

ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава РФ

## **АМИНОКИСЛОТЫ. БЕЛКИ**

Инновационные средства обучения и контроля знаний студентов

*Методические указания  
для подготовки студентов I курса  
к практическим занятиям  
по биорганической химии*

Иваново 2013

Государственное бюджетное образовательное учреждение  
Высшего профессионального образования  
«Ивановская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

## **АМИНОКИСЛОТЫ. БЕЛКИ**

Инновационные средства обучения и контроля знаний студентов

*Методические указания  
для подготовки студентов I курса  
к практическим занятиям  
по биоорганической химии*

Иваново 2013

*Утверждено решением методической комиссии естественнонаучных дисциплин № 1 от 12.12.2013*

Составители:

профессор кафедры химии, доктор химических наук М.Е.Клюева  
доцент кафедры химии, кандидат биологических наук Н.Г.Калинина

Данные методические указания содержат блок информации по теме «Аминокислоты. Белки». Текст сопровождается примерами реакций, формулами, схемами, рисунками и таблицами, облегчающими восприятие материала, однако не повторяют его.

Методические указания соответствуют государственному образовательному стандарту для медицинских вузов по химии, поддерживают преемственность и взаимосогласованность учебных изданий для разных образовательных уровней не только внутри дисциплины, но и между другими дисциплинами учебного плана: биохимией, физиологией, патологической физиологией, судебной медициной, санитарной гигиеной и т.д., адаптированы к новым образовательным технологиям.

Предназначены для подготовки студентов I курса к практическим занятиям по биоорганической химии.

Рецензент:

Зав.кафедрой биохимии ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава России доктор медицинских наук, доцент И.К. Томилова

## Актуальность изучения темы

Аминокислоты – структурные единицы пептидов и белков. Знание строения и химических свойств аминокислот необходимы для понимания их реакционной способности, превращений и биологической активности в организме человека. Особая роль в жизнедеятельности принадлежит белкам. От родителей детям передается генетическая информация о специфической структуре и функциях всех белков данного организма. Синтезированные белки выполняют многообразные функции: ускоряют химические реакции, выполняют транспортную, структурную, защитную функции, участвуют в передаче сигналов от одних клеток другим и таким образом реализуют наследственную информацию. В связи с чем, знания о составе, строении и химических свойствах пептидов и белков необходимы для понимания их функций в организме человека в норме и патологии, применения в клинической практике для диагностики и лечения, синтеза пептидов и белков *in vitro*. Позволяет решить проблемы сохранения здоровья человека, выяснить причины различных болезней и изыскать пути их эффективного лечения.

Наиболее продуктивным и перспективным направлением решения задач повышения эффективности усвоения материала, повышения качества знаний по теме является инновационный подход к обучению, включающий несколько идей:

- 1) Чередование интеллектуальной и экспериментальной деятельности студентов в рамках модели развивающейся кооперации.
- 2) Использование инновационных средств контроля за процессом обучения.
- 3) Учет мотивации учащихся в изучении темы занятия.

**Цель общая – уметь:** использовать знание свойств аминокислот для объяснения строения и физико-химических свойств и функций белков в организме. Сформулировать общие понятия о белках как полимерах, которые являются структурными компонентами всех тканей организма.

## **Практические умения и навыки, приобретаемые на занятии**

### **Знать:**

физико-химическую сущность процессов, происходящих в живом организме на молекулярном и клеточном уровнях (ПК-2);

строение и химические свойства основных классов биологически важных органических соединений (ПК-2);

строение и функции наиболее важных химических соединений (природных белков) (ПК-2).

### **Уметь:**

классифицировать химические соединения, основываясь на их структурных формулах (ПК-2);

пользоваться номенклатурой IUPAC для составления названий по формулам типичных представителей биологически важных веществ и лекарственных препаратов (ОК-1);

прогнозировать направление и результат физико-химических процессов и химических превращений биологически важных веществ (ПК-2);

пользоваться физическим, химическим и биологическим оборудованием (ОК-1, ПК-2).

### **Владеть:**

навыками самостоятельной работы с учебной, научной и справочной литературой; вести поиск и делать обобщающие выводы (ОК-1);

навыками безопасной работы в химической лаборатории с химической посудой, реактивами, электрическими приборами (ОК-1, ПК-2).

### **Исходные знания по теме:**

1. Явление изомерии. Виды изомерии.
2. Определение органической кислоты и органических оснований (аминов).
3. Химические свойства органических кислот и оснований.
4. Аминокислоты: определение, состав, строение.
5. Кислотно–основные свойства аминокислот.

6. Химические реакции аминокислот по карбокси-группе: образование эфиров, солей, галогенангидридов. Биологическое и аналитическое значение этих реакций.
7. Химические реакции аминокислот по аминогруппе: образование солянокислых солей, взаимодействие с азотистой кислотой, формальдегидом, Значение этих реакций.
8. Декарбоксилирование аминокислот и биологическое значение образованных биогенных аминов.

**Вопросы для самостоятельного внеаудиторного изучения:**

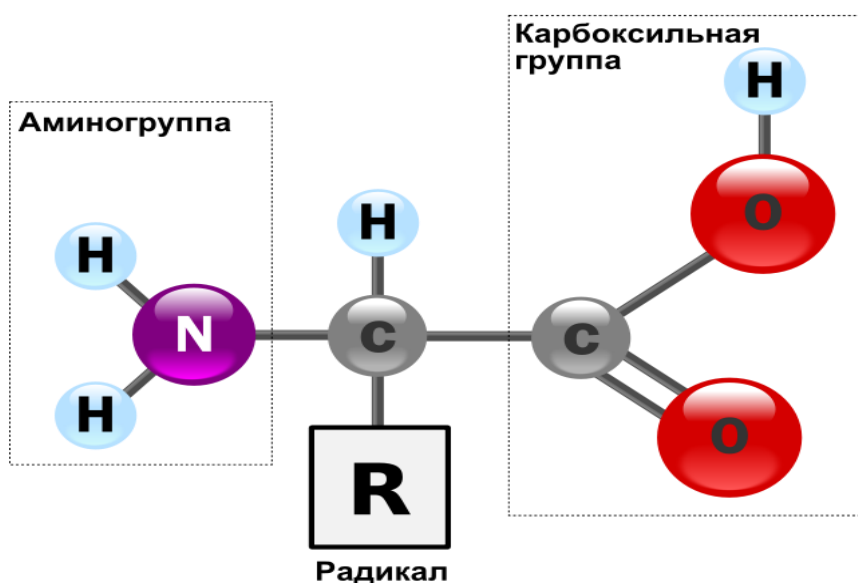
1. Классификация аминокислот.
2. Декарбоксилирование аминокислот в организме

**Методические указания по самоподготовке**

Первые шесть вопросов для повторения являются предметом изучения в средней школе и у хорошо подготовленных студентов обычно не вызывают затруднений.

