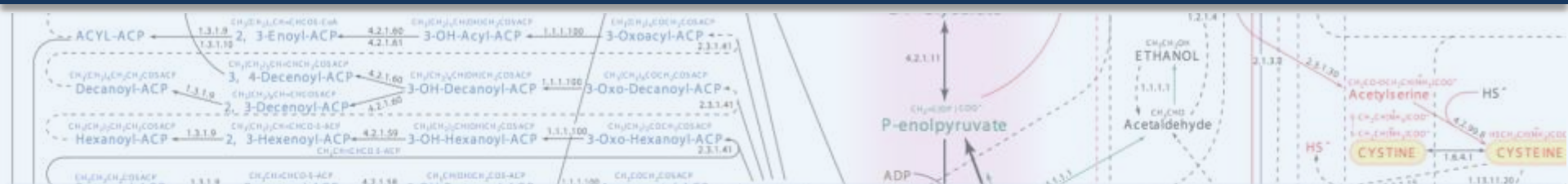


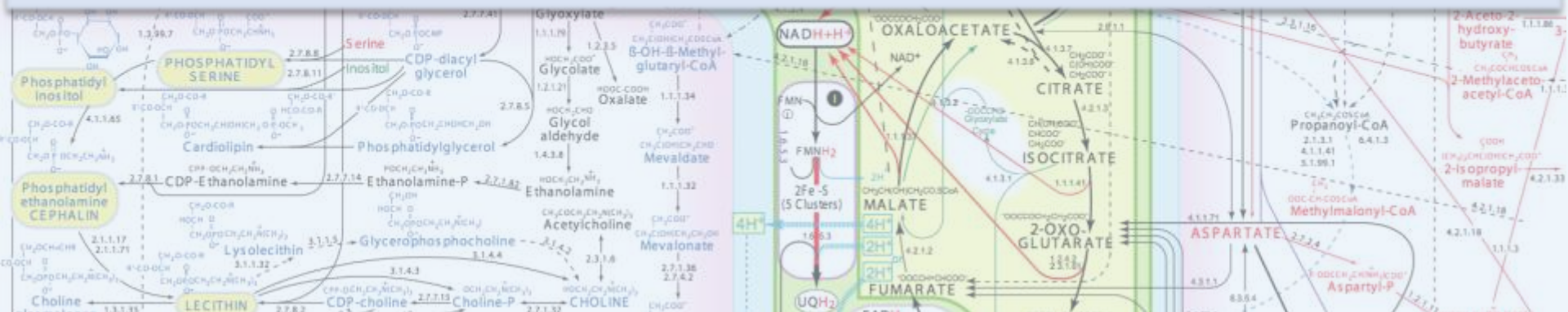
«ЭНЗИМОЛОГИЯ»

Курс лекций кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ
для студентов медико-биологического факультета



Тема лекции:

«Физико-химические свойства ферментов.
Полиморфизм ферментов».



Молекулярная масса

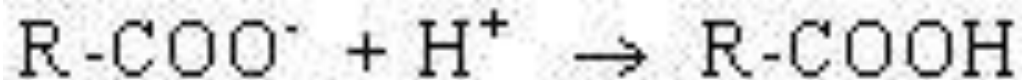
Фермент	Молекулярная масса	Фермент	Молекулярная масса
<i>Рибонуклеаза</i>	13 700	<i>Лактатдегидрогеназа</i>	140 000
<i>Цитохром с</i>	15 000	<i>Альдолаза</i>	142 000
<i>Трипсин</i>	23 800	<i>Каталаза</i>	248 000
<i>Пепсин</i>	32 000	<i>Глутаматдегидрогеназа</i>	336 000
<i>Гексокиназа</i>	45 000	<i>Уреаза</i>	480 000
<i>Щелочная фосфатаза</i>	80 000	<i>Пируватдегидрогеназа (комплекс)</i>	4 500 000

