

Курс лекций по энзимологии

- Лектор
- Шумянцева Виктория Васильевна, д.б.н.
профессор кафедры биохимии МБФ
РНИМУ им. Н.И.Пирогова,
- Зав. лабораторией биоэлектрохимии
ФГБУ «ИБМХ» им. В. Н. Ореховича
- Тел. 499 246 58 20; ком 354; корпус Б

Энзимология

- Основная цель исследований в энзимологии - изучение химических основ биологических процессов живых систем, интеграция химии, биологии, химической кинетики, химической технологии, молекулярных аспектов ферментативного катализа, термодинамики биологических процессов.
- Термин «фермент» (*fermentum*) происходит от латинского *fervere* - вскипать, пениться, и отражает процесс пенообразования при спиртовом брожении.

- Ключевое место в развитии современной биомолекулярной химии и технологии занимают ферменты (энзимы) – белковые катализаторы различных процессов.
- В курсе **энзимологии – науки о ферментах** – мы будем изучать молекулярные и кинетические аспекты ферментативного катализа, биотехнологические и нанобиотехнологические процессы на их основе.
- Развитие биотехнологии и генетической инженерии сделало возможным получение и производство **ферментов с новыми свойствами** в неограниченных количествах как для научных исследований, так и для практической медицины.

Структурная биохимия

Белки. Первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура белков

- Основой биополимерной цепи, формирующей белки и ферменты, являются α -аминокислоты. В природе известно более 500 аминокислот, однако белки формируются из 20 α -аминокислот. Реакция синтеза белков является реакцией **поликонденсации**, при которой образуются **амидные (пептидные) связи** между карбоксильной группой и аминогруппой аминокислоты. Реакция образования пептидной связи обратима. Константа равновесия K может быть вычислена на основании свободной энергии ΔG реакции образования пептидной связи.
 - $K = \exp[\Delta G^\circ / (RT)]$
- Стандартная свободная энергия $\Delta G^\circ = 18$ кДж/моль для образования дипептида глицилглицина.

Белки.

- В соответствии с принципами химической термодинамики процесс протекает самопроизвольно, если свободная энергия ΔG° реакции отрицательно. Поэтому реальный синтез белков в биосистемах идет с одновременным расходом АТФ.
- $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} = \text{АДФ} + \text{H}_3\text{PO}_4$, $\Delta G^\circ = -34$ кДж/моль
- **Разнообразие белковых структур** колоссально, $N=20^n$, где N – число возможных вариантов структур в белке, n- число аминокислот в белке.
- Для белка, состоящего из 100 аминокислот, число возможных структур равно $20^{100} = 10^{130}$
- Для сравнения: число нуклонов (протонов и нейтронов) во Вселенной составляет 10^{80} , что в 10^{50} меньше .

Строение белков.

- Ферменты –это белки с каталитическими функциями.
- Ферменты (энзимы)–это глобулярные белки, содержащие как регулярные участки, (α -спирали и β -листы), так и нерегулярные области типа полимерных петель.
- Основой белка является полипептидная цепь (**первичная структура**), в которой аминокислоты связаны **ковалентной амидной (пептидной) связью**.

Аминокислоты — структурные компоненты белков.

- Аминокислоты — структурные компоненты белков. В природе известно более 500 различных аминокислот, однако белки формируются из 20 α -аминокислот. Белки, это биологические гетерополимеры, мономерами которых являются различные аминокислоты.
- $\text{NH}_2\text{-CH(R)-COOH}$
- В зависимости от вида радикала **R** основные аминокислоты делят на **три группы**:
- 1) **неполярные** (аланин, метионин, валин, пролин, лейцин, изолейцин, триптофан, фенилаланин);
- 2) **полярные незаряженные** (аспарагин, глутамин, серин, глицин, тирозин, треонин, цистеин);
- 3) **полярные заряженные** (аргинин, гистидин, лизин — положительно; аспарагиновая и глутаминовая кислоты — отрицательно).

Аминокислоты — структурные компоненты белков

- Боковые цепи аминокислот (радикал) могут быть гидрофобными или гидрофильными,
- У растений все необходимые аминокислоты синтезируются из первичных продуктов фотосинтеза. Человек и животные не способны синтезировать ряд протеиногенных аминокислот и должны получать их в готовом виде вместе с пищей. Такие аминокислоты называются *незаменимыми (10 аминокислот)*. К ним относятся
- лизин, валин, лейцин, изолейцин, треонин, фенилаланин, триптофан, метионин; аргинин и гистидин.
- Для человека *абсолютно незаменимыми* являются лизин, фенилаланин, триптофан.
- В растворе аминокислоты могут выступать в роли как кислот, так и оснований, т. е. они являются *амфотерными соединениями* ($\text{NH}_2 - \text{CH}(\text{R}) - \text{COOH}$)

В нейтральной среде аминокислоты существуют в виде биполярных ионов - цвиттер-ионов т.е.

не $\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COOH}$, а $\text{NH}_3^+ - \text{R} - \text{COO}^-$

Аминокислоты

- Все аминокислоты, за исключением глицина $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, имеют хиральный (оптически активный) атом в α -положении $\text{NH}_2-\text{C}^*\text{H}(\text{R})-\text{COOH}$
- Все природные аминокислоты в белках представлены левовращающим L-стереоизомером.

АМИНОКИСЛОТЫ

- Первичная структура белка записана в молекулах ДНК в виде последовательности тринуклеотидных фрагментов – кодонов. При этом из 4 гетероциклических оснований может быть составлено 64 сочетания для 20 аминокислот, т.е. код является **вырожденным** (одной аминокислоте соответствует несколько кодонов).

АМИНОКИСЛОТЫ

- Лейцин, серин, аргинин имеют 6 кодонов, а триптофан и метионин – один кодон.
- Наиболее распространенной в природе аминокислотой является
- 1. **лейцин** - среднее содержание в биологическом мире 9,5%,
- 2. аланин – 7,6%,
- 3. серин - 7,1%.
- Наиболее редкая аминокислота – **триптофан** 1,2 %

Пептиды.

- Пептиды. Аминогруппа одной аминокислоты способна вступать в реакцию с карбоксильной группой другой аминокислоты.
- Образующаяся при этом молекула представляет собой дипептид, а связь -CO-NH- называется пептидной связью:
- На одном конце молекулы дипептида находится свободная аминогруппа, а на другом — свободная карбоксильная группа. Благодаря этому дипептид может присоединять к себе другие аминокислоты, образуя олигопептиды. Если таким образом соединяется много аминокислот (более десяти), то получается *полипептид*.
- Пептиды играют важную роль в организме. Многие олиго- и полипептиды являются гормонами, антибиотиками, токсинами.

Пептиды.

- К олигопептидам относятся окситоцин, вазопрессин, тиреотропин, а также брадикинин (пептид боли) и некоторые опиаты («естественные наркотики» человека), выполняющие функцию обезболивания. К олигопептидам относятся и некоторые антибиотики (например, грамицидин S).
- Многие гормоны (инсулин, адренокортикотропный гормон и др.), антибиотики (например, грамицидин A), токсины (например, дифтерийный токсин) являются полипептидами.

-

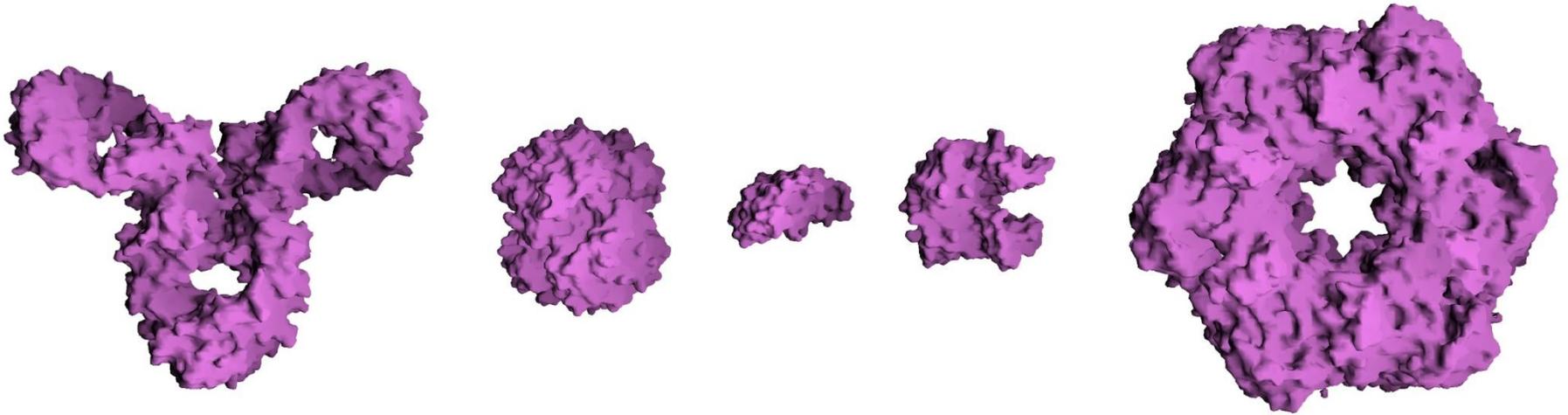
Строение белков.

