

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БРЕСТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ А.С. ПУШКИНА»

Кафедра химии

АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ

Авторы:

АРТЕМУК Елена Георгиевна
АВETИCOBA Юлиa Игоревна

Брест 2010

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Белки и их важнейшие функции в организме.....	3
2.	Методы исследования белков.....	5
3.	Аминокислоты – структурные элементы белковых молекул.....	10
4.	Физико-химические свойства аминокислот.....	14
5.	Строение и уровни структурной организации белков.....	16
6.	Физико-химические свойства белков.....	26
7.	Номенклатура и классификация белков.....	29
8.	Вопросы и задания.....	32
9.	Проверьте себя.....	33
10.	Ответы к разделу «Проверьте себя».....	34

1. БЕЛКИ И ИХ ВАЖНЕЙШИЕ ФУНКЦИИ В ОРГАНИЗМЕ

Белки (протеины) (от греч. *протос* – первый, главный) – это высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, состоящие из аминокислот, связанных между собой пептидными связями.

Для живых организмов характерно большое разнообразие белков, которые составляют основу структуры организма и обеспечивают множество его функций. Полагают, что в природе существует примерно 10^{10} – 10^{12} различных белков, что и объясняет большое многообразие живых организмов. В одноклеточных организмах насчитывается около 3 тыс. различных белков, а в организме человека – около 5 млн.

Функции белков:

- **Строительная (структурная) функция.** Белки образуют основу протоплазмы любой живой клетки, в комплексе с липидами они являются основным структурным материалом всех клеточных мембран, всех органелл.

- **Каталитическая функция.** Все ферменты являются белками, простыми или сложными. Таким образом, практически все биохимические реакции катализируются белками-ферментами.

- **Двигательная функция.** Любые формы движения в живой природе (работа мышц, движение ресничек и жгутиков у простейших, движение протоплазмы в клетке и т. д.) осуществляются белковыми структурами клеток.

- **Транспортная функция.** Белок крови гемоглобин транспортирует кислород от легких к тканям и органам. Перенос жирных кислот по организму происходит с участием другого белка крови – альбумина. Есть белки крови, транспортирующие липиды, железо, стероидные гормоны. Перенос многих веществ через клеточные мембраны осуществляют особые белки-переносчики.

- **Защитная функция.** Важнейшие факторы иммунитета – антитела – являются белками. Процесс свертывания крови, защищающий организм от ее чрезмерной потери, основан на превращениях белка крови – фибриногена. Эти превращения осуществляются с участием белка тромбина и большого числа других факторов свертывания, тоже являющихся белками. Внутренние стенки пищевода, желудка выстланы защитным слоем слизистых белков – муцинов. Токсины многих видов организмов, защищающих их в борьбе за существование, также являются белками (змеиные яды, бактериальные токсины). Основу кожи, предохраняющей тело животных от многих внешних воздействий, составляет белок коллаген. Кератин – белок волосяного защитного покрова.

- **Гормональная функция.** Ряд гормонов по своему строению относится к белкам (инсулин) или пептидам (адренокортикотропный гормон, окситоцин, вазопрессин и др.).

- **Запасная функция.** Белки способны образовывать запасные отложения (овальбумин яиц, казеин молока, многие белки семян растений).

- **Опорная функция.** Сухожилия, суставные сочленения, кости скелета, копыта образованы в значительной мере белками.

- **Рецепторная функция.** Многие белки (особенно гликопротеины, лектины) осуществляют важнейшую функцию избирательного узнавания и присоединения отдельных веществ.

Перечисленные функции белков не исчерпывают все их многообразие. Так, *регуляторное* действие белков не ограничивается только каталитическим и гормональным. Известна очень важная группа белков-регуляторов активности генома. Некоторые полипептиды играют роль ингибиторов ферментов и таким путем регулируют их действие.

Белки имеют и большое *народнохозяйственное* значение. Оно определяется, прежде всего, тем, что белки представляют собой важнейшие компоненты пищи человека и сельскохозяйственных животных. Массовые эпидемии, небольшая средняя продолжительность жизни населения некоторых бывших колониальных стран связаны нередко с хроническим белковым голоданием (особенно недостатком животных белков). От содержания белков в корме существенно зависит продуктивность сельскохозяйственных животных. Технология многих производств основана на переработке белков, изменении их свойств: в кожевенной промышленности, при выделке мехов, натурального шёлка. В хлебопекарном производстве, важнейшую роль играют свойства белков муки.

2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ

Впервые белок (клейковина) был выделен Я. Беккари из пшеничной муки в 1728 г. Эту дату принято считать годом зарождения химии белка. В 1762 г. началась работа по изучению белка молока – казеина (А. Халлер), затем с 1789 г. – белков крови (А. Фуркруа). За два с половиной столетия из природных источников получены сотни различных белков и изучены их свойства.

Белки обладают особой чувствительностью к действию большинства химических реагентов (кислот, щелочей, органических растворителей и др.) и разрушаются от обычных процедур, применяемых при очистке веществ (нагревание, перегонка, возгонка, экстракция и т. п.). Возможен также автолиз (самопереваривание) выделяемых белков. Белок очень легко теряет свои природные, присущие ему в естественном состоянии, *нативные* свойства (растворимость, биологическую активность и т. п.) и переходит в денатурированное состояние. Чтобы избежать денатурации белка в процессе его выделения, все операции проводят в мягких условиях: при низкой (не выше $+5^{\circ}\text{C}$) температуре, избегая действия резких химических реагентов.

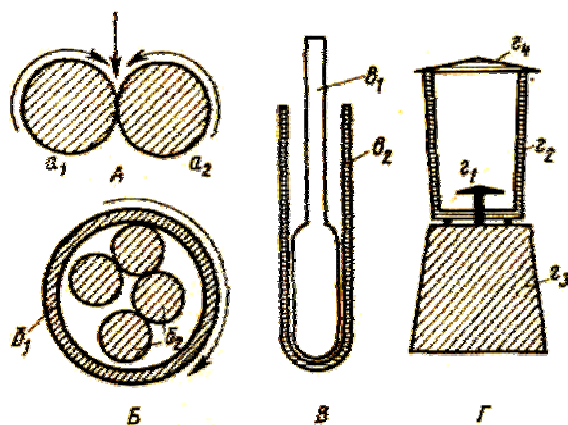


Рисунок 1 – Устройство приборов для измельчения биологического материала при выделении белков:

А – валковая мельница (a_1 и a_2 – валки, вращающиеся навстречу друг другу; прямая стрелка указывает направление поступления измельчаемого материала); Б – шаровая мельница (b_1 – корпус, b_2 – шары; стрелка указывает направление вращения корпуса); В – ручной гомогенизатор (v_1 – пестик, v_2 – корпус); Г – механический гомогенизатор ($г_1$ – нож, $г_2$ – камера для измельчения материала, $г_3$ – корпус с электродвигателем и пусковым устройством, $г_4$ – крышка).

1. Измельчение материала.

Для успешного выделения белка из биологического объекта необходимо тончайшее измельчение тканей вплоть до разрушения клеточных стенок. Для этого используют (рисунок 1) специальные валковые (А) или шаровые (Б) мельницы, в которых исходный материал многократно продавливается между тесно сближенными валками или расплющивается непрерывно сталкивающимися шарами.

С этой же целью широко применяют гомогенизаторы (В и Г), в которых материал либо измельчается острыми ножами, вращающимися с огромной скоростью (12 000 об/мин и более), либо растирается между пришлифованными стенками стеклянных пробирки и пестика, либо в замороженном состоянии продавливается через фильтры специального пресса.

Хорошие результаты даёт метод разрушения клеточных оболочек путём попеременного замораживания и оттаивания ткани. Роль «рабочего инструмен-

та» выполняют здесь кристаллики льда, разрывающие стенки клеток и освобождающие клеточное содержимое.

2. Извлечение белков (экстрагирование).

В качестве растворителей применяют воду, солевые растворы, водно-спиртовые растворы, слабые кислоты и щёлочи. Белки извлекают чаще всего солевыми растворами, взятыми в концентрации 8–10%. В результате экстракции получают смесь белков и других веществ.

Хорошие результаты даёт извлечение белков спирто-солевыми смесями. Металлопротеины, образующиеся при этом, обладают разной растворимостью в спирте, что позволяет извлекать индивидуальные белки при различной концентрации спирта. Весьма широко применяют для экстракции белков глицерин, предохраняющий их от денатурации.

Сказанное выше о выделении белков в основном относится к животным тканям. Выделение белков из растительного материала неизмеримо труднее: здесь сложнее разрушить стенку клеток, более вероятна денатурация белков за счёт их взаимодействия с дубильными веществами и т. п. Поэтому при выделении белков из вегетативных органов растений используют специфические приёмы: обработку тканей водно-эфирной смесью, резко повышающей проницаемость оболочки растительной клетки (метод Чибнелла), экстракцию белков смесью фенола, уксусной кислоты и воды (метод Синджа) и др.

3. Разделение (фракционирование).

После экстракции смеси белков из биологического материала проводят разделение (фракционирование) полученной смеси на индивидуальные белки, т.к. в состав растительных и животных тканей входит множество различных белков. Фракционирование белков ведут различными способами: солями, органическими растворителями, электрофоретически, хроматографически, методом молекулярных сит.

