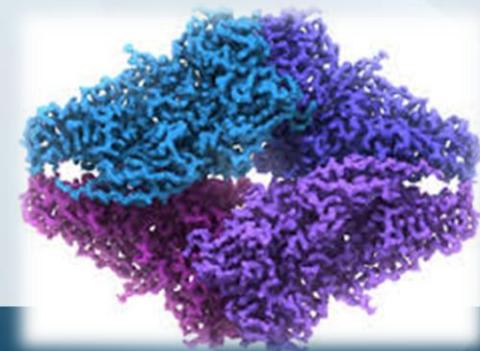


СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ-III

Зав. кафедрой биохимии
профессор В. В. Лелевич

Домен – участок полипептидной цепи, который в процессе формирования пространственной структуры приобрел независимо от других участков той же цепи конформацию глобулярного белка.

- Если полипептидная цепь белка содержит более **200 АК**, как правило, её пространственная структура сформирована в виде **2 и более доменов**.
- Домены можно выделить, действуя на белок протеолитическими ферментами, легко разрывающими пептидные связи на участке полипептидной цепи между доменами. После этого некоторые домены могут сохранять свои биологические свойства.



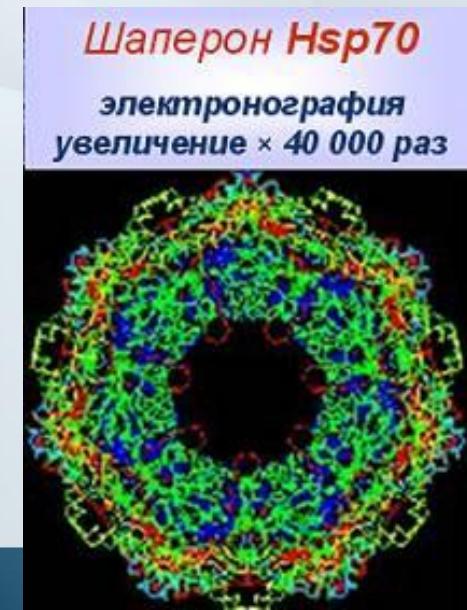
Фолдинг белков – процесс сворачивания полипептидной цепи **в правильную пространственную структуру**. При этом происходит сближение удаленных АК-остатков полипептидной цепи, приводящее к формированию нативной структуры. Эта структура обладает уникальной биологической активностью. Поэтому фолдинг является важной стадией преобразования генетической информации в механизмы функционирования клетки.



Шапероны – белки, способные связываться с белками, находящимися в неустойчивом, склонном к агрегации состоянии, стабилизировать их конформацию и обеспечивать их фолдинг.

КЛАССИФИКАЦИЯ ШАПЕРОНОВ (по молекулярной массе)

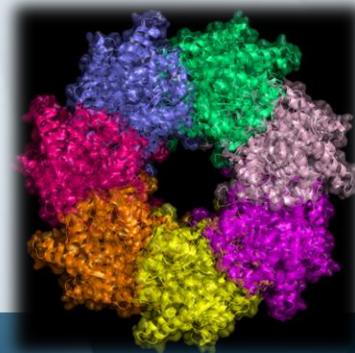
1. Высокомолекулярные с м.м. от 100 до 110 кДА)
2. Ш-90 – м.м. от 83 до 90 кДА
3. Ш-70 – м.м. от 66 до 78 кДА
4. Ш-60
5. Ш-40
6. Низкомолекулярные с м.м. 15-30 кДА



Среди шаперонов выделяют:

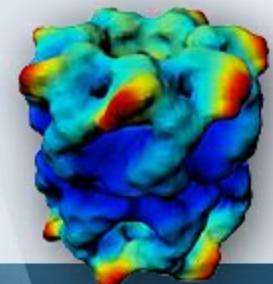
Конститутивные белки – их высокий базальный синтез не зависит от стрессорных воздействий на клетки организма

Индуцильные белки – их синтез в нормальных условиях идет слабо, но при стрессорных воздействиях на клетку резко увеличивается.
Индуцильные шапероны относятся к **«белкам теплового шока»**, быстрый синтез которых отмечают практически во всех клетках, подвергающихся стрессорным воздействиям



