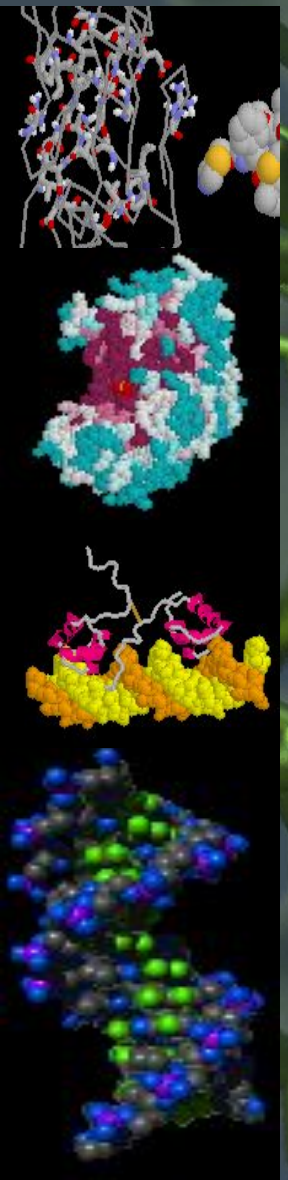


МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА
Біофізика білків

Біофізика білків

1.Білки – молекулярні “машини”.

2.Структурна організація білків.

3.Ферменти – як представники групи білків.

4.Механізм дії ферментів.

5.Кофактори ферментів

6.Кінетика ферментативної реакції.

Біосинтез білка – це молекулярно-інформаціна нанотехнологія !!!???

Мова нуклеїнових кислот

Букви **– нуклеотиди**

Слова **- триплети нуклеотидів**

Речення **- послідовність слів, яка має сенс – “ген”**

Транскрипція і трансляція

Мова білків

Букви **– амінокислоти**

Слово **– мотив послідовності амінокислот, яка має структурний смисл – α-спіраль, β-структура і т.д.**
(мова фізико-хімічних взаємодій як алгоритм єднання букв)

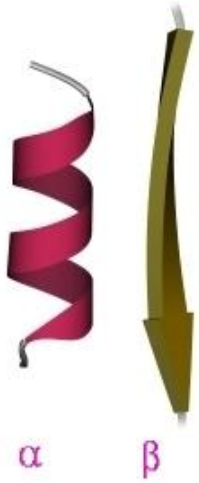
Речення **- послідовність слів, яка має сенс – “білок”**
(мова фізико-хімічних взаємодій як алгоритм єднання слів у смислову функціональну конструкцію)

Абзац – **логічна послідовність речень, пов'язаних між собою смислом - метаболічні та регуляторні лінії**

Роман **– системні метаболічні та фізіологічні процеси живого організму**

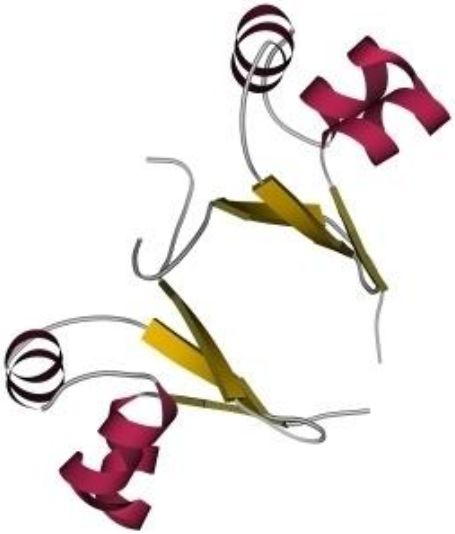
Молекула білку – це молекулярна конструкція

Первинна ...–Gly–Val–Tyr–Gln–Ser–Ala–Ile–Asn–Lys–Ala–...

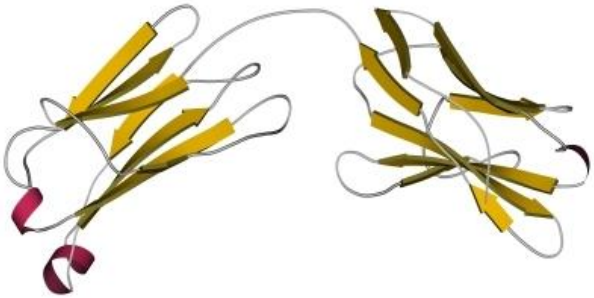


Вторинна

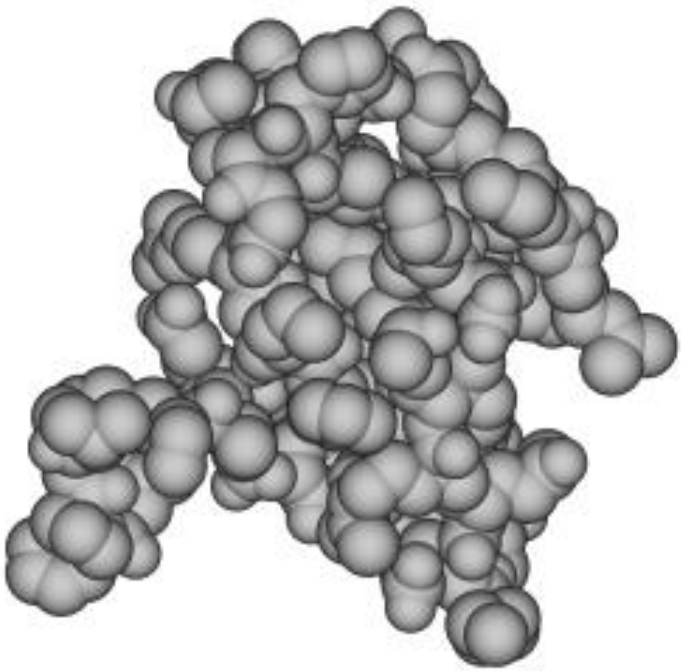
Третинна

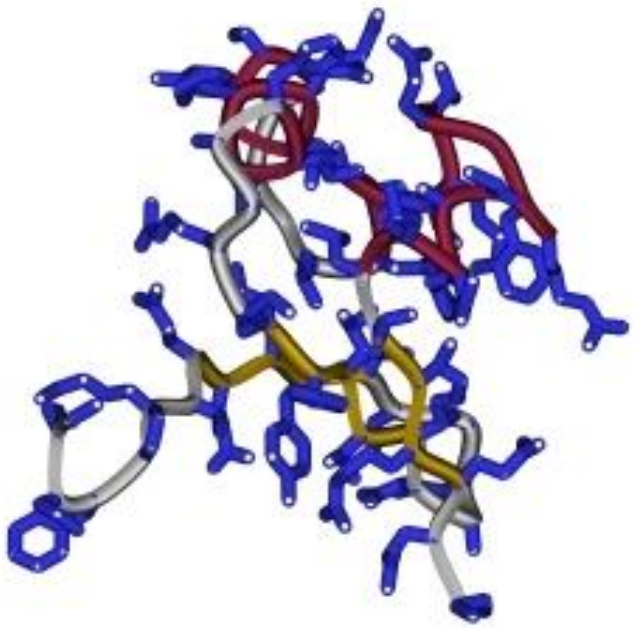


Четвертинна



Білки – молекулярні “машини”

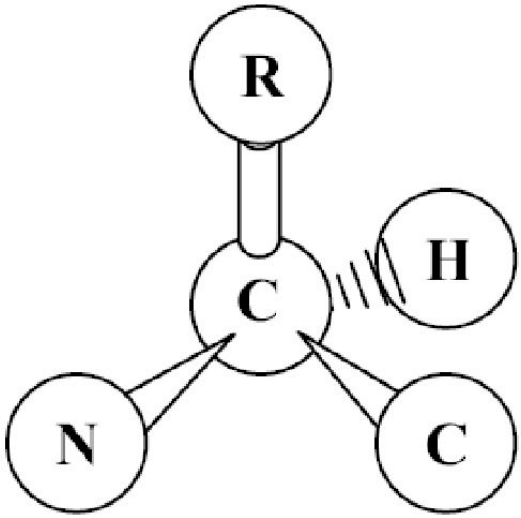


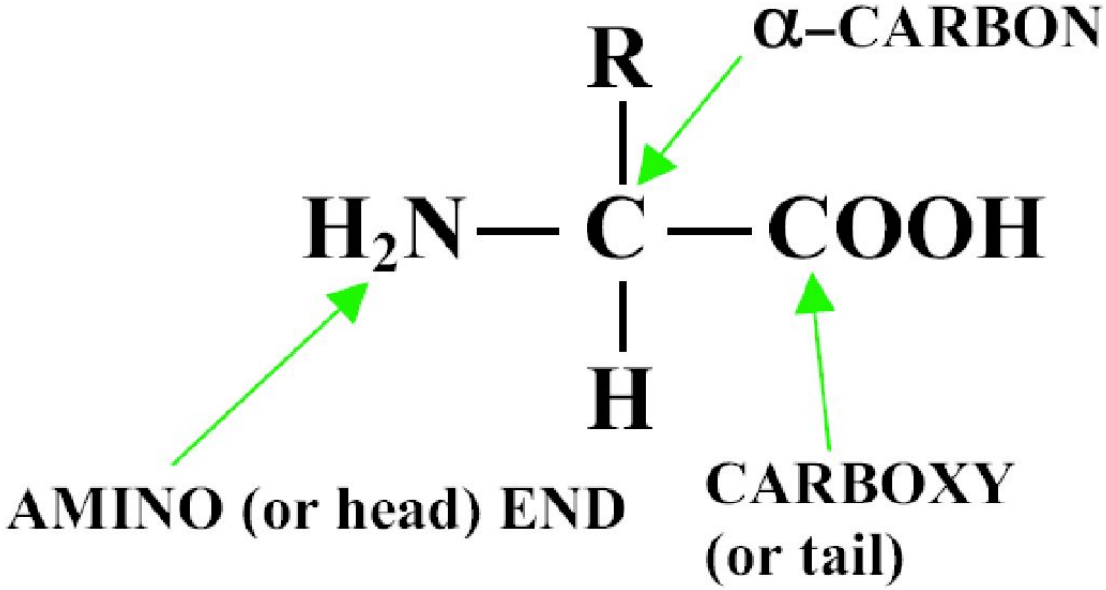


Атомарна та скелетна моделі молекули білка

Структурна організація білків. Амінокислоти

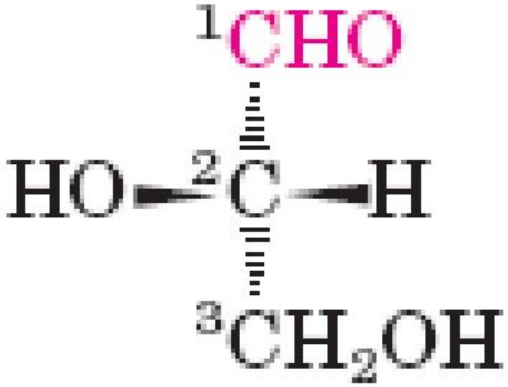
Первинна структура— послідовність амінокислот у ланцюзі полімеру, які пов'язані міцними ***ковалентними зв'язками***.



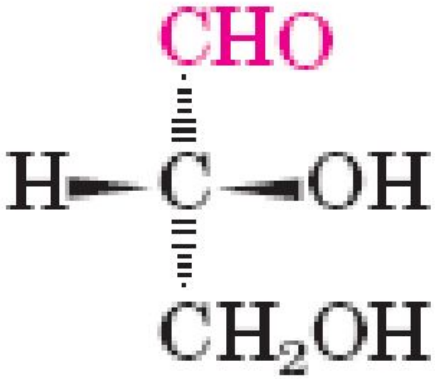


α-L-амінокислоти

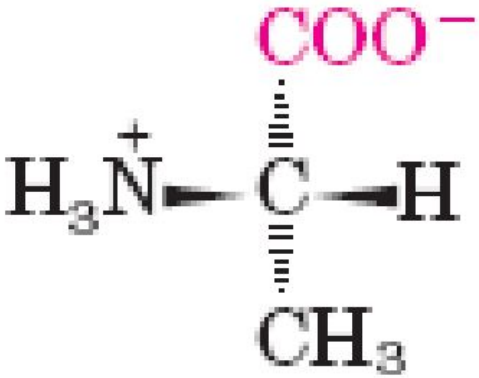
Структурна організація білків. Амінокислоти



