

# Биохимия и молекулярная биология

*Лекция 1. Деградация пищевых и  
клеточных белков*

# План лекции

- Белковый обмен.
- Ограниченный и тотальный протеолиз.  
Функции протеолиза.
- Характеристика протеолитических ферментов.
- Пищевые белки. Расщепление в желудочно-кишечном тракте.
- Всасывание и транспорт аминокислот.
- Деградации клеточных белков. Убиквитин-протеосомный путь.

Белковый обмен - важнейший процесс, в ходе которого осуществляется непрерывное самообновление белковых тел. Белковый обмен зависит от других видов обмена: углеводного, липидного, обмена нуклеиновых кислот, но, в свою очередь, участвует в регуляции этих обменов, координируя их и создавая оптимальные условия для собственного осуществления. Как и любой обмен веществ, обмен белков включает два рода процессов – катаболизм и анаболизм.

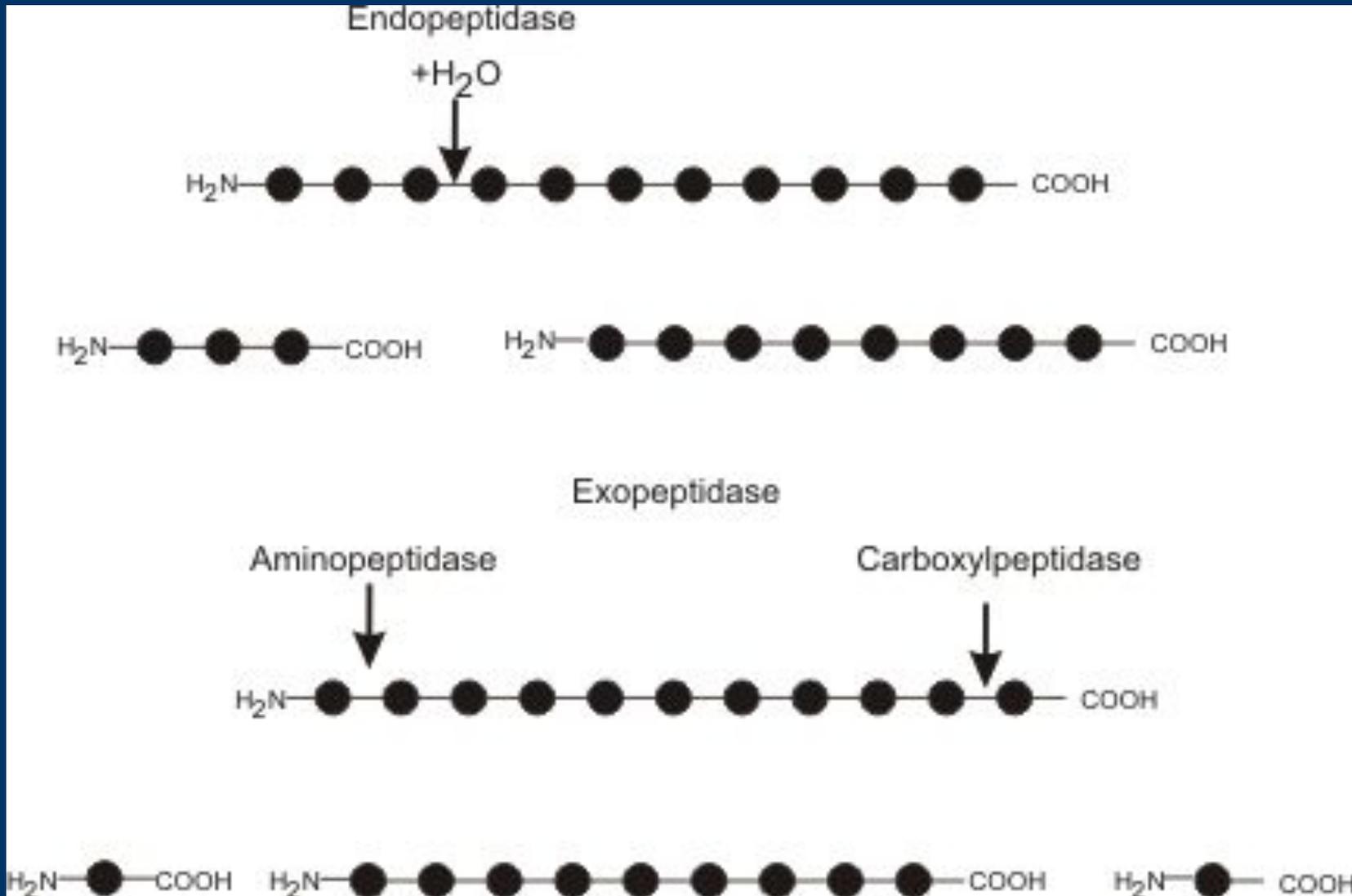
## **Катаболизм белков в организме**

- 1. Расщепление белков (протеолиз) осуществляется ферментами, относящимися к классу гидролаз. Гидролиз заключается в разрыве пептидных связей (-CO-NH-) белковой молекулы.**
- 2. Ферменты, гидролизующие в белках пептидные связи, принято называть пептидазами (синоним – протеазы).**
- 3. Пептидазы подразделяются на две группы ферментов: эндопептидазы (синоним – протеиназы) и экзопептидазы.**

**1. Эндопептидазы (протеиназы)** - расщепляют пептидные связи внутри молекулы белка. Эндопептидазы обладают разной субстратной специфичностью, определяемой природой радикалов аминокислот по соседству с разрываемой пептидной связью.

**2. Экзопептидазы** – последовательно отщепляют аминокислоты от **N** - или **C** - конца белковой молекулы.

# Обмен белков



## Классификация протеолитических ферментов

По механизму катализа:

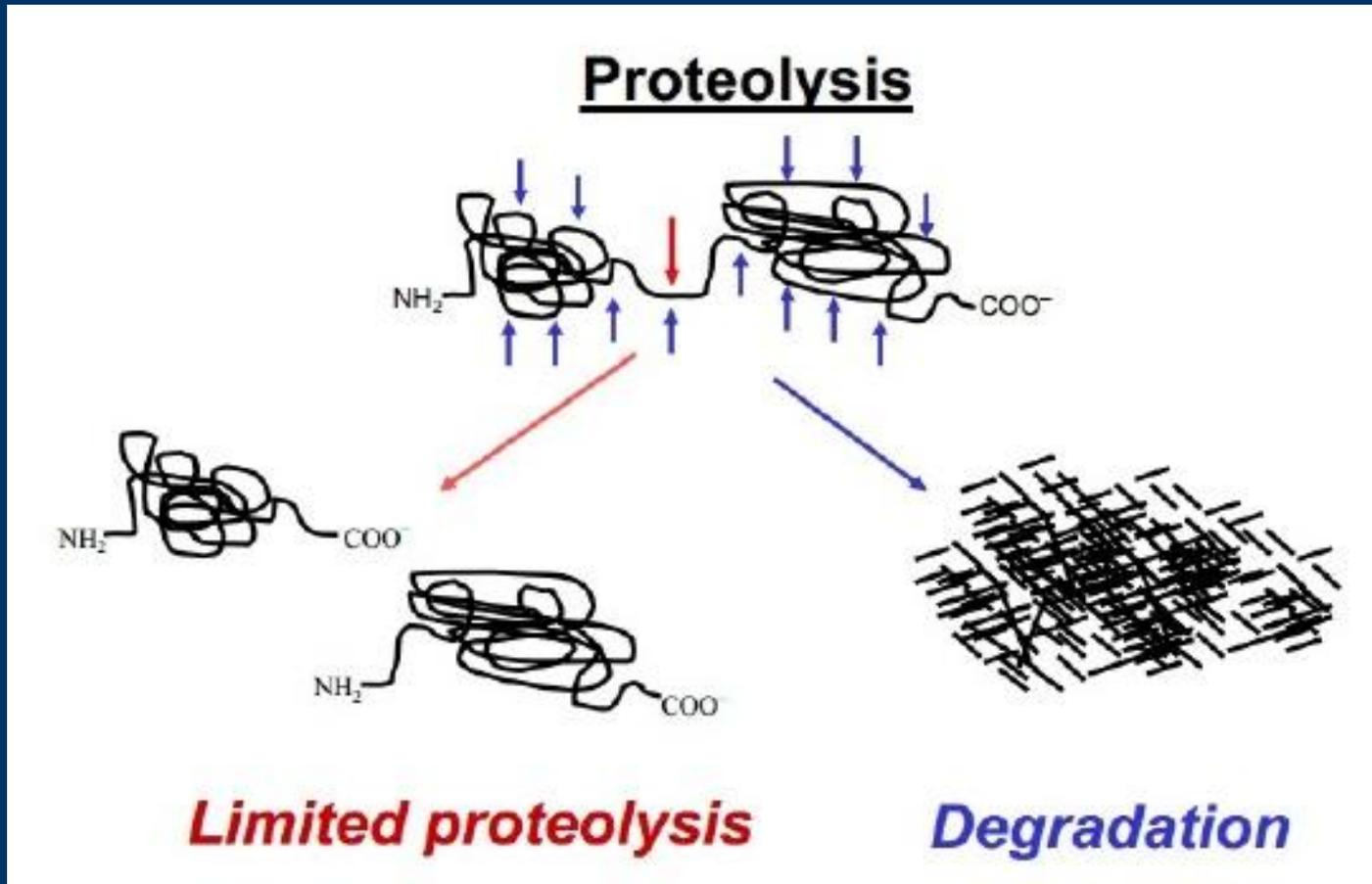
- *Серин/Треониновые* (трипсин, эластаза, химотрипсин, ферменты гемостаза)
- *Аспарагиновые* (пепсин, катепсины, ренин)
- *Цистеиновые* (папаин, катепсины, каспазы)
- *Металлопротеиназы* (карбоксипептидазы, ангиотензин конвертирующий фермент)

## Протеолиз

Различают два типа протеолиза:

- 1. Ограниченный протеолиз** – расщепление одной или нескольких пептидных связей в белке-мишени приводит к изменению функционального состояния последнего (активация проферментов, прогормонов).
- 2. Неограниченный или тотальный протеолиз** - белки распадаются до аминокислот: пищевые белки (желудочно-кишечный тракт), тканевые белки (лизосомы, цитозоль).

