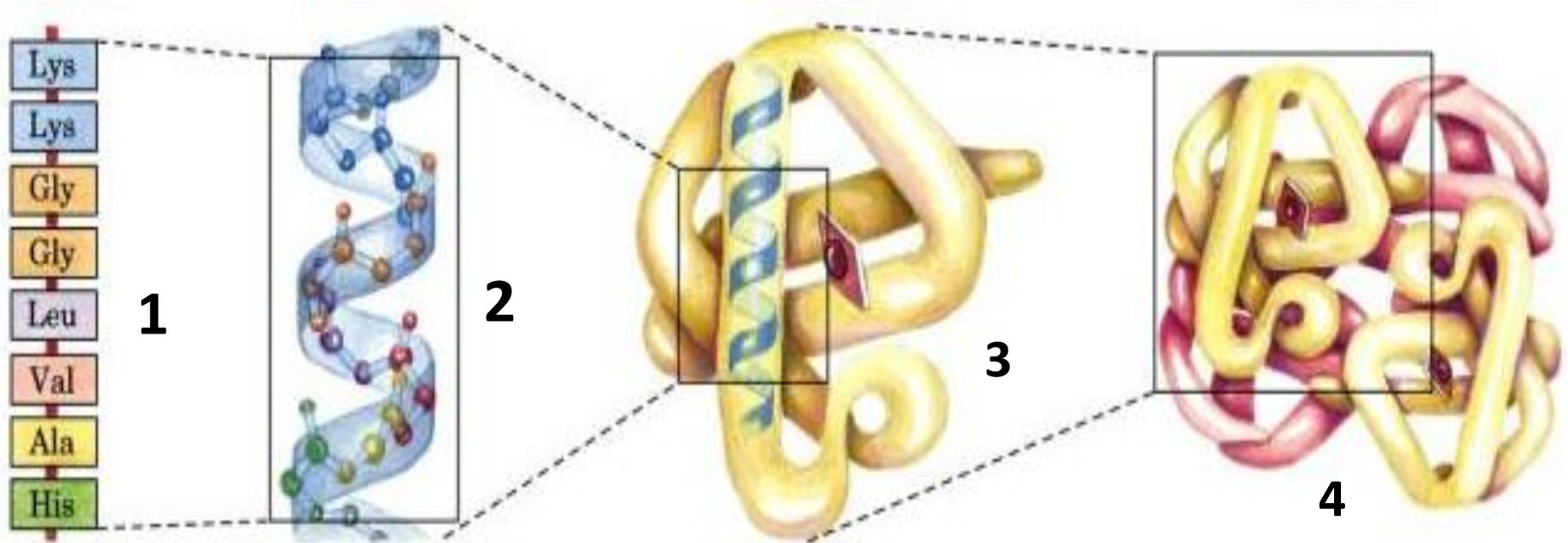


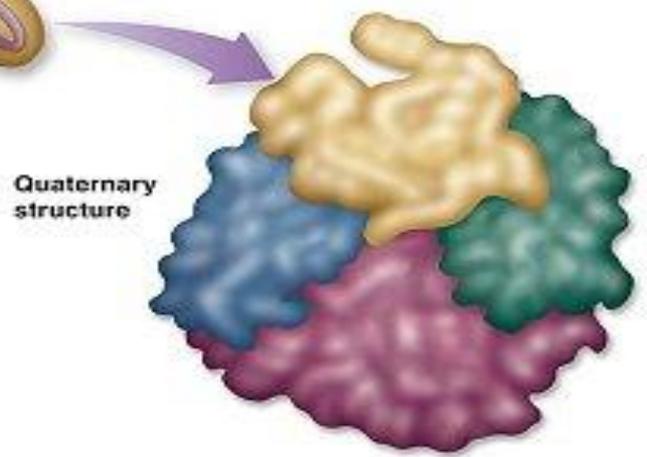
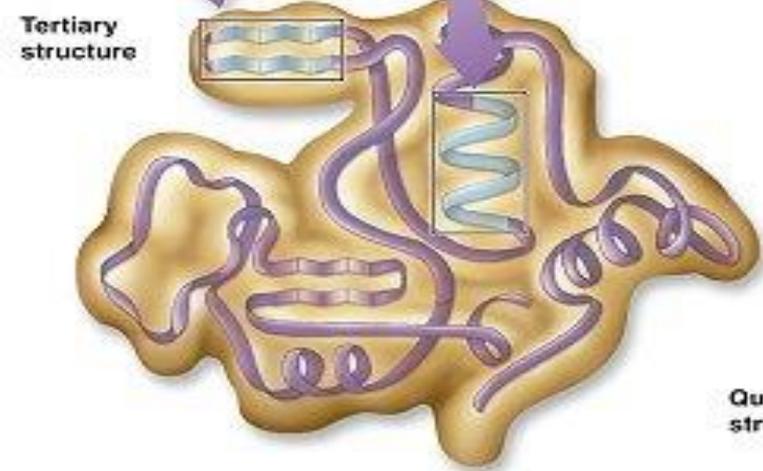
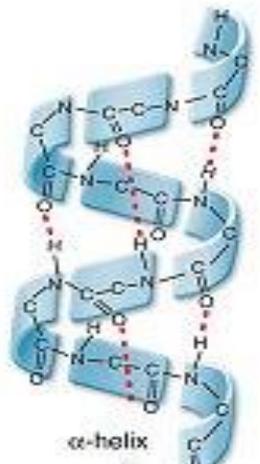
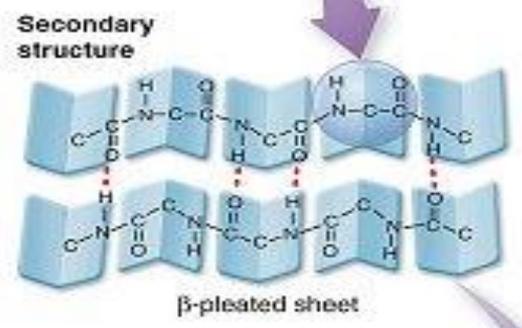
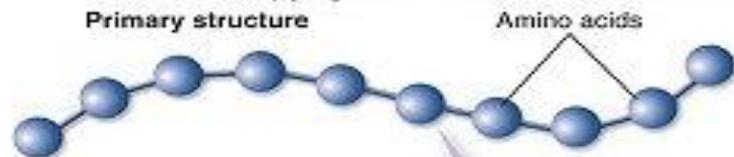
СТРОЕНИЕ и ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

**Доцент
Петушок Н.Э.**

Различают 4 уровня структурной организации белков



- 1) **ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА** – строго определенная линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи.
- 2) **ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА** – конфигурация полипептидной цепи, возникающая благодаря образованию водородных связей между пептидными группами одной цепи или смежными цепями.
- 3) **ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА** – пространственная ориентация полипептидной цепи или способ ее укладки в определенном объеме.
- 4) **ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА** – способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, и формирование единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования.



