

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**АМИНОКИСЛОТЫ, ПЕПТИДЫ, ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ:
ОСОБЕННОСТИ ИХ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА,
СТРУКТУРЫ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ**

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

для самостоятельной аудиторной и внеаудиторной подготовки
студентов - иностранных граждан медицинского факультета

Запорожье

2017

УДК

*Утверждено на заседании Центрального методического Совета ЗГМУ
(протокол № 5 от 25.05.2017 г.)
и рекомендовано для использования в образовательном процессе*

Авторы:

Е. В. Александрова, Н. В. Крисанова, С. В. Левич

Рецензенты:

А. Б. Приходько - д.биол. н., доцент, заведующий кафедрой медицинской биологии, паразитологии и генетики ЗГМУ;

Б. А. Прийменко - д.фарм.н., профессор кафедры органической и биоорганической химии ЗГМУ.

Александрова Е.В.

Аминокислоты, пептиды, простые и сложные белки : особенности их химического состава, структуры, физико-химических свойств и функции : учеб.-метод. пособие для самостоятельной аудиторной и внеаудиторной подготовки студентов - иностранных граждан мед. фак. / Е. В. Александрова, Н. В. Крисанова, С. В. Левич.- Запорожье: ЗГМУ, 2017. - 97 с.

Данное учебно-методическое пособие рекомендуется для самостоятельной работы студентов - иностранных граждан, изучающих дисциплины направления «Медицина» на русском языке. Предлагаемое учебно-методическое пособие является полезным дополнительным информационным материалом для студентов при изучении структуры, свойств и функции аминокислот, пептидов и белков организма человека. Изучение данных теоретических положений является основой для обеспечения успешного усвоения студентами положений о метаболических процессах и для понимания роли указанных органических молекул в поддержании гомеостаза организма человека.

© Е.В. Александрова, Н.В. Крисанова, С.В. Левич, 2017
© Запорожский государственный медицинский университет, 2017

Предисловие к читателю

Приступая к изучению данного учебно-методического пособия, следует обратить внимание на особенности структуры аминокислот, пептидов и белков, так как структура органической молекулы всегда определяет всю совокупность её физико-химических свойств и предопределяет ту биологическую функцию в организме, которая изложена в пособии. Учитывая важность выше указанных структур для любой живой системы, следует понимать, что успешное усвоение содержания данного учебно-методического пособия позволит Вам, дорогой читатель, освоить более сложные разделы дисциплины «Биологическая химия», в частности обменные процессы выше указанных веществ. После изучения каждой главы пособия советуем обратиться к предложенному блоку тестовых заданий, чтобы самостоятельно проверить свои знания по пройденному разделу. Успехов!

Авторы

ГЛАВА 1 . АМИНОКИСЛОТЫ И ПЕПТИДЫ

Общее представление о структуре альфа-аминокислот и их использовании в организме человека

Аминокислоты по строению являются органическими карбоновыми кислотами, у которых, как минимум, один атом водорода замещен на аминогруппу (рис. 1).

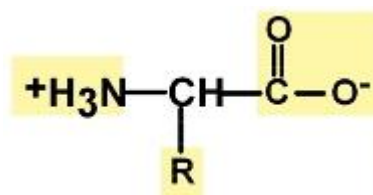


Рис. 1. Общая структурная формула α -аминокислот, представленная в виде биполярного иона

Большая часть альфа-аминокислот (рис.1) используется клетками организма человека в качестве «строительных блоков» белковых молекул, однако спектр их включения в процессы клетки гораздо шире.

Такие аминокислоты как гистидин, триптофан, глутаминовая кислота, тирозин являются источником для образования нейромедиаторов в ЦНС (соответственно гистамин, серотонин, гамма-аминомасляная кислота, дофамин и норадреналин), а глицин и глутаминовая кислота сами являются нейромедиаторами.

Определенные аминокислоты необходимы для синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований, без которых синтез нуклеиновых кислот невозможен. Аминокислоты используются для синтеза низкомолекулярных биологически важных соединений (креатин, карнитин, карнозин, ансерин и др.).

Радикалы аминокислоты тирозин в составе белка тиреоглобулина используются специальными клетками щитовидной железы для синтеза

гормонов тироксин, трийодтиронин. В мозговом веществе надпочечников свободный тирозин превращается в гормоны адреналин, норадреналин.

Глутаминовая кислота является предшественником гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), выполняющей функцию тормозного медиатора нервной системы. Сама по себе глутаминовая кислота также является нейромедиатором, стимулирующим передачу возбуждения в синапсах ЦНС. Глутамат участвует в обезвреживании токсичного аммиака, при этом образуется другая аминокислота глутамин. Потребность организма в глутаминовой кислоте в несколько раз выше потребности в других аминокислотах.

Глицин является медиатором ЦНС тормозного действия. Вместе с глутаминовой кислотой и цистеином участвует в синтезе короткого пептида – глутатиона, концентрация которого важна для функции антиоксидантной ферментативной системы под названием глутатионпероксидаза. Обмен глицина в нейронах обеспечивает ряд поведенческих реакций человека; в отсутствии дефицита данной аминокислоты человек спокоен, у него нормализуется сон, уменьшается раздражительность.

Цистеин участвует в процессах, протекающих в хрусталике глаза. Зачастую нарушения функции хрусталика связаны с дефицитом цистеина, поэтому его назначают в качестве лекарственного препарата на начальной стадии катаракты.

Гистидин – условно незаменимая аминокислота, он используется при лечении гепатитов, язвах желудка и двенадцатиперстной кишки. В организме гистидин превращается в медиатор гистамин.

С нарушением обмена аминокислот связан ряд наследственных и приобретенных заболеваний, сопровождающихся серьезными проблемами в развитии организма, таких как цистиноз, гомоцистеинемия, лейциноз, тирозинемия и др. Самым известным примером является фенилкетонурия.

Альфа-аминокислоты и их производные используются в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов. Так, метионин и его

активное производное аденозилметионин используют для профилактики и лечения заболеваний печени в качестве липотропного фактора, (препараты "Ациметион", "Гептрал")

Комплексный препарат "Вицеин" в виде глазных капель содержит смесь глутаминовой кислоты, цистеина и глицина.

Препарат «Церебролизин», который используют при нарушениях функций ЦНС, мозговых травмах, кровоизлияниях, вегетативных дистониях есть ничто иное, как гидролизат вещества головного мозга свиньи, содержащий низкомолекулярные пептиды (15%) и аминокислоты (85%).

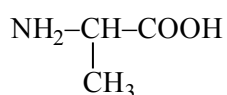
При нарушениях функций ЖКТ назначают препараты для парентерального питания, которые представляют из себя смеси необходимых для человека аминокислот: полиамин (набор 13 аминокислот), валин (набор 18 аминокислот), валинолакт (набор 18 аминокислот, соответствующих составу грудного молока), гидролизин (гидролизат белков крови крупного рогатого скота), аминотроф (гидролизат казеина), фибриносол (гидролизат фибрина крови).

Классификация аминокислот

В настоящее время рассматривают несколько различных классификаций аминокислот, их подразделяют на классы:

1. **В зависимости от положения аминогруппы по отношению к карбоксильной группе:** аминокислоты делятся на α -аминокислоты, β -аминокислоты и т.д.

α -аминокислоты



2-аминопропановая
кислота

α -аланин

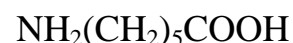
β -аминокислоты



3-аминопропановая
кислота

β -аланин

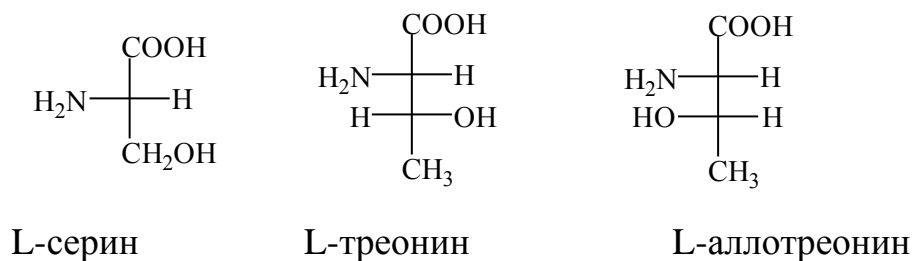
ϵ -аминокислоты



6-аминогексановая
кислота

ϵ -аминокапроновая

2. **По абсолютной конфигурации молекулы с делением на L- и D-стереоизомеры.** α -Аминокислоты, за исключением глицина, имеют асимметрический атом углерода и могут находиться в двух энантиомерных формах. Природные аминокислоты, получаемые из белков животного и растительного происхождения, в основном относятся к L-ряду. В качестве стандарта для аминокислот используют природный L-серин. Например, конфигурация природного треонина обозначается L, так как конфигурация его верхнего тетраэдра совпадает с конфигурацией L-серина. Его диастереомер обозначается как L-аллотреонин.



3. **По оптической активности,** то есть по способности раствора аминокислоты вращать плоскость поляризованного света; аминокислоты бывают право- и левовращающие.

4. **По возможности участия в синтезе белков** аминокислоты делятся на протеиногенные и непротеиногенные. Из всего многообразия аминокислот только **20 из них** участвуют во внутриклеточном синтезе белков (**протеиногенные аминокислоты**). Также в организме человека обнаружено еще около 40 непротеиногенных аминокислот. **Все протеиногенные аминокислоты являются α -аминокислотами.** В свою очередь протеиногенные аминокислоты подразделяют на классы по **строению бокового радикала** (рис. 2):

- **алифатические** (аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, глицин),
- **ароматические** (фенилаланин, тирозин, триптофан),

- **серосодержащие** (цистеин, метионин),
- **гидроксипроизводные** (содержат **ОН-группу**): серин, треонин, тирозин,
- содержащие две **СООН-группы, моноаминодикарбоновые**: аспарагиновая и глутаминовая кислоты
- содержащие две **NH₂-группы, диаминомонокарбоновые**: лизин, аргинин, гистидин,
- **амиды моноаминодикарбоновых кислот**: глутамин, аспарагин.

5. По отношению их радикалов в воде. Приведенные в рис.2 аминокислоты можно выделить в группы по полярности их радикалов, что определяет для аминокислоты отношение к полярному растворителю - воде. Наиболее гидрофобными аминокислотами являются аминокислоты, имеющие разветвленные, громоздкие (занимающие в пространстве большой объем) радикалы, не имеющие функциональных групп с отрицательным, либо положительным зарядом. Если альфа-аминокислота содержит в боковом радикале полярные функциональные группы, она хорошо растворима в дистиллированной воде, либо в буферных растворах, имеющих значение рН среды близкое к рН=7.

- **Аминокислоты с неполярными радикалами.** К неполярным (гидрофобным) относят радикалы аминокислот, имеющие алифатические углеводородные цепи (радикалы аланина, валина, лейцина, изолейцина, пролина и метионина) и ароматические кольца (радикалы фенилаланина и триптофана). Распределение электронной плотности в таких радикалах не позволяет им вступать в электростатическое взаимодействие с молекулами воды, эти радикалы способны вступать в гидрофобные взаимодействия друг к другом. Такие эффекты в молекуле глобулярных белков обычно приводят к формированию гидрофобного ядра мицеллы, что имеет место при процессе формирования коллоидного раствора глобулярного белка.

- **Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами.** Такие аминокислоты лучше растворяются в воде, так как в состав их молекул входят полярные функциональные группы, образующие водородные связи,

либо электростатические взаимодействия с молекулами воды. К ним относят серин, треонин и тирозин, имеющие гидроксильные группы, аспарагин и глутамин, содержащие амидные группы, и цистеин с его тиольной (-SH; сульфгидрильной) группой.

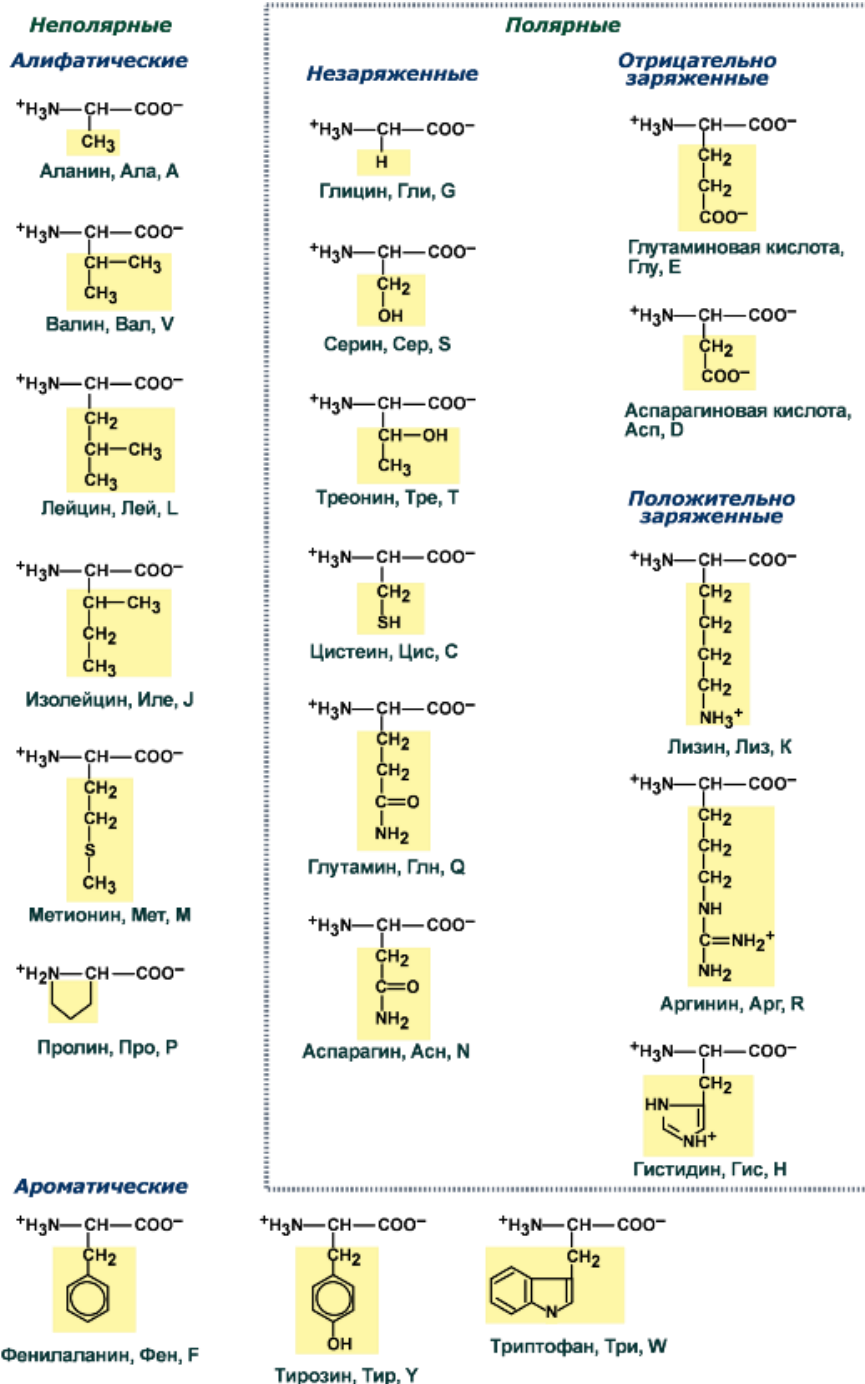


Рис. 2. Структура протеиногенных аминокислот; пролин является исключением – он циклическая иминокислота, а не альфа-аминокислота.

Цистеин и тирозин содержат соответственно тиольную и гидроксильную группы, способные к диссоциации в щелочных средах с образованием H^+ , но при pH близких к 7,0, этого не происходит.

- **Аминокислоты с полярными отрицательно заряженными радикалами.** К этой группе относят аспарагиновую и глутаминовую аминокислоты, имеющие в радикале дополнительную карбоксильную группу, при pH около 7,0 диссоциирующую с образованием COO^- и H^+ . Следовательно, молекулы данных аминокислот при таких значениях pH - анионы. Ионизированные формы глутаминовой и аспарагиновой кислот называют соответственно глутаматом и аспартатом.

- **Аминокислоты с полярными положительно заряженными радикалами.** Дополнительную положительно заряженную аминогруппу в радикале имеют лизин и аргинин. У лизина эта аминогруппа располагается в ϵ -положении алифатической цепи, а у аргинина положительный заряд приобретает гуанидиновая группа в боковом радикале. Аминокислота гистидин содержит слабо ионизированный имидазольный фрагмент в радикале, поэтому при физиологических колебаниях значений pH (от 6,9 до 7,4) гистидин заряжен либо нейтрально, либо положительно. При увеличении количества протонов в среде имидазольная группа гистидина последовательно протонируется, приобретая положительный заряд, а при увеличении концентрации гидроксид-ионов, теряет положительный заряд. Изoeлектрическая точка гистидина равна 7,5.

Наибольшей растворимостью в воде обладают полярные заряженные аминокислоты.

7. **По кислотно-основным свойствам** аминокислоты подразделяют на **нейтральные** (большинство), **кислые** (аспарагиновая и глутаминовая кислоты) и **основные** (лизин, аргинин, гистидин).

8. **По биологической значимости для организма** выделяют **незаменимые** аминокислоты (лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, триптофан, треонин, лизин, метионин), которые не синтезируются в

организме и должны поступать с пищей. К **заменимым** аминокислотам относят те, которые образуются в реакциях метаболизма, например в трансаминировании, либо при восстановительном аминировании. Две аминокислоты среди двадцати, используемых в синтезе белков, являются **условно незаменимыми** (аргинин, гистидин), то есть их синтез обеспечивает частично потребности человека, у детей синтез данных аминокислот снижен в скорости течения.

Модифицированные аминокислоты

Непосредственно в синтезе белков организма человека принимают участие только 20 аминокислот, представленных в рис.2. Однако некоторые белки имеют нестандартные модифицированные аминокислоты - это производные некоторых из них (рис. 3).

Например, в молекуле коллагена (фибриллярного белка межклеточного матрикса соединительной ткани) присутствуют остатки гидроксипроизводных лизина и пролина – 5-гидроксилизин и 4-гидроксипролин.

Модификация аминокислотных остатков в полипептидных цепях белков обычно осуществляется уже после трансляции (синтеза белка). Введение дополнительных функциональных групп в структуру аминокислот придаёт белкам свойства, необходимые для выполнения ими специфических функций. Например, γ -карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты является одной из реакций синтеза белковых факторов системы свёртывания крови. Появление дополнительной карбоксильной группы в боковом радикале глутаминовой кислоты (формируется фрагмент с двумя близко лежащими карбоксильными группами) в структуре определенного фактора системы коагуляции крови способствует его связыванию с ионами Ca^{2+} . Такой контакт выполняет задачу активации фактора коагуляции, что способствует в конечном результате обеспечению нормальной скорости образования фибрина, формирующего тромб при коагуляции крови.

Нарушение γ -карбоксилирования глутамата приводит к снижению свёртываемости крови.

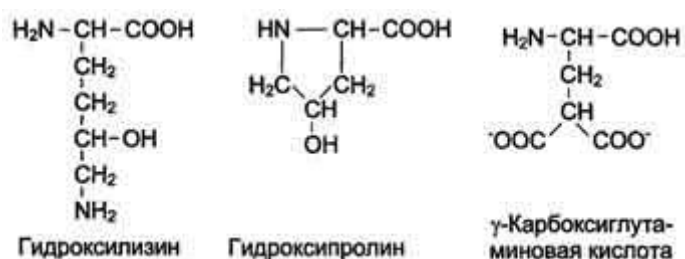


Рис. 3. Модифицированные аминокислоты, найденные в составе белков

Физико-химические свойства аминокислот

Амфотерность является основным физико-химическим свойством аминокислот (рис. 4).

Понятие амфотерность означает, что вещество сочетает в себе свойства как кислот, так и оснований. В водном растворе аминокислоты одновременно ведут себя как **кислоты** – доноры протонов и как **основания** – акцепторы протонов. Данное свойство аминокислот определяет амфотерные свойства белков. Амфотерные свойства глобулярных белков крови обеспечивают их участие в регуляции кислотно-основного равновесия крови.

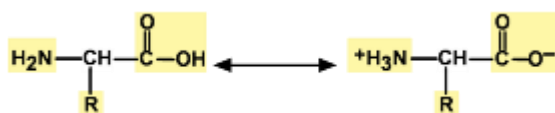


Рис. 4. Амфотерность аминокислот обеспечивается благодаря возможности образования биполярного иона аминокислоты.

Если общий заряд молекулы аминокислоты равен 0, то аминокислота находится в **изоэлектрическом состоянии**. Величина pH, при которой заряд аминокислоты равен нулю, называется **изоэлектрической точкой (ИЭТ, pI)**. Значение изоэлектрической точки зависит от строения радикала аминокислоты:

- ИЭТ большинства гидрофобных аминокислот находится в диапазоне pH от 5,5 (фенилаланин) до 6,3 (пролин),

- ИЭТ кислых аминокислот - для глутамата 3,2, для аспартата 2,8,
- ИЭТ основных аминокислот - для гистидина 7,6, для аргинина 10,8, для лизина 9,7.

Заряд молекулы аминокислот зависит от величины рН окружающей среды и от строения бокового радикала аминокислоты.

