

Биохимия и молекулярная биология

*Лекция 1. Деградация пищевых и
клеточных белков*

План лекции

- Белковый обмен.
- Ограниченный и тотальный протеолиз.
Функции протеолиза.
- Характеристика протеолитических ферментов.
- Пищевые белки. Расщепление в желудочно-кишечном тракте.
- Всасывание и транспорт аминокислот.
- Деградации клеточных белков. Убиквитин-протеосомный путь.

Белковый обмен - важнейший процесс, в ходе которого осуществляется непрерывное самообновление белковых тел. Белковый обмен зависит от других видов обмена: углеводного, липидного, обмена нуклеиновых кислот, но, в свою очередь, участвует в регуляции этих обменов, координируя их и создавая оптимальные условия для собственного осуществления. Как и любой обмен веществ, обмен белков включает два рода процессов – катаболизм и анаболизм.

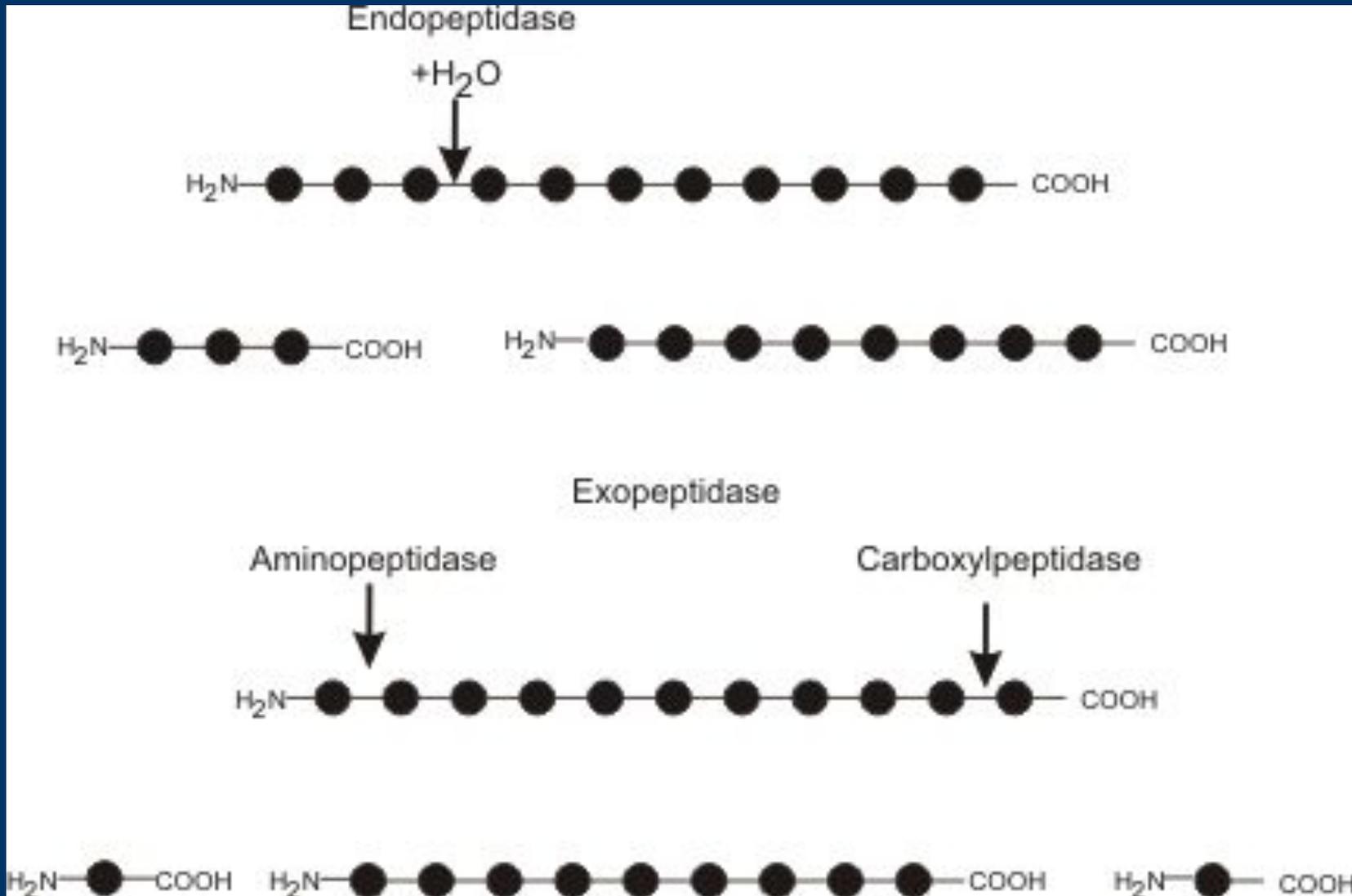
Катаболизм белков в организме

- 1.** Расщепление белков (протеолиз) осуществляется ферментами, относящимися к классу гидролаз. Гидролиз заключается в разрыве пептидных связей (-CO-**NH**-) белковой молекулы.
- 2.** Ферменты, гидролизующие в белках пептидные связи, принято называть пептидазами (синоним – протеазы).
- 3.** Пептидазы подразделяются на две группы ферментов: **эндопептидазы (синоним – протеиназы)** и **экзопептидазы.**

1. Эндопептидазы (протеиназы) - расщепляют пептидные связи внутри молекулы белка. Эндопептидазы обладают разной субстратной специфичностью, определяемой природой радикалов аминокислот по соседству с разрываемой пептидной связью.

2. Экзопептидазы – последовательно отщепляют аминокислоты от **N** - или **C** - конца белковой молекулы.

Обмен белков



Классификация протеолитических ферментов

По механизму катализа:

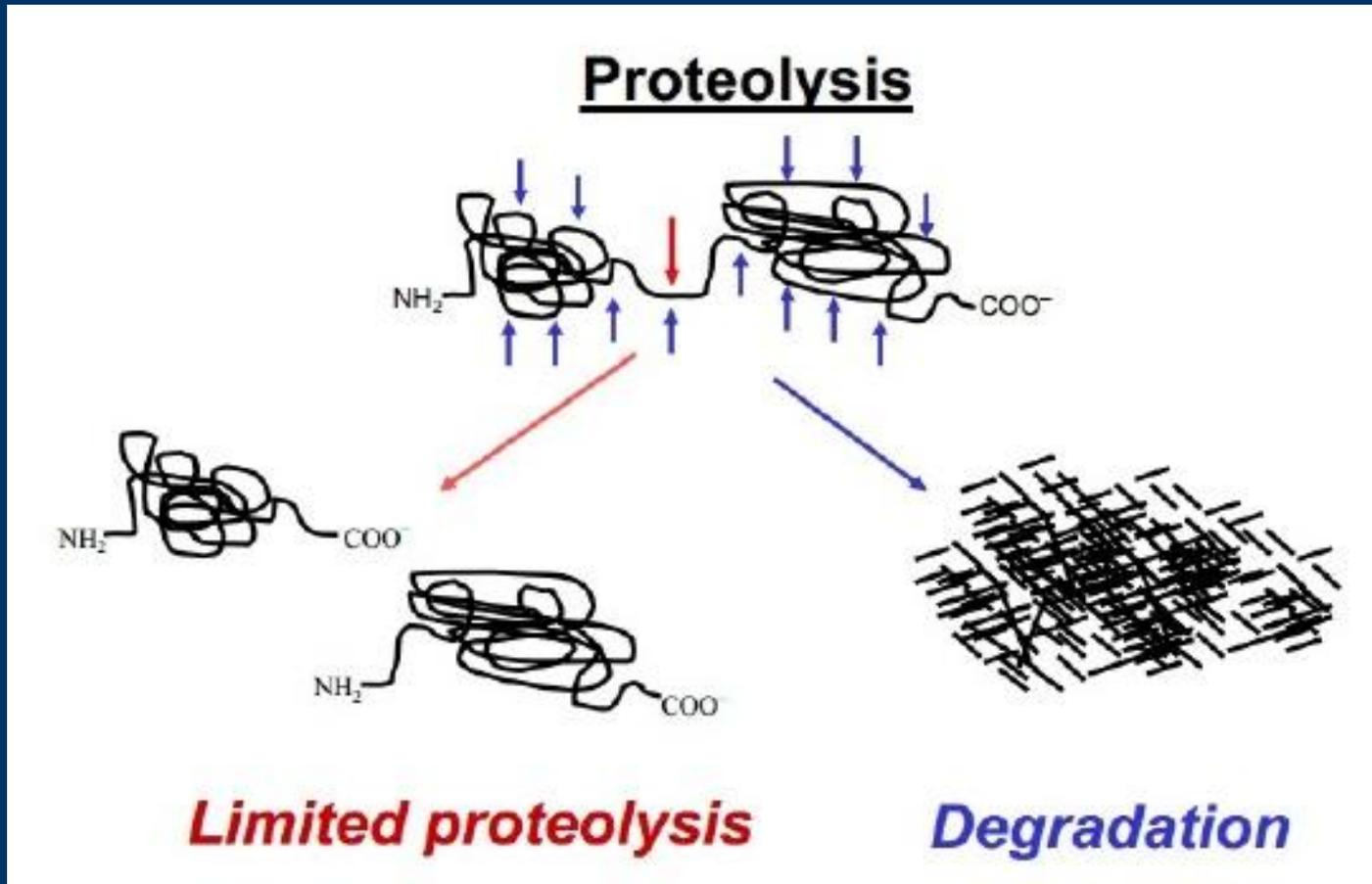
- *Серин/Треониновые* (трипсин, эластаза, химотрипсин, ферменты гемостаза)
- *Аспарагиновые* (пепсин, катепсины, ренин)
- *Цистеиновые* (папаин, катепсины, каспазы)
- *Металлопротеиназы* (карбоксипептидазы, ангиотензин конвертирующий фермент)

Протеолиз

Различают два типа протеолиза:

- 1. Ограниченный протеолиз** – расщепление одной или нескольких пептидных связей в белке-мишени приводит к изменению функционального состояния последнего (активация проферментов, прогормонов).
- 2. Неограниченный или тотальный протеолиз** - белки распадаются до аминокислот: пищевые белки (желудочно-кишечный тракт), тканевые белки (лизосомы, цитозоль).

