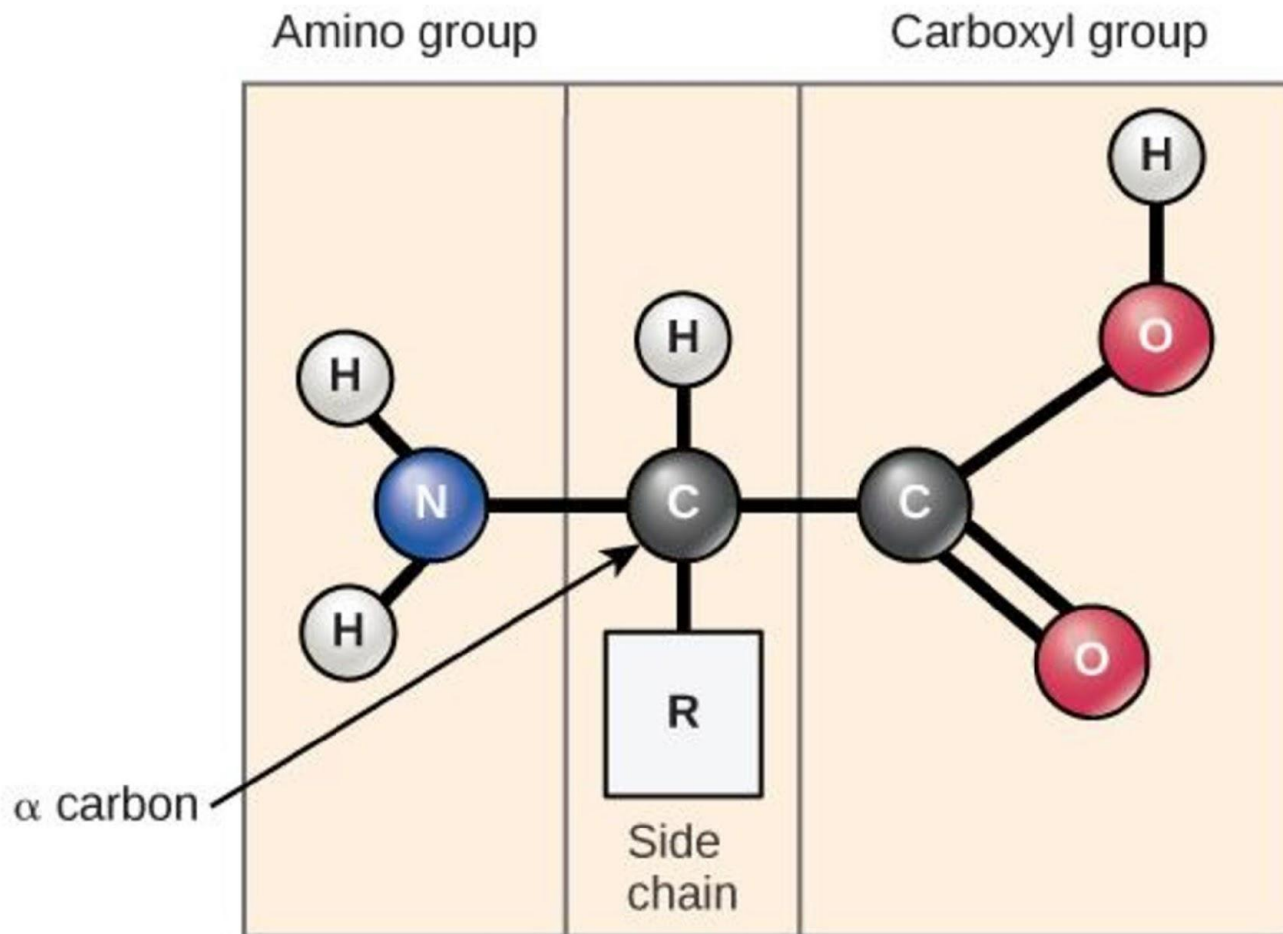


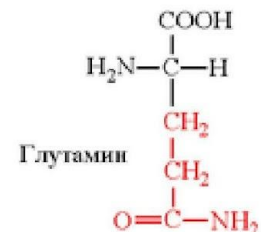
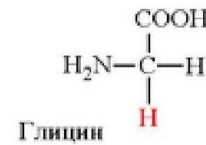
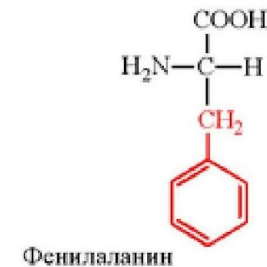
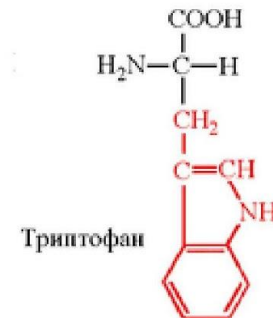
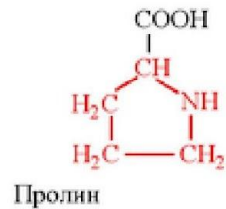
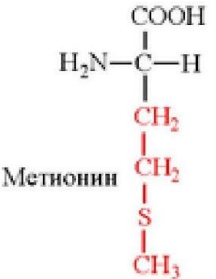
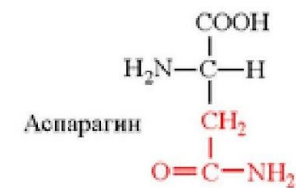
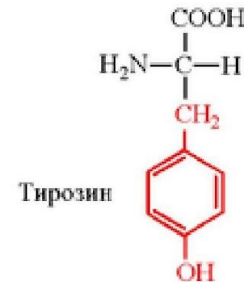
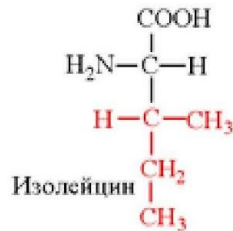
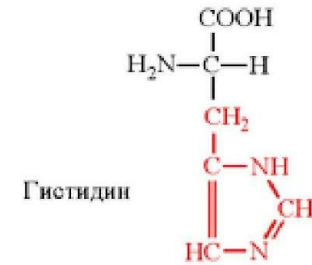
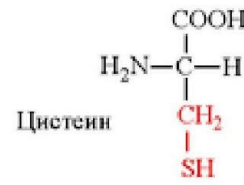
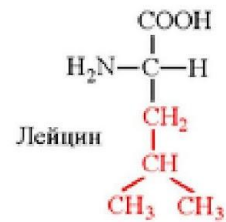
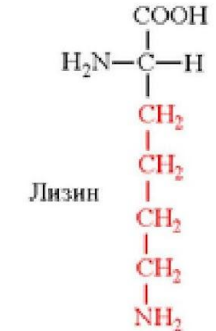
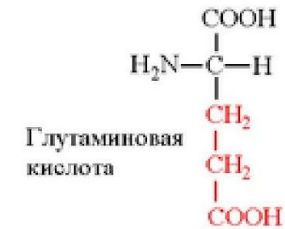
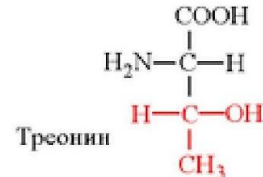
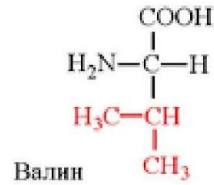
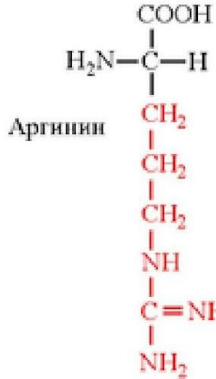
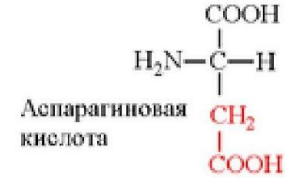
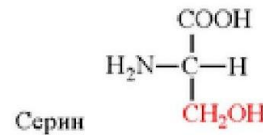
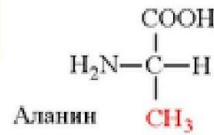
# Часть 1. *Состав белков*

