

2.1 Белтъци. Градивни единици. Видове  $\alpha$ -аминокиселини. Свойства, титрационни криви. Пептидна връзка. Строеж на ППВ. Нива на структурна организация на белтъците. Елементи на вторичната структура:  $\alpha$ -спирала,  $\beta$ -лист и др. Колагени

Белтъците са биополимери, изградени от мономери –  $\alpha$ -аминокиселини ( $\alpha$ АК). Определението белтък се свежда най-общо до това, че ако за ППВ има ген, то продуктът е белтък. Забележително е, че белтъците във всички организми са изградени от едни и същи 20  $\alpha$ -аминокиселини (фиг.1).

Цистинът се състои от два свързани чрез дисулфиден мост цистеинови остатъка и никога не заема самостоятелно място в ППВ. При малко белтъци се срещат и други  $\alpha$ -аминокиселини: колагенът съдържа хидроксилното производно на пролина – 4-хидроксипролин (рядко 3-хидроксипролин). Те обаче, се образуват посттранслационно – след изграждане на ППВ, чрез модификация на аминокиселините. Пролин и хидроксипролин всъщност са иминокиселини. Всички аминокиселини, с изключение на глицин имат по един асиметричен въглероден атом – той е на  $\alpha$ - място спрямо карбоксилната група. Винаги е в L- конфигурация (фиг.2). Треонинът и изолевцинът имат и втори асиметричен въглероден атом. При изграждане на белтъчната молекула  $\alpha$ -аминокиселините се свързват помежду си с киселинно-амидни (пептидни) връзки и образуват ППВ. Пептидната връзка се образува между  $\alpha$ -аминогрупите и съответните на тях карбоксилни групи. Полудвойната връзка между С- и N- атомите на пептидната връзка и закономерната транс-конфигурация – при нея фиксират пространственото разположение на ППВ веригите, което е от много голямо значение за детерминиране на физичните, химичните и биологичните с-ва на белтъчните молекули.

Липсата на пептидни връзки с  $\omega$ -карбоксилна група, респективно аминокгрупа, не допуска разклонения в ППВ. Те винаги са линейни и няма ППВ с цикличен строеж. Следователно, всяка ППВ завършва със свободни С- и N- край. Наблюдава се монотонно редуване във веригите на атомната групировка  $\rightarrow \text{CO}-\text{CH}-\text{NH}$ . Непрекъснатото повторение на този комплекс се нарушава само на местата, където в ППВ веригите се вместиат пролин и хидроксипролин. Около основния комплекс като странични вериги се разполагат остатъците на отделните  $\alpha$ -аминокиселини. Именно тези остатъци със своите функционални групи придават характерни особености и свойства на ППВ. Разстоянието между два еднопосочни радикала при максимално изпънатата верига е 0,727 nm. Някои от страничните групи са неполярни – хидрофобни (аланин, валин, левцин, изолевцин, фенилаланин), а други са полярни – хидрофилни (серин, тирозин, треонин). Значителна част от страничните групи се дисоциират електролитно, като се образуват аниони или катиони. Киселинният характер имат

карбоксилните, фенолните и тиоловите групи, а основен -  $\alpha$ - и  $\epsilon$ - аминогрупи, пирролидиновите (пролин, хидроксипролин), имидазоловите и гуанидиновите (аргинин) остатъци.

Различните аминокиселини могат да се класифицират по различни признаци (полярност, брой на  $-\text{COOH}$  и  $-\text{NH}_2$ , и други). Класификация по полярност:

1. Полярни заредени (Asp, Glu, Cys, Arg, His).
2. Полярни незаредени (Ser, Thr, Cys, Asn, Gln, Tyr).
3. Неполярни (с алифатни вериги и аром. ядра: Val, Leu, Ile, Ala, Phe, Trp, Pro, Met).

Класификация по брой на  $-\text{COOH}$  и  $-\text{NH}_2$  и по други химични признаци:

- Моноамино-монокарбоксилни АК (Gly, Ala).
- Диамино-монокарбоксилни АК (Leu).
- Моноамино-дикарбоксилни АК (Asp, Glu).
- Хидрокси АК (Ser, Thr).
- Сяросъдържащи АК (Met, Cys).
- АК с гуанидогрупа (Arg).
- Ароматни АК (Tyr, Trp, Phe).
- Циклична ИК (Pro).
- Хетеропръстенна АК (His).
- Киселинни амиди на дикарбоксилните АК (Asn, Gln).

