

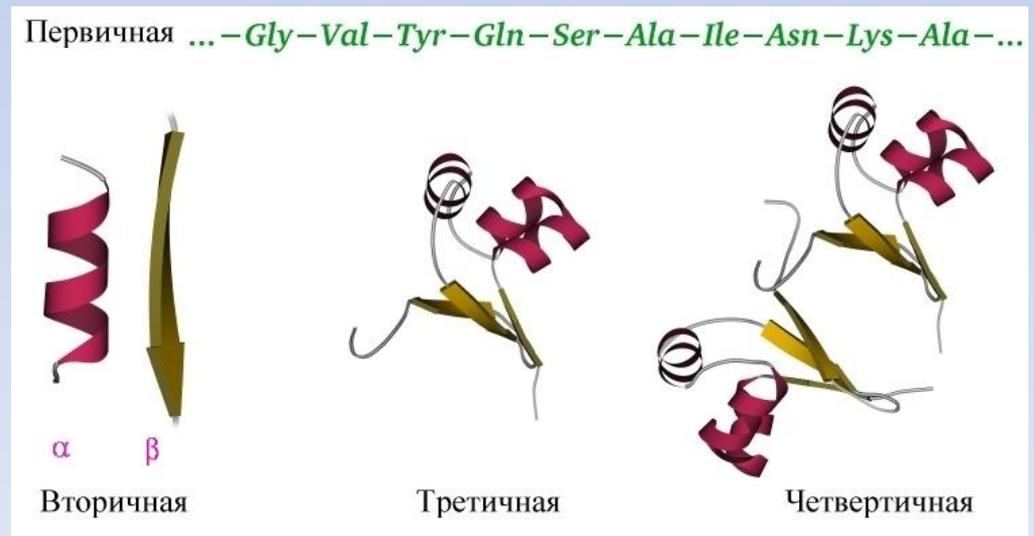
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА:

□ ДОМЕНЫ

□ ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА

□ ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА

САМООРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ



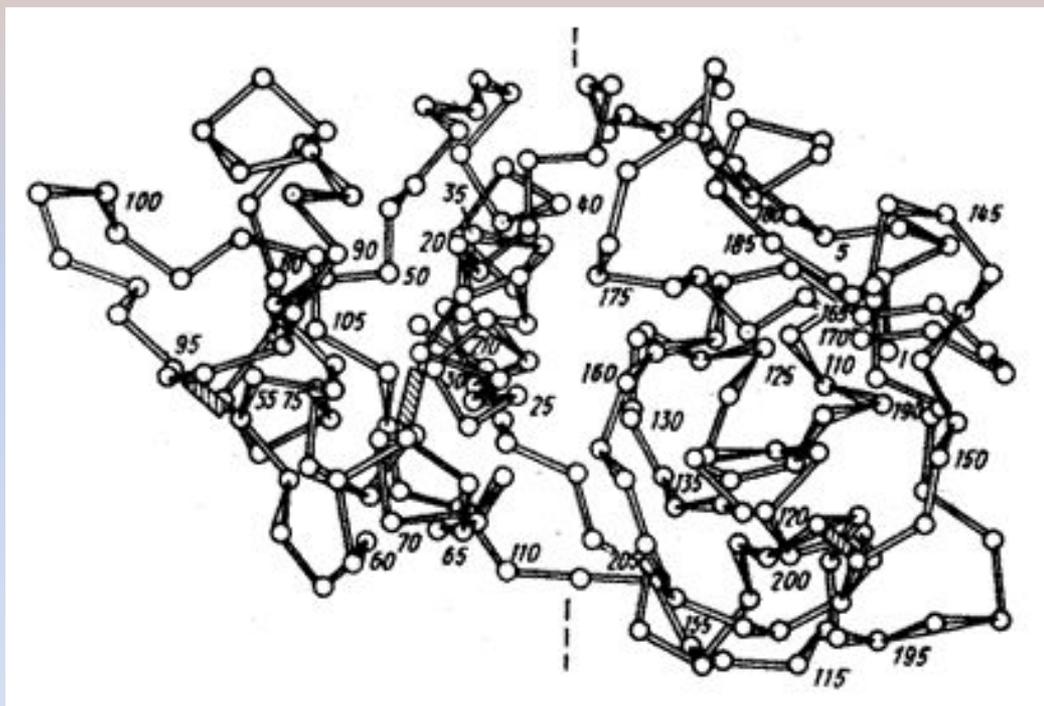
ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

ДОМЕНЫ – ОБЛАСТИ В ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЕ БЕЛКА С ОПРЕДЕЛЕННОЙ СТРУКТУРНОЙ АВТОНОМИЕЙ.



ДОМЕНЫ – ПОДУРОВЕНЬ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКА НА ПУТИ ОТ ВТОРИЧНОЙ К ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЕ.

ВПЕРВЫЕ **ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА** ПОКАЗАНА НА ПРИМЕРЕ ЛИЗОЦИМА, ИММУНОГЛОБУЛИНОВ, ХИМОТРИПСИНА, ПАПАИНА И ДР.