- Основой белка является полипептидная цепь (**первичная структура**), в которой аминокислоты связаны **ковалентной амидной (пептидной) связью**.
- Белки представляют собой полипептиды, в молекулу которых входит от пятидесяти до нескольких тысяч аминокислот с относительной молекулярной массой свыше 10 000.
- **Вторичная структура** – укладка полипептидных цепей в регулярные элементы типа **α -спиралей** и **β -листов** (**β -складчатая структура**), стабилизированных водородными связями. Помимо регулярных вторичных структур типа α -спиралей и β -листов белки содержат нерегулярные элементы, такие как петли, связывающие α -спирали и β -листы.
- Полная классификация белков по вторичной структуре представлена в базах данных Dai/FSSP, CATH, SCOP).

Первичная структура

- **Первичная структура** — последовательность аминокислот, ковалентно связанных в полипептидную цепь. Важными особенностями первичной структуры являются консервативные мотивы : сочетания аминокислот, важных для функции белка. Консервативные мотивы сохраняются в процессе эволюции видов, **по ним можно предсказать функцию неизвестного белка.**

Сравнительный размер белков. Слева направо: [Антитело](#) (IgG),
[гемоглобин](#), [инсулин](#) (гормон), аденилаткиназа (фермент) и
глутаминсинтетаза (фермент)

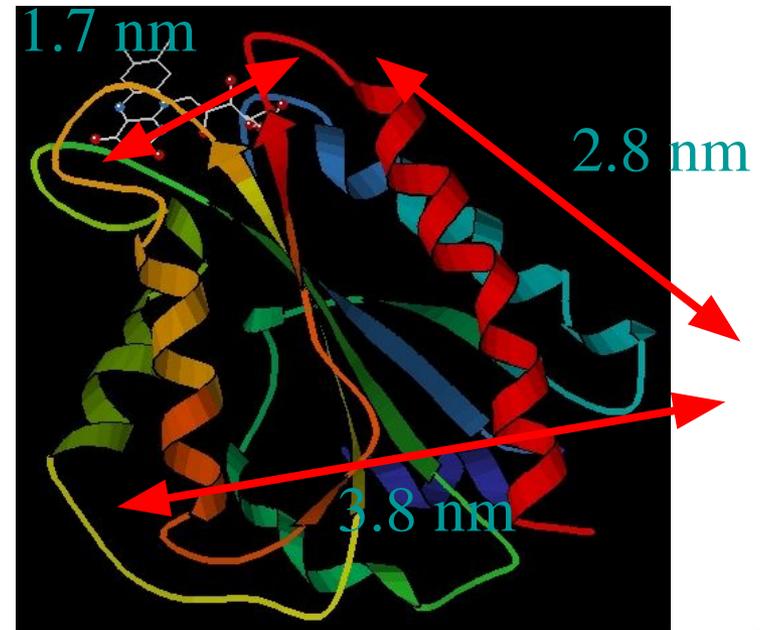
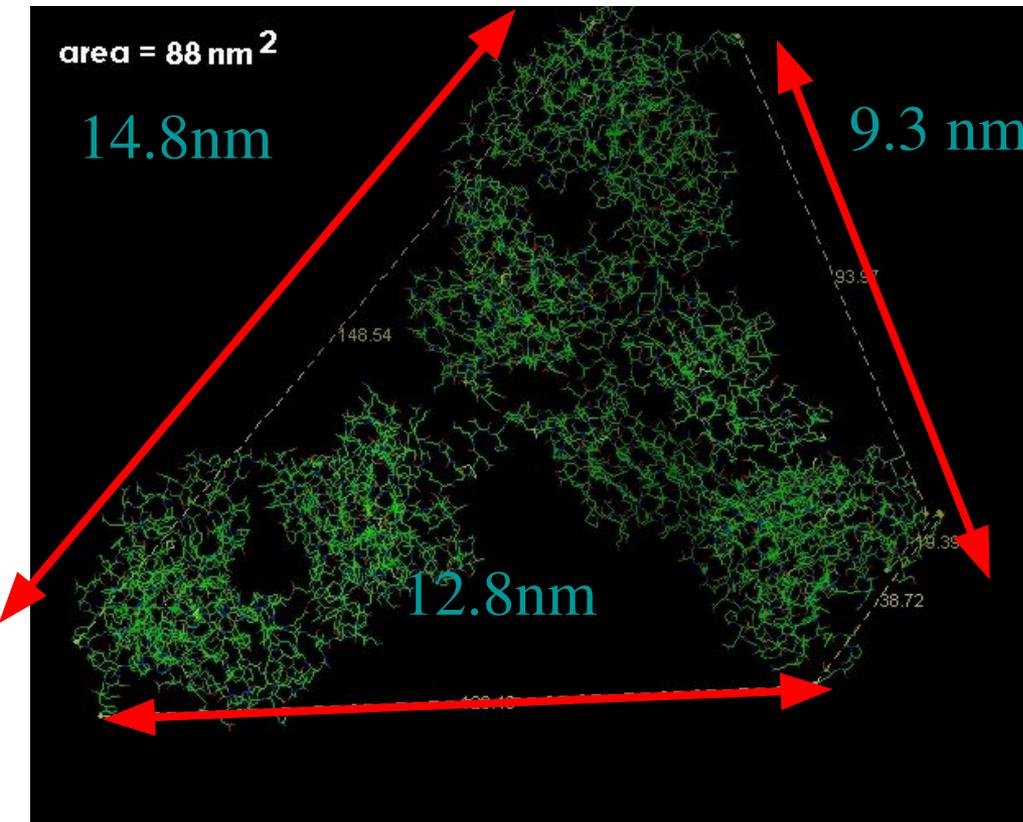


14-12 нм

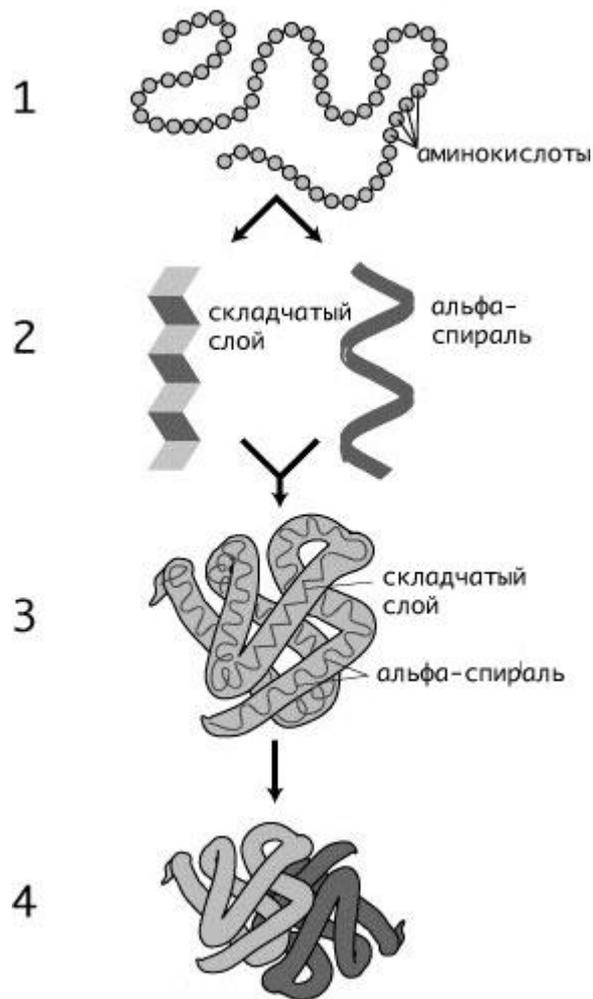
Размеры белков имеют нанометровый диапазон!!!