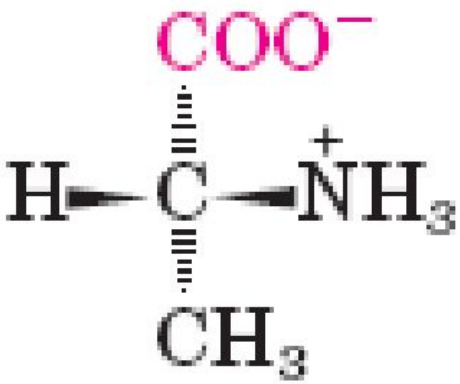
L-Glyceraldehyde



D-Glyceraldehyde

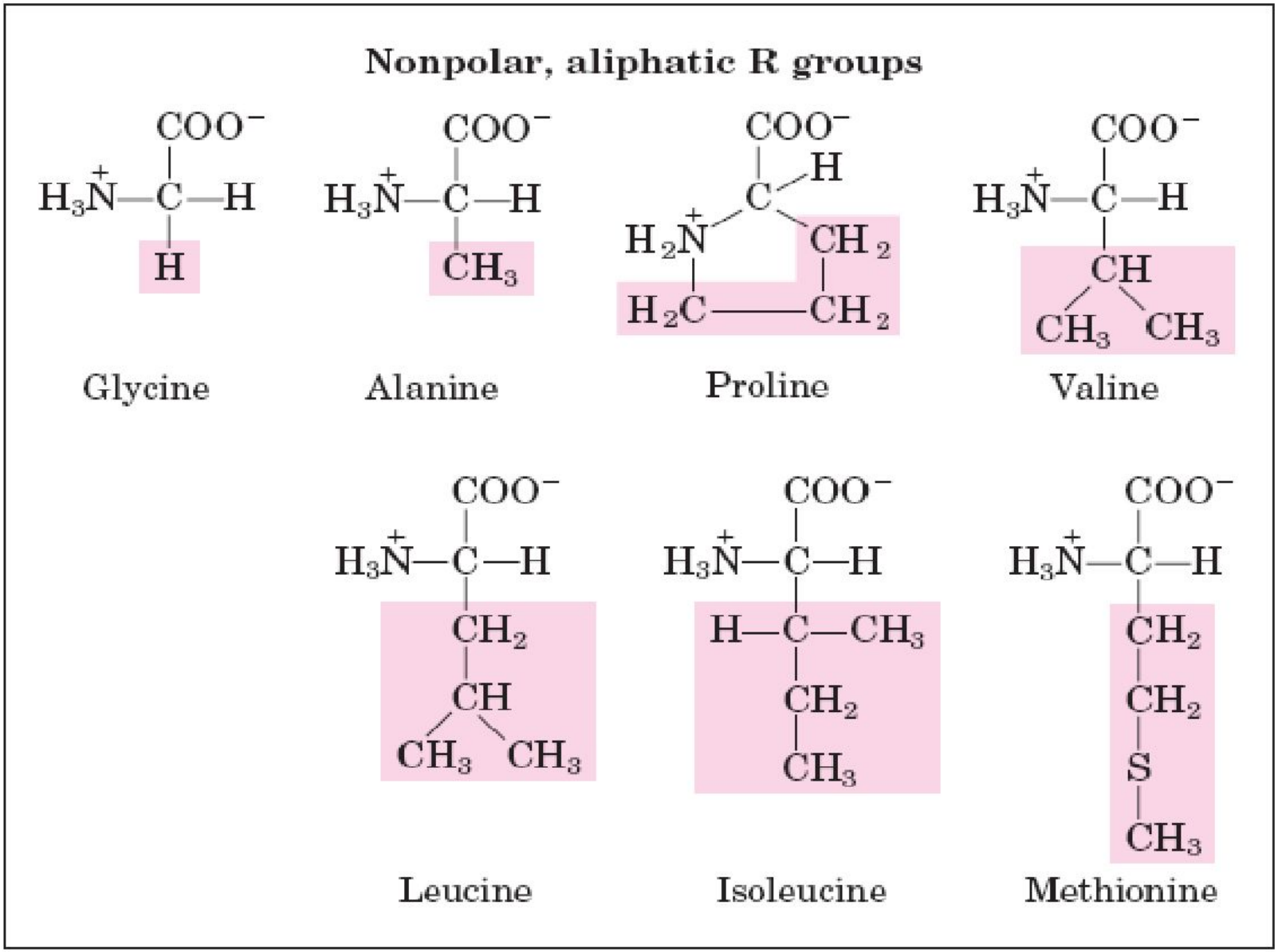


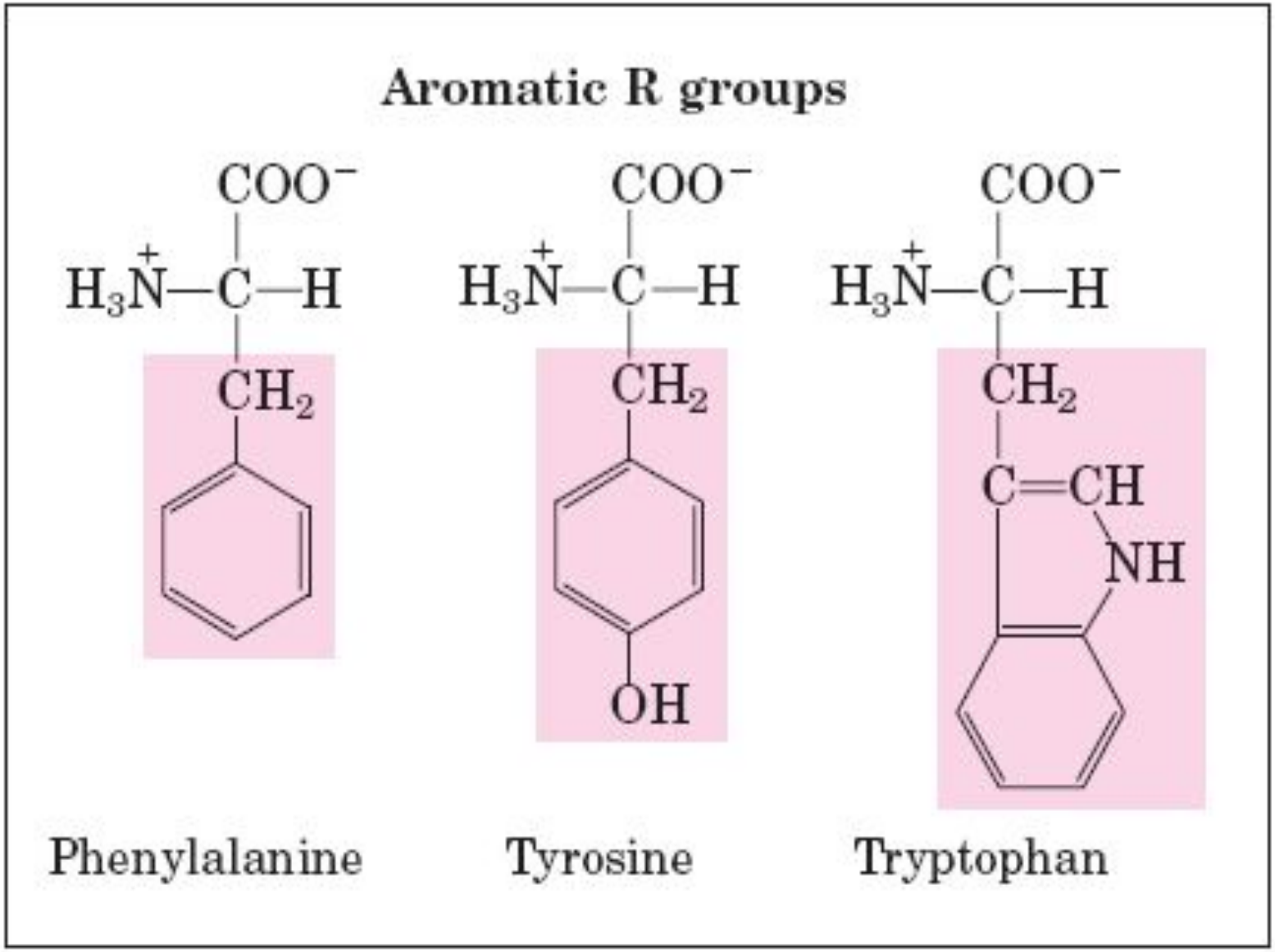
L-Alanine



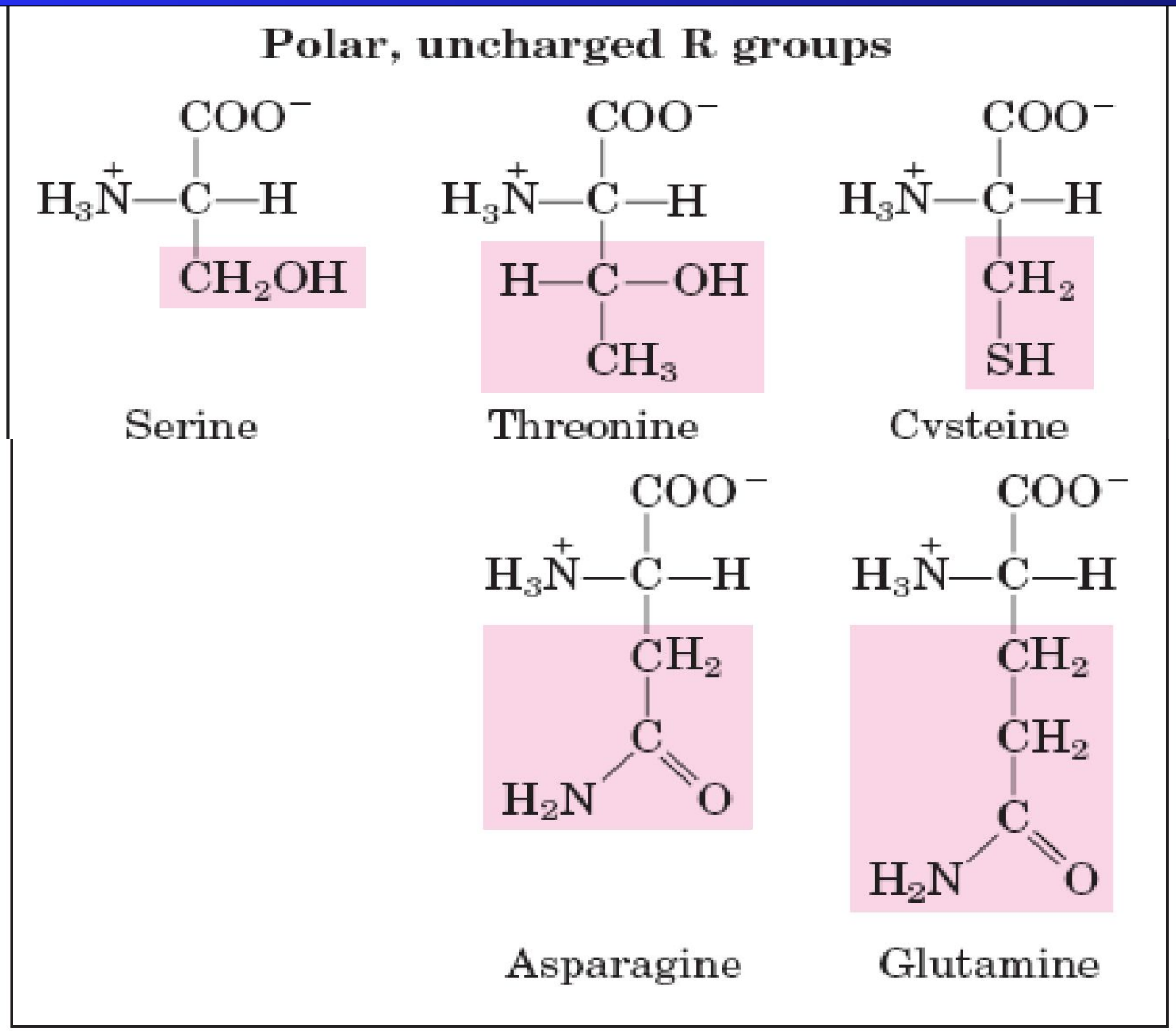
D-Alanine

Структурна організація білків. Амінокислоти

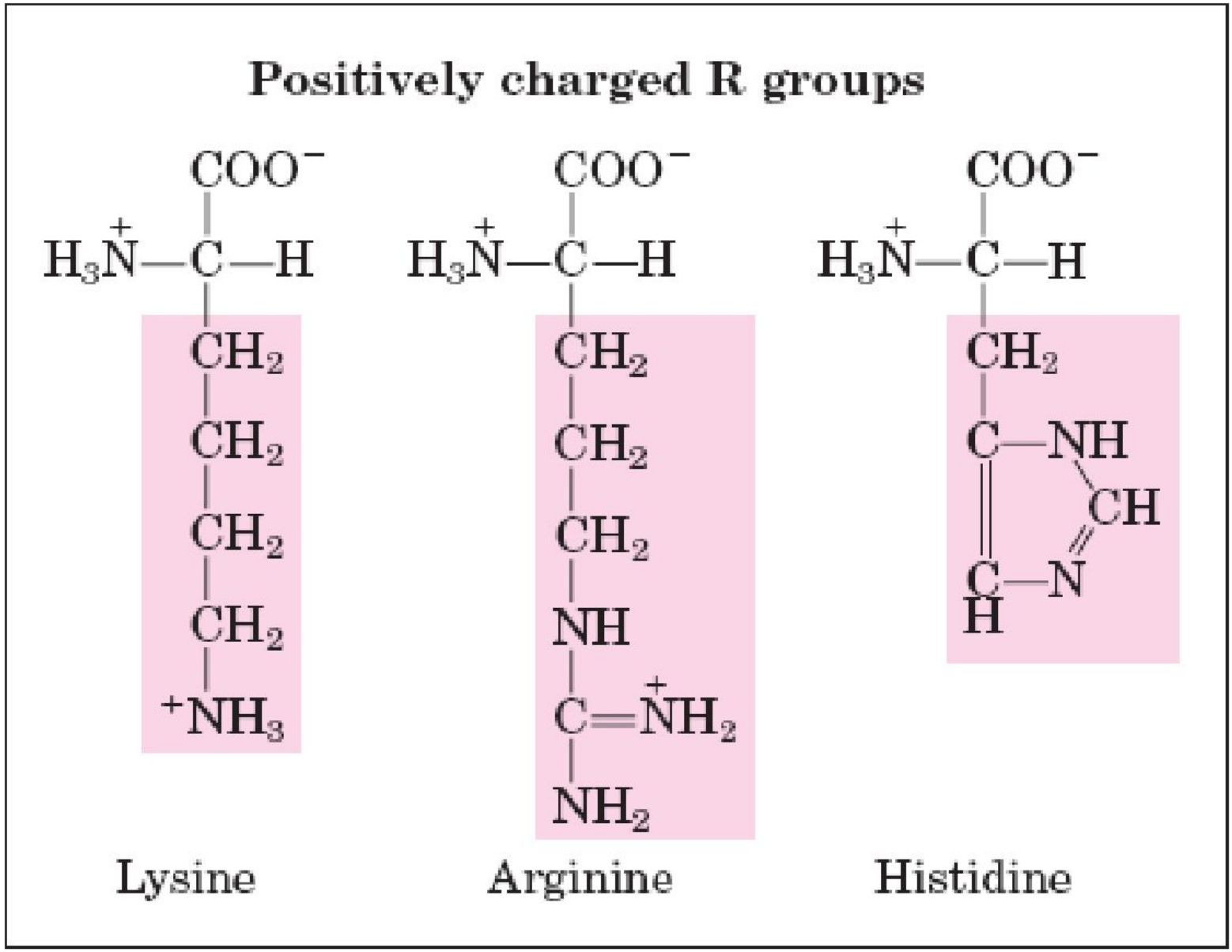



Aromatic R groups
COO⁻
H3N—C—H
CH2
OH
C=CH
NH
Phenylalanine
Tyrosine
Tryptophan

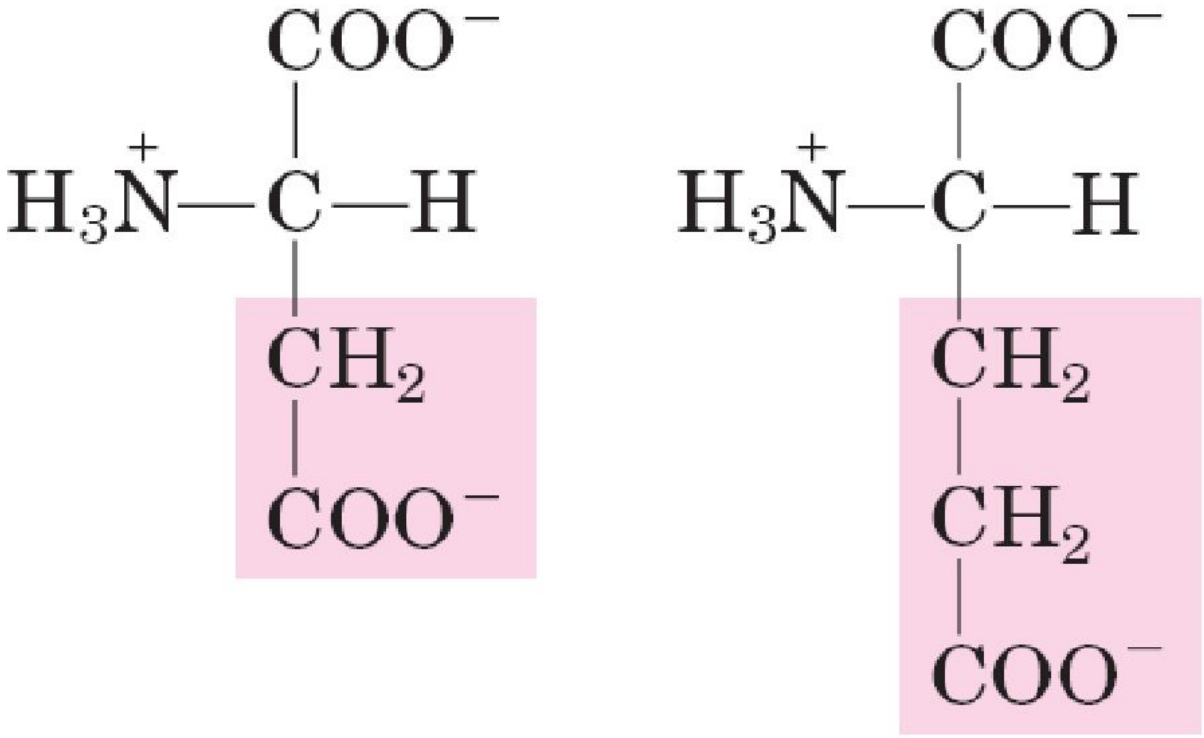
Структурна організація білків. Амінокислоти



