

# Химические основы биологических процессов

---

## УРОВНИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ

**Тишков В.И.**

Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

2023

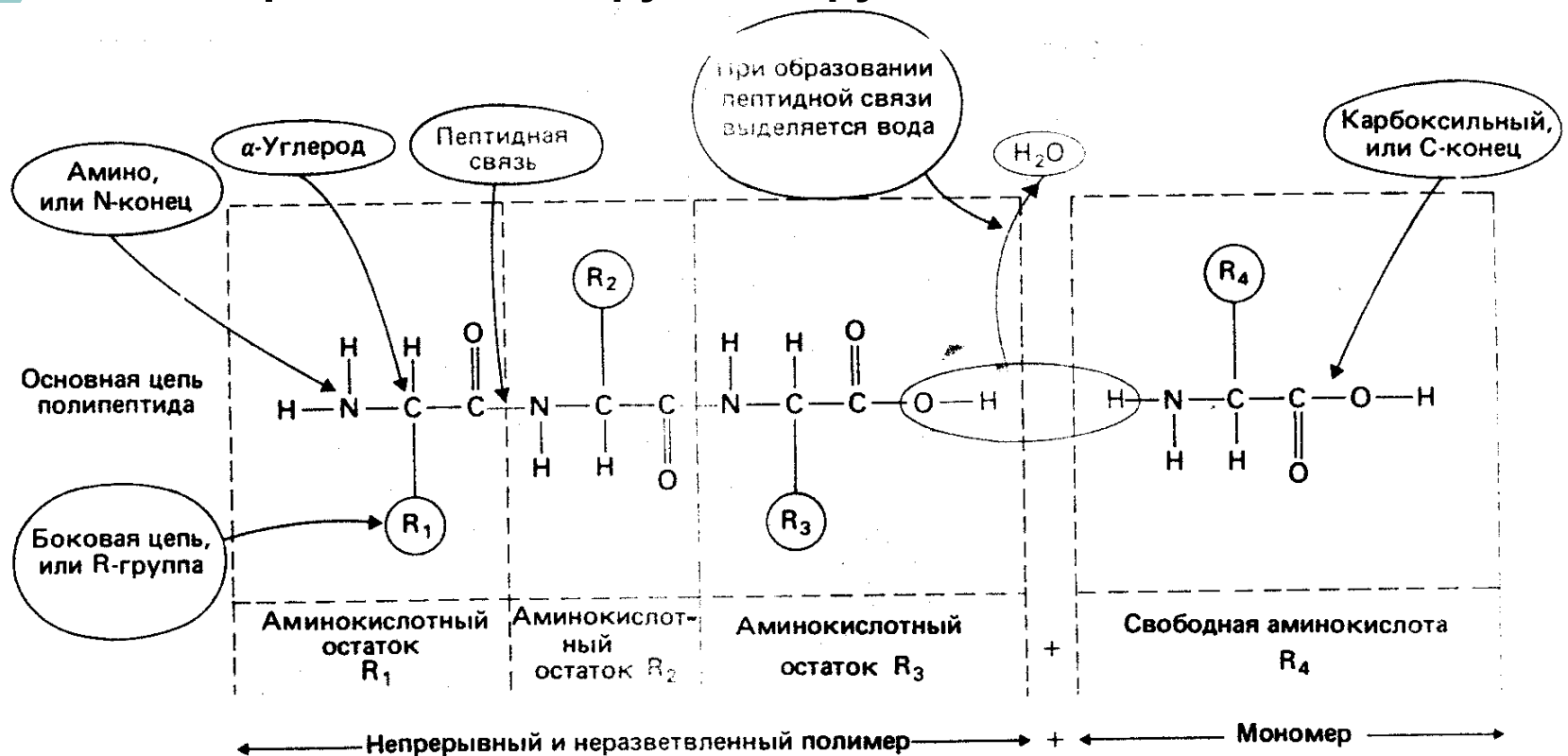
# Уровни структурной организации белков

---

- **Первичная структура**
- **Вторичная структура**
- *Супервторичная*
- **Третичная структура**
- *Доменная*
- **Четвертичная структура**

# Первичная структура белка – последовательность аминокислот

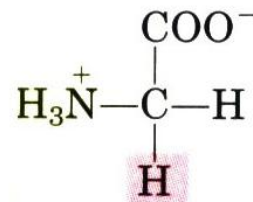
- Структура пептидной связи
  - Пептидная связь образуется в результате реакции конденсации между аминогруппой одной аминокислоты и карбоксильной группой другой аминокислоты.



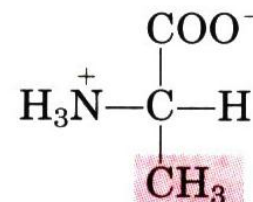
# Первичная структура белка

Аминокислоты,  
входящие в состав  
белков

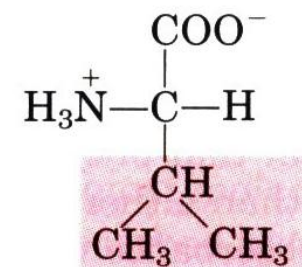
Неполярные алифатические R группы



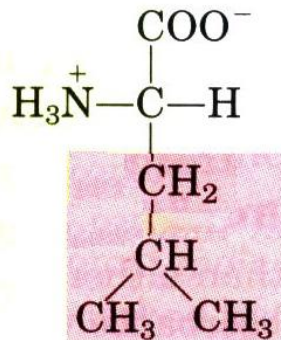
Glycine  
Глицин



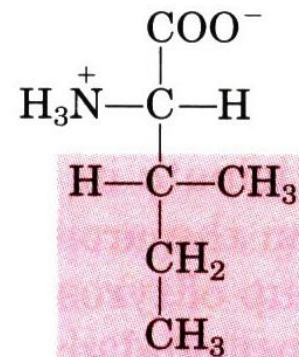
Alanine  
Аланин



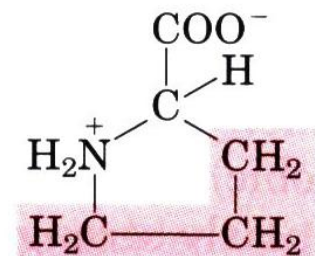
Valine  
Валин



Leucine  
Лейцин



Isoleucine  
Изолейцин

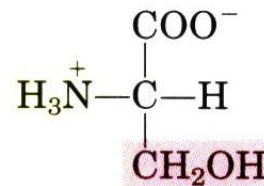


Proline  
Пролин

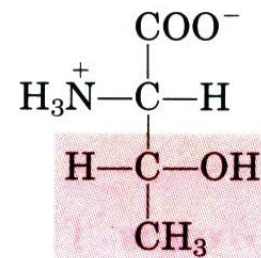
# Первичная структура белка

Аминокислоты,  
входящие в состав  
белков

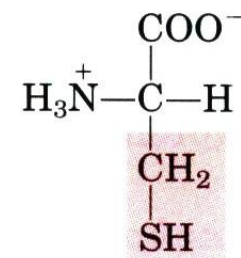
Полярные незаряженные R группы



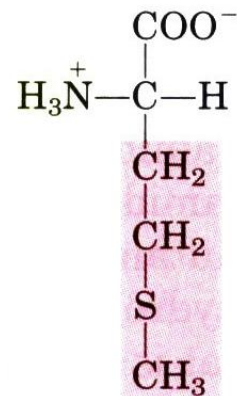
Serine  
Серин



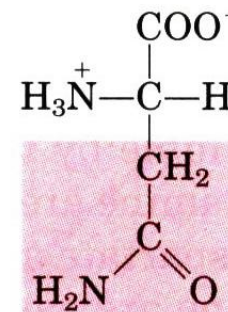
Threonine  
Треонин



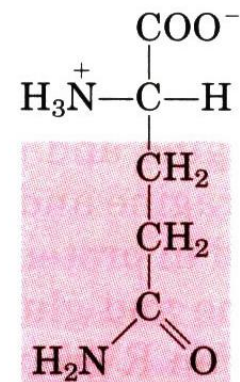
Cysteine  
Цистеин



Methionine  
Метионин



Asparagine  
Аспарагин

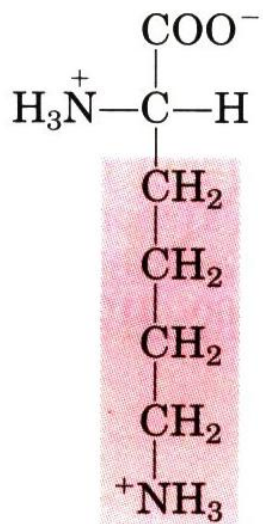


Glutamine  
Глутамин

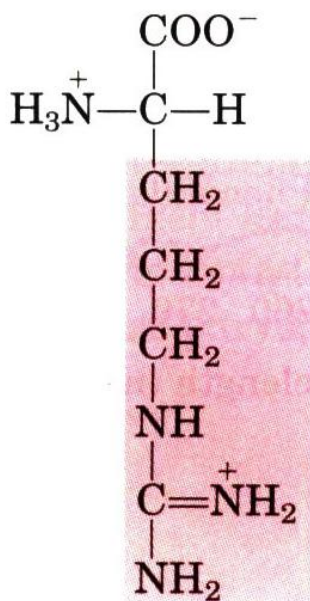
# Первичная структура белка

## Аминокислоты, входящие в состав белков

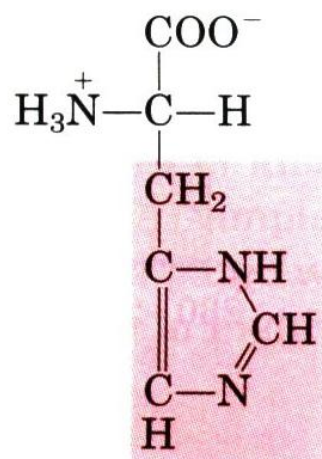
### Положительно заряженные R группы



Lysine  
Лизин

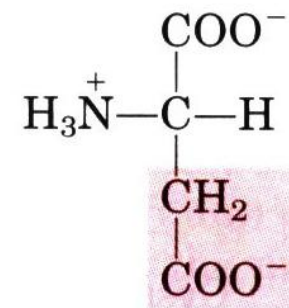


Arginine  
Аргинин

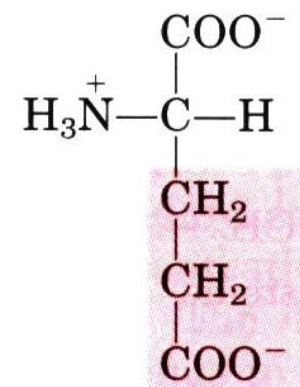


(Histidine)  
(Гистидин)