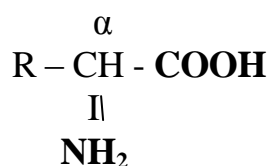
**Основные вопросы темы:**

*Органическое соединение, в молекуле которого одновременно содержатся карбоксильные и амино-группы – аминокислоты - могут рассматриваться как производные карбоновых кислот, в которых один или несколько атомов водорода заменены на амино-группы.*



Аминокислоты - структурные компоненты белков.

Установлено, что при гидролизе чистого белка, не содержащего примесей, освобождается 20 различных  $\alpha$ -аминокислот.



Все встречающиеся в природе аминокислоты обладают общим свойством – амфотерностью, т.е. каждая аминокислота содержит как минимум одну кислотную ( $-\text{COOH}$ ), и одну основную ( $-\text{NH}_2$ ) группы. Аминокислоты будут отличаться друг от друга химической природой радикала R, не участвующего в образовании пептидной связи при синтезе белка. Все разнообразие особенностей структуры и функции белковых молекул связано с химической природой и физико-химическими свойствами радикалов аминокислот. Именно благодаря им белки наделены рядом уникальных функций, не свойственных другим биополимерам, и обладают химической индивидуальностью.

---

### Получение

Большинство аминокислот можно получить в ходе гидролиза белков или как результат химических реакций:



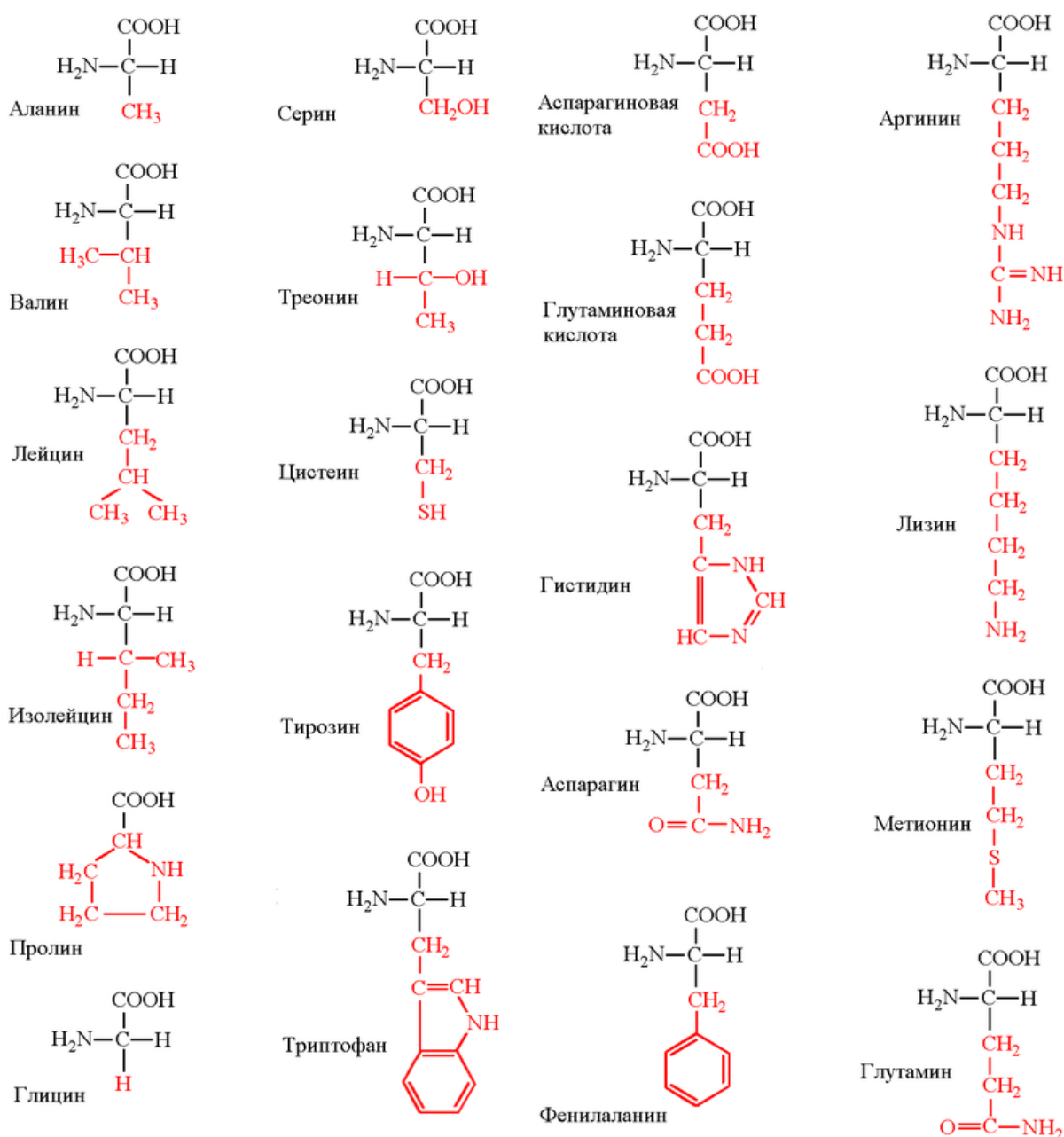
---

### Оптическая изомерия

Все входящие в состав живых организмов  $\alpha$ -аминокислоты, кроме глицина, содержат асимметричный атом углерода (треонин и изолейцин содержат два асимметричных атома) и обладают оптической активностью. Почти все встречающиеся в природе  $\alpha$ -аминокислоты имеют L-форму, и лишь L-аминокислоты включаются в состав белков, синтезируемых на рибосомах.