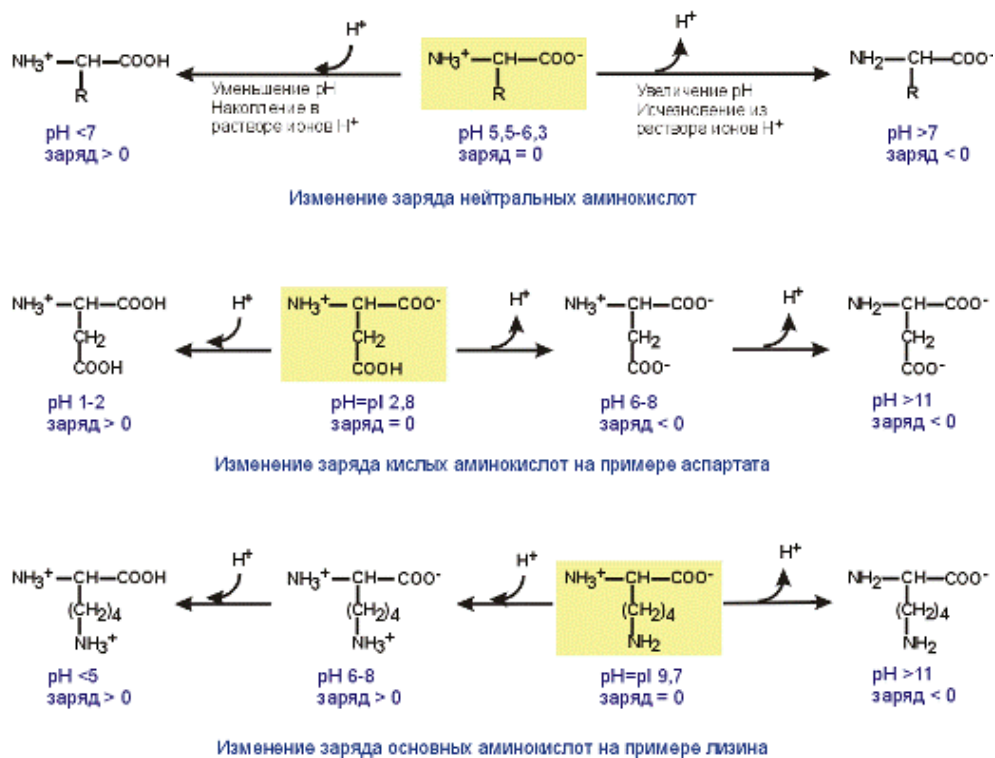


Рис. 5. Изменение заряда аминокислот при смещении рН среды в кислую или щелочную сторону.

При нейтральных значениях рН среды большинство альфа-аминокислот в растворе представлены в виде биполярного иона. При увеличении концентрации ионов водорода в окружающей аминокислоту среде (рН среды снижается) происходит протонирование аминогруппы аминокислоты и стабилизация карбоксильной группы в недиссоциированном состоянии. Аминокислота при этом проявляет основные свойства, и её молекула приобретает положительный заряд. Когда наблюдается переход рН от нейтральных значений к основным, аминокислота отдаёт протоны в окружающую среду, и заряд молекулы аминокислоты становится отрицательным (рис. 5).

Отправным пунктом для понимания причин появления того, или иного заряда у конкретной аминокислоты является величина её **изоэлектрической точки**. **Характер влияния рН среды на заряд молекулы рассматривается, исходя из значения изоэлектрической точки этой молекулы**. Если рН среды ниже значения ИЭТ – заряд аминокислоты становится положительным, если рН выше – отрицательным (рис. 5).

Качественные реакции, используемые для обнаружения аминокислот

Способность аминокислот вступать в те или иные химические реакции определяется наличием в их составе функциональных групп. Так как все аминокислоты, входящие в состав белков, содержат у α -углеродного атома амино- и карбоксильную группы, они могут вступать в характерные для всех альфа-аминокислот химические реакции. Наличие каких-либо индивидуальных функциональных групп в радикалах аминокислот определяет их способность вступать в специфичные для данных аминокислот реакции.

1) Нингидриновая реакция на α -аминокислоты. Для обнаружения и количественного определения альфа-аминокислот, находящихся в смеси, можно использовать нингидриновую реакцию.

Эта реакция (рис. 6) основана на том, что бесцветный нингидрин, реагируя с α -аминогруппой аминокислоты образует димерный комплекс сине-фиолетового цвета (для иминокислоты пролин этот комплекс желтого цвета). Образованию комплекса сопутствует декарбоксилирование аминокислоты с образованием из неё альдегида. Нингидриновую реакцию широко используют при изучении аминокислотного состава белков методом тонкослойной хроматографии. Так как интенсивность окраски пропорциональна количеству аминокислот в растворе, её используют также для измерения концентрации α -аминокислот в пробе.

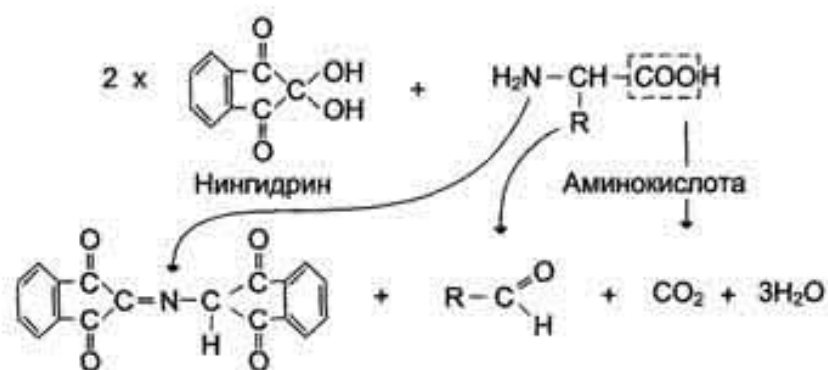


Рис. 6. Нингидриновая реакция, используемая для определения α -аминокислот

2) Специфические реакции на отдельные аминокислоты.

Качественное и количественное определение отдельных аминокислот возможно, благодаря наличию в их радикалах особенных функциональных групп.

Аргинин определяют с помощью качественной реакции на гуанидиновую группу (*реакция Сакагучи*, рис. 7), а цистеин выявляют *реакцией Фоля* (рис. 8), специфичной для SH-группы данной аминокислоты. Наличие ароматических аминокислот в растворе определяют *ксантопротеиновой реакцией* (реакция нитрования), а наличие гидроксильной группы в ароматическом кольце тирозина – с помощью *реакции Миллона* (рис. 9).

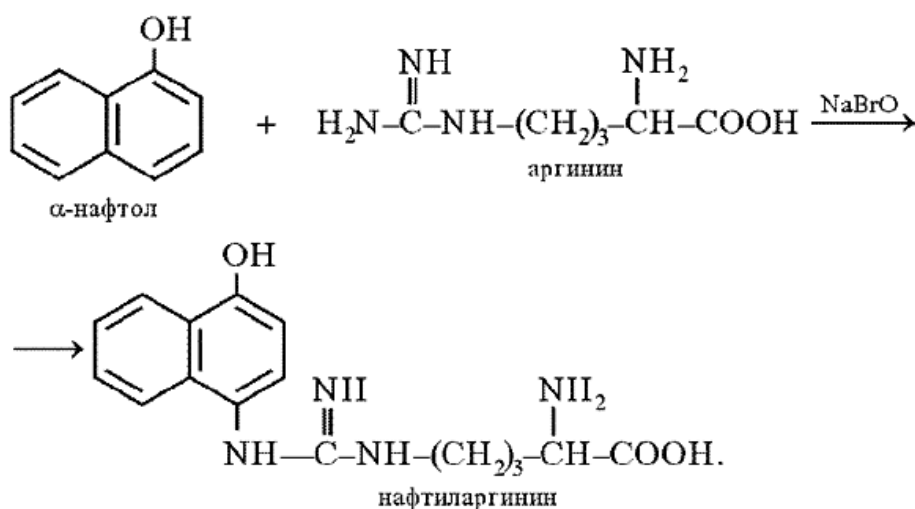


Рис. 7. Реакция Сакагучи на аргинин

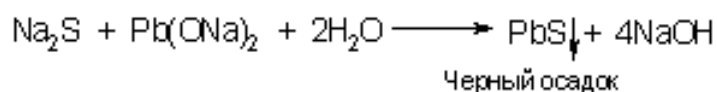
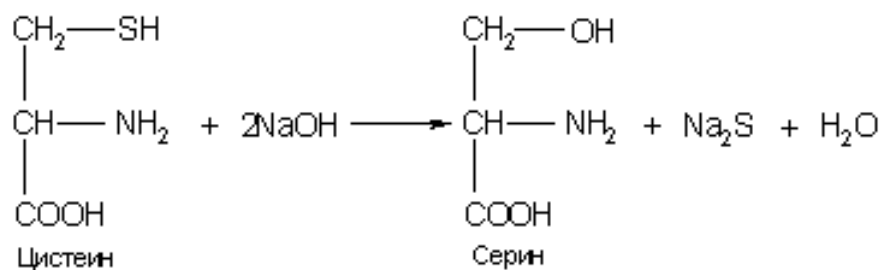


Рис. 8. Реакция Фоля на цистеин

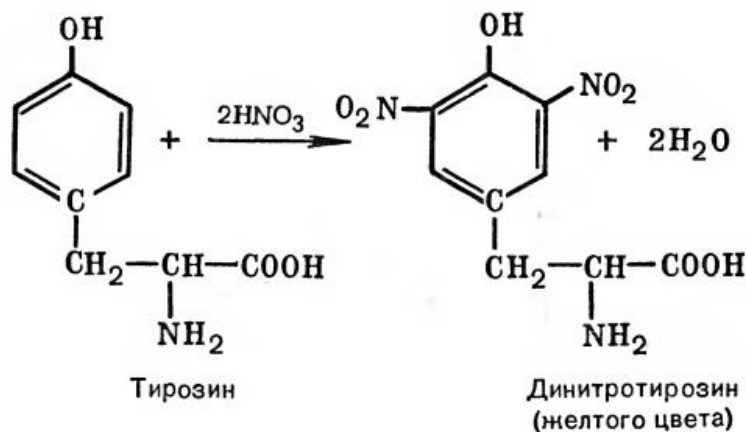


Рис. 9. Реакция Миллона на тирозин

ПЕПТИДЫ

Главный тип химической связи, которую образуют в живых системах аминокислоты между собой, - пептидная связь (рис.10). Органические соединения, образованные благодаря формированию пептидной связи, называются пептидами. Количество аминокислотных остатков в пептидах не превышает 40, если в полипептидной цепи более 40 аминокислот, то для неё рассматривают, по меньшей мере, три уровня организации: первичный, вторичный, третичный. В таком случае для образованной структуры используют термин **белок**.

Называют пептид с N-конца (то есть первым в названии идет аминокислотный остаток, у которого свободна альфа-аминогруппа), в названии аминокислоты появляется суффикс "-ил", только последняя аминокислота с C-конца сохраняет свое название неизменным.

Например, аланил-серил-триптофан или γ -глутамил-цистеинил-глицин (тривиальное название второго пептида - глутатион).

Пептидная связь

Пептидная связь формируется между α -карбоксильной группой одной аминокислоты и α -аминогруппой другой аминокислоты (рис. 10), классифицируется как ковалентная полярная связь, то есть она является достаточно прочной.

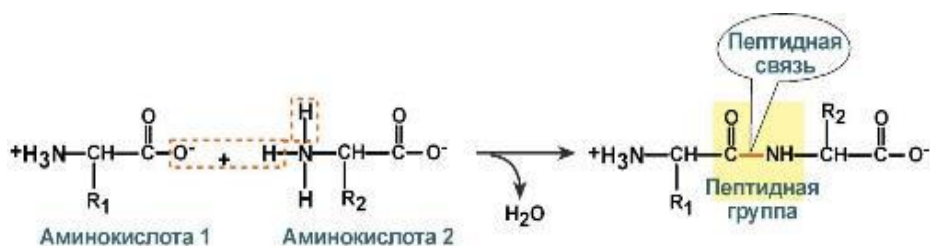
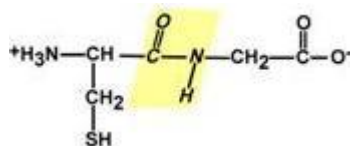


Рис. 10. Образование пептидной связи

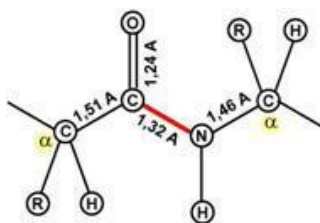
Свойства пептидной связи:

1. Копланарность:



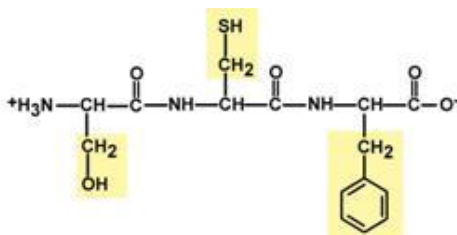
Все атомы, входящие в пептидный фрагмент, находятся в одной плоскости, при этом атомы "Н" и "О" расположены по разные стороны от пептидной связи, это свойство определяется перераспределением электронной плотности в пептидном фрагменте с возможностью его существования в виде енольной и кето-форм:





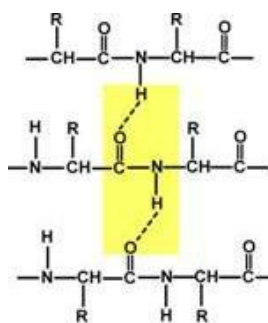
Длина пептидной связи меньше, чем у одинарной связи, она является жесткой структурой, и вращение вокруг её плоскости затруднено.

2. Транс-положение боковых радикалов аминокислот в цепи:

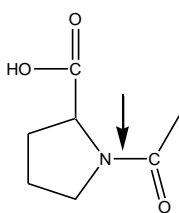


Радикалы аминокислот по отношению к оси пептидного фрагмента C-N находятся по "разные" стороны, в транс-положении.

3. Способность пептидных фрагментов к образованию водородных связей:



Атомы водорода и кислорода, входящие в пептидный фрагмент, обладают способностью образовывать две водородные связи с другим пептидным фрагментом, расположенным на расстоянии от первого минимум в 3-4 аминокислотных остатка (такая регулярность наблюдается при образовании вторичной структуры – альфа-спираль).



Пептидный фрагмент, образуемый иминой группой пролина, отличается от выше указанного пептидного фрагмента отсутствием при азоте атома водорода, Чем больше таких фрагментов в полипептидной цепи, тем

меньше вероятность формирования регулярной (упорядоченной) вторичной структуры за счет водородных связей между пептидными фрагментами.

Биологическая роль пептидов

В организме человека образуется множество пептидов, участвующих в регуляции различных биологических процессов и обладающих высокой физиологической активностью.

Количество аминокислотных остатков в структуре биологически активных пептидов может варьировать от 3 до 50. К одним из самых "маленьких" пептидов можно отнести тиреотропин-релизинг-гормон (или тиролиберин) и глутатион, являющиеся трипептидами. а также энкефалины, имеющие в своём составе 5 аминокислот. Нанопептиды вазопрессин (антидиуретический гормон) и окситоцин (отвечает за контроль сократительной функции гладкой мускулатуры матки и брюшной полости) относят к гормонам задней доли гипофиза. Большинство биологически активных пептидов имеет в своём составе более 10 аминокислот, например нейропептид Y (регулятор аппетита) содержит 36 аминокислотных остатков, а кортиколиберин - 41.

Октапептид ангиотензин II образуется в плазме крови благодаря функции ренин-ангиотензиновой системы, содержащей предшественник ангиотензиноген (полипептид продуцируется печенью) и два протеолитических фермента: ренин коркового слоя почечной ткани (превращает ангиотензиноген в ангиотензин I) и карбоксипептидаза эндотелия сосудов (отщепляет от C-конца ангиотензина I две аминокислоты с образованием биологически активного ангиотензина II). Ответной реакцией организма на образование данного продукта в плазме крови является секреция альдостерона корковым слоем надпочечников, изменение содержания в плазме крови ионов натрия, калия и хлоридов, подавление секреции вазопрессина и изменение тонуса кровеносных сосудов.

В биологически активных пептидах могут содержаться либо необычные аминокислоты, либо существовать необычные связи между аминокислотами, отсутствующие в белках.

Примером такого пептида является трипептид глутатион, состоящий из глутамата, цистеина и глицина:

N-концевая глутаминовая кислота связана со второй аминокислотой цистеином не через альфа-карбоксильную группу, а через гамма-карбоксильную группу её радикала, вторая пептидная связь цистеина с глицином ничем не отличается от нормальной пептидной связи. Сульфгидрильная группа цистеина позволяет клетке использовать данный трипептид в качестве кофермента специальных ферментативных систем: глутатионпероксидазной, глутатионтрансферазной и гамма-глутамилтрансферазной.

Изменение в аминокислотном составе пептидов часто приводит к потере одних и возникновению других биологических свойств. В качестве примера можно рассмотреть структуру и свойства двух пептидных гормонов - окситоцина и вазопрессина.

В гипоталамусе окситоцин и вазопрессин образуются в результате частичного (ограниченного) протеолиза более крупных полипептидных предшественников. Из гипоталамуса по нервным волокнам эти гормоны внутри секреторных гранул перемещаются в нервные окончания аксонов, находящихся в задней доле гипофиза. После действия специфических стимулов эти гормоны выделяются в кровь.

Окситоцин и вазопрессин в своей структуре имеют много общего (рис.11):

- оба содержат 9 аминокислотных остатков;
- 7 аминокислотных остатков из 9 идентичны;
- 2 остатка цистеина соединяются дисульфидной связью;
- на C-конце пептидов карбоксильная группа глицина аминирована.



Рис.11. Структура вазопрессина и окситоцина

Несмотря на небольшие отличия в последовательности аминокислот (замены аминокислот в положениях 3 и 8) эти гормоны сильно отличаются по физиологическому действию. Так, окситоцин выделяется в кровь матери во время кормления ребёнка, вызывает сокращение миоэпителиальных клеток протоков молочных желёз и стимулирует выделение молока. Кроме того, окситоцин влияет на гладкую мускулатуру матки во время родов, вызывая её сокращение.

Физиологическое действие вазопрессина - стимуляция реабсорбции воды в дистальном отделе почечных канальцев при уменьшении артериального давления (АД) или объёма воды в крови (поэтому другое название этого гормона - антидиуретический). Кроме того, вазопрессин вызывает сокращение гладкомышечных клеток, участвующих в контроле тонуса кровеносных сосудов.

Исследование биологической активности пептидов в организме человека имеет прикладное значение с целью разработки их синтетических аналогов для лечебных целей. Например, синтезирован пептид 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессин (ДАВ). В структуре этого пептида (по сравнению с вазопрессином) нет аминогруппы на N-конце, и вместо L-аргинина в положении 8 стоит D-аргинин. Такой синтетический пептид обладает только антидиуретической активностью и химически устойчив, т.е. при введении в организм вызывает длительный эффект воздействия. Такой искусственный аналог гормона по сравнению с природным вазопрессином более

эффективен при лечении недостаточности его секреции (заболевание несхарный диабет).

Открытые и изученные к настоящему времени пептиды можно разделить на группы по их основному физиологическому действию:

- пептиды, обладающие гормональной активностью (окситоцин, вазопрессин, рилизинг-гормоны гипоталамуса, меланоцитостимулирующий гормон, глюкагон и др.);
- пептиды, регулирующие процессы пищеварения (гастрин, холецистокинин, вазоинтестинальный пептид, желудочный ингибирующий пептид и др.);
- пептиды, регулирующие тонус сосудов и АД (брадикинин, калидин, ангиотензин II);
- пептиды, регулирующие аппетит (лептин, нейропептид Y, меланоцитостимулирующий гормон, бетта-эндорфины);
- пептиды, обладающие обезболивающим действием (энкефалины, эндорфины и другие опиоидные пептиды). Обезболивающий эффект этих пептидов в сотни раз превосходит анальгезирующий эффект морфина;
- пептиды, участвующие в регуляции высшей нервной деятельности, в биохимических реакциях, обеспечивающих механизм сна, когнитивные (познавательные) процессы, механизмы формирования памяти и т.д.

Однако такое деление пептидов крайне условно. За последнее десятилетие появились данные о том, что многие пептиды обладают широким спектром действия. Так, меланоцитстимулирующий гормон, помимо стимуляции пигментообразования, участвует в регуляции аппетита (вместе с лептином подавляет потребление пищи и является антагонистом нейропептида Y). В то же время β -эндорфины, кроме анальгезирующего эффекта, обладают синергическим действием по отношению к нейропептиду Y, т.е. стимулируют аппетит человека.

Глава 2. ПРОСТЫЕ БЕЛКИ

Простыми белками называют высокомолекулярные органические соединения (полимеры), мономерами которых являются альфа-аминокислотные остатки, связанные пептидными связями. Молекула простого белка может содержать одну или больше, чем одну полипептидные цепи.

Функции белков

Высказывание Ф.Энгельса: "Жизнь есть способ существования белковых тел" до сих пор не потеряло своей верности и актуальности.

Исследование на протяжении длительного времени (более 150 лет) структурной организации клеток разнообразных организмов, их гомеостаза подтвердило первостепенное значение белковых молекул в обеспечении жизненного цикла этих живых систем.

Любые нарушения в первичной структуре белковых молекул клетки приводят большей частью к нарушению биологической функции таких видоизмененных белков, что сопровождается развитием генетических аномалий, являющихся первопричиной сокращения длительности жизненного цикла, а иногда и к гибели клетки.

Структурная функция белков. Межклеточный матрикс соединительной ткани формируют белки **коллаген, эластин, кератины**. В построении мембран и цитоскелета участвуют интегральные, полуинтегральные и поверхностные белки: например, **спектрин** (поверхностный, основной белок цитоскелета эритроцитов, нейроголии) Гистоны вместе с ДНК участвуют в формировании структуры нуклеосом, которые в дальнейшем являются структурным компонентом хромосом в ядре эукариотических клеток.

Ферментативная функция. Ферменты - это белки - катализаторы. Большинство химических реакций, протекающих в организме человека и животных, требуют присутствия белка-катализатора. Структурный фрагмент

белка-катализатора, называемый активным центром, выполняет функцию катализа: присоединения субстратов реакции и превращения их в продукты реакции. При нарушении синтеза таких белков происходит развитие клинических симптомов заболеваний, объединяемых термином *энзимопатии*. Ферменты могут быть как простыми белками, так и сложными. Последние 15 лет активно изучают рибозимы, это сложные белки, содержащие помимо полипептидных цепей короткие ядерные РНК, их также отнесли к ферментам.

