



***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)**



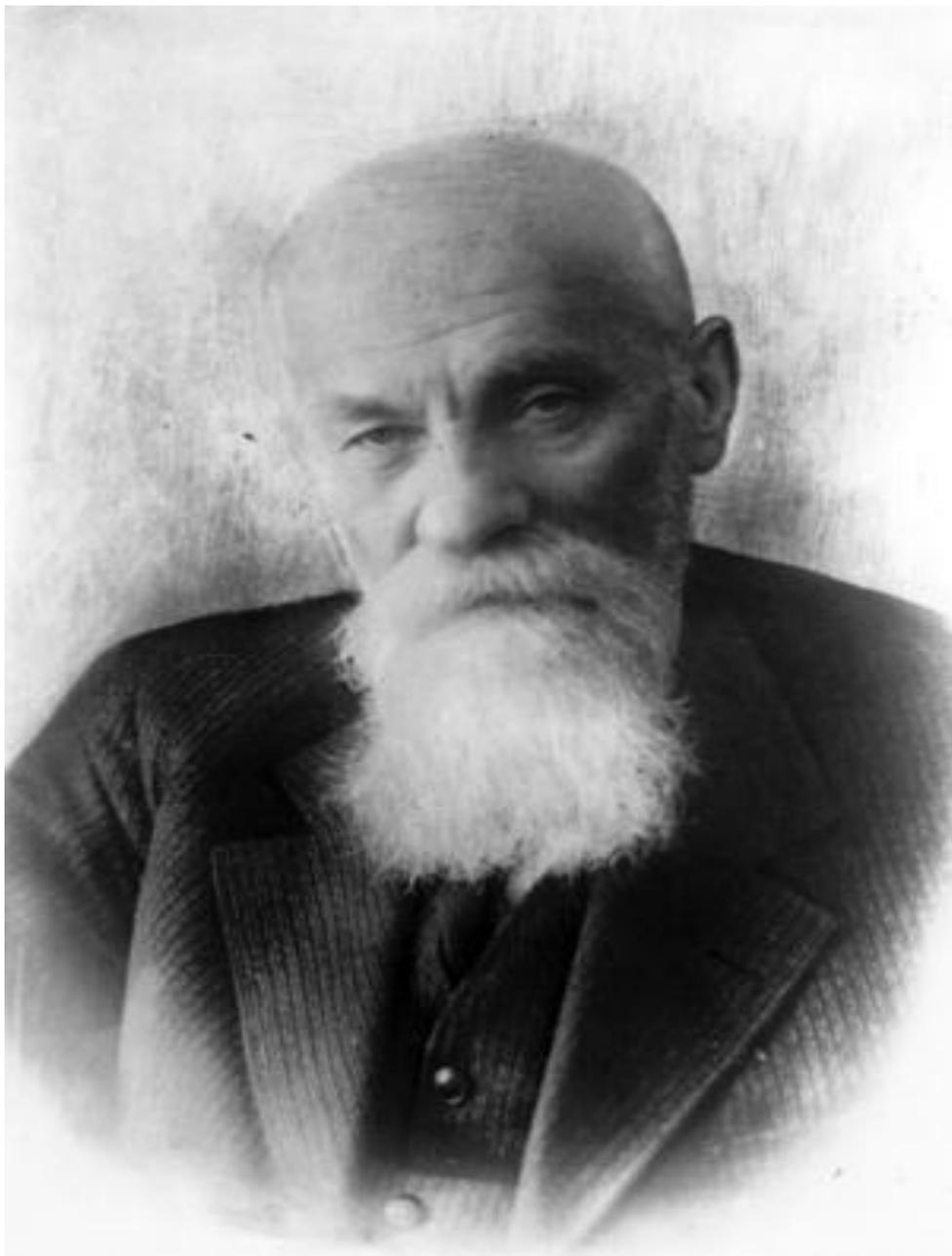
**Академик А.Я.
Данилевский -
один из
основопо-
ложников
биохимии
в России
(1838-1923)**



**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)**

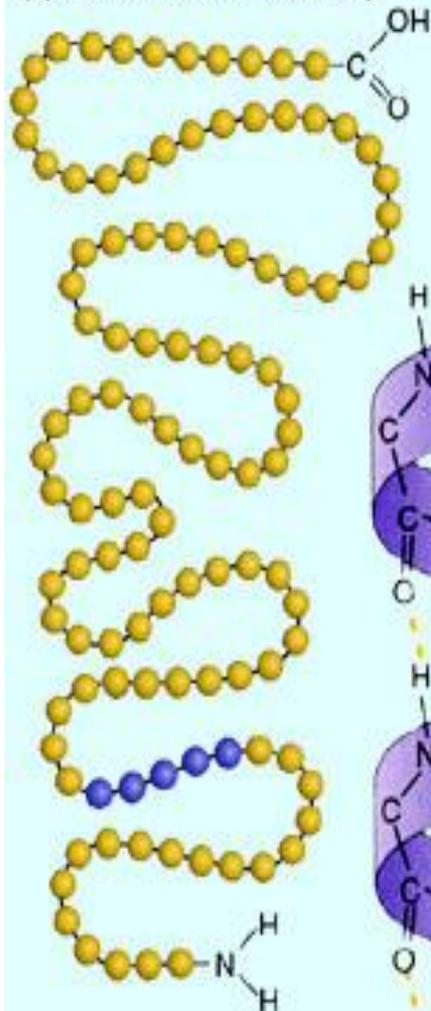
- ***Белки*** - это полипептиды, способные самопроизвольно формировать и удерживать определенную пространственную структуру.

Функции белков

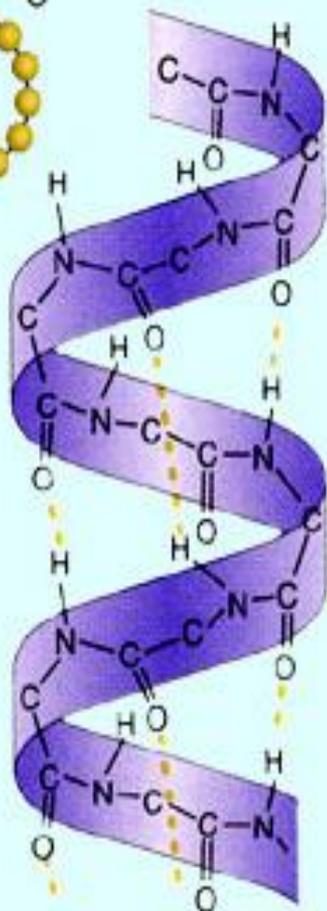
- каталитическая (ферменты),
- регуляторная (гормоны),
- строительная
(структурообрушающие белки),
- двигательная (сократит. белки),
- транспортная
- защитная (антитела),
- энергетическая (белки, учащие в энергетическом обмене)

- 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)



