

Биохимия

Ишмухаметова Диляра Галимовна
профессор каф. биохимии

Биохимия (1 часть)
Статическая биохимия

Биохимия (2 часть)
Динамическая биохимия

Контрольная работа N1 по завершении 1 части
Контрольная работа N2 по завершении 2 части

Биохимия (1 часть)

Статическая биохимия

Белки. Ферменты

Нуклеиновые кислоты

Углеводы

Липиды

Витамины

Темы для семинаров

Аминокислоты.

1. Аминокислоты – производные карбоновых кислот. 2. Классификация аминокислот по структуре и свойствам. Как диссоциируют аминокислоты в кислой и щелочной среде – покажите на примере аланина или любой другой аминокислоты. Назовите 10 незаменимых аминокислот. 3. Аминокислоты как структурные элементы белков, показать на примере, аминокислот какие функциональные группы участвуют в образовании пептидной связи. В чем принципиальное отличительное свойство белков от пептидов?

Белки. Структурная организация белков. Первичная структура. Вторичная структура белка, зависимость от первичной структуры. От чего зависит тип укладки полипептидных цепей в α -спиральные и β -складчатые структуры. Глобулярные и фибриллярные белки их свойства и примеры. Третичная структура: какие связи участвуют в образовании стабилизации третичной структуры белка. Объясните фразу: четвертичная структура – это субъединичная структура белков. Приведите примеры белков, состоящих из нескольких субъединиц. Метаболонны – пятый уровень организации белков. Свойства белков. Молекулярная масса, примеры низко- и высокомолекулярных белков. Амфотерность белков. От чего зависит изоэлектрическая точка белка? Растворимость белка и коллоидные свойства растворов белков. Состояния золя и геля. Денатурация, что происходит с белковой молекулой при денатурации? Какие факторы вызывают денатурацию белков? Чем отличается гидролиз от денатурации? Классификация белков, простые и сложные белки. . Функции белков в живых организмах – перечислить функции и какие конкретные белки их выполняют. Примеры хромо - глико-, липо - и фосфопротеидов, их функции в клетках животных и растений.

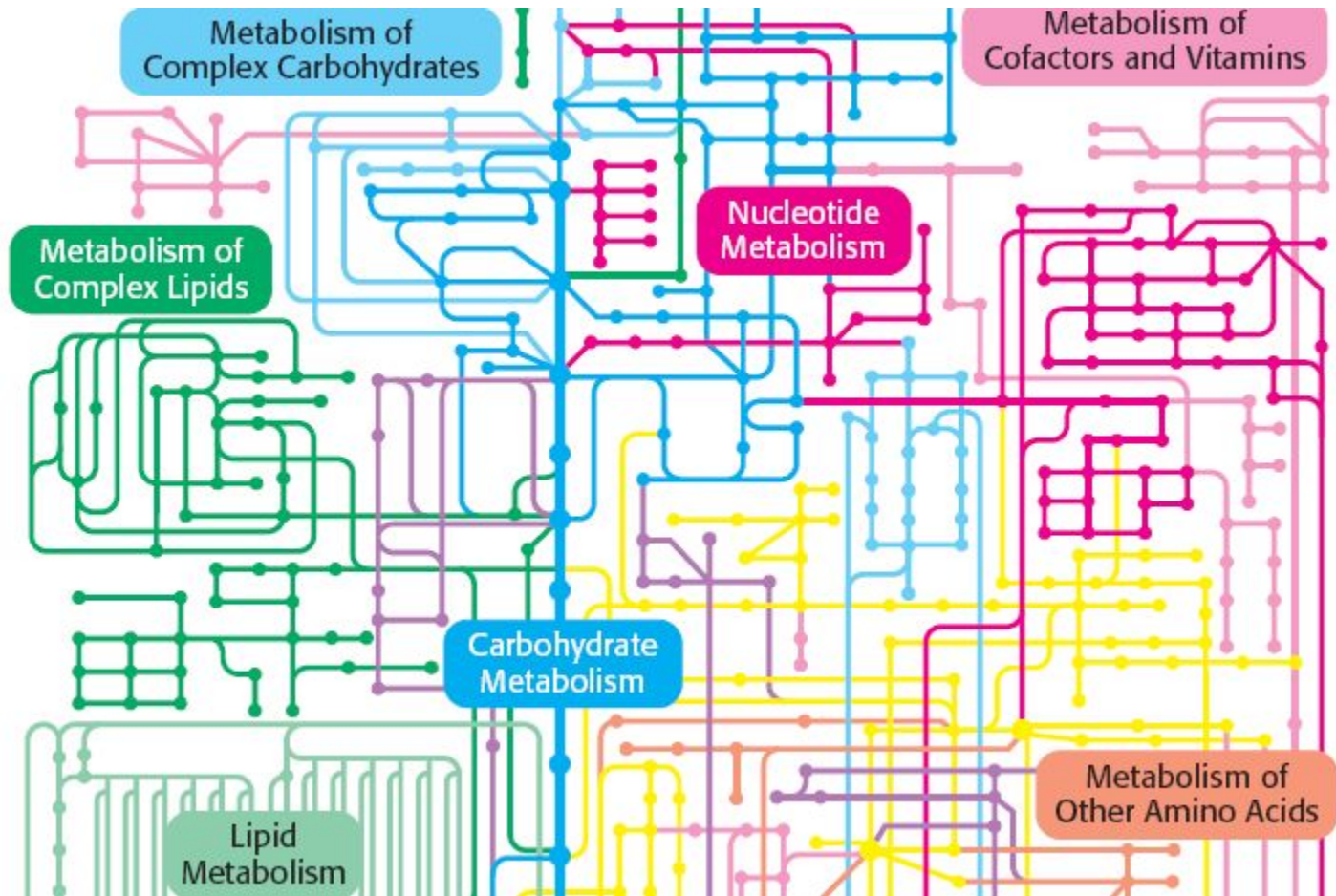
Ферменты.

Химическая природа и структура. Перечислите основные отличия биологических катализаторов от химических. Классификация и номенклатура ферментов. Активный центр фермента. Какую роль выполняют коферменты. Динамичность фермент - субстратного взаимодействия. От чего зависит активность ферментов и скорость ферментативных реакций. Активирование и ингибирование ферментов, каким образом активаторы и ингибиторы оказывают влияние на активность фермента?

Нуклеиновые кислоты.

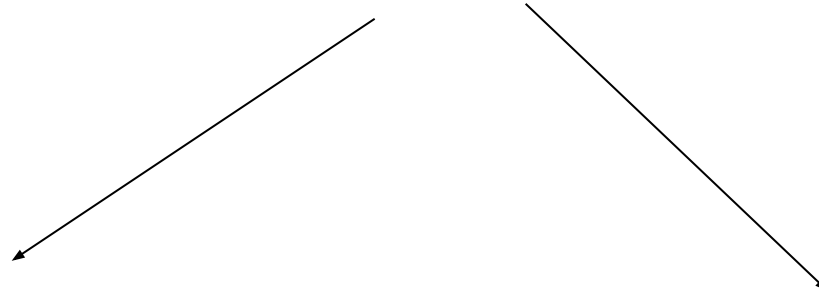
Химический состав ДНК и РНК. Нуклеозиды- соединения, в которых азотистые основания связаны с пентозами через N-гликозидную связь. Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов. Нуклеиновые кислоты - полинуклеотиды, состоящие из моонуклеотидов, связанных между собой 3'-, 5'- фосфодиэфирной связью. Первичная структура ДНК. Правила Чаргаффа. Коэффициент специфичности ДНК. Вторичная структура ДНК. Комплементарные основания. Силы, стабилизирующие вторичную структуру ДНК. Денатурация ДНК, температура плавления. Третичная структура ДНК. Суперспирализованное состояние ДНК у эукариотов, бактерий и вирусов. Кольцевые формы ДНК. Биологическое значение суперспирализации ДНК. Структура и свойства РНК. Основные типы РНК, их локализация в клетке. Молекулярная масса, время жизни. Рибосомные РНК - основа субъединиц рибосом. Транспортная РНК, особенности вторичной структуры, связь с функцией. Информационная РНК, гетерогенная ядерная РНК, представление о процессинге.

Динамическая биохимия.



Обмен веществ (метаболизм)

1. Биохимические реакции

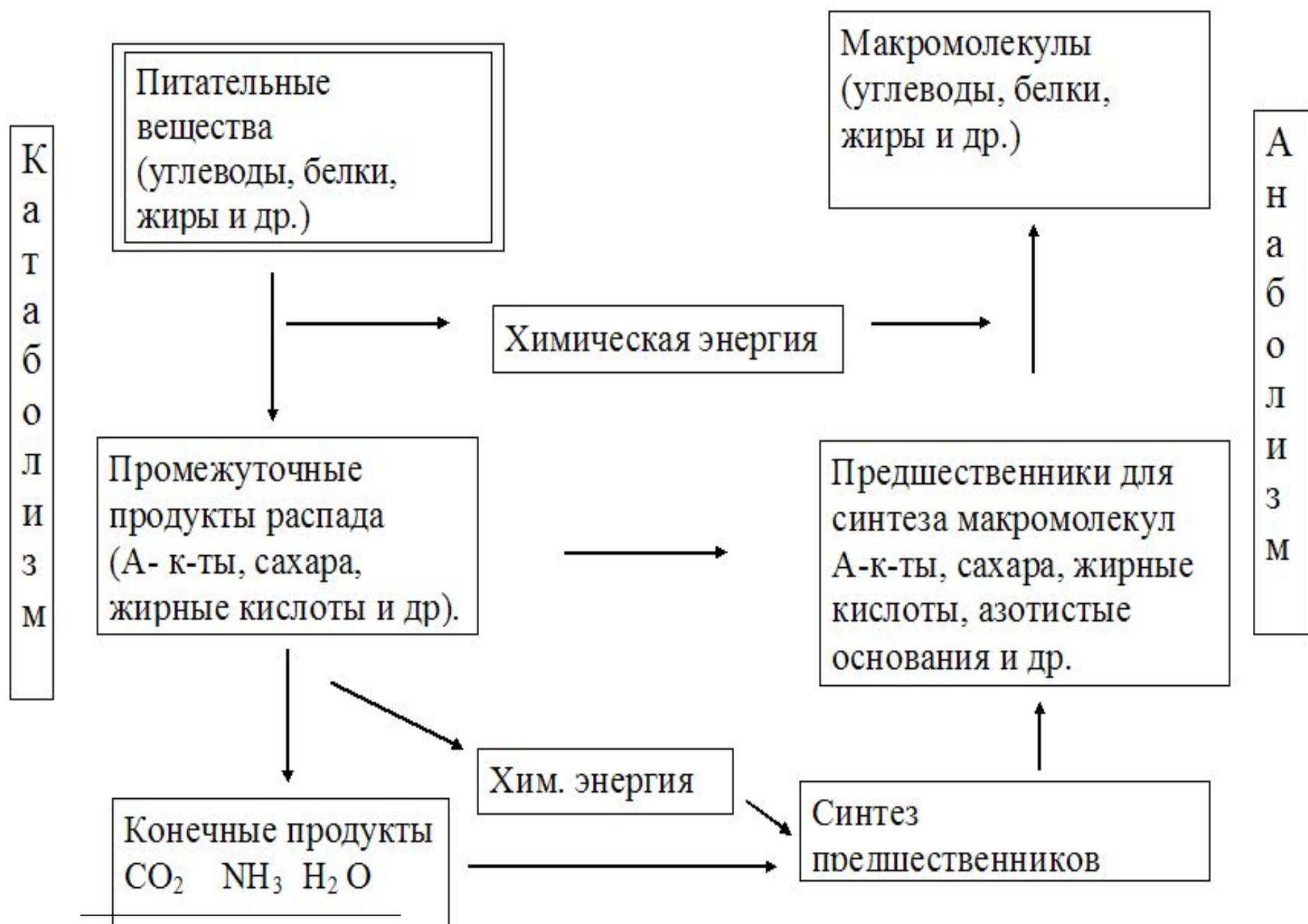


катаболические

анаболические

2. Взаимосвязь.

Взаимосвязь катаболизма и анаболизма



1. Элементный состав живых организмов

Макроэлементы:

C, N, O, H, P, S, Cl, K, Na, Ca, Mg, Fe и др.

Микроэлементы:

Cu, Mg, Co, B, Zn, Mo, I, Se и др.

C, N, O, H составляют 98% массы биосферы земли.

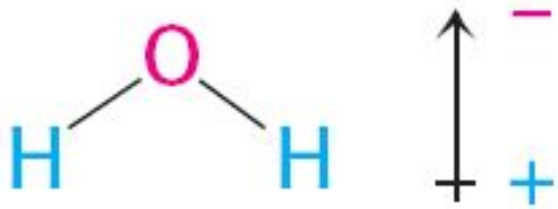
2. Вода. Значение для живых организмов.
(около 90% массы клеток приходится на долю воды)

Вода. Значение для живых организмов.

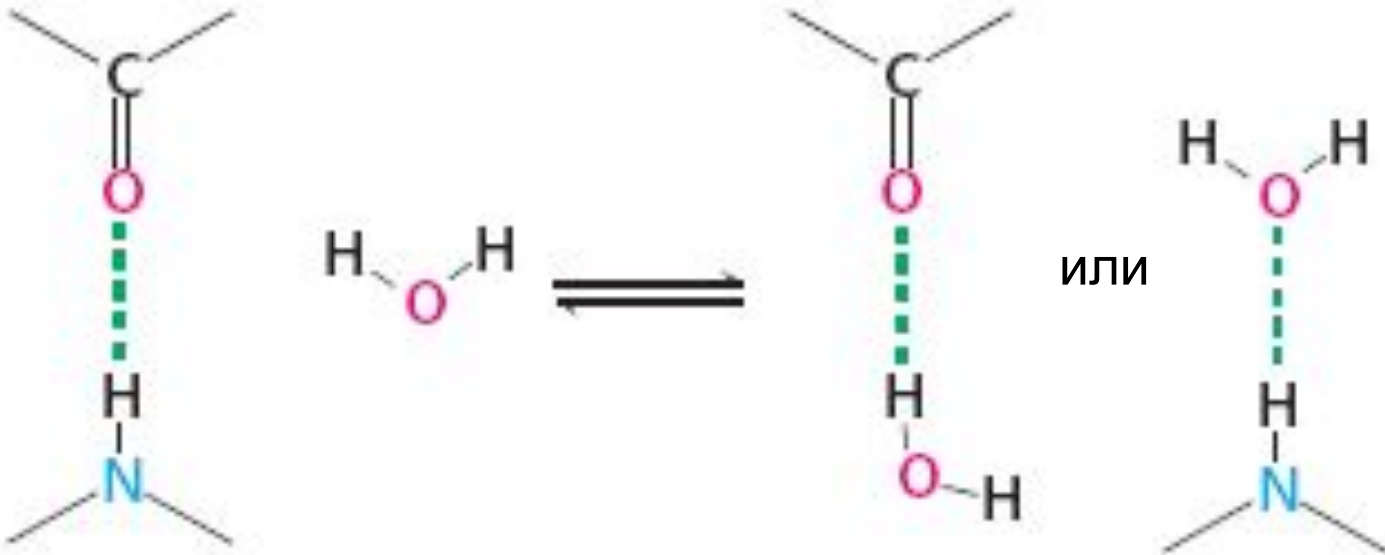
(около 90% массы клеток приходится на долю воды)

Вода

диполь молекулы воды
(связь O—H полярна)

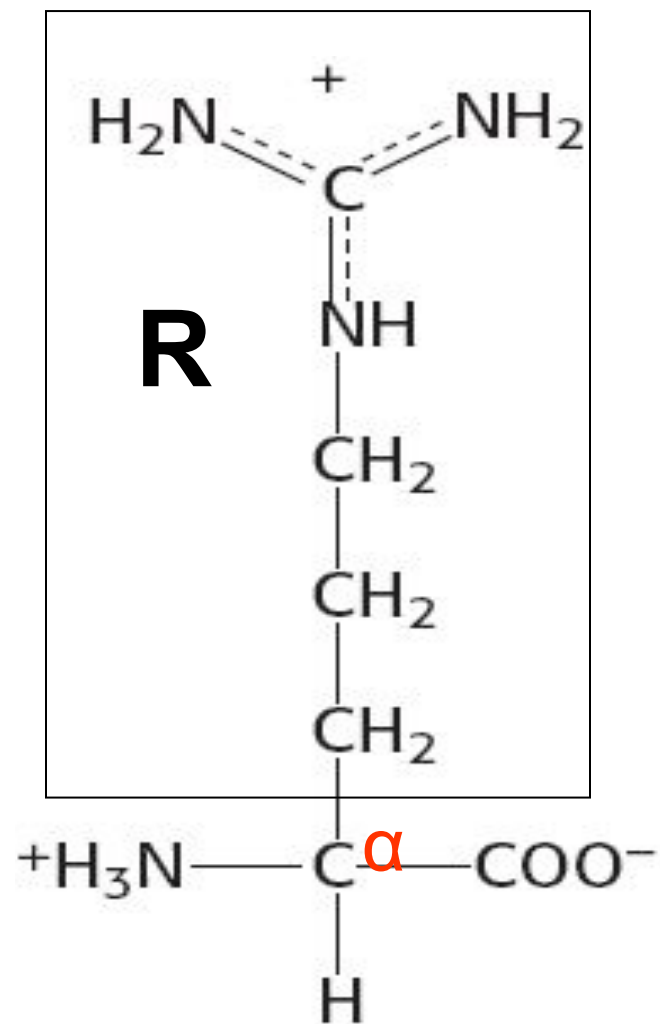
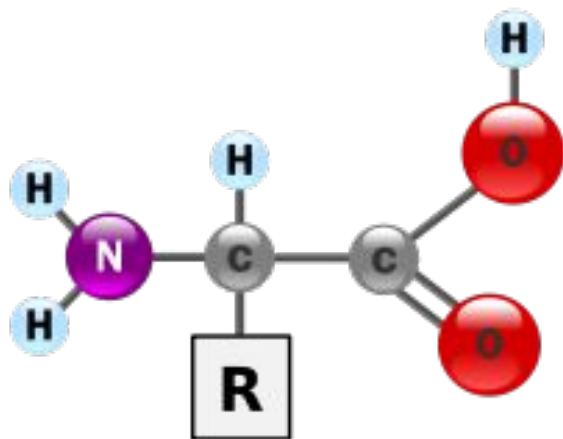


Влияние воды на водородную связь
между карбонильной и аминогруппой у амидов



Аминокислоты

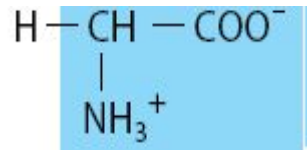
Общая формула аминокислот



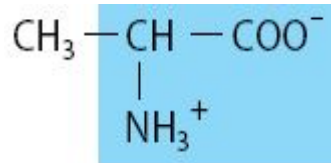
аргинин

Аминокислоты – производные карбоновых кислот

Глицин (α – аминокусусная)

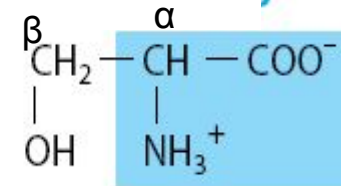


Аланин



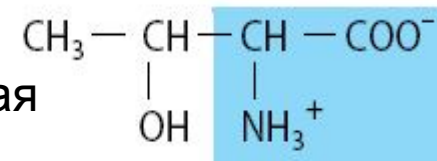
(α – аминопропионовая)

Серин (α – амино-β-оксипропионовая)



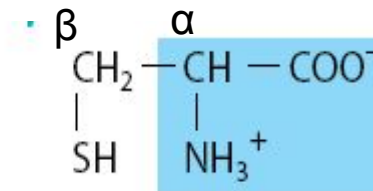
Треонин

(α – амино-β-оксимасляная)



Цистеин (α – амино-β-тиопропионовая)

Cysteine



10 незаменимых аминокислот:

Аргинин

Валин

Гистидин

Лизин

Изолейцин

Лейцин

Метионин

Треонин

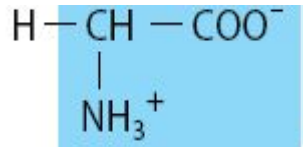
Триптофан

Фенилаланин

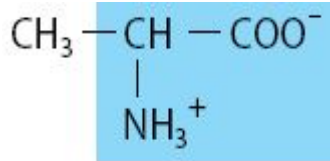
Классификация аминокислот

Аминокислоты линейные

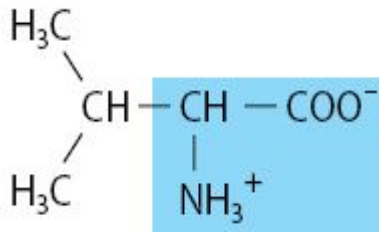
глицин



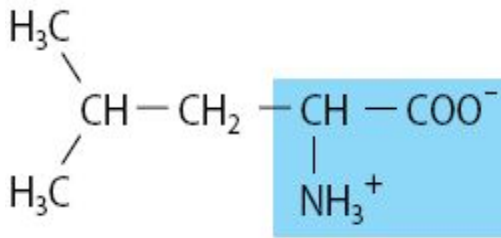
аланин



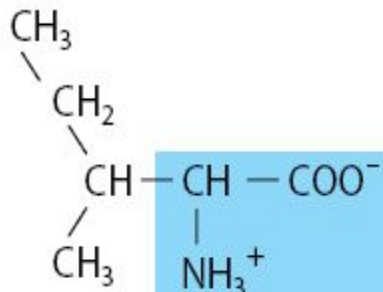
Валин



Лейцин

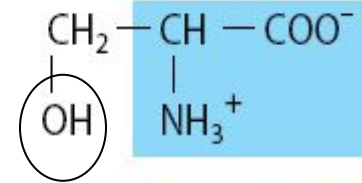


изолейцин

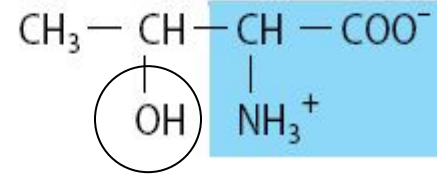


Содержат OH-группу:

Серин

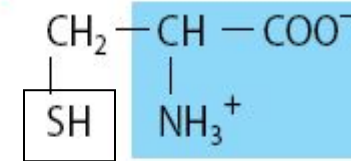


треонин

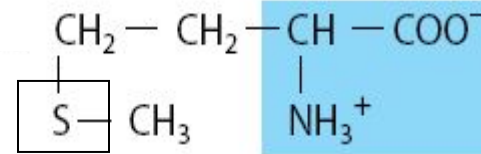


Содержат атом серы:

цистеин



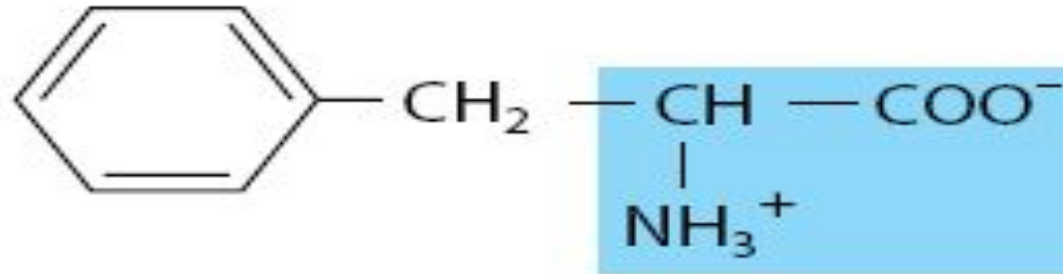
метионин



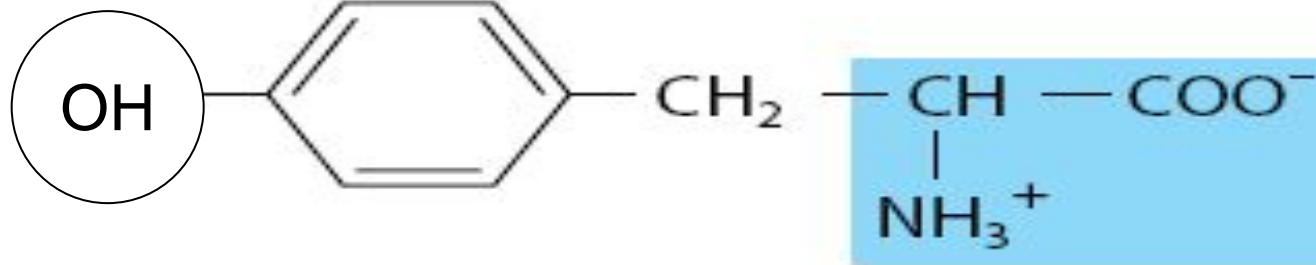
(кроме того, лизин, аргинин, аспарагиновая
глутаминовая кислоты)

Аминокислоты с циклическим радикалом

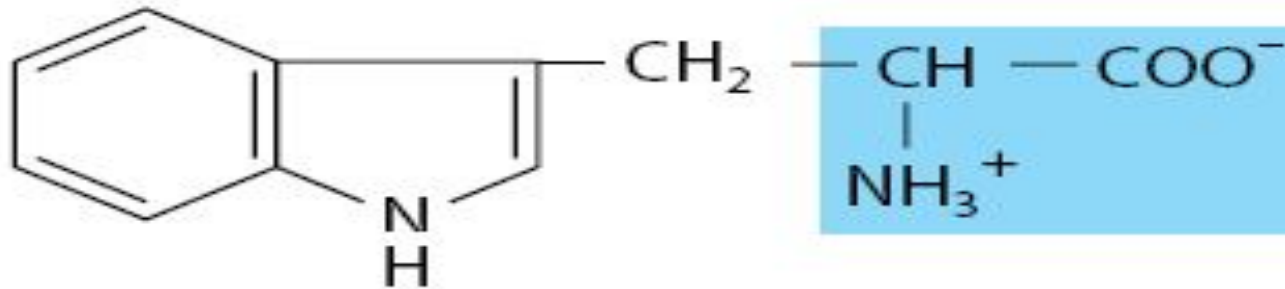
фенилаланин



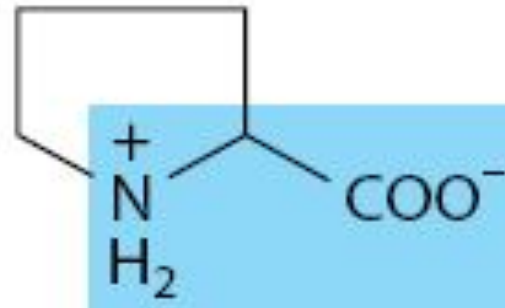
тирози
н



трипто
фан



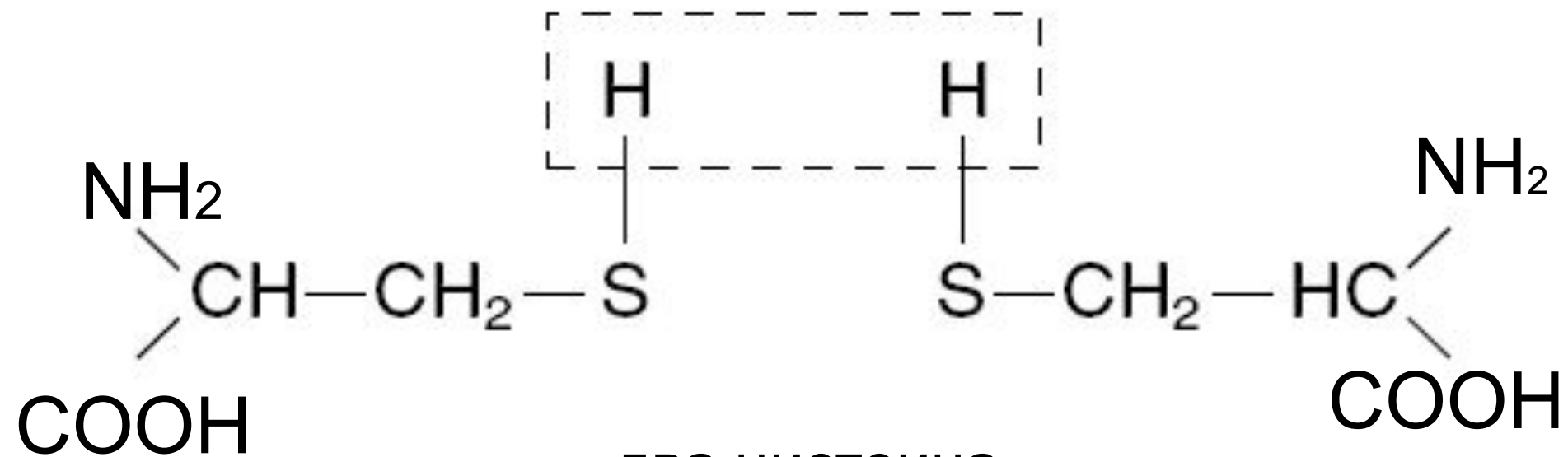
пролин
(иминокислота)



Классификация по числу амино- и карбоксильных групп:

- моноаминомонокарбоновые (глицин, аланин, серин, цистеин, треонин, метионин, валин, лейцин, изолейцин)
- диаминомонокарбоновые (лизин, аргинин, гистидин)
- моноаминодикарбоновые (аспарагиновая, глутаминовая кислоты)

Образование дисульфидной связи



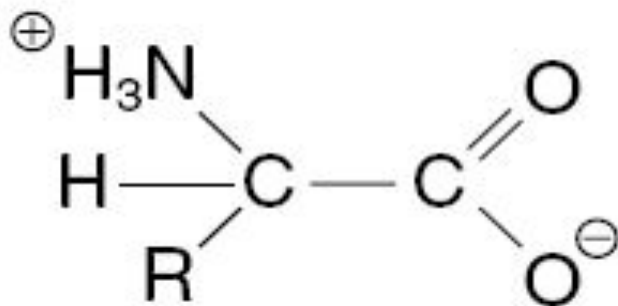
два цистеина



ЦИСТИН

Свойства аминокислот

Аминокислоты хорошо растворимы в воде. В водных растворах они существуют в виде **биполярных** ионов:



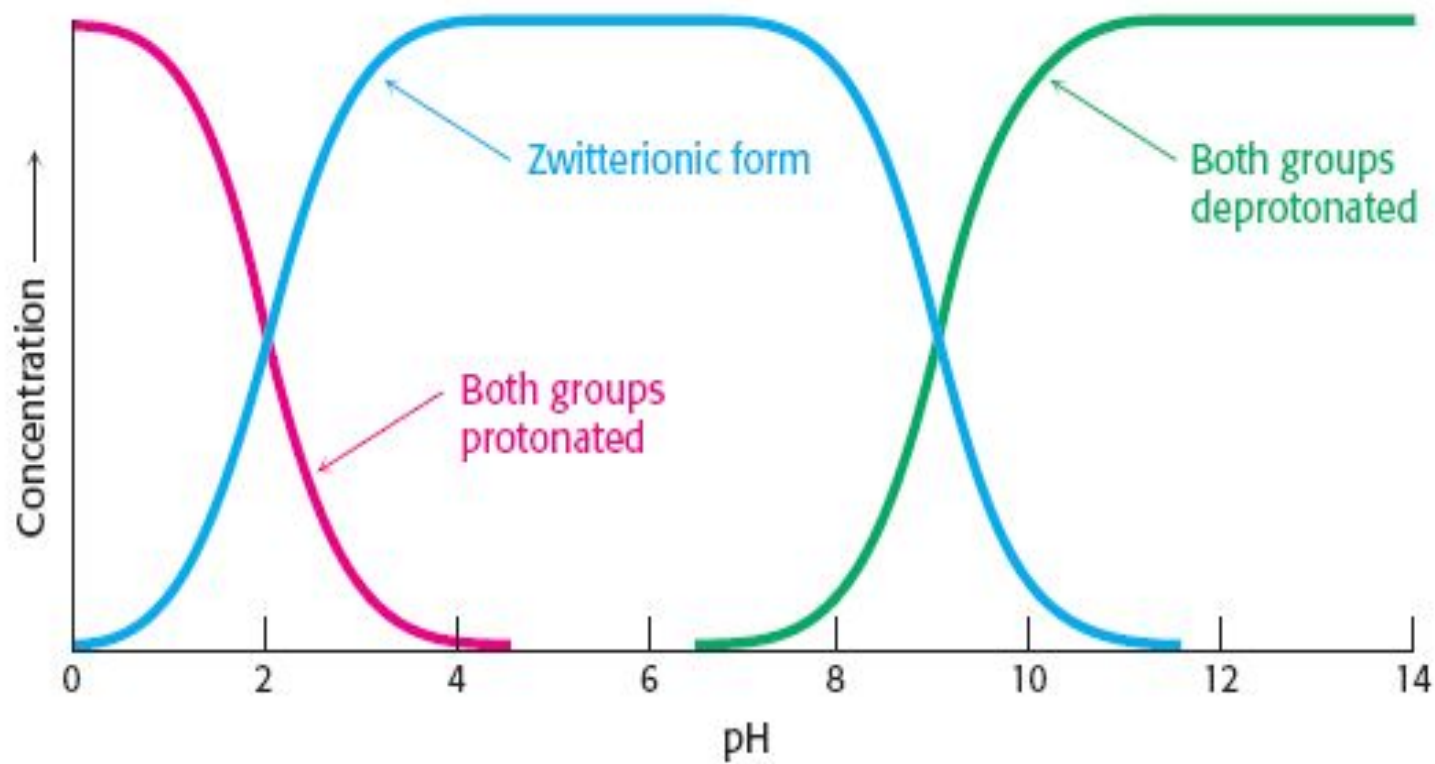
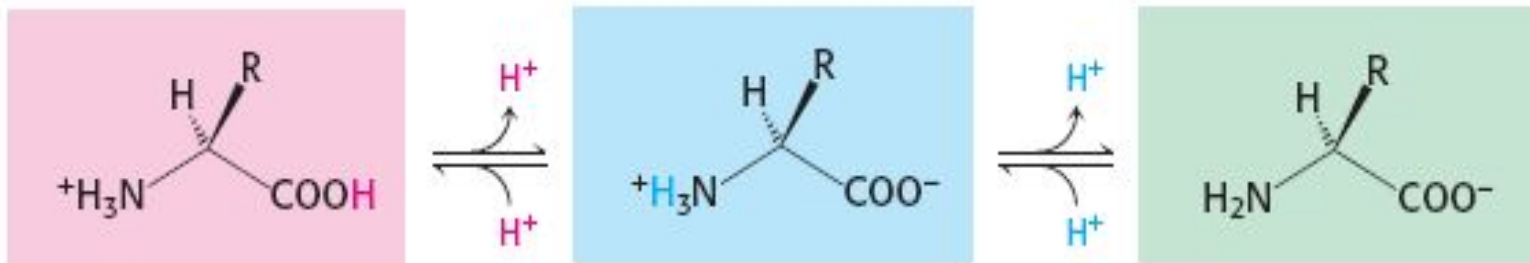
В кислой среде аминогруппа присоединяет протон, получает +заряд и становится катионом (а-к-та ведет себя как основание)

В щелочной среде а-к-та ведет себя как кислота - отдает протон приобретает – заряд, т.е становится анионом

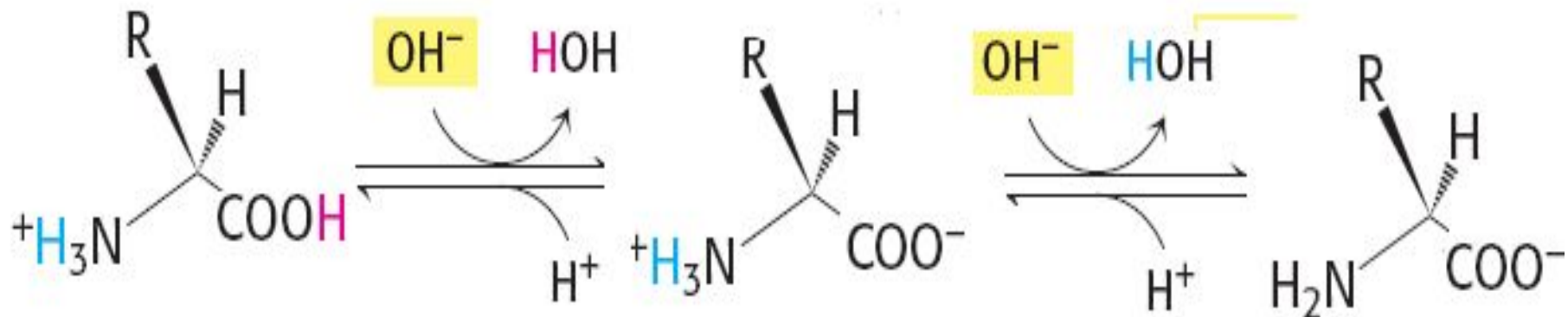
Аминокислоты обладают буферными свойствами

В кислой среде аминокруппа присоединяет протон, получает +заряд и становится катионом (а-к-та ведет себя как основание)

В щелочной среде а-к-та ведет себя как кислота - отдает протон приобретает –заряд, т.е становится анионом



Титрование карбоксильной и аминогруппы у аминокислот



У аминокислоты (глицина) две ионизируемые группы у них разная константа диссоциации:

- COOH ($\text{pK}=2,4$)

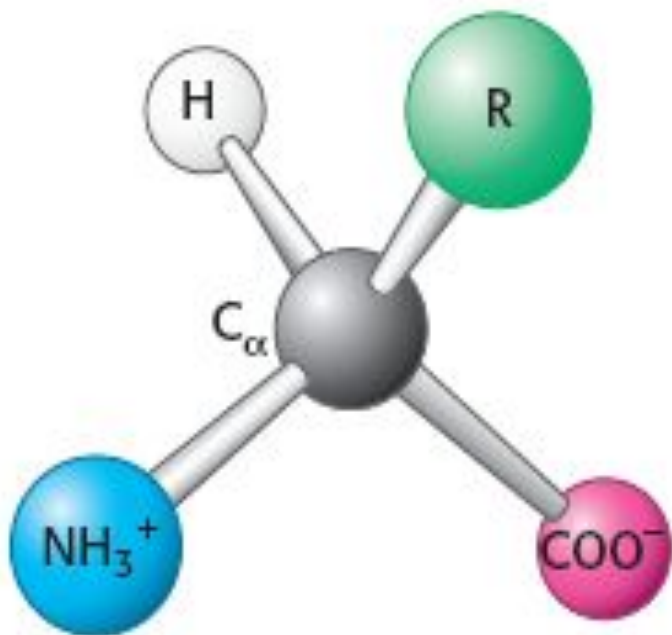
-

- NH_3 ($\text{pK}=9,8$)

Изоэлектрическая точка

Для каждой аминокислоты существует своя изоэлектрическая точка (ИЭТ), т.е значение рН, при котором сумма +зарядов равна сумме – зарядов молекулы аминокислоты. ИЭТ для моноамино – монокарбоновых имеет нейтральные значения, моноаминодикарбоновых-кислые, диаминомонокарбоновых щелочные значения рН

