

**Основы биохимии.  
Лекция №2**

**Аминокислоты.  
Пептиды.  
Белки.**

# Аминокислоты, пептиды, белки

Белки – природные высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков  $\alpha$ -аминокарбоновых кислот, связанных амидной (пептидной) связью.

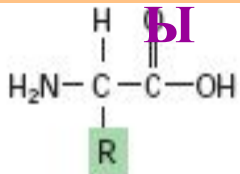
- Характерны неразветвленные пептидные связи
- Высокая молекулярная масса (кол-во аминокислотных остатков в белках 50 – 1000 )
- Число аминокислот = n                      Возможное число пептидов = n!

2	2
4	24
10	3 628 800
20	$2 \cdot 10^{18}$

Всего в природе насчитывается несколько млрд различных белков

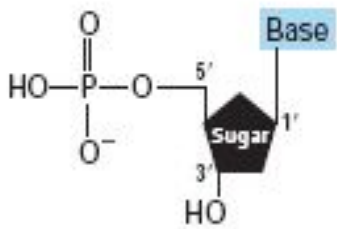
# Образование биомолекул

## МОНОМЕРЫ

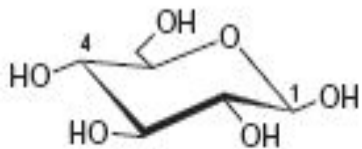


## Аминокислоты

а

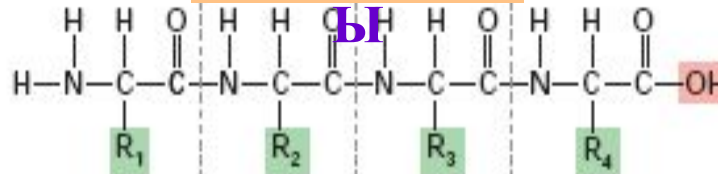


## Нуклеотиды

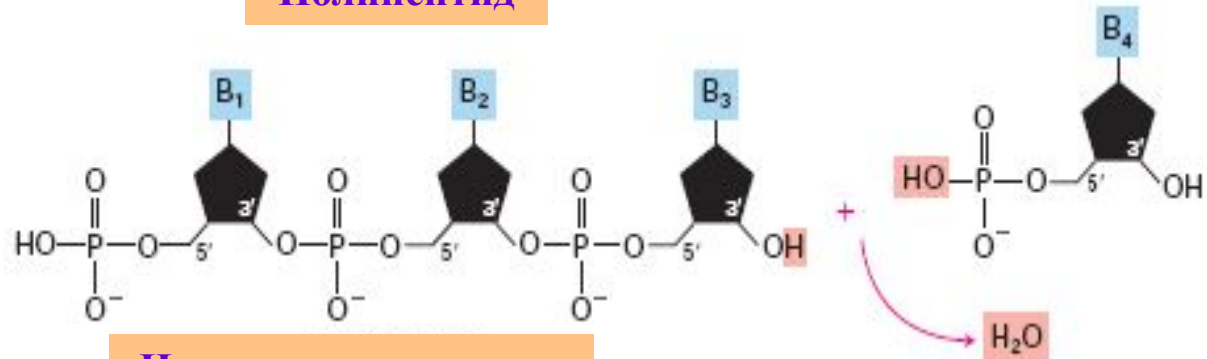


## Моносахариды

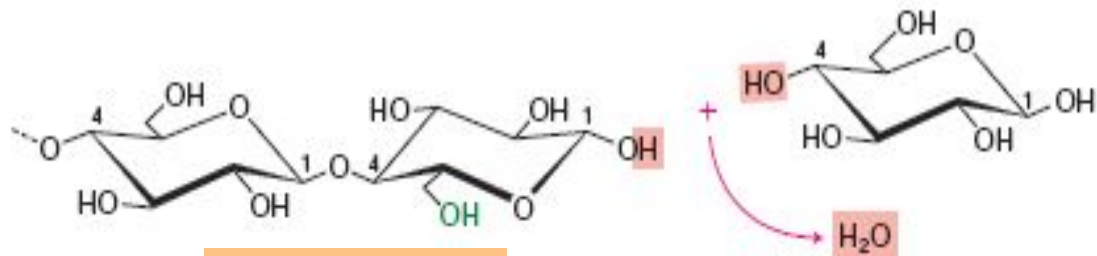
## ПОЛИМЕРЫ



## Полипептиды

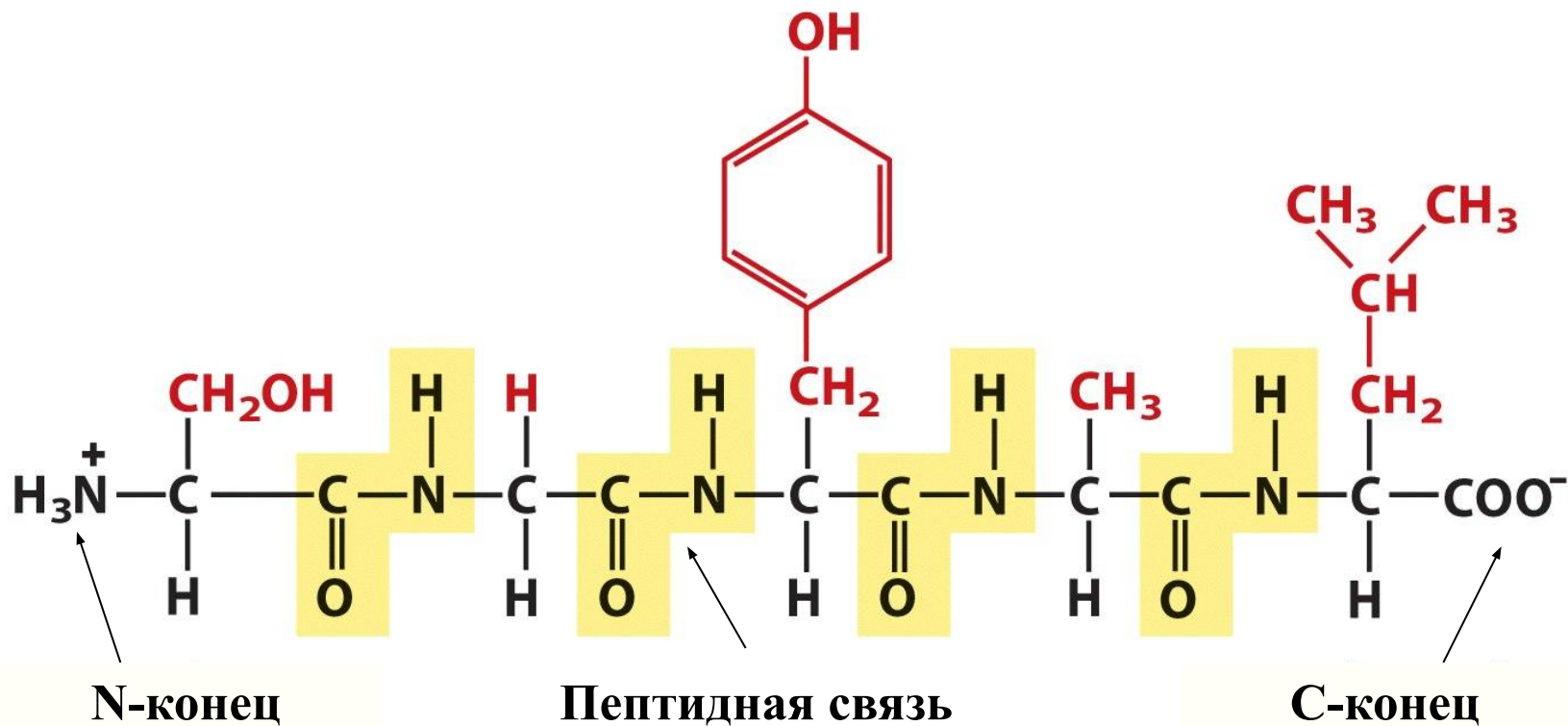


## Нуклеиновая кислота



## Полисахариды

# Строение белков



# Белки и пептиды

**TABLE 3-2** Molecular Data on Some Proteins

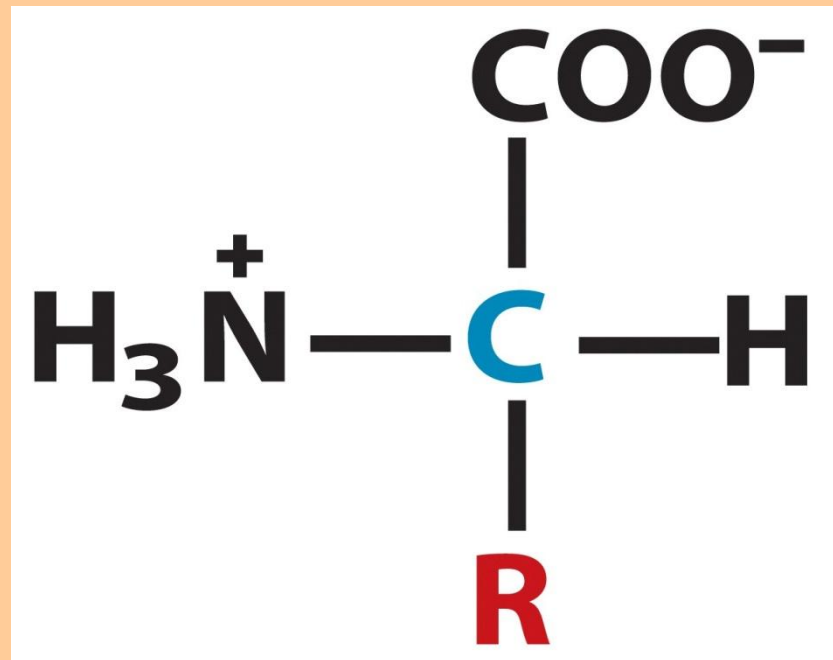
	<i>Molecular weight</i>	<i>Number of residues</i>	<i>Number of polypeptide chains</i>
Cytochrome c (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (chicken egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase ( <i>E. coli</i> )	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase ( <i>E. coli</i> )	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

# ПРОТЕОМ – полный набор белков, который данный организм может синтезировать




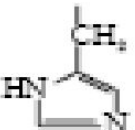
Функция белков	Доля от суммы белков протеома
Метаболизм	17%
Энергетика клетки	3%
Репликация, рост и деление клетки	14%
Транскрипция	10%
Трансляция	5%
Структурные белки и др.	49%
Внутриклеточный транспорт	2%

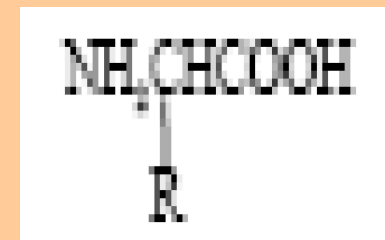
# Структура аминокислот

- $\alpha$  - аминокарбоновые кислоты
- R - заместители различной природы
- 20 стандартных аминокислот



# Структура аминокислот

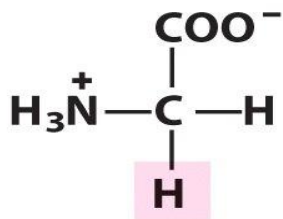
R	
Аминокислота	R
Глицин	-H
Аланин	-CH <sub>3</sub>
Валин	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Лейцин	-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Изолейцин	-CH(CH <sub>3</sub> )(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Фенилаланин	-CH <sub>2</sub> - 
Тирозин	-CH <sub>2</sub> - 
Триптофан	
Серин	-CH <sub>2</sub> OH
Треонин	-CH(OH)CH <sub>3</sub>
Аспарагиновая кислота	-CH <sub>2</sub> COOH
Глутаминовая кислота	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
Аспарагин	-CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
Глутамин	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
Лизин	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
Аргинин	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH-C(=NH)-NH <sub>2</sub>
Пептидин	
Метионин	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
Цистеин	-CH <sub>2</sub> SH



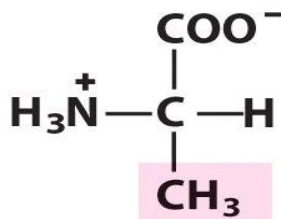


# Стандартные аминокислоты (20 а.к.)

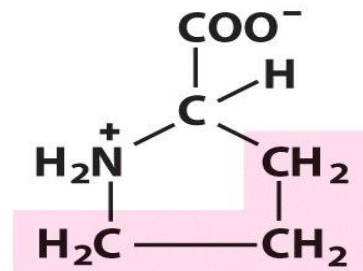
## Неполярные алифатические R группы



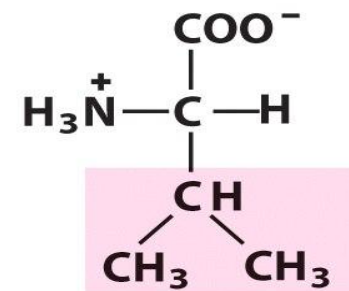
Глицин  
(Gly)



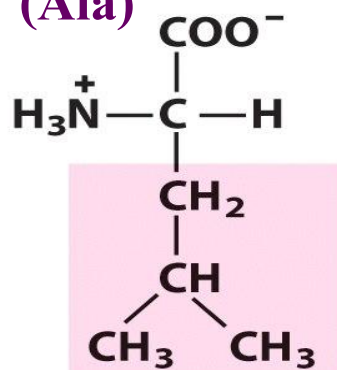
Аланин  
(Ala)



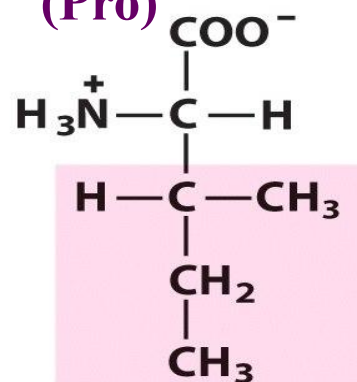
Пролин  
(Pro)



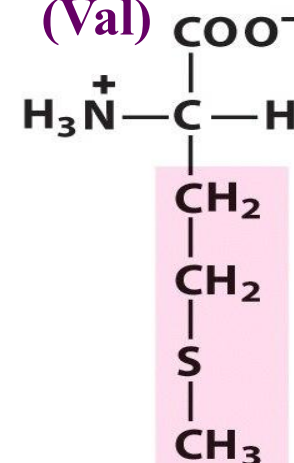
Валин  
(Val)



Лейцин (Leu)



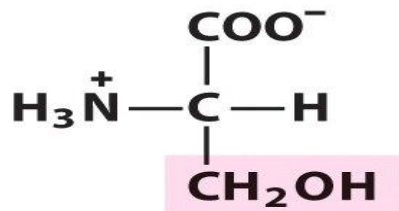
Изолейцин (Ile)



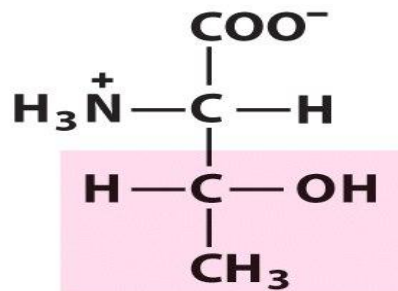
Метионин  
(Met)

# Стандартные аминокислоты (20 а.к.)

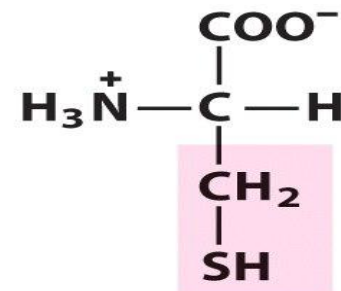
## Полярные незаряженные R группы



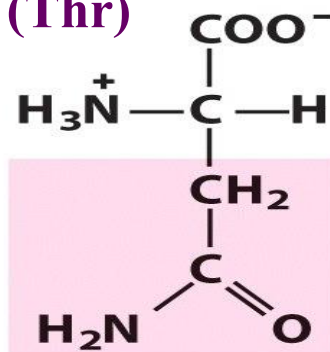
Серин  
(Ser)



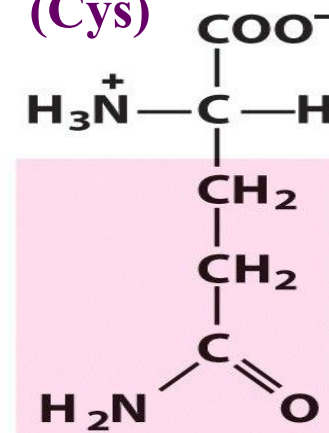
Треонин  
(Thr)



Цистеин  
(Cys)



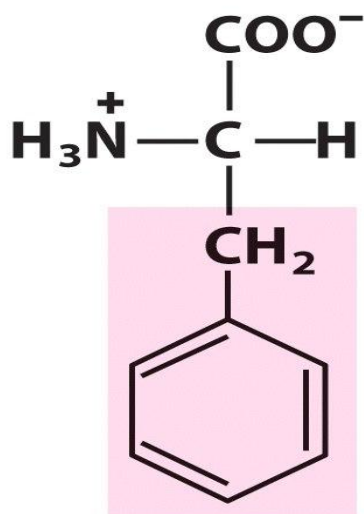
Аспарагин (Asn)



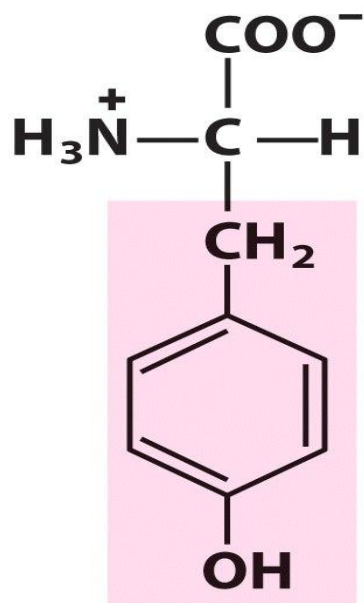
Глутамин  
(Gln)

# Стандартные аминокислоты (20 а.к.)

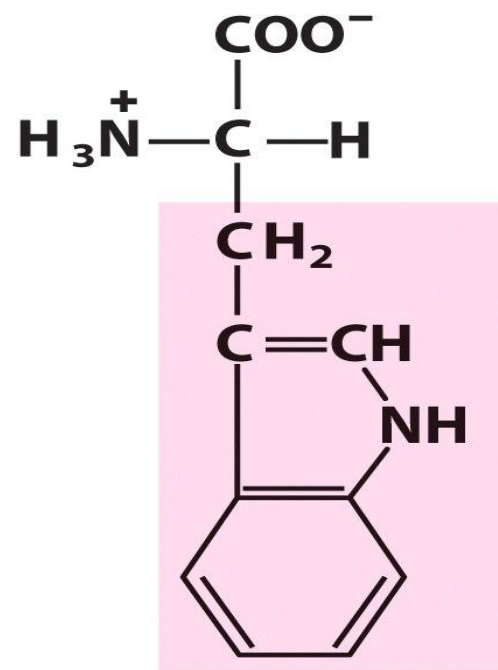
## Ароматические R группы



Фенилаланин (Phe)



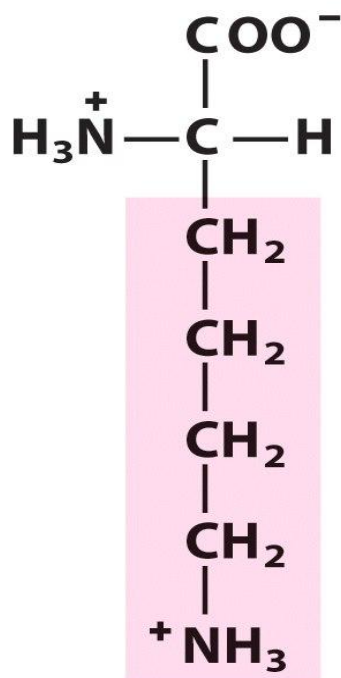
Тирозин  
(Tyr)



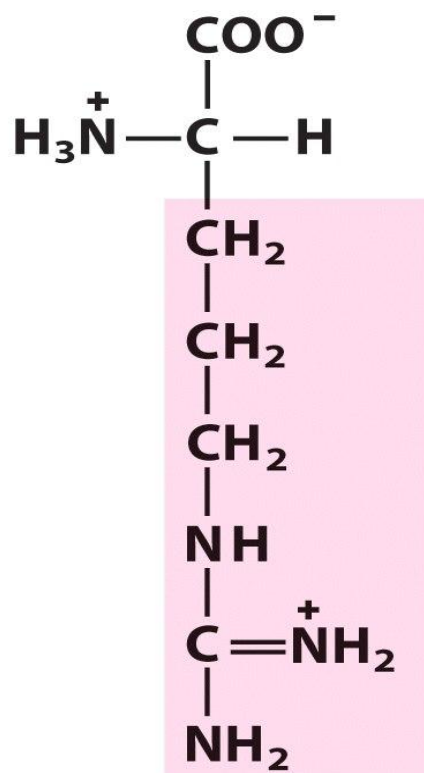
Триптофан (Trp)

# Стандартные аминокислоты (20 а.к.)

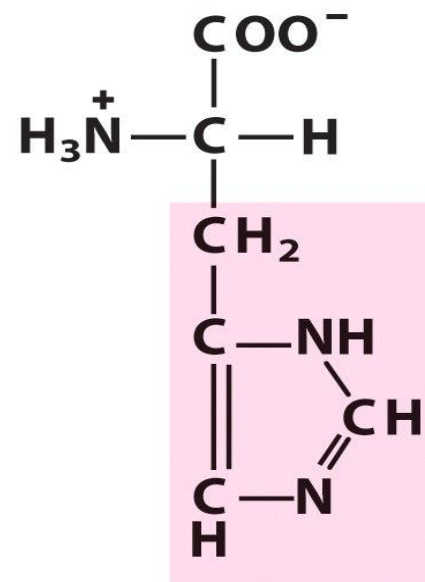
## Положительно заряженные R группы



Лизин (Lys)



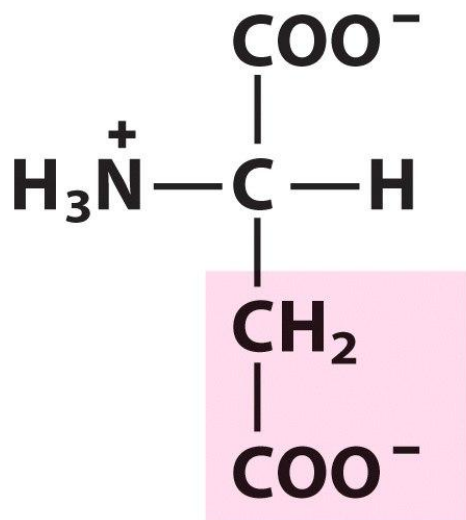
Аргинин  
(Arg)



