

Физико - химические свойства биополимеров

Биополимеры – класс полимеров, встречающихся в природе в естественном виде, входящие в состав живых организмов: белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, лигнин.

Биополимеры состоят из одинаковых (или схожих) звеньев — мономеров. Мономеры белков — аминокислоты, нуклеиновых кислот — нуклеотиды, в полисахаридах — моносахариды.

Выделяют два типа биополимеров — регулярные (некоторые полисахариды) и нерегулярные (белки, нуклеиновые кислоты, некоторые полисахариды)

Белки

Белки имеют несколько уровней организации — первичная, вторичная, третичная, и иногда четвертичная. Первичная структура определяется последовательностью мономеров, вторичная задаётся внутри- и межмолекулярными взаимодействиями между мономерами, обычно при помощи водородных связей. Третичная структура зависит от взаимодействия вторичных структур, четвертичная, как правило, образуется при объединении нескольких молекул с третичной структурой.

Вторичная структура белков образуется при взаимодействии аминокислот с помощью водородных связей и гидрофобных взаимодействий. Основными типами вторичной структуры являются

- α -спираль, когда водородные связи возникают между аминокислотами в одной цепи,
- β -листы (складчатые слои), когда водородные связи образуются между разными полипептидными цепями, идущими в разных направлениях (антипараллельно),
- неупорядоченные участки

Третичная структура или «фолд» образуется при взаимодействии вторичных структур и стабилизируется нековалентными, ионными, водородными связями и гидрофобными взаимодействиями. Белки,

выполняющие сходные функции обычно имеют сходную третичную структуру. Примером фолда является β -баррел (бочка), когда β -листы располагаются по окружности. Третичная структура белков определяется с помощью рентгеноструктурного анализа.

Важный класс полимерных белков составляют фибриллярные белки, самый известный из которых коллаген.

В животном мире в качестве опорного, структурообразующего полимера обычно выступают белки. Эти полимеры построены из 20 α -аминокислот. Остатки аминокислот связаны в макромолекулы белка пептидными связями, возникающими в результате реакции карбоксильных и аминогрупп.

Для белков характерны:

1. Высокая молекулярная масса и большие размеры. Мг белков колеблется от 6000 – 1 млн. Дальтон и выше. Это зависит от количества а/к остатков и числа протомеров.

2. Различная форма молекул. Выделяют глобулярные, фибриллярные и смешанные белки.

3. Их растворимость в воде зависит, в первую очередь, от следующих факторов:

а) *Аминокислотного состава*: чем больше гидрофильных (полярных) а/к, тем лучше это свойство.

б) *Уровня организации белковой молекулы*. Протеины, обладающие вторичной структурой (фибриллярные), содержат гидрофобные и гидрофильные а/к остатки, обращённые наружу, следовательно, данные полимеры плохо растворимы в воде (белки волос – кератин, соединительной – коллаген, покровных тканей - эластин). Белки, компактно сложившиеся в пространстве (имеющие третичную и четвертичную структуры - глобулярные), хорошо растворимы, т.к. гидрофобные радикалы аминокислот находятся внутри глобулы, а гидрофильные - направлены наружу, благодаря

чему молекула приобретает заряд и способна притягивать диполи воды, образующие вокруг неё гидратную оболочку.

Одноимённо заряженные частицы (подавляющее количество природных протеинов - кислые) отталкиваются, а гидратная оболочка отделяет их друг от друга и не даёт им склеиваться. Наличие *заряда* и *гидратной оболочки* – ключевые факторы стабильности белковых растворов.

в) Значений *pH*

В физиологических условиях в тканях человека $pH = 7,35 - 7,40$ (слабощелочная). Это оптимальная среда для работы протеинов. Если изменять pH среды так, что заряд мицеллы будет приближаться к нулю (ИЭТ), то их молекулы будут сближаться, склеиваться и выпадать в осадок. В сильнокислой и сильнощелочной средах белки также осаждаются, так как происходит их денатурация.