Аспарагиновые остатки в метаболически неактивных структурных белках претерпевают медленную самопроизвольную неферментативную рацемизацию: так в белках дентина и эмали зубов L-аспартат переходит в D-форму со скоростью ~0,1 % в год, что может быть использовано для определения возраста млекопитающих. Рацемизация остатков аспарагиновой также отмечена при старении коллагена.

Структурные формулы 20-ти протеиногенных аминокислот обычно приводят в виде так называемой *таблицы протеиногенных аминокислот*:



Для запоминания однобуквенного обозначения протеиногенных аминокислот используется мнемоническое правило (последний столбец).



Глицин	Gly	G	Glycine	Гли
Аланин	Ala	A	Alanine	Ала
Валин	Val	V	Valine	Вал
Изолейцин	Ile	I	Isoleucine	Иле
Лейцин	Leu	L	Leucine	Лей
Пролин	Pro	P	Proline	Про
Серин	Ser	S	Serine	Сер
Треонин	Thr	T	Threonine	Тре
Цистеин	Cys	C	Cysteine	Цис
Метионин	Met	M	Methionine	Мет
Аспарагиновая				
кислота	Asp	D	aspartic acid	Асп
Аспарагин	Asn	N	asparagine	Асн
Глутаминовая				
кислота	Glu	E	glutamic acid	Глу
Глутамин	Gln	Q	Q-tamine	Глн
Лизин	Lys	K	before L	Лиз
Аргинин	Arg	R	arginine	Арг
Гистидин	His	H	Histidine	Гис
Фенилаланин	Phe	F	Phenylalanine	Фен
Тирозин	Tyr	Y	tyrosine	Тир
Триптофан	Trp	W	two rings	Три

### Классификация

#### По радикалу

**Неполярные:** глицин, аланин, валин, изолейцин, лейцин, пролин, метионин, фенилаланин, триптофан

**Полярные незаряженные** (заряды скомпенсированы) при pH=7: серин, треонин, цистеин, аспарагин, глутамин, тирозин

**Полярные заряженные отрицательно** при pH=7: аспарат, глутамат

**Полярные заряженные положительно** при  $pH=7$ : лизин, аргинин, гистидин

#### По функциональным группам

##### **Алифатические**

*Моноаминомонокарбоновые*: глицин, аланин, валин, изолейцин, лейцин

*Оксимоноаминокарбоновые*: серин, треонин

*Моноаминодикарбоновые*: аспартат, глутамат, за счёт второй карбоксильной группы несут в растворе отрицательный заряд

*Амиды моноаминодикарбоновых*: аспарагин, глутамин

*Диаминомонокарбоновые*: лизин, аргинин, несут в растворе положительный заряд

*Серусодержащие*: цистеин, метионин

**Ароматические**: фенилаланин, тирозин, триптофан

**Гетероциклические**: триптофан, гистидин

**Иминокислоты**: пролин

#### По классам аминоксил-тРНК-синтетаз

*Класс I*: валин, изолейцин, лейцин, цистеин, метионин, глутамат, глутамин, аргинин, тирозин, триптофан

*Класс II*: глицин, аланин, пролин, серин, треонин, аспартат, аспарагин, гистидин, фенилаланин

Для аминокислоты лизин существуют аминоксил-тРНК-синтетазы обоих классов.

#### По путям биосинтеза

Пути биосинтеза протеиногенных аминокислот разноплановы. Одна и та же аминокислота может образовываться разными путями. К тому же совершенно различные пути могут иметь очень похожие этапы. Тем не менее, имеют место и оправданы попытки классифицировать аминокислоты по путям их биосинтеза. Существует представление о следующих биосинтетических семействах аминокислот: аспартата, глутамата, серина, пирувата и пентоз. Не всегда конкретную аминокислоту можно однозначно отнести к определённому семейству;

делаются поправки для конкретных организмов и учитывая преобладающий путь. По семействам аминокислоты обычно распределяют следующим образом:

Семейство аспартата: аспартат, аспарагин, треонин, изолейцин, метионин, лизин.

Семейство глутамата: глутамат, глутамин, аргинин, пролин.

Семейство пирувата: аланин, валин, лейцин.

Семейство серина: серин, цистеин, глицин.

Семейство пентоз: гистидин, фенилаланин, тирозин, триптофан.

Фенилаланин, тирозин, триптофан иногда выделяют в семейство шикимата.

#### По способности организма синтезировать из предшественников

##### **Незаменимые:**

Для большинства животных и человека незаменимыми аминокислотами являются: *валин, изолейцин, лейцин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин, триптофан, аргинин, гистидин.*

##### **Заменимые:**

Для большинства животных и человека заменимыми аминокислотами являются: *глицин, аланин, пролин, серин, цистеин, аспартат, аспарагин, глутамат, глутамин, тирозин.*

Классификация аминокислот на заменимые и незаменимые не лишена недостатков. К примеру, тирозин является заменимой аминокислотой только при условии достаточного поступления фенилаланина. Для больных фенилкетонурией тирозин становится незаменимой аминокислотой. Аргинин синтезируется в организме человека и считается заменимой аминокислотой, но в связи с некоторыми особенностями его метаболизма при определённых физиологических состояниях организма может быть приравнен к незаменимым. Гистидин также синтезируется в организме человека, но не всегда в достаточных количествах, потому должен поступать с пищей.

#### По характеру катаболизма у животных

Биодеградация аминокислот может идти разными путями. По характеру продуктов катаболизма у животных протеиногенные аминокислоты делят на

три группы: *глюкогенные* (при распаде дают метаболиты, не повышающие уровень кетоновых тел, способные относительно легко становиться субстратом для глюконеогенеза: пируват,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат), *кетогенные* (распадаются до ацетил-КоА и ацетоацетил-КоА, повышающие уровень кетоновых тел в крови животных и человека и преобразующиеся в первую очередь в липиды), *глюко-кетогенные* (при распаде образуются метаболиты обоих типов).

**Глюкогенные:** глицин, аланин, валин, пролин, серин, треонин, цистеин, метионин, аспарат, аспарагин, глутамат, глутамин, аргинин, гистидин.

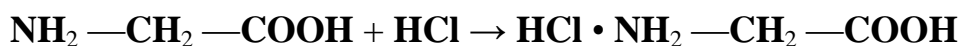
**Кетогенные:** лейцин, лизин.