Свойства и зареждане на аминокиселините: при  $\text{pH} = 7$ , моноаминомоно-карбоксилните к-ни се отнасят като биполярни йони, а аминокиселините имат амфотерни свойства. (фиг.4а). В силно кисела среда са положително заредени, а в алкална – отрицателно.  $\text{pI}$  (ИЕТ) – в тази точка, която е изоелектрична, молекулата като цяло е електронеутрална, но носи два противоположни заряда. (около  $\text{pH} 7$ ). Когато радикалът е зареден, появява се и трета инфлексна точка на кривата – тя отразява неговата диоциация. (фиг.4б).  $\text{pK}$  на карбоксилната група варира около 2, а на аминогрупата около 9. В областа около  $\text{pK}$  на аминогрупата са най-силни буферните свойства на дадена аминокиселина. Полярните незаредени странични остатъци имат потенциална възможност за дисоциация на някои групи:  $-\text{OH}$  – серин, треонин, тирозин; тиолова група ( $-\text{SH}$ ) – цистеин. Тиоловата група има известен кисел характер, когато е свързана с ароматно ядро.

Особено важно свойство на аминокиселините е, че притежават най-малко по една катионогенна и по една анионогенна група. Поради това те се чвчат в три форми: като биполярни йони, носещи едновременно отрицателен и положителен заряд, като катиони и като аниони. Състоянието на дисоциация, в което се намира аминокиселината, зависи от рН. Подкисляването на средата потиска дисоциацията на киселите (карбоксилните) групи и аминокиселината се проявява като катион. Алкализирането, обратно, потиска дисоциацията на аминогрупите и аминокиселината дава анион. Като слаби киселини или основи аминокиселините заедно със своите соли образуват със силни основи или киселини буферни с-ми. Всяка аминокиселина образува най-малко 2 буферни с-ми с максимална буферна сила в областта на дисоциационните константи на съответните групи. Това се онагледява най-добре при така наречените титрационни криви, които се получават, когато се измерват промените в рН на разтвор, съдържащ аминокиселината в зависимост от обема на прибавена силна киселина, респективно силна основа. Титрационните криви имат синусоиден ход. Прекциите на инфлексните точки върху рН – оста отговарят на отрицателните логаритми на константите на дисоциация на съответните групи – така наречените рК на групите. (допълнителната фигура на титрационните криви).

Първична структура: броят, видът и разположението на аминокиселините в ППВ. Тя е генетично детерминирана в нуклеотидната последователност на ДНК. Установен е броят на веригите, определени са местата на дисулфидните мостове, които ги свързват или принадлежат към една верига. Извън пептидната връзка, десулфидният мост е единствената друга ковалентна връзка в белтъчната молекула.

Пептидната връзка има плоска структура (фиг.5), водородните и кислородните атоми са в транс положение спрямо тази равнина. Връзката не е съвсем проста. Мезомерията ѝ определя нейния плосък характер. Възможност за въртене съществува около  $\alpha$ -въглеродните атоми: C–C и C=N връзките.

## **Връзки в белтъчната молекула:**

Извън ковалентните връзки (пептидни и дисулфидни) в белтъчните молекули съществуват много и разнообразни по-слаби, нековалентни връзки, които имат голямо значение за структурното организиране на молекулата и за нейните физикохимични, колоиднохимични и биологични отнасяния.

Водородни връзки – възникват когато водороден атом попада между два по-електроотрицателни атома, с единия от които е предварително ковалентно свързан.

Такива са атомите на кислород, азот, въглерод. Водородът изпитва сили на привличане от страна на двата съседни на него атома и застава като мост между тях. Водородната връзка заема средно положение между ковалентната и йонната. Особено подходящ за възникване на водородни връзки случай предлага пептидната група. Свързаният с азота от пептидната връзка водороден атом се привлича от кислорода на карбонилната група на друга пептидна връзка и образува водороден мост между тях. Условие е да се постигне достатъчна близост между тези групи. Средна дължина – 0,26 nm. В зависимост от разстоянието, енергията варира от 4,2 до 25 KJ/mol. За сравнение: максималната енергия на една по-слаба ковалентна връзка като дисулфидния мост, например, е 214 KJ/mol. Следователно водородните връзки са слаби, но те изобилстват в белтъчната молекула и допринасят много за стабилизиране на нейната структура.

