



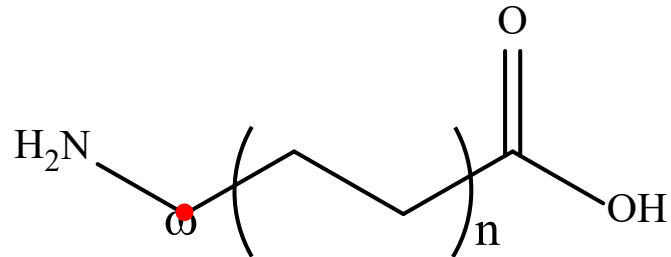
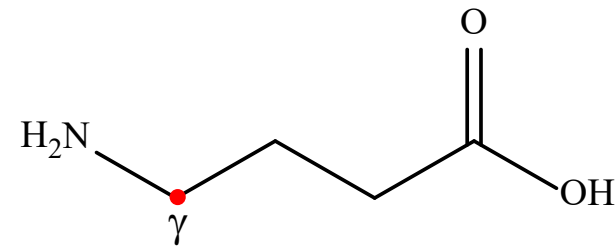
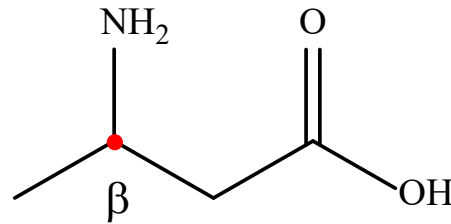
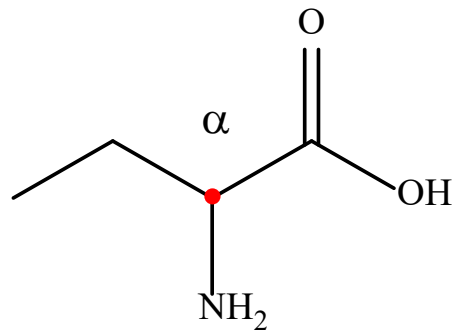
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова

Кафедра общей и биоорганической химии

Аминокислоты, пептиды, белки в водных растворах.
Аминокислотные и белковые буферные системы.

Классификации аминокислот

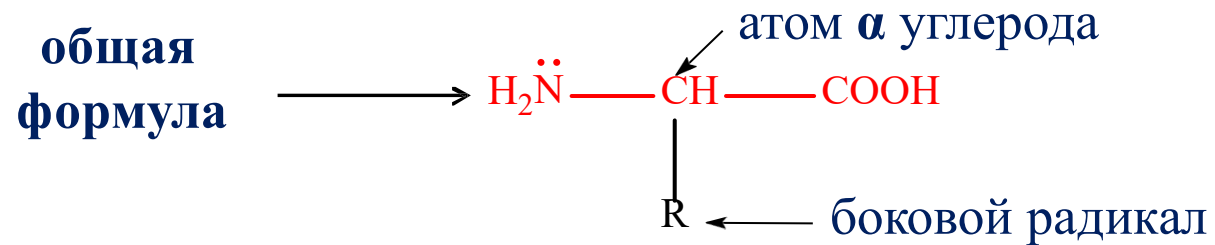
1. В зависимости от взаимного расположения amino- и карбоксильной групп: α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, и ω - аминокислоты.



α -АМИНОКИСЛОТЫ



α -Аминокислоты — органические гетерофункциональные соединения, молекулы которых содержат одновременно аминогруппу и карбоксильную группу при одном атома углерода.

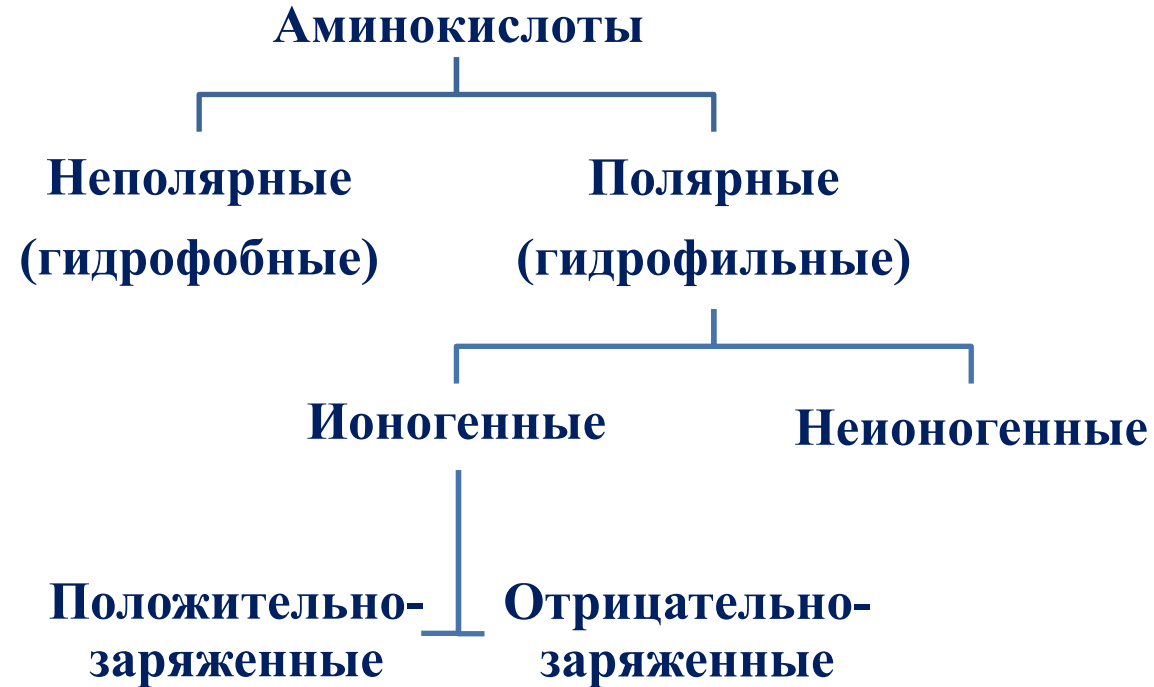


Общий фрагмент всех α -аминокислот (для глицина $R = \text{H}$)

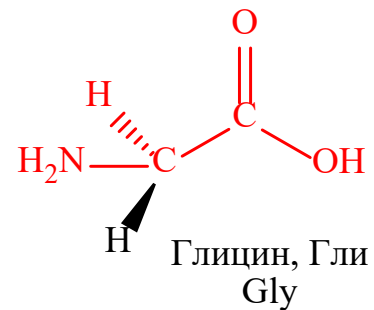
Природных — более 300.

Протеиногенных — 21 α -аминокислота (включая одну иминокислоту — пролин).

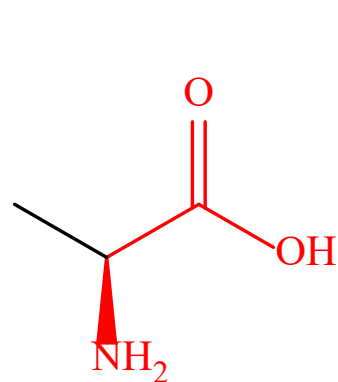
2. По природе бокового радикала



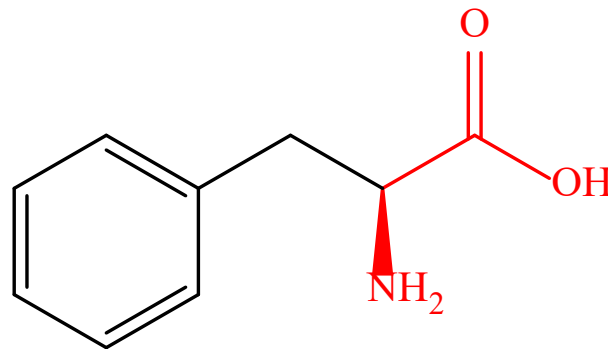
В данной классификации *глицин* — исключение, так как он не имеет бокового радикала. Молекула сильно полярна и оптически неактивна.



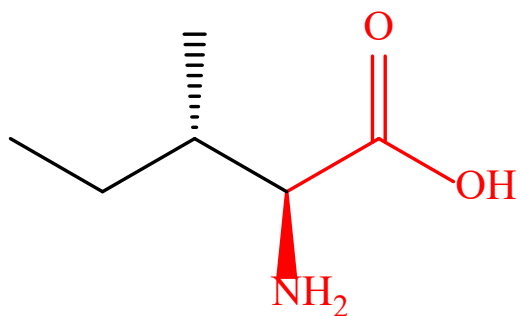
2.1 Аминокислоты с неполярными (гидрофобными) радикалами



