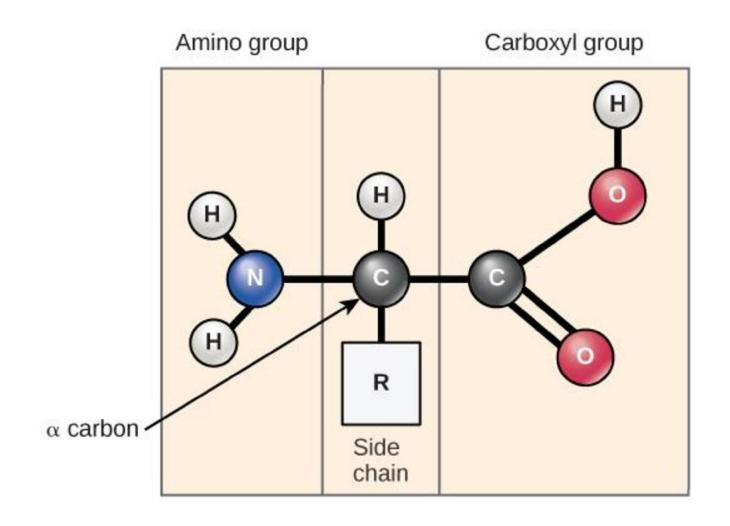
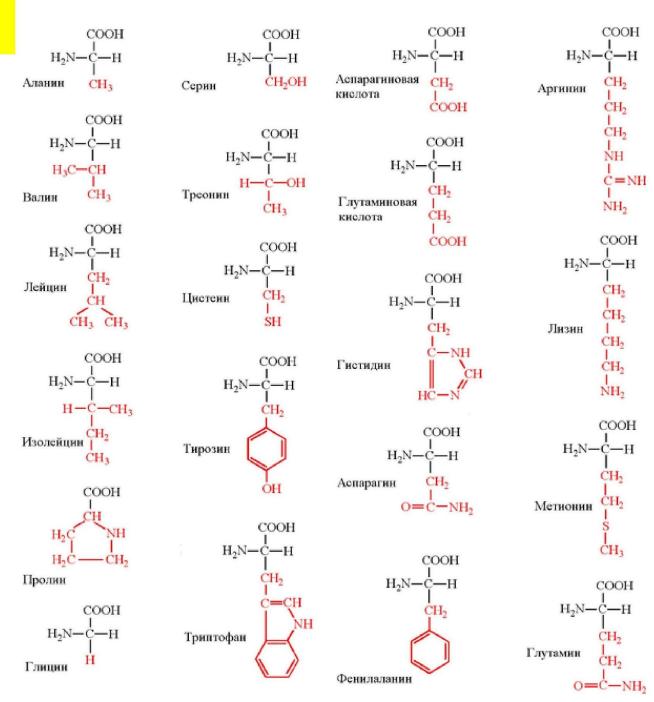
Часть 1. Состав белков

Структура аминокислоты



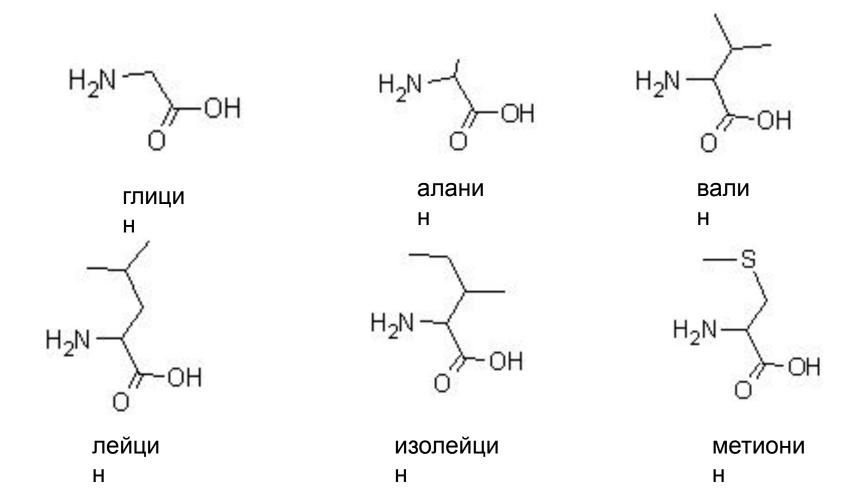
Аминокислоты

В геноме человека кодируется 20 аминокислот



Классификация аминокислот

• Неполярные, или алифатические



Ароматические

$$H_2N$$
 — OH H_2N — OH H_2N — ОН H_2N — Тирози триптофа Н

Полярные незаряженные

$$H_2N$$
 O
 O
 O
 O

$$H_2N$$
 O OH

треони

$$H_2N$$
 О H_2N О ОН аспараги

Н

глутами н

Положительно заряженные

$$NH_2$$
 H_2 H_2 NH_2 N

Отрицательно заряженные

аспарагиновая кислота

$$H_2N$$
 OH OH

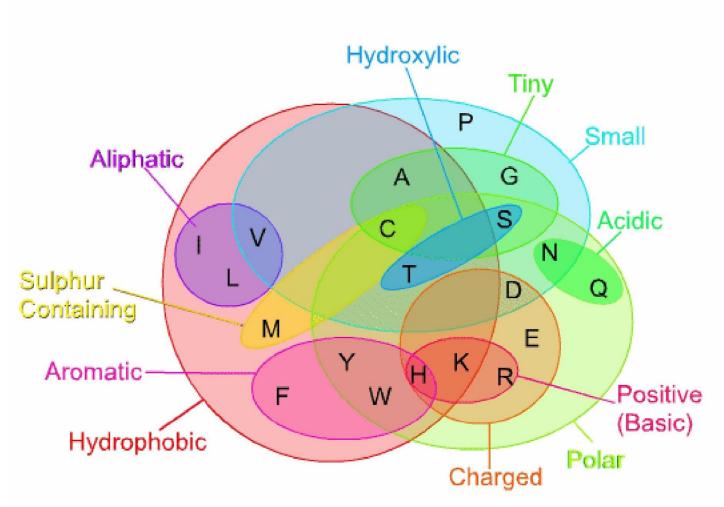
глутаминовая кислота

Неканонические аминокислоты

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

Пирролизин (О) 22-я аминокислота, обнаружена только у архебактерий

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 phenyalanine (phe)