# Структура аминокислоты



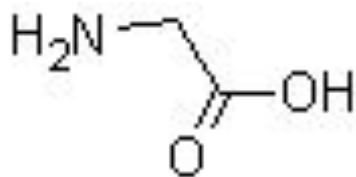
# Аминокислоты

В геноме человека кодируется 20 аминокислот

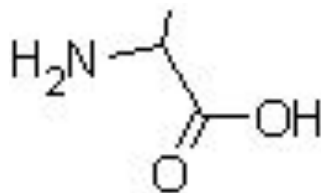


# Классификация аминокислот

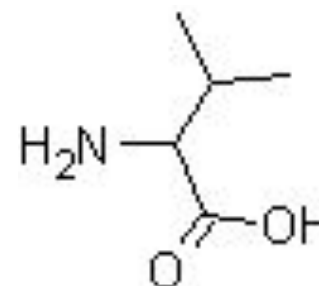
- Неполярные, или алифатические



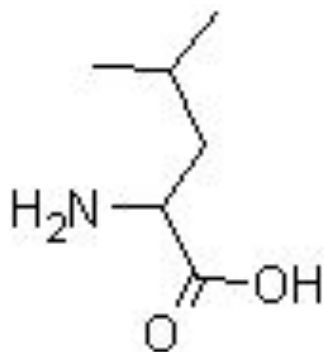
глици  
н



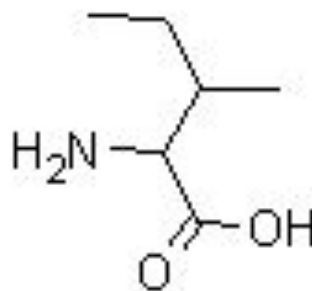
алани  
н



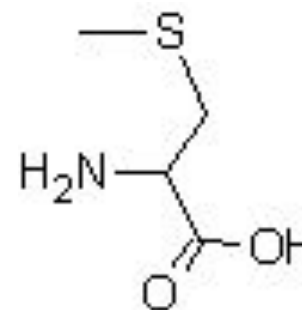
вали  
н



лейци  
н



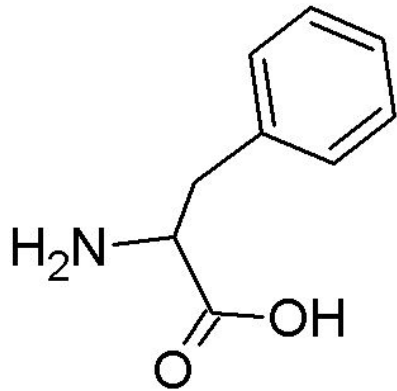
изолейци  
н



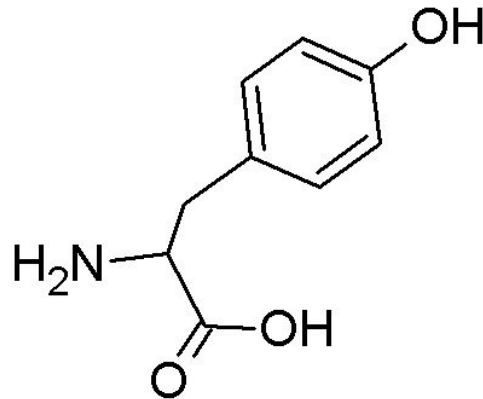
метиони  
н



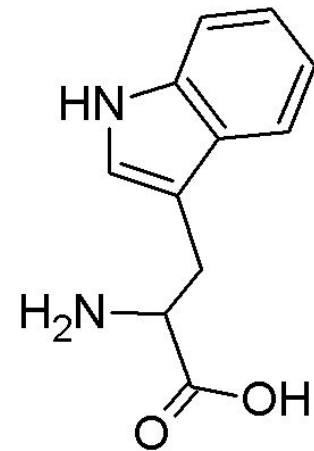
# Ароматические



фенилalani  
H

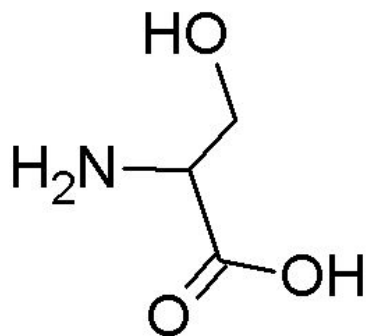


тирози  
H

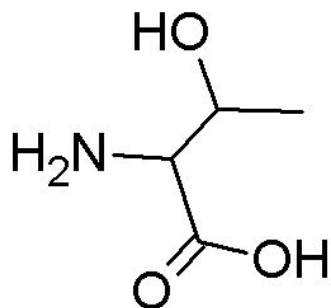


триптофа  
H

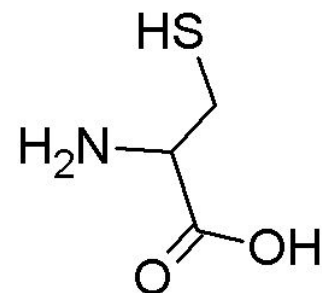
# Полярные незаряженные



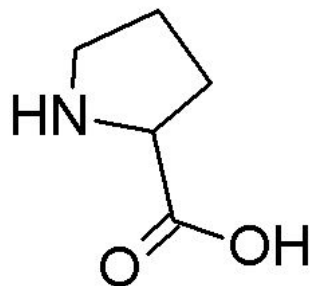
серин



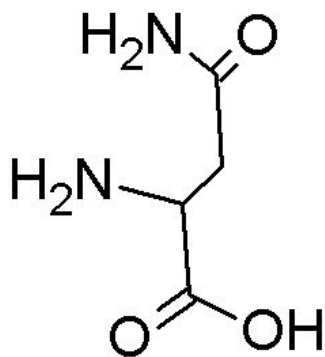
треони  
н



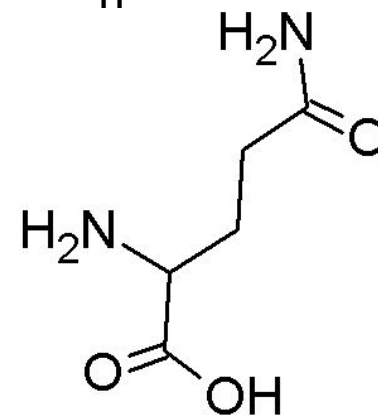
цистеи  
н



проли  
н

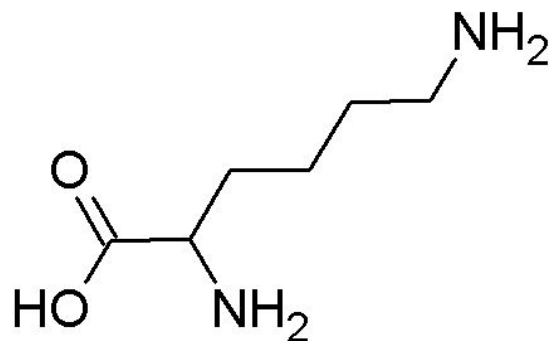


аспараги  
н

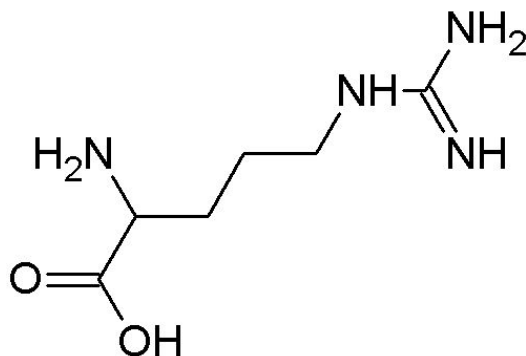


глутами  
н

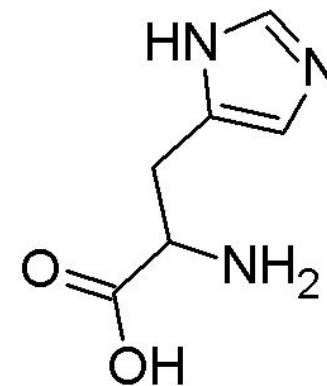
# Положительно заряженные



ЛИЗИН

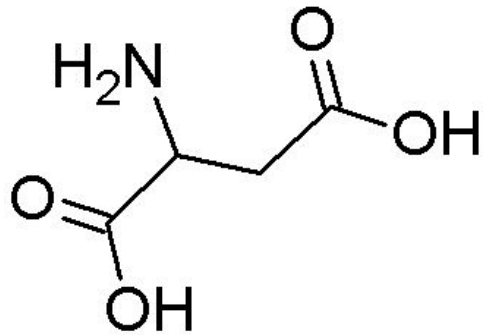


аргини  
н

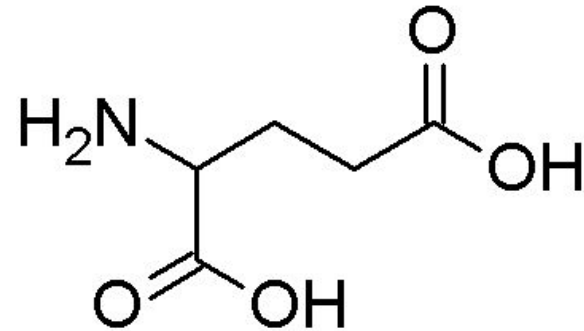


ГИСТИДИ  
н

# Отрицательно заряженные

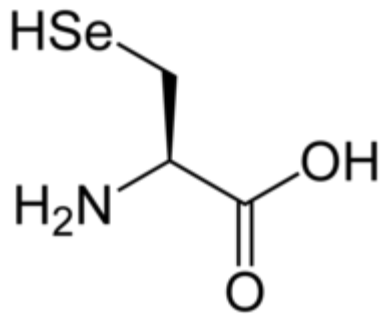


аспарагиновая  
кислота

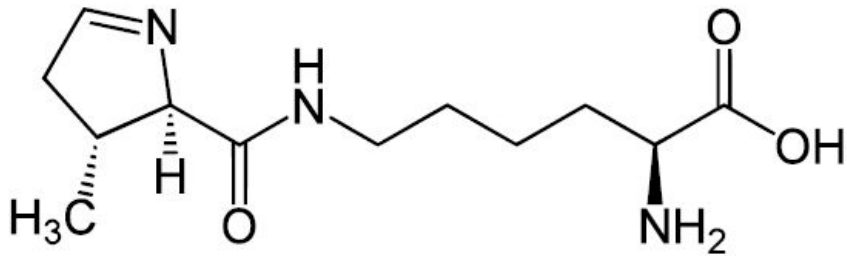


глутаминовая  
кислота

# Неканонические аминокислоты

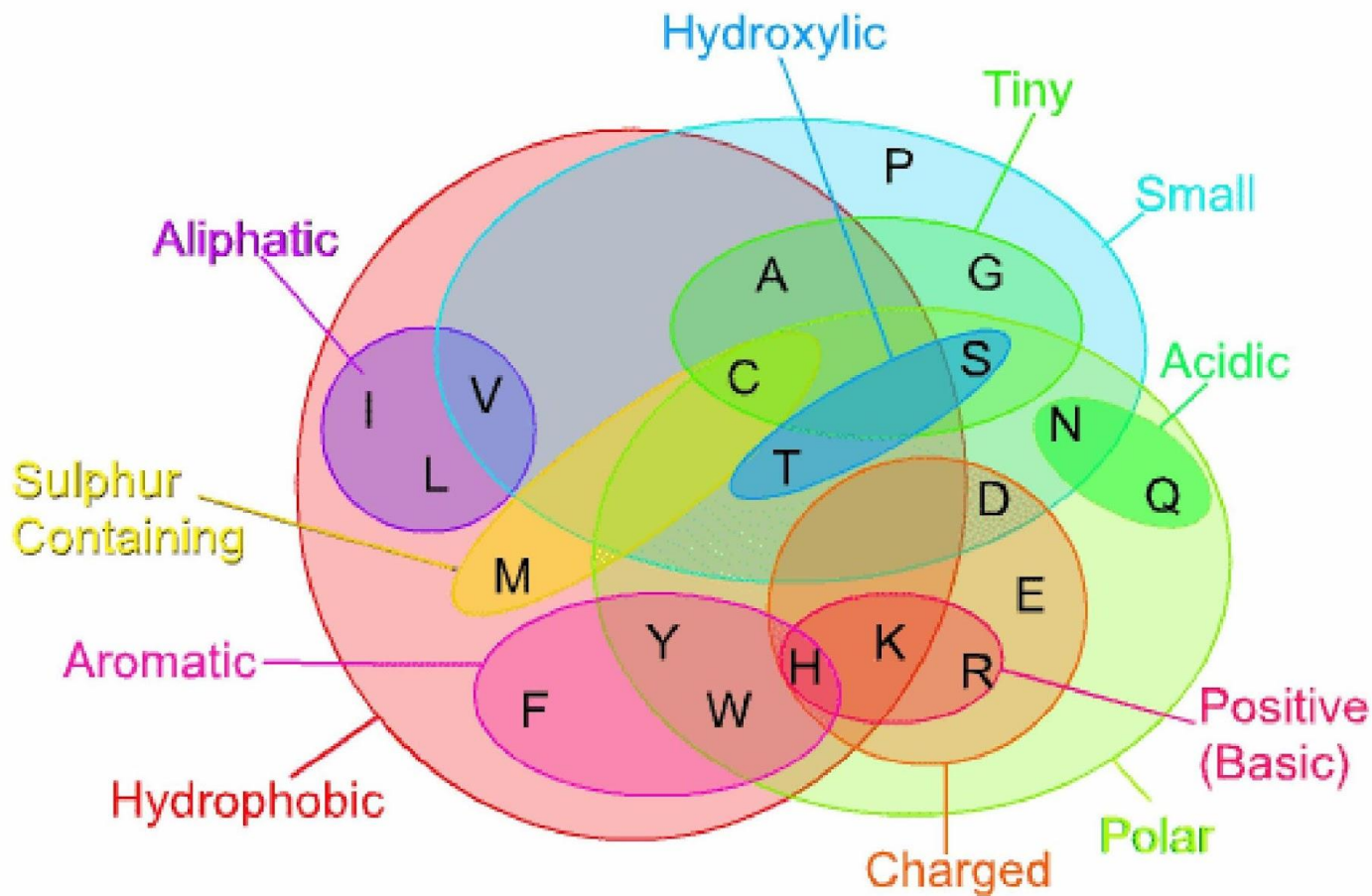


- **Селеноцистеин (Sec)** – 21-я аминокислота, входит в состав селенобелков, кодируется особым образом



- **Пирролизин (O)** 22-я аминокислота, обнаружена только у археобактерий

# Классификация аминокислот

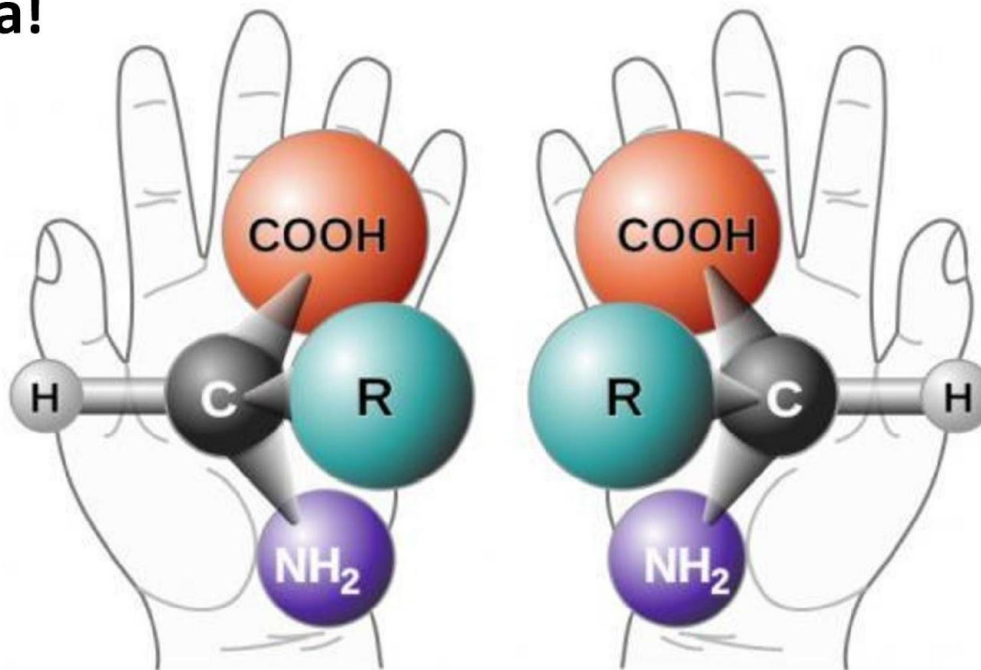


## Amino Acids

- A alanine (ala)
- R arginine (arg)
- N asparagine (asn)
- D aspartic acid (asp)
- C cysteine (cys)
- Q glutamine (gln)
- E glutamic acid (glu)
- G glycine (gly)
- H histidine (his)
- I isoleucine (ile)
- L leucine (leu)
- K lysine (lys)
- M metioneine (met)
- F phenalanine (phe)
- P proline (pro)
- S serine (ser)
- T threonine (thr)
- W tryptophan (trp)
- Y tyrosine (tyr)

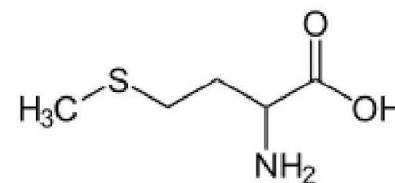
# Оптические свойства аминокислот

Только L форма!



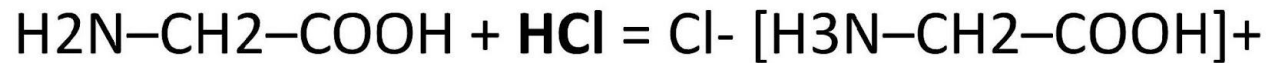
**Рацемизация** — преобразование оптически активного вещества или смеси, где присутствует только один энантиомер, в смесь, содержащую более одного энантиомера.

Исключение метионин

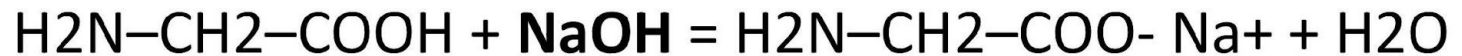


# Химические свойства аминокислот

Аминокислоты являются **амфотерными** соединениями.  
Могут действовать как **основание**



Так и как **кислота**:



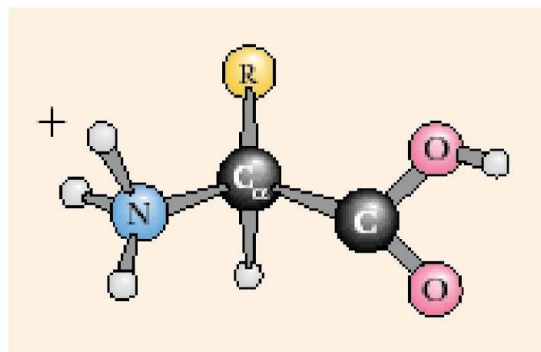
Однако находясь в полипептидной цепи, их свойства определяются группами боковых радикалов.



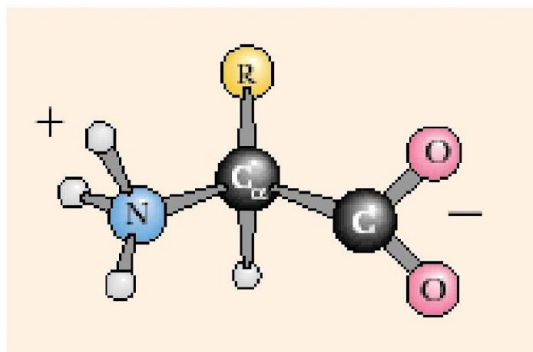
# Химические свойства аминокислот

## Кислотно-основные свойства

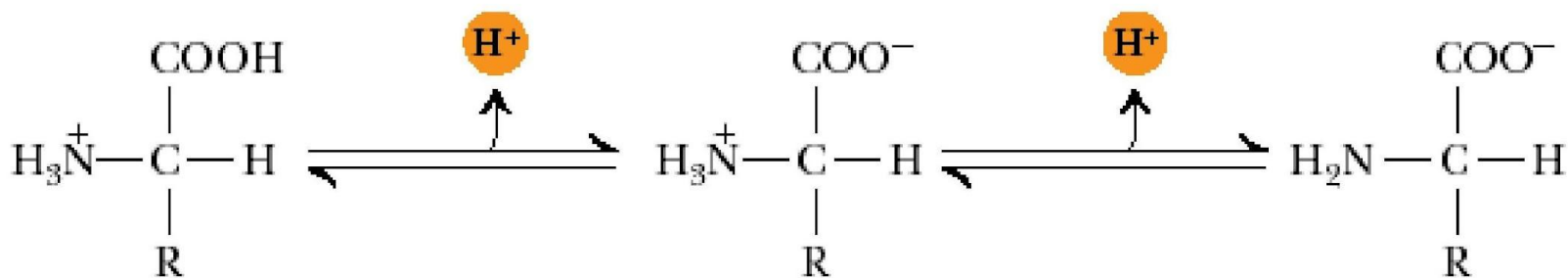
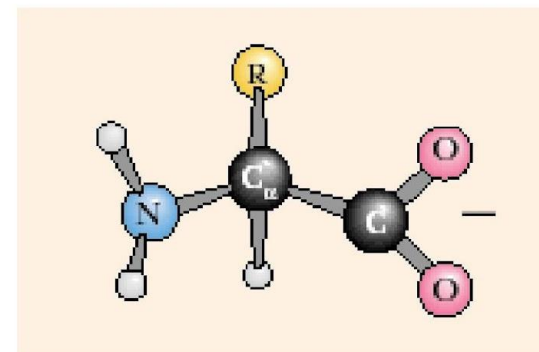
pH 1 Заряд +1



pH 7 Заряд 0



pH 13 Заряд -1

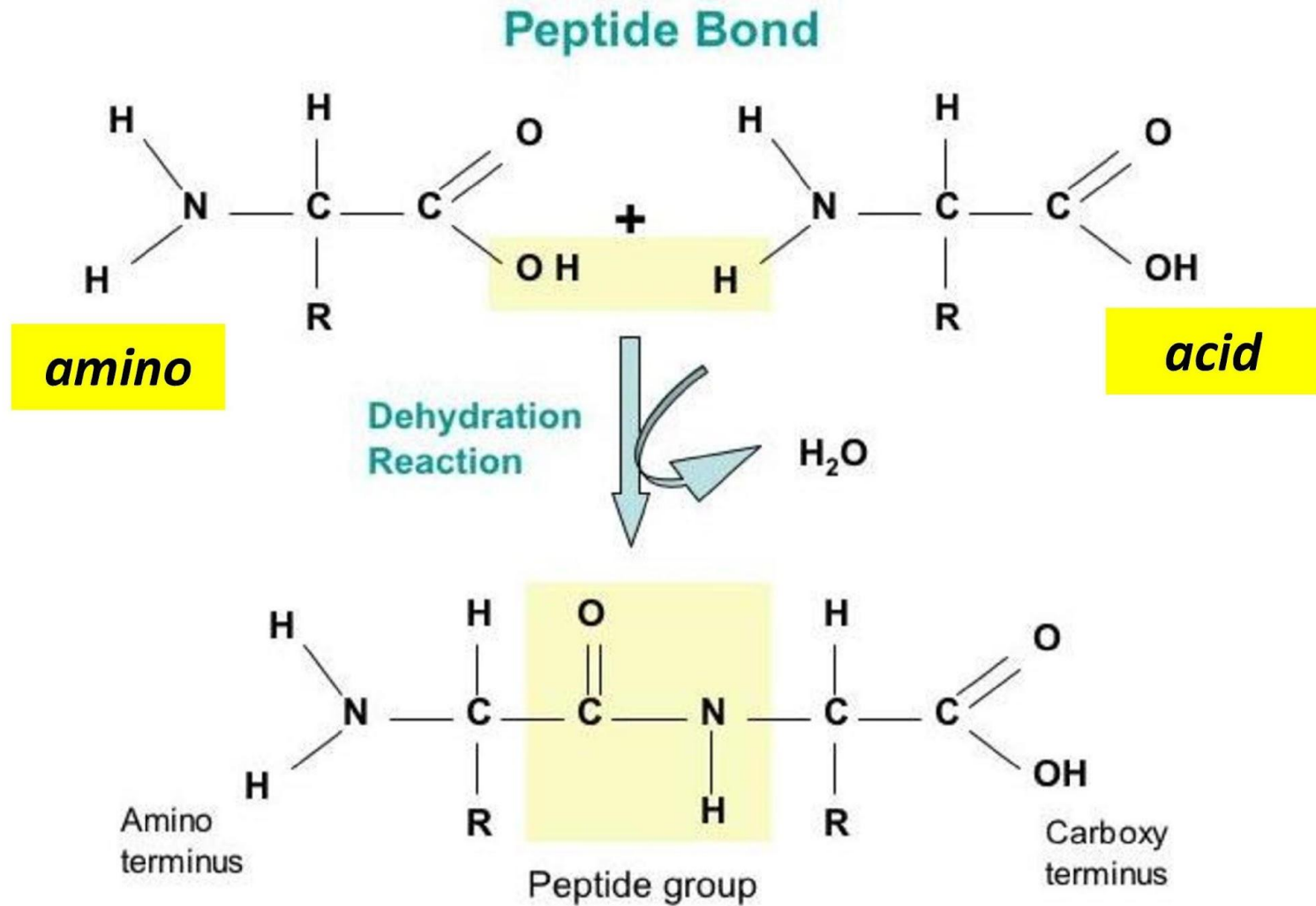


Катионная форма

Цвиттерин (нейтральный)

