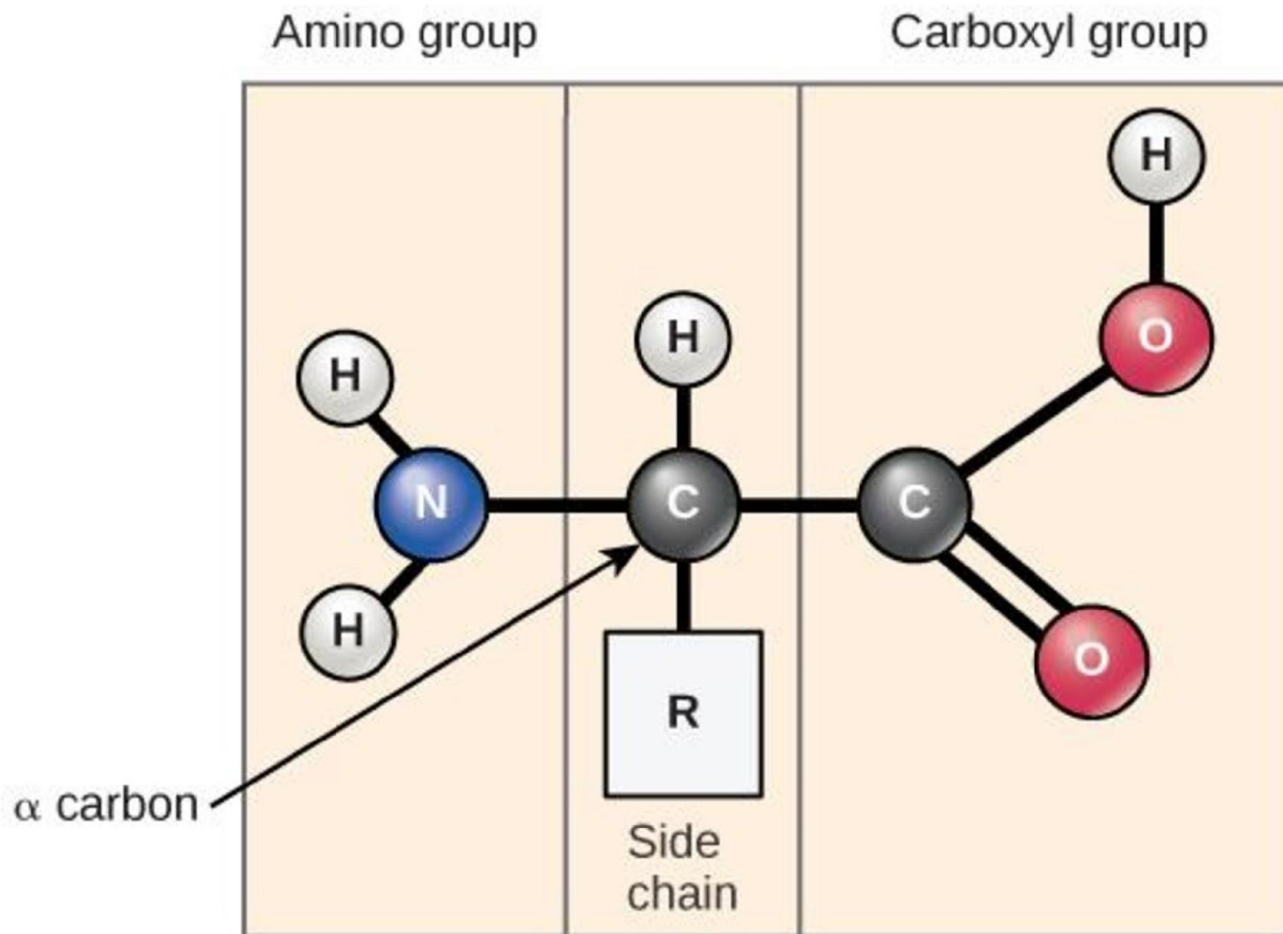


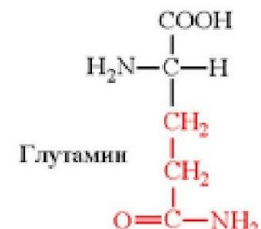
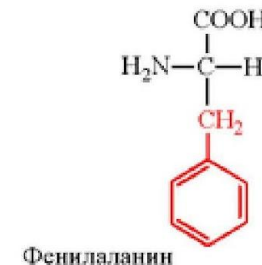
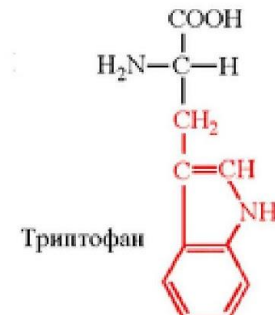
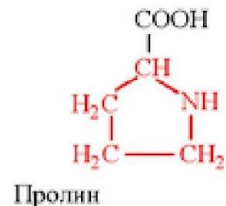
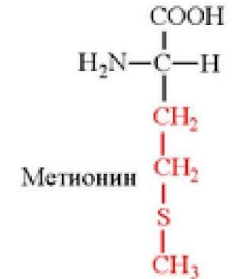
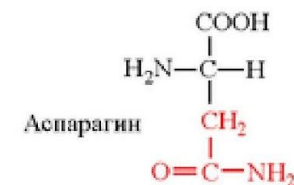
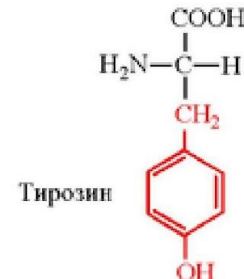
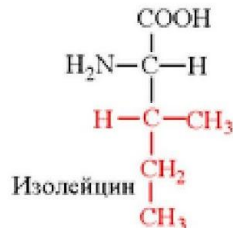
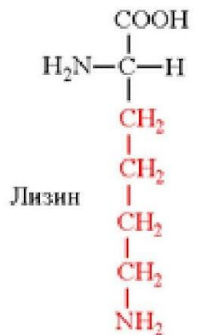
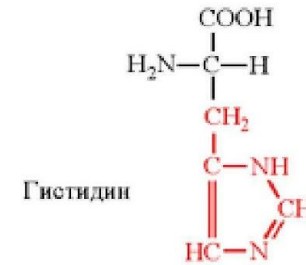
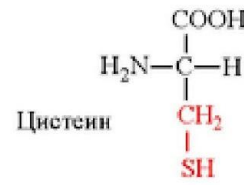
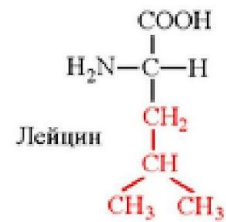
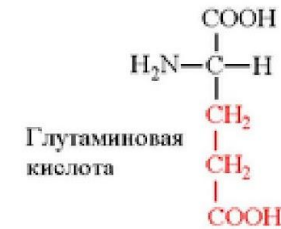
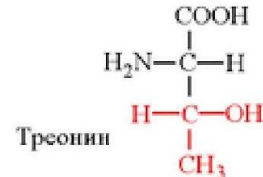
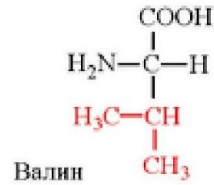
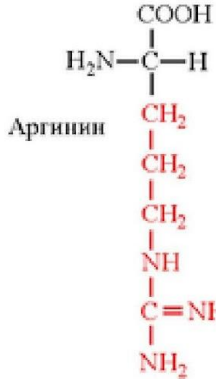
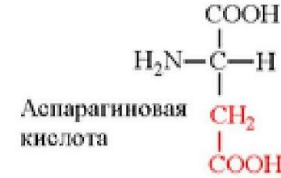
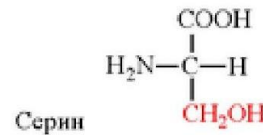
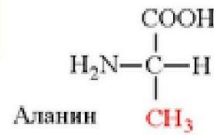
Часть 1. *Состав белков*

