

Практическое занятие № 2.

Тема: Сложные белки.

Классификация белков. Белки, которые при гидролизе образуют только АК, называют простыми. Белки, которые при гидролизе, кроме АК образуют другие соединения, называют сложными. Классификация сложных белков (см. *Классификация сложных белков*) основывается на химической природе небелкового компонента (простетической группы) (см. *Формульный материал к теме «Сложные белки»*):

1. Углеводсодержащие белки (гликопротеины и протеоглики)
2. Металлопротеины.
3. Хромопротеины (гемопротеины и флавопротеины)
4. Фосфопротеины
5. Липопротеины
6. Нуклеопротеины

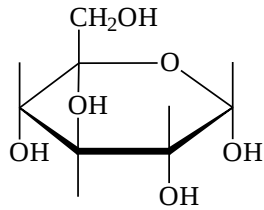
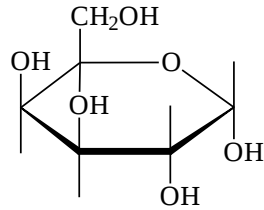
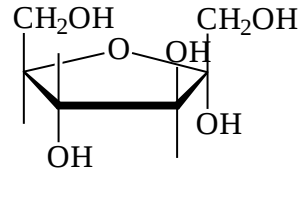
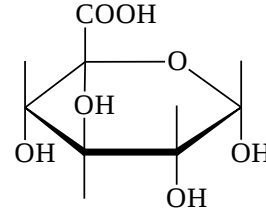
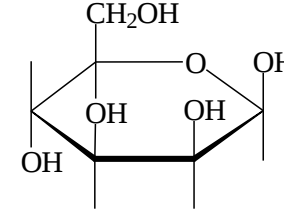
КЛАССИФИКАЦИЯ СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ				
Класс	Подкласс	Простетическая группа	Функции белков и примеры	Связь между простетической группой и белков
Углеводсодержащие белки	Гликопротеины	Моносахара и их производные (глюкоза, галактоза, фруктоза, сиаловая кислота, нейраминовая кислота и д.р.), олигосахариды	1) Защитная функция (иммуноглобулины, интерферон, муцин)	N-гликозидная и O-гликозидная связи.
			2) Гормональная функция (лютропин, фолитропин, тиреотропин)	
			3) Рецепторная (клеточные белки рецепторы)	
			4) Структурная (коллаген, эластин)	
	Протеогликаны	Гликозаминогликаны (гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота, гепарин)	1) Структурная (гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота формируют хрящи и связки)	
			2) Связывание воды и создание тургора тканей (гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота)	
			3) Ионобменная (хондроитинсульфат фиксирует катионы кальция в очагах оксификации)	
			4) Антикоагулянт (гепарин)	
Металлопротеины		Ионы металлов	1) Ферментативная (алкогольдегидрогеназа-Zn ²⁺ , гексокиназа-Mg ²⁺ , амилаза-Ca ²⁺)	Координационные связи
			2) Транспортная (трансферин-Fe ³⁺ , церулоплазмин-Cu ²⁺)	
			3) Резервная (ферритин- Fe ²⁺)	
			4) Гормональная (Инсулин- Zn ²⁺)	
			5) Минерализующая (кальцийсвязывающий белок-Ca ²⁺)	
			6) Рецепторная (Zn ²⁺ - зависимые рецепторы эпителиальных клеток отвечают за различение вкуса и запаха)	

Класс	Подкласс	Простетическая группа	Функции белков и примеры	Связь между простетической группой и белков
Хромопротеины	Гемопротеины	Железопорфириновый комплекс (Гем)	1) Ферментативная (каталаза, пероксидаза, цитохромы)	Гидрофобные, координационные связи и электростатические взаимодействия
			2) Транспортная (гемоглобин)	
			3) Депонирующая (миоглобин)	
	Флавопротеины	Активные формы витамина В ₂ (ФАД и ФМН)	Ферментативная (флавиновые дегидрогеназы: сукцинатдегидрогеназа, ацил-КоА-дегидрогеназа)	Водородные и гидрофобные, <i>иногда</i> ковалентные связи
Фосфопротеины		Фосфорная кислота	1) Ферментативная (фосфорилаза, фосфоглюкомутаза)	Сложноэфирные связи
			2) Питательная (казеин молока, вителин яичного желтка, овальбумин яичного белка)	
Липопротеины	Плазменные липопротеины	Липиды (триацилглицериды (ТАГ), глицерофосфолипиды (ФЛ), сфинголипиды, холестерин(ХС))	1) Хиломикроны (ХМ)-транспорт ТАГ из кишечника к тканям	Гидрофобные связи и электростатические взаимодействия
			2) Липопротеины Очень Низкой Плотности (ЛПОНП) - транспорт ТАГ от печени к тканям	
			3) Липопротеины Низкой Плотности (ЛПНП) - транспорт ХС от печени к тканям	
			4) Липопротеины Высокой Плотности (ЛПВП) транспорт ФЛ от печени к тканям и удаление избытка ХС из крови	
	Биологические мембраны	Липиды (глицерофосфолипиды, сфинголипиды, холестерин)	1) Барьерная	
			2) Транспортная	
			3) Рецепторная	
Нуклеопротеины	Дезоксирибо-нуклеопротеины	ДНК	Хранение и передача наследственной информации (хромосомы)	Электростатические взаимодействия
	Рибо-нуклеопротеины	РНК	Реализация наследственной информации - синтез белка (рибосома)	

