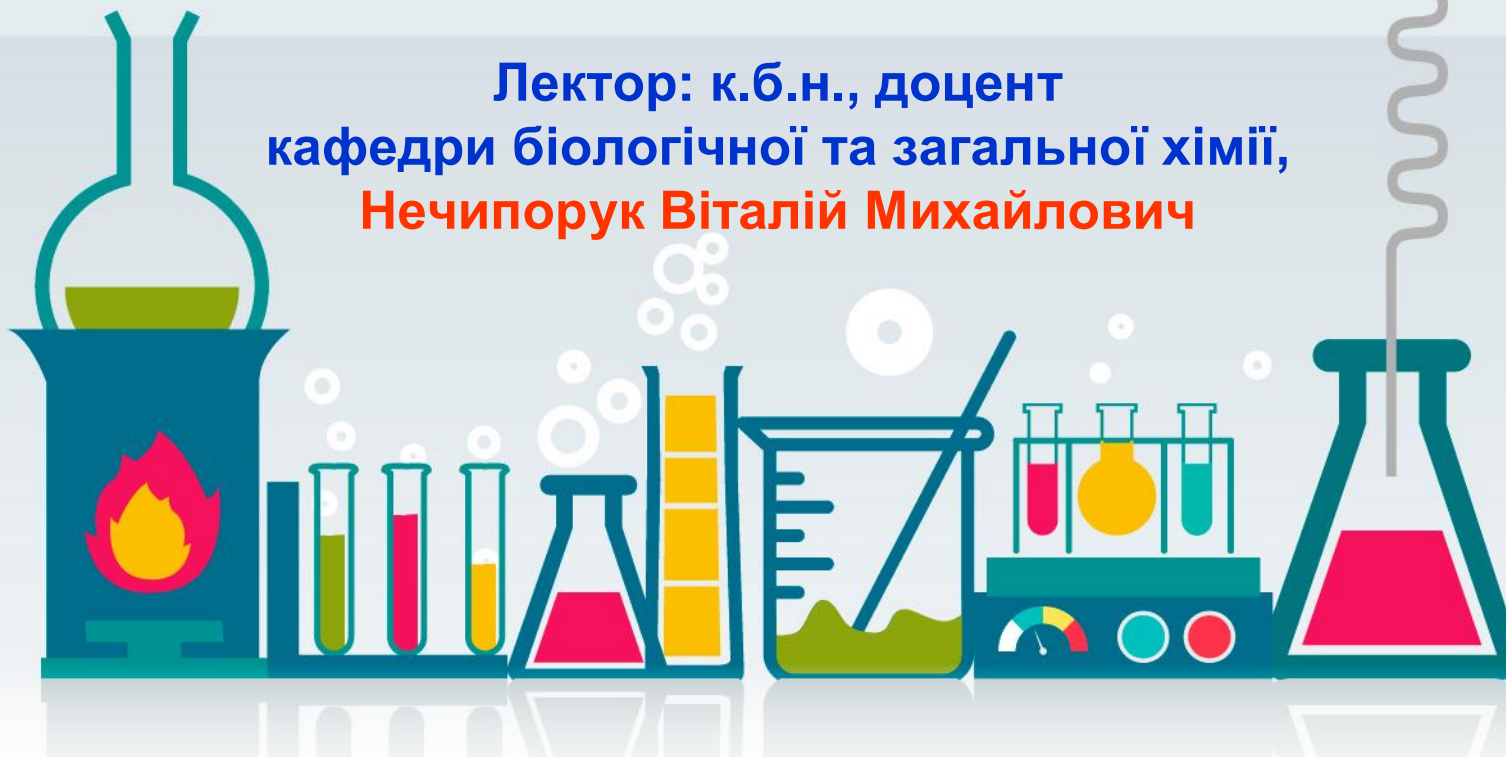


Амінокислотний склад пептидів та білків. Структурна організація та фізико-хімічні властивості білків

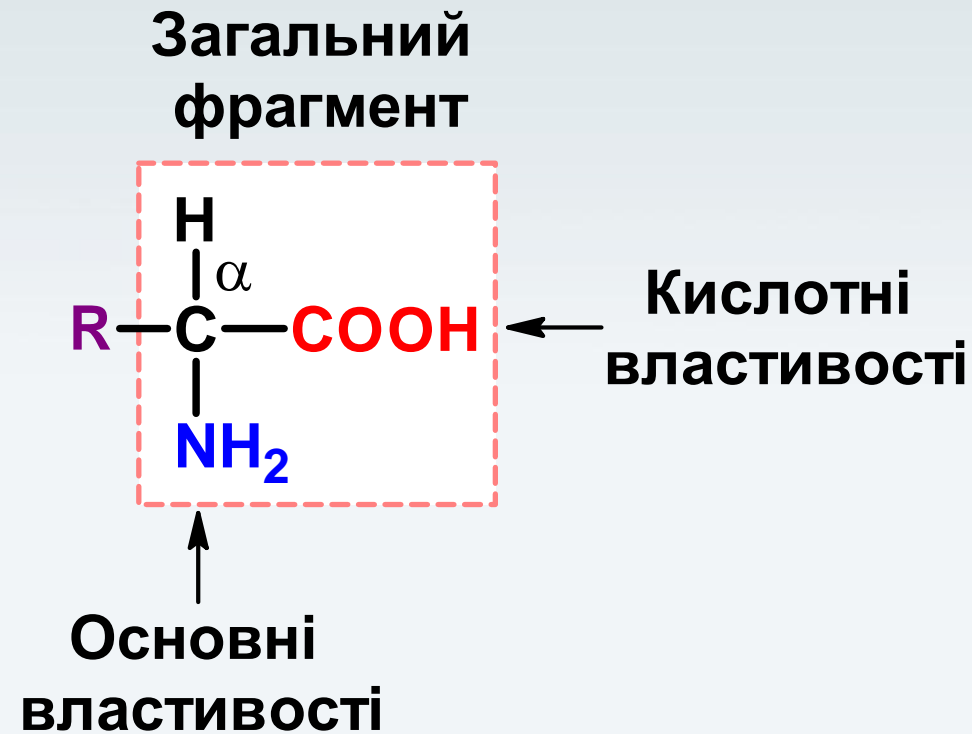
Лектор: к.б.н., доцент
кафедри біологічної та загальної хімії,
Нечипорук Віталій Михайлович



План

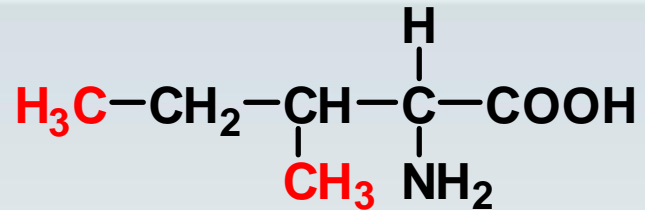
1. Поняття про амінокислоти (АК).
2. Ізомерія АК.
3. Будова та класифікація АК.
4. Реакції кількісного визначення АК.
5. Якісні реакції на АК, пептиди та білки.
6. Хімічні властивості α -амінокислот *in vivo*
7. Білки як полімери. Первинна, вторинна, третинна та четвертинна структури.
8. Реакції поліконденсації з утворенням пептидів.
9. Методи виділення та очистки білків.
10. Висолювання білків та осадження білків.
11. Денатурація її ознаки. Фактори, що спричиняються денатурацію білків. Ренатурація.

Амінокислоти – це похідні карбонових кислот, у яких один або декілька атомів гідрогену у вуглеводневому радикалі заміщені на **-NH₂**.

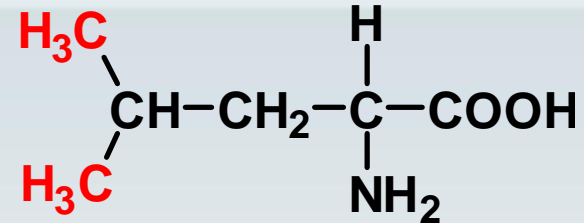


Ізомерія АК

Карбонового скелету:

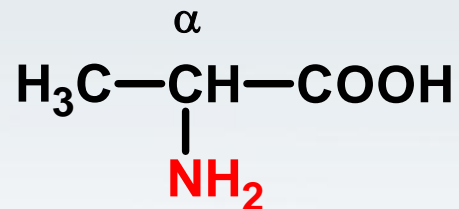


Ізолейцин (Іле)

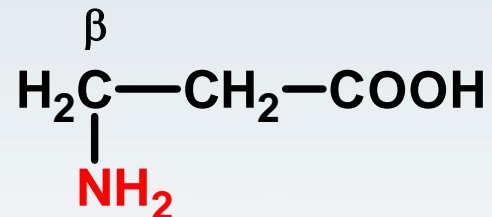


Лейцин (Лей)

Положення аміногрупи:

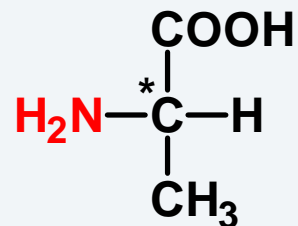


α -аланін

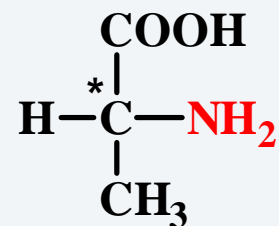


β -аланін

Енантіомери:



L-аланін



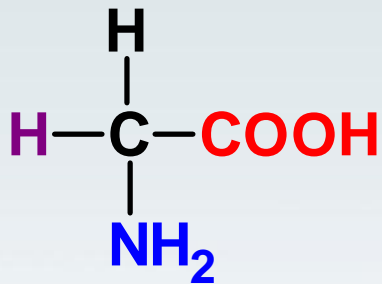
D-аланін

Будова та класифікація α -амінокислот

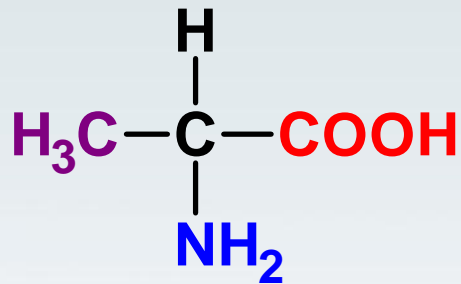
I. Ациклічні амінокислоти

1. Моноаміномонокарбонові кислоти

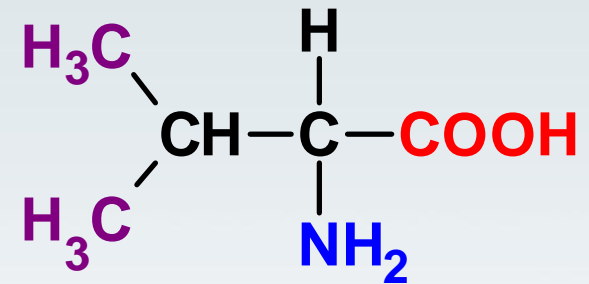
A) Незаміщені



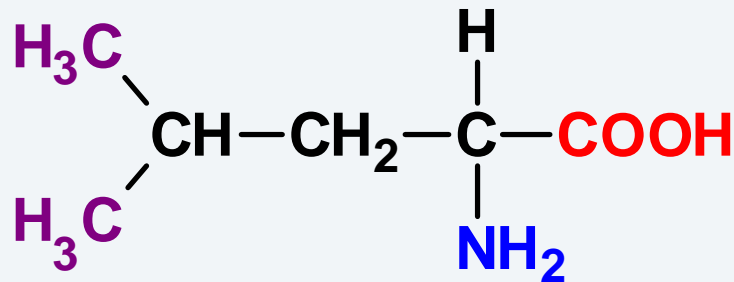
Гліцин (Глі)



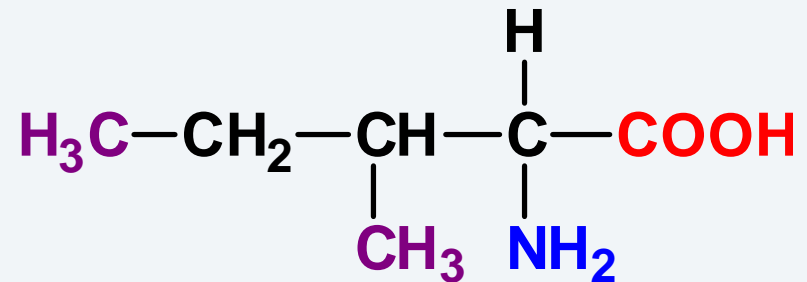
Аланін (Ала)