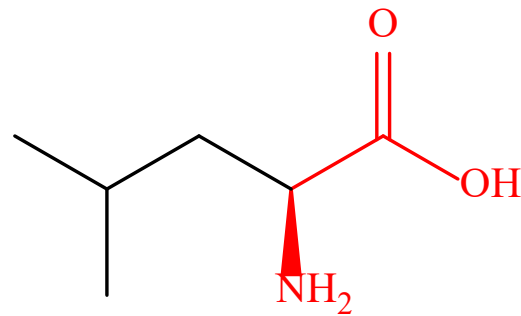
Аланин, Ала
Ala



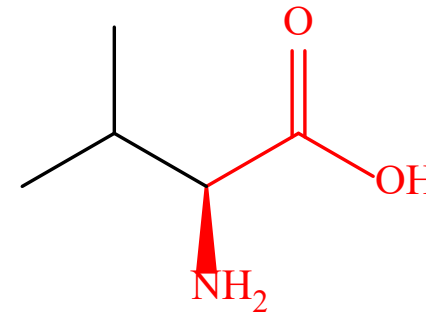
Фенилаланин, Фен
Phe



Изолейцин, Иле
Ile

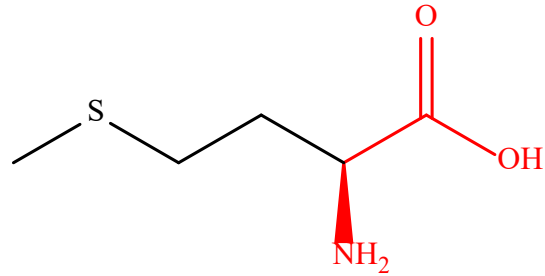


Лейцин, Лей
Leu

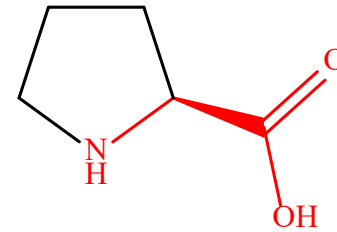


Валин, Вал
Val

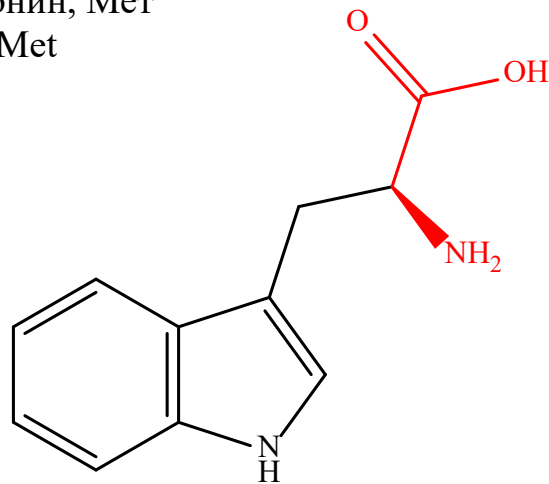
2.1 Аминокислоты с неполярными (гидрофобными) радикалами



Метионин, Мет
Met

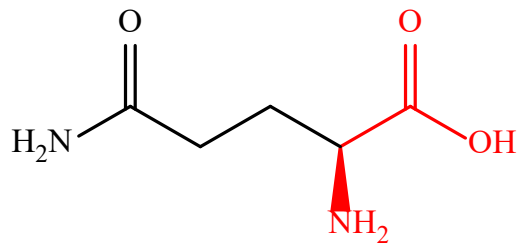


Пролин, Про
Pro

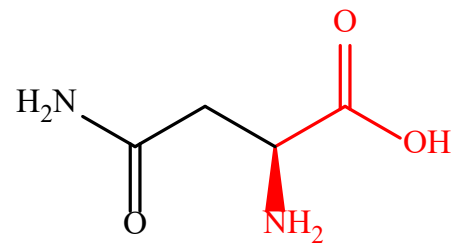


Триптофан, Три
Trp

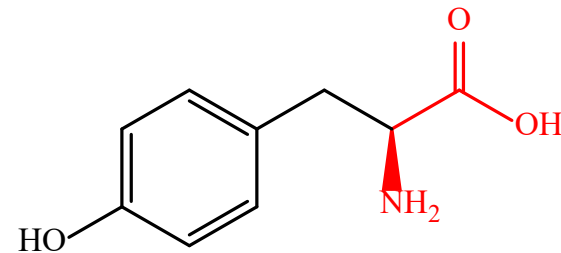
2.2 Аминокислоты с полярными неионогенными радикалами



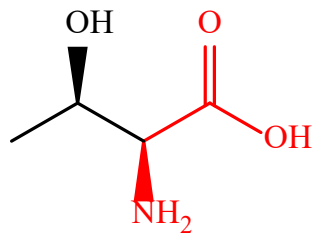
Глутамин, Глн
Gln



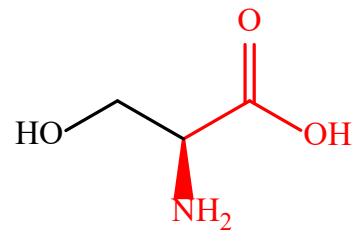
Аспарагин, Асн
Asn



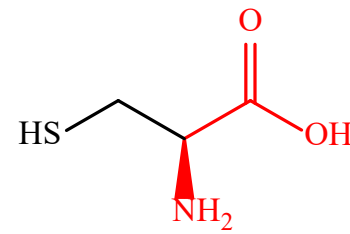
Тирозин, Тир
Tyr



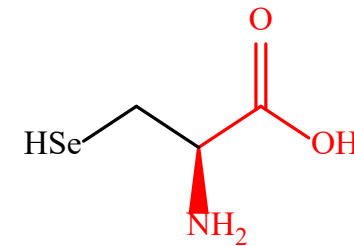
Треонин, Тре
Thr



Серин, Сер
Ser



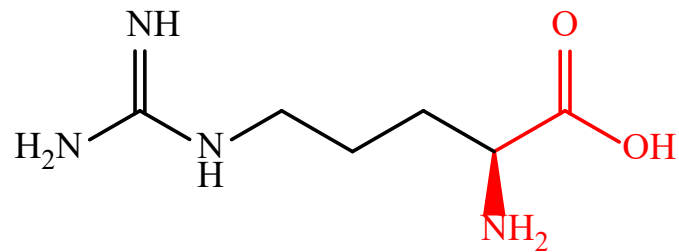
Цистеин, Цис
Cys



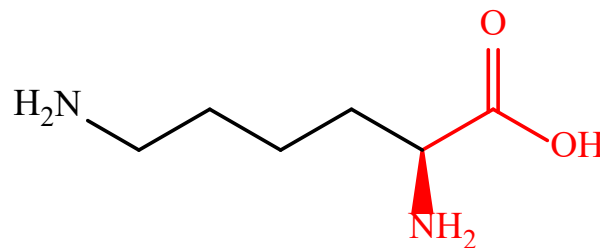
Селеноцистеин, Се-Цис
Sec

2.3. Аминокислоты с полярными ионогенными радикалами

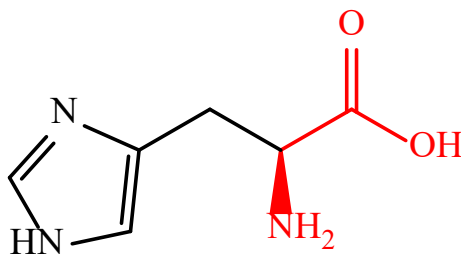
2.3.1. Положительно заряженный в растворе радикал



Аргинин, Арг
Arg



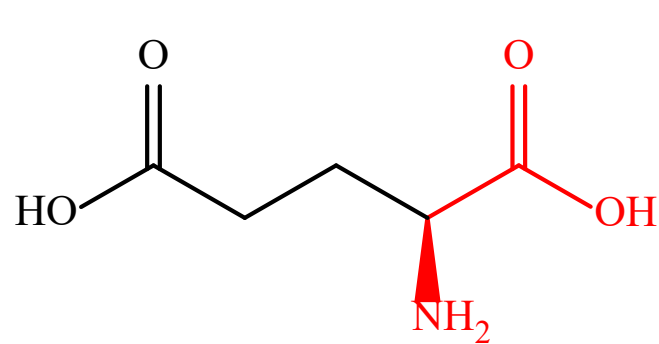
Лизин, Лиз
Lys



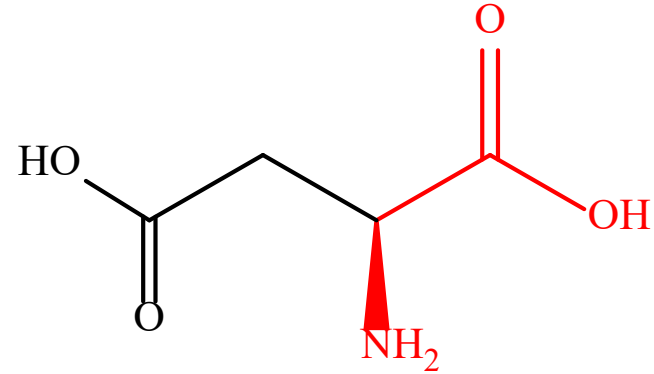
Гистидин, Гис
His

2.3 Аминокислоты с полярными ионогенными радикалами

2.3.2 Отрицательно заряженный в растворе радикал



Глутаминовая кислота, Глу
Glu



Аспарагиновая кислота, Асп
Asp

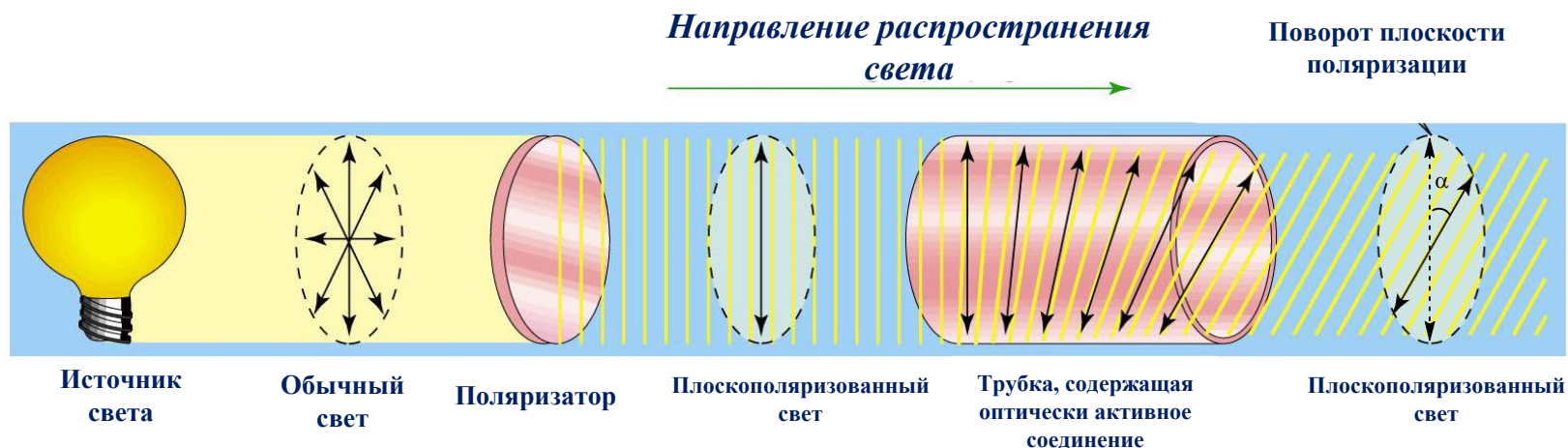
3. По биологической роли (заменимые и незаменимые)

