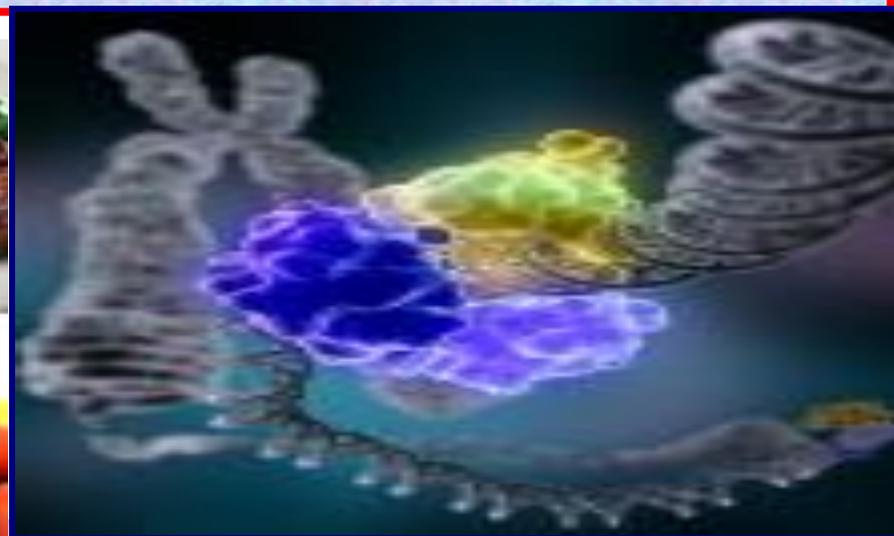
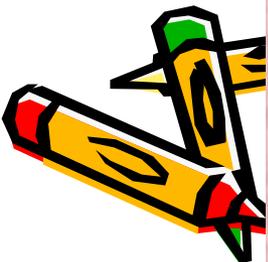


Тема лекции:  
***СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ  
МОЛЕКУЛЫ***



Автор: доцент  
**МАГЛЫШ Сабина  
Степановна**

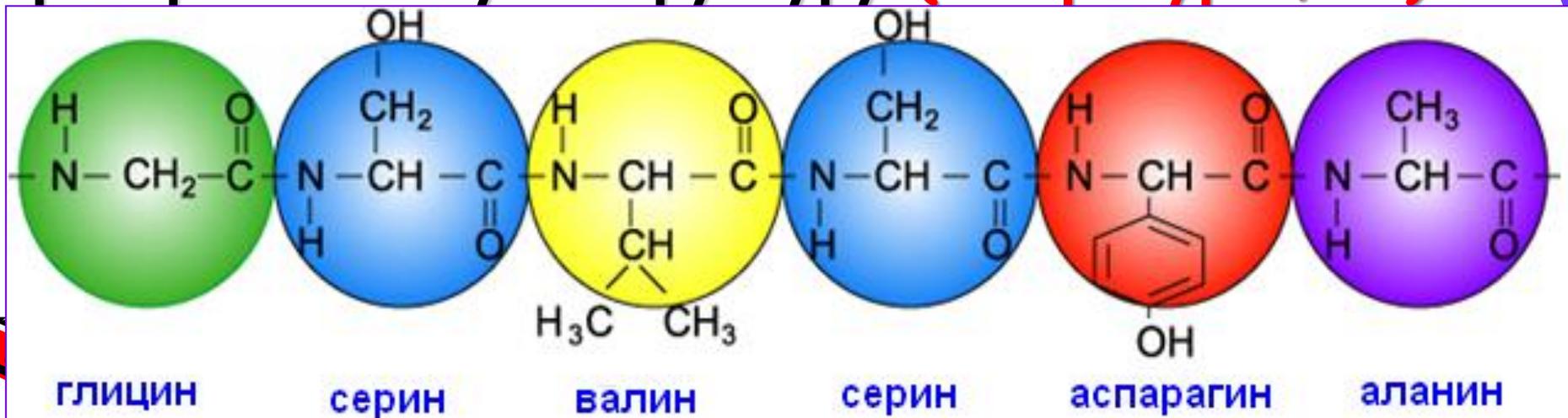


# ВОПРОСЫ ЛЕКЦИИ

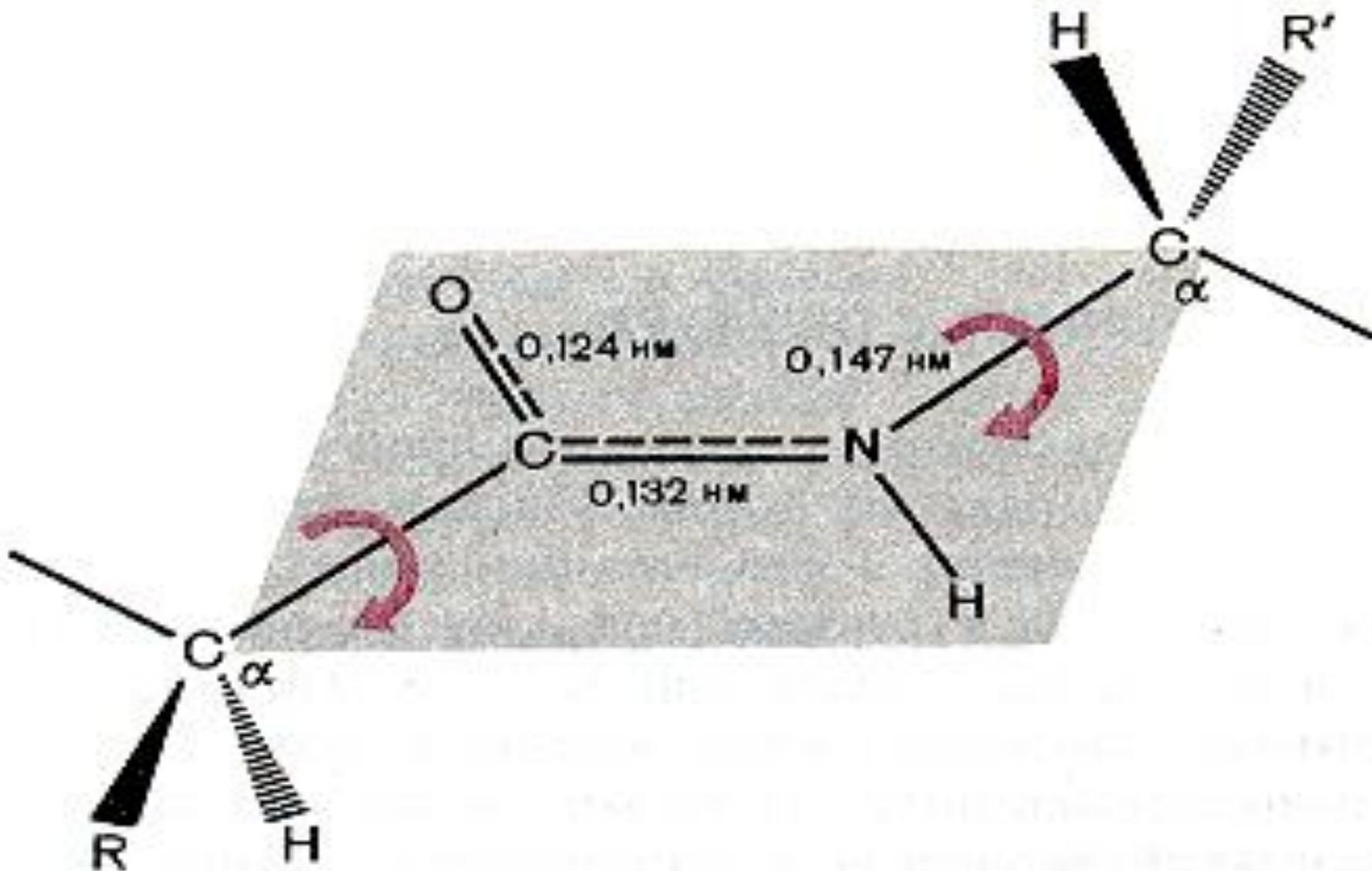
- 1. Первичная структура белковой молекулы, методы ее установления.
- 2. Вторичная структура белковой молекулы, ее виды и методы установления.
- 3. Третичная структура белковой молекулы, виды связей.
- 4. Четвертичная структура белков, ее биологический смысл, виды связей.
- 5. Зависимость биологических 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  $\beta$ -цепи гемоглобина на **Вал** приводит к серповидно-клеточной анемии .

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



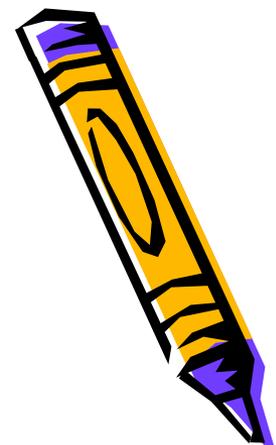
# Перед определением первичной структуры белка ткани проводятся:

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



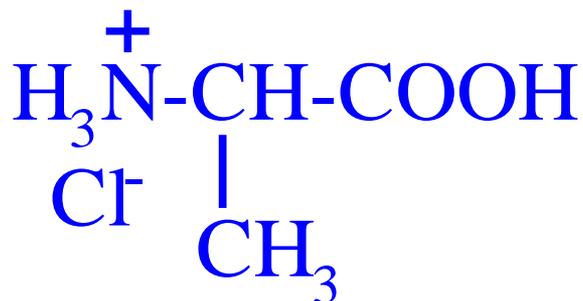
**глицилаланин**



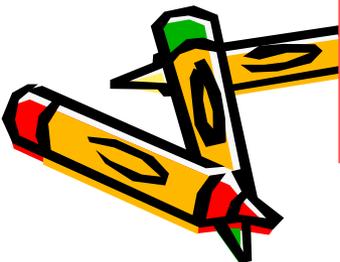
$\text{H}_2\text{O}$ , конц.  $\text{HCl}$ ,  $t^\circ$



