

# Биологическая роль белков



**КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ПРИМЕРЫ БЕЛКОВ С РАЗЛИЧНОЙ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФУНКЦИЕЙ.**

**ФЕРМЕНТЫ. КЛАССИФИКАЦИЯ И ЦИФРОВОЙ КОД  
ФЕРМЕНТОВ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ.  
ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ КИНЕТИКИ. КОНСТАНТА  
МИХАЭЛИСА-МЕНТЕН. ПРОЦЕССЫ, ПРОТЕКАЮЩИЕ В  
КАТАЛИТИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ ФЕРМЕНТОВ.  
ДРУГИЕ ГРУППЫ БЕЛКОВ.**

# Уникальные биологические функции белков

2

## ● Каталитическая функция

6 классов ферментов, всего в клетке насчитывают около 10 000 ферментов, которые катализируют около 2 000 реакций.

Известно 1 800 ферментов из них 150 выделены в кристаллическом виде.

## ● Транспортная функция

Гемоглобин – перенос кислорода. Альбумины сыворотки крови - транспорт липидов. Ряд других сывороточных белков образует комплексы с жирами, медью, железом, тироксином, витамином А и другими соединениями, обеспечивая их доставку в соответствующие органы-мишени.

## ● Защитная функция

Защитные белки-антитела синтезируются организмом (иммунной системой) в ответ на поступление в организм бактерий, токсинов, вирусов или чужеродных белков. Тромбин - предохраняет от потери крови при ранениях.

# Уникальные биологические функции белков

3

## ● Сократительная функция

Актин и миозин – специфические белки мышечной ткани. Белки цитоскелета обеспечивают тончайшие процессы жизнедеятельности клеток (расхождение хромосом в процессе митоза).

## ● Структурная функция

Фибриллярные белки - коллаген в соединительной ткани, кератин в волосах, ногтях, коже, эластин в сосудистой стенке и др.

## ● Гормональная функция

Инсулин, гормоны гипофиза, поджелудочной железы и др.

## ● Питательная (резервная) функция

Овальбумин - запасное вещество в куриных яйцах.

Казеин – запасное вещество в молоке

*Экспрессия генетической информации, генерирование и передача нервных импульсов, способность поддерживать давление в клетках и крови, буферные свойства, поддерживающие физиологическое значение рН внутренней среды.*

# Ферменты – биологические катализаторы

4

## **Общие свойства ферментов (Ф) и химических катализаторов (ХК) небелковой природы:**

- **Ф и ХК не входят в состав конечных продуктов реакции и не тратятся в процессе катализа, выходя из реакции в неизменном виде.**
- **Ф и ХК только ускоряют реакции протекающие и без них, не могут возбудить реакций, противоречащих законам термодинамики.**
- **Ф и ХК не смещают положение равновесия, а лишь ускоряют его достижение.**

# Ферменты – биологические катализаторы

5

## **Отличительные признаки ферментативного и химического катализа:**

- **Скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического.**
- **Ферменты обладают высокой специфичностью, направляя превращение вещества в строгое русло.**
- **Ферментативные процессы не дают побочных реакций, для них характерен 100% выход целевого продукта.**
- **Ферменты катализируют реакции в мягких условиях, то есть при обычном давлении, небольшой температуре и значениях pH, близких к нейтральным.**
- **Ферменты регулируемы.**
- **Скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента.**

# Строение ферментов

6

## ФЕРМЕНТЫ

Простые  
(полипептид)

Сложные  
(полипептид + небелковая компонента)



**Холофермент**

**Кофермент (КФ)** - если сравнительно независима от белковой части молекулы

**Простетическая группа (ПГ)** - если сравнительно прочно и постоянно связана с белковой частью

Соединение в **холофермент** осуществляется любыми типами связей, кроме ковалентных.

# ФУНКЦИИ КОФЕРМЕНТОВ (КФ) И ПРОСТЕТИЧЕСКИХ ГРУПП (ПГ)

7

1. Участие в акте катализа
2. Осуществление контакта между ферментом и субстратом
3. Стабилизация апофермента

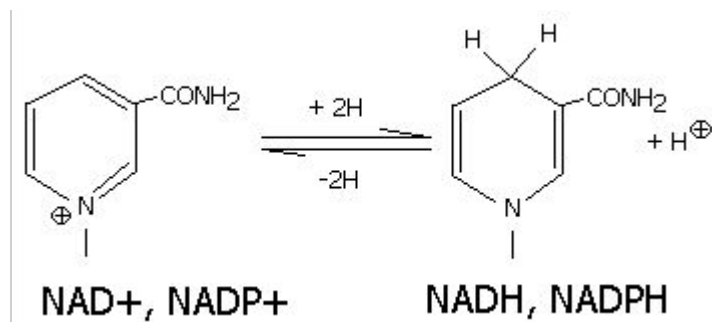
Апофермент, в свою очередь, усиливает каталитическую активность небелковой части (КФ и ПГ).

Например, одна и та же  $\text{NAD}^+$  является КФ многих дегидрогеназ, отличие - в апоферментной части.

# СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ КФ И ПГ

8

- ☐ нуклеотидного типа строения
- ☐ витамины и их производные
- ☐ металлы и металлосодержащие КФ и ПГ
- ☐ другие





# Классификация ферментов (КФ, ЕС)

9

- Четырех числовая система, первое число - класс (один из шести):
  1. Оксидоредуктазы (катализаторы окислительно-восстановительных реакций)
  2. Трансферазы (реакции переноса групп с одной молекулы на другую)
  3. Гидролазы (реакции с участием молекул воды)
  4. Лиазы (реакции негидролитического и неокислительного разрыва различных химических связей)
  5. Изомеразы (изменение строения внутри одной молекулы)
  6. Лигазы (Синтетазы) (соединение двух молекул с образованием новой химической связи, с участием энергии АТФ)



# Классификация ферментов (КФ, ЕС)

10

Внутри каждого класса происходит разделение на подклассы:

- ЕС 1.1 Действующие на СН-ОН группы донора
- ЕС 1.2 Действующие на альдегидные или оксо-группы донора
- ЕС 1.3 Действующие на СН-СН группы донора
- ЕС 1.4 Действующие на СН-NH<sub>2</sub> группы донора
- ЕС 1.5 Действующие на СН-NH группы донора
- ЕС 1.6 Действующие на NADH или NADPH

Внутри каждого подкласса происходит разделение на подподклассы:

- ЕС 1.1.1 Акцептор NAD или NADP
- ЕС 1.1.2 Акцептор- цитохром
- ЕС 1.1.3 Акцептор- кислород
- ЕС 1.1.4 Акцептор- сульфид
- ЕС 1.1.5 Акцептор- хинон или подобная группировка
- ЕС 1.1.99 Другой акцептор

# Классификация ферментов (КФ, ЕС)

11

- Последнее число - номер конкретного фермента:  
ЕС 1.1.1.1 alcohol dehydrogenase  
ЕС 1.1.1.2 alcohol dehydrogenase (NADP<sup>+</sup>)  
ЕС 1.1.1.3 homoserine dehydrogenase  
ЕС 1.1.1.4 (R,R)-butanediol dehydrogenase  
ЕС 1.1.1.5 acetoin dehydrogenase ... и т. д.
- <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>

# Номенклатура ферментов

12

- Ферменты имеют названия, которые разделяются на **«рабочие»** и **систематические**.
- «Рабочие» названия образуются из объединения названия субстрата, типа реакции и окончания "-аза".