Молекулярная масса

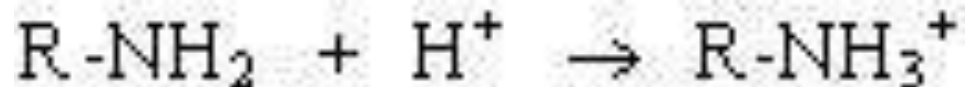
- В молекулах белков может содержаться самое разное количество аминокислотных остатков - от 50 и до нескольких тысяч; относительные молекулярные массы белков также сильно колеблются - от нескольких тысяч (инсулин, рибонуклеаза) до миллиона (глутаматдегидрогеназа) и более. Число полипептидных цепей в составе белков может составлять от единицы до нескольких десятков и даже тысяч. Так, в состав белка вируса табачной мозаики входит 2120 протомеров.
- Зная относительную молекулярную массу белка, можно приблизительно оценить, какое число аминокислотных остатков входит в его состав. Средняя относительная молекулярная масса аминокислот, образующих полипептидную цепь, равна 128. При образовании пептидной связи происходит отщепление молекулы воды, следовательно, средняя относительная масса аминокислотного остатка составит $128 - 18 = 110$. Используя эти данные, можно подсчитать, что белок с относительной молекулярной массой 100000 будет состоять приблизительно из 909 аминокислотных остатков.

Электрические свойства

Электрические свойства белков определяются присутствием на их поверхности положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков. Наличие заряженных группировок белка определяет суммарный заряд белковой молекулы. Если в белках преобладают отрицательно заряженные аминокислоты, то его молекула в нейтральном растворе будет иметь отрицательный заряд, если преобладают положительно заряженные – молекула будет иметь положительный заряд. Суммарный заряд белковой молекулы зависит и от кислотности (pH) среды. При увеличении концентрации ионов водорода (увеличении кислотности) происходит подавление диссоциации карбоксильных групп:

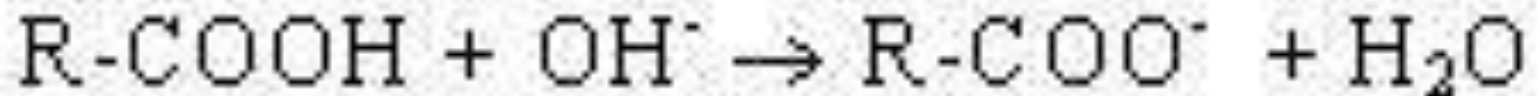


и в то же время увеличивается число протонированных амино-групп;

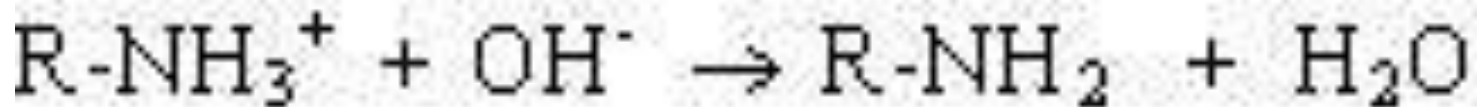


Электрические свойства

Таким образом, при увеличении кислотности среды происходит уменьшение на поверхности молекулы белка числа отрицательно заряженных и увеличение числа положительно заряженных групп. Совсем другая картина наблюдается при снижении концентрации ионов водорода и увеличении концентрации гидроксид-ионов. Число диссоциированных карбоксильных групп возрастает



