Биохимия – биологическая химия, изучает химический состав и структуру веществ, содержащихся в живых организмах, пути и способы регуляции их метаболизма, а также энергетическое обеспечение процессов, происходящих в клетке и организме.

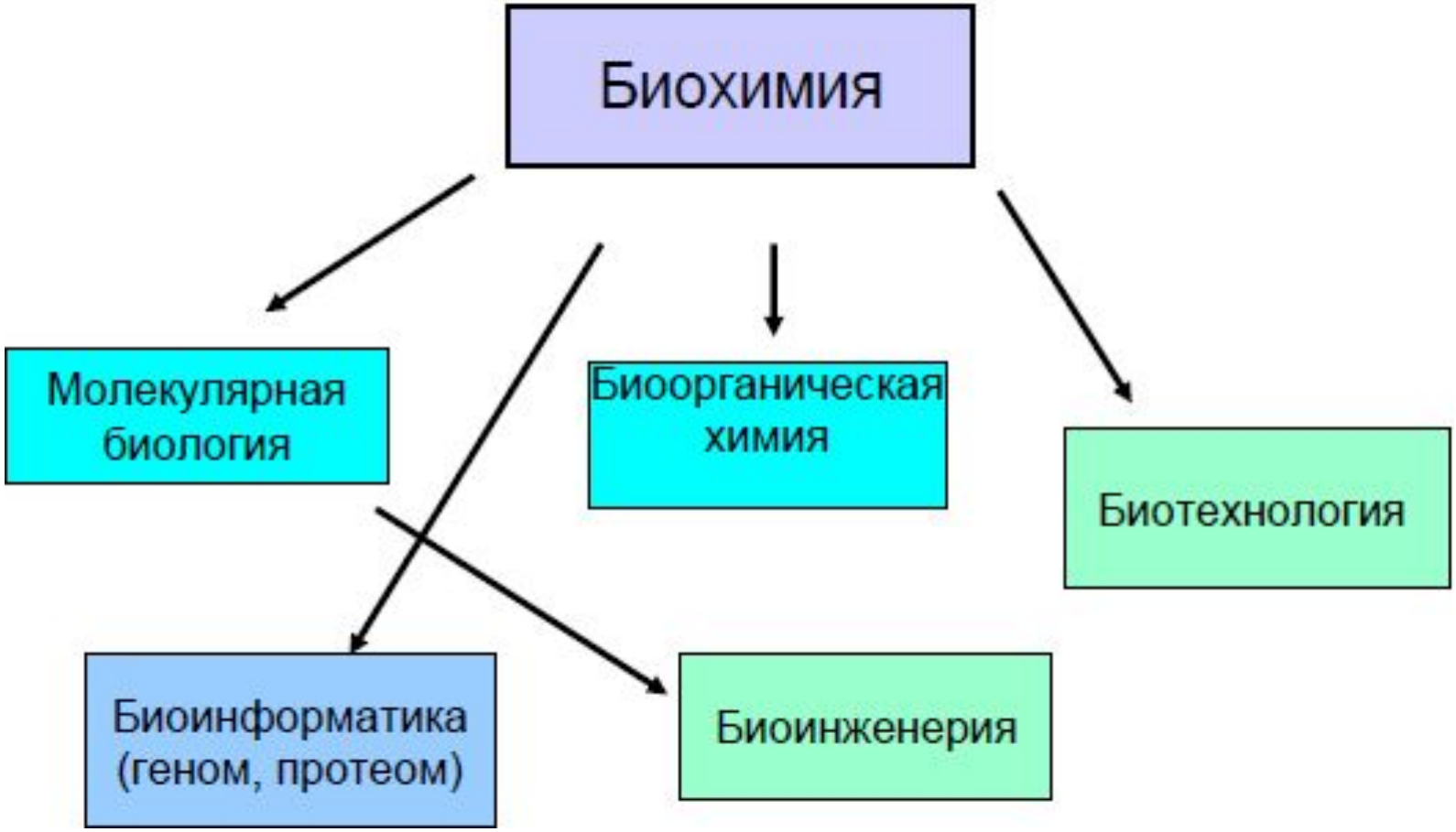
Становление биохимии как науки произошло на рубеже IX и XX вв.; термин "биохимия" предложен в 1903 К. Нейбергом.

Биохимия

Статическая биохимия: изучение химического состава и структуры соединений

Динамическая биохимия: изучение обменных процессов в организме

Функциональная биохимия: изучение биохимических процессов, лежащих в основе функций организмов


Биохимия
Молекулярная биология
Биоорганическая химия
Биотехнология
Биоинформатика (геном, протеом)
Биоинженерия

АМИНОКИСЛОТЫ

Аминокислоты делятся на α-, β-, γ- и т.д.,

по рациональной номенклатуре

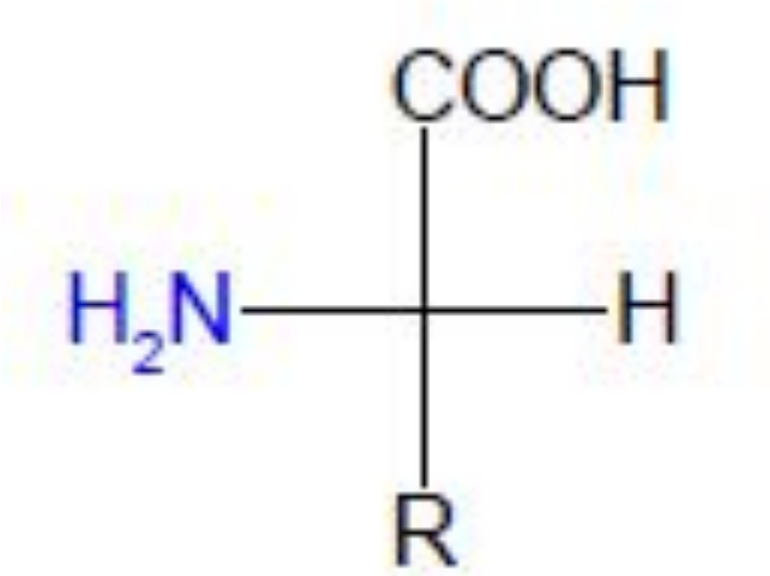
цепь в кислотах “нумеруется” при помощи греческих букв:

$$\overset{\delta}{C}-\overset{\gamma}{C}-\overset{\beta}{C}-\overset{\alpha}{C}-COOH$$

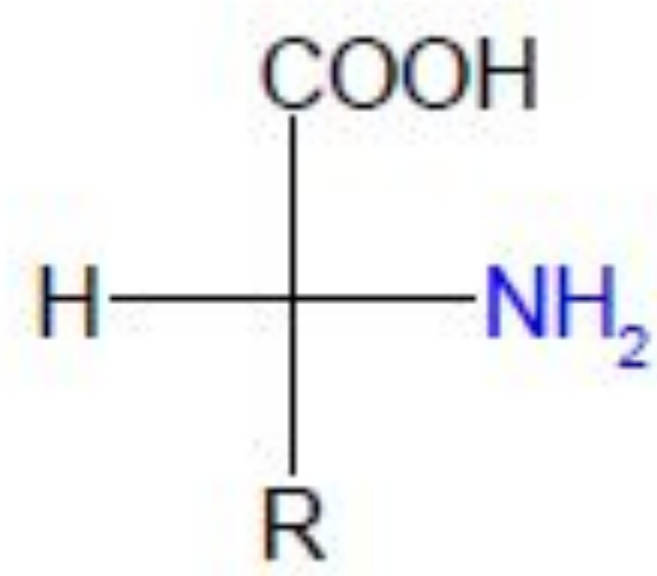
Наиболее важными являются α-аминокислоты, поскольку они представляют собой строительный материал для белков и пептидов.

$$R-\overset{\alpha}{\underset{\underset{NH_2}{|}}{C}}H-COOH$$

Стереохимия аминокислот

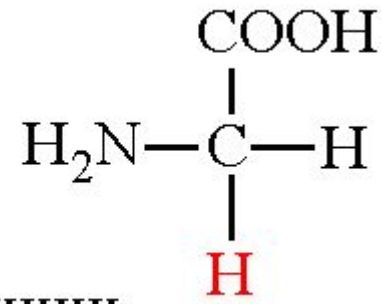


L - изомер



D - изомер

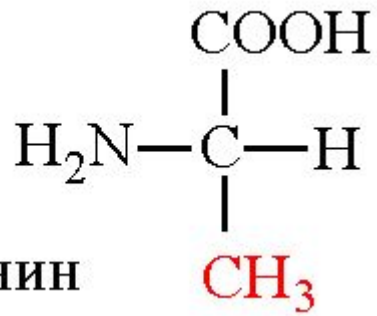
Аминокислоты с неполярными боковыми группами R



Глицин

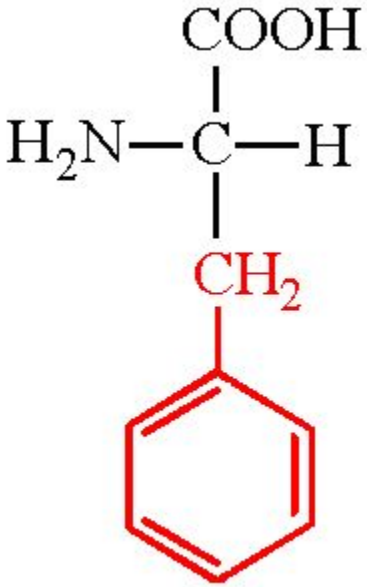
Gly
G

Аминокислоты с неполярными боковыми группами R



Аланин

Ala
A

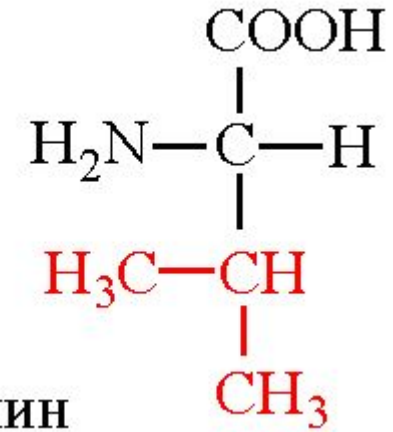


Фенилаланин

Phe
F

незаменимая н

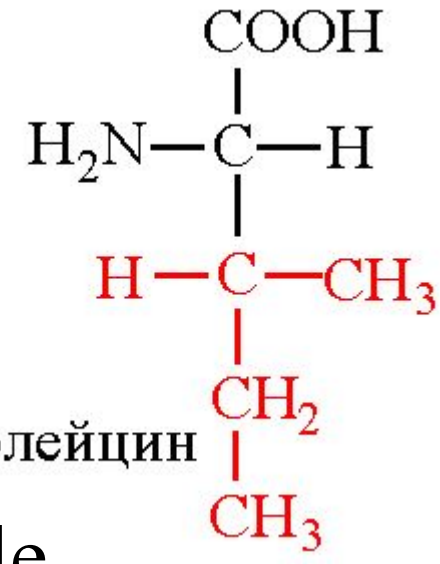
Аминокислоты с неполярными боковыми группами R