Валін (Вал)*



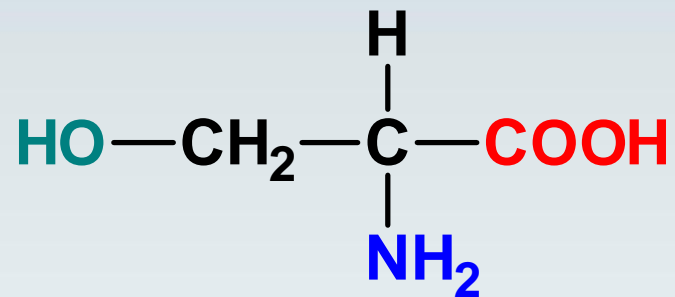
Лейцин (Лей)*



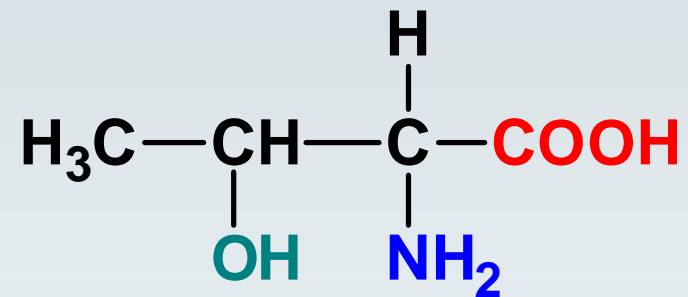
Ізолейцин (Іле)*

1. Моноаміномонокарбонові кислоти (продовження)

Б) Гідроксиамінокислоти

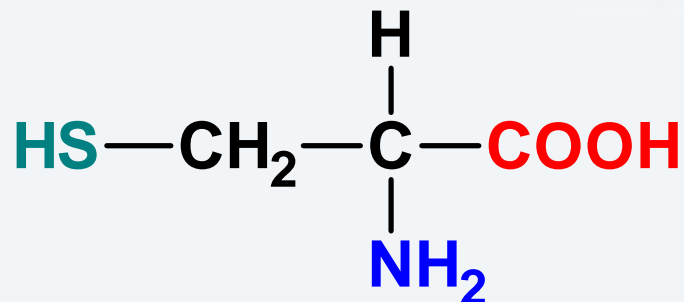


Серин (Сер)

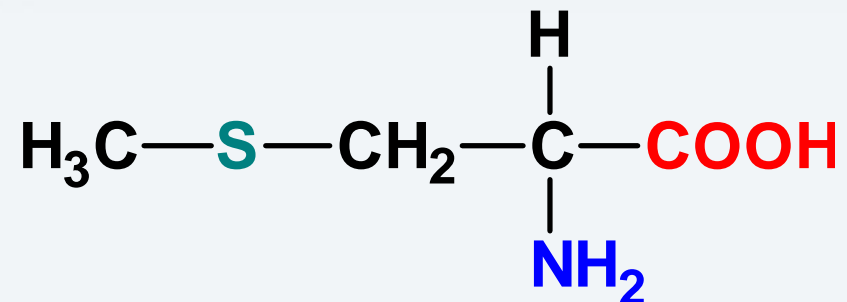


Треонін (Тре)*

В) Тіоамінокислоти

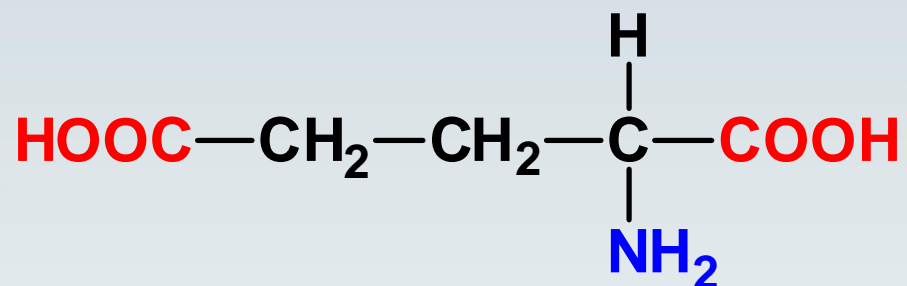


Цистеїн (Цис)

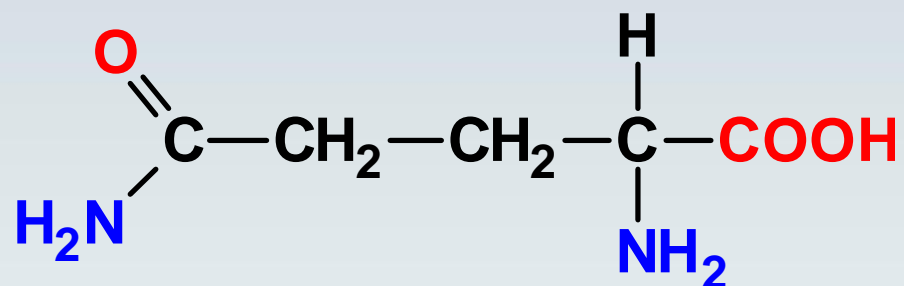


Метіонін (Мет)*

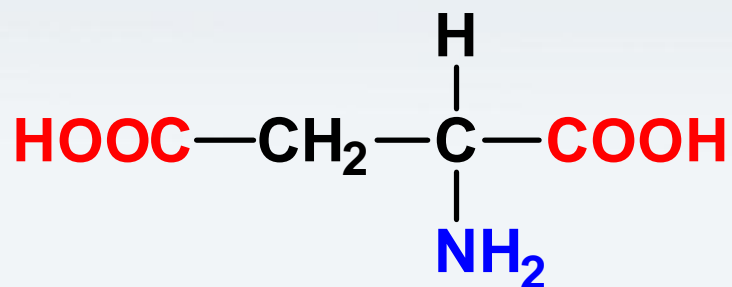
2. Моноамінодикарбонові кислоти



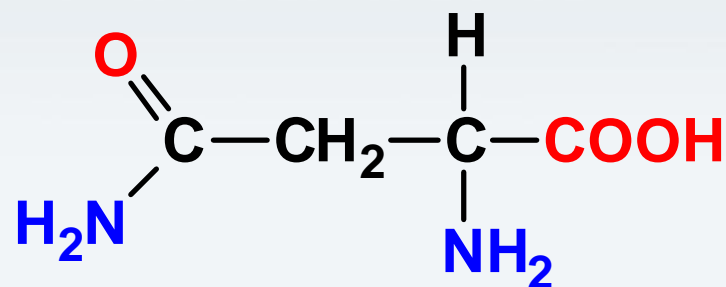
Глутамінова кислота (Глу)



Глутамін (Глн)

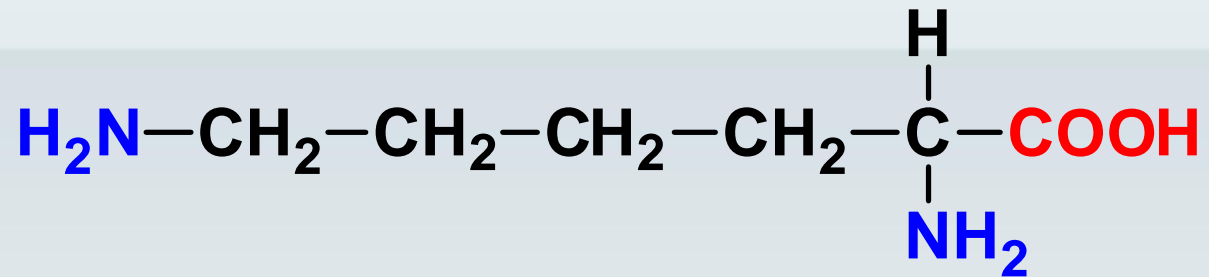


Аспаргінова кислота (Асп)

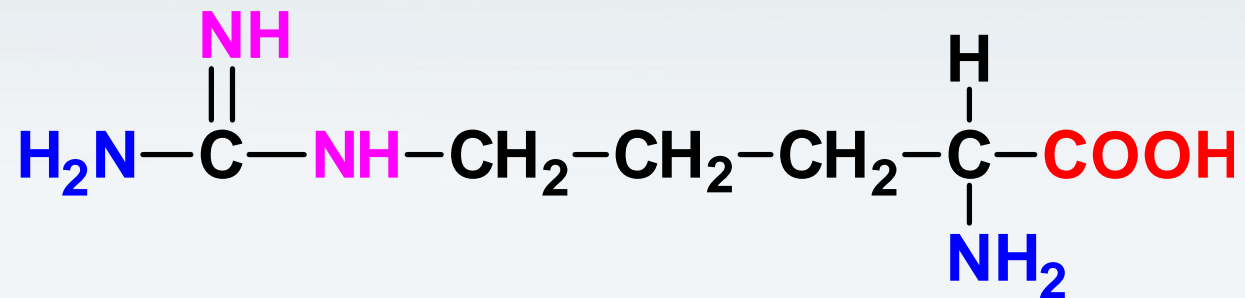


Аспаргін (Асн)

3. Діаміномонокарбонові кислоти



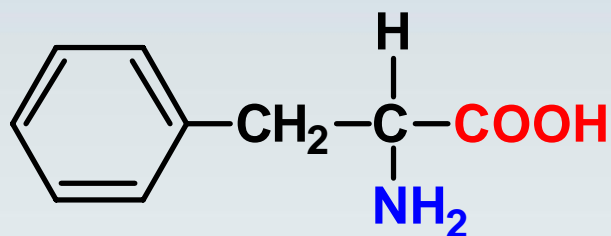
Лізін (Ліз)*



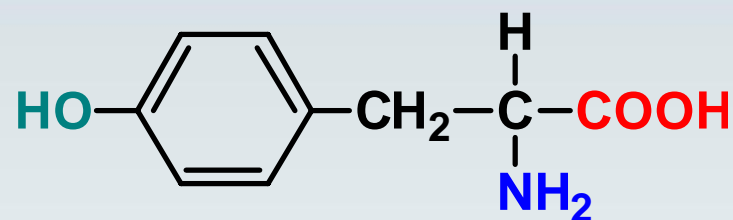
Аргінін (Арг)

II. Циклічні амінокислоти

1. Ароматичні амінокислоти

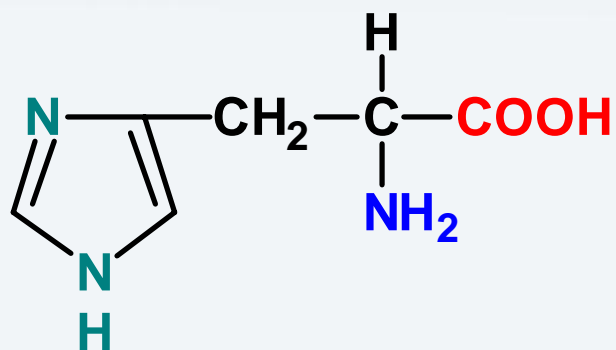


Фенілаланін (Фен)*

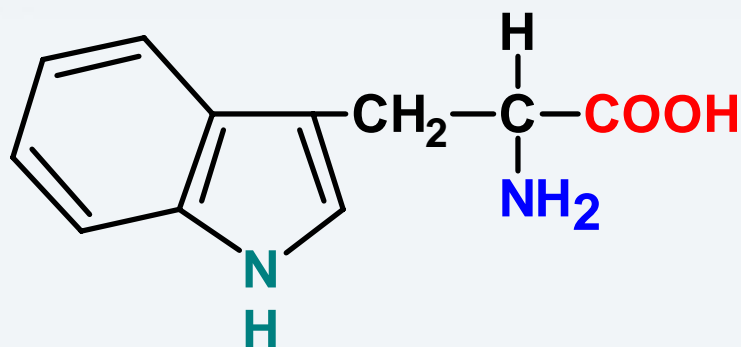


Тирозин (Тир)*

2. Гетероциклічні амінокислоти



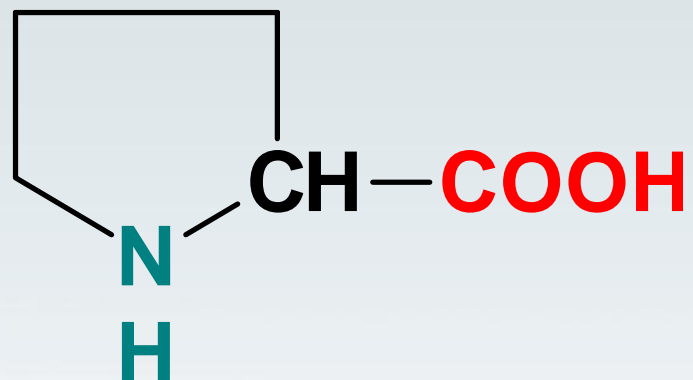
Гістидин (Гіс)



Триптофан (Трп)*

II. Циклічні амінокислоти (продовження)

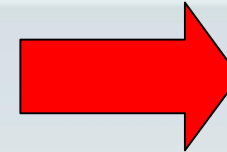
3. Імінокислота



Пролін (Про)

Біологічна класифікація АК

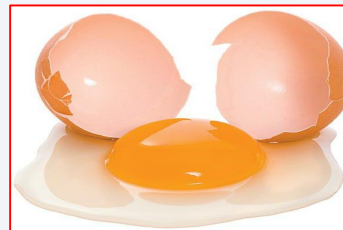
НЕЗАМІННІ – не синтезуються!