**гидрохлорид  
глицина**



**гидрохлорид  
аланина**



# Щелочной гидролиз



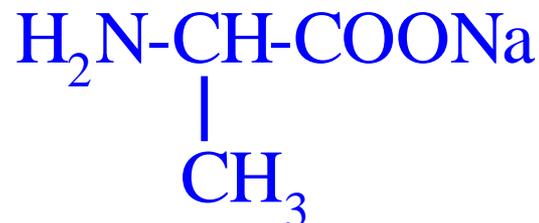
**глицилаланин**

**$\text{H}_2\text{O}$ , конц.  $\text{NaOH}$ ,  $t^\circ$**



**натриевая соль  
глицина**

+



**натриевая соль  
аланина**

# Ферментативный гидролиз



**глицилаланин**



**$\text{H}_2\text{O}$ , ферменты,  $t^\circ$**

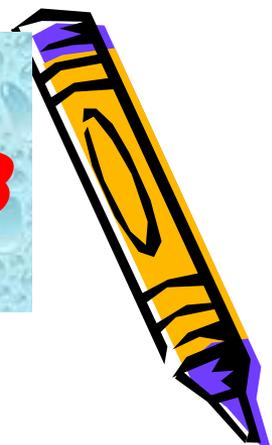


**глицин**

+



**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:

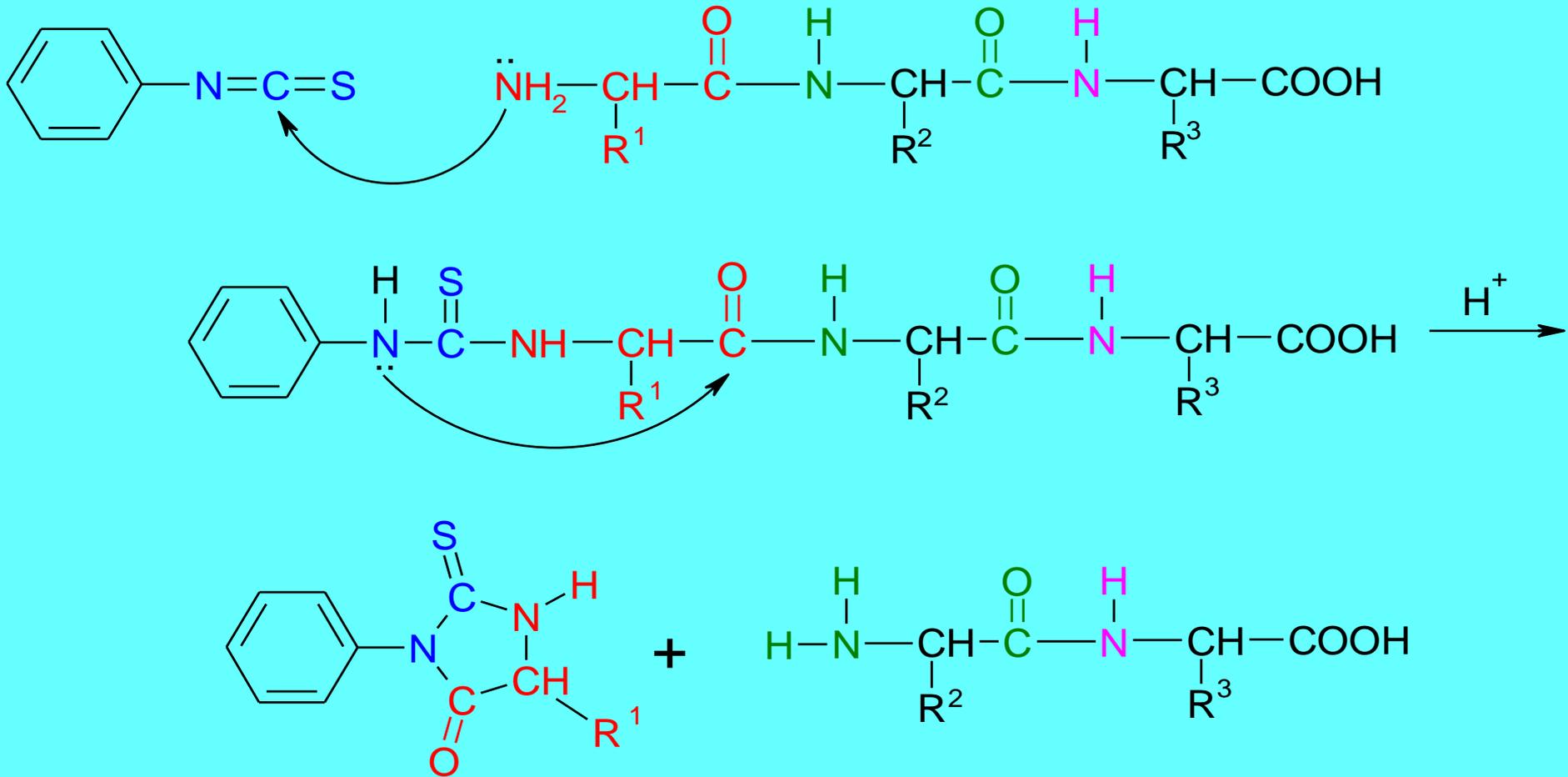
1. Метод Акабори (с гидразином) - образуется свободная C-концевая АК, кот. взаим. с ДНФБ.
2. Метод с применением боргидрида натрия - образуется аминоспирт.
3. Метод с применением карбоксипептидазы.

# 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.  $\alpha$ -спираль.
2.  $\beta$ - структура.

## Неупорядоченная структура:

1. Статистический клубок.

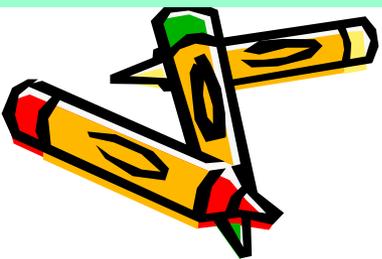
1. Надвторичная (супервторичная) структура или структурные мотивы.

2. Домены.

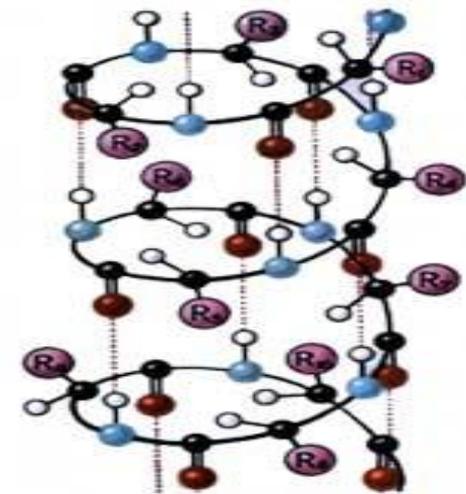
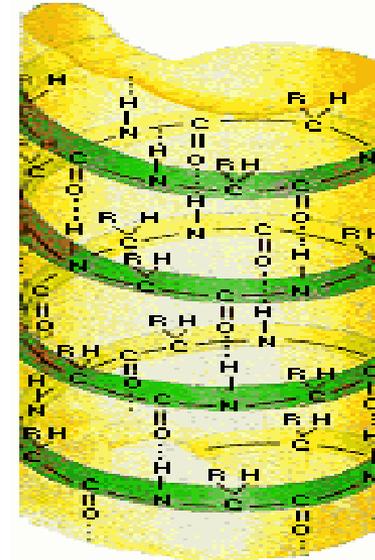


# $\alpha$ -спираль

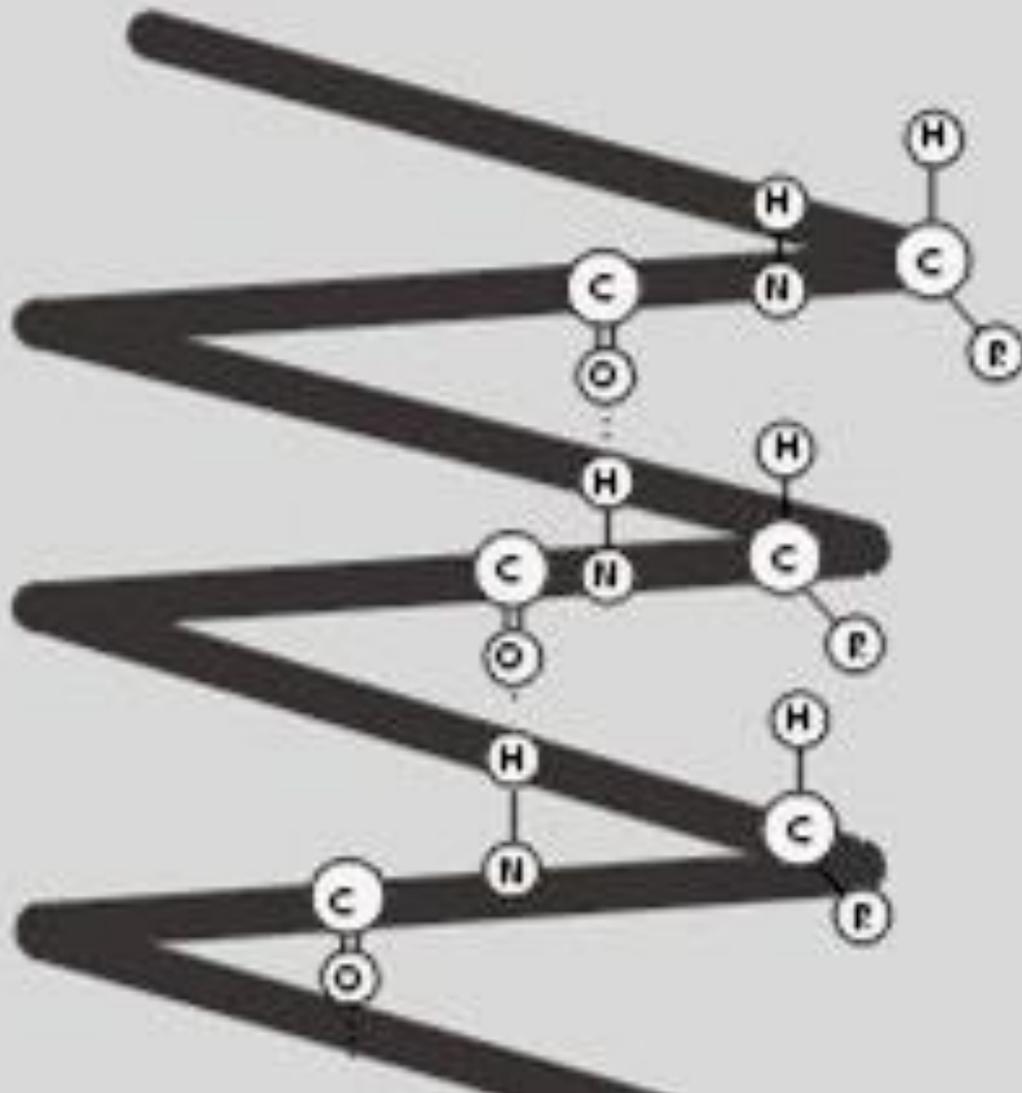
Правозакрученная  $\alpha$ -спираль полипептидной цепи стабилизируется водородными связями, которые  $C=O$ -группы полипептидного остова связывают с его  $NH$ -группами, лежащими от них в направлении к  $C$ -концу цепи.



Вторичная структура ( $\alpha$ -спираль)