Роль шаперонов в защите белков от денатурирующих агентов

- При действии различных стрессорных факторов (t^0 , гипоксия, инфекции, УФО, изменения рН, токсические вещества, тяжелые металлы и др.) усиливается синтез шаперонов (Ш). Имея высокое сродство к гидрофобным участкам частично денатурированных белков Ш могут препятствовать их полной денатурации и восстанавливать нативную конформацию белка.
- Кратковременные стрессовые воздействия увеличивают выработку Ш и повышают устойчивость организма к длительным стрессам. Поэтому перспективными исследованиями в медицине считаются поиски фармакологических и молекулярно-биологических способов активации синтеза Ш в клетках.



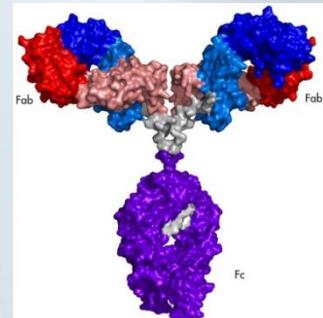
Болезни, связанные с нарушением фолдинга белков



- **Амилоидозы:** некоторые белки теряют растворимость, агрегируют и образуют в клетках фибриллярные отложения – амилоид. В результате нарушается структура и функция клеток, наблюдаются их дегенеративные изменения
- **Болезнь Альцгеймера:** в ЦНС откладывается β -амилоидный белок в виде фибрилл, нарушаются структура и функции нейронов
- **Прионовые болезни.** Прионы – особый класс белков, обладающих инфекционными свойствами. Попадая в организм человека или спонтанно возникая в нем, они способны вызывать тяжелые, неизлечимые заболевания ЦНС, называемые прионовыми болезнями.

Олигомерные белки – состоят из 2 и более полипептидных цепей.

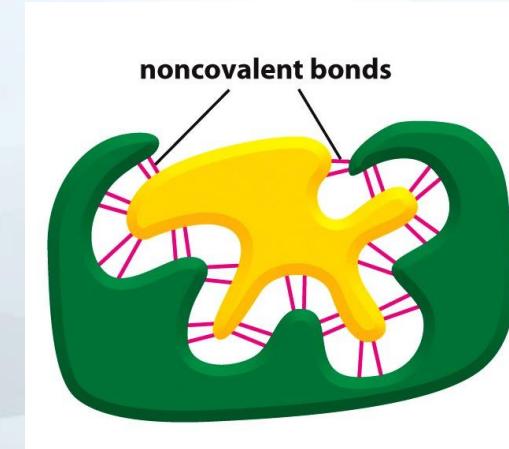
- Олигомерные белки обладают особыми свойствами, которых нет у белков, не имеющих четвертичной структуры.
- Каждый индивидуальный белок, имеющий уникальную структуру и конформацию, обладает и уникальной функцией, отличающей его от всех остальных белков
- Набор индивидуальных белков выполняет в клетке множество разнообразных и сложных функций.



- В основе функционирования любого белка лежит его способность к избирательному взаимодействию с какой-либо другой молекулой – **ЛИГАНДОМ**.

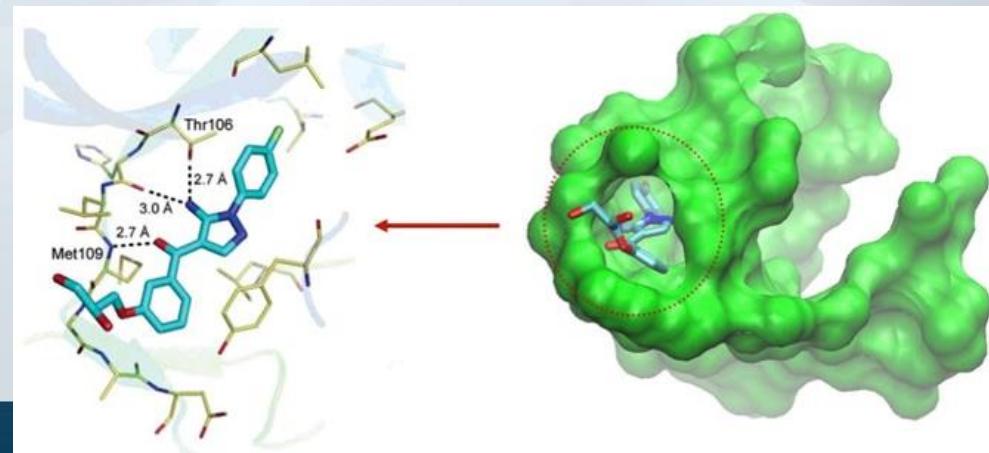
Лигандом может быть:

- низкомолекулярное вещество
- макромолекула
- другой белок
- Лиганд присоединяется к определенному участку на поверхности белковой молекулы – **активному центру** (центру связывания).
- Связи между белком и лигандом могут быть как **ковалентными**, так и **нековалентными**.



Активный центр белков – определенный участок белковой молекулы, как правило находящийся в ее углублении, сформированный радикалами АК-остатков, собранных на определенном пространственном участке при формировании III структуры, и способный комплементарно связываться с лигандом.

- Высокая специфичность связывания белка с лигандом обеспечивается **комплементарностью** структуры активного центра белка структуре лиганда.



Функциональное многообразие лигандов

- Существуют лиганды, которые изменяют свою химическую структуру при присоединении к активному центру белка (**изменение субстрата в активном центре фермента**).
- Имеются лиганды, присоединяющиеся к белку только в момент его функционирования (**например O_2 , транспортируемый гемоглобином**)
- Существуют лиганды, постоянно связанные с белком и выполняющие вспомогательную роль при функционировании белков (**например железо, входящее в состав гемоглобина**)

Кооперативные изменения конформации протомеров

- Изменение конформации (а следовательно и функциональных свойств) всех протомеров олигомерного белка при присоединении лиганда только к одному из них носит название кооперативных изменений конформации протомеров.
- Сродство гемоглобина к четвертой молекуле O_2 примерно в **300** раз больше, чем в первой.
- Кооперативные изменения конформации олигомерных белков составляют основу механизма регуляции функциональной активности не только Hb , но и большинства других белков, в том числе аллостерических ферментов.

ПРОТЕИНОПАТИИ – изменения структуры, количества или функциональной активности белков.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ПРОТЕИНОПАТИИ - изменение структуры или нарушение синтеза белка в результате первичного повреждения в генетическом аппарате

- гемоглобинопатии, фенилкетонурия и др.

Приобретенные (вторичные) протеинопатии – изменение количества белка, его распределения в тканях или нарушение его функций в результате того или иного патологического процесса

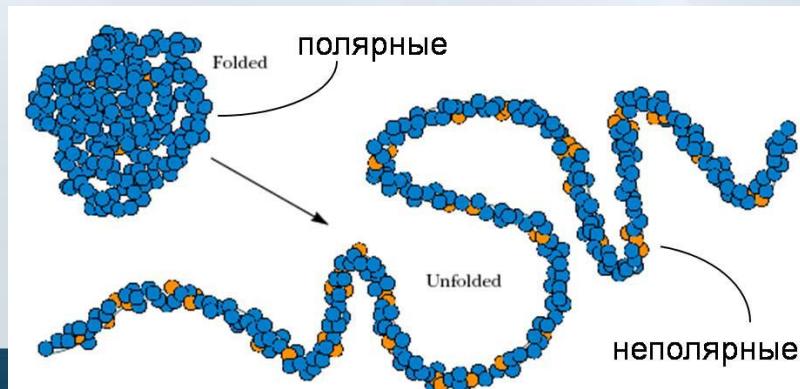
- гипопротеинемии при гломерулонефрите
- гиперпротеинемии при коллагенозе и др.



Денатурация – потеря нативной конформации белка, сопровождающееся утратой его специфической функции.

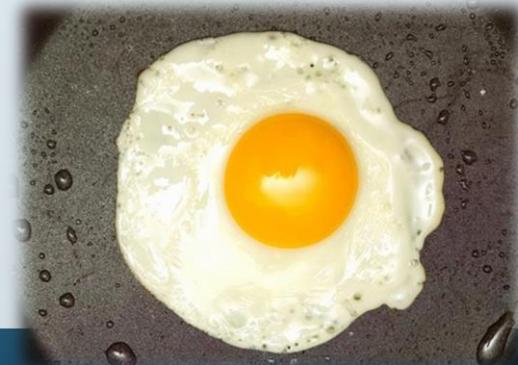
При денатурации белков **не происходит разрыв пептидных связей**, т.е. 1 структура белка не нарушается.

