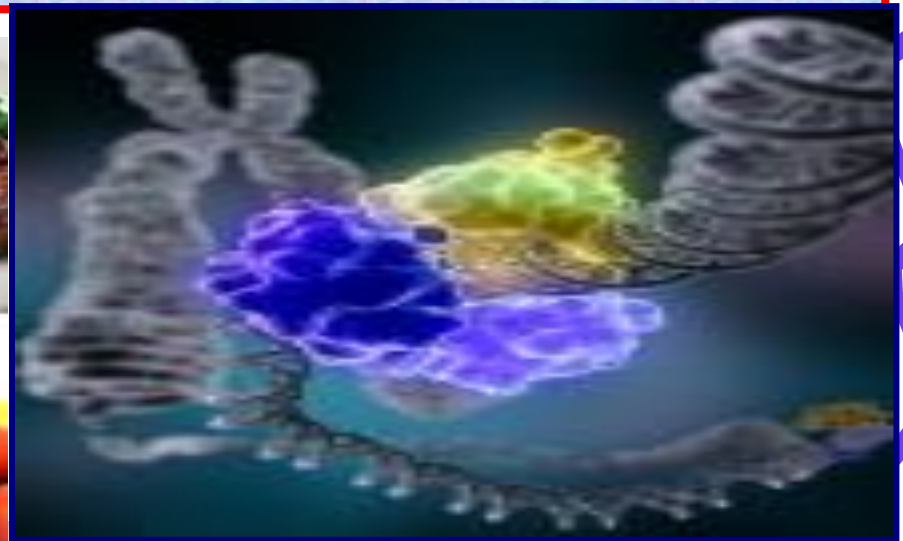


Тема лекции: ***СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ***



Автор: доцент
**МАГЛЫШ Сабина
Степановна**

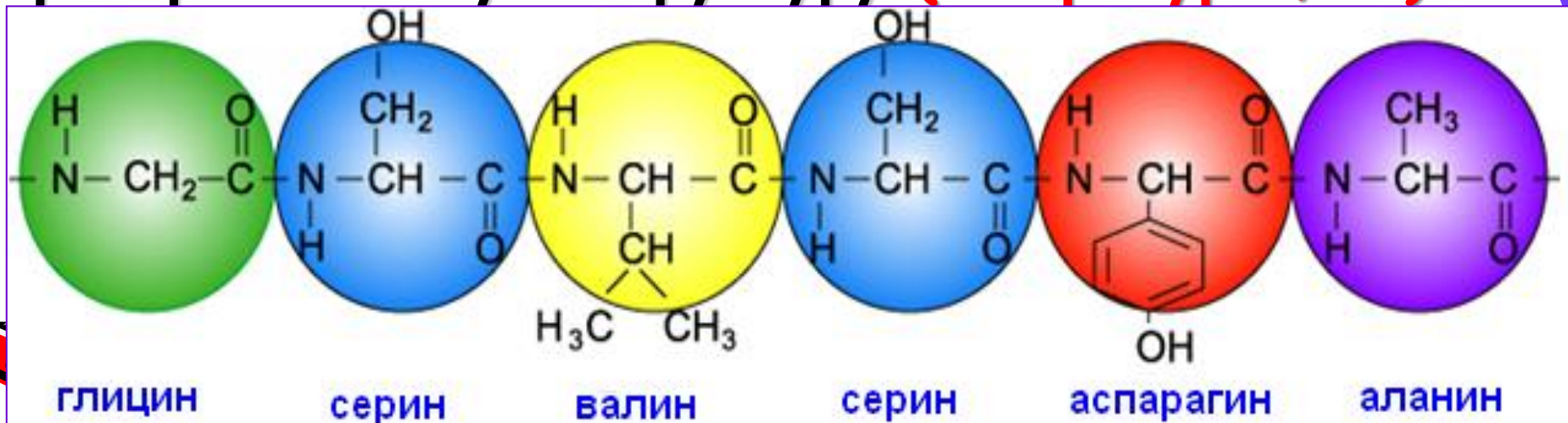


ВОПРОСЫ ЛЕКЦИИ

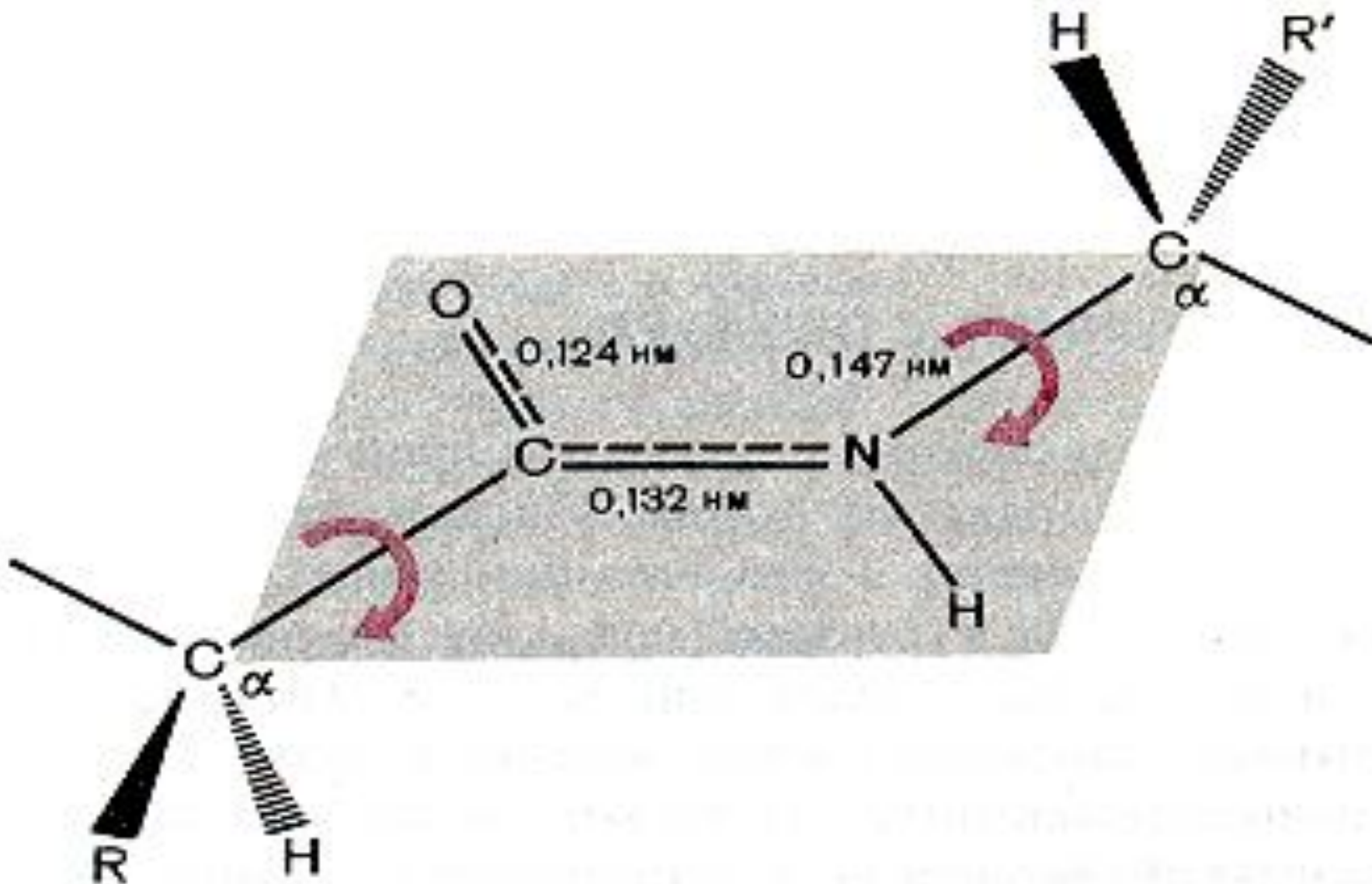
- 1. Первичная структура белковой молекулы, методы ее установления.
- 2. Вторичная структура белковой молекулы, ее виды и методы установления.
- 3. Третичная структура белковой молекулы, виды связей.
- 4. Четвертичная структура белков, ее биологический смысл, виды связей.
- 5. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Фолдинг.
- 6. *Денатурация белков, ее механизмы и практическое использование (УСРС).*

1. ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ, МЕТОДЫ ЕЕ УСТАНОВЛЕНИЯ

- **Первичная структура белка** - это линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи, связанных между собой **пептидными связями**.
- Именно первичная структура белковой молекулы определяет свойства молекул белка и их пространственную структуру (**конфигурацию**).



Пептидная связь





- **Первичная структура характеризуется:**
 1. Природой входящих в молекулу белка аминокислот.
 2. Относительным количеством каждой аминокислоты в молекуле белка.
 3. Строго определенной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи.

Например, у человека замена **Глу** в шестом положении β -цепи гемоглобина на **Вал** приводит к серповидно-клеточной анемии .

В организме человека насчитывается около **50**
тысяч разных видов белков.



Перед определением первичной структуры белка ткани проводятся:

1. Гомогенизация ткани.
2. Фракционирование белков и очистка белка - выделение его в гомогенном состоянии.
3. Определение его молекулярной массы.
4. Определение наличия и расщепление внутри- и межмолекулярных дисульфидных связей.
5. Обработка белков, имеющих четвертичную структуру, с целью диссоциации, выделения и последующего изучения первичной структуры их субъединиц.

Стадии определения первичной структуры белка:

1. Определение аминокислотного состава (гидролиз, аминокислотный анализатор).
2. Определение N- и C-концевых аминокислот.
3. Расщепление полипептидных цепей на пептиды с помощью разных ферментов:
пепсин - по фенилаланину, тирозину и глутамату;
трипсин - по аргинину и лизину;
химотрипсин - по фенилаланину, тирозину и триптофану.
4. Определение аминокислотной последовательности пептидных фрагментов (**секвенирование**).
5. Установление порядка пептидов с помощью **метода пептидных карт**.

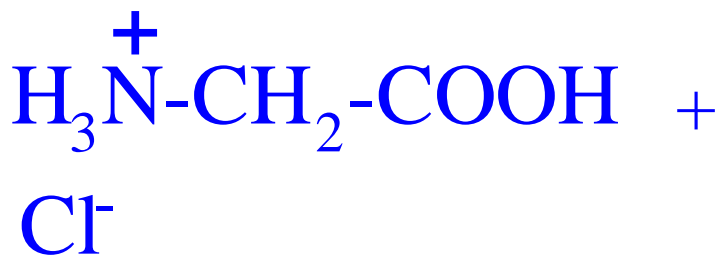
Кислотный гидролиз



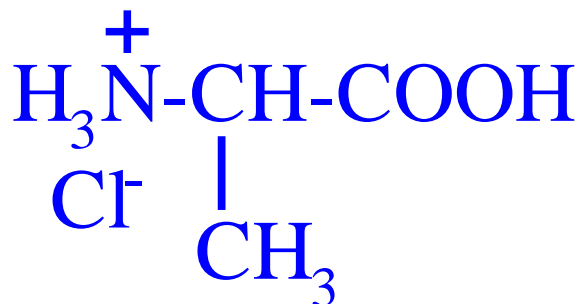
глицилаланин



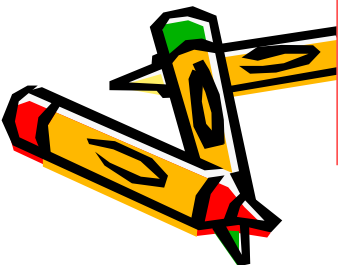
H_2O , конц. HCl , t°



**гидрохлорид
глицина**



**гидрохлорид
аланина**

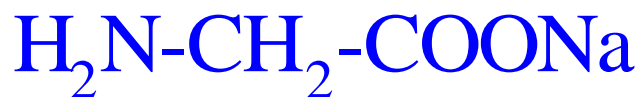


Щелочной гидролиз



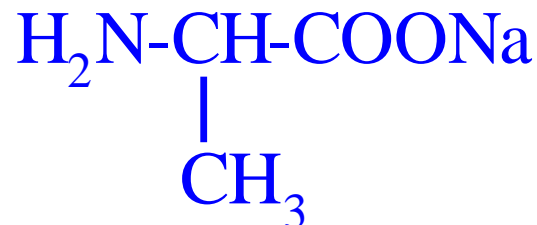
глицилаланин

H_2O , конц. NaOH , t°



**натриевая соль
глицина**

+



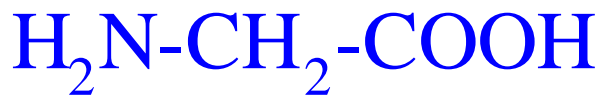
**натриевая соль
аланина**

Ферментативный гидролиз



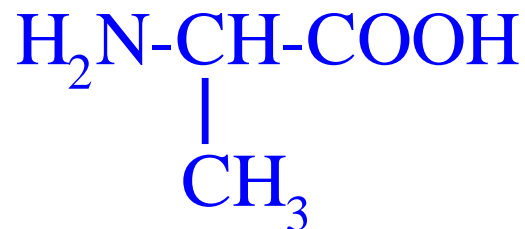
глицилаланин

H_2O , ферменты, t°



глицин

+



аланин



Методы определения N-концевых аминокислот:

1. Метод Эдмана с применением фенилизотиоцианата (ФИТЦ) (применяется в секвенаторе).
2. Метод Сенгера (Сенджера) с применением динитрофторбензола (ДНФБ).
3. Метод с применением аминопептидазы.

Методы определения C-концевых аминокислот:

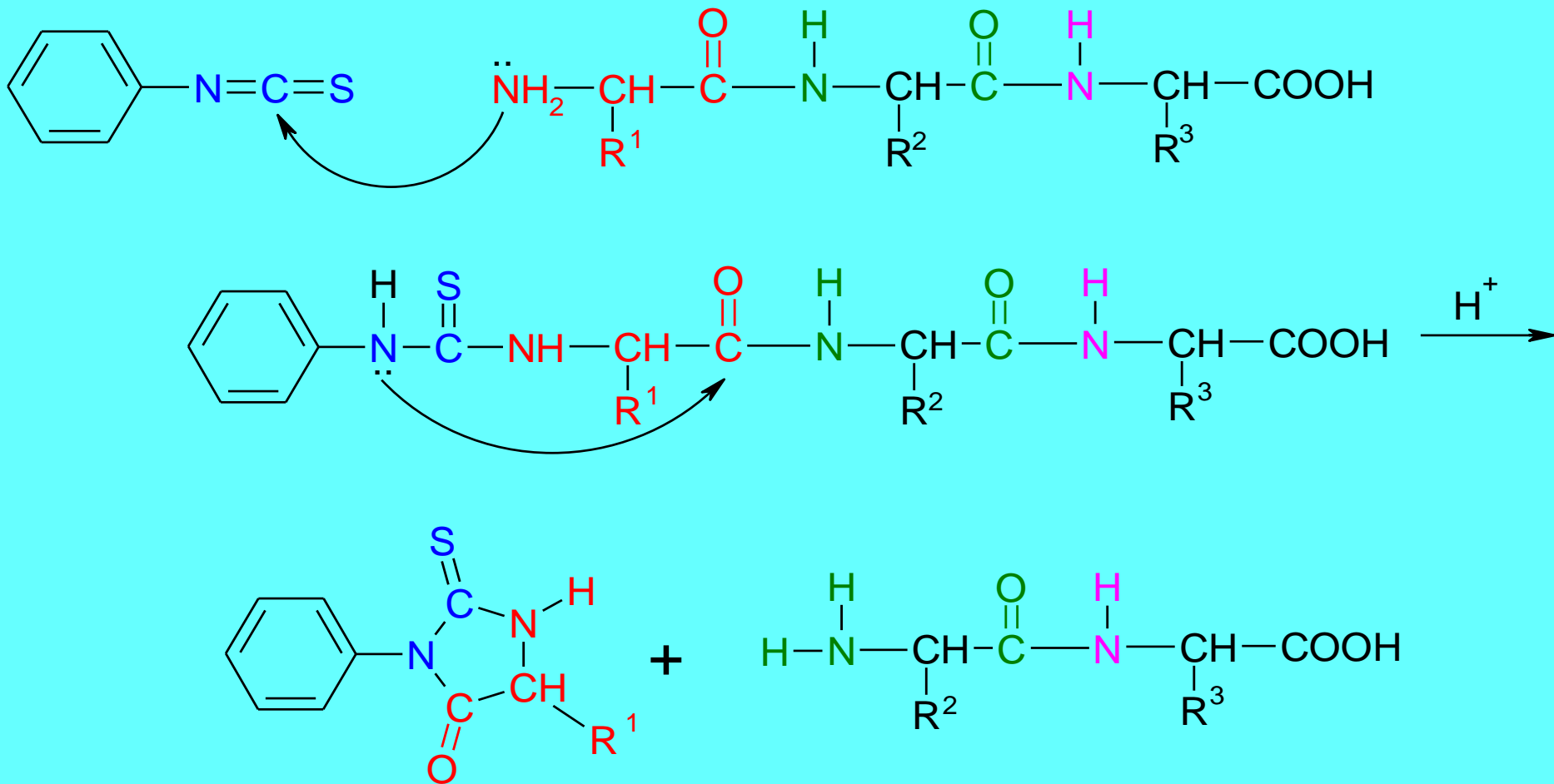
1. Метод Акабори (с гидразином) - образуется свободная C-концевая АК, кот. взаим. с ДНФБ.
2. Метод с применением боргидрида натрия - образуется аминоспирт.
3. Метод с применением карбоксипептидазы.

Анализ первичной структуры белка методом Эдмана

Используя **фенилизотиоцианат (ФИТЦ)**, последовательно отщепляют гидролизом **фенилтиогидантоиновые производные АК** с N-конца и определяют вид АК с помощью **хроматографии**.

Этот метод используется в приборе для автоматического определения первичной структуры белка - **секвенаторе**.

Метод Эдмана (секвенирование)



Фенилтиогидантоиновое
производное N-концевой АК

Пептид, укорочен-
ный на 1 АК

2. ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ, ЕЕ ВИДЫ И МЕТОДЫ УСТАНОВЛЕНИЯ

- **Вторичная структура белка** – это конформация полипептидной цепи, обусловленная вращением отдельных ее участков вокруг одинарных ковалентных связей.
- Она укрепляется водородными связями, возникающими между **СО-** и **NH-группами**, входящими в состав разных пептидных групп.
- Практически все СО- и NH-группы принимают участие в образовании водородных связей. Они слабее пептидных, но, повторяясь многократно, придают данной конфигурации устойчивость и жесткость. На уровне вторичной структуры существуют белки: **фиброин** (шелк, паутина), **кератин** (волосы, ногти), **коллаген** (сухожилия).



Виды вторичной структуры:

Упорядоченная структура:

1. α -спираль.
2. β - структура.

Неупорядоченная структура:

1. Статистический клубок.

1. Надвторичная (супервторичная) структура или структурные мотивы.

2. Домены.

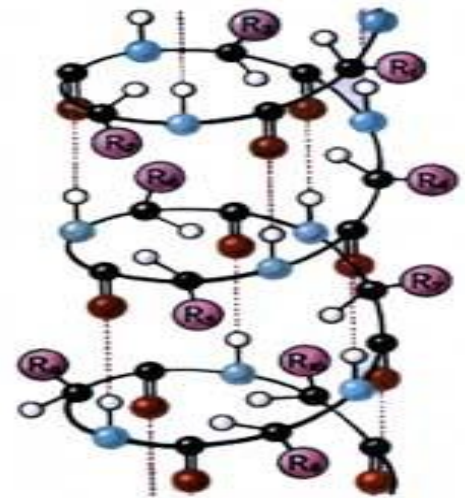


α -спираль

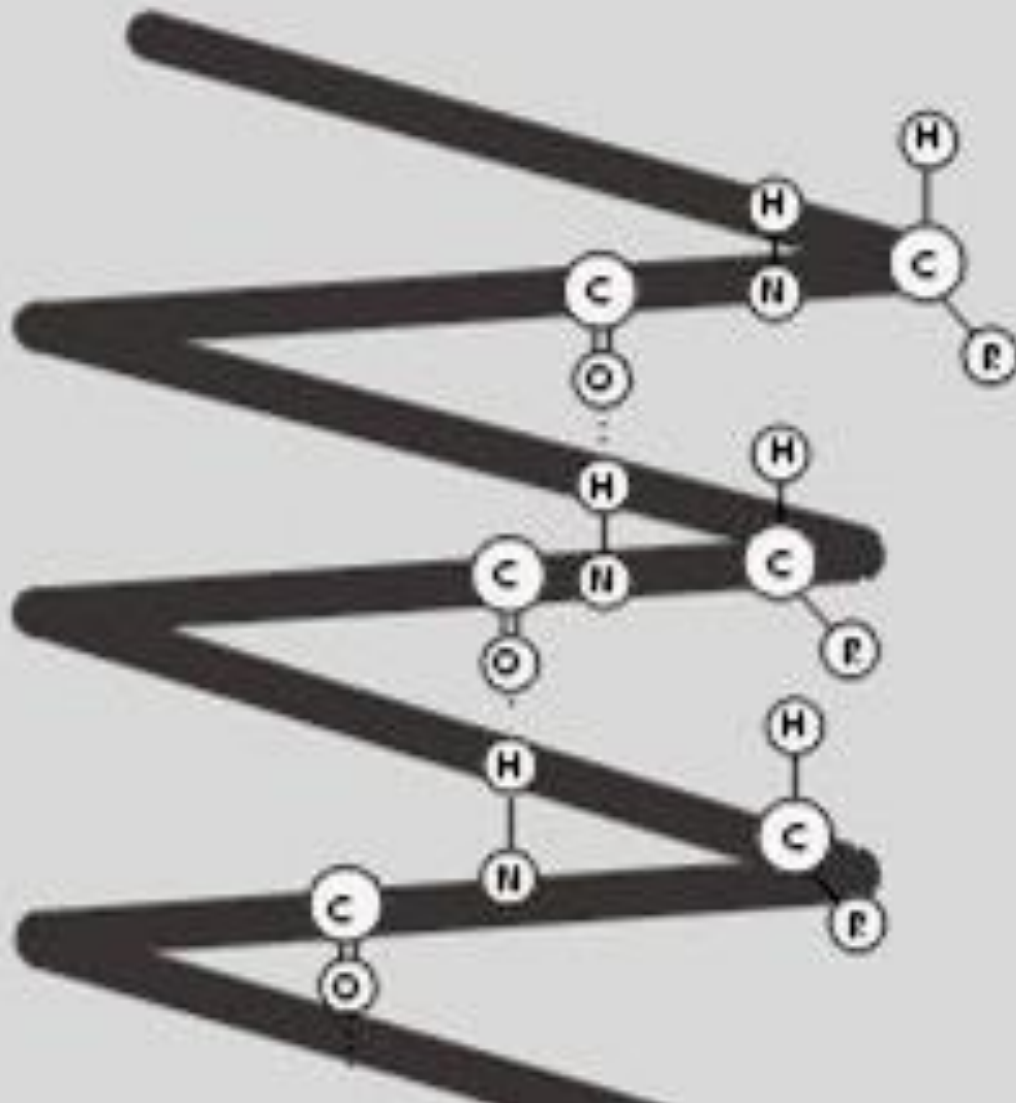
Правозакрученная α -спираль полипептидной цепи стабилизируется водородными связями, которые $C=O$ -группы полипептидного остова связывают с его NH -группами, лежащими от них в направлении к C -концу цепи.