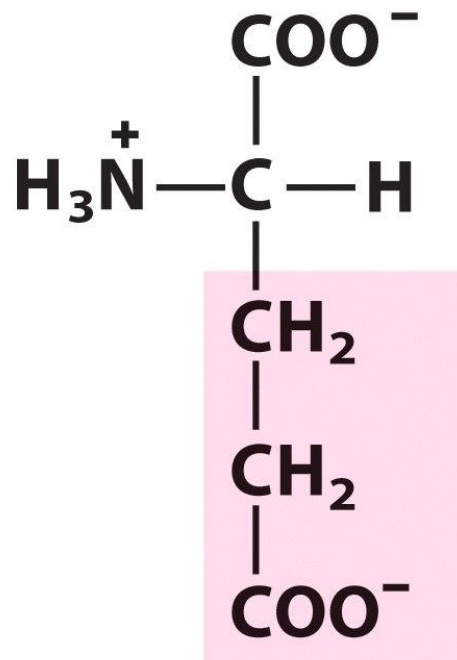
Гистидин (His)

# Стандартные аминокислоты (20 а.к.)

## Отрицательно заряженные R группы

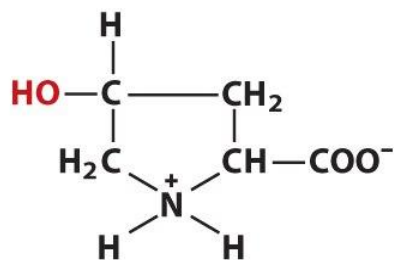


Аспаргат  
(Asp)



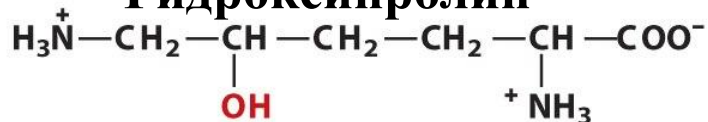
Глутамат (Glu)

# Нестандартные аминокислоты



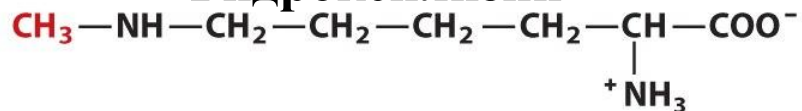
4-

Гидроксипролин

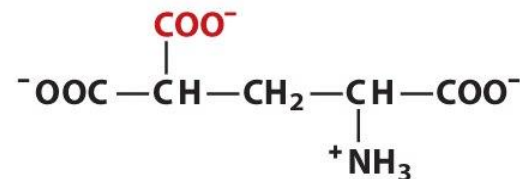


5-

Гидроксилизин

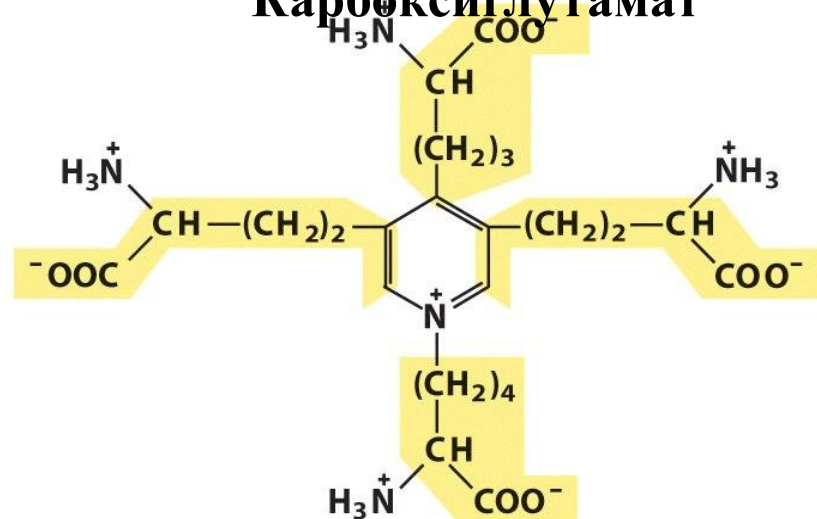


6-N-Метиллизин

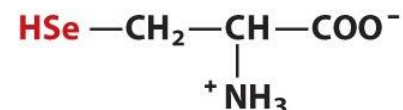


γ-

Карбоксиглутамат



Десмозин



Селеноцисте

ИН

# Открытие аминокислот в составе белков

Аминокислота	Год	Источник	Кто впервые выделил
• Глицин	1820	Желатина	А. Браконно
• Лейцин	1820	Мышечные волокна	А. Браконно
• Тирозин	1848	Казеин	Ф. Бопп
• Серии	1865	Шелк	Э. Крамер
• Глутаминовая к-та	1866	Растительные белки	Г. Риттхаузен
• Аспарагиновая к-та	1868	Ростки спаржи	Г. Риттхаузен
• Фенилаланин	1881	Ростки люпина	Э. Шульце, И, Барбьери
• Аланин	1888	Фиброин шелка	Т. Вейль
• Лизин	1859	Казеин	Э. Дрексель
• Аргинин	1895	Вещество рога	С. Гедин
• Гистидин	1896	Гистоны	А. Кессель
• Цистин	1899	Вещество рога	К. Мёрнер
• Валин	1901	Казеин	Э. Фишер
• Пролин	1901	Казеин	Э. Фишер
• Гидроксипролин	1902	Желатина	Э. Фишер
• Триптофань	1902	Казеин	Ф.Гопкинс, Д, Кол
• Изолейцин	1904	Фибрин	Ф.Эрлих
• Метионин	1922	Казеин	Д. Мёллер
• Треонин	1925	Белки овса	С. Шрайвер и др.
• Гидроксизин	1925	Белки рыб	С. Шрайвер и др.

# Классификация аминокислот

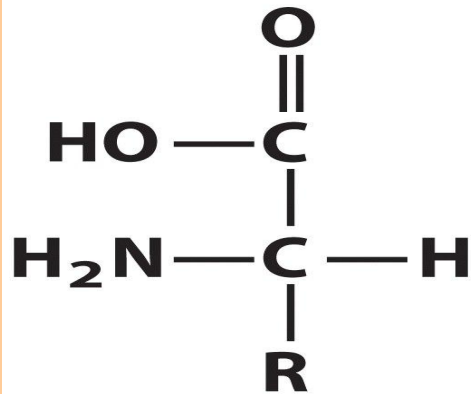
1. По химической структуре
2. По отношению к воде (гидрофильные и гидрофобные)
3. По кислотно-основным свойствам:
  - Кислые а.к. Asp, Glu (2)
  - Основные а.к. Lys, Arg, His (3)
  - Нейтральные а.к. (15)
4. По пищевой ценности:
  - Заменимые а.к. (10) (синтезируются в организме)
  - Незаменимые а.к. (10) (должны поступать извне)  
Val, Leu, Ile, Thr, Met, Phe, Trp, Lys, Arg, His



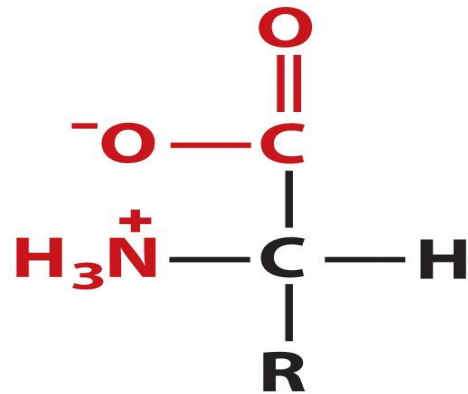
# **Физические свойства аминокислот**

- **Белые кристаллические вещества**
- **Имеют высокие и нехарактерные  $T_{пл.}$ , разлагаются при  $T > 200^{\circ}C$**
- **Растворимы в воде, растворах кислот и щелочей**
- **Не растворяются в неполярных растворителях**
- **Обладают либо сладким, либо горьким вкусом**

# Кислотно-основные свойства аминокислот



Нейтральная  
форма



Цвиттерионная  
форма

- Проявляют амфотерные свойства
- В водных растворах при pH 7 полностью диссоциированы - существуют в виде биполярных ионов (цвиттер-ионов)
- Ионизация а.к. зависит от pH раствора – для каждой а.к. имеется значение pHi (изоэлектрическая точка), при котором а.к. нейтральна:

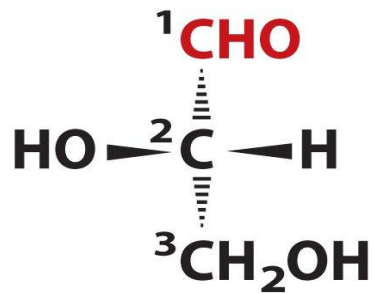
Нейтральные а.к. pHi = 5,0 - 6,3

Кислые а.к. pHi = 2,8 - 3,2

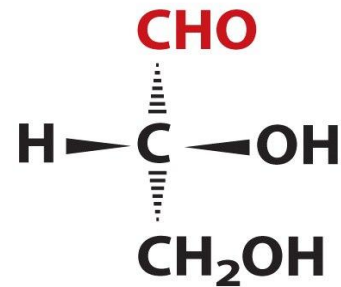
Основные а.к. pHi = 7,6 - 10,8

# Оптические свойства а.к.

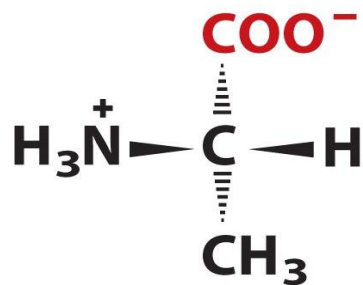
Все стандартные а.к. (кроме Gly) обладают оптической активностью и относятся к *L*-ряду (число изомеров  $2^1$  или  $2^2$  (Thr, Ile))



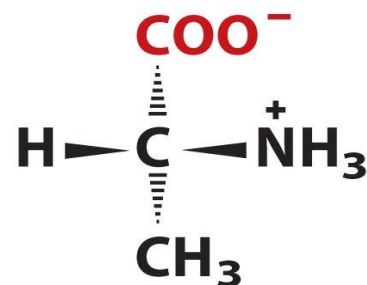
L-Глицеральдегид



D-Глицеральдегид

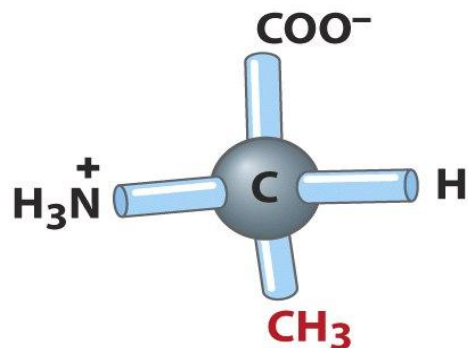


L-Аланин

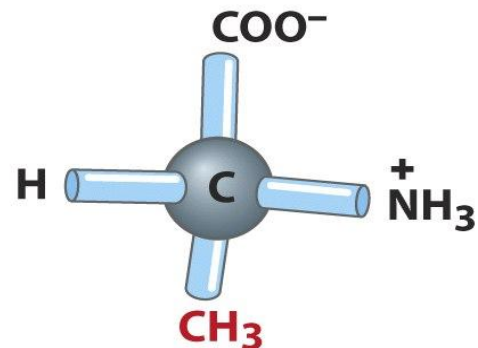


D-Аланин

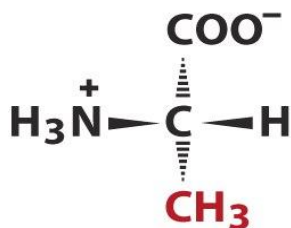
# Оптические свойства а.к.



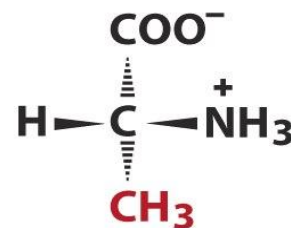
(a) L-Аланин



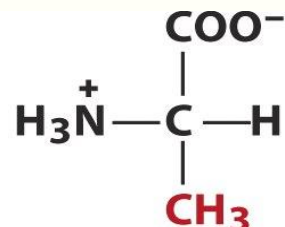
D-Аланин



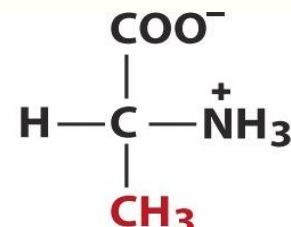
(b) L-Аланин



D-Аланин

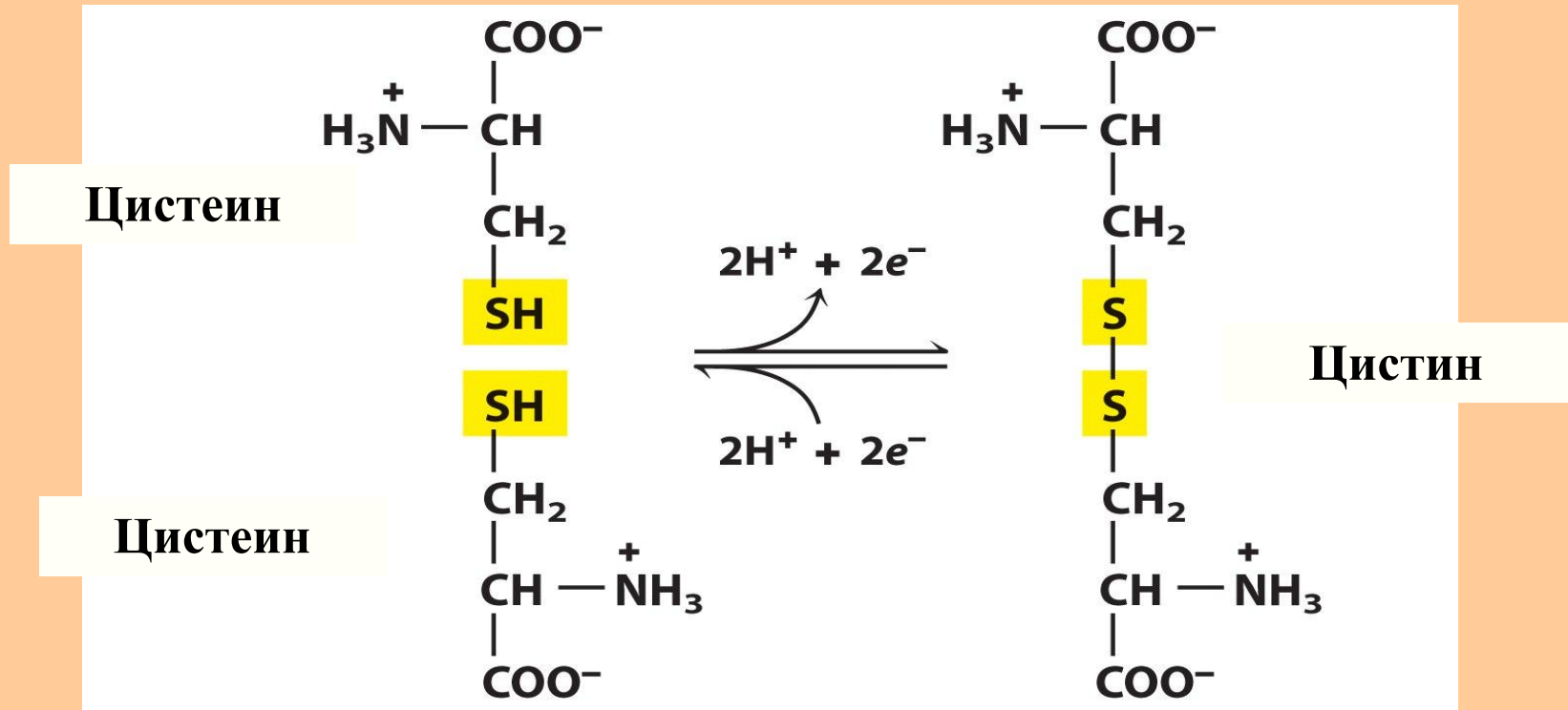


(c) L-Аланин



D-Аланин

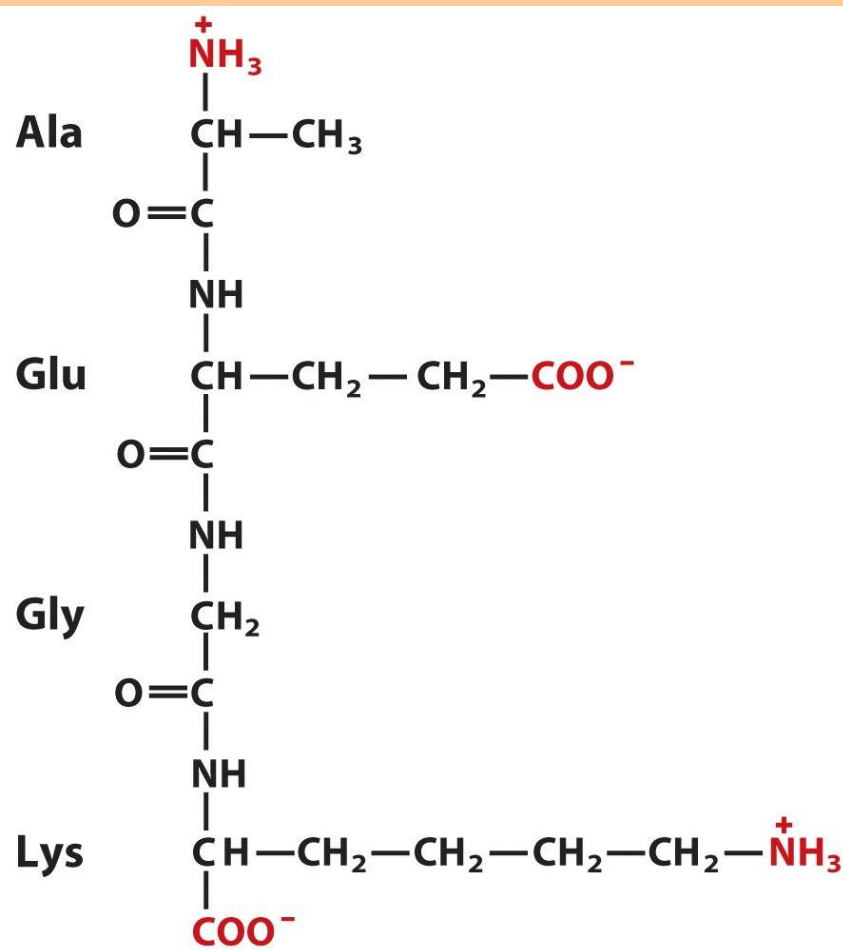
# Особенности Cys



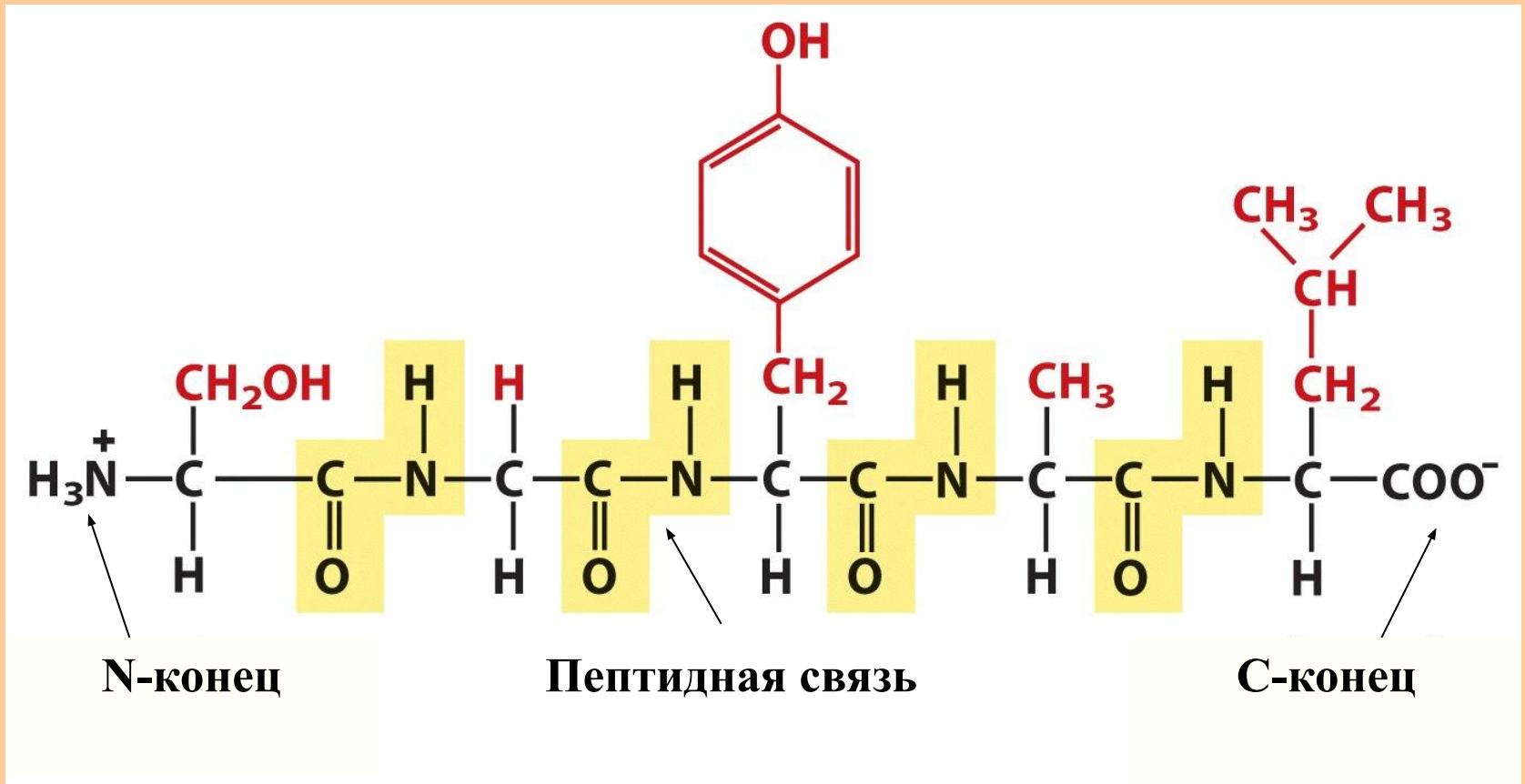
В составе белка остатки Cys подвергаются самопроизвольному окислению с образованием дисульфидных мостиков, которые ковалентно связывают участки полипептидных цепей