ЛАКТАТ + ДЕГИДРОГЕНИзация + АЗА = ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА

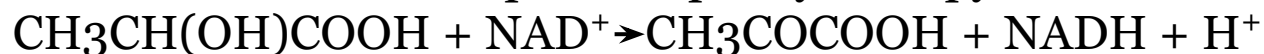
- Систематическое название фермента формируется следующим образом: название субстратов (через дробь), название типа химического превращения + аза

Та же лактатдегидрогеназа будет иметь систематическое название "L-лактат:NAD<sup>+</sup> оксидоредуктаза". ЕС 1.1.1.27

# КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ (КФ, ЕС)

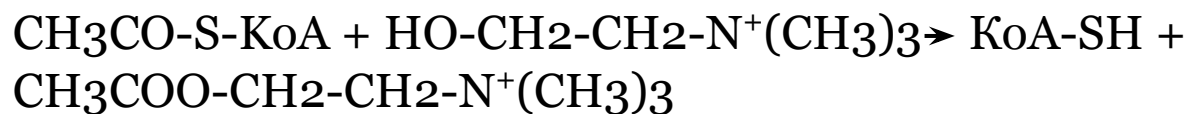
13

**1. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ** - катализируют реакции окисления-восстановления  
Лактатдегидрогеназа (LDH, ЕС 1.1.1.27) катализирует превращение молочной кислоты (лактат) в пировиноградную (пируват):



**2. ТРАНСФЕРАЗЫ** - катализируют реакции переноса групп с одного соединения на другое.

Холинацетилтрансфераза (перенос ацетильной группы), ЕС 2.3.1.6,  
систематическое название: ацетил-КоА: холин О-ацетилтрансфераза.



**3. ГИДРОЛАЗЫ (фосфатазы, эстеразы, фосфолипазы)** – катализируют разрыв связей с присоединением воды

Дипептидаза расщепляет дипептид на две аминокислоты при участии воды:

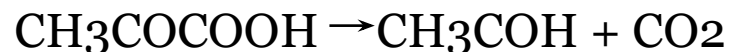


# КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ (КФ, ЕС)

14

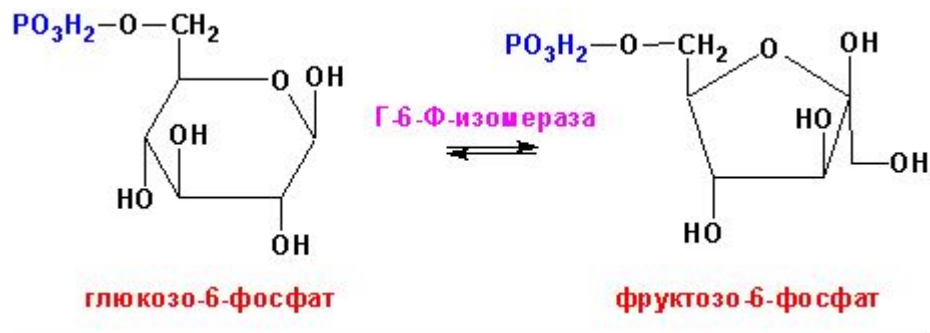
**4. ЛИАЗЫ (альдолазы, гидратазы-дегидратазы, синтазы, декарбоксилазы)** – катализируют реакции разрыва связей в субстрате без присоединения воды или окисления

пируватдекарбоксилаза (ЕС 4.1.1.1, 2-кетокислоты, карбоксилиаза) катализирует расщепление пировиноградной кислоты до уксусного альдегида с отщеплением  $\text{CO}_2$ :



**5. ИЗОМЕРАЗЫ (рацемазы, эпимеразы, мутазы)** – катализируют внутримолекулярные реакции.

Глюкозо-6-фосфат-изомераза (ЕС 5.3.1.9, D-глюкозо-6-фосфат кето-изомераза), например, превращает глюкозо-6-фосфат во фруктозо-6-фосфат и наоборот:



# КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ (КФ, ЕС)

15

**6. ЛИГАЗЫ (синтетазы)** - соединяют 2 части с использованием энергии АТФ. Реакции ферментов этого класса, как правило, необратимы.

6.1 - ферменты, катализирующие образование связей **C-O** (в том числе аминоксил-т-РНК-синтетазы),

6.2- образование связей **C-S**

6.3- связей **C-N**

6.4- связей **C-C**

6.5- связей **P-O**

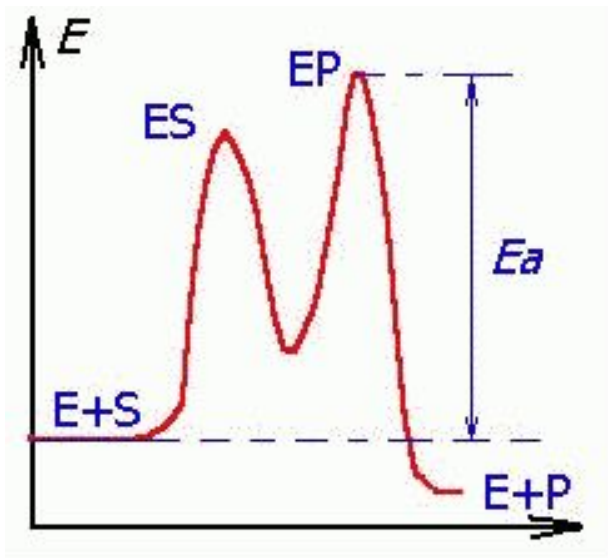
Например, к подклассу 6.4 относится фермент *пируваткарбоксилаза* (ЕС 6.4.1.1, *пируват: CO<sub>2</sub>-лигаза (АДФ-образующая)*), при участии которой происходит превращение пировиноградной кислоты в щавелевоуксусную:



# МЕХАНИЗМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

16

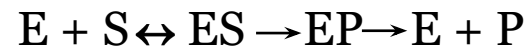
Катализ приводит к ускорению достижения равновесия за счет снижения энергии активации ( $E_a$ ), часто ступенчато.



Три стадии процесса:

- 1)  $E + S \rightarrow ES$  ( $K = k_1/k_{-1}$ ) (быстрая)
- 2)  $ES \rightarrow EP$  ( $k_2$ ) (медленная)
- 3)  $EP \rightarrow E + P$

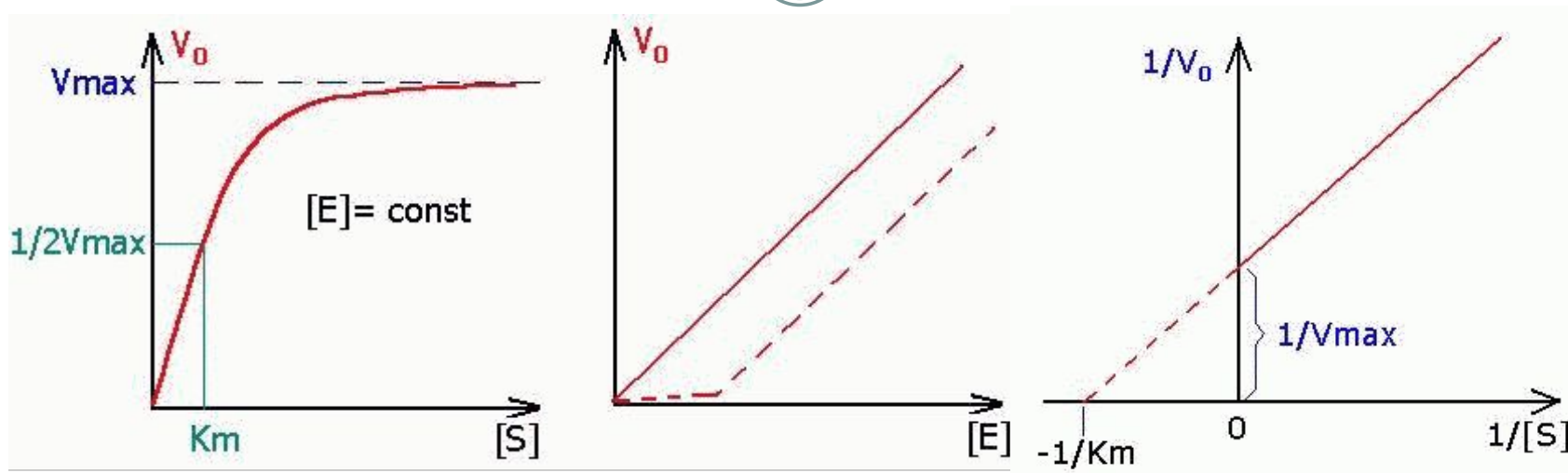
Таким образом, в момент равновесия скорости образования и исчезновения ферментсубстратного комплекса (ES) равны:





# ВЛИЯНИЕ НА НАЧАЛЬНУЮ СКОРОСТЬ РЕАКЦИИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФЕРМЕНТА [E] и СУБСТРАТА [S]

17



$[S]$ - зависимость гиперболическая,  $[E]$ - зависимость линейная

Уравнение Михаэлиса – Ментен:  $V = V_{max} [S] / (K_m + [S])$

- ✓ Константа Михаэлиса измеряется в моль/л и бывает от  $10^{-2}$  до  $10^{-7}$
- ✓ Чем меньше  $K_m$ , тем активнее фермент.
- ✓ При  $V = 1/2 V_{max}$ , имеем  $K_m = [S]$ .