Умовно незамінні – аргінін та гістидин

Решта амінокислот – **Замінні!**

**Незамінні АК
містяться лише в
повноцінних
білках!!!**



*

Лей
Ліз
Іле
Фен
Тре
Трп
Вал
Мет

Квашіоркор — вид важкої дистрофії на тлі нестачі білків в харчовому раціоні.

Зовнішні ознаки:

- стоншення волосся,
- набряклість обличчя,
- нестача ваги
- відставання в рості.



Спеціалізоване харчування

Суміші для дітей:

- Підходить для будь-якого віку;
- Догодовування або постійне харчування;
- Містять вітаміни;
- Виключають виникнення алергічних реакцій;
- Відновлюють нормальну роботу кишечника.



Спортивне харчування:

- Містять виключно незамінні АК;
- Покращують синтез білкових структур;
- Послаблюють катаболічні процеси у м'язах.



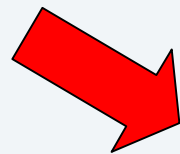
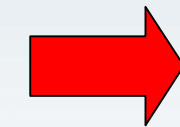
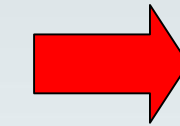
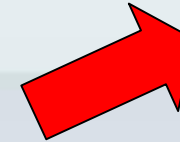
Препарати АК

Аспаркам – магнію аспарагінат, калію аспарагінат, нормалізує механізм м'язового скорочення на молекулярному рівні.

Моріамін Форте – амінокисотно-вітамінний комплекс (8 незамінних АК і 11 вітамінів).

Гліцин – гліцин- та ГАМК-ергічну, α -адреноблокуючу, антиоксидантну, антитоксичну дію.

Бетаргін - є джерелом амінокислот аргініну та бетаїну, що використовуються з метою нормалізації та відновлення порушеної функції гепатобіліарної системи.



Препарати АК (продовження)

**Збалансована суміш 13 АК
(8 незамінних +Гіс+Арг+Про)**

**парентеральне харчування
недоношених, немовлят та
дітей раннього віку.**

Мінуси: відсутні електроліти,
вуглеводи, ліпіди.

**Технологія "все в одному" в
практиці парентерального
харчування: 2х або 3х камерні
пакети, що містять АК,
електроліти, вуглеводи, ліпіди
(3х камерні)!**



**АМІНОВЕН
ІНФАНТ
5%, 10%, 15%**



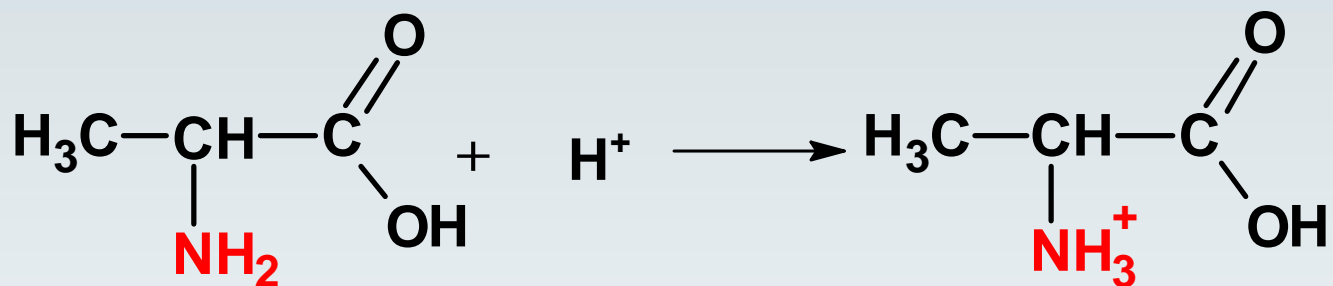
АМІНОЛ



**Кабівен, Нутріфлекс,
Олікномель 15**

Амфотерність АК

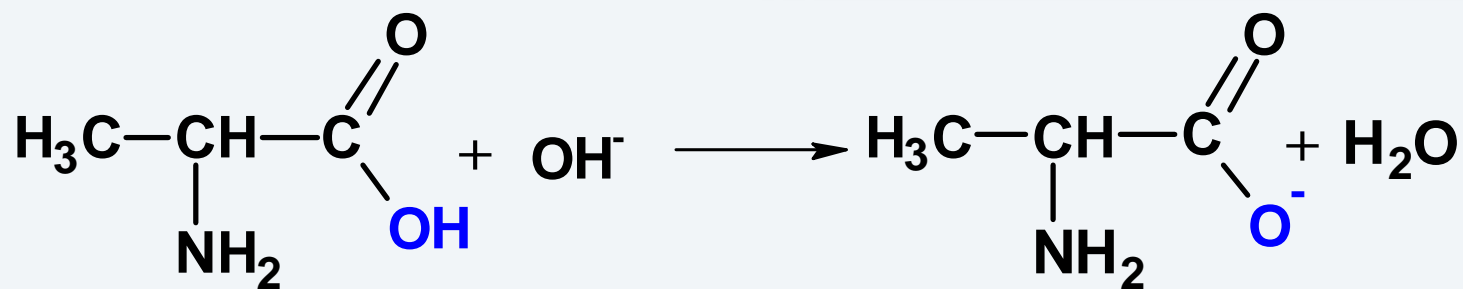
Основні властивості



аланін

Катіон аланіну

Кислотні властивості

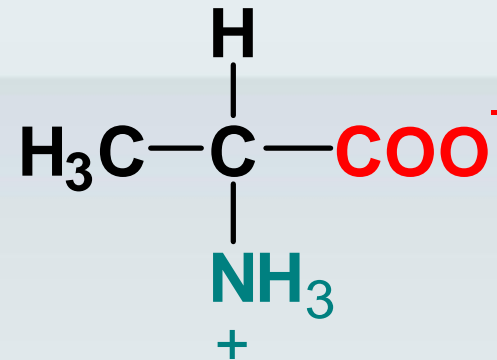


аланін

Аніонна форма аланіну

Ізоелектрична точка АК

Цвітер-іон аланіну:

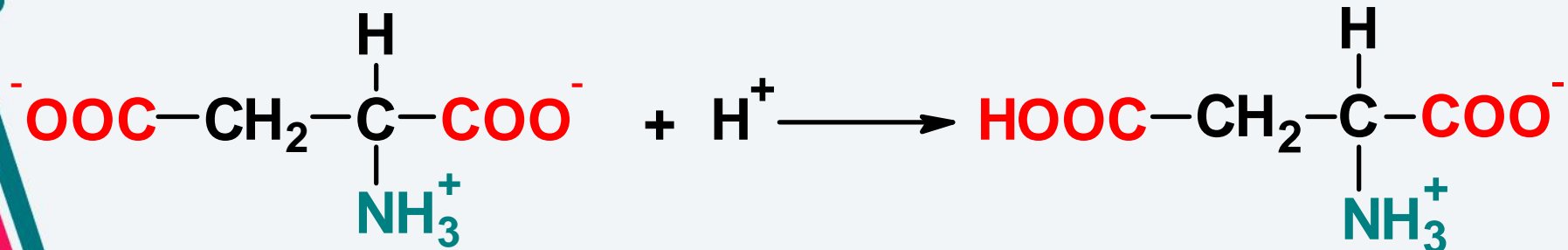


Ізоелектрична точка (IET, pI) – це таке значення рН при якому сумарний заряд молекули амінокислоти = 0.

Кислих АК (Асп, Глу) – IET в сильнокислом середовищі (рН 1-4)

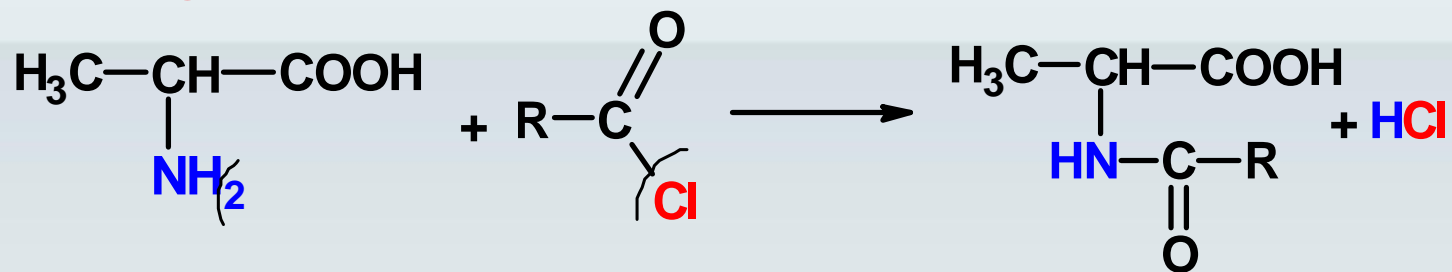
Основних АК (Ліз, Арг) – в лужному середовищі (рН 8-10)

Нейтральних АК (всі решта) – в слабкокислом (рН 5,5-6,5)



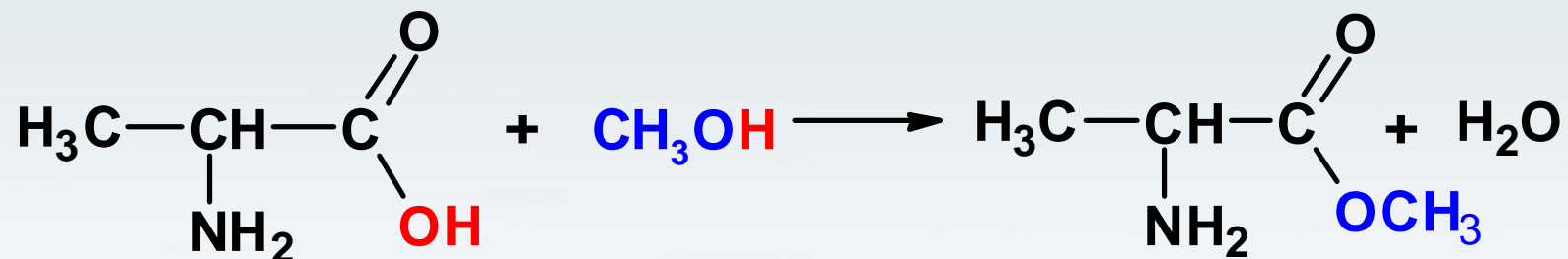
Хімічні реакції АК

1. Ацилування (по -NH_2 групі)



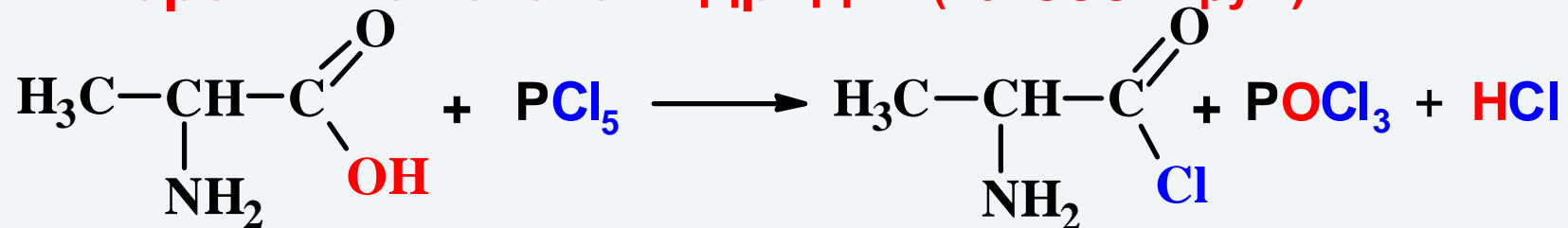
N-ацильна похідна аланіну

2. Естерифікації (по -COOH групі)



