



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

Иншина Н. Н.

Курс лекций по биохимии

Раздел «БЕЛКИ»

Учебное пособие

Сумы

СумГУ

2018

УДК: 577.112(075.8)

Иншина Н.Н.

Курс лекций по биохимии. Раздел «Белки»: Учебное пособие. - Сумы: СумГУ, 2018. – 47 с.

Изложены современные представления о структурной организации и биологических функциях белков и пептидов. Описаны физико-химические свойства аминокислот и белков, их классификация. Рассмотрены методы выделения и фракционирования белков.

Для студентов медицинских и биологических факультетов высших учебных заведений.

УДК: 577.112(075.8)

Н. Н Иншина, 2018

Содержание

Предисловие	4
1. Биологические функции белков	5
2. Аминокислотный состав белков	8
3. Уровни структурной организации белков	12
4. Физико-химические свойства аминокислот и белков	25
5. Классификация белков	30
5.1. Простые белки	30
5.2. Сложные белки	34
6. Природные пептиды	39
7. Методы выделения и фракционирования белков	41
Список использованной литературы	47

Предисловие

Белки являются главными структурными компонентами живых организмов. В природе существует $10^{10} - 10^{12}$ различных белков. Известно, что в клетках бактерий *E.coli* содержится 3 тыс различных белков, а в организме человека – более 2 млн. Белки выполняют широкий спектр биологических функций и обеспечивают основные процессы жизнедеятельности организма.

По набору белков каждый человек является уникальным – на Земле не существует двух людей с одинаковыми белками. Информация о структуре белков записана в генах. Наследственный дефицит какого-либо белка в организме приводит к нарушениям метаболизма и развитию заболеваний.

Целью данного учебного пособия является изложение современных сведений о структурной организации и свойствах белков, обеспечивающих выполнение их биологических функций. В пособии приведена характеристика простых и сложных белков, описаны методы их выделения и фракционирования.

Автор полагает, что материалы пособия будут интересными не только для студентов, изучающих биологическую химию, но также и для учащихся школ и гимназий, увлекающихся биологией.

1. Биологические функции белков

Белки – биополимеры, мономерами которых являются α -аминокислоты.

Молекулы белков представляют собой полипептидные цепи, состоящие из α -аминокислот, соединенных пептидными связями.

Белки называют протеинами (от греч. protos – первый), поскольку они являются главными структурными компонентами живых организмов.

Совокупность всех белков организма – **протеом**. Этот термин был предложен Марком Вилкинсом в 1994 г. Термин **«протеом»** состоит из частей слов **«протеины»** и **«геном»**. В 2010 г. стартовал международный проект «Протеом человека», целью которого является создание протеомной карты, включающей все белки, кодируемые геномом человека. Ученые установили, что в организме человека содержится более 2 млн. белков, имеющих различные протеоформы. На рис.1.1 изображено распределение белков протеома человека по функциям.

Главными биологическими функциями белков являются: структурная, ферментативная, регуляторная, рецепторная, транспортная, сократительная, защитная, энергетическая.

Белки выполняют **структурную** или строительную функцию, поскольку являются главными структурными компонентами клеток и тканей.

К структурным белкам относятся:

- коллаген – основной белок соединительной ткани;
- эластин – белок кожи, сухожилий, связок;
- кератин – белок волос и ногтей.



Рисунок 1.1 – Распределение белков протеома человека по функциям [5]

Белки составляют 18-20 % от общей массы тела человека. Максимальное содержание белков находится в мышечной ткани, минимальное – в костной.

Более 3 тыс. белков выполняют **ферментативную** или каталитическую роль.

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы.

Ферменты ускоряют химические реакции в 10^{10} раз [1].

Примеры ферментов:

- амилаза – катализирует гидролиз крахмала;
- липаза – катализирует гидролиз липидов;
- пепсин – катализирует гидролиз белков.

Регуляторную функцию осуществляют белки-гормоны. Гормоны регулируют обмен веществ и физиологические функции. Например, инсулин регулирует концентрацию глюкозы в крови, соматотропин – рост организма.

Некоторые белки выполняют **роль рецепторов**, с которыми связываются биологически активные вещества: гормоны, нейромедиаторы.

Транспортную функцию осуществляют белки крови альбумины, глобулины, гемоглобин и др.

Альбумины транспортируют высшие жирные кислоты, билирубин, стероидные гормоны, катионы металлов, лекарственные вещества.

Гемоглобин переносит кислород и углекислый газ.

К глобулинам крови, выполняющим транспортную функцию, принадлежат трансферрин (транспорт Fe^{2+}), церулоплазмин (транспорт Cu^{2+}).

Белки мышечной ткани – актин и миозин – обеспечивают сокращение мышц, выполняют **двигательную** или сократительную функцию.

Защитную роль осуществляют антитела - γ -глобулины крови. Эти белки обеспечивают работу иммунной системы и защищают организм от инфекций.

Белки крови интерфероны имеют противовирусное действие.

Защитную роль также выполняют белковые факторы свертывания крови, которые предотвращают потери крови при травмах и ранениях.

Энергетическая функция белков состоит в том, что при распаде 1 г белка выделяется 17 кДж или 4 ккал энергии [1].

Таким образом, белки выполняют широкий спектр биологических функций и являются главными структурными компонентами организма человека.

2. Аминокислотный состав белков

В природе существует более 200 аминокислот, но протеиногенными являются лишь **20 α -аминокислот**.

В составе α -аминокислот аминогруппа расположена возле α -атома углерода – атома, который находится рядом с карбоксильной группой (рис. 2.1).

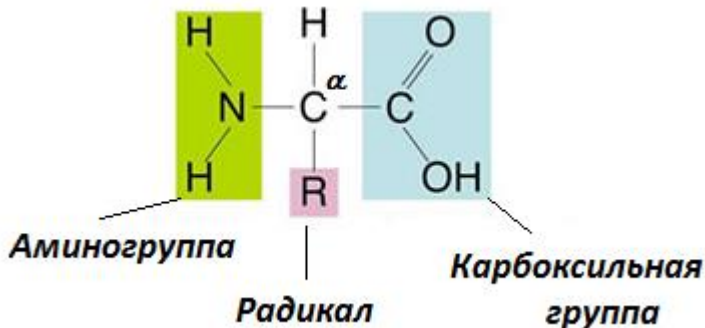


Рисунок 2.1.- Общая формула α -аминокислот

В организме человека присутствуют β - и γ -аминокислоты. Например, β -аланин образуется при распаде пириимидиновых азотистых оснований, γ -аминомасляная кислота (ГАМК) выполняет роль тормозного нейромедиатора центральной нервной системы (рис. 2.2).

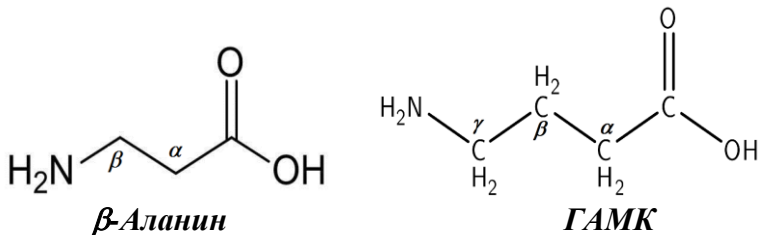


Рисунок 2.2 - Структурные формулы β -аланина и ГАМК

Существует несколько различных классификаций аминокислот. ***В зависимости от биологической ценности*** аминокислоты разделяют на заменимые и незаменимые.

Заменимые аминокислоты – аминокислоты, которые синтезируются в организме человека.

Заменимыми являются 10 из 20 аминокислот: глицин, аланин, пролин, цистеин, глутаминовая кислота, глутамин, аспарагиновая кислота, аспарагин, тирозин, серин.

Незаменимые аминокислоты – аминокислоты, которые не синтезируются в организме человека и должны поступать с пищей.

К незаменимым аминокислотам относятся: валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, лизин, триптофан.

Аминокислоты аргинин и гистидин называют условно незаменимыми, они синтезируются в организме человека в недостаточных количествах, поэтому должны поступать с пищей.

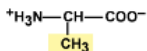
При дефиците незаменимых аминокислот нарушается синтез белков в организме человека. Главным источником незаменимых аминокислот являются белки животного происхождения.

В зависимости от полярности радикала (способности взаимодействовать с водой) аминокислоты разделяют на 4 класса:

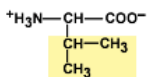
- неполярные (гидрофобные);
- полярные незаряженные;
- полярные положительно заряженные;
- полярные отрицательно заряженные.

Неполярные или гидрофобные аминокислоты: аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, пролин, фенилаланин, триптофан (рис.2.3).