# Пептидная связь

Основной структурной единицей белков и пептидов является пептидная (амидная) связь C-N



# Строение тетрапептида из 4-х а.к.



Серил-глицил-тирозинил-аланил-лейцин  
Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu

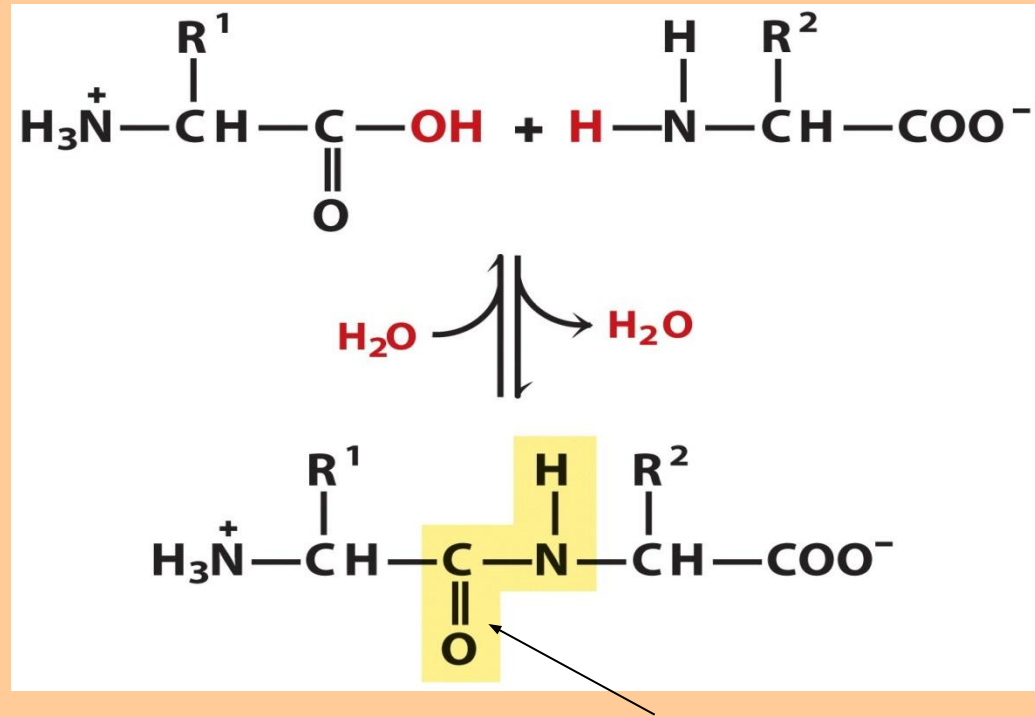
# Образование пептидной связи

Пептидная связь C-N 0,132 нм

Одинарная связь C-N 0,149 нм

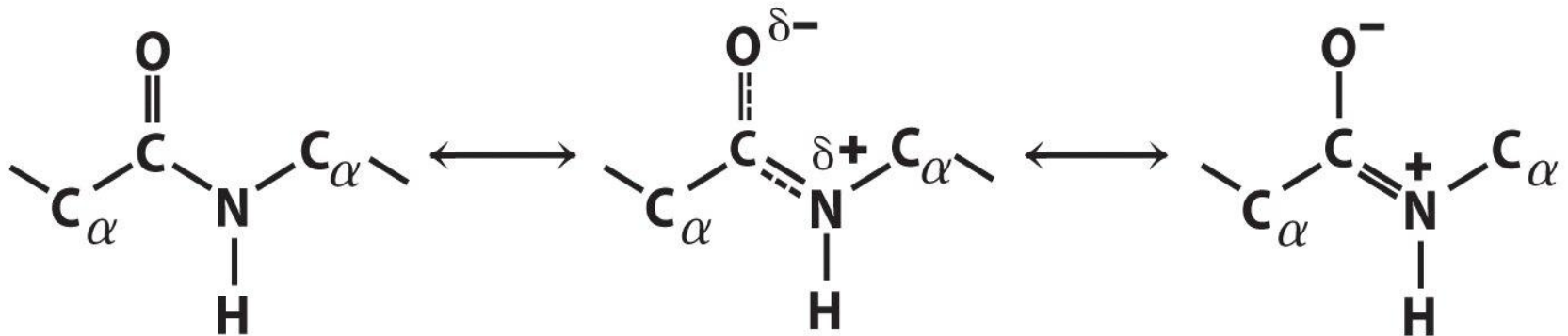
Двойная связь C=N 0,127 нм

Пептидная связь имеет характер “частично двойной” связи, является практически плоской





# Строение пептидной связи



Особую природу пептидной связи C-N объясняют существованием 2 резонансных форм (Л. Полинг, Р. Кори).

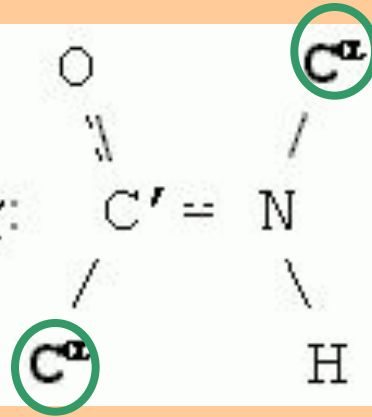
Связь C-N является частично кратной из-за взаимодействия неподеленной пары электронов атома N с π-электронами карбонильной группы C=O (p-π сопряжение).

Это приводит к затрудненному свободному вращению вокруг связи C-N (барьер вращения 63-84 кДж/моль)

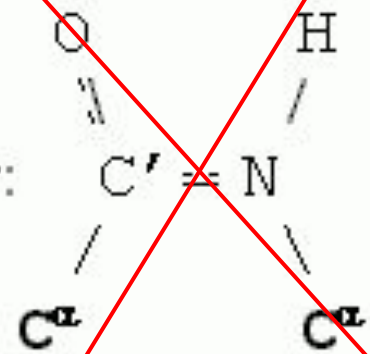
# цис-транс-Изомерия пептидной группы

Все, кроме Pro:

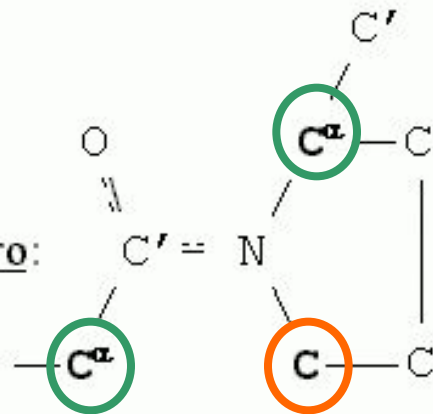
trans:



cis:

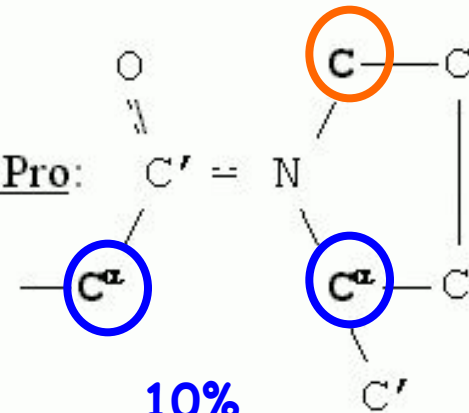


trans Pro:



90%

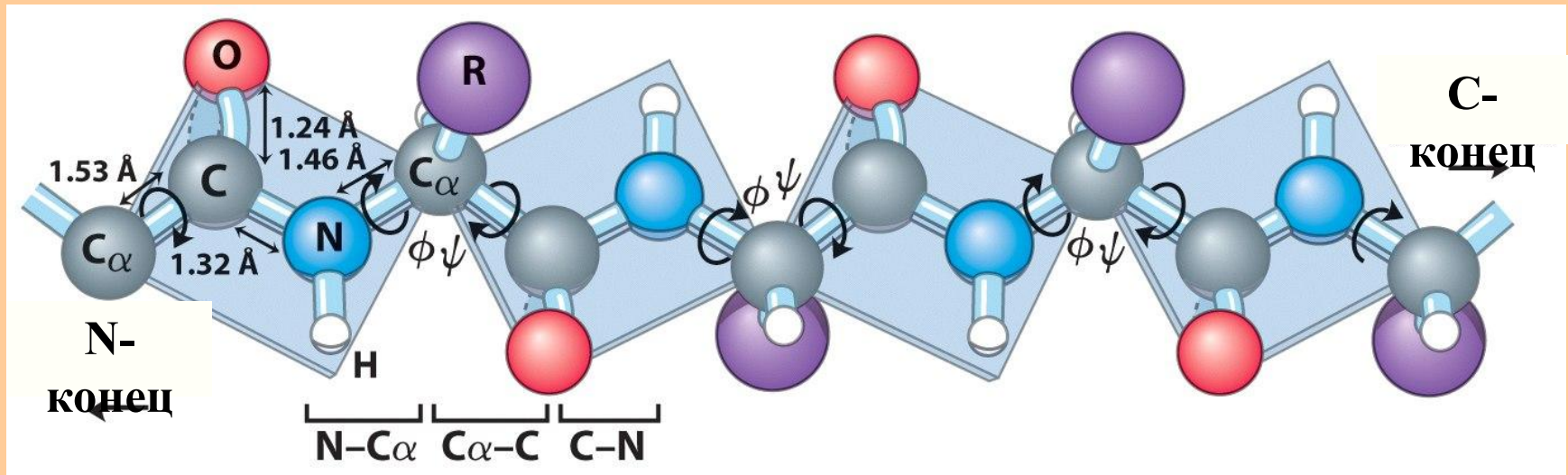
cis Pro:



10%

# Строение пептидной связи

Пептидная связь в белках существует в *транс*-форме !!!



**Исключения:** пептидная связь может существовать в плоской *цис*-форме:

- В напряженных циклических системах (циклопептиды, производные Pro) и
- При большом размере заместителей у атома N (алкилированные производные а.к.)

**Физические методы:** ИК- и ЯМР-спектроскопия

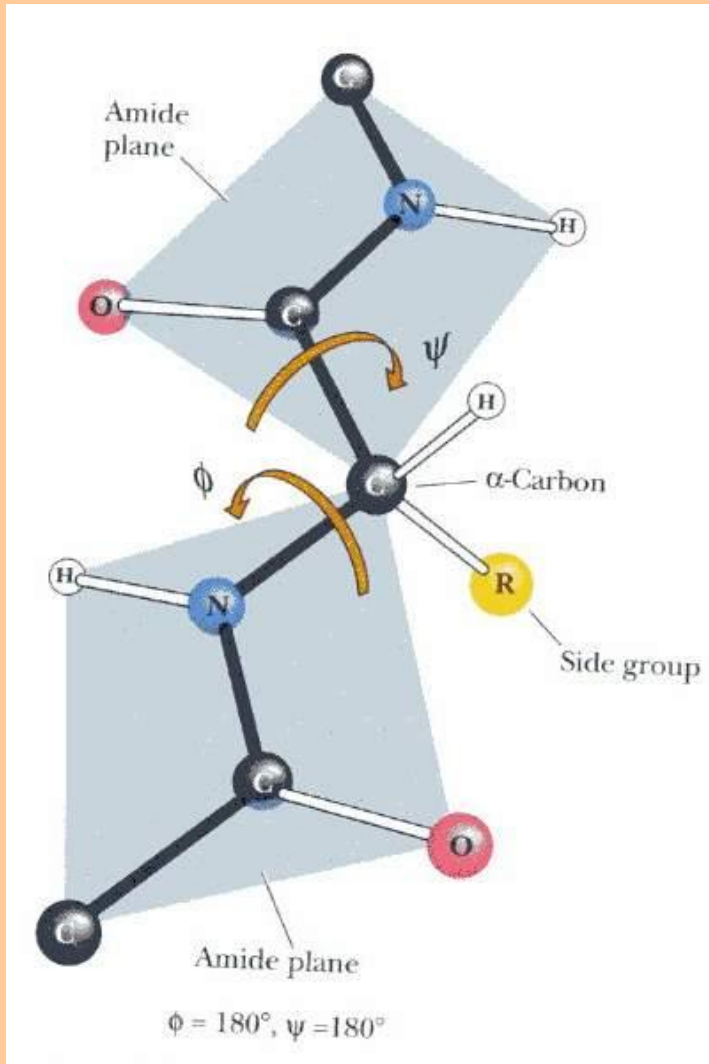
# Конфигурации и конформации молекул

## Определения:

**Конформации молекулы** – это такие варианты расположения в пространстве атомов, которые могут быть получены один из другого вращением вокруг одинарных ковалентных связей. *(Например,  $\alpha$ -спираль и коллагеновая спираль – различные конформации полипептидной цепи).*

**Конфигурации** – это варианты взаимного расположения атомов молекулы, переходы между которыми требуют разрыва ковалентных связей. *(Например, D- и L-изомеры а.к.- различные конфигурации а.к.)*

# Вращение валентных связей в полипептидной цепи

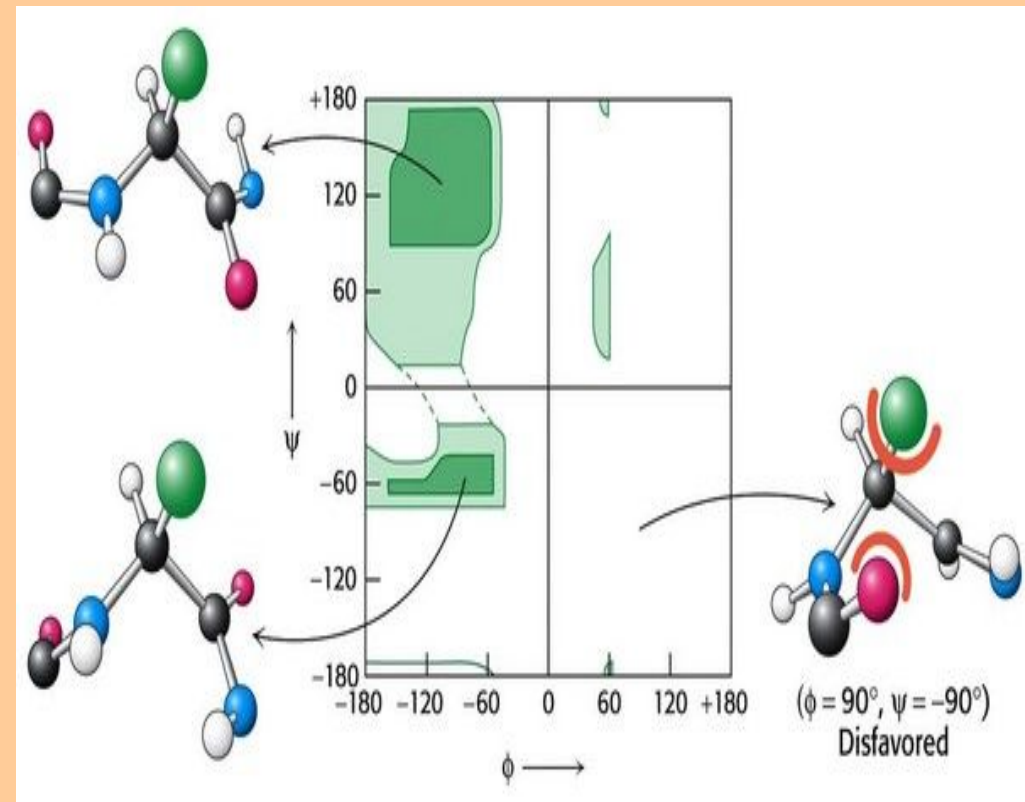
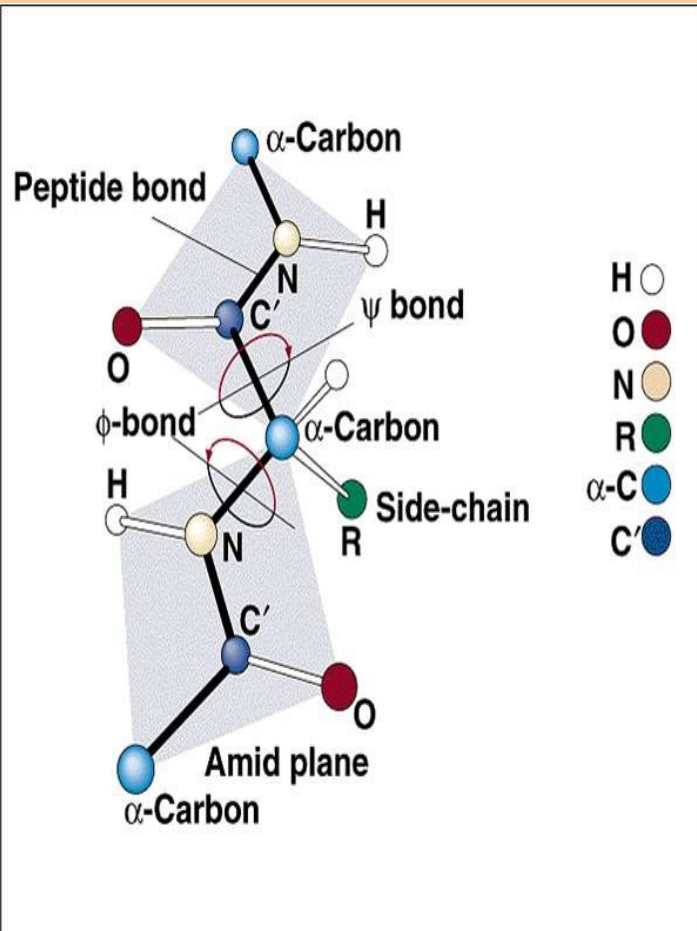


*Двугранные углы между связями:*  
 $\phi$  – угол вращения вокруг связи N-C $\alpha$   
 $\psi$  – угол вращения вокруг связи C $\alpha$ -C

Значения двугранных углов между связями N-C $\alpha$  и C $\alpha$ -C **не могут быть произвольными!!!**  
Некоторые пары значений ( $\phi, \psi$ ) запрещены ввиду стерических ограничений.

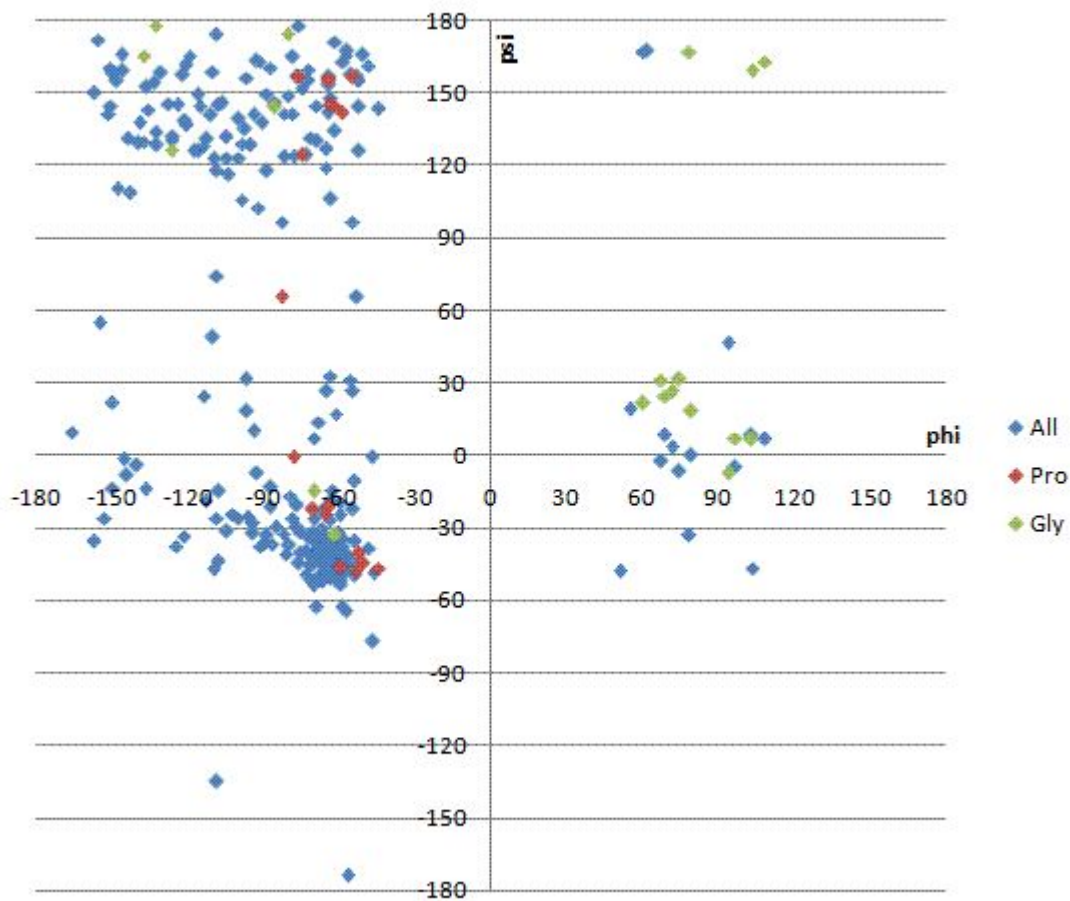
# Конформационная карта Рамачандрана

( $\phi$ ,  $\psi$ )-карта показывает, какие пары значений углов  $\phi$  и  $\psi$  разрешены для данного остатка а.к.