Вторичная структура (α -спираль)



α -спираль



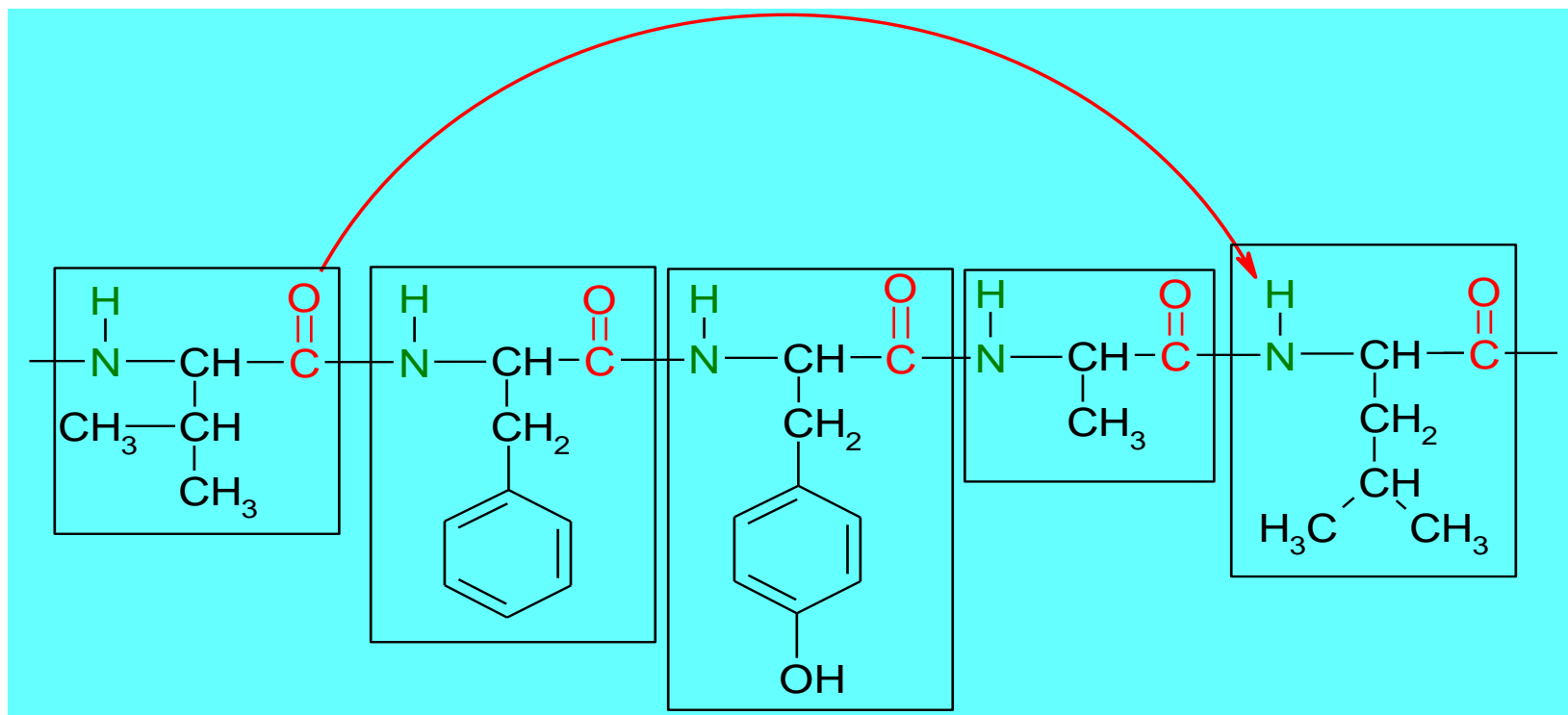
Высота витка α -спирали **0,54 нм.**

На один виток приходится **3,6 аминокислотных остатка.**

Высота одного аминокислотного остатка **0,15 нм.**

Водородные связи в α -спиралях

-Вал-Фен-Тир-Ала-Лей-



Первый

Второй

Третий

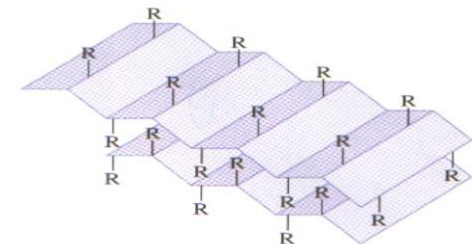
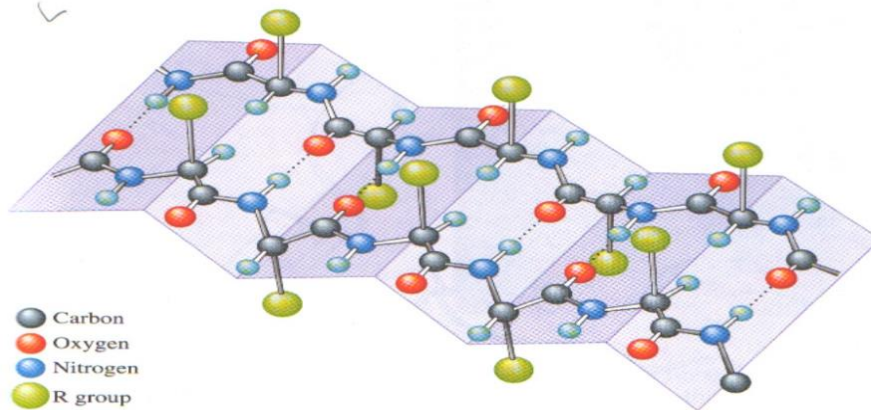
Четвёртый

Остаток каждой АК образует водородную связь с четвёртым по цепи остатком АК;
В повторяющемся цикле 18 остатков АК.

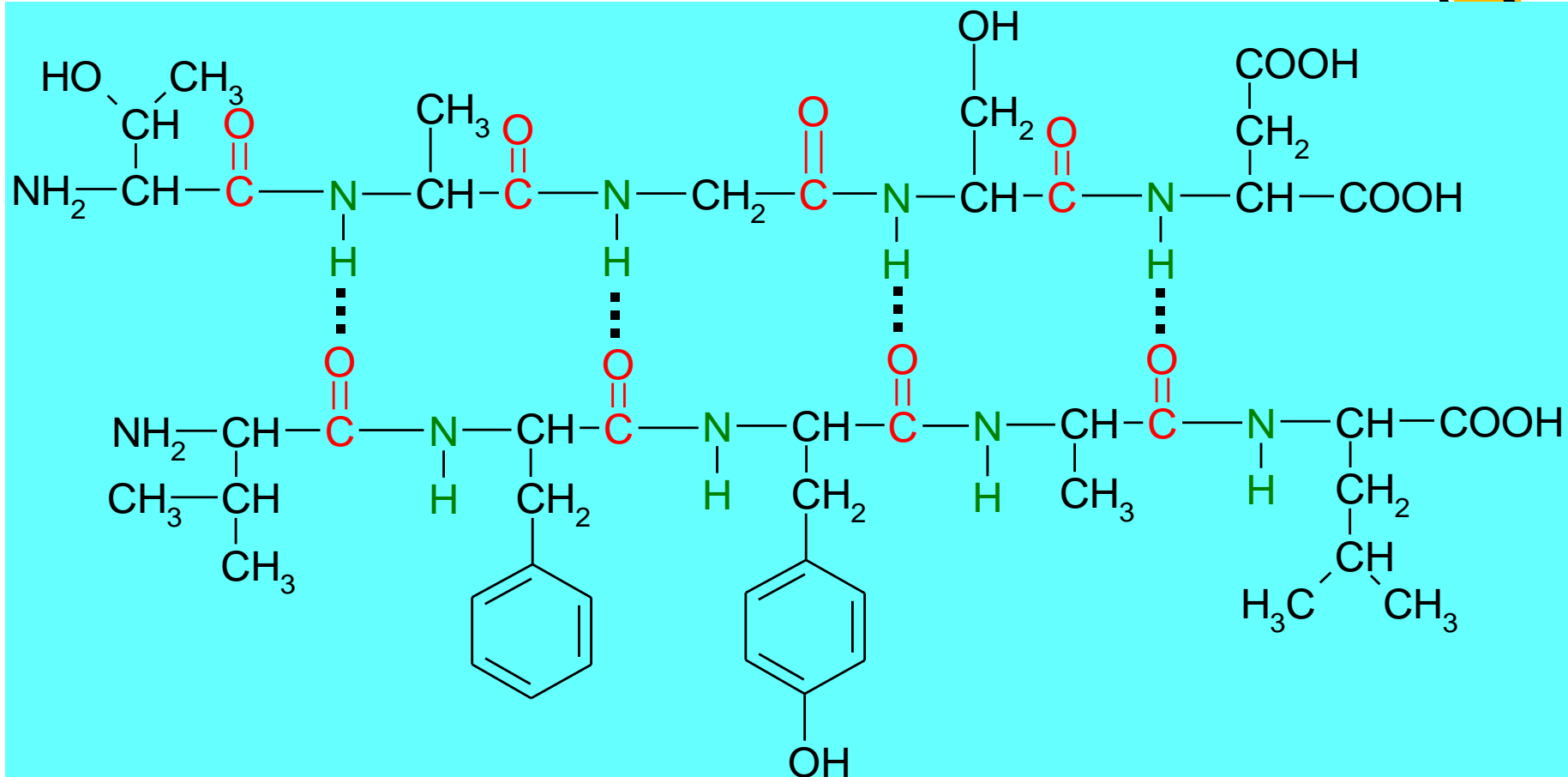
β -структура

β -структура существует в виде складчатых листов. Так как поверхность β -структуры рифленая, ее еще называют "**складчатой β -структурой**".

Она стабилизируется за счет **водородных связей**.