# $\alpha$ -спираль



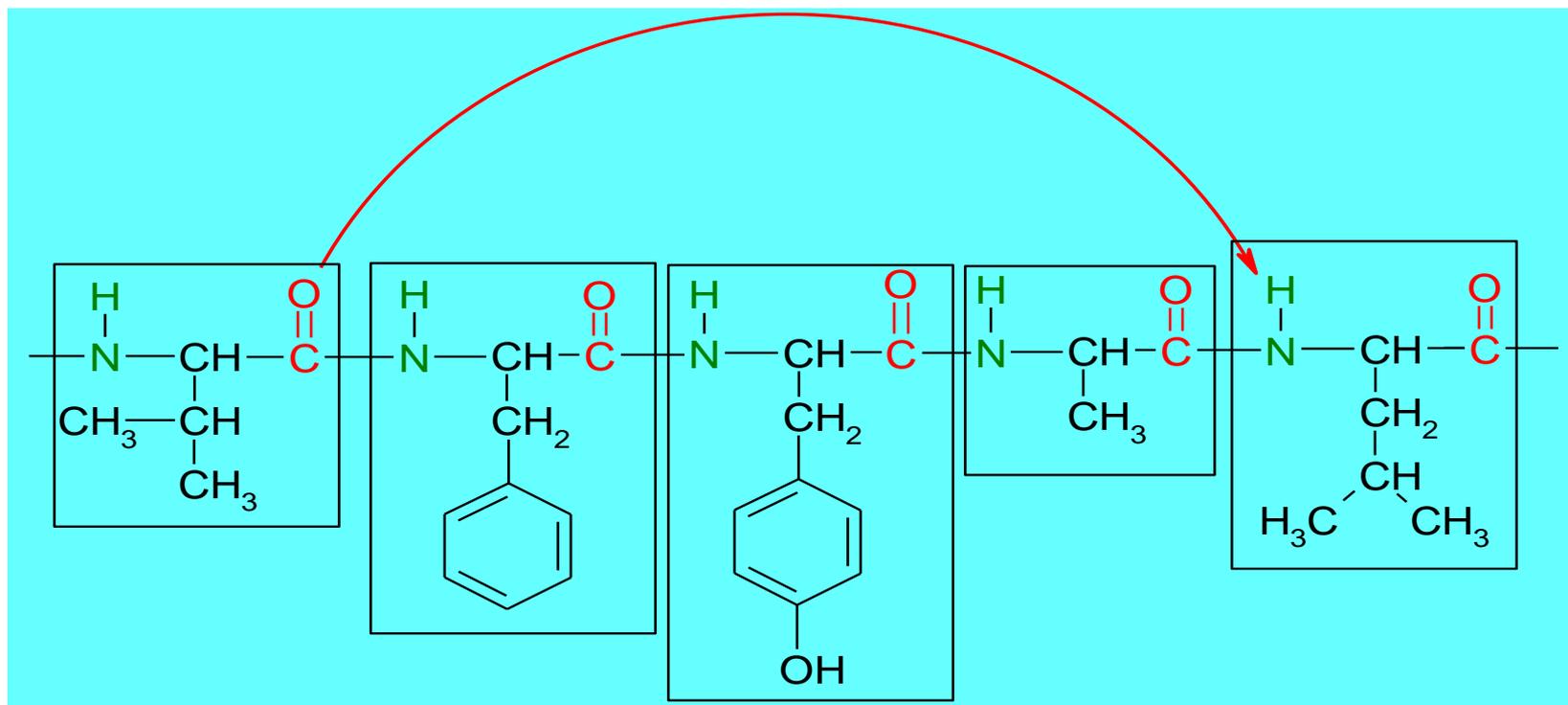
Высота витка  $\alpha$ -спирали **0,54 нм.**

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

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

# Водородные связи в $\alpha$ -спиралях

-Вал-Фен-Тир-Ала-Лей-



**Первый**

**Второй**

**Третий**

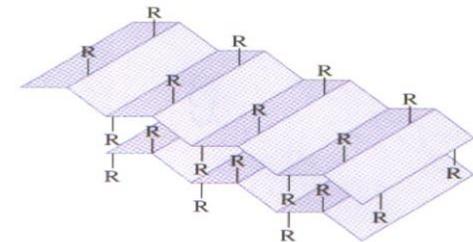
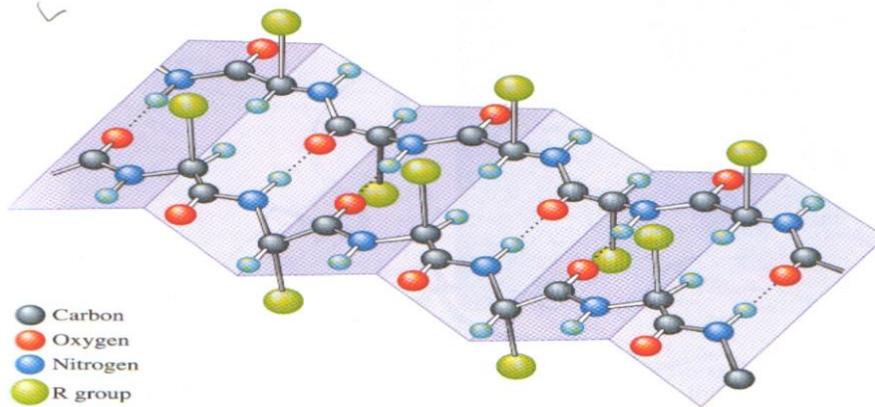
**Четвёртый**

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

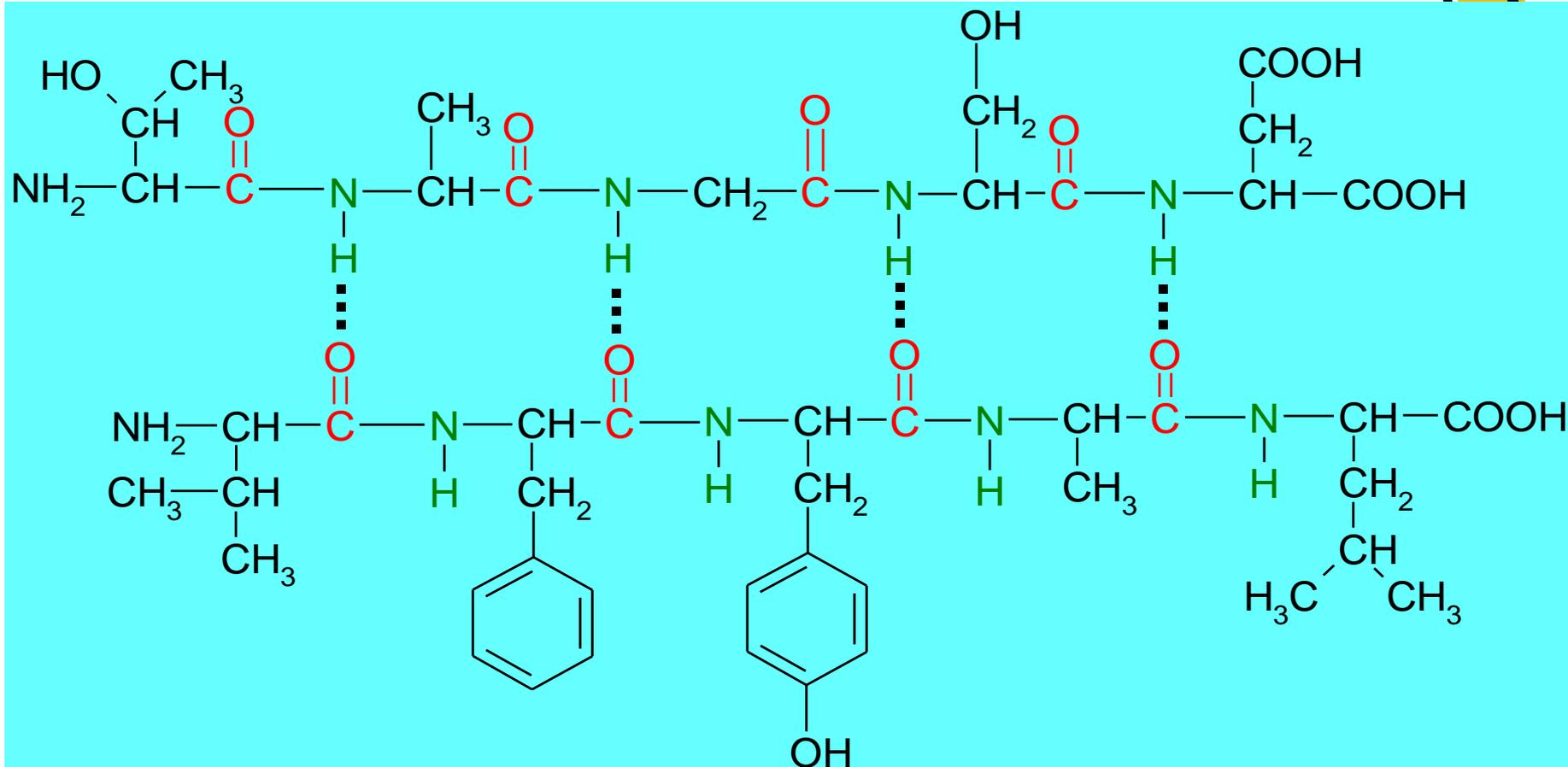
# $\beta$ -структура

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

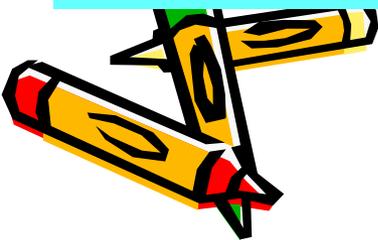
Она стабилизируется за счет **водородных связей**.



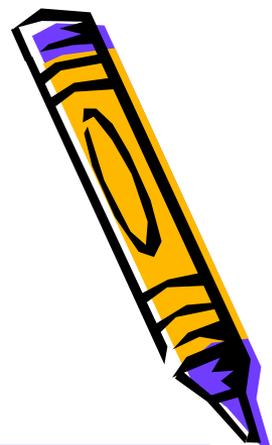
# Водородные связи в $\beta$ -структуре



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



# Фиброин паутины - бета-структура

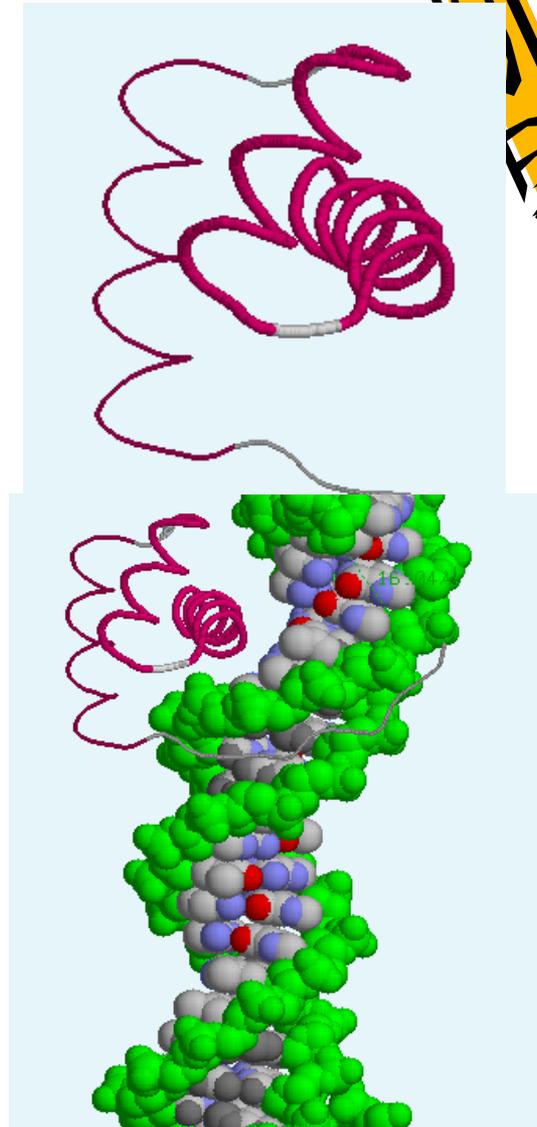
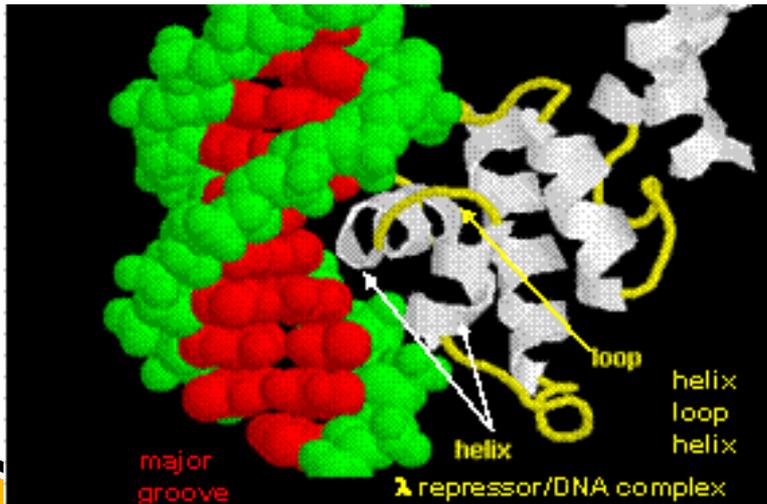
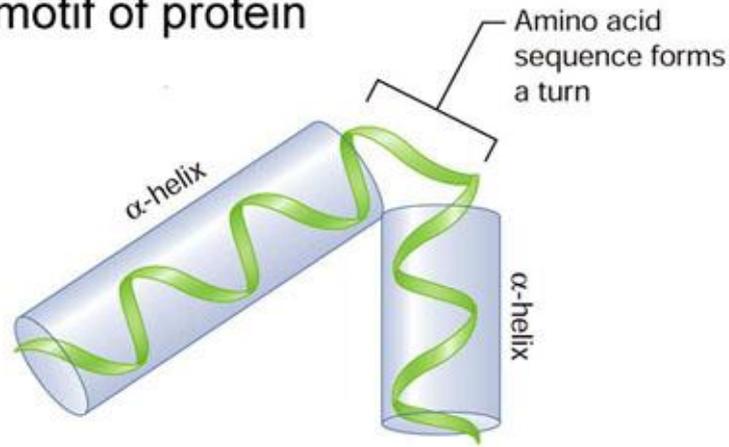


**Надвторичная структура или структурный мотив** это - набор расположенных определенным образом в пространстве элементов вторичной структуры, который обнаруживается в пространственных структурах многих, но не обязательно гомологичных, белков.