Структурна організація білків. Амінокислоти

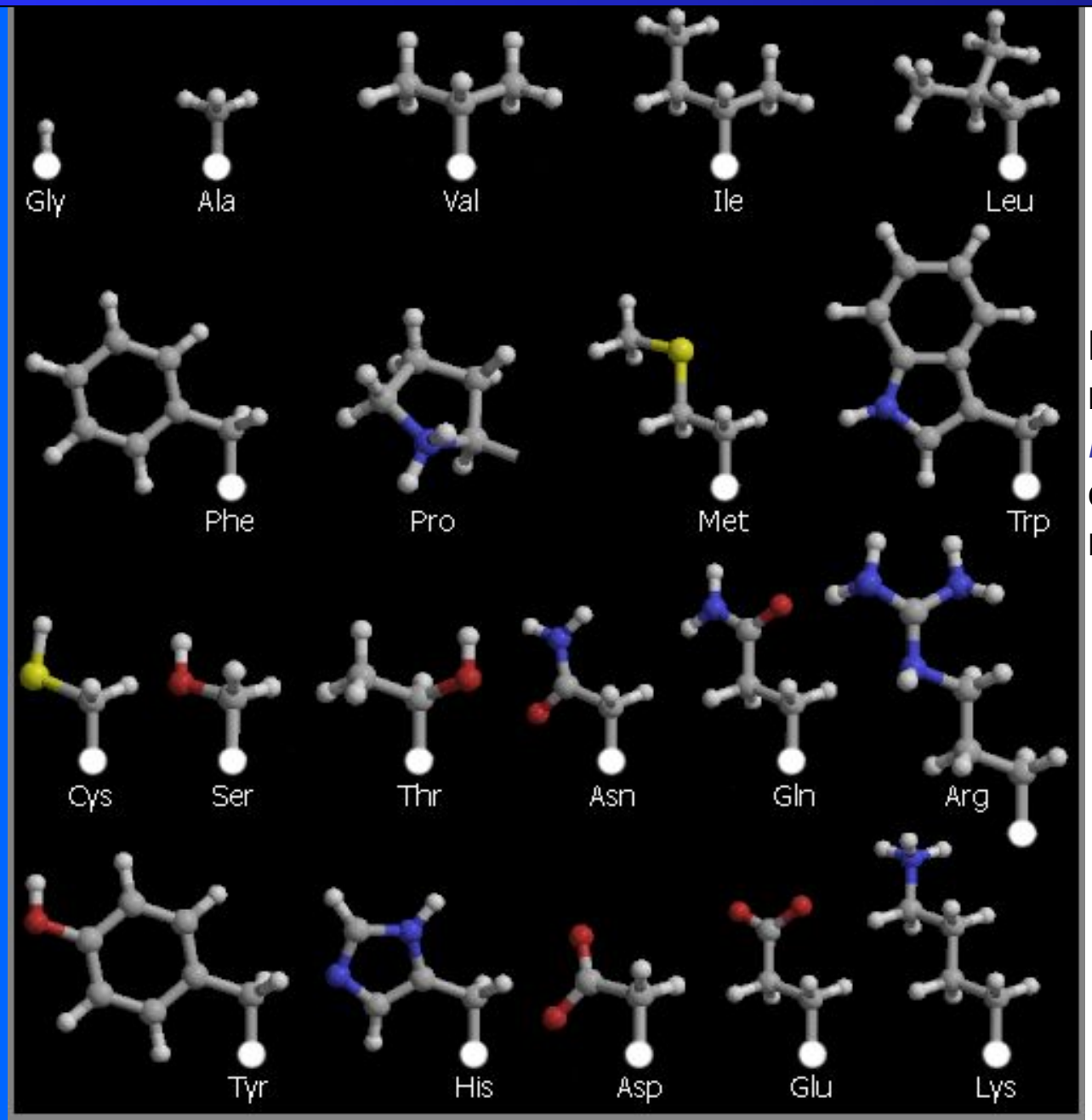


Negatively charged R groups

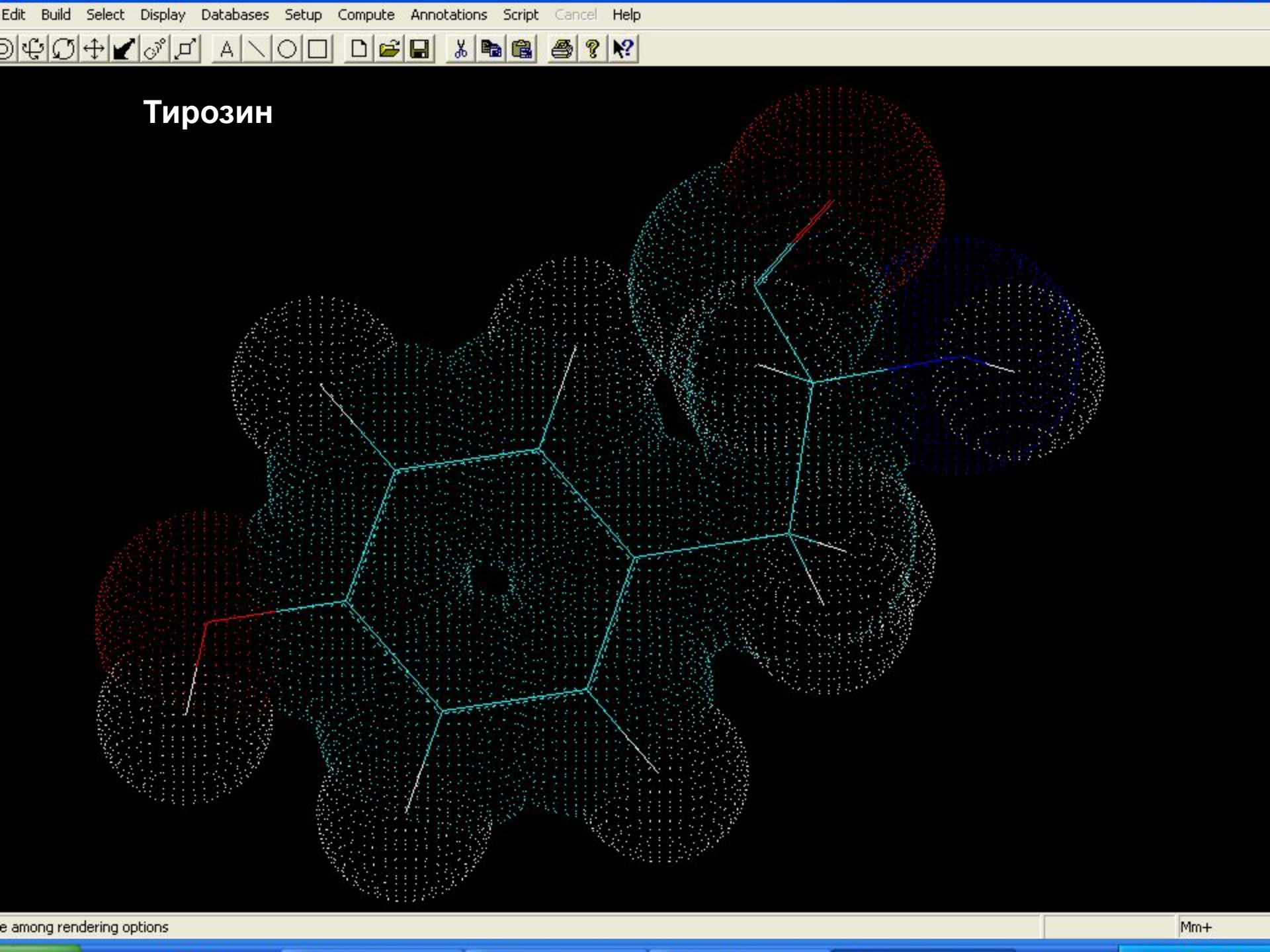


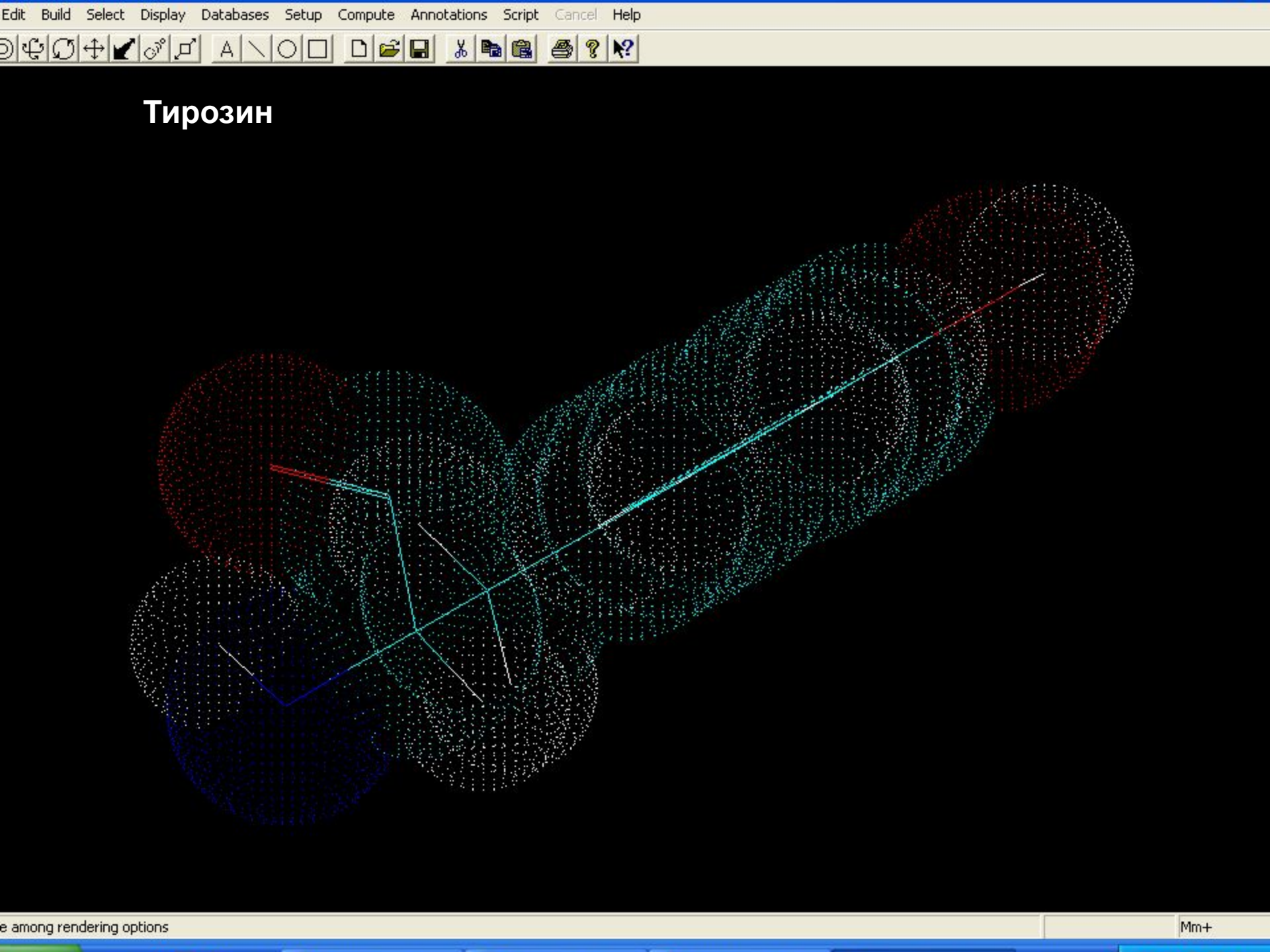
Aspartate Glutamate

Структурна організація білків. Амінокислоти

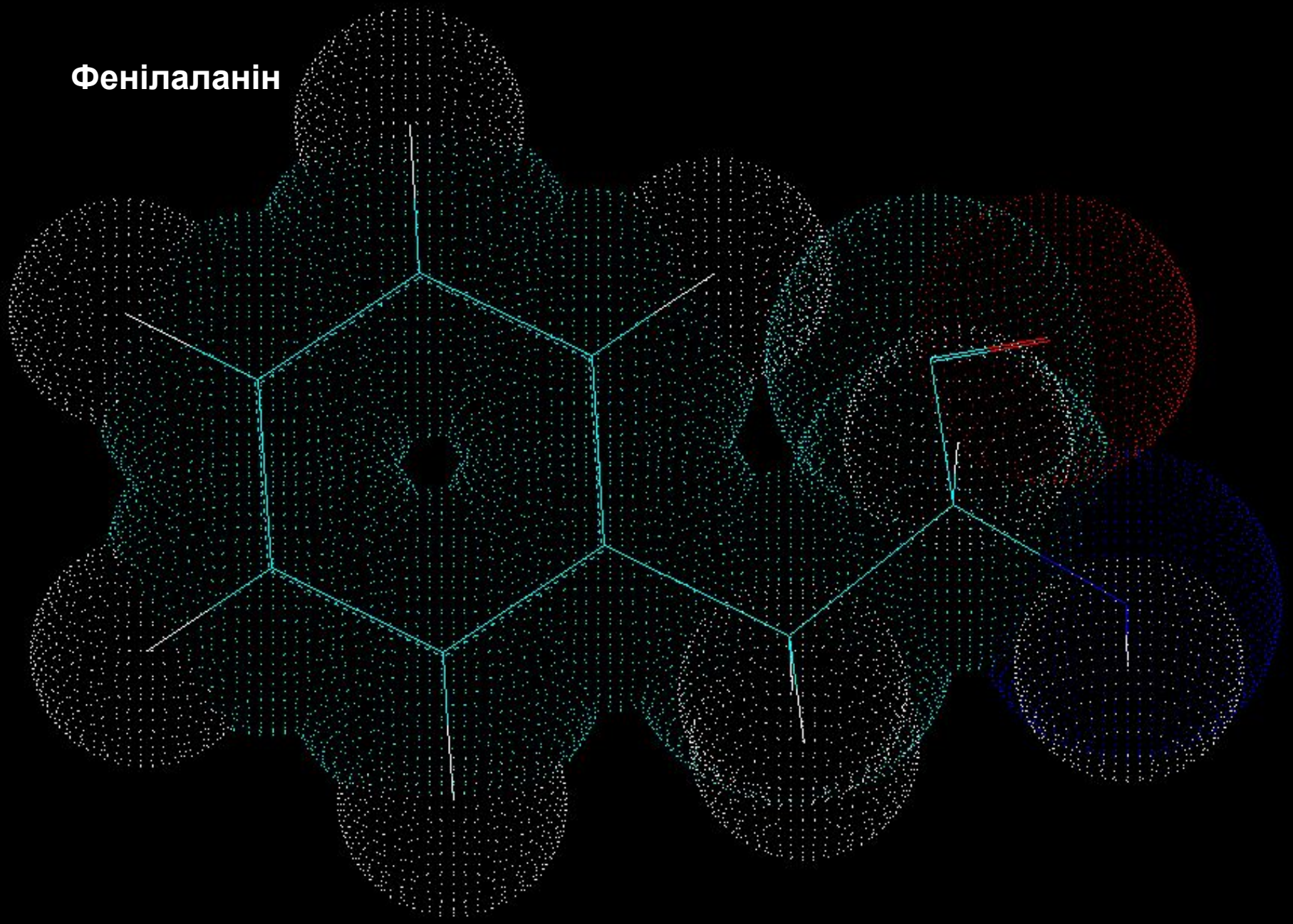


Бокові радикали головних *L*-амінокислот, які складають природні білки.

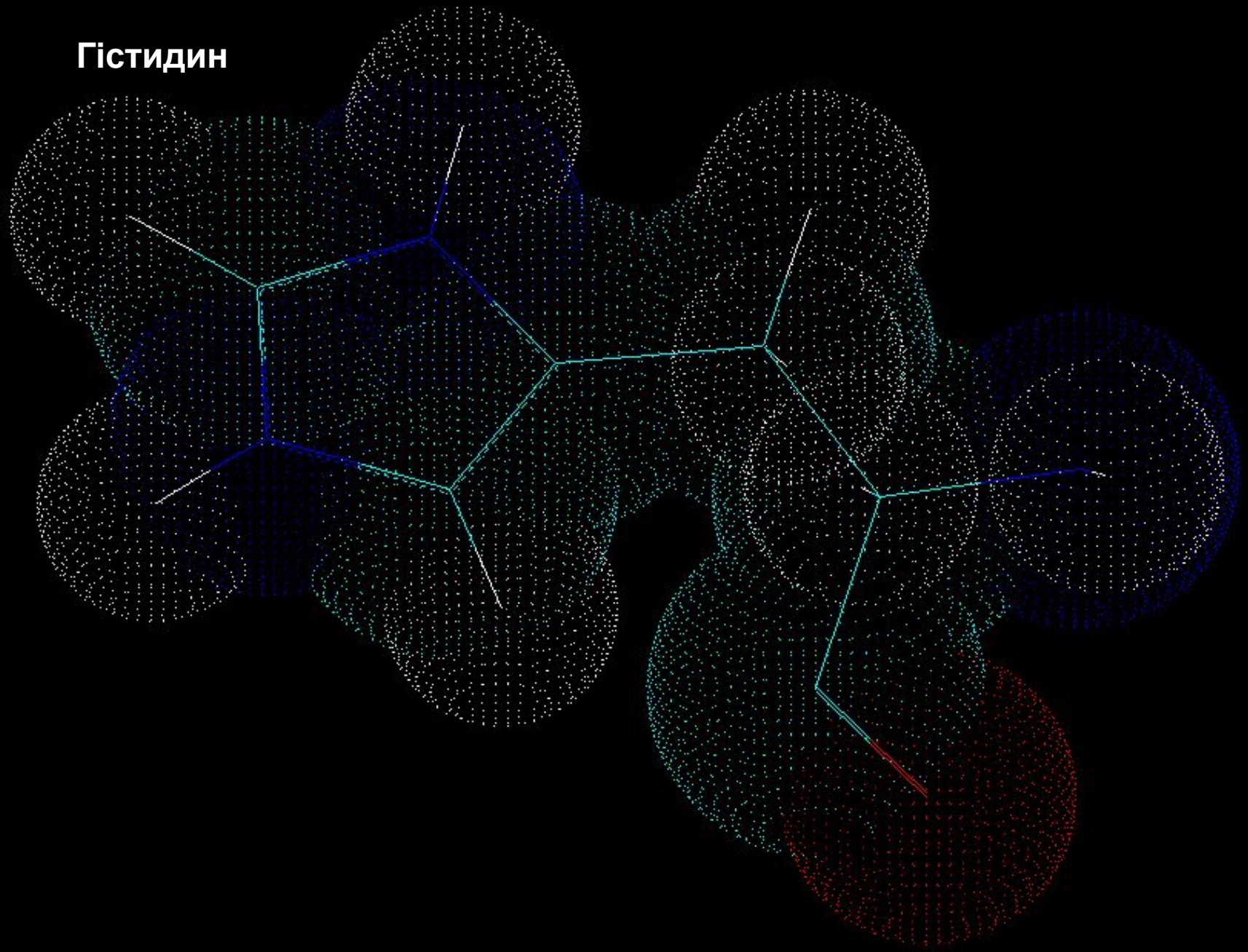

Edit Build Select Display Databases Setup Compute Annotations Script Cancel Help
Тирозин
e among rendering options
Mm+


Edit Build Select Display Databases Setup Compute Annotations Script Cancel Help
Тирозин
e among rendering options
Mm+