Структура аминокислоты



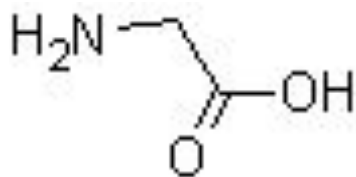
Аминокислоты

В геноме человека кодируется 20 аминокислот

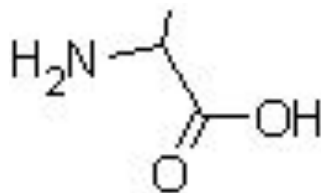


Классификация аминокислот

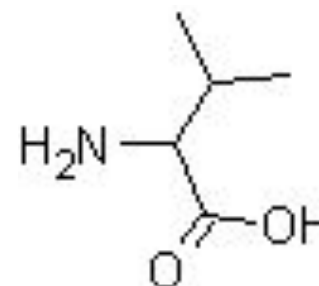
- Неполярные, или алифатические



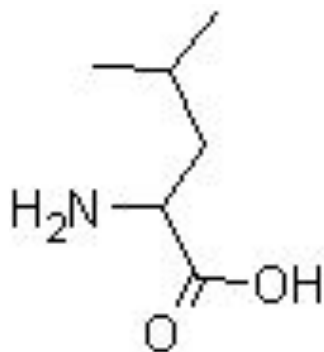
глици
н



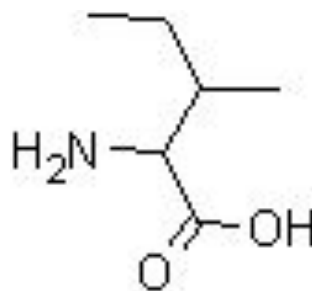
алани
н



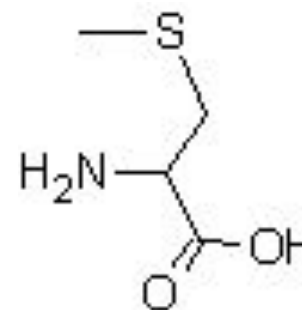
вали
н



лейци
н

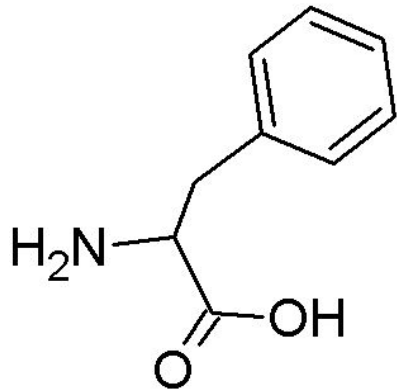


изолейци
н

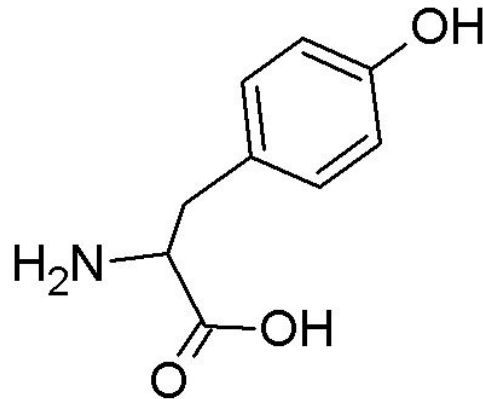


метиони
н

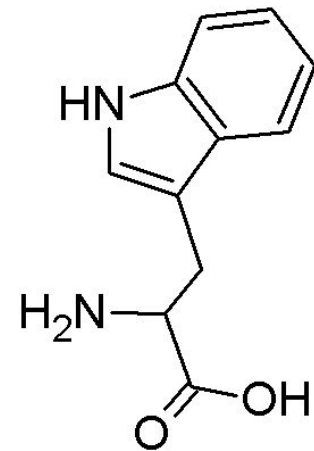
Ароматические



фенилalani
H

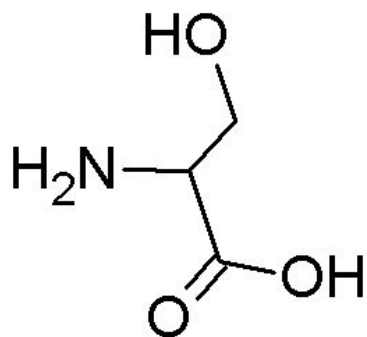


тирози
H

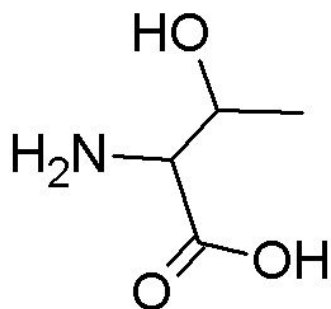


триптофа
H

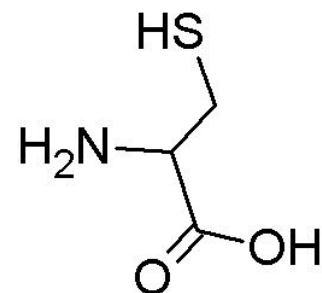
Полярные незаряженные



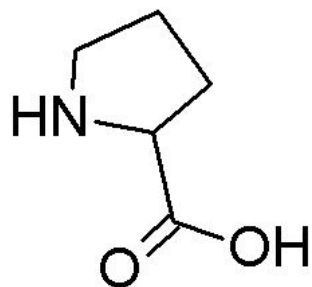
серин



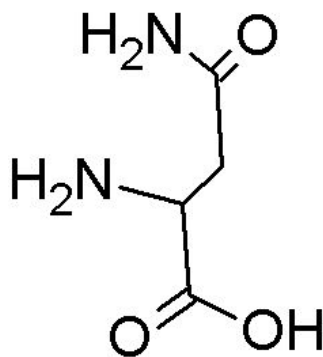
треони
н



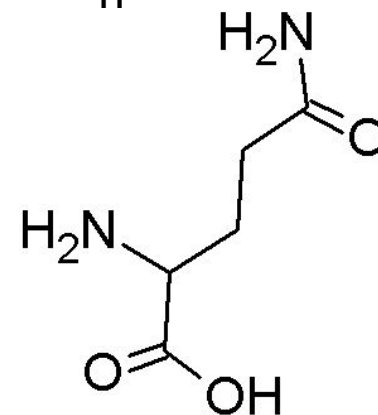
цистеи
н



проли
н

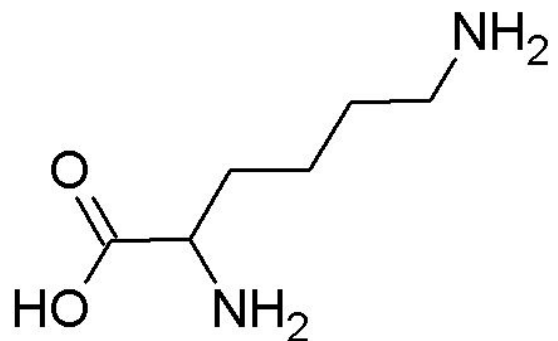


аспараги
н

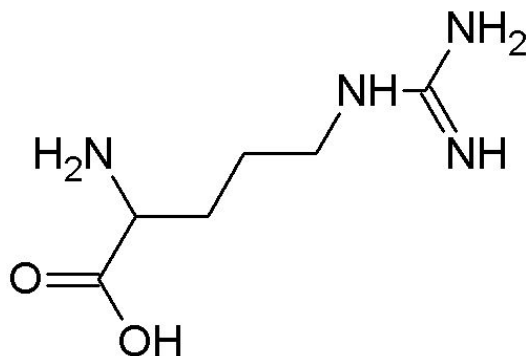


глутами
н

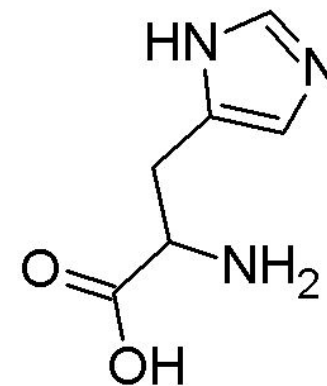
Положительно заряженные



ЛИЗИН

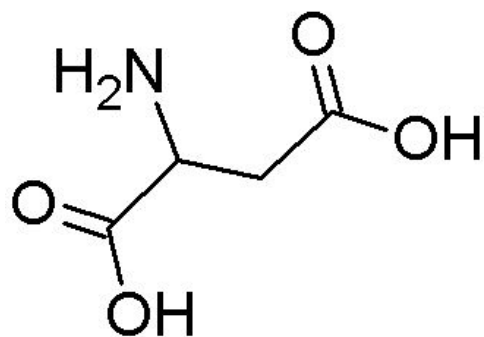


аргини
н



ГИСТИДИ
н

Отрицательно заряженные

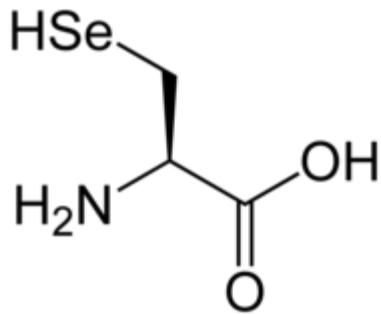


аспарагиновая
кислота

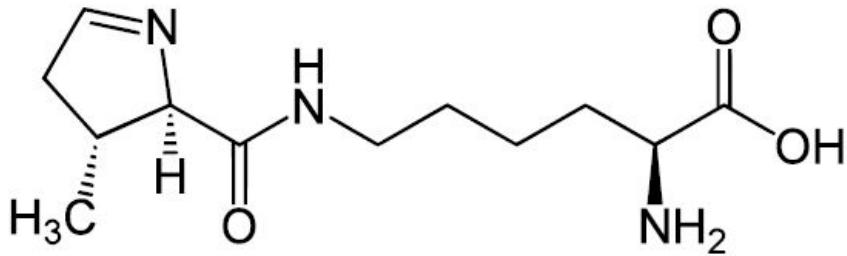


глутаминовая
кислота

Неканонические аминокислоты

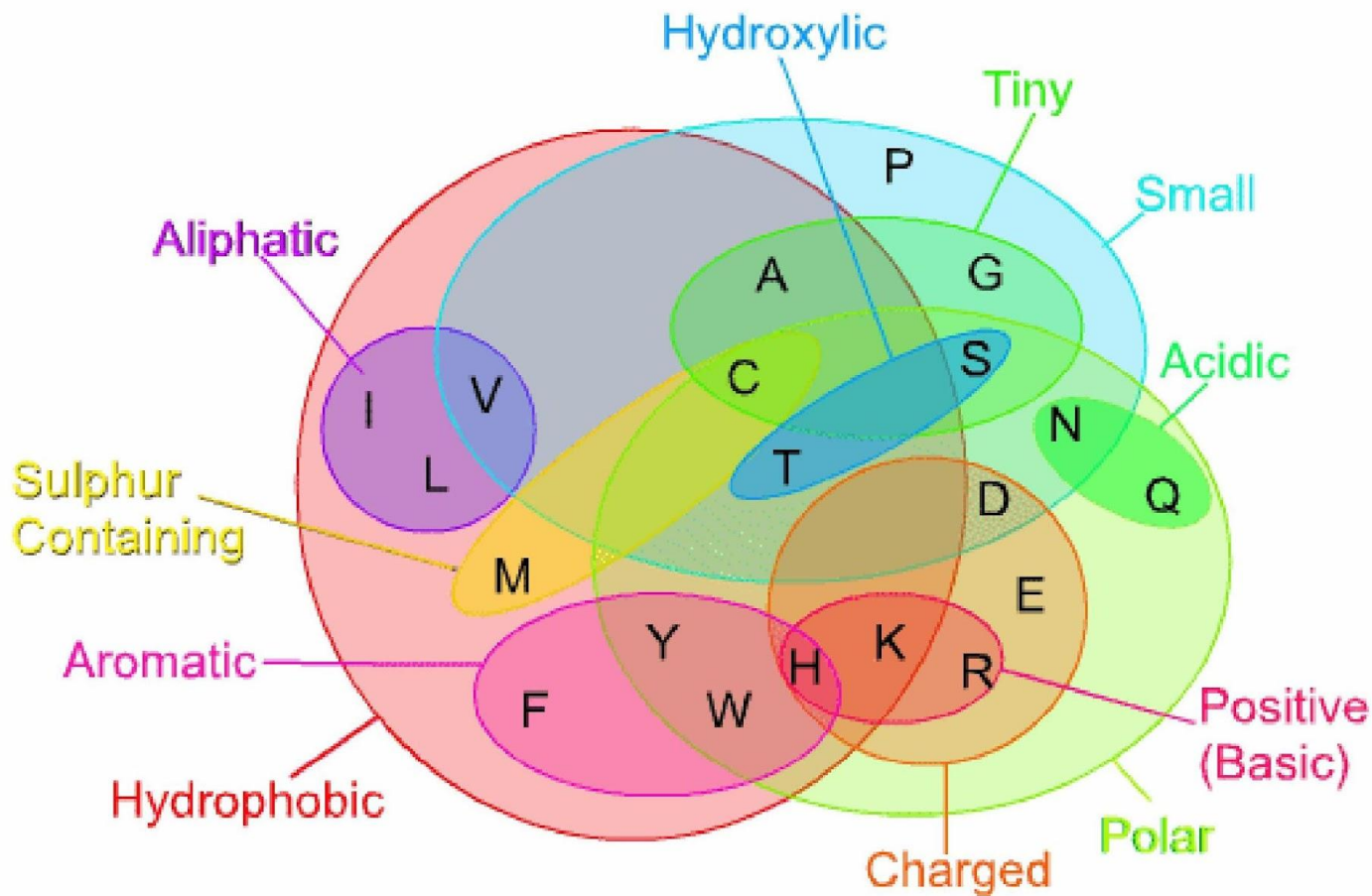


- **Селеноцистеин (Sec)** – 21-я аминокислота, входит в состав селенобелков, кодируется особым образом



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

Классификация аминокислот

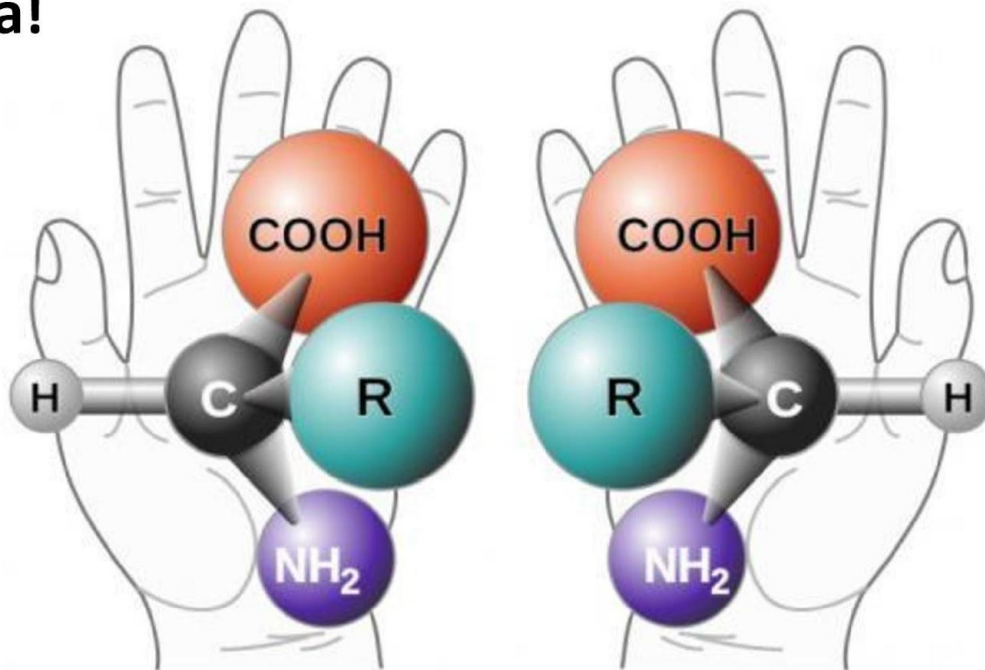


Amino Acids

- 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** methionine (met)
- F** phenylalanine (phe)
- P** proline (pro)
- S** serine (ser)
- T** threonine (thr)
- W** tryptophan (trp)
- Y** tyrosine (tyr)

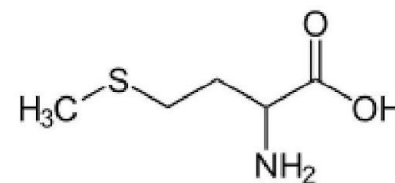
Оптические свойства аминокислот

Только L форма!



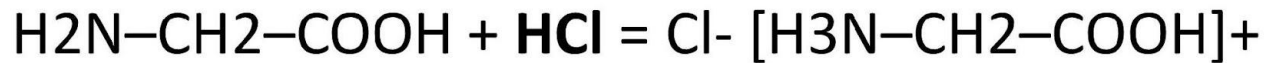
Рацемизация — преобразование оптически активного вещества или смеси, где присутствует только один энантиомер, в смесь, содержащую более одного энантиомера.

Исключение метионин

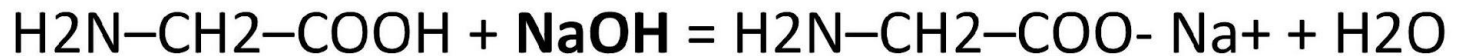


Химические свойства аминокислот

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



Так и как **кислота**:

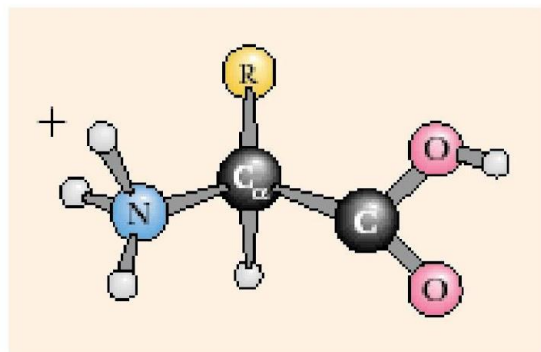


Однако находясь в полипептидной цепи, их свойства определяются группами боковых радикалов.

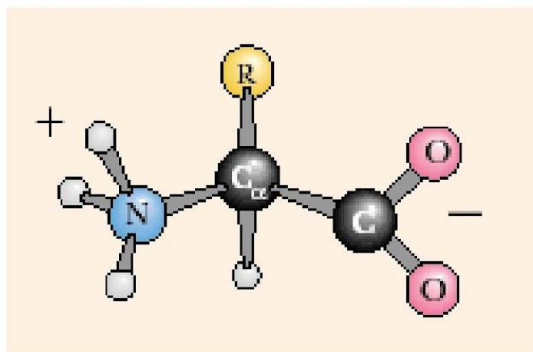
Химические свойства аминокислот

Кисотно-основные свойства

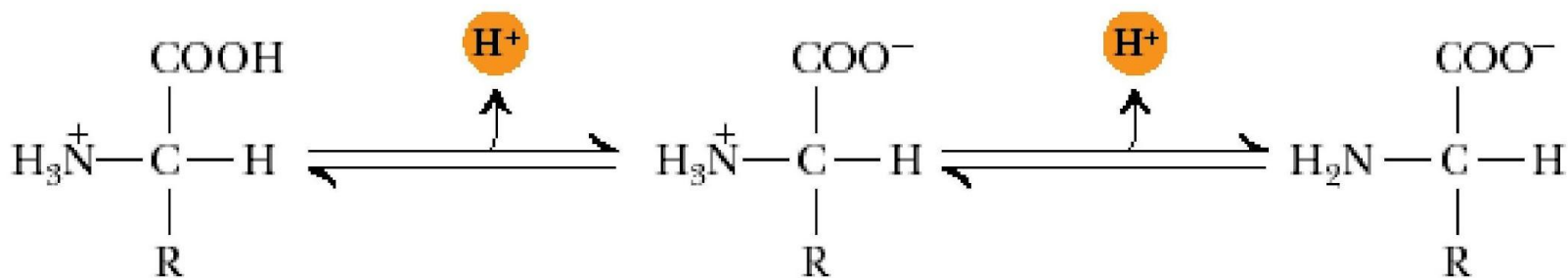
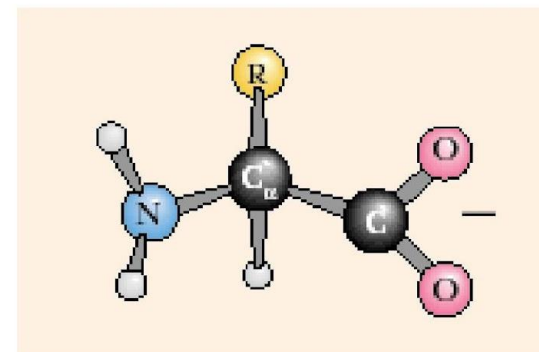
pH 1 Заряд +1



