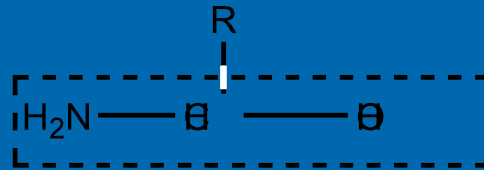


Белки

План лекции.

1. Аминокислоты и пептиды.
2. Белки – химический состав и содержание в тканях.
3. Молекулярная масса белков.
4. Уровни организации белков.
5. Супервторичная структура и доменная организация.
6. Формирование трехмерной структуры.
7. Химические связи в белках.
8. Конформационная лабильность.
9. Функции белков.
10. Структурное и функциональное многообразие белков.
11. Связь структуры и функции белков.
12. Физико-химические свойства белков.
 - а) кислотно-основные свойства
 - б) коллоидно-осмотические свойства
 - в) растворимость
 - г) денатурация – ренатурация
13. Классификация белков.

Структура характерная для всех аминокислот



Где R (радикал), свой для каждой аминокислоты:

H - у глицина

CH₃ - у аланина

H₂ —  - у фенилаланина и т.д.

Аминокислоты

Заменяемые

- Глицин
- Аланин
- Серин
- Цистеин
- Аспарагиновая кислота
- Глутаминовая кислота
- Тирозин
- Пролин
- Аспарагин
- Глутамин

Незаменимые

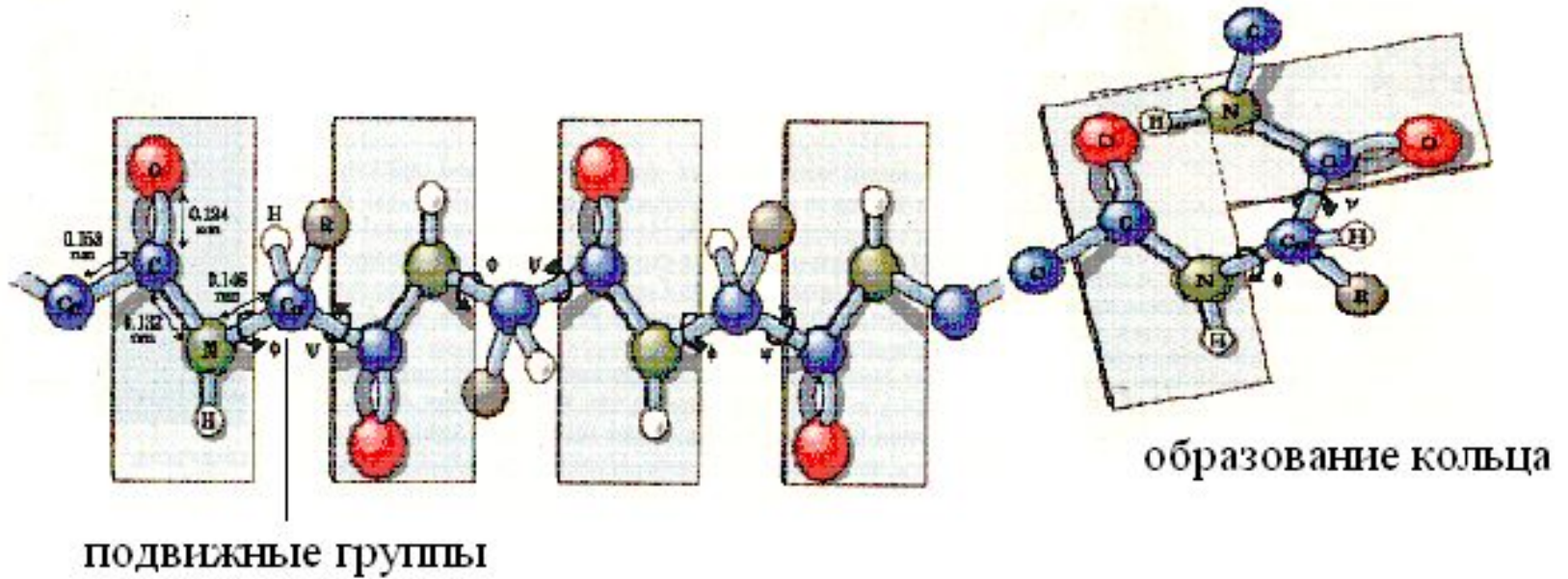
- Треонин
- Метионин
- Валин
- Лейцин
- Изолейцин
- Лизин
- Аргинин
- Фенилаланин
- Гистидин
- Триптофан

Аминокислоты → Олигопептиды → Полипептиды → Белки.

Значение аминокислот:

- 1. Являются строительными блоками пептидов и белков.**
- 2. Участвуют в передаче нервных импульсов (глицин, глутаминовая кислота).**
- 3. Образуют амины (гистамин, ГАМК) выполняющие регуляторную функцию.**
- 4. Количественные нарушения и нарушение обмена аминокислот приводят к болезням.**

Пептидные связи



Особенности пептидной связи.

- Систематическая повторяемость
- Комплементарность
- Способность существовать в двух формах (кетон- и енольной)
- Способность образовывать водородные связи.



Классификация аминокислот:

1. Электрохимическая. В зависимости от радикала, могут быть полярными (гидрофильными), неполярными (гидрофобными) и нейтральными.

Полярные: Аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, гистамин, глицин, глютамин, глютаминовая кислота, лизин, серин, тирозин, триптофан, цистеин.

Неполярные: Аланин, валин, изолейцин, лейцин, метионин, пролин, триптофан, фенилаланин.

2. Структурная.

Ациклические и циклические (гетероциклические, ароматические, циклоаминокислоты.)

а) моноаминомонокарбоновые – глицин, аланин, лейцин, валин, изолейцин.

б) диаминомонокарбоновые - лизин

в) моноаминодикарбоновые – глютамин, аспарагин

г) тиаминокислоты – цистин, метионин

3. Биологическая. Не все аминокислоты и не в равных количествах могут входить в состав белков.

Заменяемые: Аспарагиновая кислота, глютаминовая кислота, серин, пролин, оксипролин.

Незаменяемые: Валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, метионин, фенилаланин

Полузаменяемые: Глицин, цистеин, тирозин, аргинин, гистидин.

Пептиды.

Пептид состоит из двух или более аминокислотных остатков связанных пептидными связями (дипептид, трипептид). Если из более чем 10, то это полипептид. До 10 – олигопептид.

Значение: 1. Многие гормоны (вазопрессин, окситоцин, инсулин).

2. Антибиотики (валиномицин, грамицидин А).

3. Противоопухолевые препараты.

4. Физиологически активные вещества (брадикинин – расслабляет гладкую мускулатуру. Глутатион – модулятор ферментативной активности, образует дисульфидные связи).

Как и аминокислоты обладают амфотерными свойствами.

Белки

- Белки – биологические полимерные молекулы, мономерами которых являются аминокислоты, соединенные пептидными связями.
- Индивидуальность белковых молекул определяется порядком чередования аминокислот и их количеством.
- Белки имеют м.м. от 5 тыс. Д и более.

Функции белков.

- Каталитическая – ферменты
- Пластическая – структурные белки
- Регуляторная – гормоны, ферменты
- Сократительная – белки мышц и цитоскелета
- Защитная – иммуноглобулины
- Энергетическая – отслужившие белки
- Рецепторная – некоторые белки мембран
- Транспортная – белки крови, белки мембран.
- Гистосовместимость – некоторые белки мембран.
- И др.

В организме животных белков - 18-21%, у растений – 0,01-15%

Элементарный состав белков, %

- Углерод – 49-55
- Кислород – 21-23
- Азот – 16,5
- Водород – 6-8
- Сера – 0,2-3
- Фосфор – 1-2
- Микроэлементы (Cu, Mn, Zn, J, Fe и др. - 0,00001-0,2)

Содержание белков в тканях, %

Животные

- Организм – 18-21
- Мышцы – 19-23
- Печень – 18-19
- Почки – 16-18
- Головной мозг – 8-10
- Кости – 8-9

Растения

Зерна – 10-16

- Стебли – 1,5-3
- Листья – 1,2-3

Аминокислотный состав белков.

АМИНОКИСЛОТЫ / БЕЛКИ	КАЗЕИН	ПЕПСИН	ИНСУЛИН	КЕРАТИН	КОЛЛАГЕН
АЛАНИН	3,2	-	4,5	4,1	9,5
ГЛИЦИН	2,0	6,4	4,3	6,5	27,2
ВАЛИН	7,2	7,1	7,7	4,6	3,4
ЛЕЙЦИН	9,2	10,4	13,2	11,3	5,6
ИЗОЛЕЙЦИН	6,1	10,8	2,8	-	-
ПРОЛИН	10,6	5,0	2,5	9,5	15,1
ФЕНИЛАЛАНИН	5,0	6,4	8,1	3,7	2,5
ТИРОЗИН	6,3	8,5	13,0	4,7	1,0
ТРИПТОФАН	1,2	2,4	-	1,8	-
СЕРИН	6,3	12,2	5,2	10,0	3,4
ТРЕОНИН	4,9	9,6	2,0	6,4	2,3
ЦИСТЕИН	0,3	2,1	12,5	11,9	-
МЕТИОНИН	2,8	1,7	-	0,7	0,8
АРГИНИН	4,1	1,0	3,0	10,4	8,6
ГИСТИДИН	3,1	0,9	4,9	1,1	0,7
ЛИЗИН	8,2	0,9	2,5	2,8	4,5
АСПАРАГИНОВАЯ КИСЛОТА	7,1	16,0	6,8	7,2	6,3
ГЛЮТАМИНОВАЯ КИСЛОТА	22,4	11,9	18,6	14,1	11,3

Количество изомеров полипептидов.

Число аминокислот	Количество изомеров	
2	М.М. – 200	2
4	М.М. – 400	24
12	М.М. – 1200	4.8×10^7
20	М.М. – 2000	2.4×10^{18}

Молекулярная масса некоторых белков.

- Инсулин - 5 000
- Рибонуклеаза -13 000
- Миоглобин – 17 000
- Яичный альбумин – 44 000
- Глобулин сыворотки – 176 000
- Миозин кролика – 450 000
- Актомиозин – 5 000 000
- Вирус табачной мозаики – 59 000 000
- Респираторный вирус – 323 000 000

Количество аминокислотных остатков.

Инсулин - 51
Рибонуклеаза - 130
Миоглобин – 170
Яичный альбумин – 440
Глобулин сыворотки – 1760
Миозин кролика – 4500
Актомиозин – 50000
Вирус табачной мозаики – 590000
Респираторный вирус – 3230000

Молекулярная масса определяется:

- Осмотическим методом
- Химическим методом
- Диффузионным методом
- Ультрацентрифугированием
- Методом молекулярных сит

Структура белков.

Пептидные цепи содержат десятки, сотни и тысячи аминокислотных остатков, соединенных прочными пептидными связями. За счет внутримолекулярных взаимодействий белки образуют определенную пространственную структуру, называемую «конформация белков». Линейная последовательность аминокислот в белке содержит информацию о построении трехмерной пространственной структуры. Различают 4 уровня структурной организации белков, называемых первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурами

Уровни организации белков.

- ПЕРВИЧНАЯ – линейная последовательность аминокислот. Образование полипептидов.
- ВТОРИЧНАЯ – спирализация или послойная укладка полипептидов.
- ТРЕТИЧНАЯ – пространственная укладка полипептидов. Образование доменов глобул, фибрилл, сложных белков.
- ЧЕТВЕРТИЧНАЯ – объединение глобул и фибрилл. Образование надмолекулярных структур.

Пространственная структура - конформация белков.