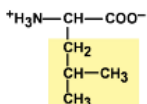
НЕПОЛЯРНЫЕ



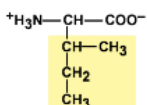
Аланин, Ала



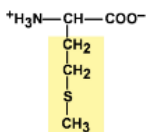
Валин, Вал



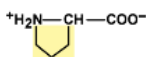
Лейцин, Лей



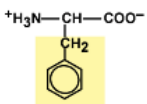
Изолейцин, Иле



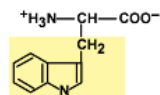
Метионин, Мет



Пролин, Про



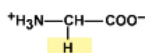
Фенилаланин, Фен



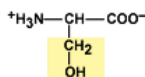
Триптофан, Трп

ПОЛЯРНЫЕ

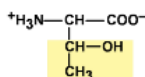
Незаряженные



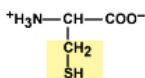
Глицин, Гли



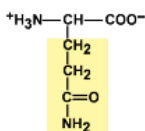
Серин, Сер



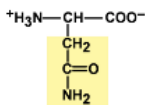
Треонин, Тре



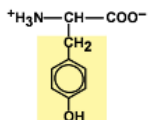
Цистеин, Цис



Глутамин, Глн

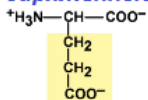


Аспарагин, Асп

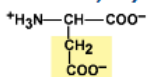


Тирозин, Тир

Отрицательно заряженные

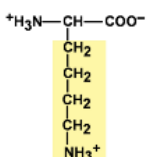


Глутаминовая кислота, Глу

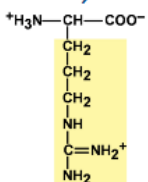


Аспарагиновая кислота, Асп

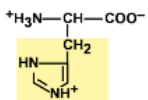
Положительно заряженные



Лизин, Лиз



Аргинин, Арг



Гистидин, Гис

Рисунок 2.3 - Структурные формулы α-аминокислот

Радикалы неполярных аминокислот содержат гидрофобные группы, которые не имеют заряда. Неполярные незаряженные аминокислоты преобладают в составе белков, которые не растворяются в воде (коллаген, эластин и др.).

Полярные незаряженные аминокислоты: глицин, серин, треонин, цистеин, глутамин, аспарагин, тирозин. В радикалах этих аминокислот находятся полярные химические группы ($-OH$, $-SH$), которые могут образовывать водородные связи с молекулами воды.

К **полярным положительно заряженным** аминокислотам относятся лизин, аргинин, гистидин. Положительный заряд этих аминокислот обусловлен наличием аминогруппы в их радикалах.

Аспарагиновая и глутаминовая кислоты являются **полярными отрицательно заряженными**, поскольку их радикалы содержат карбоксильную группу.

Белки, в составе которых преобладают заряженные аминокислоты, хорошо растворяются в воде. Например, растворимыми в воде являются альбумины крови, в составе которых содержится большое количество глутаминовой и аспарагиновой кислот.

Таким образом, аминокислотный состав белков определяет их свойства.

3. Уровни структурной организации белков

Белки имеют 4 уровня структурной организации: первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры.

Первичная структура белка – последовательность α -аминокислот в полипептидной цепи, соединенных между собой пептидными связями.

Пептидная связь образуется в результате взаимодействия карбоксильной группы одной аминокислоты с аминогруппой другой аминокислоты. При образовании пептидной связи происходит отщепление молекулы воды (рис. 3.1).

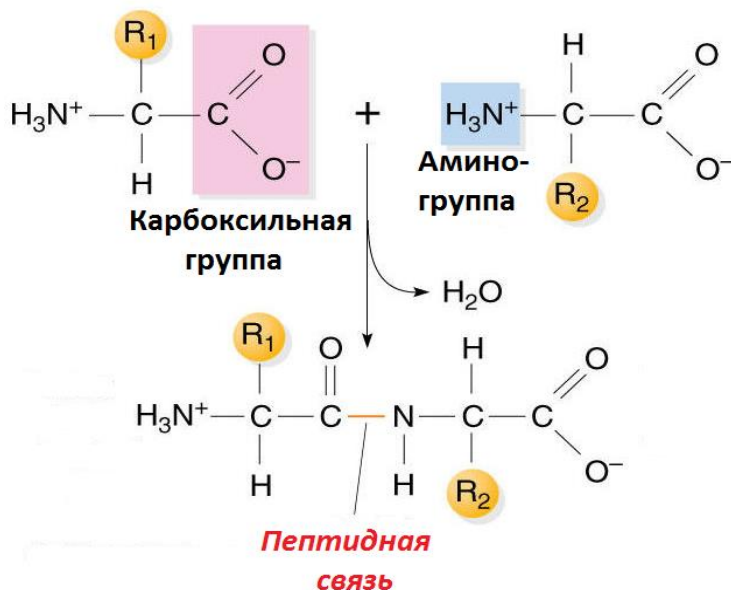


Рисунок 3.1 – Образование пептидной связи

Свойства пептидной связи:

- все атомы пептидной группы $-\text{CO}-\text{NH}-$ расположены в одной плоскости (рис.3.2);
- атомы О и Н находятся в транс-положении;
- атомы О и Н могут участвовать в образовании водородных связей с атомами других пептидных групп;
- вращение CHR -групп относительно связи $\text{C}-\text{N}$ обеспечивает образование различных пространственных конформаций полипептидной цепи.

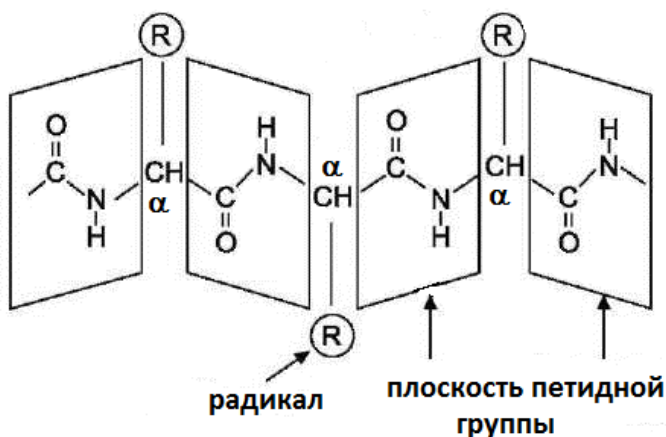


Рисунок 3.2 – Фрагмент полипептидной цепи

Первичная структура каждого белка уникальна. Впервые первичная структура белков была изучена Сэнгером на примере инсулина, в 1958 г. ученый был удостоен Нобелевской премии.

Было установлено, что молекула инсулина состоит из 51 аминокислотных остатков: А-цепь содержит 21 аминокислоту, В-цепь – 30.

Полипептидные цепи инсулина соединяются между собой при помощи дисульфидных химических связей (рис.3.3).

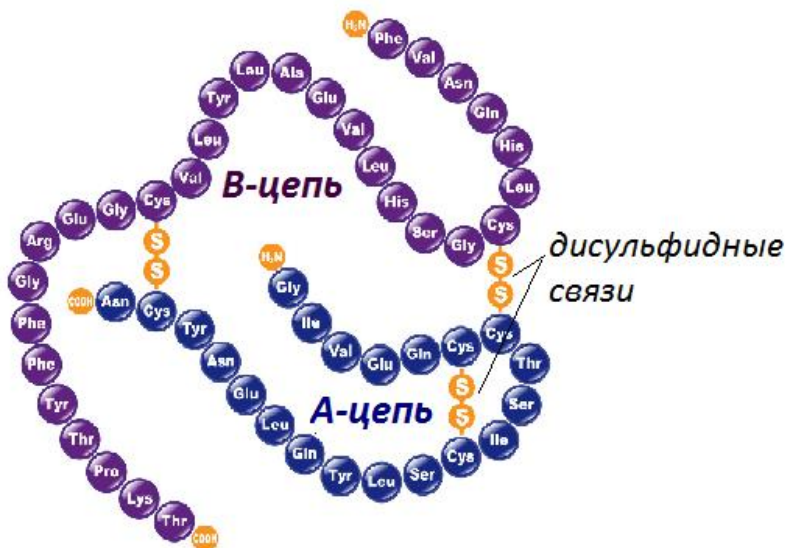


Рисунок 3.3 – Первичная структура инсулина

Дисульфидные химические связи (-S-S-) образуются в результате окисления сульфгидрильных групп (-SH) остатков цистеина (рис. 3.4).

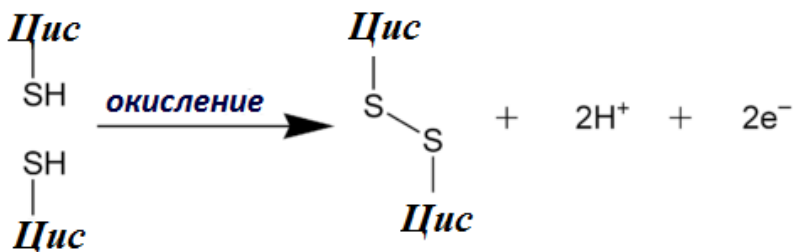


Рисунок 3.4 – Образование дисульфидной связи

В состав молекулы белка входит более 50 аминокислотных остатков. Самая длинная из известных полипептидных цепей содержит около 5000 аминокислот,

однако большинство полипептидных цепей имеет менее 2000 аминокислотных остатков [9].

Вещества, в составе которых содержится менее 50 аминокислот, называют **пептидами**. Например, дипептиды состоят из 2-х аминокислот, трипептиды – из 3-х и т.д.

В полипептидной цепи белков и пептидов выделяют N-конец, содержащий свободную α -NH₂-группу, и C-конец, на котором расположена свободная α -COOH-группа (рис. 3.5). Свободные функциональные группы аминокислот не участвуют в образовании пептидных связей.