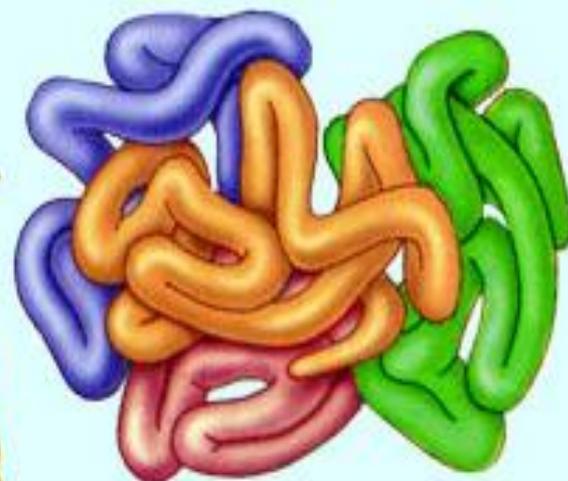
Вторичная структура
(α -спираль)



Третичная структура

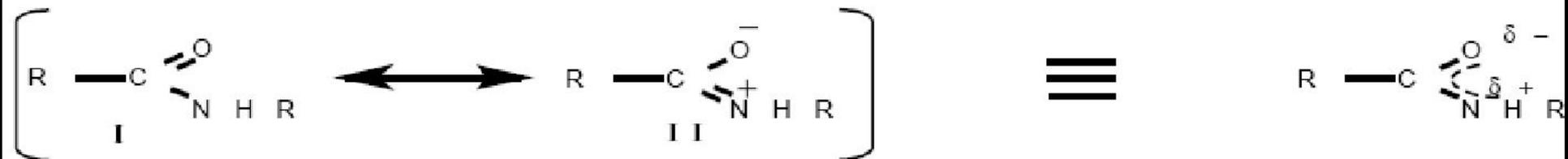
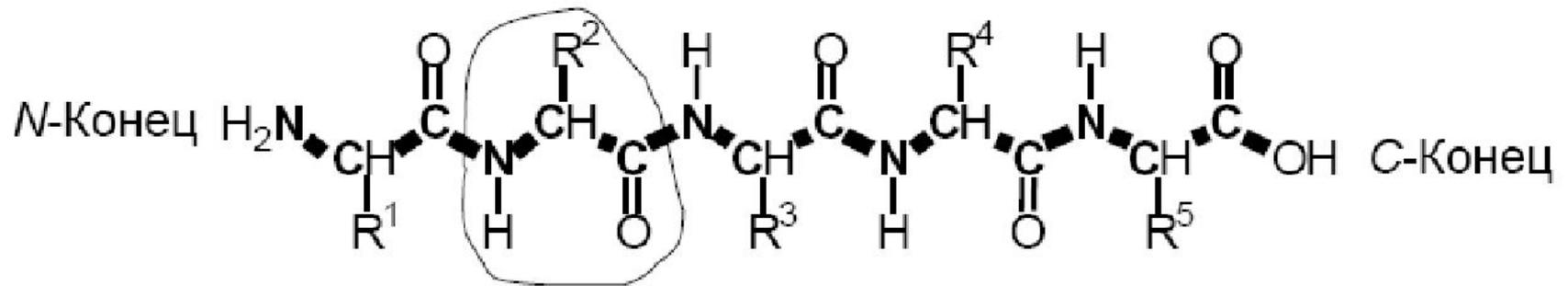


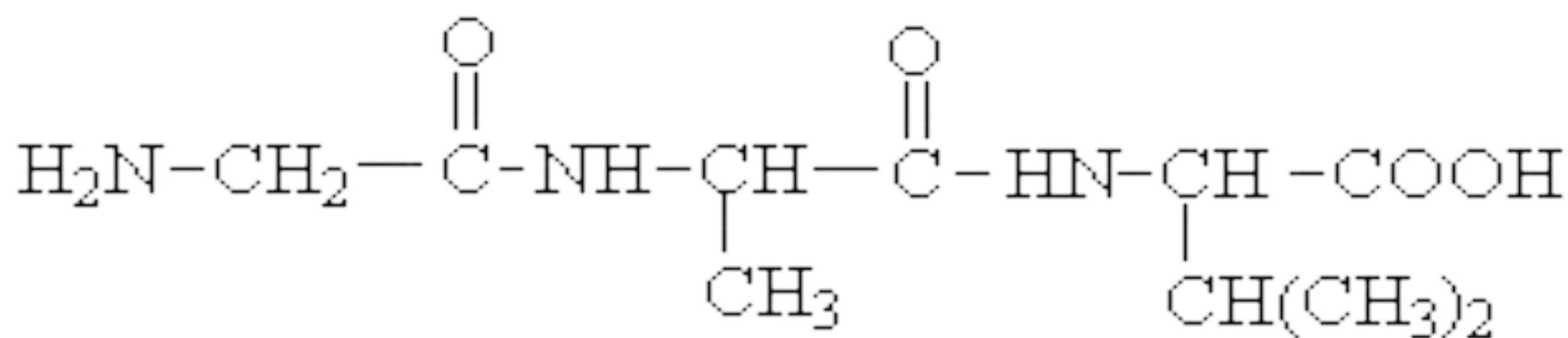
Четвертичная структура
(клубок белков)



Первичная структура

Биополимеры. Белки.





Глицилаланилвалин

Gly-Ala-Val

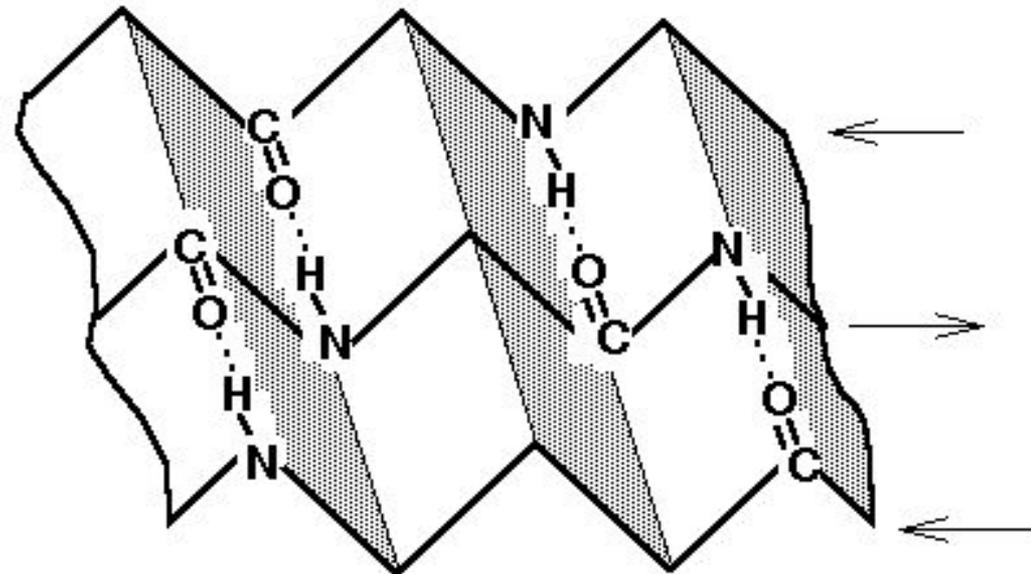
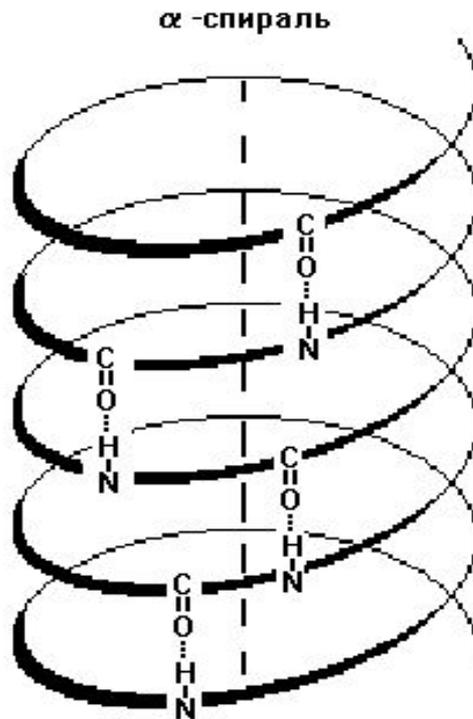
Свойства пептидной связи:

