

Лекция 2

Строение белка. Укладка и деградация белковой молекулы.

Ферменты - принцип храповика.

Состав и строение клеточных мембран.

Транспорт через мембрану.

Основные классы биологических макромолекул

Белки (структурные белки, ферменты)

Нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК

Липиды (фосфолипиды)

Полисахариды (углеводы)

**Сложные молекулы (белки):
гликопротеиды, липопротеиды**

Молекула белка

Молекула белка – линейная последовательность аминокислот (-C-C-N-C-C-N-...). Пространственная структура белка определяется в основном боковыми цепями аминокислот.

За счет водородных связей между аминокислотами образуется альфа-спираль или бета-слой.

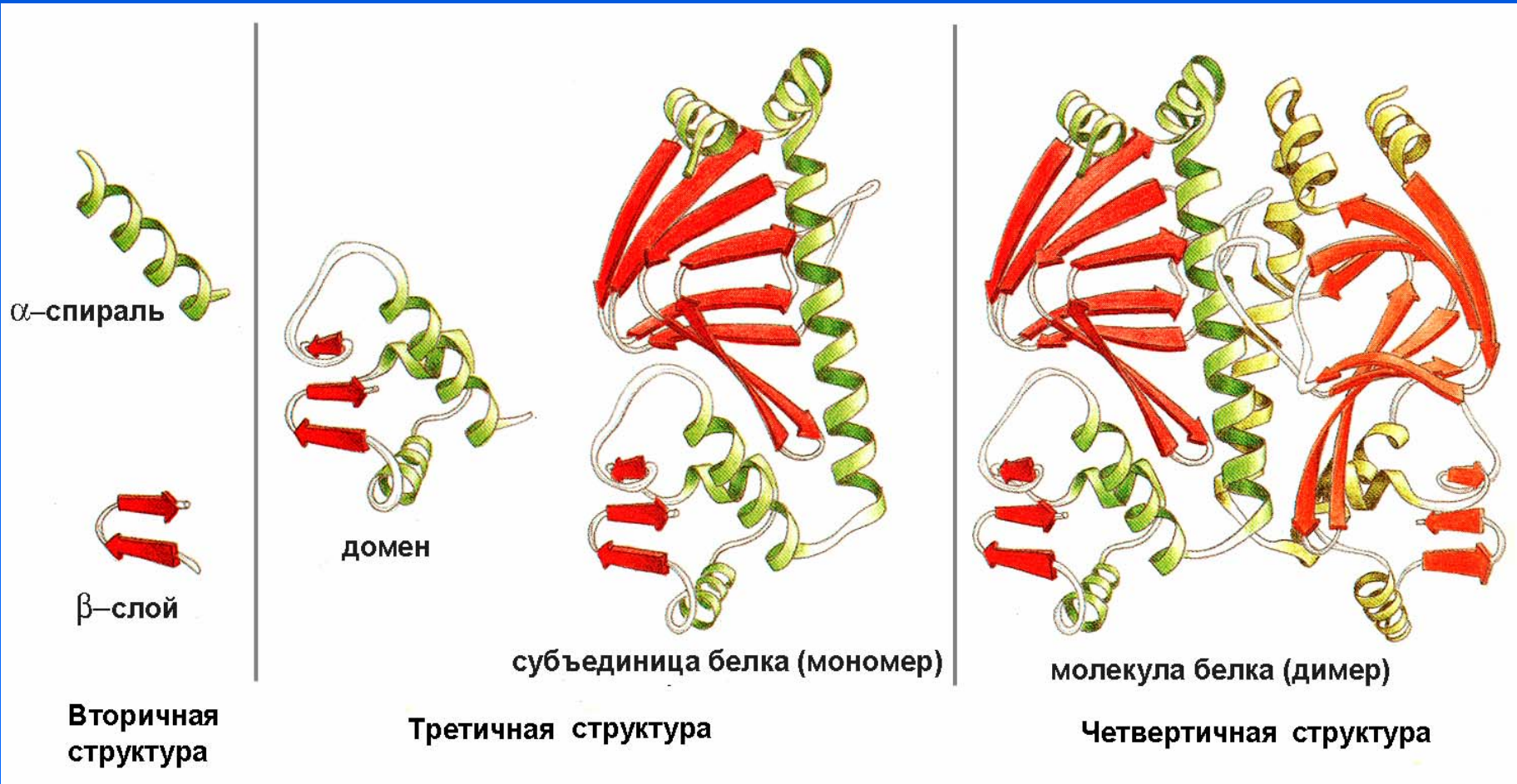
Период в альфа-спирали – 0,54 нм, период бета-слоя – 0,7 нм.

В водном растворе молекула белка может быть заряжена отрицательно (кислые белки, $pK < 7$), положительно (основные белки, $pK > 7$) или не заряжена (нейтральные белки, $pK \sim 7$).

Белки делятся на фибриллярные и глобулярные.

В клетках белки образуют комплексы за счет водородных связей, гидрофобных взаимодействий и проч. – олигомеры и полимеры.

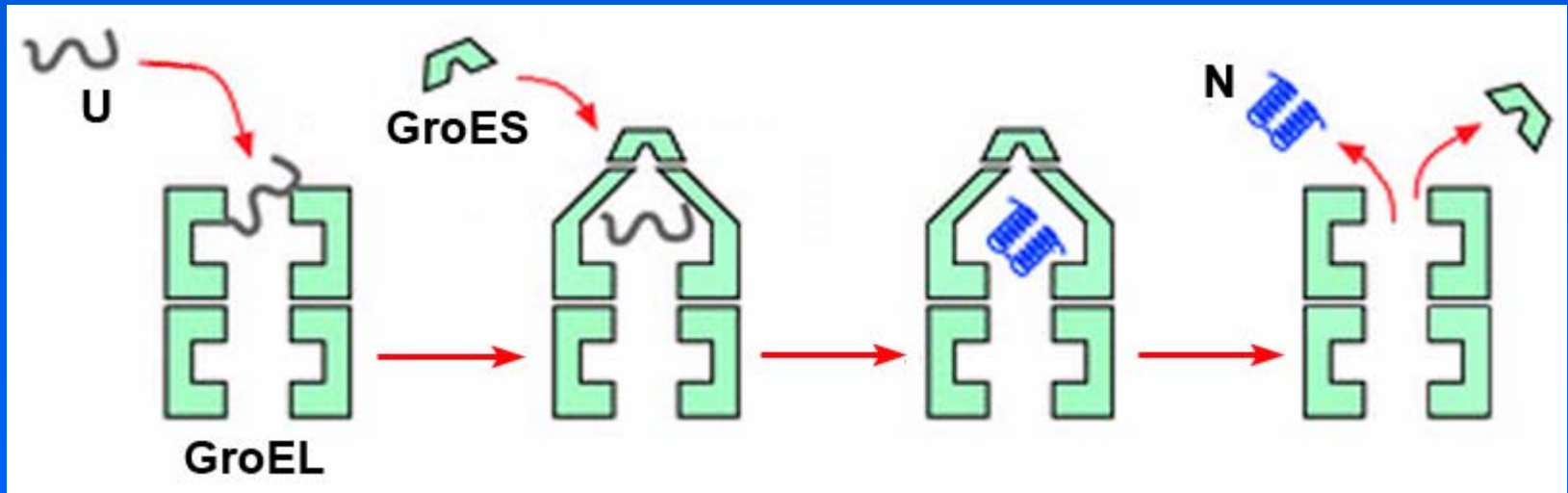
Уровни организации молекулы белка



Посттрансляционные преобразования белка:

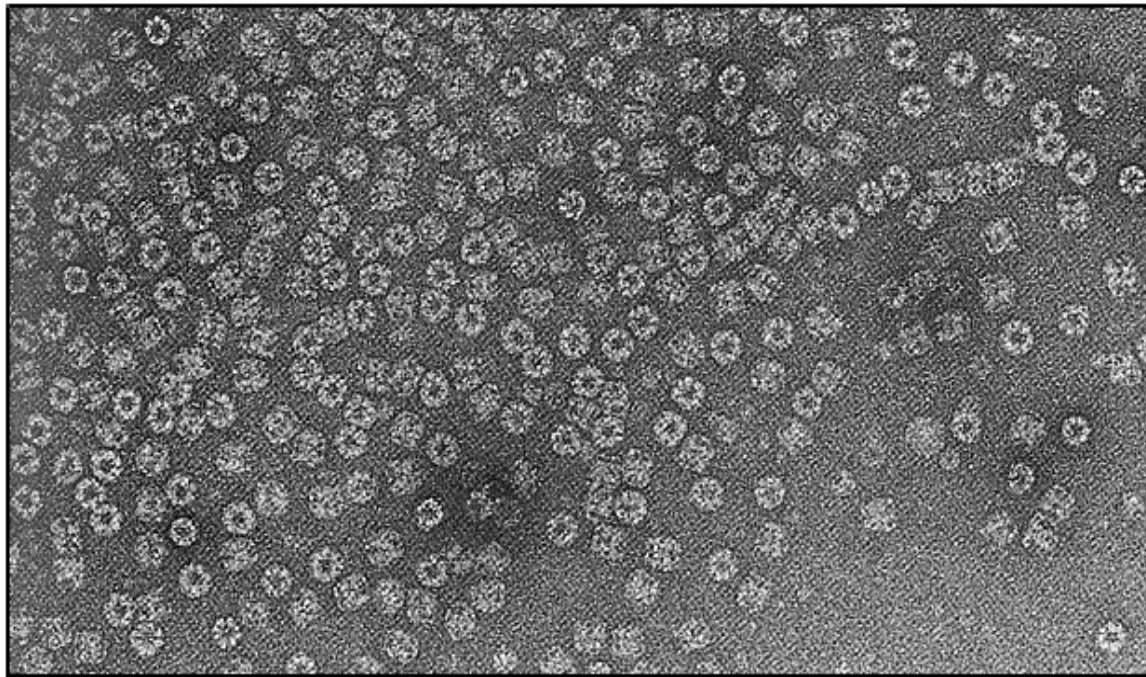
- 1. Укладка молекулы (folding) – формирование уникальной трехмерной структуры.**
- 2. Стабильная модификация боковых цепей – ацетилирование, тирозилирование и проч.**
- 3. Надстройка углеводами, липидами – формирование гликопротеидов и липопротеидов**
- 4. Добавление аминокислот на С-конце.**

