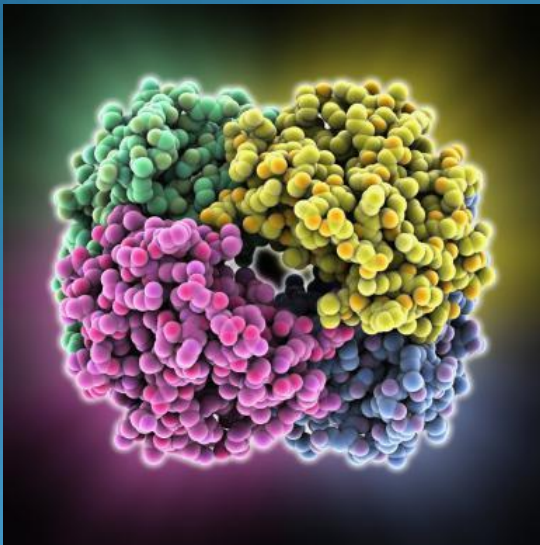


# СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ – II

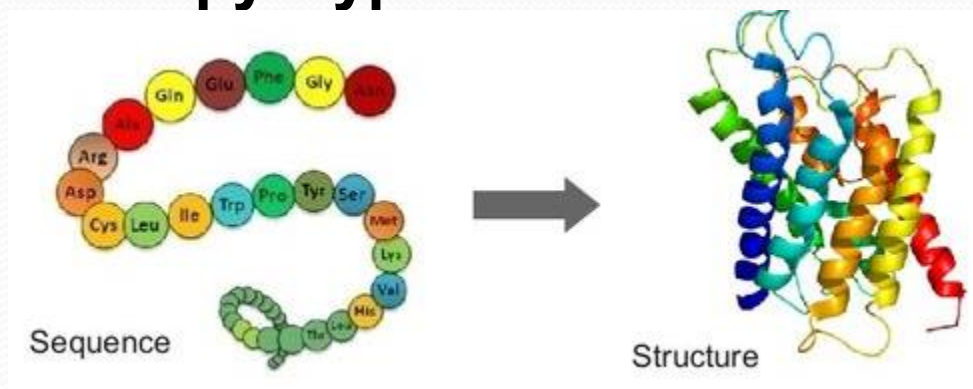


Зав. кафедрой биохимии  
профессор В.В. Лелевич

Пептидные цепи содержат десятки, сотни и тысячи аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями. За счет внутримолекулярных взаимодействий белки образуют определенную пространственную структуру, называемую

## «К О Н Ф О Р М А Ц И Я Б Е Л К А»

Различают **4 уровня** структурной организации белков, называемых первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурами.



- По предложению датского биохимика **Линдстрёма-Ланга** различают 4 уровня организации белковых молекул – **I, II, III и IV.**
- Хотя эти категории в известной степени устарели, ими продолжают пользоваться.



Кай Ульрих  
Линдстрём-Ланг  
1986 – 1959 гг.

**ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА** – строго определенная линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи.

### **История изучения I структуры белка**

- 1 этап:** начинается с классической работы Сенгера (1953 г) по установлению аминокислотной последовательности инсулина
- 2 этап:** начало 70-х годов 20 века. Применение автоматического секвенатора
- 3 этап:** начало 80-х годов 20 века. Разработка скоростных методов анализа нуклеотидной последовательности ДНК