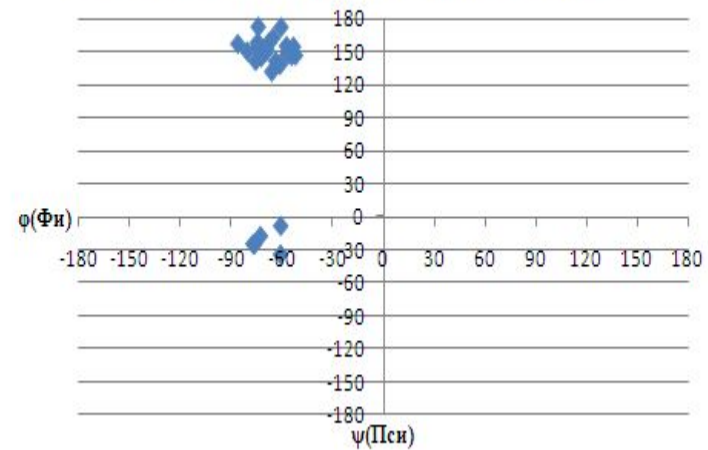


# Конформационные карты Рамачандрана

Карта Рамачандрана для всех а.о., пролина, глицина



Карта Рамачандрана для пролина



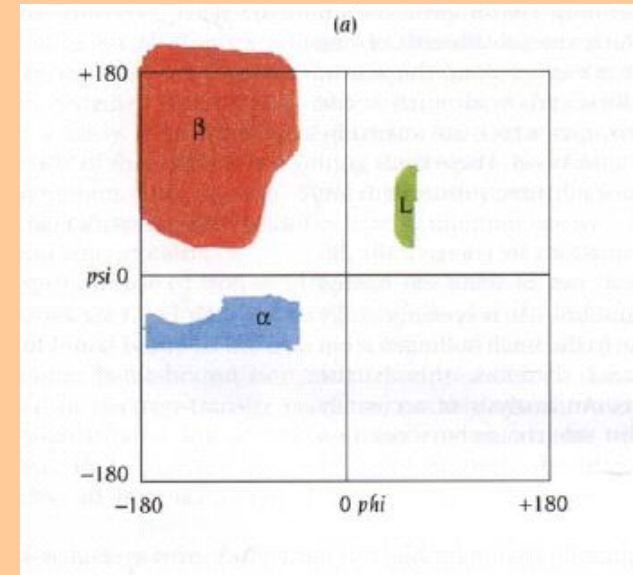
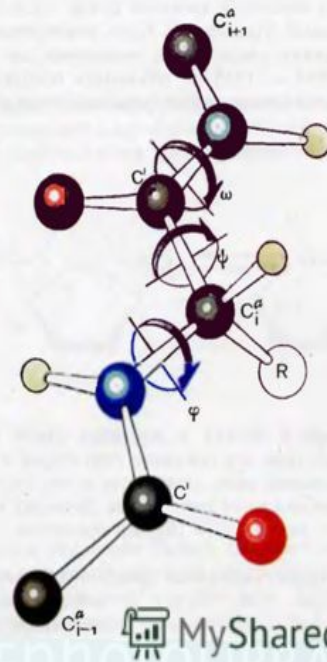
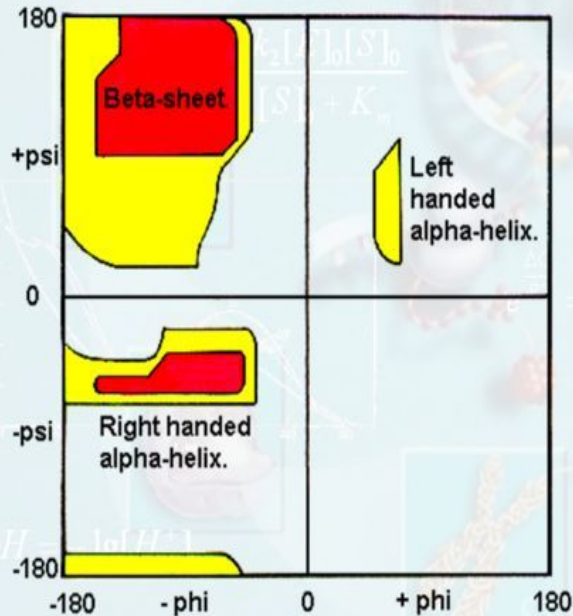
# Конформационные карты Рамачандрана

## Регулярные структуры: спиральные, $\beta$ -складчатые

*Вторичная структура белков:  
 $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листы*

**Карта Рамачандрана** способ визуализации двугранных углов. Она показывает какие из них возможны, а какие нет.

The Ramachandran Plot.





# Биологическая роль пептидов

**Нейропептиды** – пептиды мозга, способные влиять на функции центральной нервной системы

- **Энкефалины и эндорфины** – «опиоидные пептиды», действующие на морфиновые (опиатные) рецепторы головного мозга, способны подавлять боль и вызывать чувство эйфории.

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met - Met-энкефалин

Ner-Gly-Gly-Phe-Leu - Leu-энкефалин (Д.Хьюз, 1975)

- **Окситоцин (10 а.к.) и вазопрессин (10 а.к.)** – нейрогормоны (сокращение гладкой мускулатуры, сосудов и капилляров, регуляция водного обмена и др.). Синтезируются в гипоталамусе.

- **Пептиды сна (9 а.к.)**

- **И другие**

# Биологическая роль пептидов

**Нейропептиды – пептиды мозга, способные влиять на функции центральной нервной системы**

- **Энкефалины и эндорфины** – «опиоидные пептиды», действующие на морфиновые (опиатные) рецепторы головного мозга, способны подавлять боль и вызывать чувство эйфории.

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met - Met-энкефалин

Ner-Gly-Gly-Phe-Leu - Leu-энкефалин (Д.Хьюз, 1975)

- **Окситоцин (10 а.к.) и вазопрессин (10 а.к.)** – нейрогормоны (сокращение гладкой мускулатуры, сосудов и капилляров, регуляция водного обмена и др.). Синтезируются в гипоталамусе.

- **Пептиды сна (9 а.к.)**

- **И другие**

# Гормоны пептидно-белковой природы

**Гормоны – биологически активные регуляторы, вырабатываются в эндокринных железах и разносятся по кровяному руслу к клеткам-мишеням.**

**Существует 3 класса гормонов – пептидно-белковые, стероидные, биогенные амины (адреналин).**

**Белковые гормоны – все гормоны гипоталамуса, некоторые гормоны гипофиза и др. (соматотропин, тиротропин, гонадотропин, пролактин, инсулин, паратропин).**

**Пептидные гормоны – окситоцин, вазопрессин, глюкагон, гастрин, кальцитонин, тканевые гормоны брадикинин и ангиотензин.**

Сенсорные сигналы

# Функциональная иерархия гормональной регуляции

ЦНС

Гипоталам

vs

Гормоны  
гипоталамуса

Передняя доля  
гипофиза

Задняя доля гипофиза

Corticotropin  
(ACTH)  
 $M_r$  4,500

Thyrotropin  
 $M_r$  28,000

Follicle-  
stimulating  
hormone  
 $M_r$  24,000

Luteinizing  
hormone  
 $M_r$  20,500

Somatotropin  
(growth hormone)  
 $M_r$  21,500

Prolactin  
 $M_r$  22,000

Oxytocin  
 $M_r$  1,007

Vasopressin  
(antidiuretic  
hormone)  
 $M_r$  1,040

Blood  
glucose  
level

Adrenal  
cortex

Thyroid

Ovaries/testes

Islet cells of  
pancreas

Adrenal  
medulla

Cortisol,  
corticosterone,  
aldosterone

Thyroxine  
( $T_4$ ), triiodo-  
thyronine ( $T_3$ )

Progesterone,  
estradiol  
Testosterone

Insulin,  
glucagon,  
somatostatin

Epinephrine

Many  
tissues

Muscles,  
liver

Reproductive organs

Liver,  
bone

Mammary  
glands

Smooth  
muscle,  
mammary  
glands

Arterioles,  
kidney

Liver,  
muscles

Liver,  
muscles,  
heart

Первичные  
мишени

Вторичные  
мишени

Конечные  
мишени

# Антибиотики белково-пептидной природы

**Антибиотики – химические агенты, продуцируемые микроорганизмами, обладают прямым и избирательным ингибирующим действием на живые клетки (антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, противоопухолевые антибиотики).**

**Пептидные антибиотики:** грамицидины А, В, С, S, полимиксины, актиномицины, валиномицин и многие другие.

**Белковые антибиотики:** неокарциностагин, актиноксантин и другие.

# Токсины пептидно-белковой природы

**Пептидные токсины:** ядовитых грибов (бледной поганки - циклопептиды), яда пчел (мелиттин 26 а.к.), яда змей, морских беспозвоночных (нейротоксины).

**Белками являются самые мощные из известных токсинов микробного происхождения:**

- Ботулинический токсин
- Столбнячный токсин
- Дифтерийный токсин
- Холерный токсин

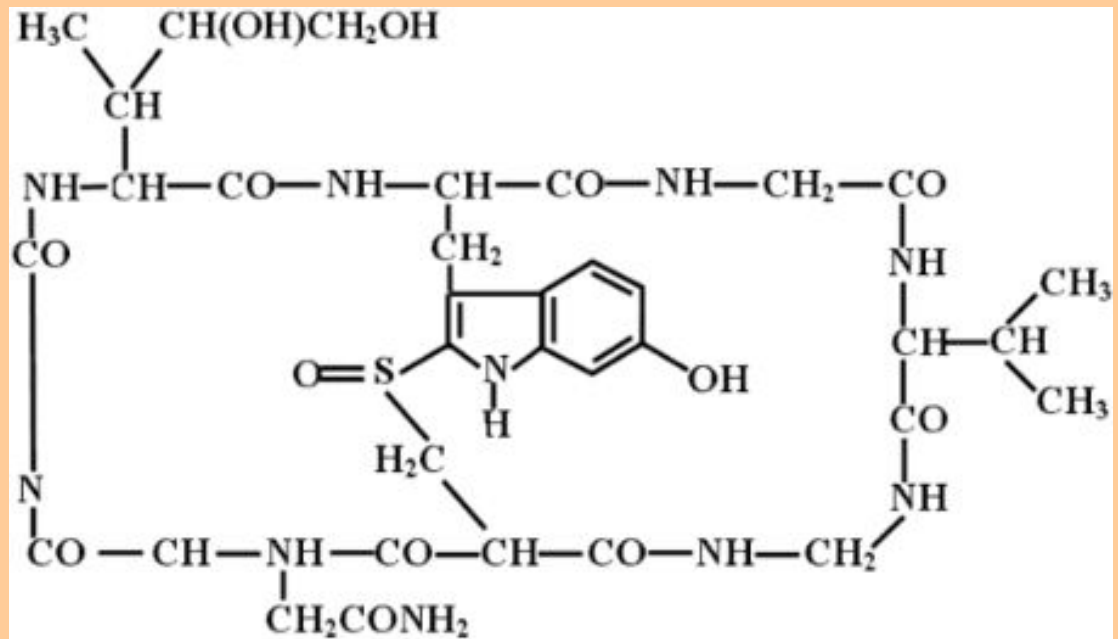
**Белки – зоотоксины** (змей, скорпионов, пауков, и др.)

**Белки – фитотоксины** (рицин из клещевины)

# Пептидные токсины бледной поганки



Бледная поганка (лат. *Amanita phalloides*)



α -Аманитин

## Самый ядовитый- бледная поганка!



Содержатся следующие яды- фаллоидин, альфа и бета  
они блокируют в клетках синтез белков и разрушают клетку.  
Симптомы проявляются через 24 или 48 часов, но нах через 3

# Пептиды со вкусовыми качествами

## Пептиды со вкусовыми качествами:

- **Заменители сахара – аспартам Asp-Phe-OMe** (в 200 раз слаще сахара, низкая калорийность)
- **“Вкусный пептид” Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala** (получают при обработке мяса папаином)
- **Белки с интенсивным сладким вкусом – тауматин (207 а. к.) и монеллин (94 а.к.)** из плодов африканских растений (слаще сахара в 100 000 раз)

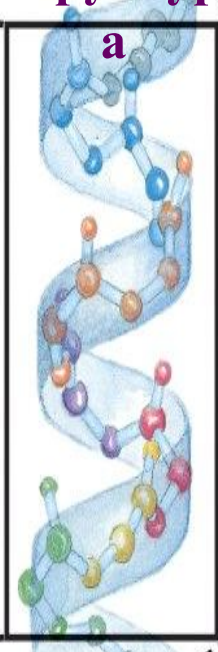


# Уровни структурной организации белка

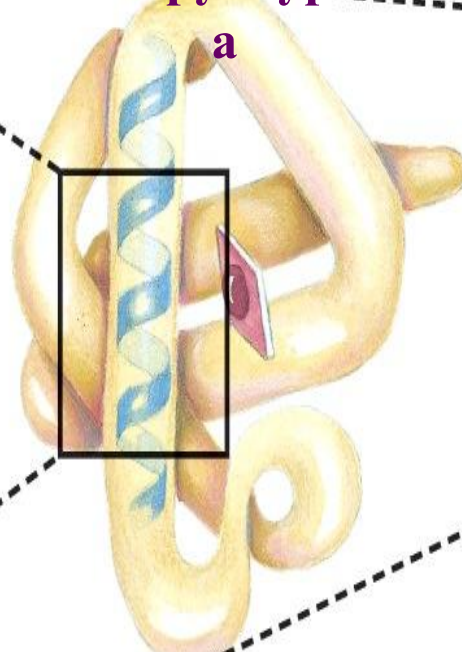
Первичная  
структура



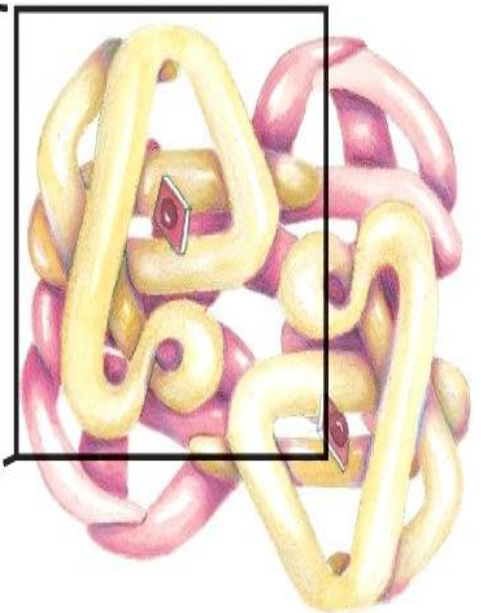
Вторичная  
структура



Третичная  
структура



Четвертичная  
структура



Последовательность  
аминокислот

$\alpha$ -Спираль

Полипептидная  
цепь

Ансамбль  
субъединиц

# Функции белков



# Первичная структура белка

**Первичная структура белка** – это аминокислотная последовательность белка, т.е. состав и расположение а.к. в полипептидной цепи .

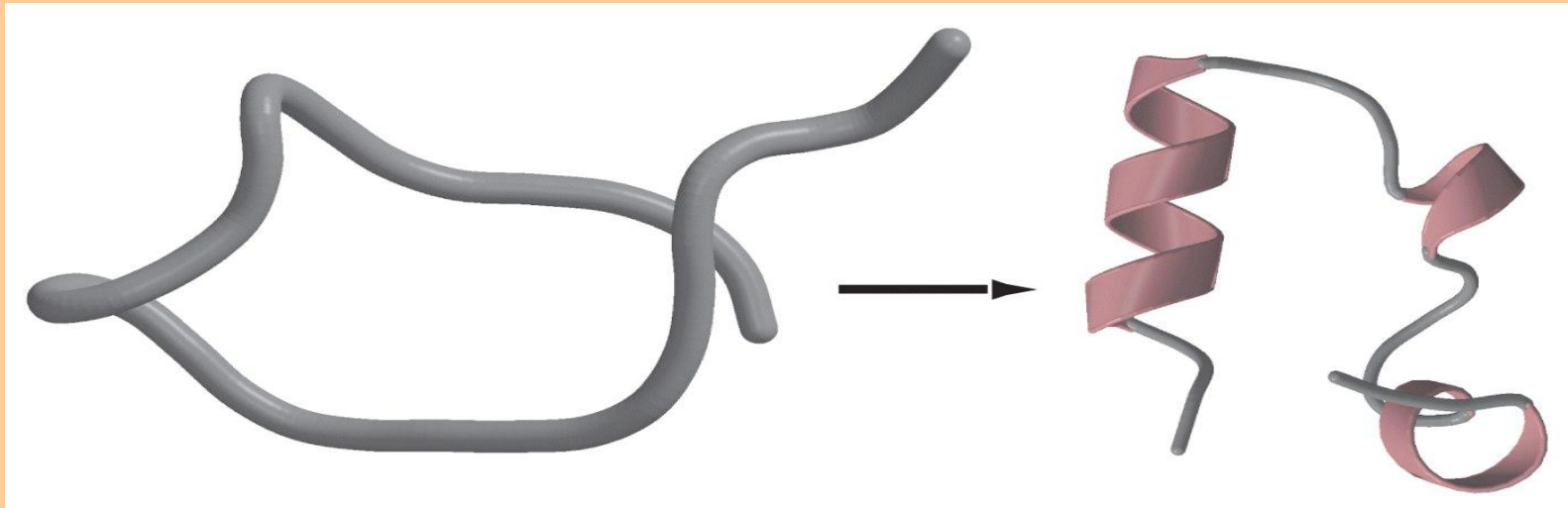
**Образуется ковалентными пептидными  
и дисульфидными связями !!!!**

# Вторичная структура белка

**Вторичная структура белка** – упорядоченные структуры полипептидных цепей, стабилизированные **водородными связями** между пептидными CO и NH-группами.

**Типы вторичных структур:**

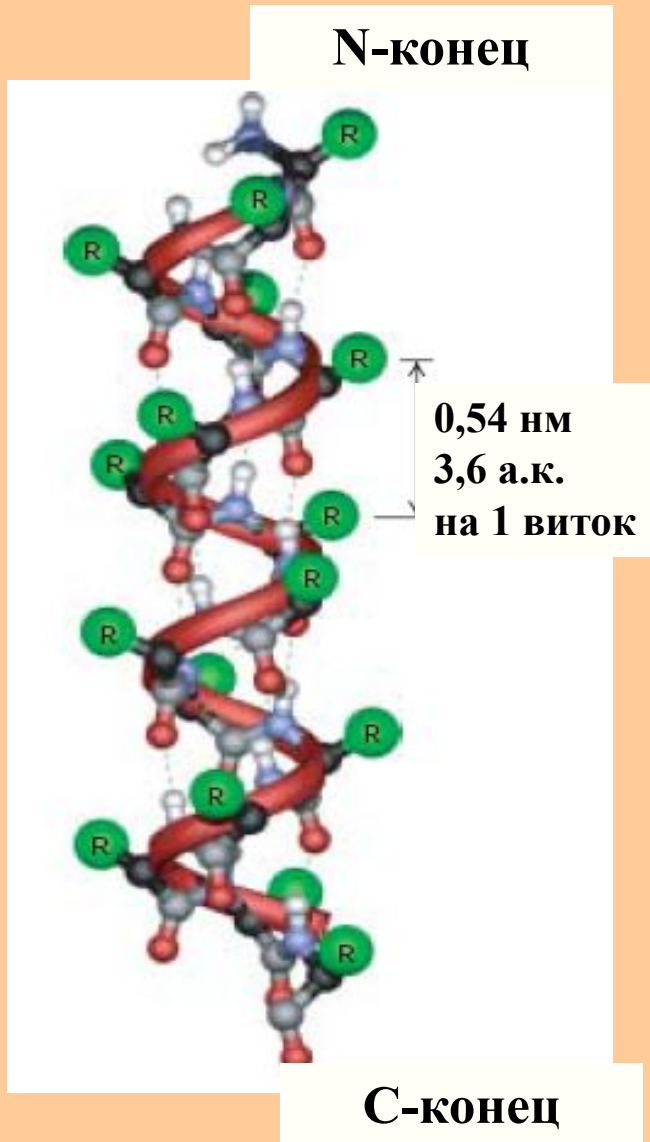
- $\alpha$ -спираль
- $\beta$ -складчатая структура
- неупорядоченный клубок (random coil)



Первичная структура

Вторичная структура

# Вторичная структура белка - $\alpha$ -спираль



## Характеристики $\alpha$ -спирали:

- 18 а.к. образуют 5 витков спирали
- 1 виток – 3,6 а.к.,  $h = 0,54$  нм
- каждая а.к. образует водородную связь CO - - -NH с четвертой по порядку следования по цепи аминокислотой