Формирование пространственной структуры белков (folding)



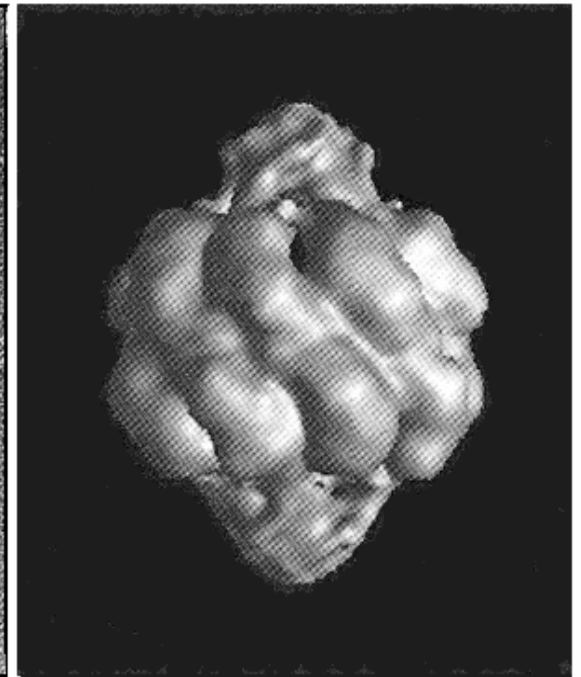
1. Спонтанное – для небольших молекул
2. Для больших молекул - активное (с затратой энергии АТФ) – через шаперонный комплекс

Выделенные шаперонные комплексы – ЭМ



(A)

100 nm



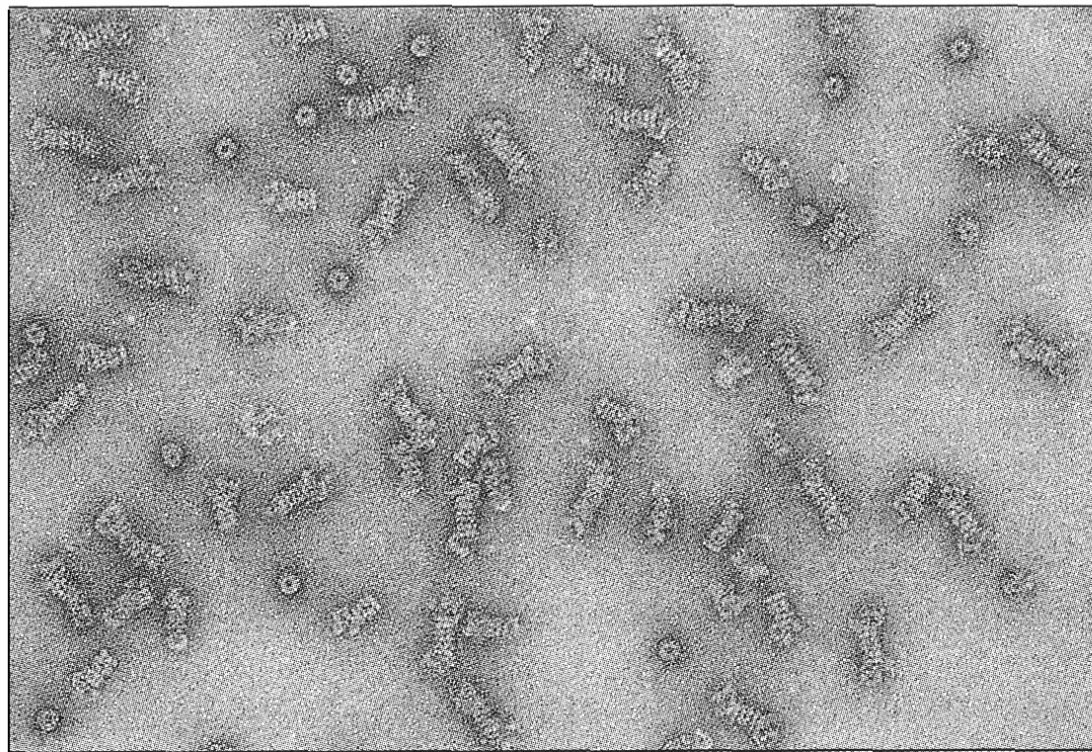
(B)

10 nm

Деградация белков в клетке

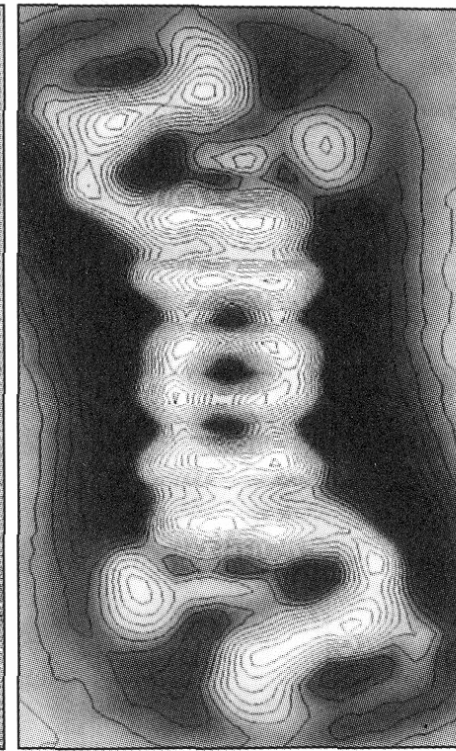
- 1. Пассивная – спонтанный протеолиз**
- 2. Активная (с затратой энергии ГТФ) – через протеасомы с помощью убиквитина**
- 3. В составе органелл – гидролиз в лизосомах при низком pH.**

Выделенные протеасомные комплексы (ЭМ)



(A)

100 nm



(B)

10 nm

substrate
recognition
and
regulation

proteolytic
machinery

Функции белков в клетке

1. Структурная – формирование цитоскелета, комплексов с нуклеиновыми кислотами (хроматин, рибосомы и др.), мембран (комплексов с липидами и полисахаридами).
2. Ферментативная – катализ реакций синтеза и расщепления различных соединений.
3. Транспортная – механохимические переносчики: перенос вдоль цитоскелета (моторные белки), поперек мембраны (переносчики) и др.

Ферменты

Сложная структура молекулы фермента обеспечивает пространственную специфичность узнавания и взаимодействия с субстратом.

Активный центр фермента позволяет многократно снизить энергию активации переходного комплекса – все реакции быстро идут при нормальном давлении и постоянной температуре.

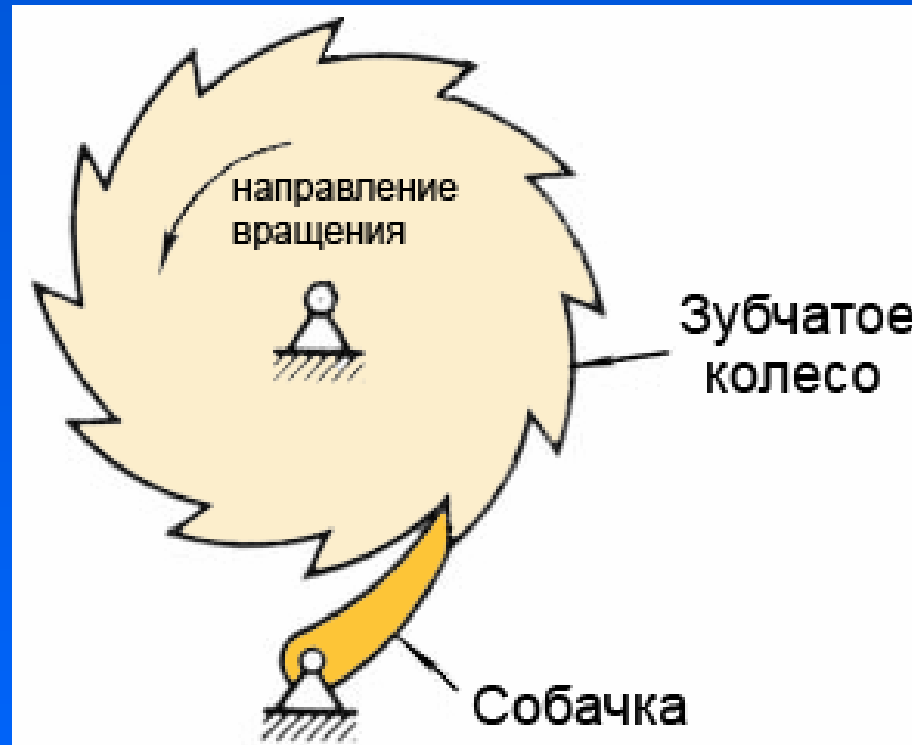
Многие катализируемые реакции идут в сильно неравновесных условиях. Равновесие простых реакций под действием ферментов не изменяется!

Структура фермента



Синим цветом выделен субстрат (белок)

Храповик



Храповик (англ. - ratchet) – зубчатый механизм, допускающий передачу вращения только в одном направлении.

«Принцип храповика» – однонаправленная организация процесса.