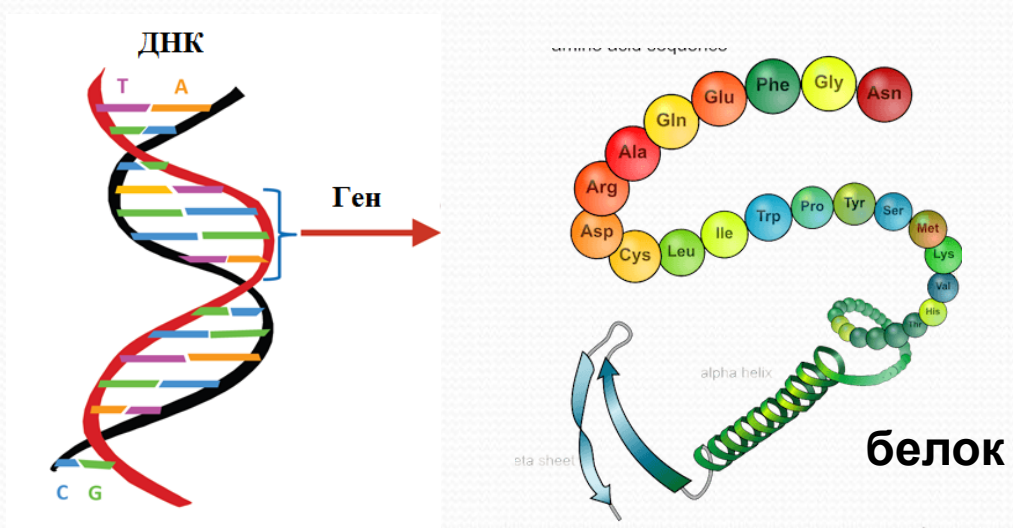
**Фредерик Сенгер**

# Первичная структура белка определяется:

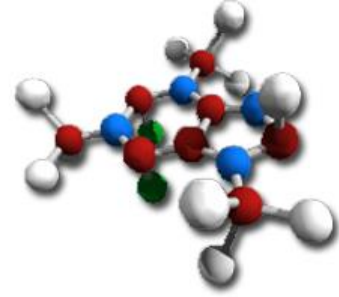
Природой входящих в молекулу аминокислот.  
Относительным количеством каждой аминокислоты.

Строго определенной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи.

Первичная структура каждого индивидуального белка закодирована в участке ДНК, называемом **геном**.



# Предварительные исследования перед определением I структуры белка



1. Очистка белка.
2. Определение молекулярной массы.
3. Определение типа и числа простетических групп.
4. Определение наличия внутри- или межмолекулярных дисульфидных связей, а также сульфгидрильных групп.
5. Предварительная обработка белков с 4-й структурой для диссоциации на субъединицы.



# Стадии определения I структуры белков

Определение аминокислотного состава (гидролиз, аминокислотный анализатор)

1. Идентификация N- и C-концевых АК
2. Расщепление полипептидной цепи на фрагменты (трипсин, химотрипсин, бромциан, гидроксилламин и др.)
3. Определение аминокислотной последовательности пептидных фрагментов (секвенатор)
4. Расщепление исходной полипептидной цепи другими способами и установление их аминокислотной последовательности
5. Установление порядка расположения пептидных фрагментов по перекрываемым участкам (метод пептидных карт)



## Методы избирательного и неполного гидролиза белка

Бромциан (CNBr) – вызывает гидролиз по остаткам метионина

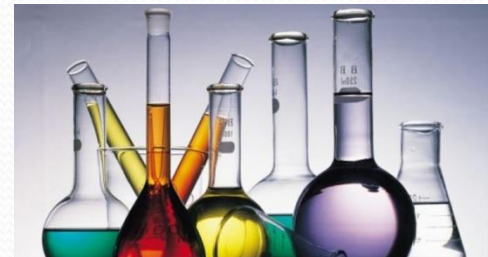
1. **Гидроксиламин** – по связям между Асп и Гли
2. **Пепсин** – по связям между Фен, Тир и Глу
3. **Трипсин** – между Арг и Лиз
4. **Химотрипсин** – между Три, Тир и Фен





## Методы определения N-концевых аминокислот

- **Метод Сенгера**
- **Метод Эдмана (секвенатор)**
- **Реакция с дансилхлоридом**
- **Применение аминопептидазы**



## Методы определения C-концевых аминокислот

- **Метод Акабори**
- **Применение карбоксипептидазы**
- **Применение боргидрида натрия**

- Важным достижением в изучении первичной структуры белков явилось создание в 1967 г. **П. Эдманом** и **Дж. Бэггом** **СЕКВЕНАТОРА** – прибора, который с высокой эффективностью осуществляет последовательное автоматическое отщепление N-концевых аминокислот по методу Эдмана с последующей идентификацией.
- С помощью секвенатора можно определять последовательность фрагментов **до 50-60 аминокислотных остатков**



**П.В. Эдман**

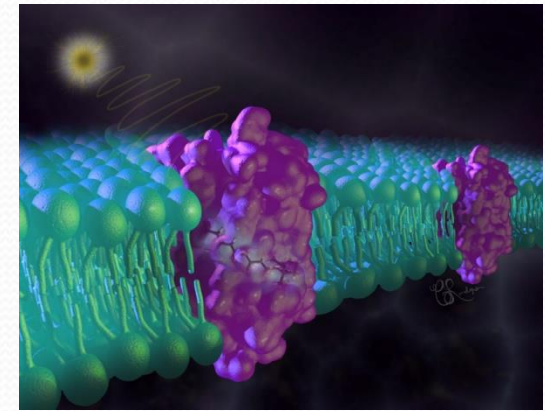
## Общие закономерности, касающиеся аминокислотной последовательности белков

