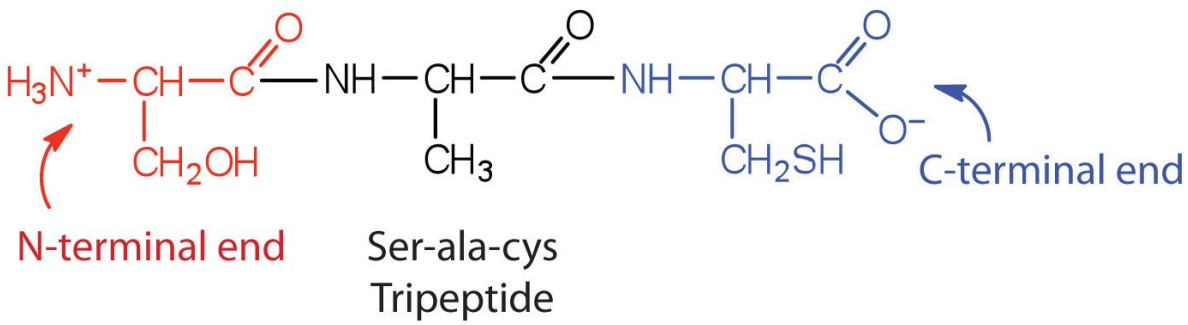
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

В. І. Генчева

ХІМІЯ АМІНОКИСЛОТ, ПЕПТИДІВ ТА БІЛКІВ

Навчально-методичний посібник
для здобувачів ступеня вищої освіти магістра
спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»
денної форми здобуття освіти



Запоріжжя
2026

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

В. І. Генчева

ХІМІЯ АМІНОКИСЛОТ, ПЕПТИДІВ ТА БІЛКІВ

Навчально-методичний посібник
для здобувачів ступеня вищої освіти магістра
спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»
денної форми здобуття освіти

Затверджено
вченою радою ЗНУ
Протокол № від 2026 р.

Запоріжжя
2026

УДК 547(075.8)
Г348

Генчева В. І. Хімія амінокислот, пептидів та білків : навчально-методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія» денної форми здобуття освіти. Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2026. 90 с.

У навчально-методичному посібнику подано програмний матеріал дисципліни «Хімія амінокислот, пептидів та білків». Структурно видання включає три розділи («Хімія амінокислот», «Хімія пептидів», «Хімія білків»), в яких викладено зміст лекційного матеріалу та практичних занять. Запропоновано тести для самоконтролю. Видання спрямовано на засвоєння студентами теоретичних основ курсу та набуття необхідних умінь і навичок.

Адресується здобувачам ступеня вищої освіти магістра, які навчаються за освітньо-професійною програмою «Хімія» денної форми здобуття освіти.

Рецензент
М. М. Корнет, кандидат біологічних наук, доцент кафедри хімії

Відповідальний за випуск
В. І. Генчева, кандидат біологічних наук, доцент, в.о. завідувача кафедри хімії

ЗМІСТ

ВСТУП…… 4
6
Розділ 1. ХІМІЯ АМІНОКИСЛОТ……... 6

Лекція 1. Амінокислоти – основні структурні ланки білкової молекули 6
Тести для самоконтролю…… 20
Практичне заняття 1. Кольорові реакції на амінокислоти та білки. Поділ амінокислот методом розподільної хроматографії……. 22

Лекція 2. Хімічний синтез та хімічні властивості амінокислот……..… 26
Тести для самоконтролю…… 33
Практичне заняття 2. Методи нарощування поліпептидного ланцюга. Пептидні біорегулятори …… 34

Розділ 2. ХІМІЯ ПЕПТИДІВ…… 39

Лекція 3. Номенклатура пептидів…… 39
Тести для самоконтролю…… 51
Практичне заняття 3. Особливості структури та біологічна активність деяких пептидів……... 53

Лекція 4. Принципи пептидного синтезу…… 60
Тести для самоконтролю…… 64
Практичне заняття 4. Особливості пептидного синтезу……. 66

Розділ 3. ХІМІЯ БІЛКІВ…… 69

Лекція 5. Хімія білків: класифікація білків. Структури білків……. 69
Тести для самоконтролю……... 77
Практичне заняття 5. Біологічне значення білків. Діаліз білків..…….. 79

Лекція 6. Визначення амінокислотної послідовності у білках……. 81
Тести для самоконтролю…… 84
Практичне заняття 6. Визначення амінокислотного складу білків. Методи визначення первинної структури білка.....…… 86

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА…….. 89
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА…… 89

ВСТУП

Курс «Хімія амінокислот, пептидів та білків» належить до блоку освітніх компонентів вільного вибору студента-магістра в межах спеціальності Е3 «Хімія».

Метою вивчення навчальної дисципліни «Хімія амінокислот, пептидів та білків» є засвоєння студентами знань із основних особливостей хімії амінокислот, пептидів та білків; набуття уявлення про білок як найбільш складно влаштовану біоорганічну молекулу, що виконує не тільки каталітичну функцію, але і функцію регуляції біологічних процесів.

Основним завданням дисципліни «Хімія амінокислот, пептидів та білків» є систематизація знань про будову амінокислот, пептидів, білків; функціональні властивості білка та його основні рівні організації структури; синтез амінокислот, пептидів.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студенти повинні у результаті вивчення дисципліни «Хімія амінокислот, пептидів та білків» досягти таких компетентностей та результатів навчання:

- здатність вчитися і оволодівати сучасними знаннями;
- здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях;
- здатність працювати автономно;
- здатність до пошуку, критичного аналізу та обробки інформації з різних джерел;
- здатність організовувати, планувати та реалізовувати хімічний експеримент;
- здатність здобувати нові знання в галузі хімії та інтегрувати їх із уже наявними;
- здатність критично осмислювати і постійно вдосконалювати власну професійну діяльність;
- знати та розуміти наукові концепції та сучасні теорії хімії, а також фундаментальні основи суміжних наук;
- застосовувати отримані знання і розуміння для вирішення нових якісних та кількісних задач хімії;
- збирати, оцінювати та аналізувати дані, необхідні для розв’язання складних задач хімії, використовуючи відповідні методи та інструменти роботи з даними;
- планувати, організовувати та здійснювати експериментальні дослідження з хімії з використанням сучасного обладнання, грамотно обробляти їх результати та робити обґрунтовані висновки;
- працювати самостійно або в групі, отримати результат в межах обмеженого часу з наголосом на професійну сумлінність та наукову доброчесність;
- здійснювати моніторинг та аналіз наукових джерел інформації та фахової літератури.

Відповідно до структурно-логічної схеми освітньо-професійної програми «Хімія» другого (магістерського) рівня дисципліна «Хімія амінокислот, пептидів та білків» пов'язана з освітнім компонентом «Хімія лікарських засобів».

Запропонований автором навчально-методичний посібник сприятиме засвоєнню програмного матеріалу освітнього компонента «Хімія амінокислот, пептидів та білків» та набуттю необхідних умінь і навичок.

РОЗДІЛ 1. ХІМІЯ АМІНОКИСЛОТ

Лекція 1. Амінокислоти – основні структурні ланки білкової молекули

Мета: вивчити будову протеїногенних амінокислот; ознайомитися з їх класифікацією, способами отримання; фізичними, кислотно-основними властивостями амінокислот.

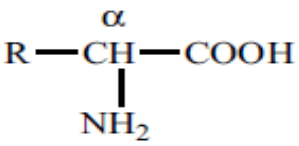
План

1. Особливості будови протеїногенних та рідкісних амінокислот. Позначення амінокислот, оптична ізомерія амінокислот.
2. Класифікація протеїногенних амінокислот.
3. Фізичні та кислотно-основні властивості протеїногенних амінокислот.

Ключові терміни та поняття: амінокислоти, протеїногенні амінокислоти, фізичні та кислотно-основні властивості α-амінокислот.

1. Особливості будови протеїногенних амінокислот

Амінокислоти – це похідні карбонових кислот, у яких один або декілька атомів водню у вуглеводневому радикалі заміщені на аміногрупу (гетерофункціональні сполуки).

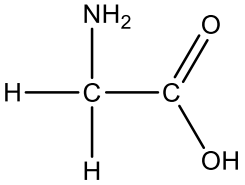


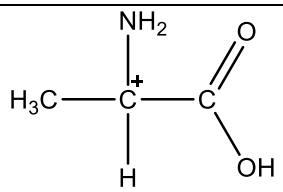
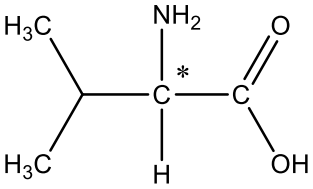
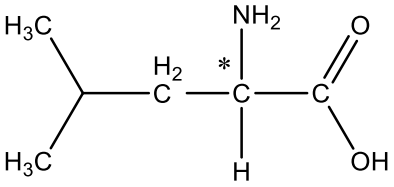
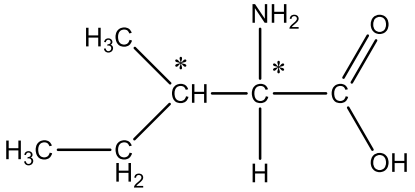
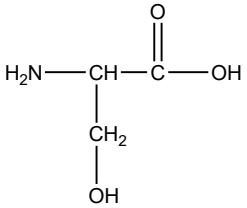
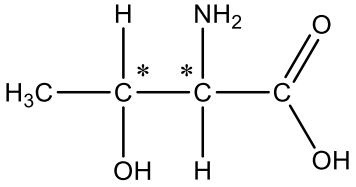
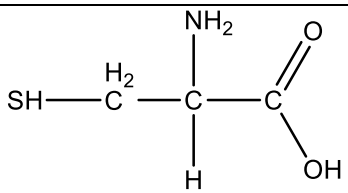
Залежно від розташування NH_2-групи розрізняють α-, β-, γ- та ін. Амінокислоти.

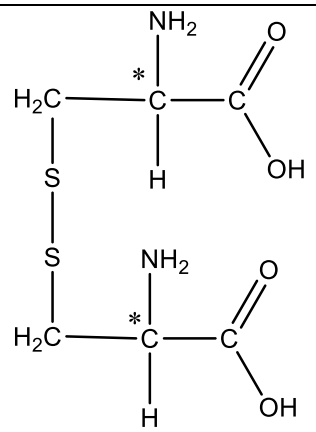
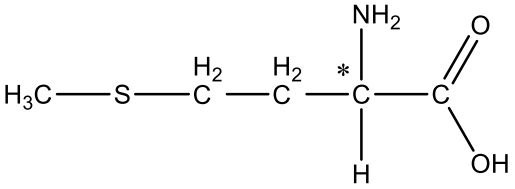
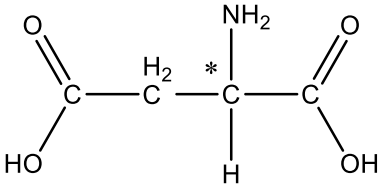
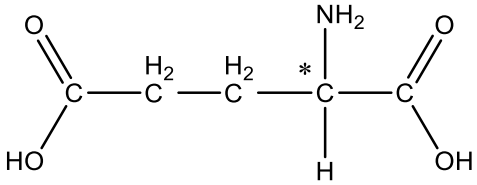
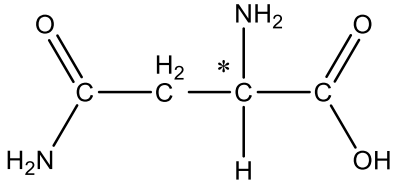
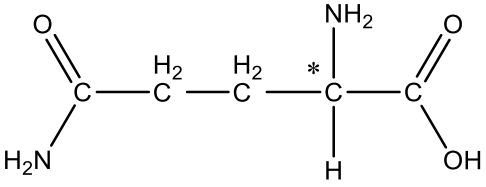
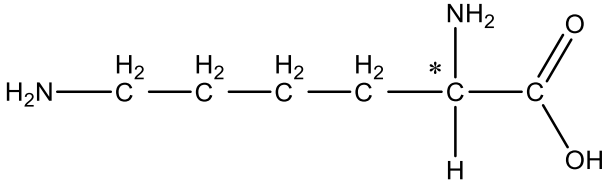
У живих організмах вони перебувають у вільному стані або входять до складу білків, пептидів, а також деяких інших біологічно активних сполук.

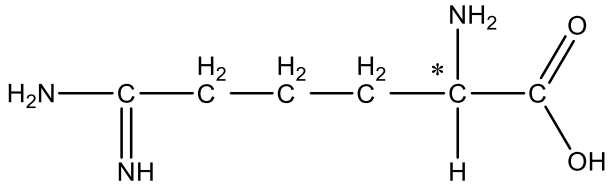
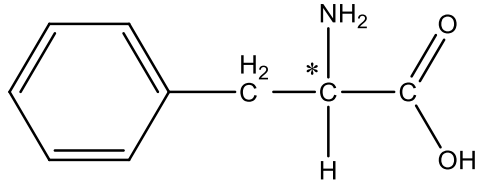
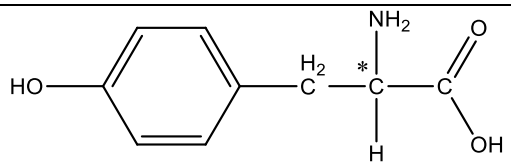
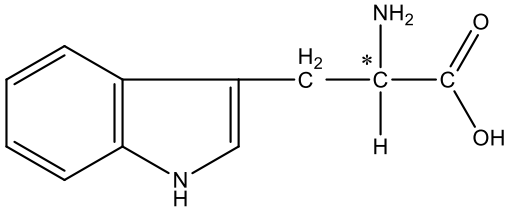
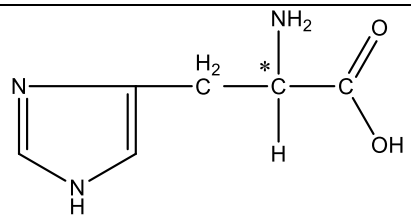
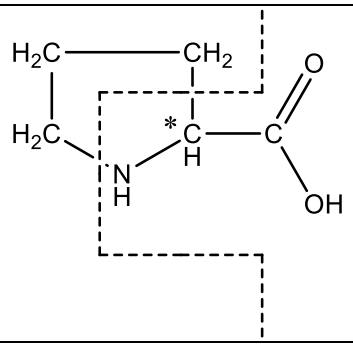
Існує понад 300 амінокислот, наявних у різних тварин, рослин і мікробіальних системах; лише 20 із основних, кодуються в ДНК і потім включаються до складу білків (табл. 1).

Таблиця 1 − Будова основних протеїногенних амінокислот

Формула амінокислот	Назва амінокислот (тривіальна; раціональна)
1	2
І. Ациклічні амінокислоти	
1. Аліфатичні не заміщенні амінокислоти (моноамінокарбонові кислоти)	
	Гліцин (глікокол); α-амінооцтова кислота

	Аланін; α-амінопропіонова кислота
1	2
	Валін; α-аміноізовалеріанова кислота
	Лейцин; α-аміноізокапронова кислота
	Ізолейцин; α-аміно-β-метил-β-етилпропіонова кислота
2. Аліфатичні функціонально-заміщенні амінокислоти	
а) Гідроксиамінокислоти	
	Серин; α-аміно-β- гідрокси-пропіонова кислота
	Треонін; α-аміно-β-гідрокси-масляна кислота
б) Тіоамінокислоти	
	Цистеїн; α-аміно-β-тіопропіонова кислота

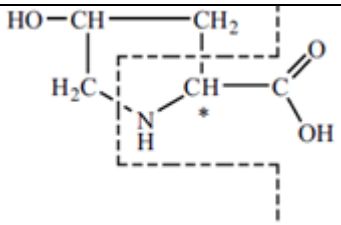
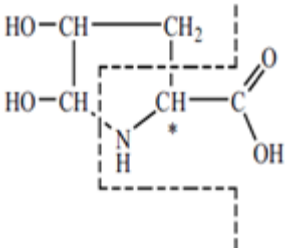
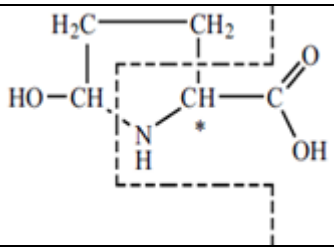
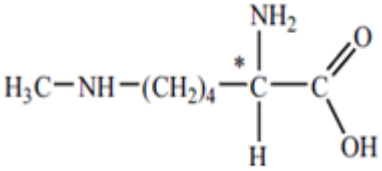
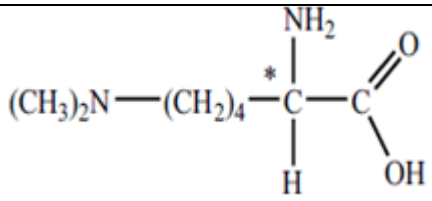
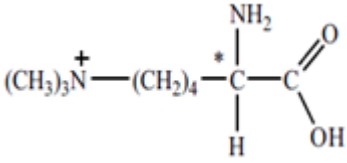
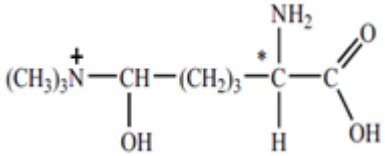
	Цистин; ди-α-аміно-β-тіопропіонова кислота
	Метіонін; α-аміно-γ-метилтіо-масляна кислота
в) Карбоксиамінокислоти (моноамінодикарбонові кислоти)	
	Аспарагінова кислота; амінобурштинова кислота
	Глутамінова кислота; α-аміноглутарова кислота
	Аспарагін; γ-амід-α-амінобурштинова кислота
	Глутамін; δ-амід-α-аміно-глутарова кислота
г) Діамінокислоти (діамінокарбонові кислоти)	
	Лізин; α, ε-діамінокапронова кислота

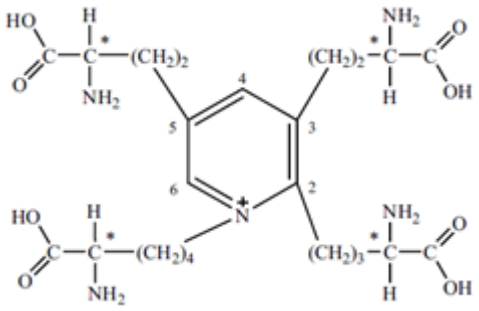
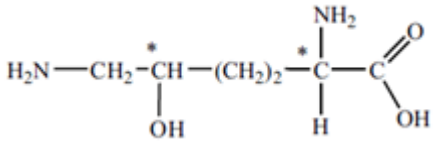
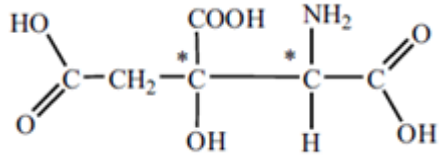
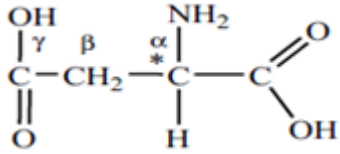
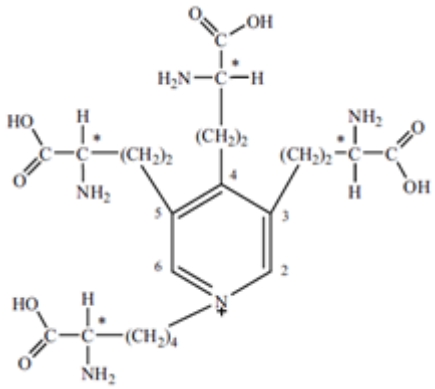
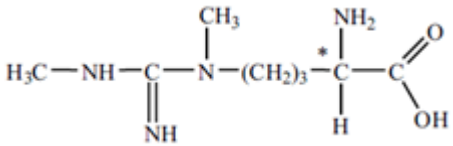
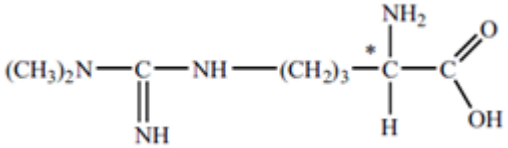
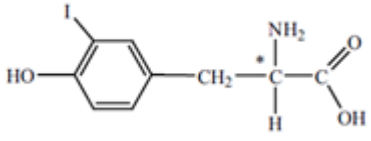
д) Гуанідиноамінокислоти	
	Аргінін; α-аміно- γ-гуанідиновалеріанова кислота
II. Циклічні амінокислоти	
1. Ароматичні амінокислоти	
	Фенілаланін; α-аміно-β-фенілпропіонова кислота
	Тирозин; α-аміно- β-гідроксифенілпропіонова кислота
2. Гетероциклічні амінокислоти	
	Триптофан; α-аміно-β-індолілпропіонова кислота
	Гістидин; α-аміно-β-імідазолпропіонова кислота
	Пролін; піролідин-α-карбонова кислота

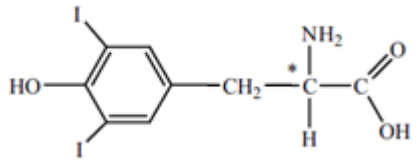
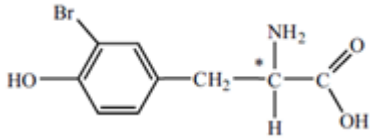
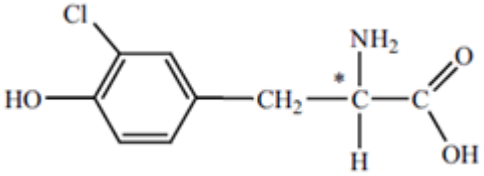
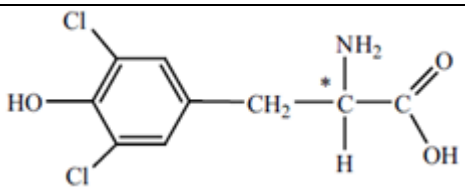
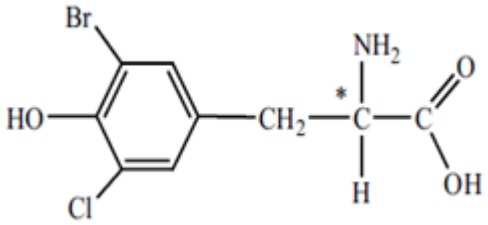
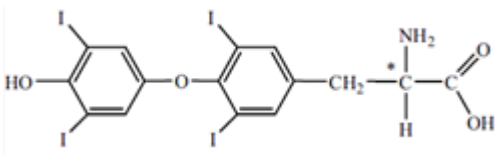
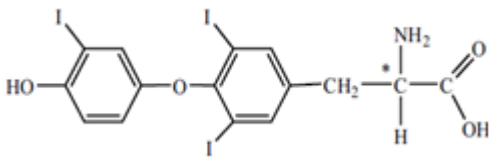
* − позначення хіральних центрів в молекулі амінокислот

Особливості будови рідкісних амінокислот, що знайдені в обмеженому колі білків та у білків одного виду, наведено табл. 2.

Таблиця 2 – Будова, назва, джерело виділення амінокислот

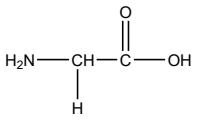
Формула амінокислот	Назва амінокислот	Джерело виділення
1	2	3
	3-гідроксипролін; γ-гідроксипіролідин-α-карбонова кислота	Колаген
	3,4-дигідроксипролін	Клітинна стінка діатомових водоростей
	4-гідроксипролін	Желатин
	ε-метиллізин; ε-N-метиламіно-α-капронова кислота	Міозин, флагелін Salmonella, гістон тимусу теля
	ε-диметиллізин; ε-N-метиламіно-α-капронова кислота	Гістон тимуса теля
	Е-триметиллізин; ε-N, N, N-триметиламоніо-α-амінокапронова кислота	Гістон тимуса теля
	ε-триметил-δ-гідроксилізин; ε- N, N, N-триметиламоніо-δ-гідрокси-α-амінокапронова кислота	Клітинна стінка діатомових водоростей

1	2	3
	Ізодесмозин; 2(4’-карбокси-3’-амінобутил)-3,5-біс(3’-карбокси-3’-амінопропіл), 1(5’-карбокси-5’-амінопентил)-піридиній	Еластин
	δ-гідроксилізин; α, ε-діаміно-β- гідроксикапронова кислота	Колаген
	Амінолимонна кислота; α-аміно-β-гідроксиглутарова кислота	Еластин
	γ-карбоксиглут-амінова кислота; α-аміно-γ-карбоксиглутарова кислота	Протромбін та ін. Ca^{2+}-зв’язуючі білки
	Десмозин; 3,5-біс(3’-карбокси-3’-амінопропіл) 4 (4’-карбокси-4’-амінобутил)-1-(5’карбокси-5’-амінопентил)-піридиній	Еластин
	N, N-диметиларгінін; α-аміно-β-(N, N-диметилгуанідино)-валеріанова кислота	Енцифалогенний білок бика
	N, N-диметиларгінін; α-аміно-β-(N, N-диметилгуанідино)-валеріанова кислота	Енцифалогенний білок бика
	3-йодтирозин; α-аміно-β-(3’-йод-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Тироглобулін

1	2	3
	3,5-дийодтирозин; α-аміно-β-(3’,5’-дийод-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Тироглобулін
	3-бромтирозин; α-аміно-β-(3’-бром-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Тироглобулін
	3-хлортирозин; α-аміно-β-(3’-хлор-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Склеропротеїн горгонії, склеропротеїн хвилястого ріжка, кутикулярний білок саранчі звичайної
	3,5-дихлортирозин; α-аміно-β-(3’,5’-дихлор-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Кутикули *Limulus*
	3-бром-5-хлортирозин; α-аміно-β-(3’,5’-дихлор-4’-гідроксифеніл)-пропіонова кислота	Склеропротеїн хвилястого ріжка
	Тироксин; α-аміно-β-(3’,5’-дийод-4’-(3’’,5’’-дийод-4’’-гідроксифенокси)-феніл)-пропіонова кислота	Тироглобулін
	3,3’,5-трийодтиронін; α-аміно-β-(3’,5’-дийод-4’-(3’’-йод-4’’-(3’’-йод-4’’-гідроксифенокси)-фенілпропіонова кислота	Тироглобулін

* – позначення хіральних центрів у молекулі амінокислот

Найпростішою протеїногенною амінокислотою є гліцин:



гліцин

Амінокислоти можуть бути розглянуті як похідні гліцину, отримані заміною одного атома Гідрогену (амінокислоти мають різні радикали).

Для амінокислот характерні історичні назви, перш за все пов'язані з джерелами первинного виділення.

Наприклад, цистеїн виділений з каменів жовчного міхура (від грец. «цистис» − пузир); лейцин отримали з молочного білка – казеїну (від грец. «лейкос» − білий); аспарагінову кислоту виділили з паростків спаржі (від грец. «аспарагус» − спаржа).

Позначення амінокислот, оптична ізомерія амінокислот

Для зручності запису структури білків і пептидів запропоновані три основних способи скороченого позначення протеїногенних амінокислот (табл. 3).

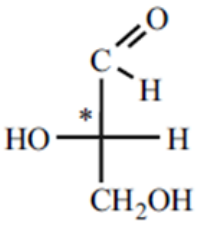
Таблиця 3 − Позначення амінокислот

Амінокислота	Тритбуквенне позначення амінокислот		Однобуквенне позначення амінокислот
	українське	латинське	
1	2	3	4
Гліцин	Глі	Gly	G
Аланін	Ала	Ala	A
Валін	Вал	Val	V
Лейцин	Лей	Leu	L
Ізолейцин	Іле	Ile	I
Пролін	Про	Pro	P
Фенілаланін	Фен	Phe	F
Триптофан	Три, трп	Trp	W
Метіонін	Мет	Met	M
Серін	Сер	Ser	S
Треонін	Тре	Thr	T
Аспарагін	Асн	Asn	N
Глутамін	Глн	Gln	Q
Лізин	Ліз	Lys	K
Аргінін	Арг	Arg	R
Гістидин	Гіс	His	H
Аспарагінова кислота	Асп	Asp	D

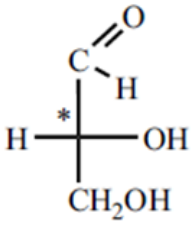
1	2	3	4
Глутамінова кислота	Глу	Glu	E
Цистеїн	Цис	Cys	C
Тирозин	Тир	Tyr	Y

Усі **протеїногенні амінокислоти**, крім гліцину, оптично активні та мають щонайменше один хіральний центр (хіральні центри позначені * у табл. 1, 2), тобто **належать до L-ряду**.

Належність амінокислот до L-ряду або D-ряду визначається за розташуванням функціональних груп у хіральному атомі Карбону, що несе аміногрупу, в порівнянні з гліцериновим альдегідом:

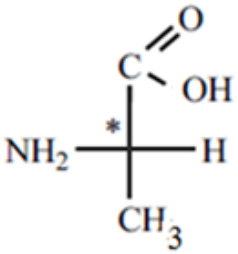


L-гліцериновий альдегід

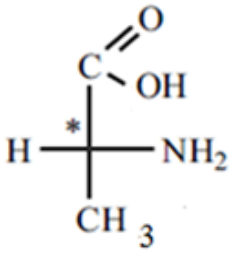


D-гліцериновий альдегід

Відповідно до прийнятих позначень структура L-аланіну та D-аланіну виглядає так:



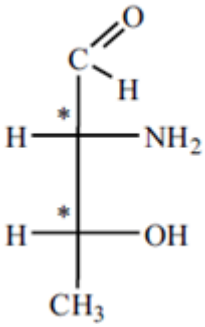
L-аланін



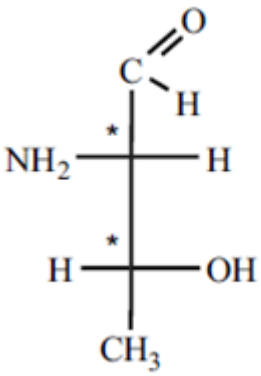
D-аланін

Протеїногенні амінокислоти, також можуть мати кілька хіральних центрів та кілька оптичних ізомерів.