Принцип храповика в работе ферментов

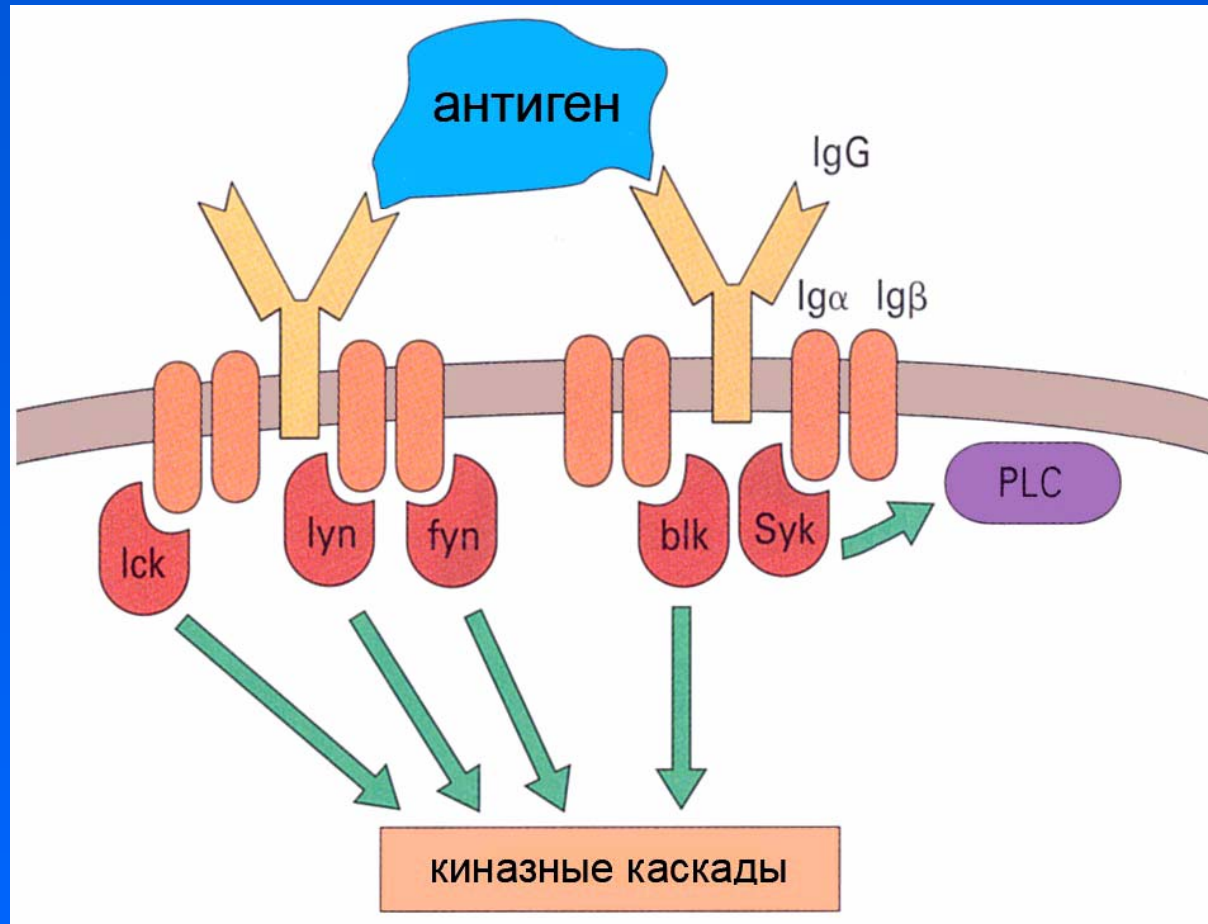
Молекулы простых катализаторов обеспечивают высокую скорость реакции, но не могут обеспечить ее необратимость.

Для реализации «принципа храповика» ферментный комплекс должен иметь не менее двух центров связывания для параллельных реакций – эндотермической и экзотермической.

Энергетическая асимметричность переходного комплекса достигается за счет выделения энергии в ходе промежуточных стадий реакции. Как правило, донором энергии выступает гидролиз АТФ или ГТФ. При этом АТФ/ГТФ вовлекается в переходный комплекс, и его гидролиз происходит в несколько стадий одновременно с превращениями в главной реакции.

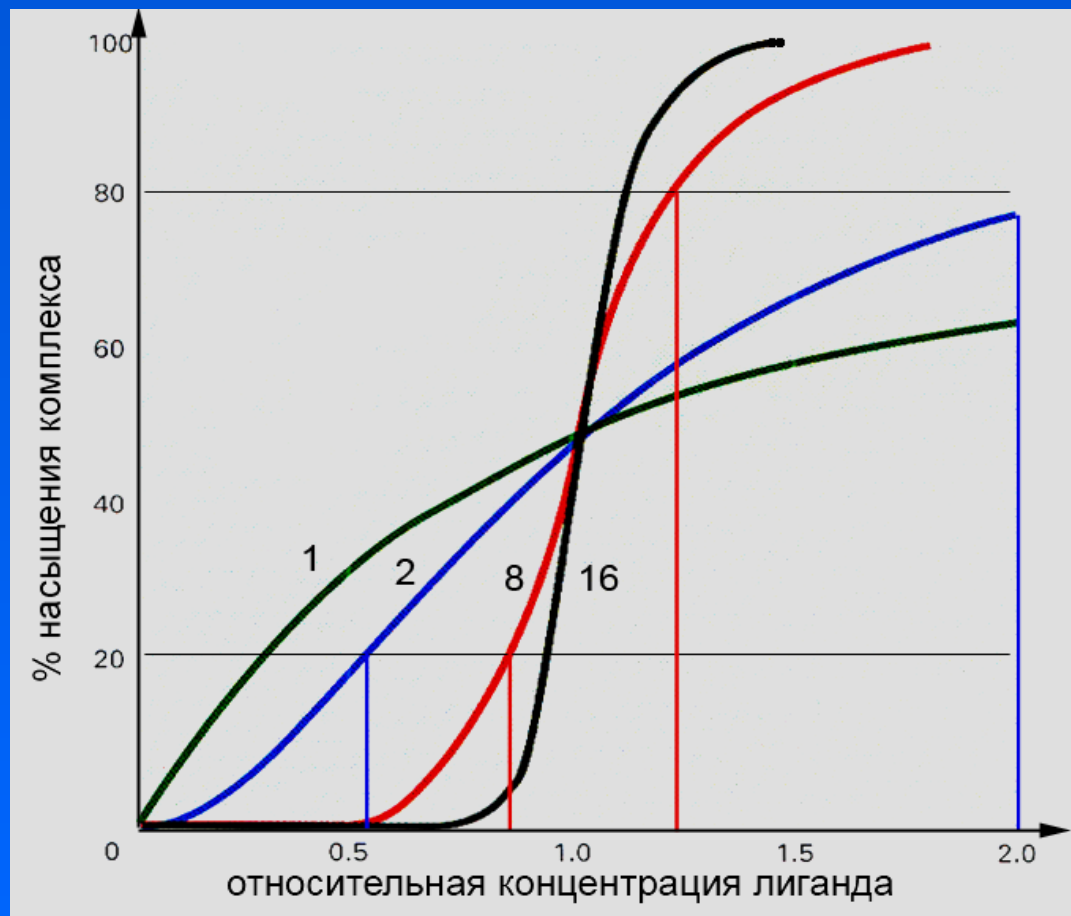
В результате этого многие реакции в клетке идут в сильно неравновесных условиях и практически однонаправленно (например, синтеза ДНК, РНК и белка).

Рецептор В-лимфоцитов (BCR)



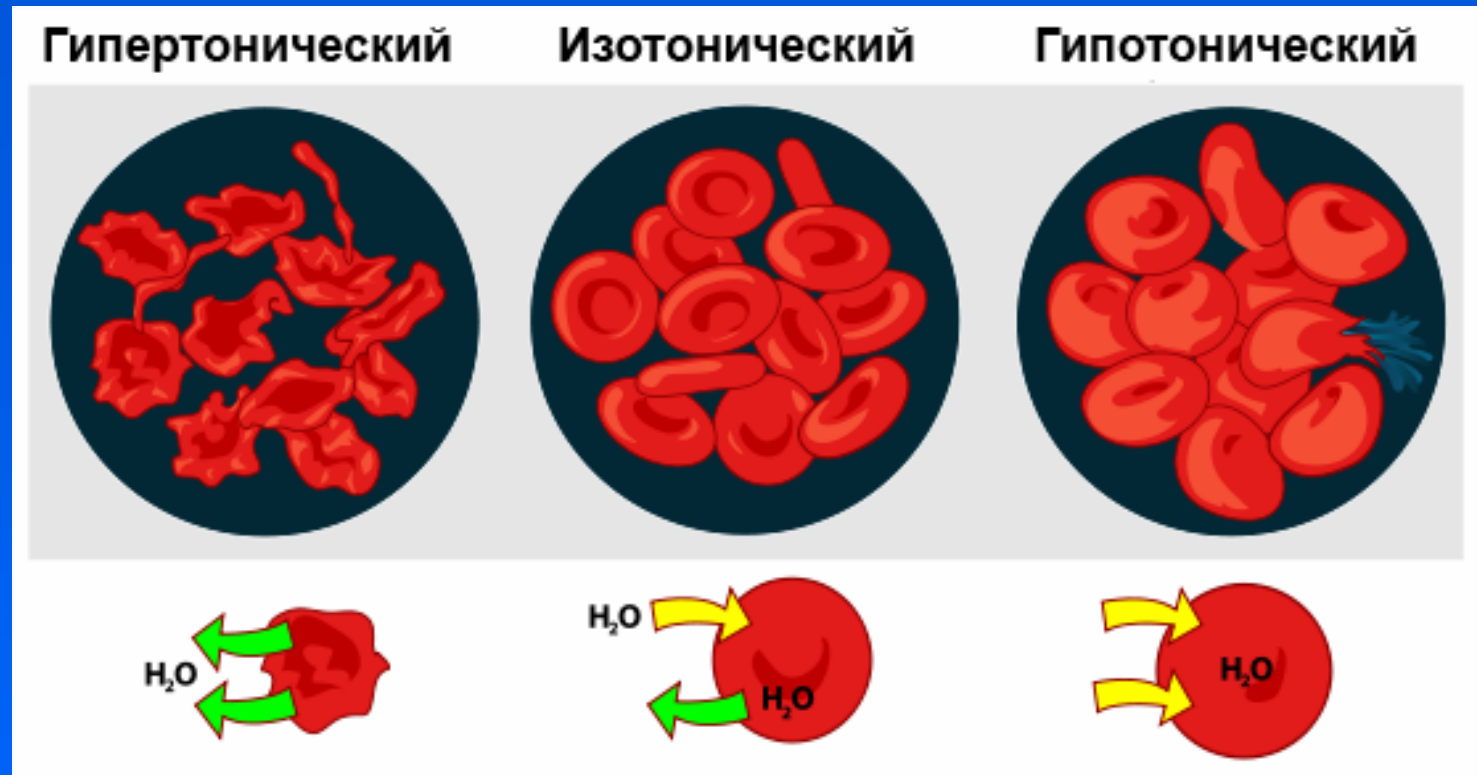
Основу рецепторного комплекса составляют 10 одновременно (кооперативно) работающих молекул – 4 димера $Ig\alpha/Ig\beta$ и 2 молекулы IgG

Сложные химические реакции - закон «все или ничего»



Комплекс из нескольких молекул обеспечивает большую крутизну нарастания ответа при малом изменении концентрации лиганда.