- заменимые аминокислоты (**Ала, Асп, Асн, Глу, Гли, Про, Гли, Сер**) — синтезируются в организме;
- незаменимые аминокислоты (**Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три, Лиз, Се-Цис**) — должны поступать с пищей;
- частично заменимые аминокислоты (**Гис, Арг**) — синтезируются медленно и в недостаточном количестве, особенно в детском возрасте;
- условно заменимые аминокислоты (**Цис, Тир**) — синтезируются из незаменимых аминокислот **Мет** и **Фен**, соответственно.

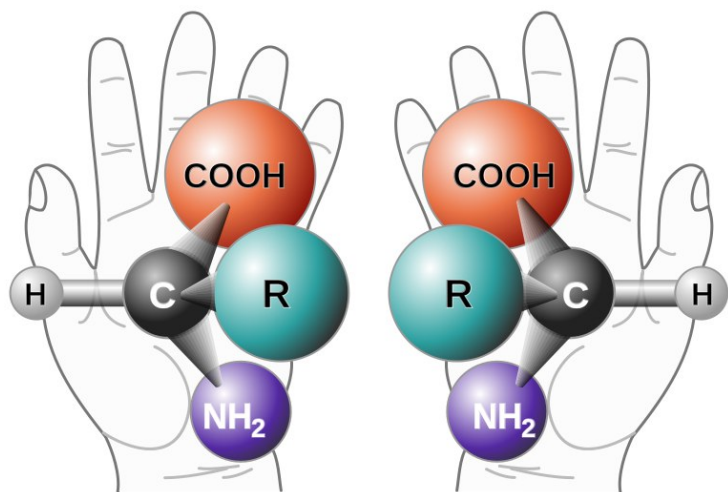
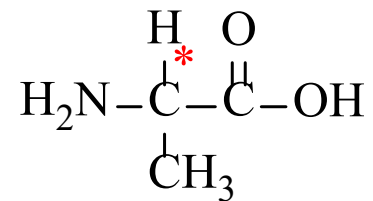
Физические свойства аминокислот

- Белые кристаллические вещества;
- высокие температуры плавления (более 200 °С);
- растворимы в воде;
- α -АК (кроме глицина) являются хиральными, *оптически активны*.

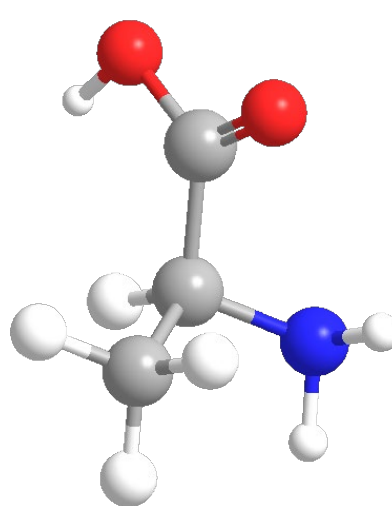
Оптическая активность — способность раствора или кристалла хиральной молекулы вращать плоскость плоскополяризованного света на определенный угол α .



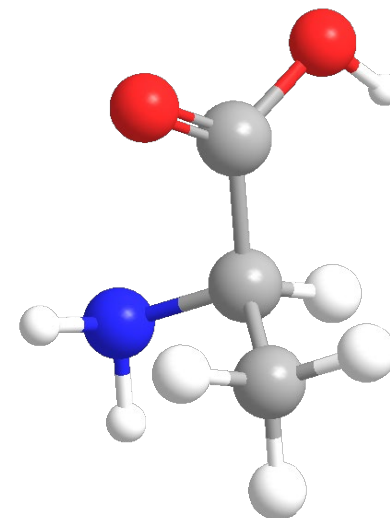
Хиральными являются молекулы, содержащие асимметрический атом углерода (хиральный центр).



Стереοизомерные формы отличающиеся конфигурацией асимметрического атома углерода.



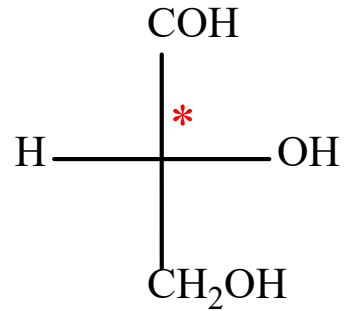
D-аланин



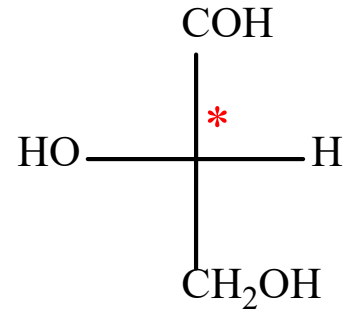
L-аланин

Проекции Фишера

Конфигурационный стандарт — глицериновый альдегид.



D-глицеральдегид

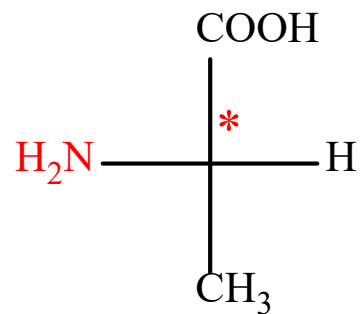


L-глицеральдегид

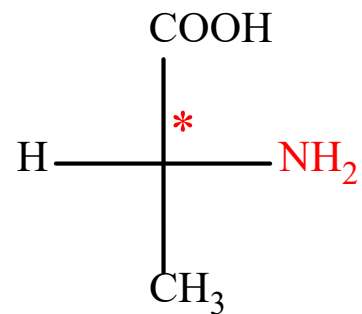
Энанτιомеры — это стереоизомеры, молекулы которых относятся друг к другу как предмет и несовместимое с ним зеркальное отображение (оптические изомеры, которые отличаются оптической конфигурацией всех асимметрических атомов углерода).

Правила построения проекций Фишера:

1. Асимметрические атомы углерода представлены в виде пересечения линий связи;
2. Углеводородный скелет располагается вертикально;
3. Нумерация атомов углерода производится сверху вниз от главной функциональной группы;
4. Расположение заместителей, связанных с асимметрическим атомом углерода, обусловлено природой изомера:
 - у D-аминокислот NH_2 -группа расположена справа (*как в D-глицериновом альдегиде*);
 - у L-аминокислот NH_2 -группа расположена слева (*как в L-глицериновом альдегиде*).

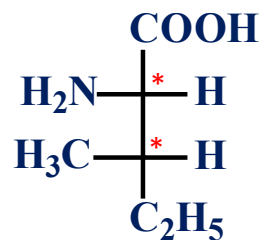


L-аланин

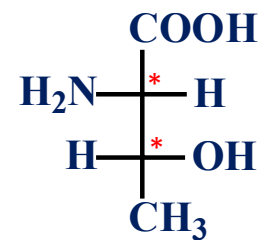


D-аланин

Примеры α-аминокислот с двумя центрами хиральности



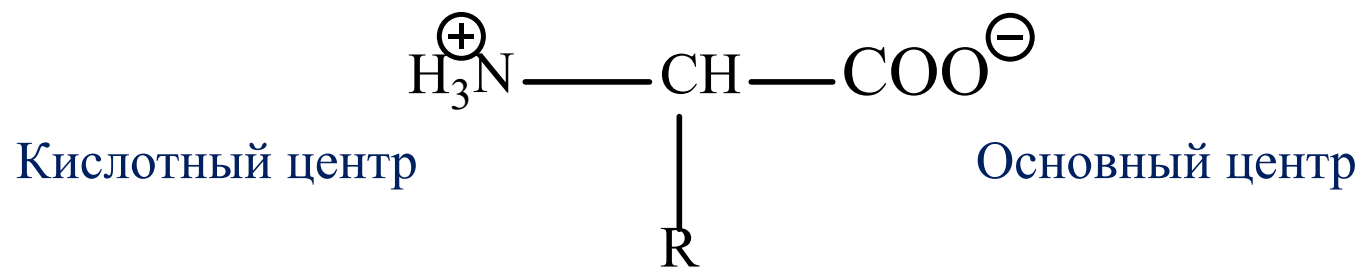
L-изолейцин



L-треонин

Амфотерность α -аминокислот

Нейтральные α -АК в водных растворах при $\text{pH} \approx 7$ и в кристаллическом состоянии существуют в виде цвиттер-ионов:



Цвиттер-ион, внутренняя соль - биполярный ион

Аминокислоты в водных растворах

1. Нейтральные аминокислоты (Ала, Вал, Лей, Иле, Сер, Тре, Асн, Глн, Мет, Фен, Про, Три) и Гли в растворах существуют в трёх формах.