Компактная, плотная пространственная структура нативного белка при денатурации резко увеличивается в размерах и становится легко доступной для расщепления пептидных связей протеолитическими ферментами (термическая обработка мяса облегчает его переваривание в ЖКТ).



Факторы денатурации белков.

- 1. Высокая температура (более 50° С).**
- 2. Интенсивное встряхивание растворов.**
- 3. Органические вещества (этиловый спирт, фенол).**
- 4. Кислоты и щелочи.**
- 5. Соли тяжелых металлов (ртуть, свинец, серебро и др.).**
- 6. Детергенты.**



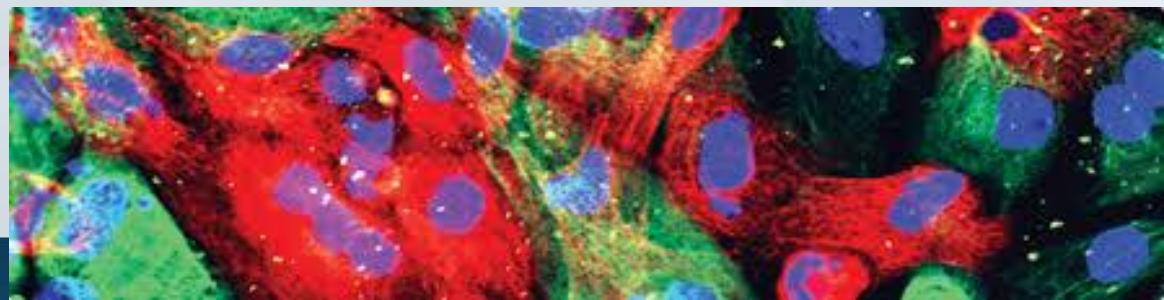
Применение денатурации в биологии и медицине.

- **Трихлоруксусную кислоту (ТХУ) используют для денатурации белков в биологическом материале и для инактивации ферментов.**
- В медицине денатурирующие агенты используют для стерилизации медицинских инструментов и материала, а также в качестве антисептиков **(автоклавы, фенол, крезол, лизол, сулема).**



Классификация белков.

1. по молекулярной массе
2. по форме молекул (глобулярные и фибрилярные)
3. по химическому строению (простые и сложные)
4. по выполняемым функциям
5. по локализации в клетке
6. по локализации в организме
7. по скорости синтеза (конститутивные и индуцибельные)
8. по продолжительности жизни в клетке (менее часа - месяцы)



ПРОСТЫЕ БЕЛКИ

- 1. Альбумины**
- 2. Глобулины**
- 3. Протамины**
- 4. Гистоны**
- 5. Проламины**
- 6. Глютелины**
- 7. Протеноиды**

Характеристику см. в учебнике.



СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

1. Нуклеопротеины
2. Липопротеины
3. Гликопротеины
4. Хромопротеины:
 - гемопротеины
 - флавопротеины
5. Фосфопротеины
6. Металлопротеины

Характеристику см. в учебнике.



Выделение и очистка белков.

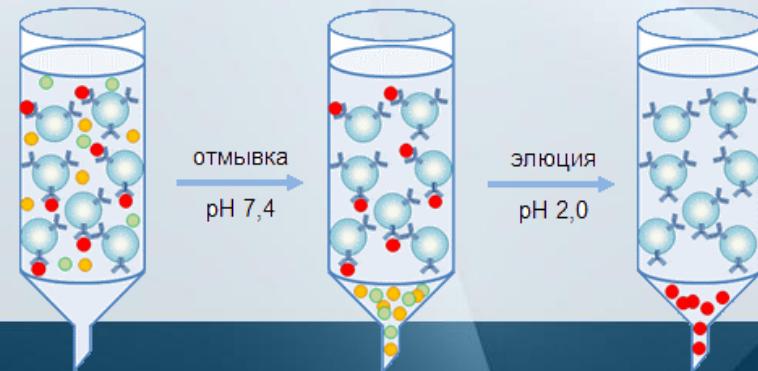
Получение индивидуальных белков из биологического материала требует проведения последовательных операций:

- дробление биологического материала и разрушение клеточных мембран (**гомогенизация**)
- фракционирование органелл
- экстракцию белков (перевод их в растворенное состояние)
- разделение смеси белков на индивидуальные белки



Методы фракционирования и очистки белков

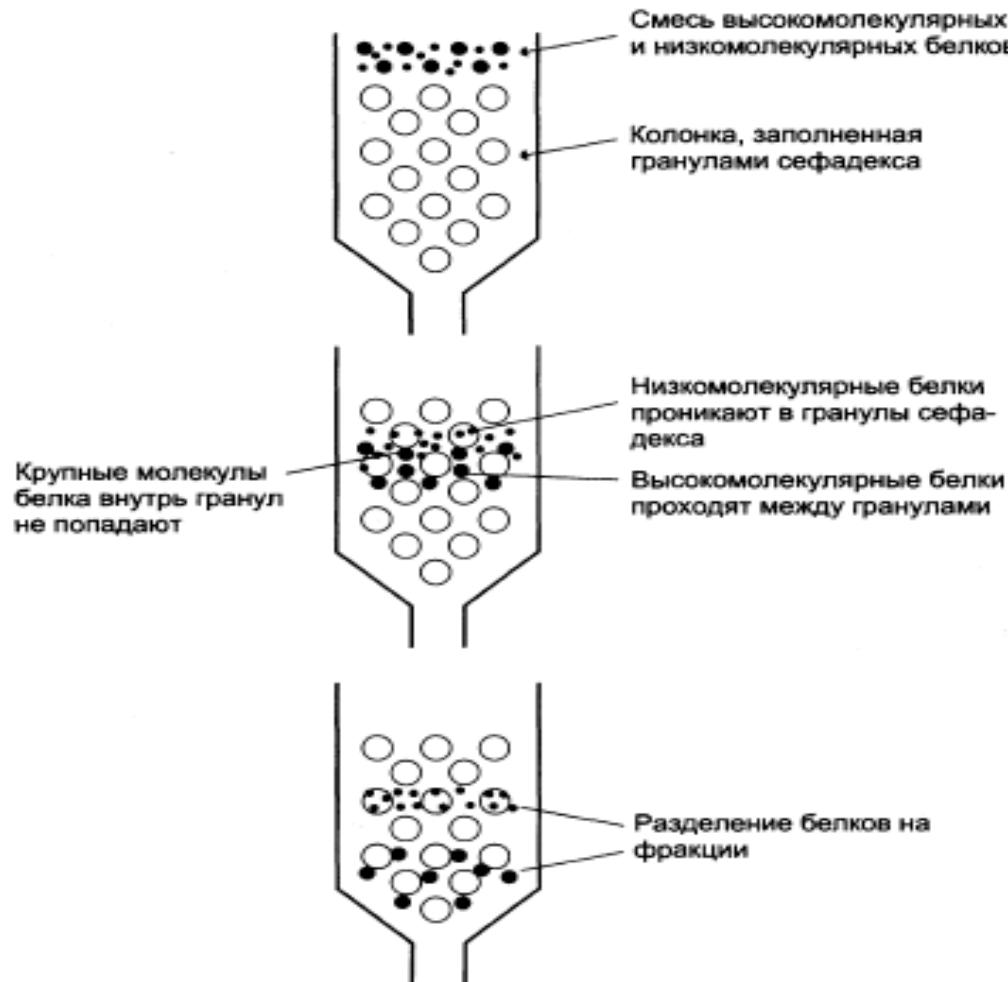
- высаливание**
- ультрацентрифугирование**
- гель-фильтрация (метод молекулярных сит)**
- электрофорез (его разновидности)**
- хроматография:**
 - аффинная
 - ионообменная
 - адсорбционная
 - распределительная
- диализ (очистка от низкомолекулярных соединений)**



Гель-фильтрация

- ❑ Метод основан на том, что вещества с различной молекулярной массой по разному распределяются между неподвижной и подвижной фазами. Хроматографическая колонка заполняется гранулами пористого вещества (сефадекс, агароза, и др.).
- ❑ Более мелкие молекулы диффундируют внутрь гранул сефадекса и на некоторое время попадают в неподвижную фазу, в результате чего их движение задерживается.

