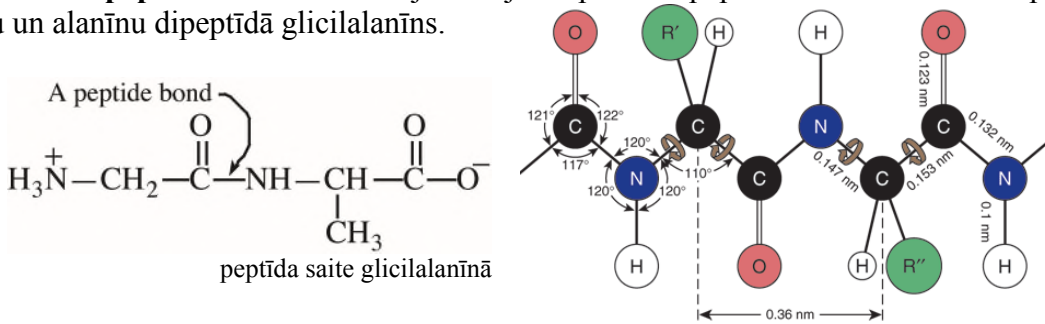


OLBALTUMVIELAS (PROTEĪNI)

I.3 Polipeptīdi un olbaltumvielas

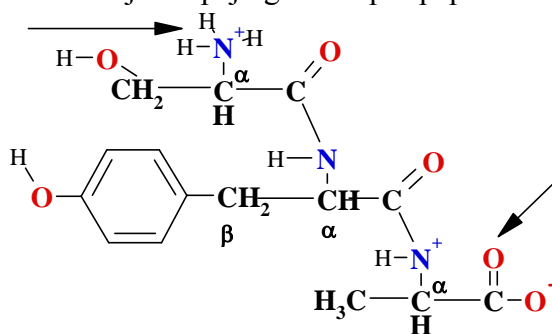
<http://aris.gusc.lv/NutritionBioChem/32ProteinsLatCdoc>

Emīls Fišers 1902. gadā paredzēja, ka olbaltumvielas ir garas aminoskābju virknes, saistītas kopā ar amīda saitēm starp \square -karboksil grupu vienai aminoskābei un \square -aminogrupu otrai. Šīs amīda saites, Fišers nosauca speciālā vārdā **peptīda saites**. Nākamajā zīmējumā parādīta peptīdā saite izveidota starp glicīnu un alanīnu dipeptīdā glicilalanīns.



Molekulu, kura satur divas aminoskābes saistītas ar amīda saiti, tiek saukta par **dipeptīdu**. Molekulas, kuras satur vairākas aminoskābes saistītas ar amīda saitēm, tiek sauktas par **tripeptīdiem, tetrapeptīdiem, un pentapeptīdiem** un tā tālāk. Molekulas, kuras satur vairāk nekā 10 aminoskābes saistītas ar amīda saitēm, tiek vispārināti sauktas par **polipeptīdiem**. Olbaltumvielas ir bioloģiskas makro molekulas ar molmasu 5000 vai vairāk, sastāvošas vienas vai vairākām **polipeptīdu** virknēm. Pieņemts polipeptīdu virknes rakstīt no kreisās sākot ar aminoskābi ar brīvu H_3N^+ grupu un sakārtoti pa labi sākot no H_3N^+ grupas, kura tiek saukta par **N-terminālo aminoskābi**, līdz brīvai COO^- grupai, kuru sauc par **C-terminālo aminoskābi**. Strukturālā formula polipeptīda virknei ir uzrakstāma pilniem nosaukumiem vai aminoskābju secībā lietoti standarta trīs burtu vai viena burta saīsinājumā ekonomējot kopējo garumu polipeptīda nosaukumam.

amino N-termināls H_3N^+ - serīns:
skābe S - ser -
viena - trīs burtu un pilnais nosaukums



SYA viena burta saīsinājumos, ser—tyr—ala trīs burtu un pilnos vārdos (seriltirozilalanīns)

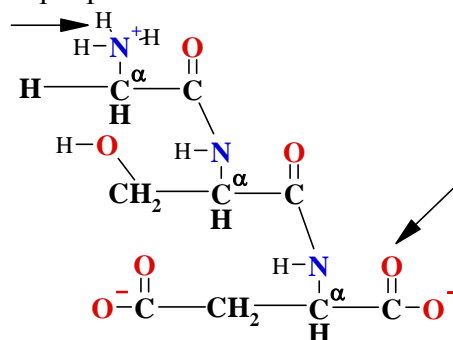
amino C termināls skābe
A - ala - alanīns
viena - trīs burtu un pilnais nosaukums

Polipeptīdi tiek nosaukti uzskaitot katru aminoskābi secībā, no N-termināla virknes gala uz C-terminālo galu. Aminoskābju nosaukumi ir doti pilnos vārdos, trīs un viena burta saīsinājumos. Piemēram, ja aminoskābju secība no N-terminālā gala ir serīns-tirozīns-alanīns (ser-tyr-ala vai S-Y-A), nosaukums tripeptīdam ir seriltirozilalanīns.

Piemērs I.4 Nosauc un uzzīmē struktūrformulu gly-ser-asp. Atzīmē N-terminālo aminoskābi un C-terminālo aminoskābi. Kāds ir kopējā lādiņa vērtība tripeptīdam pie pH=6.0?

Risinājums Struktūrformulu šim tripeptīdam sāk zīmēt no glicīna uz \square -amino grupu serīnam ar peptīda saiti. Uzzīmē kā savienojas serīna \square -carbonils ar \square -amino grupu asparģīnskābē ar nākamo peptīda saiti. Ja struktūrformula ir pareiza, tad peptīda virknes mugurkauls ir atkārtota secība slāpekļis-alfa ogleklis-karbonils trīs reizes. Kopējā lādiņa vērtība tripeptīdam pie pH=6.0 ir -1.

amino N-termināls H_3N^+ - glicīns:
skābe G - gly -
viena - trīs - burtu un pilnais nosaukums



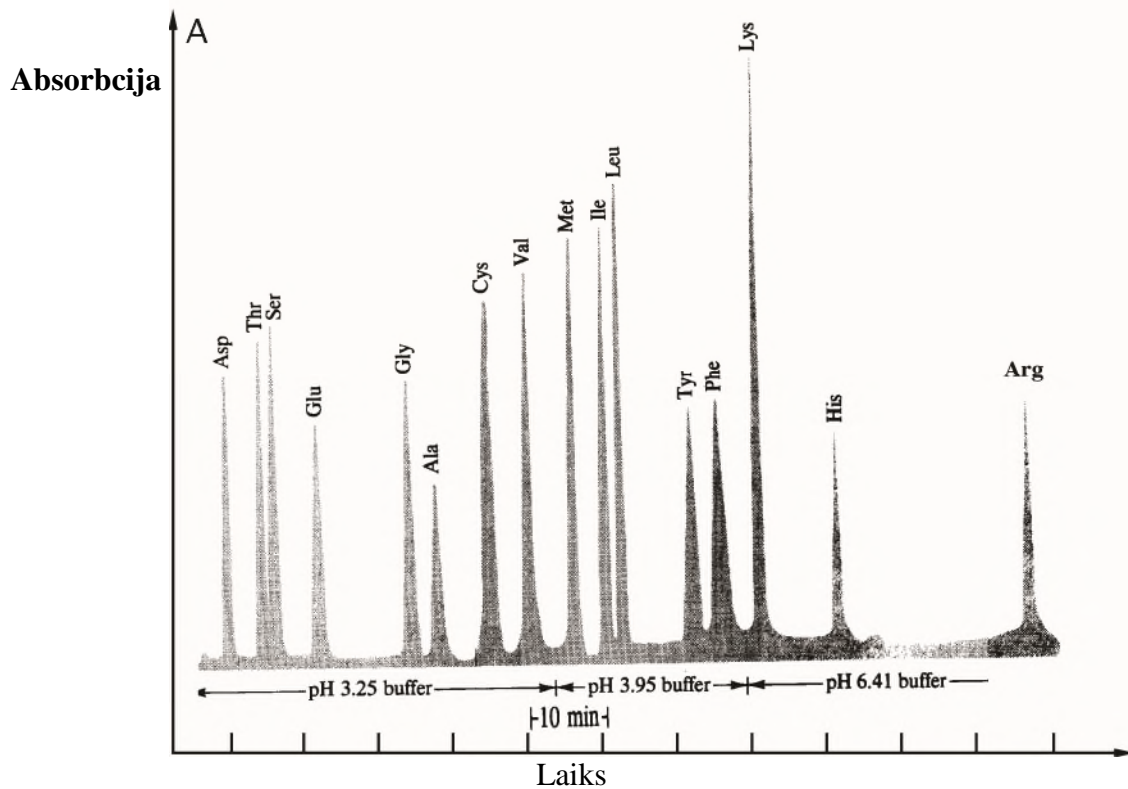
GSD viena burta saīsinājumos, gly — ser — asp trīs burtu un pilnos (glycilserilasparģīnskābe)

amino C termināls skābe
D - asp - asparģīnskābe
viena - trīs burtu un pilnais nosaukums

Problēma I.4 Nosauc un uzzīmē struktūrformulu lys-phe-ala. Atzīmē N-terminālo aminoskābi un C-terminālo aminoskābi. Kāda ir kopējā lādiņa vērtība tripeptīdam pie pH=6.0?

I.4 Aminoskābju analīze

Pirmais solis polipeptīdu analīzē ir hidrolīze un kvantitatīva aminoskābju satura noteikšana. Atsaucoties amīda saišu ļoti lielo pretestību hidrolīzei, polipeptīdu hidrolīzē nepieciešama karsēšana 6 M HCl pie 110° C līdz 24-70 stundām vai karsēšana 2 – 4 M NaOH salīdzināmā temperatūrā un laika intervālā. Reiz polipeptīds ir hidrolizēts iegūtais aminoskābju maisījums tiek analizēts ar jonu apmaiņas hromatogrāfu. Aminoskābes tiek detektētas iznākot no kolonas ar ninhidrīnu (Skat kolonu hromatogrāfija). Polipeptīdu hidrolīzes un aminoskābju maisījumam noteikšanas jutība ir polipeptīda 50 nano moli ($50 \cdot 10^{-9}$ mol). Figūra I.5 attēlo polipeptīda hidrolizāta analīzi ar jonu apmaiņas hromatogrāfiju. Piezīme, ka hidrolīzes laikā sānu-virkņu amīdi asparagīnam un glutamīnam tiek hidrolizēti un šīs aminoskābes tiek noteiktas kā glutamīn skābe un aspargīnskābe. Katram glutamīna vai asparagīna hidrolizātam rodas ekvivalents amonija daudzums.



Figūra I.5 Aminoskābju maisījuma analīze ar jonu-apmaiņas hromatogrāfiju.