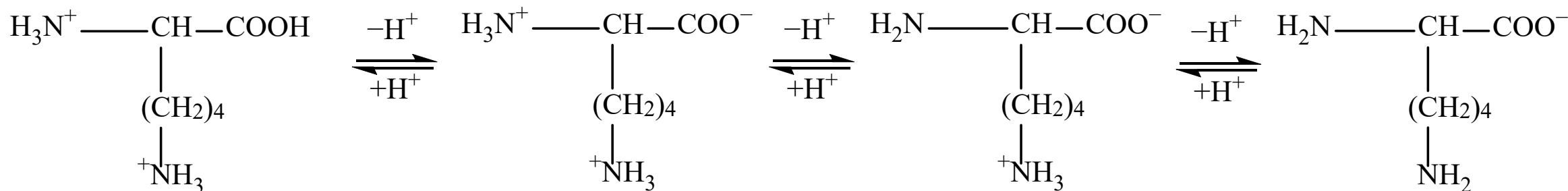
R — боковые радикалы соответствующих нейтральных аминокислот.

$$pI = \text{ИЭТ} = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

Изоэлектрическая точка (ИЭТ) – значение рН (рI), при котором амфолит находится в **изоэлектрическом состоянии**, то есть при котором концентрация биполярных ионов максимальна, а концентрации катионной и анионной форм минимальны и равны друг другу.

Аминокислоты	pK _a			pI
	-COOH	-NH ₃ ⁺	Ионогенных групп в боковом фрагменте	
Нейтральные				
Аланин	2,3	9,7		6,0
Аспарагин	2,0	8,8		5,4
Валин	2,3	9,6		6,0
Глицин	2,3	9,6		6,0
Глутамин	2,2	9,1		5,7
Изолейцин	2,4	9,7		6,1
Лейцин	2,4	9,6		6,0
Метионин	2,3	9,2		5,8
Пролин	2,0	10,6		6,3
Селеноцистеин	2,5	9,5	5,2	3,9
Серин	2,2	9,2		5,7
Тирозин	2,2	9,1	10,1	5,7
Треонин	2,6	10,4		5,6
Триптофан	2,4	9,4		5,9
Фенилаланин	1,8	9,1		5,5
Цистеин	1,7	10,8	8,3	5,0
Кислые				
Аспарагиновая	2,1	9,8	3,9	3,0
Глутаминовая	2,2	9,7	4,3	3,2
Оснóвные				
Аргинин	2,2	9,0	12,5	10,8
Гистидин	1,8	9,2	6,0	7,6
Лизин	2,2	9,0	10,4	9,8

2. Основные аминокислоты :



дикатион

Лиз²⁺

pH << pI

pK_{-COOH} = 2,2

катион

Лиз⁺

pH < pI

pK_{-⁺NH₃} = 9,0

цвиттер-ион

Лиз[±]

pH = pI = 9,8

pK_{-⁺NH₃} = 10,45

анион

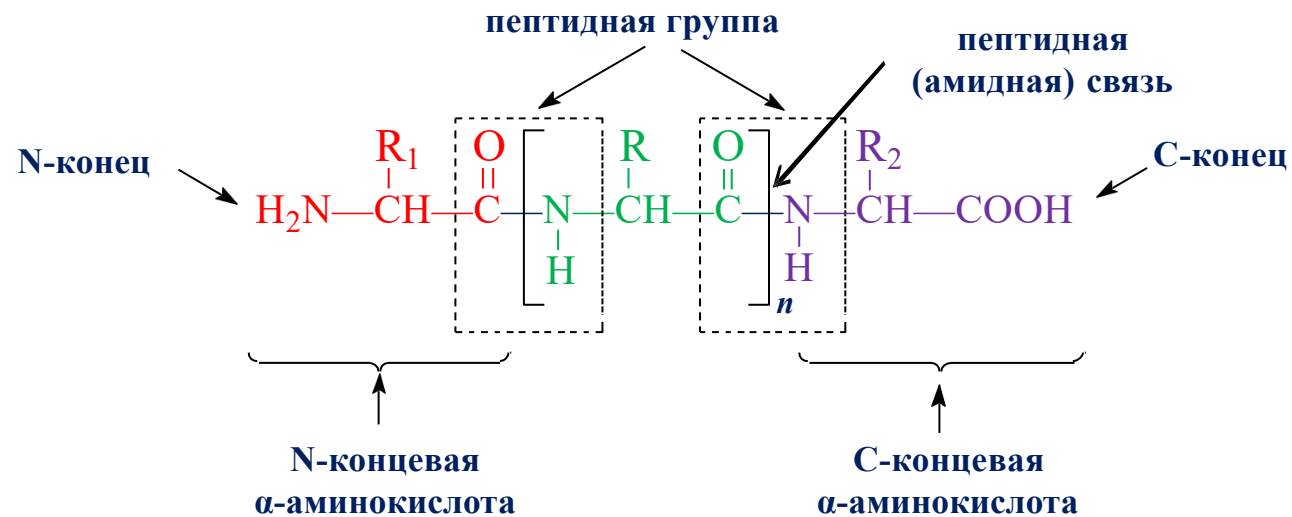
Лиз⁻

pH > pI

Основные свойства АК преобладают, среда водного раствора слабощелочная pI > 7 (pI в щелочной среде)

Пептиды

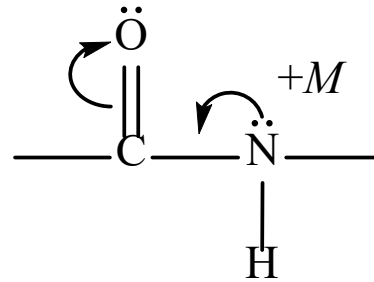
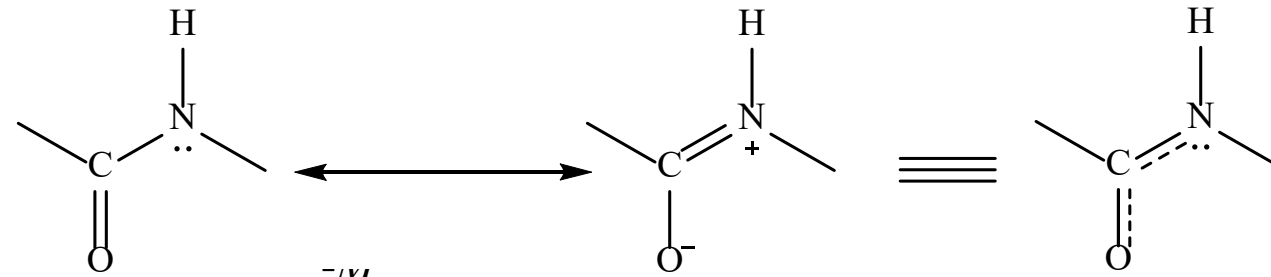
Пептиды — вещества, в которых остатки аминокислот соединены друг с другом амидной (пептидной) связью за счёт карбоксильной группы одной и аминогруппы другой аминокислоты.



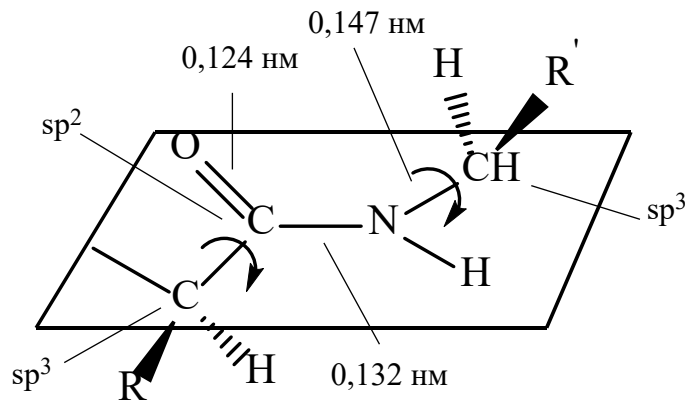
Пептиды и белки

- пептиды — до 100 аминокислотных остатков (олигопептиды — до 10);
- белки — обычно более 100 аминокислотных остатков, образующих сложные пространственные структуры.

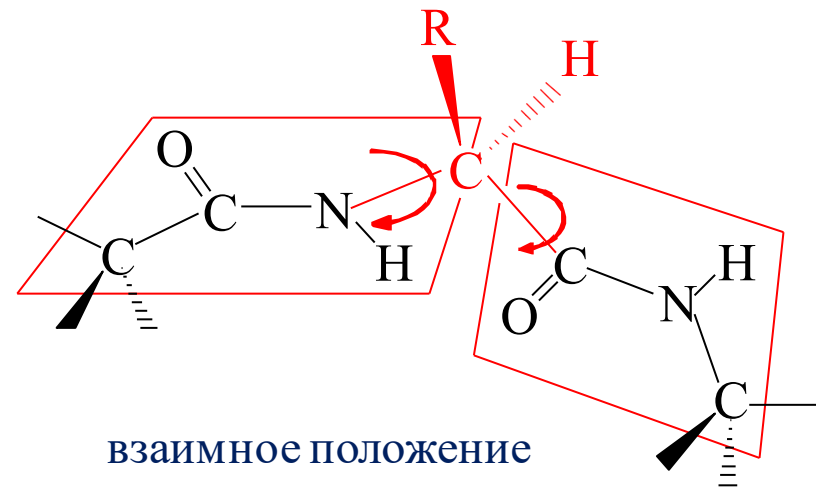
Строение пептидной группы



$+M$ и $-M$ — эффекты
 $-\text{NH}-$ и $-\text{C}=\text{O}$ групп



плоскостное расположение пептидной
 группы $-\text{CONH}-$ и α -углеродных
 атомов аминокислотных остатков



взаимное положение
 плоскостей пептидных групп

Строение пептидов и белков

Уровни организации пептидов и белков

Первичная структура.