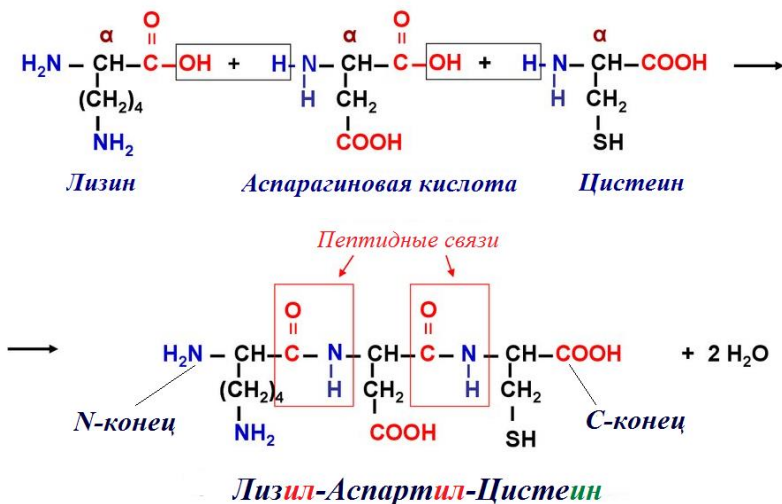


Рисунок 3.5 – Образование трипептида

Название пептидов образуется из названия аминокислот, перечисленных с N-конца полипептидной цепи. В названии аминокислот суффикс **-ин** заменяется на **-ил**, название последней аминокислоты не изменяется.

Вторичная структура белков – пространственная конформация полипептидной цепи.

Вторичная структура белков и пептидов формируется за счет образования водородных химических связей.

Водородная связь – химическая связь между атомом Н и каким-либо электроотрицательным атомом, чаще всего О или N (рис.3.6).

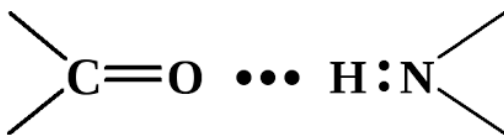


Рисунок 3.6 – Образование водородной химической связи

В молекуле белка водородная связь образуется между атомами Н и О различных пептидных групп, удаленных друг от друга на 4 аминокислотных остатка. Водородные связи являются слабыми химическими связями, однако их большое количество позволяет стабилизировать вторичную структуру белков.

Известны **3 разновидности вторичной структуры** белков:

- α-спираль;
- β-складчатая структура;
- коллагеновая спираль.

α-Спираль характерна для α-кератина – структурного белка волос и ногтей (рис. 3.7).

Впервые данную структуру описали Л. Полинг и Р. Кори.

α-Спираль – правозакрученная спираль. На один виток спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка, длина витка составляет 0,54 нм (длина одного аминокислотного остатка - 0,15 нм).

α-Спираль является наиболее распространенным вариантом пространственной конформации полипептидной цепи.

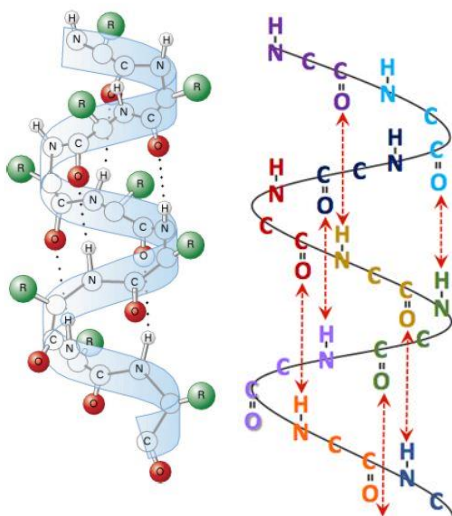


Рисунок 3.7 - α -Спираль

β -складчатая структура впервые была обнаружена у белка β -кератина (рис. 3.8). Данная структура характерна также для белка шелка – фиброина [9].

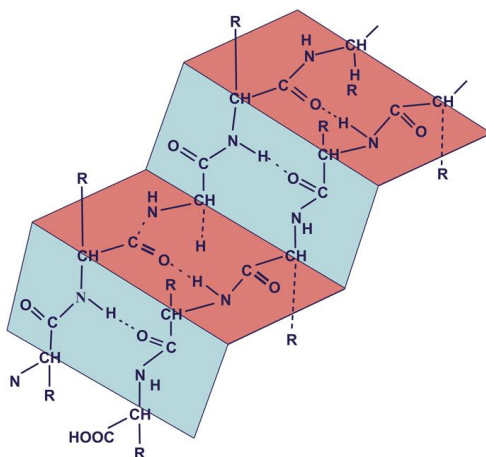


Рисунок 3.8 - β -Складчатая структура

В зависимости от направления полипептидных цепей различают две разновидности β -складчатой структуры:

- параллельная;
- антипараллельная (рис. 3.9).

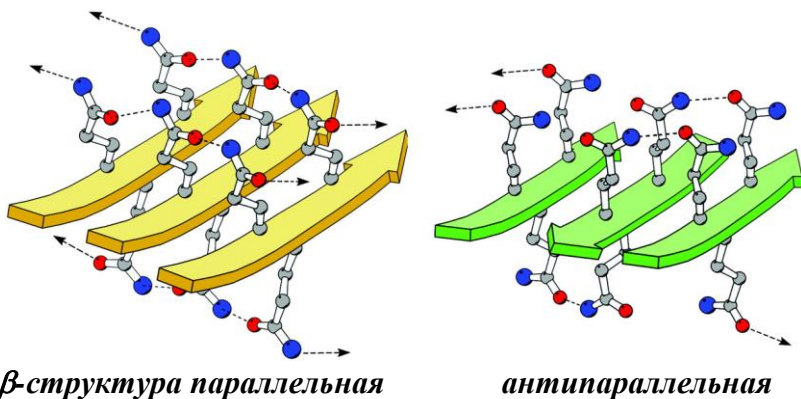


Рисунок 3.9 – Разновидности β -складчатой структуры

Коллагеновая спираль состоит из 3-х полипептидных цепей белка тропоколлагена (рис. 3.10).

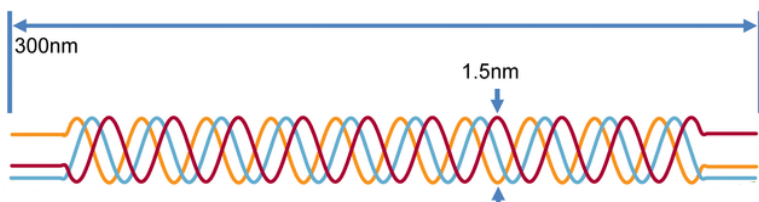


Рисунок 3.10 – Коллагеновая спираль

Длина коллагеновой спирали составляет 300 нм, диаметр – 1,5 нм. В составе полипептидной цепи тропоколлагена содержится 1000 аминокислотных остатков [8].

Тройная коллагеновая спираль является разновидностью вторичной структуры, самой устойчивой к механическим воздействиям. Как известно, коллаген находится в связках и сухожилиях, выдерживающих большие нагрузки.

Как правило, вторичная структура является наивысшим уровнем структурной организации структурных и сократительных белков. Форма молекул таких белков вытянутая и длинная, в виде нитей – фибрилл, поэтому их называют **фибрилярными**.

Глобулярные белки имеют круглую форму молекул – в виде глобулы. Для глобулярных белков характерна третичная или четвертичная структура [6].

Третичная структура белков – способ укладки в пространстве полипептидной цепи, имеющей вторичную структуру и аморфные неспирализованные участки (рис.3.11).

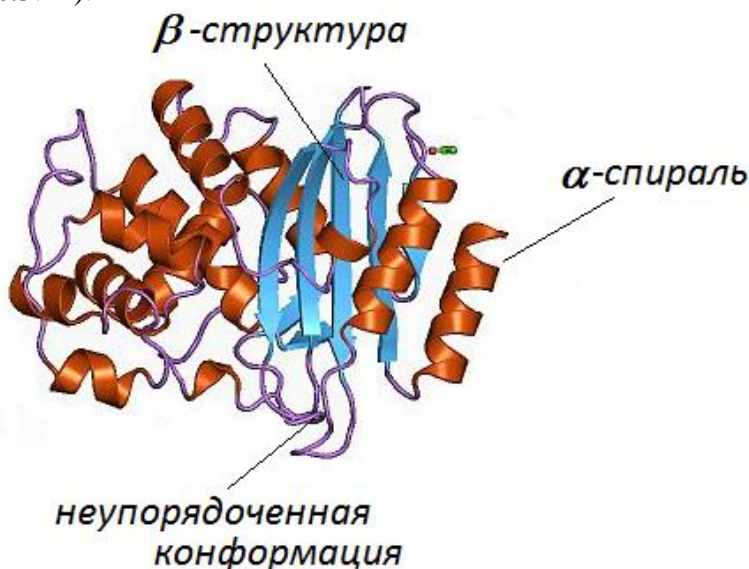


Рисунок 3.11 – Различно структурированные участки полипептидной цепи в составе глобулы

Третичная структура белков представляет собой глобулу, внутри которой расположены гидрофобные группы, а снаружи – гидрофильные. В составе одной глобулы содержатся участки полипептидной цепи, имеющие различную структуру.