- 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 -

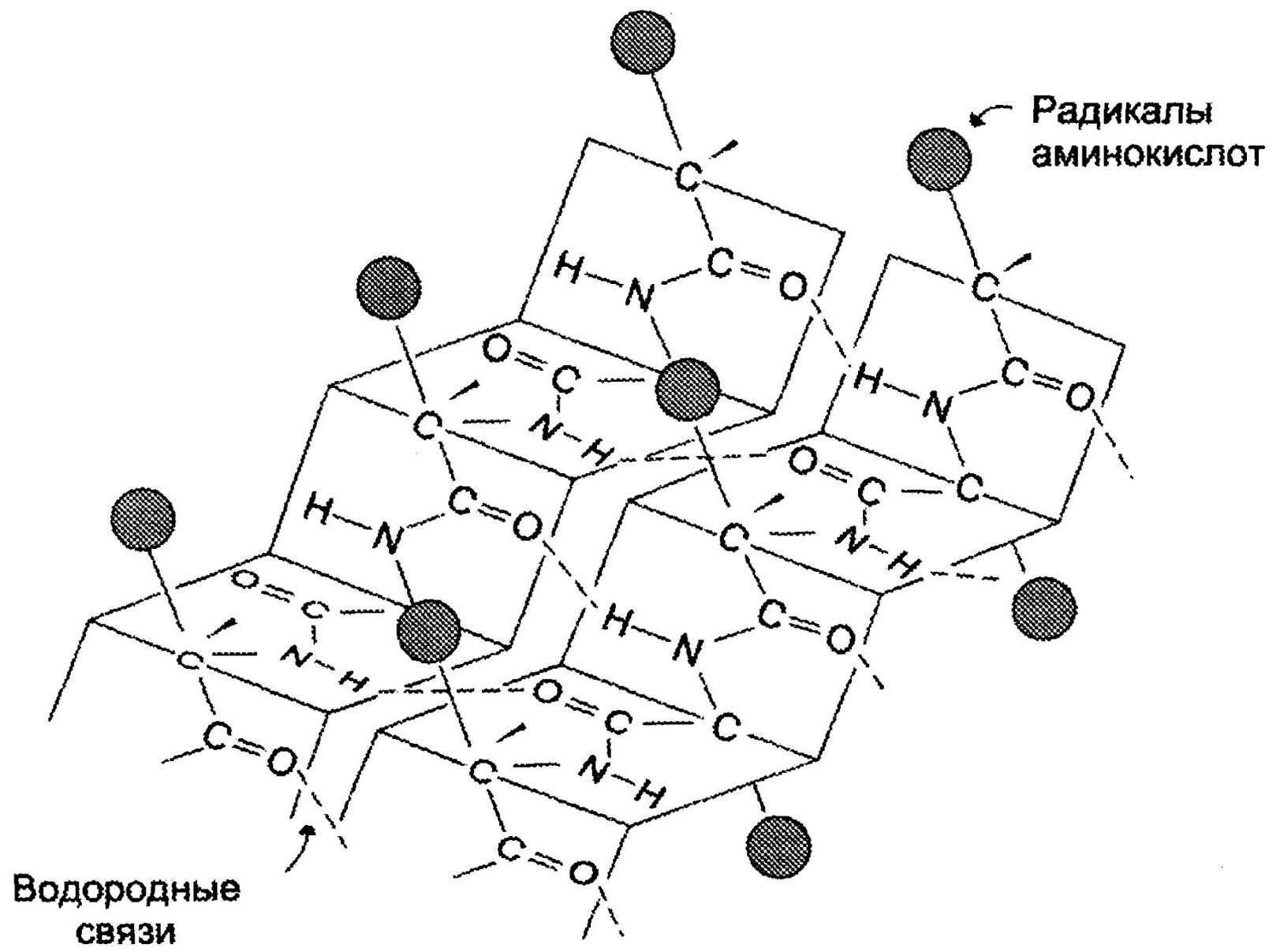
- **пространственное расположение атомов главной цепи молекулы белка на отдельных ее участках.**
- **Надвторичные структуры -**
термодинамически или кинетически стабильные комплексы альфа-спиралей и бета-структур, формирующиеся за счет межрадикальных взаимодействий.

Вторичная структура



β - складчатая структура
(антипараллельная).

(стрелками показано направление
полипептидных цепей)