P proline (pro)

S serine (ser)

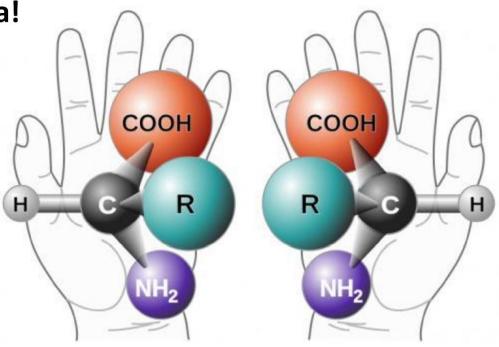
T threonine (thr)

W trytophan (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**

$$H2N-CH2-COOH + HCI = CI- [H3N-CH2-COOH] +$$

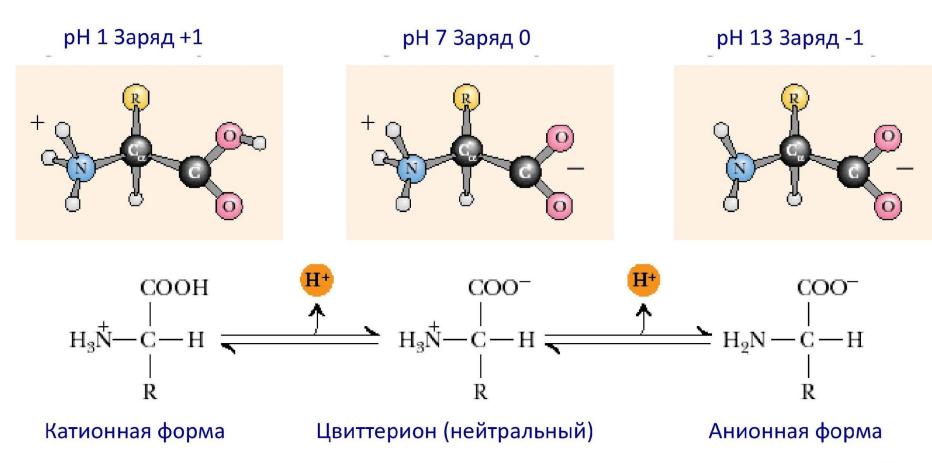
Так и как кислота:

$$H2N-CH2-COOH + NaOH = H2N-CH2-COO-Na+ + H2O$$

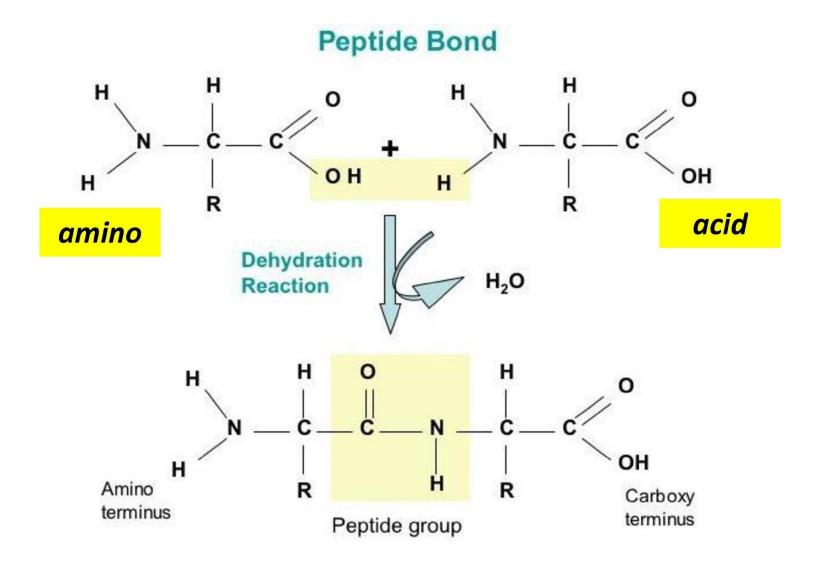
Однако находясь в полипептидной цепи, их свойства определяются группами боковых радикалов.

Химические свойства аминокислот

Кислотно-основные свойства



Химические свойства аминокислот



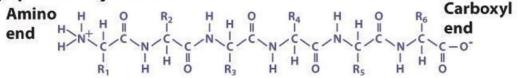
Аминокислоты, названия

Глицин	Gly	G	Glycine	Гли
Аланин	Ala	Α	Alanine	Ала
Валин	Val	V	Valine	Вал
Изолейцин	lle	1	Isoleucine	Иле
Лейцин	Leu	L	Leucine	Лей
Пролин	Pro	Р	Proline	Про
Серин	Ser	S	Serine	Сер
Треонин	Thr	Т	Threonine	Tpe
Цистеин	Cys	С	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	Н	Histidine	Гис
Фенилаланин	Phe	F	Fenylalanine	Фен
Тирозин	Tyr	Υ	tYrosine	Тир
Триптофан	Trp	W	tWo rings	Три