Валин

Val
V

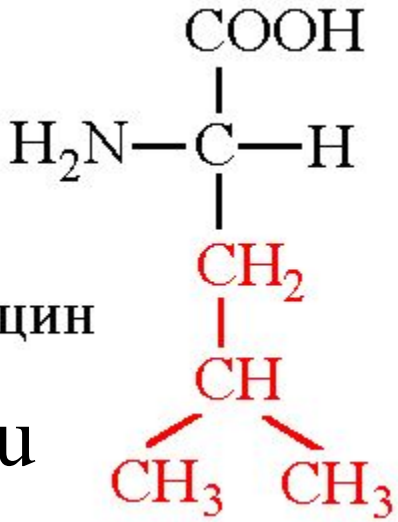
незаменимая
н



Изолейцин

Ile
I

незаменимая
н

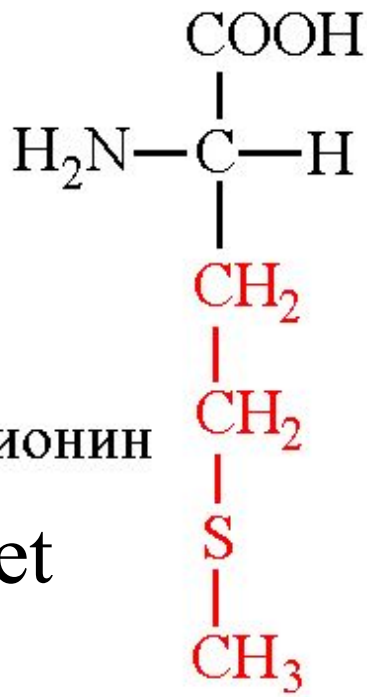


Лейцин

Leu
L

незаменимая
н

Аминокислоты с неполярными боковыми группами R



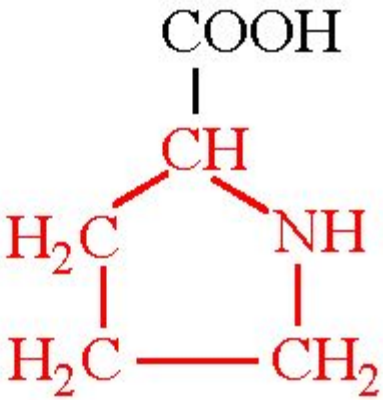
Метионин

Met

M

незаменимая

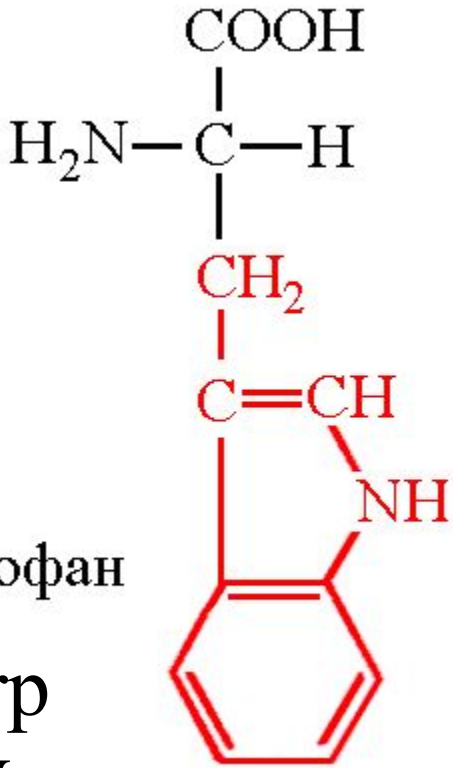
н



Пролин

Pro

P



Триптофан

Trp

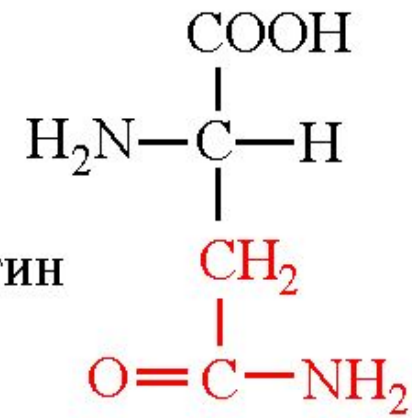
W

незаменимая

н

Аминокислоты с полярными нейтральными боковыми группами R

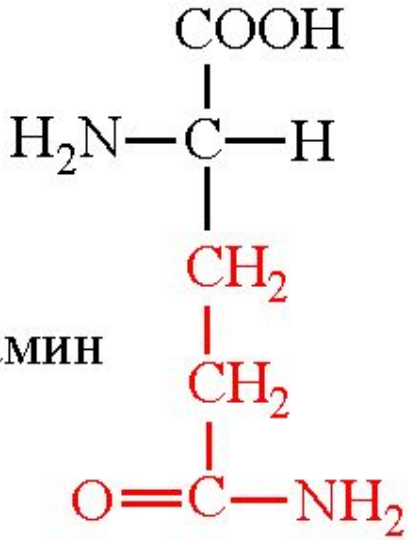
Аспарагин



Asn

N

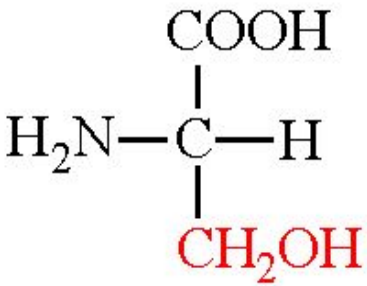
Глутамин



Gln

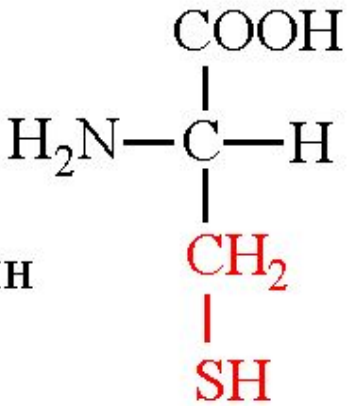
Q

Аминокислоты с полярными нейтральными боковыми группами R



Серин

Ser
S

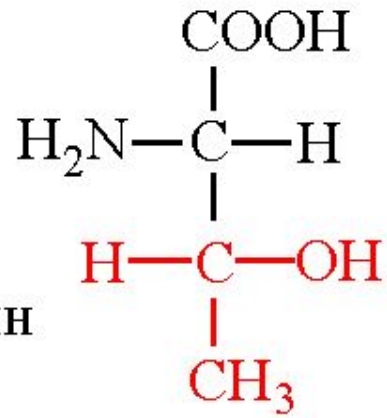


Цистеин

Cys
C

Аминокислоты с полярными нейтральными боковыми группами R

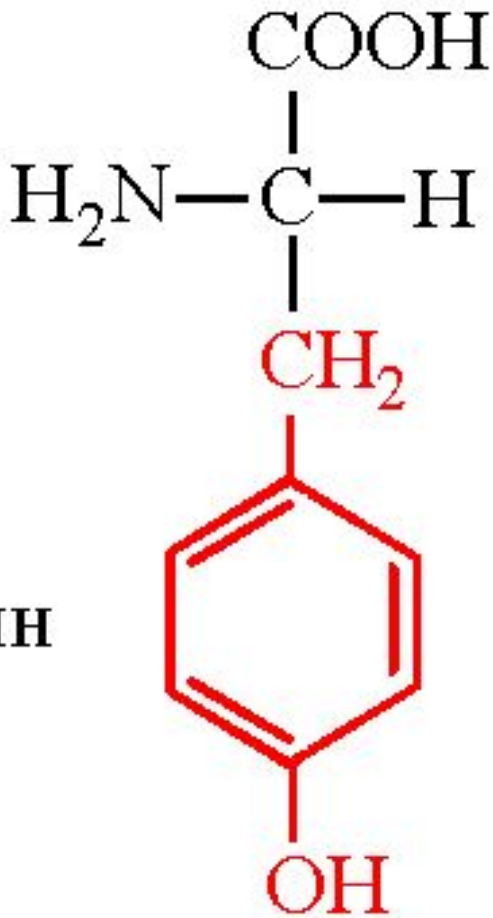
Треонин



Thr
T

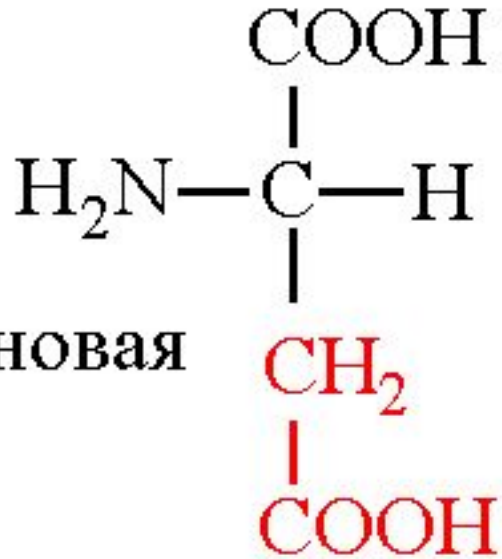
незаменимая
н

Тирозин



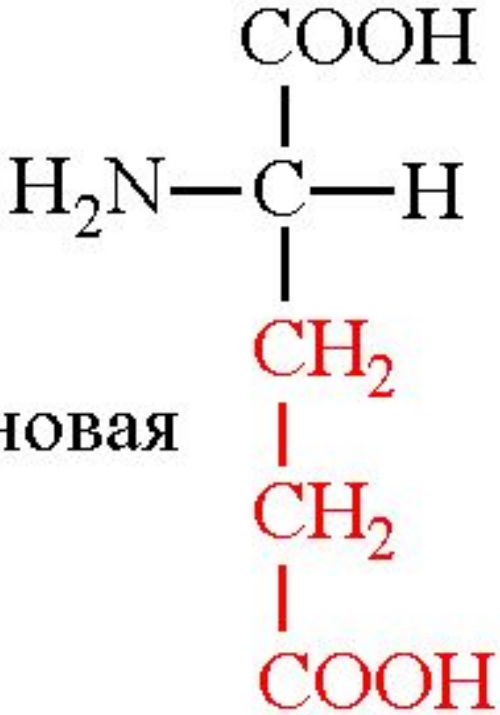
Tyr
Y

Аминокислоты с кислотными боковыми группами R



Аспарагиновая кислота

Asp
D



Глутаминовая кислота

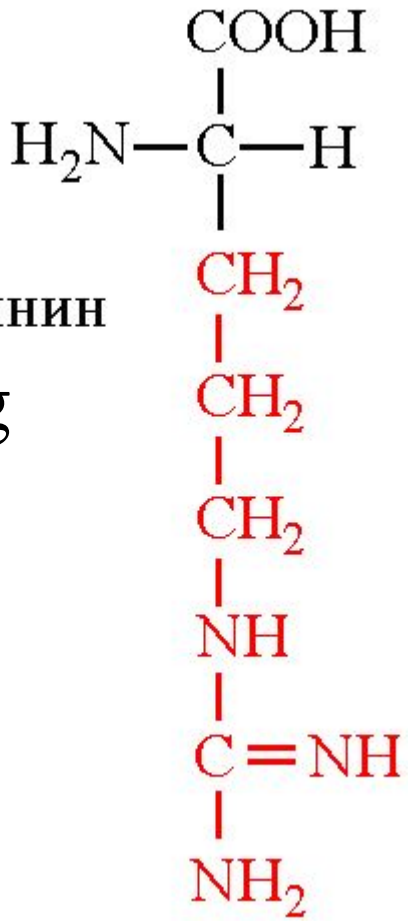
Glu
E

Аминокислоты с основными боковыми группами R

Аргинин

Arg

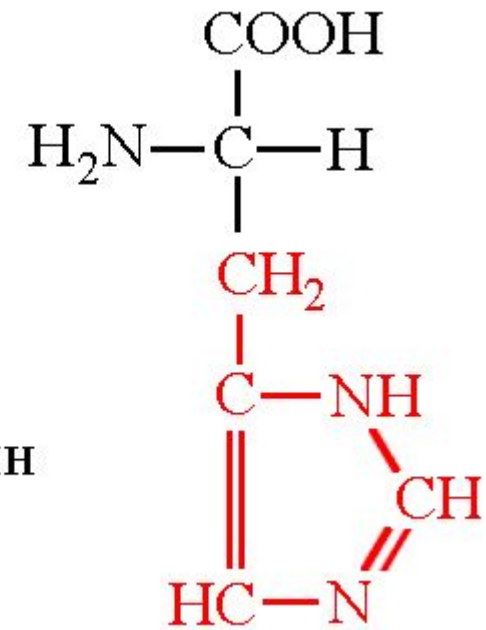
R



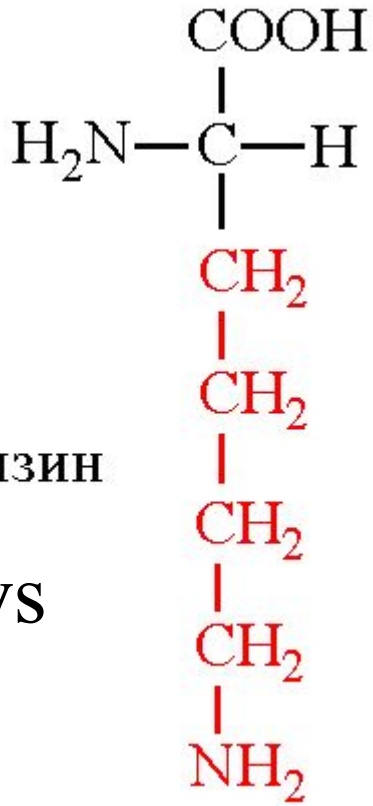
Гистидин

His

H



Аминокислоты с основными боковыми группами



Лизин

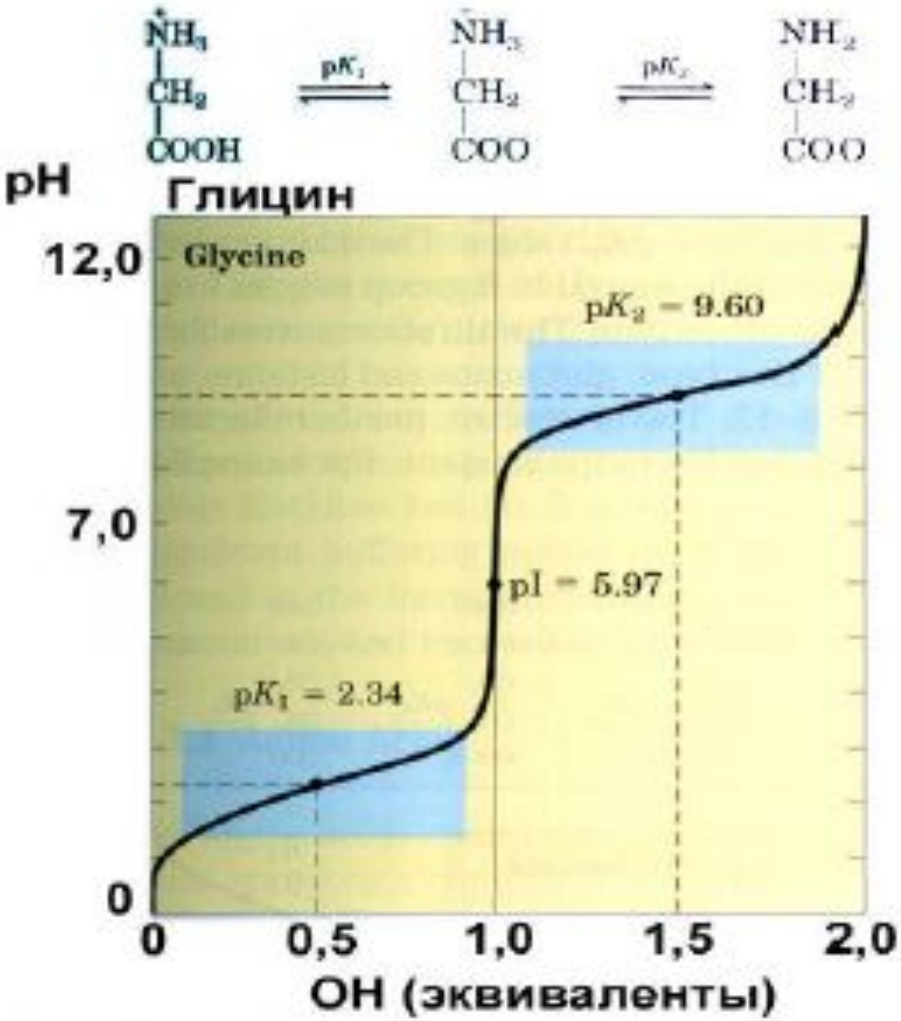
Lys

K

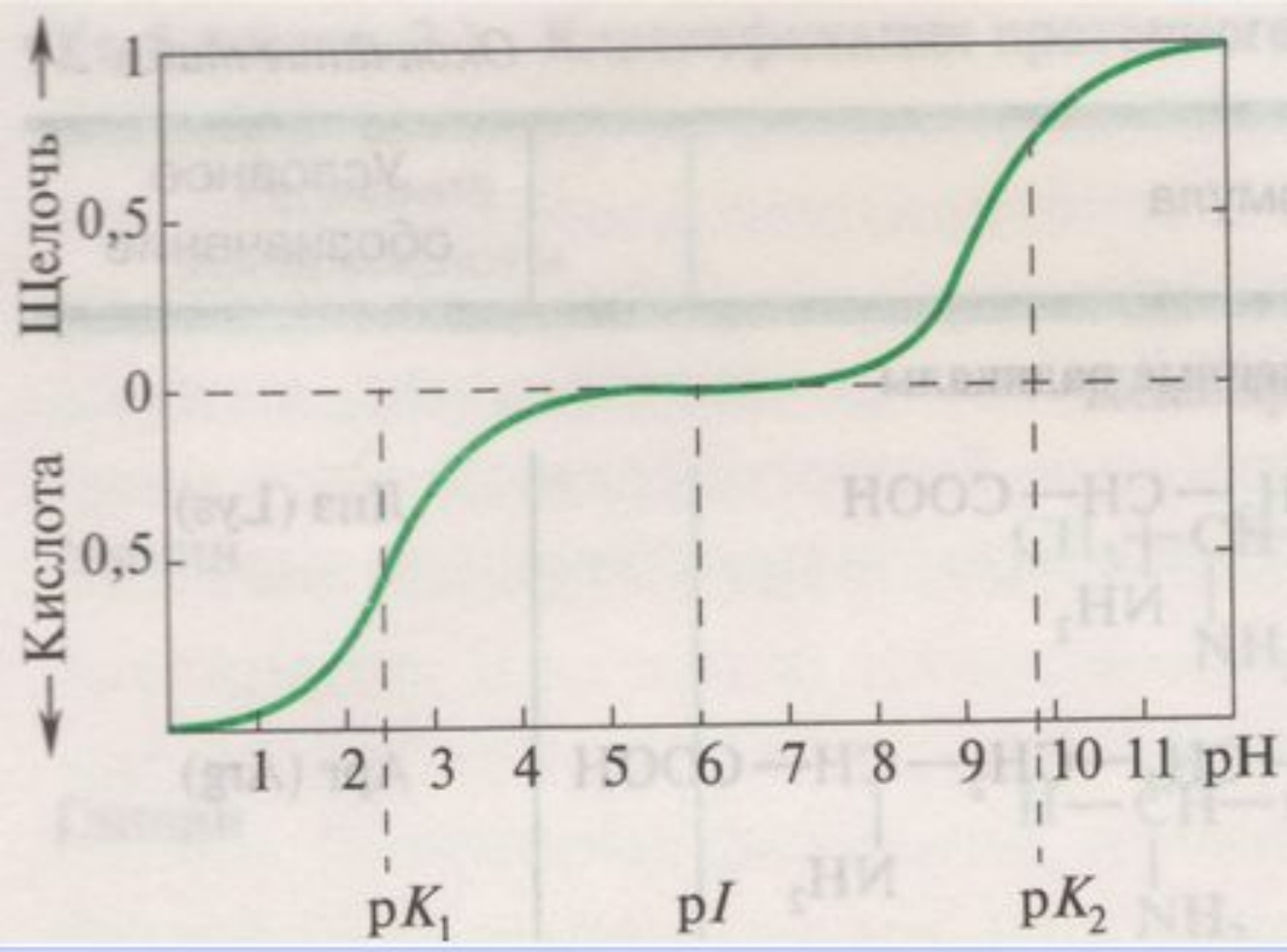
незаменимая

н

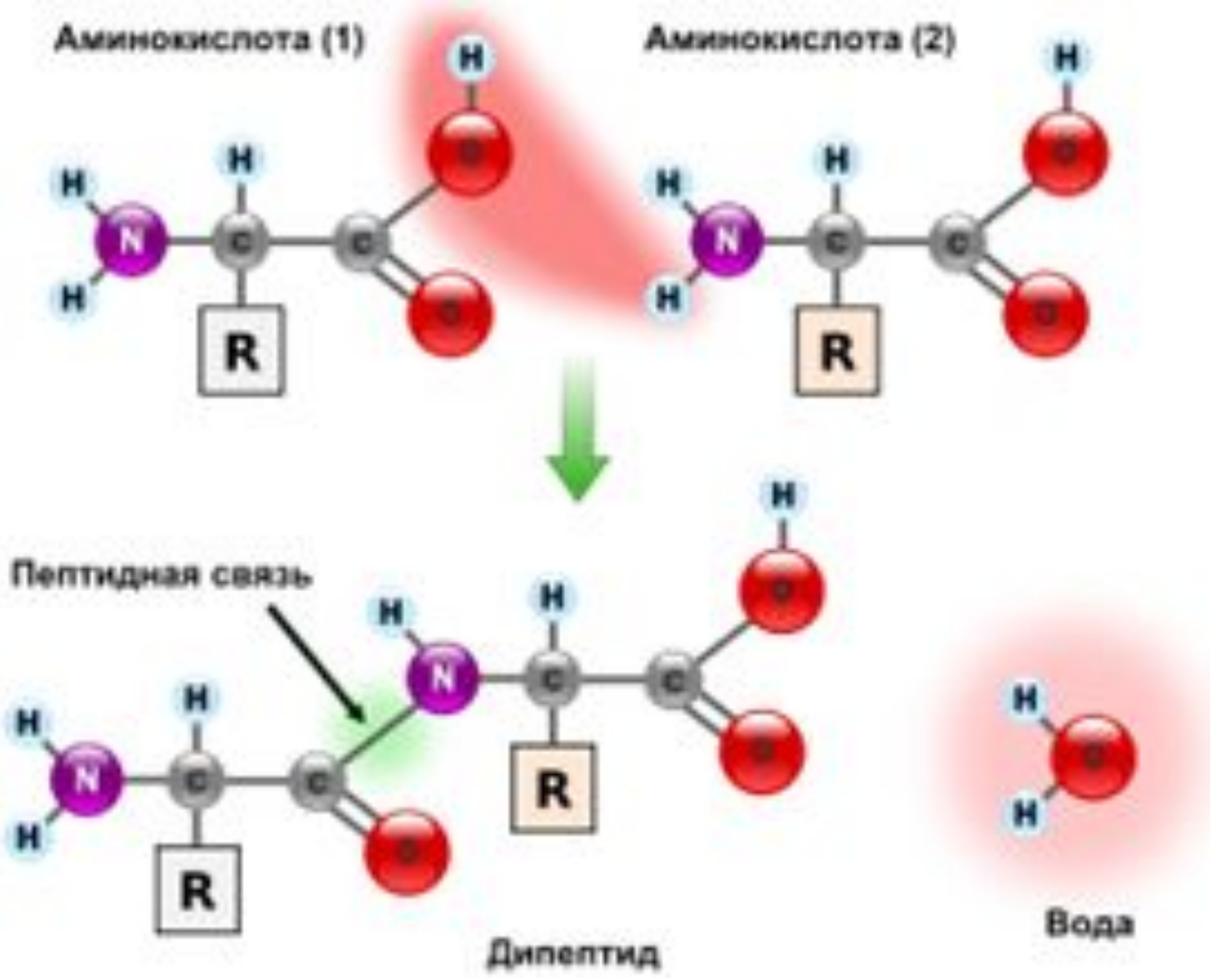
Аминокислоты являются цвиттерионами



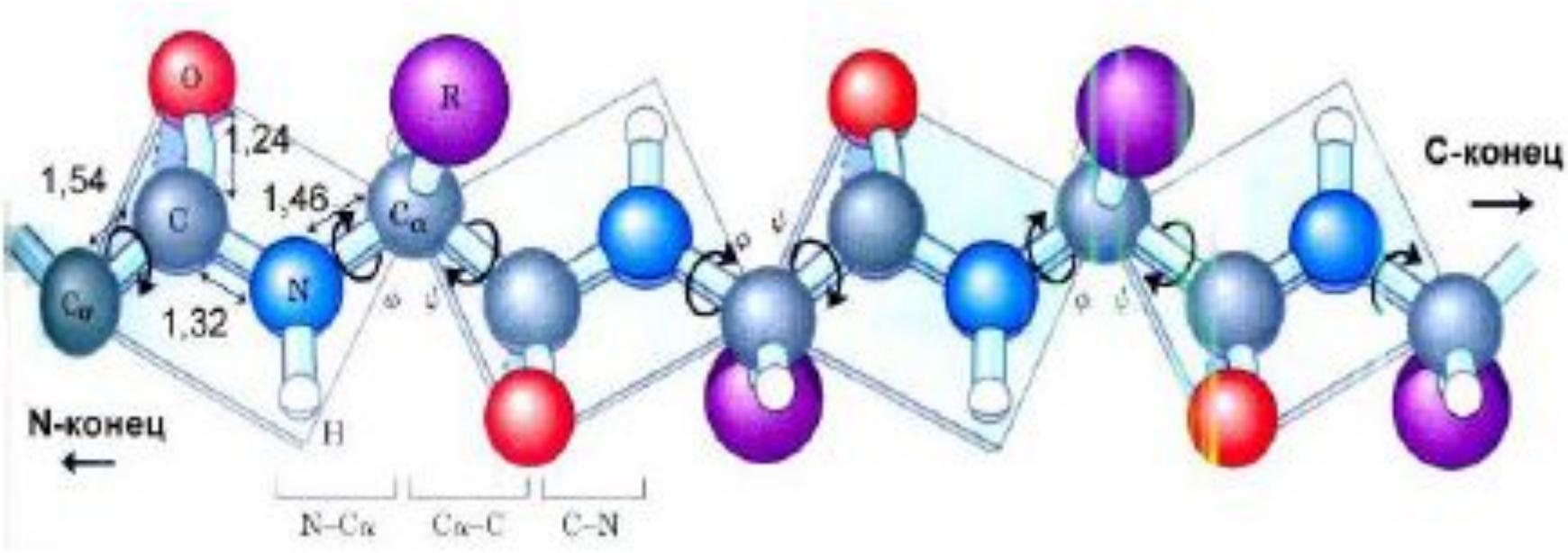
pI – это изоэлектрическая точка, то есть значение pH, при котором молекула аминокислоты не имеет заряда, то есть имеет вид: NH_3^+-CH_2-COO^-


Щелочь
Кислота
1
0,5
0
0,5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 pH
pK1
pI
pK2

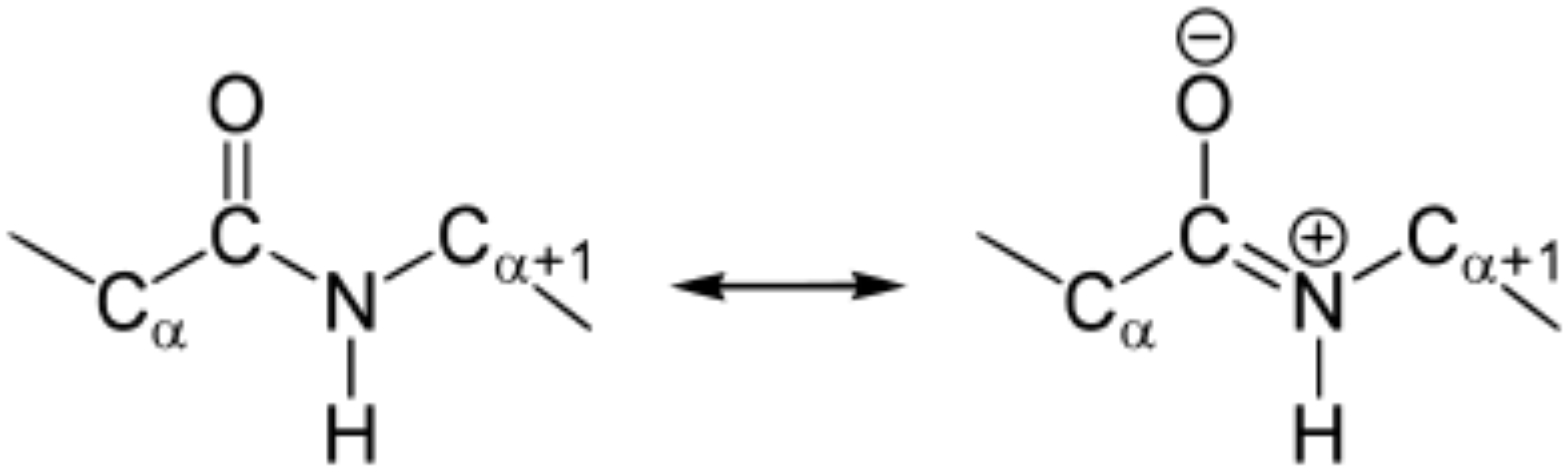
Пептиды (греч. πεπτος — питательный) — семейство веществ, молекулы которых построены из остатков α-аминокислот, соединённых в цепь
ПЕПТИДНЫМИ (АМИДНЫМИ) СВЯЗЯМИ
—C(O)NH—.
Это природные или синтетические соединения, содержащие десятки, сотни или тысячи
мономерных звеньев – аминокислот.
Простые пептиды содержат до 10 аминокислот.
Олигопептиды состоят из 10-50 аминокислот.
Полипептиды состоят из сотен аминокислот.


Аминокислота (1)
Аминокислота (2)
Пептидная связь
Дипептид
Вода

ПЕПТИДНАЯ СВЯЗЬ



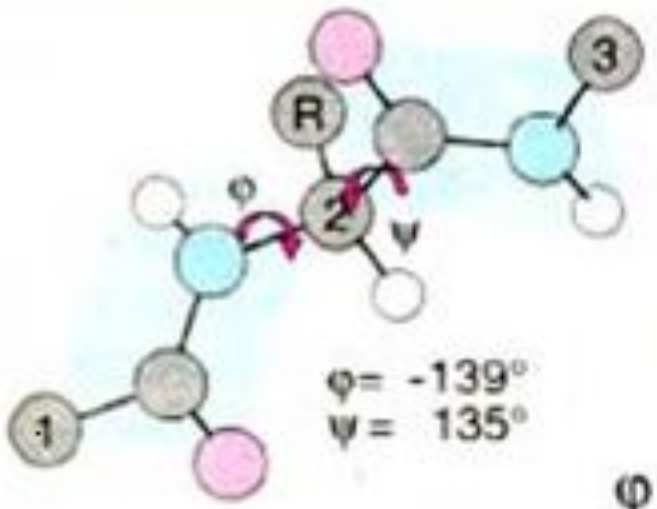
В пептидной связи за счет резонанса канонических структур связь C-N между углеродом карбонильной группы и атомом азота частично имеет характер двойной



Пептидная связь представляет собой связь, с длиной 1,32А, вращение вокруг нее невозможно.

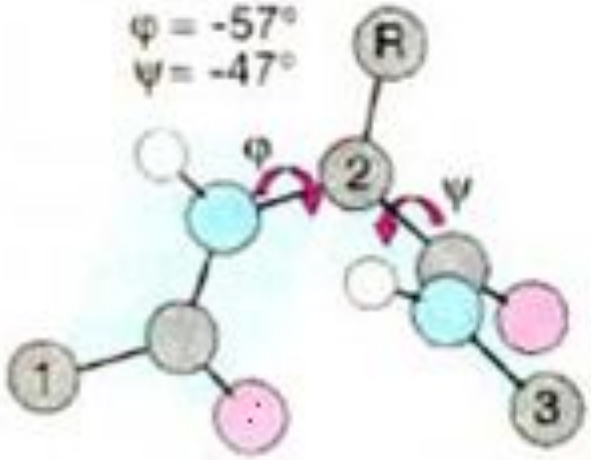
6 атомов, расположенных рядом с пептидной связью (2Cα, O, N, H), находятся в одной плоскости.

Пептидную связь можно рассматривать как диполь, поскольку на карбонильном кислороде есть δ−, а на N – δ+.



φ : вращение вокруг связи
N– C_α

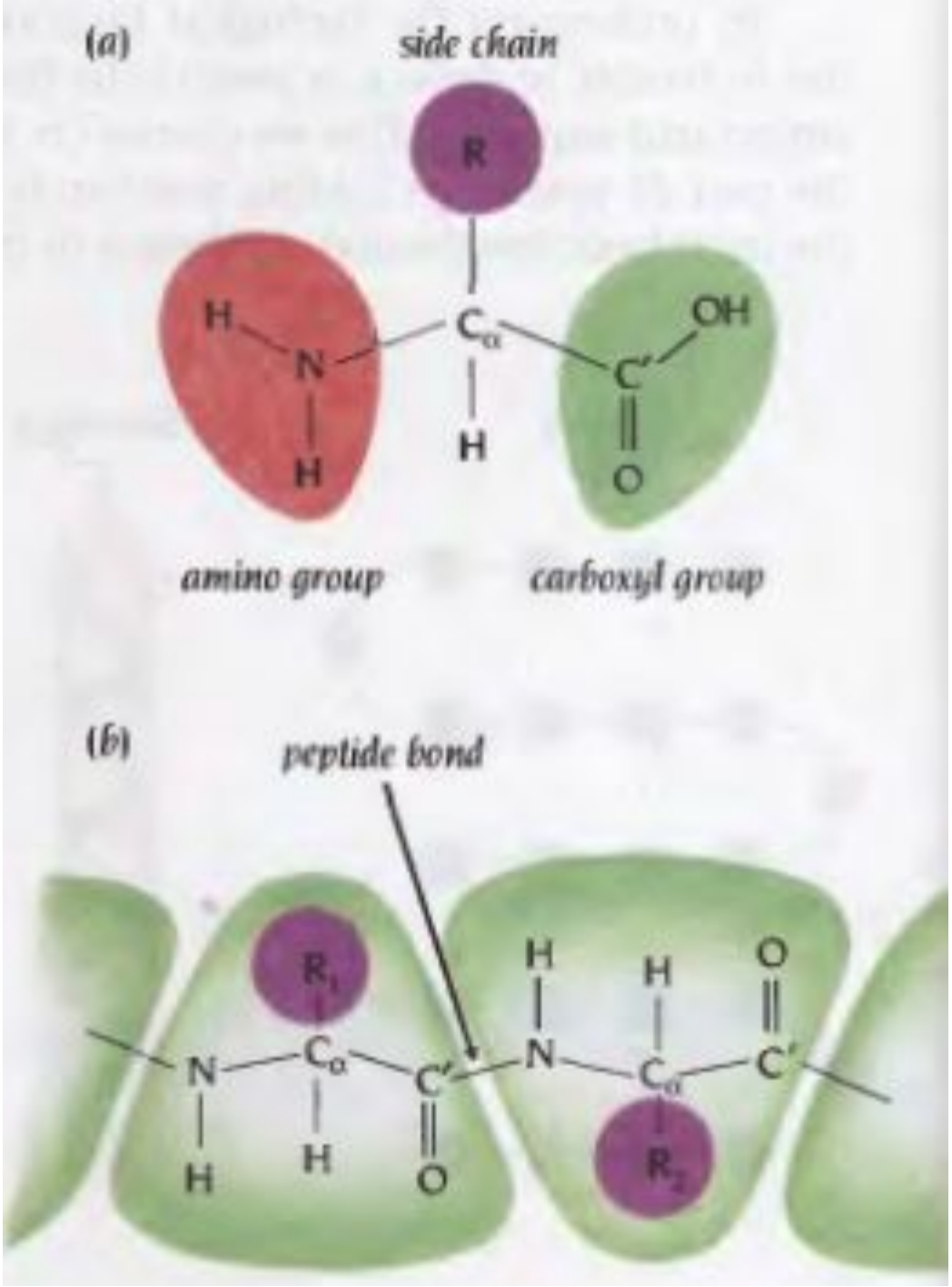
ψ : вращение вокруг связи
C_α– C



Пептиды классифицируются в соответствии с числом аминокислотных остатков в цепи: дипептиды, трипептиды, тетрапептиды и т.д. Аминокислота со свободной аминогруппой записывается с левой стороны и называется
N-концевой аминокислотой, а аминокислота со свободной карбоксильной группой располагается в правой части формулы пептида и называется С-концевой аминокислотой. Пептиды называют как производные С-концевой аминокислоты. При этом первой пишут название N-концевой аминокислоты с суффиксом -ил, затем таким же образом перечисляют всю последовательность аминокислот пептидной цепи и в последнюю с $N=\frac{n!}{m!}$ ть называют С-концевую аминокислоту с суффиксом -ин. Таким образом, названия всех изомерных пептидов отличаются, даже если использовать только трехбуквенные обозначения аминокислот (см. часть 1. Аминокислоты). Число изомерных пептидов (**N**) можно определить по формуле:

$$N=\frac{n!}{m!}$$

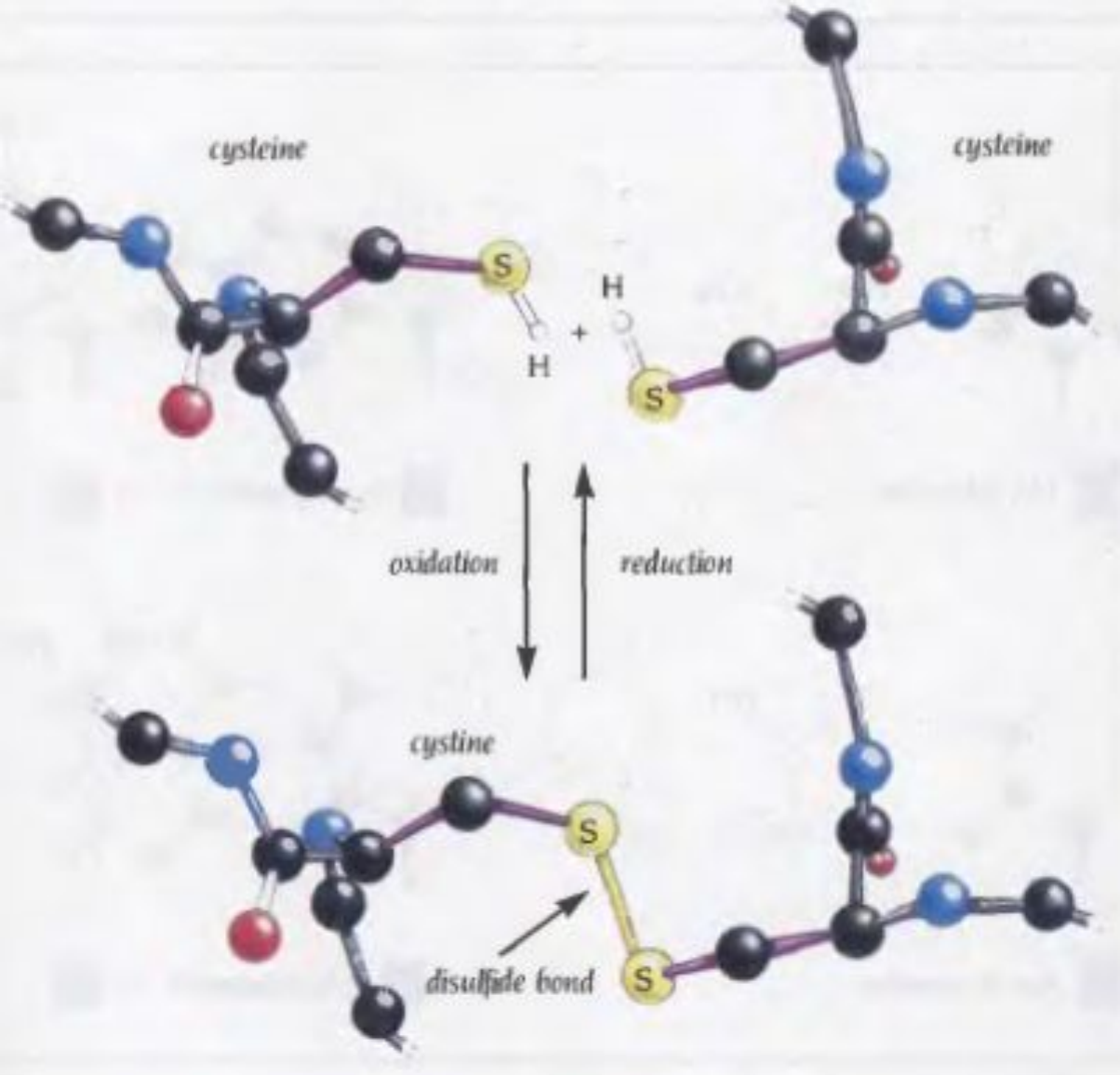
n - количество аминокислотных остатков в цепи;
m - количество одинаковых аминокислот в цепи

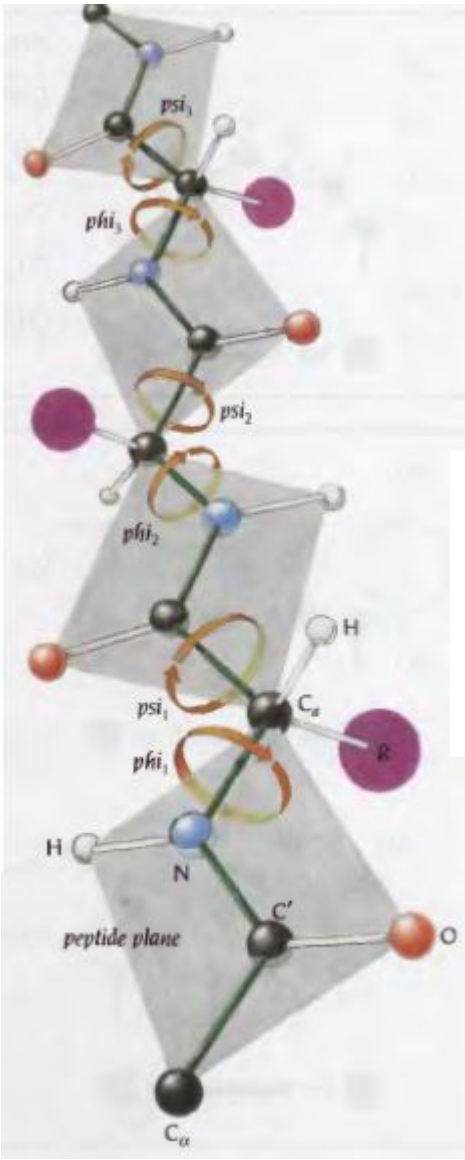

(a)
side chain
R
H
N
H
C_α
H
OH
C′
O
amino group
carboxyl group
(b)
peptide bond
R_1
N
C_α
C′
H
H
O
H
N
H
C_α
R_2
O
C′

The disulfide is usually the end product of air oxidation according to the following schematic reaction scheme:

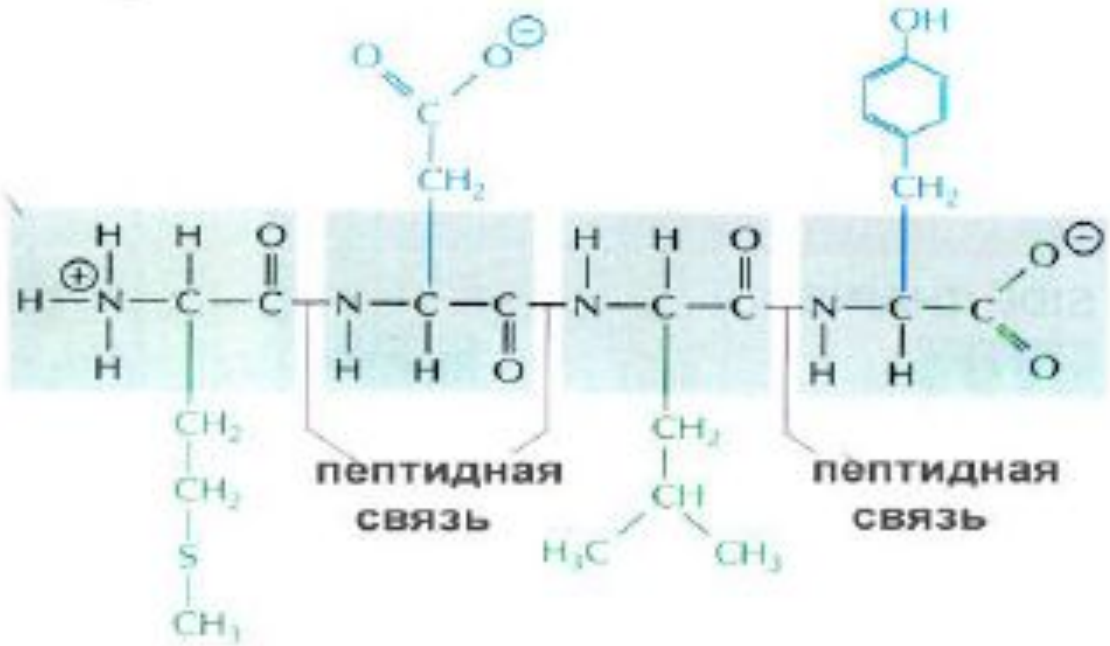
$$2\ \text{–}CH_2SH + \tfrac{1}{2}\ O_2 \rightleftharpoons \text{–}CH_2\text{–}S\text{–}S\text{–}CH_2 + H_2O$$

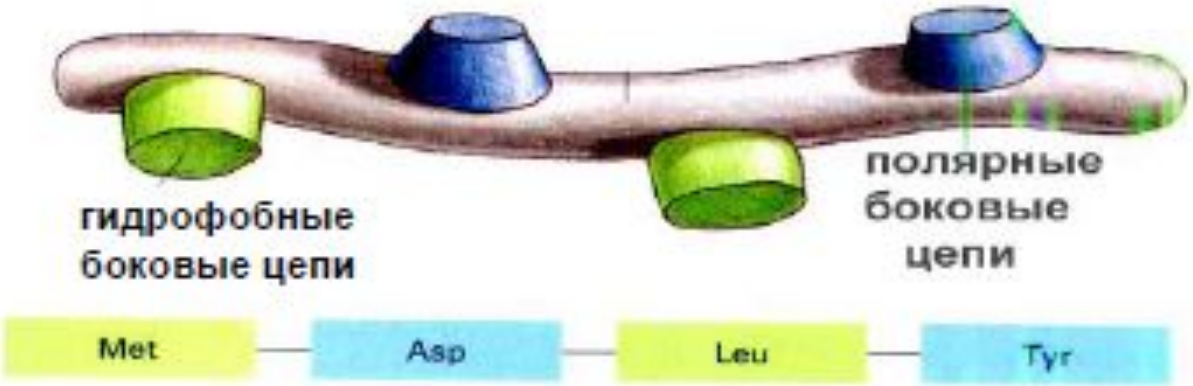
Disulfide bonds form between the side chains of two cysteine residues. Two SH groups from cysteine residues, which may be in different parts of the amino acid sequence but adjacent in the three-dimensional structure, are oxidized to form one S–S (disulfide) group.