Графическое выражение для скорости реакции в координатах Лайнуивера-Бэрка имеет вид прямой линии, отсекающей на оси X значение  $-1/K_m$ , а на оси Y- значение  $1/V_{max}$

# Влияние температуры на активность фермента

18



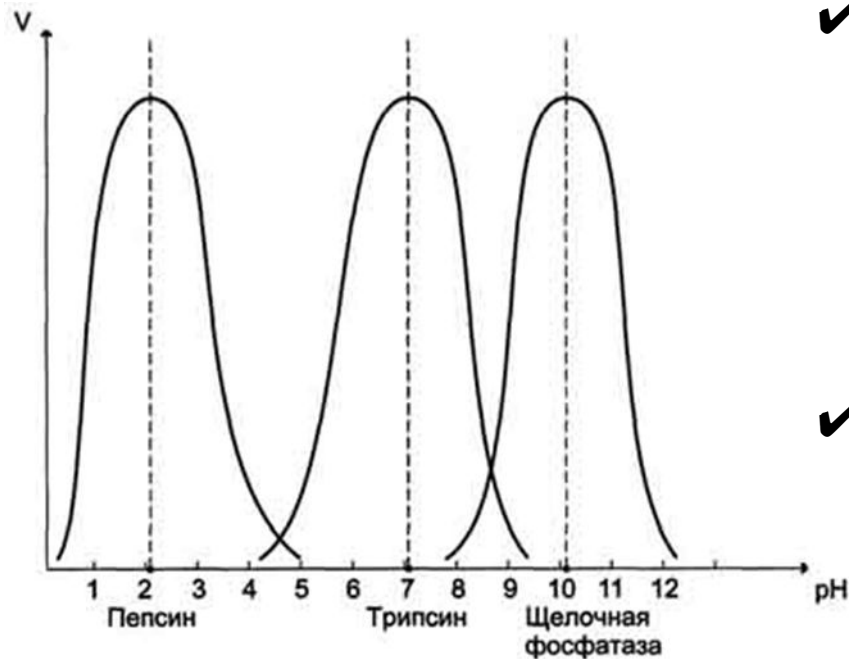
Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры

- ✓ С повышением температуры ускоряется движение молекул, что приводит к повышению вероятности взаимодействия реагирующих веществ.
- ✓ Кроме того, температура может повышать энергию реагирующих молекул, что также приводит к ускорению реакции.
- ✓ Однако скорость химической реакции, катализируемая ферментами, имеет свой **температурный оптимум**, превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, возникающим из-за термической денатурации белковой молекулы

Для большинства ферментов человека оптимальна температура **37-38 °C**. Однако в природе существуют и термостабильные ферменты. Например, **Taq-полимераза**, выделенная из микроорганизмов, живущих в горячих источниках, не инактивируется при повышении температуры до **95 °C**.

# Влияние pH на активность фермента

19



Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от pH среды

- ✓ Влияние pH на активность ферментов связано с ионизацией функциональных групп аминокислотных остатков данного белка, обеспечивающих оптимальную конформацию активного центра фермента.
- ✓ При отклонении pH от оптимальных значений происходит изменение ионизации функциональных групп молекулы белка. Это приводит к изменению конформации молекулы фермента и конформации активного центра; следовательно, нарушается присоединение субстрата, кофакторов и коферментов к активному центру.

## Единицы активности:

**Е** или **е.а.** - количество фермента, которое превращает 1 мкМоль субстрата за 1 мин.

**Удельная активность** – число единиц активности в 1 мг для данного фермента

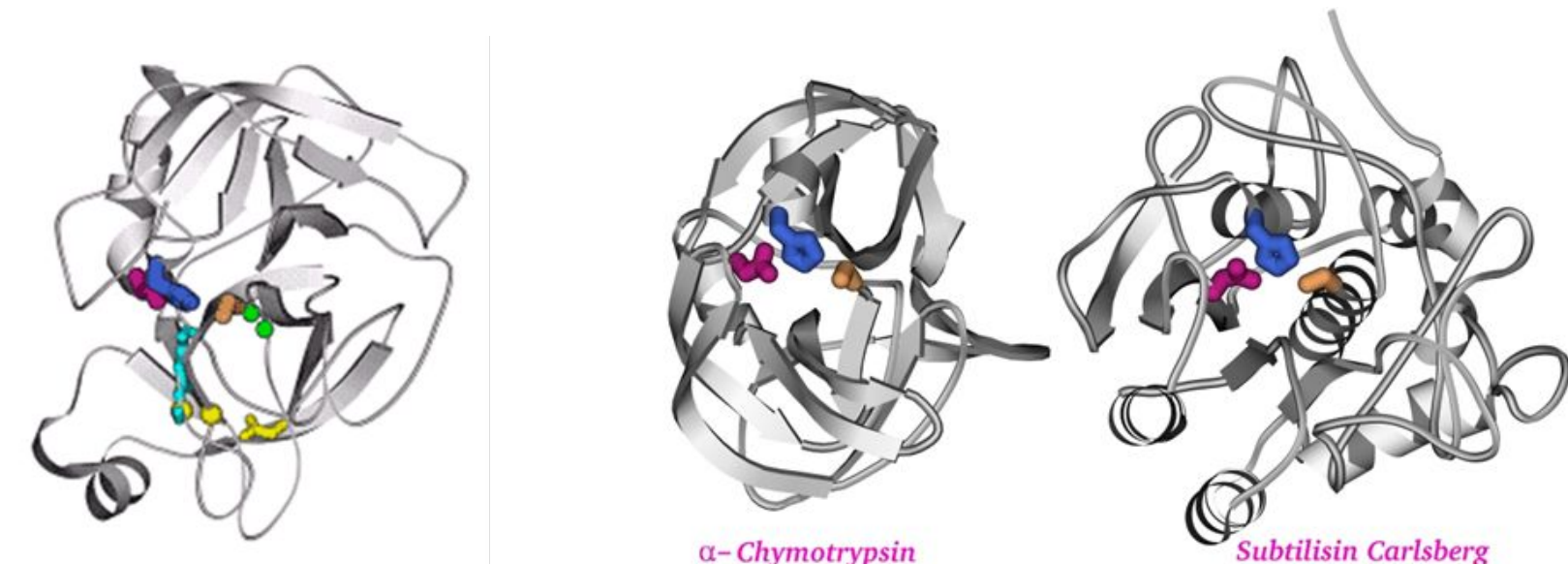
**Катал** - количество фермента, превращающее субстрат со скоростью 1 моль/сек.

1 Катал = 60 000 000 Е.