Области с нерегулярной вторичной структурой – беспорядочный клубок

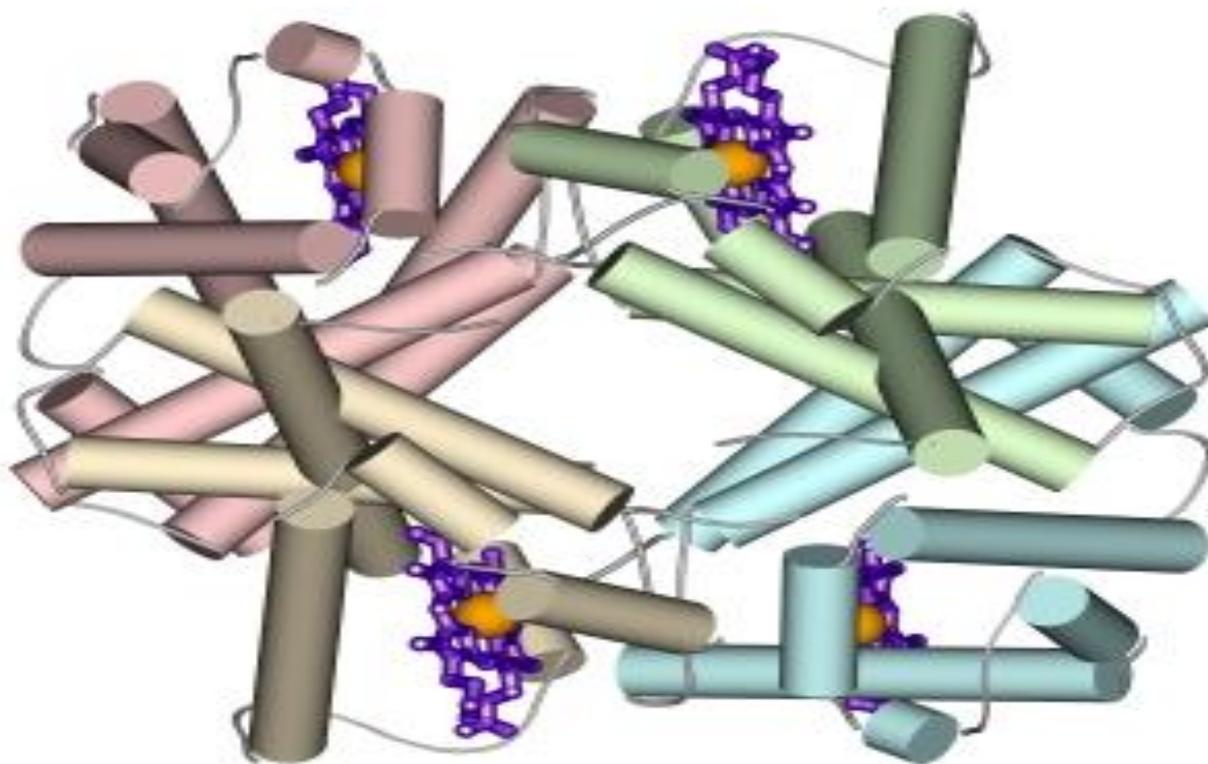


- **Пространственная структура каждого белка индивидуальна и определяется его первичной структурой.**
- **Но у разных белков есть похожие сочетания элементов вторичной структуры – это называют супервторичной структурой («структурные мотивы»: α/β бочонок, цинковый палец, лейциновая застежка-молния и т.д.)**

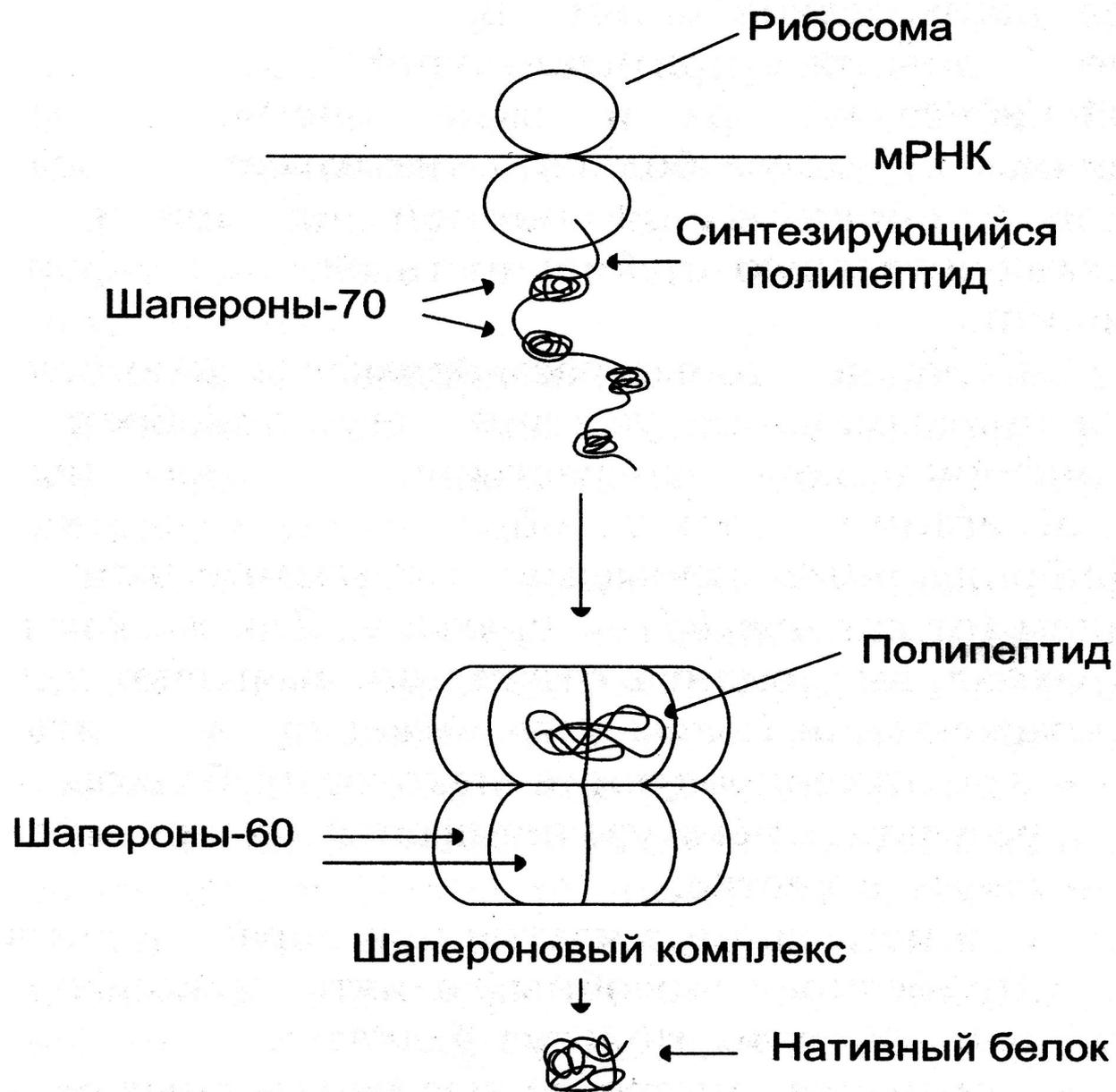
Третичная структура



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

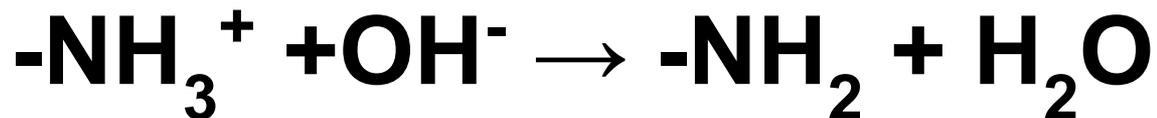
Определяется наличием в составе белка аминокислот:
диаминомонокарбоновых -
асп, глу
и моноаминодикарбоновых -
лиз, арг, гис

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 - HNO_3 , H_2SO_4 , 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:

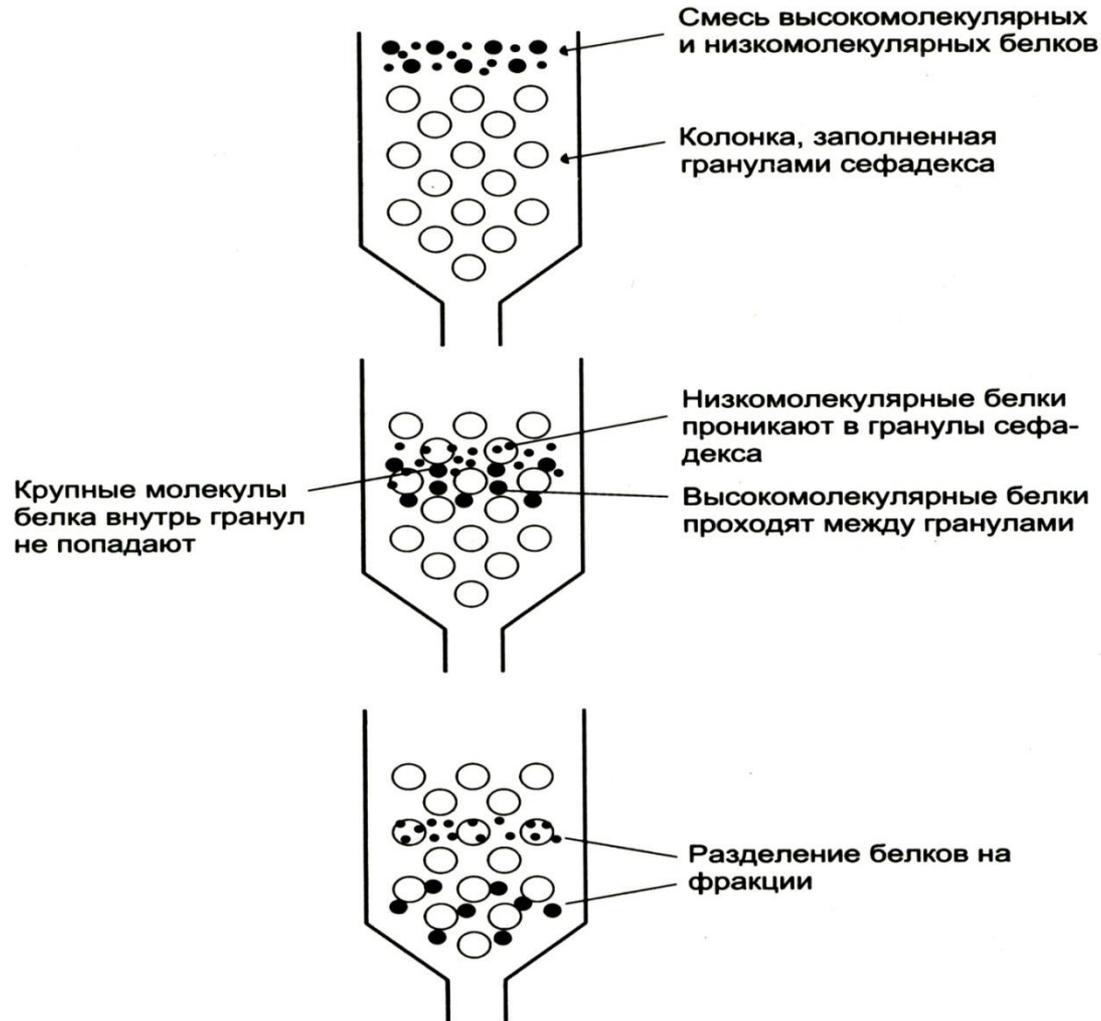
- ***цветные реакции***
- ***реакции осаждения***

Диализ



Б. Диализ

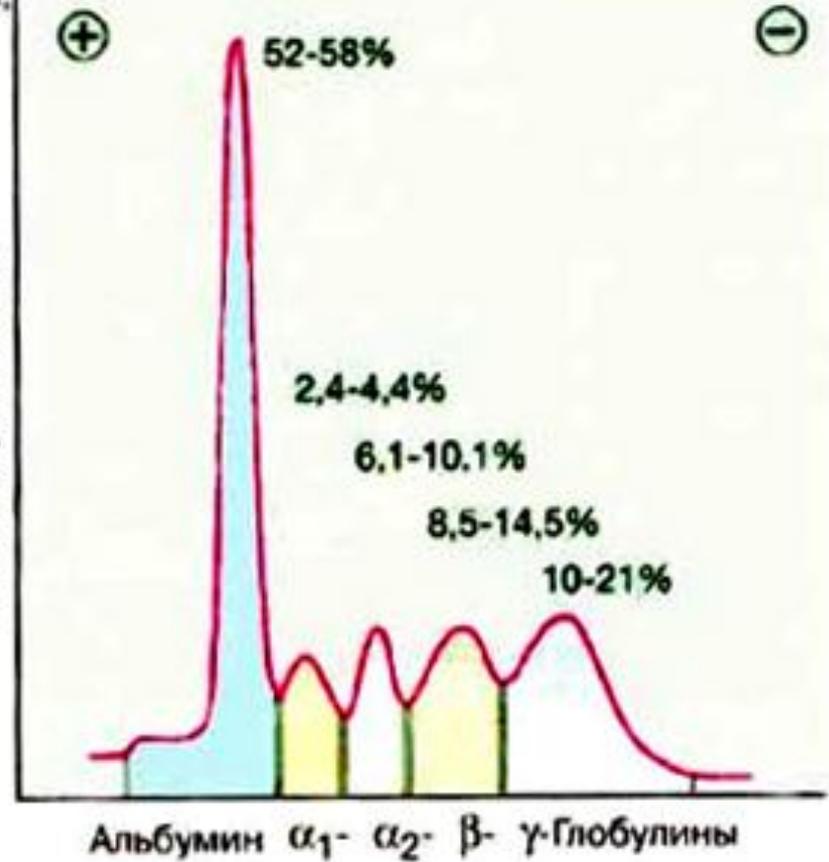
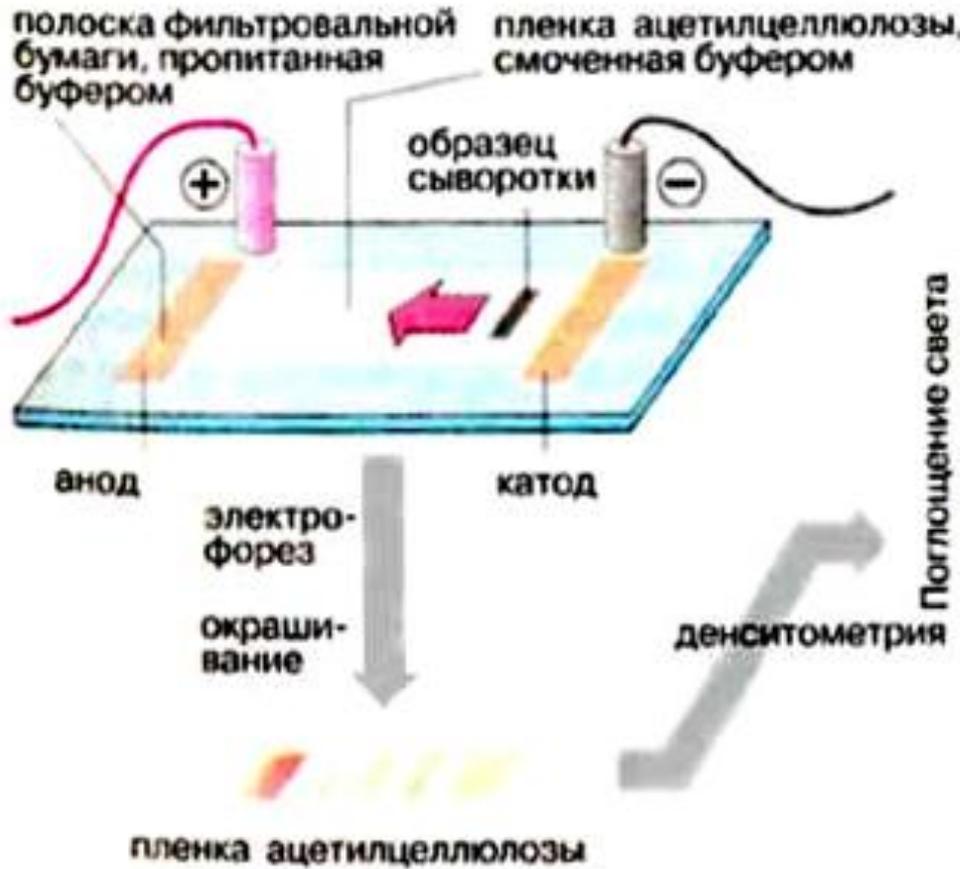
Гель-фильтрация белков