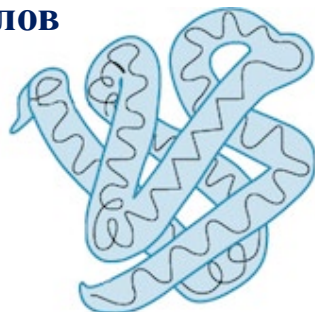
Количество и последовательность аминокислотных остатков, связанных между собой пептидными связями.

Аминокислоты



Третичная структура.

Трёхмерная укладка полипептидной цепи за счёт внутримолекулярного взаимодействия боковых радикалов аминокислот (водородные и дисульфидные связи, ионные и гидрофобные взаимодействия).



Вторичная структура.

Конформация полипептидной цепи, возникающая за счёт водородных связей $(C)=O-H-(N)$ между близкими пептидными группами в составе скелета молекулы.

β -структура



α -спираль



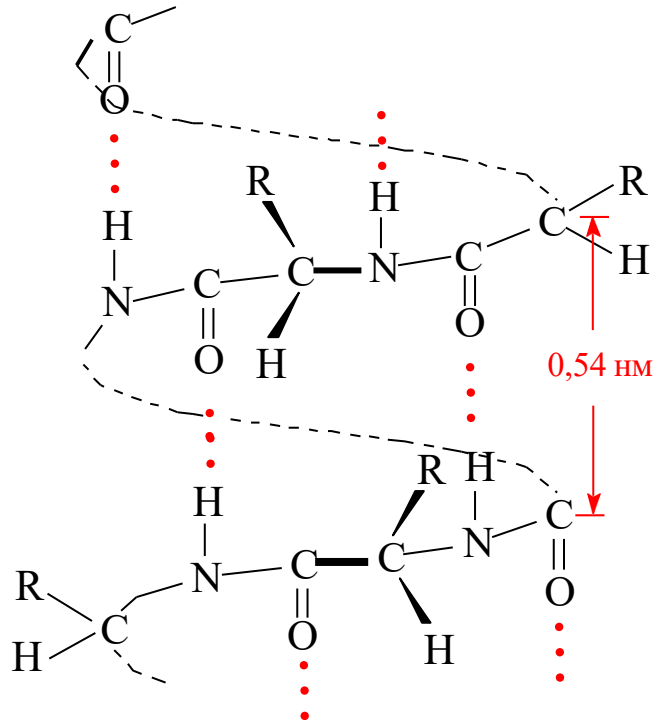
Четвертичная структура.

Встречается при образовании единых белковых комплексов, включающих несколько полипептидных цепей.



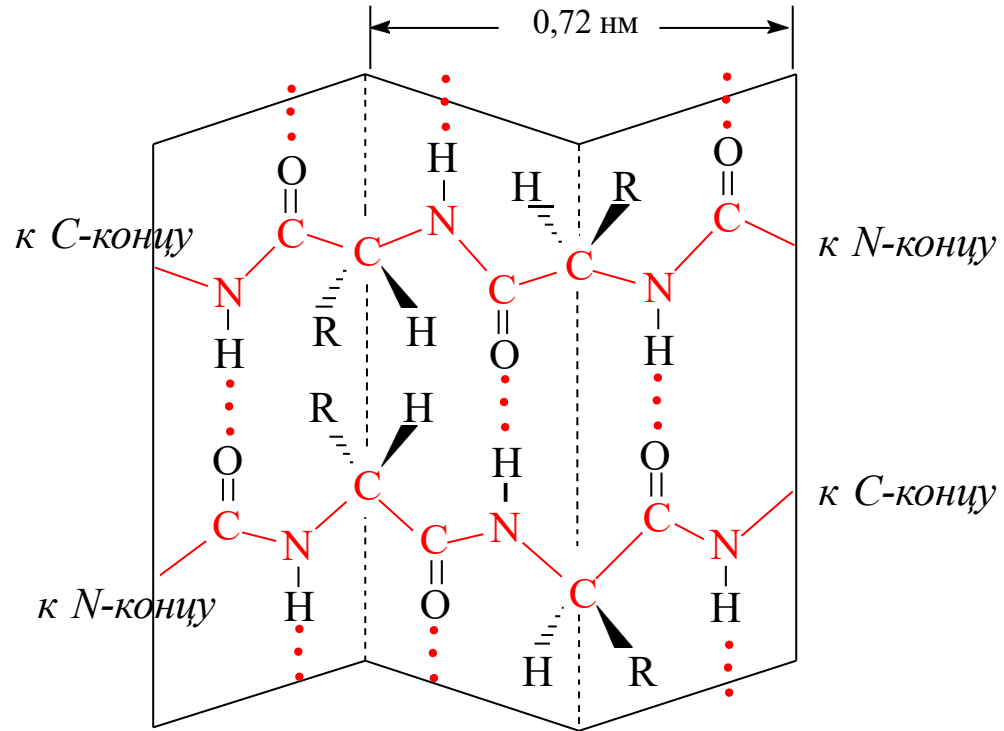
В сумме вторичная, третичная и (если она есть) четвертичная структуры определяют конформацию белка.

α -Спираль



на один виток — 3,6
аминокислотных остатка,
Н-связи $C=O \cdots H-N$
(1—5) закрепляют
конформацию

β -Структура (складчатый лист)



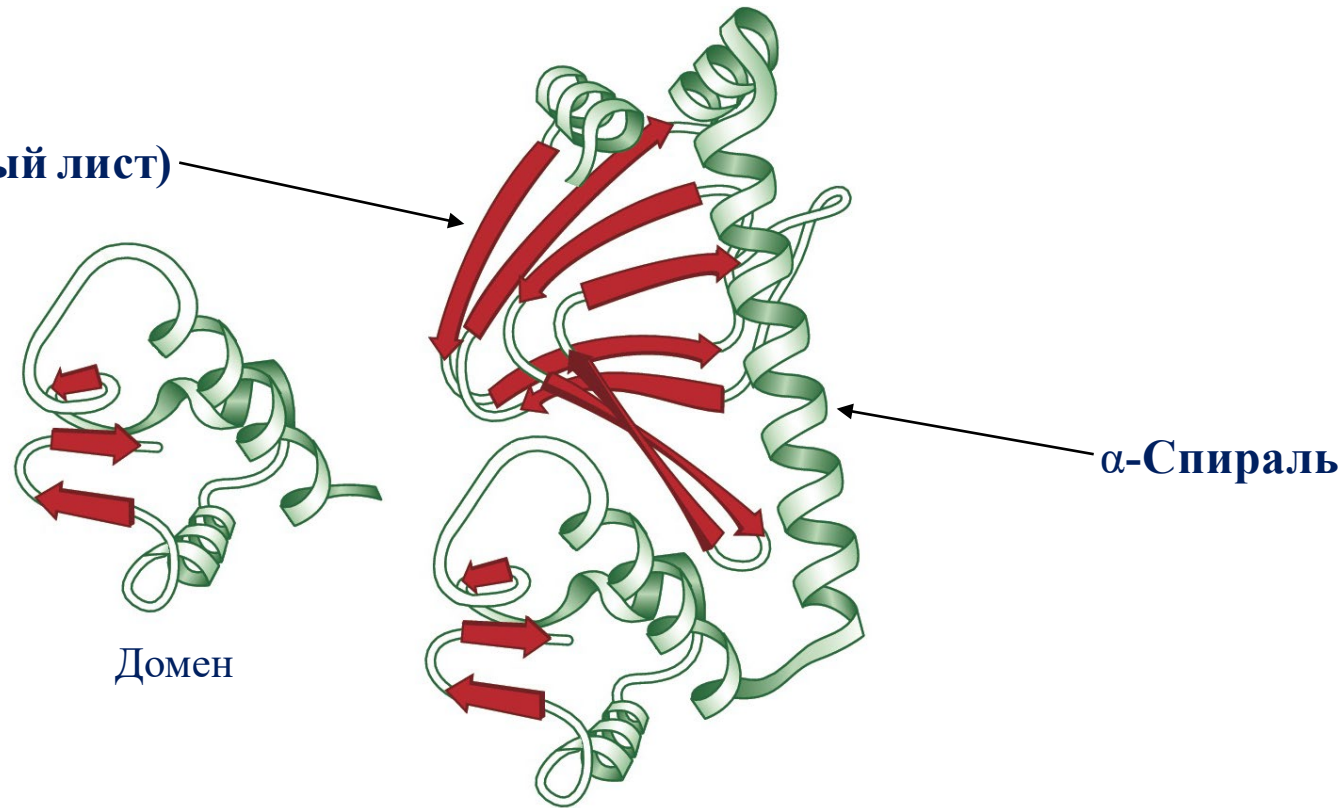
Н-Связи между
пептидными группами
различных цепей

Уровни структурной организации белков

Третичная структура

Конформация всей макромолекулы, т.е. взаимное расположение в пространстве элементов одиночной полипептидной цепи, обусловленное взаимодействием элементов вторичной структуры как близлежащих, так и отдаленных аминокислотных остатков.