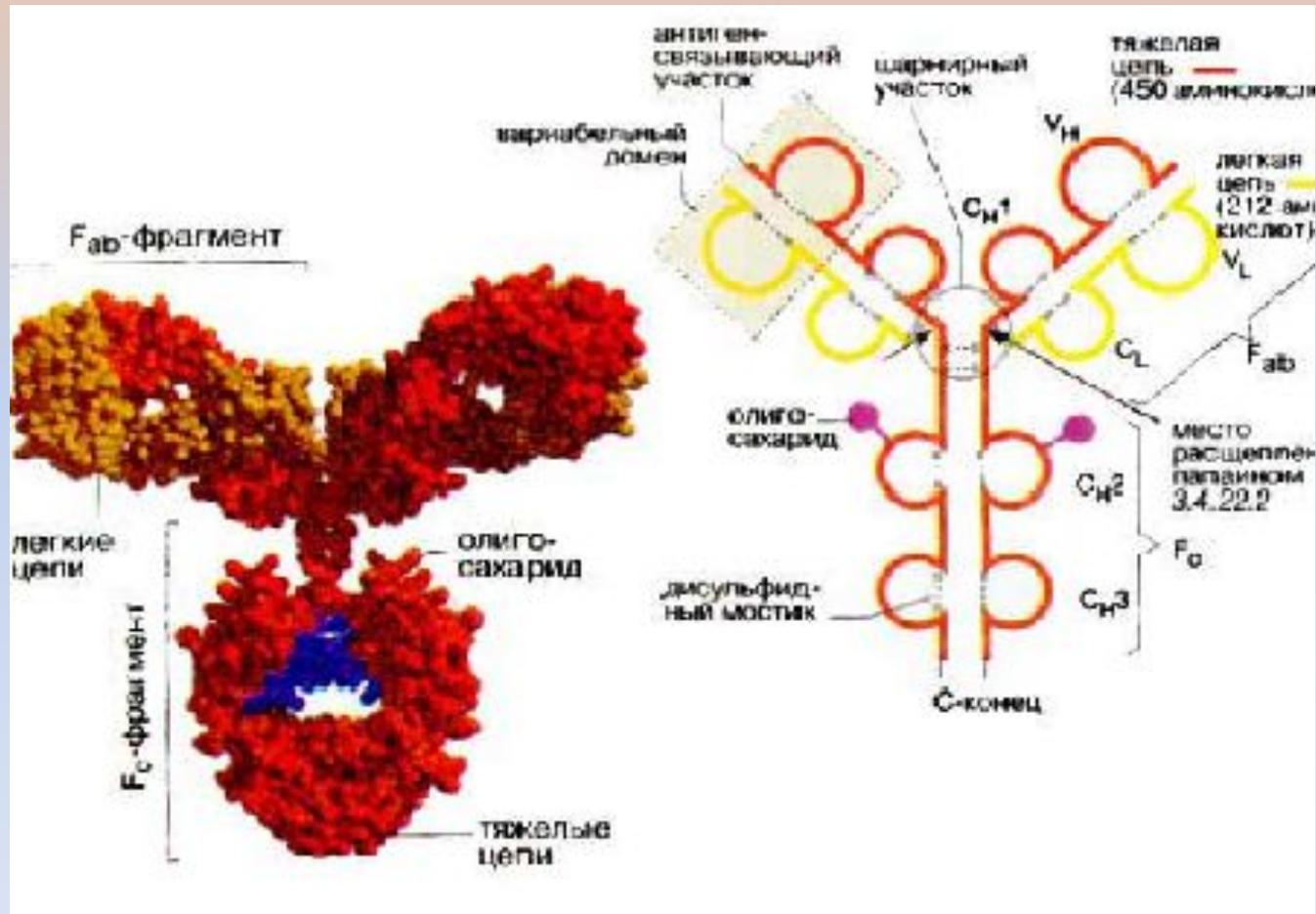


Домены в структуре протеолитического фермента папайи -

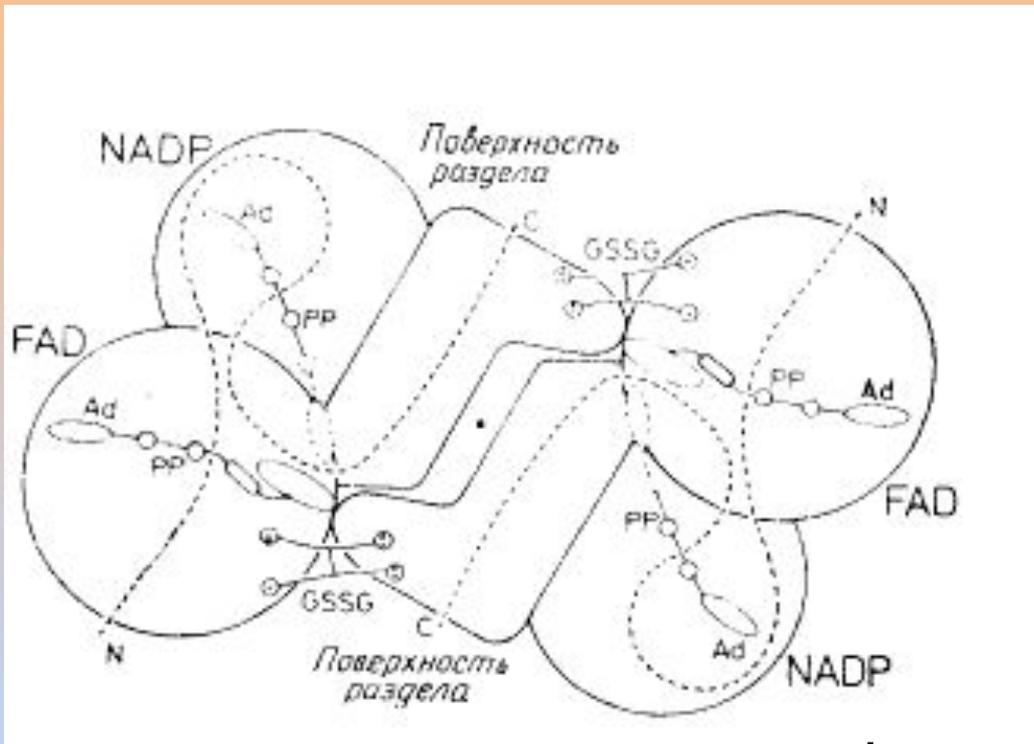
папайна.

Прерывистыми линиями намечено направление впадины между двумя доменами, в которой связывается субстрат и размещен каталитический центр. Дисульфидные связи заштрихованы

СТРУКТУРНАЯ АВТОНОМИЯ ДОПОЛНЯЕТСЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ



ДОМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА



Доменная организация димерного фрагмента глутатионредуктазы.

Каждая субъединица состоит из **трех доменов**: один присоединяет FAD, другой - NADP, третий образует поверхность раздела.

Субстрат глутатион помещается между субъединицами. Активный центр образован 4 доменами.



Третичная структура одного из доменов протромбина. При активации этот домен (остатки 66-144) - обеспечивает связывание протромбина с фосфолипидом. Зачернены дисульфидные связи.

РАЗЛИЧАЮТ ДВА **ВИДА ДОМЕНОВ** (Д.УЕТЛАУФЕР)

- С НЕПРЕРЫВНОЙ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПЬЮ
- С РАЗРЫВНОЙ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПЬЮ

ОБЛАСТЬ, ОБЪЕДИНЯЮЩАЯ ДОМЕНЫ – **ЯДРО
(НУКЛЕАЦИЯ)**

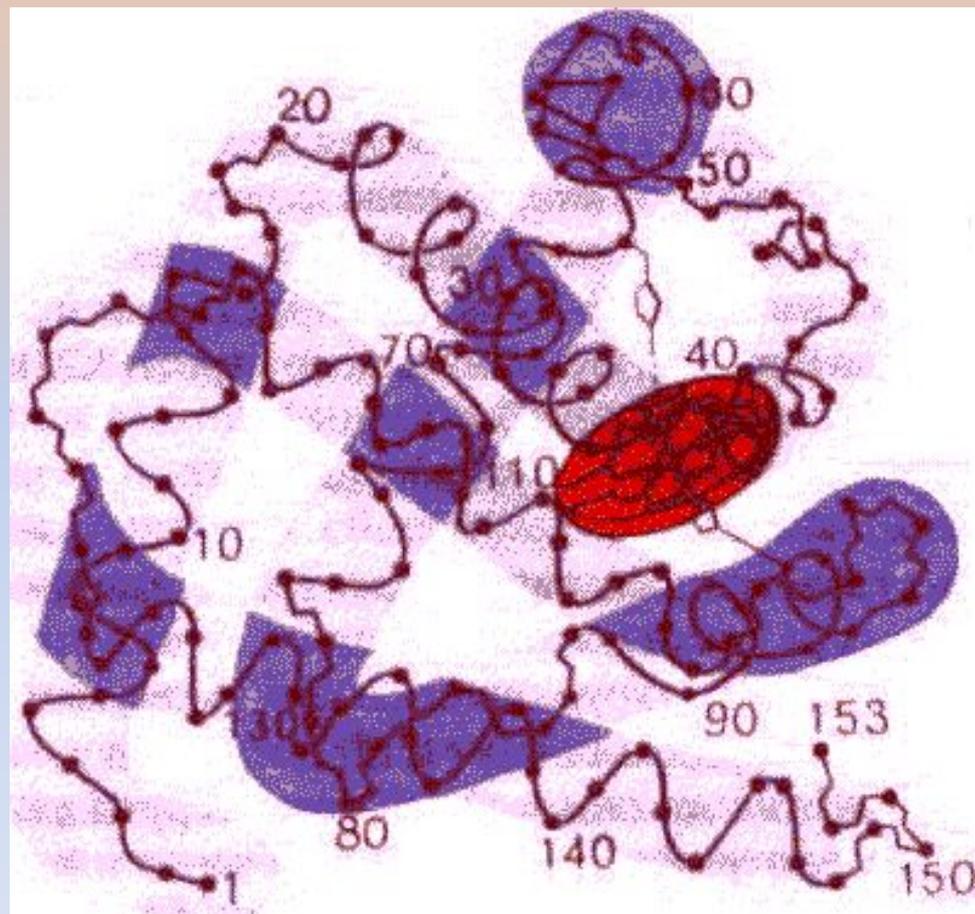
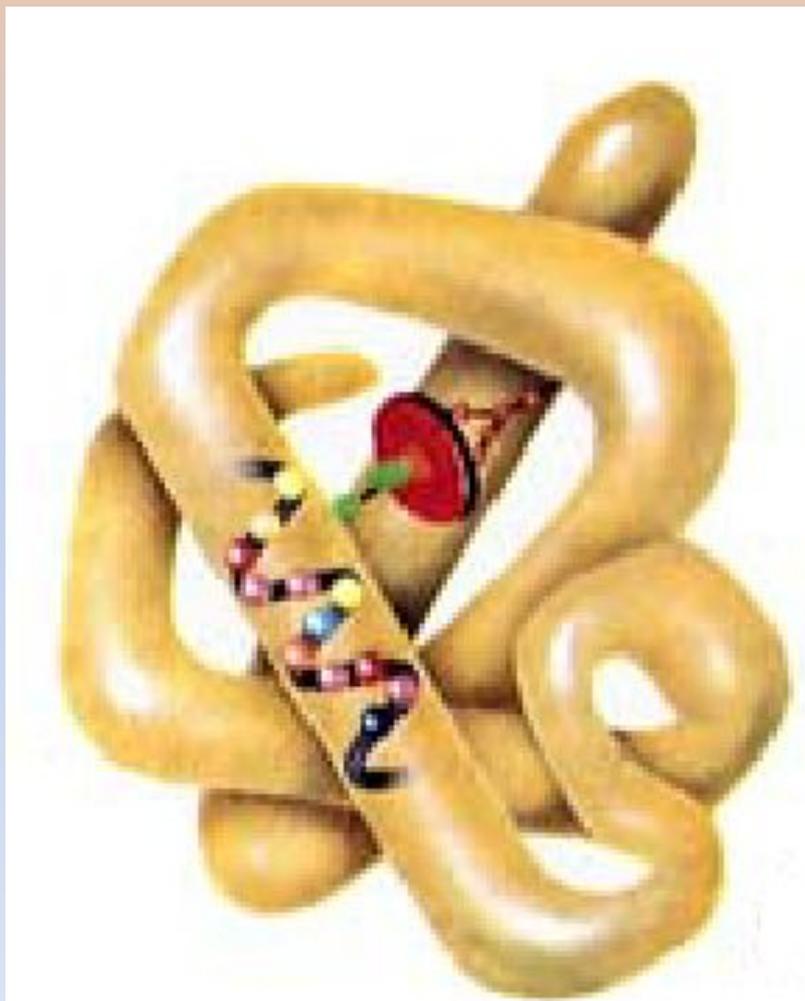
ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА И СИЛЫ, ЕЁ СТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ

Третичная структура белка

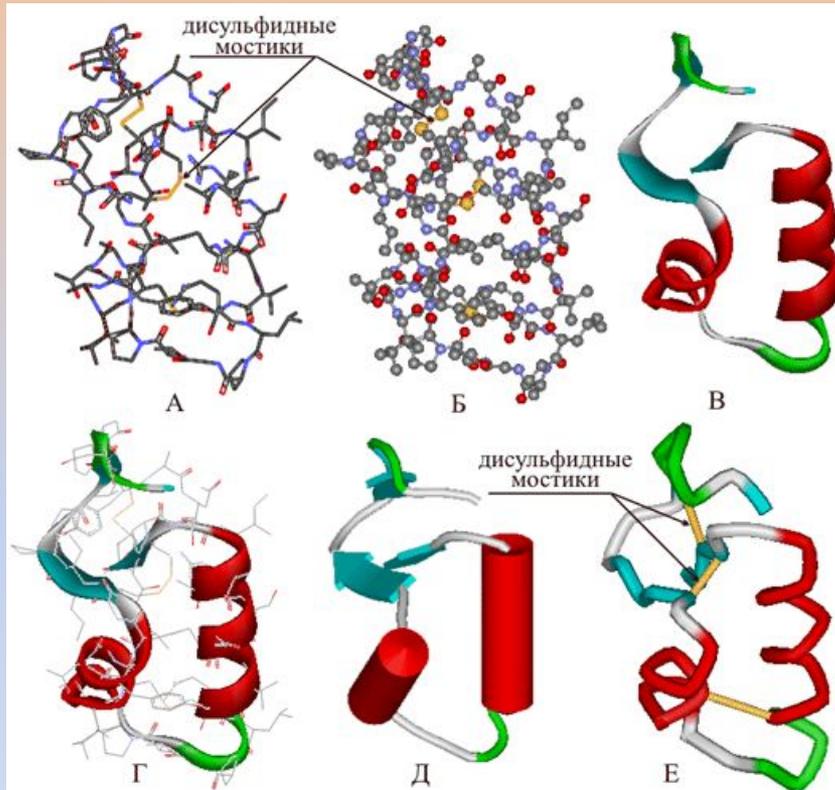
- пространственная ориентация полипептидной спирали или способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме.



ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА



РАЗЛИЧНЫЕ ВАРИАНТЫ ИЗОБРАЖЕНИЯ СТРУКТУРЫ БЕЛКА КРАМБИНА.



А – структурная формула в пространственном изображении.

Б – структура в виде объемной модели.

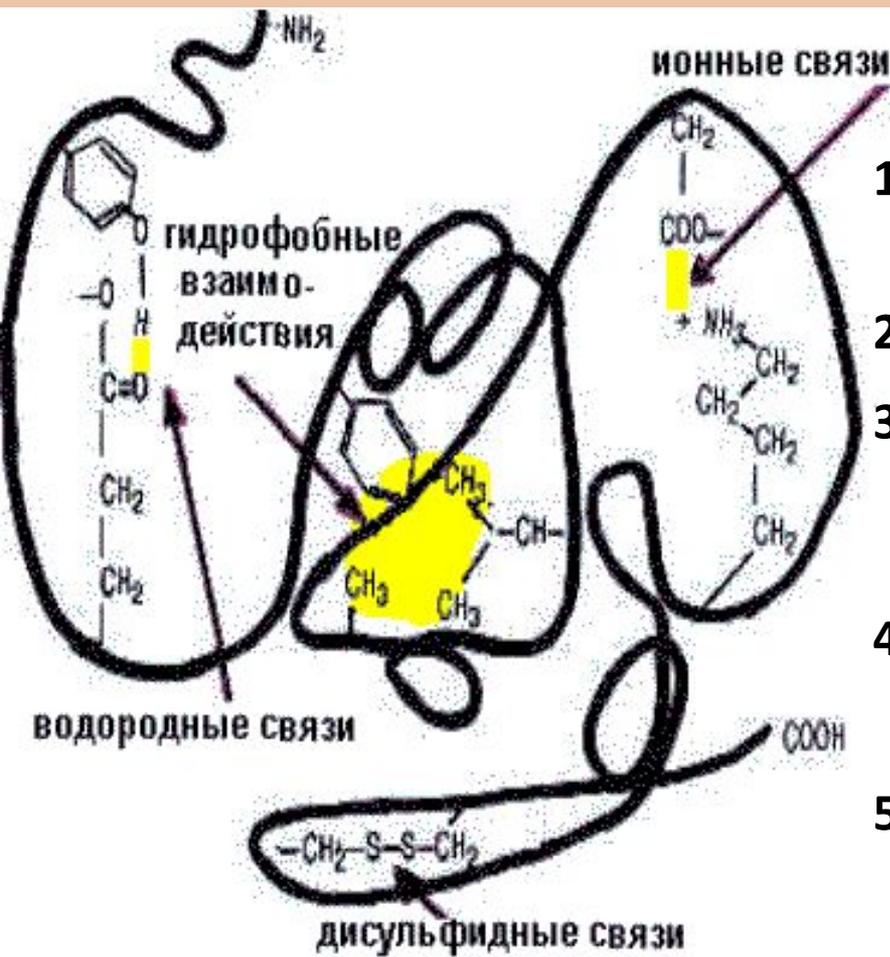
В – третичная структура молекулы.

Г – сочетание вариантов А и В.

Д – упрощенное изображение третичной структуры.

Е – третичная структура с дисульфидными мостиками.