I.5 Primārā struktūra polipeptīdiem un olbaltumvielām

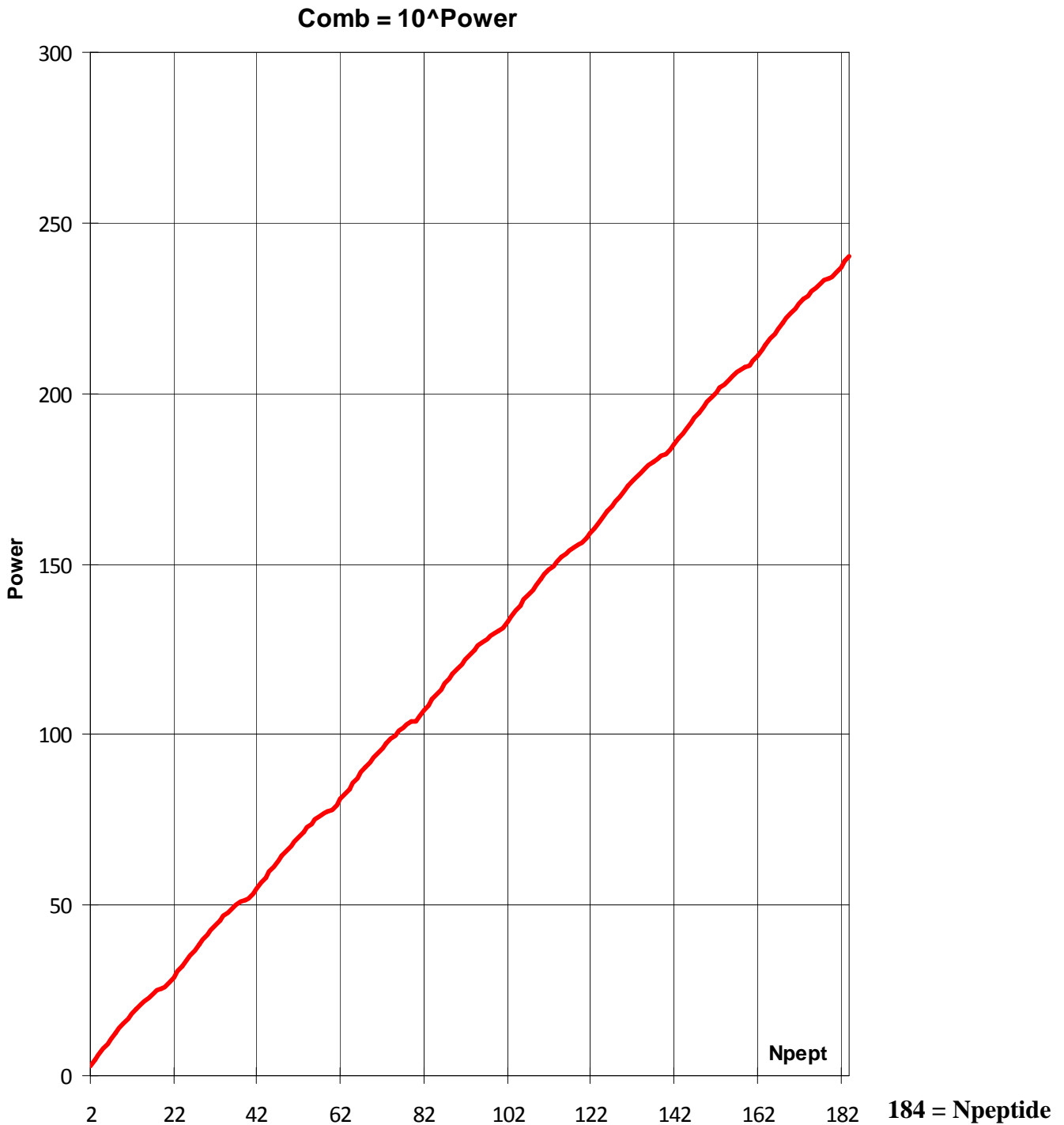
Primārā (1°) struktūra polipeptīdiem un olbaltumvielām attiecināma uz aminoskābju secību polipeptīda virknē. Šinī sakarībā, primārā struktūra ir pilnīgs apraksts kovalenti saistītai aminoskābju secībai polipeptīdā vai olbaltumvielā.

Ir sarežģīti izvērtēt neticami lielo skaitu dažādiem polipeptīdiem, kuri var tikt konstruēti no 20 aminoskābēm, kuros aminoskābju skaits polipeptīdā var sasniegt no desmit pāri par simts. Tikai no trīs aminoskābēm, te iznāk 27 dažādi tripeptīdi iespējami. Piemēram, **glicīns**, **alanīns** un **serīns** dod 27 tripeptīdus :

gly—gly—gly	ser—ser—ser	ala—ala—ala
gly—gly—ser	ser—ser—gly	ala—ala—gly
gly—gly—ala	ser—ser—ala	ala—ala—ser
gly—ser—gly	ser—gly—ser	ala—gly—ala
gly—ala—gly	ser—ala—ser	ala—ser—ala
gly—ser—ala	ser—gly—ala	ala—gly—ser
gly—ala—ser	ser—ala—gly	ala—ser—gly
gly—ser—ser	ser—gly—gly	ala—gly—gly
gly—ala—ala	ser—ala—ala	ala—ser—ser

Cilvēka olbaltumvielu statistiskā analīze uzrāda polipeptīdu virkņu vidējo garumu **Npeptide = 184**. Tas no $20 = \mathbf{nAA}$ dažādām aminoskābēm (Kombinācijās-Variācijās) **Comb** dod polipeptīdu iespējamo kombināciju skaitu pēc formulām $\mathbf{i} = \text{INT}\left(\frac{\mathbf{Npeptide}}{\mathbf{nAA}}\right) = 9$; $\mathbf{m} = \mathbf{Npeptide} - \mathbf{i} \cdot \mathbf{nAA} = 4$

$\mathbf{Comb} = (\mathbf{nAA}^{\mathbf{nAA}})^{\mathbf{i}} \cdot \mathbf{m}^{\mathbf{m}} \cdot \frac{\mathbf{nAA}!}{(\mathbf{nAA} - \mathbf{m})! \cdot \mathbf{m}!} = 1,9 \cdot 10^{240}$ patiesi neaptverams variāciju-kombināciju skaits no 20 aminoskābēm sakārtoti polipeptīda virknē sākot no **N**-termināla un beidzot ar **C**-terminālu, kur **Power=240** ir kāpinātājs kombināciju-variāciju skaita **Comb** aprēķinā $1,9 \cdot 10^{240}$, ja **Npeptide = 184**.

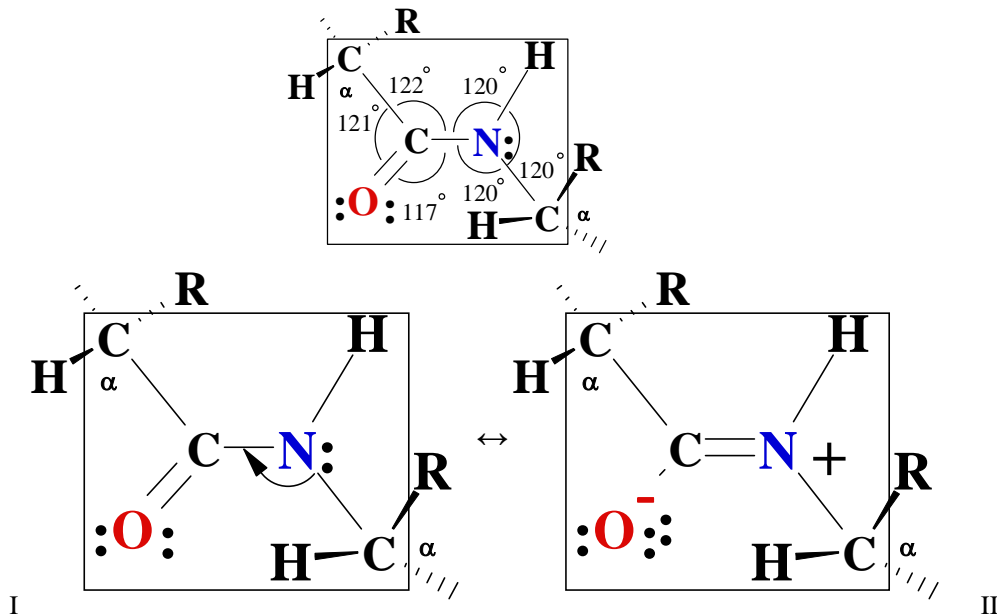


I.6 Polipeptīdu un olbaltumvielu struktūra trīsdimensiju telpā

A. Polipeptīda saites ģeometrija

1930 gada beigās, Linus Polings sāka studijas un eksperimentus dziļāk izpētīt trīs-dimensionālo olbaltumvielu struktūru. Viens no pirmajiem atklājumiem bija, ka peptīdu saite —**CO—HN**— ir plakana. Kā parādīts Figūrā I.6, četri peptīda saites atomi un divi alfa-oglekļi atrodas vienā plaknē —**C_α—CO—HN—C_α**—.

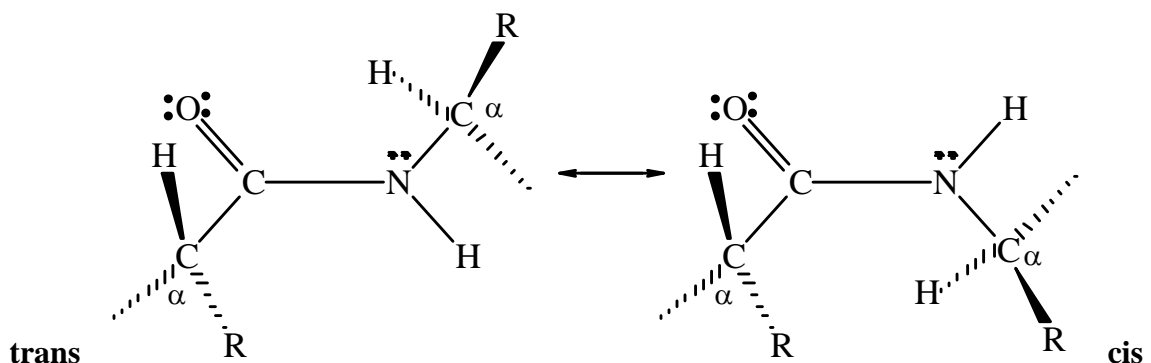
Vai esat mēģinājuši agrāk modelēt **peptīda saites ģeometriju**, varbūt sekojošā veidā jūs esat tā domājuši. Tur ir trīs elektronu saišu sablīvējumi ap karbonila oglekli; tāpēc paredzami saišu leņķi ir 120° ap karbonila oglekli. Tur ir četri elektronu saišu sablīvējumi ap amīda slāpekļa atomu; tāpēc paredzami saišu leņķi ir 109.5° ap šo atomu. Paredzējums pie oglekļa atoma aptuveni sakrīt ar leņķi 120°. Tomēr leņķis 120° ap amīda slāpekļa atomu ir negaidīts. Lai izskaidrotu šo novēroto ģeometriju, Polings uzskatīja, ka nozīmīgi atbalstāms ir daudz akurātāk attēlojamas peptīdu saite kā divu hibridu rezonances struktūras:



Figūra I.6 Peptīda saites plakne. Saišu leņķi ap karbonil oglekļa un ap amīda slāpekļa atomu ir aptuveni 120°.

Rezonances struktūra I rāda C=O divkārtšo saiti un C—N vienkāršo saiti. Struktūra II rāda C—O vienkāršo saiti un C=N divkārtšo saiti. Ja struktūra I ir galvenais noteicošais hibrīds, tad C—N—C saites leņķis būtu tuvāks 109.5°. No otras puses ja struktūra II ir galvenais noteicošais hibrīds, tad C—N—C saites leņķis būtu tuvāks 120°. Fakts, ko visupirms novēroja Polings, ir, ka C—N—C saites leņķis ir ļoti tuvs 120°, kas nozīmē, ka peptīdu saite ir plakana (ģeometriskos terminos planāra) un struktūra II ir galvenais noteicošais rezonances hibrīds.