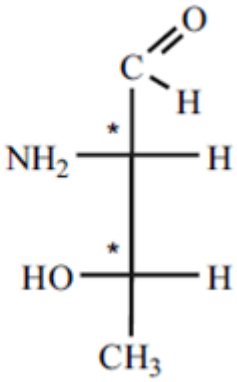
Наприклад, треонін, має два хіральних центри (n = 2) і відповідно $2^n = 2^2 =$ 4 оптичних ізомери.



треонін



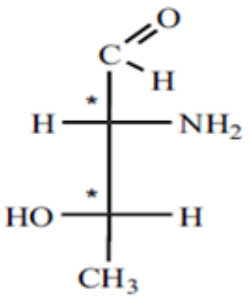
L-треонін



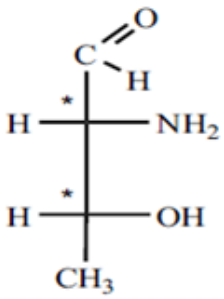
L-алло-треонін
(алло − інший)

Із цих двох оптичних ізомерів саме L-треонін входить до складу природних білків.

Ще два оптичних ізомеру треоніну відносяться до D-ряду і в складі білків не виявляються:



D-треонін



D-алло-треонін

2. Класифікація протеїногенних амінокислот

Виділяють 3 основних типи класифікації амінокислот:

1) структурна − за будовою бічного радикала (див. табл. 1) (всі протеїногенні амінокислоти розглянуті як похідні найпростішої амінокислоти – гліцину);

2) біологічна (або **фізіологічна)** − за ступенем незамінності амінокислот для організму: **незамінні, напівзамінні, замінні амінокислоти**;

Незамінні амінокислоти – амінокислоти, які не синтезуються в організмах людини та вищих тварин; повинні обов'язково надходити в організм із продуктами харчування.

Незамінних амінокислот для людини 8 (вісім): валін, лейцин, ізолейцин, треонін, лізин, метіонін, фенілаланін, триптофан.

Виділяють групу **напівзамінних амінокислот**, які утворюються в організмі, але в недостатній кількості, тому частково повинні надходити з їжею. Для організму людини такими амінокислотами є: аргінін, тирозин, гістидин.

До **замінних амінокислот** відносяться амінокислоти, синтезовані в організмі в достатній кількості з незамінних амінокислот або інших сполук.

До замінних амінокислот відносяться інші амінокислоти, крім перерахованих (табл. 4).

Таблиця 4 − Замінні (−), незамінні (+), напів замінні (±) амінокислоти у білках організмів різних видів

Амінокислоти	Людина	Щур	Миша	Курка	Лосось	Москіт	Бджола
1	2	3	4	5	6	7	8
Гліцин	−	−	−	±	−	+	−
Аланін	−	−	−	−	−	−	−
Валін	+	+	+	+	+	+	+
Лейцин	+	+	+	+	+	+	+
Ізолейцин	+	+	+	+	+	+	+

Цистеїн	−	−	−	−	−	−	−
Метіонін	+	+	+	+	+	+	+
Серін	−	−	−	−	−	−	+
Треонін	+	+	+	+	+	+	−
Аспарагінова кислота	−	−	−	−	−	−	+
Глутамінова кислота	−	−	−	−	−	−	−
Лізин	+	+	+	+	+	+	+
Аргінін	±	±	±	+	+	+	+
Фенілаланін	+	+	+	+	+	+	+
Тирозин	±	±	±	+	−	−	−
Гістидин	±	+	+	+	+	+	+
Триптофан	+	+	+	+	+	+	+
Пролін	−	−	−	−	−	−	−

Однак абсолютна незамінність 8-ми амінокислот універсальна для всіх видів організмів.

3) електрохімічна − амінокислоти, поділяються на 3-и групи за кислотно-основними властивостями радикала: **кислі, основні** та **нейтральні.**

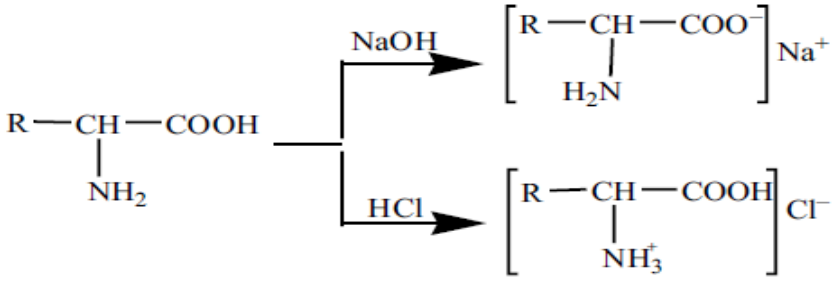
3. Фізичні та кислотно-основні властивості протеїногенних амінокислот

α-Амінокислоти − кристалічні речовини, що мають високу температуру плавлення (більше 200 ^{0}C), нелетучі, нерозчинні в неполярних органічних розчинниках, добре розчинні у воді, що забезпечує повноцінну всмоктуваність і транспорт амінокислот в організмі.

L-Амінокислоти мають солодкий смак, D-ізомери не мають смаку або гіркі.

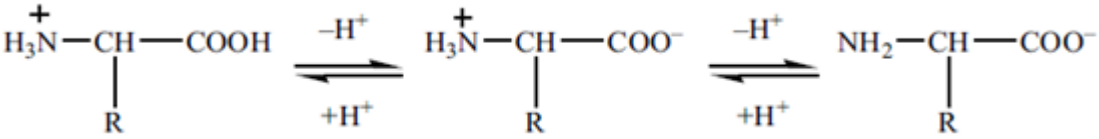
Кислотно-основні властивості амінокислот

Амінокислоти є амфотерними сполуками, що зумовлено наявністю в їх молекулі функціональних груп кислотного (-COOH) і основного (-NH_2) характеру.



У водному розчині α-амінокислота існує у вигляді рівноважної суміші біполярного іона, катіонної або аніонної форми.

Положення рівноваги в системі залежить від pH середовища.



Повністю протонована амінокислота (катіонна форма) з теорії Бренстеда є двохосновною кислотою із значеннями pKa_1 (-COOH) і pKa_2 ($-NH_3^+$).

Значення pH, при якому сумарний заряд молекули амінокислоти дорівнює нулю, називається **ізоелектричною точкою** (ІЕТ, $_{P}i$).

$$_{P}i = ½ (pKa_1 + pKa_2)$$

Амінокислоти, які можуть існувати тільки в трьох формах: нейтральна молекула, катіон і аніон, − називаються **нейтральними.**

Із 20-и природних амінокислот: 13 – **нейтральні** (аланін, аспарагін, валін, гліцин, глутамін, ізолейцин, лейцин, метіонін, пролін, серин, треонін, триптофан, фенілаланін).

Усі **нейтральні амінокислоти** мають близькі кислотно-основні показники pKa_1 = 2,0-3,0; $_{P}i$= 5,5-6,5; pKa_2 = 9,0-10,5.

За значеннями кислотно-основних характеристик нейтральних амінокислот можна встановити, у вигляді яких частинок знаходиться будь-яка з цих кислот при даному значенні pH її водного розчину (рис. 1).

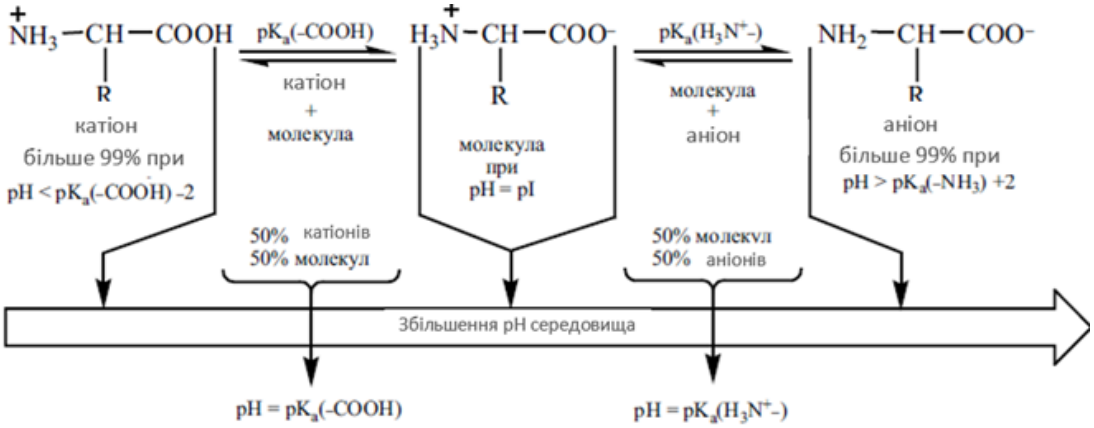
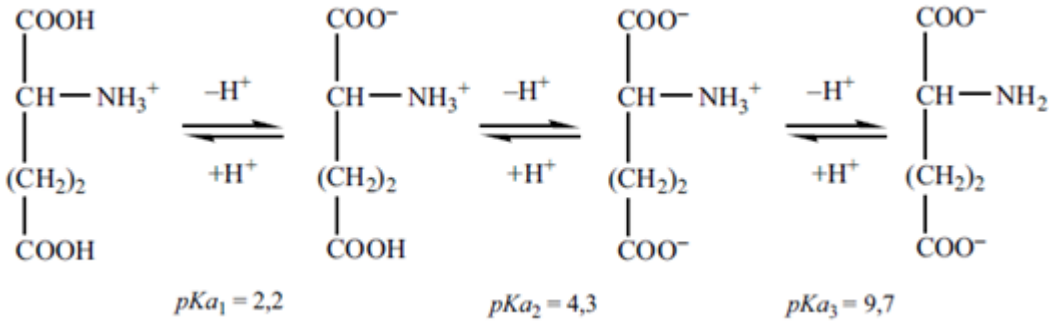


Рисунок 1 − Співвідношення різних форм амінокислот
залежно від кислотності середовища

Амінокислоти, що мають у складі радикала додаткову карбоксильну групу, повністю в протонованій формі знаходяться в сильно кислому середовищі.

За Бренстедом, вони є трьохосновними кислотами, що характеризуються трьома значеннями pKa, як показано на прикладі глутамінової кислоти:



У кислих α-амінокислот ізоелектрична точка (ІЕТ) знаходиться при pH значно нижче 7 (глутамінова кислота − $_{Р}$I = 3,22; аспарагінова − $_{Р}$I = 2,77).

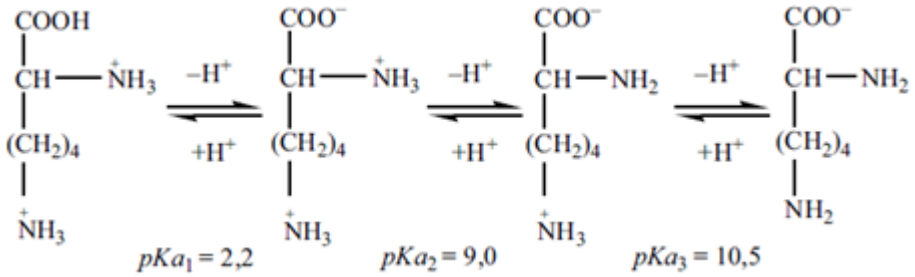
В організмі при фізіологічних значеннях pH (pH крові = 7,2 ÷ 7,4) ці амінокислоти знаходяться в аніонній формі, тобто в них дисоційовані обидві карбоксильні групи.

У водних розчинах, у міру зменшення кислотності середовища (зростання pH), ці амінокислоти можуть перебувати у чотирьох формах: катіонній, нейтральній, моноаніонній та діаніонній.

У основних α-амінокислот ІЕТ лежить в області pH вище 7.

До **основних амінокислот** відносять: лізин, аргінін, гістидин.

У сильно кислому середовищі вони також являють собою трьохосновні кислоти, етапи дисоціації яких видно на прикладі лізину:



Лізин, аргінін, гістидин у водних розчинах у міру зменшення кислотності середовища можуть перебувати в чотирьох формах: дикатіонній, монокатіонній, нейтральній й аніонній.

В організмі основні α-амінокислоти мають сумарний одиничний позитивний заряд (знаходяться у вигляді цвітер-іона − амонієвих катіонів), у них протоновані обидві аміногрупи, причому лізин та аргінін на 100 %, а гістидин − близько 1%.

Ізоелектрична точка − найважливіша фізико-хімічна характеристика амінокислот (табл. 5).

Таблиця 5 – Значення $_{Р}$I для протеїногенних амінокислот

Амінокислота	$_{Р}$I	Амінокислота	$_{Р}$I
1	2	3	4
Глі	5,97	Асн	5,41
Ала	6,00	Глн	5,65
Вал	5,96	Лиз	9,74

Лей	5,98	Арг	10,76
Іле	6,02	Фен	5,48
Сер	5,68	Тір	5,66
Тре	5,60	Три	5,89
Цис	5,07	Гис	7,59
Мет	5,74	Про	6,30
Асп	2,77	Опр	5,80
Глу	3,22	–	–

Обчислити ІЕТ в загальному випадку для всіх типів амінокислот можна за формулою:

$$pI = pK_n + pK_{n+1} / 2$$

де n – максимальне число позитивних зарядів в повністю протонованій амінокислоті.

Наприклад, ІЕТ для амінокислот дорівнює:

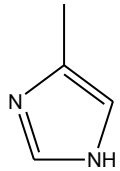
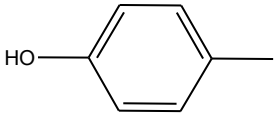
а) глутамінова кислота: n = 1, $_{Р}i$ = 1/2 (2,2 + 4,3) = 3,2;

б) валін: n = 1, $_{Р}i$ = 1/2 (2,3 + 9,6) = 5,95;

в) лізин: n = 2, $_{Р}I$ = 1/2 (9,0 + 10,5) = 9,8;

Окрім основних протоногенних груп амінокислот (-COOH і $-N^{+}H_3$), в їх бічних радикалах можуть міститися й інші іоногенні групи, здатні дисоціювати за кислотним типом при різних значеннях pH (табл. 6).

Таблиця 6 – Деякі протеїногенні групи бічних радикалів амінокислот

Амінокислота	Фрагмент	pKa фрагмента
1	2	3
Гістидин		6,0
Цистеїн	SH-	8,33
Тирозин		10,07

Своєрідність кислотно-основних властивостей амінокислот проявляється під час вивчення цих властивостей методом потенціометричного титрування лугом.

Для нейтральних амінокислот крива титрування має такий вигляд (рис. 2):

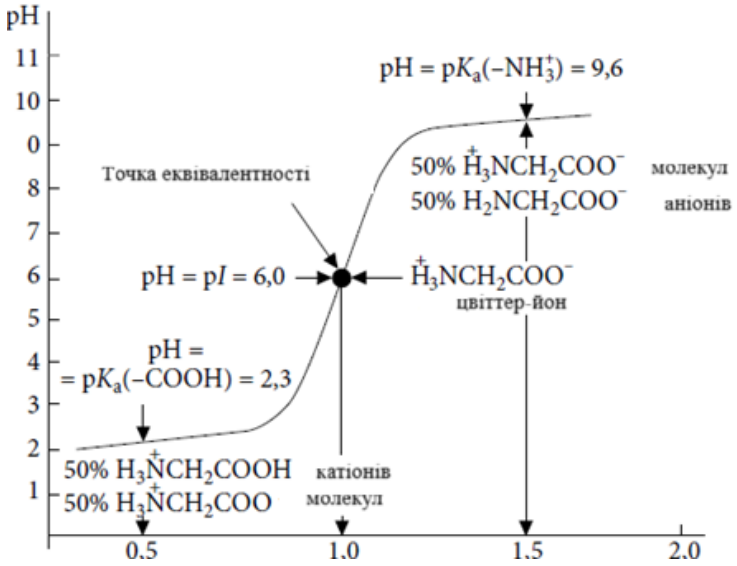


Рисунок 2 − Крива титрування гліцингідрохлориду лугом NaOH

Крива титрування дозволяє встановити значення pI, значення pKa_1 і pKa_2.

Значення pKa_1 встановлюють за кривою титрування за величиною pH системи, що містить 0,5 екв. лугу; у цей момент у розчині міститься 50% катіонів та 50% молекул амінокислоти.

Значення pKa_2 встановлюють також на основі кривої титрування, але за величиною pH системи, що містить 1,5 екв. лугу; у цей момент у розчині містяться 50% молекул і 50% аніонів амінокислоти.

В області значень pH = pKa_1±0,5 і pH = pKa_2±0,5 розчини амінокислот володіють буферними властивостями.

Вільні протоноактивні фрагменти бічних радикалів амінокислот (-OH, -SH і >NH фрагмент імідазольного кільця гістидину) здатні забезпечувати буферні властивості поліпептидів і білків.

Фрагменти тирозину і цистеїну проявляють буферну активність при значеннях pH = 10,07±0,5 і pH = 8,33±0,5 відповідно, далеких від фізіологічних значень.

Лише гістидин в області pH = 6,0±0,5, близьких до фізіологічних значень, володіє помітною буферної ємністю. Гістидином багатий гемоглобін і саме в зв'язку з цим гемоглобін володіє буферними властивостями. Гемоглобінова буферна система бере участь у підтримці pH крові.

Кислотно-основні властивості амінокислот широко використовують для їх аналітичного визначення. На кислотно-основних властивостях амінокислот засновані методи їх поділу, ідентифікації та кількісного визначення.

Тести для самоконтролю

1) До аліфатичних незаміщених амінокислот (моноаміно-монокарбонових кислот) відносяться ...

А) гліцин, глутамінова кислота, аспарагінова кислота

Б) серин, фенілаланін, цистеїн

В) лізин, аспарагін, метіонін

Г) гліцин, аланін, валін

2) Серин відноситься до ...
А) аліфатичних не заміщених амінокислот
Б) гідроксиамінокислот
В) тіоамінокислот
Г) карбоксиамінокислот

3) Лізин відноситься до ...
А) моноаміномонокарбонових кислот
Б) моноаміномонокарбонових кислот, що містить ОН-групу
В) діаміномонокарбонових амінокислот
Г) моноаміномонокарбонових кислот, що містить SH-групу

4) Гістидин відноситься до ...
А) гетероциклічних амінокислот
Б) ароматичних амінокислот
В) аліфатичних амінокислот
Г) гуанідиноамінокислот

5) У колагені містяться ...
А) 4-гідроксипролін, амінолимонна кислота
Б) ізодесмозин, десмозин
В) 3-гідроксипролін, δ-гідроксилізин
Г) 3-бромтирозин, амінолимонна кислота

6) Амінокислоти володіють ... властивостями.
А) основними
Б) кислими
В) не має правильної відповіді
Г) амфотерними

7) Ізоелектрична точка амінокислоти – це:
А) pH, при якому амінокислота повністю іонізована
Б) pH, при якому сумарний заряд молекули дорівнює нулю
В) pH, при якому амінокислота є тільки катіоном
Г) pH, при якому відбувається гідроліз

8) Визначте сумарний заряд молекули гліцину при pH = 1.
А) +1
Б) 0
В) –1
Г) +2

9) Який фактор найбільше впливає на значення ізоелектричної точки амінокислоти?
А) температура розчину
Б) кількість іонізованих функціональних груп у бічному радикалі

В) молекулярна маса
Г) довжина карбонового ланцюга

10) Яка амінокислота має імідазольний бічний радикал, що бере участь у кислотно-основному каталізі ферментів?

А) гістидин
Б) лізин
В) аргінін
Г) пролін

Практичне заняття №1

Характеристика незамінних амінокислот
та біологічне значення α-амінокислот, що входять до складу білків

Мета заняття: засвоїти біологічне значення α-амінокислот, що входять до складу природних білків.

Хід заняття

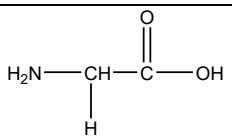
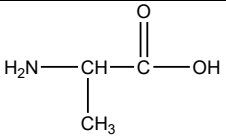
Завдання 1.

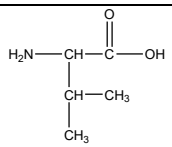
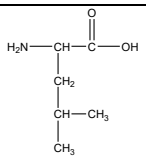
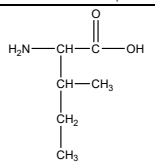
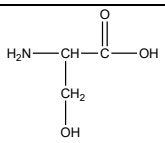
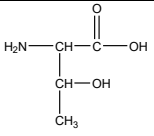
Дайте характеристику 10-и незамінним амінокислотам: укажіть їх структуру, повну назву за тривіальною та раціональною номенклатурою, хімічні властивості та способи отримання.

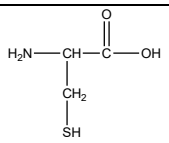
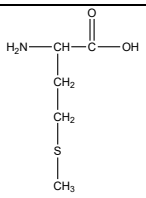
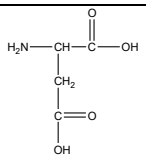
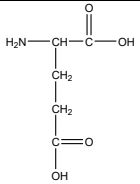
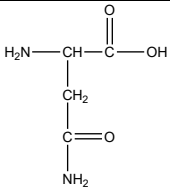
Завдання 2.

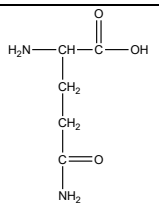
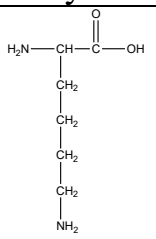
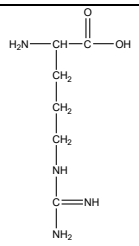
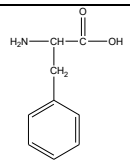
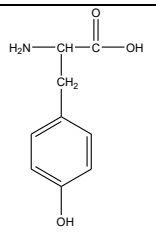
Ознайомтеся з біологічним значенням 20-ти α-амінокислот (табл. 7).

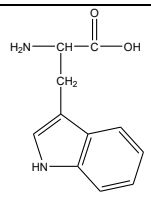
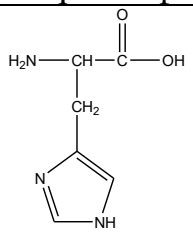
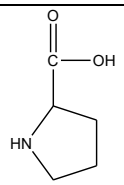
Таблиця 7 – Біологічне значення амінокислот

№ з/п	Амінокислота	Біологічне значення
1	2	3
1	 Гліцин	1) Активує процеси захисного гальмування ЦНС 2) Забезпечує антирадикальний захист 3) Забезпечує синтез білків, порфіринів, пуринових основ, нуклеїнових кислот, глутатіону, жовчних кислот, щавлевої кислоти 4) Здійснює детоксикацію фенолів та інших токсинів 5) Передає нервові імпульси в нейромедіаторах 6) Регулює тонус симпатичної нервової системи 7) Сприяє загоєнню ран
2	 Аланін	1) Бере участь у продукуванні м’язової енергії 2) Бере участь у синтезі лімфоцитів 3) Відповідає за метаболізм цукрів та органічних кислот 4) Забезпечує роботу наднирників 5) Здійснює детоксикацію амоніаку 6) Підтримує статеву функцію

		7) Підтримує тонус м’язів 8) Регулює енергетичний обмін 9) Регулює рівень цукру у крові 10) Стимулює імунну систему
3	 Валін	1) Відповідає за м’язову координацію 2) Відповідає за утворення та накопичення глікогену 3) Забезпечує продукування енергії для м’язових тканин 4) Забезпечує синтез та ріст тканин тіла 5) Захищає мієлінову оболонку нервів 6) Здійснює регулювання нервових процесів 7) Регулює азотний обмін 8) Стабілізує гормональний фон
4	 Лейцин	1) Активізує виділення гормону лептину 2) Відповідає за відновлення шкіри, м’язів, кісток 3) Забезпечує енергетику м’язів 4) Захищає м’язові тканини; сповільнює катаболізм
5	 Ізолейцин	1) Бере участь у виробленні енергії 2) Бере участь у синтезі гемоглобіну 3) Забезпечує ріст та розвиток поперечно-смугастих та поздовжніх м’язів 4) Захищає від шкідливого впливу стресу 5) Зменшує втому м’язів при перевтомі 6) Стабілізує та регулює рівень цукру у крові 7) Утилізує холестерин
6	 Серин	1) Бере участь в утворенні активних центрів ферментів 2) Бере участь у біосинтезі ряду інших звичайних амінокислот: гліцин, цистеїн, метіонін, триптофан 3) Бере участь у побудові майже всіх природних білків 4) Є вихідним продуктом синтезу пурину і піримідину, сфінголіпідів, етаноламіну 5) Має важливе значення в механізмах міжклітинної передачі сигналів
7	 Треонін	1) Виводить з організму токсини; є імуностимулюючим засобом 2) Входить до складу антитіл гліцину і колагену, еластину і зубної емалі 3) Має антидепресантні властивості і регулює подачу нервових імпульсів у мозок 4) Має прямий вплив на ріст скелетної мускулатури, продукування травних ферментів

8	 Цистеїн	1) Активізує лейкоцити та лімфоцити 2) Бере участь у процесах переамінування 3) Відповідає за обмін речовин кришталика ока 4) Відповідає за обмін сірки в організмі 5) Забезпечує продукування жовчі; ріст волосся 6) Захищає від руйнівного впливу радіації 7) Здійснює синтез колагену та інших білків 8) Знешкоджує токсичні речовини 9) Сприяє засвоєнню селену та спалюванню жирів та утворенню м'язової тканини 10) Чинить противірусну, протипухлинну, протизапальну, антиоксидантну дію
9	 Метіонін	1) Активує гормони, деякі вітаміни, ферменти 2) Бере участь у процесах метилування 3) Видаляє із печінки надлишок жиру 4) Є джерелом Сульфуру 5) Забезпечує функціонування нервової системи 6) Здійснює продукування імунних клітин; регулювання азотистого балансу; синтез холіну, адреналіну, креатину, цистеїну та інших БАР 7) Знешкоджує токсичні продукти 8) Знижує рівень холестерину та підвищує рівень глутатіону в крові
10	 Аспарагінова кислота	1) Активізує імунну систему 2) Знижує втому 3) Сприяє перетворенню вуглеводів у м'язову енергію 4) Утворює лізин та метіонін
11	 Глутамінова кислота	1) Відіграє важливу роль в азотистому обміні 2) Володіє помірною психостимулюючою, збуджувальною дією 3) Є нейромедіаторною амінокислотою 4) Кислота та її солі використовуються як посилювачі смаку у багатьох харчових концентратах
12	 Аспарагін	1) Бере участь у знешкодженні амоніаку 2) Бере участь у синтезі сечовини, піримідинових основ 3) Бере участь у реакціях переамінування амінокислот

13	 Глутамін	1) Захищає організм від вільних радикалів, попереджує невралгічні захворювання 2) Позитивно впливає на процес росту, підтримує імунну систему 3) Попереджує м'язовий катаболізм і допомагає відновленню організму під час сну
14	 Лізин	1) Відповідає за енерг. баланс; за об'єм та силу м'язів; за формування колагену 2) Забезпечує нормальну роботу серця; синтез антитіл, гормонів, ферментів 3) Здійснює контроль рівня тригліцеридів 4) Попереджує розвиток остеопорозу 5) Протидіє порушенням обмінних процесів у кришталику ока, розвитку катаракти 6) Регулює азотний обмін 7) Транспортує кальцій до кісткової тканини 8) Чинить противірусну дію
15	 Аргінін	1) Бере участь в утворенні м'язової тканини та утилізації жирової тканини 2) Забезпечує синтез азоту 3) Здійснює реологію крові, знижує кров'яний тиск 4) Знешкоджує амоніак 5) Знижує рівень холестерину в крові 6) Нормалізує стан сполучної тканини 7) Попереджує утворення тромбів 8) Сприяє загоєнню ран 9) Стимулює протипухлинний імунітет; синтез гормонів
16	 Фенілаланін	1) Бере участь у продукуванні колагену; у секреторній функції печінки та підшл. залози 2) Забезпечує синтез білків, тирозину, нейромедіаторів, ендорфінів; синтез інсуліну 3) Зменшує апетит 4) Підіймає настрій та тонус 5) Покращує розумову здатність і пам'ять 6) Сприяє виведенню продуктів метаболізму 7) Стимулює протибольові механізми організму
17	 Тирозин	1) Відповідає за обмін фенілаланіну 2) Здійснює синтез білків та гормонів 3) Знімає втому та стрес, долає депресію 4) Сприяє зниженню жирових запасів

18	 Триптофан	1) Бере участь у синтезі серотоніну, ніацину, мелатоніну 2) Є потужним антидепресантом 3) Забезпечує синтез білків, вітамінів, гормонів 4) Зменшує апетит 5) Стимулює утворення гормону росту
19	 Гістидин	1) Бере участь у продукуванні гістаміну 2) Відповідає за здоров'я суглобів; за секрецію шлункового соку 3) Володіє антисклеротичною та гіполіпідемічною дією 4) Забезпечує виділення епінефрину; утворення червоних і білих кров'яних тілець 5) Здійснює синтез білків 6) Поглинає УФ-випромінювання та радіацію 7) Сприяє виведенню солей важких металів
20	 Пролін	1) Володіє живильною та ранозагоювальною дією 2) Підвищує пружність та еластичність шкіри 3) Утримує вологу в зовнішньому шарі шкіри 4) Чинить антиоксидантну та зміцнювальну дію на шкіру

Зробіть висновок до практичного заняття 1.

Лекція 2. Хімічний синтез та хімічні властивості амінокислот

Мета: ознайомитися та засвоїти особливості отримання α-амінокислот та їх хімічні властивості.

План

1. Отримання α-амінокислот.
2. Хімічні властивості α-амінокислот.

Ключові терміни та поняття: ціангідриновий синтез (реакція Зелінського-Стаднікова); прямий амоноліз α-галогенокарбонових кислот; реакція Міхаєля; реакція алкілування метилнітроацетату алкілгалогенідами; пряме амінування одноосновних карбонових кислот; енантіомери; діастереомери; біогенні аміни; реакція комплексоутворення.