# Протеолиз



## **Функции ограниченного протеолиза**

- Деление клетки.
- Процессинг (созревание) белков.
- Апоптоз.
- Система свертывания и фибринолиза крови.
- Образование активных гормонов.
- Образования активных ферментов в желудочно-кишечном тракте.

## **Функции тотального протеолиза**

- Снижение иммуногенности белков.
- Лишение видовой и тканевой специфичности.
- Реутилизация белков.
- Пополнение аминокислотного фонда клеток и крови.

## Этапы метаболизма пищевых белков

- 1)** расщепление в желудочно-кишечном тракте;
- 2)** всасывание продуктов расщепления белков (транспорт через стенки кишечника);
- 3)** транспорт от кишечника к другим органам и тканям;
- 4)** проникновение внутрь клетки (транспорт через клеточную мембрану);
- 5)** превращение ферментными системами клетки.

## Качество (пищевая ценность) белков

Биологическая ценность белков животного и растительного происхождения определяется наличием и соотношением в них незаменимых аминокислот. Если в пищевых продуктах белки содержат все незаменимые аминокислоты, то такие белки относятся к полноценным. Остальные пищевые белки – неполноценные. Растительные белки, в отличие от животных, как правило, менее полноценны. Существует международный условный образец состава белка, отвечающего потребностям организма. В этом белке **31,4%** составляют незаменимые аминокислоты, остальные – заменимые. В качестве эталонного белка с необходимым содержанием незаменимых аминокислот и наиболее физиологичным соотношением каждой из них был принят белок куриного яйца.

## Пищевая ценность белков

# Содержание белка в некоторых пищевых продуктах

Продукт	Содержание белка, %	Продукт	Содержание белка, %
Мясо	18-22	Гречневая крупа	11
Рыба	17-22	Пшено	10
Сыр	20-36	Орехи лесные	12
Яйца	13	» кедровые	4
Молоко	3,5	Картофель	1,5-2
Хлеб ржаной	7,8	Капуста	1,1-1,6
Рис	8	Морковь	0,8-1,6
Горох	26	Свекла	1,6
Соя	35	Яблоки	0,3-0,4
Макаронны	9-13	Вишня	1-1,1

Оптимальное же количество белка при средней физической нагрузке составляет **~100-120 г/сут.**

В желудочно-кишечный тракт белки поступают из **2-х** источников:

- 1)** экзогенные белки – белки пищевых продуктов (**70 – 100 г**);
- 2)** эндогенные белки – белки пищеварительных секретов и слущивающегося эпителия пищеварительного тракта (**20 – 30 г/сутки**).

Основная часть поступивших в желудочно-кишечный тракт белков перевариваются до смеси аминокислот, дипептидов и трипептидов, а небольшое количество непереваренного белка выделяется из организма с фекалиями.

## Расщепление белков в желудке

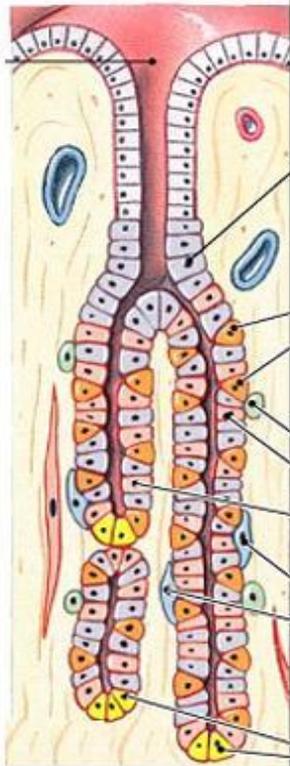
Переваривания белков начинается в желудке, где под действием желудочного сока гидролизуются около **10%** пептидных связей.

Желудочный сок представляет собой смесь воды (**97 - 99%**), неорганических ионов, соляной кислоты, различных ферментов и других белков.

Для расщепления белков в желудке необходима соляная кислота и протеолитические ферменты: пепсин, гастриксин и реннин.

## Расщепление пищевых белков

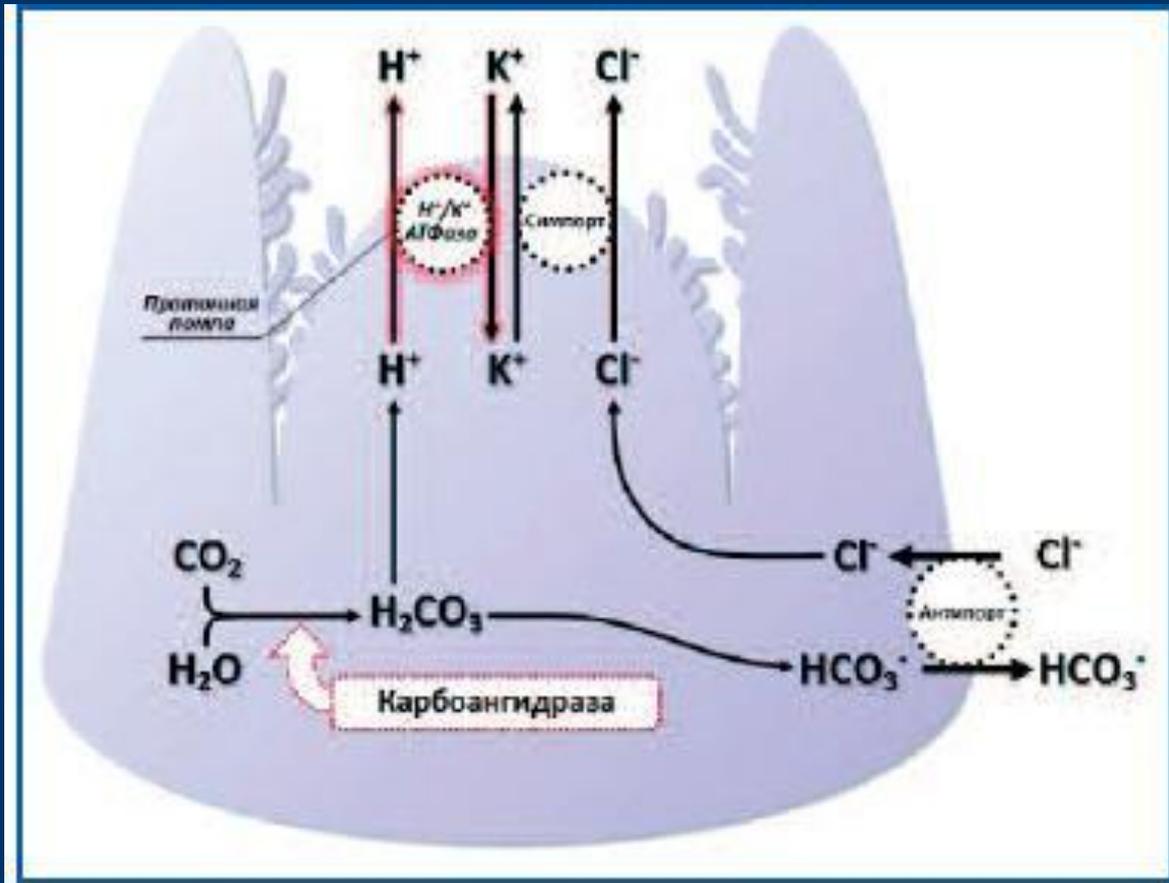
### Типы клеток и секретов слизистой оболочки желудка



The diagram illustrates the gastric mucosa with various cell types and their secretions. The cells are color-coded: mucous cells (pink), parietal cells (orange), enterochromaffin-like cells (green), chief cells (yellow), D cells (blue), and G cells (purple).

Тип клеток	Секрет
Мукоидные клетки	Слизь (защищает слизистую желудка)
	Бикарбонат
Париетальные клетки	Соляная кислота
	Внутренний фактор (соединяется с витамином B12)
Энтерохроаффиноподобные клетки	Гистамин (стимулирует секрецию соляной кислоты)
Главные клетки	Пепсиноген
	Липаза желудка
D клетки	Соматостатин (ингибирует секрецию соляной кислоты)
G клетки	Гастрин (стимулирует секрецию соляной кислоты)

## Образование соляной кислоты в желудке



Суммарное количество париетальных (обкладочных) клеток в желудке у здорового человека приближается к одному миллиарду.

## Секреция соляной кислоты в желудке

Механизм секреции соляной кислоты париетальными клетками обусловлен наличием специфического трансмембранного переносчика ионов водорода –  $H^+/K^+$ -АТФазы, также известной как протонная помпа. Этот белок транспортирует протоны  $H^+$  через апикальную мембрану из цитозоля париетальной клетки в просвет секреторного канальца в обмен на катион  $K^+$ . Источником энергии для данного транспорта является гидролиз молекулы АТФ. Последующий выход ионов  $K^+$  из цитозоля сопряжен с выходом ионов  $Cl^-$  по типу симпорта. В итоге в просвете канальцев происходит взаимодействие ионов  $H^+$  и  $Cl^-$  с образованием соляной кислоты. Секреция соляной кислоты стимулируется гистамином, ацетилхолином и гастрином. Ингибирует образование  $HCl$  соматостатин.

