

Медицинская биохимия как наука

вводная лекция

Медицинская биохимия – это раздел биохимии, изучающий химические и физико-химические процессы нарушения нормальной жизнедеятельности организма на всех уровнях организации живой материи. Таким образом, медицинская биохимия исследует и химический состав, и обмен веществ в органах, тканях, жидких средах организма человека при различных патологических состояниях.

Основными разделами медицинской биохимии являются:

- ◆ **биохимия человека,**
- ◆ **биохимия патологических процессов,**
- ◆ **клиническая биохимия**

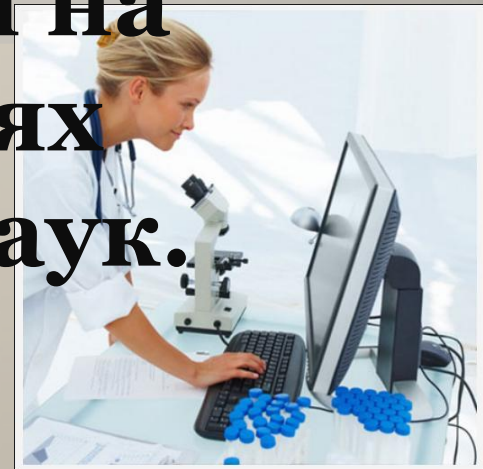


Биохимия человека – раздел биохимии, изучающий нормально функционирующий организм;

Биохимия патологических процессов изучает этиологию, патогенез, течение заболевания на всех уровнях организации человека;



Клиническая биохимия – раздел биохимии, в котором ведутся работы по разработке и внедрению в клинику количественных биохимических тест-методов по диагностике и по контролю течения заболевания. Все эти методы основаны на современных достижениях медико-биологических наук.



Задачи медицинской биохимии

1. Изучение строения и функций биомолекул, входящих в состав тканей организма.
2. Изучение механизмов:
 - поступления пластических и биологически активных веществ во внутреннюю среду организма;
 - превращения поступивших мономеров в биополимеры, специфичные для данного организма;
 - высвобождения, накопления и использования энергии в клетке;
 - образования и выведения конечных продуктов распада веществ в организме;
 - воспроизведения и передачи наследственных признаков организма;
 - регуляции всех перечисленных процессов.

Биомолекулы — это органические вещества, которые синтезируются живыми организмами. В состав биомолекул включают **белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты**, а также более мелкие компоненты обмена веществ.

Биомолекулы состоят из атомов углерода, водорода, азота, кислорода, а также фосфора и серы.

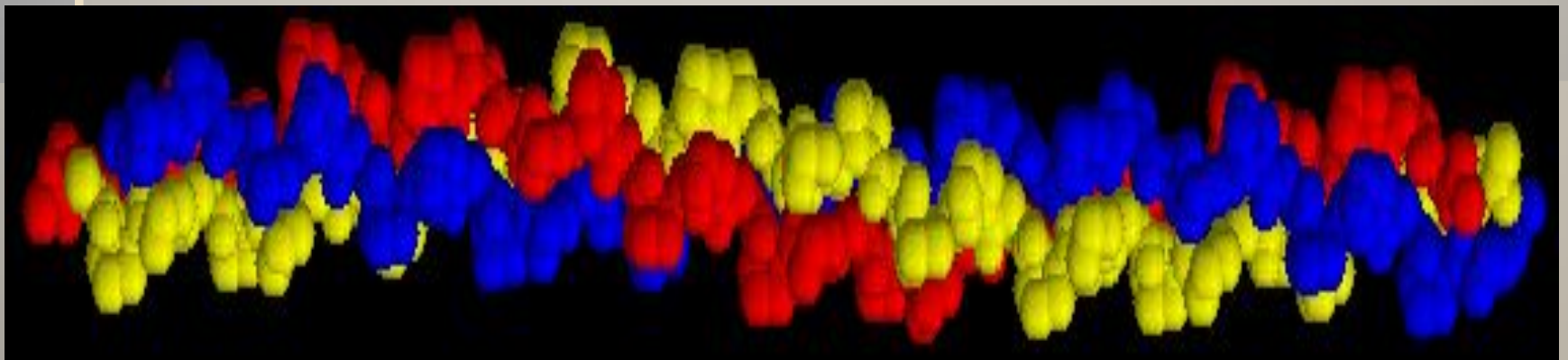
Другие атомы входят в состав биологически значимых веществ значительно реже.

Белки крови



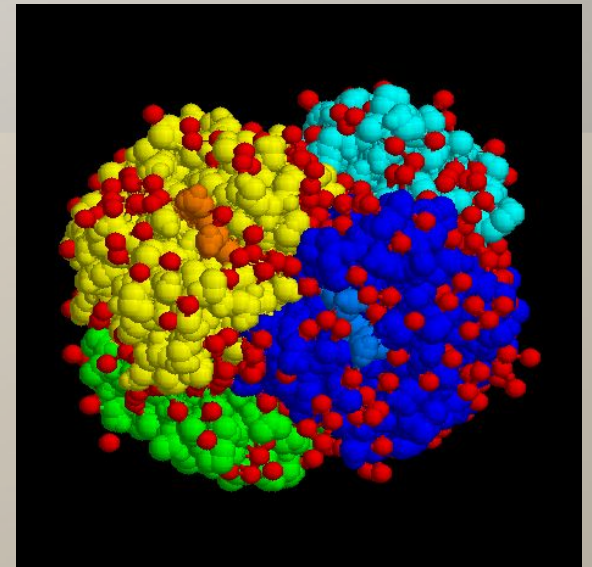
Белки — это высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, в состав которых входят 20 видов **аминокислот**.

Простые белки (протеины) состоят только из аминокислот,



Молекула фибрина

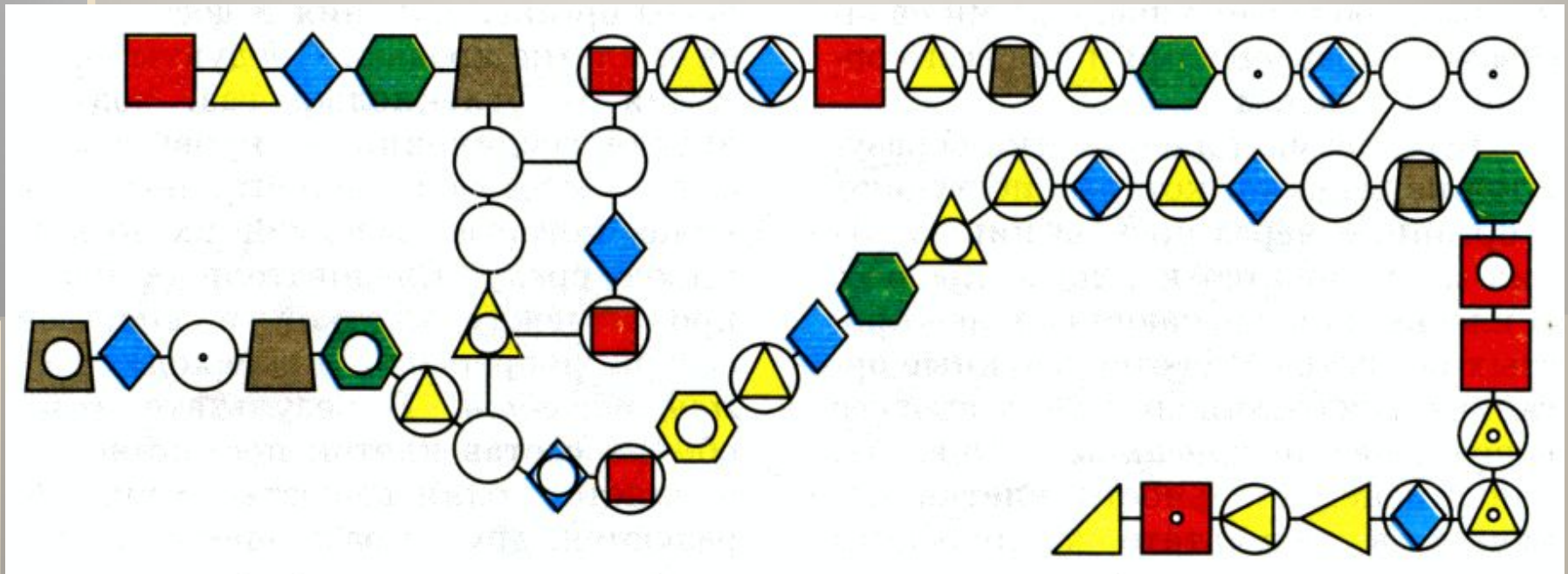
Сложные белки (протейиды) помимо аминокислот содержат различные небелковые компоненты- липиды, углеводы, нуклеиновые основания, хромогены и другие вещества (липопротейиды, гликопротейиды, нуклеопротейиды, хромопротейиды и др.)



Гликогемоглобин

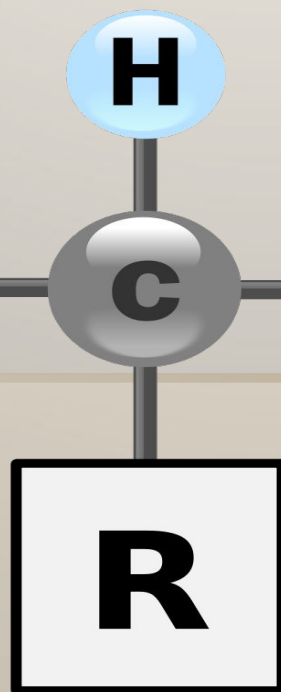
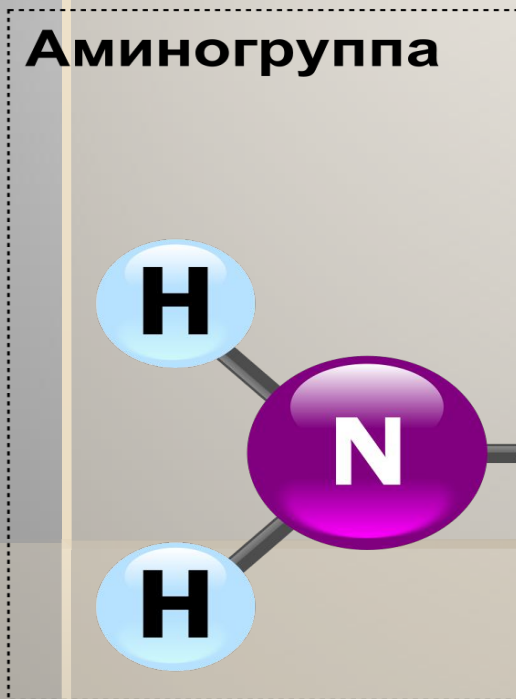
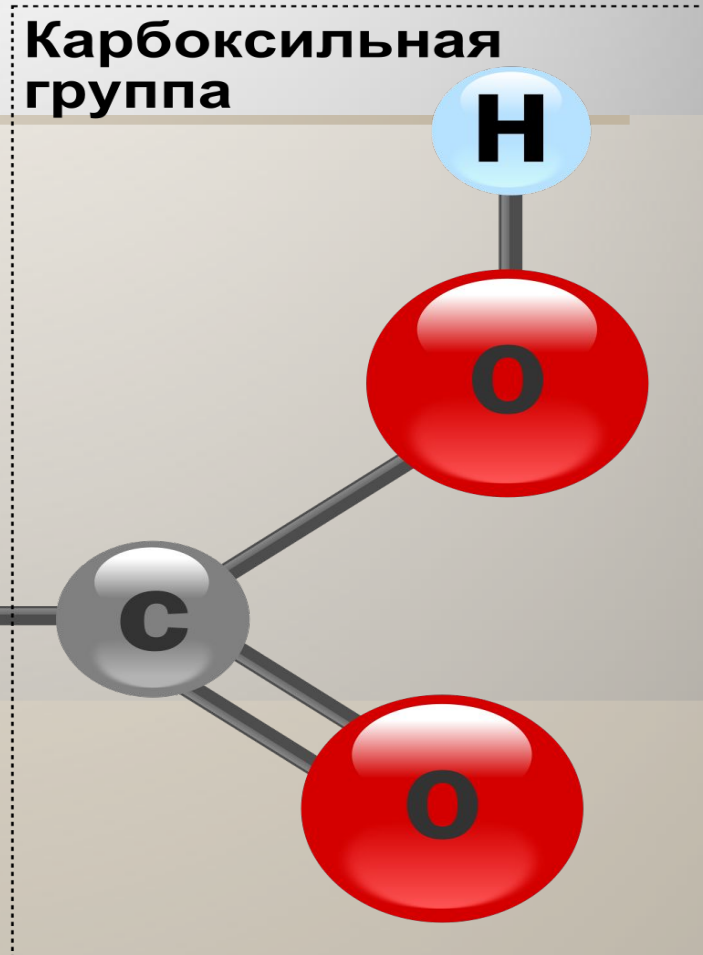
Строение белка

Основными структурными компонентами белков являются аминокислоты.



Строение белка инсулина

Строение аминокислот



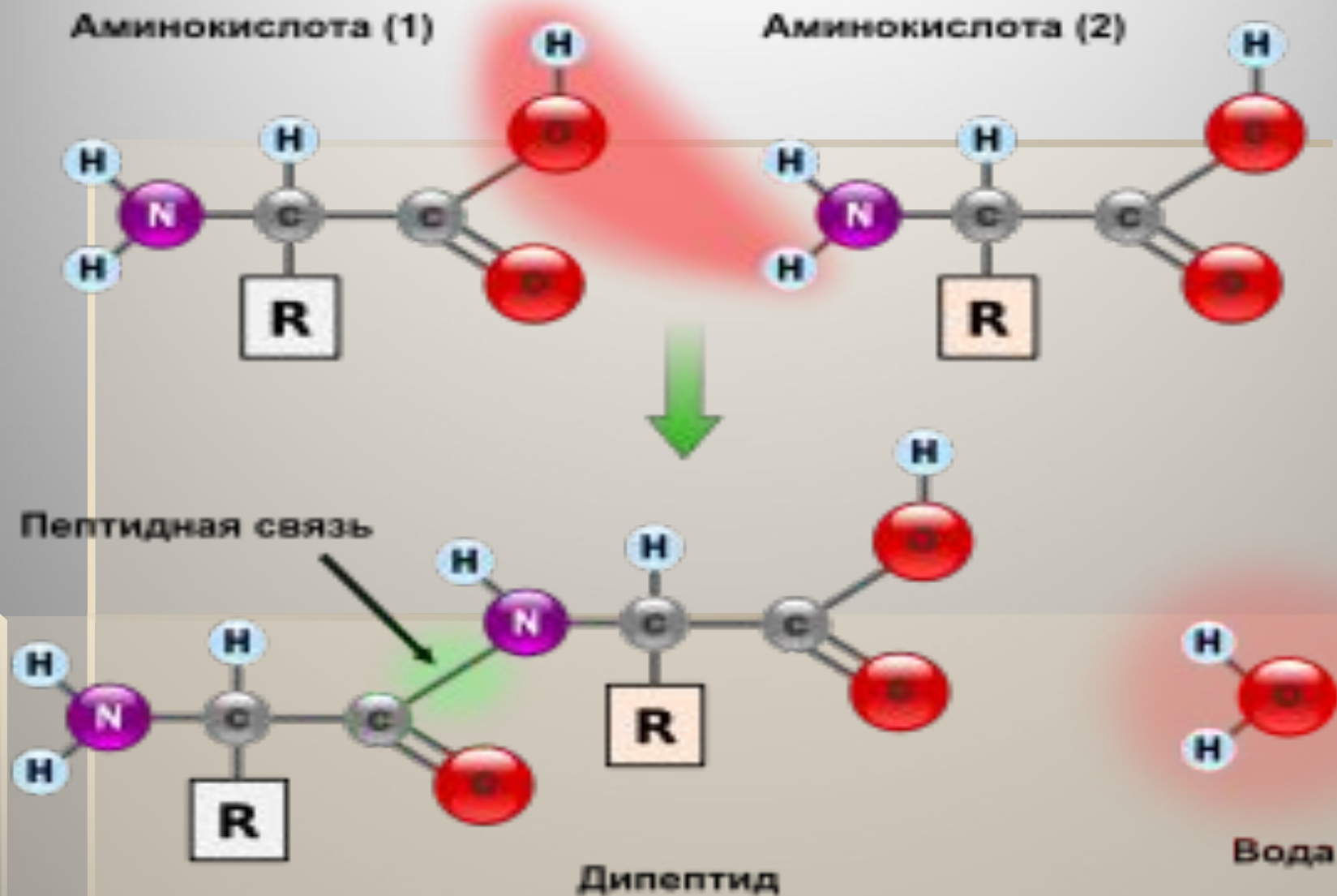
Радикал

Образование пептидной связи

Аминокислоты могут реагировать друг с другом: карбоксильная группа одной аминокислоты реагирует с аминогруппой другой аминокислоты с образованием **пептидной связи** и молекулы воды.