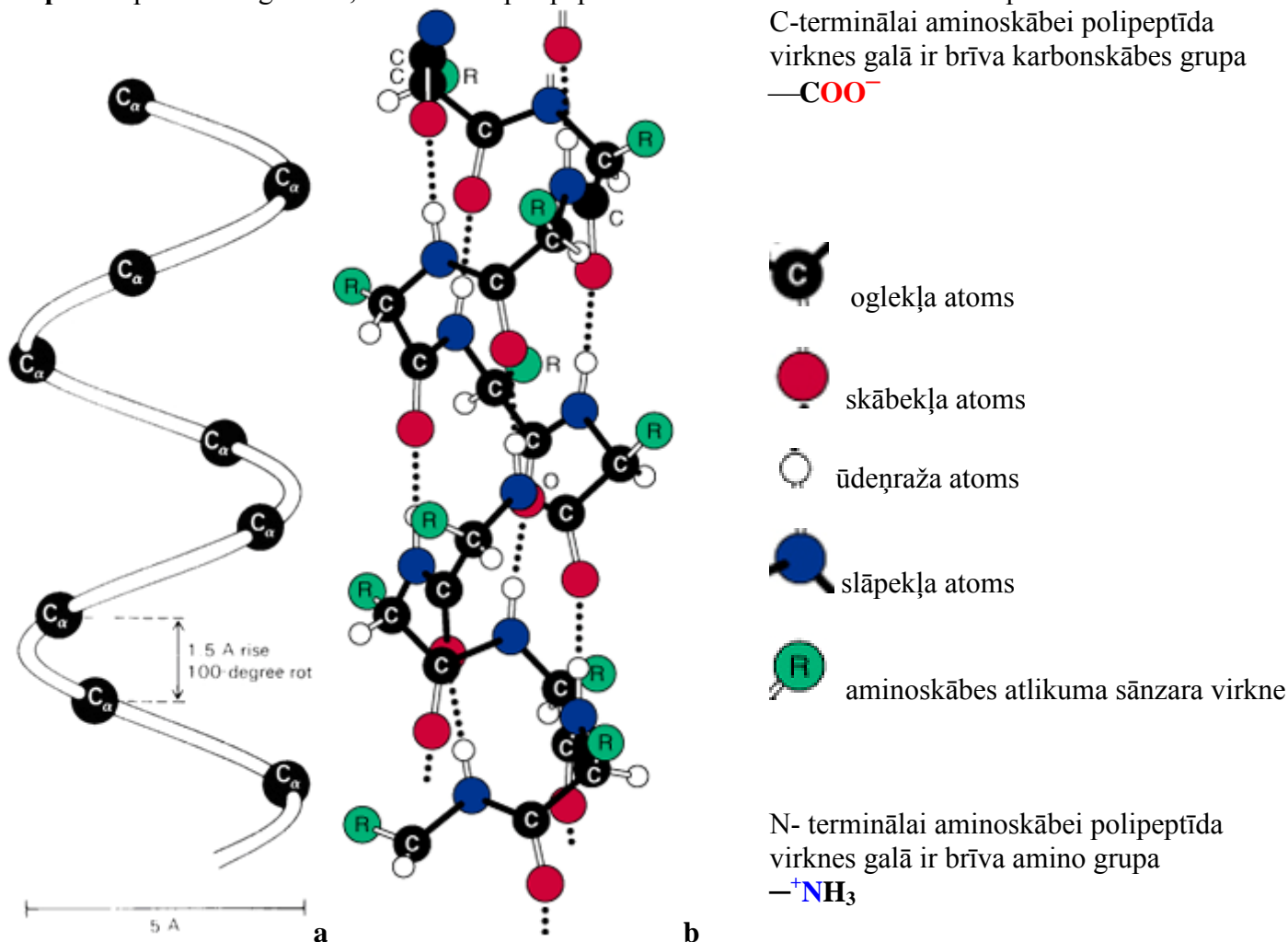
Divas konfigurācijas ir iespējamas atomiem peptīda saites plaknē. Vienā konfigurācijā divi α-oglekļi ir **cis** viens pret otru attiecībā pret C—N saiti, bet otrajā tie ir **trans** – katrs savā pusē C—N saites plaknē:



Trans konfigurācija ir vairāk piemērota, jo vairums α-oglekļa atomu atrodas tālāk viens no otra, nekā tie ir **cis** konfigurācijā. Patiesībā visām peptīdu saitēm dabas olbaltumvielās ir **trans** konfigurācija.

B. Otrējā (sekundārā) struktūra

Otrējā (2°) struktūra attiecas uz aminoskābju sakārtotu savienojanos (konformāciju) lokalizētos reģionos polipeptīda vai olbaltumvielas molekulā. Pirmās polipeptīdu konformāciju studijas veica Linus Polings un Roberts Koreis 1939. gada sākumā. Viņi pieņēma, ka konformācijai ir lielāka stabilitāte, ja (1) visi atomi peptīdu saitēs atrodas vienā plaknē, un, ja (2) katrai amīda grupai savstarpēji ir ūdeņraža-saite starp N—H peptīda saitē un C=O citā peptīda saitē, kā parādīts Figūrā I.7. Uz to pamatojas modeļu būvēšana, Polings un Koreis pieņēma, ka divi salocīšanās zīmējumiem jābūt īpaši stabiliem: □-**spirāle** un antiparalēlās □-**plāksnītes**. Zīmējums □-**spirālei** parādīts Figūrā I.7, kā redzams polipeptīdu virkne ir uztīta cilindra veida spirālē.



Figūra I.7 (a) Pa labi □-**spirāle** vanderwālsa rādīstos □-C atomu modelis uz □-**spirāles** oglekļa-slāpekļa mugurkaula treka. **(b)** Bumbiņu-un-nūjiņu modelis □-**spirālei** parāda iekš molekularās ūdeņraža saites ••• virknē. Viens pilns tinums □-**spirālē** satur 3,6 aminoskābes atlikumus un viena pakāpe ir 1,5 Å augsta un 100° leņķī.

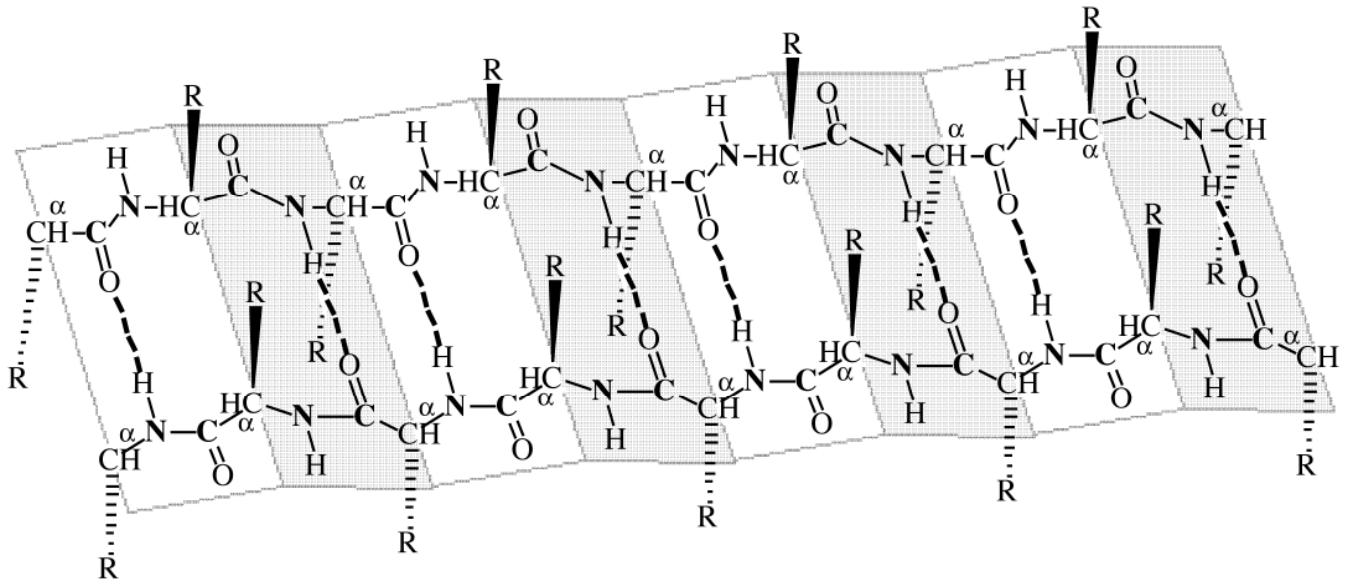
Tā kā Jūs studējat □-**spirāli** Figūrā I.7, tad atzīmējam sekojošo:

1. Spirāle ir uztīta pulksteņa rādītāja virzienā vai manierē pa labo roku. Labā-roka nozīmē, ka Jūs uztiniet **spirāli** pulksteņa rādītāja virzienā, un, ka tas aizliecas prom no Jums. Šinī izpratnē, labās-rokas **spirāle** ir analoga labās-rokas vītnei koka vai metāla skrūvēm.
2. Ir 3,6 aminoskābes uz vienu **spirāles** vijumu.
3. Katra peptīda saite ir **trans** un plakana.
4. Katras peptīda saites N—H grupas novietojums aptuveni paralēls **spirāles** ass virzienam uz priekšu; un katras peptīda saites C=O grupas novietojums arī aptuveni paralēls **spirāles** ass virzienam, bet pretējā virzienā atpakaļ.
5. Katrai peptīda saites karbonil grupai ir ūdeņraža-saite ar citu peptīda N—H grupu četras aminoskābju struktūrvienības tālāk no tās atrašanās vietas **spirālē**. Ūdeņraža saite tiek parādīta kā punktēta līnija •••.
6. Visas R— grupas novietotas **spirāles** ārpusē prom no **spirāles**.

Gandrīz tūlīt pēc Polinga ierosinātās □-**spirāles** struktūras, citi pētnieki pārbaudīja □-**spirāles** klātbūtni keratīnā, vilnas un matu olbaltumvielā. Drīz kļuva redzams, ka □-**spirāle** ir viena no fundamentāliem **otrējās struktūras** 2° salocīšanās zīmējumiem polipeptīdu virknēs.

□-**plāksnītes** sastāv no izklātām blakus esošām polipeptīdu virknēm vērstām pretējos (antiparalēlos) virzienos. Atšķirībā no izkārtējuma □-**spirālēs**, funkcionālās grupas N—H un C=O atrodas plāksnē un aptuveni perpendikulāri polipeptīdu virkņu asīm plāksnītē. Funkcionālās grupas C=O un H—N no paralēlām kaimiņos esošo virkņu peptīdu saitēm ir saistītas ar ūdeņraža saiti C=O - - H—N.