## Роль соляной кислоты в переваривании белков

- 1.** Денатурация пищевых белков.
- 2.** Бактерицидное действие (антисептик).
- 3.** Создает оптимальный рН для действия пепсина.
- 4.** Иницирует ограниченный протеолиз пепсиногена и прогастриксина.

## Протеолитические ферменты желудка

Пепсин – главный протеолитический фермент желудочного сока (**М.м. 34,6 kDa**). Пепсин продуцируется главными клетками в виде неактивного зимогена, пепсиногена (**М.м. 40 kDa**). Образуется из пепсиногена при отщеплении **N**-концевой части молекулы (**42 а.о.**) включающей остаточный или структурный пептид и ингибитор пепсина. Оптимум рН – **1,5 – 2,0**.

Пепсин является эндопептидазой, расщепляющей связи, образованные **СООН**-группами ароматических АК – фенилаланином, тирозином и триптофаном. Медленнее гидролизуются связи, образованные алифатическими и дикарбоновыми кислотами. Гастриксин – пепсиноподобный фермент. Оптимум рН – **3,0**. Реннин.

## Расщепление белков в тонком кишечнике

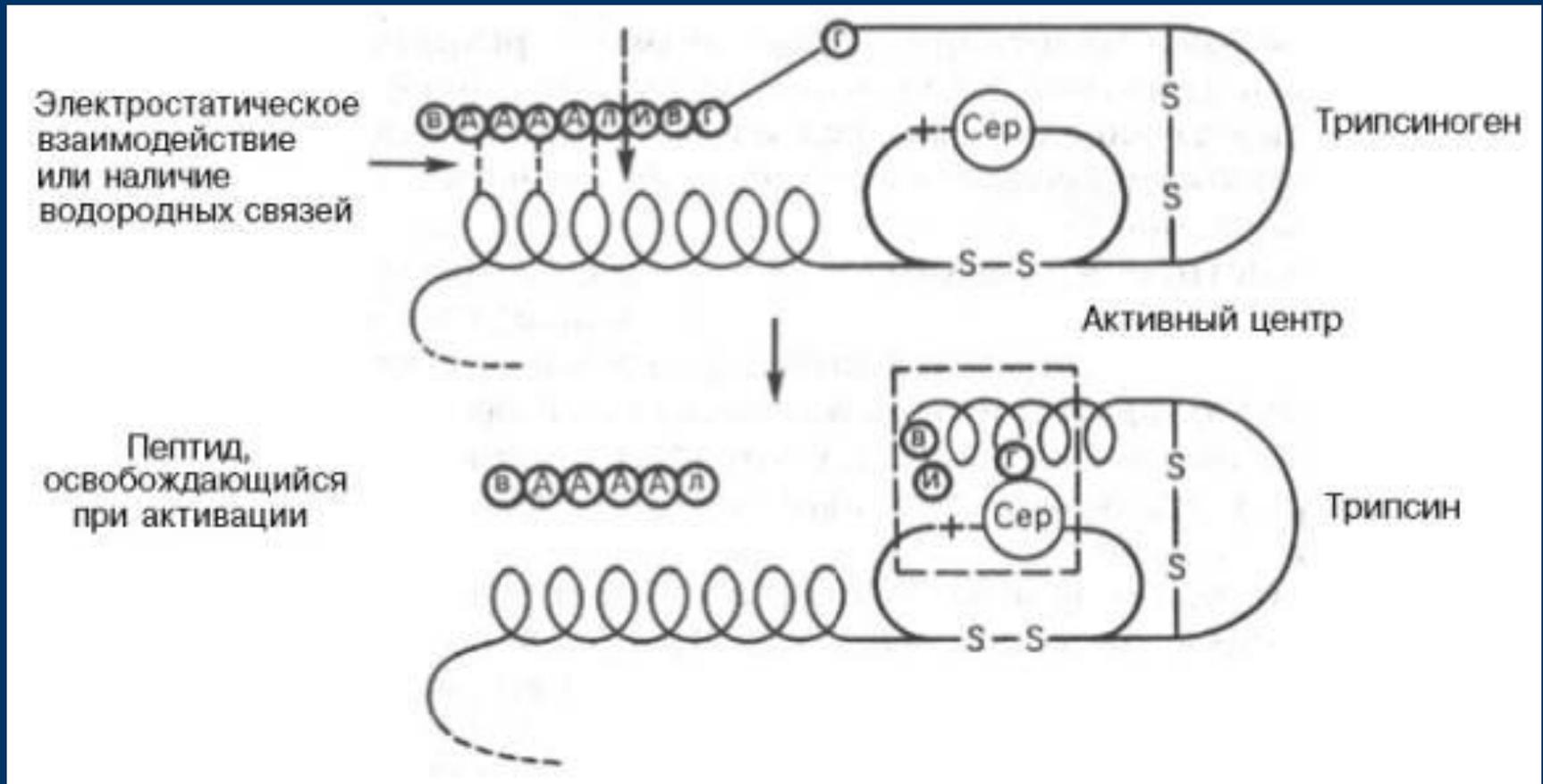
Переваривания белков в тонкой кишке осуществляется под действием панкреатического сока. Панкреатический сок, вырабатываемый экзокринными клетками поджелудочной железы, содержит неактивные ферменты, такие как трипсиноген, химотрипсиноген, проэластазу и прокарибоксипептидазы А и В. Они активируются в тонком кишечнике следующим образом. Клетки слизистой кишечника секретируют протеолитический фермент энтеропептидазу, преобразующий трипсиноген в трипсин.