Впервые третичная структура белков была исследована в 1958 г. Кендрию и Перутц, которые с помощью метода рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии описали третичную структуру миоглобина. Кроме миоглобина, третичную структуру имеют ферменты, антитела, альбумины крови и др.

В образовании третичной структуры белка принимают участие водородные, дисульфидные, ионные связи и гидрофобные взаимодействия (рис. 3. 12).

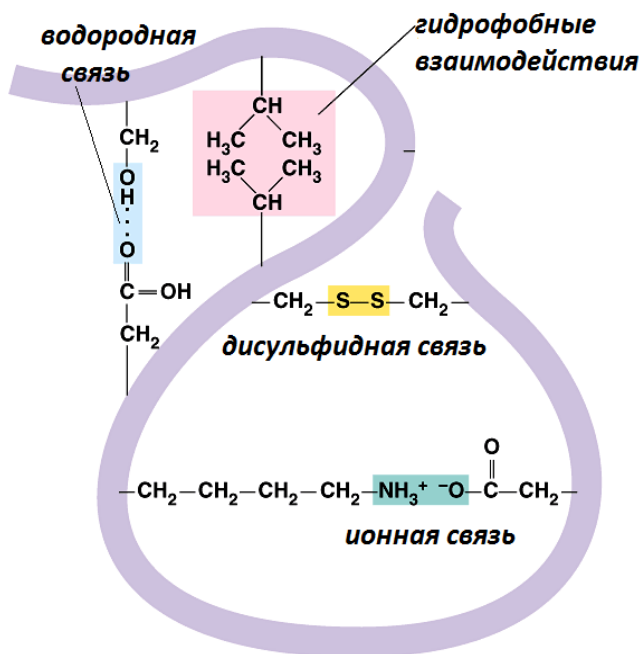


Рисунок 3.12 – Типы химических связей, стабилизирующих третичную структуру белка

Ионные связи образуются между группами $-\text{NH}_3^+$ и COO^- , находящимися в радикалах аминокислот.

Гидрофобные взаимодействия возникают между неполярными (гидрофобными) R-группами аминокислот.

За счет притягивания неполярных групп друг к другу внутри глобулы располагаются гидрофобные группы, а снаружи – гидрофильные.

Четвертичная структура белков формируется за счет объединения нескольких глобул.

Белки, состоящие из нескольких полипептидных цепей, называют *олигомерными*.

Четвертичная структура характерна для гемоглобина, молекула которого состоит из 4-х полипептидных цепей: 2 α 2 β (рис. 3.13). В состав α -цепи входит 141 аминокислотный остаток, в состав β - 146.

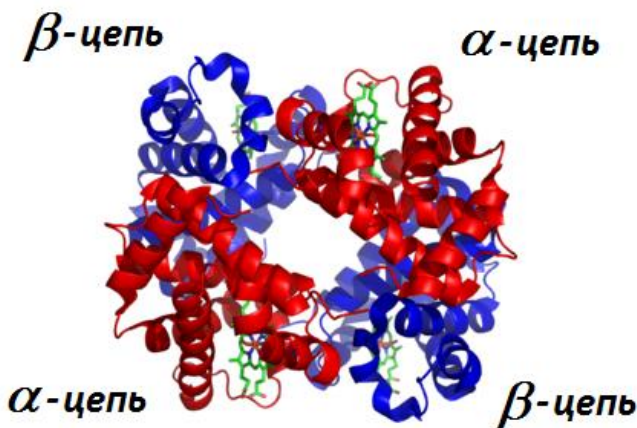


Рисунок 3.13 - Структура гемоглобина

Таким образом, чем сложнее биологическая роль белка, тем более высокий уровень структурной организации он имеет. Каждый последующий уровень структурной организации белка формируется на основе предыдущего (рис. 3.14).

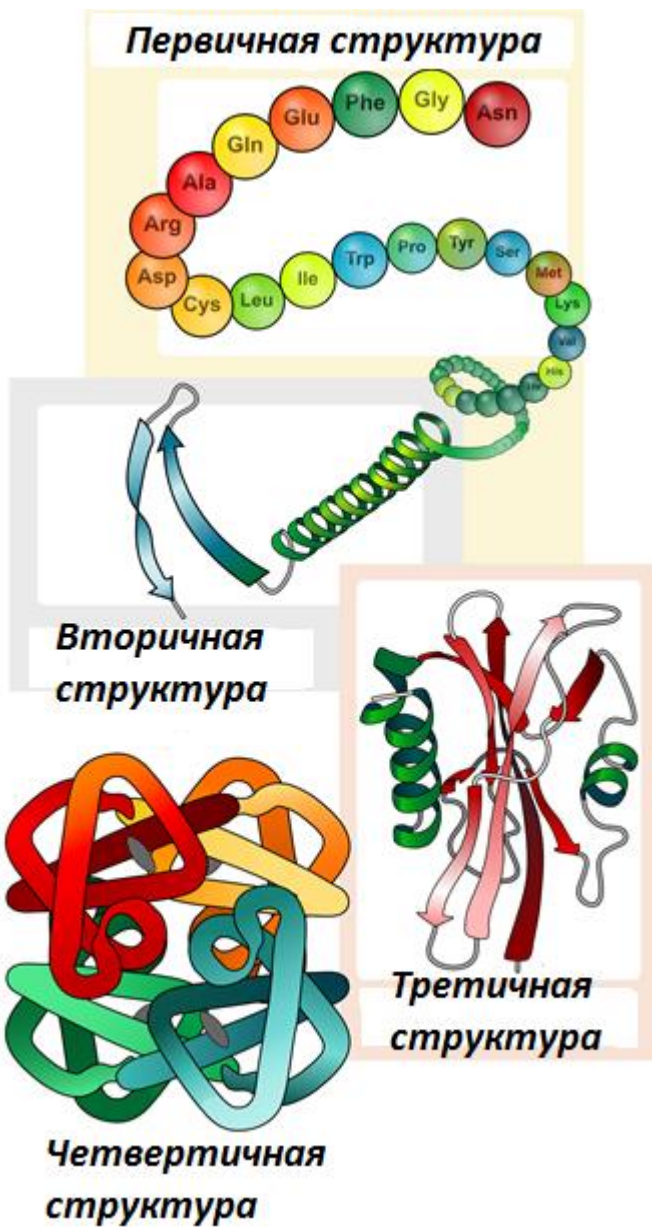


Рисунок 3.14 – Уровни структурной организации белка

Правильная природная пространственная конформация белков называется **нативной**. При нарушении нативной конформации белки не могут выполнять свои биологические функции.

Процесс формирования пространственной структуры белка – **фолдинг** (рис.3.15).

Фолдинг обеспечивают специальные белки – **шапероны**.

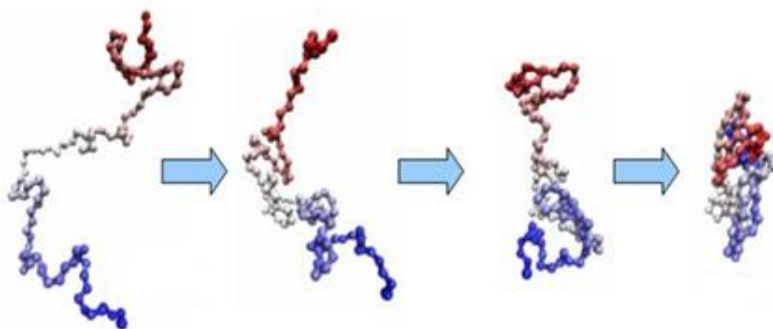


Рисунок 3. 15 – Фолдинг белков

Известны **прионные заболевания** человека и животных, обусловленные нарушением фолдинга.

Прионы – белки, имеющие неправильную пространственную структуру.

В отличие от нормальных белков, прионы не разрушаются при действии высокой температуры и протеолитических ферментов. Особенностью прионов является высокое содержание β -структурированных участков в их молекулах (рис.3.16). Прионы способны изменять нативную конформацию нормальных белков, превращая их в прионовые.

Впервые прионные болезни были обнаружены у диких племен Новой Гвинеи, соблюдающих традицию каннибализма. Так была открыта «смеющаяся болезнь» или куру – неврологическое заболевание с летальным

исходом. У больных на лице появлялись гримасы вследствие дисфункций ЦНС, обусловленных накоплением прионовых белков и формированием β -амилоидных бляшек в мозге.

