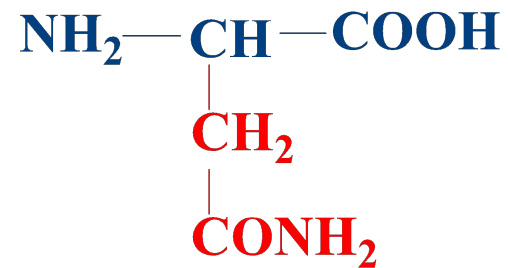
Изолейцин (Ile)

Структура алифатических аминокислот

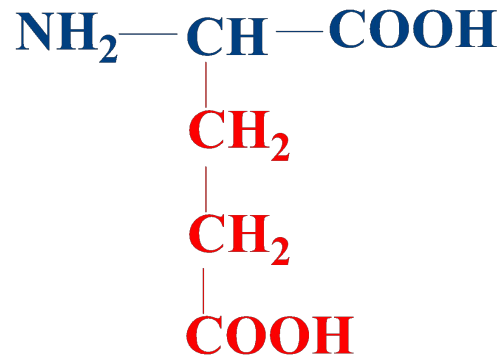
В. Моноаминодикарбоновые АК и их амиды



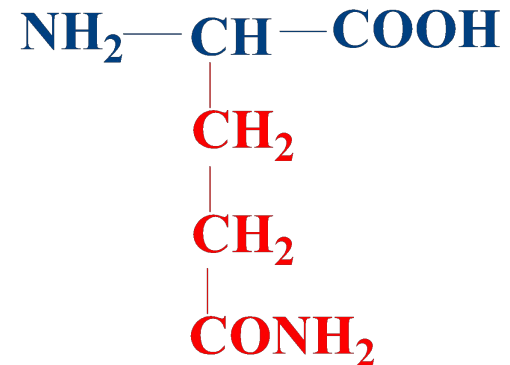
Аспарагиновая кислота (Asp)



Аспарагин (Asn)



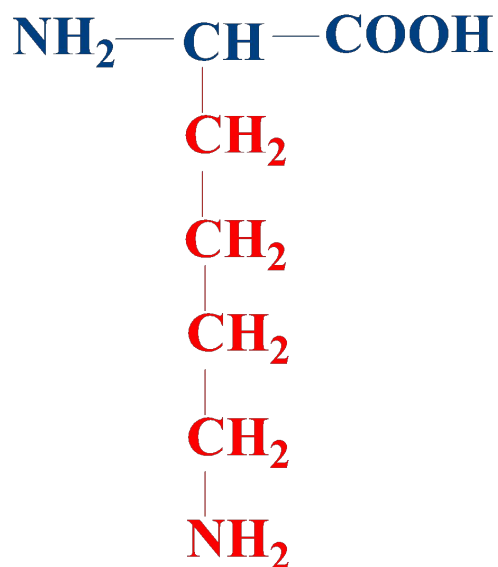
Глутаминовая кислота (Glu)



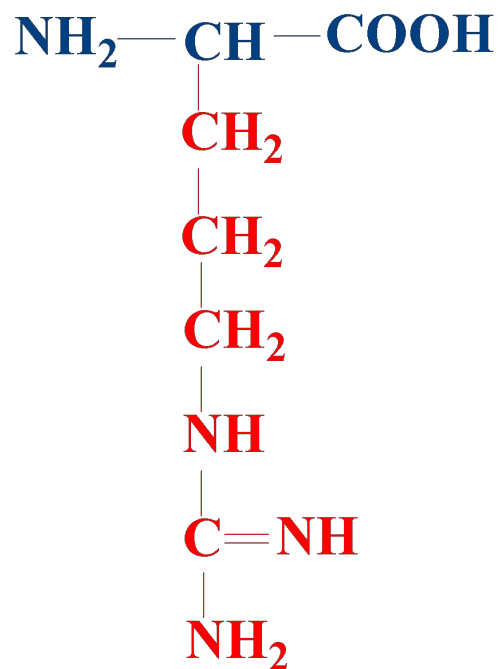
Глутамин (Gln)

Структура алифатических аминокислот

С. Диаминомонокарбоновые АК



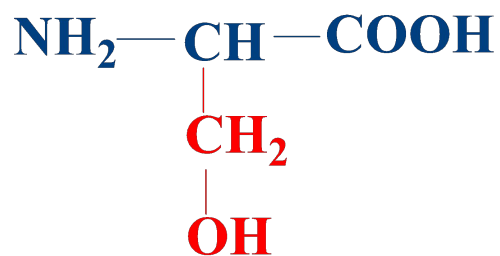
Лизин (Lys)



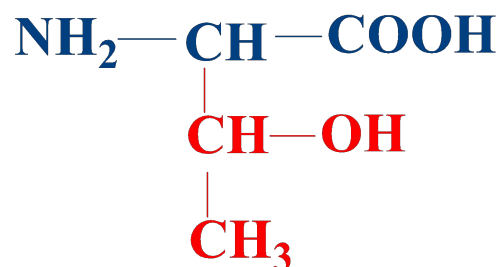
Аргинин (Arg)

Структура алифатических аминокислот

Д. Гидроксиаминокислоты

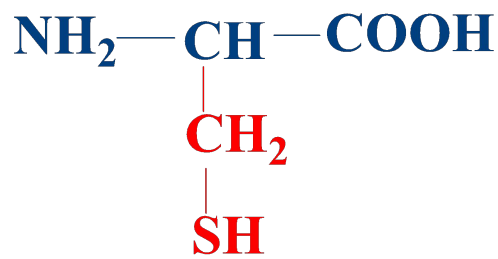


Серин (Ser)

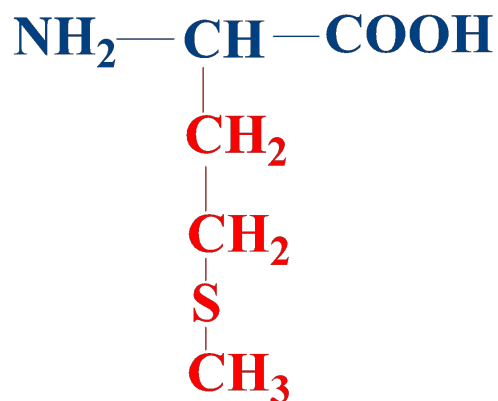


Треонин (Thr)

Е. Тиаминокислоты



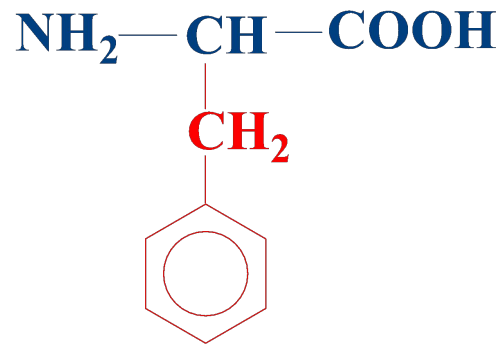
Цистеин (Cys)



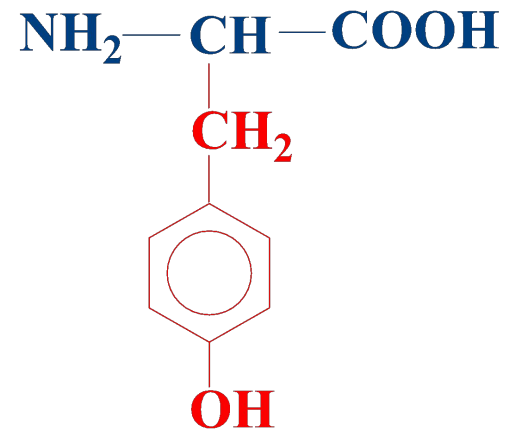
Метионин (Met)

Структура циклических аминокислот

А. Ароматические АК



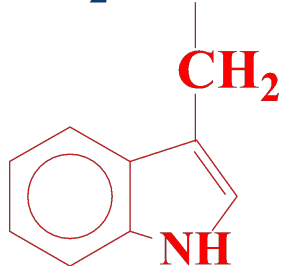
Фенилаланин (Phe)



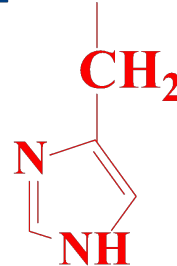
Тирозин (Tyr)

Структура циклических аминокислот

В. Гетероциклические АК

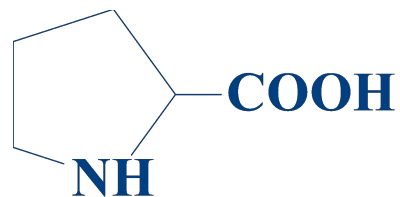


Триптофан (Trp)



Гистидин (His)

Имминокислота



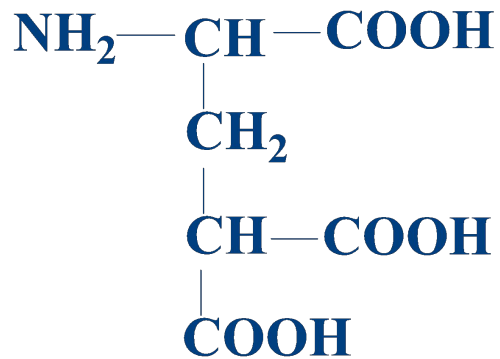
Пролин (Pro)

Классификация аминокислот

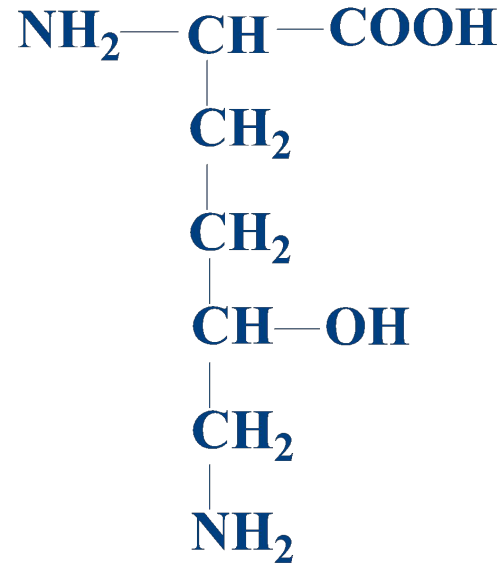
- Биологический принцип

1. Незаменимые (не синтезируются в тканях человеческого организма) – Val, Leu, Ile, Lys, Thr, Met, Phe, Trp.
2. Полузаменимые – Arg, His.
3. Заменимые – остальные.

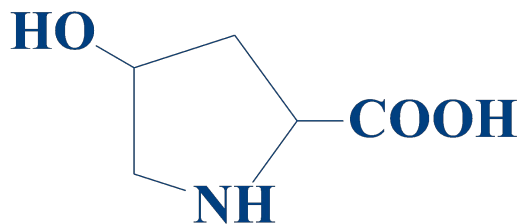
Модифицированные посттрансляционно аминокислоты



γ-карбоксиглутаминовая
кислота (Gla)



5-гидроксилизин (Hyl)

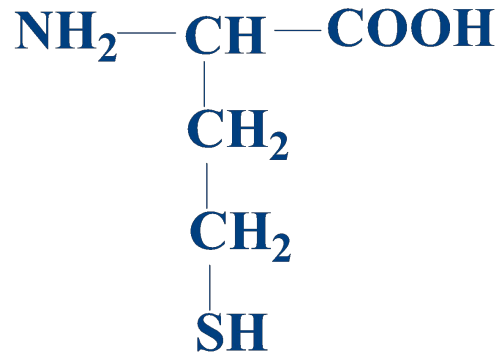


4-гидроксипролин (Hyp)

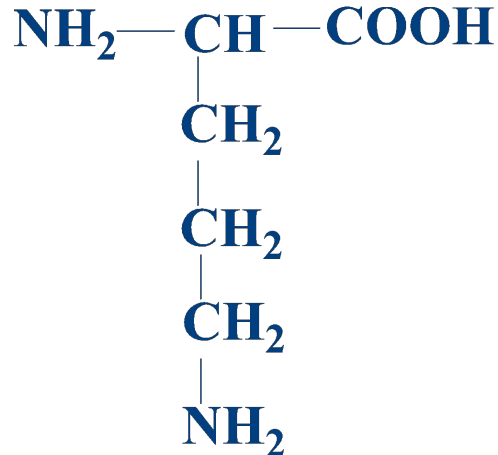
Модифицированные посттрансляционно аминокислоты

- 4-гидроксипролин и 5-гидроксилизин синтезируются из пролина и лизина в ходе посттрансляционных изменений в составе коллагена (с участием витамина С).
- γ -карбоксиглутаминовая кислота образуется из глутаминовой кислоты в составе кальций-связывающих белков (с участием витамина К).

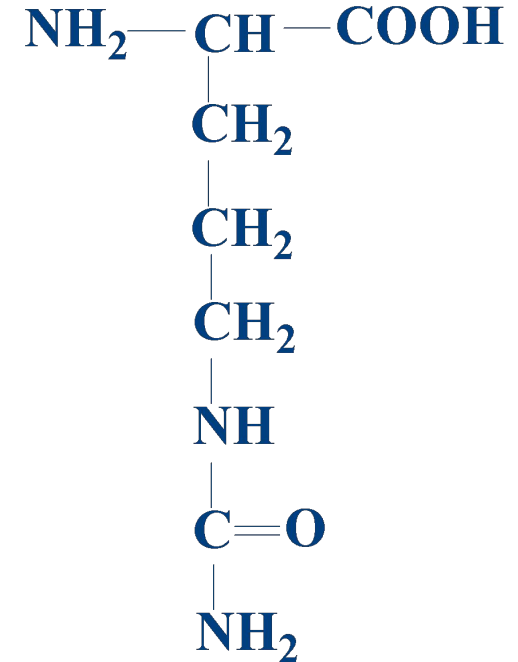
Непротеиногенные аминокислоты



Гомоцистеин —
промежуточное
вещество в обмене
метионина;
фактор риска
атеросклероза

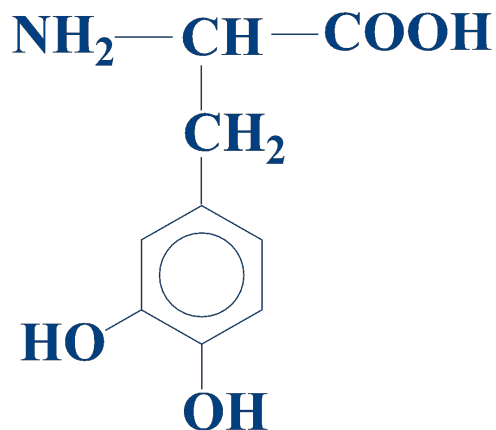


Орнитин —
промежуточное
вещество в
синтезе мочевины



Цитруллин —
промежуточное
вещество в синтезе
мочевины

Непротеиногенные аминокислоты



Диоксифенилаланин (ДОФА) – промежуточное вещество в синтезе катехоламинов



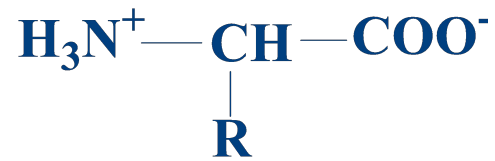
β-аланин – входит в состав пантотеновой кислоты



γ-аминомасляная кислота (ГАМК)
– тормозной медиатор ЦНС

Электрохимические свойства аминокислот

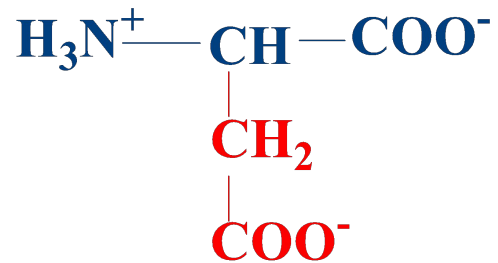
- Аминокислоты имеют минимум одну карбоксильную (кислую) группу и одну аминогруппу (основную), поэтому обладают амфотерными свойствами.
- В растворах аминокислоты находятся в виде биполярных ионов (амфион, цвиттер-ион).



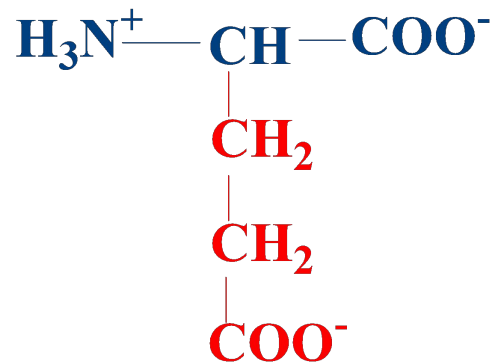
Электрохимический принцип классификации аминокислот

1. Нейтральные аминокислоты.
2. Кислые аминокислоты – Glu, Asp.
3. Основные аминокислоты – Lys, Arg, His.

Кислые аминокислоты

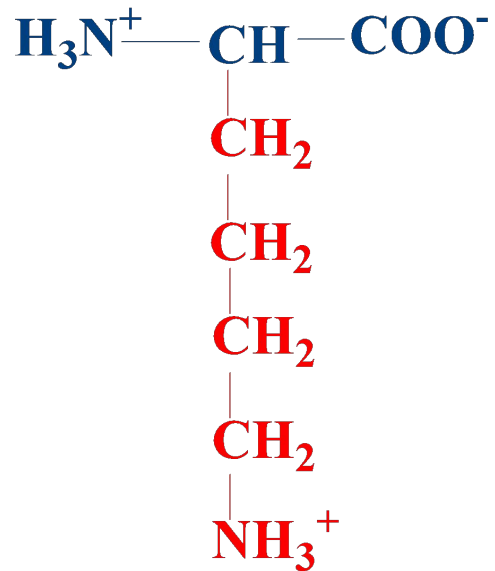


Аспарагиновая кислота (Asp)

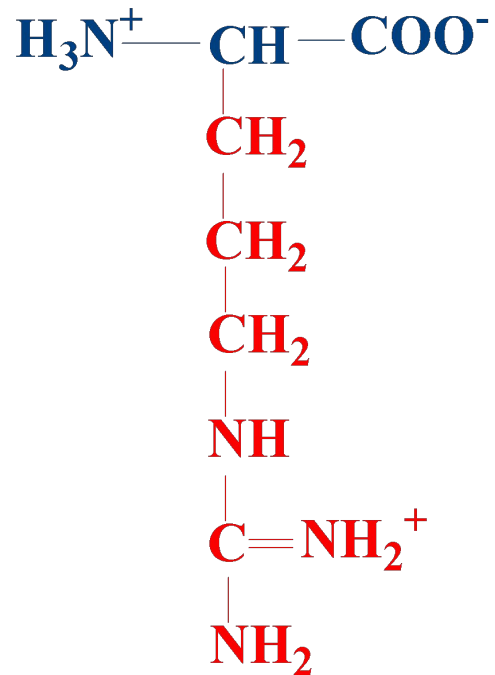


Глутаминовая кислота (Glu)

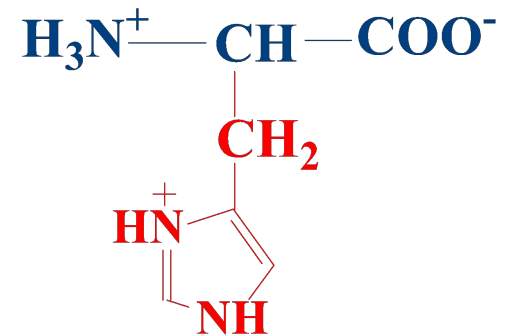
Основные аминокислоты



Лизин (Lys)



Аргинин (Arg)



Гистидин (His)

Электрохимические свойства аминокислот

- Суммарный заряд АК зависит от рН.
- Значение рН, при котором суммарный заряд АК равен нулю, называется ее **изоэлектрической точкой (pI)**.
- pI находится посередине между ближайшими значениями pK (pK – отрицательный логарифм константы диссоциации) диссоциирующих групп.