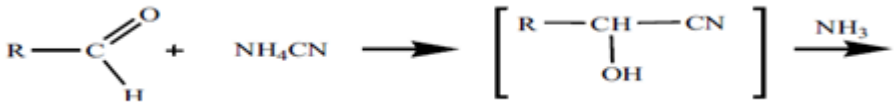
1. Отримання α-амінокислот

Методи отримання амінокислот поділяються на:

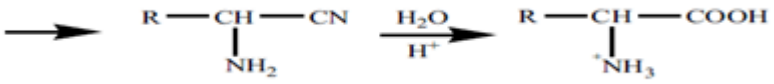
1) **біологічні: мікробіологічний синтез** (у процесі ферментації безпосередньо синтезуються L-амінокислоти (наприклад, лізин); **гідроліз природної білоквмісної тваринної та рослинної сировини;**

2) **хімічні:**

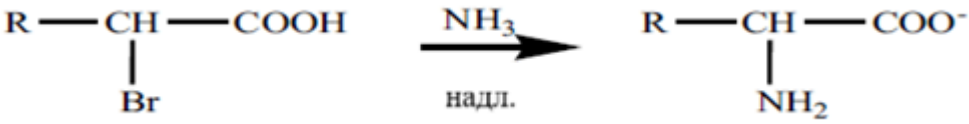
– ціангідриновий синтез (реакція Зелінського-Стаднікова):



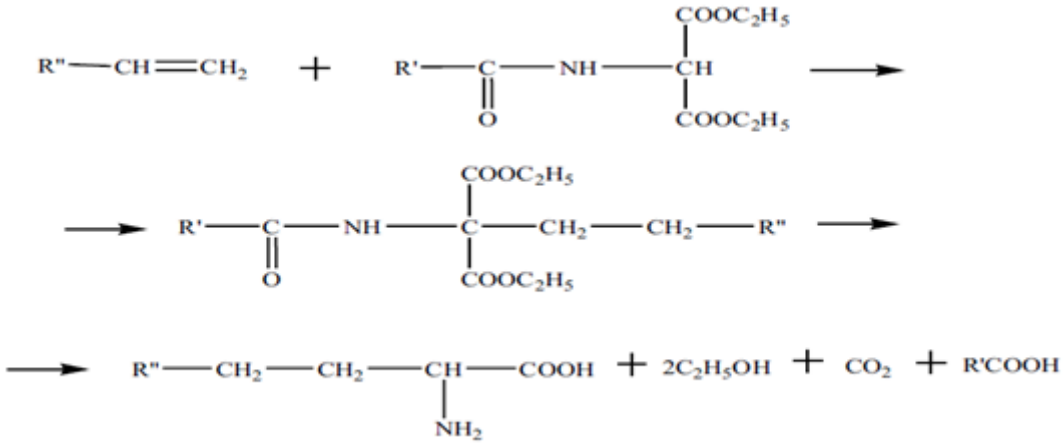
Ціангідрин



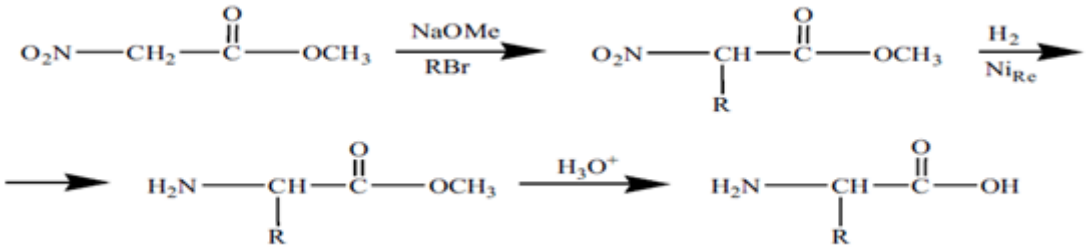
– прямий амоноліз α-галогенокарбонових кислот:



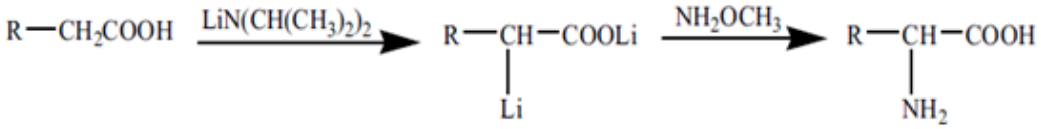
– реакція Міхаєля:



– реакція алкілування метилнітроацетату алкілгалогенідами з подальшим відновленням нітрогрупи воднем у присутності нікелю Ренея:



– пряме амінування одноосновних карбонових кислот через проміжне утворення α-літієвих солей:



Цей метод зумовлює отримання α-амінокислот із виходом ~ 30 %.

Основним недоліком хімічного синтезу є отримання продуктів у вигляді рацематів.

Хімічний синтез застосовують для отримання в значних кількостях тих амінокислот, які можуть бути використані у вигляді рацематів.

Існують такі методи поділу рацемічних сумішей амінокислот:

1) фізичний (механічний відбір кристалів за їх формою);

2) фізико-хімічний (метод афінної хроматографії на оптично активних сорбентах);

3) хімічний (перехід енантіомерів у діастереомери).

Енантіомери − хіральні хімічні сполуки, що є дзеркальним відображенням один одного, що мають однакові фізичні та хімічні властивості які обертають площину поляризованого променя світла на певний кут у взаємопротилежних напрямках.

Діастереомери − стереоізомери, які не є дзеркальними відображенням та відрізняються за своїми фізичними та хімічними властивостями.

Для здійснення хімічного розділення проводять реакцію енантіомерів з одним оптичним ізомером хірального реагенту.

При цьому отримують похідне, що має більше число хіральних атомів та являє собою суміш діастереомерів, які різняться за своїми фізичними та хімічними властивостями.

Розділення діастереомерів можна здійснити фізико-хімічними методами, (наприклад іонообмінною хроматографією).

Загальна схема розділення рацемічних сумішей кислот може бути представлена таким чином (рис. 3).

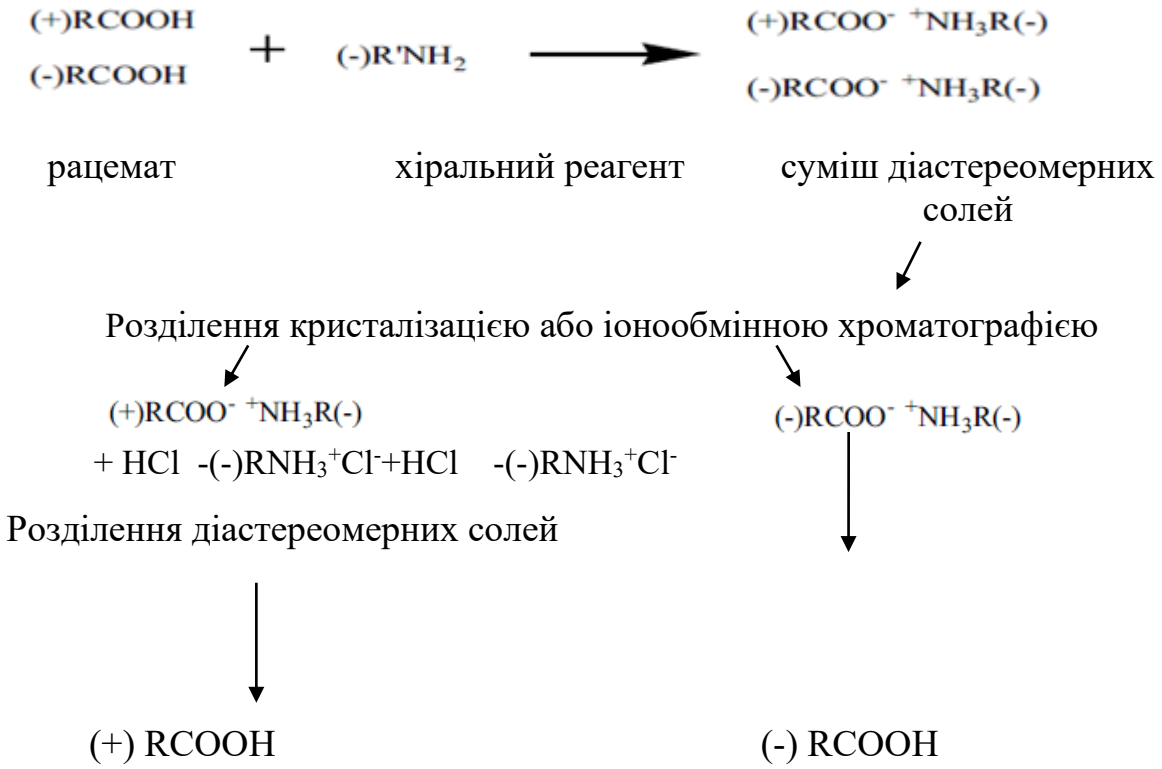
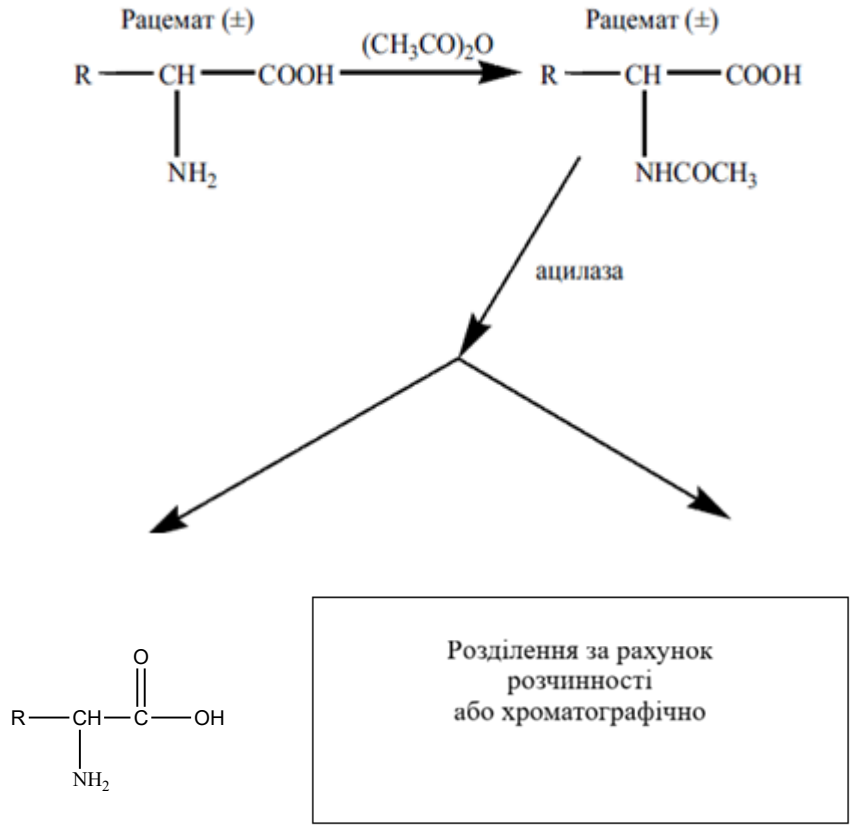


Рисунок 3 − Загальна схема розділення рацемічних сумішей амінокислот

Рацемічні кислоти поділяють за допомогою оптично активних основ, а рацемічні основи − за допомогою оптично активних кислот.

Як оптично активні основи зазвичай використовують рослинні алкалоїди: хінін та ін. речовини, а з оптично активних кислот – винну та яблучну кислоти.

4) біохімічний – ферментативний спосіб розщеплення з використанням ферменту ацилази (рис. 4), що виділяється з нирок свині, здатного гідролізувати N-ацетил-L-α-амінокислоти.



N-ацетил-D-α-амінокислота

+ HCl

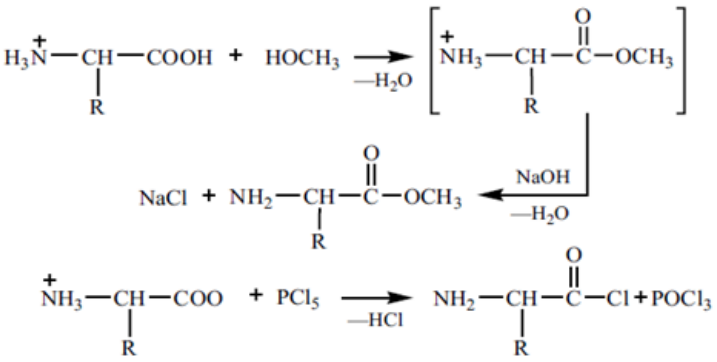
L-α-амінокислота
D-α-амінокислота

Рисунок 4 − Схема розділення рацемічних сумішей з використанням ферменту – ацилази

2. Хімічні властивості α-амінокислот, що зумовлені наявністю карбоксильної групи, здатність α-амінокислот до комплексоутворення

Хімічні властивості α-амінокислот, що зумовлені наявністю карбоксильної групи:

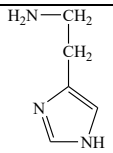
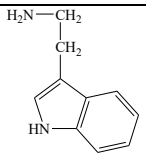
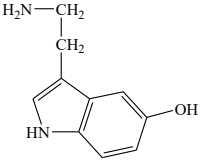
1) утворення солей, складних естерів та галоген ангідридів відповідних амінокислот:

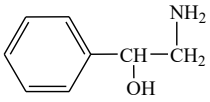
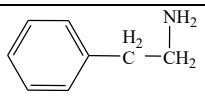
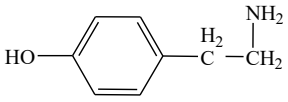
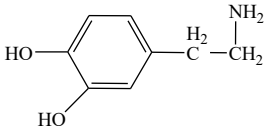
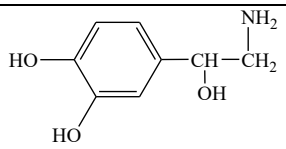
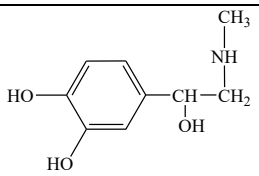


2) декарбоксилювання α-амінокислот (зв'язок С-С сильно поляризований через існування амінокислоти у формі цвітер-іона).

При декарбоксилюванні α-амінокислот в організмі синтезуються біогенні аміни (табл. 8).

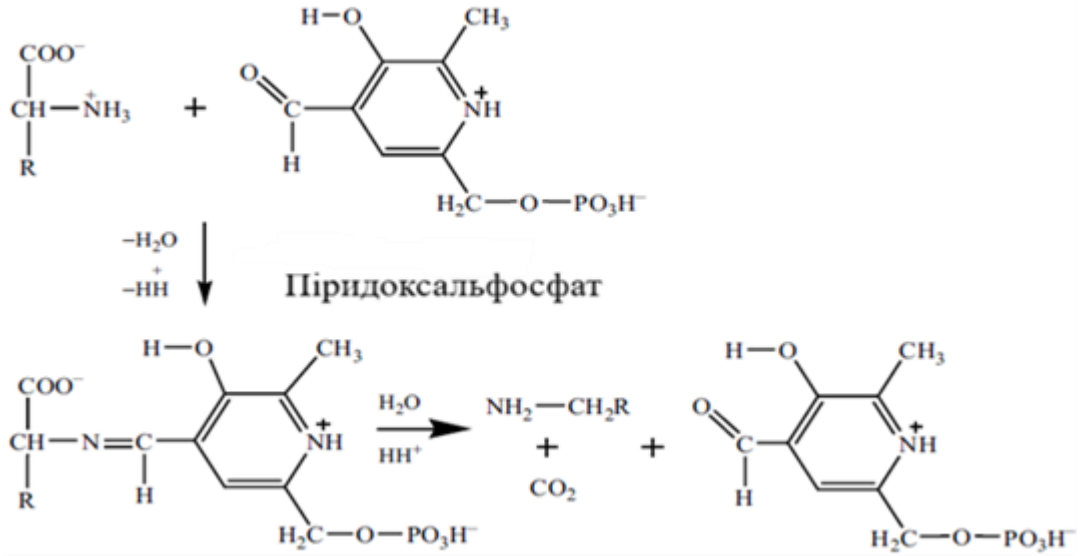
Таблиця 8 − Деякі представники біогенних амінів

Вихідна α-амінокислота	Біогенний амін	
	Назва	Формула
1	2	3
Серин	2-аміноетанол (коламін)	$NH_2-CH_2-CH_2OH$
Цистеїн	2-аміноетантіол (цистамін)	$NH_2-CH_2-CH_2SH$
Лізин	Пентаметилендиамін (кадаверин)	$NH_2-(CH_2)_5-NH_2$
Аспарагінова кислота	β-аланін	$NH_3-CH_2-CH_2-COO^-$
Глутамінова кислота	γ-аміномасляна кислота	$NH_3-CH_2-CH_2-CH_2-COO^-$
Гістидин	Гістамін	
Триптофан	Триптамін	
	5-гідрокситриптамін (серотонін)	
Цистеїн	Таурин	$^-OSO_2-CH_2-CH_2-NH_3^+$

1	2	3
Фенілаланін	Фенілетаноламін	
	Фенілетиламін	
Тирозин	Тирамін	
	Дофамін	
	Норадреналін	
	Адреналін	

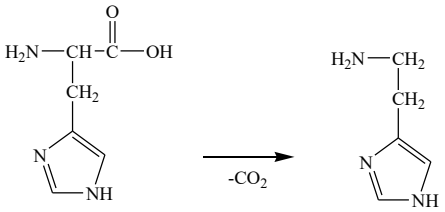
У живих системах процес декарбоксилювання α-амінокислот відбувається в присутності декарбоксилаз.

У процесі ферментативного декарбоксилювання α-амінокислота спочатку реагує з альдегідною групою піридоксальфосфату, утворюючи альдимін, із подальшим відщепленням CO_2 та регенерацією піридоксальфосфату:



За допомогою ферментативного декарбоксилювання синтезується більшість нейромедіаторів (γ-аміномасляна кислота – ГАМК, серотонін, дофамін, норадреналін, таурин).

Найважливіший біогенний амін – гістамін синтезується з гістидину, під дією гістидиндекарбоксилази:

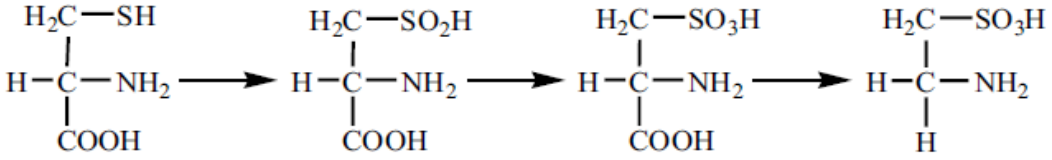


гістидин гістамін

Гістамін є медіатором алергічних реакцій.

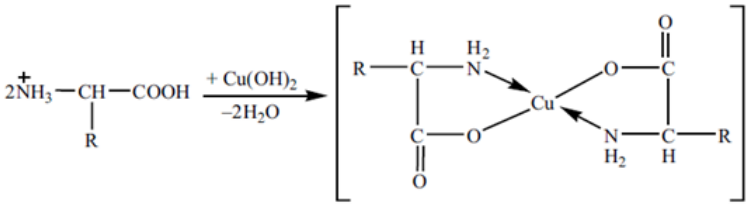
Синтез серотоніну з триптофану включає стадію попереднього гідроксилювання з подальшим декарбоксилюванням продукту, що утворився.

Утворення таурину з цистеїну включає в себе процес окиснення тіолового фрагмента з подальшим декарбоксилюванням:



Здатність α-амінокислот до комплексоутворення

Усі амінокислоти, віддаючи протон, утворюють хелатні комплекси з катіонами d-металів. При цьому донорами електронних пар виступають як аміногрупи, так і іонізовані карбонільні групи амінокислот. Усі α-амінокислоти зі свіжоприготовленим $Cu(OH)_2$ утворюють розчинний електронейтральний хелатний комплекс, забарвлений в **яскраво-синій колір**:



Яскраво-синій

Ця реакція може бути використана як неспецифічний метод виявлення α-амінокислот.

Кислі та основні α-амінокислоти, що містять додаткові протонодонорні або протоноакцепторні групи, є більш активними лігандами, ніж нейтральні амінокислоти.

Цистеїн, гістидин проявляють найбільшу активність в процесах комплексоутворення; містять групи, що легко поляризуються («м'які» групи):

тіольна та імідазольна група відповідно, які утворюють досить міцні зв'язки з «м'якими» катіонами біометалів.

Висока комплексоутворююча здатність цистеїну та гістидину амінокислот за рахунок активних груп замісника зберігається в пептидах і білках, що містять ці амінокислоти.

Тести для самоконтролю

1) Енантіомери – це:

А) молекулярні структури з однаковими атомами й характером зв'язків, які відрізняються розміщенням у просторі

Б) стереоізомери, які не є дзеркальними відображенням та відрізняються за своїми фізичними та хімічними властивостями

В) хімічні сполуки, що є дзеркальним відображенням один одного, що мають однакові фізичні та хімічні властивості, які обертають площину поляризованого променя світла на певний кут у взаємопротилежних напрямках

Г) конформаційні ізомери в стані рівноваги, яким відповідають мінімуми на енергетичній поверхні

2) Реакція Зелінського-Стаднікова – це:

А) прямий амоноліз α-галогенокарбонових кислот

Б) ціангідриновий синтез амінокислоти

В) пряме амінування одноосновних карбонових кислот через проміжне утворення α-літієвих солей

Г) реакція алкілування метилнітроацетату алкілгалогенідами з подальшим відновленням нітрогрупи воднем у присутності нікелю Ренея

3) У результаті якої реакції утворюються біологічно-активні аміни?

А) дезамінування

Б) декарбоксилювання

В) гідролізу

Г) ферментативного декарбоксилювання

4) Яка амінокислота дає жовте забарвлення за ксантопротеїновою реакцією, що переходить у помаранчеве після додавання лугу?

А) аланін

Б) валін

В) тирозин

Г) гліцин

5) Нінгідринова реакція з амінокислотами призводить до утворення фіолетового продукту (пурпур Рюманна). Яка амінокислота дає жовтий продукт замість фіолетового?

А) пролін

Б) лізин

В) серин

Г) аспарагін

6) Яка якісна реакція використовується для виявлення ароматичних амінокислот?

А) реакція Міллона
Б) ксантопротеїнова реакція
В) нінгідринова реакція
Г) біуретова реакція

7) Реакція Міллона є специфічною для амінокислот, що містять:

А) сульфгідрильну групу
Б) гуанідинову групу
В) імідазольне кільце
Г) фенольну групу

8) Реакція Сакагучі використовується для виявлення амінокислот, що містять:

А) фенольну групу
Б) індольне кільце
В) гуанідинову групу
Г) сульфгідрильну групу

9) Яка амінокислота дає позитивну реакцію Паулі, що супроводжується утворенням червоного азобарвника?

А) тирозин
Б) гістидин
В) обидві
Г) жодна

10) Позитивна реакція Гопкінса-Коула вказує на наявність у молекулі:

А) фенольної групи
Б) індольного кільця
В) сульфгідрильної групи
Г) карбоксильної групи

Практичне заняття №2

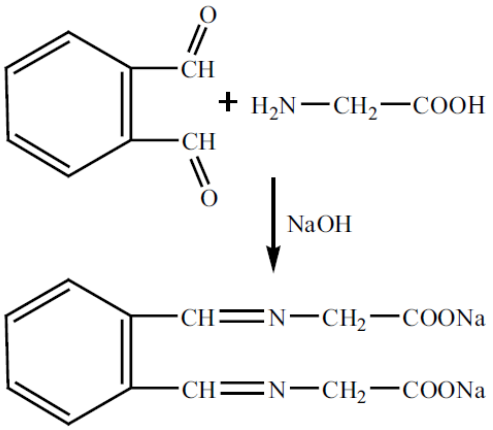
Якісні реакції на окремі α-амінокислоти

Мета: засвоїти механізм якісних реакцій на амінокислоти: гліцин, аргінін, тирозин, гістидин, триптофан

Хід заняття

Дослід 1. Реакція на гліцин (Цимермана)

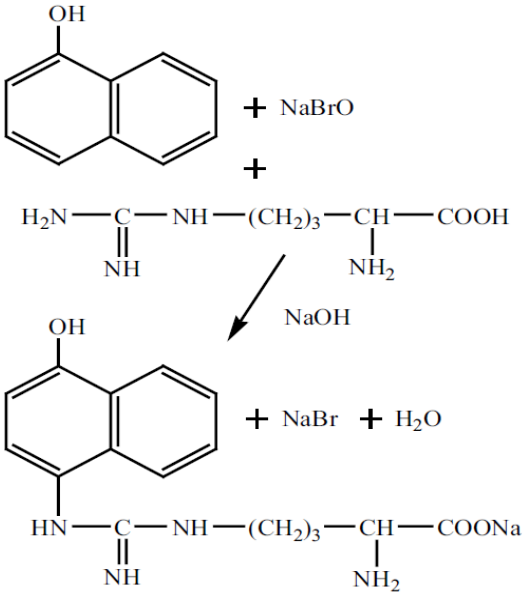
Принцип реакції: гліцин при взаємодії з о-фталевим діальдегідом у лужному розчині дає **яскраво-зелене** забарвлення розчину.



Хід роботи: до 10 крапель 1%-ого розчину білка додають 10%-ий розчин NaOH до pH = 8 (за лакмусом). Потім доливають 2-3 краплі водного розчину о-фталевого діальдегіду.

Дослід 2. Реакція Сакагучі на аргінін

Принципи реакції: гуанідинова група аргініну, що входить до складу білка, окиснюється натрій гіпобромітом; продукт окиснення взаємодіє з α-нафтолом, утворюючи речовину **червоного** кольору.



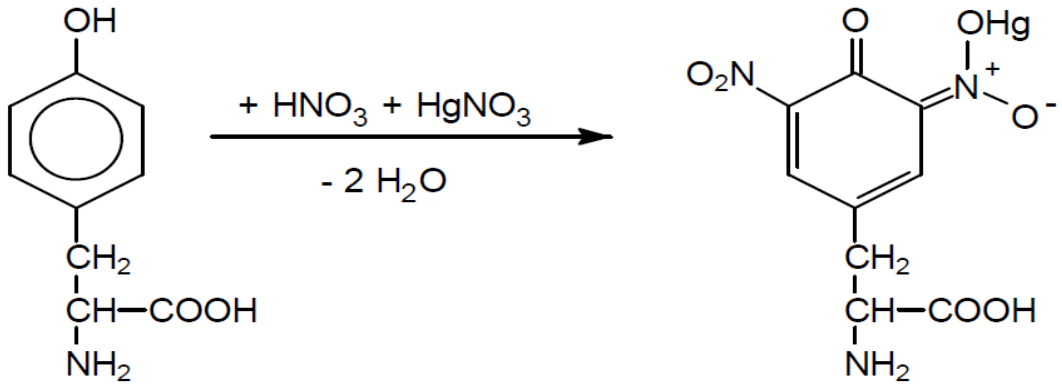
Хід роботи: до 10 крапель 1%-ого розчину білка додають 10 крапель 10%-ого розчину NaOH та 3 краплі 0,2%-ого спиртового розчину α-нафтолу.

Вміст пробірки перемішують, потім додають 10 крапель розчину натрій гіпоброміту (NaBrO) і знову перемішують. Для стабілізації червоного забарвлення додають 5 крапель 40%-ого розчину сечовини.

Дослід 3. Реакція Міллона на тирозин

Принцип реакції: фенольний гідроксил ароматичної амінокислоти тирозину бере участь у реакції з реактивом Міллона (суміш гідраргіум (I) і (II) нітратів та нітритів, розчинених у концентрованій нітратній кислоті).

Утворюється сіль тирозину, що має Гідраргіум та має **червоне** забарвлення.



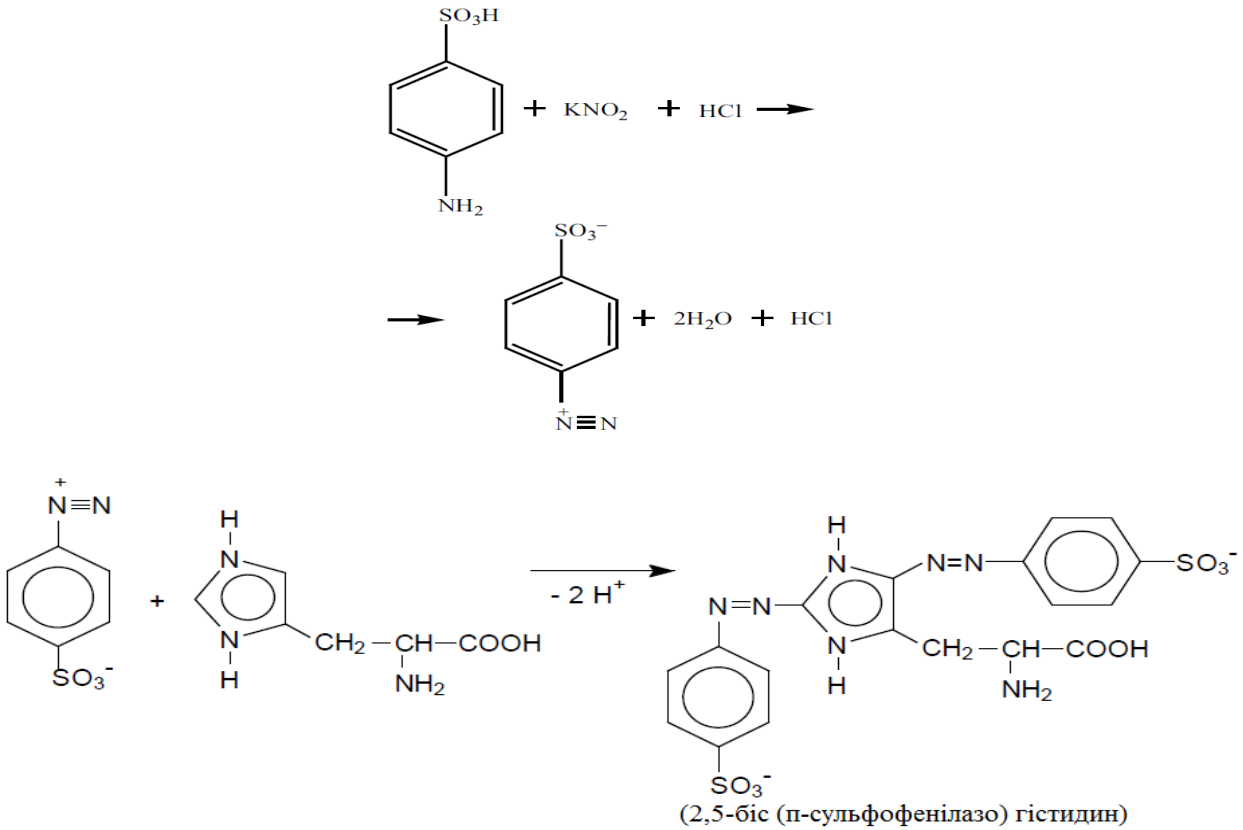
Джерело:

1) URL: https://www.youtube.com/watch?v=WaSCcl7SdaM
2) URL: https://www.youtube.com/watch?v=cOQehG4hRMA&t=31s

Хід роботи: до 3 мл розчину тирозину додають 1 мл розчину Міллона, ретельно перемішують. Через 10 хв розчин забарвлюється в **червоний** колір. Для прискорення реакції розчин можна підігріти.