4. Способность белков к осаждению применяют в клинике для диагностики патологий и разделения белков плазмы крови на фракции. Его осуществляют двумя способами *денатурацией и высаливанием*.

Высаливание (ренатурация) – это обратимое осаждение белков, под действием высаливающих реагентов, которые лишают мицеллу гидратной оболочки или/и уменьшают величину заряда. К ним относятся: *соли щелочных металлов, аммония, разбавленные растворы кислот и щелочей*.

Но так как внутри мицеллы они не проникают и структуру протеина не нарушают, то, при добавлении воды (восстановлении гидратной оболочки) можно вернуть нативность полимеру.

Денатурация – это необратимое осаждение белков, вызванное повреждением структуры и потерей физико-химических и биологических свойств молекул.

Среди денатурирующих реагентов можно выделить:

- *физические*: высокая t^0 (свыше 43^0) усиливает амплитуду колебаний и движения атомов, нарушает их взаимодействие, что приводит к разрыву

связей; при низкой t^0 кристаллизуются молекулы воды разрывая острыми краями молекулу протеина; излучение (УФО, α, β, γ -лучи) – источник добавочной энергии, которая разрушает связи в белке; изменение давления повреждает структуру белка, сдавливая протеин.

- *химические*: концентрированные кислоты и щёлочи резко изменяют pH и вызывают перераспределение электронной плотности, потерю заряда и разрыв, в первую очередь, ионных связей; соли тяжёлых металлов (Cu, Ag, Hg, Pb и т.д.) вступают в прочные контакты с важными функциональными группами белков, изменяют их конформацию и т.д.

Такие реагенты вначале повреждают гидратную оболочку протеина, изменяют заряд (производят высаливание), затем проникают вглубь мицеллы, разрушая добавочные связи. Это приводит к потере нативной конформации белка (вторичной, третичной и четвертичной структур), сопровождающейся утратой специфических функций молекулы. При денатурации не происходит разрыва пептидных связей, т.е. первичная структура сохраняется. Её разрушение осуществляется только с помощью гидролиза.

Это свойство белков используется в медицине для стерилизации инструментов и материалов (хранение под спиртом, автоклавирование), помещений (кварцевание), обеззараживания раневых поверхностей (с помощью антисептиков) и т.д.

Значение белков в живой природе трудно переоценить. Это строительный материал живых организмов, биокатализаторы — ферменты, обеспечивающие протекание реакций в клетках, и энзимы, стимулирующие определённые биохимические реакции, то есть обеспечивающие избирательность биокатализа. Наши мышцы, волосы, кожа состоят из волокнистых белков. Белок крови, входящий в состав гемоглобина, способствует усвоению кислорода воздуха, другой белок — инсулин — ответственен за расщепление сахара в организме и, следовательно, за его обеспечение энергией. Молекулярная масса белков колеблется в широких

пределах. Так, инсулин — первый из белков, строение которого удалось установить Ф. Сэнгеру в 1953 г., содержит около 60 аминокислотных звеньев, а его молекулярная масса составляет лишь 12 000. К настоящему времени идентифицировано несколько тысяч молекул белков, молекулярная масса некоторых из них достигает 10^6 и более.

Нуклеиновые кислоты

Первичная структура ДНК — это линейная последовательность нуклеотидов в цепи. Как правило, последовательность записывают в виде букв, причём запись ведётся с 5'- на 3'-конец цепи.

Вторичная структура — это структура, образованная за счёт нековалентных взаимодействий нуклеотидов (в большей степени азотистых оснований) между собой, стэкинга и водородных связей. Двойная спираль ДНК является классическим примером вторичной структуры. Это самая распространённая в природе форма ДНК, которая состоит из двух антипараллельных комплементарных полинуклеотидных цепей.