Водородные связи в β-структуре



Тре-Ала-Гли-Сер-Асп
Вал-Фен-Тир-Ала-Лей



Фиброин паутины - бета-структура

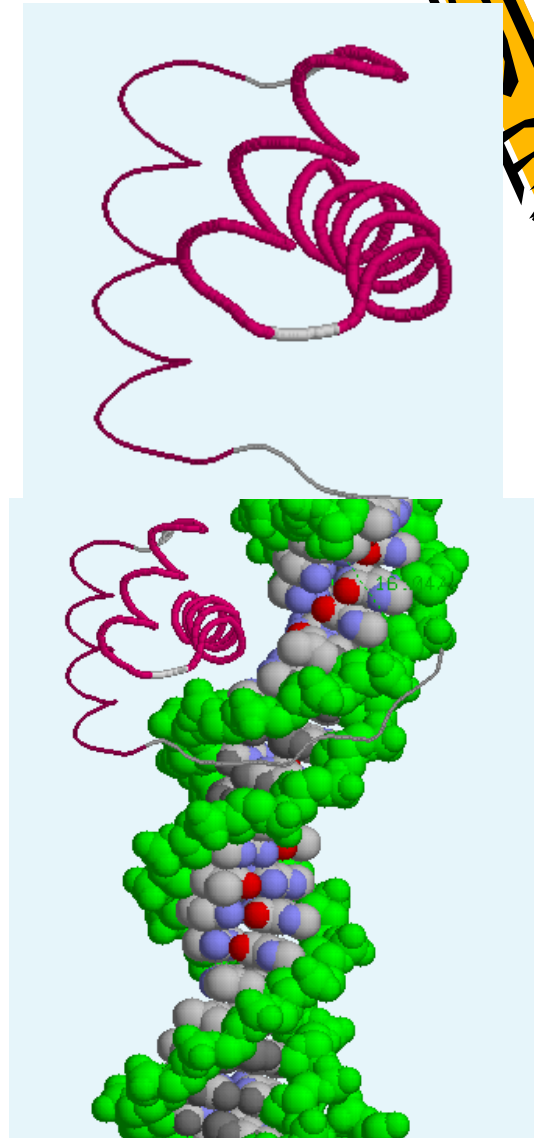
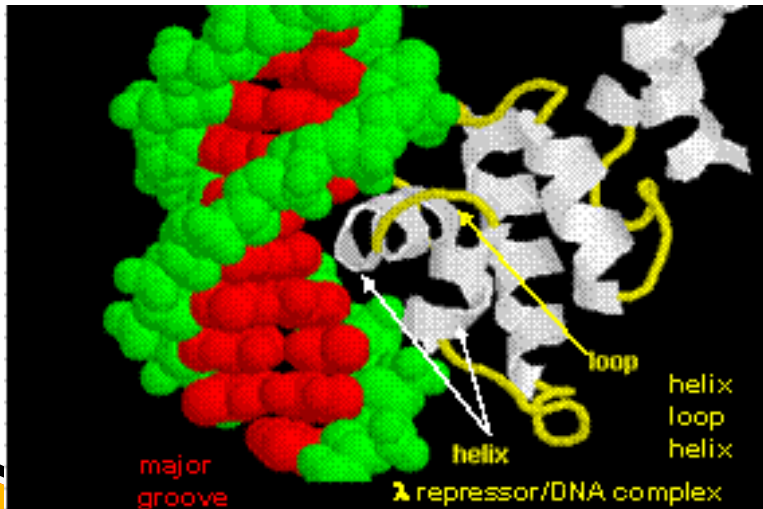
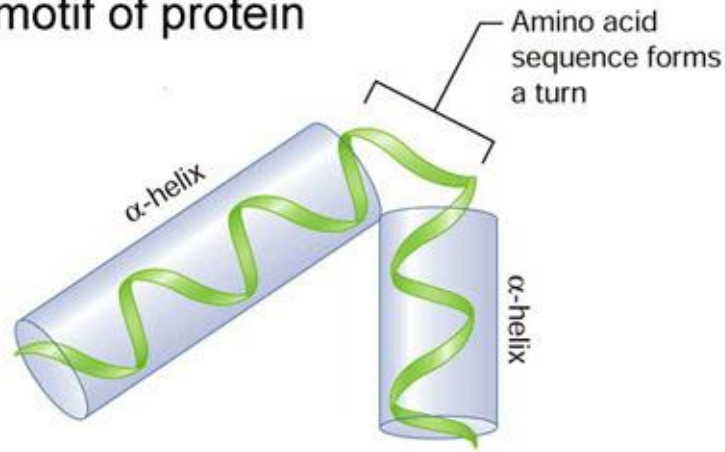


Надвторичная структура или структурный мотив это - набор расположенных определенным образом в пространстве элементов вторичной структуры, который обнаруживается в пространственных структурах многих, но не обязательно гомологичных, белков.


Некоторым структурным мотивам приписывается определенная функциональная или структурная роль в белке.

Мотив α -спираль - поворот - α -спираль

Helix-turn-helix
motif of protein



Трехспиральный узел




Структурный мотив "лейциновая застежка-молния" встречается как в фибриллярных, так и в глобулярных белках, чаще всего – в факторах транскрипции.

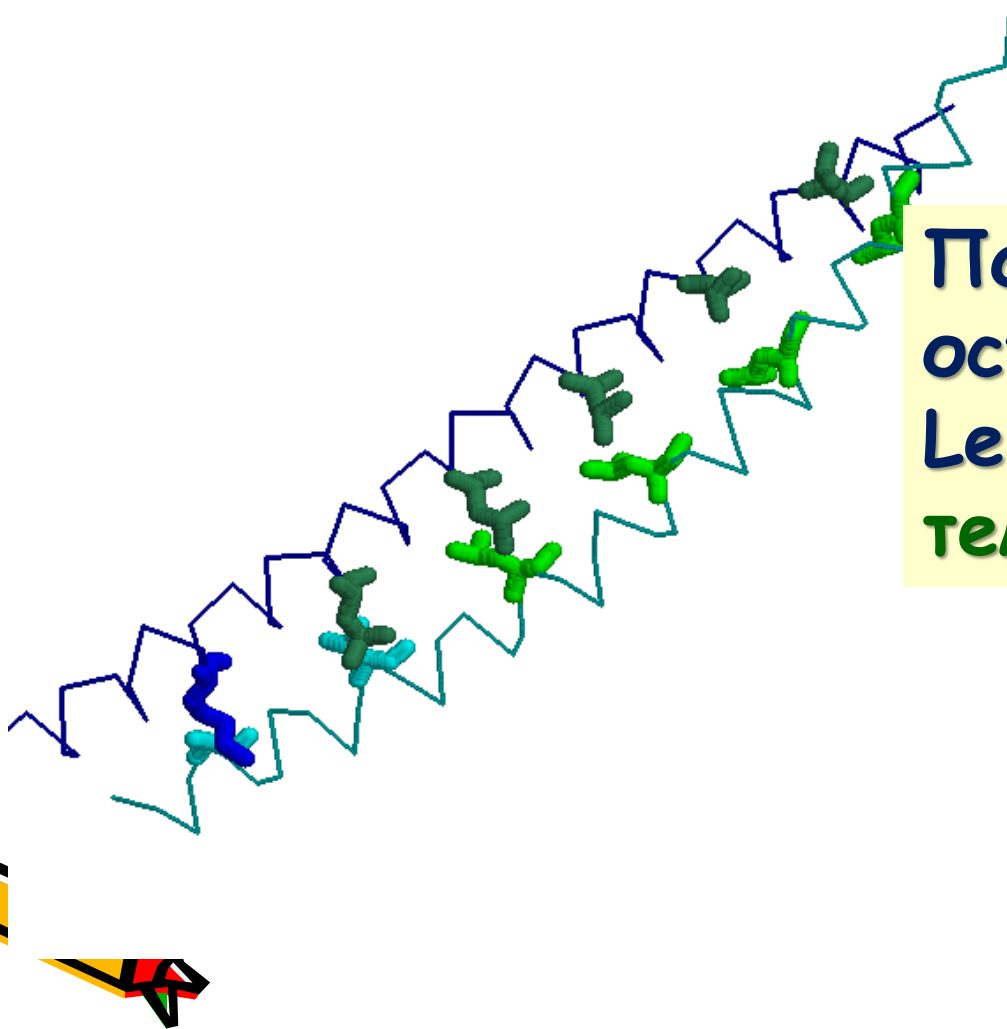
В факторах транскрипции он играет две роли одновременно:

1) димеризация;


2) узнавание определенной последовательности ДНК и связывание фактора с ней ("специфическое узнавание ДНК").



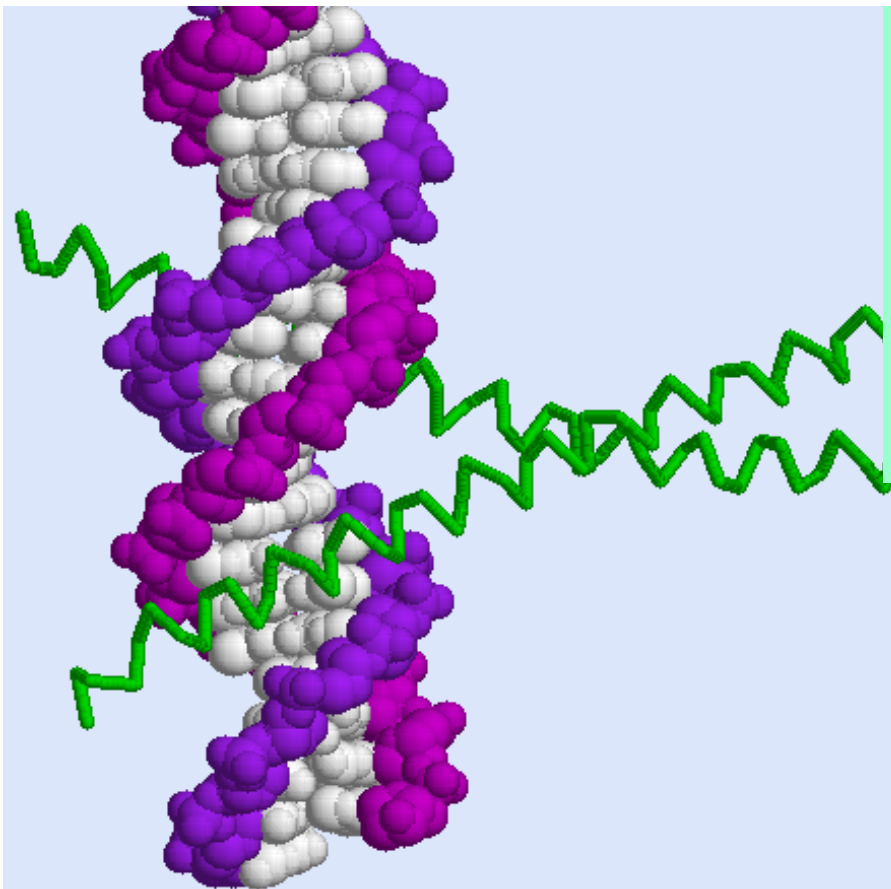
Как лейциновая застёжка-молния (Leucine zipper) проявляется в структуре белка?



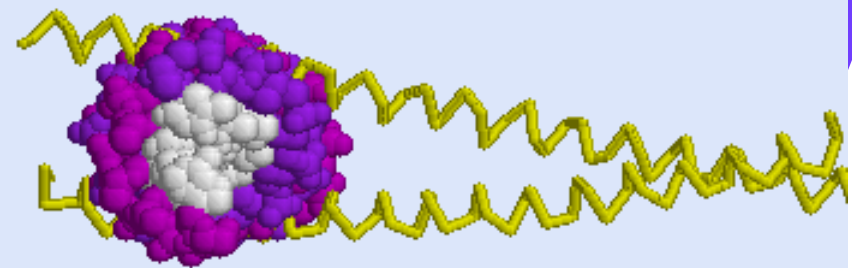
Показаны каждый 7-й остаток цепей A и B;
Leu - **зеленые** (A) и **темно-зеленые** (B)



Вот как расположена «лейциновая застежка-молния» при связывании ДНК



1NWQ: транскрипционный фактор
ССААТ/enhancer-binding protein
(СДВБ) крысы

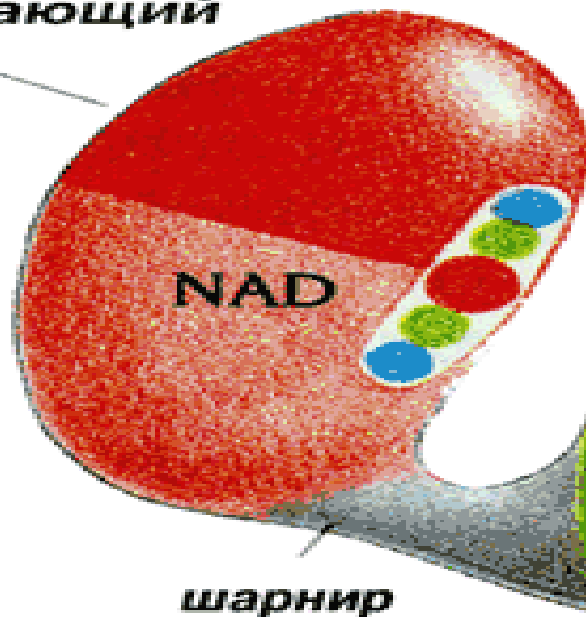


Домены

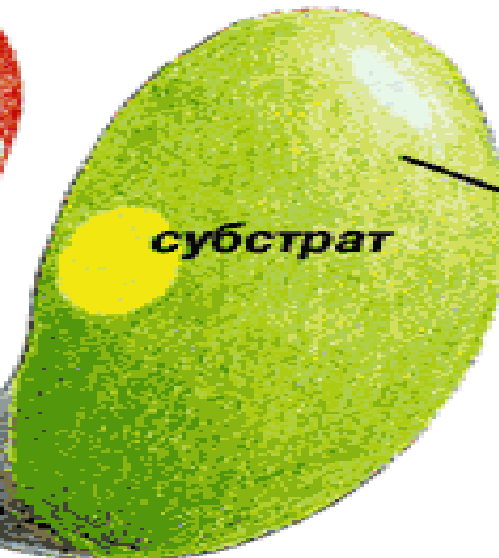
Домены - глобулярные области в пределах одной белковой молекулы.

