

История изучения структуры белка

- Лайнус Полинг считается первым учёным, который смог успешно предсказать вторичную структуру белков.
- Позднее Уолтер Каузман внёс весомый вклад в понимание законов образования третичной структуры белков и роли в этом процессе гидрофобных взаимодействий.
- В 1949 году Фред Сенгер в 1949 году Фред Сенгер определил аминокислотную последовательность инсулина в 1949 году Фред Сенгер определил аминокислотную последовательность инсулина, продемонстрировав таким способом, что белки — это линейные полимеры аминокислот, а не их разветвлённые (как у некоторых сахаров) цепи.
 - Первые структуры белков, основанные на дифракции Первые структуры белков, основанные на дифракции рентгеновских лучей на уровне отдельных атомов Первые структуры белков, основанные на дифракции рентгеновских лучей на уровне отдельных атомов были получены в 1960-х годах и с помощью ЯМР в 1980-х годах.
- В 2006 году Банк данных о белках (Protein Data Bank) содержал около 40 000 структур белков.

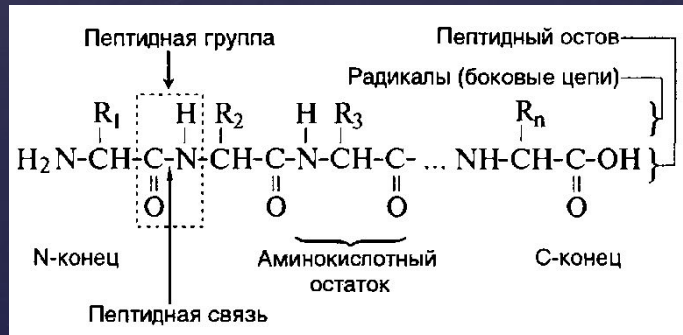
Современное изучение

структуры белка

- В XXI веке исследование белков перешло на качественно новый уровень, когда исследуются не только индивидуальные белки, но и одновременное изменение количества и пост трансляционные модификации большого числа белков отдельных клеток В XXI веке исследование белков перешло на качественно новый уровень, когда исследуются не только индивидуальные белки, но и одновременное изменение количества и пост трансляционные модификации большого числа белков отдельных клеток, тканей В XXI веке исследование белков перешло на качественно новый уровень, когда исследуются не только индивидуальные белки, но и одновременное изменение количества и пост трансляционные модификации большого числа белков отдельных клеток, тканей или организмов. Эта область биохимии называется протеомикой.
- С помощью методов биоинформатики стало возможно не только обработать данные рентгенно-структурного анализа, но и предсказать структуру белка, основываясь на его аминокислотной последовательности.
- В настоящее время электронная микроскопия больших белковых комплексов и предсказание малых белков и доменов больших белков с помощью компьютерных

Первичная структура белков

- Молекулы белка трехмерны и имеют несколько уровней организации.
- Первичная структура – порядок чередования (последовательность) аминокислот в полипептидной цепи, соединенных между собой пептидными связями.
- Первичная структура индивидуальна для различных белков.

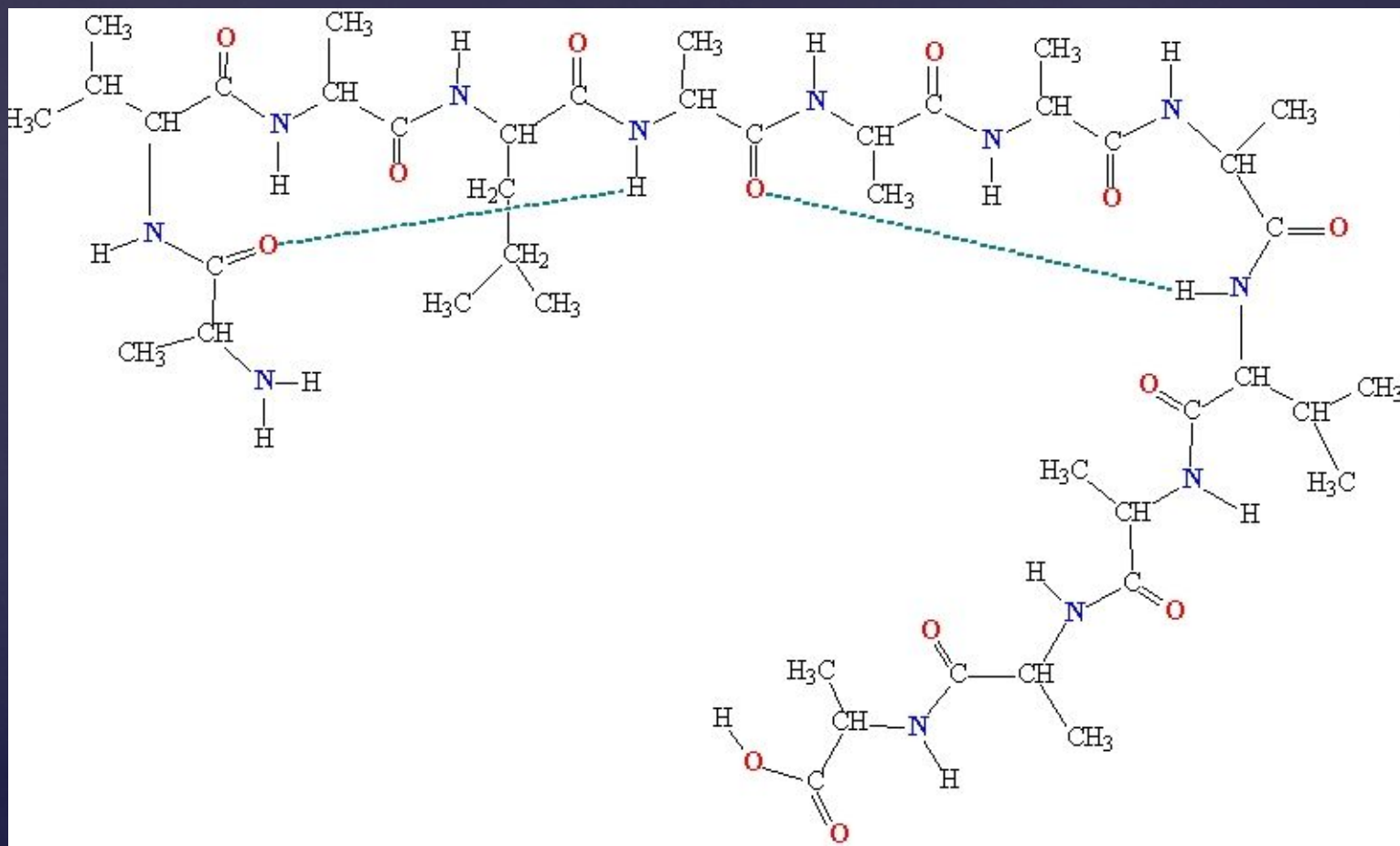


Конформация белков

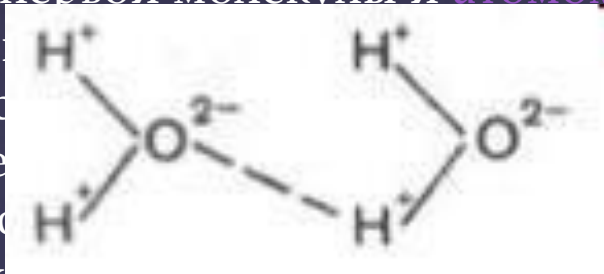
- ▣ Линейные полипептидные цепи белков за счет взаимодействия функциональных групп аминокислот приобретают определенную пространственную структуру, называемую «конформация».
- ▣ Все молекулы белков, имеющих одинаковую первичную структуру имеют одинаковую конформацию.
- ▣ В белках различают 2 основных типа конформации полипептидных цепей: вторичную и третичную структуры.