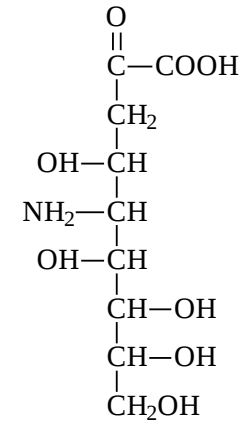
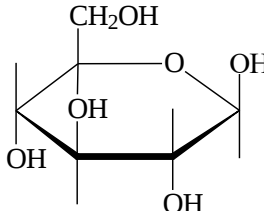
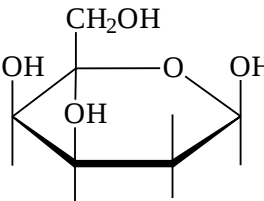
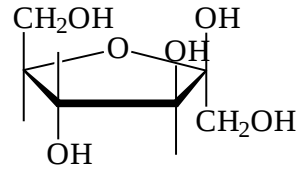
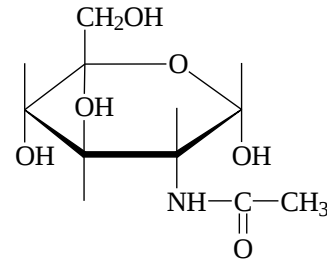
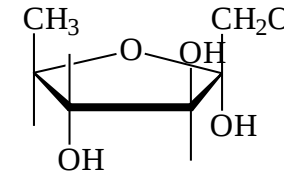
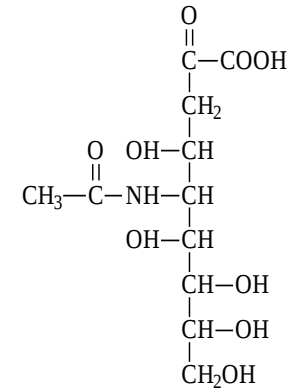
СФИНГОГАЛАКТОЗИД (ГАЛАКТОЦЕРЕБРОЗИД)

СФИНГОМИЕЛИН

МОНОСАХАРИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

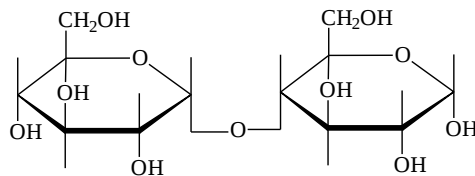
 α -ГЛЮКОЗА α -ГАЛАКТОЗА α -ФРУКТОЗАГЛЮКУРОНОВАЯ
КИСЛОТА

МАННОЗА

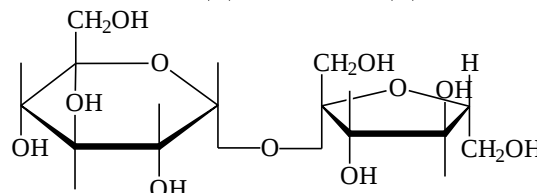
НЕЙРАМИНОВАЯ
КИСЛОТА β -ГЛЮКОЗА β -ГАЛАКТОЗА β -ФРУКТОЗААЦЕТИЛАМИНО-
ГЛЮКОЗА6-ДЕЗОКСИ-
ФРУКТОЗА

