

# Биохимия

Особенности функционирования  
белков с четвертичной  
структурой

# Олигомеры и мономеры

Олигомерные белки способны взаимодействовать с несколькими лигандами в центрах, удаленных от активного центра. Такие центры называются аллостерическими, а лиганды, способные с ними взаимодействовать, аллостерическими лигандами.

Связывание одного протомера с лигандом изменяет

- конформацию этого протомера, и всего олигомера (кооперативный эффект)
- сродство к другим лигандам.

Таким образом, функциональная активность олигомерных белков может регулироваться аллостерическими лигандами.

Для примера возьмем два родственных белка (как по функциям, так и по эволюционному происхождению) – **миоглобин и гемоглобин.**

# Миоглобин

Миоглобин относят к классу гемсодержащих белков, т.е. он содержит простетическую группу - гем, довольно прочно связанную с белковой частью. Миоглобин относят к глобулярным белкам; он имеет только одну полипептидную цепь.

Миоглобин содержится в красных мышцах и участвует в запасании кислорода. В условиях интенсивной мышечной работы, когда парциальное давление кислорода в ткани падает,  $O_2$  освобождается из комплекса с миоглобином и используется в митохондриях клеток для получения необходимой для работы мышц энергии.

# Гем

Гем - молекула, имеющая структуру циклического тетрапиррола, где 4 пиррольных кольца соединены метиленовыми мостиками и содержат 4 метильные, 2 винильные и 2 пропионатные боковые цепи. Эта органическая часть гема называется протопорфирином. Возможны 15 вариантов расположения боковых цепей, но в составе гемопротеинов присутствует только один изомер, называемый протопорфирин IX.

В геме 4 атома азота пиррольных колец протопорфирина IX связаны четырьмя координационными связями с  $Fe^{2+}$ , находящимся в центре молекулы.

Аминокислотное окружение гема создаёт условия для довольно прочного, но обратимого связывания  $O_2$  с  $Fe^{2+}$  миоглобина. Гидрофобные остатки аминокислот, окружающие гем, препятствуют проникновению в центр связывания миоглобина воды и окислению  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$ . Трёхвалентное железо в составе гема не способно присоединять  $O_2$ .

# Строение гема



# Апомиоглобин

Апомиоглобин - белковая часть миоглобина; первичная структура представлена последовательностью из 153 аминокислот, которые во вторичной структуре уложены в 8 спиралей.

Спирали обозначают латинскими буквами от А до Н, начиная с N-конца полипептидной цепи, и содержат от 7 до 23 аминокислот.

Для обозначения индивидуальных аминокислот в первичной структуре апомиоглобина используют либо написание их порядкового номера от N-конца (например, Гис<sub>64</sub>, Фен<sub>138</sub>), либо букву спирали и порядковый номер данной аминокислоты в этой спирали, начиная с N-конца (например, Гис F<sub>8</sub>).