Дослід 4. Реакція Паулі на гістидин

Принцип реакції: гістидин дає **вишнево-червоне** забарвлення при взаємодії з діазотованою сульфаніловою кислотою в лужному розчині.



(2,5-біс (п-сульфофенілазо) гістидин)

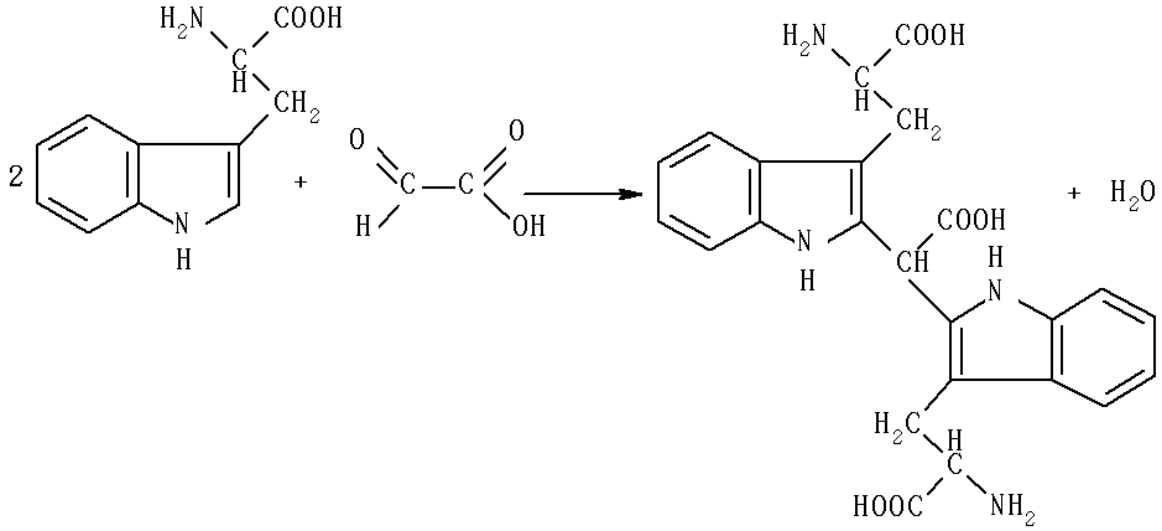
Хід роботи: до 5 крапель 1%-ого розчину сульфанілової кислоти в 5%-му розчині HCl додають 10 крапель 0,5%-ого розчину KNO_2.

Вміст пробірки струшують і швидко додають спочатку 10 крапель 1%-ого розчину білка, а потім, після перемішування, 10 крапель 10%-ого розчину Na_2CO_3.

Дослід 5. Реакції на триптофан

А) Реакція Адамкевича

Принцип реакції: триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою, утворюючи забарвлені в **червоно-фіолетовий** колір продукти конденсації.



Джерело:

1) URL: https://www.youtube.com/watch?v=7w3xLnFsB7s

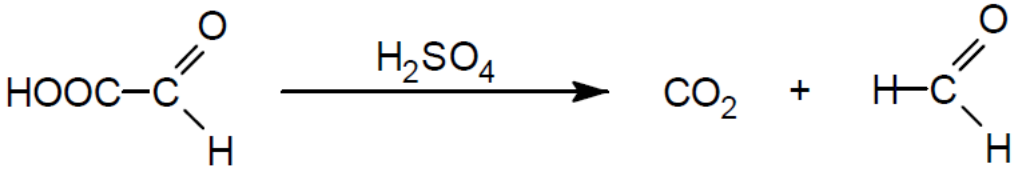
Хід роботи: до 2 крапель концентрованого яєчного білка додають 0,5 мл льодяної оцтової кислоти, що містить гліоксилову кислоту.

Суміш спочатку нагрівають, потім охолоджують і по стінці пробірки обережно по краплях додають 1 мл конц. сульфатної кислоти, слідкуючи, щоб рідини не змішувалися.

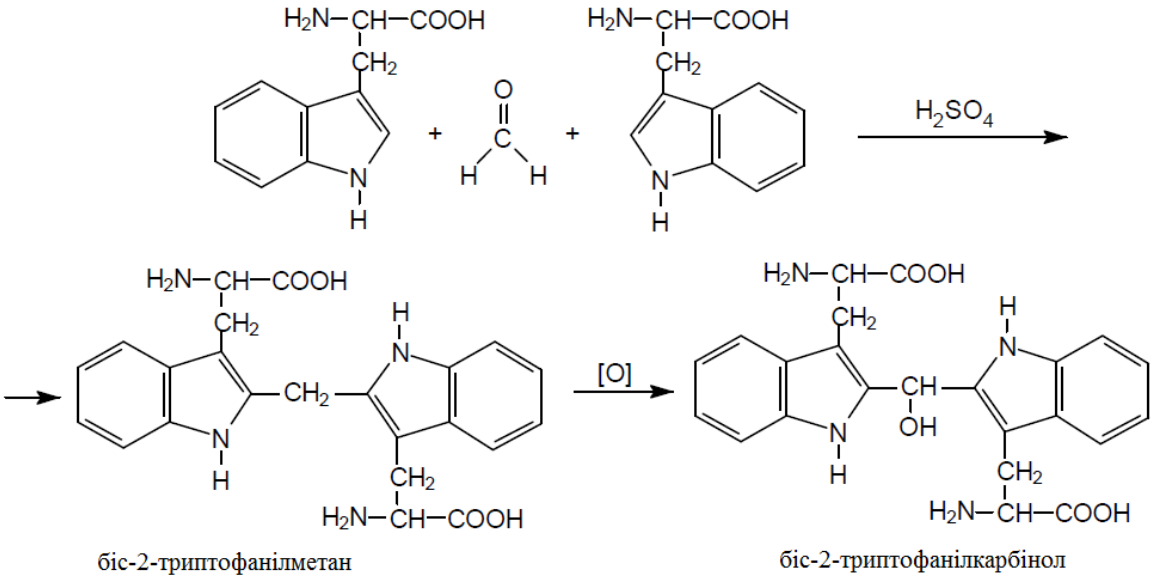
Через 10 хв на межі поділу двох шарів утворюється **червоно-фіолетове** кільце.

Б) Реакція Гопкінса-Коле

Принцип реакції: при взаємодії з гліоксилової кислотою в концентрованій сульфатній кислоті триптофан дає **синьо-фіолетове** забарвлення розчину.



гліоксилова кислота — формальдегід



біс-2-триптофанілметан — біс-2-триптофанілкарбінол

Хід роботи: до 5 крапель яєчного білка додають 5 крапель розчину гліоксилової кислоти і 2 краплі 6%-ого розчину купрум сульфату. Потім додають невеликими порціями 10 крапель конц. сульфатної кислоти, охолоджуючи вміст пробірки в ванні з льодом.

Залишають на 10 хв при кімнатній температурі і потім ставлять на 5 хв у киплячу водяну баню.

Зробіть висновок до практичного заняття 2.

РОЗДІЛ 2. ХІМІЯ ПЕПТИДІВ

Лекція 3. Номенклатура пептидів

Мета: засвоїти властивості пептидного зв'язку; загальної структури пептидів, класифікації та номенклатури пептидів; засвоєння біологічних функцій пептидів.

План

1. Властивості пептидного зв'язку; якісна реакція на пептидний зв'язок.
2. Загальна структура пептидів.
3. Класифікація та номенклатура пептидів.
4. Біологічні функції пептидів.

Ключові терміни та поняття: пептидний (амідний) зв'язок, дипептид, біуретова реакція, олігопептид, поліпептид, γ-пептидний зв'язок, глутатіон, внутрішньомолекулярне та міжмолекулярне дисульфідне зв'язування, гомомірні та гетеромірні пептиди, гомодітні та гетеродітні пептиди, пептоліди, канонічні та неканонічні пептиди.

1. Властивості пептидного зв'язку; якісна реакція на пептидний зв'язок

При побудові білкової молекули амінокислоти з'єднуються один з одним **пептидним (амідним) зв'язком** з виділенням молекули води.

Пептидний зв'язок утворюється аміногрупою однієї амінокислоти і карбоксильною групою іншої амінокислоти (рис. 5).

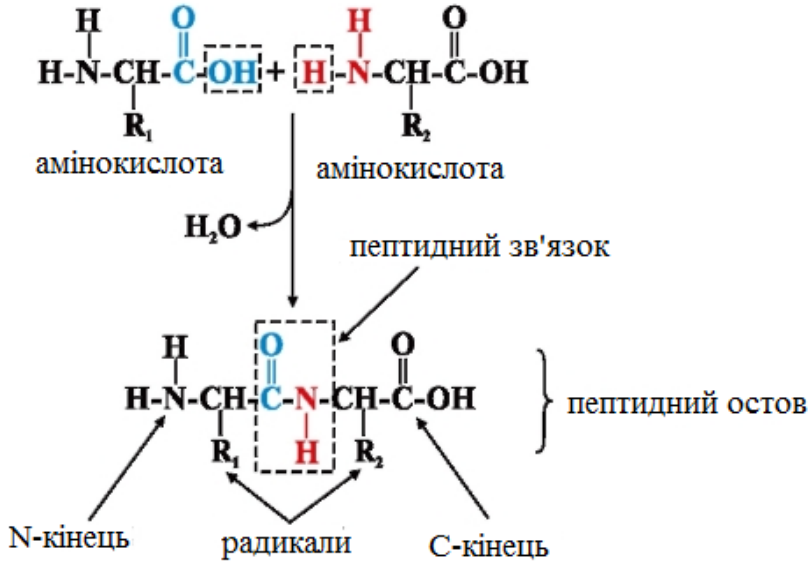


Рисунок 5 – Схема утворення дипептиду

У пептидній групі атом Карбону знаходиться в sp^2-гібридизованому стані (рис. 6).

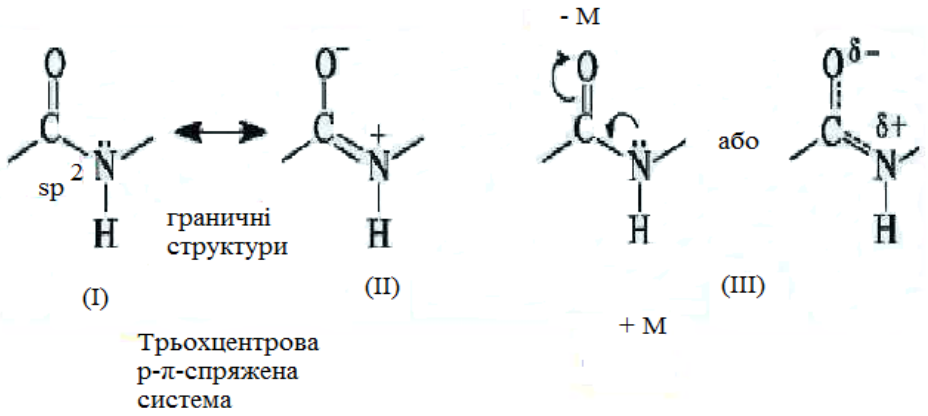


Рисунок 6 − Електронна будова пептидного (амідного) зв'язку

Неподільна пара електронів Нітрогену вступає в р-π-спряження з Карбоном, утворюючи єдину π-делокалізовану хмару.

Електронна будова зумовлює **плоску жорстку структуру** пептидної групи.

При цьому довжина зв'язку C−N стає 1,32 A^0 ($A^0 = 10^{-8}$ см). Це середня величина між одинарним σ-зв'язком (1,47 A^0 або 0,147 нм) та подвійним зв'язком (1,21 A^0 або 0,121 нм) (рис. 7).

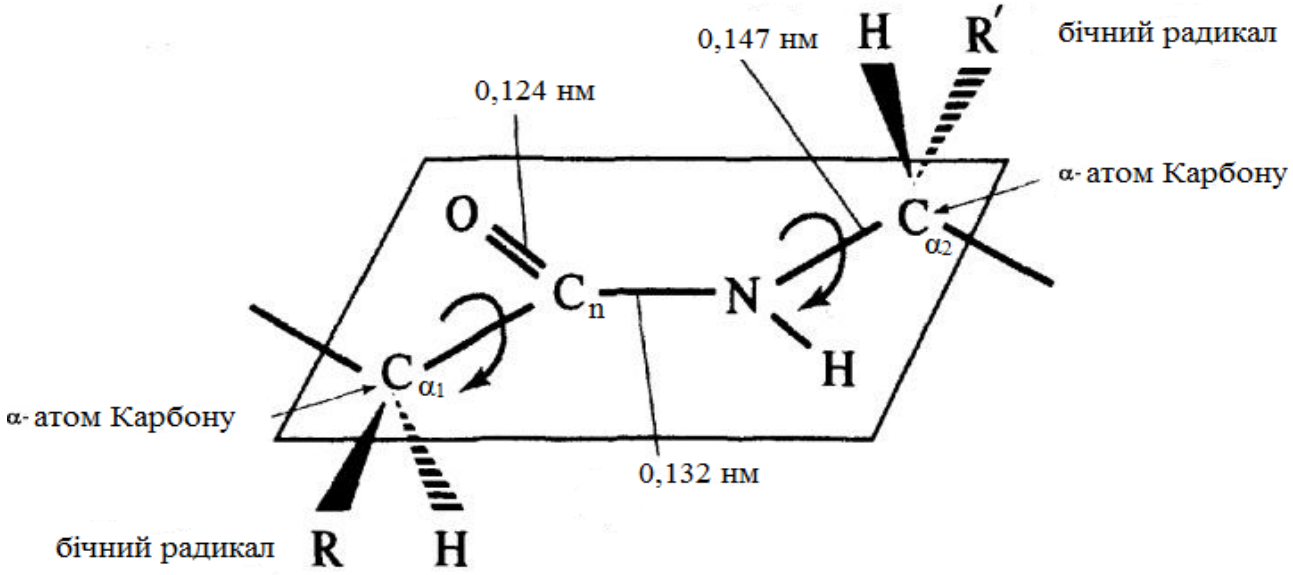


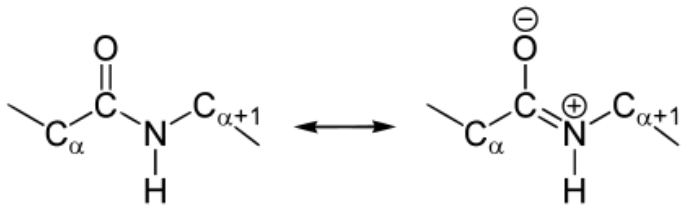
Рисунок 7 – Площинне розташування пептидної групи −CONH− та α_1-Карбонових атомів амінокислотних залишків

$C_{\alpha 1}$ і $C_{\alpha 2}$ карбонові атоми двох амінокислотних залишків − розташовуються в площині пептидної групи по різні сторони від зв'язку, тобто у більш вигідному транс-положенні (рис. 8).

При цьому бічні радикали R і R' амінокислотних залишків у просторі будуть **максимально віддалені один від одного**, що забезпечує найбільш **термодинамічно вигідніший стан системи**.

Обертання навколо одинарних зв'язків $C_{\alpha 1} - C_n$ і $N - C_{\alpha 2}$ обмежена внаслідок ускладнень в просторовому розміщенні бічних радикалів амінокислотних залишків.

У пептидному зв'язку за рахунок **резонансу канонічних структур** зв'язок C–N між Карбоном карбонільної групи та атомом Нітрогену частково має подвійний характер:



Це проявляється в зменшенні її довжини до 1,33 A^0 (рис. 8).

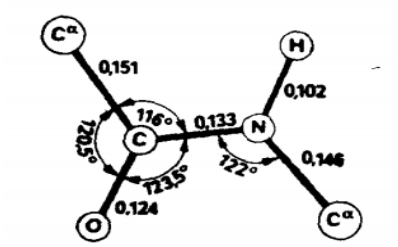


Рисунок 8 – Середня відстань між атомами (нм), які утворюють пептидний зв'язок та кути між цими зв'язками

Це обумовлює такі властивості:

1) **атоми зв'язку** (2 α-C, N, O, H) знаходяться в **одній площині**. **R-групи** амінокислот і Гідроген при α-Карбонах знаходяться **поза цієї площини**;

2) **H** і **O** в пептидному зв'язку, а також α-Карбони двох амінокислот транс-орієнтовані (**транс-ізомер більш стійкий**). У разі L-амінокислот, що має місце в усіх природних білках і пептидах, R-групи також транс-орієнтовані;

3) обертання навколо **зв'язку C-N** утруднено, можливо обертання навколо C-C зв'язку.

Таким чином, певне значення при формуванні вищих рівнів структури білка має **конфігурація пептидної групи**, що зумовлює **одноманітну будову поліпептидного ланцюга** в цілому, незалежно від амінокислотних залишків, які беруть участь в утворенні пептидної групи.

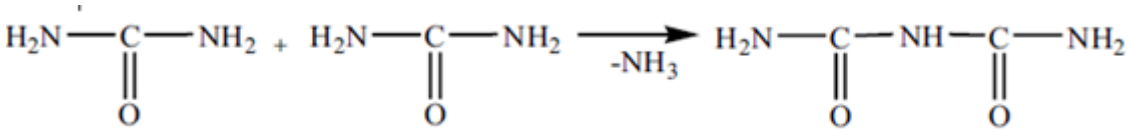
Якісна реакція на пептидний зв'язок

Для виявлення пептидів, а також їх кількісного визначення в розчині використовують **біуретову реакцію.**

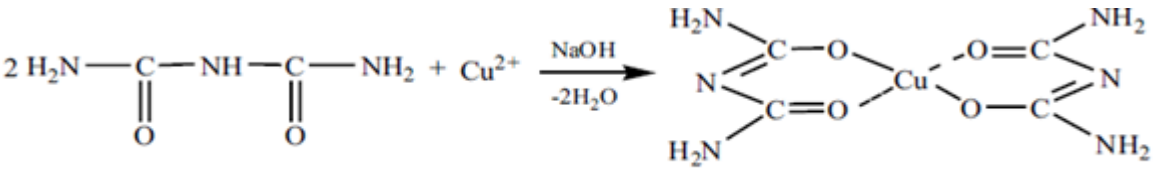
У біуретову реакцію вступають пептиди, що містять щонайменше **два пептидних зв'язка.**

При змішуванні розчину пептиду або білка з лужним розчином та купрум сульфату спостерігається **синьо-фіолетове забарвлення.**

Найпростішою сполукою, що містить амідний зв’язок, і що вступає в описану вище реакцію, є біурет (рис. 9).



сечовина сечовина біурет



біурет комплекс **синьо-фіолетового забарвлення**

Рисунок 9 – Схема біуретової реакції для біурету

2. Загальна структура пептидів

Пептиди – ланцюгові молекули, що містять від 2-ох до 100-а залишків амінокислот, які з’єднані між собою **амідними (пептидними) зв’язками** (рис. 10).

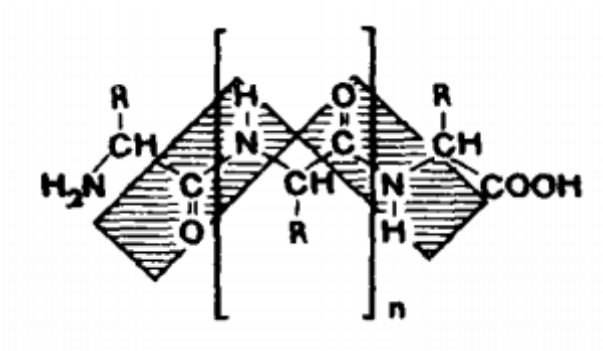


Рисунок 10 – Загальна будова пептидного зв’язку в структурі трипептиду

Термін «пептиди» був запропонований відомим хіміком **Емілем Фішером**.

Відомі **лінійні пептиди** та **циклічні пептиди**, що можуть мати різні розміри.

Циклічні пептиди утворюються з лінійних, коли пептидний зв’язок зв’язує аміно- та карбоксильну групу N- і С-кінцевих амінокислот (рис. 11).

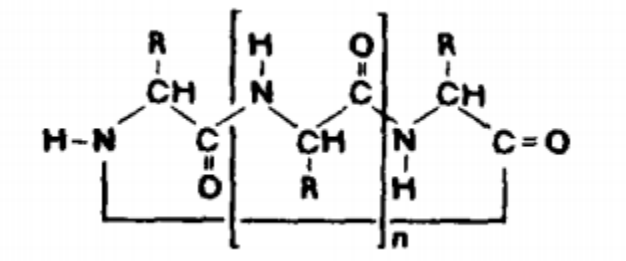


Рисунок 11 – Особливості будови циклічного пептиду

У **1951 р. Полінг** та **Корі** показали за допомогою рентгеноструктурного аналізу амінокислот, амідів амінокислот та простих лінійних пептидів, що **пептидний зв'язок C-N короткий** порівняно з нормальним простим зв'язком (див. рис. 8).

Внаслідок мезомерії утворюються дві стійкі плоскі конформації, **транс-** (I) і **цис-** (II), при ускладненому вільному обертанні біля зв'язку C-N (рис. 12).

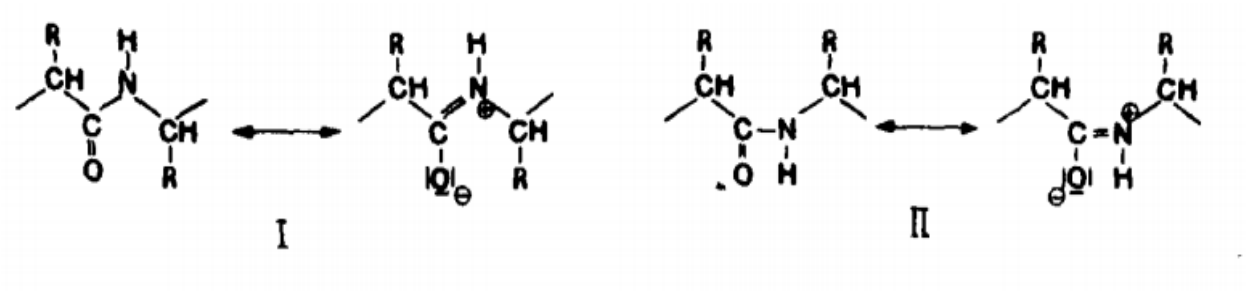


Рисунок 12 – Транс- та цис-конформації пептидного зв'язку

У **2,5-дикетопіперазинах**, найпростіших циклічних пептидах, побудованих із двох амінокислот, є **цис-пептидні зв'язки.**

Циклічні трипептиди можуть існувати тільки з трьома **цис**-пептидними зв'язками.

Пролін та **саркозин** не володіють можливістю стабілізації **транс-**пептидних зв'язків; з них можливо легко синтезувати **циклічний трипептид** – **циклотрипроліл**.

У нативних пептидах та білках переважає **транс-пептидний зв'язок**.

У деяких білках знайдені також й цис-пептидні зв'язки, при цьому в утворенні пептидного зв'язку завжди був присутній пролін.

3. Класифікація та номенклатура пептидів

За кількістю амінокислот, які містяться в пептиді, розрізняють **ди-, три-, тетра-, пента-, …, окта-, нона-, дека пептиди** і т.д.

Для уникнення проблем, пов'язаних із грецькою нумерацією довголанцюгових пептидів, **Боданські** запропонував кількість амінокислотних залишків пептиду позначати арабською цифрою та ставити перед словом «пептид». Наприклад, **7-пептид** замість гептапептид, **10-пептид** замість декапептид.

Пептиди, в молекулах яких **менше 10-ти** амінокислотних залишків, відносяться до **олігопептидів**.

Пептиди, побудовані з великої кількості амінокислотних залишків (**до ~100**), – до **поліпептидів**.

Межею між поліпептидами та білками вважаються сполуки з молекулярною масою ~ 10.000 Да, тобто вони складаються приблизно зі 100-а залишків амінокислот. Такий принцип класифікації заснований на здатності до діалізу через природні мембрани.

Згідно з принципами раціональної номенклатури, пептиди розглядають формально як ациламінокислоти, при чому амінокислота, карбоксил якої бере участь в пептидному зв'язку, має закінчення -іл.

Тільки С-кінцева амінокислота зберігає свою початкову тривіальну назву (рис. 13):

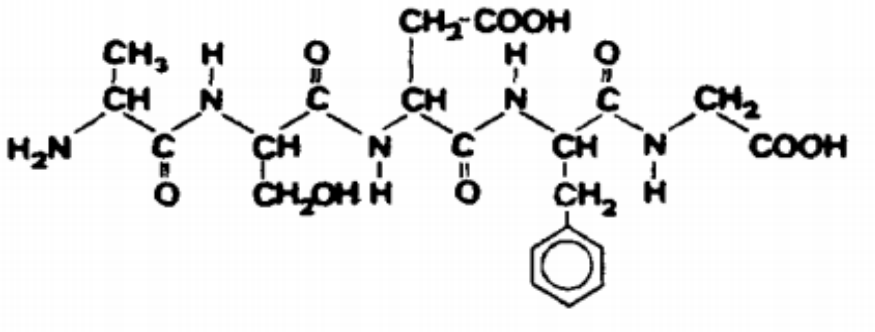


Рисунок 13 – Особливості будови 5-пептиду (аланіл-серил-аспарагіл-фенілаланіл-гліцину або Ala−Ser−Asp−Phe−Gly)

За **Бейлі**, у формулах лінійних пептидів амінокислота з вільною аміногрупою називається **N-кінцева амінокислота** (знаходиться зліва).

Амінокислота з вільною карбоксильною групою − **С-кінцева амінокислота** (знаходиться справа)**.**

У зазначеному прикладі 5-пептиду, аланін – N-кінцева амінокислота, а гліцин – С-кінцева амінокислота.

Коротка формула Ala-Ser-Asp-Phe-Gly відповідає назві 5-пептиду незалежно від стану іонізації (рис. 14).

H–Ala–Ser–Asp–Phe–Gly–OH (I) H_3N^+–Ala–Ser–Asp–Phe–Gly–O^- (II)

H–Ala–Ser–Asp–Phe–Gly–O^- (III) H_3N^+–Ala–Ser–Asp–Phe–Gly–OH (IV)

Рисунок 14 – Особливості будови 5-пептиду: незаміщена форма (I), цвітер-іон (II), аніон (III), катіон (IV)

Даний пептид знаходиться в незаміщеній формі (I); в спрощеній формулі при аміно- і карбоксильній групах вказують наявність протону та гідроксильної групи за допомогою відповідних символів.

При загальноприйнятому способі написання формул виходять з того, що амінокислоти з трьома функціями, які мають додаткові аміно- чи карбоксильні групи (Lys, Orn, Glu, Asp), пов'язані з α-пептидними зв'язками.

Для **ω-пептидного зв'язування** при такому записі необхідні особливі позначення.

Наприклад, у трипептиді глутатіоні поряд з α-пептидним зв'язком є також **γ-пептидний зв'язок** (рис. 15).

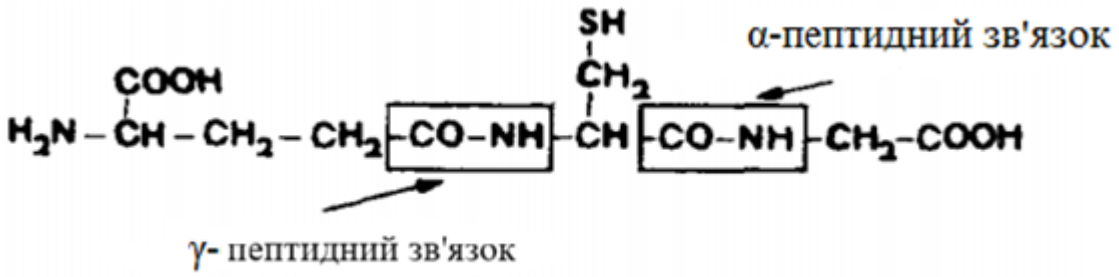


Рисунок 15 – Особливості будови глутатіону

Спосіб позначення γ-пептидного зв’язування в глутатіоні та ін. ω-пептидах позначається як на рис. 16.