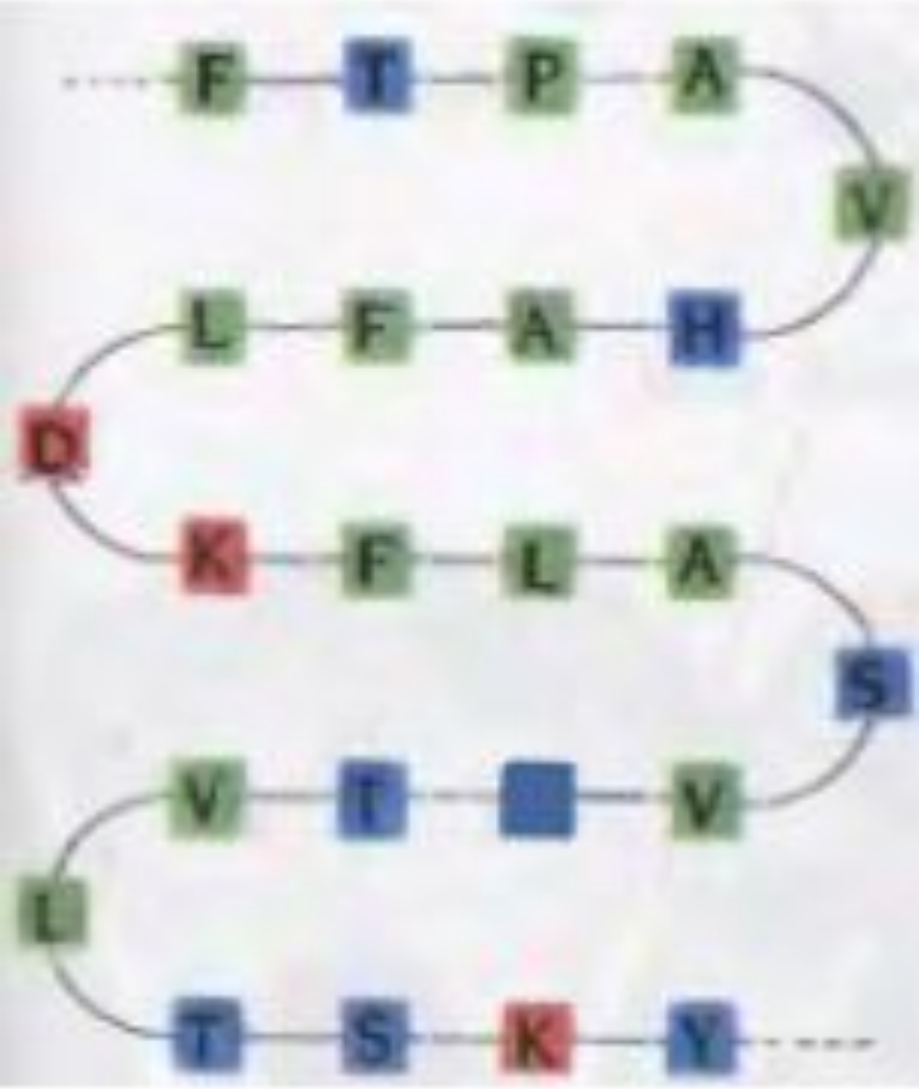

cysteine
cysteine
S
H
H
+
S
oxidation
reduction
cystine
S
S
disulfide bond


psi3
phi3
psi2
phi2
H
psi1
Cα
R
phi1
H
N
C′
peptide plane
O
Cα

Первичная структура белка – это последовательность аминокислот



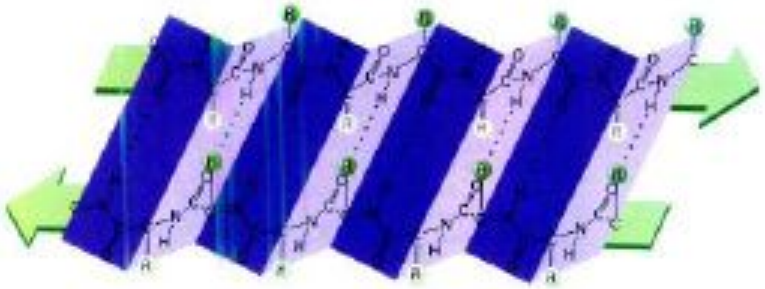




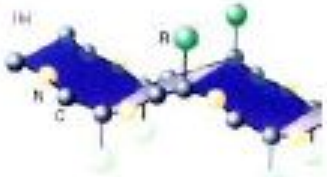
Primary

Вторичная структура белка

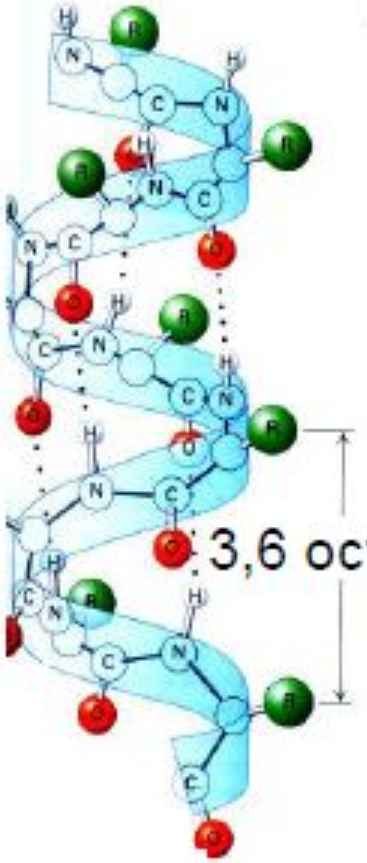
β-структура



вид сверху



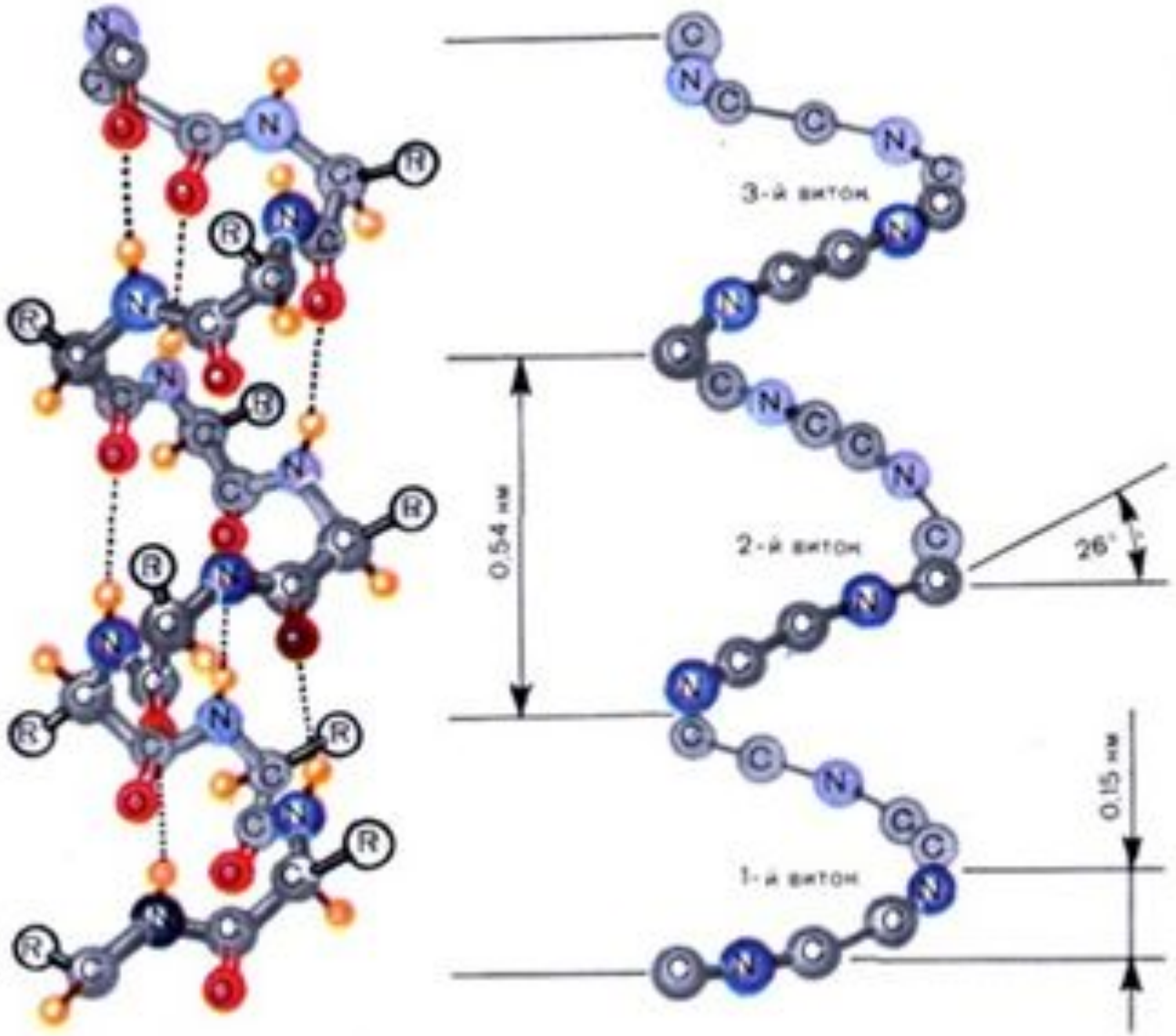
вид сбоку

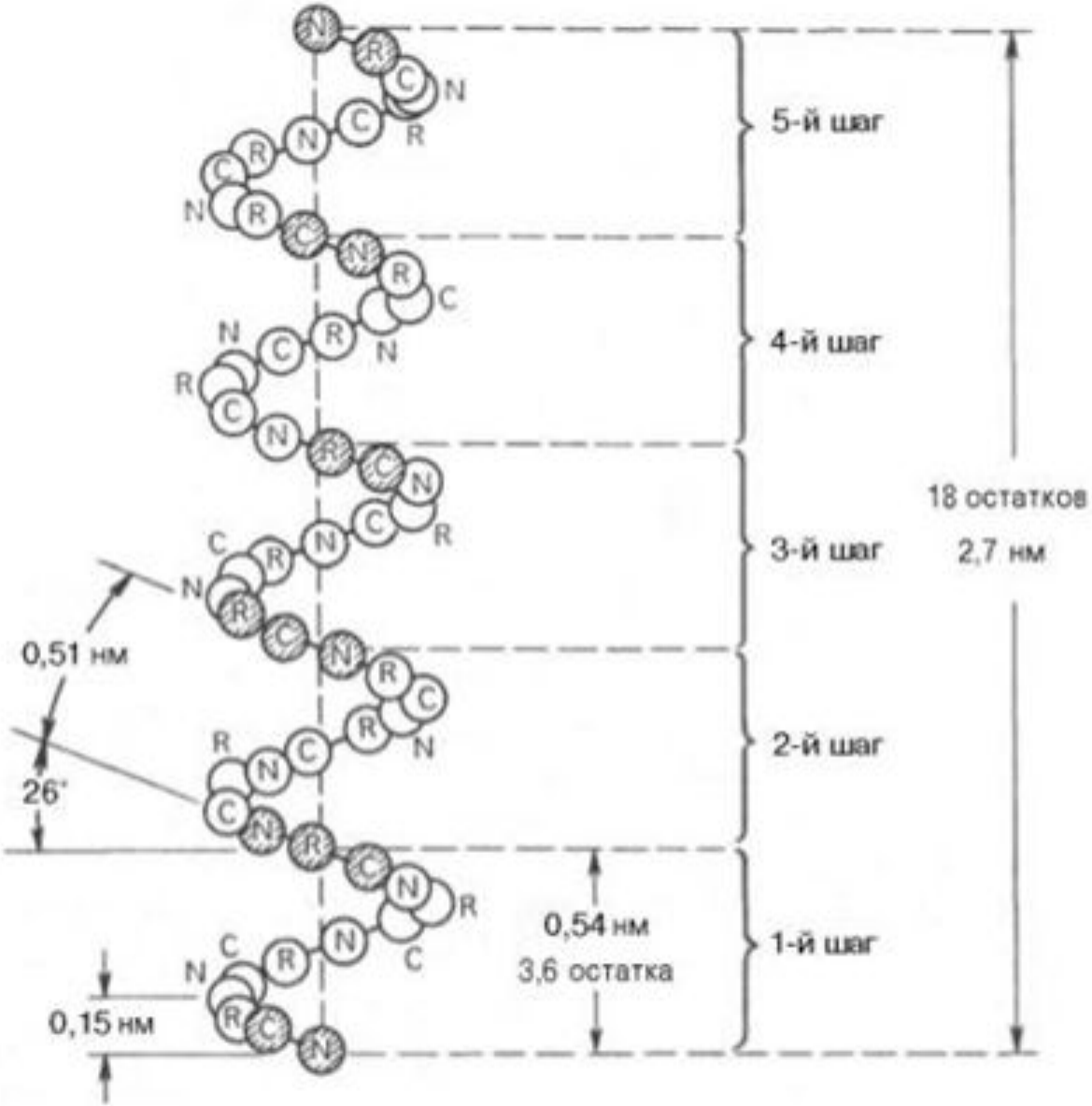


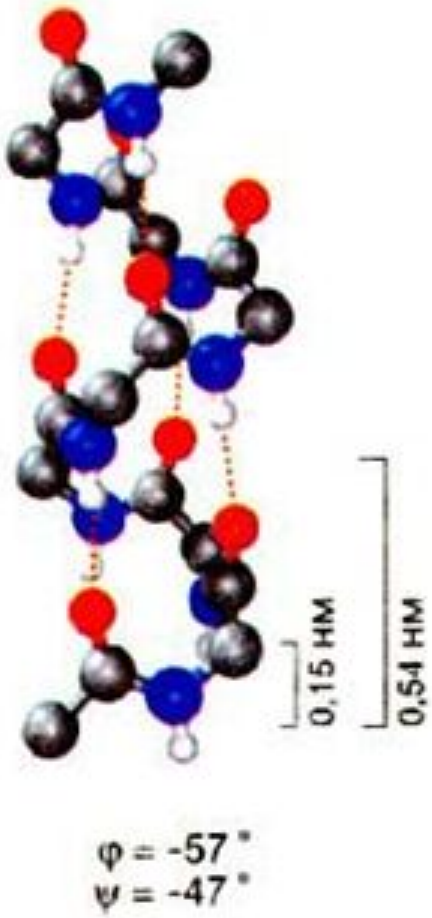
3,6 остатка

Вторичная структура стабилизируется водородными связями

α-спираль

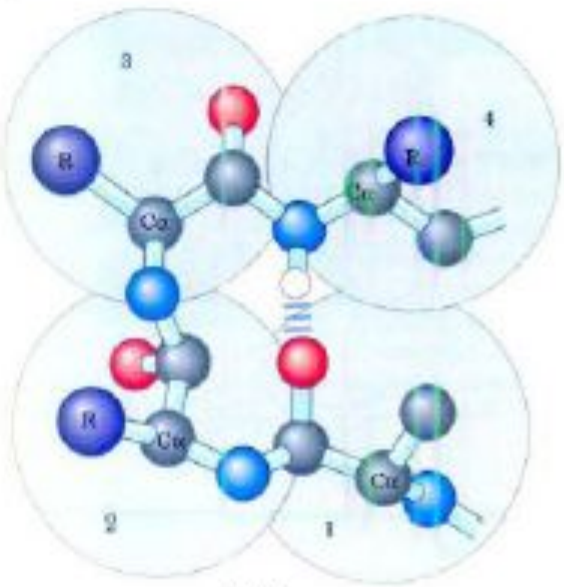

3-й виток
2-й виток
1-й виток
0,54 нм
0,15 нм
26°


5-й шаг
4-й шаг
3-й шаг
2-й шаг
1-й шаг
18 остатков
2,7 нм
0,51 нм
26°
0,54 нм
3,6 остатка
0,15 нм

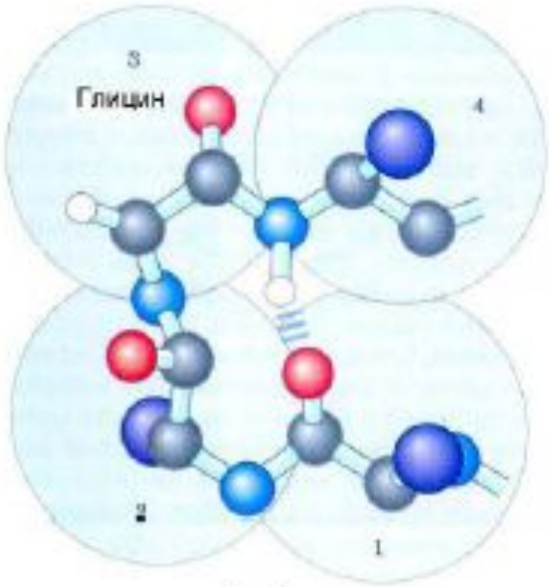

0,15 нм
0,54 нм
φ = -57°
ψ = -47°

α-спираль

Структура β–поворота

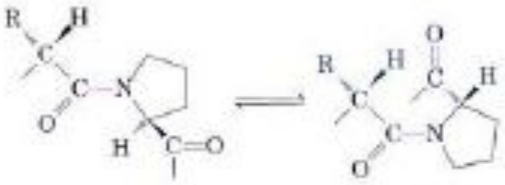


Тип 1

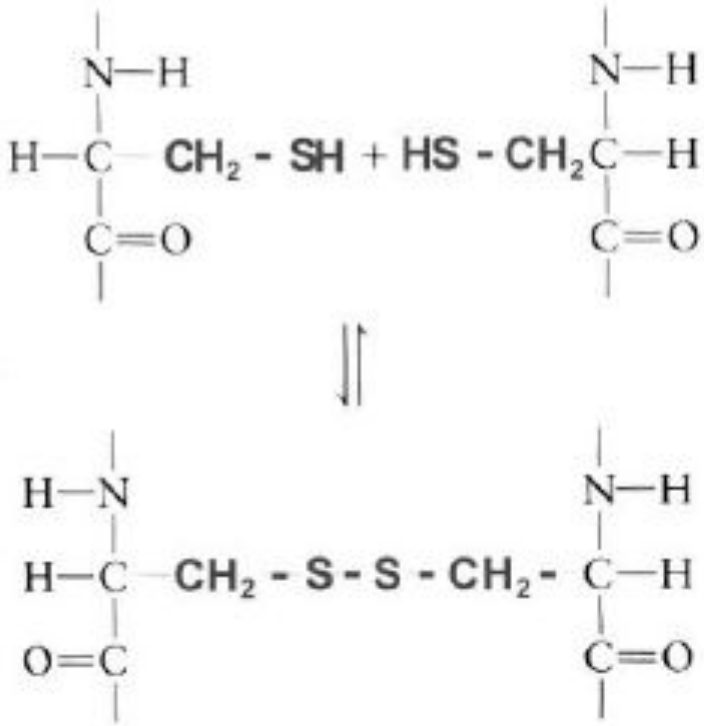


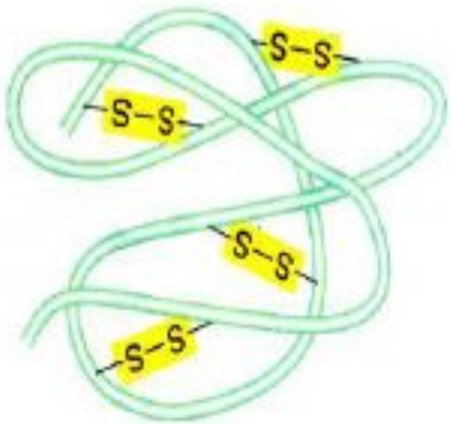
Тип 2

Изомеры пролина

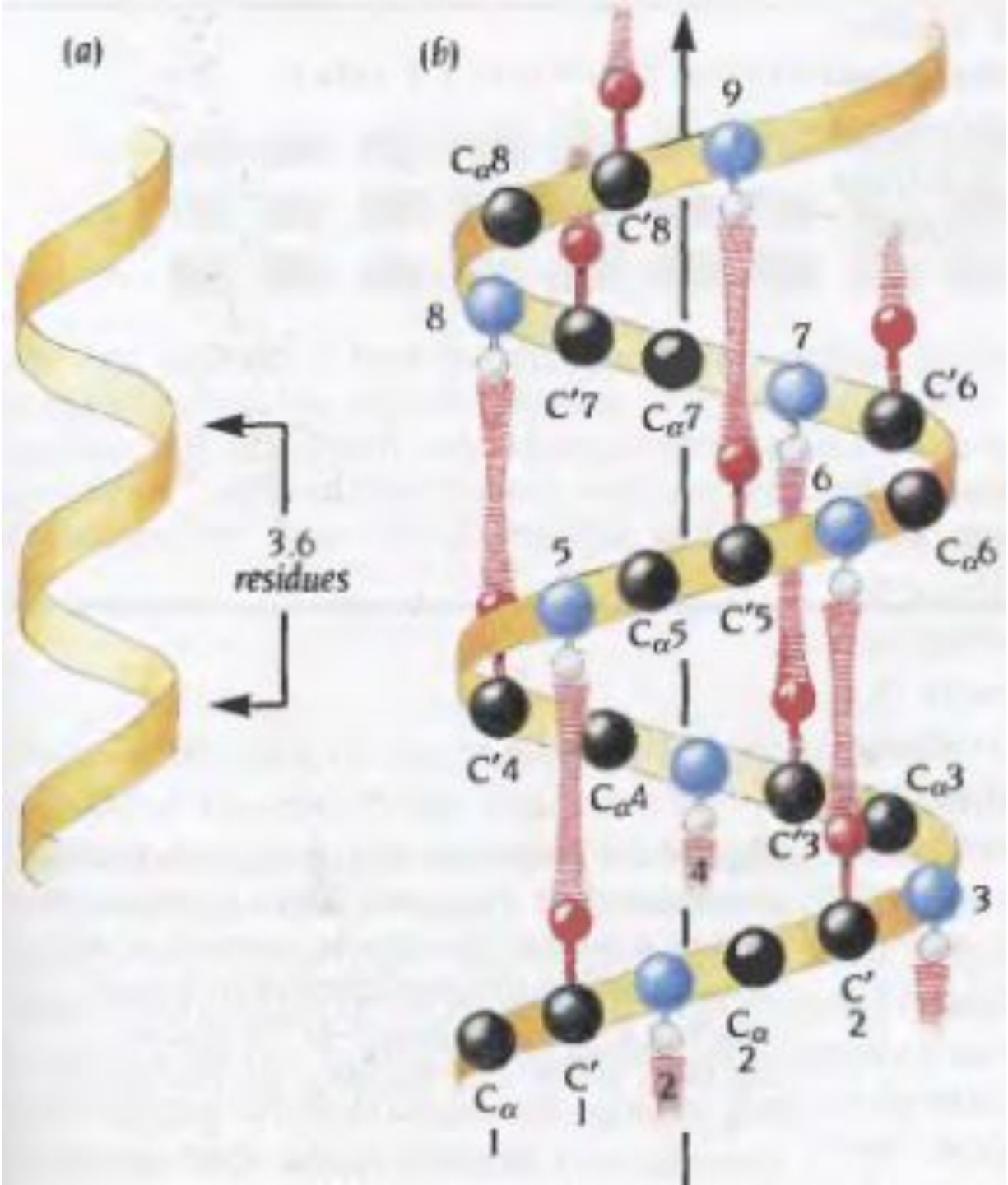


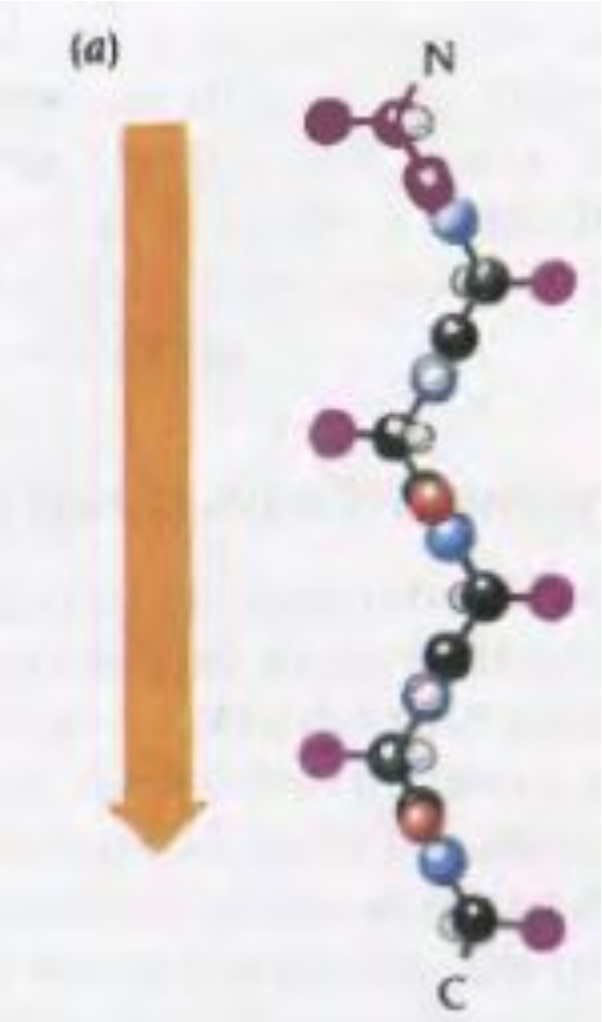
Образование S-S связей между двумя остатками цистеина





Secondary


(a)
(b)
3.6
residues
9
Cα8
C'8
8
C'7
Cα7
7
C'6
6
Cα6
5
Cα5
C'5
C'4
Cα4
Cα3
C'3
4
3
C'
2
Cα
2
Cα
1
C'
1
2


(a)
N
C

β-складчатый лист" - плоскости пептидных связей расположены в пространстве подобно равномерным складкам листа бумаги.

В складчатых структурах также образуются *поперечные межцепочечные* водородные связи.