- 1. Не существует одной уникальной последовательности общей для всех белков**
- 2. Белки, выполняющие разные функции, имеют разные последовательности**
- 3. Белки со схожими функциями имеют похожие последовательности, однако совпадение проявляется в малой степени**
- 4. Одинаковые белки, выполняющие одинаковые функции, но выделенные из разных организмов, обычно имеют значительное сходство в последовательности**
- 5. Одинаковые белки, выполняющие одинаковые функции и выделенные из организмов одного вида, почти всегда обладают совершенно одинаковой последовательностью**

**Вторичная структура белка – это локальная конформация полипептидной цепи, обусловленная вращением отдельных участков этой цепи вокруг одинарных ковалентных связей**

**Разновидности II структуры белка:**

- ✓  **$\alpha$  – спираль**
- ✓ **Складчатый лист ( $\beta$ -структура)**
- ✓ **Статистический клубок**

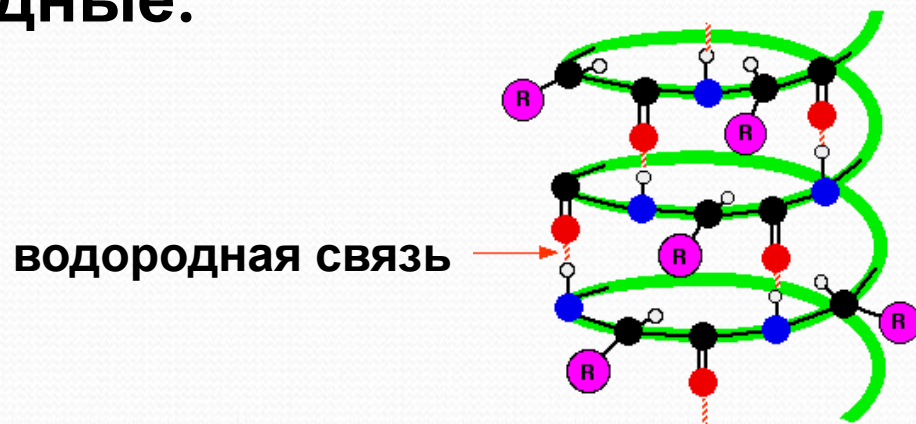


**Первые две разновидности представляют собой упорядоченное расположение, третья – неупорядоченное**

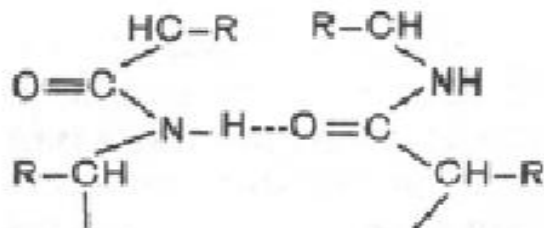
- Исторически первой описанной пространственной конфигурацией полипептидной цепи была  **$\beta$ -структура**, предложенная **У. Астбери** в 1941 г., на основании рентгеноструктурных исследований  **$\beta$ -кератина**.
- В 1951 г. **Л. Полинг** и **Р. Кори** установили, что  **$\beta$ -структура** или «**складчатый лист**» представляет вытянутые, зигзагообразные полипептидные цепи.

Движущей силой в возникновении  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур является способность аминокислот к образованию водородных связей.

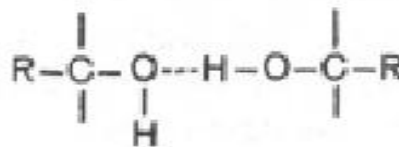
Стабильность II структуры белка в основном обеспечивается **водородными связями**.  
Определенный вклад в стабилизацию II структуры вносят ковалентные связи – пептидные и дисульфидные.



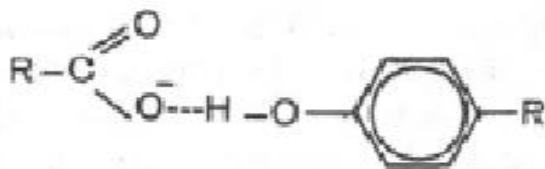
# Варианты водородных связей в молекуле белка



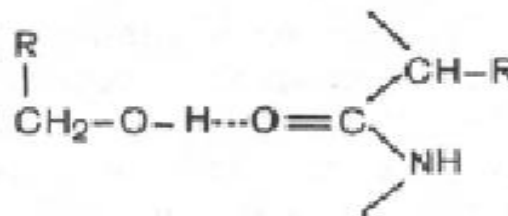
А.