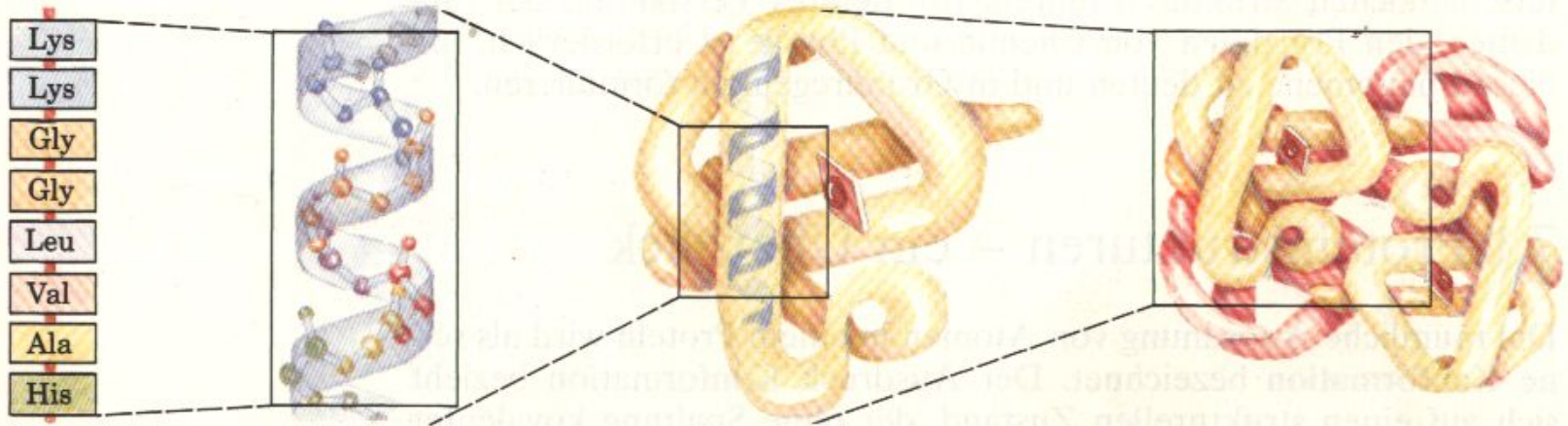
Уровни организации белков

Первичная структура

Вторичная структура

Третичная структура

Четвертичная структура



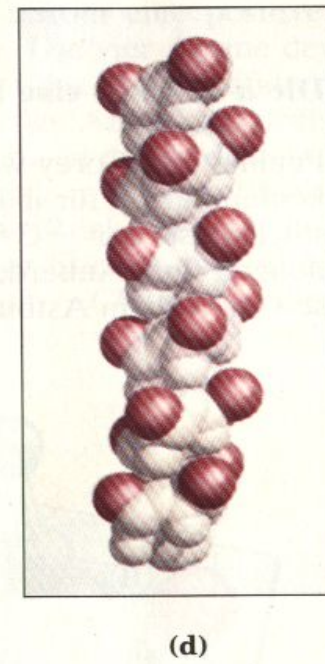
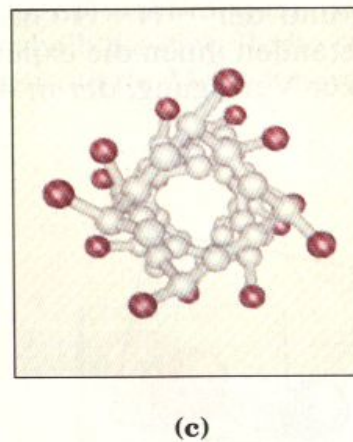
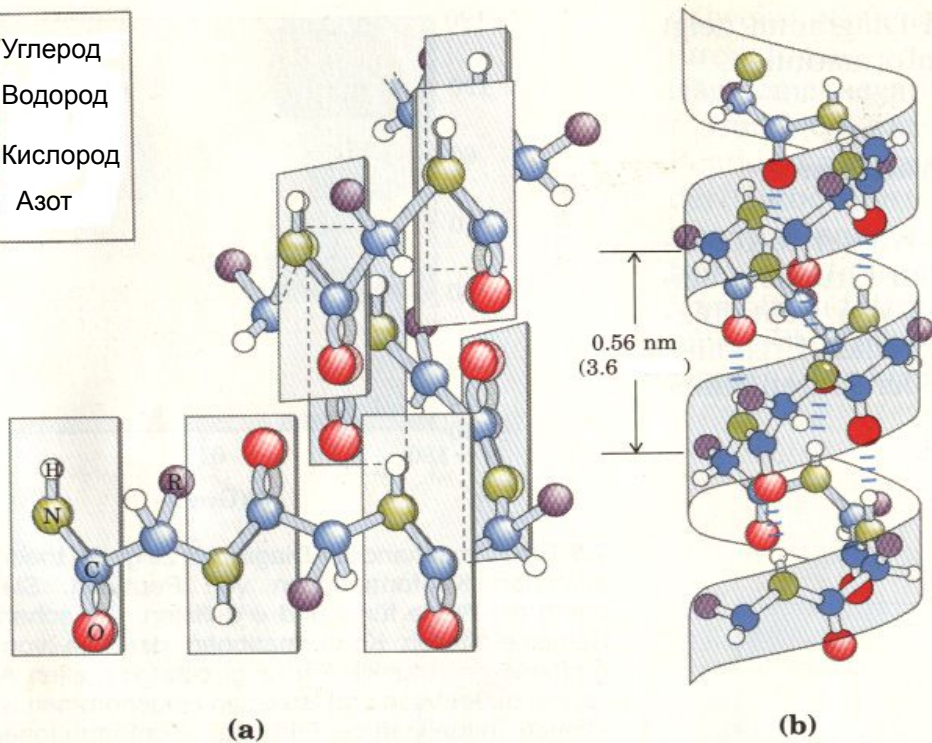
Амино-
кислоты

α -спираль

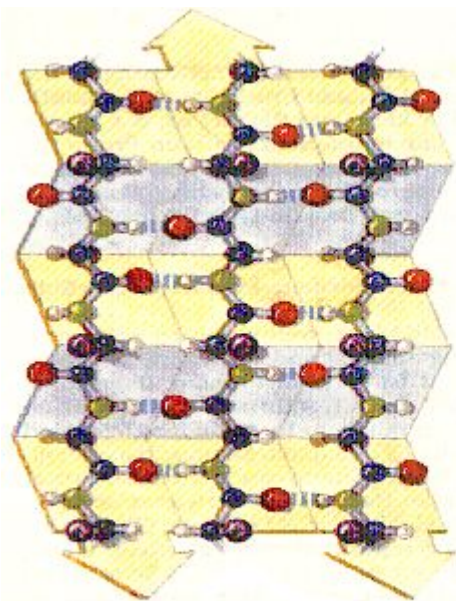
Глобула
белка

Несколько
глобул белков

Четыре модели α -спирали

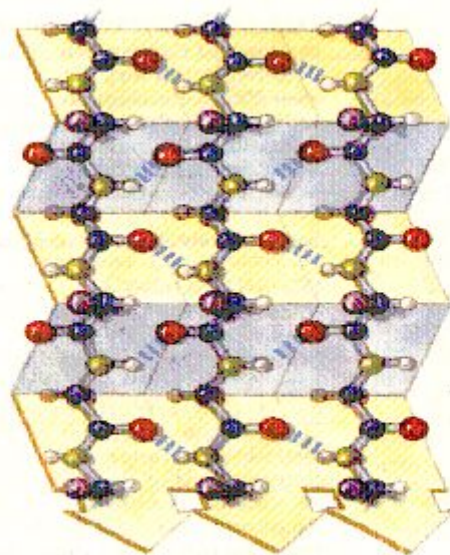


Плоские β -структуры полипептидных цепей



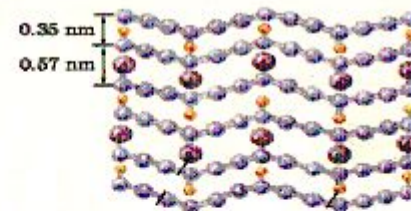
(a)

Антипараллельная



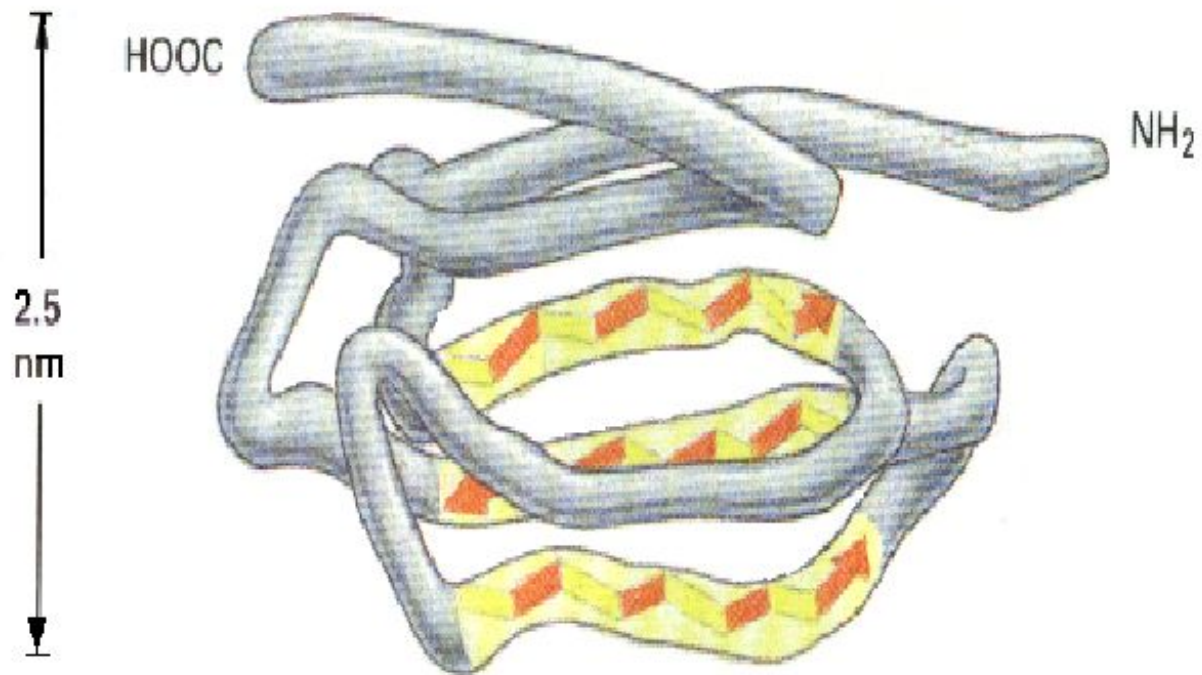
(b)

