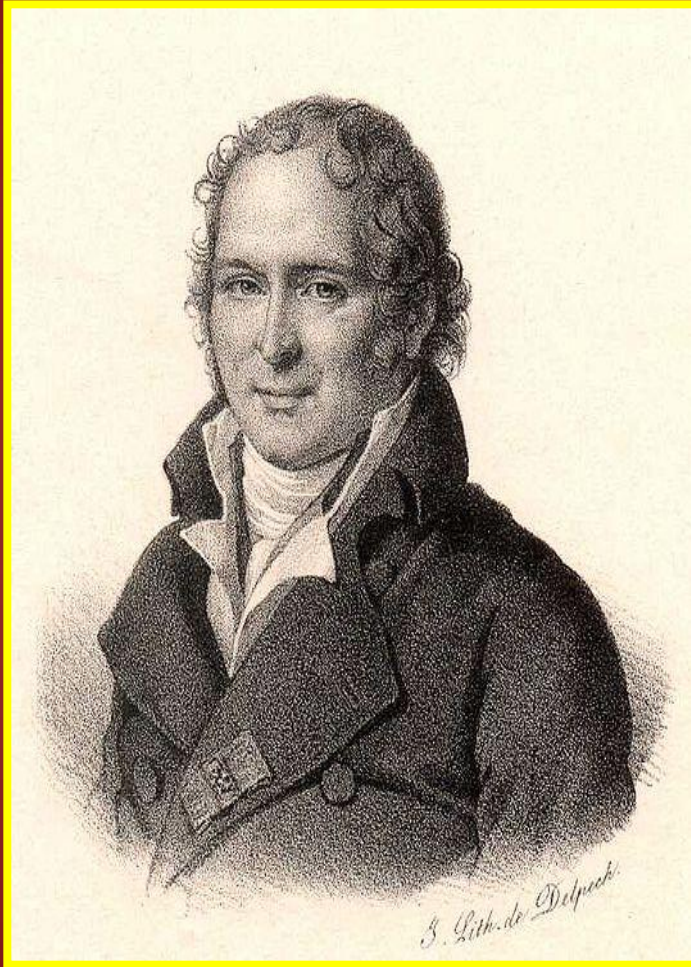


Структурная организация белка

Лекция № 2

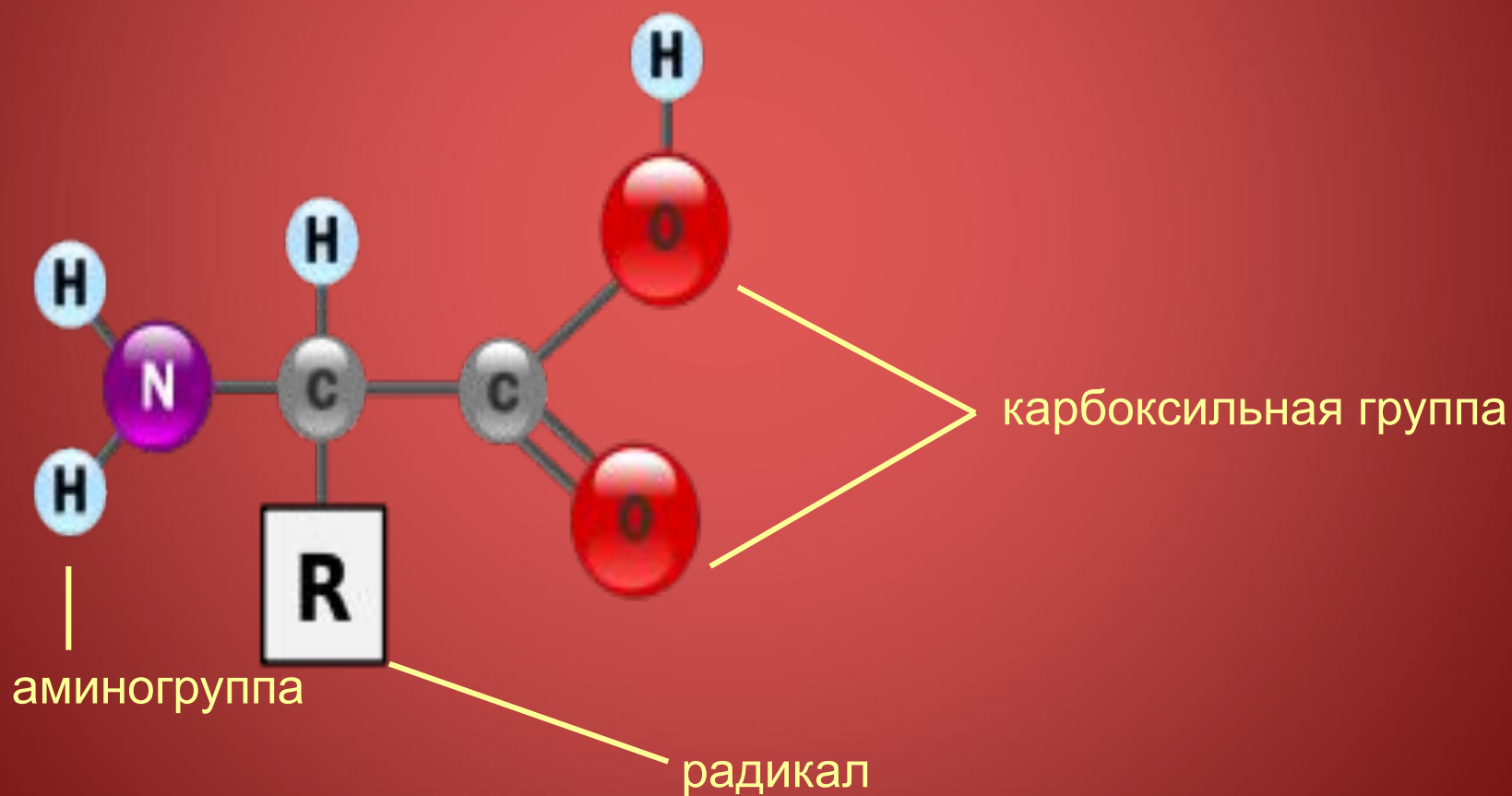
История изучения



Антуан Франсуа де Фуркруа,
основоположник изучения белков

Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке в результате работ французского химика Антуана Фуркруа Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке в результате работ французского химика Антуана Фуркруа и других учёных, в которых было отмечено свойство белков коагулировать Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке в результате работ французского химика Антуана Фуркруа и других учёных, в которых было отмечено свойство белков коагулировать (денатурировать Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке в результате работ французского химика

Мономерами белков являются аминокислоты

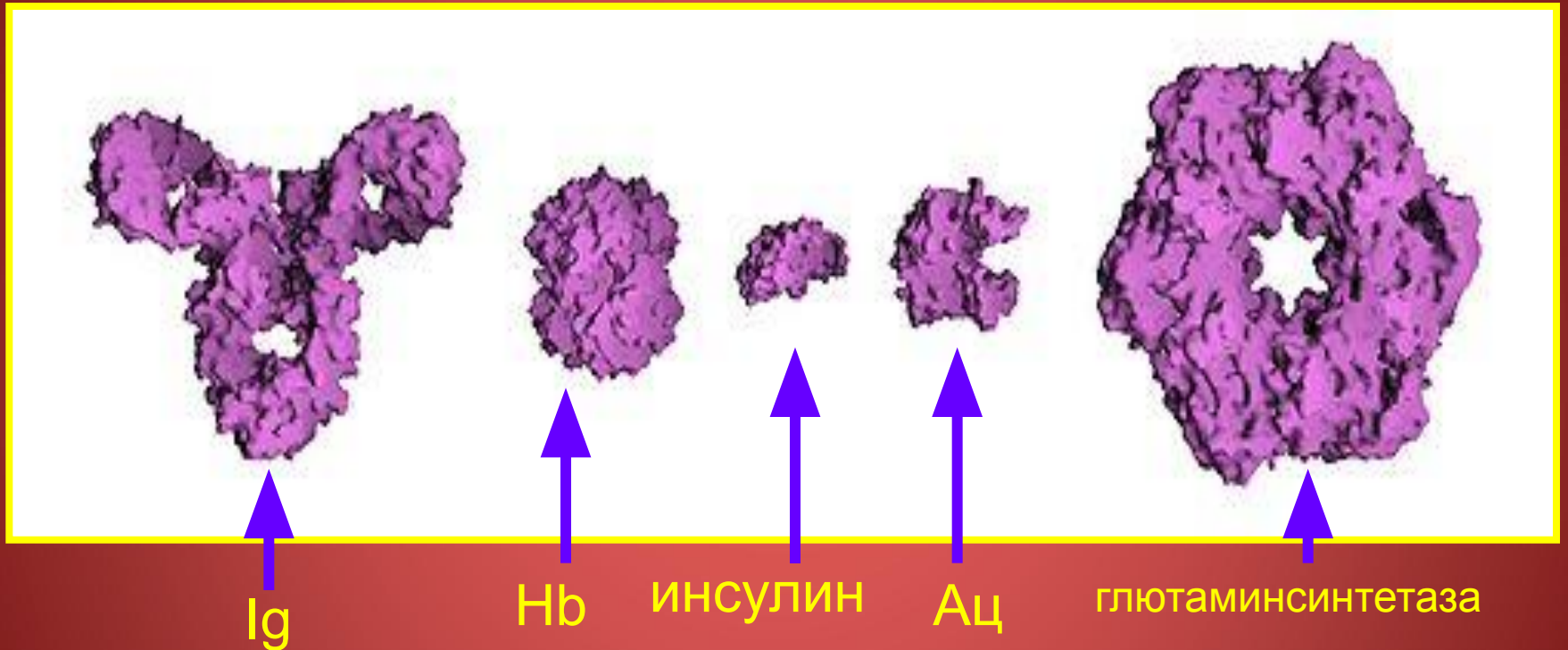


Олигопептиды содержат до 20 амк (среди них различают ди-, три-, тетра- и т.д. пептиды);

Полипептиды содержат от 20 до 50 амк;

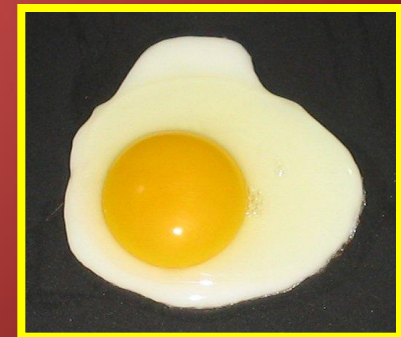
Белки – полипептидные цепи, объединяющие более 50 амк., и имеющие молекулярную массу свыше 6 тыс.

Свойства белков



Размер белка может измеряться в числе аминокислот или в дальтонах. Размер белка может измеряться в числе аминокислот или в дальтонах (молекулярная масса), чаще из-за относительно большой величины молекулы в производных единицах — килодальтонах (кДа).

- Амфотерность
- Способность к ионизации в растворе
- Характерной константой белков является pI – изоэлектрическая точка
- Хорошо растворимы в воде
- Способность к денатурации



Классификация белков

1. По химическому строению

- простые;
- сложные;

2. По выполняемой функции

- белки-ферменты
- белки-гормоны
- белки-рецепторы
- структурные белки
- защитные белки
- сократительные белки

3. По форме

- глобулярные
- фибриллярные

Классификация белков

4. По молекулярной массе

- низкомолекулярные
- высокомолекулярные

5. По локализации в клетке

- цитоплазматические
- лизосомальные
- ядерные и т.д.

6. По локализации в организме

- белки крови
- белки печени
- белки сердца и т.д.

Классификация белков

4. По молекулярной массе

- низкомолекулярные
- высокомолекулярные

5. По локализации в клетке

- цитоплазматические
- лизосомальные
- ядерные и т.д.

6. По локализации в организме

- белки крови
- белки печени
- белки сердца и т.д.