Домены соединены шарнирным участком цепи.

динуклеотид -
связывающий
домен



шарнир



субстрат -
связывающий
домен

Доменная структура NAD⁺-зависимой дегидрогеназы

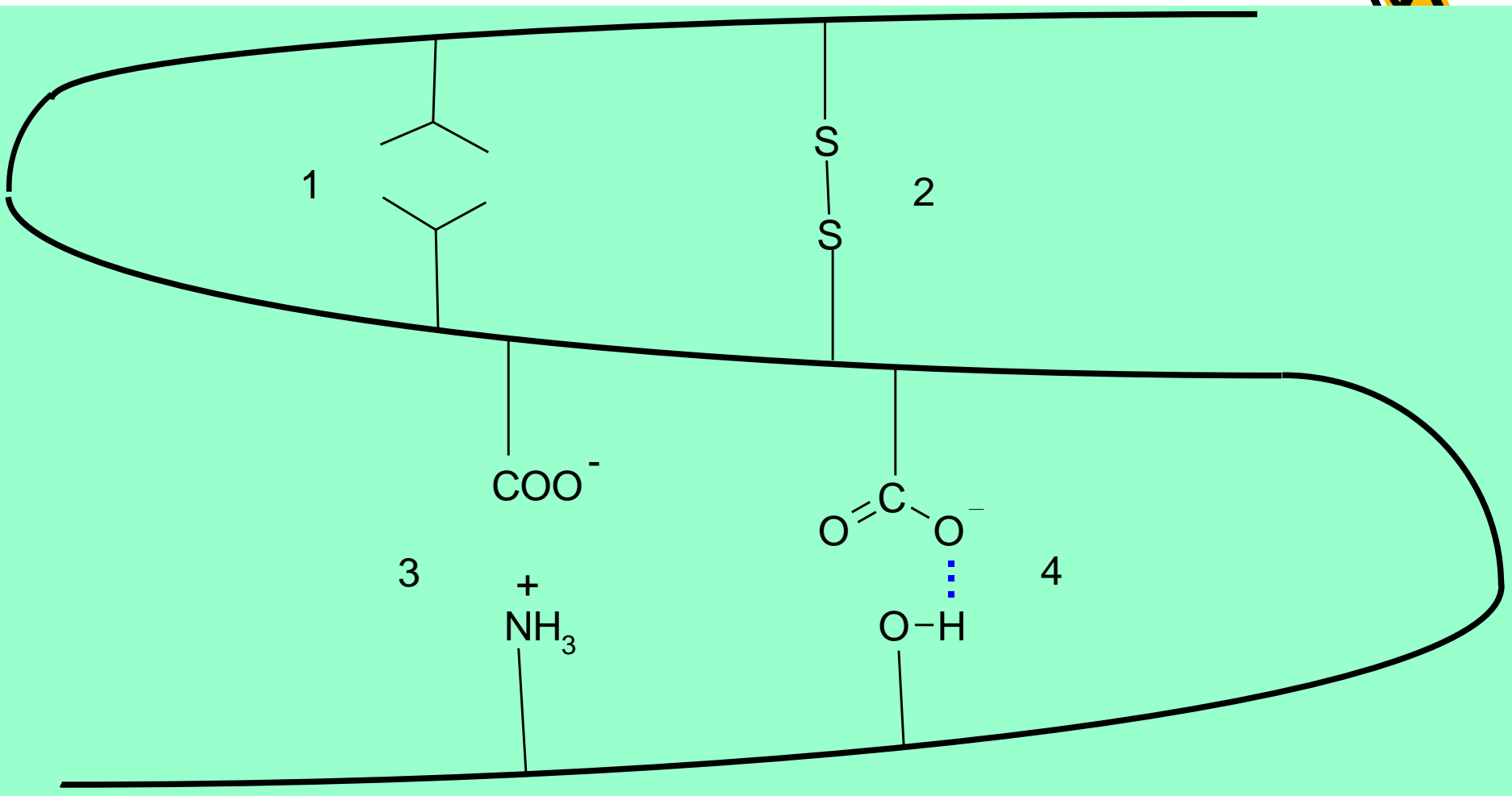
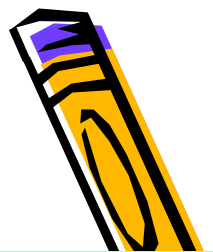
3. ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ, ВИДЫ СВЯЗЕЙ

- **Третичная структура белка** - это укладка полипептидной цепи в определенном объеме за счет установления гидрофильно-гидрофобных взаимодействий между радикалами аминокислотных остатков и возникновения химических связей между ними.
- Молекула белка принимает форму **глобулы** или **фибриллы**.
- Основную роль в образовании третичной структуры играют **гидрофильно-гидрофобные взаимодействия**. В водных растворах гидрофобные радикалы стремятся спрятаться от воды, группируясь внутри глобулы, в то время как гидрофильные радикалы в результате гидратации (взаимодействия с диполями воды) стремятся оказаться на поверхности молекулы.

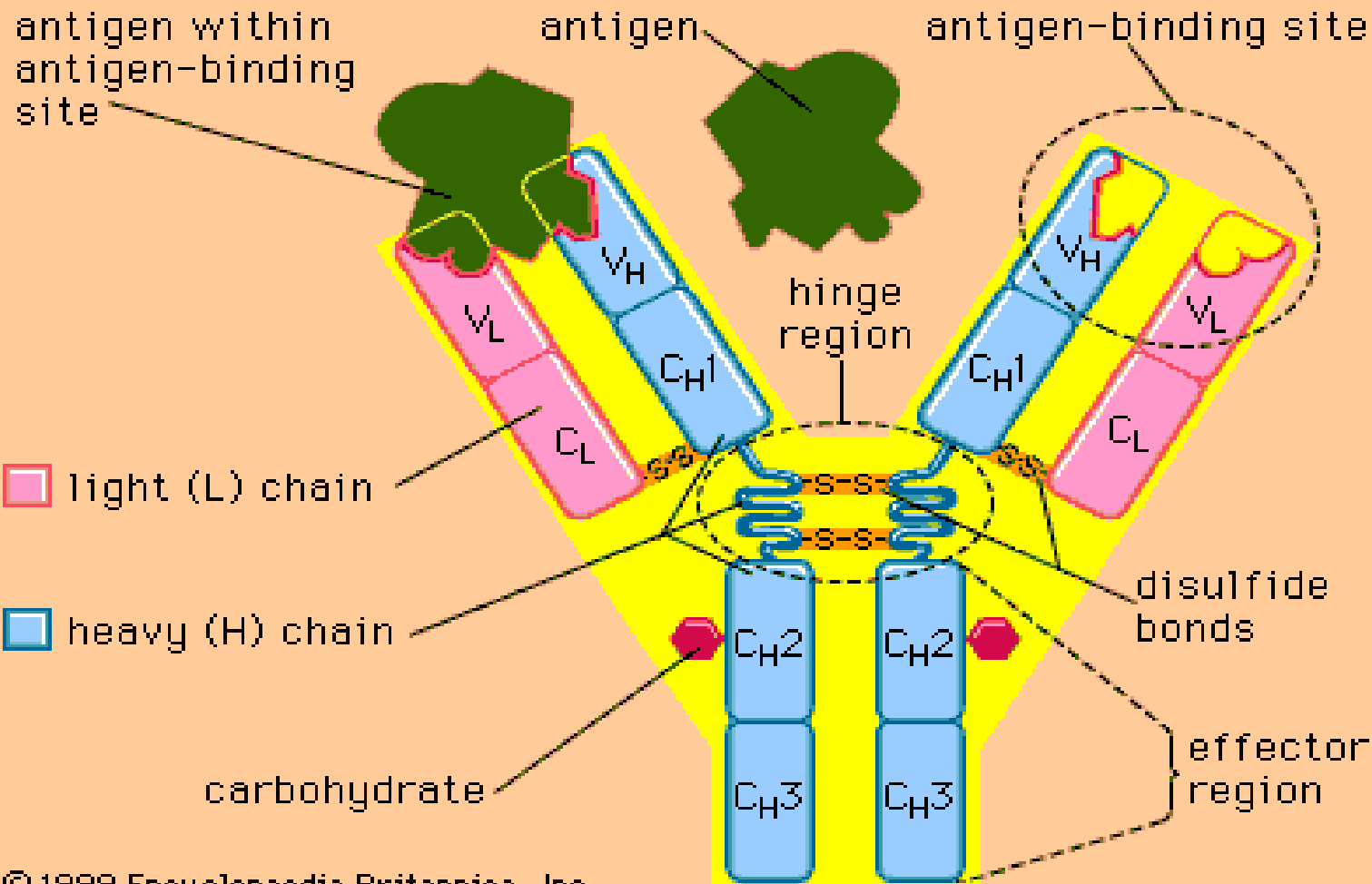
Взаимодействия остатков АК и типы связей в третичной структуре

1. Гидрофильно-гидрофобные взаимодействия.
2. Ковалентные дисульфидные связи.
(дисульфидные -S-S-мостики)
3. Ионные связи.
(Глу-COO⁻ H₃N⁺-Лиз)
4. Водородные связи.
(Глу-COO⁻...HO-Тир)





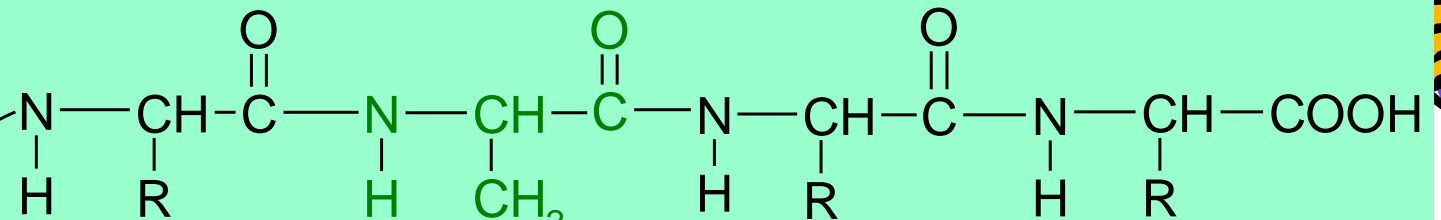
Дисульфидные связи



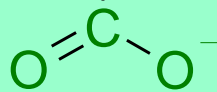
© 1999 Encyclopaedia Britannica, Inc.