Анионная форма

# Химические свойства аминокислот



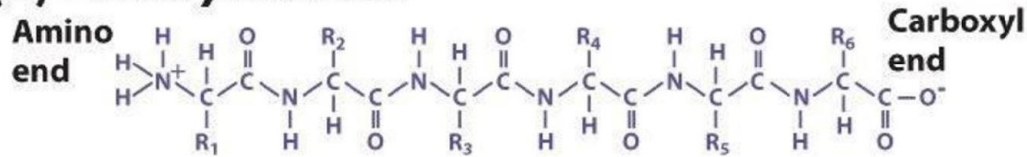
# Аминокислоты, названия

Глицин	Gly	G	Glycine	Гли
Аланин	Ala	A	Alanine	Ала
Валин	Val	V	Valine	Вал
Изолейцин	Ile	I	Isoleucine	Иле
Лейцин	Leu	L	Leucine	Лей
Пролин	Pro	P	Proline	Про
Серин	Ser	S	Serine	Сер
Треонин	Thr	T	Threonine	Тре
Цистеин	Cys	C	Cysteine	Цис
Метионин	Met	M	Methionine	Мет
Аспарагиновая кислота	Asp	D	asparDic acid	Асп
Аспарагин	Asn	N	asparagiNe	Асн
Глутаминовая кислота	Glu	E	gluEtamic acid	Глу
Глутамин	Gln	Q	Q-tamine	Глн
Лизин	Lys	K	before L	Лиз
Аргинин	Arg	R	aRginine	Арг
Гистидин	His	H	Histidine	Гис
Фенилаланин	Phe	F	Fenylalanine	Фен
Тирозин	Tyr	Y	tYrosine	Тир
Триптофан	Trp	W	tWo rings	Три

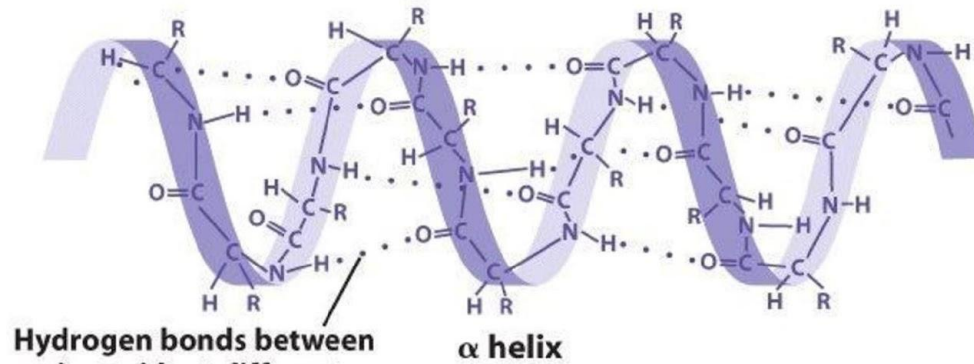
## Часть 2. *Структура белков*

# Уровни организации структуры белков

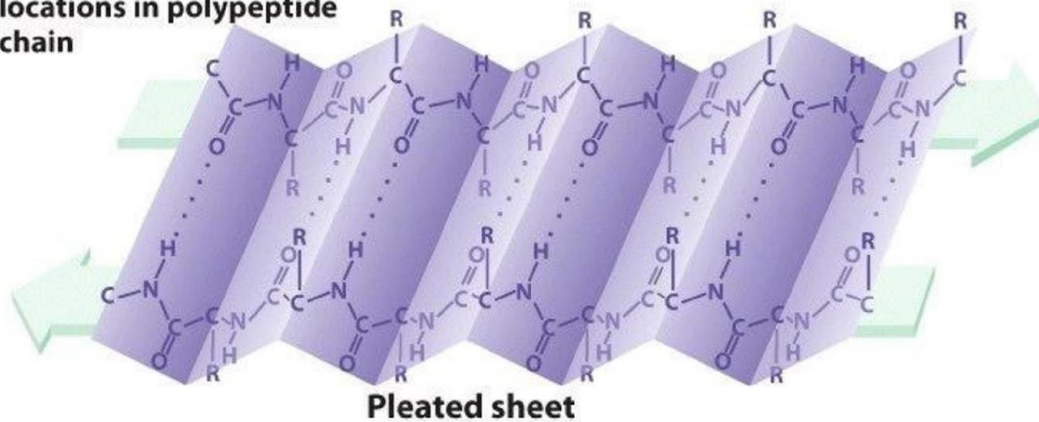
## (a) Primary structure



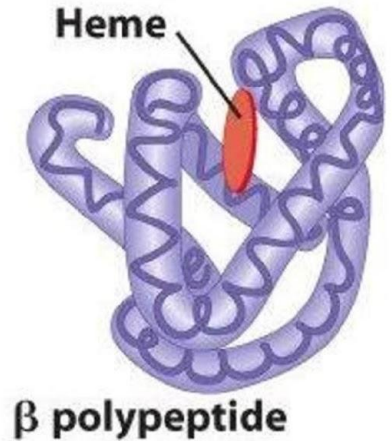
## (b) Secondary structure



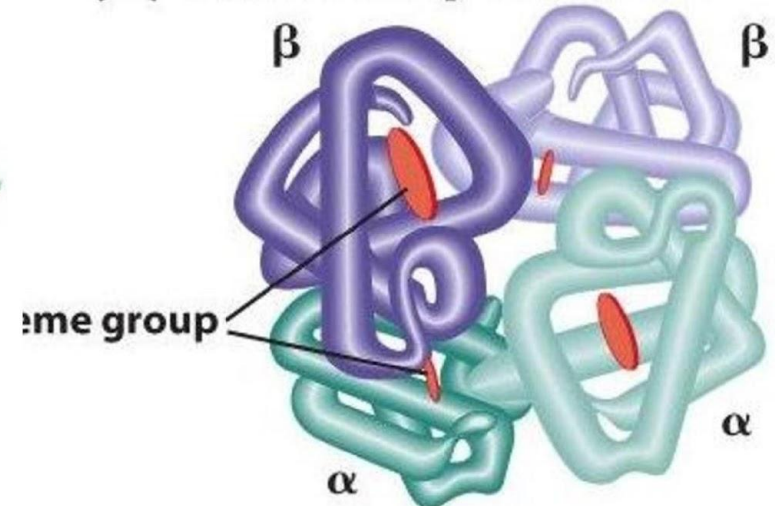
Hydrogen bonds between amino acids at different locations in polypeptide chain



## (c) Tertiary structure



## (d) Quaternary structure





# История установления структуры белка

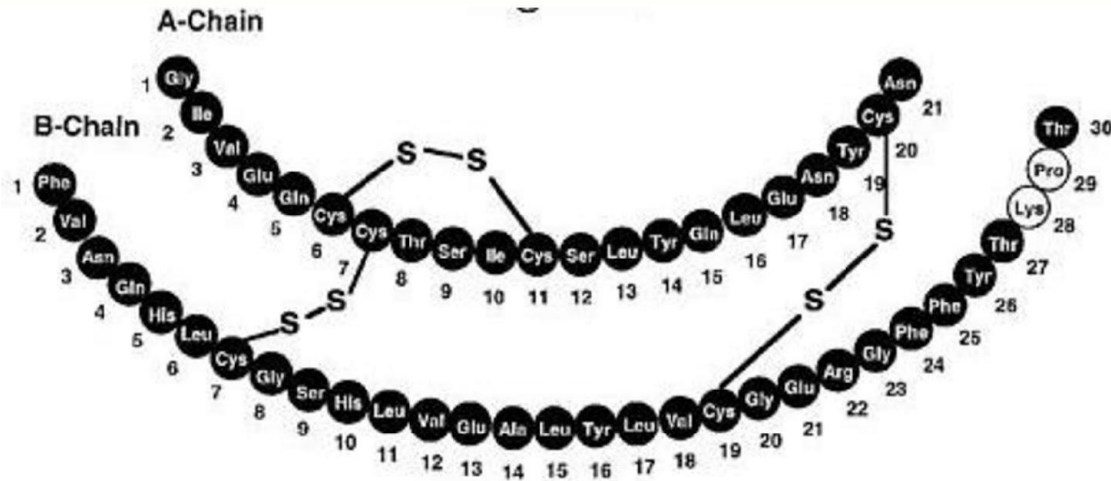
**Первичная структура белка** - это последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи



В 1958 г. С. была присуждена Нобелевская премия по химии *«за установление структур белков, особенно инсулина»*

**Фредерик Сенгер**

# История установления структуры белка

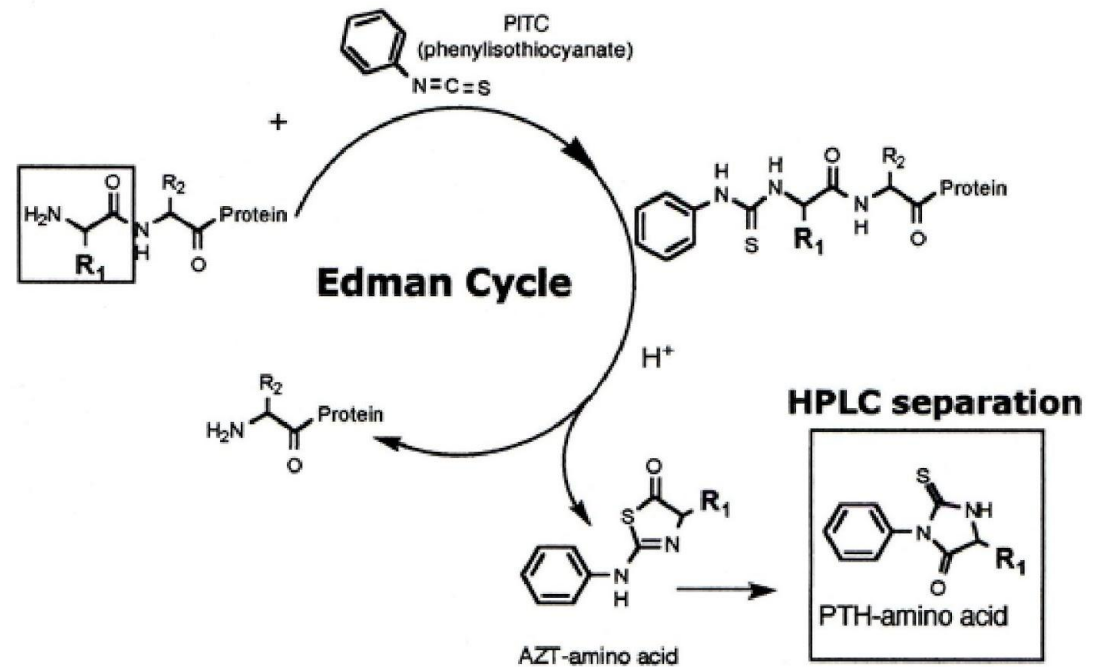


- В 1945г Сенгер разработал гидролиз белка в мягких щелочных условиях с динитрофенолом
- Определил, что инсулин содержит две различные N-концевые аминокислоты, следовательно, каждая молекула инсулина состоит из двух видов полипептидных цепей.
- В 1949г Сенгер открыл способ разрушения дисульфидных мостиков связывающих две аминокислотных цепи, тем самым разделил цепи.
- Разбивая цепь с помощью ферментного гидролиза на небольшие пептиды, он с помощью хроматографии определил какие аминокислоты входили в состав белка

# Секвенирование белка = установление первичной структуры

LKANQVQPLNKYPVVFVHGFLGLVGDNAPALYPNYWGGNKFKVIEELR  
KOGYNVHOASVSFAFGSNYDRAVELYYYIKGGRVDYGAHAHAKEYGHER  
YGKTYKGIMPNWEPGKKVHLVGHSMGGOTIRLMEEFLRNGNKEEIAAY  
HKAHGGEISPLFTGGHNNMVASITTLATPHNGSQAADKFGNTEAVRKI  
MFALNRFMGNKYSNIDLGLTQWGFKQLPNESYIDYIKRVSKSKIWTS  
DNAAYDLTLDGSAKLNMMTSMNPNITYTTYTGVSSTGPLGYENPDLGTF  
FLMDTTSRIGHDAREEWRKNDGVVPISSLHPSNQPFVNVVTNDEPATR  
RGIWQVKPIQGWDHVDFIGVDFLDFKRKGAELANFYTGINDLLRV