Протеолиз



Функции ограниченного протеолиза

- Деление клетки.
- Процессинг (созревание) белков.
- Апоптоз.
- Система свертывания и фибринолиза крови.
- Образование активных гормонов.
- Образования активных ферментов в желудочно-кишечном тракте.

Функции тотального протеолиза

- Снижение иммуногенности белков.
- Лишение видовой и тканевой специфичности.
- Реутилизация белков.
- Пополнение аминокислотного фонда клеток и крови.

Этапы метаболизма пищевых белков

- 1)** расщепление в желудочно-кишечном тракте;
- 2)** всасывание продуктов расщепления белков (транспорт через стенки кишечника);
- 3)** транспорт от кишечника к другим органам и тканям;
- 4)** проникновение внутрь клетки (транспорт через клеточную мембрану);
- 5)** превращение ферментными системами клетки.

Качество (пищевая ценность) белков

Биологическая ценность белков животного и растительного происхождения определяется наличием и соотношением в них незаменимых аминокислот. Если в пищевых продуктах белки содержат все незаменимые аминокислоты, то такие белки относятся к полноценным. Остальные пищевые белки – неполноценные. Растительные белки, в отличие от животных, как правило, менее полноценны. Существует международный условный образец состава белка, отвечающего потребностям организма. В этом белке **31,4%** составляют незаменимые аминокислоты, остальные – заменимые. В качестве эталонного белка с необходимым содержанием незаменимых аминокислот и наиболее физиологичным соотношением каждой из них был принят белок куриного яйца.

Пищевая ценность белков

Содержание белка в некоторых пищевых продуктах

Продукт	Содержание белка, %	Продукт	Содержание белка, %
Мясо	18-22	Гречневая крупа	11
Рыба	17-22	Пшено	10
Сыр	20-36	Орехи лесные	12
Яйца	13	» кедровые	4
Молоко	3,5	Картофель	1,5-2
Хлеб ржаной	7,8	Капуста	1,1-1,6
Рис	8	Морковь	0,8-1,6
Горох	26	Свекла	1,6
Соя	35	Яблоки	0,3-0,4
Макаронны	9-13	Вишня	1-1,1

Оптимальное же количество белка при средней физической нагрузке составляет **~100-120 г/сут.**

В желудочно-кишечный тракт белки поступают из **2-х** источников:

- 1)** экзогенные белки – белки пищевых продуктов (**70 – 100 г**);
- 2)** эндогенные белки – белки пищеварительных секретов и слущивающегося эпителия пищеварительного тракта (**20 – 30 г/сутки**).

Основная часть поступивших в желудочно-кишечный тракт белков перевариваются до смеси аминокислот, дипептидов и трипептидов, а небольшое количество непереваренного белка выделяется из организма с фекалиями.

Расщепление белков в желудке

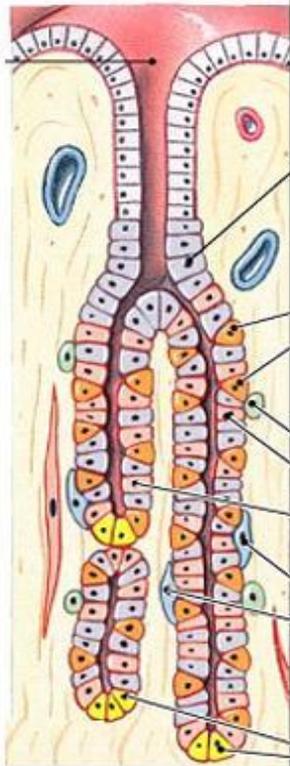
Переваривания белков начинается в желудке, где под действием желудочного сока гидролизуются около **10%** пептидных связей.

Желудочный сок представляет собой смесь воды (**97 - 99%**), неорганических ионов, соляной кислоты, различных ферментов и других белков.

Для расщепления белков в желудке необходима соляная кислота и протеолитические ферменты: пепсин, гастриксин и реннин.

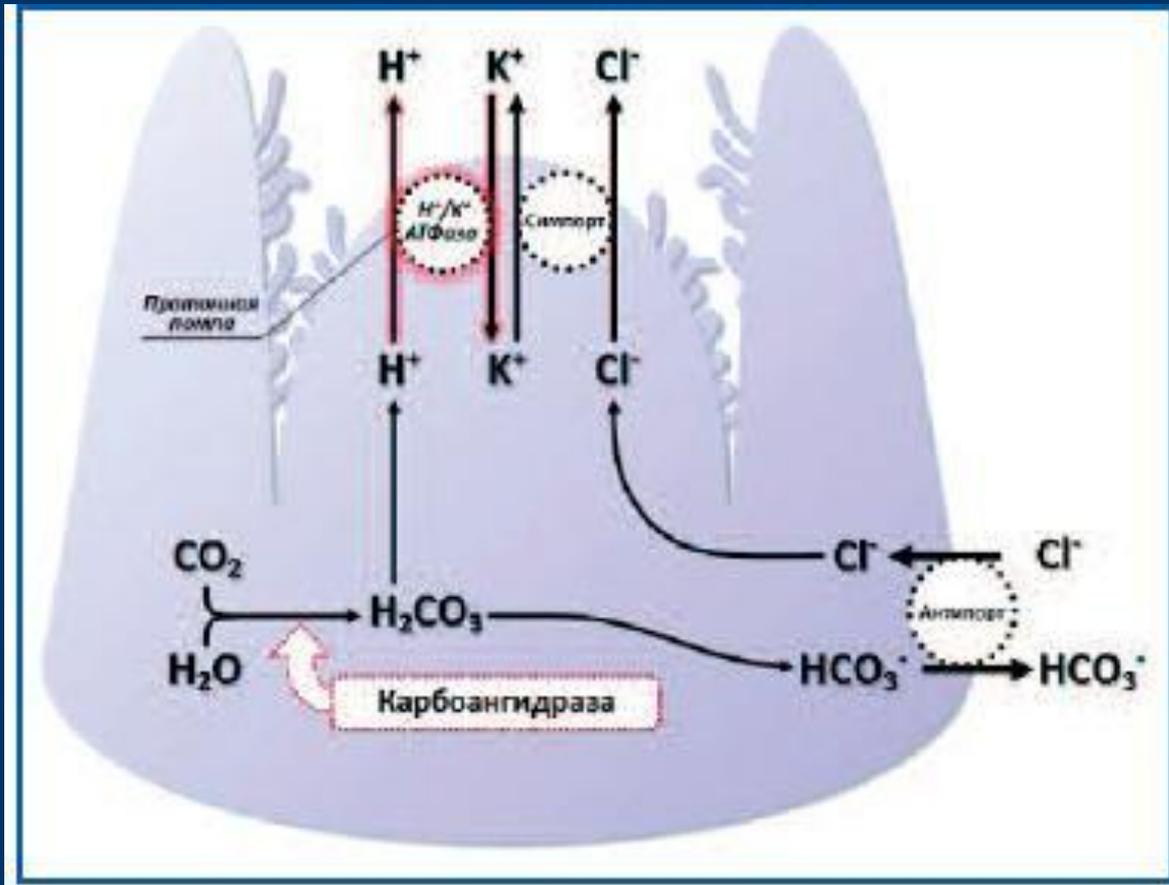
Расщепление пищевых белков

Типы клеток и секретов слизистой оболочки желудка



Тип клеток	Секрет
Мукоидные клетки	Слизь (защищает слизистую желудка)
	Бикарбонат
Париетальные клетки	Соляная кислота
	Внутренний фактор (соединяется с витамином B12)
Энтерохромаффиноподобные клетки	Гистамин (стимулирует секрецию соляной кислоты)
Главные клетки	Пепсиноген
	Липаза желудка
D клетки	Соматостатин (ингибирует секрецию соляной кислоты)
G клетки	Гастрин (стимулирует секрецию соляной кислоты)

Образование соляной кислоты в желудке



Суммарное количество париетальных (обкладочных) клеток в желудке у здорового человека приближается к одному миллиарду.

Секреция соляной кислоты в желудке

Механизм секреции соляной кислоты париетальными клетками обусловлен наличием специфического трансмембранного переносчика ионов водорода – H^+/K^+ -АТФазы, также известной как протонная помпа. Этот белок транспортирует протоны H^+ через апикальную мембрану из цитозоля париетальной клетки в просвет секреторного канальца в обмен на катион K^+ . Источником энергии для данного транспорта является гидролиз молекулы АТФ. Последующий выход ионов K^+ из цитозоля сопряжен с выходом ионов Cl^- по типу симпорта. В итоге в просвете канальцев происходит взаимодействие ионов H^+ и Cl^- с образованием соляной кислоты. Секреция соляной кислоты стимулируется гистамином, ацетилхолином и гастрином. Ингибирует образование HCl соматостатин.