Антипараллельность реализуется за счёт полярности каждой из цепей. Под комплементарностью понимают соответствие каждому азотистому основанию одной цепи ДНК строго определённого основания другой цепи (напротив А стоит Т, а напротив Г располагается С). ДНК удерживается в двойной спирали за счёт комплементарного спаривания оснований — образования водородных связей, двух в паре А-Т и трёх в паре Г-С.

В 1868 г. швейцарский учёный Фридрих Мишер выделил из ядер клеток фосфорсодержащее вещество, которое он назвал нуклеином. Позднее это и подобные ему вещества получили название нуклеиновых кислот. Их молекулярная масса может достигать 10^9 , но чаще колеблется в пределах 10^5 – 10^6 . Исходными веществами, из которых построены нуклеотиды — звенья макромолекул нуклеиновых кислот, являются: углевод, фосфорная кислота, пуриновые и пиримидиновые основания. В одной группе кислот в качестве углевода выступает рибоза, в другой — дезоксирибоза

Нуклеиновые кислоты играют наиболее ответственную роль в процессах жизнедеятельности. С их помощью решаются две важнейшие задачи: хранения и передачи наследственной информации и матричный синтез макромолекул ДНК, РНК и белка.

Полисахариды

Полисахариды, синтезируемые живыми организмами, состоят из большого количества моносахаридов, соединённых гликозидными связями. Зачастую полисахариды нерастворимы в воде. Обычно это очень большие, разветвлённые молекулы. Примерами полисахаридов, которые синтезируют живые организмы, являются запасные вещества крахмал и гликоген, а также структурные полисахариды — целлюлоза и хитин. Так как биологические полисахариды состоят из молекул разной длины, понятия вторичной и третичной структуры к полисахаридам не применяются.

Полисахариды образуются из низкомолекулярных соединений, называемых сахарами или углеводами. Циклические молекулы моносахаридов могут связываться между собой с образованием так называемых гликозидных связей путём конденсации гидроксильных групп. Наиболее распространены полисахариды, повторяющиеся звенья которых являются остатками α -D-глюкопиранозы или её производных. Наиболее известна и широко применяема целлюлоза. В этом полисахариде кислородный мостик связывает 1-й и 4-й атомы углерода в соседних звеньях, такая связь называется α -1,4-гликозидной.

Химический состав, аналогичный целлюлозе, имеют крахмал, состоящий из амилозы и амилопектина, гликоген и декстран. Отличие первых от целлюлозы состоит в разветвлённости макромолекул, причём амилопектин и гликоген могут быть отнесены к сверхразветвлённым природным полимерам, то есть дендримерам нерегулярного строения. Точкой ветвления обычно является шестой атом углерода α -D-глюкопиранозного кольца, который связан гликозидной связью с боковой

цепью. Отличие декстрана от целлюлозы состоит в природе гликозидных связей — наряду с α -1,4-, декстран содержит также α -1,3- и α -1,6-гликозидные связи, причем последние являются доминирующими.

Химический состав, отличный от целлюлозы, имеют хитин и хитозан, но они близки к ней по структуре. Отличие заключается в том, что при втором атоме углерода α -D-глюкопиранозных звеньев, связанных α -1,4-гликозидными связями, OH-группа заменена группами $\text{-NHCH}_3\text{COO}$ в хитине и группой -NH_2 в хитозане.

Целлюлоза содержится в коре и древесине деревьев, стеблях растений: хлопок содержит более 90 % целлюлозы, деревья хвойных пород — свыше 60 %, лиственных — около 40 %. Прочность волокон целлюлозы обусловлена тем, что они образованы монокристаллами, в которых макромолекулы упакованы параллельно одна другой. Целлюлоза составляет структурную основу представителей не только растительного мира, но и некоторых бактерий.