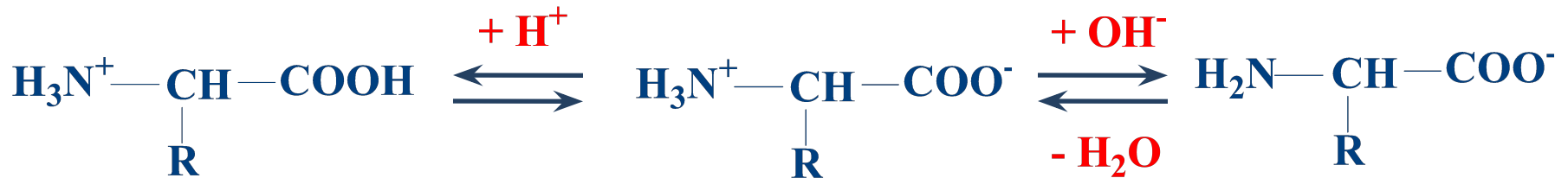
Электрохимические свойства аминокислот

- pI нейтральных АК – pH около 6.
- pI кислых АК – кислая среда ($pH < 7$).
- pI основных АК – щелочная среда ($pH > 7$).
- Электрохимические свойства аминокислот используются для их разделения в электрическом поле – **электрофорез**.

Электрохимические свойства аминокислот

1. В изоэлектрической точке суммарный заряд аминокислоты = 0, аминокислота не перемещается в электрическом поле.
2. При значении рН, ниже его рI, аминокислота приобретает «+» заряд (катион) и движется к «-» электроду (катоде).
3. При значении рН, выше его рI, аминокислота приобретает «-» заряд (анион) и движется к «+» электроду (аноду).

Электрохимические свойства аминокислот



$$\text{pH} < \text{pI}$$

Суммарный заряд «+»

Катион

$$\text{pH} = \text{pI}$$

Суммарный заряд = 0

$$\text{pH} > \text{pI}$$

Суммарный заряд «-»

Анион

Растворимость аминокислот

- Аминокислоты содержат полярные заряженные и незаряженные группы, поэтому хорошо растворяются в полярных растворителях (вода, этанол).

Классификация аминокислот

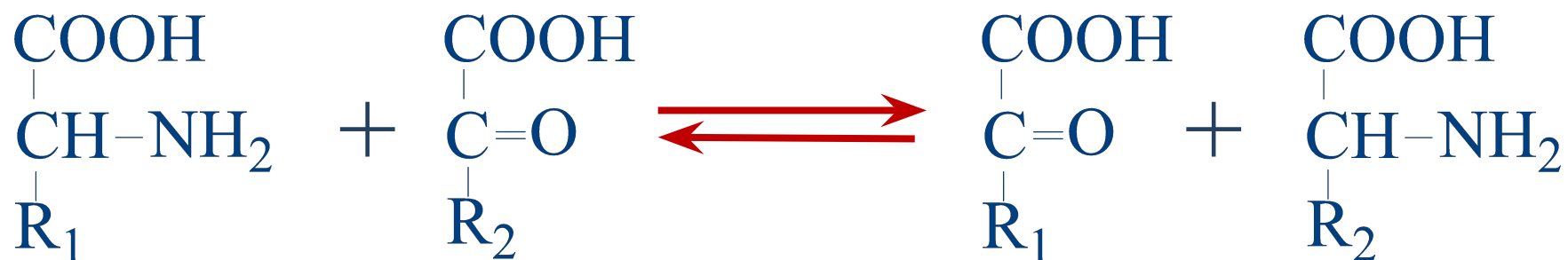
- по растворимости радикалов в воде:

1. Неполярные (гидрофобные) – Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp, Pro.
2. Полярные (гидрофильные):
 - A. Незаряженные – Asn, Gln, Ser, Thr, Cys, Tyr.
 - B. Отрицательно заряженные – Asp, Glu.
 - C. Положительно заряженные – Lys, Arg, His.

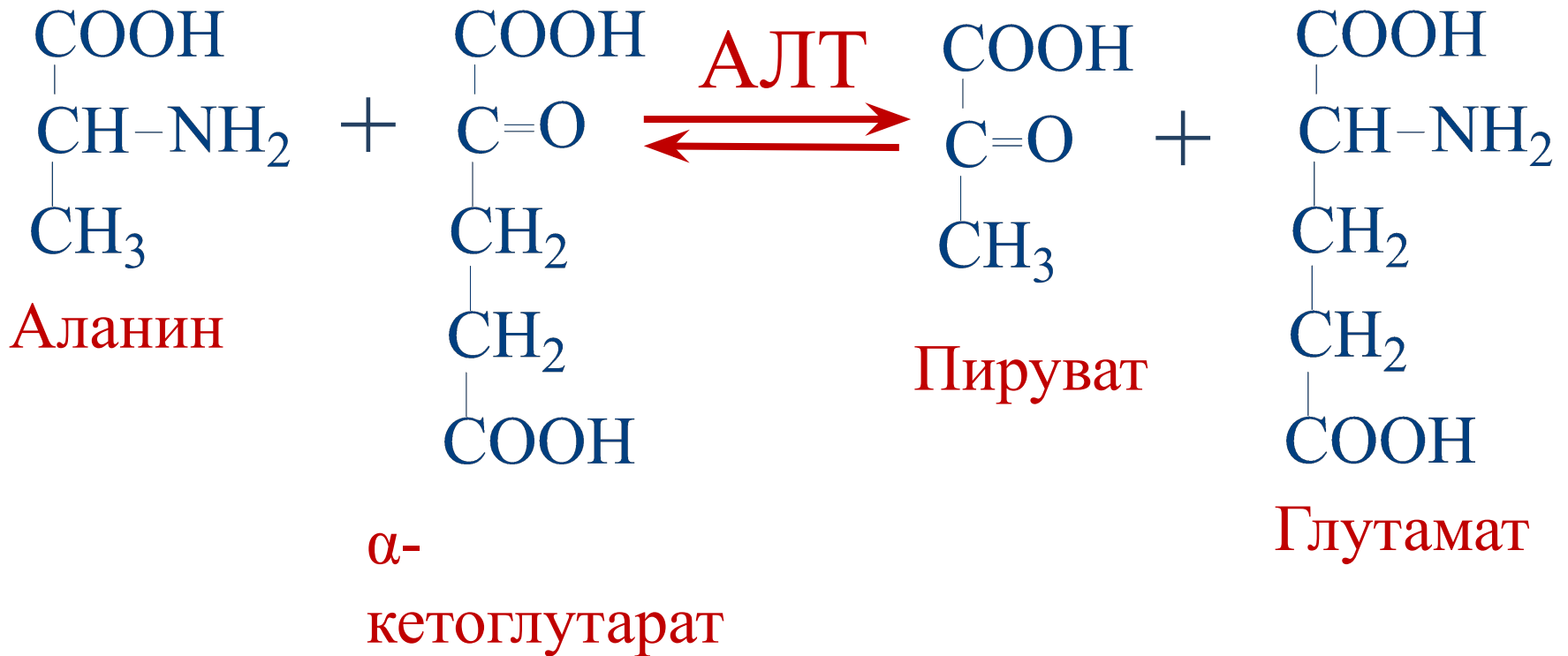
Трансаминирование (ТА) аминокислот

- реакция переноса аминогруппы ($\text{NH}_2\text{—}$) с α -аминокислоты на α -кетокислоту и перенос кетогруппы с α -кетокислоты на α -аминокислоту, в результате образуется новая аминокислота и новая кетокислота.
- Реакции ТА являются обратимыми.
- Ферменты – **аминотрансферазы** (трансаминазы).
- Кофермент – **пиридоксальфосфат** (производное витамина B_6).

Трансаминирование аминокислот

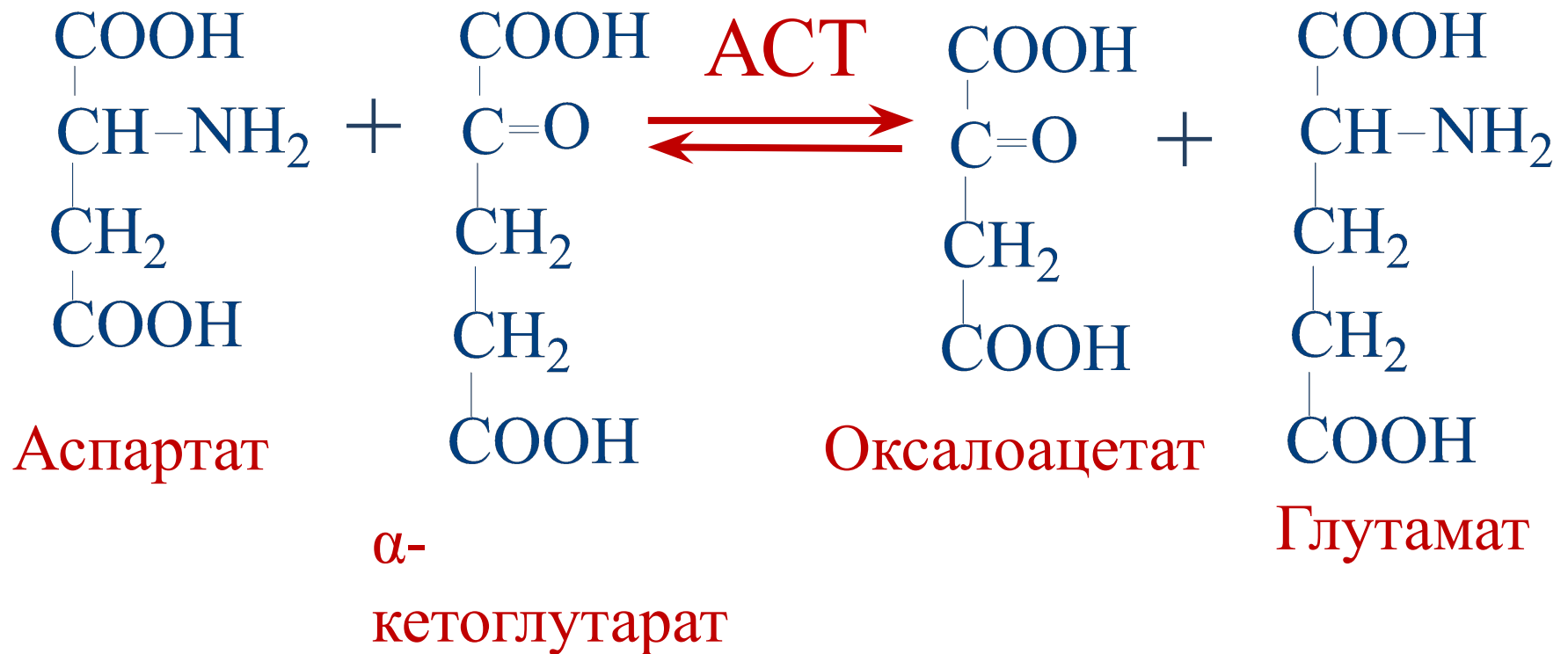


Реакция трансаминирования аланина



Фермент – аланин аминотрансфераза (АЛТ)

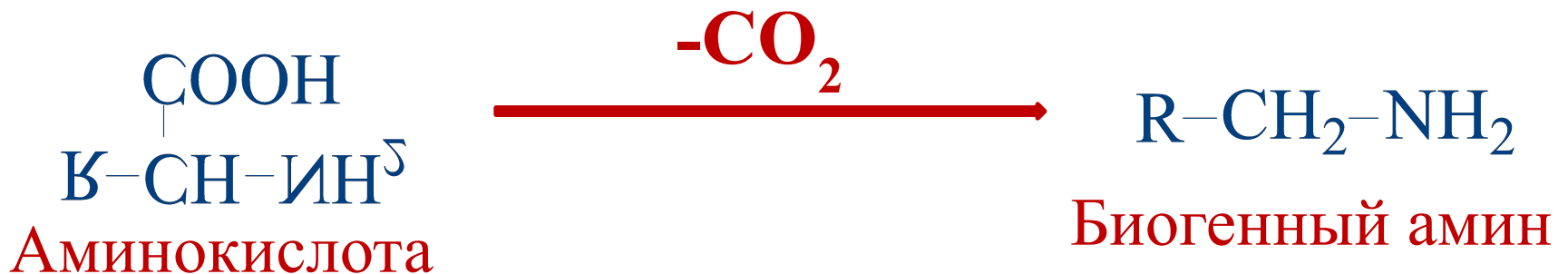
Реакция трансаминирования аспарагиновой кислоты



Фермент – аспартат аминотрансфераза (АСТ)

Декарбоксилирование аминокислот

- реакция отщепления карбоксильной группы от аминокислот в виде CO_2 .
- α -декарбоксилирование аминокислот приводит к образованию **биогенных аминов** (биологически активные вещества).
- Ферменты – **декарбоксилазы** аминокислот.
- Простетическая группа – **пиридоксальфосфат** (производное витамина B_6).



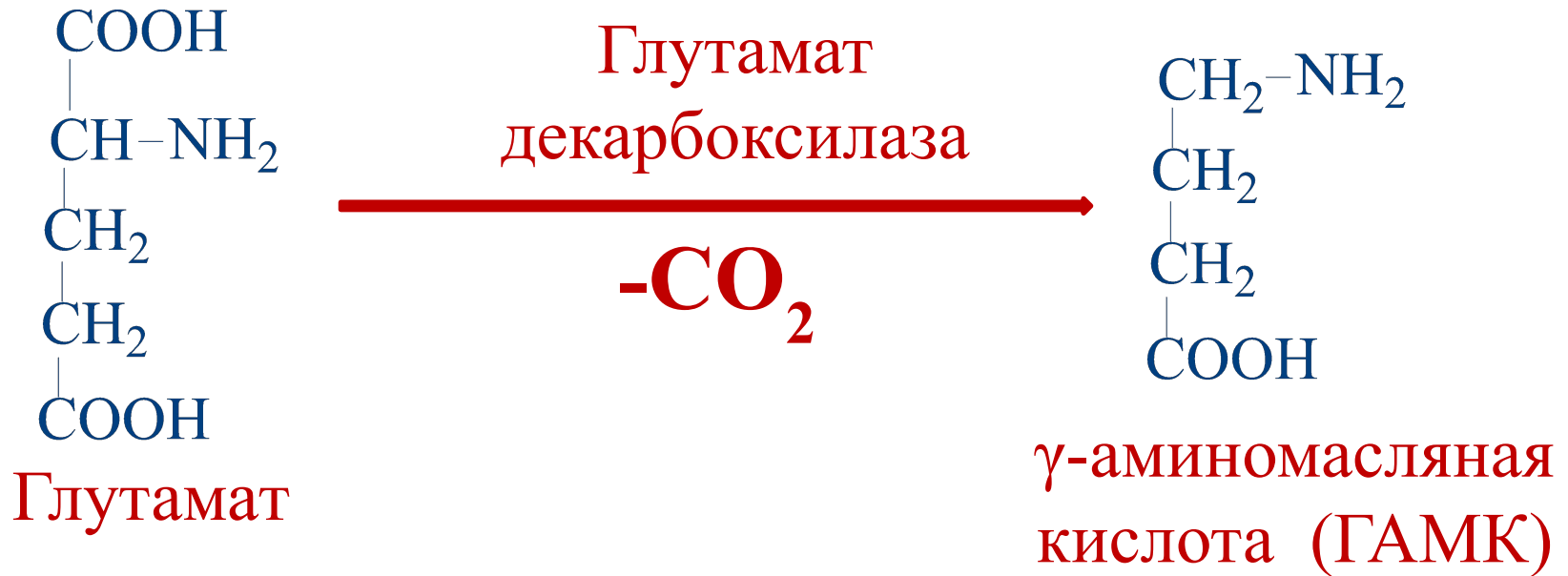
α -декарбоксилирование гистидина



Биологическая роль гистамина:

- Сосудорасширяющее действие.
- Участвует в воспалении (вызывая расширение сосудов в очаге воспаления, ускоряет приток лейкоцитов).
- Участвует в аллергических реакциях (явления сенсибилизации и десенсибилизации).
- Является медиатором боли.
- Участвует в секреции соляной кислоты в желудке.

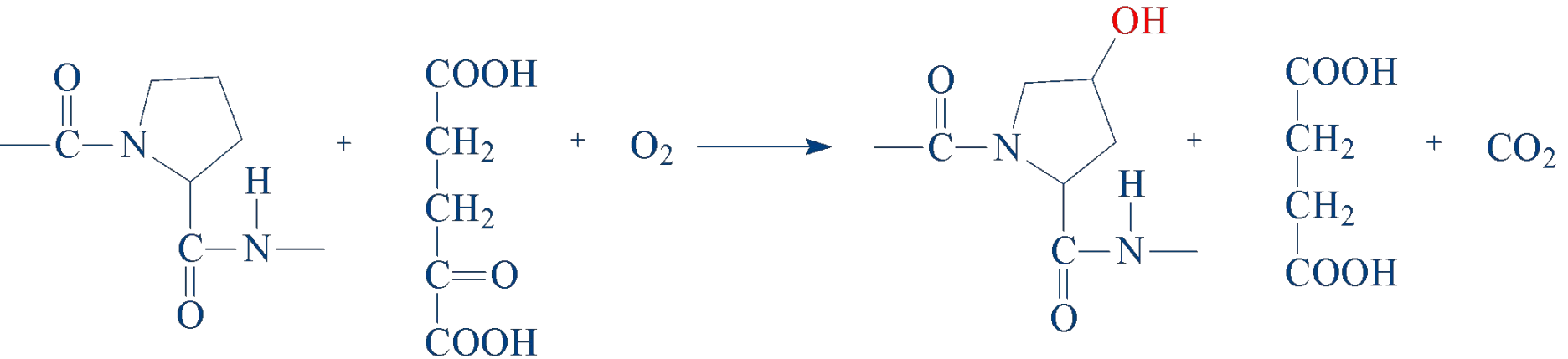
α -декарбоксилирование глутаминовой кислоты



Биологическая роль ГАМК:

- Тормозящее действие на ЦНС.
- ГАМК и глутаматдекарбоксилаза – в сером веществе коры большого мозга.
- ГАМК и Glu используются при заболеваниях ЦНС, связанных с возбуждением коры большого мозга (эпилепсия).