Гормональная функция. Контроль регуляции обменных процессов в клетках -мишенях осуществляют гормоны, среди которых представлены как простые (гормон роста, паратиреоидный гормон, инсулин и др.), так и сложные белки (тиреотропин, гонадотропин и др.).

Рецепторная функция. Эта функция заключается в избирательном связывании гормонов, биологически активных веществ и медиаторов на поверхности мембран или внутри клеток. Рецептор-опосредуемый эндоцитоз (специальный механизм транспорта больших молекул в клетку), адгезия тромбоцитов, межклеточные контакты лейкоцитов – все выше описанные функции выполняют исключительно сложные белки, которые содержат углеводный компонент – гликопротеины.

Транспортная функция. Данная функция присуща как для простых, так и сложных белков. Простые белки альбумины плазмы крови адсорбируют на своей поверхности некоторые молекулы (высшие жирные кислоты, частично стероиды, ионы кальция, липофильный билирубин), помогая этим веществам в транспорте от места абсорбции (для ионов кальция) или места образования (стероиды, холестерин, билирубин) к месту выполнения функции, либо дальнейшей трансформации. Большинство сложных белков, отвечающих за транспорт, обычно содержат тот небелковый компонент, который транспортируют. Например, липопротеины плазмы содержат триглицериды, холестерин и его эфиры, фосфолипиды, эти вещества липопротеины и транспортируют от места синтеза к месту

выполнения функции, либо депонирования (для триацилглицеридов).

Транспорт веществ через мембраны осуществляют белки - Na^+ , K^+ -АТФаза (антинаправленный трансмембранный перенос ионов натрия в обмен на ионы калия с использованием энергии разрыва связи в АТФ), Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза (закачивание ионов кальция в СПР из цитоплазмы миоцита в обмен на ионы магния при расходовании энергии АТФ), транспорт глюкозы в клетку по механизму облегченной диффузии GLUT 1-8.

Резервная функция. В качестве примера депонированного белка можно привести продукцию и накопление в курином яйце яичного альбумина. У животных и человека таких специализированных депо нет, но при длительном голодании организм начинает использовать белки мышц, лимфоидных органов, эпителиальных тканей, печени и плазмы крови, сначала разрушая их до аминокислот (процесс тканевого протеолиза), которые затем включаются в катаболические пути (организму нужна энергия) и в синтез глюкозы (главный энергоисточник для нейронов).

Сократительная функция. Существует ряд внутриклеточных белков, предназначенных для изменения формы клетки и движения самой клетки или ее органелл (тубулин, актин, миозин).

Защитная функция. Защитную функцию, предупреждая инфекционный процесс и сохраняя устойчивость организма, выполняют иммуноглобулины крови, белковые факторы системы комплемента. При повреждении стенки кровеносного сосуда защитную функцию выполняют белки свертывающей системы крови, запуская каскадный механизм образования фибрина из фибриногена – главного компонента тромба. Механическую защиту выполняют белки соединительных тканей.

Гемоглобиновая и белковая буферная система плазмы крови участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия в крови и в целом организме.

Поддержание постоянства онкотического и осмотического давлений крови, состава интерстиция почечной ткани и межклеточной жидкости других тканей – всё это функции белков плазмы крови.

СТРУКТУРА ПРОСТОГО ГЛОБУЛЯРНОГО БЕЛКА

Полипептидная цепь, образующаяся при соединении аминокислот пептидной связью, является первичной структурой. Для каждого белка первичная структура уникальна и неповторима, обеспечивает в дальнейшем закономерности её укладки в пространстве (вторичная, третичная структуры).

Последовательность и соотношение аминокислот в первичной структуре белковой молекулы определяют всю совокупность свойств этой молекулы и особенности её пространственной структуры (третичный, четвертичный уровень организации) (рис. 12).



Рис. 12. Схематичное представление последовательности укладки полипептидных цепей белка в четвертичную структуру.

Вторичная структура полипептидной цепи формируется в пространстве за счет водородных связей между пептидными фрагментами, боковые радикалы аминокислот не участвуют в образовании данного уровня организации цепи.

Третичная структура полипептидной цепи – это форма укладки её вторичной структуры в определенный объём пространства. Такая структура образуется за счет формирования дисульфидных и сложноэфирных связей между радикалами соответственно цистеина

(фрагмент дисульфидной связи: $-\text{CH}_2\text{-S-S-CH}_2-$) и между радикалами аминокислот, содержащих гидроксильную (Сер, Тре, Тир) и карбоксильными группами (Глу, Асп). Закономерность укладки вторичной структуры полипептидной цепи в глобулу в жидкой фазе клетки (например, в цитоплазме) предполагает стягивание всех гидрофобных фрагментов полипептидной цепи внутрь такой структуры с формированием между ними сил магнитной природы (Ван-дер-Ваальсовы силы) и появление на поверхности глобулы всех полярных фрагментов, готовых к взаимодействию с молекулами воды. Это ведёт к формированию мицеллы коллоидного раствора.

Об особенностях первичной структуры некоторых природных белков

В организме человека обнаружено около 100 тысяч различных белков. Вариабельность последовательности только 20 аминокислот предполагает наличие в природе 1018 различных пептидов (при условии, что каждая аминокислота используется только один раз). Естественно в природе длина полипептидных цепей белка, его молекулярная масса являются строго индивидуальной характеристикой.

Самый большой из известных в настоящее время белков - **ТИТИН** - является компонентом саркомеров миоцита, молекулярная масса его генетически обусловленных разновидностей (изоформ) находится в интервале от 3000 до 3700 кДа. Титин камбаловидной мышцы человека состоит из 38138 аминокислотных остатков.

Первичная структура белков (фрагмент, рис. 13), т.е. последовательность аминокислот в нем, программируется последовательностью нуклеотидов в структурных генах ДНК. Выпадение, вставка, замена нуклеотида в ДНК приводит к изменению аминокислотного состава и, следовательно, структуры синтезируемого белка.

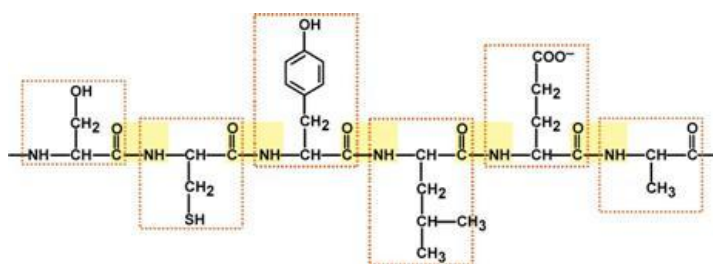


Рис. 13. Участок белковой цепи длиной в 6 аминокислот (Сер-Цис-Тир-Лей-Глу-Ала) (пептидные связи выделены желтым фоном, аминокислоты - рамкой).

Если изменение последовательности аминокислот не ведет к летальному исходу для живой системы, а носит приспособительный характер, то новый модифицированный ген может передаваться по наследству и остаться в популяции. В результате в живой системе возникают новые белки с похожими функциями. Такое явление называется полиморфизм белков.

Например, при серповидно-клеточной анемии в шестом положении с N- конца в β -цепи гемоглобина происходит замена глутаминовой кислоты на валин. Данная точечная мутация приводит к синтезу гемоглобина S (HbS) – такого гемоглобина, который в дезоксиформе (она формируется при снижении парциального давления кислорода в крови) полимеризуется и образует кристаллы. В результате эритроциты деформируются, приобретают форму серпа. Эритроцитарная мембрана теряет эластичность, эритроциты образуют агрегаты и при прохождении через капилляры разрушаются. Наследование серповидно-клеточной анемии по аутосомно-рецессивному признаку приводит к снижению оксигенации тканей такого пациента и заканчивается смертью в возрасте 18 лет, если не проводить постоянно переливание крови.

Для многих белков обнаруживается ярко выраженный консерватизм структуры. Например, аминокислотный состав гормона инсулина человека отличается от состава бычьего инсулина только тремя аминокислотами, от состава инсулина свиньи – на одну аминокислоту (у него аланин вместо треонина).

Возникновение групп крови АВ0 связано с тремя вариантами фермента, осуществляющего присоединение к олигосахариду мембран эритроцитов либо N-ацетилгалактозы (группа А), либо галактозы (группа В), либо фермент не присоединяет дополнительные сахаридные группы (группа 0).

Последовательность и соотношение аминокислот в первичной структуре определяет формирование вторичной, третичной и четвертичной структур.

Вторичная структура

Формирование вторичной структуры вызвано стремлением длинного пептида (более сорока аминокислотных остатков) принять энергетически устойчивую конформацию с наибольшим количеством водородных связей между пептидными группами. Тип вторичной структуры предопределен первичной структурой.

Можно выделить два возможных варианта вторичной структуры (рис.14): α -спираль (α -структура) и β -складчатый слой (β -структура). В одной молекуле белка при наличии аминокислотных остатков более 150 в полипептидной цепи, как правило, одновременно присутствуют обе структуры, но в разном долевым соотношении. В глобулярных белках преобладает α -спираль, в некоторых фибриллярных (например, в фиброине шёлка) – β -структура.

Альфа спираль

Вторичная структура альфа спираль образуется только при участии водородных связей между пептидными группами: атом кислорода одной группы реагирует с атомом водорода второй, одновременно кислород второй пептидной группы связывается с водородом третьей и т.д (рис. 14, А, Б). Данная структура является правозакрученной спиралью, образуется при помощи водородных связей между пептидными группами 1-го и 4-го, 4-го и 7-го, 7-го и 10-го и так далее аминокислотных остатков.

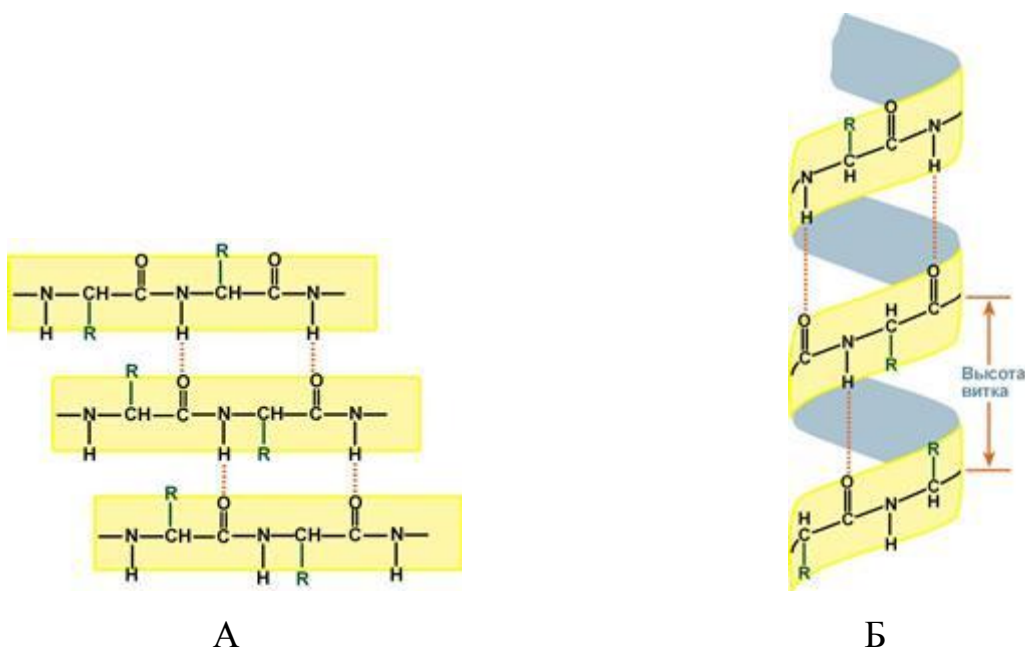


Рис. 14. А – участие водородных связей в формировании вторичной структуры α -спираль, Б – укладка белка в виде α -спирали

Формированию спирали препятствует высокое содержание аминокислотных остатков пролина и гидроксипролина, которые не способны давать обычные пептидные фрагменты внутри полипептидной цепи. Вместо альфа-спирали полипептидная цепь с высоким содержанием пролина и его производного в пространстве образует резкие изгибы (смотри вторичную структуру коллагена).

Длина витка альфа-спирали составляет 0,54 нм и соответствует 3,6 аминокислотных остатков, 5 полных витков содержат 18 аминокислотных остатков длиной 2,7 нм.

β -Складчатый слой

В этой структуре (рис.15) полипептидная цепь укладывается "змейкой", удаленные отрезки цепи оказываются близко друг от друга. В результате пептидные группы ранее удаленных аминокислот полипептидной цепи способны взаимодействовать за счёт водородных связей.

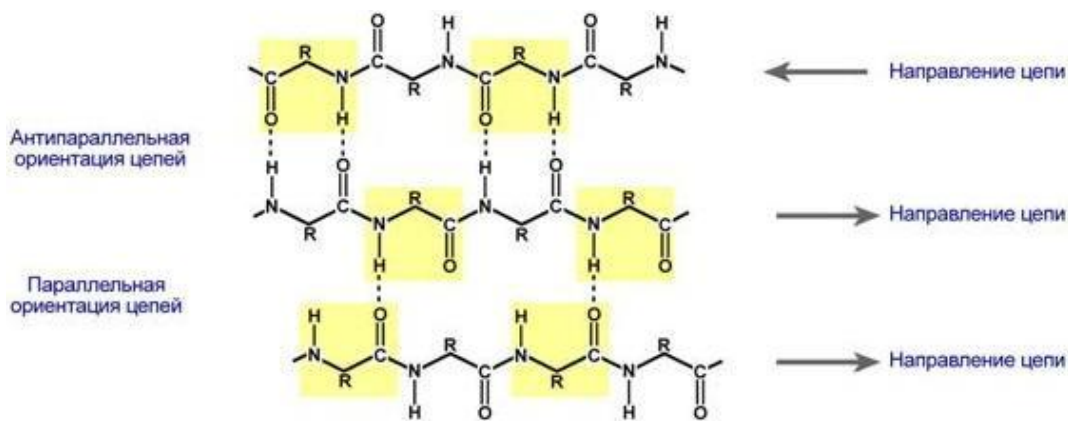


Рис. 15. Укладка полипептидной цепи в виде β -складчатого слоя

Ориентация реагирующих участков может быть **параллельна** (когда соседние фрагменты цепи идут в одном направлении образования пептидной связи) или **антипараллельна** (порядок образованных пептидных связей в соседних фрагментах противоположен) (рис.15). Таких взаимодействующих друг с другом участков в одной цепи может быть от двух до пяти.

Третичная структура

Третичная структура – это укладка полипептидной цепи в определенном объеме пространства, например в глобулу (напоминает шар). Благодаря третичной структуре происходит еще более компактное формирование цепи (рис. 16).

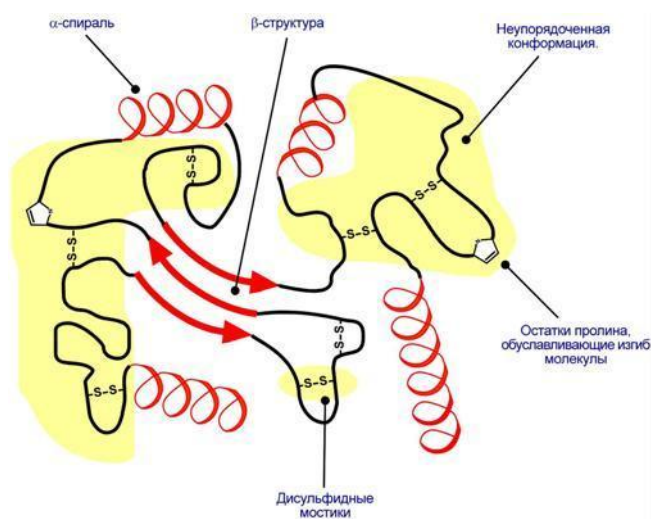


Рис. 16. Схематичное представление укладки полипептидной цепи в третичную структуру

Наряду с α -спиралью и β -структурой в третичной структуре обнаруживаются неупорядоченные фрагменты цепи, занимающие значительную часть молекулы. В разных белках наблюдается разное соотношение типов структур. Например, инсулин содержит 52% α -спирали и 6% β -структуры, трипсин – 14% α -спирали и 45% β -структуры.

Типы связей, возникающие между радикалами аминокислотных остатков и стабилизирующие третичную структуру:

- **водородные** – между HO-, COOH-, NH₂-группами радикалов аминокислот,
- **дисульфидные** – между остатками цистеина,
- **гидрофобные (Ван-дер-Ваальсовы)** – между радикалами неполярных алифатических и ароматических аминокислот,
- **электростатические взаимодействия** – между COO⁻-группами глутамата и аспартата и NH₃⁺-группами лизина и аргинина,
- **псевдопептидные** – между дополнительными COO⁻-группами глутамата и аспартата и дополнительными NH₃⁺-группами лизина и аргинина.

Четвертичная структура

При наличии в молекуле белка более чем одной полипептидной цепи, рассматривается его четвертичный уровень организации.

После формирования у каждой полипептидной цепи (*протомер*) третичной структуры (*субъединица*) происходит взаимодействие субъединиц между собой за счёт дисульфидных, ионных связей с формированием **олигомера** – это и есть **четвертичная структура**. Однако конформация олигомера может представлять из себя либо опять глобулу (смотри структуру гемоглобина, рис.17), либо фибриллу (смотри структуру коллагена).

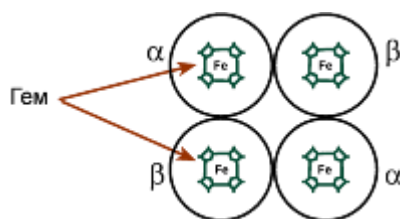


Рис.17. Гемоглобин – белок эритроцитов состоит из четырёх гемсодержащих глобулярных субъединиц – 2 α -субъединицы и 2 β -субъединицы в гемоглобине взрослых.

Лактатдегидрогеназа – фермент, катализирующий обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную кислоту, также является глобулярным белком и содержит включает 4 субъединицы – H (heart) и M (muscle) в разных сочетаниях: H_4 , H_3M_1 , H_2M_2 , H_1M_3 , M_4 ; всего пять изоферментов.

Креатинкиназа – фермент, катализирующий реакцию превращения креатинфосфата в креатин с образованием АТФ задачи её использования клеткой, состоит из 2 субъединиц – B (brain) и M (muscle) в разных сочетаниях: BB(головной мозг), MB (сердце), MM(скелетная мышца); всего 3 изофермента.

Так как субъединицы в олигомерах очень тесно взаимодействуют между собой, то любое изменение конформации какой-либо одной субъединицы **обязательно** влечет за собой изменение других субъединиц. Этот эффект называется **кооперативное взаимодействие**.

Физико-химические свойства белков

К физико-химическим свойствам глобулярных белков относят их молекулярную массу, способность к диффузии **амфотерность**, **растворимость в солевых растворах с образованием мицелл – частиц коллоидного раствора**, денатурацию.

Амфотерность. Так как белки содержат кислые и основные аминокислоты, то в их составе всегда имеются свободные кислые (COO^-) и основные (NH_3^+) группы. Заряд белка зависит от соотношения количества

кислых и основных аминокислот. Поэтому, аналогично аминокислотам, белки заряжаются положительно при уменьшении рН, и отрицательно при его увеличении. Если рН раствора соответствует изоэлектрической точке белка, то заряд белка равен 0.

Если в пептиде или белке преобладают **кислые** аминокислоты (глутамат и аспартат), то белок кислый, при нейтральных рН заряд белка **отрицательный** и изоэлектрическая точка находится в кислой среде. Для большинства природных белков изоэлектрическая точка находится в диапазоне рН 4,8-5,4, что свидетельствует о преобладании в их составе глутаминовой и аспарагиновой аминокислот.

Если в белке преобладают **основные** аминокислоты (лизин и аргинин) – то при нейтральных рН заряд белка **положительный** и обусловлен этими, положительно заряженными, аминокислотами.

Амфотерность имеет значение для выполнения белками некоторых функций. Например, буферные свойства белков, т.е. способность поддерживать постоянным значение рН крови, основаны на способности присоединять ионы H^+ при закислении среды или отдавать их при защелачивании.

Наличие у глобулярных белков в растворе определенного заряда позволяет их разделять из смеси, используя метод **электрофорез**, либо **метод высаливания**. Метод высаливания удобен при задаче эксперимента сохранить белок в нативной (живой) конформации.

Влияние рН на заряд белка. При смещении рН в растворе изменяется концентрация ионов H^+ . При закислении среды (при снижении рН) ниже изоэлектрической точки ионы H^+ присоединяются к отрицательно заряженным группам глутаминовой и аспарагиновой кислот и нейтрализуют их. Заряд белка при этом становится положительным.

При увеличении рН в растворе выше изоэлектрической точки концентрация ионов H^+ снижается и положительно заряженные группы белка

(NH_3^+ -группы лизина и аргинина) теряют протоны, их заряд исчезает. Суммарный заряд белка становится отрицательным (рис. 18).

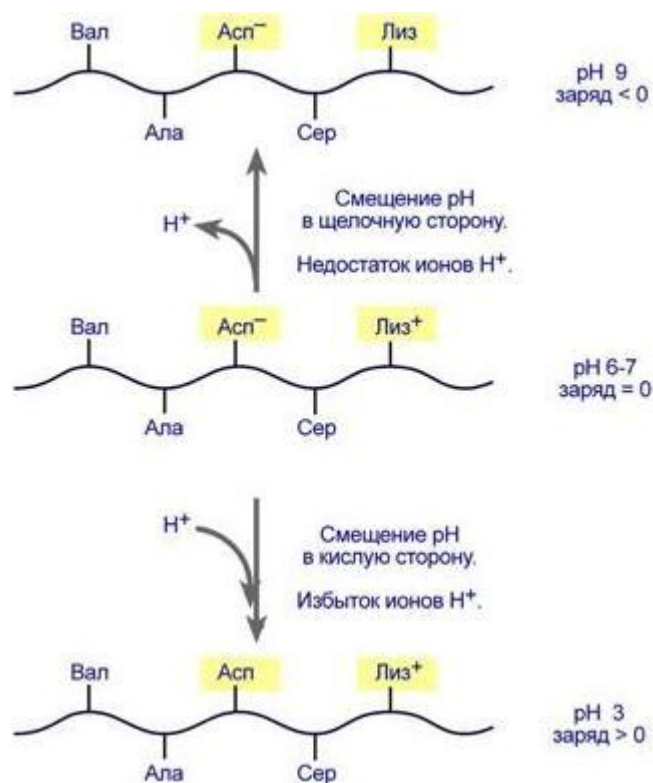


Рис. 18. Изменение заряда фрагмента полипептидной цепи при изменении рН среды.