Роль соляной кислоты в переваривании белков

- 1.** Денатурация пищевых белков.
- 2.** Бактерицидное действие (антисептик).
- 3.** Создает оптимальный рН для действия пепсина.
- 4.** Иницирует ограниченный протеолиз пепсиногена и прогастриксина.

Протеолитические ферменты желудка

Пепсин – главный протеолитический фермент желудочного сока (**М.м. 34,6 kDa**). Пепсин продуцируется главными клетками в виде неактивного зимогена, пепсиногена (**М.м. 40 kDa**). Образуется из пепсиногена при отщеплении **N**-концевой части молекулы (**42 а.о.**) включающей остаточный или структурный пептид и ингибитор пепсина. Оптимум рН – **1,5 – 2,0**.

Пепсин является эндопептидазой, расщепляющей связи, образованные **СООН**-группами ароматических АК – фенилаланином, тирозином и триптофаном. Медленнее гидролизуются связи, образованные алифатическими и дикарбоновыми кислотами. Гастриксин – пепсиноподобный фермент. Оптимум рН – **3,0**. Реннин.

Расщепление белков в тонком кишечнике

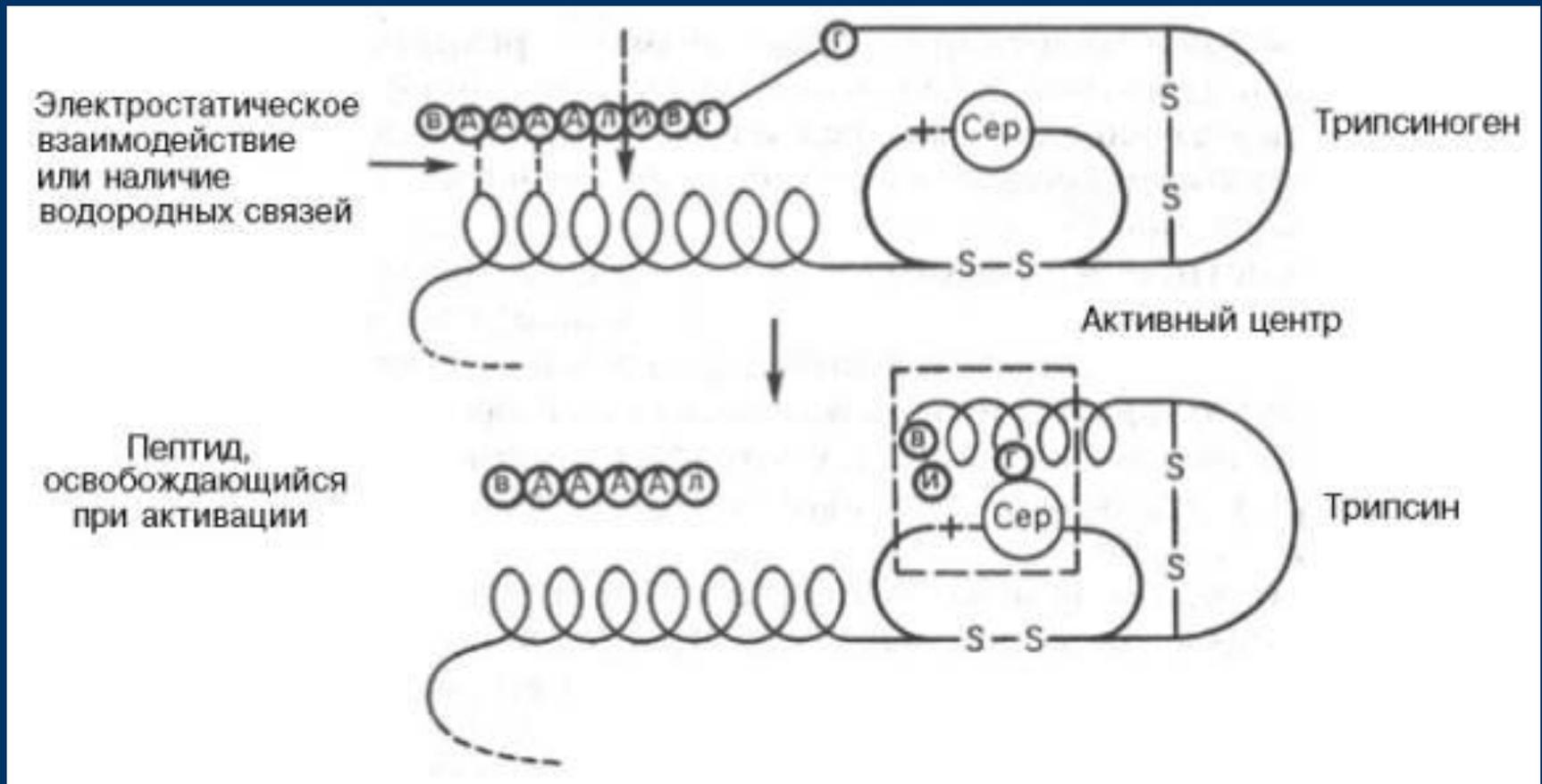
Переваривания белков в тонкой кишке осуществляется под действием панкреатического сока. Панкреатический сок, вырабатываемый экзокринными клетками поджелудочной железы, содержит неактивные ферменты, такие как трипсиноген, химотрипсиноген, проэластазу и прокарибоксипептидазы А и В. Они активируются в тонком кишечнике следующим образом. Клетки слизистой кишечника секретируют протеолитический фермент энтеропептидазу, преобразующий трипсиноген в трипсин.