Сравнительные размеры белков

АНТИТЕЛО



Цитохром Р450



Структурная химия белков

Базисным положением структурной химии белка является представление о том, что **последовательность аминокислот** полипептидной цепи (**первичная структура**) **определяет все последующие структуры** в иерархии, включая структуру активного центра фермента, а также возможность образования компактной функционально значимой структуры и комплексов с другими белковыми молекулами или биологической мембраной.

Первичная структура стабилизирована ковалентными пептидными (амидными) связями.

В настоящее время в Интернете находятся несколько баз данных и программ.

1. Поиск гомологичных белков, обладающих близкой первичной структурой (программа BLAST).
2. База данных SWISS-PROT.
3. База данных HSSP (<http://www.san.der.embl-heidelberg.de/hsspl>)

Вторичная структура белков

- α - Спирали и β -структуры (складки или листы) стабилизированы **водородными связями**. Водородные связи образуются между атомом кислорода и одной и атомом азота другой аминокислоты, отстоящей от первой на четыре (3,6) аминокислотных остатка. На один виток спирали приходится 3,6 аминокислотных остатков
- $\text{-NH-CH(R)-C(O)- NH-CH(R)-C(O)- NH-CH(R)-C(O)- NH-CH(R)-C(O)-NH}$
- 1 2 3 4
- Для L-аминокислот **правосторонняя** α - спираль устойчивей левосторонней.
- Структура белковой молекулы может быть стабилизирована и дисульфидными связями (-S-S-)
- (ДНК спираль правозакрученная, по часовой стрелке)

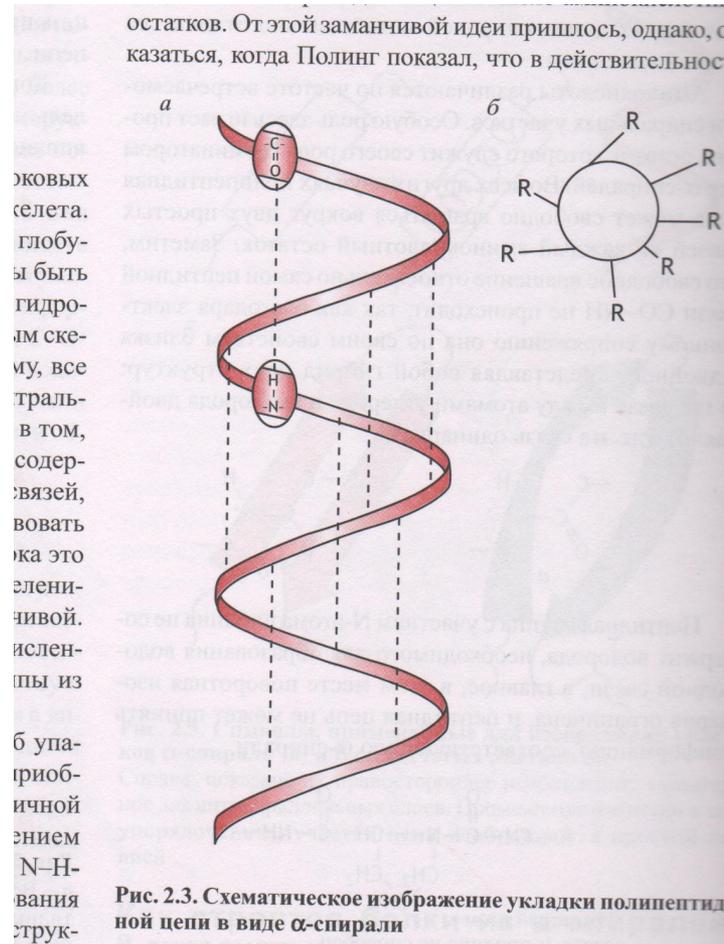
- **Вторичная структура** — локальное упорядочивание фрагмента полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями и гидрофобными взаимодействиями

- α -спирали — плотные витки вокруг длинной оси молекулы, **один виток составляют 4 аминокислотных остатка**, спираль стабилизирована водородными связями между Н и О пептидных групп, отстоящих друг от друга на 4 звена. Спираль построена исключительно из одного типа стереоизомеров аминокислот (L), хотя она может быть как левозакрученной, так и правозакрученной, в белках преобладает **правозакрученная**. Спираль нарушают электростатические взаимодействия глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, близкорасположенные аспарагин, серин, треонин и лейцин могут стерически мешать образованию спирали, пролин вызывает изгиб цепи и также нарушает α -спирали
- Термин « α -спираль» был введен Л. Полингом (1951 г.), открывшим укладку пептидной цепи в виде правосторонней спирали в белке α -кератине.

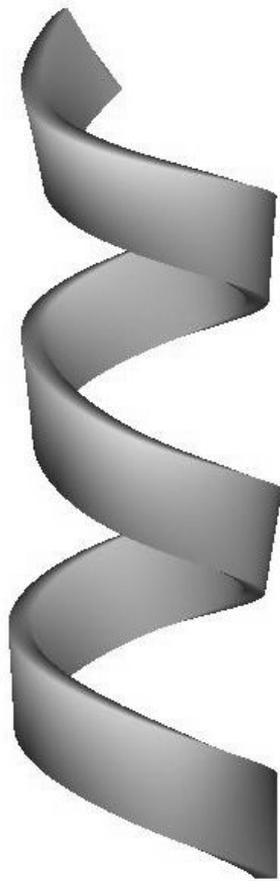
- β -листы (складчатые слои) — несколько зигзагообразных полипептидных цепей, в которых водородные связи образуются между относительно удалёнными друг от друга в первичной структуре аминокислотами или разными цепями белка, а не близко расположенными, как имеет место в α -спирали. Эти цепи обычно направлены N-концами в противоположные стороны (антипараллельная ориентация).
- Для образования β -листов важны небольшие размеры R-групп (радикалов) аминокислот, преобладают обычно [глицин](#) и [аланин](#).

α -Спираль

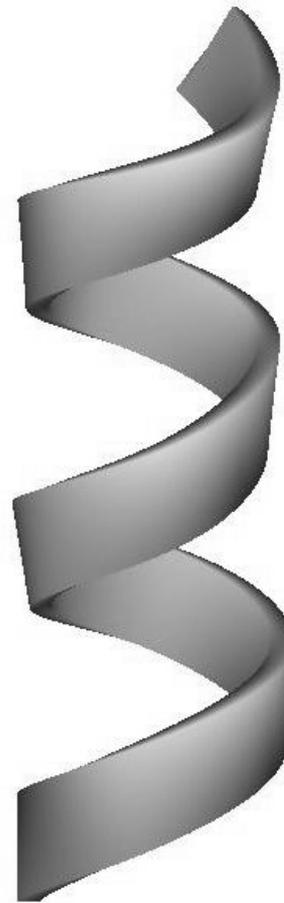
остатков. От этой заманчивой идеи пришлось, однако, отказаться, когда Полинг показал, что в действительности



ковых
селекта.
глобу-
ы быть
гидро-
м ске-
му, все
траль-
в том,
содер-
ввязей,
вовать
ка это
елени-
чивой.
ислен-
пы из
б упа-
риоб-
ичной
ением
N-H-
вания
струк-