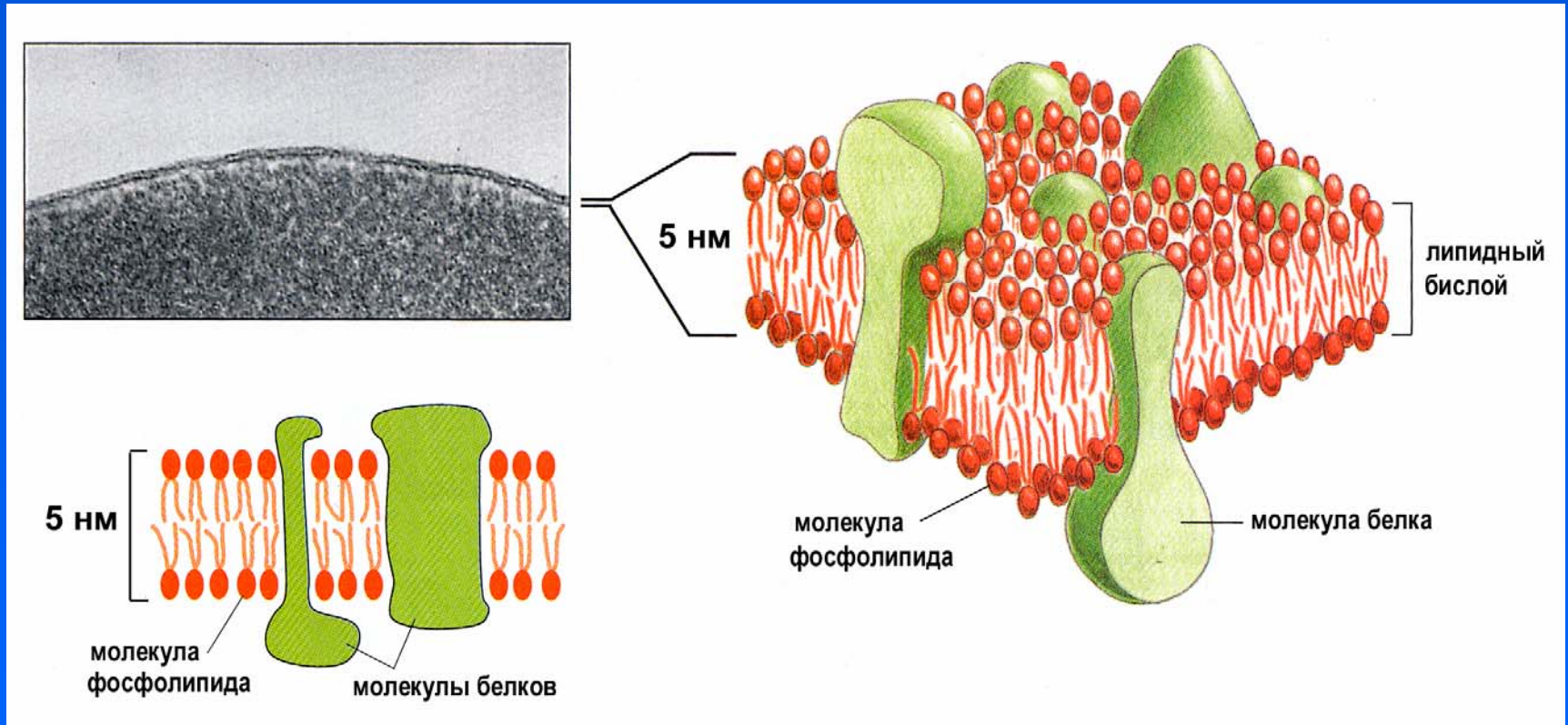
Мембрана как осмометр



Полупроницаемость клеточной мембраны: вода проходит, а большинство растворенных в воде веществ – нет.

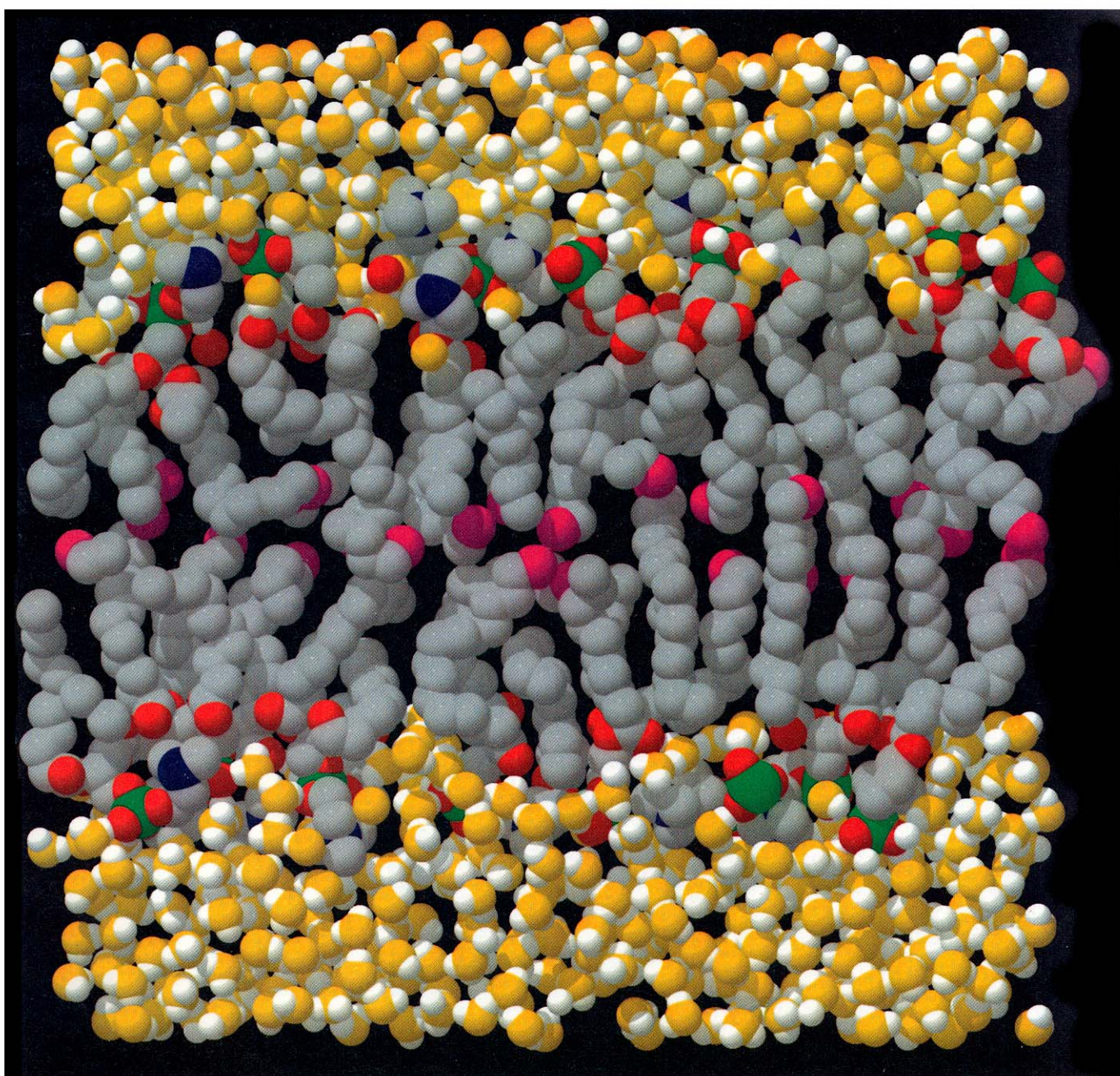
В гипотонической среде поверхность клетки разглаживается, а в гипертонической среде – сморщивается.

Строение мембраны



Основу мембраны составляет бислой фосфолипидов, пронизанный гидрофобными белками.

Соотношение липид/белок сильно варьирует у разных мембран.



Основные характеристики фосфолипидной мембраны

Толщина – 5-10 нм; площадь неопределенно велика.

Всегда топологически замкнута (пузырек).

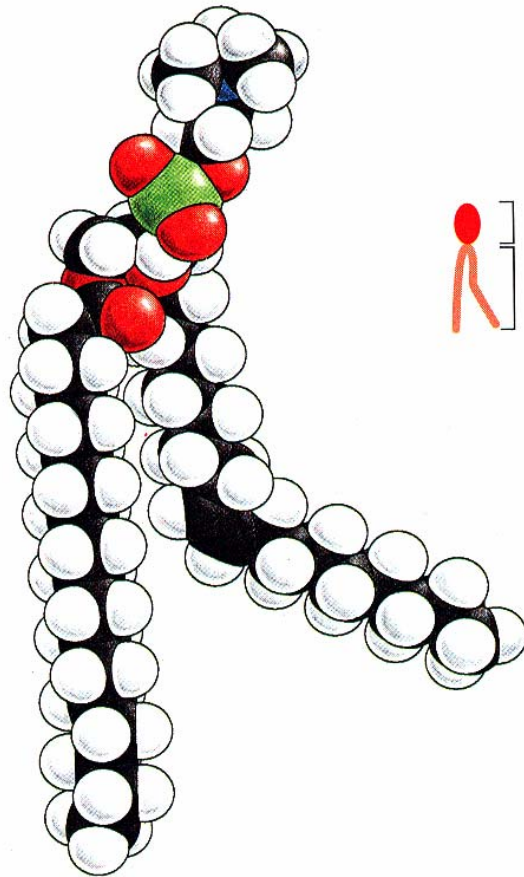
Химически устойчива в водных растворах.

Непроницаема для ионов.