# Миоглобин

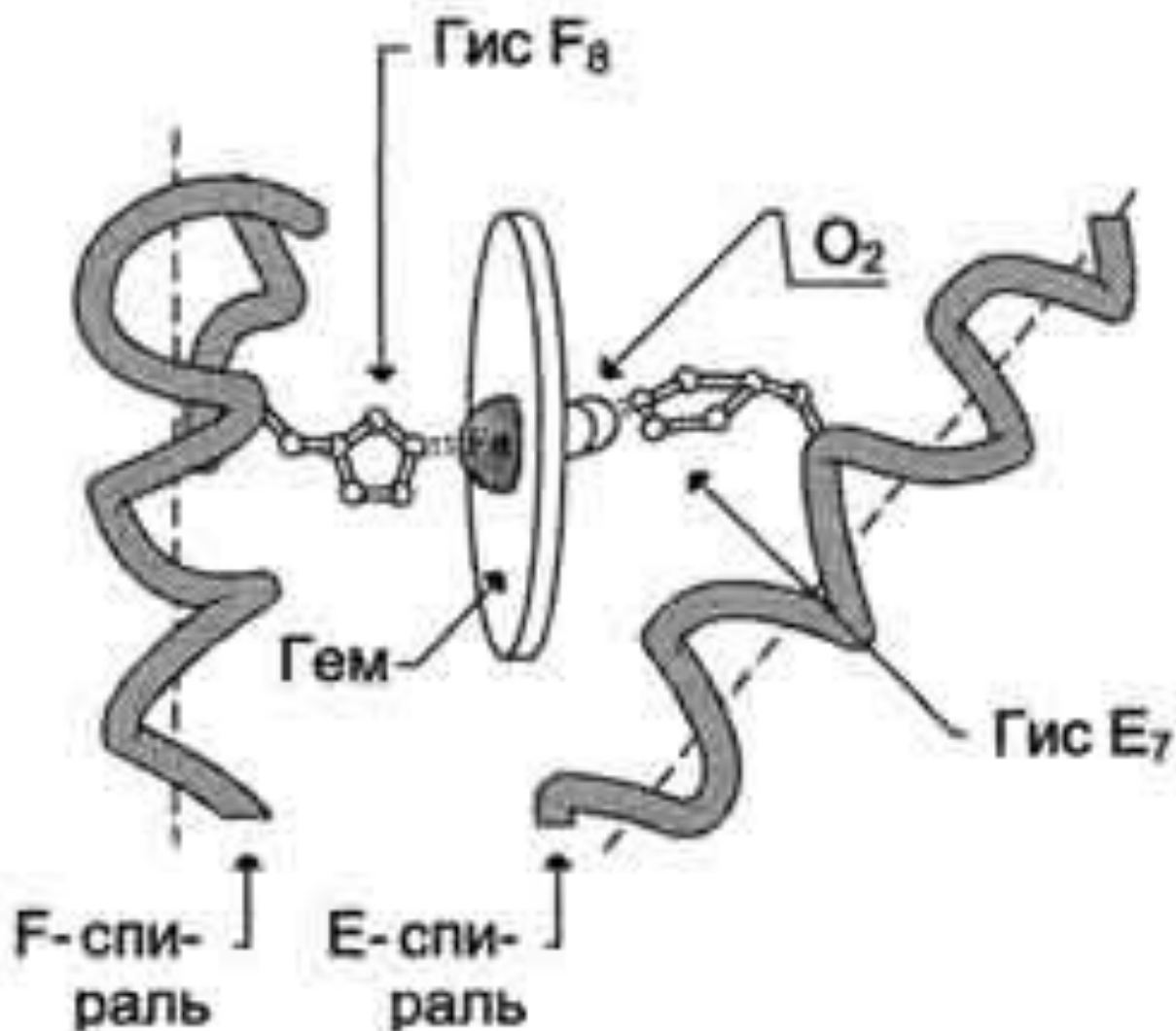
Гем - специфический лиганд апомиоглобина, присоединяющийся к белковой части в углублении между двумя спиралью F и E.

Центр связывания с гемом образован преимущественно гидрофобными остатками аминокислот, окружающими гидрофобные пиррольные кольца гема.

Атом железа в теме может образовывать 6 координационных связей, 4 из которых удерживают  $Fe^{2+}$  в центре протопорфирина IX (соединяя его с атомами азота пиррольных колец), а 5-я связь возникает между  $Fe^{2+}$  и атомом азота имидазольного кольца Гис F<sub>8</sub>.