Б.



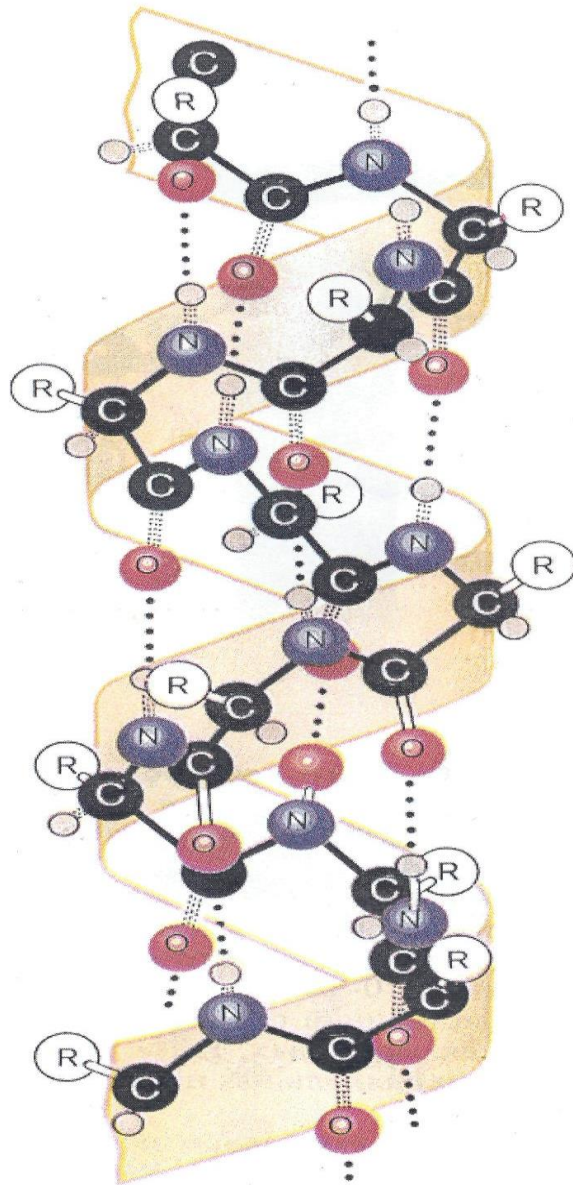
В.



Г.

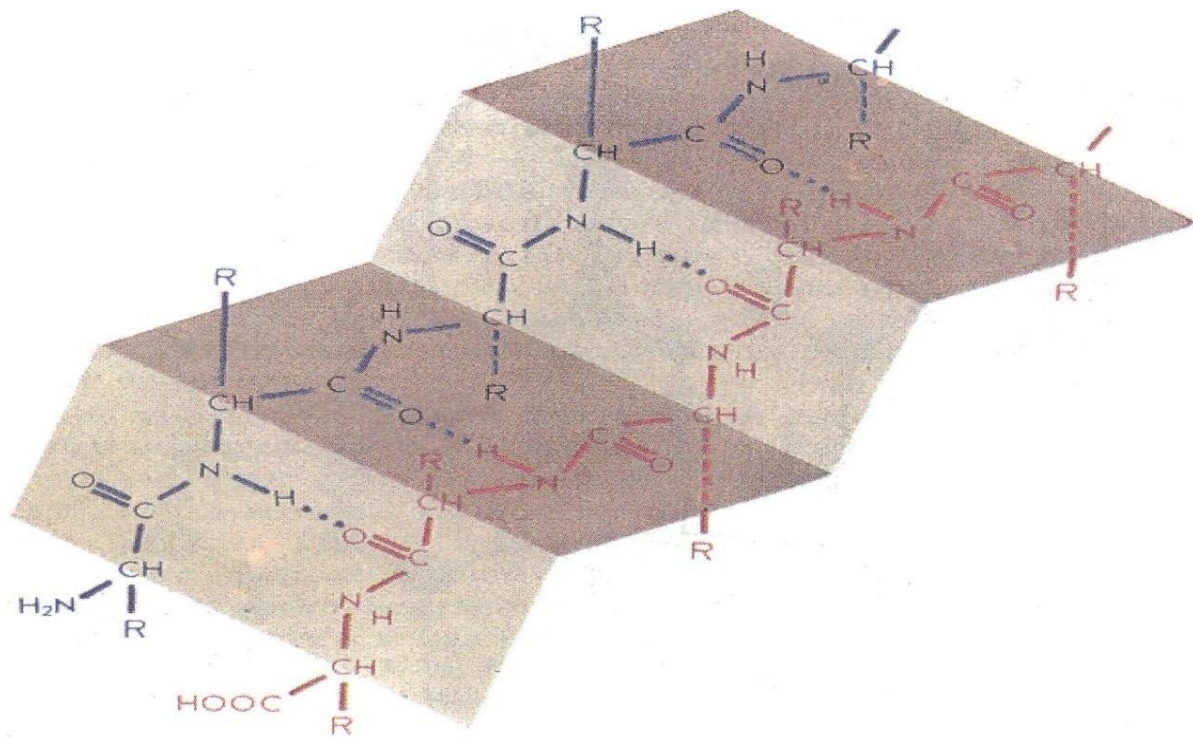
- А.** Между пептидными цепями;
- Б.** Между двумя гидроксильными группами;
- В.** Между -COOH и -OH группами;
- Г.** Между -OH группой серина и пептидной связью