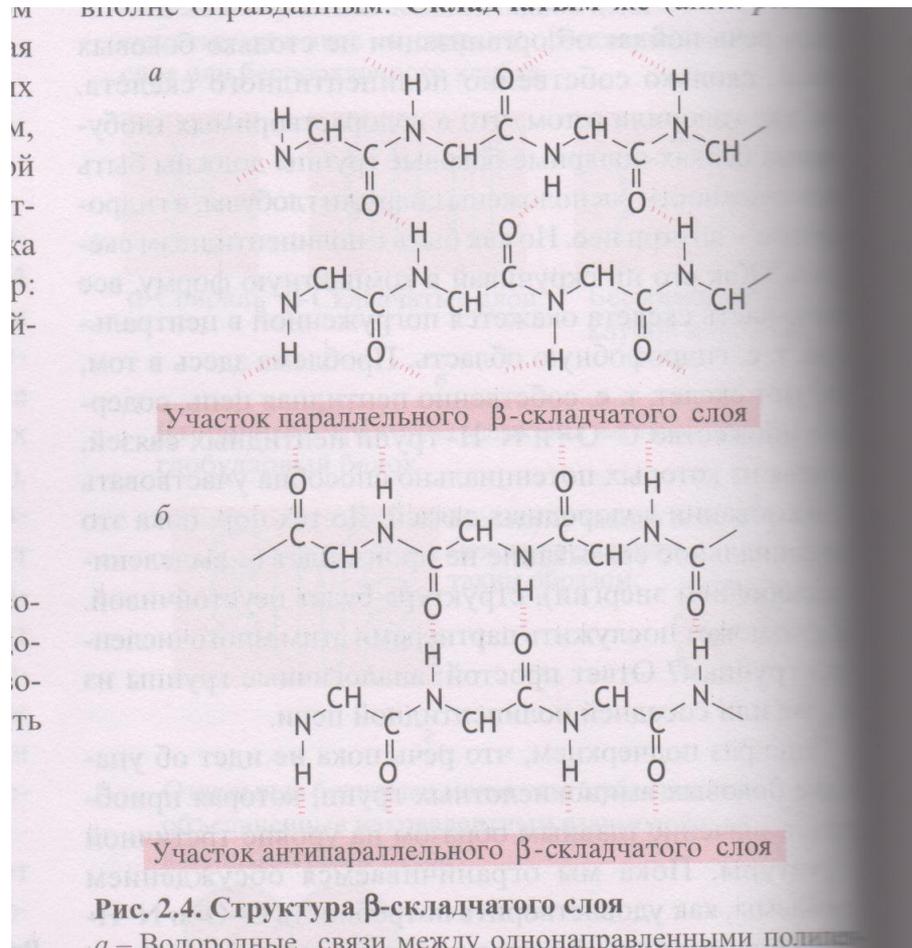


Левосторонняя спираль



Правосторонняя спираль

β-листы (складчатые слои)



Третичная и четвертичная структура белков

- **Третичная структура** белка - это расположение его полипептидной цепи в пространстве, способ компактизации белковой молекулы. Процесс укладки белковой молекулы называется **фолдингом**. В фолдинге могут принимать участие белки-шапероны. Шапероны – многокомпонентная система, обеспечивающая правильное сворачивание (фолдинг) полипептидной цепи в белке. Третичная структура стабилизирована ионными, водородными и гидрофобными связями, а также ковалентными дисульфидными связями.
- Многие белки образуют комплексы между субъединицами, образуя **четвертичную структуру**. В образовании комплексов большую роль играют электростатические (кулоновские) взаимодействия противоположно заряженных части (ионные взаимодействия), водородные связи, гидрофобные взаимодействия

Четвертичная структура белков

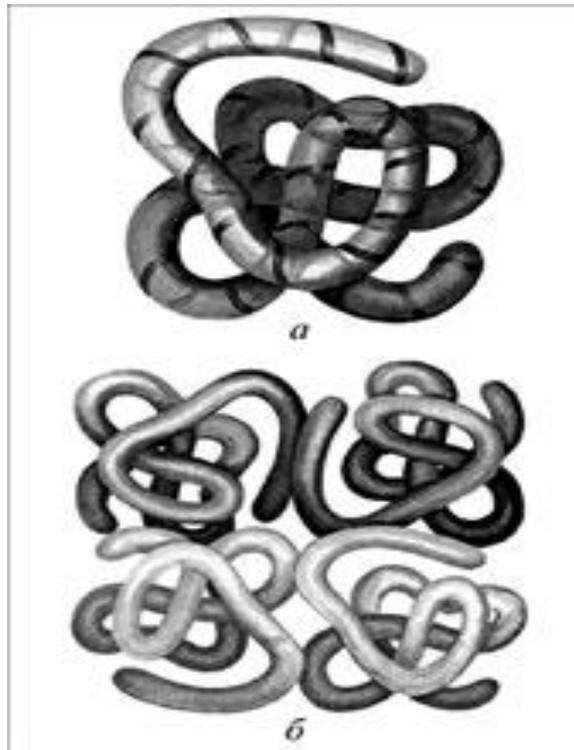
- К числу олигомерных белков относится гемоглобин (2 идентичные α - и 2 идентичные β -субъединицы), аллостерически регулируемые ферменты, цитохромы P450 2B4 (гексамер).
- Приставка «алло» означает другой. Низкомолекулярные соединения, связываемые белком (часто это не субстраты), называют лигандами. Лиганды, связывающиеся с аллостерическими участками, называются аллостерическими регуляторами или эффекторами. Связывание эффектора отражается на сродстве к субстрату.

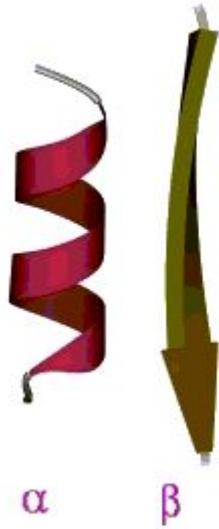
Внутри- и межмолекулярные связи в белках (по силе взаимодействий)

- 1. Ковалентные пептидные связи (первичная структура).
- 2. Электростатические взаимодействия (вторичная, третичная и четвертичная структура).
- 3. Водородные связи (вторичная, третичная и четвертичная структура).
- 4. Гидрофобные взаимодействия (третичная и четвертичная структура).

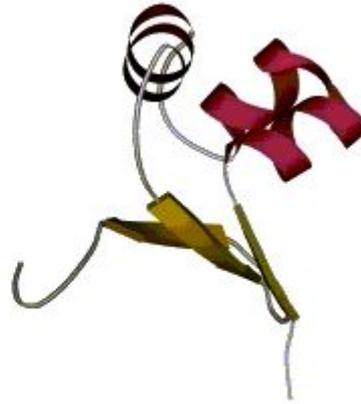
Третичная и четвертичная структура белков