СИАЛОВАЯ КИСЛОТА

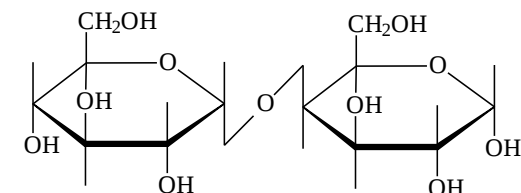
ДИСАХАРИДЫ



МАЛЬТОЗА



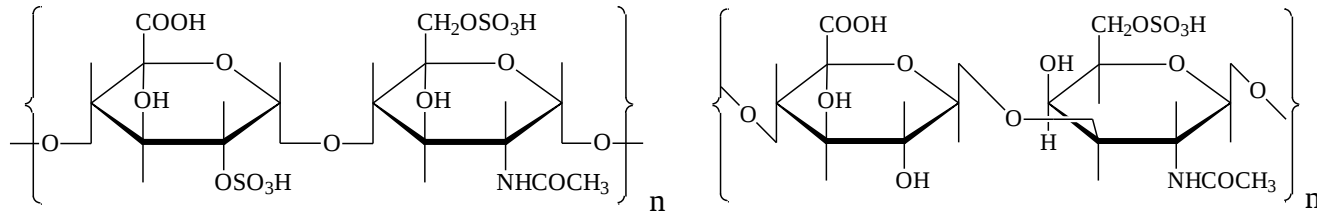
САХАРОЗА



ЛАКТОЗА

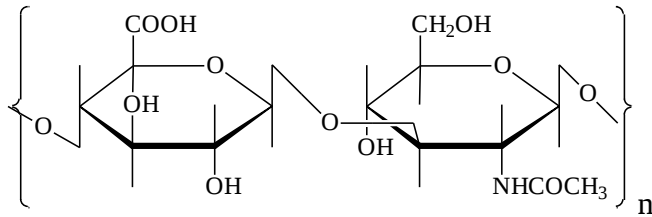
ПОЛИСАХАРИДЫ

ГЕТЕРОПОЛИСАХАРИДЫ



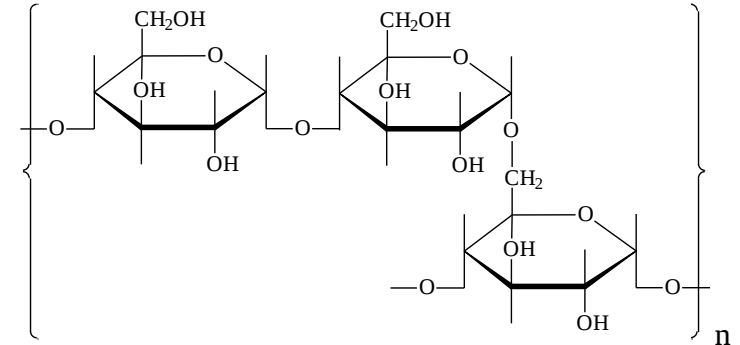
ГЕПАРИН

ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТ

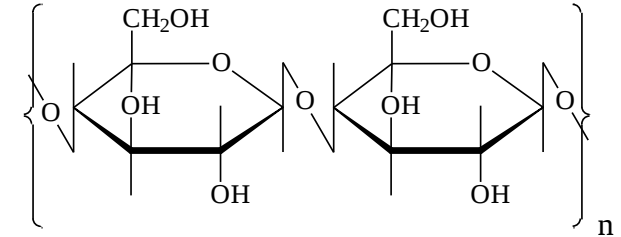


ГИАЛУРОНОВАЯ КИСЛОТА

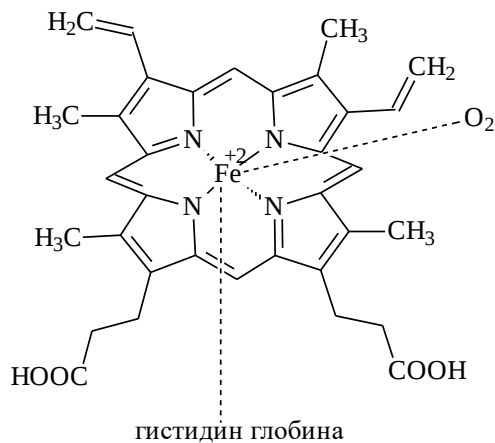
ГОМОПОЛИСАХАРИДЫ



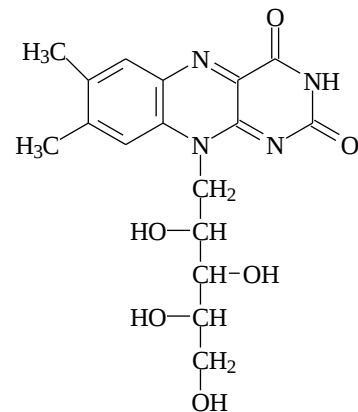
КРАХМАЛ (ГЛИКОГЕН)



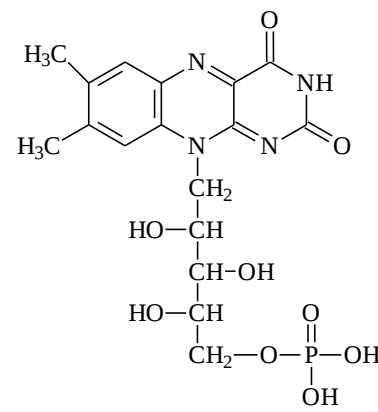
ЦЕЛЛЮЛОЗА



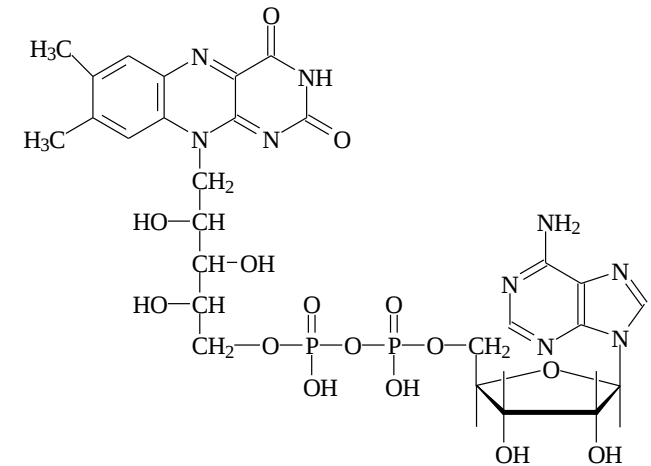
ГЕМ



РИБОФЛАВИН (В₂)