**Глюко-кетогенные** (смешанные): изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан.

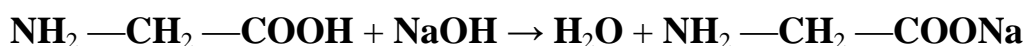
### Химические свойства.

Аминокислоты обычно могут вступать во все реакции, характерные для карбоновых кислот и аминов.

Аминокислоты взаимодействуют с кислотами и щелочами:



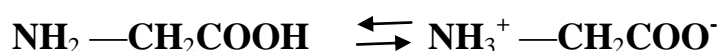
(хлороводородная соль глицина)



(натриевая соль глицина)

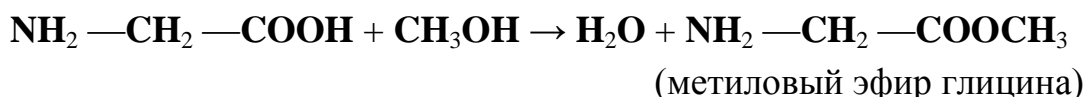
Карбоксигруппа проявляет кислотные свойства, т.е. она диссоциирует, образуя ион  $\text{H}^+$  (или протон); аминогруппа проявляет основные свойства. При растворении аминокислоты в воде образуется биполярный ион, содержащий карбоксилат-анион и протонированную аминогруппу, которая имеет положительный заряд. Амфотерный характер аминокислот также подтверждается взаимодействием их со щелочью и кислотой с образованием солей.

Растворы аминокислот в воде благодаря этому обладают свойствами буферных растворов, т.е. находятся в состоянии внутренних солей.



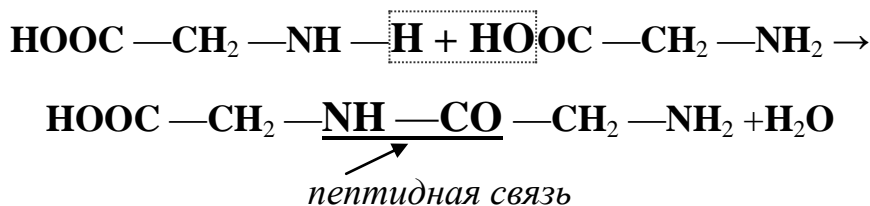
Цвиттер-ионом называют молекулу аминокислоты, в которой аминогруппа представлена в виде  $-\text{NH}_3^+$ , а карбоксигруппа — в виде  $-\text{COO}^-$ . Такая молекула обладает значительным дипольным моментом при нулевом суммарном заряде. Именно из таких молекул построены кристаллы большинства аминокислот.

Этерификация:



Важной особенностью аминокислот является их способность к поликонденсации, приводящей к образованию полиамидов, в частности, пептидов, белков.

**Реакция образования пептидов:**



Изоэлектрической точкой аминокислоты называют значение pH, при котором максимальная доля молекул аминокислоты обладает нулевым зарядом. При таком pH аминокислота наименее подвижна в электрическом поле, и данное свойство можно использовать для разделения аминокислот, а также белков и пептидов.

**Эталонь решения задач:**

*Какие виды изомерии характерны для аминокислот?*

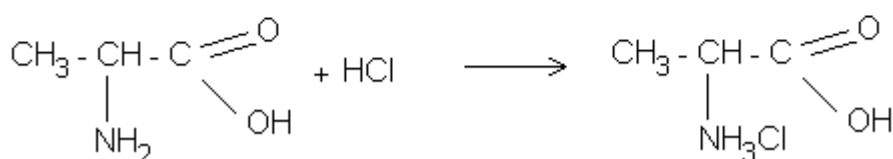
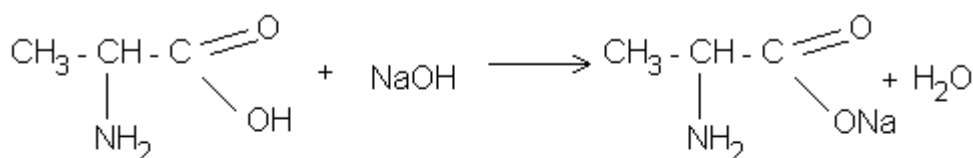
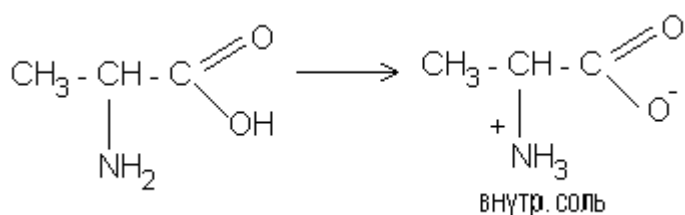
Решение:

- а) изомерия положения аминогруппы:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -аминокислоты;
- б) изомерия углеродного скелета: лейцин – изолейцин;
- в) энантиомерия: D-метионин, L-метионин.

*Объясните амфотерность аминокислот.*

Решение:

Амфотерность объясняется наличием в аминокислотах аминогруппы и карбоксигруппы. Карбоксигруппа проявляет кислотные свойства, т.е. она диссоциирует, образуя ион  $\text{H}^+$  (или протон); аминогруппа проявляет основные свойства, так как имеет неподеленную пару электронов. При растворении аминокислоты в воде образуется биполярный ион, содержащий карбоксилат-анион и протонированную аминогруппу, которая имеет положительный заряд. Амфотерный характер аминокислот также подтверждается взаимодействием их со щелочью и кислотой с образованием солей.



### *Задания для самостоятельной работы.*

1. Написать и выучить формулы 20 аминокислот, которые входят в состав белков; указать незаменимые аминокислоты.
2. Написать уравнение реакции взаимодействия серина с этанолом.
3. Написать образование биполярного иона аминокислоты - валин. В какой области рН находится его изоэлектрическая точка?
4. Написать формулы трёх возможных солей аланина.

## Методы мотивации обучающихся на изучение материалов

### по теме учебного занятия.

**Метод карточек.** Студенты делятся на 2 группы по 8 человек, каждая затем подразделяется на «четверки». «Четверкам» выдается задание – одни получают фрагменты названия тетрапептида, другие - его формульные составляющие. Задачей студентов является правильное построение как формульного, так и словесного названия соединения с их полным совпадением.