Протеолитические ферменты панкреатического сока

Координирующее действие трипсина в активации панкреатических проферментов

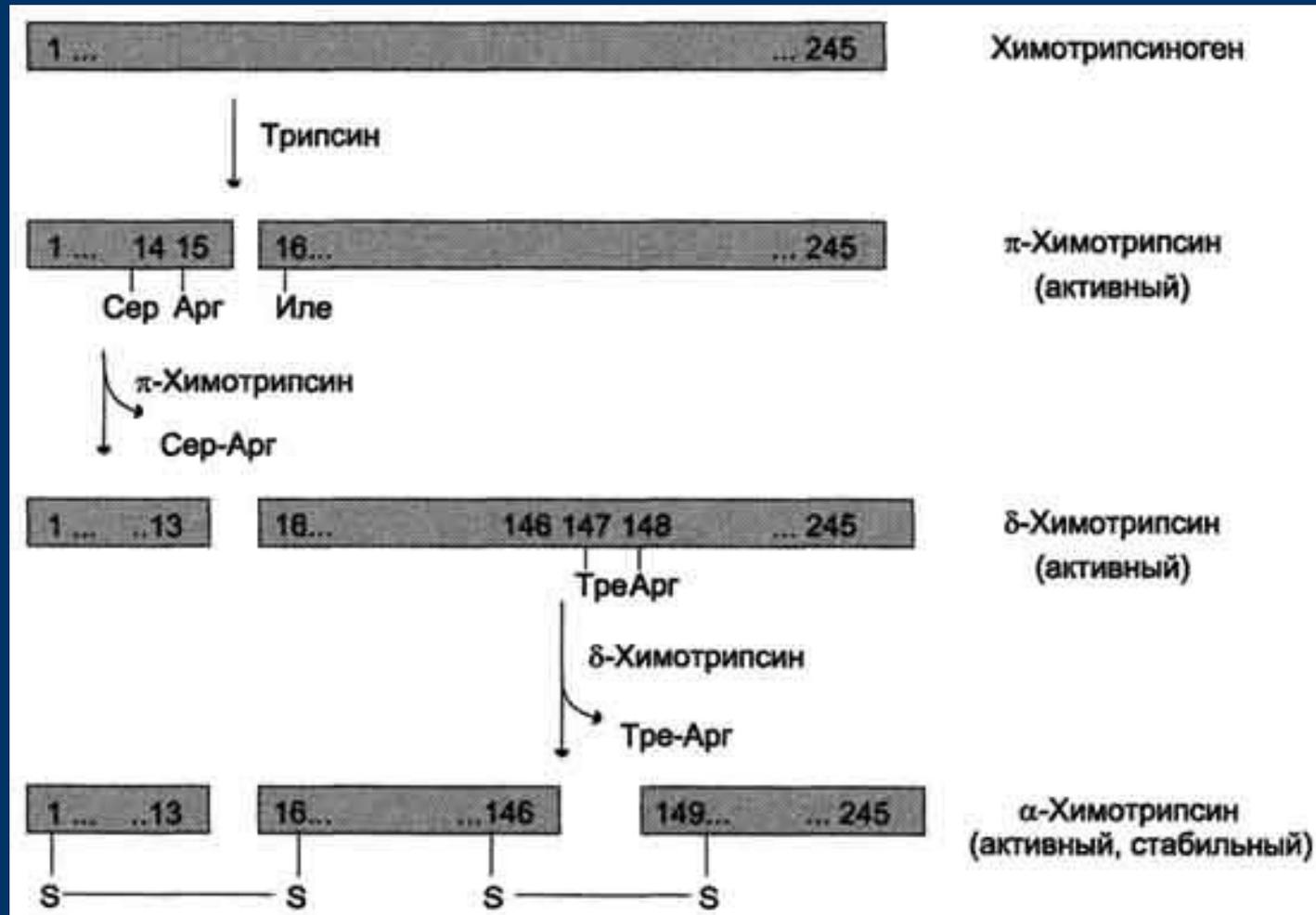


Активация трипсиногена



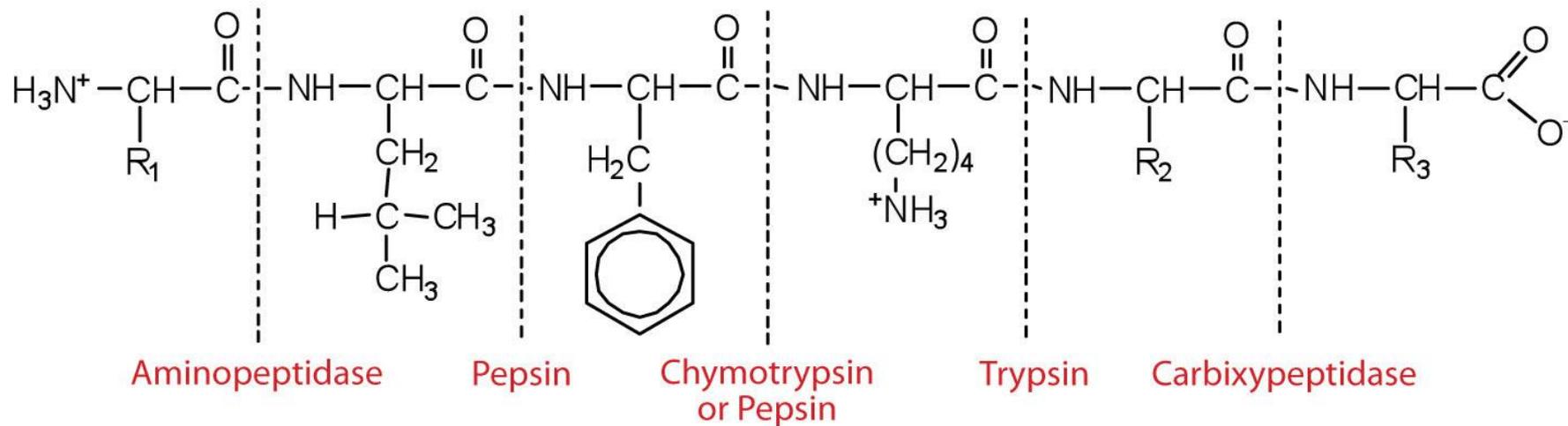
Протеолитические ферменты панкреатического сока

Активация химотрипсиногена



Расщепление белков в желудке

Протеолитические ферменты



Трипсин : - Арг-Х - ; - Лиз-Х - .

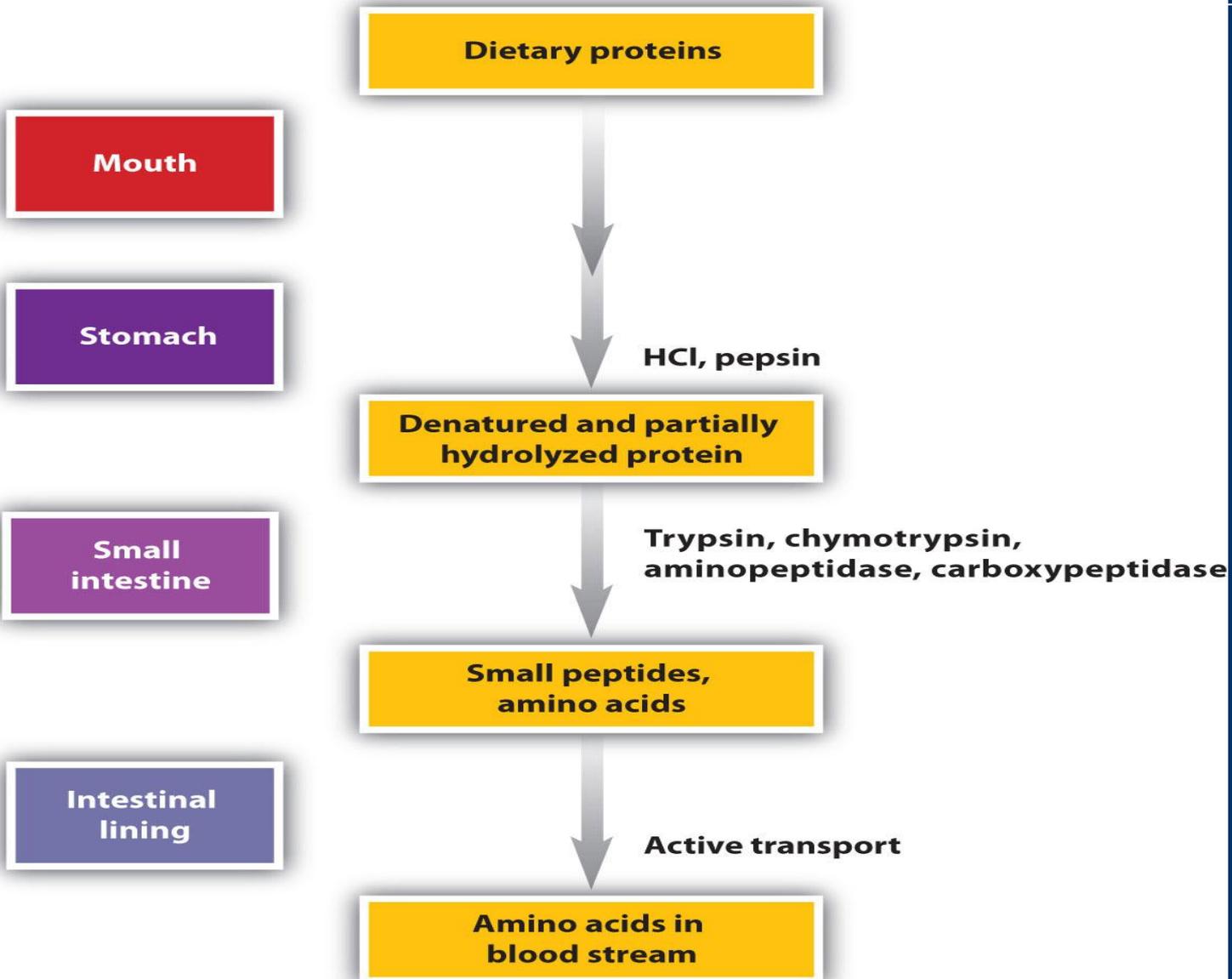
Химотрипсин : - Три - Х - ; - Фен - Х - ; - Фен - Х - .

Эластаза : - Гли-Х - ; - Ала-Х - ; - Сер-Х - .

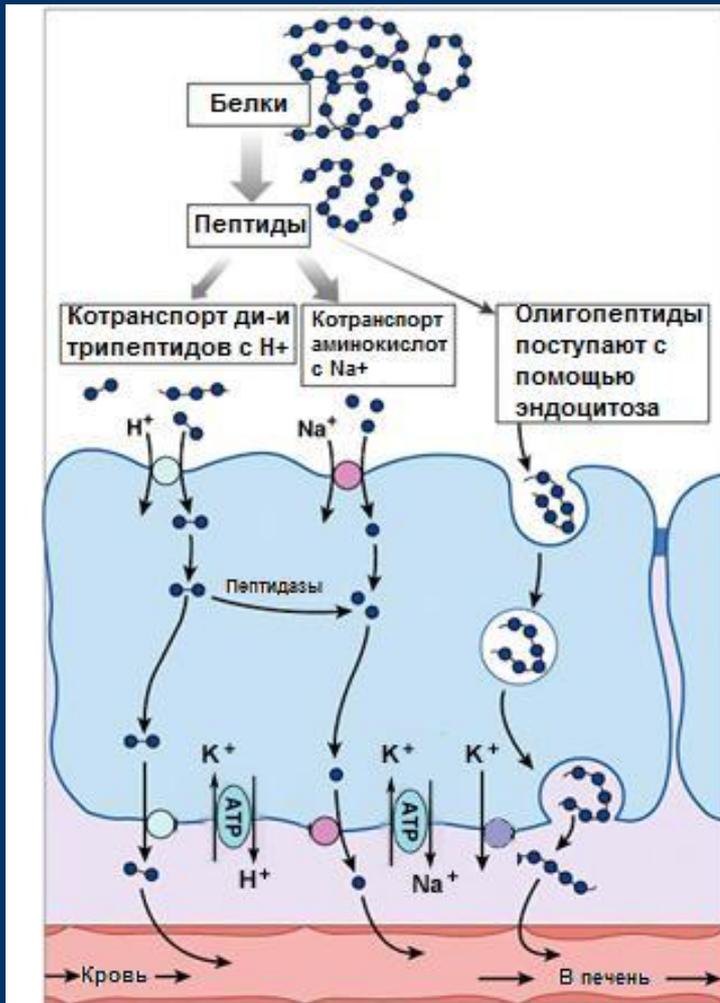
Аминопептидазы.

Карбоксипептидазы А и В.