## Протеолитические ферменты панкреатического сока

### Координирующее действие трипсина в активации панкреатических проферментов

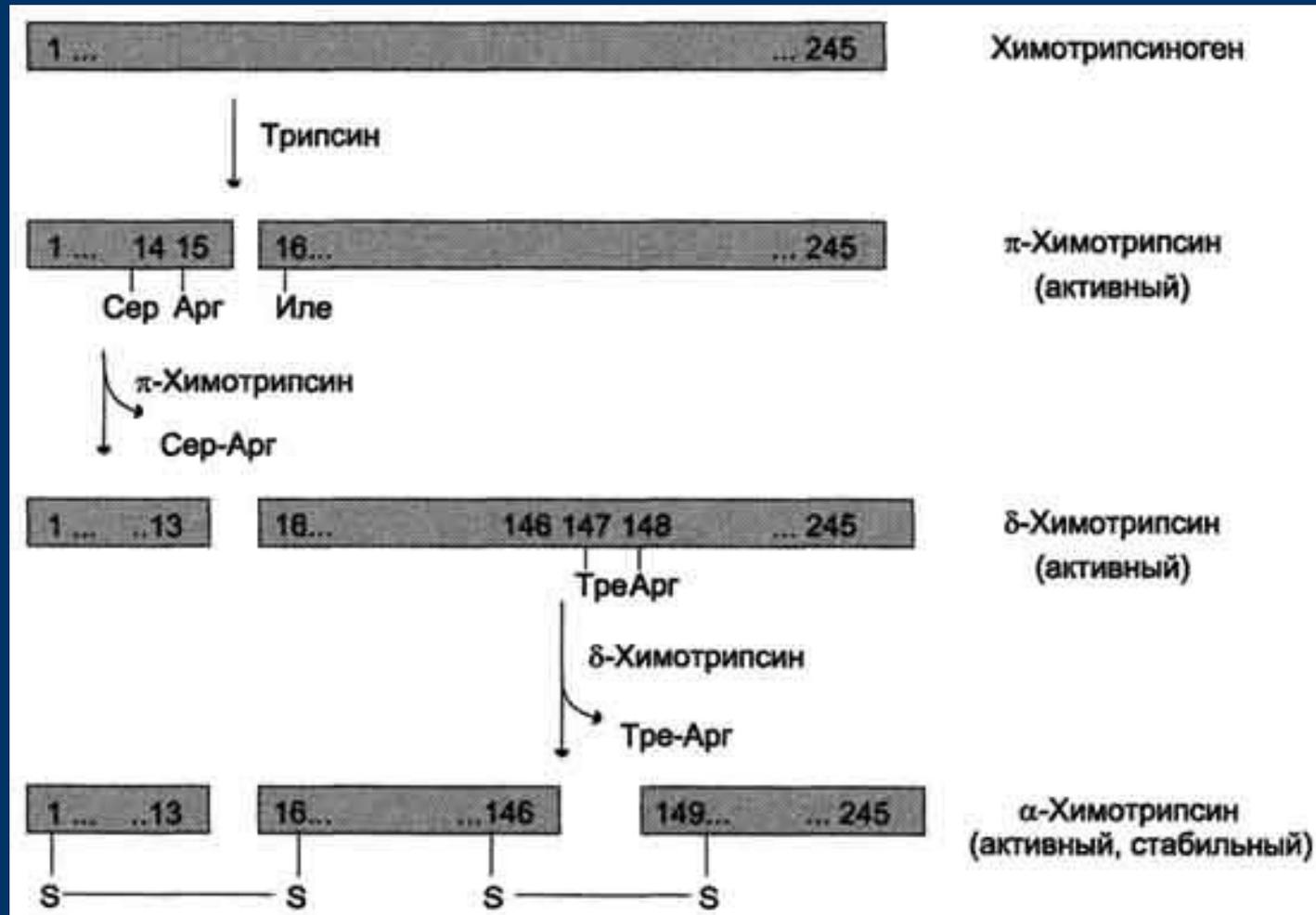


## Активация трипсиногена



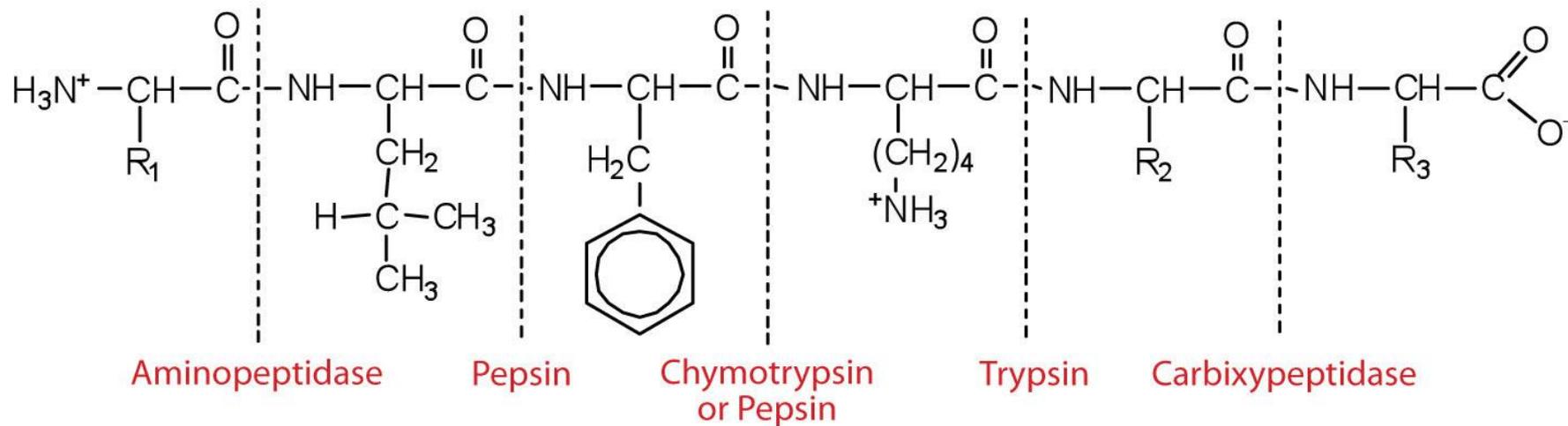
# Протеолитические ферменты панкреатического сока

## Активация химотрипсиногена



## Расщепление белков в желудке

### Протеолитические ферменты



Трипсин : - Арг-Х - ; - Лиз-Х - .

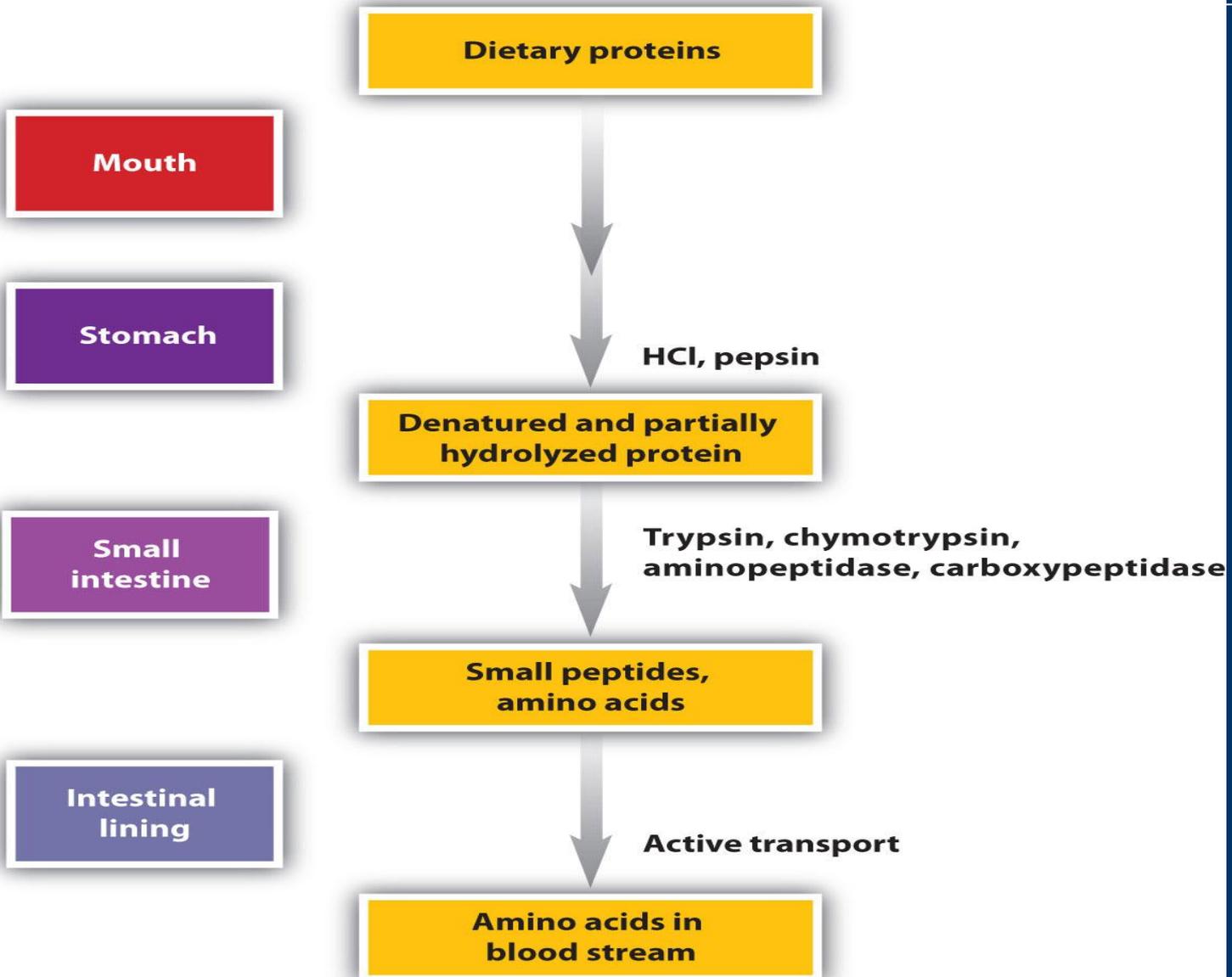
Химотрипсин : - Три - Х - ; - Фен - Х - ; - Фен - Х - .

Эластаза : - Гли-Х - ; - Ала-Х - ; - Сер-Х - .

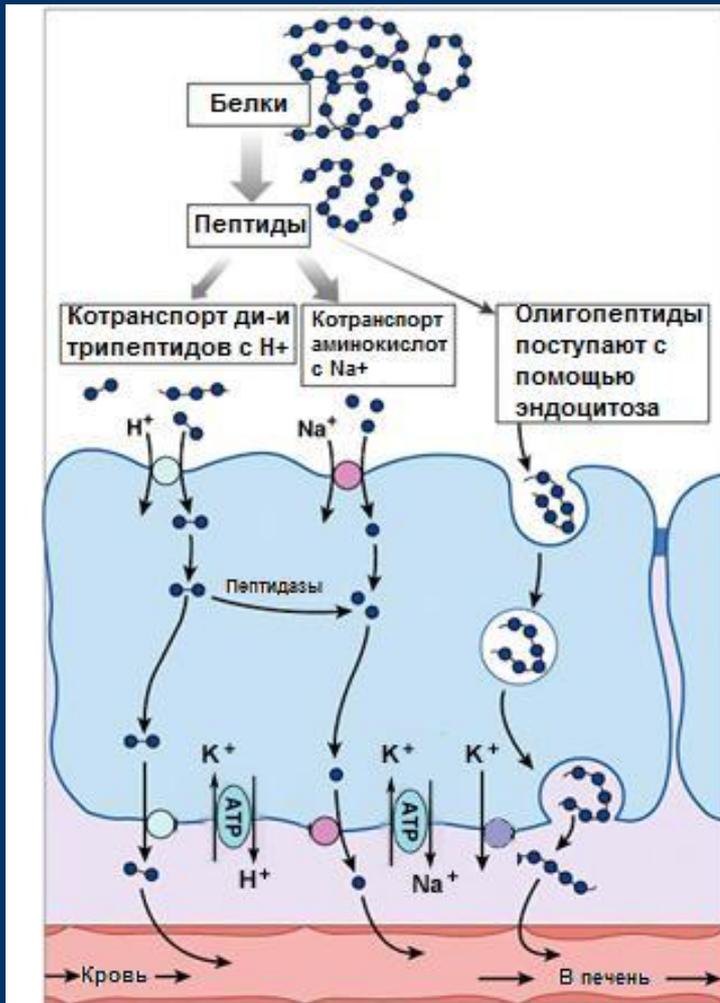
Аминопептидазы.

Карбоксипептидазы А и В.