# Активный центр фермента

21

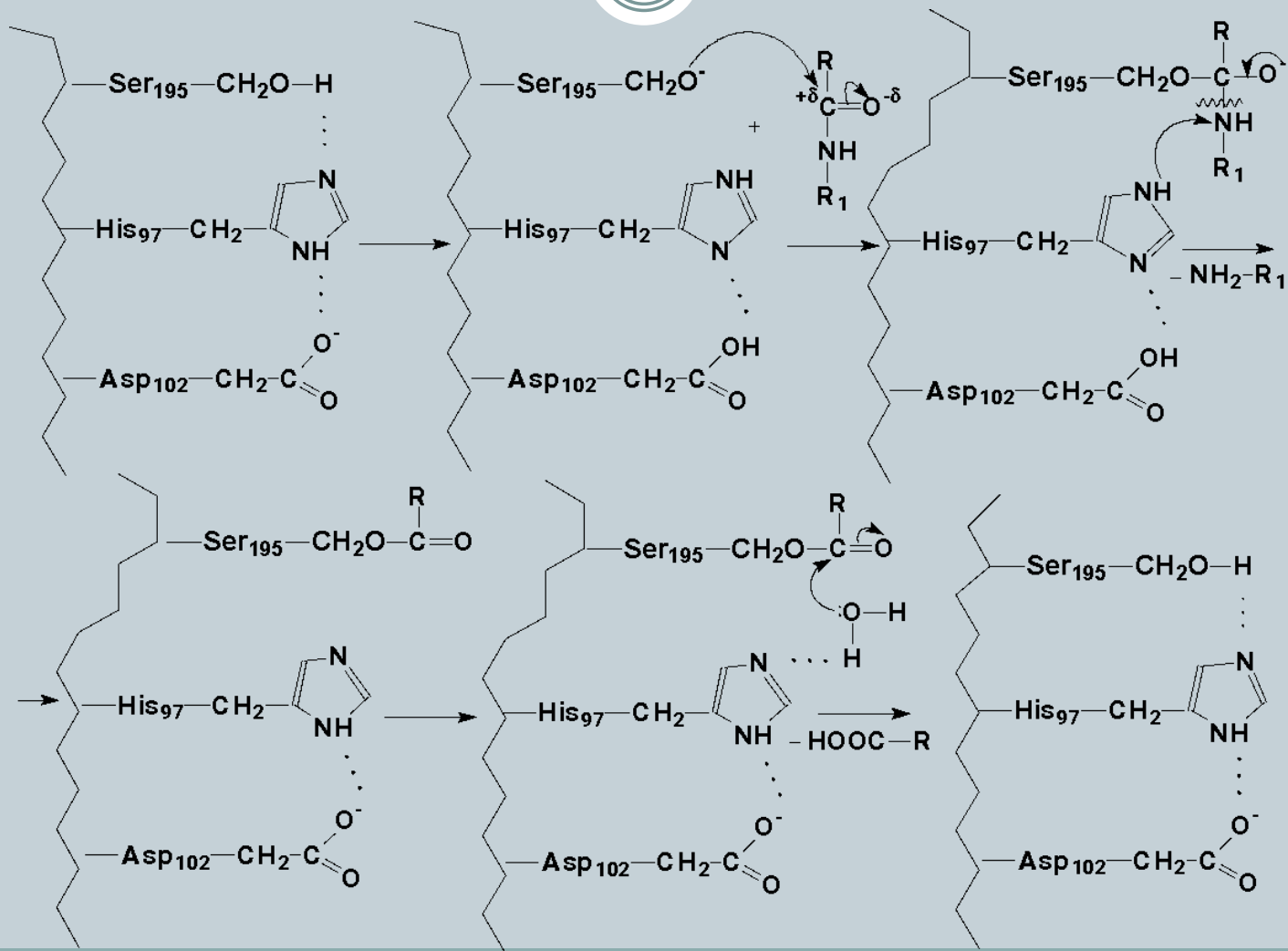
Область ферментативной молекулы, в которой происходит **связывание** (*адсорбционный центр, центр связывания*) и **превращение субстрата** (*каталитический центр*), называется **активным центром**



Показаны части активного центра: каталитического центра, где выделены боковые группы «триады переноса заряда» - Ser195, His57 и Asp102, и субстрат-связывающего центра - NH-группы, образующие оксианионовую дыру, неспецифическая субстрат-связывающая площадка, и группы, выстилающие специфический субстрат-связывающий карман.

# Механизм действия сериновых протеиназ

22



# Специфичность ферментов

23

Действие большинства ферментов высоко специфично

## Специфичность:

- реакционная специфичность
- субстратная специфичность

**Ферменты типа А** - высокоспецифичные ферменты (катализируют расщепление только одного типа связи в субстратах определенной структуры).

**Ферменты типа Б** обладают ограниченной реакционной специфичностью, но широкой субстратной специфичностью.

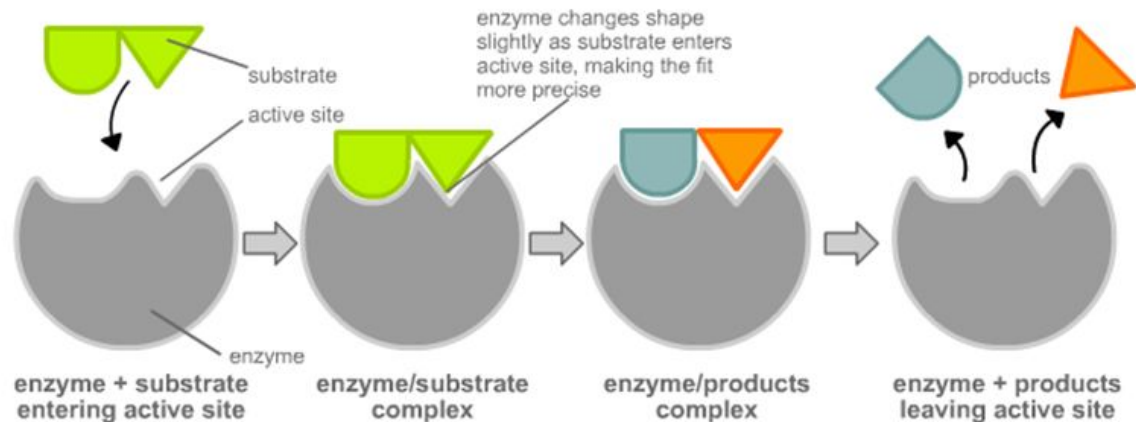
**Ферменты типа В** (с низкой реакционной и низкой субстратной специфичностями) встречаются редко.

- Специфичность достигается частичной комплементарностью формы, распределения зарядов и гидрофобных областей на молекуле субстрата и в центре связывания субстрата на ферменте.
- Ферменты демонстрируют высокий уровень **стереоспецифичности** (образуют в качестве продукта только один из возможных стереоизомеров или используют в качестве субстрата только один стереоизомер), **региоселективности** (образуют или разрывают химическую связь только в одном из возможных положений субстрата) и **хемоселективности** (катализируют только одну химическую реакцию из нескольких возможных для данных условий).

# Модель «ключ-замок»

24

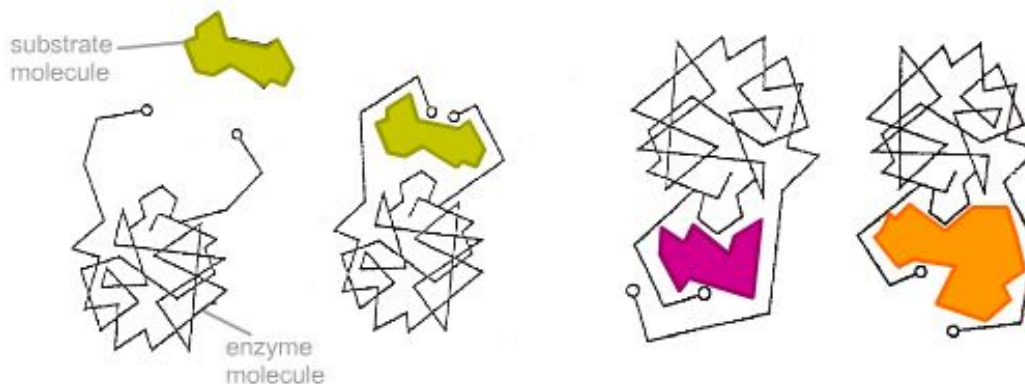
- ✓ В 1890 г. Эмиль Фишер предположил, что специфичность ферментов определяется точным соответствием формы фермента и субстрата. Такое предположение называется моделью «ключ-замок».
- ✓ Фермент соединяется с субстратом с образованием короткоживущего фермент-субстратного комплекса.
- ✓ Однако, хотя эта модель объясняет высокую специфичность ферментов, она не объясняет явления стабилизации переходного состояния, которое наблюдается на практике.