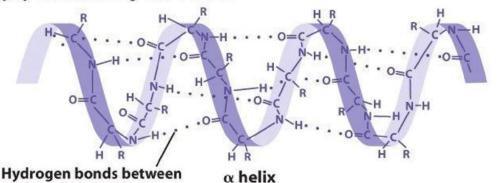
Часть 2. Структура белков

Уровни организации структуры белков

(a) Primary structure

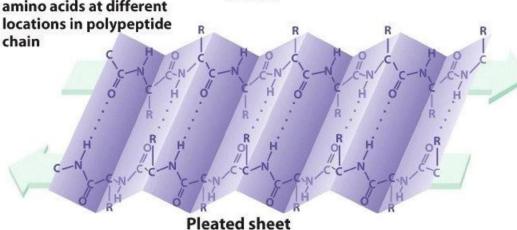


(b) Secondary structure

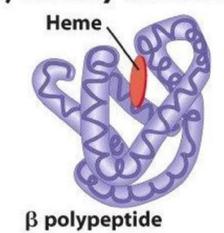


Hydrogen bonds between amino acids at different

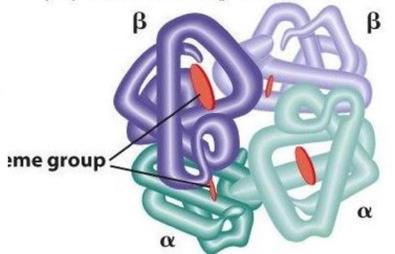
chain



(c) Tertiary structure



(d) Quaternary structure



История установления структуры белка

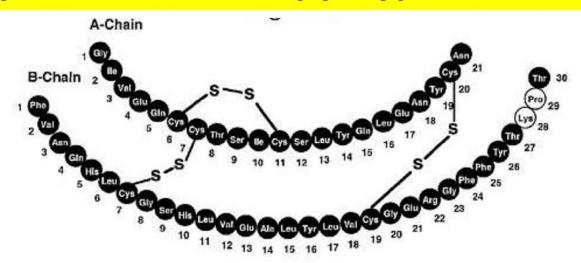
Первичная структура белка - это последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи



Фредерик Сенгер

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

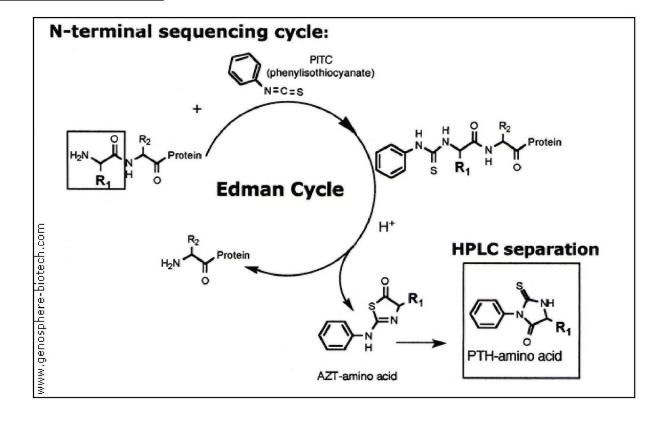
История установления структуры белка



- 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 их двух видов полипептидных цепей.
- В 1949г Сенгер открыл способ разрушения дисульфидных мостиков связывающих две аминоксилотных 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

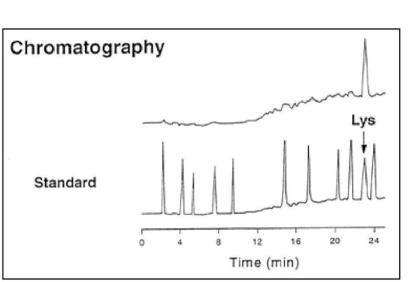
LKANQVQPLNKYPVVFVHGFLGLVGDNAPALYPNYWGGNKFKVIEELR
KQGYNVHQASVSAFGSNYDRAVELYYYIKGGRYDYGAAHAAKYGHER
YGKTYKGIMPNWEPGKKVHLVGHSMGGQTIRLMEEFLRNGNKEEIAY
HKAHGGEISPLFTGGHNNMVASITTLATPHNGSQAADKFGNTEAVRKI
MFALNRFMGNKYSNIDLGLTQWGFKQLPNESYIDYIKRVSKSKIWTSD
DNAAYDLTLDGSAKLNNMTSMNPNITYTTYTGVSSHTGPLGYENPDLGTF
FLMDTTSRIIGHDAREEWRKNDGVVPVISSLHPSNQPFVNVTNDEPATR
RGIWQVKPIIQGWDHVDFIGVDFLDFKRKGAELANFYTGIINDLLRV

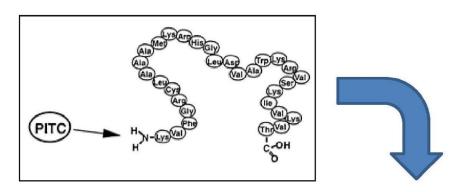


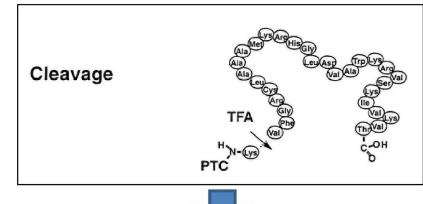
Секвенирование белка = установление первичной структуры