естер аланіну

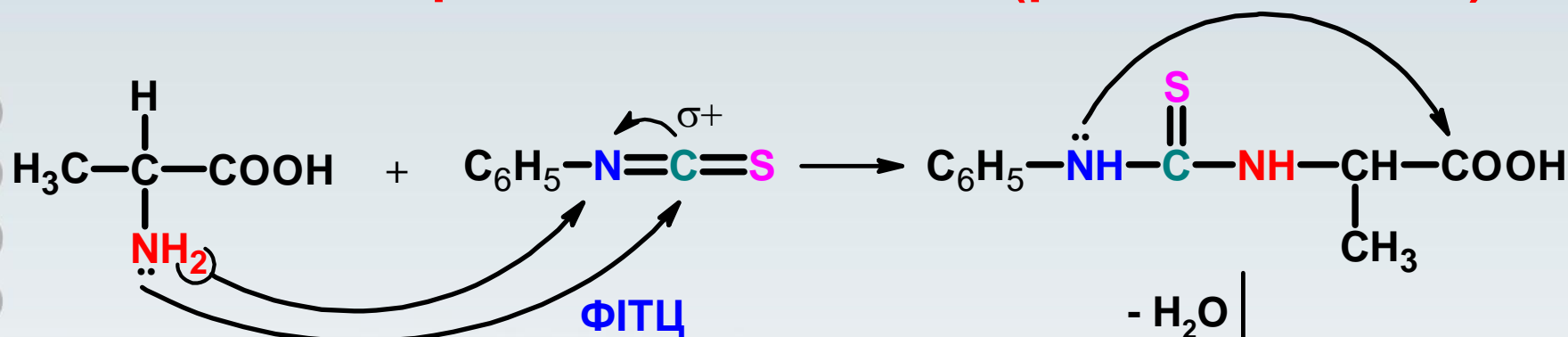
3. Утворення галогенангідридів (по -COOH групі)



хлорангідрид аланіну

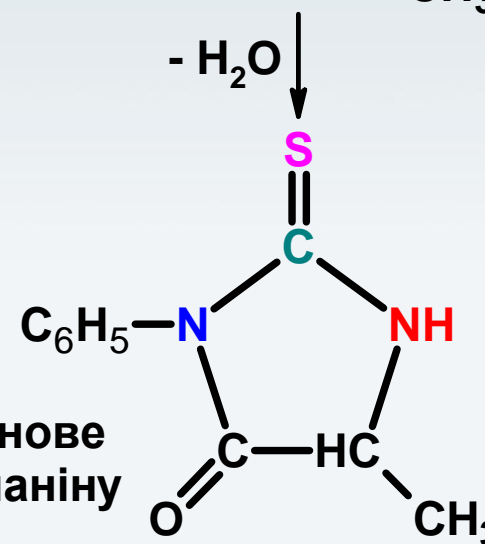
Хімічні реакції АК (продовження)

Взаємодія з фенілізотіоціанатом (реакція Едмана)



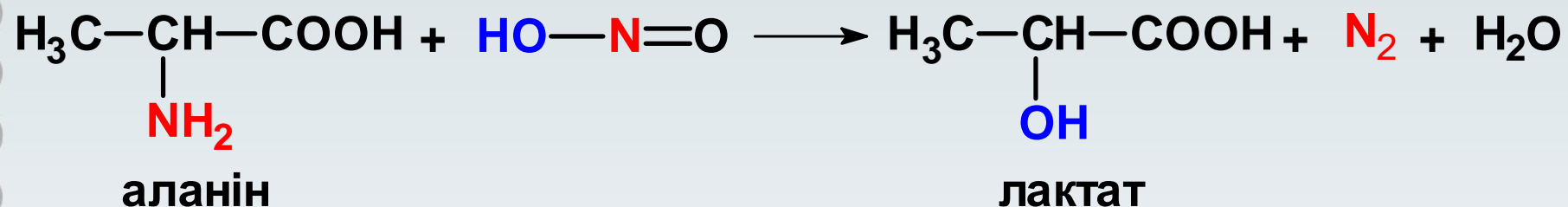
Значення: використовується для визначення N-кінцевої амінокислоти в пептидах.

Фенілтіогідантоїнове (ФТГ) похідне аланіну

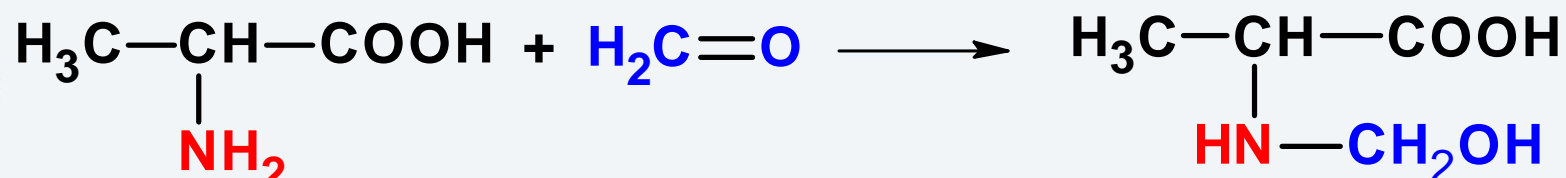


Реакції кількісного аналізу АК

1. Реакція Ван-Слайка (з HNO_2 нітритною кислотою)



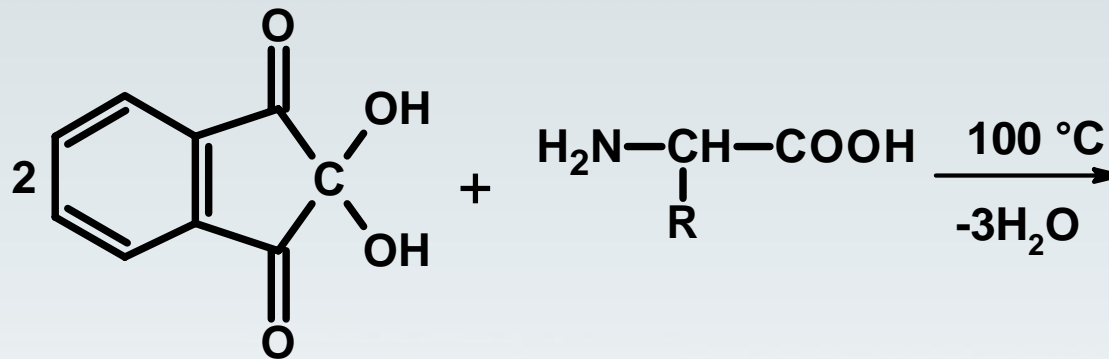
2. Реакція з формальдегідом (Зеренсена)



N-метильне похідне аланіну

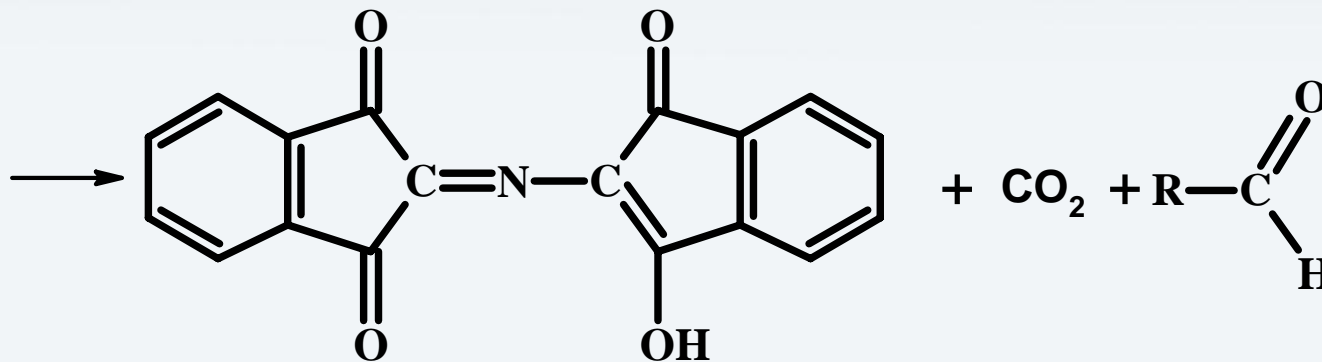
Якісні реакції на АК (продовження)

Нінгідринова реакція



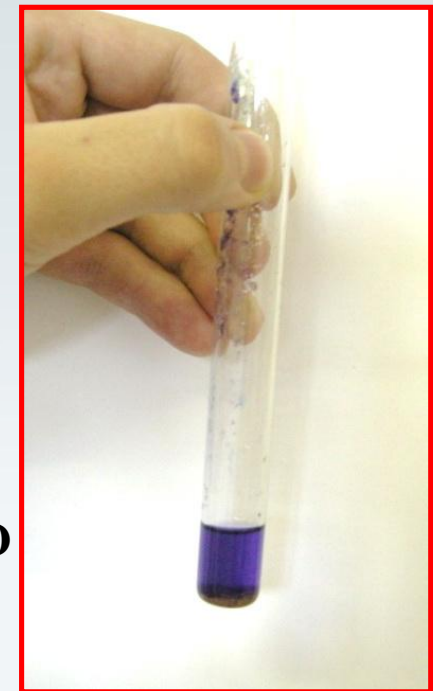
нінгідрин

α -амінокислота



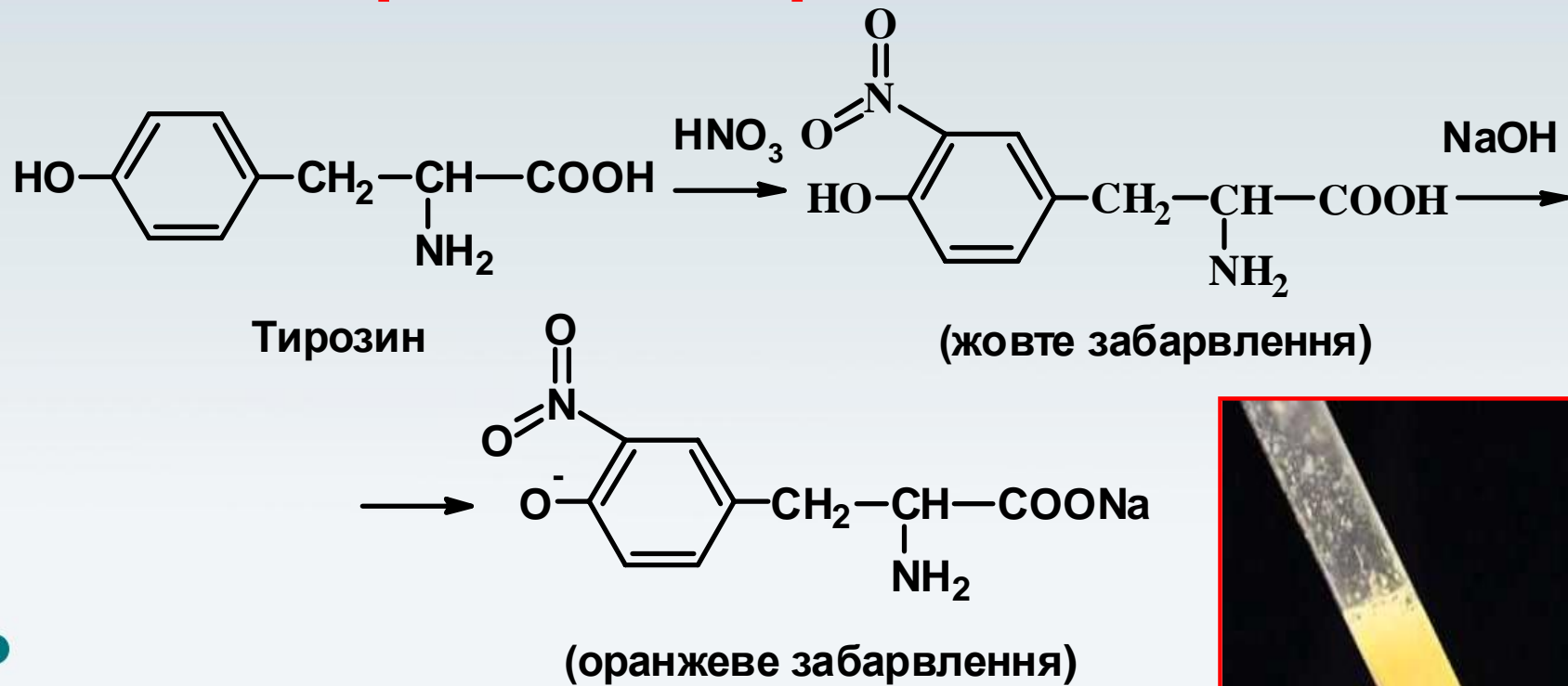
продукт реакції
синьо-фіолетового кольору