Классификация белков

7. По возможности адаптативно регулировать количество данных белков

- белки, синтезирующиеся с постоянной скоростью (конститутивные)
- белки, синтез которых может усиливаться при воздействии факторов внешней среды (индуцибельные)

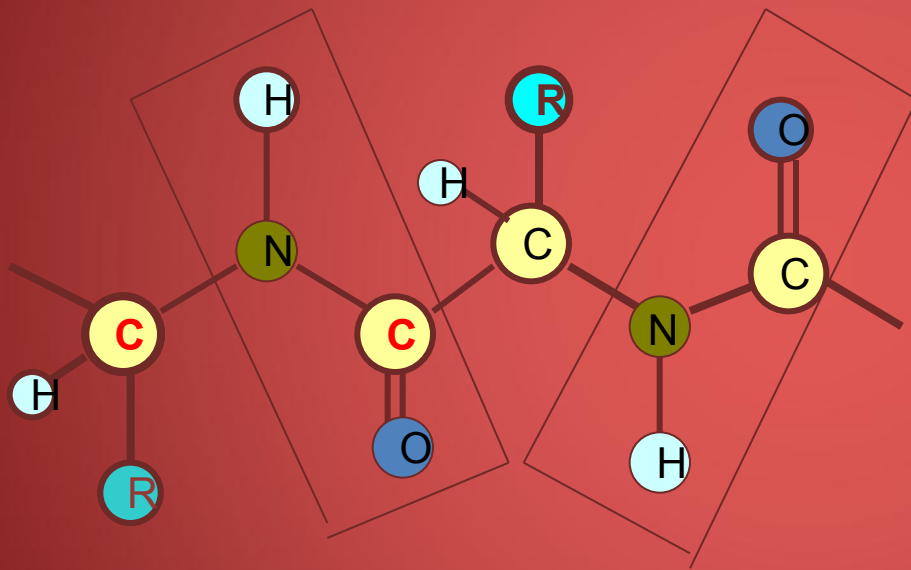
8. По продолжительности жизни

- очень быстро обновляющиеся
- очень медленно обновляющиеся

9. По схожим участкам первичной структуры и родственными функциям

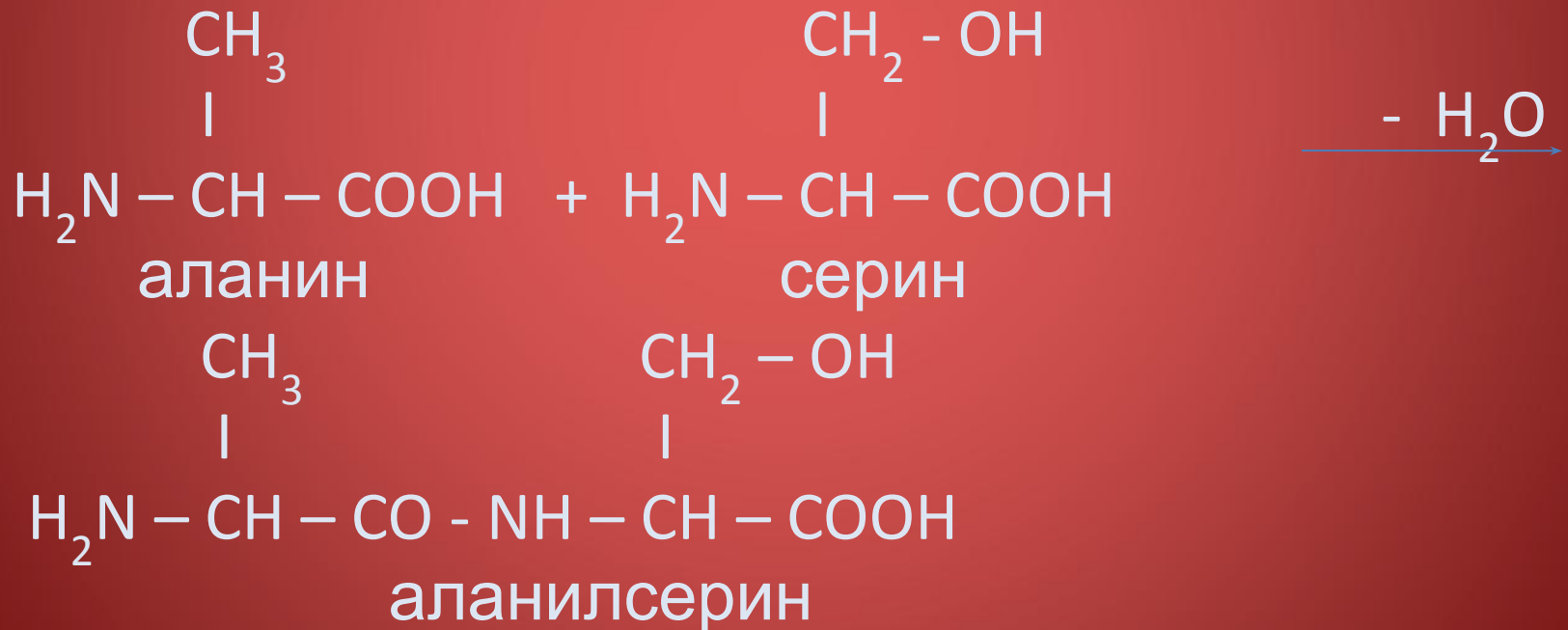
- семейства белков

Особенности первичной структуры



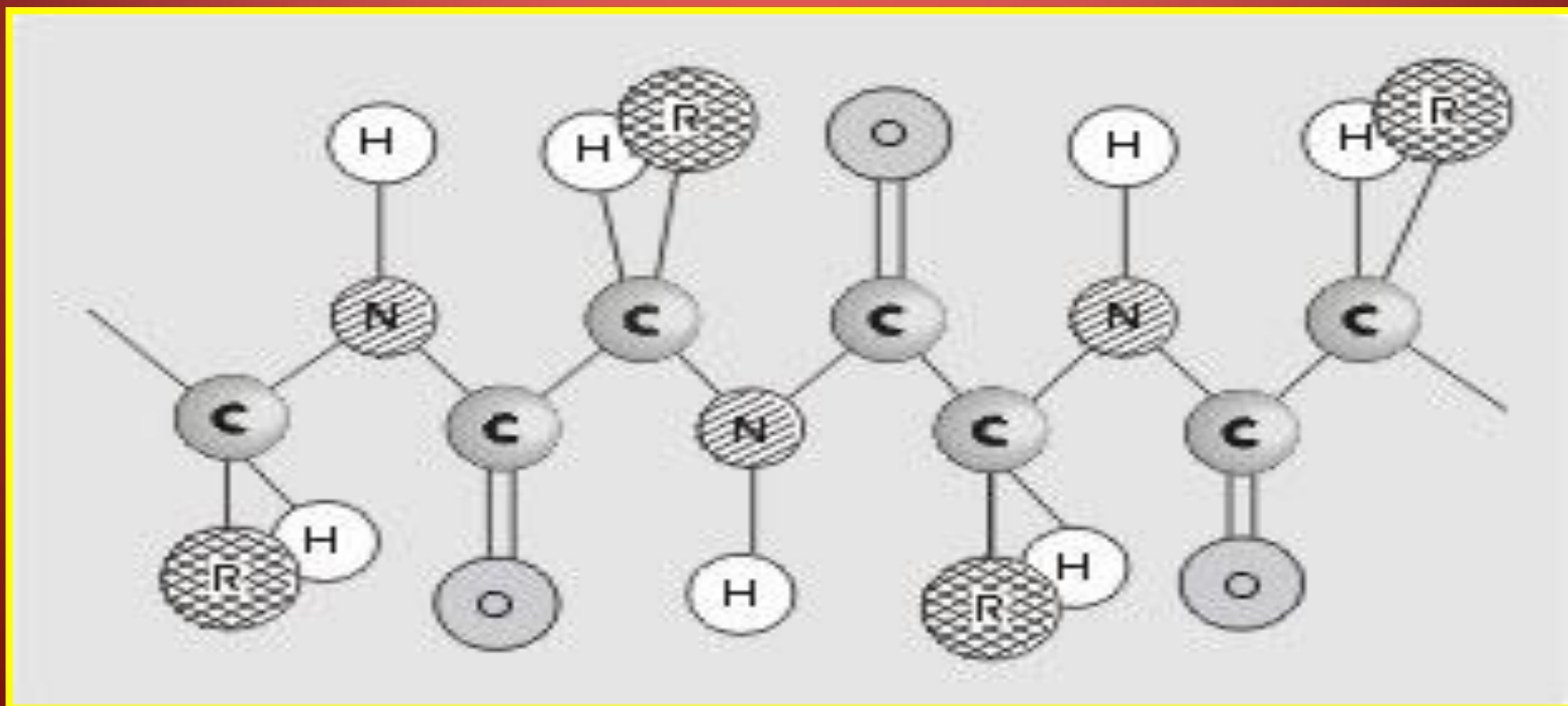
В остове полипептидной цепи чередуются жесткие структуры (плоские пептидные группы) с относительно подвижными участками (-CHR), которые способны вращаться вокруг связей. Такие особенности полипептидной цепи влияют на укладку ее в пространстве

- Пептидная связь – образуется при взаимодействии аминогруппы одной аминокислоты с карбоксильной группой другой аминокислоты с выделением молекулы воды. Это ковалентная связь. Основу цепи составляет повторяющаяся последовательность -CO-NH-CH-

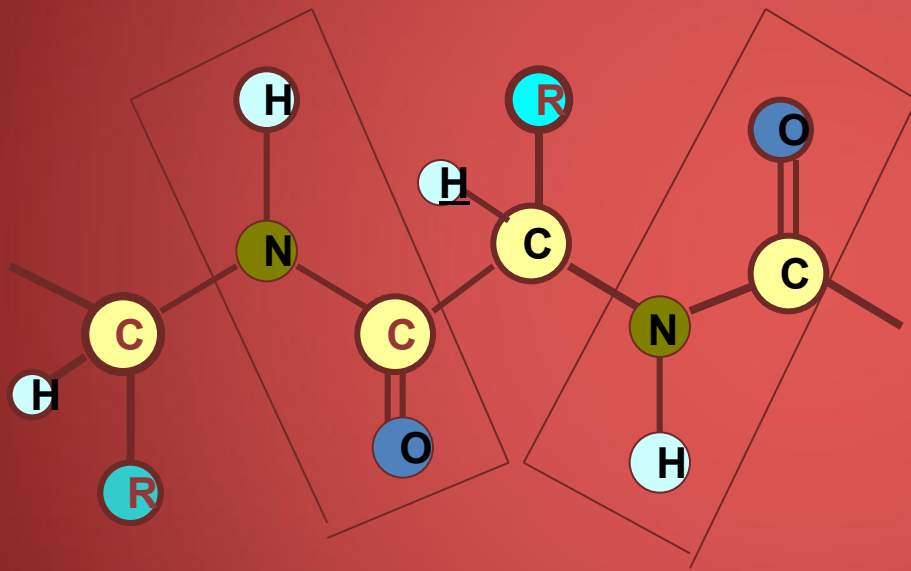


Первичная структура белка

Последовательность чередования аминокислотных остатков (все связи ковалентные – пептидные, прочные). Пептидные связи стабилизируют линейную первичную структуру.



Особенности первичной структуры



В остове полипептидной цепи чередуются жесткие структуры (плоские пептидные группы) с относительно подвижными участками (-CHR), которые способны вращаться вокруг связей. Такие особенности полипептидной цепи влияют на укладку ее в пространстве.

Особенности пептидной связи

1. **Компланарность** – все атомы, входящие в пептидную группу находятся в одной плоскости;
2. Способность существовать в 2-х **резонансных формах** (кето- или енольной форме);
3. **Транс-положение** заместителей по отношению к C-N-связи;
4. Способность к образованию **водородных связей**, причем каждая из пептидных групп может образовывать 2 водородные связи с др. группами, в т.ч. и пептидными.

Исключение составляют пептидные группы пролина и гидроксипролина. Они способны образовать только 1 пептидную связь. Это сказывается на формировании вторичной структуры белка. В местах нахождения данных амк полипептидная цепь легко изгибается, т.к. не удерживается, как обычно, **водородной связью**.

Последовательность изучения первичной структуры белков.

- Расщепление полипептидной цепи белка на более короткие фрагменты по определенным положениям в его последовательности (разрыв дисульфидных мостиков и модификация остатков цистеина);
- Установление порядка чередования амк в полученных фрагментах-пептидах;
- Определение расположения пептидов с известной амк последовательностью в белковой молекуле.

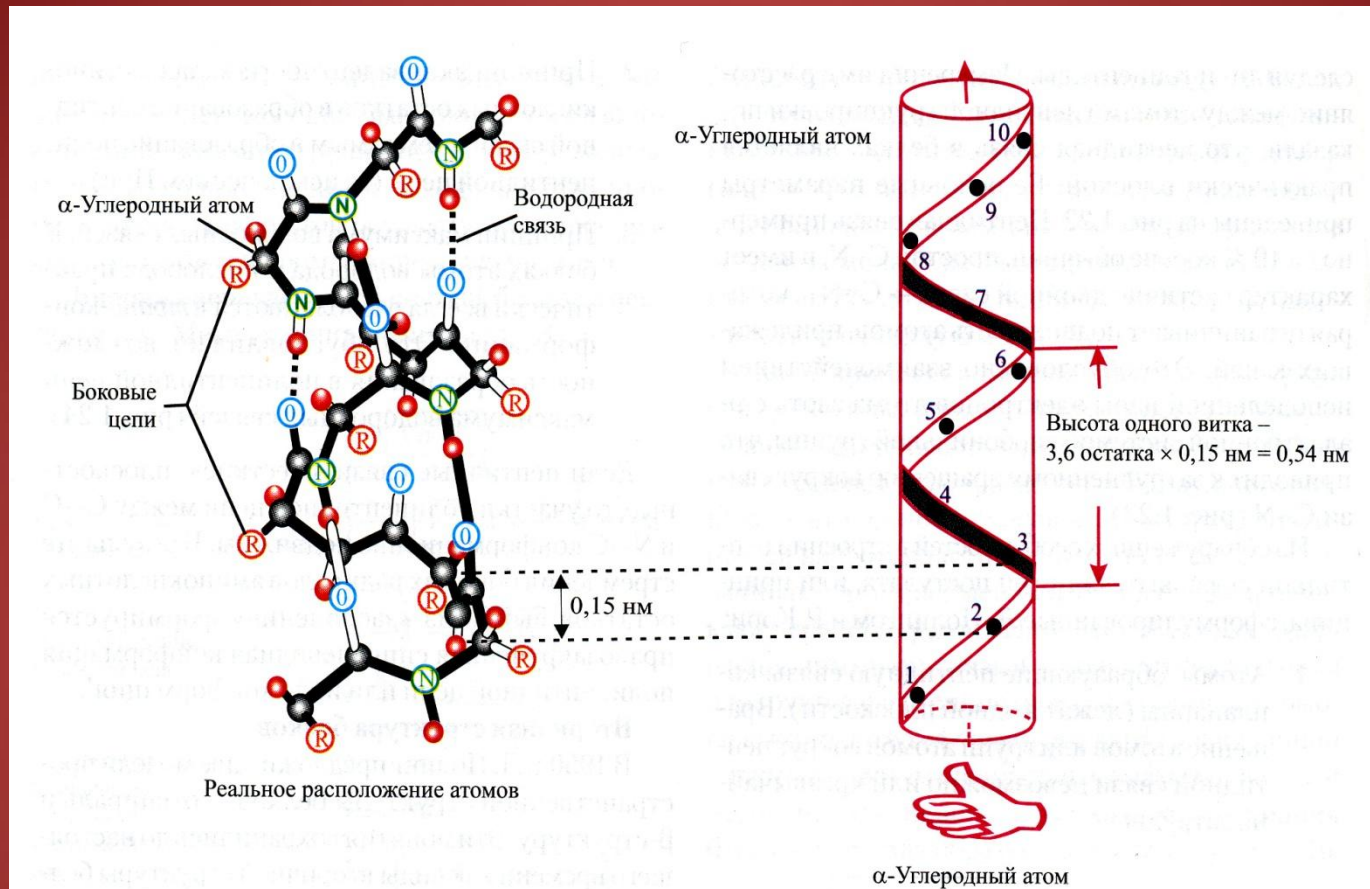
Самой начальной процедурой является определение числа полипептидных нитей в белковой молекуле - протомеров