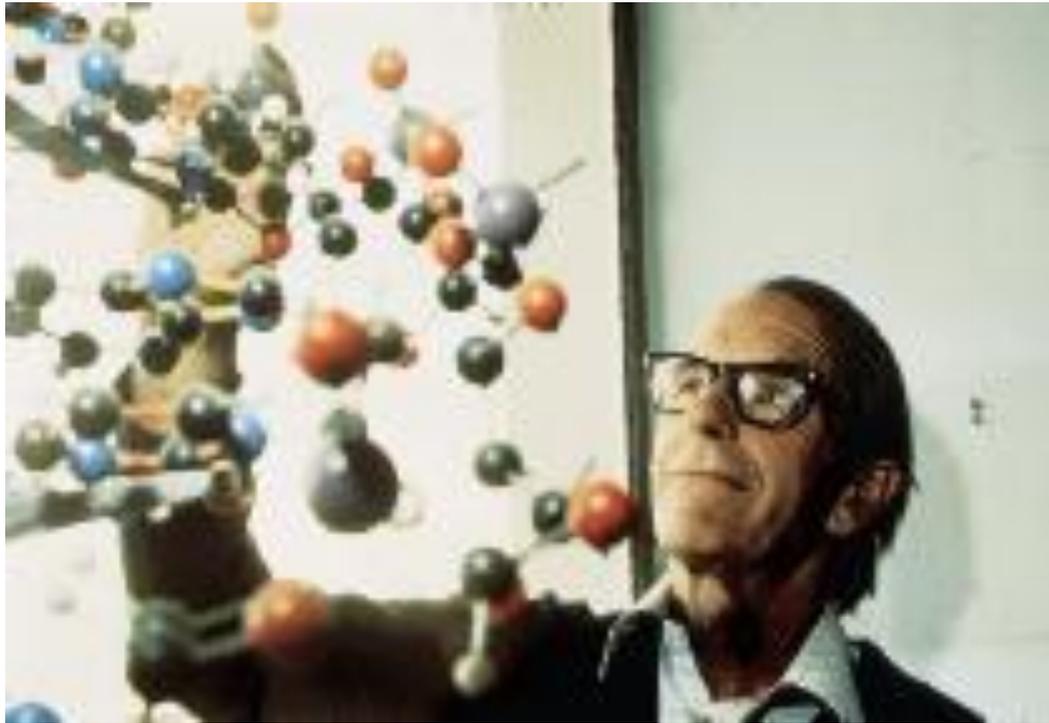
ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА – строго определенная линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ I СТРУКТУРЫ БЕЛКА

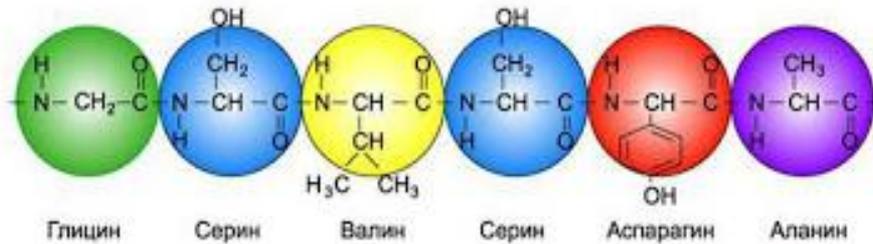
1 этап: начинается с классической работы Сенгера (1953 г) по установлению аминокислотной последовательности инсулина

2 этап: начало 70-х годов 20 века
Применение автоматического секвенатора

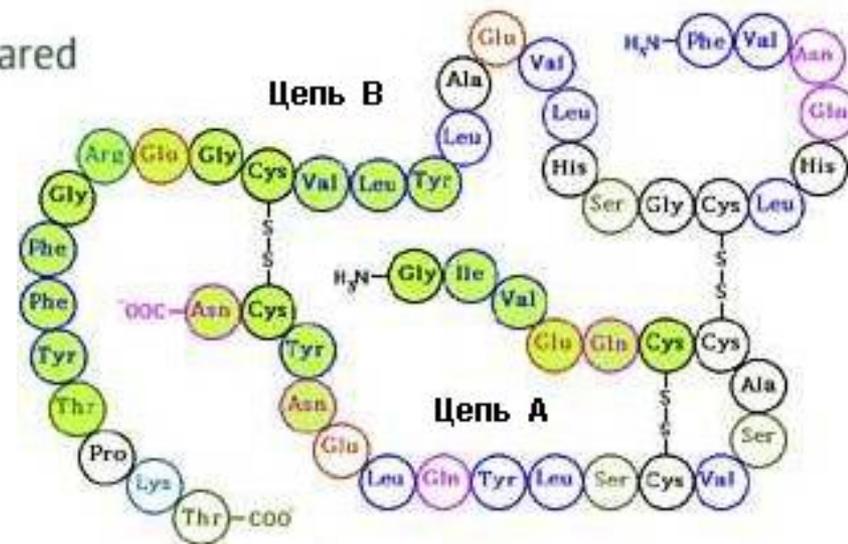
3 этап: начало 80-х годов 20 века
Разработка скоростных методов анализа нуклеотидной последовательности ДНК



Первичная структура белка:



MyShared



Инсулин

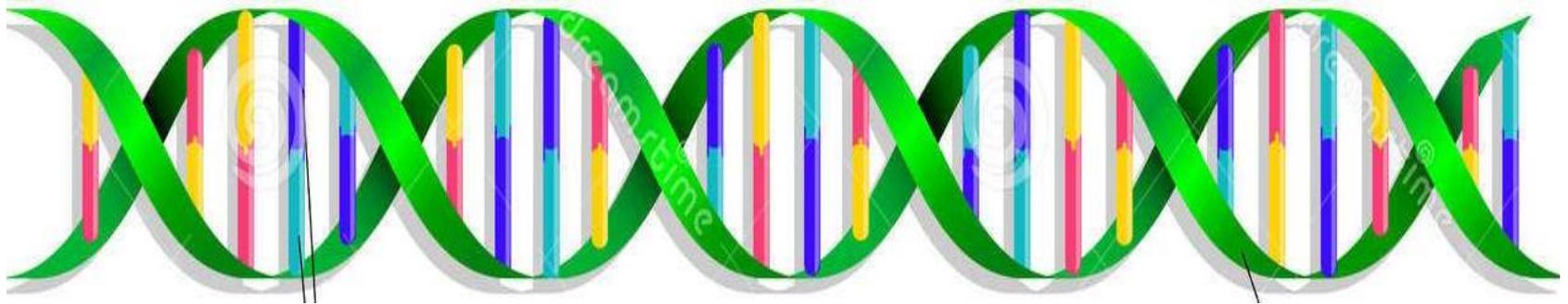
Первичная структура белка определяется:

Природой входящих в молекулу аминокислот.

Относительным количеством каждой аминокислоты.

Строго определенной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи.