Параллельная

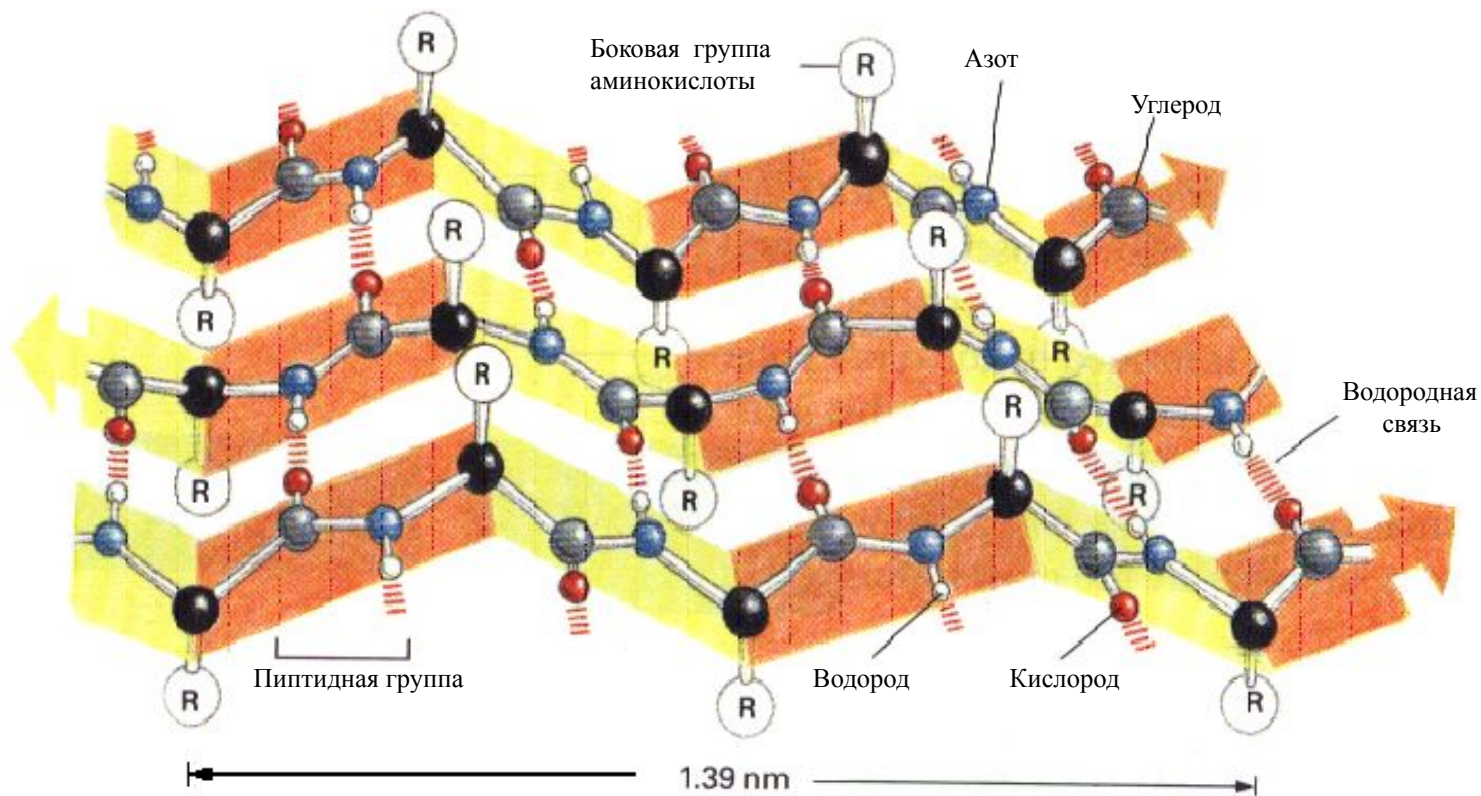


(c)

β-конформация глобулярного белка



Детальное изображение антипараллельного β -слоя



Особенности α -спирали

- Имеет винтовую симметрию
- Водородные связи образуются между пептидными группами каждого первого и четвертого аминокислотного остатка.
- Витки спирали регулярны
- Равнозначность всех остатков при образовании пептидных связей
- Боковые радикалы не участвуют в образовании α -спирали.

Особенности β – структуры.

β – структура – слоисто-складчатая структура.

Может быть параллельная и антипараллельная структура.

Возможен переход $\alpha \rightarrow \beta$.

Большинство белков имеет доменное строение, т.е. могут содержать как α , β так и неорганизованные участки.

- **Спирализация – уменьшение длины в 45 раз, третичная структура уменьшает размер в десятки раз.**

Третичная структура – пространственная организация полипептидных цепей.

Только правильная укладка делает белок активным.

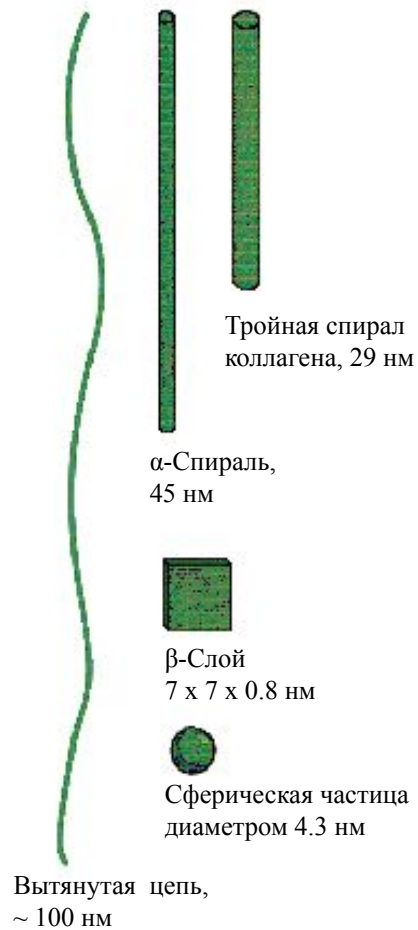
Белки состоящие из нескольких полипептидных цепей образуют олигомеры, состоящих из протомеров (субъединиц).

Супервторичная структура белков.

Пространственная структура каждого белка индивидуальна и определяется его первичной структурой. Однако сравнение конформации разных по структуре и функциям белков выявило наличие у них похожих сочетаний элементов вторичной структуры. Такой специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой белков. Супервторичная структура формируется за счет межрадикальных взаимодействий.



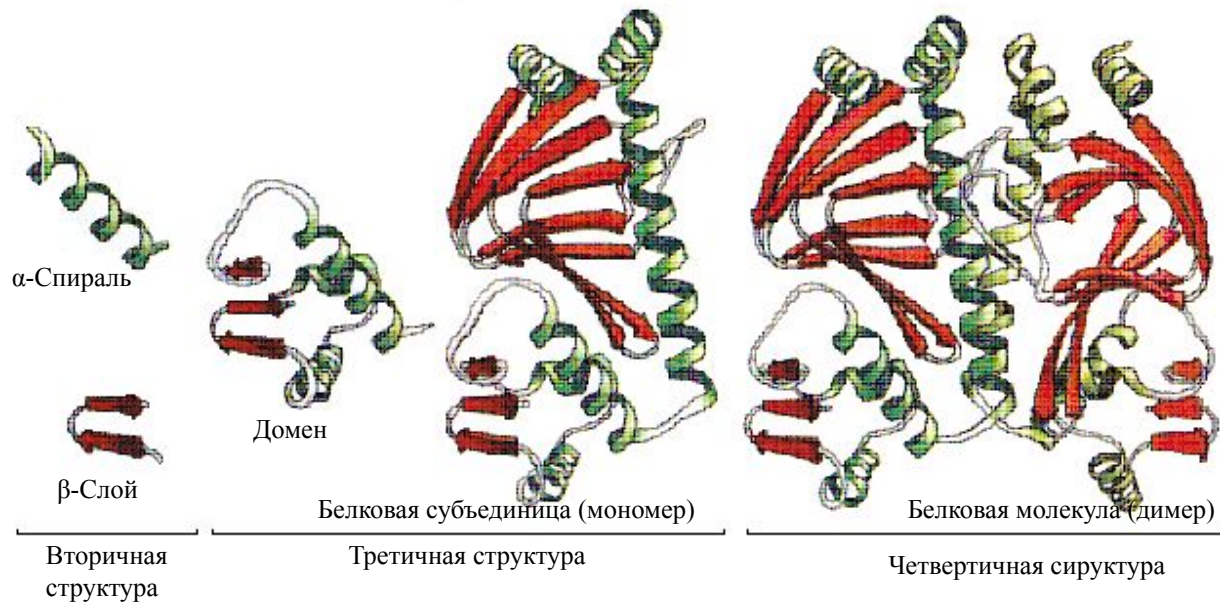
Возможные формы и размеры молекулы белка из 300 аминокислот



Доменная структура белков.

Если полипептидная цепь белка содержит более 200 аминокислот, как правило, ее пространственная структура сформирована в виде двух или более доменов. Домен – участок полипептидной цепи, который в процессе формирования пространственной структуры приобрел независимо от других участков той же цепи конформацию глобулярного белка. Так, легкая цепь иммуноглобулина G состоит из двух доменов. В некоторых случаях доменами называют участки полипептидной цепи.

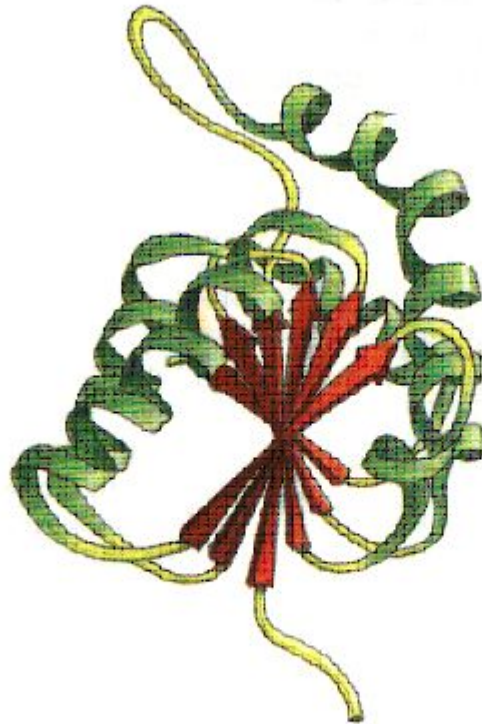
Уровни свортывания пространственной структуры белков



Ленточные модели пространственной структуры белковых доменов с разной организацией



(A)

