



***Введение в биохимию.  
Строение и свойства белков.***

- ***Биохимия*** – наука о химическом составе живых организмов и химических процессах в них протекающих.

# Основные разделы биохимии:

- **1 – статическая**
- **2 – динамическая**
- **3 – функциональная**

# Задачи

- ***статической БХ*** – изучение химического состава организмов и структуры составляющих их молекул (белков, аминокислот, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, углеводов, липидов, витаминов, гормонов)

- **динамической БХ** - изучение химических превращений, происходящих в процессе жизнедеятельности организма
- **функциональной БХ** - изучение химических основ функционирования отдельных органов и тканей.

- Биохимия человека
- Молекулярная биология
- Генная инженерия
- Биотехнология
- Медицинская биохимия
- Экологическая биохимия
- Эволюционная биохимия
- Квантовая биохимия
- и т.д.



**Константин  
Сигизмундо-  
вич Кирхгоф  
(русский  
химик,  
академик  
Петербург-  
ской АН  
(1764-1833)**



**Академик А.Я.  
Данилевский -  
один из  
основопо-  
ложников  
биохимии  
в России  
(1838-1923)**

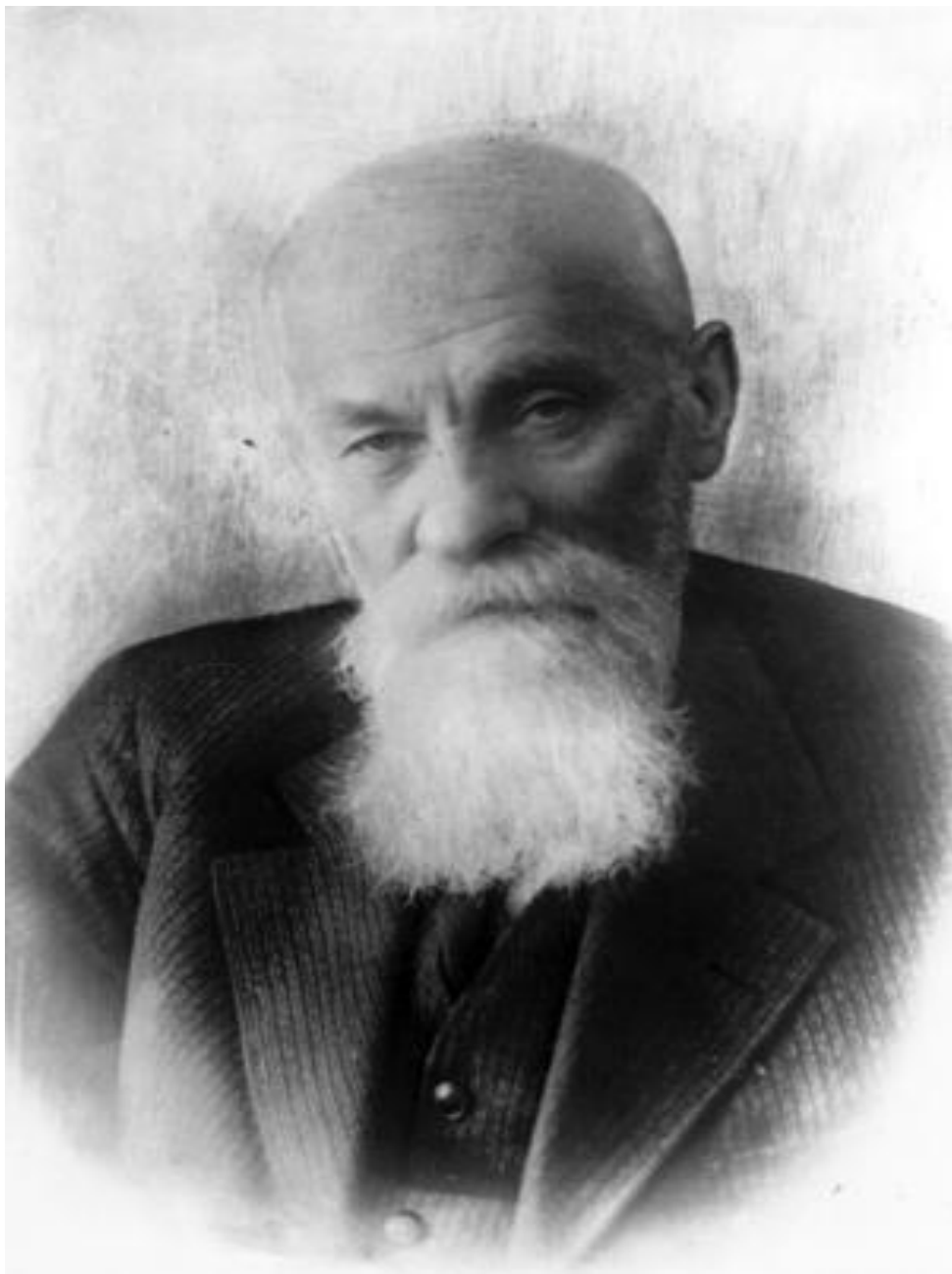




**Николай  
Иванович  
Лунин  
(1853-1937)**



**немецкий  
химик  
Эмиль  
Фишер  
(1853-1919)**



**Алексей  
Николаевич  
Бах  
(1857-1948)**



- **Альберт  
Лестер  
Ленинджер –  
один из  
осново-  
положников  
биоэнер-  
гетики  
(1917-1986)**



**Энгельгардт  
Владимир  
Александр-  
рович  
(1894 -1984)**

- ***Белки*** - это полипептиды, способные самопроизвольно формировать и удерживать определенную пространственную структуру.

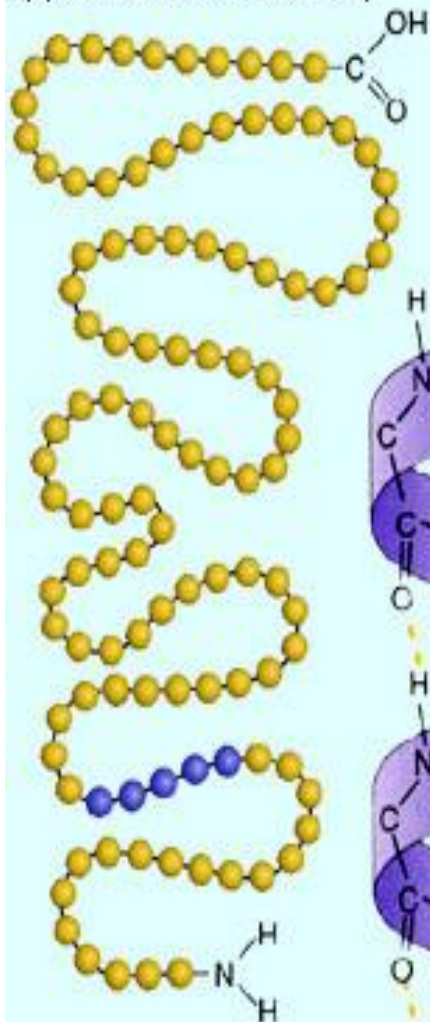
# Функции белков

- каталитическая (ферменты),
- регуляторная (гормоны),
- строительная  
(структурообрушающие белки),
- двигательная (сократит. белки),
- транспортная
- защитная (антитела),
- энергетическая (белки, учащие в энергетическом обмене)

- В 1952 г. датский биохимик К. Линдештрем-Ланг предложил рассматривать четыре уровня организации белковой молекулы: *первичную, вторичную, третичную* и *четвертичную* структуры.