#### **«Карточный метод».**

1. лизил	2. аланил	3. серил.	4. треонин
1) $\text{CH}_2\text{NH}_2$	2) $\text{NH}$	3) $\text{NH}$	4) $\text{NH}$ $\text{OH}$
$(\text{CH}_2)_3 \text{NH}_2$	$\text{CH}$ $\text{CH}_3$	$\text{CH}$ $\text{CH}_2$ $\text{OH}$	$\text{CH}$ $\text{CH}$ $\text{CH}_3$
$\text{CH}$ $\text{NH}_2$	$\text{COO}$	$\text{COO}$	$\text{COOH}$
$\text{COO}$			

---

1. цистеил	2. валил	3. лейцил	4. глицин
1) $\text{NH}$	2) $\text{NH}$	3) $\text{NH}$	$\text{NH}$
$\text{CH}$ $\text{CH}_2$ $\text{SH}$	$\text{CH}$ $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}$ $\text{CH}_2$ $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2$
$\text{COO}$	$\text{COO}$	$\text{COO}$	$\text{COOH}$

---

В результате данного упражнения у студентов формируется понятийный аппарат построения пептидных связей, что в дальнейшем поможет в освоении последующих дисциплин, в частности биохимии.

#### **Методы визуализации**

**«Дерево понятий».** Получив в виде «ствола дерева» класс соединений, аминокислота, студенты должны дорисовать «ветви» - химические свойства, общие и специфические.

#### **Ориентировочная основа действий**

- **Сравнительная оценка силы аминокислот и соответствующих им карбоновых кислот.**

В три пробирки внести:

в первую - 1мл дистиллированной воды, во вторую – 1мл уксусной кислоты, в третью – 1 мл глицина.

В каждую пробирку прибавить по 2 капли индикатора метилового красного. Описать внешний эффект, сделать выводы.

- Цветные реакции на белки.

➤ **биуретовая;**

К 5 каплям раствора белка добавить 5 капель 10% NaOH и 2 капли  $\text{CuSO}_4$ . Перемешать и оценить окраску раствора.

➤ **нингидриновая;**

К 5 каплям раствора белка добавить 5 капель 0,5% водного раствора нингидрина, прокипятить 1-2 минуты. Проследить изменение окраски раствора при охлаждении.

➤ **ксантопротеиновая;**

К 5 каплям раствора белка добавить 3 капли концентрированной  $\text{HNO}_3$  осторожно прокипятить. Отметить появление осадка с фиксированием окраски. После охлаждения раствора прилить 10-15 капель NaOH и зафиксировать изменение цвета.

➤ **Фоля**

К 5 каплям раствора белка добавить 5 капель реактива Фоля, интенсивно прокипятить, отметить появление осадка и с фиксированием цвета.

Полученные результаты оформить в виде таблицы.



Название реакции	Биуретовая	Нингидриновая	Ксанто-протеиновая	Фоля
Что открывает данная реакция				
Реактивы				
Окраска				
Условия				

### **Методическое обеспечение для представленного занятия**

**Необходимые реактивы:** раствор яичного белка, 0,2Н раствор аминокислотной кислоты, 0,5% метилоранж, 10% NaOH, концентрированная HNO<sub>3</sub>, раствор CuSO<sub>4</sub>, 0,5% водного раствора нингидрина, реактив Фоля.

### **Проверка исходных знаний студентов. Тестовый контроль.**

Билет №1.

1. Реакция взаимодействия треонина с азотистой кислотой.
2. Получить трипептид из аланина, глутаминовой кислоты и тирозина. Назвать.
3. Образовать лактам.

Билет №2.

1. Доказать наличие кислотных свойств и триптофана.
2. Получить трипептид из валина, лизина и серина. Назвать.
3. Образовать дикетопиперазин, используя аланин.

Билет №3.

1. Заряд моноаминодикарбоновых кислот. Изoeлектрическая точка.
2. Получить трипептид из лейцина, фенилаланина и треонина.
3. Отнять воду от  $\gamma$ -аминокапроновой кислоты.

Билет №4.

1. Доказать амфотерность изолейцина.
2. Получить трипептид цистеина, гистидина и аланина.
3. Реакция дезаминирования валина.

Билет №5.

1. Реакция декарбоксилирования валина.
2. Получить трипептид треонина, аспарагиновой кислоты и серина.

3. Доказать основные свойства фенилаланина.

Билет №6.

1. Реакция декарбоксилирования гистидина.
2. Получить трипептид из лизина, цистеина и изолейцина.
3. Провести дезаминирование  $\beta$ -аминомасляной кислоты.

Билет №7.

1. Реакции дезминирования и декарбоксилирования изолейцина.
2. Получить трипептид из аспарагиновой кислоты, лейцина и валина.
3. Доказать амфотерность фенилаланина.

## ПЕПТИДЫ.

Полимерная молекула белка образуется при соединении в длинную цепочку бусинок-аминокислот. Они нанизываются на нить химических связей благодаря имеющимся у всех аминокислот amino- и карбоксильной группам, присоединённым к атому углерода.

Образующиеся в результате такой реакции соединения называются пептидами; ( $\text{—CO—NH—}$ группировка в них — это пептидная группа, а связь между атомами углерода и азота — пептидная связь (её ещё называют амидной). Соединяя аминокислоты посредством пептидных связей, можно получить пептиды, состоящие из остатков очень многих аминокислот. Такие соединения получили название полипептиды. Полипептидное строение белковой молекулы доказал в 1902 г. немецкий химик Эмиль Герман Фишер.

На концах аминокислотной цепочки находятся свободные amino-и карбоксильная группы; эти концы цепочки называют N- и C-концами. Аминокислотные остатки в полипептидной цепочке принято нумеровать с N-конца.

Общее число аминокислотных остатков в белковой молекуле изменяется в очень широких пределах. Так, человеческий инсулин состоит из 51 аминокислотного остатка, а лизоцим молока кормящей матери — из 130. В гемоглобине человека 4 аминокислотные цепочки, каждая из которых построена из примерно 140 аминокислот. Существуют белки, имеющие почти 3 тыс. аминокислотных остатков в единой цепи.