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

# Мотив $\alpha$ -спираль - поворот - $\alpha$ -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.

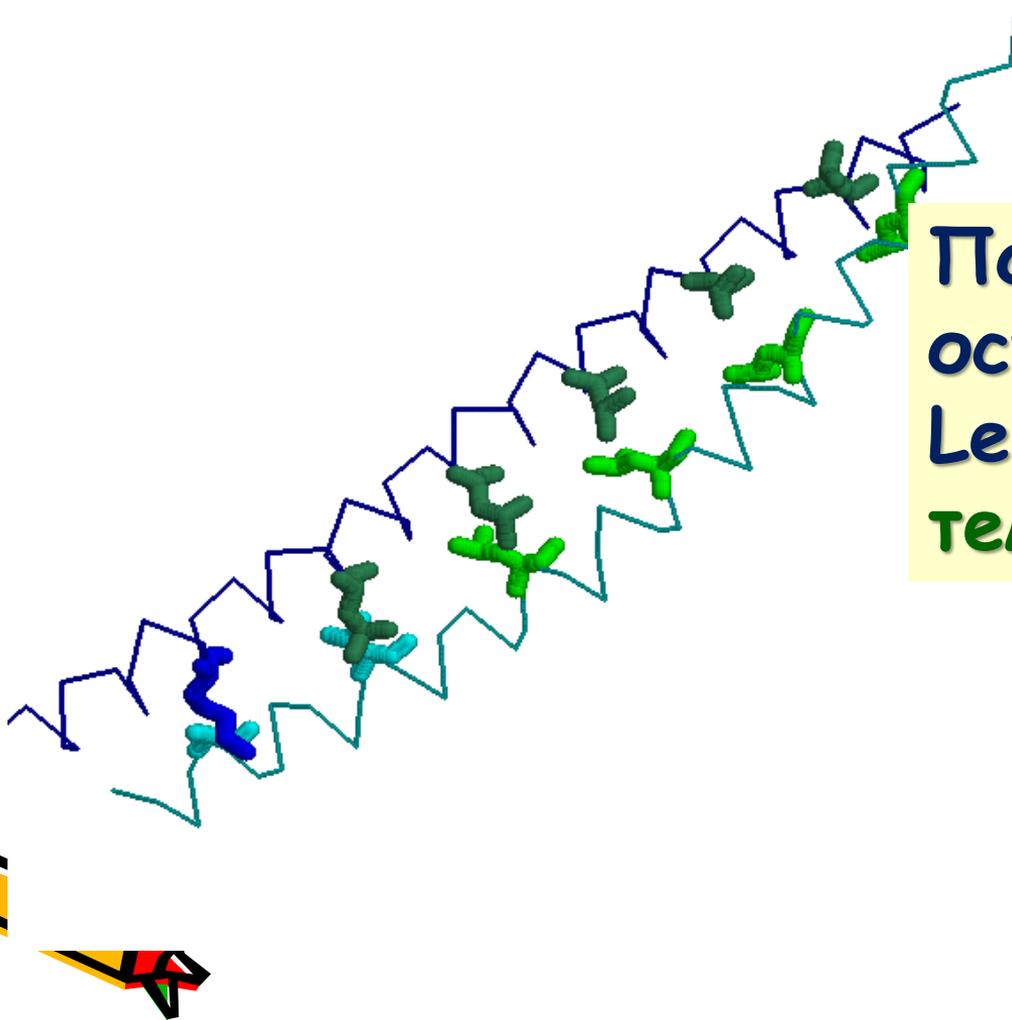
В факторах транскрипции он играет две роли одновременно:

1) димеризация;

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



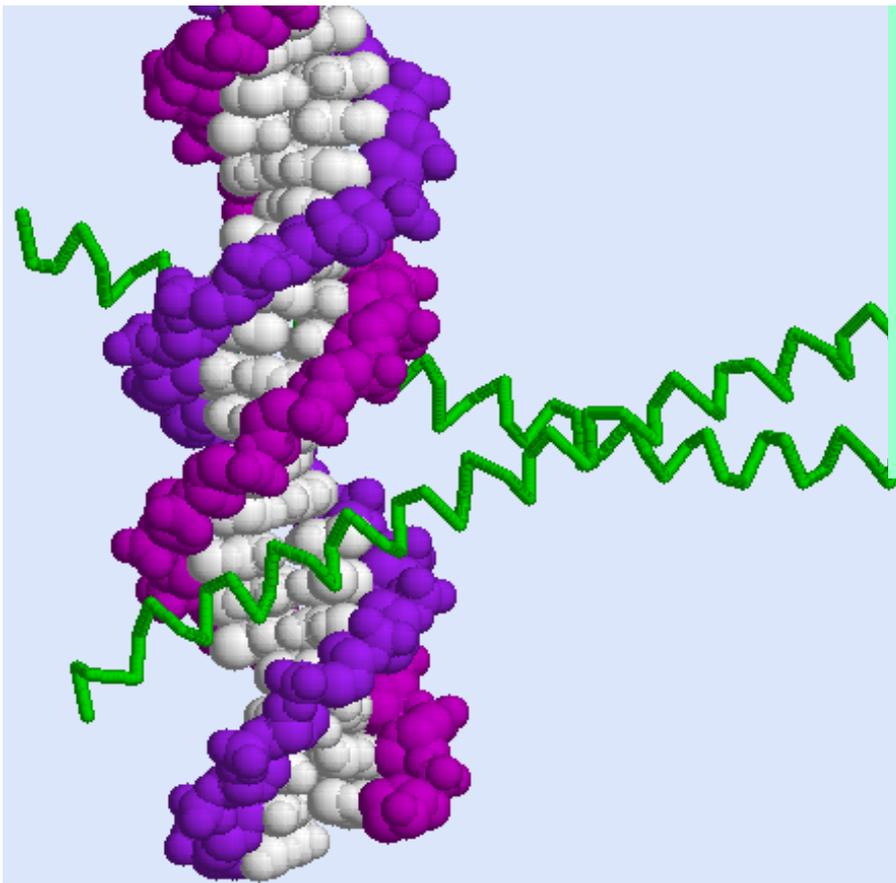
# Как лейциновая застёжка-молния (Leucine zipper) проявляется в структуре белка?



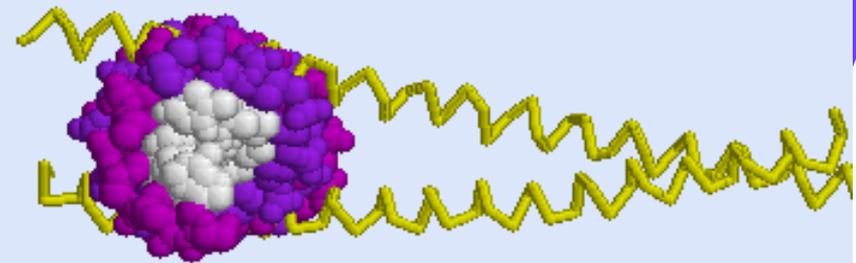
Показаны каждый 7-й остаток цепей A и B;  
Leu - **зеленые** (A) и **темно-зеленые** (B)



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



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

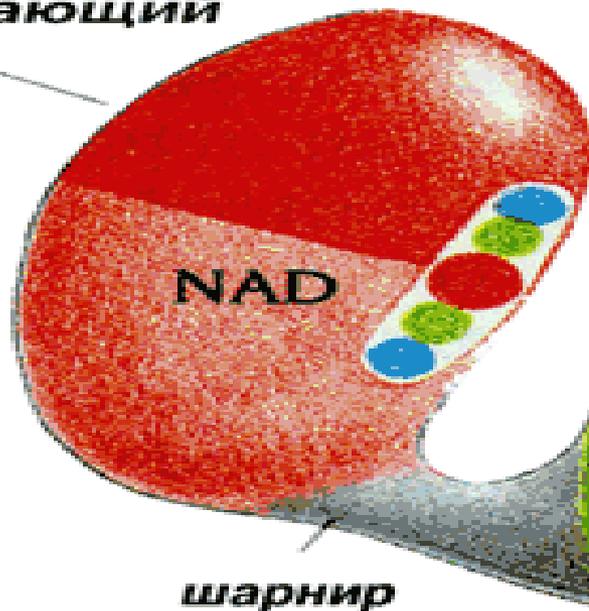


# Домены

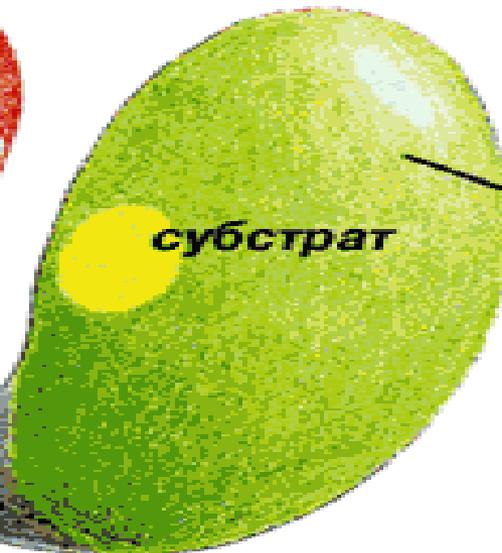
**Домены** - глобулярные области в пределах одной белковой молекулы.

Домены соединены шарнирным участком цепи.