альдегід



Якісні реакції на АК

Ксантопротеїнова реакція (фен, тир, трп)

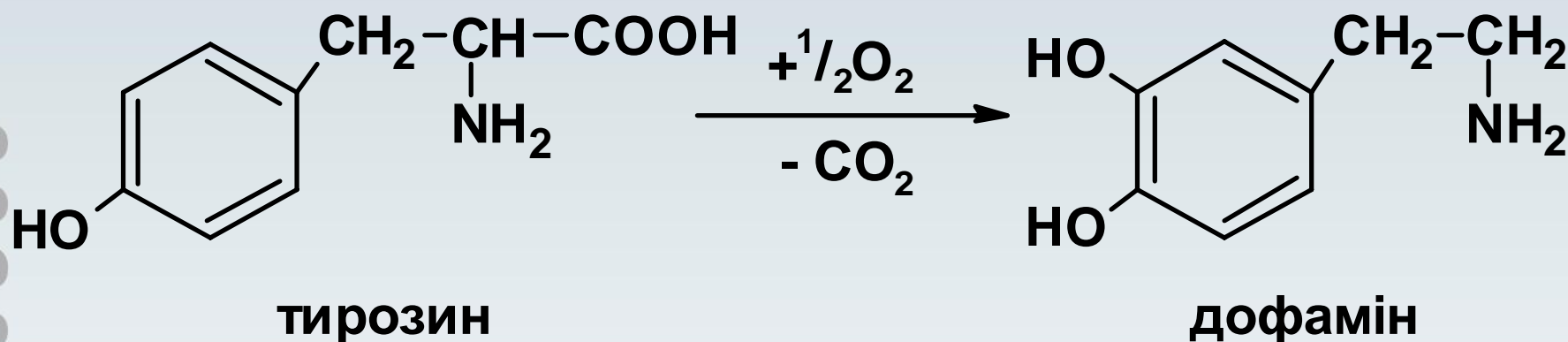


Хімічні реакції **АК** in vivo

Декарбоксилювання – це процес відщеплення карбоксильної групи від амінокислоти у вигляді CO_2 з утворенням біогенних амінів.

- **L-тирозин** - катехоламіни: адреналін, норадреналін, дофамін;
- **L-триптофан** - індоламіни: серотонін та мелатонін;

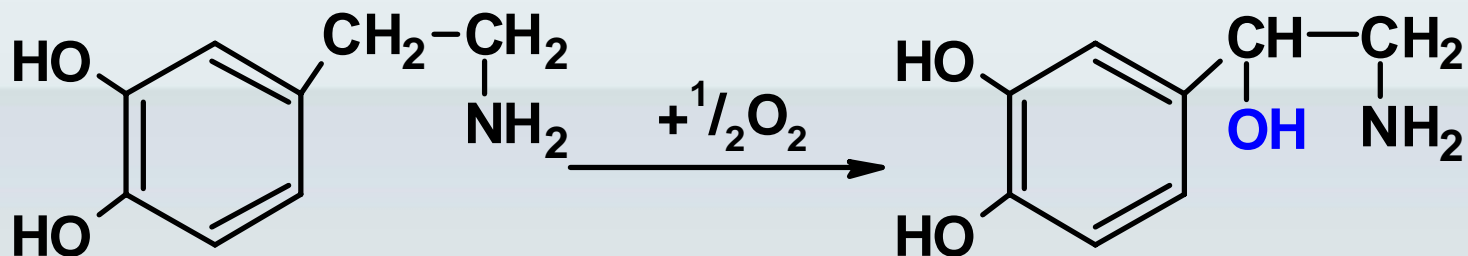
Хімічні реакції АК in vivo (продовження)



Дофамін:

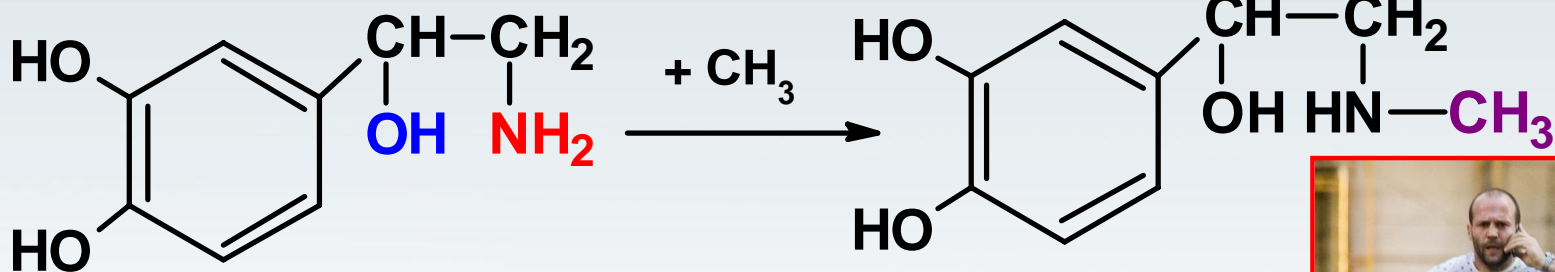
- є медіатором головного мозку;
- посилює роботу серцево-судинної системи;
- збільшує артеріальний тиск;
- розширює судини нирок і посилює діурез;
- регулює поведінку.

Хімічні реакції АК in vivo (продовження)



дофамін

норадреналін

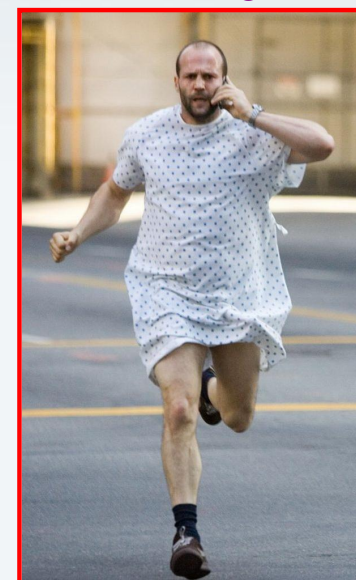


норадреналін

адреналін

Функції адреналіну і норадреналіну:

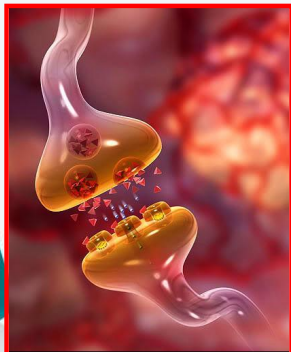
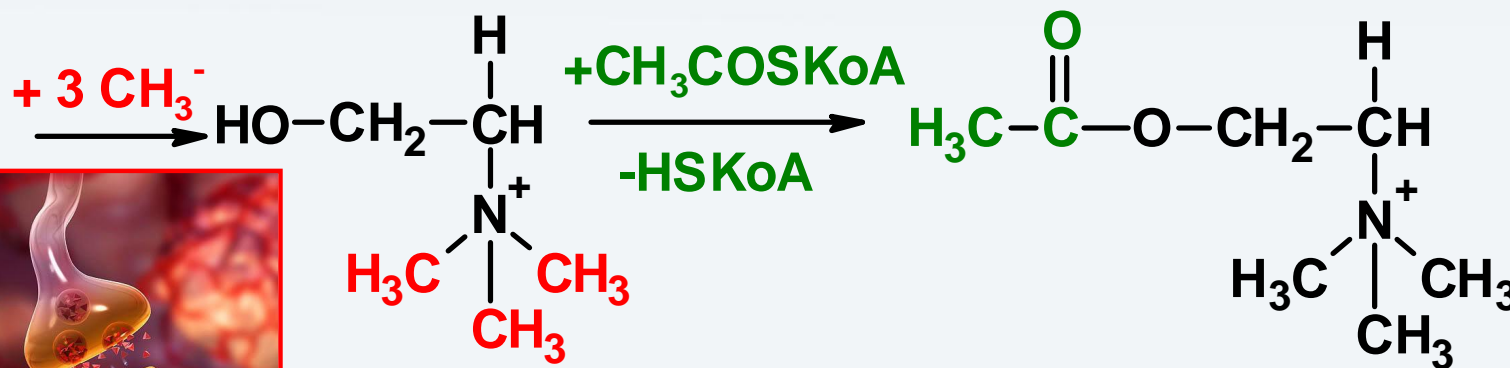
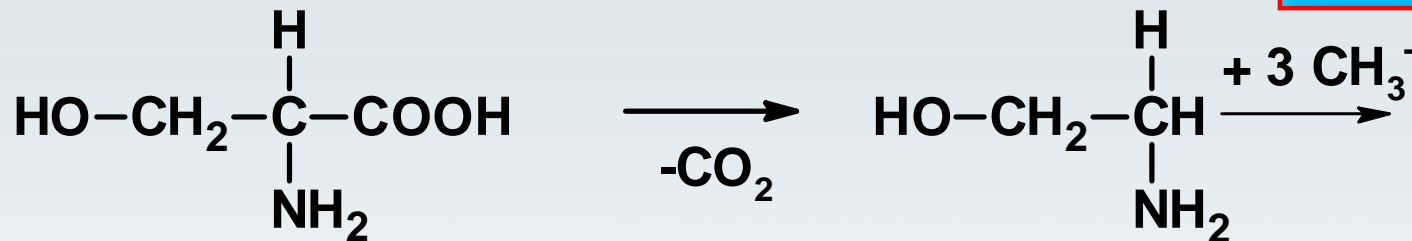
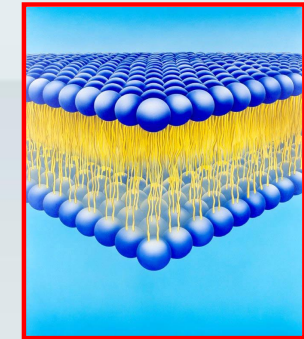
- нейромедіатори;
- спазм судин і зростання артеріального тиску;
- збільшення частоти серцевих скорочень;
- активують глікогеноліз;
- активують ліполіз.



Хімічні реакції **АК** in vivo (продовження)

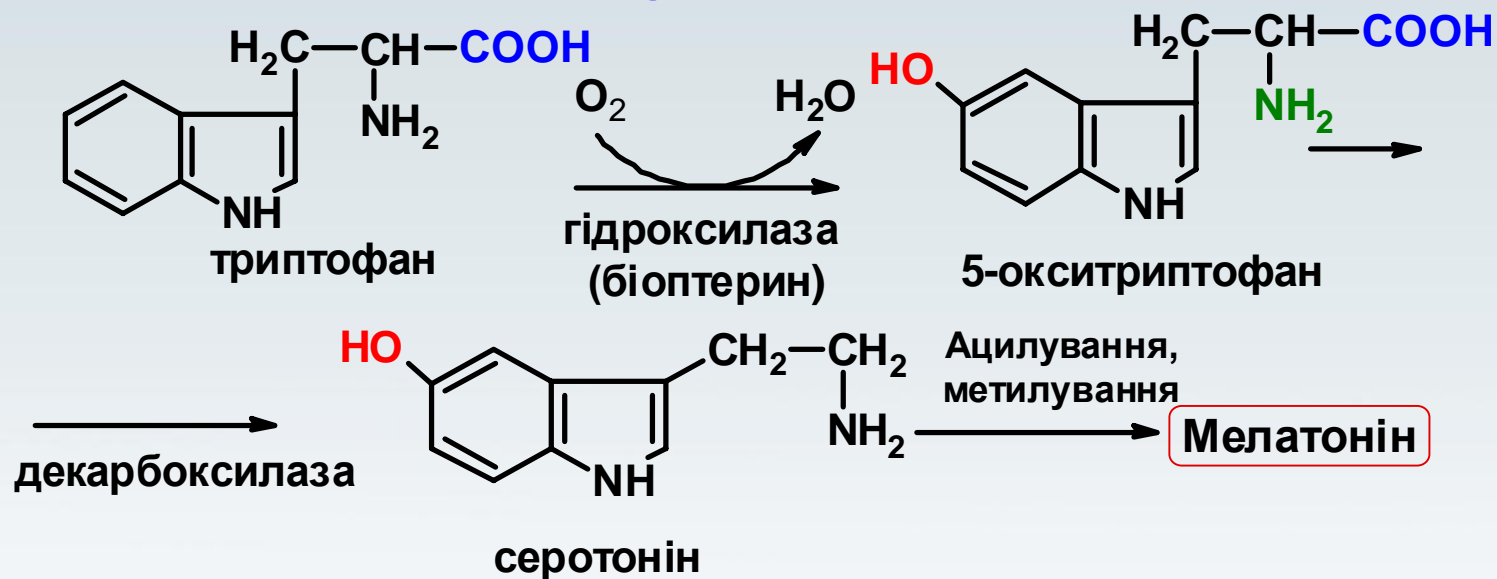
Декарбоксилювання **серину**:

- етаноламін - фосфоліпідів мембран;
- ацетилхолін - нейромедіатор.