## Стабилизируют $\alpha$ -спираль:

Ala, Val, Leu, Phe, Trp, Met, His, Gln

## Дестабилизируют $\alpha$ -спираль:

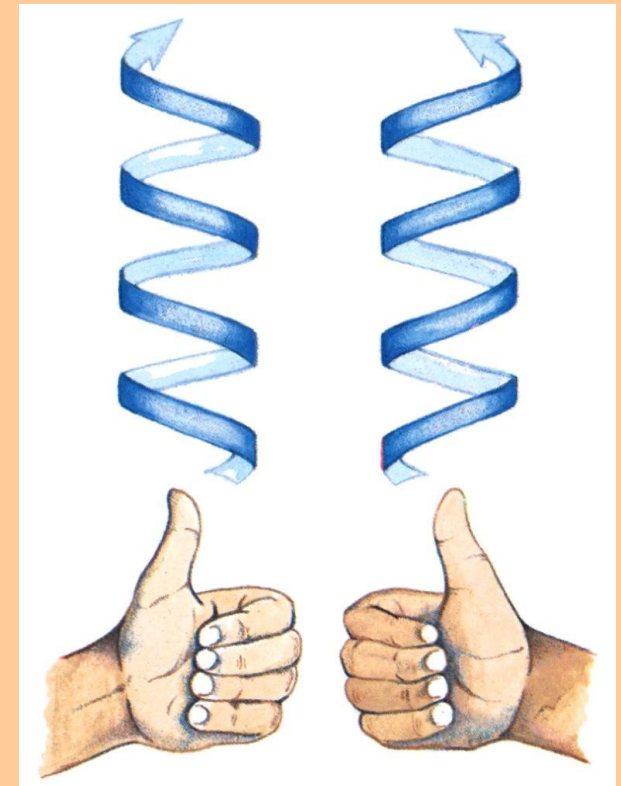
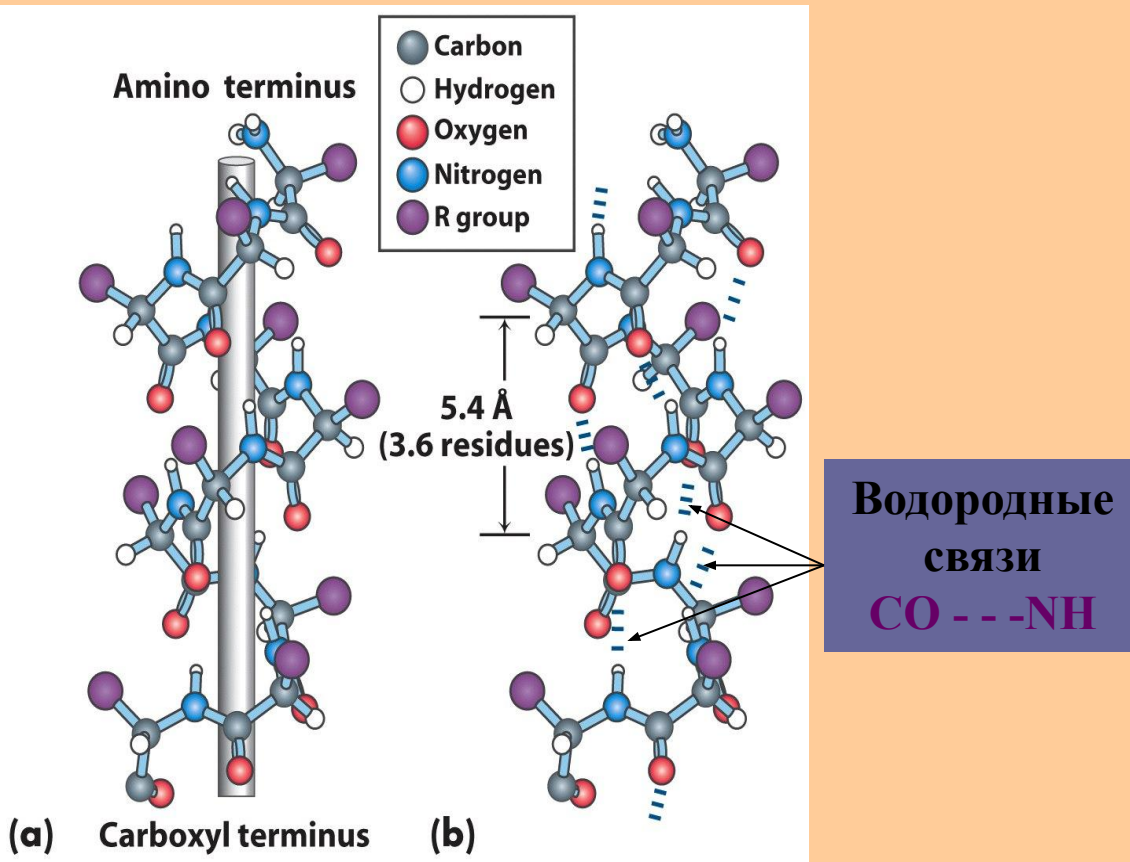
Gly, Glu, Asp, Ile, Lys, Arg, Tyr, Asn, Ser, Cys

Pro обычно расположен на повороте  $\alpha$ -спирали

# Вторичная структура белка - $\alpha$ -спираль

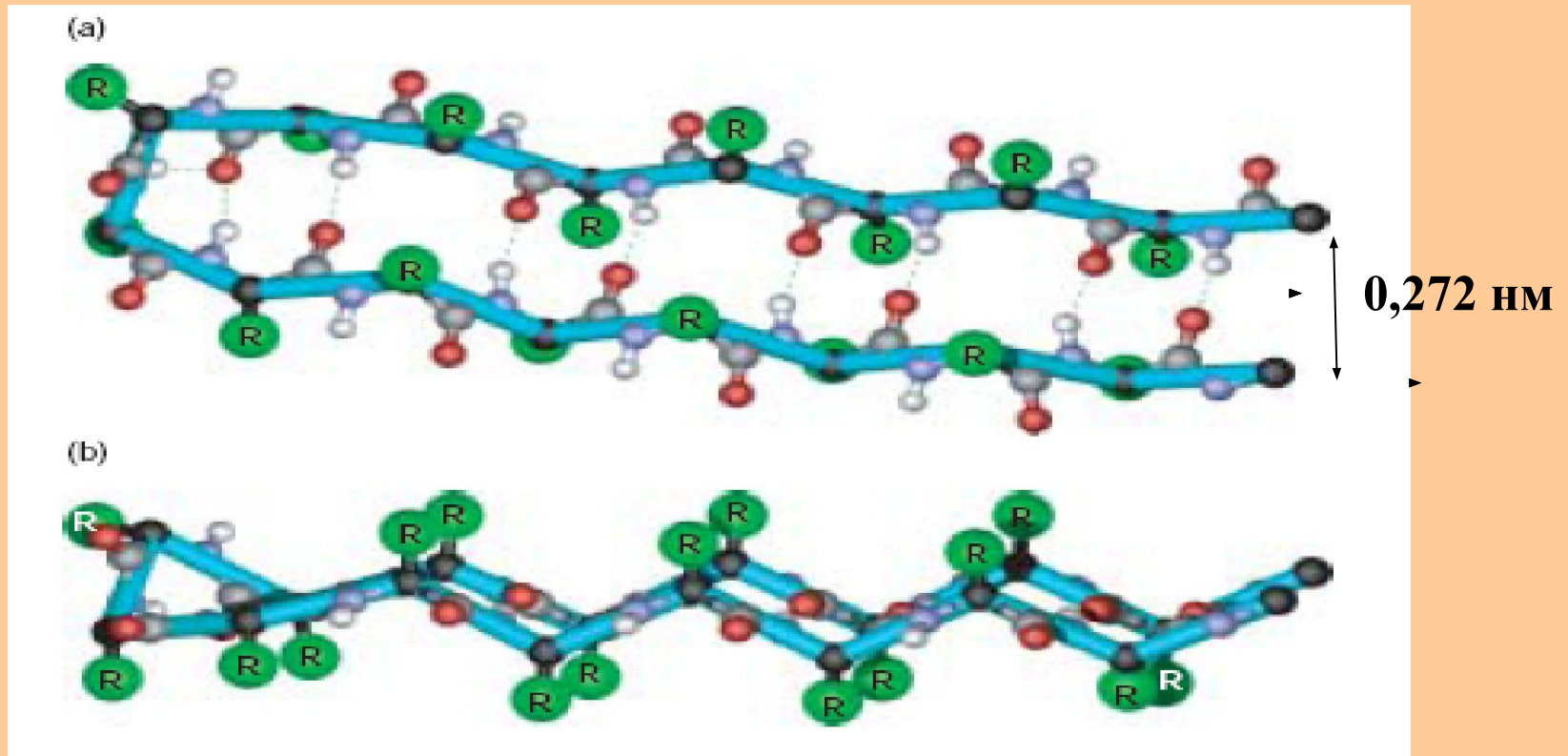
$\alpha$ -Спираль характеризуется предельно плотной упаковкой скрученной полипептидной цепи

В белках встречаются только **правые  $\alpha$ -спирали**



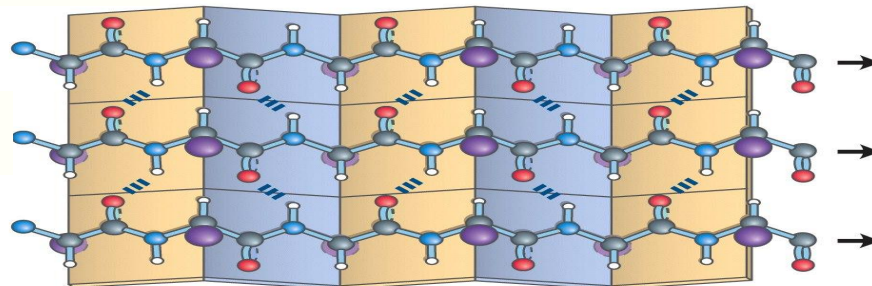
# Вторичная структура белка - $\beta$ -складчатая структура

$\beta$ -Складчатая структура или “складчатый лист” – это ассоциат вытянутых зигзагообразных пептидных цепей, стабилизированный межцепочечными водородными  $\text{CO} \cdots \text{NH}$  связями

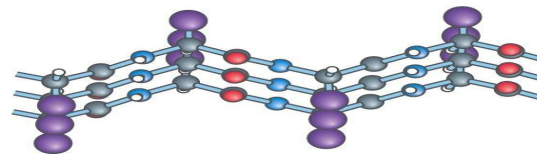


# Вторичная структура белка - $\beta$ -складчатая структура

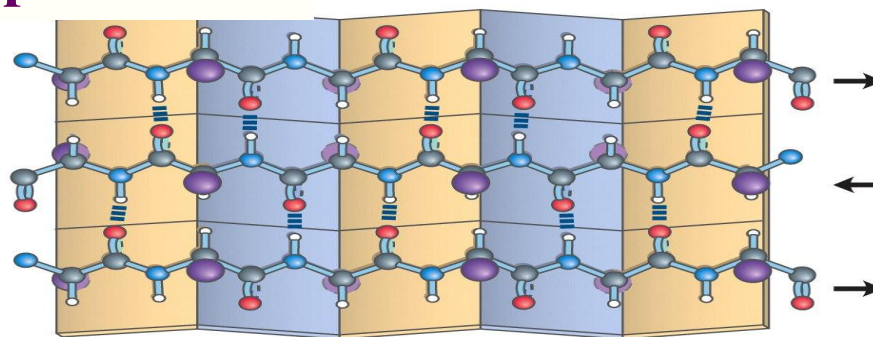
## Параллельная структура



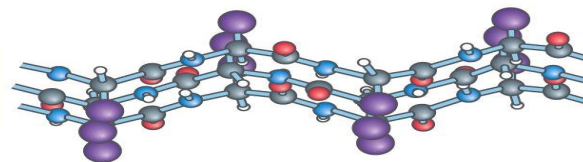
Вид сбоку



## Антипараллельная структура



Вид сбоку





# Сверхвторичная структура белка

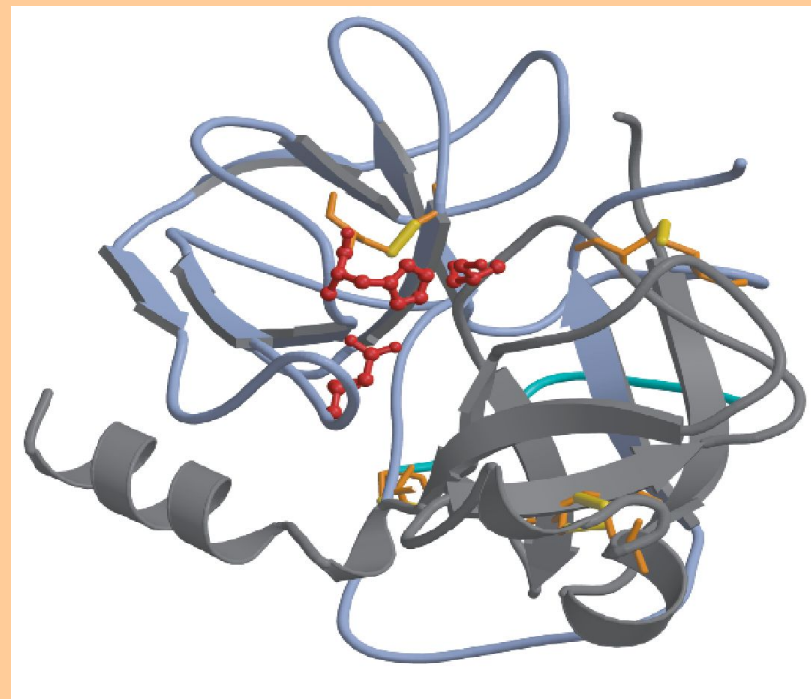
**Сверхвторичная структура** – наличие ансамблей взаимодействующих между собой **вторичных структур**.  
Пример – агрегация  $\alpha$ -спиралей (суперспирализованная система). (Белок  $\alpha$ -кератин шерсти).

Т.о., полипептидная цепь белка содержит определенное число участков вторичной структуры ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), а также участки неупорядоченной структуры.

# Третичная структура белка

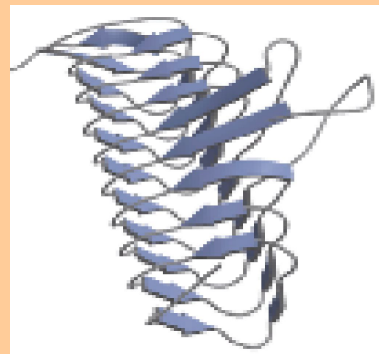
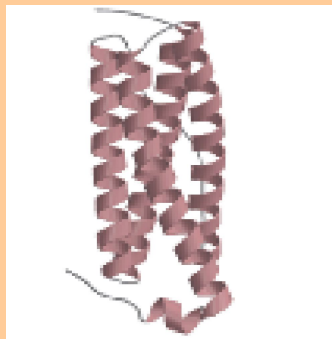
**Полипептидная цепь, содержащая определенное число участков вторичной структуры, обычно свертывается в относительно компактную систему, в которой элементы вторичной структуры взаимодействуют между собой и с участками неупорядоченной структуры.**

- Для многих белков третичная структура эквивалентна пространственной структуре белка
- Каждый белок обладает своей уникальной пространственной структурой

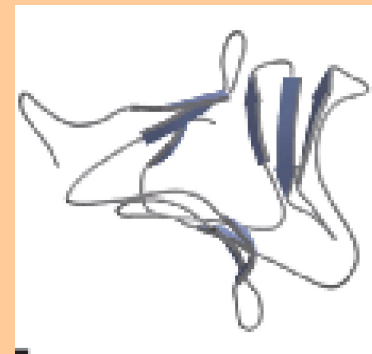


# Третичная структура белка

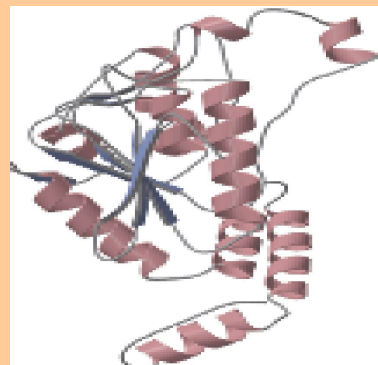
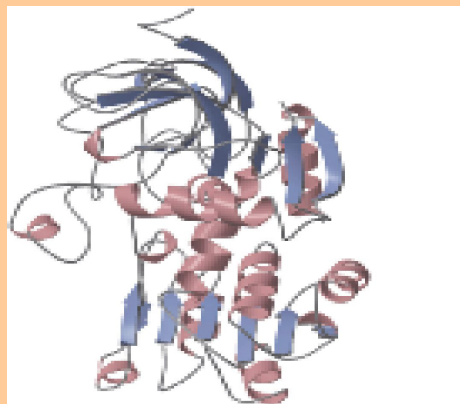
$\alpha$



$\beta$



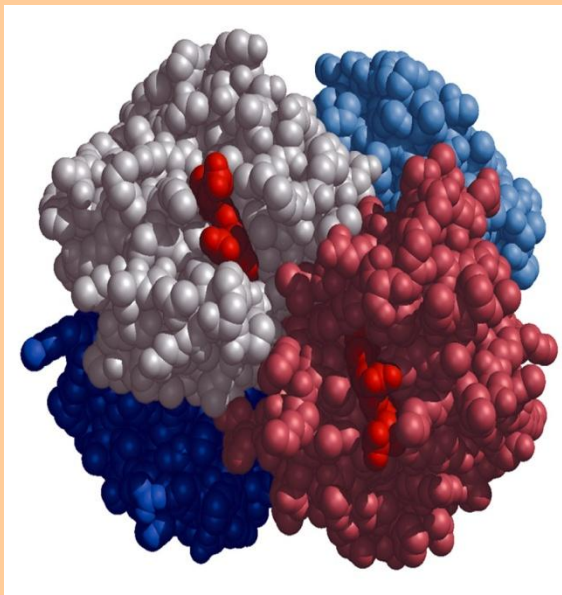
$\alpha/\beta$



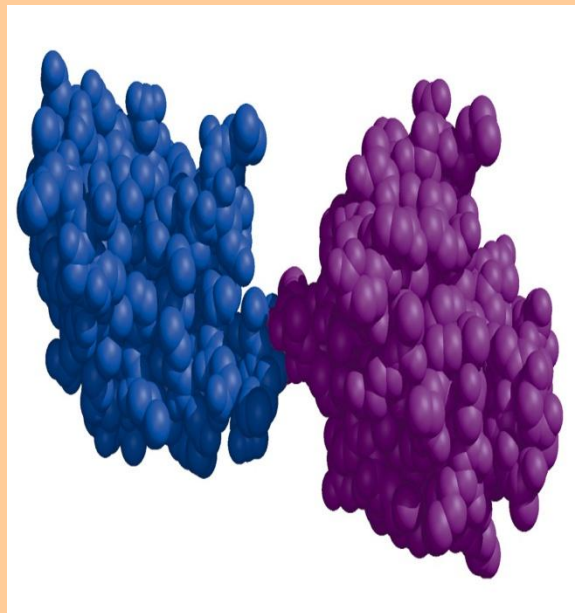
# Четвертичная структура белка

**Четвертичная структура** характерна для белков, состоящих из **нескольких полипептидных цепей**.

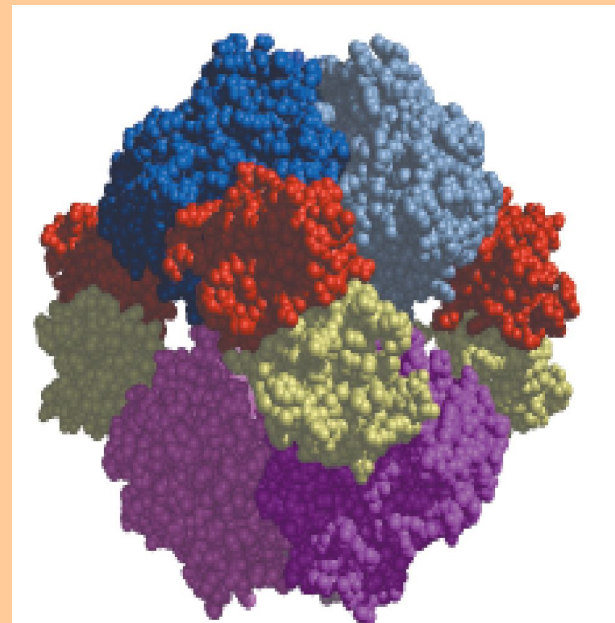
Она возникает в результате **ассоциации** нескольких субъединиц в компактную глобулу. Это **взаимное расположение субъединиц** белка в пространстве.



4 субъединицы  
в белке



2 субъединицы  
в белке



12 субъединиц  
в белке

# Стадии образования нативной конформации белка ( **Folding** белков )

Образование пространственной структуры белка – процесс сложный и многостадийный

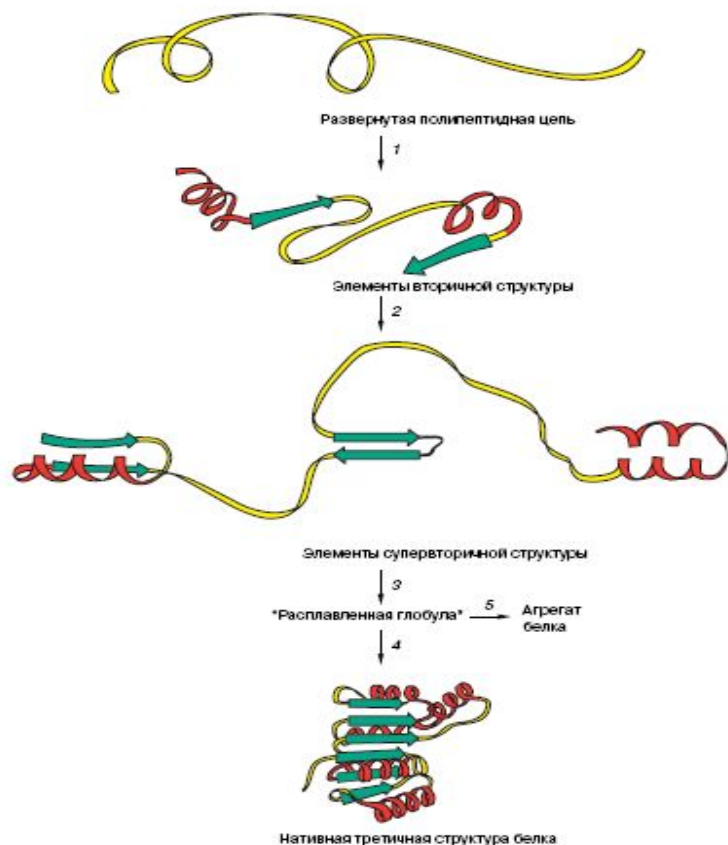
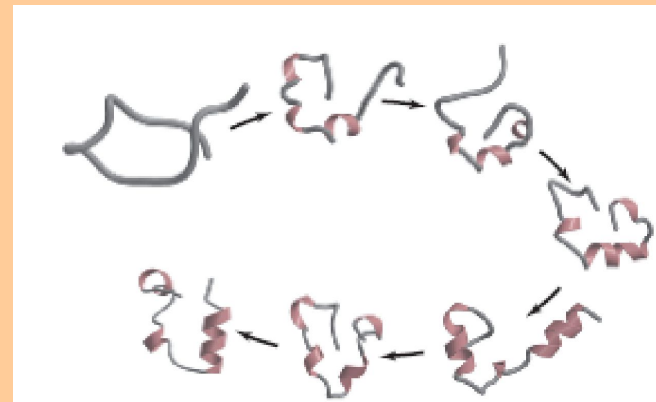


Рис. 1. Стадии сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию (1–4). 4 – Переход от состояния "расплавленной глобулы" к нативной пространственной структуре белка, 5 – неспецифическая агрегация белка. Рисунок показывает схему сворачивания белка, состоящего из одного домена (см. текст). Стрелки изображают  $\beta$ -тали.



36 а.к. – 1 мс

**FIGURE 4-28** A simulated folding pathway. The folding pathway of a 36-residue segment of the protein villin (an actin-binding protein found principally in the microvilli lining the intestine) was simulated by computer. The process started with the randomly coiled peptide and 3,000 surrounding water molecules in a virtual "water box." The molecular motions of the peptide and the effects of the water molecules were taken into account in mapping the most likely paths to the final structure among the countless alternatives. The simulated folding took place in a theoretical time span of 1 ms; however, the calculation required half a billion integration steps on two Cray supercomputers, each running for two months.