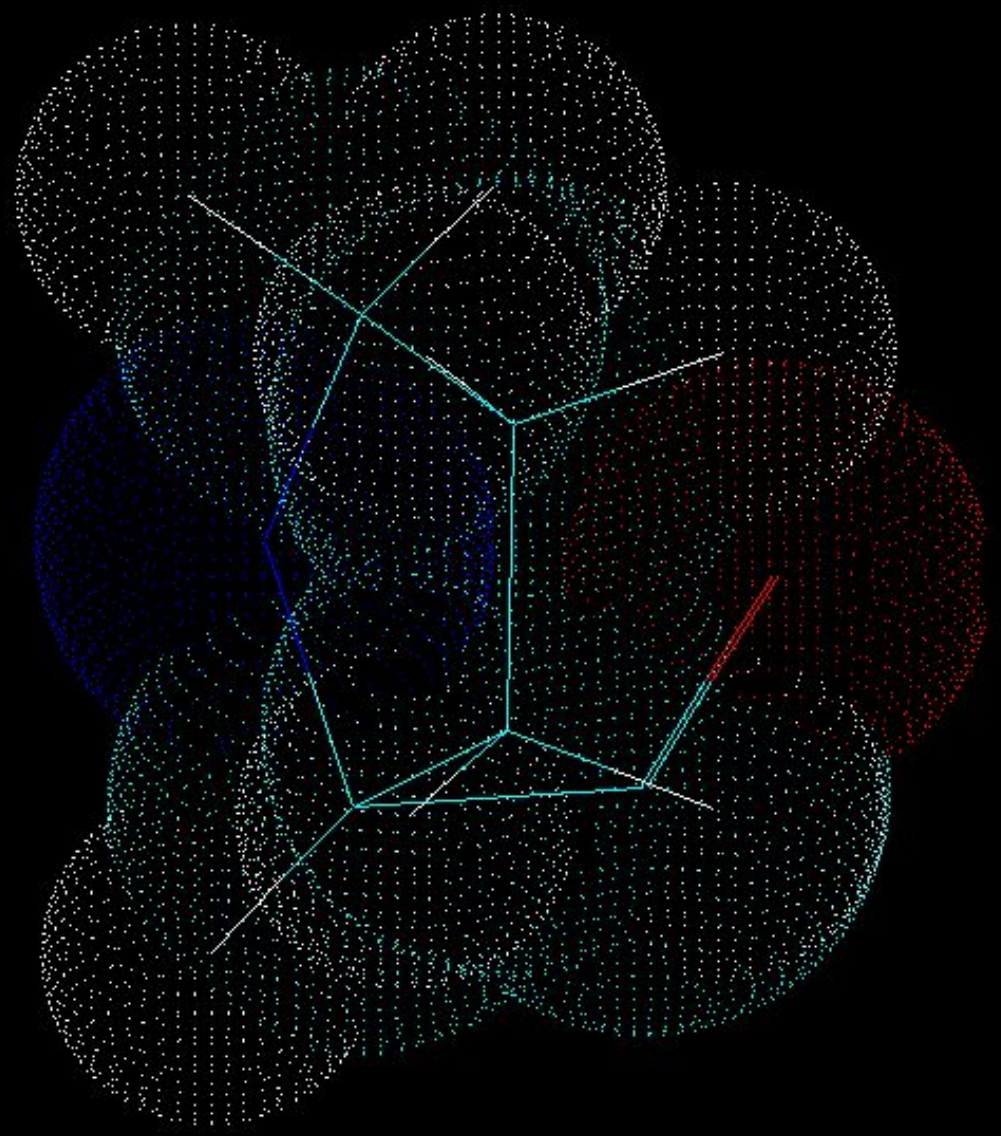
Фенілаланін



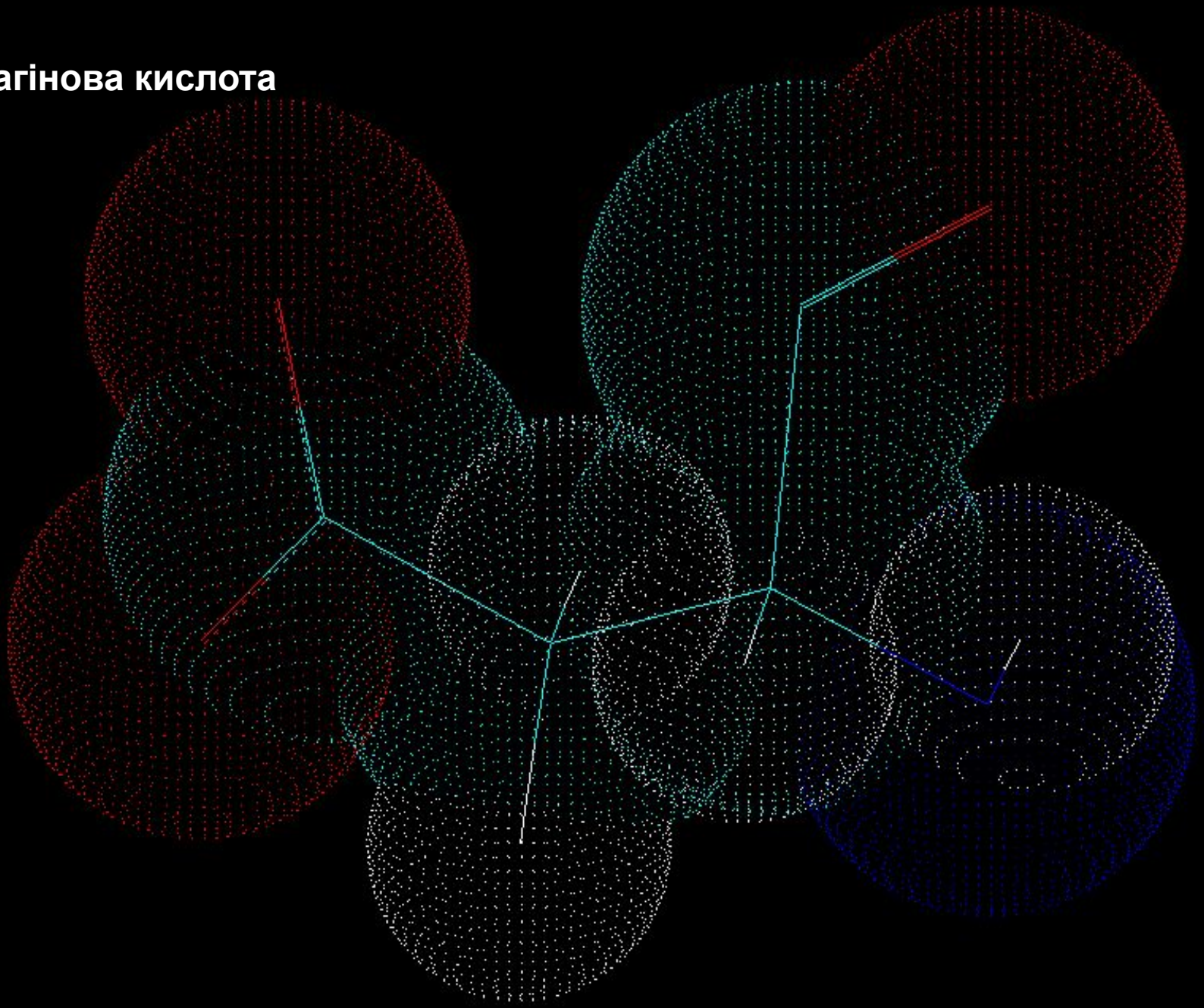
Гістидин



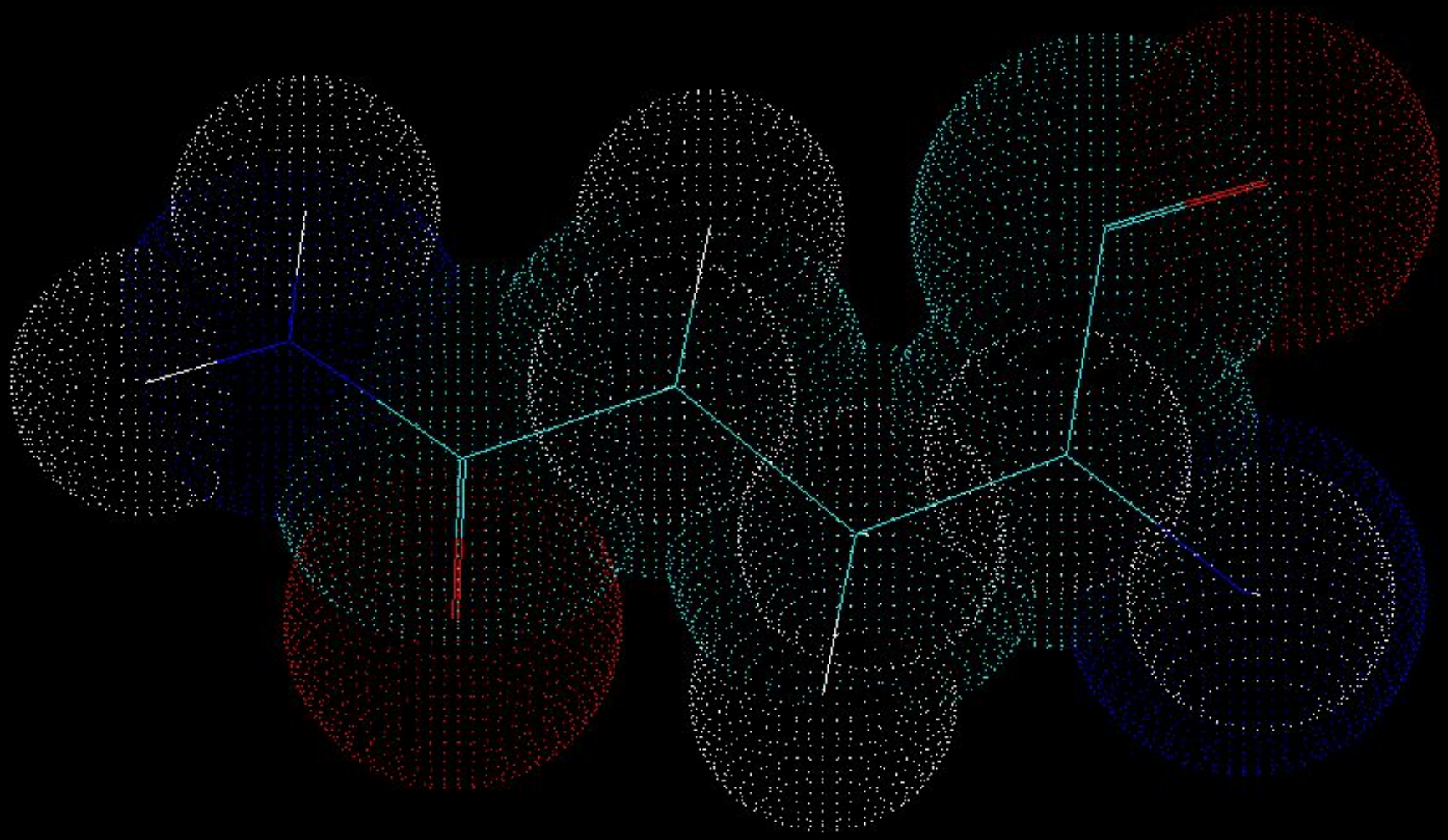
Валін



Аспарагінова кислота



Глутамін

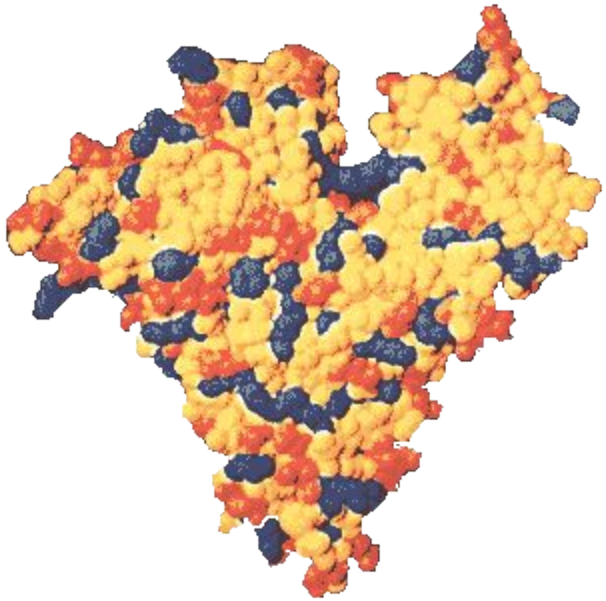


Методи дослідження амінокислот

1. Хроматографічні.
2. Електрофоретичні.
3. Оптичні (поглинання і флуоресценція).
4. Маспектрометричні.

Зв'язки, які забезпечують стабілізацію просторової структури біомакромолекул:

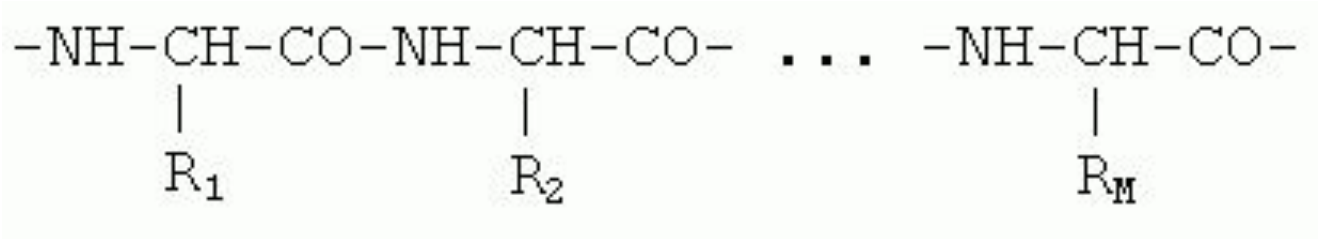
1. **ковалентні зв'язки;**
2. **електростатичні взаємодії;**
3. **водневі зв'язки;**
4. **Ван-дер-Ваальсові взаємодії;**
5. **гідрофобні зв'язки.**

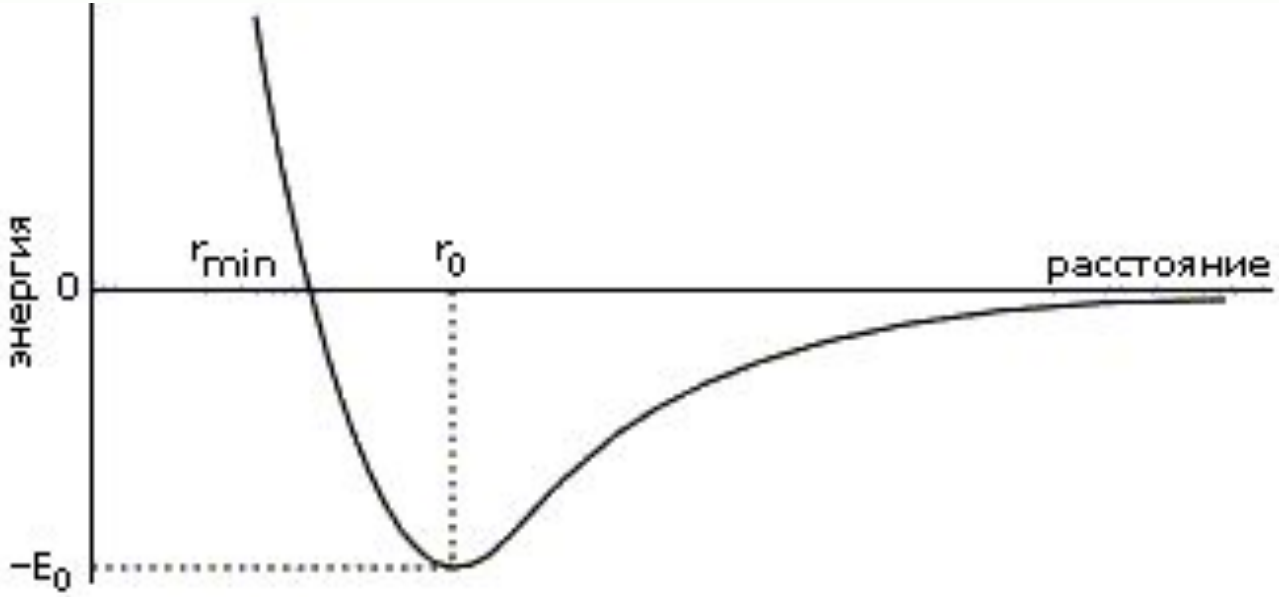


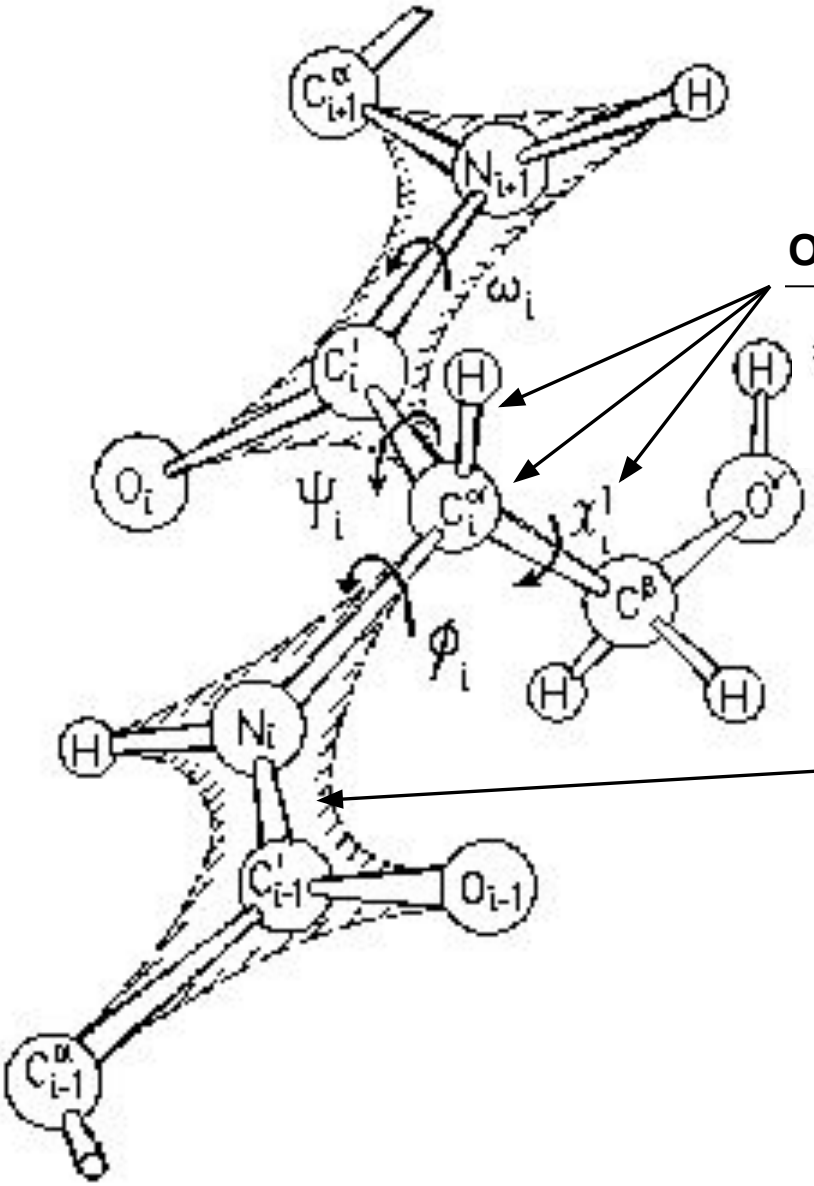
Рівні структурної організації білків

- Первинна структура (1º) - амінокислотна послідовність білків;
- Вторинна структура (2º) – сегменти, що складають структурні одиниці, або регулярні структури в білках;
- Супервторинна структура – складається з елементів вторинної структури ;
- Третинна структура (3º) – фолдинг білкових ланцюгів у компактну тримірну форму;
- Четвертинна структура (4º) – організація субодиниць білка ;
- Надмолекулярні комплекси.

Взаємодії в пептидному зв'язку

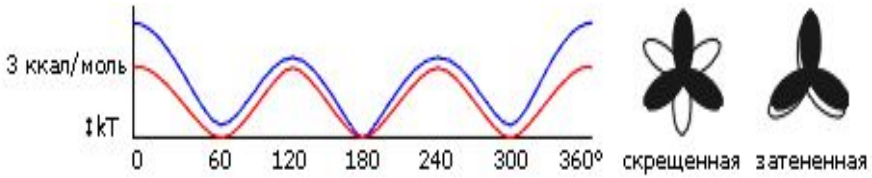




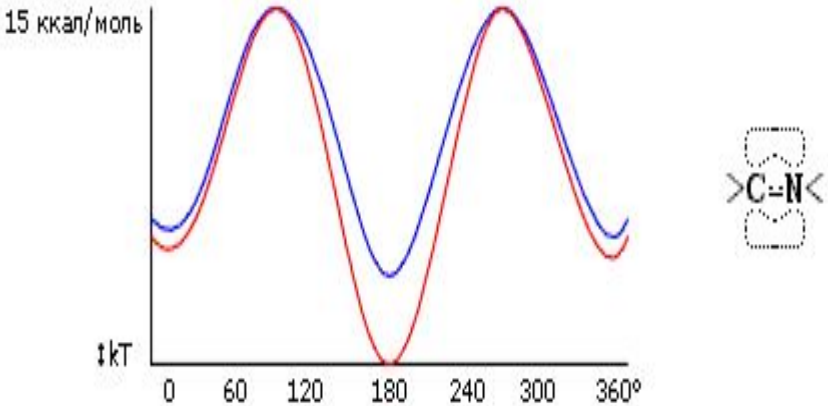


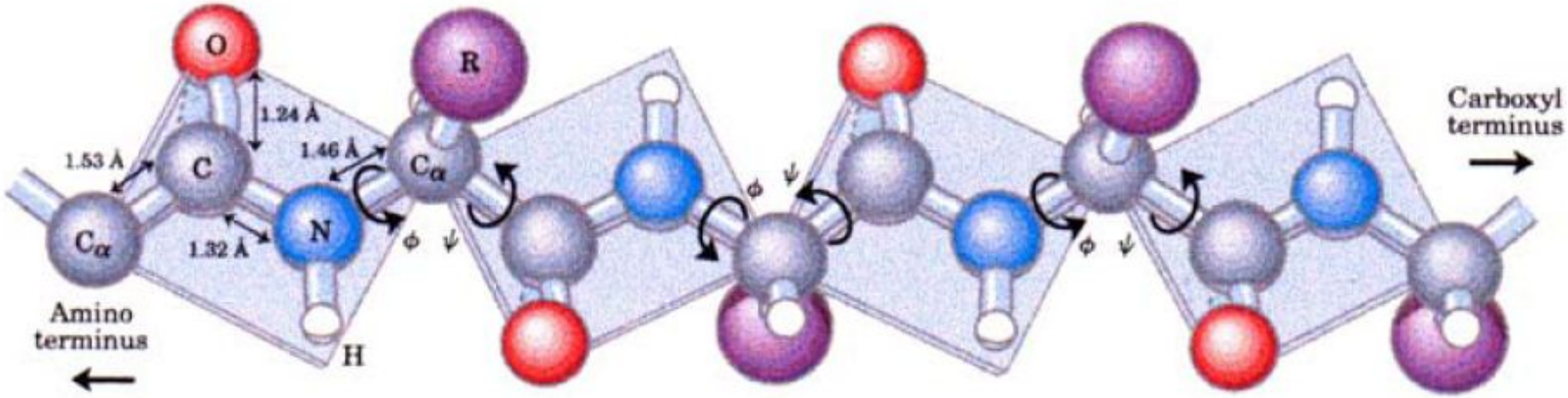
“Конструкція” пептидного зв'язку

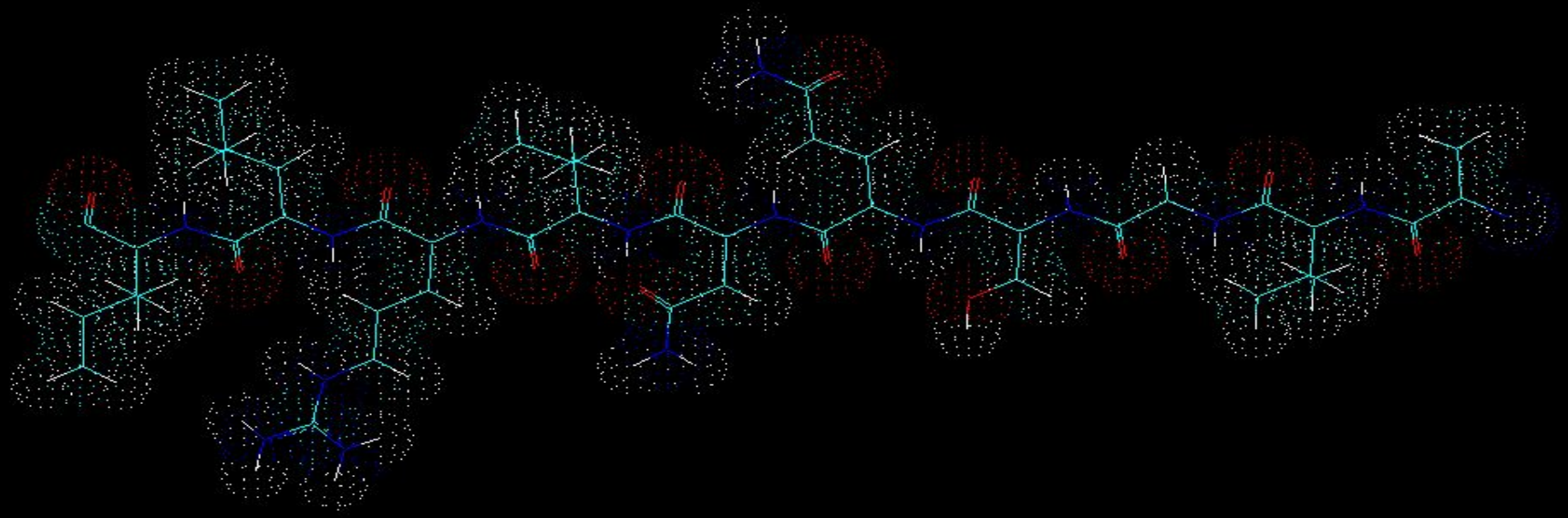
Обертання навколо одинарного зв'язку



Обертання навколо пептидного зв'язку практично неможливо




O
R
1.24 Å
1.53 Å
1.46 Å
C
Cα
N
1.32 Å
Cα
H
Amino terminus
Carboxyl terminus
φ
ψ



Структурна організація білків

Вторинна структура характеризує просторову форму білкової молекули, яка найчастіше повністю або частково закручується у спіраль.