Хімічні реакції АК in vivo (продовження)

Декарбосилування триптофану веде до утворення серотоніну.



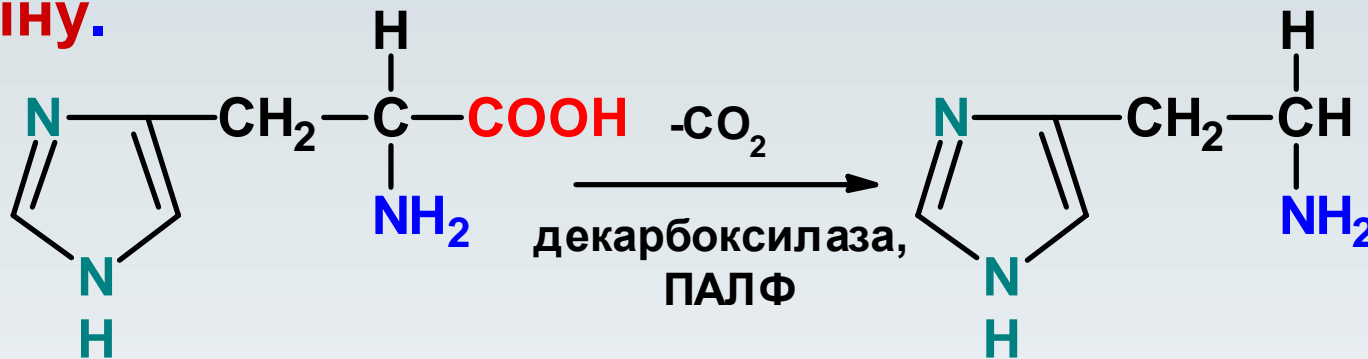
Біологічна роль серотоніну:

- гормон щастя;
- звужує бронхи, судини;
- медіатор алергії;
- використовується для синтезу мелатоніну - гормон-регулятор циркардних ритмів.



Хімічні реакції АК in vivo (продовження)

Декарбоксилювання гістидину веде до утворення гістаміну.



Гістидин

Гістамін

Біологічна роль гістаміну:

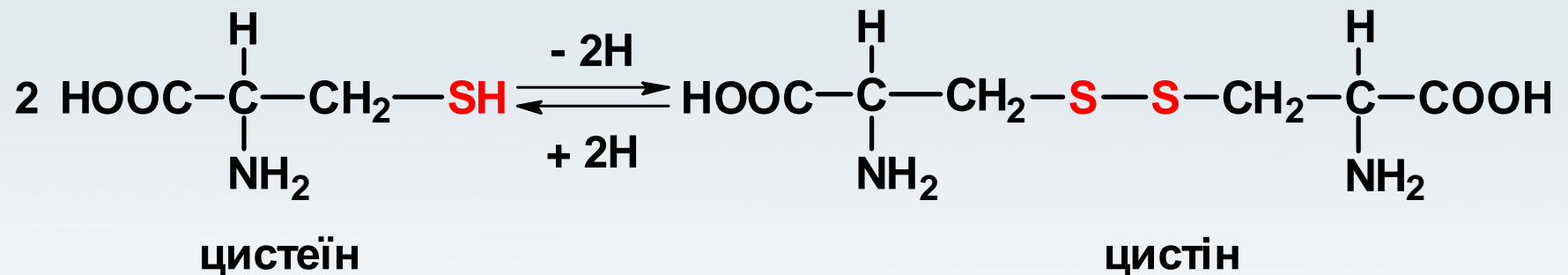
- медіатор алергії, запалення;
- стимулятор шлункової секреції.



Хімічні реакції АК in vivo (продовження)

Окисно-відновні реакції.

Амінокислота цистеїн здатна окислюватись до цистіну з утворенням дисульфідних зв'язків.



Значення:

- стабілізація третинної структури білків;
- підтримання редокс потенціалу.

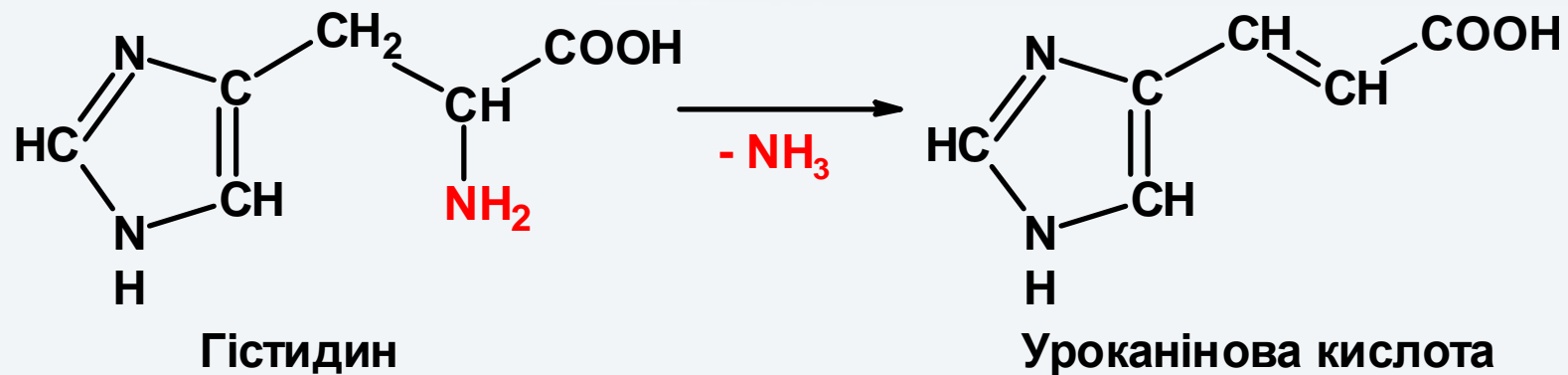
Хімічні реакції АК in vivo (продовження)

Дезамінування - відщеплення від АК $-NH_2$ групи у вигляді NH_3 . Два типи дезамінування.

Окиснювальне (глутамінова кислота) утворення α -кетокислот

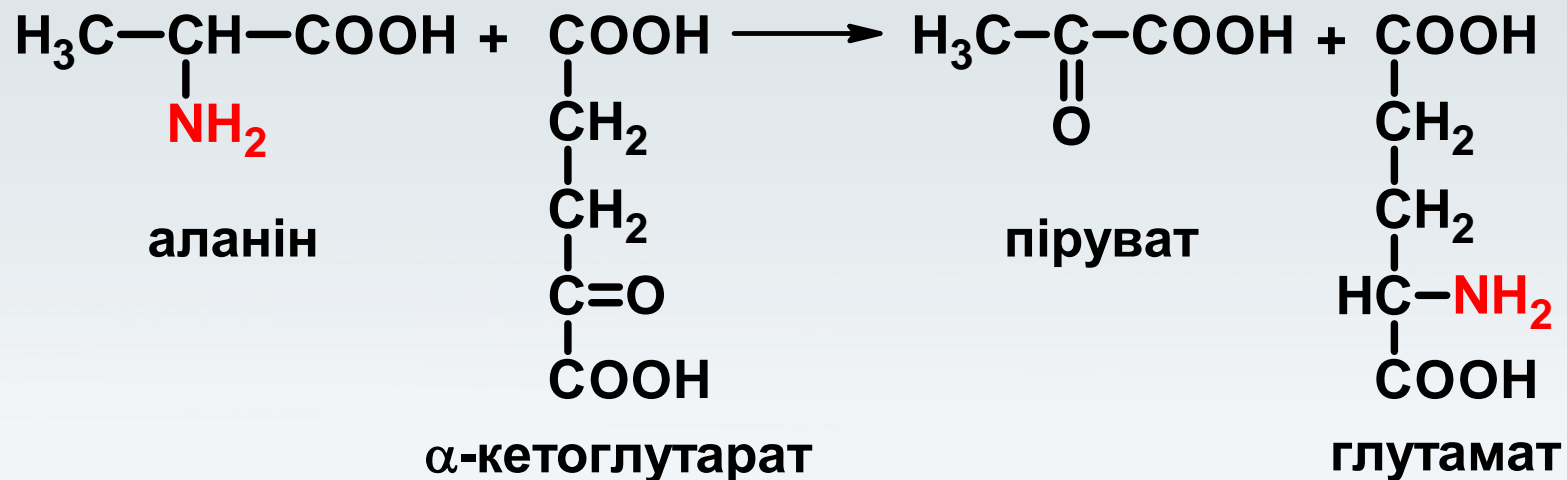


Внутрішньомолекулярне (гістидин до уроканінової кислоти)



Хімічні реакції АК in vivo (продовження)

Трансамінування – це процес міжмолекулярного переносу $-NH_2$ групи з АК на α -кетокислоту з утворенням нової АК і кетокислоти. При цьому NH_3 не виділяється!

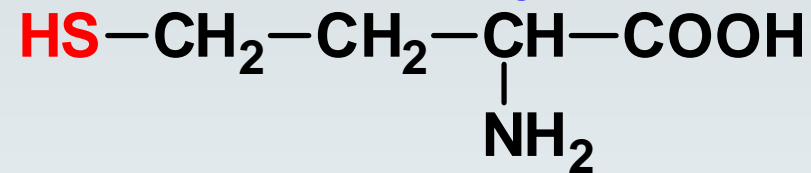


Біологічне значення трансамінування:

- синтез транспортних форм аміаку (попереднє знешкодження NH_3);
- утворення замінних АК;
- утворення α -кетокислот.

Наукова діяльність кафедри

Гомоцистеїн (ГЦ) – сірковмісна амінокислота, яка утворюється в організмі людини в результаті метаболізму незамінної амінокислоти метіоніну.



Гомоцистеїн (Hcy)

Підвищення в крові концентрації ГЦ призводить до:

- атеросклерозу;
- венозного тромбозу;
- гіпертонії;
- хвороби Альцгеймера;
- злоякісних пухлин;
- дефектів невральної трубки.

**Норма
5-15 мкмоль/л**

Структурна організація білків

Білки – це біополімери, мономерами яких є α -амінокислоти, зв'язані між собою пептидними зв'язками.



Фізико-хімічні властивості білків

Молекулярна маса (пептиди – до 6000 Да, білки від 6000 Да до мільйонів), методи: ультрацентрифугування, гельфільтрація, електрофорез.

Амфотерність білків –COOH, які проявляють кислотні властивості та –NH₂, які виявляють основні властивості.

Ізоелектрична точка – значення рН, при якому білок електронейтральний. Для кислих білків - у кислому середовищі (рН<7), для основних – в лужному середовищі (рН>7).

Ізоелектричний стан - заряд білка дорівнює «0».