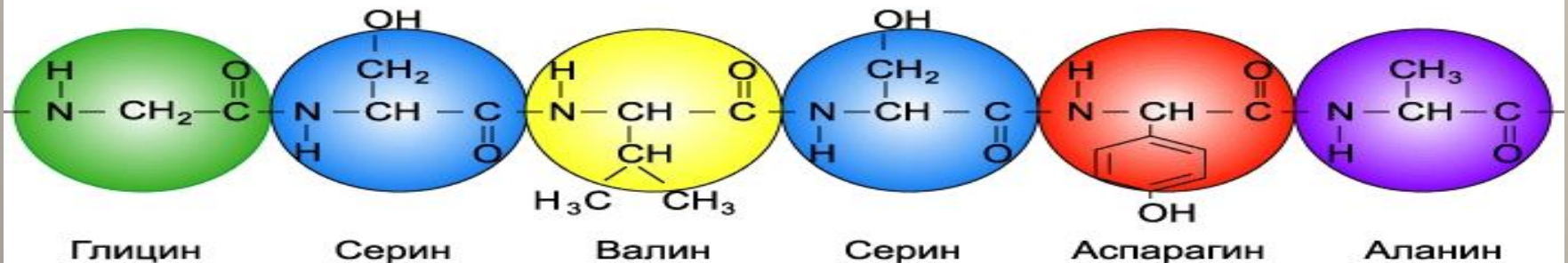


Образование пептидной связи



АМИНОКИСЛОТЫ

В клетках разных живых организмов встречается свыше 170 различных аминокислот, но бесконечное разнообразие белков создается за счет различного сочетания всего 20 аминокислот. Из них может быть образовано 2 432 902 008 176 640 000 комбинаций, т. е. различных белков, которые будут обладать совершенно одинаковым составом, но различным строением



АМИНОКИСЛОТЫ

Для построения белков используются 20 аминокислот.

Незаменимые аминокислоты, они не могут синтезироваться в организме человека и должны обязательно поступать с пищей. Их 8 и еще 2 аминокислоты относятся к частично незаменимым

Заменимые могут синтезироваться в организме человека

Биологическая классификация аминокислот

Аминокислоты		
Заменимые	Незаменимые	
Гликокол	Валин	
Аланин	Лейцин	
Цистеин (цистин)	Изолейцин	
Глютаминовая кислота	Треонин	
Аспарагиновая кислота	Метионин	
Тирозин	Фенилаланин	
Пролин	Триптофан	
Серин	Лизин	
Аспарагин	Гистидин	Условно незаменимые
Глютамин	Аргинин	

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ



Глицин
(гли; α -амино-уксусная кислота)



Аланин
(ала; α -аминопропионовая кислота)



Валин
(вал; α -аминоизовалериановая кислота)



Лейцин
(лей; α -аминоизонапроновая кислота)

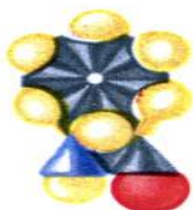


Изолейцин
(иле; α -амино- β -метилвалериановая кислота)

ИМИНОКИСЛОТА



Пролин
(про; пирролидин- α -карбоновая кислота)



Фенилаланин
(фен; α -амино- β -фенилпропионовая кислота)



Триптофан
(три; α -амино- β -индолилпропионовая кислота)

ДИКАРБОНОВЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ:



Аспарагиновая кислота
(асп; аминоянтарная кислота)



Глутаминовая кислота
(глу; α -аминоглутаровая кислота)



Аспарагин
(асн; амид аспарагиновой кислоты)



Глутамин
(глен; амид глутаминовой кислоты)

ОКСИАМИНОКИСЛОТЫ:



Серин
(сер; α -амино- β -оксипропионовая кислота)



Треонин
(тре; α -амино- β -оксисмляная кислота)



Тирозин
(тир; α -амино- β -оксифенилпропионовая кислота)



Метионин
(мет; α -амино- γ -метилтиомасляная кислота)



Цистеин
(цис; α -амино- β -тиолпропионовая кислота)

ОСНОВНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ:



Гистидин
(гис; α -амино- β -имидазолилпропионовая кислота)



Лизин
(лиз; α , ϵ -диаминонапроновая кислота)



Аргинин
(арг; α -амино- δ -гуанидинвалериановая кислота)

НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

- **Лейцин.** При недостатке этой аминокислоты может развиваться анемия, проблемы с печенью и другие заболевания. Лейцин содержится в сое, твердом сыре, морепродуктах, бобовых, орехах, мясе, рыбе, крупах и яйцах
- **Изолейцин** участвует в энергетических процессах организма и необходим для синтеза гемоглобина, помогает справиться с усталостью и стрессом. Содержится в сое, твердом сыре, бобовых, мясе, рыбе, орехах,
- **Валин** оказывает стимулирующее действие на весь организм, эта незаменимая кислота необходима для укрепления тонуса мускулатуры. Содержится в сое, бобовых, мясе, орехах, яйцах, рыбе и морепродуктах, крупах

НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

- **Лизин** способствует росту костей и выработке коллагена, укрепляет иммунитет и помогает организму бороться с вирусами, в том числе с герпесом. Содержится в сое , твердом сыре , мясе , рыбе , бобовых , твороге , мягком сыре и яйцах
- **Метионин** обладает сильной дезинтоксикационной способностью, препятствует отложению избыточного количества жира (в том числе в печени), повышает уровень антиоксидантов в крови. Содержится в сыре , мясе , рыбе и морепродуктах , сое , яйцах и бобовых
- **Треонин** выводит токсины, участвует в синтезе коллагена и эластина, укрепляет иммунитет. Содержится в сое , рыбе , бобовых , твороге и сыре , мясе , морепродуктах , яйцах и орехах

НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ

- **Триптофан** усиливает выработку в головном мозге серотонина, отвечающего за настроение, сон , восприятие боли и гормона мелатонина (регулятора суточных ритмов). Эта незаменимая аминокислота содержится в сыре, сое , бобовых , рыбе, мясе и яйцах
- **Фенилаланин** способствует работе мозга, усиливает выработку эндорфинов, улучшает память и умственные способности, входит в состав коллагена. Содержится в сое , бобовых , орехах, рыбе ,сыре, мясе, яйцах

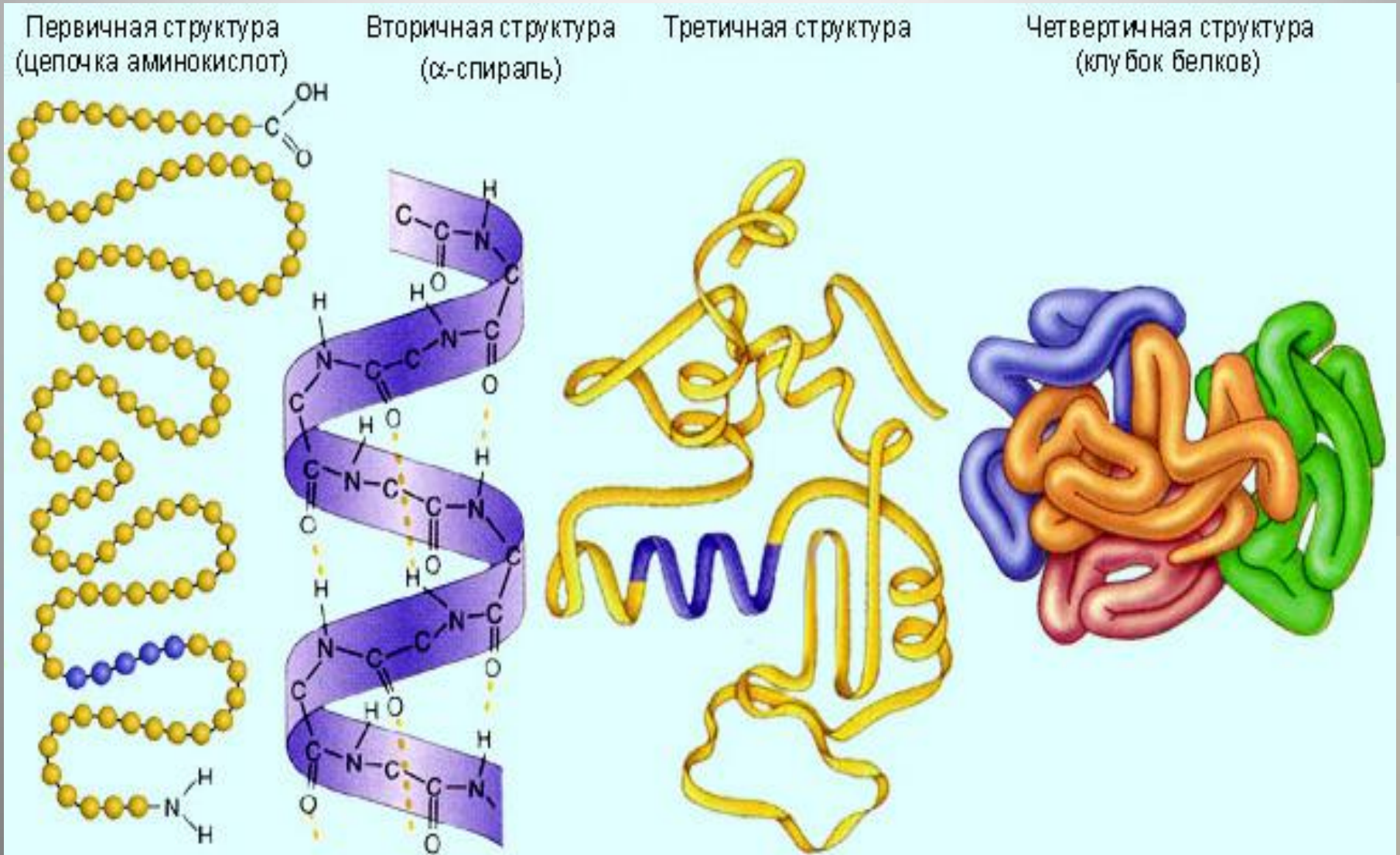
НЕЗАМЕНИМЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ



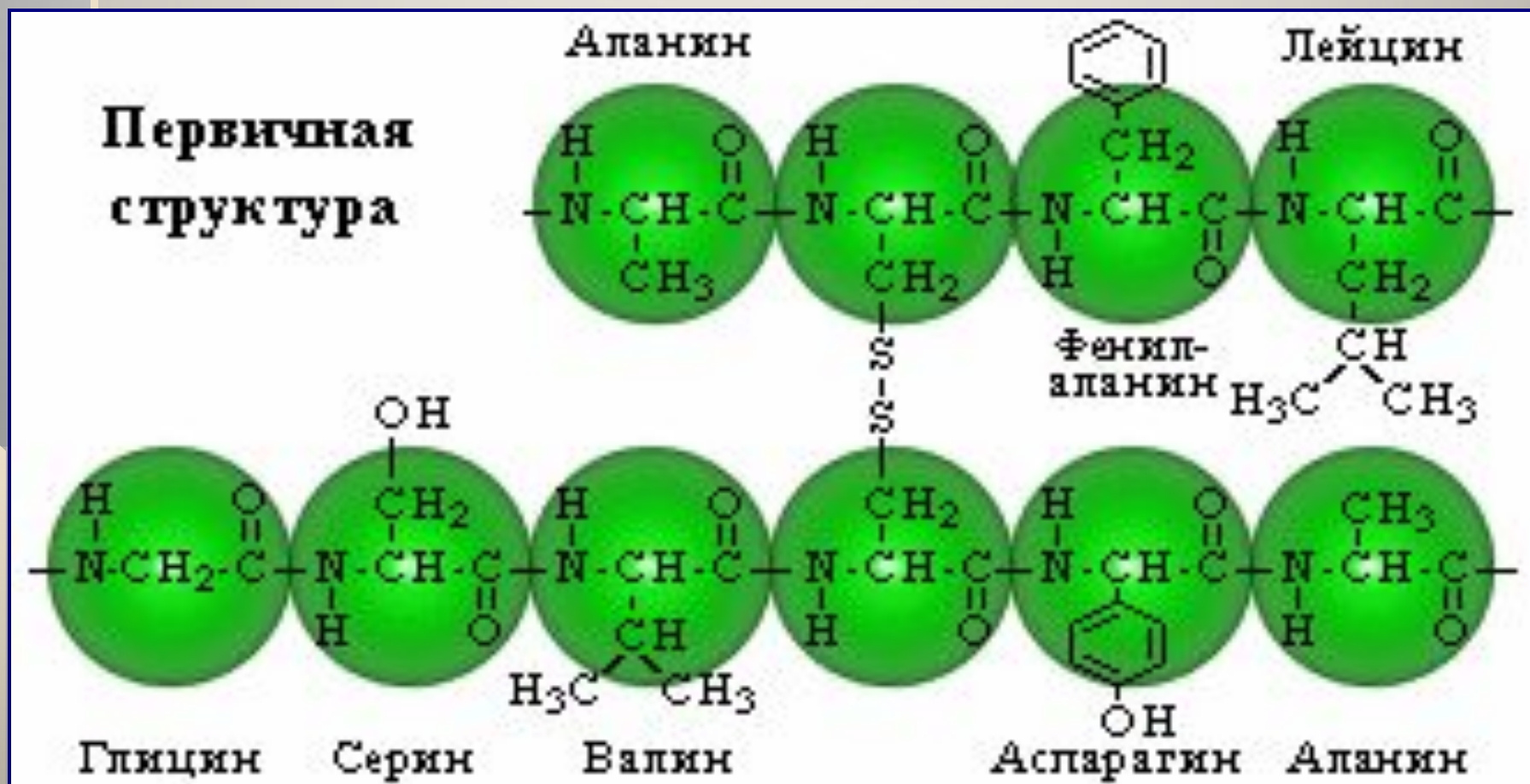
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ