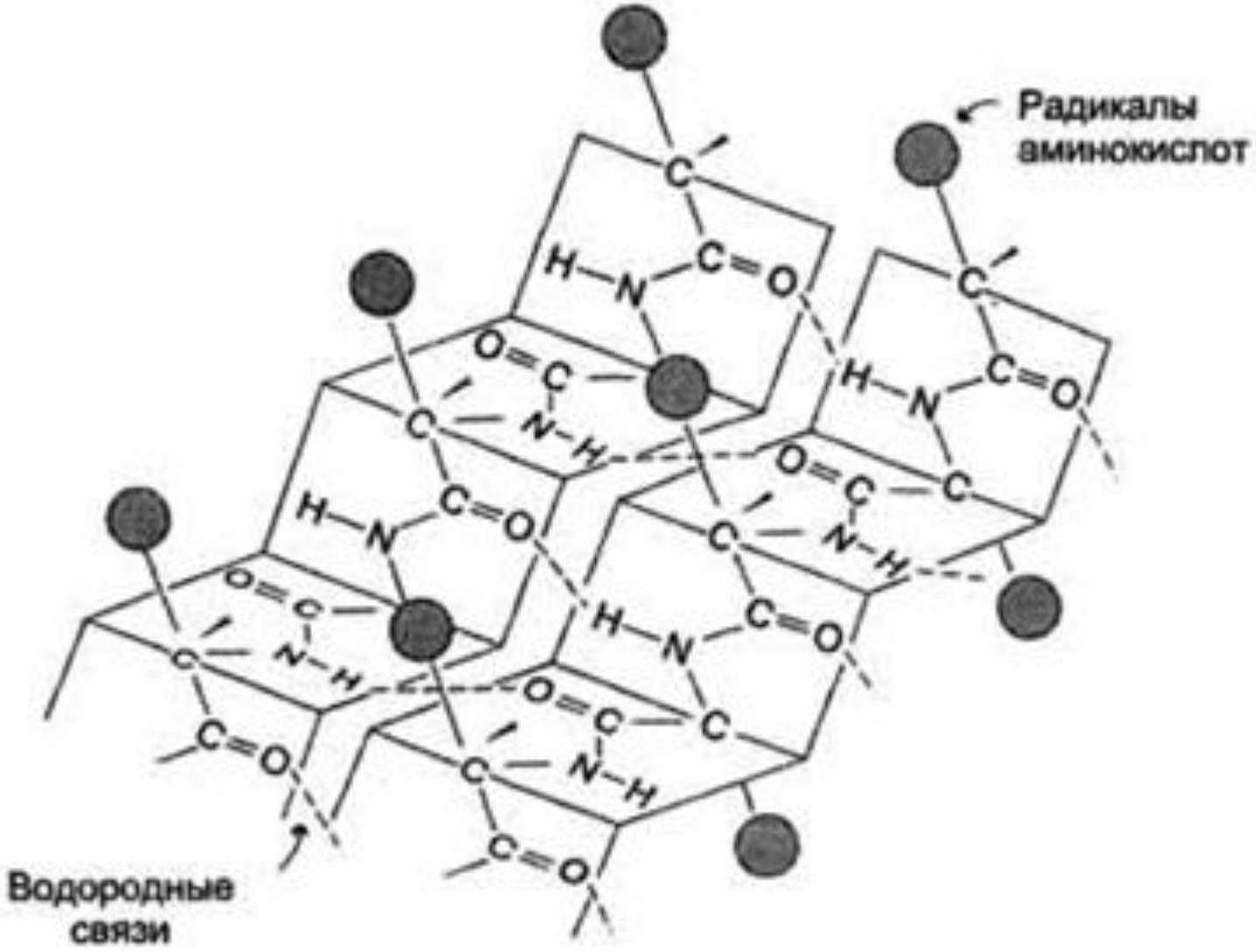
Если цепи ориентированы в противоположных направлениях, структура называется антипараллельным складчатым листом (βα),

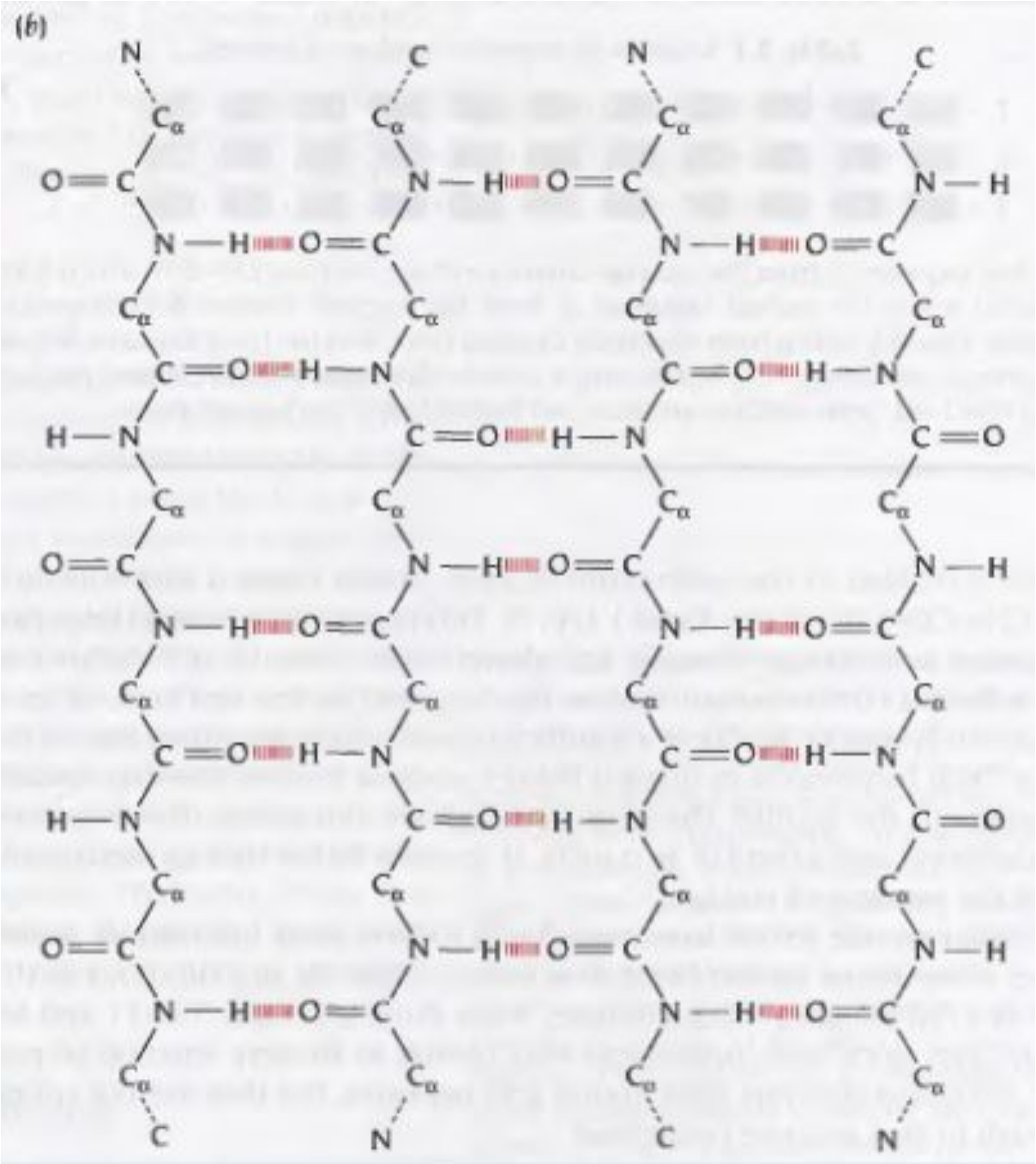
а если цепи ориентированы в одном направлении, структура называется параллельным складчатым листом (βn).

В складчатых структурах α-С-атомы располагаются на перегибах, а боковые цепи ориентированы почти перпендикулярно средней плоскости листа, попеременно вверх и вниз.

Энергетически более предпочтительной оказывается *βα-складчатая структура* с почти *линейными* Н-мостиками.

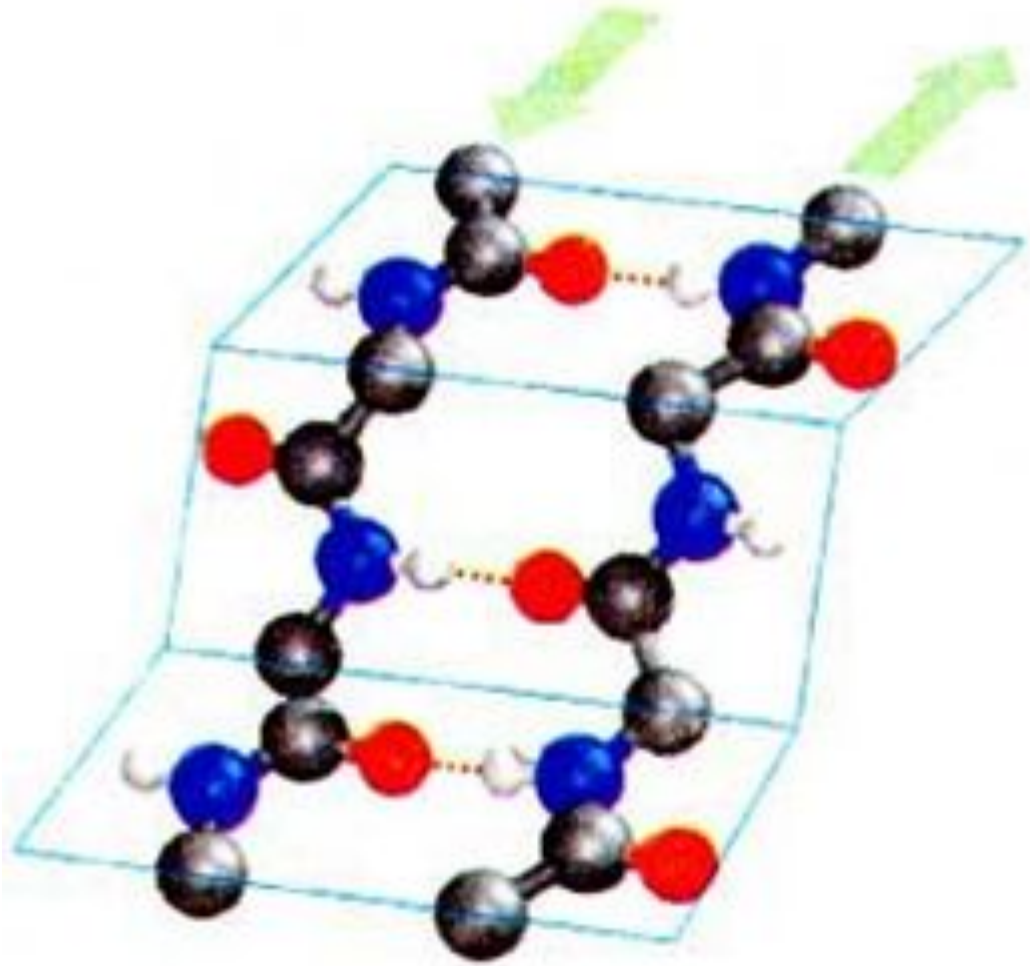
В растянутых складчатых листах отдельные цепи чаще всего не параллельны, а несколько изогнуты относительно друг друга.


Радикалы
аминокислот
Водородные
связи



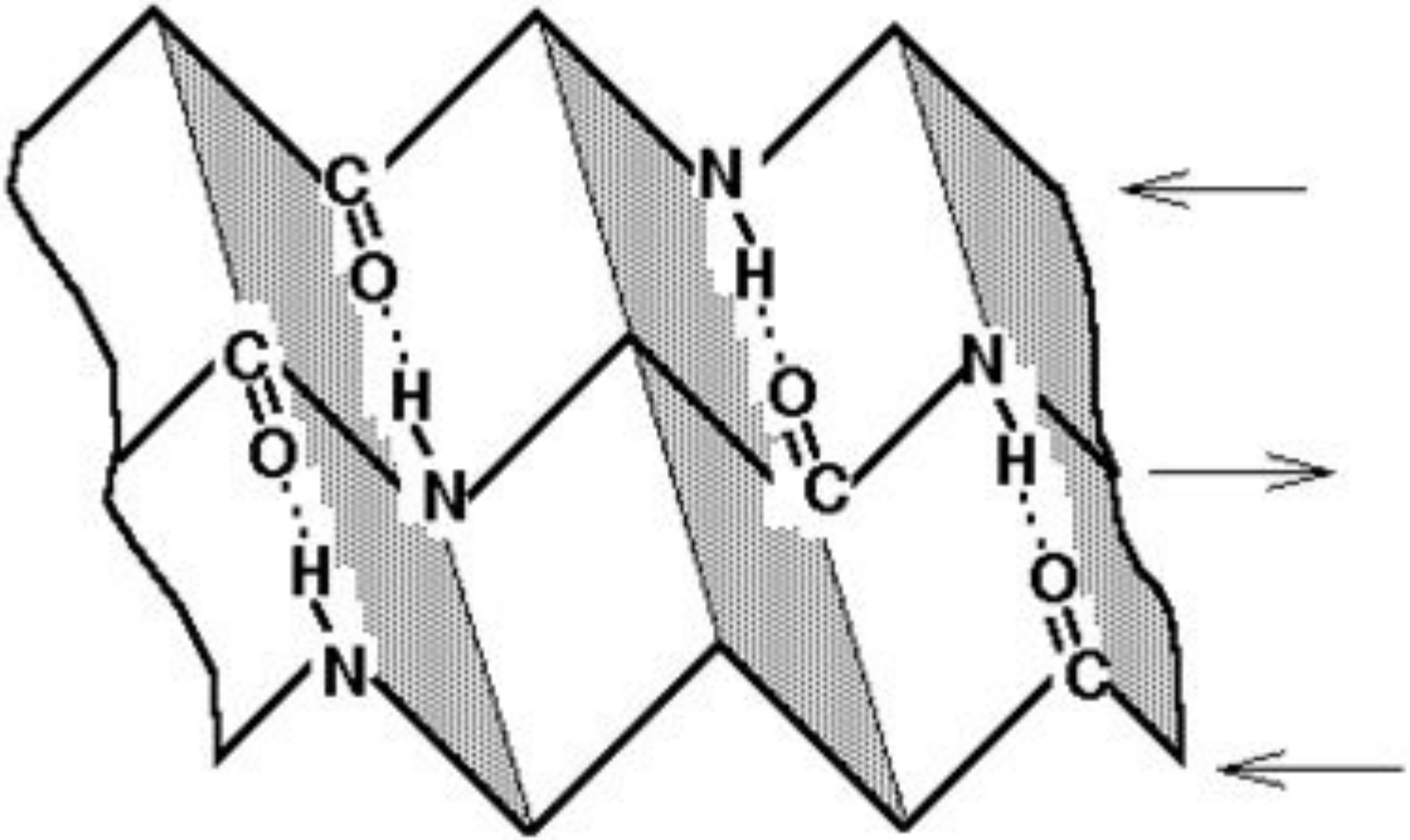
β-складчатая структура

(антипараллельная)



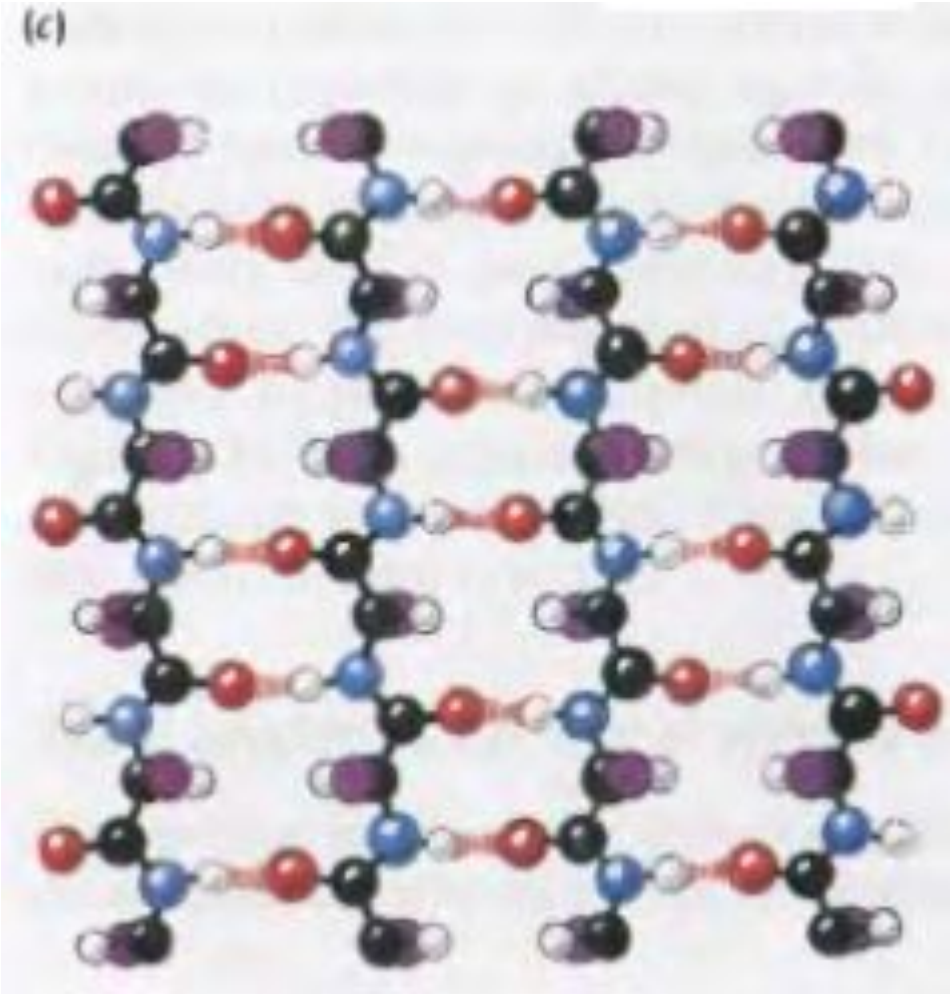
Антипараллельный складчатый лист

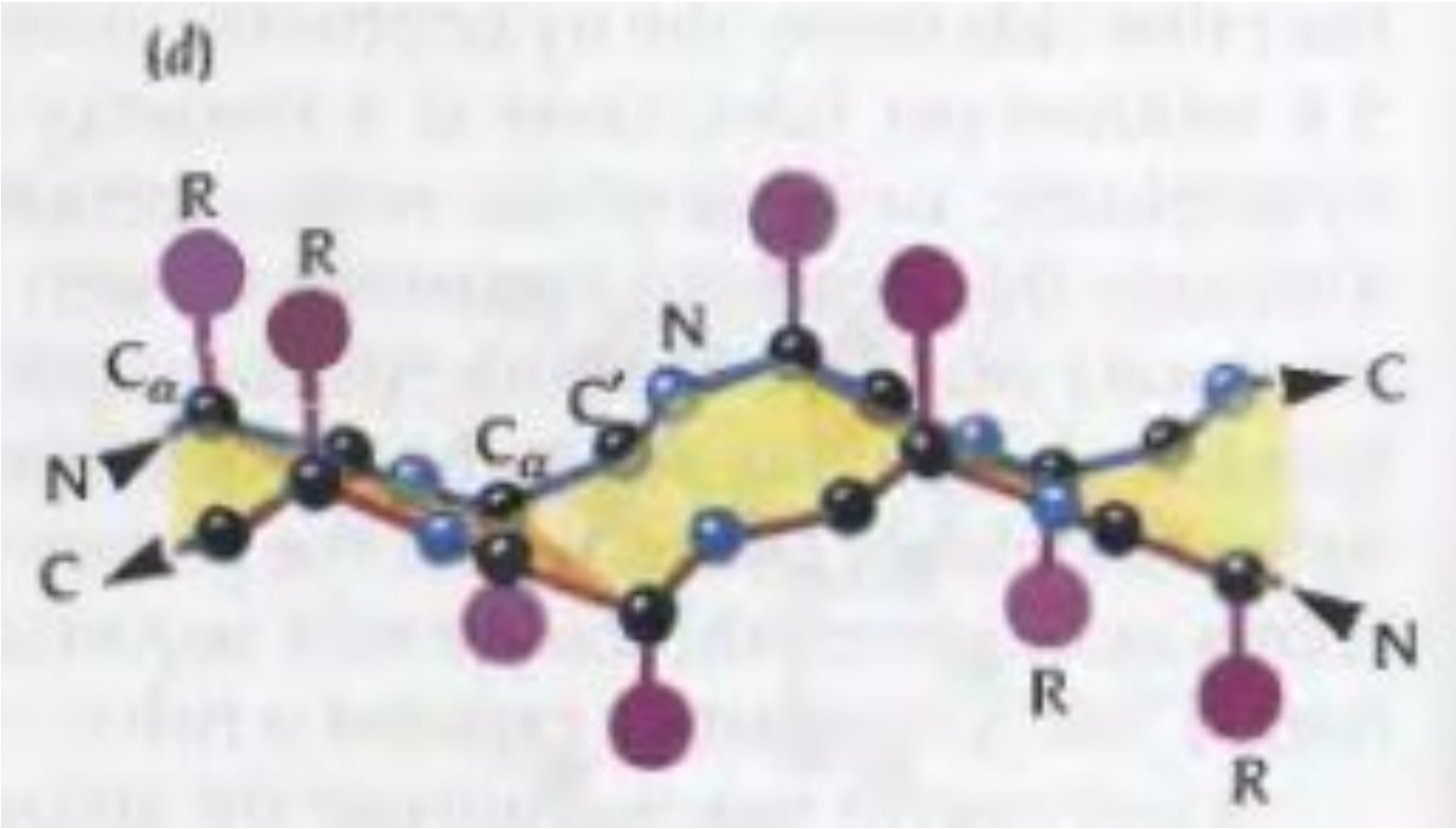
$\varphi = -139^\circ$
$\psi = +135^\circ$

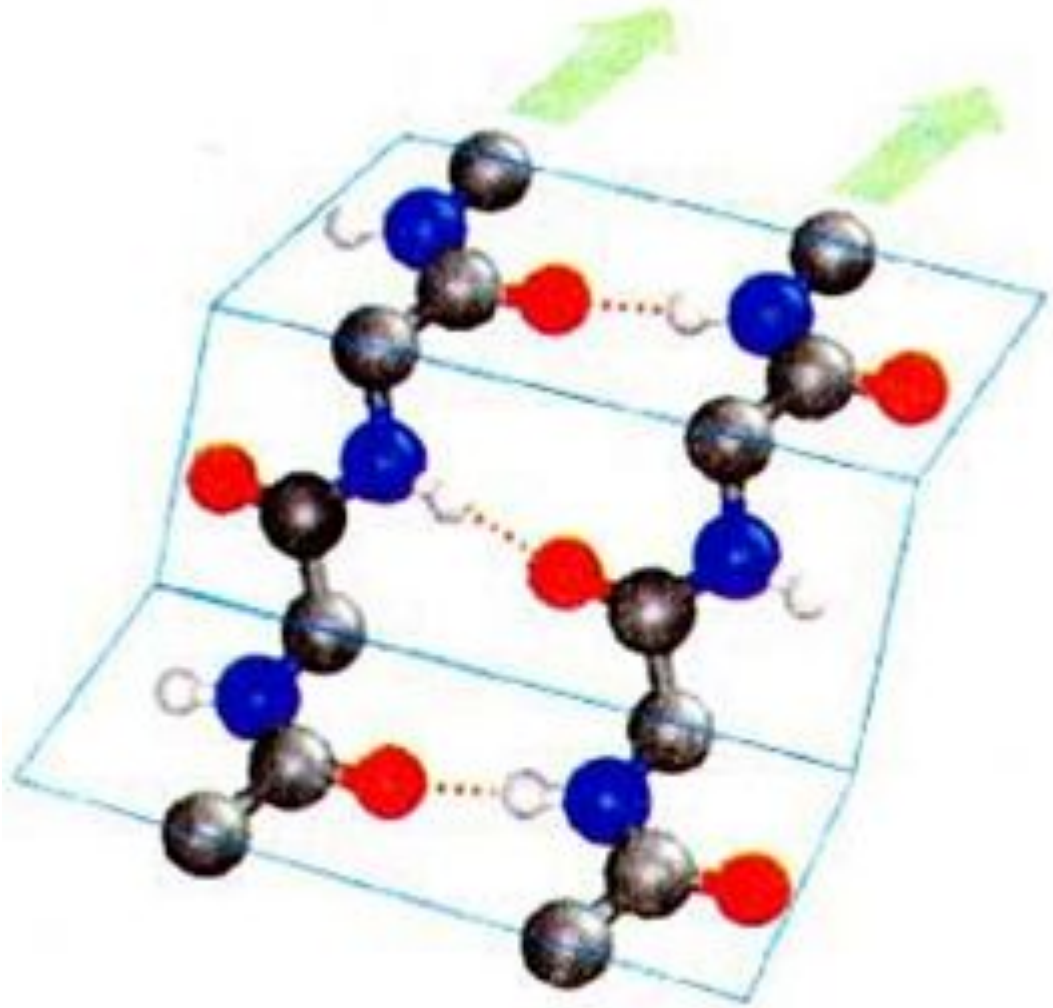


β - складчатая структура (антипараллельная).

(стрелками показано направление полипептидных цепей)

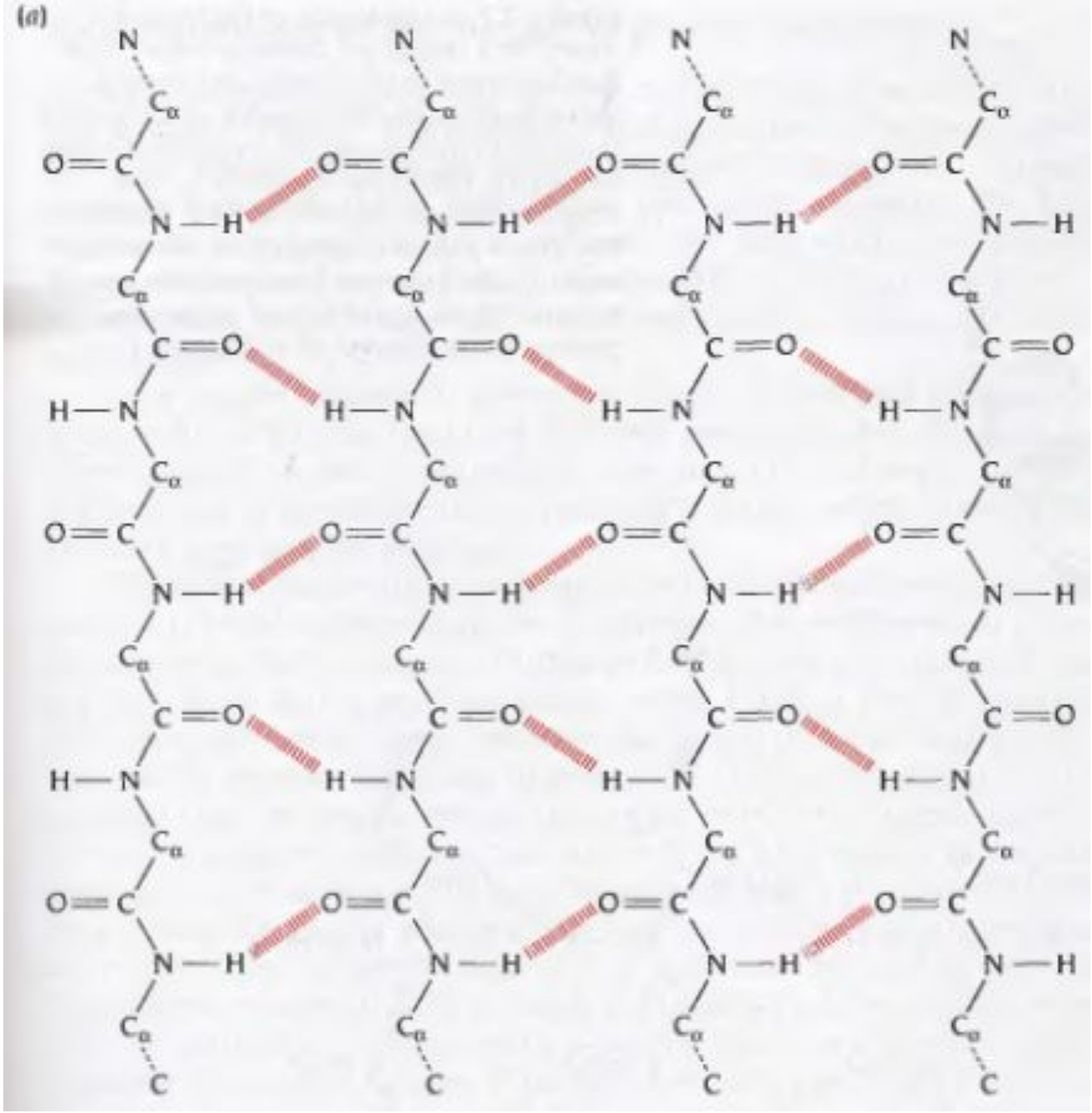

(c)