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



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»

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 первичной структуры белков

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

Методы избирательного и неполного гидролиза белка

1. **Бромциан (CNBr) – вызывает гидролиз по остаткам метионина**
2. **Гидроксиламин – по связям между Асп и Гли**
3. **Пепсин – по связям между Фен, Тир и Глу**
4. **Трипсин – между Арг и Лиз**
5. **Химотрипсин – между Три, Тир и Фен**

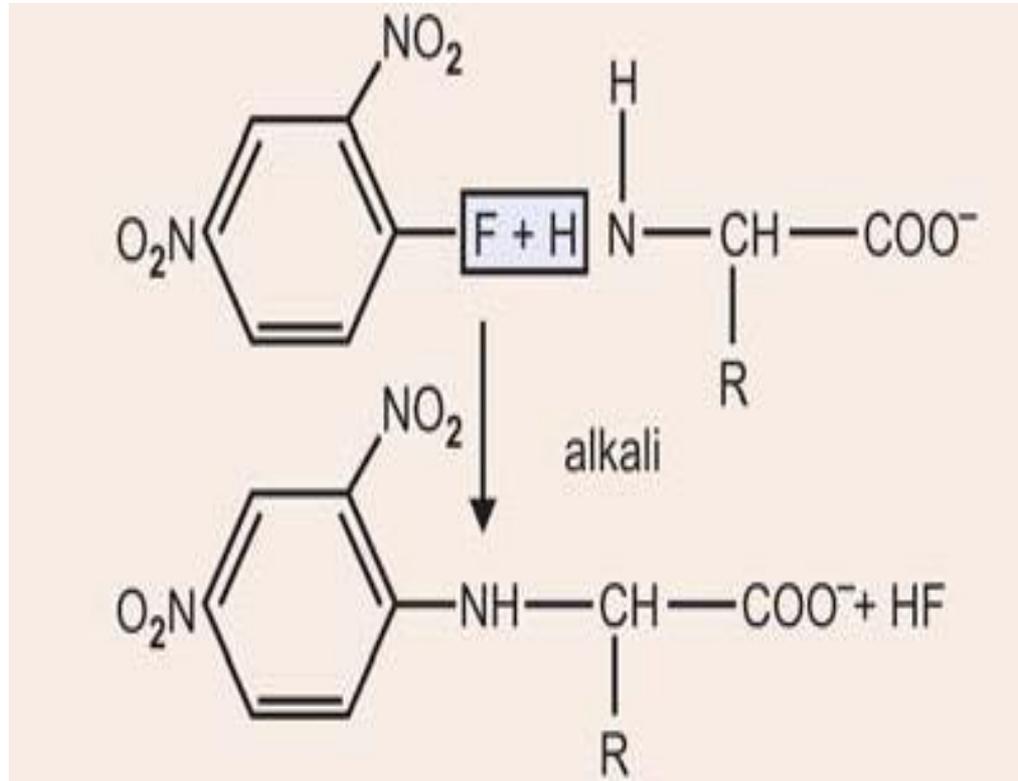
Методы определения N-концевых аминокислот

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

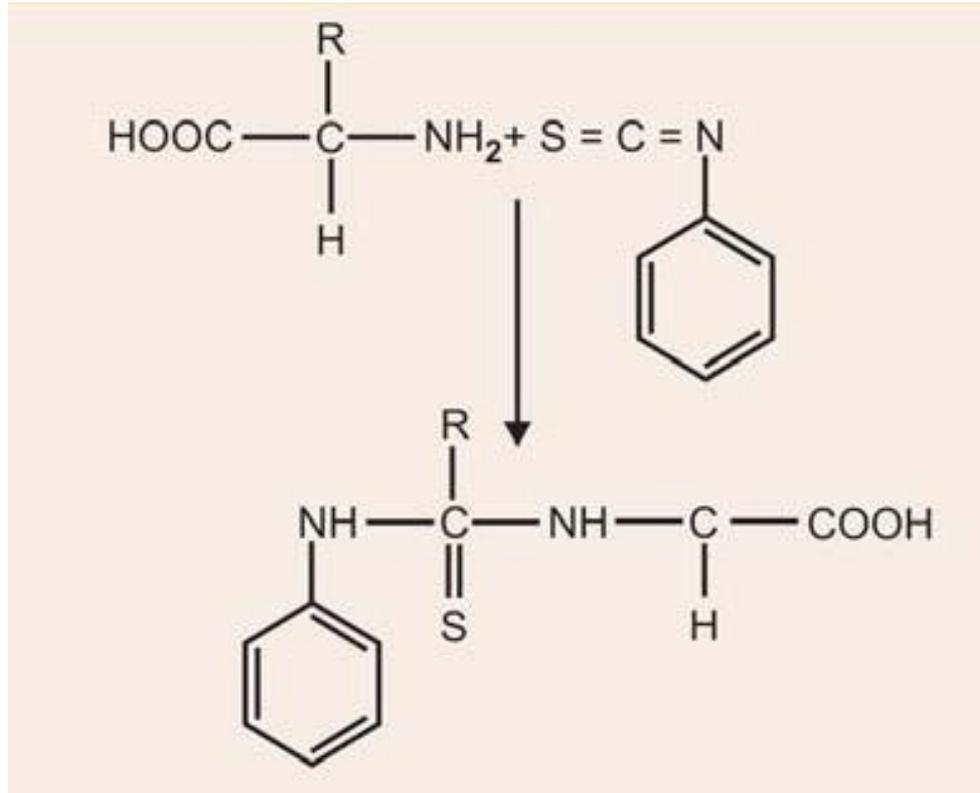
Методы определения C-концевых аминокислот

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

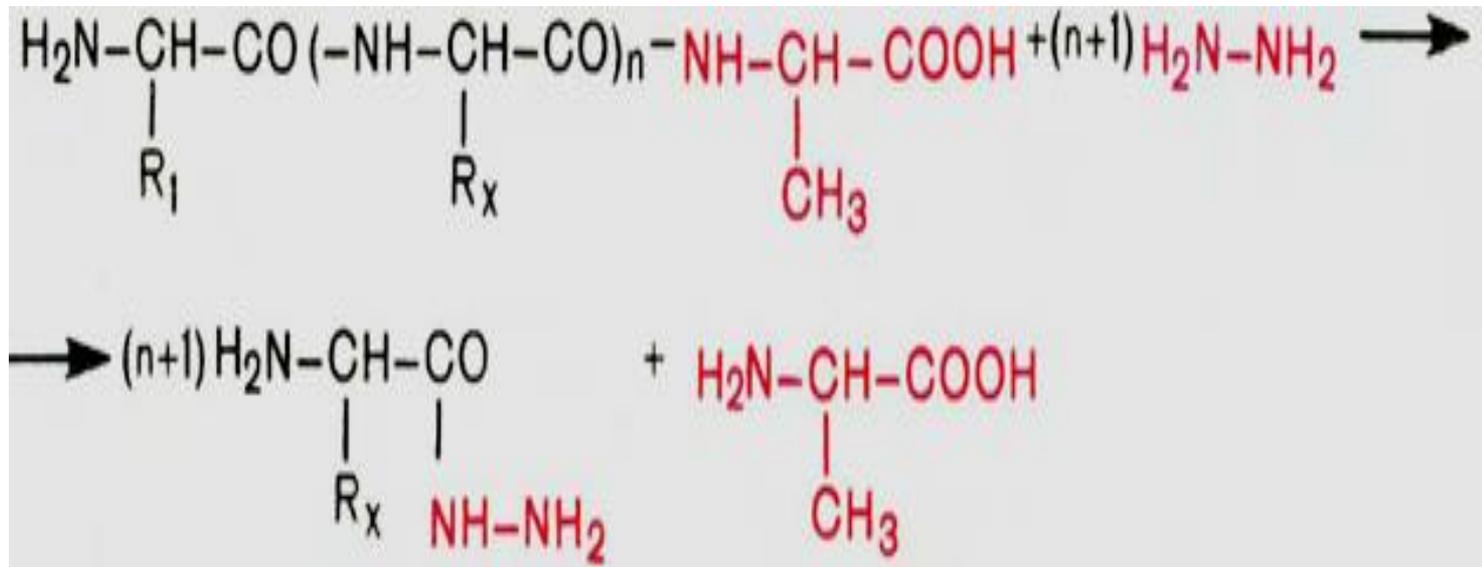
Метод Сенгера



Метод Эдмана



Метод Акабори



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:

- ✓ **α – спираль**
- ✓ **Складчатый лист (β -структура)**
- ✓ **Статистический клубок**