Первичная структура  
(цепочка аминокислот)



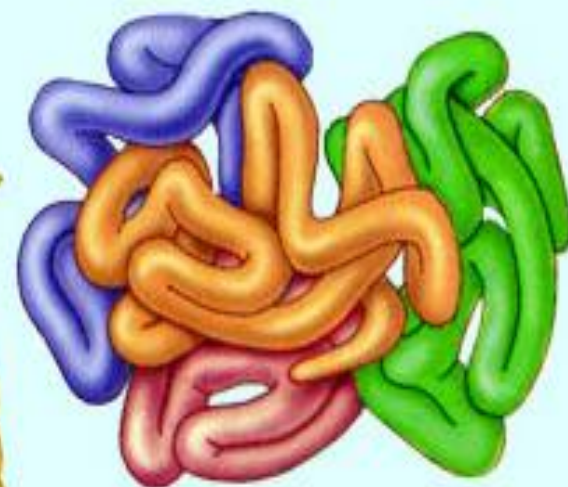
Вторичная структура  
( $\alpha$ -спираль)



Третичная структура

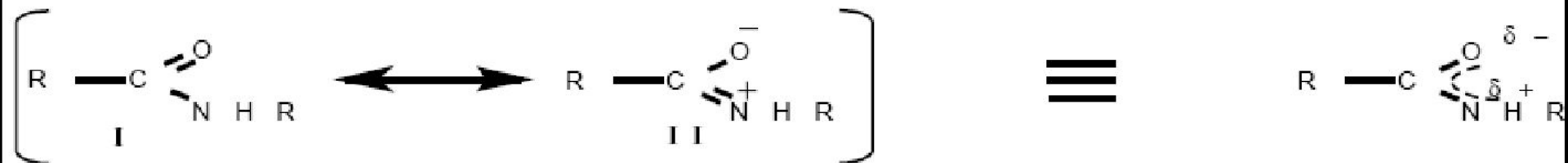
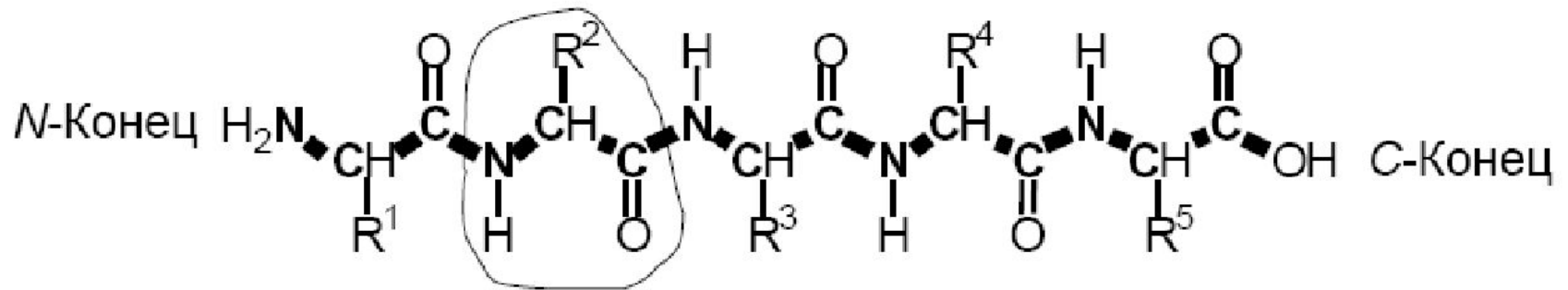


Четвертичная структура  
(клубок белков)

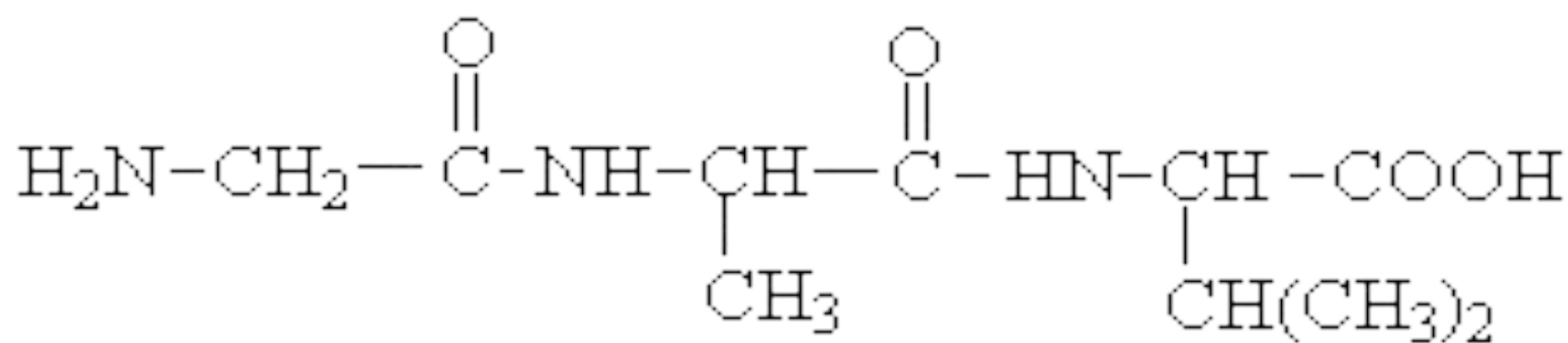


# Первичная структура

Биополимеры. Белки.







Глицилаланилвалин

Gly-Ala-Val

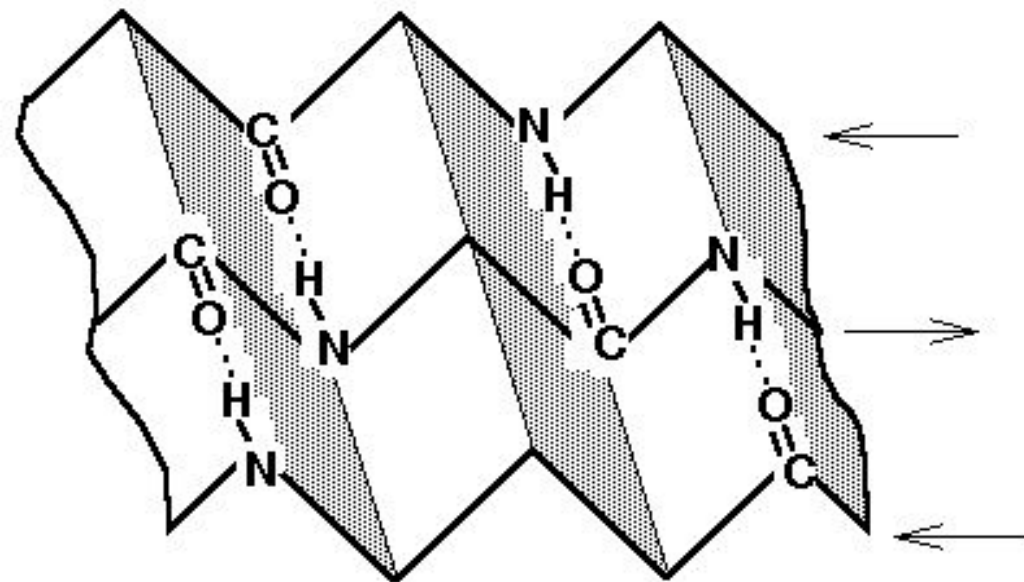
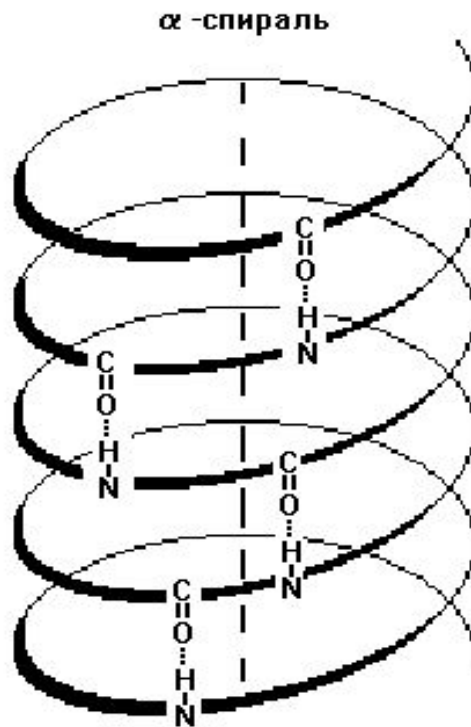
## Свойства пептидной связи:

- на 10% короче одинарной связи (1,53 Å)
- расположение C и N в одной плоскости
- постоянное перемещение электрона между O и N, что приводит к образованию частично двойной связи.
- возможно образование цис-транс изомерии относительно пептидной связи
- возможность образования водородной связи за счет H пептидной группы