(d)
R
R
N
C_α
C'
C
C_α
N
C
N
R
R

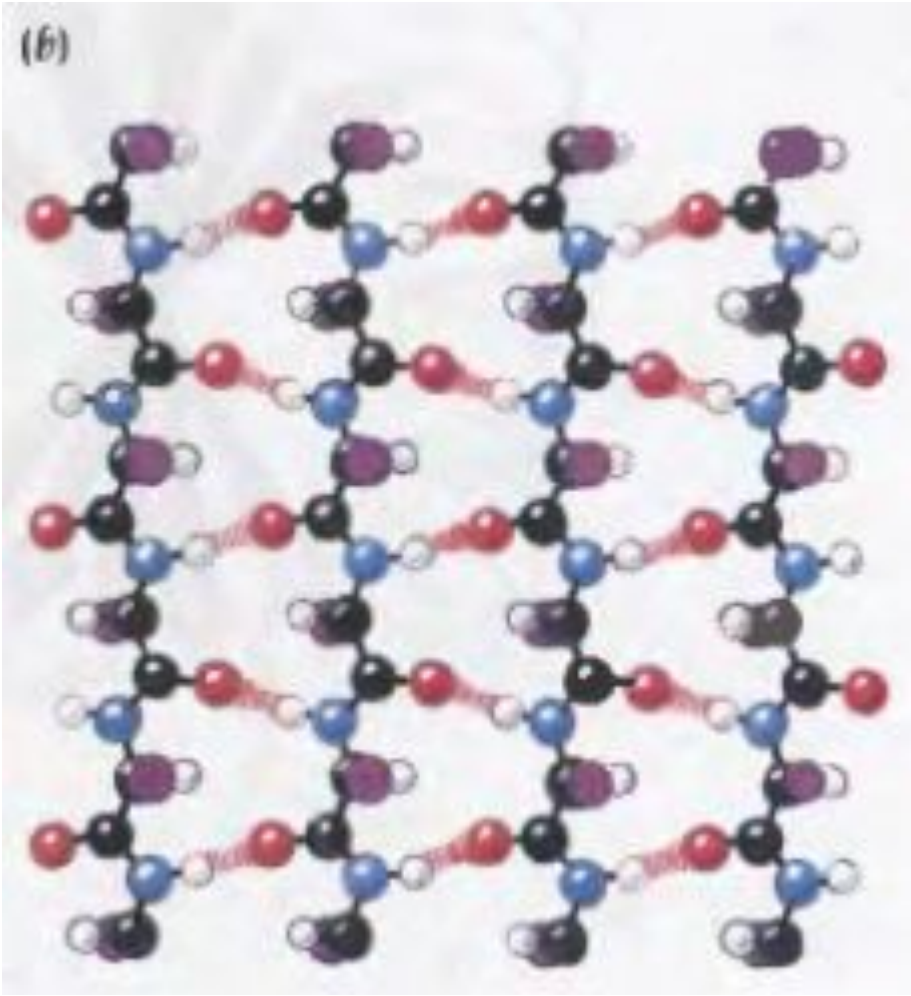


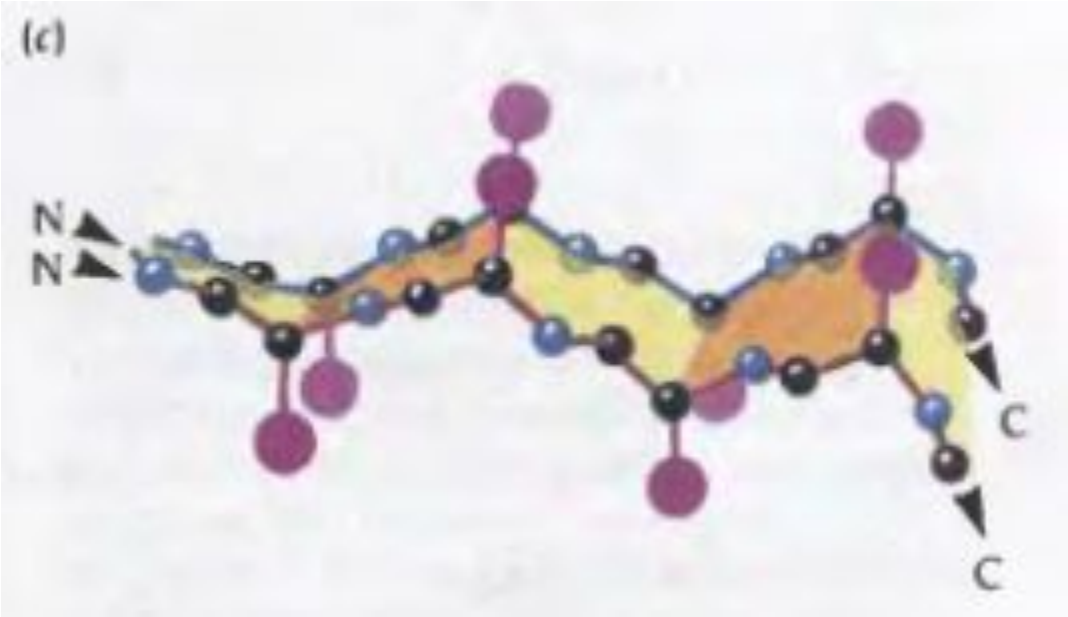
Параллельный складчатый лист

$\varphi = -119^\circ$
$\psi = +113^\circ$

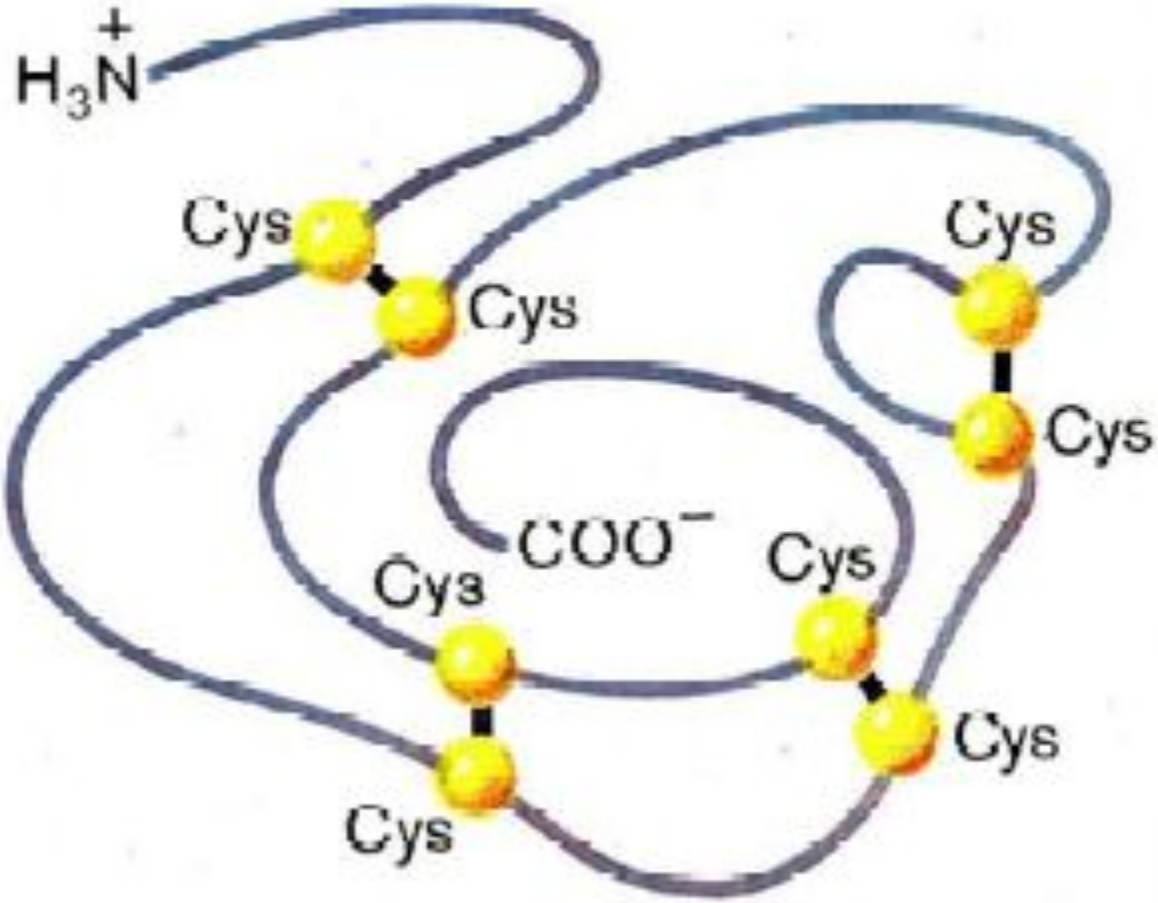


β-параллельный складчатый лист

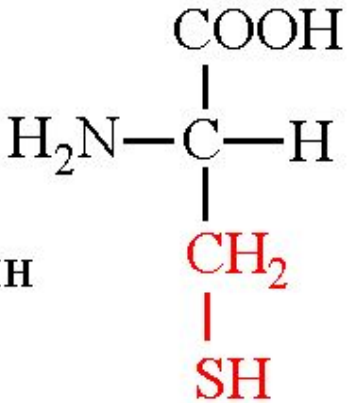

(b)


(c)
N
N
C
C

Поперечные дисульфидные мостики

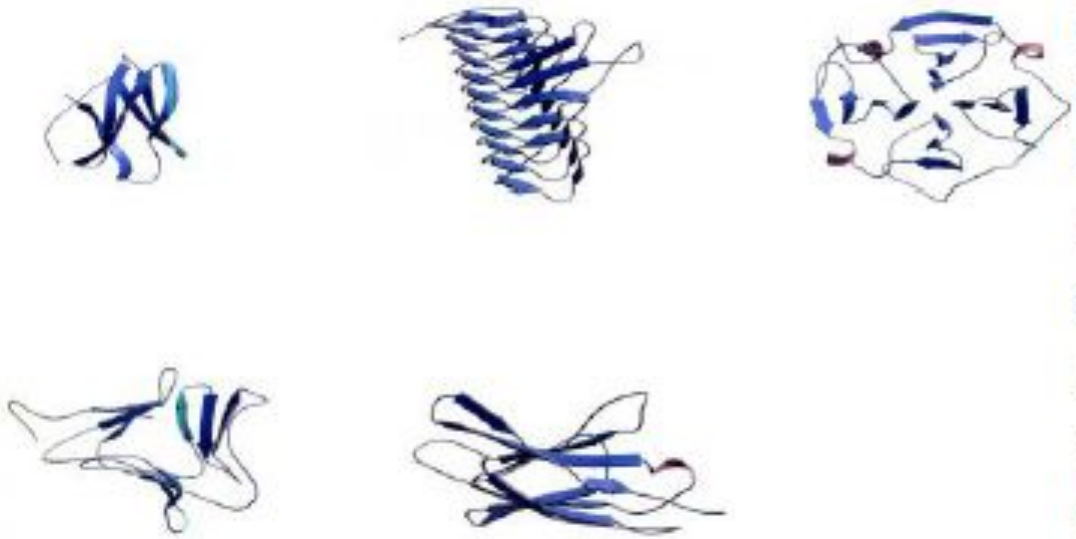


Цистеин

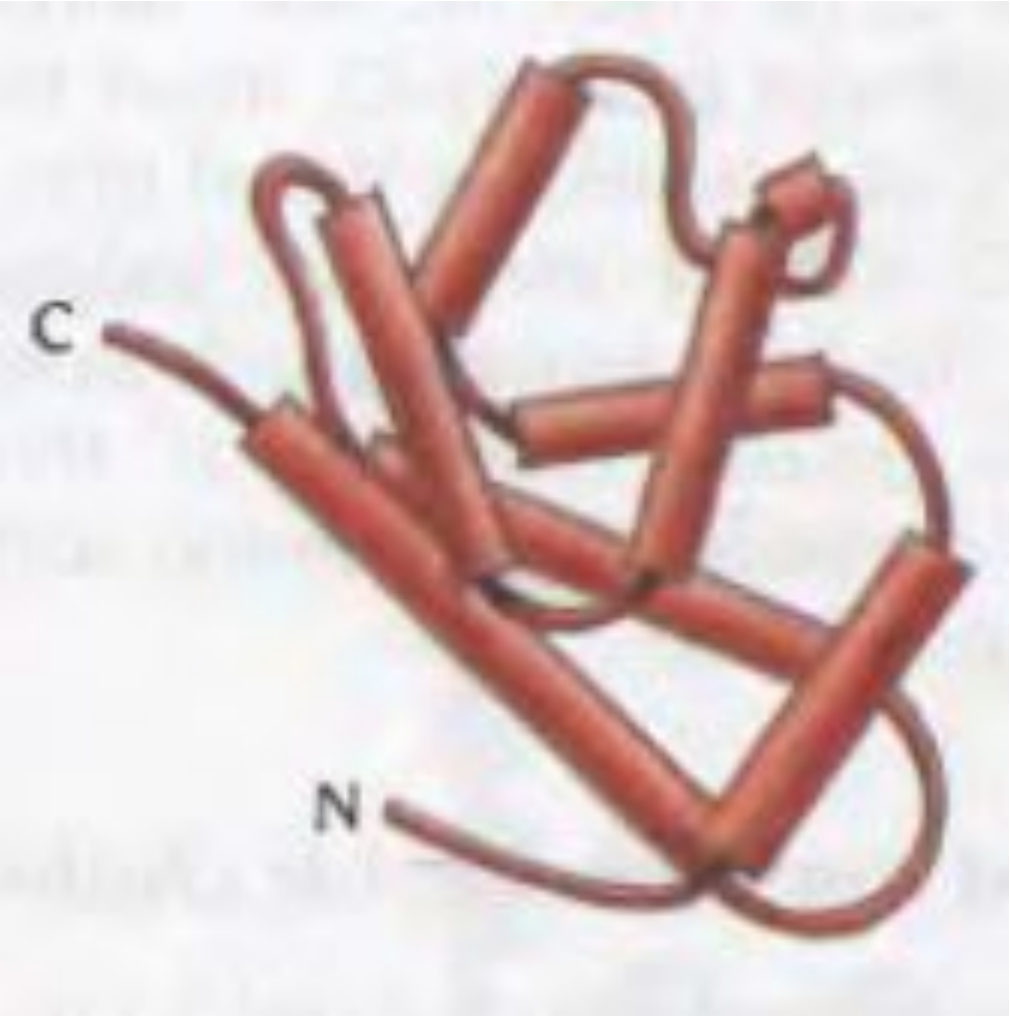


Cys
C

Третичная структура белка (глобулярные белки)



Третичная структура белка – способ пространственной укладки полипептидной цепи в глобулу или фибриллу. Поддерживается за счет ковалентных (S-S), гидрофобных, водородных связей.



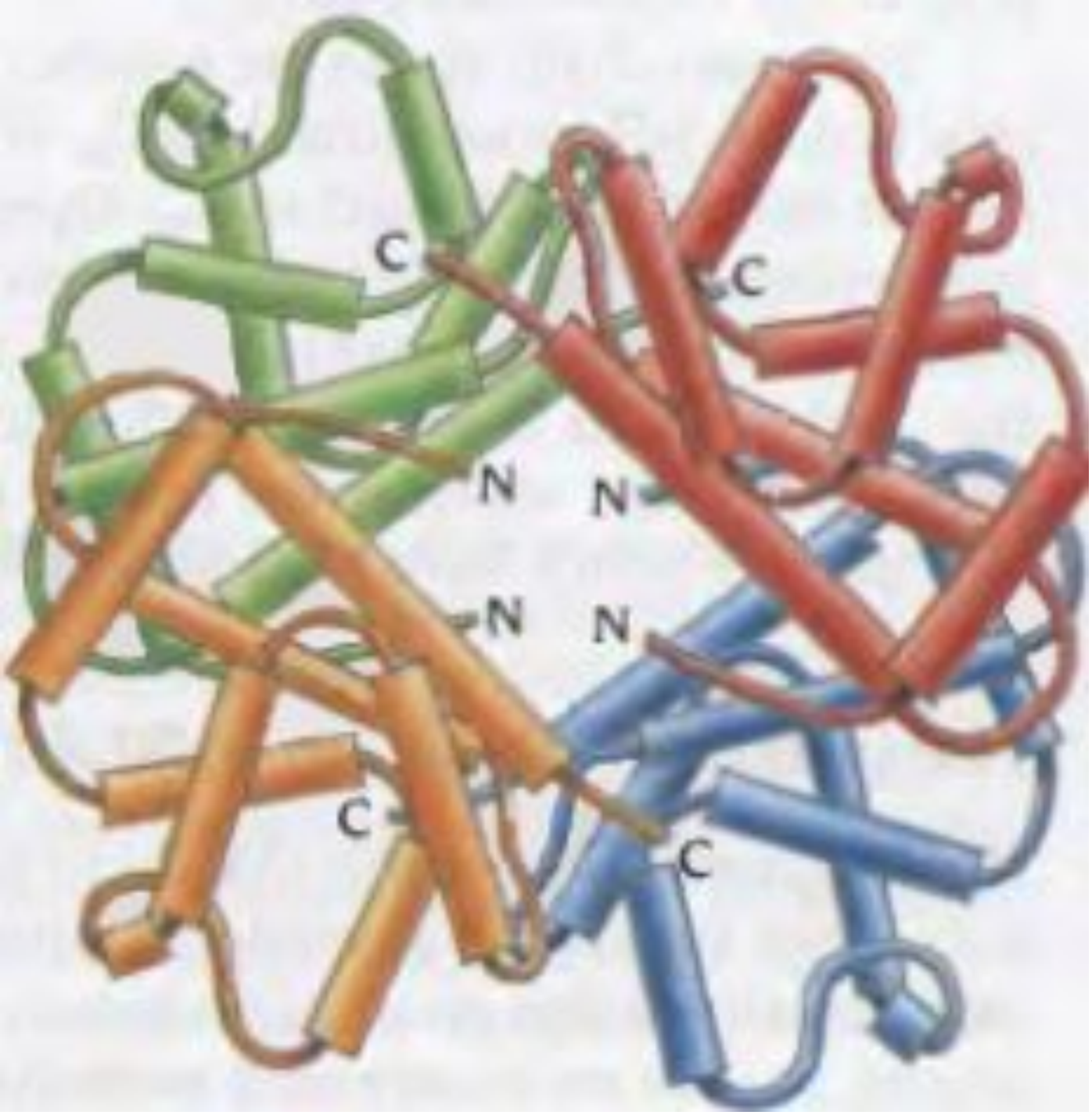
Tertiary

Четвертичная структура белка

Четвертичная структура белка формируется за счет взаимодействия нескольких полипептидных цепей, поддерживается за счет водородных, гидрофобных связей и Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий.

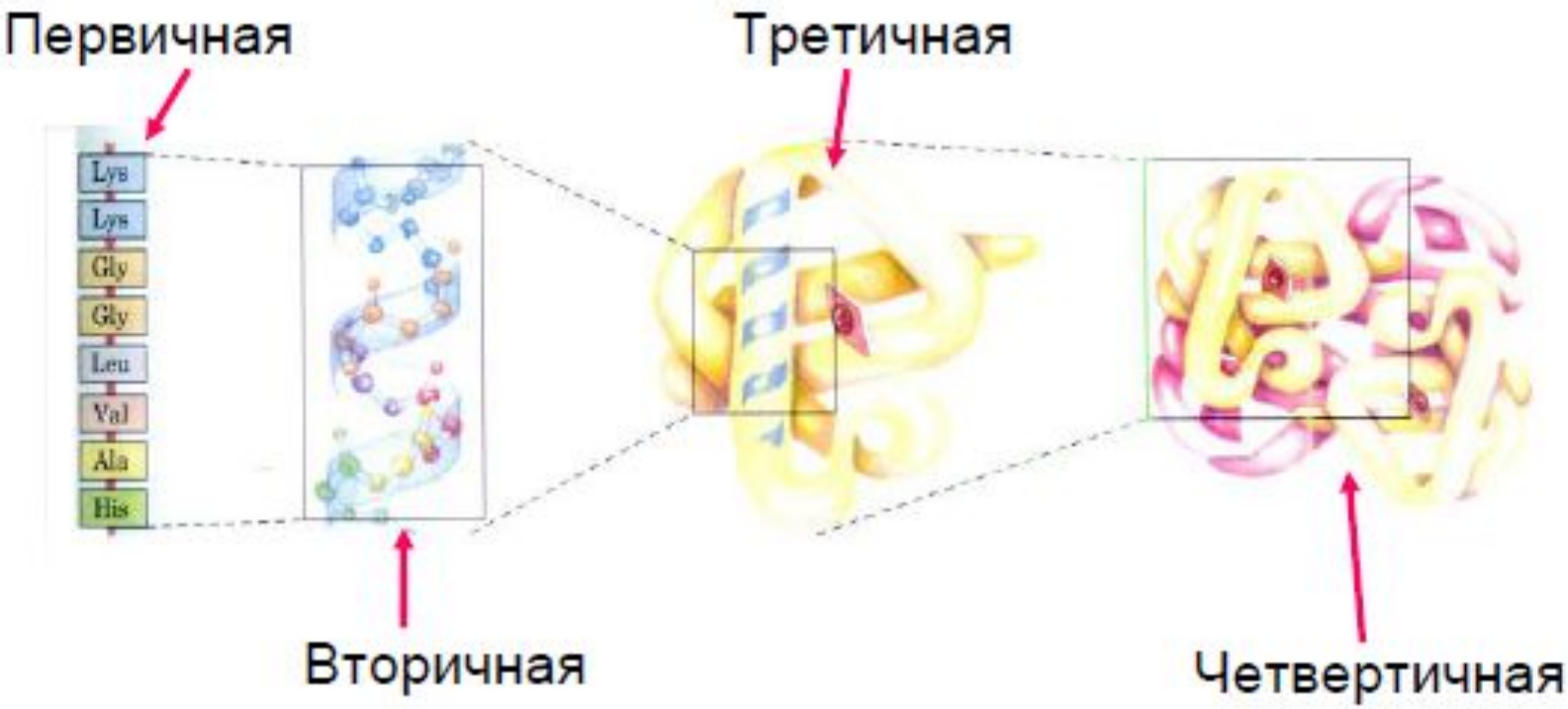
Миоглобин (одна цепь)

Гемоглобин (четыре цепи)



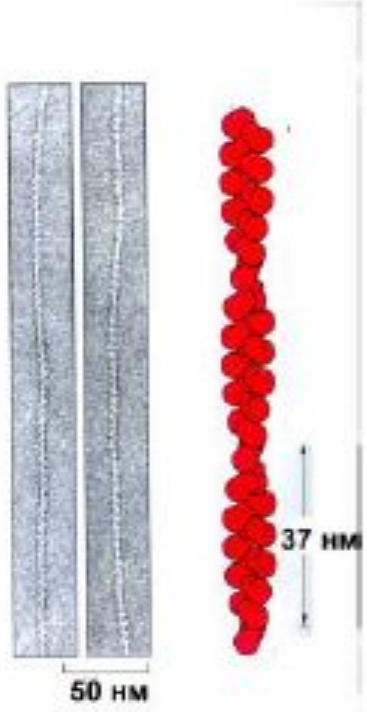
Quaternary

Различные уровни структурной организации белка



Вторичная, третичная и четвертичная структура белка определяется его первичной структурой

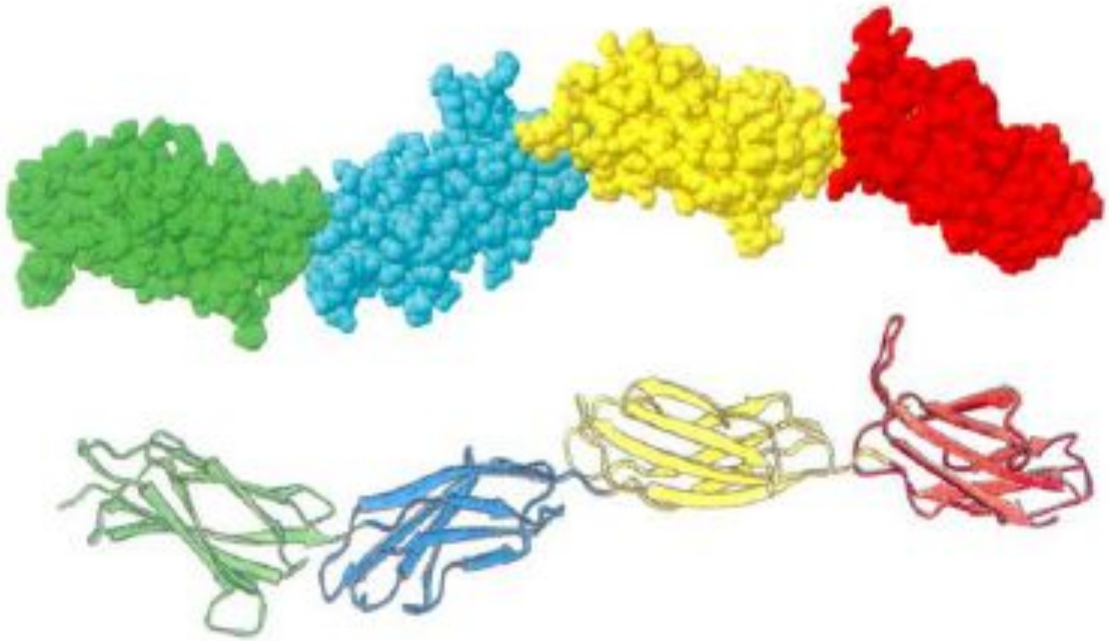
Фибриллярные белки



Фибриллярный актин

Тройная коллагеновая спираль

Доменная организация белков

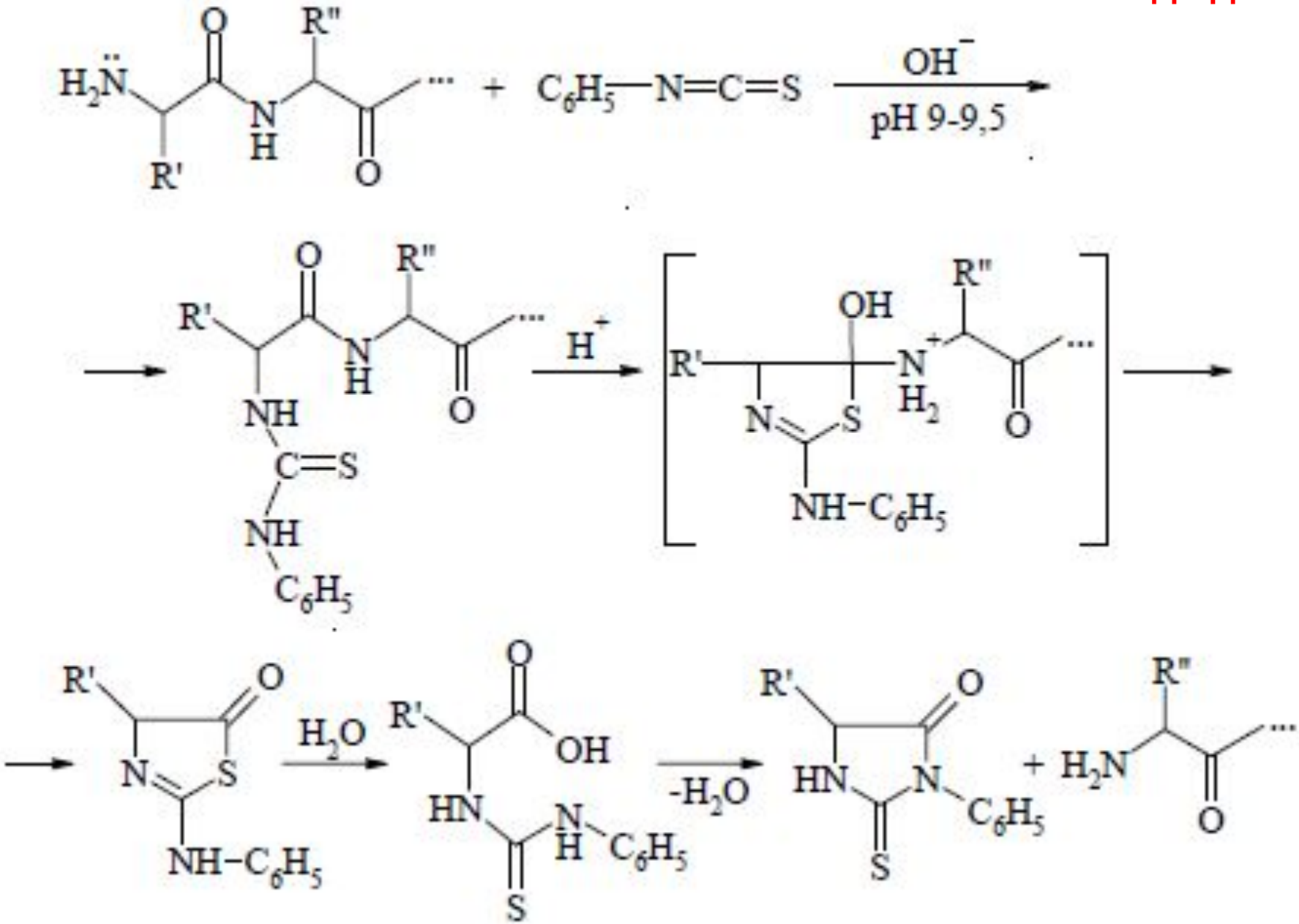


Четыре домена молекулы фибронектина

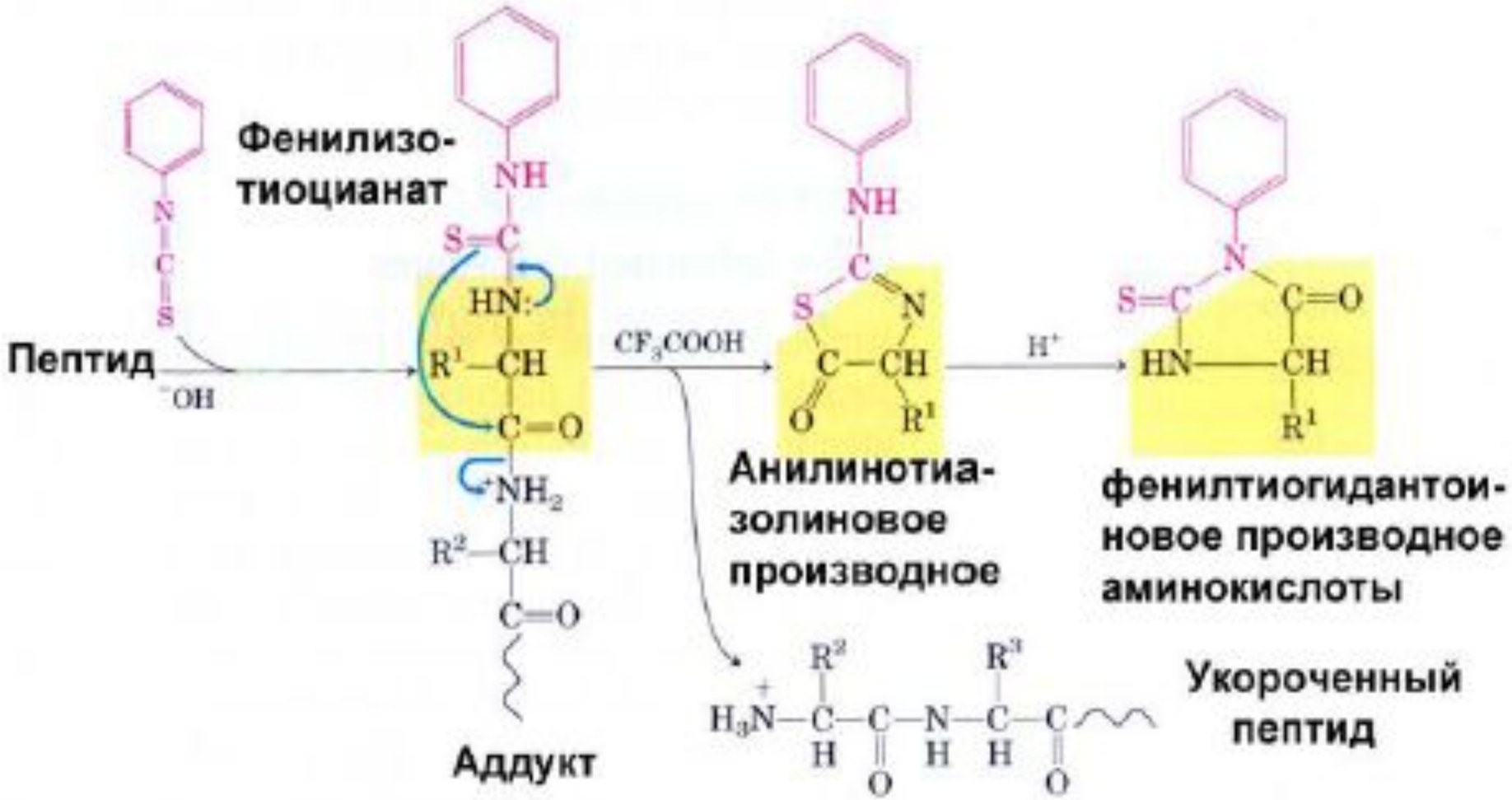
МЕТОД ЭДМАНА

Метод Эдмана (метод ступенчатой деструкции, 1950 г.)
К аминогруппе **N-концевой α-аминокислоты** присоединяют фенилизотиоцианат (ФИТЦ),
каждый цикл деградации включает в себя 3 стадии:
1) образование фенилтиокарбамоилпептида (ФТК);
2) отщепление N-концевого остатка аминокислоты в виде тиазолинона;
3) изомеризация тиазолинона в фенилтиогидантоин (ФТГ) и идентификация его.