СИЛЫ, СТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ ТРЕТИЧНУЮ СТРУКТУРУ



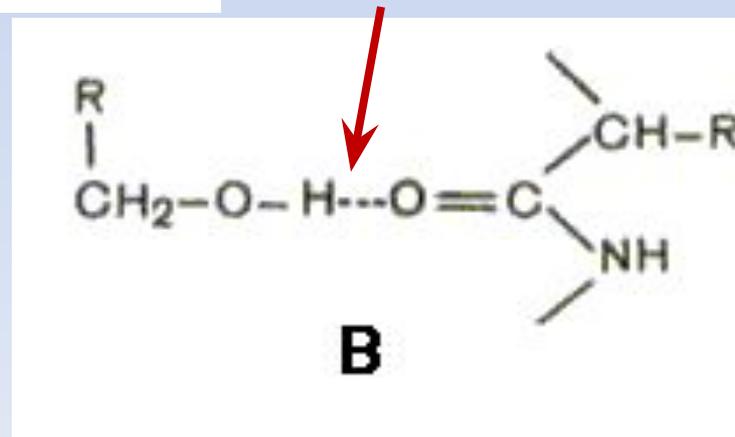
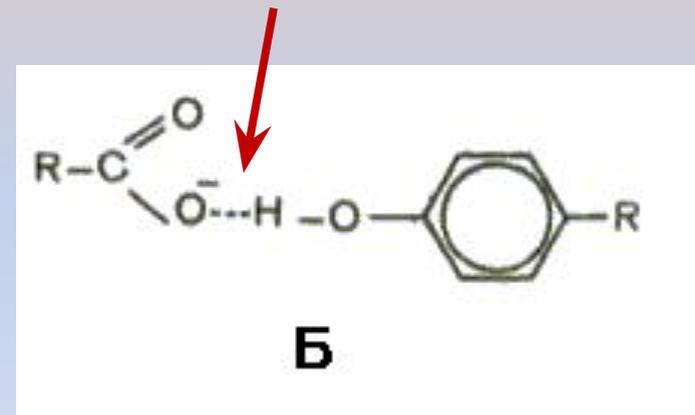
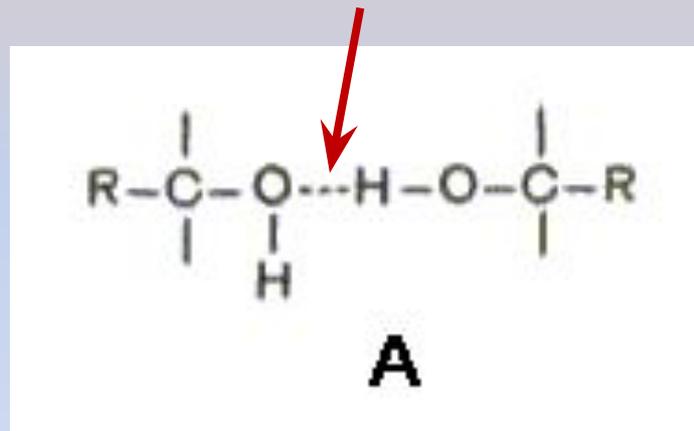
1. электростатические силы притяжения (ионные связи);
2. водородные связи;
3. гидрофобные взаимодействия между неполярными (гидрофобными) R-группами;
4. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия ;
5. дисульфидные связи между радикалами двух молекул цистеина. В ряде белков они могут вообще отсутствовать.

ВОДОРОДНЫЕ СВЯЗИ в белковой молекуле:

А - между двумя гидроксильными группами;

Б - между ионизированной COOH-группой и OH-группой тирозина;

В - между OH-группой серина и пептидной связью.



СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ ГИББСА

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

ДЛЯ САМОПРОИЗВОЛЬНО ПРОТЕКАЮЩИХ ПРОЦЕССОВ

$$\Delta G < 0.$$

ВЫГОДНО **УМЕНЬШЕНИЕ ЭНТАЛЬПИИ** или **УВЕЛИЧЕНИЕ ЭНТРОПИИ**.

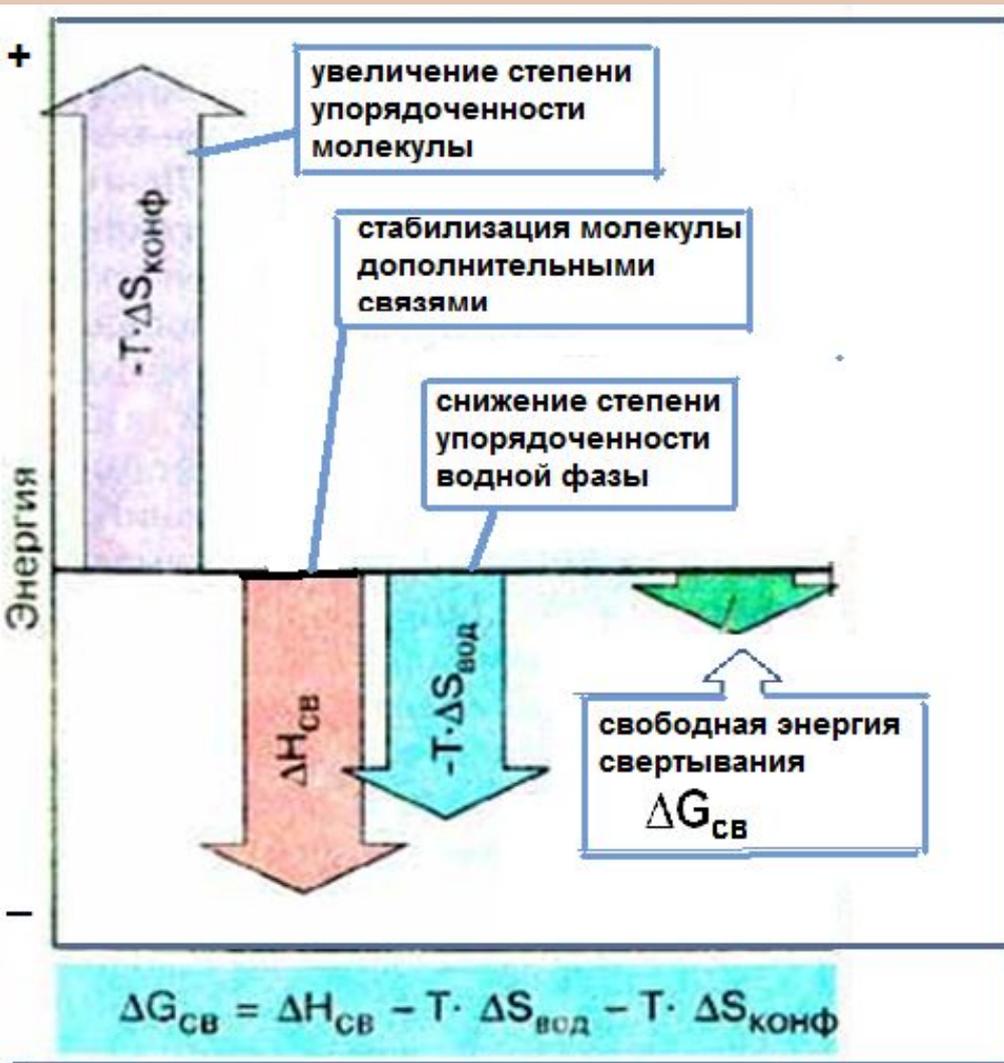
ОБРАЗОВАНИЕ СВЯЗЕЙ \rightarrow ЭНТАЛЬПИЯ СНИЖАЕТСЯ

РАЗРЫВ СВЯЗЕЙ \rightarrow ЭНТАЛЬПИЯ ПОВЫШАЕТСЯ.

При свертывании белковой глобулы **выигрыша в числе водородных связей не происходит**, т.к. одновременно утрачиваются водородные связи «полипептидная цепь – вода».

При свертывании глобулы **убывает энтропия пептидной цепи**, но одновременно происходит **возрастание энтропии растворителя - воды**, что играет решающую роль в стабилизации третичной структуры белка.