и снижается число протонированных аминогрупп

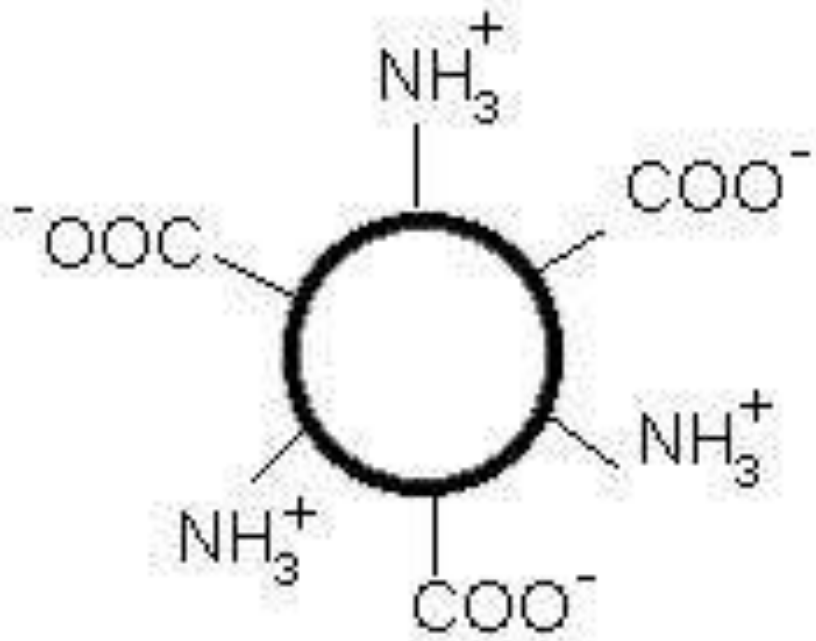


Электрические свойства

Изменяя кислотность среды, можно изменить и заряд молекулы белка. При увеличении кислотности среды в молекуле белка снижается число отрицательно заряженных группировок и увеличивается число положительно заряженных, молекула постепенно теряет отрицательный и приобретает положительный заряд. При снижении кислотности раствора наблюдается противоположная картина. Очевидно, что при определенных значениях pH молекула будет электронейтральной, т.е. число положительно заряженных групп будет равно числу отрицательно заряженных групп, и суммарный заряд молекулы будет равен нулю

Значение pH, при котором суммарный заряд белка равен нулю, называется изоэлектрической точкой и обозначается pI .

Электрические свойства



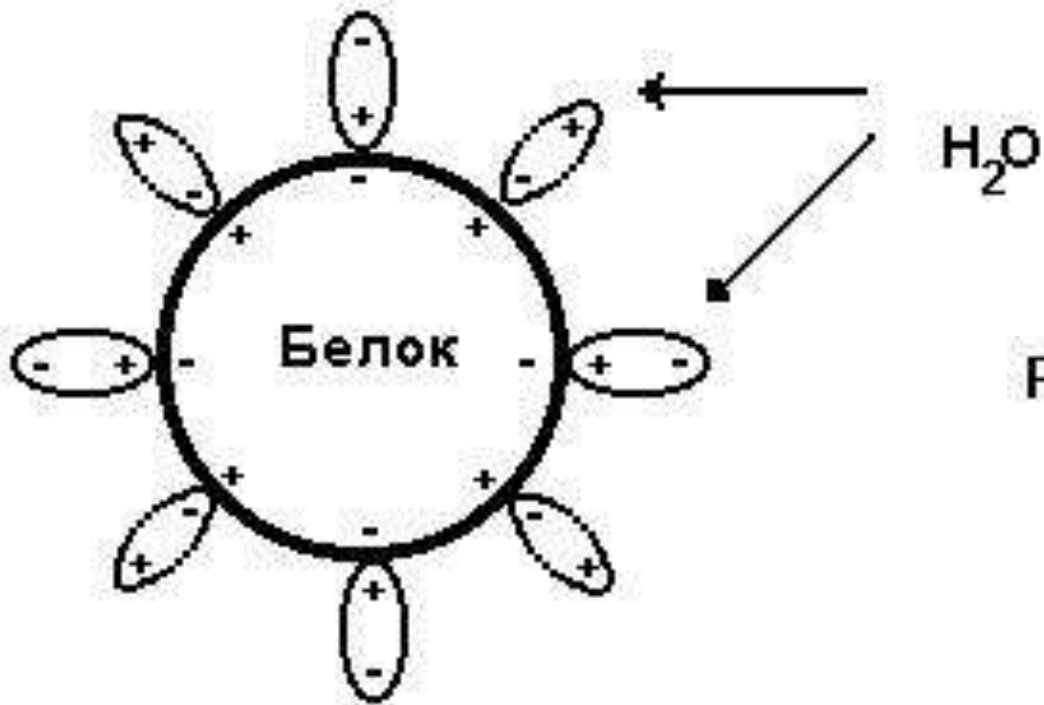
- В изоэлектрической точке суммарный заряд молекулы белка равен нулю
- Изоэлектрическая точка для большинства белков находится в области pH от 4,5 до 6,5.