Вторичная структура

Между присутствующими в полимерной цепи **амино-группами NH** и **карбонильными группами CO** возникают **водородные связи** в результате молекула белка приобретает определенную пространственную форму, называемую **вторичной структурой**.



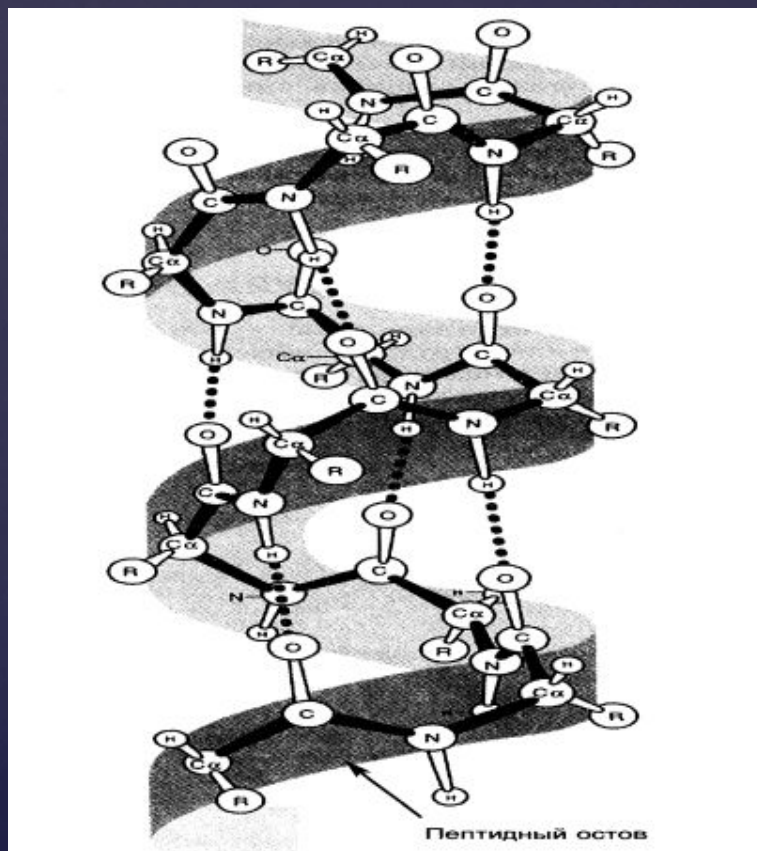
(отмечена пунктиром) между атомом Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода первой молекулы Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода первой молекулы и атомом Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода первой молекулы и атомом кислорода Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода первой молекулы и атомом кислорода второй молекулы Следствием этого является ослабление связи между атомами водорода и кислорода в каждой молекуле воды и соответственно возникновение новой, непрочной связи (отмечена пунктиром) между атомом водорода первой молекулы и атомом кислорода второй молекулы воды. Эту непрочную связь принято обозначать **водородной связью**.



Наиболее распространены два типа вторичной структуры белков.

Первый вариант, называемый ***α*-спиралью**, реализуется с помощью водородных связей внутри одной полимерной молекулы.

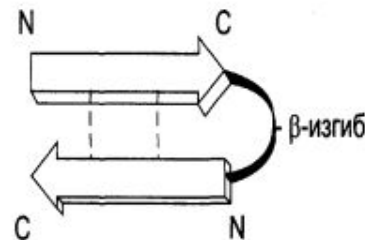
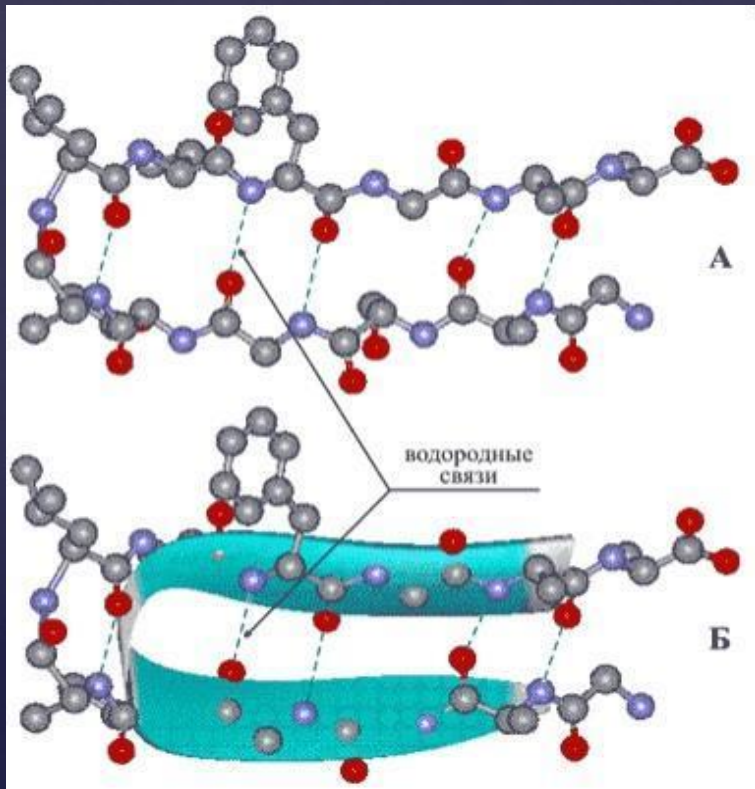
Водородные связи формируются между 1-й и 4-й аминокислотами.



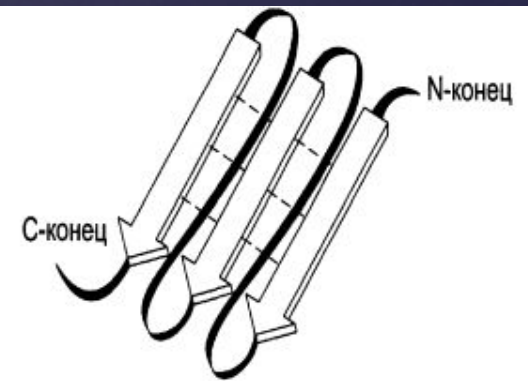
- В результате стягивающего действия водородных связей молекула приобретает форму спирали – так называемая *α*-спираль, ее изображают в виде изогнутой спиралевидной ленты, проходящей через атомы, образующие полимерную цепь.
- *α*-спираль представляет собой самый жесткий тип вторичной структуры, преобладает во многих белках.