Ультрацентрифугирование

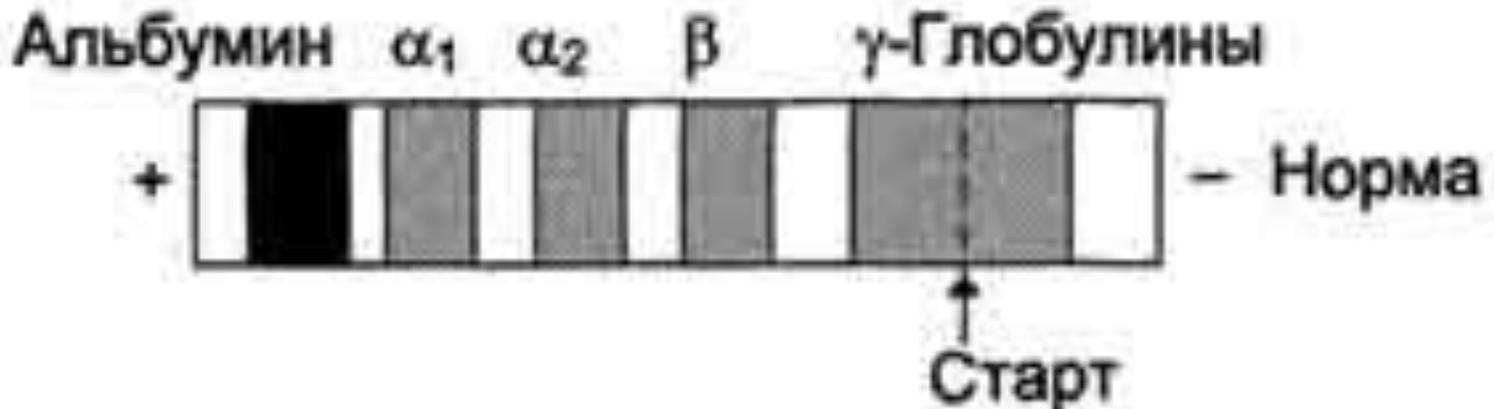


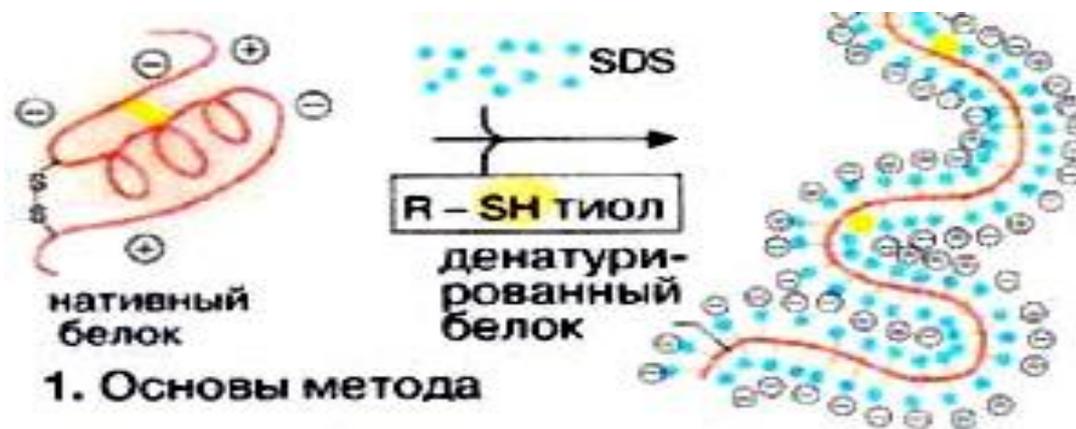
Электрофорез белков



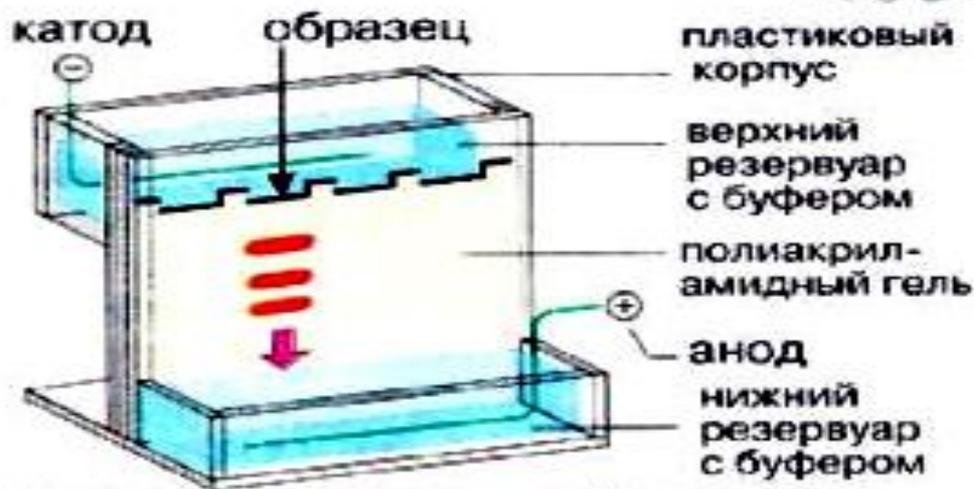
Б. Электрофорез

ЭФ белков сыворотки крови здорового человека на бумаге