Реакция гидроксирования пролина в составе коллагена

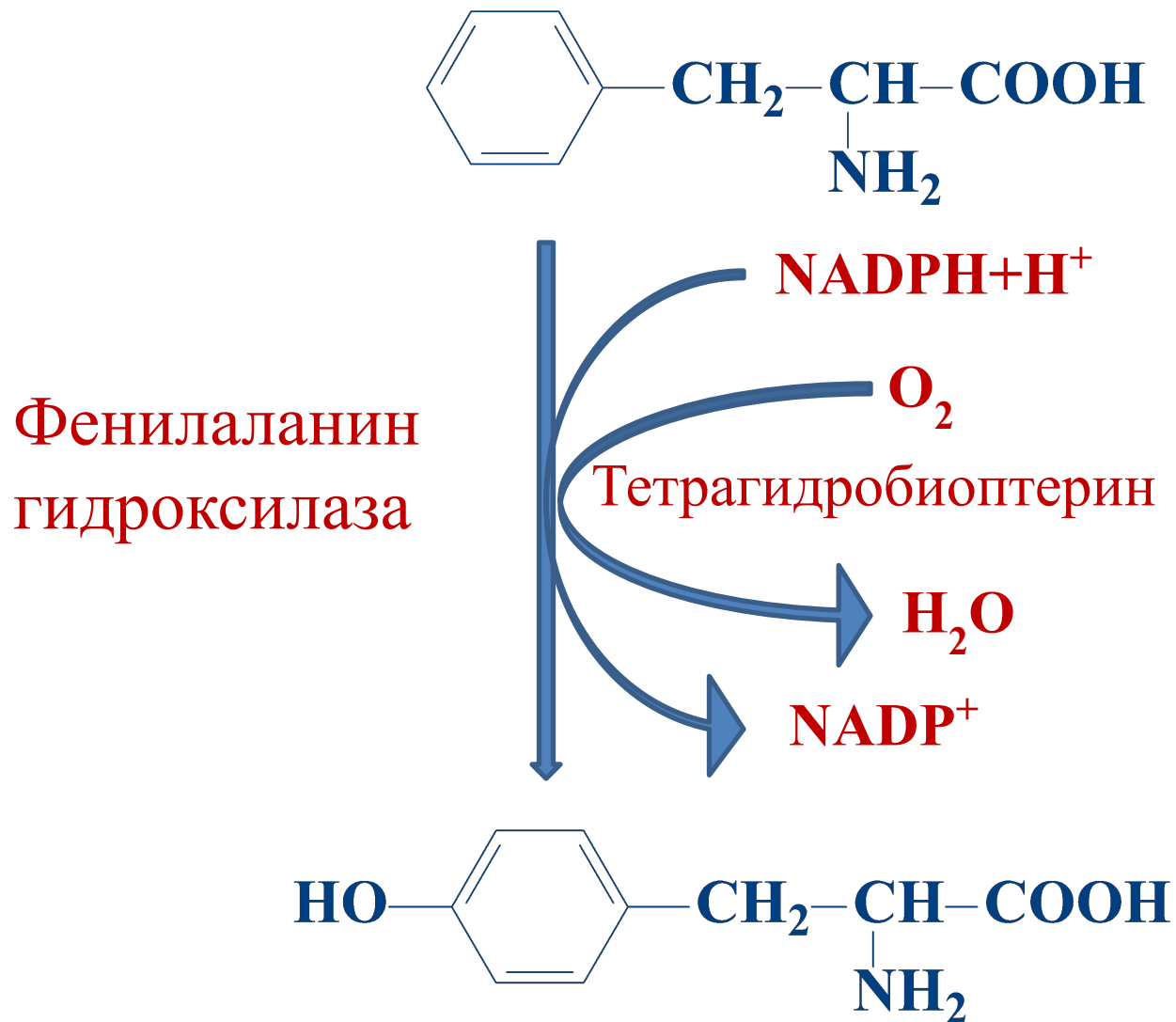


Пролин в составе
полипептидной цепи
проколлагена

Гидроксипролин в составе
полипептидной цепи
проколлагена

Фермент – пролилдиоксигеназа (пролилгидроксилаза).
Коферменты – Fe^{2+} ; витамин С.

Гидроксилирование аминокислот Синтез тирозина из фенилаланина



Полипептидная теория строения белков (Фишер, 1902)

- Белки являются полипептидами, в которых аминокислоты связаны между собой пептидными связями.
- Пептидная связь образуется между α -карбоксильной группой одной аминокислоты и α -аминогруппой следующей аминокислоты.

Образование пептидной связи



- Каждый пептид имеет одну свободную α -аминогруппу (**N-конец**) и одну свободную α -карбоксильную группу (**C-конец**).
- Направление пептидов **N→C**.
- **Название пептида** – название аминокислоты + окончание –ил, последняя аминокислота – полное название.
- **Пример:** Ala-Met-Ser-Asn (аланил-метионил-серил-аспарагин).

СТРУКТУРА БЕЛКОВ.
КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

- Белки – высокомолекулярные азотсодержащие органические вещества, состоящие из аминокислот, соединенных пептидными связями и обладающие сложной структурной организацией.
- «протеины» от греч. protos – первый, важнейший.
- Белки составляют 25% от сырой массы или 45% от сухой массы человеческого организма.
- Содержание азота в белках постоянно и составляет 16% от сухой массы белка.

Функции белков

- Структурная
- Опорная, механическая
- Каталитическая
- Гормональная, регуляторная
- Рецепторная
- Иммунологическая
- Транспортная
- Сократительная
- Резервная
- Энергетическая

Уровни структурной организации белков

- Первичная структура
- Вторичная структура
- Третичная структура
- Четвертичная структура

Первичная структура белка

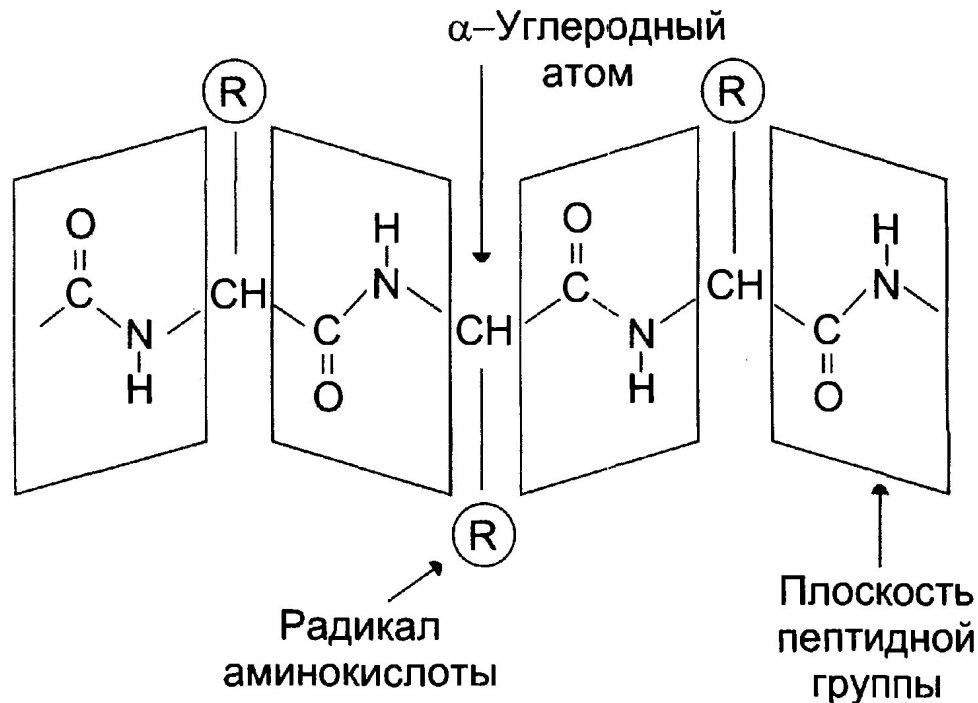
- состав и последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи.
- Генетически детерминирована, т.е. закодирована в ДНК.
- Определяет укладку полипептидной цепи в определенную пространственную структуру.

Свойства пептидной связи

- Частично двойная связь (1,32А), поэтому она короче, чем остальные связи пептидного остова, и вследствие этого **мало подвижна**.
- Связь между α -углеродным атомом и α -карбоксильной или α -аминогруппой одинарная и способна к свободным вращениям, что позволяет белку принимать определенную конформацию.

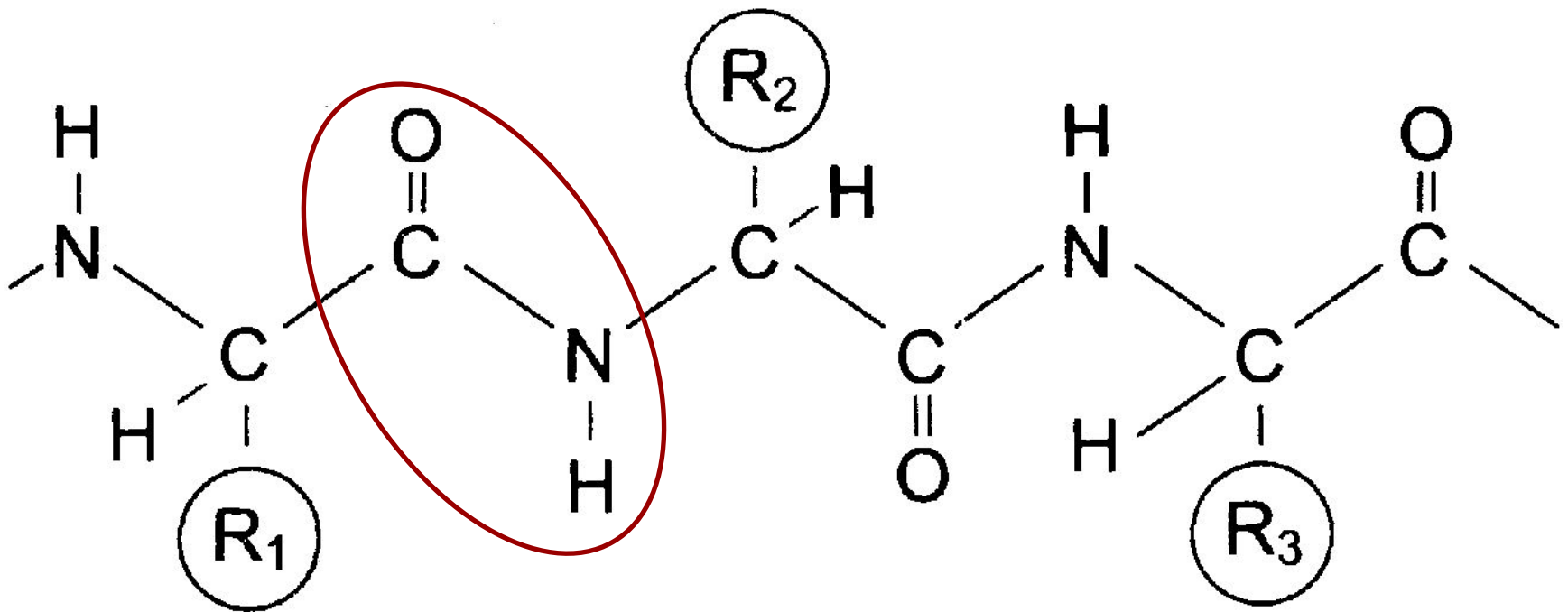
Свойства пептидной связи

- Прочная связь.
- Копланарность – атомы пептидной связи расположены в одной плоскости.



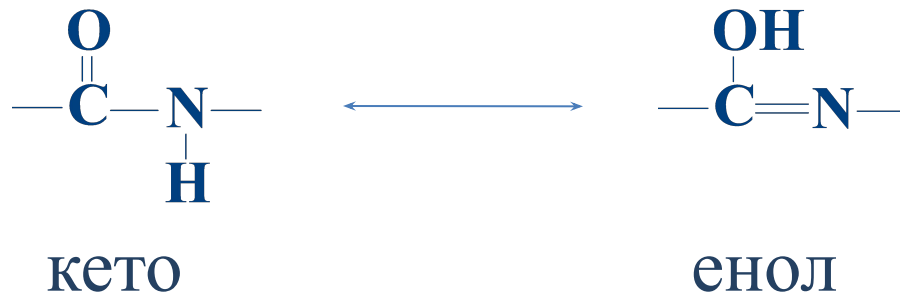
Свойства пептидной связи

- Транс-конфигурация пептидной связи.



Свойства пептидной связи

- Способность образовать 2 водородные СВЯЗИ.
- Способность существовать в 2-х таутомерных формах (кето-енол):



Определение первичной структуры белка

- Два основных этапа:
 1. Определение аминокислотного состава;
 2. Определение аминокислотной последовательности.

Определение аминокислотного состава белка – этапы

1. Полный гидролиз белка (кислотный гидролиз).
 2. Разделение аминокислот (ионообменная хроматография).
 3. Количественный анализ полученных фракций (спектрофотометрическое измерение).
- 2 и 3 этапы – используются аминокислотные анализаторы.

Определение аминокислотной последовательности в белке – этапы

1. Определение N-концевой аминокислоты.
2. Определение C-концевой аминокислоты.
3. Избирательный частичный протеолиз полипептида с определением аминокислотной последовательности в каждом фрагменте.
4. Получение аминокислотной последовательности пептида с помощью перекрывающихся фрагментов.

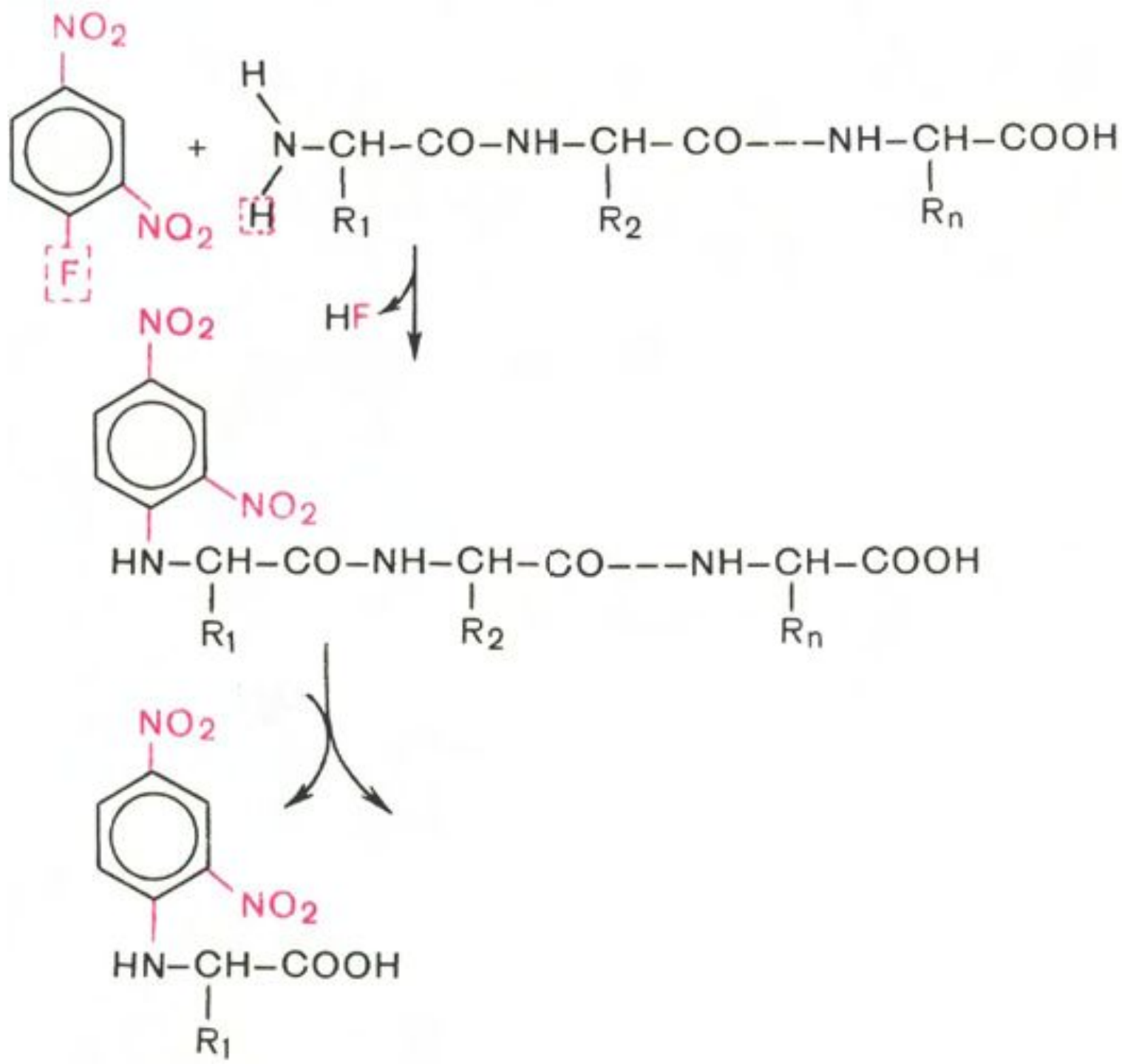
Определение N-концевой аминокислоты

- Метод Сэнгера.
- Метод Эдмана.

Определение N-концевой аминокислоты

Метод Сэнгера:

Используют 2,4-динитрофторбензол, который образует с N-концевой аминокислотой окрашенное в желтый цвет производное, которое идентифицируют методом хроматографии.



Определение N-концевой аминокислоты

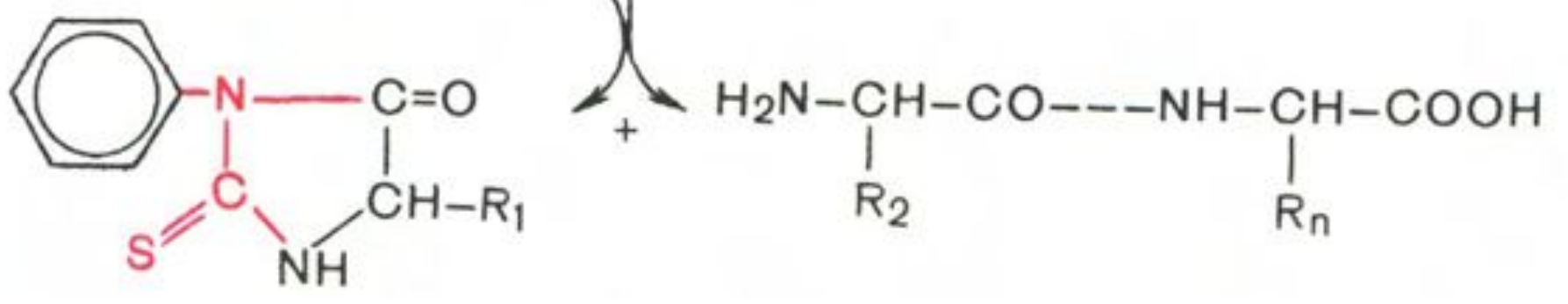
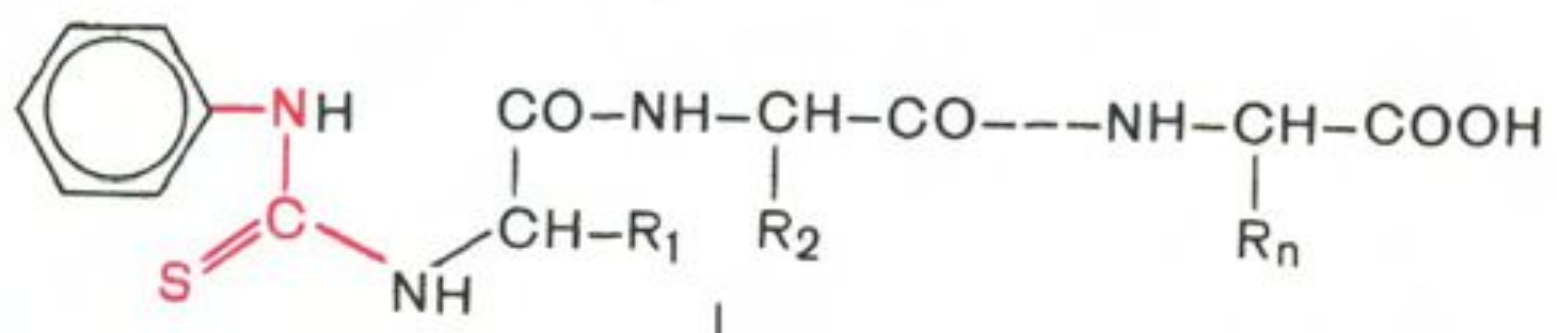
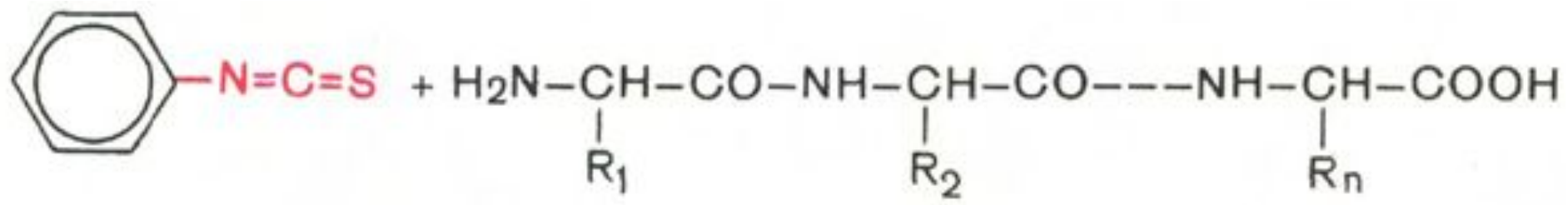
Метод Эдмана:

- **Фенилизотиоцианат** реагирует со свободной α -аминогруппой N-концевой аминокислоты полипептида с образованием фенилтиокарбамоилпептида.