динуклеотид -  
связывающий  
домен



шарнир



субстрат -  
связывающий  
домен

**Доменная структура NAD<sup>+</sup>-зависимой дегидрогеназы**

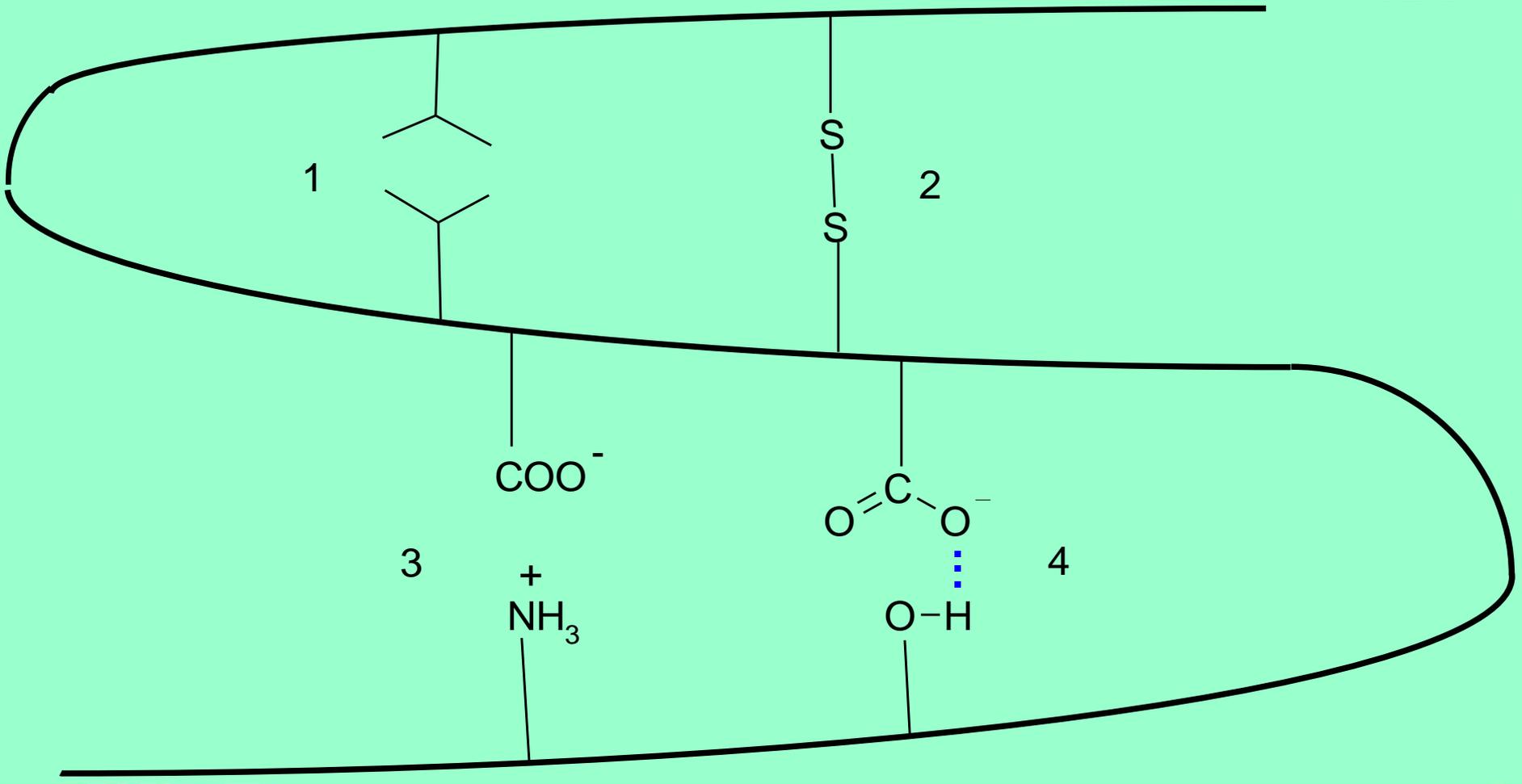
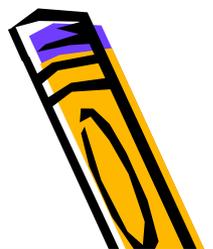
### 3. ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ, ВИДЫ СВЯЗЕЙ

- **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

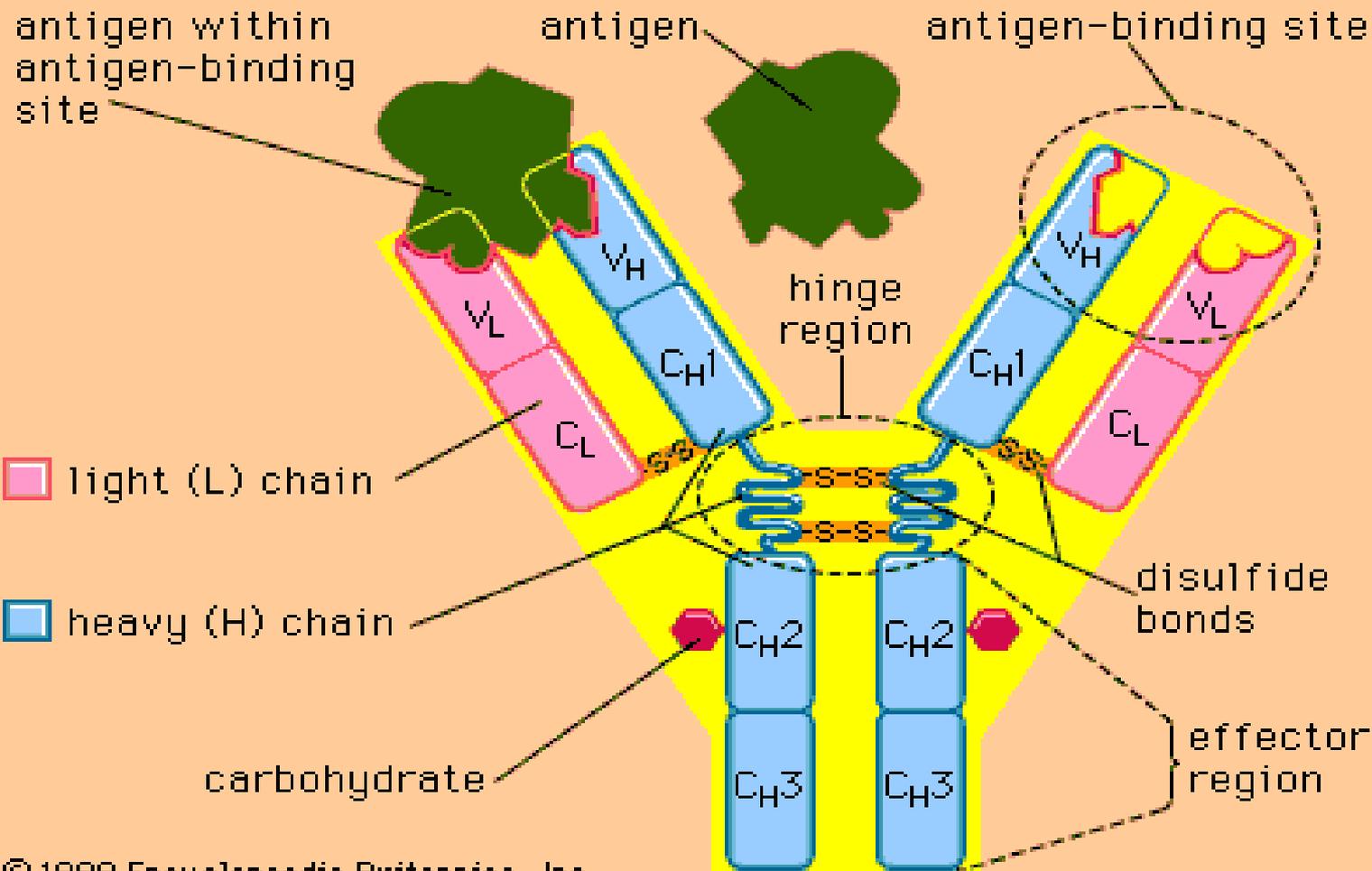
1. Гидрофильно-гидрофобные взаимодействия.
2. Ковалентные дисульфидные связи.  
(дисульфидные -S-S-мостики)
3. Ионные связи.  
(Глу-COO<sup>-</sup> H<sub>3</sub>N<sup>+</sup>-Лиз)
4. Водородные связи.  
(Глу-COO<sup>-</sup>...HO-Тир)







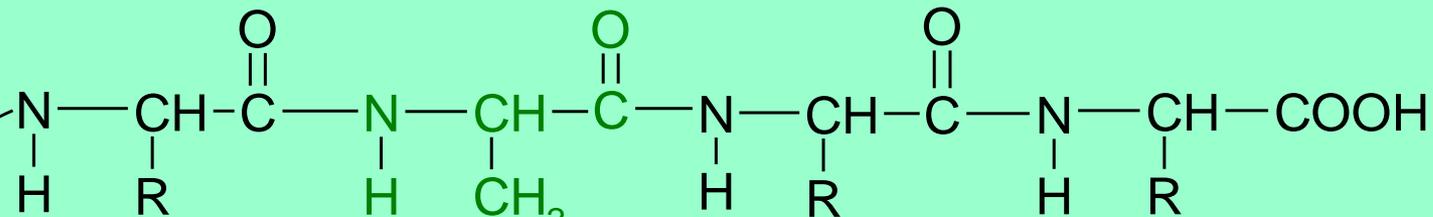
# Дисульфидные связи



© 1999 Encyclopaedia Britannica, Inc.

Дисульфидные связи в иммуноглобулине G

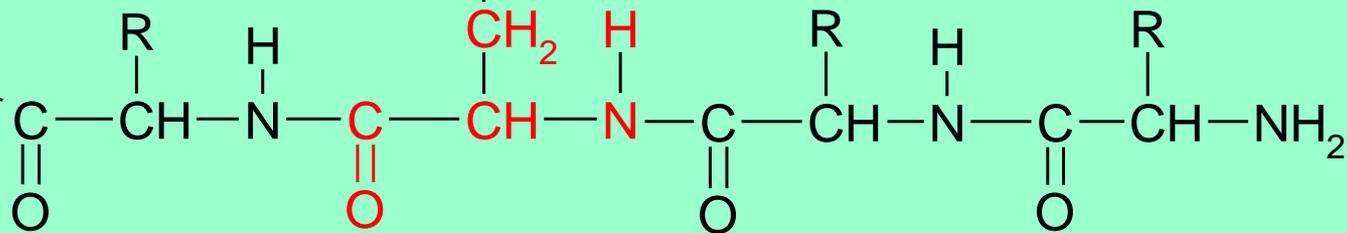
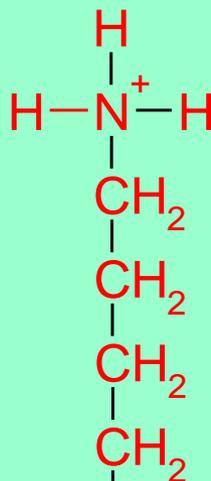
# Ионные связи