- В основе каждого белка лежит полипептидная цепь. Она не просто вытянута в пространстве, а организована в трехмерную структуру. Поэтому существует понятие о 4-х уровнях пространственной организации белка, а именно - первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах белковых молекул**

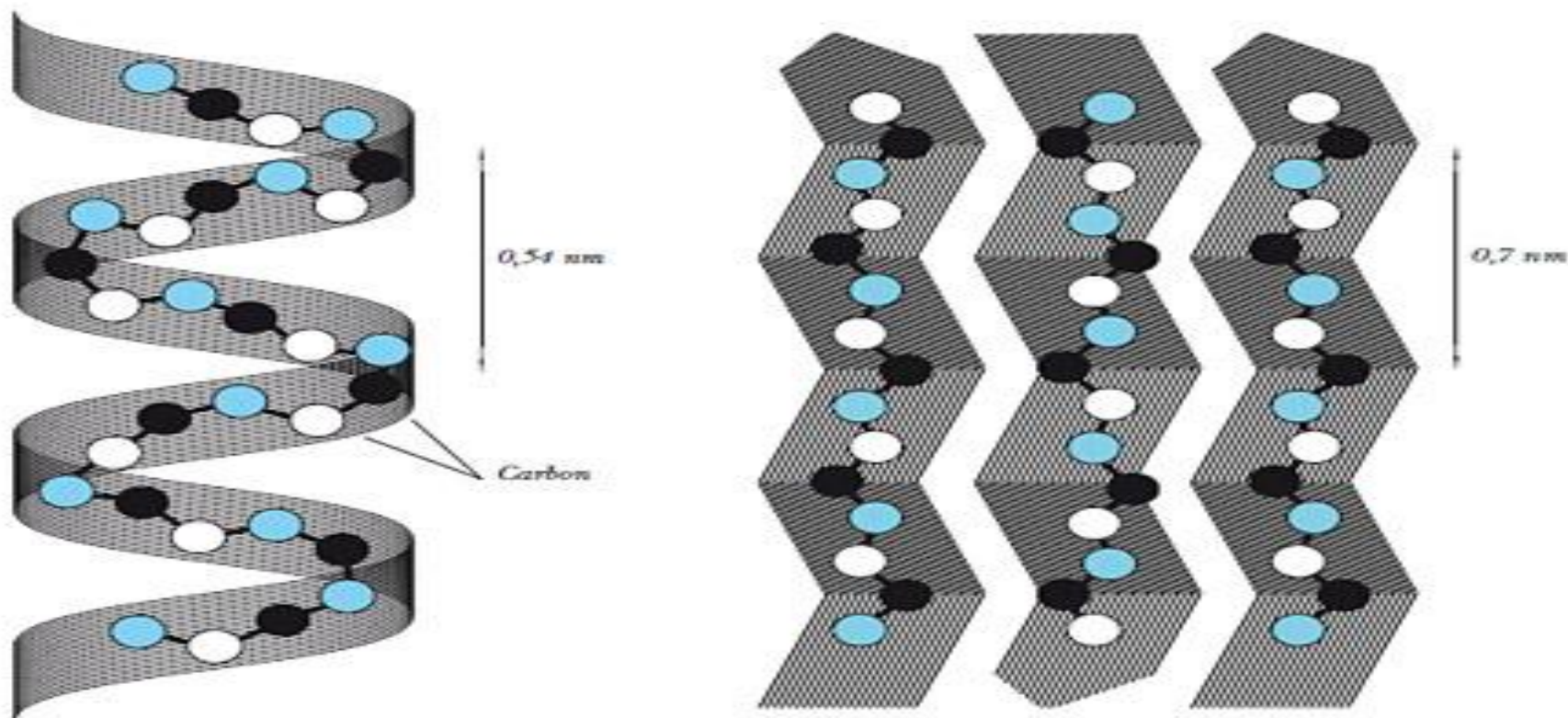
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ



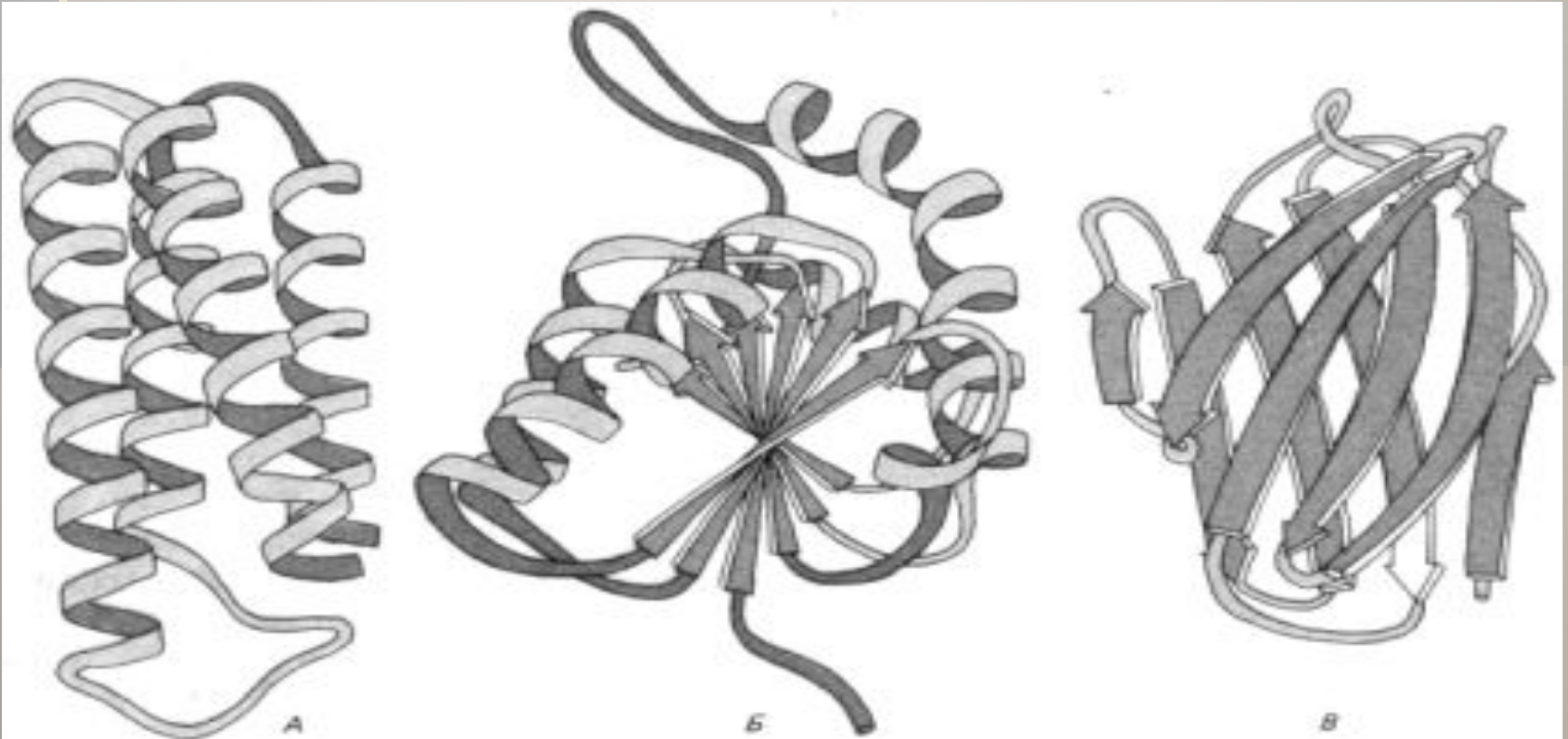
Первичная структура – последовательность чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи.



Вторичная структура возникает за счет скручивания первичной структуры в спираль или в гармошку за счет водородных связей между соседними витками или звеньями



- **Третичная структура** – это глобулярная форма, образующаяся за счет гидрофобных связей между радикалами аминокислот вторичной структуры



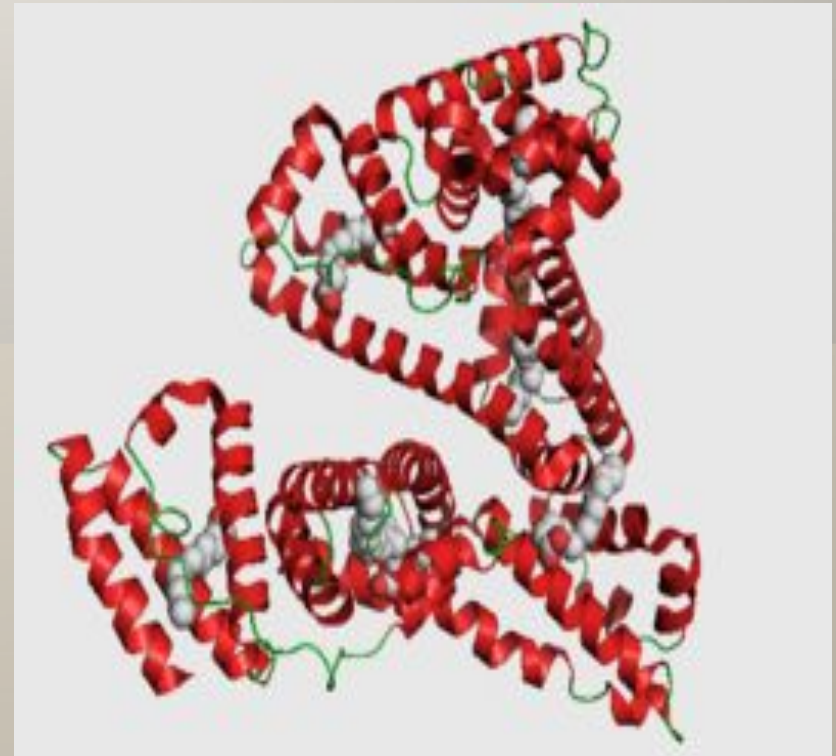
- **Четвертичная структура** – представляет собой объединение нескольких глобул с третичной структурой в единый конгломерат



ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Белки занимают центральное место в метаболизме организма человека, выполняя ряд важных функций:

- 1) **структурную**
- 2) **транспортную**
- 3) **сократительную**
- 4) **каталитическую**
- 5) **регуляторную**
- 6) **защитную**
- 7) **энергетическую**