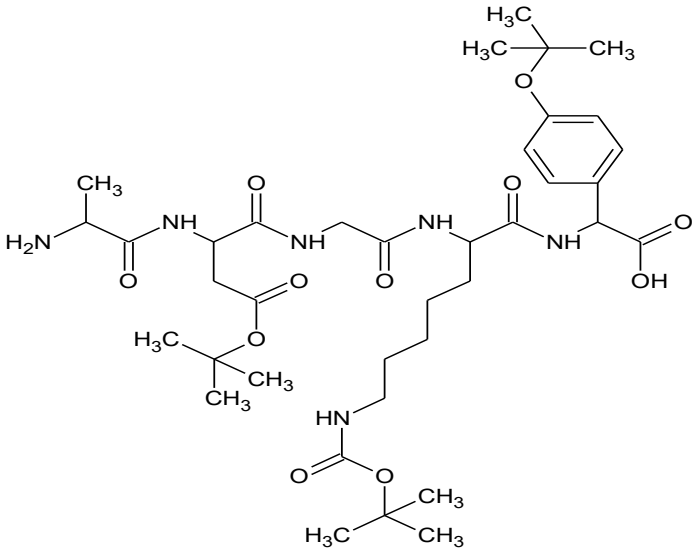
Глутатіон (відновлений) Glu – глутамінова кислота, Cys – цистеїн, Gly – гліцин	Glu | — Cys — Gly, ┌— Cys — Gly Glu
α-глутамілізин Lys – лізин	Glu — Lys
N^{ε}-α-глутамілізин	┌— Lys Glu —┐ Glu або Lys,
N^{ε}- γ-глутамілізин	Glu Lys └——┘ , Glu Lys , Glu | Lys

Рисунок 16 – Спосіб позначення γ-пептидного зв’язування в глутатіоні та інших ω-пептидах

Пептидний зв’язок між ε-аміногрупою лізину й γ-карбоксилом глутамінової кислоти (β-карбоксилом аспарагінової кислоти) називається **ізопептидним зв’язком** (такий зв’язок є в N^{ε}-γ-глутамілізин).

При скороченому записі пептиду заміщення бічного ланцюга позначають так: ставлять абревіатуру цього замісника вище чи нижче символу відповідної амінокислоти або ж в дужках безпосередньо після нього.

Наприклад, для пентапептиду L-аланіл-L-аспарагіл-(β-трет-бутиловий ефір)гліцин-N^{ε}-трет-бутилоксикарбоніл-L-лізил-О-трет-бутил-L-тирозину (рис. 17).



1) **Ala─Asp─Gly─Lys─Tyr** (OBu^+, Boc, Bu^+)

2) **Ala─Asp─Gly─Lys─Tyr** (OBu^+, Boc, Bu^+)

3) **Ala─Asp**(OBu^+)**─Gly─Lys**(Boc)**─Tyr**(Bu^+)

Рисунок 17 – 5-Пептид L-аланіл-L-аспарагіл-(β-трет-бутиловий ефір)гліцин-N^{ε}-трет-бутилоксикарбоніл-L-лізил-О-трет-бутил-L-тирозину

Пептид із відомою послідовністю формул записують, поєднуючи символи амінокислотних залишків рисочками; власне пептид та частина послідовності пептиду, яка ще невідома (абревіатури відповідних амінокислот розділені комами), їх вказують в дужках (рис. 18).

Пептид	Ala─Ser─Asp─Phe─Gly
Фрагмент пептиду	─Ala─Ser─Asp─Phe─Gly─
Послідовність пептиду, в якому невідома частина послідовності залишків амінокислот	Gly─Gly─Ala─(Tyr, Phe, Arg, Lys)─Val

Рисунок 18 – Особливості написання структури пептидів

Природні пептиди побудовані з амінокислотних залишків, пов’язані **α-пептидними зв’язками**.

Протеїногенна амінокислота цистеїн має додаткові варіанти поєднання амінокислотних залишків, так як при окисненні тіольної функції можуть утворювати **дисульфідні зв’язки** (рис. 19):

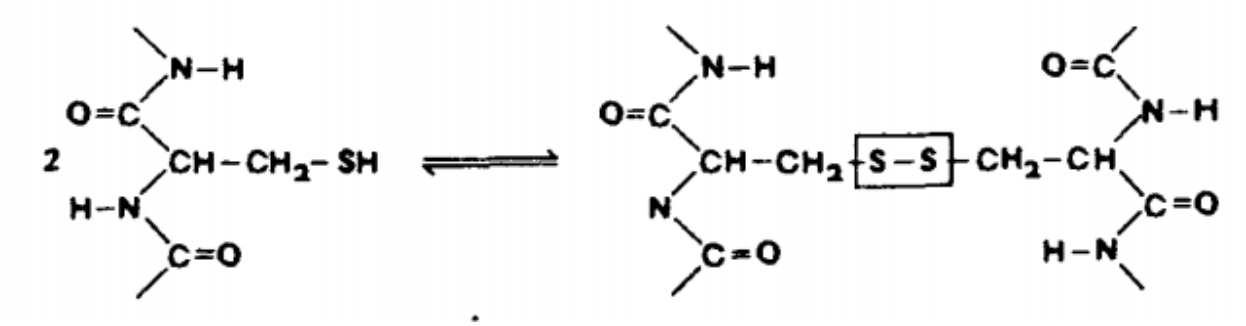


Рисунок 19 – Особливості утворення дисульфідних зв’язків

Розрізняють **внутрішньомолекулярне дисульфідне зв’язування** (в межах одного пептидного ланцюга) та **міжмолекулярне дисульфідне зв’язування** (між різними пептидними ланцюгами) (рис. 20).

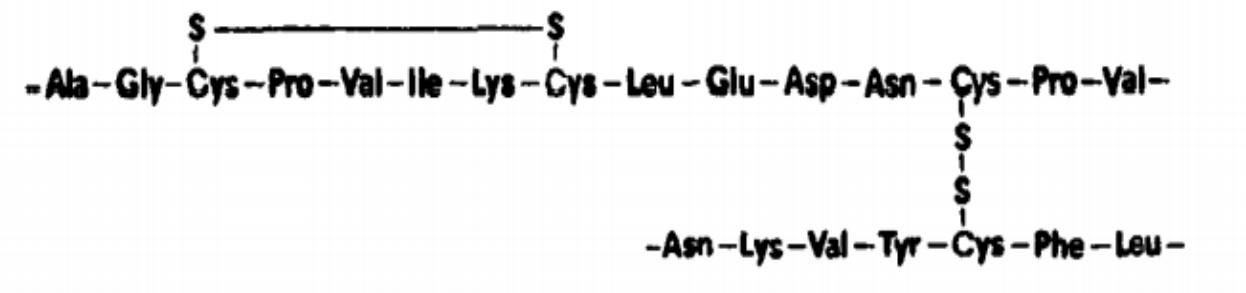


Рисунок 20 – Внутрішньомолекулярне та міжмолекулярне дисульфідне зв’язування

Наприклад, **внутрішньомолекулярні дисульфідні зв’язки** є в **окситоцині**, **вазопресині**, в А-ланцюзі **інсуліну** та в **рибонуклеазі**; міжмолекулярні дисульфідні зв’язки з’єднують між собою ланцюги пептидів.

Ковалентно зв’язаними можуть бути як ідентичні ланцюги, так і в окисненій формі глутатіону, чи в різних ланцюгах, як в інсуліні.

Дисульфідні зв’язки мають велике значення для утворення й стабілізації певних пептидних та білкових структур.

У природі можна зустріти пептидні речовини, побудовані не лише з амінокислот, а й з оксикислот, з довгими залишками жирних кислот чи з іншими компонентами.

В утворенні зв’язків між бічними ланцюгами можуть брати участь не лише тіольні функції, але й гідроксильні групи бічних ланцюгів протеїногенних амінокислот.

Гомомірні пептиди – пептиди, що складаються лише з амінокислот.

Гетеромірні пептиди – пептиди, що, окрім амінокислот, мають небілкові компоненти.

Гомодітні пептиди – пептиди, що містять лише пептидні зв’язки.

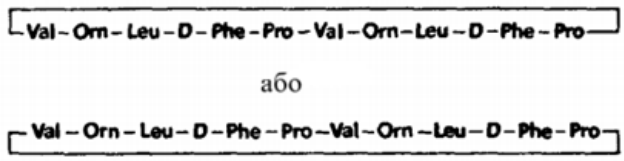
Гетеродітні пептиди – пептиди, що містять не тільки пептидні зв’язки, але й ефірні, дисульфідні та тіоефірні зв’язки.

Послідовність **циклічного гомодітного гомомірного пептиду** можна зобразити за допомогою символічних формул (наприклад, **граміцидин S**).

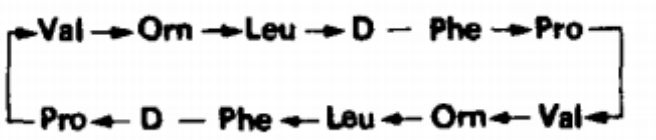
1. Укладають послідовність у дужки, а перед ними пишуть cyclo:

cyclo-(Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro-)

2. Записують амінокислотну послідовність пептиду, а потім з'єднують першу та останню амінокислоти довгою лінією вище або нижче послідовності:



3. При записі в два рядки необхідно за допомогою стрілок вказати атом Нітрогену пептидного зв'язку (-CO-NH-):



Циклічні гетеродітні гомомірні пептиди у скороченому записі зображуються аналогічно заміщеним амінокислотам (рис. 21).

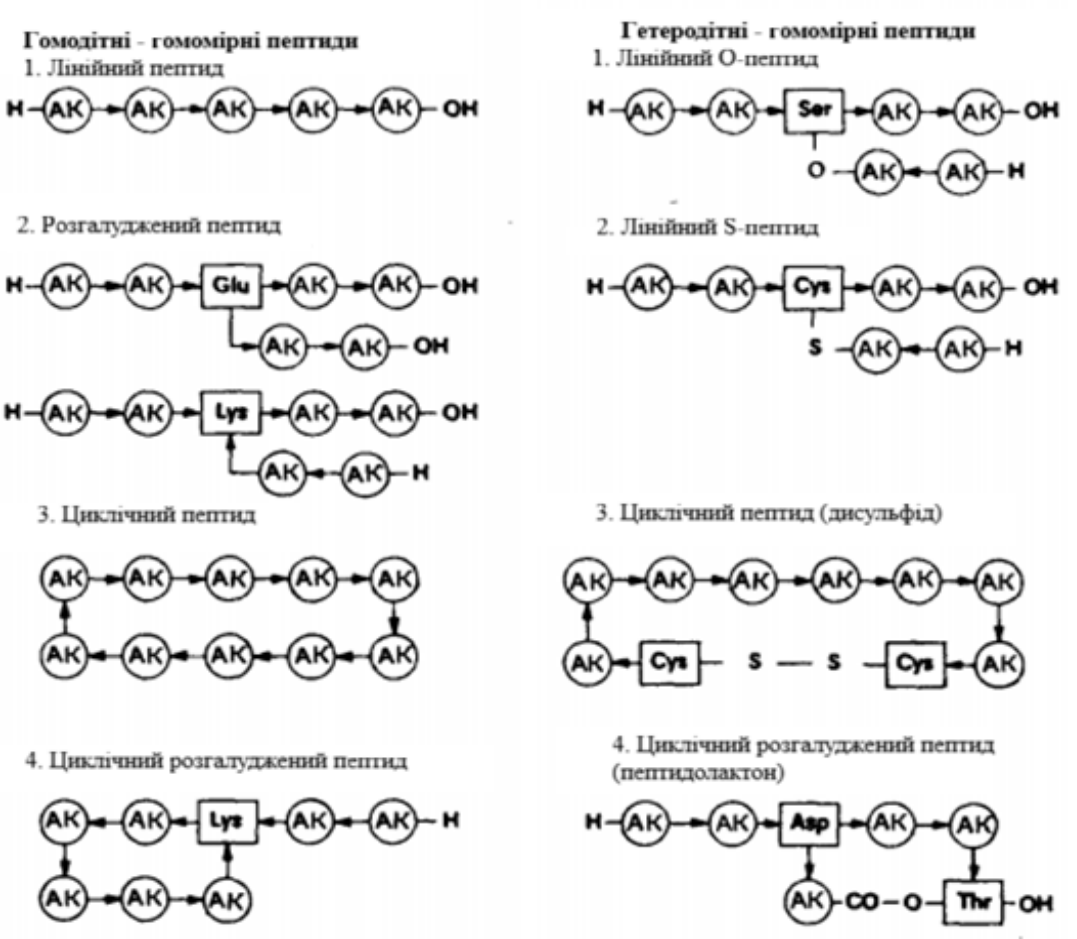


Рисунок 21 – Схема побудови гомодітних та гетеродітних гомомірних пептидів: АК – амінокислотний залишок

На рис. 21 наведено структури найважливіших гомомірних пептидів. Однаковість напрямку пептидного зв'язку зображено стрілками.

До **гетеродітних пептидів** відносяться **депсопептиди** та **пептоїди**.

Депсопептиди – пептиди, котрі на ряду з пептидними зв'язками містять також й ефірні, тобто гомомірні О-пептиди й пептид лактони оксиамінокислот серину й треоніну.

Назву **пептоїди** застосовують для складних білків, побудованих із гетеромірних пептидів.

Важливими представниками цього ряду є **ліпо-, гліко-, фосфо-, і хромопептиди**, в яких гетероскладові ковалентно зв'язані з пептидом за допомогою аміно- й/або карбоксильних груп, чи за рахунок функціональних груп бічних ланцюгів.

Пептоліди – пептиди з вбудованими в ланцюг оксиамінокислотами. Більшість пептолідів – циклічні сполуки; є пептидними антибіотиками.

Усю різноманітність пептидів можна розділити на **2 групи**:

1 група − пептиди з будовою, типовим для білка, побудовані з канонічних протеїногенних амінокислот **(канонічні пептиди)**;

2 група − пептиди, що мають структуру, нетипову для білка **(неканонічні пептиди)**.

До складу пептидів 2-ої групи (неканонічні пептиди) входять **амінокислоти**, що мають **D-конфігурацію.**

Принциповою відмінністю пептидів двох груп є особливості їх біосинтезу.

Канонічно побудовані пептиди синтезуються на рибосомах при суворому генетичному контролі, а **пептиди неканонічної структури** синтезуються в рамках позарибосомальних ферментативних процесів.

Значно більшу різноманітність в будові **неканонічних пептидів** обумовлено включенням у їх **структуру D-амінокислот** (табл. 9).

Таблиця 9 − Природні пептиди з включенням D-амінокислот

Пептид	Включена в його склад D-амінокислота
1	2
У складі антибіотиків	
Бацитрацин	D-ізолейцин
Граміцидин А	D-лейцин
Граміцидини, актиноміцин С	D-валін
Граміцидин S	D-фенілаланін
Поліміксин D	D-серин
Структурні пептиди мікроорганізмів	
Пептиди клітинної стінки *Lactobacillus arabinosus*	D-аланін
Lactobacillus arabinosus і пептиди капсули	D-глутамінова кислота

Усі ці D-амінокислоти, знайдені в складі природних пептидів, є α-амінокислотами.

Неканонічні пептиди поділяють на:

1) модифіковані малі пептиди (антибіотики пептидної природи – пеніцилін, цефалоспорини);

2) невеликі лінійні пептиди;

3) циклічні дипептиди (2,5-диоксопіперазини);

4) циклічні гомодітні пептиди;

5) циклічні гетеродітні пептиди;

6) великі модифіковані пептиди.

4. Біологічні функції пептидів

Основні біологічні функції пептидів:

1) пептиди є **регуляторними пептидами** (рилізинг-фактори гіпоталамуса або ансерин, карнозин, ліберини та ін.); основна функція рилізинг-факторів та інгібіторів полягає в контролі секреції гормонів гіпофізу);

2) пептиди є **гормонами** (брадикінін, вазопресин, гастрин, окситоцин та ін.);

3) пептиди є **нейропептидами мозку** (ендорфін, енкефалін, скотофобін, пептиди пам'яті, сну та ін.);

4) пептиди є **алкалоїдами** (ерготамін, ерготин, ергокристин, пандамін скутіанін, цицифін, франгуланін та ін.);

5) пептиди є **антибіотиками** (актиноксантин, антибіотики-депсипептиди – бластолізин, валіноміцин, енніатини, пеніциліни, цефалоспорини; граміцидин S, граміцидини A, B, C, D, коліцин, ітурин, некарциностатин, нізин, поліміксини, тіроцидини);

6) пептиди є **токсинами** (антитоксини – фалоїдин, аманітин, антимонід, мелітин, ріцин, токсини бджіл, ос, шершнів та ін.).

У табл. 10 наведено приклади деяких **гормонів пептидної природи**.

На сьогодні вивчено більше 300 біологічно активних пептидів та їх аналогів.

Регуляторні пептиди грають ключову роль у підтримці гомеостазу (сталості внутрішнього середовища); беруть участь у захисті від патогенних бактерій і грибів (захисну функція пептидів).

Антимікробні пептиди еукаріот − поліпептидні сполуки довжиною не більше ніж 100 амінокислотних залишків.

У рослин виявлено 9 класів захисних пептидів, розміри яких варіюють від 20 до 90 амінокислотних залишків.

Усі рослинні антимікробні пептиди, для яких відома їх просторова організація, містять β-складки, асоційовані з α-спіралями.

Природні антимікробні пептиди виявляються практично у всіх формах живих організмів.

Синтезовані штучні пептиди з D-амінокислот володіють також антимікробною активністю, але стійкі до дії протеаз.

Таблиця 10 − Деякі гормони пептидної природи та їх біологічні функції

Гормон	Місце продукції	Біологічна роль
1	2	3
Адренокортикотропін (39 амінокислот)	Передня частка гіпофіза	Стимулює функціонування кори наднирників
Пролактин (220 амінокислот)	Передня частка гіпофіза	Впливає на ріст грудних залоз та індукує секрецію молока
Вазопресин (9 амінокислот)	Задня частка гіпофіза	Регулює мінеральний та водний обміни, є стимулятором запам'ятовування
Окситоцин (9 амінокислот)	Задня частка гіпофіза	Стимулює скорочення м'язів матки і м'язових волокон молочних залоз, зустрічається тільки у жіночої статі
Енкефаліни (за структурою близькі до опіатів (власні опіати) (5 амінокислот)	Центральна нервова система	Впливають на рецептори деяких клітин мозку, викликають ефект анестезії (знеболювання)
Тиреоліберин (3 амінокислоти)	Гіпоталамус	Стимулює синтез іншого гормону – тиреотропіну
Інсулін (два поліпептидні ланцюга 30 + 21 амінокислота)	β-клітини підшлункової залози	Впливає на рецептори на поверхні клітин, стимулюючи використання глюкози, регулює обмін вуглеводів, жирів, білків
Брадикінін (9 амінокислот)	Плазма крові	Пригнічує запальні процеси в тканинах

Антиоксидантна функція може розглядатися як один із проявів захисної функції пептидів.

Тести для самоконтролю

1) У просторі структури дипептиду бічні радикали R і R' амінокислотних залишків будуть ..., що забезпечує найбільш термодинамічно вигідніший стан системи:

А) мінімально віддалені один від одного
Б) максимально віддалені один від одного
В) рівномірно віддалені один від одного
Г) нерівномірно віддалені один від одного

2) Укажіть реакцію, що дозволяє виявити пептидний зв'язок ... – це: Скільки мінімум повинно бути пептидних зв'язків?

А) біуретова реакція; достатньо одного
Б) нінгідринова реакція; не менше двох
В) біуретова реакція; не менше двох
Г) ксантопротеїнова реакція не менше двох

3) Уперше термін «пептиди» був запропонований:

А) Полінгом
Б) Хеуорсом
В) Корі
Г) Фішером

4) У 2,5-дикетопіперазинах присутні (або відсутні) ...

А) транс- і цис-пептидний зв'язок
Б) цис-пептидні зв'язки
В) транс-пептидні зв'язки
Г) пептидні зв'язки відсутні

5) У глутатіоні є залишки таких амінокислот, як ...

А) глутамінова кислота, цистеїн, гліцин
Б) аспарагінова кислота, цистеїн, гліцин
В) глутамінова кислота, цистин, валін
Г) глутамінова кислота, метіонін, гліцин

6) Гомомірні пептиди – пептиди, що ...

А) містять не лише пептидні зв'язки
Б) містять лише пептидні зв'язки
В) складаються лише з амінокислот
Г) на ряду з пептидним зв'язуванням, можуть зустрічатися ефірні, дисульфідні та тіоефірні зв'язки

7) Граміцидин S – пептид, що відноситься до ...

А) циклічного гетеродітного пептиду
Б) депсопептиду
В) пептоїду
Г) циклічного гомодітного гомомірного пептиду

8) Брадикінін, вазопресин, гастрин, окситоцин відносяться до ..

А) нейропептидів мозку
Б) алкалоїдів
В) гормонів
Г) антибіотиків

9) Яка з наведених характеристик найбільш точно описує пептидний зв'язок?

А) вільно обертається навколо осі C–N

Б) має частково подвійний характер і є планарним
В) є повністю іонним
Г) легко гідролізується в нейтральному середовищі без каталізу

10) Яка з наведених характеристик відрізняє олігопептиди від поліпептидів?
А) тип пептидного зв'язку
Б) кількість амінокислотних залишків
В) наявність дисульфідних зв'язків
Г) тип амінокислот

Практичне заняття №3

Особливості структури та біологічна активність деяких пептидів

Мета заняття: ознайомитися з особливостями будови та біологічним значенням деяких пептидів.

Хід заняття

Завдання 1.

Ознайомтеся з особливостями структури неканонічних пептидів, такими як: модифікованими малими пептидами − пеніцилін, цефалоспорини; невеликими лінійними пептидами; циклічними дипептидами (2,5-диоксопіперазини); циклічними гомодітними пептидами; циклічними гетеродітними пептидами; великими модифікованими пептидами.

Модифіковані малі пептиди

Природні пеніциліни та цефалоспорини − пептидні похідні, що містять β-лактамний цикл.

Група природних антибіотиків – пеніцилінів – продукується різноманітними видами цвілевих грибів *Penicillium chrysogenum, Penicililum notatum*.

У результаті життєдіяльності цих грибів утворюються різні види пеніцилінів. Дані антибіотики можна розглядати як похідні 6-амінопеніцілановоі кислоти (рис. 22).

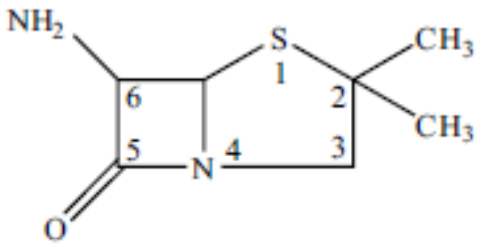


Рисунок 22 – Особливості будови 6-амінопеніцілановоі кислоти

Сімейство пеніцилінів розрізняється за будовою замісників. Одним із найбільш активних його представників є бензилпеніцилін (рис. 23).

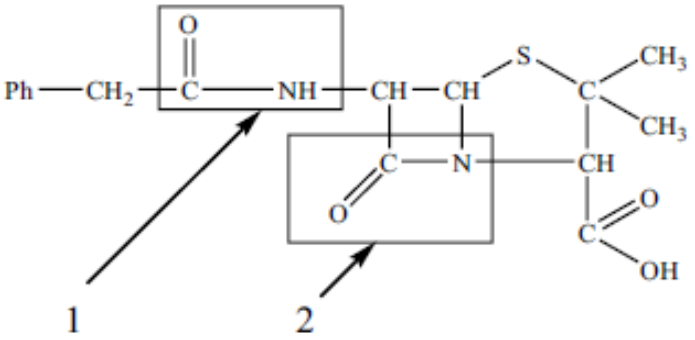


Рисунок 23 − Особливості будови бензилпеніциліну:
1 – азидний зв’язок, утворений 6-амінопеніциліновою і фенілоцтовою кислотами; 2 − амідний зв’язок β-лактамного циклу

До цефалоспоринів належить група природних антибіотиків та їх напівсинтетичних аналогів, що мають у своїй основі 7-аміноцефалоспоринову кислоту (рис. 24).

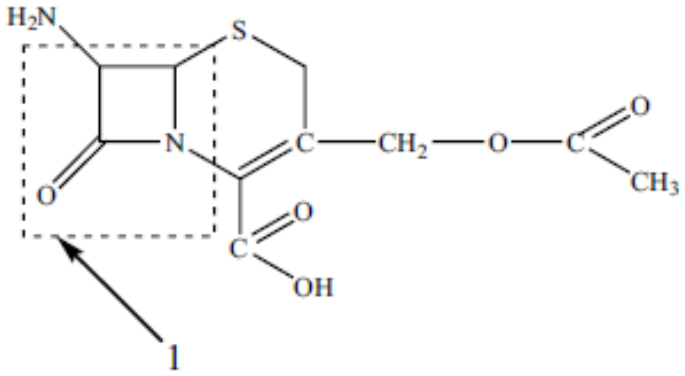


Рисунок 24 – Особливості будови цефалоспоринової кислоти:
1 – β-лактамний цикл, який включає амідний зв’язок

До антибіотиків даної групи відноситься цефалексин (рис. 25).

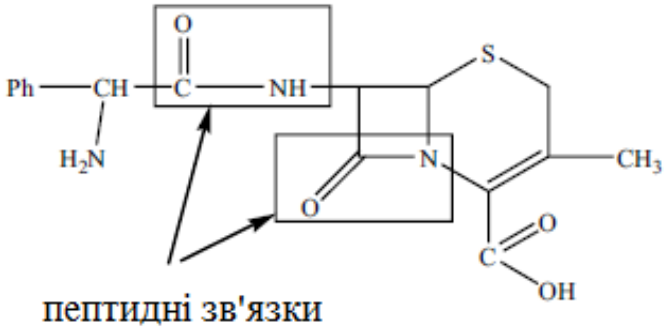


Рисунок 25 – Особливості будови цефалексину

Невеликі лінійні пептиди

Глутатіон – лінійний трипептид, що містить канонічні амінокислоти: глютамінову кислоту, цистеїн та гліцин (рис. 26).

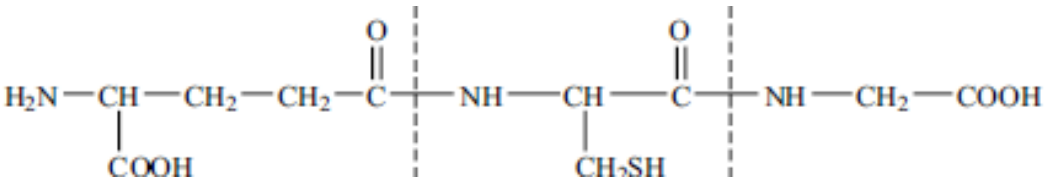


Рисунок 26 – Особливості будови глутатіону

Глутатіон бере участь у багатьох внутрішньоклітинних процесах; є косубстратом ферменту антиоксидантного захисту − глутатіонпероксидази (бере участь у руйнуванні перекисів; відіграє певну роль у транспорті амінокислот через мембрану і в процесі знешкодження ксенобіотиків (ліків); виконує специфічну роль при відновленні окисненої форми аскорбінової кислоти; бере участь у підтриманні цілісності еритроцитів, у синтезі ДНК, зв'язуванні важких металів, забезпечує толерантність головного мозку до ішемії; має велике значення для утримання іонів K^+; є маркером при злоякісному рості клітин.

Циклічні дипептиди (2,5-диоксопіперазини)

2,5-Диоксопіперазини – пептидні похідні природного походження (рис. 27).

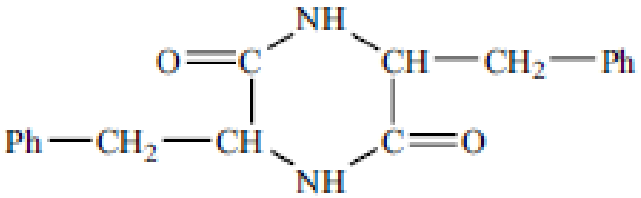


Рисунок 27 – Дипептид на основі 2,5-дикетопіперазину, побудований з L-фенілаланіну

Приклади дипептидів, що продуковані, мікроорганізмами містять у складі канонічні L-амінокислоти (табл. 11).

Таблиця 11 − Деякі дипептиди, продуковані мікроорганізмами

Дикетопіперазин	Джерело
1	2
Цикло-L-Pro-L-Leu	*Aspergillus fumigatus*
Цикло-L-Pro-L-Val	*Aspergillus ochraceus*
Цикло-L-Pro-L-Phe	*Rosellinia necatrix*
Цикло-L-Phe-L-Leu	*Aspergillus niger*
Цикло-L-Phe-L-Phe	*Streptomyces noursei*
Цикло-L-Pro-L-Gly	Екстракт дріжджів
Цикло-L-Ala-L-Tyr	Екстракт дріжджів

Найважливішими представниками пептидів, що містять дикетопіперазиновий фрагмент, є пептиди ріжків, що мають потужну токсичну дію.

Циклічні гомодітні пептиди

Представники циклічних гомодітних пептидів містять макроцикли, що утворені за допомогою амідних зв'язків.

Багато пептидів даної групи виділено з отруйних грибів, наприклад **фалотоксини**, які в надзвичайно малих кількостях ушкоджують клітини печінки. Продуцентом фалотоксинів є отруйний зелений гриб *Amanita phaloides*.

Фалотоксини – циклічні гептапептиди, з'єднані містками бічних ланцюгів залишків триптофану і цистеїну (рис. 28).