Белок	pI
Пепсин	1,0
Каталаза	5,1
Рибонуклеаза	7,8
Лизоцим	11,0

Изоэлектрическая точка

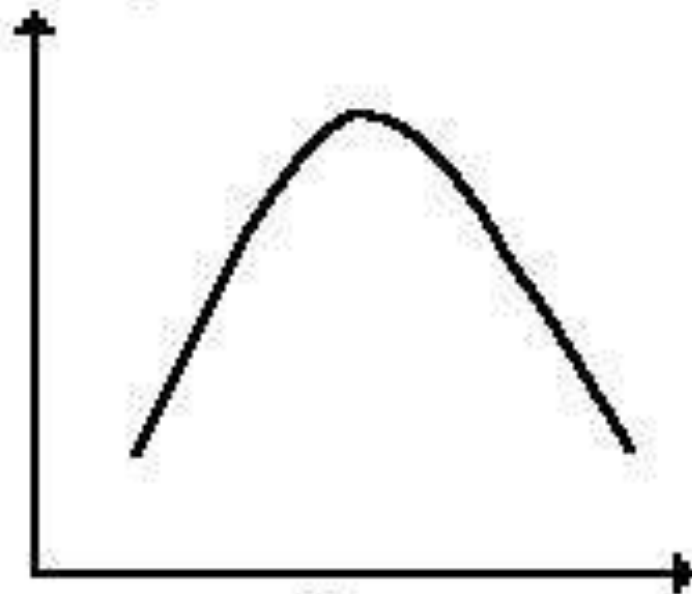
- При значениях pH ниже изоэлектрической точки белок несет суммарный положительный заряд, выше – суммарный отрицательный.
- В изоэлектрической точке растворимость белка минимальна, так как его молекулы в таком состоянии электронейтральны и между ними нет сил взаимного отталкивания, поэтому они могут «слипаться» за счет водородных и ионных связей, гидрофобных взаимодействий, ван-дер-ваальсовых сил.
- При значениях pH , отличающихся от pI , молекулы белка будут нести одинаковый заряд - либо положительный, либо отрицательный. В результате этого между молекулами будут существовать силы электростатического отталкивания, препятствующие их «слипанию», растворимость будет выше.

Растворимость



Образование гидратной оболочки вокруг молекулы белка.