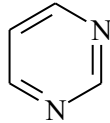
ФМН



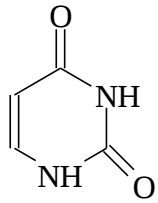
ФАД

АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ

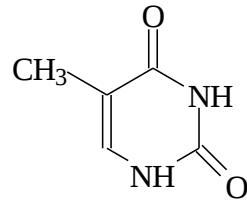
ПИРИМИДИНОВЫЕ



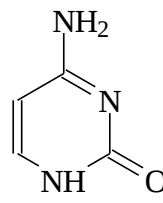
ПИРИМИДИН



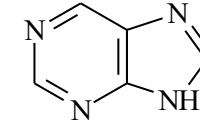
УРАЦИЛ



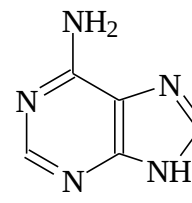
ТИМИН



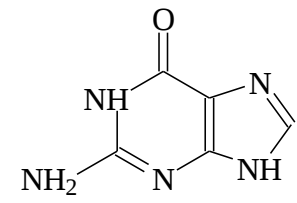
ЦИТОЗИН



ПУРИН

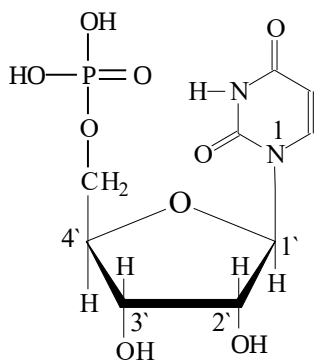


АДЕНИН

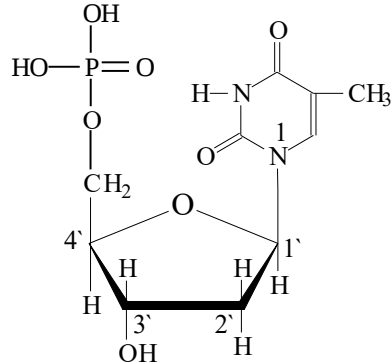


ГУАНИН

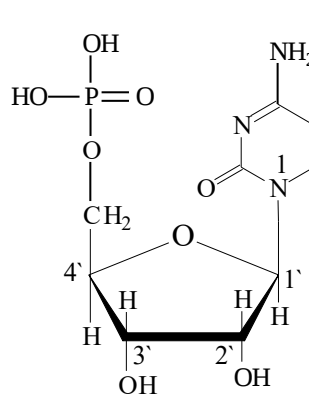
МОНОНУКЛЕОТИДЫ



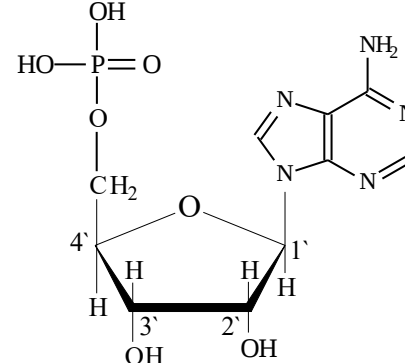
УМФ



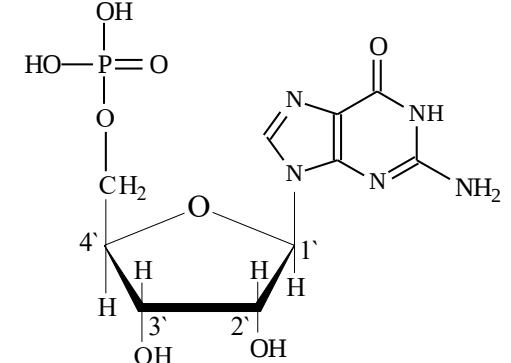
дТМФ



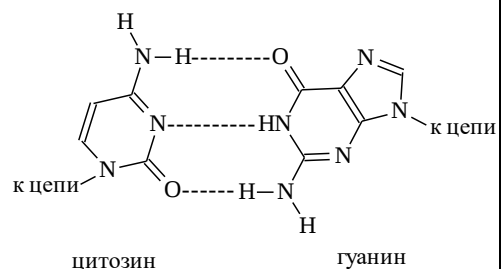
ЦМФ



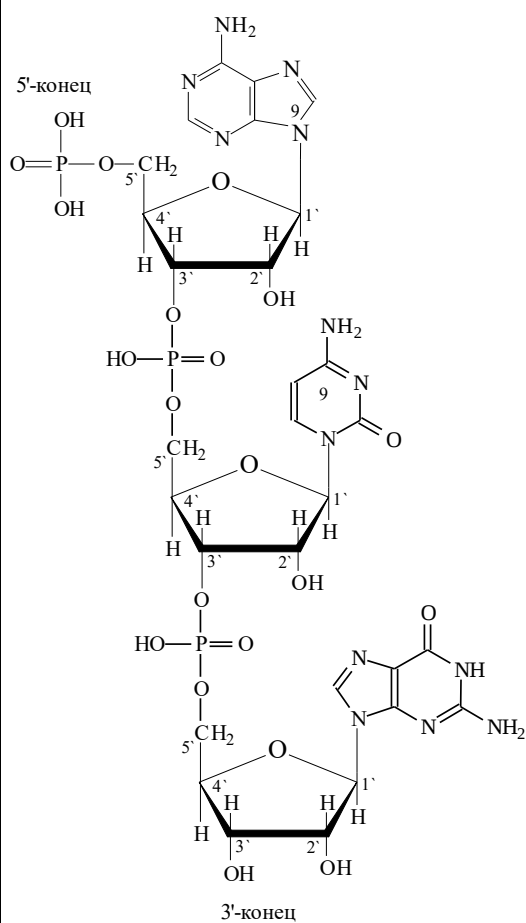
АМФ



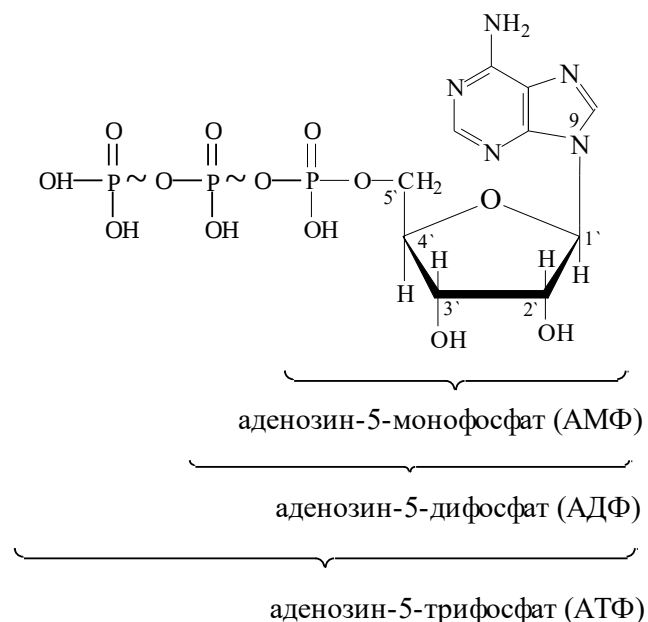
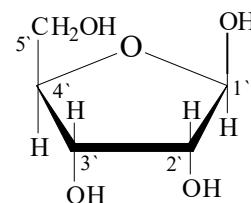
ГМФ



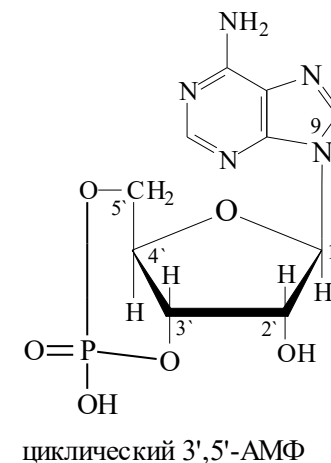
ТРИНУКЛЕОТИД, СОСТОЯЩИЙ
ИЗ АДЕНИЛОВОГО,
ЦИТИДИЛОВОГО И
ГУАНИЛОВОГО НУКЛЕОТИДОВ,
СОЕДИНЕННЫХ 3'-5'-
ФОСФОДИЭФИРНОЙ СВЯЗЬЮ



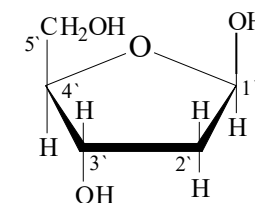
СВОБОДНЫЕ НУКЛЕОТИДЫ

 $\text{AT}\Phi$ 

РИБОЗА



ЦАМФ



ДЕЗОКСИРИБОЗА

Тема: Матричные синтезы. Репликация, транскрипция, трансляция

Матричный биосинтез – процесс синтеза молекул биополимеров (нуклеиновых кислот и белков) в живых организмах, строение которых происходит на матрице.