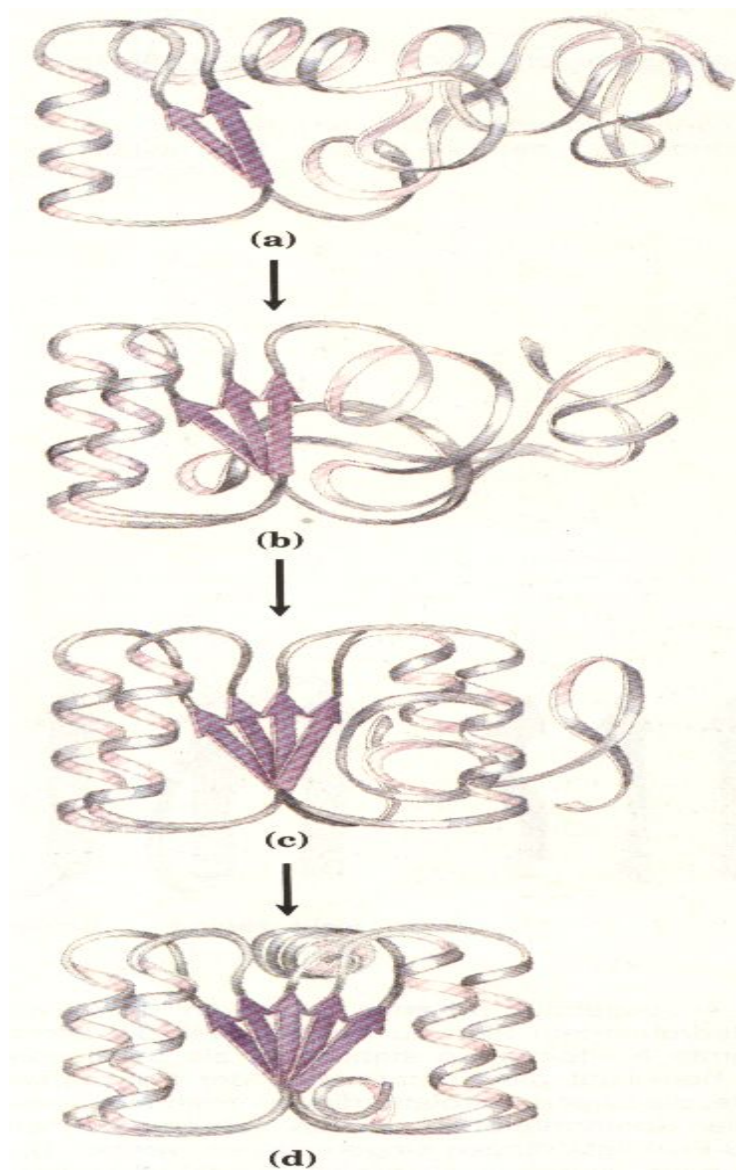


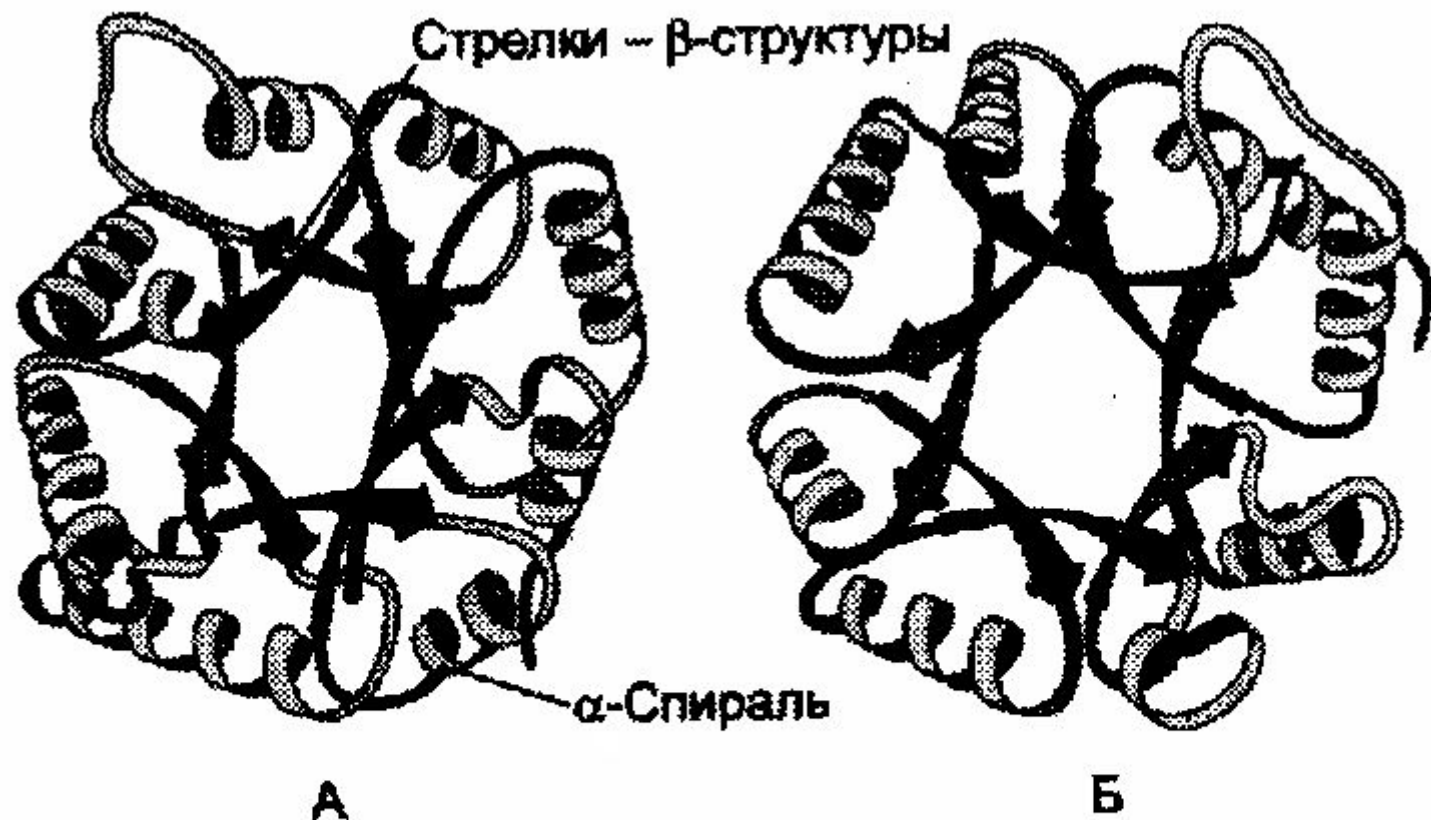
(B)



(C)

Возможные варианты сворачивания полипептидных цепей





Супервторичная структура в виде β -бочонка.
А – триозофосфатизомераза; Б – домен пируваткиназы.

Формирование трехмерной структуры белков в клетках - «фолдинг белков».

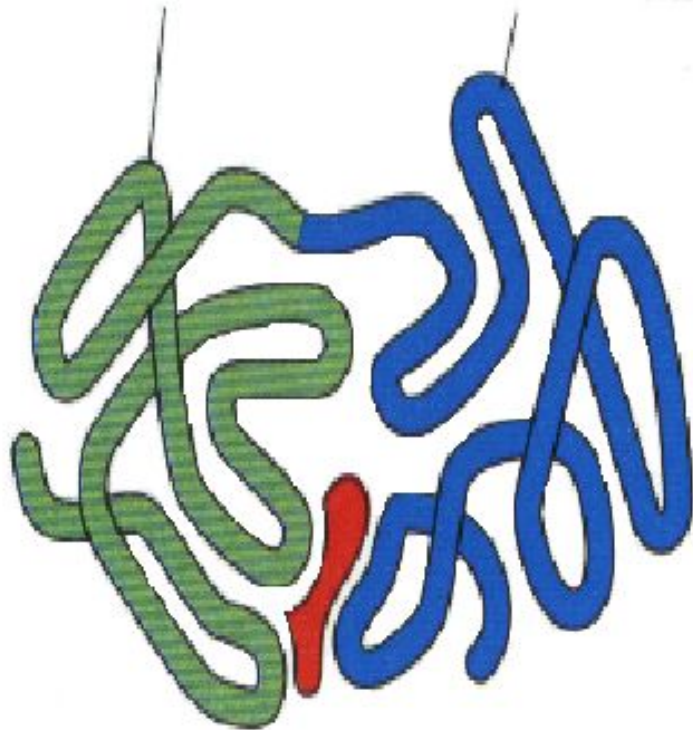
В процессе синтеза полипептидных цепей, транспорта их через мембраны, при сборке олигомерных белков возникают промежуточные нестабильные конформации, склонные к агрегации. На вновь синтезированном полипептиде имеется множество гидрофобных радикалов, которые в трехмерной структуре спрятаны внутри молекулы. Поэтому на время формирования нативной конформации реакционноспособные аминокислотные остатки одних белков должны быть отделены от таких же групп других белков.

Во всех известных организмах от прокариотов до высших эукариотов обнаружены белки, способные связываться с белками, находящимися в неустойчивом, склонном к агрегации состоянии. Они способны стабилизировать их конформацию, обеспечивая фолдинг белков. Эти белки получили название « шапероны».

Эволюция путем изменения конформации

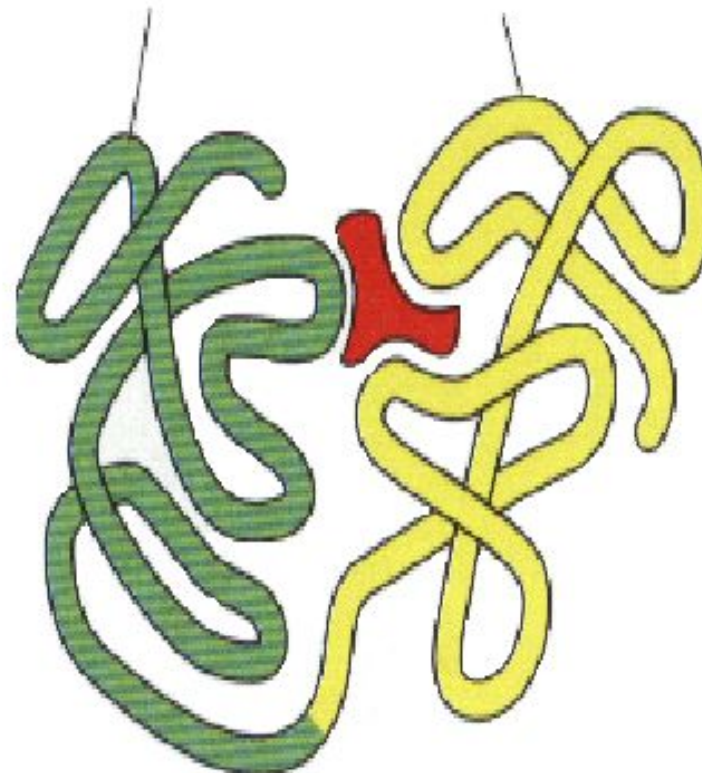
Домен А

Домен В

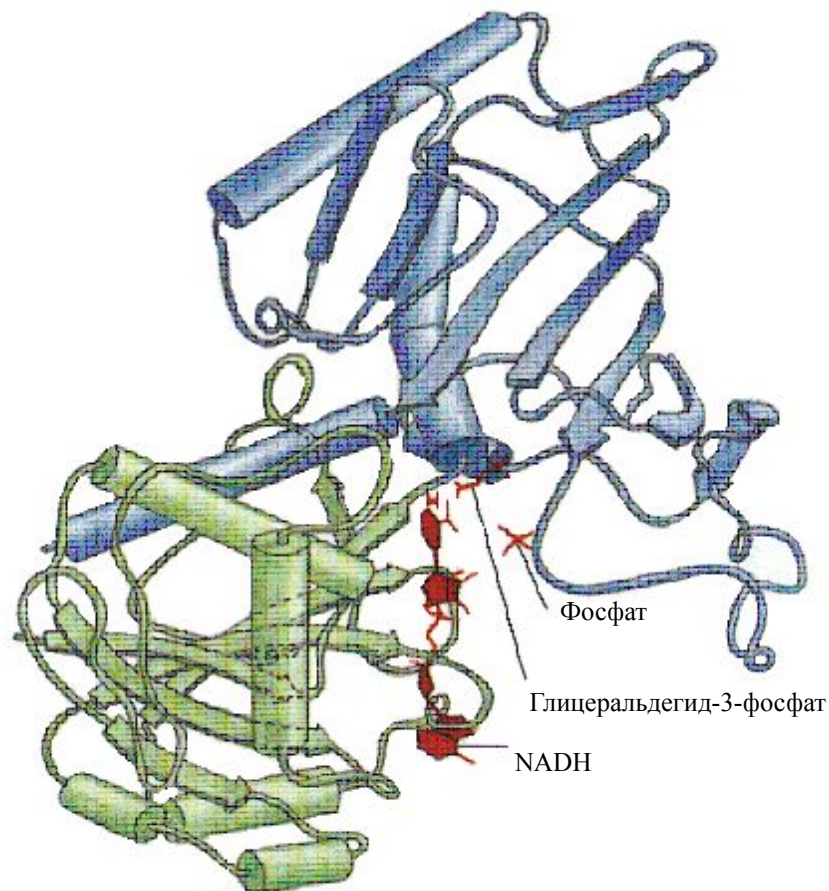


Домен А

Домен С



Двухдоменная структура глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы, имеющий три центра связывания субстратов