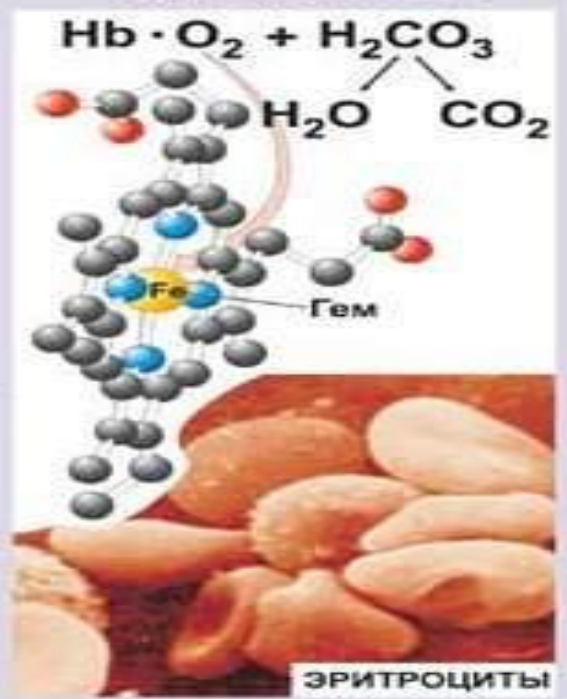


ГЛОБУЛЯРНЫЕ

РЕГУЛЯТОРНЫЕ



ТРАНСПОРТНЫЕ



КАТАЛИЗАТОРЫ

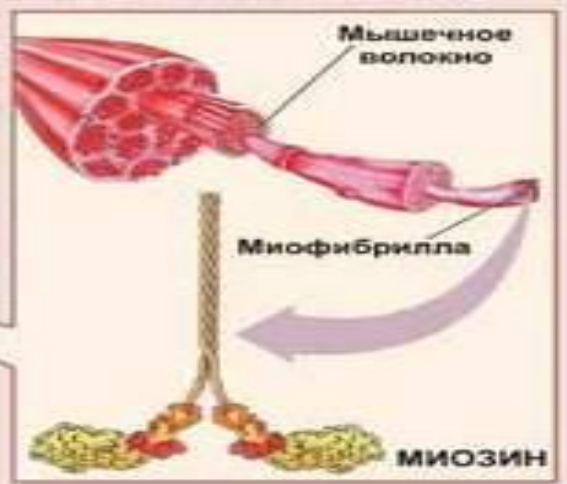


ФИБРИЛЛЯРНЫЕ

СТРОИТЕЛЬНЫЕ



СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ

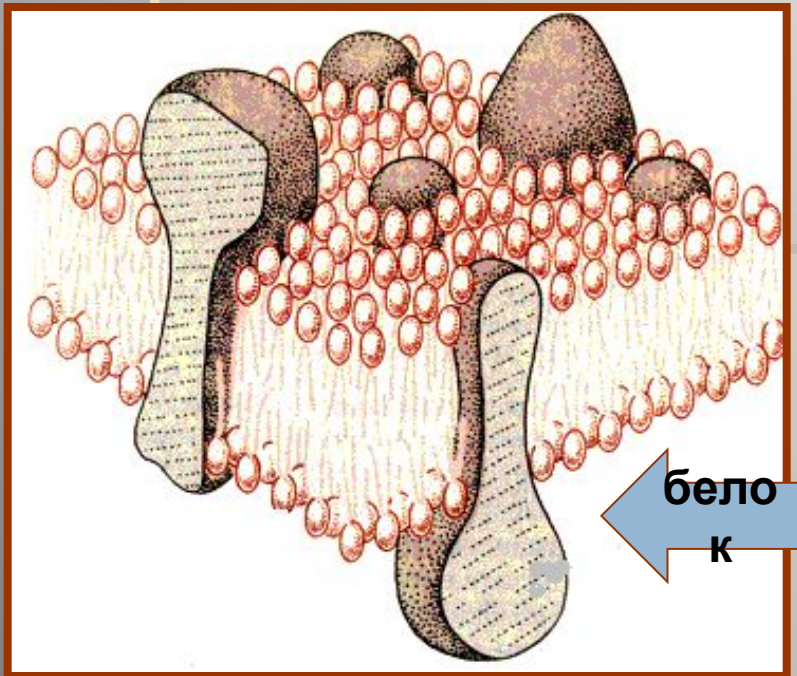


Структурная функция

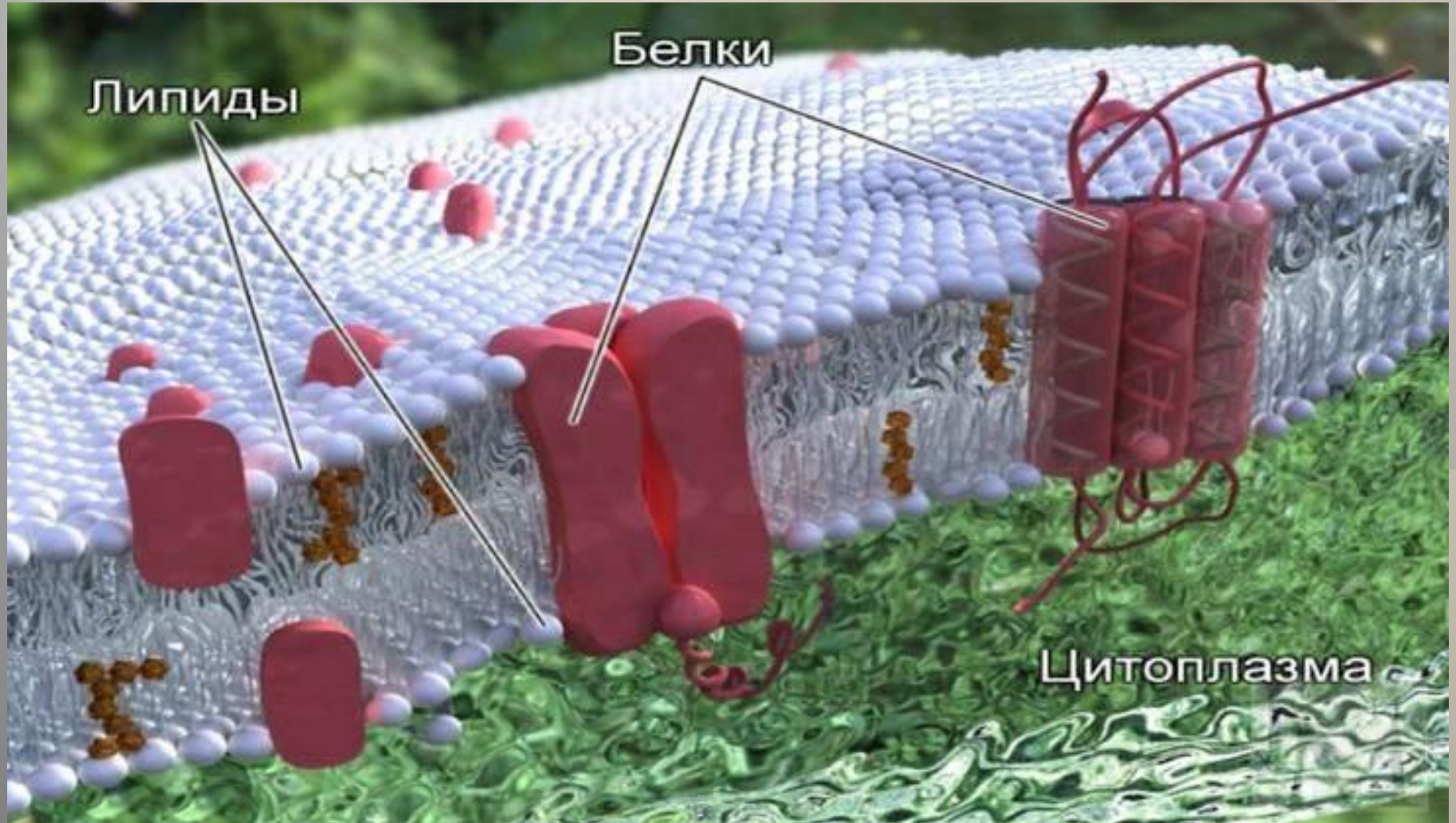
- Белки являются основой всех биологических мембран, всех органоидов клетки.
- Так, **коллаген** является важным составным компонентом соединительной ткани, **кератин** компонент перьев, волос, рогов, ногтей, **эластин** эластичный компонент связок, стенок кровеносных сосудов.

Структурная функция

Белки участвуют в образовании всех мембран и органоидов клетки.

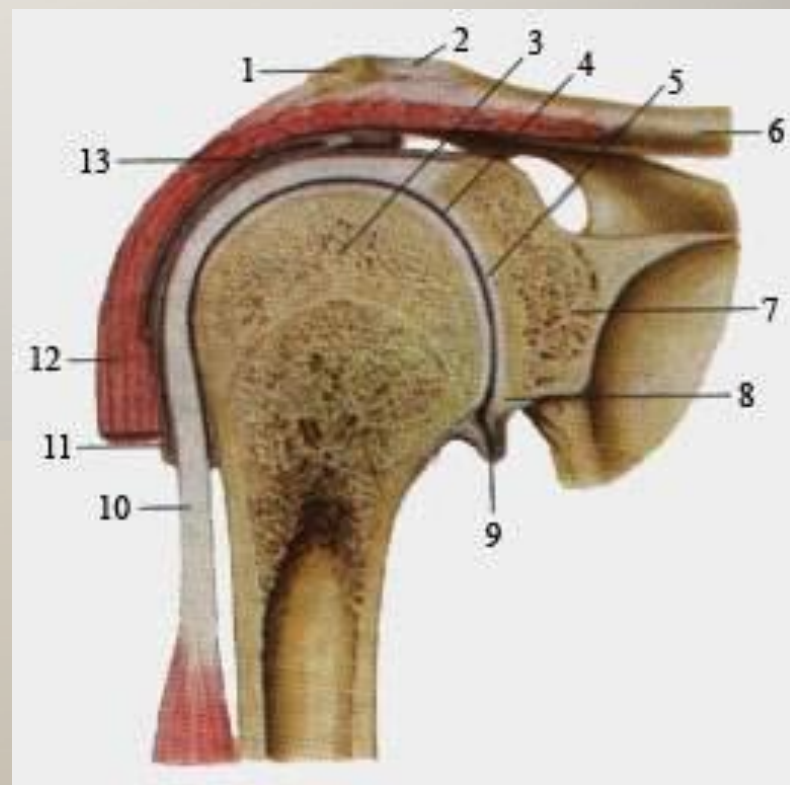
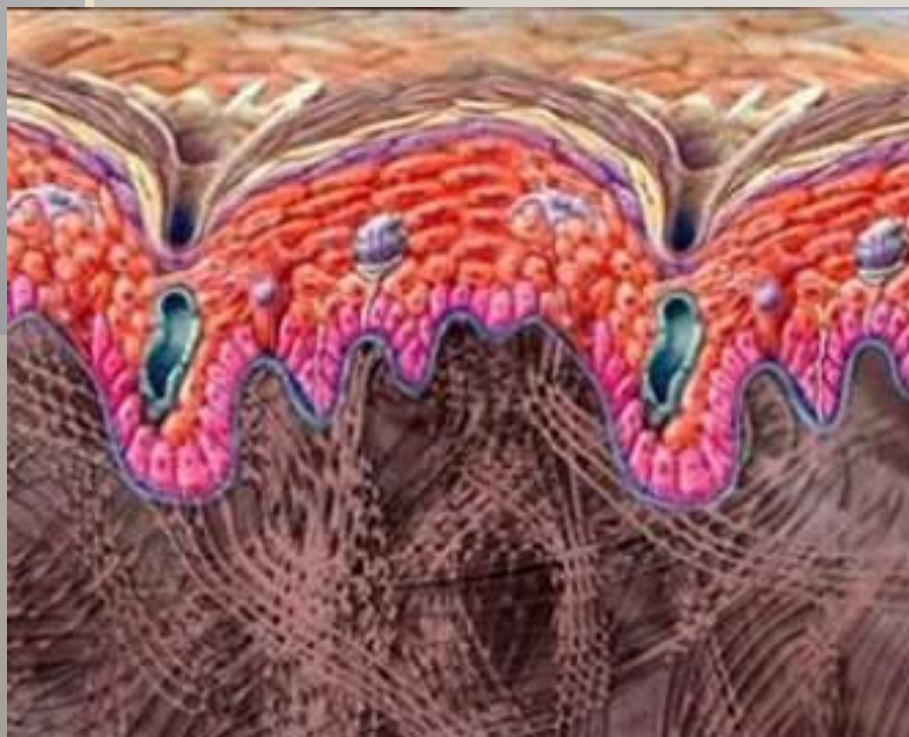


Они в комплексе с липидами являются структурной основой **клеточных и внутриклеточных мембран.**



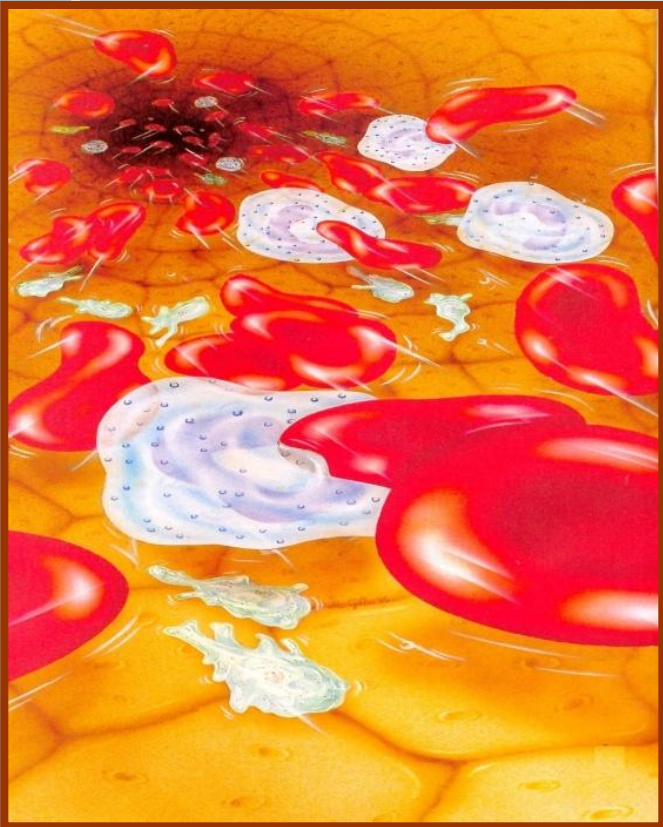
Белки участвуют в образовании **внеклеточных структур**: входят в состав шерсти, волос, сухожилий, стенок сосудов.

эластин, коллаген



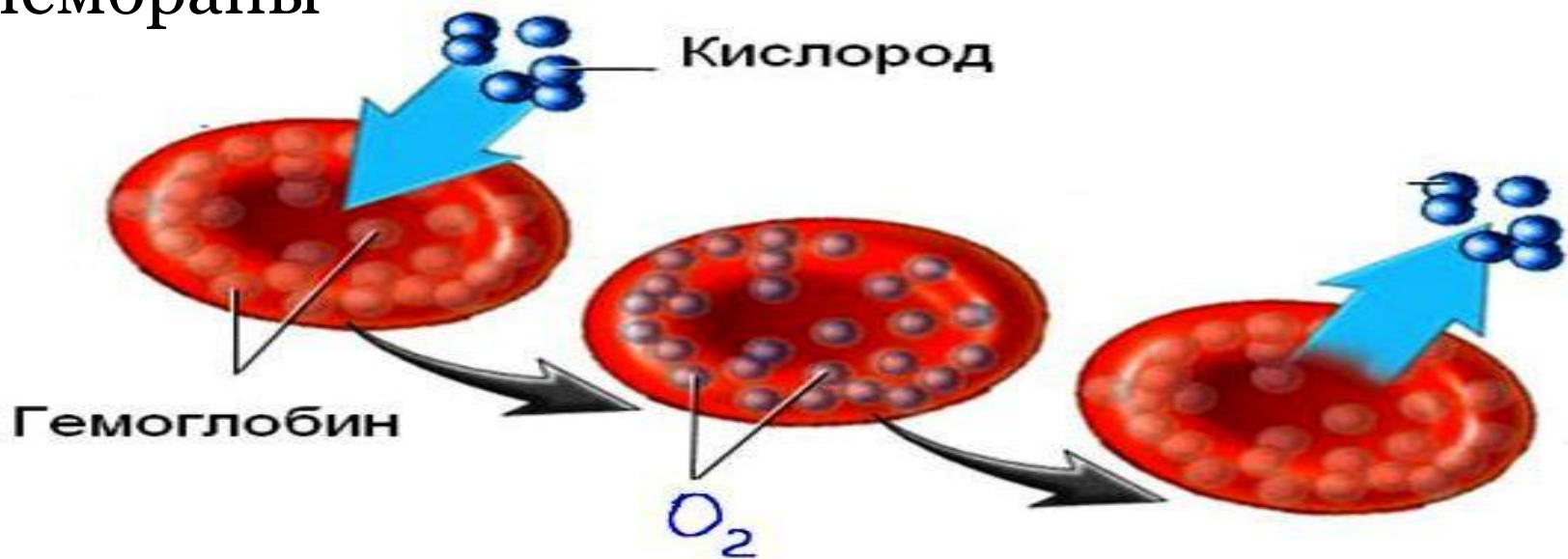
Транспортная функция

Белки связывают и переносят различные вещества и внутри клетки, и по всему организму.