# СПИРАЛЬНАЯ КОНФОРМАЦИЯ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ



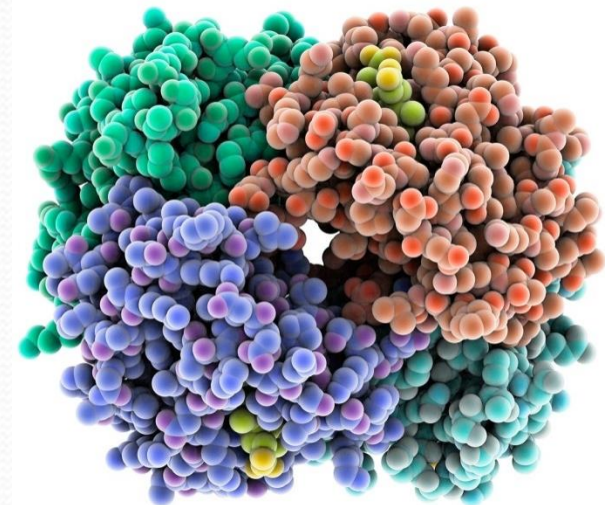


# КОНФОРМАЦИЯ $\beta$ -СКЛАДЧАТОГО ЛИСТА



## СТЕПЕНЬ $\alpha$ -СПИРАЛИЗАЦИИ

- ✓ ГЕМОГЛОБИН – 80%
- ✓ ИНСУЛИН - 46-60%
- ✓ АЛЬБУМИН (яйца) – 30-45%
- ✓ ПЕПСИН - 20-30%
- ✓ КАЗЕИН - 10%



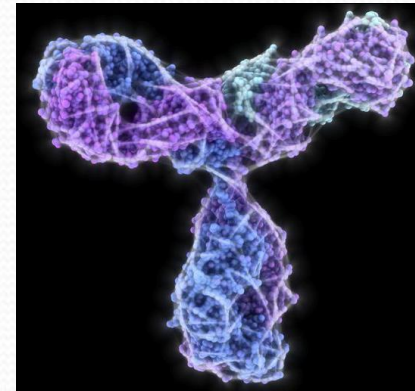
# ПО НАЛИЧИЮ $\alpha$ -СПИРАЛЕЙ И $\beta$ -СТРУКТУР ГЛОБУЛЯРНЫЕ БЕЛКИ МОЖНО РАЗДЕЛИТЬ НА 4 КАТЕГОРИИ:

1. Белки, в структуре которых обнаружена только  $\alpha$ -спираль – **миоглобин, гемоглобин.**
2. Белки с  $\alpha$ -спиралями и  $\beta$ -структурами (**лактатдегидрогеназа, фосфоглицераткиназа**).
3. Белки, имеющие только  $\beta$ -структуру (**иммуноглобулины, супероксиддисмутаза**).
4. Белки, имеющие в своем составе лишь незначительное количество регулярных вторичных структур.