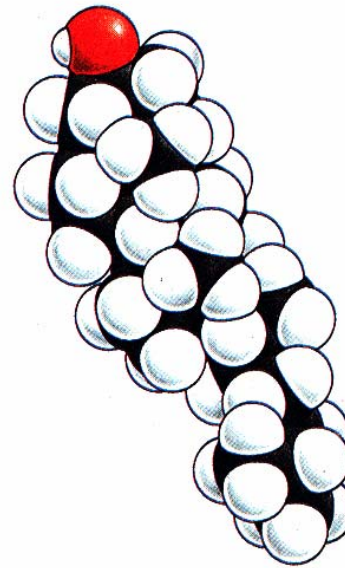
Обладает низкой электропроводностью (диэлектрик) и выдерживает большие электрические поля (до 10^7 В/см)

Может включать различные (преимущественно гидрофобные) белки, которые определяют ее специфичность.

Строение липидов мембраны



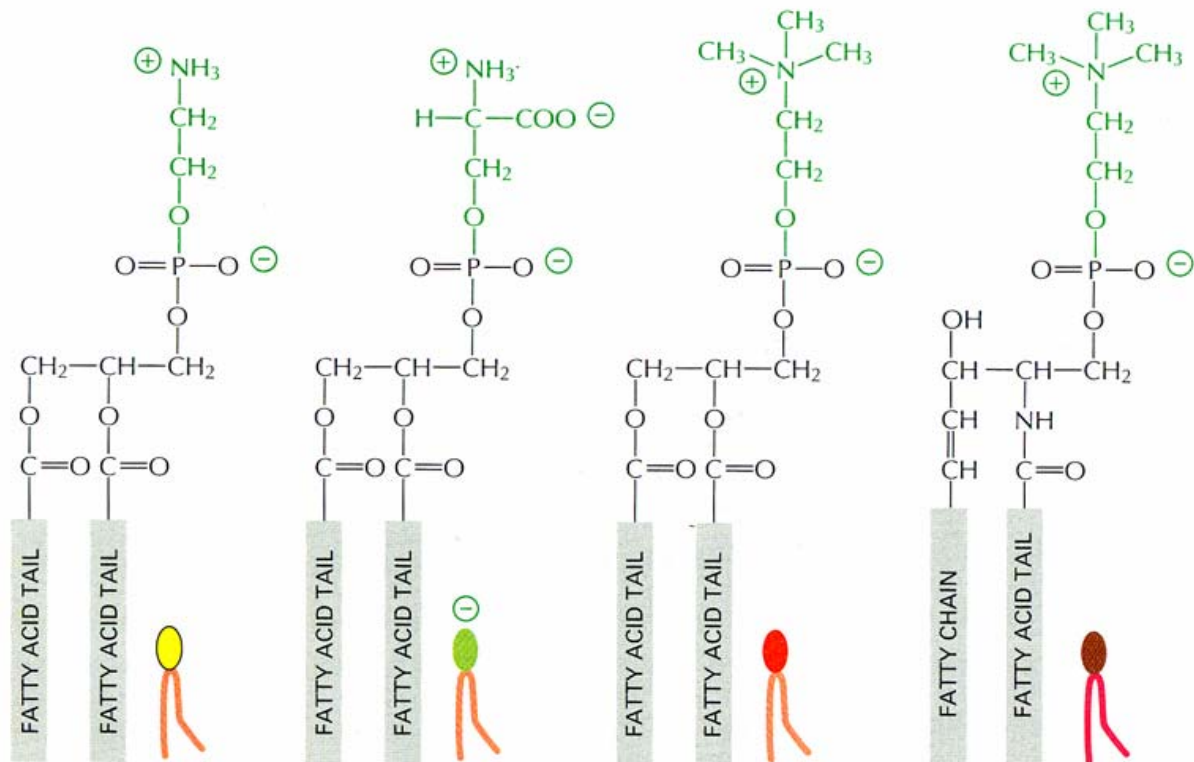
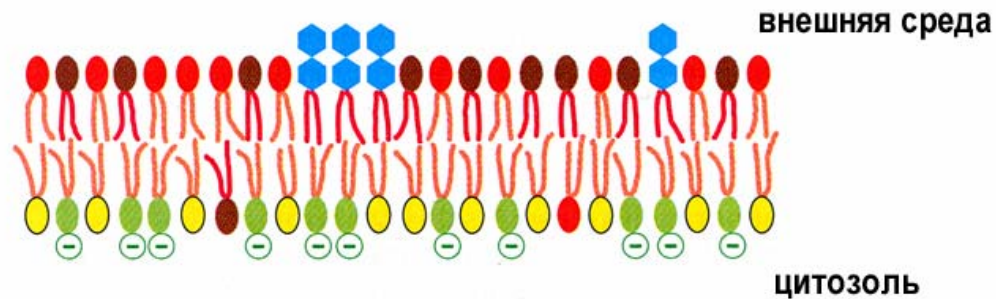
фосфолипид



холестерин

Вставить:
молекула
фосфолипида
плоская схема

Основные фосфолипиды мембран



Основные свойства клеточных мембран

Двумерный раствор – высокая латеральная и низкая поперечная подвижность фосфолипидов. Бислой фосфолипидов – два двумерных раствора.

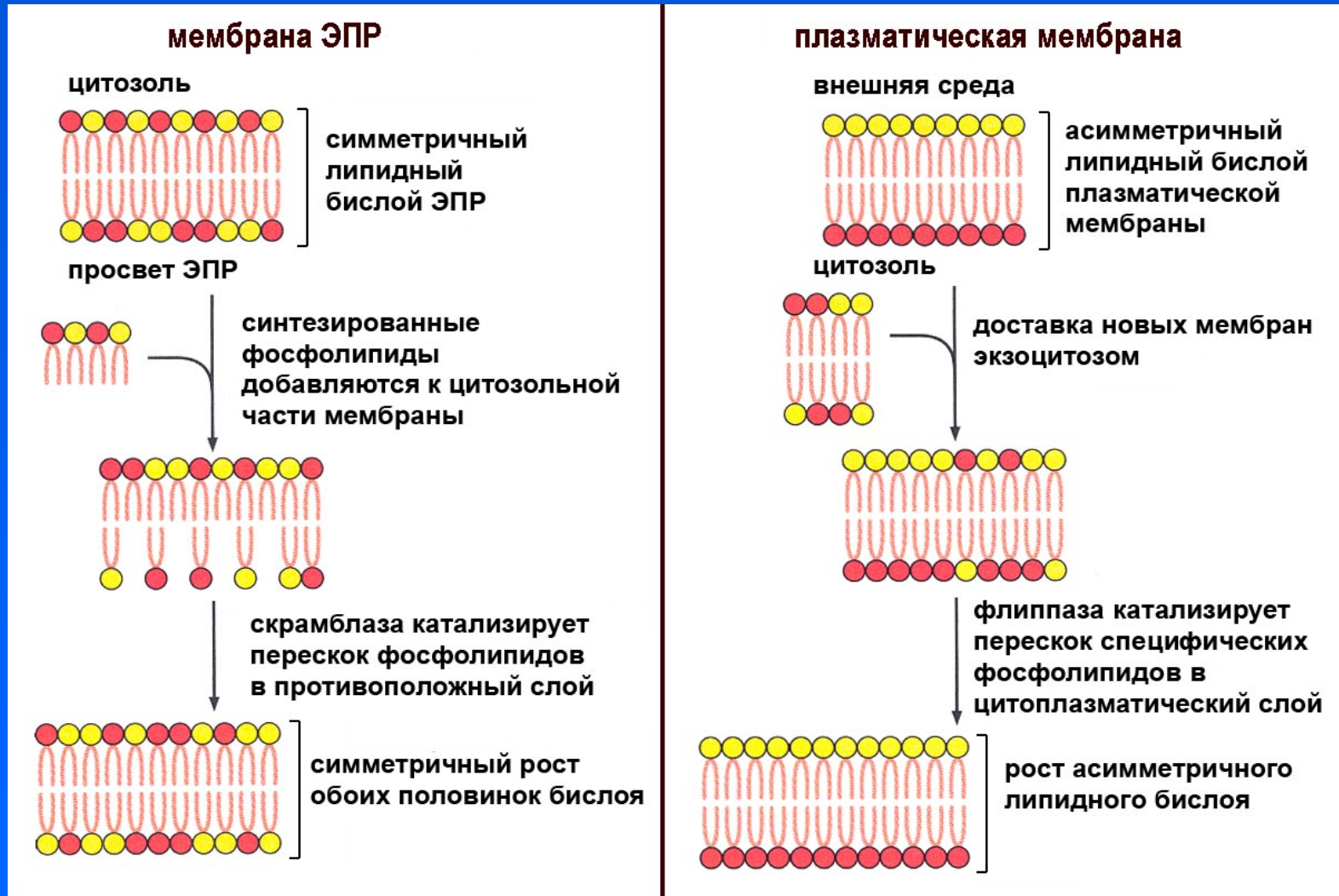
Имеет асимметричные поверхности (липиды и белки).

Содержание белков различно – от 20 до 70% от общей массы.

Как правило, заряжена (разность потенциалов 20-70 мВ).

Белки обеспечивают: избирательную проницаемость (облегченная диффузия, котранспорт, перенос за счет заряда), системы активного переноса (за счет гидролиза АТФ).