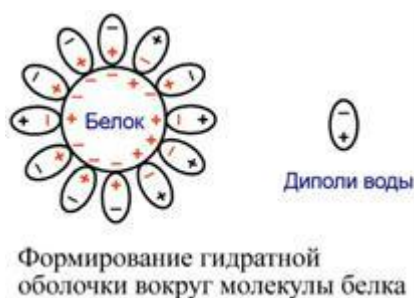


Рис. 19. Формирование гидратной оболочки

Растворимость глобулярного белка в солевых растворах обусловлена закономерностью укладки полипептидных цепей: все гидрофобные фрагменты структуры располагаются ближе к центру нативной молекулы, а заряженные (полярные) фрагменты выходят на поверхность глобулы. Последний факт подтверждает возможность у такой структуры формировать с молекулами воды **гидратную оболочку. Чем больше**

полярных и/или заряженных аминокислот в молекуле белка, тем плотнее его гидратная оболочка, тем гидрофильнее глобулярный белок (рис. 19). Например, 100 г белка альбумина связывает 30-50 г воды.

В коллоидных растворах глобулярные белки проявляют всю совокупность своих свойств и функцию.

К свойствам белковых растворов относят также:

1. **Опалесценция** (рассеивание света вследствие дифракции на коллоидных частицах). Особенно это заметно при прохождении луча света через белковый раствор, когда виден светящийся конус (эффект Тиндаля).

2. Белковые растворы в отличие от истинных обладают **малой скоростью** диффузии.

3. **Неспособность** белковых частиц проникать через мембраны, поры которых меньше диаметра белков (полунепроницаемые мембраны). Это используется в **диализе**. Очистка белковых препаратов от посторонних примесей лежит в основе работы "**искусственной почки**" при лечении острой почечной недостаточности.

4. Участие в создании **онкотического давления крови**. Для альбумина плазмы крови это функция важна в плане задержки воды в объёме крови, при снижении содержания альбумина в плазме крови онкотическое давление снижается, и вода уходит из крови в межклеточную жидкость тканей: появляются отёки у пациента.

5. **Высокая вязкость** в результате сил сцепления между крупными молекулами, что проявляется, например, при образовании гелей и студней.

Чтобы выделить белки из раствора или разделить белки по физико-химическим свойствам достаточно удалить один или оба фактора, обеспечивающих их растворимость - заряд и гидратную оболочку. Так как растворимость белков зависит только от них, то исчезновение одного или обоих этих факторов ведет к полному или частичному осаждению белка и, конечно, к потере его функций. Некоторые способы осаждения позволяют впоследствии восстановить нативные свойства и работоспособность белков.

Обратимость осаждения белков обусловлена **сохранением** первичной структуры белка. Восстановление физико-химических и биологических свойств белка называется ренативация (ренатурация). Иногда для ренативации достаточно просто удалить повреждающий агент.

Денатурация. Денатурация – необратимое осаждение белка из-за разрыва связей, стабилизирующих четвертичную, третичную, вторичную структуры белка, сопровождаемое изменением растворимости, вязкости, химической активности, снижением или полной потерей биологической функции.

1. Физическая денатурация. Вызывается повышением температуры, ультрафиолетовым и микроволновым излучением, механическими воздействиями, ионизацией заряженными частицами.

2. Химическая денатурация. Зависит от природы денатурирующего реагента:

- кислоты и щелочи способны вступать в реакцию с радикалами аминокислот, либо образовывать водородные связи с пептидными группами,
- органические растворители образуют водородные связи и вызывают дегидратацию,
- алкалоиды образуют связи с полярными группами и разрушают водородные, ионные связи,
- ионы тяжелых металлов взаимодействуют с заряженными радикалами, нейтрализуют отрицательные заряды и разрывают систему водородных и ионных связей.

На эффекте химической денатурации основаны устаревшие, но простые и наглядные клинические тесты: тимоловая проба и проба Вельтмана, используемые для диагностики заболеваний.

Высаливание – это осаждение белка из раствора путем добавления к нему растворов нейтральных солей (NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Механизм высаливания заключается во взаимодействии анионов и катионов с

заряженными группами молекулы белка, участвующие в формировании гидратной оболочки. В результате заряд исчезает, и соответственно, исчезает взаимодействие молекул. Одновременно резко уменьшается гидратная оболочка. Все это приводит к "слипанию" молекул осаждаемого белка с формированием осадка.

Например, в середине двадцатого века в диагностических целях так определяли соотношение белковых фракций альбумины/глобулины в плазме крови методом высаливания. Альбумины, как более полярные молекулы, остаются в растворенном состоянии при 50% насыщении раствора нейтральными солями, в то время как глобулины в этих условиях уже осаждаются. В норме соотношение альбумины/глобулины в плазме крови равно 1,8-2,0.

Осаждение водоотнимающими средствами. При добавлении водоотнимающих средств (ацетон, этанол) происходит **отнятие** у белка **гидратной оболочки**, но не заряда. Растворимость несколько снижается, но денатурации не наступает. Например, в этом заключается антисептическое действие этанола.

Изменение рН. Мягкое изменение рН до изоэлектрической точки белка ведет к исчезновению **заряда**, одновременному уменьшению гидратной оболочки и, как следствие, снижению растворимости молекулы. Это используется в методе разделения белков из смеси, который называется **изоэлектрическое фокусирование**.

Благодаря необъятному количеству возможных комбинаций при синтезе белка из 20 аминокислот существует множество разнообразных аминокислотных последовательностей, каждая из которых потенциально соответствует определенному белку. Все эти белки легко сгруппировать по отдельным классам, выделяя определенный признак – функцию или особенности строения.

Классификации белков

1.Классификация по функции

В соответствии с биологическими функциями выделяют:

- структурные белки (коллаген, кератин),
- ферментативные (пепсин, амилаза),
- транспортные (трансферрин, альбумин, гемоглобин),
- пищевые (белки яйца, злаков),
- сократительные и двигательные (актин, миозин, тубулин),
- защитные (иммуноглобулины, тромбин, фибриноген),
- регуляторные (соматотропный гормон, адренокортикотропный гормон, инсулин).

2.Классификация по форме трехмерной структуры белка

В зависимости от формы молекулы выделяют глобулярные и фибриллярные белки. В **глобулярных** белках соотношение продольной и поперечной осей составляет <10 и в большинстве случаев не более 3-4. Эти белки характеризуются компактной трехмерной укладкой полипептидных цепей. Например: инсулин, альбумин, глобулины плазмы крови.

Фибриллярные белки имеют соотношение осей более 10. Они состоят из пучков полипептидных цепей, спиралью навитых друг на друга и связанные между собой поперечными ковалентными и водородными связями. Выполняют защитную и структурную функции. Например: кератин, миозин, коллаген.

По количеству белковых цепей в одной молекуле выделяют **мономерные** белки, которые имеют одну субъединицу (протомер) и **полимерные** белки, имеющие несколько субъединиц. Например, к мономерным белкам относятся альбумины, миоглобин, к полимерным - гемоглобин (4 субъединицы), лактатдегидрогеназа (4 субъединицы), креатинкиназа (2 субъединицы).

Есть и более крупные белки. К ним относятся РНК-полимераза *E.coli* – 5 цепей, аспараткарбамоилтрансфераза – 12 протомеров, пируватдегидрогеназа – 72 белковых цепи.

3. Классификация по химическому составу

По химическому составу все белки подразделяют на **простые** и **сложные**. Простые белки содержат в структуре только аминокислоты (альбумины, глобулины, гистоны, протамины). Сложные белки, кроме аминокислот, имеют небелковые компоненты:

- нуклеопротейны,
- фосфопротейны,
- металлопротейны,
- липопротейны,
- хромопротейны,
- гликопротейны.

ПОДКЛАССЫ ПРОСТЫХ БЕЛКОВ

Структура простых белков представлена **только полипептидной цепью** (альбумин, инсулин). Однако необходимо понимать, что многие простые белки (например, альбумин) не существуют в "чистом" виде, они всегда связаны с какими-либо небелковыми веществами. Их относят к простым белкам только по той причине, что связи с небелковой группой **слабые**.

Альбумины

Альбумины – это группа схожих белков плазмы крови с молекулярной массой около 40 кДа, содержат много глутаминовой кислоты и поэтому имеют **кислые** свойства и **высокий отрицательный заряд** при физиологических рН. Легко адсорбируют полярные и неполярные молекулы, являются, белком-транспортёром в крови для многих веществ, в первую очередь для билирубина и длинноцепочечных жирных кислот.

Глобулины

Группа разнообразных белков плазмы крови с молекулярной массой до 100 кДа, **слабокислые** или **нейтральные**. Они слабо гидратированы, по сравнению с альбуминами меньше устойчивы в растворе и легче осаждаются, что используется в клинической диагностике в "осадочных" пробах (тимоловая, Вельтмана). Часто содержат углеводные компоненты.

При электрофорезе глобулины сыворотки крови разделяются, как минимум, на 4 фракции – α_1 -глобулины, α_2 -глобулины, β -глобулины и γ -глобулины (рис. 19).

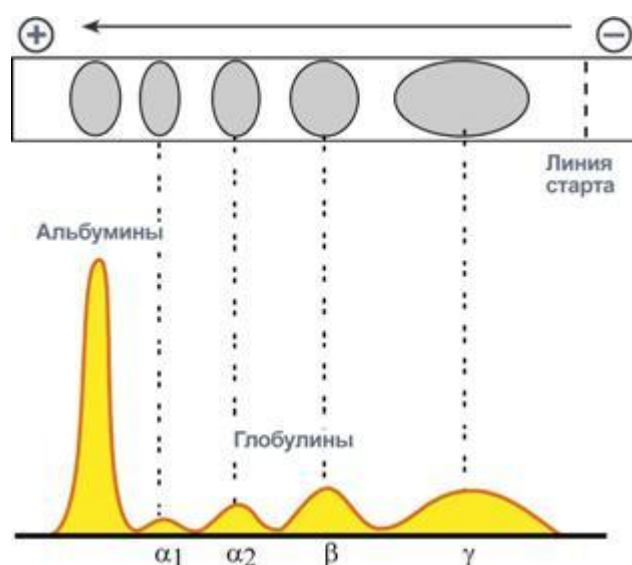


Рис. 20. Электрофореграмма белков сыворотки крови

Так как глобулины включают в себя разнообразные белки, то их функции разнообразны:

Часть α -глобулинов обладает антипротеазной активностью, что защищает белки крови от преждевременного разрушения, например, α_1 -антитрипсин, α_1 -антихимотрипсин, α_2 -макроглобулин.

Некоторые глобулины способны к связыванию определенных веществ: трансферрин (переносит ионы железа), церулоплазмин (содержит ионы меди), гаптоглобин (переносчик гемоглобина), гемопексин (транспорт гема). γ -Глобулины являются антителами и обеспечивают иммунную защиту организма.

Гистоны

Гистоны – внутриядерные белки массой около 24 кДа. Обладают выраженными основными свойствами, поэтому при физиологических значениях pH заряжены положительно и связываются с дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), образуя дезоксирибонуклеопротеины. Существуют 5 типов гистонов – очень богатый лизином (29%) гистон H1, другие гистоны H2a, H2b, H3, H4 богаты лизином и аргинином (в сумме до 25%).

Радикалы аминокислот в составе гистонов могут быть метилированы, ацетилированы или фосфорилированы. Это изменяет суммарный заряд и другие свойства белков.

Можно выделить две функции гистонов:

1. Регуляция активности генома, а именно – они препятствуют транскрипции.
2. Структурная – стабилизируют пространственную структуру ДНК.

Гистоны в комплексе с ДНК образуют нуклеосомы – октаэдрические структуры, составленные из гистонов H2a, H2b, H3, H4. Между нуклеосомами располагается гистон H1, также связанный с молекулой ДНК. ДНК обвивает нуклеосому 2,5 раза и переходит к гистону H1, после чего обвивает следующую нуклеосому. Благодаря такой укладке достигается уменьшение размеров ДНК в 7 раз.

Далее такие "бусы" нуклеосом могут складываться в суперспираль и более сложные структуры.

Благодаря гистонам в конечном итоге размеры ДНК уменьшаются в тысячи раз: на самом деле длина ДНК достигает 6-9 см (10^{-1}), а размеры хромосом – всего несколько микрометров (10^{-6}).

Протамины

Это белки массой от 4 кДа до 12 кДа, имеются в ядрах сперматозоидов многих организмов, в сперме рыб они составляют основную массу белка. Протамины являются заменителями гистонов и служат для организации

хроматина в спермиях. По сравнению с гистонами протамины отличаются резко увеличенным содержанием аргинина (до 80%). Также, в отличие от гистонов, протамины обладают только структурной функцией, регулирующей функции у них нет, хроматин в сперматозоидах неактивен.

Коллаген

Фибриллярный белок с уникальной структурой (рис. 20). Составляет основу межклеточного вещества соединительной ткани сухожилий, кости, хряща, кожи, но имеется, конечно, и в других тканях.

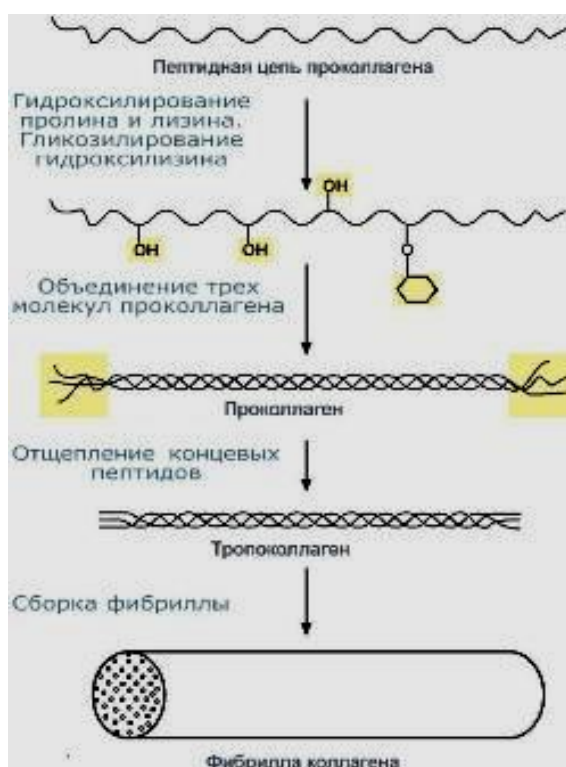


Рис. 21. Формирование структуры проколлагена, тропоколлагена и фибриллы коллагена

Обычно содержит **моносахаридные** (галактоза) и **дисахаридные** (галактоза-глюкоза) остатки, соединенные с ОН-группами некоторых остатков гидроксилизина.

Полипептидная цепь коллагена включает 1000 аминокислот и состоит из повторяющегося триплета [Гли-А-В], где А и В – любые, кроме **глицина**, аминокислоты. В основном это **аланин**, его доля составляет 11%, доля **пролина** и **гидроксипролина** – 21%. Таким образом, на другие

аминокислоты приходится всего 33%. Структура пролина и гидроксипролина не позволяет образовать α -спиральную структуру, из-за этого образуется левозакрученная спираль, где на один виток приходится 3 аминокислотных остатка.

При синтезе коллагена **первостепенное** значение имеет гидроксилирование лизина и пролина, включенных в состав первичной цепи, осуществляемое при участии аскорбиновой кислоты.

Синтезированная молекула **коллагена** построена из 3 полипептидных цепей, сплетенных между собой в плотный жгут – **тропоколлаген** (длина 300 нм, диаметр 1,6 нм). Полипептидные цепи прочно связаны между собой через ϵ -аминогруппы остатков лизина. Тропоколлаген формирует крупные коллагеновые **фибриллы** диаметром 10-300 нм. Поперечная исчерченность фибриллы обусловлена смещением молекул тропоколлагена друг относительно друга на 1/4 их длины.

В коже фибриллы образуют нерегулярно сплетенную и очень густую сеть. Например, выделанная кожа представляет собой почти чистый коллаген.

Фибриллы коллагена очень прочны, они прочнее стальной проволоки равного сечения.

Время полужизни коллагена исчисляется неделями и месяцами. Ключевую роль в его обмене играет **коллагеназа**, расщепляющая тропоколлаген на 1/4 расстояния с С-конца между глицином и лейцином.

По мере старения организма в тропоколлагене образуется все большее число поперечных связей, что делает фибриллы коллагена в соединительной ткани более жесткими и хрупкими. Это ведет к повышенной ломкости кости и снижению прозрачности роговицы глаза в старческом возрасте.

В результате распада коллагена образуется **гидроксипролин**. При поражении соединительной ткани (болезнь Пейджета, гиперпаратиреозидизм) экскреция гидроксипролина возрастает и имеет диагностическое значение.

Эластин

По строению в общих чертах эластин схож с коллагеном. Находится в связках, эластичном слое сосудов. Структурной единицей является **тропоэластин** с молекулярной массой 72 кДа и длиной 800 аминокислотных остатков. В нем гораздо больше лизина, валина, аланина и меньше гидроксипролина. Отсутствие пролина обуславливает наличие спиральных эластичных участков.

Характерной особенностью эластина является наличие своеобразной структуры – десмозина, который своими 4-мя группами объединяет белковые цепи в системы, способные растягиваться во всех направлениях.

α -Аминогруппы и α -карбоксильные группы десмозина включаются в образование пептидных связей одного или нескольких белков (рис. 21).



Рис. 22. Роль десмозина в формировании структуры эластина.

Глава 3. СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

У сложных белков, кроме белковой цепи, имеется дополнительная небелковая группа - **лиганд** (лат. *ligo* - связываю), то есть молекула, связанная с белком. В случае если лиганд несет структурную и/или функциональную нагрузку, он называется **протетической группой**.

В роли лиганда могут выступать любые молекулы:

- молекулы, выполняющие в белке **структурную функцию** – липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты, минеральные элементы, какие-либо другие органические соединения: гем в гемоглобине, углеводы в гликопротеинах, ДНК и РНК в нуклеопротеинах, медь в церулоплазмине,
- **переносимые** белками молекулы: железо в трансферрине, гемоглобин в гаптоглобине, гем в гемопексине,
- **субстраты** для ферментов – любые молекулы и даже другие белки.

Узнавание лиганда обеспечивается:

- **комплементарностью** структуры центра связывания белка структуре лиганда, иначе говоря, пространственным и химическим соответствием белка и лиганда. Они подходят друг к другу как ключ к замку, например, соответствие фермента и субстрата,
- иногда узнавание может зависеть от **реакционной способности** атома, к которому присоединяется лиганд. Например, связывание кислорода железом гемоглобина, или жирной кислоты с альбумином.

Функции лиганда в составе сложного белка разнообразны:

- **изменяет свойства** белков (заряд, растворимость, термолабильность), например, фосфорная кислота в фосфопротеинах или остатки моносахаридов в гликопротеинах,
- **защищает белок** от протеолиза вне и внутри клетки, например углеводная часть в гликопротеинах,

- в виде лиганда обеспечивается **транспорт** нерастворимых в воде соединений, например, перенос жиров липопротеинами,
- придает **биологическую активность** и определяет функцию белка, например, нуклеиновая кислота в нуклеопротеинах, гем в гемоглобине, углевод в рецепторных белках,
- влияет на **проникновение через мембраны**, внутриклеточную миграцию, сортировку и секрецию белков. Это выполняет, как правило, углеводный остаток.

СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Важным компонентом живых организмов, содержащимся в них в значительных количествах, являются сложные белки. К ним относятся такие представители белков, в состав которых помимо аминокислот, связанных друг с другом в полипептидную цепь (полипептидные цепи), входит еще и небелковый компонент.

Молекула сложного белка обозначается особым термином – “холопротеин”. Холопротеин состоит из апопротеина (полипептида) и небелкового компонента – простетической группы:

холопротеин = апопротеин + простетическая группа

Небелковый компонент (простетическая группа) может по-разному связываться с белковым компонентом. В одних случаях он прочно присоединяется к полипептидной цепи при помощи ковалентных связей (гемоглобин, родопсин, флавопротеины и др.). В других случаях небелковый компонент соединяется с белком с помощью сил слабых взаимодействий, как например в нуклеопротеинах и липопротеинах крови. Подобные представители сложных белков обладают свойством легко диссоциировать в растворах на их составные компоненты.

В качестве простетической группы в состав сложных белков могут входить молекулы, относящиеся к разным классам органических веществ

(углеводы, липиды и др.). Реже небелковые компоненты сложных белков представлены неорганическими молекулами (остатками фосфорной кислоты) и даже атомами металлов (железа, меди, молибдена и др.).

Включение в состав молекулы белка небелкового компонента придает ей особые свойства, не присущие свободной полипептидной цепи. Так присоединение липида, вызывает появление гидрофобной области в молекуле белка, за счет чего она приобретает способность встраиваться в гидрофобный слой клеточной мембраны; присоединение гема – придает молекуле способность связывать кислород или переносить электроны; связывание с полипептидной цепью олигосахарида – способствует увеличению продолжительности существования белка в цитоплазме клетки, в виду того, что в таком виде тормозится ее гидролиз протеолитическими ферментами.