Молекулярные массы белков лежат в диапазоне примерно от 11 тыс. для малых белков, состоящих из 100 аминокислотных остатков, до 1 млн и более для

белков с очень длинными полипептидными цепями или для белков, состоящих из нескольких полипептидных цепей.

Что такое пептиды? Это небольшие белки, содержащие множество необходимых организму аминокислот – около сотни. В организме эти белки регулируют все процессы на уровне клеток, отодвигая период биологического старения.

Пептиды были созданы в лабораториях – выделены из клеток органов животных. Примечательно, что при попадании в организм человека они начинают восстанавливать именно тот орган, из которого они были выделены: например, пептиды из клеток печени восстанавливают клетки печени, а те, что были выделены из хрящей, восстанавливают хрящевую ткань. В результате полноценная жизнь того или иного органа может продлиться на 30 – 40%.

Пептиды – это универсальные белки. В противоположность другим белкам, состоящим из большого количества аминокислот, пептиды неспецифичны.

Когда организм в норме, в нём в достаточном количестве вырабатываются особые вещества – пептидные биорегуляторы. Эти вещества очень важны для нашего организма: они выполняют различные функции, регулируют работу многих органов и систем, в том числе обменные процессы в клетках.

С возрастом эти механизмы начинают давать сбои, регуляция нарушается, обменные процессы протекают всё медленнее, а клетки не успевают синтезировать достаточное количество белка, для обеспечения им органов и тканей. В результате сначала возникают различные функциональные расстройства, а потом и хронические заболевания.

В списке физиологически активных пептидов, наряду с группами давно исследуемых соединений (ангиотензины, кинины, эндорфиновые производные и др.), важное значение приобретают ростовые пептидные факторы, эндотелины, кальцитонин и его производные, а также пептидные регуляторы рецепторного акта ( кальмодулин, ингибиторы ионных каналов и др.).

Рассмотрим некоторые из них:

**Ангиотензины** – физиологически активные пептиды широкого спектра действия. Обнаружены практически во всех тканях организма, включая струк-

туры центральной нервной системы. Пептиды группы ангиотензина участвуют в регуляции уровня артериального давления, процессах почечной фильтрации, водно-солевого обмена, репродуктивной функции, процессах генерализованного характера (стресс, алкогольная мотивация, агрессивное поведение).

***Ангиотензин (I) – H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-His-Pro-Phe-His-Leu-OH***

Предшественник физиологически активных пептидов, ангиотензина II и ангиотензина III. Основной субстрат ангиотензин-превращающего фермента.

Ангиотензин-превращающего фермент (АПФ) – дипептидил карбокси-пептидаза, которая удаляет С-концевой дипептид ***His-Leu***, трансформируя ангиотензин I в ангиотензин II. Патофизиологическое значение (АПФ): гипертензии различного генеза, почечная патология, атеросклероз, ишемическое повреждение сердца. Во всех случаях генерализованная активация АПФ может иметь как позитивное, так и негативное значение.

***Кинины*** – группа олигопептидов с большим спектром физиологической активности, участвующих в регуляции тонуса сосудов. Уровня артериального давления, проницаемости, болевых реакций организма.

Оценивая функцию кининов в целом, следует отметить, что реализация их многообразных эффектов определяется:

1. Наличием и активностью энзимов, участвующих в метаболизме этих пептидов – к ним относится, в первую очередь, ангиотензин-превращающий фермент и нейтральная эндопептидаза;
2. Наличием и уровнем экспрессии кининовых рецепторов определенного типа, воспринимающих рецепторный сигнал;
3. Соучастием других рецепторных субстанций, моделирующих специфичность физиологической (патофизиологической) реакции.

***Брадикинин (Bradykinin)-H-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH***

***Брадикинин*** играет важную роль в регуляции гомеостаза, электролитического баланса, сокращении гладкой мускулатуры, вазодилатации, капиллярной проницаемости.

***Опийные пептиды***- группа физиологически активных пептидов с выраженным сродством к рецепторам опиоидного (морфинного) типа. Эти пептиды,

обладающие чрезвычайно широким спектром регуляторной активности, обнаружены в различных тканях – как в мозге, так и на периферии. В группу опиоидных пептидов, помимо энкефалинов и эндорфинов, входят пептиды группы динорфина, казоморфина, а также, дельторфины, дерморфины и др. Следует особо выделить роль опиоидных пептидов в физиологических процессах, связанных с высшей нервной деятельностью: многообразные поведенческие реакции, такие как лекарственная зависимость, мотивации удовлетворения, половое влечение, пищевое насыщение, стрессорные адаптивные процессы – оказываются связанными с функцией этой группы пептидов.

*Лейцин-энкефалин ([Leu5] Enkephalin)-H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH*

## **ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ**

### **Актуальность темы.**

Особая роль в жизнедеятельности живых организмов принадлежит белкам. От родителей детям передается генетическая информация о специфической структуре и функциях всех белков данного организма. Синтезированные белки выполняют многообразные функции: ускоряют химические реакции, выполняют транспортную, структурную, защитную функции, участвуют в передаче сигналов от одних клеток другим и таким образом реализуют наследственную информацию.

### **Основные вопросы темы:**

Белки, определение, молярная масса белков.

Анализ пептидов и белков: определение аминокислотного состава и аминокислотной последовательности.

Первые расшифрованные и синтезированные белки и пептиды:

инсулин, вазопрессин, окситоцин; их состав, строение, биологическая роль.

### **Вопросы для самостоятельного внеаудиторного изучения:**

Образование и свойства пептидной связи.

Физико-химические свойства белков (амфотерность, образование

солей; изоэлектрическое состояние (ИЭС), изоэлектрическая точка (ИЭТ).

Уровни структурной организации белков: первичный, вторичный, третичный и четвертичный. Типы связей.

Методы выделения, разделения, очистки белков

Химические связи, участвующие в формировании и поддержании уровней структурной организации белка (пептидная, водородная, дисульфидная и др.)

Классификация белков. Простые и сложные белки. Краткая характеристика отдельных представителей.

### **Учебные и воспитательные цели:**

- Общая цель занятия: привить знания о структурной организации белковой молекулы.

- Частные цели занятия: иметь представления о проведении кислотного гидролиза белков

### **Входной контроль знаний**

Устный опрос.