Другой вариант вторичной структуры - β -структура.

Образуется между атомами пептидных групп линейных областей одной полипептидной цепи (левый рис.), делающий изгибы или между разными полипептидными цепями. В изгибах чаще всего находится **пролин**. Поскольку полипептидная цепь имеет направление, возможны варианты, когда направление цепей совпадает (параллельная β -структура, (справа рис. Б), либо они противоположны (антипараллельная β -структура, рис.А)

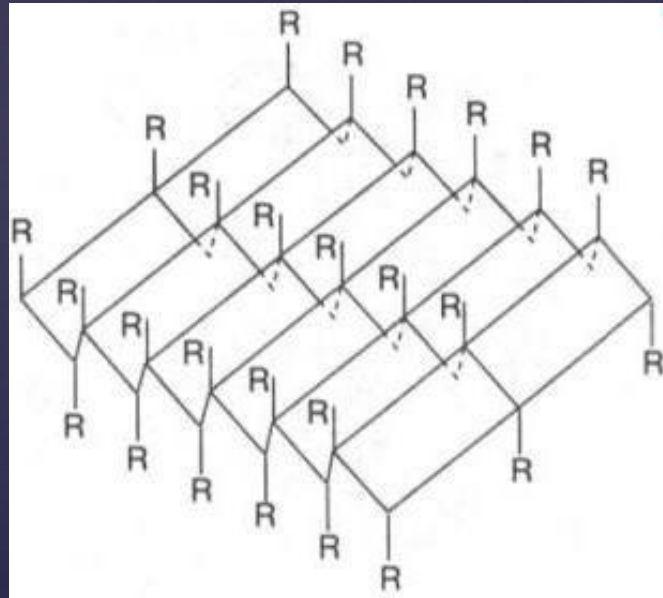


А



Б

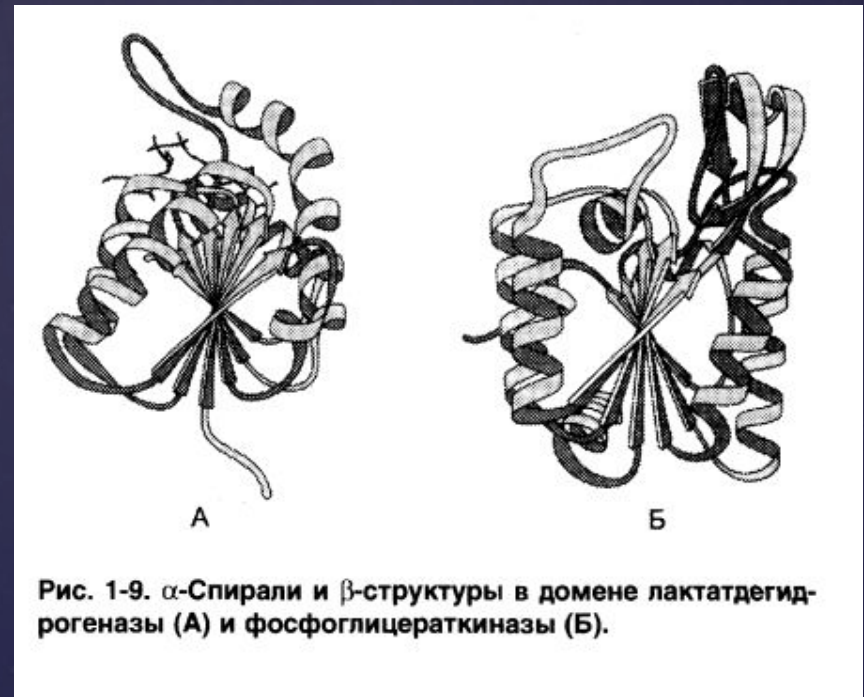
▣ **β -структура** (по Березову Т.Т.) – складчатый тип, водородные связи формируют гофрированную структуру из полипептидной цепи. На схемах изображается в виде стрелки от N к C – концу.



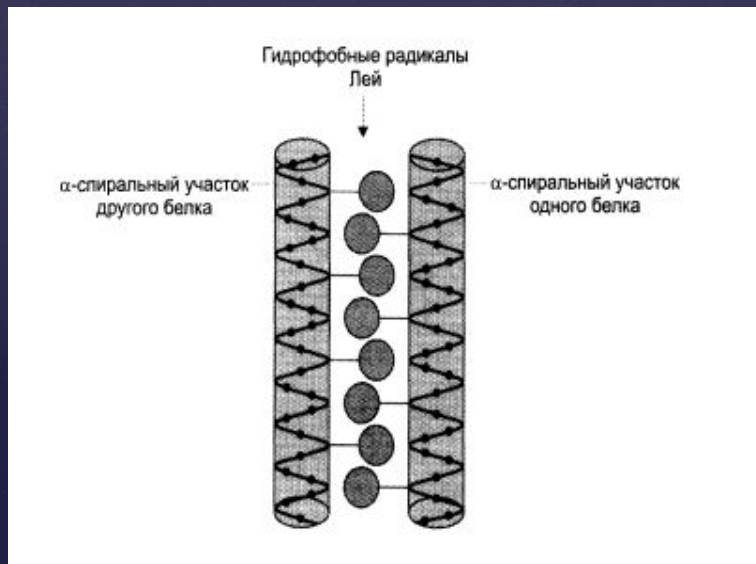
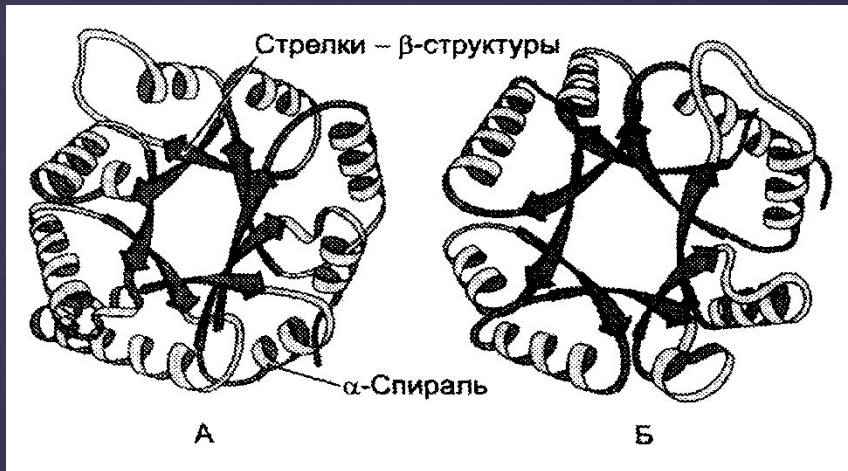
В белках отмечают области с нерегулярной структурой белка, которые часто называют «беспорядочные клубки»

Содержание разных типов вторичных структур

- 1. Содержат только α -спирали (Hb и миоглобин)
- 2. Содержат α -спирали и β -структуры. (лактатдегидрогеназа)
- 3. Содержат только β -структуры.
- 4. Мало регулярных вторичных структур.