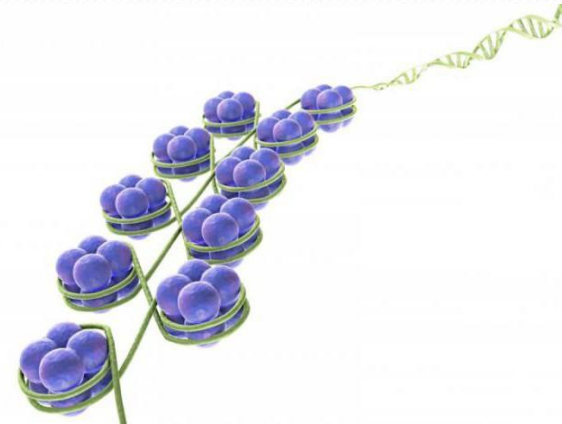
# Супервторичная структура белков

- 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.
- Супервторичная структура формируется за счет **межрадикальных взаимодействий**.



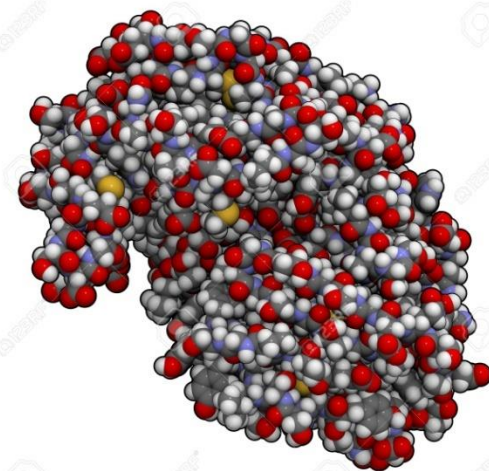
# РАЗНОВИДНОСТИ СУПЕРВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ:

1. Супервторичная структура типа  **$\beta$ -бочонка** (триозофосфатизомераза, пируваткиназа).
2. Структурный мотив « **$\alpha$ -спираль – поворот –  $\alpha$ -спираль**». (ДНК-связывающие белки).
3. Супервторичная структура в виде «**цинкового пальца**». «Цинковый палец» – фрагмент белка из 20 аминокислот, где атом цинка связан с радикалами 4 аминокислот. (ДНК-связывающие белки).
4. Супервторичная структура в виде «**лейциновой застежки молнии**». (Гистоны).



Третичная структура белка – пространственная ориентация полипептидной цепи или способ ее укладки в определенном объеме.

В зависимости от формы III структуры различают **глобулярные** и **фибриллярные** белки. В глобулярных белках чаще преобладает  $\alpha$ -спираль, фибриллярные белки образуются на основе  $\beta$ -структуры.



- **Фибриллярные белки**

- Коллаген
- Эластин
- Миозин
- Актин (фибриллярный)

- **Глобулярные белки**

- Миоглобин
- Гемоглобин
- Ферменты
- Транспортные белки, и др.