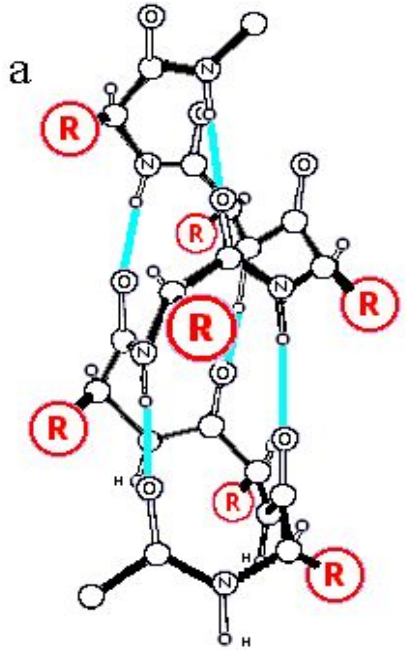
Амінокислотні радикали (R-групи) залишаються при цьому ззовні спіралі. У стабілізації вторинної структури важливу роль відіграють ***водневі зв'язки***, які виникають між атомами водню NH-групи одного завитка спіралі та кисню CO-групи іншого й спрямовані вздовж спіралі. Хоча ці зв'язки значно слабші за пептидні, однак разом вони формують досить міцну структуру.

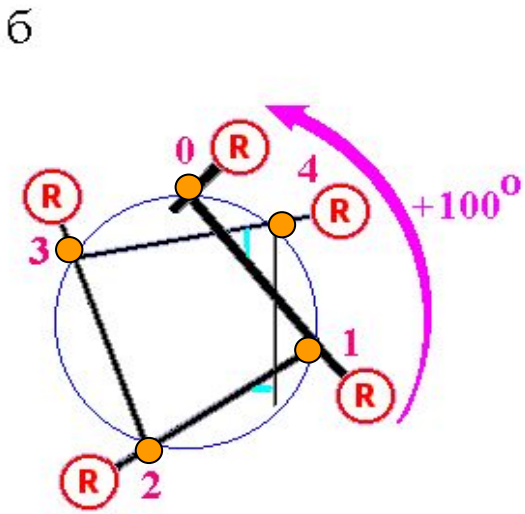
Елементи вторинної структури

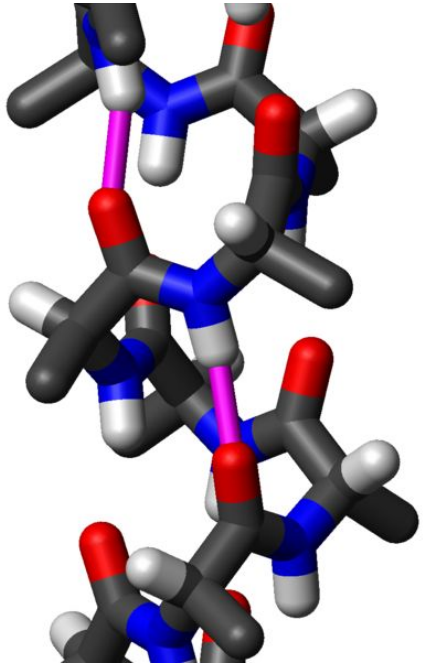
- α-спіралі
- β-листи (складчасті шари)
- π-спіралі;
- невпорядковані елементи

Структурна організація білків

α-спіралі — щільні витки навколо довгої осі структури, один виток становлять 4 амінокислотних залишки, спіраль стабілізована водневими зв'язками між атомами Н і О пептидних груп, віддалених одна від одної на 4 ланки. Спіраль може бути як лівозакрученою, так і правозакрученою, хоча зазвичай переважає правозакручена. Спіраль порушують електростатичні взаємодії глутамінової кислоти, лізину, аргініну, розташовані поруч аспарагін, серин, треонін і лейцин можуть стерично заважати утворенню спіралі, пролін викликає вигин ланцюга і також порушує спіраль.

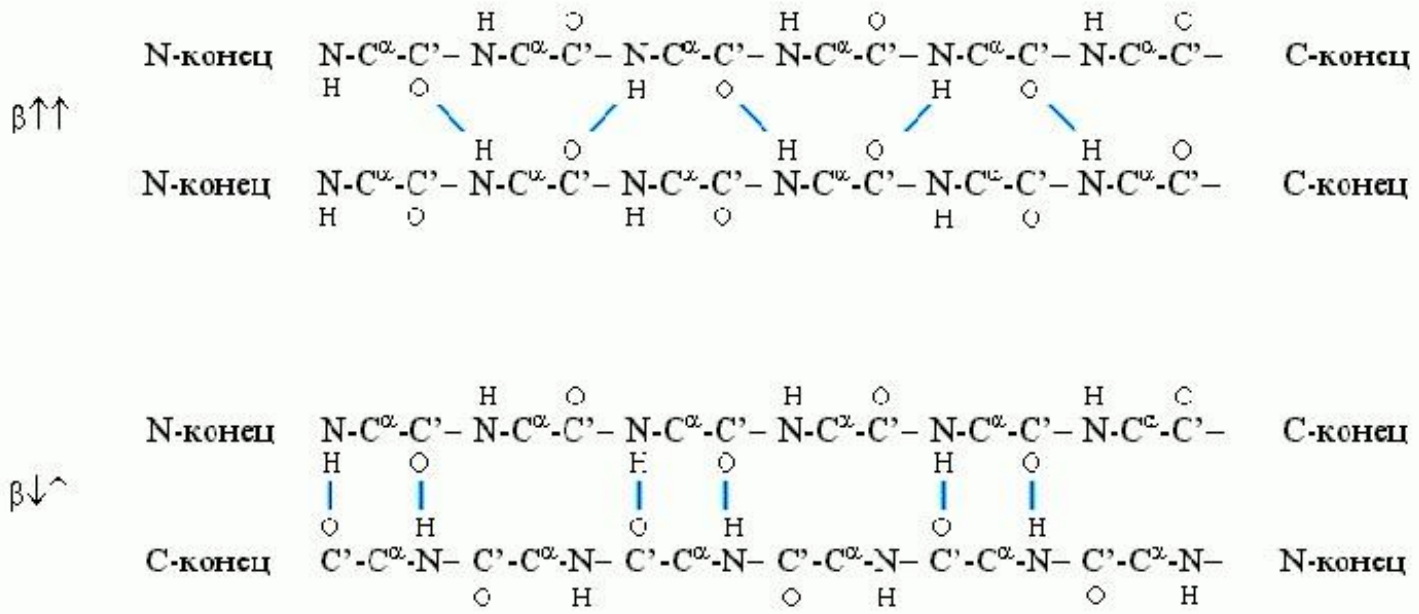




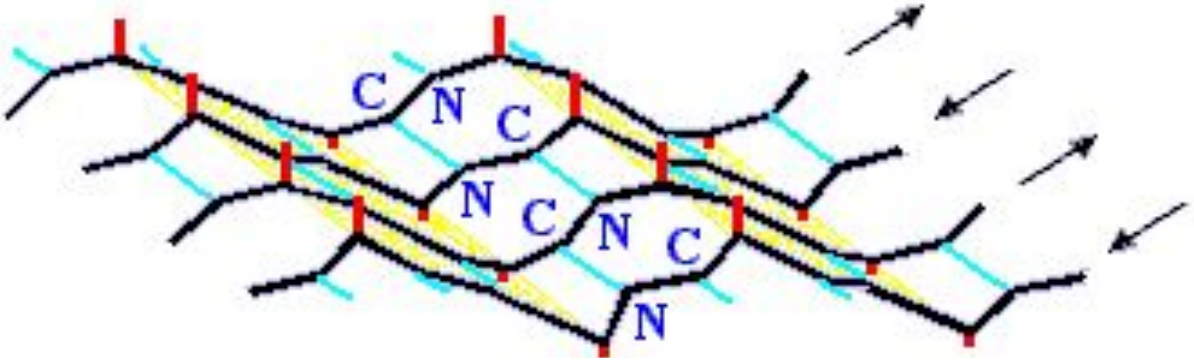


β-листи (складчасті шари) — декілька зигзагоподібних поліпептідних ланцюжків, в яких водневі зв'язки утворюються між відносно віддаленними ділянками ланцюжка або між різними ланцюжками, а не між близько розташованими амінокислотами, як це має місце в α-спіралі. Ці ланцюжки зазвичай направлені N-кінцями в різні боки (антипаралельна орієнтація). Для утворення листів важливі невеликі розміри R-груп амінокислот, у цих структурах зазвичай переважають гліцин і аланін.

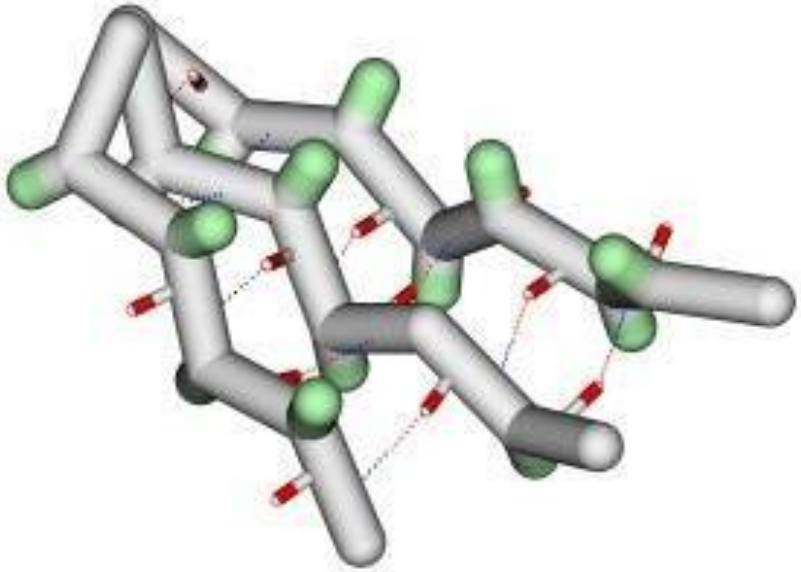
Лист β-структури



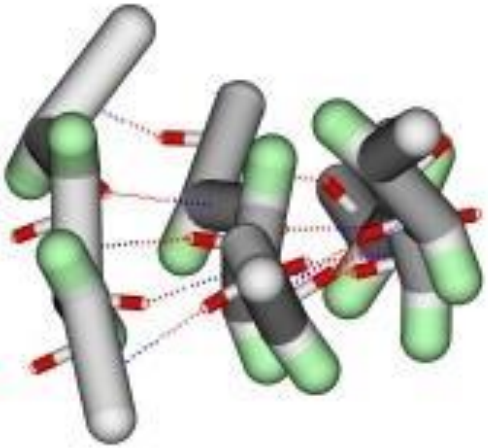
Лист β-структури



а



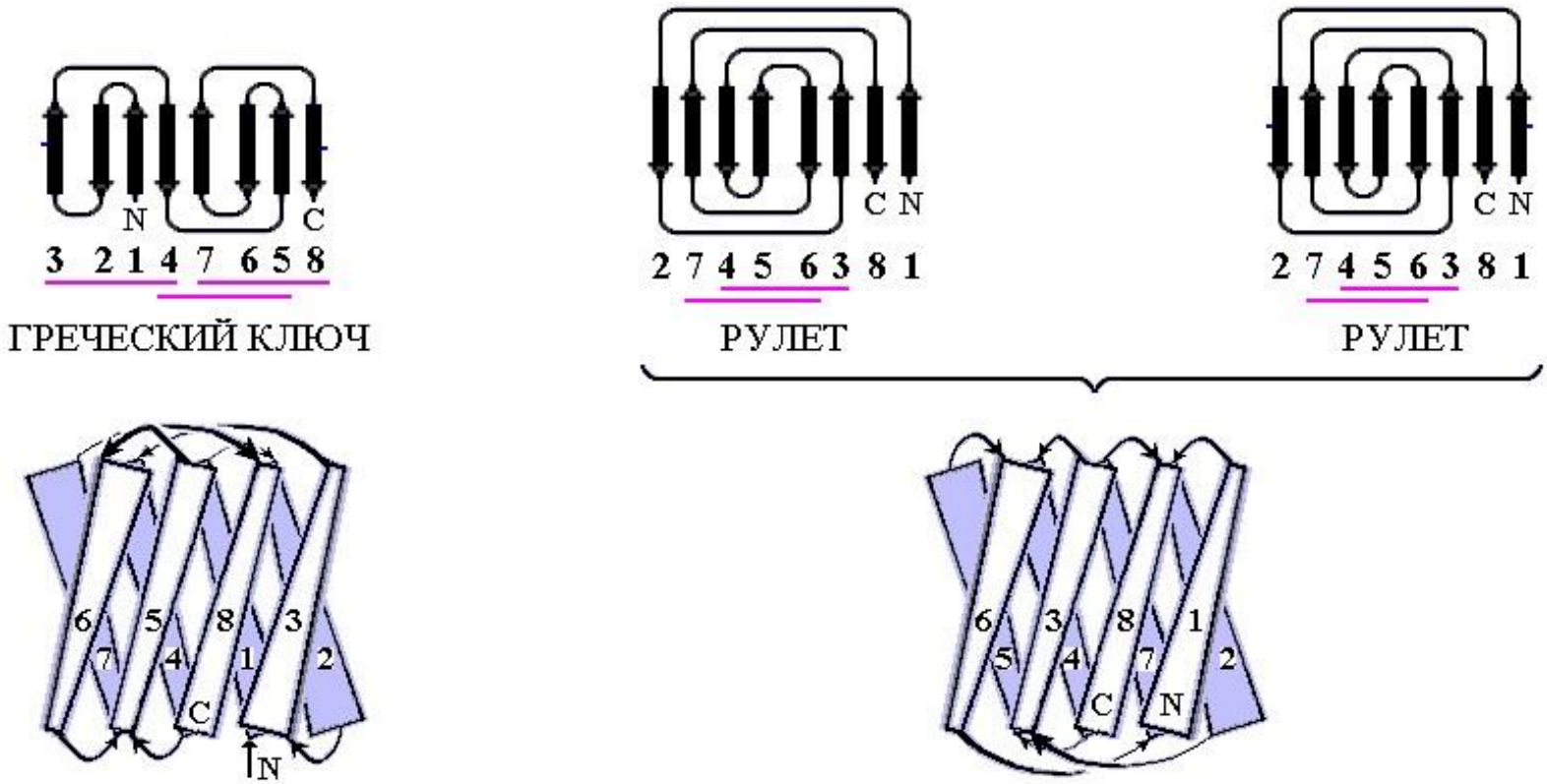
б



Приклади розташування β-тяжів

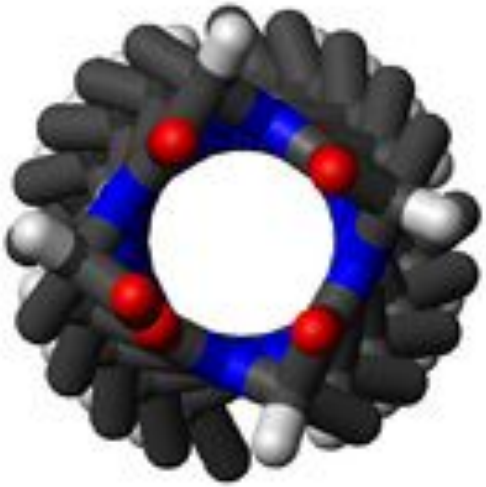
Білки – молекулярні конструкції

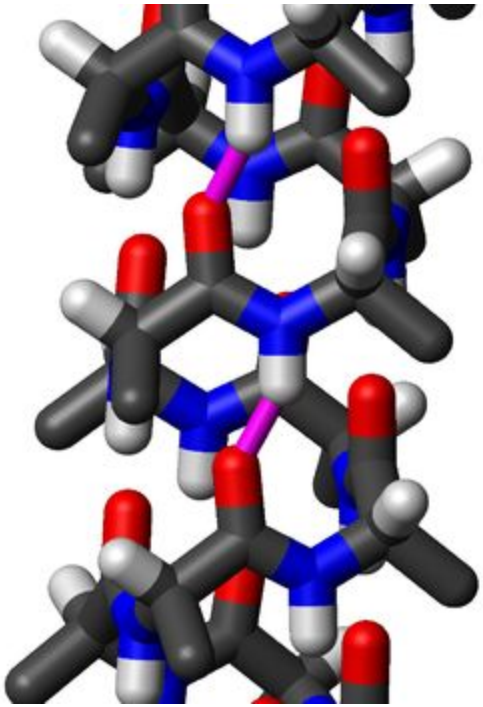
β-структурні “мотиви” у білках



Структурна організація білків

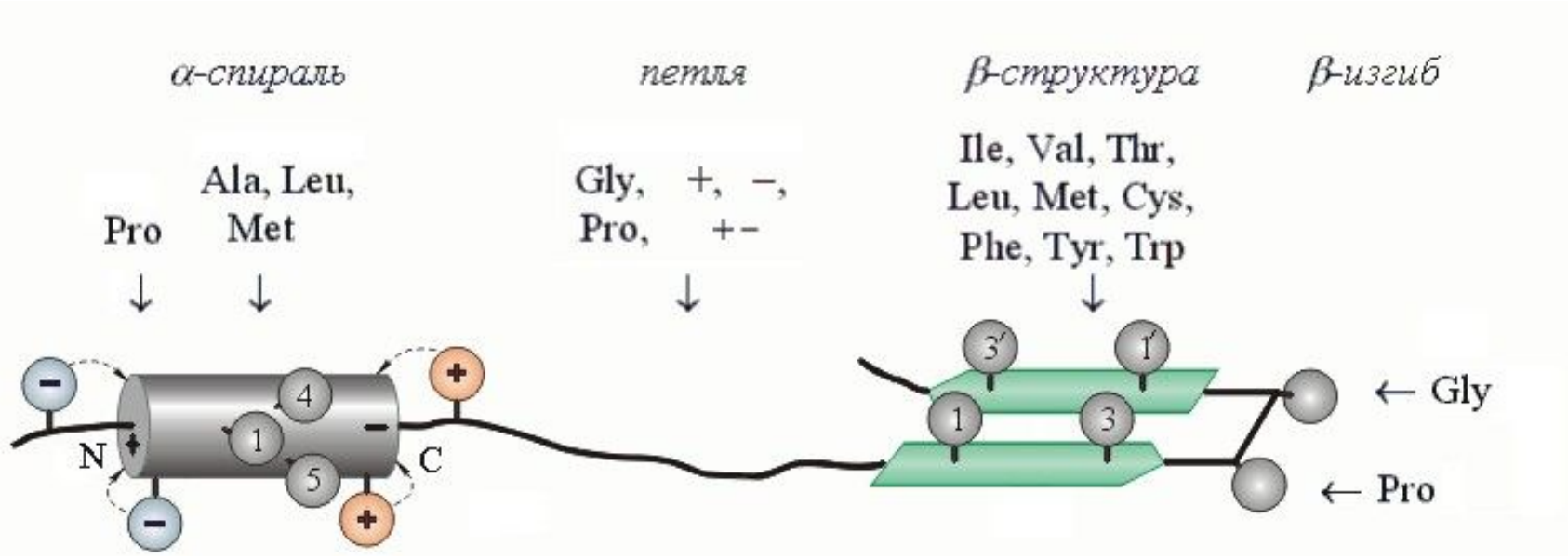
π-спіралі





Невпорядкована структура

Розташування амінокислотних радикалів в α- спіралях та β-структурах та їх тенденції амінокислотних залишків до формування певних типів вторинної структури