pH 7 Заряд 0



pH 13 Заряд -1

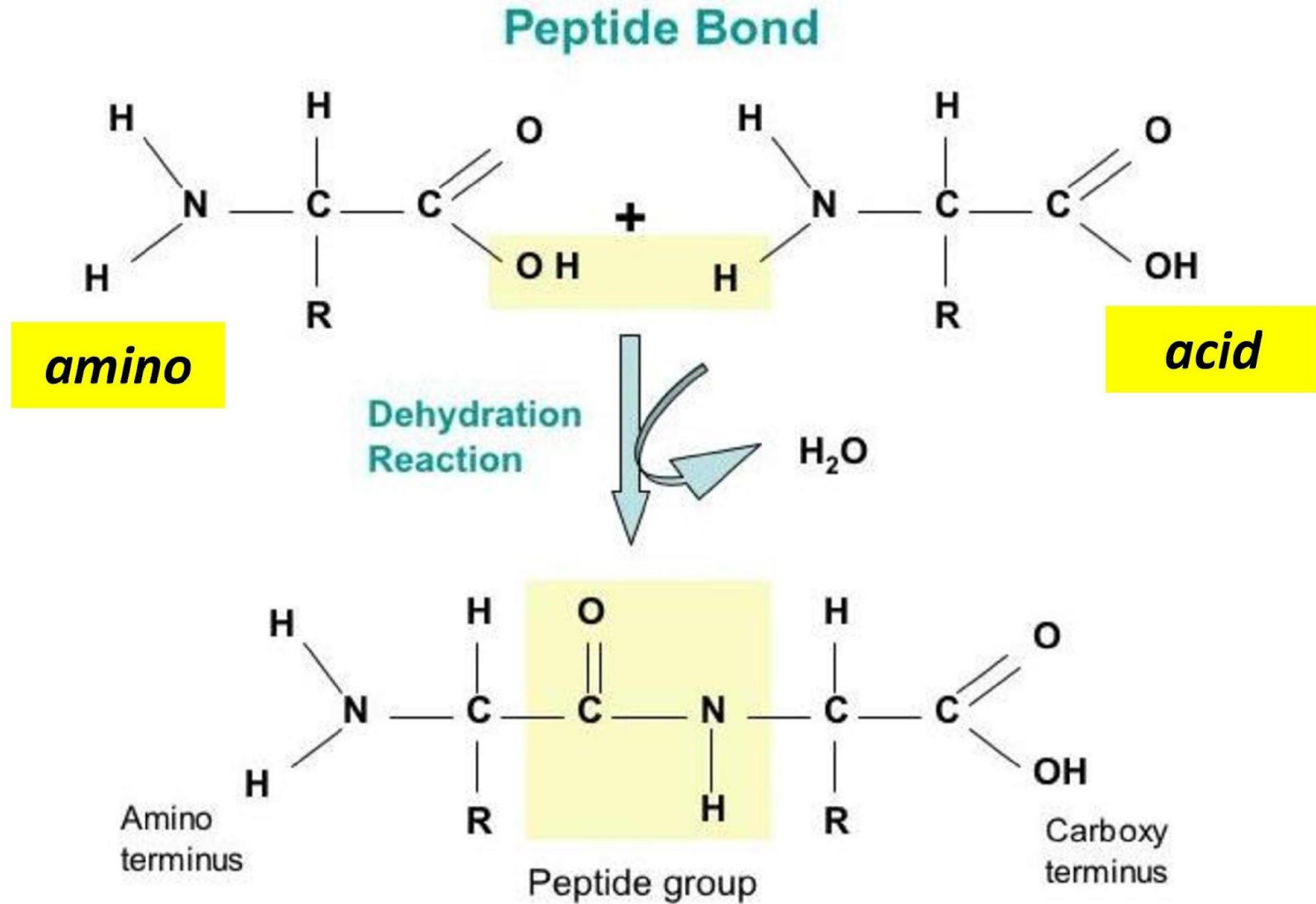


Катионная форма

Цвиттерин (нейтральный)

Анионная форма

Химические свойства аминокислот



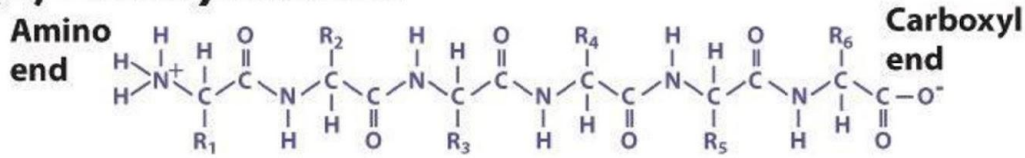
Аминокислоты, названия

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

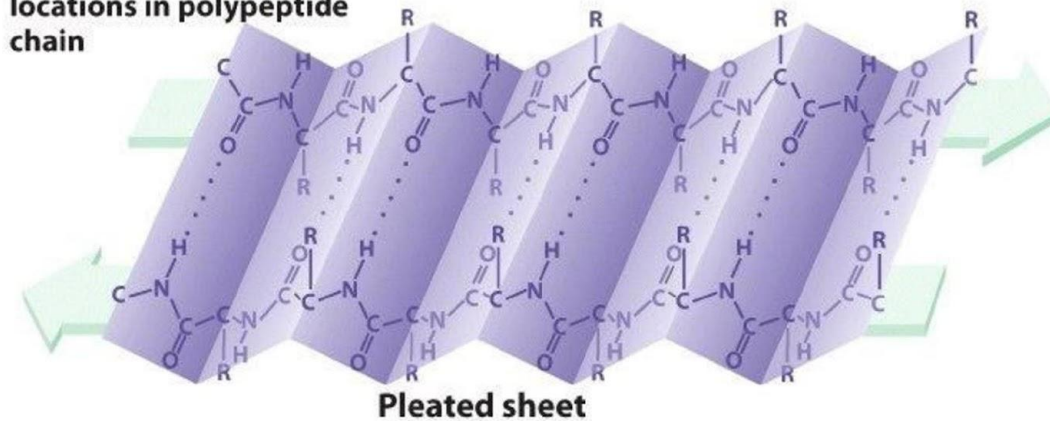
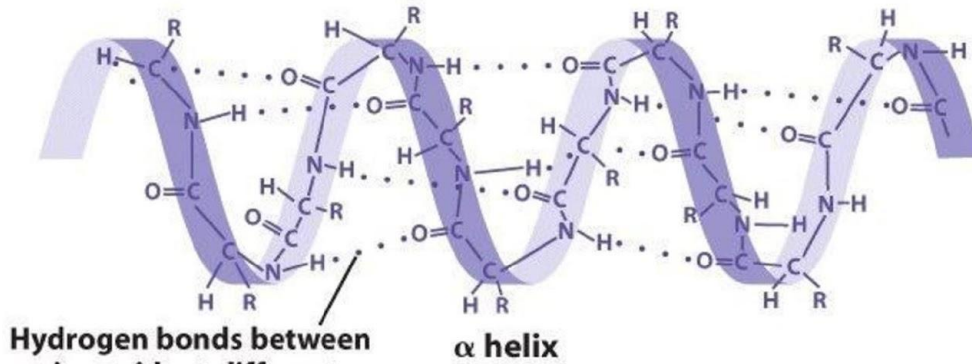
Часть 2. *Структура белков*

Уровни организации структуры белков

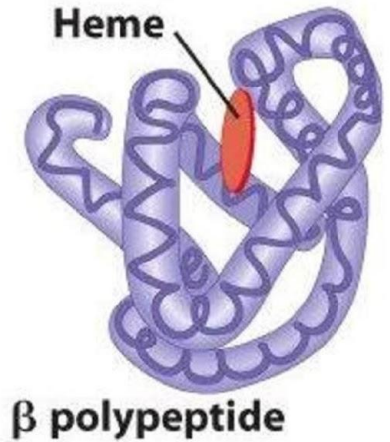
(a) Primary structure



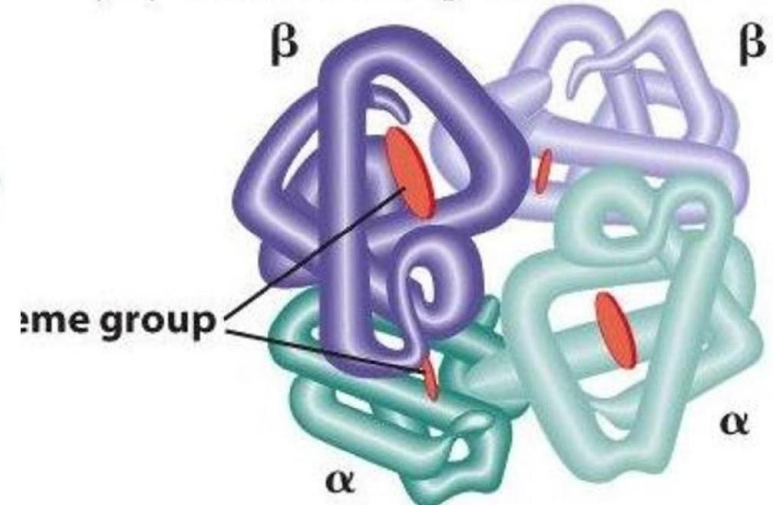
(b) Secondary structure



(c) Tertiary structure



(d) Quaternary structure



История установления структуры белка

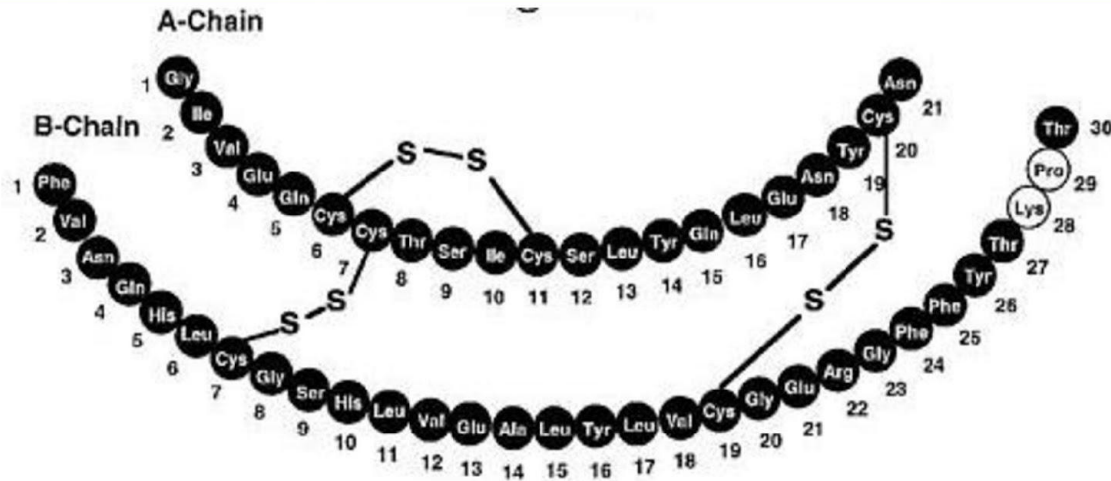
Первичная структура белка - это последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи



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

Фредерик Сенгер

История установления структуры белка

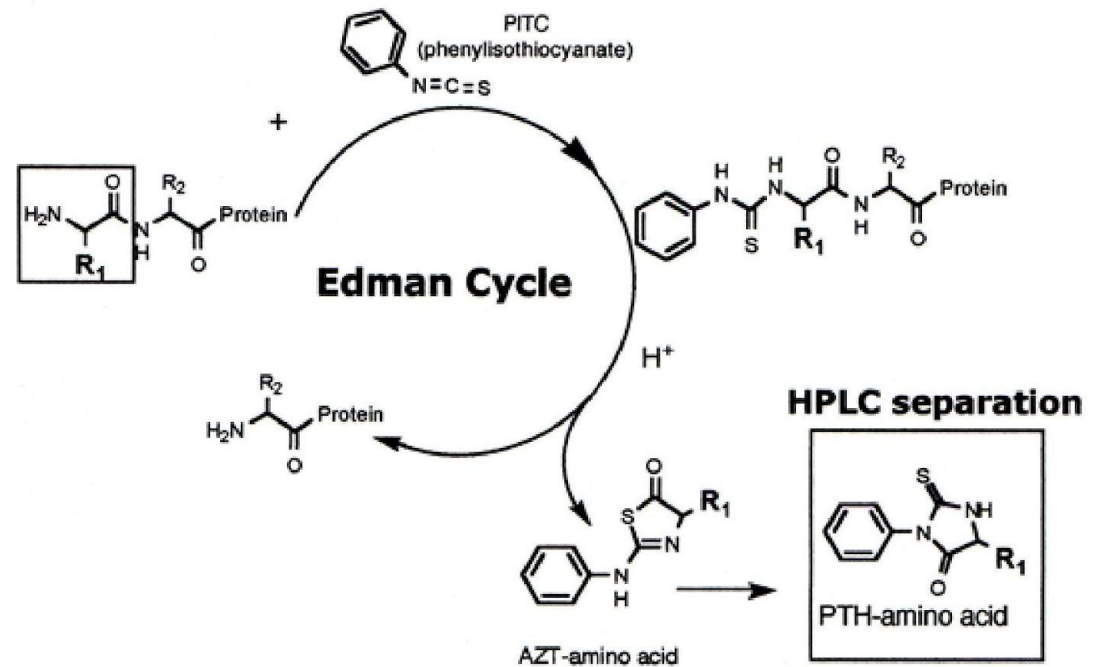


- В 1945г Сенгер разработал гидролиз белка в мягких щелочных условиях с динитрофенолом
- Определил, что инсулин содержит две различные N-концевые аминокислоты, следовательно, каждая молекула инсулина состоит из двух видов полипептидных цепей.
- В 1949г Сенгер открыл способ разрушения дисульфидных мостиков 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
MFALNRFMGNKYSNIDLGLTQWGFKQLPNESYIDYIKRVSKSKIWTSD
DNAAYDLTLDGSAKLNMMTSMNPNITYTTYTGVSSTGPLGYENPDLGTF
FLMDTTSRIGHDAREEWRKNDGVVPISSLHPSNQPFVNVVTNDEPATR
RGIWQVKPIQGWDHVDFIGVDFLDFKRKGAELANFYTGINDLLRV