Метод фракционирования белков солевыми растворами основан на том, что каждый индивидуальный белок разделяемой смеси осаждается из неё при определённой концентрации той или иной соли, в то время как другие белки при данной концентрации соли остаются в растворе. Процесс осаждения белка из раствора под действием соли называется *высаливанием*. При дальнейшем насыщении солью выпадает следующий индивидуальный белок и, таким образом, последовательно наращивая содержание соли в реакционной среде, можно один за другим выделить относительно чистые индивидуальные белки.

Из **органических растворителей** для фракционирования белков широко применяют метиловый и этиловый спирты (во избежание денатурации белка процесс ведут при температуре не выше +5°C). Этот метод нашёл широкое применение при выработке заменителей крови, так как позволяет извлекать из неё необходимые ингредиенты и длительно сохранять их. При фракционировании белков иногда сочетают *высаливание* и *осаждение спиртом*, применяя спирто-солевые смеси.

Метод электрофореза, используемый для фракционирования белков, основан на способности различных белков перемещаться под действием электрического поля с неодинаковой скоростью (а иногда и в противоположных направлениях) в растворе, на влажной фильтровальной бумаге или в другой твёрдой опорной среде. Напряжение при этом устанавливают от нескольких сотен до нескольких тысяч вольт, силу тока – в несколько десятков миллиампер. Скорость передвижения белковых молекул определённого вида к аноду или катоду является функцией величины электрического заряда, молекулярной массы и формы молекул, ионной силы, рН и состава буферного раствора, а также величины приложенных потенциалов. Сочетание перечисленных факторов всегда специфично для каждого индивидуального белка и естественно, что разные белки обладают различной электрофоретической подвижностью

Наибольшее распространение получил электрофорез в твёрдых поддерживающих средах: целлюлозе, ацетилцеллюлозе, геле агар-агара, крахмальном и полиакриламидном гелях.

Хроматографический метод разделения белковых смесей заключается в пропускании подлежащей фракционированию смеси белков через колонку, заполненную адсорбентом. В качестве адсорбента применяют производные целлюлозы и сефадекса, силикагель и др. носители. Принцип этого метода заключается в том, что на нерастворимом носителе закрепляют вещество, способное специфически связываться с выделяемым белком. Это вещество называют лигандом. Такой носитель (адсорбент) помещают в колонку и через неё пропускают смесь белков. С адсорбентом связывается только тот белок, который имеет сродство к специфическому лиганду – это метод аффинной хроматографии.

Для элюции адсорбированных белков с колонки используют солевые растворы, имеющие различные концентрации и значения рН. Если изменение концентрации солевого раствора осуществляется в процессе снятия белков с одной и той же колонки, такую элюцию называют градиентной. Элюат собирают небольшими порциями (по несколько миллилитров) в отдельные пробирки при помощи специальной установки – коллектора (сборщика) фракций. Таких проб в процессе фракционирования белков на колонке хроматографическим методом получают обычно несколько сотен. В результате проведения цветной реакции на белок или путём измерения поглощения каждого раствора в ультрафиолетовой области спектра устанавливают содержание белка в каждой пробе. По этим данным строят кривую, из рассмотрения которой становится ясным, сколько фракций белка содержится в элюате и в какой серии пробирок находится каждая фракция. Одноимённые пробы объединяют и из полученного раствора выделяют чистый белок.

Фракционирование белков **методом молекулярных сит** основано на различной скорости перемещения белковых молекул (в зависимости от молекулярной массы) через колонку, заполненную специальным материалом – сефадексом (производное синтетического полисахарида декстрана), который имеет определенные поры. Сефадекс не растворим в воде, но легко в ней набухает, образуя гель, поэтому этот метод называют методом гельфильтрации.

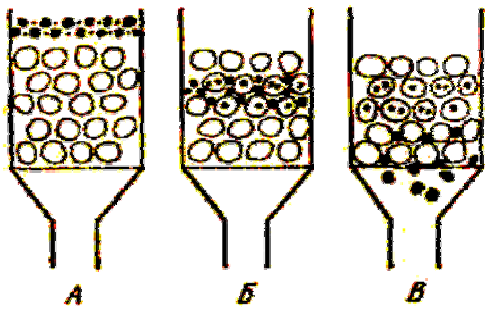


Рисунок 2 – Механизм разделения веществ по молекулярной массе на колонке с сефадексом:

А – колонка в начале работы. Светлыми кружками обозначены зерна сефадекса, темными точками – молекулы белков разной молекулярной массы; Б – по мере продвижения проывителя по колонке (сверху вниз) осуществляется перенос молекул белков, однако только меньшие молекулы белков проникают внутрь зерен сефадекса; В – мелкие молекулы белков резко отстают от крупных его молекул, задерживаясь в зернах сефадекса. Первыми из колонки выйдут большие молекулы.

Смесь белков пропускают через колонку, заполненную сефадексом. Большие белковые молекулы, не способные пройти через поры в гранулу сефадекса, быстро выносятся из колонки с раствором (рисунки 2). Мелкие молекулы белка, проникшие внутрь гранулы сефадекса, удерживаются некоторое время в грануле, а затем выходят из колонки со следующими порциями раствора (элюата). Таким образом, сначала вымываются белки, которые имеют большую молекулярную массу, а затем белки с меньшей молекулярной массой.

4. Очистка белков.

Белки, выделенные описанными выше способами, всегда содержат некоторое количество низкомолекулярных примесей, особенно ионов солей. Для полного освобождения от этих примесей белки подвергают дальнейшей очистке путем диализа, электродиализа, ультрафильтрации, кристаллизации, гель-фильтрации и т.д.

Диализом называется процесс разделения высокомолекулярных и низкомолекулярных веществ с помощью полупроницаемых мембран. Диализ широко используется для очистки белков от примесей низкомолекулярных соединений (соли, сахара и др.), которые легко проходят через поры полупроницаемых мембран. Белковые молекулы, обладая большими размерами, не способны проникать через искусственные или естественные мембраны (коллоиды, пергамент, целлофан и другие).

Прибор, в котором проводят диализ, называется *диализатором*.

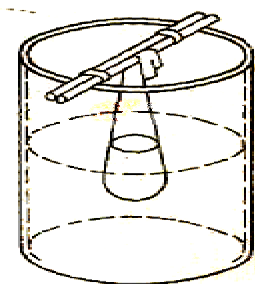


Рисунок 3 – Простейший диализатор

Простейший диализатор представляет собой мешочек из полупроницаемого материала, в который заливается диализуемая жидкость (рисунки 3). Мешочек опускается в сосуд с водой. Белок, помещенный в мешочек, остается в нем, а низкомолекулярные вещества в результате процесса диффузии проходят через мембрану во внешний раствор.

Необходимый градиент концентрации поддерживают путем смены воды во внешнем сосуде. Диализ можно ускорить более частой или непрерывной сменой воды, нагреванием (для растворов белков не выше 40°C), увеличением поверхности, через которую идет диализ, уменьшением слоя диализируемой жидкости.

Хорошие результаты дает очистка белков от низкомолекулярных примесей при помощи гельфльтрации. Зерна сефадекса достаточно долго удерживают низкомолекулярные вещества, и белковая фракция успевает за это время выйти из колонки в чистом виде. Фильтрацию через гель сефадекса широко используют для обессоливания белковых растворов.

3. АМИНОКИСЛОТЫ – СТРУКТУРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ

В построении молекул различных белков участвует более 20 аминокислот (таблица 1).

Аминокислота – это соединение, содержащее одновременно аминную и карбоксильную функциональные группы. Молекулы большинства природных аминокислот имеют общую формулу:

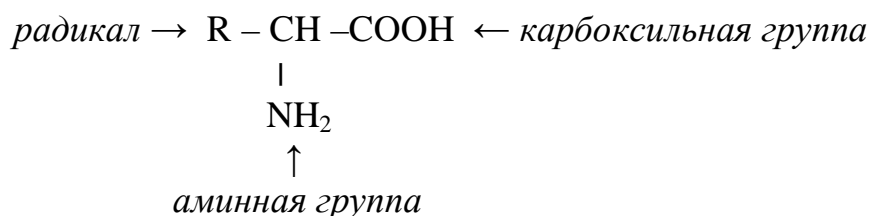
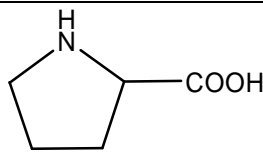


Таблица 1 – Аминокислоты, входящие в состав белков и их строение

Название		Строение
полное	сокращенное	
Глицин	<i>гли</i>	$ \begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $
Аланин	<i>ала</i>	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $
Валин	<i>вал</i>	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOH} \end{array} $
Лейцин	<i>лей</i>	$ \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{C} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{H}_2 \quad \text{COOH} \end{array} $
Изолейцин	<i>иле</i>	$ \begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOH} \end{array} $
Серин	<i>сер</i>	$ \begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $

Продолжение таблицы 1

Треонин	<i>тре</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{HO} \quad \text{COOH} \end{array}$
Цистеин	<i>цис</i>	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Метионин	<i>мет</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Гистидин	<i>гис</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{N} \quad \text{C}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H} \quad \text{COOH} \end{array}$
Пролин	<i>про</i>	
Фенилаланин	<i>фен</i>	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Тирозин	<i>тир</i>	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Триптофан	<i>три</i>	$\begin{array}{c} \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Аспарагиновая кислота	<i>асп</i>	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Глутаминовая кислота	<i>глу</i>	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{C}^{\text{H}_2}-\text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$