# Folding белков. Белки - шапероны

**Шапероны** – это белки, которые помогают полипептиду принять Правильную пространственную структуру.

Белки теплового шока (**Hsp**) впервые были описаны как шапероны

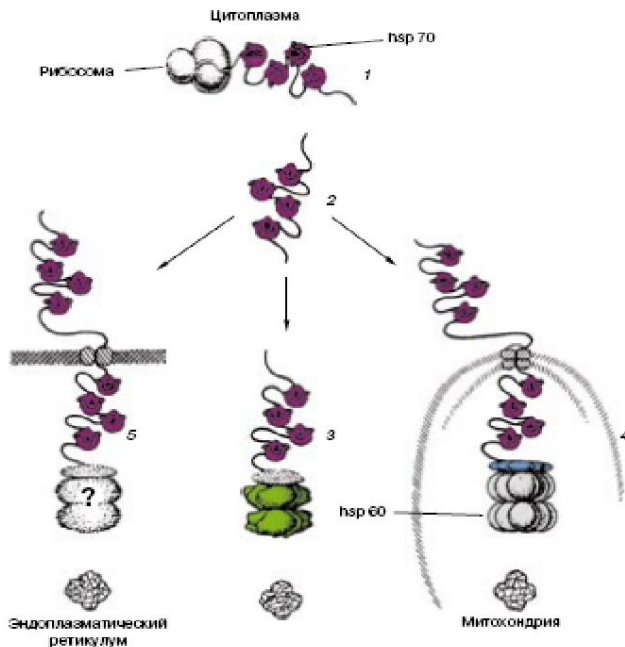
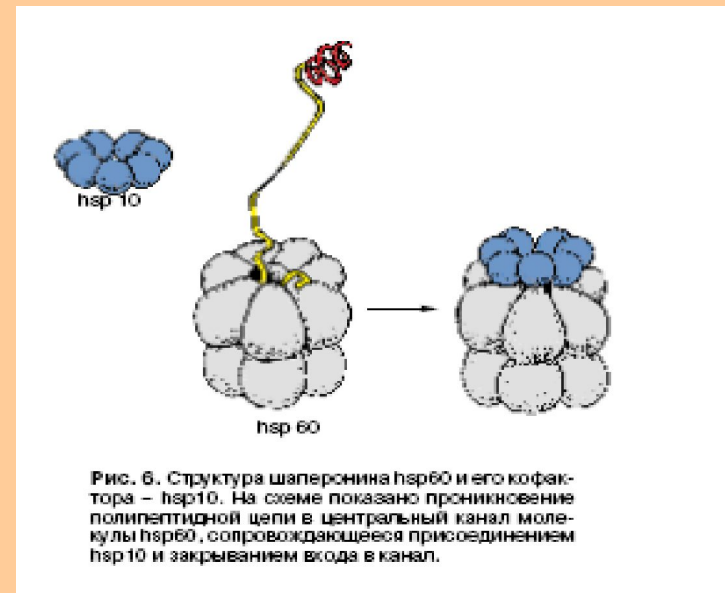


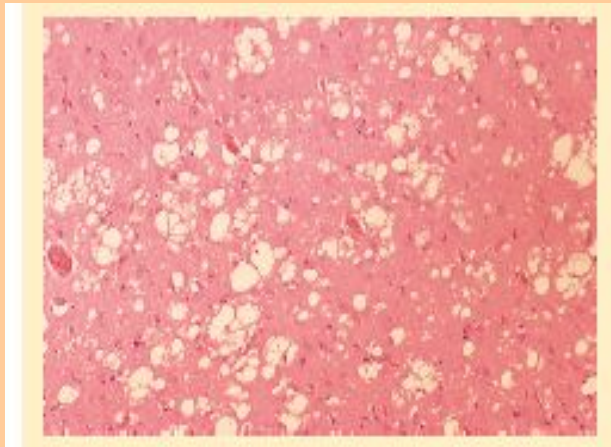
Рис. 4. Схема, показывающая участие шаперонов и шаперонина в сворачивании белка в клетке эукариот. 1 – Сходящая с рибосомы полипептидная цепь, связанная с шаперонами hsp70 цитоплазмы; 2 – шапероны hsp70 акранируют гидрофобные области полипептида, предотвращая его агрегацию; 3 – белки, сворачивающиеся в цитоплазме, передаются с шаперона hsp70 на цитоплазматический шаперонин, где и происходит сворачивание; 4 – белки, сворачивающиеся в митохондриях. Цитоплазматический шаперон hsp70 "подносит" развернутый белок к внешней мембране митохондрии. Митохондриальный шаперон hsp70, прочно связываясь с пересекающим мембрану белком, способствует его "втягиванию" внутрь митохондрии, а затем передает его на митохондриальный шаперонин, где и происходит сворачивание; 5 – белки, сворачивающиеся в эндоплазматическом ретикулуме. Цитоплазматический шаперон hsp70, с одной стороны, и шаперон hsp70 просвета эндоплазматического ретикулума, с другой, обеспечивают проникновение развернутого белка через мембрану. Детали сворачивания таких белков пока не выяснены.



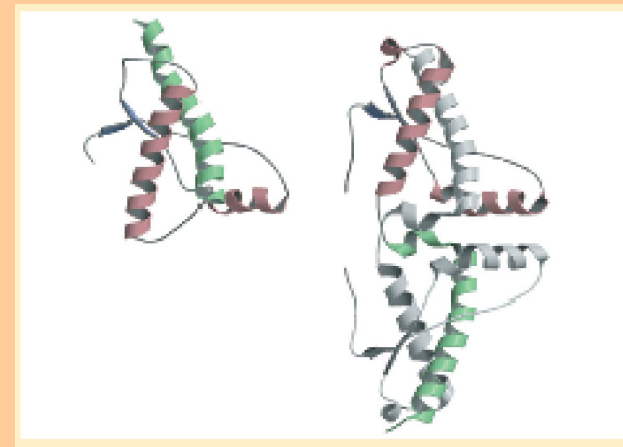
# Проблема правильного сворачивания белка.

## Прионы

Нейродегенеративные болезни (губчатые энцефалопатии) вызывают белковые факторы – **прионы**, функционирующие как **антишапероны**



**FIGURE 1** A stained section of the cerebral cortex from a patient with Creutzfeldt-Jakob disease shows spongiform (vacuolar) degeneration, the most characteristic neurohistological feature. The yellowish vacuoles are intracellular and occur mostly in pre- and post-synaptic processes of neurons. The vacuoles in this section vary in diameter from 20 to 100  $\mu\text{m}$ .



**FIGURE 2** The structure of the globular domain of human PrP in monomeric (left) and dimeric (right) forms. The second subunit is gray to highlight the dramatic conformational change in the green  $\alpha$  helix when the dimer is formed.

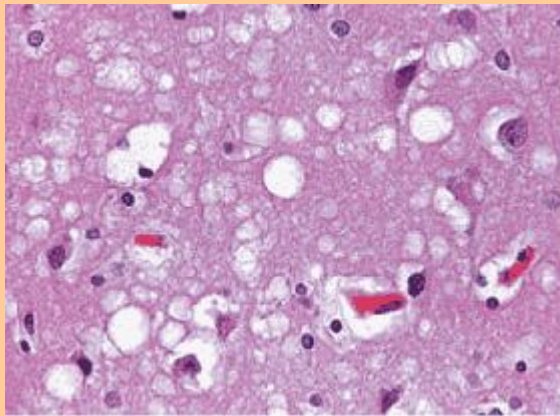
# История открытия прионных болезней



**1898 г. – необычное заболевание овец «скрепи»**

**1939 г. – экспериментальное заражение овец болезнью «скрепи»**

**1961 г. – инфекционная природа «скрепи» (заболевания клеток головного мозга) доказана**



**1920 -1921 г. - выявлено новое заболевание у людей (болезнь Крейцфельда –Якоба), оно может возникать спонтанно, передаваться по наследству, а также инфекционным путем.**



# История открытия прионных болезней



**1955 -1957 гг. , Папуа-Новая Гвинея**  
**- «куру» («смеющаяся смерть»),**  
**новое эндемичное заболевание,**  
**по симптомам схожее с болезнью К.-Я.**



**1992 г., Англия**  
**- Эпидемия коровьего бешенства,**  
**заболело примерно 180000 коров**  
**- Болезнь передавалась людям,**  
**в конце 90-х годов скончалось**  
**около 200 чел**

# Открытие прионов

- 1998 г., С.Б. Прузинер - Нобелевская премия за открытие прионов

**Прионы - это особые белковые молекулы: не содержат ни ДНК, ни РНК;**  
**- находятся в тканях здоровых людей и млекопитающих и не наносят вред;**  
**- под влиянием некоторых факторов превращаются в маленькие частицы - патогенные;**  
**- не подвластны многим воздействиям (выносят кипячение в течение 30 минут, высушивание до 2-х лет, замораживание в 2 раза больше, чем известные вирусы, химической обработке спиртами, кислотами, рентген облучение - не убивает прионы.**

**Только ферменты - трипсин, протеиназа в максимальных дозах денатурируют этот белок. (Иначе говоря, из всего живого прион погибает последним);**

**- накапливаются в мозгу человека или животного и вызывают там необратимые изменения, т.н. губчатые энцефалопатии, размягчение мозга - у людей это БКЯ.**

# Устойчивость прионов к различным воздействиям

Таблица. Устойчивость прионов к различным воздействиям

Фактор	Дозы	Эффект
<b>Химическое воздействие</b>		
$\text{NH}_2\text{OH}$	0,1-0,5 мМ	Устойчив
Псорален	10-500 мг/мл	Устойчив
Фенол	100%	Инактивация
SDS	1-10%	Инактивация
$\text{Zn}^{++}$	2 мМ	Устойчив
Мочевина	3-8 М	Инактивация
Сода	1N в течение 1 часа при 20°C	Инактивация
Гипохлорит натрия	2,5% в течение 1 часа при 20°C	Инактивация
<b>Обработка ферментами</b>		
ДНКаза	100 мг/мл	Устойчив
Протеиназа К	100 мг/мл	Инактивация
Трипсин	100 мг/мл	Инактивация
<b>Физическое воздействие</b>		
Автоклавирование	136°C в течение 18 минут	Инактивация
Сухой жар	160°C в течение 24 часов	Инактивация
УФ	Сильные дозы	Устойчив

# Неправильное сворачивание белка-приона – причина болезней

Строение нормального белка-приона (слева)  
и аномально свернутого (справа)



Накопление белковых агрегатов  
в нервной ткани



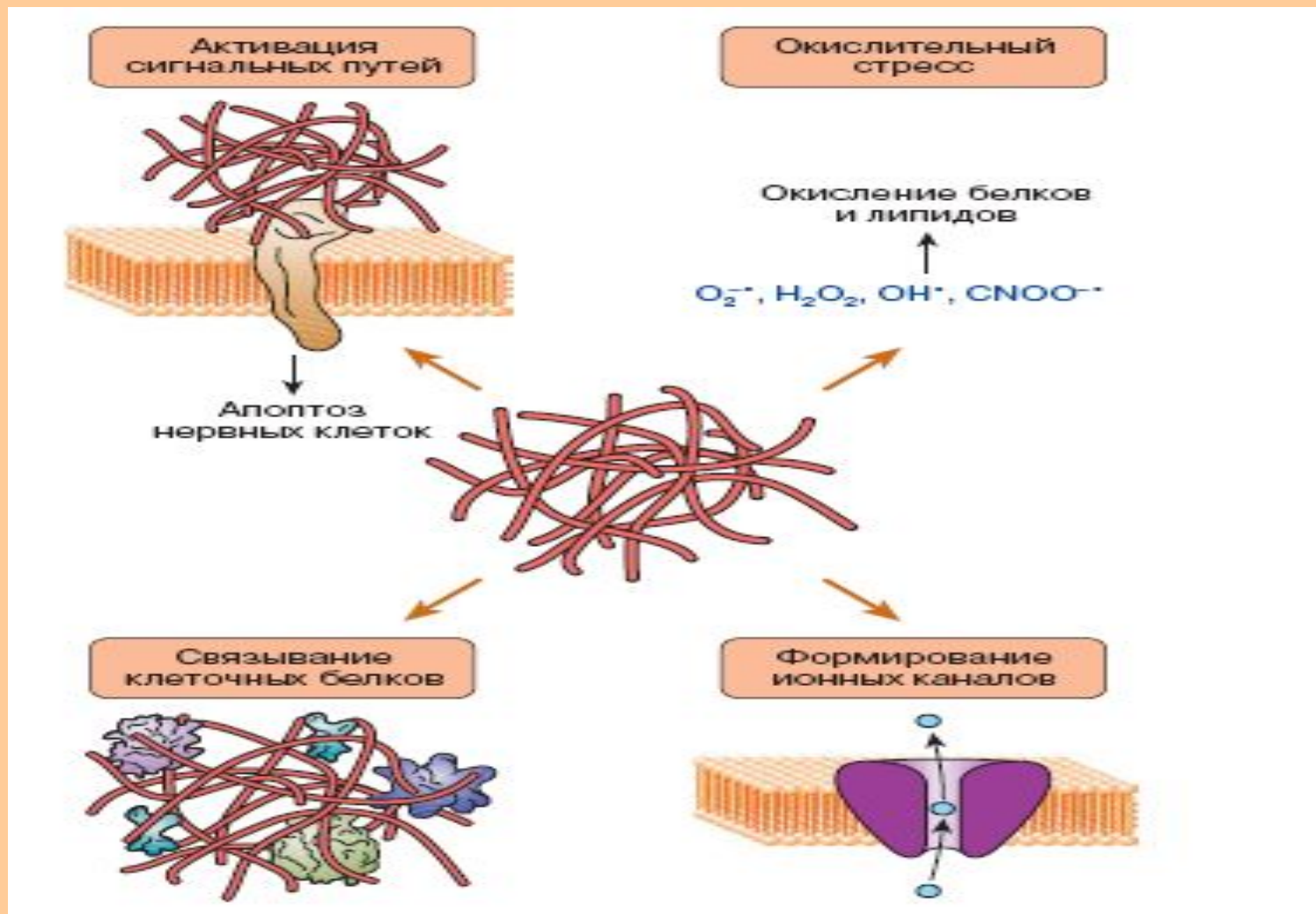
# Прионные болезни человека и животных

Таблица 1

## Прионные болезни человека и животных

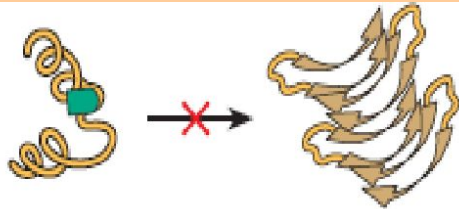
Название болезни	Естественный хозяин
Болезнь Крейтцфельдта—Якоба	Человек
Синдром Герстманна—Штреусслера—Шейнкера	Человек
Куру	Человек
Фатальная семейная бессонница	Человек
Скрепи	Овцы и козы
Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, или «коровье бешенство»	Коровы и быки
Трансмиссивная энцефалопатия	Норки
Губкообразная энцефалопатия	Кошки
Хроническая изнуряющая болезнь	Олени и лоси
Губкообразная энцефалопатия экзотических животных	Антилопы и большой куду

# Возможные модели нейротоксического действия агрегатов неправильно свернутых белков

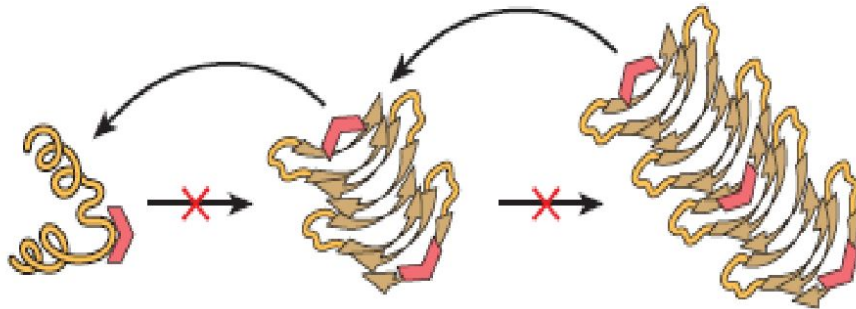


**Рис. 3.** Возможные модели нейротоксического действия агрегатов неправильно свернутых белков. Агрегированные белки могут активировать процессы, ведущие к программируемой клеточной смерти

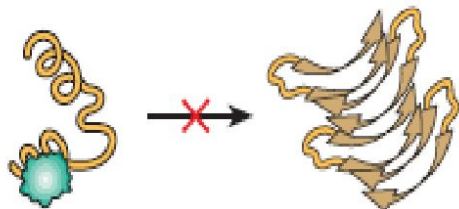
# Возможные способы для предотвращения неправильного сворачивания белка и его агрегации



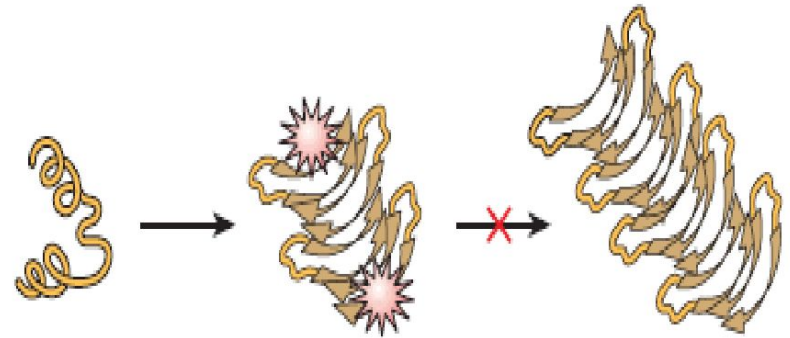
а) Стабилизация нормально свернутого белка



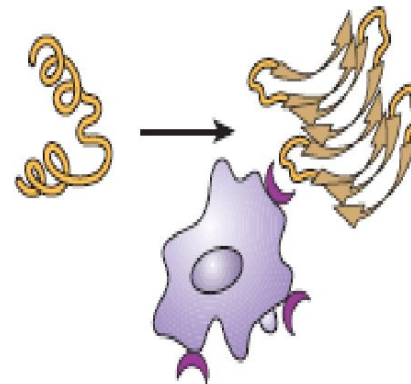
б) Блокирование формирования  $\beta$ -складок



в) Конкурентное ингибирование агрегации мономеров



г) Конкурентное ингибирование роста полимера



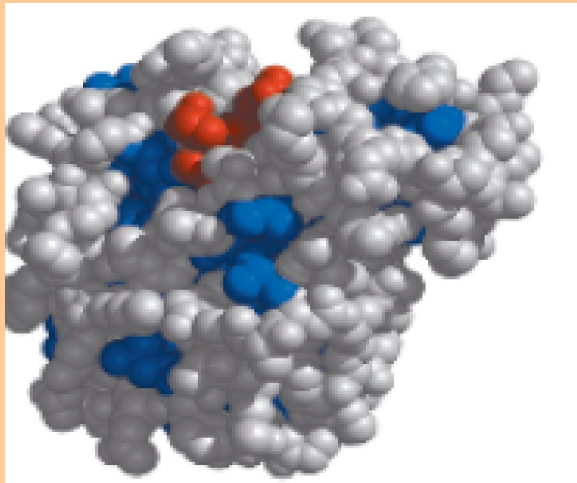
д) Увеличение эффективности разборки полимера

**Рис. 4.** Схема различных подходов для предотвращения неправильного сворачивания белка и его агрегации (подробности в тексте) (по: Soto C. Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases // Nature Rev. Neurosci. 2003. Vol. 4. P. 49–60)

# Глобулярные и фибриллярные белки

Белки образуют при свертывании:

- Компактные структуры сферической формы (глобулы) - **Глобулярные белки**
- Достаточно вытянутое волокно - **Фибриллярные белки**



Миоглобин кита (**синим цветом** показаны гидрофобные остатки а.к., **красным цветом** –остаток гема)



Волокна белка  
коллагена



# Глобулярные и фибриллярные белки

## Глобулярные белки:

- более **сложные по конформации**, чем фибриллярные белки
- способны выполнять самые **разные функции** в клетках
- активность этих белков носит **динамический характер** (ферменты)

## Свойства **глобулярных** белков:

- водорастворимые и амфифильные (мембранные) белки – почти все гидрофобные R - группы скрыты внутри глобулы и экранированы от взаимодействия с H<sub>2</sub>O, а гидрофильные R - группы находятся на поверхности глобулы в гидратированном состоянии.