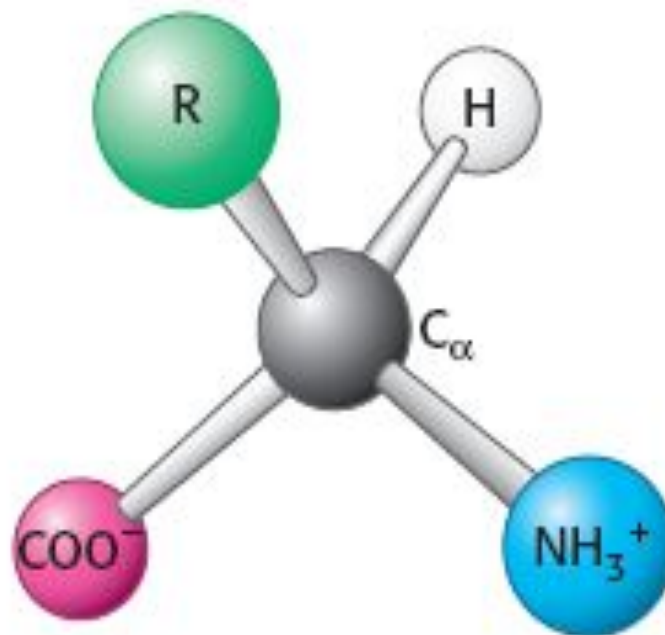
Стереοизомерия аминокислот



L- изомер

В состав белков

входят только L- изомеры



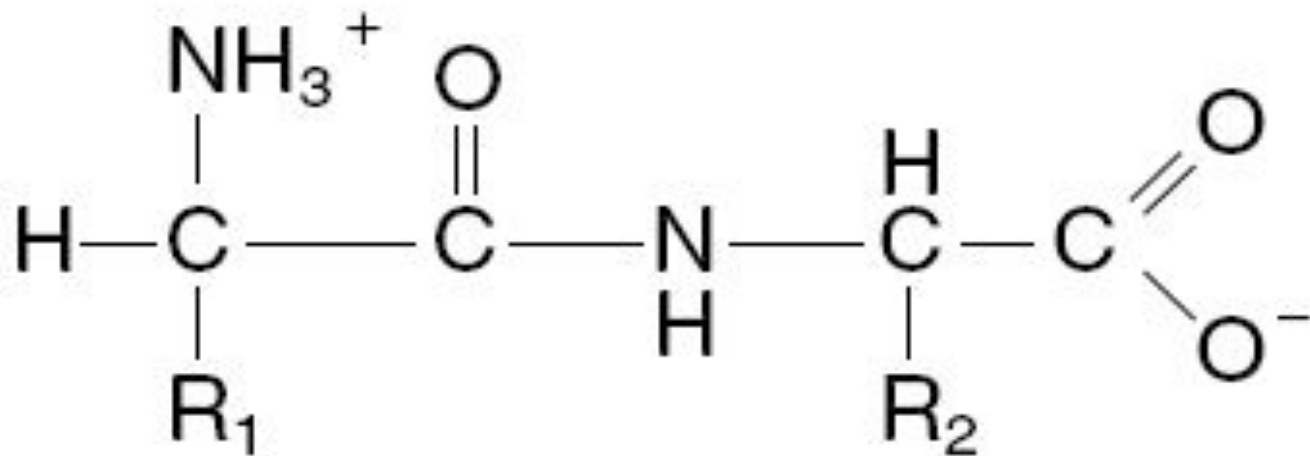
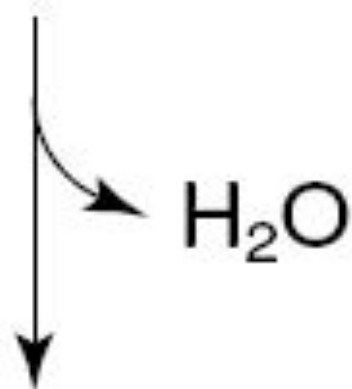
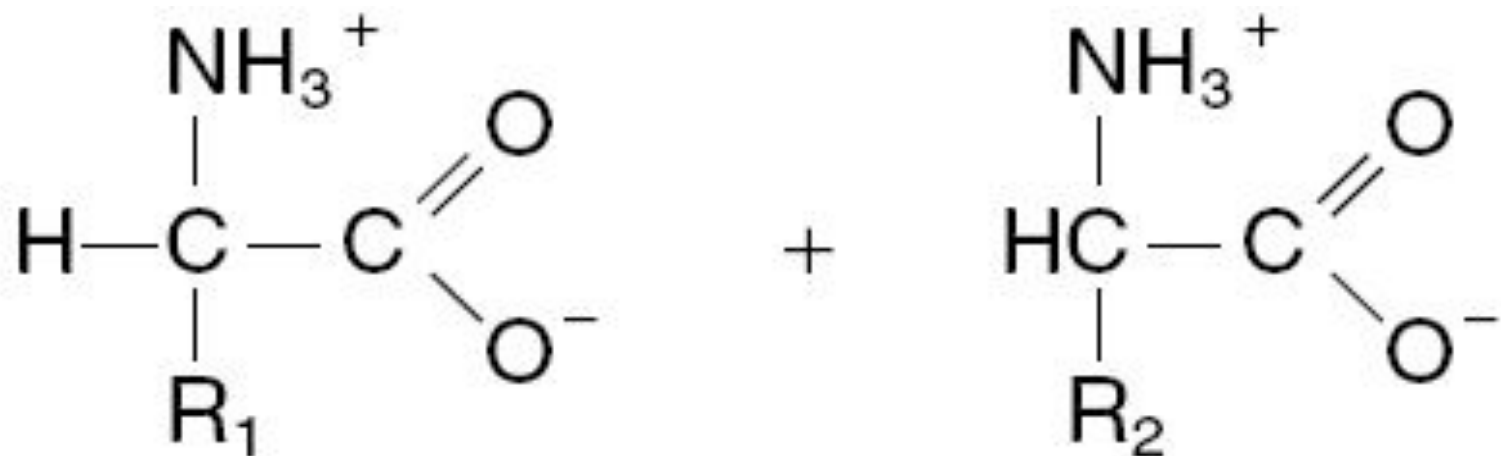
D-изомер



А.Я. Данилевский. 1888

Гипотеза о пептидной связи аминокислот
в белках

Э.Фишер. 1902. Полипептидная теория
строения белков



Пептиды:	число а-к-тных остатков
Ди- трипептиды	2-3
Олигопептиды	10-20
Полипептиды	20-50

Белки (способны самостоятельно стабилизировать пространственную структуру) 50 и более

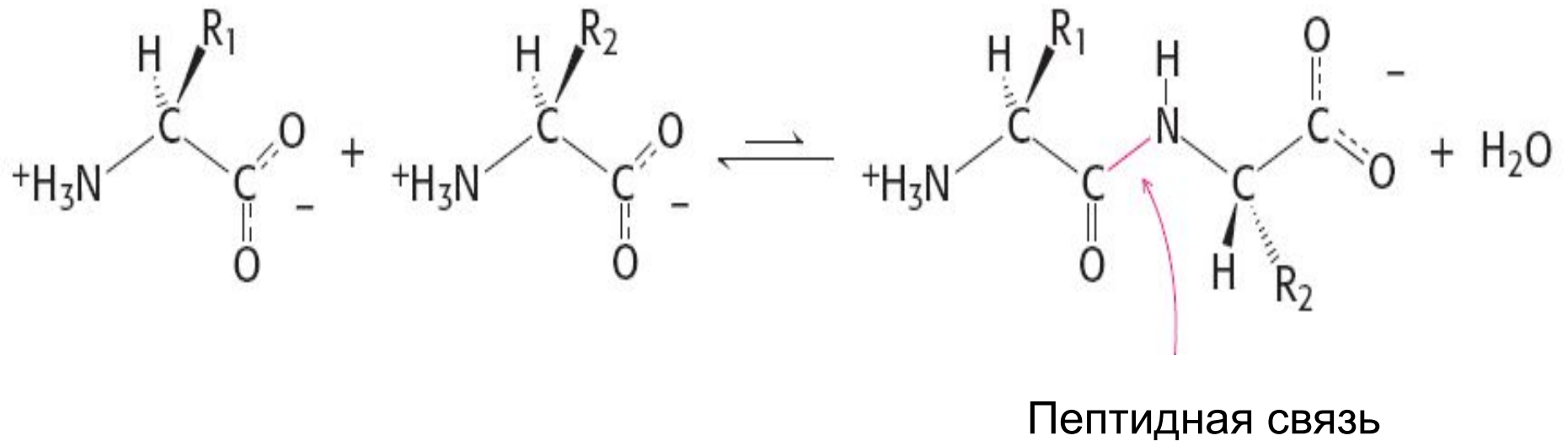
Белки низкомолекулярные 50 - 150
высокомолекулярные 150-1000 и более

Примеры:

Инсулин	51 а-к-тных остатков
РНКаза	120 а-к-тных остатков
Лизоцим	500 а-к-тных остатков
Иммуноглобулин	1300 а-к-тных остатков
Белок ВТМ	40 млн. а-к-тных остатков

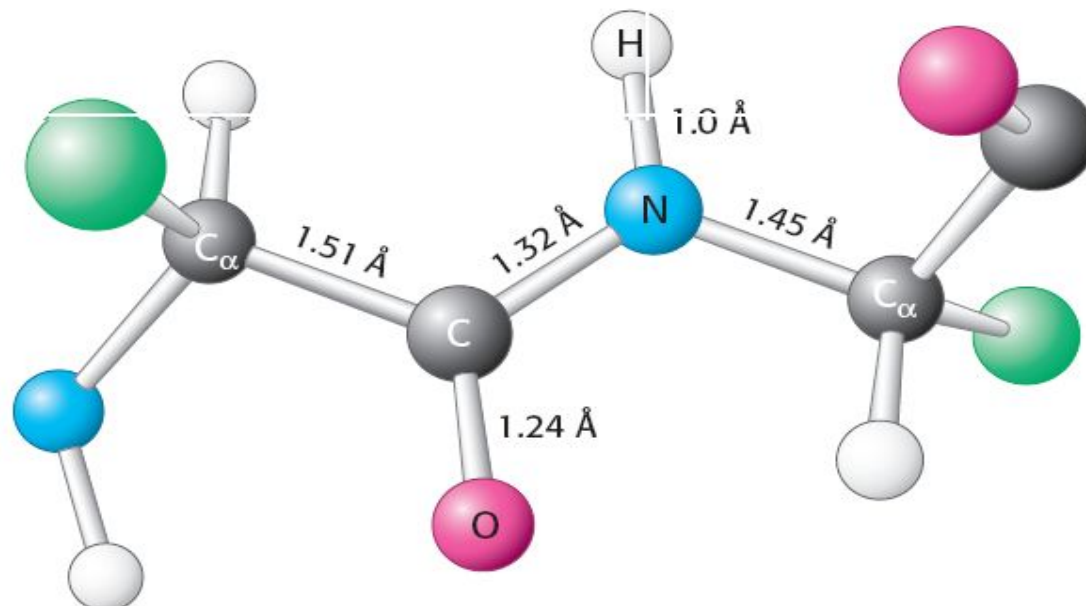
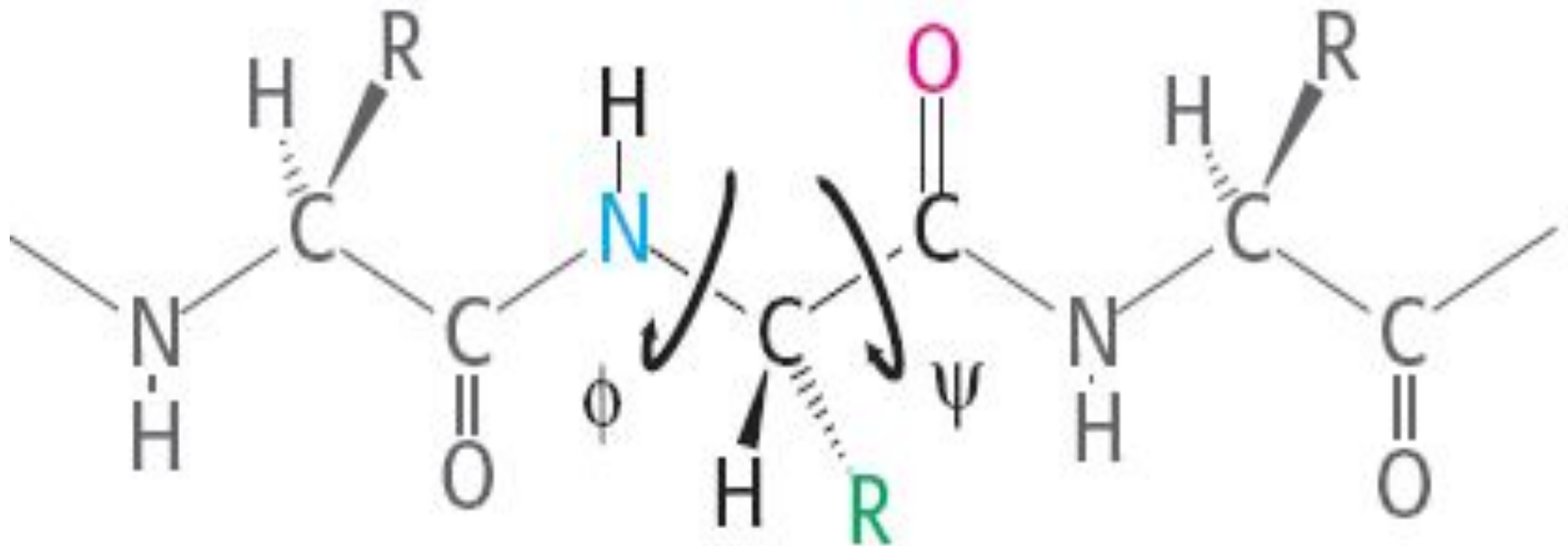
Уровни структуры белковой молекулы

Первичная структура (удерживается пептидной связью)

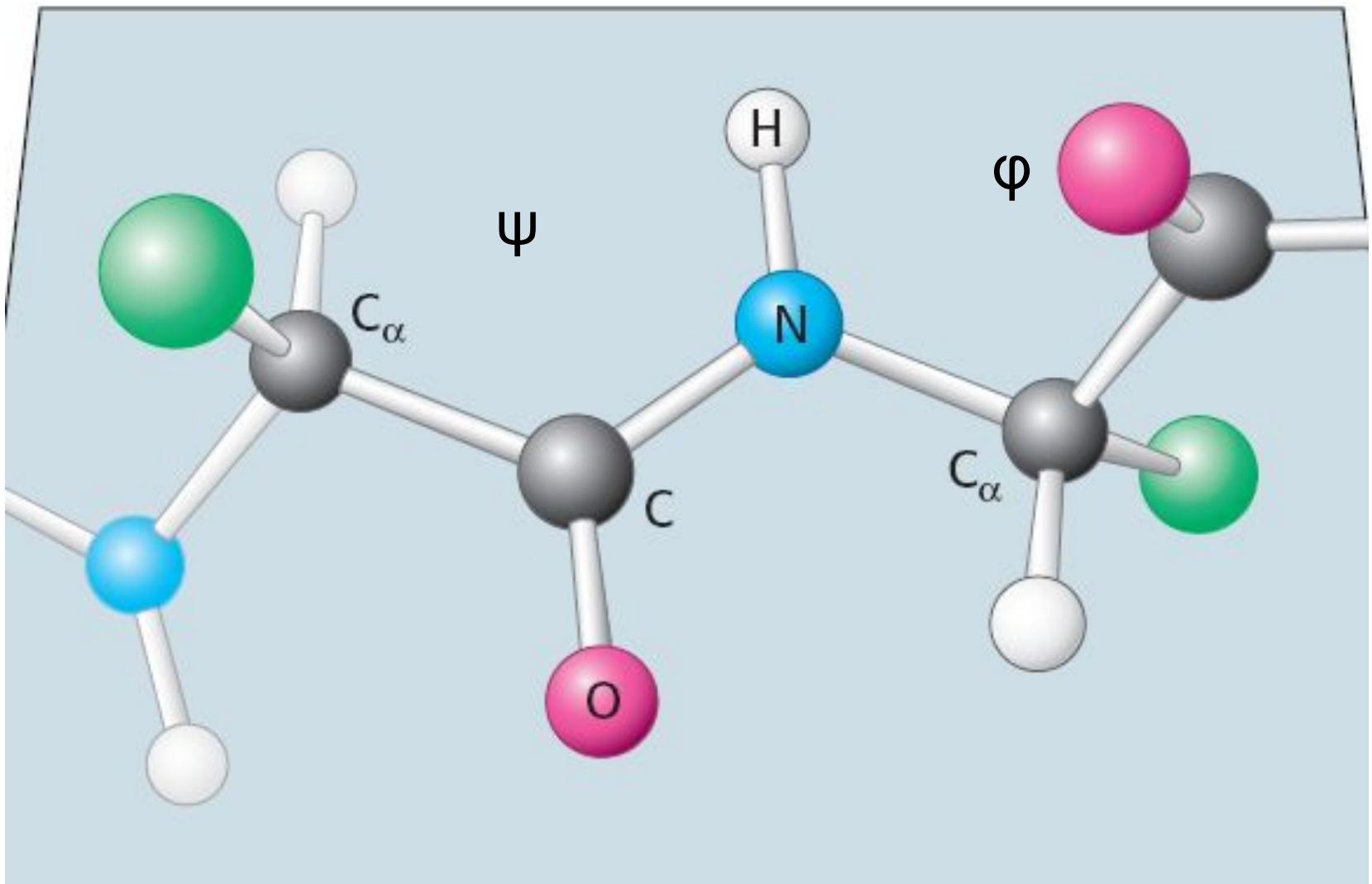


Вторичная структура

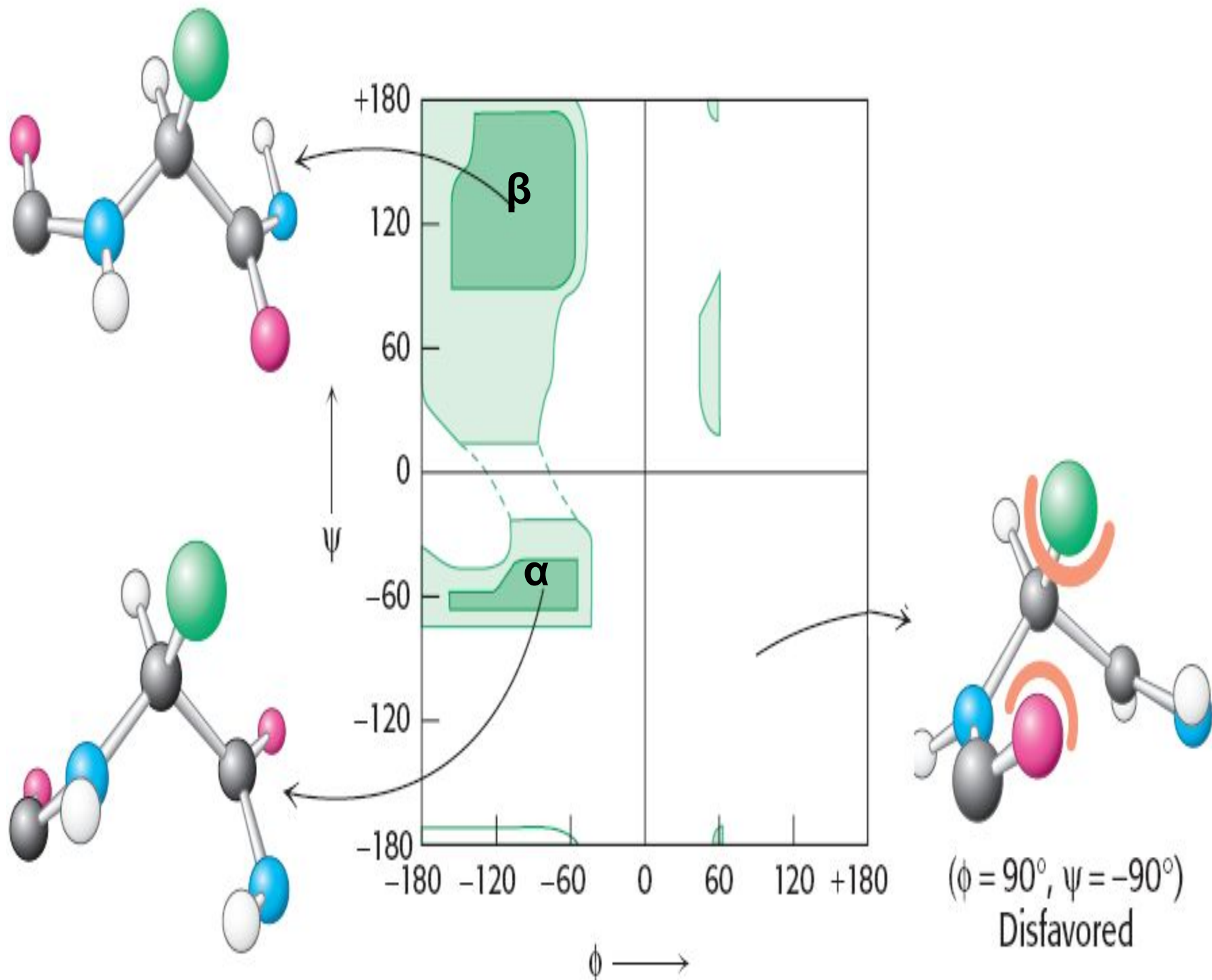
Величина торсионных углов зависит от природы соседних аминокислотных остатков