Продолжение таблицы 1

Аргинин	<i>арг</i>	$\begin{array}{ccccccc} \text{H}_2\text{N} & - & \text{C} & - & \text{NH} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{CH} & - & \text{NH}_2 \\ & & & & & & & & & & & & & & \\ & & \text{NH} & & & & & & & & & & \text{COOH} & & \end{array}$
Лизин	<i>лиз</i>	$\begin{array}{ccccccc} & & \text{H}_2 & & \text{H}_2 & & \text{H}_2 & & \text{H}_2 & & \text{CH} & - & \text{NH}_2 \\ & & & & & & & & & & & & & & \\ \text{H}_2\text{N} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{CH} & - & \text{NH}_2 \\ & & & & & & & & & & & & & & \\ & & & & & & & & & & \text{COOH} & & & & \end{array}$
Цистин		$\begin{array}{ccccccc} \text{H}_2\text{N} & - & \text{CH} & - & \text{COOH} & & \text{H}_2\text{N} & - & \text{CH} & - & \text{COOH} \\ & & & & & & & & & & & & & & \\ & & \text{CH}_2 & & & & & & \text{CH}_2 & & & & & & \\ & & & & & & & & & & & & & & \\ & & \text{S} & - & & & & & \text{S} & & & & & & \end{array}$

Все аминокислоты в зависимости *от характера боковых цепей* делят на:

– ациклические (алифатические) (в радикале атомы углерода соединены в цепь). Сюда относятся аминокислоты: метионин, валин, лейцин, изолейцин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота и др.);

– циклические (атомы радикала образуют замкнутые циклы). Они в свою очередь делятся на карбо- и гетероциклические. К карбоциклическим относятся аминокислоты, у которых циклы образованы только атомами углерода (тирозин, фенилаланин). К гетероциклическим относятся аминокислоты, у которых в состав циклов входят другие атомы (N, O, S) (триптофан, пролин, гистидин).

По числу аминных и карбоксильных групп аминокислоты делятся на:

– моноаминомонокарбоновые (содержат 1 аминную и 1 карбоксильную группу): глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин, цистеин, метионин, триптофан, тирозин, фенилаланин;

– диаминомонокарбоновые (содержат 2 аминных и 1 карбоксильную группу): лизин, аргинин;

– моноаминодикарбоновые (содержат 1 аминную и 2 карбоксильных группы): аспарагиновая и глутаминовая кислоты;

– диаминодикарбоновые (содержат 2 аминных и 2 карбоксильных группы): цистин.

По характеру заряженности боковых радикалов, их полярности аминокислоты классифицируются на:

– неполярные, гидрофобные (содержат углеводороды в качестве радикала): аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, пролин, фенилаланин, триптофан;

– полярные, но незаряженные (содержат в радикале гидроксильную (серин, треонин, тирозин), амидную (аспарагин и глутамин), сульфгидрильную (цистеин) группы или атом водорода в качестве радикала (глицин);

– полярные с отрицательным зарядом (содержат отрицательно заряженные R-группы): аспарагиновая и глутаминовая кислоты;

– полярные с положительным зарядом (содержат положительно заряженные R-группы): лизин, аргинин и гистидин.

По биологическому значению аминокислоты подразделяются на:

– заменимые (аминокислоты, которые могут синтезироваться в организме в достаточном количестве): глицин, аланин, серин, цистеин, тирозин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аспарагин, глутамин;

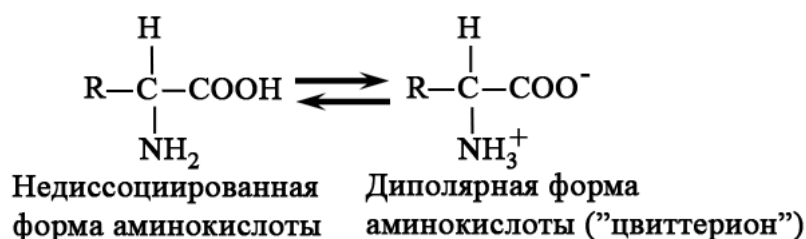
– незаменимые (не могут синтезироваться в организме и должны поступать с пищей), их 8: валин, лейцин, изолейцин, треонин, лизин, метионин, фенилаланин, триптофан;

– полузаменимые (синтезируются в организме, но в недостаточном количестве): аргинин и гистидин.

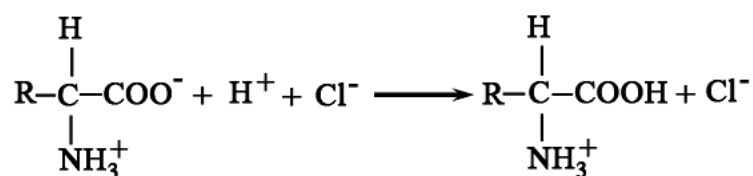
4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

Аминокислоты относятся к *амфотерным электролитам*: недиссоциированная форма аминокислоты в нейтральных водных растворах превращается в диполярную форму («*цвиттерион*»), которая может реагировать как с кислотами, так и с основаниями.

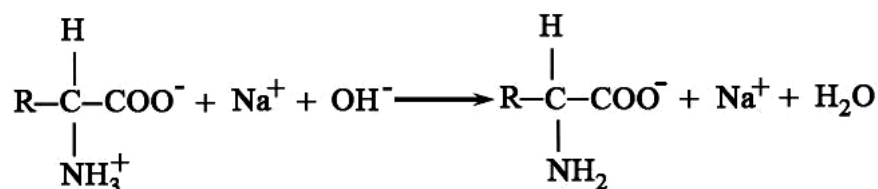
Образование диполярной формы аминокислоты в нейтральной среде:



Превращение диполярного иона в кислой среде:



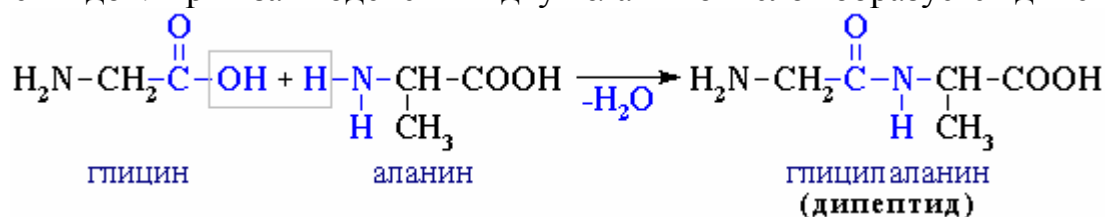
Превращение диполярного иона в щелочной среде:



Аминокислоты растворимы в воде. Растворы моноаминомонокарбоновых аминокислот имеют нейтральную реакцию, моноаминодикарбоновых – кислую реакцию, диаминомонокарбоновых – щелочную реакцию.

Свойства аминокислот зависят не только от числа аминных и карбоксильных групп, но также от радикала и входящих в него функциональных групп. На этих свойствах основаны качественные реакции для выявления отдельных аминокислот.

Межмолекулярное взаимодействие α -аминокислот приводит к образованию пептидов. При взаимодействии двух α -аминокислот образуется дипептид.

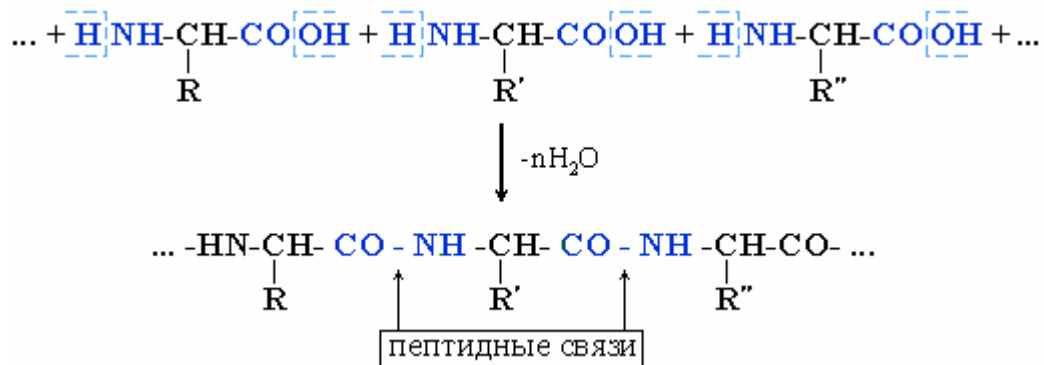


Межмолекулярная реакция с участием трех α -аминокислот приводит к

образованию трипептида и т.д.

Фрагменты молекул аминокислот, образующие пептидную цепь, называются аминокислотными остатками, а связь $-\text{CO}-\text{NH}-$ пептидной связью.

Важнейшие природные полимеры – белки – относятся к полипептидам, т.е. представляют собой продукт поликонденсации α -аминокислот:



5. СТРОЕНИЕ И УРОВНИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ

Полипептидное строение белков.

Полипептидная теория строения белковой молекулы впервые была предложена Э. Фишером (1902) на базе выдвинутых А. Я. Данилевским идей о роли –СО–NH-связей в строении белка. Согласно этой теории белковые молекулы представляют собой гигантские полипептиды, построенные из нескольких десятков, а иногда и сотен остатков, постоянно встречающихся в составе белков аминокислот.

О том, что белковые молекулы построены именно таким образом, свидетельствуют следующие факты:

1. В нативных белках удаётся обнаружить очень небольшое число свободных NH₂- и COOH-групп, так как концевые аминокислоты составляют ничтожную долю огромной полипептидной цепи белка.