## **Вторичная структура -**

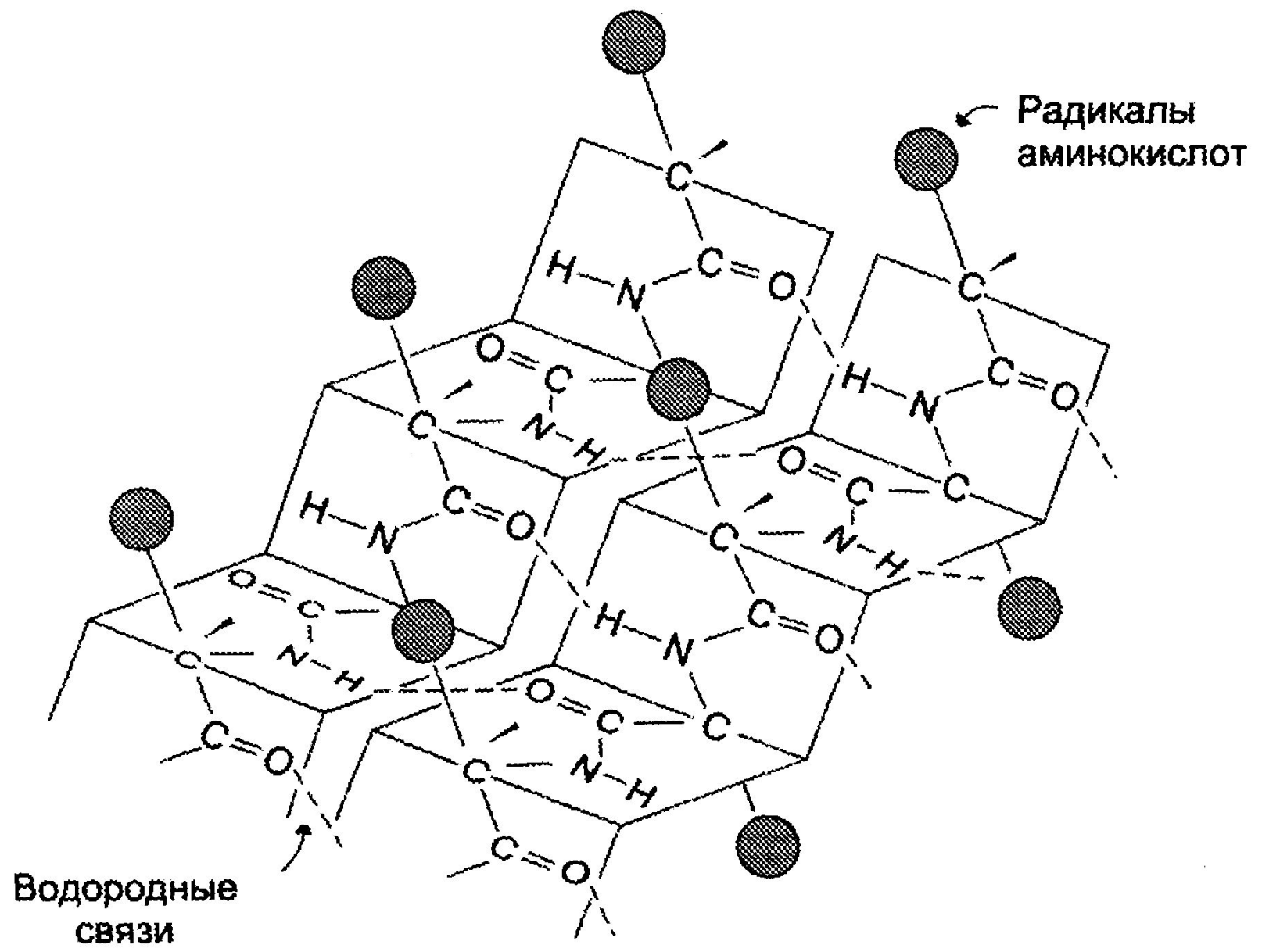
- **пространственное расположение атомов главной цепи молекулы белка на отдельных ее участках.**
- **Надвторичные структуры -**  
термодинамически или кинетически стабильные комплексы альфа-спиралей и бета-структур, формирующиеся за счет межрадикальных взаимодействий.

# Вторичная структура



$\beta$  - складчатая структура  
(антипараллельная).

(стрелками показано направление  
полипептидных цепей)