# Модель индуцированного соответствия

25



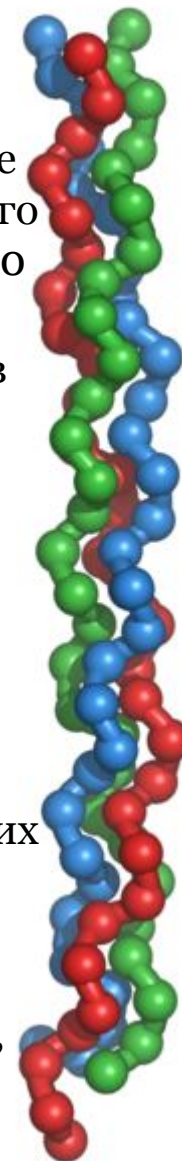
- В 1958 г. Дениел Кошланд предложил модификацию модели «ключ-замок». Ферменты, в основном, — не жесткие, а гибкие молекулы. Активный центр фермента может изменить конформацию после связывания субстрата. Боковые группы аминокислот активного центра принимают такое положение, которое позволяет ферменту выполнить свою каталитическую функцию. В некоторых случаях молекула субстрата также меняет конформацию после связывания в активном центре.
- В отличие от модели «ключ-замок», модель индуцированного соответствия объясняет не только специфичность ферментов, но и стабилизацию переходного состояния. Эта модель получила название «рука-перчатка».

# Коллаген - главный опорный белок

26

**Коллагены** — наиболее распространенные фибриллярные белки в организме животных. Они составляют 25% от общего количества белка. Молекулярная масса коллагена около 300 кДа, длина 300 нм, толщина 1,5 нм.

- ✓ Коллагены образуют нерастворимые нити (фибриллы), которые входят в состав межклеточного матрикса и соединительных тканей.
- ✓ Он образуется тройной суперспиралью, сложенной из трех полипептидов. При этом внутри каждого полипептида водородных связей нет — они есть только между нитями.
- ✓ Конформация всех остатков в каждой цепи коллагена близка к конформации полипролиновой спирали (левая спираль, с периодом равным 3).
- ✓ Для первичной структуры белка характерно высокое содержание глицина, низкое содержание серосодержащих аминокислот и отсутствие триптофана.
- ✓ Полипептидные цепи построены из часто повторяющихся фрагментов, имеющих характерную последовательность **-X-Y-Gly-**.
- ✓ В триадах третья аминокислота всегда **Gly**, вторая — **Pro** или **Lys**, первая — любая другая аминокислота, кроме трёх перечисленных.
- ✓ Около 21 % от общего числа остатков приходится на 3-гидроксипролин (**3Hyp**), 4-гидроксипролин (**4Hyp**) и 5-гидроксилизин (**5Hyl**).
- ✓ Gly в такой тройке необходим для образования водородных связей.



## Синтез коллагена:

Шаг 1. Биосинтез про- $\alpha 1$ -цепей и про- $\alpha 2$ -цепей (по 1300 остатков в каждой) в пропорции 2:1. (Gly-X-Y)<sub>n</sub>

Шаг 2. Гидроксилирование некоторых остатков Pro и Lys.

Шаг 3. Присоединение сахаров (Glc-Gal) к гидроксилированным остаткам.

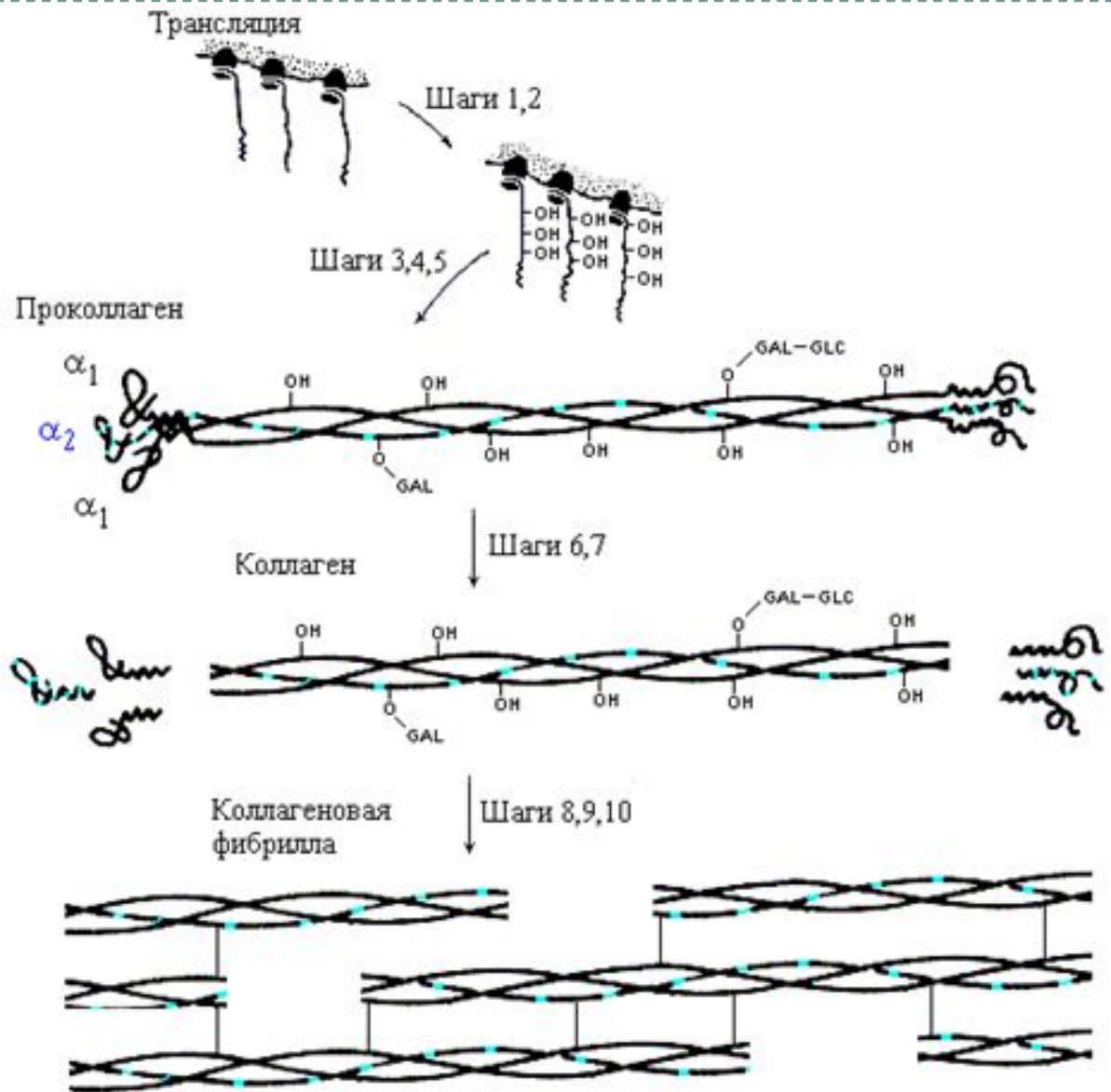
Шаг 4. Образование тримера и S-S связей на его концах.

Шаг 5. Образование тройной спирали в середине проколлагена.

Шаг 6. Секретия проколлагена во внеклеточное пространство.