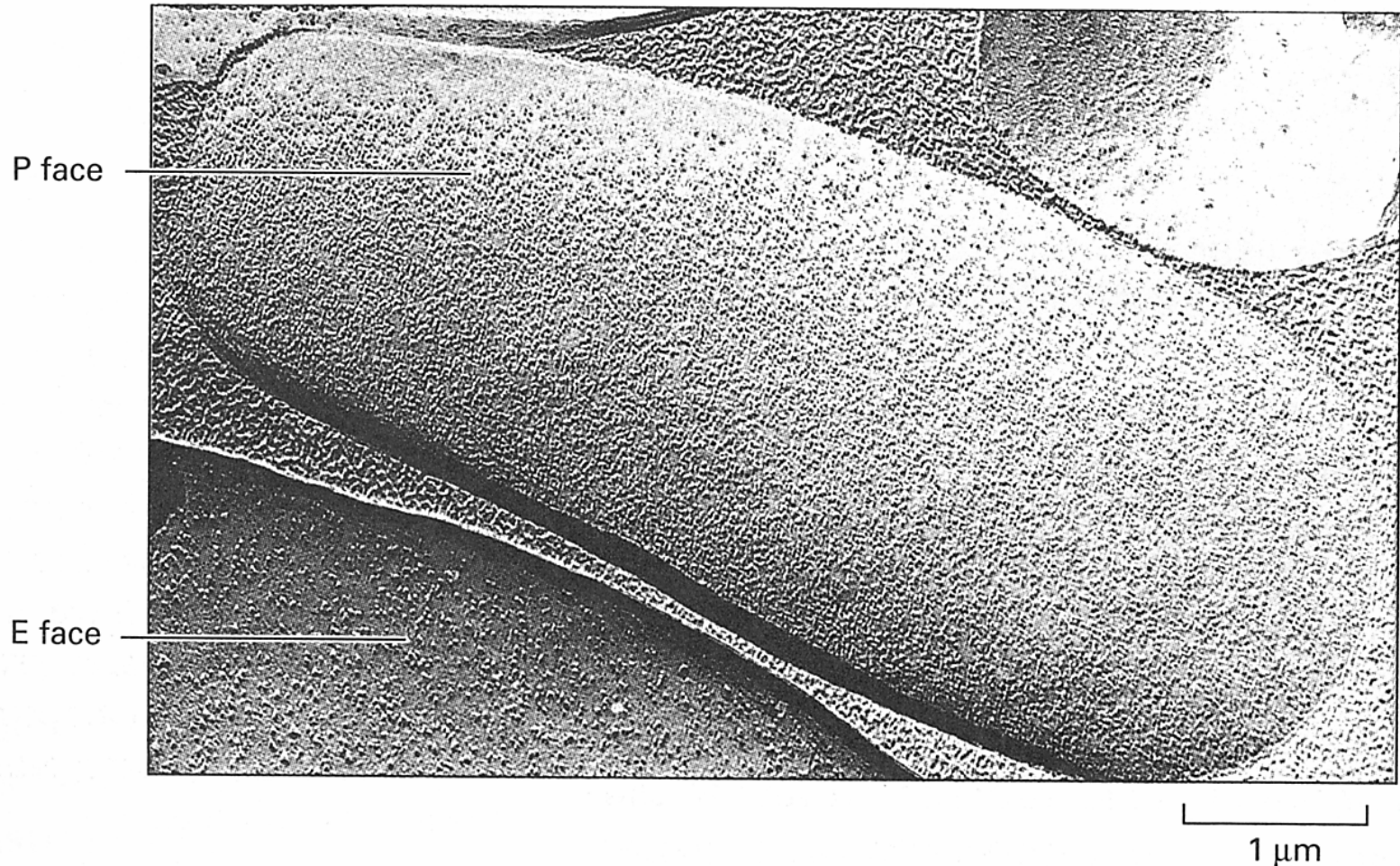
Организация липидного бислоя



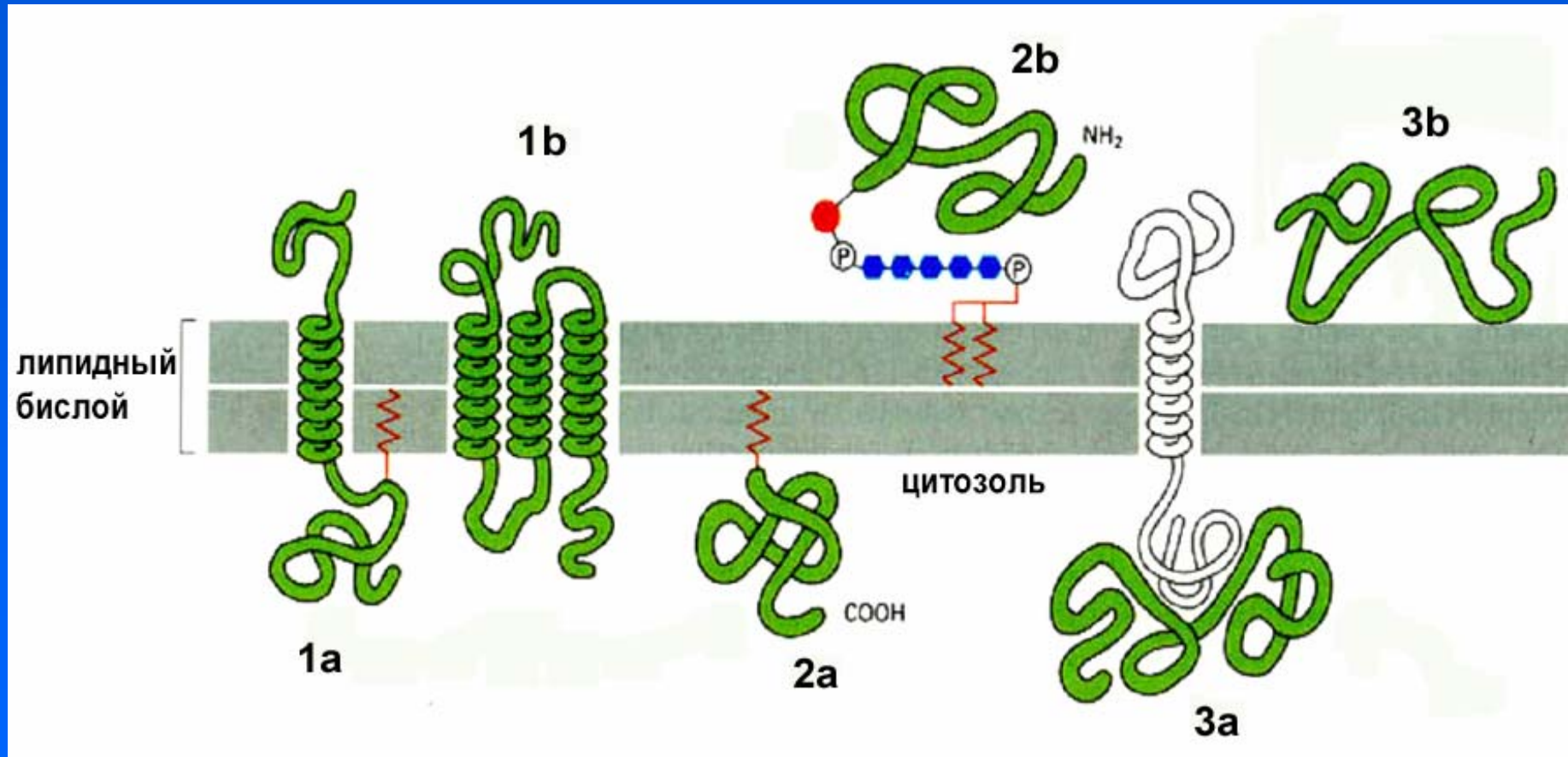
Scramblase

Flippase

Полярность мембраны - скол мембраны эритроцита

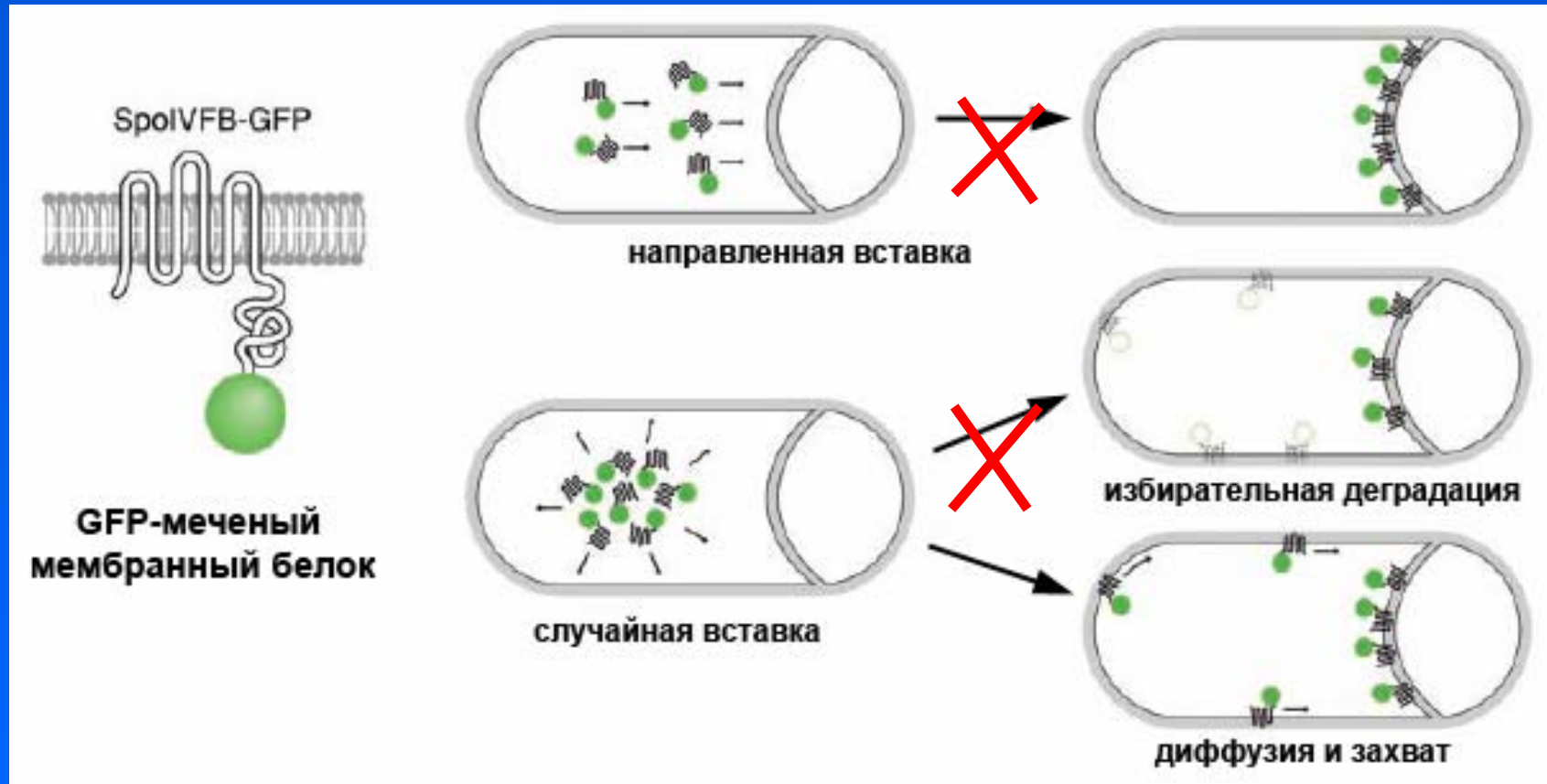


Белки закреплены в мембране тремя основными способами



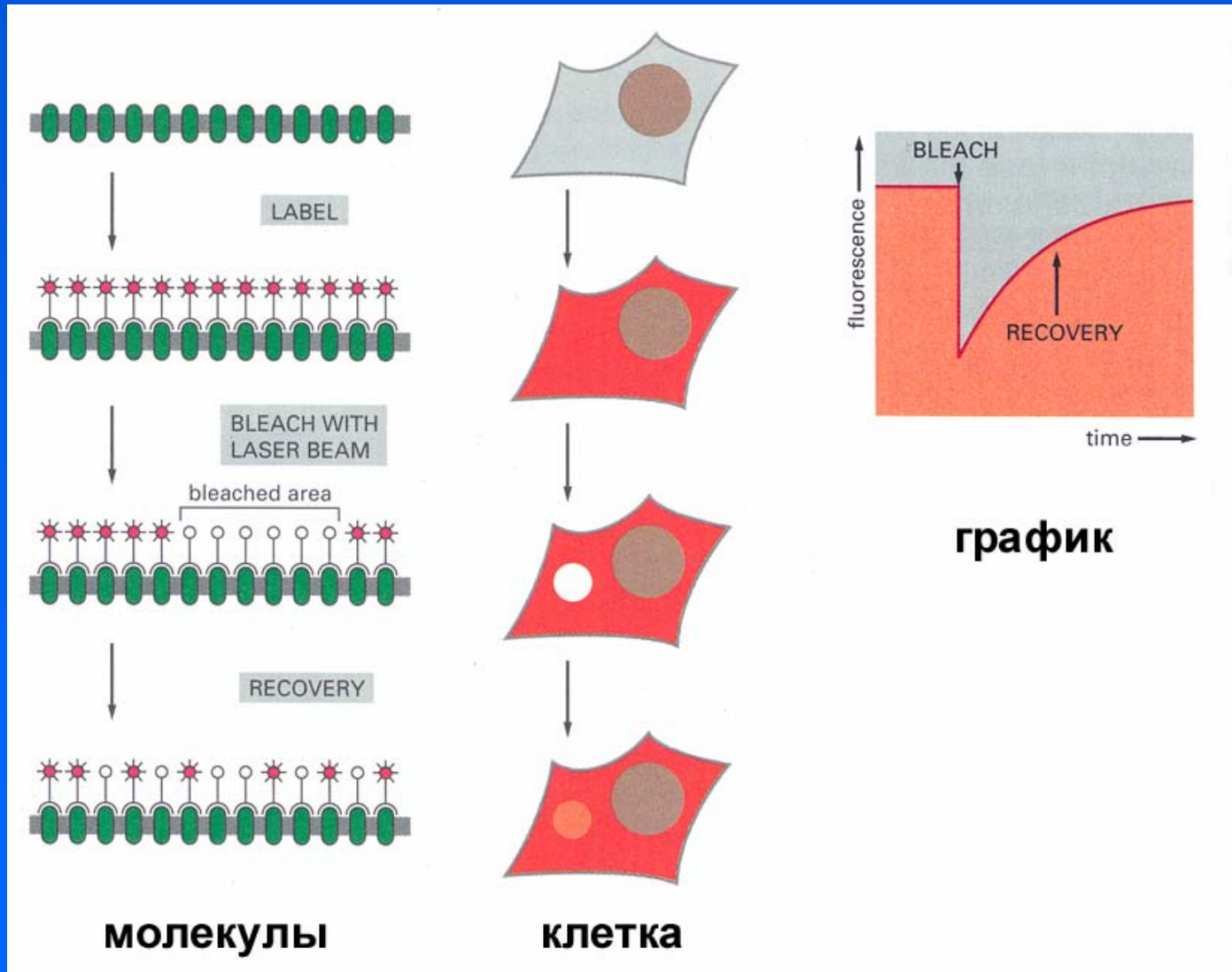
1 – интегральные белки (содержат гидрофобные альфа-спирали); 2 – полуинтегральные белки; 3 – поверхностные белки

Белки в мембране бактерий диффундируют



Асимметричное распределение белков в плазматической мембране достигается за счет их свободной диффузии и последующего избирательного захвата (заякоривания) с помощью других белков.

Диффузия липидов - метод FRAP



Липидные рафты

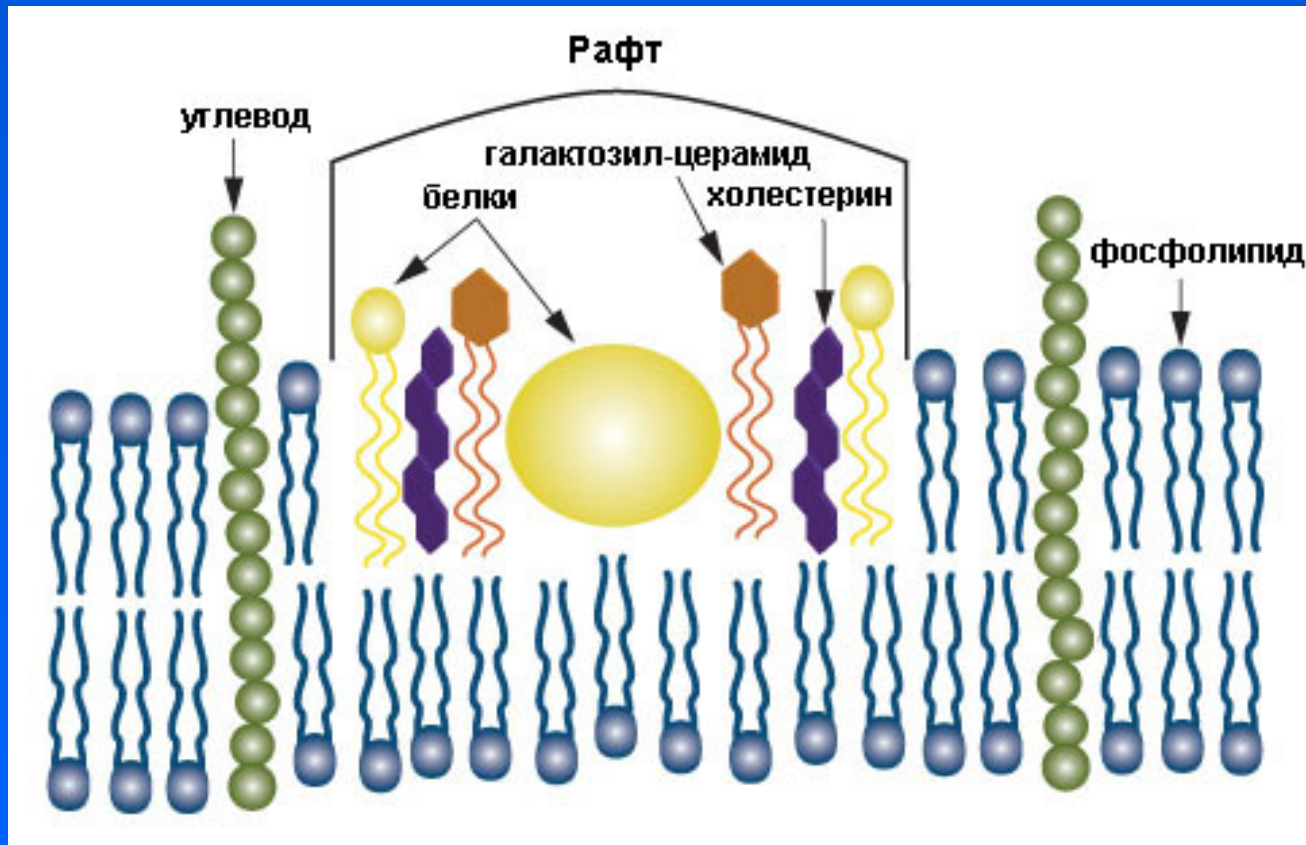
Липидные рафты – домены в мембране, обогащенные холестерином и сфинголипидами и обедненные ацетилхолином, которые содержат монослой упорядоченных липидов (квазикристаллическая структура).