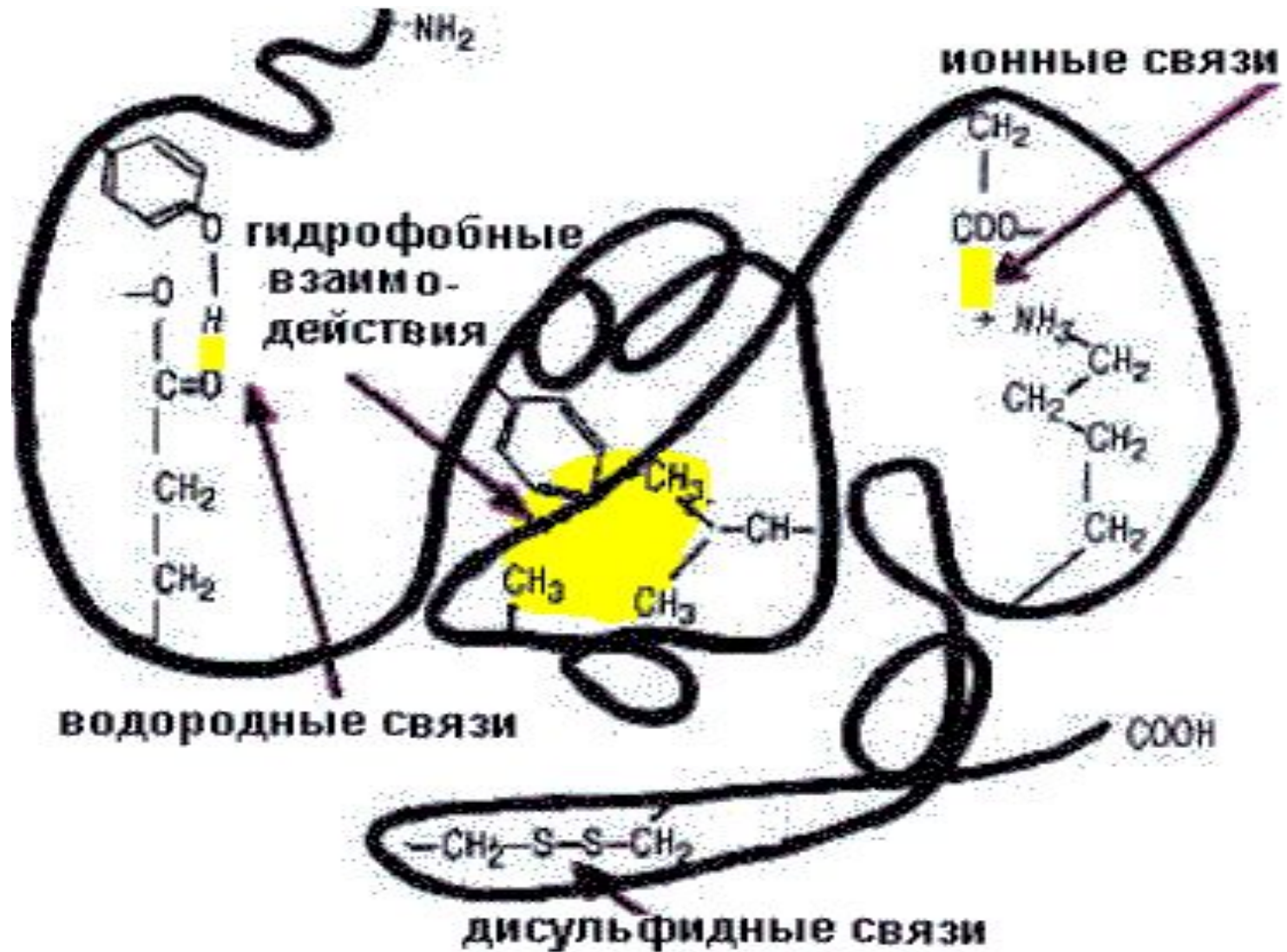


# Области с нерегулярной вторичной структурой – беспорядочный клубок

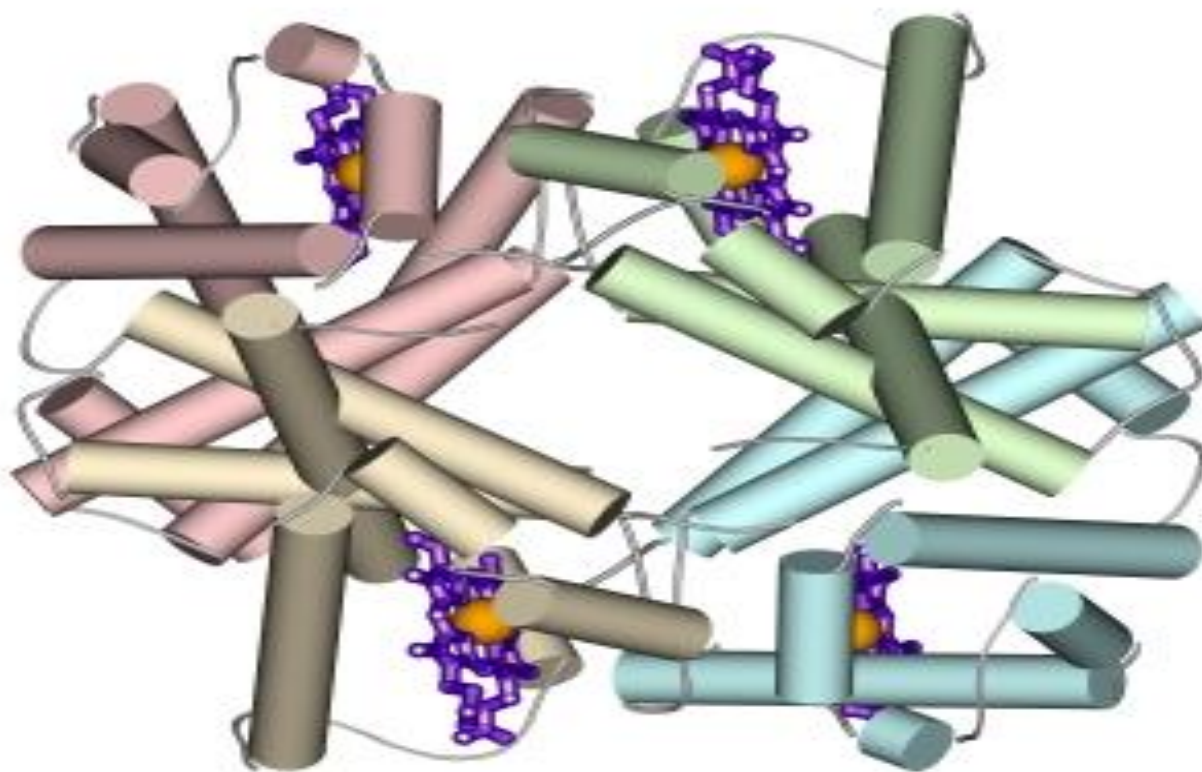


- **Пространственная структура каждого белка индивидуальна и определяется его первичной структурой.**
- **Но у разных белков есть похожие сочетания элементов вторичной структуры – это называют супервторичной структурой («структурные мотивы»:  $\alpha/\beta$  бочонок, цинковый палец, лейциновая застежка-молния и т.д.)**

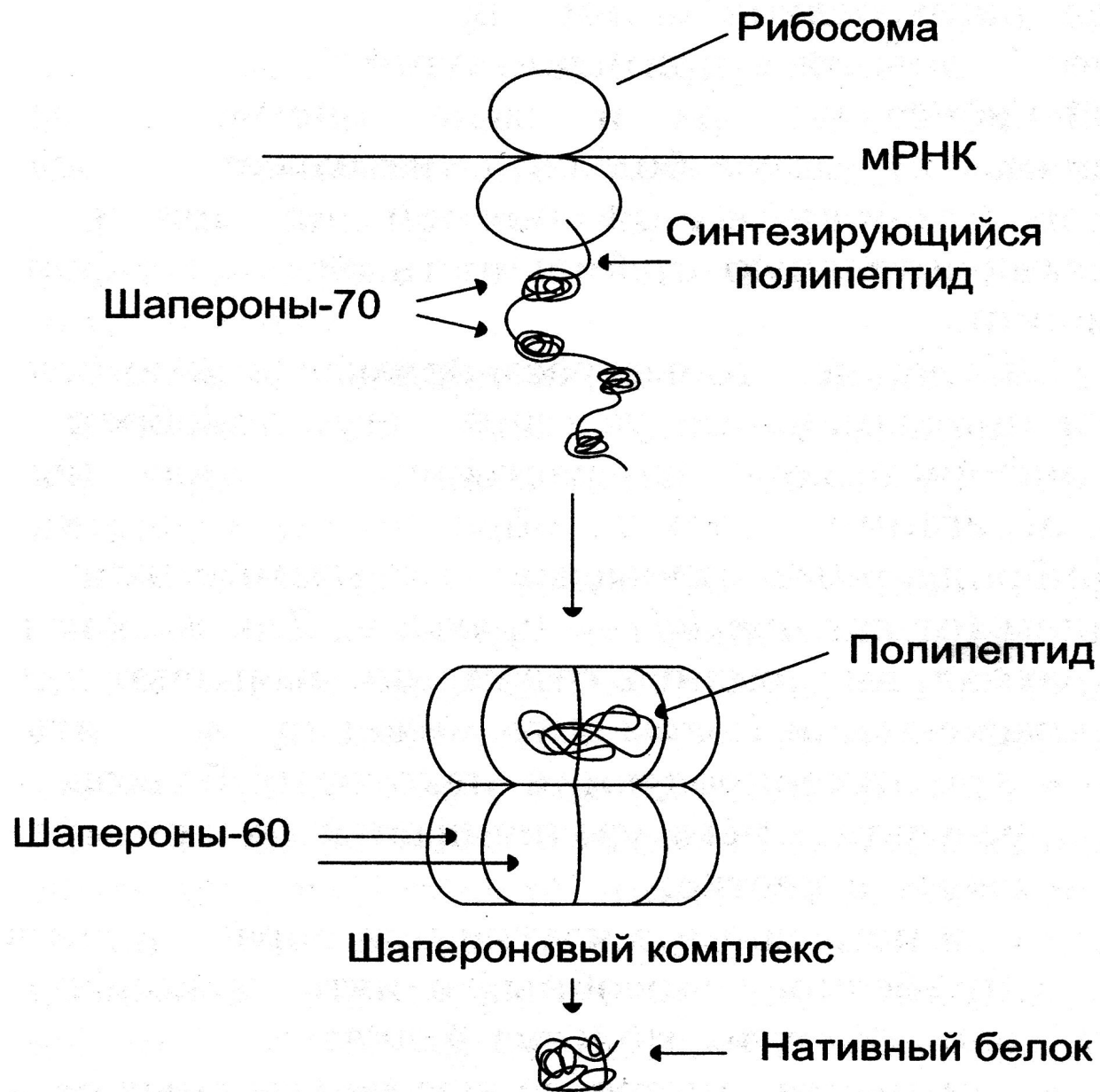
# Третичная структура



# Четвертичная структура: пример - гемоглобин



- **Фолдинг** – укладка белка в пространстве (формирование вторичной, третичной структуры)



- **«Шапероны»** - белки, помогающие синтезируемому белку быстро найти правильную пространственную ориентацию
- Впервые были обнаружены при перегреве организма → **белки теплового шока**

- **ШП много в функционально активных тканях: эмбриональной, лимфатической, яичников и т.д.**



# Физико-химические свойства белков

- Белки – высокомолекулярные соединения, их  $M_r$  6000 -1 000 000 Д и выше.
- По форме молекул белки делят на *глобулярные* и *фибриллярные*.

## ***Коллоидные свойства:***

- **высокая вязкость и способность к гелеобразованию,**
- **способность к набуханию,**
- **неспособность проникать через полупроницаемые мембраны,**
- **незначительная диффузия,**
- **низкое осмотическое и высокое онкотическое давление,**
- **оптические свойства**

- **Растворы белков обладают характерной опалесценцией.**  
***Эффект Тиндалля:*** при боковом освещении лучи света образуют светящийся конус

## ***Способность к ионизации***

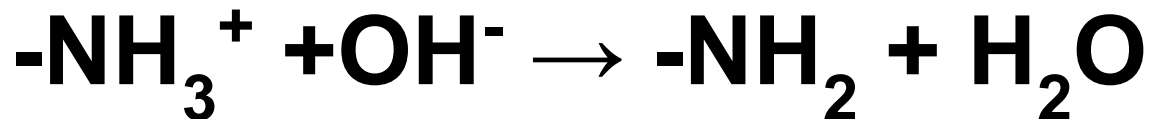
**Определяется наличием в составе белка аминокислот:**  
**диаминомонокарбоновых -**  
**асп, глу**  
**и моноаминодикарбоновых -**  
**лиз, арг, гис**

**Суммарный заряд белка зависит от pH среды:**

- **в кислой среде**



- **в щелочной среде**



- **ПОДВИЖНОСТЬ В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ**
- **Значение рН, при котором белок электронейтрален, называется **ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКОЙ****

# ***Растворимость и осаждаемость белков***

- ***Растворимость белков в воде зависит от:***  
**формы, молекулярной массы, величины заряда, соотношения полярных и неполярных функциональных групп на поверхности белка**