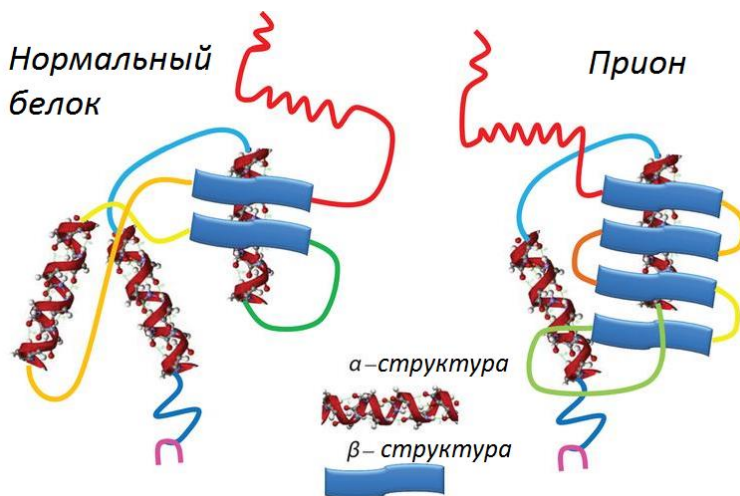


Рисунок 3. 16 – Пространственная структура приона и его аналога

К прионным заболеваниям животных относят губчатую энцефалопатию или коровье бешенство, почесуху или скрепи овец. Человек может инфицироваться прионами, употребляя в пищу мясо больных животных [7].

Известны случаи генетической предрасположенности к прионным болезням. Причиной появления прионов в организме могут быть мутации гена PrP.

Таким образом, наличие нативной конформации белков является необходимым условием для осуществления их биологических функций.

4. Физико-химические свойства аминокислот и белков

К основным *физико-химическим свойствам аминокислот* относят: оптическую активность, растворимость, подвижность в электрическом поле, амфотерность.

Для аминокислот характерна оптическая изомерия: существуют L- и D-изомеры аминокислот (рис.4.1).

Все аминокислоты в составе белков имеют L-конфигурацию [9]. В природе D-аминокислоты встречаются очень редко, они обнаружены у некоторых вирусов.

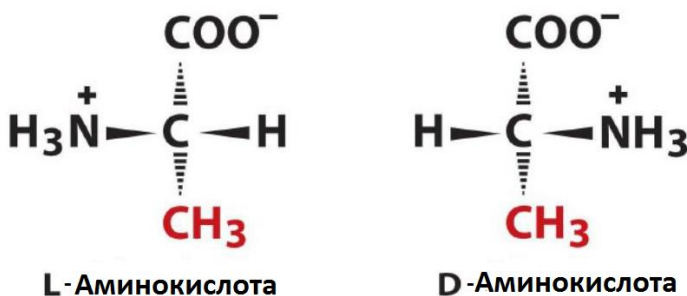


Рисунок 4.1 – Оптические изомеры аминокислот

Большинство аминокислот хорошо растворяются в воде. Растворимость аминокислот зависит от химической природой их радикалов.

В водных растворах аминокислоты ионизированы. В зависимости от значения рН среды аминокислоты могут находиться в виде катионов, анионов или цвиттер-ионов (рис. 4.2).

В кислой среде $-\text{NH}_2$ -группа присоединяет H^+ и превращается в $-\text{NH}_3^+$, вследствие чего аминокислоты приобретают положительный заряд.

В щелочной среде аминокислоты находятся в виде анионов, что обусловлено диссоциацией карбоксильной группы.

При физиологических значениях рН аминокислоты находятся в форме биполярных ионов – цвиттер-ионов, не имеющих заряда.

Значение рН, при котором суммарный заряд молекулы равен нулю называют **изоэлектрической точкой (рI)**.

Значение рI для каждой аминокислоты индивидуально. Например, для аланина рI=6, для аргинина рI=10,8.

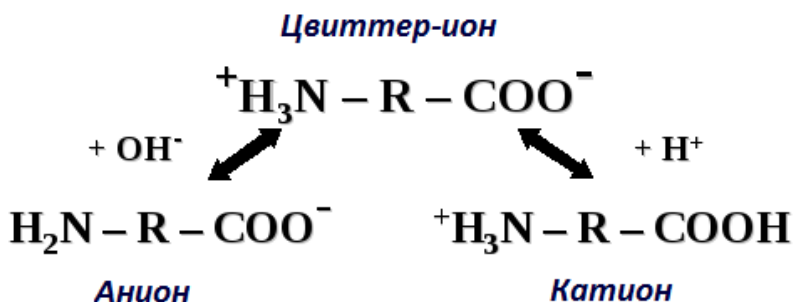
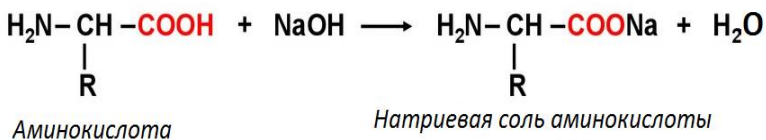


Рисунок 4.2 – Формы аминокислот

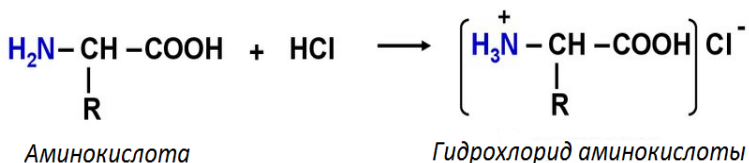
При $\text{pH} = \text{pI}$ аминокислоты находятся в изоэлектрическом состоянии, они не могут перемещаться в электрическом поле.

Аминокислоты проявляют амфотерность (кислотно-основные свойства) – способность взаимодействовать с кислотами и щелочами.

Кислотные свойства аминокислот обусловлены наличием в их составе карбоксильной группы:



Основные свойства аминокислот обусловлены наличием аминогруппы:



Благодаря амфотерным свойствам аминокислот белки буферная система поддерживает постоянное значение рН крови.

Наиболее характерными **физико-химическими свойствами белков** являются:

- растворимость;
- высокая вязкость растворов;
- способность к набуханию;
- оптическая активность;
- способность к поглощению УФ-лучей при 280 нм;
- подвижность в электрическом поле;
- амфотерность;
- денатурация.

Растворимость белков зависит от наличия заряда в их молекулах. Заряд белков определяется их аминокислотным составом и значением рН среды.

Положительный заряд имеют белки, в составе которых преобладают основные аминокислоты (арг, гис, лиз). Высокое содержание кислотных аминокислот (глу, асп) в составе белков обуславливает их отрицательный заряд.

Процесс растворения белков в воде происходит за счет формирования гидратной оболочки вокруг их молекул. Молекулы воды являются диполями, поскольку имеют в своем составе H^+OH^- . При наличии отрицательного заряда белка диполи воды притягиваются к его молекуле противоположно заряженными группами (рис.4.3). Чем больше заряд белка, тем сильнее удерживается гидратная оболочка.

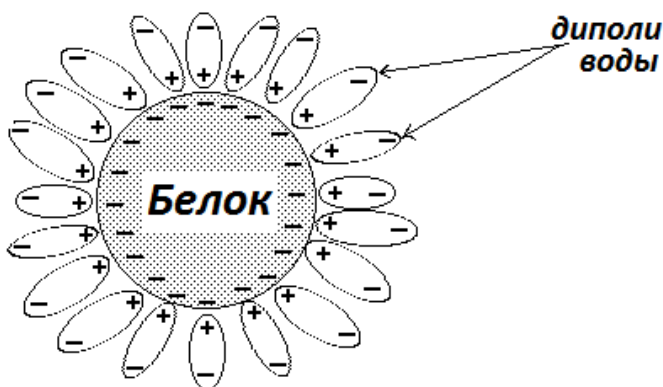


Рисунок 4.3 - Формирование гидратной оболочки вокруг молекулы белка

При $\text{pH} = \text{pI}$ белки не растворяются в воде, поскольку суммарный заряд их молекул равен нулю.

Молекулы белков, имеющие заряд, подвижны в электрическом поле. Это свойство лежит в основе метода электрофореза, с помощью которого осуществляют фракционирование белков.

Белки проявляют амфотерные химические свойства благодаря наличию свободных amino- и карбоксильных групп.

При действии на белки повреждающих факторов физической или химической природы происходит их денатурация.

Денатурация белков – процесс разрушения пространственной структуры белков (II, III, IV). Первичная структура белков при денатурации сохраняется (рис. 4.4).

Денатурированные белки не могут выполнять свои биологические функции.

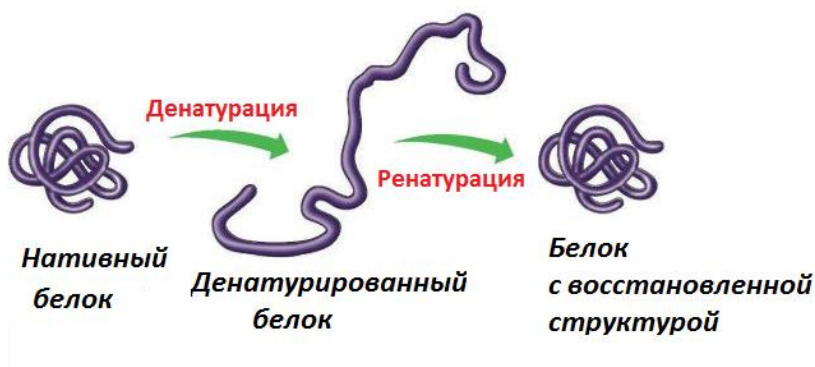


Рисунок 4.4 – Денатурация белков

При денатурации белков разрушаются химические связи, стабилизирующие пространственную конформацию белков: ионные, дисульфидные, водородные связи, гидрофобные взаимодействия [3].

Факторы денатурации:

- физические: температура 60-80 °С, ионизирующее и ультрафиолетовое облучение;
- химические: концентрированные кислоты или щелочи, органические растворители, детергенты, ионы тяжелых металлов (Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} и др.).