Величина торсионных углов зависит от природы соседних аминокислотных остатков

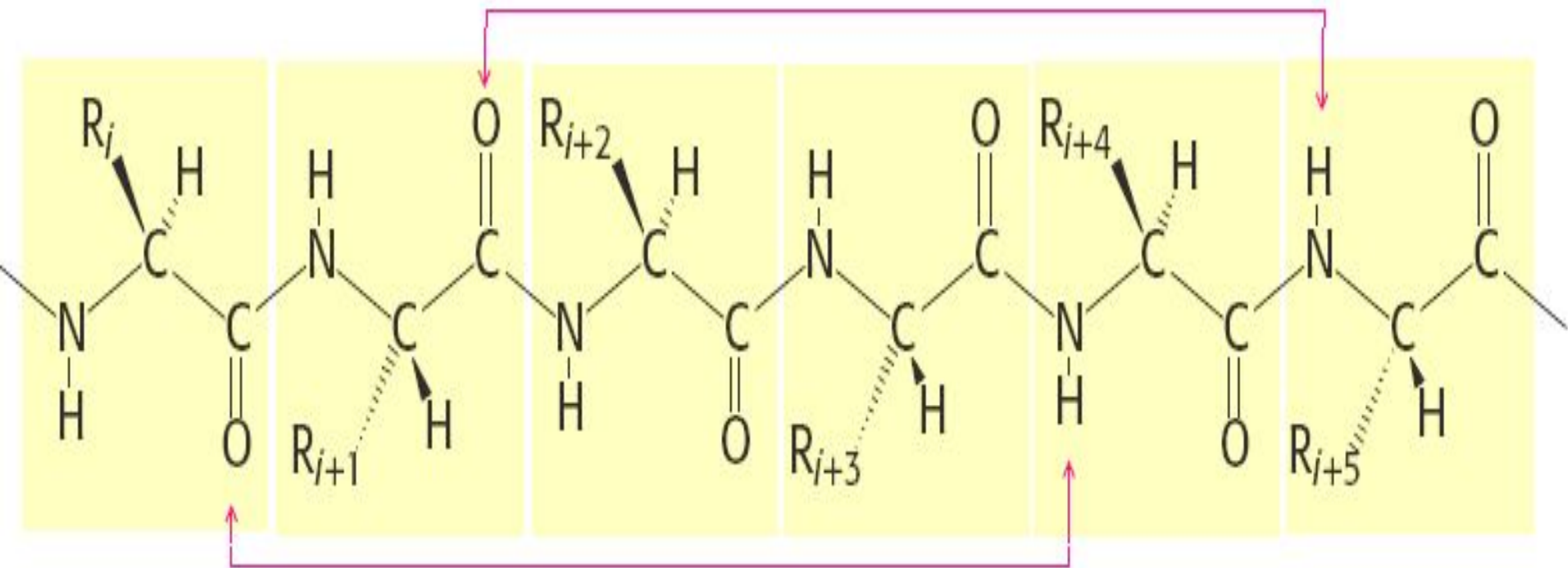


Конформационные карты Рамачандрана



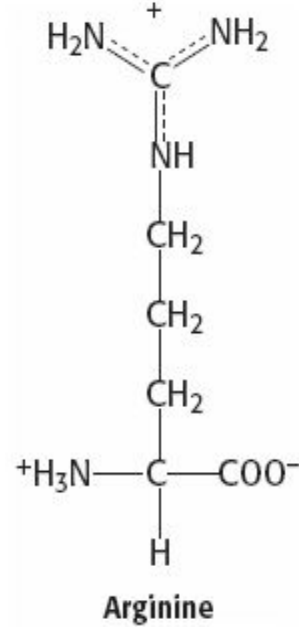
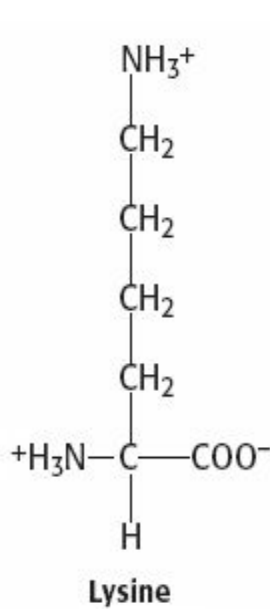
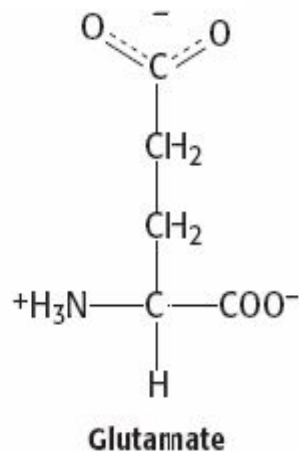
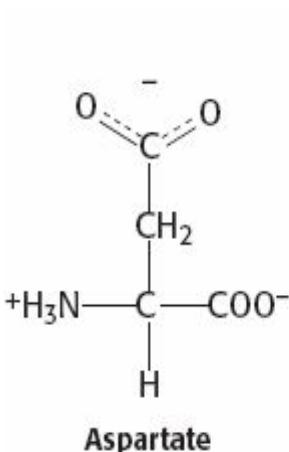
Вторичная структура

- α -спираль удерживается **внутрицепьевыми** водородными связями, которые образуются **между СО- группой каждой пептидной связи и NH- группой четвертой** пептидной связи по ходу цепи. В результате этого полипептидная цепь принимает правую винтообразную форму, (4 α -ктного остатка на виток). L-аминокислоты образуют только правые α -спирали. Боковые радикалы расположены по обе стороны оси

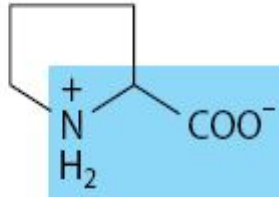


Степень спирализации глобулярных белков составляет около 60-70%

Факторы, затрудняющие спирализацию:
 взаимное отталкивание одинаково заряженных группировок
 большие размеры радикалов, присутствие пролина

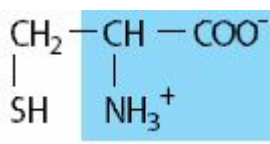


Пролин
 иминокислота



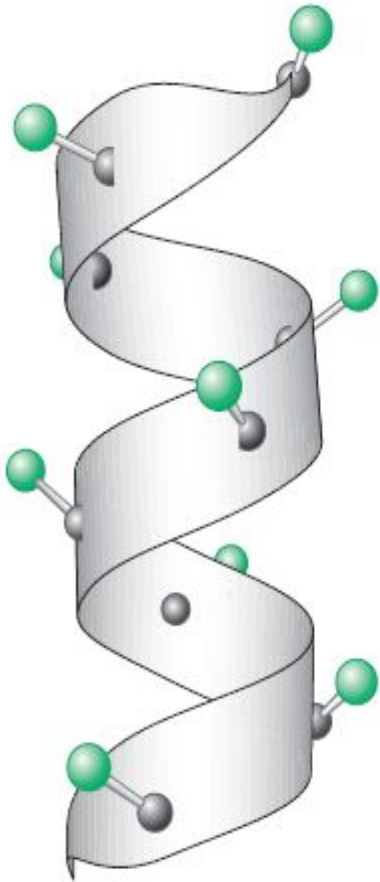
Атом азота в пролине входит в состав жесткого кольца и это исключает возможность вращения вокруг N — C связи в полипептидной цепи

цистеин

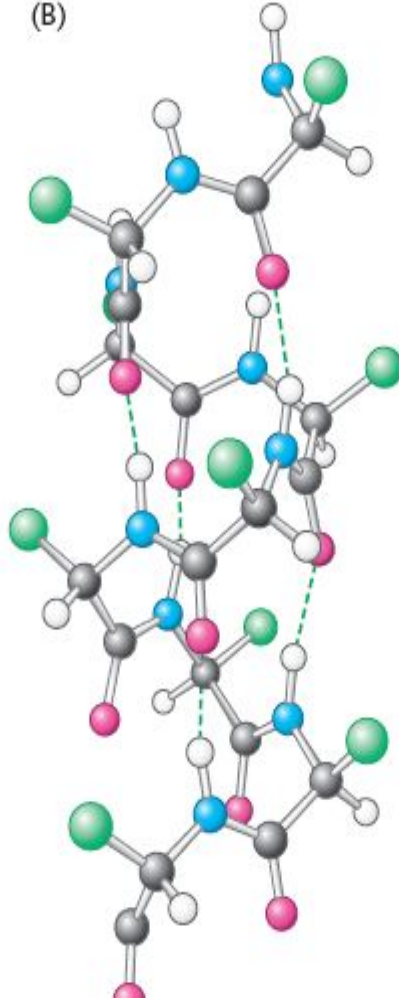


Цистеин способствует упрочению α-структур из-за образования поперечных дисульфидных связей между полипептидными цепями

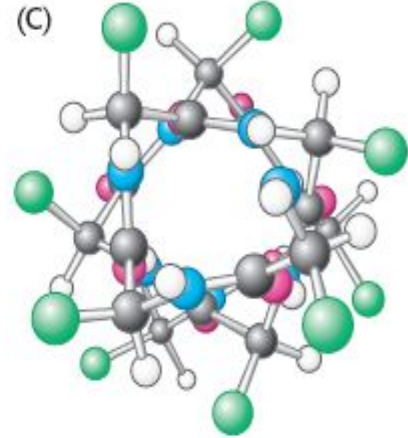
(A)



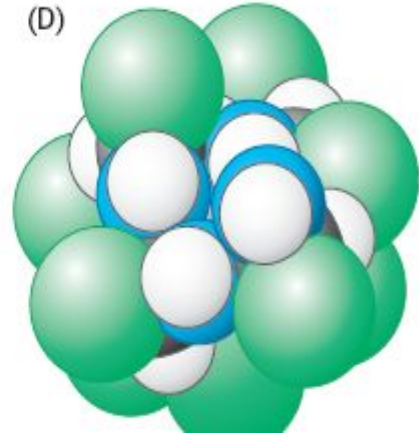
(B)

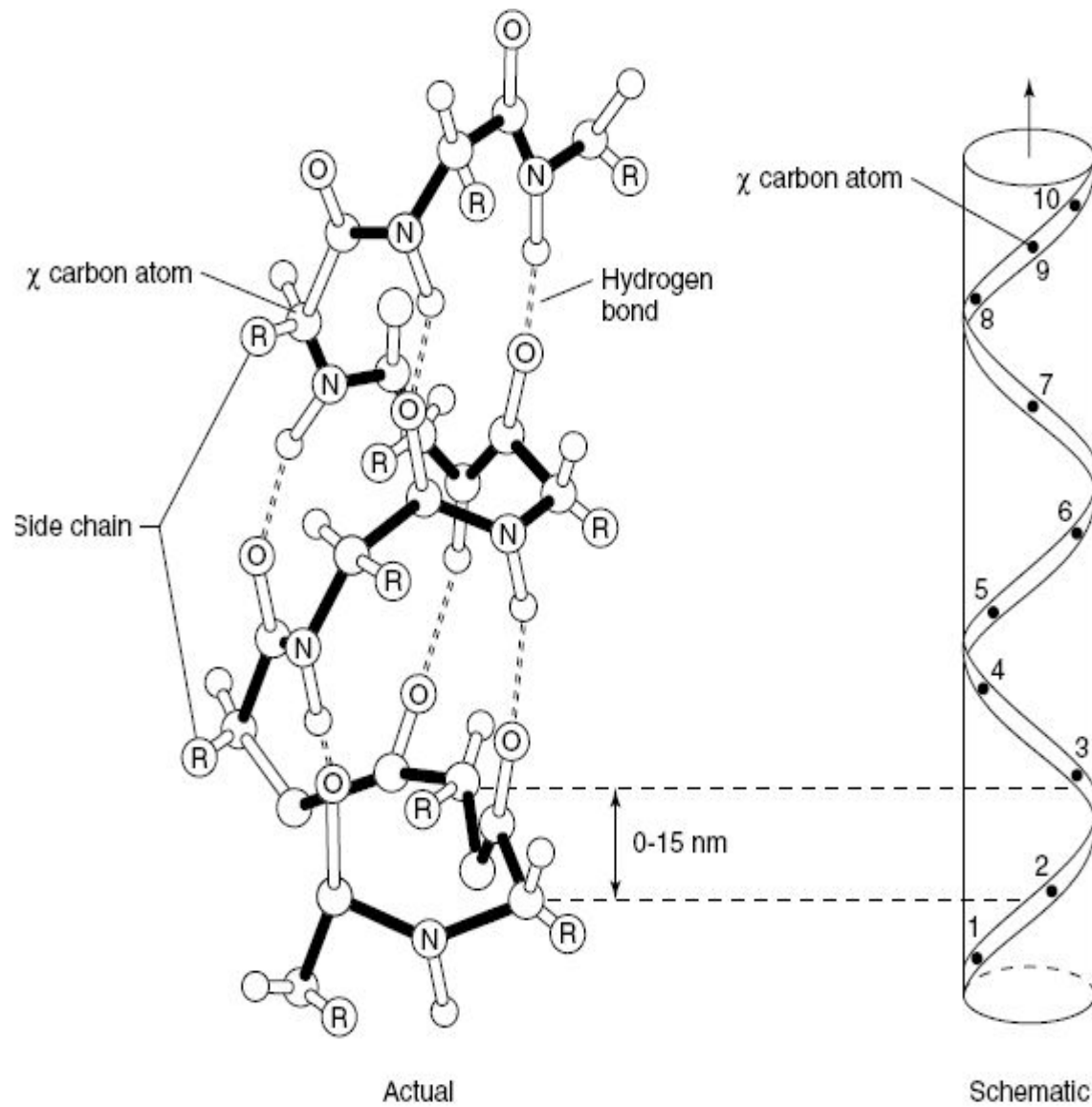
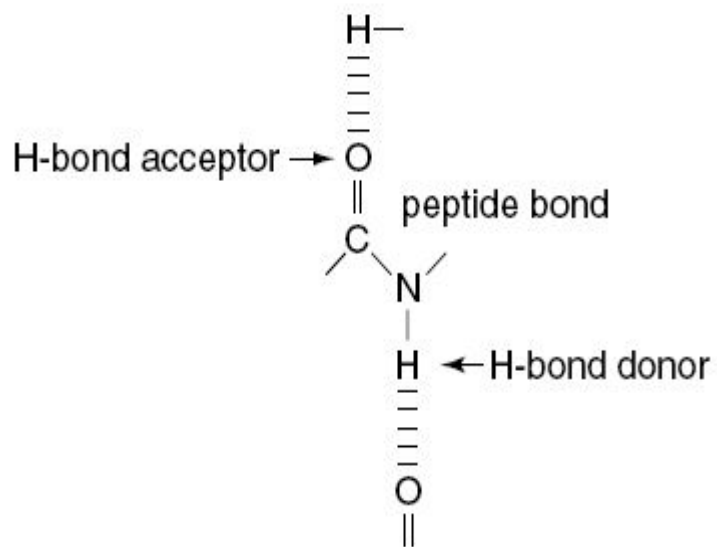


(C)

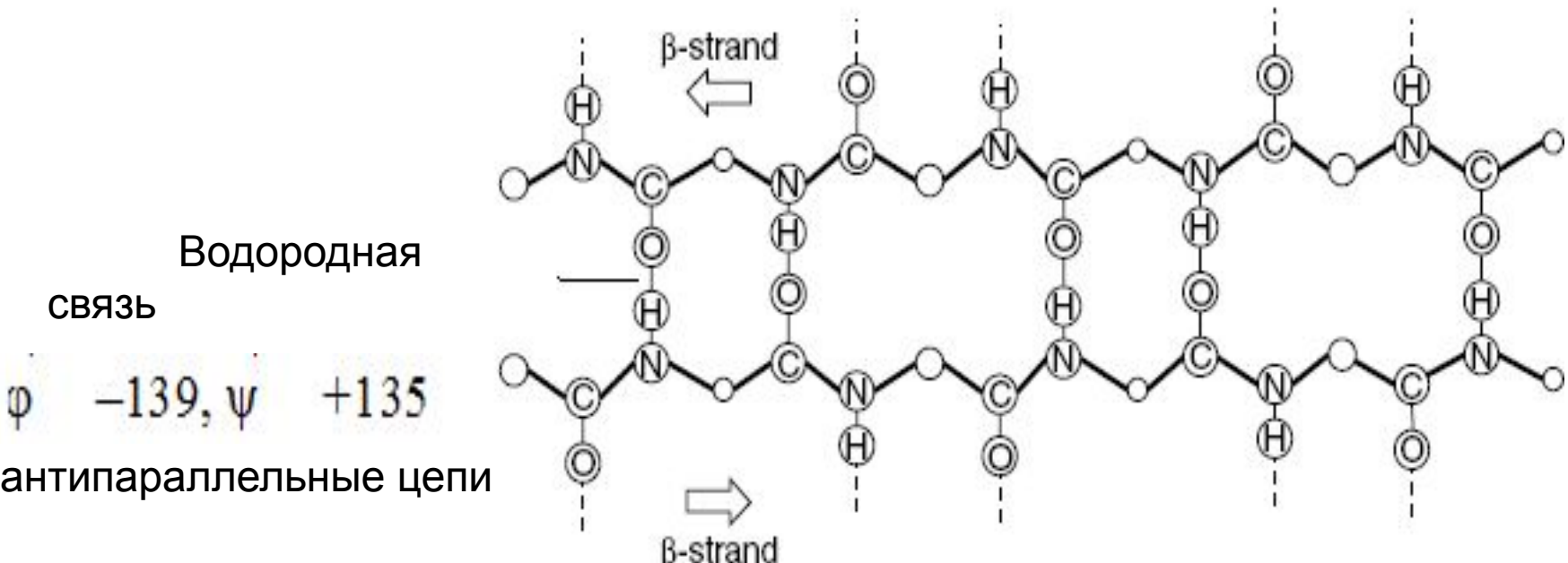
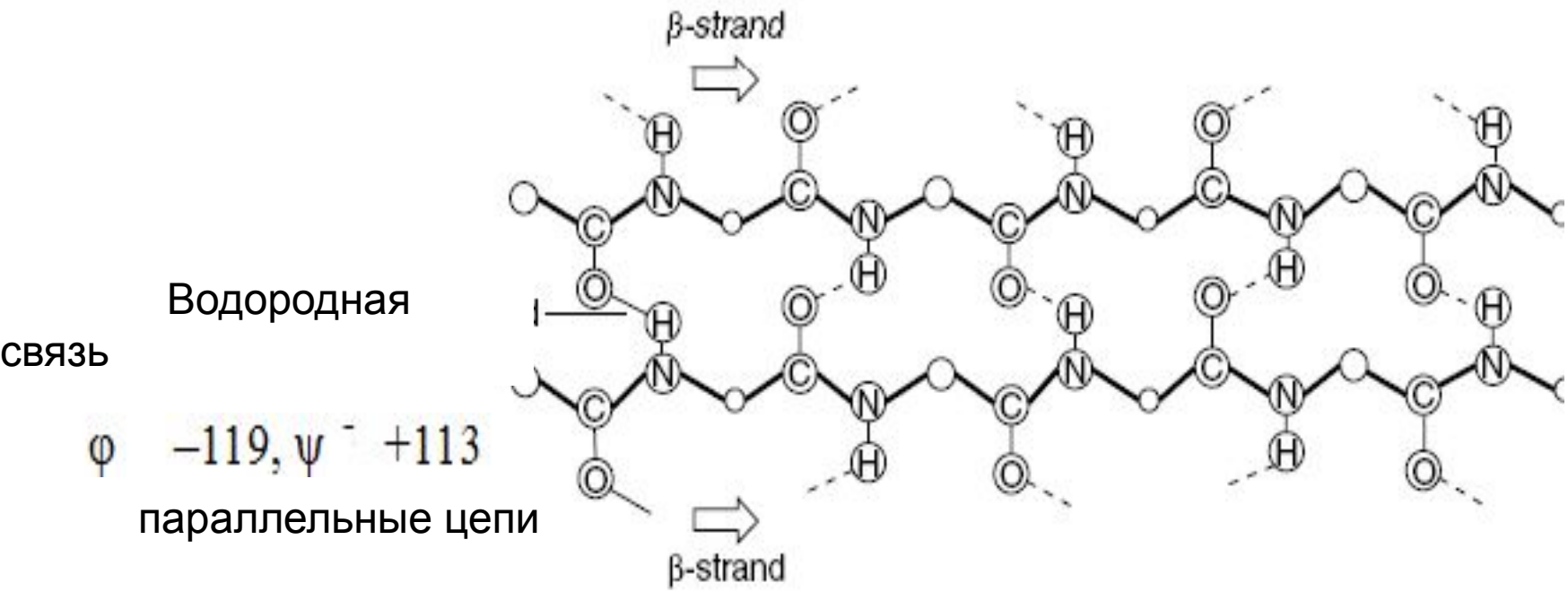


(D)





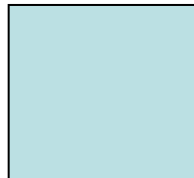
β -складчатая структура удерживается межцепьевыми водородными связями. образующимися между пептидными группами соседних цепей



Образованию β -складчатой структуры способствуют аминокислотные остатки с малыми размерами радикалов: глицин, аланин и др.

