

сусной кислоты и 0,1 N уксуснокислого натрия в воде  $pH = 4,628$ . При десятикратном разведении раствора  $pH = 4,670$ , при стократном  $pH = 4,73$ . При добавлении к 1 л воды  $1 \text{ см}^3$  0,01 N HCl  $pH$  уменьшается с 7 до 5. При добавлении того же количества HCl к указанному раствору  $pH$  убывает с 4,628 до 4,540. Наряду с ацетатными, применяются фосфатные и другие буферы.

## § 2.4. Состав и первичная структура белков

Макромолекулы белков состоят из одной или нескольких полипептидных цепей, построенных из аминокислотных остатков. На одном, N-конце цепи находится  $NH_2$ -группа, на другом, C-конце — группа  $COOH$ . Характерные молекулярные массы

(м. м.) отдельных полипептидных цепей в белках порядка 20 000, что соответствует 150—180 остаткам (средняя м. м. аминокислотного остатка равна 120). Молекулы, содержащие менее 100 остатков, принято называть не белками, а полипептидами. Таковы некоторые гормоны.

Пептидная связь  $-CO-NH-$ , соединяющая аминокислотные остатки в белках, имеет специфическое плоское строение, как это было установлено методом рентгеноструктурного анализа (Полинг и Кори).

Все четыре атома связи лежат в одной плоскости (рис. 2.1). Связь  $N-C$  укорочена по сравнению с таковой в алифатических аминах  $R-NH_2$ , где ее длина равна 0,147 нм. Это укорочение, равно как и плоское расположение связей, свидетельствует о сопряжении связей  $N-C$  и  $C=O$ , о перекрывании их электронных оболочек, сопровождаемом сдвигом электронной плотности от N к C. Это можно изобразить вкладом структуры

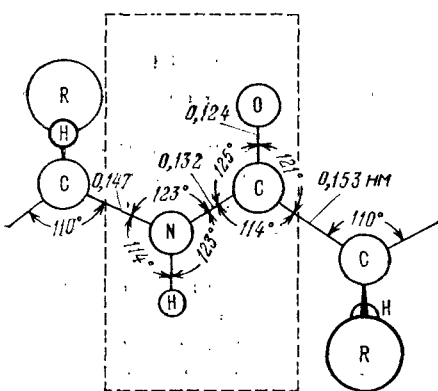
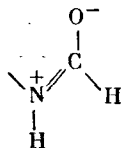


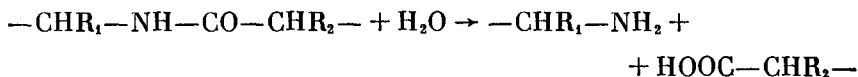
Рис. 2.1. Пептидная связь



т. е. связь  $N-C$  частично двойная, связь  $C=O$  частично единичная.

Аминокислотный состав белка устанавливается в настоящее время автоматическими приборами. Белок расщепляется на аминокислоты в результате гидролиза — реакции, обратной поликон-

денсации:



Гидролиз происходит при действии на белок щелочей, кислот, а также протеолитических ферментов (*протеаз*), катализирующих разрыв пептидных связей. Получаемый гидролизат — раствор смеси аминокислот — анализируется методами *хроматографии* и *электрофореза*. Укажем, что протеолитический гидролиз происходит при пищеварении — белки пищи расщепляются в пищеварительном тракте на аминокислоты, из которых строятся заново белки, необходимые организму.

Состав белков неравномерен — различные аминокислотные остатки представлены в белках с разными частотами. Имеются редкие и частые остатки, подобно тому как в русском тексте имеются редкие (например, ф) и частые (например, а) буквы. К наиболее редким остаткам относятся Трп, Мет, Цис, к наиболее частым — Ала, Сер, Гли. Это справедливо в среднем — некоторые специализированные белки имеют специфический состав, отличный от среднего (например, коллаген, см. § 4.9).

Последовательность аминокислотных остатков в белковой цепи называется ее первичной структурой. Определение первичной структуры производится путем частичного гидролиза белка с помощью протеаз, катализирующих расщепление пептидной связи лишь между определенными остатками. Так, трипсин «режет» лишь связи, образованные СО-группами остатков основных аминокислот — Арг или Лиз. В результате образуется смесь пептидов — коротких фрагментов белковой цепи. Их идентификация производится посредством химических и физико-химических методов (хроматография, электрофорез). Воздействуя вторым ферментом, можно «разрезать» другие связи в белке и получить смесь других фрагментов (пептидов) и т. д.

Широко применяемый для изучения биополимеров метод *гель-электрофореза* основан на различной подвижности макромолекул и их фрагментов в электрическом поле. Для разделения и исследования белков гель-электрофорез производится с додецилсульфатом натрия (ДСН), который связывается с молекулой белка, вызывая ее денатурацию. Подвижность молекулы в геле, на который наложено электрическое поле, зависит не только от заряда, но и от размеров молекулы (диффузионный эффект).

Зная строение пептидов, полученных при гидролизе различными ферментами, можно установить первичную структуру белка, решая задачи типа кроссвордов. В настоящее время установлены первичные структуры тысяч белков. Их сводки систематически публикуются в атласе белковых структур. На рис. 2.2 и 2.3 изображены первичные структуры рибонуклеазы быка и миоглобина кашалота. В первом случае имеются четыре дисульфидные связи, соединяющие друг с другом остатки Цис.