## Этапы расщепления пищевых белков

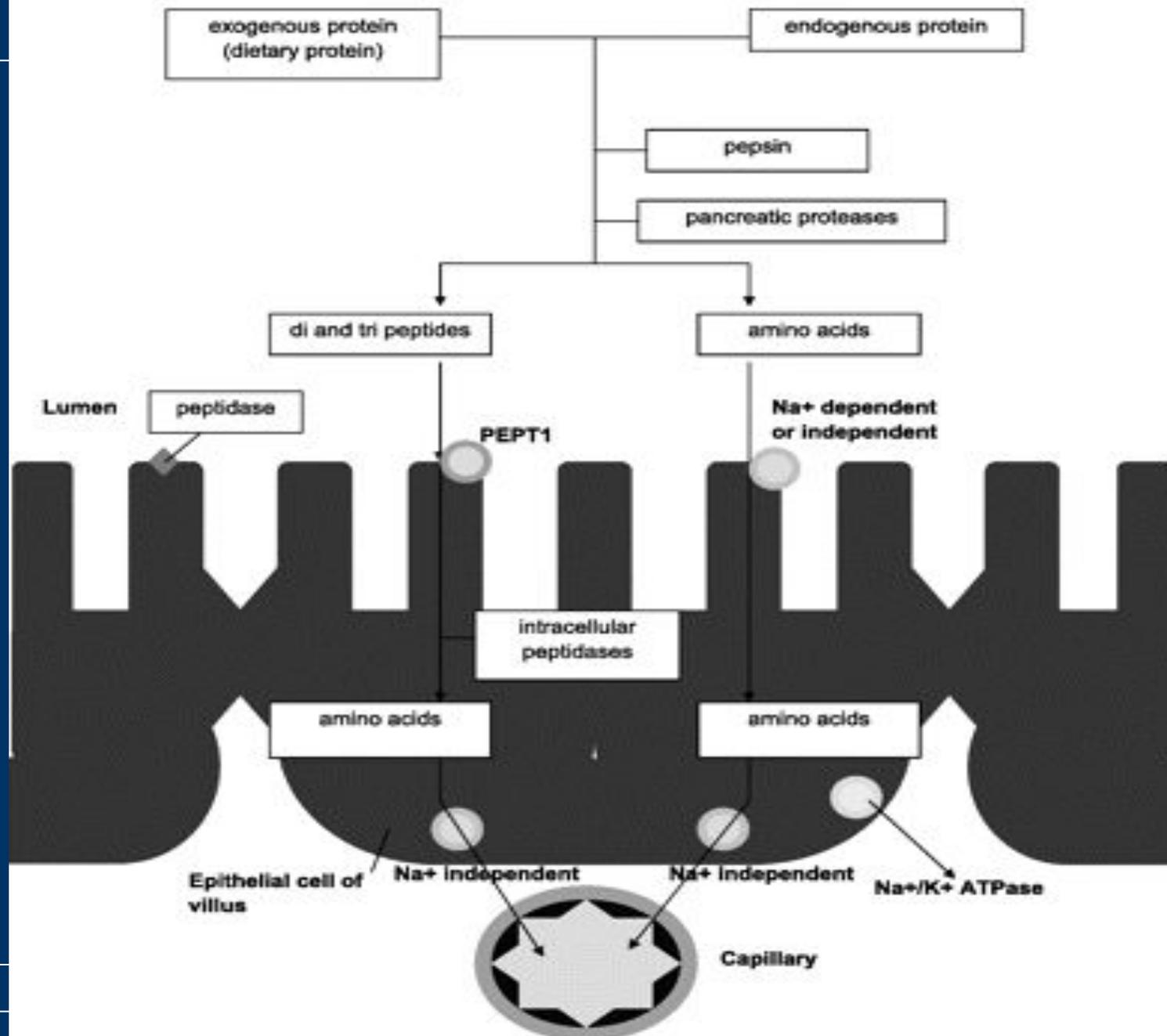


## Всасывание аминокислот и пептидов



1. Котранспорт аминокислот с **Na<sup>+</sup>**.
2. Котранспорт ди- и трипептидов с протонами водорода.
3. Олигопептиды поступают в клетки кишечника путем эндоцитоза.

# Protein Digestion and Absorption



## Расщепление клеточных белков

Индивидуальные клеточные белки расщепляются и повторно синтезируются с различными скоростями. Белки имеют сигналы, определяющие время их жизни. В среднем, период полураспада белка коррелирует с особенностями аминокислотного состава его **N**-концевого участка (правило **N**-конца).

У белков с **N**-концевыми Мет, Сер, Ала, Тре, Вал, или Гли время полураспада превышает **20** часов.

Время полураспада белков с **N**-концевыми Фен, Лей, Асп, Лиз, или Арг менее **3**-х мин.

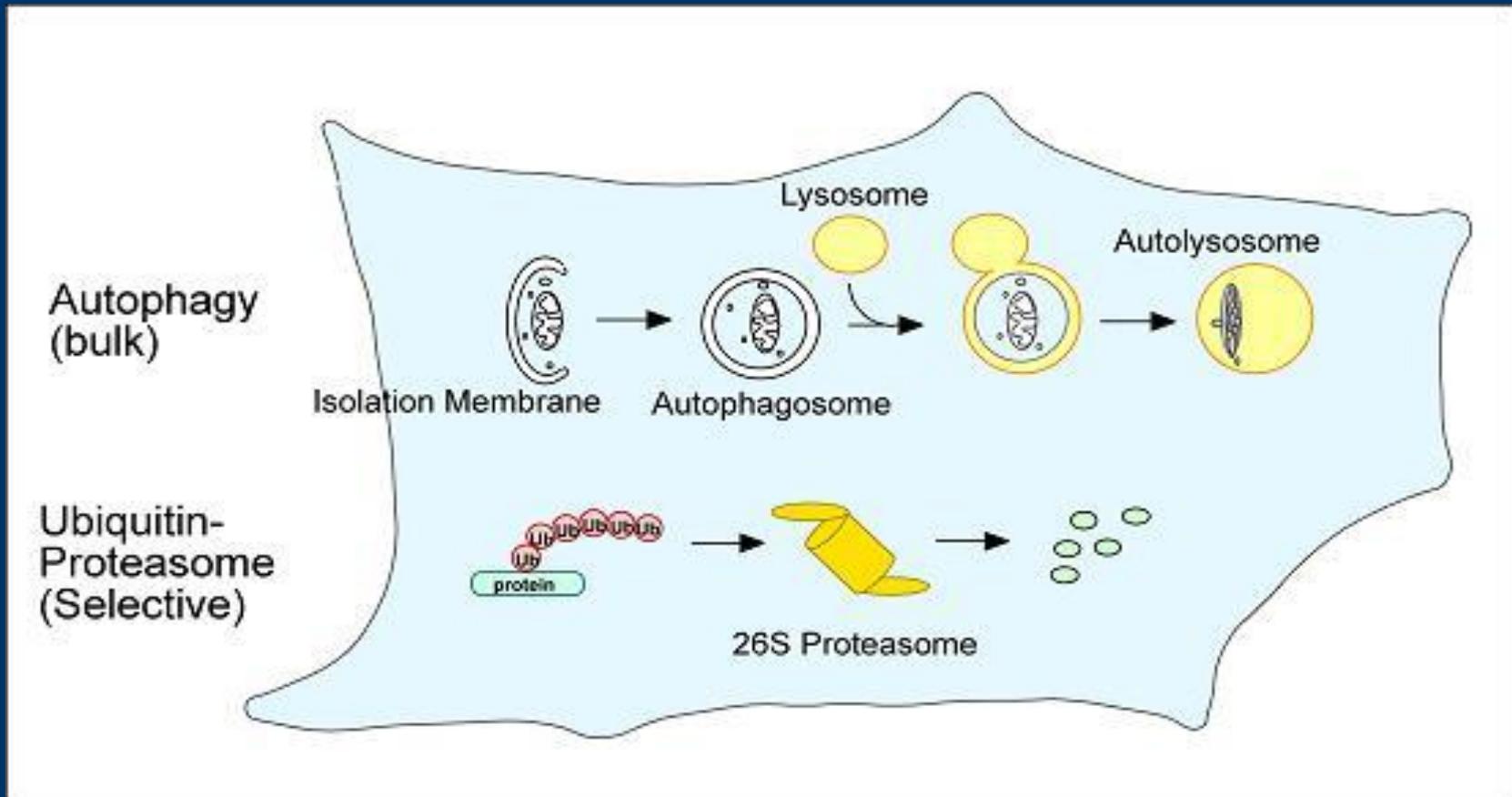
**PEST** белки, богатые **Pro (P)**, **Glu (E)**, **Ser (S)**, и **Thr (T)**, деградируют быстрее, чем другие белки.

## Деградация клеточных белков

Содержание белков в организме человека массой **70** кг и время полураспада отдельных белков

Белок или ткань	Содержание белка (кг)	Время полураспада (сут)
Коллаген (мышцы, кожа, кость)	<b>2,75-3.3</b>	<b>&gt;300</b>
Альбумины, глобулины (мышцы)	<b>1.7</b>	<b>30</b>
Гемоглобин	<b>0.9</b>	<b>120</b>
Белки плазмы	<b>0.4</b>	<b>10</b>
Печень, почки, легкие	<b>0.5</b>	<b>5</b>

## Системы внутриклеточной деградации белков



## **Системы внутриклеточной деградации белков**

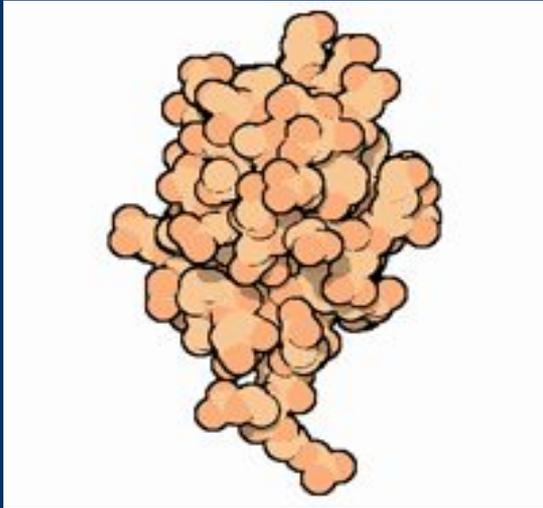
Главный путь деградации большинства клеточных белков у эукариот – убиквитинзависимая протеосомная система.

Протеасомы присутствуют в цитозоле и ядре клеток эукариот.