β -Структура (складчатый лист)



Домен

α -Спираль

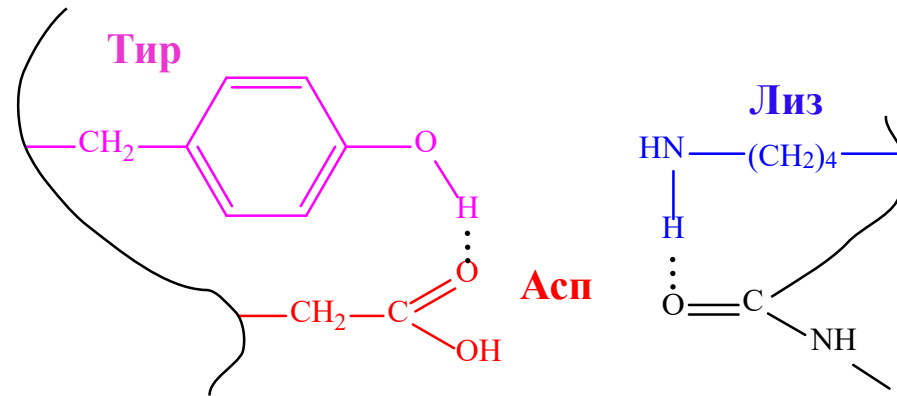
Субъединица белка (мономер)

Уровни структурной организации белков

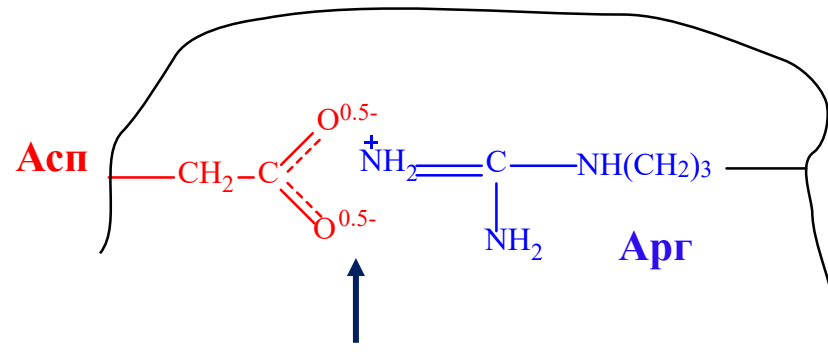
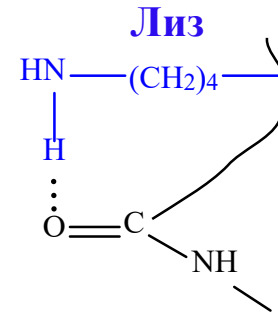
Третичная структура

Типы связей, стабилизирующих третичную структуру

Водородные связи между остатками тирозина и аспарагиновой кислоты

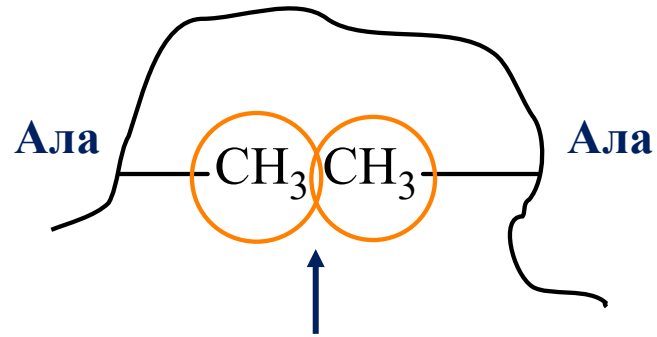


Водородные связи между остатком лизина и кислородом пептидной группы



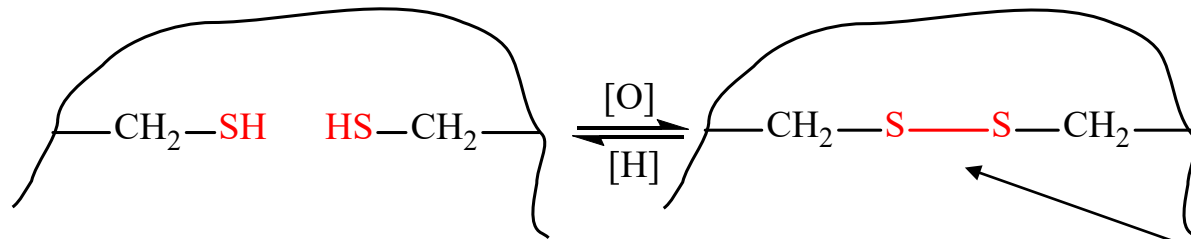
Ионное взаимодействие между ионногенными группами боковых радикалов

Уровни структурной организации белков

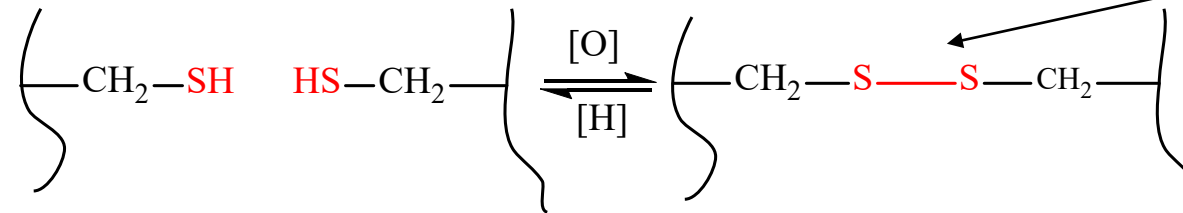


Гидрофобное взаимодействие между неполярными радикалами на примере двух остатков Ала

Полипептидная цепь



Две полипептидные цепи

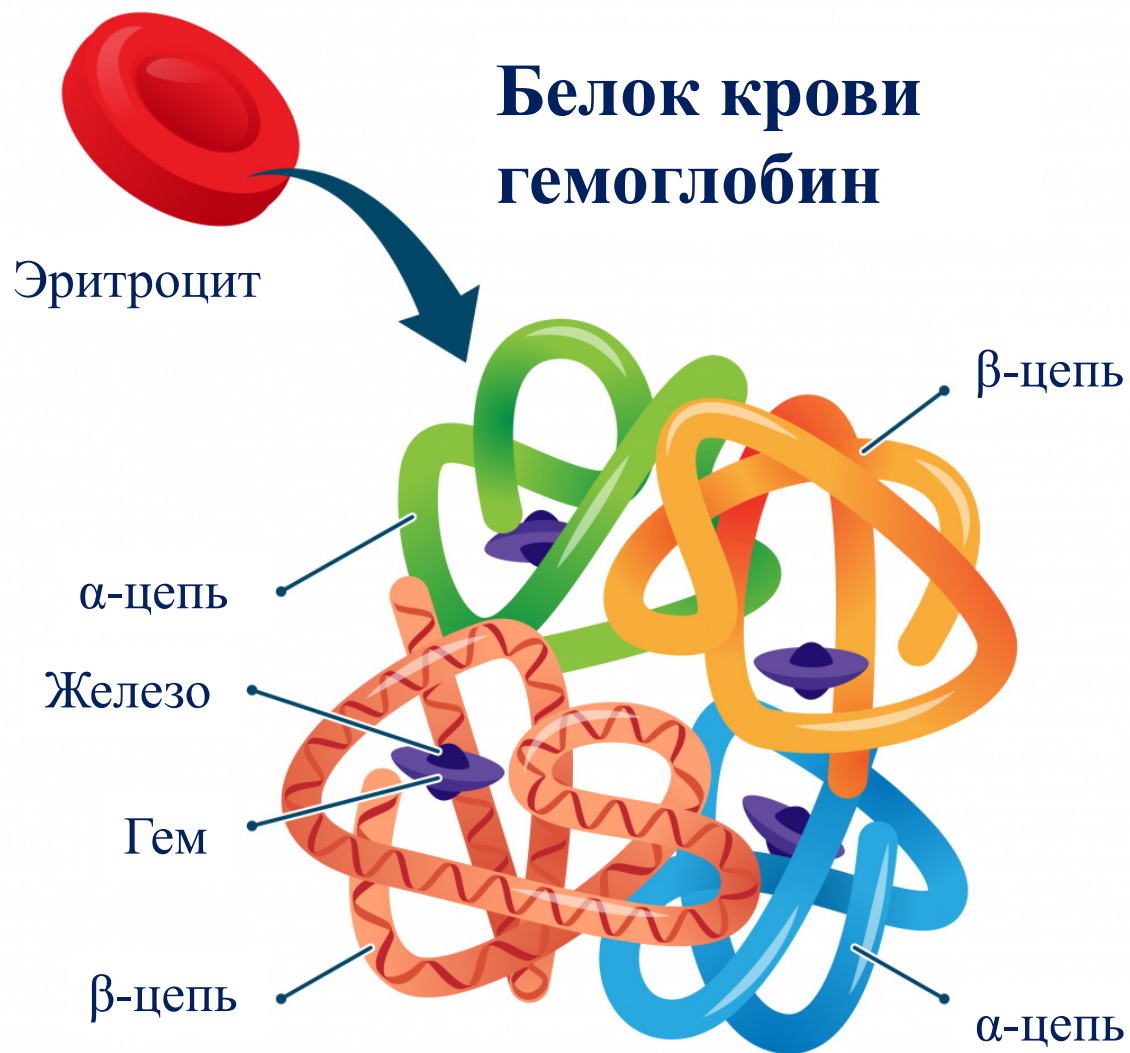


Дисульфидные связи

Уровни структурной организации белков

Четвертичная структура

Макромолекулы, образующие трехмерные ассоциаты, состоящие из нескольких полипептидных цепей, которые не связаны между собой ковалентными связями. Каждую отдельную цепь такого ассоциата называют субъединицей. Четвертичная структура формируется за счет водородных связей и гидрофобных взаимодействий между субъединицами.