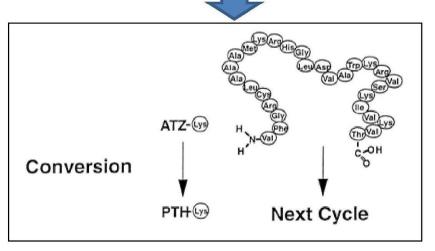
494 Procise protein/peptide sequencer



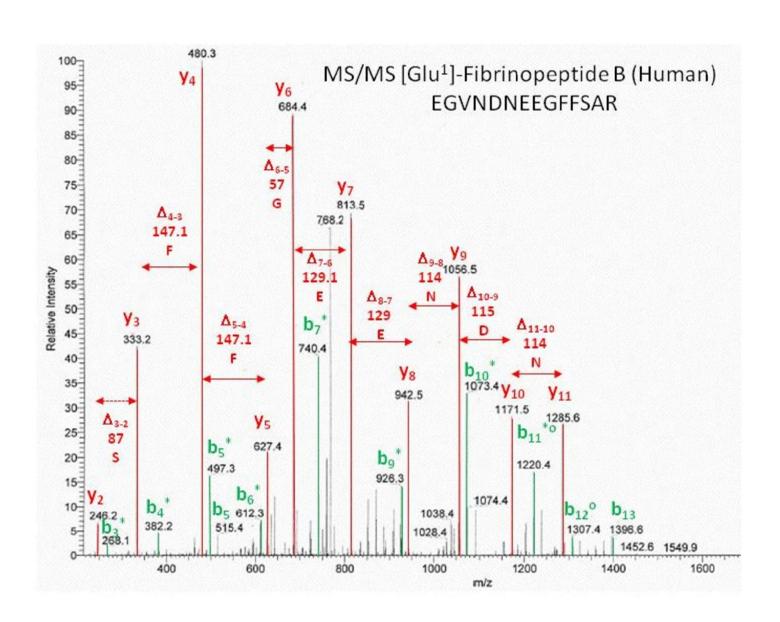




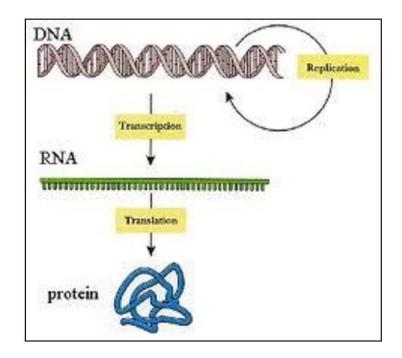


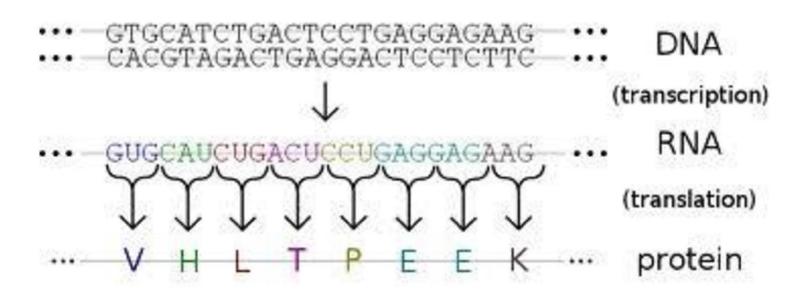


Секвенирование белка = установление первичной структуры

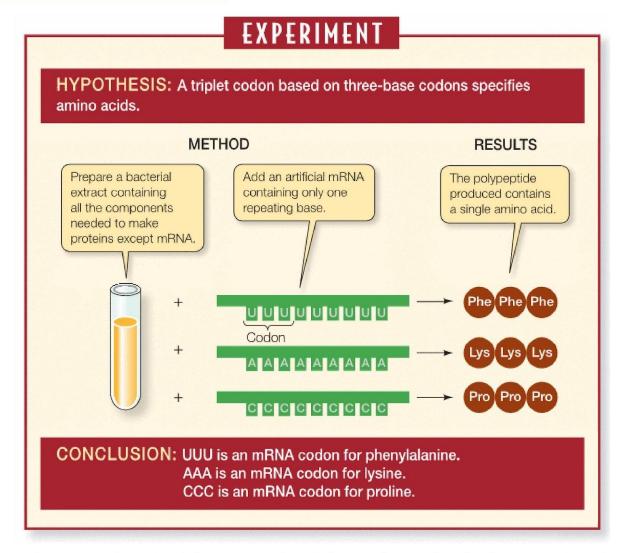


Генетический код



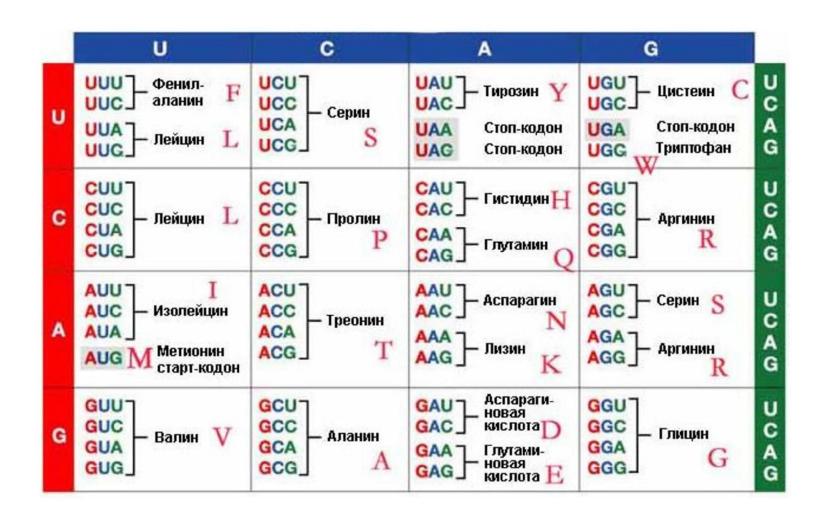


Генетический код



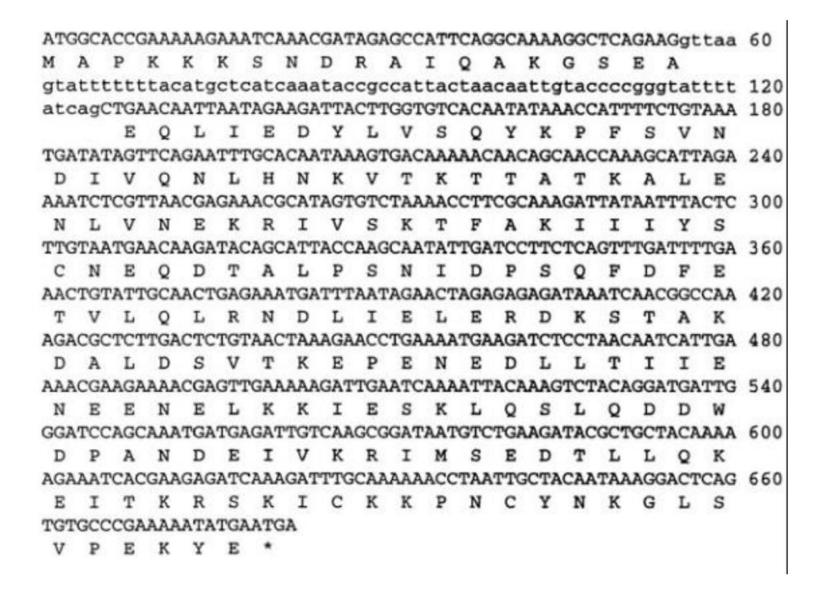
Marshall W. Nirenberg and Heinrich J. Matthaei (1962) made their own simple, artificial mRNA and identified the polypeptide product that was encoded by it.