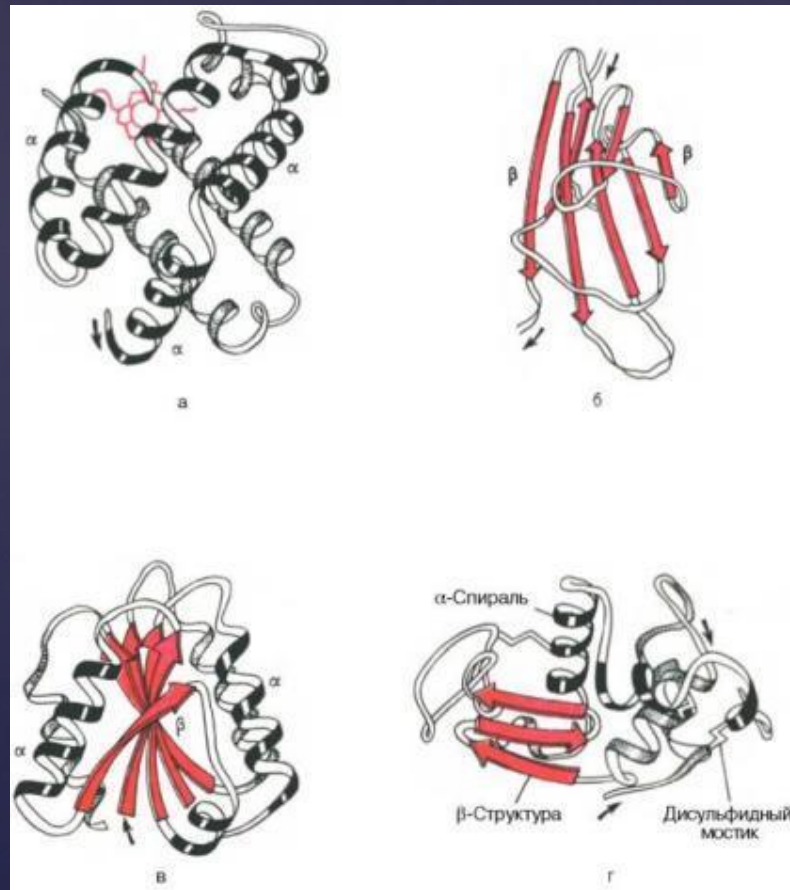


Супервторичные структуры.



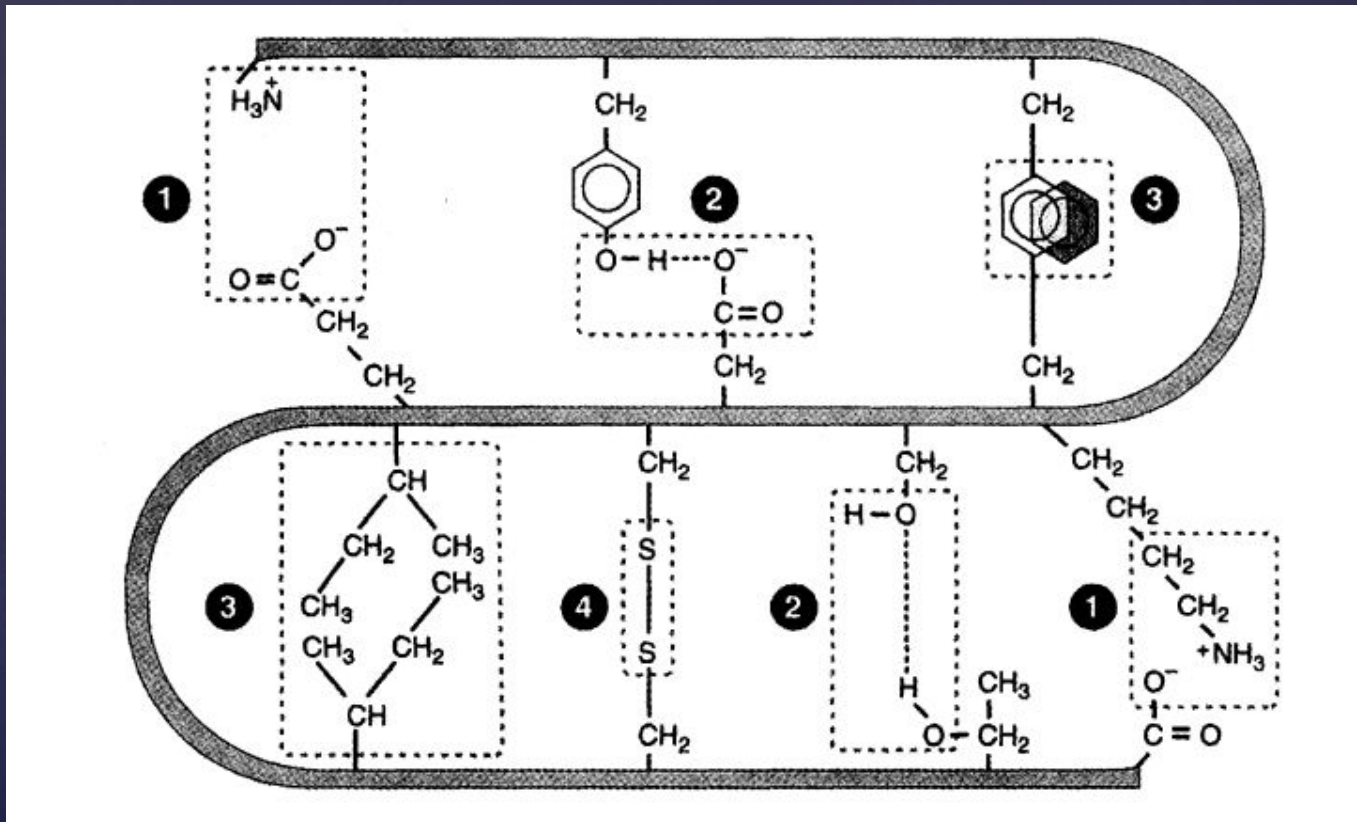
- ▣ Специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой белка.
- ▣ Различают:
- ▣ тип α/β – бочонка, «цинковый палец», лейциновая застежка и др.

Под третичной структурой белка подразумевают пространственную ориентацию полипептидной спирали или способ укладки полипептидной цепи в **определенном объеме**. Присуща всем глобулярным белкам.