Зарядовые состояния белка в зависимости от рН раствора

— пептиды и белки являются полиамфолитами

— в водных растворах существуют в поликатионной, полианионной или цвиттер-ионной формах, заряд и концентрация которых зависит от рН и количества кислотных и основных групп в молекуле.

— эти свойства лежат в основе **разделения** белковых смесей методами электрофореза и ионообменной хроматографии.

рН раствора	Суммарный заряд белка	Направление движения при электрофорезе	Ионит
$\text{pH} = \text{pI}$	0 цвиттер-ион	электрофоретически неподвижен	не адсорбируется ионитом
$\text{pH} < \text{pI}$	x^+ поликатион	движется к катоду	адсорбируется катионитом
$\text{pH} > \text{pI}$	y^- полианион	движется к аноду	адсорбируется анионитом

Классификация белков

По α -АК составу пептиды и белки классифицируют на три класса:

- нейтральные – количество кислотных и основных центров одинаково $pI \approx 7$;
- кислые – количество кислотных центров больше количества основных $pI < 7$;
- основные – количество основных центров больше количества кислотных $pI > 7$,

где pI – **изоэлектрическая точка** — значение pH раствора пептида или белка, при котором пептид или белок находится в изоэлектрическом состоянии (электронейтрален).

Аминокислотные и белковые буферные системы

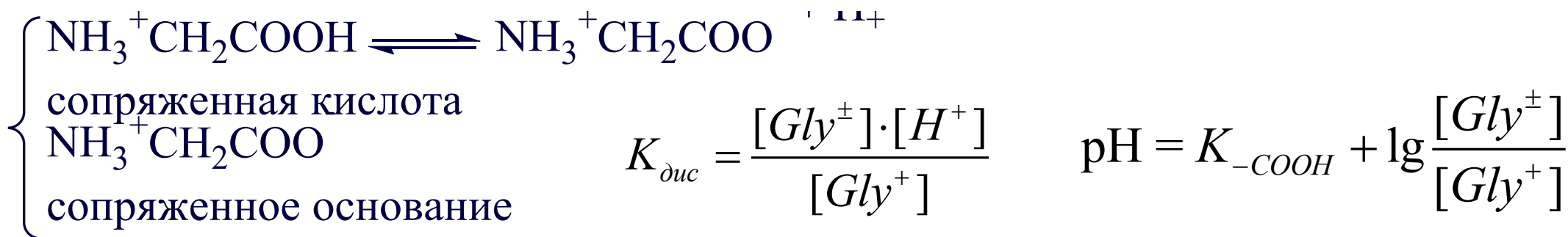
— Глициновая буферная система

1. pH раствора = pI глицина

глицин преимущественно в форме цвиттер-иона $^+\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{-COO}^-$

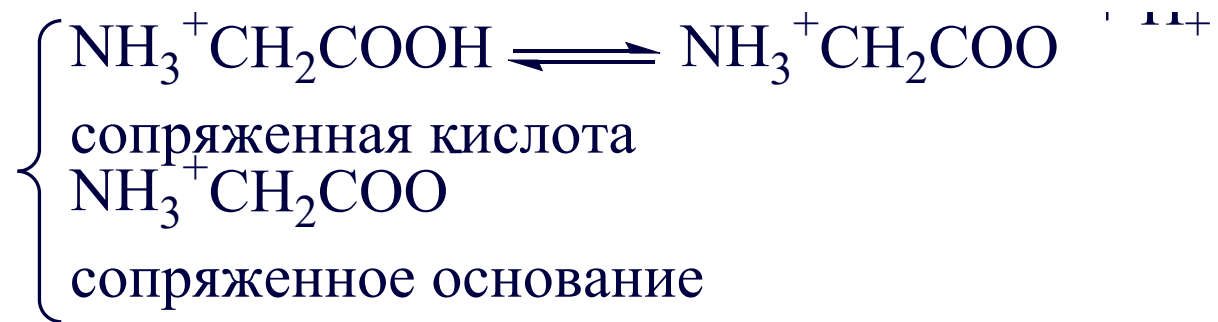
Буферное действие практически отсутствует.

2. pH раствора < pI глицина



Максимальная буферная емкость при $\text{pH} = \text{p}K_{-\text{COOH}} = 2,35$ $[\text{Gly}^+] = [\text{Gly}^\pm]$

3. pH раствора > pI глицина



$$K_{\text{дис}} = \frac{[\text{Gly}^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{Gly}^\pm]}$$

$$\text{pH} = \text{p}K_{-\text{NH}_3} + \lg \frac{[\text{Gly}^-]}{[\text{Gly}^\pm]}$$

Максимальная буферная емкость при $\text{pH} = \text{p}K_{-\text{NH}_3} = 9,78$ $[\text{Gly}^-] = [\text{Gly}^\pm]$

Белковая буферная система

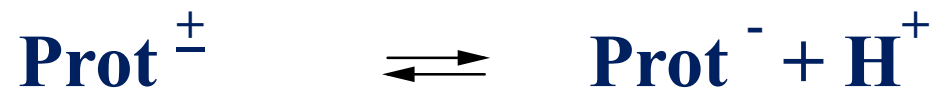
— pH раствора < pI белка



сопряженная
кислота

сопряженное
основание

— pH раствора > pI белка

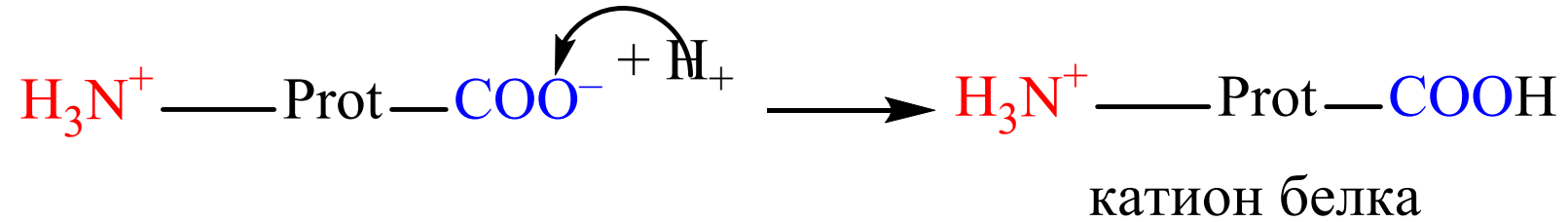


сопряженная
кислота

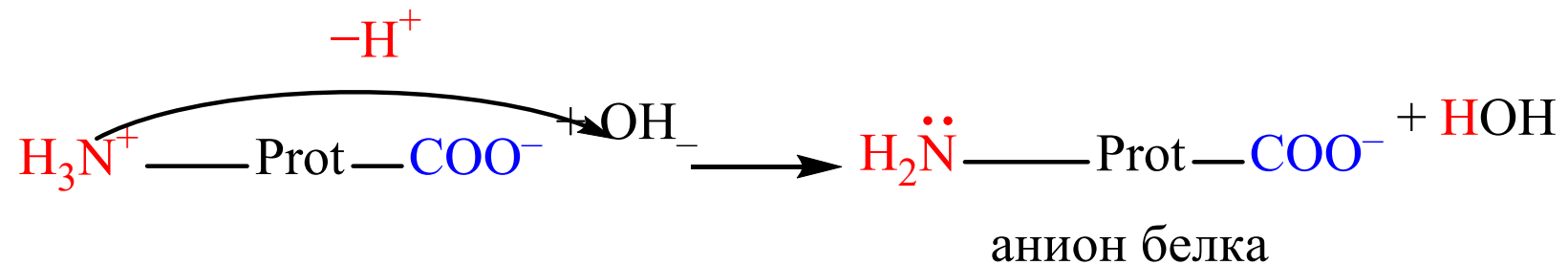
сопряженное
основание

Механизм действия

При добавлении сильной кислоты:



При добавлении щёлочи:



Механизм действия

Белковая буферная система поддерживает постоянство рН в клетках и тканях, причём:

катионная (R^+) — в средах с рН < 6;