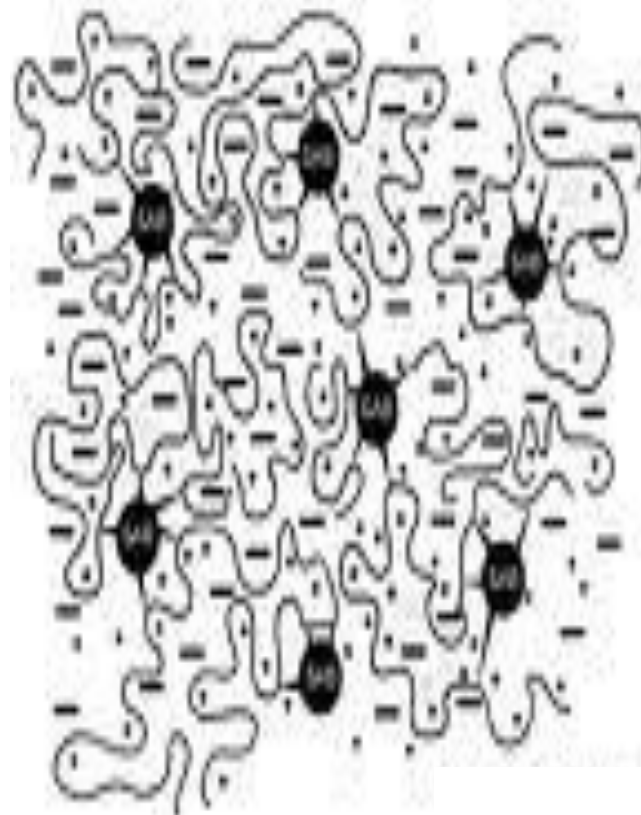
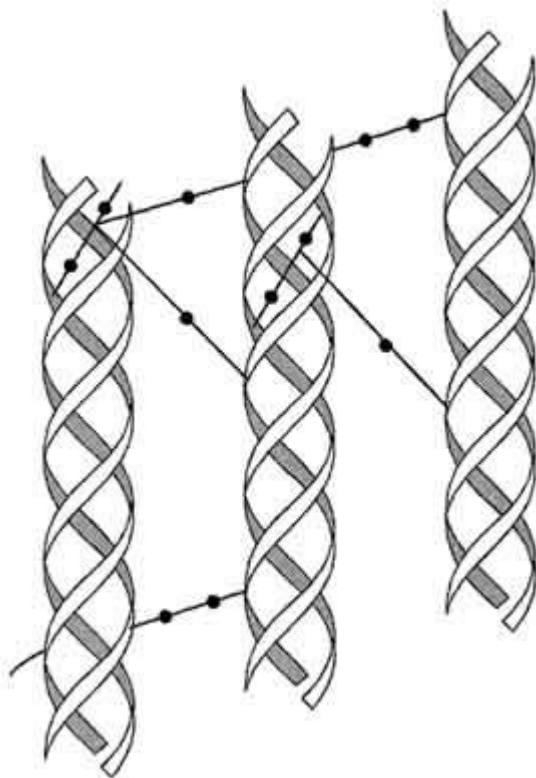
β -структуры характерны для фибриллярных белков:

- **фиброин шелка (50% глицина)**
- **белок паутины**
- **кератин волос (в β -кератинах нет цистеина),**
- **кератин ногтей (α -кератины)**
- **панцырные белки**

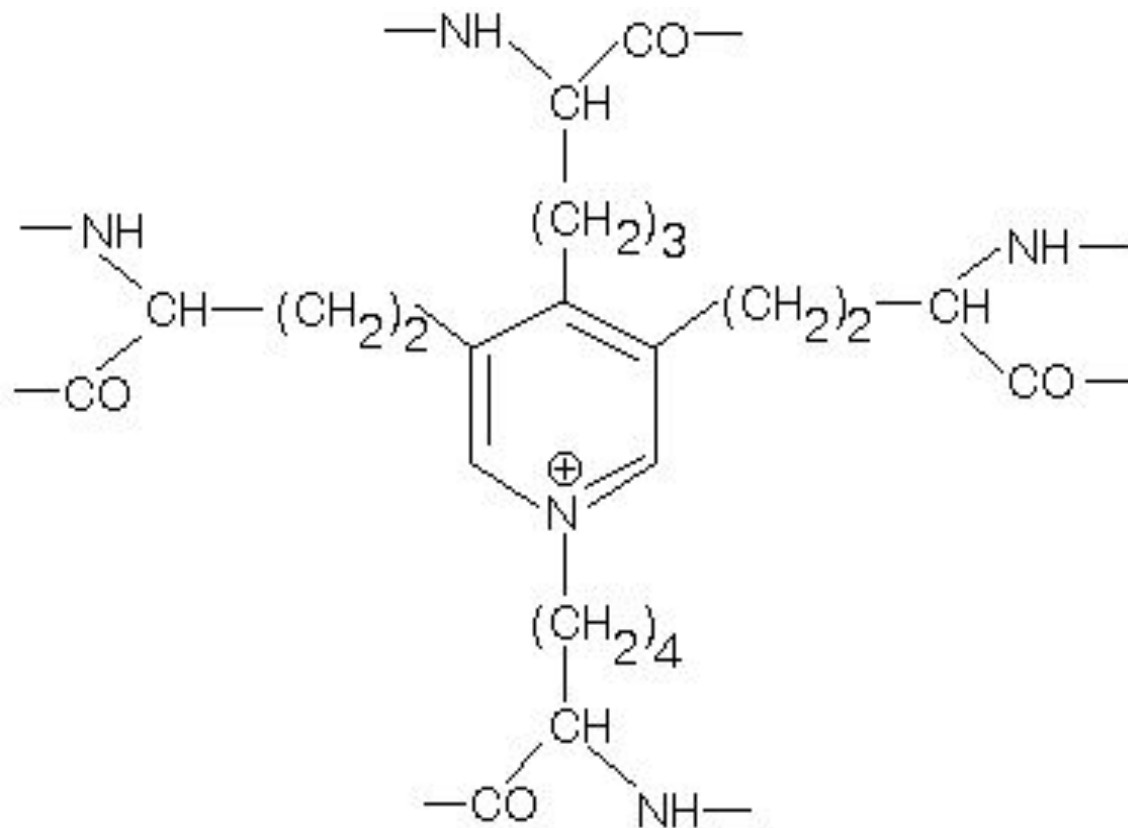


Коллаген и эластин - фибриллярные белки с участками α -структур. В них много пролина, нет цистеина

Схемы структуры коллагена и эластина



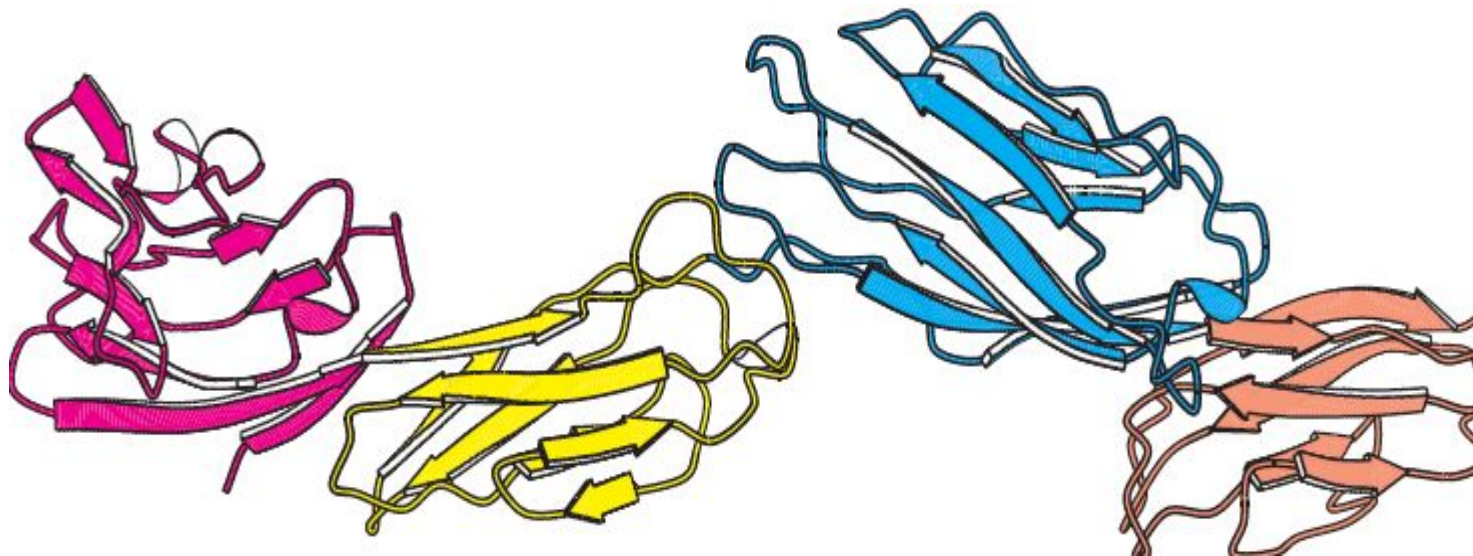
ЭЛАСТИН. Цепи укладываются в пространстве в виде глобул. Глобула из одной полипептидной цепи называется альфа-эластин. В нем до 90% гидрофобных аминокислот. Много лизина, есть участки со строго определенной последовательностью расположения аминокислот..



Структура ДЕСМОЗИНА (элемент эластина). - это структура пиридина, которая образуется при взаимодействии лизина 4-х молекул альфа-эластина.

Более сложные уровни организации **вторичной структуры** - домены

Домены - обособленные глобулярные участки, соединенные шарнирными участками полипептидной цепи

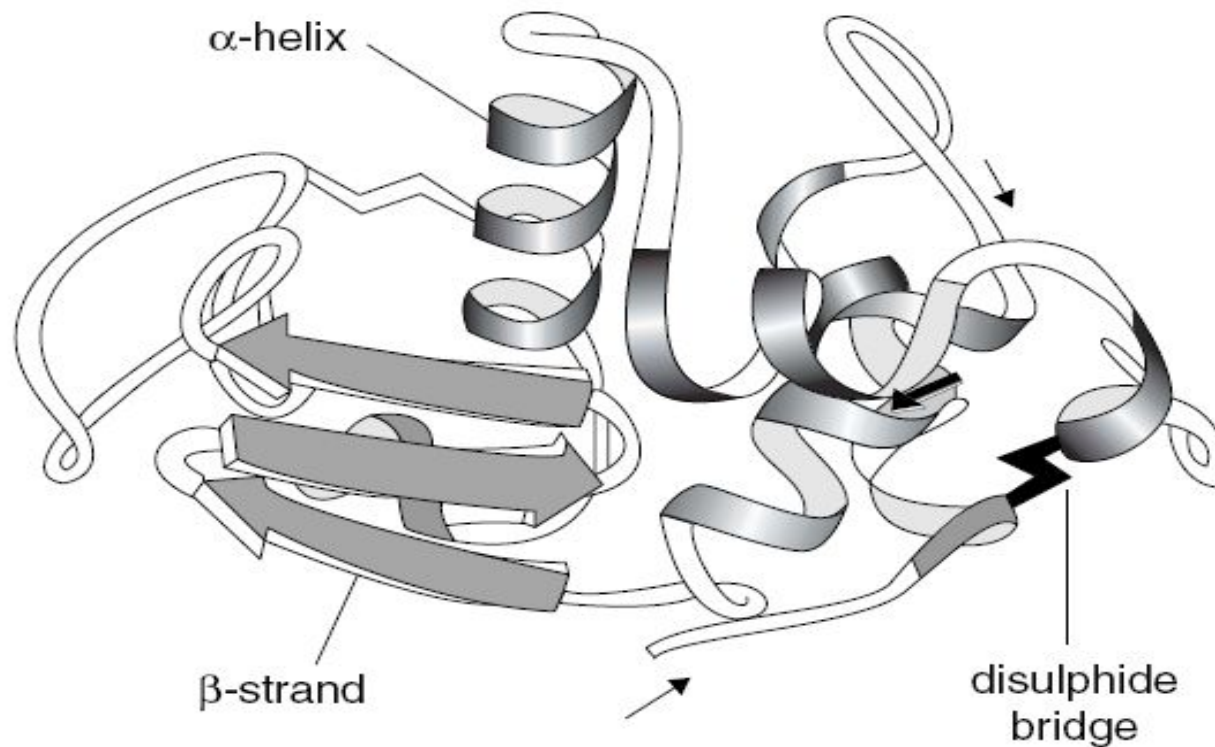


Третичная структура – это трехмерная ориентация полипептидных цепей.

При образовании третичной структуры молекула белка принимает термодинамически наиболее устойчивую конфигурацию

Третичная структура – трехмерная структура, ориентация полипептидных цепей в пространстве. Молекула белка принимает наиболее термодинамически выгодную конформацию

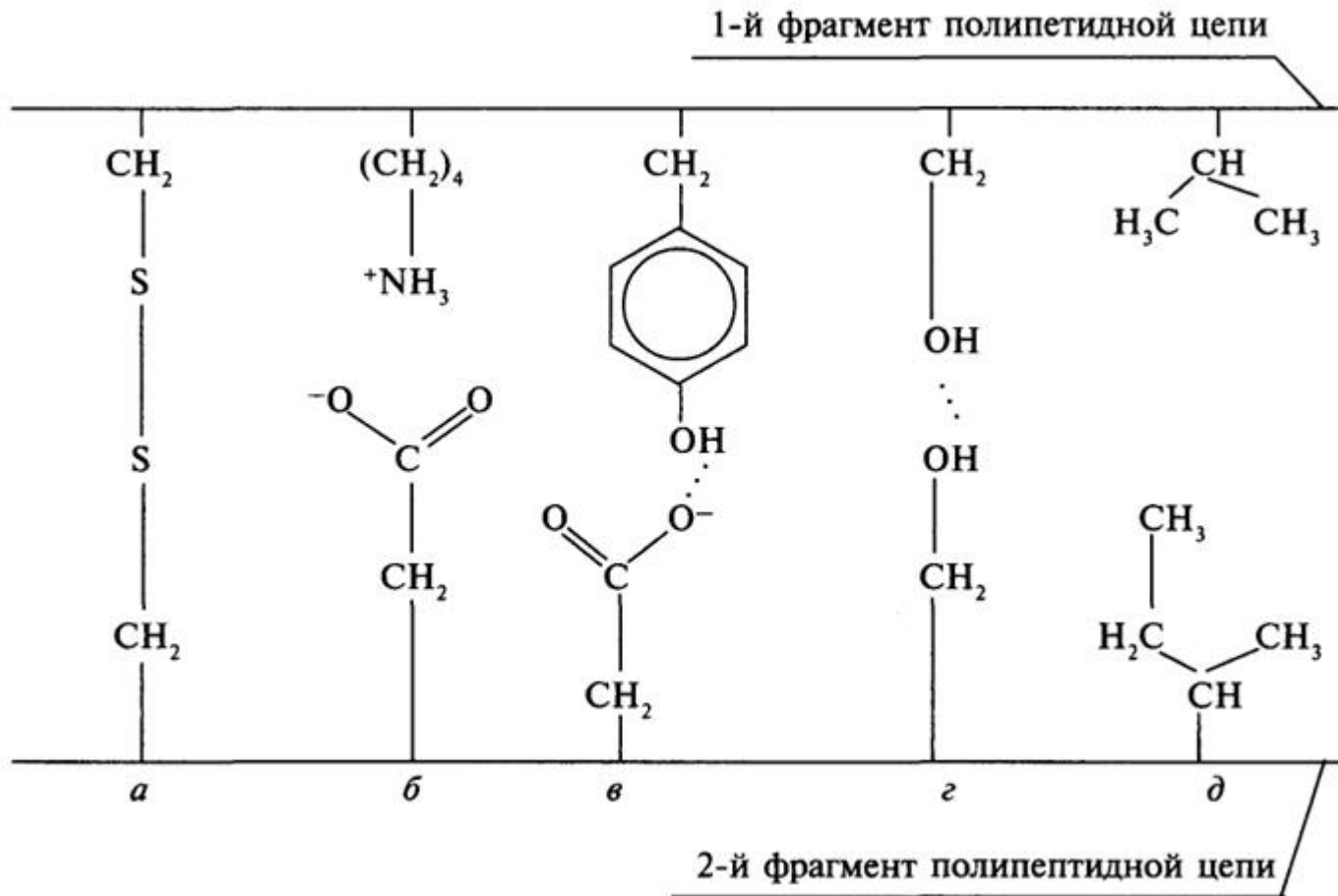
Hen egg-white lysozyme



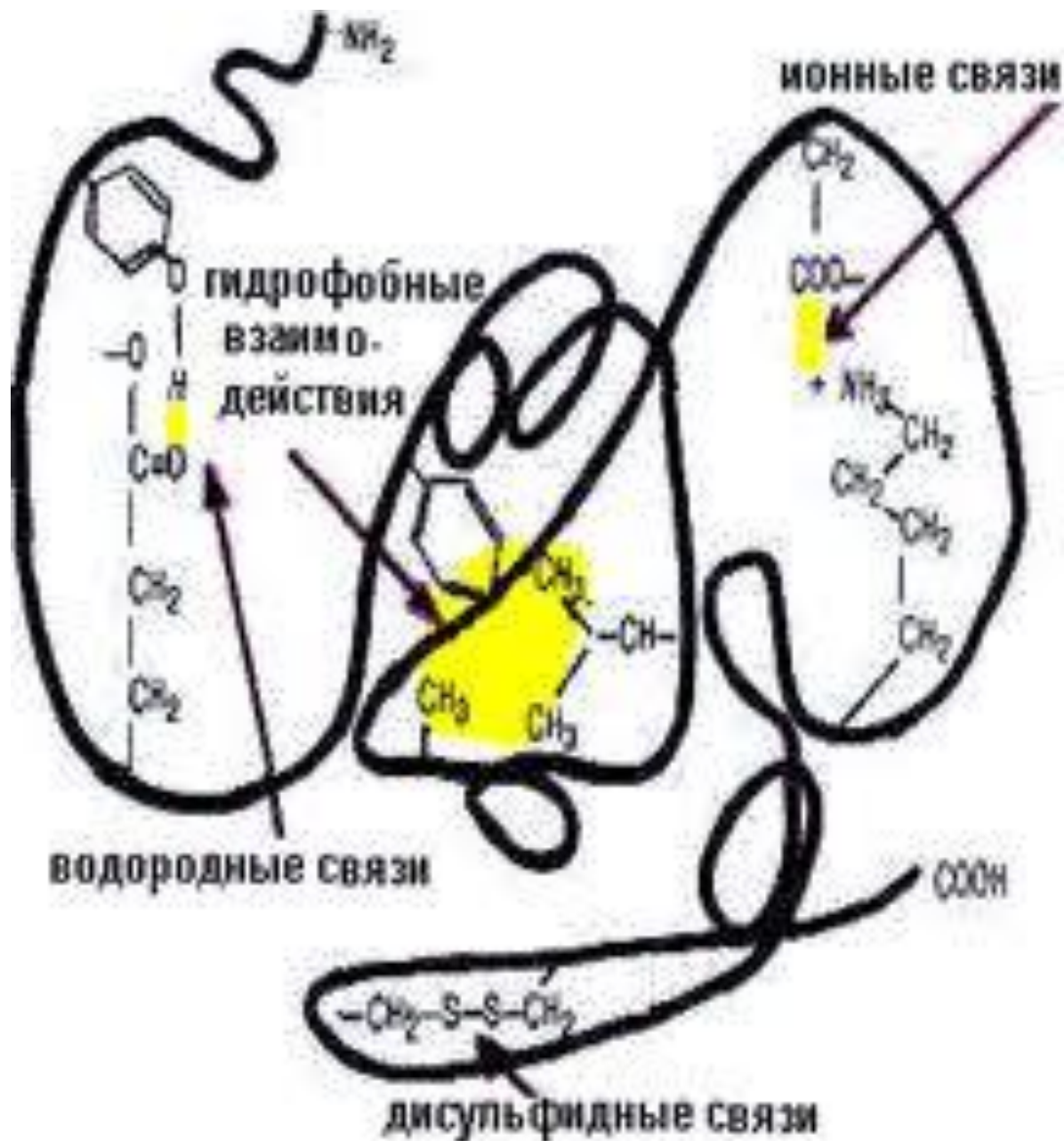
Типы связей, стабилизирующих третичную структуру белковой молекулы:

1. Гидрофобные взаимодействия между неполярными радикалами.
2. Дисульфидные связи (ковалентные)
3. Электростатические взаимодействия или ионные связи между NH_3^+ и COO^-
4. Водородные связи:
 - между NH - и CO - групп пептидных связей
 - между кислородом COO^- групп и водородом $-\text{OH}$ групп

Типы связей, стабилизирующих третичную структуру белковой молекулы



Типы связей, стабилизирующих третичную структуру белковой молекулы:



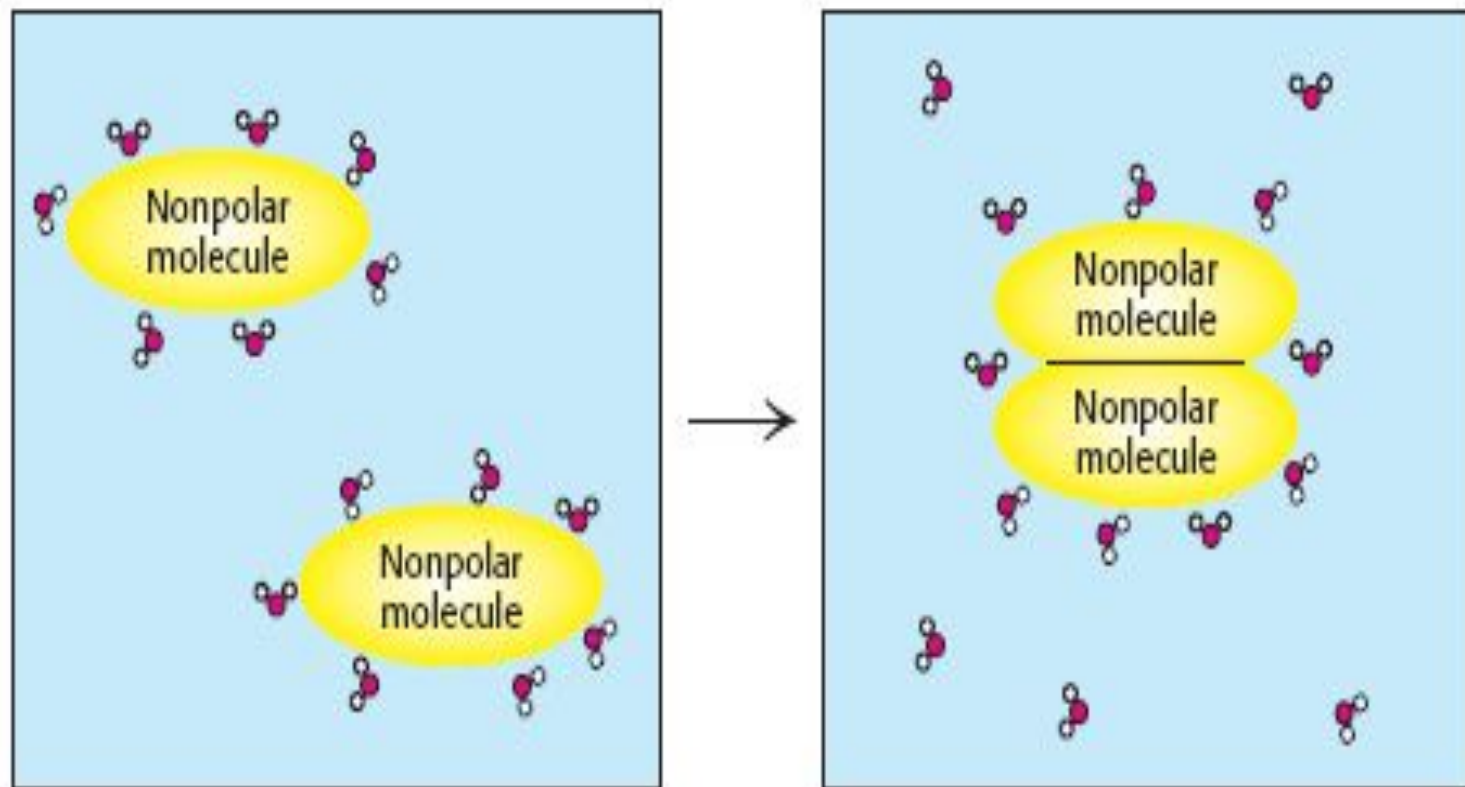
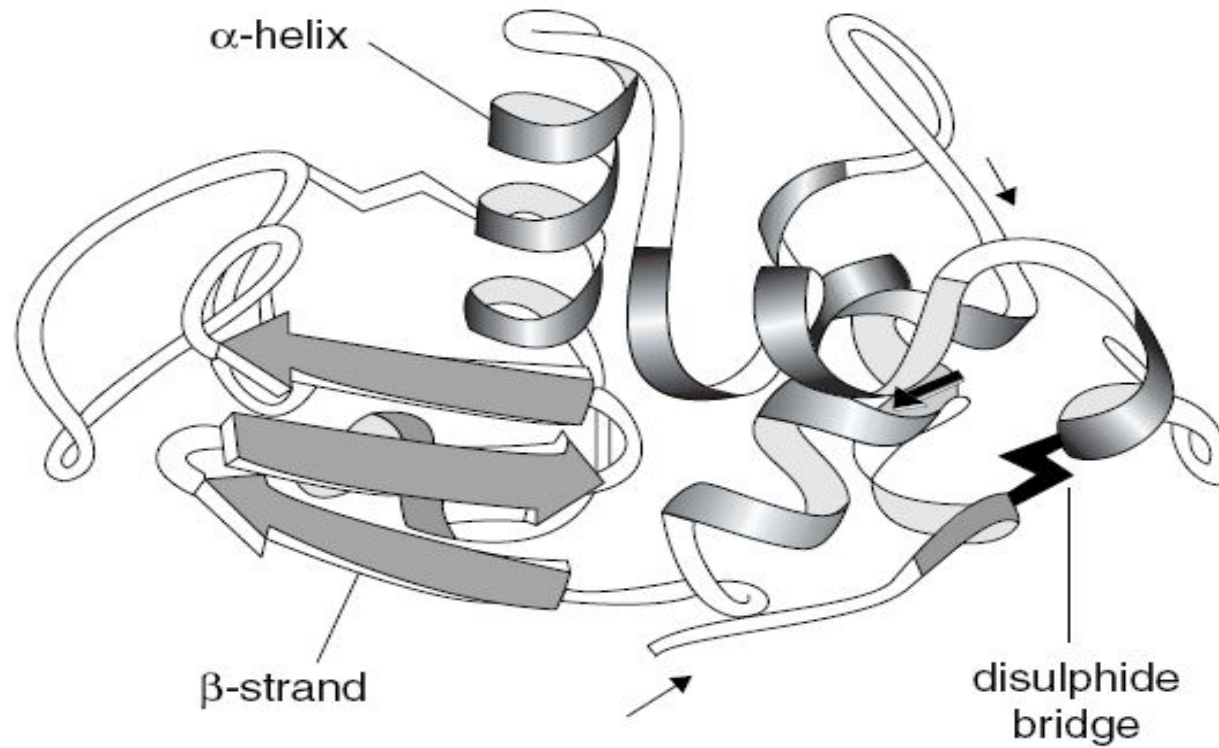
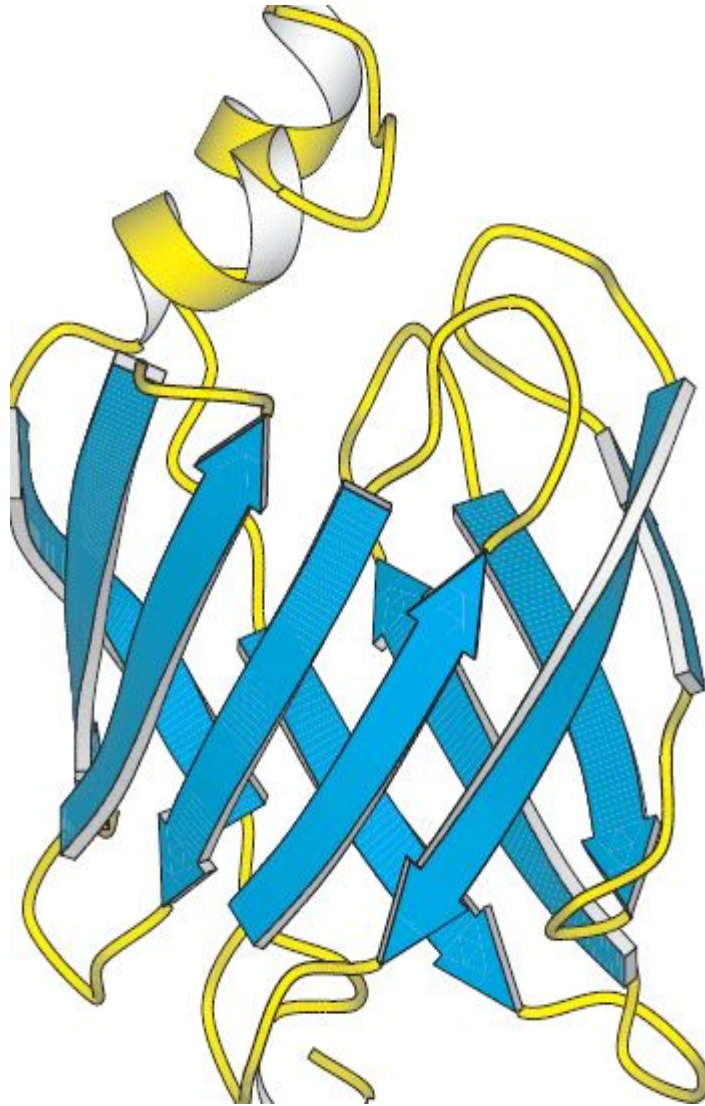


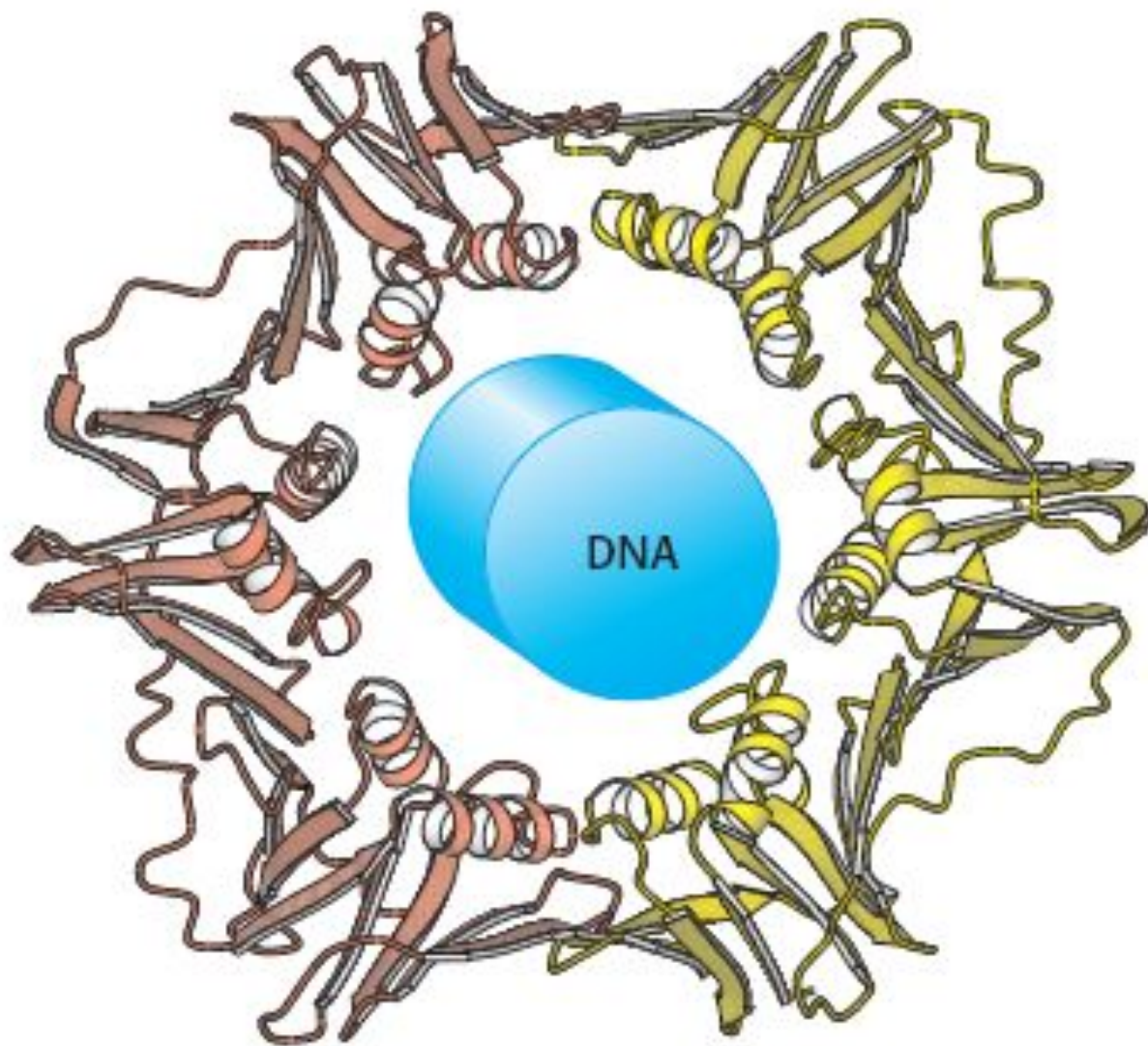
FIGURE 1.15 The hydrophobic effect.

The aggregation of nonpolar groups in water leads to an increase in entropy owing to the release of water molecules into bulk water.

Лизоцим яичного белка







Четвертичная структура. Стабилизируется как нековалентными связями, так и дисльфидными мостиками

Quaternary structure.

Cro protein of bacteriophage λ is a dimer of identical subunits.



The $\alpha_2\beta_2$ tetramer of human hemoglobin.

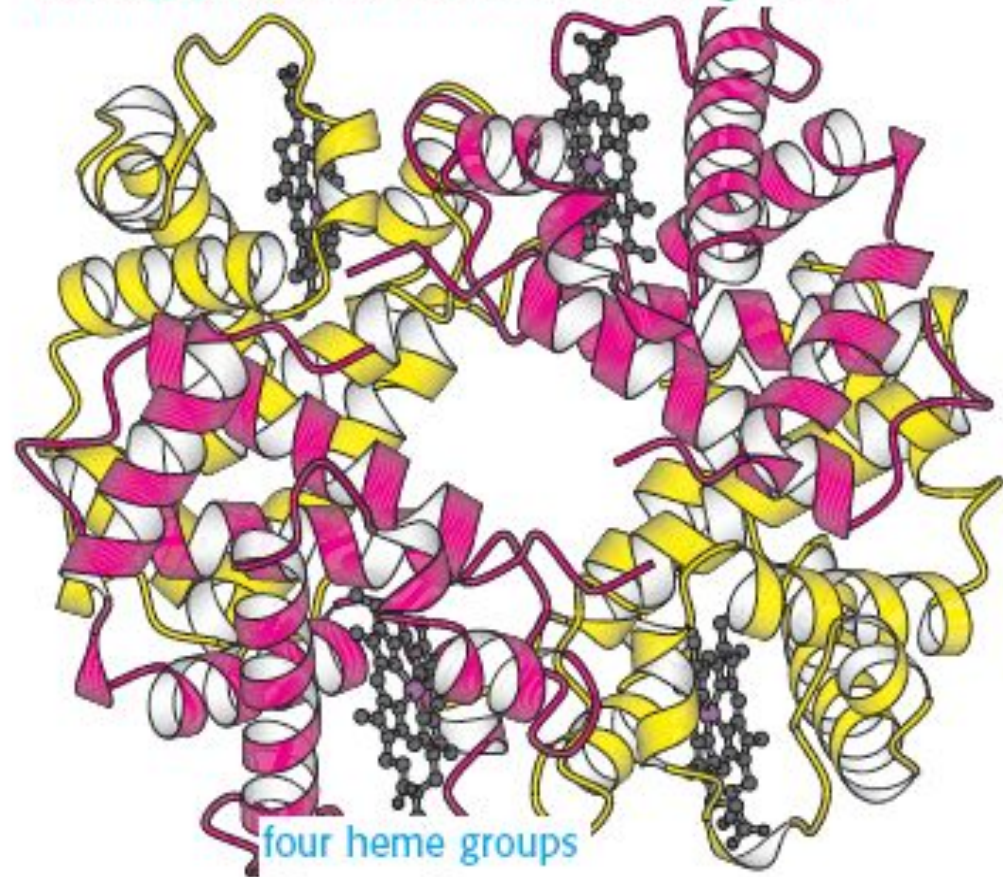
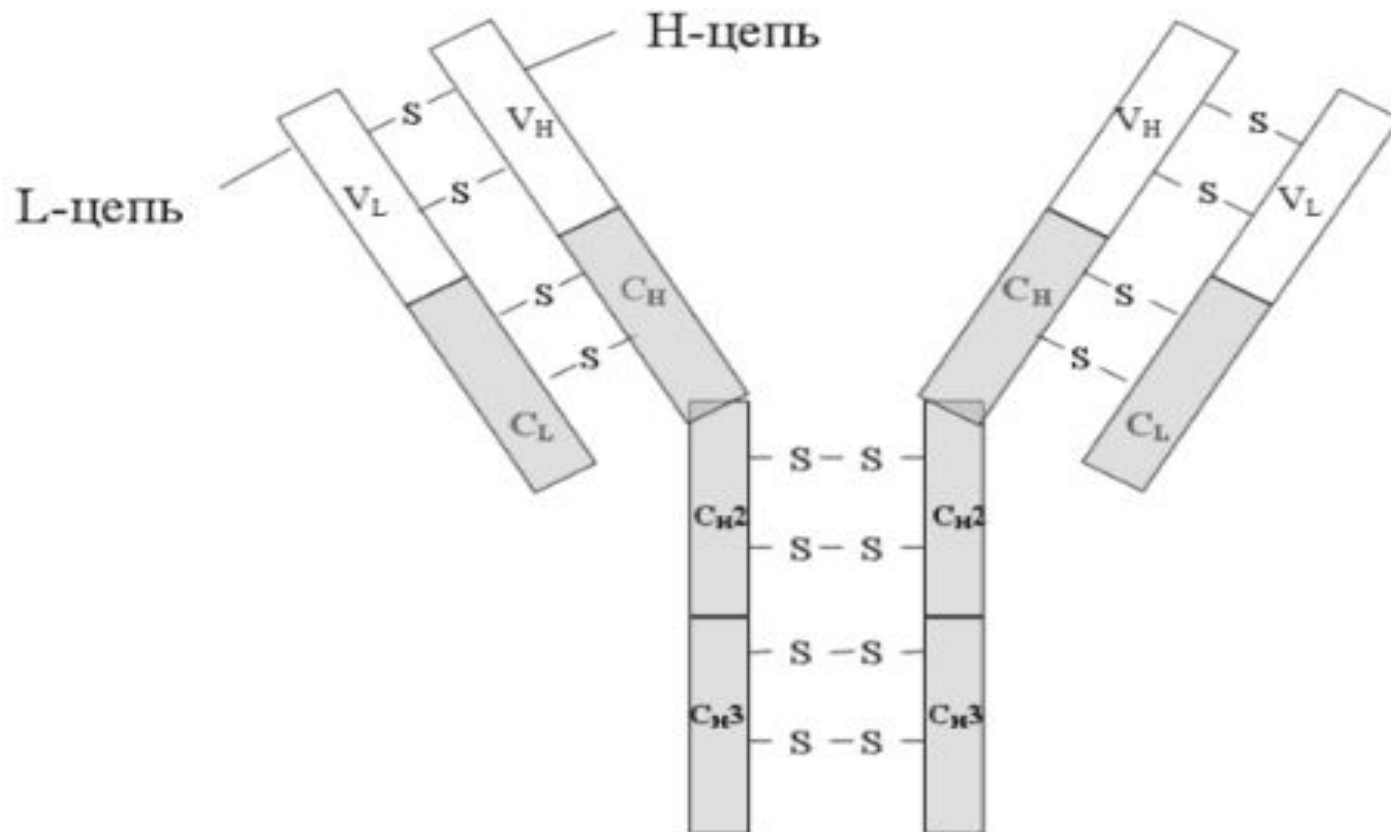
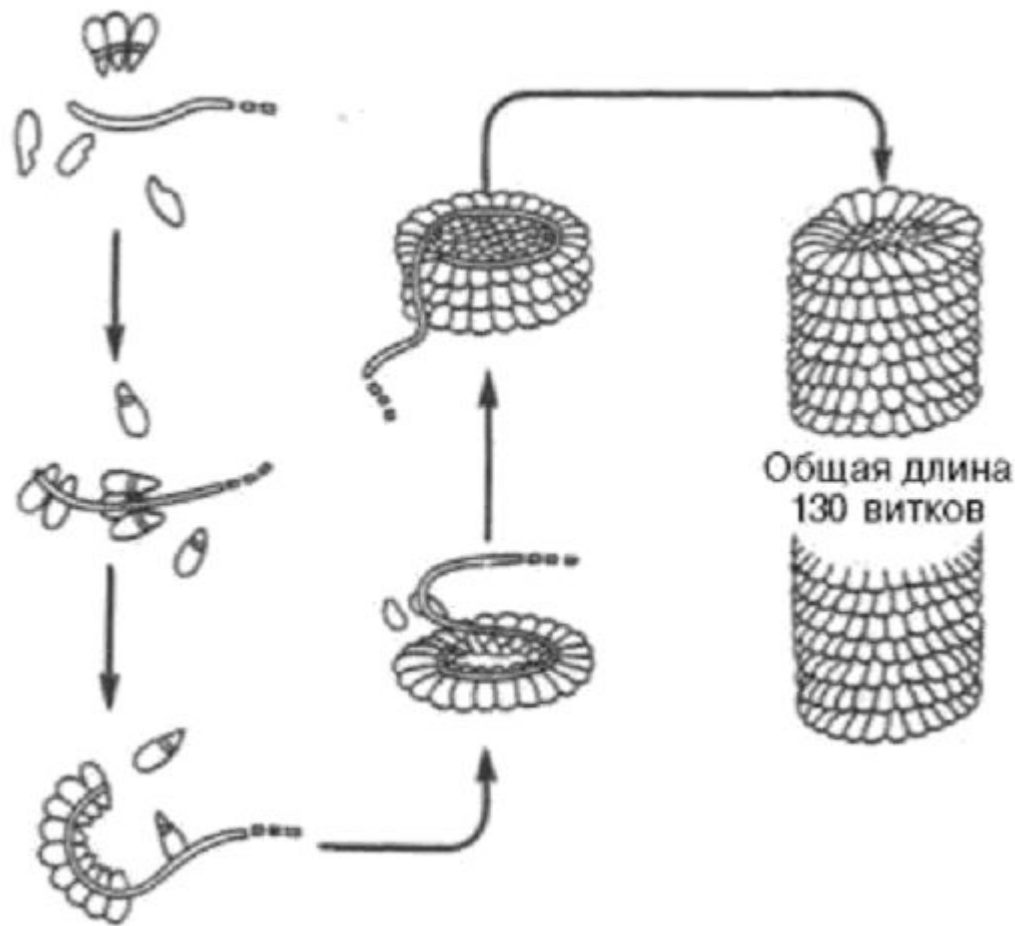