H_3^+N — amino termināls \longrightarrow polipeptīda virkne \longrightarrow karboksil termināls $-\text{COO}^-$



^-OOC — karboksil termināls \longleftarrow polipeptīda virkne \longleftarrow amino termināls $-\text{NH}_3^+$

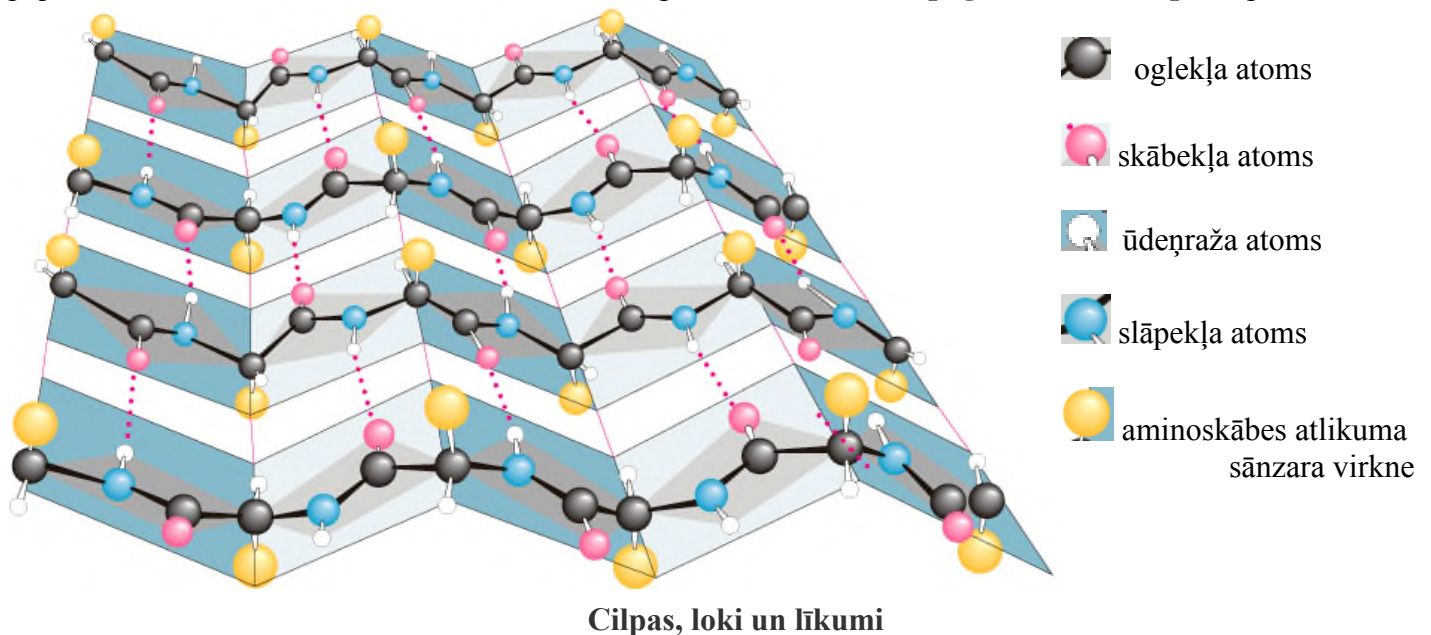
Figūra I.8 □-**plāksnīšu** konformācija no divām polipeptīdu pretējos (antiparalēlos) virzienos vērstām virknēm. Ūdeņraža saites starp virknēm ir attēlotas ar pārtrauktu līniju C=O - - H—N

Tā kā Jūs studējat otrējo 2° struktūru □-**plāksnītes** Figūrā I.8, tad atzīmējam sekojošo:

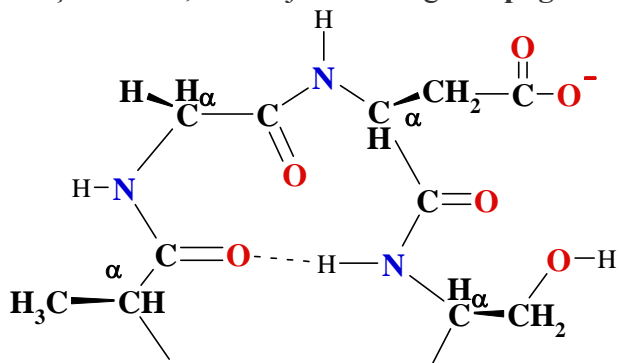
1. Divas polipeptīdu virknes atrodas blakus viena otrai un stiepjas pretējos (antiparalēlos) virzienos.
2. Katra peptīda saite ir **trans** un **plakana**.
3. Polipeptīdi sastāvoši no peptīda saitēm plaknes sekcijām savā starpā saistītas locījumos pa □-**oglekļa** atomiem.
4. Peptīdu saitēs C=O un N—H funkcionālās grupas no blakus esošām virknēm vērstas viena pret otru un ir tanī pašā plaknē, tā ūdeņraža saites stiprina otrējo struktūru 2° starp polipeptīdu virknēm.
5. Funkcionālās R— grupas ikkatrā virknē pārmaiņus, plāksņu klājuma virspusē un tad apakšpusē.

Plāksnīšu klājuma konformācija ir stabilizēta ar ūdeņraža saitēm no vienas puses starp N—H grupām un no otras puses ar C=O grupām no blakus virknes C=O - - H—N. Salīdzinoši, □-**spirāles** stabilizē ūdeņraža saites starp N—H un C=O grupām tanī pašā polipeptīdu virknē.

Otrējā (sekundārā) 2° struktūra apzīmē □-**spirāles**, □-**plāksnītes** un cita veida periodiskas konformācijas peptīdu vai olbaltumvielu molekulās lokalizētos reģionos tādas kā **beta pagrieziens** vai **cilpas** tāpat kā **likumi**.



Lielos vilcienos puse no sastāva "tipiski" globulārām olbaltumvielām sastāda **α -spirāles** un **β -plātnītes**, bet otru pusi **cilpas, loki, līkumi** un citas izvērstas konformāciju iezīmes. **Cilpas, loki** un **līkumi** atbilst nelieliem aminoskābju segmentiem, kas saista divas otrējās (sekundārās) struktūras vienības, kā divas blakus šķiedras no antiparalēlām **β -plātnītēm**. **β -loks** satur četras aminoacil atliekas, kurās pirmā atlieka ir saistīta pie ceturtās ar ūdeņraža-saiti, rezultējoties 180-grādu **pagriezienā** (Figūra 5-7). Prolīnu un glicīnu visbiežāk satur **β -loki** vai **β -cilpas**.



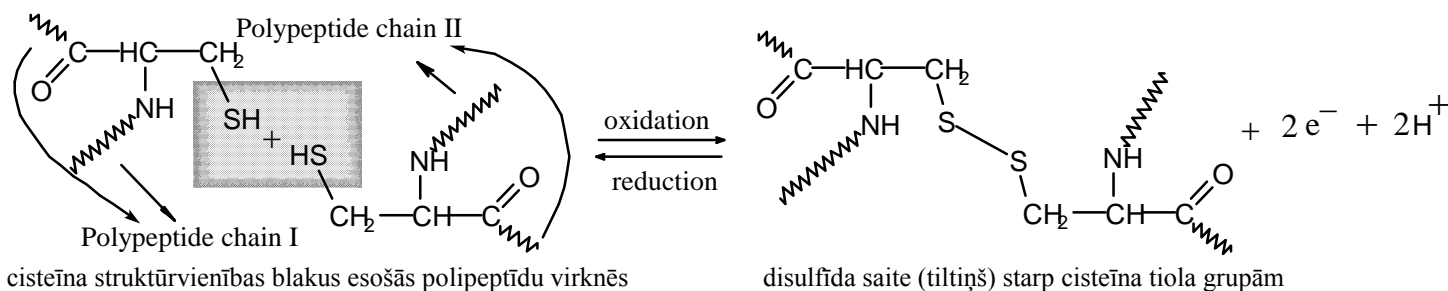
Figūra 5-7 β -cilpa, kas saista divus segmentus antiparalēlas **β -plātnītes**. Pārtrauktā līnija norāda uz ūdeņraža saiti starp pirmo Ala un ceturto Ser aminoskābi četrus aminoskābju segmentā Ala-Gly-Asp-Ser.

Termins otrējā (sekundārā 2°) struktūra tiek lietota aprakstot **α -spirāles**, **β -plātnītes** un **β -cilpas** - periodiskas konformācijas lokalizētos polipeptīdu vai olbaltumvielu molekulu reģionos.

C. Trešējā (terciārā 3°) struktūra

Trešējā (terciārā 3°) struktūra attiecas uz kopējo salocīšanās zīmējumu un izkārtojumu telpā visiem vienas polipeptīdu virknes atomiem. Patiesībā nepastāv skaidri nodalošas līnijas starp otrējo un trešējo struktūru. Trešējā struktūra attiecas uz telpiski ciešu vienam pret otru aminoskābju izkārtojumu polipeptīda virknē un trešējā struktūrā attiecas uz trīs-dimensionālu izkārtojumu visiem atomiem polipeptīda virknē.

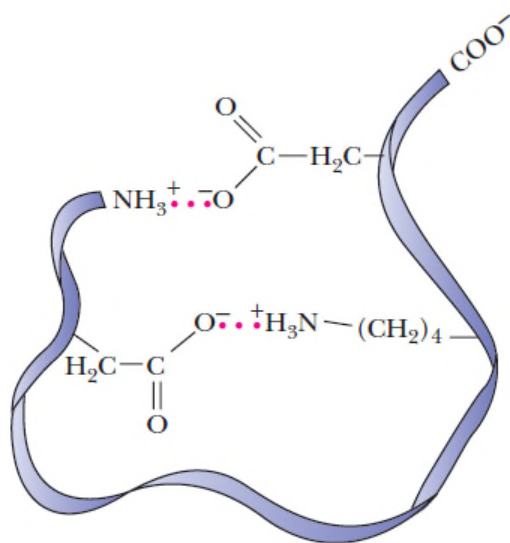
Disulfīda saites (Sskat.nodaļu par tioliem) ir nozīmīgas trešējās struktūras uzturēšanai. **Disulfīda saites** veidojas starp cisteīniem blakus virknēs divu tiola grupu (**Cys—SH**) oksidēšanā veidojot **disulfīda saiti** (**Cys—S—S—Cys**), kā parādīts cisteīna saturošo polipeptīdu daļās:



cisteīna struktūrvienības blakus esošās polipeptīdu virknēs

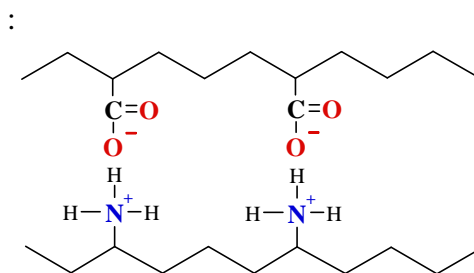
disulfīda saite (tiltiņš) starp cisteīna tiola grupām

Apstrādājot **disulfīda saites** ar reducētāju reģenerē tiola grupas to reducējot.



Iekš molekulārās jonu saites starp pretēji lādētām aminoskābju atlikuma grupām olbaltumvielās līdzinās **sāls tiltiņiem** tik tiešām, piemēram, asparagīnskābes sāls un lizīna bāziskā pozitīvi lādētā amino grupa **Asp—COO⁻...H₃⁺N—Lys**

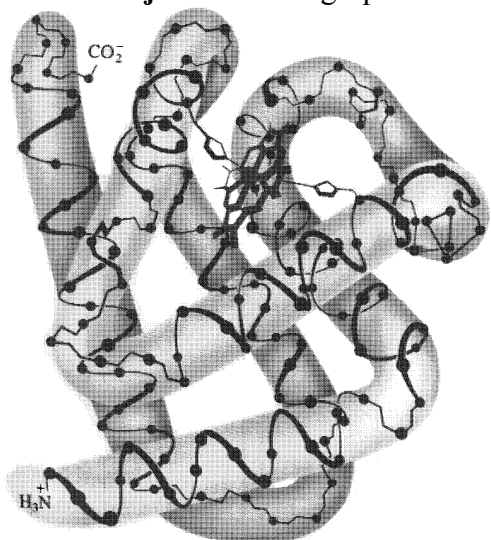
Sāls tiltiņš veidojas starp negatīvi lādēto karbonskābes sāli un pozitīvi lādēto kaimiņos blakus esošā olbaltumvielu virknē amonija funkcionālo grupu **—COO⁻...H₃⁺N—** un ir viena no pieciem starp molekulāriem spēkiem



1. Ūdeņraža saites,
2. Sāls tiltiņi,
3. Disulfīda saites,
4. Hidrofobās saites un
5. Koordinatīvās saites.