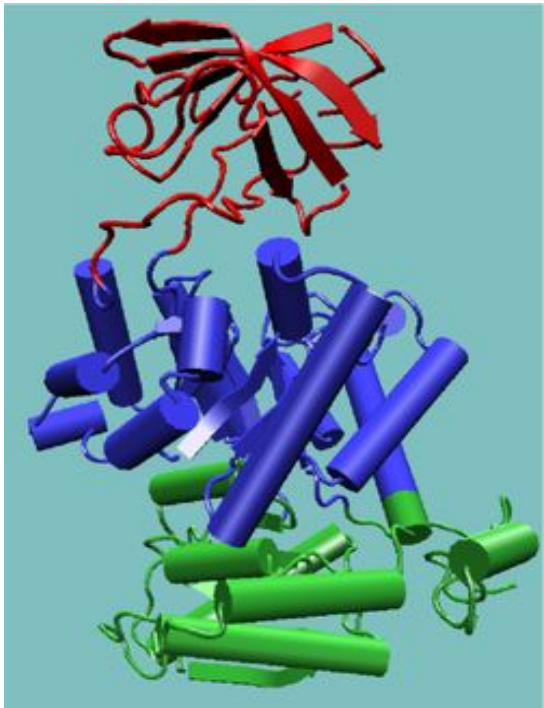
«Надвторинна» структура

Більшість білків організовані на кількох проміжних рівнях між основними елементами вторинної структури та повною структурою поліпептидного ланцюжка. Цю організацію часто називають «надвторинною» структурою, а її елементи — доменами.

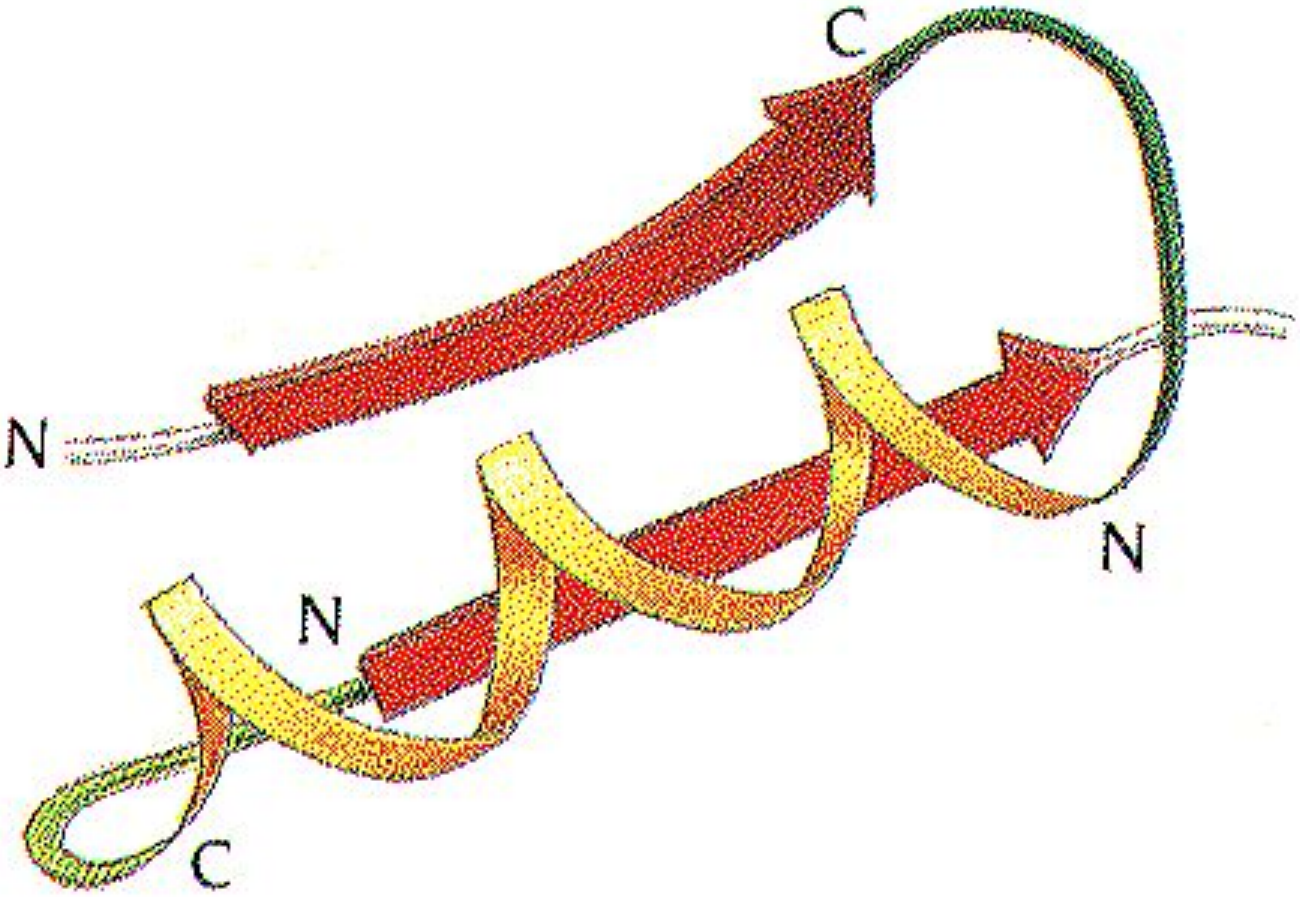
Домен — дещо більший елемент структури білка, що самостійно стабілізується і зазвичай згортається незалежно від решти частин поліпептидного ланцюжка, і що часто виконують окрему функцію. Багато доменів не унікальні до одного типу білків або навіть білкового сімейства.

Незважаючи на факт, що існує близько 100 тис. різних білків в клітинах еукаріотів, існує набагато менше різних доменів.

Таким чином, домен може бути переданий від одного білка до іншого, надаючи цьому білку нову функцію. Через подібні процеси, кожний домен прагне використовуватися багато разів у кількох різних білках.

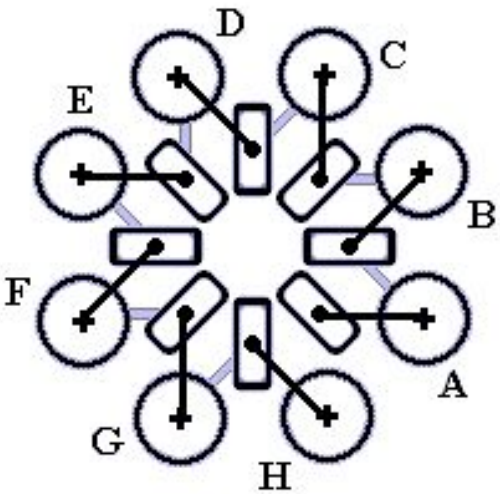


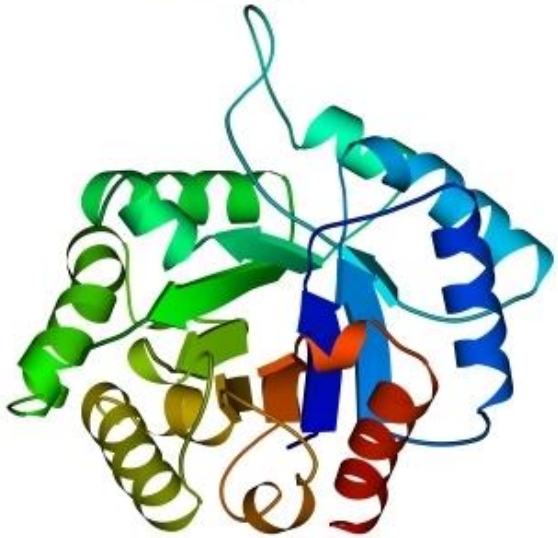
Елемент β-α-β



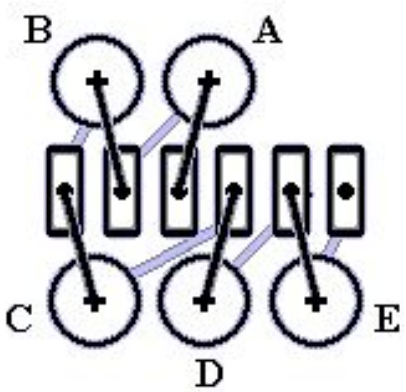
Типові варіанти (мотиви) просторової укладки αβ-білків