## **Блок информации по теме.**

Белки - высокомолекулярные азотосодержащие вещества, построенные из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Белки - носители жизни, они наделены множеством уникальных функций, присущих только им: пластической, регуляторной, каталитической, рецепторной, защитной и др. Эти функции не могут быть заменены ни углеводами, ни жирами. Их незаменимость в питании определяется ещё и биологической ценностью.

Физико-химические свойства белков: молекулярная масса, изоэлектрическая точка, растворимость, осаждаемость.

Аминокислотный состав и пространственная организация каждого белка в отдельности различны. Они обладают амфотерными, буферными, коллоидными и осмотическими свойствами.

Молекулярная масса белков колеблется от 6000 (нижний предел) до 1 000 000 и выше в зависимости от количества полипептидных цепей в составе единой молекулярной структуры белка.

Изоэлектрическая точка большинства белков животных тканей лежит в пределах от 5,5 до 7,0. В изоэлектрической точке суммарный заряд белков равен

нулю, и белки не перемещаются в электрическом поле, наименее устойчивы в растворе и легко выпадают в осадок.

Растворимость различных белков колеблется в широких пределах, что зависит от структуры белка (полярные аминокислоты придают большую растворимость). Альбумины растворимы в воде и слабых растворах солей, протамины - в 60-80-% спирте, а коллаген и кератины нерастворимы в большинстве растворителей.

Стабильность растворам белков придают заряд белковой молекулы и гидратная оболочка. Между зарядом белка и гидратацией существует тесная связь: чем больше полярных аминокислот в белке, тем больше связывается воды. Некоторые белки гидратируются сильнее, а растворяются хуже. Например, коллаген связывает воды больше, чем многие хорошо растворимые глобулярные белки, но не растворим в воде.

#### Понятие о высаливании, высаливающие факторы, механизм, обратимость, применение в медицине.

Процесс осаждения белков нейтральными солями (высокие концентрации солей щелочных и щелочноземельных металлов) называется высаливанием. Механизм состоит в том, что добавляемые анионы и катионы солевого раствора снимают гидратную оболочку белков и заряд, являющиеся факторами устойчивости.

Характерной особенностью белков, полученных высаливанием, является сохранение ими нативных биологических свойств после удаления соли. Высаливание белков является обратимой реакцией, так как осадок белка может вновь раствориться после уменьшения концентрации солей путем диализа или разведением водой.

В медицинской практике для высаливания чаще всего применяют сульфат аммония или натрия (высокие концентрации). Альбумины осаждаются при 100% насыщении  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Глобулины – в полунасыщенном растворе  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Высаливание широко используется для разделения и очистки белков в научно-исследовательской работе и медицинской практике.

Понятие о денатурации, факторы, вызывающие денатурацию, механизм, обратимость, применение реакций осаждения белка для его обнаружения в биологических жидкостях.

Разрушение структуры белка и потеря им своих нативных свойств (биологических, физико-химических) называется денатурацией. Осажденный денатурированный белок, в отличие от белка, осажденного путём высаливания, утрачивает свои нативные свойства. Денатурирующие факторы делятся на:

- 1) физические (температура, радиация, ультрафиолетовое излучение)
- 2) механические (вибрация и т.д.)
- 3) химические (концентрированные кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов и т.д.)

При непродолжительном действии и быстром удалении денатурирующих агентов возможна ренатурация белка с полным восстановлением исходной трехмерной структуры и нативных свойств его молекулы.

Денатурация используется для определения белка в моче при заболеваниях почек (пиелонефрите), мочевого пузыря (цистите), предстательной железы (простатите), а также при отравлении солями тяжелых металлов.

Гидролиз белков, промежуточные и конечные продукты гидролиза, условия проведения, недостатки отдельных видов гидролиза.

Гидролиз - это распад сложного вещества (белка) на более простые составные части, связанный с присоединением по месту разрыва связей воды.

В зависимости от применяющегося катализатора различают гидролиз кислотный, щелочной, ферментативный. Промежуточными продуктами гидролиза являются поли-, олиго-, дипептиды и конечные продукты - аминокислоты.

Гидролиз является важным методом исследования, применяемым для расшифровки первичной структуры белка. При кислотном гидролизе разрушаются некоторые аминокислоты: триптофан разрушается полностью, а серин, треонин, цистин, тирозин, фенилаланин - частично, однако процент разрушения этих ами-



нокислот невелик. При щелочном гидролизе отмечается более выраженное разрушение аминокислот.

Белковые гидролизаты применяются в качестве лечебных препаратов для парентерального питания. Например, церебролизин - продукт кислотного гидролиза мозгового вещества крупного рогатого скота, гидролизин - продукт такого же гидролиза фибриллярных сгустков и цельной крови крупного рогатого скота.

### Структурная организация белка. Первичная, вторичная, третичная, четвертичная структура белка.

Зависимость биологических свойств белка от особенностей строения белковой молекулы. Химические связи, участвующие в формировании и одержании уровней структурной организации белка (пептидная, водородная, дисульфидная и др.)

Белки имеют 4 уровня структурной организации.

Первичная структура - это последовательное соединение аминокислотных остатков в полипептидную цепь. Она стабилизируется пептидными связями между аминокислотами, обеспечивая прочность ковалентного состава полипептидной цепи. Каждый индивидуальный белок уникален своей первичной структурой. Она определяет последующие уровни организации белковой молекулы.

Замена или утрата аминокислот в полипептидной цепи приводит к изменению структуры, физико-химических свойств и биологических функций белка. Например, при мутации гена, кодирующего полипептидную  $\beta$ -цепь гемоглобина (Hb) глутаминовая кислота в положении 6 замещается на валин, в результате чего мутантный Hb становится плохо растворим, теряет способность переносить кислород. При этом эритроциты приобретают форму серпа, отсюда название болезни - серповидно-клеточная анемия. В настоящее время расшифрована первичная структура многих белков: гемоглобина, миоглобина, инсулина, иммуноглобулинов, цитохромов, лизоцима, трипсина, химотрипсина и других.

Вторичная структура - это способ свертывания, скручивания, упаковки полипептидной цепи в спиральную или другую конформацию. Она возникает само-

произвольно, автоматически, что зависит от набора аминокислот и их последовательности. Различают 2 типа вторичной структуры: 1- $\alpha$ -спираль и 2 - слоисто-складчатая ( $\beta$ -структура).