## N-terminal sequencing cycle:

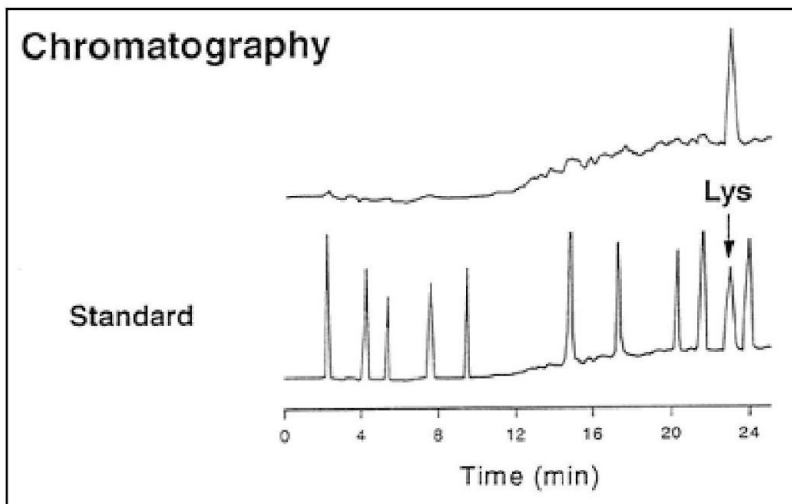
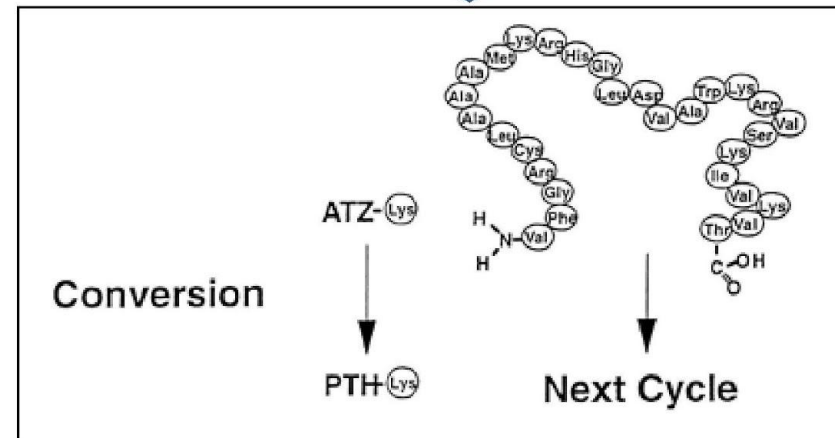
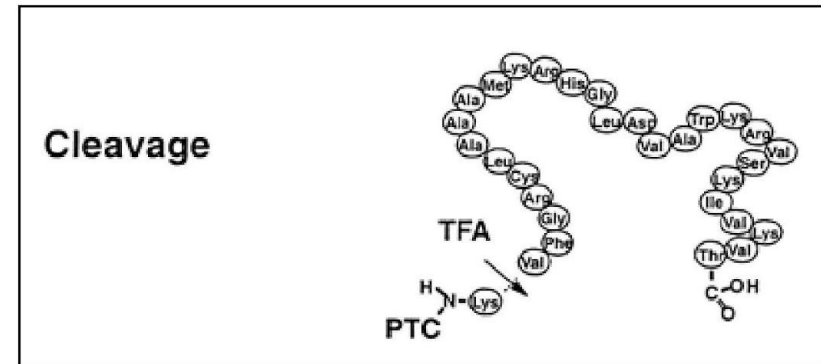
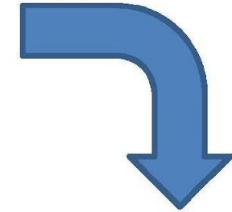
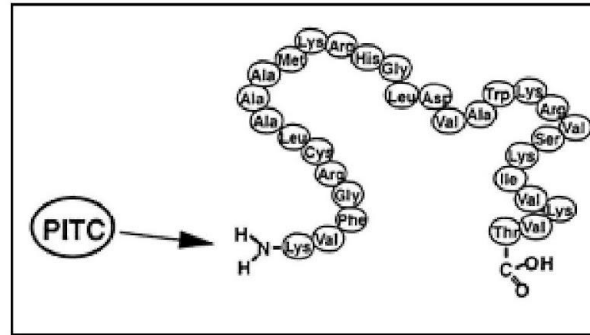




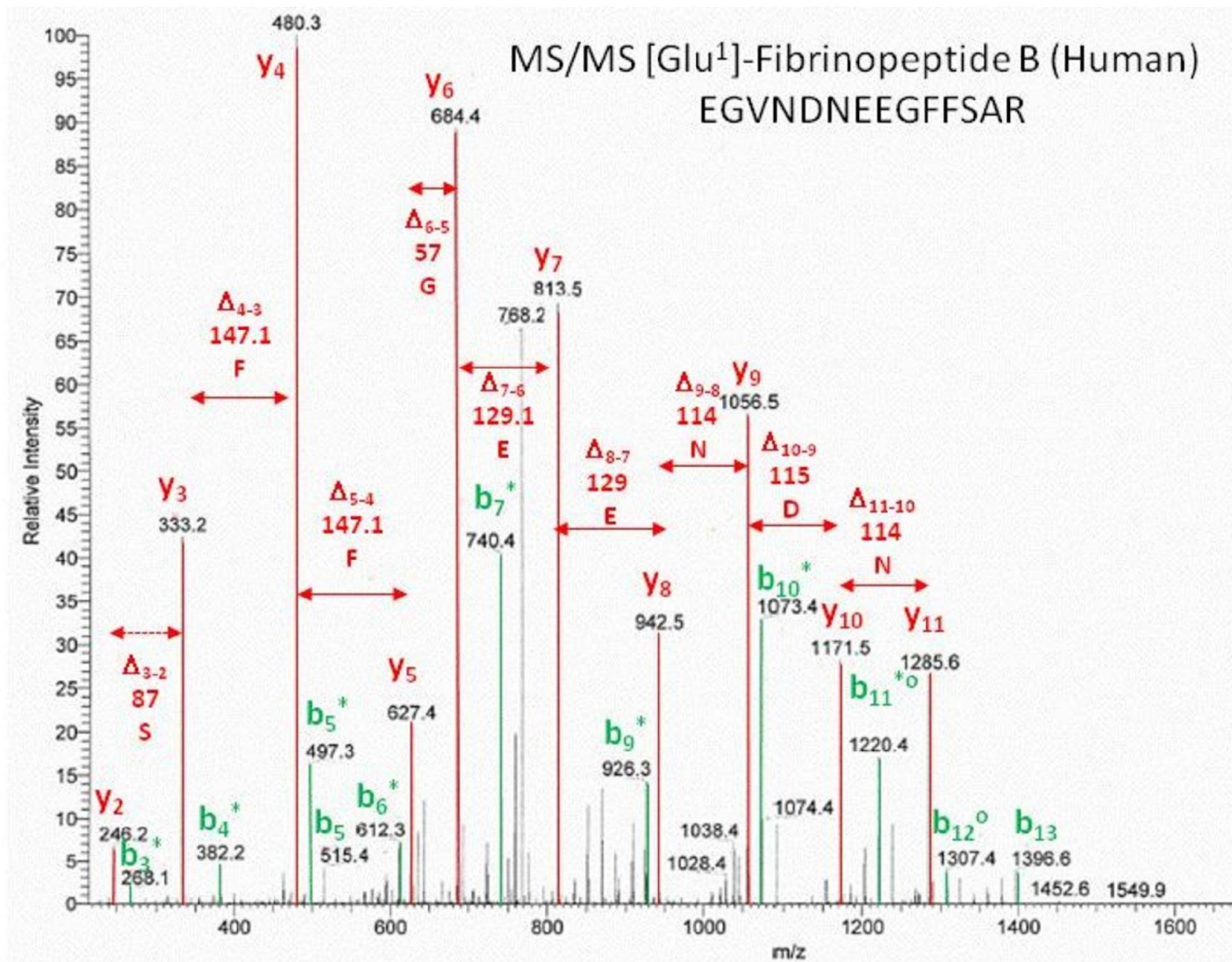
# Секвенирование белка = установление первичной структуры



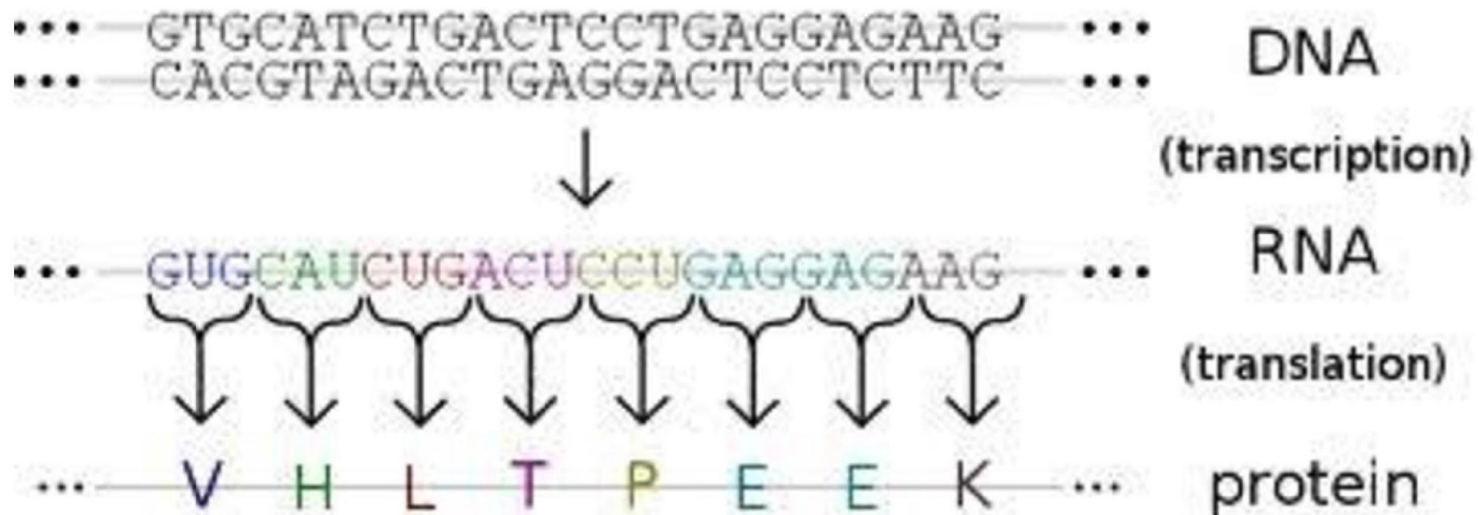
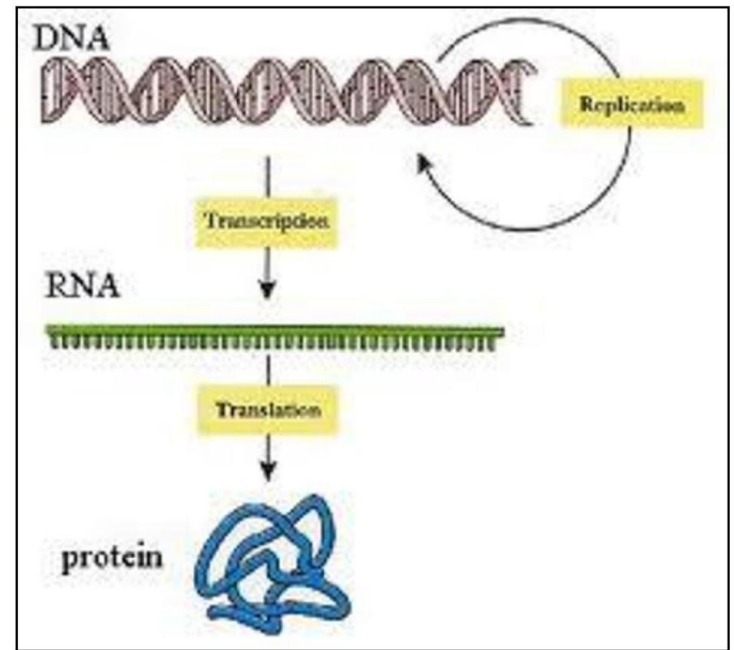
494 Procise protein/peptide sequencer



# Секвенирование белка = установление первичной структуры



# Генетический код







# Генетический код

	U	C	A	G		
U	UUU } Фенил-аланин F UUC } UUA } Лейцин L UUG }	UCU } UCC } Серин S UCA } UCG }	UAU } Тирозин Y UAC } UAA } Стоп-кодон UAG } Стоп-кодон	UGU } Цистеин C UGC } UGA } Стоп-кодон UGG } Триптофан W	U	C
C	CUU } Лейцин L CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } Пролин P CCA } CCG }	CAU } Гистидин H CAC } CAA } Глутамин Q CAG }	CGU } CGC } Аргинин R CGA } CGG }	C	C
A	AUU } Изолейцин I AUC } AUA } AUG } Метионин M старт-кодон	ACU } ACC } Треонин T ACA } ACG }	AAU } Аспарагин N AAC } AAA } Лизин K AAG }	AGU } Серин S AGC } AGA } Аргинин R AGG }	A	C
G	GUU } GUC } Валин V GUA } GUG }	GCU } GCC } Аланин A GCA } GCG }	GAU } Аспарагиновая кислота D GAC } GAA } Глутаминовая кислота E GAG }	GGU } GGC } Глицин G GGA } GGG }	G	C

Триплетность – Вырожденность - Универсальность

# Компьютерное определение структуры

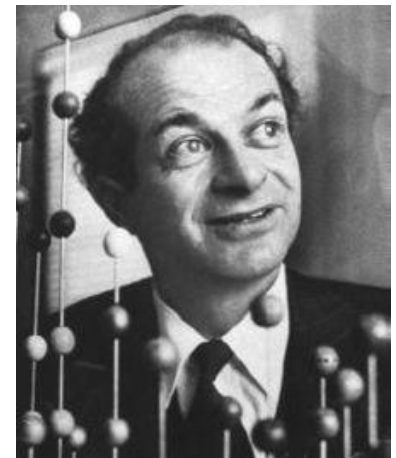
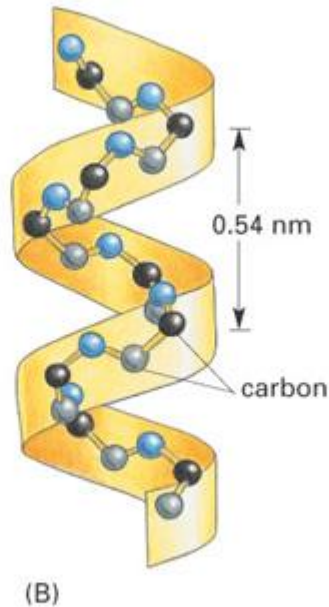
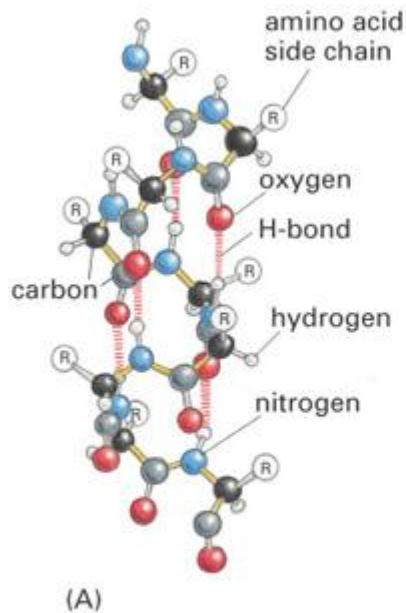
```
ATGGCACCGAAAAAGAAATCAAACGATAGAGCCATTCAGGCAAAGGCTCAGAAGggttaa 60
M A P K K K S N D R A I Q A K G S E A
gtatttttttacatgctcatcaaataccgccattactaacaattgtacccccgggtatttt 120
atcagCTGAACAATTAATAGAAGATTACTTGGTGTGACAAATATAAACCATTTTCTGTAAA 180
      E Q L I E D Y L V S Q Y K P F S V N
TGATATAGTTCAGAATTTGCACAATAAAGTGACAAAAACAACAGCAACCAAAGCATTAGA 240
D I V Q N L H N K V T K T T A T K A L E
AAATCTCGTTAACGAGAAACGCATAGTGTCTAAAACCTTCGCAAAGATTATAATTTACTC 300
N L V N E K R I V S K T F A K I I I Y S
TTGTAATGAACAAGATACAGCATTACCAAGCAATATTGATCCTTCTCAGTTTGATTTTGA 360
C N E Q D T A L P S N I D P S Q F D F E
AACTGTATTGCAACTGAGAAATGATTTAATAGAAGACTAGAGAGAGATAAATCAACGGCCAA 420
T V L Q L R N D L I E L E R D K S T A K
AGACGCTCTTGACTCTGTAACTAAAGAACCTGAAAATGAAGATCTCCTAACCAATCATTGA 480
D A L D S V T K E P E N E D L L T I I E
AAACGAAGAAAACGAGTTGAAAAAGATTGAATCAAAATTACAAAGTCTACAGGATGATTG 540
N E E N E L K K I E S K L Q S L Q D D W
GGATCCAGCAAATGATGAGATTGTCAAGCGGATAATGTCTGAAGATACGCTGCTACAAAA 600
D P A N D E I V K R I M S E D T L L Q K
AGAAATCACGAAGAGATCAAAGATTTGCAAAAAACCTAATTGCTACAATAAAGGACTCAG 660
E I T K R S K I C K K P N C Y N K G L S
TGTGCCCGAAAAATATGAATGA
V P E K Y E *
```



# Вторичная структура белка

- упорядочивание за счет водородных связей

Альфа  
спирали



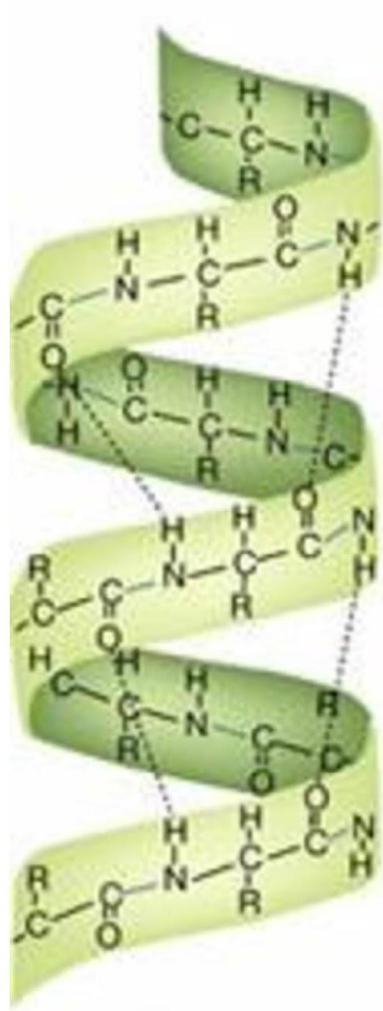
**Лайнус Карл Полинг**  
(1901-1994)

Нобелевская премия по химии 1954 г.