Типы нековалентных связей, стабилизирующих третичную структуру белка.

1 – ионные связи; 2 - водородная связь; 3 - гидрофобные взаимодействия неполярных групп;
4 - дисульфидная (ковалентная) связь.



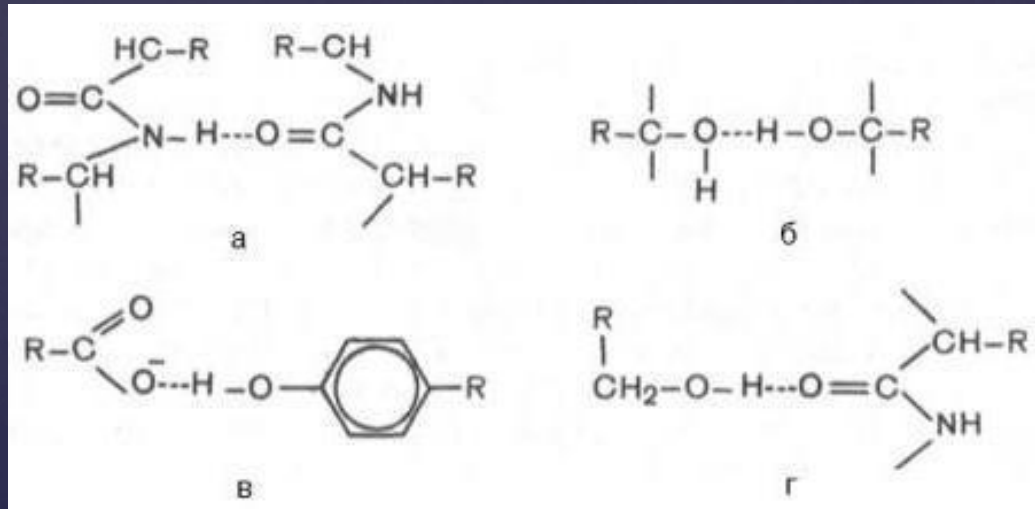
несущим частичный положительный заряд, и отрицательно заряженным атомом образуются между атомом водорода, несущим частичный положительный заряд, и отрицательно заряженным атомом кислорода в белковой молекуле. Ниже представлены примеры водородных связей, которые могут еще образовываться в белковой молекуле:

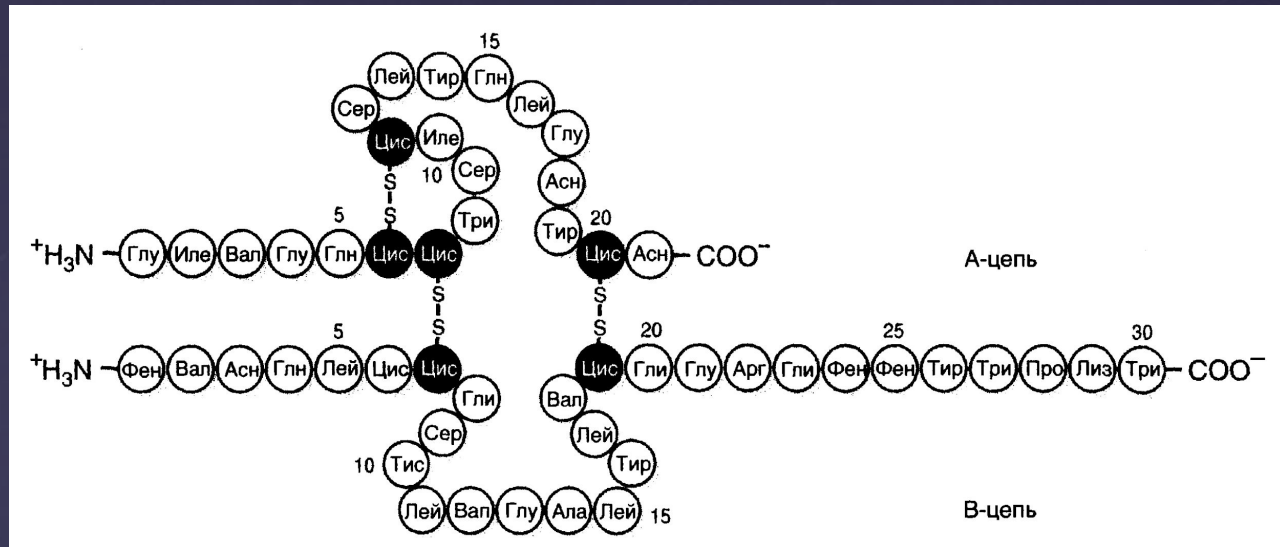
а) между пептидными цепями;

б) между двумя гидроксильными группами;

в) между ионизированной COO^- -группой и OH -группой тирозина;

г) между OH -группой серина г) между OH -группой серина и пептидной связью.