ТЕРМОДИНАМИКА ОБРАЗОВАНИЯ ГЛОБУЛЫ



энергетика образования глобулы

СВОБОДНАЯ
ЭНЕРГИЯ ГИББСА
 $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$

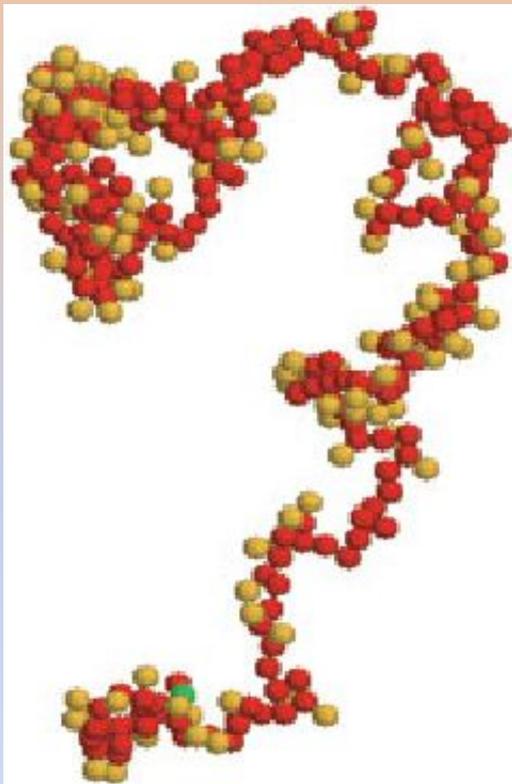
для САМОПРОИЗВОЛЬНЫХ
ПРОЦЕССОВ $\Delta G < 0$

СТЕПЕНЬ ГИДРОФОБНОСТИ АМИНОКИСЛОТЫ ОПРЕДЕЛЯЮТ ПО РАЗНОСТИ СВОБОДНЫХ ЭНЕРГИЙ ЕЕ РАСТВОРЕНИЯ В СЛАБОПОЛЯРНОМ РАСТВОРИТЕЛЕ И ВОДЕ

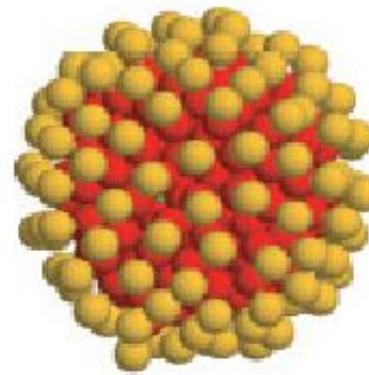
ГИДРОФОБНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ: ТРИ, ИЛЕ, ТИР, ФЕН, ПРО, ЛЕЙ, ВАЛ, ЛИЗ, ГИС

ГИДРОФИЛЬНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ: АЛА, АРГ, ЦИС, ГЛУ, АСП, ТРЕ, СЕР, ГЛИ, АСН, ГЛН

ГИПОТЕЗА ОБ ОПРЕДЕЛЯЮЩЕЙ РОЛИ ГИДРОФОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ДОКАЗАНА В 1944.



клубок



глобула

- гидрофобные звенья
- гидрофильные звенья

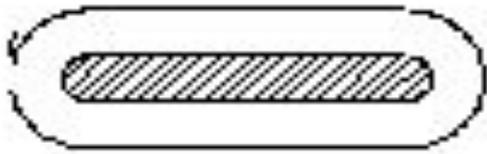
В 1964 году **Фишер** установил, что, зная общее число аминокислотных остатков в ядре и отношение полярных остатков к неполярным, можно предсказать форму глобулы.

Отношение числа полярных остатков к неполярным – b_s .

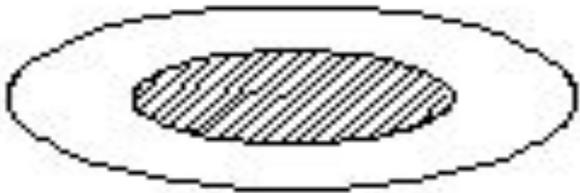
Радиус глобулы – r_0

Толщина полярных остатков, покрывающих глобулу, – d

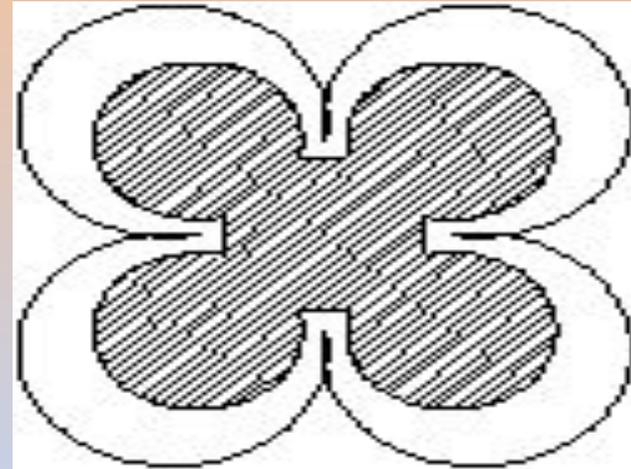
$$b_s = \frac{V_{\text{полярн}}}{V_{\text{неполярн}}} = \frac{3 \cdot S \cdot d}{S \cdot r} = \frac{3d}{r_0 - d}$$



$$b \gg b_s$$



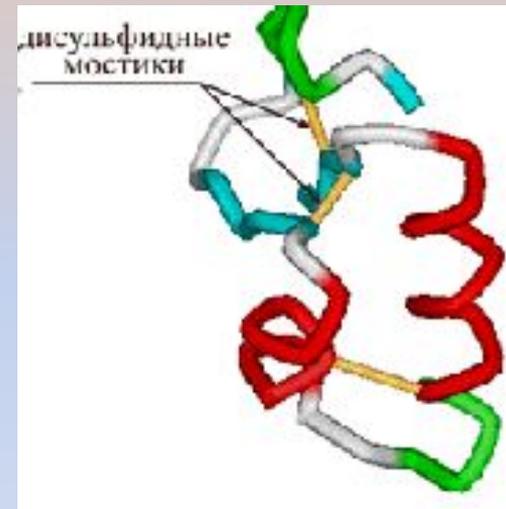
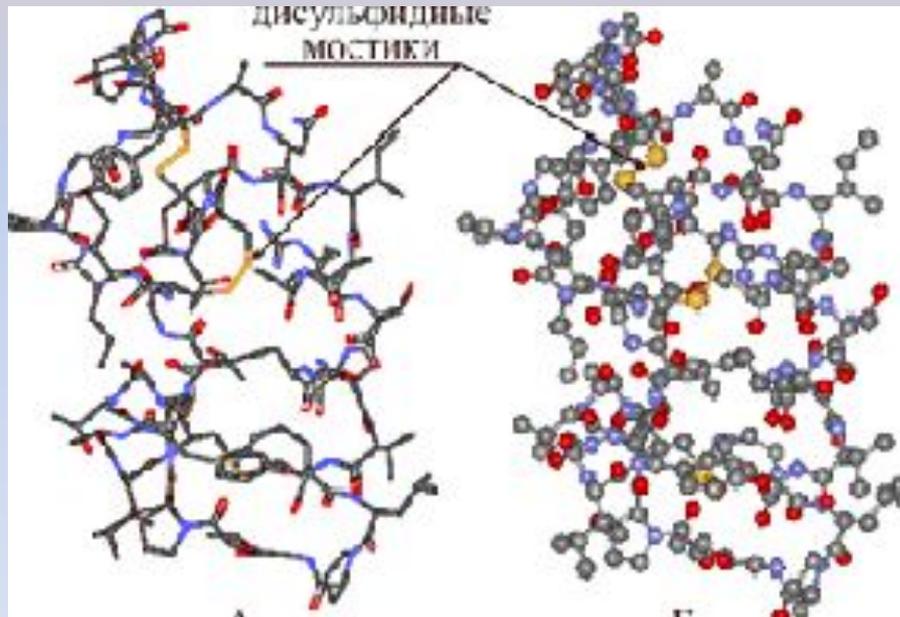
$$b > b_s$$



$$b < b_s$$

**Заштриховано гидрофобное
ядро,
прозрачная гидрофильная**

ДИСУЛЬФИДНЫЕ СВЯЗИ



ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ДВИЖЕНИЙ В БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЕ

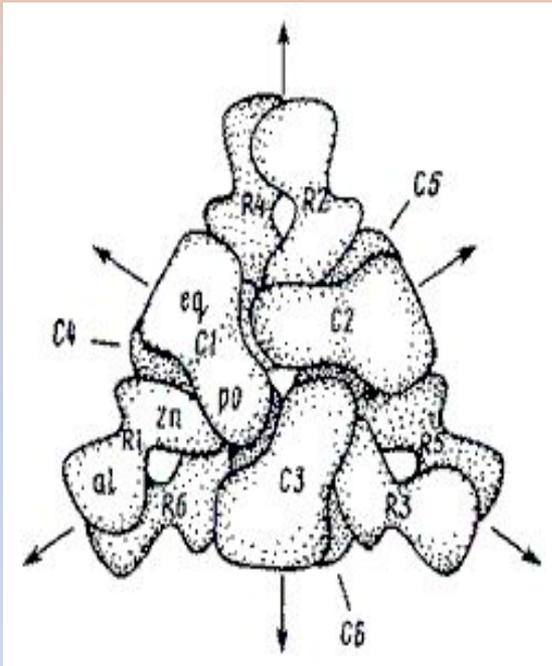
Основные типы движений в белковой молекуле

Тип движения	Амплитуда, Å	Время, с
Атомные флуктуации (несогласованные перемещения отдельных атомов, например, повороты на 20 - 60° вокруг простых связей пептидного скелета и боковых групп)	0,01 - 1	10^{-15} - 10^{-11}
Коллективные перемещения групп атомов (согласованные) (от нескольких до сотен)	0,01 - 5	10^{-12} - 10^{-3}
Индукцированные внешними факторами изменения конформации	0,5 - 10	10^{-9} - 10^3

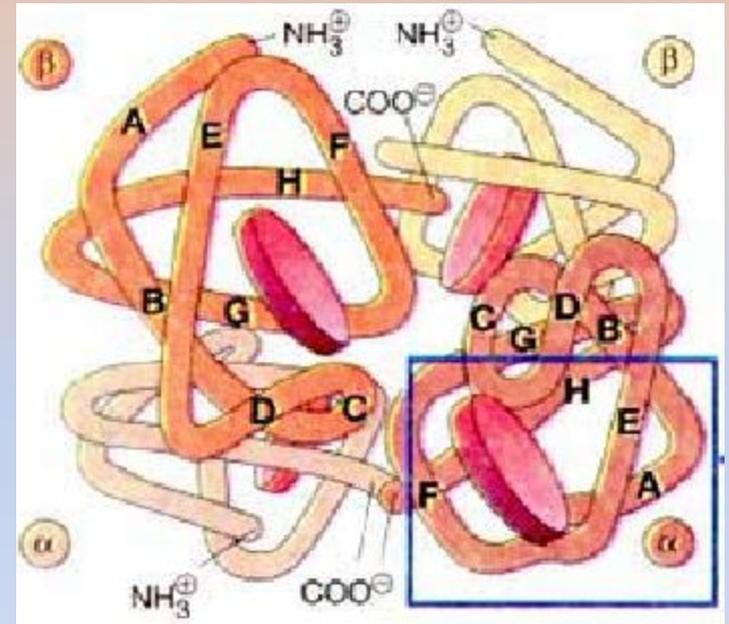
ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

Гидрофильные остатки не полностью покрывают гидрофобное ядро, что приводит к образованию надмолекулярных структур.

ПРИМЕРЫ БЕЛКОВ С ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СТРУКТУРОЙ



АСПАРТАТКАРБАМИЛТРАНСФЕРАЗА
E. COLI



ГЕМОГЛОБИН

РОЛЬ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ

1. АРХИТЕКТУРНАЯ ФУНКЦИЯ
2. ОБЕСПЕЧЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БЕЛКА С ПРОТЯЖЕННЫМИ СТРУКТУРАМИ
3. РЕГУЛЯТОРНАЯ ФУНКЦИЯ
4. ОБЪЕДИНЕНИЕ НЕСКОЛЬКИХ ВЗАИМОСВЯЗАННЫХ ФУНКЦИЙ В ЕДИНОЙ СТРУКТУРЕ

САМООРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКА

Аминокислотная последовательность сама (при подходящей температуре и pH среды) определяет пространственную структуру белка — т.е. белок способен к *самоорганизации*.

Несмотря на громадное число теоретически возможных для отдельной аминокислотной последовательности пространственных структур, сворачивание каждого белка приводит к образованию

**единственной нативной
конформации.**

Каждый ато имеет около 10 возможных конформаций.

Цепь из 100 ато – порядка **10^{100}** возможных конформаций.

Переход из одной конформации в другую – 10^{-13} с.

Тогда время перебора конформаций – **10^{80}** лет (время жизни нашей Вселенной 10^{10} лет).

ПАРАДОКС С.ЛЕВИНТАЛЯ

С одной стороны, **нативная** пространственная структура ведет себя **как самая стабильная** из всех существующих структур цепи: белковая цепь попадает в нее при разных кинетических процессах [и при сворачивании на рибосоме в процессе биосинтеза, и после секреции сквозь мембрану, и при сворачивании в пробирке (ренатурации), - чем бы и как бы она ни была в этой пробирке развернута].

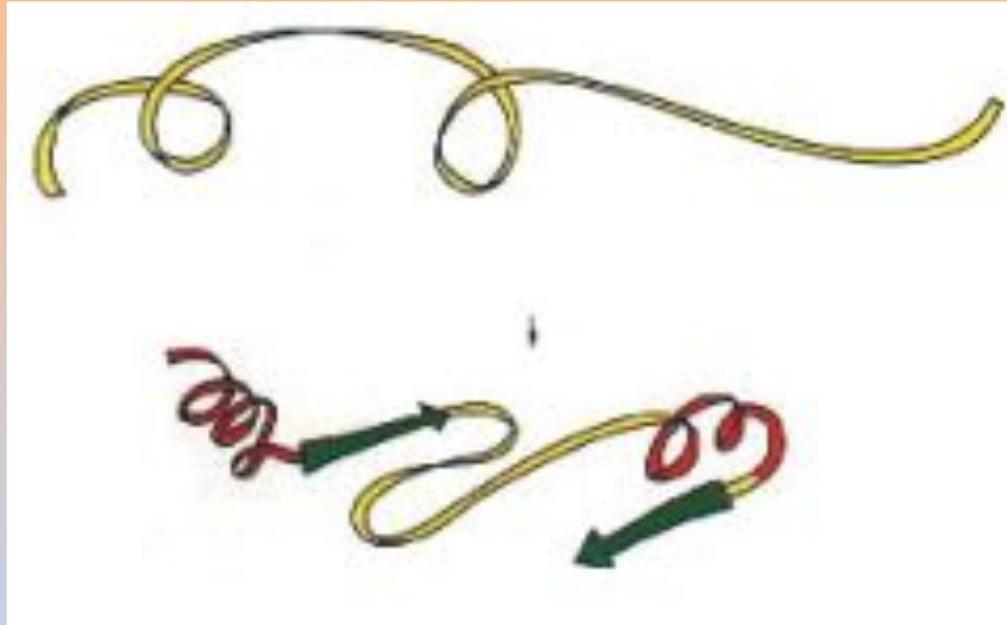
С другой стороны, нет никаких гарантий, что эта структура - самая стабильная из всех возможных: у белковой цепи просто нет времени на то, чтобы убедиться в этом!

С.Левинталь предположил, что нативная структура белка определяется не стабильностью, не термодинамикой, а **кинети́кой**, т.е. она соответствует не глобальному, а просто **быстро достижимому минимуму свободной энергии** цепи.

КОНЦЕПЦИЯ СТАДИЙНОГО СВОРАЧИВАНИЯ БЕЛКА

О.Б. ПТИЦЫНА (1973)

(концепция каркасной модели)



Очень быстрое формирование **элементов вторичной структуры**, служащих как бы "затравками" для образования более сложных архитектурных мотивов (за десятую долю микросекунды альфа-спираль охватывает пептид из 20-30 остатков).