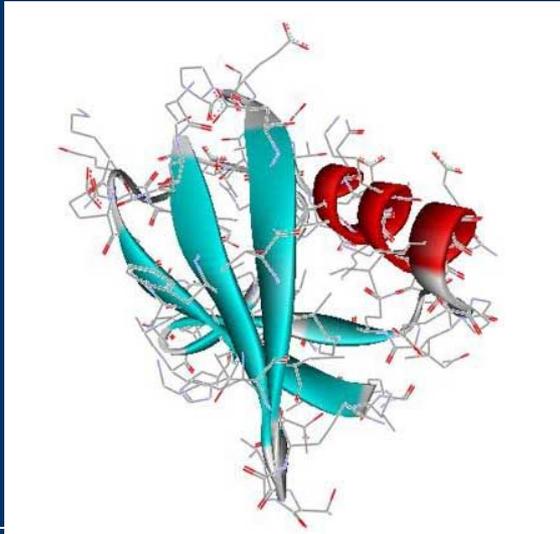
В каждой клетке находится несколько тысяч протеосом (**30 000**).

В протеосомах разрушается до **90%** всех клеточных коротко живущих белков (с регуляторными функциями) и **60-70%** долго живущих белков.

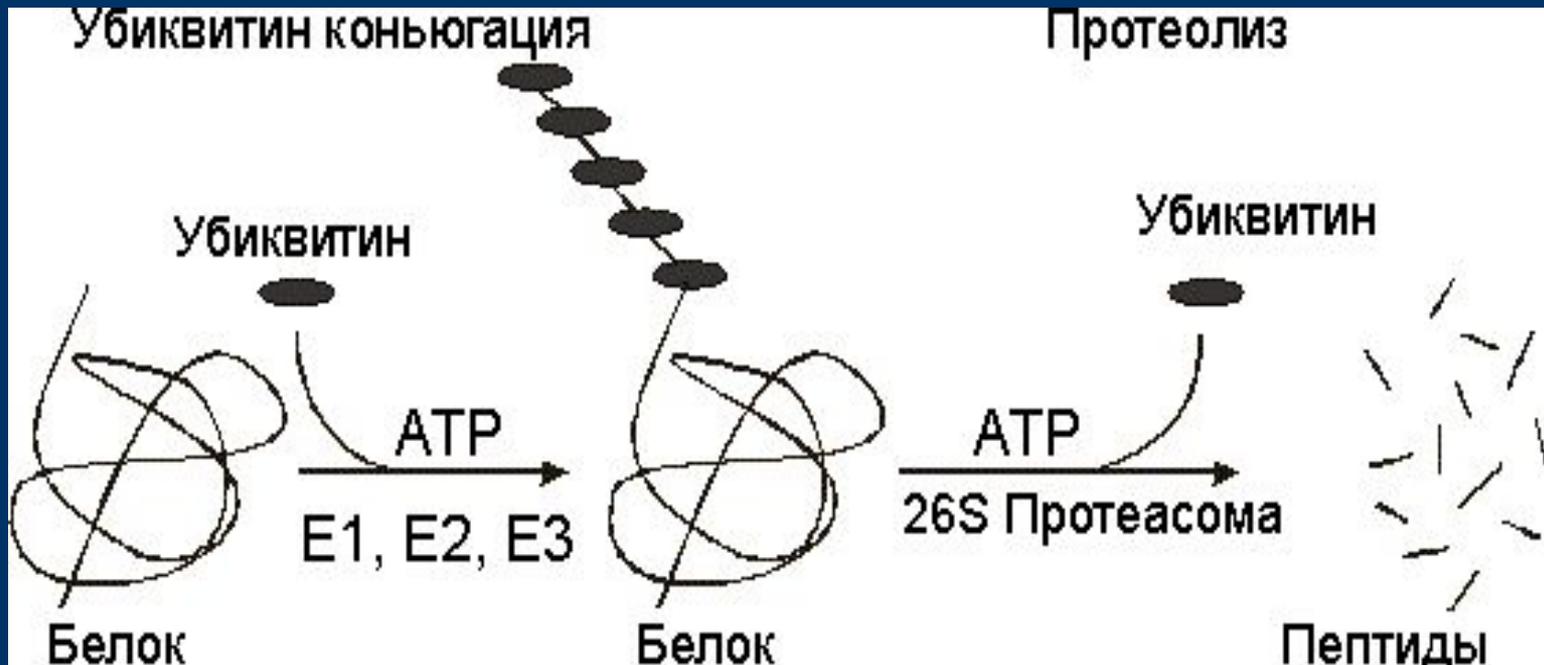
### УБИКВИТИН



УБИКВИТИН (от лат. **ubique** – вездесущий) – белок, присутствующий в клетках живого организма, открыт в **1970**-х американским биохимиком Г.Голдстейном. Молекулы этого белка собраны из **76** аминокислотных остатков, его молекулярная масса сравнительно невелика, немногим более **8000**, он стабилен и участие в различных биохимических процессах не приводит к изменению его структуры. Убиквитин содержит одну  $\alpha$ -спираль и четыре плоских  $\beta$ -структуры.



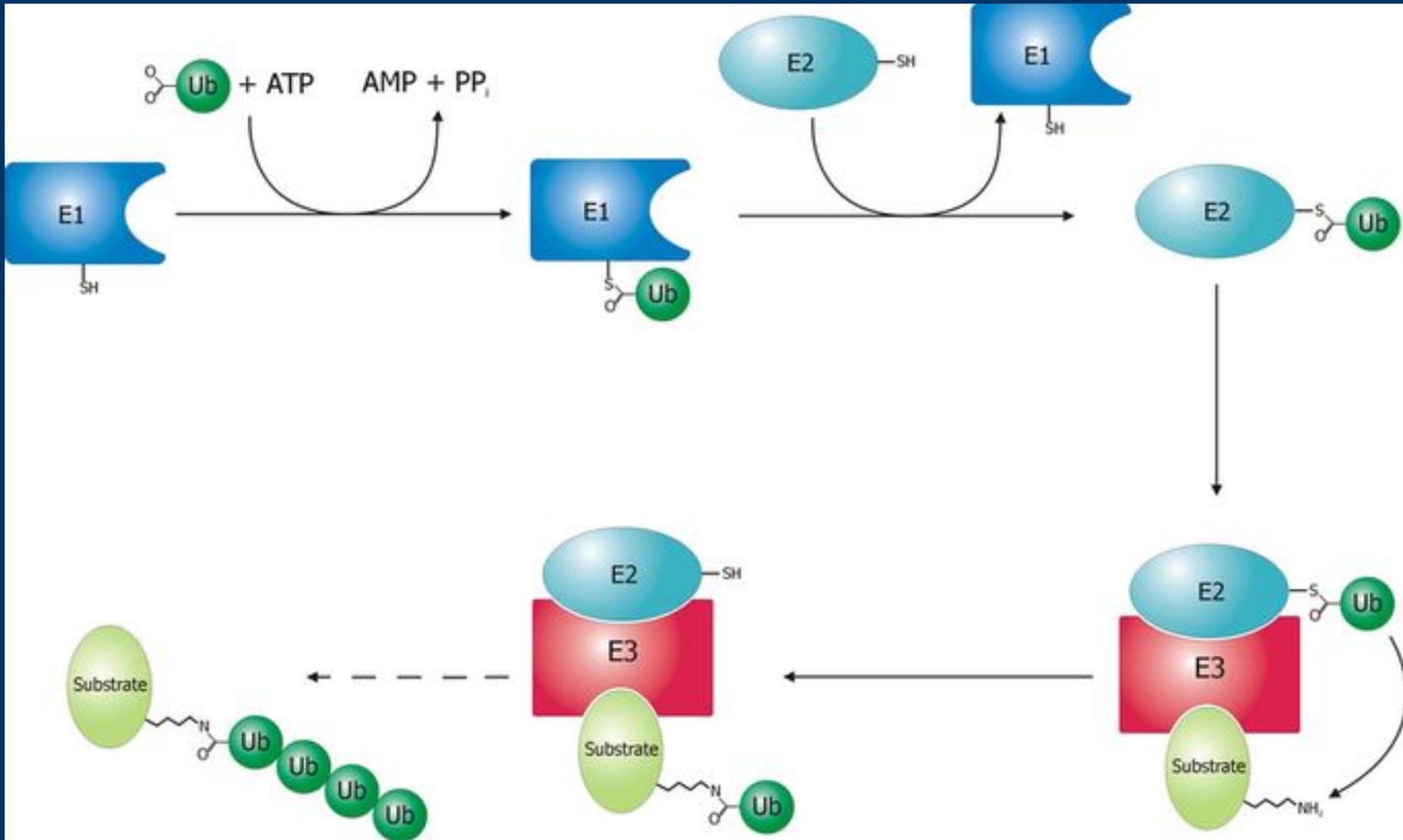
## Убиквитин-зависимая деградация белков



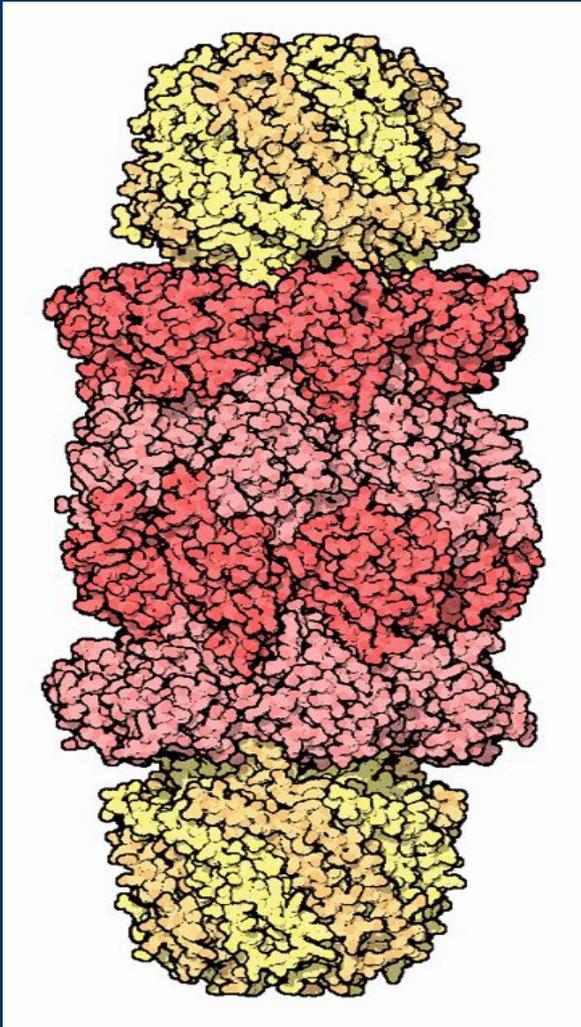
Деградация белка по убиквитиновому пути включает две основные стадии :  
**1.** Ковалентное присоединение к подлежащему деградации белку полиубиквитиновой цепи (убиквитиновая конъюгация). **2.** Деградация белка **26S** протеасомой.