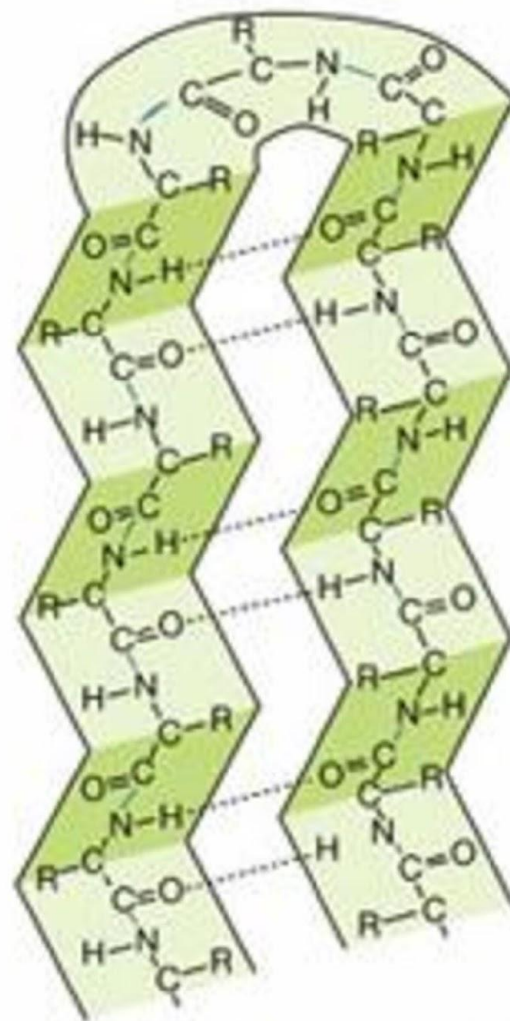


# Вторичная структура белка

Вторичная структура белка это пространственная структура, образующаяся в результате взаимодействия между функциональными группами пептидного остова.



$\alpha$ -helix



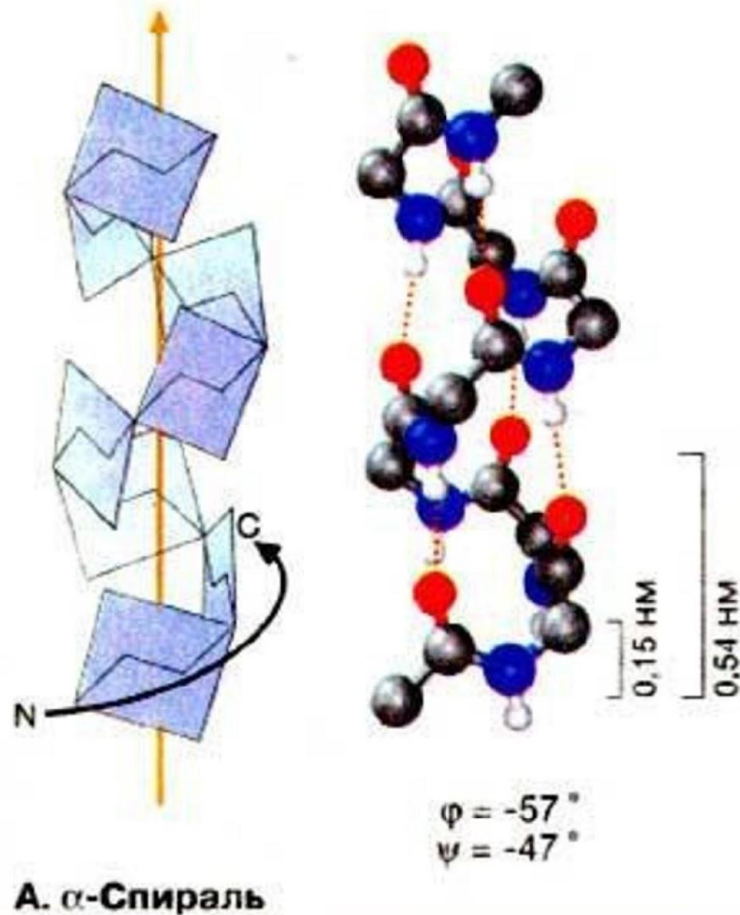
$\beta$ -pleated sheet



# Вторичная структура белка

## $\alpha$ -Спираль

- Наиболее распространенным элементом вторичной структуры является правая  $\alpha$ -спираль ( $\alpha R$ ).
- На каждый виток приходится 3,6 аминокислотного остатка, шаг винта (т.е. минимальное расстояние между двумя эквивалентными точками) составляет 0,54 нм.
- $\alpha$ -Спираль стабилизирована водородными связями между NH-группой и CO-группой четвертого по счету аминокислотного остатка.
- Неполярные или амфифильные  $\alpha$ -спирали с 5-6 витками часто обеспечивают закоривание белков в биологических мембранах



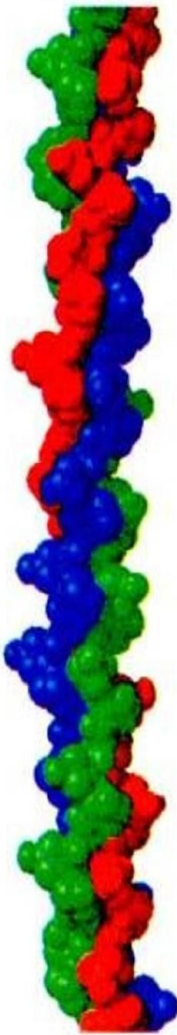
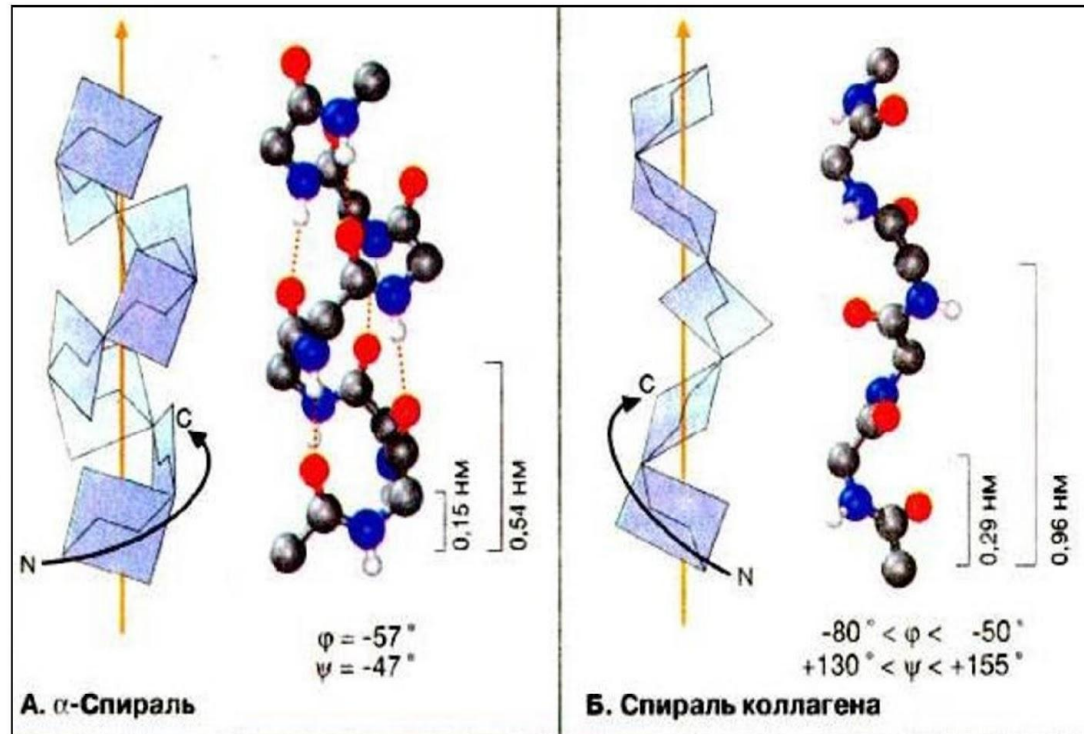
# Вторичная структура белка

## Спираль коллагена

- Другая форма спирали присутствует в коллагене, важнейшем компоненте соединительных тканей .
- Это левая спираль коллагена с шагом 0,96 нм и 3,3 остатка в каждом более пологая по сравнению с  $\alpha$ -спиралью
- В отличие от  $\alpha$ -спирали

образование водородных мостиков здесь невозможно.

- Структура стабилизирована за счет скручивания трех пептидных цепей в правую тройную спираль



# Вторичная структура белка

- $\beta$ -складки

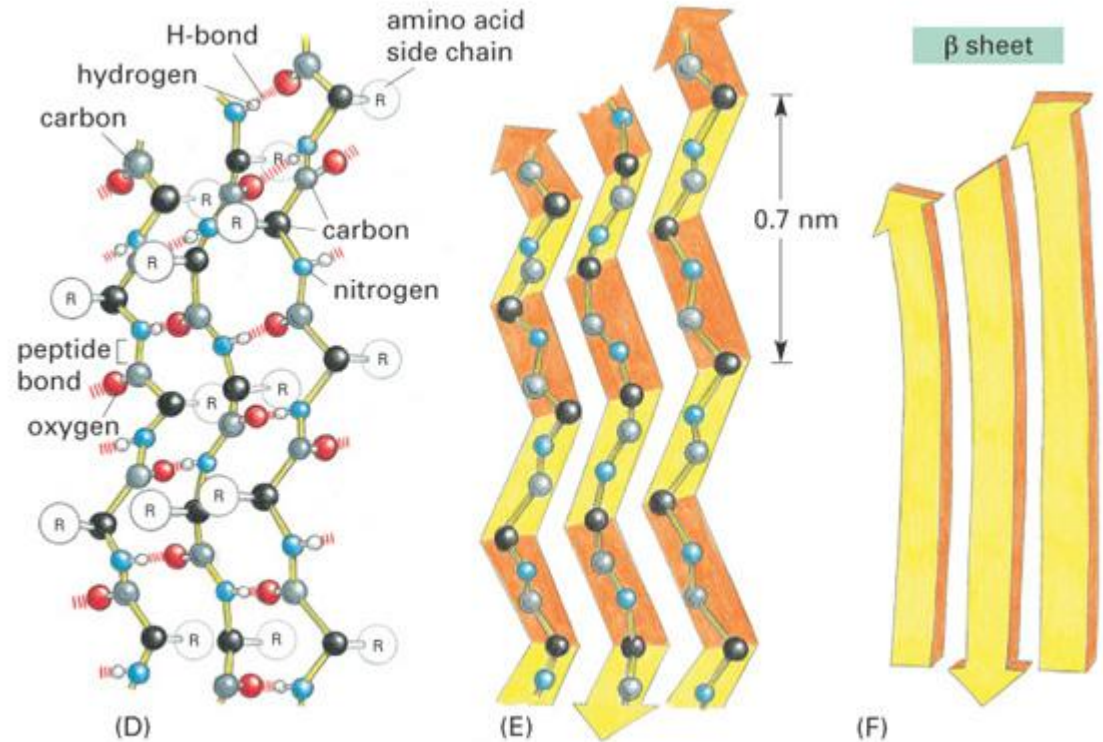


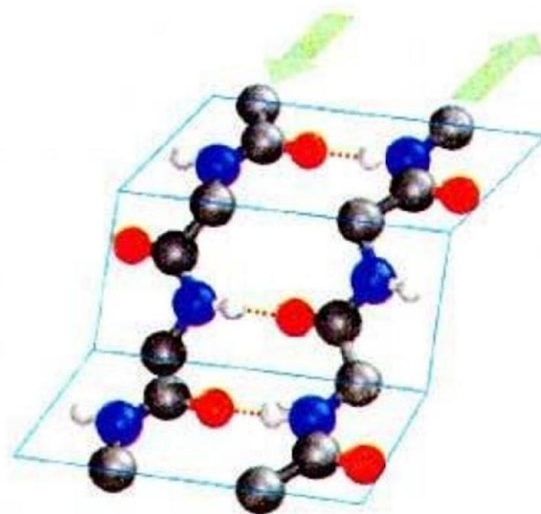
Figure 4-10 part 2 of 2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)



# Вторичная структура белка

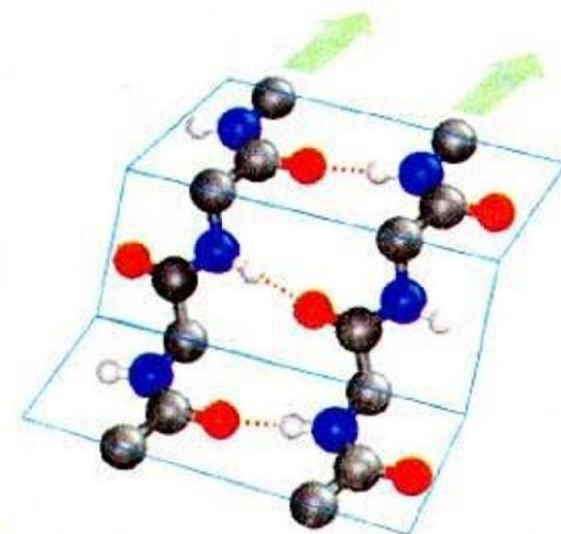
## Складчатые структуры ( $\beta$ -листы)

- Вытянутые конформации пептидной цепи называются " $\beta$ -складчатым листом", так как плоскости пептидных связей расположены в пространстве подобно равномерным складкам листа бумаги.
- В складчатых структурах также образуются поперечные межцепочечные водородные связи. Если цепи ориентированы в противоположных направлениях, структура называется антипараллельным складчатым листом ( $\beta\alpha$ ), а если цепи ориентированы в одном направлении, структура называется параллельным складчатым листом ( $\beta\parallel$ ).
- В складчатых структурах  $\alpha$ -С-атомы располагаются на перегибах, а боковые цепи ориентированы почти перпендикулярно средней плоскости листа, попеременно вверх и вниз
- Энергетически более предпочтительной оказывается  $\beta\alpha$ -складчатая структура с почти линейными Н-мостиками. В растянутых складчатых листах отдельные цепи чаще всего не параллельны, а несколько изогнуты относительно друг друга.