Mioglobīna olbaltumviela atdod citosolā uzglabāto skābekļa molekulu oksi ⇌ deoksi jūtīgā līdzsvarā pazeminoties skābekļa koncentrācijai zem $[O_{2\text{aqua}}]=1.5 \cdot 10^{-5}$ M vērtības. **Mioglobīnu** veido viena polipeptīdu virkne ar 153 aminoskābēm sākot no Val1 līdz Gly153 koordinējas ap dzelzs(II) atomu hēma kompleksa centrā.

Mioglobīna pētniekam J.C.Kendrju ir Nobeļa Prēmija ķīmijā 1962. Otrējās un trešējās struktūras **mioglobīnā** attēlotas **zīmējumā**. **Hēma** grupa ir vienā plaknē simetriski



blakus izvietoti saistīti daudzstūri rāmī.

N-termināla aminoskābe Val1 atzīmēta ar

—NH₃⁺ zemāk pa kreisi. **C**-termināla aminoskābe Gly153 atzīmēta ar —COO⁻ augšā pa kreisi.

Alfa oglekļa atomi starp peptīdu saitēm iezīmēti **mugurkaula trekā (backbone trace)**.

1. mugurkaula treks satur astoņas sekcijas alfa □-spirāles **A, B, C, D, E, F, G, H**, katra savienota caur **β**-loku ar **ūdeņraža saitēm** starp peptīda saišu grupām >**N**—**H**...**O**=**C**.

2. Napolāras sānu virknes no 29 aminoskābēm: Phe, Ala, Val, Leu, ile, Gly un Met puduris iekļauj hēmu kabatā, kuri ir vairogs skābeklim **O₂** pret ūdens un hidronija jona H₃O⁺ kontaktiem. **Hidrofobās mijiedarbības** starp nepolārām

sānu virknēm saloka astoņas □-spirāles **mioglobīna olbaltumvielu** trešējā 3° struktūrā.

3. Mioglobīna virsma ir ietērpta ar hidrofilām aminoskābēm Lys, Arg, Ser, Glu, His un Gln, kuras mijiedarbojas ar ūdenis vidi izveidojot ūdenī šķīstošu **hidrātu apvalku**.

4. Trešējā 3° struktūrā iesaistās elektrostatiskā pievilkšanās apzīmēta par **sāls tiltiņiem**. Pozitīvs Lys—NH₃⁺ piesaistās pie negatīvā Glu karboksila —COO⁻ grupas lādiņa.

Trešējās 3° struktūrās ielokās otrējās 2° struktūras **α**-spirāles un **β**- plāksnītes arī globīnu olbaltumvielās kā citohromi, hemoglobīns, katalāze, peroksidāze u.c. .

Ceturtnajā 4° struktūra : <http://aris.gusc.lv/ChemFiles/ChromoHem/HbOxDeoxCO/2HCOProTour8.kin>

Max Perutz 1962. gadā Nobeļa prēmija ķīmijā

Ceturtnējās 4° struktūras. Hemoglobīns satur 4 ribosomās sintezētus olbaltumvielu

Zīmējums. beta virknēm



monomēru - subvienības: **α1, α2** 141 aminoskābe **virknē** un **β1, β2** 146 aminoskābes **virknē** ar pieciem

5 starp molekulāriem spēkiem sasaistīti kopā. Plakani diski pārstāv četrus **hēmus** to kabatiņās.

Galvenie faktori stabilizējoši olbaltumvielu subvienību saistīšanos ir **hidrofobās mijiedarbības** un desmit 10 **sāls tiltiņu** atbalsts oksideoksi venozā skābekļa koncentrācijas $[O_{2\text{aqua}}]=1.85 \cdot 10^{-5}$ M jūtīgā līdzsvara iestāšanos deoksi stāvoklī.

- 1 - a1Arg141—COO⁻...H₃⁺N—a2Val1,
- 2 -a1Arg141—COO⁻...H₃⁺N—a2Lys127,
- 3-a2Arg141—NH₃⁺...⁻OOC—a1Asp126,
- 4 -b2Asp94—COO⁻...H₃⁺N—b2His146,

5-b2His146—COO⁻...H₃⁺N—a1Lys40,

4. lapas pusē: **Olbaltumvielas** <http://aris.gusc.lv/NutritionBioChem/38Olbalt10311.doc>

Sirpjveida šūnu (sickle cell) **SC** hemoglobīns ar **hidrofobiem** virsmas plankumiem salīp izspiežot ūdeni izraisot saistīšanos. Blakus β virknēs Val6 saista kaimiņa molekulā Ala70 un Leu88:

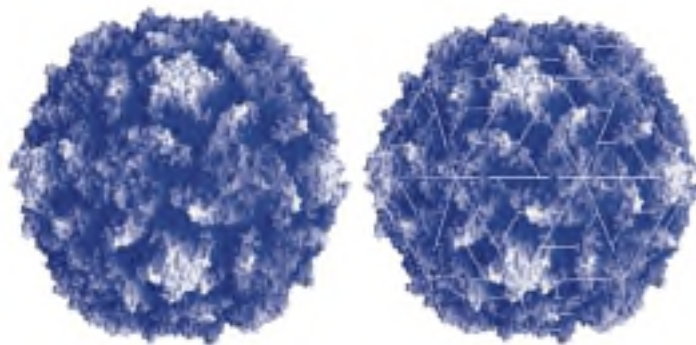
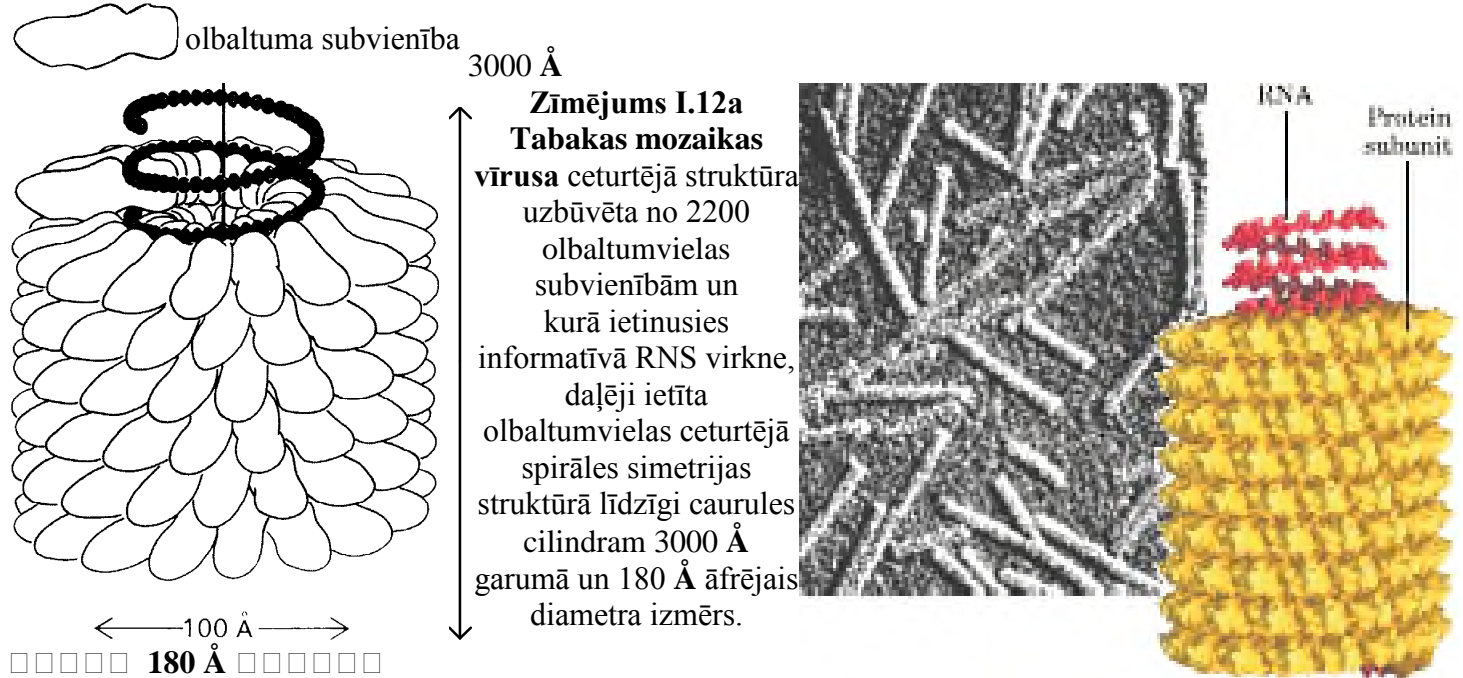
<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/hemoglobEricMarzUMas/INDEX.htm>

Vadošais faktors stabilizējošs olbaltumvielu subvienību salīpšanu ir **hidrofobā mijiedarbība**. Ja nošķirtie monomēri salokās kompaktā trīs-dimensionālā formā vēršot polārās sānu virknes uz ūdens vidi un aizsedz nepolārās sānu virknes no ūdens, tur uz virsmas vēl ir **hidrofobi "plankumi"** kontaktā ar ūdeni. Šie plankumi var būt aizsegti no ūdens ja divi vai vairāki monomēri salīp, ka to **hidrofobie plankumi** ir kontaktā. Molmasas

skaitlis subvienībai un bioloģiskās funkcijas atsevišķām olbaltumvielām ar **ceturto (4°) struktūru** ir parādītas Tabulā I.7.