В животном мире в качестве опорных, структурообразующих полимеров полисахариды «используются» лишь насекомыми и членистоногими. Наиболее часто для этих целей применяется хитин, который служит для построения так называемого внешнего скелета у крабов, раков, креветок. Из хитина деацетилированием получается хитозан, который, в отличие от нерастворимого хитина, растворим в водных растворах муравьиной, уксусной и соляной кислот. В связи с этим, а также благодаря комплексу ценных свойств, сочетающихся с биосовместимостью, хитозан имеет большие перспективы широкого практического применения в ближайшем будущем.

Крахмал относится к числу полисахаридов, выполняющих роль резервного пищевого вещества в растениях. Клубни, плоды, семена содержат до 70 % крахмала. Запасаемым полисахаридом животных является гликоген, который содержится преимущественно в печени и мышцах.

Прочность стволов и стеблей растений, помимо скелета из целлюлозных волокон, определяется соединительной растительной тканью. Значительную её часть в деревьях составляет лигнин — до 30 %. Его строение точно не установлено. Известно, что это относительно низкомолекулярный ($M \approx 10^4$) сверхразветвлённый полимер, образованный в основном из остатков фенолов, замещённых в *орто*-положении группами $-OCH_3$, в *пара*-положении группами $-CH=CH-CH_2OH$. В настоящее время накоплено громадное количество лигнинов как отходов целлюлозно-гидролизной промышленности, но проблема их утилизации не решена. К опорным элементам растительной ткани относятся пектиновые вещества и, в частности пектин, находящийся в основном в стенках клеток. Его содержание в кожуре яблок и белой части кожуры citrusовых доходит до 30 %. Пектин относится к гетерополисахаридам, то есть сополимерам. Его макромолекулы в основном построены из остатков D-галактуроновой кислоты и её метилового эфира, связанных α -1,4-гликозидными связями.

Из пентоз значение имеют полимеры арабинозы и ксилозы, которые образуют полисахариды, называемые арабинами и ксиланами. Они, наряду с целлюлозой, определяют типичные свойства древесины.

Коллаген [1]

Аминокислотный состав коллагена необычен. Во-первых, примерно одну треть всех остатков составляют остатки глицина, и, во-вторых, имеется большое число остатков пролина. Кроме того, в коллагене встречаются остатки двух аминокислот, обычно Биохимия костной ткани. 7 не обнаруживаемых в белках, - гидроксипролина и гидроксизина. Боковые цепи этих аминокислот содержат гидроксильную ($-OH$) группу, присоединённую к одному из углеродных атомов вместо атома водорода. Гидроксипролирование осуществляется специфическими ферментами после включения пролина или лизина в полипептидную цепь коллагена. Гидроксипролирование пролина необходимо для стабилизации тройной спирали коллагена, OH -группы гидроксипролина (Нур) участвуют в образовании

водородных связей. А гидроксирование лизина очень важно для последующего образования ковалентных связей между молекулами коллагена при сборке коллагеновых фибрилл. При цинге - заболевании, вызванном недостатком витамина С, нарушается гидроксирование остатков пролина и лизина. В результате этого образуются менее прочные и стабильные коллагеновые волокна, что приводит к большой хрупкости и ломкости кровеносных сосудов с развитием цинги. Клиническая картина цинги характеризуется возникновением множественных точечных кровоизлияний под кожу и слизистые оболочки, кровоточивостью дёсен, выпадением зубов, анемией. После завершения гидроксирования при участии специфических гликозилтрансфераз в состав молекулы проколлагена вводятся углеводные группы. Чаще всего этими углеводами служат галактоза или дисахарид галактозилглюкоза.

Химические основы минерализации эмали

К. С. Десятниченко (1974— 1977 впервые выделил кальцийсвязывающий белок эмали (КСБЭ) и показал его основное функциональное свойство. — способность связывать кальций.