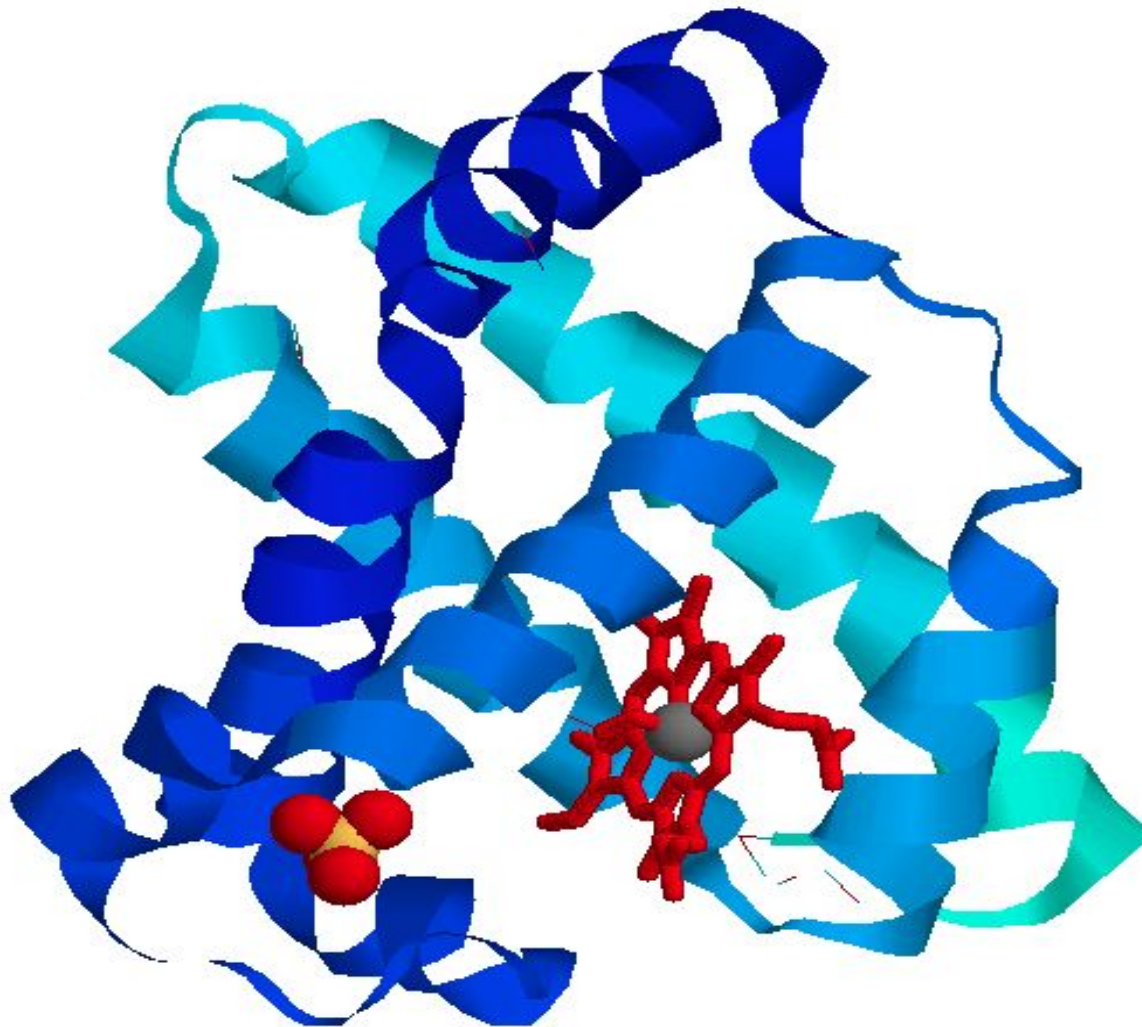
Гис E<sub>7</sub> хотя и не связан с гемом, но необходим для правильной ориентации и присоединения другого лиганда - O<sub>2</sub> к миоглобину.

# Миоглобин с молекулой кислорода





# Трёхмерная структура миоглобина



# Гемоглобины

Гемоглобины - родственные белки, находящиеся в эритроцитах. Эти белки выполняют 2 важные функции:

- Перенос  $O_2$  из лёгких к периферическим тканям.
- Участие в переносе  $CO_2$  и протонов из периферических тканей в лёгкие для последующего выведения из организма.

От способности гемоглобина насыщаться  $O_2$  в лёгких и относительно легко отдавать его в капиллярах тканей зависят количество получаемого тканями  $O_2$  и интенсивность метаболизма.

С другой стороны,  $O_2$  - сильный окислитель, избыток поступления  $O_2$  в ткани может привести к повреждению молекул и нарушению структуры и функций клеток.