Дисульфидные связи в иммуноглобулине G

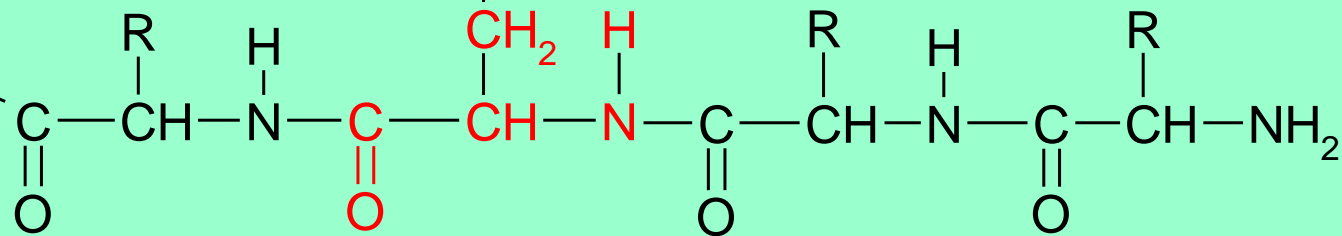
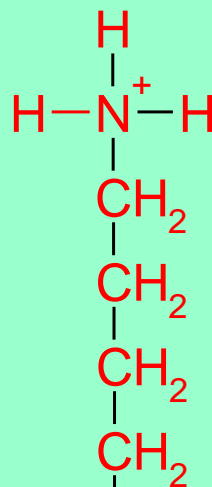
Ионные связи



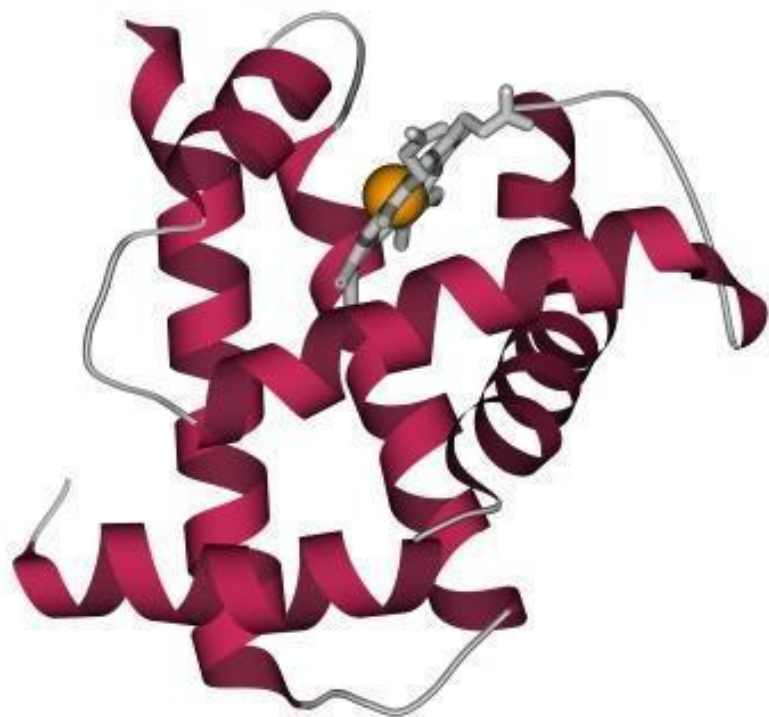
Асп



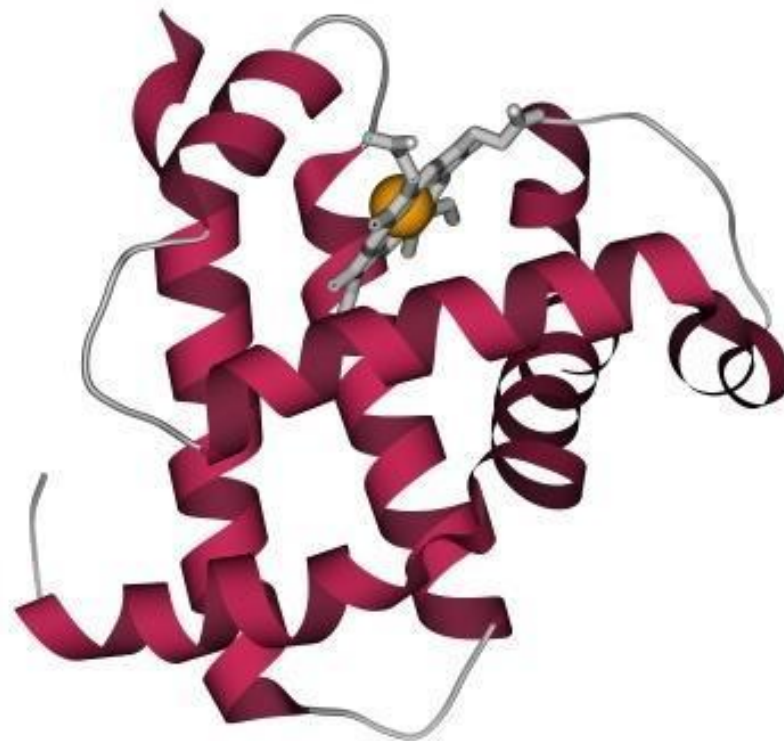
Лиз



Третичная структура: глобула



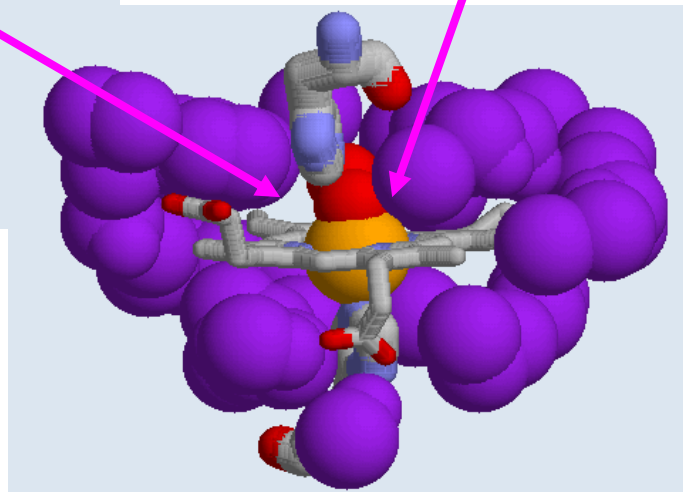
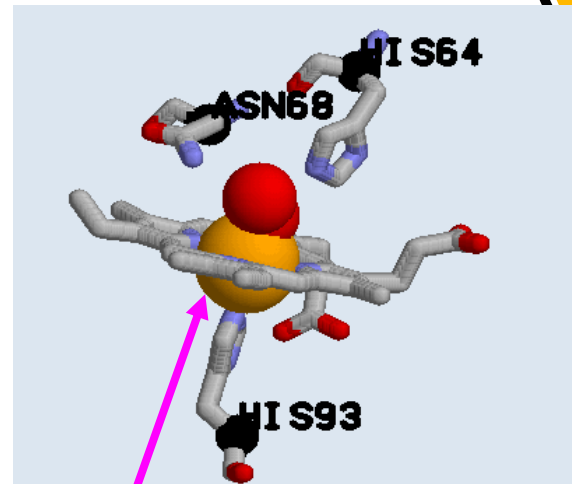
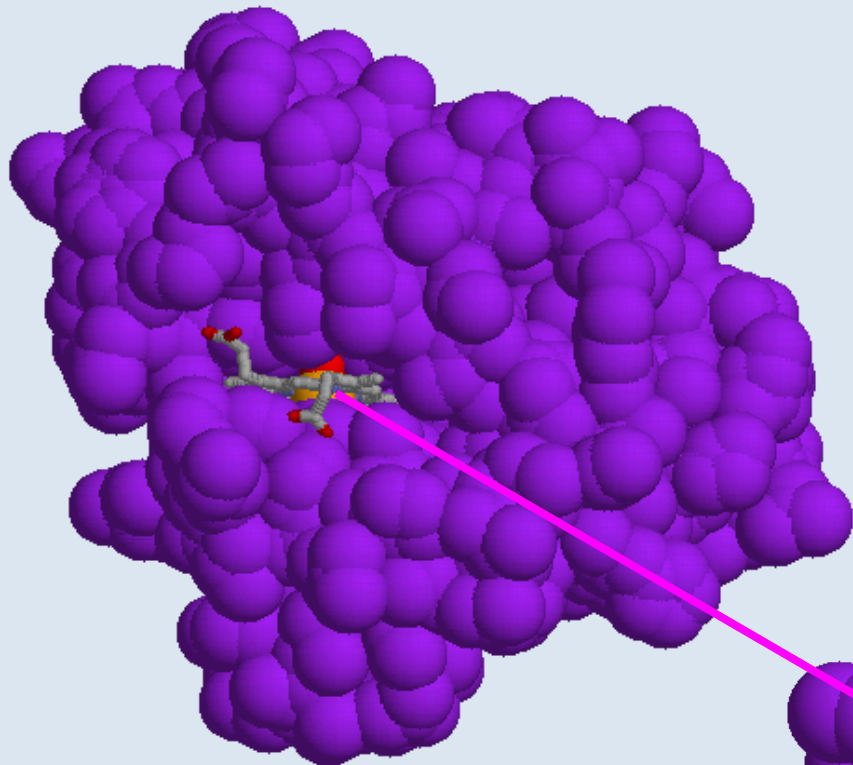
α



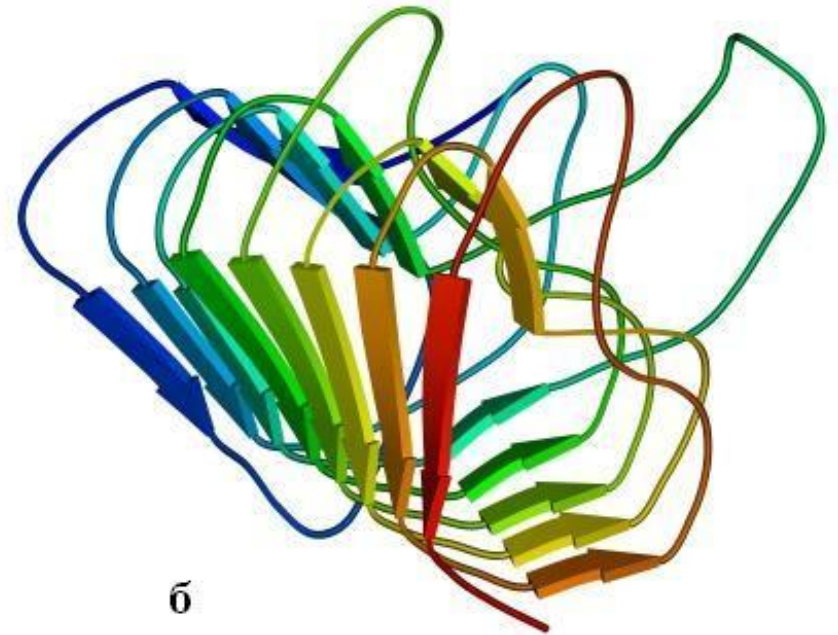
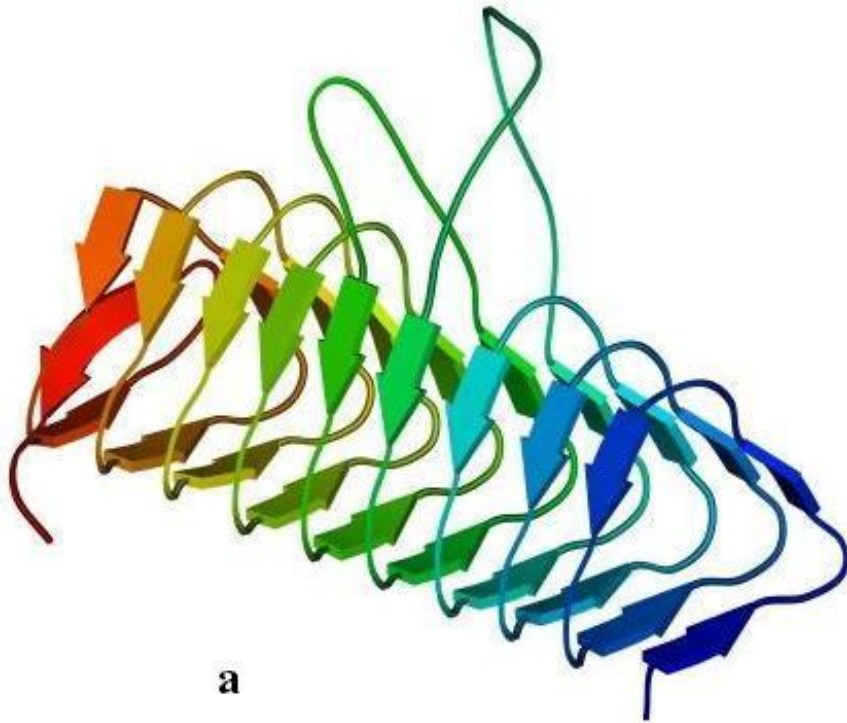
β