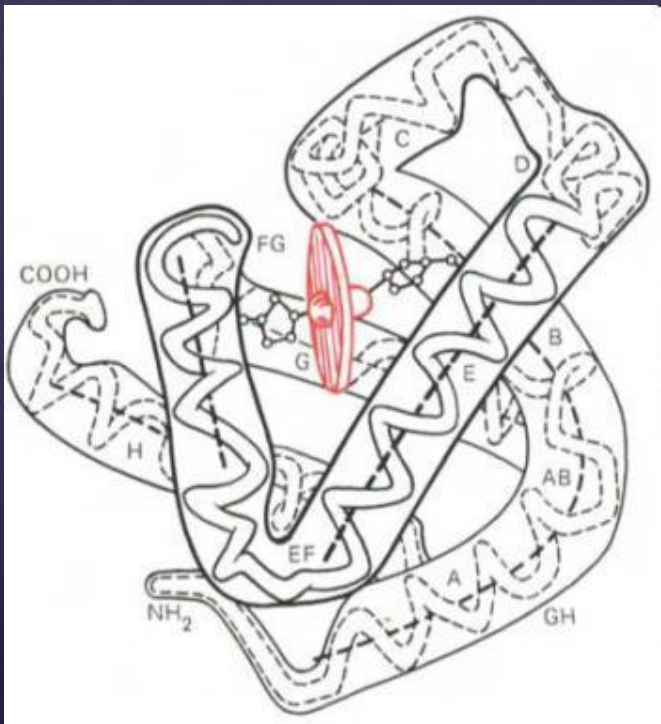




Дисульфидные связи в структуре инсулина человека

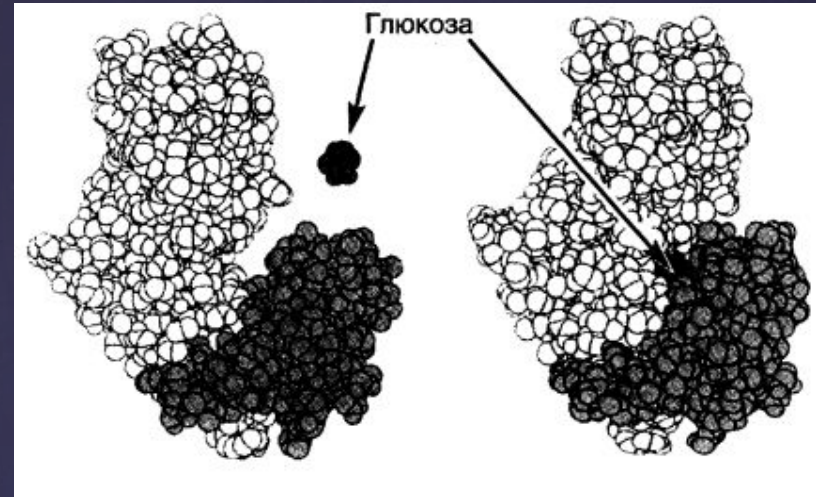
перенос кислорода Это сравнительно небольшой белок с мол. м. 16700, содержащий 153 аминокислотных остатка (полностью выяснена первичная структура), представленный одной полипептидной цепью. Основная функция миоглобина – перенос кислорода в мышцах. Полипептидная цепь мио-глобина представлена в виде изогнутой трубки, компактно уложенной вокруг гема Это сравнительно небольшой белок с мол. м. 16700, содержащий 153 аминокислотных остатка (полностью выяснена первичная структура), представленный одной полипептидной цепью. Основная функция миоглобина – перенос кислорода в мышцах. Полипептидная цепь миоглобина представлена в виде изогнутой трубки, компактно уложенной вокруг гема

(небелковый компонент, содержащий железо)



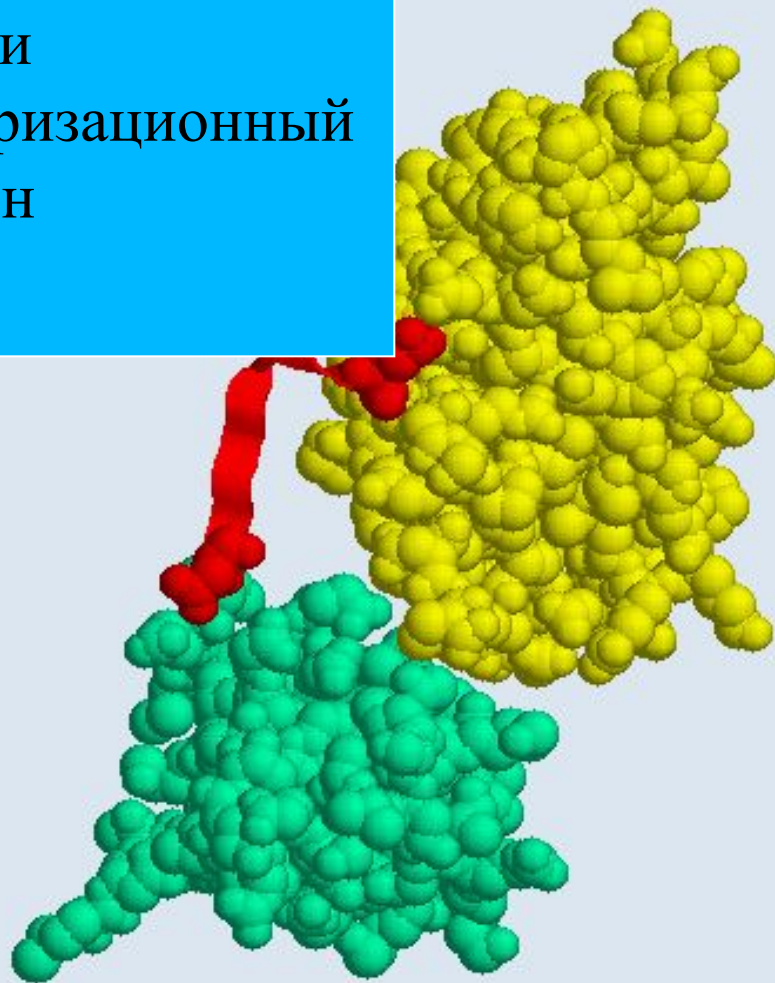
Модель третичной структуры молекулы Модель третичной структуры молекулы миоглобина Модель третичной структуры молекулы миоглобина (по Дж. Кендрию). Латинскими буквами обозначены структурные домены Модель третичной структуры молекулы миоглобина (по Дж. Кендрию). Латинскими буквами обозначены

- **Домен** – это компактная глобулярная структурная единица внутри полипептидной цепи.
- **Домены** Домены могут выполнять разные функции и подвергаться складыванию (свертыванию) в независимые компактные глобулярные структурные единицы, соединенные между собой гибкими участками внутри белковой молекулы.
- Открыто много белков Открыто много белков (например, иммуноглобулины), состоящих из разных по структуре и функциям доменов Открыто много белков (например, иммуноглобулины), состоящих из разных по структуре и функциям доменов, кодируемых разными генами.
- Домены определяются на генетическом уровне – экзонами.



Если полипептидная цепь содержит более 200 аминокислот, то ее пространственная структура формируется в виде доменов.

Пептидаза, а за
одно и
димеризационный
домен



Двудоменный
транскрипционный
фактор –
репрессор из
бактериофага P22
(PDB код 1QAR):
два очевидных
домена связаны
гибким линкером

ДНК-связывающий домен

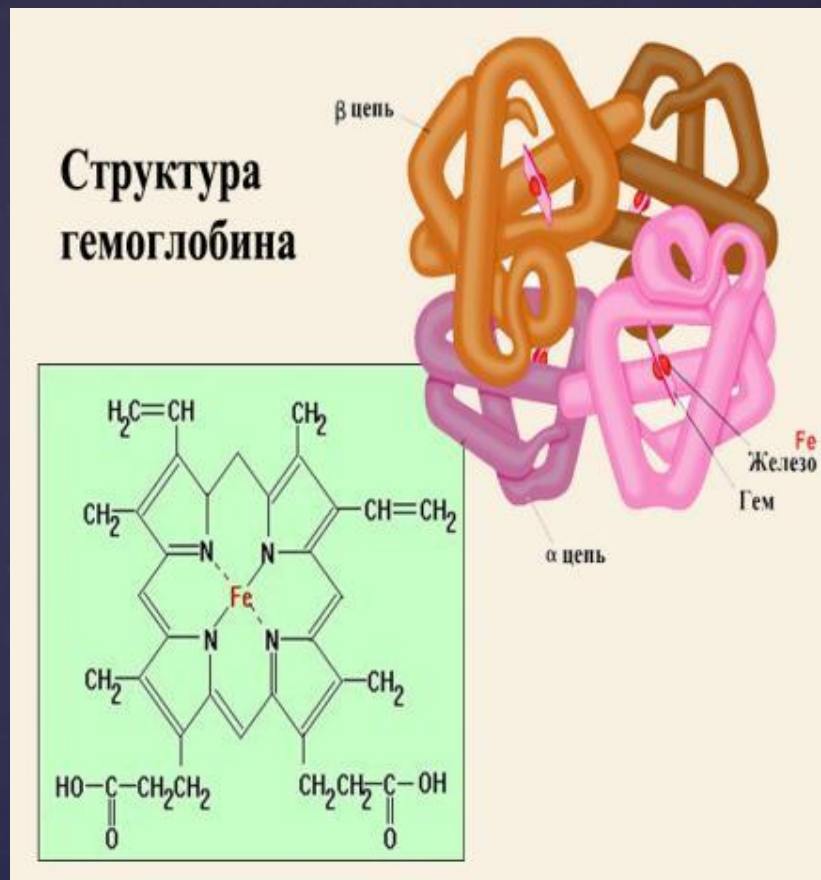
Под четвертичной структурой подразумевают способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или разной) первичной, вторичной или третичной структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношении макромолекулярного образования.