Хидрофобни (лондонови или вандервалсови) връзки – възникват при доближаване на незаредени молекули или атомни групи. Дължат се на преходна поляризация на атомните групи, индуцирано от взаимното влияние на електронните облаци на групите. При по-голямо приближение възникват сили на отблъскване. Максимално разстояние на ВдВ сили – 0,32 – 0,37 nm. Много са слаби – 4,2 KJ/mol. При нагъване на ППВ в пространството се събират много неполярни групи и силите на привличане между тях са адитивни. Те могат да достигат високи стойности и да имат значение за поддържане конформацията на белтъчната молекула.

Йонни връзки – възникват между противоположно заредени атомни групи и са от електростатичен тип. Между еднакво заредени групи при приближаване възникват сили на отблъскване. Максимална сила – 21 KJ/mol. С изменение на рН се променят и броя и естеството на електрично натоварените групи в белтъчната молекула, следователно йонните връзки в нея са функция от рН. Около рI стойността тези връзки са незначителни.

Дипол-диполни взаимодействия – белтъците са диполи с много високи диполни моменти. Молекулите с диполни моменти се привличат ориентирано помежду си – с противоположна заредените си краища, а с едноименно заредените се отблъскват. Такива взаимодействия допринасят за агрегирането на белтъчните молекули.

Вторична структура: при ППВ има тенденция за спирализиране. Това се дължи на възникването на приблизително еднакви и симетрично разположени слаби връзки между отделните части на веригата. При ППВ това са водородни мостове, които възникват на еднакви интервали между пептидните групи от гръбнака на веригата. Спираловидно нагъване се получава, когато водородните мостове възникват между

всяка пептидна група и третата следваща от нея. Това причинява “сгъване” на веригата на мястото на  $\alpha$ - въглеродния атом. Сгъванията са еднопосочни и с еднакъв ъгъл, което води до образуване на геометрично монотонна спирала. Пълният ѝ оборот включва 3,6 аминокиселинни остатъка, ход – 0,54 nm. Такава структура на ППВ се нарича  $\alpha$ -спирала. Това е възможна в най-компактната форма на ППВ. Гръбнакът на веригата оформя цилиндър, навън от който излизат аминокиселинните остатъци. Природните  $\alpha$ -спирали се завиват в дясна посока.

Когато две опънати ППВ се намират близо една до друга, всички техни пептидни групи образуват междуверижни водородни мостове, които задържат веригите опънати. Не се ползват вътреверижни мостове. Такава конфигурация е характерна за ППВ на т.нар.  $\beta$ -кератини: фиброин (белтъкът на копринената нишка). В  $\beta$ -кератинова структура преминава и ППВ на  $\alpha$ -кератин в космите, когато те се овлажняват на горещо или се опъват. Това е сравнително най-опънатата ППВ. Гръбнакът и се извива зигзагообразно. Разстоянието между два еднопосочни аминокиселинни остатъка е 0,65–0,70 nm при max възможно 0,727nm (фиг.7).

Сближените ППВ и Н-мостовете между тях образуват леко зигзагообразна повърхност, която може да се идеализира като плоскост. Ето защо структурата се нарича още: “листова” или “плоскостна”. Аминокиселинните остатъци са насочени алтернативно навън от едната или от другата страна на плоскостта. Плоскостната структура е благоприятствана, когато ППВ е съставена от аминокиселини с къси странични остатъци, като глицин или аланин (фиброинът има 44% Gly и 40% Ala). Плоскостни структури могат да се получат от подреждането на повече от две ППВ. Обикновено съседните вериги трябва да имат антипаралелен ход. Много рядко, но има случаи на листови структури между вериги с паралелен ход (фиг.8).  $\beta$ -структура може да възникне и в рамките на една ППВ, когато гръбнакът на веригата се извива в обратна посока – инверсия.

Вторично ниво на организация (вторична структура) на белтъчната молекула е образуването на триизмерни участъци с геометрично правилно и повтарящо се подреждане. ( $\alpha$ -спирали,  $\beta$ -структури).