Первые две разновидности представляют собой упорядоченное расположение, третья – неупорядоченное

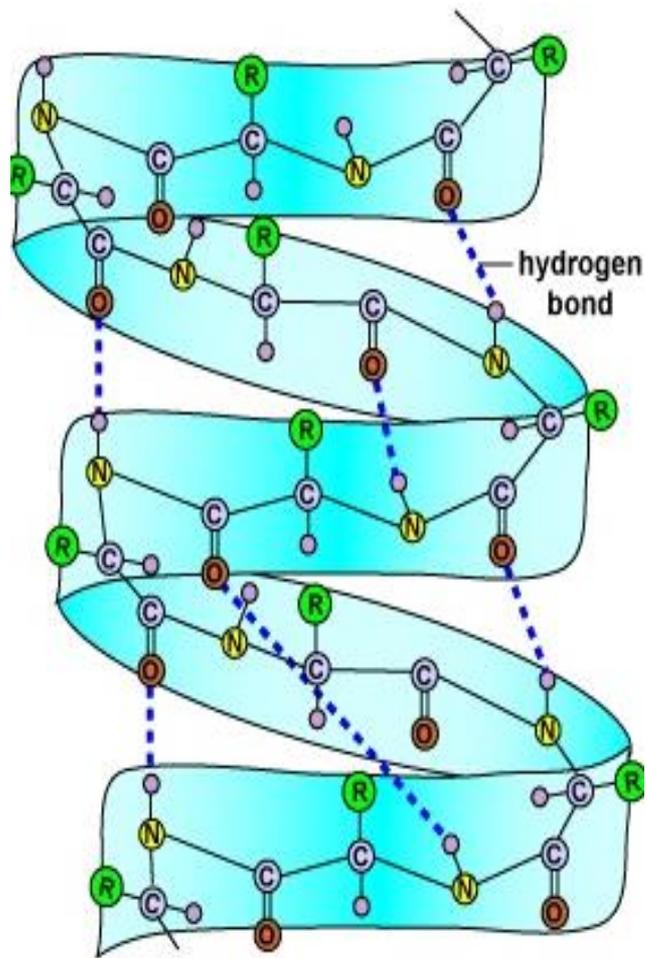
**Возможна определённая
ввариабельность
последовательности
аминокислот в цепи**

**от 20% до 30% белков
в человеческой популяции**

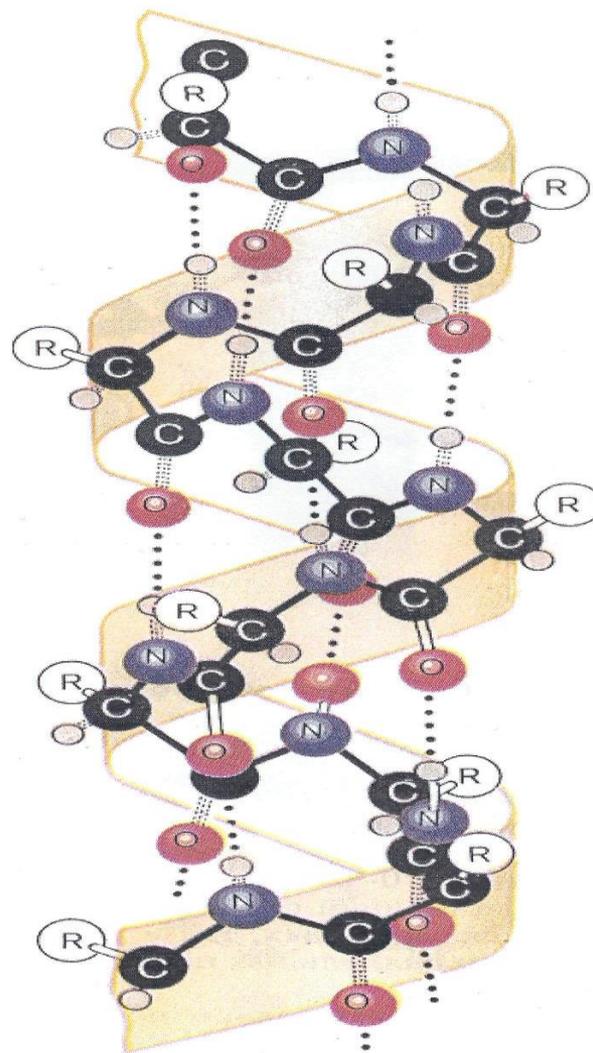
полиморфны !!!

Движущей силой в возникновении α -спиралей и β -структур является способность аминокислот к образованию водородных связей.

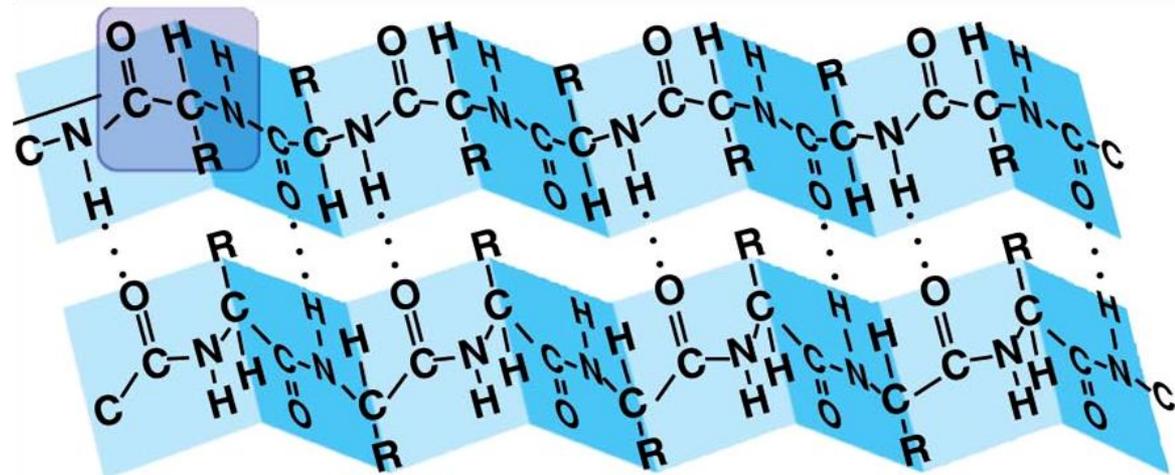
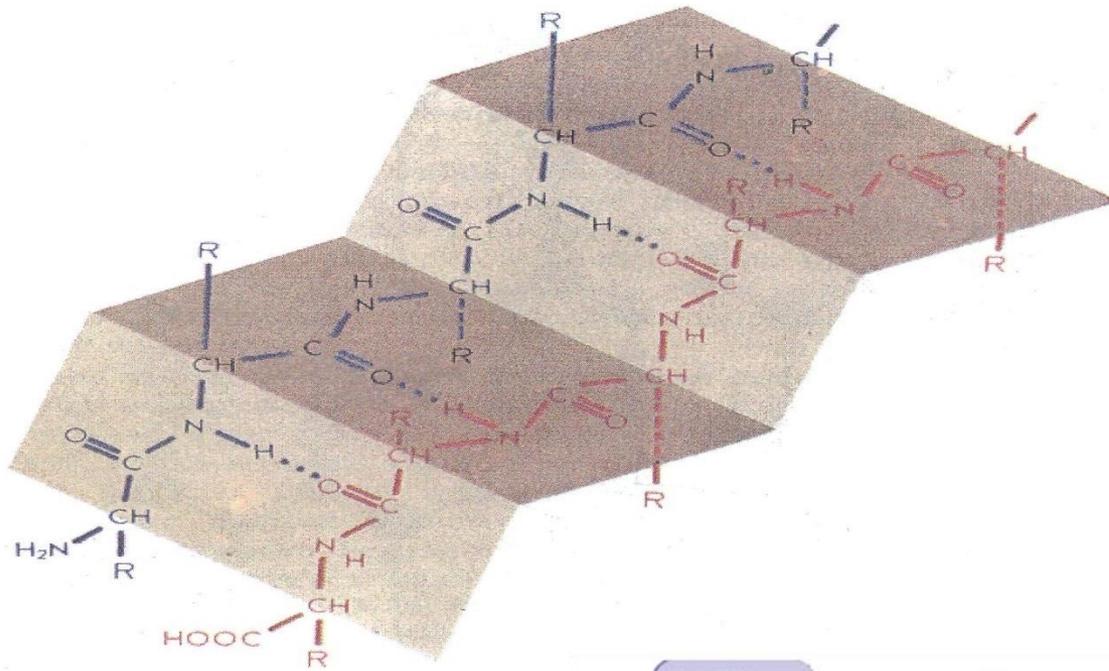
Стабильность II структуры белка в основном обеспечивается водородными связями. Определенный вклад в стабилизацию II структуры вносят главновалентные связи – пептидные и дисульфидные.