Движущая сила – **образование водородных связей.**

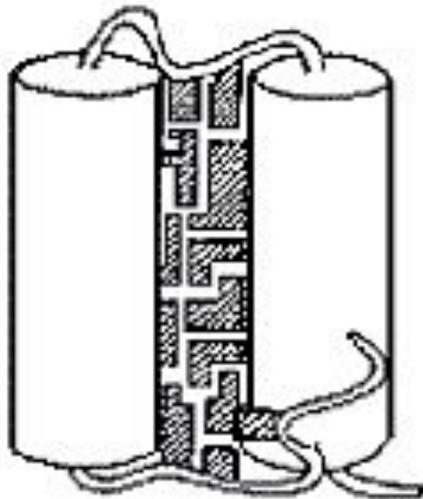


Специфическая ассоциация некоторых элементов вторичной структуры с образованием **супервторичной структуры**: сочетания нескольких α -спиралей, нескольких β -цепей либо смешанные ассоциаты данных элементов (тоже очень быстрая стадия)

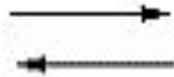
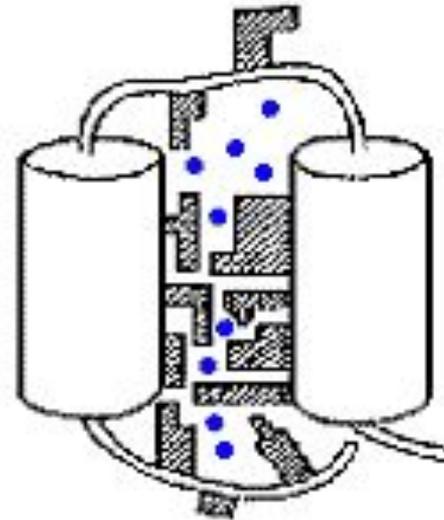
Движущая сила – **гидрофобные взаимодействия**

Формирование **'расплавленной глобулы'**
(создание основных элементов третичной структуры - сочетание α -спиралей, β -тяжей, соединяющих петель и образование гидрофобного ядра молекулы). Движущая сила – **гидрофобные взаимодействия.**

Нативная глобула



Расплавленная глобула



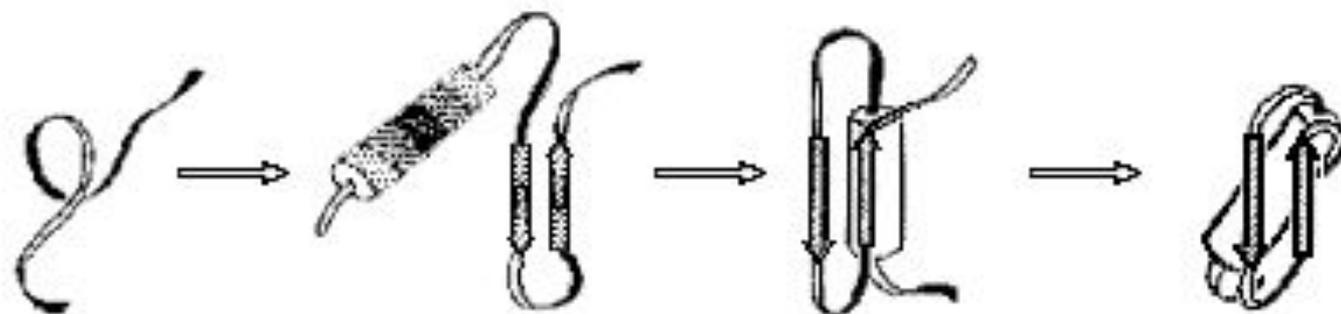


Формирование **нативной** структуры белка
ЕЕ ОБЕСПЕЧИВАЮТ

Вандерваальсовы силы

Водородные связи

Ионные связи



**Развернутая
цепь**

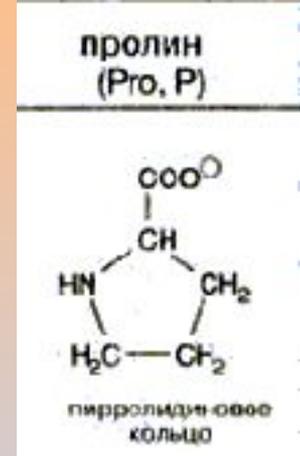
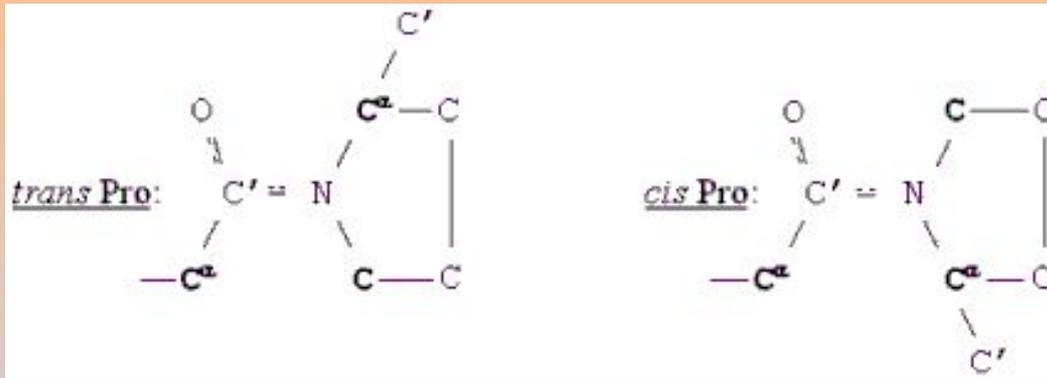
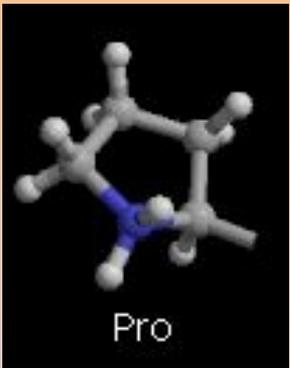
**Вторичная
структура,
флуктуирующая
возле своего
нативного
положения**

**Нативоподобная
вторичная
структура
и мотив укладки
белковой цепи
положения**

**Нативная
пространственная
структура**

**ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ
РЕГУЛЯЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ
ПРОСТРАНСТВЕННОЙ
СТРУКТУРЫ БЕЛКА**

ФЕРМЕНТЫ, УСКОРЯЮЩИЕ ПРОЦЕСС СВОРАЧИВАНИЯ

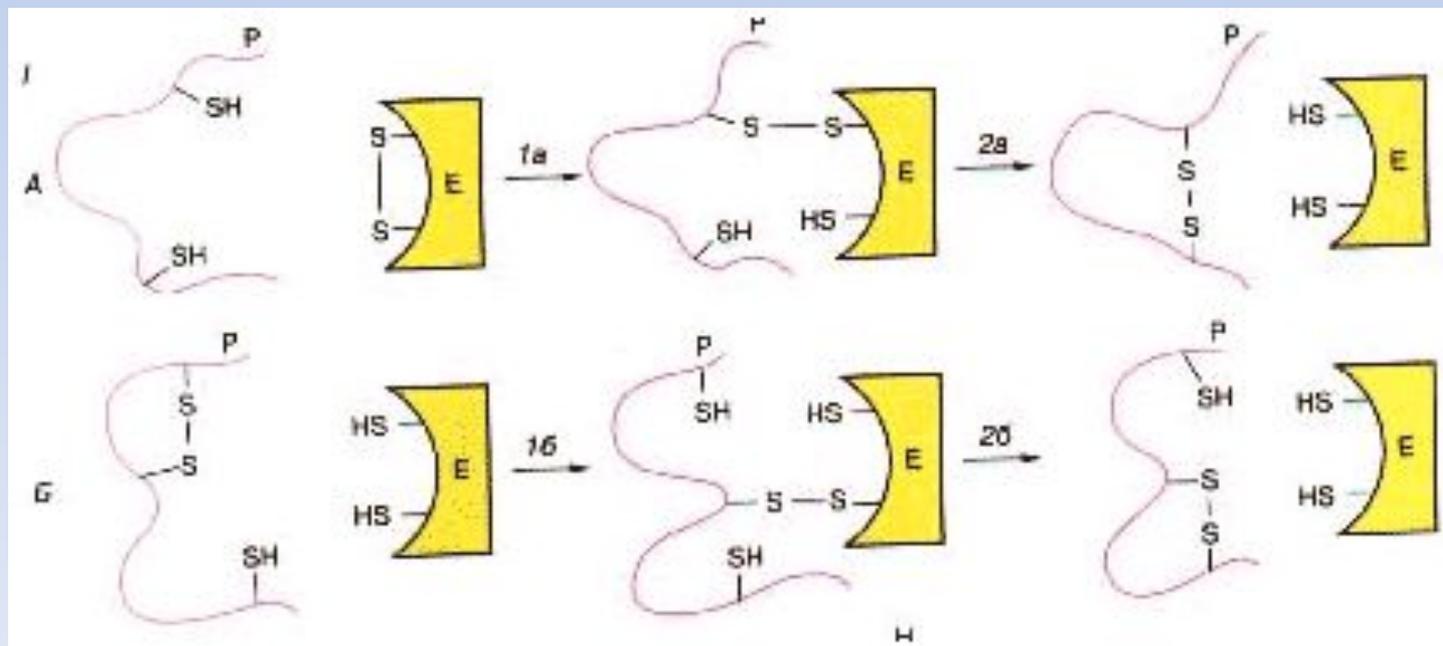


Транс-конформация более стабильна, она преобладает во вновь синтезированной полипептидной цепи.