Матричные биосинтезы (см. *Матричные синтезы*):

- репликация
- транскрипция
- трансляция

Свойства генетического кода

1. Триплетность
2. Однозначность (специфичность)
3. Вырожденность
4. Универсальность
5. Коллинеарность
6. Неперекрываемость
7. Отсутствие «знаков препинания»
8. Однонаправленность

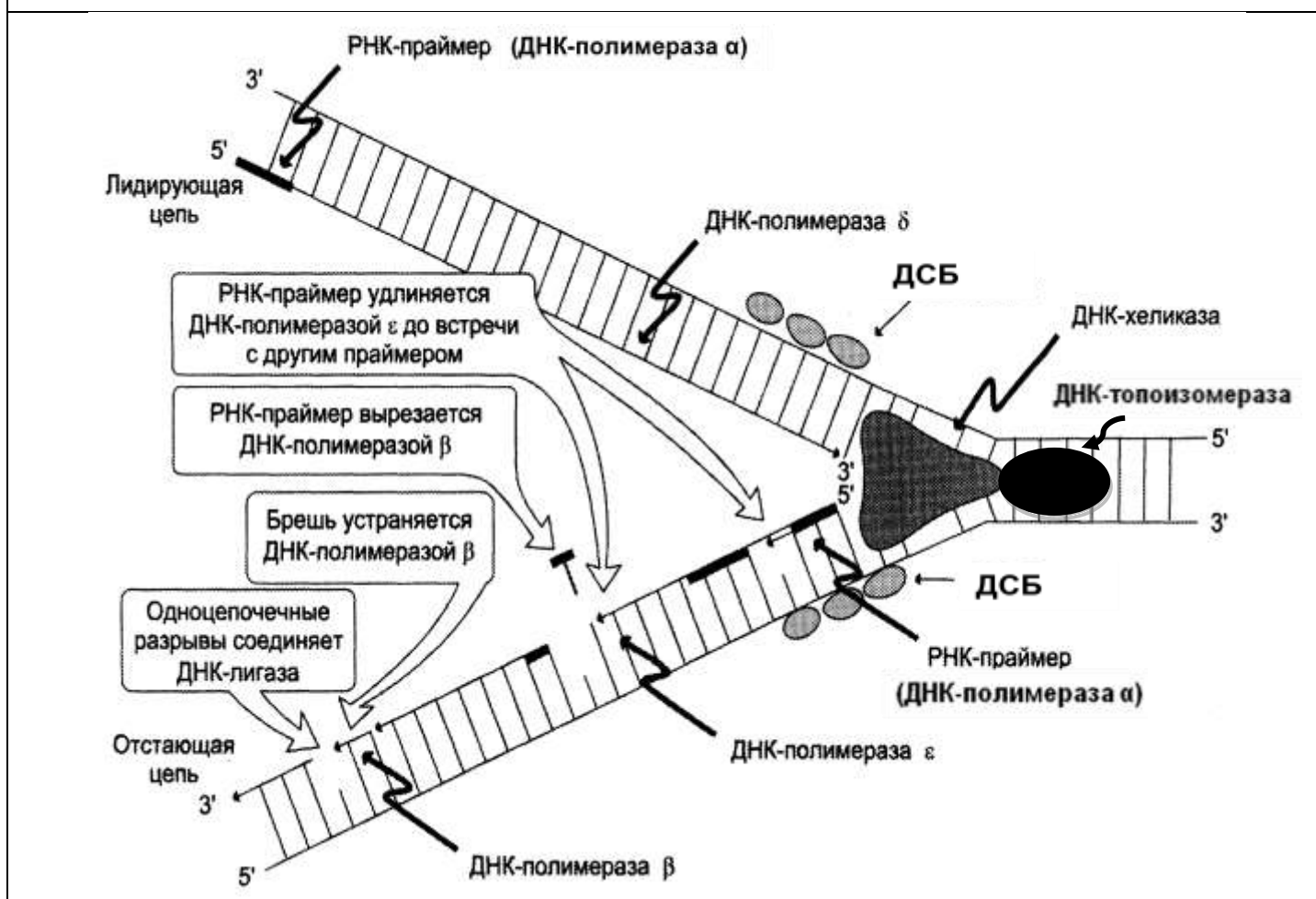
Основной постулат молекулярной биологии гласит, что перенос генетической информации осуществляется только от нуклеиновой кислоты (ДНК и РНК). Получателем информации может быть другая нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) и белок.



I. РЕПЛИКАЦИЯ. Белки и ферменты. Схема процесса.

ДНК-топоизомеразы.	Перед репликативной вилкой, разрезают молекулу ДНК для облегчения ее расплетания и раскручивания.
ДНК-хеликазы.	Следуют за топоизомеразами, раскручивают и расплетают молекулу ДНК.
ДНК-связывающие белки (ДСБ).	Связывают расплетенные нити ДНК и стабилизируют их, не допуская обратного "слипания" друг с другом.
ДНК-полимераза α (альфа) (Праймаза)	В направлении $5' \rightarrow 3'$ синтезирует праймер (РНК-затравку) – последовательность РНК на матрице ДНК длиной от 10 до 200 нуклеотидов.
ДНК-полимераза δ (дельта).	Присоединяется к 3'-концу праймера и осуществляет синтез <i>ведущей цепи</i> дочерней ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$ на матрице материнской нити ДНК по направлению от ее 3'-конца к 5'-концу (скорость до 100 пар нуклеотидов в секунду).
ДНК-полимераза ϵ (эпсилон)	Присоединяется к 3'-концу праймера на <i>отстающей цепи</i> и продолжает его удлинять, но в качестве субстрата встраивает дезоксирибонуклеотиды (в количестве 150-200 нуклеотидов). В результате образуется цельная нить из двух частей – РНК (праймер) и ДНК (вместе образуют фрагмент Оказаки). ДНК-полимераза ϵ работает до тех пор, пока не встретит праймер предыдущего фрагмента Оказаки (синтезированный чуть ранее).
ДНК-полимераза β (бета)	Встает вместо ДНК-полимеразы ϵ , движется в том же направлении ($5' \rightarrow 3'$) и удаляет рибонуклеотиды праймера, одновременно встраивая дезоксирибонуклеотиды на их место. Фермент работает до полного удаления праймера (пока на его пути не встанет дезоксирибонуклеотид (еще более ранее синтезированный ДНК-полимеразой ϵ)).
ДНК-лигаза.	Производит сшивку двух соседних фрагментов Оказаки.