а и в цепи гемоглобина лошади

Глобула миоглобина свињи в комплексе с гемом, и O_2



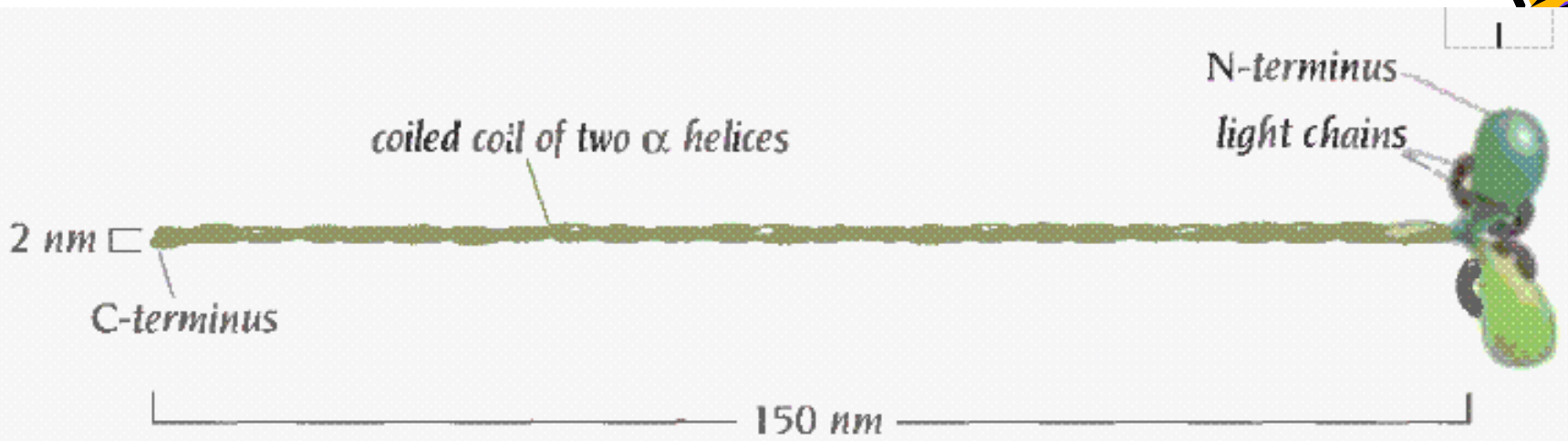
Третичная структура: фибрилла



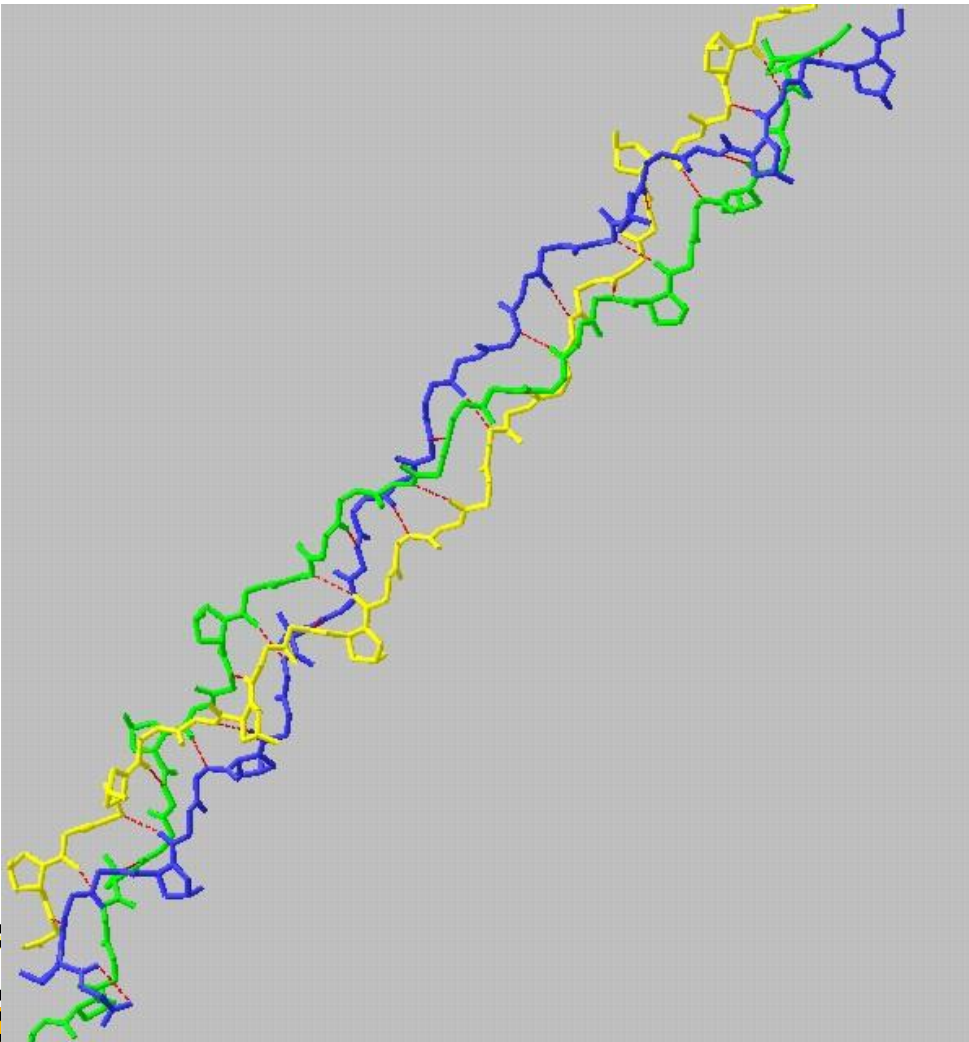
ацилтрансфераза

пектинлиаза С

Миозин – фибриллярный белок

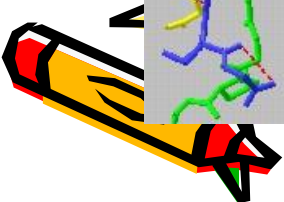


Тропоколлаген – тройная спираль



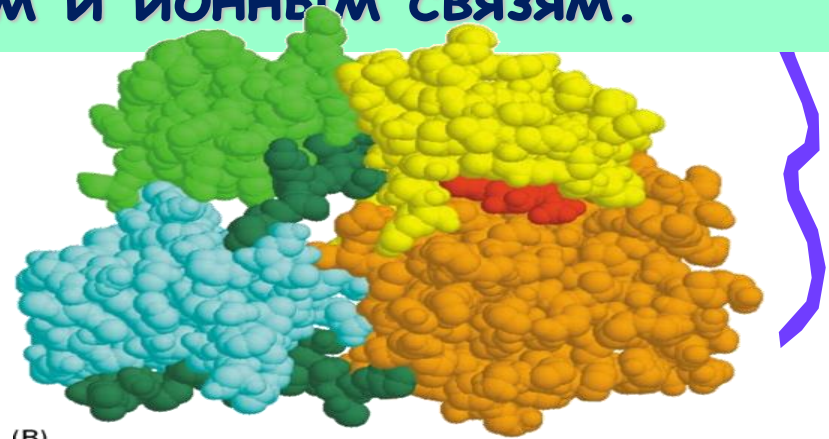
PRO-HYP-
GLY-PRO-HYP-
GLY-PRO-HYP-
GLY-ILE-THR-
GLY-ALA-ARG-
GLY-LEU-ALA-
GLY-PRO-HYP-
GLY-PRO-HYP-
GLY-PRO-HYP-
GLY-PRO-HYP-
=====

G-X-X



4. ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА, ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКИЙ СМЫСЛ, ВИДЫ СВЯЗЕЙ

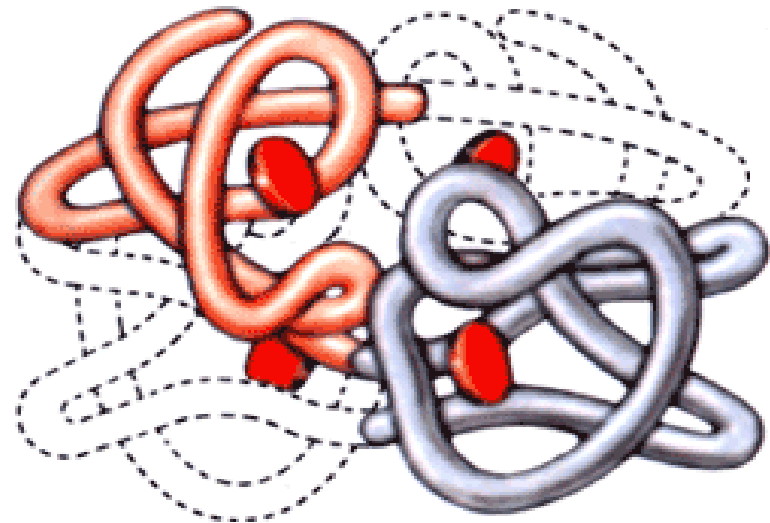
- Четвертичная структура белка – способ укладки в пространстве нескольких полипептидных цепей (субъединиц), имеющих одинаковую или разную первичную, вторичную и третичную структуру, и формирование единой макромолекулы.
- Субъединицы (протомеры) удерживаются в молекуле благодаря гидрофильно-гидрофобным взаимодействиям, водородным и ионным связям.