Формирование молекулы инсулина

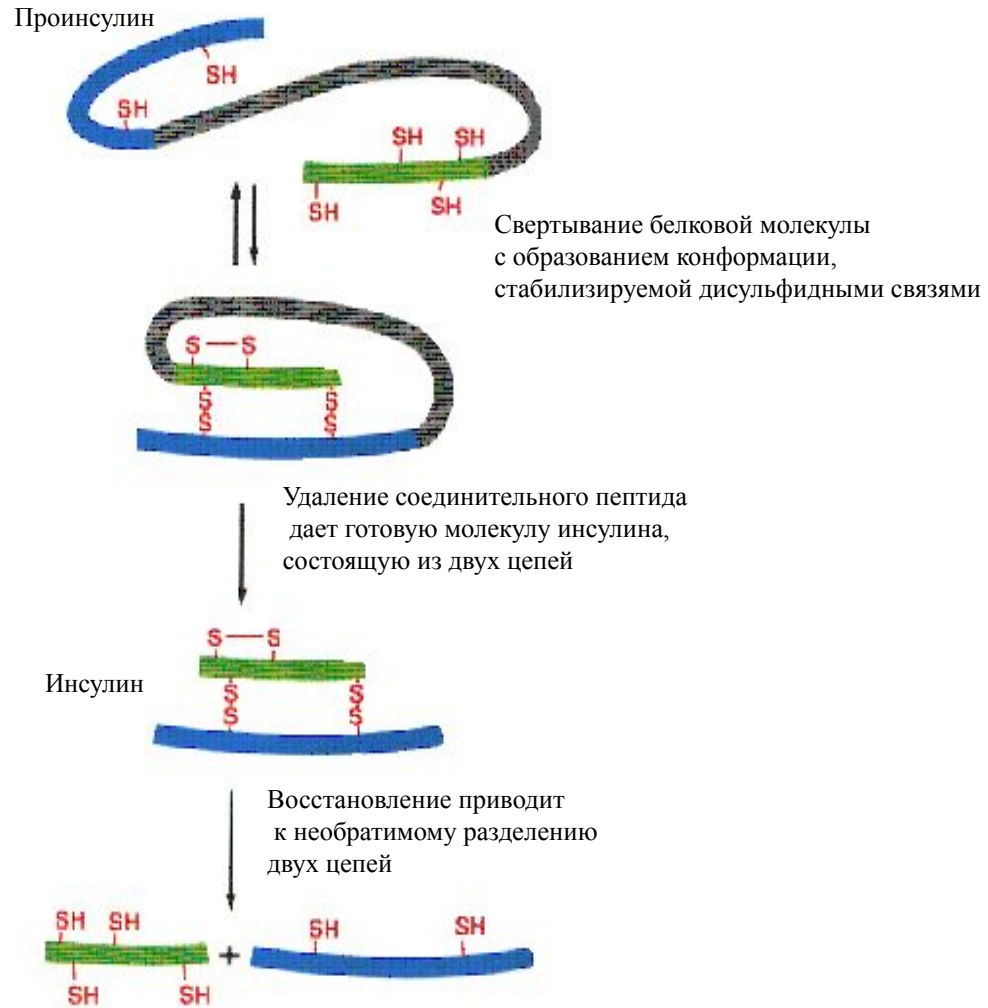
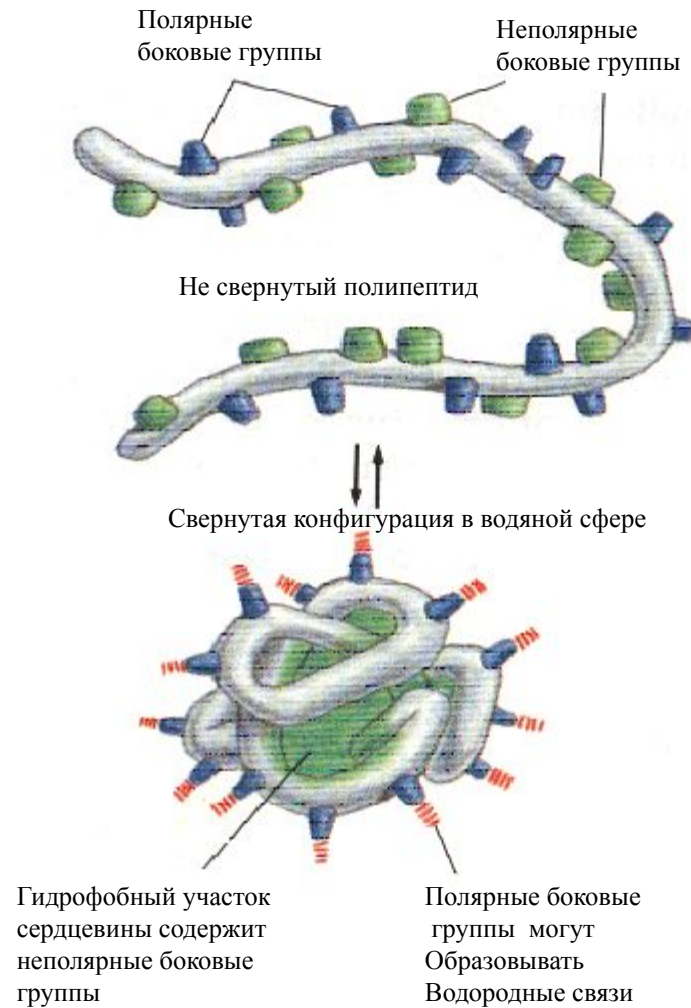


Схема свортыывания полипептидной цепи в глобулу

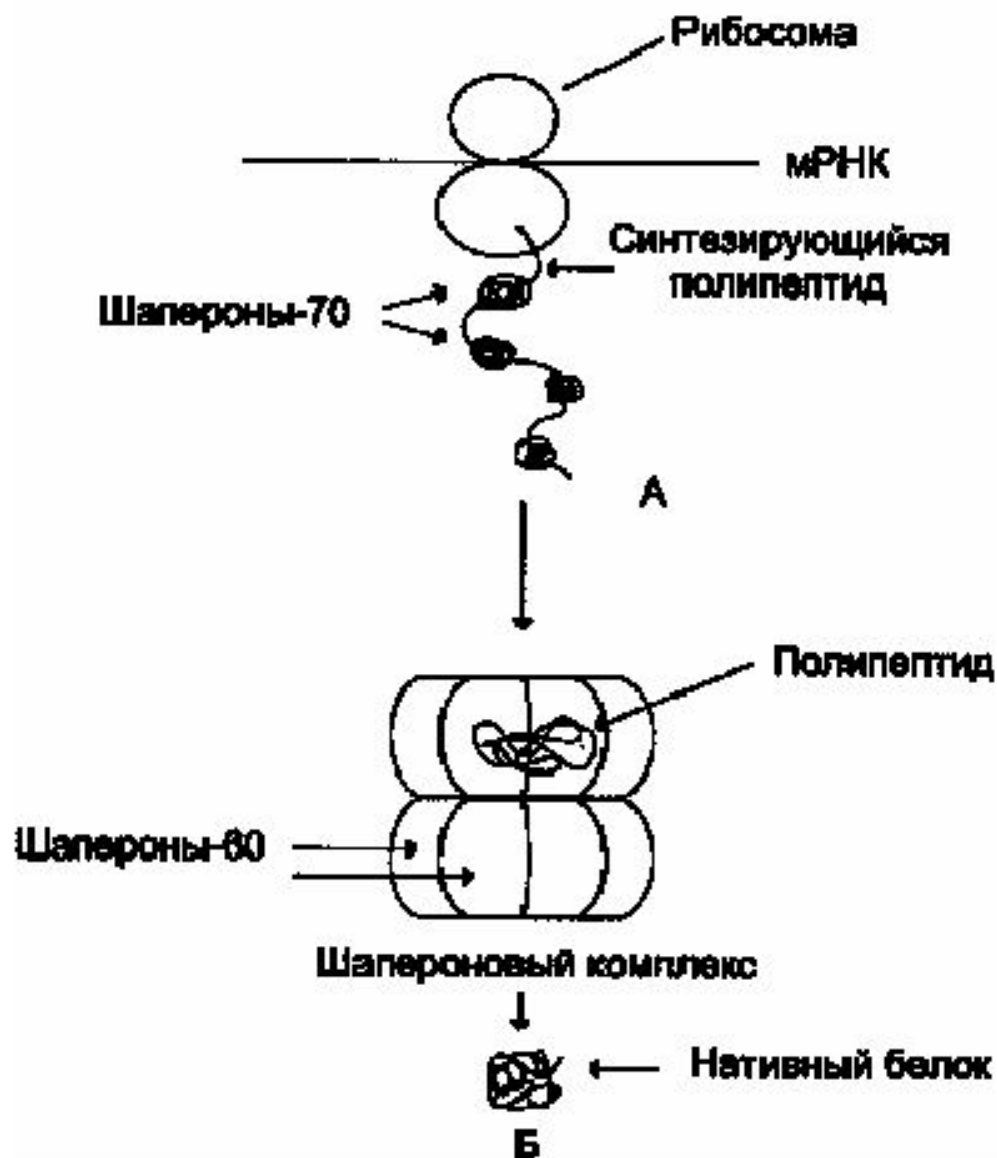


Классификация шаперонов.

В соответствии с молекулярной массой все шапероны можно разделить на 6 основных групп:

- Высокомолекулярные, с молекулярной массой от 100 до 110 кД
- Ш-90 – с молекулярной массой от 83 до 90 кД;
- Ш-70 – с молекулярной массой от 66 до 78 кД;
- Ш- 60;
- Ш-40;
- Низкомолекулярные шапероны с молекулярной массой от 15 до 30 кД;

Среди шаперонов различают: конститутивные белки (высокий базальный синтез которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки организма), и индуцибельные, синтез которых в нормальных условиях идет слабо, но при стрессовых воздействиях на клетку резко увеличивается. Индуцибельные шапероны относятся к «белкам теплового шока», быстрый синтез которых отмечают практически во всех клетках, которые подвергаются любым стрессовым воздействиям.



Участие шаперонов в фолдинге белков. А - участие шаперонов - 70 в предотвращении гидрофобных взаимодействий между участками синтезирующегося полипептида; Б - формирование нативной конформации белка в шапероновом комплексе.

Химические связи в белках

Основные

Ковалентные (пептидные)