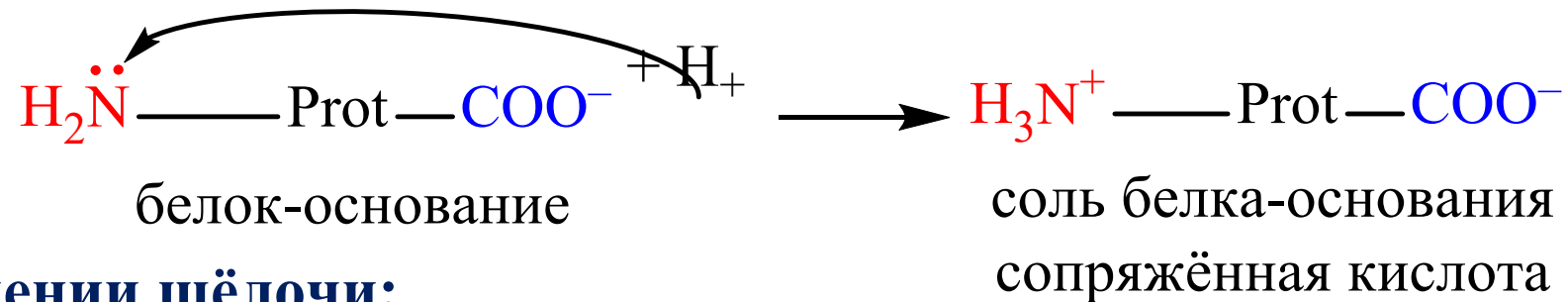
анионная (R^-) — в средах с рН > 6

В крови работает *анионная* белковая буферная система

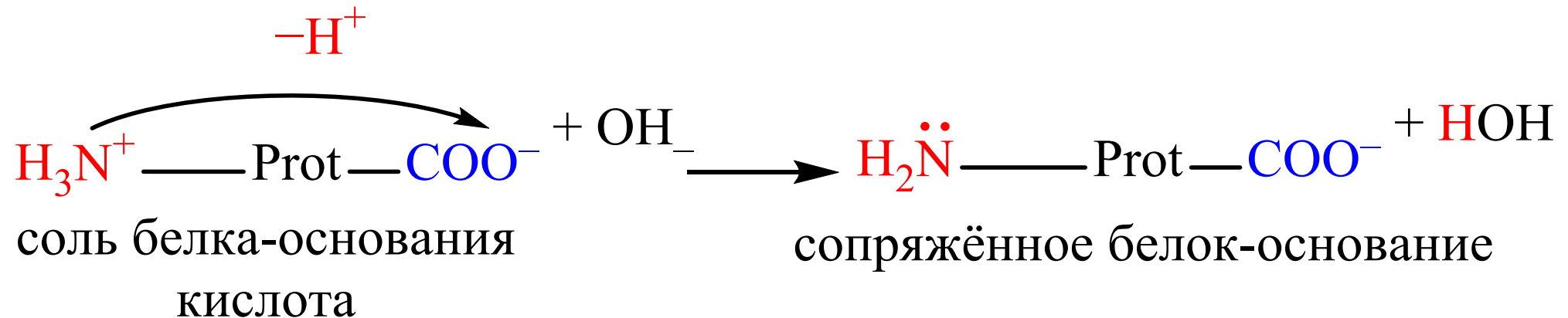
Попадающие на кожу человека небольшие количества кислоты или щёлочи довольно быстро нейтрализуются белковой буферной системой.

Механизм действия анионного белкового буфера

При добавлении сильной кислоты:

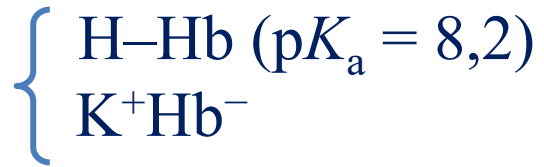


При добавлении щёлочи:



Гемоглибиновая буферная система

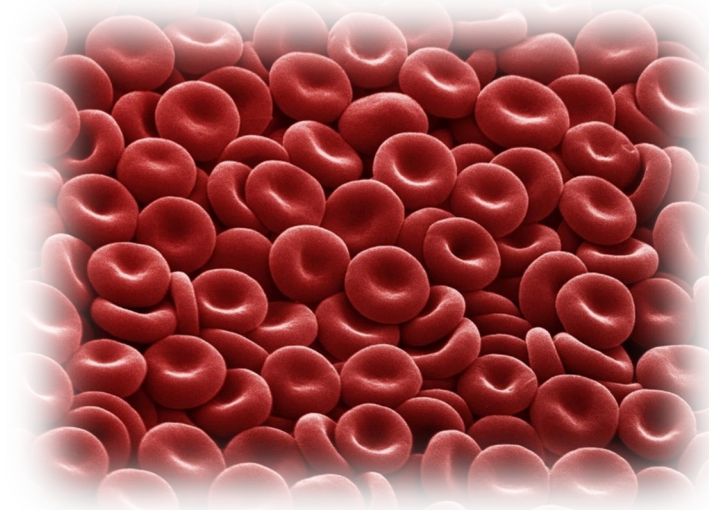
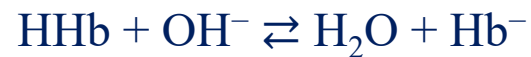
Гемоглибиновая



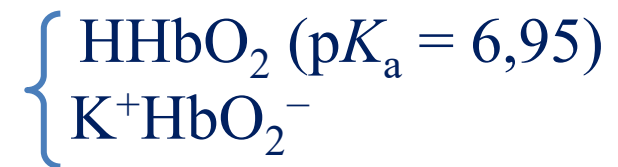
венозная кровь

pH = 7,32–7,36

$B_{\text{ш}} > B_{\text{к}}$



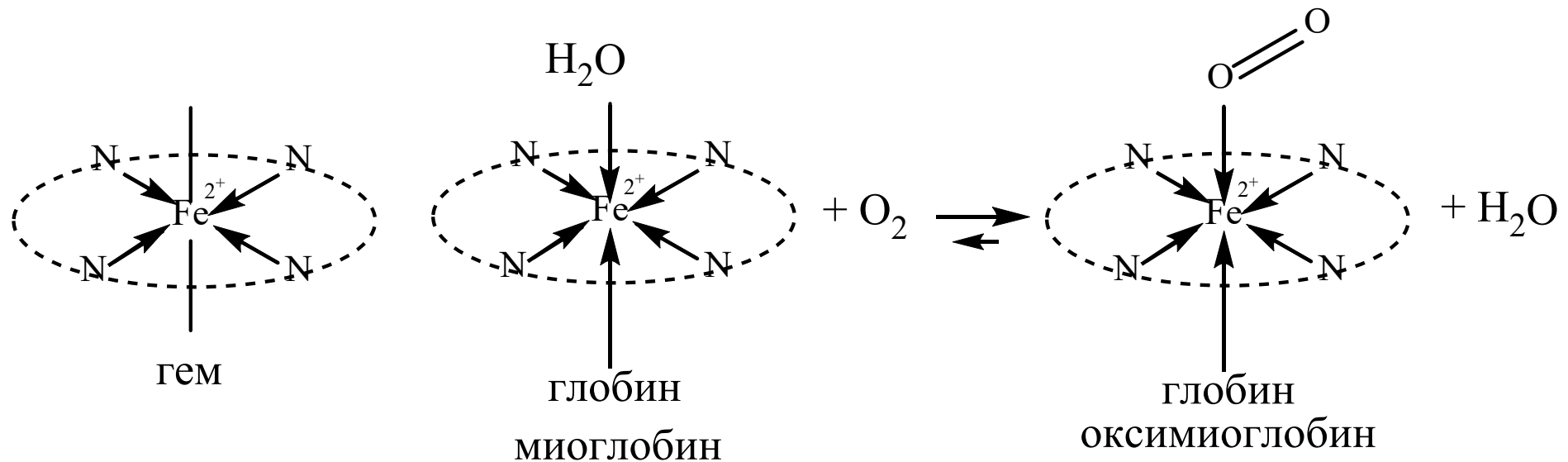
Оксигемоглибиновая



артериальная кровь

pH = 7,42–7,46

$B_{\text{к}} > B_{\text{ш}}$

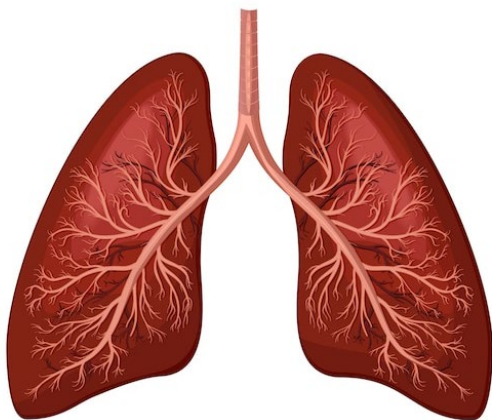


Кооперативное действие гидрокарбонатной и оксигемоглобиновой буферной систем

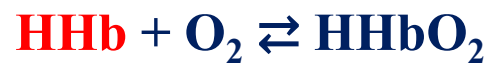


Оксигемоглобин — более сильная кислота, чем гемоглобин, но слабее угольной кислоты!

Кооперативное действие гидрокарбонатной и оксигемоглобиновой буферной систем



В лёгких:



(ВДОХ)

Карбонатгидраза

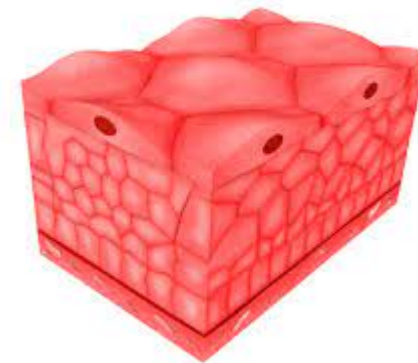


(ВЫДОХ)

В тканях:



Карбонатгидраза



Алгоритм решения задач

1. Рассчитать рН раствора.
2. Сравнить рН и рI АК.
3. Записать формулу буферного раствора.
4. Выбрать преобразованное уравнение Гендерсона – Гассельбаха и произвести расчёт.