СПИРАЛЬНАЯ КОНФОРМАЦИЯ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ



КОНФОРМАЦИЯ β -СКЛАДЧАТОГО ЛИСТА



СТЕПЕНЬ α -СПИРАЛИЗАЦИИ

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

ПО НАЛИЧИЮ α -СПИРАЛЕЙ И β -СТРУКТУР ГЛОБУЛЯРНЫЕ БЕЛКИ МОЖНО РАЗДЕЛИТЬ НА 4 КАТЕГОРИИ:

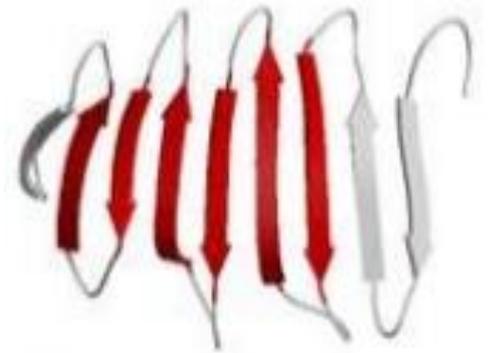
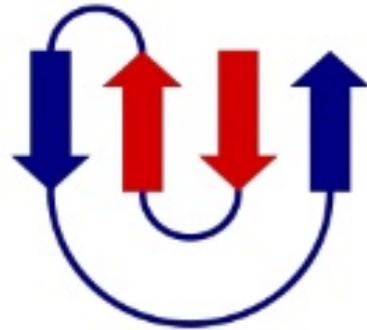
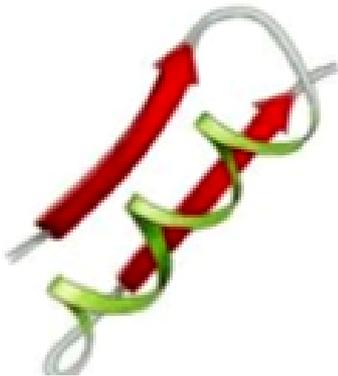
- 1. Белки, в структуре которых обнаружена только α -спираль – миоглобин, гемоглобин.**
- 2. Белки с α -спиралями и β -структурами (лактатдегидрогеназа, фосфоглицераткиназа).**
- 3. Белки, имеющие только β -структуру (иммуноглобулины, супероксиддисмутаза).**
- 4. Белки, имеющие в своем составе лишь незначительное 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 β -бочонка (триозофосфатизомераза, пируваткиназа).**
- 2. Структурный мотив « α -спираль – поворот – α -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 застёжки молнии». (Гистоны).**



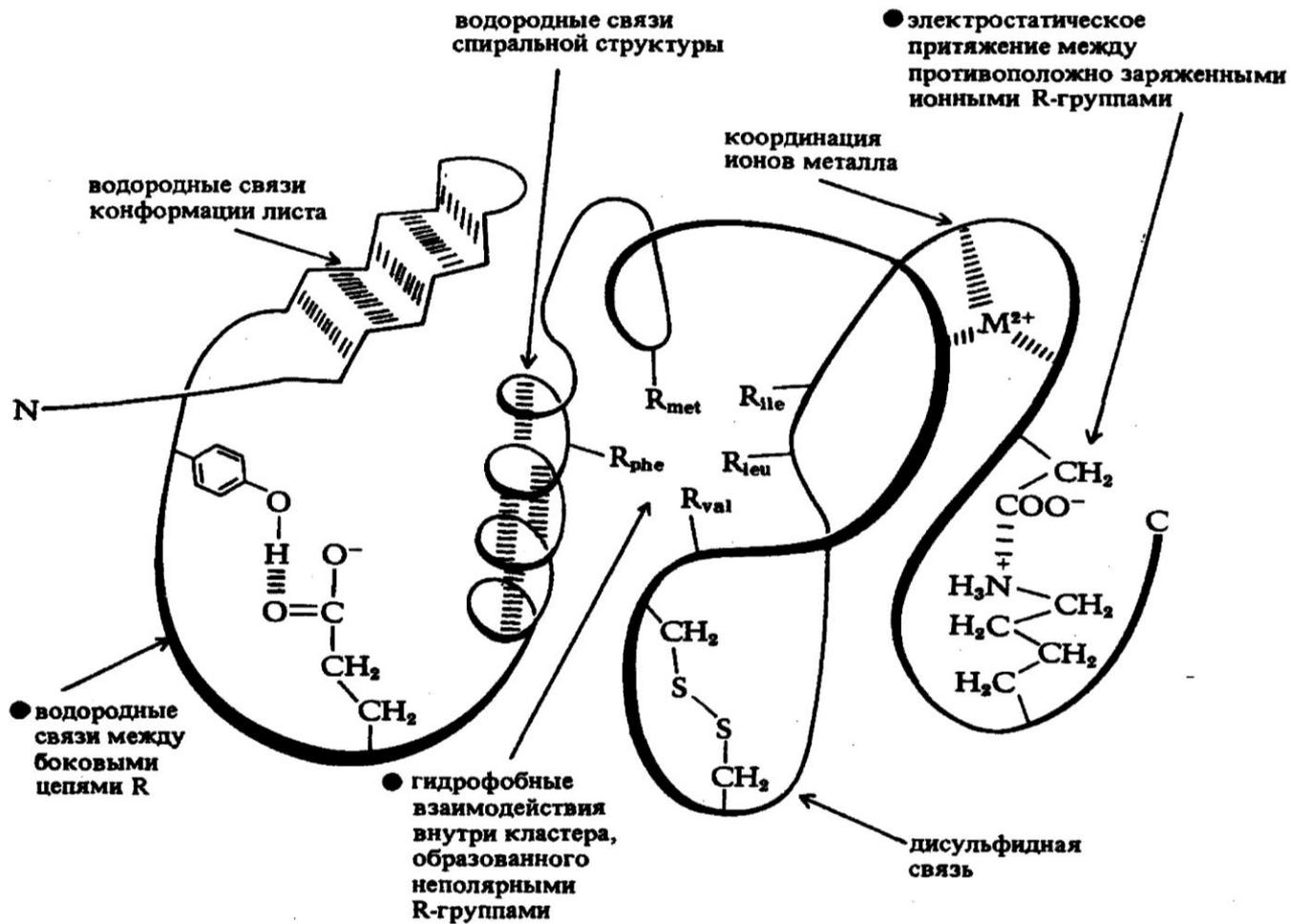
Третичная структура белка –
пространственная ориентация
полипептидной цепи или способ ее
укладки в определенном объеме.