$\alpha$ -спираль имеет винтовую симметрию:

а) ход спирали стабилизируется водородными связями между пептидными группами каждого 1-го и 4-го остатка аминокислот.

б) регулярность витков спирали.

в) равнозначность всех аминокислотных остатков независимо от строения их боковых радикалов.

г) боковые радикалы не участвуют в образовании  $\alpha$ -спирали.

Высота одного витка (шаг спирали) равна 0,54 нм, в него входят 3,6 аминокислотных остатка, период регулярности равен 5 виткам (18 аминокислотных остатка). Длина одного периода - 2,7 нм.

Очень много в  $\alpha$ -спирали цистеина. Благодаря своей SH-группе он может образовать дисульфидные связи между витками спирали.

Другой тип вторичной структуры называется  $\beta$ -структурой. Этот вид обнаружен в белках волос, мышц, ногтей и других фибриллярных белках. Состав таких полипептидных цепей имеет складчатую структуру. Её стабилизируют водородные связи между пептидными группировками отдельных участков цепи, чаще двух или нескольких полипептидных цепей, расположенных параллельно. В  $\beta$ -складчатых слоях отсутствуют S-S-связи (в этих участках нет цистеина). Боковые радикалы выступают наружу по обе стороны складчатого слоя.

$\beta$ -структура образуется только при наличии в составе цепей определенных аминокислот, в частности, аланина и глицина. В молекулах многих нативных белков одновременно присутствует  $\alpha$ -спиральные участки и  $\beta$ -складчатые слои.

Третичная структура - это трехмерная пространственная организация полипептидной спирали, или способ укладки полипептидной цепи в объеме.

Стабилизируют эту структуру 4 типа внутримолекулярных связей:

1 - ковалентные дисульфидные связи между остатками цистеина;

2 - нековалентные водородные связи (между C=O и -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH-группами);

3 - электростатическое взаимодействие заряженных групп в боковых радикалах аминокислот ( $\text{NH}^{3+}$  и  $\text{COO}^-$ );

4- гидрофобные ван-дер-ваальсовы взаимодействия между неполярными боковыми радикалами аминокислот.

По форме третичной структуры белки делят на глобулярные (ферменты, транспортные белки, антитела, гормоны) и фибриллярные (структурные) (кератин волос, ногтей; коллаген соединительной ткани, эластин связок; миозин и актин мышечной ткани).

Третичная структура определяет нативные свойства белка.

Четвертичная структура. Белки, обладающие этой структурой, называют олигомерными ("олиго" - несколько). Это означает, что они построены из нескольких субъединиц.

Четвертичная структура - это способ укладки в пространстве нескольких полипептидных цепей, обладающих первичной, вторичной и третичной структурами, которые могут быть как одинаковыми, так и разными.

Примеры белков, обладающих четвертичной структурой: гемоглобин - 4 субъединицы; пируватдегидрогеназа - 72 субъединицы. Субъединицы связаны между собой ионными, водородными, дисульфидными связями.

Протеинопатия - изменение белкового состава тканей организма.

Наследственные протеинопатии связаны с первичным повреждением в генетическом аппарате организма (серповидно - клеточная анемия). Белок не синтезируется или синтезируется с изменённой структурой.

При приобретённых протеинопатиях первичная структура не нарушена, а изменяется количество белка, его распределение в тканях или нарушается функция белка в связи с изменением условий в клетке (нарушение синтеза внутреннего фактора Касла).

Белки классифицируются на простые и сложные.

Простые белки построены из остатков аминокислот и при гидролизе распадаются соответственно только на свободные аминокислоты.

К простым белкам относят гистоны, протамины, альбумины, глобулины.

Альбумины и глобулины относятся к белкам, широко распространенным в органах и тканях животных.

Альбумины - это белки небольшой молекулярной массы (70 тыс.), они имеют избыточный "-" заряд и кислые свойства из-за большого содержания глутаминовой кислоты. Высаиваются при 100% насыщении  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Характерная их особенность - высокая адсорбционная способность, благодаря чему они могут выполнять транспортную роль. Альбумины поддерживают осмотическое давление, обуславливают рН крови, выполняют резервную функцию.

Глобулины - белки с большей молекулярной массой (в пределах 160-180 тыс.). Они слабокислые или нейтральные. Это неоднородная фракция, среди которой особо выделяют  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -глобулины. Глобулины выполняют защитную функцию, участвуют в свертывании крови, осуществляют транспорт холестерина, ряда витаминов, гормонов, ферментов, ионов меди и железа.

Гистоны - это белки основного характера, с молекулярной массой 12000-24000. Основные их функции заключаются в стабилизации пространственной структуры ДНК, а, следовательно, хроматина и хромосом. Регуляторная функция этих белков заключается в способности блокировать передачу генетической информации от ДНК к РНК.

Протамины значительно отличаются аминокислотным составом и структурой, обладают резко выраженными основными свойствами из-за большого (80%) содержания аргинина. Их молекулярная масса не превышает 5000. Они, как и гистоны, поликатионные белки и связываются с ДНК в хроматине спермиев.

### **Рекомендуемая литература:**

а) основная литература

1. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов. Учебник для медицинских вузов. (Ю.А.Ершов, В.А.Попков, А.С.Берлянд и др. Ред.Ю.А.Ершов), -8 изд., М., Высш.шк., 2010. -560 с.
2. Биоорганическая химия. Учебник. (Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И.). -7 изд., Дрофа, 2008. – 543 с.

б) дополнительная литература

- 1.Руководство к лабораторным занятиям по биоорганической химии, под ред. Н.А. Тюкавкиной, -5 изд., Дрофа, 2009 г.– 318 с.
2. Гомазков О.А. Физиологически активные пептиды. Справочное руководство М.:ИПГМ,1995, 144 стр.

3. Биологическая химия: Учебник. - 3-е изд., стереотипное. - М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2008. - 704 с: ил. - (Учеб. лит. Для студентов мед. вузов)
4. Биоорганическая химия : учебник / Н. А. Тюкавкина, Ю. И. Бауков, С. Э. Зурабян. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 416 с.
5. Биоорганическая химия: руководство к практическим занятиям: учеб. пособие для студентов мед. вузов / под ред. Н.А. Тюкавкиной. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 168 с.