Этапы расщепления пищевых белков

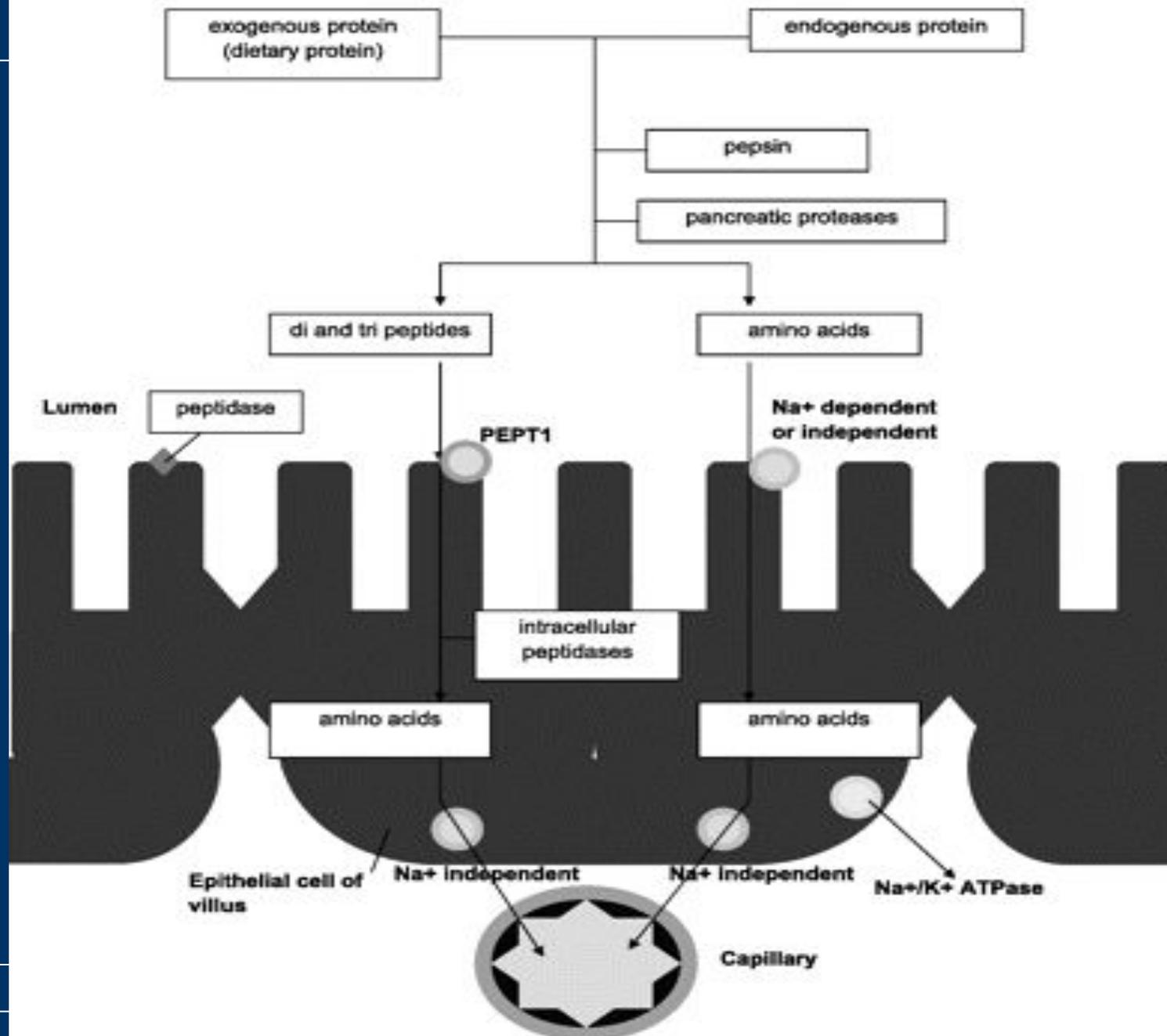


Всасывание аминокислот и пептидов



1. Котранспорт аминокислот с **Na⁺**.
2. Котранспорт ди- и трипептидов с протонами водорода.
3. Олигопептиды поступают в клетки кишечника путем **эндоцитоза**.

Protein Digestion and Absorption



Расщепление клеточных белков

Индивидуальные клеточные белки расщепляются и повторно синтезируются с различными скоростями. Белки имеют сигналы, определяющие время их жизни. В среднем, период полураспада белка коррелирует с особенностями аминокислотного состава его **N**-концевого участка (правило **N**-конца).

У белков с **N**-концевыми Мет, Сер, Ала, Тре, Вал, или Гли время полураспада превышает **20** часов.

Время полураспада белков с **N**-концевыми Фен, Лей, Асп, Лиз, или Арг менее **3**-х мин.

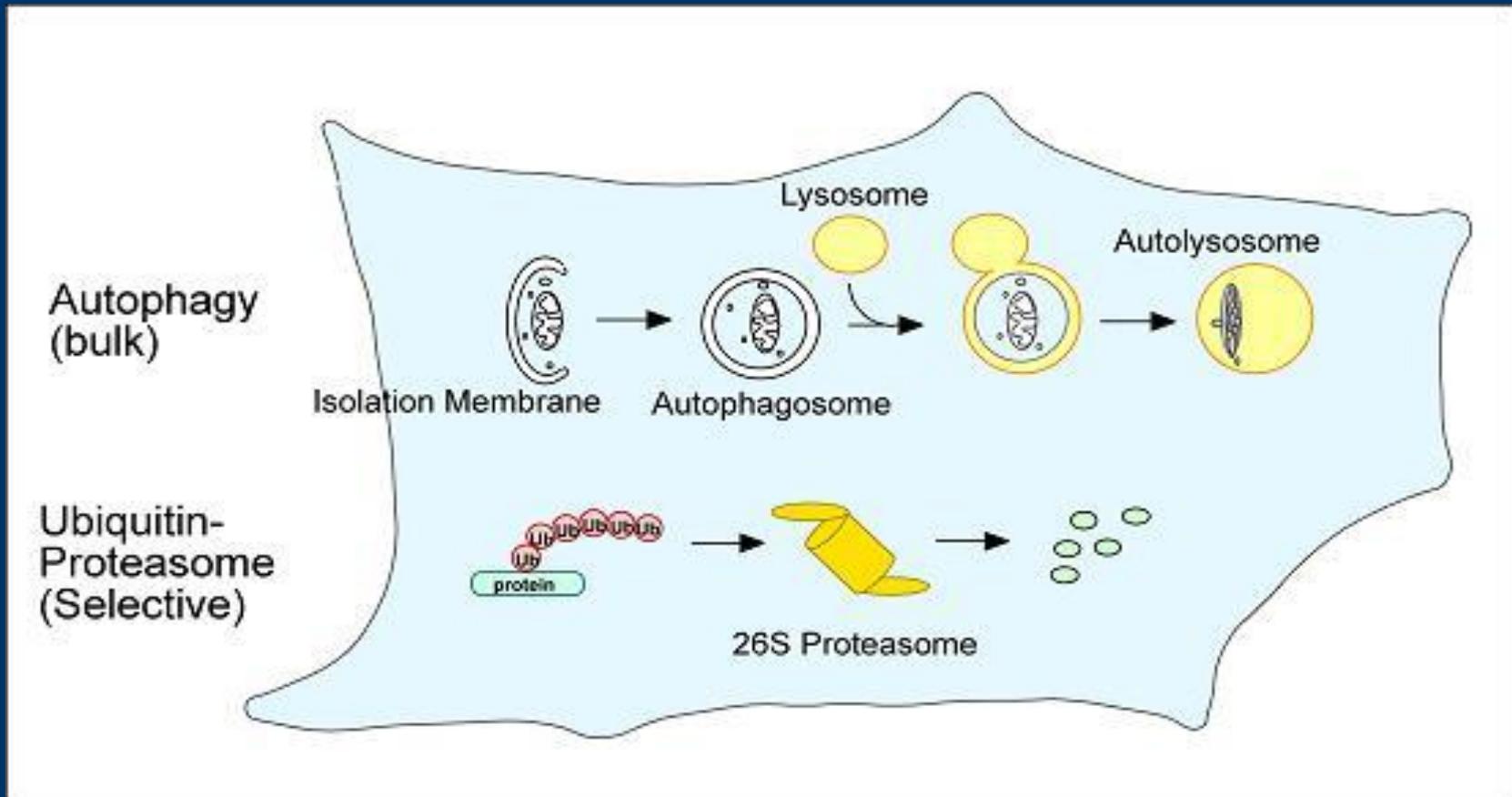
PEST белки, богатые **Pro (P)**, **Glu (E)**, **Ser (S)**, и **Thr (T)**, деградируют быстрее, чем другие белки.

Деградация клеточных белков

Содержание белков в организме человека массой **70** кг и время полураспада отдельных белков

Белок или ткань	Содержание белка (кг)	Время полураспада (сут)
Коллаген (мышцы, кожа, кость)	2,75-3.3	>300
Альбумины, глобулины (мышцы)	1.7	30
Гемоглобин	0.9	120
Белки плазмы	0.4	10
Печень, почки, легкие	0.5	5

Системы внутриклеточной деградации белков



Системы внутриклеточной дегградации белков

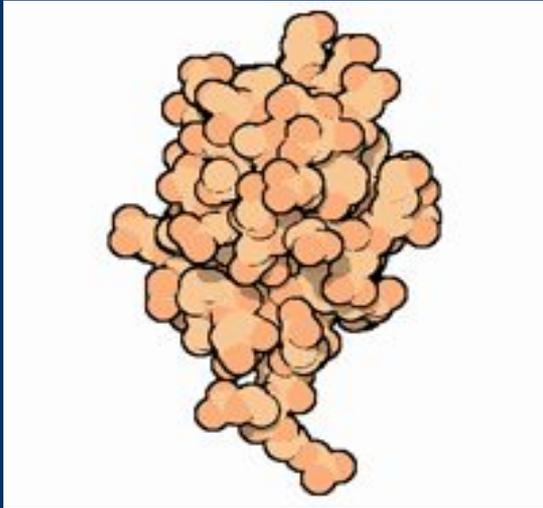
Главный путь дегградации большинства клеточных белков у эукариот – убиквитинзависимая протеосомная система.

Протеасомы присутствуют в цитозоле и ядре клеток эукариот.