Генетический код



Триплетность – Вырожденность - Универсальность

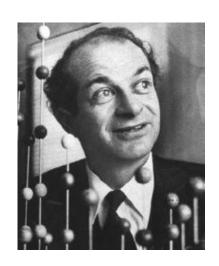
Компьютерное определение структуры



• упорядочивание за счет водородных связей

Альфа
спирали

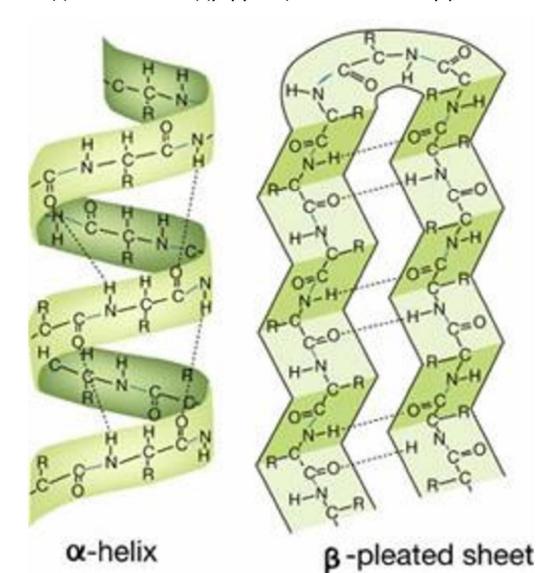
amino acid
side chain
oxygen
H-bond
nitrogen
nitrogen
(A)
(B)
(C)



Лайнус Карл Полинг (1901-1994)

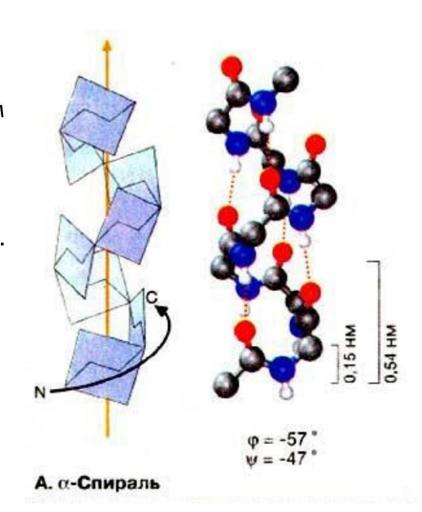


Вторичная структура белка это пространственная структура, образующаяся в результате взаимодействия между функциональными группами пептидного остова.



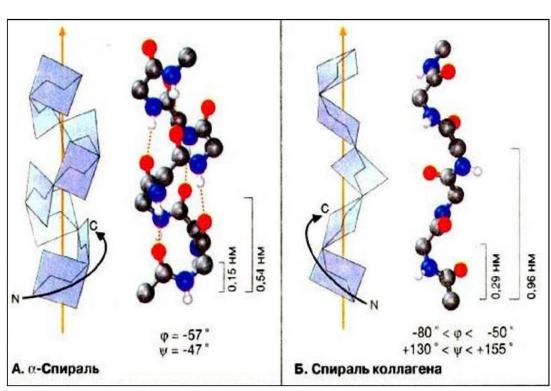
α-Спираль

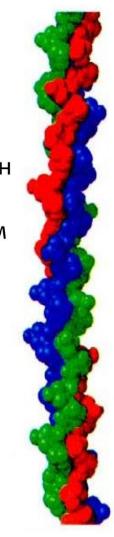
- Наиболее распространенным элементом вторичной структуры является правая αспираль (αR).
- На каждый виток приходится 3,6 аминокислотного остатка, шаг винта (т.е. минимальное расстояние между двумя эквивалентными точками) составляет 0,54 нм.
- α-Спираль стабилизирована водородными связями между NHгруппой и СО-группой четвертого по счету аминокислотного остатка.
- Неполярные или амфифильные αспирали с 5-6 витками часто обеспечивают заякоривание белков в биологических мембранах



Спираль коллагена

- Другая форма спирали присутствует в коллагене, важнейшем компон соединительных тканей.
- Это левая спираль коллагена с шагом 0,96 нм и 3,3 остатка в каждом более пологая по сравнению с α-спиралью
- В отличие от αспирали образование водородных мостиков здесь невозможно.
- Структура стабилизирована за счет скручивания трех пептидных цепей в правую тройную спираль





• β- складки

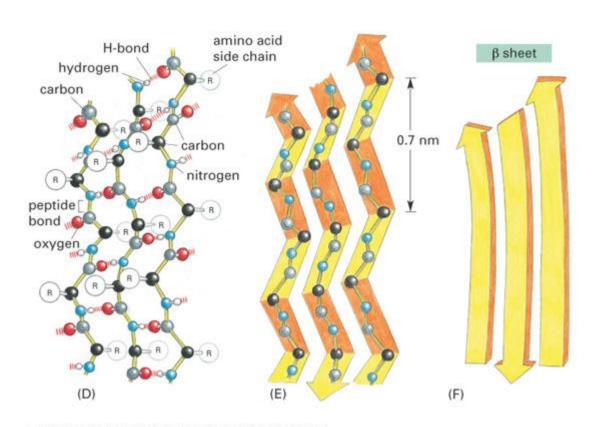
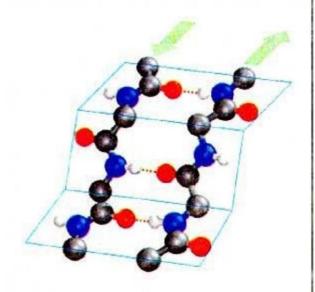