Схема четвертичной структуры иммуноглобулина, возможность ее регенерации



Лактатдегидрогеназа, фосфорилаза и др.

Вирус табачной мозаики (ВТМ) –огромная олигомерная Молекула: состоит из 1 молекулы РНК и более 2000 белковых субъединиц. Белки нанизаны вокруг РНК.



Олигомерный белок ВТМ



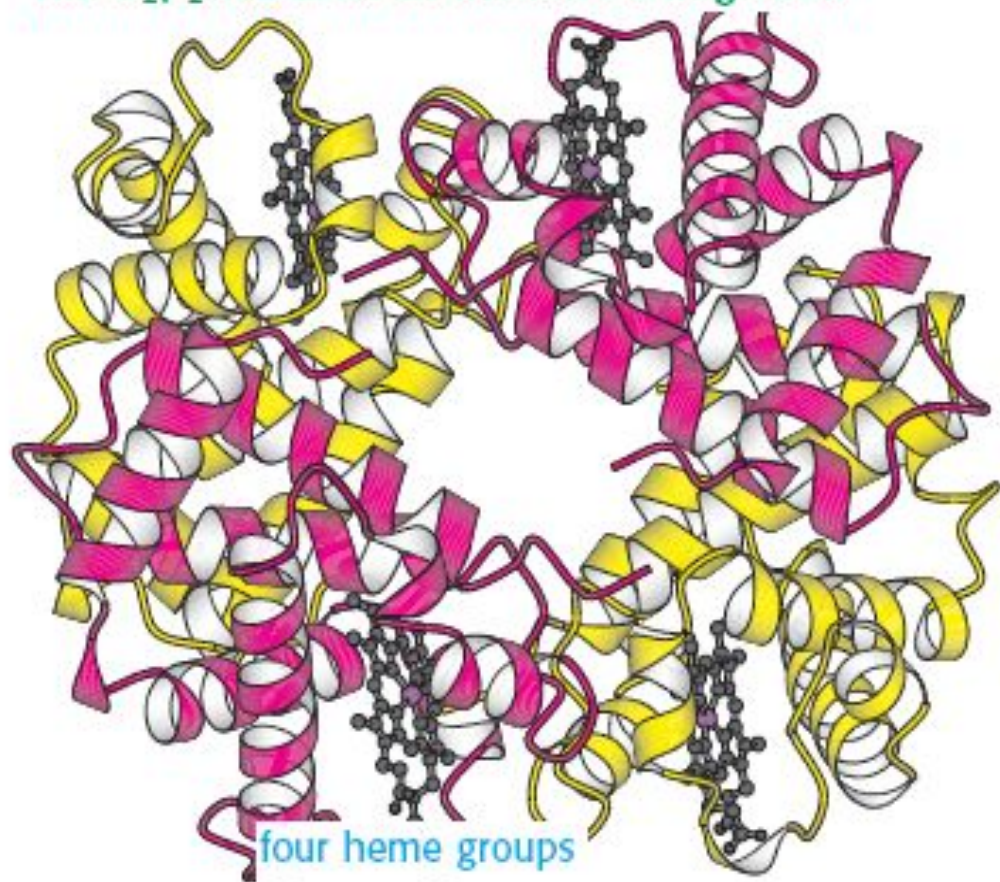
Четвертичная структура

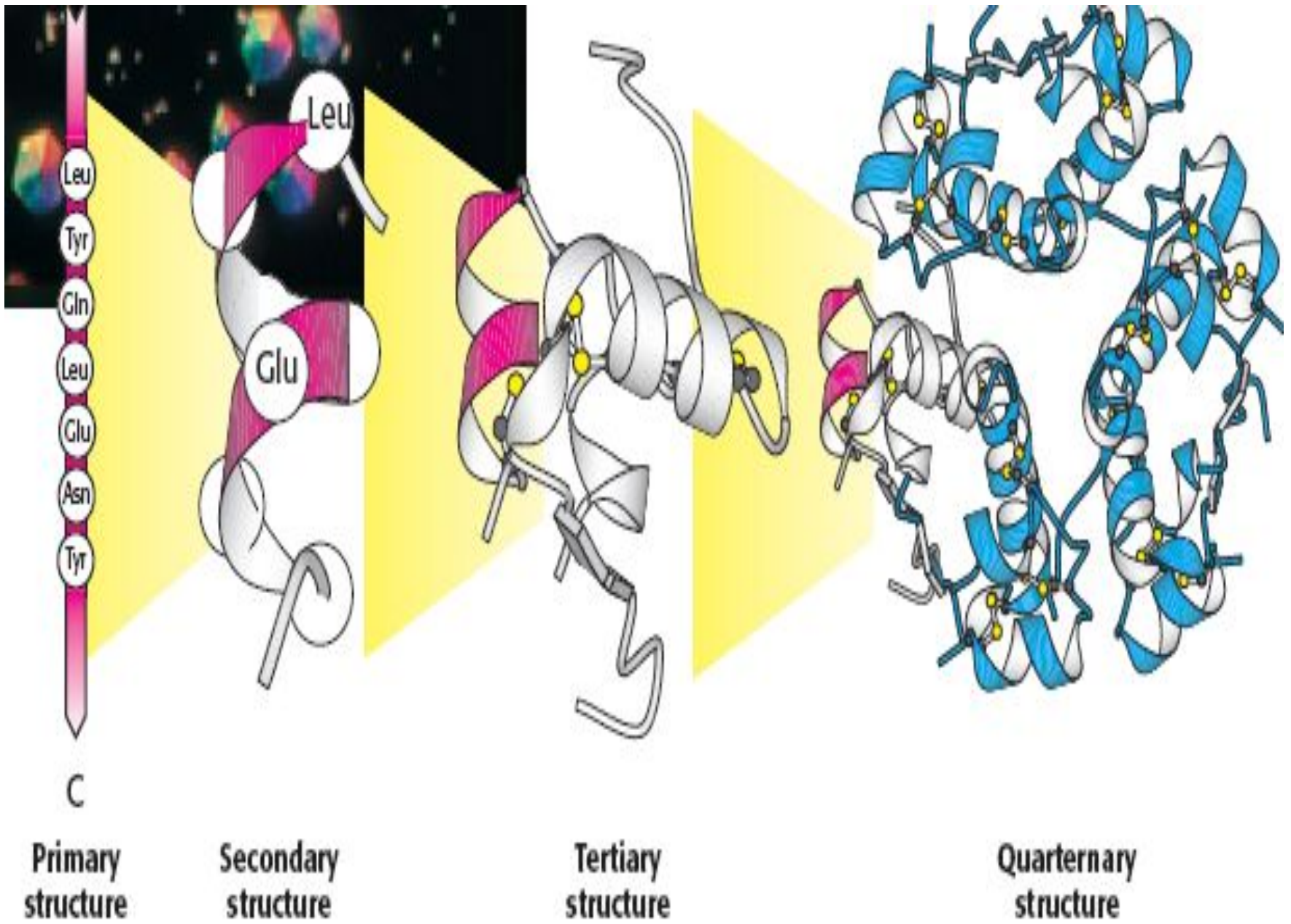
Quaternary structure.

Cro protein of bacteriophage λ is a dimer of identical subunits.



The $\alpha_2\beta_2$ tetramer of human hemoglobin.





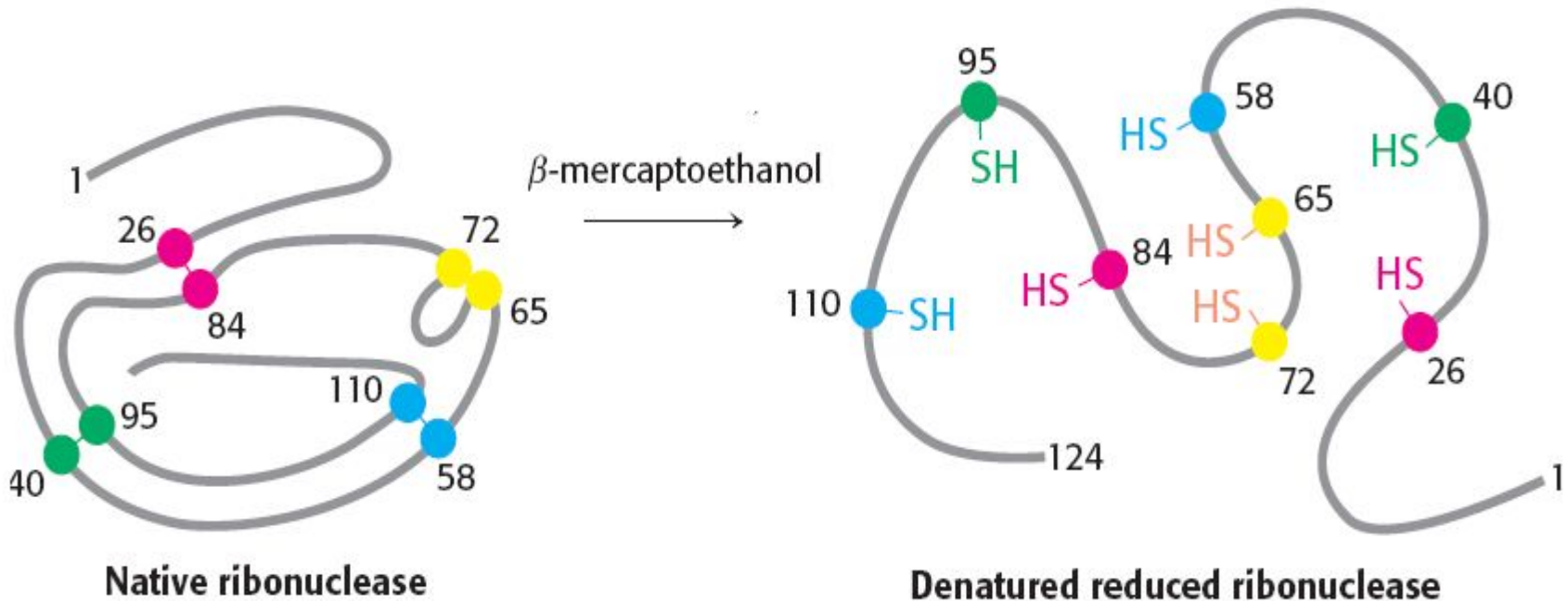
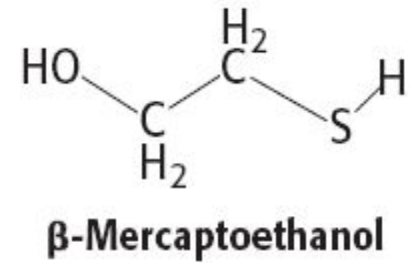
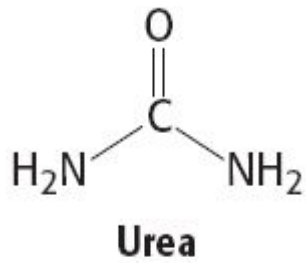
Некоторые исследователи склонны рассматривать, и не без основания, существование пятого уровня структурной организации белков.

Речь идет о полифункциональных макромолекулярных комплексах, или ассоциатах из разных ферментов, получивших название метаболических олигомеров, или метаболонов, и катализирующих весь путь превращений субстрата превращений субстрата (синтетазы высших жирных кислот, пируватдегидрогеназный комплекс, дыхательная цепь

- **Proteins Are Built from a Repertoire of 20 Amino Acids**
- **Primary Structure: Amino Acids Are Linked by Peptide Bonds to Form Polypeptide Chains**
- **Secondary Structure: Polypeptide Chains Can Fold into Regular Structures Such as the Alpha Helix, the Beta Sheet, and Turns and Loops**
- **Tertiary Structure: Water-Soluble Proteins Fold into Compact Structures with Nonpolar Cores**
- **Quaternary Structure: Polypeptide Chains Can Assemble into Multisubunit Structures**
- **The Amino Acid Sequence of a Protein Determines Its Three-Dimensional Structure**

Свойства белков:

1. Молекулярная масса
2. Растворимость, свойства коллоидных растворов белков
3. Амфотерность
4. Изoeлектрическая точка
5. Денатурация и ренатурация



“Белки выполняют самые различные функции и делают это с необыкновенной легкостью и изяществом” (Френсис Крик)

Какие свойства молекул белка позволяют им выполнять широкий спектр функций?

Способность спонтанно образовать трехмерную конформацию.

Наличие большого количества функциональных групп (спиртовые, тиоловые, карбоксильные, карбоксиамидные, аминокислотные).

Способность взаимодействовать с другими макромолекулами, образуя комплексы.

Гибкость, эластичность, ригидность и прочность молекул белка.

Функции белков:

1. Каталитическая функция
2. Транспортная (альбумины, гемоглобин, пермеазы)
3. Резервная функция (проламины, глютелины, овальбумин, лактоальбумин, белки икры)
4. Защитные белки (иммуноглобулины, яды насекомых, змей, токсины у бактерий, токсичные белки растений)
5. Сократительные белки (актин и миозин мышечной ткани, тубулин в составе ресничек и жгутиков)
6. Структурные белки (коллаген, кератин, липопропротеиды клеточных мембран)
7. Регуляторная функция (гистоны и протамины, гормоны белковой природы - инсулин, тиреоглобулин, фитогормоны, регуляторные белки у микроорганизмов)

Ферменты

Ферменты – глобулярные белки.

Сложные ферменты (*холофермент*) состоят из белкового и небелкового компонентов:

апофермента и кофермента (кофактор).