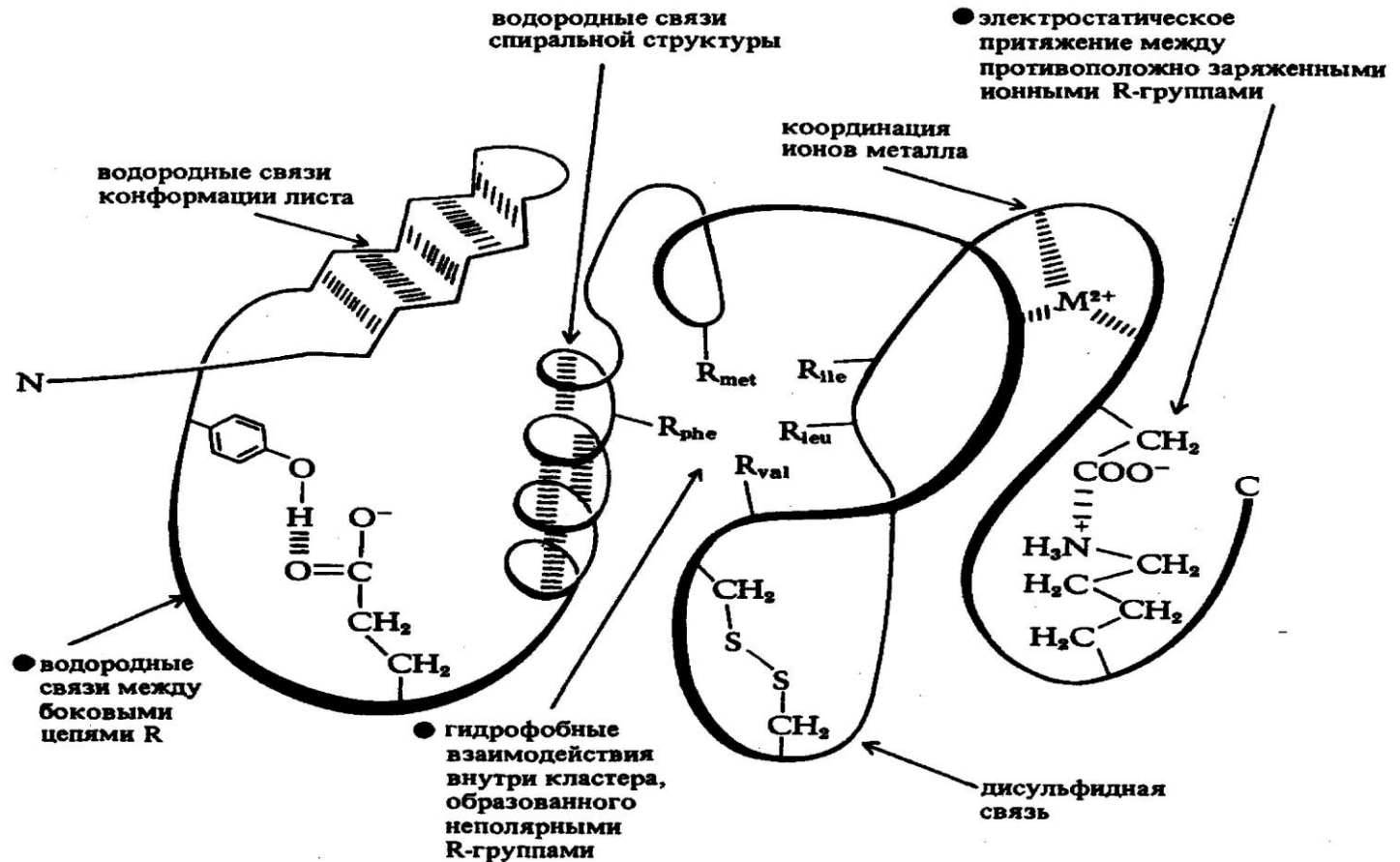


## **Связи, стабилизирующие III структуру глобулярного белка:**

- водородные связи спиральной структуры
- водородные связи  $\beta$ -структуры
- водородные связи между радикалами боковых цепей
- гидрофобные взаимодействия между неполярными группами
- электростатические взаимодействия между противоположно заряженными группами
- дисульфидные связи
- координационные связи ионов металлов



# ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА ГЛОБУЛЯРНОГО БЕЛКА



# РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ

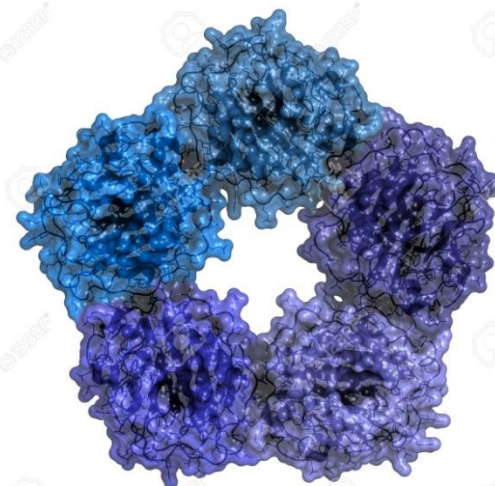
Кристаллический образец облучает пучком рентгеновских лучей. По мере прохождения через кристаллическую решетку лучи взаимодействуют с атомами и рассеиваются либо отражаются под различными углами. Геометрический образ и интенсивность рассеивания отражают атомную структура образца. Многие дифракционные рефлекс регистрируют от одного образца под разными углами облучения рентгеновскими лучами, а затем с помощью **компьютерной обработки моделируют** структуру молекулы белка.

**Четвертичная структура белка** – способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или различной) I, II и III структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования.