- Каждая отдельно взятая полипептидная цепь, получившая название **протомера, мономера или субъединицы**, чаще всего не обладает биологической активностью.
- Эту способность белок приобретает при определенном способе пространственного объединения входящих в его состав протомеров, т.е. возникает новое качество, не свойственное мономерному белку.
Образовавшуюся молекулу принято называть олигомером.



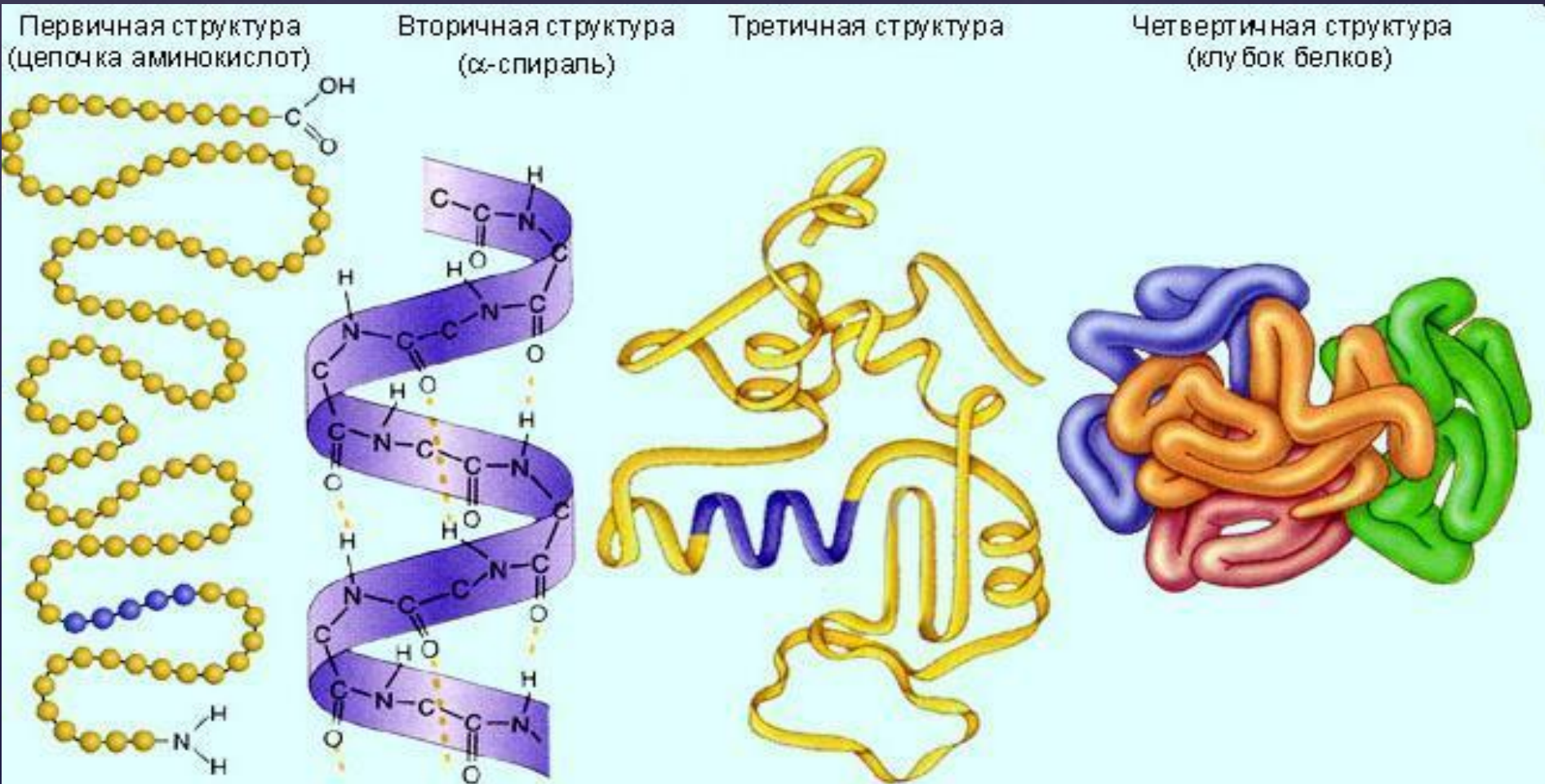
Олигомерные белки

- Олигомерные белки чаще построены из четного числа протомеров (от 2 до 4, реже от 6 до 8) с одинаковыми или разными молекулярными массами – от нескольких тысяч до сотен тысяч.
- В частности, молекула гемоглобина состоит из двух одинаковых α - и двух β -полипептидных цепей, т.е. представляет собой тетрамер.



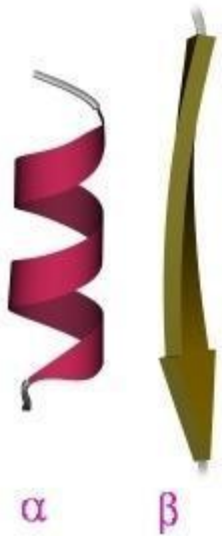
Уровни организации белковой молекулы.

Линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи называют **первичной структурой белка**.

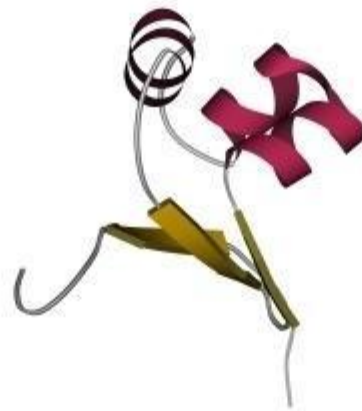


Уровни организации белковой структуры: первичная структура (аминокислотная последовательность), вторичная структура (α-спираль и один тяж β-структуры), третичная структура глобулы, сложенной одной цепью, и четвертичная структура олигомерного (в данном случае - димерного) белка.

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



Вторичная



Третичная



Четвертичная

Шапероны.