### Отрицательно заряженные



Aspartate  
Аспарат



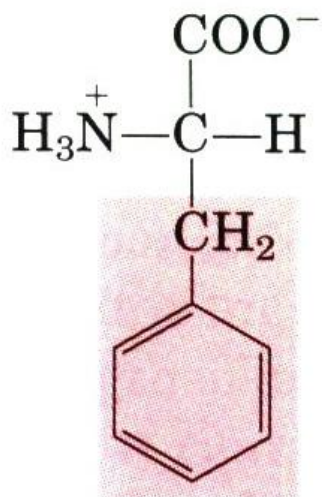
Glutamate  
Глутамат



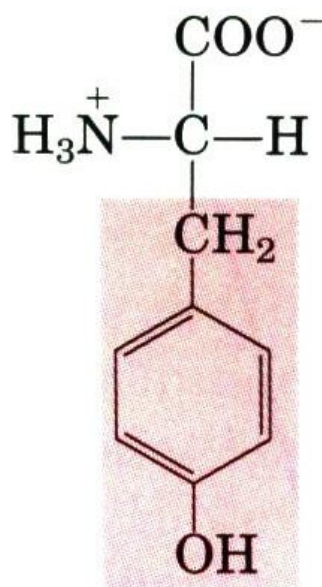
# Первичная структура белка

## ○ Аминокислоты, входящие в состав белков

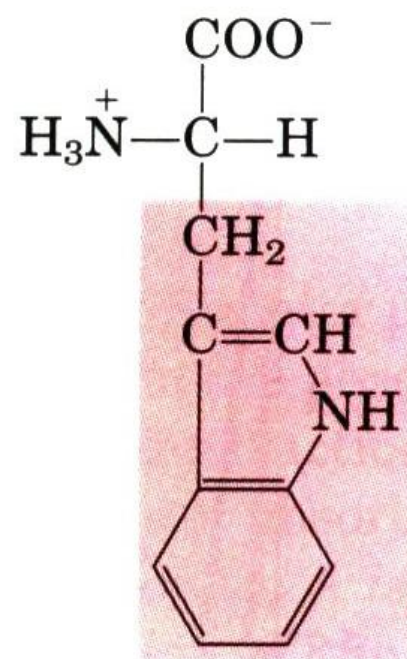
### Ароматические R группы



Phenylalanine  
Фенилаланин

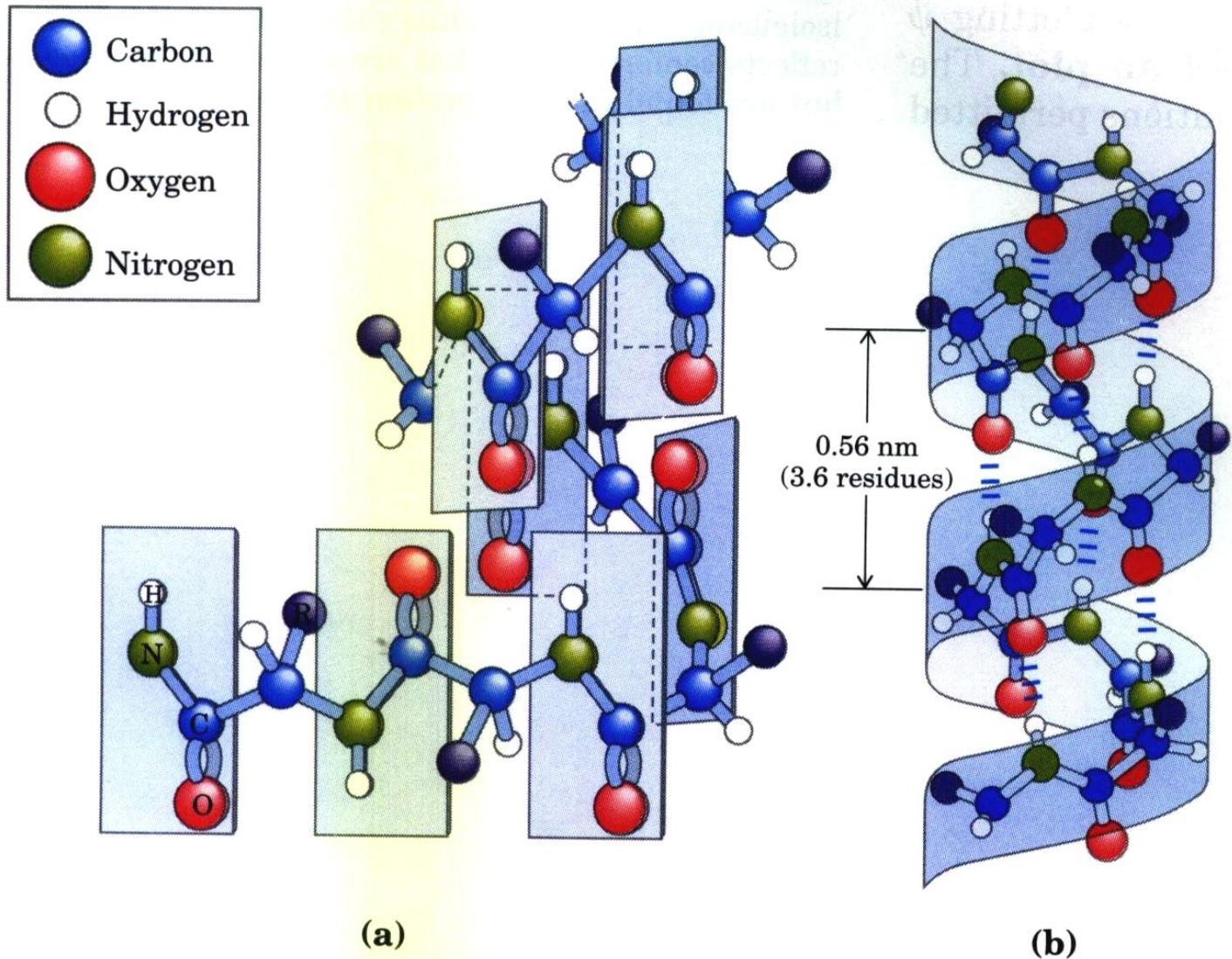


Tyrosine  
Тирозин



Tryptophan  
Триптофан

# Вторичная структура белка $\alpha$ -спирали

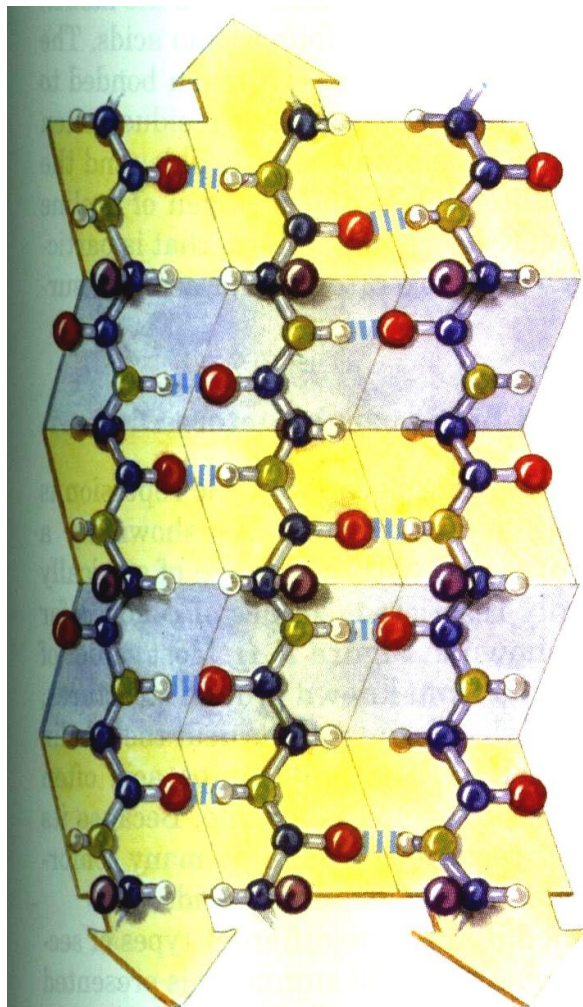




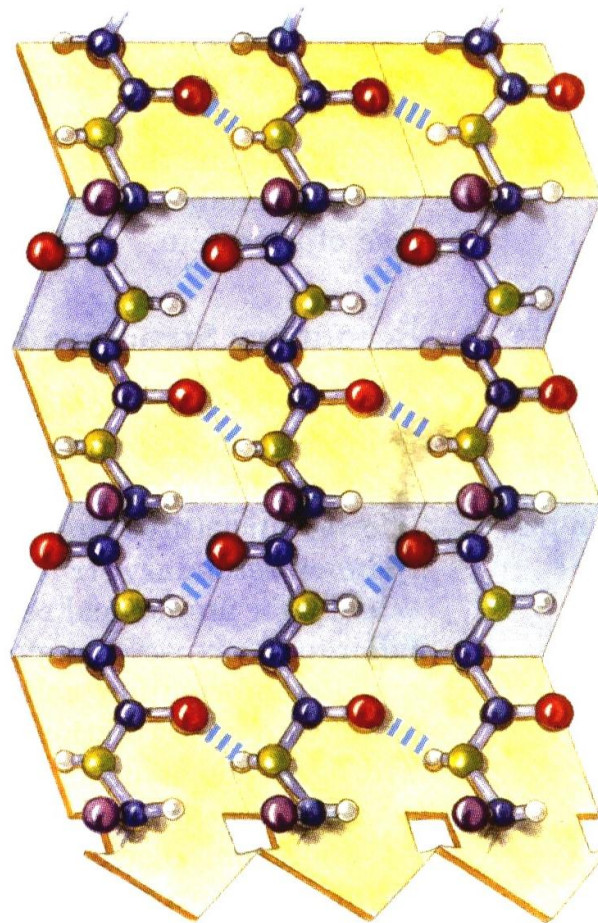
# Вторичная структура белка

## $\beta$ -листы

Антипараллельные

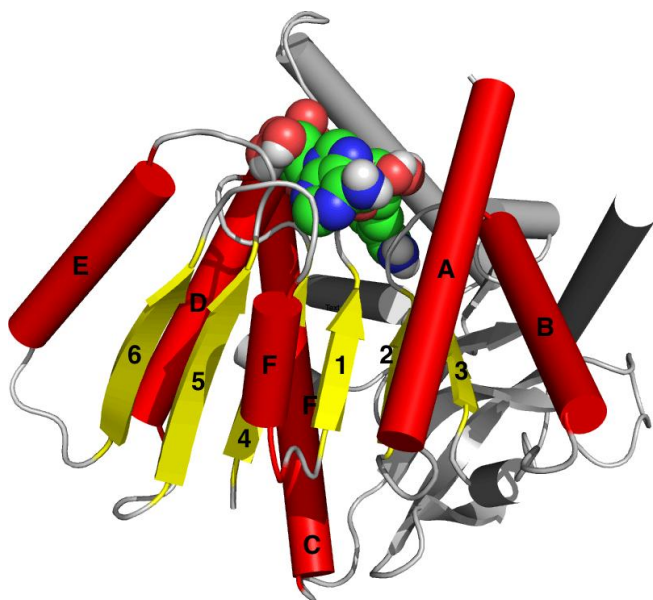
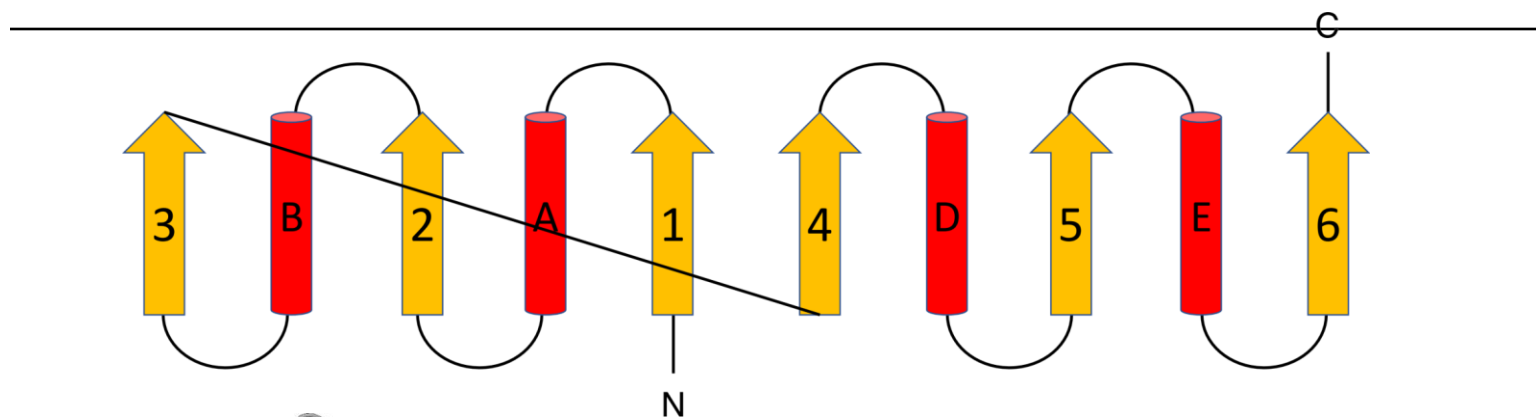