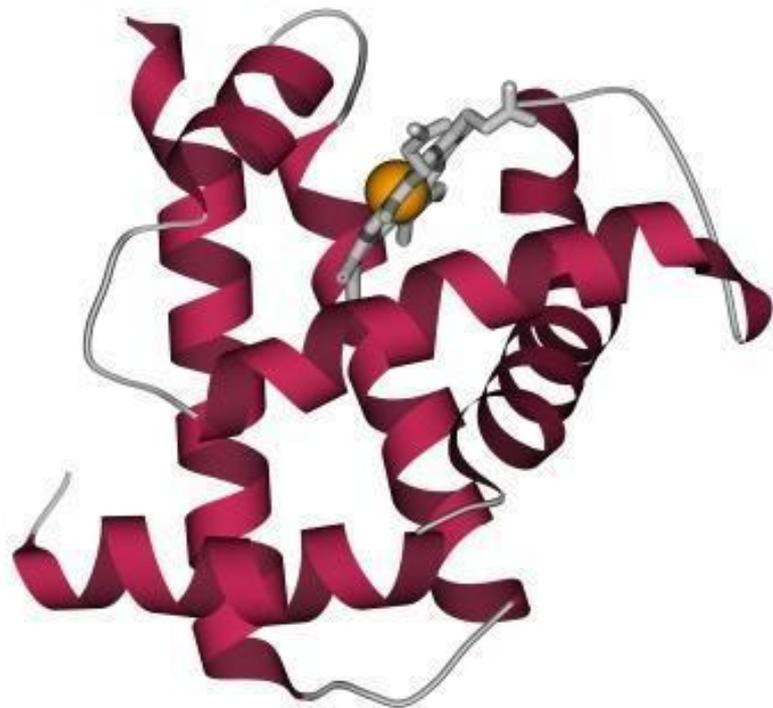
Асп



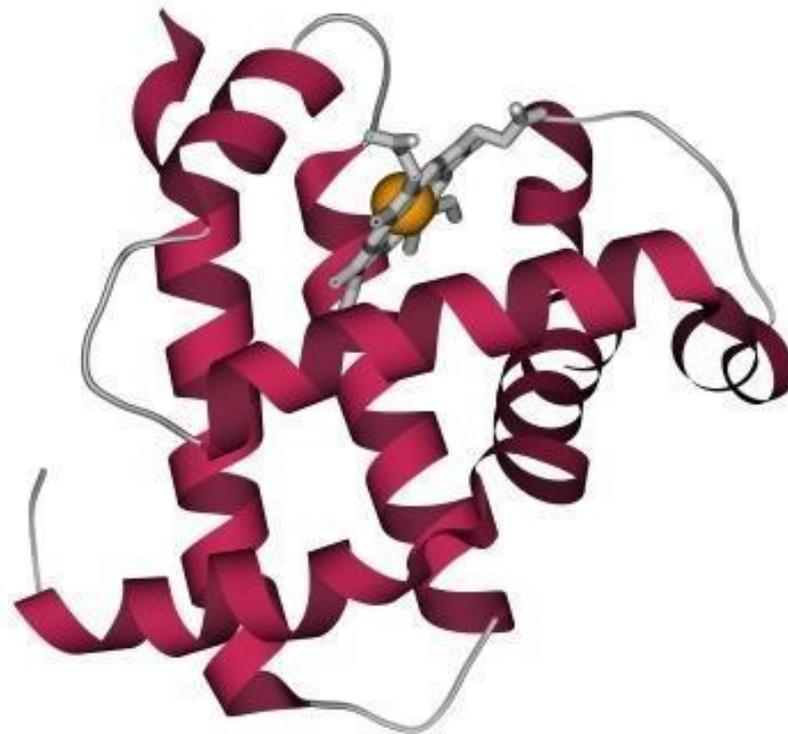
Лиз



# Третичная структура: глобула

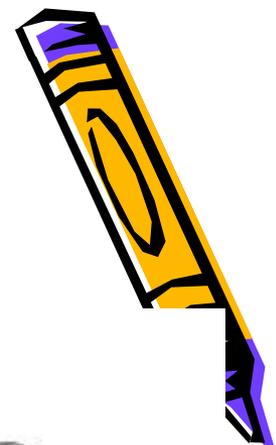
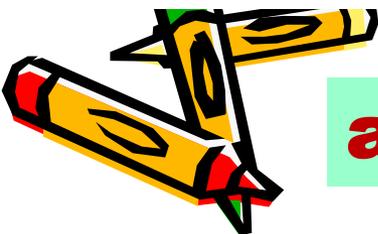


$\alpha$

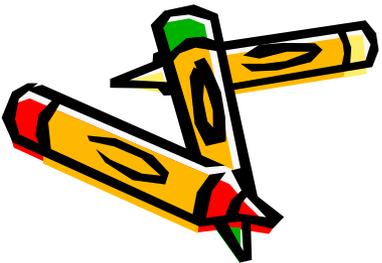
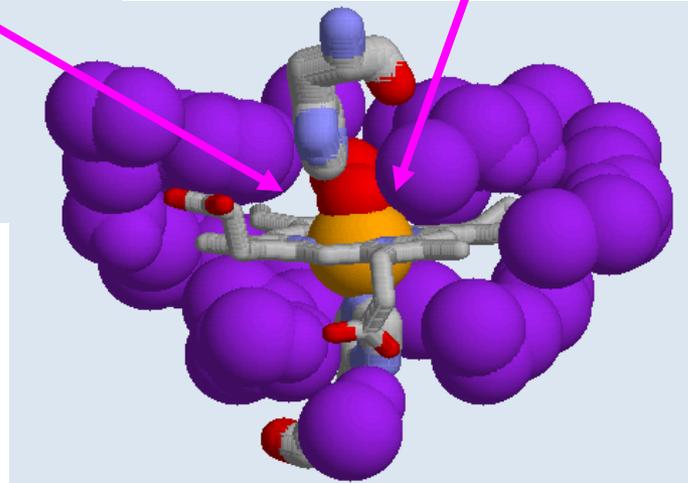
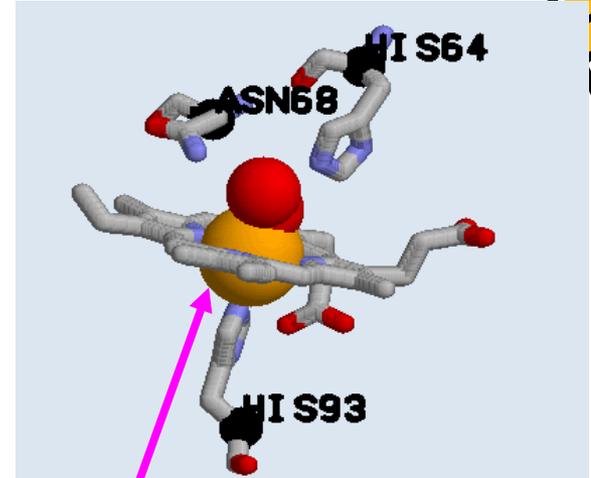
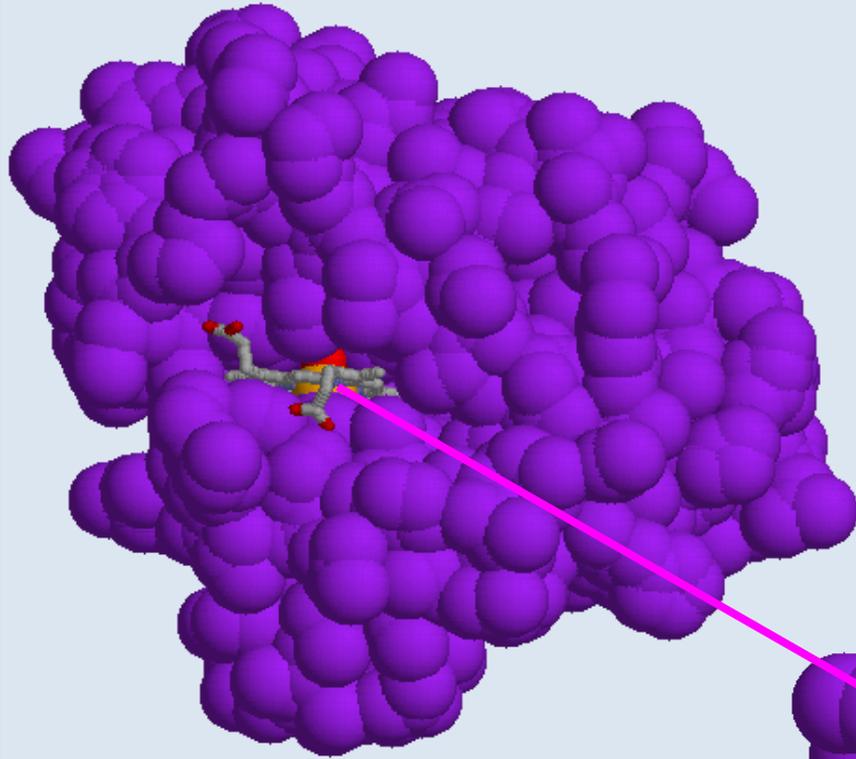


$\beta$

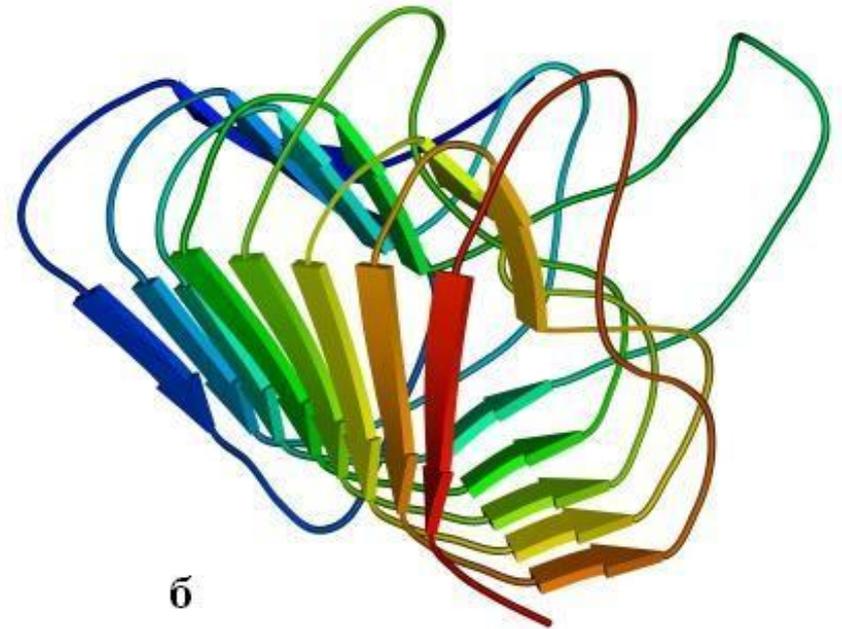
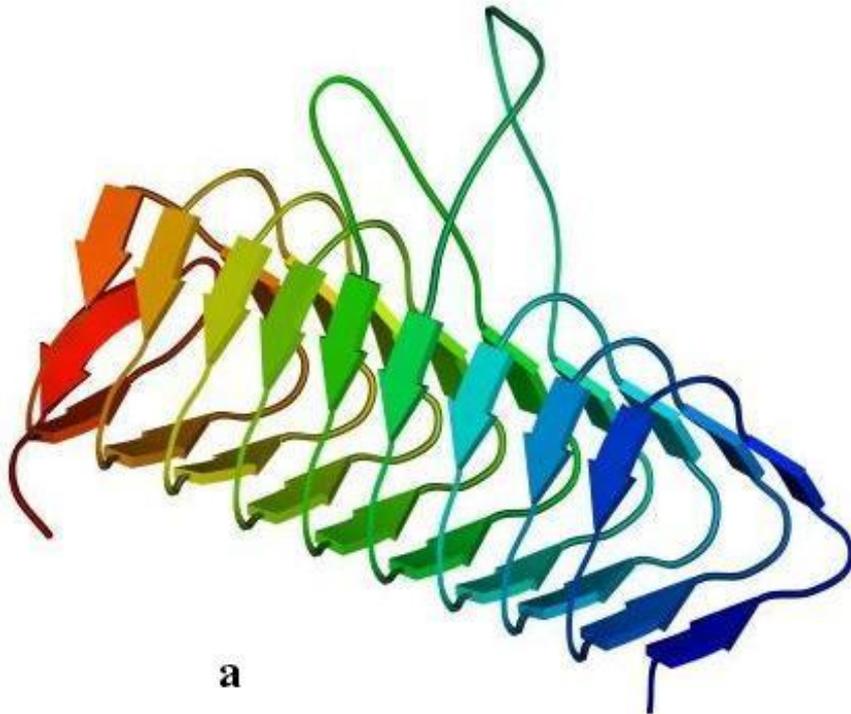
**а и в цепи гемоглобина лошади**