**Важнейшая характеристика гемоглобина - его способность регулировать сродство к  $O_2$  в зависимости от тканевых условий.**

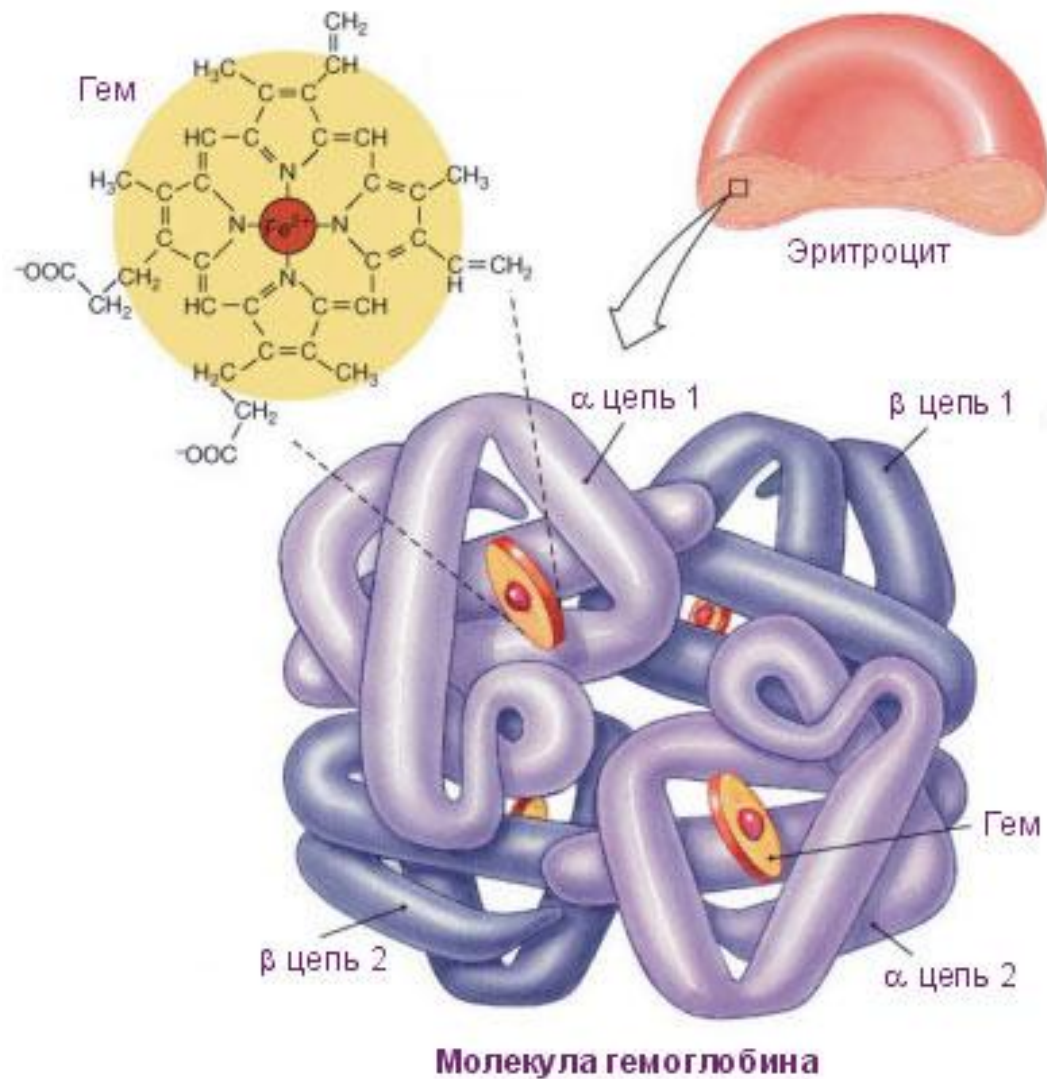
# Гемоглобины

Конформация отдельных протомеров гемоглобина удивительно напоминает конформацию миоглобина, несмотря на то, что в первичной структуре их полипептидных цепей идентичны только 24 аминокислотных остатка.

Протомеры гемоглобина, так же как и апомиоглобин, состоят из 8 спиралей, свёрнутых в плотную глобулярную структуру, содержащую внутреннее гидрофобное ядро и "карман" для связывания гема. Соединение гема с белковой частью аналогично таковому у миоглобина.

Однако тетрамерная структура гемоглобина представляет собой более сложный структурно-функциональный комплекс, чем миоглобин.