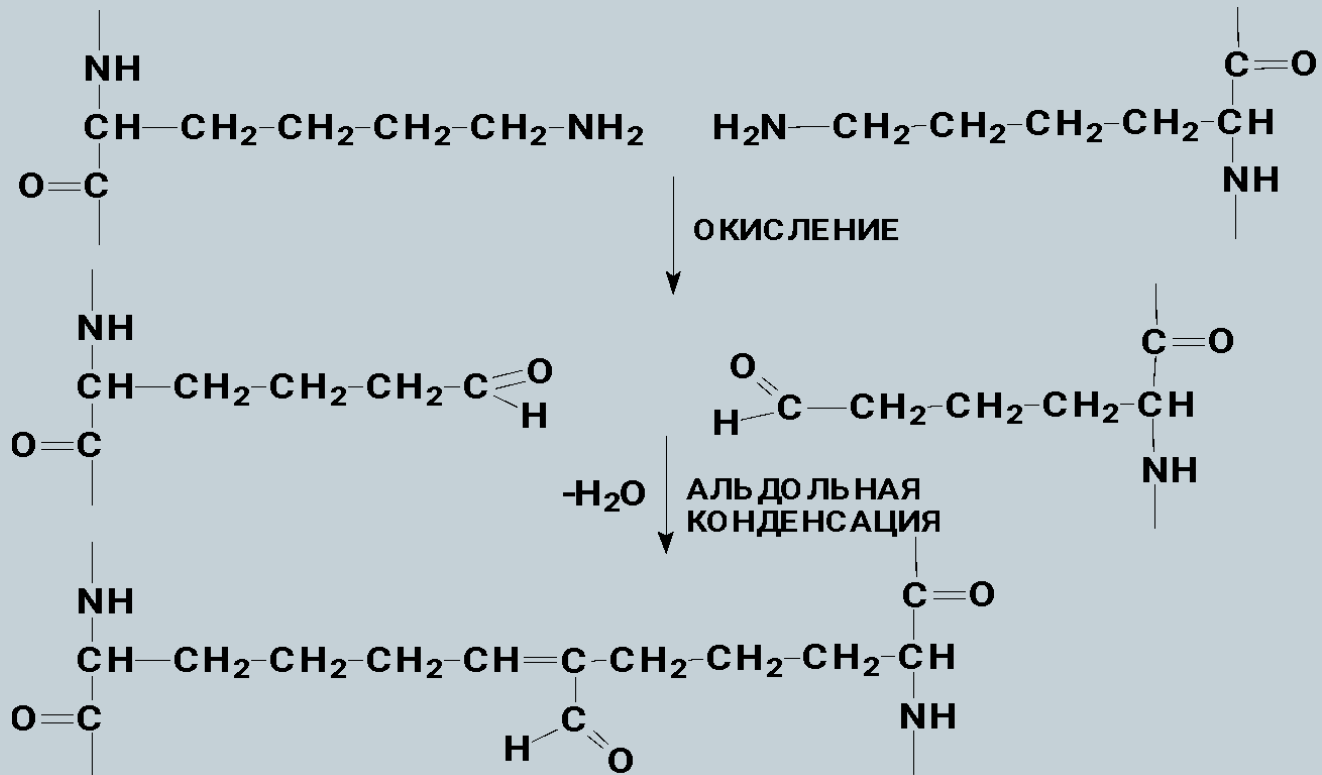
Шаг 7. Отщепление глобулярных частей.

Шаги 8-10. Спонтанное образование фибрилл из тройных суперспиралей, окончательная модификация аминокислотных остатков и образование ковалентных швов модифицированных остатков коллагеновых цепей.



# Образование ковалентных сшивок модифицированных остатков коллагеновых цепей

28



# ДНК – связывающие белки

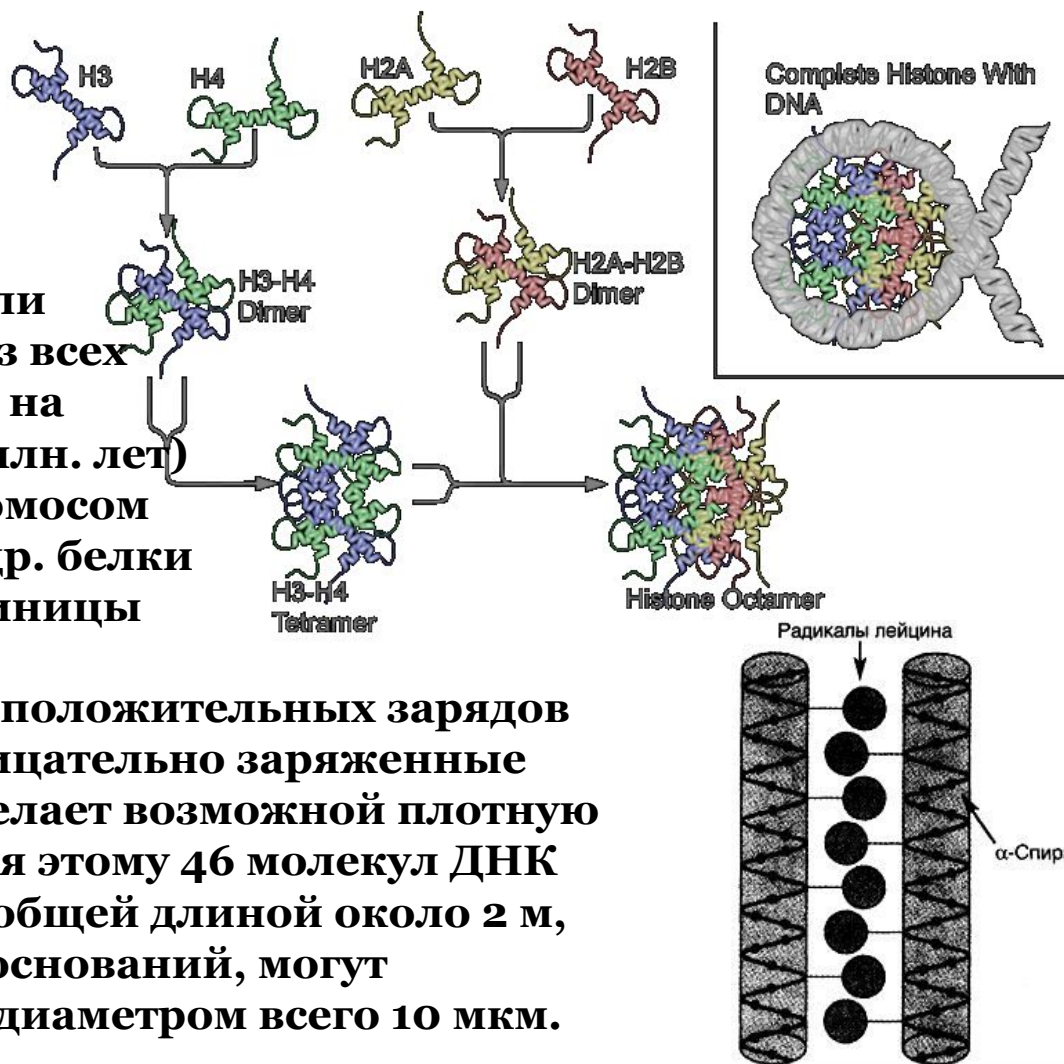
**Гистоны** – основной класс нуклеопротеинов, ядерных белков, необходимых для сборки и упаковки нитей ДНК в хромосомы.

**Гистоны** – каждая 4 АК – Lys или Arg – самые консервативные из всех известных белков (замена 1 АК на 100 а.о. проходила 1 раз в 600 млн. лет)

**Гистоны** – половина массы хромосом  
**Хроматин** = Гистоны + ДНК + др. белки  
**Нуклеосомы** – структурные единицы хроматина (гистоны с ДНК)

**Гистоны** нейтрализуют за счет положительных зарядов аминокислотных остатков отрицательно заряженные фосфатные группы ДНК, что делает возможной плотную упаковку ДНК в ядре. Благодаря этому 46 молекул ДНК диплоидного генома человека общей длиной около 2 м, содержащих в сумме  $6 \cdot 10^9$  пар оснований, могут поместиться в клеточном ядре диаметром всего 10 мкм.

Молекулы гистонов объединяются в олигомерные комплексы, содержащие 8 мономеров с помощью «лейциновых застежек», несмотря на сильный положительный заряд молекул.