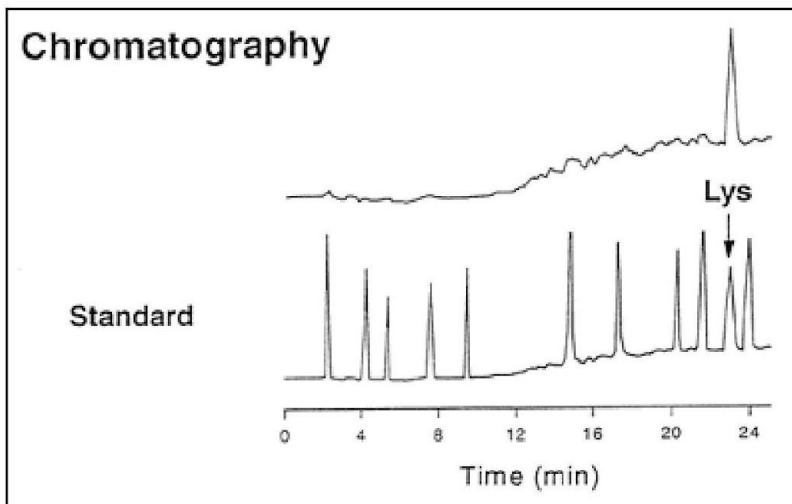
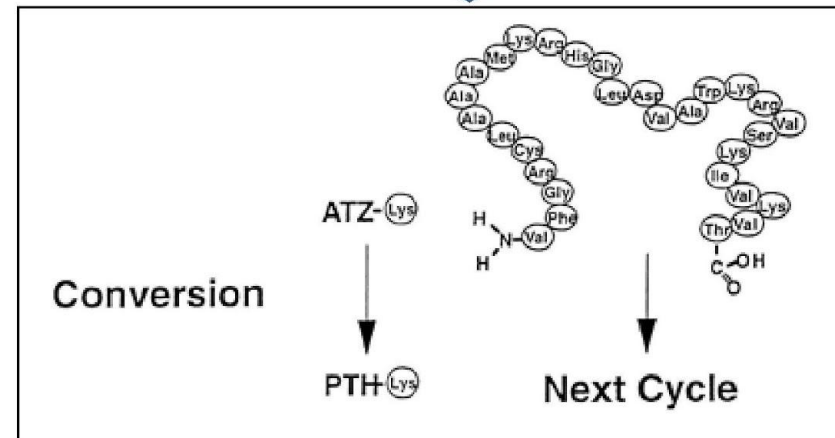
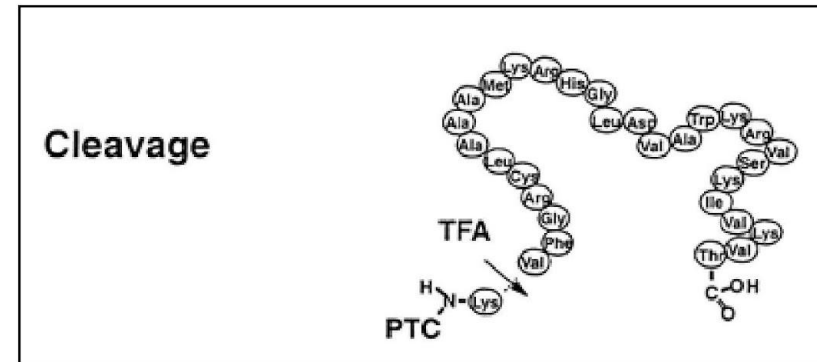
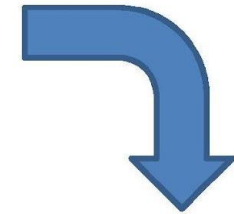
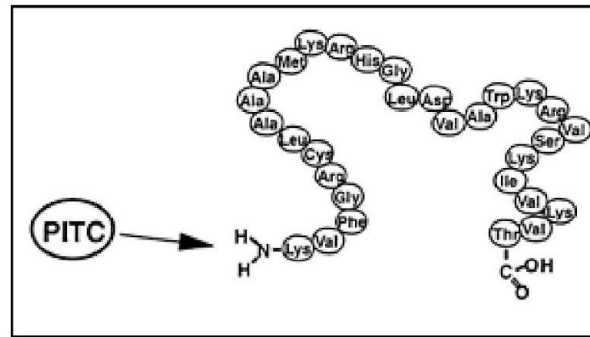
N-terminal sequencing cycle:



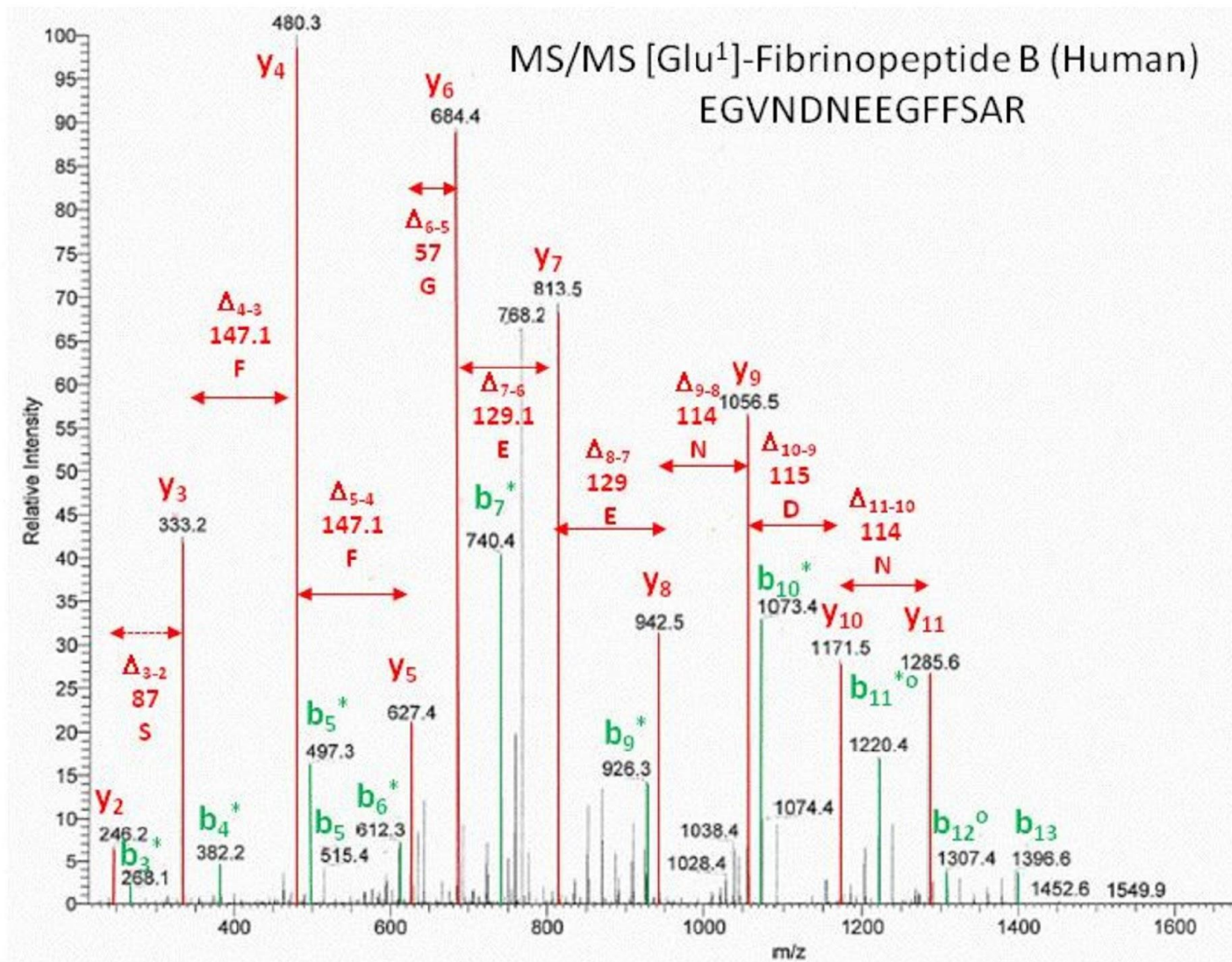
Секвенирование белка = установление первичной структуры



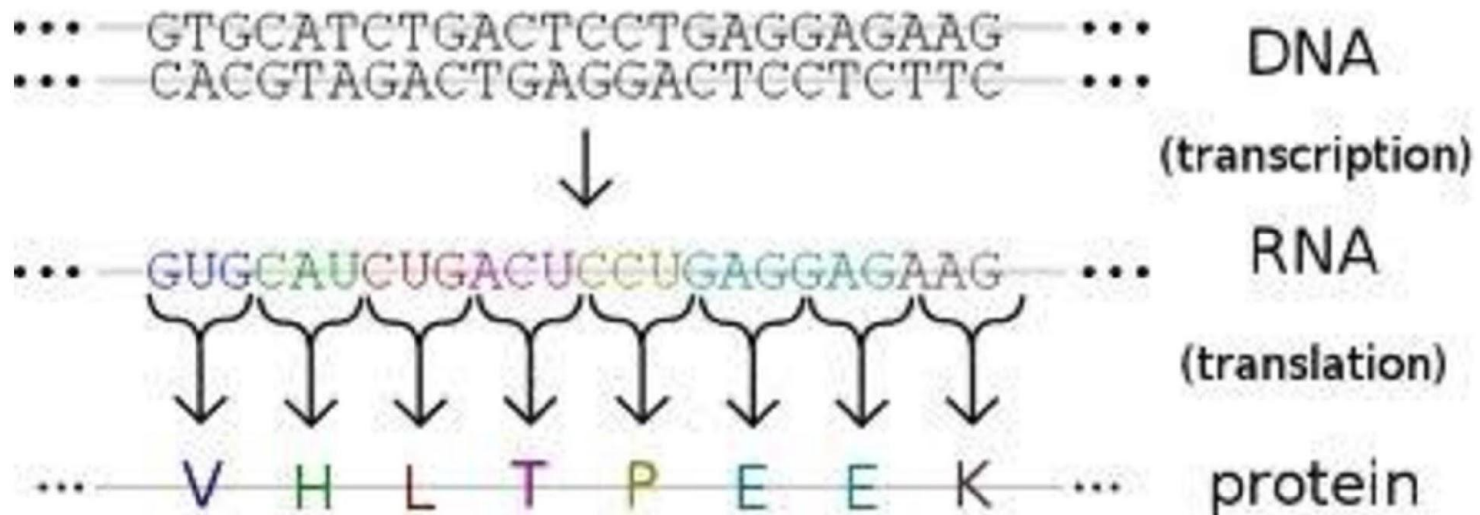
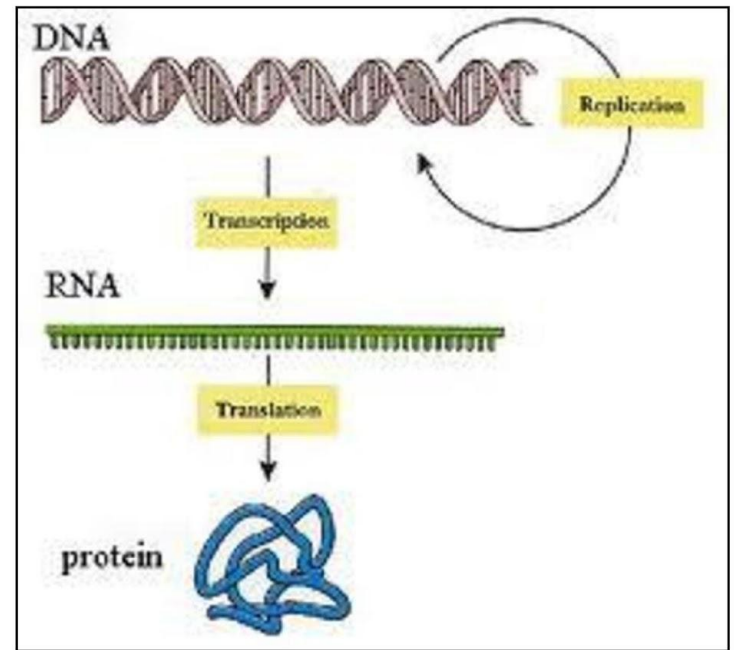
494 Procise protein/peptide sequencer



Секвенирование белка = установление первичной структуры



Генетический код



Генетический код

EXPERIMENT

HYPOTHESIS: A triplet codon based on three-base codons specifies amino acids.

METHOD

Prepare a bacterial extract containing all the components needed to make proteins except mRNA.



Add an artificial mRNA containing only one repeating base.

+



Codon

+



+



RESULTS

The polypeptide produced contains a single amino acid.

Phe Phe Phe

Lys Lys Lys

Pro Pro Pro

CONCLUSION: UUU is an mRNA codon for phenylalanine.
AAA is an mRNA codon for lysine.
CCC is an mRNA codon for proline.