$\alpha$ -кератин-фибриларен белтък, изграден от две  $\alpha$ -спирали, усукани една около друга и образуват лявовъртяща спирала. Отделните  $\alpha$ -спирали са омержени напречно с голям брой водородни връзки и с ковалентни – дисулфидни мостове. Множеството S-S мостове намаляват разтегливостта на спиралата.

$\beta$ -кератини – различните организми имат фиброин с различни характеристики (много еластичен) – има участъци с аморфен строеж - Val, Asp, Tyr, Arg – отговорни са за разтегливостта на влакната и здравината им. По-рядко разположените такива участъци водят до по-здрави и еластични влакна.

Колагенова спирала – характерна само за колагена. Тя е твърде опъната. Здравината зависи от N-връзките – колкото са повече, толкова по-малка е еластичността. Колагените са най-широко застъпените белтъци, около 75% от белтъците в животинските организми. Пиролидиновите пръстъени по ППВ се отблъскват, следователно не се образуват вътреверижни водородни връзки – ядрата са максимално отдалечени. Във вътрешността на ППВ има Gly (само за него има място). Около 30% е Gly; X – най-често е Pro (около 50%) или друга аминокиселина, Y – най-често е хидроксипролин (фиг.8).  $-[Gly-X-Y]-$ . Това е т.нар  $3_{10}$  – спирала, лявозавита. Три ППВ се опаковат помежду си и образуват суперспирала с десен ход – тропоколагенови фибрили. Около хиляда аминокиселинни остатъка Pro не е хидроксилиран при синтезата на колагена. Става посттранслационно, ензимът е пролинхидроксилаза. Тя хидроксилира най-често на 4-то място. Участва редокссистемата аскорбат-дехидроаскорбат. Между отделните тропоколагенови снопчета има известно разстояние, в което се отлагат Ca(PO

4  
)

2

, гликопротеини. Тези празнини се образуват спонтанно.

Колагеновата молекула на N-края си има допълнителни аминокиселинни остатъци, които се изрязват. Механичната здравина зависи от напречното омрежване – освен чрез голям брой N – връзки за сметка на –ОН-групата на Pro; Gly, междуверижно молекулите се омрежват и чрез ковалентни връзки: -ОН-Pro и -ОН-Lys – хидроксилират се при  $C_3$ -атома, ензимът е лизилоксидаза – може да превърне хидроксилизин в алдехид.

На нивото на вторична структура локални участъци от ППВ могат да имат аморфен строеж – разполагат се един спрямо друг по строго определен начин, но няма строго определена структура – това са т.нар. “структурни мотиви” (фиг.9). Бримки / завои – много често е от три аминокиселини, има Gly ( няма асиметричен C-атом ) и няма качество на аминокиселина, която е склонна да образува  $\alpha$ -спирала. Пептидните връзки между Pro остатъци не лежат в една равнина и това е причина за нарушаване ( изкривяване ) равнината на веригата. (фиг.10). Образуват се по-големи бримки ( в тях

има заредени странични остатъци ) на повърхността на молекулата при третична структура. В глобуларните белтъци, за разлика от фибриларните, участват всички видове спирали без колагеновата. На ниво третична структура много често се комбинират по един и същи начин, образувайки “структурни мотиви” – домени. Нагъването на ППВ зависи от аминокиселинната последователност.

2.2 Белтъци. Третична структура. Структурни мотиви на белтъците. Доменна организация, примери и значение. Междумолекулно разпознаване: мотиви, осигуряващи междумолекулното разпознаване. Примери. Четвъртична структура. Изопротеини