1. Антипараллельный складчатый лист  
В. Складчатые структуры

$$\varphi = -139^\circ$$
$$\psi = +135^\circ$$



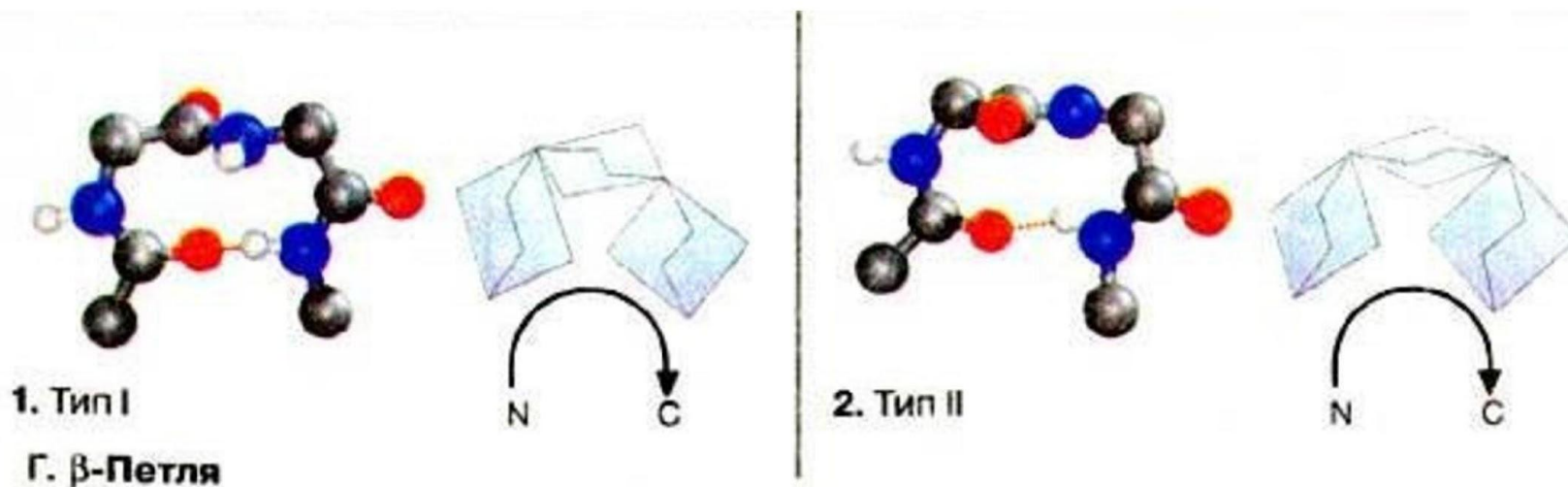
2. Параллельный складчатый лист

$$\varphi = -119^\circ$$
$$\psi = +113^\circ$$

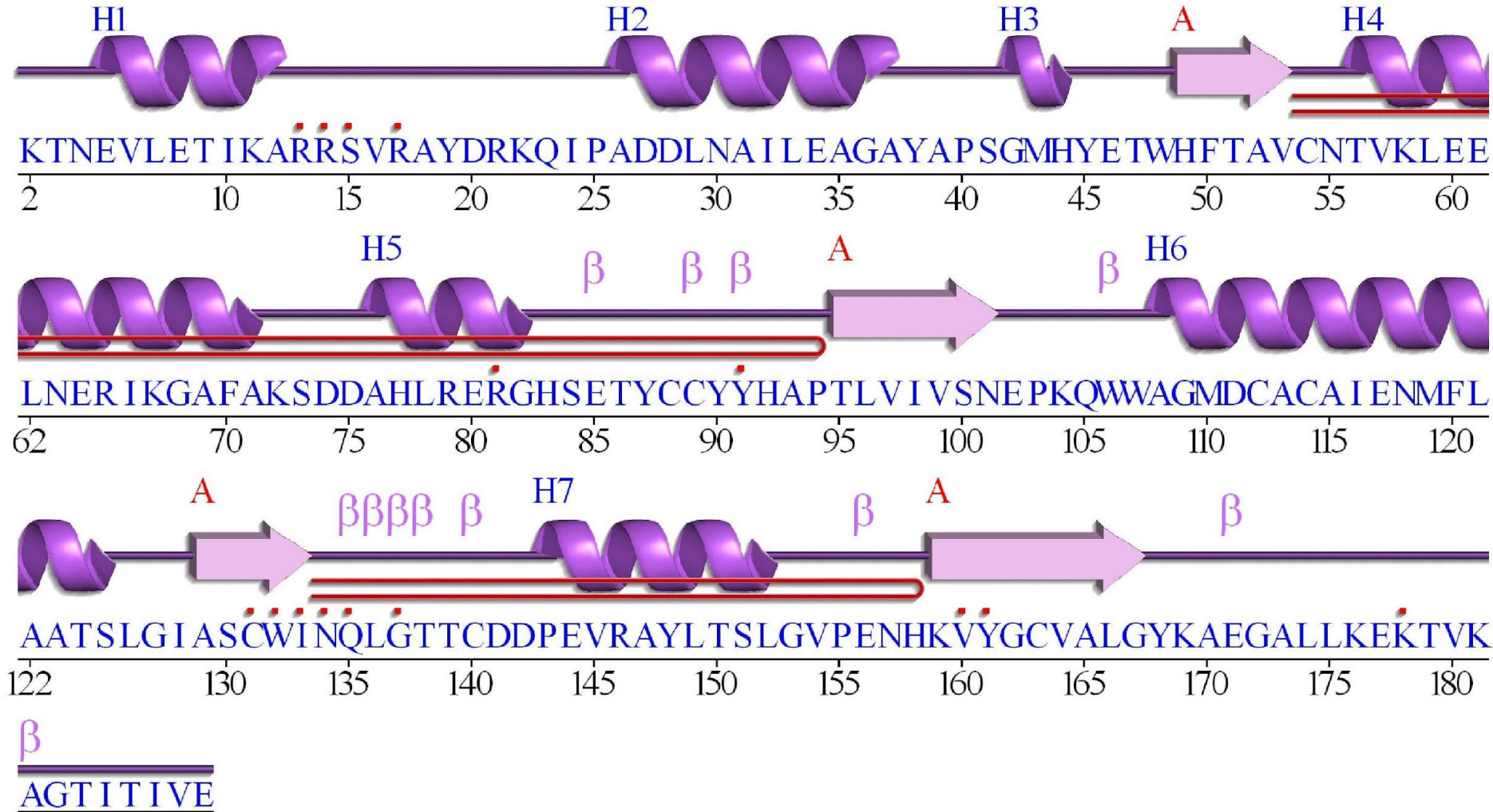
# Вторичная структура белка

## β-Петля

- В тех участках, где пептидная цепь изгибается достаточно круто, часто находится β-петля.
- Это короткий фрагмент, в котором 4 аминокислотных остатка расположены таким образом, что цепь делает реверсивный поворот (на 180°).
- Оба приведенных на схеме варианта петли (типы I и II) встречаются довольно часто.
- Обе структуры стабилизированы водородным мостиком между 1 и 4 остатками



# Предсказание вторичной структуры белка



182

Точность современных методов достигает 80%



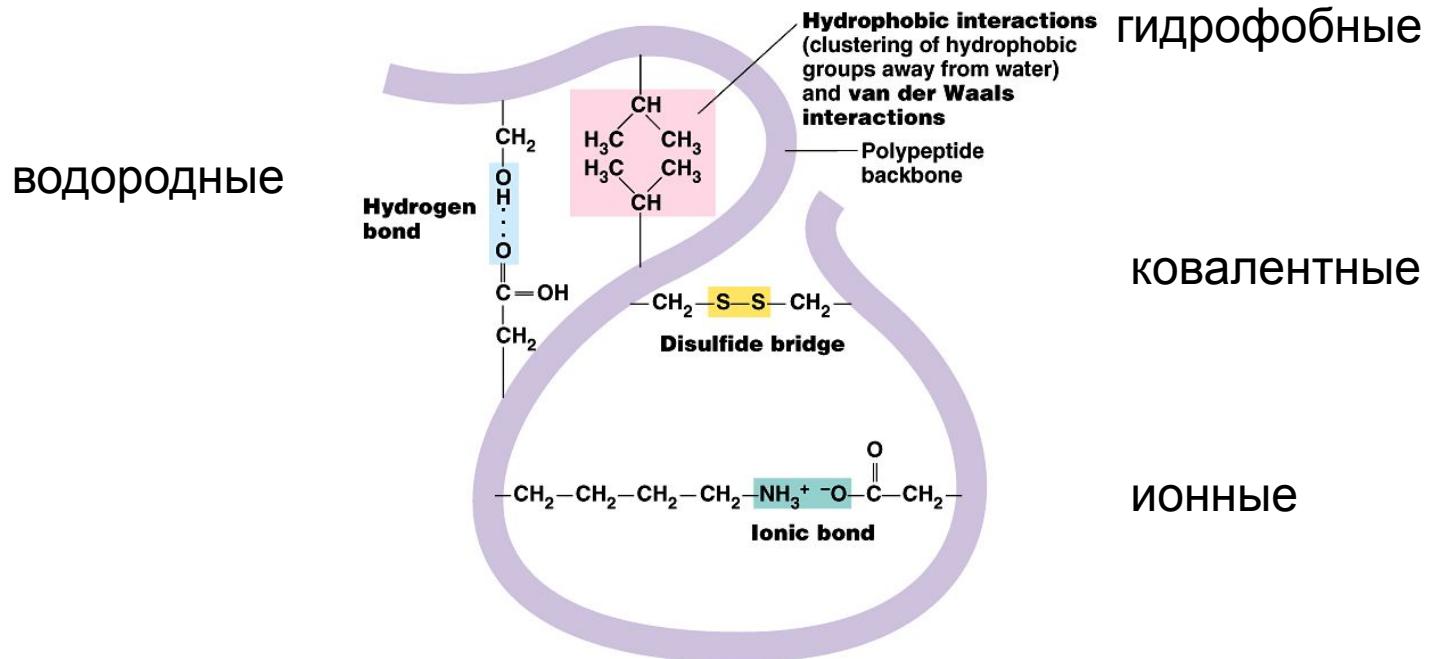
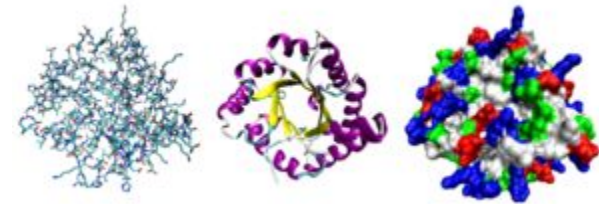
# Третичная структура белка

## Третичная структура белка образована за счет:

- ковалентных связей (пептидные и дисульфидные связи)
- водородные связи
- электростатические взаимодействия заряженных групп
- межмолекулярные ван-дер-ваальсовы силы
- взаимодействия неполярных боковых радикалов аминокислот (гидрофобные взаимодействия)

# ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

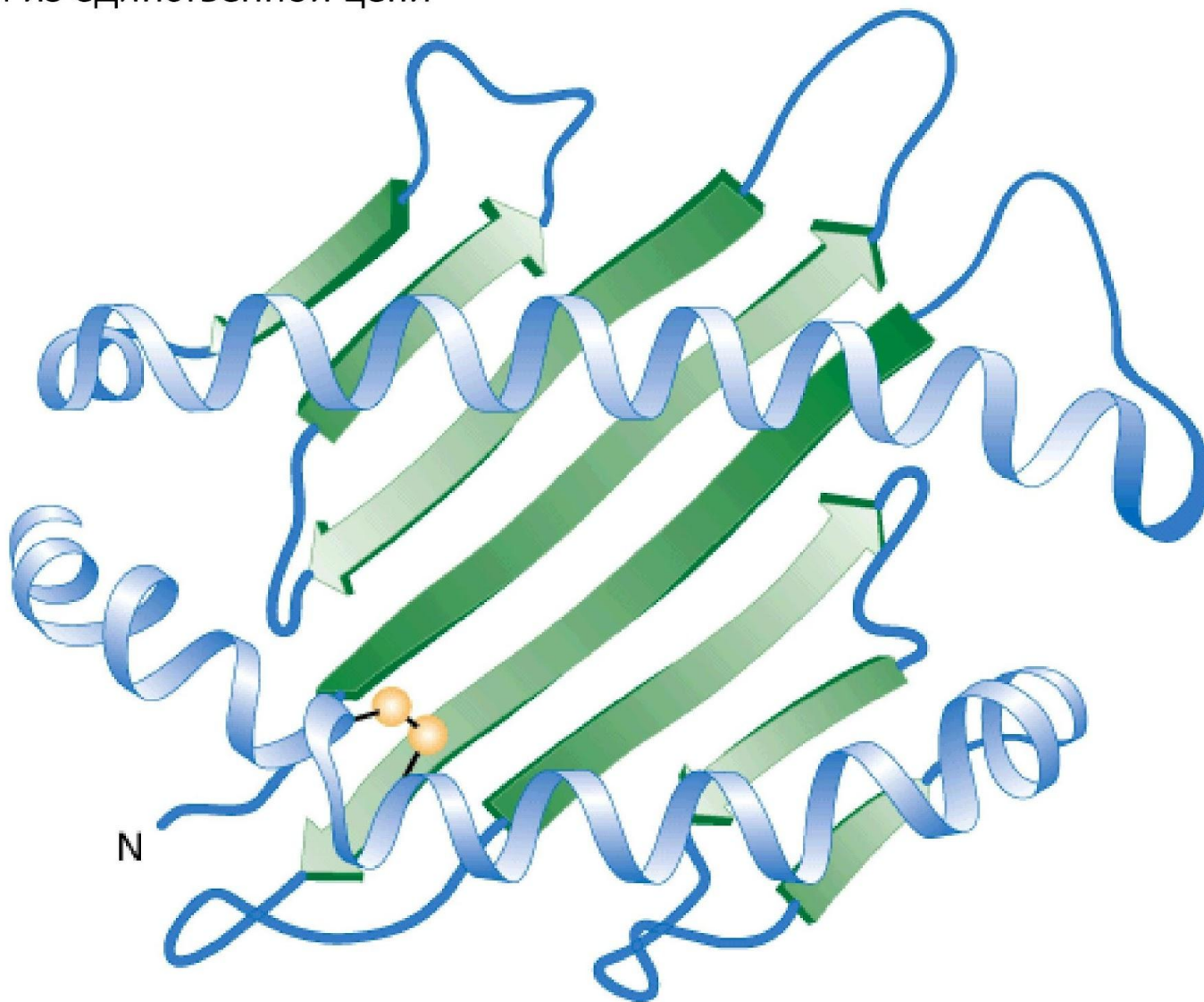
- Пространственное расположение полипептидной цепи, обусловленное взаимодействием между боковыми группами аминокислотных остатков