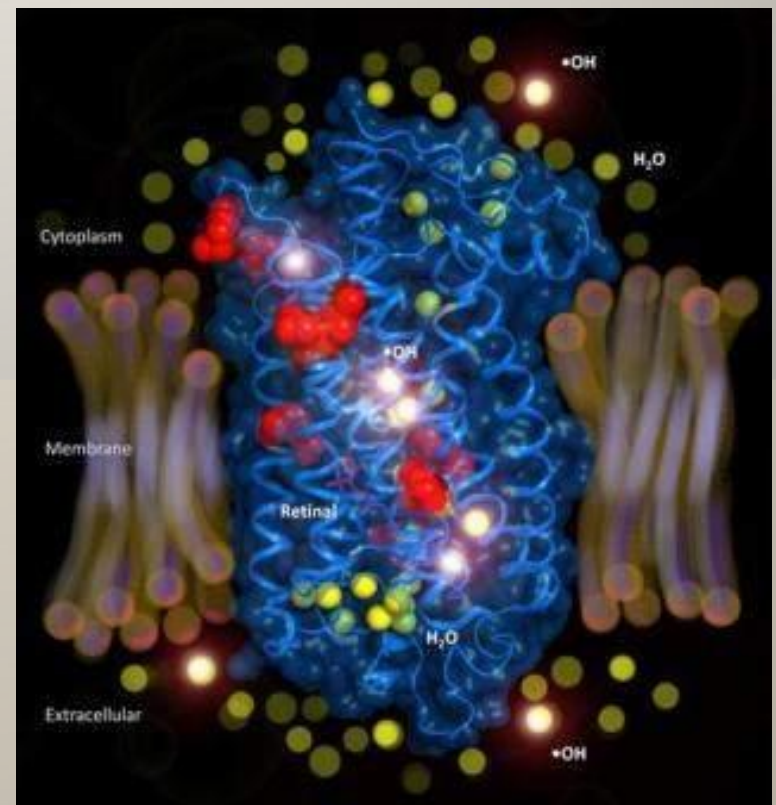
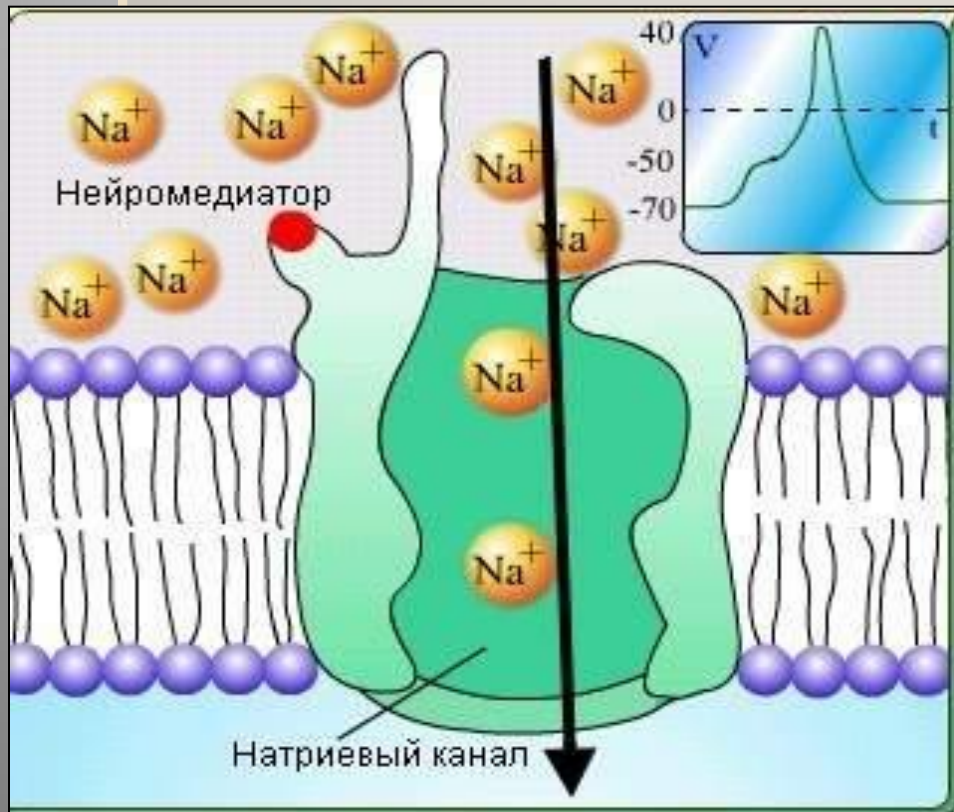


Например, гемоглобин крови переносит кислород.

Так, **гемоглобин** переносит кислород из легких к клеткам других тканей. В мышцах эту функцию выполняет белок **миоглобин**. Сывороточный **альбумин** крови способствует переносу липидов и жирных кислот, различных биологически активных веществ. Белки-переносчики осуществляют перенос веществ через клеточные мембраны



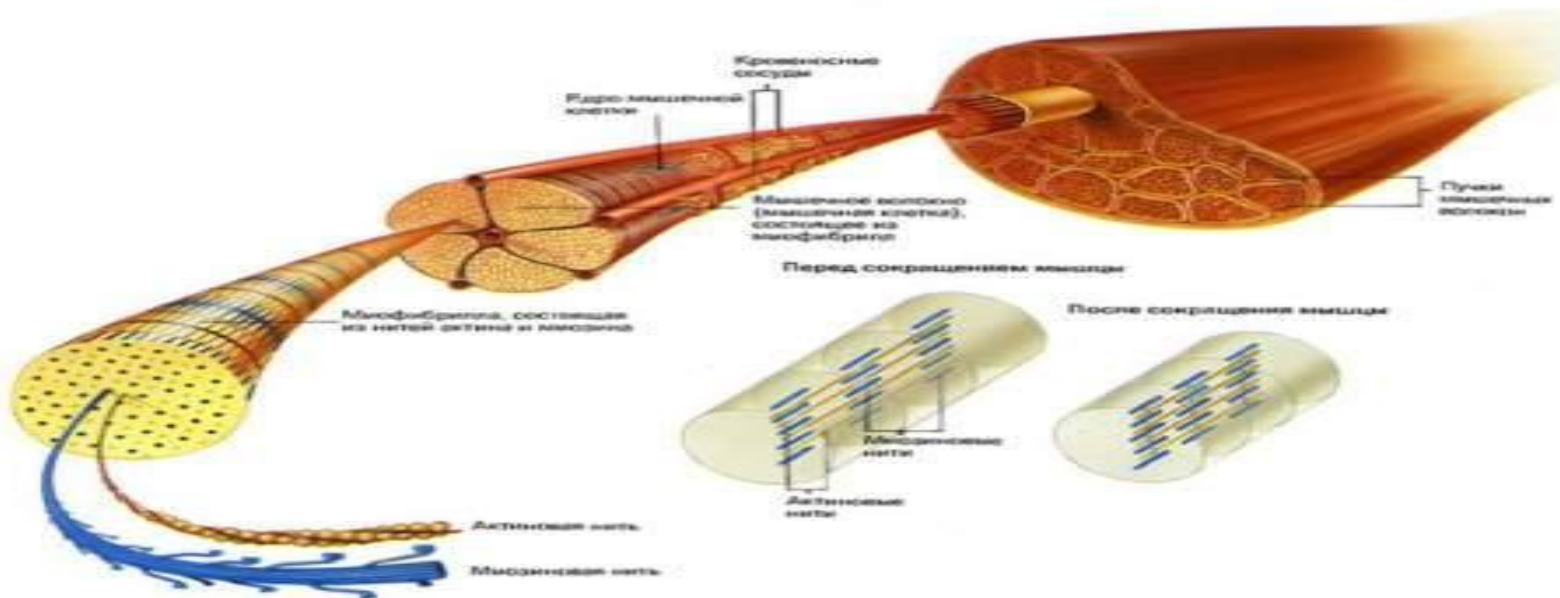
В состав клеточных мембран входят особые белки, обеспечивают активный и строго избирательный перенос некоторых веществ и ионов из клетки во внешнюю среду и обратно.

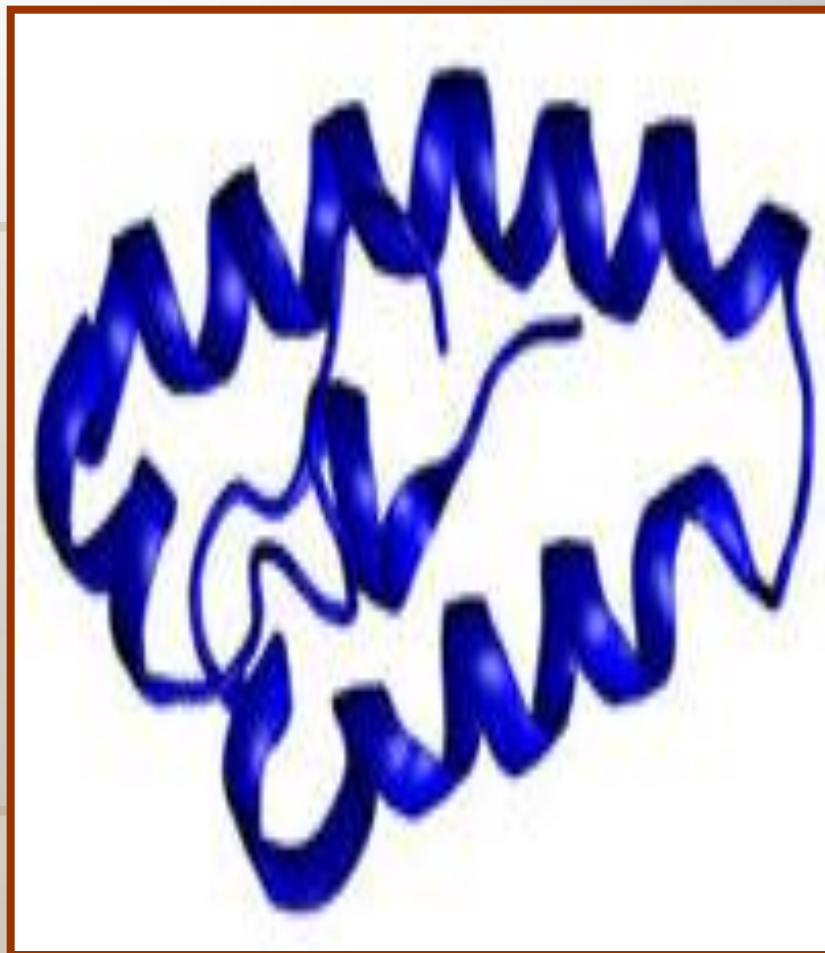


СОКРАТИТЕЛЬНАЯ (ДВИГАТЕЛЬНАЯ) ФУНКЦИЯ

Особые сократительные белки (*актин и миозин*) участвуют во всех видах движения клетки и организма, сокращении мышц у человека

Структура произвольно сокращающейся мышцы





Актин и миозин – белки мышц

Каталитическая функция

Среди 2000 известных белков наиболее многочисленную группу составляют ферменты, которые помогают осуществлять биохимические реакции, действуя как катализаторы, то есть ускоряют реакции, происходящие в организме



Регуляторная функция

- В биохимических сигнальных цепях белки осуществляют функцию сигнальных веществ (гормонов), которые регулируют различные физиологические процессы.
- Например, наиболее известным гормоном является инсулин, регулирующий содержание глюкозы в крови. При недостатке инсулина в организме возникает заболевание, известное как сахарный диабет

Глюкоза

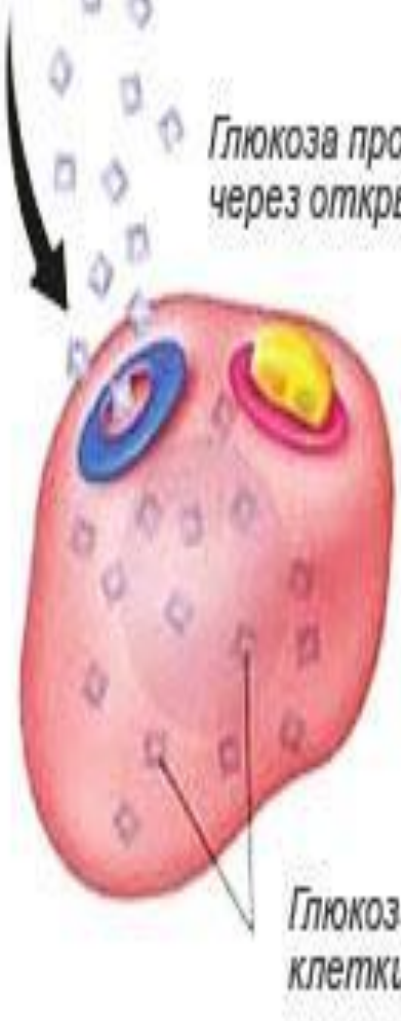
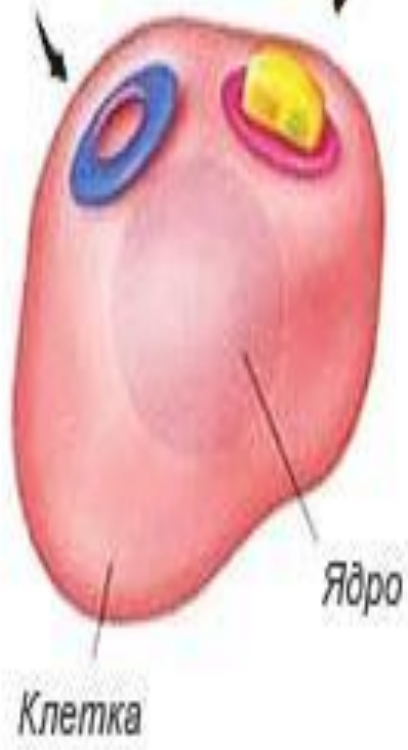
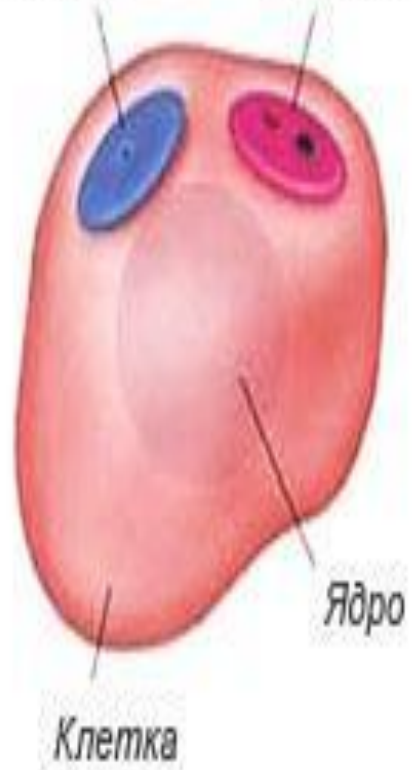
Инсулин