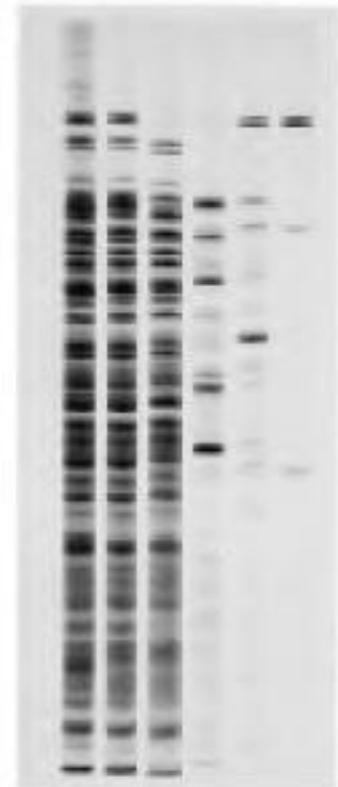
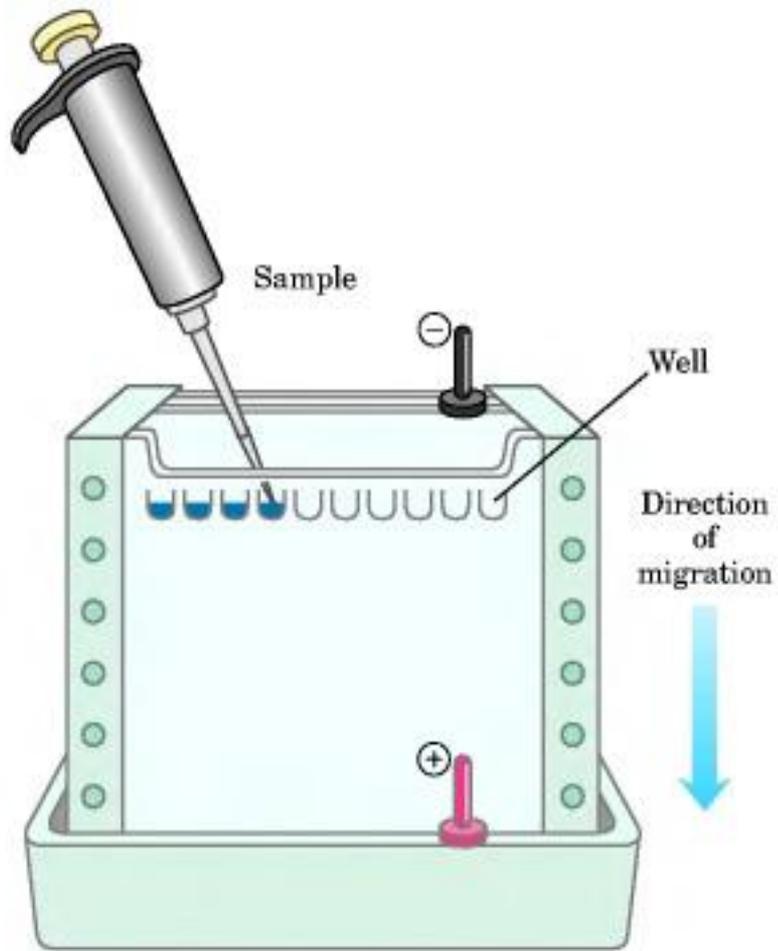




1. Основы метода



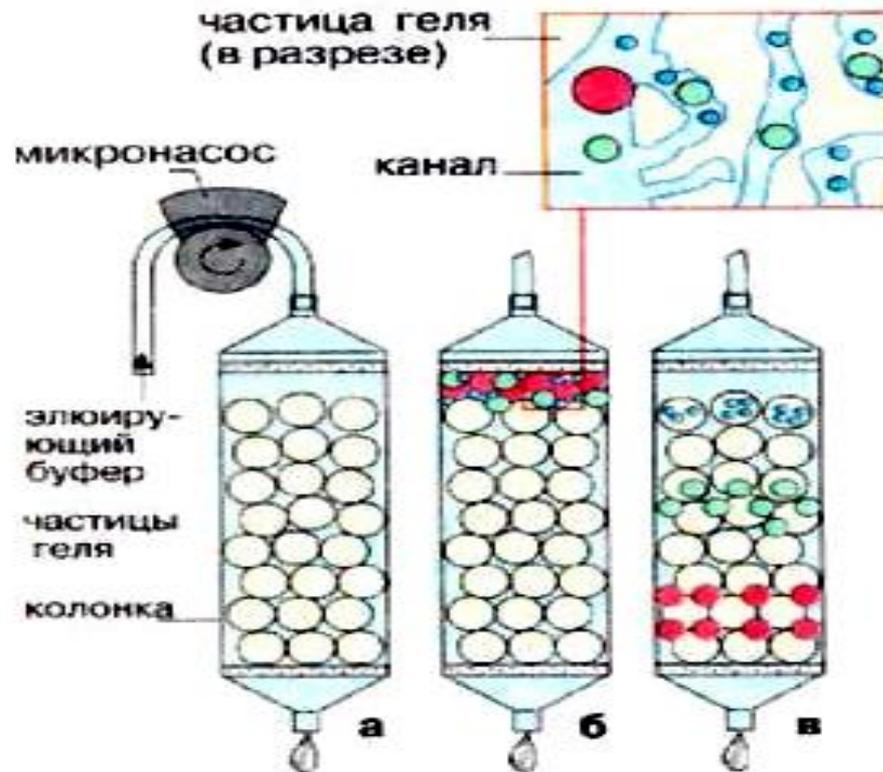
2. Камера для электрофореза



(a)

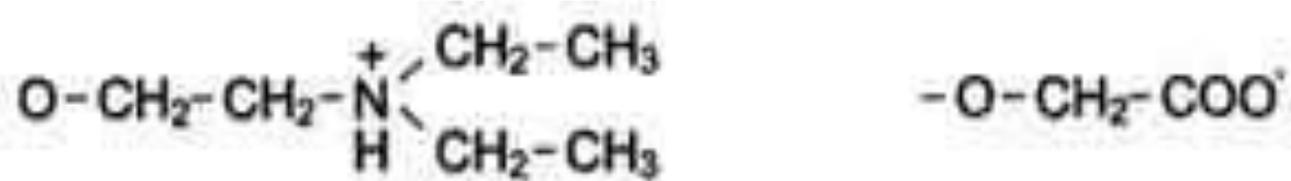
(b)

Хроматография белков



Различают:

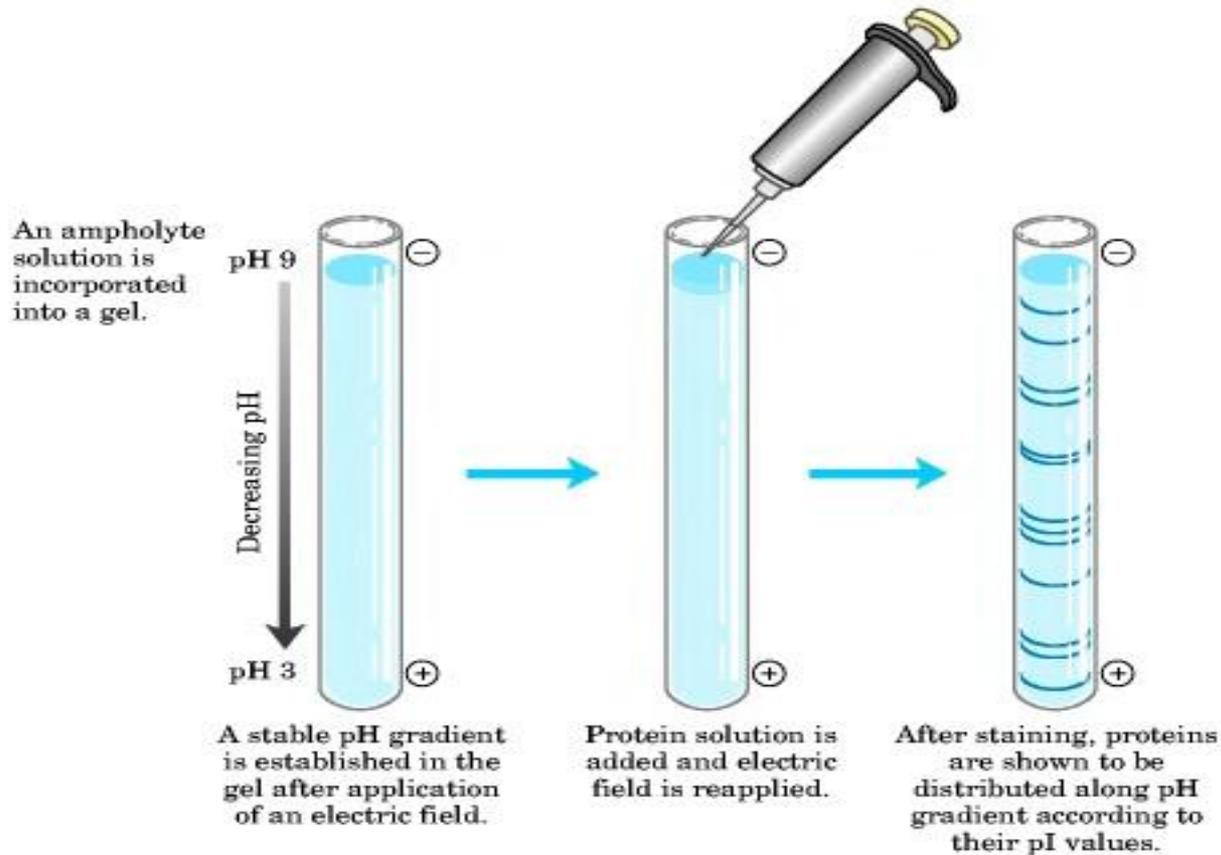
- ***положительно заряженные анионообменники, н-р,***
диэтиламиноэтилцеллюлоза (ДЭАЭ-целлюлоза), содержащая катионные группы
- ***отрицательно заряженные катионообменники, н-р***
карбоксиметилцеллюлоза (КМ-целлюлоза), содержащая анионные группы.



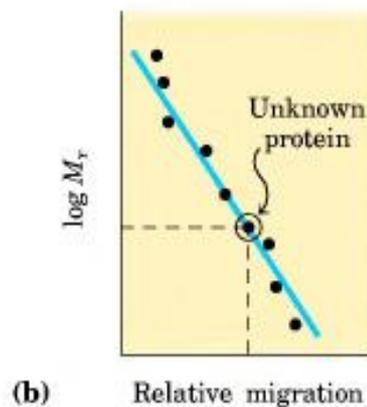
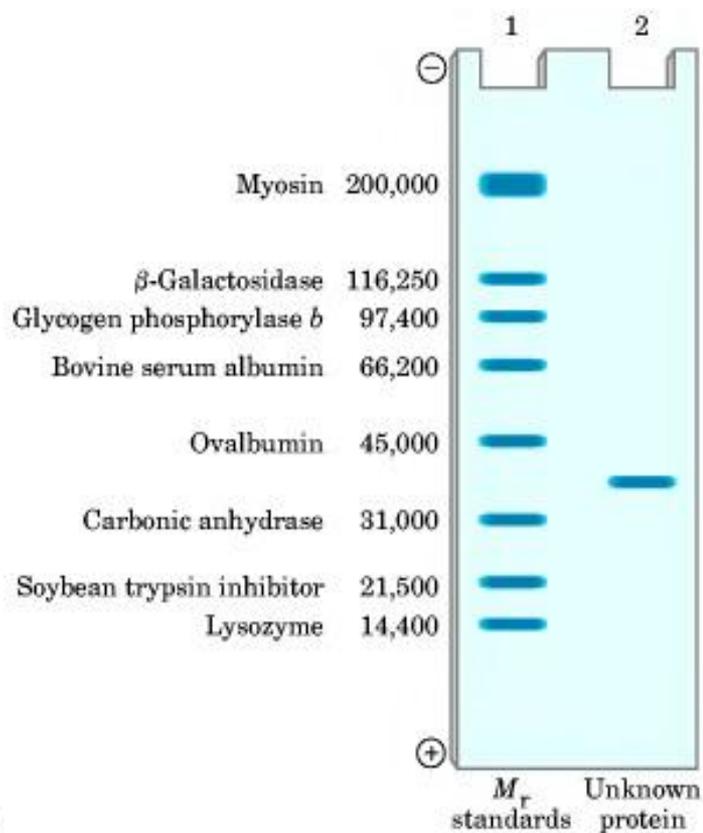
Аффинная хроматография, или хроматография по сродству



Изоэлектрическое фокусирование

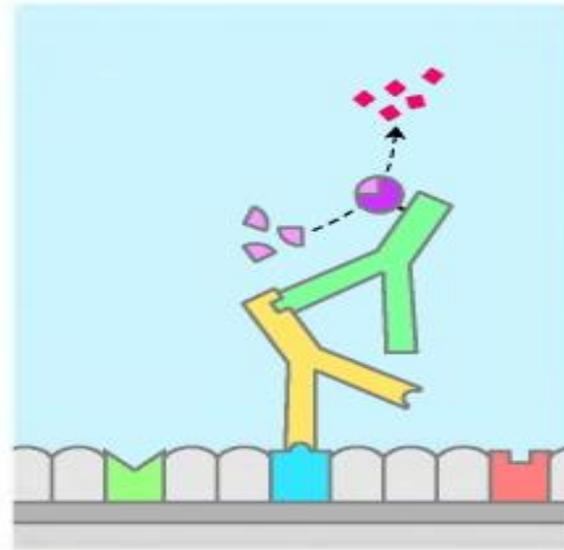


Определение мол.весов в SDS-ЭФ

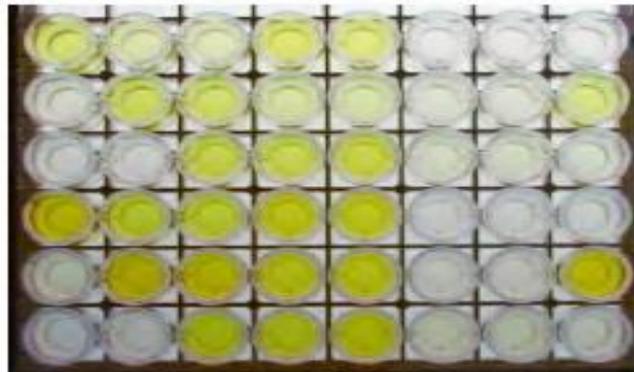


Иммуноблотинг

- 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. 

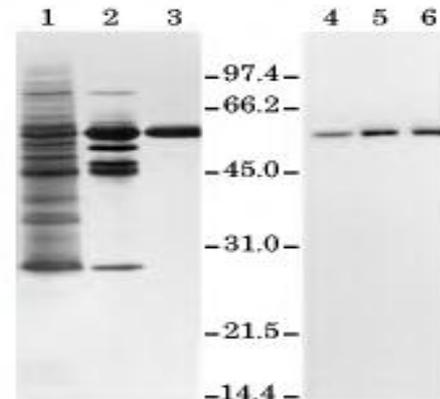


(a)



ELISA

(b)



SDS gel

Immunoblot

(c)