- А – третичная
- Б- четвертичная структура

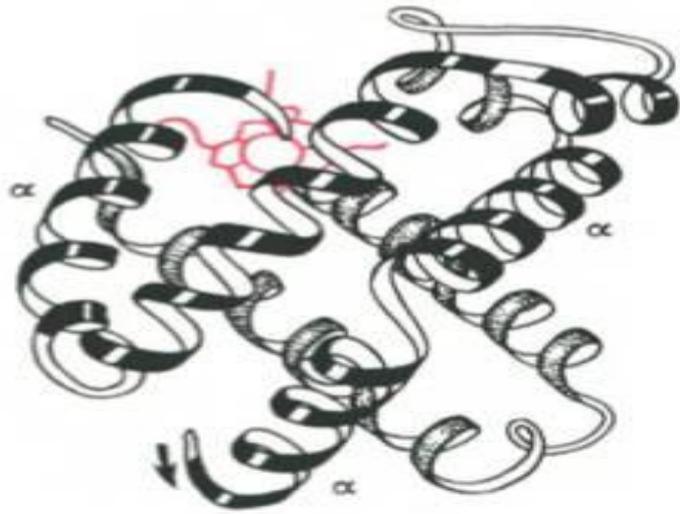




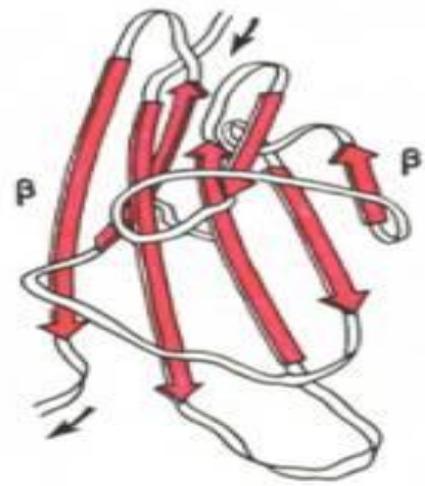
Вторичная структура



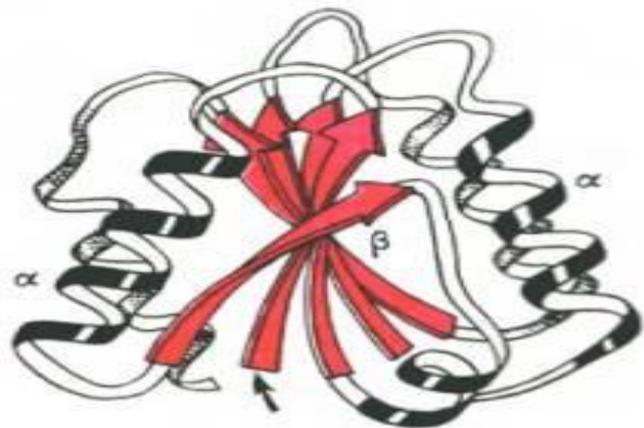
Третичная структура



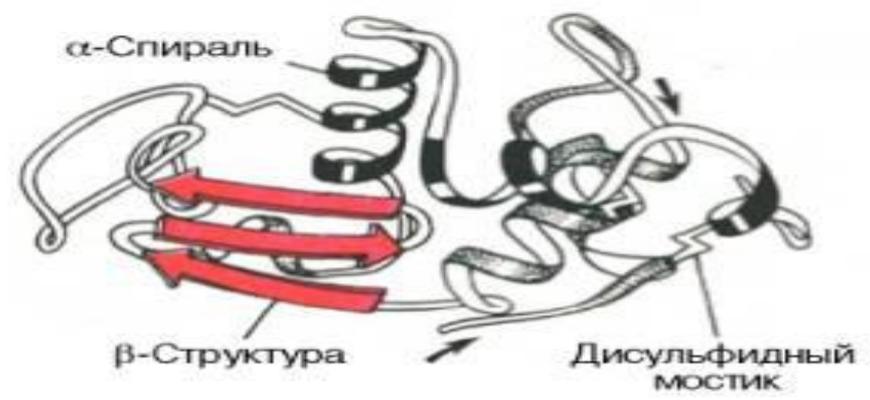
а



б

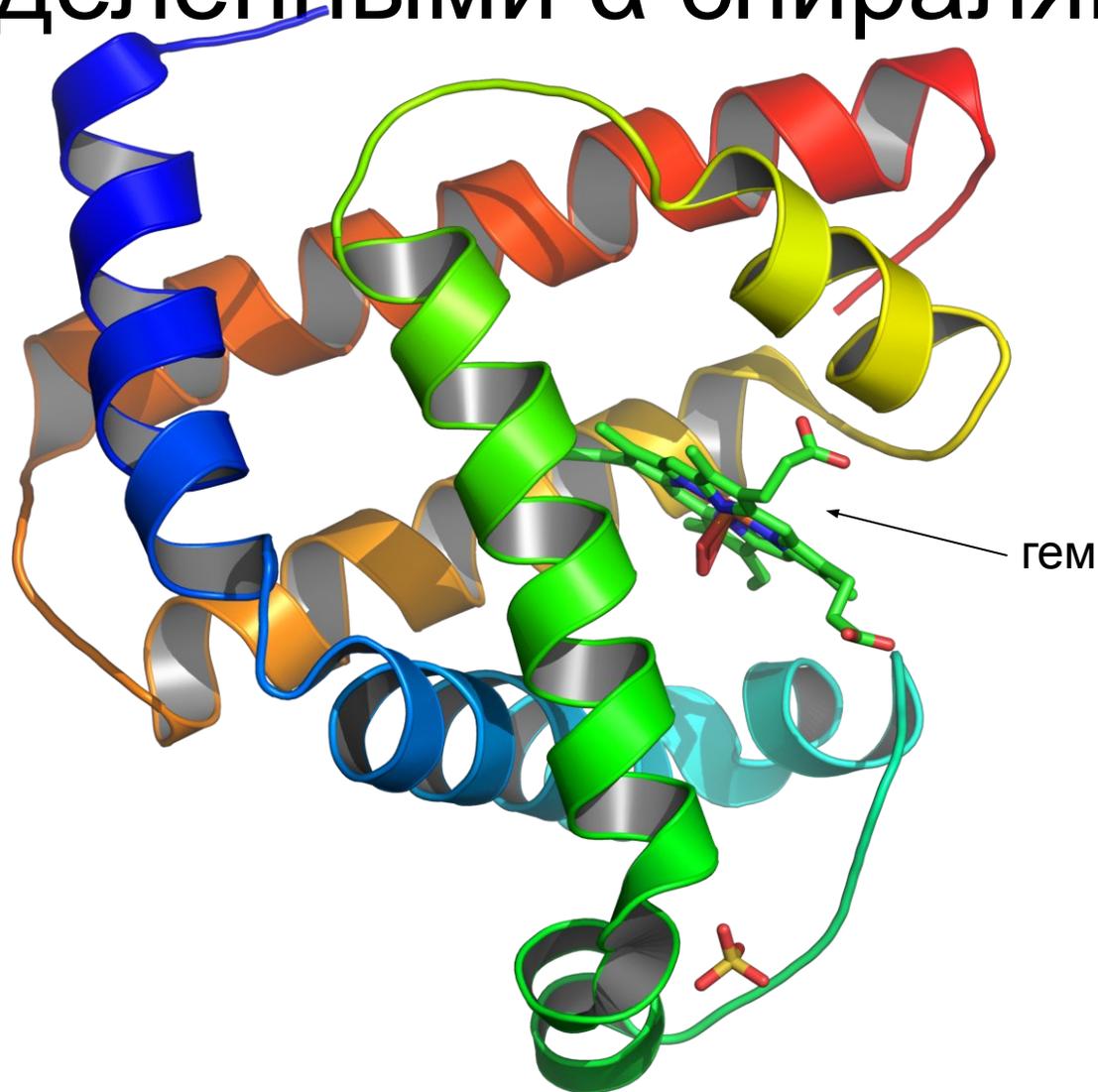


в



г

Структура миоглобина с выделенными α спиральями.



- Большинство белков свернуто в глобулы. Такие глобулы устойчивы в водных системах благодаря тому, что их полярные группы находятся на поверхности в контакте с водой, а неполярные обращены вглубь молекулы таким образом, что их соприкосновение с водой сведено к минимуму.

Классификация белков по элементному составу

- По составу белки разделяют на 2 основных класса:
- **Простые белки** дают при гидролизе только аминокислоты. Они содержат
 - 50% С, 7% Н, 23% О, 16% N, 0-3% S.
- **Сложные белки** при гидролизе дают кроме аминокислот и другие продукты. Небелковую часть молекулы сложных белков называют **простетической группой**.

*Биомедицинская химия, 2011
том 57, вып. 1, с.31-60.*

- **ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ
КОНФОРМАЦИОННОГО
РАЗНООБРАЗИЯ**
- **БЕЛКОВ ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГОВ**
- *А.С. Иванов*

Методы изучения структуры белков

- Рентгеноструктурный анализ
- Спектроскопия ядерного магнитного резонанса.
- Атомная силовая микроскопия (AFM)
- Масс-спектрометрия (MS)
- Поверхностный плазмонный резонанс (SPR)
- Спектроскопия, флуоресценция, поляризационная флуоресценция
- Биоинформационные методы (молекулярная динамика)
- Электрохимия
- (методы, используемые в ИБМХ)

Химическая модификация аминокислот белков

- Химическая модификация аминокислот белков используется для идентификации функциональных групп активных центров, а также для «сшивания» с различными носителями, для получения конъюгатов белков, получения биочипов и биосенсоров, для проведения инструментальных исследований и т.п.

Модификация белков

- 1. **Модификация белков протонированием.** Аминогруппы, карбоксильные группы, SH-группа цистеина, имидазольная группа гистидина, фенольная группа тирозина, гуанидиновая группа аргинина могут присоединять протон (ион водорода H^+) и менять знак заряда молекулы белка.
- $-COO^- + H^+ = -COOH$
- $-SH = -S^- + H^+$

Модификация белков

- 2. **Модификация по аминогруппе**. Свободная аминогруппа N-концевой аминокислоты, ϵ - аминогруппа лизина).
- Реакции с альдегидами, с динитрофторбензолом, с ангидридами кислот.
- 3. **Карбоксильные группы аспарагиновой и глутаминовой кислот, Карбоксильная группа C-концевой аминокислоты**.
- Реакция этерификации, амидирования

Модификация белков

- 4. **Фенольная группа тирозина.**
- Реакция электрофильного замещения в ароматическом кольце.
- 5. **Имидазольная группа гистидина.**
- Алкилирование, фотоокисление
- 6. **Гуанидиновая группа аргинина.**
- Реакция с дионами (бутадион)
- 7. **Сульфгидрильные группы.**
- Алкилирование, реакция с реактивом Элмана (5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойная кислота)

Модификация белков

- Бифункциональные сшивающие агенты.
- (Диальдегиды). Реагируют по аминогруппам.

Классификация белков по простетическим группам

- **Класс** Простетическая группа
- **Нуклеопротеидные системы**
- Рибосомы РНК
- Вирус табачной мозаики РНК

- **Липопротеиды** фосфолипиды, холестерин
- Гликопротеиды
- α -глобулин гексозамин, галактоза, манноза,

- **Фосфопротеиды**
- Казеин (белок молока)
 - фосфатная группа, связанная сложноефирной связью с серином

Классификация белков по простетическим группам

- **Гемопротейды**
- Гемоглобин железопротопорфирин

- Цитохром с
- Цитохром Р450

- **Флавопротейды** флавопиримидины
 (FMN, FAD)

- Сукцинатдегидрогеназа
- Оксидаза D-аминокислот
- редуктазы

Функциональная биохимия.