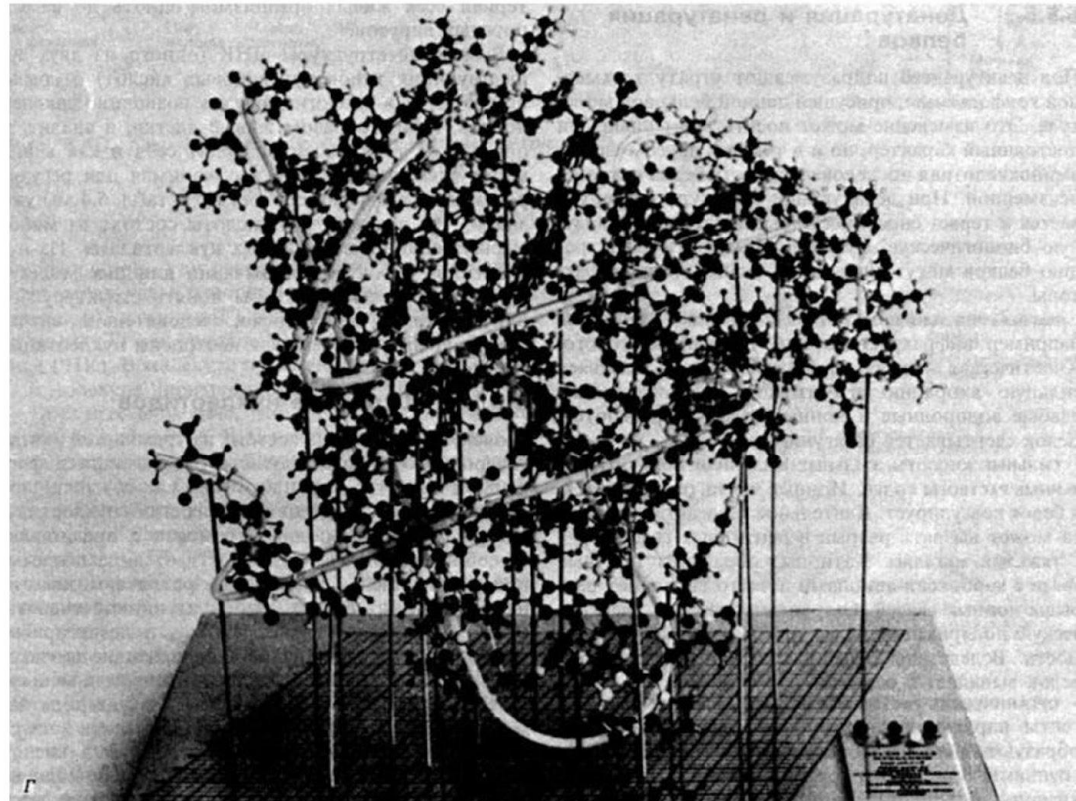
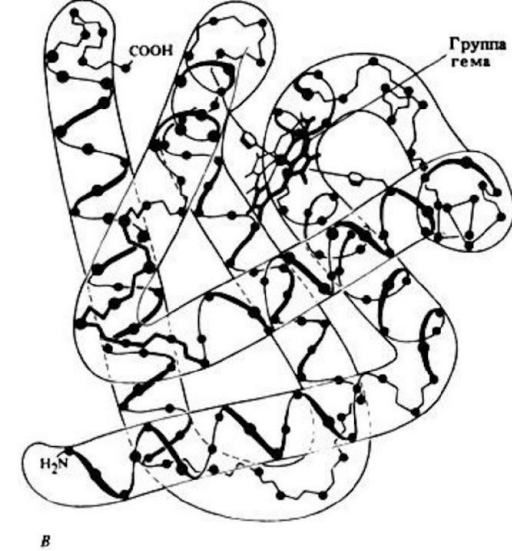
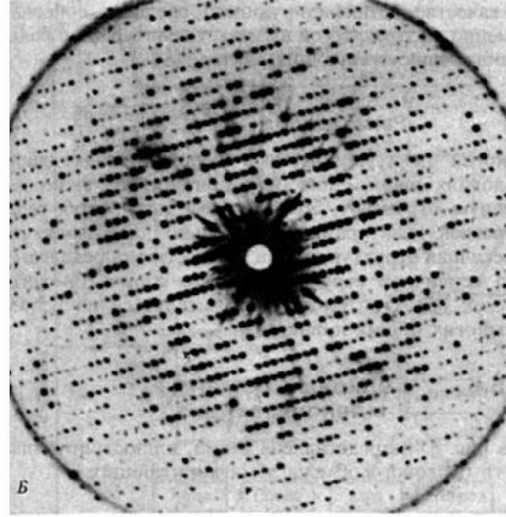
# Третичная структура белка

Третичная структура белка это пространственное строение всей молекулы белка, состоящей из единственной цепи



# Третичная структура белка

- Первым белком, третичная структура которого была выяснена Дж. Кендрию на основании рентгеноструктурного анализа, был миоглобин кашалота.
- Белок с молекулярной массой 16700, содержащий 153 аминокислотных остатка
- Основная функция миоглобина – перенос кислорода в мышцах.



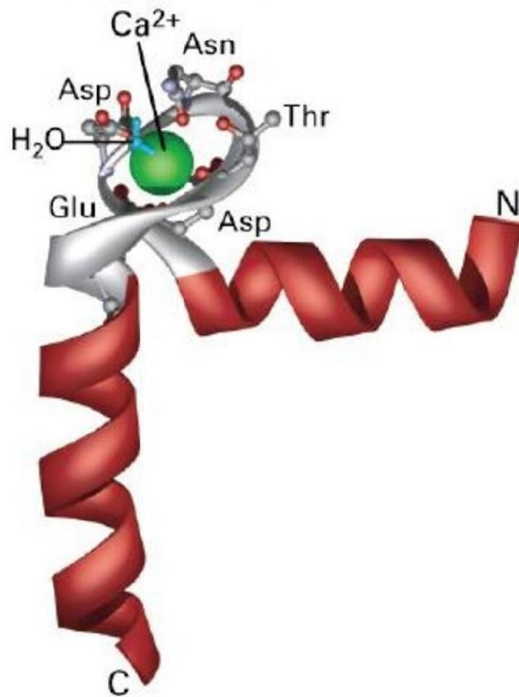


# Третичная структура белка

## Супервторичная структура белков

*специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой белков*

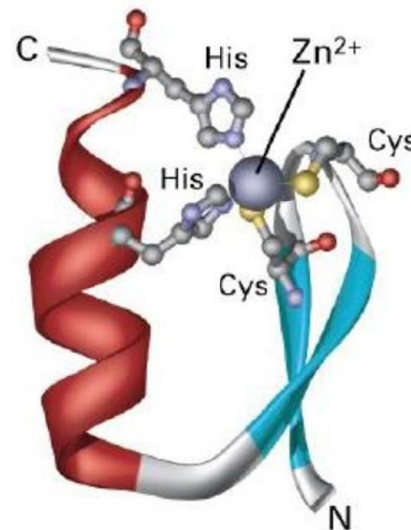
(a) Helix-loop-helix motif



Consensus sequence:

D/N - D/N - D/N/S - [backbone O] - - - - E/D

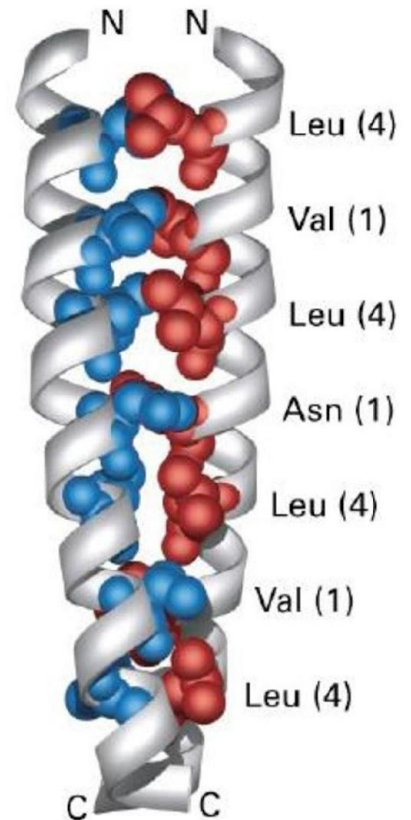
(b) Zinc-finger motif



Consensus sequence:

F/Y - C - - C - - - F/Y - - - - H - - H -

(c) Coiled coil motif



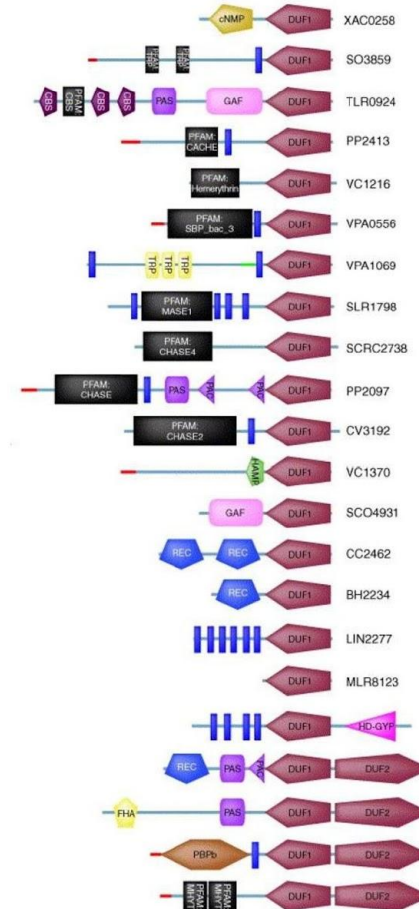
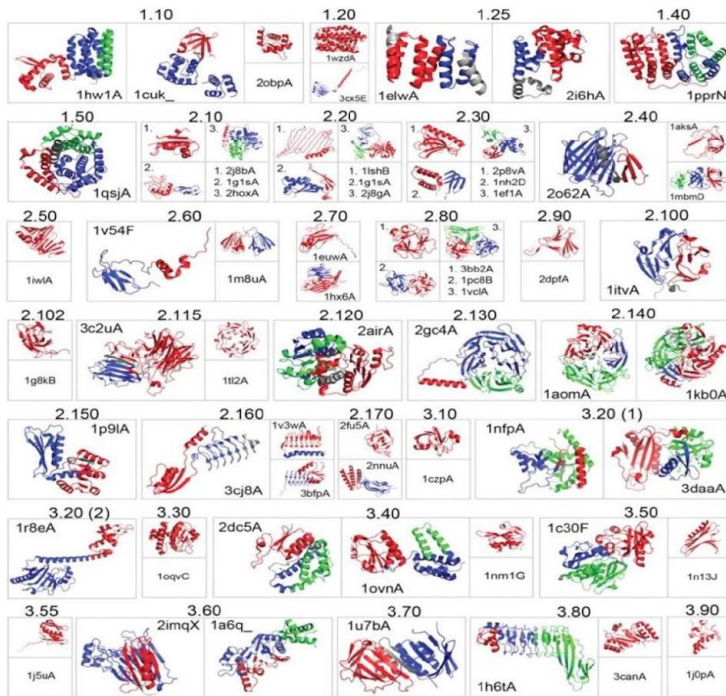
Heptad repeat:  
[V/N/M] - - L - - -

# Третичная структура белка

## Доменная структура белков

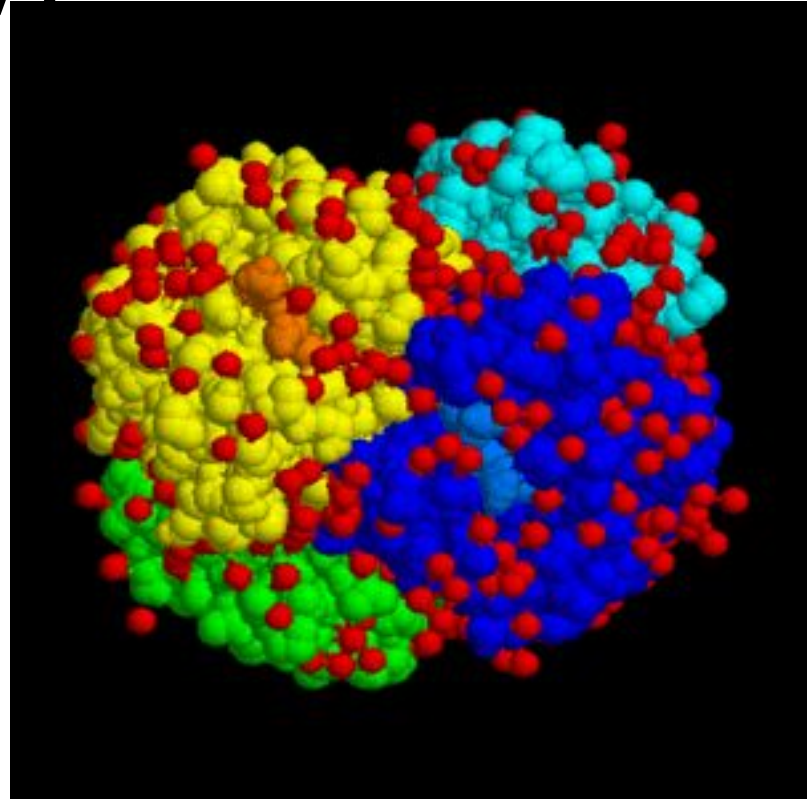
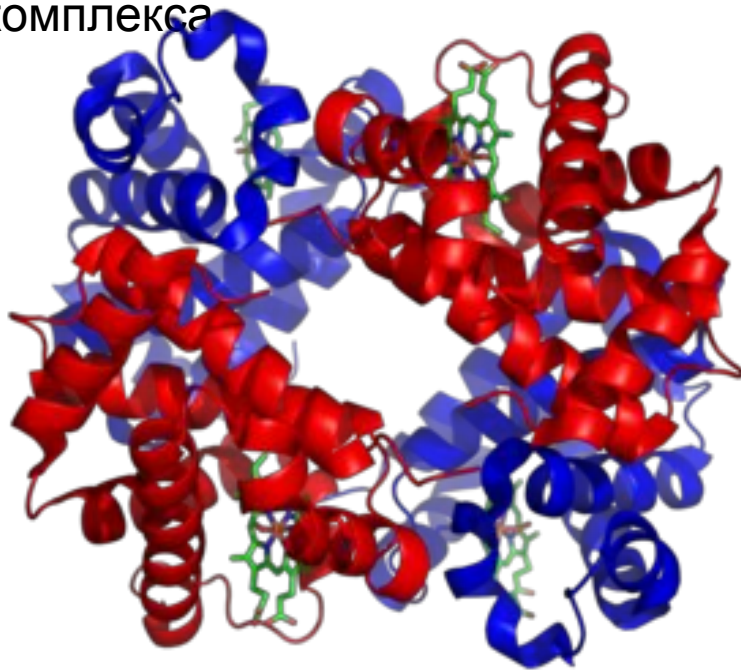
**Домен белка** — элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную и независимую подструктуру белка, чей фолдинг проходит независимо от остальных частей. В состав домена обычно входит несколько элементов вторичной структуры.

- Размер домена может быть от 25 до 500 аминокислот
- На сегодняшний день зарегистрировано 173536 доменов.



# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

- Взаимное расположение нескольких полипептидных цепей в составе единого белкового комплекса



Гемоглобин – тетрамер, содержащий 4 полипептидные цепи

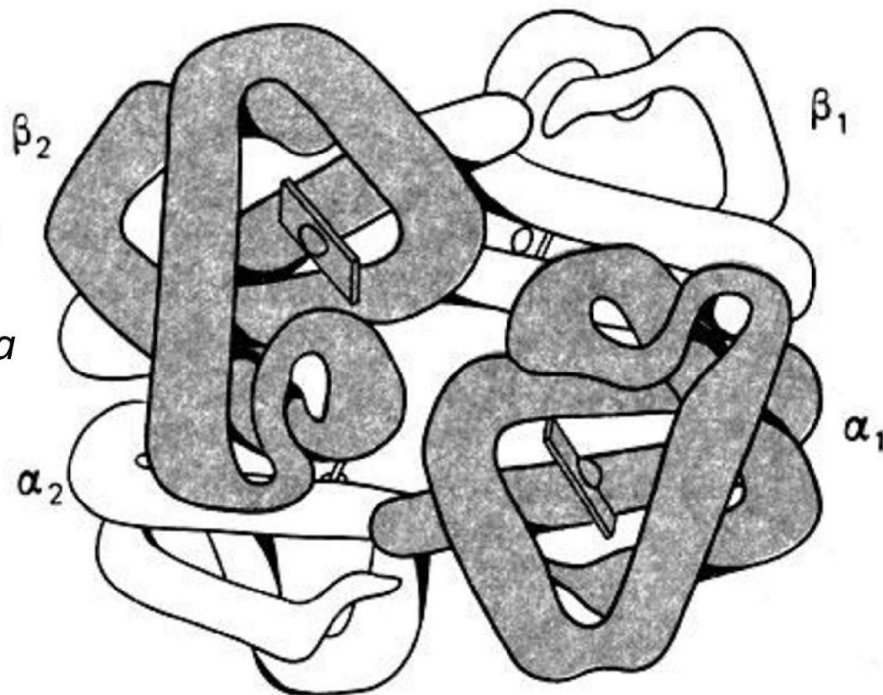


# Четвертичная структура белка



- Классический пример четвертичной структуры у гемоглобина
- Его молекула состоит из четырех отдельных полипептидных цепей двух разных типов: из двух  $\alpha$ -цепей и двух  $\beta$ -цепей.
- Две  $\alpha$ -цепи содержат по 141 аминокислотному остатку, а две  $\beta$ -цепи по 146 остатков.
- Полную структуру гемоглобина определили Кендрью и **Перуц**
- Нобелевская премия по химии 1962 «За исследования структуры глобулярных белков»