Значение простетических групп для сложных белков очень велико и многообразно. Это обусловлено тем, что их связывание с полипептидной цепью вызывает изменение ее конформации. В результате этого:

- меняется структура активных участков белковой молекулы (активных центров ферментов, участков связывания рецепторных белков и белковых гормонов). В результате того модулируются каталитические свойства ферментов, изменяется сродство рецепторов к их лигандам и лигандов к рецепторам;

- изменяется устойчивость белка к гидролизу протеолитическими ферментами и к действию факторов денатурации;

- формируются условия для обратимого связывания лигандов, а значит для их транспорта в организме и в клетке;

- возникает возможность для встраивания белков в определенные внутриклеточные мембраны и обеспечения, тем самым, компартментализации обменных процессов внутри клетки и др.

Природа простетической группы, входящей в состав сложного белка, приобретает решающее значение в определении его свойств, выполняемой

функции и локализации в клетке. С ней связано и все многообразие мира сложных белков. Именно строение небелкового компонента используется в качестве классификационного признака при объединении сложных белков в однородные группы.

Согласно принятой в настоящее время классификации все сложные белки, в зависимости от химической структуры их небелкового компонента, подразделяются на:

- гликопротеины, включающие в свой состав углеводы;
- липопротеины, включающие в свой состав липиды;
- нуклеопротеины, включающие в свой состав нуклеиновые кислоты;
- фосфопротеины, включающие в свой состав остатки орто-фосфорной кислоты;
- металлопротеины, включающие в свой состав атомы металлов;
- гемопроотеины, включающие в свой состав различные виды гема.

Помимо этого выделяются и другие группы сложных белков. К их числу относятся хромопротеины (окрашенные белки), флавопротеины (сложные белки, содержащие в своем составе флавиновую группу) и др.

Следует заметить, что представленная выше классификация очень условна. Это связано с тем, что в зависимости от используемого признака одни и те же белки могут быть отнесены к разным группам. Так, например, гемопроотеины, с одной стороны, относятся к хромопротеинам, в виду того, что их растворы имеют характерную красную окраску. С другой стороны, они относятся к металлопротеинам, так как содержат в своем составе атом железа. Фосфопротеины обычно существуют в форме кальциевых солей, в связи с чем также могут быть отнесены к металлопротеинам.

Рассмотрим особенности строения, характерные свойства и биологическую роль отдельных представителей различных групп сложных белков.

1. Гликопротеины

К гликопротеинам относятся сложные белки, содержащие в своей структуре прочно связанные остатки углеводов. Они представляют собой одну из наиболее распространенных в живых организмах групп сложных белков. К гликопротеинам относится большая часть секретируемых белков, многие мембраносвязанные белки, а также некоторые растворимые внутриклеточные белки, находящиеся в цитоплазме, матриксе митохондрий, нуклеоплазме и др. Отдельные факторы транскрипции, факторы роста (эритропоэтин) и гормоны (тиреотропный гормон, фолликулостимулирующий гормон) проявляют функциональные свойства только в форме гликопротеинов. Большая часть белков крови представляет собой гликопротеины и среди них иммуноглобулины, отдельные факторы свертывания крови и др.

Углеводный компонент гликопротеинов может быть представлен отдельными моносахаридными или олигосахаридными остатками. В свою очередь, последние могут иметь линейную или разветвленную структуру (рис. 1). В молекуле гликопротеина часто содержится не один, а сразу несколько олигосахаридных остатков.

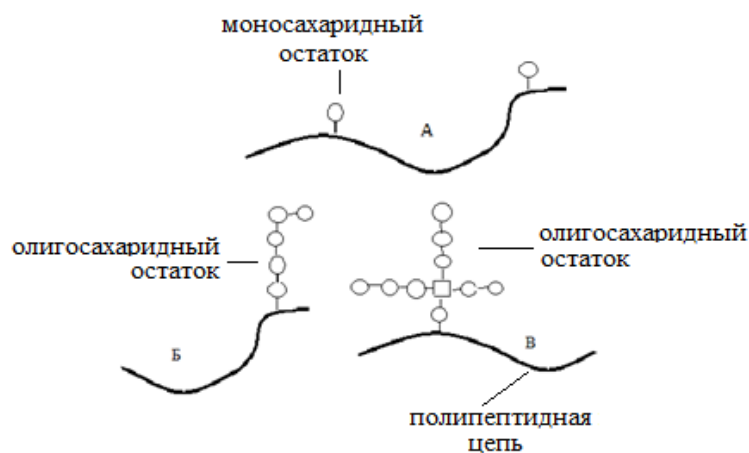


Рис. 23. Разновидности встречающихся в гликопротеинах углеводных компонентов (А – отдельные моносахаридные остатки; Б – линейный олигосахарид; В – ветвистый олигосахарид).

Содержание углеводного компонента в молекуле белка может значительно варьировать. В отдельных представителях гликопротеинов оно не превышает 1%, тогда как в других может достигать 70% и более от общей массы молекулы белка.

На рисунке 2 схематически представлена структура молекулы фермента поджелудочной железы – эластазы, которая содержит в своем составе две олигосахаридные цепи.

В состав углеводного компонента гликопротеинов чаще всего входят моносахаридные остатки глюкозы, галактозы, маннозы, фукозы, N-ацетилгалактозамина, N-ацетилглюкозамина, а также производные нейраминной кислоты.

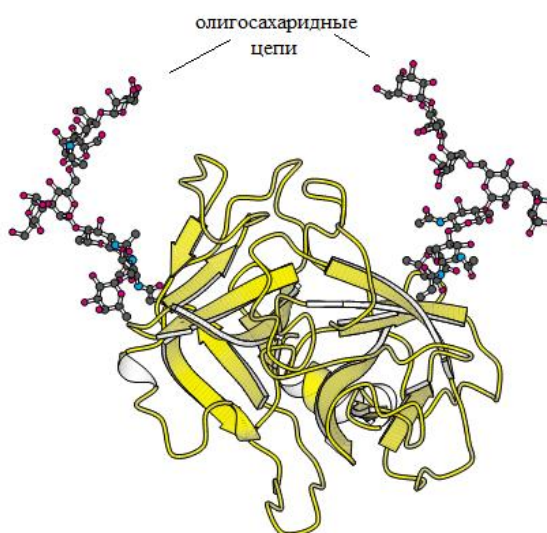


Рис. 24. Модель молекулы эластазы (L. Stryer, 2006)

Существует два основных типа связи между углеводным и белковым компонентом в гликопротеинах. К первому из них относится O-гликозидная, а ко второму – N-гликозидная связь соответственно. Предпочтительный тип связи углеводного компонента – N-гликозидная связь. Она возникает между гидроксильным радикалом моносахаридного остатка и аминокислотным радикалом аспарагина (рис. 25):

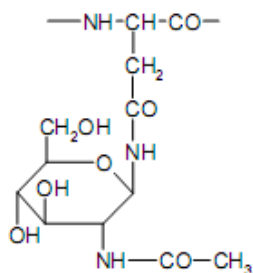


Рис. 25. N-гликозидная связь между N-ацетилглюкозамином и остатком аспарагина, включенным в полипептидную цепь белка.

В формировании O-гликозидной связи между углеводом и белком, как правило, принимают участие включенные в полипептидную цепь остатки серина (рис. 26). Однако присоединение углеводного компонента при помощи этого типа связи может происходить также и по остатку треонина, а в некоторых белках и по остатку нестандартной аминокислоты гидроксипролина.

Включение углеводного компонента в состав белка предопределяет изменение конформации его полипептидной цепи, за счет чего он приобретает новые свойства. С одной стороны, белок становится более устойчивым к гидролитическому действию протеолитических ферментов, а с другой – приобретает возможность специфического взаимодействия с другими белками и разного рода сигнальными молекулами. Последнее определяется информацией, заложенной в структуре олигосахаридных цепей.

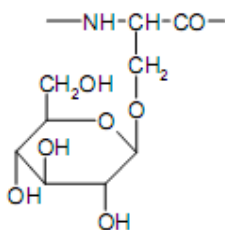


Рис. 26. O-гликозидная связь между глюкозой и остатком серина, включенным в полипептидную цепь белка.

В виду того, что гликопротеины обладают способностью специфически связывать сигнальные молекулы, они играют важную роль в процессе обмена информацией между клеткой и внешней средой. В этой связи они входят в состав рецепторов, располагающихся на наружной поверхности клеточной мембраны (плазмалеммы). Кроме того, гликопротеины образуют особое ветвистое образование на клеточной мембране – гликокаликс, который играет важную роль в обеспечении межклеточных взаимодействий, адгезии клеток и транспорте в клетку катионов.

Одним из наиболее хорошо изученных мембранных гликопротеинов является гликофорин А (рис. 27), который в значительных количествах содержится в мембране эритроцитов.

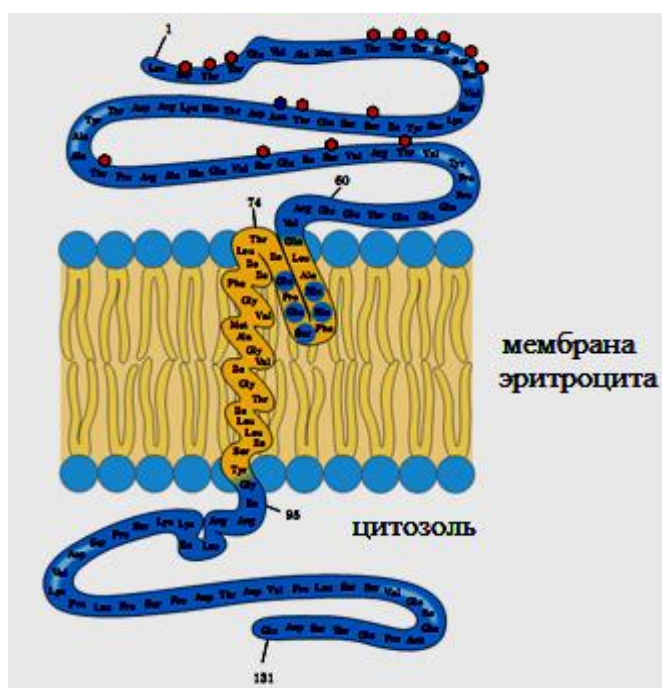


Рис. 27. Схема строения гликофорина А и его расположение в мембране эритроцитов. Гидрофильная часть полипептидной цепи, содержащая все моносахаридные остатки, находится снаружи мембраны, Аминокислоты с гидрофобными радикалами пронизывают толщу мембраны (D. L. Nelson, M. M. Сох, 2004).

Около 60 % массы гликофорина А составляет углеводный компонент. В структуре этого белка содержится 16 олигосахаридных цепей, включающих в состав в общей сложности около 70 моносахаридных остатков. 15 из 16 олигосахаридных цепей соединяются с единственной полипептидной цепью апобелка при помощи О-гликозидной связи и только 1 – при помощи N- гликозидной связи.

В состав олигосахаридных цепей гликофорина А входит большое количество сиаловой кислоты, которая при рН крови приобретает отрицательный заряд. В результате того отрицательный заряд приобретает и вся гидрофильная часть полипептидной цепи, расположенная над поверхностью эритроцита. Многочисленные молекулы гликофорина А придают мембране эритроцита значительный отрицательный заряд, который позволяет ему циркулировать в крови без адгезии к другим клеткам крови, а также к клеткам стенки кровеносных сосудов.

Помимо гликопротеинов, к сложным белкам, содержащим в своем составе углеводный компонент, относятся еще и протеогликаны. Следует заметить, что эти белки существенно отличаются друг от друга по строению, функции и локализации в организме животных.

На долю углеводного компонента в протеогликах может приходиться до 95 % от общей массы молекулы. В отличие от гликопротеинов, простетическая группа которых представлена олигосахаридами, в состав протеогликанов входят гликозаминогликаны (кислые мукополисахариды). Они представляют собой ветвистые гетерополисахариды.

Молекула гликозаминогликанов образована повторяющимися дисахаридными остатками, в состав которых обычно входят производные аминокетоз (*D*-глюкозамин или *D*-галактозамин) и уроновые кислоты (глюкуроновая кислота, галактуроновая кислота и др.). Присутствие большого количества уроновых кислот в гликозаминогликанах придает им кислые свойства и обуславливает наличие выраженного отрицательного заряда на. К наиболее распространенным гликозаминогликанам, входящим в

состав протеогликанов, относятся гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты, кератансульфаты и др.

Присоединение гликозаминогликанов к полипептидным цепям обеспечивается за счет прочных ковалентных N- и O-гликозидных связей. При этом O-гликозидная связь возникает между остатками ксилуозы, а также N-ацетилгалактозамина и серином полипептидных цепей. N-гликозидная связь в протеогликанах формируется между остатками N-ацетилглюкозамина и амидной группой аспарагина. В соединении гликозаминогликана с белком, как правило, участвует специфический трисахаридный компонент, который включает в свой состав два остатка галактозы и один остаток ксилуозы. Схематически его можно представить как:

ГАГ-Гал-Гал-Ксил-О-CH₂-Серин (рис. 28):

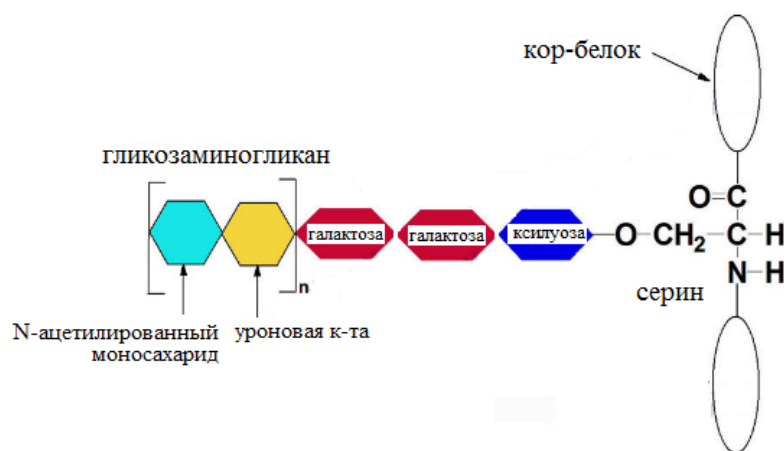


Рис. 28. Присоединение гликозаминогликана через трисахаридный остаток к серину, включенному в состав полипептидной цепи (M. W. King, 2011)

Молекула протеогликана имеет сложную ветвистую структуру (Рис. 29). В состав протеогликана может входить до 150 цепей гликозаминогликанов, с которыми, в свою очередь, связаны полипептидные цепи. В виду присутствия в молекуле протеогликанов большого количества гликозаминогликанов, они сильно гидратированы.

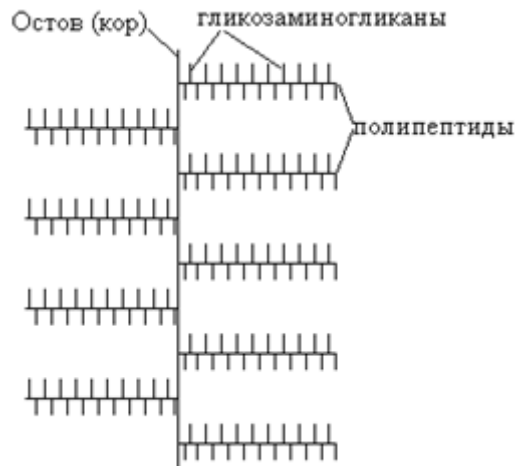


Рис. 29. Строение протеогликана (остов молекулы – кор, обычно представлен гиалуроновой кислотой).

Протеогликаны имеют животное происхождение. Большая их часть располагается в матриксе межклеточного вещества. Небольшое их количество может быть связано с наружной поверхностью клеточных мембран. Связанные с клеточными мембранами протеогликаны играют важную роль в адгезии клеток, их взаимодействии друг с другом, а также в передаче информации клетке извне. К настоящему времени установлено, что отдельные протеогликаны выступают в роли рецепторов, а также принимают участие в переносе макромолекул (антитромбина) и даже надмолекулярных частиц (липопротеинов плазмы крови).

2. Липопротеины

К липопротеинам относятся сложные белки, которые в качестве небелкового компонента включают в свой состав различные липиды (высшие жирные кислоты, фосфолипиды, производные изопрена и пр.). Присутствие в молекуле сложного белка гидрофобного (липидного) компонента, обеспечивает возможность его встраивания в липидный бислой клеточных

мембран. Поэтому липопротеины часто обнаруживаются в клеточных мембранах.

В состав липопротеинов часто входят остатки пальмитиновой или миристиновой кислот. В некоторых случаях обе жирные кислоты одновременно включаются в состав одного белка. К подобным липопротеинам относится фермент индуцибельная NO-синтаза.

Остаток миристиновой кислоты обычно присоединяется к свободной аминогруппе N-концевой аминокислоты полипептидной цепи белка (рис. 30). В отличие от миристиновой, пальмитиновая кислота присоединяется к полипептидной цепи путем образования тиоэфирной связи с включенным в нее остатком цистеина. Остаток пальмитиновой кислоты входит в состав белка рецептора трансферина.

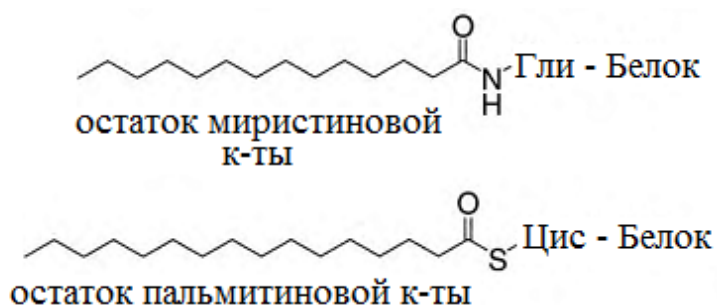


Рис. 30. Присоединение остатка миристиновой и пальмитиновой кислоты к полипептидной цепи липопротеина.

Часто в структуре липопротеинов выявляются производные изопрена, к числу которых относится линейный терпен фарнезил (рис. 31). Они встраиваются в состав молекулы липопротеина за счет образования тиоэфирной связи с остатком цистеина, расположенного в полипептидной цепи около ее С-конца.

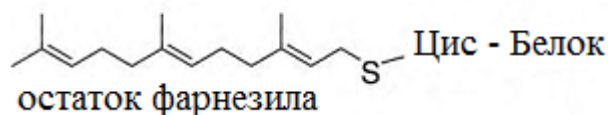


Рис. 31. Соединение остатка фарнезила с полипептидной цепью липопротейна.

В состав некоторых липопротейнов входит остаток фосфолипида – фосфатидилинозитола. Он соединяется с полипептидной цепью белка в области ее С-конца, связываясь последовательно с тремя остатками маннозы, N-ацетилглюкозамином и фосфоэтанололамином (рис. 32). Подобная гликолипидная структура образует своеобразный якорь липопротейна, который жестко укрепляет его в липидном бислое клеточной мембраны, в таком положении, что белок оказывается на ее наружной (экстраклеточной) поверхности. К подобным липопротейнам относятся ферменты щелочная фосфатаза и 5'-нуклеотидаза.

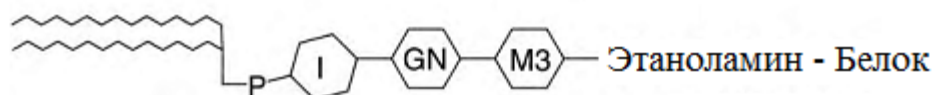


Рис. 32. Схема строения молекулы липопротейна, содержащего в составе остаток фосфатидилэтанололамина (GN - N-ацетилглюкозамин, M3 - три последовательно соединенных остатка маннозы, I - остаток инозитола).

Как уже отмечалось ранее, в большинстве своем липопротейны представляют собой мембраносвязанные белки. Липидный компонент позволяет им жестко встраиваться в гидрофобный слой мембраны и поэтому выполнять характерную для них функцию в непосредственной близости от нее (рис. 33). Связывание белка с мембраной увеличивает его локальную концентрацию в клетке и повышает эффективность взаимодействия с другими мембранными белками и субстратами.

К настоящему времени активно создаются лекарственные препараты, способные модифицировать липопротеины и тем самым подавлять возможность их присоединения к клеточным мембранам. К их числу относятся 2-гидрокси миристиновая и 2-бром пальмитиновая кислота. При их введении в организм происходит глубокое изменение обмена веществ в клетках, в виду чего представляется перспективным их использование для лечения онкологических заболеваний.

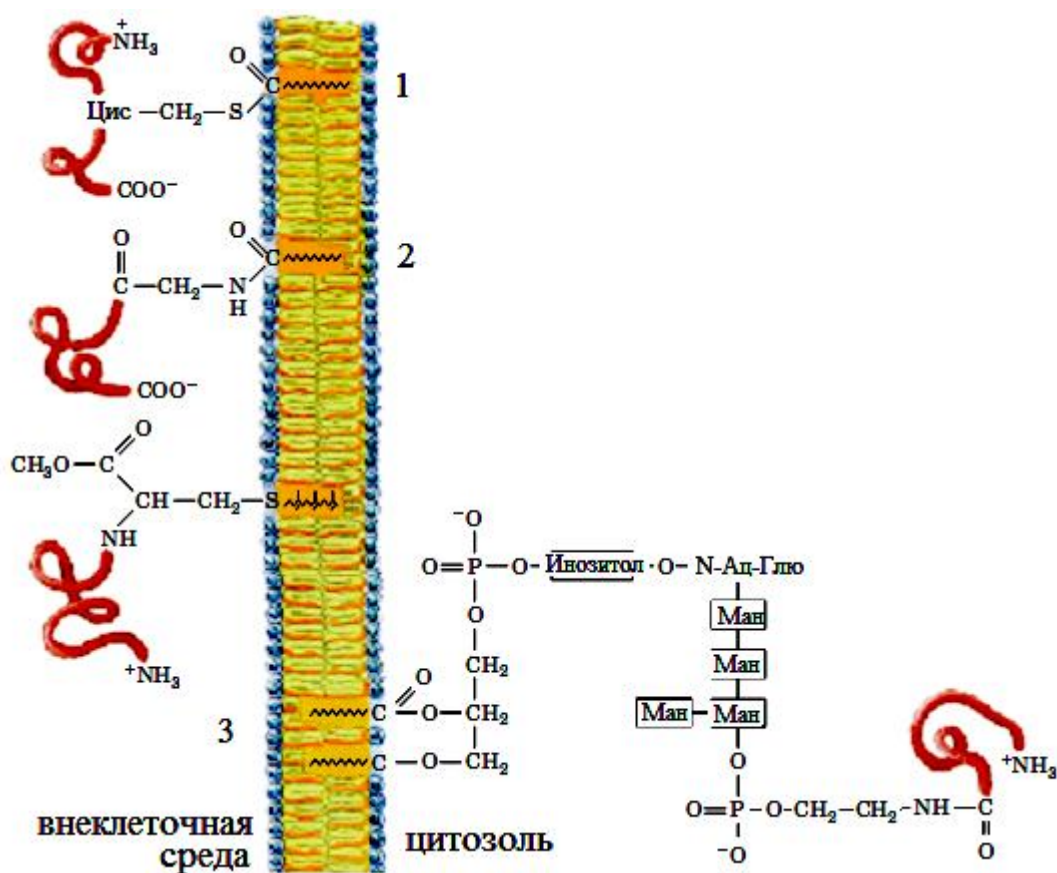


Рис. 33. Топография различных типов липопротеинов в клеточной мембране (липопротеины, содержащие в структуре: 1 – миристиновую к-ту; 2 – пальмитиновую к-ту; 3 – фосфатидилинозитол) по (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2004).