В зависимости от формы III структуры различают глобулярные и фибриллярные белки. В глобулярных белках чаще преобладает α -спираль, фибриллярные белки образуются на основе β -структуры.

Связи, стабилизирующие III структуру глобулярного белка:

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

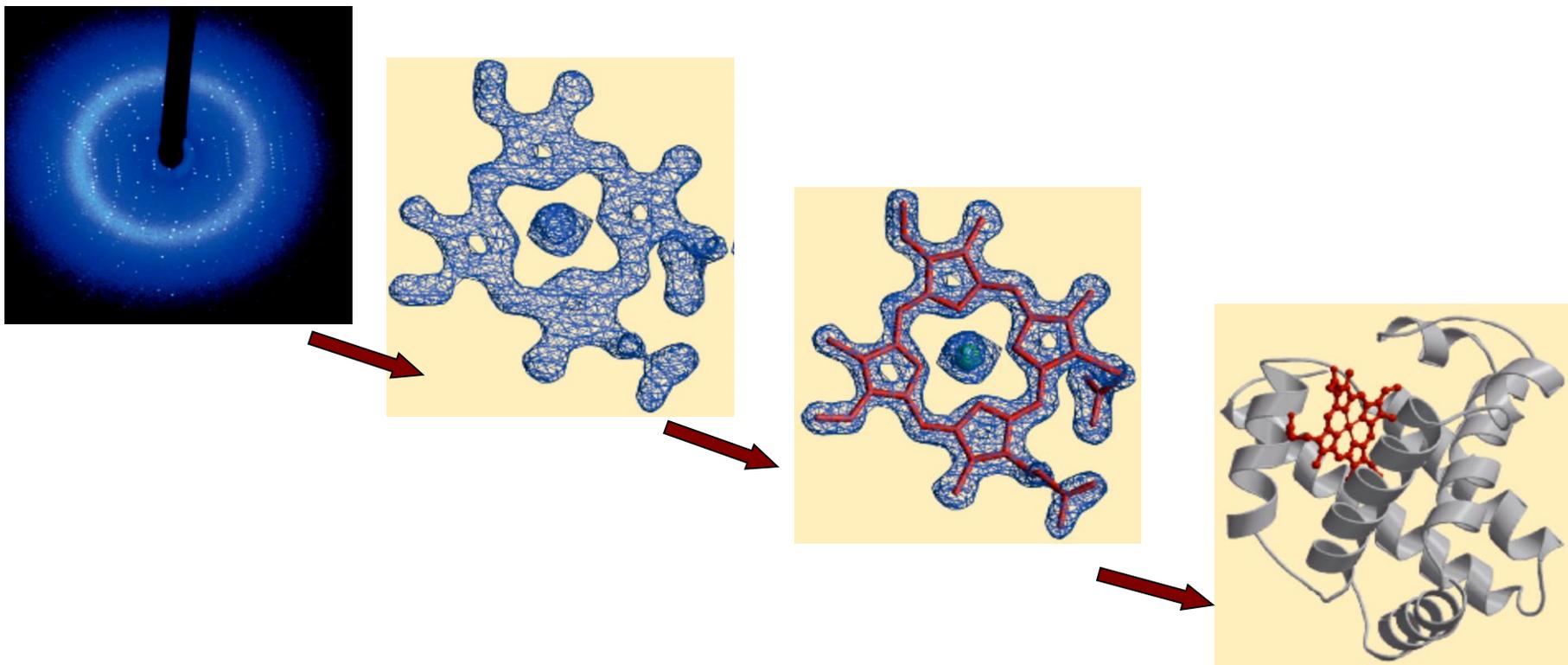
ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА ГЛОБУЛЯРНОГО БЕЛКА



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 рефлексы регистрируют от одного образца под разными углами облучения рентгеновскими лучами, а затем с помощью компьютерной обработки моделируют структуру молекулы белка.

1. Рентгеноструктурный анализ



2. Ядерный магнитный резонанс

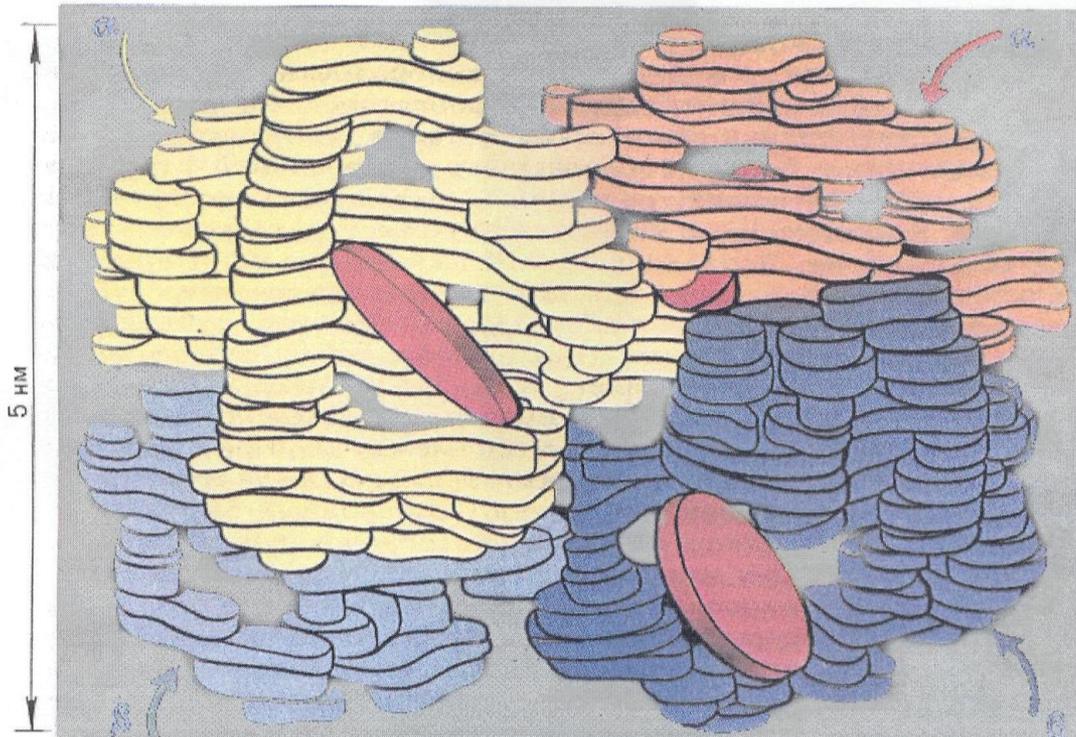
Четвертичная структура белка – способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или различной) I, II и III структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношениях макромолекулярного образования.