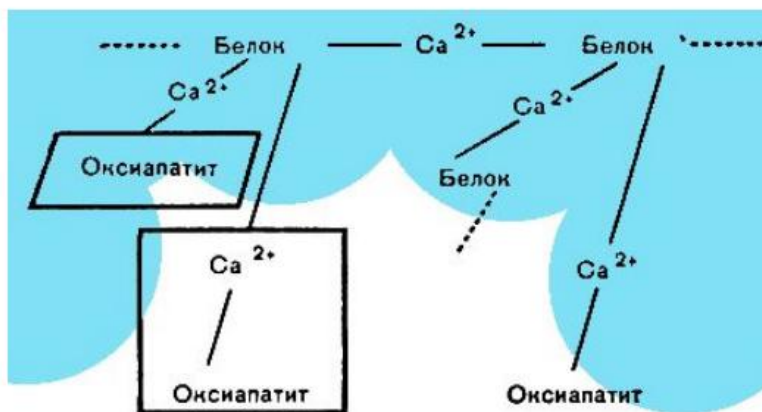
Применив электрофорез на полиакриламидном геле и гельфильтрацию, он установил, что в состав органической матрицы эмали входят три группы белков и пептидов:

- 1. — белок, нерастворимый в ЭДТА и соляной кислоте;**
- 2. — КСБЭ;**
- 3. — водорастворимый белок эмали.**

Минерализация образование минеральных компонентов по принципу выпадения осадка из раствора. Известно, что в живых организмах процесс минерализации осуществляется только на белковых матрицах. Функцию такой матрицы в эмали зуба выполняет кальций-связывающий белок, фиксированный на волокнах амелогенинов («мягкий скелет» эмали). При взаимодействии растворимых мономеров КСБЭ с ионами кальция (одна молекула может связать 8-10 ионов кальция) происходит их полимеризация и образуется нерастворимая в нейтральной среде трехмерная белковая сеть.

Функциональные группы КСБЭ (вероятно, фосфат фосфосерина, свободные карбоксильные группы аспартата и глутамата, связанного с белком цитрата и др.) образуют центры (ядра) первичной нуклеации при кристаллизации. КСБЭ может связывать прямо не более 2,5-5,0% минеральной фазы эмали. Затем происходит дальнейшая усиленная минерализация за счет гомогенной эпитахии (осаждение на активных центрах) гидроксиапатита в уже сформированных зонах минерализации. КСБЭ и, возможно, амелогенины ориентируют ход кристаллизации, обеспечивая упорядоченность и равномерность структуры эмали и последовательность ее формирования. Проницаемость эмали является одним из ее важнейших свойств, отражает уровень в ней физико-химических процессов и способствует поддержанию ее гомеостаза. Проницаемость эмали обеспечивается благодаря наличию в ней микропространств, заполненных водой, по которым способны проникать вещества в зависимости от их радиуса. Некоторые органические вещества (например, лизин) поступает в эмаль в основном по ламеллам. Одним из основных механизмов, обеспечивающих перемещение ионов в водной фазе эмали, принято считать осмотическое давление. Оно возникает из-за значительной разности концентраций ряда ионов на поверхности эмали и в эмалевой жидкости. Проницаемость эмали необходимо рассматривать в двух направлениях: ротовая жидкость → эмаль и пульпа → дентин → эмаль. Большинство исследователей сходятся на том, что основным источником для поступления веществ в эмаль является ротовая жидкость. Так благодаря ее пересыщенности по отношению к ионам, входящим в состав основных компонентов эмали (Ca^{2+} , HPO_4^{2-} и F^-), преимущественно обеспечивается трофика эмали.

Кальций-связывающие белки (КСБ) дентина и эмали



Трехмерная сетка эмали (белковая матрица), нерастворимая в нейтральной среде, состоит из субъединиц белка, соединенных между собой кальциевыми мостиками

КСБ эмали — белок с молекулярной массой 20000.

В среде, близкой к нейтральной, присоединяя ионы Ca^{2+} , растворимая мономерная форма КСБ образует агрегаты: ди-, три- и тетрамеры с молекулярной массой 40000-80000, переходя в нерастворимую в воде форму.