Каталитические реакции

- Во многих случаях скорость реакции резко изменяется в присутствии специальных веществ - *катализаторов*. Катализаторы участвуют в реакции, но в результате ее не расходуются. Катализаторы биологических процессов, протекающих в живых организмах, представляют собой белковые молекулы, которые называют *ферментами*, или энзимами.

Функциональная биохимия

- Если катализатор находится в одной фазе с реакционной смесью, то процесс называется гомогенным, в разных фазах – гетерогенным.
- Растворы низкомолекулярных субстратов –это **истинные растворы** с размерами частиц менее 1 нм
- Растворы ферментов являются **коллоидными растворами** с размером частиц 1-100 нм

Химия каталитического действия ферментов

- В обычных химических реакциях концентрация реагентов выше, чем в ферментативных реакциях. Однако, ферментативные реакции протекают в 10^{11-13} раз быстрее некаталитических. Это связано
- 1) с **эффектом сближения** (он наблюдается и в неферментативных реакциях), который приводит к селективному увеличению локальной концентрации реагентов,
- 2) с **эффектом ориентации**, так как связывание субстратов на поверхности фермента осуществляется таким образом, что они принимают ориентацию, оптимальную для облегчения взаимодействия,
- 3) с **эффектом напряжения**, он отражает возможность прикрепления субстрата к ферменту в двух или нескольких местах. В результате такого связывания разрушаемая связь ослабляется благодаря поляризации электронных оболочек и изменению углов связей, энергия активации, требующаяся для разрушения этой связи, понижается.

Ферменты – эффективные катализаторы

- Раствор фермента в концентрации
- 10^{-11} М эквивалентен по реакционной способности 10 М раствору кислоты.

Сравнительные значения скоростей реакции гидролиза

- | • Реагент | катализатор | температура,С | V (M c ⁻¹) |
|---------------------|-------------------------------|---------------|---------------------------|
| • мочевины | H ₃ O ⁺ | 62 | 7.4 10 ⁻⁷ |
| • мочевины | уреаза | 21 | 5.0 10⁶ |
| • Пероксид водорода | без катализатора | 25 | 10 ⁻⁸ |
| • Пероксид водорода | HBr | 25 | 10 ⁻⁴ |
| • Пероксид водорода | каталаза | 25 | 10⁷ |
- Роль ферментов как эффективных катализаторов иллюстрируется на примере разложения пероксида водорода до воды и кислорода. Эта реакция в водном растворе протекает очень медленно, но ее скорость увеличивается в присутствии различных катализаторов.

Каталитические константы ферментов

- **Каталитическая константа или число оборотов** определяется как максимальная скорость ($M\ c^{-1}$), деленная на концентрацию активных центров фермента (M). Ее единицей является c^{-1}
- Концентрация активных центров используется вместо концентрации фермента для удобства сравнения с ферментами, имеющими более одного активного центра (например, каталаза имеет 4 активных центра).

Единицы ферментативной активности

- ME (IU) международная единица активности – активность фермента, превращающего 1 мкмоль субстрата в минуту.
- Комиссия по номенклатуре и биологии связала ME с системой СИ:
- 1 катал (кат) – это активность фермента, превращающего 1 моль субстрата в секунду.
- $1 \text{ ME} = 0,000\ 000\ 016\ 667 \text{ кат}$
- $1 \text{ кат} = 60\ 000\ 000 \text{ ME}$

Каталитические константы

ферментов k_{cat} (s^{-1})

- Фермент Субстрат k_{cat} (s^{-1})
- Каталаза H_2O_2 9×10^6
- Ацетилхолинэстераза ацетилхолин 1.2×10^4

Классификация белков в соответствии с выполняемыми функциями

- 1) каталитически активные белки (ферменты),
- 2) белки –ингибиторы ферментов,
- 3) белки-регуляторы активности генома,
- 4) защитные белки, белки иммунной и свертывающей системы,
- 5) токсические белки,
- 6) транспортные белки

Классификация белков в соответствии с выполняемыми функциями

- 7) мембранные белки,
- 8) сократительные белки,
- 9) рецепторные белки,
- 10) белки-гормоны,
- 11) белки – оболочки вирусов

Классификация ферментов (по механизму действия)

- Цифровые коды классификации ферментов (КФ или ЕС – от англ. Enzyme Commission) состоит из четырех чисел, разделенных точками (например, КФ 3.2.1.4.) Первая цифра указывает на принадлежность к одному из шести основных классов. Следующие два числа обозначают подклассы и подподклассы ферментов. А последнее число – это серийный номер данного фермента в его подклассе.
- Enzyme nomenclature (1976) Biochem. Biophys/Acta, 429, 1-45.
- Номенклатура ферментов, М., 1979.
-

Классификация ферментов (по механизму действия)

- **Класс 1. Оксидоредуктазы.**
Катализируют окислительно-восстановительные реакции.
- Пример: алкогольдегидрогеназа, каталаза, пероксидаза.
- **Класс 2. Трансферазы.** Катализируют реакции переноса групп от одного соединения к другому.
- Пример: аминотрансфераза

Классификация ферментов

- **Класс 3. Гидролазы.** Катализируют реакции гидролиза.
- Пример: карбоксиэстераза, пепсин, трипсин, химотрипсин, ацетил-СоА-гидролаза
- **Класс 4. Лиазы.** Катализируют присоединение групп к двойным связям или отщепление групп с образованием двойной связи.
- Пример: карбоангидраза, изоцитратлиаза.
- **Класс 5. Изомеразы.** Катализируют геометрические или другие изменения в пределах одной молекулы.
- Пример: триозофосфатизомераза, аланинрацемаза.

Классификация ферментов

- **Класс 6. Лигазы (синтетазы).**
Катализируют реакции конденсации двух молекул, сопряженные с гидролизом пирофосфатной связи в молекуле АТФ.
- Пример: тирозил-т-РНК-синтетаза, ацетат-СоА-лигаза.

Август 2018 г

- Класс 7. Транслоказы
- Катализируют перенос гидрона (H^+)

August 2018

Translocases (EC 7): A new EC Class

EC 7.1 contains enzymes catalysing the translocation of hydrons (hydron being the general name for H^+ in its natural abundance),

EC 7.2 contains those catalysing the translocation of inorganic cations and their chelates,

EC 7.3 contains those catalysing the translocation of inorganic anions,

EC 7.4 contains those catalysing the translocation of amino acids and peptides,

EC 7.5 contains those catalysing the translocation of carbohydrates and their derivatives

EC 7.6 contains those catalysing the translocation of other compounds. The sub-subclasses concern the reaction that provided the driving force for the translocation, where these are relevant:

EC 7.x.1 translocations linked to oxidoreductase reactions

EC 7.x.2 translocations linked to the hydrolysis of a nucleoside triphosphate

EC 7.x.3 translocations linked to the hydrolysis of a diphosphate

EC 7.x.4 translocations linked to a decarboxylation reaction



INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

Recommendations on Biochemical & Organic Nomenclature, Symbols & Terminology etc.

If the table below is unusable
check this button
for an alternative presentation

<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/>
World Wide Web material prepared by G. P. Moss
School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary, University of London,
Mile End Road, London, E1 4NS, UK
g.p.moss@qmul.ac.uk

To search the database [click here](#) .

- [What's Here and What's New](#)
- [Changes to Published Documents for World Wide Web Presentation](#)
- [Home page for IUBMB](#)

Full text of IUBMB Nomenclature Committee Recommendations		
Enzyme Nomenclature	EC 1 Oxidoreductases	EC 2 Transferases
EC 3 Hydrolases	EC 4 Lvases	EC 5 Isomerases
EC 6 Ligases	EC 7 Translocases	Supplements and Proposed New Enzymes New August 2018
Enzyme Reaction Diagrams	Multiple Forms of Enzymes (Isoenzymes)	Multienzymes
Nomenclature Nucleic Acid Sequences (incompletely specified bases)	Junctions and Branchpoints in Nucleic Acids	Enzymes Kinetics
Membrane Transport Proteins	Electron Transport Proteins Nomenclature	Peptide Hormone Nomenclature
myo-Inositol	Biochemical Thermodynamics revised version	Translation factors

Full text of IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature recommendations

Антитела-катализаторы (каталитически активные антитела, абзимы)

- Антитела являются белками, синтезируемыми иммунной системой для защиты организма от чужеродных белков или соединений. Для образования антитела на любое требуемое соединение (гаптен) это соединение должно ковалентно присоединиться к белку. Если гаптенем будет аналог переходного состояния какого-нибудь фермента, можно получить антитела с каталитической активностью.