Различают необратимую и обратимую денатурацию белков. В случае обратимой денатурации возможен процесс **ренатурации**, при котором белок возобновляет свою утраченную пространственную структуру.

5. Классификация белков

В зависимости от химического строения белки разделяют на простые и сложные.

Простые белки состоят только из аминокислот.

В состав сложных белков, кроме аминокислот, входит небелковый компонент – **простетическая группа**.

5.1. Простые белки

Простые белки разделяют на **6 классов**: альбумины, глобулины, гистоны, протамины, проламины, глютелины.

Альбумины – главные транспортные белки крови. Альбумины осуществляют транспорт высших жирных кислот, билирубина, стероидных гормонов, лекарственных препаратов и др.

Альбумины очень хорошо растворяются в воде.

В составе альбуминов содержится большое количество глутаминовой и аспарагиновой кислот, поэтому данные белки имеют отрицательный заряд. Наличие отрицательного заряда альбуминов обеспечивает связывание с ними Na^+ и Ca^{2+} .

Альбумины играют важную роль в поддержании онкотического давления крови. При снижении концентрации альбуминов в крови возникают отеки.

Синтез альбуминов крови происходит в печени.

Глобулины – белки крови, которые выполняют транспортную и защитную роль. Методом электрофореза глобулины разделяют на 4 фракции: α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулины.

Фракции α_1 - и α_2 -глобулинов содержат ингибиторы протеаз (α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулин), защищающие белки крови и межклеточного матрикса от преждевременного разрушения.

В составе фракции β -глобулинов присутствуют транспортные белки:

- трансферрин - транспорт Fe^{2+} ;
- гемопексин – транспорт гема;
- стероид-связывающий β -глобулин – транспорт половых гормонов.

К β -глобулинам относится фибриноген – белок свертывающей системы крови.

γ -Глобулины – антитела или иммуноглобулины (Ig), обеспечивающие иммунную защиту организма.

Выделяют 5 основных типов иммуноглобулинов: Ig A, IgG, IgM, IgD, IgE.

Гистоны – белки с высоким содержанием основных аминокислот: аргинина и лизина. Благодаря наличию положительного заряда гистоны хорошо растворяются в воде.

Основной биологической ролью гистонов является участие в формировании третичной структуры ДНК и регуляции экспрессии генов. Гистоны в комплексе с ДНК образуют ядерный хроматин.

Фосфатные группы ДНК имеют отрицательный заряд, а молекулы гистонов – положительный. Между ДНК и гистонами возникают взаимодействия по типу ионных химических связей.

В зависимости от соотношения аргинина и лизина в составе молекулы выделяют 5 фракций гистонов: H_1 , $\text{H}_{2\text{A}}$, $\text{H}_{2\text{B}}$, H_3 и H_4 . С помощью гистонов осуществляется первый этап суперспирализации ДНК – формирование нуклеосомы: по 2 молекулы гистонов $\text{H}_{2\text{A}}$, $\text{H}_{2\text{B}}$, H_3 и H_4 объединяются в октамер, вокруг которого закручивается

ДНК (рис. 5.1). Гистон H_1 связывается с ДНК в линкерных участках – участках ДНК между нуклеосомами.

Суперспирализация позволяет упаковывать длинные молекулы ДНК в маленькие объемы.

Известно, что максимальная длина молекулы ДНК может достигать 8 см, а размер ядра клетки составляет 5 нм.

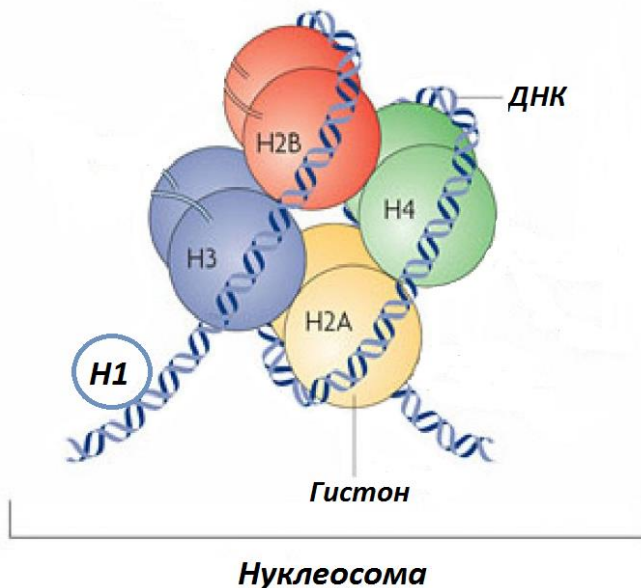


Рисунок 5.1 – Нуклеосома

Протамины – белки, сходные по структуре с гистонами. Содержание основных аминокислот в протаминах достигает 80 % [1].

Протамины в комплексе с ДНК образуют хроматин в ядрах сперматозоидов, замещая в нем гистоны.

Хроматин с участием протаминов неактивен – в ядре сперматозоидов невозможен процесс транскрипции.

Глютелины и проламины – растительные белки, имеющие пищевую ценность. Эти белки не растворяются в воде.

В составе глютелинов содержится большое количество глутаминовой кислоты.

Примеры глютелинов:

- глютенин – белок пшеницы;
- оризенин – белок риса.

В составе проламинов содержится большое количество пролина.

Примеры проламинов:

- зеин – белок кукурузы;
- авенин – белок овса;
- глиадин – белок пшеницы;
- гордеин – белок ячменя.

Характерной особенностью проламинов является их растворимость в 60-80 % этаноле.

Глютелины и проламины образуют клейковину злаков – глютен (рис.5.2).



Рисунок 5.2 – Структурные компоненты глютена

Около 1% населения Земли имеет наследственную непереносимость глютена - *целиакию*. Таким людям необходимо полностью исключить глютен из рациона, поскольку данный белок распознается организмом как чужеродный.

5.2. Сложные белки

В зависимости от химического строения протетической группы сложные белки разделяют на **6 классов**: хромопротеины, липопротеины, гликопротеины, нуклеопротеины, фосфопротеины, металлопротеины.

Хромопротеины (chroma – цвет) – сложные белки, протетическая группа которых имеет окраску.

Выделяют 2 подкласса хромопротеинов: гемопроотеины и флавопротеины.

Гемопроотеины – белки, протетической группой которых является гем (рис.5.3).

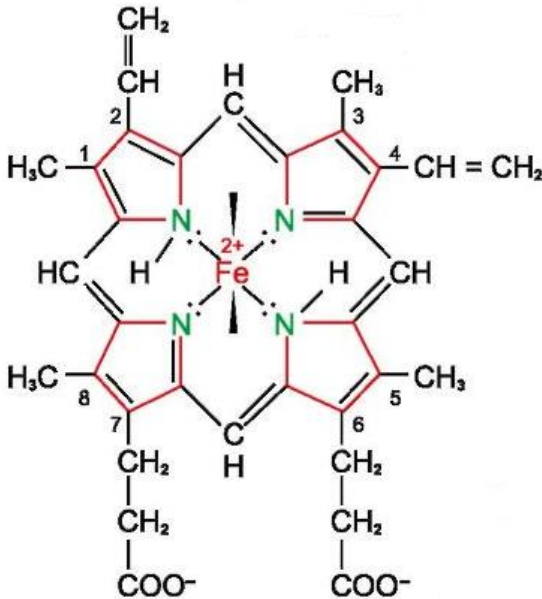
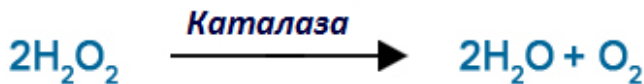


Рисунок 5.3 – Структурная формула гема

К гемопроотеинам относятся гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза и др.

Каталаза – фермент, который катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород:



Каталаза защищает клетки от повреждающего действия перекиси водорода.

Цитохромы – гемопротеины, участвующие в транспорте электронов.

На внутренней мембране митохондрий локализованы цитохромы a, a₃, b, c, c₁ – белки, участвующие в процессе тканевого дыхания.

В мембранах эндоплазматического ретикулама находится цитохром P450 – фермент, катализирующий реакции биотрансформации стероидов и ксенобиотиков.

Цитохромы способны транспортировать электроны благодаря наличию в их молекулах атома металла с переменной валентностью: $Fe^{3+} + e \rightarrow Fe^{2+}$.

Миоглобин – белок, депонирующий кислород в мышечной ткани. Первичная структура миоглобина скелетных мышц и миоглобина миокарда различна. Этот факт используют при диагностике инфаркта миокарда.

Гемоглобин – белок крови, осуществляющий транспорт кислорода и углекислого газа.

Гемоглобиновая буферная система поддерживает постоянное значение pH крови.

В зависимости от строения молекулы выделяют 3 разновидности гемоглобина (Hb):

- HbA₁ - 2α2β (96 %);
- HbA₂ - 2α2δ (2,5 %);
- HbF - 2α2γ (1,5 %).

HbF – фетальный гемоглобин, содержится у плода в период внутриутробного развития. У новорожденных содержание HbF в крови составляет 80 %. В течение первого года жизни ребенка происходит замена HbF на HbA₁. Нарушение данного процесса приводит к анемии.