*Первичная структура белка* — своего рода текст, написанный двадцатипушвенным алфавитом. Смысл, содержание этого текста, состоит в биологическом функционировании белка, которое, в конечном счете, определяется первичной структурой. В белковых текстах запечатлена биологическая эволюция — сопоставление гомологичных белков, выполняющих одну и ту же функцию в разных видах, позволяет выявить различия в текстах. Эти различия,

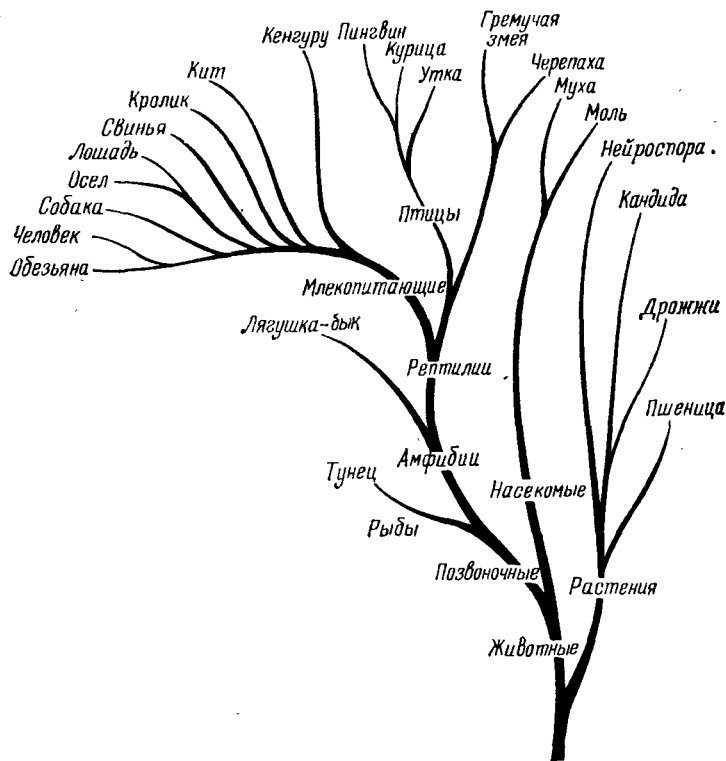


Рис. 2.4. Эволюционное древо, построенное на основе аминокислотного состава цитохрома с

определяемые мутационными замещениями аминокислотных остатков, тем больше, чем дальше отстоят друг от друга биологические виды. Особенно подробно изучен в этом отношении цитохром с — универсальный для всех организмов белок дыхательной цепи. Сопоставление первичных структур цитохромов с различных видов позволяет построить эволюционное древо. Оно показано на рис. 2.4. Изучены также гемоглобины и другие белки разных видов.

Первичная структура белка данного вида может изменяться также в результате мутаций. Возникают «опечатки» в белковом тексте, зачастую отрицательно сказывающиеся на функции бел-

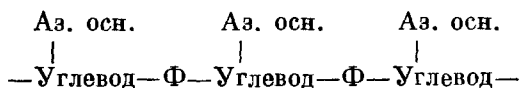
ка. Ряд наследственных заболеваний крови связан с мутациями гемоглобина. Тяжелое заболевание — серповидноклеточная анемия — вызывается замещением остатка Глу на Вал в шестом месте  $\beta$ -цепей гемоглобина. Гемоглобин человека состоит из четырех цепей — двух цепей  $\alpha$ , содержащих по 141 остатку, и двух цепей  $\beta$ , содержащих по 146 остатков. Таким образом, замена всего лишь двух остатков из 574 приводит к весьма серьезным последствиям. В этом случае неполярные нейтральные остатки заменяются кислотными. Сейчас известно несколько сот мутантных гемоглобинов человека.

Далеко не все замены аминокислотных остатков приводят к заметным изменениям строения и биологических свойств белков. Большая часть замен нейтральна и не подвержена давлению естественного отбора (см. § 17.7).

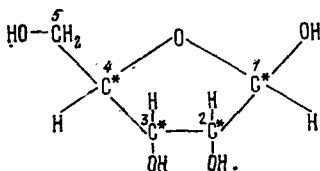
## § 2.5. Нуклеиновые кислоты

Второй важнейший вид биополимеров — нуклеиновые кислоты — макромолекулы, ответственные за биосинтез белков, за сборку их первичных структур.

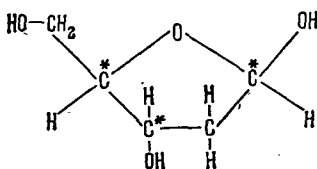
Основная цепь нуклеиновой кислоты состоит из чередующихся звеньев фосфорной кислоты и сахара — углевода рибозы в рибонуклеиновой кислоте (РНК) и дезоксирибозы в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК). К каждому углеводному звену присоединено одно из четырех азотистых оснований. ДНК и РНК — тексты, написанные четырехбуквенным алфавитом. Общая схема цепи имеет вид (Ф — фосфат)



Структурные формулы рибозы и дезоксирибозы:



*D-рибоза*



*D-2-дезоксирибоза*