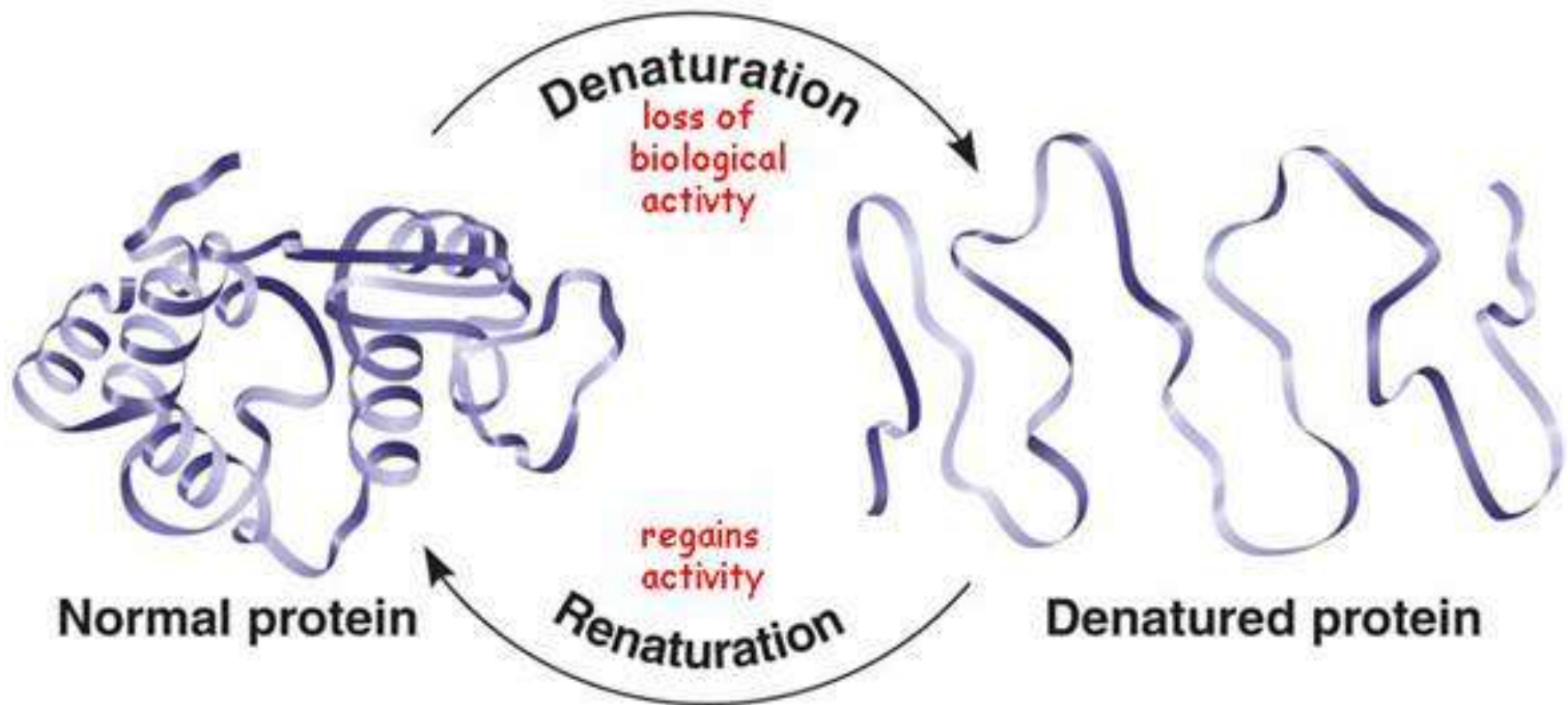
Растворимость



Зависимость растворимости белка от концентрации соли

Концентрация соли

Денатурация



Денатурация

Денатурация сопровождается потерей биологической активности белка.

- Уникальная трехмерная структура каждого белка разрушается, и все молекулы одного белка приобретают случайную конформацию, т.е. отличную от других таких же молекул.
- Радикалы аминокислот, формирующие активный центр белка, оказываются пространственно удаленными друг от друга, т.е. разрушается специфический центр связывания белка с лигандом.
- Гидрофобные радикалы, обычно находящиеся в гидрофобном ядре глобулярных белков, при денатурации оказываются на поверхности молекулы, тем самым создаются условия для агрегации белков. Агрегаты белков выпадают в осадок.
- При денатурации белков не происходит разрушения их первичной структуры. Удаление денатурирующих агентов диализом приводит к восстановлению конформации и функции белка, т.е. к ренативации (ренатурации).

Факторы, вызывающие денатурацию

Физические факторы

- ✓ Высокие температуры. Для разных белков характерна различная чувствительность к тепловому воздействию. Часть белков подвергается денатурации уже при 40-50°C. Такие белки называют термолабильными. Другие белки денатурируют при гораздо более высоких температурах, они являются термостабильными.
- ✓ Ультрафиолетовое облучение
- ✓ Рентгеновское и радиоактивное облучение
- ✓ Ультразвук
- ✓ Механическое воздействие (например, вибрация).

Факторы, вызывающие денатурацию

Химические факторы

- ✓ Концентрированные кислоты и щелочи. Например, трихлоруксусная кислота (органическая), азотная кислота (неорганическая).
- ✓ Соли тяжелых металлов (например, CuSO_4).
- ✓ Органические растворители (этиловый спирт, ацетон)
- ✓ Растительные алкалоиды.
- ✓ Мочевина в высоких концентрациях