а

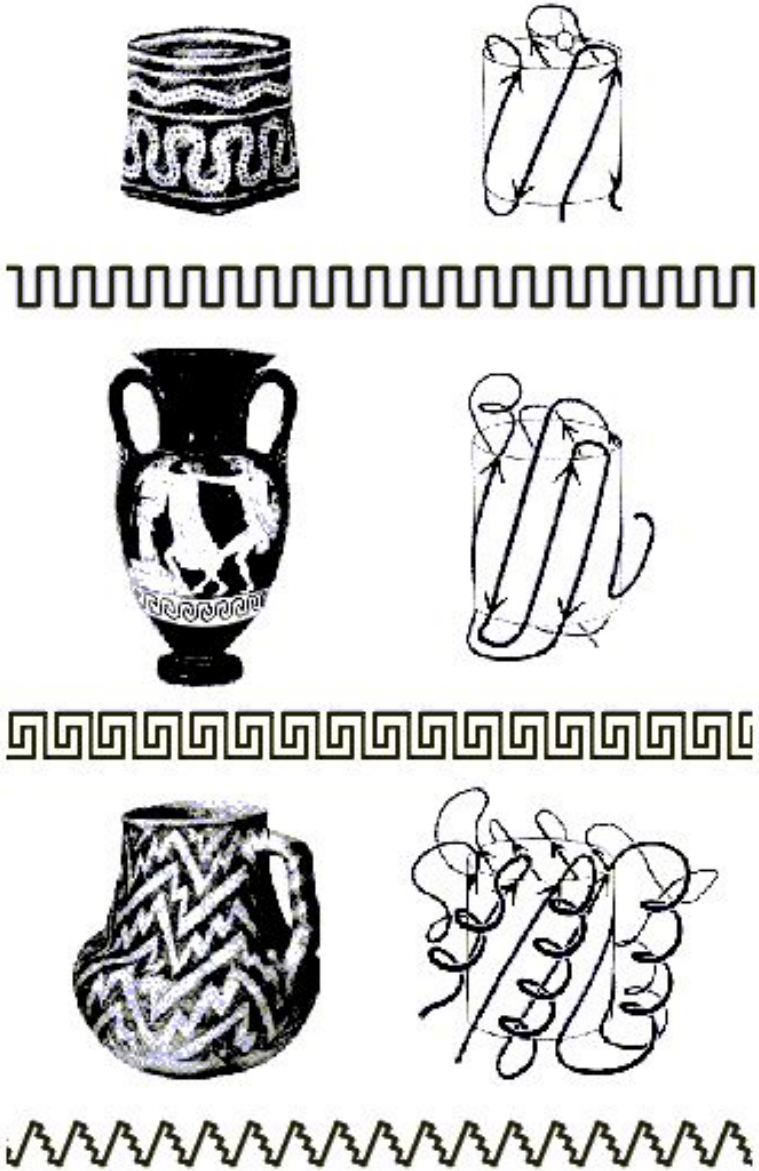




б



Структурна організація білків

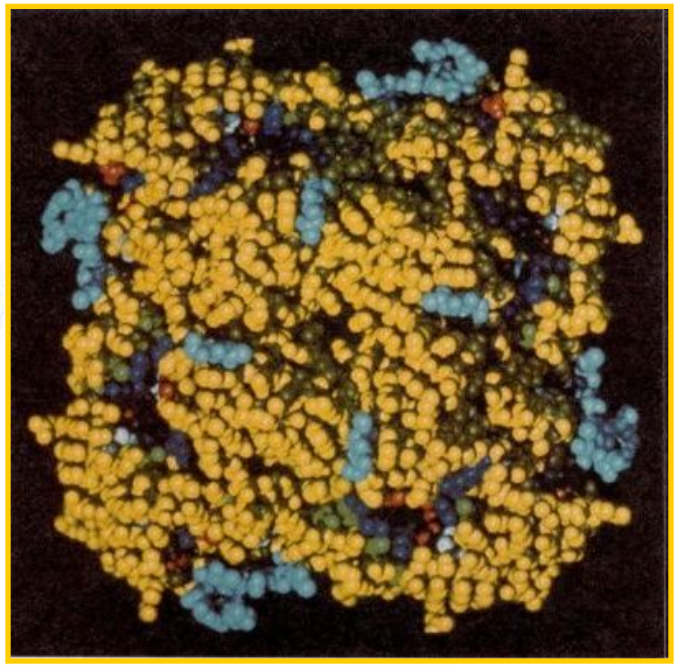


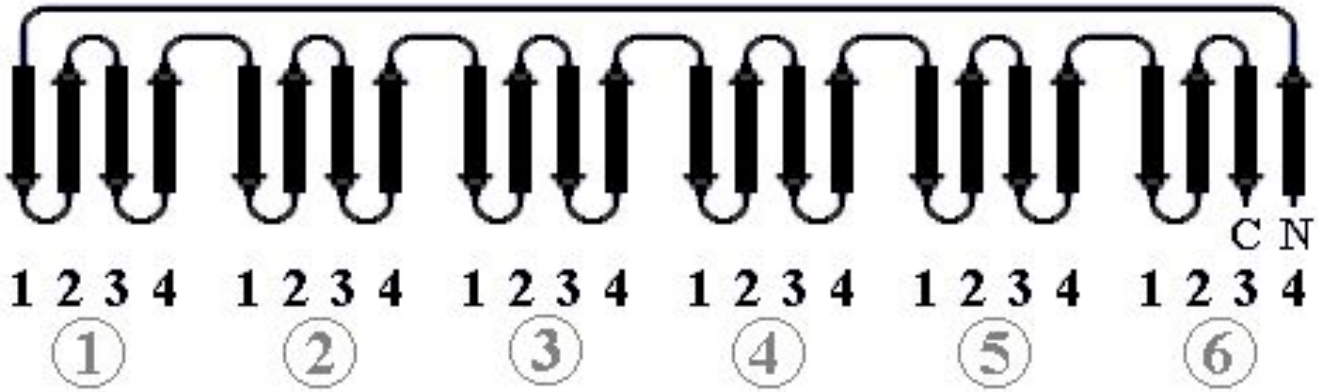
“Мистецьке” походження терміну

“мотиви” згортання молекул білків

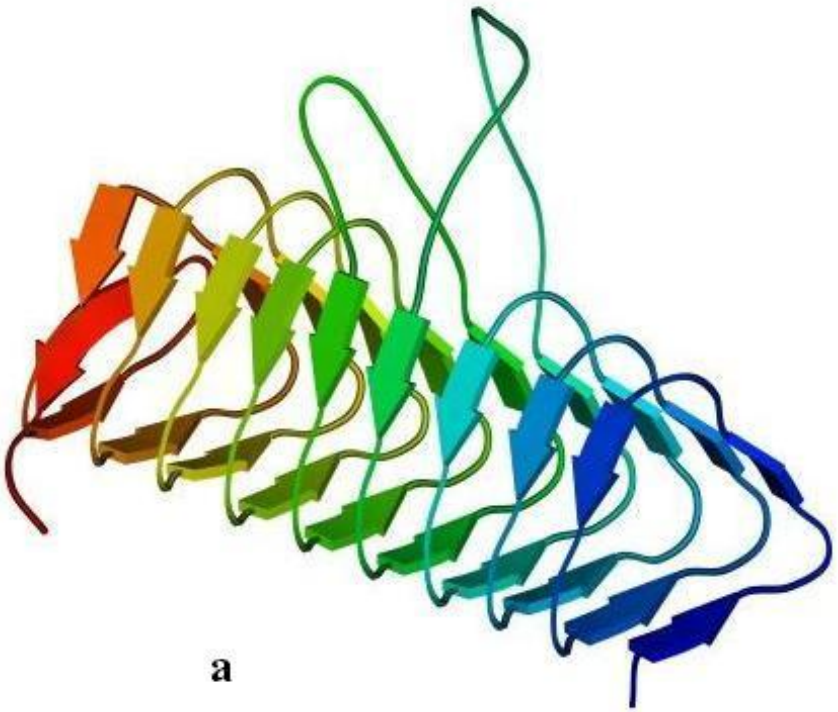
Структурна організація білків

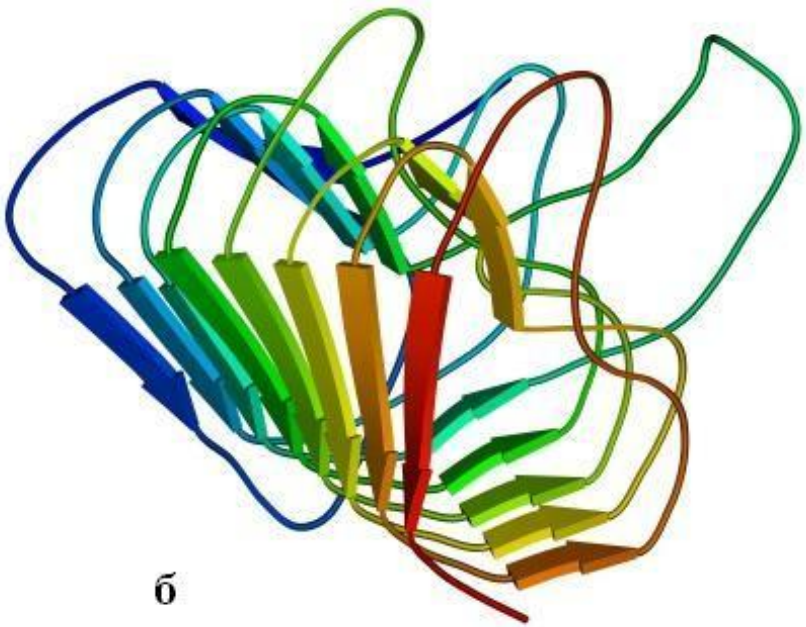
Нейрамінідаза





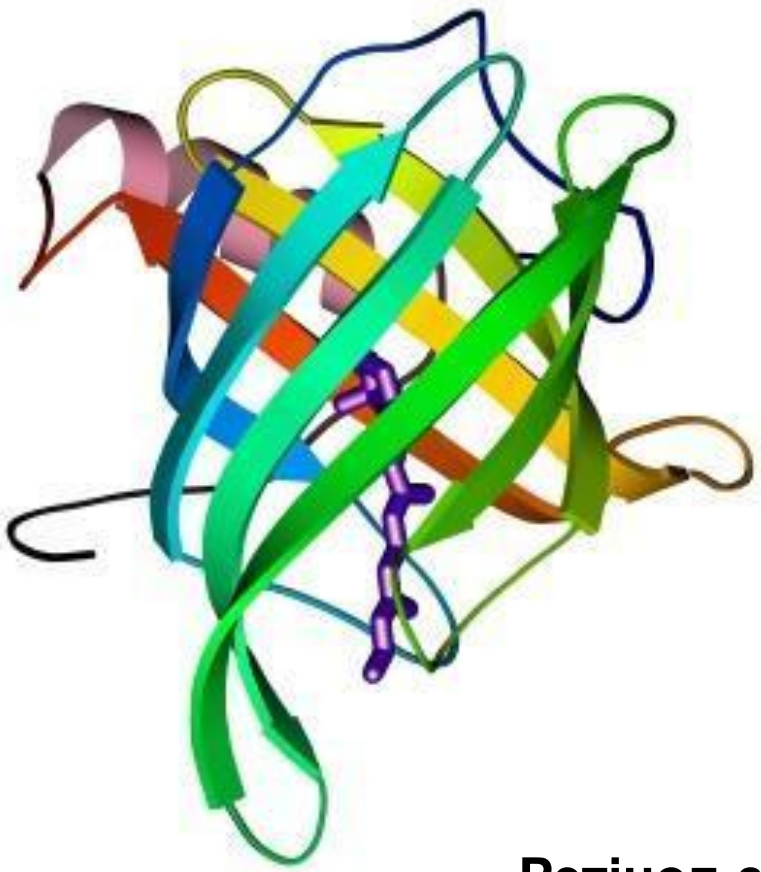
Структурна організація білків

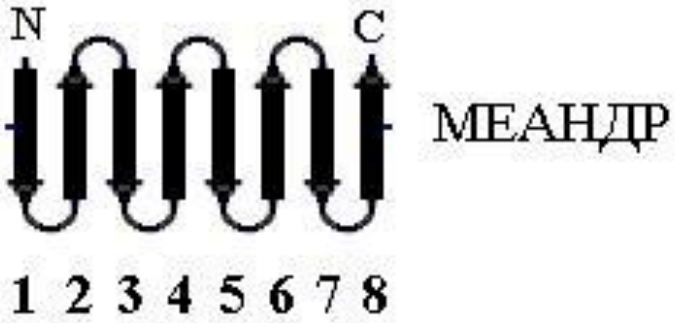




Ацетілтрансфераза

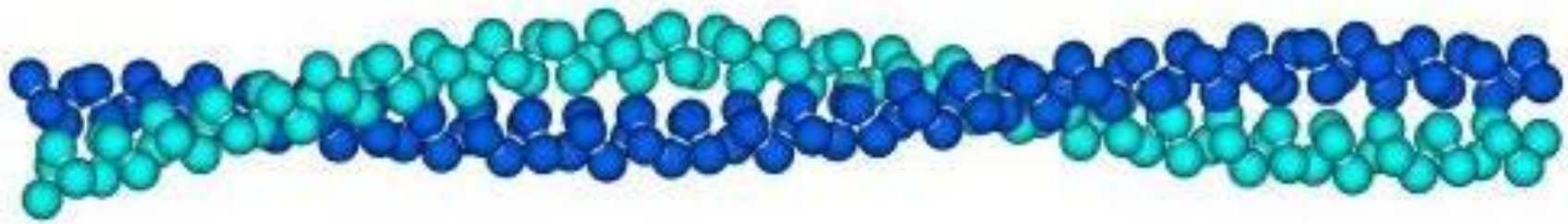
Структурна організація білків



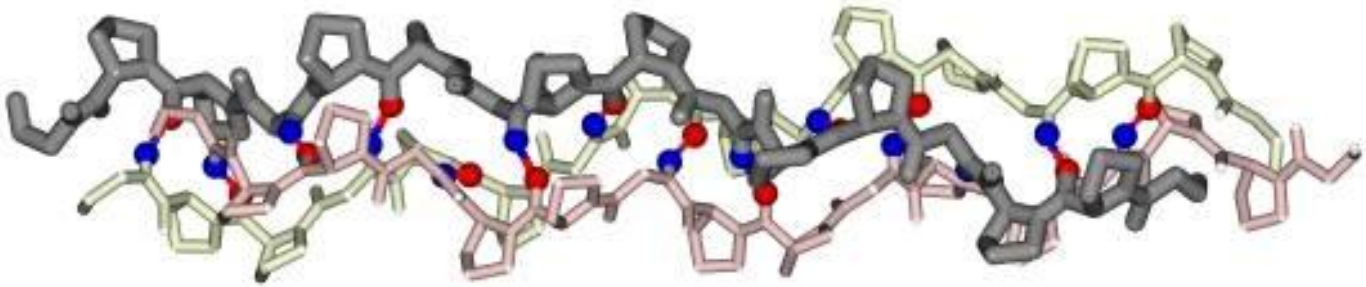


Ретінол-зв’язуючий білок

Структурна організація білків



Утворення суперспіралі у α-спіральних білках



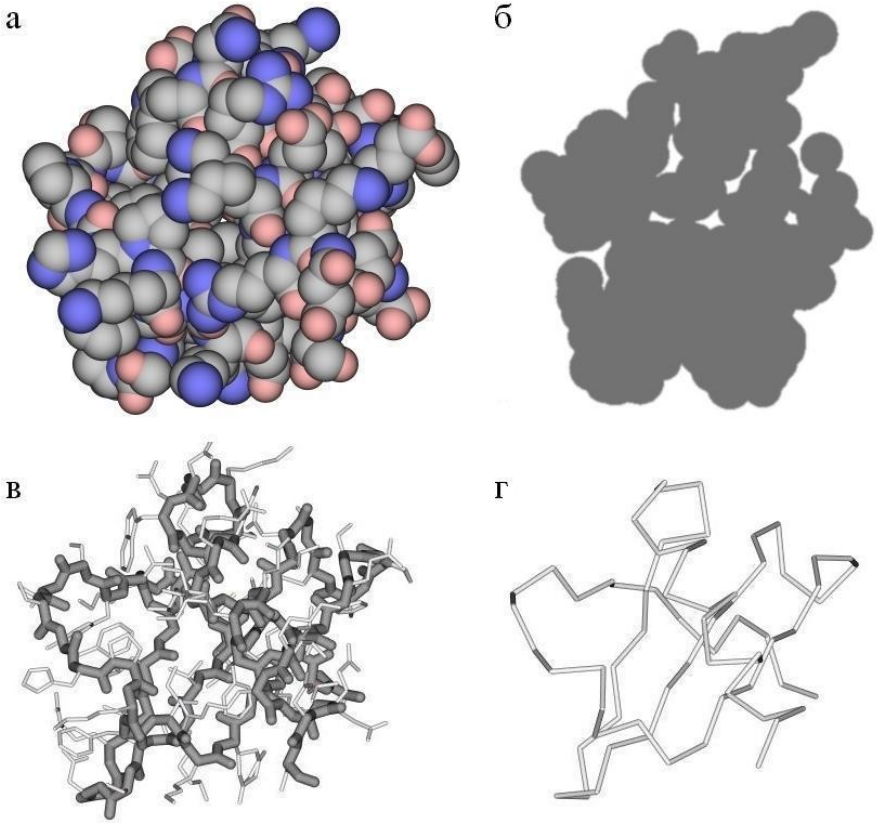
Взаємодія спіралей колагену

Третинна структура

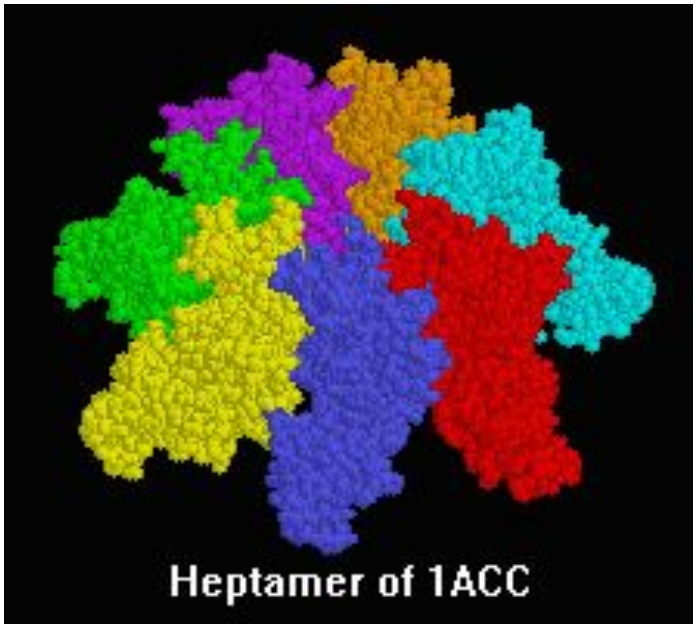
Формується за рахунок далекодіючих взаємодій між амінокислотними залишками в різних ділянках поліпептидного ланцюга.

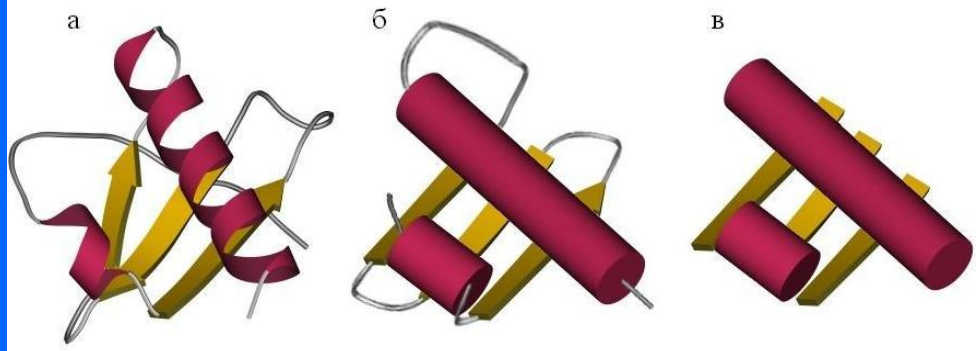
Поліпептид згортається в компактну глобулу.

Структурна організація білків



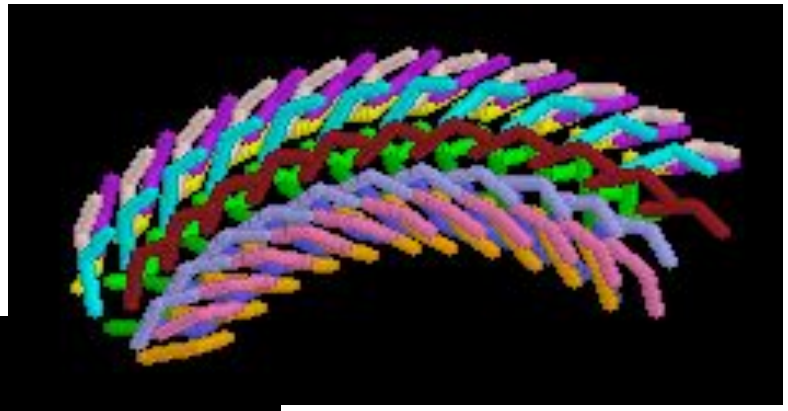
Третинна і четвертинна структура білків

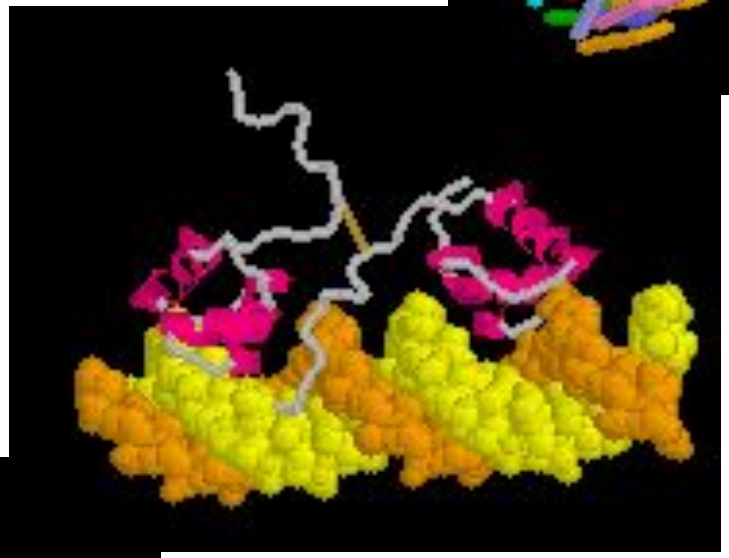


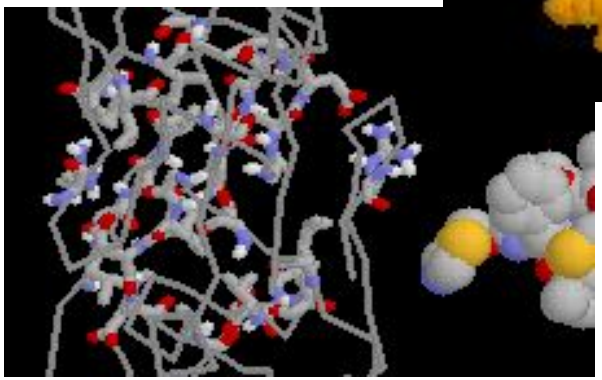


Спрощені моделі молекул білків

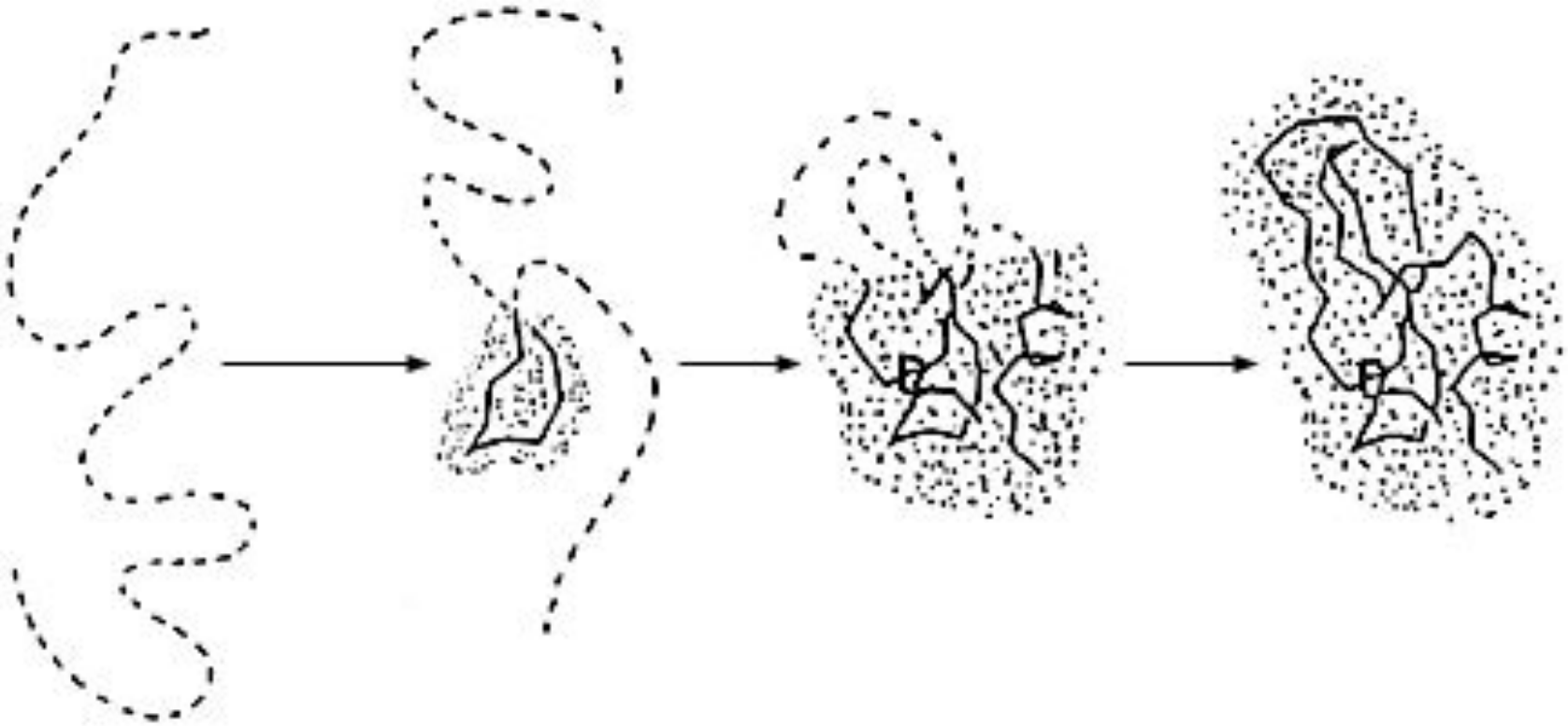
Динаміка білкової структури







Мимовільне згортання поліпептидного ланцюга



Структурна організація білків

Ієрархія структурної організації білка та послідовність його згортання

Ферменти – як представники групи білків

Ферменти (**ензими**) — органічні каталізатори білкової природи, які утворюються в живих організмах, здатних прискорювати перебіг хімічних реакцій в організмі. Ферменти каталізують більшість хімічних реакцій, які відбуваються у живих організмах.

Кожен із ферментів має один або більше ***активних центрів***, які визначають специфічність хімічної реакції, що каталізується даним ферментом.

Крім активного центру деякі ферменти мають ***алостеричний центр***, який регулює роботу активного центру. Ферментативна реакція також може регулюватися іншими молекулами, як білкової природи, так й іншими — активаторами та інгібіторами.