Заряд білкових молекул:

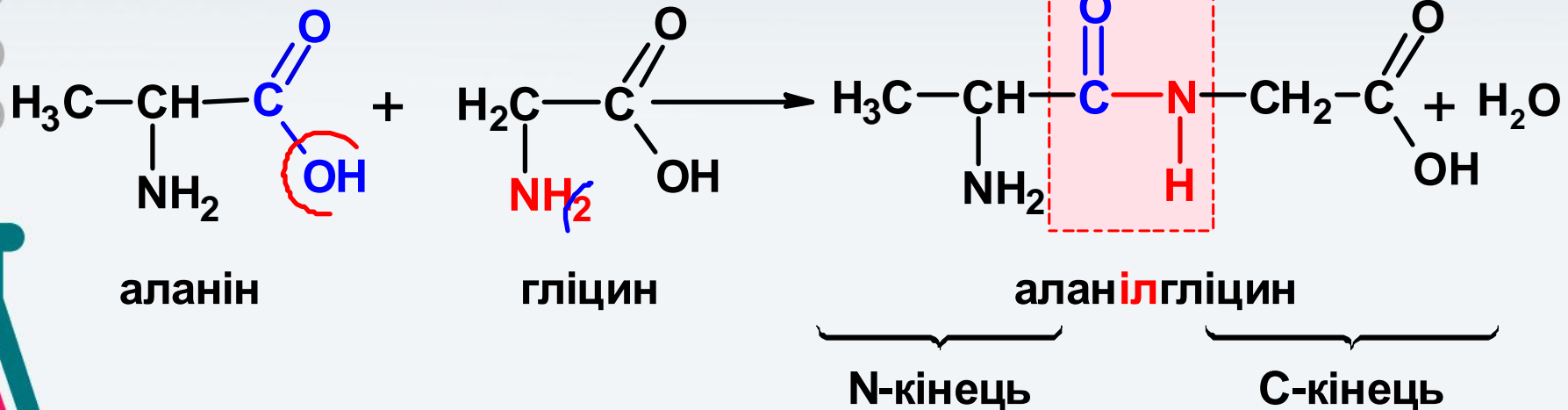
« - » заряджені білки (глутамінова та аспарагінова);

« + » заряджені гістони (лізин та аргінін).

Структурна організація білкової молекули

1. Первинна структура – це послідовність амінокислот в поліпептидному ланцюгу. Стабілізується пептидними зв'язками, кодується на генетичному рівні, і є основною, визначає всі інші структури білка.

Пептидиний зв'язок

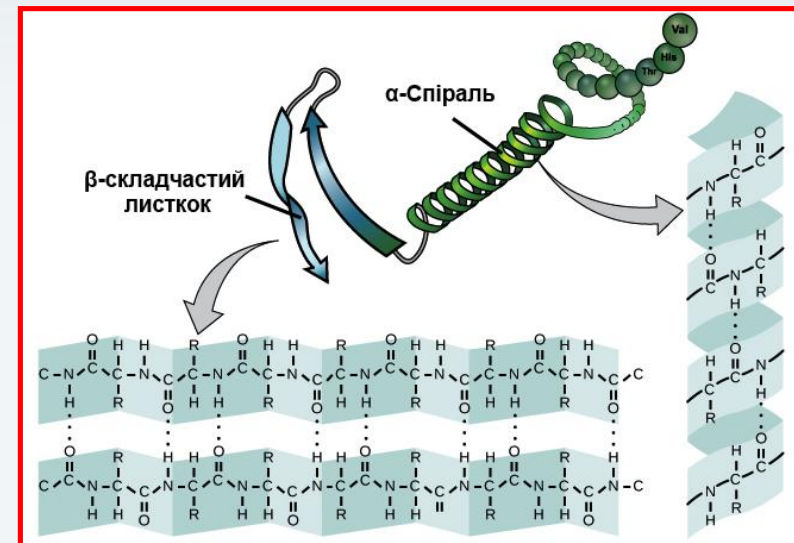


Структурна організація білкової молекули (продовження)

2. Вторинна структура – розміщення в просторі окремих ділянок поліпептидного ланцюга. Стабілізується вторинна структура переважно водневими та дисульфідними зв'язками.

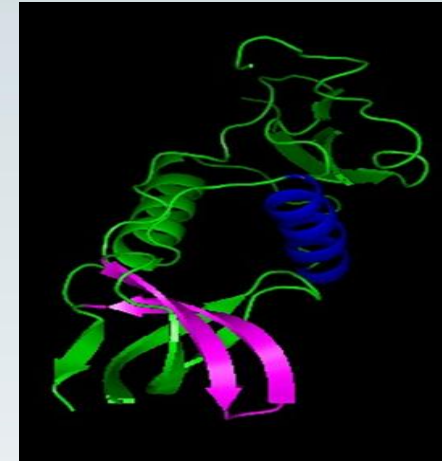
α -Спіраль – утримується в просторі завдяки утворенню великої кількості Н-Н зв'язків між – С=О та NH – групами поліпептидного ланцюга.

β -Структура - складчастий листок, в якому поліпептидні ланцюги з'єднані між собою за допомогою водневих зв'язків.

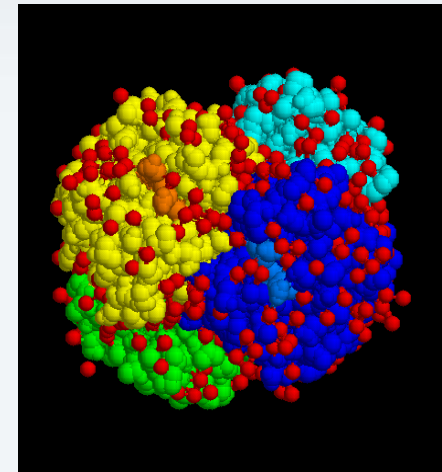


Структурна організація білкової молекули (продовження)

3. **Третинна структура** – розміщення в просторі всього поліпептидного ланцюга. Стабілізується S-S, H-H, йонними, гідрофобними та складноєфірними зв'язками.

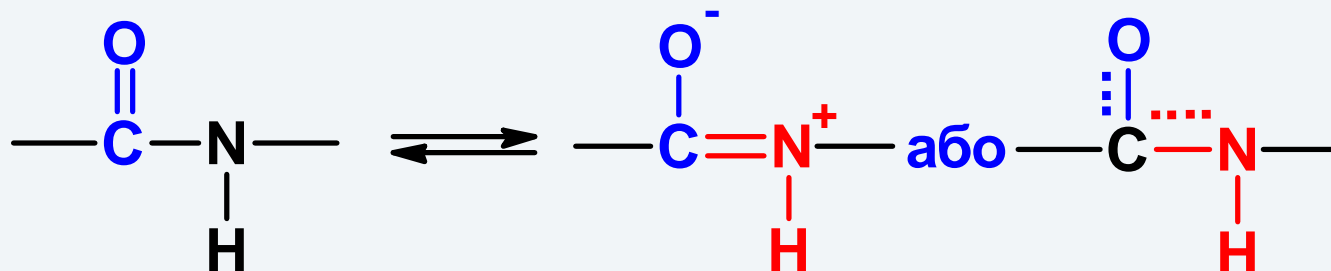


4. **Четвертинна структура** - об'єднання третинних структур. Кожен ланцюг має назву «субодиниця» (гемоглобін складається з 4 субодиниць: 2 α - та 2 β -ланцюги).



Властивості пептидного зв'язку

1. Пептидна група утворена -NH_2 однієї амінокислоти та -COOH групою іншої амінокислоти.
2. Атом С знаходиться в sp^2 гібридизації.
3. Групи C=O та N-H знаходяться в транс-положенні.
4. Всі атоми пептидної групи знаходяться в одній площині.
5. В пептидній групі р-електрони атома N вступають в супряження з π -елекtrонами подвійного зв'язку C=O , тому в пептидній групі наявне p,π -супряження.



резонансна будова пептидної групи

Властивості пептидного зв'язку (продовження)

- Внаслідок супряженення довжина зв'язку C-N є проміжною між такою для одинарного та подвійного зв'язків.
- Обертання навколо зв'язку C-N неможливе (супряжена система).
- Якісною реакцією на пептидний зв'язок є **біуретова реакція** – пептиди і білки дають синьо-фіолетове забарвлення з CuSO_4 у лужному середовищі.



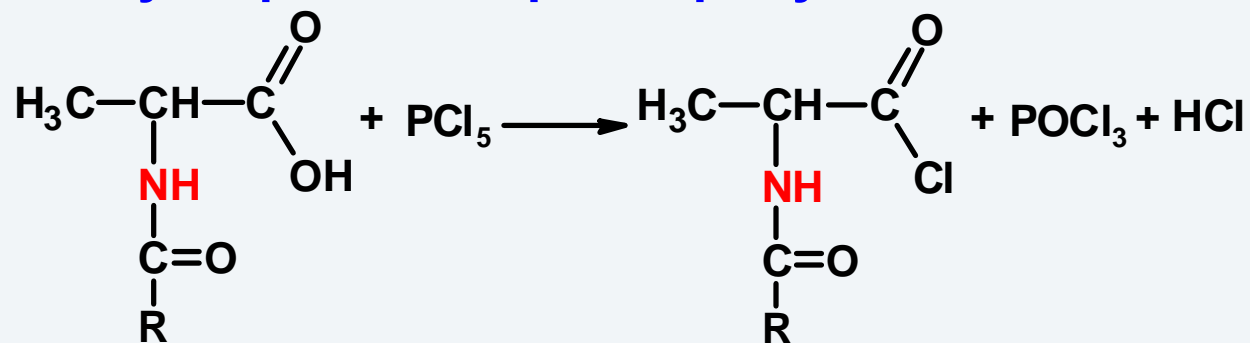
Хімічний синтез пептидів

(метод Фішера Е.Г. 1907р)

1. Захист аміногрупи першої амінокислоти ацильним радикалом при взаємодії з хлорангідридом:



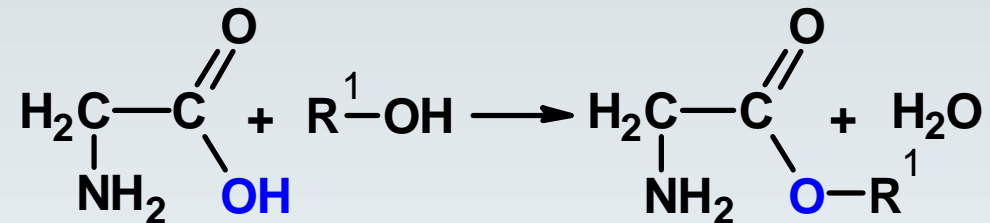
2. Активація карбоксильної групи першої амінокислоти шляхом утворення хлорангідриду.



активація карбоксильної групи аланіну

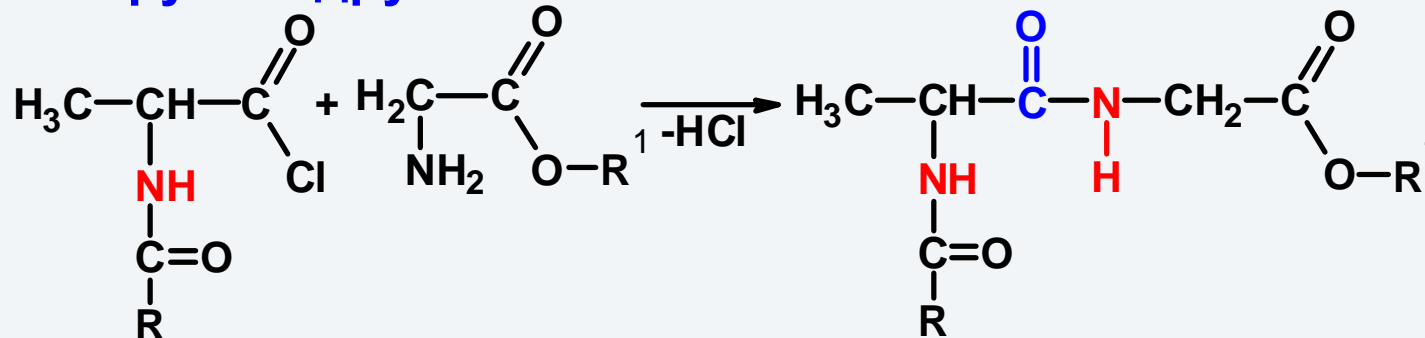
Хімічний синтез пептидів (продовження)

3. Захист карбоксильної групи другої амінокислоти шляхом перетворення її в складноефірну при взаємодії з спиртами.