Параллельные

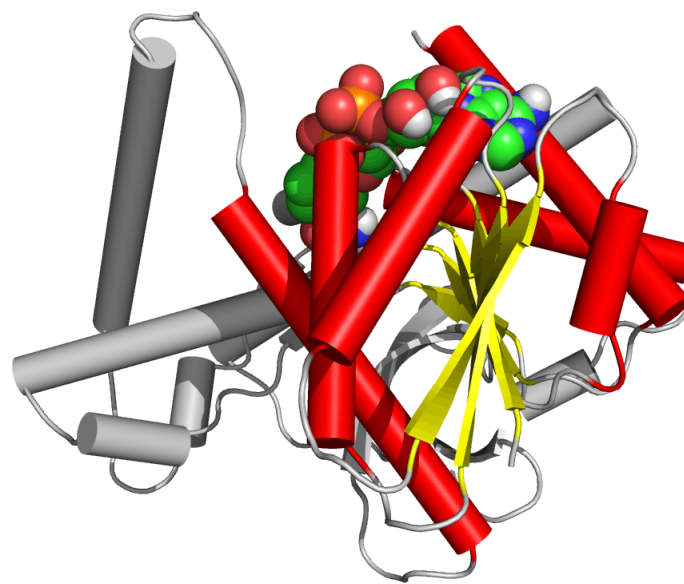


# СУПЕРВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ

## Укладка по Россману (Rossman fold)



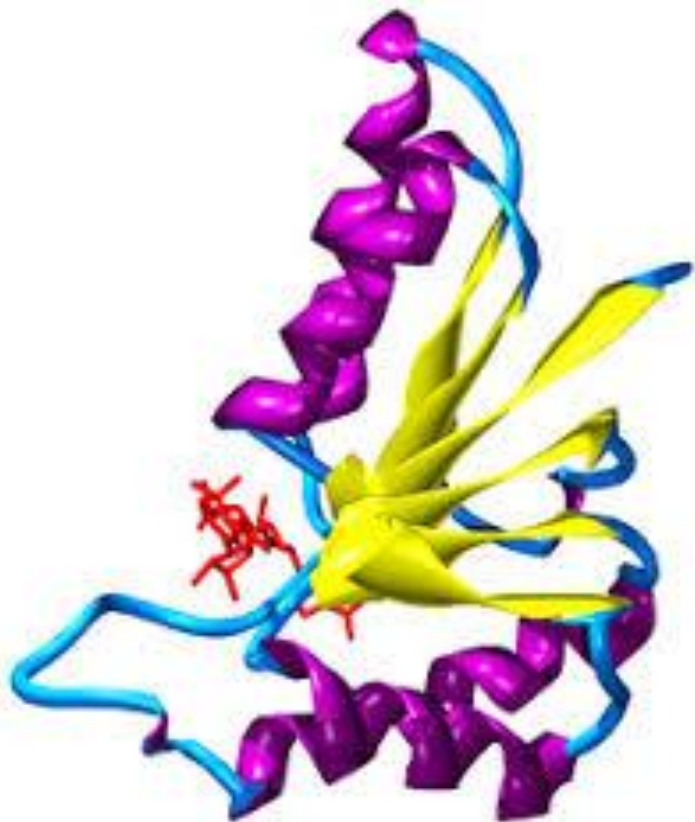
**Вид спереди**



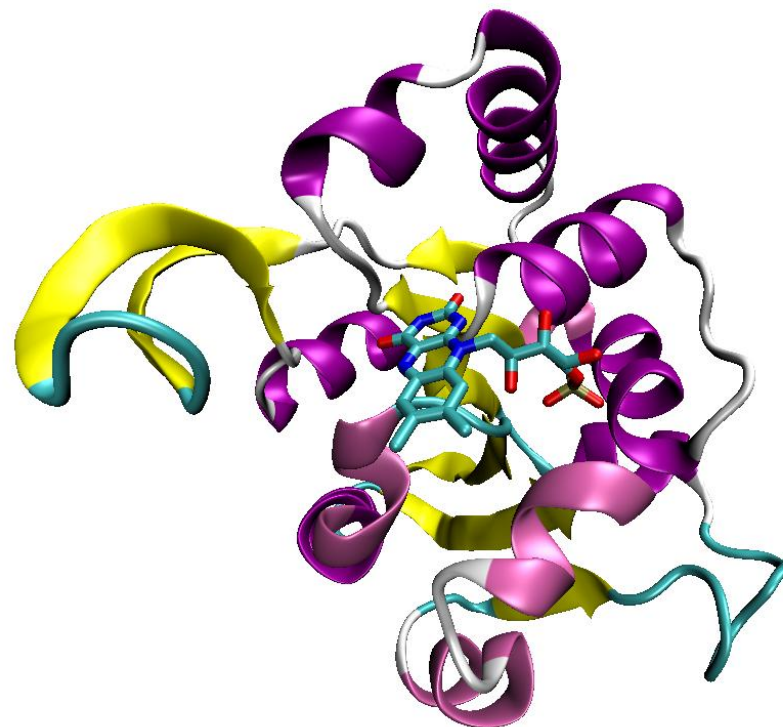
**Вид сбоку**

# СУПЕРВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ

## Укладка по Россману (Rossman fold)



Связывание адениновой части  
NAD<sup>+</sup> в дегидрогеназах



Связывание FMN  
в декарбоксилазе

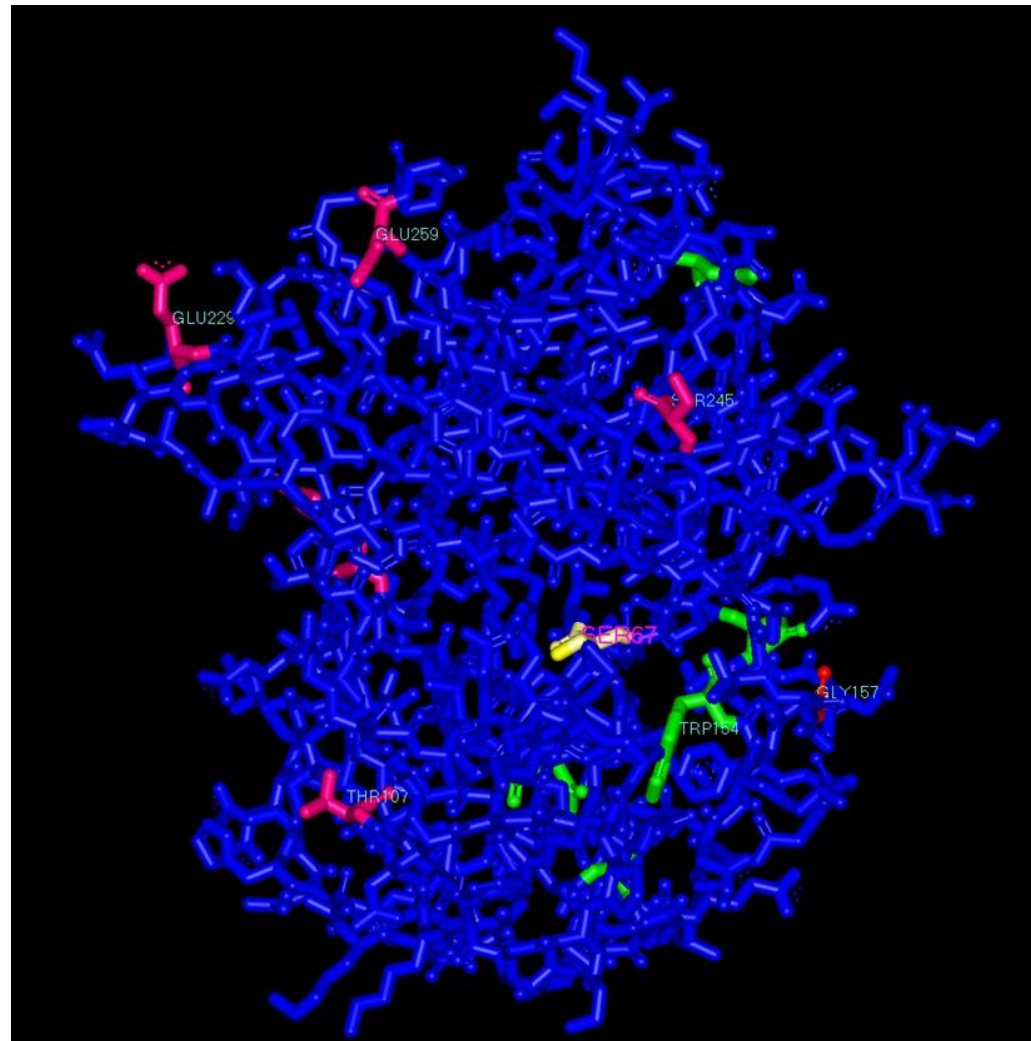


# ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА

два домена – 1 активный центр

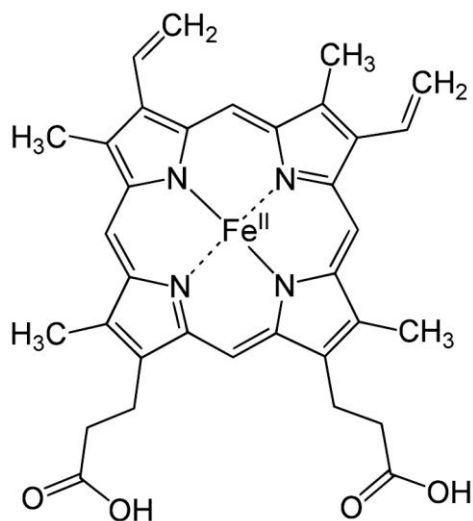
$\beta$ -лактамаза - мономер

---

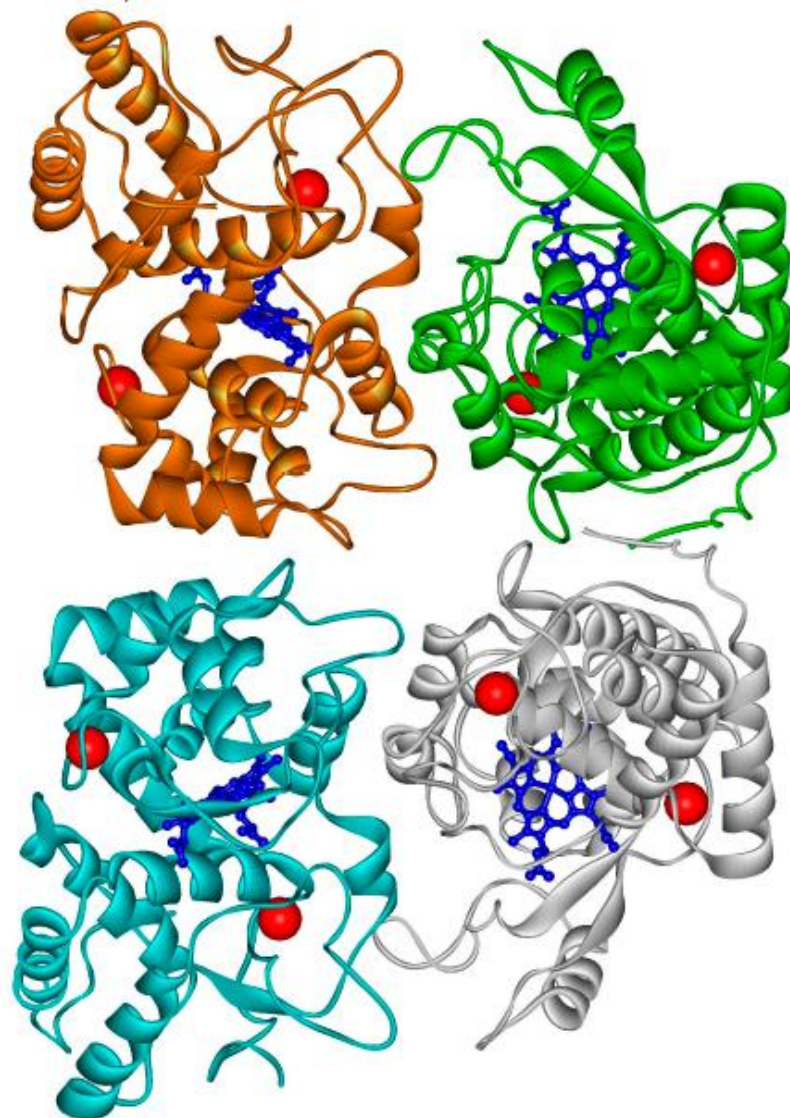


# ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА

Пероксидаза два домена – 1 активный центр



Трехмерная структура  
пероксидазы табака

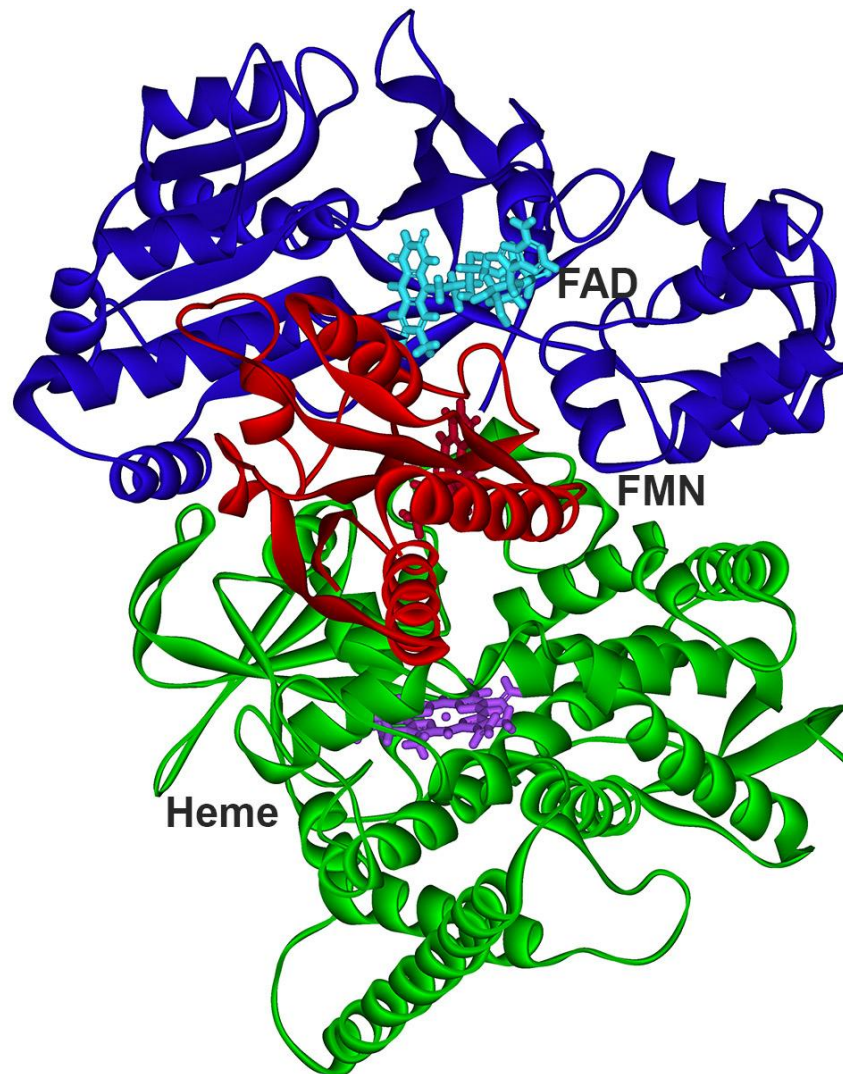




# Доменная организация белков и ферментов

## Цитохром P-450 из *B. megaterium* - мономер, состоит из трех **КАТАЛИТИЧЕСКИХ** доменов

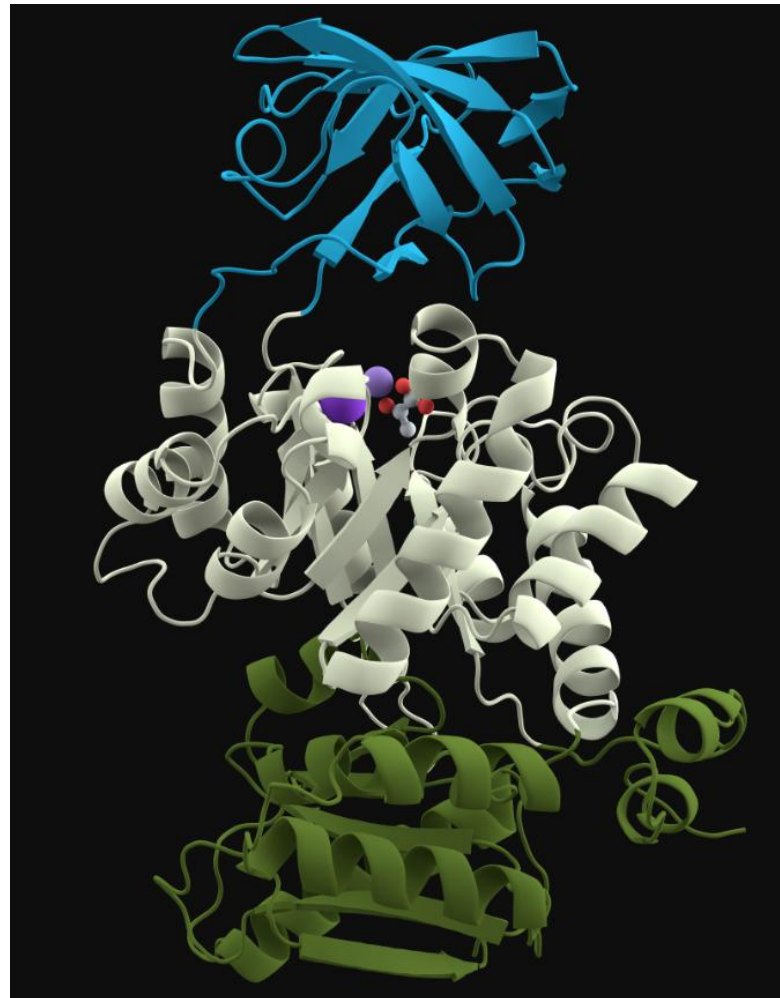
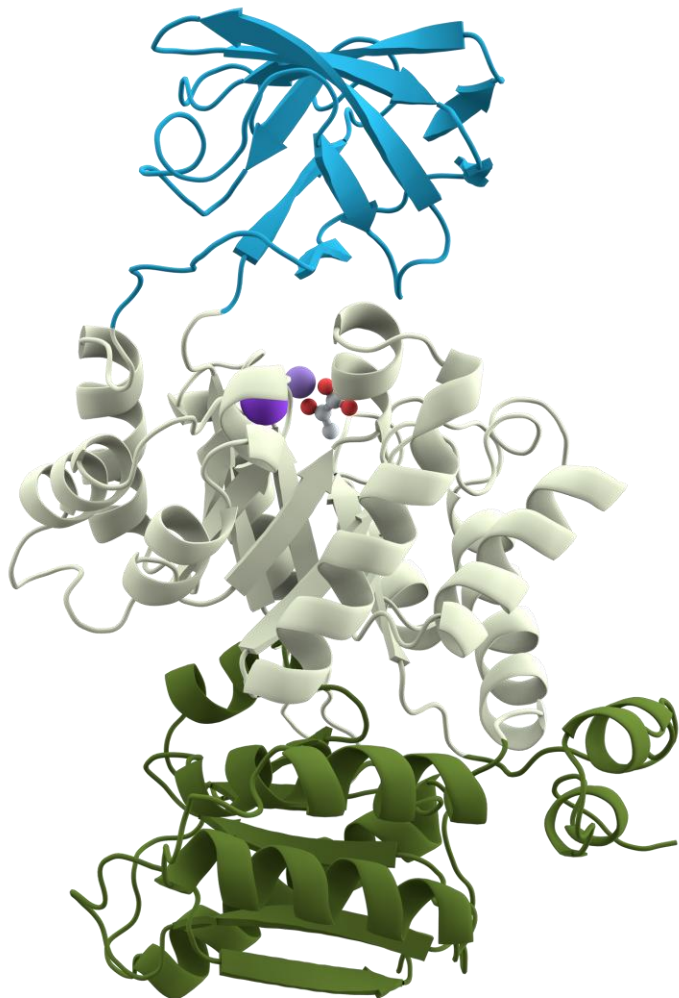
---



# Доменная организация белков и ферментов

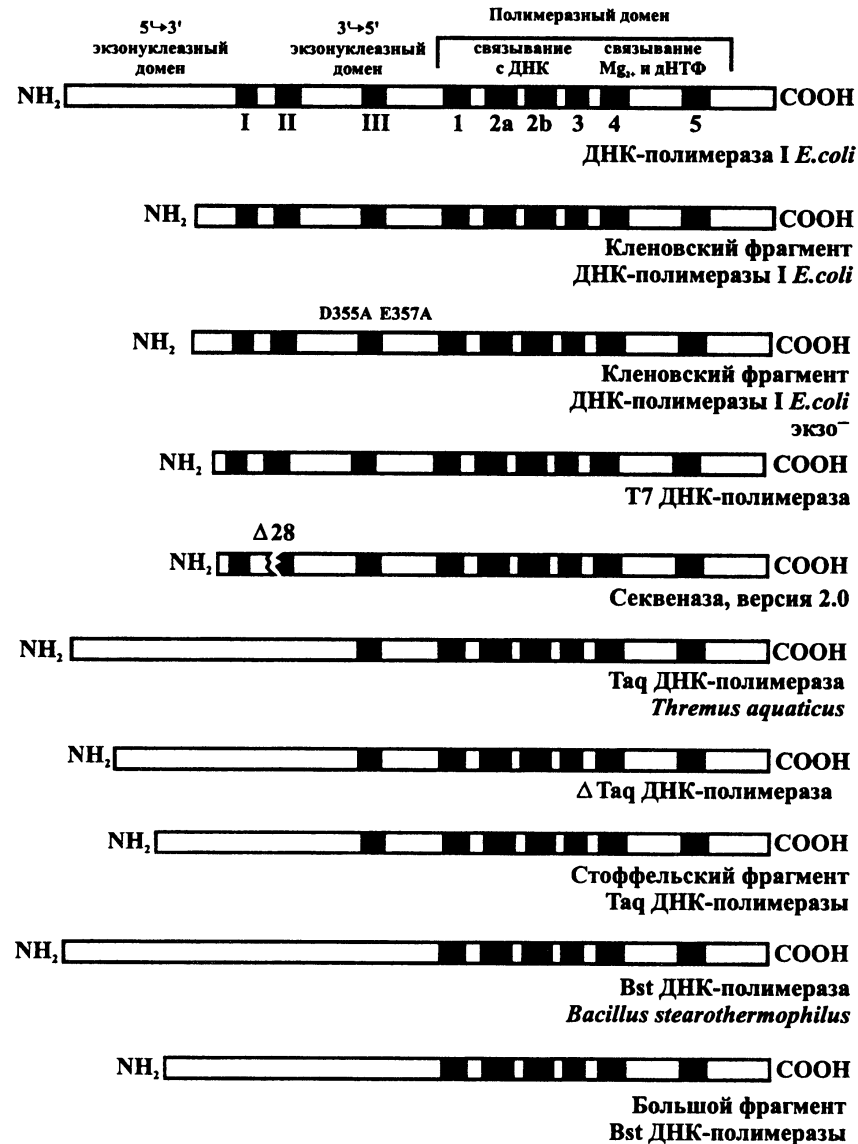
## Пируваткиназа - одна полипептидная цепь – три каталитических домена

---



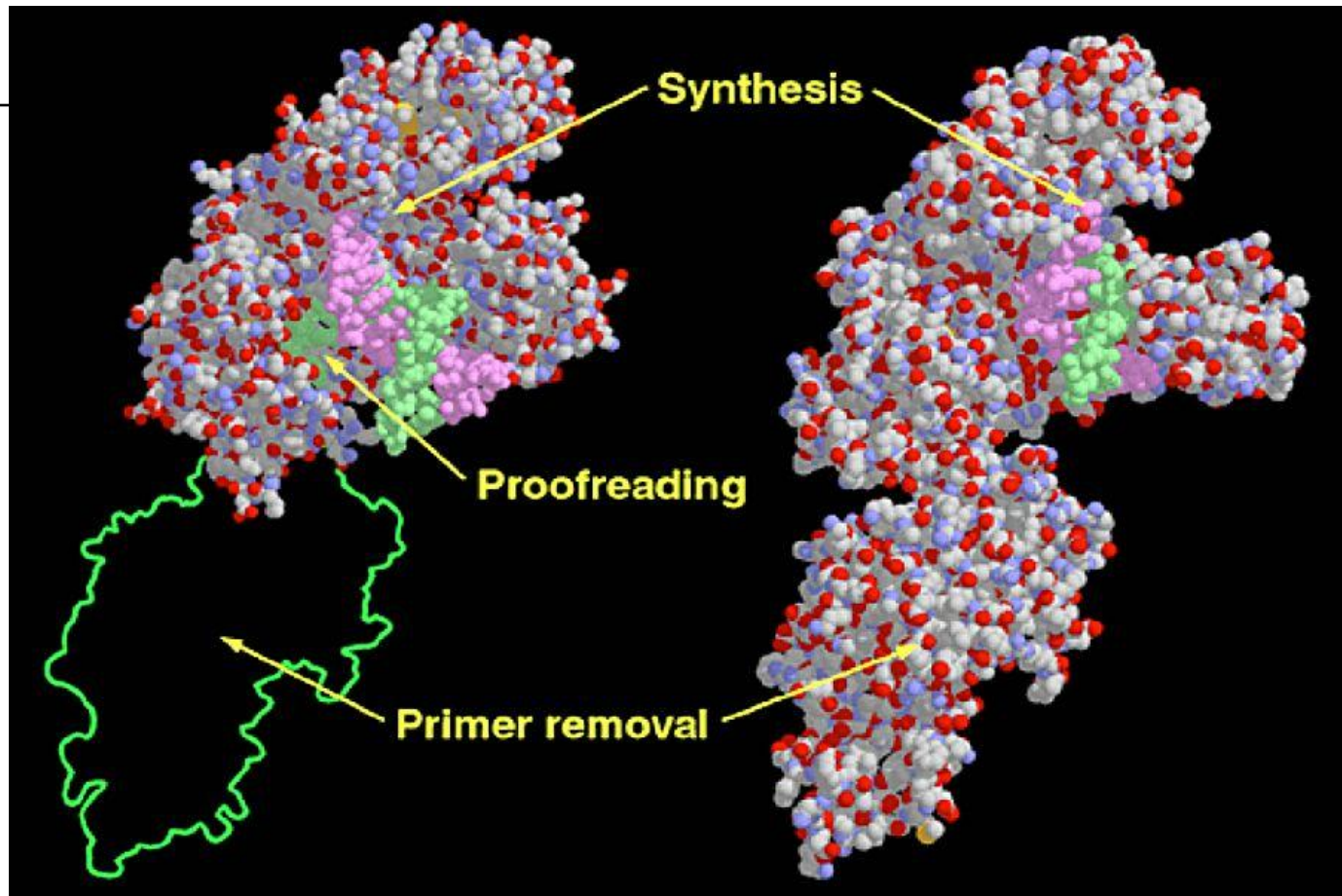
# Доменная организация белков и ферментов.

## ДНК-полимеразы семейства Pol I (тип 1)



Доменная организация белков и ферментов.