К слабым взаимодействиям относят:

- Водородные связи – внутри-и межмолекулярные (эти связи формируют гидрофильные радикалы);
- Ионные связи – образуют полярные (заряженные) радикалы;
- Ван-дер-Ваальсовы силы – гидрофобные силы притяжения;
- Гидрофобные взаимодействия – образуют гидрофобные радикалы;
- Дисульфидные связи – образуются при сближении 2-х радикалов цистеина

Вторичная структура

- Вторичная структура это пространственная конфигурация полипептидных цепей, которые стремятся уменьшить свободную энергию, то есть способ скручивания полипептидных цепей в пространстве.
- Различаем α -спирализацию и β – структуру, беспорядочный клубок.



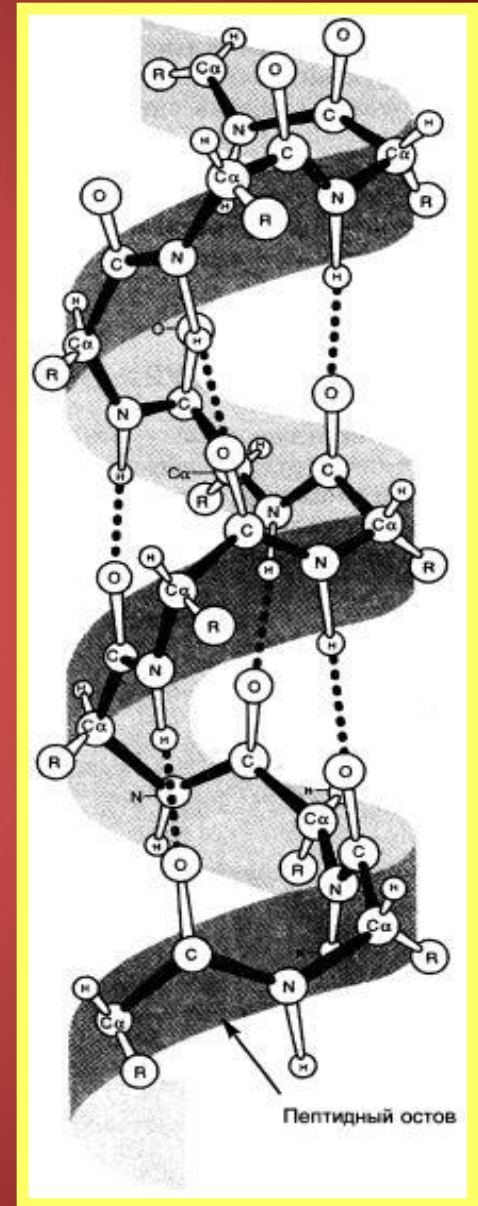
α спирализация – это закручивание полипептидного остова вокруг мнимой оси цилиндра по ходу часовой стрелки, поскольку аминокислоты являются L изомерами. Шаг спирали – 5,3 А (0,54 нМ) на каждом витке располагается 3,6 аминокислотных остатка, то есть происходит взаимодействие между 1 и 4 аминокислотным остатком и образование большого числа водородных связей
- C=O....H-N-

α-спираль

Водородные связи формируют трехмерную вторичную структуру белка и образуются между карбонильной ($>C=O$) и иминогруппами ($=NH$) пептидного остова. Эти связи образуются очень упорядоченно, формируя спираль, и ориентированы вдоль ее оси. На виток спирали укладывается 3,6 аминокислотных остатка (водородные связи образуются между 1-й и 4-й аминокислотами, преимущественно с короткими боковыми цепями). Расстояние между амк остатками равно 0,15 нм.

α-Спираль представляет собой самый жесткий тип вторичной структуры и преобладает во многих белках.

Пролин и амк с длинными радикалами нарушают спиралевидную укладку.



Спираль-клубочек

Содержание α -спирали в белках неодинаково и является индивидуальной особенностью каждой белковой молекулы. Глобулярные белки имеют степень спирализации порядка 60-70%. Спирализованные участки чередуются с хаотическими клубками; в результате денатурации переходы спираль-клубок увеличиваются. Спирализация цепи затруднена в тех случаях, когда одноименно заряженные амк остатки располагаются в непосредственной близости др. от др., т.к. происходит сильное взаимное отталкивание, что препятствует образованию водородных связей, и в тех случаях, когда в амк остатках имеются большие размеры радикалов (сер, тре, лей), а также при наличии в полипептидной цепи пролина, у которого атом азота входит в состав жесткого кольца, что препятствует вращению вокруг связи N-C $_{\alpha}$.

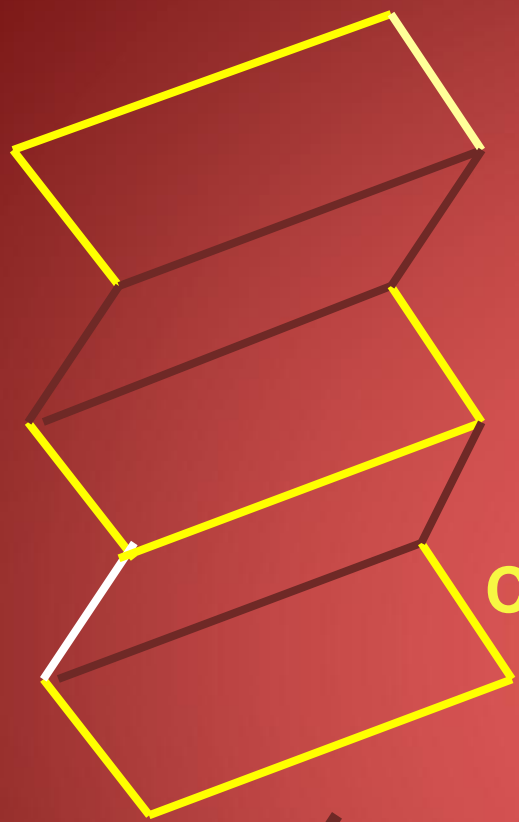
- # 1. Основные особенности α -спирали
- Спиральная конфигурация полипептидной цепи имеет винтовую симметрию (напоминает растянутую спираль электрической плитки);
2. Образование водородных связей между пептидными группами каждого первого и четвертого амк остатков;
 3. Регулярность витка спирали;
 4. Равнозначность всех амк остатков не зависимо от строения их боковых радикалов;
 5. Боковые радикалы амк не участвуют в образовании α -спирали.
 6. Период регулярности α -спирали равен 5 виткам или 18 амк остаткам; длина одного периода

- Некоторые фибриллярные белки образуют конформацию β – структуры-структуры складчатого листа, то есть, последовательный ряд листков, расположенных под углом друг другу. Она может сформироваться между отдельными полипептидными цепями и может быть параллельной и антипараллельной.

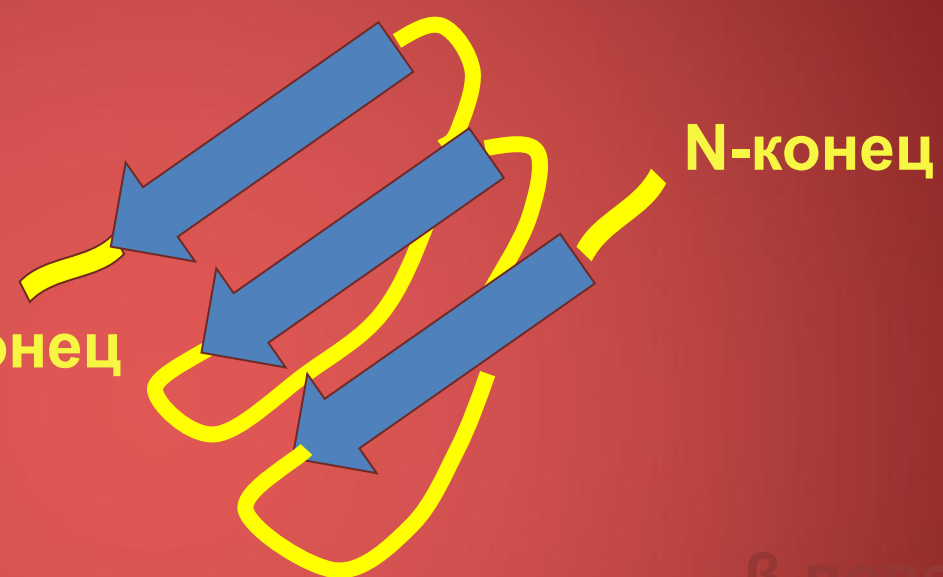
β-структура –

Складчатого типа, водородные связи образуются менее системно, формируя гофрированную структуру из полипептидной цепи. При этом участки цепи идут либо в одном, либо в противоположном направлении.

β-структура встречается реже, чем α-спираль. На схемах изображается в виде широкой плоской стрелки, отмечающей направление от N- к C-концу цепи. Расстояние между соседними амк остатками по оси составляет 0,35 нм., т.е. в 3 раза больше, чем в α-спирали, число остатков на виток равно 2. В отрезке полипептидной цепи, образующей β-структуру, находится от 3 до 7 амк остатков, а сама β-структура состоит из 2-6 цепей, хотя их число может быть и большим. Поверхность β-структуры может быть плоской или левозакрученной таким образом, чтобы угол между отдельными отрезками цепи составлял 20-25°.