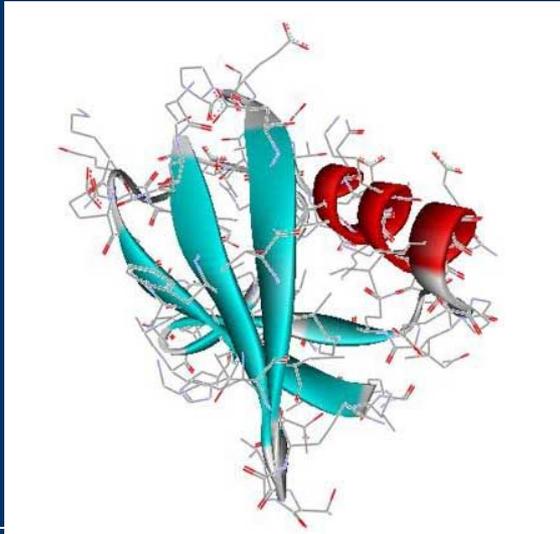
В каждой клетке находится несколько тысяч протеосом (**30 000**).

В протеосомах разрушается до **90%** всех клеточных коротко живущих белков (с регуляторными функциями) и **60-70%** долго живущих белков.

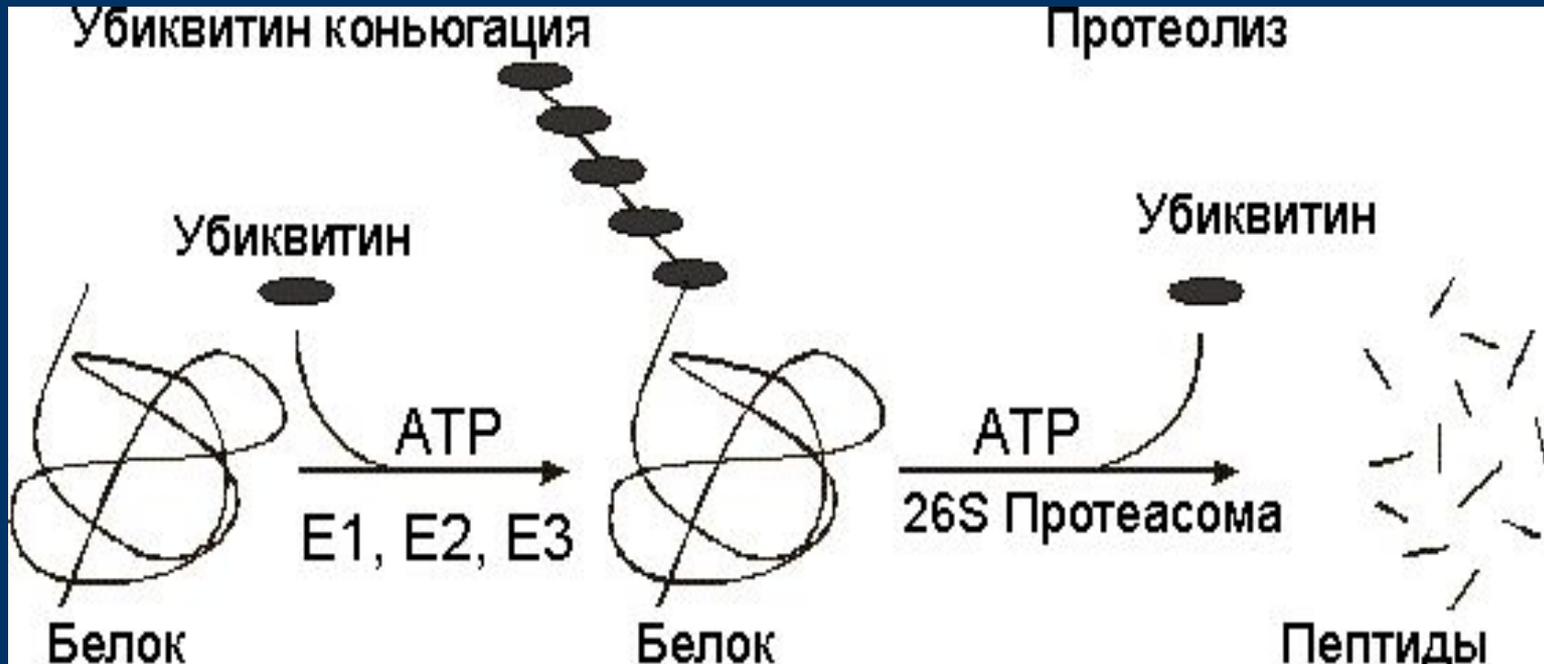
УБИКВИТИН



УБИКВИТИН (от лат. **ubique** – вездесущий) – белок, присутствующий в клетках живого организма, открыт в **1970**-х американским биохимиком Г.Голдстейном. Молекулы этого белка собраны из **76** аминокислотных остатков, его молекулярная масса сравнительно невелика, немногим более **8000**, он стабилен и участие в различных биохимических процессах не приводит к изменению его структуры. Убиквитин содержит одну α -спираль и четыре плоских β -структуры.



Убиквитин-зависимая деградация белков

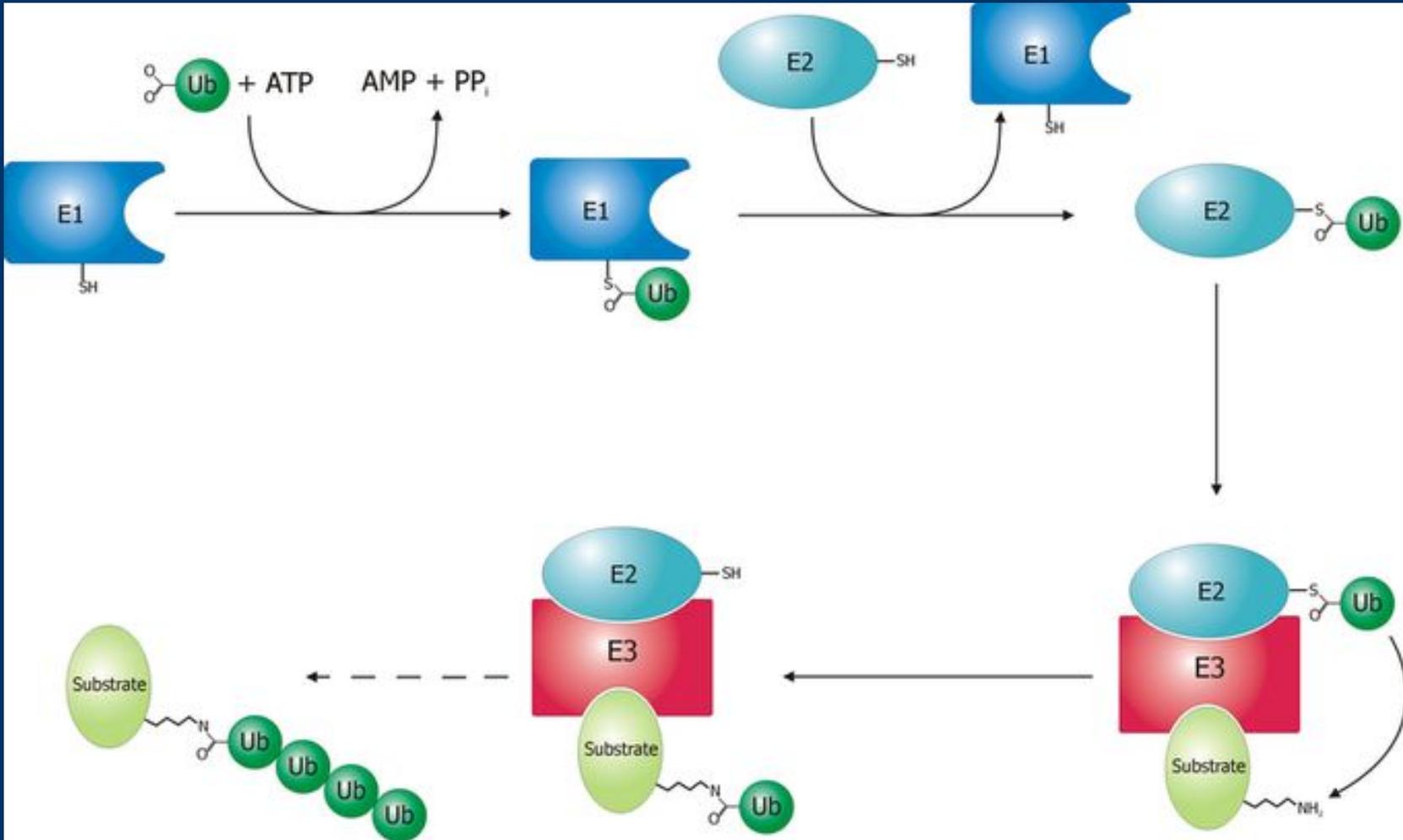


Деградация белка по убиквитиновому пути включает две основные стадии :

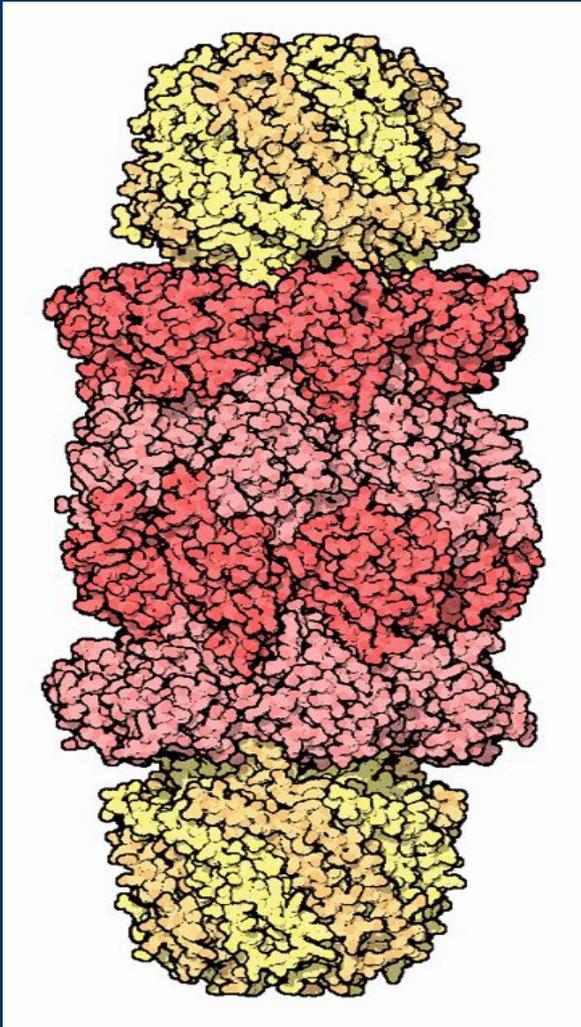
- 1.** Ковалентное присоединение к подлежащему деградации белку полиубиквитиновой цепи (убиквитиновая конъюгация).
- 2.** Деградация белка **26S** протеосомой.