# Строение гемоглобина А



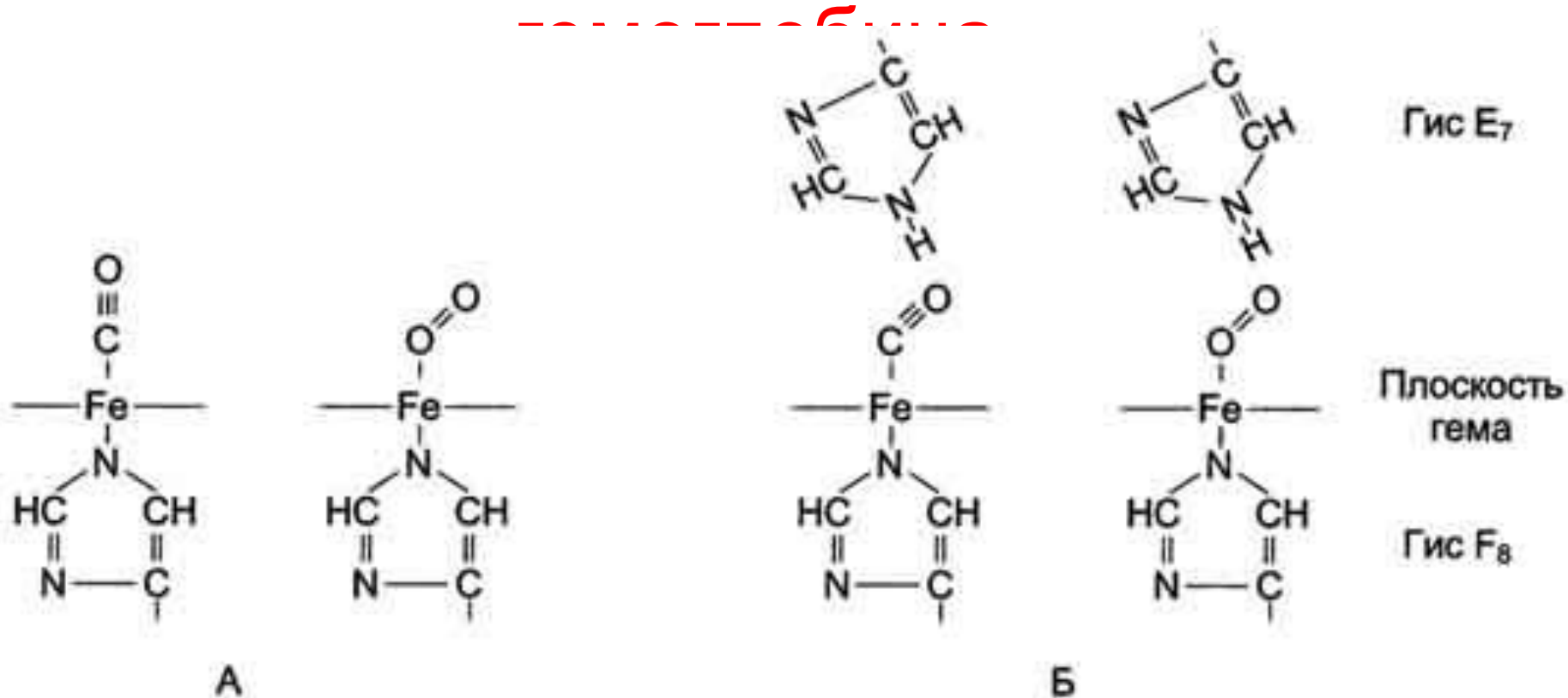
# Роль гистидина E7 в функционировании миоглобина и гемоглобина

Гем имеет высокое сродство к оксиду углерода (CO). Высокая степень сродства гема к CO по сравнению с O<sub>2</sub> объясняется разным пространственным расположением комплексов Fe<sup>2+</sup> гема с CO и O<sub>2</sub>.

В комплексе Fe<sup>2+</sup> гема с CO атомы Fe<sup>2+</sup>, углерода и кислорода расположены на одной прямой, а в комплексе Fe<sup>2+</sup> гема с O<sub>2</sub> атомы железа и кислорода расположены под углом, что отражает их оптимальное пространственное расположение.

В миоглобине и гемоглобине над Fe<sup>2+</sup> в области присоединения O<sub>2</sub> расположен Гис E<sub>7</sub>, нарушающий оптимальное расположение CO в центре связывания белков и ослабляющий его взаимодействие с гемом.