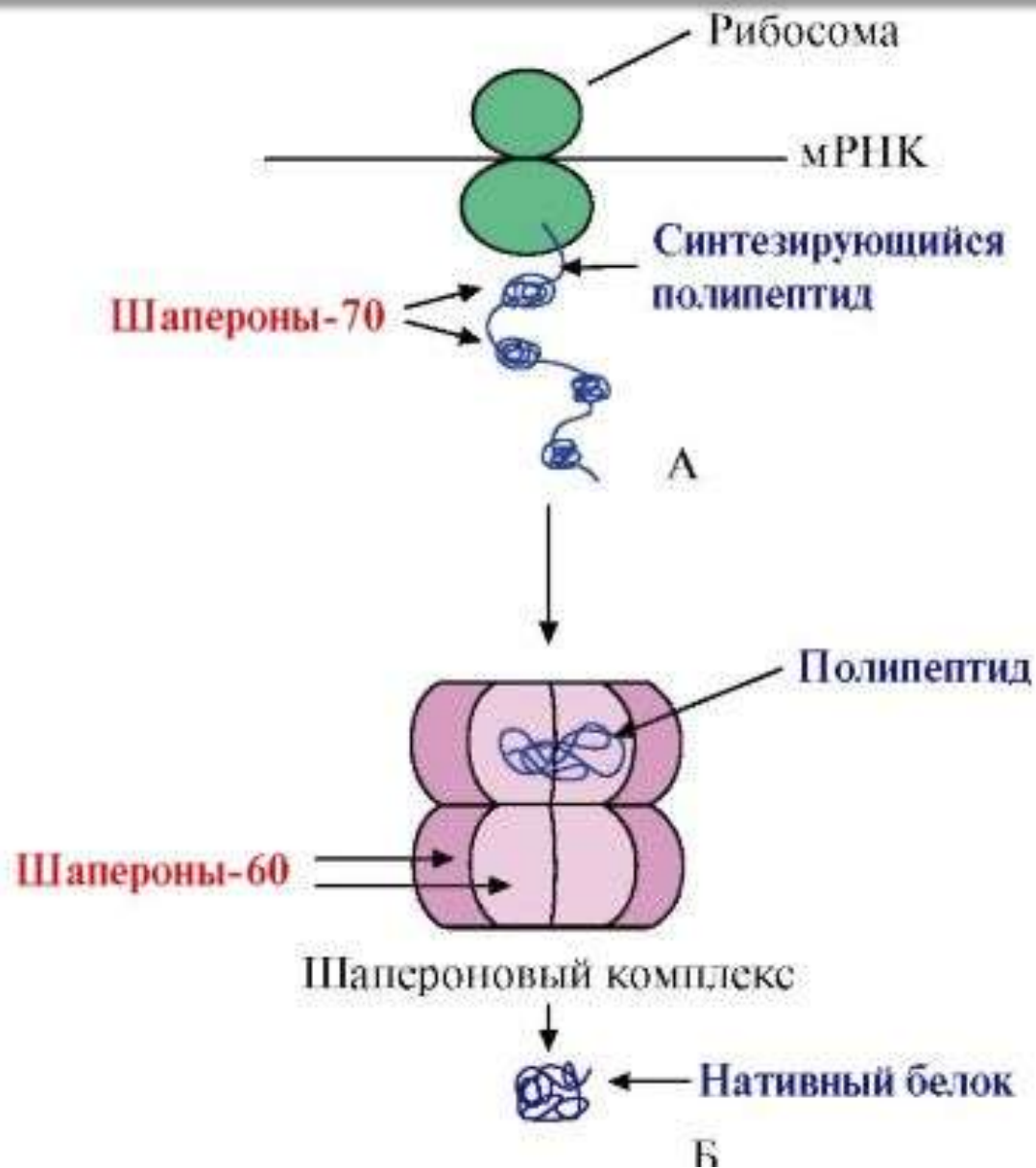
Фолдинг

Фолдинг белков – процесс сворачивания полипептидной цепи в правильную пространственную структуру.

При этом происходит сближение удаленных аминокислотных остатков полипептидной цепи, приводящее к формированию нативной структуры.

Эта структура обладает уникальной биологической активностью. Поэтому фолдинг является важной стадией преобразования генетической информации в механизмы функционирования клетки

Фолдинг



Фолдинг

В соответствии с молекулярной массой все шапероны можно разделить на 6 основных групп:

1. высокомолекулярные, с молекулярной массой от 100 до 110 кДа;
2. Ш-90 – с молекулярной массой от 83 до 90 кДа;
3. Ш-70 – с молекулярной массой от 66 до 78 кДа;
4. Ш-60;
5. Ш-40;
6. Низкомолекулярные шапероны с молекулярной массой от 15 до 30 кДа.

Фолдинг

В совокупности молекулы, участвующие в фолдинге белков, называют регуляторами фолдинга, среди которых выделяют несколько типов. Молекулы, ускоряющие фолдинг, называются **катализаторами фолдинга**. Молекулы, служащие для изменения формы белка, — **шаперонами фолдинга**. Существует четыре типа молекул, которые играют роль таких **шаперонов**.

1. Молекулы, обеспечивающие правильный фолдинг белков (**фолдинг-шапероны** — folding chaperones).
2. Молекулы, созданные для удержания частично свернутой молекулы белка в определенном положении. Это необходимо, чтобы система имела возможность закончить фолдинг (**удерживающие шапероны** — holding chaperones).
3. Шапероны, разворачивающие белки с неправильной формой (**дезагрегирующие шапероны** — disaggregating chaperones).
4. Шапероны, сопровождающие белки, транспортируемые через клеточную мембрану (**секреторные шапероны** — secretory chaperons).

Фолдинг