## ДНК-полимеразы семейства Pol I (тип 1)



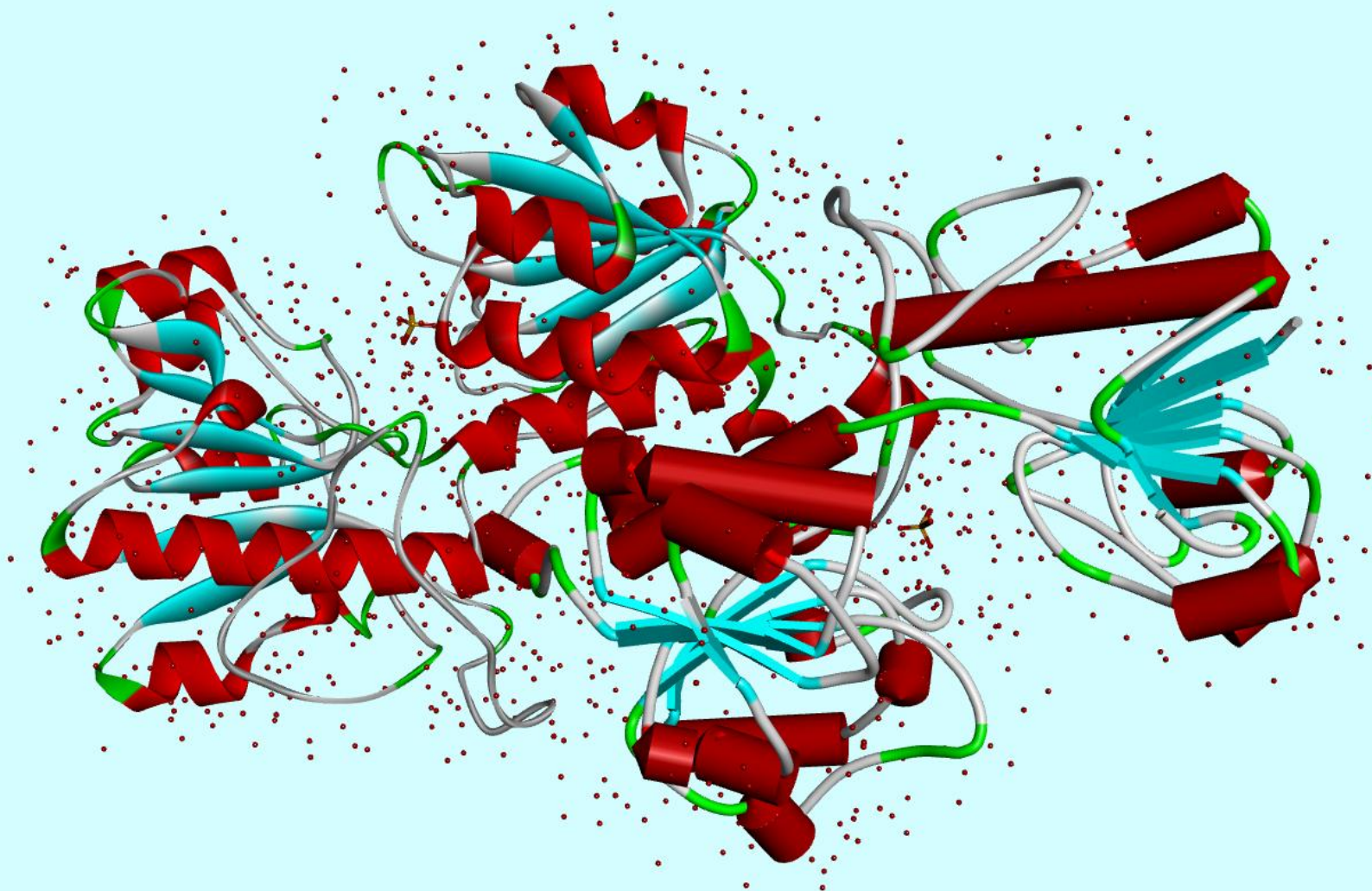
ДНК-полимераза I – катализирует три типа реакций

- полимеризация (synthesis)
- 5'-3' гидролиз ДНК (primer removal)
- 3'-5' гидролиз ДНК (proofreading)



# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА

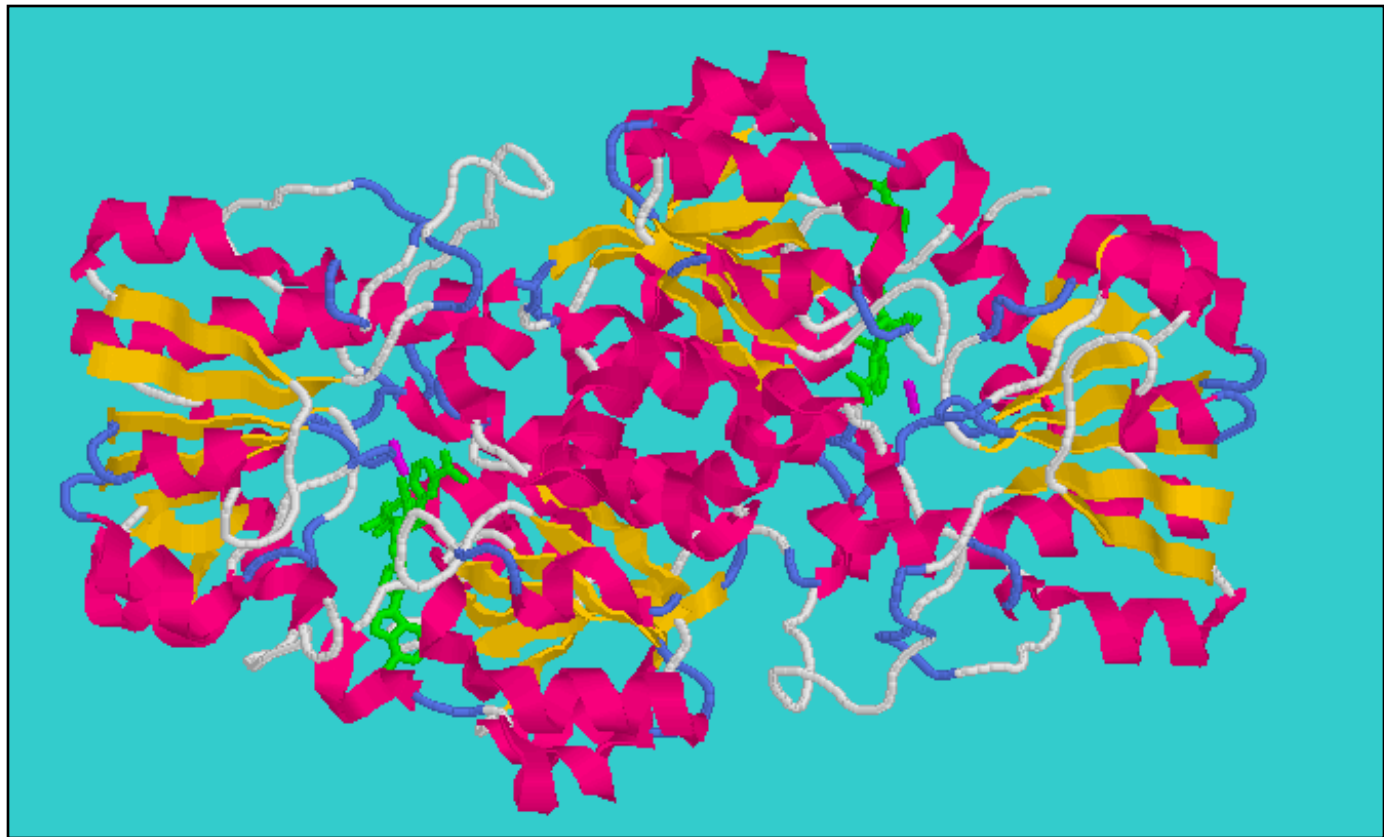
## Формиатдегидрогеназа - гомодимер





# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА Формиатдегидрогеназа - гомодимер

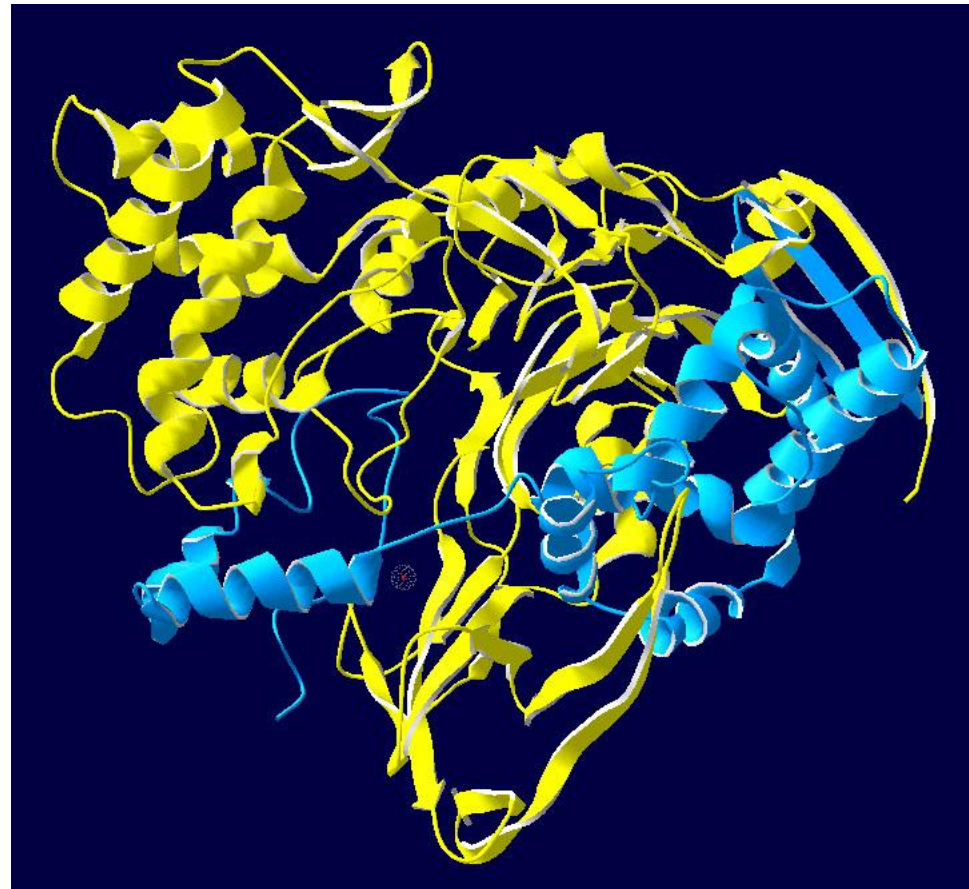
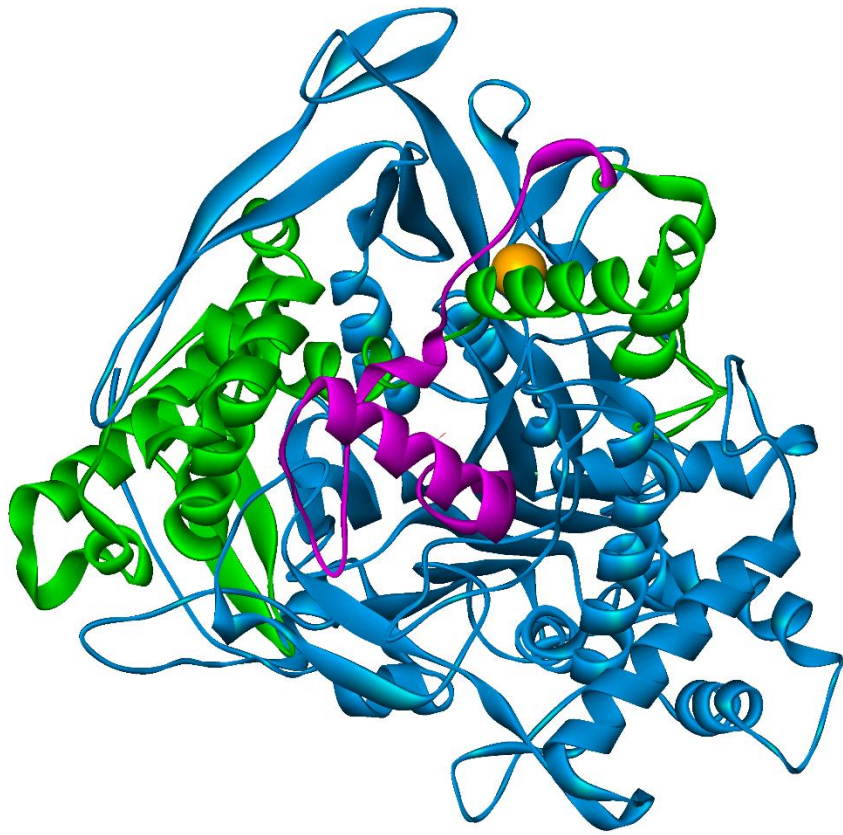
---



# ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА. 2.

## Пенициллинацилаза - гетеродимер

---



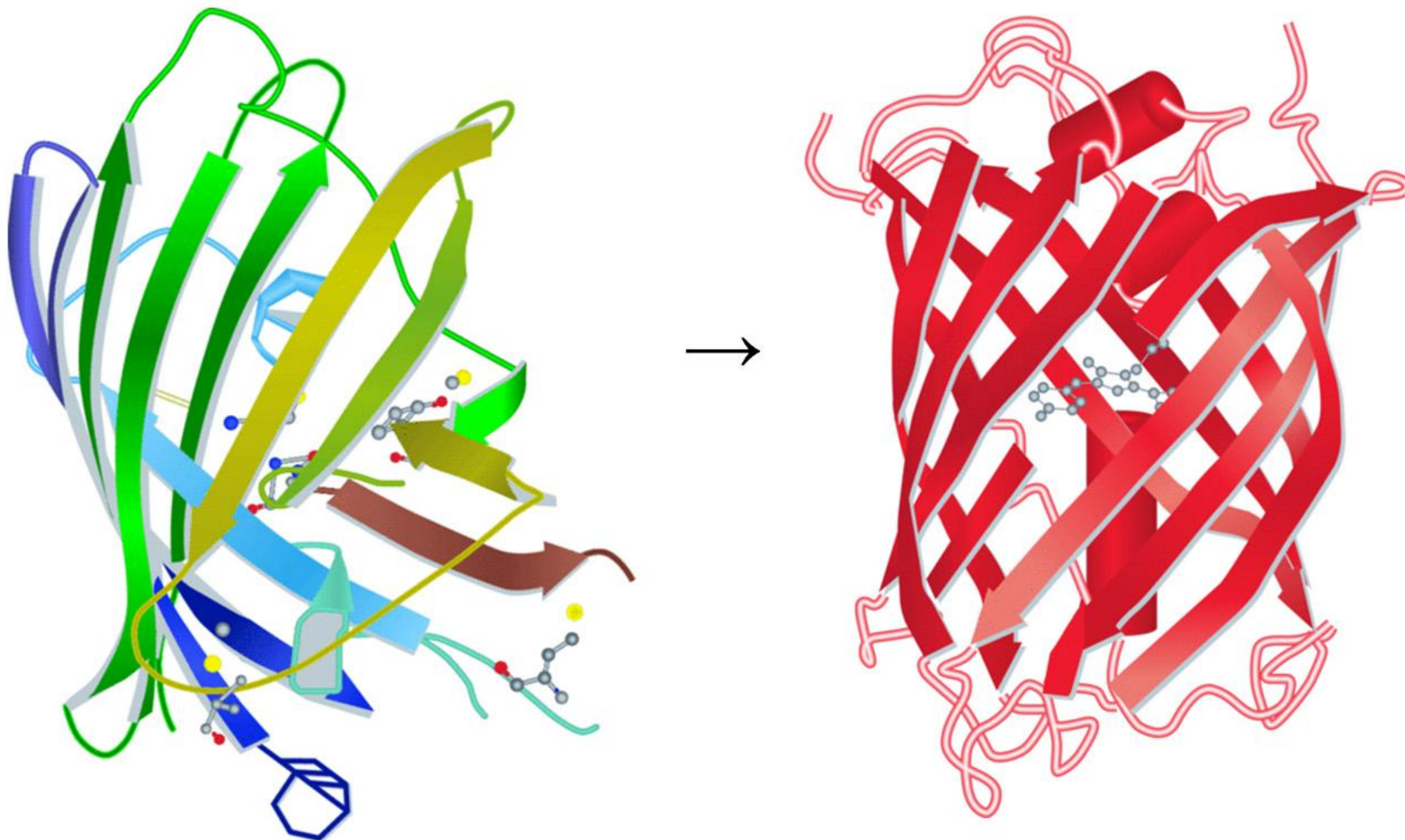
# Сборка ферментов

---

- **СВОРАЧИВАНИЕ**
- **ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ** (ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ, АЦИЛИРОВАНИЕ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ, ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕННЫЙ ПРОТЕОЛИЗ, АКТИВАЦИЯ ЗИМОГЕНОВ...)
- **ВСТРАИВАНИЕ КОФАКТОРОВ**
- **ФОРМИРОВАНИЕ АКТИВНЫХ ЦЕНТРОВ** (КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ, МЕЖСУБЪЕДИНИЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ)

# ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

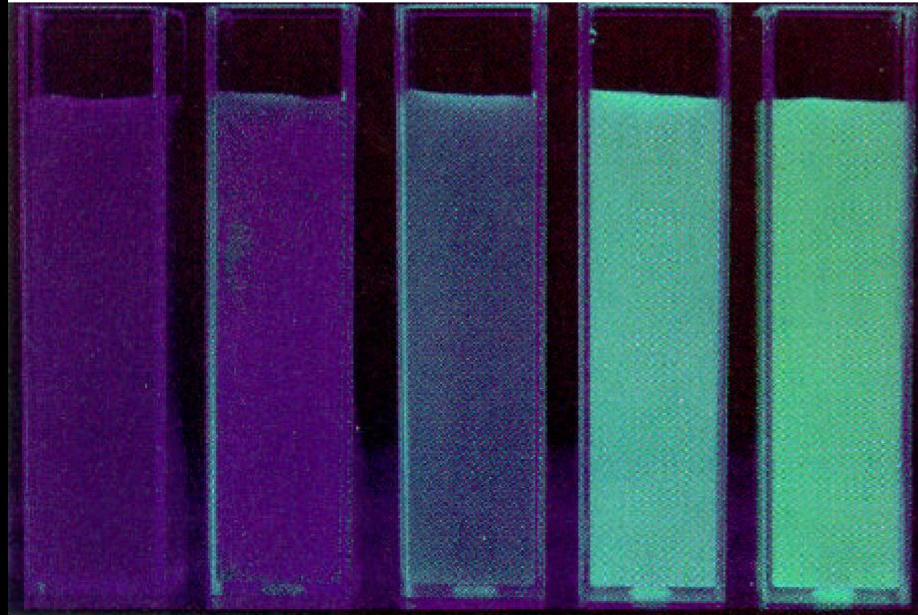
## Green Fluorescent Protein (GFP)



После сворачивания происходит химическое взаимодействие четырех аминокислотных остатков белка с образованием хромофора



# GFP: Improved Expression



3 rounds of shuffling increased fluorescence 45 X in *E. coli*

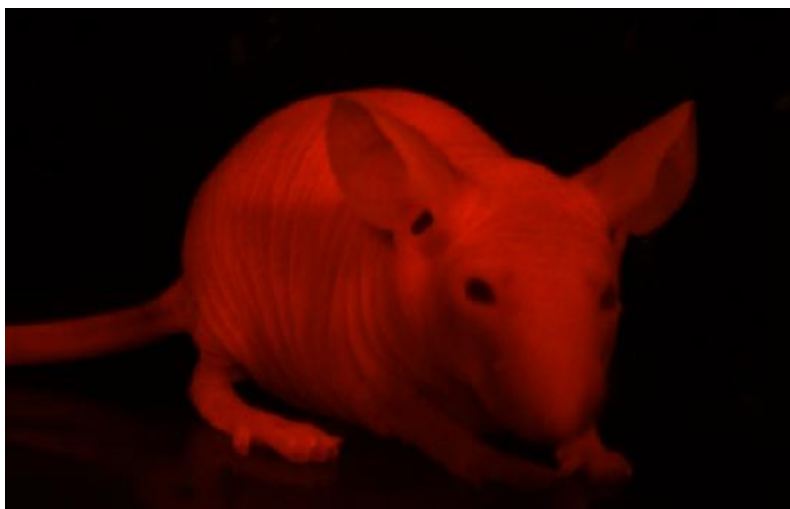
Shuffled gene also showed increased fluorescence in plants

GFP очень широко используется как репортер при экспериментах *in vivo*.  
Пример суперэкспрессии «улучшенного» GFP в клетках *E.coli* растениях

***Nature Biotechnology***: Volume 14, pp. 315-319, March 1996.



# Экспрессия флуоресцентных белков в мышах



# ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ

---

- **Стабилизация глобулы, защита от внешних воздействий**
- **Направленный транспорт**  
(особенно белки и ферменты медицинского назначения...)
- **Регуляция активности**
- **Регуляция времени жизни**

# ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ

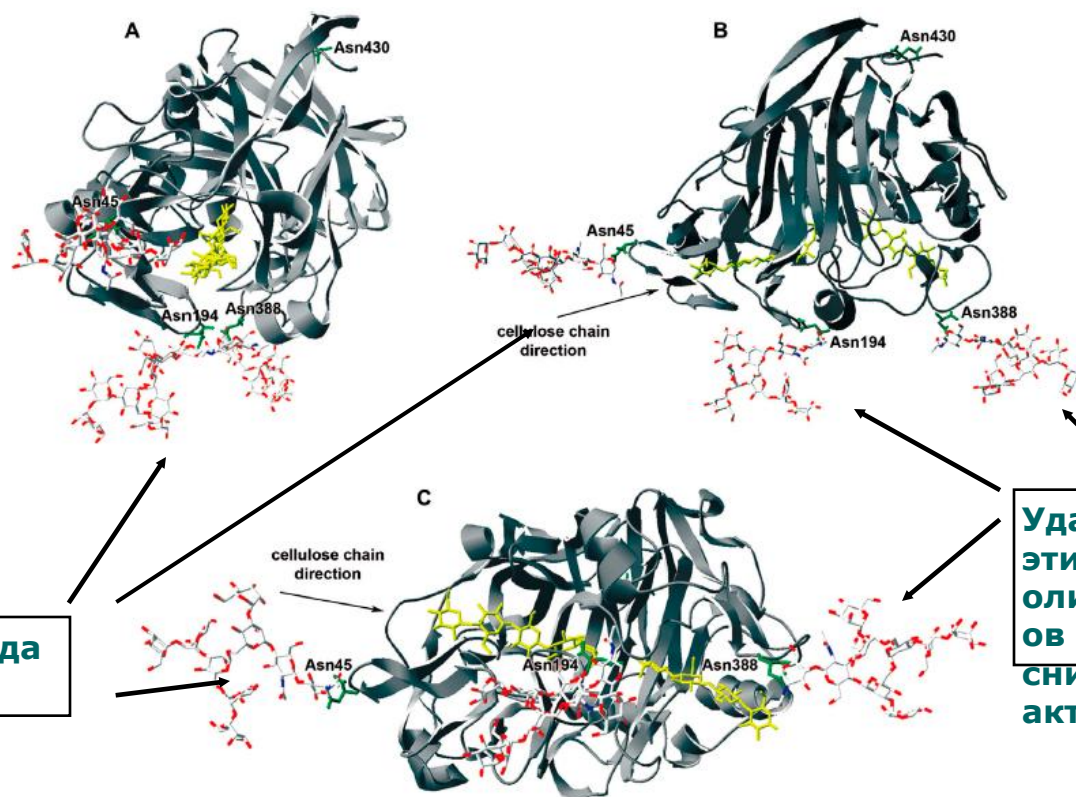
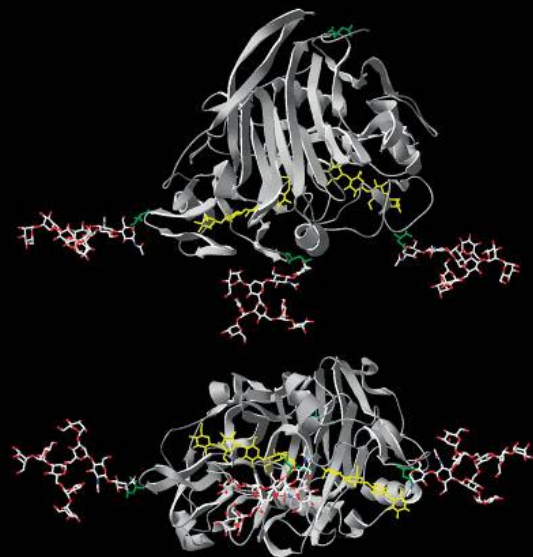
ARTICLE

BIOTECHNOLOGY  
and  
BIOENGINEERING

BIOTECHNOLOGY  
and  
BIOENGINEERING  
VOLUME 113 NUMBER 2 FEBRUARY, 2016

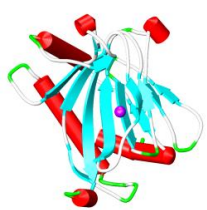
## *N*-Linked Glycosylation of Recombinant Cellobiohydrolase I (Cel7A) From *Penicillium verruculosum* and Its Effect on the Enzyme Activity

Anna S. Dotsenko,<sup>1</sup> Alexander V. Gusakov,<sup>1,2</sup> Pavel V. Volkov,<sup>2</sup>  
Aleksandra M. Rozhkova,<sup>1,2</sup> Arkady P. Sinitsyn<sup>1,2</sup>



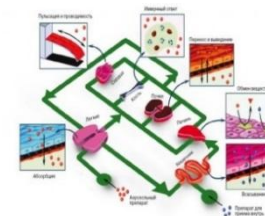
Удаление этого олигосахарид  
приводит к увеличению  
активности