При связывании с различными молекулами гемоглобин образует такие соединения:

- *оксигемоглобин (HbO₂)* – соединение гемоглобина и кислорода;

- *карбгемоглобин (HbCO₂)* – соединение гемоглобина и углекислого газа;

- *карбоксигемоглобин (HbCO)* – соединение гемоглобина и угарного газа. Известно, что угарный газ связывается с гемоглобином в 200 раз активнее, чем кислород [2]. Образование карбоксигемоглобина нарушает транспорт кислорода к тканям, вследствие чего развивается гипоксия, которая может привести к смерти.

При сахарном диабете в крови повышается концентрация *гликированного гемоглобина HbA_{1c}* - гемоглобина, связанного с глюкозой. В норме содержание HbA_{1c} в крови не превышает 6,5 % от общего количества гемоглобина. Гликированный гемоглобин отражает концентрацию глюкозы в крови за прошедшие 3 месяца.

При отравлении нитратами, оксидами азота, нитробензолом, анилиновыми красителями в организме образуется *метгемоглобин (HbOH)* – гемоглобин, в составе которого атом железа трехвалентный (Fe³⁺ - окисленный). Метгемоглобин не способен переносить кислород. Увеличение содержания метгемоглобина в крови свыше 70 % от общего уровня гемоглобина приводит к смерти.

Известно более 100 мутантных видов гемоглобина.

Наиболее распространённой наследственной гемоглобинопатией является серповидноклеточная анемия. При данном заболевании образуется *HbS*, в β-цепи которого глутаминовая кислота заменяется на валин

(6 Глу → Вал). HbS обладает пониженной способностью связывать кислород.

Таким образом, замена одной аминокислоты в составе полипептидной цепи белка приводит к изменению его свойств.

Флавопротеины – белки, простетической группой которых являются производные изоаллоксазина – ФАД или ФМН. Флавопротеины имеют желтую окраску.

Высокое содержание флавопротеинов находится в митохондриях, где они участвуют в реакциях биологического окисления и тканевого дыхания.

Липопротеины – сложные белки, простетической группой которых являются липиды. Липопротеины выполняют структурную функцию, поскольку входят в состав клеточных мембран. В крови липопротеины осуществляют транспорт липидов.

Гликопротеины – сложные белки, простетической группой которых являются углеводы и их производные. Гликопротеины входят в состав плазматической мембраны, их углеводные фрагменты формируют гликокаликс. Гликопротеины выполняют рецепторную роль, а также обеспечивают межклеточные взаимодействия.

В пищеварительной системе находятся слизистые белки – муцины, которые защищают стенки органов пищеварения от действия протеолитических ферментов.

В слюне содержится лизоцим – гликопротеин, обладающий антибактериальным действием.

Большое количество гликопротеинов входит в состав межклеточного вещества соединительной ткани.

Нуклеопротеины – сложные белки, простетической группой которых являются нуклеиновые кислоты. В качестве белкового компонента нуклеопротеины содержат гистоны или протамины.

Нуклеопроотеины, в состав которых входит РНК, называют *рибонуклеопроотеинами*.

Нуклеопроотеины, в состав которых входит ДНК, называют *дезоксирибонуклеопроотеинами*.

Наибольшее содержание нуклеопроотеинов находится в ядре клетки. Рибонуклеопроотеины являются структурными компонентами рибосом – органелл клетки, осуществляющих биосинтез белка.

Фосфопротеины – сложные белки, простетической группой которых является остаток фосфорной кислоты.

Примеры фосфопротеинов:

- пепсин – фермент желудочного сока;
- казеин – белок молока;
- овальбумин – фосфопротеин яичного белка и др.

Металлопротеины – сложные белки, содержащие в качестве простетической группы катионы металлов.

Большинство металлопротеинов выполняет ферментативную роль (табл. 5.1).

Таблица 5.1 - Примеры металлопротеинов

<i>Ион металла</i>	<i>Металлопротеин</i>
Mo^{2+}	Ксантинооксидаза
Se^{2+}	Глутатионпероксидаза
Mg^{2+}	Гексокиназа ДНК-полимераза
Cu^{2+}	Цитохромоксидаза
Fe^{2+}	Трансферрин Ферритин
Zn^{2+}	Карбоангидраза Лактатдегидрогеназа Щелочная фосфатаза Алкогольдегидрогеназа

6. Природные пептиды

Пептиды – органические вещества, молекулы которых содержат от 2 до 50 аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями.

Пептиды, в состав которых входит от 2 до 10 аминокислот, называют олигопептидами. Полипептиды содержат менее 50 аминокислотных остатков.

В зависимости от биологического действия пептиды разделяют на следующие группы:

- пептиды – гормоны;
- пептиды – регуляторы пищеварения;
- пептиды – регуляторы тонуса сосудов;
- нейропептиды;
- глутатион.

Пептиды-гормоны регулируют процессы метаболизма и физиологические функции.

Пептидную природу имеют такие гормоны: глюкагон, кортикотропин, окситоцин, вазопрессин, гормон роста, натрийуретический гормон предсердий и др.

Пептиды- регуляторы пищеварения образуются в желудочно-кишечном тракте. К ним относятся: гастрин (стимулирует секрецию соляной кислоты в желудке), секретин (регулирует секреторную деятельность поджелудочной железы), холецистокинин (стимулирует поступление желчи в кишечник) и др.

Пептиды – регуляторы тонуса сосудов: ангиотензин (сужает сосуды, повышает артериальное давление), брадикинин и каллидин (расширяют сосуды, снижают артериальное давление).

Нейропептиды синтезируются в мозге и участвуют в сигнальных процессах и регуляции. Нейропептиды контролируют сон, влияют на память, обучение,

поведение. Нейропептиды энкефалины и эндорфины имеют обезболивающее действие, они связываются с опиоидными рецепторами. Максимальный выброс эндорфинов в кровь происходит при травмах и обеспечивает анальгезирующий эффект при болевом шоке.

Эндорфины называют «гормонами счастья», поскольку они влияют на эмоции человека. Умеренные физические нагрузки стимулируют образование эндорфинов.

Глутатион - γ -глутамил-цистеинил-глицин – обладает антиоксидантным действием, участвует в реакциях биотрансформации ксенобиотиков, восстановлении метгемоглобина крови.

Благодаря наличию $-SH$ -группы цистеина (рис. 6.1) глутатион существует в двух формах: окисленной (GSSG) и восстановленной (GSH). Биологической активностью обладает только восстановленный глутатион.

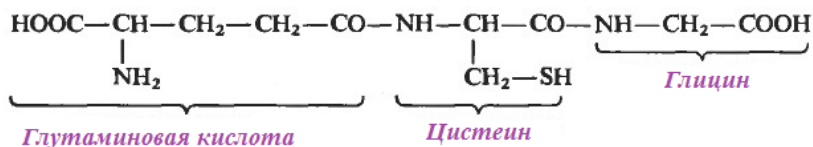
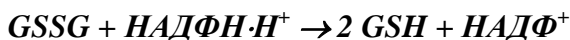


Рисунок 6.1 – Структурная формула глутатиона

Восстановление окисленного глутатиона обеспечивает глутатионредуктаза, коферментом которой является НАДФН·Н⁺:



Таким образом, в организме человека присутствует многообразие пептидов, регулирующих физиологические и биохимические процессы.

7. Методы выделения и фракционирования белков

Выделение белков из тканей, клеток или биологических жидкостей имеет различные цели: диагностическую, исследовательскую, производственную (получение гормонов, ферментов, факторов роста, иммуноглобулинов, интерферонов и др.).

Выделение белков из клеточных органелл включает такие этапы:

- разрушение тканей и клеток;
- получение субклеточных фракций (ядер, митохондрий, микросом) методом дифференциального центрифугирования;
- получение раствора белков путем обработки биоструктур детергентами;
- осаждение белков.

Полученную смесь белков фракционируют с помощью таких методов:

- высаливание;
- диализ;
- гель-фильтрация;
- электрофорез;
- хроматография.

Высаливание – осаждение белков при действии нейтральных солей: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 и др.

Осаждение белков при высаливании происходит вследствие нейтрализации их зарядов и разрушения гидратной оболочки (рис. 7.1). Катионы и анионы нейтральных солей (Na^+ , Cl^-) присоединяются к заряженным группам молекулы белка ($-\text{COO}^-$ и $-\text{NH}_3^+$), в результате чего происходит нейтрализация заряда

Высаливание приводит к обратимой денатурации белков.

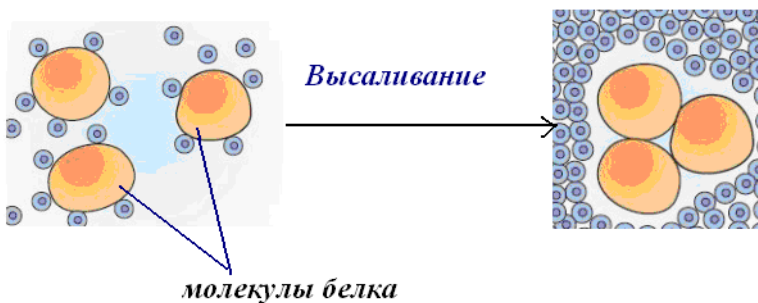


Рисунок 7.1 – Осаждение белков при высаливании

Методом высаливания можно разделить альбумины и глобулины крови: при 50% насыщении раствора нейтральными солями альбумины находятся в растворенном состоянии, а глобулины осаждаются (рис.7.2).