С определенной степенью корректности к липопротеинам относят липопротеины плазмы крови. Липопротеины крови представляют собой надмолекулярные сферические частицы, состоящие из белков и липидов.

Между компонентами липопротеинов крови отсутствуют прочные ковалентные связи. Взаимосвязь между белками и липидами в них обеспечивается за счет сил слабых взаимодействий – преимущественно гидрофобных, водородных и Ван-дер-ваальсовых связей.

Значение липопротеинов крови определяется тем, что они обеспечивают транспорт гидрофобных молекул (липидов) в организме животных и человека. Как известно, липиды неспособны растворяться в полярных растворителях и, в том числе, в плазме крови. Поэтому их перенос в крови возможен только в составе переносчиков – липопротеинов.

Липопротеиновая частица имеет мицеллярную структуру. Она состоит из гидрофильной оболочки и гидрофобного ядра (рис. 34).

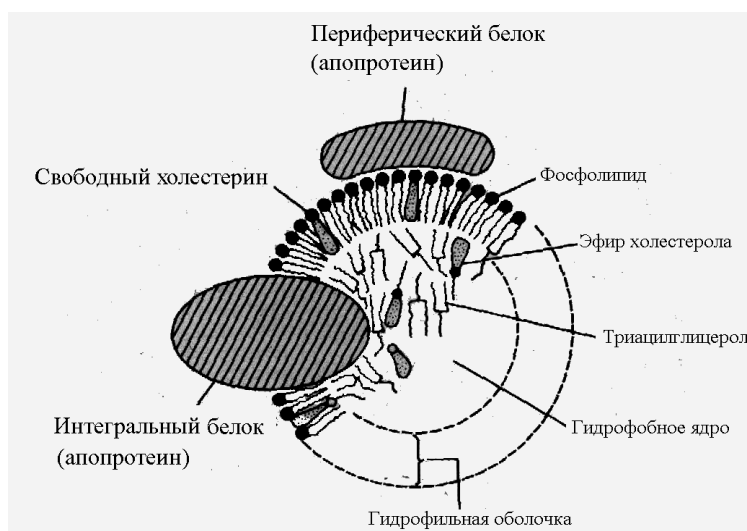


Рис. 34. Строение липопротеина плазмы крови

В состав гидрофильной оболочки входят белковые молекулы (апопротеины), а также полярные группы отдельных липидов – фосфолипидов и холестерина. Гидрофильная оболочка липопротеиновой частицы находится в контакте с водой. Гидрофобное ядро образовано неполярными липидными молекулами – триглицеролами, эфирами холестерина, а также неполярными функциональными группами фосфолипидов и холестерина. В отличие от гидрофильной оболочки,

гидрофобное ядро полностью изолировано от контакта с полярными молекулами воды.

Характерная структура липопротеинов крови, обеспечивает защиту включенных в их состав гидрофобных молекул или их отдельных компонентов от контакта с полярными молекулами воды. За счет этого формируется устойчивая в воде частица, имеющая форму мицеллы. В ее составе гидрофобные липидные молекулы транспортируются в крови.

Липопротеиновые частицы отличаются друг от друга по соотношению входящих в их состав липидов и белков. По этой причине они различаются по плотности и величине электрического заряда.

По плотности липопротеины крови разделяются на следующие основные классы:

- хиломикроны;
- липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП);
- липопротеины низкой плотности (ЛПНП);
- липопротеины высокой плотности (ЛПВП).

Ниже в таблице представлены сведения о плотности, а также липидном и белковом составе основных классов липопротеинов крови:

Класс липопротеинов	Плотность (г/см ³)	Содержание белка (%)	Содержание липидов (%)			
			ХЛ	ЭХЛ	ФЛ	ТАГ
ЛПВП	1.06 – 1.21	50	3 – 4	12	20 – 25	3
ЛПНП	1.02 – 1.06	20 – 25	7 – 10	35 – 40	15 – 20	7 – 10
ЛПОНП	0.95 – 1.01	10 – 12	5 – 10	10 – 12	15 – 20	50 – 65
Хиломикроны	<0.95	0.5 – 2.5	1 – 3	3 – 5	7 – 9	84 – 89

Примечание: ХЛ – свободный холестерол, ЭХЛ – связанный холестерол, ФЛ – фосфолипиды, ТАГ – триацилглицеролы.

Разные классы липопротеинов крови обеспечивают транспорт различных липидов в организме человека и животных.

Изменение липопротеинового состава крови сопровождается развитием целого ряда сердечнососудистых заболеваний (ишемической болезни сердца, атеросклероза и др.). Поэтому его изучение играет важную роль в диагностике этих заболеваний.

3. Нуклеопротеины

К нуклеопротеинам относятся сложные белки, в структуру которых в качестве небелкового компонента входят нуклеиновые кислоты. В зависимости от типа входящей в состав нуклеиновой кислоты все они подразделяются на:

- рибонуклеопротеины и
- дезоксирибонуклеопротеины.

Нуклеопротеины широко распространены в клетке. Преимущественно они локализуются в клеточном ядре, цитоплазме и митохондриях.

Соединение между нуклеиновой кислотой и белком происходит с помощью нековалентных связей. Оно обеспечивается электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженными молекулами нуклеиновых кислот и положительно заряженными молекулами белков.

Отрицательный заряд нуклеиновой кислоты обусловлен входящими в ее состав многочисленными остатками фосфорной кислоты, формирующими ковалентный остов молекулы.

В качестве апопротеина нуклеопротеинов выступают основные белки. Их характерной особенностью является присутствие в полипептидных цепях большого количества диаминомонокислот, к числу которых относятся аргинин и лизин. На долю этих аминокислот может приходиться до 25% от массы белка.

Особое значение среди основных белков, входящих в состав дезоксиноклеопротеинов, имеют гистоны. В клетках встречается 5 классов этих белков. Их представители отличаются друг от друга по содержанию аминокислотных остатков аргинина и лизина. При физиологических значениях pH внутриклеточной среды радикалы лизина и аргинина акцептируют протон и, за счет этого, приобретают положительный заряд. В результате, значительный положительный заряд приобретает в целом вся молекула гистона.

В неделящихся интерфазных клетках дезоксирибонуклеопротеины образуют особую ядерную субстанцию – хроматин. Хроматин включает в свой состав около 60% белка, 35% ДНК и 5% РНК. Он представлен хроматиновыми волокнами, которые образуют особые структуры – нуклеосомы (рис.35). Нуклеосомы имеют форму бус. При их образовании нуклеиновая кислота обматывает комплексы из 8 различных гистонов. В состав нуклеосомы входит по 2 молекулы гистонов H2A, H2B, H3 и H4. На

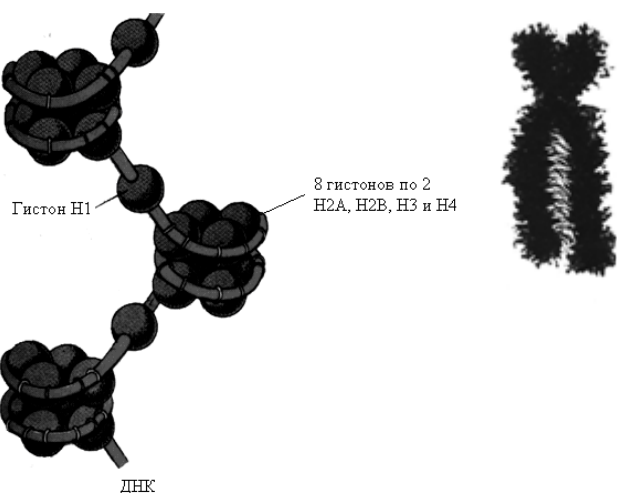


Рис. 35. Строение нуклеосомы и хромосомы (А. Lehninger, 1985).

эти белки дважды плотно намотана двойная спираль ДНК, длиной около 200 нуклеотидных пар. Между нуклеосомами располагается спейсерный участок

ДНК, длиной до 120 нуклеотидных пар, связанный с гистоном H1. Образование нуклеосом позволяет плотно упаковать чрезвычайно длинную молекулу ДНК внутри ядра клетки.

В делящихся клеточных ядрах дезоксирибонуклеопротеины образуют особые структуры – хромосомы (рис. 35).

В состав хромосомы входят гистоны и негистоновые основные белки, а также одна двухцепочная молекула ДНК. В ядро клетки каждого вида живых организмов входит определенное, характерное для него, количество хромосом. Так например, в ядрах соматических клеток организма человека содержится 46, крысы – 42, кошки – 38, лягушки - 26 хромосом.

Рибонуклеопротеины участвуют в образовании рибосом. Комплексы рибосомальной РНК с белками формируют большую и малую субчастицы, которые обратимо связываясь вместе, формируют рибосому.

Биологическая роль нуклеопротеинов чрезвычайно важна и многообразна. Она определяется их участием в хранении и передаче генетической информации, а также биосинтезе белков и регуляции этих процессов.

4. Фосфопротеины

К фосфопротеинам относятся сложные белки, в состав которых в качестве небелкового компонента входят остатки фосфорной кислоты. Они присоединяются при помощи сложной эфирной связи к гидроксильным радикалам входящих в состав полипептидной цепи остатков серина и треонина (рис. 15А).

Широкое распространение среди фосфопротеинов имеет белок молока казеин. На его долю приходится до 80% всех белков молока. В состав молока казеин входит в форме кальциевой соли (рис. 36Б).

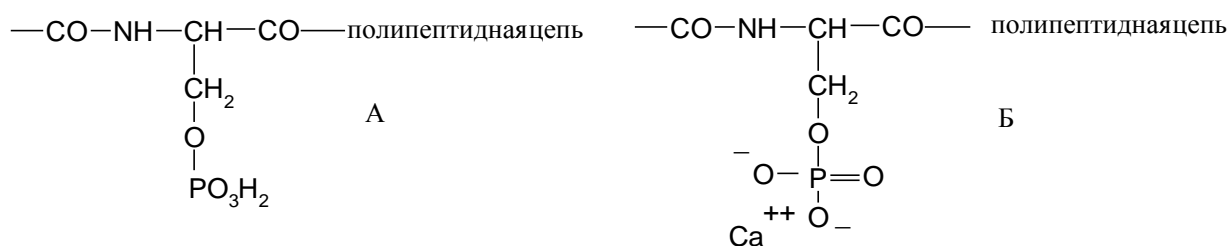


Рис. 36. Присоединение остатка фосфорной кислоты к серину полипептидной цепи фосфопротеина (А) и его кальциевая соль (Б).

Казеин имеет сравнительно небольшую молекулярную массу – около 20 КДа. Его характерной особенностью является высокое содержание остатков пролина в полипептидной цепи. По этой причине полипептидная цепь казеина при формировании вторичной структуры преимущественно приобретает конформацию, соответствующую β -структуре.

Данный белок имеет пищевое значение. Оно особенно велико в раннем детском возрасте, когда казеин является практически единственным источником заменимых и незаменимых аминокислот для интенсивно растущего организма ребенка. В желудке грудных детей вырабатывается специальный фермент ренин (химозин), который катализирует его гидролитический распад. Следует заметить, что переваривание казеина не требует присутствия соляной кислоты в желудочном соке. Этот белок оказывается легко доступным для действия протеиназ даже в нативном (не денатурированном) состоянии. В процессе его распада образуются биологически активные пептиды, которые оказывают регуляторный эффект на пищеварительную, сердечнососудистую, нервную и другие системы организма новорожденного.

Помимо казеина к фосфопротеинам относятся вителлины – белки яичного желтка, овальбумин – белок куриного яйца, ихтулин – белок икры рыб и многие другие. Следует заметить, что все они для человека имеют пищевое значение.

Рассматривая фосфопротеины, необходимо обратить особое внимание на тот факт, что многие внутриклеточные белки могут обратимо включать в

свой состав остаток фосфорной кислоты. В качестве его донора выступает молекула АТФ. Включение в состав белка остатка фосфорной кислоты (фосфорилирование белка) изменяет конформацию его полипептидной цепи и, как следствие того, его свойства. По этой причине обратимое фосфорилирование внутриклеточных белков выступает в качестве одного из закрепленных в процессе эволюции путей регуляции каталитической активности ферментов, а также сродства рецепторных белков к их лигандам. В этой связи фосфопротеины чрезвычайно широко распространены в живых организмах. Особо велико их содержание в нервной ткани млекопитающих.

5. Металлопротеины

К металлопротеинам относятся белки, в составе которых содержатся атомы металлов. Металлы очень часто включаются в структуру белка в составе сложных металлоорганических комплексов (т.н. железо – в составе гема, кобальт – в составе кобаламина и др.).

Если белок содержит в своем составе отдельные атомы металлов, то они, как правило, соединены координационными связями с аминокислотными остатками полипептидной цепи апопротеина.

К металлопротеинам относятся следующие широко распространенные белки:

- ферритин и трансферрин, а также железосерные белки дыхательной цепи митохондрий – содержащие Fe;
- алкогольдегидрогеназа, РНК-полимераза и ДНК-полимераза, матриксные металлопротеиназы – содержащие Zn;
- цитохромоксидаза, супероксиддисмутаза и церуллоплазмин – содержащие Cu;
- ксантинооксидаза и нитрогеназа – содержащие Mo;
- метилмалонил-КоА-мутаза – содержащая Co;
- Mn-супероксиддисмутаза – содержащая Mn и многие другие.

Как можно заметить из выше приведенных примеров, металлопротеины часто проявляют каталитические свойства, являясь ферментами. Они, как правило:

- входят в активный центр фермента (его каталитическую часть) и принимают непосредственное участие в катализе;
- обеспечивают связывание активного центра фермента и субстратом;
- выступают в роли доноров и акцепторов электронов в окислительно-восстановительных реакциях.

Рассмотрим особенности строения некоторых представителей широко распространенных в живых организмах металлопротеинов.

Железосерные белки дыхательной цепи митохондрий. Включают в свой состав один или несколько атомов железа, связанных с атомами неорганической серы или атомами серы, входящими в состав остатков цистеина, включенных в состав полипептидной цепи апопротеина (рис. 37).

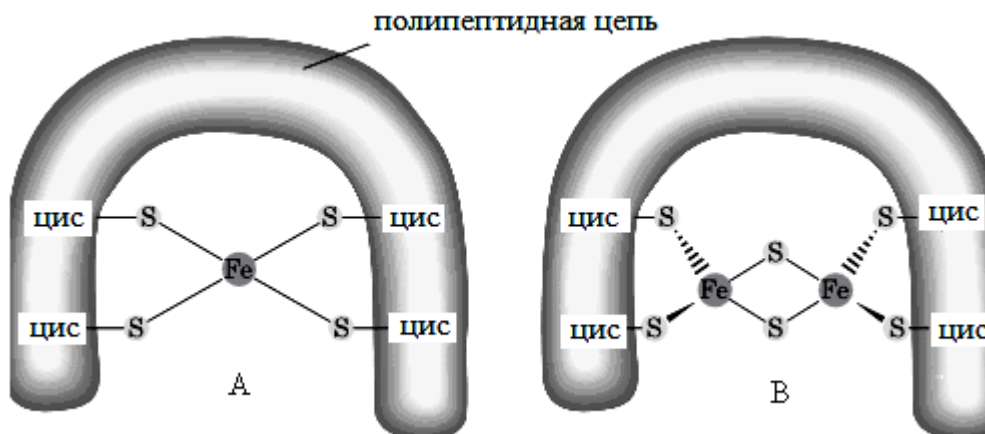


Рис. 37. Разновидности железосерных белков, содержащие в своем составе разные виды железосерных центров. А – железосерный центр типа (Fe-S), содержащий 1 атом железа; Б- железосерный центр типа (2Fe-2S) , содержащий 2 атома железа (D. L. Nelson, M. M Cox, 2004)

Являясь металлом переменной валентности, железо обеспечивает участие железосерных белков в окислительно-восстановительных процессах и в том числе переносе электронов по дыхательной цепи митохондрий.

Ферритин. Представляет собой очень крупный по массе белок, состоящий из 24 полипептидных цепей, образующих его отдельные субъединицы (рис. 38). Объединенные в единую молекулу субъединицы образуют оболочку, которая окружает центральное ядро, содержащее гидроксифосфат железа. Одна молекула ферритина может связывать от 4000 до 5000 атомов железа.

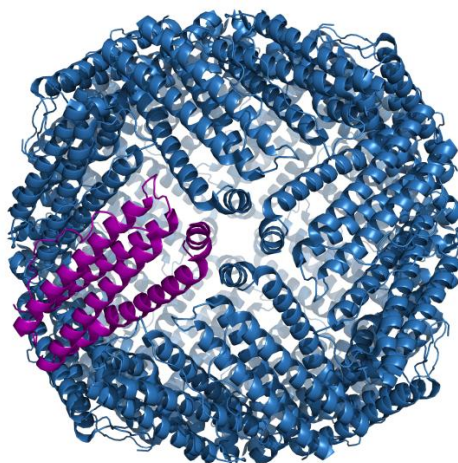


Рис. 38. Модель молекулы ферритина.

Ферритин содержится в цитоплазме клеток ретикулоэндотелиальной системы. Он участвует в депонировании железа в организме, преимущественно в клетках печени.

Cu-Zn-супероксиддисмутаза. Представляет собой широко распространенный в цитозоле клеток эукариот фермент. Она обеспечивает дисмутацию (распад) супероксидного аниона-радикала и по этой причине обеспечивает защиту клетки от ее повреждения свободными радикалами.

Cu-Zn-супероксиддисмутаза представляет собой гомодимер. Она состоит из двух идентичных полипептидных цепей (рис. 39). Каждая из полипептидных цепей присоединяет к себе по одному атому цинка и меди. Атомы металлов связываются с остатками гистидина и аспарагиновой кислоты и создают локальный положительный заряд в активном центре фермента. За счет этого отрицательно заряженная молекула субстрата

(супероксидного аниона) приобретает возможность связываться с активным центром.

Помимо Cu-Zn-супероксиддисмутазы, известны другие формы этого энзима, которые содержат в своем составе другие металлы. Так бактериальная супероксиддисмутаза содержит в составе атом марганца, а митохондриальный фермент – атом железа.

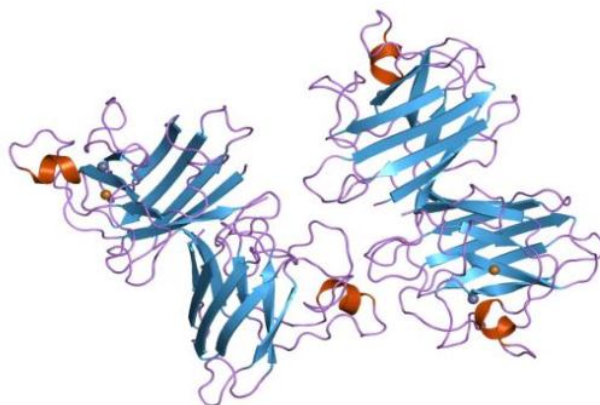
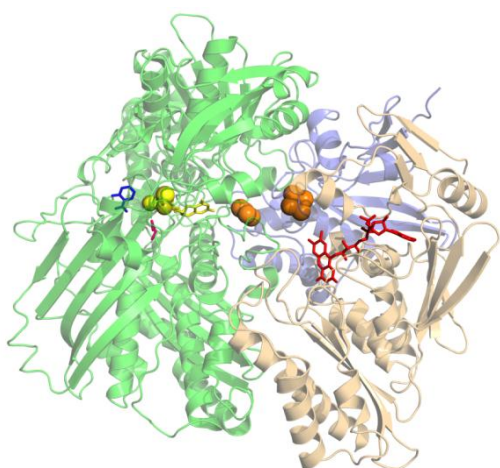


Рис. 39. Модель димера Cu-Zn-супероксиддисмутазы

Ксантиноксидаза. Представляет крупный белок, содержащий в своем составе 2 атома молибдена (рис. 40). Помимо молибдена в его структуру включается также 8 атомов железа, формирующих в нем железосерные центры, аналогичные таковым в железосерных белках дыхательной цепи митохондрий (2Fe-2S, рис.40) и 2 флавиновые простетические группы (ФАД).



Атомы молибдена входят в структуру молибденоптерина, который включается в состав каталитической части активного центра фермента (рис. 41).

Рис. 40. Модель молекулы ксантиноксидазы (атом молибдена, включенный в структуру молибденоптерина, обозначен желтым цветом) .