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

	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

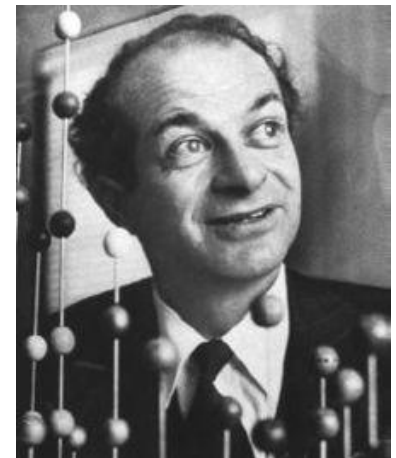
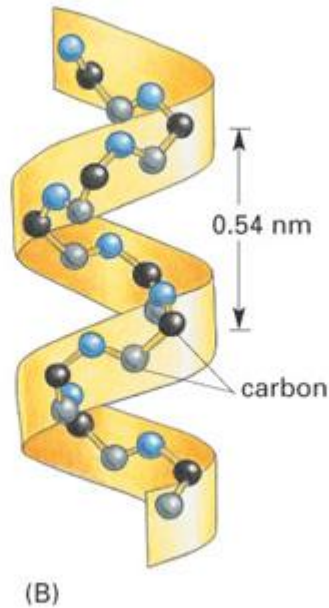
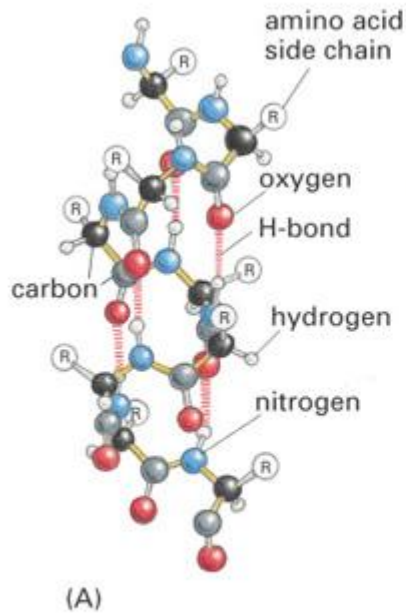
Компьютерное определение структуры

```
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



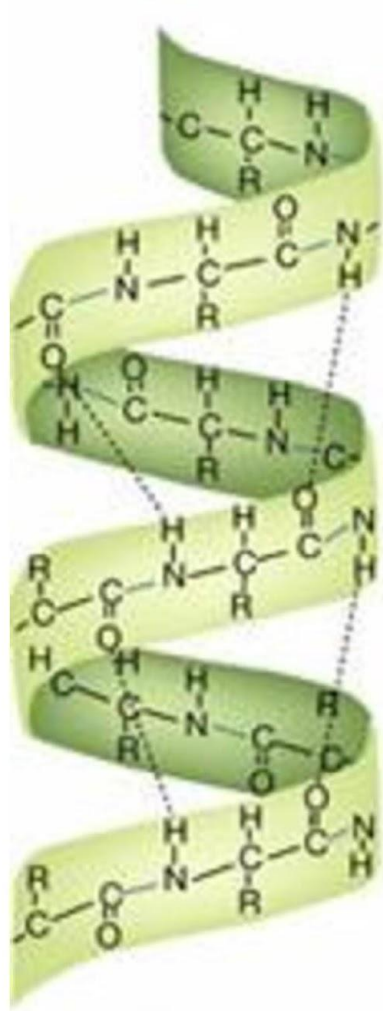
Лайнус Карл Полинг
(1901-1994)

Нобелевская премия по химии 1954 г.

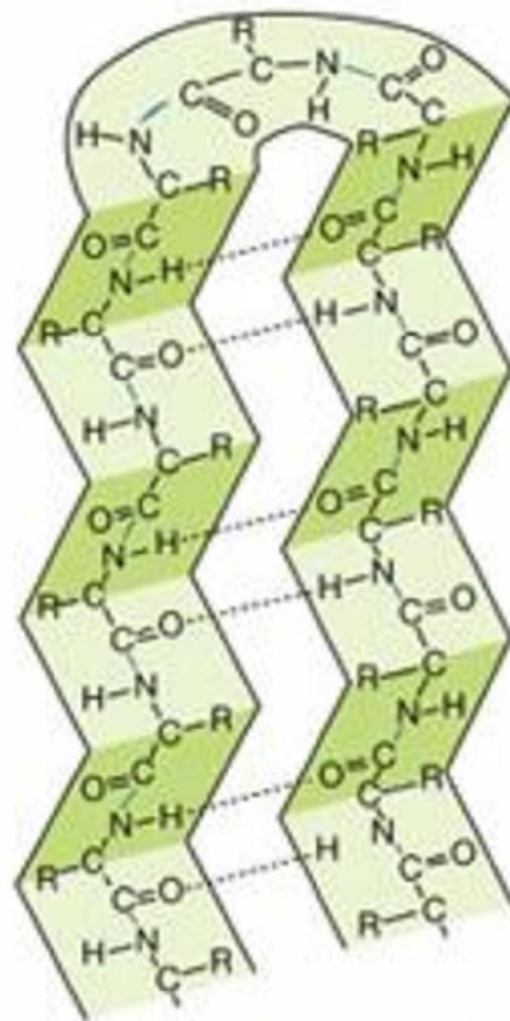


Вторичная структура белка

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



α -helix

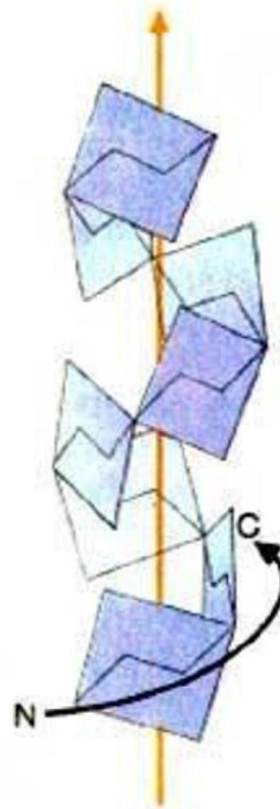


β -pleated sheet

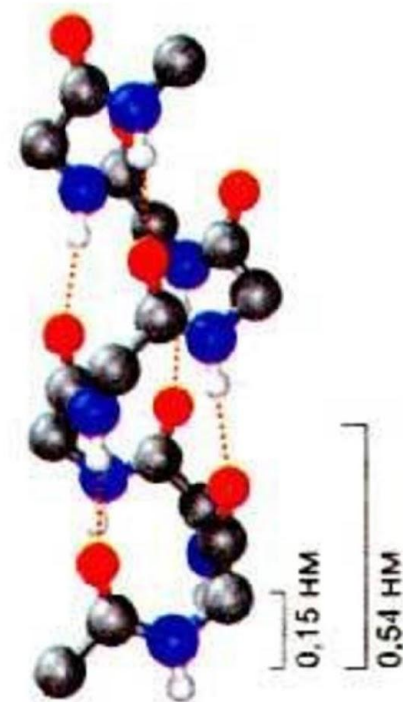
Вторичная структура белка

α -Спираль

- Наиболее распространенным элементом вторичной структуры является правая α -спираль (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 NH-группой и CO-группой четвертого по счету аминокислотного остатка.
- Неполярные или амфифильные α -спирали с 5-6 витками часто обеспечивают закоривание белков в биологических мембранах



А. α -Спираль

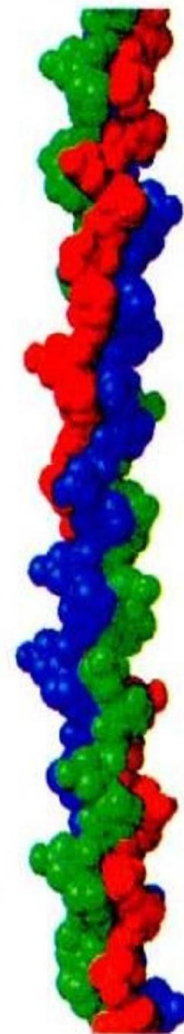
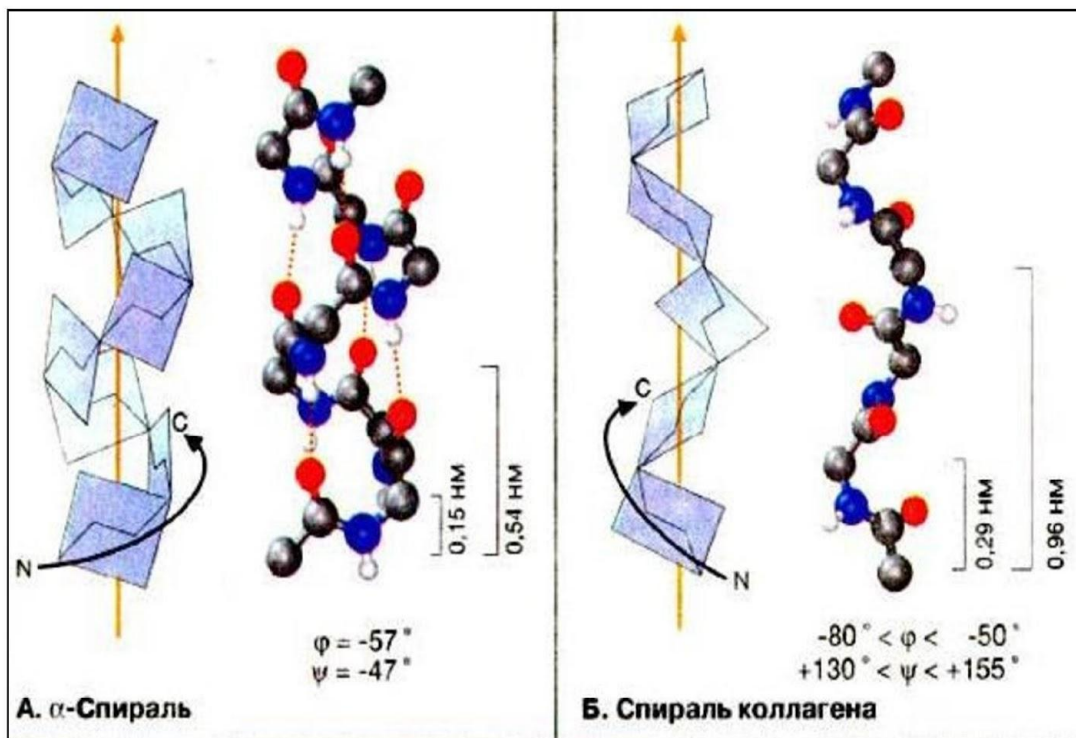


$$\begin{aligned}\varphi &= -57^\circ \\ \psi &= -47^\circ\end{aligned}$$

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 α -спиралью
- В отличие от α -спирали образование водородных мостиков здесь невозможно.