# Глобула миоглобина свињи в комплексе с гемом, и $O_2$



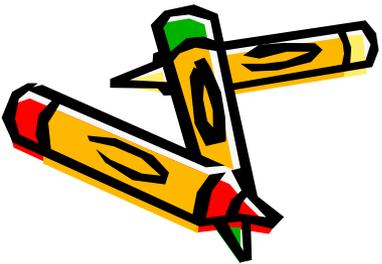
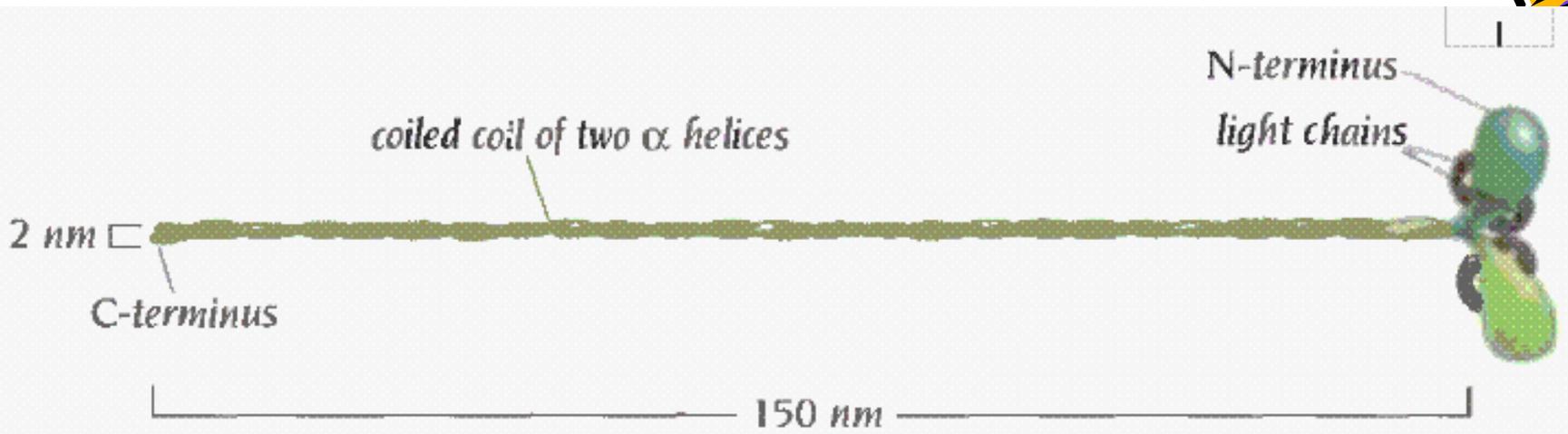
# Третичная структура: фибрилла



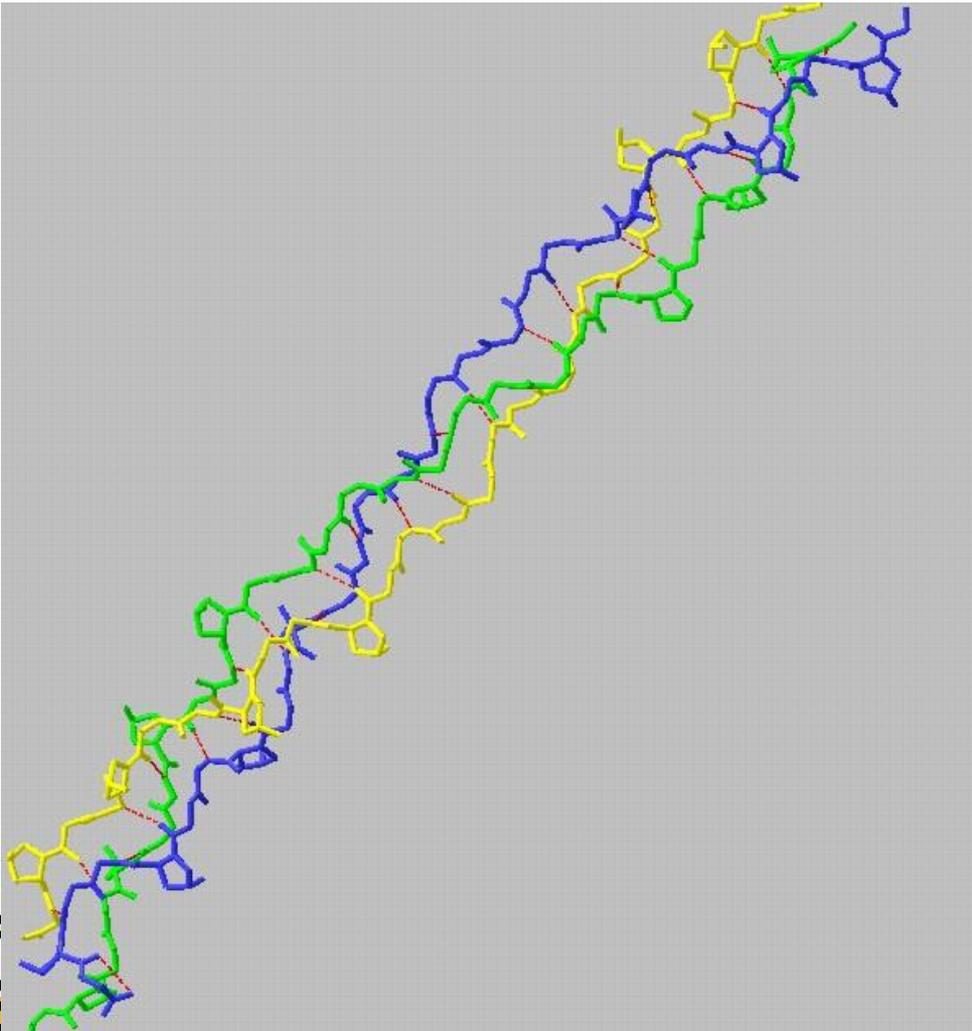
ацилтрансфераза

пектинлиаза С

# Миозин – фибриллярный белок

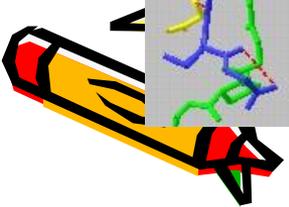


# Тропоколлаген – тройная спираль



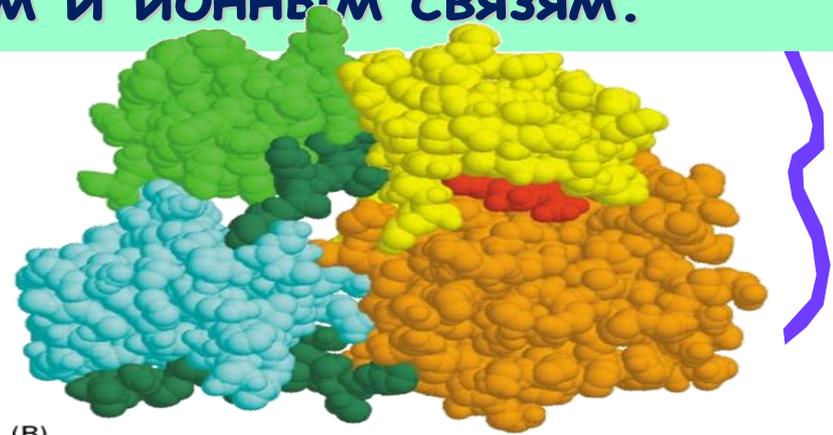
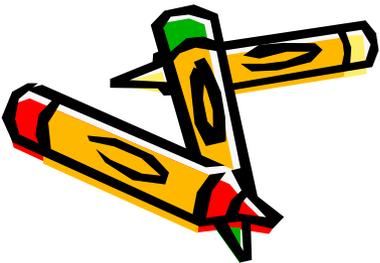
PRO-HYP-  
GLY-PRO-HYP-  
GLY-PRO-HYP-  
GLY-ILE-THR-  
GLY-ALA-ARG-  
GLY-LEU-ALA-  
GLY-PRO-HYP-  
GLY-PRO-HYP-  
GLY-PRO-HYP-  
GLY-PRO-HYP-  
=====

**G-X-X**



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

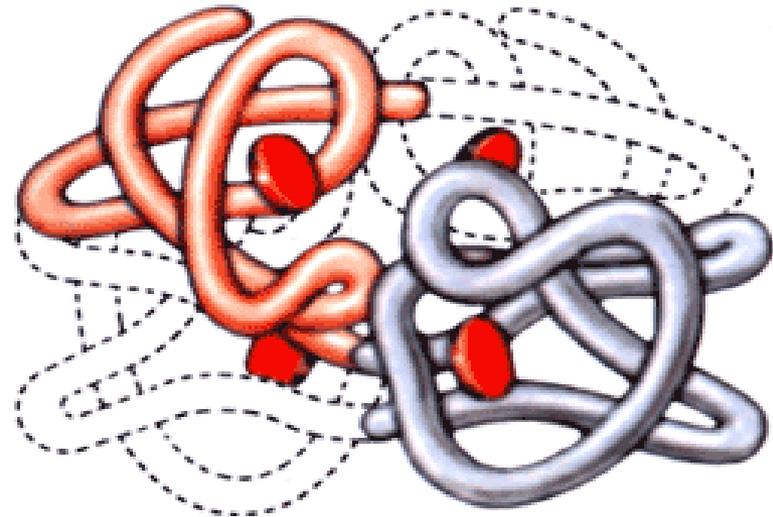
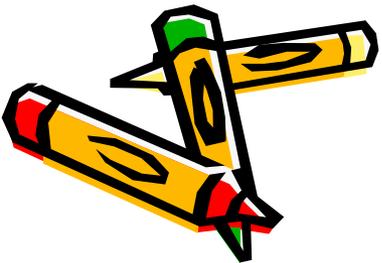
- Четвертичная структура белка – способ укладки в пространстве нескольких полипептидных цепей (субъединиц), имеющих одинаковую или разную первичную, вторичную и третичную структуру, и формирование единой макромолекулы.
- Субъединицы (протомеры) удерживаются в молекуле благодаря гидрофильно-гидрофобным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