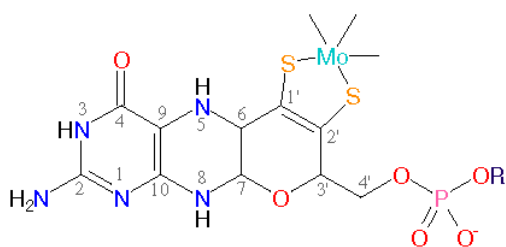


Рис. 41. Положение атома молибдена в составе молибденоптерина

Ксантиноксидаза содержится в цитоплазме клеток и играет важную роль в распаде пуриновых азотистых оснований.

6. Гемопротейны

К гемопротейнам относится широко распространенная группа белков, в структуру которых в качестве простетической группы входит гем. Их представителями являются гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза и пероксидазы.

6.1. Гемоглобин

Гемоглобин входит в состав эритроцитов и заполняет большую часть его внутриклеточного пространства. Его основная функция связана с транспортом газов (кислорода и углекислого газа) в организме. Помимо этого он принимает участие в поддержании кислотно-щелочного баланса в организме человека и животных, образуя своеобразный гемоглобиновый буфер.

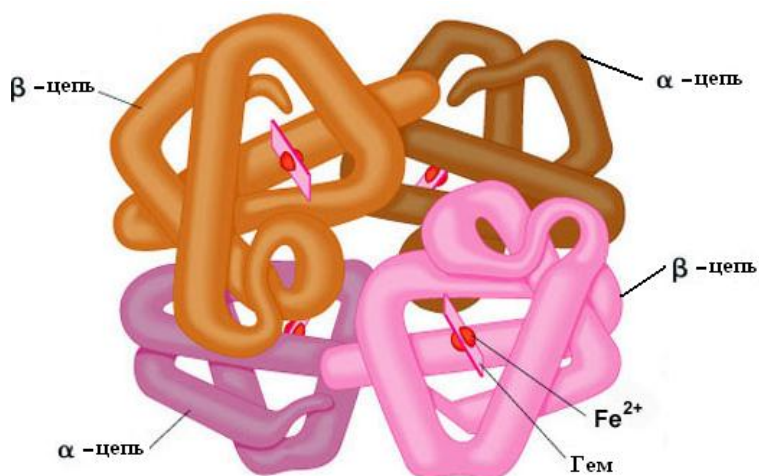


Рис. 42. Модель молекулы гемоглобина.

В настоящее время достаточно хорошо изучены его структура и свойства. На рис. 42 схематически представлено строение молекулы гемоглобина.

Молекула гемоглобина взрослого человека (HbA), состоит из 4 полипептидных цепей, с каждой из которых связан один гем. Белковая часть молекулы гемоглобина называется “глобин”.

В состав HbA входят 2 α - и 2 β -цепи, которые являются продуктами экспрессии двух разных генов и поэтому имеют разную первичную структуру. В состав α -цепи входит 141, а в состав β -цепи – 146 аминокислотных остатков. По пространственной структуре оба типа цепей напоминают молекулу миоглобина (рис. 48).

При образовании четвертичной структуры гемоглобина возникают многочисленные связи между отдельными полипептидными цепями глобина. Наибольшее их количество образуется между разными типами цепей (α - β). Эти связи преимущественно имеют характер гидрофобных взаимодействий, которые возникают между гидрофобными радикалами аминокислот (лейцин, валин, фенилаланин и др.).

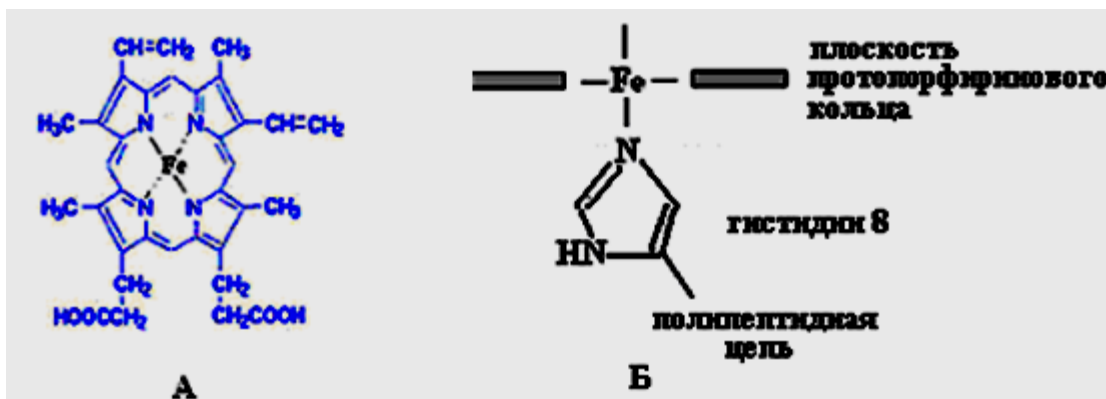


Рис. 43. Связи атома железа в геме гемоглобина. А – вид сверху; Б - вид сбоку (6 координационная связь над плоскостью кольца свободна)

Небелковый компонент гемоглобина – гем представляет собой соединение протопорфирина IX с восстановленным железом (Fe^{2+}). Атом железа, включенный в структуру гема, образует 2 ковалентные связи с

атомами азота 2 пиррольных колец и 2 координационные связи с двумя атомами азота двух других пиррольных колец в плоскости протопорфиринового кольца. Помимо этого он участвует в образовании еще двух координационных связей, которые расположены перпендикулярно плоскости протопорфиринового кольца (рис. 43).

Пятая координационная связь атома железа обеспечивает присоединение гема к остатку гистидина, включенного в состав полипептидных цепей глобина. Шестая координационная связь принимает участие в присоединении к гему различных лигандов (молекулы кислорода, окиси углерода или других соединений).

Особое значение приобретает возможность использования шестой координационной связи атома железа гема для обратимого присоединения молекулы кислорода. Процесс присоединения кислорода к гемоглобину можно описать в виде следующего уравнения реакции (рис. 44):

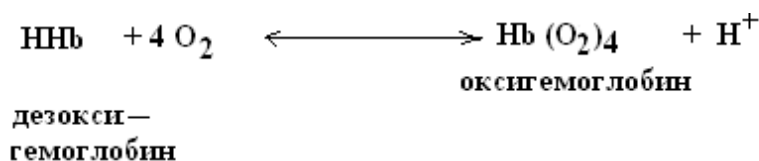


Рис. 44. Присоединение кислорода к гемоглобину.

В результате присоединения кислорода к атому Fe^{2+} гема образуется оксигемоглобин (рис. 45).

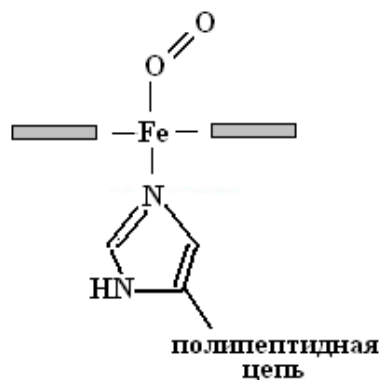


Рис. 45. Схема присоединения кислорода к гему при образовании оксигемоглобина

Процесс образования оксигемоглобина сопровождается изменением конформации его полипептидных цепей. Наиболее выраженные сдвиги происходят в области гема. В исходном состоянии в структуре дезоксигемоглобина атом железа выступает за плоскость протопорфиринового кольца в сторону остатка гистидина (рис. 46). При присоединении кислорода происходит втягивание атома железа в плоскость кольца. Это способствует изменению пространственной укладки полипептидной цепи, связанной с гемом. В результате возникновения подобных конформационных сдвигов в молекуле оксигемоглобина изменяется характер взаимодействия полипептидных цепей друг с другом. Молекула оксигемоглобина становится более компактной, чем молекула дезоксигемоглобина.

Изменение конформации полипептидных цепей при присоединении кислорода сопровождается изменением спектральных свойств белковой молекулы. Проявлением того может служить изменение ее цвета: раствор дезоксигемоглобина имеет темно красный, а оксигемоглобина – алый цвет. По этой причине появляются характерные различия в цвете венозной (обогащенной дезоксигемоглобином) и артериальной (обогащенной оксигемоглобином) крови.

Конформационная перестройка полипептидной цепи, возникающая вследствие присоединения молекулы кислорода к связанному с ней гему, приобретает важное физиологическое значение. Она способствует резкому повышению сродства остальных трех гемов молекулы гемоглобина к кислороду, облегчая тем самым, его связывание.

Процесс образования оксигемоглобина является обратимым и находится под контролем многочисленных факторов. Особое значение из них имеют H^+ , CO_2 , Cl^- и 2,3-дифосфоглицерат. При увеличении их концентрации резко понижается способность гемоглобина связывать кислород.

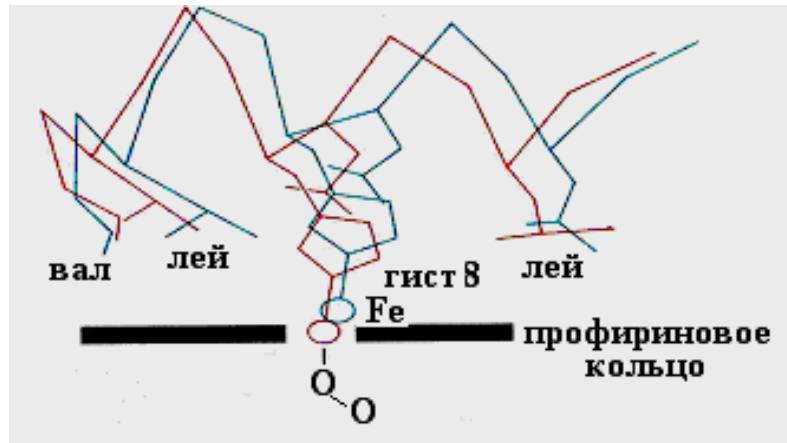


Рис. 46. Изменение конформации полипептидной цепи гемоглобина в результате присоединения кислорода к связанному с ней гему (по L. Stryer, 2006)

Оксигемоглобин представляет собой нестойкое соединение, которое распадается уже при понижении концентрации кислорода в среде. По этой причине, образование оксигемоглобина происходит в легочных капиллярах, для которых характерно высокое парциальное давление кислорода. При перемещении эритроцита из легких в другие (периферические) ткани внутренних органов, оксигемоглобин распадается с выделением кислорода, в виду того, что парциальное давление кислорода в них значительно меньше, чем в легких.

Процесс распада оксигемоглобина с освобождением кислорода в периферических тканях усиливается еще и за счет:

1. повышения в них концентрации H^+ (более низкого, чем в легких рН);
2. увеличения содержания углекислого газа, которые обусловлены интенсивным течением в них окислительно-восстановительных процессов, связанных с тканевым дыханием.

Регуляторное влияние углекислого газа и H^+ на связывание и освобождение кислорода гемоглобином лежат в основе эффекта Бора.

В основе механизма эффекта Бора лежит существование обратной взаимосвязи между процессами связывания кислорода и освобождением H^+ гемоглобином. Подобная взаимосвязь хорошо видна из уравнения

образования оксигемоглобина (рис. 44, 45). За счет нее, в тканях внутренних органов, где концентрация кислорода и рН ниже, чем в легочных капиллярах, происходит распад оксигемоглобина, сопровождающийся освобождением кислорода и протонированием гемоглобина. Тому же способствует и высокая концентрация в них углекислого газа. В легочных капиллярах, для которых характерно более высокое парциальное давление кислорода и величина рН, происходит освобождение протонов от дезоксигемоглобина и присоединение к нему кислорода.

Свойство гемоглобина обратимо связывать кислород в зависимости от величины его парциального давления в окружающей среде и ее химического состава, предопределяет возможность направленного транспорта кислорода от легких к тканям внутренних органов (рис. 47).

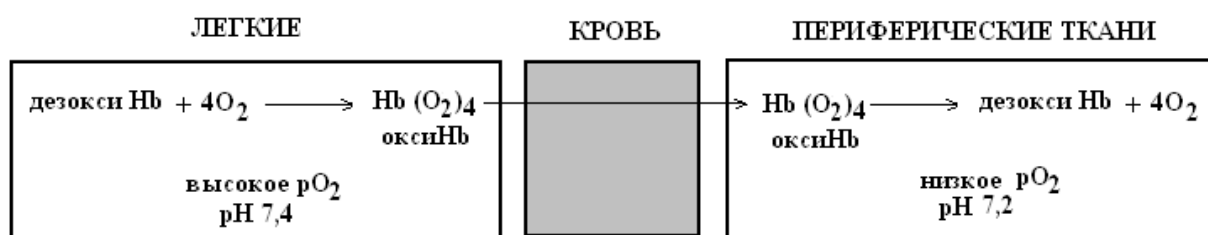


Рис. 47. Направленный транспорт кислорода между легкими и периферическими тканями.

Следует заметить, что железо гема гемоглобина обладает свойством связывать не только кислород. Еще большее сродство оно проявляет к окиси углерода (СО). По этой причине, даже при невысокой концентрации окиси углерода атмосфере (0,05%), с гемоглобином в первую очередь связывается именно она, а не кислород. Соединение гемоглобина с окисью углерода (карбоксигемоглобин) почти в 100 раз более прочно, чем оксигемоглобин. Поэтому при вдыхании даже невысоких концентраций окиси углерода быстро развивается отравление, характерным проявлением которого становится возникновение кислородной недостаточности в организме.

Помимо направленного транспорта кислорода от легких к тканям, гемоглобин обеспечивает обратный транспорт углекислого газа от тканей внутренних органов к легким.

6.2. Миоглобин

Миоглобин представляет собой белок, который содержится в составе клеток скелетной мускулатуры. Его функция связана с депонированием кислорода в мышце. Очень богаты миоглобином скелетные мышцы морских животных, которые много времени проводят под водой. Большое содержание миоглобина позволяет им запасать значительные количества кислорода и, тем самым, обеспечивать поддержание жизнедеятельности при длительном погружении. Небольшое количество миоглобина содержится в скелетной мышце и миокарде человека.

Молекула миоглобина состоит из одной полипептидной цепи, состоящей из 153 аминокислотных остатков и связанного с ней гема. Полипептидная цепь имеет характерную глобулярную укладку в пространстве. Гем расположен в гидрофобной щели, которая образуется в процессе формирования третичной структуры белковой части молекулы (рис. 48).

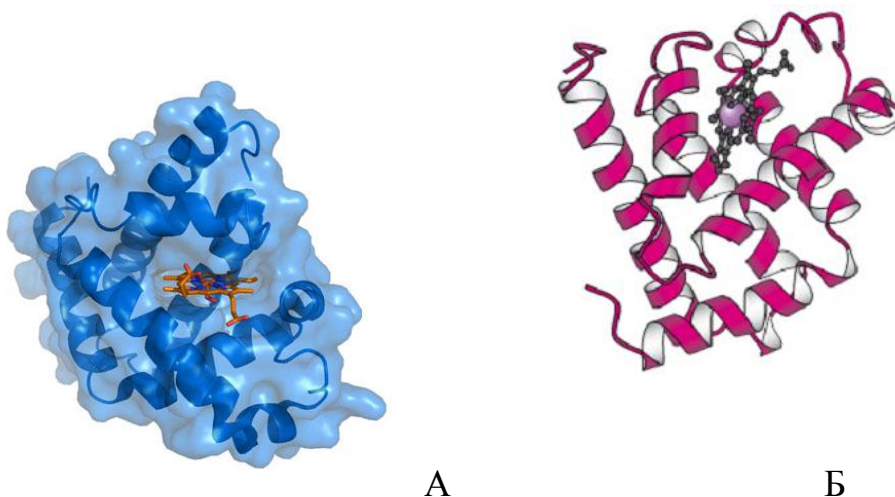


Рис. 48. Трехмерная структура молекулы миоглобина (А, красным обозначено положение гема в молекуле; King M.W., 2011) и ее модель (Б, J.M. Berg et al., 2002).

Он присоединяется к атому азота гистидинового остатка полипептидной цепи. Гидрофобные взаимодействия между тетрапиррольным кольцом гема и неполярными аминокислотными радикалами, формирующими гидрофобную щель, стабилизируют связь простетической группы и полипептидной цепи. В состав гема входит атом железа в восстановленном состоянии (Fe^{2+}). Подобно тому, как это происходит при образовании оксигемоглобина, молекула кислорода обратимо присоединяется к нему за счет возникновения 6 координационной связи. При этом образуется оксимиоглобин (рис. 49).

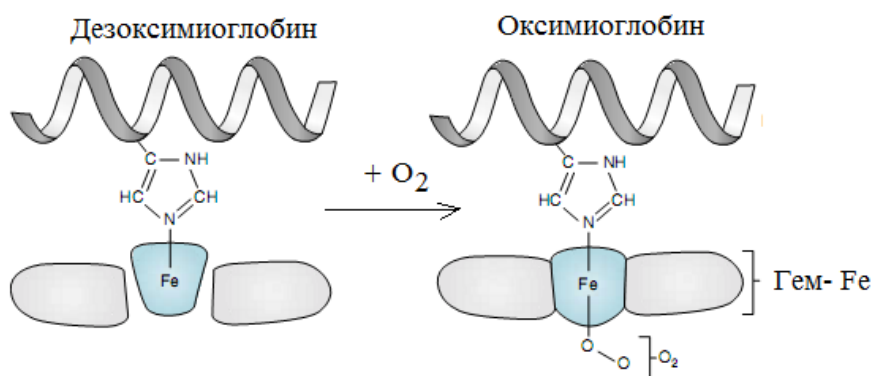


Рис. 49. Механизм присоединения кислорода к молекуле миоглобина (C.Smith et al., 2002)

Соединение кислорода в оксимиоглобине более прочное, чем в оксигемоглобине. Окисление железа лишает миоглобин способности связывать кислород.

С большим сродством миоглобин связывает окись углерода, которая образует с ним стабильное соединение.

6.2. Цитохромы

Среди гемопротеинов особое место занимают цитохромы. Они входят в состав цепей транспорта электронов митохондрий, эндоплазматического ретикулума и хлоропластов. Присутствие в простетической группе (геме) атома железа обеспечивает их участие в транспорте электронов между отдельными переносчиками этих цепей. Цитохромы осуществляют перенос

электрона от переносчика с меньшим, к переносчику с большим редокс потенциалом.

Подобно миоглобину цитохромы содержат 1 молекулу гема в расчете на 1 полипептидную цепь. Исключение составляет цитохром *b*, у которого с одной полипептидной цепью связано 2 гема.

Существует несколько основных классов цитохромов, которые обозначаются буквами латинского алфавита – *a*, *b*, и *c*. Различия между ними обусловлены различиями в строении входящего в их состав гема.

Существует 3 основные разновидности гема, входящего в состав цитохромов (рис. 50). Все они являются производными протопорфирина IX, который иначе называется гемом типа *b*. Различия в строении входящего в состав цитохромов гема обуславливают появление особенностей в проявлении оптических свойств цитохромов и их редокс потенциала.

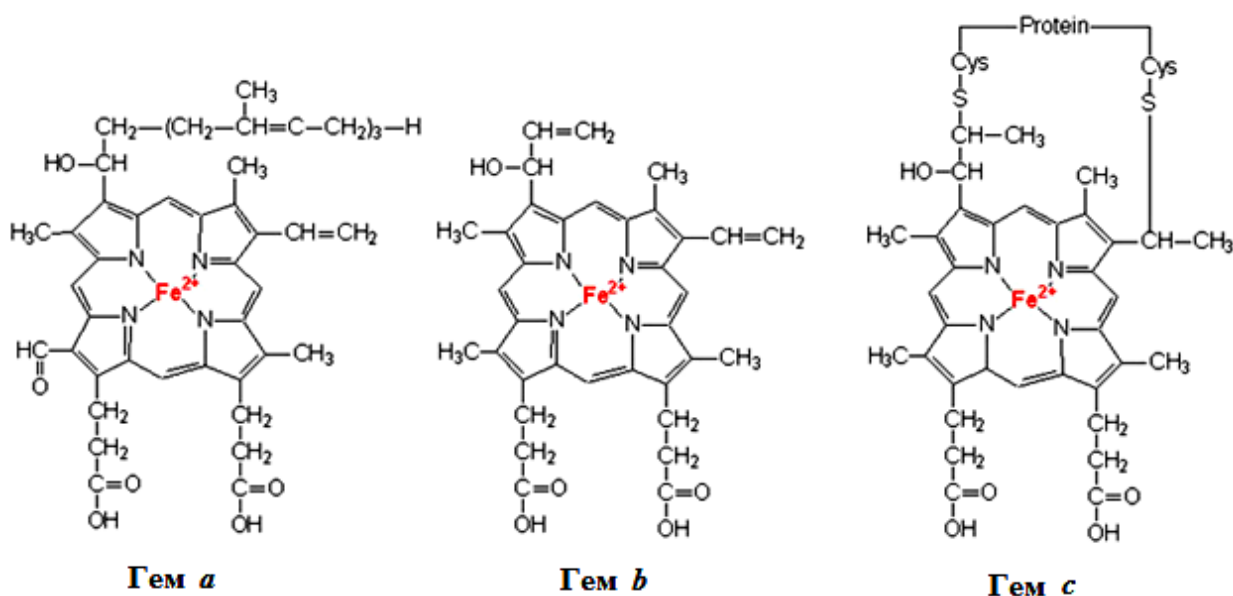


Рис. 50. Разновидности гема, входящего в структуру цитохромов.

В разных типах цитохромов гем по-разному соединяется с полипептидной цепью. Цитохромы типа *c*, в отличие от других их представителей, содержат прочно связанный с апопротеином гем. Это обусловлено тем, что гем типа *c* ковалентно присоединяется к

сульфгидрильным группам цистеиновых остатков полипептидной цепи. В связывании принимают участие две виниловые группы, включенные в структуру его протопорфиринового кольца (рис. 50).

Цитохром *c* является компонентом дыхательной цепи митохондрий. Он представляет собой сравнительно небольшой белок, который слабо связан с внутренней митохондриальной мембраной. Обладая небольшой молекулярной массой и слабой связью с мембраной, цитохром *c* путем латеральной диффузии свободно перемещается в плоскости мембраны и обеспечивает передачу электронов между III и IV комплексами дыхательной цепи.