Определение N-концевой аминокислоты

Метод Эдмана

- Обрабатывают продукт реакции кислотой, что приводит к циклизации и освобождению **фенилтиогидантоина N-концевой аминокислоты**, природу которого устанавливают хроматографически.
- Укороченный на одну аминокислоту полипептид подвергают дальнейшему анализу.



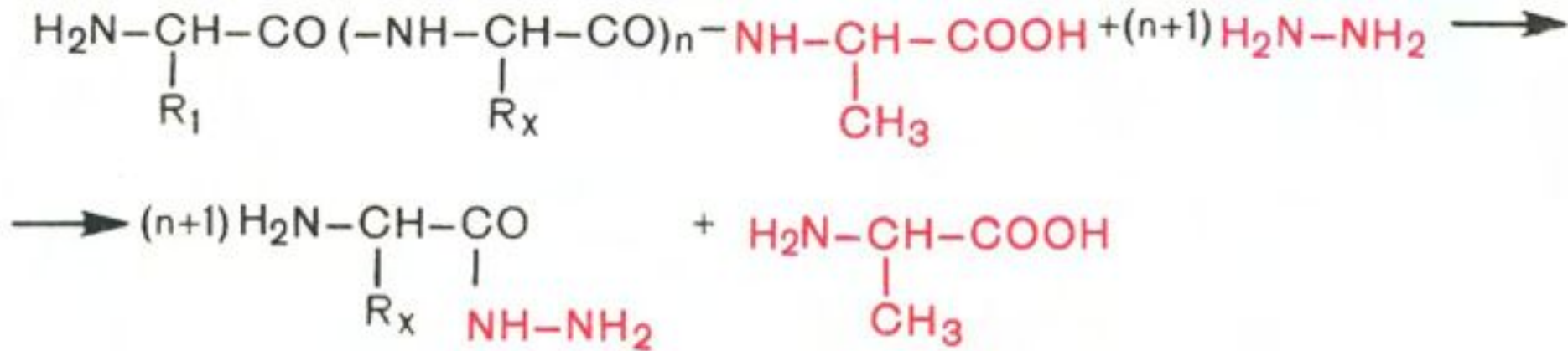
Определение N-концевой аминокислоты

- Метод Эдмана является основой для определения первичной структуры белков и пептидов в специальном приборе – **секвенаторе** (от англ. sequence – последовательность), работающем в автоматическом режиме и позволяющем определить с N-конца пептида до 50-60 аминокислот.

Определение С-концевой аминокислоты

- Метод Акабори (гидразин).
- Обработка боргидридом натрия.
- Ферментативный метод
(карбоксипептидазы).

Метод Акабори



Избирательный частичный протеолиз полипептида

Методы	Используемое вещество	Пептидная связь, которая избирательно расщепляется под действием используемого химического вещества или фермента
Ферментативные	Пепсин	– АК – Phe (Tyr) –
	Трипсин	– Lys (Arg) – АК –
	Химотрипсин	– Phe (Tyr) – АК –
Химические	Бромциан	– Met – АК –

Установление аминокислотной последовательности пептида

Пептиды, полученные при гидролизе белка трипсином

Ала-Гис-Арг

Про-Мет-Тир-Лиз

Вал-Гли

Ала-Гис-Арг-Про-Мет

Тир-Лиз-Вал-Гли

Пептиды, полученные при гидролизе белка бромцианом

Биомедицинское значение определения аминокислотной последовательности белка

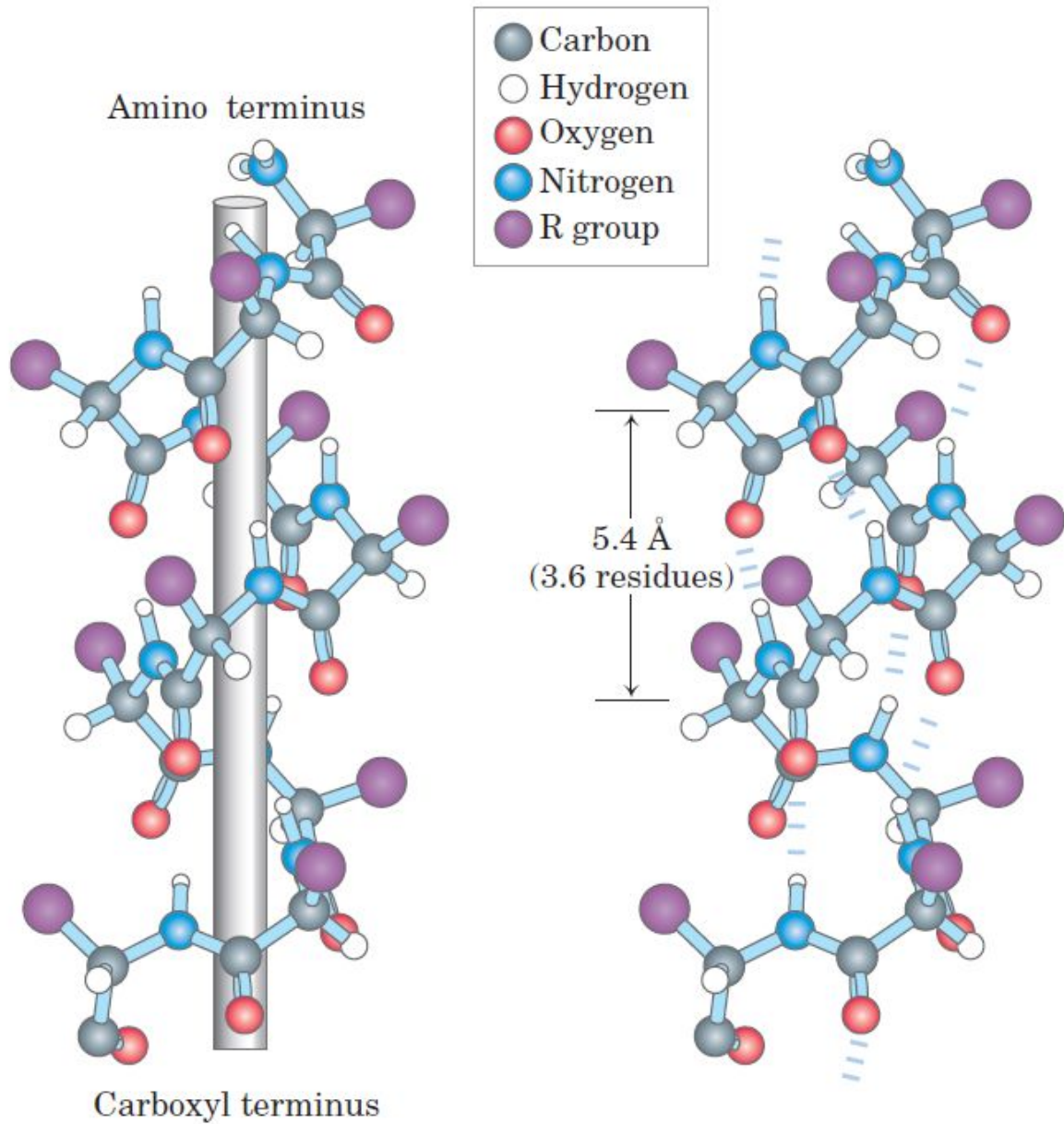
- Изучение закономерностей образования пространственной структуры белков.
- Диагностика и прогнозирование генетических болезней.
- Возможность химического синтеза белков.

Вторичная структура белка

- Упаковка полипептидной цепи в упорядоченную структуру.
- Стабилизируется водородными связями между атомами пептидных связей.
- 2 типа:
 - α -спираль;
 - β -структура.

α -спираль

- Правозакрученная спираль.
- 1 виток – 3,6 аминокислот.
- Водородные связи – между атомами пептидных групп 1 и 4, 2 и 5 и т.д. аминокислот.
- Радикалы аминокислот расположены с наружной стороны пептидного остова.





Аминокислоты, дестабилизирующие α -спираль

- Пролин и гидроксипролин;
- Одинаково заряженные радикалы;
- Объемные радикалы.

β-структура (β-складчатый слой)

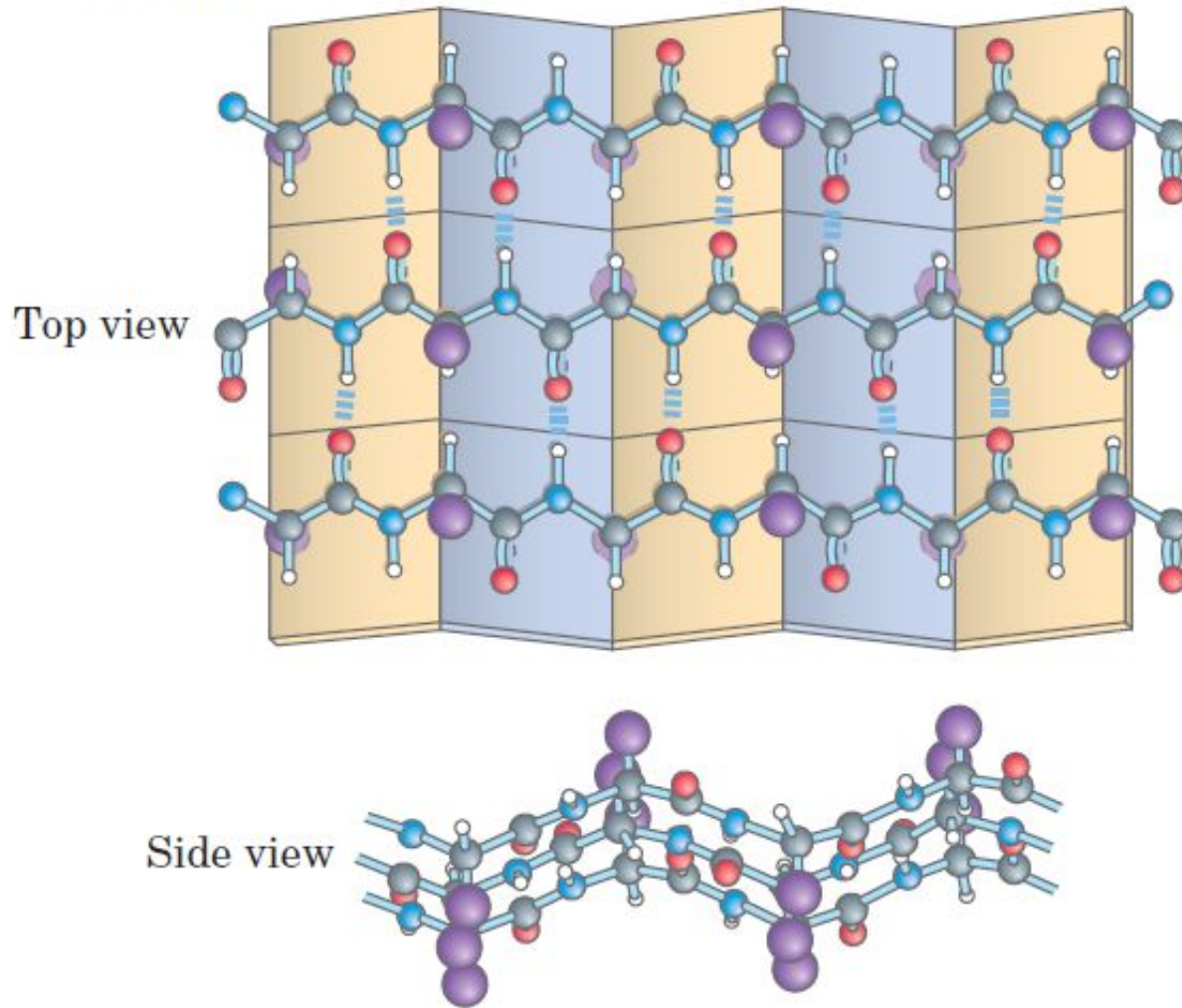
- Образуется между несколькими полипептидными цепями или в пределах одной полипептидной цепи, делающей изгиб.

2 типа:

- Параллельные;
- Антипараллельные.

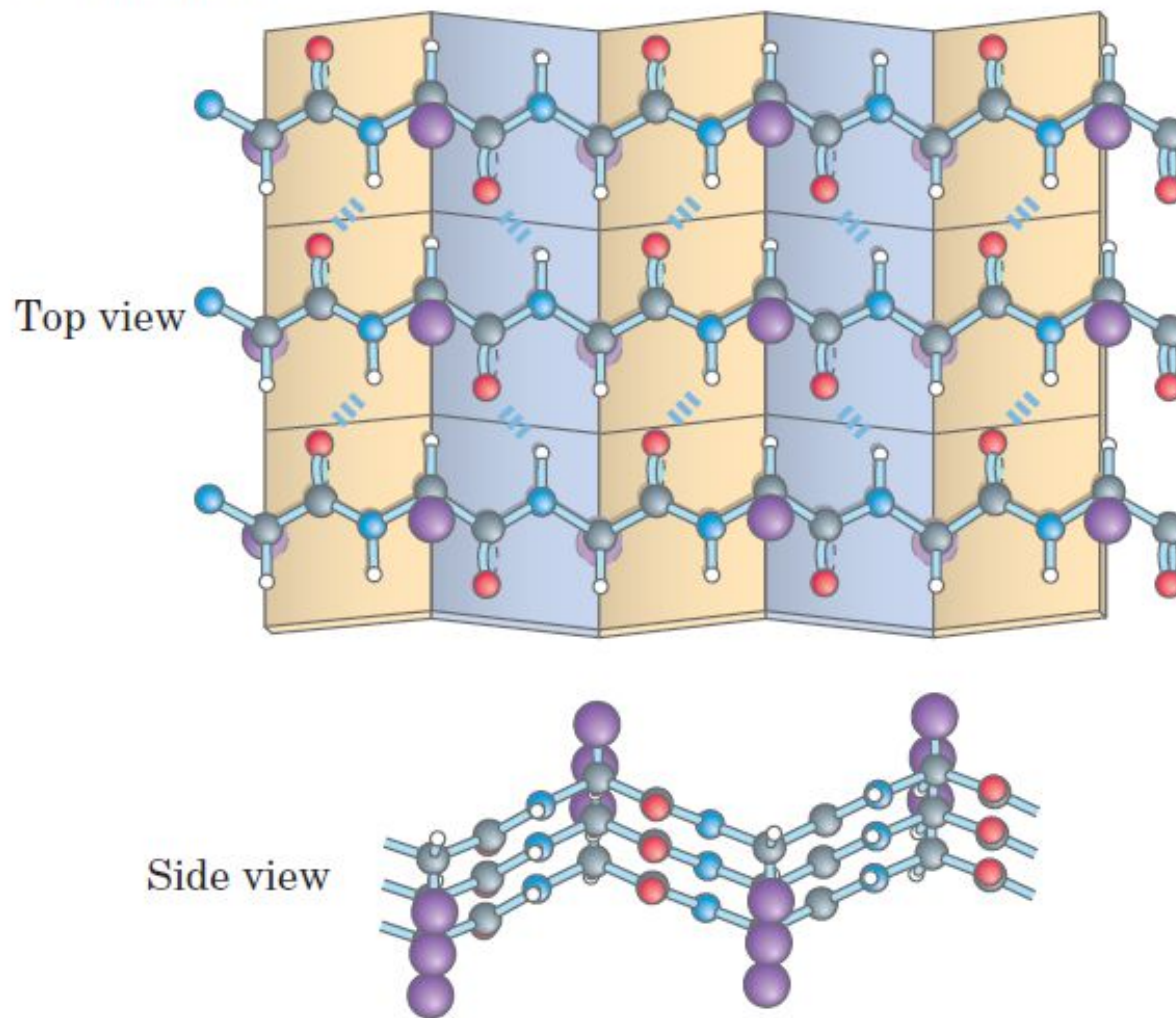
Антипараллельный β -складчатый слой

(a) Antiparallel



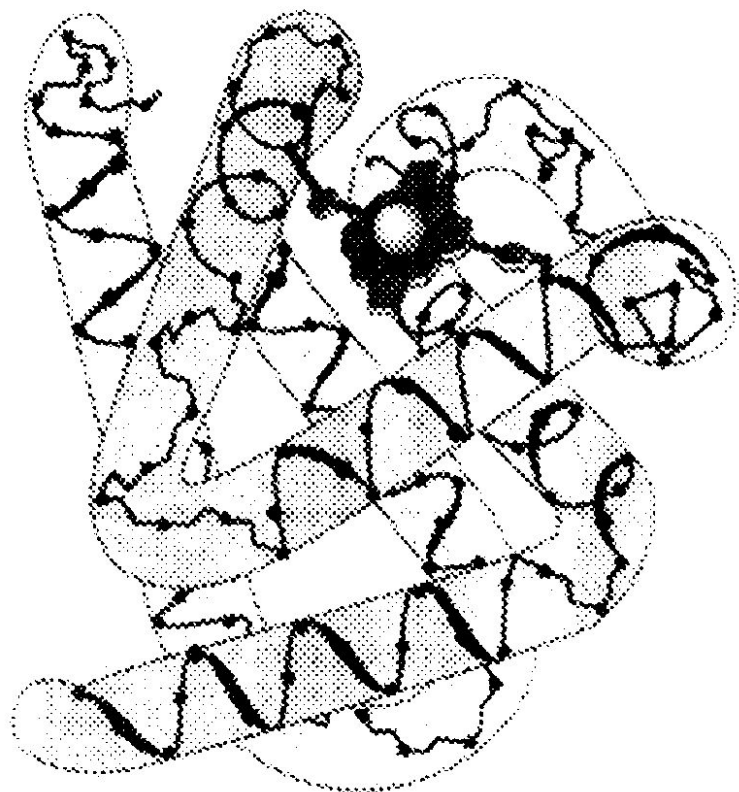
Параллельный β -складчатый слой

(b) Parallel

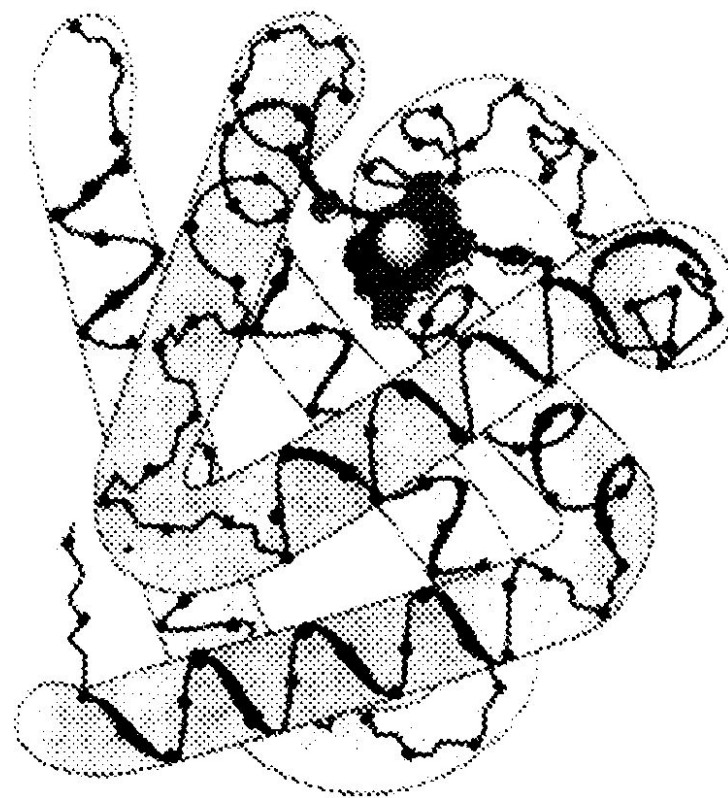


Классификация белков по содержанию разных типов вторичных структур

1. Состоящие только из α -спиралей (примеры – миоглобин, гемоглобин).
2. Состоящие из сочетаний α -спиралей и β -структур (ЛДГ, фосфоглицераткиназа).
3. Имеющие только β -структуры (иммуноглобулины, СОД).
4. Состоящие в основном из беспорядочных структур.