Канал для
глюкозы

Рецепторы
инсулина

Инсулин открывает
канал для глюкозы

Глюкоза проникает в клетку
через открытый канал

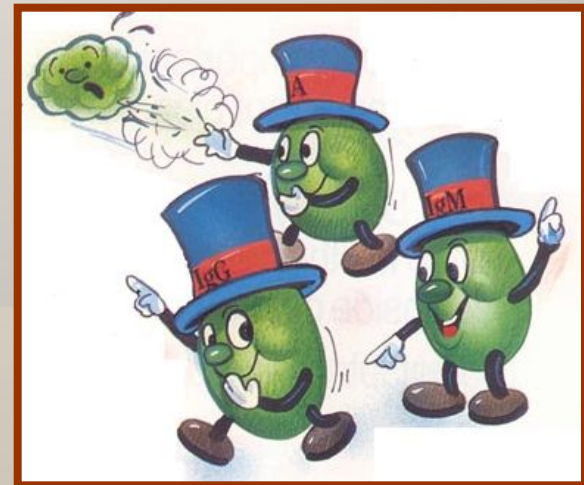


Глюкоза внутри
клетки

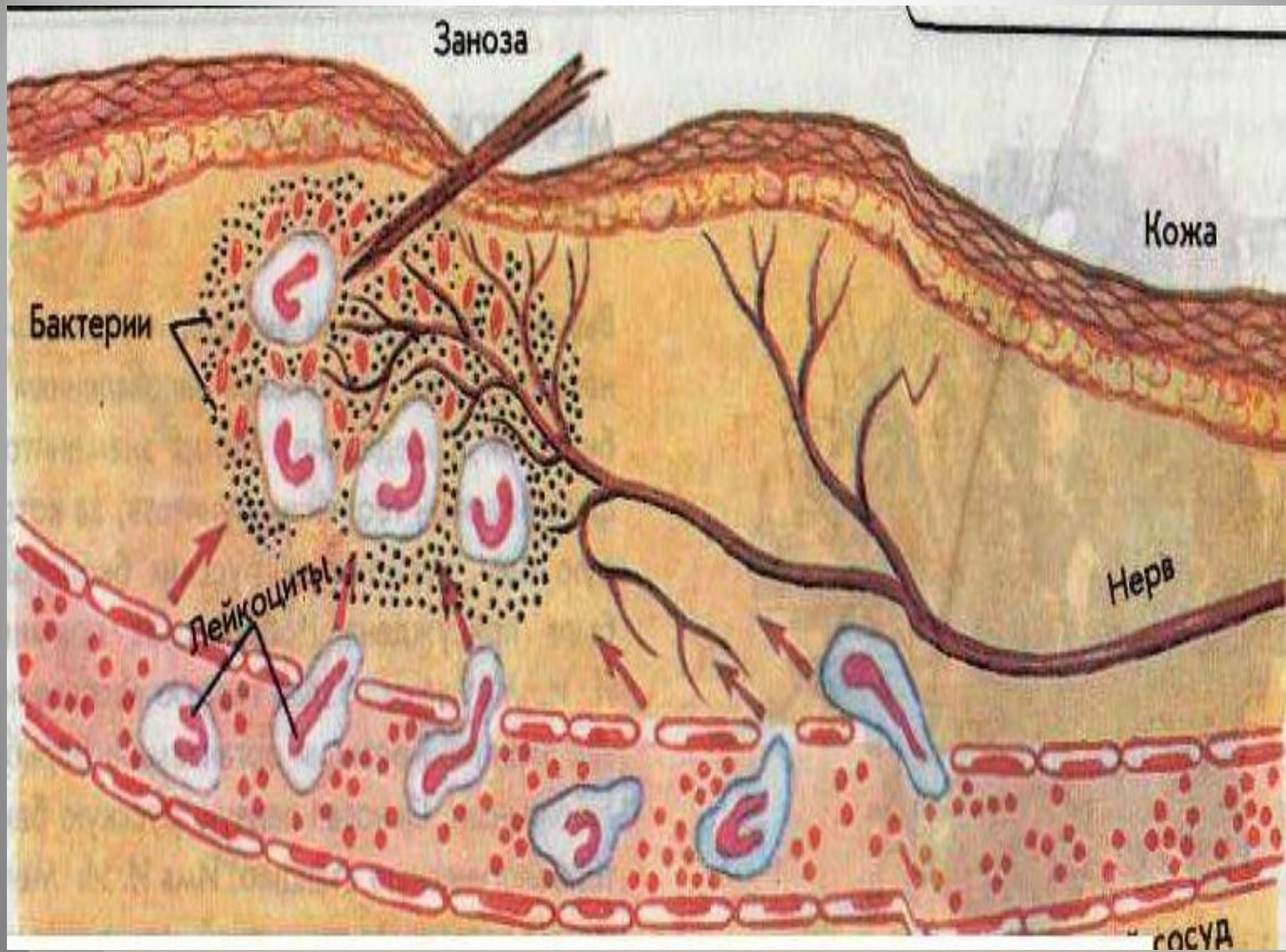
Защитная функция

Предохраняют организм от вторжения чужеродных организмов и от повреждений

Антитела блокируют чужеродные белки



Например, фибриноген и протромбин обеспечивают свертываемость крови



Заноза

Кожа

Бактерии

Нерв

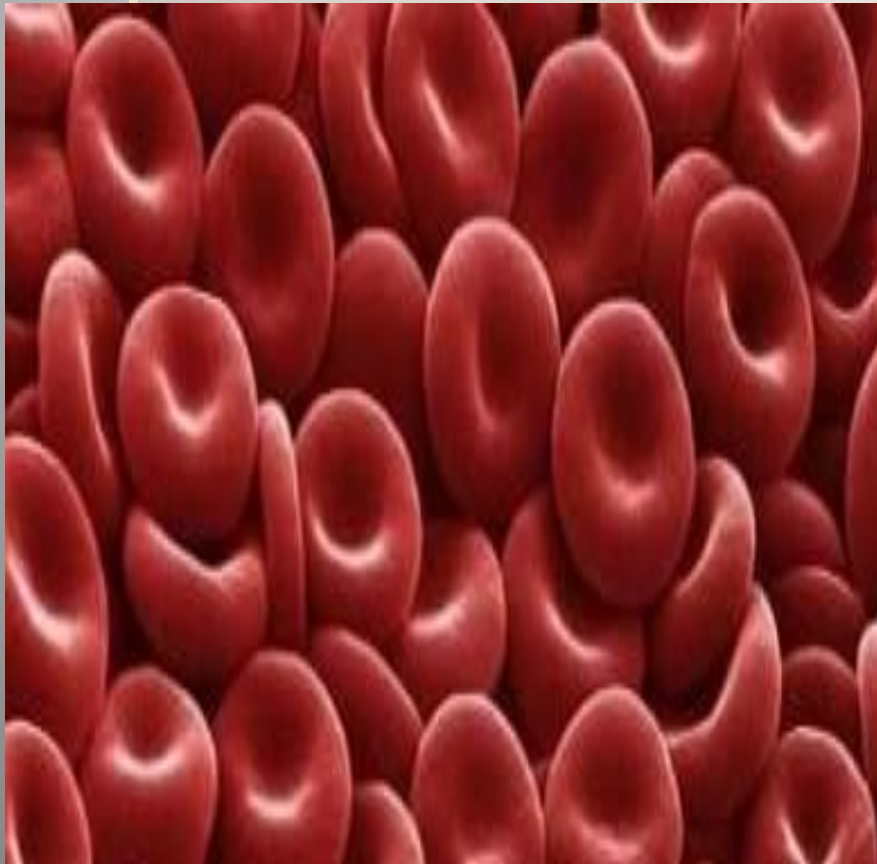
Лейкоциты

сосуд

В ответ на проникновение в организм чужеродных белков или микроорганизмов (антигенов) образуются особые белки — **антитела, способные связывать и обезвреживать их.**



Фибрин, образующийся из фибриногена, способствует остановке кровотечений.

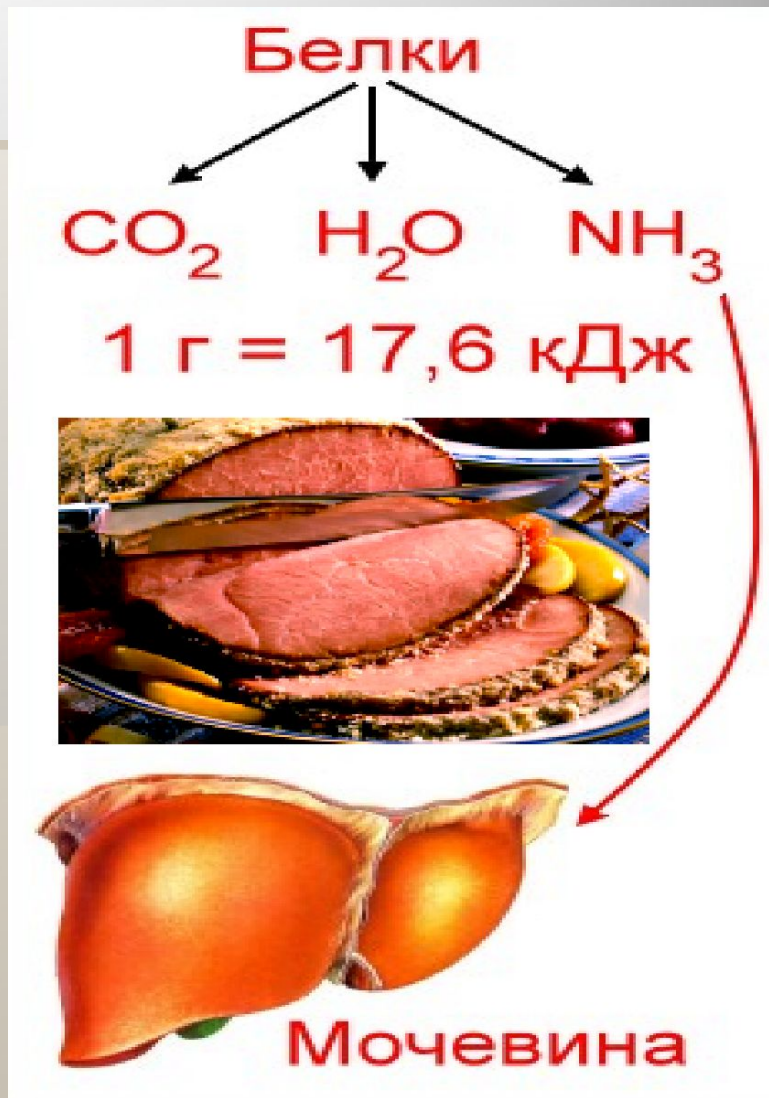


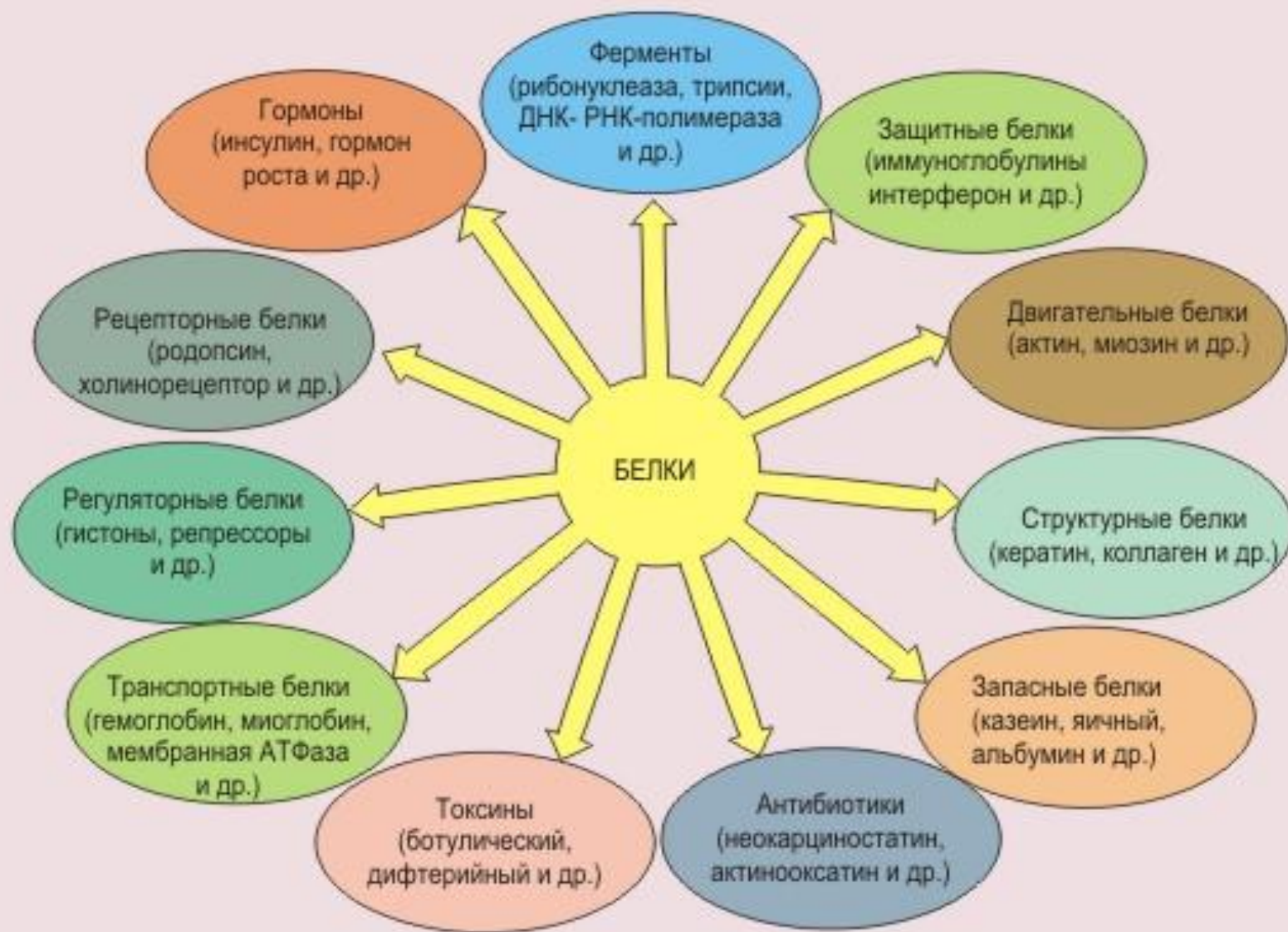
Энергетическая функция

При распаде 1 г белка - выделяется **17,6 кДж** энергии.

Сначала белки распадаются до аминокислот, а затем до конечных продуктов:


- воды,
- углекислого газа,
- аммиака.






Свойства белков


Белки чрезвычайно разнообразны по своим свойствам.



Есть белки, растворимые (например, фибриноген) и нерастворимые (например, фибрин) в воде. Растворимые белки образуют коллоидные растворы. Эти растворы характеризуются высокой вязкостью, способностью рассеивать лучи видимого света, не проходят сквозь полупроницаемые мембраны



Есть белки очень устойчивые (например, кератин) и неустойчивые (например, фермент каталаза с легко изменяющейся структурой).



У белков встречается разнообразная форма молекул — от нитей (миозин - белок мышечных волокон) до глобул (гемоглобин)

Свойства белков



Белки имеют высокую молекулярную массу,

Молекулярная масса белков находится в пределах 10 000 - 1 000 000 а.е.м (атомная единица массы).

Так, в составе **рибонуклеазы** (фермента, расщепляющего РНК) содержится 124 аминокислотных остатка и ее молекулярная масса составляет примерно 14 000 а.е.м.

Миоглобин (белок мышц), состоящий из 153 аминокислотных остатков, имеет молекулярную массу 17 000 а.е.м , а **гемоглобин** - 64 500 а.е.м (574 аминокислотных остатка). Молекулярные массы других белков более высокие: **-глобулин** (образует антитела) состоит из 1250 аминокислот и имеет молекулярную массу около 150 000 а.е.м, а молекулярная масса фермента **глутаматдегидрогеназы** превышает 1 000 000 а.е.м .