Ceturto struktūra dotajām olbaltumvielām.	Olbaltumvielas	Mol.Masa	Subvienību skaits	Sub.Mol. Masa	Bioloģiskās funkcijas
	insulīns	11 466	2	5 733	hormons regulā glikozes metabolismu
	hemoglobīns	64 500	4	16 100	skābekļa transports asins plazmā
	alkohola dehidrogenāze	80 000	4	20 000	enzīms etanola oksidēšanai
	laktāta dehidrogenāze	134 000	4	33 500	enzīms aneirobā glikolīzē
	aldoāze	150 000	4	37 500	enzīms aneirobā glikolīzē
	fumarāze	194 000	4	48 500	enzīms trikarboksilāta <u>Krebsa ciklā</u>
	tabakas mozaikas vīruss	40 000 000	2280	17 500	augu vīrusa apvalka olbaltums

Tabakas mozaikas vīrusa vienas virknes RNS spirāle satur 6390 nukleotīdus

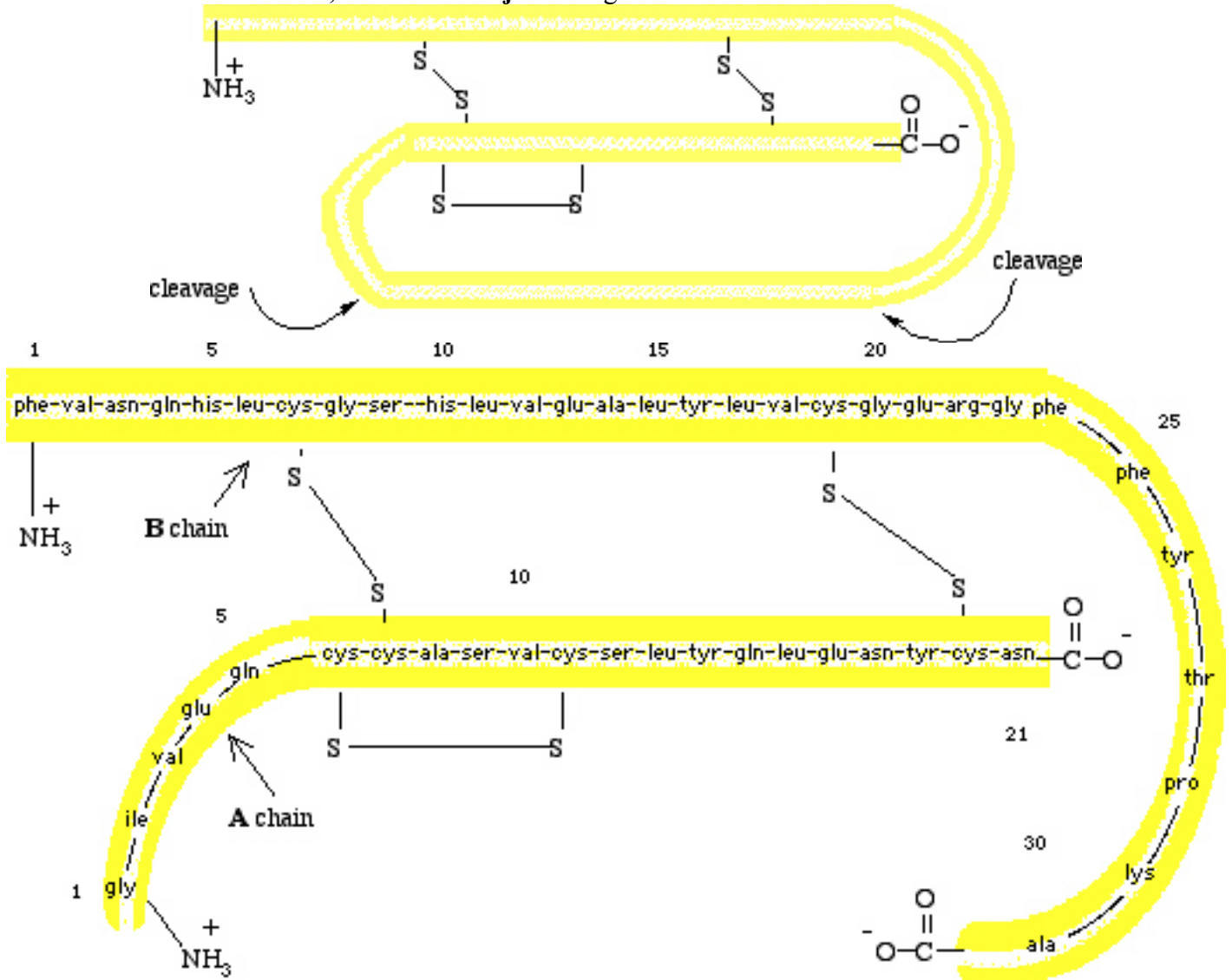


Figūra I.12b Polio vīrusa apvalks-capsīdu ceturto struktūra aplīmēta ar olbaltumvielu subvienībām ikosaedra rotējošā simetrijā ar 300 Å izmēru un kura ietin ribonucleīnskābes RNS informatīvo virkni, daļēji ietīta olbaltumvielu ceturto struktūrā.

E. 1° Struktūra nosaka 2°, 3° un 4° struktūru

Pirmējo olbaltumvielu struktūru nosaka gēnu informatīvais kods. Reiz olbaltumvielas pirmējā struktūra ir izveidojusies, šī izkārtojuma struktūra nosaka polipeptīda virknes salocīšanos trīs-dimensionālā struktūrā. Citiem vārdiem sakot, iedzimtības informācija olbaltumvielas pirmējā struktūrā nosaka tās otrējo, trešējo un ceturtējo struktūru.

Ja trīs-dimensionālais veids polipeptīdam vai olbaltumvielai ir determinēts ar tās pirmējo struktūru, kā mēs varam izskaidrot novērojumus, ka **denaturācija** ir neatgriezeniska dažādām olbaltumvielām un ne otrādi?



Figūra I.13 (augšā) Pro-insulīna shematiska diagramma, viena polipeptīda virkne no 84 aminoskābēm. (apakšā) Aminoskābju secība vērša insulīnā.

Iemesli dažādai olbaltumvielu uzvedībai no vienas olbaltumvielas uz citu ir, ka dažas olbaltumvielas, kā ribonukleāze, tiek sintezētas kā atsevišķa polipeptīdu virkne, kura tad salokas unikālā trīs-dimensionālā struktūrā ar pilnvērtīgu bioloģisko aktivitāti. Citas, līdzīgas insulīnam, atiek sintezētas kā garākas molekulas, kuras nav bioloģiski aktīvas no sākuma, bet "aktivējas" vēlāk ar specifisku enzīmu-katalizēta peptīda-saišu hidrolīzē. Insulīnstiek sintezēts aizkuņģa dziedzera beta šūnās kā viena polipeptīda virkne no 84 aminoskābēm. Šai molekulai, saukta par pro insulīnu, nav bioloģiskās aktivitātes. Kad insulīns ir neapcietināts, segments ar 33 aminoskābēm tiek hidrolizēts no pro insulīna enzīma-katalizētā reakcijā izveidojot aktīvu hormonu (Figūra I.13). Vēršae insulīns satur 51 aminoskābi divās polipeptīdu virknēs. **A virkne** satur 21 aminoskābi ar glicīnu (**Gly[G]**) — NH_3^+ terminālā un asparģīnu (**Asn[N]**) — COO^- terminālā. **B virkne** satur 30 aminoskābes ar phenilalanīnu (**Phe[F]**) — NH_3^+ terminālā un alanīnu (**Ala[A]**) — COO^- terminālā.

Tā kā vadošā informācija oriģinālai formai atsevišķai polipeptīda pro insulīna virknei ir klāt neesoša **A un B virknēs** aktīvajā hormonā, denaturēta olbaltuma atpakaļ salocīšanās jeb redenaturācija ir nekorekta un denaturācija kļūst par neatgriezenisku.

Zimogēni ir enzīmi producēti kā neaktīvas olbaltumvielas, kuras tiek aktivētas ar vienas vai vairāku polipeptīdu saišu hidrolīzi. Krājumu producēšana naktīvu olbaltumvielu formā dabā ir parasta. Piemēram, gremošanas enzīmi tripsīns un himotripsīns tiek producēti aizkuņģa dziedzerī kā neaktīvas olbaltumvielas, nosauktas par tripsinogēnu un himotripsinogēnu. Tam ir loģisks un vienkāršs iemesls par zimogēnu sintēzi. Tripsīna un himotripsīna gadījumā, to funkcija ir katalizēt zarnu traktā ar uzturu uzņemto olbaltumvielu hidrolīzi. Olbaltumvielas tiek hidrolizētas līdz sastāvdaļām aminoskābēm un tad absorbētas cauri zarnu sienām asins plazmā. Ja tripsīns un himotripsīns būtu producēti kā aktīvi enzīmi, tad varētu katalizēt to pašu hidrolīzi kā parasti kādu no citām olbaltumvielām aizkuņģa dziedzera ietekmē, "paša-noārdīšanas" sistēma. Daba ir aizsargājusies pret šādām iespējamībām ar sintēzi un uzkrājot zimogēnus.

F. Denaturācija

Globulārās olbaltumvielas dzīvajos organismos ir ievērojami jūtīgas pret vides izmaiņām (pH, T, VAV, šķīdinātāja sastāvs, mehāniska iedarbība, karbamīds). Relatīvi nelielas izmaiņas pH, temperatūra, mehāniska iedarbība un šķīdinātāja sastāvs, pat tikai īsu laika sprīdi, var izraisīt **denaturāciju**. **Denaturāciju** veic mehāniskas-fiziskas aktivitātes. Izņemot **disulfīda** un **koordinatīvo** saišu saraušanu, **denaturācijas** būtība izmaiņām ir **otrējās, trešējās** vai **ceturtejās** struktūras sagraušana noārdot nekovalentās starp molekulārās mijiedarbības spēkus, tādus kā **ūdeņraža** saites, **sāls tiltiņi** un **hidrofobās** saites. Ir atzīmējami sekojoši **denaturējošie aģenti**:

1. Karsēšana. Vairums globulāro olbaltumvielu **denaturējas** kad karsē virs $T > 50-60^{\circ} \text{C}$. Piemēram, vārot vai cepot olas baltuma un dzeltenuma olbaltumvielas **denaturējas**, veidojot nešķīstošu masu.

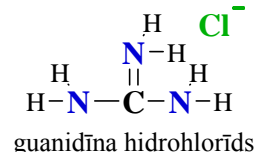
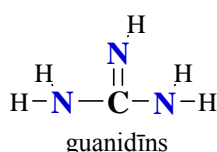
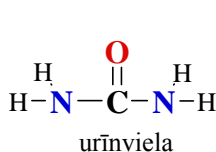
2. Liela pH izmaiņa. Koncentrētas skābes vai sārna pievienošana olbaltumvielām ūdens šķīdumos izraisa izmaiņas lādiņa vērtības jonizējamās sānu virknēs un iejaucas **sāls tiltiņos**. Piemēram, noteiktos klīniskās ķīmijas testos, kuros nepieciešams vispirms attīrīt no olbaltuma materiāla, trihloretiķskābe (stipra organiska skābe) tiek pievienota **denaturējot** un **izgulsnējot** katru klātesošo olbaltumvielu.

3. Deterģenti (VAV). Apstrādājot olbaltumvielas ar virsmas aktīvām vielām (VAV) tādām kā nātrija dodecilsulfātu (sodium dodecylsulfate SDS), (skat. virsmas aktīvas vielas), deterģents, izraisa naturālās konformācijas atlocīšanos un atsedz nepolārās olbaltumvielas sānu virknes eksponējot pret ūdens vidi. Šīs sānu virknes tad stabilizē **hidrofobās** mijiedarbības saites ar deterģenta (VAV) molekulas ogļūdeņražu virknēm.