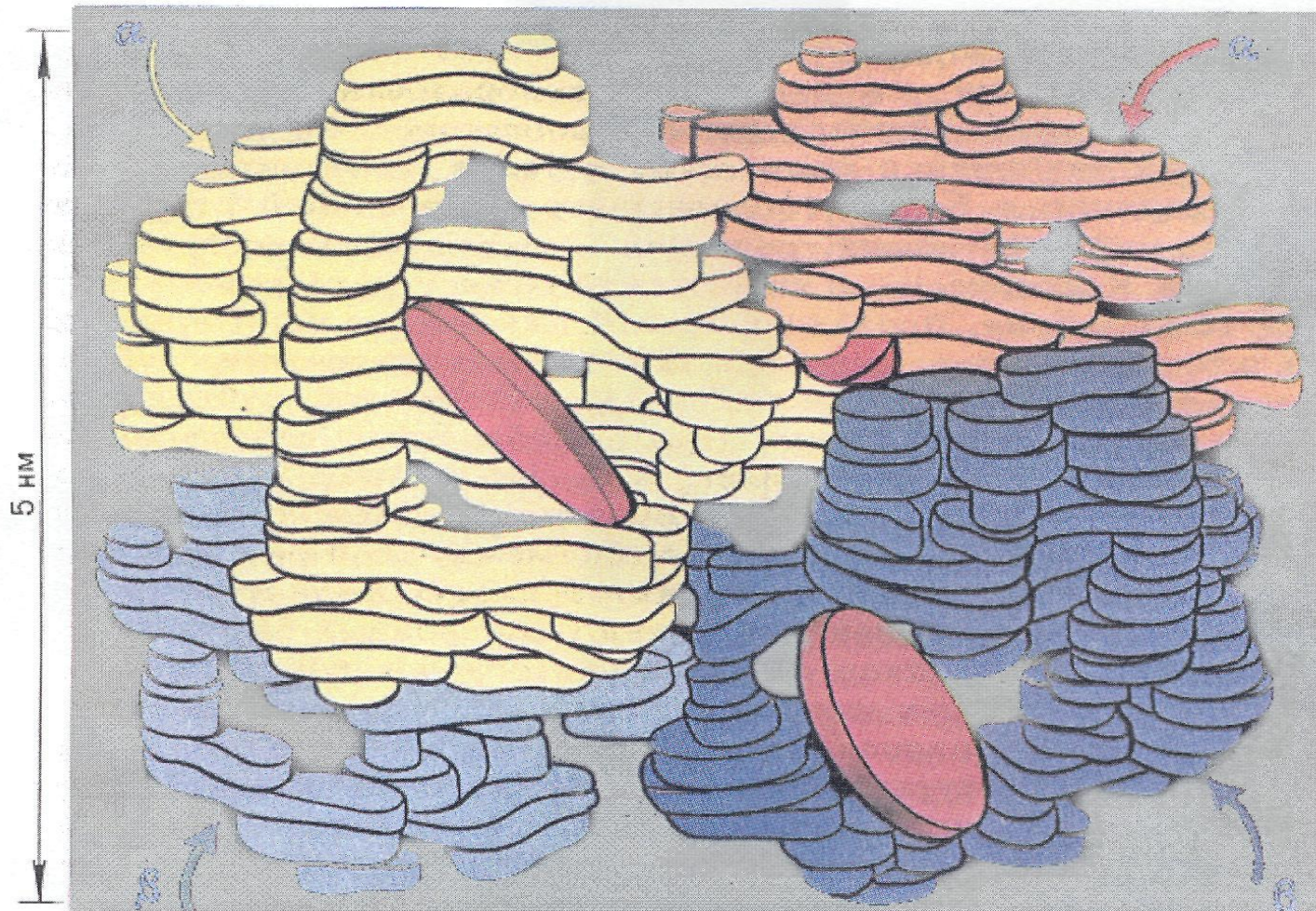
Четвертичная структура характерна для белков, **состоящих из нескольких субъединиц.**

**Связи, возникающие между субъединицами в IV структуре:**

- водородные
- ионные
- ван-дер-ваальсовы силы
- гидрофобные взаимодействия
- ковалентные (редко встречаются)

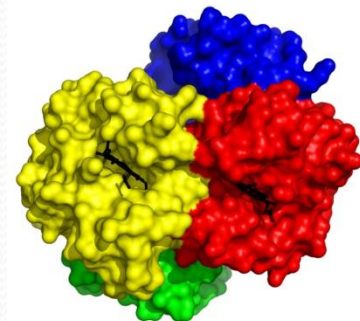


# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА ОКСИГЕМОГЛОБИНА



# Преимущества субъединичного строения белков:

1. Наличие субъединичной структуры позволяет “экономить” генетический материал
2. При сравнительно небольшой величине цепей уменьшается влияние случайных ошибок при биосинтезе белка. Возможна выбраковка «неправильных» ошибочных субъединиц
3. Легче регулировать активность белков путем смещения равновесия «ассоциация-диссоциация» в ту или иную сторону
4. Субъединичная структура облегчает и ускоряет процесс молекулярной эволюции



**Спасибо за внимание!**