## ***Осаждение белков:***

- **1. Высаливание нейтральными солями, н-р,  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  - обратимый процесс, белок теряет гидратную оболочку, нативные свойства сохраняются .**



- **2. Осаждение белков с потерей нативных свойств: с белка снимается гидратная оболочка и заряд, нарушаются различные свойства в белке. Н-р, соли Си, Hg, As, Fe, концентрированные неорганические кислоты -  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ , органические кислоты, алкалоиды - танины, йодистая ртуть.**

# **Необратимое осаждение белка - денатурация**

- 1. Физические факторы денатурации:**  
*температура, давление, механическое воздействие, ультразвуковое и ионизирующее излучение.*
- 2. Химические факторы денатурации:**  
*кислоты, щелочи, органические растворители, детергенты, тяжелые металлы, алкалоиды.*

# **Ренатурация (ренативация) – обратимый процесс денатурации**

***Процесс восстановления физико-химических и биологических свойств денатурированного белка после удаления денатурирующих веществ.***

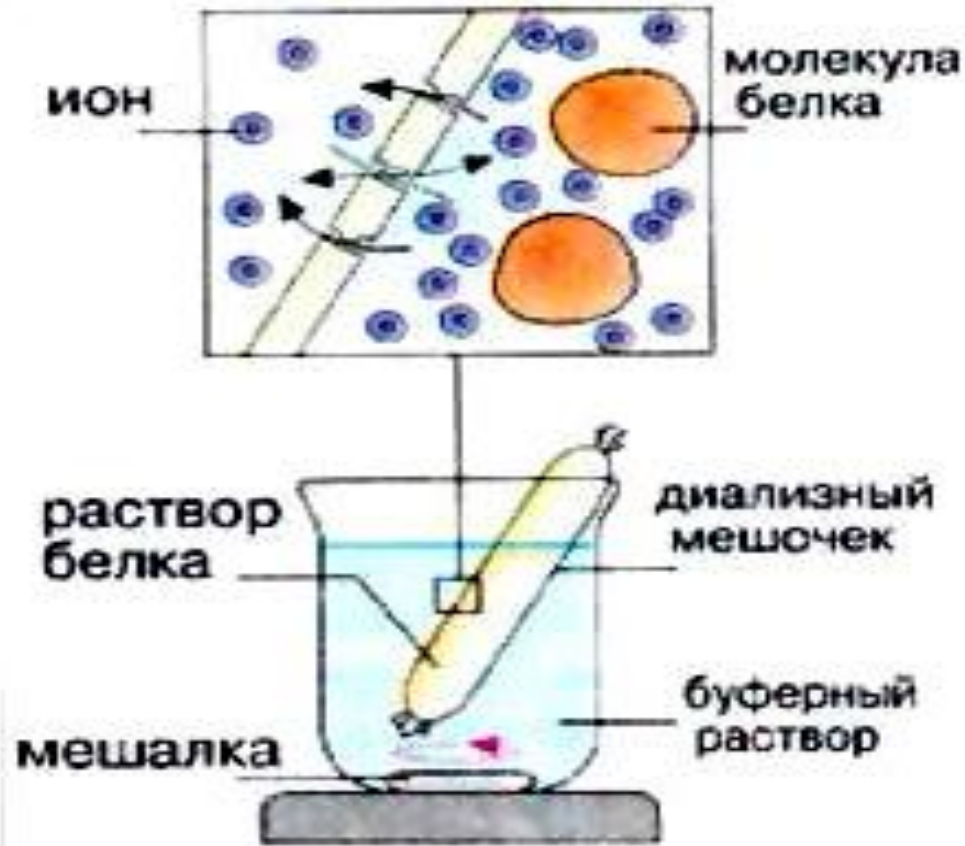
# Методы выделения и очистки белков

- гомогенизация - клетки растираются до однородной массы;
- экстракция белков водными или водно-солевыми растворами;
- высаливание;
- диализ / гель-фильтрация;
- электрофорез;
- хроматография;
- ультрацентрифугирование.

**Для обнаружения белков в растворе применяются:**

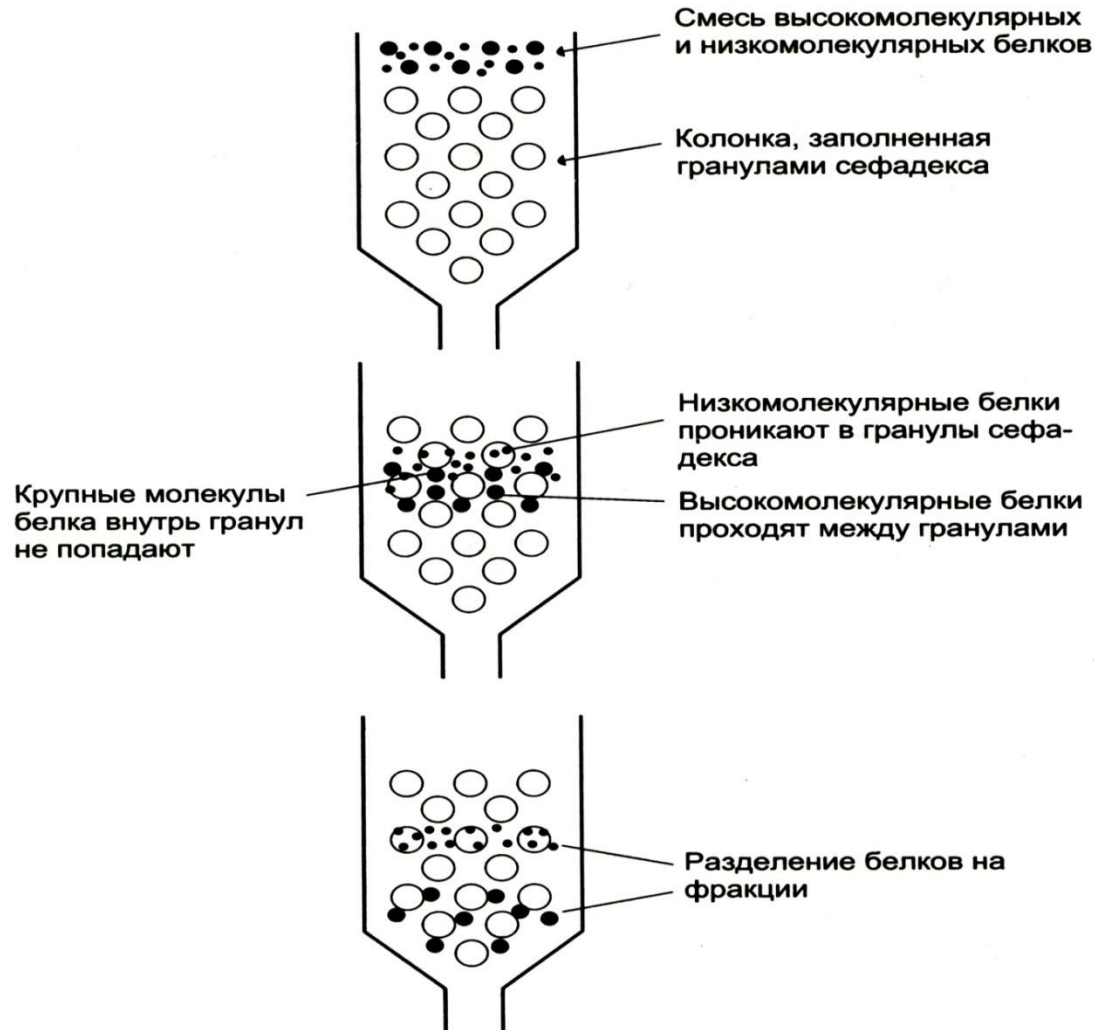
- ***цветные реакции***
- ***реакции осаждения***