Параллельная β -складчатая укладка



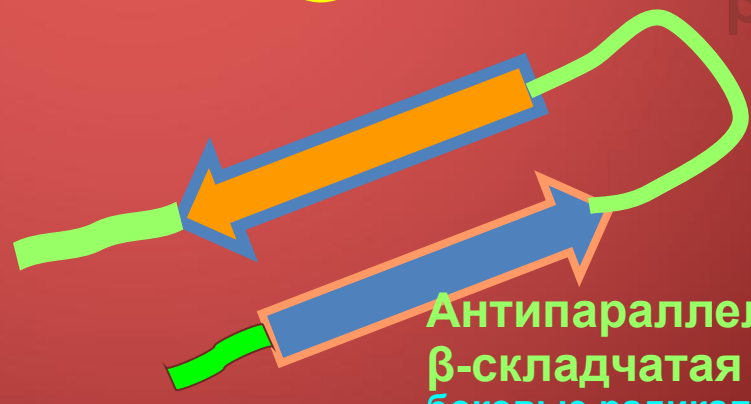
С-конец

Н-конец



межцепочечные водородные связи

С-конец

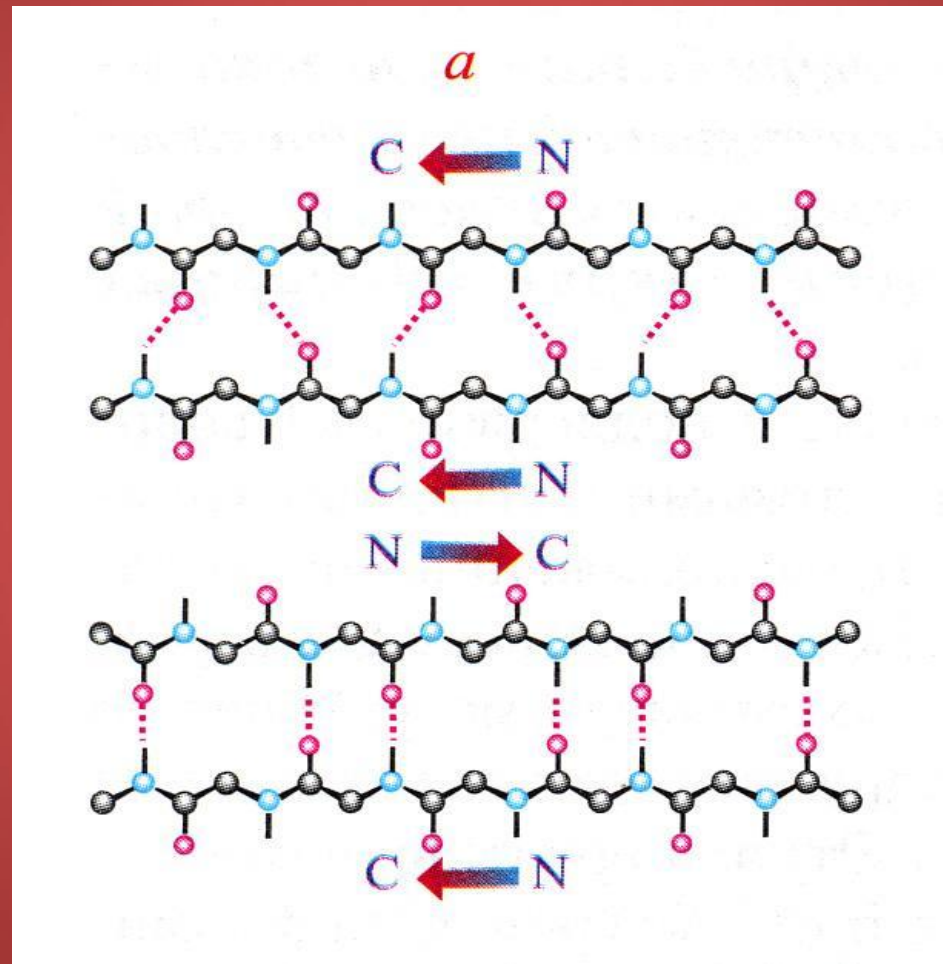


β -поворот

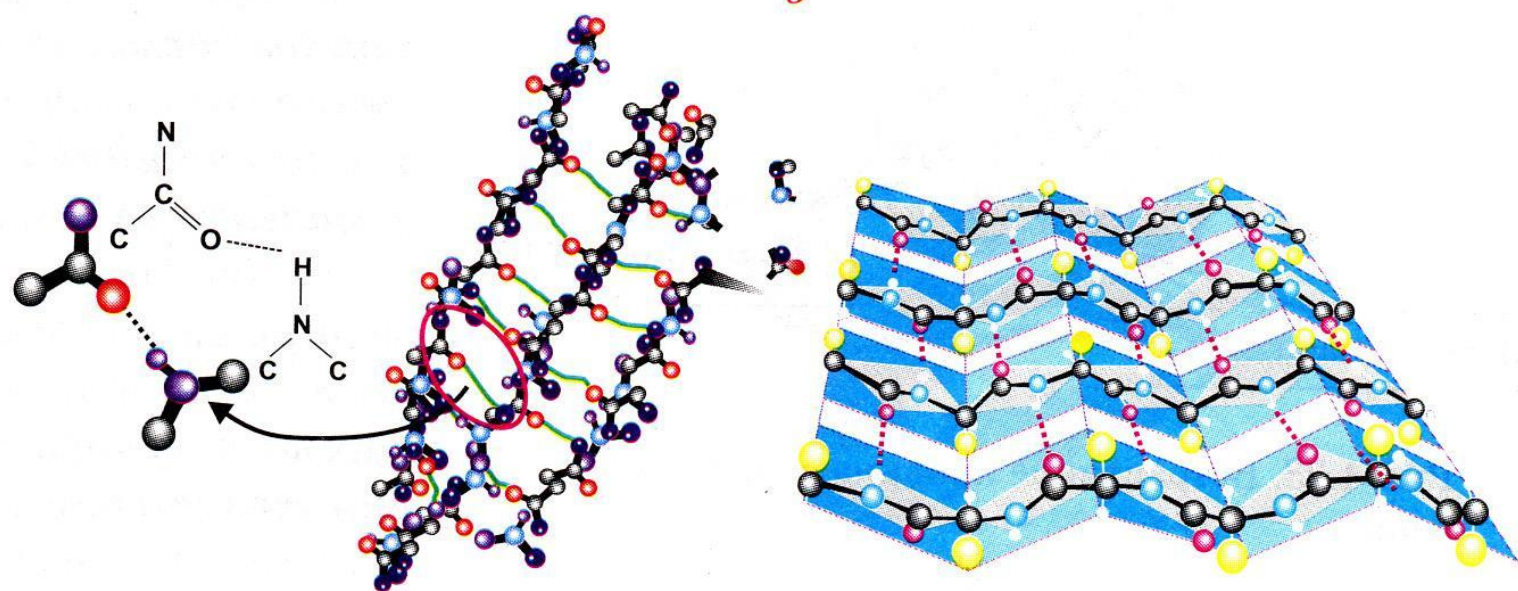
Н-конец

Антипараллельная β -складчатая укладка — боковые радикалы одного слоя помещаются между боковыми радикалами другого слоя.

β – структура



6

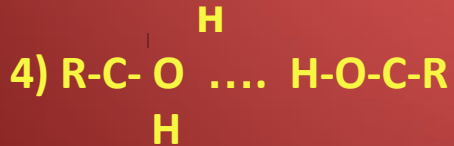
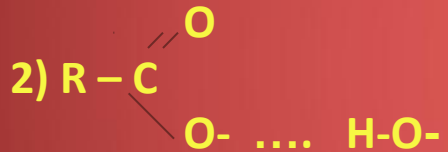
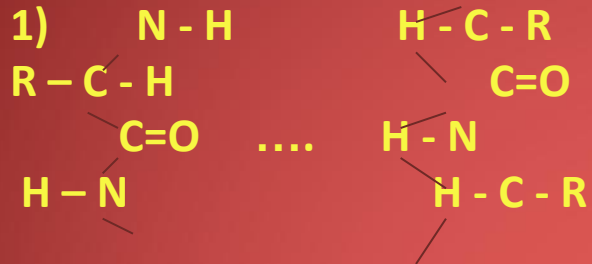


Локализация
водородных связей

Связи, поддерживающие вторичную структуру:

- водородные
- электростатические
- гидрофобные
- ван-дер-ваальсовы

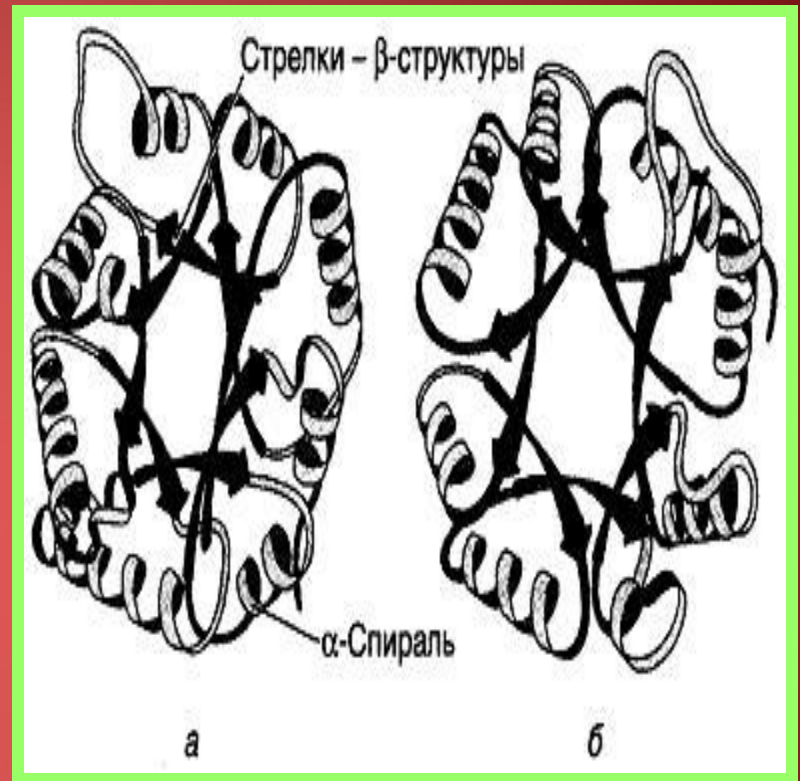
Водородные:



Домены

Это более сложные уровни организации вторичной структуры. Они представляют собой обособленные глобулярные участки, соединенные др. с другом короткими, так называемыми «шарнирными участками» полипептидной цепи.

Доменом называют часть молекулы по структуре напоминающей самостоятельный глобулярный белок.



Супервторичная структура типа бочонка.

а — триозофосфатизомераза; б — домен пируваткиназы

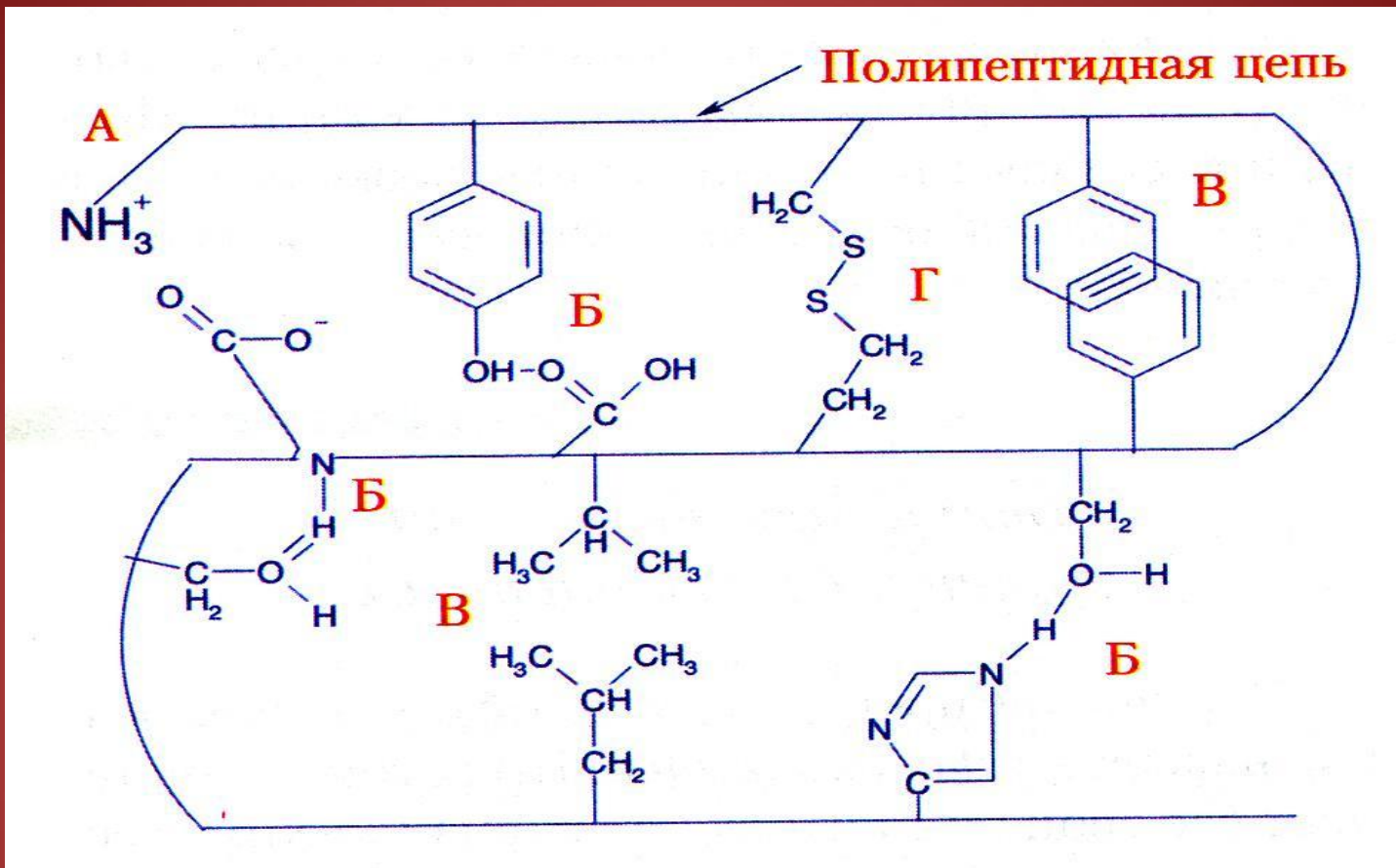
Доменная организация характерна для многих белков. В этих белках находится, как правило несколько структурных доменов, каждый из которых состоит из 200 амк остатков.

В некоторых белках (Ig, сериновые протеиназы), структурные домены сходны по своей первичной структуре, что указывает на возможный механизм дубликации соответствующих генов. В др. белках (гемоглобин) имеются определенные различия.

По строению домены в белках разделяют на несколько групп в зависимости от содержания в них α -спиралей и β -структур.

Третичная структура-

- Третичная структура- это способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме пространства.



Третичная структура поддерживается большим числом слабых связей, энергия которых мала от 1 до 7 кал.