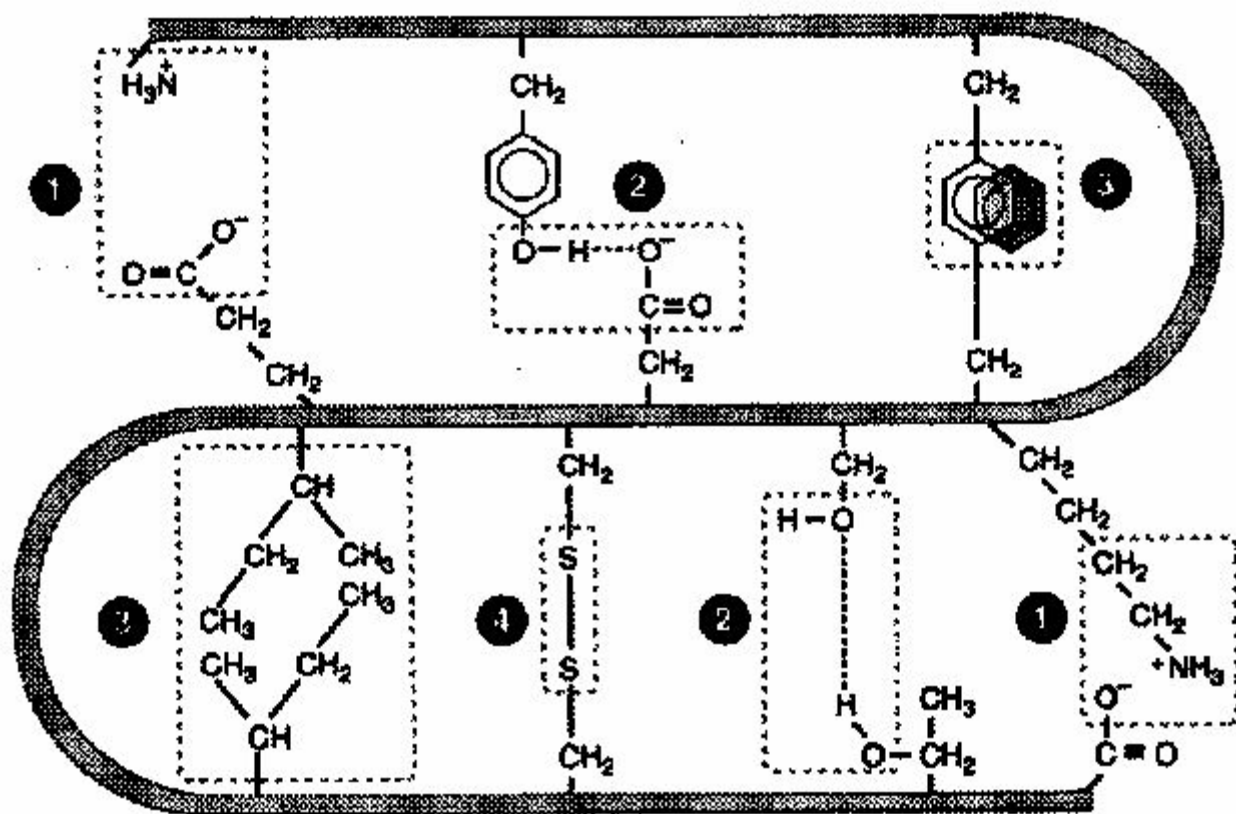
Дополнительные связи

- Водородные
- Дисульфидные
- Сложноэфирные

Взаимодействия

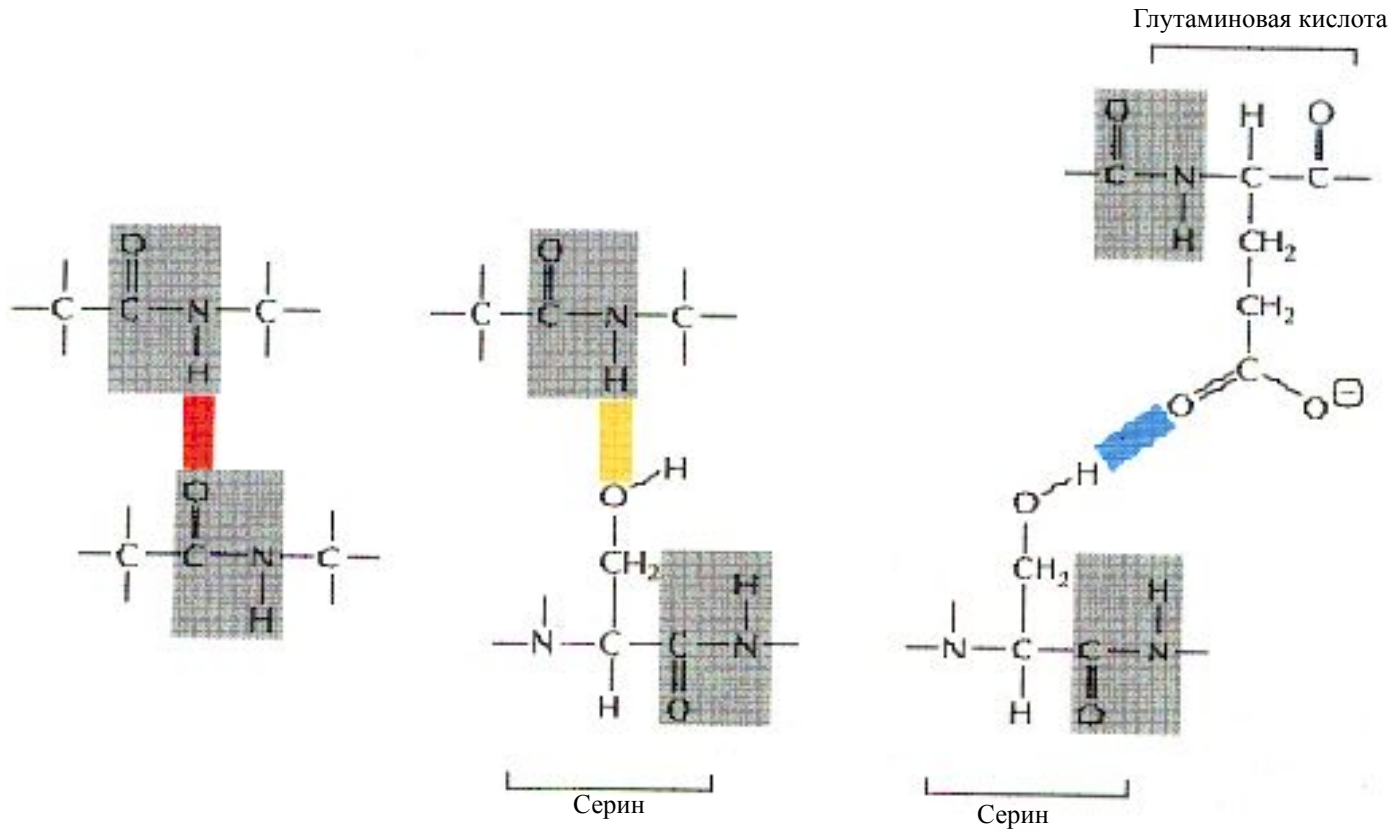
- Гидрофобные
- Полярные (ионные)





Типы связей, возникающих между радикалами аминокислот при формировании третичной структуры белка. 1 — ионные связи; 2 — водородные связи; 3 — гидрофобные связи; 4 — дисульфидные связи.

Водородные связи между аминокислотами

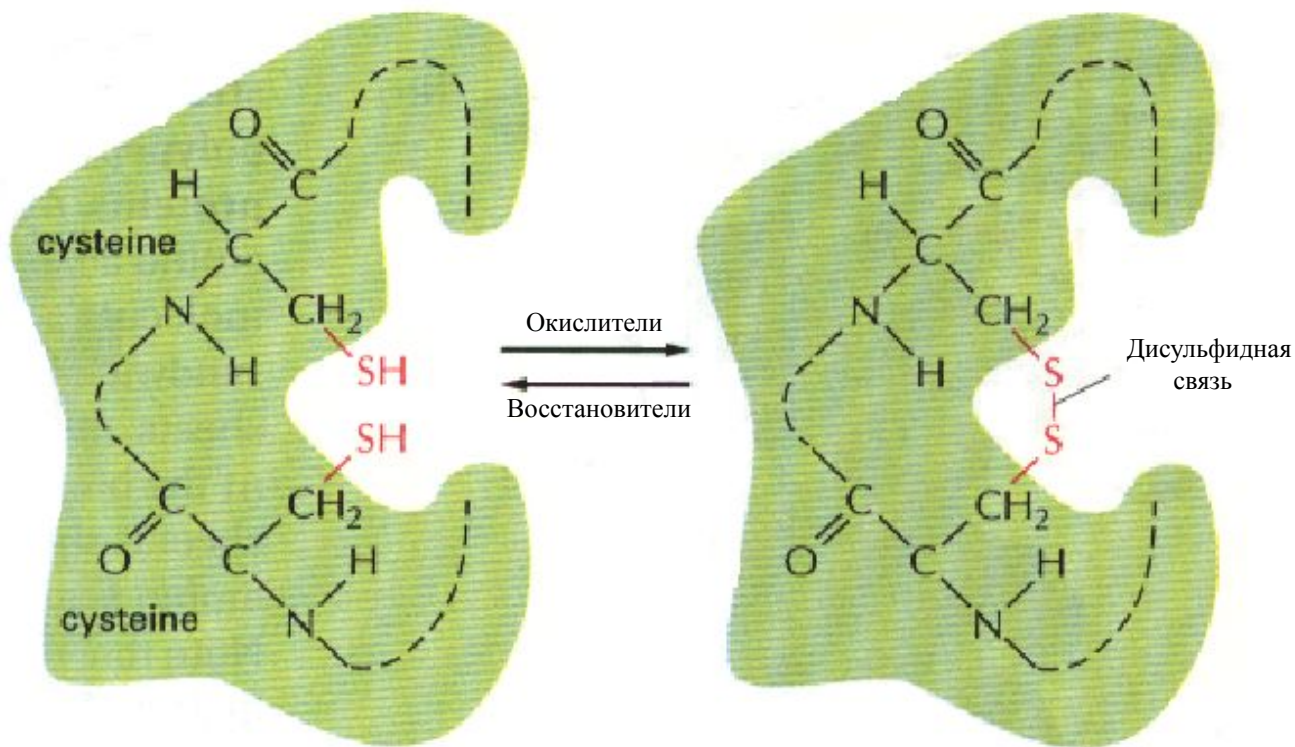


Водородная связь между атомами двух пептидных групп

Водородная связь между атомами пептидной группы и боковой цепи аминокислот

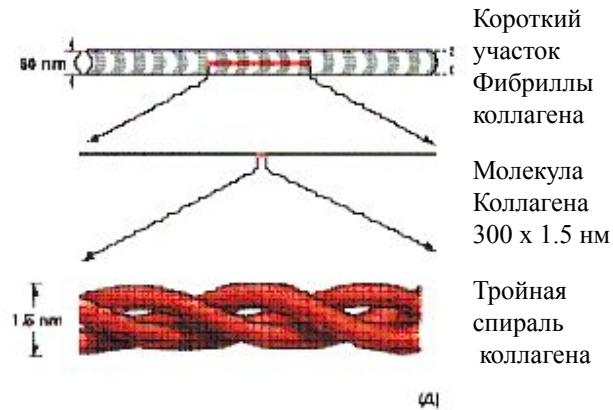
Водородная связь между атомами боковых групп двух аминокислот

Образования дисульфидной связи

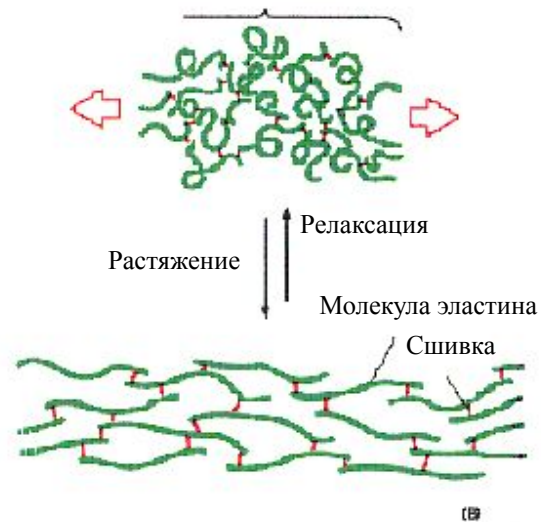


Структурная организация коллагена и эластина

Коллаген



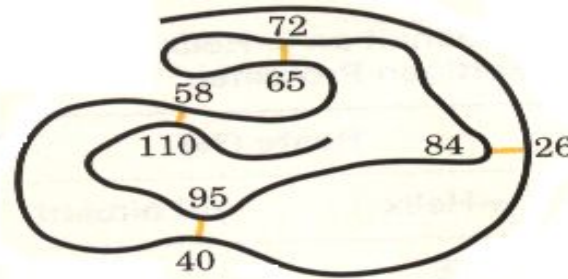
Эластин



Конформационная лабильность белков.

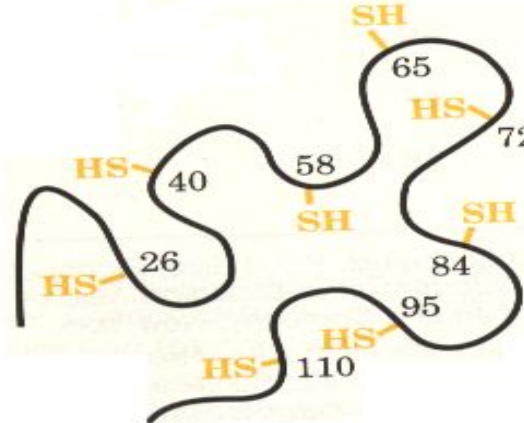
Белки обладают конформационной лабильностью – склонностью к небольшим изменениям конформации за счет разрыва одних и образования других слабых связей. Конформация белка может меняться при изменении химических и физических свойств среды, а так же при взаимодействии белка с другими молекулами. При этом изменение пространственной структуры не только участка, контактирующего с другой молекулой, но и конформации белка в целом. Конформационные изменения играют огромную роль в функционировании белков в живой клетке.