Антитела-катализаторы (каталитически активные антитела, абзимы)

- Например, при гидролизе карбоксильных эфиров переходным состоянием является тетраэдр. Это можно смоделировать соединениями на основе фосфора (фосфонаты).
- Фосфонаты – это фосфорорганические соединения, содержащие связь P-C (фосфор –углерод).
- Стабильные фосфонаты, присоединенные к белку для формирования антигенов, образуют каталитические антитела, обладающие по отношению к эфирам как субстратам каталитической активностью, сравнимой с активностью белкового фермента химотрипсина. Одна из задач этих исследований – образование новых, не обнаруженных в природе ферментов (Schultz and Lehrer, 1995)

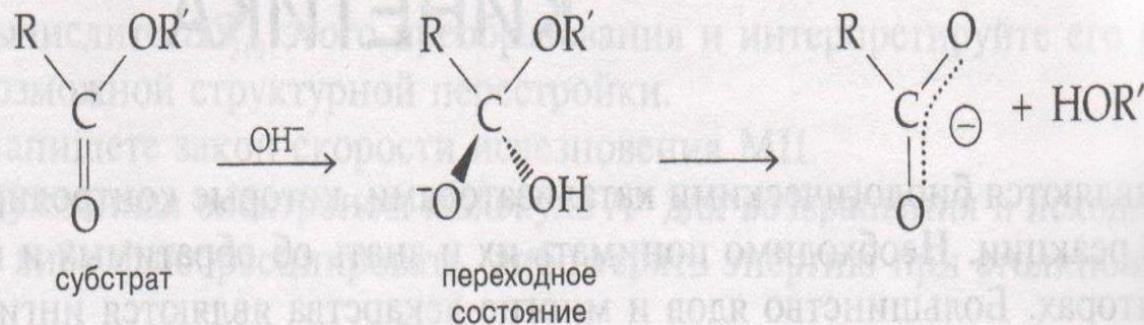
Структура переходного состояния при гидролизе эфиров карбоновых кислот



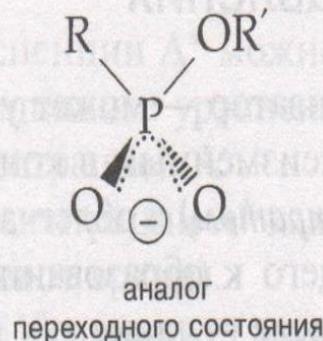
Рис. 6. Реакция гидролиза сложного эфира карбоновой кислоты и структура эфира фосфоната – стабильного аналога переходного состояния.

Переходное состояние гидролиза эфиров карбоновых кислот

разования антител, может быть аналогом переходного состояния субстрата фермента. Например, переходное состояние гидролиза эфира является тетраэдрической структурой:



Прекрасным аналогом переходного состояния гидролиза эфира является фосфорный эфир:



Стабильные фосфонаты (один из них показан выше), присоединенные к белку

РНК-содержащие ферменты (рибозимы)

- Рибозимы – каталитически активные молекулы РНК
- Некоторые ферменты являются комплексами белка и РНК, причем РНК также участвует в катализе. Примером может служить рибосома. Сложный ансамбль многих белков и трех типов РНК. Рибосомы играют ключевую роль в трансляции матричной РНК в белке.
- РНК-содержащие ферменты - **рибозимы** – были примитивными ферментами, которые в настоящее время заменили более эффективные белковые катализаторы. Каталитическая единица РНК Tetrahymena является частью молекулы, которая удаляется в ходе процессинга, обычно она сама вырезается из пре-рибосомной РНК. Освободившись, она может действовать как РНК содержащий фермент. **Рибозим Tetrahymena обладает активностью рибонуклеазы (гидролизует РНК) и РНК-лигазы (соединяет или лигирует РНК)** (Herschlag and Cech, 1990)

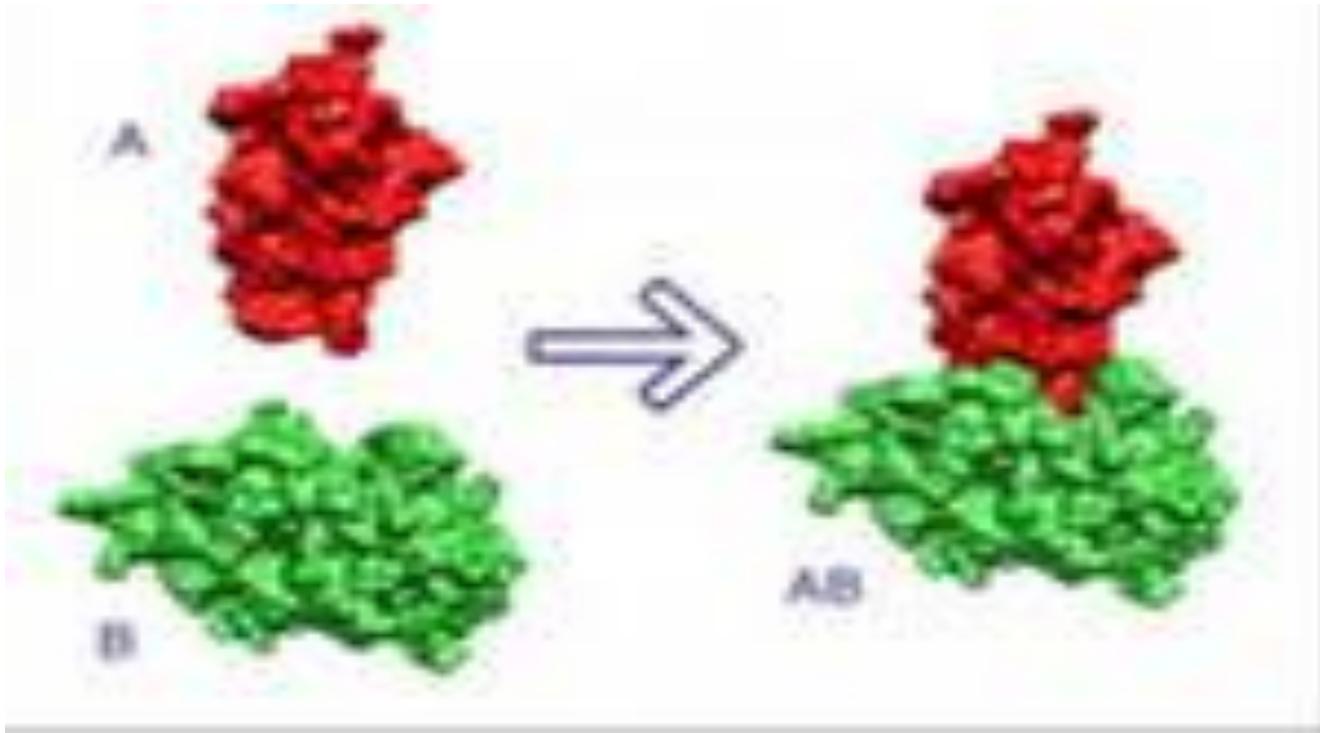
Белок-белковые взаимодействия (интерактомика)

- При исследовании белок-белковых взаимодействий (взаимодействий различных белков) необходимо выяснить характер взаимодействий.
- Для этого можно изменять условия:
 - ионную силу,
 - рН,
 - полярность растворителя.

Белок-белковые комплексы

Белок-белковые взаимодействия

- Взаимодействия белковых молекул (белок-белковые взаимодействия) имеют основополагающее значение для ряда важнейших процессов, происходящих в клетках живых организмов. В соответствии с принятой с настоящим момент точкой зрения, для того, что белки смогли выполнить возложенные на них функции, им необходимо принять соответствующую трёхмерную структуру.