# Роль гистидина E7 в функционировании миоглобина и



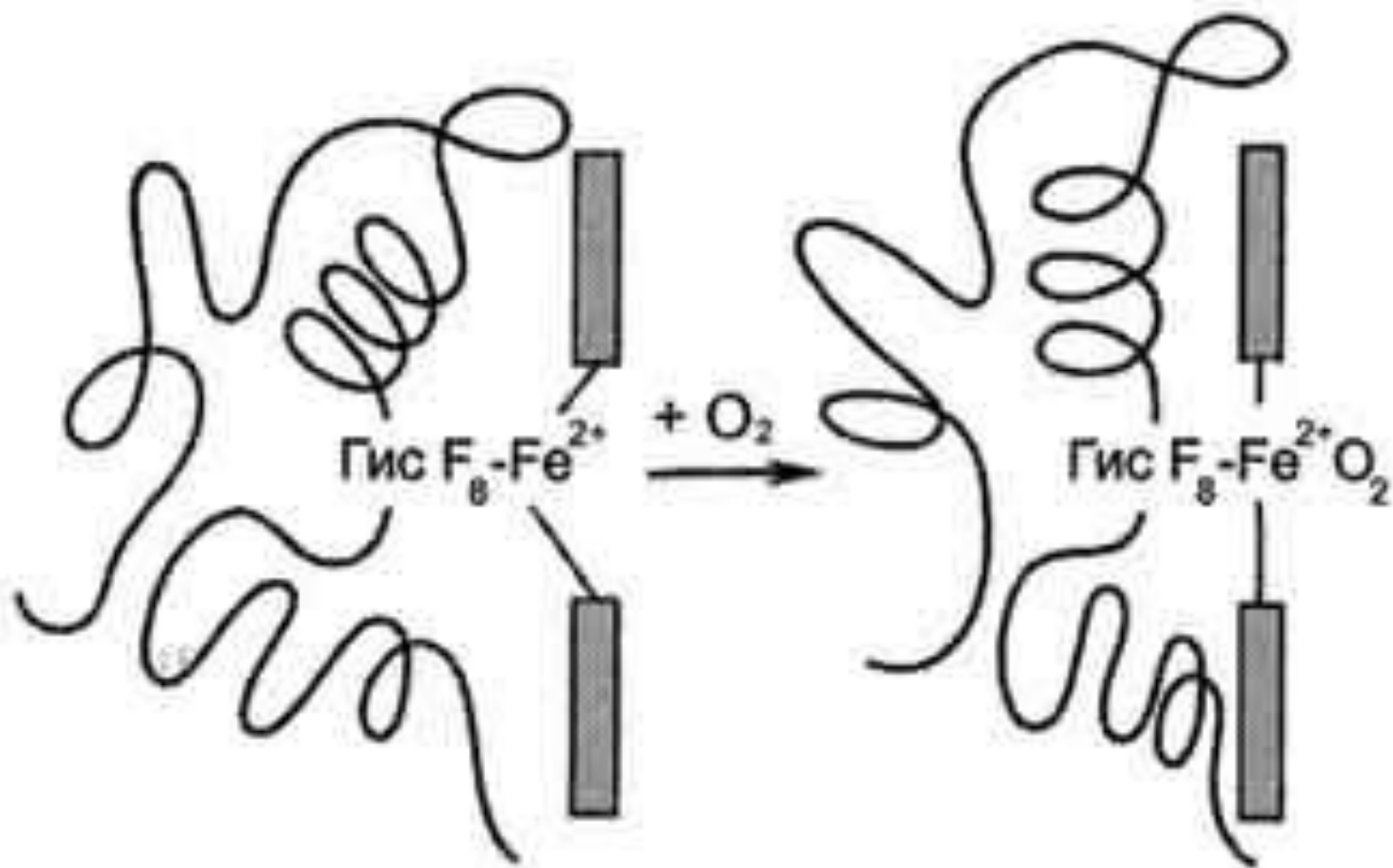
Если бы сродство гема к CO не уменьшалось под влиянием белкового окружения, эндогенный оксид углерода мог бы вызывать серьёзные отравления.