# Диализ



**Б. Диализ**

# Гель-фильтрация белков

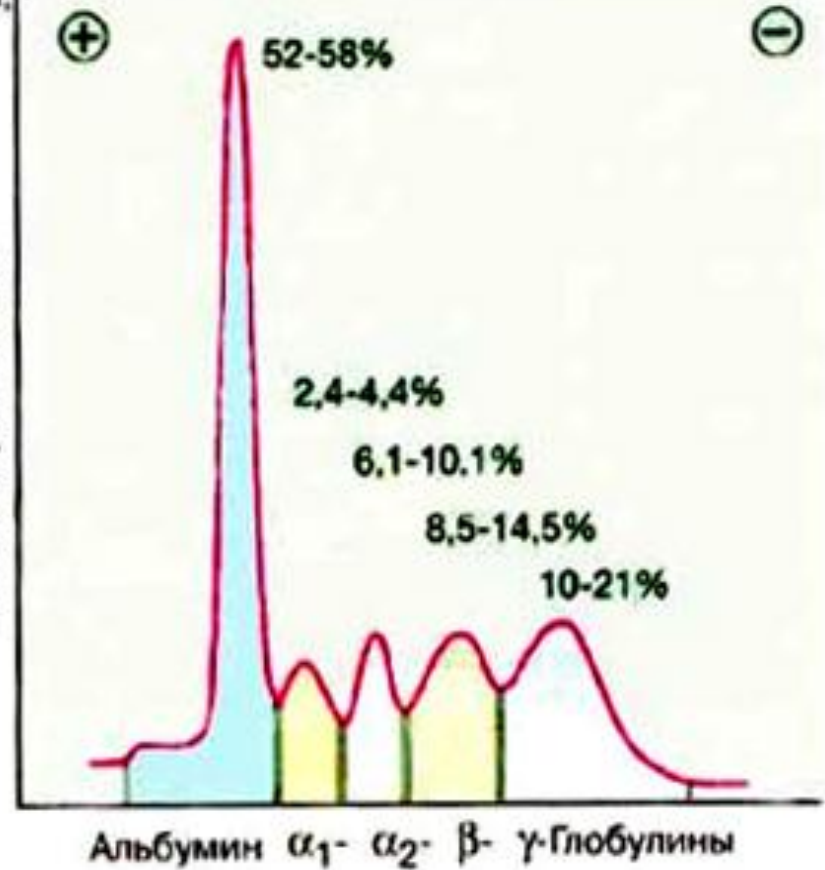
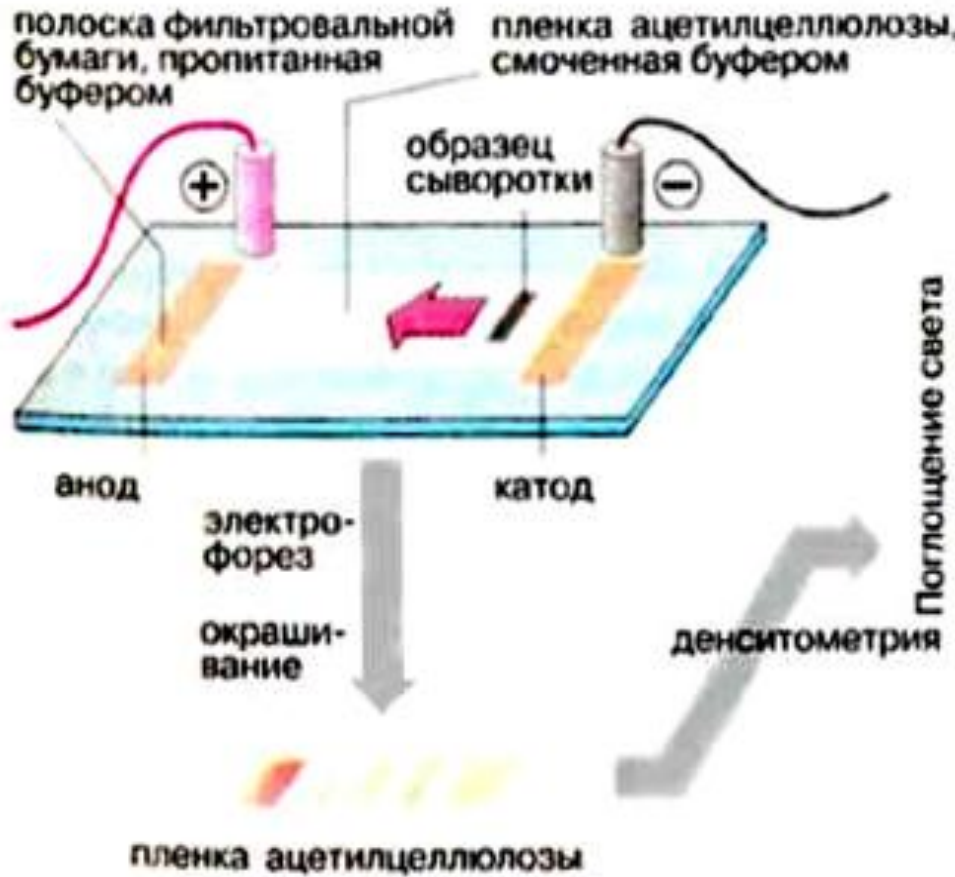