Прочно связанные кофакторы называются *простетическими группами*

В качестве кофакторов могут выступать *ионы металлов.*

У большинства холоферментов кофакторами являются *производные водорастворимых витаминов*

Отличия ферментов от химических катализаторов:

- высокая специфичность
- чрезвычайно высокая скорость реакций
- ферментативные реакции происходят при физиологических значениях pH, температуры, давления и т. п.
- активность ферментов регулируется согласно потребностям клетки

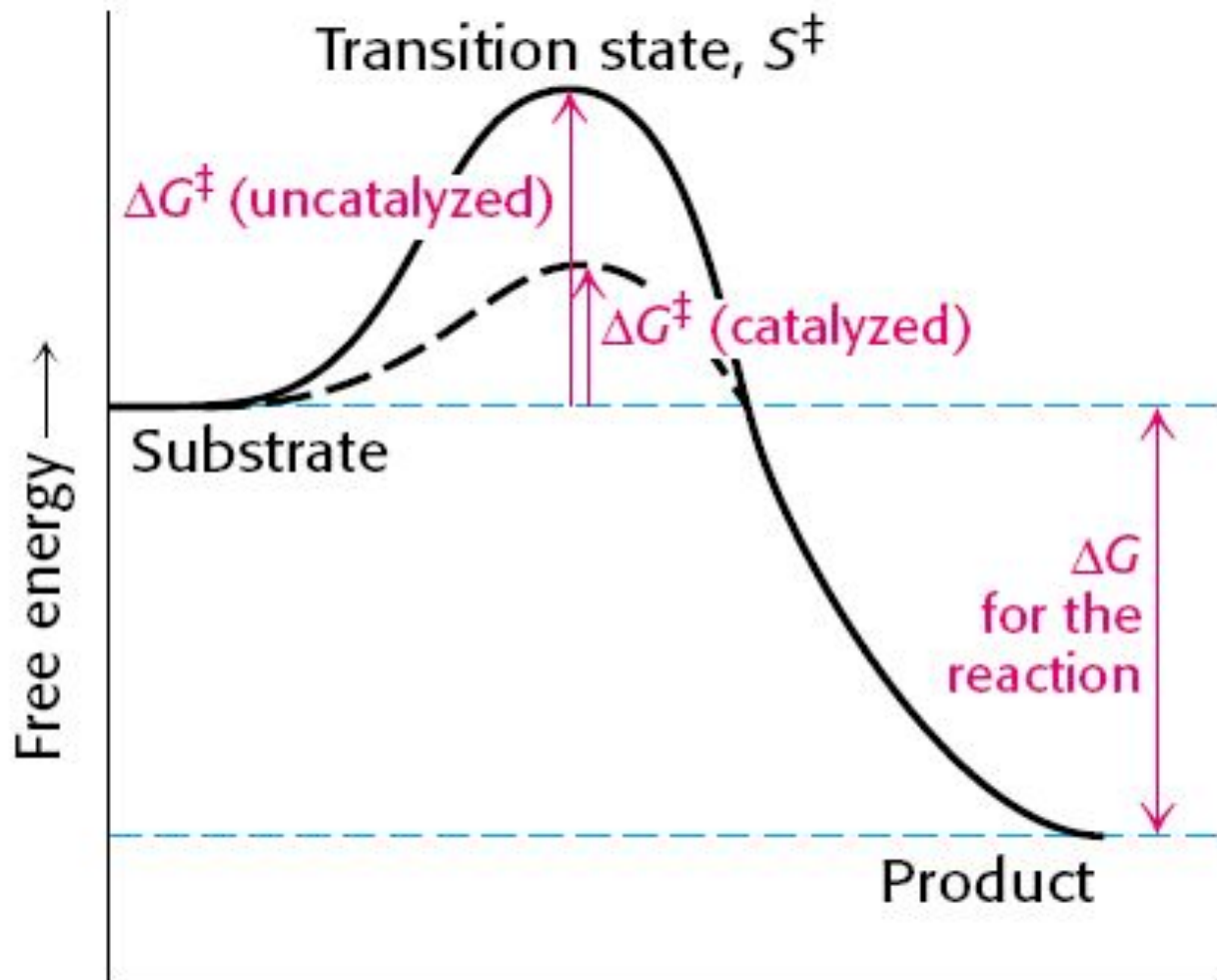
Классификация ферментов

1. Оксиредуктазы (окислительно-восстановительные реакции)
2. Трансферазы (перенос функциональных групп)
3. Гидролазы (гидролиз с присоединением воды)
4. Лиазы (добавление к двойным связям или удаление от них функциональных групп)
5. Изомеразы (внутримолекулярный перенос групп)
6. Лигаза (связывание двух субстратов с расходом энергии АТФ)

Six major classes of enzymes

Class	Type of reaction
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction
2. Transferases	Group transfer
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4. Lyases	Addition or removal of groups to form double bonds
5. Isomerases	Isomerization (intramolecular group transfer)
6. Ligases	Ligation of two substrates at the expense of ATP hydrolysis

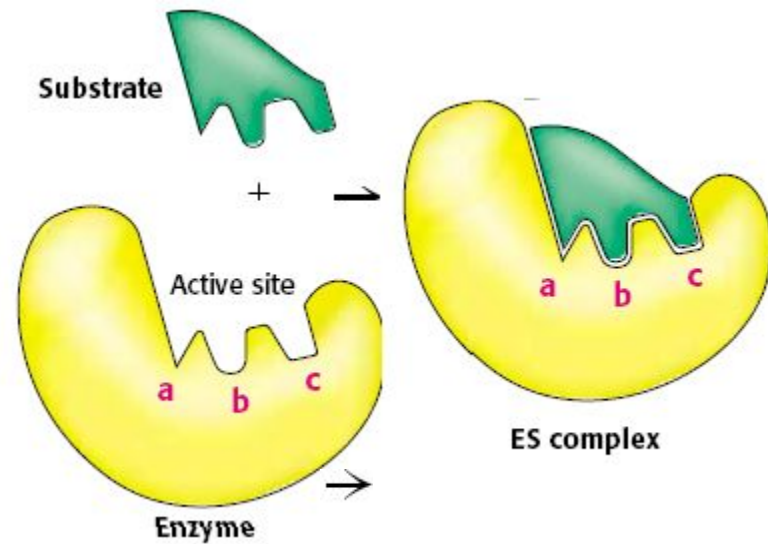
Enzymes decrease the activation energy.



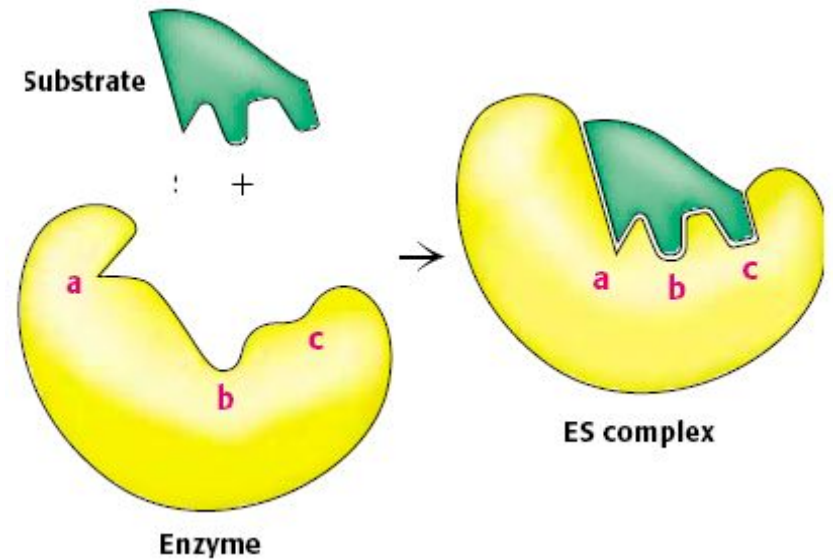
Enzymes accelerate reactions by decreasing ΔG^\ddagger , the free energy of activation.

Взаимодействие фермента и субстрата

Модель «ключ-замок»

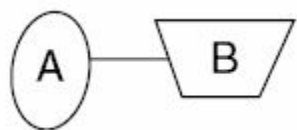


Динамическое взаимодействие



При связывании с субстратом активный центр фермента модифицируется (D.E.Koshland, 1958)

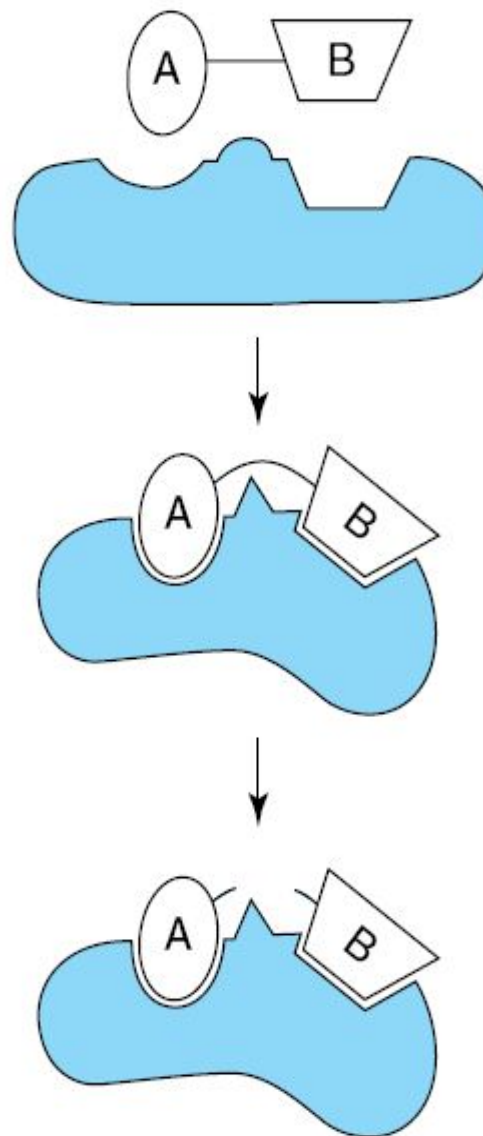
Взаимодействие фермента и субстрата



субстрат

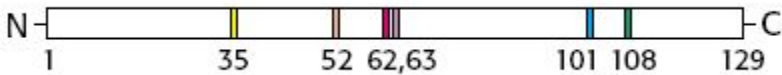


фермент

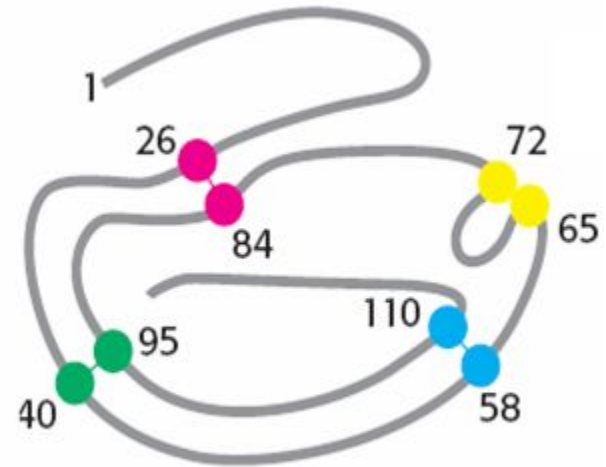


Активный центр фермента

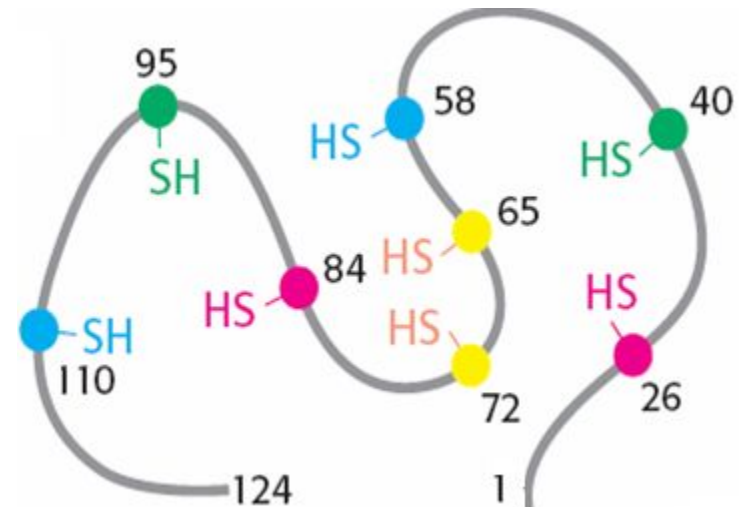
В состав активного центра входит лишь небольшое число α-к-тных остатков. Их взаимное расположение зависит от первичной структуры всей молекулы ферментного белка. В создании активного центра участвуют и прочно связанные с белком простетические группы



Active sites may include distant residues.



Native ribonuclease

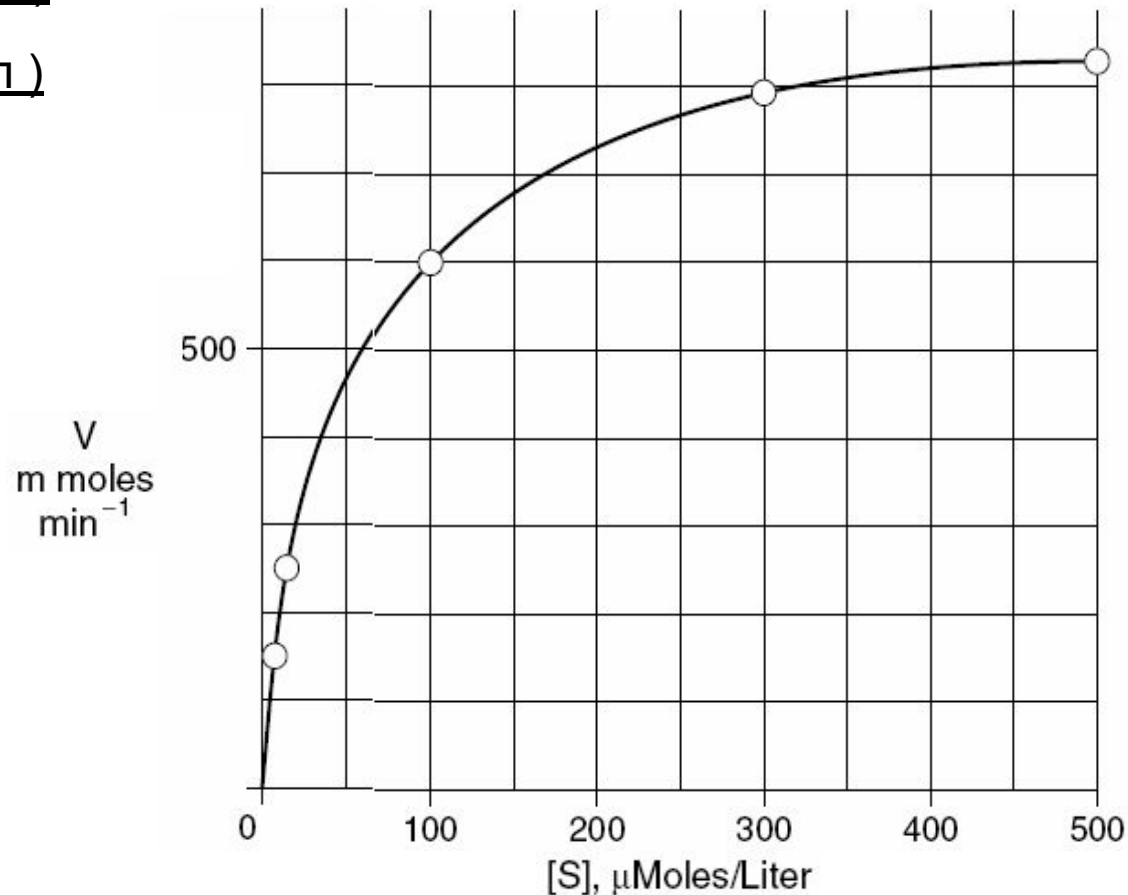


Denatured reduced ribonuclease

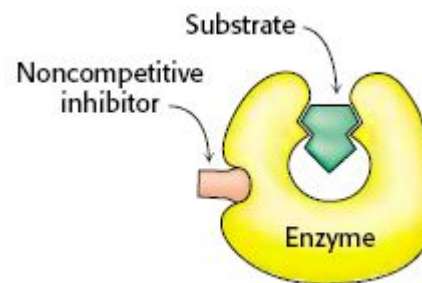
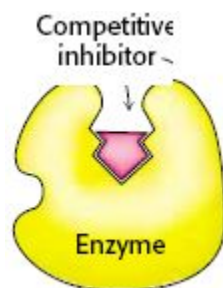
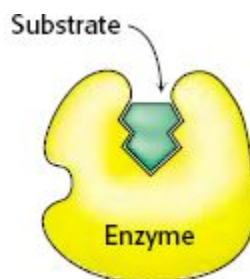
Скорость ферментативных реакций

Факторы, от которых зависит начальная скорость ферментативных реакций:

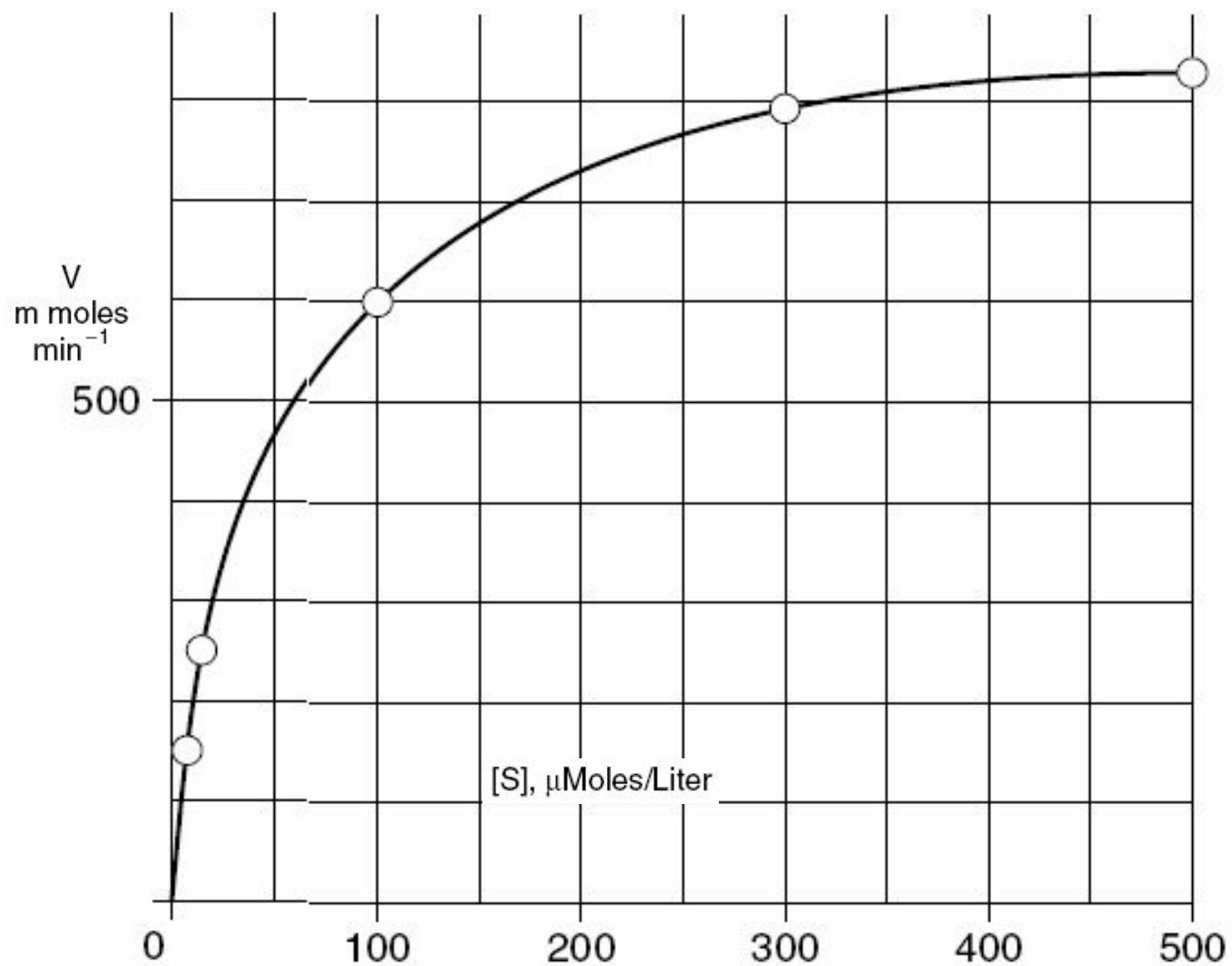
1. Активность фермента (E). М1нар. ед-ца активности: количество ф-та, которое катализирует превращение 1мкМ субстрата за 1 мин. в оптимальных усл. для данного ф-та (рН, t-ра и др.)
1ед. акт = 1мкМ /мин.
1 катал = 1М/сек
Удельная активность = E/мг белка
2. Концентрация фермента (мкМ/л)
3. Концентрация субстрата (мкМ/л)
4. Температура, рН, активаторы и ингибиторы (ионы металлов)



Различие между конкурентным и неконкурентным ингибитором



Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата



Скорость ферментативных реакций

1. Активность фермента (E).

М/нар. единица активности: количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкМ субстрата за 1 мин. в оптимальных условиях для данного ф-та (рН, t-ра и др.)

1 ед. акт = 1 мкМ / мин. 1 катал = 1 М/сек

Удельная активность = E/мг белка

2. Концентрация фермента (мкМ/л)

3. Концентрация субстрата (мкМ/л)

4. Температура, рН, активаторы и ингибиторы (ионы металлов)

Cofactor	Enzyme
Coenzyme	
Thiamine pyrophosphate	Pyruvate dehydrogenase
Flavin adenine nucleotide	Monoamine oxidase
Nicotinamide adenine dinucleotide	Lactate dehydrogenase
Pyridoxal phosphate	Glycogen phosphorylase
Coenzyme A (CoA)	Acetyl CoA carboxylase
Biotin	Pyruvate carboxylase
5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Methylmalonyl mutase
Tetrahydrofolate	Thymidylate synthase
Metal	
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase
Zn ²⁺	Carboxypeptidase
Mg ²⁺	<i>EcoRV</i>
Mg ²⁺	Hexokinase
Se	Glutathione peroxidase
Mn ²⁺	Superoxide dismutase
K ⁺	Propionyl CoA carboxylase

Ферменты

Ферменты – глобулярные белки.

Сложные ферменты (*холофермент*) состоят из белкового и небелкового компонентов:

апофермента и кофермента (кофактор).

Прочно связанные кофакторы называются *простетическими группами*

В качестве кофакторов могут выступать *ионы металлов.*

У большинства холоферментов кофакторами являются *производные водорастворимых витаминов*

Отличия ферментов от химических катализаторов:

- высокая специфичность
- чрезвычайно высокая скорость реакций
- ферментативные реакции происходят при физиологических значениях pH, температуры, давления и т. п.
- активность ферментов регулируется сообразно потребностям клетки