2. При гидролизе белков идёт постепенное высвобождение NH₂- и COOH-групп в строгом соотношении 1:1, т. е. происходит распад пептидных –СО–NH-связей.

3. При взаимодействии биурета H₂N–СО–NH–СО–NH₂ с растворами щёлочи и медного купороса развивается сине-фиолетовое окрашивание (реакция на наличие –СО–NH-связей); все белки дают яркую биуретовую реакцию, т.е. в их молекулах действительно есть большое число пептидных связей.

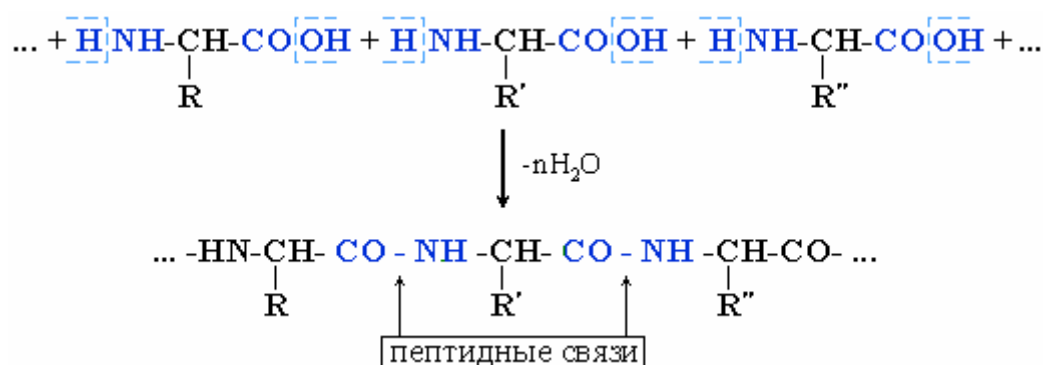
4. Полипептидная природа ряда белков доказана химическим синтезом.

5. При рентгеноструктурном анализе строения белков удаётся наблюдать непрерывную полипептидную цепь с характерным для исследуемого белка расположением в ней аминокислотных остатков.

6. Методы, используемые для определения чередования аминокислотных остатков в белках, однозначно свидетельствуют о последовательном (в ряде случаев – выборочном, селективном) расщеплении пептидных связей в составе именно полипептидных цепей.

По современным данным, наиболее часто в составе различных белков обнаруживают 20 видов аминокислот. В составе белков обнаружены только α-аминокислоты, в подавляющем большинстве в L-конфигурации.

Образование молекулы белка происходит за счет взаимодействия карбоксильной группы аминокислотного блока одной аминокислоты с α-аминогруппой другой аминокислоты, что можно выразить следующей схемой:



Каждую аминокислоту, входящую в состав белка, называют **аминокислотным остатком**. Аминокислотные остатки в молекуле белка соединены **пептидными связями**. Длина пептидной связи составляет 0,1325 нм, представляя собой среднюю величину между длинами одинарной C–N связи (0,146 нм) и двойной C=N связи (0,127 нм). Таким образом, связь C и N в –CO–NH-группировке может рассматриваться как промежуточная между простой и двойной вследствие сопряжения π -электронов карбонильной группы со свободными электронами атома азота. Это сказывается на свойствах пептидной группировки (рисунок 4).

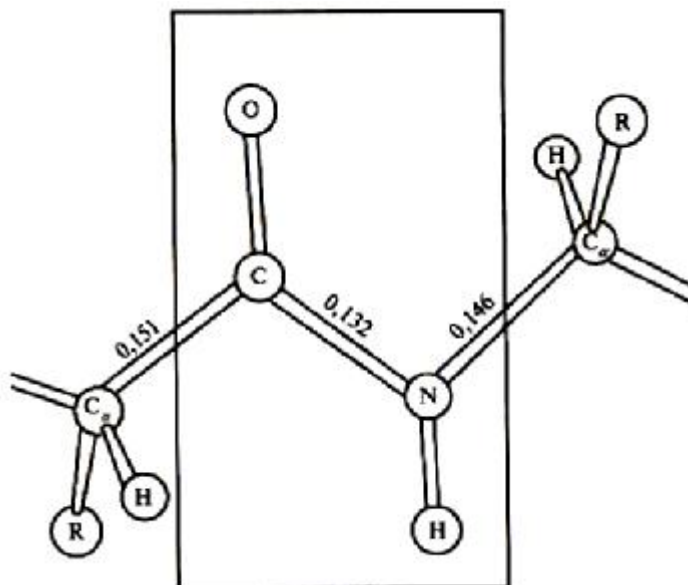
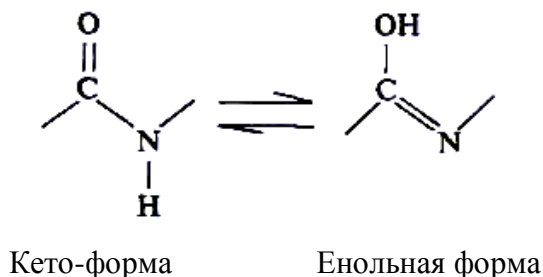


Рисунок 4 – Пептидная группировка (длины связей указаны в нм)

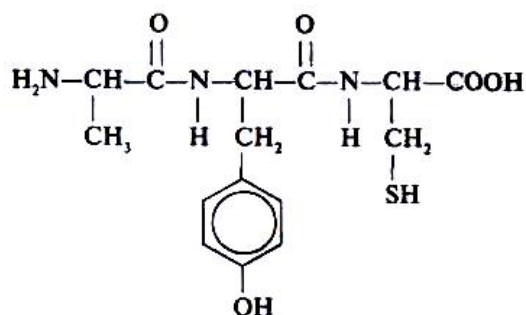
Свойства пептидной группировки:

- Пептидная группировка имеет жесткую планарную структуру, т. е. все атомы, входящие в нее, располагаются в одной плоскости.
- Атомы кислорода и водорода в пептидной группировке находятся в трансположении по отношению к пептидной C–N связи.
- Пептидная группировка может существовать в двух резонансных формах (кето- и енольной):



Условно принято, что пептиды, содержащие до 20 аминокислот, относятся к **олигопептидам**. Среди них различают три-, тетрапептиды и т.д. **Полипептиды** имеют в молекуле от 20 до 50 аминокислотных остатков. Пептидные цепи, содержащие более 50 аминокислотных остатков, и имеющие молекулярную массу выше 6 000 Дальтон называются **белками**.

Номенклатура пептидов. Рассмотрим номенклатуру пептидов на примере конкретного трипептида:



Аминокислотные остатки, за исключением последнего, в химическом отношении являются аминоксилами – радикалами аминокислот. Названия радикалов оканчиваются на *-ил*. Название концевой аминокислоты со свободной карбоксильной группой остается без изменений. Наименование пептида начинают с аминокислоты, сохранившей свободную α -аминогруппу. Исходя из этого, пептид, формула которого приведена выше, называется аланил-тирозил-цистеин.

В структуре белков существуют следующие уровни:

- первичная структура;
- вторичная структура;
- третичная структура;
- четвертичная структура.

Представление о четырех уровнях структуры белковой молекулы впервые было выдвинуто Линдерстром-Лангом.

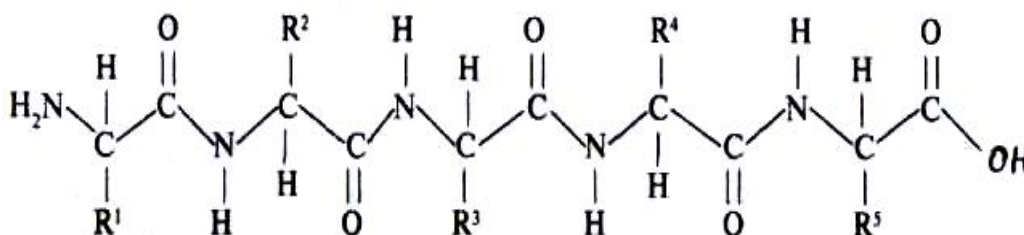
В последние годы добавлены еще два уровня:

- сверхвторичная структура;
- домены.

Первичная структура белка.

Под *первичной структурой белка* понимают последовательность в расположении аминокислотных остатков в одной или нескольких полипептидных цепях, составляющих молекулу белка.

Первичная структура белков формируется в результате соединения α -аминокислот *пептидными связями*:



Полипептидная цепь состоит из регулярно повторяющихся участков, образующих остов молекулы, и переменных участков – боковых радикалов аминокислотных остатков. Полипептидная цепь имеет определенное направление,

поскольку каждый из ее строительных блоков имеет разные концы: амино- и карбоксильную группы. Началом полипептидной цепи считают конец, несущий свободную аминогруппу (N-конец), а заканчивается полипептидная цепь свободной карбоксильной группой (С-конец).

Первичная структура белка уникальна и детерминируется генами. К настоящему времени расшифрована первичная структура более тысячи белков из разных организмов, в том числе и человека.