Третична структура – цялостното нагъване на ППВ в пространството. Нагъвания се получават и на места, където са струпани аминокиселини с къси странични остатъци Gly, Ala, Ser, Tre, Asn, Asp – страничните им остатъци са склонни да образуват водородни мостове с пептидните групи. Обикновено по-голямата част от третичната структура включва подредени участъци –  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -структури. Съществуват сили, които се стремят да нарушат тези подредености. Много често такива сили огъват ППВ, дори на 180 градуса – инверсии. Наличието на пролин в ППВ допринася за това. Натрупването на неполярни аминокиселини (Val, Leu, Ile) също. На третично ниво белтъчната молекула придобива определена форма. Ако тя е сравнително закръглена, се получават глобуларни белтъци. Когато молекулите са силно удължени поради незначителни извивки в ППВ-те, се говори за фибриларни белтъци. Двата вида имат различни физични, химични и биологични с-ва. Оста на ППВ при глобуларните белтъци прави твърде много извивки. Чести са инверсиите. Поради кълбовидния х-р при такива молекули се прави разделяне на вътрешност и повърхност. По повърхността се намират повечето аминокиселини с йоногенни групи – това води до лесната разтворимост на глобуларните белтъци във вода или разредени солеви разтвори: лесно се хидратират и солватират. Във вътрешността на молекулата попадът предимно хидрофобни, неполярни аминокиселинни остатъци. Често в молекулата се образуват “джобове”, в които могат да се настанят малки молекули – хемът на хемоглобина, субстратни молекули при ензимите. Неполярни групи, обаче, могат да останат и по повърхността, като се събират в “неполярни хидрофобни зони”, което разграничава участъци със струпани йоногенни аминокиселинни остатъци. Това придава на глобуларната повърхност мозаичен х-р, съществен за нейната функция. Белтъчните молекули със съотношение дълга/къса ос не повече от 30 се считат все още за глобуларни.

Хидрофобните взаимодействия са водещи при нагъването на ППВ в пространството. Веднъж нагъната, вече се образуват различни връзки, главно слаби нековалентни, но и ковалентни – те са стабилизиращи. Първо веригата се нагъва, после локално се образуват алфа и бета структури. Образуват се и голям брой ВдВ връзки (два атома се доближават на разстояние, равно на сумата от радиусите им. Ако то е по-голямо, тогава

не се свързват). Електростатични връзки възникват между противоположно заредени атомни групи. Броят и естеството на електрично заредените групи в белтъчната молекула се менят с изменение на рН и те са функция от него. Най-значителни са йонните сили на привличане около рI на белтъците. Пространственото доближаване на цистеинови остатъци не е достатъчно за образуването на дисулфидни мостове – необходими са и окислителни условия. Нагъването е способствано от пространственото доближаване на отделни участъци от ППВ – образуване на активен център. Това се обуславя от: 1) здравина – благодарение на множеството връзки 2) гъвкава и подвижна молекула – слабите връзки непрекъснато се създават и разрушават и молекулата може да променя конфигурацията си.

Първият изчерпателно проучен на третично ниво глобуларен белтък е миоглобинът – Mr 17 KDa, изграден от една ППВ. Около 75% от дължината на веригата е съставена от сегменти с алфа спирална структура. Останалата част съдържа неподредени участъци и изгъвки. В молекулата е оформен джоб, в който добре приляга една молекула хем – порфирин, съдържащ  $Fe^{2+}$ . Многото връзки, които оформят третичната структура на глобуларната молекула, я правят сравнително плътно опакована. Фибриларните белтъци имат силно удължени молекули, отношението дълга/къса ос достига до няколкокостотин. Фибриларните белтъци се асоциират обикновено в пакети от голям брой разположени една до друга или усукани помежду си вериги, свързани богато с водородни и други слаби, понякога и с ковалентни връзки. Това е причината, която поддържа фибриларната форма и допринася често да се формират бета-структурни участъци.

Фиброин – няколко вериги от  $\beta$ -тип с антипаралелни ходове се подреждат в пакети със силно удължена форма – фибрили. Така се изгражда здравата копринена нишка.

Кератин – участва с изграждането на епидермиса и роговите образувания в косми, нокти, рога. Изграден от  $\alpha$ -спирали с десен ход, които се усукват помежду си и образуват суперспирали с ляв ход – фибрили.

Колаген –  $3_{10}$  - спирали, лявозавити. Ходът на тропоколагеновите фибрили, образувани от три  $\alpha$ -3<sub>10</sub> – спирали е 280 nm, съдържа 30 аминокиселинни остатъка. ППВ-те във фибрилите се свързват допълнително и с ковалентни връзки между Lys, His и др. АК-остатъци. Образуват се много плътни и стабилни структури. Фибрили с дължина около 280 nm и дебелина около 1,4 nm се групират, като се отместват помежду си с около j от дължината си и се свързват с ковалентни връзки. Така се формират еластичните колагенови снопчета в съединителната тъкан.