# Ультрацентрифугирование



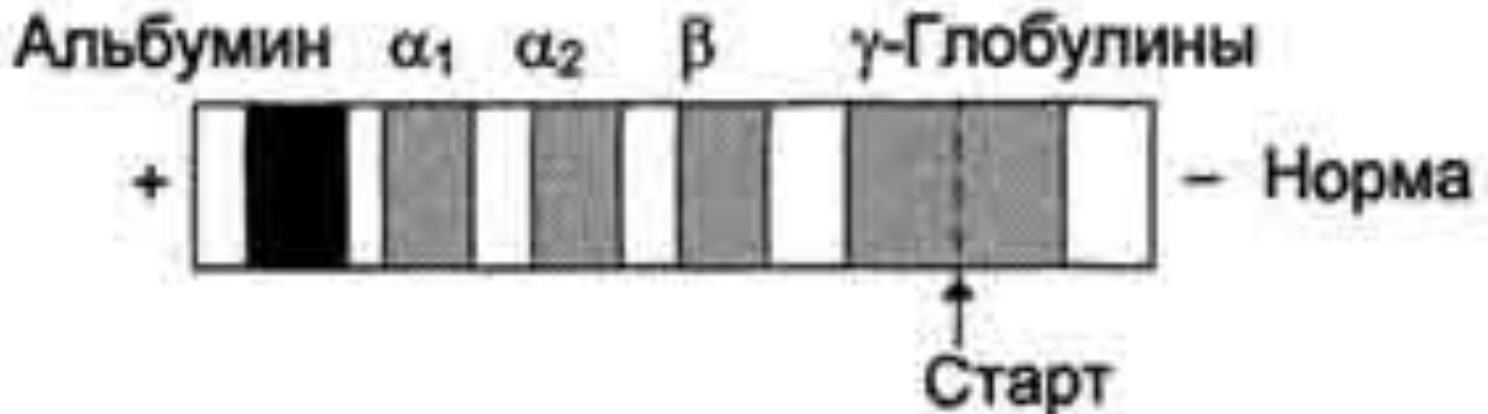


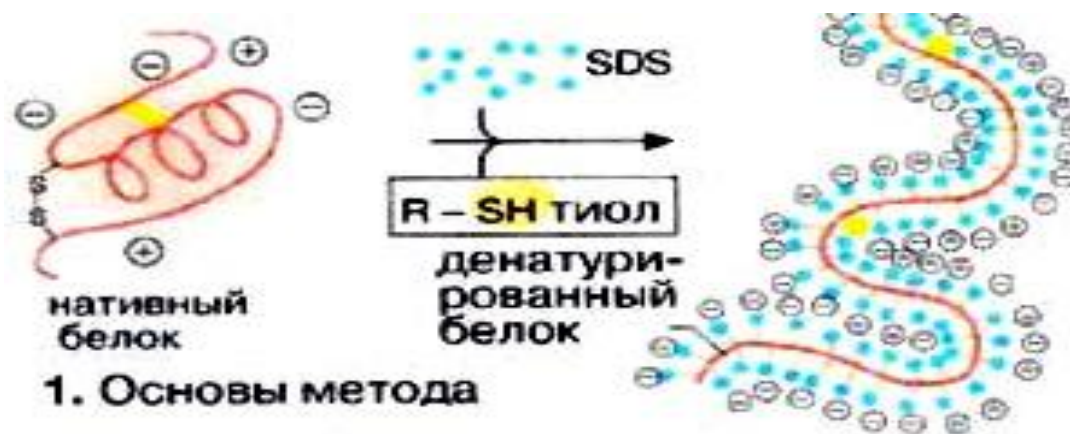
# Электрофорез белков



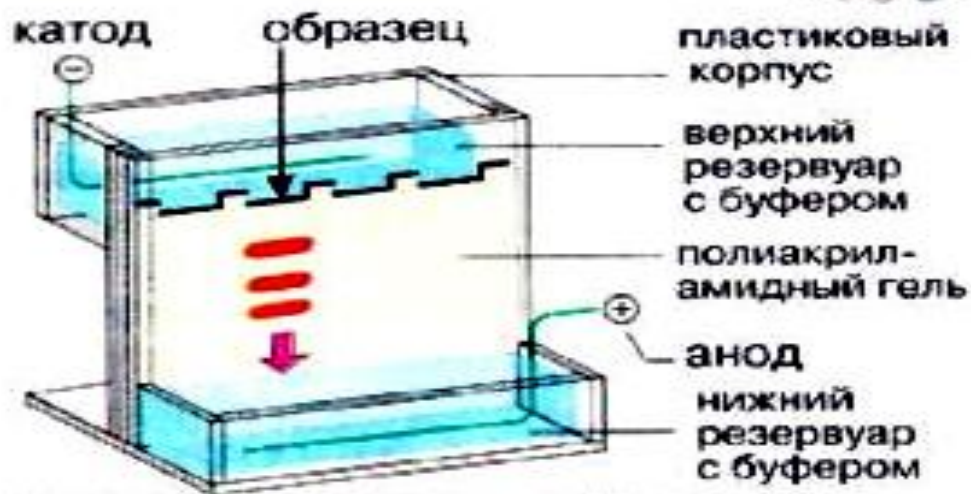
## Б. Электрофорез

# *ЭФ белков сыворотки крови здорового человека на бумаге*

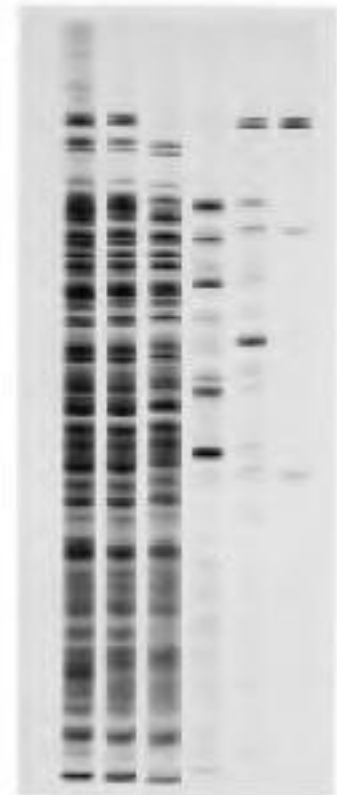
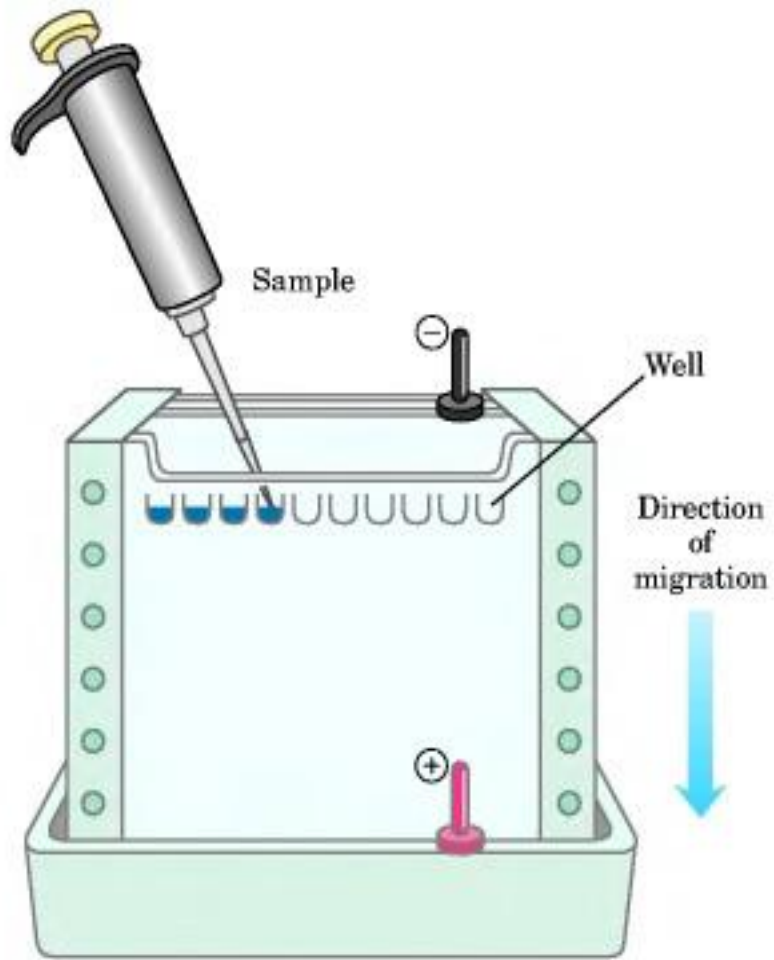




## 1. Основы метода



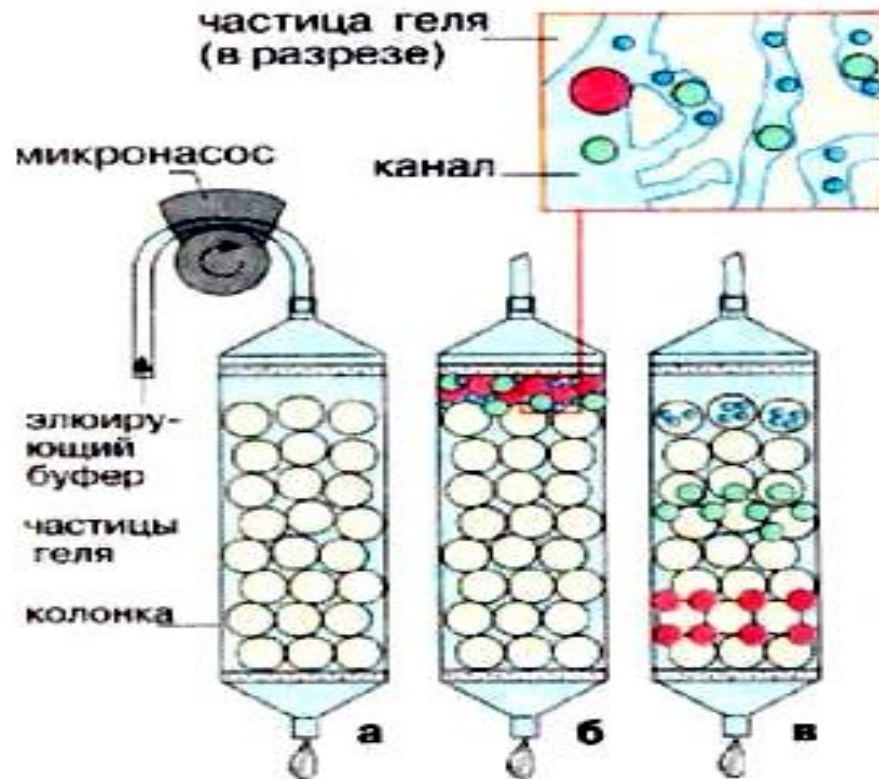
## 2. Камера для электрофореза



(a)

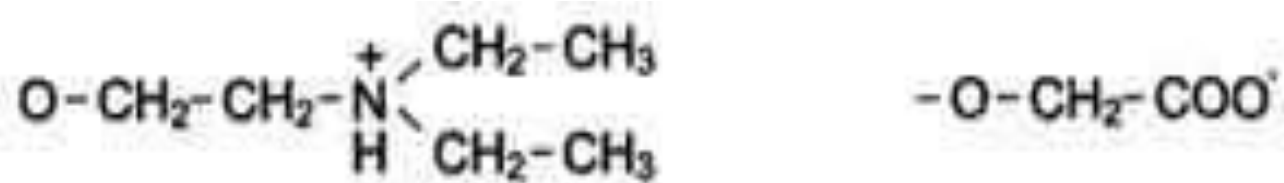
(b)

# Хроматография белков



## Различают:

- ***положительно заряженные анионообменники, н-р,***  
диэтиламиноэтилцеллюлоза (ДЭАЭ-целлюлоза), содержащая катионные группы
- ***отрицательно заряженные катионообменники, н-р***  
карбоксиметилцеллюлоза (КМ-целлюлоза), содержащая анионные группы.