- *Макс Перуц придумал вводить в состав белков атомы тяжелых металлов, которые занимали определенные места в кристаллической решетке и давали отчетливые сигналы.*
- *Перуц использовал также недавно появившуюся электронно-вычислительную машину.*

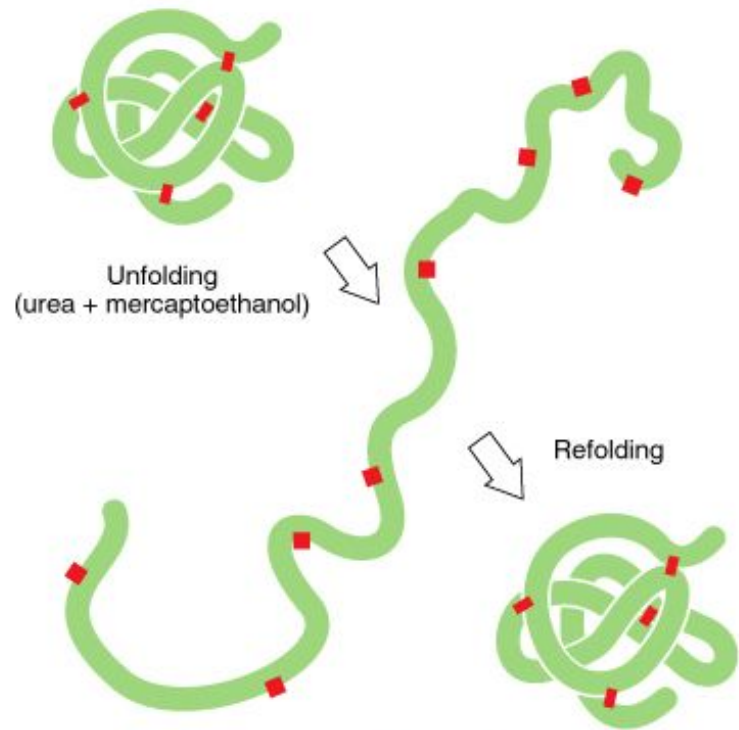


# Денатурация белка

- Разрушение четвертичной, третичной и вторичной структур белка

**Физическое воздействие:**  
температура, удар, облучение

**Химическое воздействие:**  
изменение pH,  
восстанавливающие и  
хаотропные агенты



From C. J. Epstein, R. F. Goldberger, and C. B. Anfinsen,  
*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 28:439, 1963.  
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

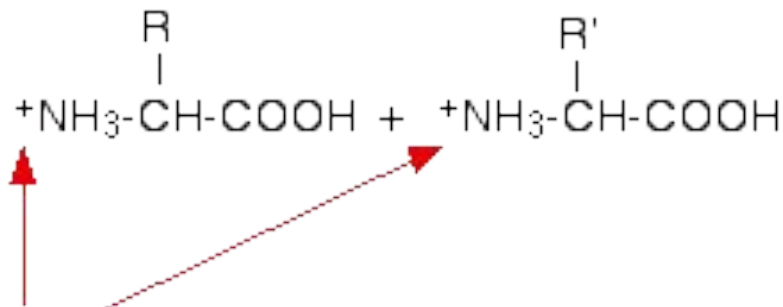
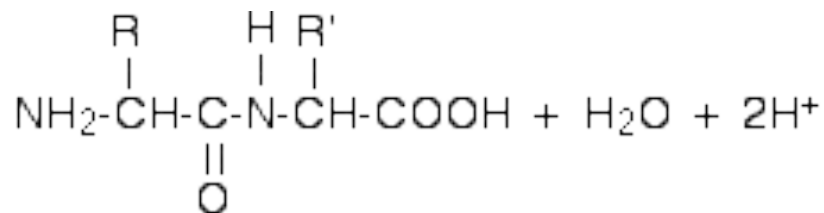
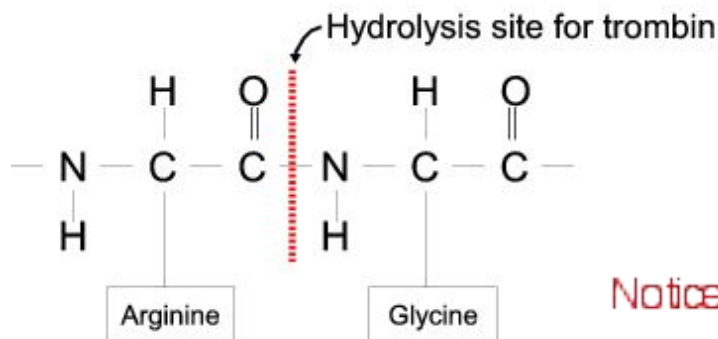
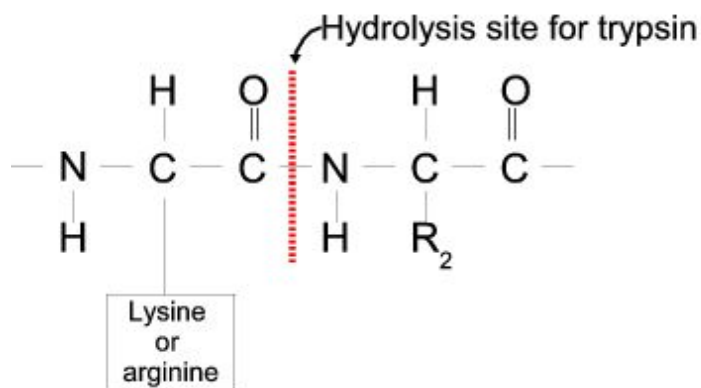
Обратимая и необратимая денатурация

# Гидролиз белка

- Разрушение первичной структуры

ферментативный

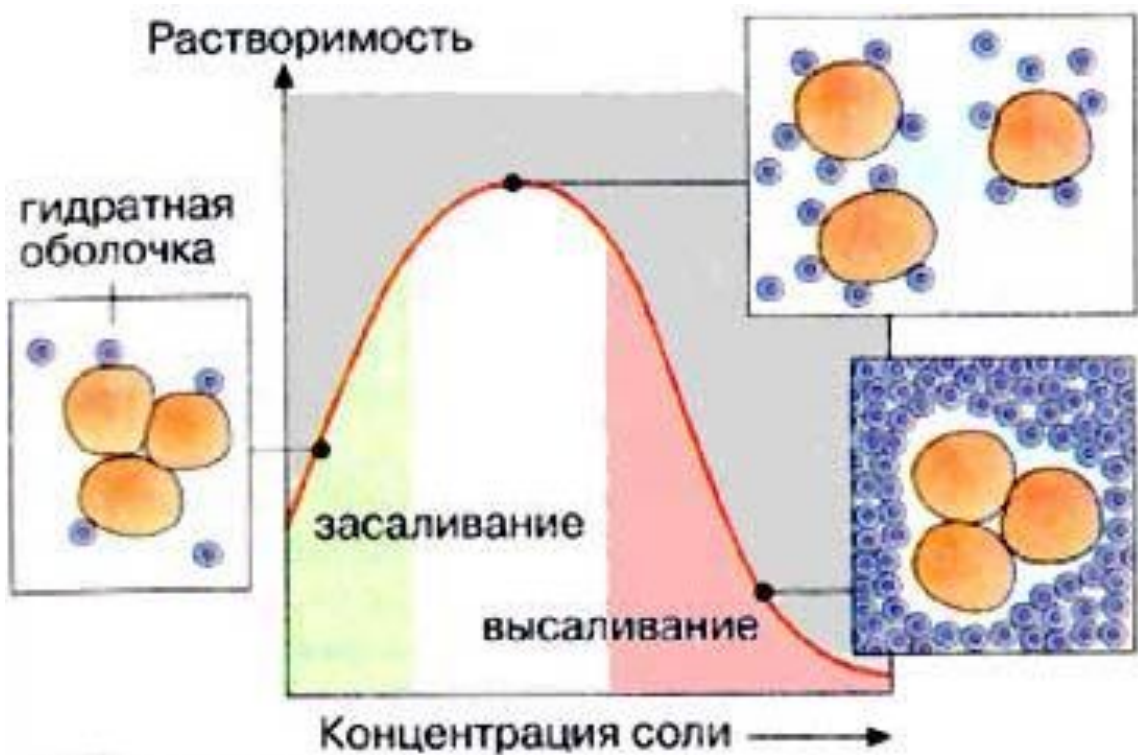
химический



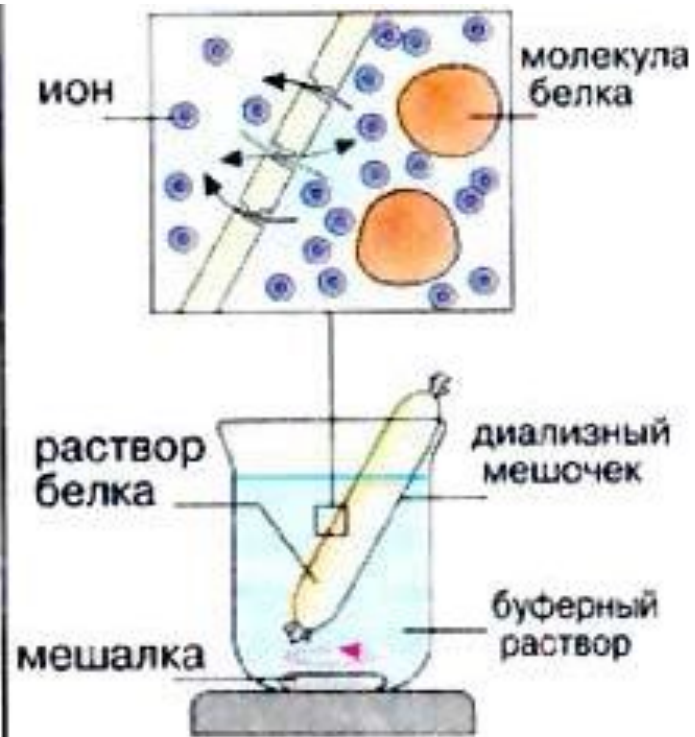
Notice the positive ions formed from the amino acids.



# Методы анализа



**А. Высаливание**

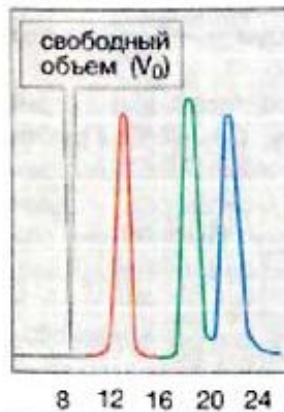


**Б. Диализ**

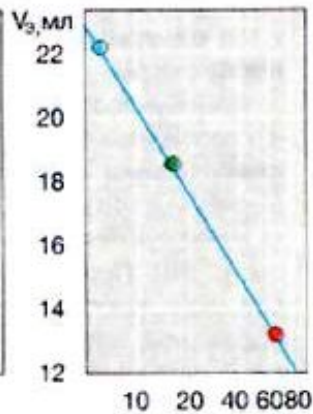
# Методы анализа белков



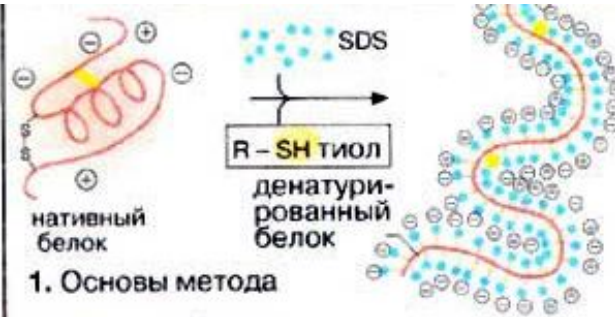
1. Основы метода



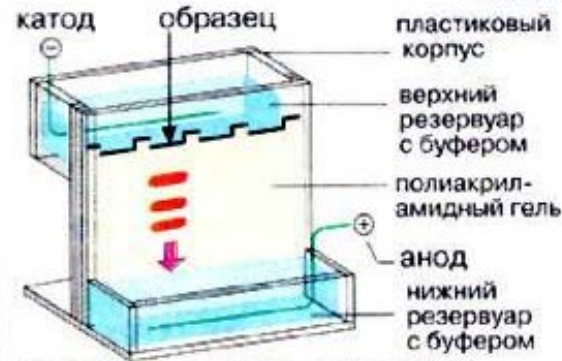
2. График элюирования  
В. Гель-фильтрация



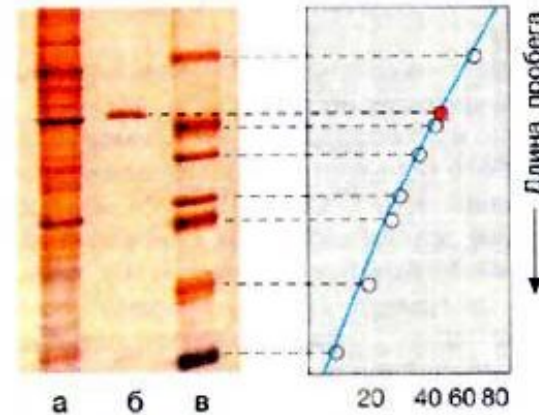
3. Определение мол. массы



1. Основы метода



2. Камера для электрофореза



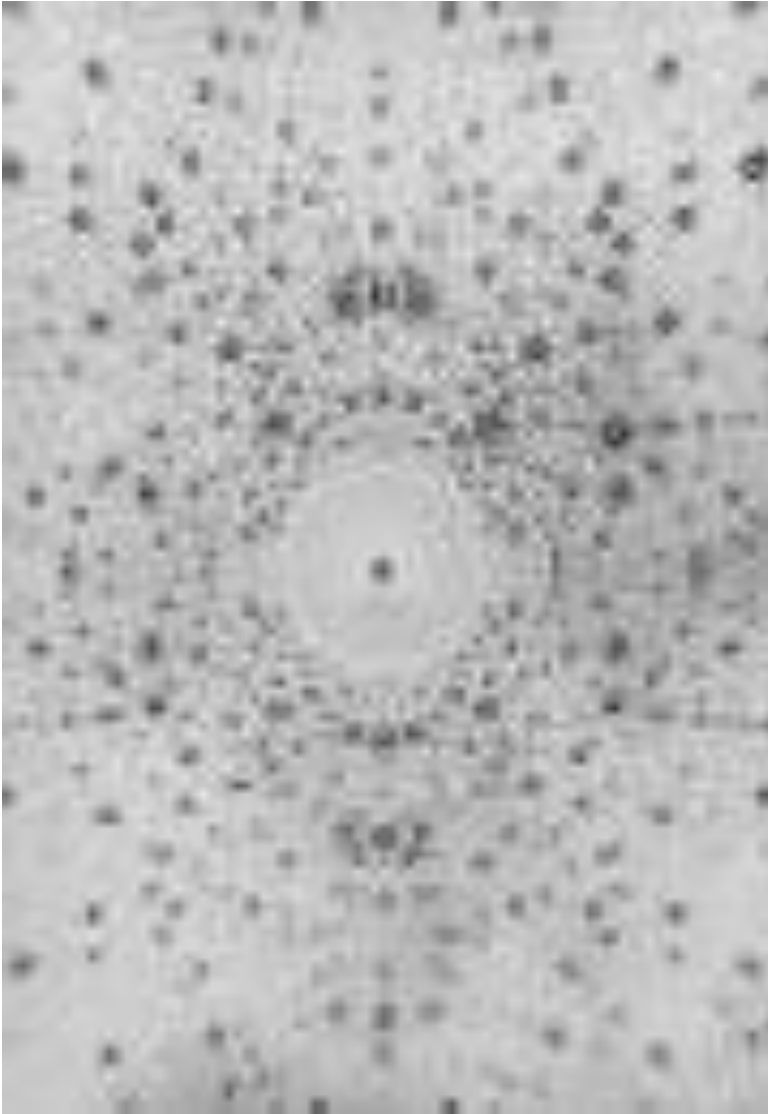
3. Окрашенный гель

4. Определение мол. массы

Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ

# Методы анализа белков

Рентгеноструктурный анализ



Электронная  
микроскопия