- Структура стабилизирована за счет скручивания трех пептидных цепей в правую тройную спираль



Вторичная структура белка

- β -складки

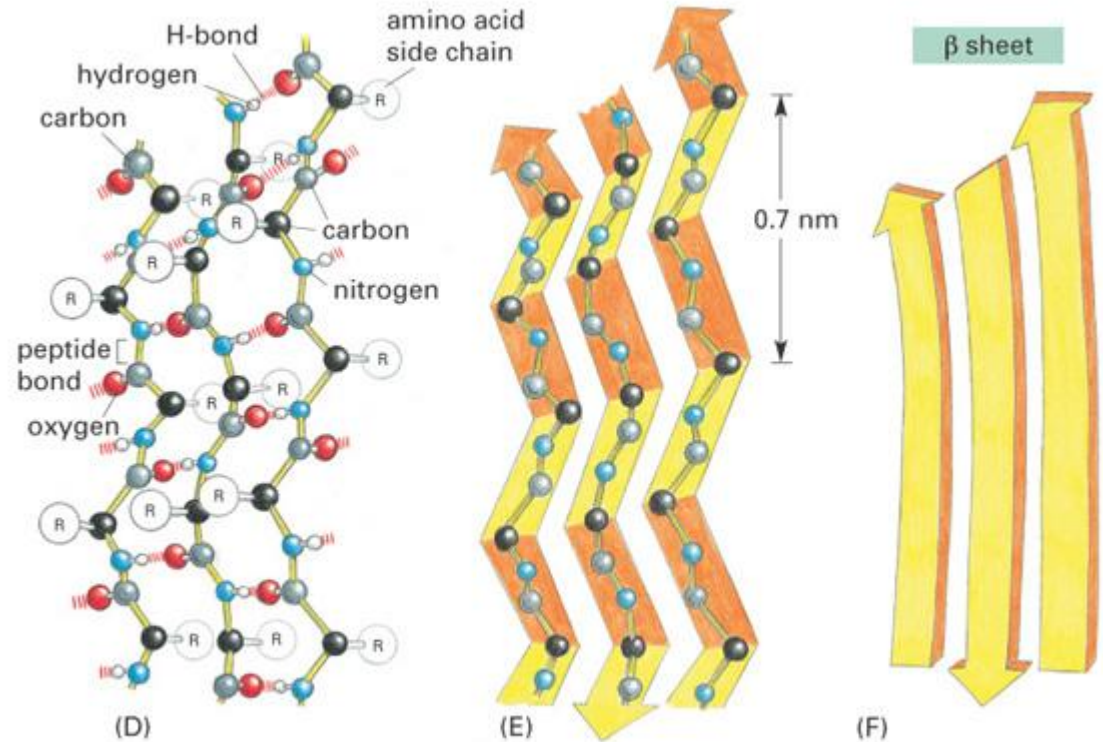
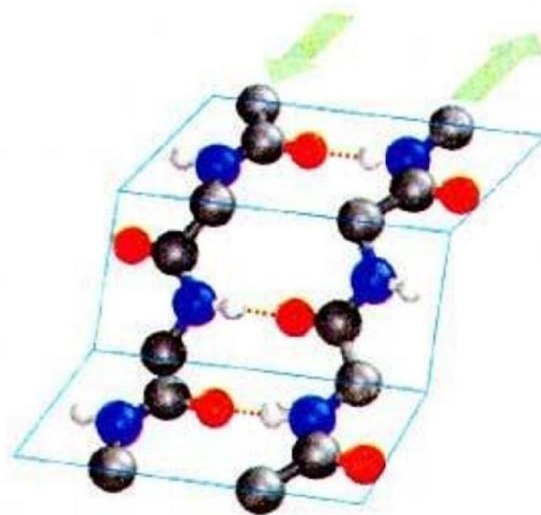


Figure 4-10 part 2 of 2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Вторичная структура белка

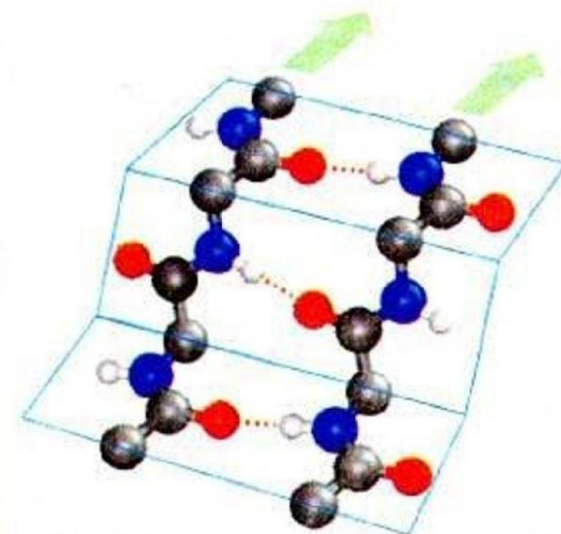
Складчатые структуры (β -листы)

- 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 ($\beta\alpha$), а если цепи ориентированы в одном направлении, структура называется параллельным складчатым листом ($\beta\parallel$).
- 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 $\beta\alpha$ -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

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



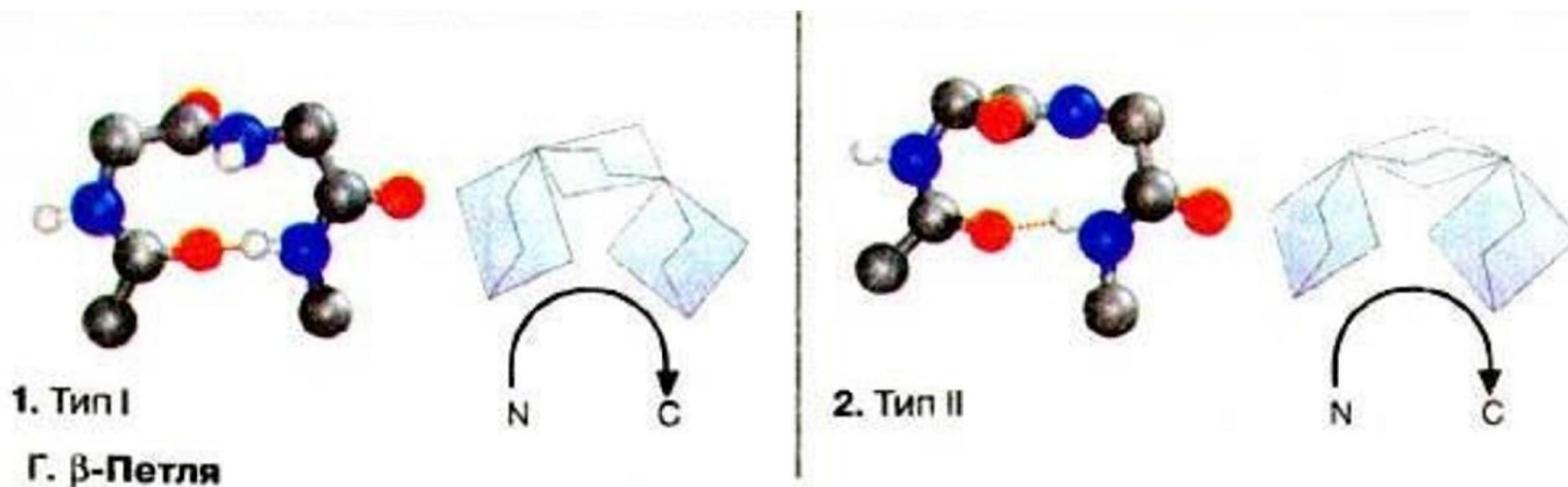
2. Параллельный складчатый лист

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

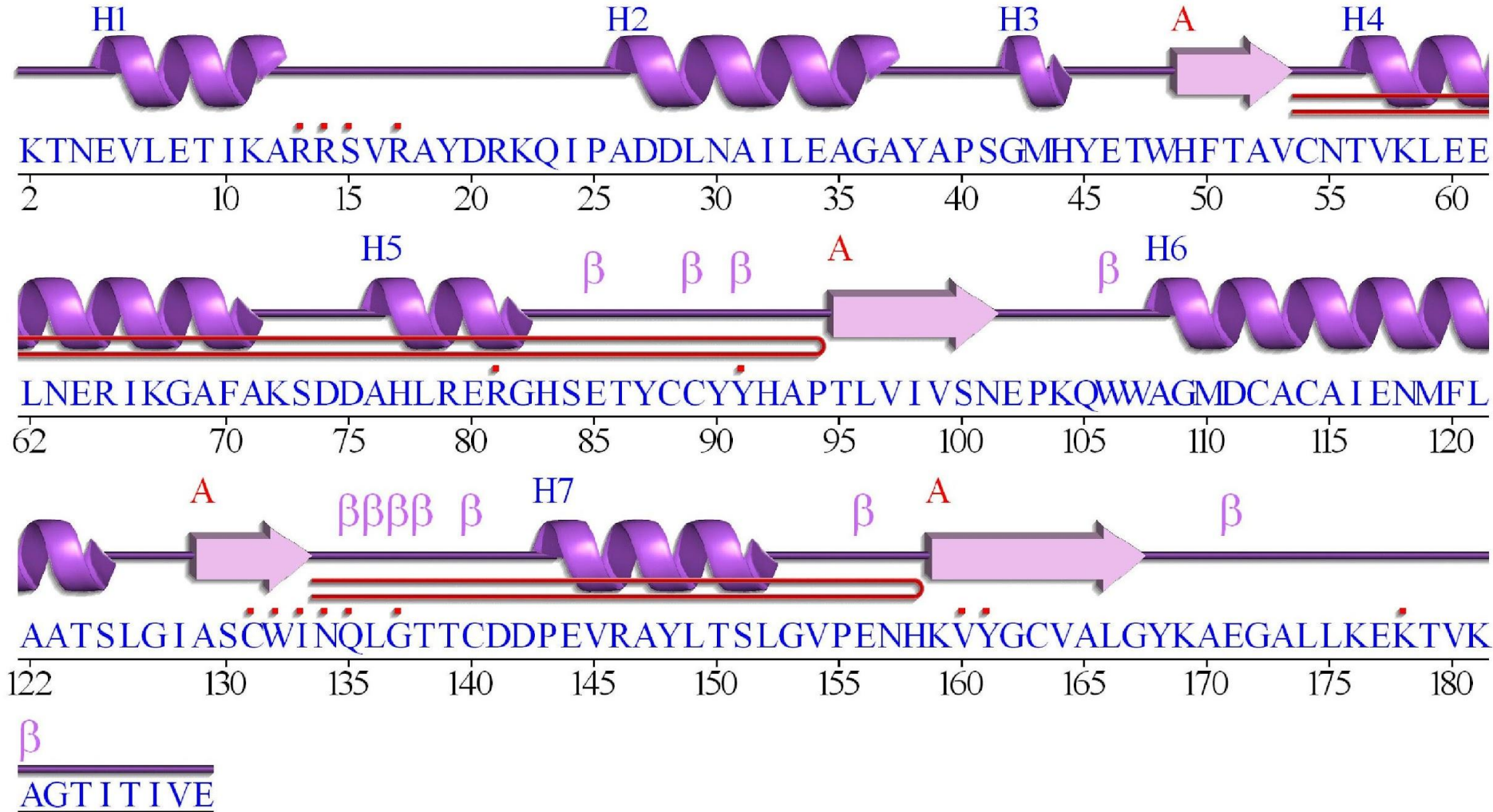
Вторичная структура белка

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%

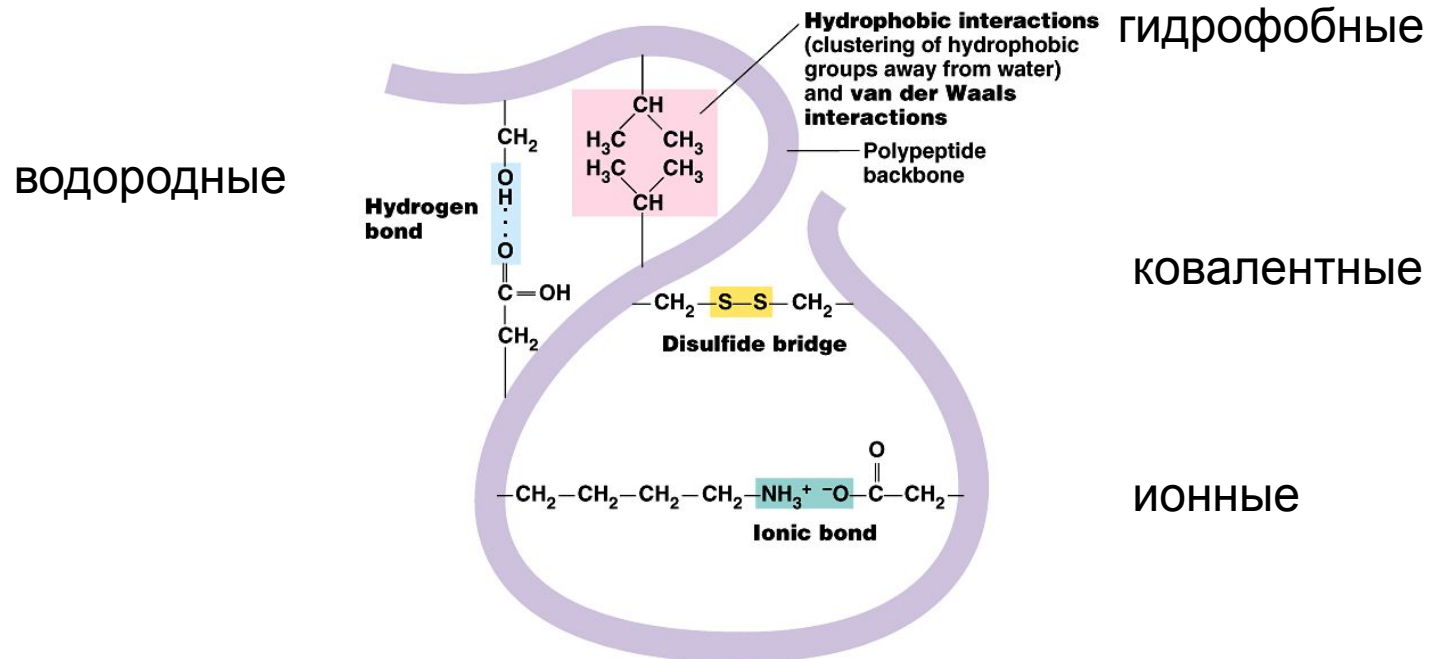
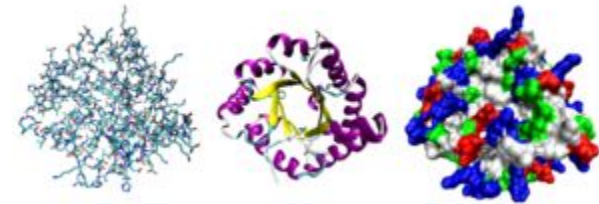
Третичная структура белка

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)

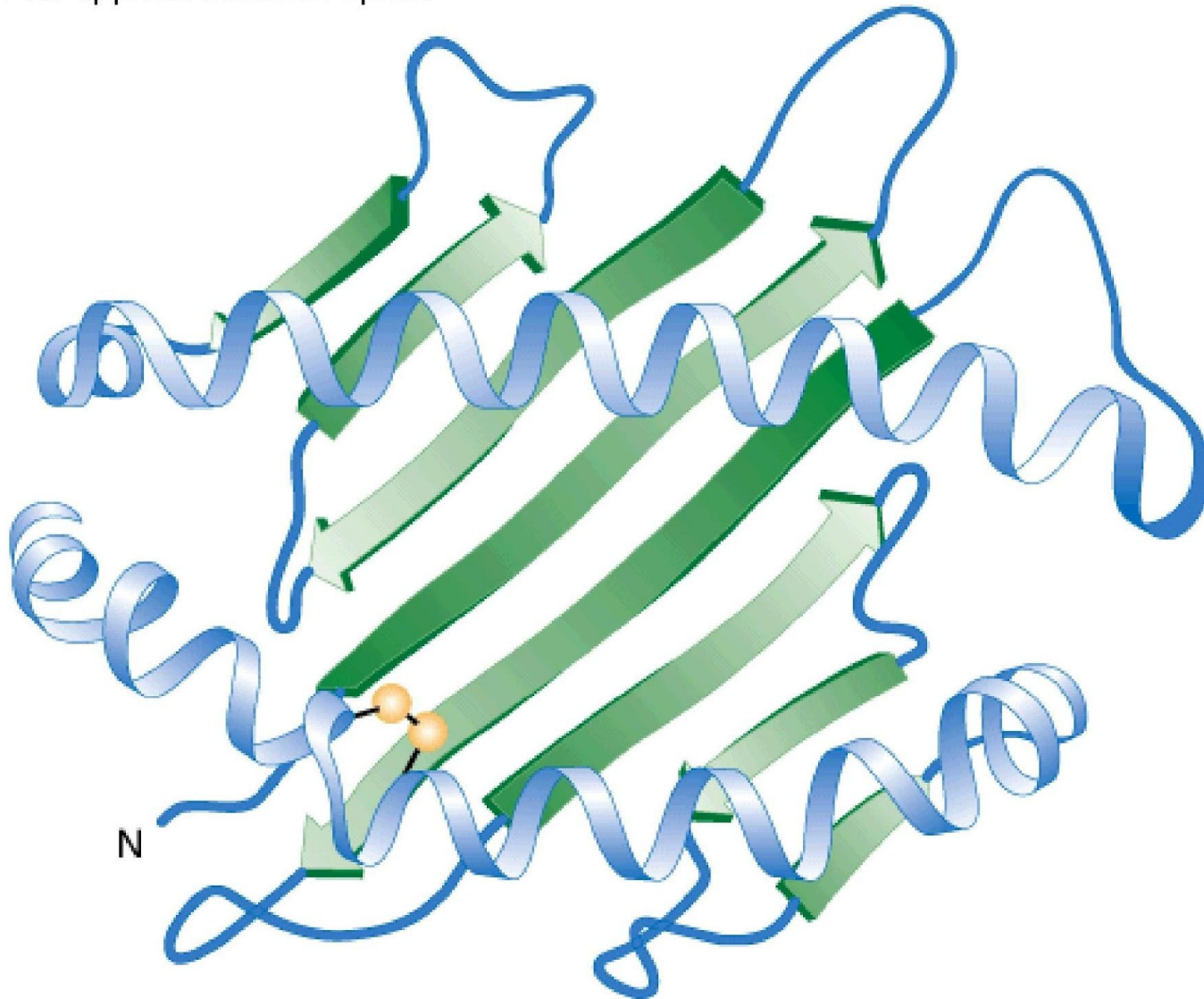
ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

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



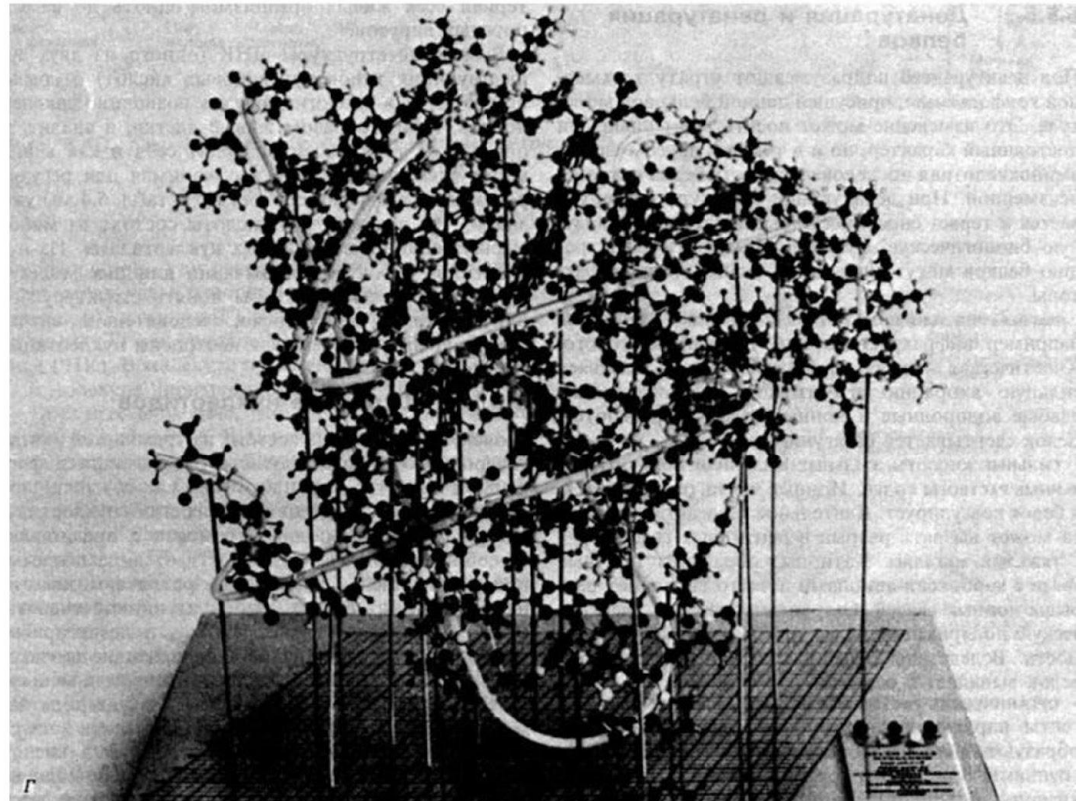
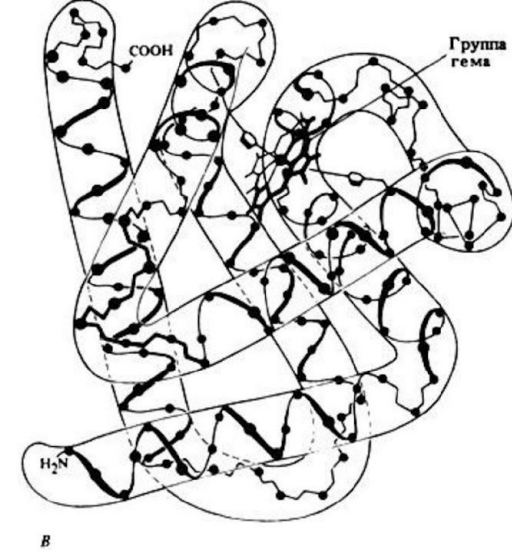