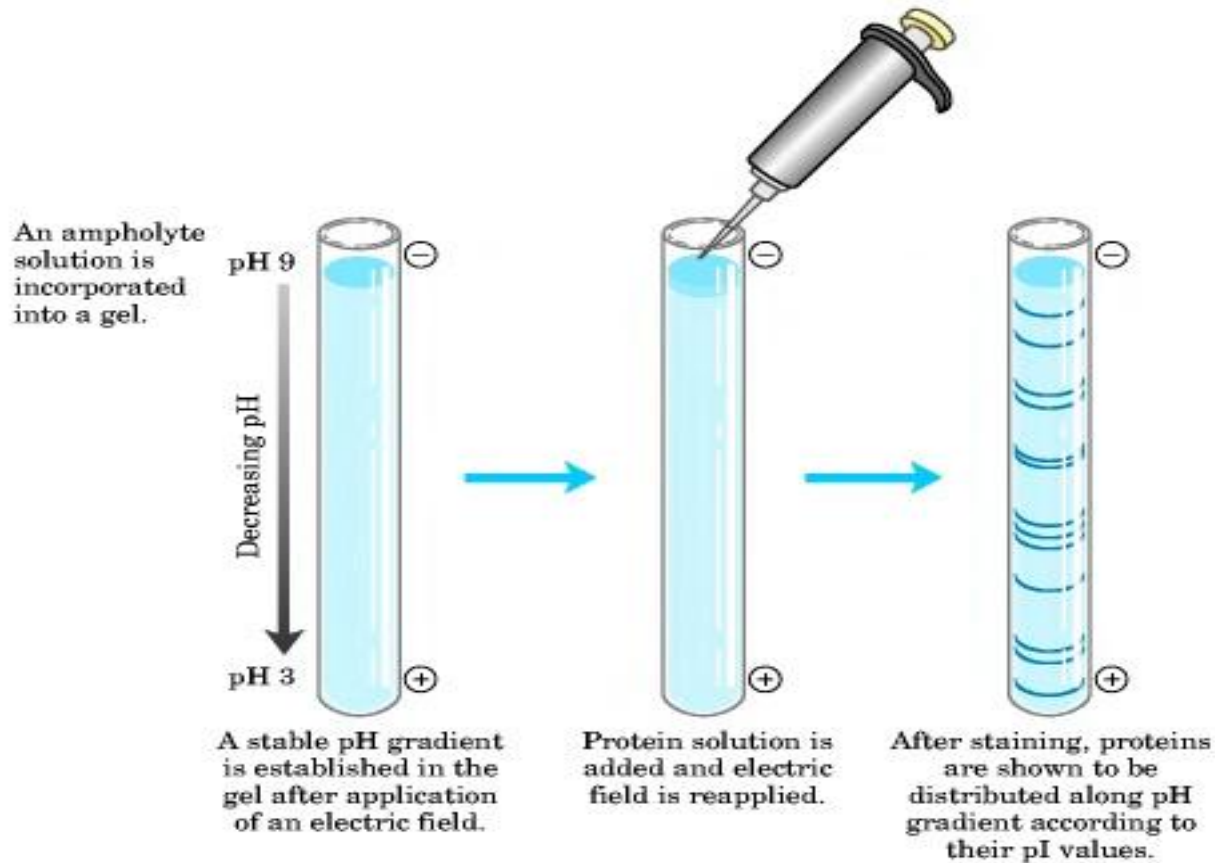


# Аффинная хроматография, или хроматография по сродству

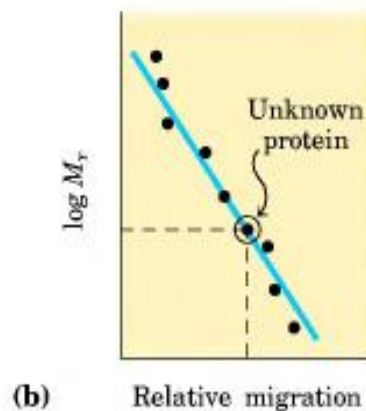
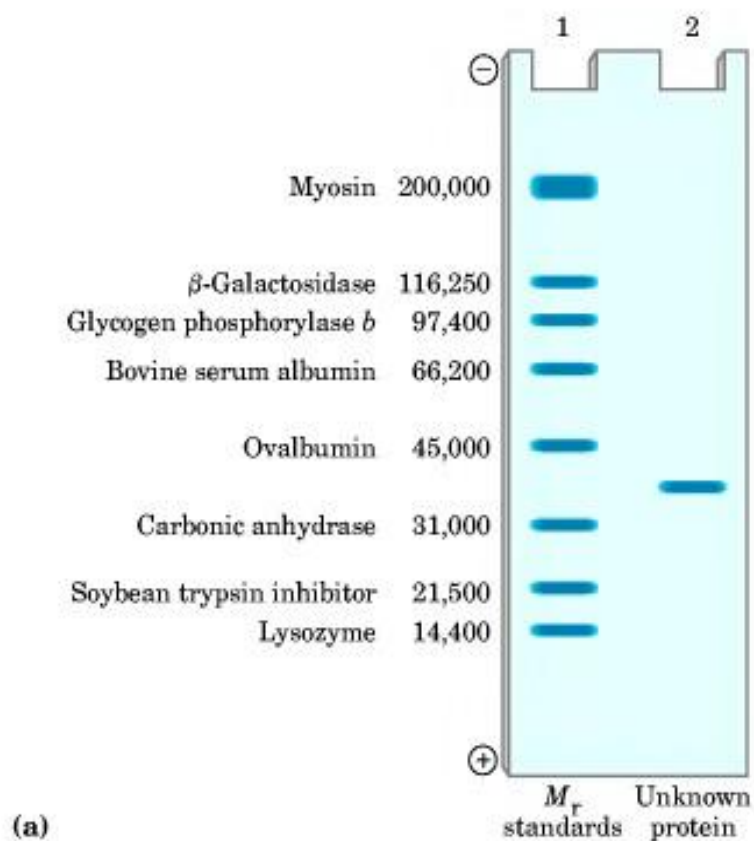










# Изоэлектрическое фокусирование

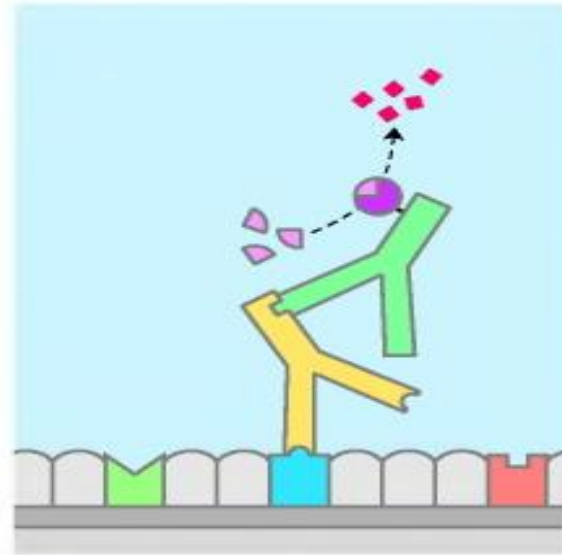


# Определение мол.весов в SDS-ЭФ

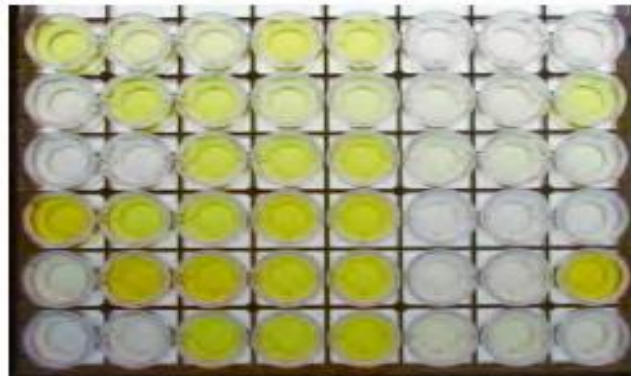


# Иммуноблотинг

- ① Coat surface with sample (antigens). 
- ② Block unoccupied sites with nonspecific protein. 
- ③ Incubate with primary antibody against specific antigen. 
- ④ Incubate with antibody-enzyme complex that binds primary antibody. 
- ⑤ Add substrate. 
- ⑥ Formation of colored product indicates presence of specific antigen. 

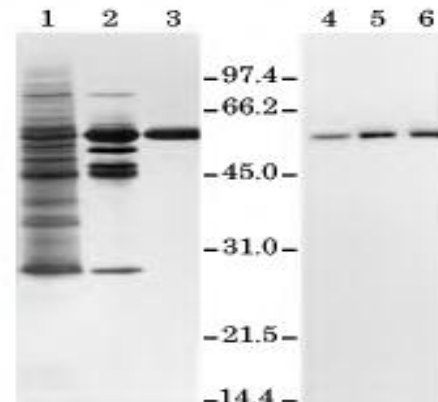


(a)



ELISA

(b)



SDS gel

Immunoblot

(c)