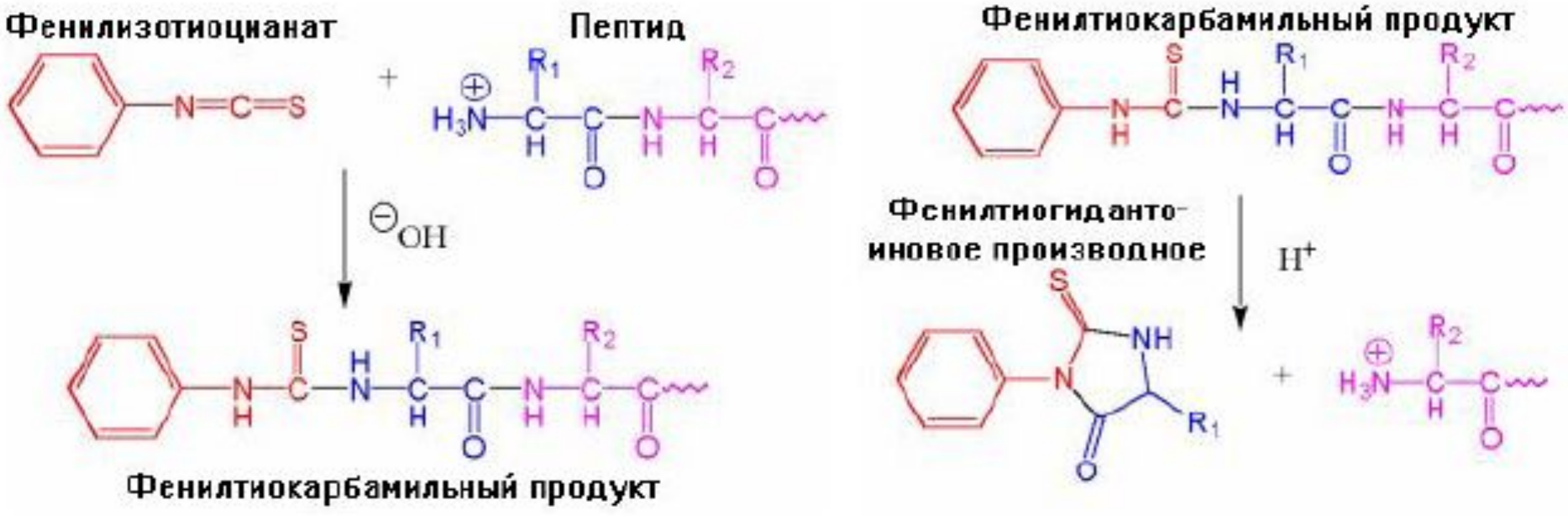
МЕТОД ЭДМАНА



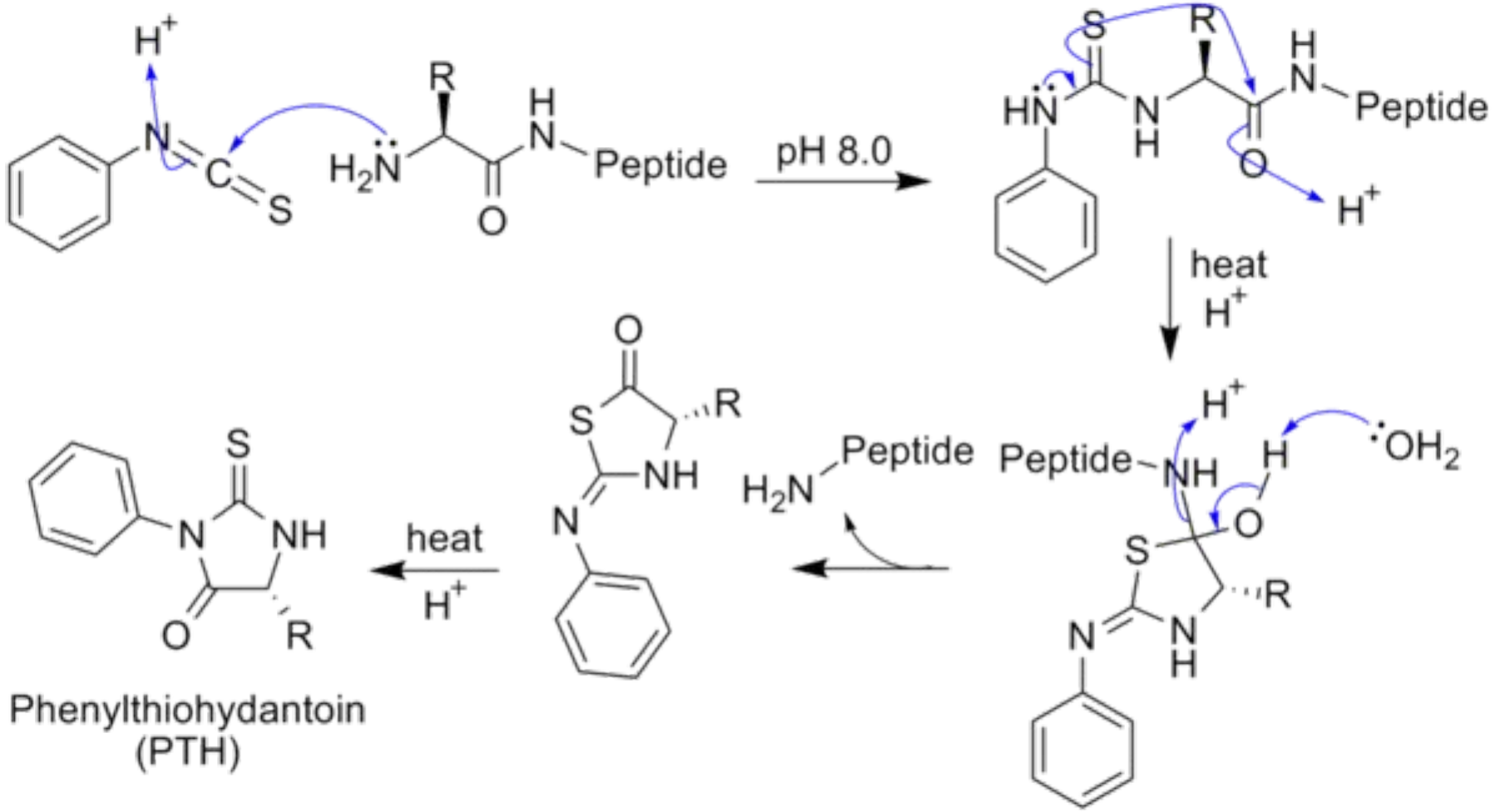
МЕТОД ЭДМАНА



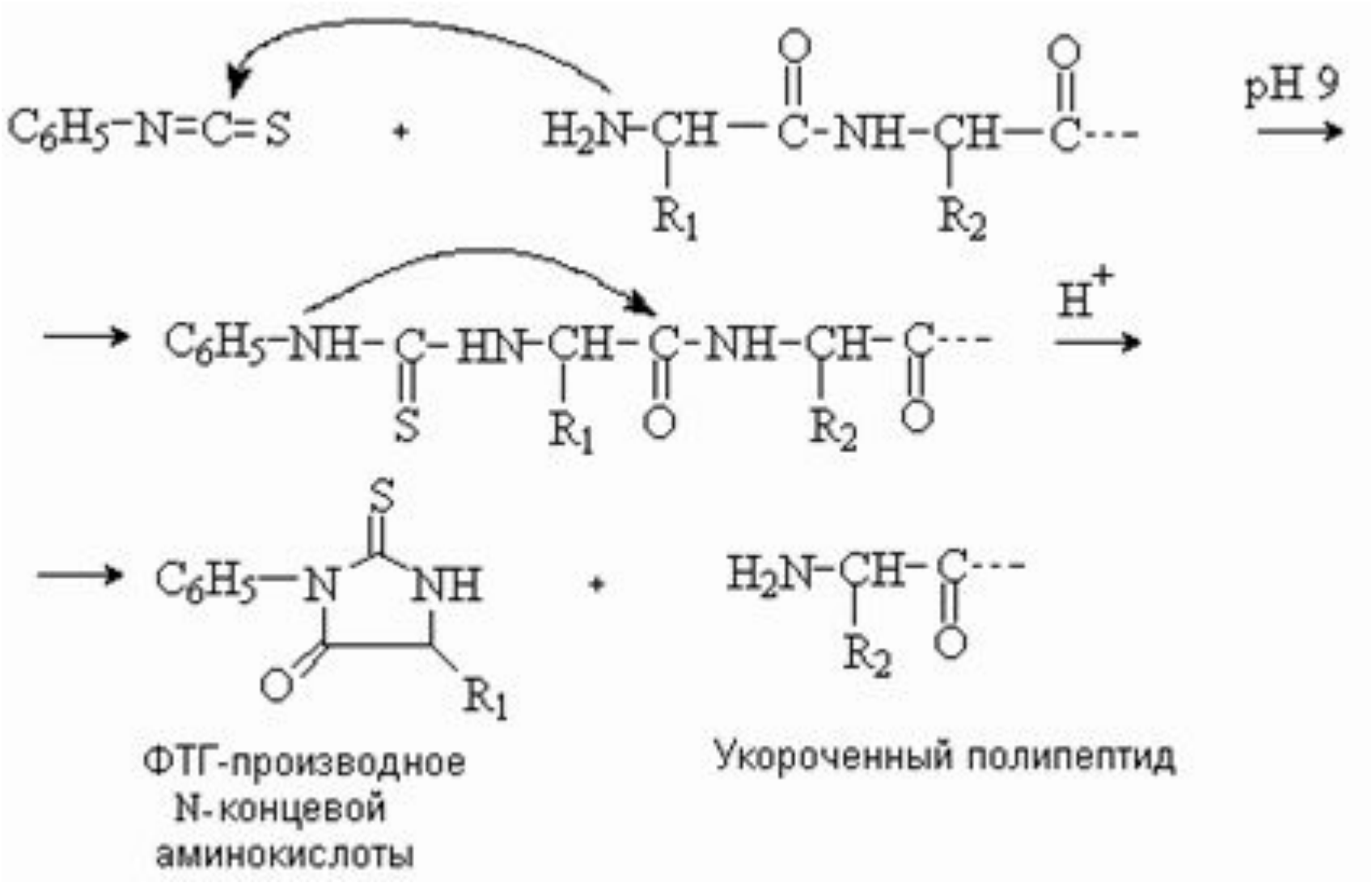
МЕТОД ЭДМАНА



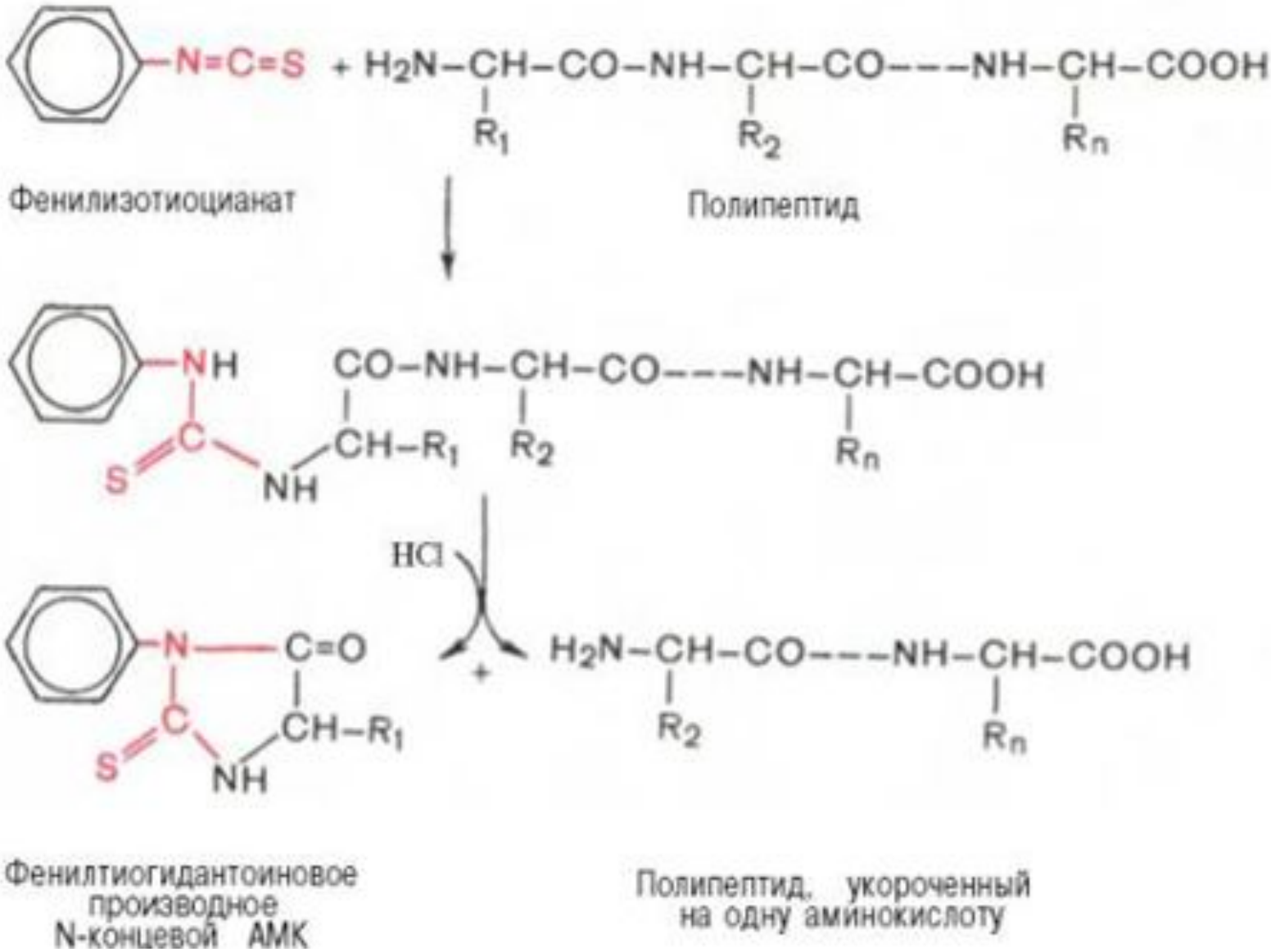
МЕТОД ЭДМАНА



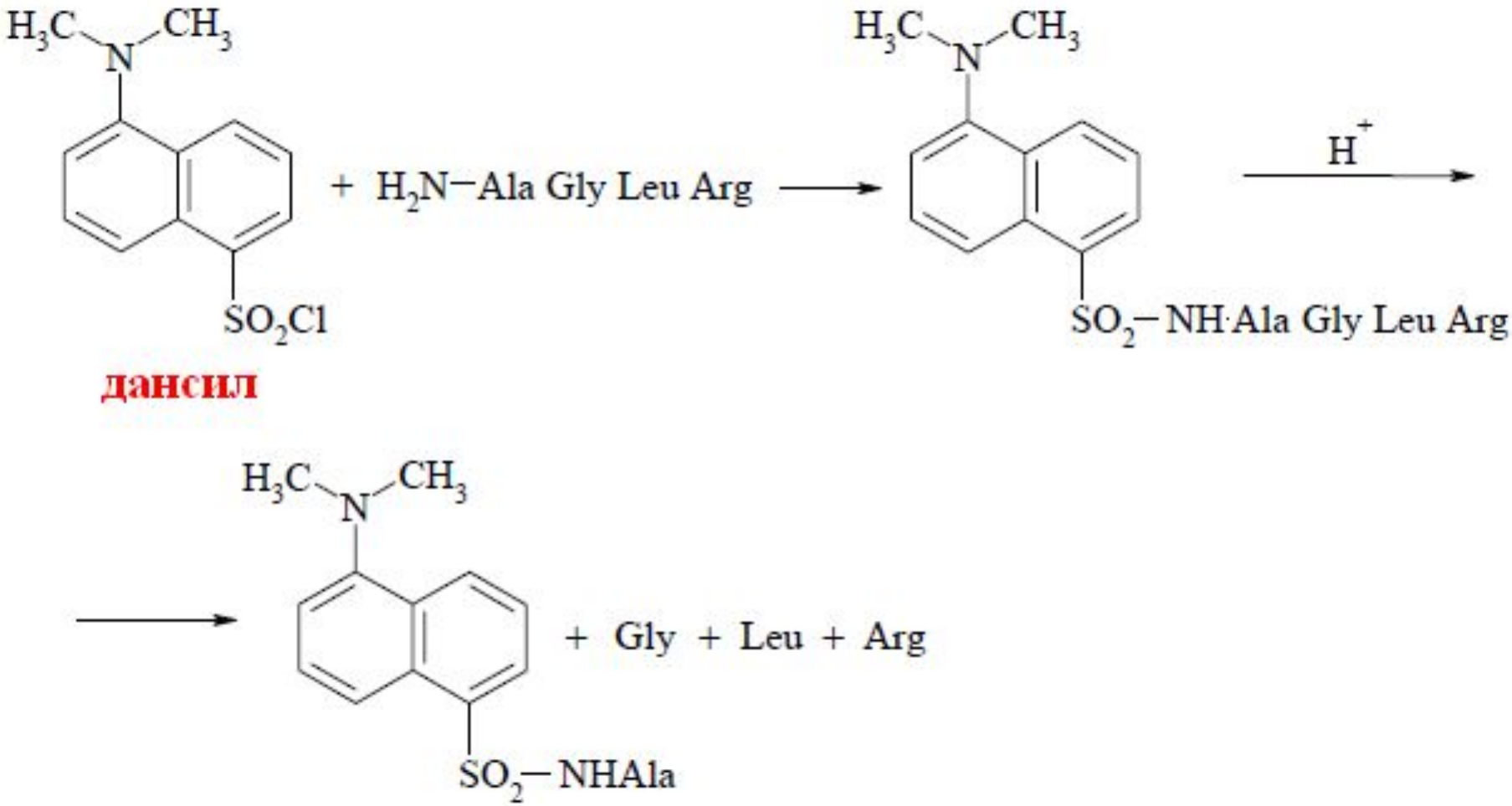
МЕТОД ЭДМАНА



МЕТОД ЭДМАНА



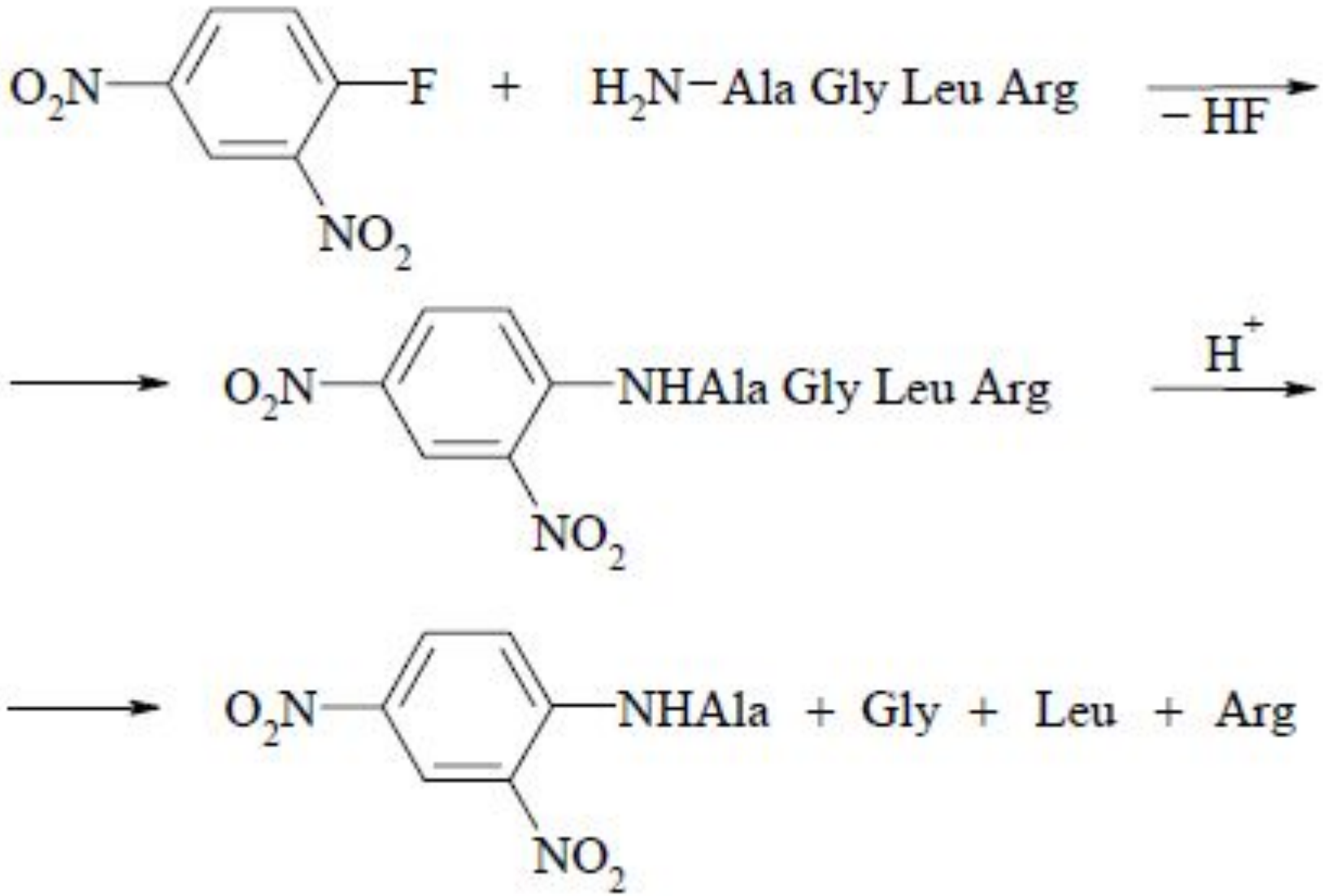
МЕТОД Грея и Хартли (дансильный метод)



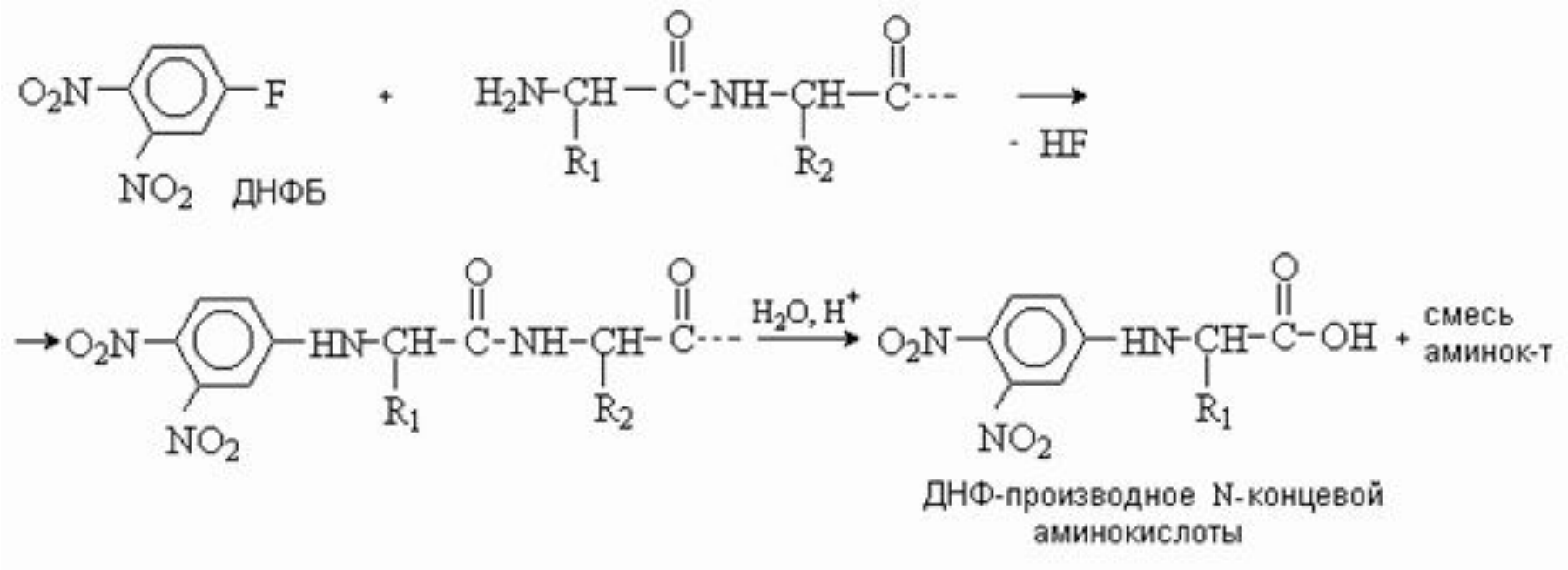
Метод Сэнгера (F. Sanger)

основан на реакции арилирования полипептида 2,4-динитрофторбензолом (ДНФБ),
что приводит
к образованию окрашенного в желтый цвет 2,4-динитрофенильного производного N-концевой аминокислоты .
Раствор полипептида обрабатывают ДНФБ, который взаимодействует со свободной NH2-группой N-концевой аминокислоты пептида.