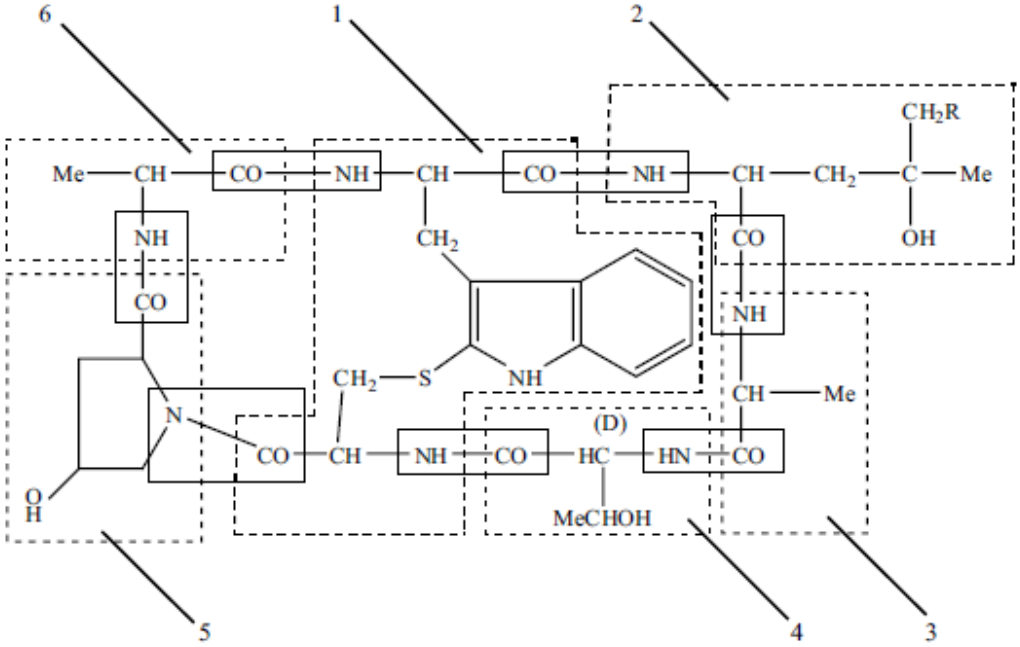


Рисунок 28 − Принципова структура скелету фалотоксинів

Сполука включає 7 пептидних зв'язків, позначених на рис. 28, як CO-NH, складається з 6-ти амінокислот, кожна з яких на рис. 28 обмежена штриховою рамкою, причому амінокислота, яка утворює внутрішній місток, є продуктом алкілування триптофану цистеїном.

Із 6-ти амінокислот, які складають даний гептапептид, три (3, 5, 6) є канонічними, а три (1, 2, 4) неканонічними.

Циклічні гетеродітні пептиди

Представники циклічних гетеродітних пептидів в своєму складі мають цикли, що містять гетероатоми та містять амідні зв'язки та ін. зв'язки.

Основним типом зв'язків, що зустрічаються в даних циклах, є складноефірні зв'язки.

Пептиди даного класу можна розділити на 2 групи:

1 група − група з пептидними і складноефірними зв'язками, що регулярно розташовані та представлена похідними валіноміцину (рис. 29). Ці пептиди утворюють ліпідорозчинні комплекси з катіонами K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, а також з біогенними амінами, що забезпечує їх високошвидкісний транспорт через мембрани.

2 група − група з складноефірними зв'язками, що нерегулярно розташовані.

Принципову схему актиноміцину та розгорнуту структуру актиноміцину D наведено на рис. 30 та рис. 31 відповідно.

Похідні актиноміцину в основному продукуються видом грибів *Streptomyces* і є потужними інгібіторами ДНК-залежного синтезу РНК.

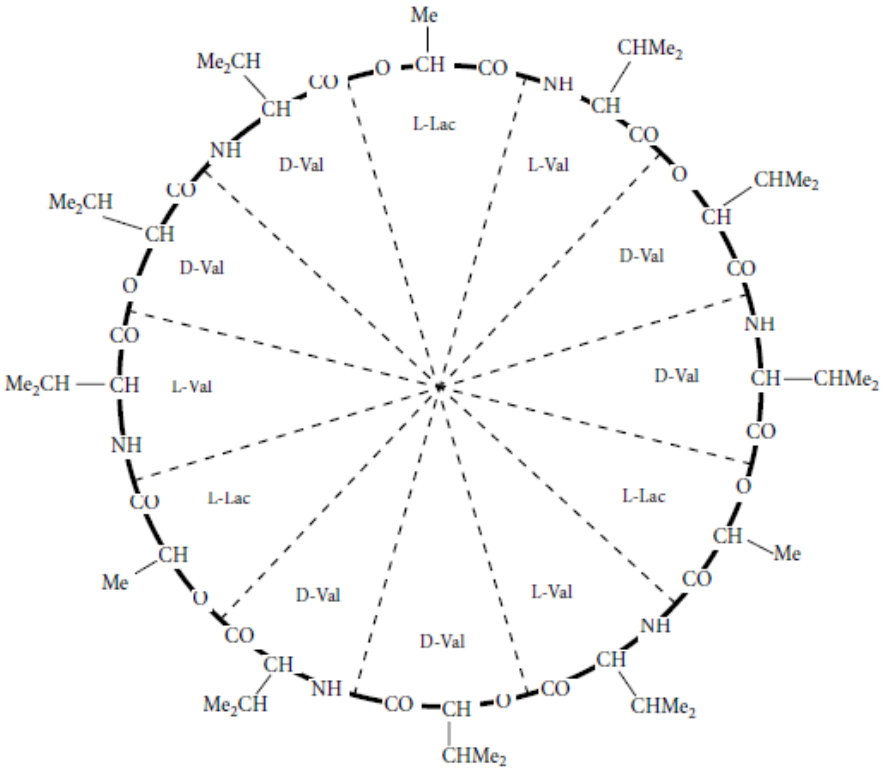
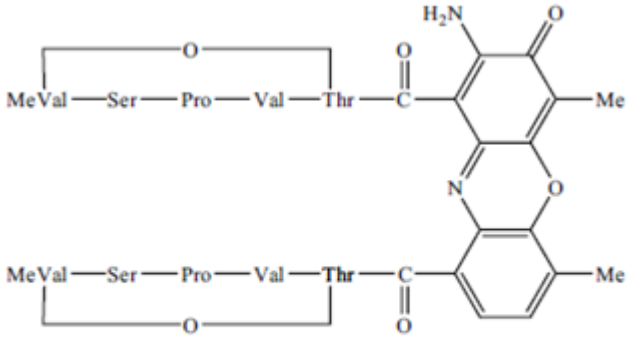


Рисунок 29 − Структура похідних валіноміцину



MeVal - метилвалін

Рисунок 30 − Принципова схема актиноміцину

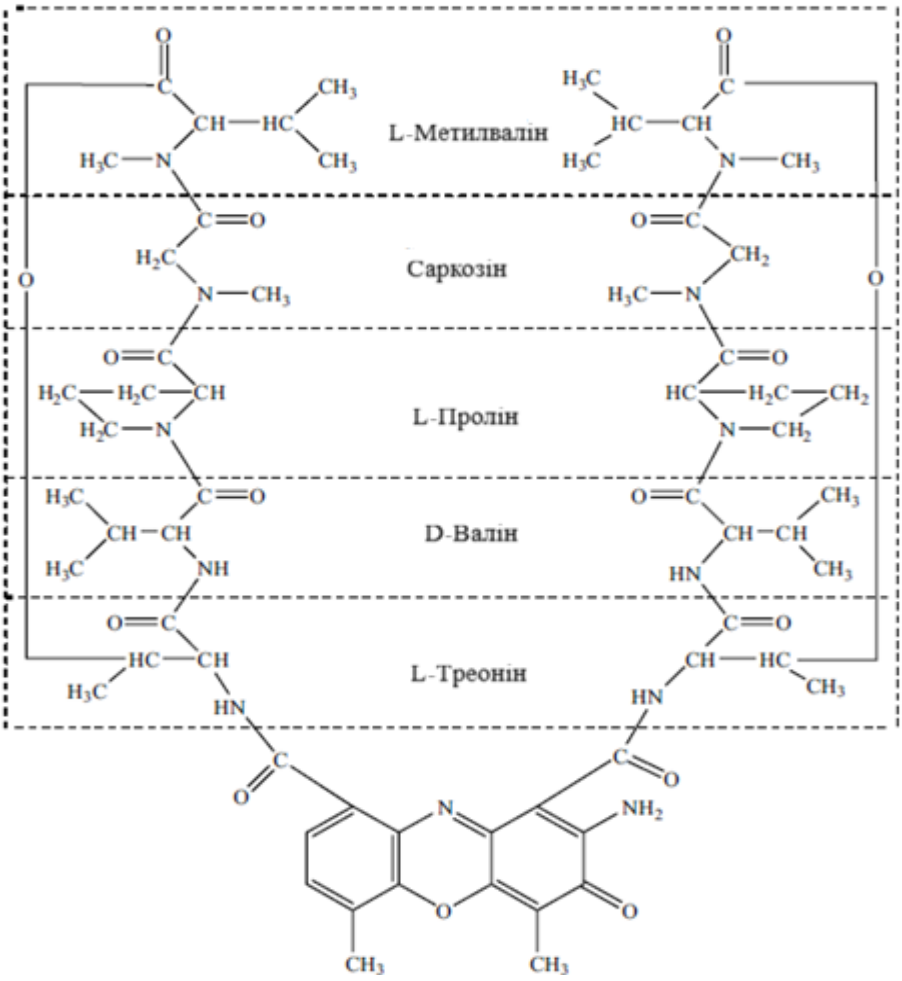


Рисунок 31 − Структура актиноміцину D

Великі модифіковані пептиди

До великих модифікованих пептидів відносяться великі пептиди мікробного походження, які включають ті ж модифікації, що і циклічні та гетеродітні пептиди.

Представником цієї групи пептидів є антибіотик субтилін, який продукується *Bacillus subtili,* що включає 32 АК залишки; ряд протипухлинних глікопептидів сімейства блеоміцину.

Завдання 2.

Ознайомтеся з біологічним значенням деяких пептидів (табл. 12).

Таблиця 12 – Біологічне значення деяких пептидів

№ з/п	Пептид	Біологічне значення
1	2	3
1	Вазопресин	1) Активізує процеси насичення тканин організму рідиною 2) Активно виводить натрій з крові 3) Збільшує об’єм та тиск крові в судинах 4) Підвищує рівень зворотного всмоктування рідин

1	2	3
2	Глутатіон	1) Бере участь у синтезі лейкотрієнів 2) Володіє антиоксидантними властивостями 3) Запускає в ракових пухлинах механізм самознищення клітин 4) Захищає лейкоцити 5) Нейтралізує руйнуючу дію вільних радикалів 6) Підвищує засвоюваність деяких ліків, вітамінів 7) Позбавляє клітини печінки від накопичення отруйних речовин, які відфільтровуються в ході розщеплення жирів; очищує кров 8) Утворює стійкі зв'язки з токсичними сполуками та сприяє їх безпечному виведенню з організму
3	Ендорфіни	1) Активує імунну систему 2) Володіє протибольовою дією 3) Надає антистресову дію 4) Покращує пам'ять 5) Попереджує старіння шляхом видалення перекисних сполук 6) Сприяє усуненню вікових змін стінок судин
4	Карнозин	1) Володіє антиоксидантними властивостями 2) Захищає білки від глікозування 3) Захищає організм від дії важких металів 4) Лікує нервові розлади 5) Нормалізує циркуляцію крові 6) Підвищує стресостійкість 7) Попереджує раннє старіння 8) Пригнічує дію патогенних факторів на нервові клітини 9) Руйнує надлишок іонів металів, які пошкоджують мембрани клітин
5	Окситоцин	1) Викликає сон 2) Впливає на виділення гормонів гіпоталамуса, гіпофіза і надниркових 3) Зупиняє післяпологову кровотечу 4) Проявляє психотропну дію 5) Стимулює лактацію 6) Стимулює появу захисних інстинктів 7) Стимулює скорочення гладких м'язів матки під час пологів
6	Тиротрицин	1) Володіє бактерицидною дією

Зробіть висновок до практичного заняття 3.

Лекція 4. Принципи пептидного синтезу

Мета: засвоїти механізм синтезу пептидів; ознайомитися з методами синтезу пептидів.

План

1. Синтез пептидів.

Ключові терміни та поняття: пептидний синтез, види синтезу пептидів, сучасний стан синтезу пептидів.

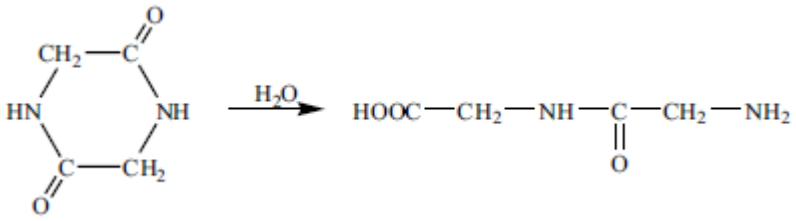
1. Синтез пептидів

Спроби отримати білковоподібні речовини прямим синтезом проводили ще у 70-х рр. XIX ст.

Пептидний синтез – побудова пептидного ланцюга шляхом поєднання амінокислот за допомогою хімічних методів.

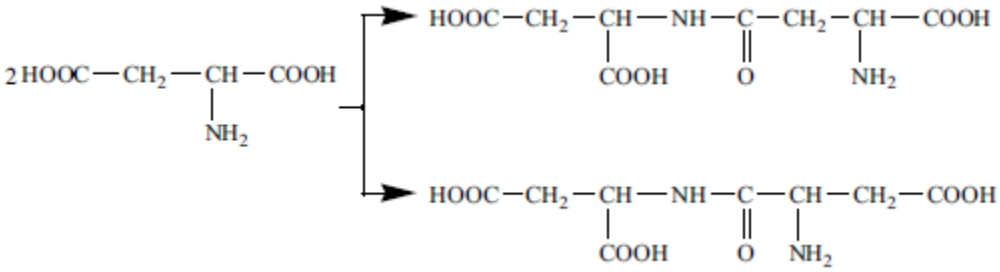
Синтез деяких пептидів

1) Реакцією часткового гідролізу дикетопіперазину, що містить у своїй структурі два пептидних зв'язки було отримано лінійний пептид – гліцилгліцин.



дикетопіперазин гліцилгліцин

2) У **1871 р. Шааль**, при нагріванні аспарагінової кислоти до 200 ^{0}C та пропусканні CO_2, отримав димер аспарагінової кислоти.



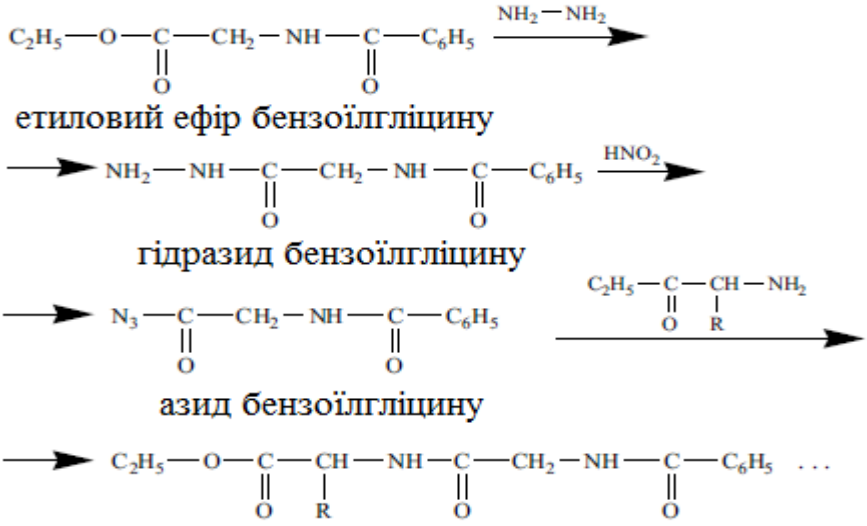
аспарагінова кислота димери аспарагінової кислоти

3) У **1882 р. Курциус** отримав пептидоподібну сполуку при взаємодії солі аргентуму гліцину з хлорангідридом бензойної кислоти.

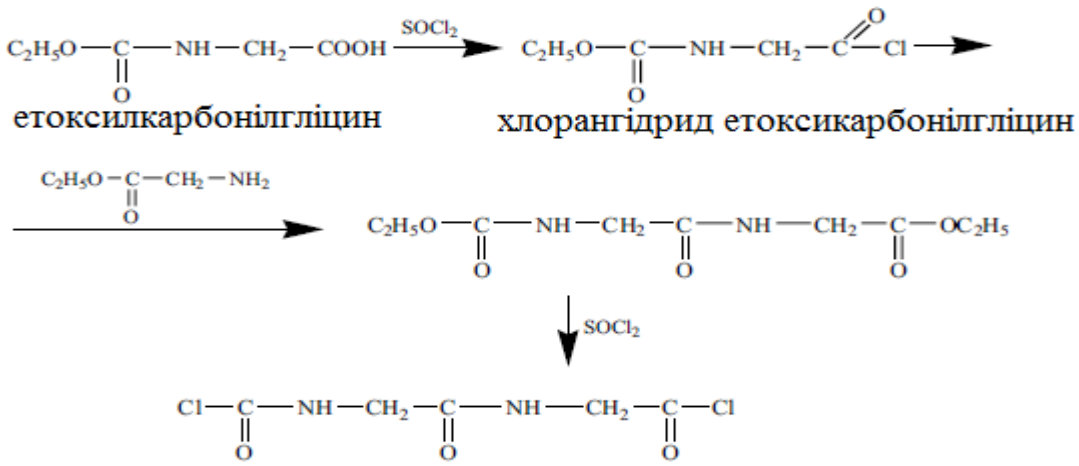


сіль аргентуму хлорангідрид гліцину пептидоподібна сполука бензойної кислоти

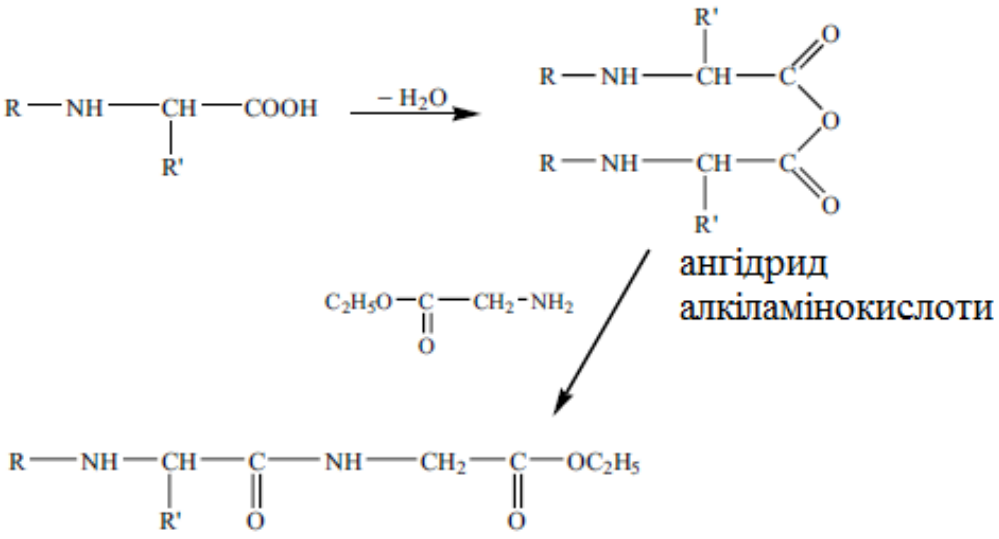
4) Азидний метод синтезу пептидів (запропонований більше 100 років тому, є актуальним і у теперішній час).



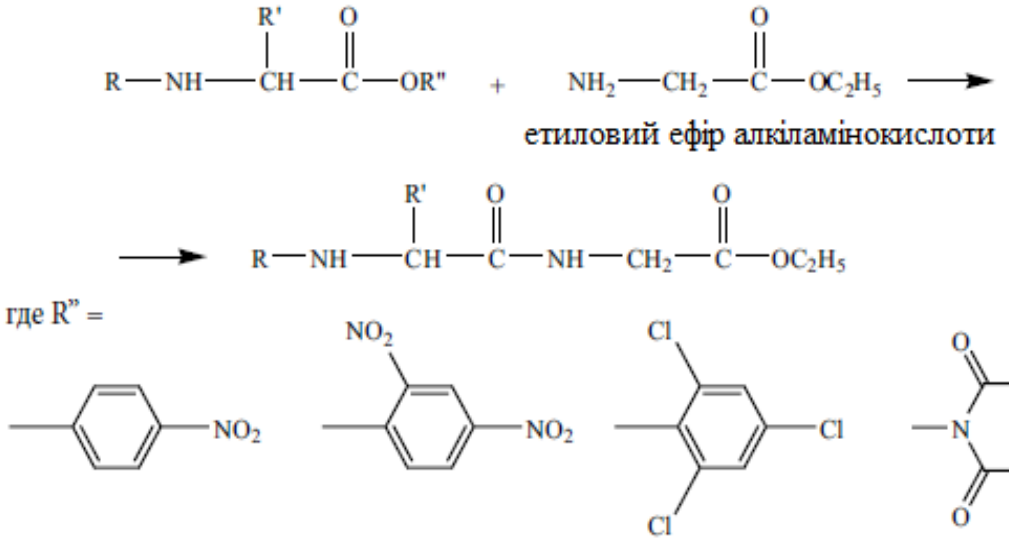
5) У **1903 р. Фішер** запропонував **хлорангідридний метод синтезу пептидів**; удосконалений згодом **Варбургом.**



6) Ангідридний метод синтезу пептидів.

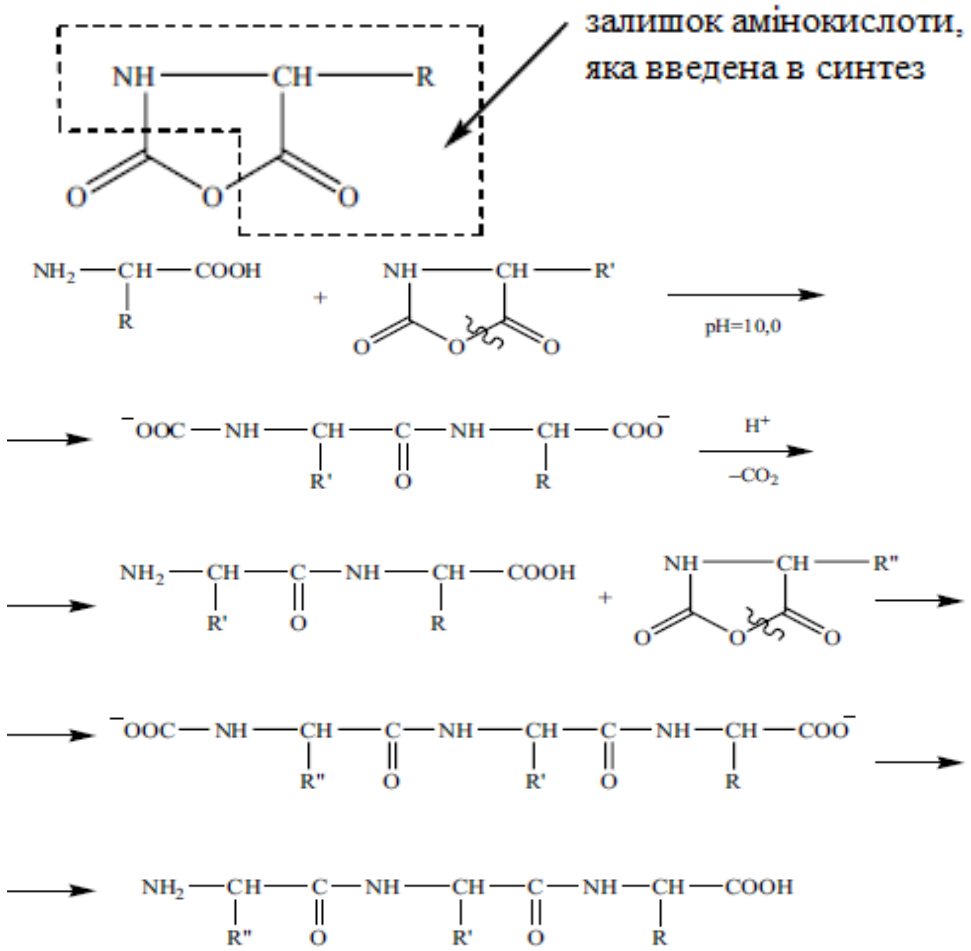


7) Метод активованих ефірів синтезу пептидів.



8) У **1966 р. Хіршманом** був запропонований **карбоксиангідридний метод синтезу пептидів.**

При цьому амінокислота, яка вводиться в поліпептидний ланцюг береться в карбоксиангідридній формі; побудова ланцюга починається з С-кінця.



У **50-ті р. XX ст. де Віньо** синтезував пептидні гормони **окситоцин** та **вазопресин**, що складаються з 9-и амінокислот, які володіли всіма біологічними властивостями природних аналогів (**де Віньо** удостоєний Нобелівської премії).

У **50-60 рр. XX ст.** проводили роботи по синтезу пептидних антибіотиків: **актиноміцину, валіноміцину, граміцидину S.**

У **1963 р.** був синтезований інсулін, що включає 2 поліпептидні ланцюги і 51 амінокислотний залишок; були отримані **синтетичні поліпептиди** (подібні до природних гістонів).

У **1969 р.** був здійснений **синтез ферменту рибонуклеази**, що включає 124 амінокислотних залишки; отриманий білок давав ~30% ензиматичної активності природного ферменту, але його кількість була настільки малою (частки мг), що подальше його очищення та характеристика не представлялися можливими.

Усі описані синтези здійснювалися в розчині і були надзвичайно тривалими; необхідно було домогтися повного розчинення проміжних пептидів, що були отримані; це викликало серйозні труднощі в роботі, так як під час нарощування поліпептидного ланцюга істотно змінювалася розчинність продуктів.

Із метою підвищення ефективності пептидного синтезу у **1963 р. Мерріфілдом** був запропонований **твердофазний метод синтезу пептидів**: ідея полягає в закріпленні поліпептидного ланцюга, що зростає, на нерозчинному носії.

При цьому значно спрощуються операції виділення проміжних продуктів; знімається проблема нерозчинності пептиду та створюються передумови для автоматизації процесу.

Наприклад, **синтез поліпептидів, іммобілізованих на твердій матриці,** активно проводиться за **ангідридним методом.**

Як носій найбільш широко використовується **мікропористий хлорметилований сополімер стиролу** і **дивінілбензолу**, який добре набухає в органічних розчинниках та володіє хімічною та механічною міцністю.

Навантаження полімеру зростаючими пептидними ланцюгами, як правило, невелика і становить 0,1-0,3 ммоль пептиду на 1 г полімерного носія.

Однак неможливість досягти 100% виходу поліпептиду на кожній стадії в процесі синтезу призводить до вкрай складних сумішей поліпептидів по закінченню процесу. Під час виявлення ферментативної активності у продукту, що синтезували, маємо справу із сумішшю гомологічних пептидів, розділити які практично неможливо. Подальшою модифікацією поліпептидного синтезу з використанням іммобілізуючої матриці була заміна нерозчинної полістирольної матриці на розчинну: більш **низькомолекулярний розчинний полістирол** або **поліетиленгліколь**, що дозволило з'єднати переваги синтезу **в розчині** (високі швидкості реакцій, широкий вибір реактивів та захисних груп) і переваги синтезу **на твердому носії** (легкість відділення надлишку реагентів і низькомолекулярних продуктів реакції, що полегшує **автоматизацію**).

Штучний пептидний синтез на сьогодні активно розвивається і вдосконалюється; цей процес є недосконалим у порівнянні з природним механізмом біосинтезу білка. Пептидний синтез має значно ширші можливості, так як з його допомогою можна включати в молекулу білка будь-які амінокислотні залишки, що не зустрічаються в природі, отримувати циклічні та поліциклічні структури. Пептидний синтез відкриває шлях до синтезу штучних аналогів природних ферментів, стійких до дії протеаз, може призвести до створення ферментів, здатних руйнувати небезпечні ксенобіотики і таким чином сприяти поліпшенню якості навколишнього середовища.

Сучасний стан синтезу пептидів (обов'язковий перегляд)

1) Peptide Synthesis

URL: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Organic_Chemistry_(Morsch_et_al.)/26%3A_Biomolecules-_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/26.08%3A_Peptide_Synthesis

2) Protecting Groups for Amines – Carbamates

URL: https://www.masterorganicchemistry.com/2018/06/07/protecting-groups-for-amines-carbamates/

3) Synthesis of Longer Peptides – Tripeptides and Tetrapeptides

URL: https://www.masterorganicchemistry.com/2019/02/15/introduction-to-peptide-synthesis/

4) Practical N-to-C peptide synthesis with minimal protecting groups

URL: https://www.nature.com/articles/s42004-023-01030-0

Тести для самоконтролю

1) Гліцилгліцин – дипептид, що отримано з ...

А) дикетопіперазину

Б) аспарагінової кислоти

В) етилового ефіру бензоїлгліцину

Г) етоксилкарбонілгліцину

2) У якому році та ким був запропонований твердофазний метод синтезу пептидів?

А) 50-ті р. XX ст.; де Віньо

Б) 1966 р.; Хіршман

В) 1903 р.; Фішер

Г) 1963 р.; Мерріфілд

3) Яка амінокислота найчастіше порушує α-спіраль у пептидах?

А) аланін

Б) гліцин

В) пролін

Г) серин

4) Який метод аналітичної хімії найчастіше використовують для точного визначення молекулярної маси пептидів?

А) титриметрія
Б) мас-спектрометрія
В) поляриметрія
Г) гравіметрія

5) Пептид Gly–Ala–Ser має:

А) 2 пептидні зв’язки
Б) 3 пептидні зв’язки
В) 1 пептидний зв’язок
Г) 4 пептидні зв’язки

6) Який тип хроматографії найчастіше застосовується для аналізу пептидів?

А) газова хроматографія
Б) тонкошарова хроматографія
В) високоефективна рідинна хроматографія
Г) адсорбційна колонкова хроматографія

7) При лужному гідролізі пептидів:

А) розривається пептидний зв’язок
Б) утворюються естери
В) відбувається полімеризація
Г) утворюються дисульфідні містки

8) Яка основна проблема виникає під час прямої конденсації двох амінокислот без захисних груп?

А) відсутність каталізу
Б) утворення рацематів
В) утворення суміші продуктів (олігомерів і циклічних сполук)
Г) неможливість утворення амідного зв’язку

9) Яка захисна група для аміногрупи найчастіше використовується у твердофазному синтезі пептидів?

А) Boc
Б) Fmoc
В) Ac
Г) Tos

10) Яка речовина використовується як активатор карбоксильної групи при пептидному синтезі?

А) DCC (дициклогексилкарбодіімід)
Б) NaCl
В) NaOH
Г) H_2SO_4

Практичне заняття №4

Особливості пептидного синтезу

Мета заняття: ознайомитися з основним принципом пептидного синтезу; з утворенням пептидного зв'язку та триступінчастим процесом пептидного синтезу.