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)

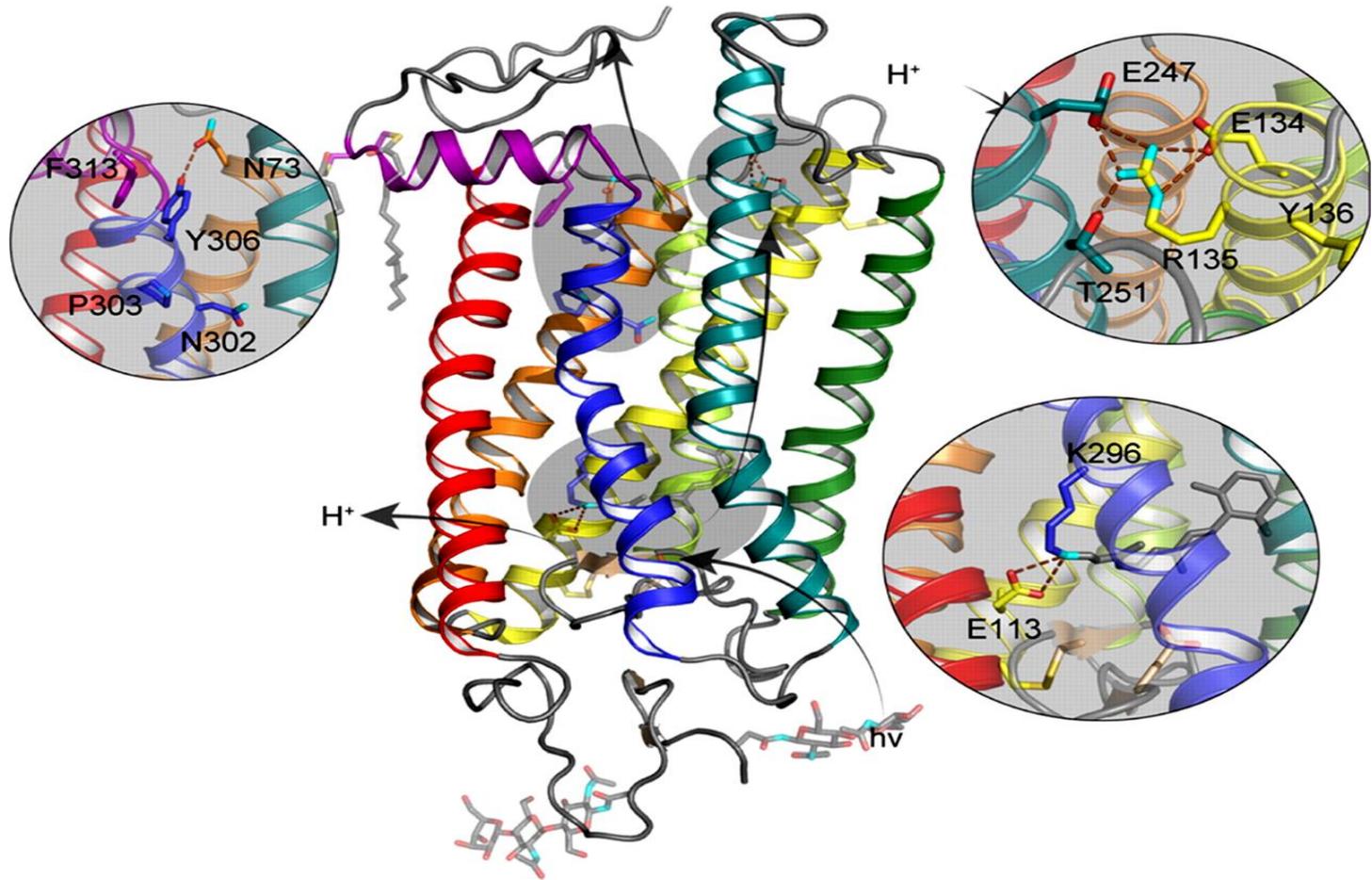
ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА ОКСИГЕМОГЛОБИНА

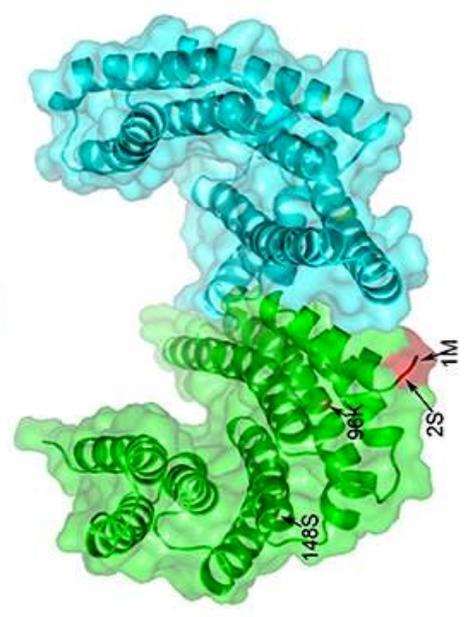
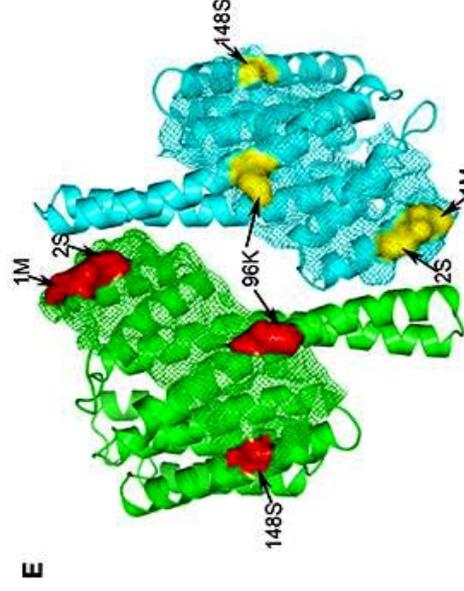
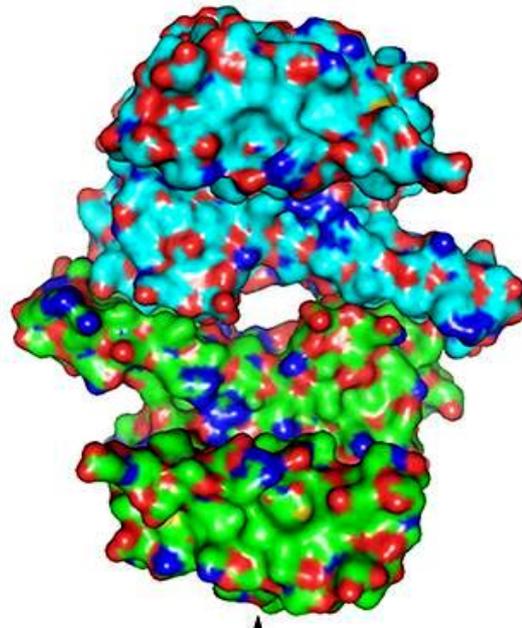
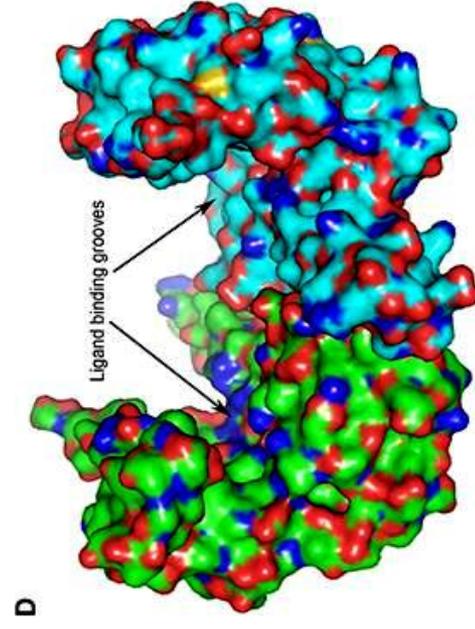
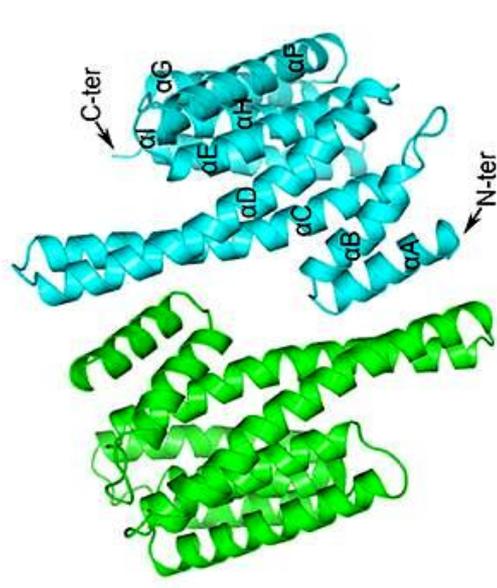
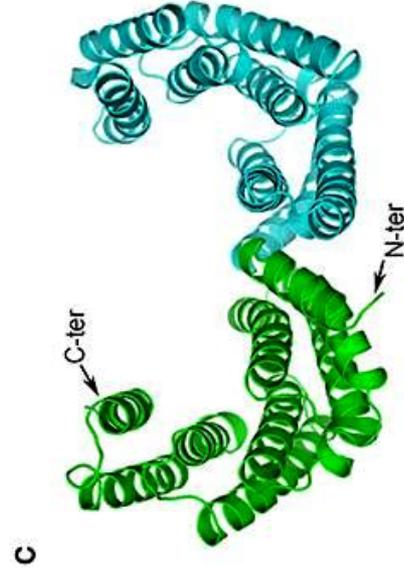
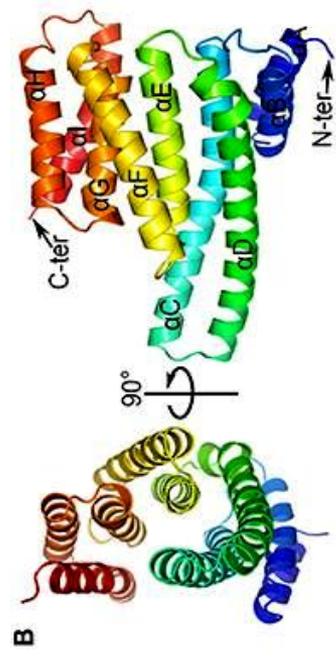
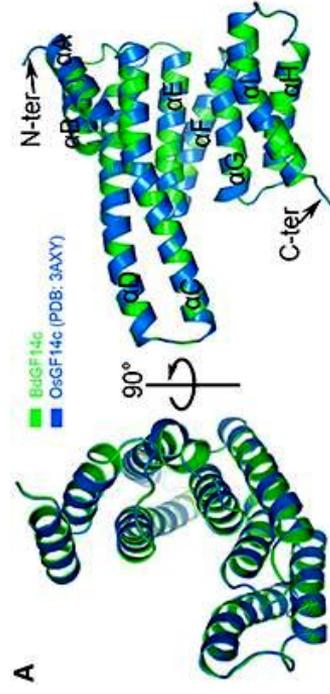