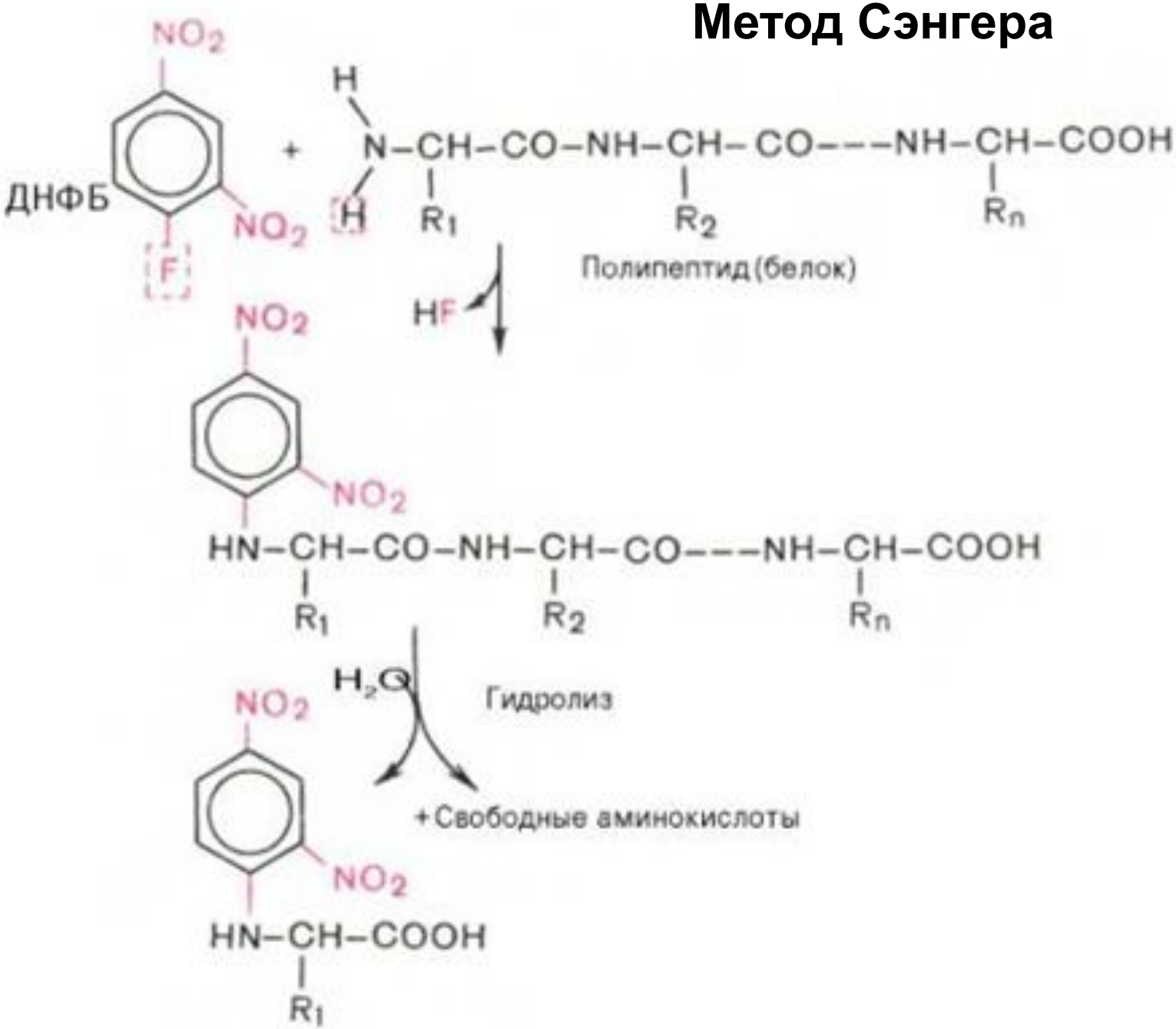
Метод Сэнгера



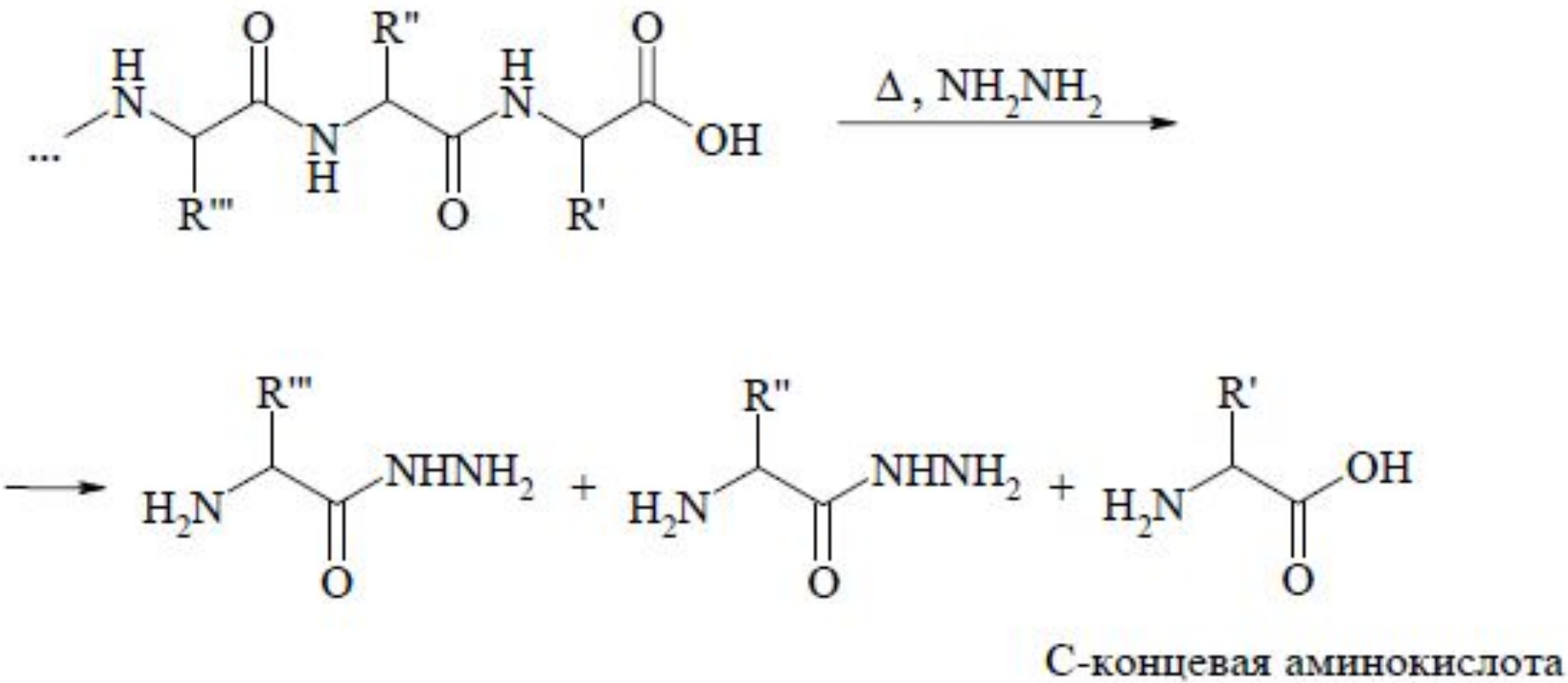
Метод Сэнгера



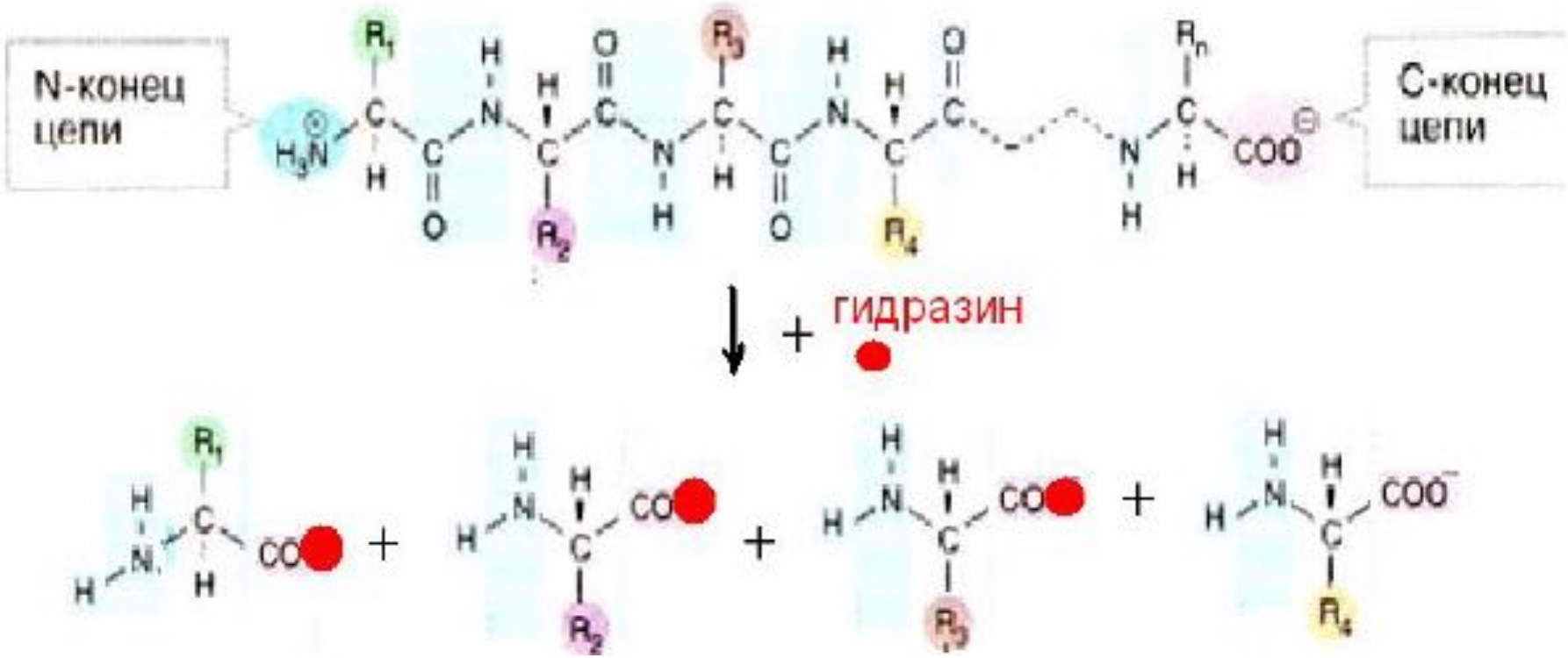
Метод Сэнгера



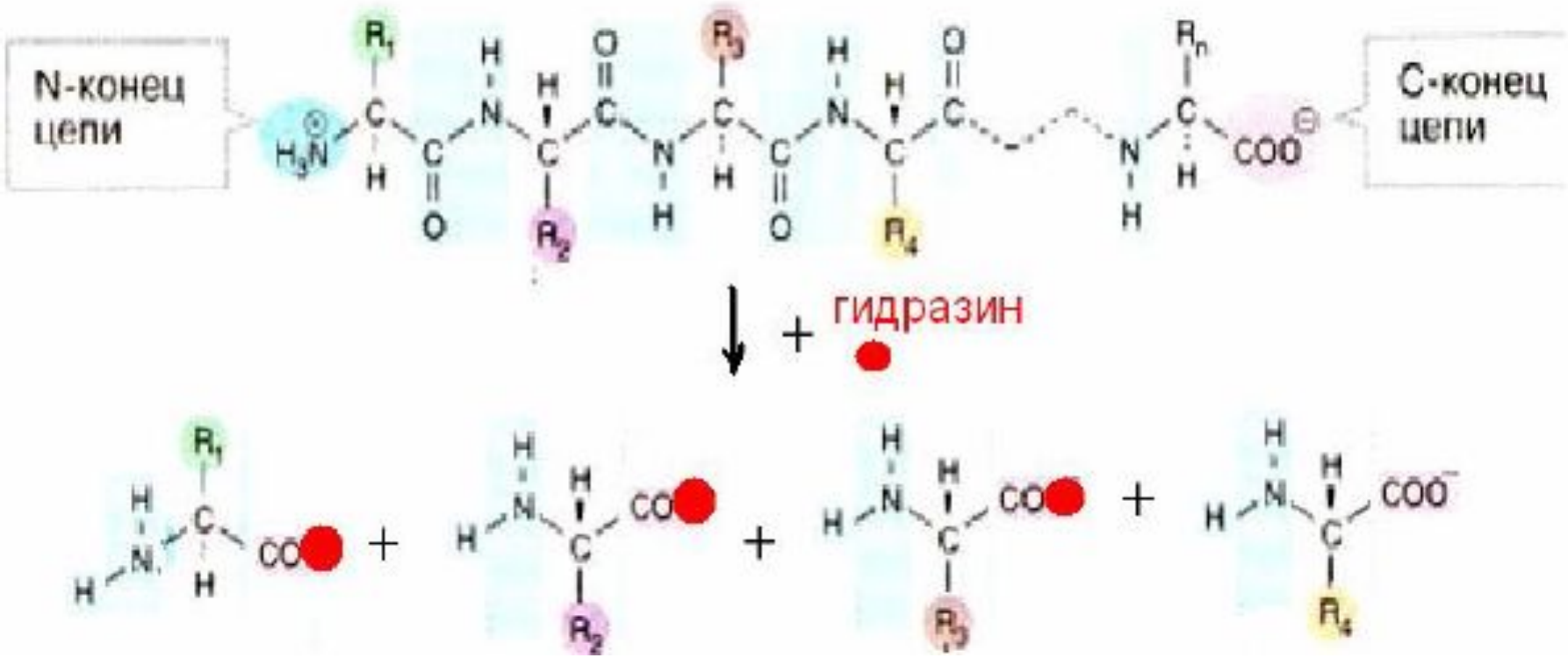
МЕТОД АКАБОРИ
гидразинолиз



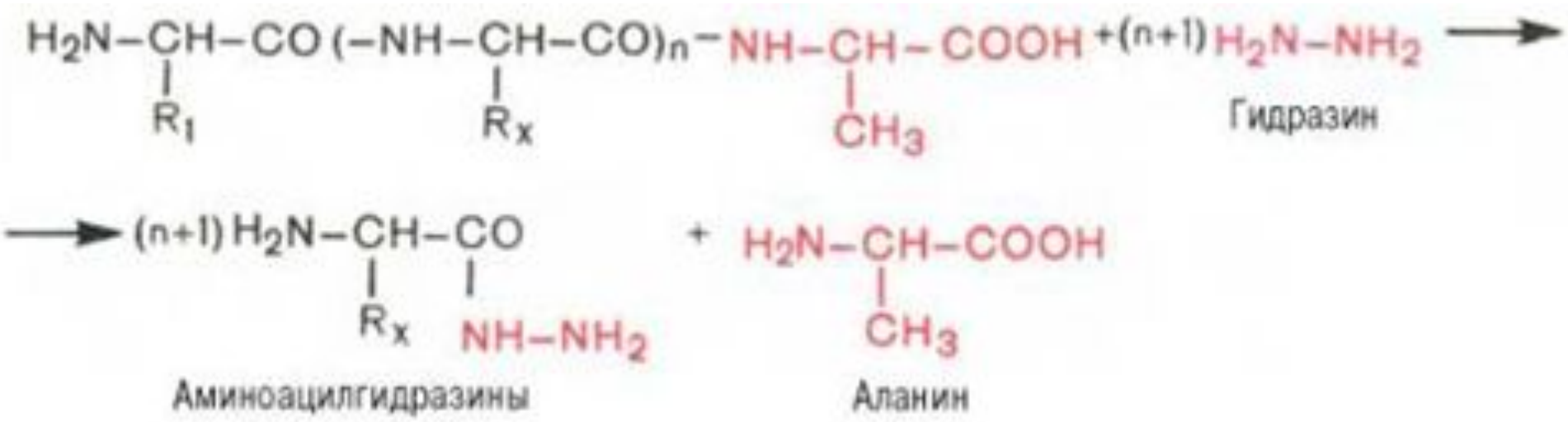
МЕТОД АКАБОРИ

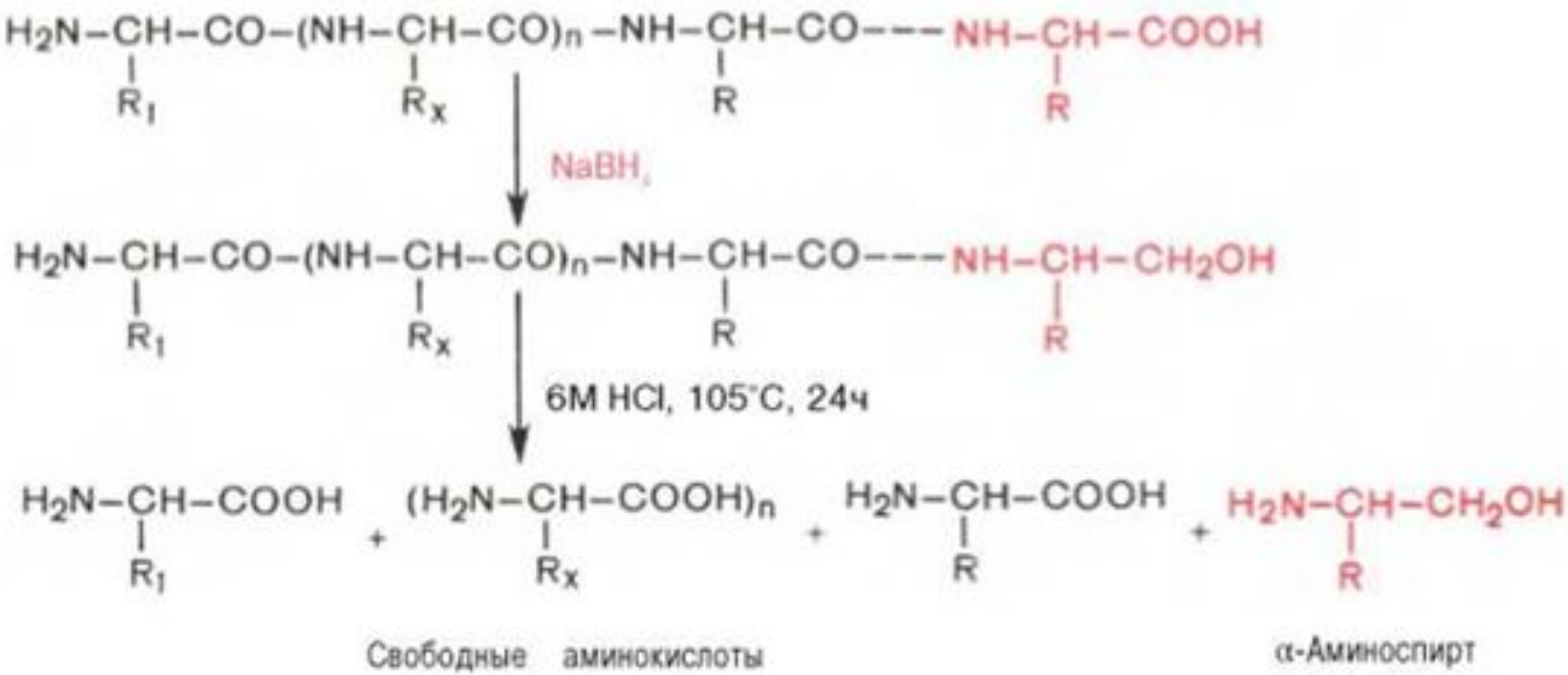


МЕТОД АКАБОРИ

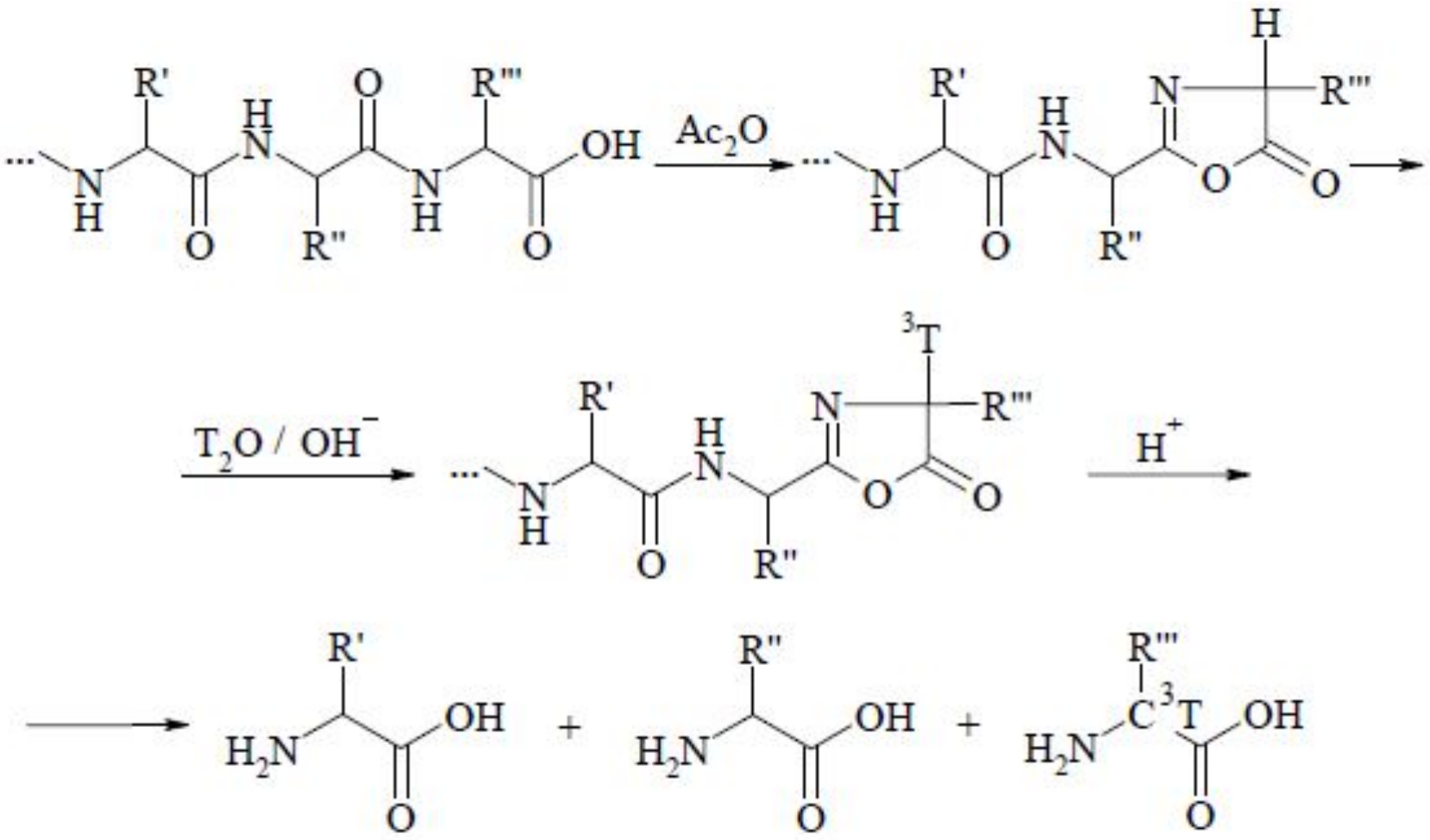


МЕТОД АКАБОРИ




NaBH4
6M HCl, 105°C, 24ч
Свободные аминокислоты
α-Аминоспирт

Метод Матсуо (оксазалоновый метод, метод тритиевой метки)



Денатурация белка

Денатурация белка – это разрушение его четвертичной, третичной и вторичной структуры. Происходит при изменении pH среды, нагревании, добавлении органических растворителей

Классификация белков

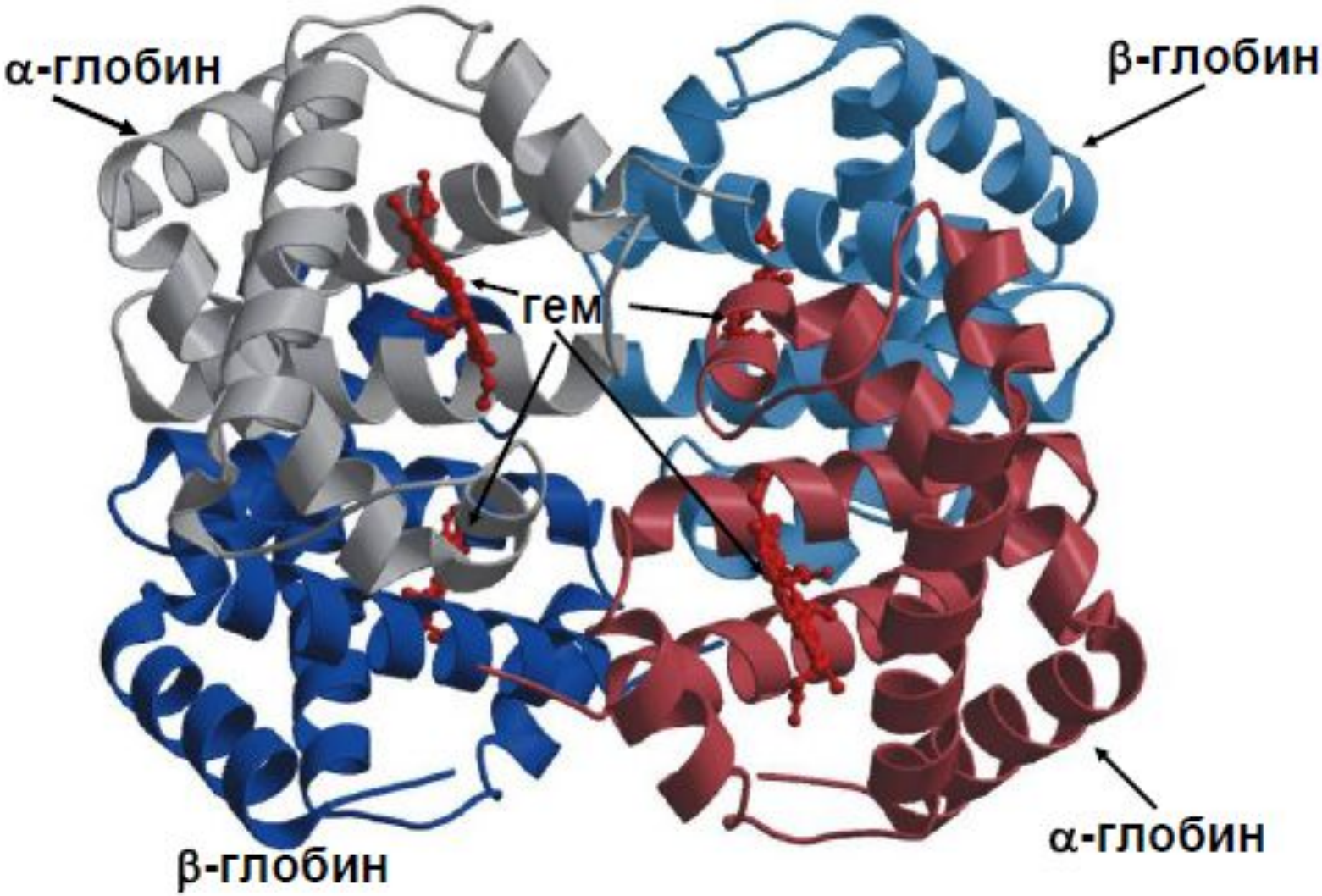
Некоторые белки постоянно содержат другие химические соединения, например липиды, гликопротеины и т.д.Такие белки называют сложными, а это соединение –простетической группой.