Свойства белков




Белки активно вступают в химические реакции





Важнейшим свойством белков является их способность проявлять как кислые так и основные, то есть выступать в роли амфотерных электролитов

Так, **кислотные** свойства белку придают **карбоксильные группы** аспарагиновой глутаминовой аминокислот, а **щелочные** - радикалы аргинина, лизина и гистидина. Чем больше дикарбоновых аминокислот содержится в белке, тем сильнее проявляются его кислотные свойства и наоборот


Свойства белков


 Белки характеризуются оптической активностью, подвижностью в электрическом поле

 В белках, где преобладают аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты, заряд белка будет отрицательным, избыток основных аминокислот придает положительный заряд белковой молекуле. Вследствие этого в электрическом поле белки будут передвигаться к катоду или аноду в зависимости от величины их общего заряда

 Важное значение для организма имеет способность белков адсорбировать на своей поверхности некоторые вещества и ионы (гормоны, витамины, железо, медь), которые либо плохо растворимы в воде, либо являются токсичными (билирубин, свободные жирные кислоты). Белки транспортируют их по крови к местам дальнейших превращений или обезвреживания.

Свойства белков

 **Гидролиз** - под действием растворов минеральных кислот или ферментов происходит разрушение **первичной структуры белка** и образование смеси аминокислот.

 **Денатурация** - частичное или полное разрушения пространственной структуры, присущей данной белковой молекуле. **Денатурация** происходит под действием:

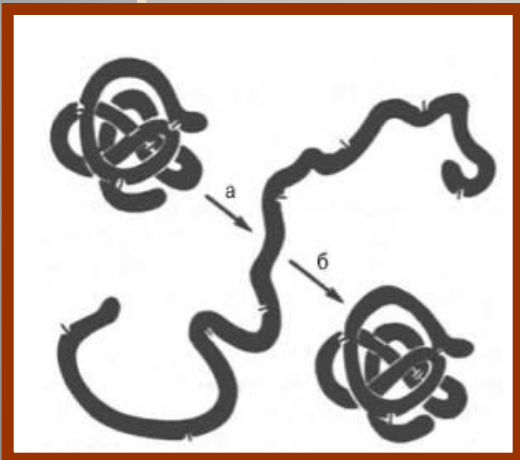
- высокой температуры
- растворов кислот, щелочей и концентрированных растворов солей
- растворов солей тяжёлых металлов
- некоторых органических веществ (формальдегида, фенола)
- радиоактивного излучения

Денатурация – нарушение природной структуры белка.

Под влиянием различных химических и физических факторов

(обработка спиртом, ацетоном, кислотами, щелочами, высокой температурой, облучением, высоким давлением и т. д.)

происходит изменение структуры молекулы белка.



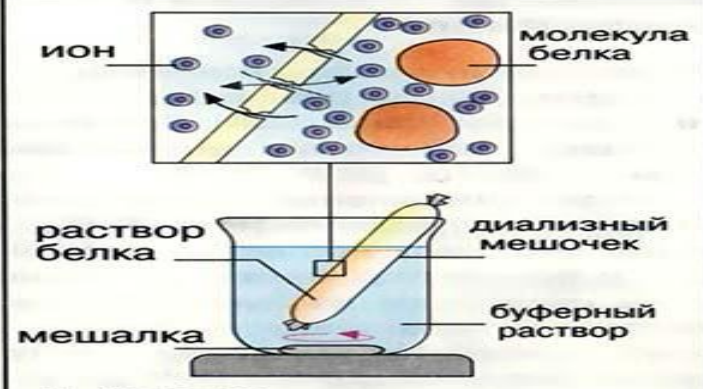
Денатурация

обратимая

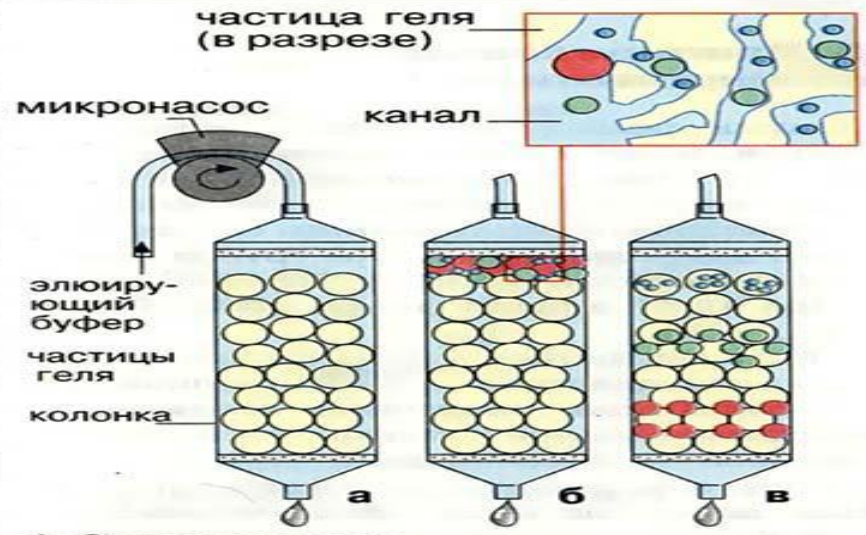
необратимая



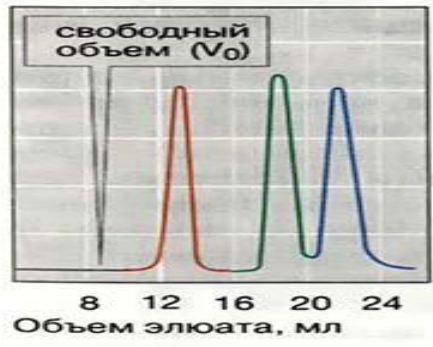
А. Высаливание



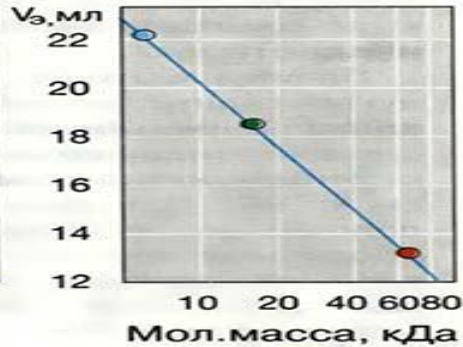
Б. Диализ



1. Основы метода



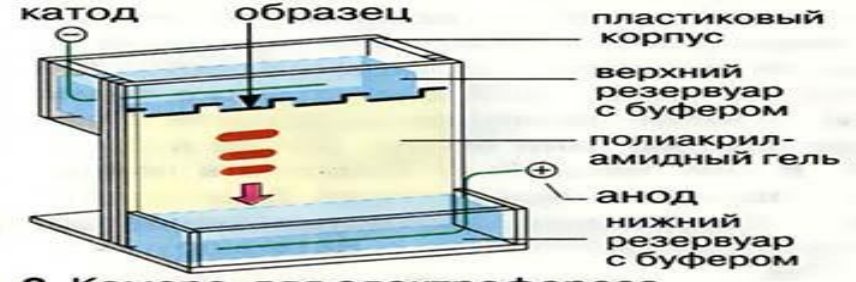
2. График элюирования
В. Гель-фильтрация



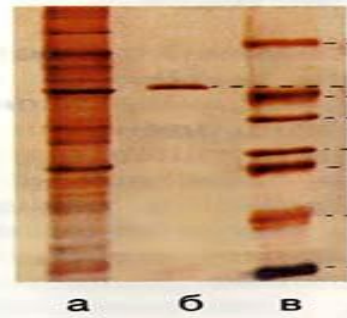
3. Определение мол. массы



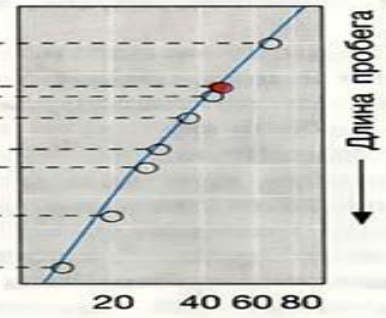
1. Основы метода



2. Камера для электрофореза



3. Окрашенный гель



4. Определение мол. массы

Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ

Методы выделения и анализа белков

■ Высаливание

Метод очистки белков, основанный на различиях в их растворимости при разной концентрации соли в растворе. Соли щелочных и щёлочно-земельных металлов вызывают обратимое осаждение белков, т.е. после их удаления белки вновь приобретают способность растворяться, сохраняя при этом свои нативные свойства.

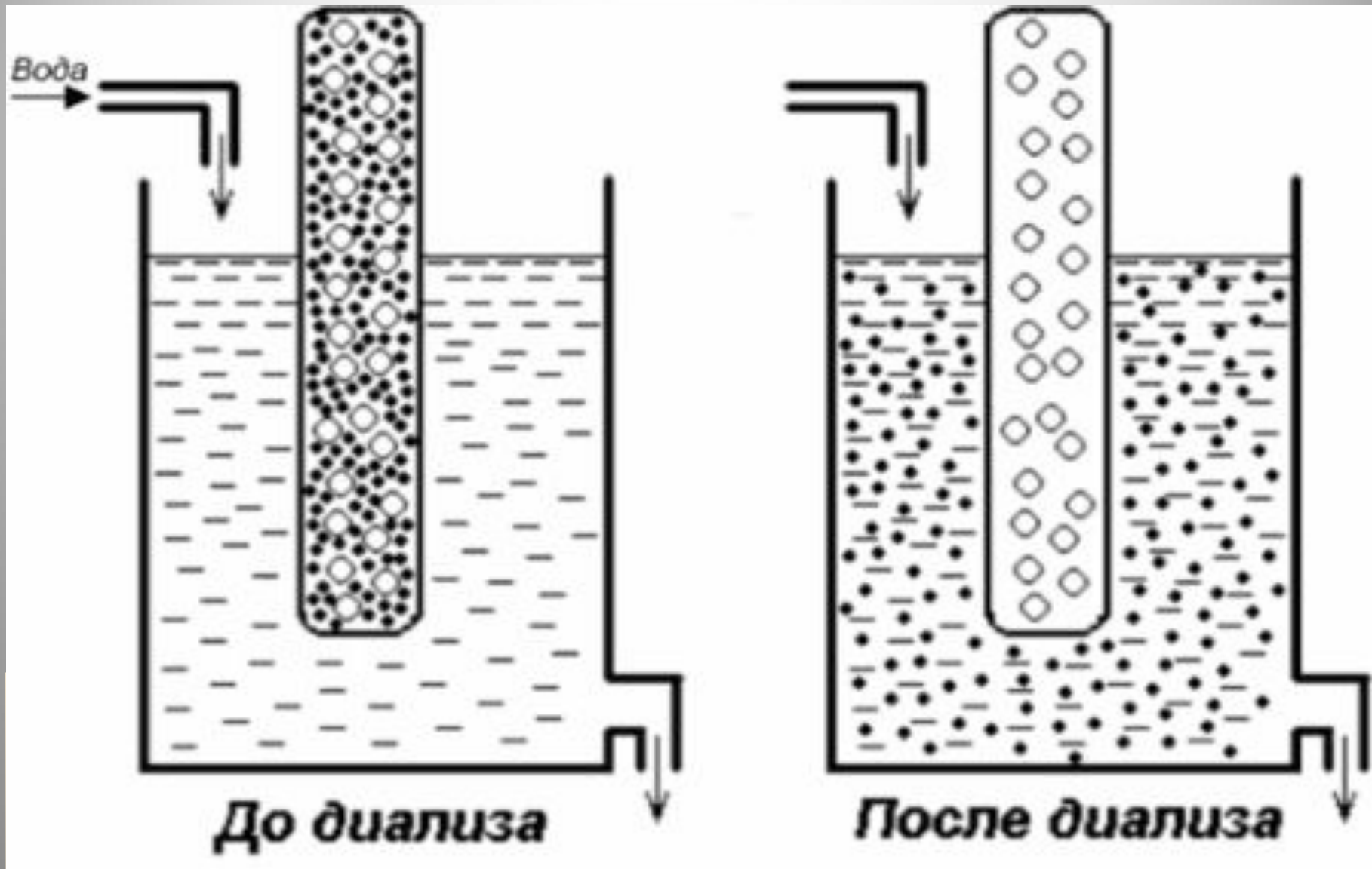
- **Биуретовая реакция**, цветная реакция на биурет, которую осуществляют, прибавляя к щелочному раствору последнего разбавленный водный раствор соли Cu^{2+} (обычно CuSO_4). При этом раствор окрашивается в интенсивный фиолетовый цвет

Методы выделения и анализа белков



Методы выделения и анализа белков

- **Диализ**
- Для отделения низкомолекулярных примесей или замены состава среды используют диализ. Метод основан на том, что молекулы белка из-за своих размеров не могут проходить через полупроницаемые мембраны, в то время как низкомолекулярные вещества равномерно распределяются между объемом, ограниченным мембраной, и окружающим раствором.
- Явление диализа лежит в основе действия аппарата "искусственная почка", который широко используется в медицине для лечения острой почечной недостаточности.

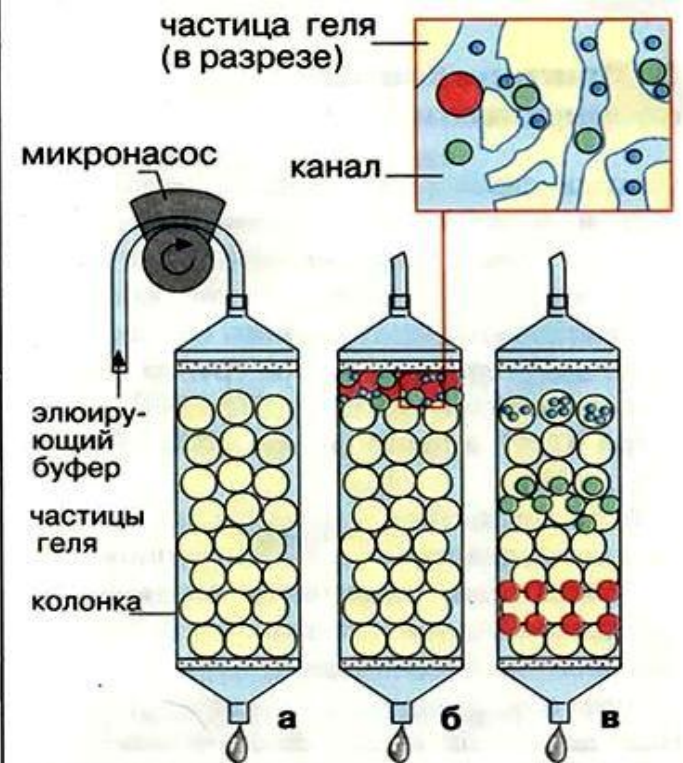


Диализ (белые крупные кружки - молекулы белка, черные - молекулы хлористого натрия)

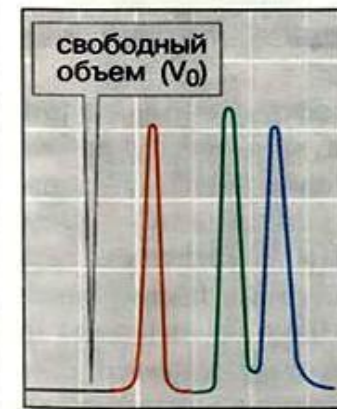
Гель-фильтрация

- Гель-проникающая хроматография позволяет **разделять белки по величине и форме молекул**.