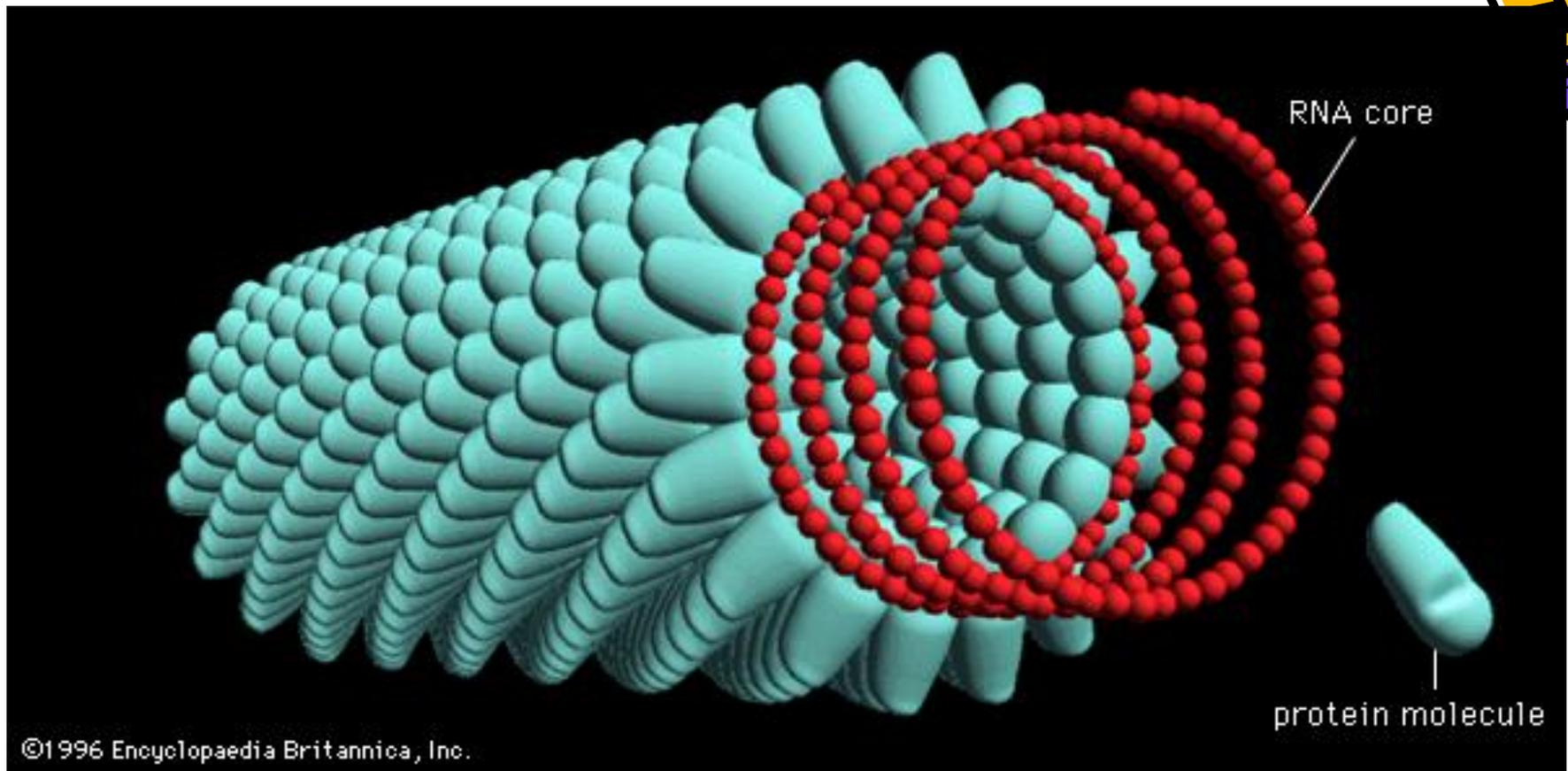
# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА



- 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  $\alpha$ -субъединицами (141 аминокислотный остаток) и двумя  $\beta$ -субъединицами (146 аминокислотных остатков). С каждой субъединицей связана молекула гема, содержащая атом двухвалентного железа.

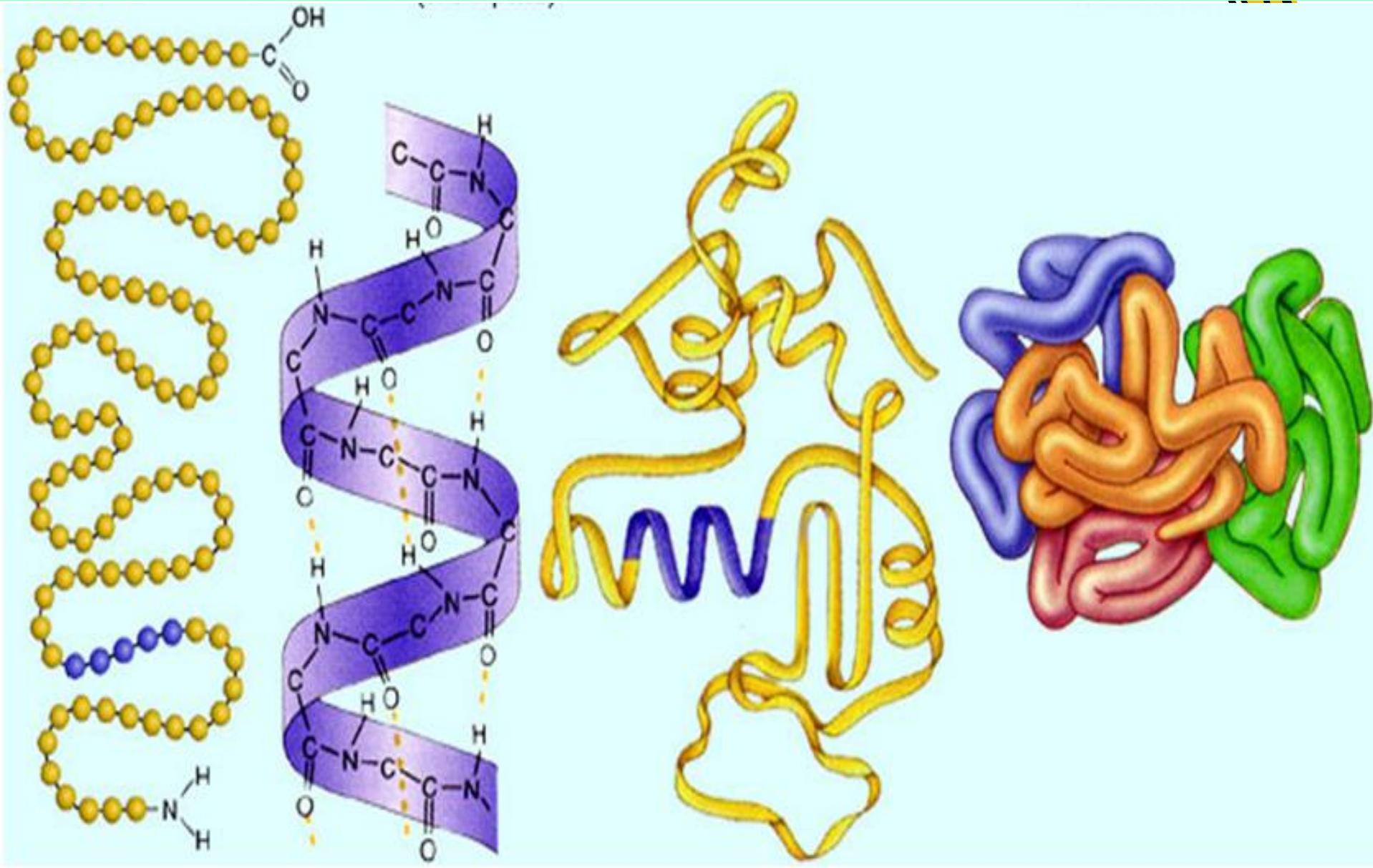


# Четвертичная структура



**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

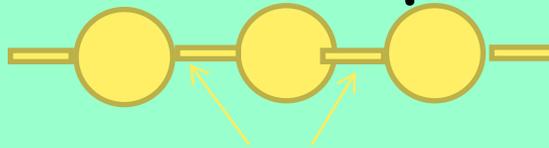
20 АК - ПРОТЕИНОГЕННЫЕ!



∞

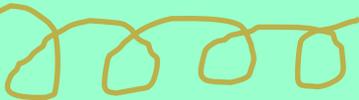
### УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ:

1-ая



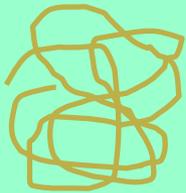
пептидная (последовательность АК)

2-ая



**H - СВЯЗИ**

3-ая



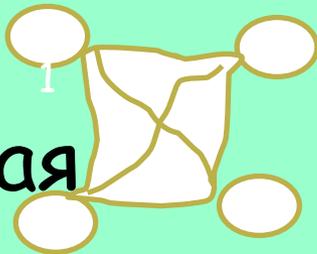
**гидрофобные**

**H - СВЯЗИ**

**ИОННЫЕ СВЯЗИ**

**S-S- СВЯЗИ**

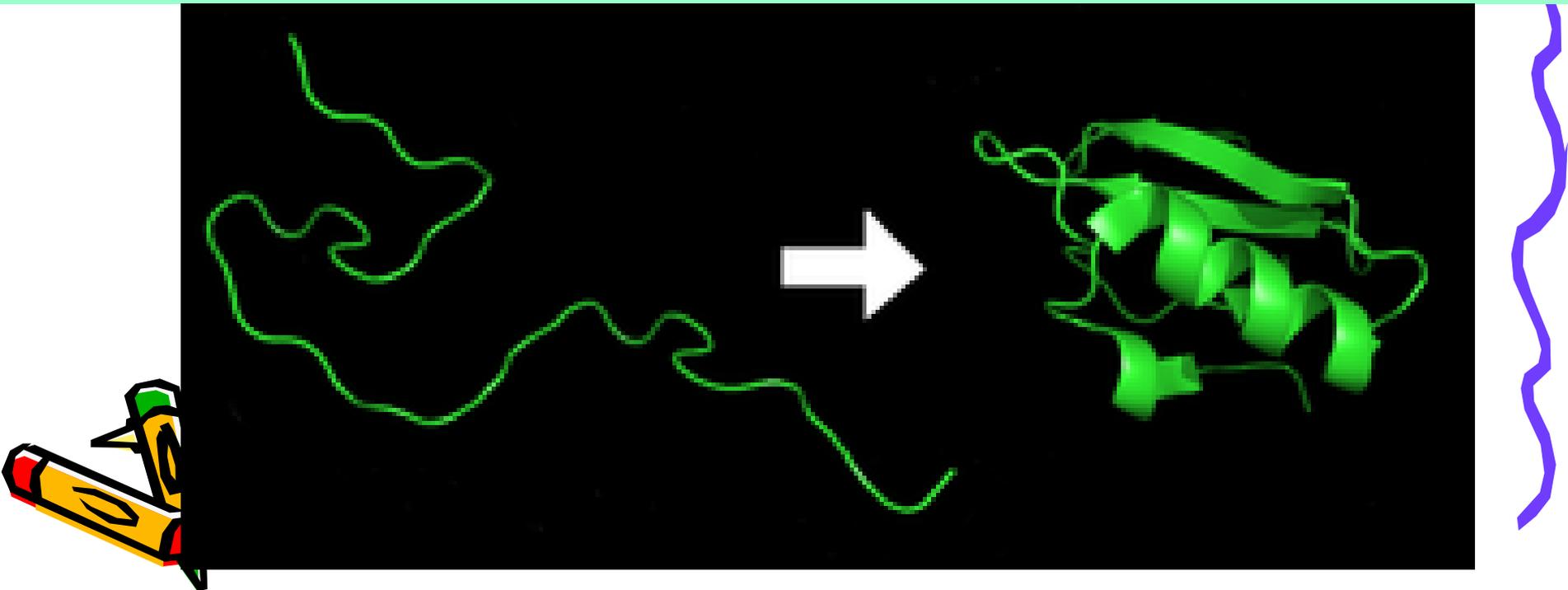
4-ая



**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 Герсмана-Штройслера-Шейнке
- ✓ хроническая семейная бессонница;
- ✓ куру.
- ✓ скрепи



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

***СПАСИБО  
ЗА ВНИМАНИЕ!***