Отношение высокомолекулярного агрегата к мономерному КСБ у человека всегда < 1 (около 0,77).

Один моль КСБ способен связать 8-10 ионов кальция. В кислой среде комплекс распадается, освобождая мономерный КСБ.

Мукополисахариды

Гликозаминогликаны, мукополисахариды (от лат. *mucus* — слизь) — углеводная часть протеогликанов, полисахариды, в состав которых входят аминсахара-гексозамины. В организме гликозаминогликаны ковалентно связаны с белковой частью протеогликанов и в свободном виде не встречаются.

Гликозаминогликаны в составе протеогликанов входят в состав межклеточного вещества соединительной ткани, содержатся в костях, синовиальной жидкости, стекловидном теле и роговице глаза. Вместе с волокнами коллагена и эластина, протеогликаны образуют соединительнотканый матрикс (основное вещество). Один из представителей гликозаминогликанов — гепарин, обладающий противосвёртывающей активностью, находится в межклеточном веществе ткани печени, лёгких, сердца, стенках артерий. Протеогликаны покрывают поверхность клеток, играют важную роль в ионном обмене, иммунных реакциях, дифференцировке тканей. Генетические нарушения распада гликозаминогликанов приводят к развитию большой группы наследственных болезней обмена — мукополисахаридозов.

В ранних стадиях развития зубная пластинка и возникающие из нее эмалевые органы очень богаты гликогеном. Его много в это время и в других отделах эпителия полости рта эмбриона. Одновременно с этим отмечается накопление кислых мукополисахаридов в основном веществе пульпы эмалевого органа, а также в зубном сосочке. С появлением предентина метакромазия основного вещества зубного сосочка на уровне функционирующих одонтобластов исчезает. Ученые объясняют это тем, что кислые мукополисахариды зубного сосочка используются при образовании основного вещества молодого дентина. Образование тонкого слоя предентина на вершине зубного сосочка и накопление в нем мукополисахаридов дает толчок к пробуждению активности амелобластов, которые начинают вырабатывать матрицу эмали. С наступлением амелогенеза гликоген в амелобластах и в клетках *stratum intermedium* быстро исчезает. Вероятно, гликоген используется при синтезе мукополисахаридов, входящих в состав матрицы эмали.

Липиды

В цельной слюне содержится от 10 до 100 мг/мл липидов, также выявляют триацилглицеролы, свободные жирные кислоты (пальмитиновую, стеариновую, эйкозопентаеновую, олеиновую и др.), эфиры холестерина и свободный холестерол. В меньшей концентрации в слюне обнаруживаются фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, сфингомиелин и фосфатидилсерин. Данные о содержании и характере липидов в слюне противоречивы. Это связано, в первую очередь, с методами очистки и выделения липидов, а также со способом получения слюны, возрастом доноров и другими факторами (Вавилова Т.П. с соавт., 2016).

Липиды поступают в полость рта в основном с секретами околоушных и поднижнечелюстных слюнных желез. Однако некоторые липиды, такие, как холестерол и свободные жирные кислоты, поступают в слюну из сыворотки крови. Источником ряда липидов в слюне также являются мембраны секреторных везикул, фрагменты мембран бактериальных клеток.

Низкое содержание фосфолипидов в слюне свидетельствует о том, что клеточные мембраны не являются основным источником липидов в слюне. Значительная часть липидов находится в связанном состоянии с белками слюны, в частности с высокомолекулярными гликопротеинами – муцинами, и с основными белками, богатыми пролином. Липиды слюны участвуют в формировании пелликулы эмали зуба, входят в состав зубного налета, зубного камня и содержимого кариозных полостей.

1. Биохимия полости рта: Учебное пособие/ О.В. Островский, В.А. Храмов, Т.А. Попова; под ред. проф. О. В. Островского. — Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2010. — 184 с