# Деградация клеточных белков

## Убиквитиновая конъюгация



## Протеосома



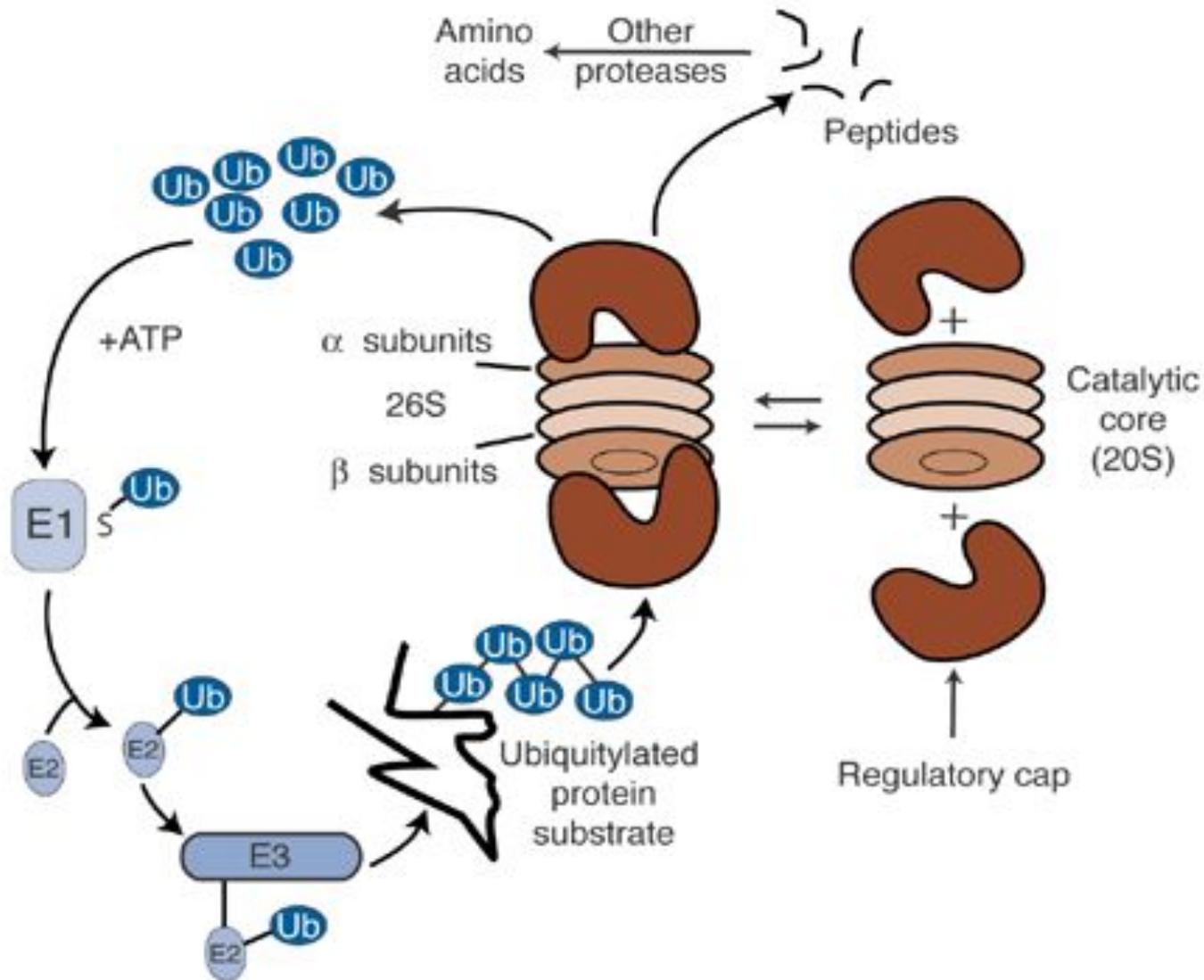
Протеосомы выделяют в виде индивидуальных частиц с коэффициентами седиментации **19S**, **20S** и **26S**. **20S** частица является коровой частью (обозначена розово-коричневым цветом) **26S** частицы, которая обладает протеолитической активностью.

**19S** - регуляторная субъединица. Молекулярная масса **26S** протеосомы - **2** мДа.

## Протеосома

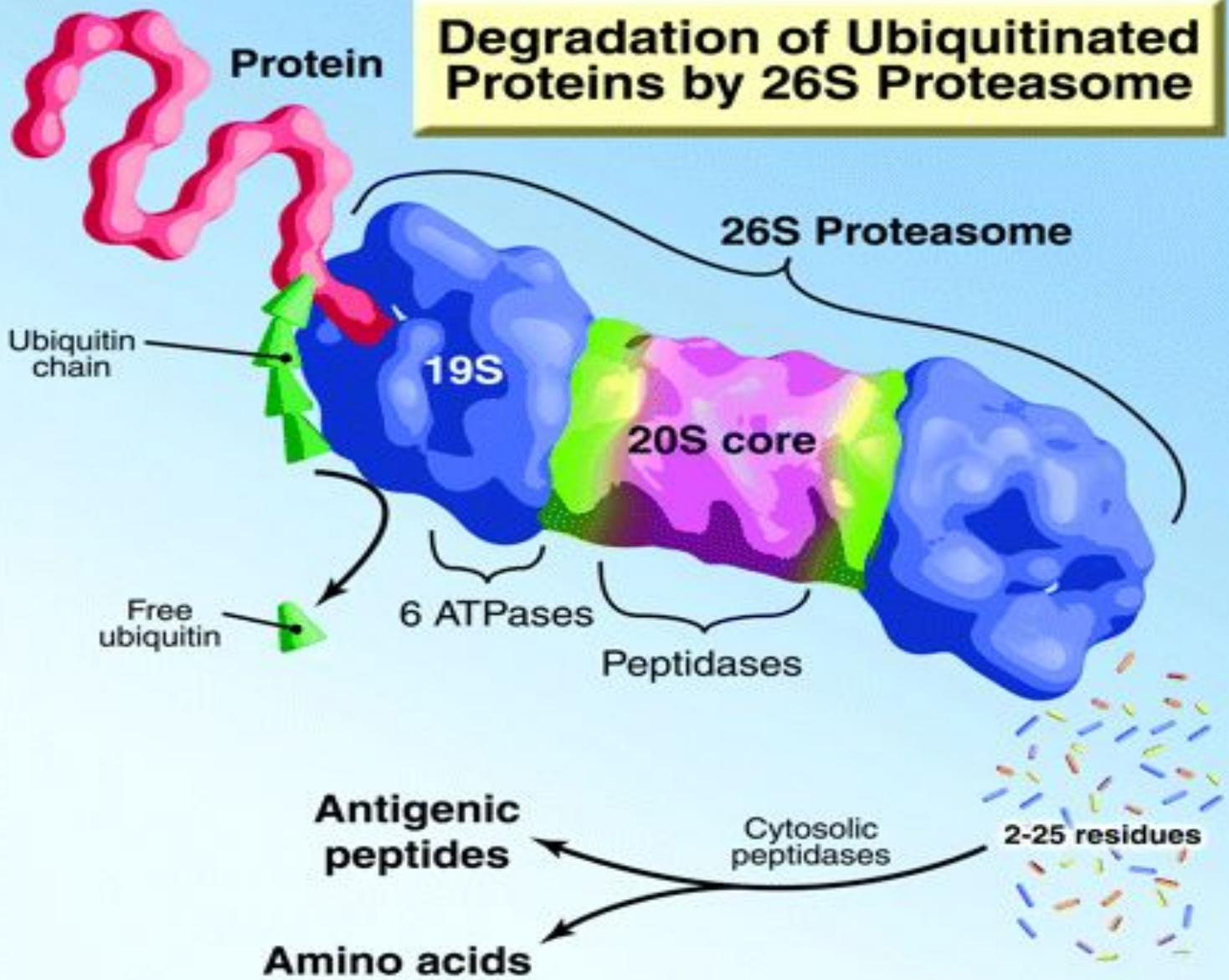
Протеосома представляет собой мультисубъединичный белковый комплекс, который является основным компонентом убиквитинзависимой системы деградации клеточных белков. Протеосомы присутствуют в клетках всех организмов от архебактерий до высших эукариот, что свидетельствует об их абсолютной значимости для нормальной жизнедеятельности клетки.