Хід заняття

Завдання 1.

Ознайомитися з основним принципом пептидного синтезу; з утворенням пептидного зв'язку та триступінчастим процесом пептидного синтезу (рис. 32-34).

Оформіть у зошиті та наведіть приклади реакцій, які подано на рис. 32-34.

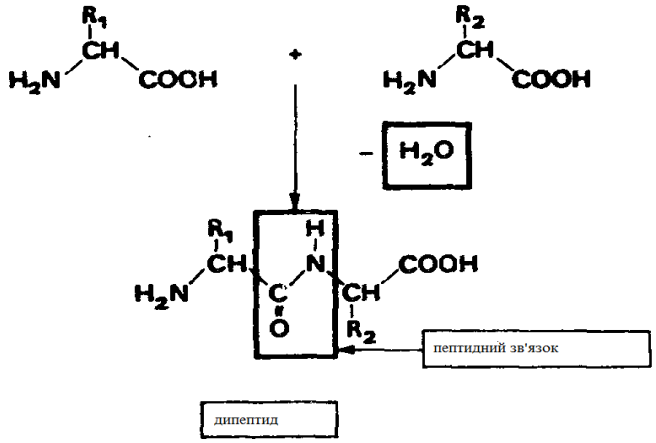


Рисунок 32 – Основний принцип пептидного синтезу

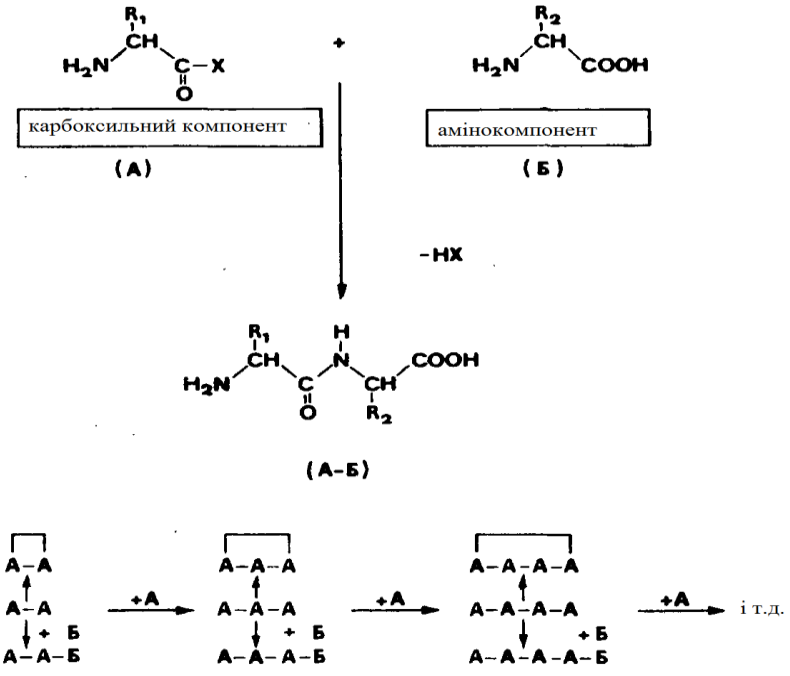


Рисунок 33 – Схема утворення пептидного зв'язку без захисту, функціональних груп; X – активуюча група

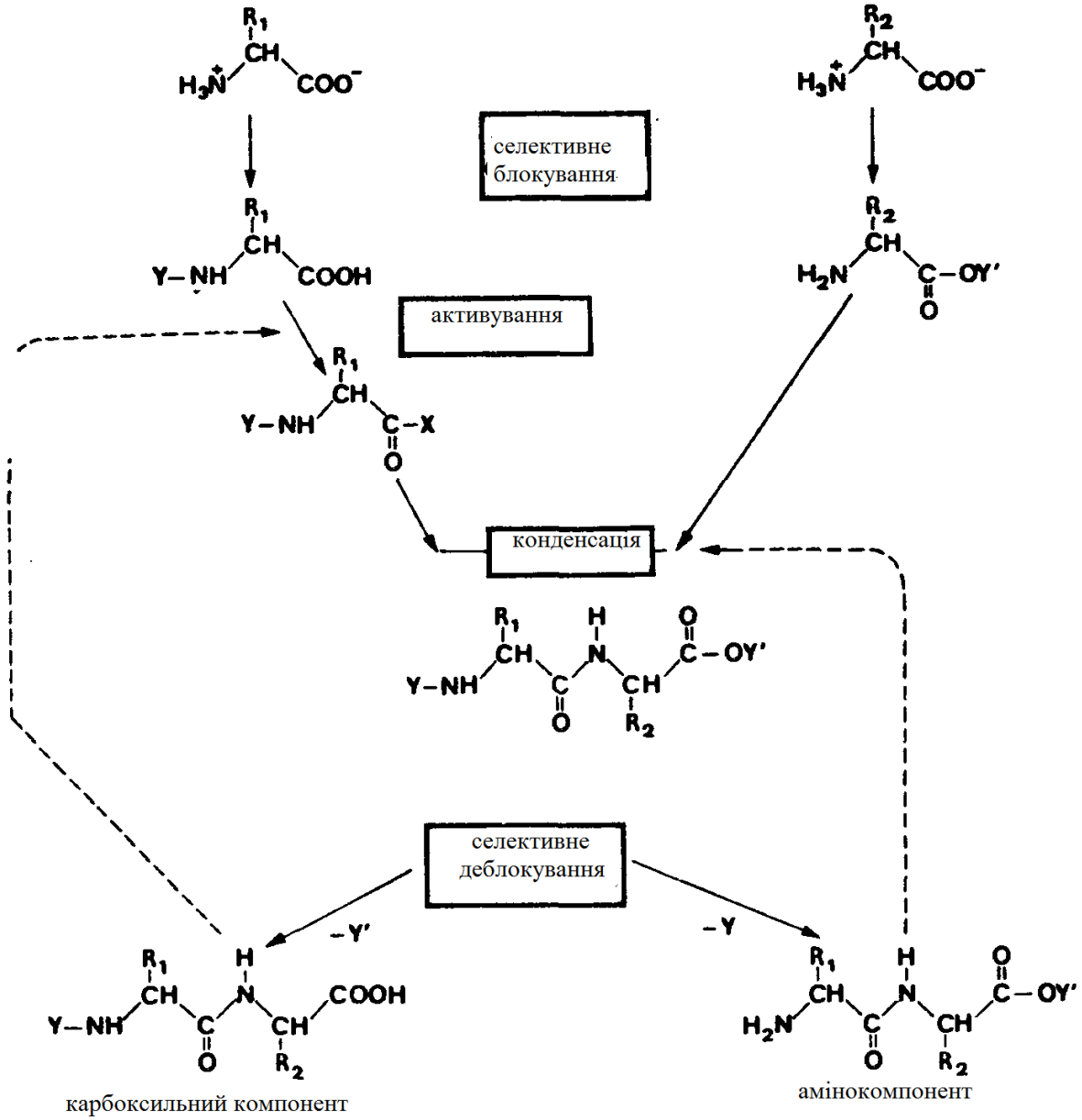


Рисунок 34 – Триступінчастий процес пептидного синтезу:
Y – захист аміногрупи; X – активуюча група; Y^1 – захист карбоксильної групи;
R – залишок бічного ланцюга

Завдання 2.

Прочитати та проаналізувати всі схеми, які наведено в таких посиланнях (статтях)

1) Peptide Synthesis

URL:
https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Organic_Chemistry_(Morsch_et_al.)/26%3A_Biomolecules-_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/26.08%3A_Peptide_Synthesis

2) Protecting Groups for Amines – Carbamates
URL: https://www.masterorganicchemistry.com/2018/06/07/protecting-groups-for-amines-carbamates/

3) Synthesis of Longer Peptides – Tripeptides and Tetrapeptides
URL: https://www.masterorganicchemistry.com/2019/02/15/introduction-to-peptide-synthesis/

4) Practical N-to-C peptide synthesis with minimal protecting groups
URL: https://www.nature.com/articles/s42004-023-01030-0

Зробіть висновок до практичного заняття 4.

РОЗДІЛ 3. ХІМІЯ БІЛКІВ

Лекція 5. Хімія білків: класифікація білків. Структури білків

Мета: засвоїти класифікацію білків та ознайомитися зі структурами білків.

План

1. Класифікація білків: глобулярні та фібрилярні білки; прості та складні білки.
2. Структури білків: первинна, вторинна, третинна, четвертинна.

Ключові терміни та поняття: глобулярні та фібрилярні білки, первинна структура білка, вторинна структура білка, третинна структура білка, четвертинна структура білка, протомери, олігомери.

1. Класифікація білків: глобулярні та фібрилярні білки; прості та складні білки.

Залежно від просторової організації, білки поділяються на **глобулярні** та **фібрилярні.**

Глобулярні білки мають компактну форму – один або кілька поліпептидних ланцюгів щільно згорнуті в структуру, що являє собою **глобулу.** Таке згортання забезпечується ковалентними або нековалентними зв'язками.

Глобулярні білки добре розчиняються у водному середовищі.

До глобулярних білків належать ферменти, антитіла, численні гормони, білки, що транспортують O_2 (міоглобін, гемоглобін та сироватковий альбумін, який також переносить жирні кислоти).

Фібрілярні білки мають витягнуту або спіралеподібну форму. Їхні поліпептидні ланцюги розташовані паралельно і зв'язані між собою численними зв'язками, утворюючи волокна – **фібрили**.

Фібрилярні білки нерозчинні у воді; є структурними компонентами організму.

Із фібрилярних білків утворені волосся, нігті, пір'я (кератини), сухожилля (колаген), зв'язки (еластин), шовк і павутина (фіброїн).

Більшість білків у природі мають глобулярну форму.

Білки класифікують за фізико-хімічними властивостями та хімічним складом.

За цими ознаками білки поділяють на **прості білки (протеїни)** і **складні білки (протеїди).**

Протеїни – це білки, до складу яких входять лише залишки амінокислот.

Протеїди – складні білки, молекули яких крім залишків амінокислот містять ще і інші компоненти – простетичні групи.

До протеїнів відносяться альбуміни, глобуліни, протаміни, гістони, проламіни, глутеліни і протеіноїди.

Альбуміни – входять до складу молока, яєць, зерна злакових і бобових культур.

Молекулярна маса альбумінів 35-70 тис. дальтон.

Молекули альбумінів мають еліпсоподібну форму, яка більш компактна і симетрична, ніж у глобулінів.

Альбуміни відносяться до гідрофільних білків, які добре розчиняються у воді.

За хімічним складом альбуміни характеризуються високим вмістом лейцину (15%), а також значним вмістом сульфуровмісних амінокислот, лізину, аспарагінової і глутамінової кислот і незначним вмістом гліцину.

Глобуліни – входять до складу зерна злаків, насіння соняшника, льону, бавовника та бобових рослин.

До глобулінів відноситься: фазеолін квасолі, легумін гороху, гліцидин сої.

У тваринних тканинах найбільш розповсюдженими є лактоглобулін молока, фібриноген крові тощо.

Молекулярна маса глобулінів 0,9-1,5 млн. дальтон.

Глобуліни більш грубодисперсні і менш гідрофільні, ніж альбуміни.

Глобуліни добре розчиняються 10%-ими розчинами солей.

За хімічним складом глобуліни містять більше гліцину (5%) і меншу кількість сульфуровмісних амінокислот.

Проламіни – рослинні білки, які входять до складу насіння злакових культур.

До проламінів відносяться: гліадин пшениці, орозеїн рису, гордеїн ячменю, зеїн кукурудзи, авенін вівса тощо.

Проламіни мітять пролін, глутамінову кислоту і незначну кількість інших амінокислот.

Проламіни зовсім не містять лізину.

Розчиняються проламіни у 70%-ому водному розчині спирту.

Глутеліни як і проламіни, присутні у зелених частинах рослин і насінні.; до складу входить велика кількість глутамінової кислоти і лізину.

Глутеліни добре розчиняються у лугах.

Протеїди – білки, що містять залишок простого білка і сполуку небілкової природи-простетичної групи.

Залежно від хімічної природи простетичної групи складні білки поділяються на нуклеопротеїди, хромопротеїди, металопротеїди, глюкопротеїди, фосфопротеїди і ліпопротеїди.

Нуклеопротеїди – це складні білки, простетичною групою яких є нуклеїнові кислоти.

Залежно від природи нуклеїнової кислоти нуклеопротеїди поділяються на рибонуклеопротеїди (РНП), якщо до їх складу входить рибонуклеїнова кислота – РНК, а якщо дезоксирибонуклеїнова кислота – ДНК.

Хромопротеїди – містять простий білок і забарвлену простетичну групу (можуть бути похідні каротину, порфірину (гемоглобін, міоглобін, ферменти).

Гемоглобін крові – хромопротеїд, міоглобін міститься у м’язах тварин.

Глюкопротеїди – у складі простетичної групи містять залишки вуглеводів та їх похідні. Входять до складу крові, білків молока, яєць, ферментів, гормонів.

Металопротеїди – до складу простетичної групи входять залізо, мідь, кобальт, цинк та інші елементи.

До металопротеїдів належить велика група ферментів.

Фосфопротеїди – містять у вигляді простетичної групи залишки ортофосфорної кислоти.

Ці білки входять до складу білків яєць (овальбумін), молока (казеїн).

Ліпопротеїди – у складі простетичної групи містять ліпіди і їх похідні (тригліцериди, фосфоліпіди, холестерин тощо). Найчастіше простетичною групою є нейтральні жири – тригліцериди.

Входять до складу біологічних мембран, крові, лімфи, нервових тканин та ін.

2. Структури білків: первинна, вторинна, третинна, четвертинна.

Залежно від характеру згортання і взаємодії поліпептидних ланцюгів, виділяють чотири рівні структурної організації білка:

1) первинну;
2) вторинну;
3) третинну;
4) четвертинну.

Первинна структура білка являє собою послідовність амінокислот, об’єднаних між собою пептидними (кислотно-амідними) зв’язками в лінійний ланцюг (рис. 35).

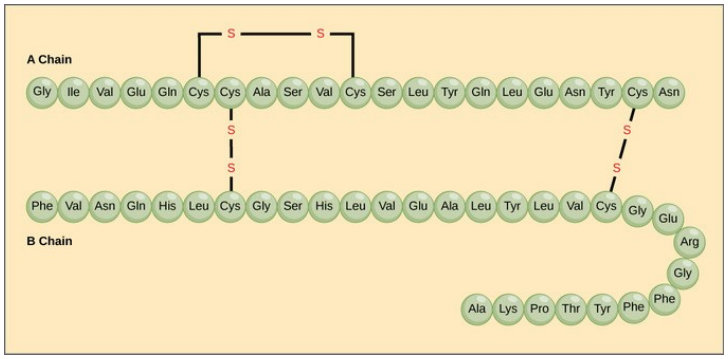


Рисунок 35 – Первинна структура білка [1]

Кожен білок має унікальну, характерну лише для нього послідовність амінокислот, що генетично закодована та визначає формування наступних рівнів структурної організації.

Незначна заміна однієї амінокислоти у ланцюгу, який може складатися з сотень залишків, може істотно змінити властивості білка або повністю позбавити його біологічної активності.

Пептидний зв'язок – це міцний ковалентний зв'язок, який забезпечує стійкість первинної структури. Його енергія складає 140-400 кДж/моль, а відстань між атомами – приблизно 0,1-0,2 нм.

Білки є лінійними полімерами – поліпептидами. У всіх видах живих організмів, а їх налічується понад 1 млн, міститься близько 10^{10}-10^{12} різних білків.

Вторинна структура білка – укладка поліпептидних ланцюгів в упорядковану форму водневими зв'язками, що виникають між –CO і –NH-групами.

Існують дві форми вторинної структури: **α-спіраль** і **β-конформація** (β- структура, β-складковий шар, шарувато-складкова структура) (рис. 36).

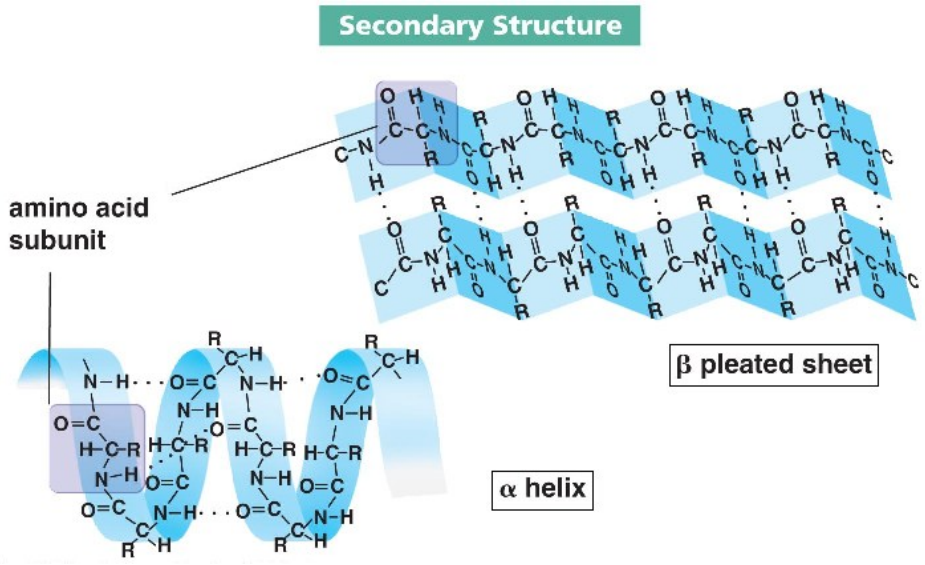


Рисунок 36 – Вторинна структура білка: α-спіраль та ß-складчаста структура відповідно [5]

Складкові структури зустрічаються у колагені, кератині, фіброїні шовку, трипсині; у глобулярних білках ці структури складають 15% і більше; у α-амілази – до 30%.

Можливі переходи від α-структур до β-структур і зворотньо.

Водневі зв'язки орієнтовані уздовж осі **α-спіралі;** на один виток α-спіралі доводиться **3,6 амінокислотних залишків** (рис. 37).

Кількість водневих (слабких) зв'язків забезпечує **стабільність α-спіралі**. **α-спіраль** – стійка конформація пептидного остова.

У результаті **утворення α-спіралей поліпептидний ланцюг укорочується**.

Якщо створити умови для розриву водневих зв'язків, поліпептидний ланцюг знову подовжиться.

Радикали амінокислот знаходяться на зовнішній стороні α-спіралі та спрямовані від пептидного остова в сторони та **не беруть участь в утворенні водневих зв'язків.**

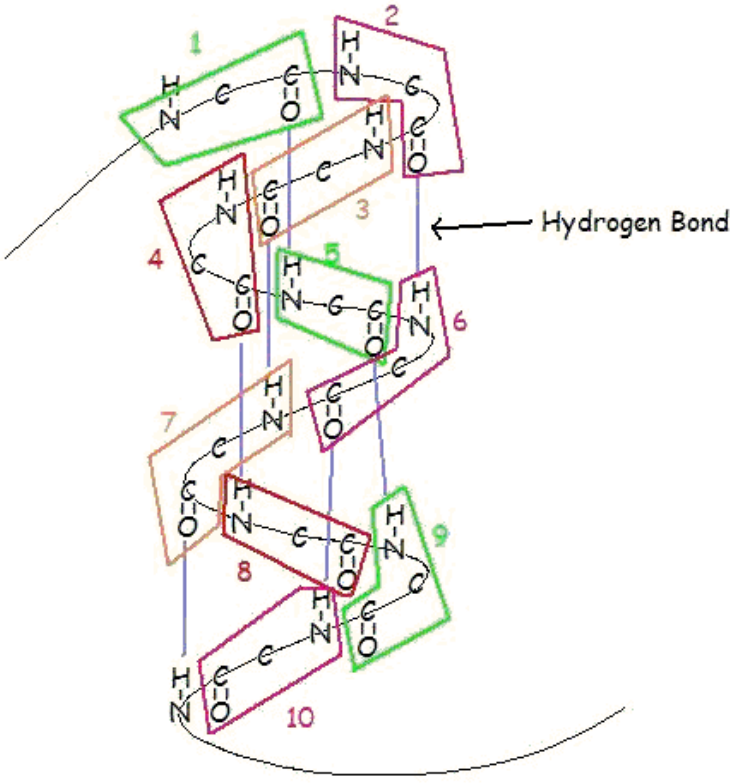


Рисунок 37 – Особливості утворення α-спіралі вторинної структури білка [6]

β-структура формується за рахунок утворення безлічі водневих зв'язків між атомами пептидних груп лінійних областей одного поліпептидного ланцюга, що робить вигини, або між різними поліпептидними ланцюгами. **β-структура** утворює фігуру, подібну «листу» – **β-складчастий шар** (рис. 38).

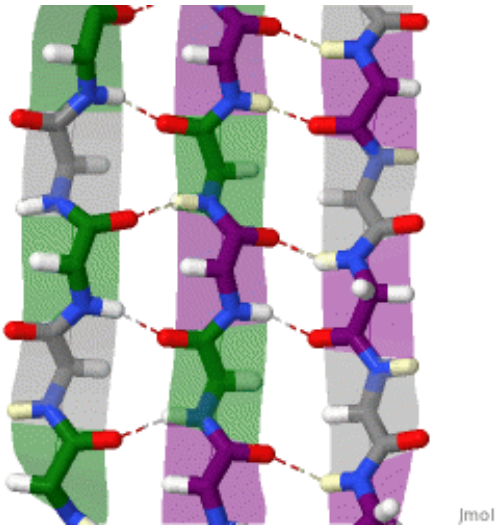


Рисунок 38 – Особливості будови β-структури вторинної структури білка [4]

Коли водневі зв'язки утворюються між атомами пептидного остова різних поліпептидних ланцюгів − це **міжланцюгові зв'язки**.

Водневі зв’язки, що виникають між лінійними ділянками всередині одного поліпептидного ланцюга, − це **внутрішньоланцюгові зв’язки**.

У β-структурах **водневі зв’язки** розташовані **перпендикулярно поліпептидного ланцюга**.

Якщо пов’язані поліпептидні ланцюги спрямовані протилежно, виникає **антипаралельна β-структура**, якщо ж N- і С-кінці поліпептидних ланцюгів збігаються, утворюється структура паралельного складчастого шару.

На відміну від α-спіралей, розрив водневих зв’язків, які формують β-структури, не викликає подовження даних ділянок поліпептидних ланцюгів.

α-Спіраль і β-структури виявлені в глобулярних і фібрилярних білках.

За наявністю α-спіралей і β-структур глобулярні білки можна розділити на **4 категорії**.

До **1 категорії** відносять білки, в структурі яких виявлені **тільки α-спіралі** (міоглобін, гемоглобін).

До **2 категорії** відносять білки **з α-спіралями** і **β-структурами**, які іноді утворюють однотипні поєднання, що зустрічаються в різних індивідуальних білках.

Характерні поєднання α-спіралей і β-структур, які виявлені в багатьох ферментах, можна розглянути на прикладі будови доменів лактатдегідрогенази (ЛДЦГ) і фосфогліцераткінази (ФГК).

Домен – ділянка поліпептидного ланцюга, яка самостійно від інших ділянок того ж ланцюга утворює структуру (нагадує глобулярний білок).

В одному з доменів лактатдегідрогенази в центрі розташовані β-структури поліпептидного ланцюга у вигляді скрученого листа, і кожна β-структура пов’язана з α-спіральним ділянкою, яка перебуває на поверхні молекули.

У **3 категорію** включені білки, що мають **тільки β-структури**. (імуноглобуліни, фермент супероксиддисмутази).

У **4 категорію** включені білки, що мають в своєму складі лише незначну кількість регулярних вторинних структур.

Номенклатура DSSP

Для опису вторинної структури часто використовується **номенклатура DSSP**, що описує окремі елементи цієї структури за допомогою однобуквеного коду.

DSSP (англ. *Dictionary of Protein Secondary Structure*) є списком елементів вторинної структури білків із відомою тривимірною структурою (Kabsch і Sander, 1983).

G = 3-амінокислотна спіраль (3_{10}-спіраль).

Мінімальна довжина 3 амінокислоти.

H = 4-амінокислотна спіраль (альфа-спіраль).

Мінімальна довжина 4 амінокислоти.

I = 5-амінокислотна спіраль (пі-спіраль).

Мінімальна довжина 5 амінокислот.

T = поворот, стабілізований водневими зв'язками (3, 4 або 5 амінокислот).

E = ß-лист у паралельній або антипаралельній конфігурації.

Мінімальна довжина 2 амінокислоти.

B = амінокислота в ізольованому бета-містку (з одної пари водневих зв'язків бета-листа).

S = поворот (єдина нестабілізована водневими зв'язками структура в списку).

У DSSP амінокислотні залишки, які входять до одної з наведених структур, позначаються як " " (**пробіл**), або іноді позначається як **C** (кільце) або **L** (петля).

Спіралі (**G, H, I**) і **листові структури** − всі повинні мати довжину.

Це означає, що два сусідні залишки в первинній структурі повинні сформувати той же тип водневого зв’язку.

Якщо спіралі або стабілізований водневими зв’язками лист дуже короткі, вони позначаються як T або B відповідно.

Існують й інші категорії елементів вторинної структури (**круті повороти, омега-петлі** тощо), але вони використовуються відносно рідко.

Третинна структура має певну конформацію спіралізованих і лінійних ділянок поліпептидних ланцюгів у просторі.

Для кожного білка характерна третинна структура, від якої залежать його біологічні властивості.

Під час формування третинної структури поліпептидні ланцюги укладаються так, що максимальна кількість гідрофільних груп, залишків амінокислот, була розміщена назовні, тобто повернута до водного середовища, а гідрофобні групи розміщуються всередині структури (глобули), яка має еліпсоїдну форму.

На конформацію глобули впливає pH середовища, іонна сила розчину, температура, взаємодія білкових молекул з іншими речовинами.

Порушення у вторинній структурі веде до підвищення гідрофобних взаємодій і підсиленню третинної структури.

Вторинна структура порушується у точках, де знаходиться амінокислоти – пролін і гідросипролін, які утворюють тільки один водневий зв’язок з іншими поліпептидними групами. У цих точках ланцюг перегинається у тривимірному просторі. Таким чином між вторинною і третинною структурами виникає збалансоване співвідношення.

Третинна структура не може існувати при зруйнованій вторинній структурі.

Для формування третинної структури, поліпептидні ланцюги згинаються і закручуються, досягаючи найменшого енергетичного стану з високою стабільністю.

Взаємодії **між бічними ланцюгами амінокислот** сприяють формуванню третинної структури.

Дисульфідні зв'язки утворюють найбільш стійкі взаємодії і утворюються при окисненні сульфгідрильних груп в цистеїні (**ковалентні взаємодії**).

Між позитивними та негативно зарядженими бічними ланцюгами амінокислот утворюються **іонні зв'язки.**

Водневі зв'язки також допомагають у стабілізації третинної структури.

Біологічна функція білка залежить цілком від третинної структури. Її деформація чи руйнування призводять до часткової чи повної втрати цієї функції.

Четвертинна структура. Для білків, молекули яких побудовані з одного поліпептидного ланцюга, можливі лише первинна, вторинна і третинна структури.

Четвертинна структура характерна лише для тих білків, які складаються з двох, чотирьох і більшої, в основному парної, кількості індивідуальних поліпептидних ланцюгів з власною третинною структурою. Такі поліпептидні ланцюги називаються **протомерами**, а білки, побудовані з них – **олігомерами.**

Взаємне просторове розміщення протомерів у білковій молекулі становить її четвертинну структуру. Вона лежить в основі будови білків – ферментів.

Четвертинна структура білків стабілізується і підтримується в нативному стані в основному за участю нековалентних зв'язків (водневих, іонних або гідрофобних). Тобто формування єдиного в структурному і функціональному відношеннях макромолекулярного утворення.

При дії на білки з четвертинною структурою різних фізичних або хімічних факторів (органічні розчинники, сечовина, концентровані розчини солей, зміна pH тощо) вони можуть розпадатися на окремі протомери.

Четвертинна структура білка − спосіб укладання в просторі окремих поліпептидних ланцюгів, що володіють однаковою первинною, вторинною або третинною структурою.

Специфічність четвертинної структури білків проявляється в певній конформаційній автономії поліпептидних фрагментів, що входять до складу макромолекули білка.

Вклад **гідрофобних взаємодій** у стабілізацію третинної та четвертинної структури білків досить значний: у разі третинної структури на їх частку припадає **більше половини стабілізуючої сили**.

Гемоглобін – дихальний пігмент крові, що бере участь у транспорті O_2, CO_2, метаболізмі NO; виконує буферні функції (підтримання pH). Міститься в еритроцитах (червоних кров'яних тільцях).

Складається:

1) із залізовмісної порфіринової частини (**чотирьох гемів**); у **гемі Fe^{2+}**

2) білкової частини (**глобіну**). Цей білок має четвертинну структуру, що утворена з **4 субодиниць** (рис. 39).