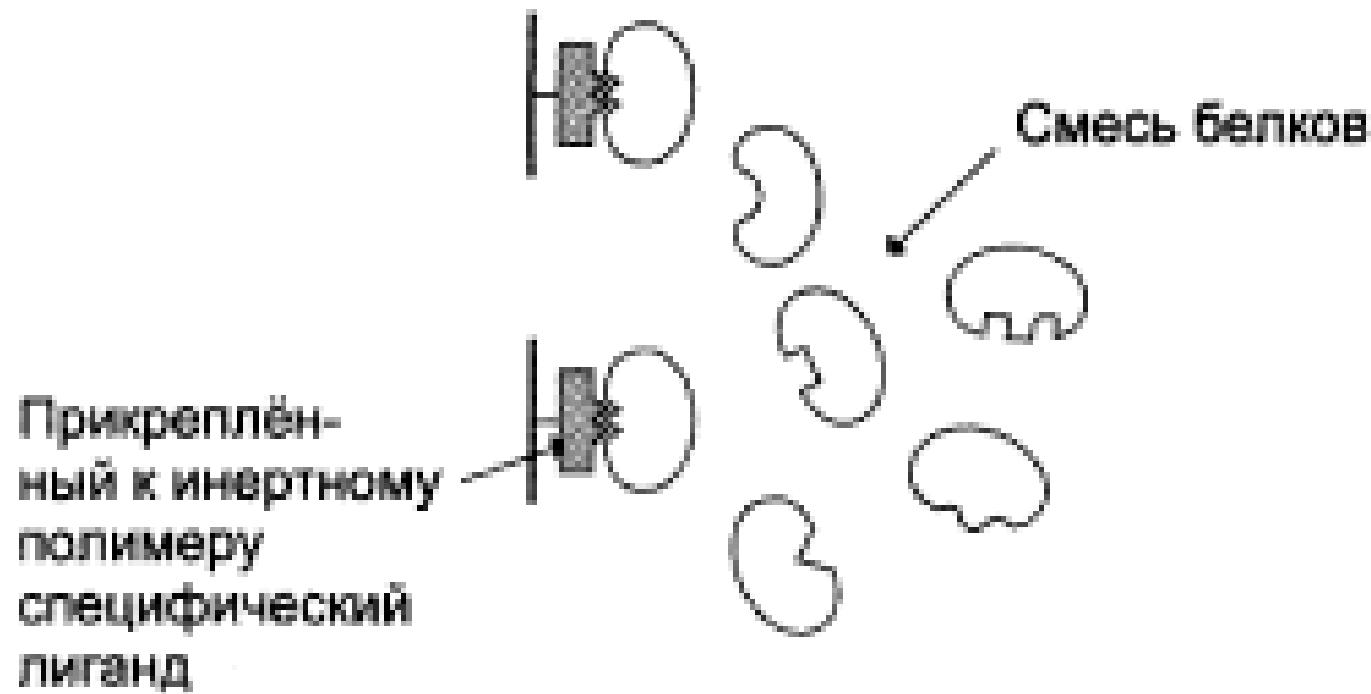
Разделение смеси белков методом гель-фильтрации



Аффинная хроматография или хроматография по сродству

- ❑ Это наиболее специфический метод выделения индивидуальных белков, основанный на избирательном взаимодействии белков с лигандами, прикрепленными (иммобилизованными) к твердому носителю.
- ❑ В качестве лиганда может быть использован субстрат или кофермент (если выделяют фермент), антигены (если выделяют антитела), и т.д.
- ❑ Аффинная хроматография отличается высокой избирательностью и помогает очистить выделяемый из смеси белок в тысячи раз.

Аффинная хроматография



Изофункциональные белки – семейство белков, выполняющих почти одинаковую или близкую функцию, однако небольшие особенности строения и функционирования некоторых членов этого семейства могут иметь важное физиологическое значение. Примеры таких белков – изоформы Hb человека: HbA, HbA₂, HbF.

Изобелки – множественные формы белка, обнаруживаемые в организмах одного вида.

К ним относятся:

- множественные изоформы **коллагена**
- **изоферменты** определенных ферментов

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