**26S** протеосома – АТР-зависимый протеолитический комплекс, обладающий Мол. массой около **2,5** МДа, - осуществляет специфическую деградацию белков, конъюгированных с убиквитином. **26S** протеосома имеет вид симметричной гантелеобразной структуры. Ее центральная часть образована **20S** каталитическим ядром (или **20 S** протеосомой), к которому с двух сторон присоединены регуляторные комплексы (или **19S** частицы).

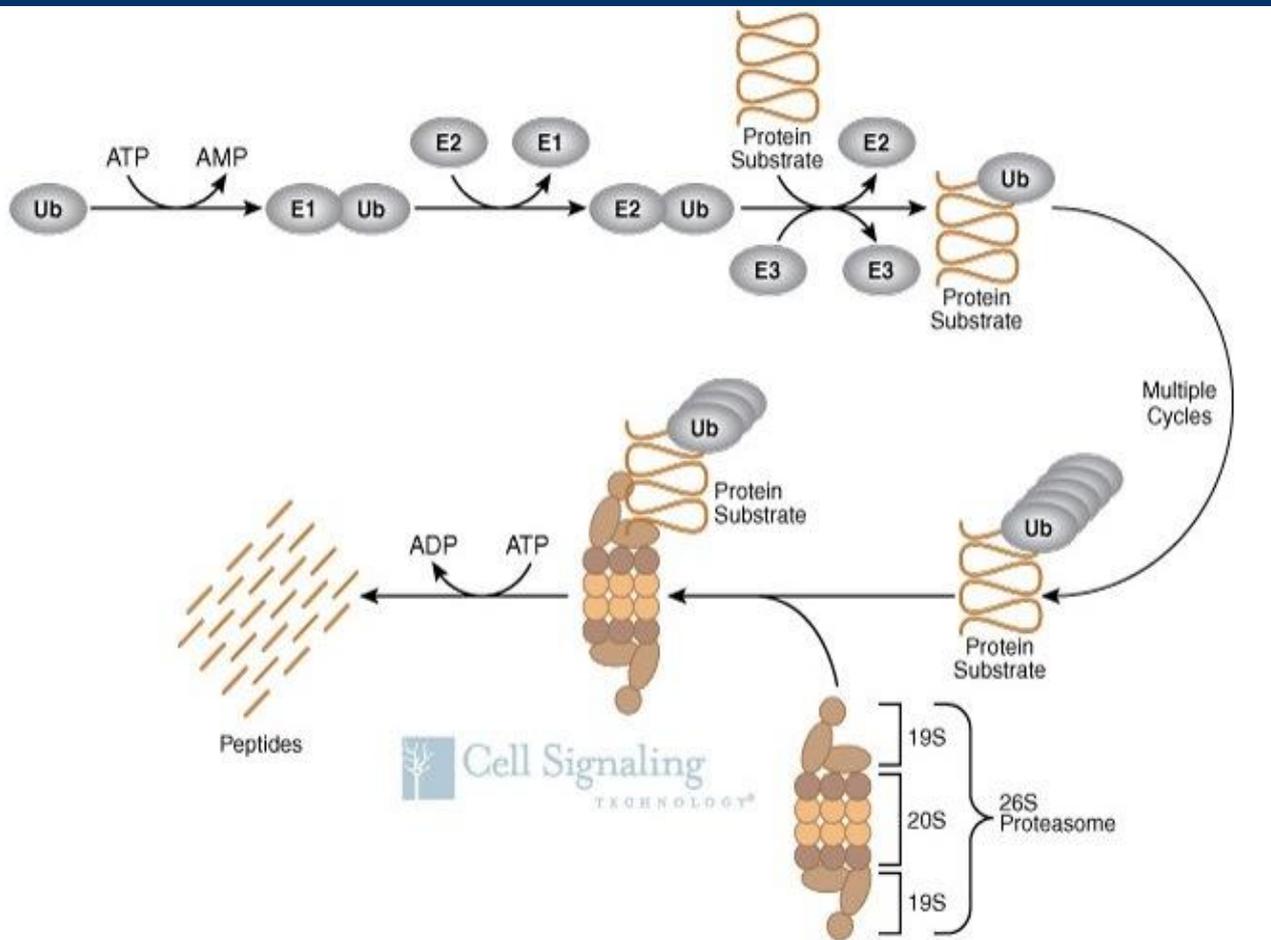


from Donohue, NIAAA, NIH

# Degradation of Ubiquitinated Proteins by 26S Proteasome



## Убиквитин-зависимая деградация белков

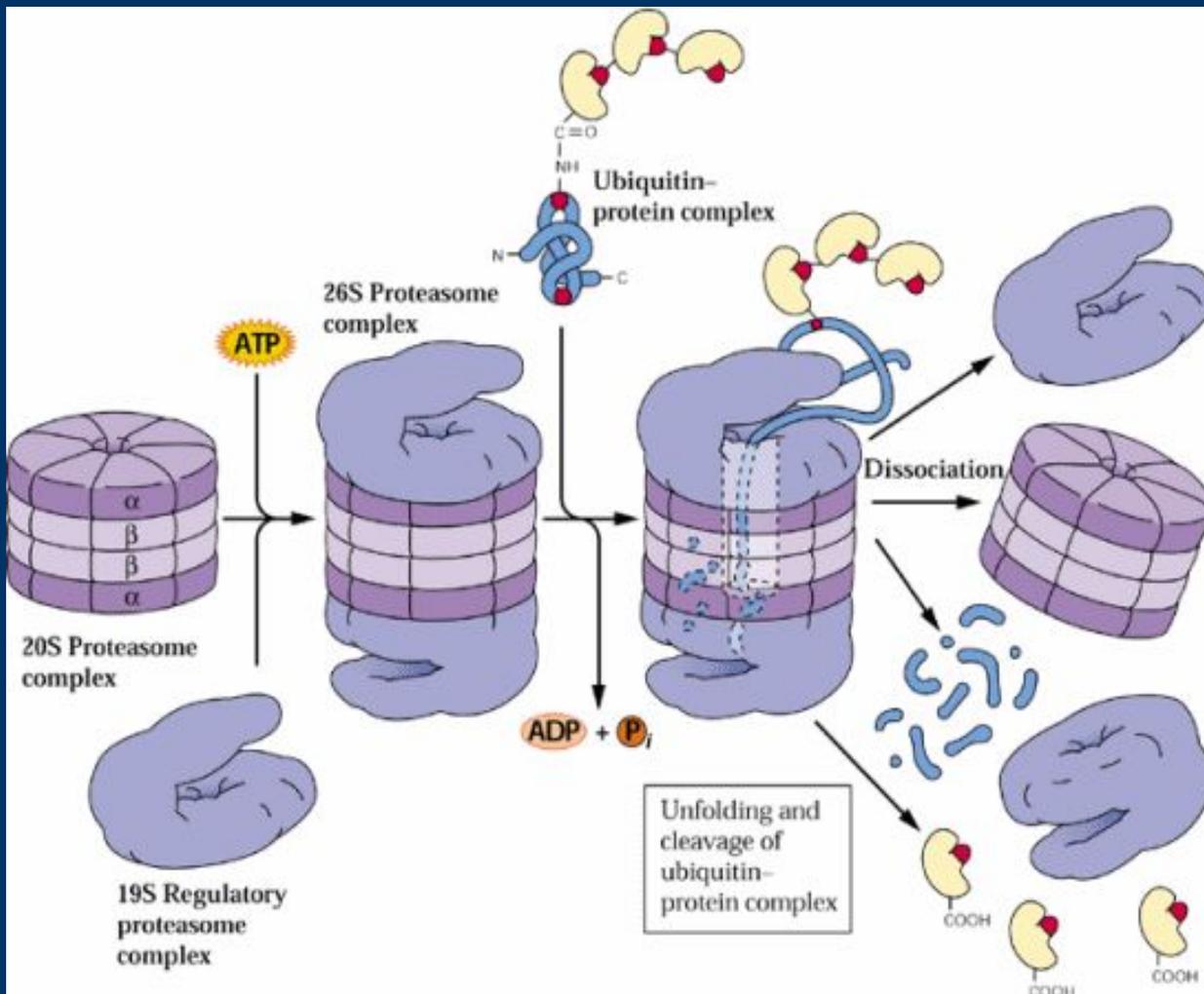


**E1** - убиквитин-активирующий фермент

**E2** - убиквитин-конъюгирующий фермент

**E3** - убиквитин-лигаза

## Деградация клеточных белков



Молекулы убиквитина присоединяются к деградируемой полипептидной цепи; Конъюгат далее взаимодействует с **26S** протеасомой. Полипептидная цепь, разворачиваясь, входит в центральную полость **20S** субчастицы, где последовательно подвергается протеолизу. При этом цепи убиквитина отделяются от деградируемого белка

## Лизосомальный путь

- Лизосомы - это главные пищеварительные органеллы клетки.
- Особенность лизосом низкий рН. Это свойство обеспечивается мембраносвязанной АТФ-зависимой протонной помпой, которая обменивает **Na** на протоны водорода. Оптимум рН для большинства этих гидролаз — около **5**.
- Наличие специфических ферментов (гидролаз).
- Гомогенное содержимое.
- Четко определяемая граница мембраны.
- Уникальность строения мембран.

Домашнее задание (повторить)

- 1.** Аминокислотный состав белков.
- 2.** Уровни структурной организации белковых молекул.
- 3.** Физико-химические свойства аминокислот и белков.

Самостоятельная работа

- 1.** Механизмы транспорта продуктов расщепления белков из кишечника к тканям.
- 2.** Лизосомальный путь деградации клеточных белков.