# Связывание гемоглобина с кислородом

Олигомерная структура гемоглобина обеспечивает быстрое насыщение его кислородом в лёгких, возможность отщепления кислорода от гемоглобина в капиллярах тканей при относительно высоком парциальном давлении  $O_2$ , а также возможность регуляции сродства гемоглобина к  $O_2$  в зависимости от потребностей тканей в кислороде.

- $O_2$  связывается с протомерами гемоглобина через  $Fe^{2+}$ . Связывание  $O_2$  с оставшейся свободной координационной связью  $Fe^{2+}$  происходит по другую сторону от плоскости гема в области Гис  $E_7$  (аналогично тому, как это происходит у миоглобина). Гис  $E_7$  не взаимодействует с  $O_2$ , но обеспечивает оптимальные условия для его связывания.

# Связывание кислорода гемом и изменение белковой части



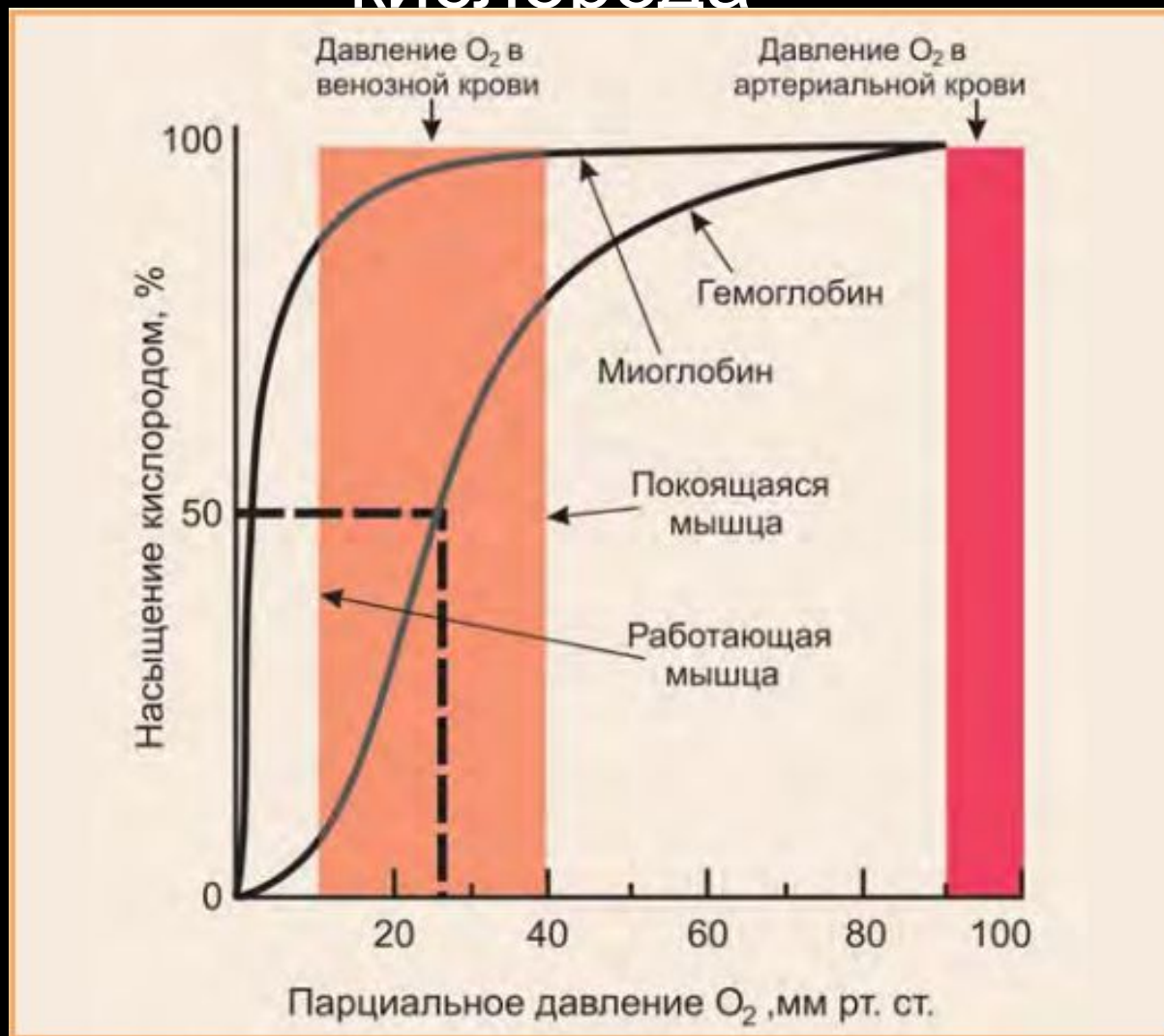


# Кооперативное изменение в молекуле гемоглобина

В дезоксигемоглобине благодаря ковалентной связи с белковой частью атом  $\text{Fe}^{2+}$  выступает из плоскости гема в направлении Гис  $F_8$ . Присоединение  $\text{O}_2$  к атому  $\text{Fe}^{2+}$  одного протомера вызывает его перемещение в плоскость гема, за ним перемещаются остаток Гис  $F_8$  и полипептидная цепь, в состав которой он входит.

Так как протомер связан с остальными протомерами, происходит изменение конформации всего белка. Конформационные изменения, произошедшие в других протомерах, облегчают присоединение следующей молекулы  $\text{O}_2$ , что вызывает новые конформационные изменения в белке и ускорение связывания следующей молекулы  $\text{O}_2$ . Четвёртая молекула  $\text{O}_2$  присоединяется к гемоглобину в 300 раз легче, чем первая молекула.

# Зависимость степени насыщения гемов различных белков от содержания кислорода



# Кривая диссоциации оксимиоглобина

Кривые диссоциации кислорода для миоглобина и гемоглобина в зависимости от парциального давления кислорода.