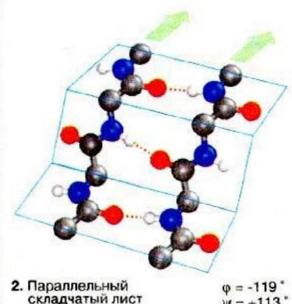
Figure 4-10 part 2 of 2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Складчатые структуры (β-листы)

- Вытянутые конформации пептидной цепи называются "β-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 (βα), а если цепи ориентированы в одном направлении, структура называется параллельным складчатым листом (βn).
- В складчатых структурах α-С-атомы располагаются на перегибах, а боковые цепи ориентированы почти перпендикулярно средней плоскости листа, попеременно вверх и вниз
- Энергетически более предпочтительной оказывается βα-складчатая структура с почти линейными Н-мостиками. В растянутых складчатых листах отдельные цепи чаще всего не параллельны, а несколько изогнуты относительно друг друга.

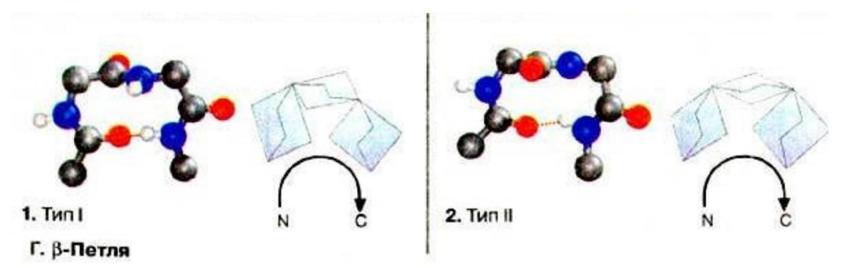


1. Антипараллельный $\phi = -139$ ° $\psi = +135$ ° В. Складчатые структуры

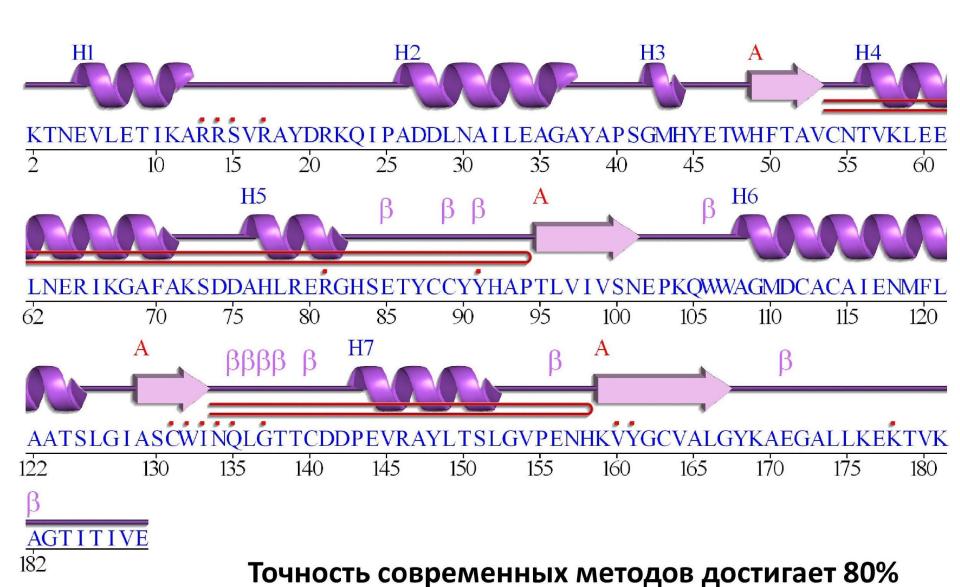


β-Петля

- 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 1800).
- 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

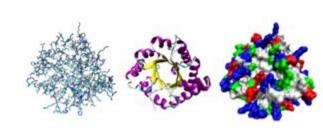


Третичная структура белка образована за счет:

- 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

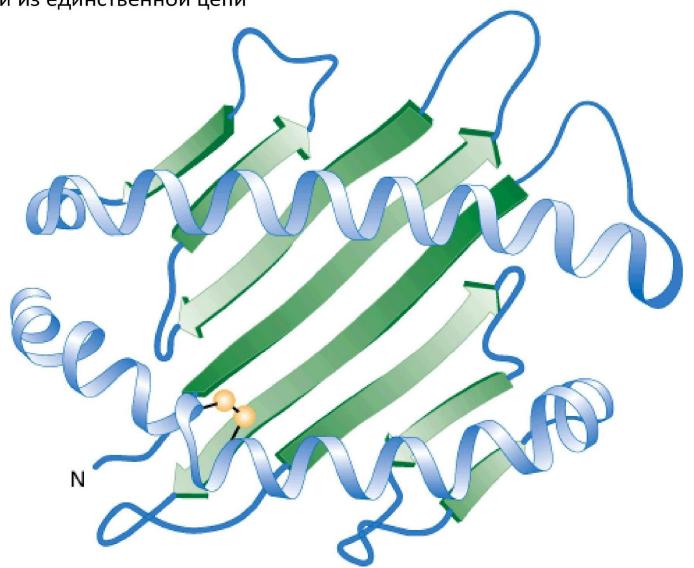
Пространственное расположение полипептидной цепи, обусловленное взаимодействием между боковыми группами аминокислотных остатков