# Мембранные белки

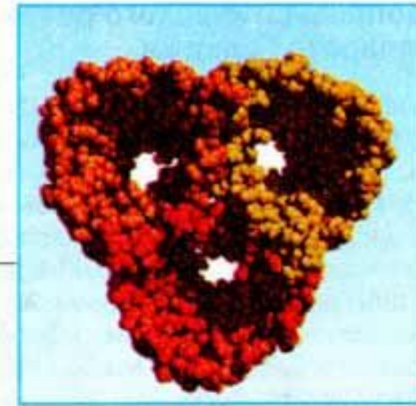
**Интегральные мембранные белки** имеют трансмембранные спирализованные участки (домены), которые однократно или многократно пересекают липидный бислой. Такие белки прочно связаны с липидным окружением.

**Периферические мембранные белки** удерживаются на мембране с помощью липидного «якоря» и связаны с другими компонентами мембраны; например, они часто бывают ассоциированы с интегральными мембранными белками.

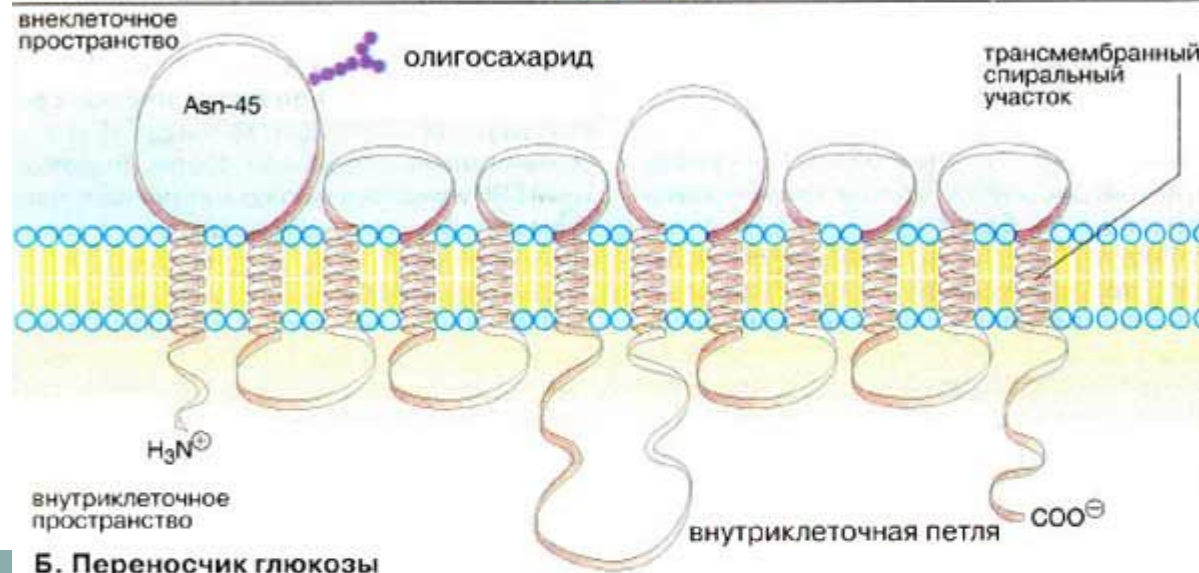
У интегральных мембранных белков фрагмент пептидной цепи, пересекающий липидный бислой, обычно состоит из 21-25 преимущественно гидрофобных аминокислот, которые образуют правую  $\alpha$ -спираль с 6 или 7 витками (трансмембранная спираль).

Биологическая роль белков. Лекция

30



пориновый тример (вид сверху)





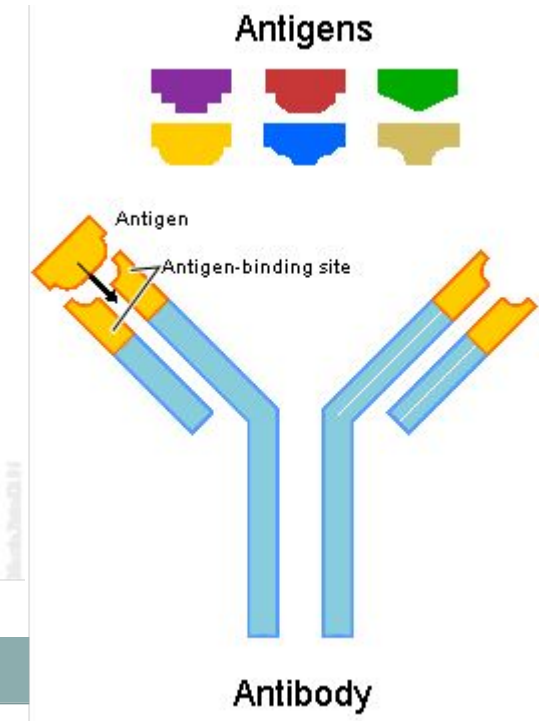
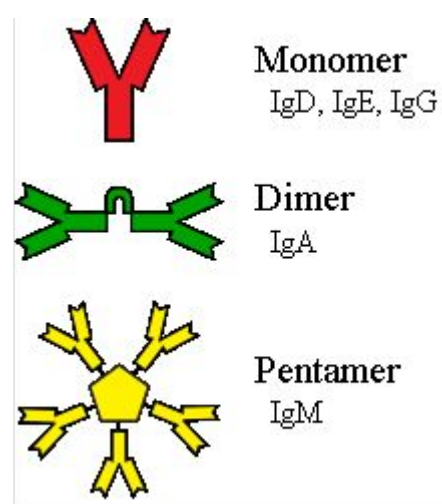
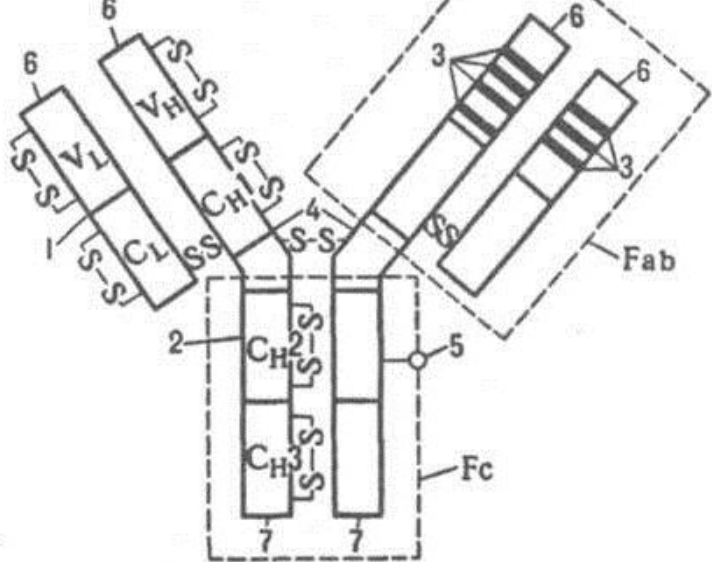
# Защитные белки

32

**Иммуноглобулины, антитела, образуются в организме при попадании в него некоторых чужеродных веществ — антигенов — и обладают способностью избирательно соединяться с теми же антигенами или (в меньшей степени) со сходными с ними по строению веществами, вызывая тем самым иммунный ответ организма.**

## Строение иммуноглобулина G:

1 - легкая цепь; 2 - тяжелая цепь; 3 - гипервариабельные участки; 4 - шарнирная область; 5 - остаток олигосахарида; 6 - N-концы; 7 - C-концы;  $V_L$  и  $V_H$  - соотв. вариабельные домены легкой и тяжелой цепей;  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$  - постоянные домены тяжелой цепи