Слабые связи: водородные, электростатические, гидрофобные, Ван-дер-вальсовы:

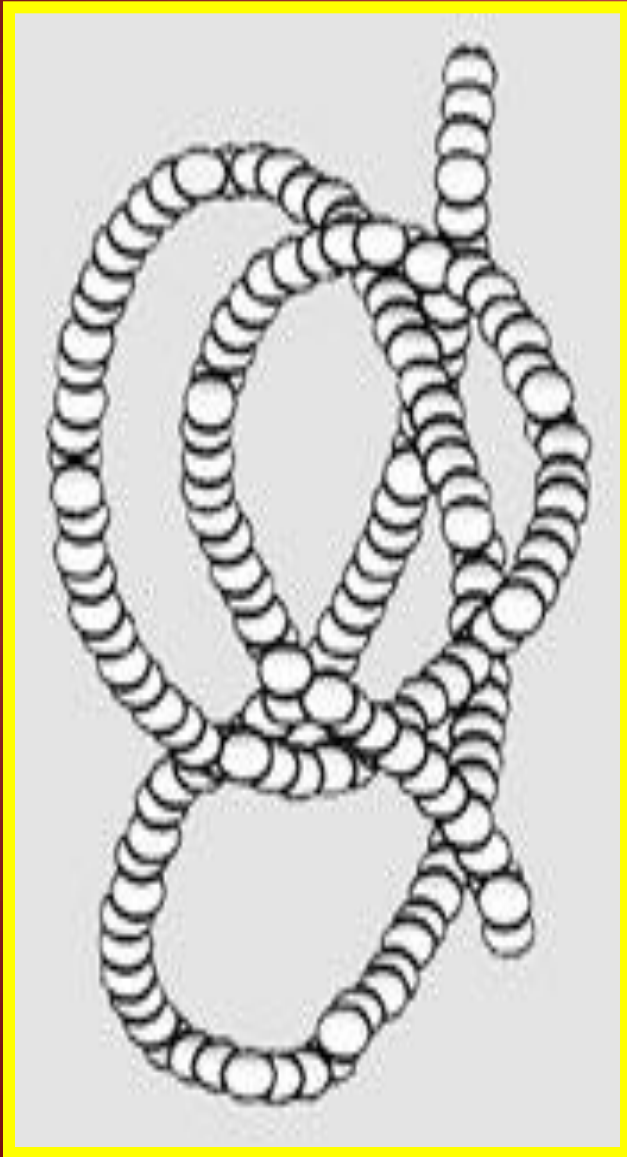
Связи: а) ионная связь

б) водородная связь

в) гидрофобное взаимодействие

г) дисульфидная связь.

Третичная структура белка



Это реальная трехмерная конфигурация, которую принимает в пространстве закрученная спираль (за счет гидрофобных связей); у некоторых белков имеются S-S-связи (бисульфидные).

По форме третичной структуры белки делятся на глобулярные (α -структура) и фибриллярные (β -структура). Однако конфигурация третичной структуры не дает основания думать, что фибриллярные белки имеют только β -структуру, а глобулярные – α -спираль.

Связи, стабилизирующие третичную структуру белка

1. Ковалентные - сильные:

- дисульфидные (-S-S-боковые радикалы цис);
- изопептидные или псевдопептидные – между аминогруппой лиз, арг, и карбоксильной группой боковых радикалов амк асп, глу, аминолимонной кислот (отсюда и название);
- эфирные (редко встречающиеся) – между СООН-группами дикарбоновых амк (асп, глу) и ОН-группой гидроксиаминокислот (сер, тре)

2. Полярные – слабые:

водородные – между группой $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$ бокового радикала одной амк и COOH -группой другой;

ионные (электростатические или солевые) – между $-\text{NH}_3^+$ лиз, арг, гис и группой COO^- асп и глю кислот;

неполярные (гидрофобные связи) – образуются между углеводородными радикалами амк. Эти связи способствуют формированию гидрофобного ядра из неполярных радикалов внутри белковой глобулы.

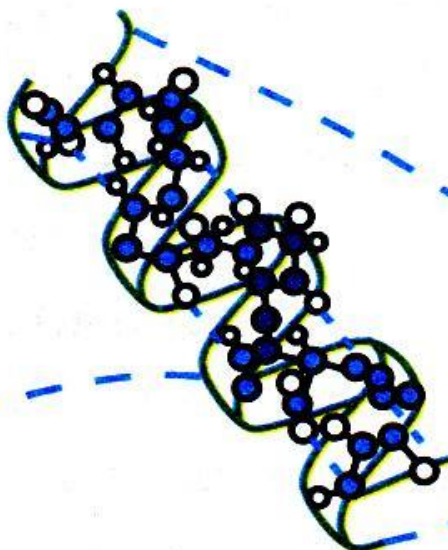
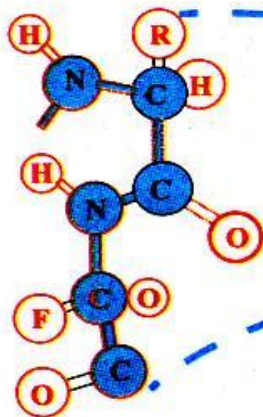
- вандерваальсовые связи

Особенности организации третичной структуры.

Конформация третичной структуры полипептидной цепи определяется свойствами боковых радикалов входящих в нее амк (которые не оказывают заметного влияния на формирование первичной и вторичной структур) и микроокружением, т.е. средой. При укладке полипептидная цепь белка стремится принять энергетически выгодную форму, характеризующуюся минимумом свободной энергии. Поэтому неполярные R-амк остатков, «избегая» воды, образуют как бы внутреннюю часть третичной структуры белка. Полипептидная цепь изгибается в трехмерном пространстве; при ее изгибах нарушается вторичная спиральная конформация. Изгибы цепи образуются в слабых точках (пролин, гидроксипролин, глицин). Только правильная пространственная укладка белка делает его активным.

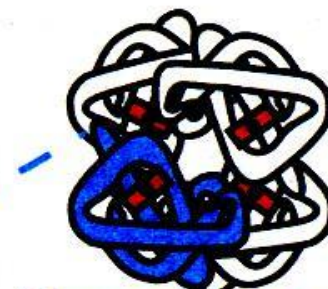
Уровни структурной организации белка

Первичная структура



Вторичная структура

Третичная структура



Четверичная структура

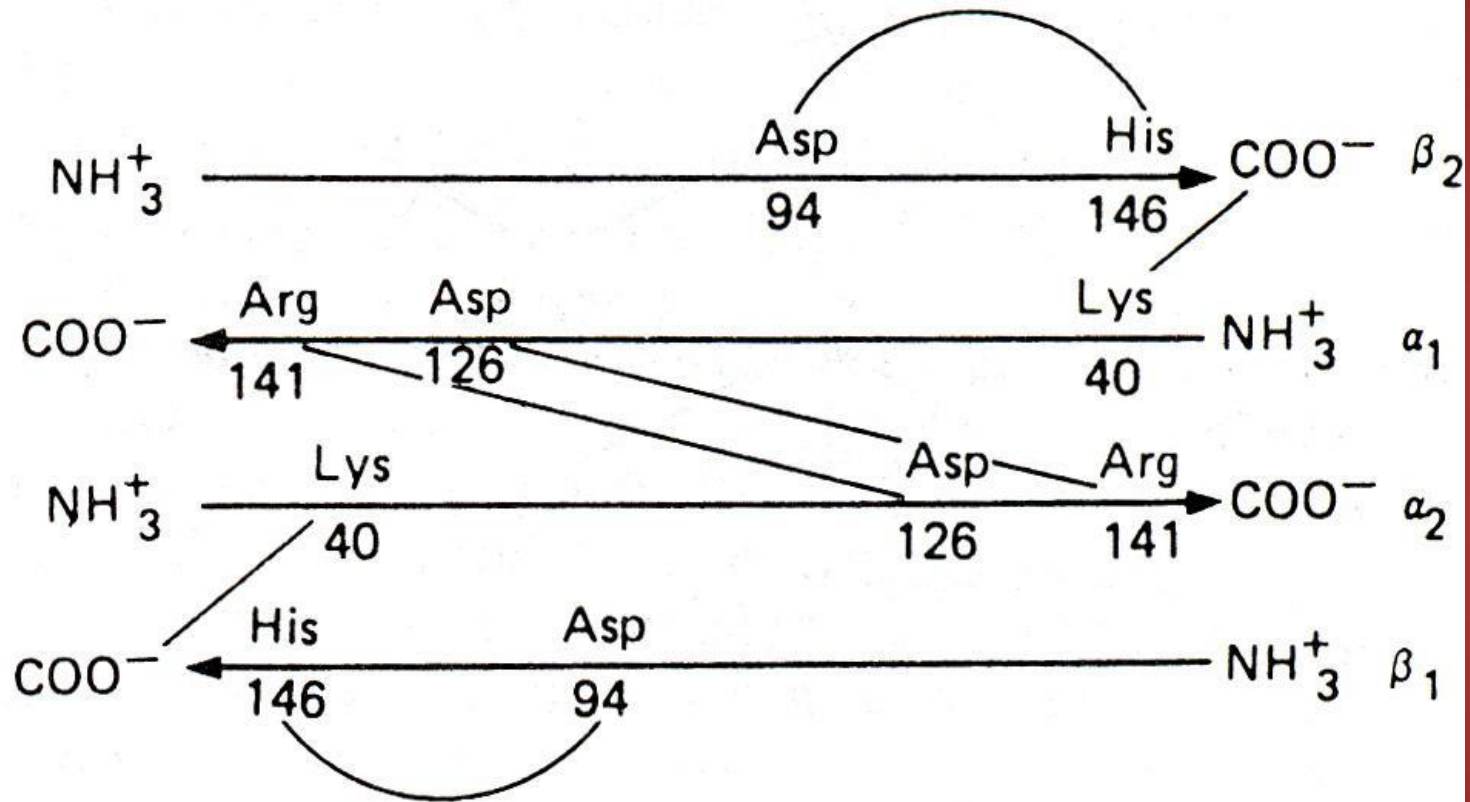
Четвертичная структура

- Четвертичная структура – это способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой или разной первичной, вторичной, третичной структурой и формирующих единое макромолекулярное образование в структурном и функциональном отношении.
- Эту способность белок приобретает при определенном способе пространственного объединения входящих в его состав протомеров образовавшуюся молекулу называемая мультимером, (построены из четного числа протомеров от 2 до 4, реже от 6 до 10,12...).
- Субъединица – функционально активная часть молекулы мультимерного белка. Молекула гемоглобина состоит из α -, и β – субчастиц, каждая из которых состоит из 2-х одинаковых α -, и β –полипептидных цепей т.е. молекула гемоглобина состоит из 4-х полипептидных цепей, каждая из которых окружает группу гема.

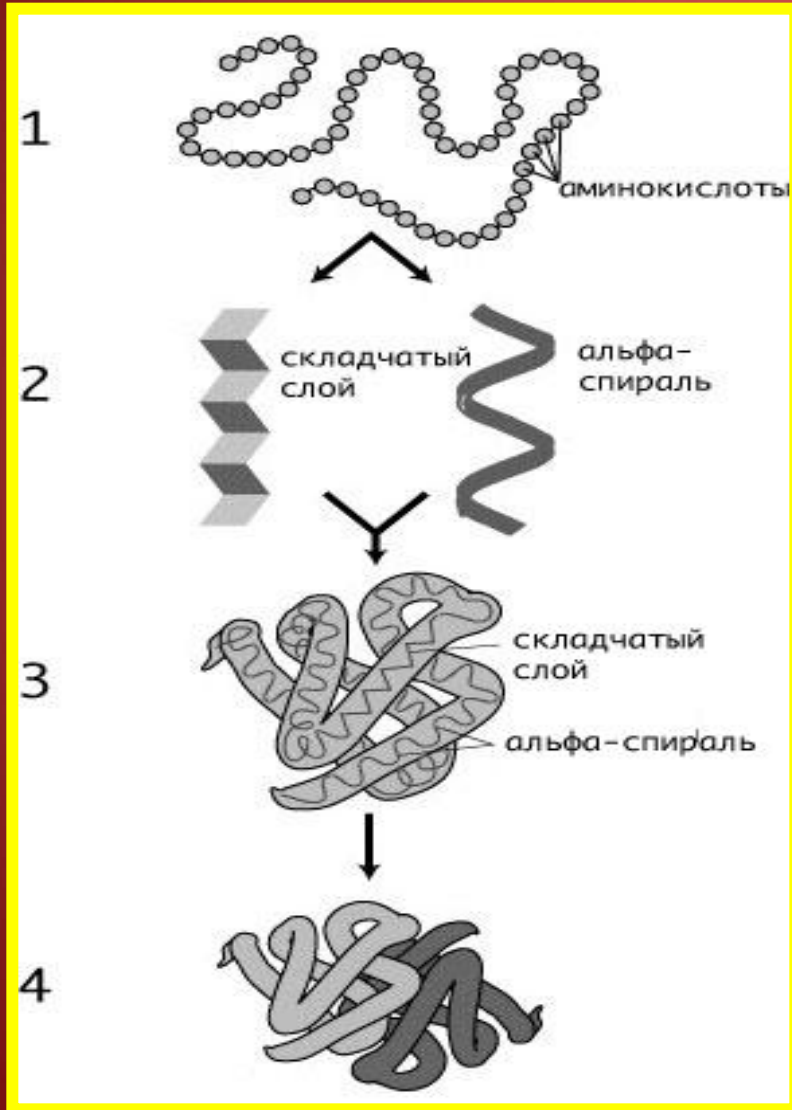
Стабилизация четвертичной структуры белков.

В стабилизации четвертичной структуры принимают участие те же типы взаимодействий, что и в стабилизации третичной. Контакты между поверхностями субъединиц возможны только за счет полярных групп амк остатков, т.к. при формировании третичной структуры каждой из полипептидных цепей боковые радикалы неполярных амк (составляющих большую часть всех протеиногенных амк) спрятаны внутри субъединицы.

Между их полярными группами образуются многочисленные ионные, водородные и дисульфидные связи, которые прочно удерживают субъединицы в виде организованного комплекса.