Деградация клеточных белков

Убиквитиновая конъюгация



Протеосома



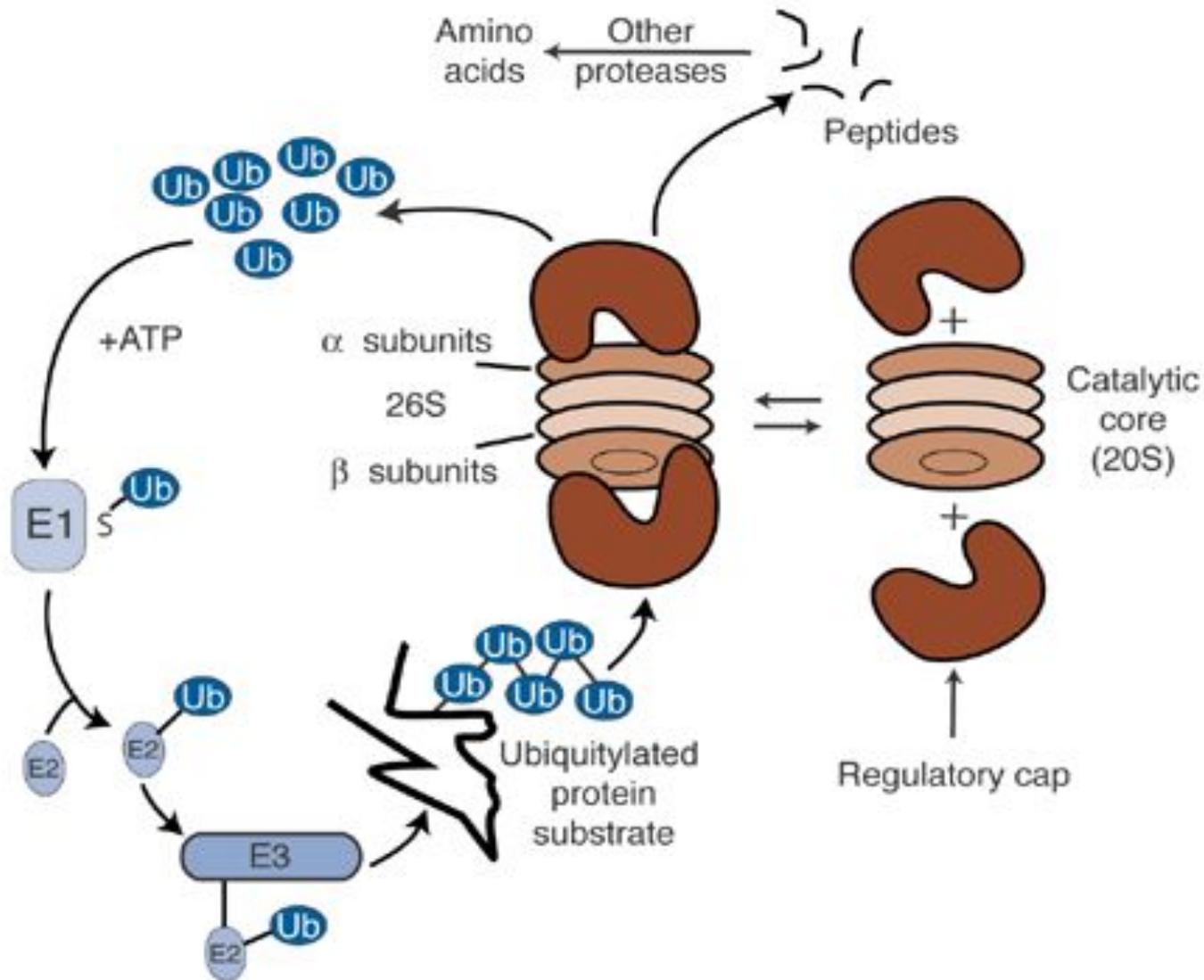
Протеосомы выделяют в виде индивидуальных частиц с коэффициентами седиментации **19S**, **20S** и **26S**. **20S** частица является коровой частью (обозначена розово-коричневым цветом) **26S** частицы, которая обладает протеолитической активностью.

19S - регуляторная субъединица. Молекулярная масса **26S** протеосомы - **2** мДа.

Протеосома

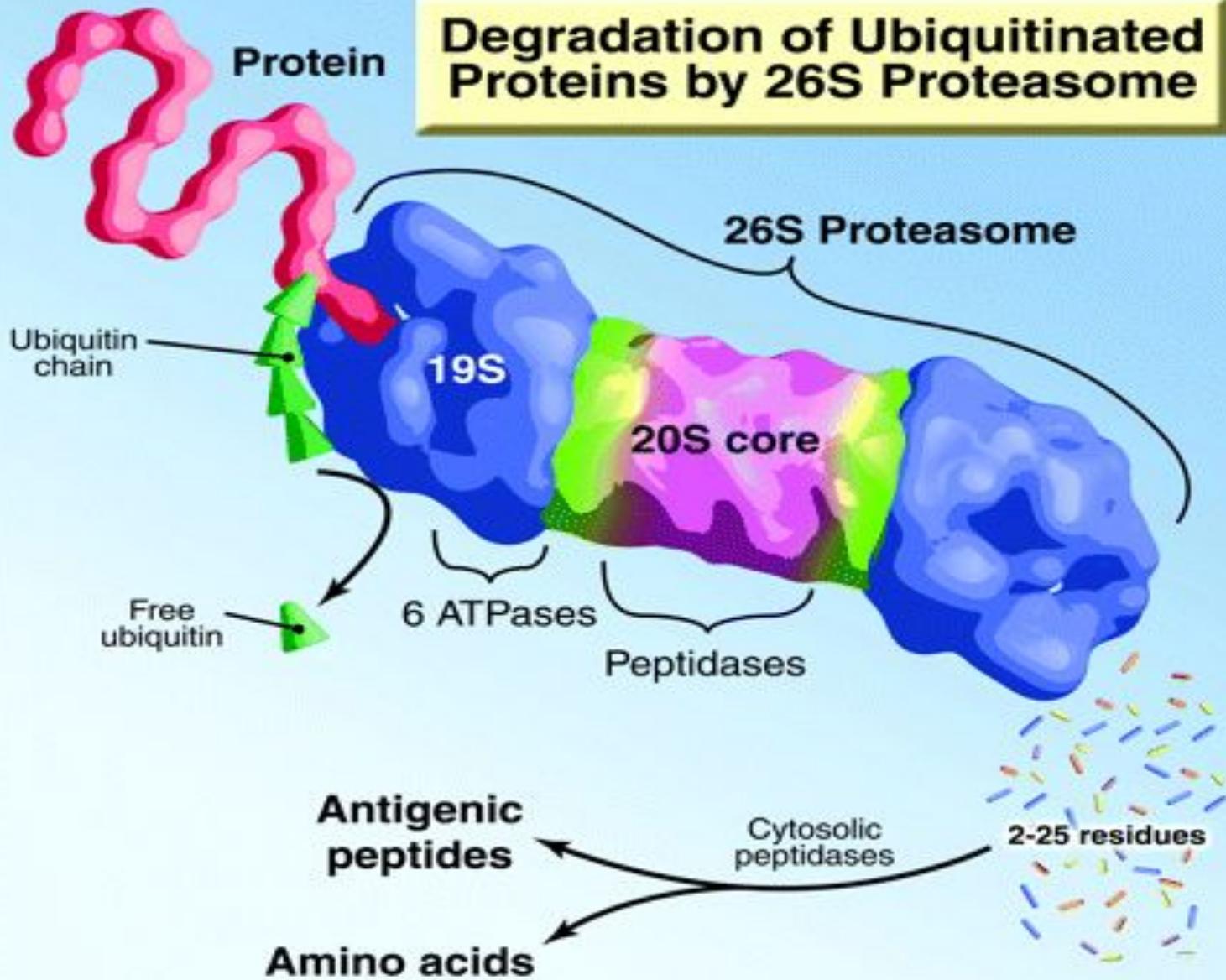
Протеосома представляет собой мультисубъединичный белковый комплекс, который является основным компонентом убиквитинзависимой системы деградации клеточных белков. Протеосомы присутствуют в клетках всех организмов от архебактерий до высших эукариот, что свидетельствует об их абсолютной значимости для нормальной жизнедеятельности клетки.