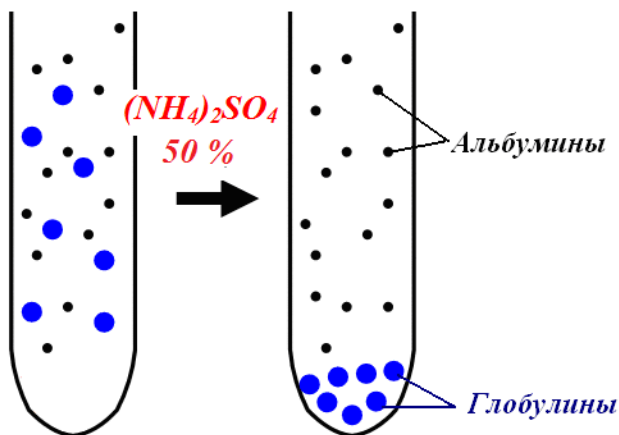


Рисунок 7.2 – Разделение альбуминов и глобулинов крови методом высаливания

Диализ – метод разделения смеси белков и низкомолекулярных веществ в зависимости от размера молекул и способности проходить через полупроницаемые мембраны.

При диализе смесь белков помещают в мешок из полупроницаемой мембраны: мелкие молекулы проходят через мембрану и попадают в раствор, а крупные белки остаются в мешочке (рис.7.3). С помощью диализа белки очищают от низкомолекулярных примесей.

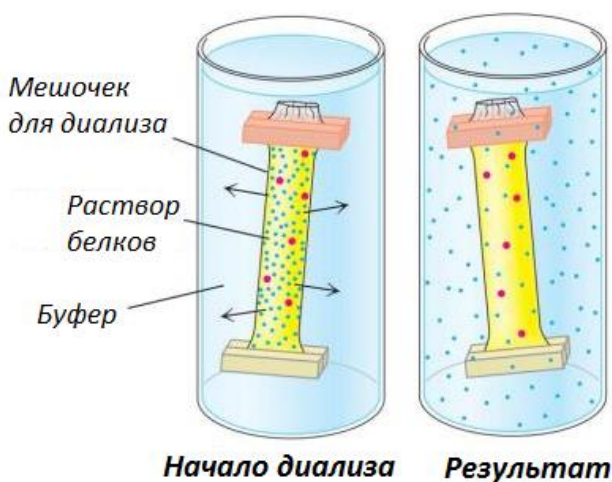


Рисунок 7.3 – Диализ белков

Гель-фильтрация (гель-хроматография) позволяет фракционировать белки в зависимости от величины и формы их молекул.

Смесь белков помещают в хроматографическую колонку, заполненную сферическими частицами полимерного геля (рис. 7.4). Частицы геля имеют поры, через которые могут проходить малые молекулы белков.

Скорость продвижения малых белков по колонке низкая, поскольку они задерживаются в частицах геля.

Крупные молекулы белков не способны проникать в частицы геля, поэтому они первыми проходят через хроматографическую колонку. На выходе колонки собирают отдельные фракции белков.

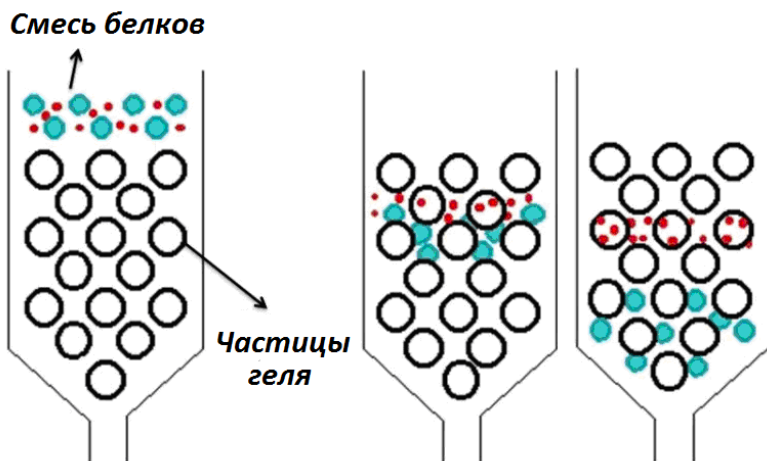


Рисунок 7.4 – Гель-фильтрация белков

Электрофорез является наиболее распространённым методом фракционирования белков крови. Количественное определение белков крови имеет важное диагностическое значение, поскольку соотношение белковых фракций крови изменяется при различных патологиях.

Электрофорез белков проводят на различных носителях: бумаге, пленках, геле.

Методом электрофореза на бумаге и пленках ацетата целлюлозы белки крови разделяют на 5 фракций: альбумины, α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулины (рис.7.5).

Методом электрофореза в полиакриламидном геле выделяют более 20 фракций белков крови [4].

Метод электрофореза основан на способности белков перемещаться под действием электрического поля.

Электрофоретическая подвижность белков определяется величиной их заряда и размером молекул.

Альбумины крови характеризуются наибольшей электрофоретической подвижностью, поскольку имеют отрицательный заряд и небольшие размеры молекул. Наиболее крупные γ -глобулины имеют наименьшую электрофоретическую подвижность.

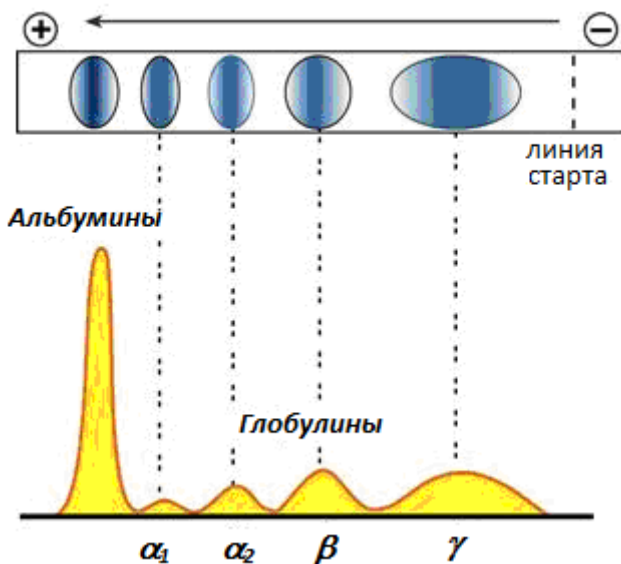


Рисунок 7.5 – Электрофореграмма белков крови

Хроматография используется для фракционирования белков, различных по заряду (ионообменная хроматография) или способности связываться со специфическими лигандами (аффинная хроматография).

В случае ионообменной хроматографии смесь белков помещают в хроматографическую колонку, заполненную веществом, несущим ионообменные группы.

Одноименно заряженные белки первыми проходят через колонку. Противоположные по заряду белки связываются с веществом колонки, поэтому скорость их продвижения очень низкая.

При аффинной хроматографии колонка заполнена веществом, содержащим лиганды для связывания белков. В аффинной хроматографии используют специфические взаимодействия белковых молекул: фермент-субстрат, антиген-антитело, гормон-рецептор.

В клинической биохимии широко применяют **цветные реакции на белки и аминокислоты** (табл. 7.1). Данные реакции используют с целью идентификации свободных аминокислот, а также определения аминокислотного состава белков и пептидов.

Таблица 7.1 - Цветные реакции на белки и аминокислоты

Название реакции	Определяемая химическая группа (аминокислота)	Окраска
Биуретовая	Пептидная -CO-NH-	Фиолетовая
Нингидриновая	α -NH ₂ -группа	Сине-фиолетовая
Нитропруссидная	-S- (мет, цис)	Красно-фиолетовая
Ксантопротеиновая	Бензольное ядро (фен, тир, трп)	Желтая
Адамкевича	Индольный цикл (трп)	Красно-фиолетовая
Эрлиха	Индольный цикл (трп)	Красно-фиолетовая
Фоля	--SH (цис)	Черная
Сакагучи	Гуанидиновая (арг)	Красная
Миллона	-C ₆ H ₅ -OH (тир)	Красная

Список использованной литературы

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учебник – М.: Медицина, 2004 – 704 с.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: У 2 кн. — Кн. 2: Біологічна хімія / За ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. — К.: Медицина, 2017. — 544 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. Е.С. Северина, А.Я. Николаева – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.
4. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: підручник – Тернопіль: Укрмедкнига, 2017. – 732 с.
5. Молекулярна біологія : підручник / А.В. Сиволоб – К.: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. - 384 с.
6. Нельсон Д., М. Кохс Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ. — М.: Лаборатория знаний, 2017. — 694 с.
7. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В., Силаева С.А. Биологическая химия. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. — 364 с.
8. Солвей Дж. Г. Наглядная медицинская биохимия: учеб. пособие / Пер. с англ. А.П. Вабищевич, О.Г. Терещенко; Под ред. Е. С. Северина –М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2018. – 164 с.
9. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. – М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. – 446 с.