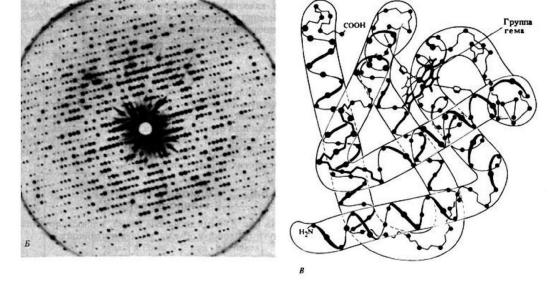
Hydrophobic interactions

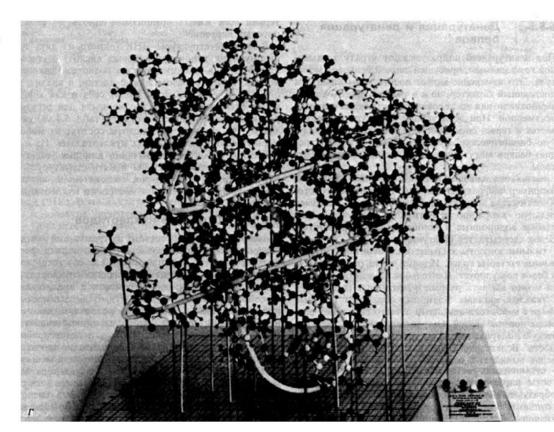
гидрофобные (clustering of hydrophobic groups away from water) and van der Waals interactions Polypeptide водородные backbone Hydrogen bond ковалентные Č−0H CH₂-S-S-CH₂ CH, Disulfide bridge -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH₃+ ионные Ionic bond

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



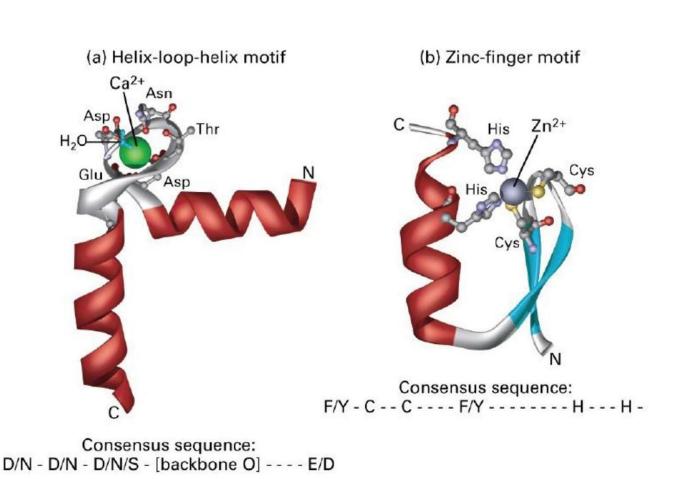
- Первым белком, третичная структура которого была выяснена Дж. Кендрью на основании рентгеноструктурного анализа, был миоглобин кашалота.
- Белок с молекулярной массой 16700, содержащий 153 аминокислотных остатка
- Основная функция миоглобина – перенос кислорода в мышцах.





Супервторичная структура белков

специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой белков



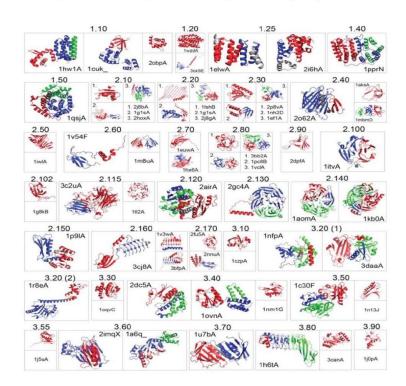
Leu (4) Val (1) Leu (4) Asn (1) Leu (4) Val (1) Leu (4) Heptad repeat: [V/N/M] - - L - - -

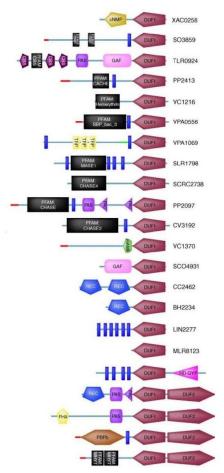
(c) Coiled coil motif

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.

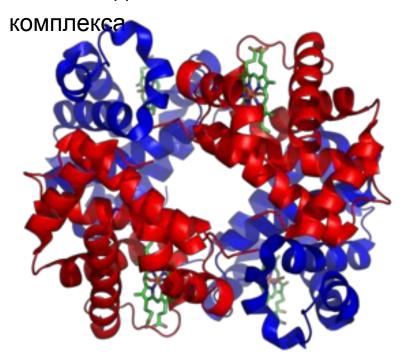
- Размер домена может быть от 25 до 500 аминокислот
- На сегодняшний день зарегистрировано 173536 доменов.

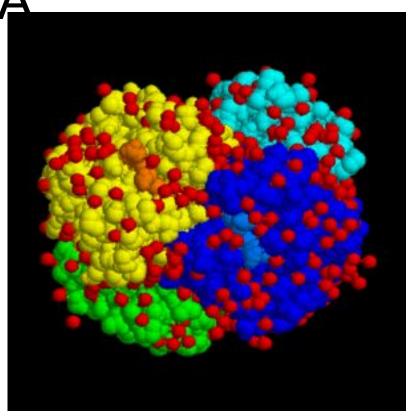




ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛК<u>А</u>

 Взаимное расположение нескольких полипептидных цепей в составе единого белкового



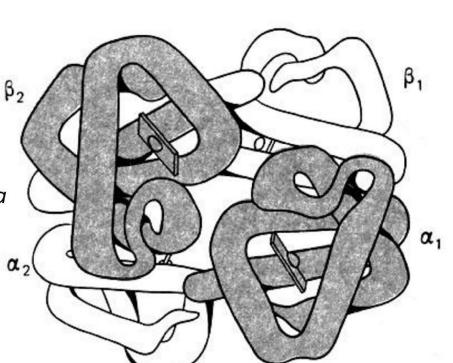


Гемоглобин – тетрамер, содержащий 4 полипептидные цепи

Четвертичная структура белка

- Классический пример четвертичной структуры у гемоглобина
- Его молекула состоит из четырех отдельных полипептидных цепей двух разных типов: из двух α-цепей и двух β-цепей.
- Две α-цепи содержат по 141 аминокислотному остатку, а две β-цепипо 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.
- Перутц использовал также недавно появившуюся электронновычислительную машину.