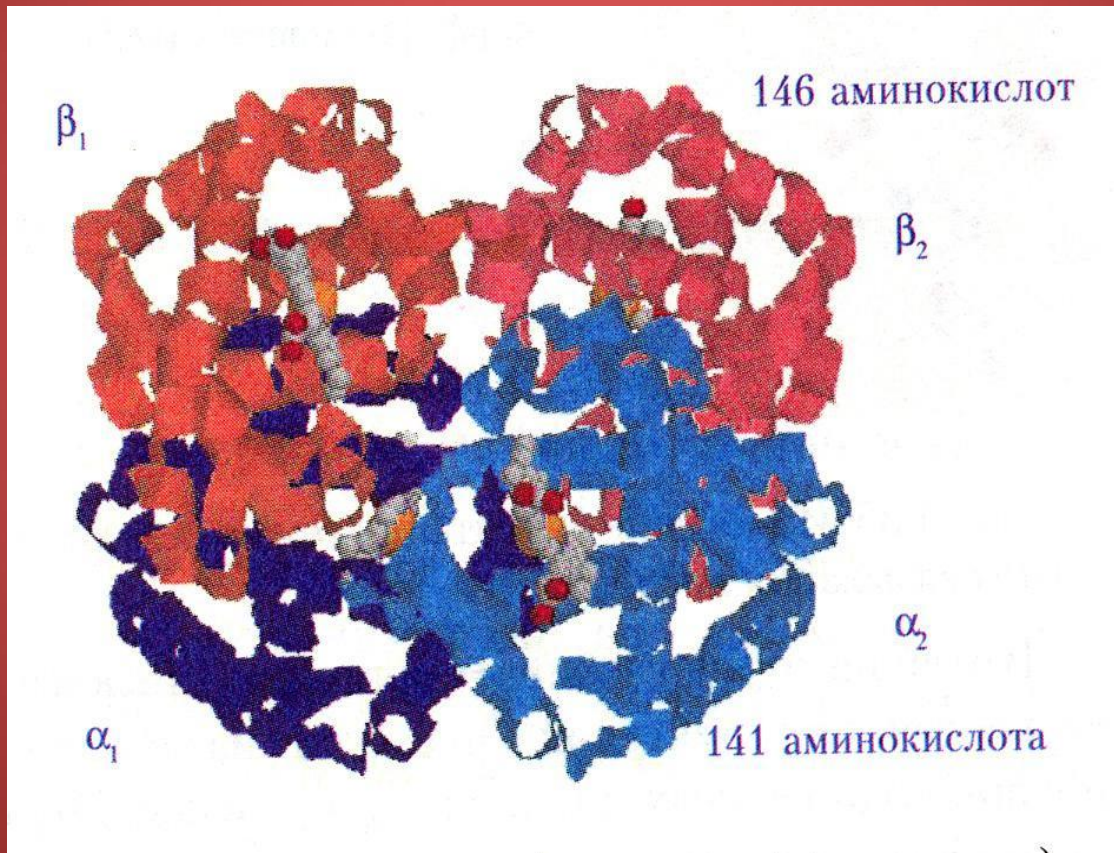


Структура белка

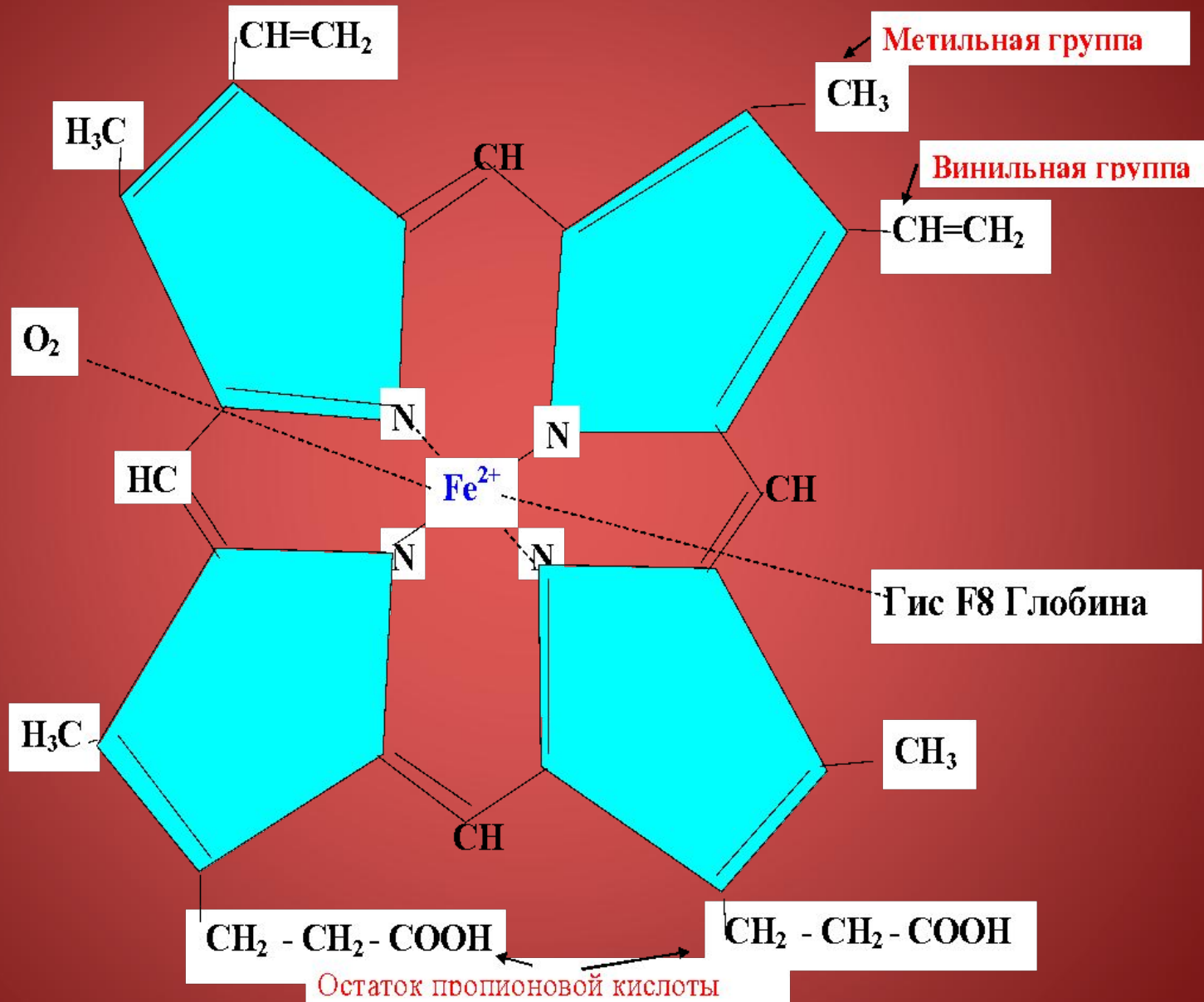


Кроме последовательности аминокислот полипептида (первичной структуры), крайне важна трёхмерная структура белка, которая формируется в процессе **фолдинга**. Кроме последовательности аминокислот полипептида (первичной структуры), крайне важна трёхмерная структура белка, которая формируется в процессе фолдинга (от **англ. folding**),

Гемоглобин

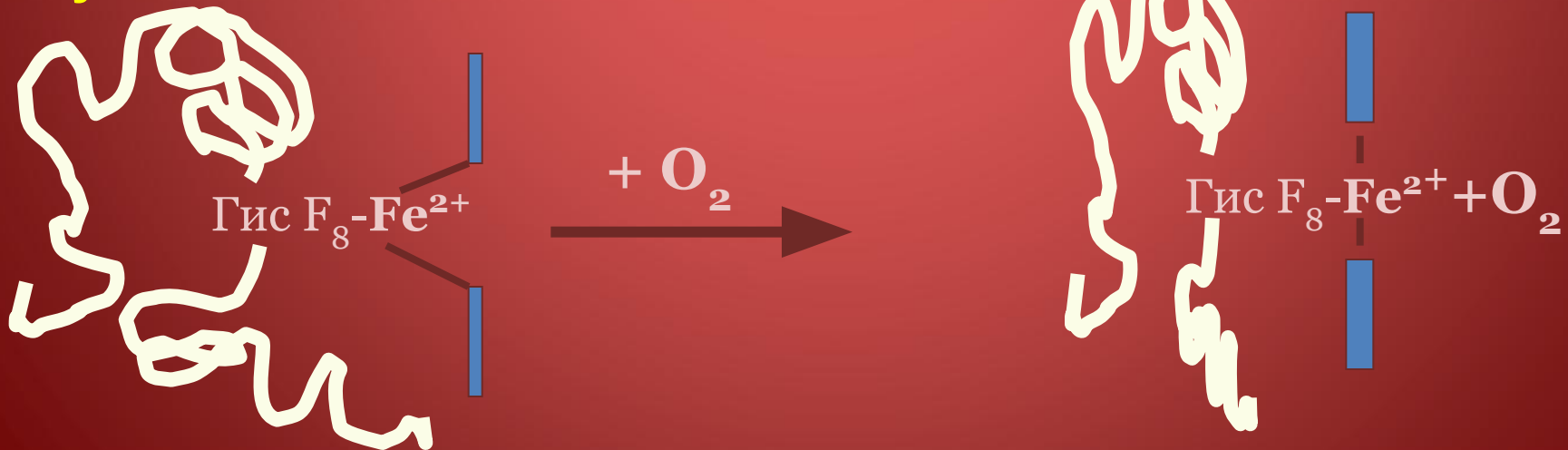


Гемоглобин



Кооперативные изменения конформации протомеров

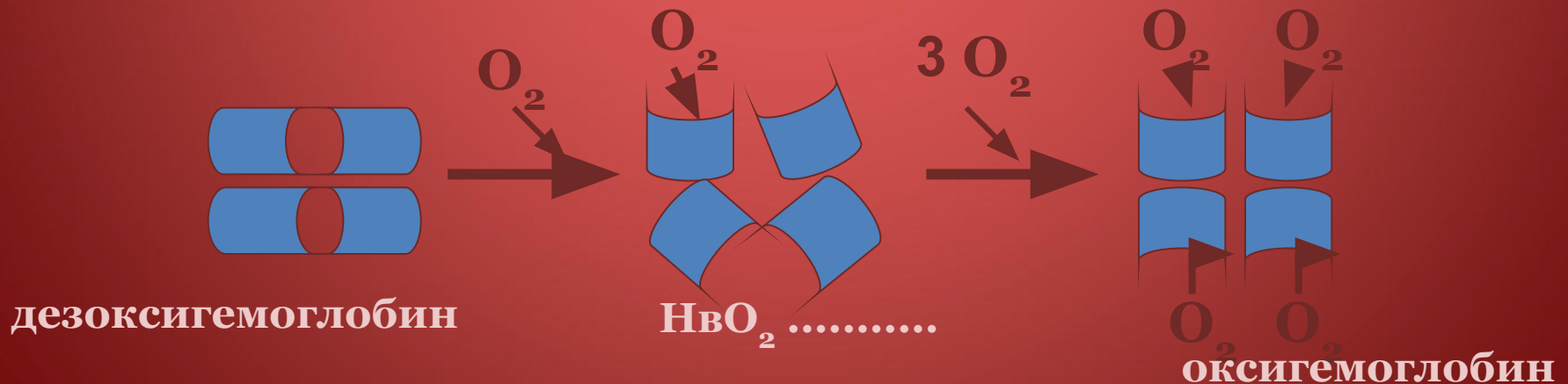
O_2 связывается с протомерами Нв через Fe^{2+} , который соединен с 4 атомами N_2 пиррольных колец гема и атомами азота гис F_8 белковой части протомера. Связывание O_2 с оставшейся свободной координационной связью Fe^{2+} происходит по другую сторону от плоскости гема в области гис F_7 (аналогично тому, как это происходит у миоглобина). Гис F_7 не взаимодействует с O_2 , но обеспечивает оптимальные условия для его связывания.



Кооперативные изменения конформации протомеров Нв при присоединении O_2

Белки обладают конформационной лабильностью и после перемещения железа и остатков гис в плоскость гема, происходят конформационные изменения других протомеров, что облегчает присоединение последующих атомов O_2 . Поэтому, 4-ая молекула O_2 присоединяется к Нв в 300 раз легче, чем 1-ая.

Изменения конформации (а следовательно и функциональных свойств) всех протомеров олигомерного белка при присоединении лиганда только к одному из них носит название кооперативных изменений конформации протомеров.



Гем присоединяется к неполярным радикалам активного центра своими пиррольными циклами, а также к радикалу гистидина с помощью атома Fe. Пиррольные кольца гема расположены в одной плоскости, а ион Fe^{2+} в неоксигенированном состоянии гемоглобина выступает над плоскостью.

При присоединении O_2 ион железа погружается в плоскость колец гема.

Координационное число железа в составе гема равно 6, причем 4 связи заняты азотами пиррольных колец, 5 связывает гем с белком, а 6 – занята тем или иным лигандом.