Денатурация и ренатурация белка



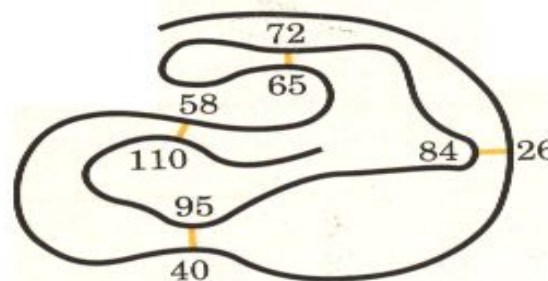
Нативная структура,
активная

↓
Воздействие
меркаптоэтанола и
мочевины




Денатурированная молекула,
не активная

↓
Удаление меркаптоэтанола и мочевины



Нативная, активная
молекула

Многообразие белков зависит от:

1. Общего количества аминокислот
 2. Соотношения аминокислот
 3. Последовательности соединения аминокислот
 4. Образования межбелковых комплексов
 5. Образования комплексов с другими веществами
 6. Особенности пространственной организации
- 

Классификация белков по функциям.

1. Структурная функция:

а) на клеточном уровне:

-белки мембран

-белки цитоскелета

- белки цитозоля, образующие коллоид (гель)

- белки ядра других органелл

б) на тканевом уровне:

-белки гликокаликса – «белковый клей»

- белки межклеточных контактов

- белки мышц

- белки крови

в) на организменном уровне:

- белки скелета

- белки сухожилий и связок и др.

2. Каталитическая – обеспечение всех биохимических реакций, превращение веществ и энергии, обеспечение всех функций.

3. Белки-гормоны – регуляция основных путей обмена веществ. Только несколько десятков аминокислотных остатков белков обеспечивают активность.

4. Регуляторные белки – репрессия и дерепрессия генома, что обуславливает деление, дифференцировку, рост, развитие и др.

5. Защитные белки

- а) антитела, вырабатываемые в ответ на введение антигенов (иммуноглобулины)
- б) белки сыворотки крови
- в) интерфероны
- г) белки-антифризы
- д) лизоцимы и др.

6. Транспортные белки

- а) белки крови и лимфы (альбумин, глобулины, трансферин Fe, липопротеины, гемоглобины, мембранные белки).

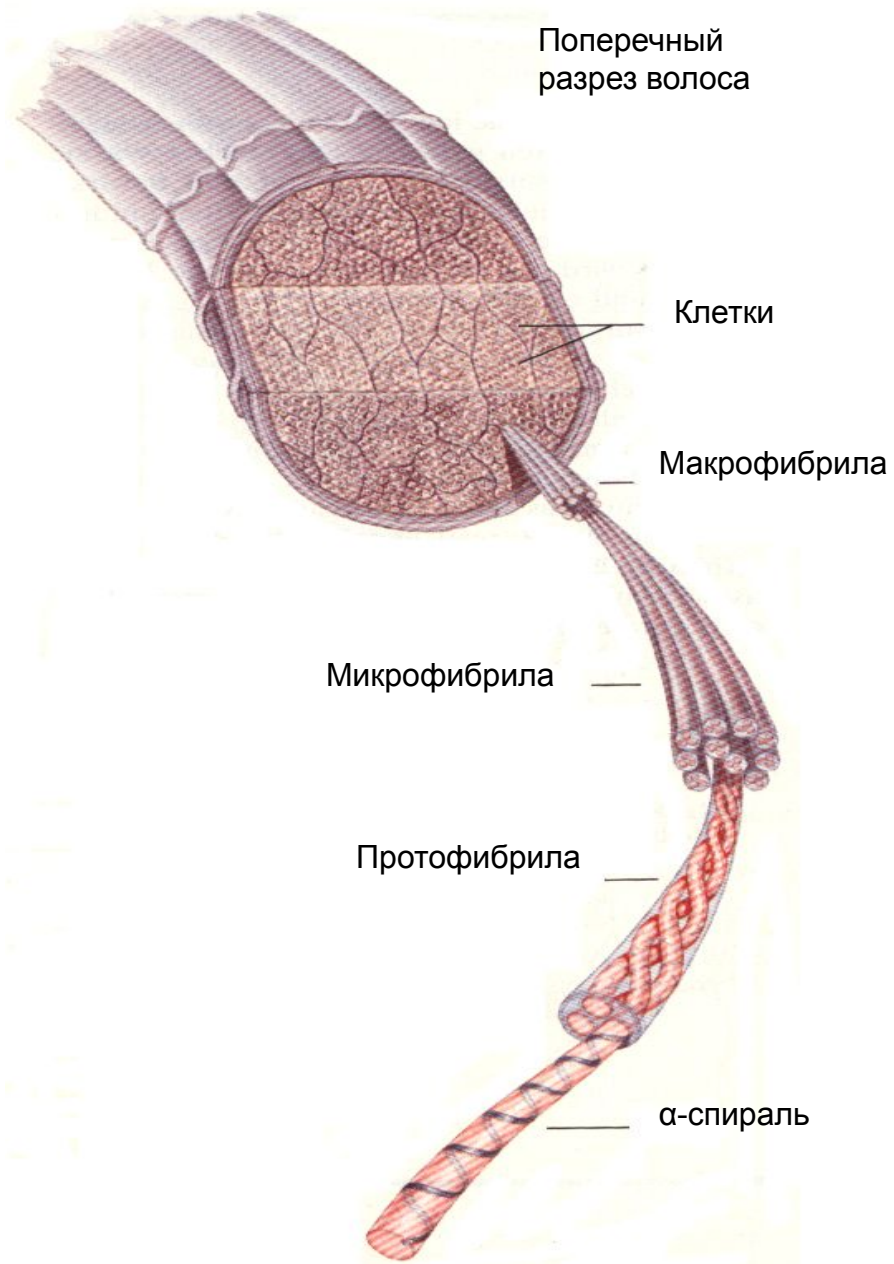
7. Сократительные белки – миозин, актин, белки микротрубочек, белки цитоскелета, белки веретена деления, белки фибрилл жгутиков и ресничек.

8. Рецепторные белки – участвуют в передаче и восприятии сигналов: инсулиновые, ацетилхолиновые, тестостероновые, обонятельный рецепторы.

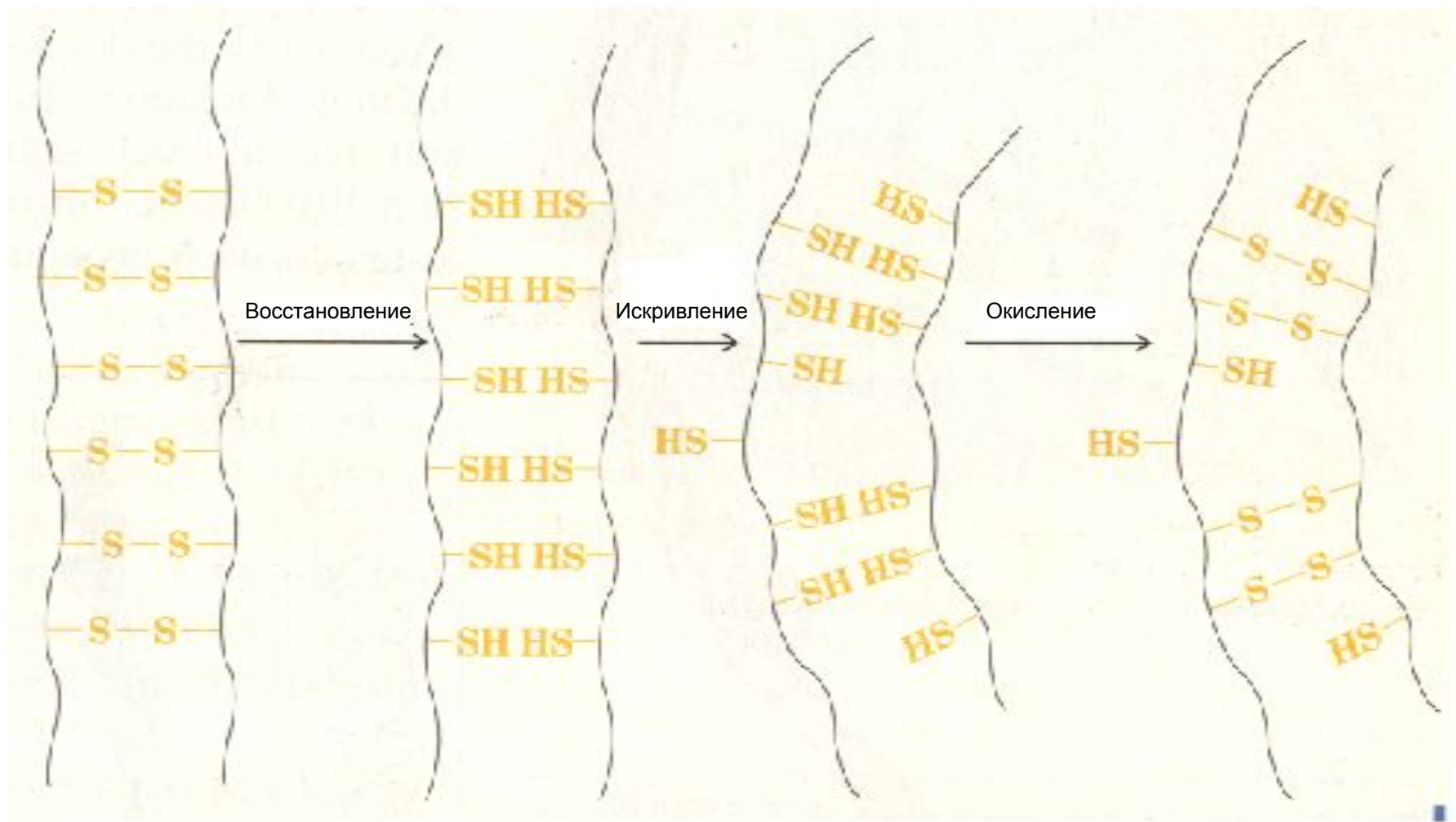
9. Белки – ингибиторы ферментов – многочисленная группа (ингибиторы протеаз).

10. Токсические белки – многие яды змей, насекомых, растений.