Денатурация белка

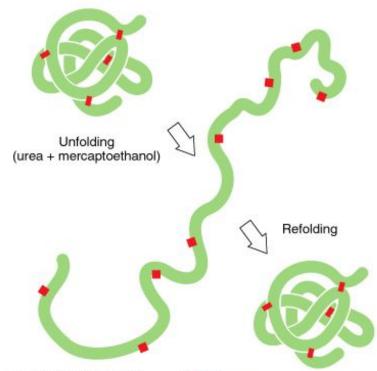
 Разрушение четвертичной, третичной и вторичной структур белка

Физическое воздействие:

температура, удар, облучение

Химическое воздействие:

изменение pH, восстанавливающие и хаотропные агенты

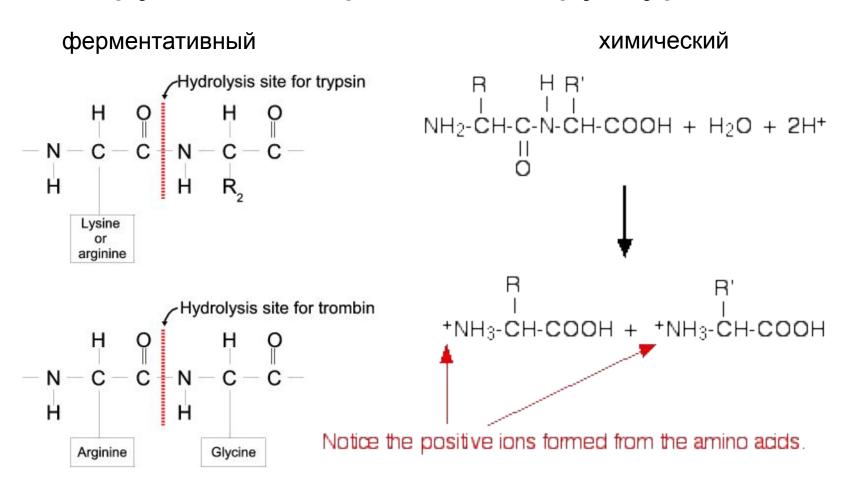


From C. J. Epstein, R. F. Goldberger, and C. B. Anfinsen, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28:439, 1963. Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

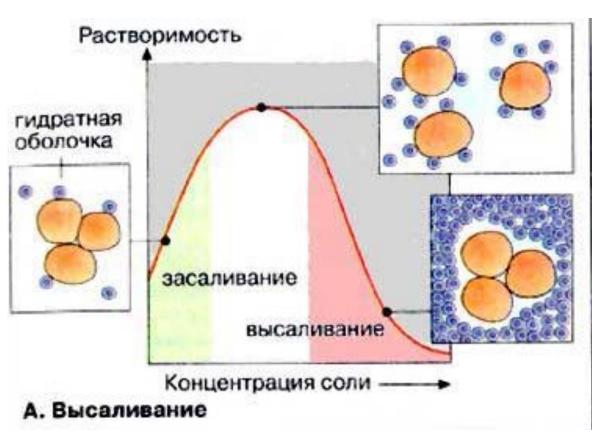
Обратимая и необратимая денатурация

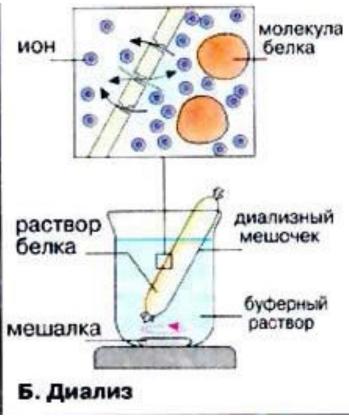
Гидролиз белка

• Разрушение первичной структуры

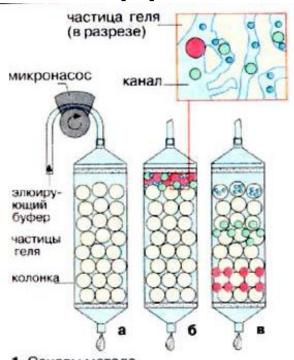


Методы анализа

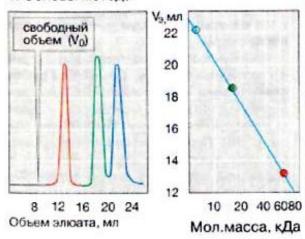




Методы анализа белков



1. Основы метода



2. График элюирования

3. Определение мол. массы В. Гель-фильтрация

R - SH ТИОЛ денатурированный нативный белок белок 1. Основы метода образец катод пластиковый корпус верхний резервуар с буфером полиакриламидный гель анод нижний резервуар с буфером 2. Камера для электрофореза

Длина пробега 40 60 80 a б Масса, кДа

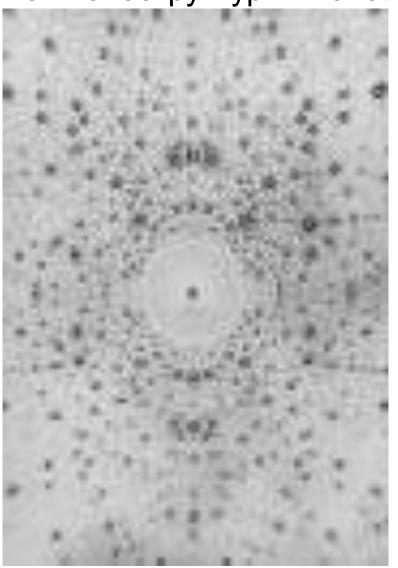
3. Окрашенный гель

4. Определение мол. массы

Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ

Методы анализа белков

Рентгеноструктурный анализ



Электронная микроскопия