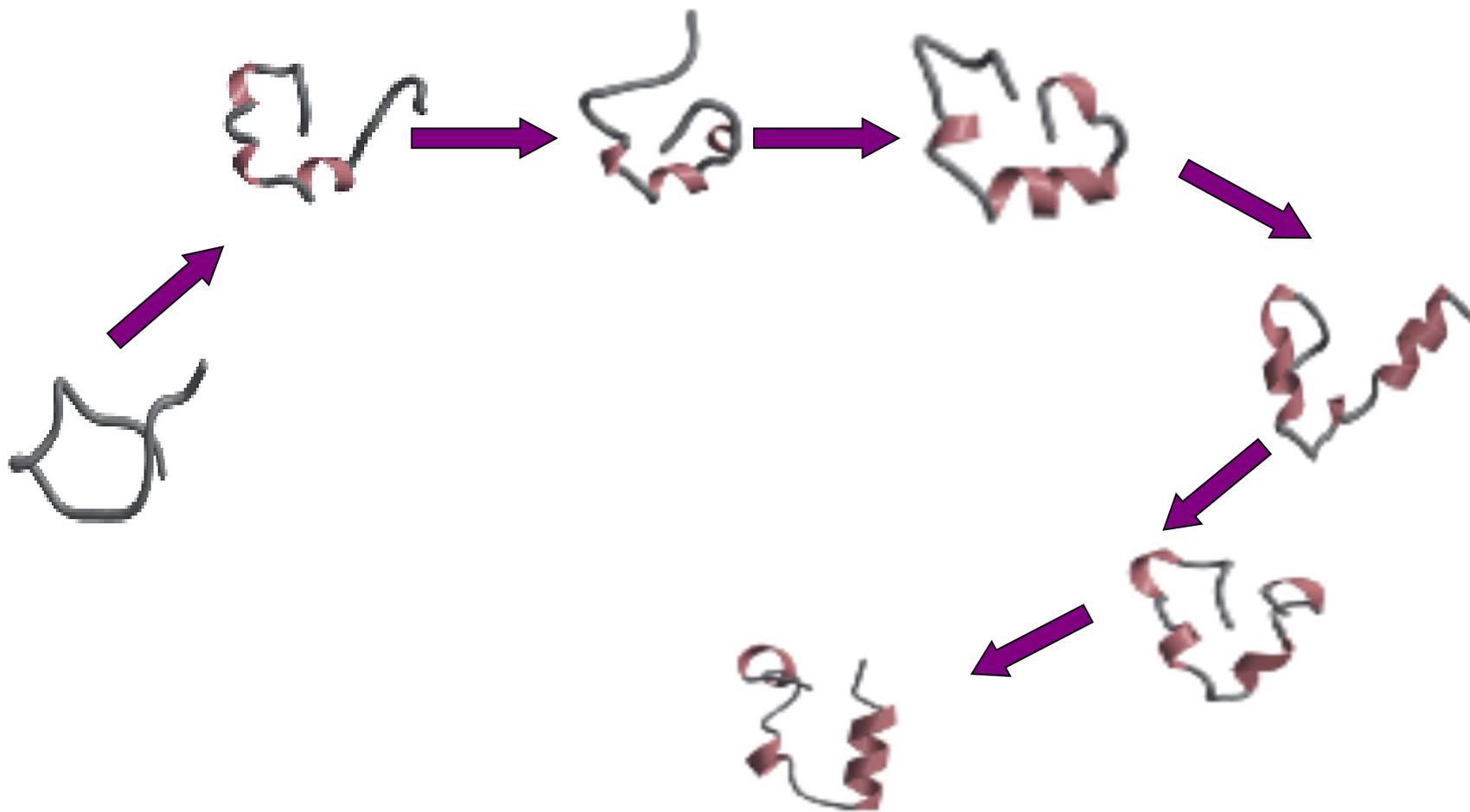
Преимущества субъединичного строения белков:

- 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**

Protein Data Bank (PDB).







Фолдинг белка