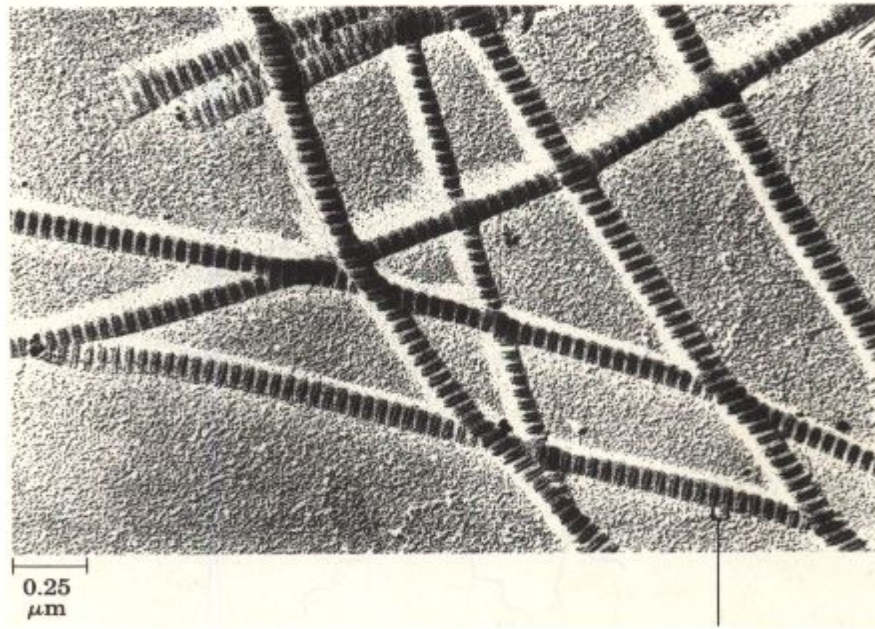
Структура волоса



Завивка волос



Структура коллагеновых волокон



Головки тропоколлагеновых молекул

Исчерченность

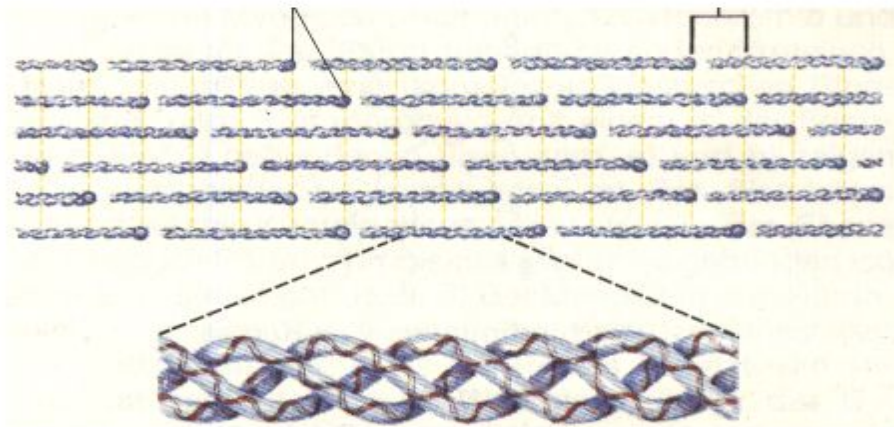
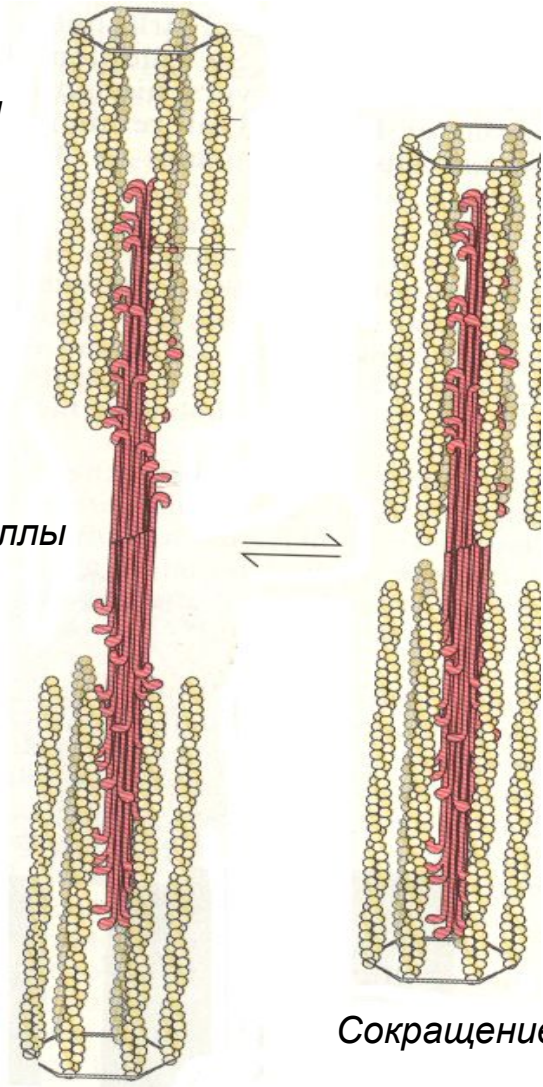


Схема тропоколлагеновых молекул

Толстые и тонкие фибриллы мышц

Тонкие фибриллы
мышц

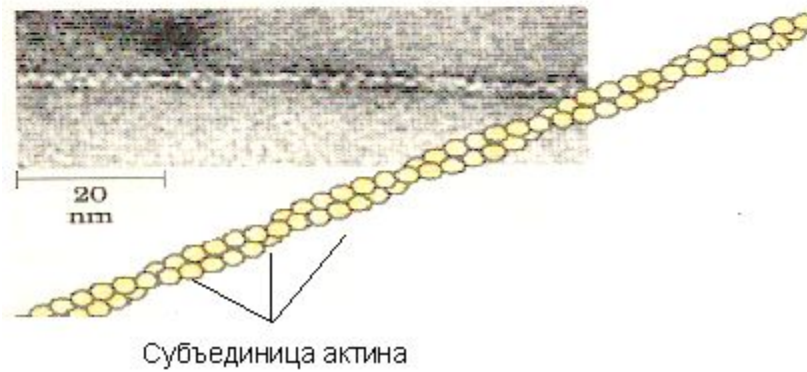
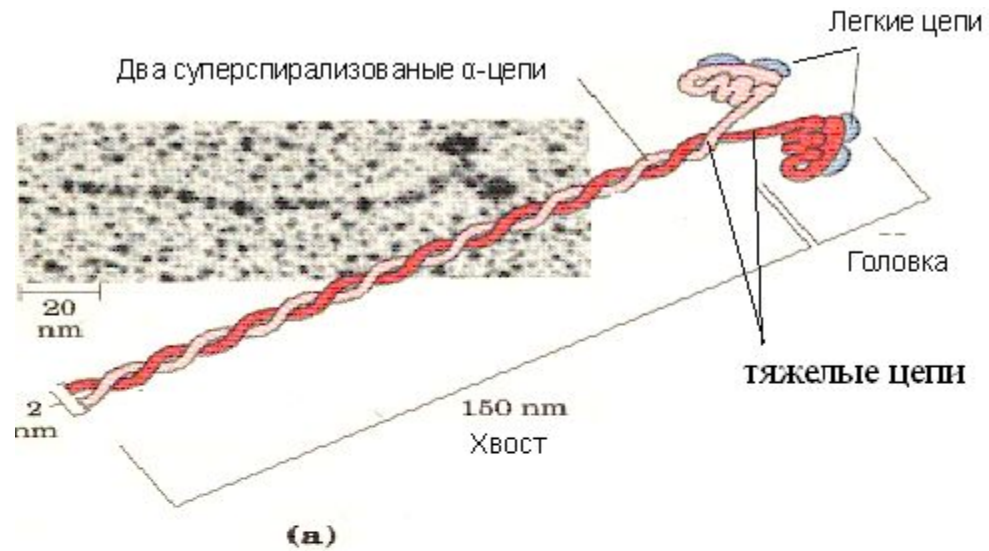
Толстые фибриллы
мышц



Сокращение

Расслабление

Миозин и актин



Физико – химические свойства белков.

Обусловлены свойствами и составом радикалов аминокислот.

1. Кислотно-основные свойства – обусловлены соотношением кислых и основных аминокислот.

Белки – амфотерные полиэлектролиты.

Белки обладают буферными свойствами.

2. Коллоидно-осмотические свойства белков. Водные растворы белков являются устойчивыми, равновесными и гомогенными коллоидными растворами. Характеризуются опалесценцией, малой скоростью диффузии, непроницаемостью через биологические мембраны (высокая осмотическая активность), высокая вязкость растворов, образование гелей.

3. Растворимость в воде - особенности структуры белка в растворе, гидрофильность и гидрофобность белков, свойства водного раствора белков, гидратная оболочка белков, действие нейтральных солей, pH, температуры.

4. Денатурация – ренатурация белков.

Реакции осаждения.

- Обратимые - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl (высаливание), спирт, ацетон и другие.
- Необратимые (с денатурацией) – температура, сильные кислоты и щелочи, соли тяжелых металлов, фенол, алкалоидные реактивы.

Цветные реакции.

- Биуретовая
- Ксантопротеиновая
- На серу (Фолли)
- НА триптофан (Адамкевича)
- На тирозин (Фолина)
- На аргинин (Сакагучи)
- На углеводный компонент

ИЭТ белков (pH)

Казеиноген	4,6
Сыв. Альбумин	4,6
Сыв. Глобулин	5,6
Гемоглобин	6,7
Гистон	8,2
Протамин	12,0

Изоэлектрическая точка – значение pH среды, при котором белок имеет суммарный нулевой заряд.

Последовательность аминокислот у двух представителей сериновых протеаз

(A)

ХИМОТРИПСИН ————— 149 186
 ANTPORLQQASLPLLSNTNCKK--YWGTKIKDAMI CAGAS-
 ЭЛАСТАЗА —————
 GQLAQTLLQQAYLPTVDYAI C SSSSYWGSTVKNSMVCAGGDG

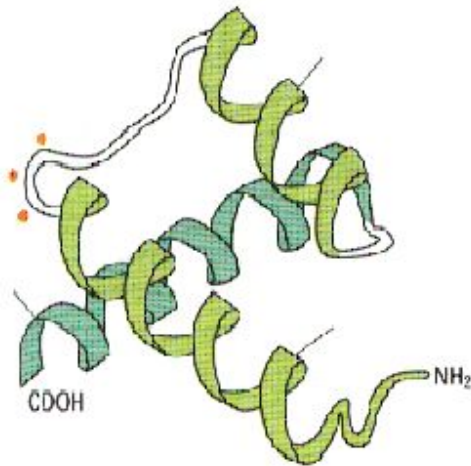
GVSSCMGDSGGPLVCKKNGAWTLVGI VSWGSS-TCSTS-TPGVYARVTALVNWVQQLAAN
 VRSGCQGDSSGGLHCLVNGQYAVHGVTSFVSR LGCNVTRKPTVFTRYSAIYISWINNYIASN
 187 246

(B)

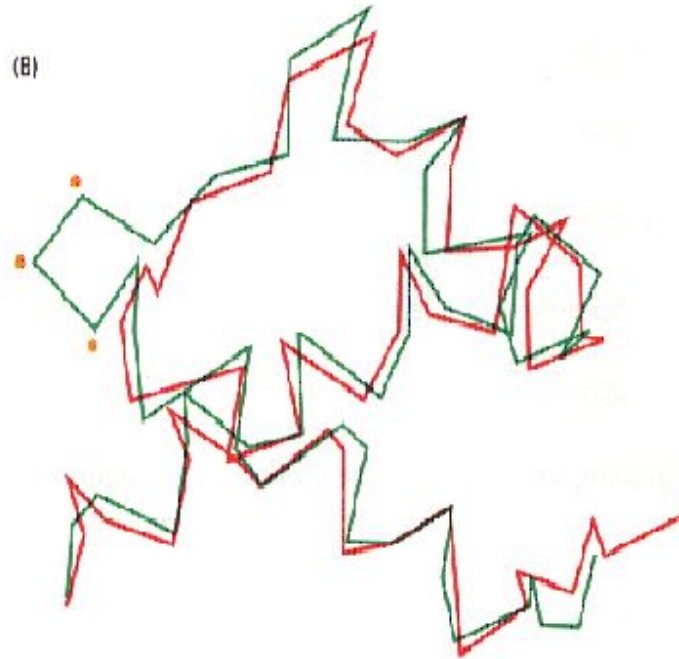
A = Ala = Аланин	G = Gly = Глицин	M = Met = Метионин	S = Ser = Серин
C = Cys = Цистеин	H = His = Гистидин	N = Asn = Аспарагин	T = Thr = Треонин
D = Asp = Аспарагиновая кислота	I = Ile = Изолейцин	P = Pro = Пролин	Y = Val = Валин
E = Glu = Глутаминовая кислота	K = Lys = Лизин	Q = Gln = Глутамин	W = Trp = Триптофан
F = Phe = Фенилаланин	L = Leu = Лейцин	R = Arg = Аргинин	Y = Tyr = Тирозин

Эволюция ДНК-связанного белка дрожжей и дрозофилы

(A)



(B)



(C)

H_2N GHRFT KENVRILESWFAKNIENPYLD TKGLENLMKNTSLSR IQIKNWVSNRRRKEKTI COOH
RTAFSS EDLARKREFNEN - - - RYLTERRRQQLSSELGLNEAQIKIWFQNKRAKIKKS