## Фибриллярные белки:

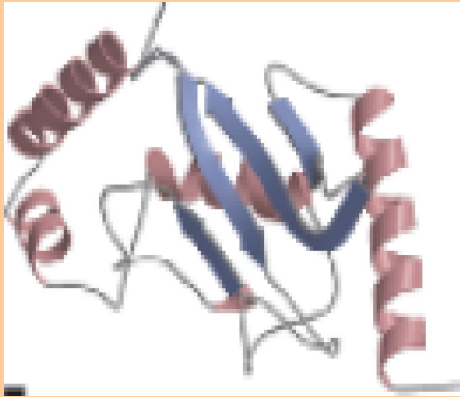
- представляют собой вытянутые и складчатые структуры
- выполняют в клетках и тканях структурную функцию
- нерастворимые в воде, плотные белки

## Примеры:

**α-кератин, β-кератин, коллаген, эластин**

# Денатурация и ренатурация белка

- **Денатурация белка** – это структурные изменения в молекуле белка (без разрыва ковалентных связей), которые приводят к потере его биологической активности.
- **Денатурацию** белков вызывает нагревание, изменение pH, обработка детергентами, органическими растворителями и др.
- **Денатурация белка** – обратимая и необратимая.
- **Ренатурация** – восстановление структуры и биологической активности



Нативный белок



Денатурированный белок

# Как определить структуру белка

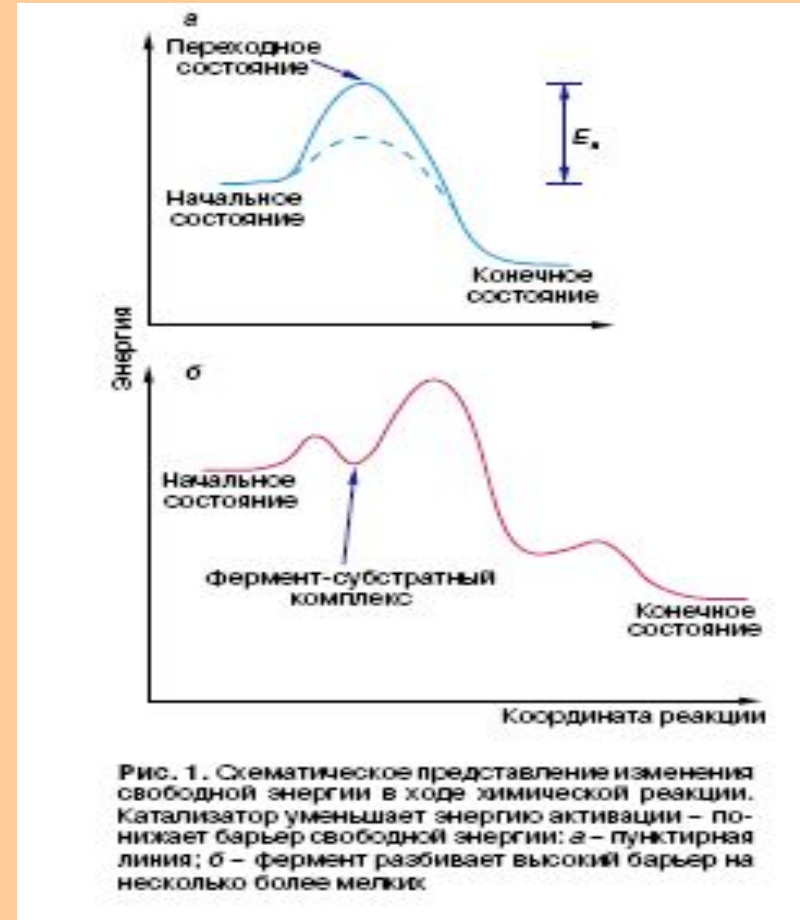
1. РСА (третичная и четвертичная структура)
2. Методы КД и ДОВ (вторичная структура)
3. ИК- и ЯМР-спектроскопия высокого разрешения (вторичная и третичная структура)
4. Электроно- и нейтронографические методы (третичная и четвертичная структура)

# Функции белков



# Белки-Ферменты

Ферменты – это специфические и высокоэффективные катализаторы биохимических реакций, протекающих в живой клетке (скорость реакции может увеличиваться в  $10^{10}$  раз).

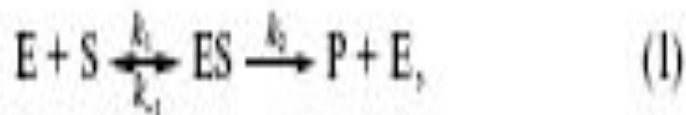


Особенности белков-ферментов:

- Высокая активность
- Высокая специфичность
- Высокая стереоспецифичность

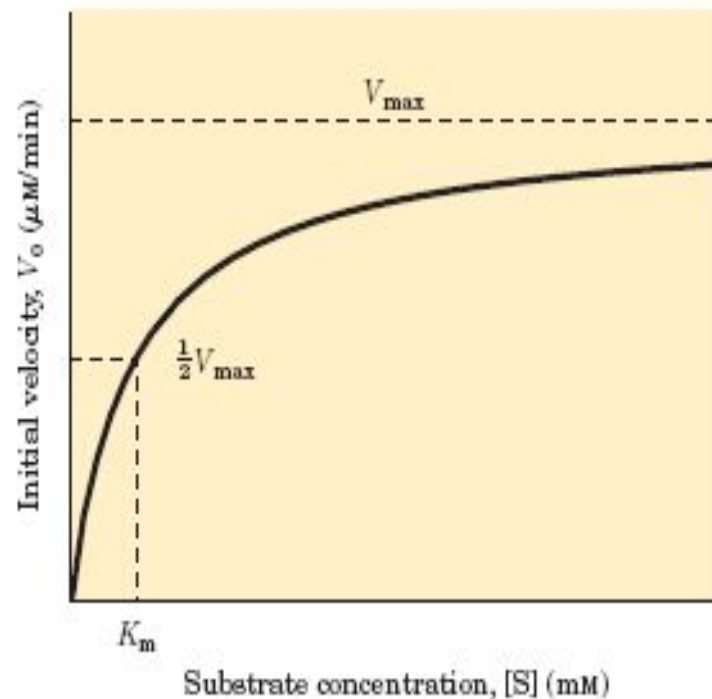
# Белки-Ферменты

## Принципы ферментативной кинетики



где E – фермент, S – субстрат, ES – промежуточный комплекс фермента с субстратом (комплекс Михаэлиса–Ментен), P – продукт. При  $[E] \ll [S]_0$  начальная стационарная скорость образования продукта описывается уравнением

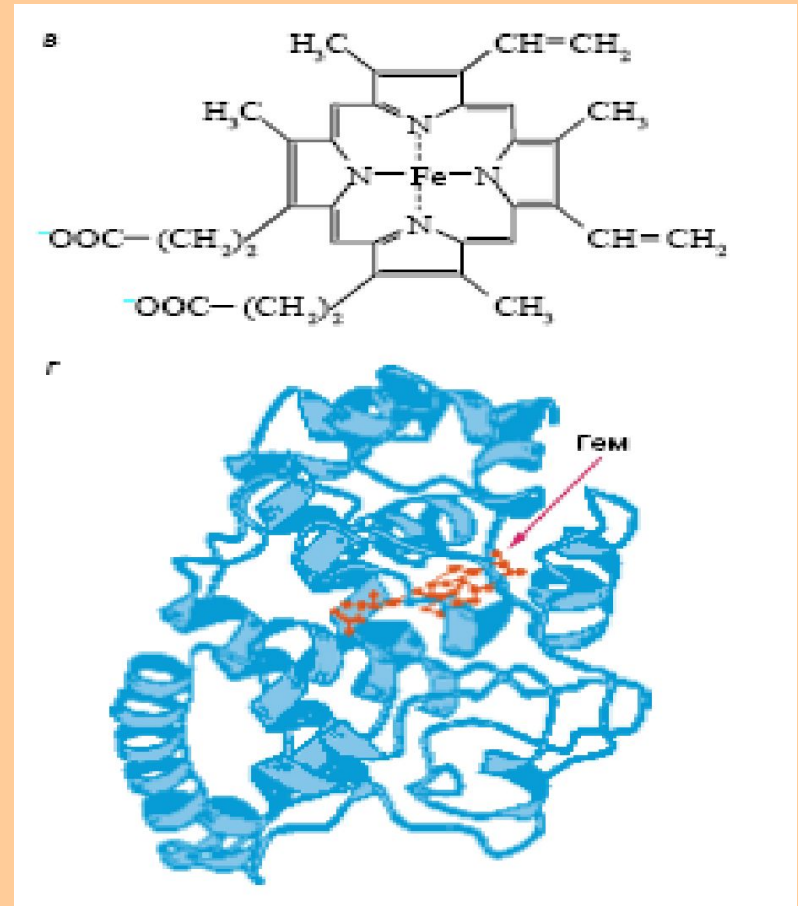
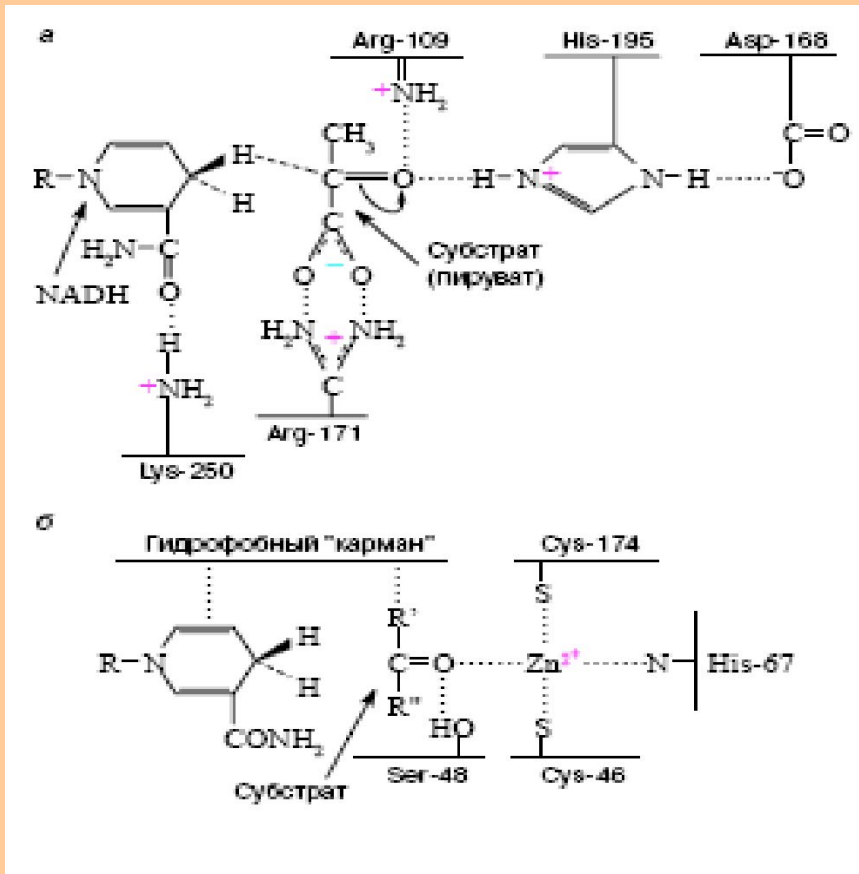
$$v_0 = \frac{k_{\text{max}}[E][S]_0}{K_m + [S]_0}, \quad (2)$$



# Активный центр ферментов

Активный центр фермента может состоять:

- только из а.к. остатков белка – лактатдегидрогеназа (а),
- содержать ионы металлов - алкогольдегидрогеназа (б),
- ионы металлов в составе сложных органических молекул – гем (в, г)



# Транспортные белки

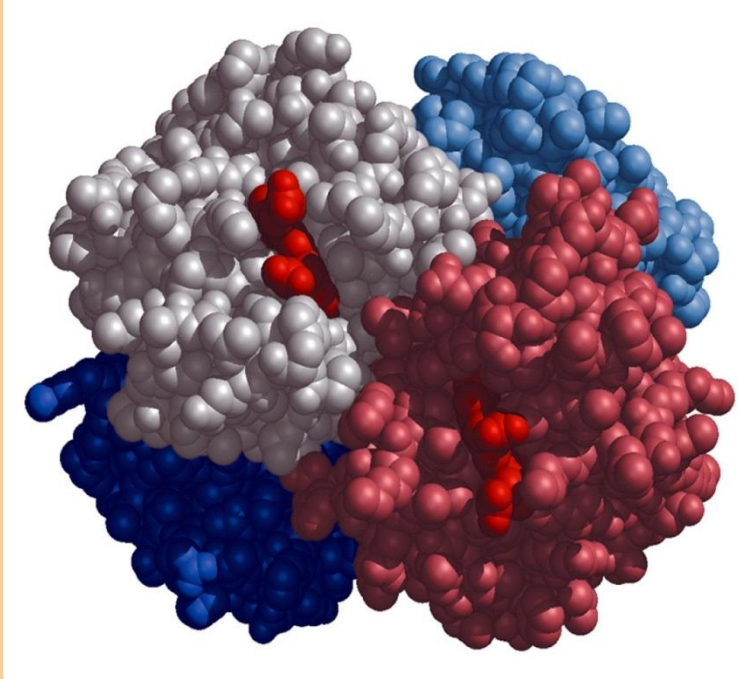
**Транспортные белки участвуют в переносе различных веществ и ионов.**

## **Примеры:**

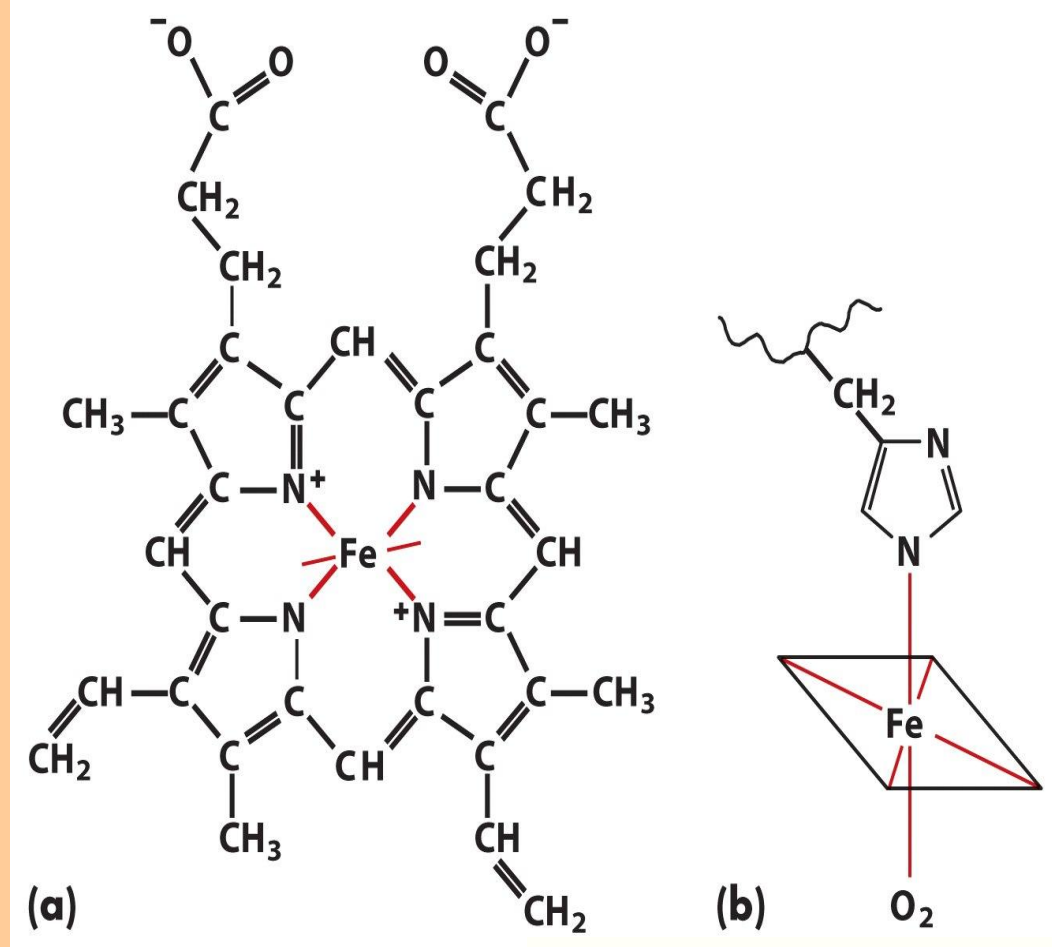
- **Гемоглобин** ( переносит  $O_2$  от легких к тканям )
- **Миоглобин** ( переносит  $O_2$  в мышечной ткани )
- **Цитохром с** (транспорт электронов в дыхательной цепи)
- **Сывороточный альбумин** (транспорт жирных кислот в крови)
- **Мембранные белки – каналообразователи** (транспорт веществ и ионов через биологические мембраны)



# Гемоглобин



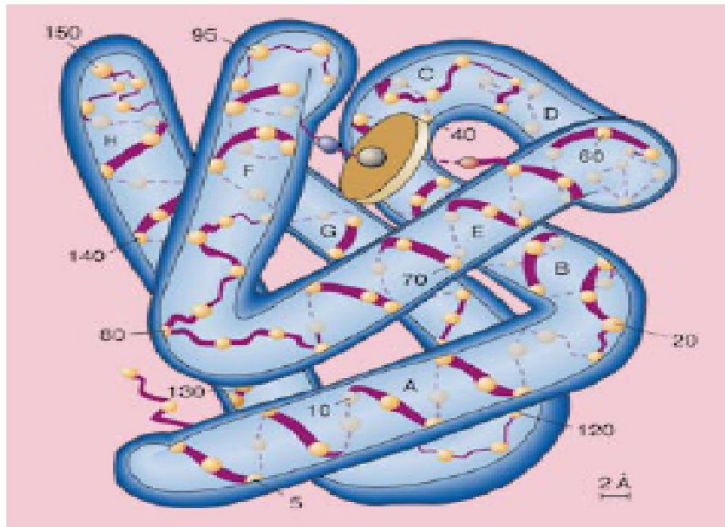
Гемоглобин –тетрамер:  
2  $\alpha$ -субъединицы (141 а.к.)  
2  $\beta$ -субъединицы (146 а.к.)



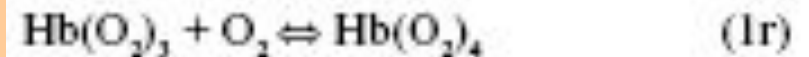
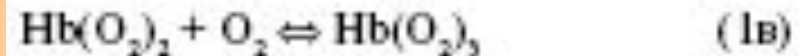
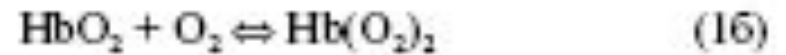
Структура гема

Структура активного центра гемоглобина

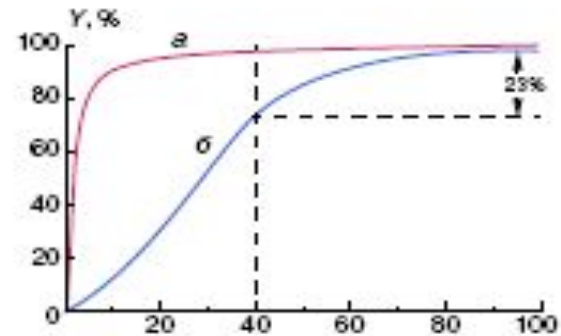
# Гемоглобин и миоглобин



Структура миоглобина



где Mb – миоглобин.



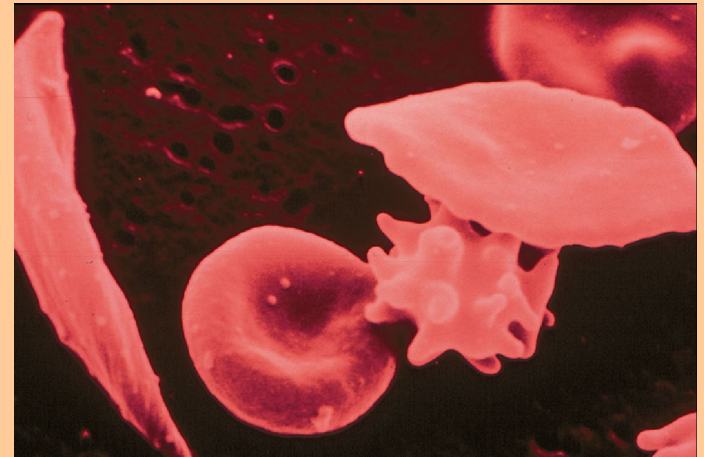
Кривые оксигенации  
миоглобина (а)  
и гемоглобина (б)

# Гемоглобин

**Серповидноклеточная анемия** – это “молекулярная болезнь” гемоглобина, наследственная генетическая аномалия.

Серповидные эритроциты очень хрупкие, легко разрываются – низкий уровень гемоглобина в крови, а также эритроцитами неправильной формы блокируются кровеносные капилляры.

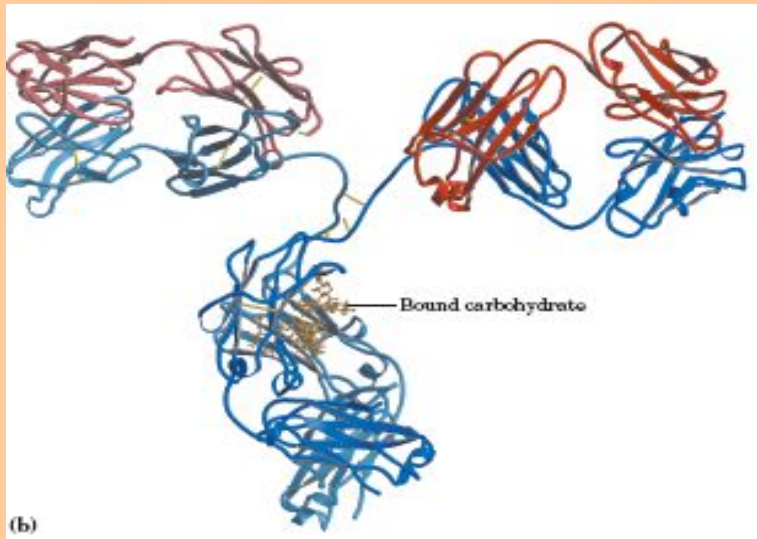
**Аномальный гемоглобин – гемоглобин S:**  
замена Glu (6) → Val (6) (2 а.к. из 574 !!!)



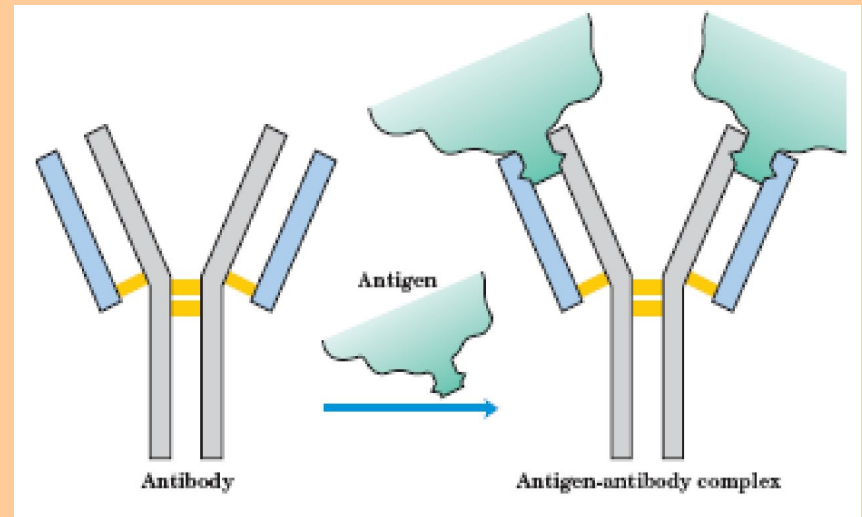
# Защитные белки

Защитные белки участвуют в проявлении защитных реакций организма.