Еластин – друг фибриларен белтък на съединителната тъкан. Над 80% съдържа Gly, Ala, Pro, Val.

Фибриларните белтъци са трудно или изобщо неразтворими. Могат да преминават в гелно състояние, т. е. да набъбват с вода, без да се разтварят. Функции – да служат като опорни структури, създаващи форма, еластичност и здравина на тъканите.

Третичната структура не е резултат от случайно действащи сили, а е строго определена от АК-последователност на веригата (първичната и структура). Следователно, тя е генетично детерминирана.

Домени – структурно независими еденици с високо подредена структура в рамките на самия полипептид. Често се разделят чрез протеолиза и имат поведение на независими глобуларни белтъци. Имат специфична функция – участват главно в междумолекулното разпознаване. Структурни мотиви (супервторични структури) – групировки от елементи от вторичната структура. Често срещани са при глобуларните белтъци, основно са значими участъци, изграждащи каталитичните места.

Примери за междумолекулно разпознаване: хистони + ДНК, антиген+антитяло, ензим+субстрат, хормон+рецептор. Такива са и типовете регулаторни елементи на транскрипцията при еукариоти – активатори и репресори, които регулират генната експресия. Това са сложно устроени белтъци с доменна организация:

ДНК – свързващ домен – разпознава точно определена нуклеотидна последователност.

Повече от един активационен домен, отговорен за свързването с други белтъци.

Трети вид домен – за свързване с различни лиганди.

Може да има домен с определена ензимна активност.

Различните класове регулаторни белтъци според ДНК свързващия домен се делят на:

1. Хомеодомени (транскрипционни фактори) – имат спирала – свивка – спирала мотив. Три алфа спирали, свързани помежду си със свивката. Имат алфа – разпознаваща спирала, която се вмъква в голямата бразда на ДНК, специфично взаимодейства с определена нуклеотидна последователност. Това са донорно – акцепторни взаимодействия, като N – края на белтъка се вмъква в малката бразда, а от друга страна молекулата взаимодейства с бази от голямата бразда.

2. Цинкови пръсти: C2H2 (има два хистедина и два цистеина, свързани чрез координационна връзка с цинковия атом). По-голям регулаторен ефект има колкото повече нуклеотидни последователности могат да бъдат свързани, следователно колкото повече пъти са повторени мотивите на цинковите пръсти. Над 1000 транскрипционни фактора има този структурен мотив. Работят като мономери. C4 – четири цистеина + цинковия атом. Такива са около 100 транскрипционни фактора. Работят като хомо-или хетеродимери – има възможност за разпознаване на две различни нуклеотидни последователности. C6 – шест цистеина + два цинкови атома. Работят най-често като хомодимери.

3. Левцинови ципове – всяка седма АК е левцин. Молекулата е димер. Множеството левцини дават възможност за хидрофобни взаимодействия в C – края – има димеризация и изглежда като цип. Такива са различни транскрипционни и не транскрипционни фактори.

Различните клетъчно-адхезивни белтъци, кадхерини, селектини, интегрини, ICAM – всички те осъществяват междумолекулно разпознаване.

Четвъртична структура – Формирането на комплекси от белтъчни субединици. Белтъчните молекули имат склонност към асоцииране. Всяка субединица е 1 ППВ, която си има своя третична структура. Предварително е нагъната по определен начин. Връзките, които го придържат са слаби – хидрофобни, водородни. Междумолекулното разпознаване се осъществява благодарение на наличието на четвъртична структура (ензим + субстрат; хормон + рецептор).

Вторичната, третичната, а донякъде и четвъртичната структура обуславят пространственото разположение на ППВ, респективно – формата на белтъчната молекула и са тясно зависими една от друга. При събиране в надмолекулни комплекси се

наблюдава появата на нови свойства:

А) поява на кооперативен ефект - при свързване на лиганд към едната субединица нараства (+ ефект) или намалява (- ефект) сродството на другата субединица към същия лиганд. При хемоглобина това има изключително важна роля. Той има Mr 68 KDa, изграден от 4 ППВ – 2  $\alpha$  (148 а.к.) и 2  $\beta$  (146 а.к.). Всяка ППВ носи по една молекула хем. Всяка ППВ (субединица) има Mr около 17 KDa, има 8  $\alpha$  спирали във вътрешността на всяка субединица. При ниско парциално налягане на O

2

в тъканите около 50% от O

2,

свързан от хемоглобина, може да се отдаде там Това е функцията на хемоглобина. С нарастване парциалното налягане на O

2

, свързването с едната субединица многократно увеличава сродството на другите към него.