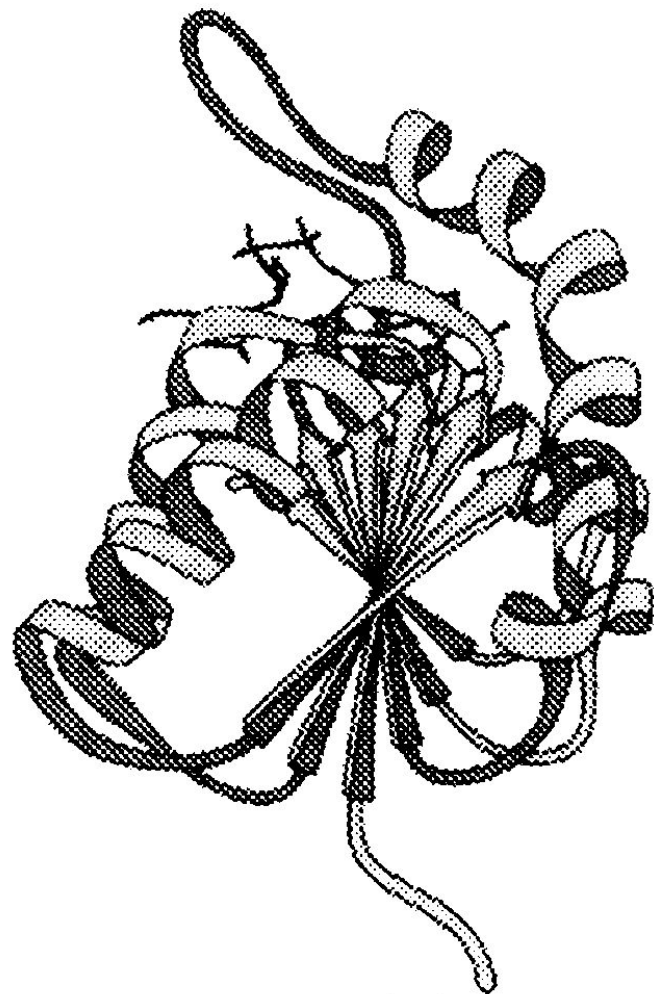


А

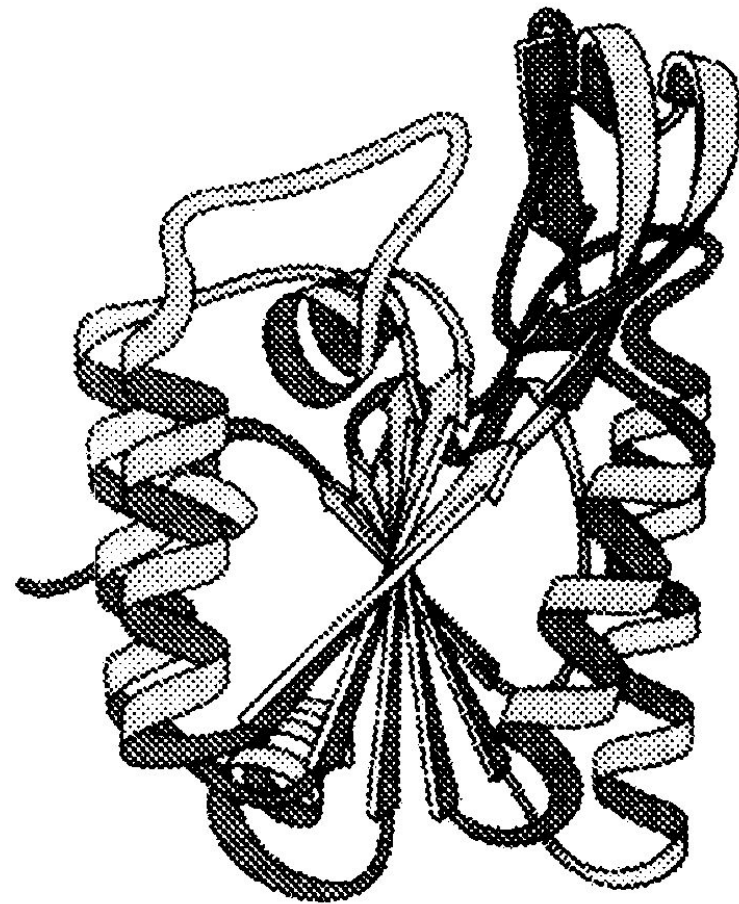


Б

Рис. 1-8. Восемь α -спиралей в структуре миоглобина (А) и β -цепи гемоглобина (Б).



А



Б

Рис. 1-9. α -Спирали и β -структуры в домене лактатдегидрогеназы (А) и фосфоглицераткиназы (Б).

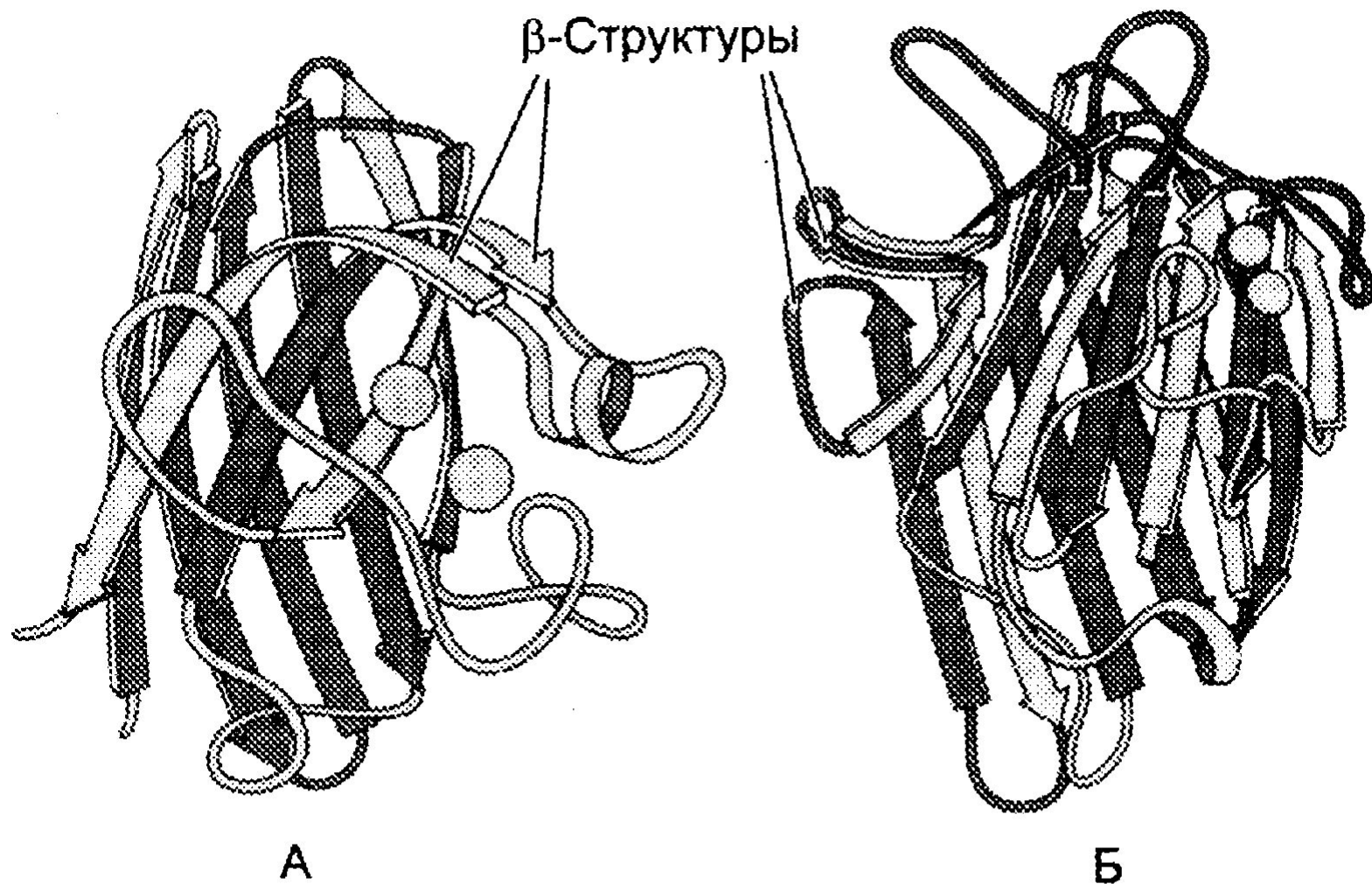


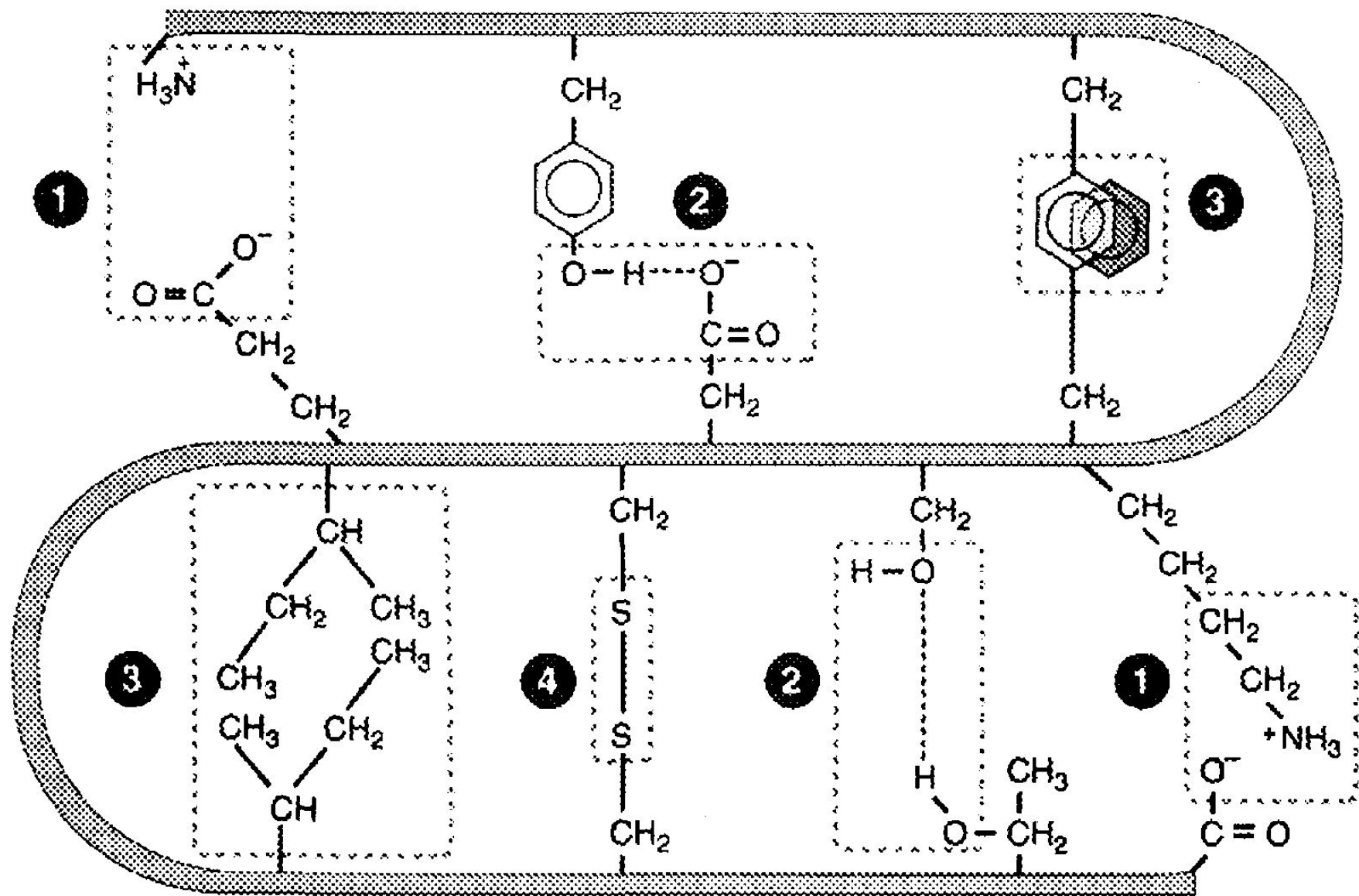
Рис. 1-10. β -Складчатая вторичная структура в константном домене иммуноглобулина (А) и ферменте супероксид-дисмутазе (Б).

Третичная структура белка

- Пространственная структура (укладка полипептидной цепи в определенную конформацию).
- Стабилизируется за счет связей между радикалами аминокислот, которые могут располагаться на значительном расстоянии друг от друга в полипептидной цепи.

Связи, участвующие в формировании третичной структуры белка

- Ковалентные связи:
 - Дисульфидные;
 - Эфирные;
 - Псевдопептидные.
- Нековалентные связи:
 - Ионные;
 - Водородные;
 - Гидрофобные.



Третичная структура

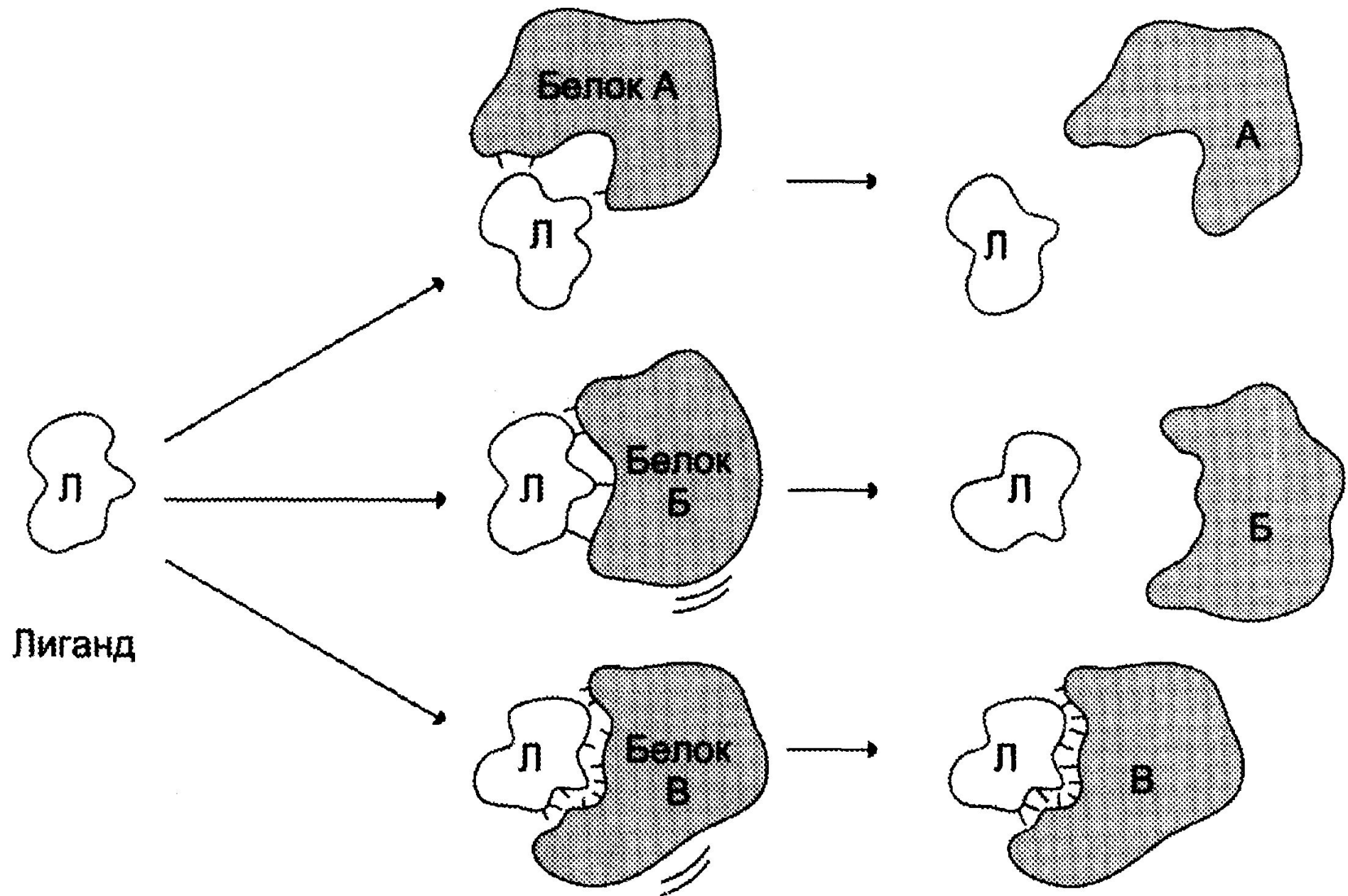
функционально активная конформация,
«нативная структура»!!!

Конформационная лабильность белков

- – склонность к небольшим изменениям конформации за счет разрыва одних и образования других слабых связей.
- Конформация белка может меняться при изменении химических и физических свойств среды, а также при взаимодействии белка с другими молекулами.
- Конформационные изменения лежат в основе функционирования белков.

Функционирование белков

- осуществляется за счет связывания белка с лигандом.
- Высокая специфичность связывания белка с лигандом обеспечивается комплементарностью структуры активного центра белка структуре лиганда.



Доменная структура белков

- **Домен** – участок полипептидной цепи, который в процессе формирования пространственной структуры приобрел независимо от других участков той же цепи конформацию глобулярного белка.

Примеры белков, обладающих доменной структурой:

- Иммуноглобулины;
- Кальмодулин.