- Процессы образования и распада оксимиоглобина находятся в равновесии, и это равновесие смещается в зависимости от того, добавляется или удаляется кислород из системы. Миоглобин связывает кислород, который в капиллярах тканей высвобождает гемоглобин, и сам миоглобин может освобождать  $O_2$  в ответ на возрастание потребностей в нём мышечной ткани и при интенсивном использовании  $O_2$  в результате физической нагрузки.
- Миоглобин имеет очень высокое сродство к  $O_2$ . Кривая диссоциации оксимиоглобина указывает на то, что на этот процесс не оказывают влияние никакие посторонние факторы.

# Кривая диссоциации оксигемоглобина

Кривая диссоциации для гемоглобина имеет сигмоидную форму (S-образную). Это указывает на то, что протомеры гемоглобина работают кооперативно: чем больше  $O_2$  отдаёт протомеры, тем легче идёт отщепление последующих молекул  $O_2$ .

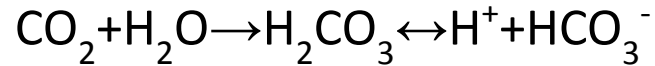
В капиллярах покоящихся мышц, где давление  $O_2$  составляет около 40 мм рт. ст., большая часть кислорода возвращается в составе оксигемоглобина обратно в лёгкие.

При физической работе давление  $O_2$  в капиллярах мышц падает до 10-20 мм рт. ст. Именно в этой области (от 10 до 40 мм рт. ст.) располагается "крутая часть" S-образной кривой, где в наибольшей степени проявляется свойство кооперативной работы протомеров.

# Эффект Бора

Степень сродства гемоглобина к молекуле кислорода помимо кооперативного эффекта регулируется присоединением катиона водорода. Эта регуляция называется эффектом Бора.

Конечный продукт катаболизма клетки –  $\text{CO}_2$  попадает в эритроцит и с помощью фермента карбагидразы превращается в угольную кислоту, которая диссоциирует на гидрокарбонат-анион и протон:



Протон, присоединяясь к молекуле гемоглобина, вызывает конформационные изменения, способствующие отдаче кислорода – кислород освобождается и уходит в клетку. Эритроцит отправляется в лёгкие.

В легких происходит обратный процесс. Присоединение кислорода заставляет гемоглобин отдать протон, который гидролизует гидрокарбонат-анион до угольной кислоты, которая разлагается на воду и углекислый газ, выводящиеся из лёгких.

# Перенос кислорода и углекислого газа кровью