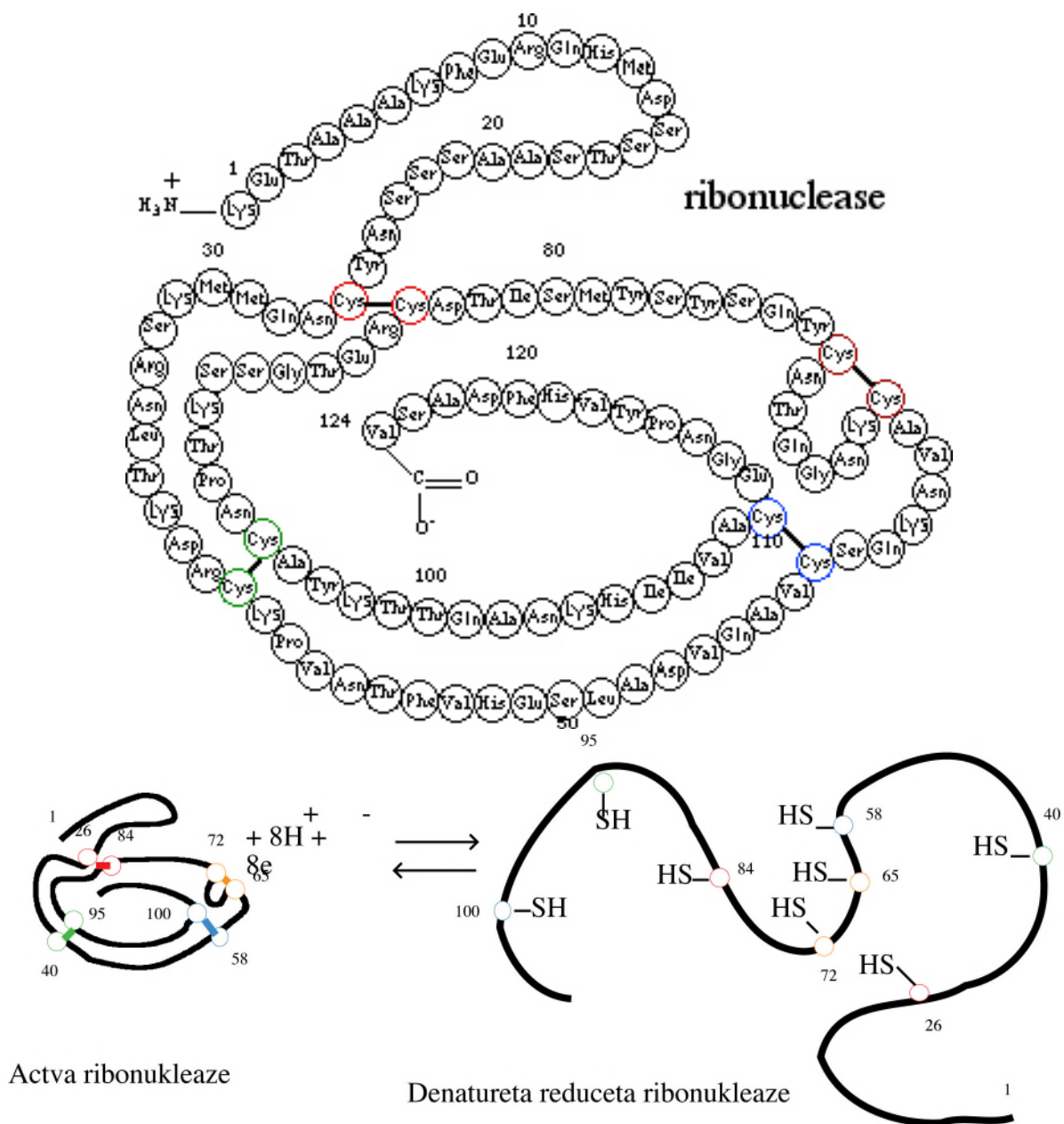
4. Organiskie šķīdinātāji tādi kā etanols, acetons vai citi.

5. Mehāniska iedarbība. Vairums globulāro olbaltumvielu tiek **denaturētas** ūdens šķīdumos ja tos enerģiski maisa vai krata. Piemēram, uzputojot olas baltumu, pagatavojot bezē cepumus vai peldošās salas pudiņu.

6. Karbamīds (urīnviela) un guanidīna hidrohlorīds izraisa olbaltumvielas **ūdeņraža** saišu un **hidrofobo** saišu saraušanu. Tāpēc, ka urīnviela ir maza molekula ar augstu polaritātes pakāpi, tā ir labi šķīstoša ūdenī. Urīnvielas 8M (480 g/L) ūdens šķīdums tiek parasti lietots olbaltumvielu **denaturācijai**. Guanidīns tiek iegūts no urīnvielas, kurā $>C=O$ tiek aizvietots ar $=NH$. Guanidīns ir stipra bāze un reaģē ar **HCl** veidojot sāli guanidīna hidrohlorīds.



Denaturācija var būt daļēja vai pilnīga. Tā var būt arī atgriezeniska vai neatgriezeniska. Piemēram, hormons insulīns var tikt **denaturēts** ar 8M urīnvielu šķīdumā un tad trīs **disulfīda saites** $\text{Cys}-\text{S}-\text{S}-\text{Cys}$ reducējas par sešām brīvām $\text{Cys}-\text{SH}$ grupām. Ja urīnviela tiek aizvākta un **disulfīda saites** atjaunotas ar oksidēšanu, rezultējošām molekulām ir mazāk kā 1% no iepriekšējās bioloģiskās aktivitātes. Šinī gadījumā **denaturācija** ir abējādi pilnīga un neatgriezeniska. Domājot par citu piemēru, ribonukleāze ir enzīms, kas sastāv no vienas polipeptīdu virknes kompakti salocītam 124 aminoskābēm, trīs-dimensionālā struktūra daļēji stabilizēta ar četrām **disulfīda saitēm** $\text{Cys}-\text{S}-\text{S}-\text{Cys}$. Ribonukleāzi apstrādājot ar urīnvielu notiek molekulas atlocīšanās, jo **disulfīda saite** $\text{Cys}-\text{S}-\text{S}-\text{Cys}$ tiek reducēta par tiola grupu $\text{Cys}-\text{SH}$. Olbaltumviela ir pilnīgi **denaturēta**, tas ir tai nav bioloģiskās aktivitātes. Ja urīnviela tiek aizvākta no šķīduma un tiola grupas $\text{Cys}-\text{SH}$ reoksidētas par **disulfīda saitēm** $\text{Cys}-\text{S}-\text{S}-\text{Cys}$, olbaltumviela atgūst tās pilno bioloģisko aktivitāti. Šinī gadījumā, **denaturācija** ir bijusi pilnīga bet atgriezeniska.



Figūra I.13 Bioloģiski aktīva enzīma struktūra: ribonukleāze.

Ribonukleāzes **denaturācija** reducētājiem un oksidēšana ar oksidētājiem.

I.7 Fibrilārās olbaltumvielas

Fibrilārās olbaltumvielas ir stiegotas, fiziski cieši sakoptas makromolekulas polipeptīdu virknes līdzīgas rīkstēm sasaistītas kopā ar atsevišķu tipu šķērs-savienojumiem veidojot stabilu nešķīstošu struktūru. Divas **fibrilāro olbaltumvielu** galvenās klases ir keratīns ādā, vilnā, nagos, ragos kā arī spalvās un kolagēns cīpslās kā arī kažokos.

A. Alpha-keratīns

Mati un vilna ir ļoti lokani un arī elastīgi, tā kā slodzei atslābinoties, **fibrila** atgiežas oriģinālā garumā. Fundamentāla strukturāla matu vienība molekulāra līmenī ir savijusies olbaltumviela α -**spirāles** konformācijā (Figūra I.14). Strukturāla organizācija dažādos līmeņos ir uzbūvēti no vienkāršām α -**spirālēm**. Pirmie trīs α -**spirāļu** pavedieni griežās kopā veidojot garu virvi sauktu par **protofibrilu**. **Protofibrili** ir tad savijušies sainī veidojot 11-pavedienu tauvu sauktu **mikro fibrila**. Šie gājienu tiek ieguldīti garākā matricā, kas visbeidzot veido matu šķiedru-**fibrilu** (Figūra I.14). Kad mati ir izstiepti **ūdeņraža saites** pagarina katra α -**spirāles** gājienu garenvirzienā. Galvenie radītie spēki ar matu **šķiedru** izstiepšanu atjauno to oriģinālo garumu ar α -**spirāles** **ūdeņraža saišu** re-formēšanos.

α -**keratīniem** ragos un nagos ir tāda pati struktūra kā matiem bet ar daudz lielāku cisteīna (Cys) koncentrāciju un lielāku **disulfida šķērssaišu** Cys—S—S—Cys pakāpe starp atsevišķām **spirālēm**. Šīs papildus **disulfīdu saites** Cys—S—S—Cys stipri palielina pretestību stiepei un producē cietu **keratīnu** rāgiem un nagiem.



Figure I.14 Detalizēta matu šķiedras-fibrilas struktūra.

B. Collagen Triple Helix

Kolagens ir sastāvdaļa ādai, kauliem, zobiem, asins vadiem, cīpslām, skrimšļiem un saistaudiem. Tā ir lielākā olbaltumvielu daļa augstākajos mugurkaulniekos un aizpilda gandrīz 30% no cilvēka ķermeņa kopējās masas. Tabula I.8 uzskaita **kollagēna** saturu atsevišķos audos. Piezīme ka kauls, Ahilesa cīpsla, āda, un acu radzene ir lielā mērā **kollagēns**.

Tabula I.8

Kolagēna saturs dažādos ķermeņa audos

	Kolagens (% sauss svara)		Kolagens (% sauss svara)
audi		audi	
kauli, brīva no	88	skrimšļi	46-63
Ahilesa cīpsla	minerāliem 86	saites	17
āda,	72	aorta	12-24
acu radzene	68		

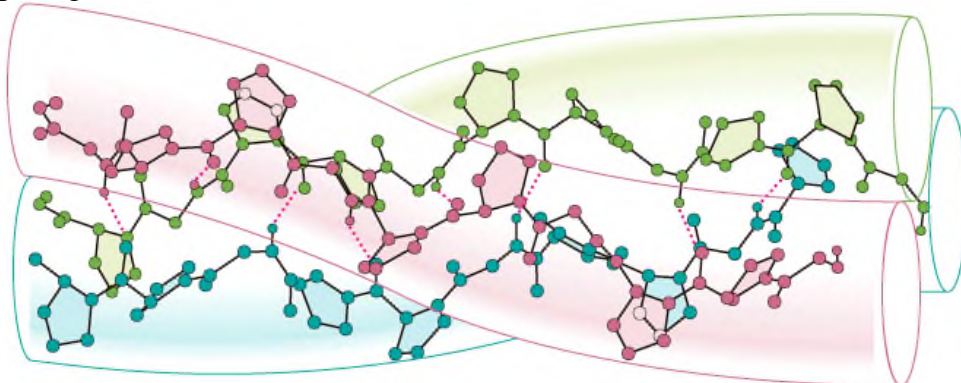
Tā kā **kolagēns** ir lielākais un izplatītākais mugurkaulniekos un tā kā tas ir saistīts ar daudzveidīgām slimībām un novecošanas problēmām, vairāk ir zināms par šīm **fibrilārām** olbaltumvielām nekā par kādām citām.

Kolagēna molekulas ir ļoti lielas un ir kompozīcija no izcilām aminoskābēm. Viena-trešā daļa no visām aminoskābēm **kolagēnā** ir glicīni un citi 21% ir vai nu hidroksilizīns vai hidroksiprolīns (skat. aminoskābes). Abas hidroksilētās aminoskābes tiek veidotas pēc to vecāku aminoskābju (L-prolīna un L-lizīna) un **kolagēna** molekulā iebūvētas. Tā kā cisteīns ir gandrīz pilnīgi klāt neesošs, tur **kolagēnā** nav **disulfīda šķērs-saites**. Kad **kolagēna šķiedras** tiek vārtas ūdenī, tās tiek pārvērstas nešķīstošā želatīnā.