Удаление  
этих  
олигосахарид  
ов  
снижает  
активность



# Регуляция времени жизни в клетке

## Схема регуляции стабильности фактора HIF\* пролилгидроксилазой (PHD)

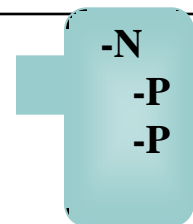


**Нормоксия**

**HIF-α**

**O<sub>2</sub>-зависимое ферментативное гидроксилирование**

**PHD**



**ODD**

402 P 564 P 803 N

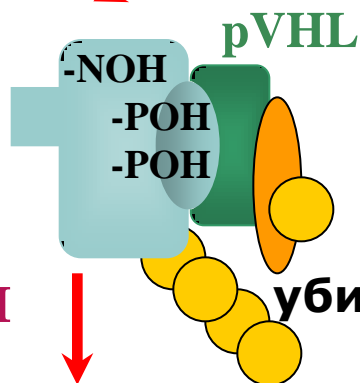
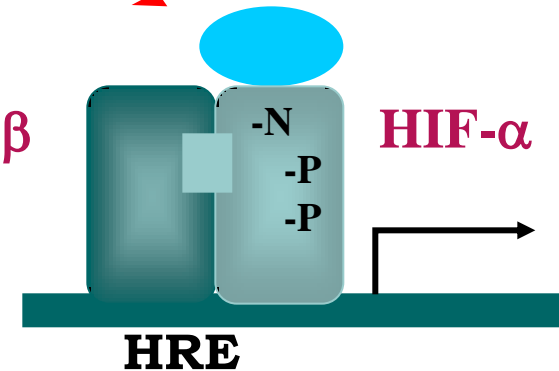
**Гипоксия**

**Ингибирование фермента PHD**

**СВР/p300**

**HIF-β**

**HIF-α**



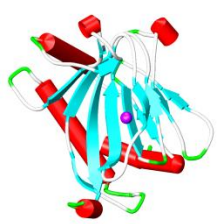
**HIF-α-OH**

**убиквитинирование**

**Протеасомная деградация**

**Активация транскрипции генов-мишеней, индукция ангиогенеза**

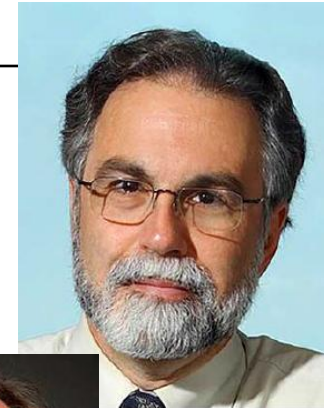
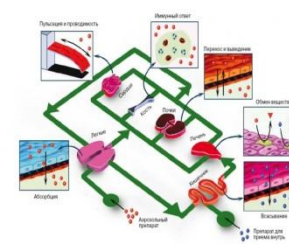
\*HIF - Hypoxia-Inducible Factor (фактор, индуцируемый гипоксией)



# Значение открытия

ноябрь 2019 года  
вручена Нобелевская премия

в области физиологии и медицины)



проф. Грегу Семенце  
(Gregg L. Semenza) (Гарвард)  
за открытие транскрипционного фактора HIF,



проф. Уильяму Каэлину младшему  
(William G. Kaelin Jr.) (Гарвард)  
за открытие механизма убиквитинирования  
этого фактора,



проф. Питеру Ратклиффу  
(Sir Peter J. Ratcliffe) (Оксфорд)  
за открытие фермента HIF пролилгидроксилазы.



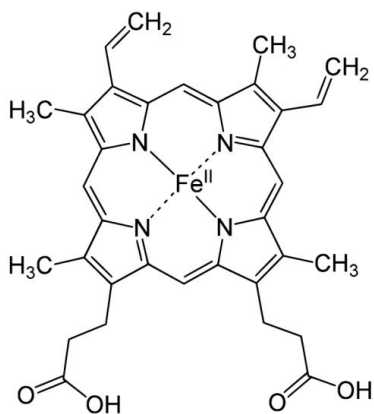
# Кофакторы и коферменты

---

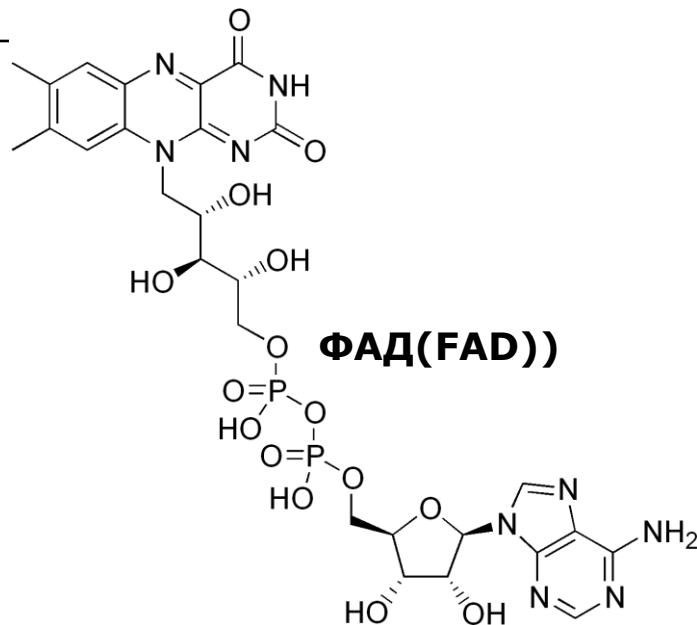
**Кофактор** – небелковая часть фермента, которая в ходе реакции претерпевает химические превращения, но по завершении каталитического цикла возвращается в исходное состояние

**Кoferмент** – фактически это универсальный субстрат для большого количества ферментов. В результате реакции, катализируемой одним ферментом, переходит из одного состояния в другое. В результате другой реакции (катализ как вторым ферментом, так и первым, но с другим субстратом) возвращается в исходную форму

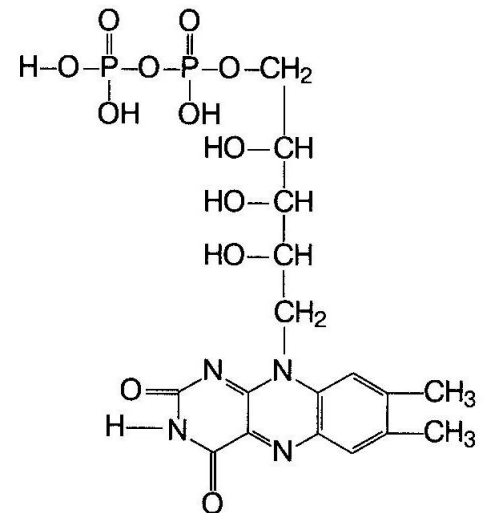
# Кофакторы



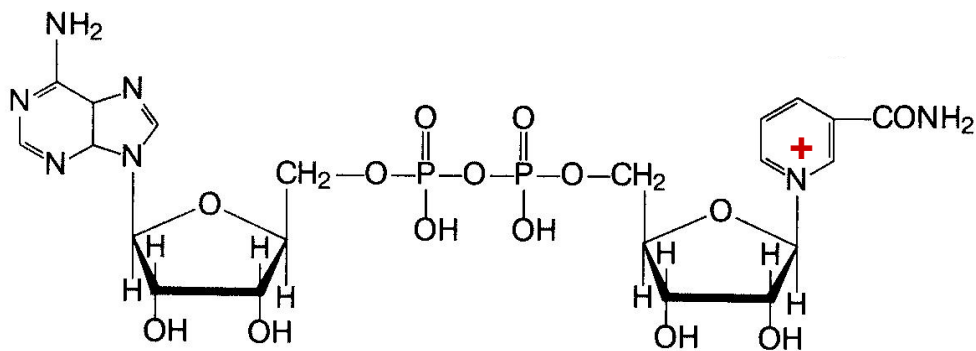
**Протопорфирин IX (гем В)**



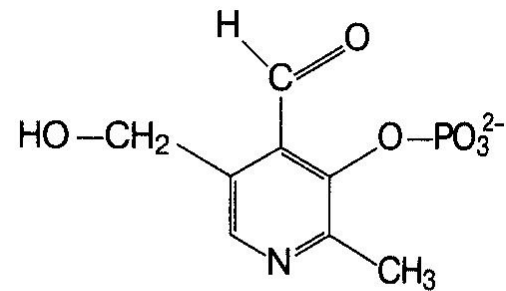
**ФАД (FAD)**



**В<sub>2</sub>** (Рибофлавинфосфат)

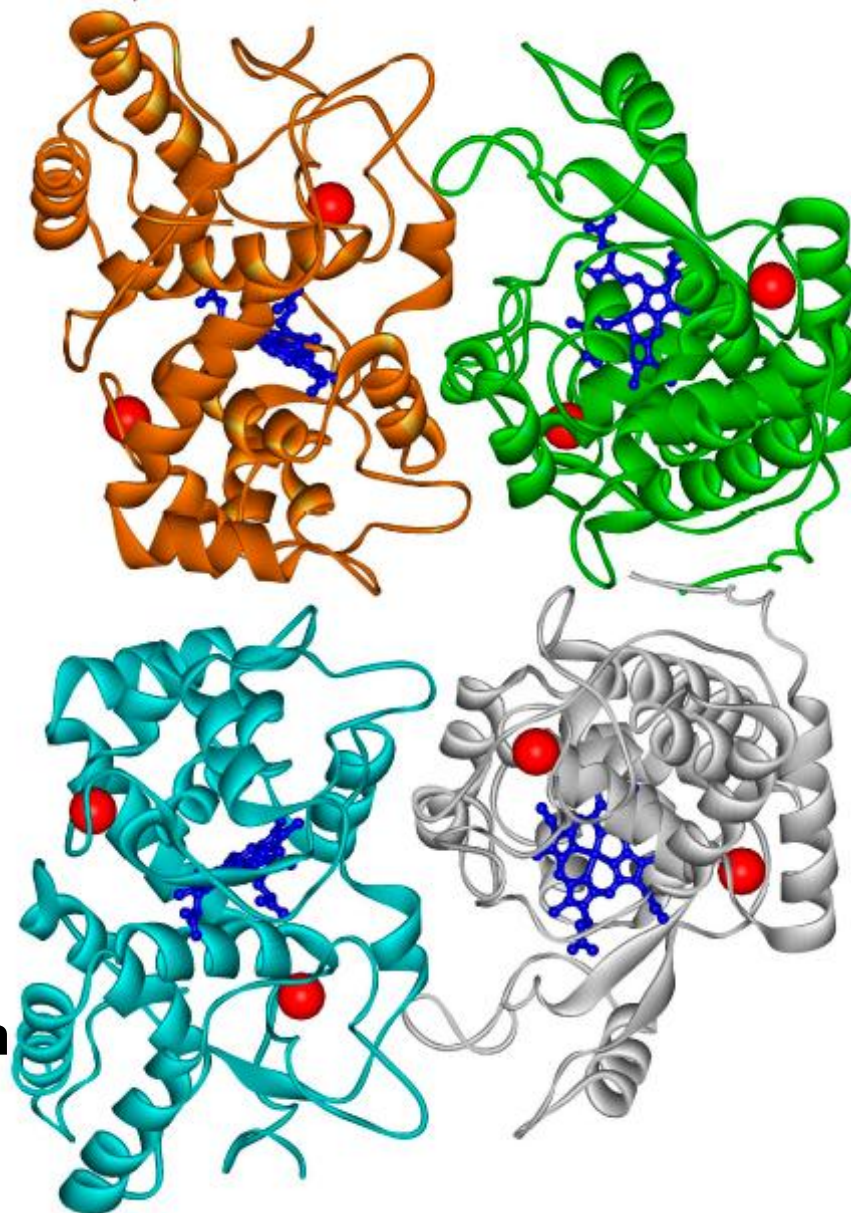
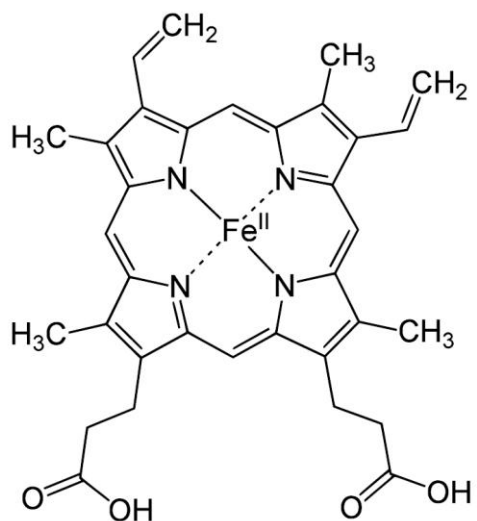