Репликативная вилка



II. ТРАНСКРИПЦИЯ. Ферменты. Схема процесса.

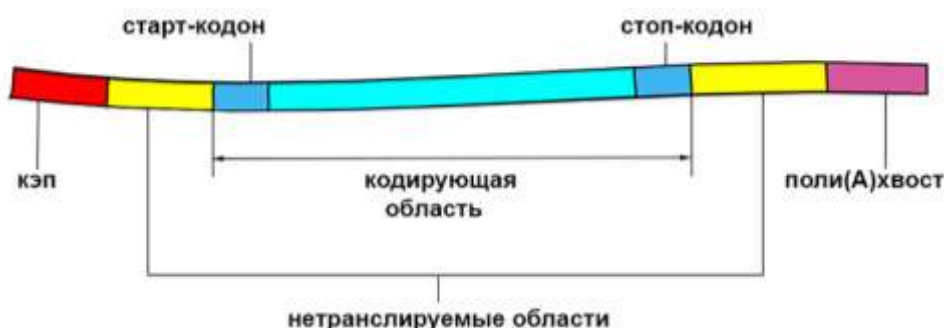
ДНК-зависимые РНК-полимеразы	
РНК-полимераза I РНК-полимераза II РНК-полимераза III	синтезирует пре-рРНК синтезирует пре-мРНК; синтезирует пре-тРНК
Биосинтез РНК происходит в участке ДНК, который называется транскриптон , с одного края он ограничен промотором (начало), с другого – терминатором (конец).	
Инициация	Промотор содержит стартовый сигнал транскрипции – ТАТА-бокс - определенная последовательность нуклеотидов ДНК, связывающая первый белковый фактор инициации ТАТА-фактор . Этот ТАТА-фактор обеспечивает присоединение РНК-полимеразы к той нити ДНК, которая будет использоваться в качестве шаблона для транскрипции (матричная нить ДНК). Для связывания РНК-полимеразы с промотором необходим белковый фактор инициации – σ -фактор (сигма) После синтеза затравочного фрагмента РНК (длиной 8-10 рибонуклеотидов) σ -фактор отрывается от фермента. Другие белковые факторы инициации раскручивают спираль ДНК перед РНК-полимеразой.
Элонгация	Белковые факторы элонгации обеспечивают продвижение РНК-полимеразы вдоль ДНК и расплетают молекулу ДНК на протяжении 17 нуклеотидных пар. РНК-полимераза продвигается со скоростью 40-50 нуклеотидов в секунду в направлении 5'→3'. Фермент использует АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ одновременно в качестве субстрата и в качестве источника энергии.
Терминация	РНК-полимераза остановится, когда достигнет терминирующих кодонов. С помощью белкового фактора терминации, ρ -фактора (ρ), от матрицы ДНК отделяются фермент и синтезированная молекула РНК, которая называется первичный транскрипт - предшественник мРНК, тРНК или рРНК.
1. Инициация 2. Элонгация 3. Терминация	Схема процесса транскрипции: Инициация: ТАТА-фактор связывается с ТАТА-боксом на ДНК. РНК-полимераза и факторы инициации присоединяются к комплексу. Элонгация: РНК-полимераза продвигается вдоль ДНК, синтезируя пре-РНК в направлении 5' к 3'. Используются нТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ. Терминация: РНК-полимераза достигает сайта терминации, и первичный транскрипт (пре-РНК) высвобождается.

Процессинг – созревание молекул РНК

1. Созревание предшественника матричной РНК (мРНК)

Сплайсинг	Удаление интронов (некодирующих участков) и сохранение экзонов (кодирующих участков) при участии малых ядерных РНК
Кэпирование	Присоединении к 5'-трифосфату концевому нуклеотиду пре-мРНК 5'-углерода N ⁷ -метил-гуанозина. "Кэп" необходим для защиты молекулы РНК от экзонуклеаз, работающих с 5'-конца, а также для связывания мРНК с рибосомой и для начала трансляции.
Полиаденилирование	Присоединение к 3'-концу РНК от 100 до 200 адениловых нуклеотидов (при помощи полиаденилат-полимеразы с использованием молекул АТФ), формирующих полиадениловый фрагмент – поли(А)-хвост. Поли(А)-хвост необходим для защиты молекулы РНК от экзонуклеаз, работающих с 3'-конца.

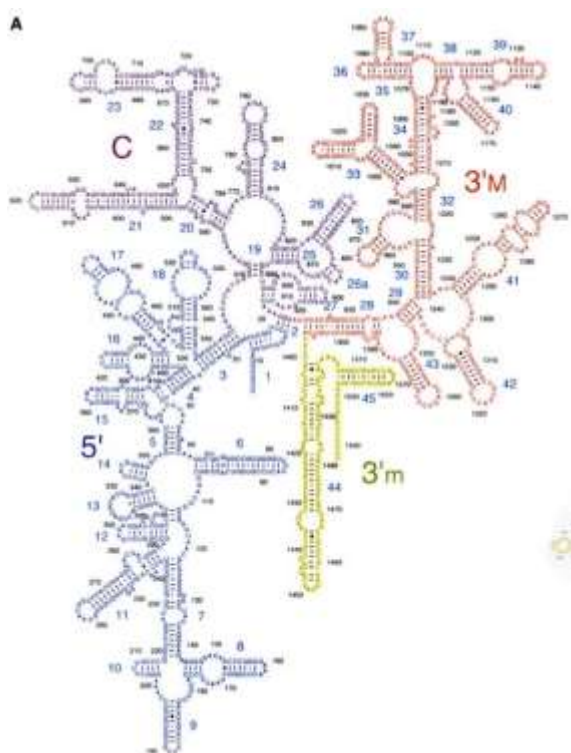
Строение зрелой молекулы мРНК



2. Созревание предшественника рибосомальной РНК (рРНК)

Разрезание пре-рРНК на более мелкие формы

Строение зрелой молекулы рРНК



Вторичная структура и доменная организация рибосомальной 16S РНК T. Thermophilus. 5'-домен обозначен синим цветом, центральный — фиолетовым, 3'-major — красным и 3'-minor — желтым. Спиральные участки пронумерованы от 1 до 45.