Миоглобин человека (153 аминокислотных остатка):

Гли-лей-сер-асп-гли-глу-три-гln-лей-вал-лей-асн-вал-три-гли-лиз-вал-глу-ааа-асп-иле-про-гли-гис-гли-гln-глу-вал-лей-иле-арг-лей-фен-лиз-гли-гис-про-глу-тре-лей-глу-лиз-фен-асп-лиз-фен-лиз-гис-лей-лиз-сер-глу-асп-глу-мет-лиз-ала-сер-глу-асп-лей-лиз-лиз-гис-гли-ала-тре-вал-лей-тре-ала-лей-гли-иле-лей-лиз-лиз-гли-гис-гис-глу-ала-глу-иле-лиз-про-лей-ала-гln-сер-гис-ала-тре-лиз-гис-лиз-вал-про-иле-лиз-тир-лей-глу-фен-иле-сер-глу-цис-иле-иле-гли-вал-лей-гли-сер-лиз-гис-про-гли-асп-фен-гли-ала-асп-ала-гln-гли-ала-мет-асн-лиз-ала-лей-глу-лей-фен-арг-лиз-асп-мет-ала-сер-асн-тир-лиз-глу-лей-гли-фен-гln-гли.

Инсулин из поджелудочной железы человека, цепь А (21 аминокислотный остаток):

Гли-иле-вал-глу-гln-цис-цис-тре-сер-иле-цис-сер-лей-тир-гln-лей-глу-асн-тир-цис-асн;

цепь В (30 аминокислотных остатков):

Фен-вал-асн-гln-гис-лей-цис-гли-сер-гис-лей-вал-глу-ала-лей-тир-лей-вал-цис-гли-глу-арг-гли-фен-фен-тир-тре-про-лиз-тре.

В различных белках, а часто и в одном и том же, встречаются *идентичные (тождественные) пептидные группировки*. Особая роль в структурном подобии белков принадлежит тождественным трипептидным группировкам, но в некоторых случаях и более обширные фрагменты совпадают по порядку чередования аминокислотных остатков. Так, в 52 рибосомных белках тождественные трипептидные блоки повторяются 657 раз, тетрапептидные – 86 раз, пентапептидные – 11, гексапептидные – 3, гептапептидные – ни одного раза. Вместе с тем, в полипептидных цепях есть аналогичные пептидные группировки, отличающиеся друг от друга взаимозаменяемыми аминокислотными остатками, т.е. такими остатками аминокислот, которые близки по строению или биогенетически, например: гли–сер, гли–ала, лей–иле, лей–вал, глу–асп и др. Установлено, что в ряде случаев первичные структуры различных белков включают 50% и более тождественных пептидных фрагментов.

Однако, в некоторых случаях, замена одного лишь аминокислотного остатка в полипептидной цепи на другой может привести к аномальным явлениям. Примером тому служит замена в β-цепи гемоглобина человека остатка глутаминовой кислоты, занимающего шестое положение, на остаток валина. Результатом этого является тяжелое, передающееся по наследству заболевание – серповидноклеточная анемия.

В некоторых случаях молекулы белков построены из двух или более полипептидных цепей, соединенных друг с другом ковалентными (дисульфидными

ми) связями (например, молекула инсулина).

Первичная структура белка предопределяет следующие уровни организации белковой молекулы. Последовательность аминокислот в полипептидной цепи определяет важнейшие физико-химические и биологические свойства белка. Последовательность чередования аминокислот является основным решающим фактором в образовании конформации (пространственной структуры) белковой молекулы.

Вторичная структура белка.

Под **вторичной структурой белка** понимают ту или иную конфигурацию, характерную для одной или нескольких полипептидных цепей, входящих в состав молекулы. По конфигурации выделяют следующие элементы вторичной структуры: α -спираль и β -складчатый слой.

Модель строения **α -спирали**, учитывающая все свойства пептидной связи, была разработана Л. Полингом и Р. Кори (1949–1951 гг.).

В природных белках существуют только правозакрученные α -спирали (т.к. в состав белков входят L-аминокислоты). Полипептидная цепь сворачивается в α -спираль таким образом, что витки спирали регулярны, поэтому спиральная конфигурация имеет винтовую симметрию (рисунок 5, а). Закручивание спирали идет по часовой стрелке, угол подъема витка равен 26° , расстояние между витками спирали – шаг спирали – 0,54 нм, в шаг спирали входит 3,6 аминокислотных остатка (рисунок 5, б). Формирование и поддержание α -спиральной конфигурации происходит за счет **водородных связей**, образующихся между пептидными группами каждого n -го и $(n + 3)$ -го аминокислотных остатков. Хотя энергия водородных связей мала, большое количество их приводит к значительному энергетическому эффекту, в результате чего α -спиральная конфигурация довольно устойчива. Боковые радикалы аминокислотных остатков не участвуют в поддержании α -спиральной конфигурации, поэтому все аминокислотные остатки в α -спирали равнозначны.

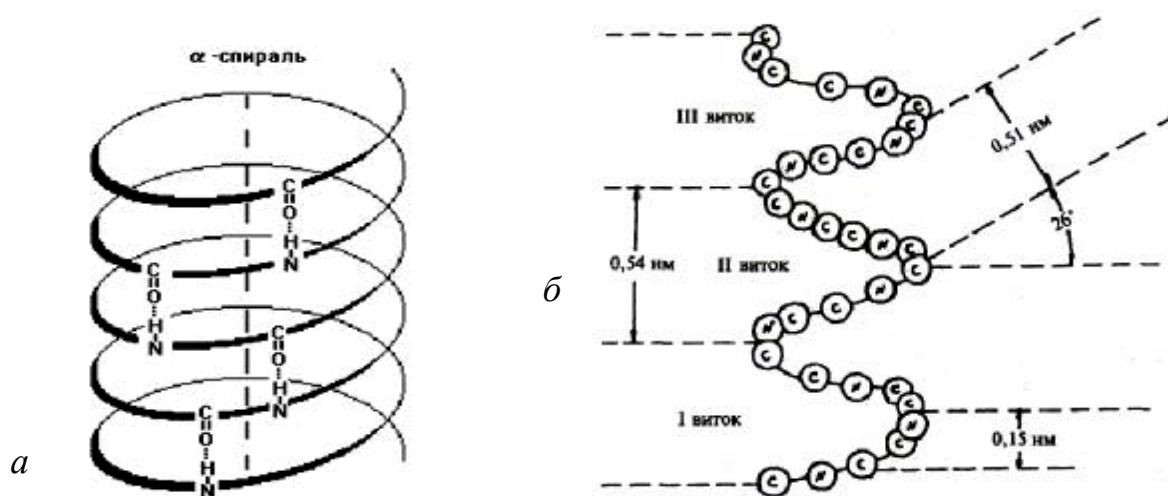


Рисунок 5 – Модель (а) и схема (б) α -спирали

β -Складчатый слой – второй элемент вторичной структуры. В отличие от α -спирали β -складчатый слой имеет линейную, а не стержневую форму (рисунок 6).

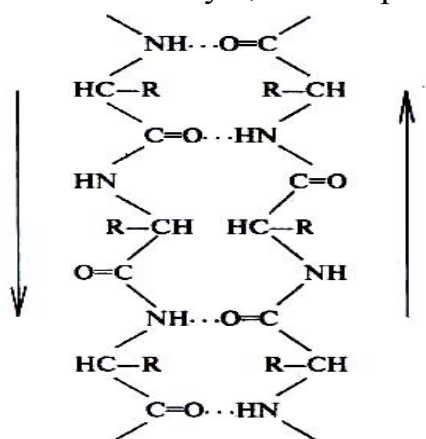


Рисунок 6 – Схематичное изображение β -складчатого слоя (стрелками указано направление полипептидной цепи)

Линейная структура удерживается благодаря возникновению водородных связей между пептидными группировками, стоящими на разных участках полипептидной цепи. Эти участки оказываются сближенными на расстояние водородной связи между $-C=O$ и NH -группами (0,272 нм).

Прилежащие цепи в β -складчатом слое могут идти в одном и том же направлении (параллельный β -слой) или в противоположных направлениях (антипараллельный β -слой). Например, фиброин шелка состоит почти целиком из «штабелей» антипараллельных β -складчатых слоев.

Вторичная структура белка определяется первичной. Аминокислотные остатки в разной степени способны к образованию водородных связей, это и влияет на образование α -спирали или β -слоя. К спиралеобразующим аминокислотам относятся: аланин, глутаминовая кислота, глутамин, лейцин, лизин, метионин и гистидин. Если фрагмент белка состоит главным образом из перечисленных выше аминокислотных остатков, то на данном участке сформируется α -спираль. Валин, изолейцин, треонин, тирозин и фенилаланин способствуют образованию β -слоев полипептидной цепи. Неупорядоченные структуры возникают на участках полипептидной цепи, где сконцентрированы такие аминокислотные остатки, как глицин, серин, аспарагиновая кислота, аспарагин, пролин.

Во многих белках одновременно имеются и α -спирали, и β -слои. Доля спиральной конфигурации у разных белков различна. Так, мышечный белок парамиозин практически на 100% спирализован; высока доля спиральной конфигурации у миоглобина и гемоглобина (75%). Напротив, у трипсина и рибонуклеазы значительная часть полипептидной цепи укладывается в слоистые β -структуры. Белки опорных тканей – кератин (белок волос), коллаген (белок кожи и сухожилий) – имеют β -конфигурацию полипептидных цепей.

Сверхвторичная структура белка.

α -спиральные и β -структурные участки в белках могут взаимодействовать друг с другом и между собой, образуя ансамбли. Пространственное строение

таких ансамблей вторичной структуры называют **сверхвторичной структурой** белковой молекулы.