захист карбоксильної групи гліцину

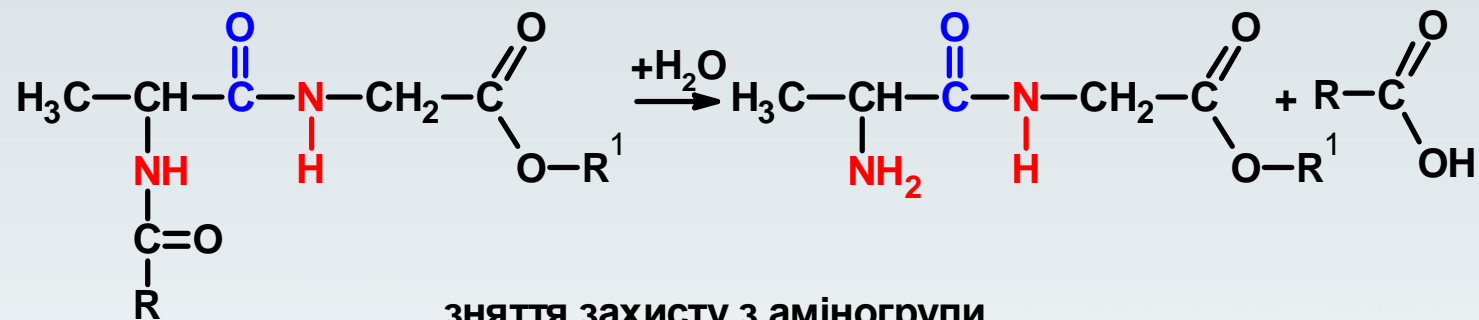
4. Утворення пептидного зв'язку між активованою карбоксильною групою першої амінокислоти та аміногрупою другої амінокислоти.



утворення пептидного зв'язку

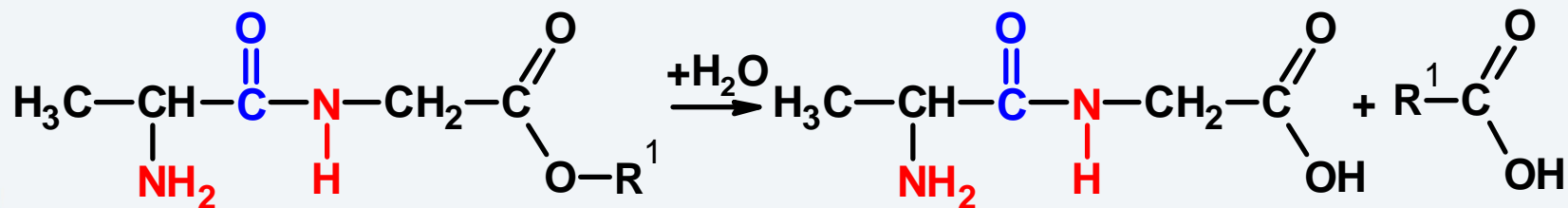
Хімічний синтез пептидів (продовження)

5. Зняття захисту з аміногрупи першої амінокислоти в утвореному дипептиді шляхом гідролізу.



зняття захисту з аміногрупи

6. Зняття захисту з карбоксильної групи другої амінокислоти в утвореному дипептиді шляхом гідролізу.

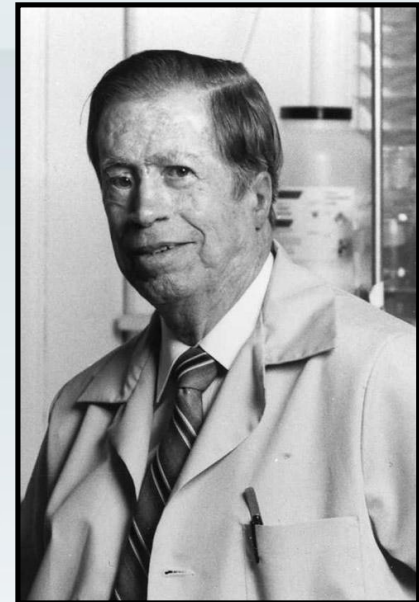
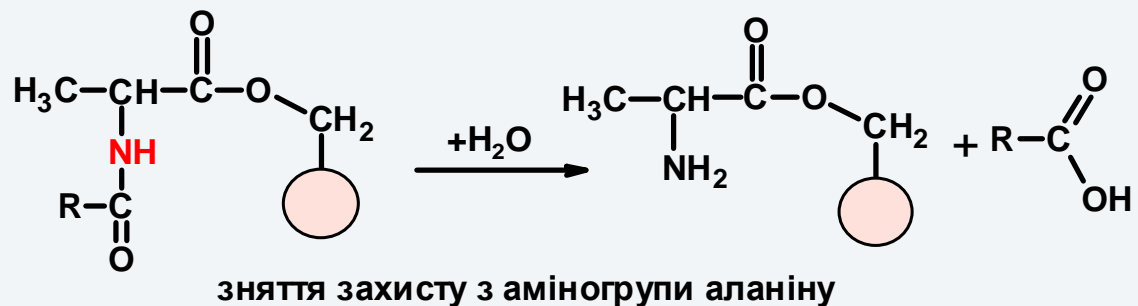
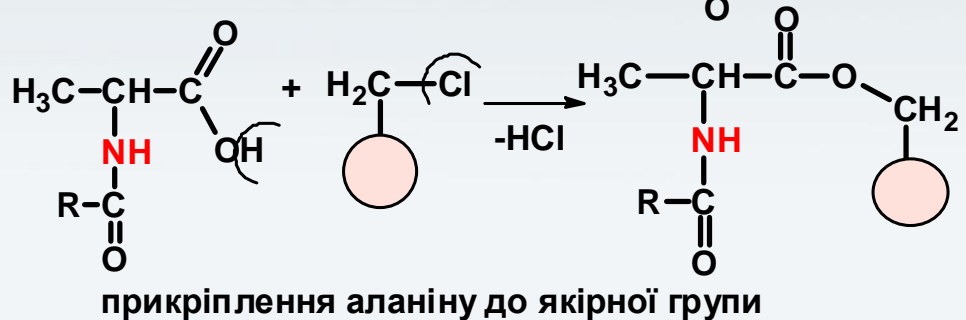


зняття захисту з карбоксильної групи

Твердофазний синтез пептидів

Синтез відбувається на твердому носії, поверхня якого містить хлорметильні («якірні») групи, він менш трудоємкий, більш швидкий.

Схема синтезу гліцилаланіну методом твердофазного синтезу:



Роберт Брюс Мерріфілд
(Нобілевська премія 1984)

Біологічно важливі пептиди

Назва пептидів будується шляхом послідовного перерахування АК залишків:

N-кінець + -іл, остання C-кінцева АК - без змін.

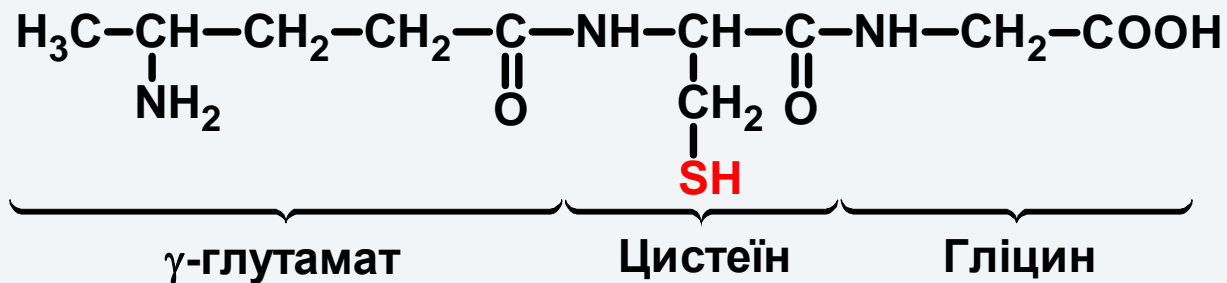
Дипептиди:

- карнозин (β -аланіл-L-гістидин);
- ансерін (β -аланіл-N-метил-L-гістидин).

Виконують буферні функції при фізіологічних значеннях рН за рахунок наявності імідазольного кільця (залишок гістидину).

Трипептиди і тетрапептиди:

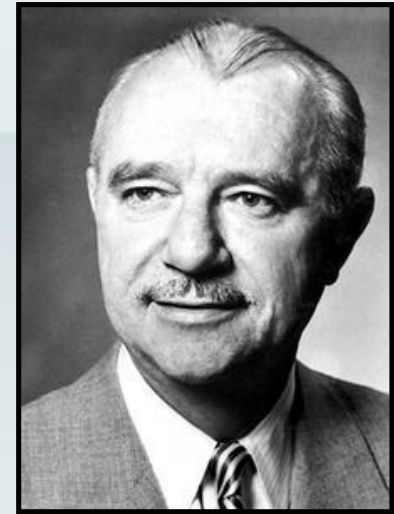
Глутатіон – типептид, бере участь в окисно-відновних процесах.



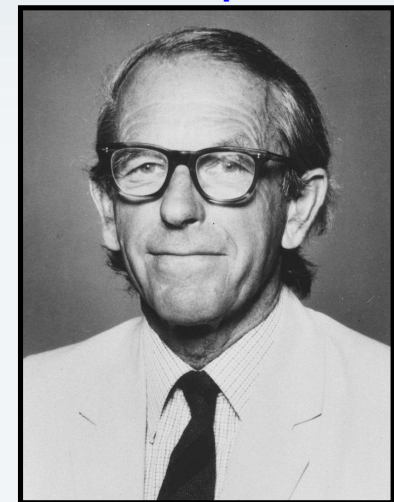
Тафцін – тетрапептид (Thr-Lys-Pro-Arg) – регулятор імунної системи.

Пептидні гормони

- **Окситоцин** – (9 АК, Іле, Лей) викликає скорочення гладкої мускулатури матки.
- **Вазопресин** – (9 АК, Фен, Арг) антидіуретичний гормон.
- **Інсулін** – збільшує проникність плазматичних мембран для глюкози. Інсулін складається з двох пептидних ланцюгів А і Б. Ланцюг А містить 21, а ланцюг Б - 30 амінокислотних залишків.



Вінсент дю Віньо
(Нобілевська премія 1955)



Фредерік Сенгер
(Нобілевська премія 1958)



Біологічно важливі пептиди

(продовження)

Нейропептиди - пептиди, що містяться в головному мозку (енкефаліни та пептид дельта-сну (DSIP)).

Функції: знеболююча дія, антистресовий ефект.

Пептидні токсини - пептидно-білкової природи токсини:

- отруйних грибів (аманітин);
- бджіл (апамін);
- змій (геморагін);
- скорпіонів (млекотоксин);
- морського молюска (конотоксин).



Препарати білків

- Препарати комплексної дії: альбумін крові людини.
- Коректори системи гемостазу: гемостатична губка.
- Імунологічні препарати: γ -глобулін, інтерферон.



Методи виділення та очистки білків

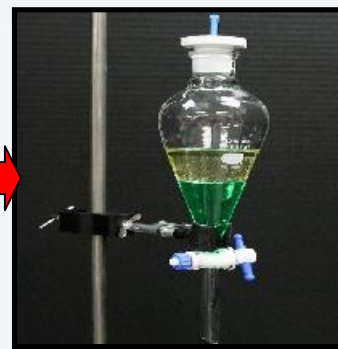
1. Руйнування тканин в гомогенізаторі.
2. Центрифугування отриманого гомогенату.
3. Екстракція білків (переведення білків в розчинний стан).
4. Очистка екстракту від небілкових органічних речовин.
5. Виділення певного білку.



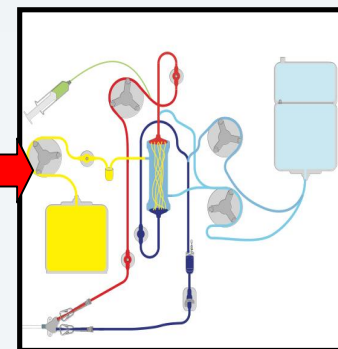
1



2



3



4



5

Поняття про денатурацію білків

Денатурація білків – це втрата білками їх біологічних властивостей (каталітичних, транспортних і т.п.) внаслідок порушення вторинної, третинної та, при наявності, четвертинної структур. Ренатурація зворотній процес до денатурації

Фактори

Фізичні

($t^{\circ} > 56^{\circ}\text{C}$, іонізуюче випромінювання)



Хімічні

(сильні кислоти, луги, солі важких металів, алкалоїди)



Висолювання білків

Висолювання - це додавання до розчину білка нейтральних солей (Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), що призводить до нейтралізації заряду білка, зменшенню його гідратної оболонки, що призводить до “злипання” молекул і осадження.

Значення: визначення співвідношення білкових фракцій.

Осадження водовіднімаючими засобами

Зворотне осадження - ацетон, етанол усувають у білка гідратної оболонки, але не заряду. Розчинність дещо знижується, але денатурації не настає.

Наприклад, в цьому полягає антисептична дія етанолу.



ДЯКУЮ ЗА УВАГУ!