Эмбриональный и фетальный гемоглобин

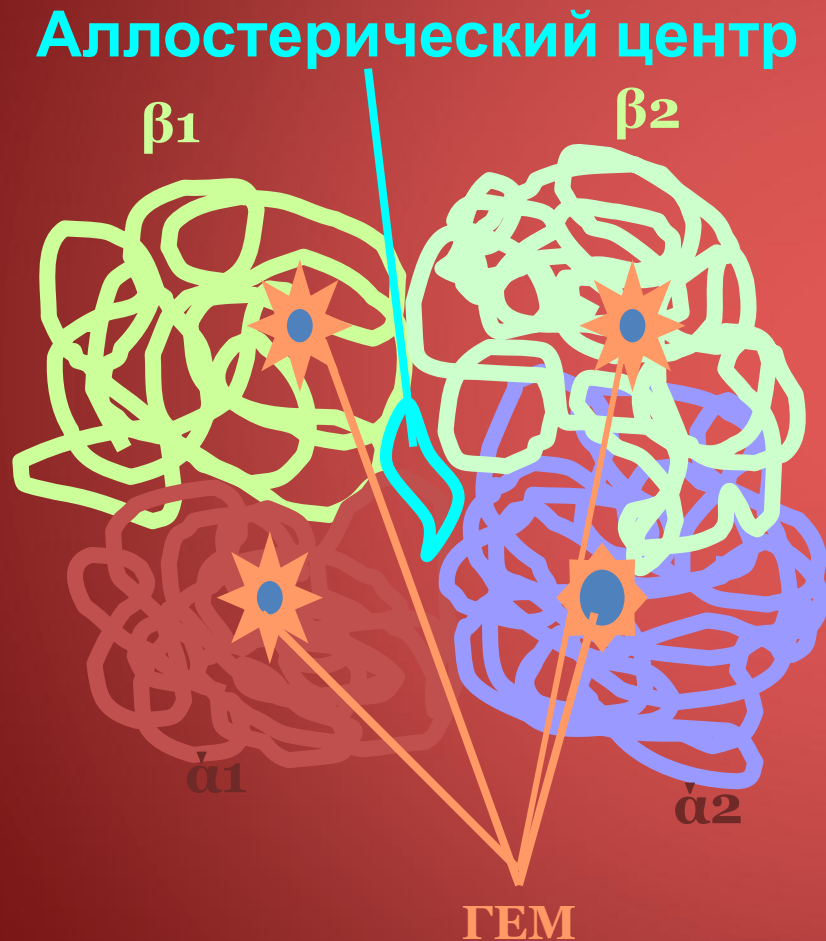


Эмбриональный гемоглобин синтезируется в эмбриональном желточном мешке через несколько недель после оплодотворения. Тетрамер ($2\zeta 2\varepsilon$). Через 2 недели после формирования печени плода начинает синтезироваться фетальный, или плодный гемоглобин (HbF). Этот гемоглобин имеет тетрамерную структуру ($2\alpha 2\gamma$). После рождения ребенка постепенно замещается на HbA, который начинает синтезироваться в клетках костного мозга плода уже на 8-м месяце развития.

Формы гемоглобина

- Оксигемоглобин (HbO_2) – полностью оксигенированный Hb ;
- Дезоксигемоглобин (Hb) – незамещенная 6 координационная связь железа;
- Карбаминогемоглобин - связывание CO_2 с Hb . CO_2 связывает только N-концевые α -аминогруппы. Реакция легко обратима. Образование карбаминогемоглобина определяется парциальным давлением CO_2 и имеет прямое отношение к транспорту CO_2 кровью;
- Карбоксигемоглобин (HbCO) – для образования HbCO требуется в 200 раз более низкое парциальное давление CO . Смерть наступает при связывании 70% Hb угарным газом;
- Метгемоглобин (met- Hb) – образуется при окислении Fe^{2+} до Fe^{3+} ; не способен присоединять ни O_2 , ни CO ; имеет коричневый цвет.

Строение протомеров гемоглобина



Каждая субъединица имеет центр связывания, где располагается небелковая часть молекулы – гем. Между протомерами образуется аллостерический центр (центральная полость) для присоединения регуляторного лиганда гемоглобина – 2,3-бисфосфоглицерата.

Таким образом.

1. **в центре** тетрамерной молекулы Нв находится полость, которую образуют амк остатки всех 4 протомеров;
2. **в молекуле** дезоксигемоглобина по сравнению с оксигемоглобином имеются дополнительные ионные связи, соединяющие протомеры. Вследствии этого, размеры центральной полости могут изменяться: увеличиваться в дезокси-Нв и уменьшаться – в окси-Нв;
3. **центральная** полость является местом присоединения 2,3-БФГ (из-за различия в размерах центральной полости 2,3-БФГ может присоединяться только к дезокси-Нв);
4. **2,3-БФГ** имеет сильный (-) заряд и взаимодействует с 5 (+) –заряженными группами 2 β -цепей, следовательно, образуется 5 дополнительных ионных связей, что снижает сродство Нв к O₂ в 26 раз. В результате происходит высвобождение O₂ в капиллярах ткани при низком парциальном давлении O₂.

2,3-Бисфосоглицерат (БФГ) – вещество, синтезируемое в Эр из промежуточного продукта окисления глюкозы – 1,3-бисфосфоглицерата. В нормальных условиях БФГ находится в Эр в высоких концентрациях и его суммарная концентрация при циркуляции крови из легких в ткани и обратно не меняется. Количество БФГ в Эр может увеличиваться при недостатке O_2 в тканях.



Изменение функциональной активности белка при взаимодействии с другими лигандами вследствие конформационных изменений называется аллостерической регуляцией, а соединения-регуляторы – аллостерическими лигандами.

Изменение концентрации БФГ – как механизм адаптации организма к гипоксии.

Концентрация БФГ в Эр людей, живущих в определенных климатических условиях – величина постоянная. При подъеме на высоту 4000 м над уровнем моря, концентрация БФГ возрастает уже через 2 дня в 2 раза (4,5-7,0 мМ). Это снижает сродство Нв к O_2 и увеличивает количество O_2 , транспортируемого в ткани.

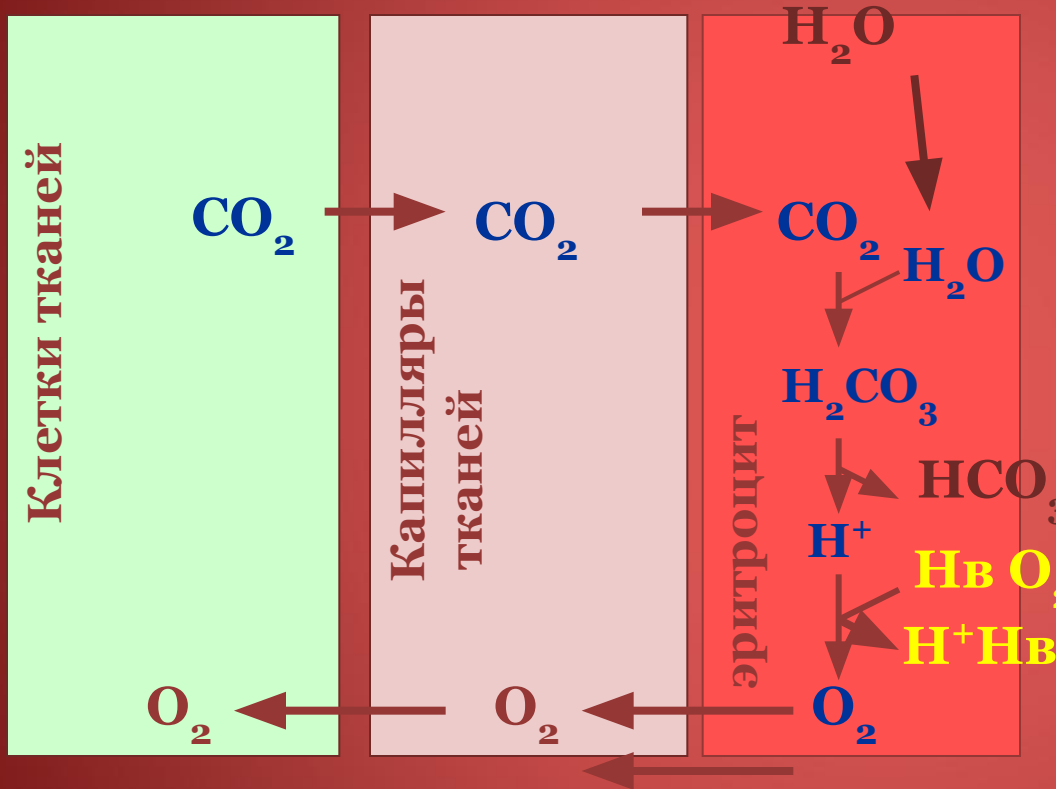
Такую же адаптацию можно наблюдать у больных с заболеваниями легких, при которых развивается общая гипоксия тканей: при снижении парциального давления от 100 до 50 мм.рт.ст., в Эр усиливается выработка БФГ также в 2 раза, что повышает доставку O_2 в ткани.

Аллостерическими регуляторами активности Нв, которые присоединяются к аллостерическим центрам (пространственно удаленным от активного центра), помимо 2,3-БФГ являются H^+ и CO_2 . При взаимодействии аллостерических лигандов белки меняют свою конформацию (в т.ч. и активного центра) и функцию, что является приспособительной реакцией к постоянно меняющимся условиям внешней среды.

Способность к аллостерической регуляции характерна для олигомерных белков, т.е. необходимо взаимодействие протомеров.

Концентрация аллостерических лигандов снижает сродство Нв к O_2 .

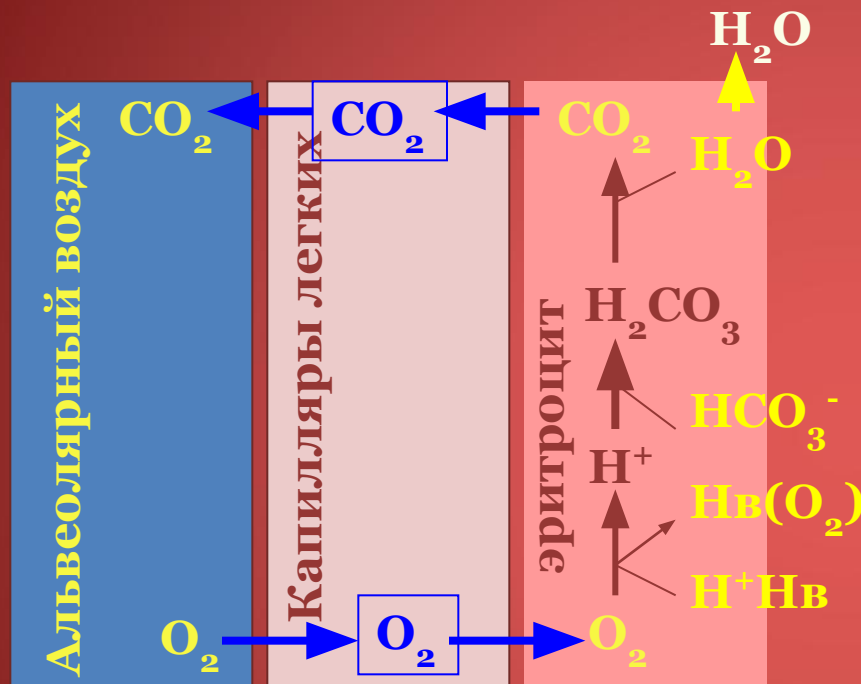
Перенос H^+ и CO_2 из тканей в легкие с помощью гемоглобина. Эффект Бора.



Увеличение освобождения O_2 Hb в зависимости от концентрации H^+ называют эффектом Бора

Образовавшийся в тканях CO_2 переносится в Эр, где происходит образование из CO_2 под действием фермента карбангидразы H_2CO_3 . при переходе окси- Hb к дезокси- Hb , специфические участки Hb приобретают большое сродство к H^+ - в результате изменения амк окружения этих участков COO^- . Присоединение 3 пар H^+ к Hb уменьшает его сродство к O_2 и усиливает транспорт O_2 в ткани, нуждающиеся в нем.

Оксигенирование дезоксигемоглобина в легких, образование и выделение CO_2 .



Увеличение концентрации протонов в среде снижает сродство O_2 к гемоглобину и усиливает его транспорт в ткани.

В капиллярах легких высокое парциальное давление O_2 приводит к оксигенированию Hb и удалению 6 протонов. Образующийся CO_2 выделяется в альвеолярное пространство и удаляется с выдыхаемым воздухом.

Следовательно, молекула Hb в ходе эволюции приобрела способность воспринимать и реагировать на информацию, получаемую из окружающей среды.