Пример сверхвторичной структуры – суперспирализованная α -спираль, в которой две α -спирали скручены друг относительно друга, образуя левую суперспираль (рисунок 7). Короткие участки этой сверхвторичной структуры встречаются в глобулярных белках (бактериородопсин и др.), а чаще и в наиболее упорядоченной форме – в фибриллярных белках. Суперспирализация выгодна энергетически, так как между боковыми радикалами аминокислот, принадлежащих разным α -спиралям, образуются дополнительные нековалентные контакты (ван-дер-ваальсовы). Сверхспираль могут образовывать α -спирали, расположенные как параллельно, так и антипараллельно.



Рисунок 7 – Общий вид левой двухцепочечной суперспирали

Другим возможным элементом сверхвторичной структуры является $\beta\alpha\beta$ -звено (рисунок 8), состоящее из двух параллельных β -слоев с сочленением между ними в виде неупорядоченного клубка ($\beta\epsilon\beta$), α -спирали ($\beta\alpha\beta$), β -структуры ($\beta\beta\beta$).

Два последовательно соединенных участка $\beta\alpha\beta$ называются *укладкой цепи* по Россману ($\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -звено). Этот тип сверхвторичной структуры найден в НАД⁺-связывающем домене дегидрогеназы.

Сверхвторичная структура в виде антипараллельной трехцепочечной β -структуры ($\beta\beta\beta$) называется β -зигзагом. Она довольно широко распространена в белках, например в стафилококковой нуклеазе, лактатдегидрогеназе и ряде других белков.

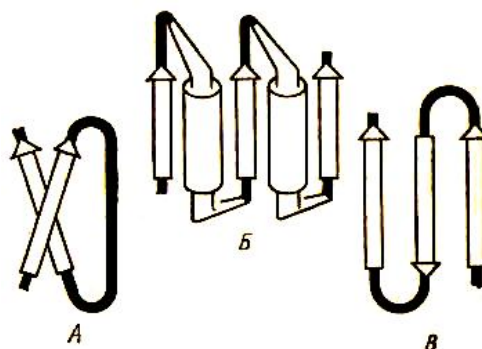


Рисунок 8 – Сверхвторичные структуры белков: А – ($\beta\epsilon\beta$)-звено; Б – укладка цепи по Россману (два последовательно соединенных участка $\beta\alpha\beta$); В – β -зигзаг (стрелками обозначены β -складчатые слои, цилиндрами – α -спирали, аморфные области зачернены)

Третичная структура белка.

Третичная структура белка – это общее расположение в пространстве одной или нескольких полипептидных цепей, составляющих молекулу белка.

Третичная структура имеет прямое отношение к форме молекул белка, которая может быть различной: от шарообразной до нитевидной.

Форма белковой молекулы характеризуется таким показателем, как *степень асимметрии* (отношение длинной оси молекулы к короткой). К *нитевидным*, или *фибриллярным*, белкам относят белки, имеющие степень асимметрии 80 и выше (например, фиброин шелка, кератин волос, рогов, копыт, коллаген

соединительной ткани и некоторые другие белки). При степени асимметрии менее 80 белки относят к *глобулярным*; большинство из них имеет степень асимметрии 3–5. Таким образом, у глобулярных белков третичная структура характеризуется достаточно плотной упаковкой полипептидной цепи в виде клубкообразной молекулы, приближающейся по форме к шару.

Третичная структура белковой молекулы определяется её первичной структурой, так как решающая роль в поддержании характерного для третичной структуры расположения полипептидной цепи в пространстве принадлежит взаимодействию радикалов аминокислот друг с другом.

В образовании и стабилизации третичной структуры белка принимают участие различные типы связей (рисунок 9):

- ковалентные (дисульфидные),
- ионные (солевые),
- водородные,
- гидрофобные взаимодействия.

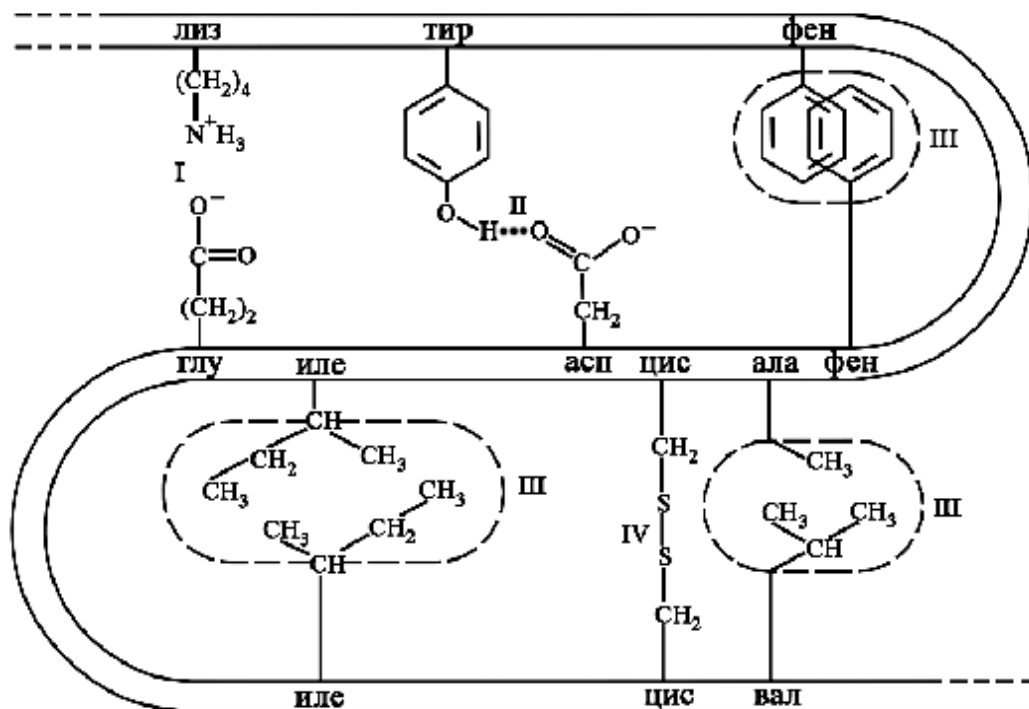


Рисунок 9 – Связи, стабилизирующие третичную структуру белковой молекулы:
 I – ионная связь, II – водородная связь, III – гидрофобные взаимодействия,
 IV – дисульфидная связь

Ковалентные дисульфидные связи образуются между атомами серы остатков цистеина, стоящих в разных участках полипептидной цепи.

Ионные (солевые) связи возникают при контакте положительно заряженных групп боковых радикалов лизина, аргинина, гистидина и отрицательно заряженной COOH-группы аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Водородные связи возникают между двумя электроотрицательными атомами, когда протон водорода, ковалентно связанный с одним из этих атомов,

располагается между ними. Электроотрицательными (т.е. обладающими повышенной способностью притягивать электроны) являются атомы О, N, F и др.

Гидрофобные силы взаимодействия возникают между неполярными углеводородными радикалами аминокислотных остатков. Молекулы воды, стремясь образовывать между собой водородные связи, выталкивают гидрофобные группы и молекулы, находящиеся в воде, заставляя их скучиваться, образовывать ассоциаты.

Только после приобретения белком третичной структуры он проявляет свою специфическую функциональную активность. Различные нарушения третичной структуры приводят к изменению свойств белка и потере биологической активности.

Доменная структура белков.

Под **доменом** понимают обособленную область молекулы белка, обладающую в определенной степени структурной и функциональной автономией (рисунок 10). Часто в доменах локализованы определенные функциональные участки белка, и, следовательно, перемещение доменов друг относительно друга реализует каталитические и иные функции белков.

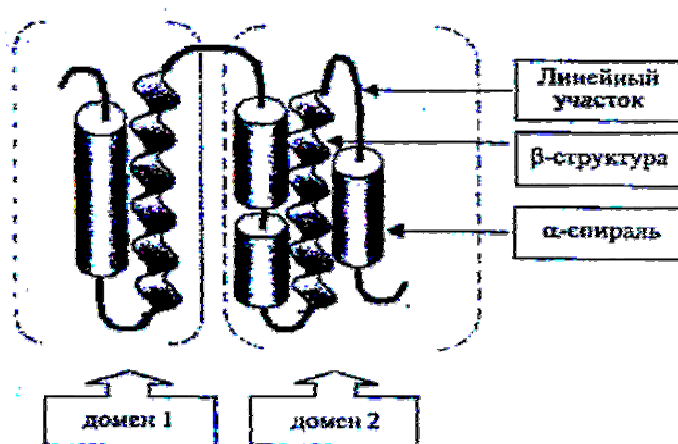


Рисунок 10 – Схема доменной организации белков

Четвертичная структура белка.

Структура, характеризующаяся наличием в белковой молекуле определенного числа полипептидных цепей, занимающих строго фиксированное пространственное положение, вследствие чего белок обладает той или иной биологической активностью, называется **четвертичной**.

Четвертичная структура характерна, как правило, для белков, имеющих относительную молекулярную массу больше 50 000–100 000 Дальтон. Белки с молекулярной массой более 100 тысяч Дальтон состоят, как правило, из нескольких полипептидных цепей со сравнительно небольшой молекулярной массой.

Белок, обладающий четвертичной структурой, называется **эпимолекулой** или **мультимером**, а составляющие его полипептидные цепи – соответственно **субъединицами** или **протомерами**. Характерным свойством белков с четвертичной структурой является то, что отдельная субъединица не обладает биологической активностью. Одни белки имеют сравнительно небольшое число субъединиц – 2–8. Однако есть белки, в состав которых входят сотни и даже

тысячи субъединиц (например, у вируса табачной мозаики их 2130).

