

СЕКЦИЯ «ФИЗИКА И ДИАГНОСТИКА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ»

УДК 541.128

Н.П.Саргаева (5 курс, каф. ФЭ), О.Ю.Цыбин, д.ф.-м.н., проф.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

ABSTRACT: Main properties of biomacromolecules and mass spectrometry as method of their investigation were discussed.

Одним из актуальных научных направлений являются исследования биомакромолекул. В данном докладе рассмотрены некоторые основные свойства биомакромолекул и методы их изучения с помощью масс-спектрометрии.

Такие макромолекулы, как белки - важные элементы живого организма. Многочисленные жизненные функции связаны со специфическими белками. Белки - основной материал, как для построения структуры клетки, так и для обеспечения ее функций, поскольку с их помощью передается генетическая информация. Белки участвуют в сократительной системе мышечной ткани, выполняют опорную функцию (склеропротеины), каталитическую (ферменты), регулирующую (гормоны), защитную (антигены). Одной из наиболее важных функций белков является транспорт (гемоглобин).

Белок – это полипептидная цепочка, состоящая из последовательности аминокислотных остатков. Каждый белок имеет свою, характерную для него

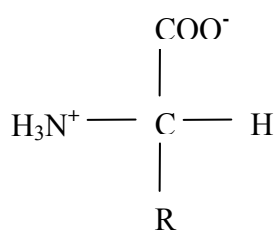


Рис. 1

последовательность аминокислотных звеньев, которая может состоять из 50 - 25000 остатков. Известно 20 аминокислот, входящих в состав белковых молекул. Все аминокислоты, обнаруженные в белках, за исключением пролина, относятся к группе α -аминокислот, и их строение может быть выражено общей формулой (рис. 1.).

Разделяют аминокислоты на четыре класса, содержащие R-группы следующих типов: 1) неполярные, или гидрофобные, 2) полярные, но не заряженные, 3) отрицательно заряженные и 4) положительно заряженные. Молекулы одной и той же или разных аминокислот могут ковалентно связываться друг с другом при помощи замещенной амидной связи, называемой *пептидной связью*, с образованием молекулы пептида.

Каждая белковая молекула в нативном состоянии имеет характерное пространственное строение, называемое *конформацией*, то есть пространственное расположение макромолекулы как целого. В зависимости от конформации белки подразделяют на две главные группы: 1) *фибриллярные белки* - расположенные параллельно друг другу полипептидные цепи, образующие длинные вытянутые нити или слои; 2) *глобулярные белки* – полипептидные цепи плотно свернуты в компактные структуры сферической формы. Некоторые белки по своим свойствам располагаются между этими двумя типами.

Расположение цепей биополимеров в пространстве является чрезвычайно гибким, так что у молекулы биополимера есть возможность легко реагировать на внешние воздействия. Молекулы пептидов сохраняются так же и в растворе. Именно соединение этих признаков позволяет белкам выполнять сложные биологические функции.

Структуру белков можно разделить на 4 уровня организации.

Первичная структура относится к ковалентному скелету полипептидной цепи, и именно к последовательности содержащихся в ней аминокислотных остатков. Определение последовательности полипептидной цепи является основным шагом в характеристике протеина.

Вторичная структура указывает взаимное пространственное расположение двух структурных соседних элементов полипептидной цепи белка. К вторичной структуре относят различные типы цепей, свернутых спирально или развернутых цепей (α -спираль и β – складчатые слои). Эта структура обусловлена нековалентными внутримолекулярными взаимодействиями, преимущественно водородными связями.

Третичная структура характеризует пространственные отношения между несоседними сегментами белковой молекулы (дальнего порядка), чем определяется и общая форма отдельных цепей. Она обусловлена ковалентными, не ковалентными, межмолекулярными взаимодействиями, преимущественно гидрофобными связями, разного рода взаимодействия между R – группами соседних петель.

Для возникновения третичной структуры полипептидная цепочка должна скручиваться. Случайному скручиванию, приводящему к неупорядоченной структуре, соответствует внешняя форма клубка; полностью упорядоченным структурам типа β соответствуют ленты, спиральным структурам – стержнеобразные формы. Комбинация упорядоченных и неупорядоченных частей молекулы обуславливает сложное пространственное скручивание цепей как целого, т.е. образование специфической третичной структуры для каждого белка.

Под *четвертичной структурой* подразумевают способ, каким отдельные полипептидные цепи одинаковые (гомогенные) или различные (гетерогенные) связываются в единое целое, образуя молекулы – олигомеры. Четвертичная структура указывает взаимное пространственное расположение совместной укладки и упаковки этих полипептидных цепей, связываемых друг с другом посредством нековалентных межмолекулярных взаимодействий (межцепные), с образованием конформации олигомерного белка. Например, гемоглобин имеет две пары полипептидных цепей двух типов α и β , каждая из которых имеет третичную структуру.

Исследования структуры белков возможно с помощью многих методов, таких как: седиментационный анализ, гельфильтрация, электрофорез, хроматография, химические методы и масс - спектрометрия (МС).

Тандемная МС, основанная на фрагментации макромолекул, позволяет исследовать посттрансляционные модификации, смеси пептидов, а так же полярные, неустойчивые, нелетучие соединения с высокой разрешающей способностью и минимальным расходом исследуемого вещества.

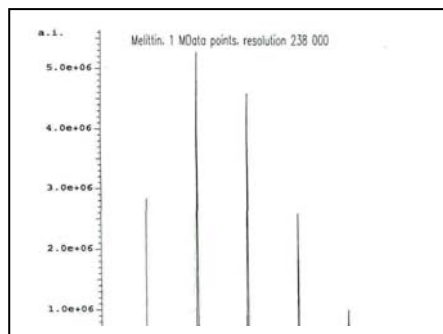


Рис. 2. Мелитин

ИЦР ФП МС – масс-спектрометр, основанный на ионно-циклотронном резонансе, с Фурье преобразованием, один из наиболее совершенных масс-спектрометров для исследования биомолекул на данный момент. С помощью данного прибора, соединенного последовательно с капиллярным электрофорезом, был произведен анализ полипептида Мелитина (основной гемолитический компонент яда медоносной пчелки), массой 2,9 кДа. Ионным источником был выбран метод электроспрей ионизации (наноспрей). На рисунке 2 показан спектр изотопного распределения четырех зарядного иона

полипептида с разрешающей способностью 238000.

При деконволюции данного спектра можно получить материнский ион Мелитина и его изотопное распределение.

МС является наиболее эффективным, точным, высокочувствительным, селективным и быстрым методом исследования биомакромолекул на сегодняшний день.