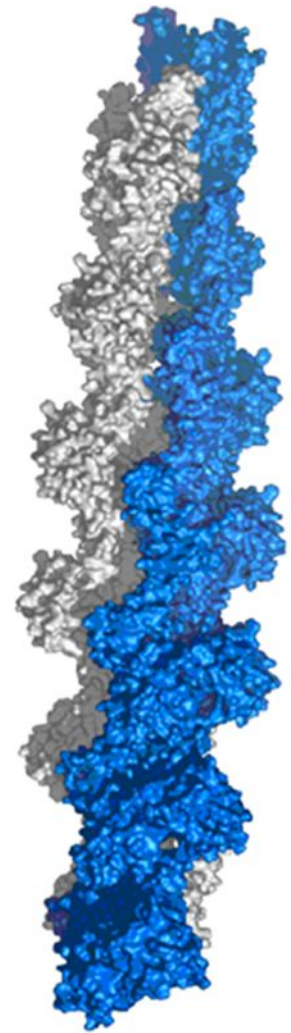
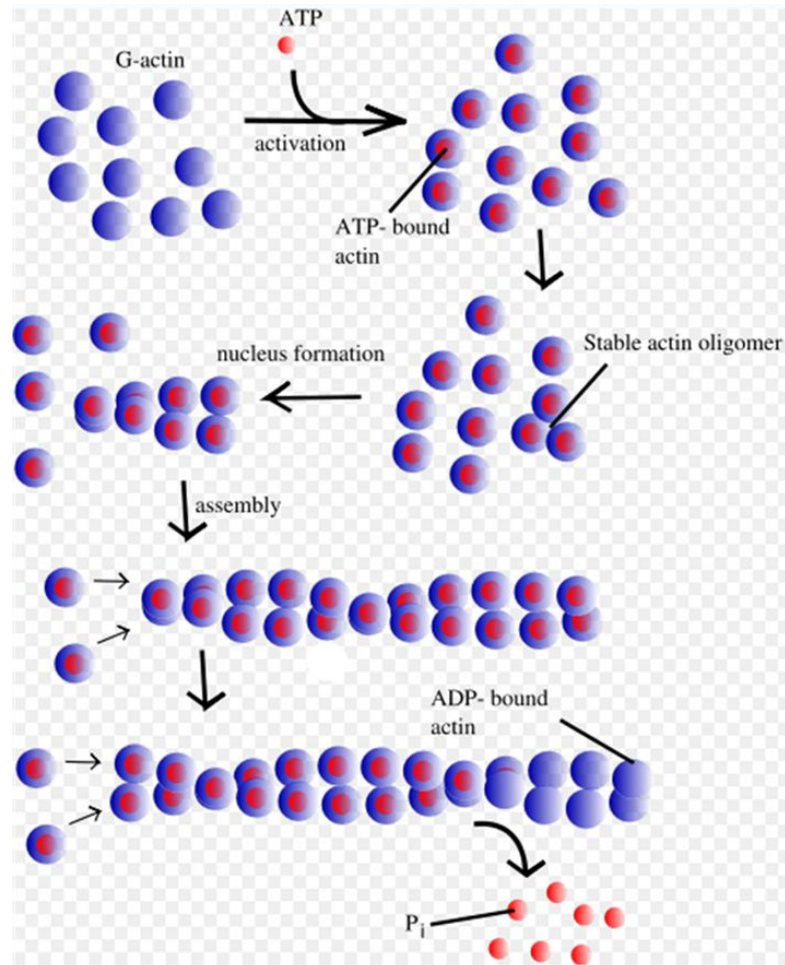


# Сократительные белки

33



G-актин (42000 Да)



F – актин

# Сократительные белки

34

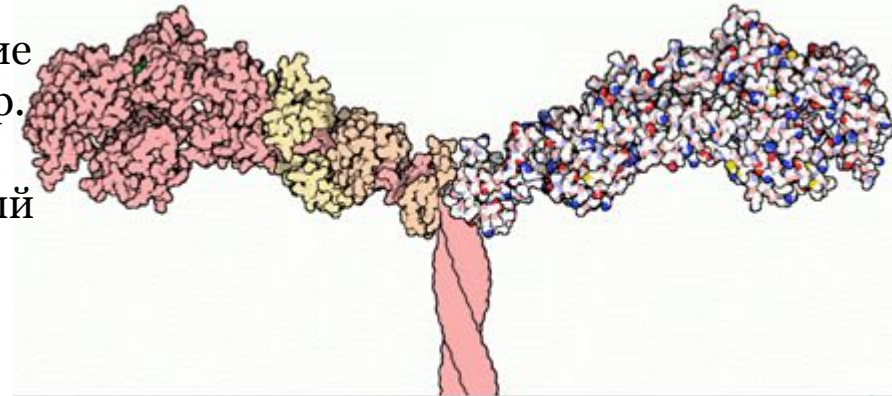
**МИОЗИН** (от греч. *myos*-мышца), белок сократительных волокон мышц. Его содержание в мышцах около 40% от массы всех белков (в др. тканях и клетках 1-2%).

Молекула миозина представляет собой длинный фибриллярный стержень (хвост), несущий на одном конце две глобулярные головки. Длина хвоста около 160 нм, диаметр 3 нм.

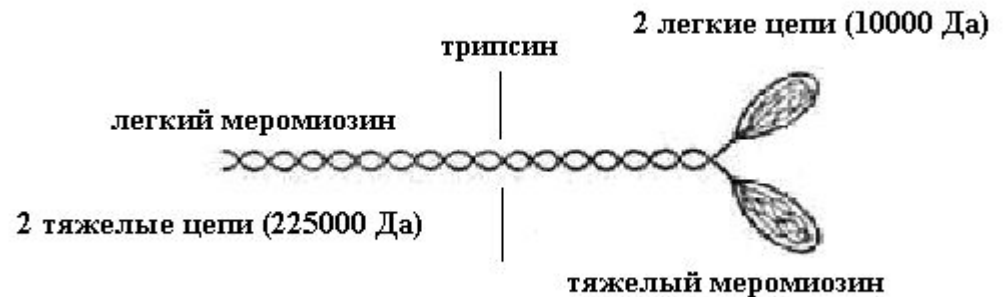
N-Концевые части тяжелых цепей миозина располагаются в головках.

Особенность аминокислотного состава тяжелых цепей - наличие остатков метилированных аминокислот: **3-метилгистидина, N<sup>6</sup>-моно- и N<sup>6</sup>-триметиллизина.**

Содержание  $\alpha$ -спиралей в головках и хвосте молекулы составляет соответственно 33 и 94%.



Миозин (480 000 Да)

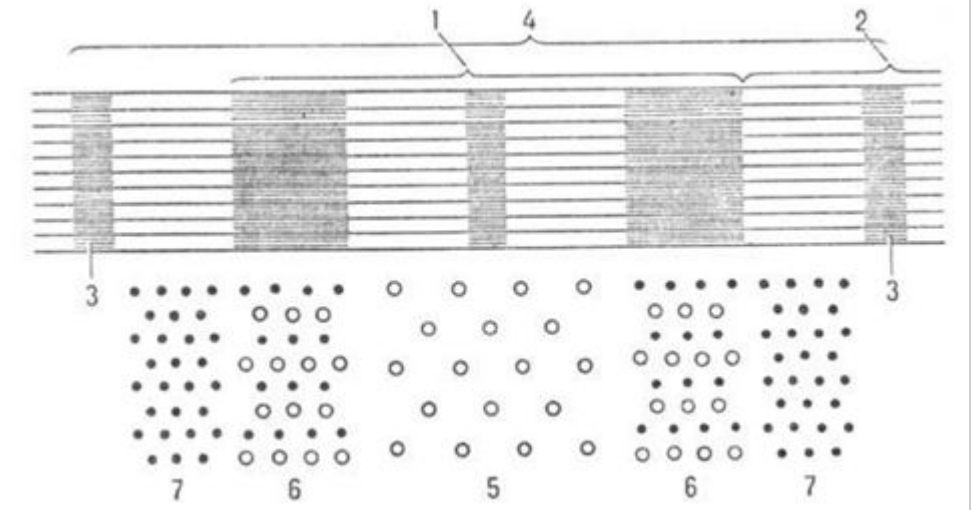


# Акто-миозиновый комплекс

35

**Схема продольного разреза участка миофибриллы**  
(1 -диск А, 2-диск I, 3-пластинка Z, 4-саркомер);

**Схема поперечного среза миофибриллы** (5-только нити миозина, 6-нити актина и миозина, 7-только нити актина).



**Схема поперечнополосатой мышцы в покое (а) и при ее сокращении (б);**

1 - филаменты миозина;  
2 - филаменты актина.