Диаметр рафта – 10-200 нм. Время жизни рафта *in vivo* – от десятков миллисекунд до минут. Маленькие рафты могут объединяться и стабилизироваться за счет включения в их состав белков. Стабилизация рафтов основана на белок-липидном и белок-белковом взаимодействиях.

Физиологическая роль рафтов – формирование сигнальных (рецепторных) комплексов белков: В- и Т-клеточные рецепторы, рецепторы факторов роста, передача сигналов между нервными клетками и др.

Возможно, что наряду с рафтами существуют и более мелкие комплексы, состоящие из нескольких десятков молекул липидов или одной белковой молекулы в окружении холестерина и сфинголипидов.

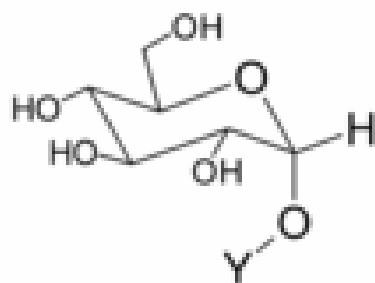
Липидный рафт



Рафт может возникать в одном слое липидов – наружном или внутреннем. Мембранные белки связаны с липидами рафтов через насыщенные жирные кислоты или заякорены через гликозилфосфатидилинозитол.