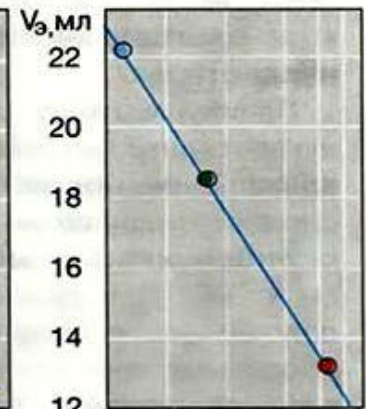
Разделение проводят в **хроматографических колонках**, заполненных сферическими **частицами набухшего геля** (размером 10-500 мкм) из полимерных материалов (1, а). Частицы геля проницаемы благодаря внутренним каналам, которые характеризуются определённым средним диаметром. Смесь белков (1, б) вносят в колонку с гелем и **элюируют** буферным раствором. Белковые молекулы, не способные проникать в гранулы геля (помечены красным цветом), будут перемещаться с высокой скоростью. Средние (зелёного цвета) и небольшие белки (синего цвета) будут в той или иной степени удерживаться гранулами геля (1, в). На выходе колонки элюат собирают в виде отдельных фракций (2). Объем выхода того или иного белка зависит в основном от его молекулярной массы (3).



1. Основы метода



Объем элюата, мл



Мол. масса, кДа

2. График элюирования

3. Определение мол. массы

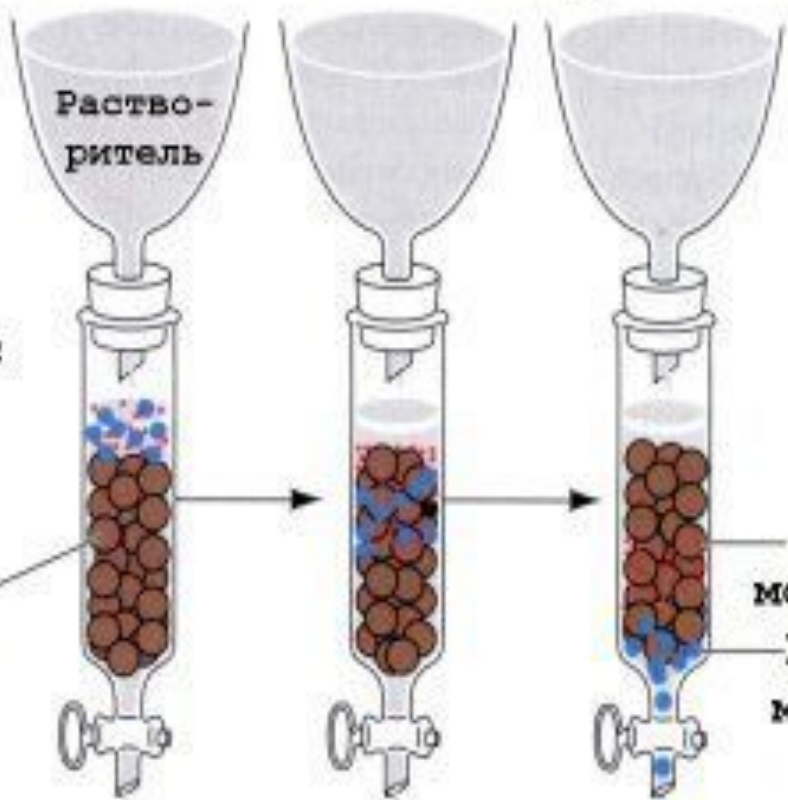
В. Гель-фильтрация

(а) (б) (в) (г) (д)



Матрикс
Частица геля

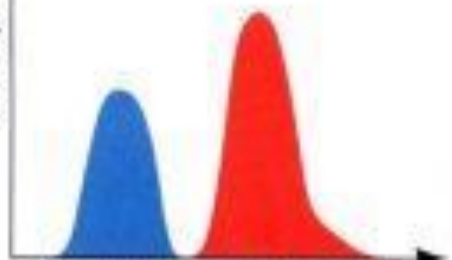
Частицы геля



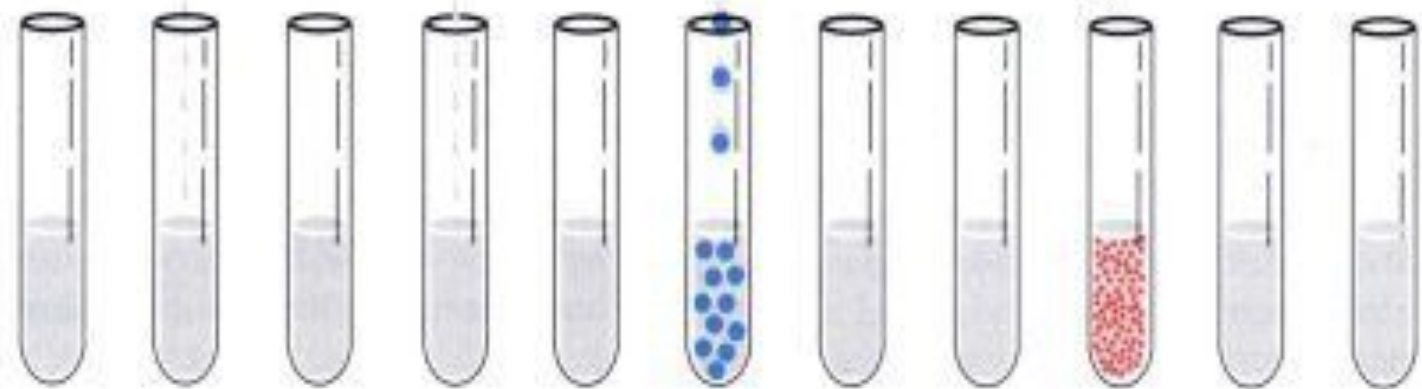
Растворитель

Малые молекулы
Большие молекулы

Количество растворенного вещества

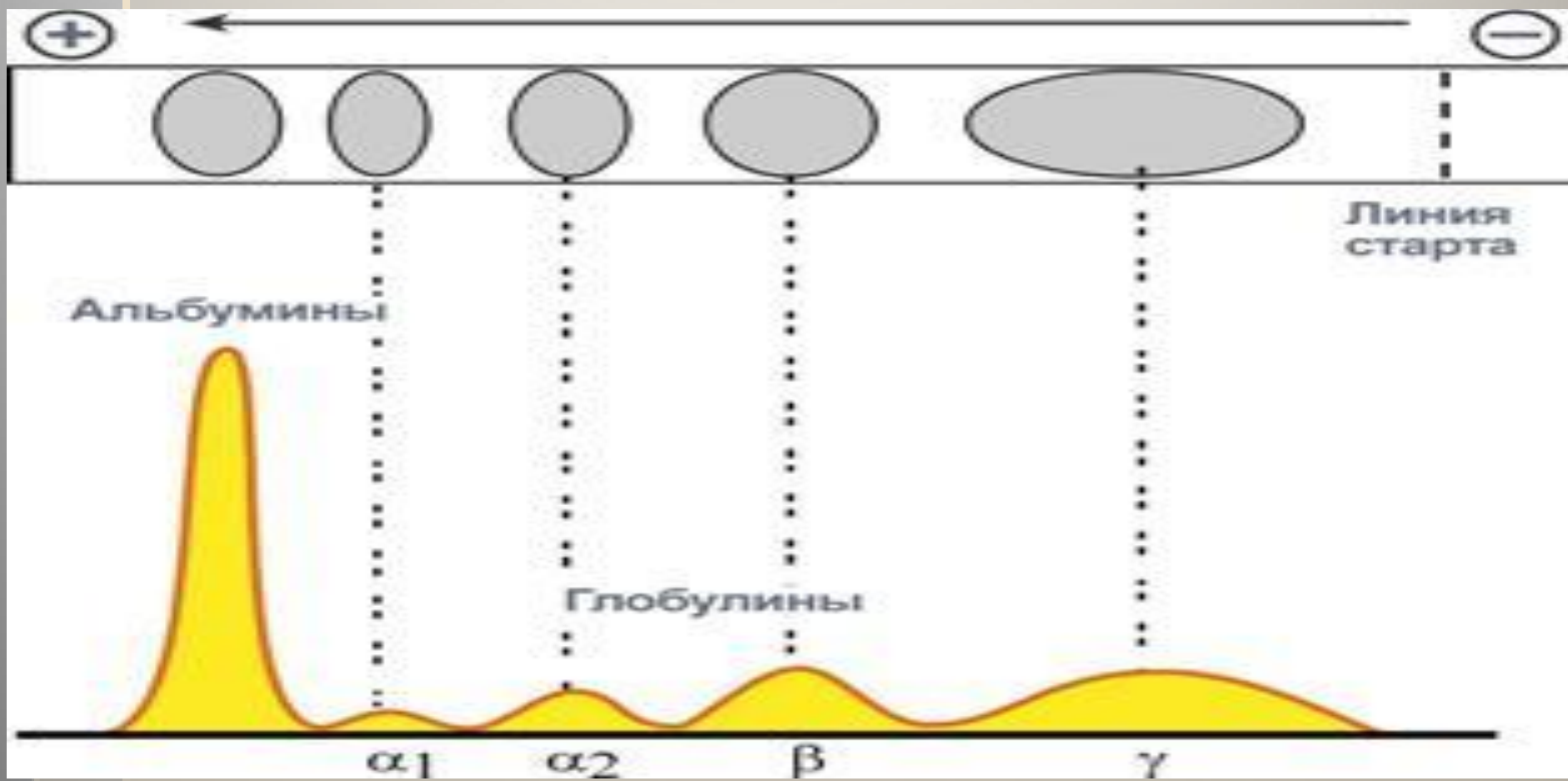
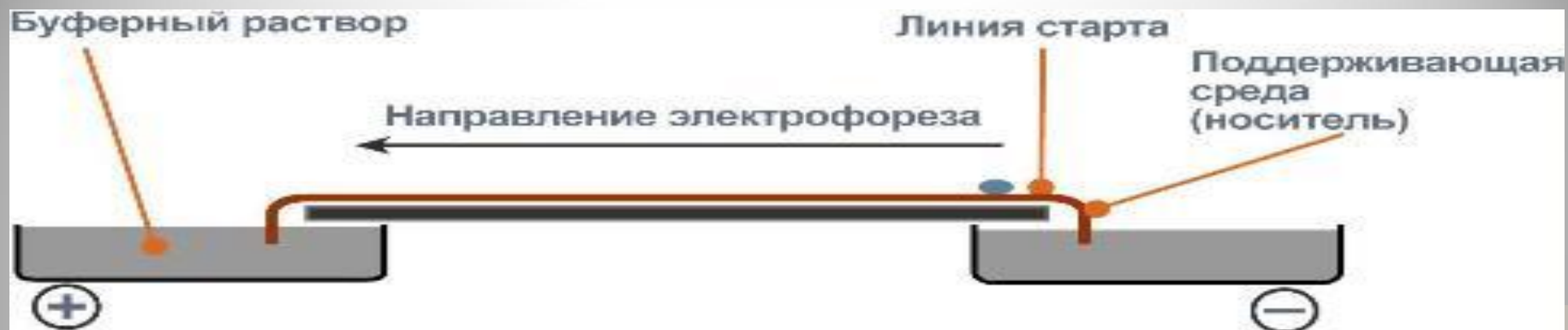


Объем вытекающей жидкости



Электрофорез белков

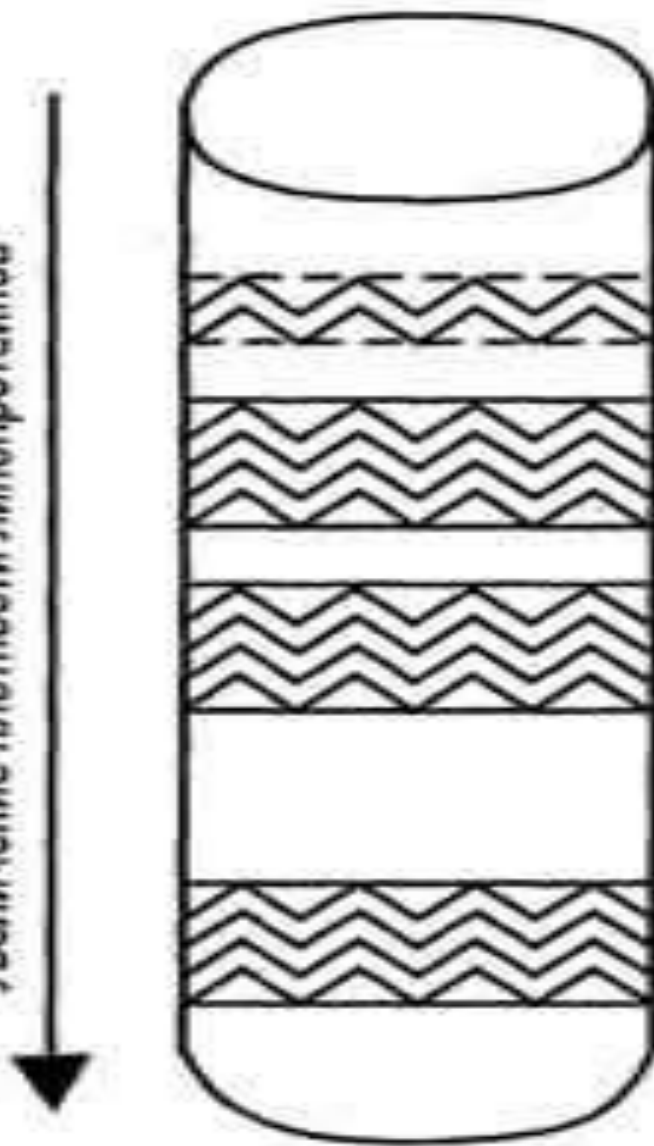
- Метод основан на свойстве заряженных частиц (молекул) перемещаться под действием электрического поля. Обычно скорость миграции зависит от трех параметров анализируемых белков: величины молекул, формы молекул и суммарного заряда. Поэтому предварительно белки денатурируют с тем, чтобы скорость миграции зависела только от молекулярной массы.



Ультрацентрифугирование

- метод разделения и исследования высокомолекулярных соединений : белков, вирусов и т.д. с помощью ультрацентрифуги. Этим термином принято называть центрифуги, позволяющие достигать скорости вращения своих роторов вплоть до 80 тысяч оборотов в минуту. При вращении ротора скорость оседания белков пропорциональна их молекулярной массе: более тяжелые белки образуют фракции, расположенные ближе ко дну кюветы, более легкие — к поверхности.

Увеличение плотности липопротеинов



ХМ

ЛПОНП
(пре-β-липопротеины)

ЛПНП
(β-липопротеины)

ЛПВП
(α-липопротеины)