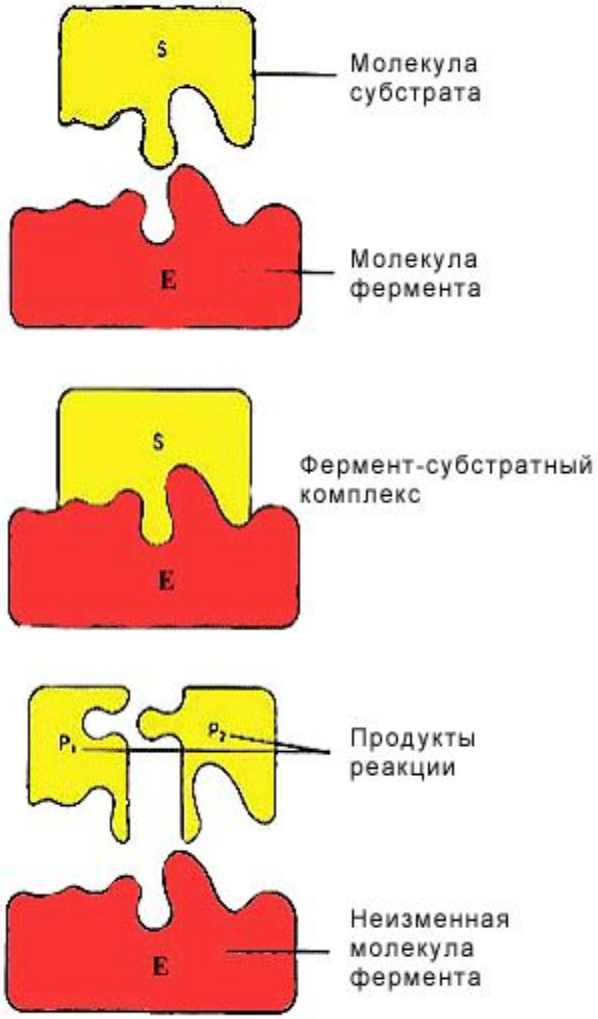
Зазвичай ферменти іменують за типом реакції, яку він каталізує, додаючи суфікс *-аза* до назви субстрату (*наприклад* лактаза — фермент, що бере участь в перетворенні лактози)

Механізм дії ферментів

Найбільші рівні структури білків третинна та четвертинна структури — руйнуються при нагріванні або під дією деяких хімічних речовин.

Щоб каталізувати реакцію, фермент повинен зв'язатися з одним або кількома субстратами. або іонів металів.

Білковий ланцюжок ферменту згортається таким чином, що на поверхні глобули утворюється щілина або западина, до якої приєднуються молекули субстрату. Ця область називається **ділянкою (сайтом) зв'язування субстрата**. Зазвичай вона збігається з активним центром ферменту або знаходиться поблизу від нього. Деякі ферменти містять також ділянки зв'язування кофакторів



I. Активация фермента

II. Узнавание ферментом своего субстрата

III. Образование неактивного фермент-субстратного комплекса с помощью слабых водородных связей между субстратом и аминокислотами контактных участков

IV. Образование активного фермент-субстратного комплекса за счет каталитического участка

V. Образование продуктов реакции.

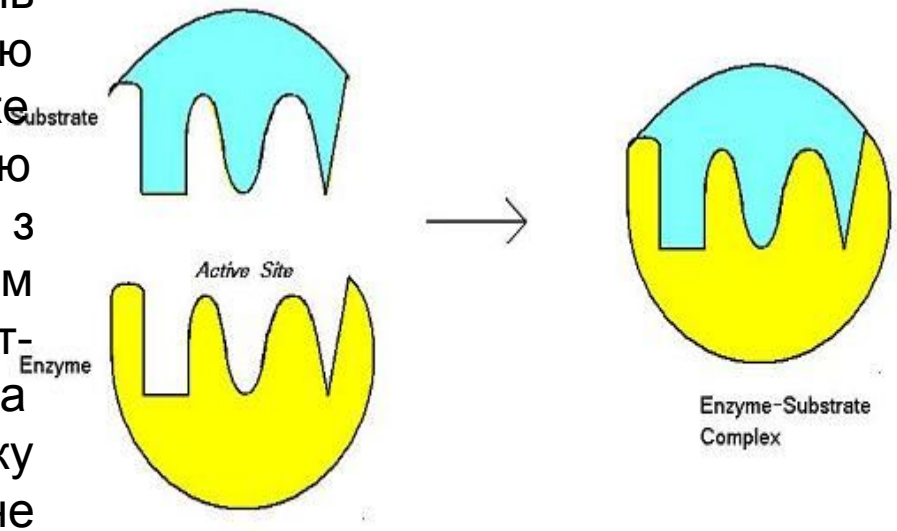
Механізм дії ферментів

Специфічність

Ферменти зазвичай проявляють високу **специфічність** по відношенню до своїх субстратів. Це досягається частковою комплементарністю форми, розподілу зарядів і гідрофобних областей на молекулі субстрата і в ділянці зв'язування субстрата на ферменті. Ферменти демонструють високий рівень стереоспецифічності (просторової специфічності), регіоселективності (специфічності орієнтації) і хемоселективності (специфічності до хімічних груп).

Модель «ключ-замок»

У 1890 році Еміль Фішер припустив, що специфічність ферментів визначається точною відповідністю форми ферменту і субстрату. Таке припущення називається моделлю «ключ-замок». Фермент з'єднується з субстратом з утворенням короткоживучого фермент-субстратного комплексу. Проте, хоча ця модель пояснює високу специфічність ферментів, вона не пояснює явища стабілізації перехідного стану, який спостерігається на практиці.

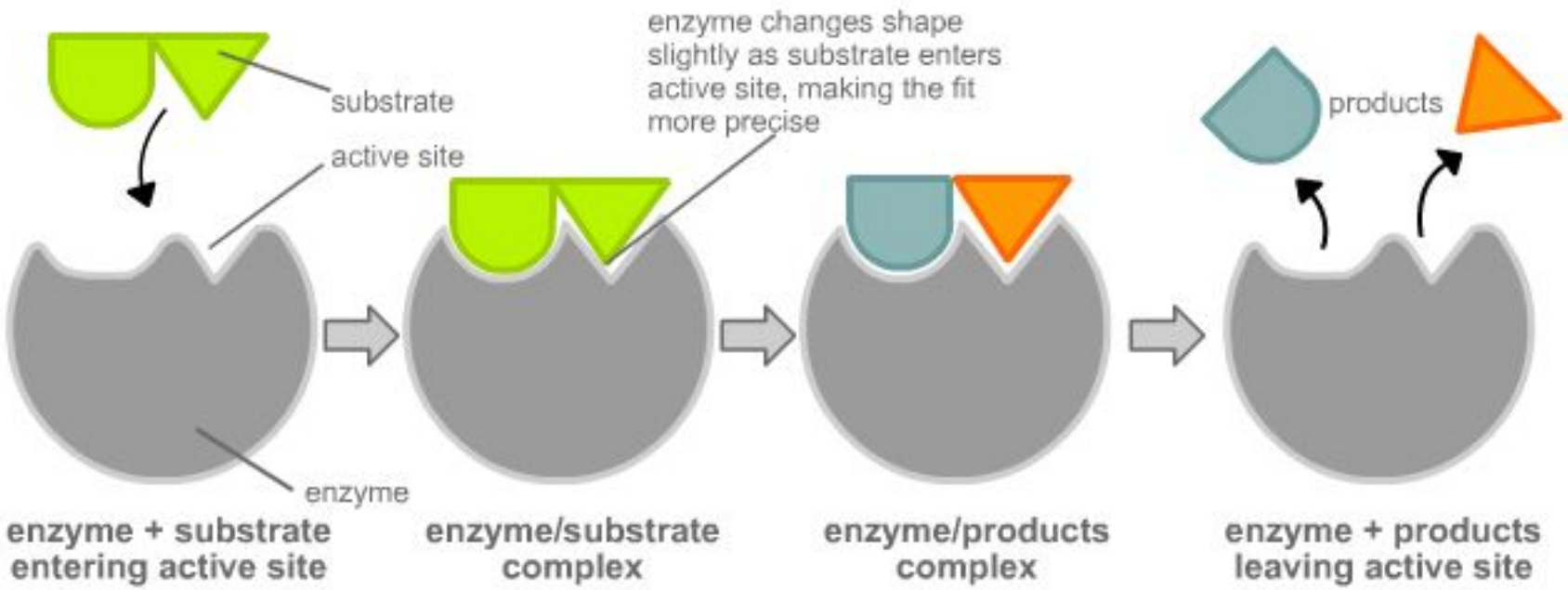


Lock-and-key Model.- The substrate and enzyme active site have complementary shapes

Механізм дії ферментів

Модель індукованої відповідності

У 1958 році американський дослідник Деніел Кошланд запропонував модифікацію моделі «ключ-замок». Ферменти, в основному, — не жорсткі, а гнучкі молекули. Активний центр ферменту може змінити конформацію після зв'язування з ним субстата. Бічні групи амінокислот активного центру займають таке положення, яке дозволяє ферменту виконувати свою каталітичну функцію. В деяких випадках молекула субстрата також міняє конформацію після скріплення в активному центрі. На відміну від моделі «ключ-замок», модель індукованої відповідності пояснює не тільки специфічність ферментів, але і стабілізацію перехідного стану.



Кофактори ферментів

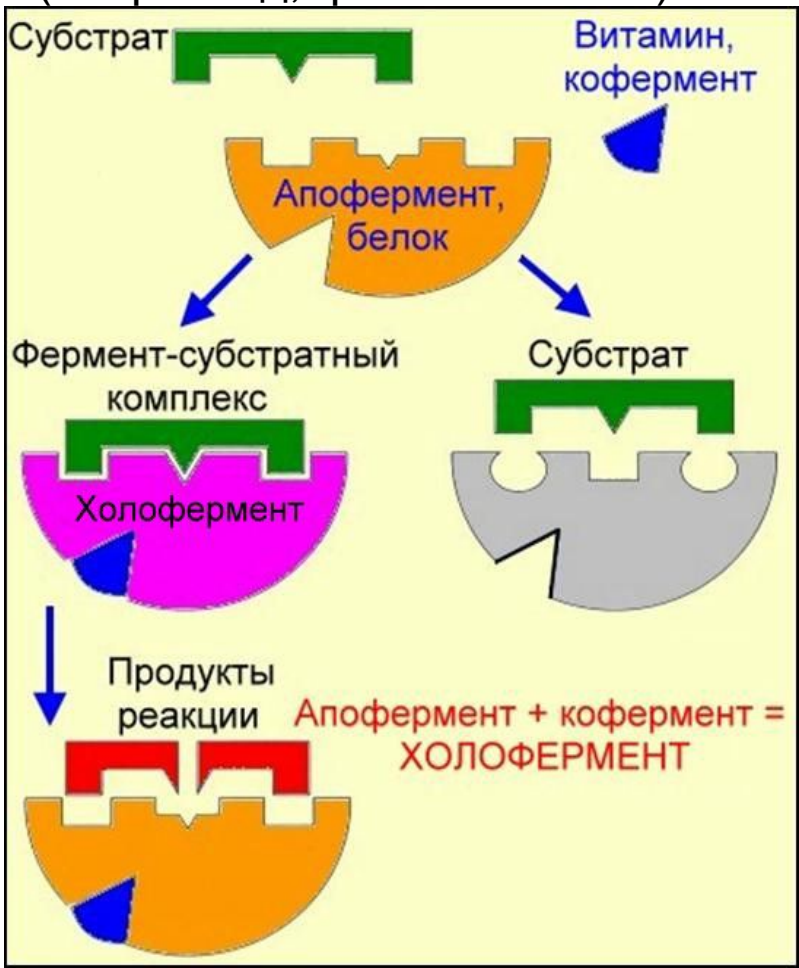
Деякі ферменти виконують каталітичну функцію самі собою, без додаткових компонентів. Проте є ферменти, яким для здійснення каталізу необхідні компоненти небілкової природи.

Кофактори можуть бути як неорганічними молекулами (іони металів, залізо-сірчані кластери та інші), так і органічними (наприклад, флавін або гем).

Органічні кофактори, які постійно (назавжди) зв'язані з ферментом, називають також ***простетичними групами***.

Кофактори органічної природи, що здатні відділятися від ферменту, називають ***коферментами***.

Фермент, який вимагає наявності кофактора для здійснення каталітичної активності, але не зв'язаний з ним, називається ***апоферментом.*** Апофермент в комплексі з кофактором носить назву ***холоферменту***. Більшість кофакторів пов'язана з ферментом нековалентними, але досить міцними взаємодіями.

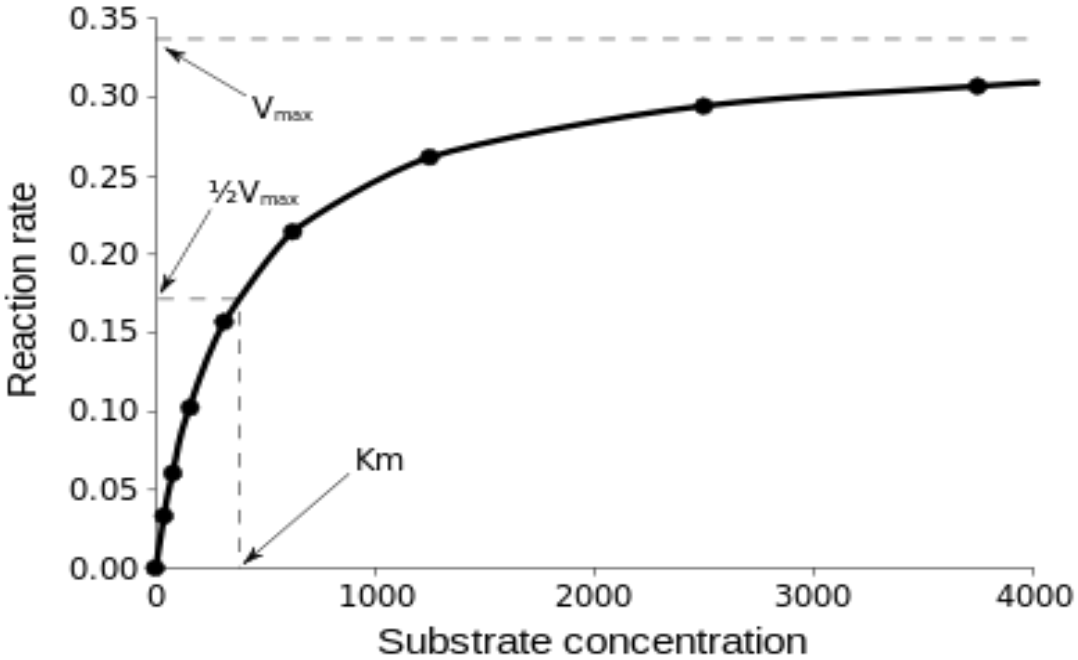


Кінетика ферментативної реакції

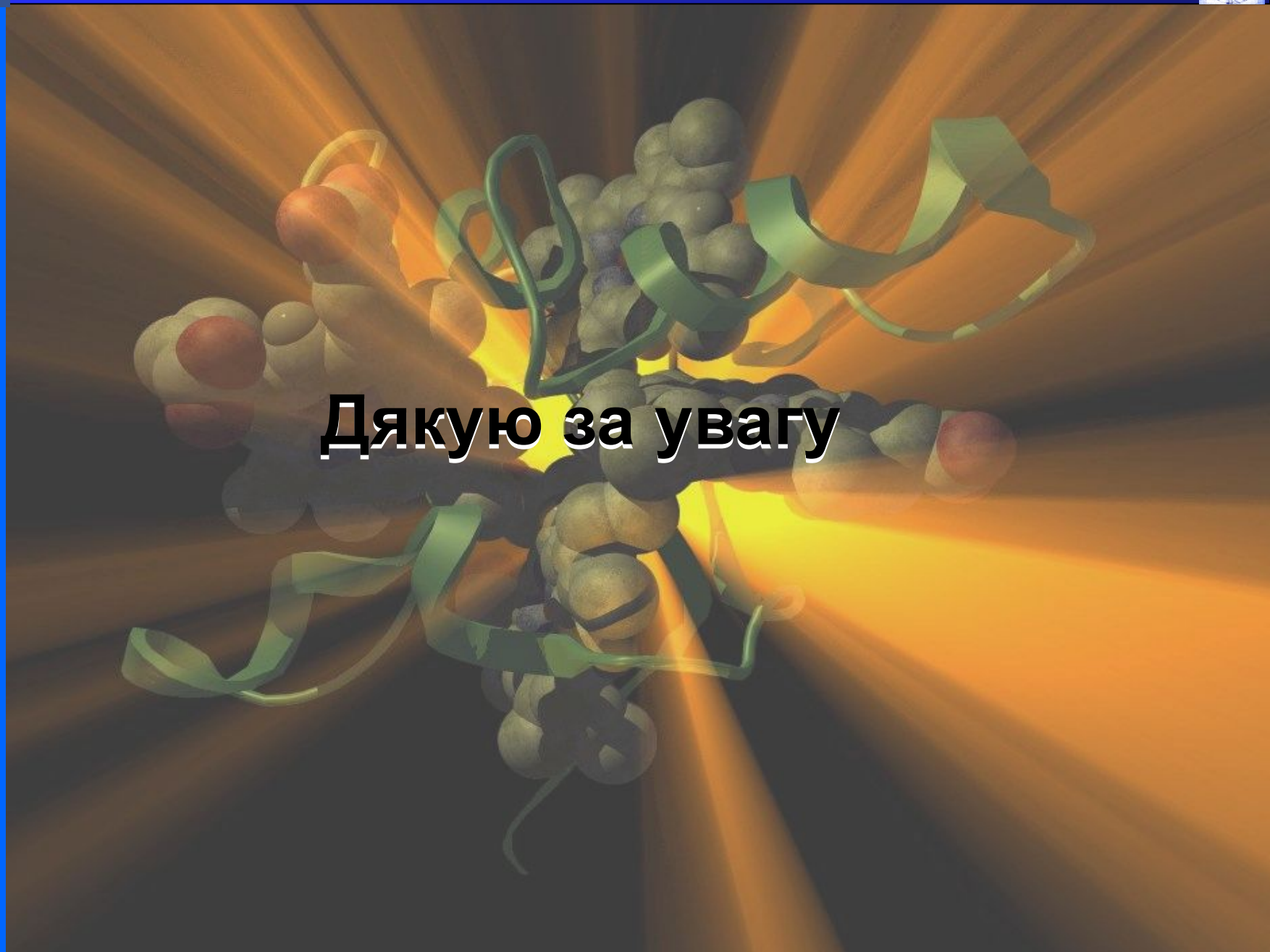
Найпростішим і найпоширенішим описом кінетики односубстратних ферментативних реакцій є **рівняння Міхаеліса-Ментен**.

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

V_0 - початкова швидкість каталізованої реакції;
[S] - концентрації субстрату;
V_{max} - максимальна швидкість реакції, яка спостерігається тоді, коли фермент повністю насичений субстратом;
K_m — константа Міхаеліса — концентрація субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині максимальної.



Крива насичення хімічної реакції (рівняння Міхаеліса-Ментен), що ілюструє співвідношення між концентрацією субстрата [S] і швидкістю реакції V



Дякую за увагу