Четвертичная структура белков

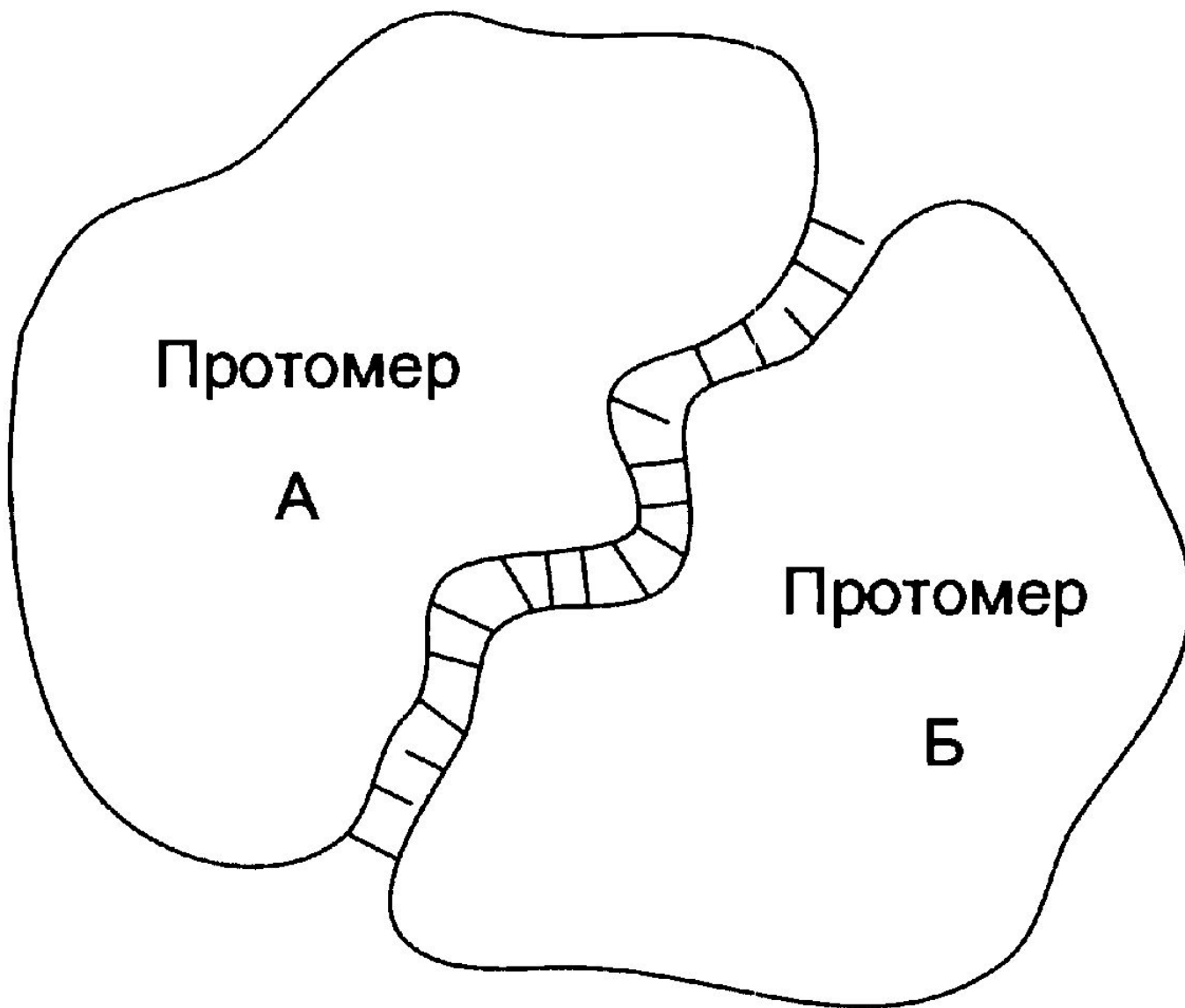
- характерна для белков, состоящих из 2-х или более полипептидных цепей, каждая из которых обладает собственной **третичной структурой**.
- Отдельные полипептидные цепи – субъединицы, **протомеры**.
- Белок с четвертичной структурой – **олигомер**.
- Связи между протомерами – нековалентные.

Четвертичная структура белков

- протомеры могут быть одинаковые или разные;
- количество протомеров – от 2-х до десятков.
- Примеры:
- Гексокиназа – 2 одинаковых протомера;
- Гемоглобин, ЛДГ – тетрамеры, состоящие из 2-х типов протомеров.
- **Активная форма – олигомерный белок.**

Комплементарность протомеров

- Сборка олигомерного белка осуществляется за счет контактных участков.
- Специфичность связывания контактных участков определяется их комплементарностью.
- Комплементарность – пространственное и химическое соответствие.



Особенности функционирования олигомерных белков

– кооперативность изменения конформации
протомеров.

Пример – гемоглобин.

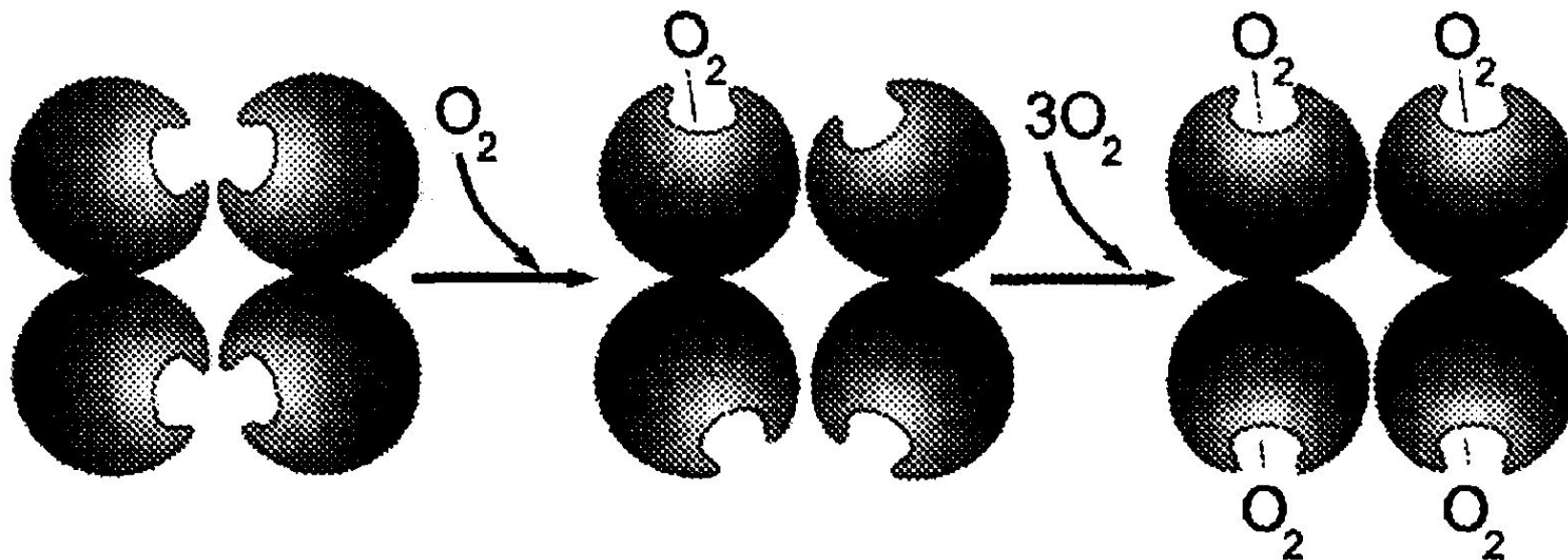


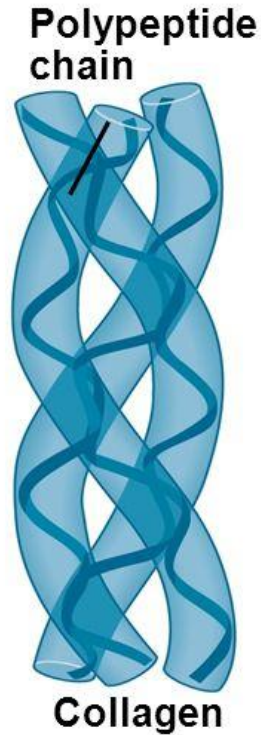
Рис. 1-34. Кооперативные изменения конформации протомеров гемоглобина при присоединении O_2 .

Классификация белков (по форме молекул)

- Глобулярные:
- Миоглобин;
- Гемоглобин.
- Фибриллярные:
- Коллаген;
- Кератин;
- Миозин;
- Фибриноген.

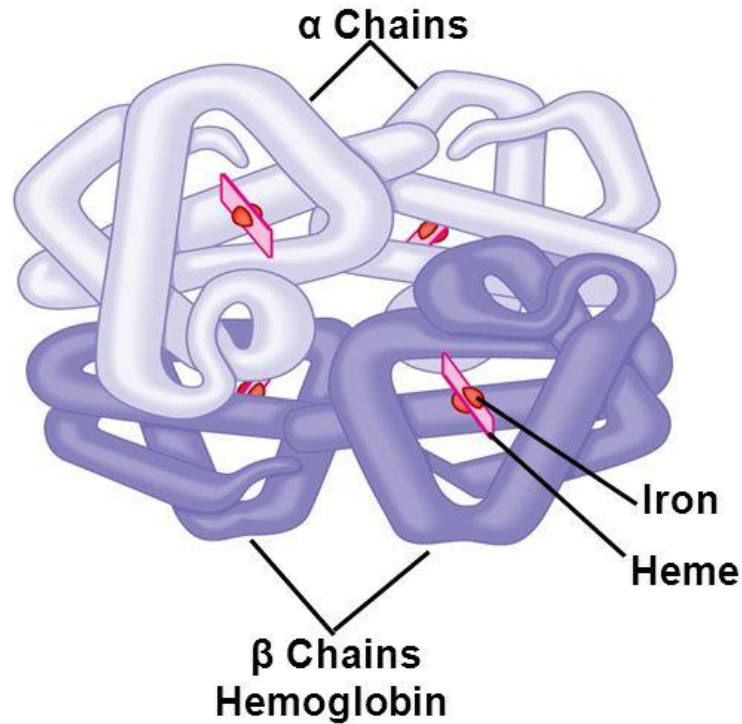
Примеры фибриллярного белка (коллаген) и глобулярного белка (гемоглобин)

Fig. 5-21g



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Collagen- fibrous protein made of three polypeptides coiled like a rope



Hemoglobin- globular protein made of four polypeptides: two alpha and two beta chains

PLAY

Animation: Quaternary Protein Structure

Классификация белков (структурный принцип)

- Простые:
 - Гистоны;
 - Альбумины;
 - Эластин.
 - Сложные – холопротеины:
1. Белковая часть (апобелок);
 2. Небелковая часть (простетическая группа).

Классы сложных белков

Нуклеопротеины = белок + нуклеиновые кислоты.

- Примеры – хроматин, рибосомы.
- Связи между белком и нуклеиновыми кислотами – ионные.

Гликопротеины = белок + углеводы.

- Примеры – коллаген, иммуноглобулины, фибриноген.
- Связи между белком и углеводами – гликозидные.

Классы сложных белков

Липопротеины = белок + липиды.

- Пример – клеточные мембраны.
- Связи между белком и липидами – ионные, водородные, гидрофобные.

Металлопротеины = белок + различные металлы.

- Примеры – трансферрин (транспортный белок для железа; церуллоплазмин – содержит медь).

Классы сложных белков

Фосфопротеины = белок + фосфорная кислота.

- Пример – казеин молока.
- Связи между белком и фосфорной кислотой – эфирные.

Классы сложных белков

Хромопротеины – окрашенные белки:

А) **Гемопроотеины** = белок + гем (содержит железо) – красный цвет.

- Примеры – гемоглобин, миоглобин, каталаза, цитохромы.

Б) **Флавопротеины** = белок + ФАД или ФМН (содержат рибофлавин, витамин В₂) – желтый цвет.

- Примеры – сукцинат дегидрогеназа.

Коллаген

- Фибриллярный белок, синтезируемый клетками соединительной ткани.
- Содержится в межклеточном веществе.
- Составляет $\frac{1}{4}$ всех белков организма.
- Входит в состав соединительной ткани — кость, зубы, сухожилии, хрящи, кожа, кровеносные сосуды, кожа.
- **Обеспечивает прочность соединительной ткани.**

Первичная структура коллагена – α-коллагеновая цепь

- Различают 20 типов коллагеновых цепей.
- α-коллагеновая цепь состоит из ≈ 1000 аминокислотных остатков.
- $\frac{1}{3}$ аминокислот – глицин.
- $\frac{1}{4}$ аминокислот – пролин и гидроксипролин.
- 10% аминокислот – аланин.
- Содержится гидроксизин.
- Отсутствуют цистеин и триптофан.
- Полипептидная цепь коллагена – повторяющиеся триплеты аминокислот – Gly-X-Y (X – часто пролин, а Y – гидроксипролин или гидроксизин).

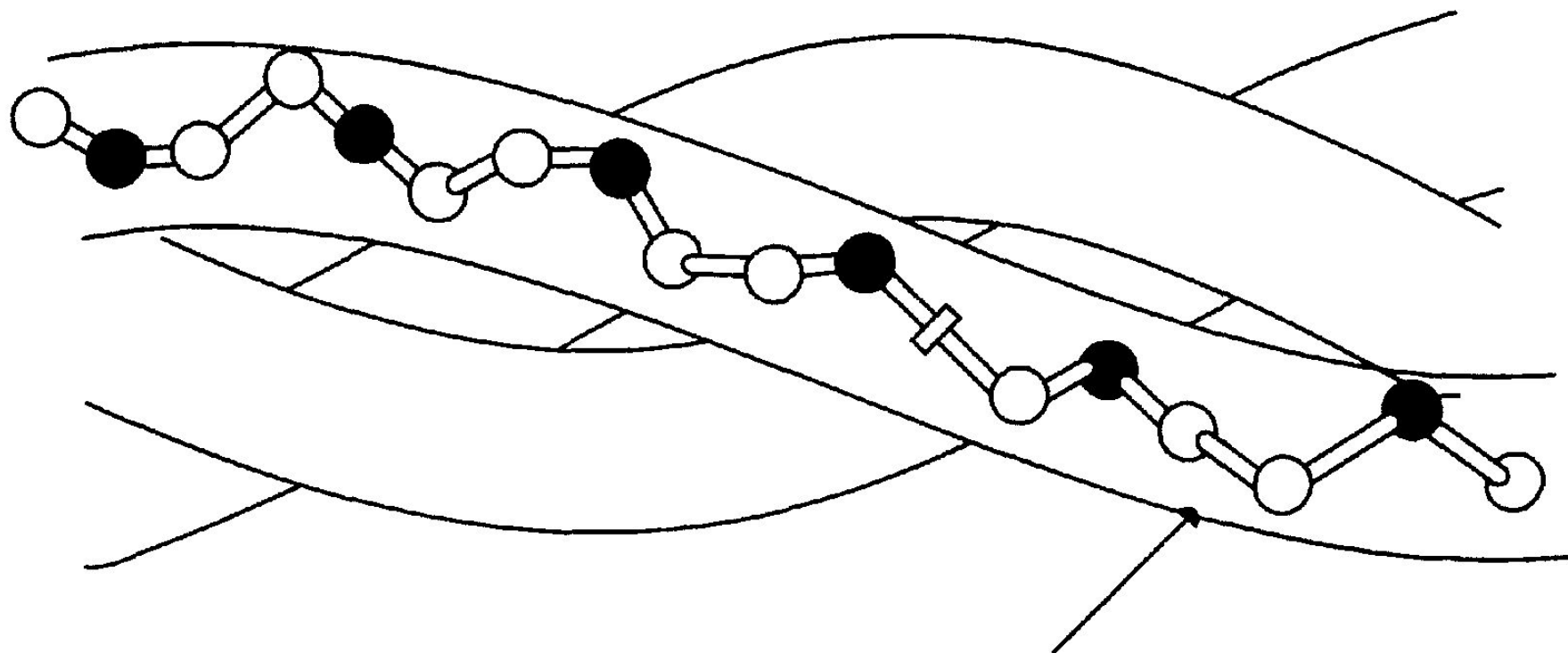
Особенности вторичной структуры коллагена

Альфа-коллагеновая спираль:

- левозакрученная спиральная конформация – за счет пролина, который создает изгиб в полипептидной цепи.
- Один виток – 3 аминокислоты.
- Спираль коллагена стабилизируется силами стерического отталкивания колец пролина.

Тропоколлаген

- **Трехцепочечная правозакрученная суперспиральная молекула.**
- Является структурной единицей коллагена.
- Стабилизируется тропоколлаген водородными связями между атомами пептидной группы.
- Пролин и гидроксипролин («жесткие» аминокислоты) ограничивают вращение полипептидного стержня и увеличивают стабильность тройной спирали.
- Глицин находится в месте пересечения цепей – отсутствие радикала у глицина позволяет цепям плотно прилегать друг к другу.



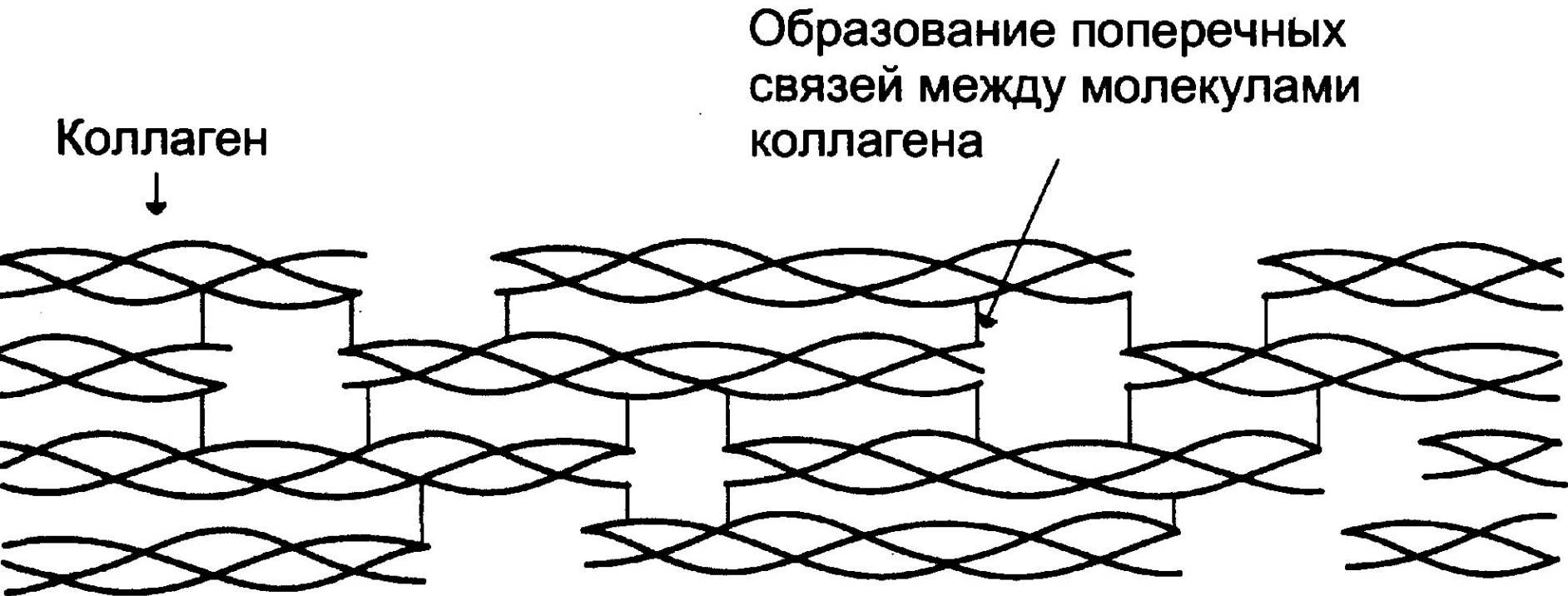
α -цепь коллагена

Рис. 1-41. Строение молекулы тропоколлагена (фрагмент).