Класс	Простетическая группа	Пример
Липопротеиды	Липиды	β1-липопротеид крови
Гликопротеиды	Углеводы	Иммуноглобулин G
Фосфопротеиды	Фосфатная группа	Казеин молока
Гемопротеиды	Гем	Гемоглобин
Флавопротеиды	Флавиновые нуклеотиды	Сукцинатдегидрогеназа
Металлопротеиды	Железо	Ферритин
	Цинк	Алкогольдегидрогеназа
	Молибден	Динитрогеназа
	Кальций	Кальмодулин
	Медь	Пластоциан

Функции белков

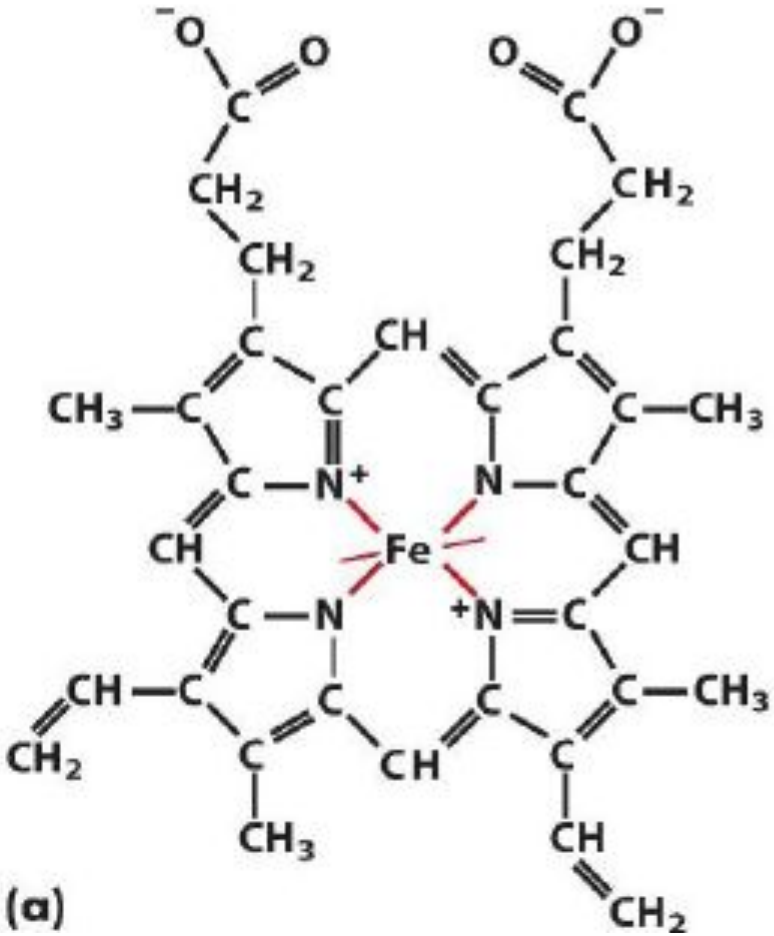
1. Ферментативная: многие белки – ферменты, катализирующие разнообразные химические реакции.
2. Строительная: белки входят в состав клеточных мембран, формируют фибриллы кератина, коллагена и т.п.
3. Транспортная: осуществляют перенос в крови кислорода (гемоглобин), липидов (липопротеиды крови), транспорт через мембрану клетки ионов и малых молекул (каналы, насосы)
4. Регуляторная: обеспечивают рецепцию сигналов,связывая сигнальные молекулы (рецепторы), сами являются сигнальными молекулами (некоторые гормоны), обеспечивают регуляцию ферментативной активности (ингибиторы и активаторы).
6. Защитная: иммунная система организма: основную функцию в ней играют антитела – белки, связывающие чужеродные для организма молекулы – антигены. Некоторые яды.
7. Сократительная: белки актин и миозин обеспечивают сократительную активность отдельных клеток и организма.
8. Энергетическая: аминокислоты, входящие в состав белков, могут окисляться с выделением энергии (1 г белка – 17,6 кДж).

Молекула гемоглобина



Молекула гема

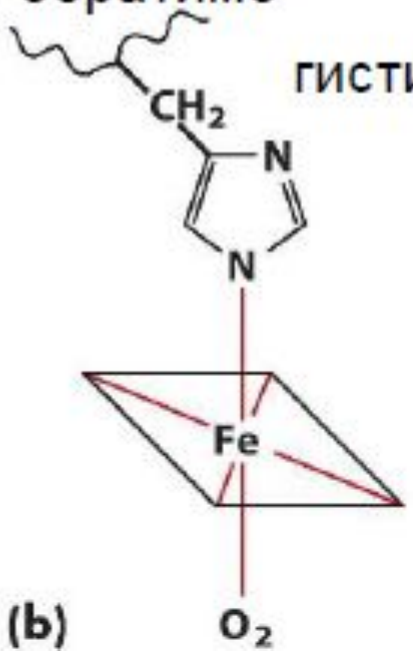
Протопорфирин



Атомы азота, связанные с Fe^{2+} координационными связями, предотвращают переход $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$

O_2 связывается с гемом обратимо

гистидин глобина



Основные методы, используемые для исследования белков

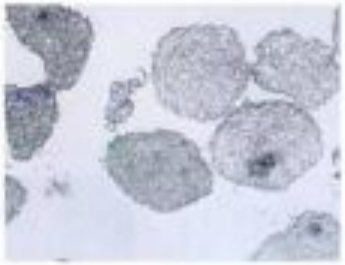
1. Получение белков в чистом виде. Критерии гомогенности – одна полоса при проведении ЭФ (желательно двумерного), одна полоса при центрифугировании.

2. Характеристика белка и его идентификация: определение молекулярной массы, выявление небелковых компонентов (ионы металлов, липиды,углеводы),определение N-концевой последовательности, определение аминокислотного состава и аминокислотной последовательности, масс-спектрометрия самого белка и продуктов его протеолиза, кристаллизация белка и рентгеноструктурный анализ.

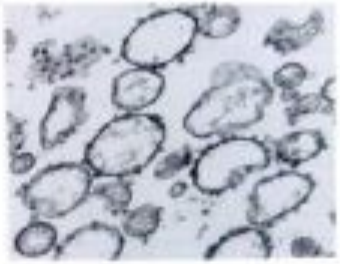
Везикулы, образованные из фрагментов клеточных мембран

1. **Гомогенизация ткани (гомогенизаторы Поттера, Уорринга, политрон, растирание с кварцевым песком, лизис клеток)**
2. **Дифференциальное центрифугирование**

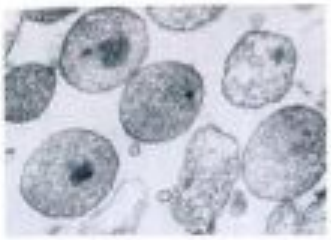
Центрифугирование в градиенте плотности



Ядра



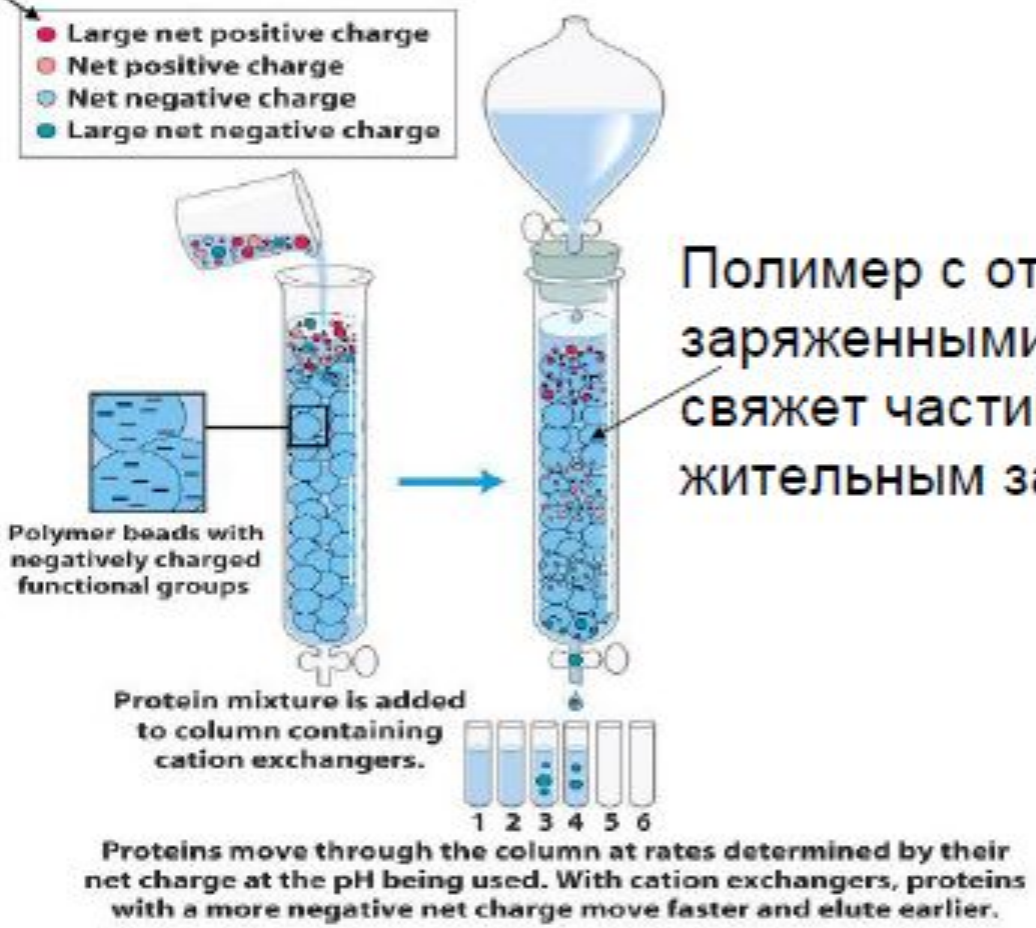
Шероховатый ретикулум



Лизосомы

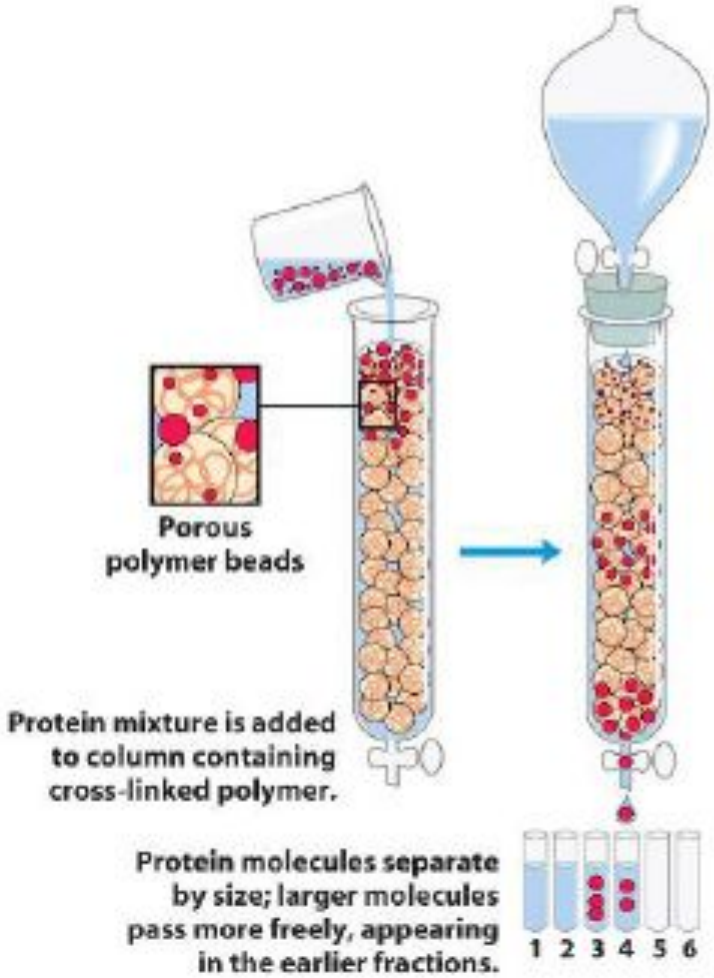
Ионнообменная хроматография

Частица (белок) с суммарным положительным зарядом



Полимер с отрицательно заряженными группами свяжет частицы с поло-жительным зарядом

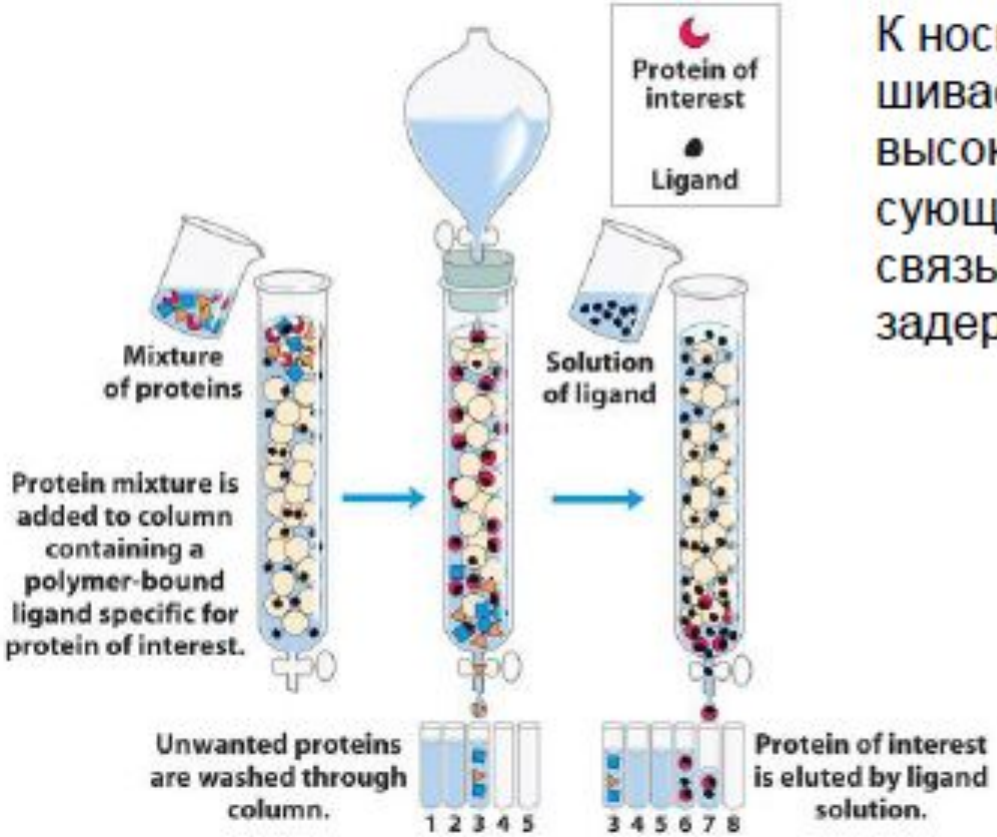
Гель-хроматография (молекулярное сито)



Малые молекулы проникают внутрь полимерных гранул, их движение на колонке замедляется.

Большие молекулы проходят через колонку, не задерживаясь

Метод аффинной хроматографии



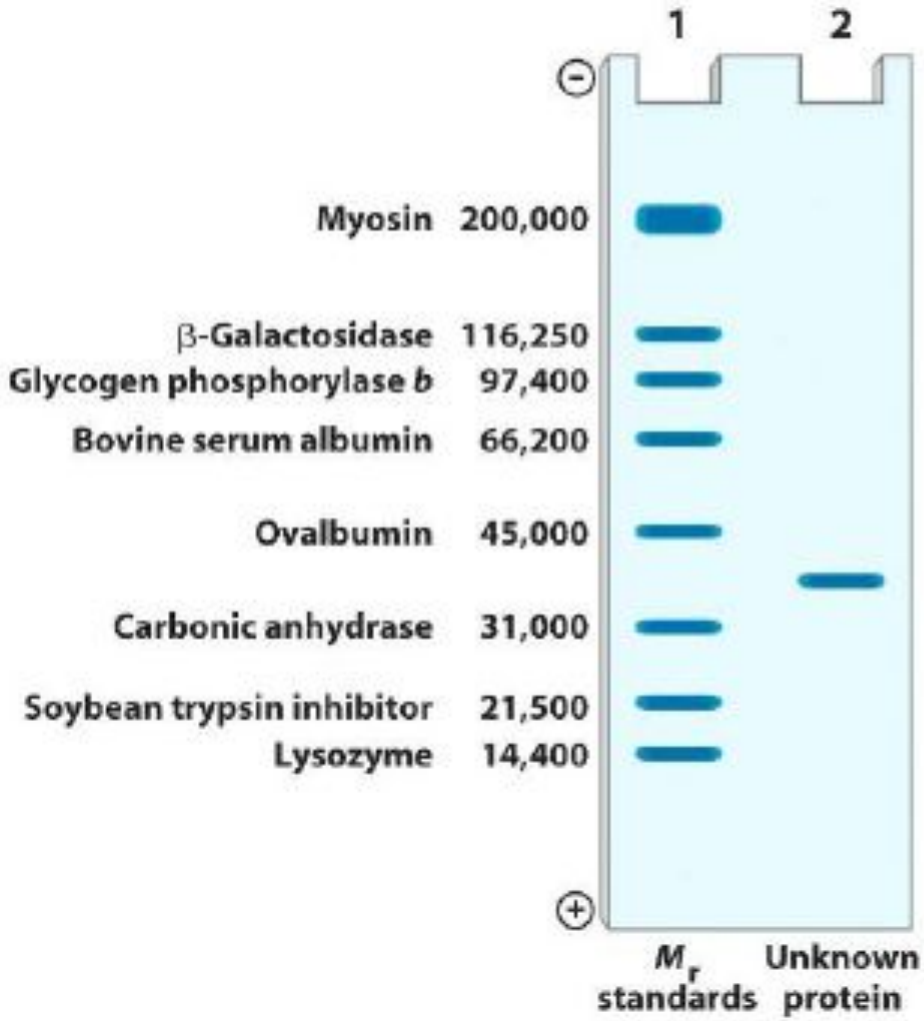
К носителю ковалентно пришивается лиган, имющий высокое сродство к интересующему белку. Белок связывается с лигандом и задерживается на колонке.

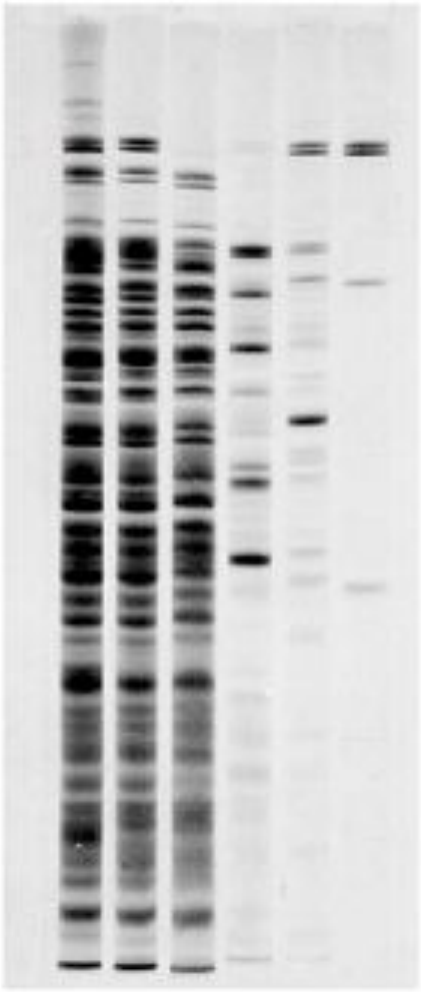
Электрофорез в полиакриламидном геле

Карман геля, куда вносится белок (белки)

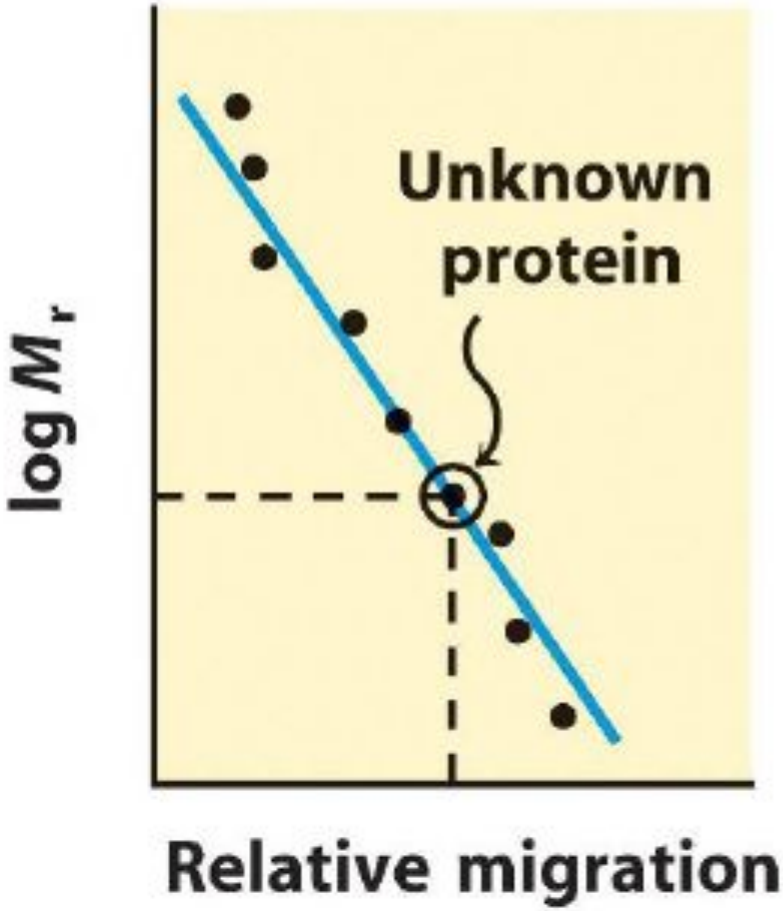
Направление перемещения белков

Результат электрофоретического разделения белков

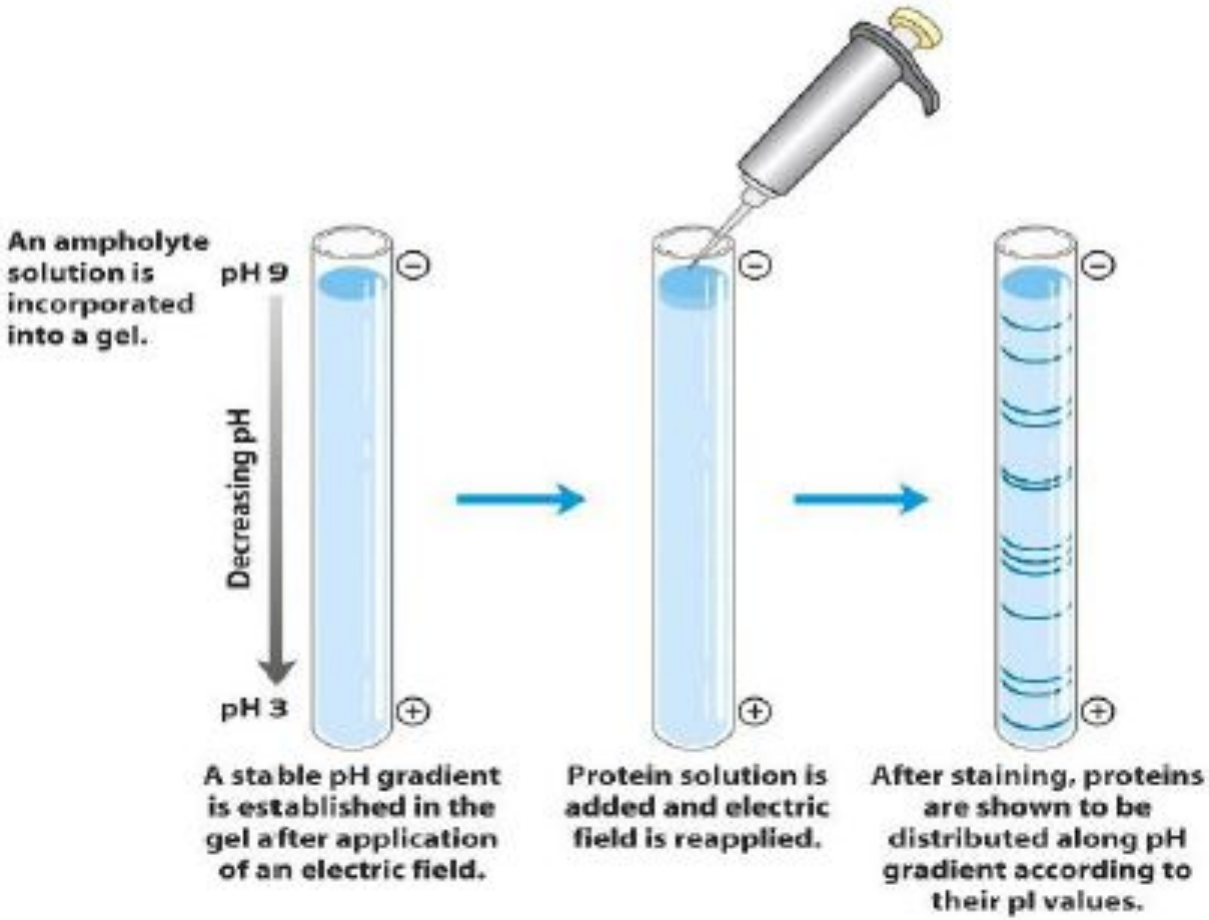
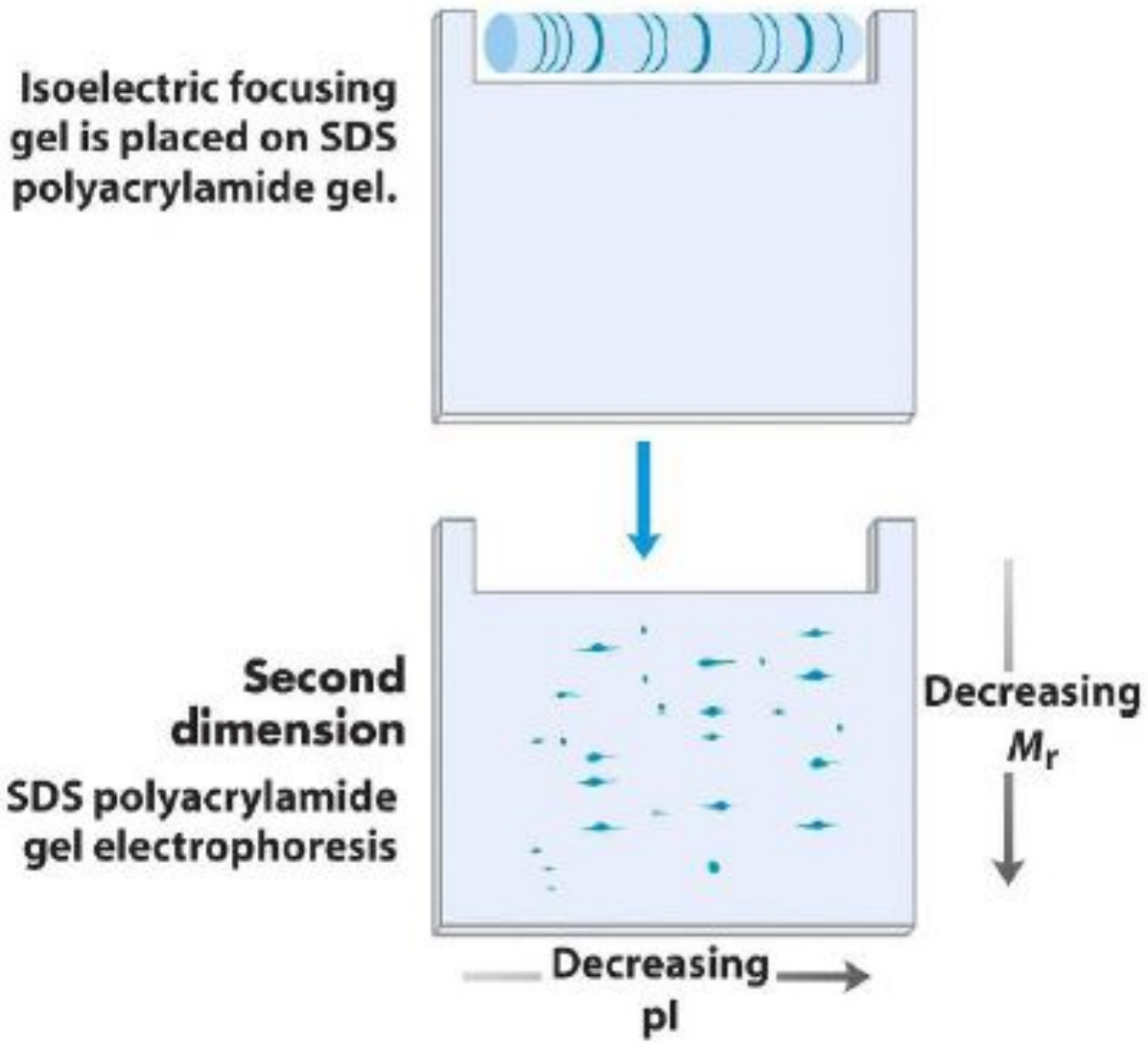




Определение молекулярной массы неизвестного белка электрофоретическим методом



Изоэлектрофокусирование



Двумерный электрофорез