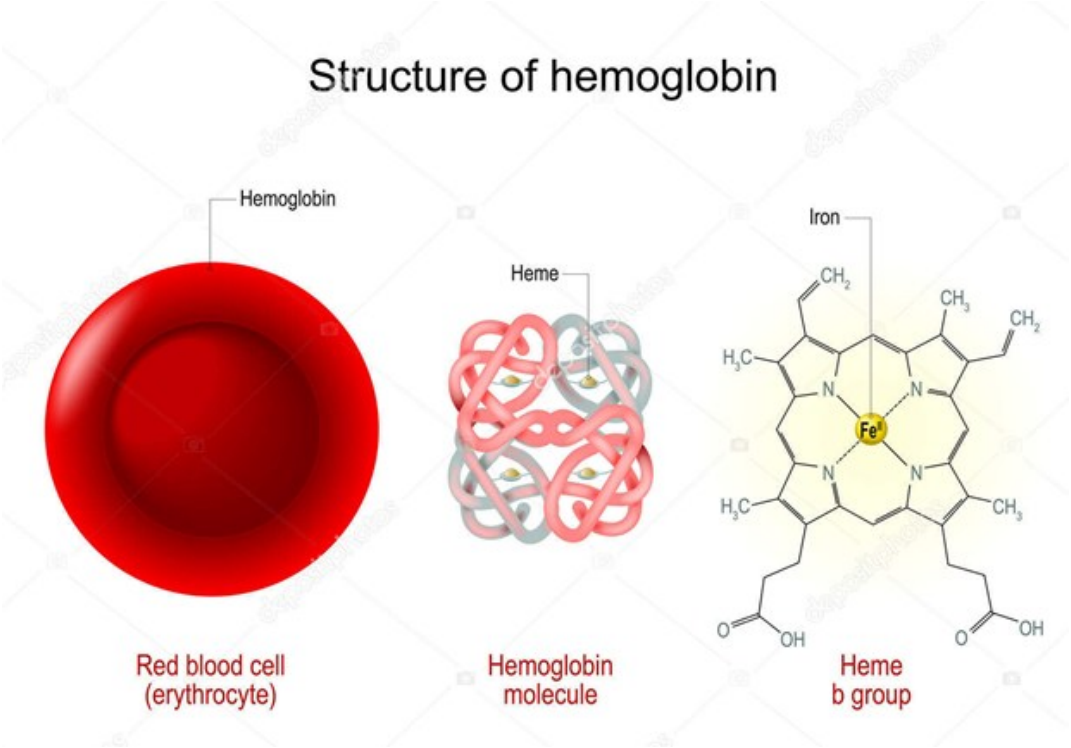


Рисунок 39 – Особливості структури гемоглобіну [3]

Тести для самоконтролю

1. Вторинна структура білка – це:

А) структура, що має водневі зв’язки, які виникають між атомами пептидного зв’язку поліпептидного ланцюга

Б) послідовність амінокислот в поліпептидному ланцюзі

В) утворення глобулярних білкових молекул

Г) укладання окремих поліпептидних ланцюгів в просторі

2. Утворення водневих зв’язків між атомами Оксигену карбонільних груп і атомами Нітрогену аміногруп, що входять до складу пептидних зв’язків, – це:

А) α-структура

Б) β-структура

В) γ-структура

Г) φ-структура

3. Структура, що формується за рахунок утворення безлічі водневих зв’язків між атомами пептидних груп лінійних областей одного поліпептидного ланцюга:

А) α-структура

Б) β-структура

В) γ-структура

Г) φ-структура

4. До білків, в структурі яких виявлені тільки α-спіралі належать:

А) міоглобін

Б) гемоглобін

В) фосфогліцераткіназа

Г) інсулін

5. Для опису вторинної структури білка часто використовують номенклатуру …

А) DSSP

Б) раціональну

В) IUPAC

Г) тривіальну

6. Мінімальну довжину 3-х амінокислот позначають …

А) G

Б) T

В) B

Г) E

7. Поворот, стабілізований водневими зв'язками у вторинній структурі, позначають …

А) G

Б) T

В) B

Г) E

8. Що означає термін «четвертинна структура білка»?

а) поліпептид в основі якого лежать тільки 4 амінокислоти

б) спосіб укладання в просторі окремих поліпептидних ланцюгів

в) просторова структура, що утворюється в результаті взаємодій між функціональними групами

г) глобулярна структура білка

9. Для глобулярних білків характерні ....., ... функції:

А) структурна, каталітична

Б) регуляторна, транспортна

В) захисна, каталітична

Г) регуляторна, структурна

10. За яких умов проводять руйнування клітин при виділенні білків?

А) кімнатна температура

Б) знижена температура, близько +4 ^{0}C

В) приблизно від 35 до 60 ^{0}C

Г) температура нижче 0 ^{0}C

Практичне заняття №5

Біологічне значення білків. Діаліз білків

Мета заняття: засвоїти біологічне значення білків та особливості діалізу білка.

Хід заняття

Завдання 1.

Ознайомтеся з біологічним значенням білків (табл. 13).

Таблиця 13 – Біологічне значення пептидів

№ з/п	Білок	Значення
1	2	3
1	Актин, міозин, тубулін	1) Беруть участь у скороченні м'язових тканин та виконують рухову функцію
2	Альбумін	1) Є переносником різних речовин (білірубін, ліки, деякі гормони, жовчні елементи) 2) Є резервом амінокислот 3) Забезпечує транспорт молекул 4) Підтримує онкотичний тиск плазми крові
3	Гемоглобін	1) Переносе кисень (до клітин) і карбон (IV) оксид (від клітин) 2) Підтримує стабільний рівень pH в крові
4	Еластин	1) Відновлює форму органів і тканин після розтягування 2) Забезпечує тканинам зволоження
5	Імуноглобулін	1) Забезпечує місцевий захист слизових оболонок 2) Захищає організм від паразитів 3) Нейтралізує токсини і віруси 4) Утворює імунні комплекси
6	Інсулін	1) Відповідає за утворення глікогену і його накопичення в клітинах печінки та інших органів 2) Забезпечує транспорт глюкози всередині клітин (засвоєння та утилізацію) 3) Збільшує проникність клітинних стінок для амінокислот 4) Стимулює синтез білків та жирів
7	Кератин	1) Виконує захисну функцію 2) Є основним компонентом шкіри
8	Колаген	1) Забезпечує міцність, еластичність тканин, органів 2) Перетворює білкові молекули в основні амінокислоти, які необхідні для життєдіяльності 3) Бере участь у метаболізмі м'язової та сполучної тканини

1	2	3
9	Фібрин	1) Бере участь при зупинці кровотечі 2) Забезпечує захисний бар'єр при запаленнях

Завдання 2.

1. Ознайомтеся з особливостями діалізу білка.
2. Перегляньте відео у Moodle за посиланнями:

– Protein purification | protein dialysis. URL: https://www.youtube.com/watch?v=_Vpphaf_Sc4

– How to use Dialysis tubes to change your protein's buffer || Practical Biochemistry. URL: https://www.youtube.com/watch?v=lN2ko_FPtxA

– Protein Purification. URL: https://www.youtube.com/watch?v=PVvpEKeOzEM

– Protein Separation and Purification techniques. URL: https://www.youtube.com/watch?v=GmpA-Hrs15A

Діаліз − процес поділу високо- і низькомолекулярних речовин за допомогою напівпроникних мембран (целофан, колодій, пергамент та ін.).

Молекули білка, що володіють великими розмірами і молекулярною масою, не здатні проникати через такі мембрани, в той час як низькомолекулярні речовини легко проходять через них.

Діаліз є дуже зручним методом очищення білкових розчинів від низькомолекулярних домішок, наприклад, від надлишку солей.

Найпростішим діалізатором може слугувати целофановий або колоїдний мішечок, опущений в склянку з водою.

Хід роботи

1. У пробірку наливають 2 мл 3%-ого розчину яєчного альбуміну і додають 1 краплю насиченого розчину амонію сульфату.

Із листа целофану, попередньо змоченого дистильованою водою, роблять мішечок і виливають у нього вміст пробірки.

Краї мішечка прикріплюють до середини скляної палички (або затискають між двома скляними паличками, з'єднаною одна з одною гумовими кільцями.

Мішечок поміщають у склянку з дистильованою водою так, щоб скляна паличка лягла на краю склянки. Рівень рідини в мішечку повинен бути нижче рівня рідини в склянці.

2. Через 1 год. після початку діалізу рідину, що знаходиться в склянці, перевіряють на присутність білка і сульфат-аніонів:

а) проба на білок: 1 мл рідини зі склянки проробляють біуретову реакцію;

б) проба на сульфат-аніони: до 1 мл рідини з склянки додають 3-4 краплі 5%-ого розчину барію хлориду і спостерігають утворення осаду барію сульфату у вигляді білої каламуті.

3. Целофановий мішечок виймають зі склянки.

Рідину з мішечка переливають у пробірку і проробляють біуретову реакцію.

3. Замалюйте діалізатор.

Зробіть висновок до практичного заняття 5.

Лекція 6. Визначення амінокислотної послідовності у білках

Мета: засвоїти особливості визначення амінокислотної послідовності у білках.

План

1. Методи визначення первинної структури білка.

Ключові терміни та поняття: гель-електрофорез, N-кінець, С-кінець.

1. Методи визначення первинної структури білка

Загальна стратегія визначення первинної структури білка включає такі етапи (операції):

1. Розщеплення білкової молекули на більш прості фрагменти специфічними методами (хімічними: лужний, кислотний гідроліз або ензиматичними).

При цьому олігомери спочатку розщеплюють на протомери, а вже потім їх розщеплюють на менші пептиди або до окремих вільних амінокислот.

2. Поділ і аналіз малих пептидів, вільних амінокислот різними хроматографічними і мас-хроматографічними методами.

3. Визначення послідовності сполучення амінокислот в пептидний ланцюг, для чого необхідно ідентифікувати N- і С-кінцеві залишки амінокислот. Щоб досягти мети, необхідно отримати невеликі фрагменти пептидів, амінокислотну послідовність яких можна точно встановити.

Білок повинен бути ретельно очищений, чистота матеріалу повинна бути підтверджена як мінімум двома незалежними методами.

Найчастіше використовують гель-електрофорез на поліакриламіді та ультрацентрифугування.

Після очищення білка його розподіляють на 2-3 або більше частин. Кожну частину обробляють різними ферментами − протеїназами (трипсин, хімотрипсин) або реагентами (бромціан, іодозобензойна кислота).

У результаті отримують 2-3 (або більше) набори поліпептидів (відрізків білка).

До ферментів (протеїназ) пред'являються особливі вимоги за чистотою.

Особливих труднощів становить розпізнавання місць дисульфідних містків між залишками цистеїну. Отримана суміш пептидів розділяється електрофорезом, після чого можливо почати безпосередньо процедуру секвенування.

Довжина окремого пептиду не повинна перевищувати 40 АК-залишків.

Найбільш часто використовують метод секвенування пептидів (встановлення послідовності АК-залишків в них) − **процедура П. Едмана**, з використанням **фенілізотіоціанату (ФІТЦ).**

Секвенування − молекулярно-біологічний термін, який застосовують при описанні методів, які використовуються для встановлення послідовності визначення первинної структури (тобто послідовності мономерів у гетерополімері) нерозгалужених біополімерів.

Результати секвенування записуються в символічному лінійному вигляді, що називається послідовністю, яка стисло підсумовує значну кількість інформації стосовно атомної структури секвенованої молекули.

Процедура лежить в основі роботи автоматичних секвенаторів.

Зразок очищеного пептиду наносять на поверхню реакційної посудини у вигляді плівки.

Здійснюють ковалентне пришивання пептиду з кінця вільної СООН-групи з матеріалом поверхні реакційної посудини. Після чого проводять повторювані цикли з серії реакцій.

Одна серія реакцій включає:

1) взаємодію фенілізотіоціанату з кінцевим АК-залишком, що має вільну NH_2-групу, при цьому утворюється **ФТК-(фенілтіокарбамоїл) похідне**;

2) надлишок фенілізотіоціанату видаляється, змінюється pH середовища додаванням гептафтормасляної кислоти, при цьому відбувається перетворення ФТК в **ФТГ (фенілтіогідантоїн) похідне**;

3) ФТГ-похідне амінокислоти віддаляється з реакційного середовища екстракцією з 1-хлорбутаном і серія реакцій повторюється в наступному циклі.

За один цикл видаляється один амінокислотний залишок із NH_2-кінця пептиду (рис. 40).

Оскільки, реакції з фенілізотіоціанату протікають не кількісно, а в кращому випадку на 95%, поступово накопичуються фактори-ФТГ-похідні від тих, що прореагували, в попередні цикли АК-залишків.

У найсприятливіших випадках вдається надійно ідентифікувати послідовність усього лише близько 40 АК-залишків.

Завдяки автоматизації процесу робота істотно полегшується.

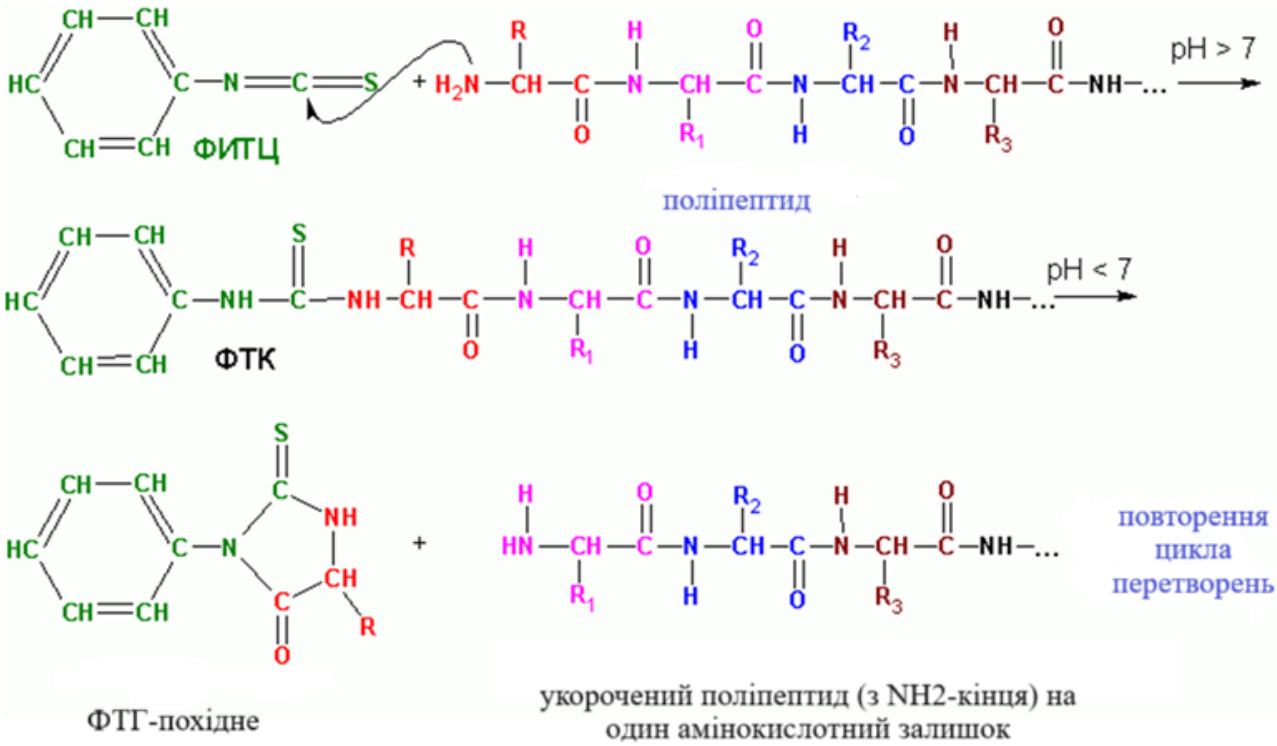


Рисунок 40 – Схема методу секвенування пептидів
(встановлення послідовності АК-залишків у них) − процедура П. Едмана

Розшифровка за допомогою пептидази:

а) з N-кінцевих залишків за допомогою амінопептидази (хроматографічна ідентифікація і кінетика накопичення відповідних амінокислот);

б) з С-кінцевих залишків за допомогою карбоксипептидази (хроматографічна ідентифікація і кінетика накопичення відповідних амінокислот).

Гідразиноліз (у безводному середовищі при 100 ^{0}C) за винятком останнього залишку з вільною COOH; усе перетворюється в гідразиди кислот (рис. 41):

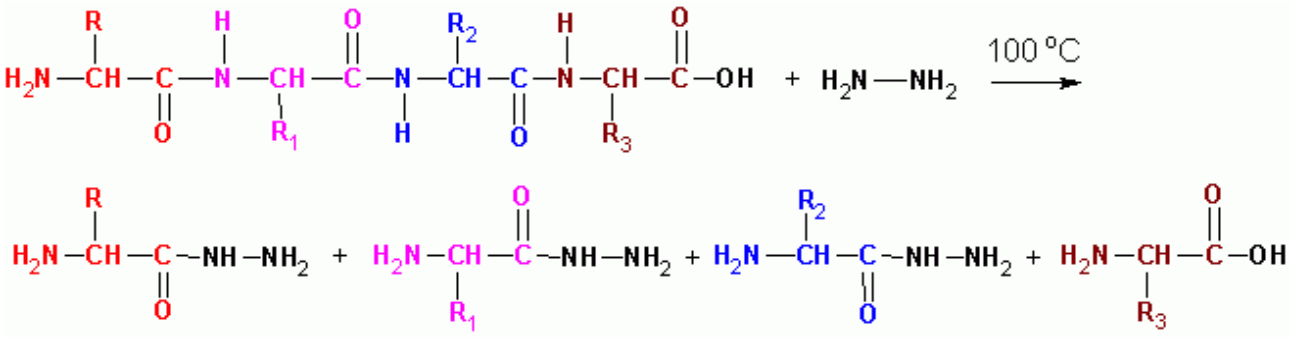


Рисунок 41 – Розшифровка структури білка за допомогою пептидази

N-кінцева амінокислота (реакція Сенджера):

а) розчин поліпептиду обробляють 2,4-динітрофторбензеном в лужному середовищі, який приєднується до NH_2-групи N-кінцевої амінокислоти – жовтий колір;

б) далі гідроліз поліпептиду, хроматографія амінокислот;

в) тільки амінокислота з ДНФБ жовтого кольору (рис. 42).

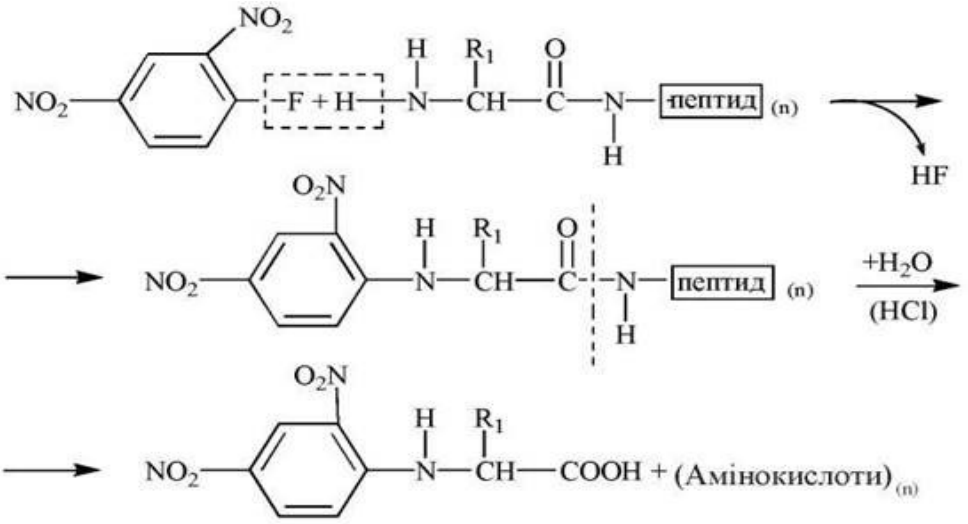


Рисунок 42 – Схема реакції Сенджера

С-кінцева амінокислота:

а) використовують метод гідразинолізу: молекула білка обробляється гідразином NH_2-NH_2

б) при цьому С-кінцева амінокислота відщеплюється в незмінному вигляді, а всі інші амінокислоти у вигляді гідразидів 2,4-динітрофторбензену.

Тести для самоконтролю

1) Який тип взаємодій головним чином стабілізує α-спіраль у білках?

А) іонні зв’язки між бічними радикалами

Б) дисульфідні зв’язки

В) водневі зв’язки між C=O та N–H пептидного остова

Г) гідрофобні взаємодії

2) Який кут обертання навколо зв’язку N–Cα у поліпептидному ланцюзі описується кутом φ (фі)?

А) кут між C=O і N–H

Б) кут між пептидними площинами

В) кут між Cα–C

Г) кут між N–Cα

3) Яка амінокислота найчастіше порушує регулярну структуру α-спіралі?

А) пролін

Б) аланін

В) лейцин

Г) валін

4) Який тип вторинної структури характеризується водневими зв'язками між різними поліпептидними ланцюгами або віддаленими ділянками одного ланцюга?

А) α-спіраль
Б) β-складчастий шар
В) β-поворот
Г) колагенова спіраль

5) Який тип взаємодій відіграє головну роль у формуванні третинної структури білка у водному середовищі?

А) естерні зв'язки
Б) ковалентні зв'язки між усіма амінокислотами
В) гідрофобні взаємодії
Г) металеві зв'язки

6) Який реагент використовується у методі Едмана для маркування N-кінцевої амінокислоти?

А) фенілізотіоціанат (PITC)
Б) динітрофторбензен
В) трифторацетатна кислота
Г) $NaBH_4$

7) Який метод був історично використаний для визначення N-кінцевої амінокислоти до появи методу Едмана?

А) метод Сенджера
Б) хроматографічний метод
В) метод Фішера
Г) ферментативний метод

8) Яка основна перевага методу Едмана порівняно з методом Сенгера?

А) не потребує реагентів
Б) не утворює побічних продуктів
В) працює лише з білками великої маси
Г) дозволяє послідовно визначати амінокислоти без повного руйнування пептиду

9) Який фермент використовується для визначення С-кінцевої амінокислоти пептиду?

А) аміно-пептидаза
Б) карбоксипептидаза
В) трипсин
Г) пепсин

10) Який сучасний метод найбільш ефективний для швидкого секвенування пептидів?

А) ІЧ-спектроскопія

В) поляриметрія

В) титриметрія

Г) мас-спектрометрія (MS/MS)

Практичне заняття №6

Визначення амінокислотного складу білків.
Методи визначення первинної структури білка

Мета заняття: засвоїти особливості визначення амінокислотного складу білків та методи визначення первинної структури білка.

Хід заняття

Завдання 1.

Ознайомтеся з особливостями визначення амінокислотного складу білків.

Визначення амінокислотного складу білків може бути здійснено різними методами: **хімічними, хроматографічними, мікробіологічними** та **ізотопними.**

Найчастіше використовуються хроматографічні методи.

Паперова хроматографія

Паперова хроматографія використовується для ідентифікації компонентів суміші амінокислот з ди- та трипептидами, що отримується при частковому гідролізі білків і поліпептидів.

Гідроліз може бути здійснений кислотним, лужним або ферментативним методом.

Кислотний метод використовується частіше.

Гідроліз проводять при нагріванні, іноді при підвищеному тиску. Показниками закінчення гідролізу можуть слугувати: припинення нарощування карбоксильних або амінних груп в гідролізаті, або негативна біуретова реакція.

Надлишок гідролізу реагенту видаляють: сульфатну кислоту осаджують кальцій гідроксидом, хлоридну кислоту відганяють у вакуумі, а залишок кислоти осаджують арґентум нітратом.

Компоненти гідролізату розподіляються між водою, адсорбованою на целюлозі, яка і є нерухомою фазою, та органічним розчинником – рухомою фазою, яка рухається вздовж аркуша вгору або вниз.

Паперова хроматографія може бути використана для кількісної оцінки складу амінокислот.

Кожну пляму вирізають та елюють відповідним розчинником; потім проводять кількісний колориметричний (нінгідринова реакція) аналіз.

В іншому варіанті папір обприскують нінгідрином і вимірюють за допомогою фотометра інтенсивність забарвлення плями у відбитому світлі або світлі, яке проходить.

Під час напівкількісної оцінки склад амінокислот оцінюють за площею плям на хроматограмі, яка пропорційна концентраціям амінокислот у суміші, що розділяється.

Тонкошарова хроматографія

Для поділу та визначення амінокислот також може бути використана тонкошарова хроматографія. ТШХ, як відомо, існує в двох варіантах. Розподільна ТШХ (РТШХ) подібна до розподільної на папері і адсорбційна ТШХ (АТШХ), заснована зовсім на інших принципах.

При проведенні РТШХ на порошку целюлози або відповідно інших інертних носіях можна використовувати такі ж системи розчинників і такі ж проявляючі реагенти, як і при хроматографії на папері.

Поділ за допомогою АТШХ визначається здатністю розчинника елюювати компоненти зразка з місця його адсорбції на активованому сорбенті. Наприклад, на нагрітому силікагелі.

Для поділу амінокислот використовують РТШХ, що дозволяє досить швидко розділяти та визначати 20 амінокислот у білкових гідролізатах.

Амінокислоти в білковому гідролізаті можуть бути визначені також методом газової хроматографії, але перед хроматографічним аналізом амінокислоти переводять в леткі сполуки.

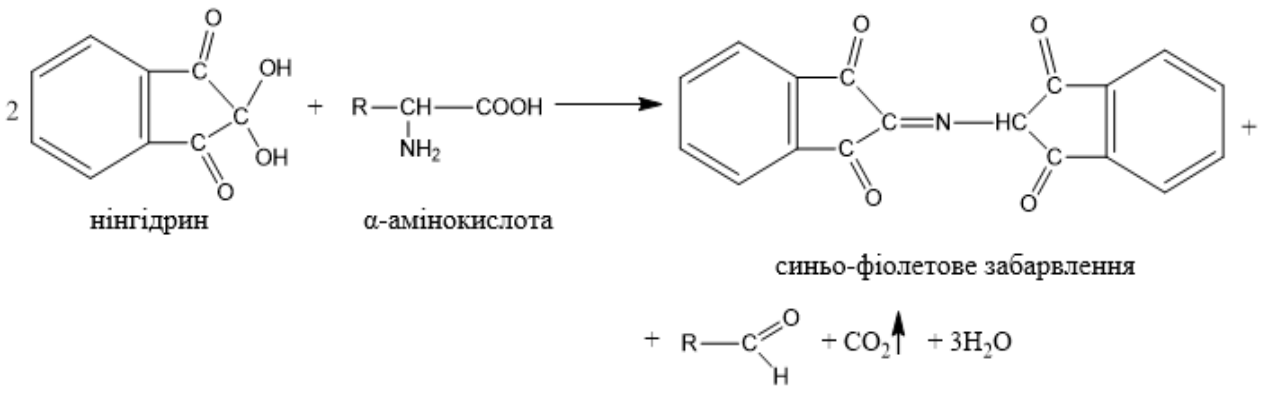
Іонообмінна хроматографія

На сьогодні амінокислотний склад визначається виключно за допомогою автоматичної іонообмінної хроматографії.

Суміш амінокислот, отриманих кислотним гідролізом білків, поділяють у колонці з катіонообмінною смолою.

Кількісний аналіз отриманих фракцій

Кількість кожної з амінокислот у білку визначають, нагріваючи окремі фракції амінокислот із нінгідрином, який утворює синьо-фіолетовий комплекс**.**



Інтенсивність забарвлення в пробі пропорційна кількості амінокислоти, яка в ній міститься, тому під час спектрофотометричного вимірювання світла, поглиненого нінгідриновими похідними, можна визначити склад кожної амінокислоти в гідролізаті даного білка.

На сьогодні процес поділу та кількісного визначення амінокислот у гідролізаті білка повністю автоматизований і здійснюється за допомогою спеціального приладу — амінокислотного аналізатора.

Зробіть висновок до практичного заняття 6.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Білки. URL: https://urli.info/1rctE
2. Структура білка. URL: https://urli.info/1m1j0
3. Структура гемоглобіну. Векторні ілюстрації. URL: https://urli.info/1m1fK
4. Beta sheet. URL: https://urli.info/1rcrS
5. Protein - Primary, Secondary, Tertiary and Quaternary structure. URL: https://urli.info/1rcqy
6. Secondary Structure: α-Helices. URL: https://urli.info/1rcrl

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум : навчальний посібник. Суми : Університетська книга, 2019. 240 с.
2. Павлоцька Л., Дуденко Н., Левітин Є. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 513 с.
3. Павлоцька Л., Дуденко Н., Дімітрієвич Л., Божко Н. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 379 с.
4. Сибірна Н.О. Хімія білка. Львів : Видавництво ЛНУ ім. Івана Франка, 2010. 394 с.

Додаткова:

1. Amino acids, peptides, and proteins. URL: https://surl.li/eoxglm URL: https://web.pdx.edu/~wamserc/C336S09/Wade_Ch24.pdf
2. Zimenkovsky B.S., Muzychenko V.A., Nizhenkovska I.V., Syrova G.O. Biological and Bioorganic Chemistry: in 2 books. Book 1. Bioorganic Chemistry: textbook. 3rd edition. Kyiv: Medicine. 2020. 288 p.

Інформаційні ресурси:

1. Лекція №12. Амінокислоти. Пептиди. Уявлення про структуру білків. URL: https://surl.li/tfazrn
2. Якісні реакції на амінокислоти. URL: https://surl.li/mpuefd URL: https://surl.li/pmndkf URL: https://surl.li/zuqhtp URL: https://surl.li/ybvzgu
3. 16.4: Білки-полімери амінокислот. URL: https://surl.li/yxfhaj
4. 25.4: Синтез амінокислот. URL: https://surl.li/pkpzje
5. Васильківська М.К., Пенчук Ю.М. Сучасний стан та перспективи біотехнологічних методів виробництва амінокислот. URL: https://surli.cc/oscbin
6. Методи одержання L-амінокислот. URL: https://surl.li/nuxixu
7. Розуміння біохімічних процесів як запорука успішного лікування захворювань. URL: https://surl.li/mglcwf
8. Загальні відомості про пептиди. URL: https://surl.li/cdkohe
9. Peptide Synthesis Services & Products. URL: https://surli.cc/zmohoe
10. Peptide synthesis. URL: https://surl.lu/stxjvz
11. Синтез пептидів став ефективним за допомогою ультразвукового апарату. URL: https://surl.li/tvbqfi

Навчально-методичне видання
(*українською мовою*)

Генчева Вікторія Іванівна

ХІМІЯ АМІНОКИСЛОТ, ПЕПТИДІВ ТА БІЛКІВ

Навчально-методичний посібник
для здобувачів ступеня вищої освіти магістра
спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»
денної форми здобуття освіти

Рецензент *М. М. Корнет*
Відповідальний за випуск *В. І. Генчева*
Коректор *В. І. Генчева*