3. Созревание предшественника транспортной РНК (тРНК)

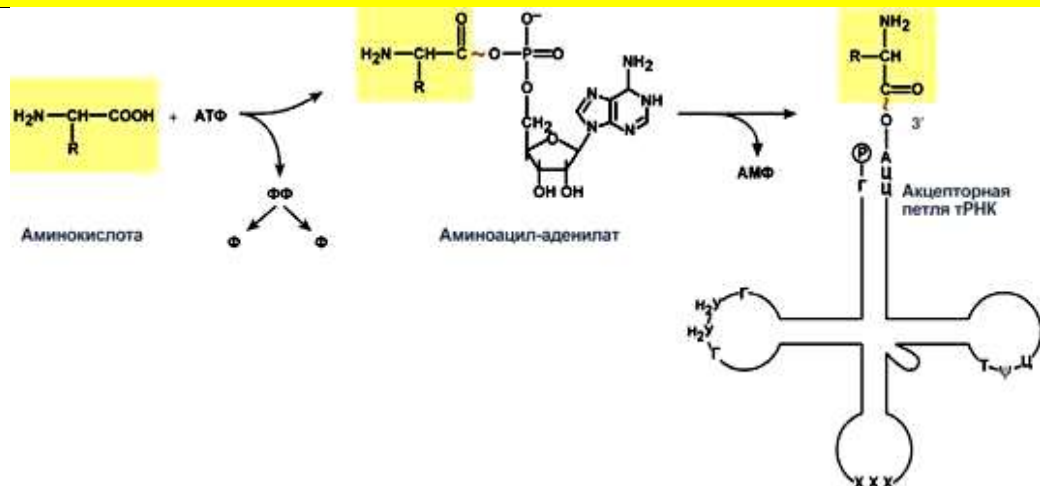
1. Модификация нуклеотидов в молекуле путем дезаминирования, метилирования, восстановления.
2. Формирование антикодоновой петли путем сплайсинга и удаления интрона в средней части пре-тРНК.
3. Формирование на 3'-конце последовательности ЦЦА.

Строение зрелой молекулы тРНК



III. ТРАНСЛЯЦИЯ – синтез белка на рибосомах

1. Активация аминокислот (цитозоль)



Присоединение аминокислоты к тРНК осуществляется ферментом аминоацил-тРНК-синтетазой. Для реакции требуется две макроэргические связи АТФ.

2. Инициация (рибосома)

Матричная РНК
Фактор инициации ИФ-3
Малая субъединица рибосомы

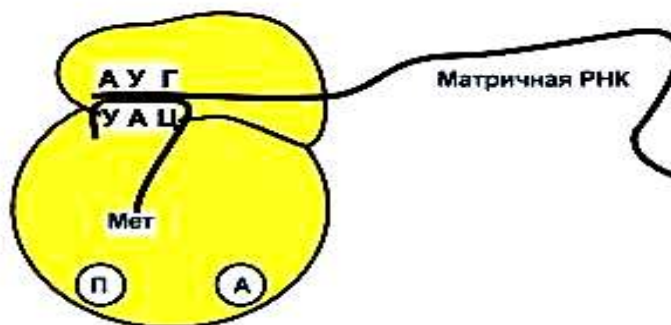
ГТФ
Метионил-тРНК
Фактор инициации ИФ-2

+ Фактор инициации ИФ-1

Образование и объединение тройных комплексов

Большая субъединица рибосомы

ГДФ + Ф
ИФ-1, ИФ-2, ИФ-3



Для инициации необходимы: мРНК, ГТФ, метионил-тРНК, малая и большая субъединицы рибосомы, три белковых фактора инициации (ИФ-1, ИФ-2, ИФ-3).

В начале этой стадии формируются два тройных комплекса:

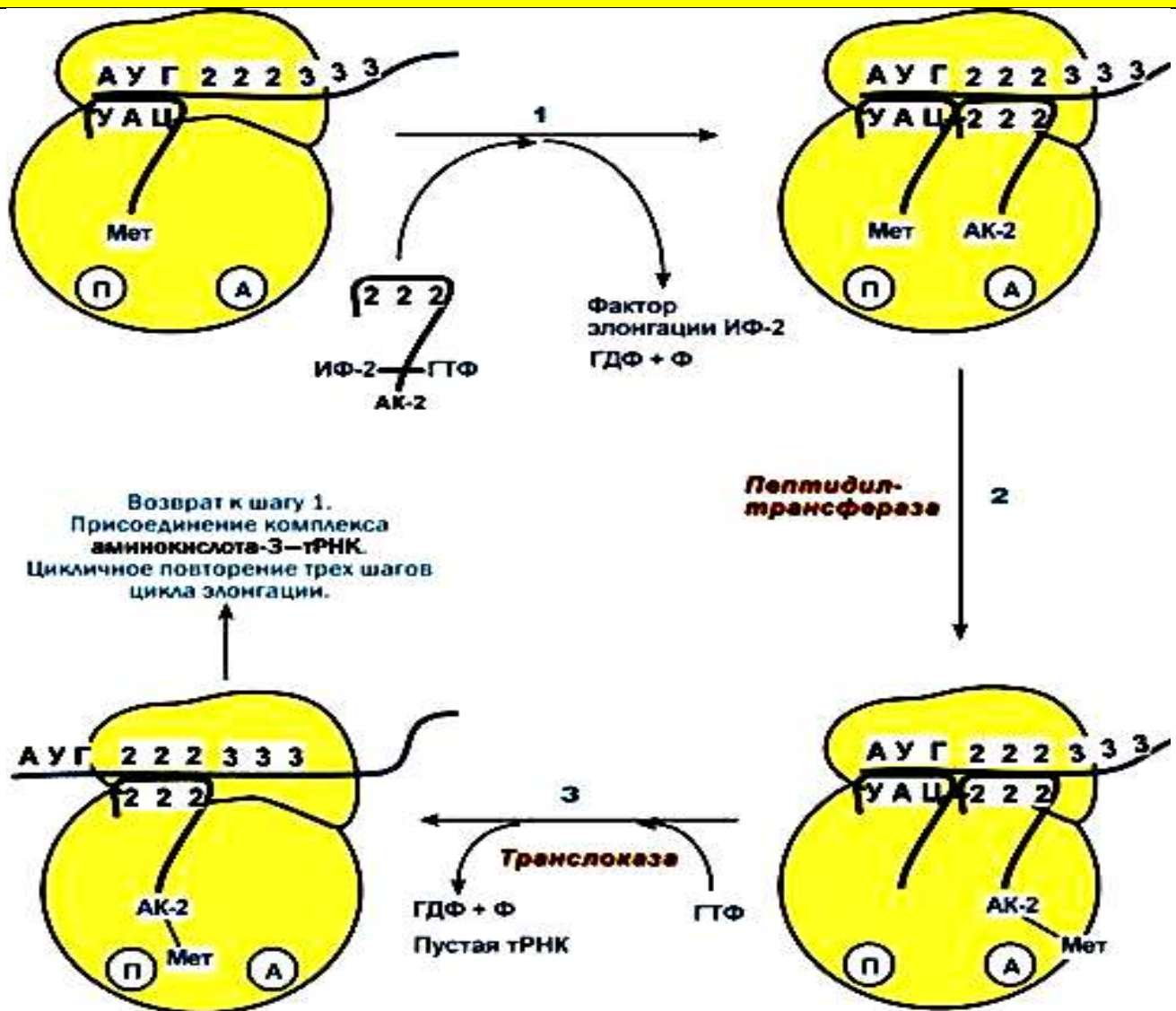
- 1) первый комплекс – мРНК + малая субъединица + ИФ-3,
- 2) второй комплекс – метионил-тРНК + ИФ-2 + ГТФ.

После формирования тройные комплексы объединяются с большой субъединицей рибосомы. В этом процессе активно участвуют белковые факторы инициации (Источник энергии – ГТФ).

После сборки комплекса иницирующая метионил-тРНК связывается с первым кодоном **АУГ** матричной РНК и располагается в П-центре (пептидный центр) большой субъединицы. А-центр (аминоацильный центр) остается свободным, он будет задействован на стадии элонгации для связывания аминоксил-тРНК.

После присоединения большой субъединицы начинается стадия элонгации.

3. Элонгация (рибосома)



Для элонгации необходимы: 20 aa-тРНК, белковые факторы элонгации, ГТФ.

Элонгация представляет собой циклический процесс. Каждый цикл включает три шага:

1. Присоединение аминоацил-тРНК (второй) к кодону мРНК (второму), аминокислота при этом встраивается в А-центр рибосомы. (Источник энергии – ГТФ).
2. Транспептидация. Фермент пептидилтрансфераза осуществляет перенос метионина с метионил-тРНК (в П-центре) на вторую аминоацил-тРНК (в А-центре) с образованием пептидной связи между метионином и второй аминокислотой. (Источником энергии - макроэргическая связь между аминокислотой и тРНК).
3. Транслокация. Фермент транслоказа перемещает рибосому относительно мРНК таким образом, что первый кодон АУГ оказывается вне рибосомы, второй кодон - напротив П-центра (в нем располагается вторая тРНК с новообразованным дипептидом), напротив А-центра - третий кодон. (Источник энергии – ГТФ).

Цикл элонгации (реакции 1,2,3) повторяется столько раз, сколько аминокислот необходимо включить в полипептидную цепь.

4. Терминация (рибосома)



Синтез белка продолжается до тех пор, пока в А-центр рибосома не попадет один из терминирующих кодонов мРНК (стоп-кодонов, нонсенс-кодонов) - УАА, УАГ, УГА. При вхождении этих кодонов в А-центр рибосомы происходит активация белковых факторов терминации, которые последовательно катализируют:

1. Гидролитическое отщепление полипептида от конечной тРНК.
2. Отделение от П-центра последней, уже пустой, тРНК.
3. Диссоциацию рибосомы.

Источником энергии для завершения трансляции является ГТФ.

5. Посттрансляционная модификация белков – процессинг (цитозоль)

Реакции превращения полипептида в активный белок называются процессинг или посттрансляционная модификация белков.

К основным реакциям процессинга относятся:

1. Удаление с N-конца метионина.
2. Образование дисульфидных мостиков между остатками цистеина.
3. Частичный протеолиз.
4. Присоединение химической группы к аминокислотным остаткам белковой цепи: фосфорной кислоты (фосфорилирование по Сер, Тре, Тир используется при регуляции активности ферментов), карбоксильной группы (при участии витамина К происходит γ -карбоксилирование глутамата в составе протромбина), метильной группы (метилование аргинина и лизина в составе гистонов используется для регуляции активности генома), гидроксильной группы (образование гидроксипролина и гидроксилизина необходимо для созревания молекул коллагена), йода (в тиреоглобулине присоединение йода необходимо для образования предшественников тиреоидных гормонов).
5. Включение простетической группы: углеводных остатков, гема, витаминных коферментов.
6. Объединение протомеров в единый олигомерный белок.
7. Фолдинг белков – это процесс укладки вытянутой полипептидной цепи в правильную трехмерную пространственную структуру с помощью белков шаперонов. Шапероны способствуют переходу структуры белков от первичного уровня до третичного и четвертичного.