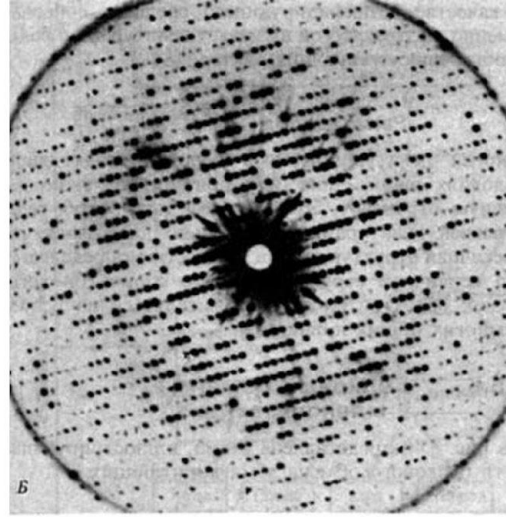
Третичная структура белка

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.

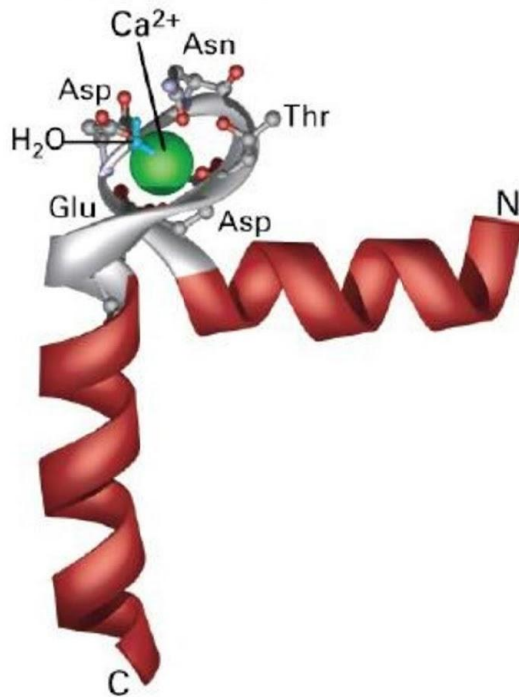


Третичная структура белка

Супервторичная структура белков

специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой белков

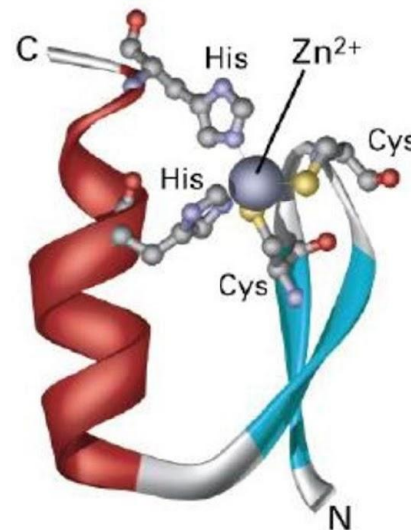
(a) Helix-loop-helix motif



Consensus sequence:

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

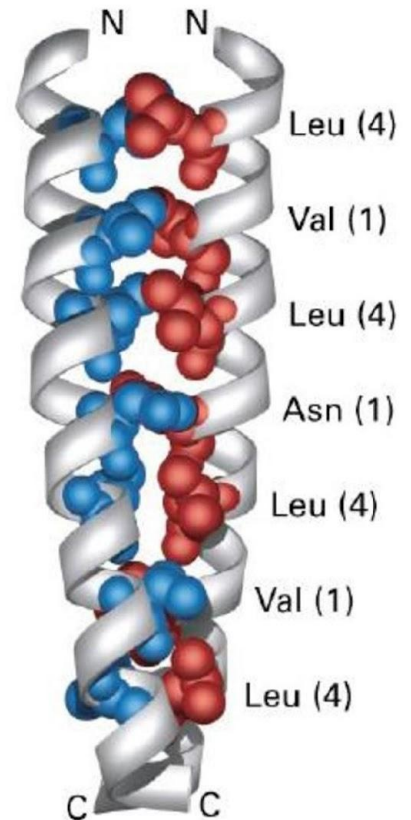
(b) Zinc-finger motif



Consensus sequence:

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

(c) Coiled coil motif



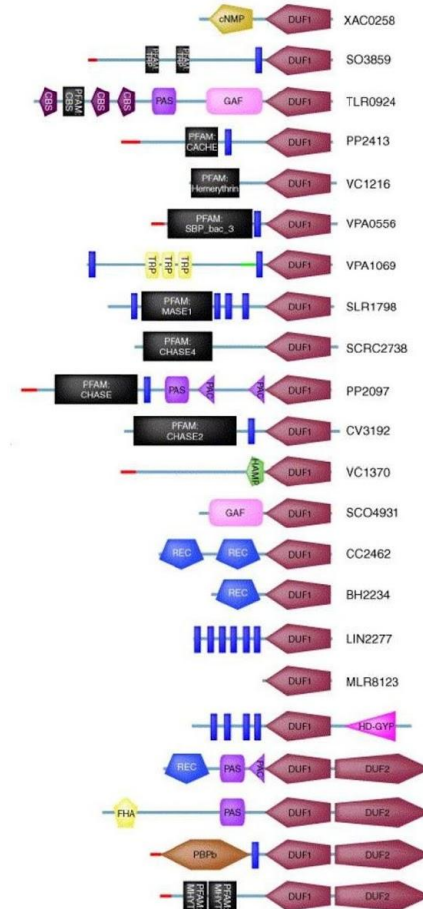
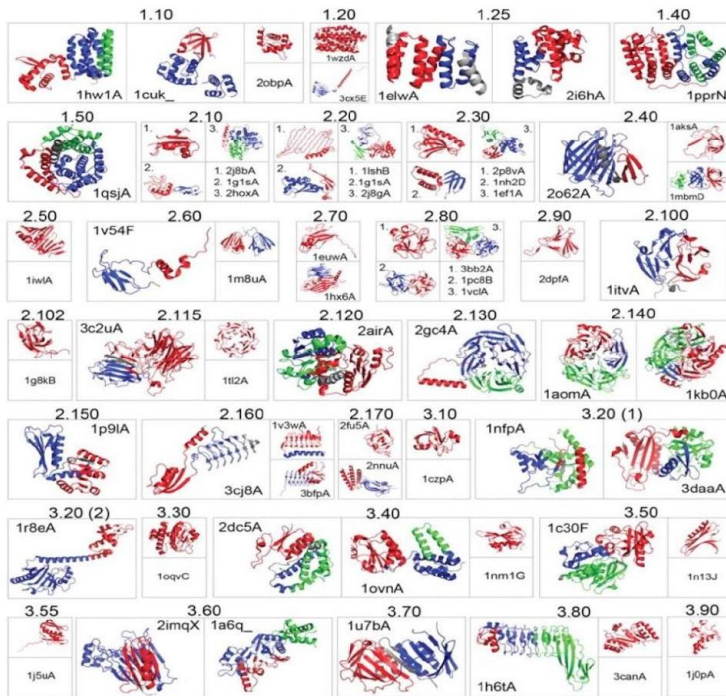
Heptad repeat:
[V/N/M] - - L - - -

Третичная структура белка

Доменная структура белков

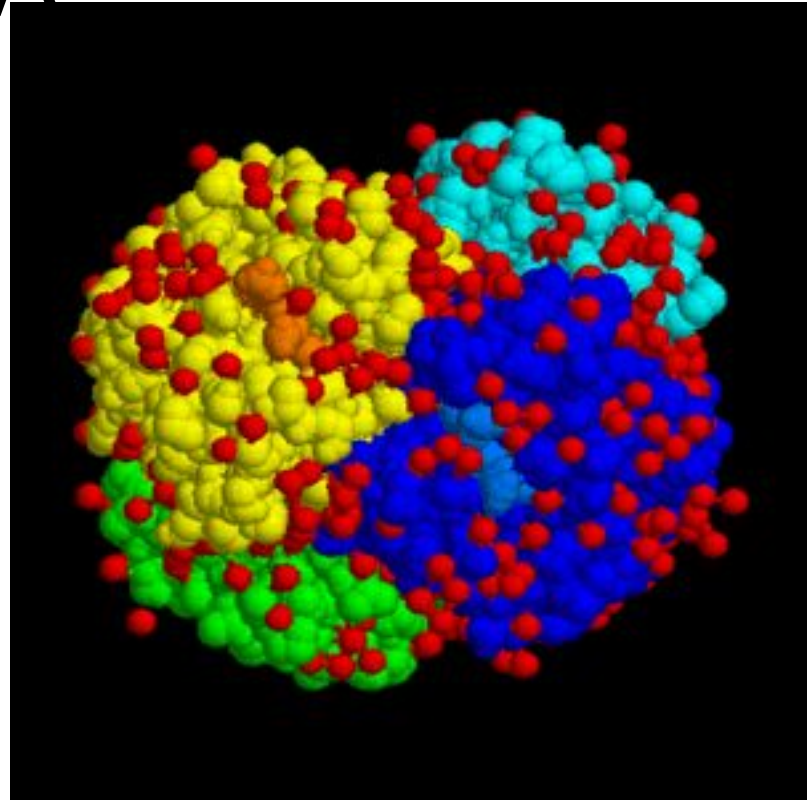
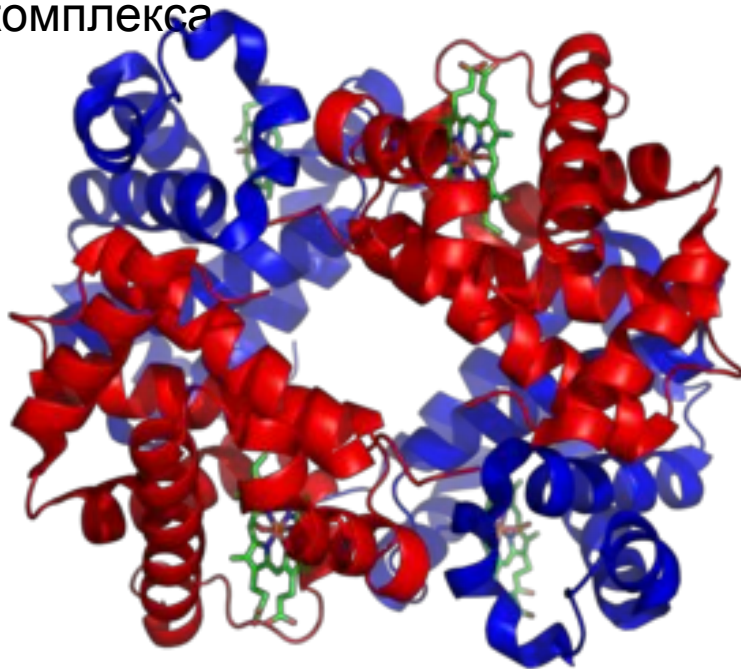
Домен белка — элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную и независимую подструктуру белка, чей фолдинг проходит независимо от остальных частей. В состав домена обычно входит несколько элементов вторичной структуры.

- 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



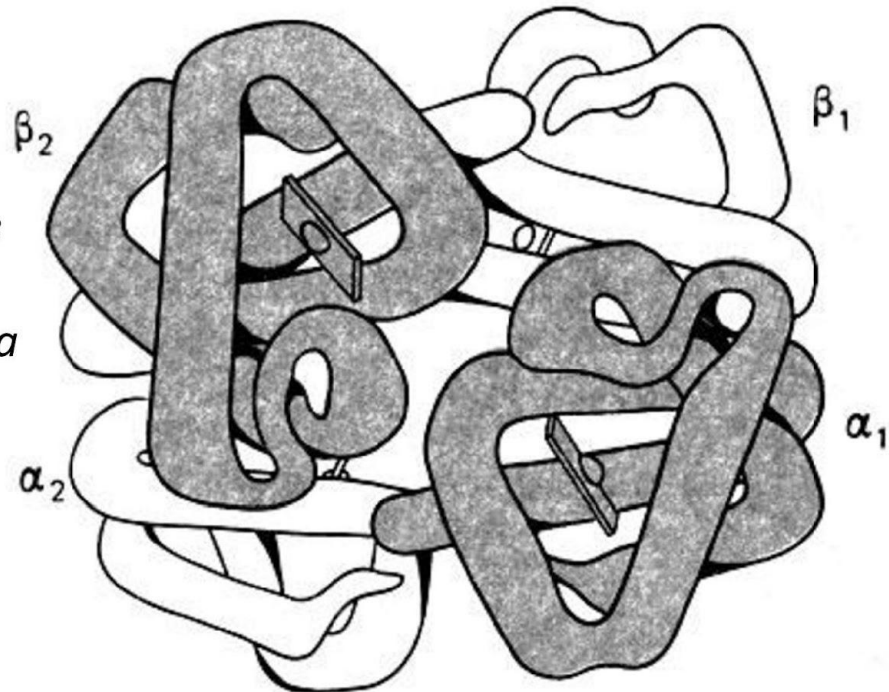
Гемоглобин – тетрамер, содержащий 4 полипептидные цепи

Четвертичная структура белка



- Классический пример четвертичной структуры у гемоглобина