Изопроотеини: четвъртичната им структура е обусловена от асоциацията на 2 или повече типа ППВ. Наблюдават се мултиплетни структурни форми, различаващи си по комбинацията на отделните видове ППВ. в различните тъкани отговарят на различни клетъчни сигнали.

LDH – типичен пример. Mr 134 KDa, 4 субединици, 2 типа ППВ – M и H, които са много подобни: M<sub>4</sub>H<sub>0</sub>, M<sub>3</sub>H<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>H<sub>3</sub>, M<sub>0</sub>H<sub>4</sub>. И петте ензима имат еднаква каталитична активност и много близки химични и физикохимични с-ва. Разделят се чрез електрофореза. У човек се наблюдават и петте форми, различно застъпени в различните тъкани и органи. Черен дроб и скелетни мускули – M<sub>4</sub>H<sub>0</sub> (анаеробно разграждане на лактат), а в сърдечните мускули M<sub>0</sub>H<sub>4</sub>. В експериментални условия при смесване на двата типа субединици се постига образуването на ензимите.

Хемоглобин – при възрастните хора  $\alpha_2\beta_2$  (A1),  $\alpha_2\delta_2$  (A2). Хемоглобин f -  $\alpha_2\gamma_2$  (фетален), хемоглобин H ( $\beta_4$ ) – това е вид патология (таласемия) – има изменена конструкция на четвъртичното ниво, а първичната структура е непроменена.

Хемоглобин на Бартс – това е  $\gamma_4$ .

Когато явлението е застъпено при ензими, се говори за изоензими. Биологичното им значение е увеличаването на възможностите за регулация на ензимните процеси. Приема се, че различните изоензими се повлияват от алостерични ефектори. Белтъци, които серазличават по АК си последователност, но въпреки това са запазили биологичната си функция, също се третират като изопротеини. Те се получават в резултат на генни мутации. Хемоглобиновите варианти с разлики в АК последователността си са изопротеини.

Креатинкиназа – прехвърля макроергични връзки от креатинфосфата върху АТФ. Има два типа субеденици: М – мускули и сърце, В – мозък. Формата МВ не съществува, а ако се появи това вероятно е начало на инфаркт.

Свързването на лигандите при четвъртичната структура е в две отдалечени места – порфириновите ядра са далече едно от друго и не могат директно да си влияят.

Алостерични белтъци – при които свързването на едно място може да предизвика промяна в други отдалечени места. Всички белтъци с четвъртична структура са алостерични. Допуска се, че съществуват в две форми: Т (tide) – свита, в нея свързването на даден лиганд е затруднено и преходът в по-отпуснато състояние се налага – R (relax) и е свързан с активиране на първото място от второто. Преминването от R към Т е отрицателен кооперативен ефект. При хемоглобина железният атом има 4 координативни връзки с четирите порфиринови ядра, но има и пета връзка с един от хистидиновите остатъци от близкото обкръжение. Има свободен електрон и се получава дезоксихемоглобин. Оксихемоглобин е, когато  $O_2$  се свърже с шеста такава. Променя се цялото положение на равнината на порфириновия пръстен.

На ниво четвъртична структура има няколко типа връзки: йонни (солеви) разкъсват се при разместване или промяна на молекулата. Свързването на  $O_2$  към четвъртия хем води до увеличаване многократно влиянието на други в-ва, свързването в едната субеденица предизвиква промяна в останалите. Влияят и киселинността на средата, концентрацията на въглероден диоксид, 2,3-бисфосфоглицерат – то е междинно съединение от гликолитичната верига. Те всички са алоостерични ефектори. РН ефект на Бор

). Благодарение на кооперативния ефект хемоглобинът отдава много голямо количество кислород. Алостеричен център (различен от активния) е възможно да се наблюдава само на четвъртично ниво в белтъчните молекули.