Стабилизация четвертичной структуры белка происходит за счет ионных и водородных связей, и гидрофобных взаимодействий. Такие взаимодействия прочно удерживают субъединицы в виде организованного комплекса. Участки субъединиц, на которых происходят взаимодействия, называются контактными площадками.

Классическим примером белка, имеющего четвертичную структуру, является гемоглобин. Молекула гемоглобина с молекулярной массой 68 000 Дальтон состоит из четырех субъединиц двух разных типов – α и β . α -субъединица состоит из 141 аминокислотного остатка, а β – из 146. Третичная структура α и β -субъединиц сходна, как и их молекулярная масса (17 000 Дальтон). Каждая субъединица содержит простетическую группу – *гем* (рисунок 11).

Четыре субъединицы (две типа α и две типа β) соединяются в единую молекулу гемоглобина, располагаясь в углах почти правильного тетраэдра. Таким образом, возникает почти шаровидная молекула (рисунок 12).

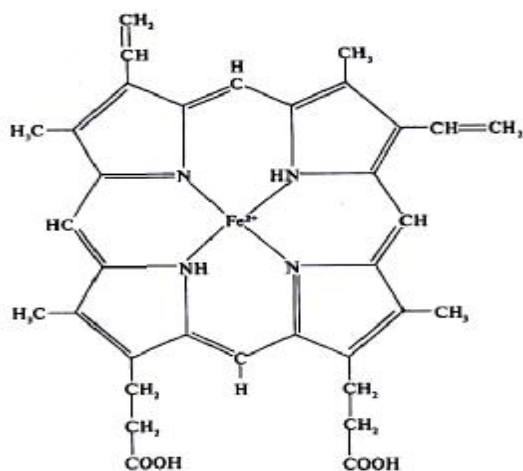


Рисунок 11 – Структура гема гемоглобина

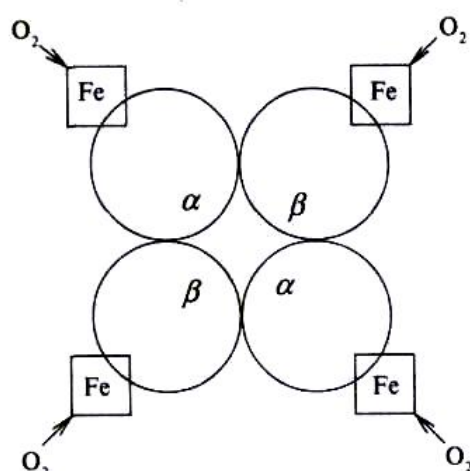
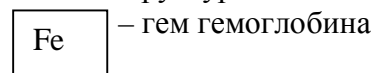


Рисунок 12 – Схематичное изображение четвертичной структуры гемоглобина:



Малейшие изменения третичной структуры протомеров делает невозможным соединение их в молекулы мультимера, что сказывается на биологической активности белка.

6. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Размер белковых молекул лежит в пределах от 1 мкм до 1 нм и, следовательно, они являются коллоидными частицами, которые в воде образуют коллоидные растворы. Эти растворы характеризуются высокой вязкостью, низким значением осмотического давления, способностью рассеивать лучи видимого света, не проходят сквозь полупроницаемые мембраны, образуют гели и способны к набуханию.

1. Молекулярная масса белков.

Белки относятся к высокомолекулярным соединениям, в состав которых входят сотни и тысячи аминокислот, поэтому они имеют большие значения молекулярной массы (от 6 000 до нескольких миллионов Дальтон (Да)).

2. Оптические свойства.

Белки являются оптически активными веществами, так как состоят из оптически активных аминокислот. Они способны вращать плоскость поляризации света, рассеивать световые лучи видимой части спектра и поглощать ультрафиолетовые лучи.

Белковые растворы обладают также способностью флуоресцировать – испускать квант света при переходе из электронновозбужденного состояния в основное.

3. Белки способны адсорбировать на своей поверхности низкомолекулярные органические соединения и ионы (витамины, ионы железа, меди и др.), а иногда и захватывать их внутрь молекулы. С этим свойством белков связана их транспортная функция в организме.

4. Амфотерность белков.

Белки, также как и аминокислоты, являются амфотерными электролитами благодаря одновременному присутствию $-\text{COOH}$ и $-\text{NH}_2$ групп. Диссоциация этих групп приводит к зарядению белковой молекулы. В зависимости от преобладания в молекуле белка моноаминодикарбоновых (глутаминовой, аспарагиновой) или диаминомонокрбоновых аминокислот (лизина, аргинина) белки в водных растворах обладают свойствами слабых кислот или слабых оснований, соответственно. Большинство природных белков имеют кислый характер (казеин, желатин, альбумины и др.) и в водном растворе несут отрицательный заряд, основные белки (гистоны, протамины) в водном растворе заряжены положительно. Свойство амфотерности лежит в основе буферных свойств белков и их участия в регуляции рН крови.

5. Подвижность в электрическом поле.

В связи с тем, что белки являются заряженными частицами, они двигаются в электрическом поле к катоду или аноду в зависимости от величины их суммарного заряда. Суммарный заряд белковой молекулы зависит от величины рН среды. Изменяя значение рН среды, можно добиться такого состояния, ко-

гда количество положительно и отрицательно заряженных групп будет одинаково, заряд белка при этом равен нулю, и молекула белка не будет перемещаться в электрическом поле. Такое значение рН среды определяется как **изоэлектрическая точка** ($pH_{изт}$). Значение изоэлектрической точки зависит от аминокислотного состава и специфично для каждого белка. Например, для казеина $pH_{изт} = 4,7$, для яичного альбумина – 4,8, яичного глобулина – 6,6, желатина – 4,9. Чем дальше будет отстоять значение рН среды от $pH_{изт}$, тем большим суммарным зарядом будут обладать молекулы белка и с большей скоростью двигаться в электрическом поле.

Суммарный заряд белковой молекулы положителен при $pH < pH_{изт}$ и отрицателен, если $pH > pH_{изт}$. Поскольку в изоэлектрической точке молекула белка не несет суммарного заряда и между соседними молекулами отсутствует электростатическое отталкивание, белки легко осаждаются из растворов при рН, равном $pH_{изт}$.

6. Растворимость белков.

Белки сильно различаются по своей растворимости в водных системах. При растворении белков в воде вокруг их молекул образуется гидратная оболочка, которая наряду с зарядом белковых частиц является фактором устойчивости белковых растворов.

На растворимость белков существенное влияние оказывают следующие факторы:

- а) рН раствора;
- б) ионная сила;
- в) природа растворителя;
- г) температура.

а) Влияние рН раствора на растворимость белков.

При значении рН раствора, совпадающем с величиной $pH_{изт}$, белки будут обладать наименьшей растворимостью. Объясняется это тем, что в изоэлектрической точке суммарный заряд молекулы белка равен нулю, и, следовательно, между соседними молекулами белка отсутствует электростатическое отталкивание. При значениях рН, отличных от значений $pH_{изт}$, молекулы белка имеют суммарный заряд одного знака, вследствие чего они отталкиваются друг от друга. На этом свойстве основан метод изоэлектрического осаждения белков.

б) Влияние ионной силы на растворимость белков.

При добавлении к растворам белка солей небольших концентраций, растворимость многих белков повышается. Этот эффект зависит также от величины зарядов каждого из ионов, присутствующих в растворе: соли, содержащие двухзарядные ионы значительно эффективнее повышают растворимость белков, чем соли, содержащие однозарядные ионы.

При значительном повышении концентрации солей растворимость белков начинает опять понижаться, и при очень высоких концентрациях соли, белок может полностью выпасть в осадок (если рН среды совпадает с $pH_{изт}$). Это яв-

ление называется **высаливанием**. При больших концентрациях ионов в растворе они оттягивают к себе от заряженных групп белка поляризованные молекулы воды и частично лишают тем самым белок гидратной оболочки, которая предотвращает его осаждение из раствора.

в) Влияние растворителя на растворимость белков.

Добавление смешивающихся с водой нейтральных органических растворителей уменьшает растворимость большинства белков в воде до такой степени, что они могут выпадать в осадок (если при этом рН раствора совпадает с рН_{изт}). Например, этанол или ацетон, являясь водоотнимающими веществами, понижают степень гидратации белков и уменьшают их растворимость.

г) Влияние температуры на растворимость белков.

В интервале температур, приблизительно от 0 до 40°C, растворимость большинства белков возрастает с повышением температуры. При температурах, превышающих 40–50°C, большинство белков утрачивает стабильность, начинается их денатурация, сопровождающаяся обычно резким снижением растворимости.

7. Денатурация белков.

Установлено, что для каждого белка характерна только одна пространственная структура, в которой он стабилен и проявляет биологическую активность. Эта структура носит название **нативной** конформации белка. Изменение нативной конформации белка, сопровождающееся потерей характерных для него свойств: растворимости, биологической активности, электрофоретической подвижности и др., называется **денатурацией**. Денатурация, как правило, затрагивает четвертичную, третичную и частично вторичную структуры белковой молекулы и не сопровождается какими-либо изменениями первичной структуры. Денатурацию могут вызывать различные физические и химические факторы: высокая температура, механические воздействия, действие ионизирующих излучений, обработка ультразвуком, действие органическими растворителями, растворами кислот, щелочей, солей тяжелых металлов.

Примером тепловой денатурации может служить "свертывание" белка при варке яиц. Денатурация белков происходит в желудке, где имеется сильно-кислая среда и это способствует расщеплению белков протеолитическими ферментами. По мере старения организма происходит постепенная, хотя и чрезвычайно медленная, денатурация белков и снижение их гидрофильности.