**NAD<sup>+</sup>**



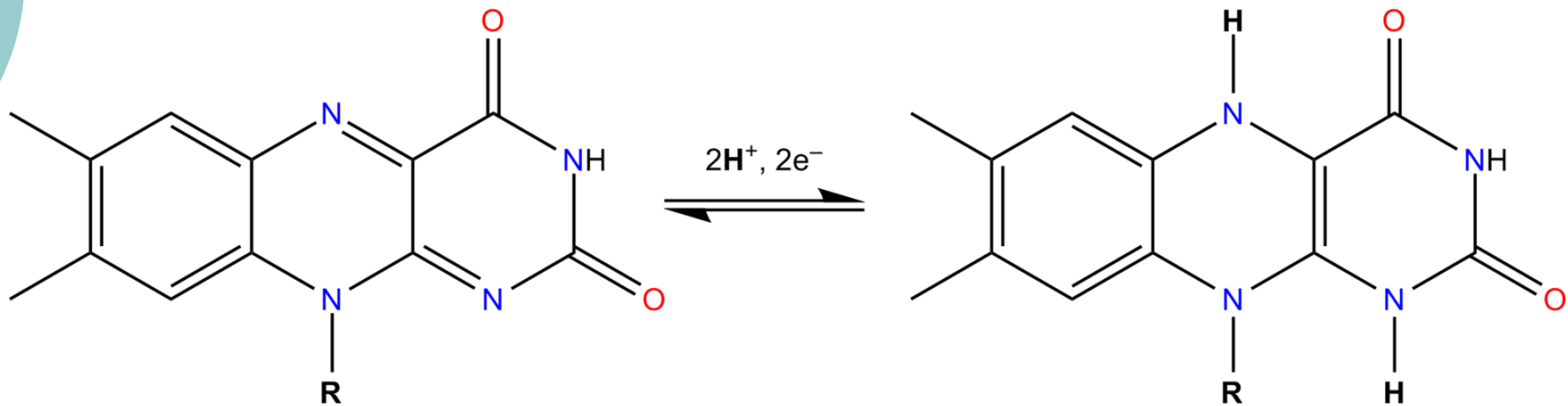
**(Пиридоксальфосфат)**

# Протопорфирин IX (гем В)



**Трёхмерная структура  
пероксидазы табака**

# Окислительно-восстановительное превращение изоаллоксазиновой группы FAD и FMN

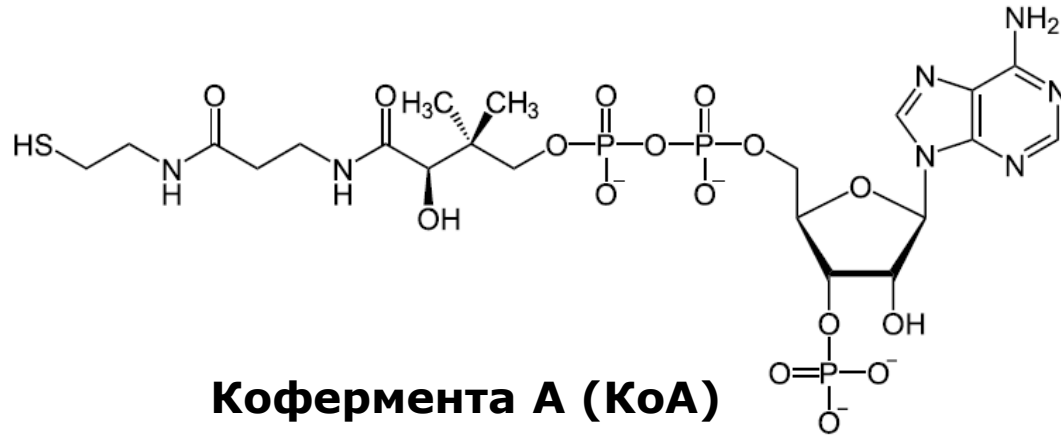


Диспетчер «раздачи электронов»:

- возможно восстановление-окисление в одну стадию за счет переноса гидрид-иона
- возможна «раздача» по одному электрону в две стадии



# Коферменты



**Кофермента А (КоА)**

## Ацил-КоА из карбоновых кислот:

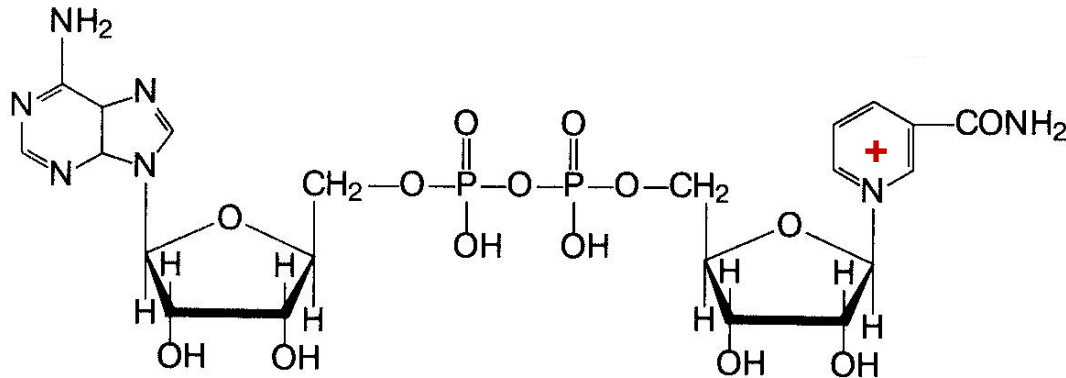
- Ацетил-КоА
- Пропионил-КоА
- Ацетоацетил-КоА
- Кумарол-КоА
- Бутирил-КоА

## Ацил-КоА из дикарбоновых кислот:

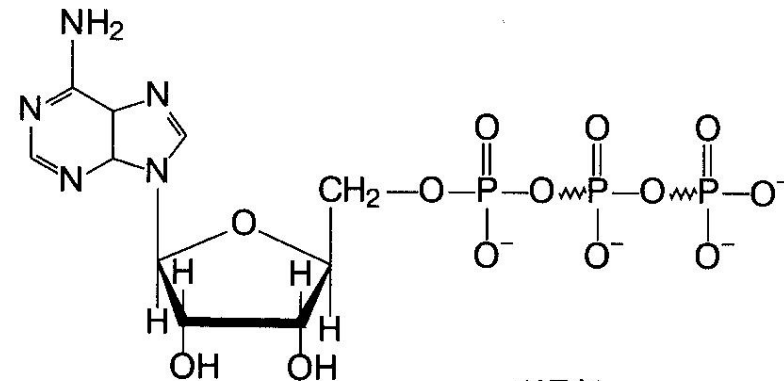
- Малонил-КоА
- Сукцинил-КоА
- Гидроксиметилглутарил-КоА
- Пименил-КоА

## Ацил-КоА из карбоциклических кислот:

- Бензоил-КоА
- Фенилацетил-КоА



(Н) **NAD<sup>+</sup>**



(АТФ)

# Коферменты и кофакторы.

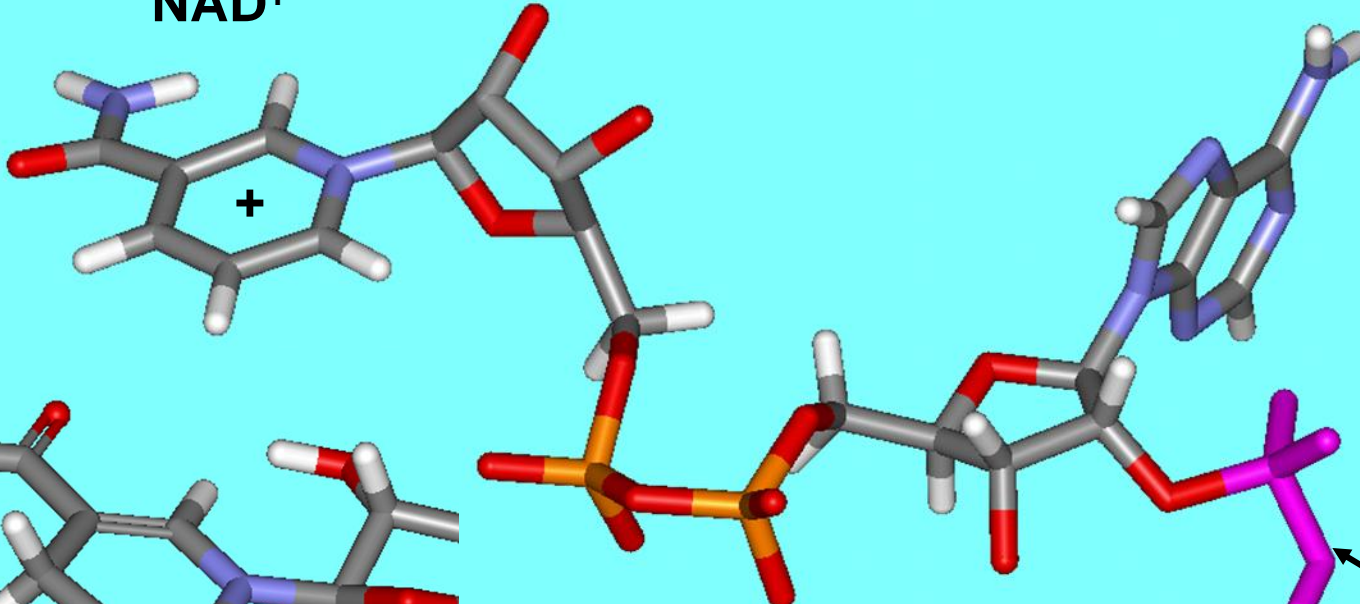
## NAD<sup>+</sup> и NADP<sup>+</sup>

### Никотинамидадениндинуклеотид (фосфат)

NAD(P)<sup>+</sup> - окисленная форма

NAD(P)H – восстановленная форма

NAD<sup>+</sup>



H<sub>re</sub>

H<sub>si</sub>

NADH

2'-фосфатная группа

Окисление/восстановление проходит **ТОЛЬКО** по механизму прямого переноса гидрид-иона

# Что определяет структуру белковой глобулы?

---

«Нативная конформация определяется по совокупности межатомных взаимодействий и, следовательно, по аминокислотной последовательности, в данной среде» (из Нобелевской



**Кристиан Бемер  
АНФИНИСЕН,**  
лауреат Нобелевской  
по химии 1972 г.  
(1916 – 1995)

# Что определяет структуру структура белковой глобулы?

---

«Первичная структура  
(аминокислотная  
последовательность) определяют  
третичную и четвертичную  
структуру белка»

**ЭТО НЕ СОВСЕМ ТАК!!!**



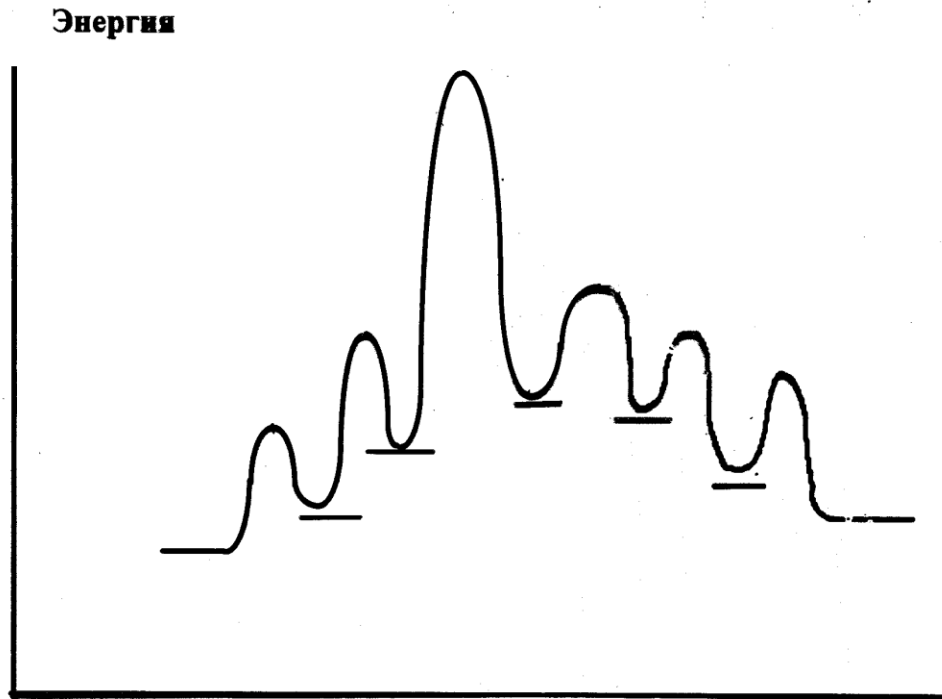
# Что определяет структуру белковой глобулы?

«Нативная конформация определяется по совокупности межатомных взаимодействий и, следовательно, по аминокислотной последовательности, **в данной среде**» (из Нобелевской лекции)



**Кристиан Бемер  
АНФИНИСЕН,**  
лауреат Нобелевской  
по химии 1972 г.  
(1916 – 1995)

# СТАБИЛЬНОСТЬ, ДЕНАТУРАЦИЯ И ИНАКТИВАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ



$$k_{\text{ин}} = \frac{k}{1 + K}$$

Уравнение Ламри-Эйринга