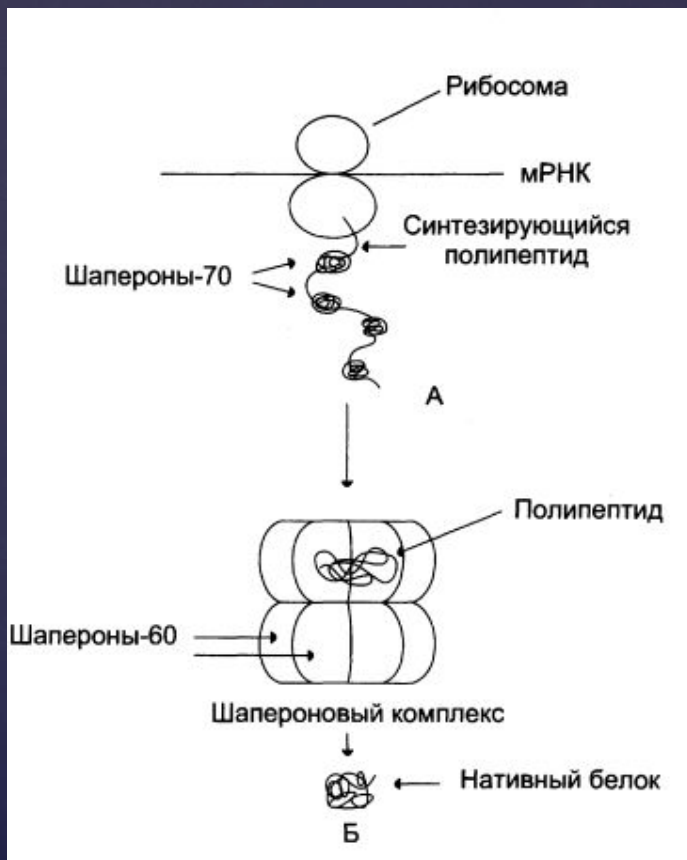
1. Классификации шаперонов (III)

В соответствии с молекулярной массой все шапероны можно разделить на 6 основных групп:

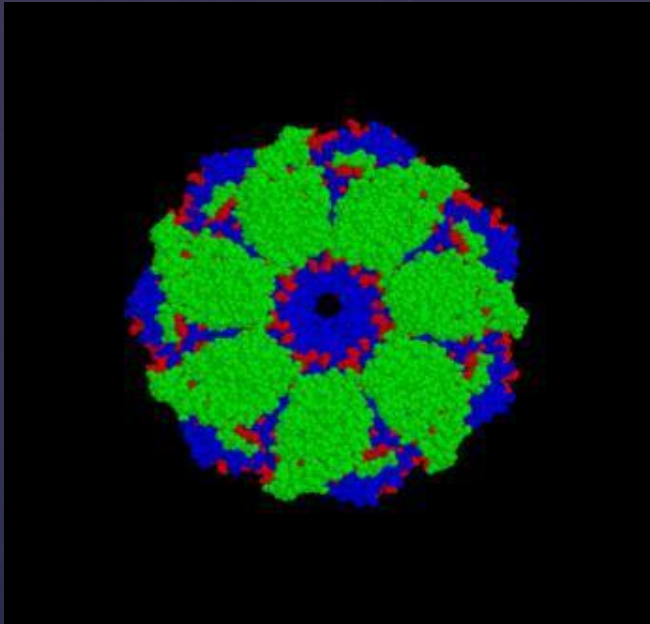
- высокомолекулярные, с молекулярной массой от 100 до 110 кД;
- Ш-90 — с молекулярной массой от 83 до 90 кД;
- Ш-70 — с молекулярной массой от 66 до 78 кД;
- Ш-60;
- Ш-40;
- низкомолекулярные шапероны с молекулярной массой от 15 до 30 кД.

Участие шаперонов в фолдинге белка.

Предполагается, что основными функциями шаперонов являются способность предотвращать образование из полипептидной цепи неспецифических (хаотичных) беспорядочных клубков, или агрегатов белков. Предполагается, что основными функциями шаперонов являются способность предотвращать образование из полипептидной цепи неспецифических (хаотичных) беспорядочных клубков, или агрегатов белков, и обеспечение доставки (транспорта) их к субклеточным мишеням,



Изображение модели комплекса бактериальных шаперонов GroES и GroEL (вид сверху). Агрегированный белок поступает в центральную полость комплекса, где в результате гидролиза АТФ происходит изменение его структуры.



- ▣ Шапероны удерживают белки в развернутом состоянии.
- ▣ Взаимодействие шаперонов с синтезируемым белком начинается еще до схождения полипептидной цепи с рибосомы
- ▣ Связываясь с отдельными участками «опекаемой» ими полипептидной цепи, молекулы hsp70 образуют прочные комплексы, удерживающие цепь в развернутом состоянии.
- ▣ Главная функция hsp70 состоит в удержании вновь синтезируемых белков от неспецифической агрегации и в их передаче другому «белку-помощнику», шаперонину, роль которого - обеспечить оптимальные условия для эффективного сворачивания

Посттрансляционная модификация белков

Вновь синтезированный белок или полипептид не всегда функционально активны и требуют дополнительных преобразований, включающих:

- Фолдинг молекул.
- Образование дисульфидных мостиков между остатками цистеина.
- Частичный протеолиз.
- Присоединение простетической группы.
Сборка протомеров в олигомерный белок.
- Модификацию аминокислотных остатков: фосфорилирование, гидроксिलирование и другие реакции.

Деградация белков - Убиквитиновый сигнальный путь

Белок выполняет закреплённую за ним функцию, а затем, в определённый момент, клетке необходимо от него избавиться.

Последнее обусловлено рядом причин:

во - первых, дальнейшая активность белка может навредить клетке, во - вторых, нужно синтезировать новые белки, а перегрузка цитоплазмы полипептидами является источником апоптоза.

Внутриклеточную деградацию белков долгое время считали неспецифическим случайным процессом.

Настоящим прорывом в данной области послужило открытие **убиквитинового сигнального пути**. В рамках этого пути деградация белка, которая осуществляется крупным белковым комплексом - **протеосомой**, предшествует присоединение к нему "цепочки" молекул небольшого пептида **убиквитина**.

определенный момент и является сигналом, свидетельствующим о том, что данный белок подлежит деградации.

Аминокислота, по остатку которой убиквитин связывается с белками – лизин.

Теперь ясно, что процесс внутриклеточного протеолиза жестко регулируется и чрезвычайно важен для множества базальных клеточных функций.

Среди субстратов специфического протеолиза : регуляторы клеточного цикла Среди субстратов специфического протеолиза : регуляторы клеточного цикла, компоненты различных сигнальных путей, а также мутантные Среди субстратов специфического протеолиза : регуляторы клеточного цикла, компоненты различных сигнальных путей, а также мутантные белки и белки, поврежденные посттрансляционно.