26S протеосома – АТР-зависимый протеолитический комплекс, обладающий Мол. массой около **2,5** МДа, - осуществляет специфическую деградацию белков, конъюгированных с убиквитином. **26S** протеосома имеет вид симметричной гантелеобразной структуры. Ее центральная часть образована **20S** каталитическим ядром (или **20 S** протеосомой), к которому с двух сторон присоединены регуляторные комплексы (или **19S** частицы).

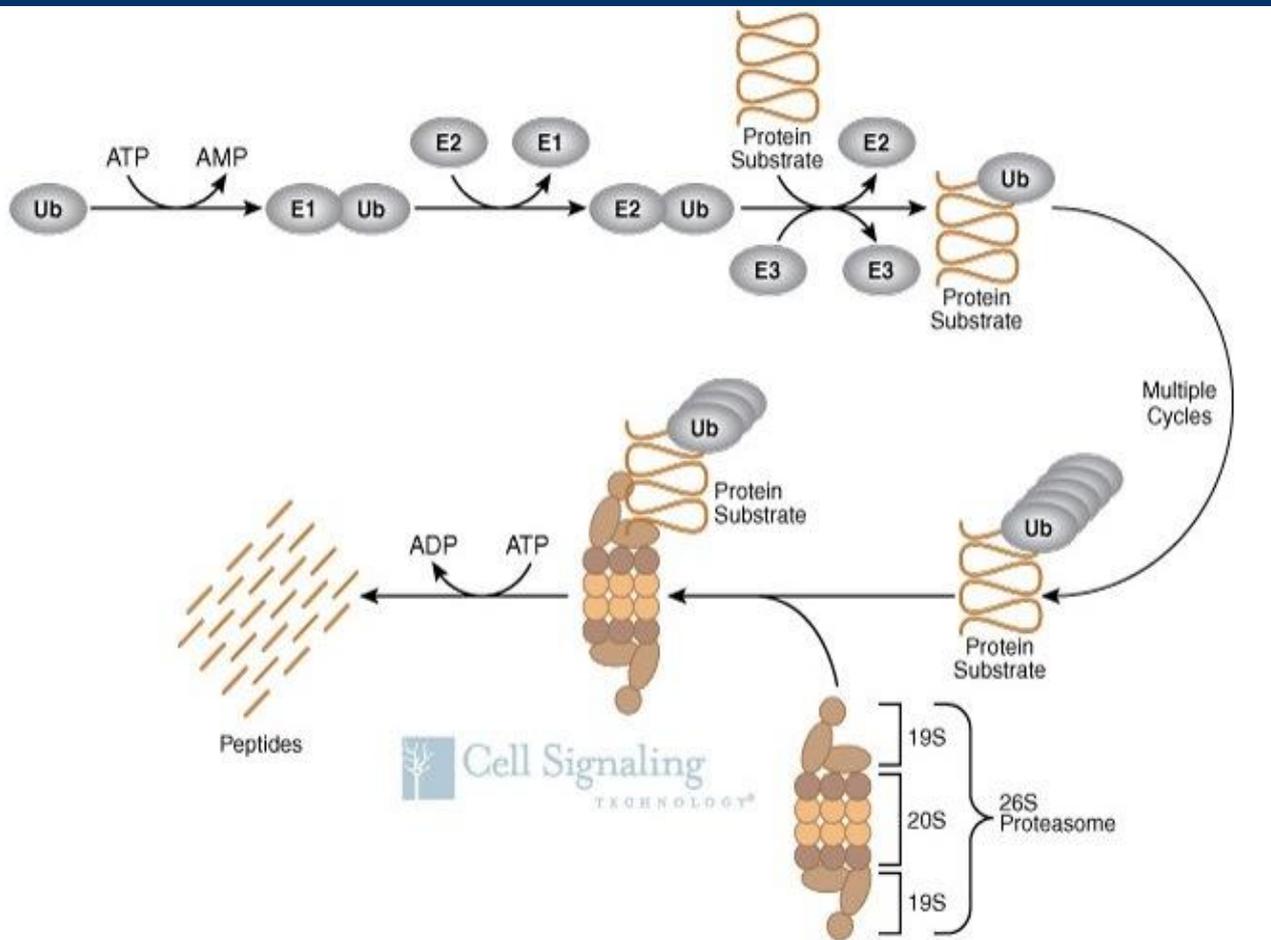


from Donohue, NIAAA, NIH

Degradation of Ubiquitinated Proteins by 26S Proteasome



Убиквитин-зависимая деградация белков

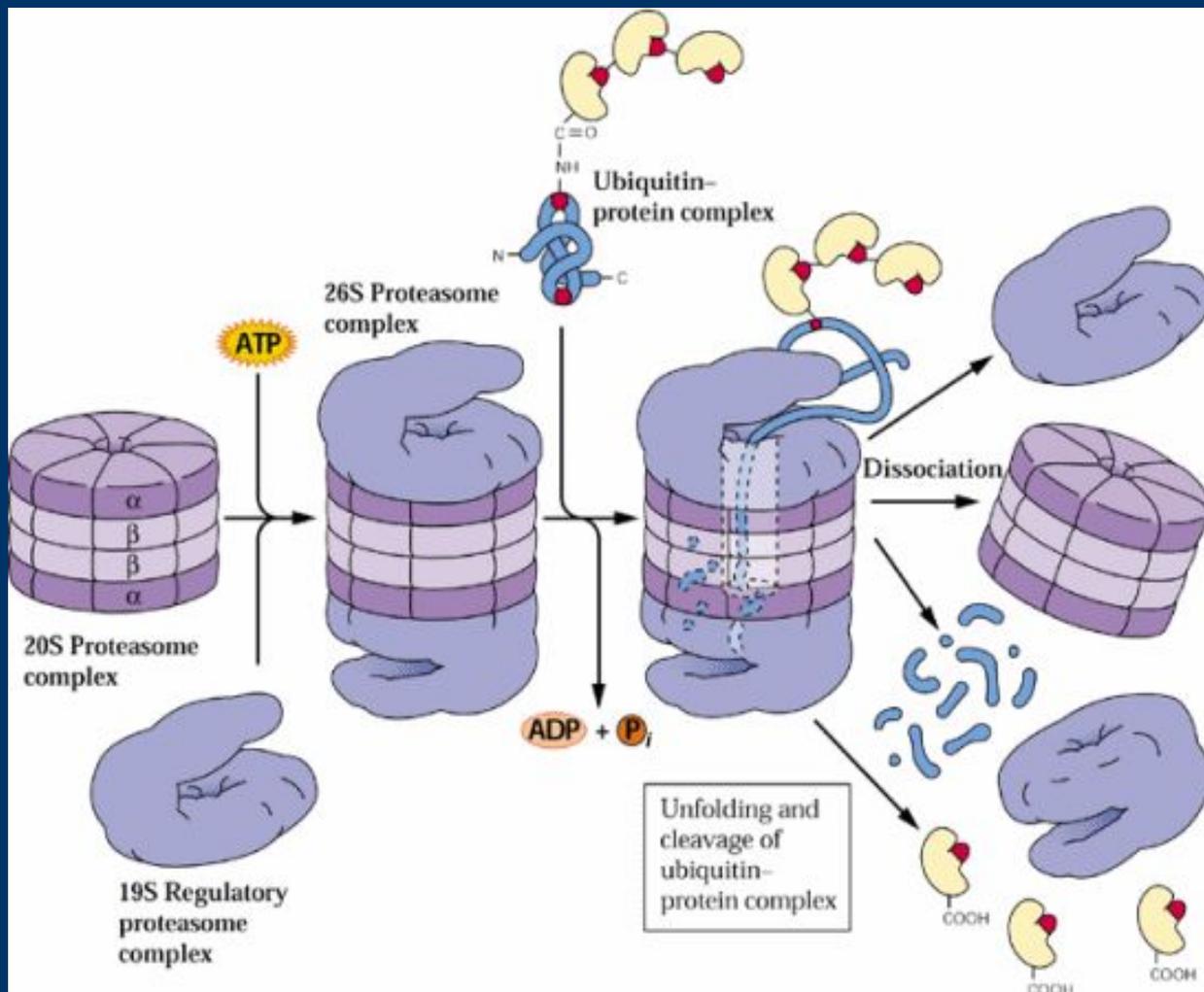


E1 - убиквитин-активирующий фермент

E2 - убиквитин-конъюгирующий фермент

E3 - убиквитин-лигаза

Деградикация клеточных белков



Молекулы убиквитина присоединяются к деградируемой полипептидной цепи; Конъюгат далее взаимодействует с **26S** протеасомой. Полипептидная цепь, разворачиваясь, входит в центральную полость **20S** субчастицы, где последовательно подвергается протеолизу. При этом цепи убиквитина отделяются от деградируемого белка

Лизосомальный путь

- Лизосомы - это главные пищеварительные органеллы клетки.
- Особенность лизосом низкий рН. Это свойство обеспечивается мембраносвязанной АТФ-зависимой протонной помпой, которая обменивает **Na** на протоны водорода. Оптимум рН для большинства этих гидролаз — около **5**.
- Наличие специфических ферментов (гидролаз).
- Гомогенное содержимое.
- Четко определяемая граница мембраны.
- Уникальность строения мембран.

Домашнее задание (повторить)

- 1.** Аминокислотный состав белков.
- 2.** Уровни структурной организации белковых молекул.
- 3.** Физико-химические свойства аминокислот и белков.

Самостоятельная работа

- 1.** Механизмы транспорта продуктов расщепления белков из кишечника к тканям.
- 2.** Лизосомальный путь деградации клеточных белков.