Kolagēna polipeptīda virkne daļēji salokās stabilā un unikālā konformācijā. Šinī konformācijā, trīs olbaltumvielu pavedieni aptinās viens ap otru veidojot kreiso **super spirāli** sauktu par **kolagēna trīskāršo spirāli**. Šīs veidojums, saukts par **tropokolagēnu**, izskatās ļoti līdzīgs **trīs-pavedienu** rīkstei (Figūra I.15).

Hidroksil grupas hidroksiprolīna un hidroksilizīna atlikumiem palīdz uzturēt **trīskāršo spirāles** struktūru veidojot **ūdeņraža saites** $>C=O \cdots H-N<$ starp blakus virknēm. **Šķiedras**, kurās prolīna un lizīna grupas nav hidroksilētas ir daudz nestabillākas, nekā **šķiedras**, kurās šīs grupas ir hidroksilētas. Viena no svarīgākajām vitamīna C funkcijām ir hidroksilēt **kolagēnu**. Bez adekvāta vitamīna C uzņemšanas, **kolagēna** metabolisms tiek izbojāts, izraisot skorbutu-cingu, apstākļi, kuros **tropokolagēna šķiedras** veidojas nestabīlas fiziski neizturīgas **šķiedras**. Skorbutu-cinga rada ādas lobīšanos, trauslus asins vadus un asiņojošas smaganas.

Kolagēna šķiedras veidojas kad daudzas **tropokolagēna** molekulas līdzinās vien blakus pie otras regulārā rakstā un tiek tad **šķērssaistītas** ar jaunveidotām kovalentām **šķērssaitēm**. Visvairāk kovalentā **šķērssaistīšanā** iesaistās lizīna sānu virknes. **Šķērssaistīšanās** apjoms un tips variējas no vecuma un fizioloģiskajiem apstākļiem. Piemēram, **kolagēns** žurkas Ahilesa cīpslās ir stipri **šķērssaistītas** un **kolagēns** vairāk lokans žurkas astes cīpslās ir mazāk **šķērssaistīts**. Turpmāk nav īsti skaidrs kad gan **šķērssaistīšanās** process tiek pabeigts pilnīgi. Visticamāk tas turpinās visu dzīves laiku, veidojot pastiprināti stīvāku ādu, asins vadus un citus audus, kurus tad attiecina uz medicīniskām problēmām novecojot un vecumā, apzīmējot to ar kaulu un audu trausluma pieaugumu.



Figūra I.15 Kolagēna trīskāršā spirāle.

I.8 Plazmas olbaltumvielas: globulāro olbaltumvielu piemēri

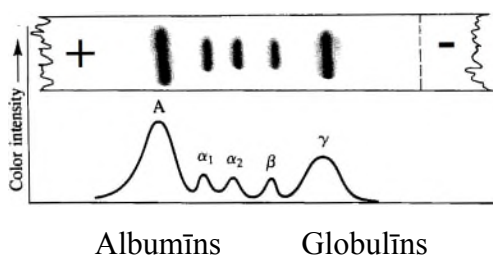
Cilvēka asins šķidrums veido ūdens 90-92% šķīduma daļa. Plazmā ir dažādi neorganiski joni un organisko molekulu heterogēns maisījums un šūnu komponentes. Šūnu komponentes, kuras sastāda 40-50% no visu asiņu tilpuma, ietver sarkanos asins ķermeņus (eritrocītus), baltos asins ķermeņus (leikocītus) un trombocītus.

Elektroforēze ir olbaltumvielu atdalīšanas metode bioloģiskos šķīdumos cilvēka plazmā, urīnā un cerebrospinālā šķīdumā.

Plazmas paraugu šauru līniju uz celulozes acetāta strēmeles. Strēmeles gali ir iemērkti buferī ar pH 8.8 ar pieslēgumu 400 voltu spriegumam. Pie pH 8.8, **plazmas olbaltumvielām** ir negatīvs lādiņš un migrē pozitīvā elektroda virzienā. **Olbaltumvielu** plankumi nosaka maksimumus grafikā.

Olbaltumvielas kustas šinī <= virzienā Sākums

(a)
Pozitīvais
elektrods



Albumīns Globulīns

Negatīvais elektrods

Seruma **olbaltumvielu** atdalīšana ar **elektroforēzi.**

(a) Parauga šauru līnija sākumā. Pēc **elektroforēzes** pie pH 8.8,

Papīra strēmeli žāvē un iekrāso.

(b)

(b) **Olbaltumvielu** plankumi atbilst maksimumiem grafikā.

Tabula	Frakcijas	(g/L)	%	Viena no funkcijām albumīnam ir regulēt
	albumīns	35-50	52-67	osmotisko spiedienu asinīs. Albumīns ir septiņu 7
globulīns	α_1	1-4	2.5-4.5	tauskābju un dažu zāļu ka aspirīns un varfarīns
cilvēka seruma	α_2	5-11	6.6-13.6	transportieris ar asins cirkulāciju cilvēka organismā.
olbaltumvielu	β	6-12	9.1-14.7	
elektroforēze.	γ	05-15	9.0-21.6	

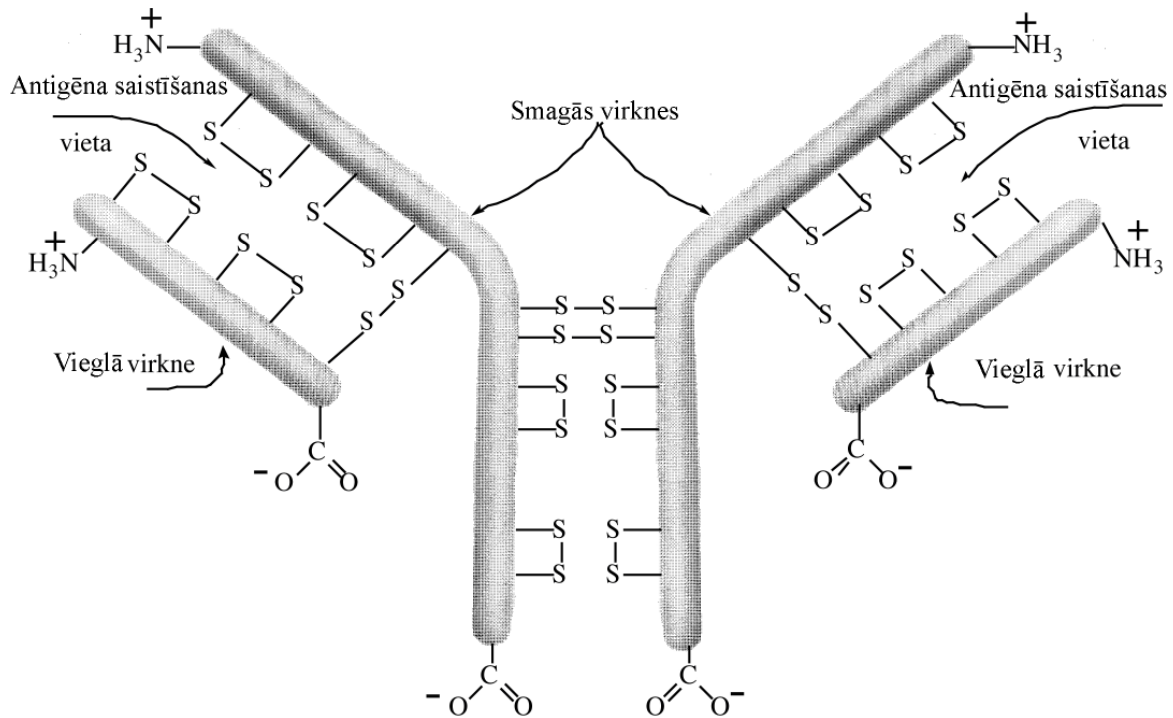
Frakcijas α_1 un α_2 (lipoproteīnu lodītes un lipokalīni) transportē taukus, holesterolu, fosfolipīdus un lipokalīni uzlādē un izlādē steroīdus arī vitamīnus K, E, D, A asins cirkulācijas gaitā.

Četras **globulīna** frakcijas izkārtotas elektroforēzē α_1 , α_2 , β un γ atbilstoši to kustīgumam. Seruma **albumīna** izoelektriskais punkts pie **pH 5** un migrē tālāk pozitīvā elektroda virzienā. **Gama-globulīnam** (imunoglobulīnam) izoelektriskais punkts ir pie **pH 7.9** un migrē īsāku distanci.

Alfa α_1 frakcija satur antitripsīnu, olbaltumvielu, kas inhibē olbaltumvielu-gremošanas enzīmu tripsīnu. Alfa α_2 frakcijas satur **haptoglobulīnu**, kurš saistās ar **hemoglobīnu** izdalītu no izārdītām sarkanām asins šūnām, un **ceruloplazmīnu**, galveno vara-saturošo **olbaltumvielu** ķermenī. Alfa α_2 frakcija satur **protrombīnu**, asins-sarecēšanas enzīma trombīna neaktīvo veidojot. Beta β frakcija satur dažādus specifiskus transporta **olbaltumus**, Kā arī vielas iesaistītas asins sarecēšanā.

Gamma γ -**globulīna** frakcijā **antivielas** (imunoglobulīni), kuru funkcijas ir cīnīties ar **antigēniem** (svešām **olbaltumvielām**) saimnieka ķermenī. Atbilde pamatojas imunizācijā pret sastapto infekcijas slimību (poliomielīts, tetānuss un difterija u.c.). **Antiviela** ir ceturtējā struktūra no divām **smagajām** (lielu-molekulas-

masu) un divām **vieglajām** (mazu-molekulas-masu) polipeptīdu virknēm saistītas ar četrām **disulfīda saitēm** Cys-S-S-Cys . Katrai **antivielai** ir divi identiski antigēna saistīšanas **paratopi**, kas reaģē ar specifisku **antigēnu** veidojot nešķīstošu kompleksu **precipitīnu** un saistot to savāc sekojot noārdīšanai baltajās asins šūnās (leikocītos-makrofāgos).

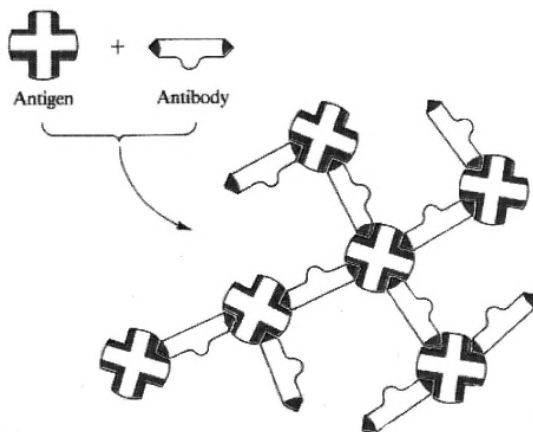


Četru olbaltumvielu subvienību virkņu projekcija no

antivielas ceturtdējās struktūras. Mijiedarbībā starp **antivielu** un tai specifisko **antigēnu** veido neaktīvu **precipitīna** kompleksu. Izgulsnēto **antigēna-antivielas** kompleksu tad sagremo un noārda ar asins šūnām.

Precipitīna komplekss (nešķīstošs).

Antivielas imunoglobulīna IgG1 ar antigēna ķermeņiņu saistīšanu plazmā izgulsnējas precipitīns.



<http://aris.gusc.lv/ChemFiles/ChimAntivielasMarz/2frmcont.htm>