Ниже представлена модель цитохрома *c*, созданная на основе детального изучения его третичной структуры (рис. 51).



Рис. 51. Модель цитохрома *C*. Красным цветом окрашен гем.

В эндоплазматическом ретикулуме печени содержится еще один широко распространенный цитохром – цитохром P_{450} . Этот гемопротеин включает в свою структуру прочно связанный с полипептидной цепью гем. Связывание происходит за счет образования координационной связи между атомом железа гема и остатком цистеина.

Цитохром P_{450} , связанный с мембранами эндоплазматического ретикулума клеток печени, участвует в обезвреживании гидрофобных чужеродных для организма молекул (ксенобиотиков). Он является терминальным компонентом микросомальной оксигеназной цепи, обеспечивающей окисление ксенобиотиков. Отдельные разновидности этого

цитохрома принимают участие в образовании холестерина, стероидных гормонов и ненасыщенных высших жирных кислот.

В хлоропластах растений содержится еще один представитель цитохромов – цитохром *f*. Он имеет исключительно растительное происхождение и играет важную роль в переносе электронов по электрон-транспортной цепи фотосистемы II хлоропластов.

Помимо цитохромов, гемоглобина и миоглобина к гемопротеинам относятся также широко распространенные в животных и растительных организмах ферменты каталаза и пероксидазы, которые защищают их от повреждающего действия перекисей. Каталаза обладает свойством разлагать перекись водорода с образованием воды. Она представляет собой один из наиболее активных ферментов, который содержится в специальных внутриклеточных структурах – пероксисомах. Пероксидазы, в отличие от каталазы, помимо перекиси водорода катализируют распад органических перекисей. Они широко распространены в различных внутриклеточных компартментах и в том числе в митохондриях и цитозоле.

Завершая рассмотрение гемопротеинов, следует заметить, что все они обладают одним общим физическим свойством – имеют характерный максимум поглощения света в видимой области спектра. За счет этого их растворы обладают соответствующей окраской. По этой причине гемопротеины относятся к особой группе сложных белков – хромопротеинов.

7. Хромопротеины

К хромопротеинам (хромос (греческ.) – окрашенный) относятся окрашенные белки. Их окраска зависит от природы простетической группы.

Мир хромопротеинов очень разнообразен. Их представители имеют самую разнообразную окраску. Так, например гемопротеины окрашены в красный цвет, родопсины – в оранжевый, флавопротеины – в желтый, церуллоплазмин – в голубой и пр.

Рассмотрим особенности строения и функцию отдельных представителей хромопротеинов.

Флавопротеины. Представляют собой сложные белки в состав которых в качестве простетической группы входит производное рибофлавина – витамина В₂ (рис. 52).

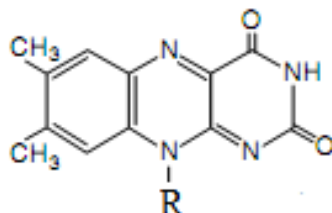


Рис. 52. Строение изоаллоксазиновой части молекулы рибофлавина

Флавиновая простетическая группа может быть представлена в форме ФАД (флавинадениндинуклеотида) или ФМН (флаavinмононуклеотида). С помощью ковалентных связей она присоединяется к полипептидной цепи белка. Остаток рибофлавина в составе простетической группы флавиновых дегидрогеназ обладает свойством акцептировать и отдавать атомы водорода. По этой причине флавиновые дегидрогеназы принимают участие в окислительно-восстановительных процессах в клетках.

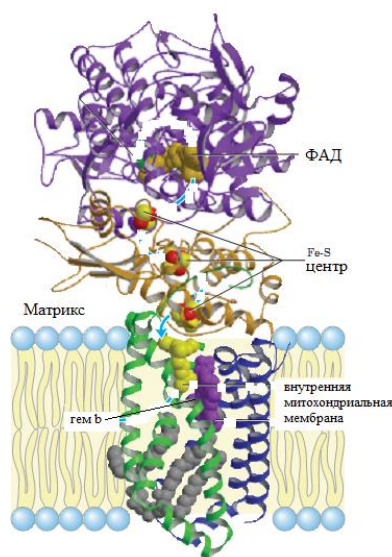


Рис. 53. Сукцинатдегидрогеназа митохондрий. (D. L. Nelson, M. M Cox, 2004)

Большая часть флавиновых дегидрогеназ является мембраносвязанными белками. Они участвуют в транспорте электронов по дыхательной цепи митохондрий и электротранспортным цепям эндоплазматического ретикулума (НАДН-дегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, НАДФН-зависимый флавопротеин микросомальной оксигеназной цепи и др.). На рис. 53 представлена структура молекулы сукцинатдегидрогеназы.

Наряду с мембраносвязанными, встречаются также и растворимые флавиновые дегидрогеназы. Они локализируются в цитоплазме клеток. К ним относится широко распространенный фермент ксантиноксидаза (рис.40).

Следует заметить, что флавопротеины представляют собой очень сложно устроенные молекулы сложных белков. Помимо флавиновой группы в их состав одновременно могут входить и другие небелковые компоненты. Так, в структуру сукцинатдегидрогеназы дополнительно входят еще 3 Fe-S - центра и гем типа *b*, а в состав ксантиноксидазы – атом молибдена, входящий в состав молибденоптерина.

Родопсины. Являются сложными белками, белковый компонент которых (опсин) связан с протетической группой, представленной *cis*-изомером ретиналя (альдегидной формы витамина А) (рис. 54):

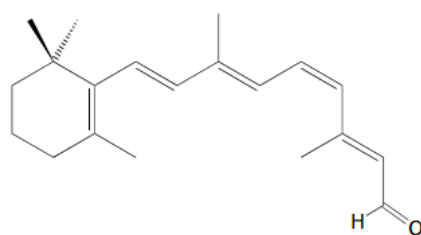


Рис. 54. 11-*cis*-ретиналь –небелковая часть белка родопсина

Протетическая группа присоединяется к остатку лизина, включенного в состав полипептидной цепи опсина, образуя при этом соединение типа шиффова основания (рис. 55).

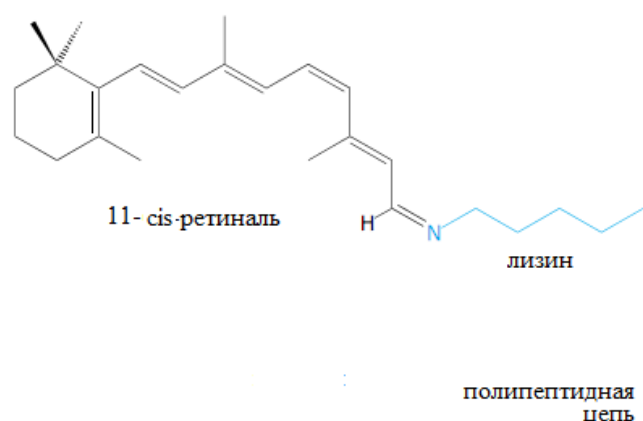


Рис. 55. Соединение 11-cis-ретиная с лизиновым остатком опсина путем образования шиффова основания

Молекула родопсина жестко встроена в мембрану диска фоточувствительных клеток сетчатки глаза (палочек и колбочек). Полипептидная цепь опсина уложена таким образом, что образует 7 спиральных фрагментов, насквозь проходящих через мембраны. При этом остаток ретиная оказывается расположенным в толще мембраны (рис. 56).

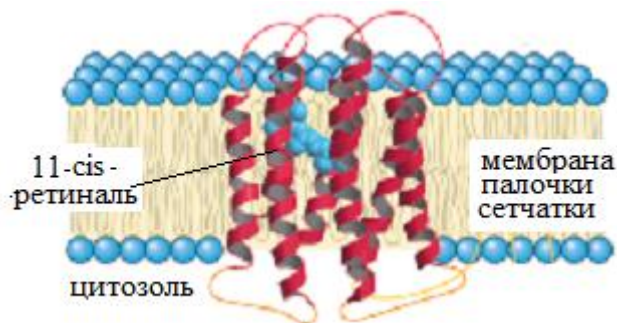


Рис. 56. Расположение родопсина в мембране палочки сетчатки глаза. С центральной частью опсина в толще мембраны связан остаток 11-cis-ретиная (D. L. Nelson, M. M Cox, 2004)

Под влиянием квантов света видимой области спектра происходит изомеризация 11-cis-ретиная в trans-ретиаль. Шиффово основание лизина с данным изомером ретиная существовать не может. Поэтому родопсин распадается на свободный опсин и trans-ретиаль. Свойство родопсина

распадаться на составляющие его компоненты под влиянием квантов видимого света обуславливает его участие в процессе световосприятия.

В специальных фоточувствительных клетках сетчатки глаза, обеспечивающих процесс цветовосприятия – колбочках, присутствуют 3 изомерные формы опсина. Они являются продуктами экспрессии разных генов и поэтому отличаются друг от друга по первичной структуре полипептидной цепи. Их характерным свойством являются различия в максимуме спектра поглощения видимого света (рис. 57).

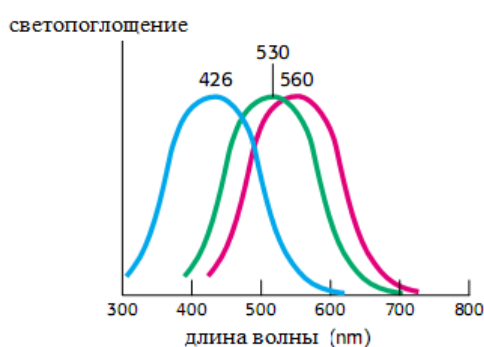


Рис. 57. Спектр поглощения трех разных изоформ родопсинов колбочек сетчатки глаза (по L. Stryer, 2006)

Различия в максимуме спектра поглощения позволяет изомерным формам родопсина распадаться под влиянием квантов света с разной длиной волны, что и лежит в основе процесса цветовосприятия.

Церулоплазмин. Церулоплазмин представляет собой крупный медь-содержащий белок плазмы крови. Благодаря входящим в его состав ионам меди, он имеет характерную голубую окраску. В нем содержится до 95 % общего количества меди крови человека.

Молекула церулоплазмينا состоит из одной длинной полипептидной цепи, с которой связано 4 олигосахаридных остатка и 6-7 атомов меди (рис. 58). Атомы меди входят в состав молекулы в окисленном состоянии (Cu^{2+}) и связываются с остатками гистидина апопротеина.

Несмотря на то, что церулоплазмин содержит большую часть меди, присутствующей в крови, он не участвует в транспорте этого металла в организме. Церулоплазмин проявляет каталитические свойства. Он катализирует реакцию окисления восстановленного катиона железа (Fe^{2+}), в связи с чем приобретает еще одно название – ферроксидаза.

Согласно современным представлениям церулоплазмин играет важную роль в метаболизме железа в организме человека и животных, и, что очень важно, играет роль антиоксиданта. Помимо крови он в значительных количествах содержится в тканях внутренних органов и головном мозге.

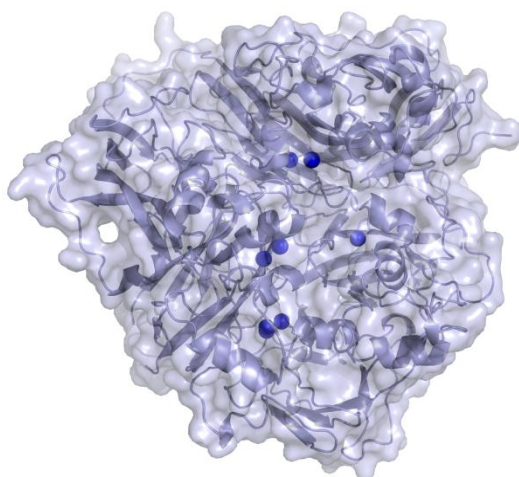


Рис. 58. Модель молекулы церулоплазмينا крови человека. Синими окружностями обозначены атомы меди.

Завершая рассмотрение сложных белков, следует еще раз обратить внимание на то, что они чрезвычайно широко распространены в живых организмах. Это связано с тем, что они выступают в роли ферментов, транспортных белков, рецепторов и регуляторов обменных процессов. Отдельные белки, чаще ферменты, могут лишь на время присоединять к себе небелковый компонент и при этом приобретать новые свойства, необходимые для выполнения их функций. Вместе с тем, большая часть сложных белков присоединяет к себе простетическую группу сразу же после

синтеза полипептидной цепи и в таком виде постоянно присутствует в клетке.

В некоторых случаях молекула сложного белка включает в свой состав только один небелковый компонент. Вместе с тем, довольно часто белок содержит одновременно несколько разных по химической структуре небелковых компонентов. К числу таковых относятся некоторые флавопротеины, ксантиноксидаза, церулоплазмин, казеин, цитохромоксидаза и многие другие. Особенно велико содержание столь сложно устроенных белков в составе нервной ткани.

ТЕСТЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ УСВОЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОГО ПОСОБИЯ

1. Для формирования активных центров цитохромоксидазы (ключевой фермент тканевого дыхания) необходимо наличие гемов с катионами железа.

Назовите класс данного белка:

- A. Флавопротеины
- B. Нуклеопротеины
- C. Липопротеины
- D. Гликопротеины
- E. Хромопротеины

2. При различных заболеваниях для подтверждения диагноза в биохимических лабораториях проводят анализ белковых фракций сыворотки крови с помощью метода электрофорез. Назовите свойство белков, которое положено в основу данного метода исследования:

- A. Оптическая активность
- B. Большая молекулярная масса
- C. Способность к набуханию
- D. Высокая вязкость раствора
- E. Наличие заряда у молекулы

3. Сложные белки обязательно содержат кроме полипептидных цепей небелковый компонент. Выберите вещество, которое не может быть небелковой частью протеина:

- A Ортофосфорная кислота
- B Аденозина трифосфат
- C Тиамин пиродифосфат
- D Азотная кислота
- E Манноза

4. Рецепторы гормонов относят по структуре к сложным белкам. Укажите класс сложных белков – рецепторов:

- A Нуклеопротеины

- В Фосфопротеины
- С Флавопротеины
- Д Гемопроотеины
- Е Гликопротеины

5. По химическому составу все белки делят на две группы: простые и сложные. Найдите сложный белок среди указанных веществ:

- А Альбумин яичного белка
- В Гистон
- С Гемоглобин
- Д Протамин
- Е Глобулин яичного белка

6. Укажите субклеточную органеллу эукариотической клетки, содержащую дезоксирибонуклеопротеины:

- А. Лизосома
- В. Эндосома
- С. Митохондрия
- Д. Микросома
- Е. Эндоплазматический ретикулум

7. Назовите простые белки, входящие в состав дезоксирибонуклеопротеина эукариотической клетки:

- А. Альбумины
- В. Глобулины
- С. Гистоны
- Д. Коллаген
- Е. Глютелины

8. Флавопротеины выполняют обычно каталитическую функцию в клетке, благодаря наличию в их структуре фрагмента витамина:

- А. Никотина амид
- В. Фолиевая кислота
- С. Пантотеновая кислота

D. Рибофлавин

E. Аскорбиновая кислота

9. Белок плазмы крови церулоплазмин содержит в своем составе катионы меди Cu^{2+} и поэтому имеет специфическую голубую окраску молекулы.

Назовите класс церулоплазмينا:

A. Металлопротеины

B. Фосфопротеины

C. Флавопротеины

D. Нуклеопротеины

E. Гликопротеины

10. Метод электрофореза используют для разделения белков плазмы крови.

Укажите характеристику молекулы белка, которую учитывают при выборе pH буферного раствора:

A. Изоэлектрическая точка

B. Масса молекулы

C. Диаметр молекулы

D. Растворимость в воде

E. Растворимость в липидах

11. Триацилглицеролы синтезируются в печени, но депонируются в жировой ткани человека. Назовите класс белка, осуществляющего транспорт жиров из печени в жировую ткань:

A. Липопротеины

B. Нуклеопротеины

C. Гликопротеины

D. Гемопроотеины

E. Фосфопротеины

12. Назовите класс сложных белков, выполняющих структурную функцию в составе субъединиц (малой и большой) рибосом

A. Рибонуклеопротеины

B. Дезоксирибонуклеопротеины

- C. Гликопротеины
- D. Гемопроотеины
- E. Фосфопротеины

13. В состав гликокаликса входит большое количество сложных белков гликопротеинов. Выберите вещество способное выполнить функцию небелковой части гликопротеина:

- A. Гликоген
- B. Производное галактозы
- C. Триацилглицерол
- D. Аспарагиновая кислота
- E. ДНК

14. Укажите белки сыворотки крови, подвергающиеся высаливанию при 50%-ном насыщении сульфатом аммония:

- A. Гистоны
- B. Протамины
- C. Глютелины
- D. Альбумины
- E. Глобулины

15. Укажите белки сыворотки крови, подвергающиеся высаливанию при 100%-ном насыщении сульфатом аммония:

- A. Глобулины
- B. Глютелины
- C. Альбумины
- D. Гистоны
- E. Протамины

16. Укажите качественную реакцию на аминокислоту цистеин в составе белковой молекулы:

- A. Фоля
- B. Адамкевича
- C. Пиотровского

D. Миллона

E. Мульдера

17. Выберите качественную реакцию на α -аминогруппу аминокислот, входящих в состав белковой молекулы:

A. Троммера

B. Нитропруссидная

C. Биуретовая

D. Ксантопротеиновая

E. Нингидриновая

18. Укажите аминокислоту, у которой отсутствует асимметрический атом углерода:

A. Изолейцин

B. Лейцин

C. Валин

D. Метионин

E. Глицин

19. Выберите из приведенных аминокислот заменимую:

A. Триптофан

B. Метионин

C. Валин

D. Лизин

E. Глутаминовая

20. Укажите аминокислоты, входящие в большом количестве (до 20-30%) в состав гистонов:

A. Треонин + метионин

B. Лизин + аргинин

C. Глицин + пролин

D. Триптофан + глицин

E. Аланин + метионин

21. Выберите из приведенного списка положительно заряженную аминокислоту:

A. Метионин

B. Лизин

C. Серин

D. Треонин

E. Фенилаланин

22. Выберите из приведенного списка отрицательно заряженную аминокислоту:

A. Серин

B. Лизин

C. Глутаминовая

D. Метионин

E. Гистидин

23. Укажите аминокислоту, дающую с нингидрином желтое окрашивание:

A. Аланин

B. Цистеин

C. Аргинин

D. Лизин

E. Пролин

24. Укажите нанопептид, обладающий гормональной активностью:

A. Окситоцин

B. Гастрин

C. Секретин

D. Ангиотензин

E. Брадикинин

25. Выберите пептид, принимающий участие в контроле аппетита человека:

A. Окситоцин

B. Вазопрессин

C. Лептин

D. Кортикотропин

E. Глюкагон

26. Выберите из приведенного списка нейропептид:

A. Глутатион

B. Секретин

C. β -Эндорфин

D. Гастрин

E. Ангиотензин I

27. Укажите уровень структурной организации белковой молекулы, который сохраняется после действия денатурирующих агентов:

A. Вторичный

B. Первичный

C. Третичный

D. Четвертичный

E. Вторичный и третичный

28. Укажите главный тип связи, характерный для формирования вторичной структуры белковой молекулы:

A. Тиосвязи

B. Водородные между боковыми радикалами

C. Пептидные

D. Водородные между пептидными фрагментами

E. Ван-дер-Ваальсовы силы

29. Выберите пептид, оказывающий влияние на тонус сосудов:

A. Брадикинин

B. Глутатион

C. Глюкагон

D. Кальцитонин

E. Секретин

30. Выберите правильное продолжение фразы: «Незаменимыми аминокислотами называют те, которые...»:

- A. Имеют положительный заряд
- B. Имеют отрицательный заряд
- C. Синтезируются в организме
- D. Не синтезируются в организме
- E. Не обладают зарядом

ВЕРНЫЕ ОТВЕТЫ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E	E	D	E	C	C	C	D	A	A
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	A	B	E	C	A	E	E	E	B
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
B	C	E	A	C	C	B	D	A	D

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Биологическая химия : учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. - 3-е изд., стер. - М. : Медицина, 2007. - 704 с.
2. Біохімія : підручник / за ред. А. Л. Загайка, К. В. Александрової. – Харків : Форт, 2014. – 728 с.
3. Губський Ю. І. Біологічнахімія / Ю. І. Губський. - Київ-Тернопіль :Укрмедкнига, 2000. - 508 с.
4. Губський Ю. І. Біоорганічнахімія / Ю. І. Губський. – Вінниця : Нова книга, 2004. - 464 с.
5. Николаев А. Я. Биологическая химия : учебник / А. Я. Николаев. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : МИА, 2007. - 568 с.

Дополнительная

1. Ленинджер А. Основы биохимии : в 3 т. / А. Ленинджер. - М. : Мир, 1985. - 1056 с.
2. Мардашко О. О. Біологічна та біоорганічнахімія: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / О. О. Мардашко, Н. Є. Ясиненко. - Одеса, ОДМУ, 2008. - 342 с.
3. Практикум з біологічної хімії / за ред. О. Я. Склярова. - К.: Здоров'я, 2002. - 298с.
4. Berg J. M. Biochemistry / J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer. – 6th ed. – N. Y. : W. H. Freeman and company, 2006. – 1064 p.
5. Koolman J. Color Atlas of Biochemistry: textbook / J. Koolman, K.-H. Roehm. – 2nd ed. – Stuttgart-New York :Thieme, 2005. – 467 p.
6. Murray R. K. Harper's Illustrated Biochemistry / R. K. Murray, D. K. Granner, V. W. Rodwell. - 27th ed. - Boston [etc.] : McGraw Hill, 2006. - 692 p.
7. Smith C. Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach: textbook / C. Smith, A. Marks, M. Lieberman. - 2nd ed. - New York : Lippincott Williams & Wilkins, 2009. - 920 p.

Информационные ресурсы

1. King M. W. The medical biochemistry pages / M. W. King – Режим доступа :
<http://themedicalbiochemistrypage.org/>