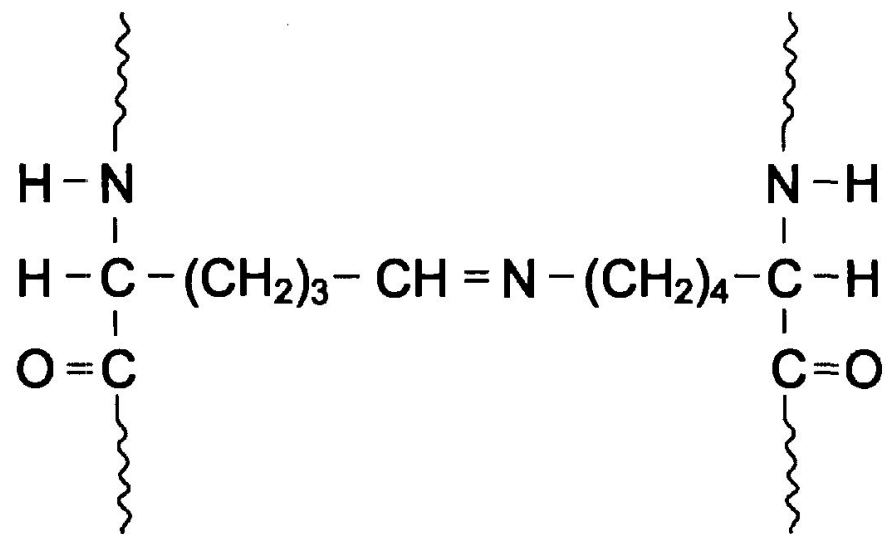
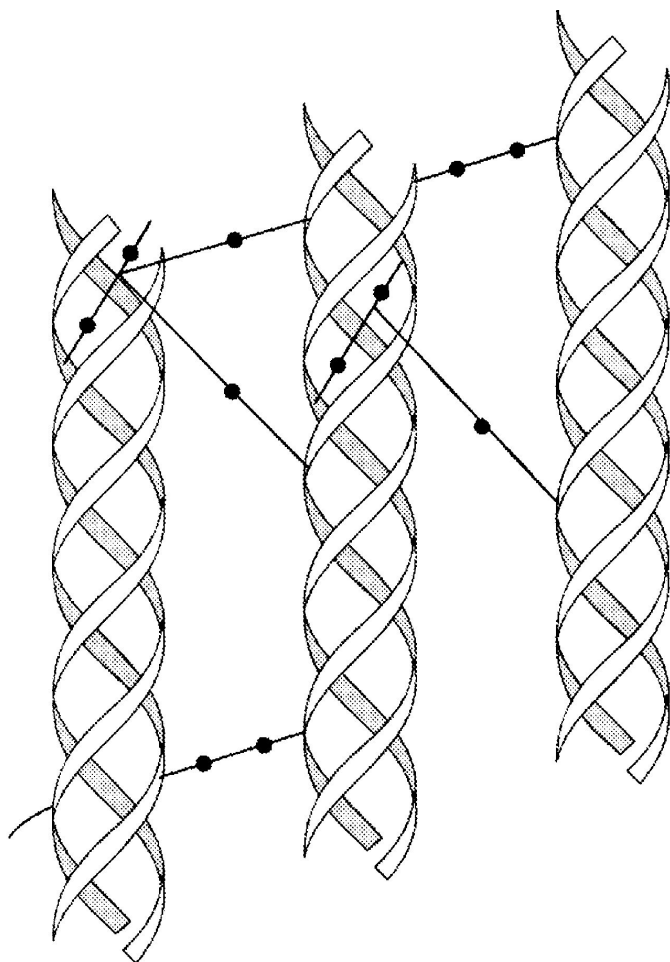
Фибриллы коллагена

- Молекулы тропоколлагена объединяются в фибриллы за счет взаимодействия комплементарных участков.
- Нити коллагена сдвинуты по отношению друг к другу на $\frac{1}{4}$ длины.
- Связи между молекулами тропоколлагена – водородные, ионные, гидрофобные, **прочные ковалентные связи (поперечные сшивки)**, в образовании которых участвуют радикалы **лизина и гидроксизина** .

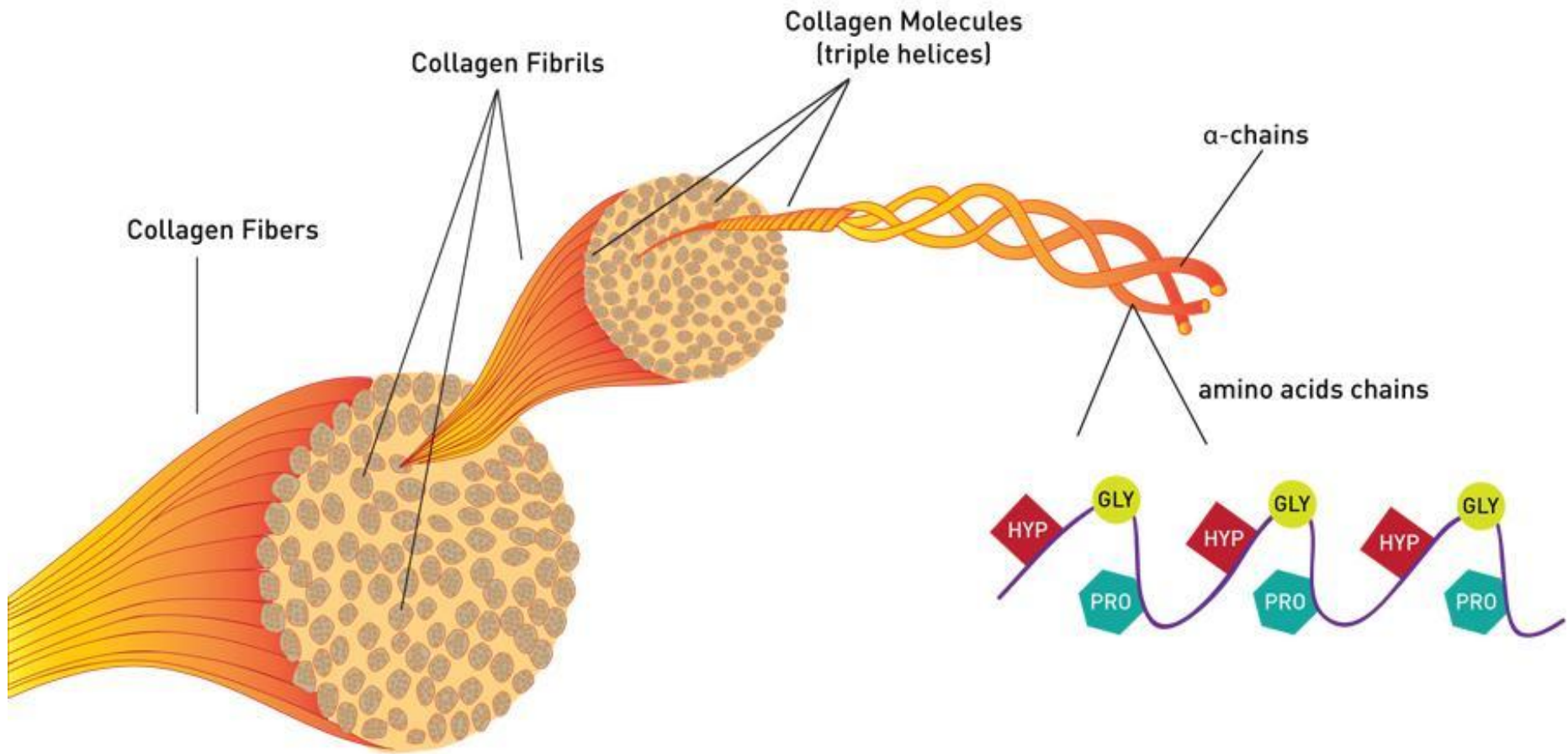
Укладка молекул тропоколлагена в фибриллы коллагена



Поперечные сшивки между радикалами лизина



Структура коллагена



Эластин

- Белок межклеточного вещества соединительной ткани.
- Входит в состав соединительной ткани – кожа, легкие, стенки сосудов, эластичные связки.
- Обладает резиноподобными свойствами.
- Обеспечивает эластичность соединительной ткани.

Эластин

- Полипептидная цепь эластина содержит около 800 остатков аминокислот.
- Содержит много глицина, аланина, валина, сравнительно много пролина, лизина, мало гидроксипролина, не содержит гидроксизин.

Эластин

- Наличие большого количества гидрофобных радикалов препятствует образованию стабильной глобулы. Цепи эластина не формируют регулярные вторичную и третичную структуры, а принимают в межклеточном матриксе разные конформации.
- Отсутствие упорядоченной структуры объясняет высокую степень растяжимости.

Эластин

- В межклеточном матриксе молекулы эластина образуют волокна, в которых пептидные цепи связаны между собой поперечными связями (сшивками).
- Структуры называются:
- **Десмозин** (образуются между 4-мя остатками лизина) и
- **Лизиннорлейцин** (образуются между 2-мя остатками лизина).

Эластин

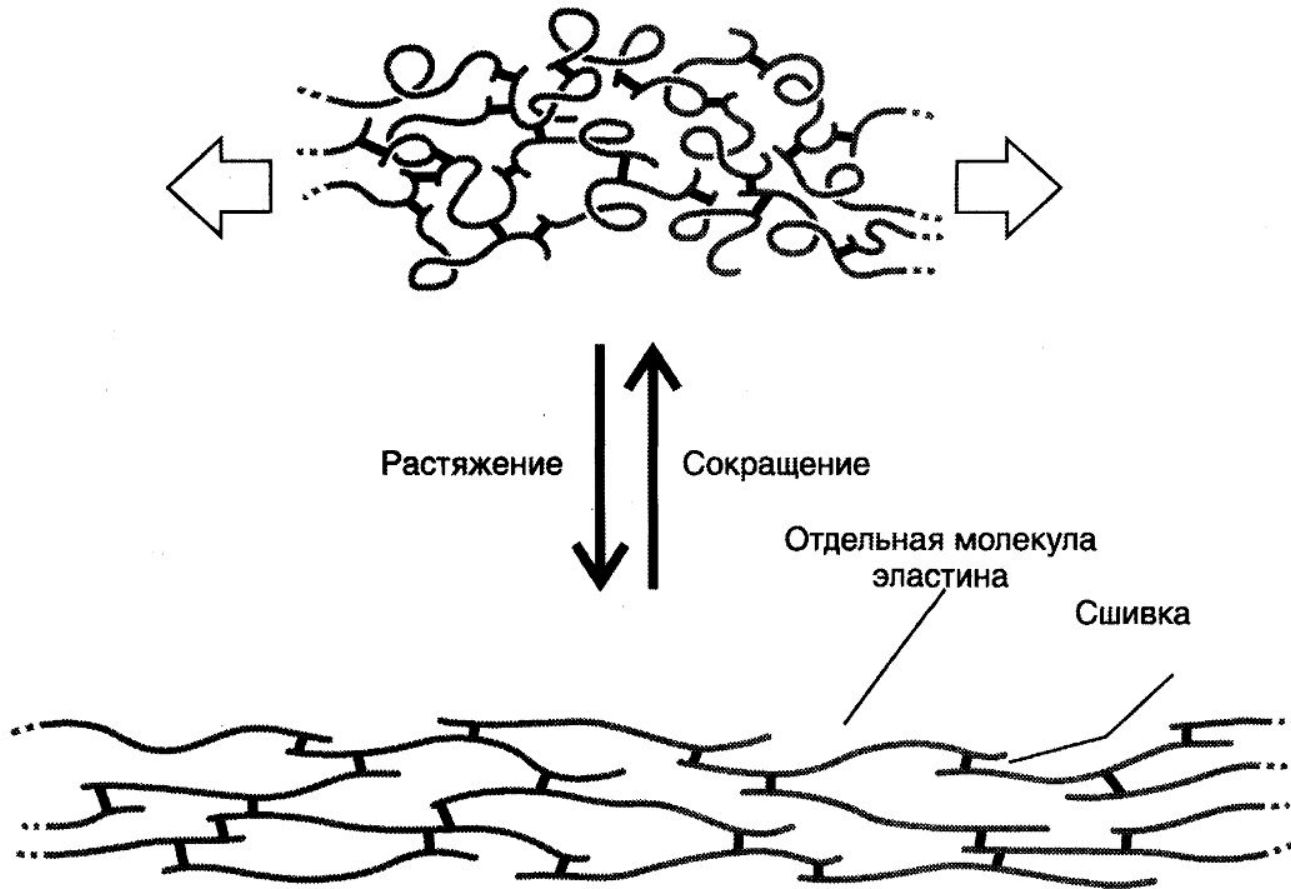
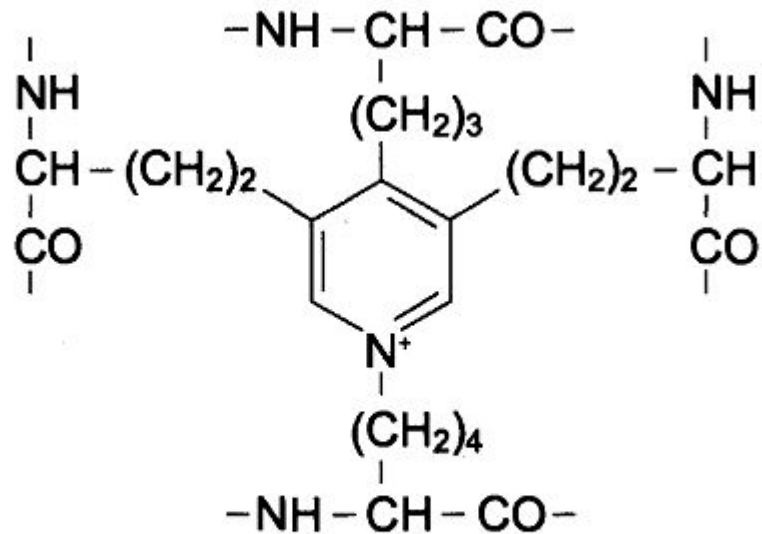
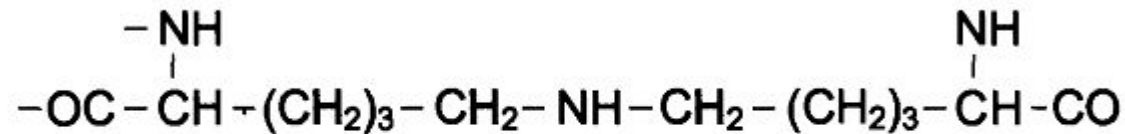


Рис. 15-12. Молекулы эластина связаны ковалентными сшивками в обширную сеть.

Ковалентные сшивки в позволяют волокнам эластина растягиваться и сжиматься



Десмозин (образован четырьмя остатками лизина)



Лизиннорлейцин (образован двумя остатками лизина)

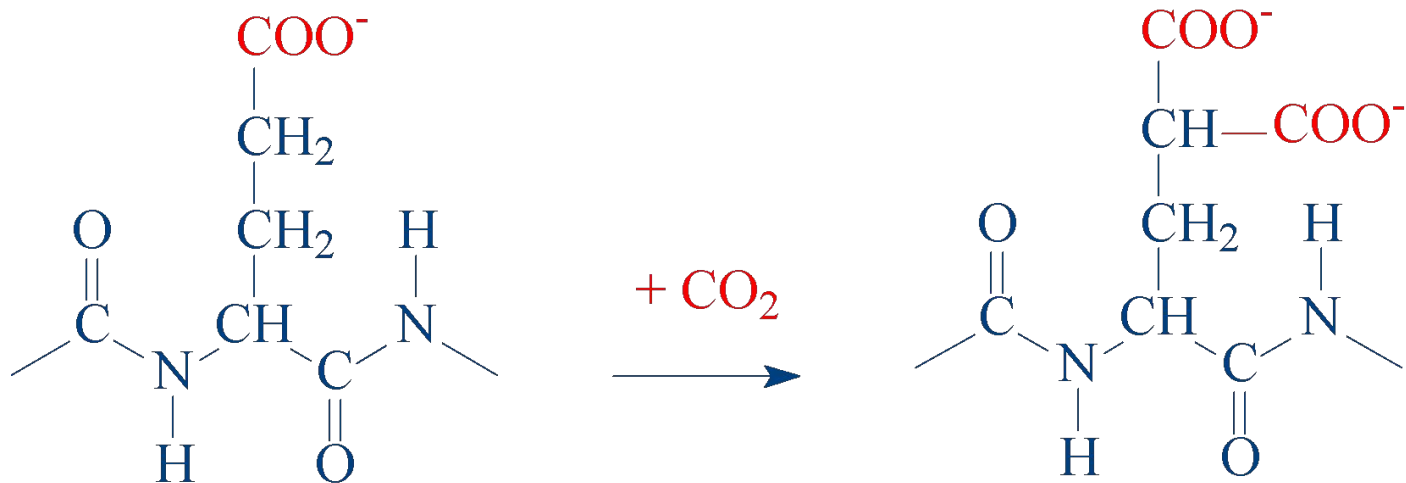
Кальций-связывающие белки

- Кальмодулин;
- Кальций-переносящий белок энтероцитов (кальбиндин);
- Коллаген;
- Факторы свертывания крови (II, VII, IX, X);
- Ca^{2+} -АТФ-аза.

Структурные особенности кальций- связывающих белков

- Содержат γ -карбоксиглутаминовую кислоту (Gla).
- γ -карбоксиглутаминовая кислота образуется из глутаминовой кислоты в ходе посттрансляционного карбоксилирования с участием витамина К.
- Gla содержат 2 диссоциированные карбоксильные группы (2 заряда «-»), необходимые для связывания Ca^{2+} .

Реакция карбоксилирования глутаминовой кислоты в составе кальций-связывающих белков



Glu в составе
полипептидной цепи
кальций-связывающих белков

Gla в составе
полипептидной цепи
кальций-связывающих белков

Фермент – глутамат карбоксилаза.
Кофермент – витамин К.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА БЕЛКОВ.
МЕТОДЫ ОЧИСТКИ И
РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ

Молекулярная масса белков

- Белки – высокомолекулярные соединения (молекулярная масса – 6000-1000000 Д).
- Методы определения молекулярной массы белков:
 - Ультрацентрифугирование;
 - Гель-хроматография;
 - Электрофорез;
 - Масс-спектрометрия.

Электро-химические свойства белков

- Обусловлены присутствием в составе белков кислых (Glu, Asp) и основных аминокислот (Lys, Arg, His).
- Суммарный заряд белка зависит от соотношения ионизированных карбоксильных групп и ионизированных основных групп.

Электро-химическая классификация белков

- Нейтральные.
- Кислые (преобладают **Glu, Asp**).
- Основные (преобладают **Lys, Arg, His**).

Электро-химические свойства белков

- Степень ионизации функциональных групп радикалов кислых и основных аминокислот зависит от рН среды.
- При физиологических значениях рН все ионогенные группы белка находятся в ионизированном состоянии.

Электро-химические свойства белков

- Значение рН, при котором белок приобретает нулевой заряд, называется изоэлектрической точкой и обозначается как pI .
- pI нейтральных белков – $pH = 7$
- pI кислых белков – кислая среда ($pH < 7$)
- pI основных белков – щелочная среда ($pH > 7$)

Электро-химические свойства белков

- Лежат в основе электрофореза.
 - Электрофорез – движение заряженных частиц в электрическом поле.
1. В изоэлектрической точке суммарный заряд белка = 0, белок не перемещается в электрическом поле.
 2. При значении pH , ниже его pI , белок приобретает «+» заряд (катион) и движется к «-» электроду (катоде).
 3. При значении pH , выше его pI , белок приобретает «-» заряд (анион) и движется к «+» электроду (аноду).