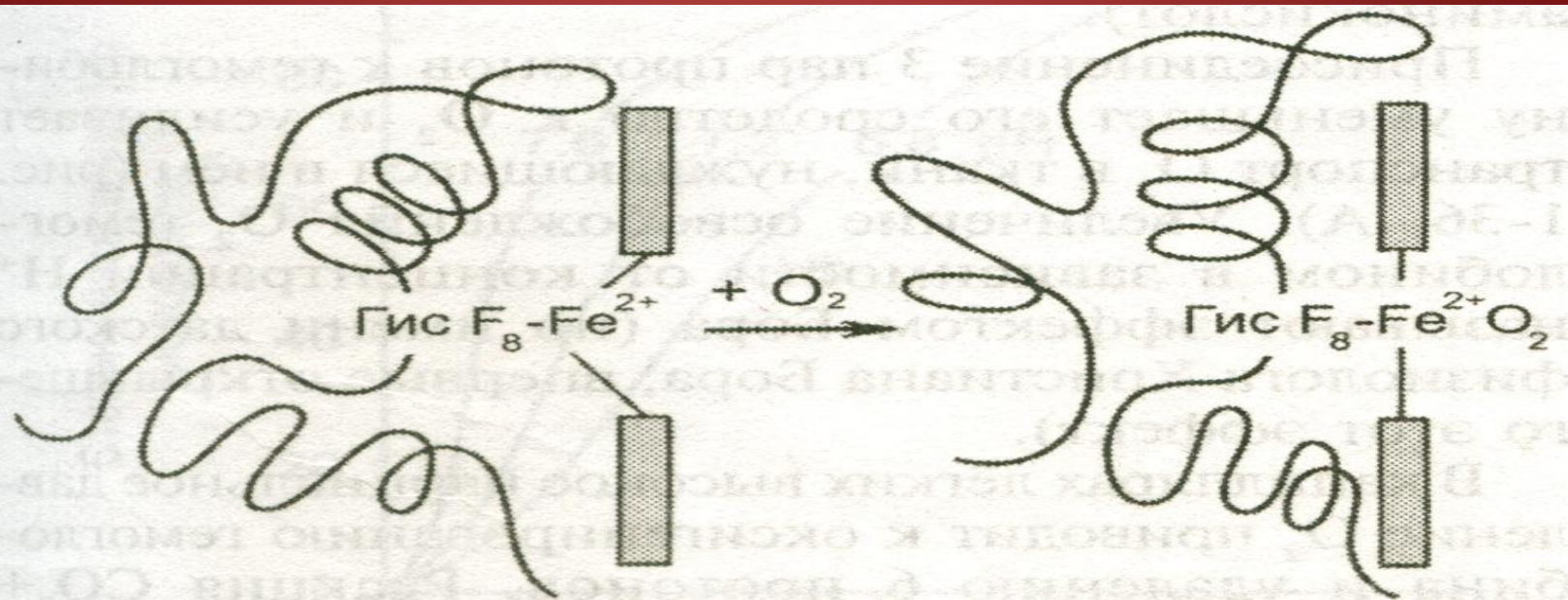


Рис. 1-33. Изменение положения Fe^{2+} и белковой части гемоглобина при присоединении O_2 .

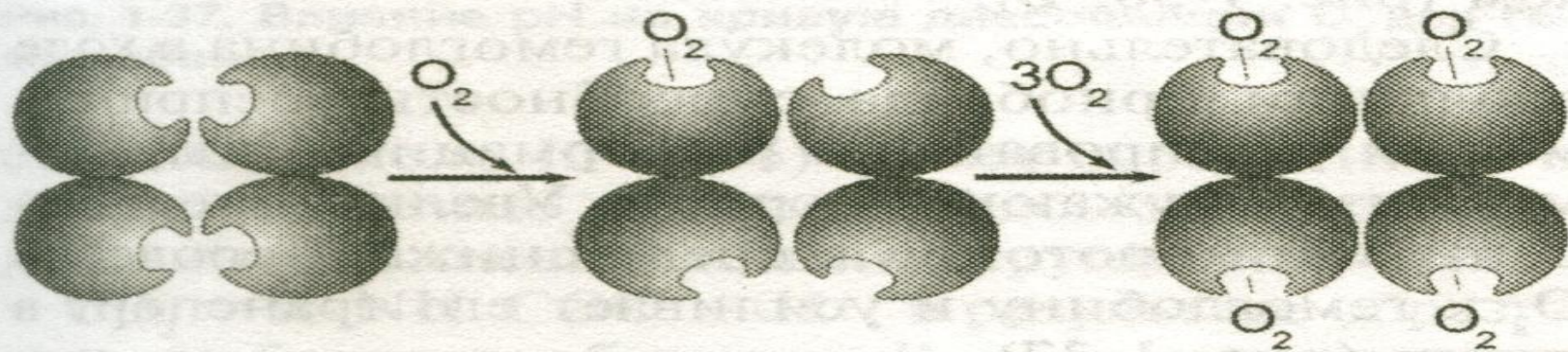
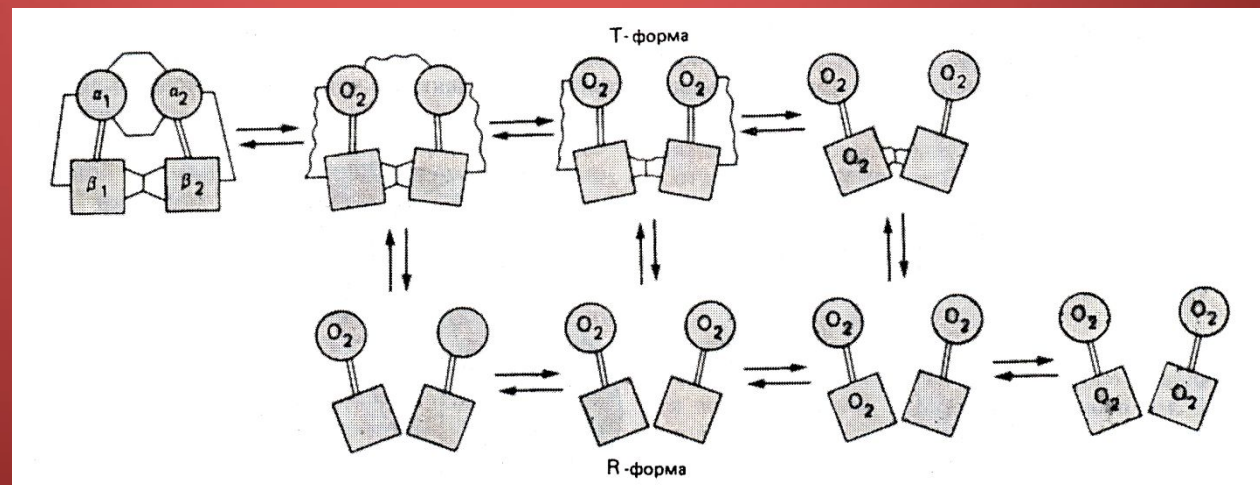
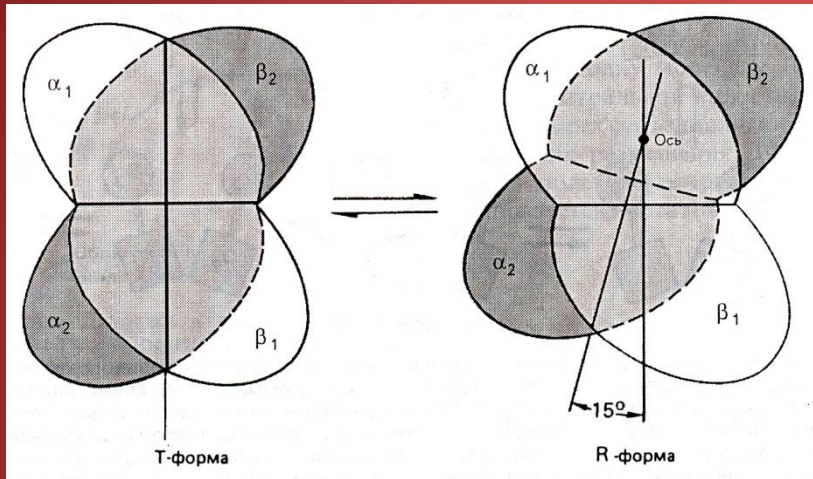
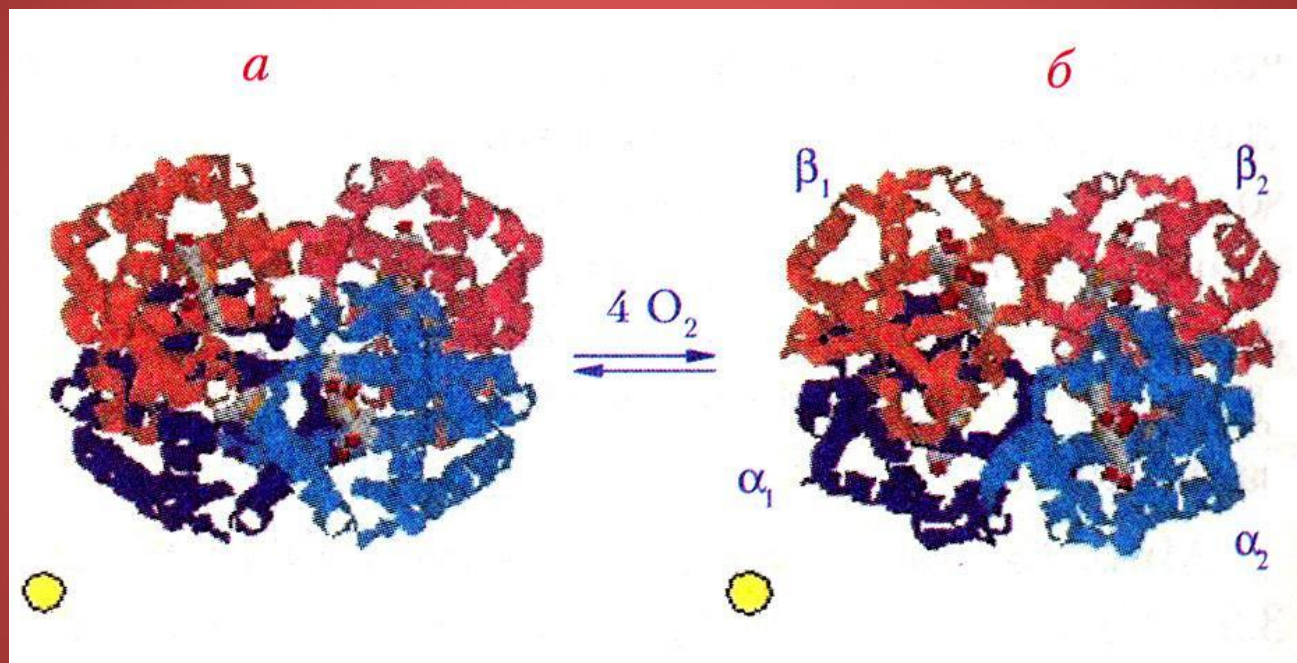


Рис. 1-34. Кооперативные изменения конформации протомеров гемоглобина при присоединении O_2 .

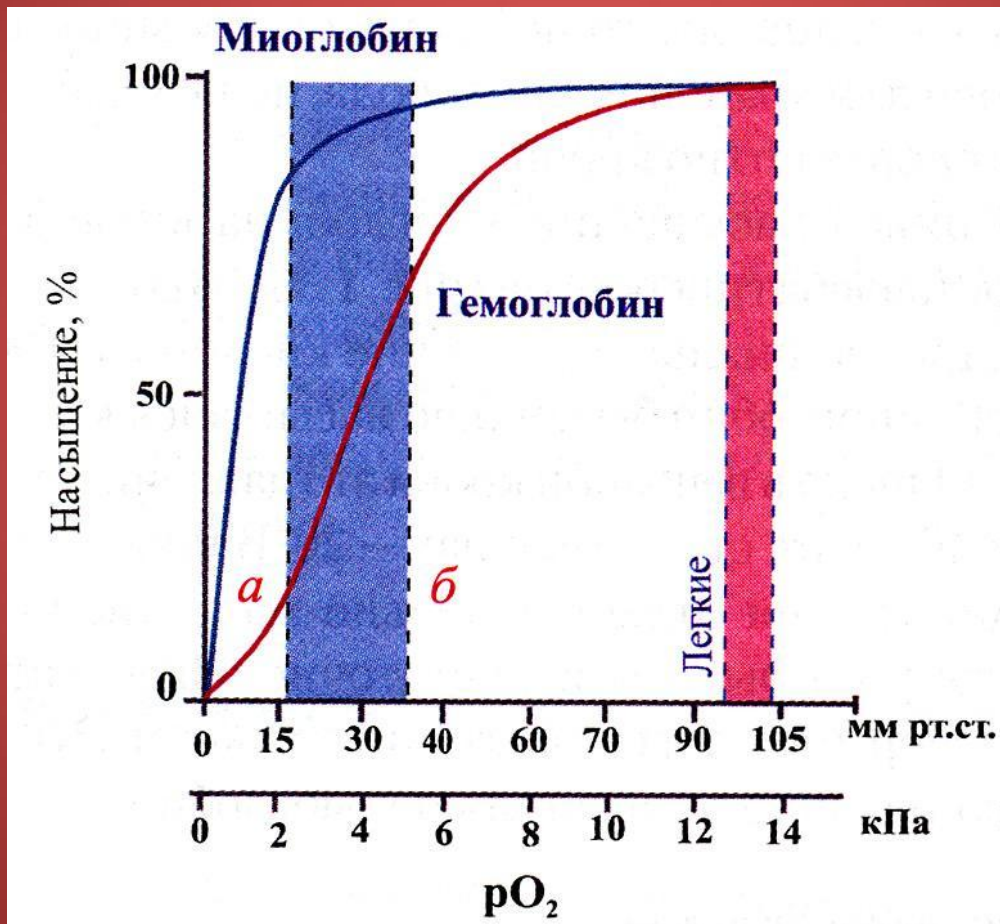
Конформационные изменения гемоглобина при присоединении кислорода



Изменение конформации гемоглобина в результате связывания с кислородом



Кривая насыщения гемоглобина кислородом



Виды гемоглобина человека

- Гемоглобин А (HbA) - $\alpha_2\beta_2$ - основной тип гемоглобина у взрослых
- Гемоглобин A₂ (HbA₂) - $\alpha_2\delta_2$ - минорный тип гемоглобина у взрослых
- Гемоглобин F (HbF) - $\alpha_2\gamma_2$ - основной тип гемоглобина у плода

A wide-angle photograph of a mountain valley. In the foreground, a rocky riverbed with some water flows through a valley. The middle ground shows steep, dark mountainsides with patches of snow. In the background, majestic snow-capped mountain peaks rise against a clear blue sky. The overall scene is bright and clear.

Благодарю за внимание!

15/2/2009 9:56