При определенных условиях денатурированный белок можно частично или полностью вернуть к исходному нативному состоянию. Такой процесс называется **ренатурацией**, а белок – ренатурированным. Этот процесс происходит самопроизвольно при значениях рН и температуры, обеспечивающих стабильность нативной формы. Ренатурацию обычно проводят в мягких условиях, медленно снимая воздействие.

7. НОМЕНКЛАТУРА И КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

Несмотря на то, что белки являются наиболее изученным классом биологических соединений, до сих пор не создано единой номенклатуры и классификации белков. Название белкам дают по случайным признакам, чаще всего принимая во внимание источник выделения белка (например, наименование авидин – белок яйца – происходит от лат. *avis* – птица; казеин – белок молока – от лат. *caseus* – сыр и т. п.).

В зависимости от положенного в основу признака различают несколько видов классификации белков:

1. Классификация, основанная на конформации белков.

По форме частиц белки делят на *фибриллярные* (волоконистые) и *глобулярные* (корпускулярные).

Фибриллярные белки – это устойчивые, нерастворимые в воде и в разбавленных солевых растворах вещества. Располагаясь параллельно друг другу вдоль одной оси, полипептидные цепи образуют длинные волокна (фибриллы) или слои с конформацией β -структуры. Примеры фибриллярных белков: коллаген сухожилий и костной ткани, кератин волос, роговых образований, кожи, ногтей и перьев, эластин упругой соединительной ткани.

Глобулярные белки – это соединения, полипептидные цепи которых плотно свернуты в компактные сферические или глобулярные структуры с конформацией α -спирали. Большинство глобулярных белков растворимо в водных растворах и легко диффундирует. К ним относятся почти все известные в настоящее время ферменты, а также антитела, некоторые гормоны и многие белки, выполняющие транспортную функцию, например, сывороточный альбумин и гемоглобин.

Некоторые белки принадлежат к промежуточному типу. Подобно фибриллярным белкам, они состоят из длинных, палочковидных структур, и в то же время они, как глобулярные белки, растворимы в водных солевых растворах. К таким белкам относятся: миозин – структурный элемент мышц, фибриноген – предшественник фибрина, участвующего в свертывании крови.

2. Классификация, основанная на растворимости белков.

По отношению к растворимости белков в различных растворителях среди белков различают: *альбумины*, *глобулины*, *проламины*, *протеиноиды*.

К **альбуминам** относят белки, хорошо растворяющиеся в воде и солевых растворах умеренных концентраций. При переходе к концентрированным растворам, вплоть до полностью насыщенных, альбумины высаливаются. Примерами их могут служить: яичный альбумин, сывороточный альбумин, альбумин мышечной ткани, молочный альбумин.

К **глобулинам** принадлежат белки, не растворимые в воде и солевых растворах умеренных концентраций, но растворяющиеся в очень слабых растворах солей. Характерным признаком глобулинов считают их полное осаждение при полунасыщении раствора. Примеры глобулинов: фибриноген, яичный глобу-

лин, сывороточный глобулин, глобулин мышечной ткани.

Проламины представляют группу белков, растворимых в 60–80%-ном водном растворе этилового спирта. Представителем этих белков может служить глиадин, составляющий главную часть клейковины; находятся они в зернах различных хлебных злаков.

К **протеиноидам** относят белки, не растворяющиеся в обычных растворителях белков: воде, солевых и водно-спиртовых смесях, однако, хорошо растворяющиеся в специфических реагентах. Так, например, фиброин шелка растворяется в дихлоруксусной кислоте, безводной плавиковой кислоте, в концентрированном водном растворе роданида лития или бромида калия. К протеиноидам относятся почти все фибриллярные белки.

3. **По степени сложности строения** белки делятся на два основных класса: *простые* и *сложные* белки.

Простые белки или **протеины** состоят только из белковой части и гидролизуются до аминокислот. К ним относятся альбумины и глобулины, а также протамины и гистоны – белки основного характера, которые содержат много лизина и аргинина.

Сложные белки или **протеиды** кроме белковой части содержат небелковую группу, которую называют *простетической*.

Сложные белки в зависимости от химической природы их простетической группы классифицируются на: нуклеопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды, фосфопротеиды, хромопротеиды, металлопротеиды.

Небелковая часть **нуклеопротеидов** состоит из молекул нуклеиновых кислот – дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК), белковая часть представлена гистонами и протаминами. Нуклеопротеиды участвуют в процессах деления клеток и передачи наследственных признаков, в процессах биосинтеза белка. Они входят в состав любой клетки, являются обязательными компонентами ядра, цитоплазмы. Также нуклеопротеидами по своей природе являются вирусы.

Гликопротеиды представляют собой сложные белки, простетическая группа которых представлена производными углеводов. Гликопротеиды входят в состав клеточных мембран, участвуют в транспорте различных веществ, в процессах свертывания крови, являются составными частями слизи и секретов желудочно-кишечного тракта.

Липопротеиды являются сложными белками, простетическая группа которых образована липидами. Это сферические частицы небольшого размера (150–200 нм), наружная оболочка которых образована белками, а внутренняя часть – липидами и их производными. Основная функция липопротеидов – осуществлять транспорт липидов по крови.

Фосфопротеиды имеют в качестве небелкового компонента фосфорную кислоту. Эти белки входят в состав костной и нервной ткани, выполняют питательную функцию. Представителями данных белков являются казеин молока, вителлин (белок желтков яиц), ихтулин (белок икры рыб).

Хромопротеиды являются сложными белками, простетическая группа

которых представлена окрашенными соединениями. К хромопротеидам относятся гемоглобин, миоглобин, ряд ферментов (каталаза, пероксидазы, цитохромы), а также хлорофилл.

Металлопротеиды содержат ионы одного или нескольких металлов. Металлопротеиды, содержащие железо (ферритин и др.), выполняют функцию транспорта и депо железа в организме. Имеются белки, в состав которых входят цинк, марганец, медь и другие металлы. Многие из них входят в состав ферментов.

4. Классификация, основанная на биологической функции белков.

По этой классификации среди белков выделяют следующие группы:

- каталитически активные белки,
- белки – гормоны,
- белки – регуляторы активности генома,
- защитные белки,
- токсические белки,
- транспортные белки,
- мембранные белки,
- сократительные белки,
- рецепторные белки,
- белки – ингибиторы ферментов,
- белки вирусных оболочек и т.д.

8. ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Какие органические соединения называются аминокислотами?
2. Классификация аминокислот по характеру боковых цепей.
3. Классификация аминокислот по числу аминных и карбоксильных групп.
4. Классификация аминокислот по характеру заряженности боковых радикалов, их полярности.
5. Классификация аминокислот по биологическому значению.
6. Физико-химические свойства аминокислот.
7. Белки и их важнейшие функции в организме.
8. Тонкая структура белковой молекулы. Методы исследования белков.
9. Уровни структурной организации белковой молекулы: первичная, вторичная, сверхвторичная, третичная и четвертичная структуры белка и связи, стабилизирующие эти структуры.
10. Важнейшие физико-химические свойства белков (растворимость, высаливание, денатурация, ИЭТ).
11. Номенклатура и классификация белков.
12. Дипептид карнозин – β -аланилгистидин – принимает участие в биохимических процессах, протекающих в мышечной ткани. Напишите структурную формулу этого дипептида.
13. Напишите структурные формулы всех возможных трипептидов, в состав которых входят метионин, валин и треонин. Назовите трипептиды. Какие из этих аминокислот являются полярными, какие незаменимыми?
14. Из соответствующих аминокислот напишите схемы реакций синтеза следующих пептидов: а) глицилцистеилвалин; б) метионилтреониларгиниласпарагин; в) изолейцилвалилфенилаланилглутамин.
15. Укажите типы взаимодействий между боковыми радикалами аминокислотных остатков: а) *тир*, *глу*; б) *цис*, *цис*; в) *арг*, *асп*.

9. ПРОВЕРЬТЕ СЕБЯ

1. Белки – биополимеры, мономерами которых являются:
 - а) карбоновые кислоты;
 - б) амины;
 - в) β -аминокислоты;
 - г) α -аминокислоты;
 - д) амиды карбоновых кислот.
2. В белках аминокислотные остатки связаны между собой:
 - а) сложноэфирными связями;
 - б) водородными связями;
 - в) пептидными связями;
 - г) гликозидными связями.
3. К основным аминокислотам относится:
 - а) аланин;
 - б) лизин;
 - в) тирозин;
 - г) глутамин;
 - д) триптофан.
4. К кислым аминокислотам относится:
 - а) лейцин;
 - б) цистеин;
 - в) аспарагиновая кислота;
 - г) треонин;
 - д) валин.
5. В изоэлектрической точке белки имеют:
 - а) отрицательный заряд;
 - б) положительный заряд;
 - в) нулевой заряд.
6. Между остатками аргинина и глутаминовой кислоты при формировании третичной структуры белка возникает:
 - а) ионная связь;
 - б) дисульфидная связь;
 - в) водородная связь.
7. К незаменимым аминокислотам относятся:
 - а) лейцин;
 - б) аланин;
 - в) аспарагиновая кислота;
 - г) треонин;

10. Ответы к разделу «Проверьте себя»

- 1 – г;
- 2 – в;
- 3 – б;
- 4 – в;
- 5 – в;
- 6 – а;
- 7 – а, г.