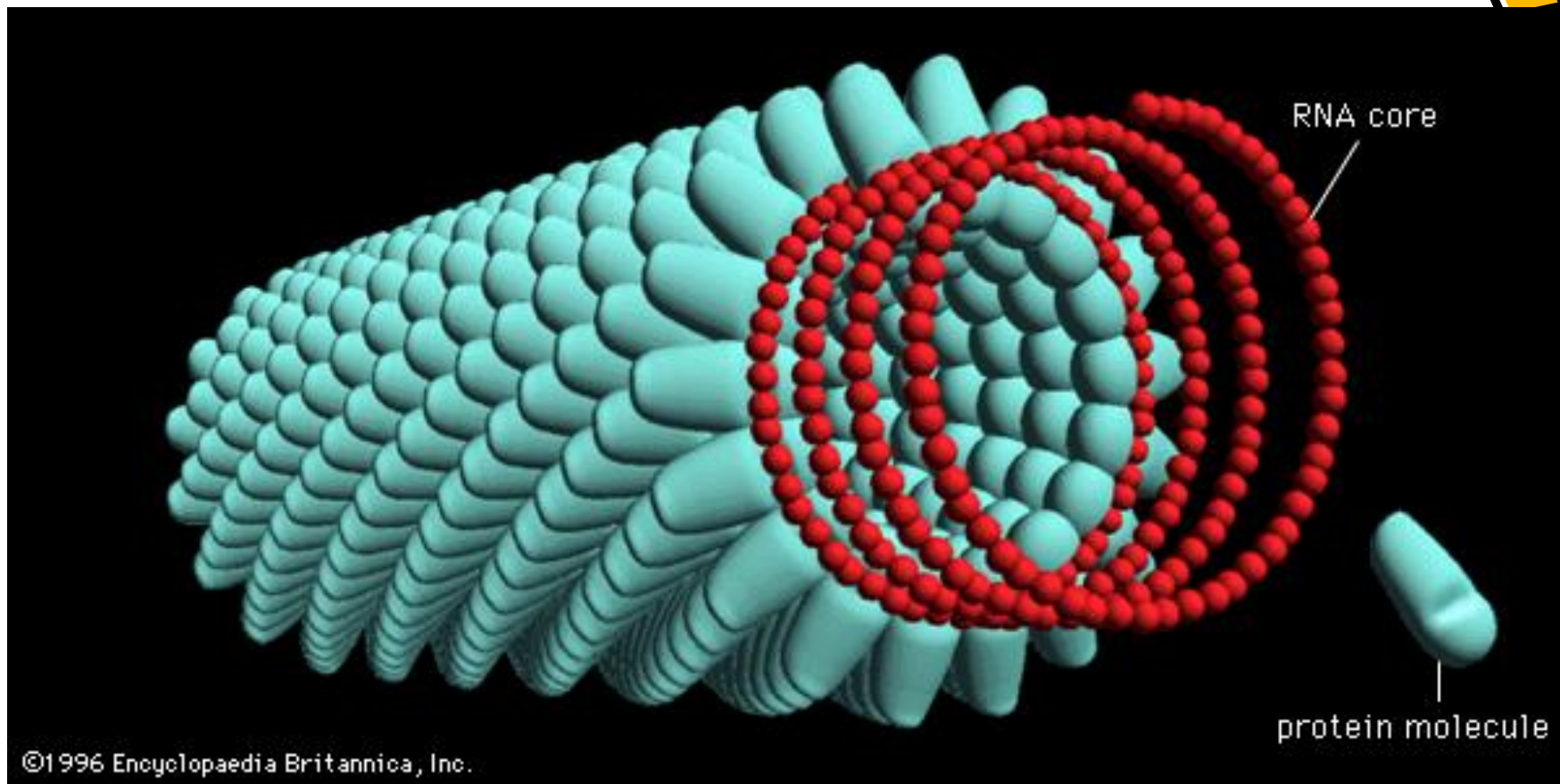
ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА



- Четвертичная структура характерна для сложных белков, молекулы которых образованы двумя и более полипептидными цепями.
- Наиболее изученным белком, имеющим четвертичную структуру, является гемоглобин. Он образован двумя α -субъединицами (141 аминокислотный остаток) и двумя β -субъединицами (146 аминокислотных остатков). С каждой субъединицей связана молекула гема, содержащая атом двухвалентного железа.

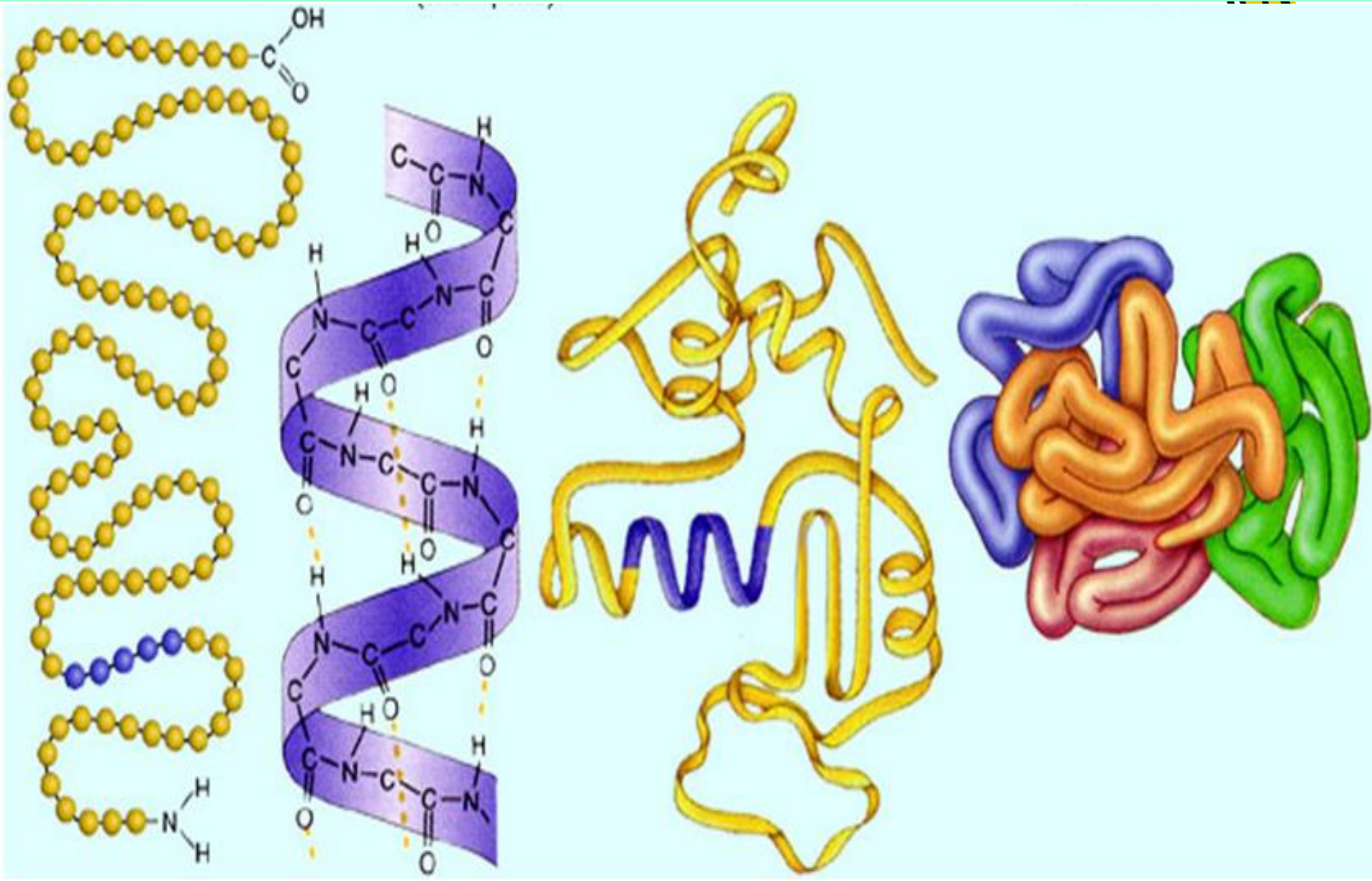


Четвертичная структура



Пример четвертичной структуры - вирус табачной мозаики: 2130 одинаковых молекул белка расположены вокруг РНК вируса

Виды пространственной структуры белка: первичная вторичная третичная четвертичная



БЕЛКИ - C,H,O,N,S МОНОМЕРЫ - АМИНОКИСЛОТЫ

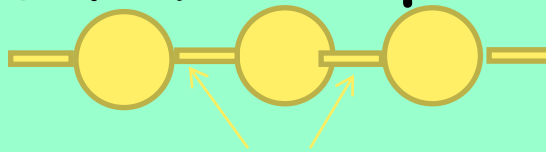
20 АК - ПРОТЕИНОГЕННЫЕ!



∞

УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ:

1-ая



пептидная (последовательность АК)

2-ая



H - СВЯЗИ

3-ая



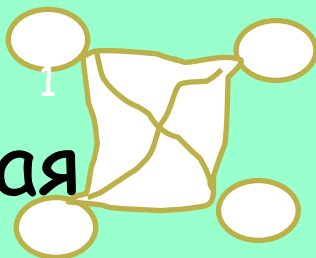
гидрофобные

H - СВЯЗИ

ИОННЫЕ СВЯЗИ

S-S- СВЯЗИ

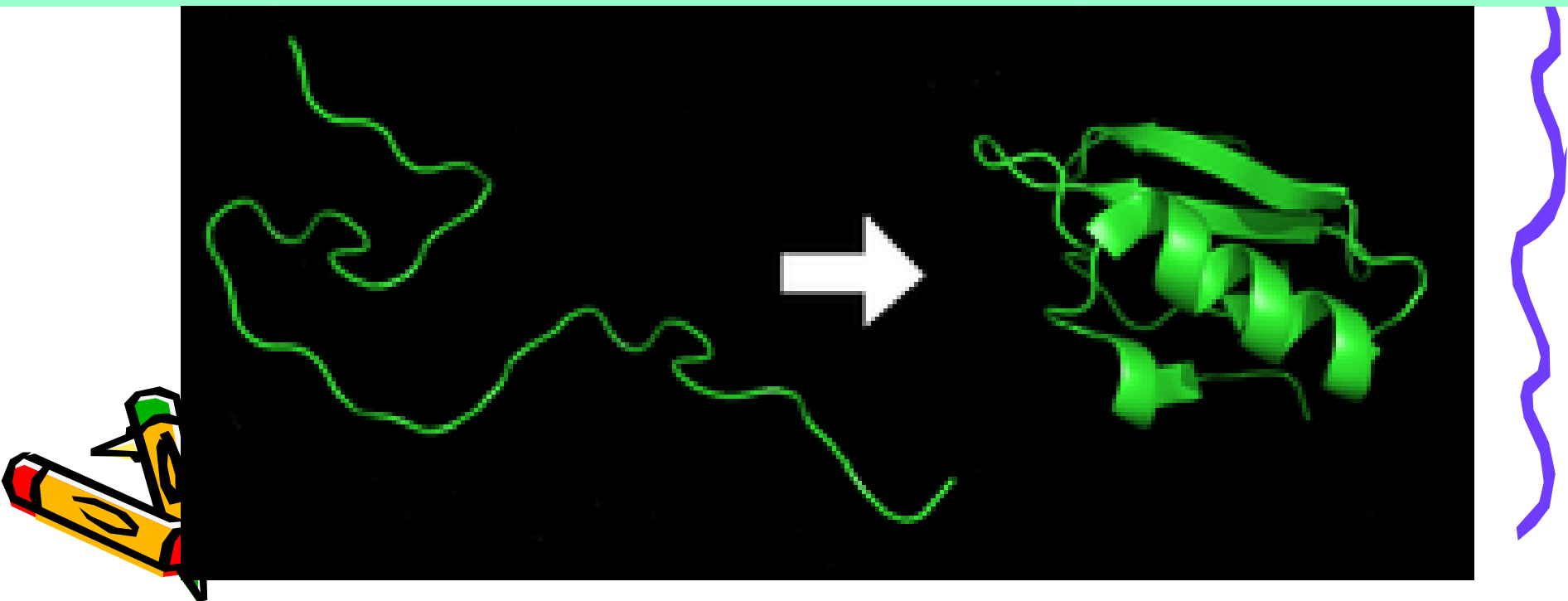
4-ая



Нь

5. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Фолдинг.

- Фолдинг – сворачивание полипептидной цепи с образованием нативной структуры белка. Этот процесс осуществляется с участием белков **шаперонов**.



- **Нарушение фолдинга может привести к различным болезням, например к губчатым энцефалопатиям:**

- ✓ Синдром Крейцфельда-Якоба;
- ✓ Новый вариант Крейцфельда-Якоба – коровье бешенство;
- ✓ Болезнь Альцгеймера;
- ✓ синдром Герсмманна-Штройслера-Шейнке
- ✓ хроническая семейная бессонница;
- ✓ куру.
- ✓ скрепи



Инфекционными агентами, вызывающими эти болезни являются белки-прионы, которые разрушают нативную структуру

***СПАСИБО
ЗА ВНИМАНИЕ!***