Электрофорез белков сыворотки крови

крови

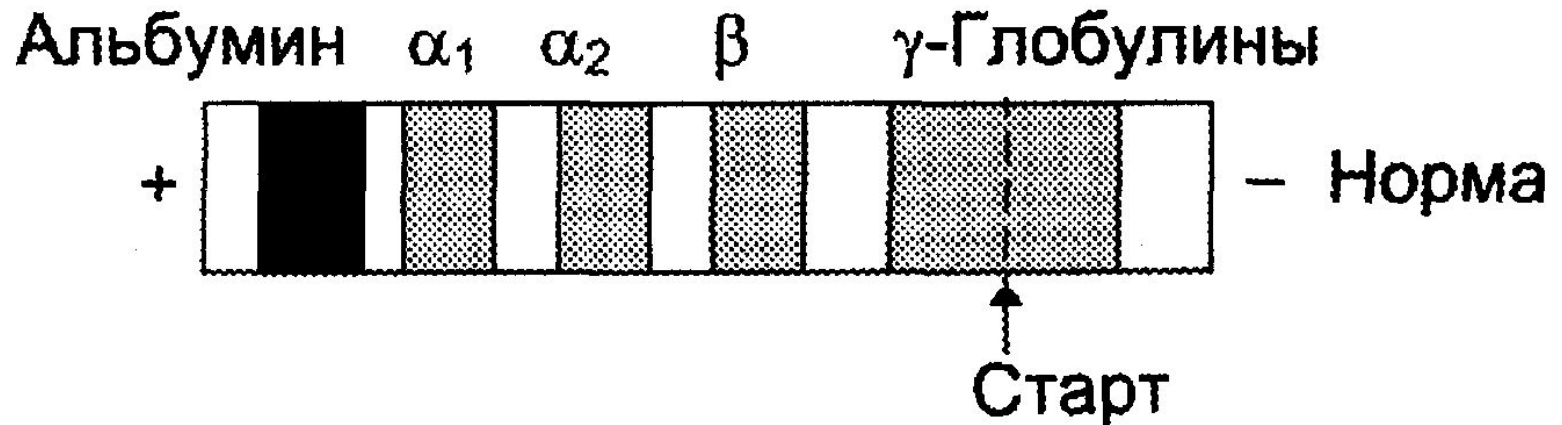


Рис. 1-57. Электрофорез белков сыворотки крови здорового человека на бумаге.

Растворимость белков

Зависит от:

- Содержания полярных и неполярных групп;
- Заряда белка;
- Массы белка;
- Формы белка.

Факторы, влияющие на растворимость белков

- **Присутствие нейтральных солей** – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , NaCl , MgCl_2 . В низких концентрациях – повышают растворимость, в высоких – уменьшают.
- **Значение pH**. В pI белки наименее устойчивы, т.к. имеют суммарный нулевой заряд.
- **Температура**. Увеличение температуры увеличивает растворимость белков.

Факторы, стабилизирующие белковые растворы

- **Заряд белка** – одноименно заряженные молекулы белка отталкиваются друг от друга.
- **Гидратная оболочка** – препятствует сближению и склеиванию молекул и их выпадению в осадок.

Высаливание белков

- Метод очистки белков, основанный на различиях в их растворимости при разной концентрации соли в растворе.

Механизм высаливания:

1. Удаление гидратной оболочки;
2. Нейтрализация заряда.

При высаливании сохраняются нативные свойства белков.

Пример: разделение альбуминов и глобулинов.

Свойства коллоидных белковых растворов

Оптические свойства.

- При боковом освещении белкового раствора образуется светящийся конус – эффект Тиндаля (из-за дифракции лучей света частицами белка).
- Оптические свойства белков используются для их количественного определения нефелометрическим методом.

Свойства коллоидных белковых растворов

Малая скорость диффузии.

- Диффузия – самопроизвольное движение молекул растворенных веществ.
- Белки обладают ограниченной скоростью диффузии.
- Диффузия белков зависит от молекулярной массы и формы белковой молекулы.

Свойства коллоидных белковых растворов

Осмотические свойства.

- Белки являются высокомолекулярными веществами, потому не проходят через полупроницаемые мембраны.
- Неспособность белков проходить через полупроницаемые мембраны используется для очистки белков от низкомолекулярных веществ и называется **диализом**.

Свойства коллоидных белковых растворов

- Неспособность белков диффундировать через мембраны вызывает явление осмоса, т.е. перемещение воды через мембрану в раствор белка.
- Перемещение воды повышает гидростатическое давление, которое препятствует дальнейшему перемещению воды.

Свойства коллоидных белковых растворов

- То давление, которое нужно приложить, чтобы остановить ток воды, называется осмотическим давлением и зависит от молярной концентрации белка и температуры. Осмотическое давление, поддерживаемое белками, называется **онкотическим давлением**.

Свойства коллоидных белковых растворов

Высокая вязкость

- Обусловлена силами сцепления между молекулами белка и зависит от формы белковых молекул.
- Вязкость зависит от:
 - Формы белковых молекул;
 - Температуры;
 - Присутствия различных ионов (Ca^{2+}).

Свойства коллоидных белковых растворов

Способность к образованию гелей

- Взаимодействие макромолекул белка приводит к образованию структурных сеток, внутри которых иммобилизуется вода – образуется **гель**.
- Пример: полимеризация фибрина с образованием сгустка.

Денатурация белков

- Нарушение нативной структуры белка.
- При денатурации происходит разрыв связей, стабилизирующих четвертичную, третичную и вторичную структуры белка, сохраняется только первичная структура.

Денатурированный белок:

- теряет биологическую активность;
- снижается его растворимость, белок выпадает в осадок.

Факторы, вызывающие денатурацию белков

- Высокая температура;
- Органические вещества (этанол, фенол, мочевины);
- Кислоты и щелочи;
- Соли тяжелых металлов (медь, ртуть, свинец, серебро);
- Детергенты.

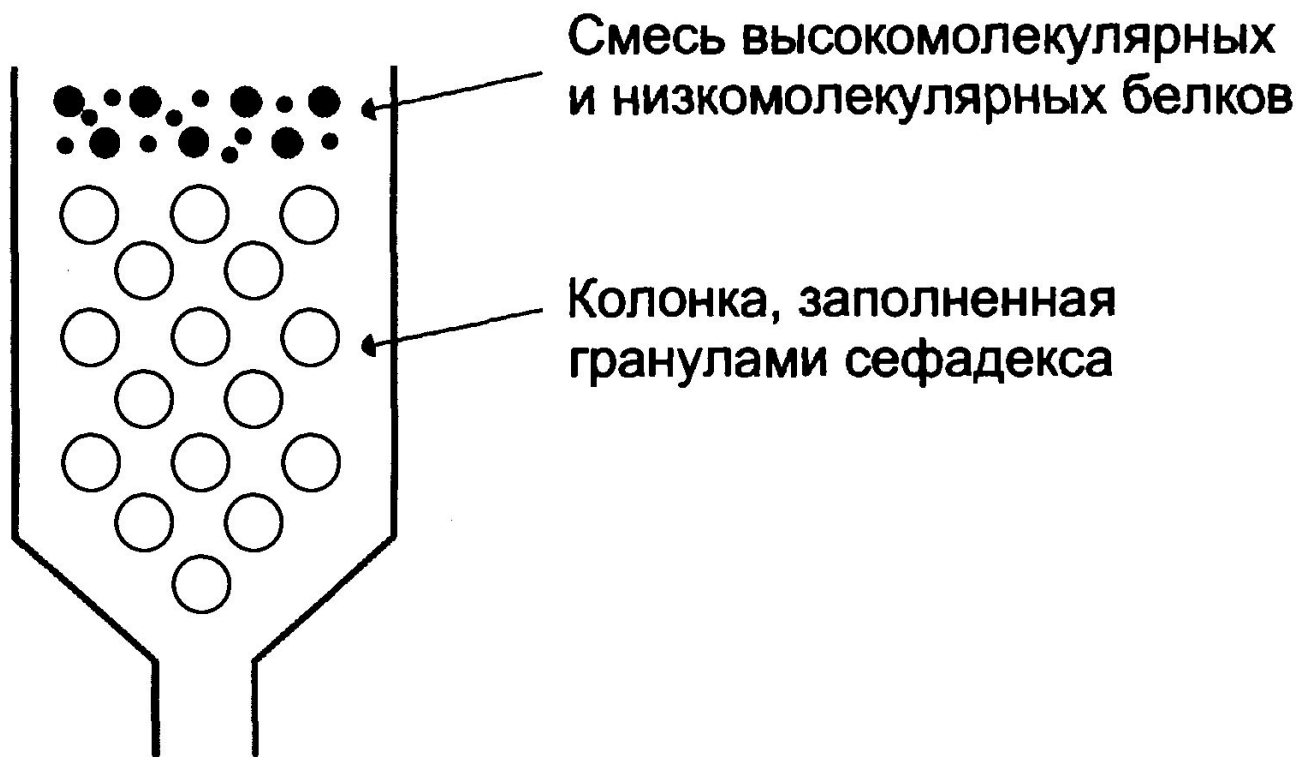
Применение денатурирующих агентов в медицинской практике

- **Стерилизация медицинских инструментов и материала** (высокая температура в автоклавах).
- **Антисептики** (фенол, крезол, резорцин, сулема – дихлорид ртути, ляпис – AgNO_3 , колларгол).

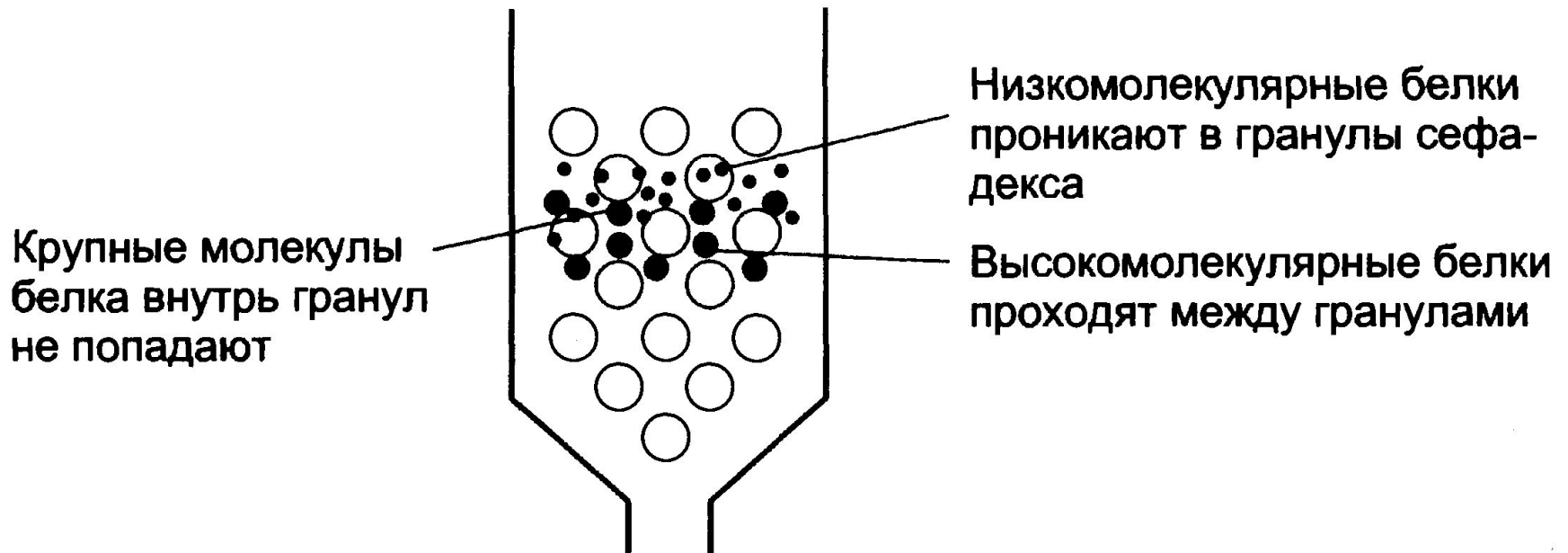
Методы разделения белков

- Высаливание.
- Гель-фильтрационная хроматография (метод молекулярных сит).
- Ионообменная хроматография.
- Аффинная хроматография.
- Ультрацентрифугирование.

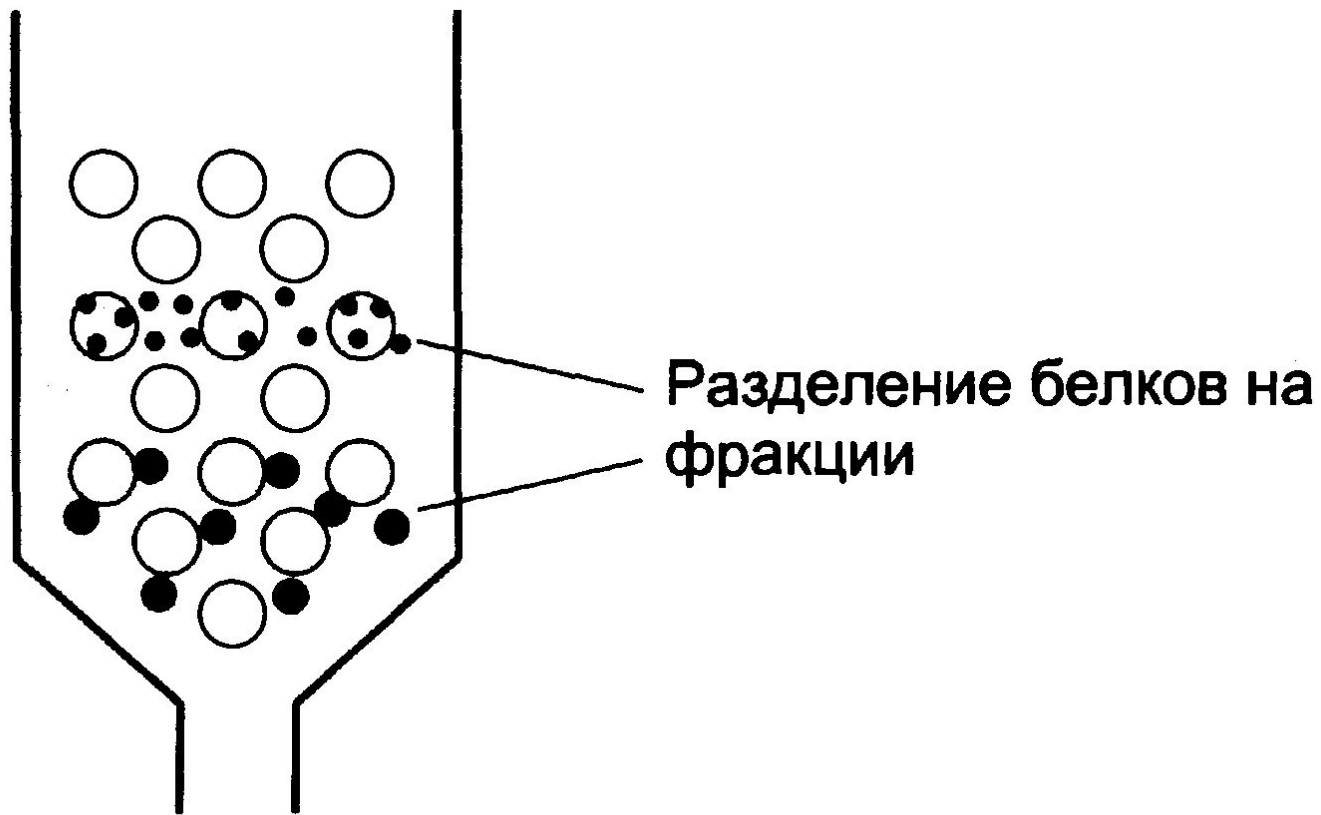
Гель-фильтрационная хроматография



Гель-фильтрационная хроматография

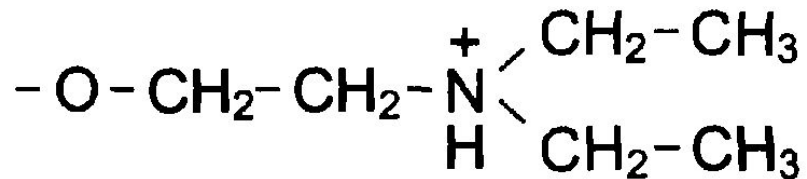


Гель-фильтрационная хроматография



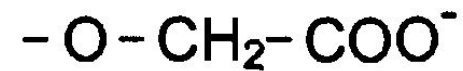
Ионообменная хроматография

Анионообменник



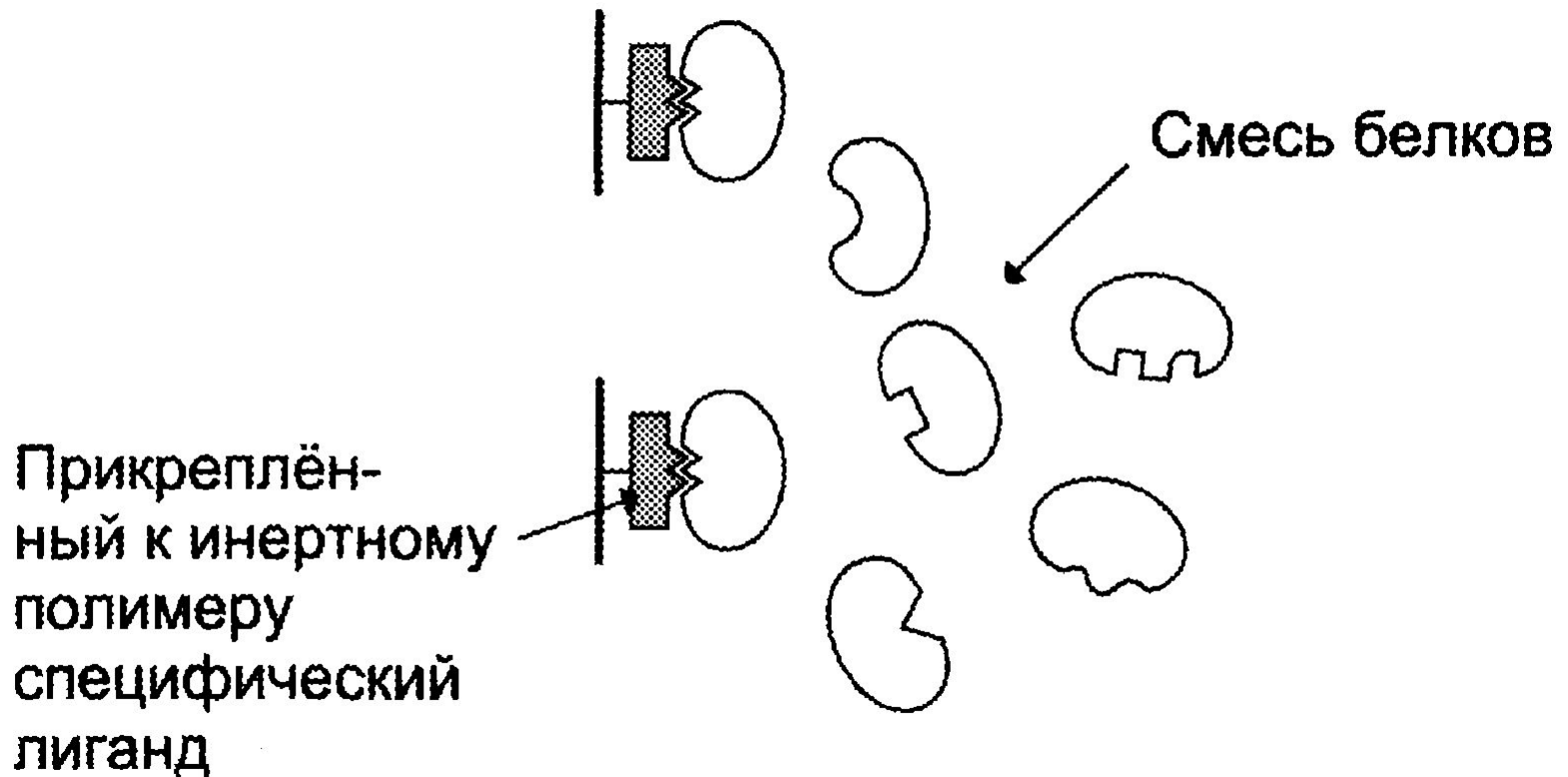
Диэтиламинэтилцеллюлоза

Катионообменник



Карбоксиметилцеллюлоза

Аффинная хроматография



Биомедицинское значение очистки и разделения белков

- Диализ – искусственная почка.
- Получение чистых лекарственных белковых препаратов (высокая биологическая эффективность и низкая аллергенность).