- Примером функционально-значимых белок-белковых взаимодействий является взаимодействие белков в системе

цитохром P450 (гемопротейн)

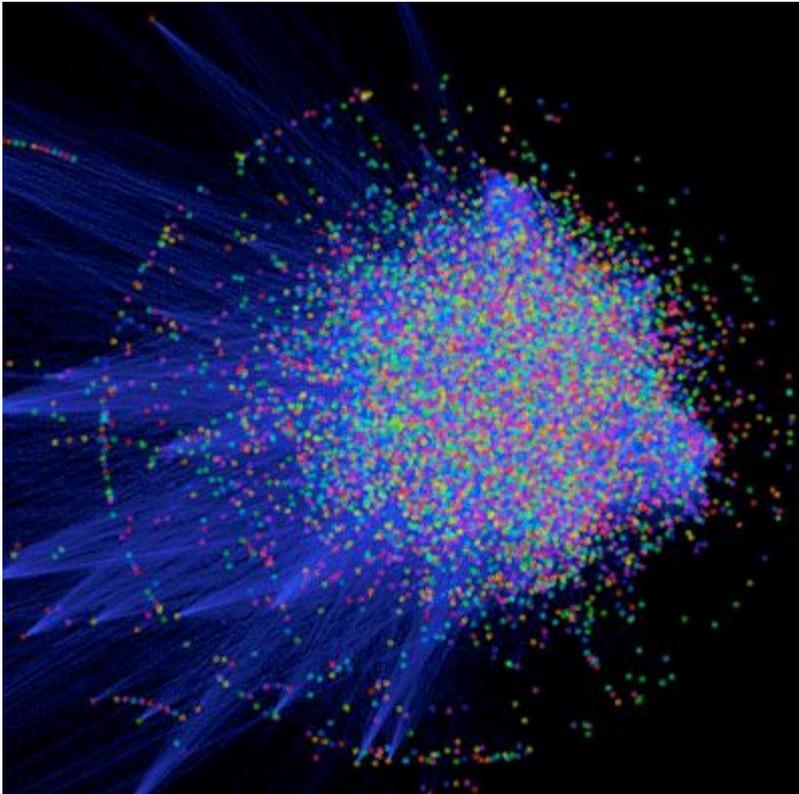
НАДН-зависимая редуктаза (флавопротеин)

цитохром b5 (гемопротейн).

- Цитохромы P450 участвуют в метаболизме лекарственных препаратов, чужеродных соединений, попадающих в организм; в синтезе гормонов, простагландинов.
- Для функционирования этой системы необходимо образование продуктивного тройного комплекса этих белков

- *Успехи биологической химии*, 49, 2009, с. 429–442,
- **ДИНАМИЧЕСКАЯ ПРОТЕОМИКА**
- **В МОДЕЛИРОВАНИИ ЖИВОЙ КЛЕТКИ.**
- **БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ.**
- А. А. ТЕРЕНТЬЕВ, Н. Т. МОЛДОГАЗИЕВА, К. В. ШАЙТАН

Белок–белковые взаимодействия лежат в основе большинства биологических процессов, и роль их наиболее многообразна у многоклеточных организмов. Сложность этих взаимодействий часто графически представляют в виде карт (сетей), где каждая точка соответствует одному белку, а каждая линия — межбелковому взаимодействию



- Для исследования природы связей, стабилизирующих **белковые комплексы**, используют методы исследования структуры белков, а также химические и генетические модификации белков
- Рентгеноструктурный анализ
- Спектроскопия ядерного магнитного резонанса.
- **Атомная силовая микроскопия**
- **Масс-спектрометрия**
- **Поверхностный плазмонный резонанс**
- **Спектроскопия, флуоресценция**
- **Биоинформационные методы**
- Молекулярная динамика
- **(методы, используемые в ИБМХ)**

ТЕХНОЛОГИИ БЕЛКОВОЙ ИНТЕРАКТОМИКИ

Существующее разнообразие методических подходов, применяемых для изучения ББВ (белок-белковых взаимодействий), обусловлено тем, что белковая интерактомика находится на стыке различных научных дисциплин, таких, как биохимия, геномика, биоинформатика, компьютерное молекулярное моделирование, клеточная биология, молекулярная биология, биофизика и др. Условно все подходы в интерактомике можно разделить на две группы: **биоинформационные и экспериментальные**. В свою очередь каждая из этих групп включает в себя много разнообразных подходов в исследовании ББВ.

Белки не присутствуют в клетке сами по себе. Они друг с другом взаимодействуют. В частности, молекулы белков актина, миозина и др. образуют мышечные волокна. Другой пример — каскады передачи сигналов.

Примеры белок-белковых взаимодействий

- **БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В КОМПЛЕКСЕ ФЕРМЕНТОВ ФАЗЫ КАРБОКСИЛИРОВАНИЯ, ВЫДЕЛЕННОМ ИЗ ЛИСТЬЕВ *Beta vulgaris*,**
образуемых тремя ферментами фазы карбоксилирования цикла Кальвина - Бенсона:
 - рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазой (РБФК/О),
 - рибозофосфатизомеразой (РФИ) и
 - фосфорибулокиназой (ФРК), в строме хлоропластов
 - Цитохромы Р450, редуктаза, цитохром в5

Примеры белок-белковых взаимодействий.

Прионы

- **Прионы** ([англ. prion](#) от *protein* — «белок» и *infection* — «инфекция»). Все известные прионные заболевания млекопитающих вызываются белком [PrP](#)
- Все известные прионы вызывают формирование амилоидов — белковых агрегатов, включающих плотно упакованные β -слои.
- **Превращение нормального белка в патогенный происходит путем белок-белковых взаимодействий**

Во второй половине 90-х годов, когда была определена аминокислотная последовательность белка приона PrP и выявлен ген Prnp, начались интенсивные поиски причин патогенности прионов.

С помощью современных методов молекулярно-генетического анализа были получены новые данные о возможных вариантах состава и конформации (укладки) полипептидной цепи PrP.

Было установлено, что конверсия нормального прионного белка в его инфекционную изоформу - посттрансляционный процесс. Анализ вторичной структуры PrP^{Sc} показал, что этот переход характеризуется большими структурными изменениями самого приона. Клеточный белок содержит 42% α -спиралей и почти не содержит β -тяжей (всего около 3%), в то время как в его инфекционной форме выявляется 30% α -спиралей и 43% β -тяжей.

К 01 декабря 2020 г. представить рефераты

- Темы рефератов:
- Белок-белковые комплексы и их медицинская значимость.
Интеактомика. Патологии, связанные с нарушением белок-белковых комплексов (взаимодействий).
Лекарственные препараты для лечения и профилактики таких заболеваний.
- Объем – 3-4 стр. Оформление. Ссылки на интернет-источник

Список литературы по энзимологии

www.studmedlib.ru

- В.Элиот, Д.Элиот, Биохимия и молекулярная биология. НИИ Биомедхимии, М. 2000.
- Т. Келети, Основы ферментативной кинетики, М. Мир, 1990.
- В. Уильямс, Х. Уильямс, Физическая химия для биологов. М. Мир, 1976.
- Э. Фершт, Структура и механизм действия ферментов. М.Мир, 1980.
- А.А. Клесов, И.В. Березин, Ферментативный катализ. МГУ, 1980.
- И.В. Березин, А.А. Клесов, Практический курс химической и ферментативной кинетики, МГУ, 1976.
- Е. В. Петушкова, Введение в кинетику ферментативных реакций. МГУ, 1972.
- И.В. Березин, К. Мартинек, Основы физической химии ферментативного катализа. М. Высшая школа, 1977.
- Э. Корниш-Бодуен, Основы ферментативной кинетики, М.Мир, 1979.
- М. Диксон, Э. Уэбб. Ферменты. М., ИИЛ, 1961.
- В. Дженкс, Катализ в химии и энзимологии, М. Мир, 1972.
- В.К. Плакунов. Основы энзимологии. М. Логос, 2002.
- С.Д. Варфоломеев. Химическая энзимология, М, Academia, 2005
- С.Д. Варфоломеев, К.Г. Гуревич. Биокинетика: Практический курс. - М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999.
- И.Тиноко, К.Зауэр, Дж. Вэнг, Дж. Паглиси. Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках. Техносфера. Москва. 2005.
- Х. Биссвангер. Практическая энзимология. М., БИНОМ. Лаборатория знаний. 2010.
- Т.П. Вавилова, А.Е. Медведев, Биологическая химия. Биохимия полости рта. М., «ГЕОТАР_Медиа», 2014 г.

Нельсон Д.

Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 3 : Пути передачи информации / Д. Нельсон, М. Коке ; пер. с англ. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — 448 с. : ил. — (Лучший зарубежный учебник).

- В.В.Шумянцева.
- Курс лекций по энзимологии