- Его молекула состоит из четырех отдельных полипептидных цепей двух разных типов: из двух α -цепей и двух β -цепей.
- Две α -цепи содержат по 141 аминокислотному остатку, а две β -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.*

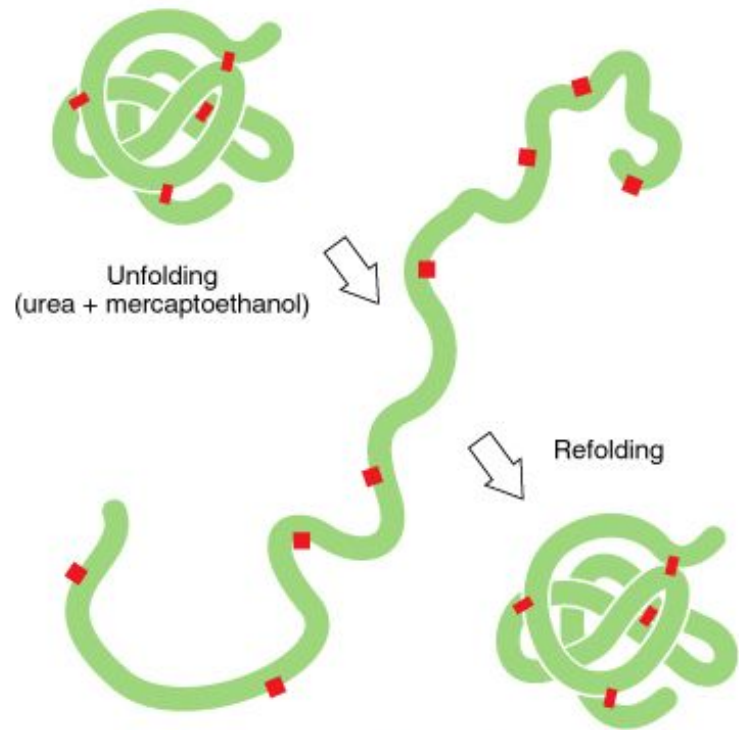


Денатурация белка

- 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.

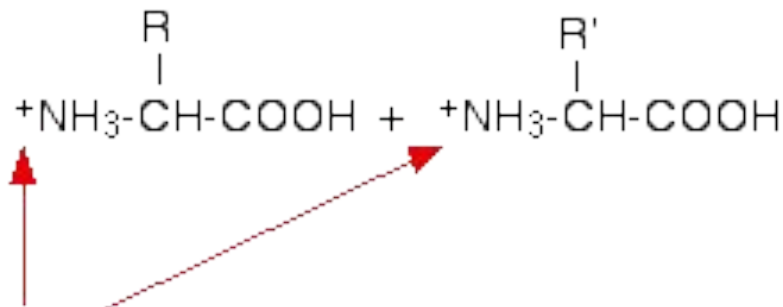
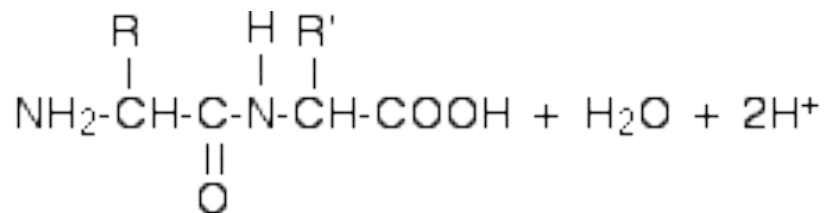
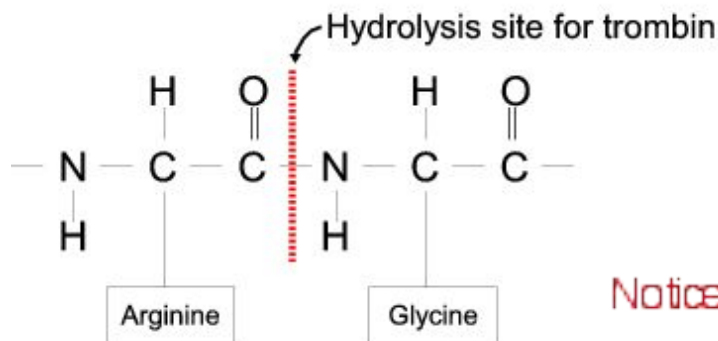
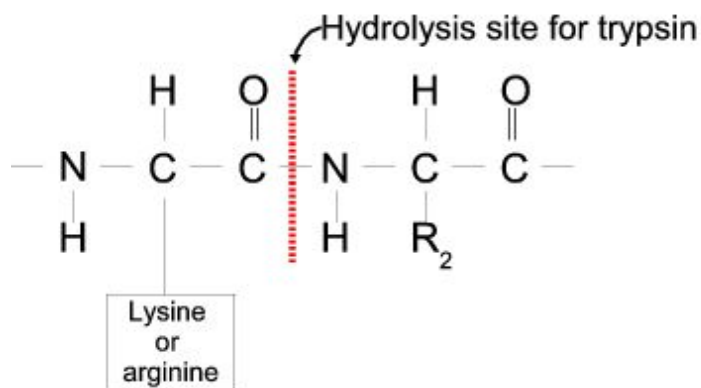
Обратимая и необратимая денатурация

Гидролиз белка

- Разрушение первичной структуры

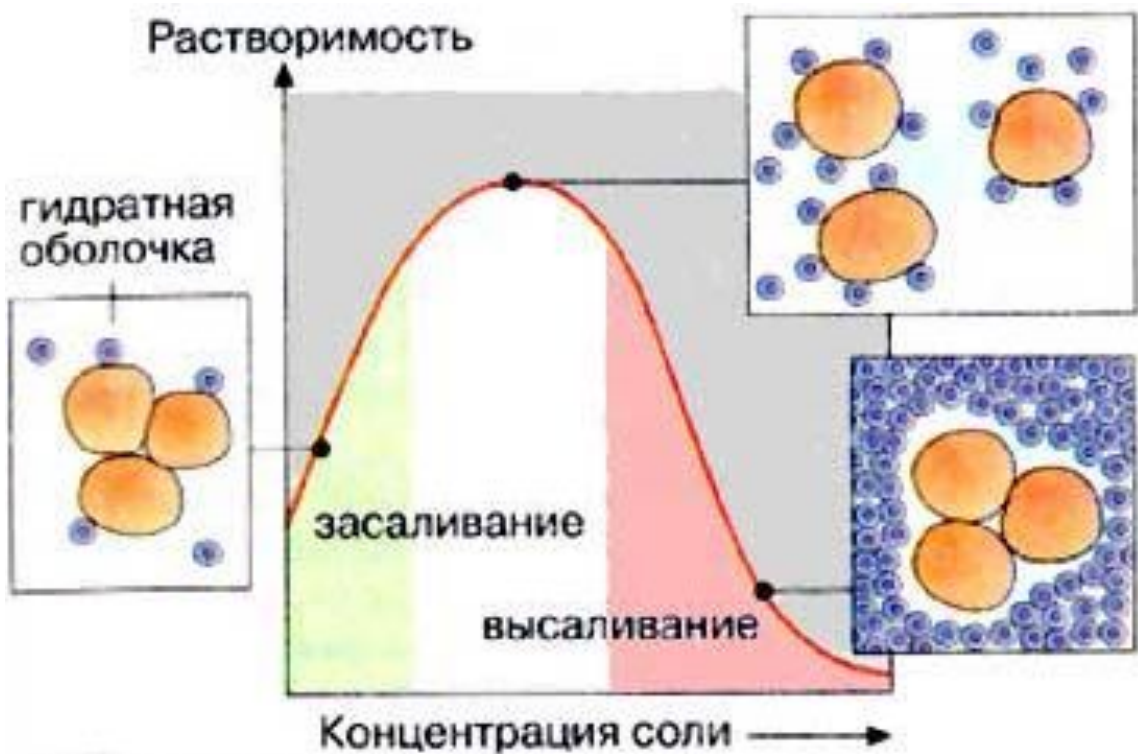
ферментативный

химический

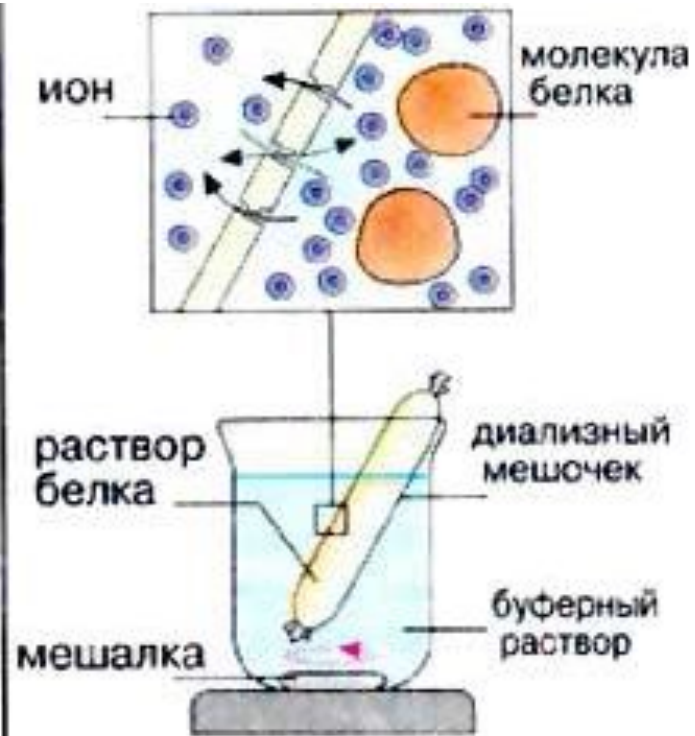


Notice the positive ions formed from the amino acids.

Методы анализа



А. Высаливание

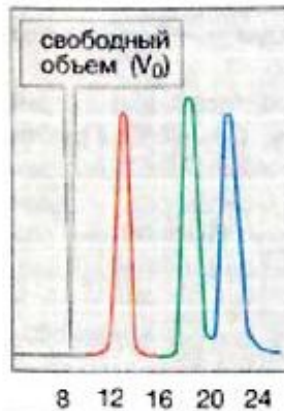


Б. Диализ

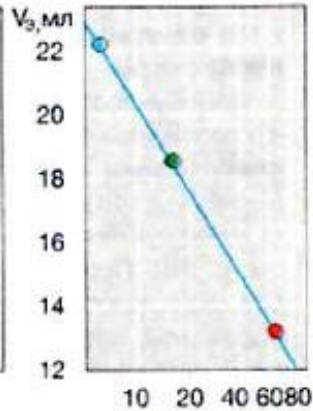
Методы анализа белков



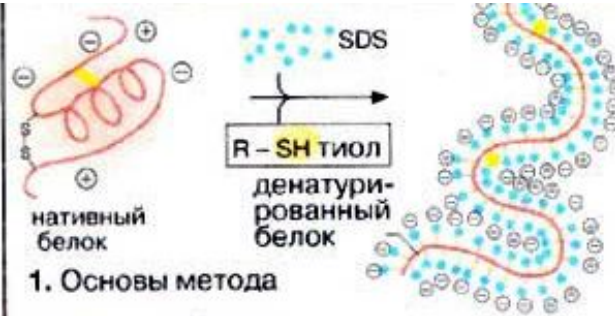
1. Основы метода



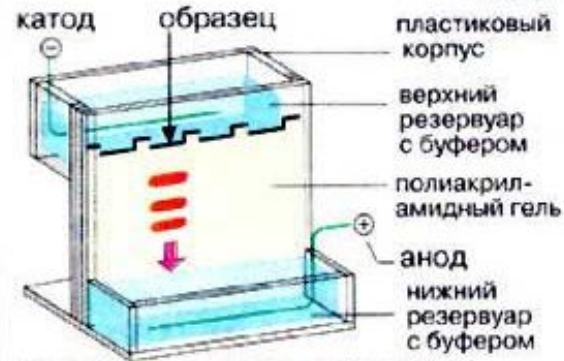
2. График элюирования
В. Гель-фильтрация



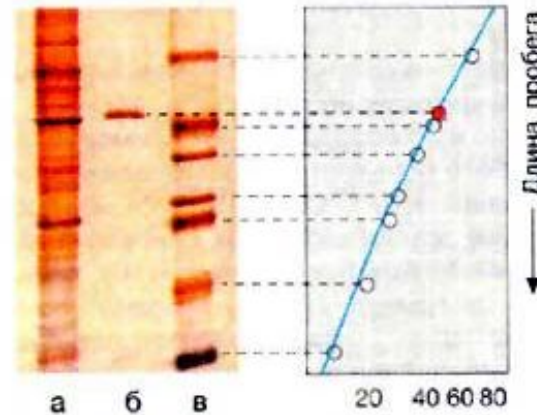
3. Определение мол. массы



1. Основы метода



2. Камера для электрофореза



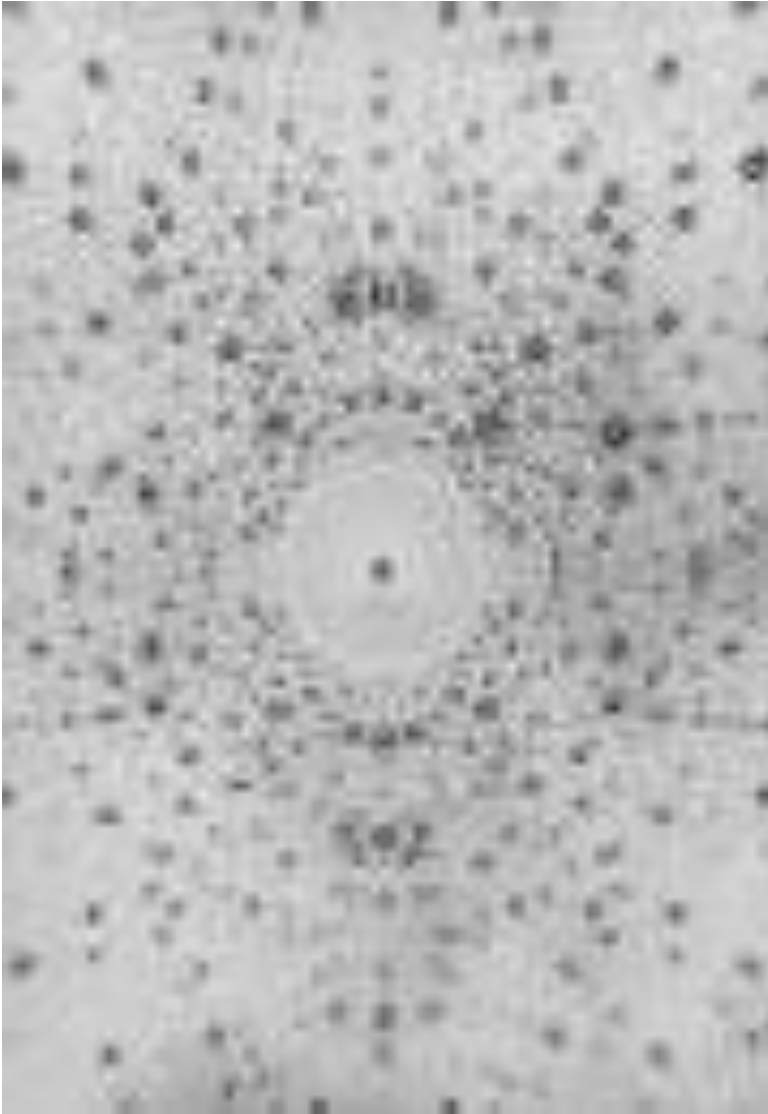
3. Окрашенный гель

4. Определение мол. массы

Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ

Методы анализа белков

Рентгеноструктурный анализ



Электронная
микроскопия