- **Белки иммунной системы** (иммуноглобулины, белки системы комплемента (20 белков), антигены тканевой совместимости, интерлейкины, интерфероны и т.п.)
- **Белки системы свертывания крови** (фибриноген, фибрин, тромбин)



Структура Ig



Связыванием иммуноглобулином (Аг)  
чужеродной молекулы (Аг)

# Пищевые и запасные белки

## Пищевые белки:

- Казеин молока
- Альбумин яичный
- Глиадин пшеницы
- Зеин ржи

## Запасные белки:

- Ферритин (“депо” Fe в селезенке)

# Белки-гормоны

**Гормоны – биологически активные регуляторы, вырабатываются в эндокринных железах и разносятся по кровяному руслу к клеткам-мишеням.**

**Существует 3 класса гормонов – пептидно-белковые, стероидные, биогенные амины (адреналин).**

**Белковые гормоны – все гормоны гипоталамуса, некоторые гормоны гипофиза и др. (соматотропин, тиротропин, гонадотропин, пролактин, инсулин, паратропин).**

**Пептидные гормоны – окситоцин, вазопрессин, глюкагон, гастрин, кальцитонин, тканевые гормоны брадикинин и ангиотензин.**

# Рецепторные белки

## Рецепторные белки:

- **Родопсин зрительного аппарата животных** (восприятие и преобразование световых сигналов)
- **Бактериородопсин галофильных бактерий**
- **Мембранные белки - рецепторы различных гормонов** (передают сигнал от гормона внутрь клетки и обеспечивают запуск механизма клеточного ответа)
- **Рецепторы клеточной поверхности эритроцитов, лимфоцитов, макрофагов** (выработка организмом иммунного ответа)
- **Рецепторы нейропептидов головного мозга** (регуляция поведения и высшей нервной деятельности)

# Регуляторные белки и пептиды

**Регуляторные белки необходимы для функционирования различных звеньев клеточного метаболизма:**

- **Гистоны, репрессоры, рибосомальные факторы инициации транскрипции и т.п. (регулируют активность генов и биосинтез белка).**
- **“Воротные” белки мембранных каналов (регулируют транспорт через биомембраны).**



# Структурные белки

Структурные белки составляют остов многих тканей и органов.

- Являются фибриллярными белками

- Это белки соединительной ткани:

- ✓ коллаген (кости, хрящи, кожа, сухожилия)

- ✓  $\alpha$ - и  $\beta$ -кератины (волосы, шерсть, чешуя, панцири и т.д.)

- ✓ эластин (связки, стенки сосудов и др.)

- ✓ фиброин (шелк, паутина)

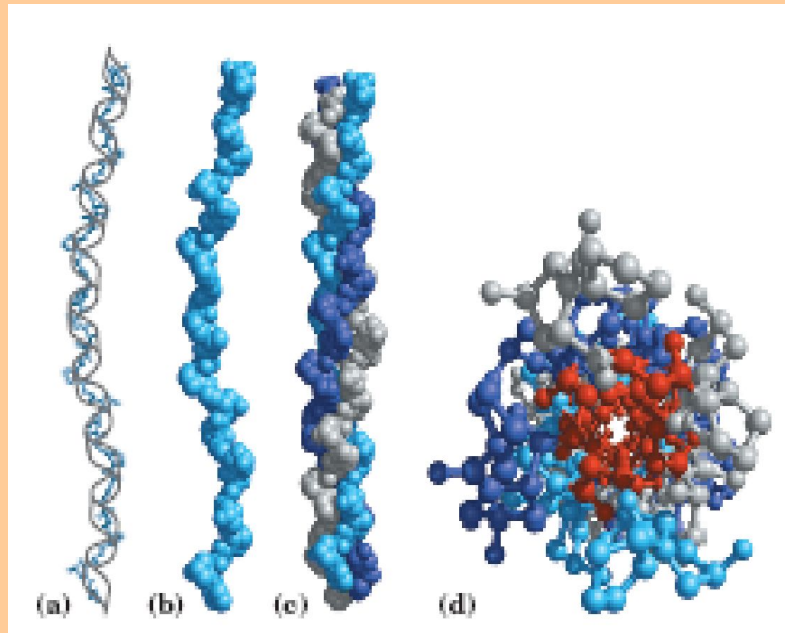
- ✓ протеогликаны (клеточные стенки бактерий)

# Структурные белки

**Коллаген** образует основу сухожилий, хрящей, кожи, зубов и костей .

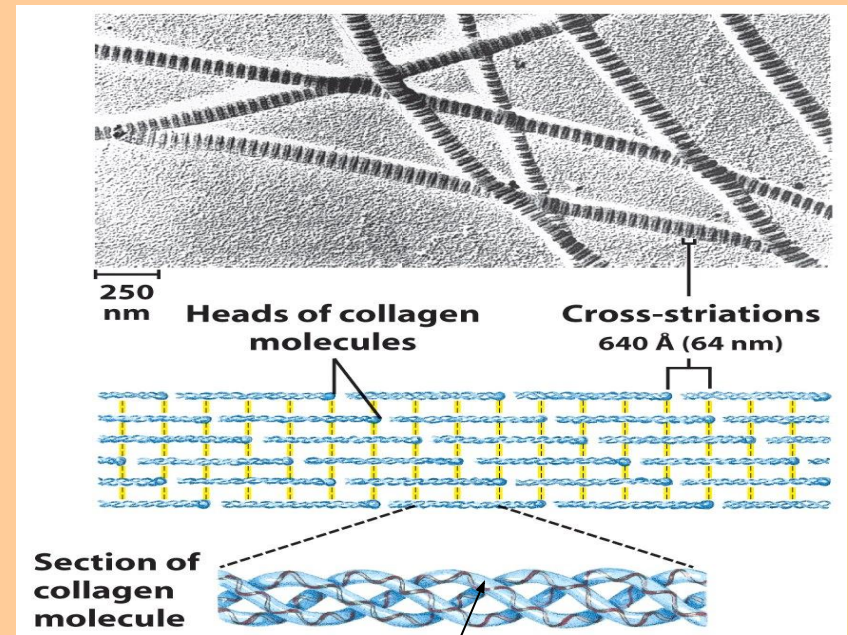
Структурная единица волокон коллагена – **тропоколлаген**.

**Тропоколлаген** – это ассоциат из 3-х навитых друг на друга полипептидных цепей ( по 1000 а.к.), каждая из которых образует изломанную спираль особого типа (21% Pro и ГидроксиPro). Фибриллы коллагена нерастяжимы и имеют большую прочность на разрыв.



Фибриллы  
коллагена

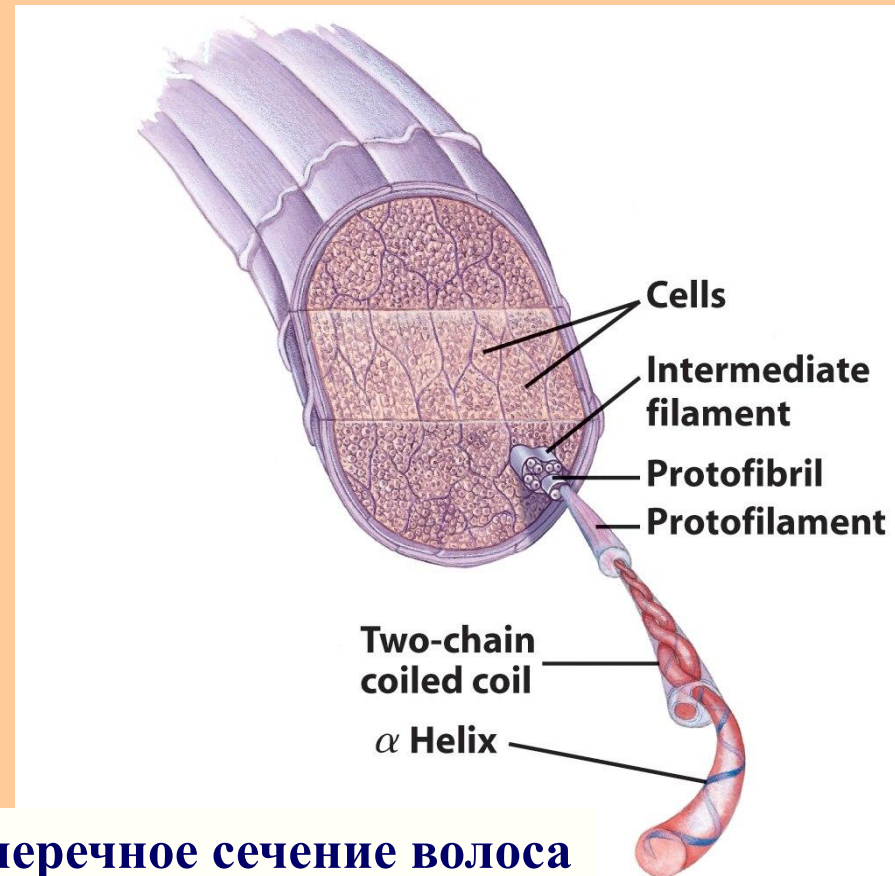
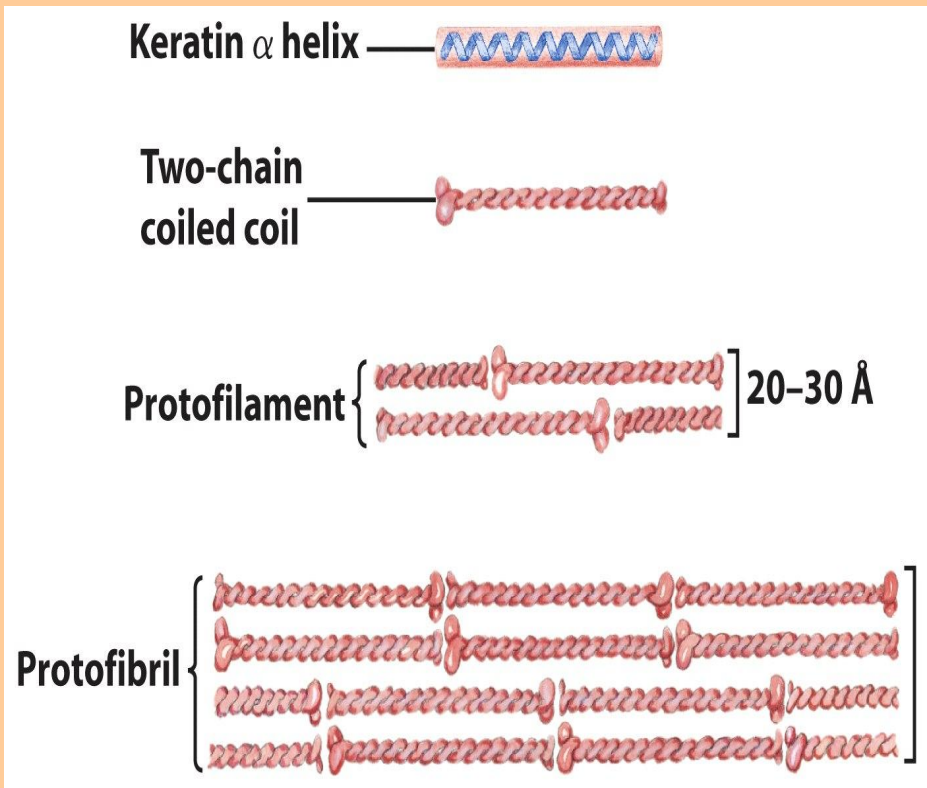
Коллаген



Тропоколлаген

# Структурные белки

**$\alpha$ - Кератины** – нерастворимые в воде, плотные белки (присутствие большого числа  $\alpha$ -спиральных участков – 2-3 а.к. цепи закручиваются одна вокруг другой):  
Волосы, шерсть, чешуя рыб, рога, копыта, панцири и т.п.



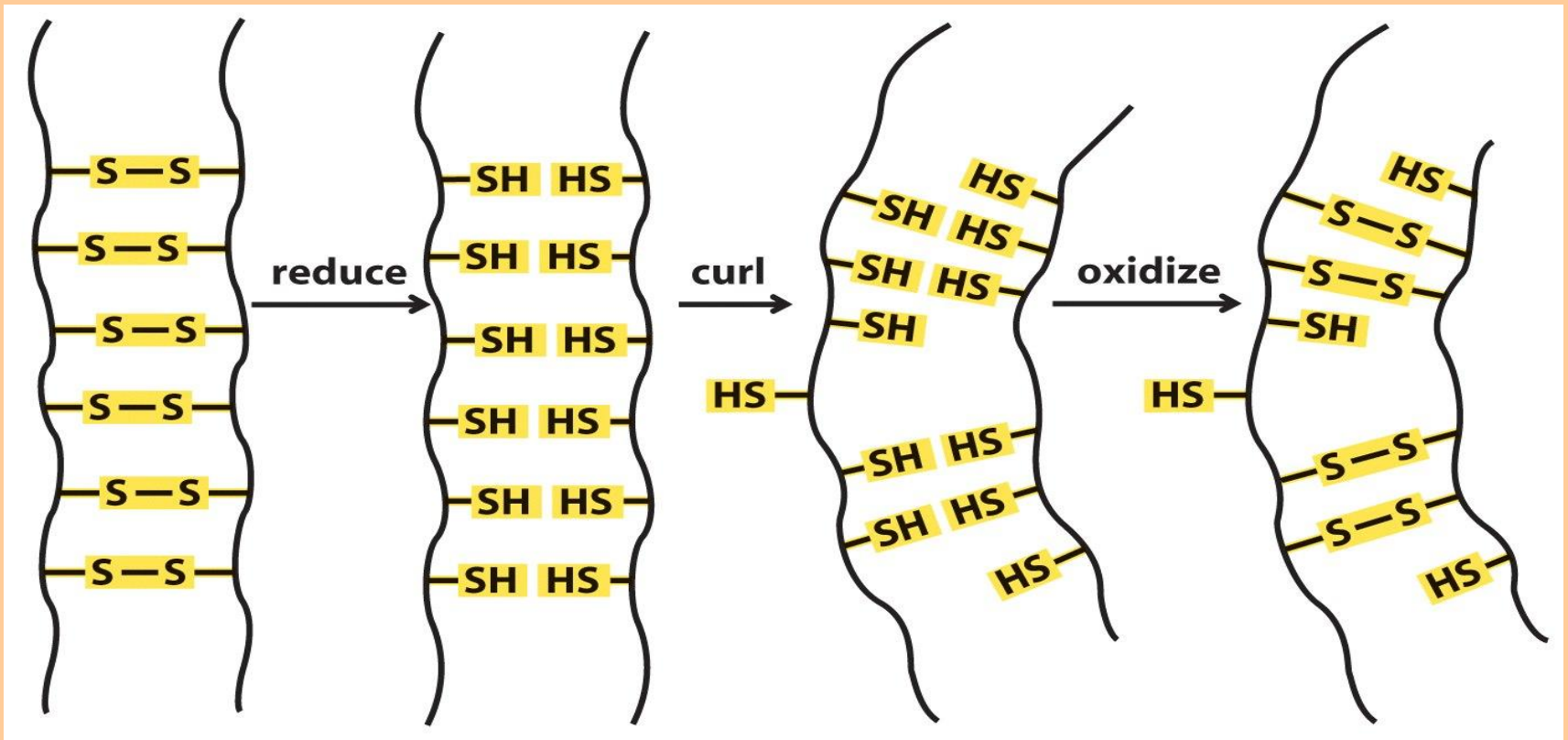
Поперечное сечение волоса

# Структурные белки

## $\alpha$ - Кератин

Пример биохимической технологии

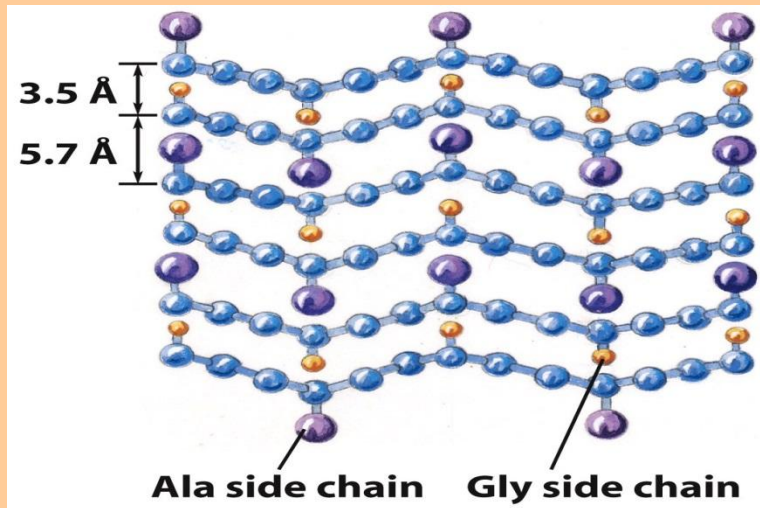
Что здесь изображено?



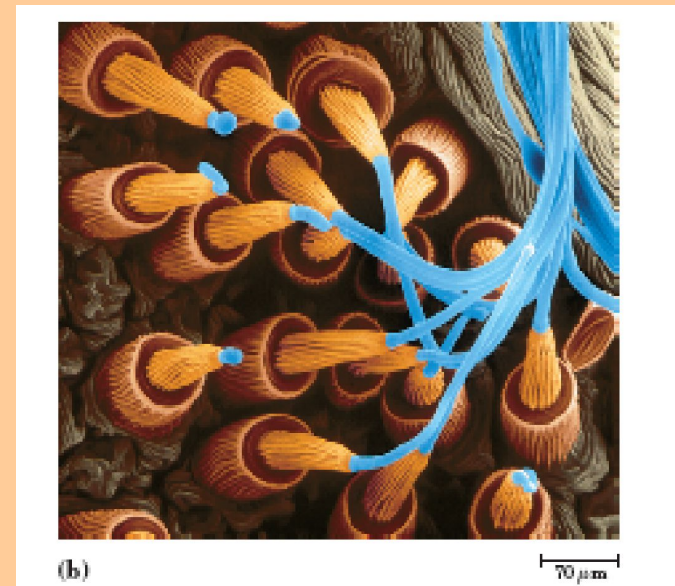
# Структурные белки

**$\beta$ - Кератин – фиброин (шелка и паутины):**

- **нерастворимый в воде, слабо растяжимый белок**
- **имеет антипараллельную  $\beta$  - складчатую структуру**



**Структура фиброина шелка**



**“Производство” белка-фиброина пауком**

# Двигательные белки

## Двигательные белки :

- **Актин и миозин** (сократительный аппарат мышц)
- **Динеин** (реснички и жгутики простейших)
- **Спектрин** (мембраны эритроцитов)

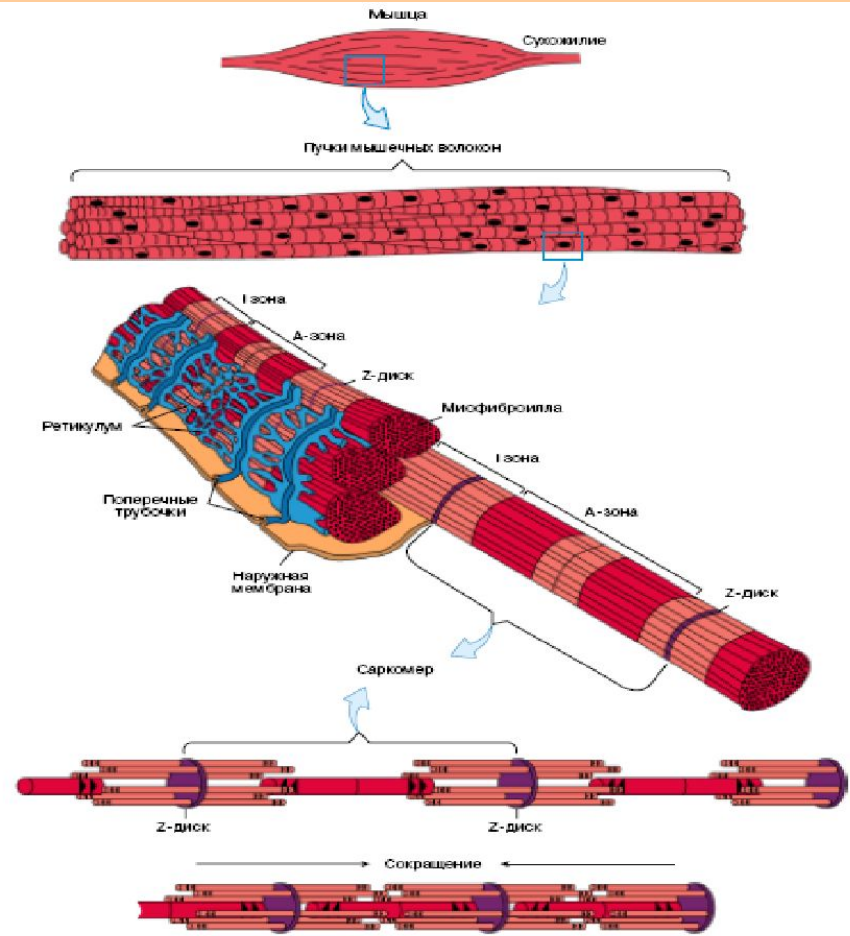


Рис. 1. Ультраструктура сократительного аппарата и иллюстрация модели скользящих нитей (по [5] с изменениями)

# Антибиотики белково-пептидной природы

**Антибиотики – химические агенты, продуцируемые микроорганизмами, обладают прямым и избирательным ингибирующим действием на живые клетки (антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, противоопухолевые антибиотики).**

**Пептидные антибиотики:** грамицидины А, В, С, S, полимиксины, актиномицины, валиномицин и многие другие.

**Белковые антибиотики:** неокарциностагин, актиноксантин и другие.

# Токсины пептидно-белковой природы

**Белками являются самые мощные из известных токсинов микробного происхождения:**

- Ботулинический токсин
- Столбнячный токсин
- Дифтерийный токсин
- Холерный токсин

**Белки – зоотоксины** (змей, скорпионов, пауков, и др.)

**Белки – фитотоксины** (рицин из клещевины)

**Пептидные токсины** (ядовитых грибов, яда пчел, морских беспозвоночных)



# Пептиды со вкусовыми качествами

## Пептиды со вкусовыми качествами:

- **Заменители сахара – аспартам Asp-Phe-OMe** (в 200 раз слаще сахара, низкая калорийность)
- **“Вкусный пептид” Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala** (получают при обработке мяса папаином)
- **Белки с интенсивным сладким вкусом – тауматин (207 а. к.) и монеллин (94 а.к.)** из плодов африканских растений (слаще сахара в 100 000 раз)