Для образования нативной структуры белка необходимо, чтобы часть связей, образованных остатками пролина, изомеризовались в цис-конформацию. Эта реакция, приводящая к повороту цепи на 180° вокруг C-N связи, идет чрезвычайно медленно. In vivo она ускоряется благодаря действию специального фермента –

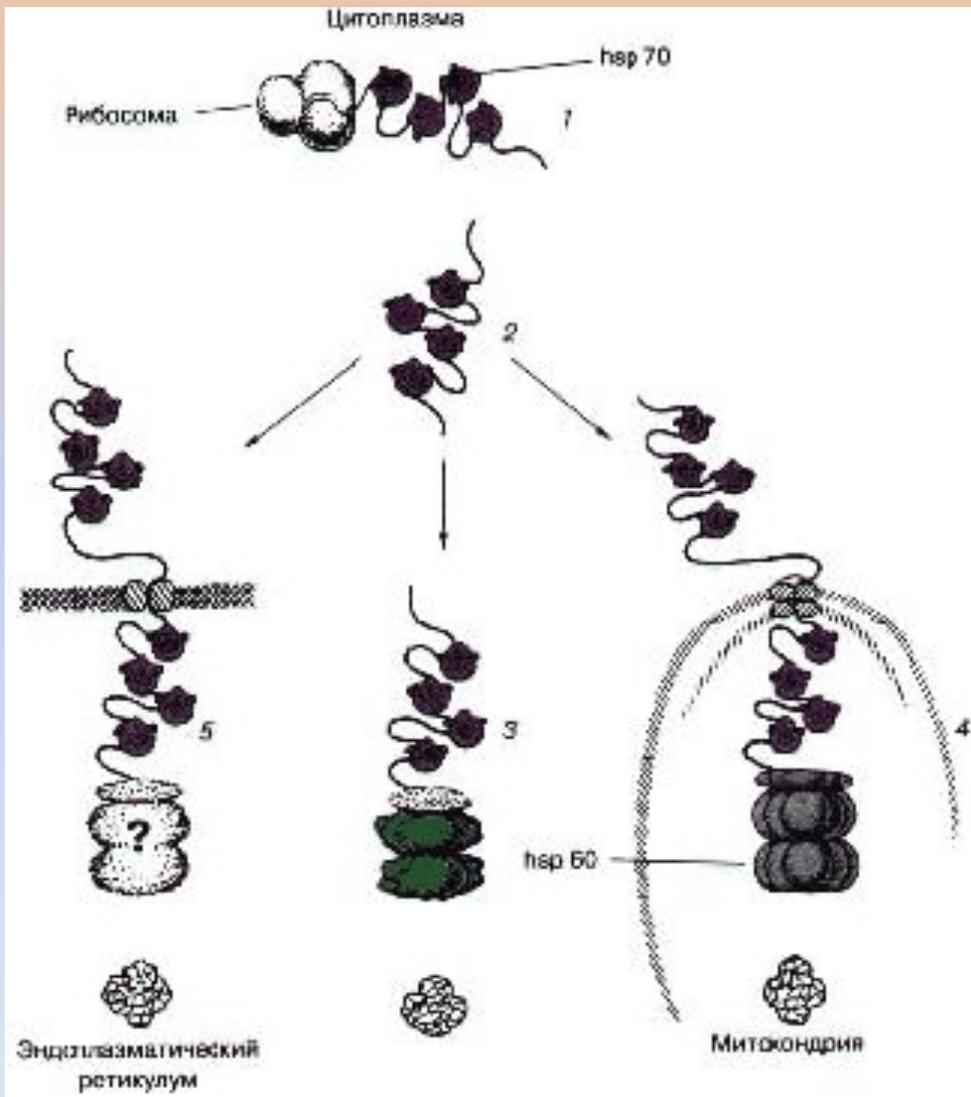
пептидил-пролил-цис/транс-изомеразы.

Второй фермент (протеиндисульфидизомераза), ускоряющий процесс сворачивания, катализирует образование и изомеризацию **дисульфидных связей**. Он локализуется в просвете эндоплазматического ретикулума и способствует сворачиванию секретируемых клетками белков, содержащих **дисульфидные** мостики (например, инсулин, рибонуклеаза, иммуноглобулины)

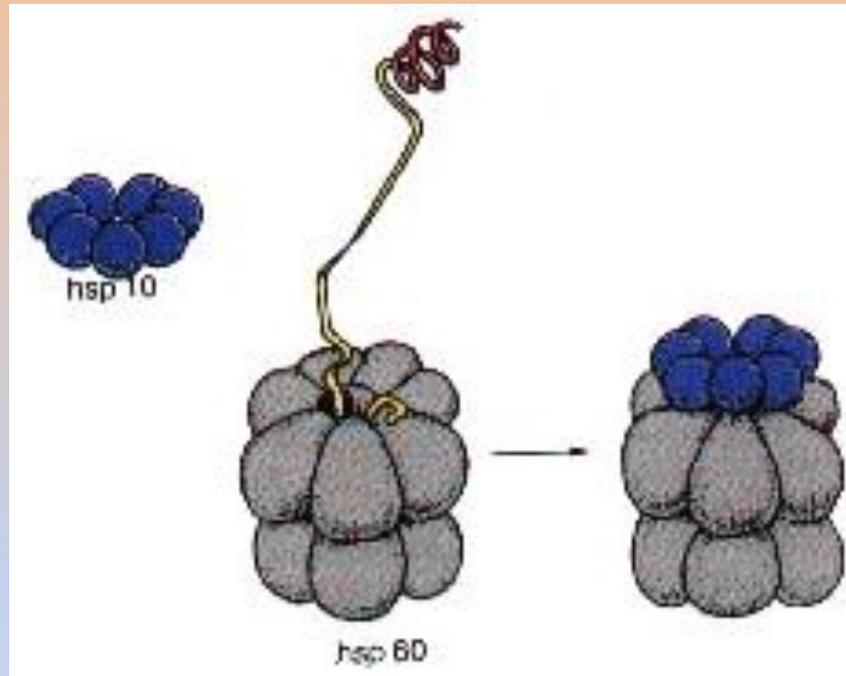


ШАПТЕРОНЫ И ШАПТЕРОНИНЫ

Функции шаперонов в клетке



Шаперон от «chaperon» - пожилая дама, сопровождающая молодую девушку на балы и пр., наставник, сопровождающий группу молодежи.



Структура шаперонина
hsp60.



Модель сворачивания белков с участием шаперонинов.

1- белок в состоянии «расплавленной.глобулы» связывает гидрофобные участки «стенок» центрального канала молекулы шаперонина. Это взаимодействие стимулирует присоединение АТФ, в результате которого структура шаперонина меняется (гидрофобные участки «стенок» экранируются), и белок освобождается, переходя в центральный канал (2). Спонтанное сворачивание будет продолжаться до тех пор, пока не произойдет гидролиз АТФ и переход шаперонина в состояние, способное связывать частично развернутый белок (3). Стадии 1, 3, 5 различаются количеством «развернутых» участков структуры белка, взаимодействующих со «стенками» центрального канала. Стадия 7:- нативный белок, не способный связываться с шаперонином, выходит наружу.