Гликолипиды мембран

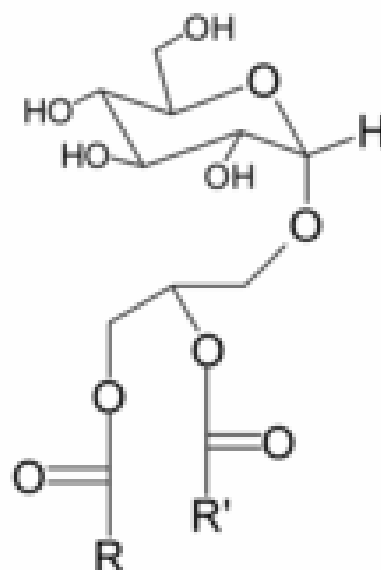
гликолипид



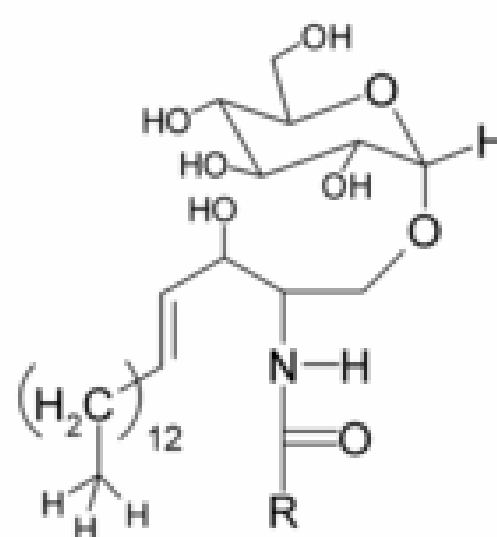
Y = липид

R = жирная кислота

глицерогликолипид



сфингогликолипид



Гликолипиды плазматической мембраны взаимодействуют с белками и участвуют в формировании рецепторных комплексов.

Гликокаликс

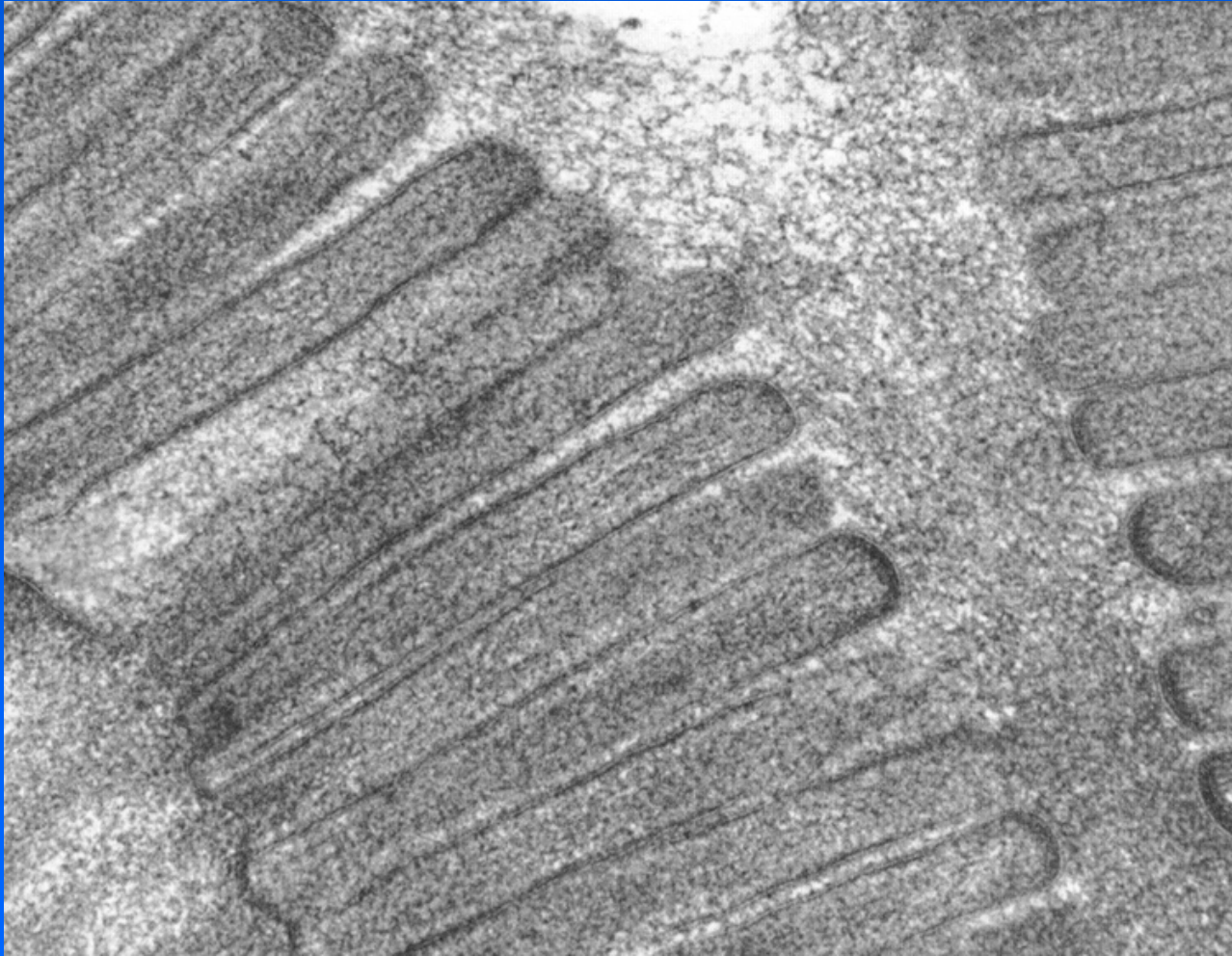
Гликокаликс (мягкая оболочка клетки) имеется у бактерий и некоторых эукариотических клеток. Он располагается снаружи от липидного бислоя.

Состав – гликопротеины, гликолипиды, сложные полисахариды.

Толщина гликокаликса – до 100 нм и более.

Гликокаликс отвечает за распознавание клеток (свой-чужой); он содержит ферменты и участвует в пристеночном пищеварении (клетки кишечника).

Гликокаликс щеточной каемки



Транспорт через мембрану

Простая диффузия – вода и некоторые жирорастворимые вещества. Скорость диффузии снижена на 5 порядков.

Облегченная диффузия: каналы для гидрофильных молекул создаются с помощью молекул интегральных мембранных белков. Диаметр гидрофильного канала – около 2 нм.

Регулируемая диффузия – ионные каналы.

Котранспорт – одновременный перенос молекул двух веществ с помощью специальной молекулы без дополнительной затраты энергии. Одно вещество переносится против градиента концентрации (переносчик), другое – по градиенту. Симпорт – однонаправленный перенос; антипорт – разнонаправленный перенос.

Перенос липофильных катионов и анионов – за счет заряда.

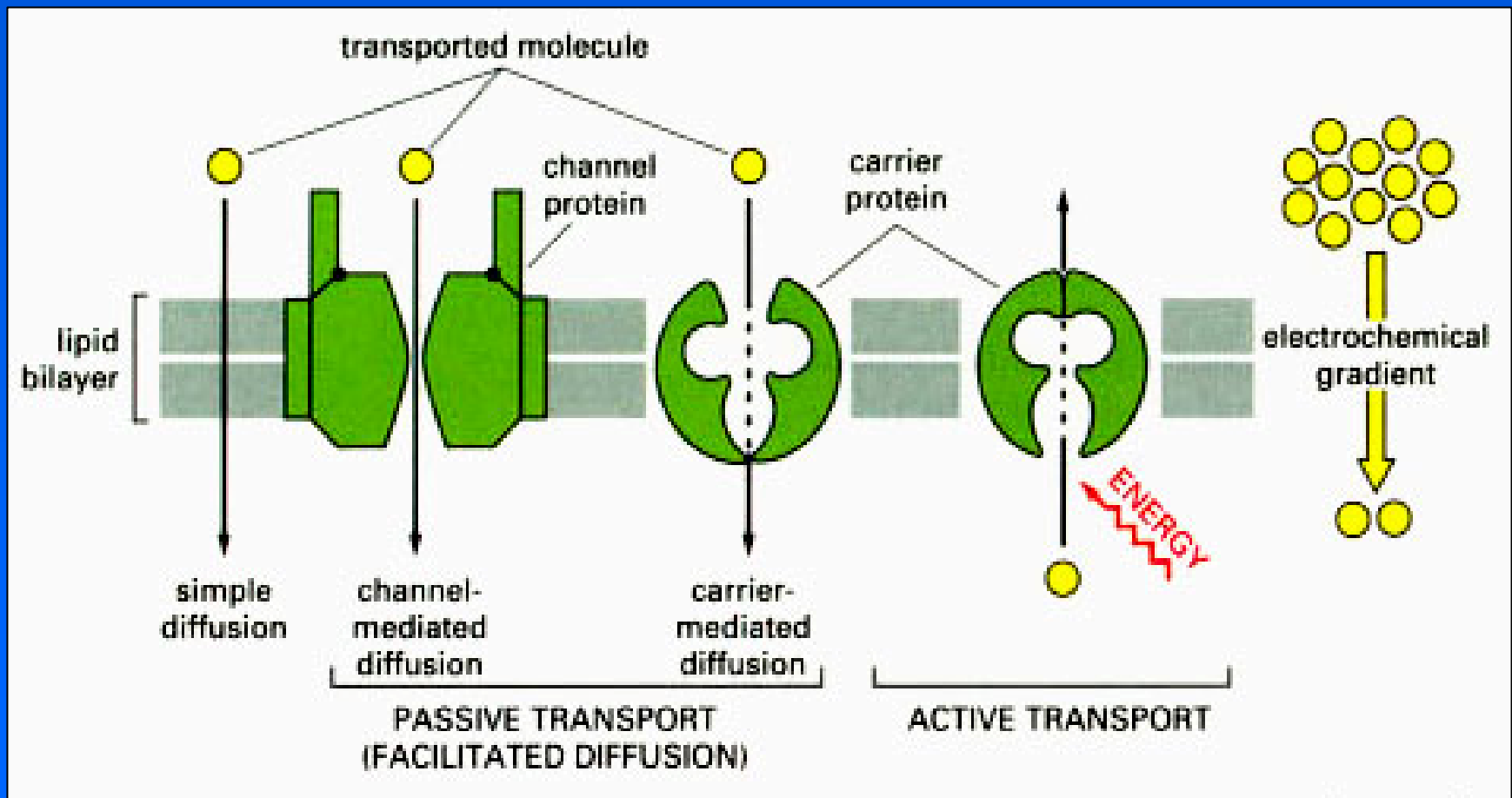
Активный транспорт – перенос за счет энергии гидролиза АТФ.

Транспорт макромолекул: эндоцитоз и экзоцитоз.

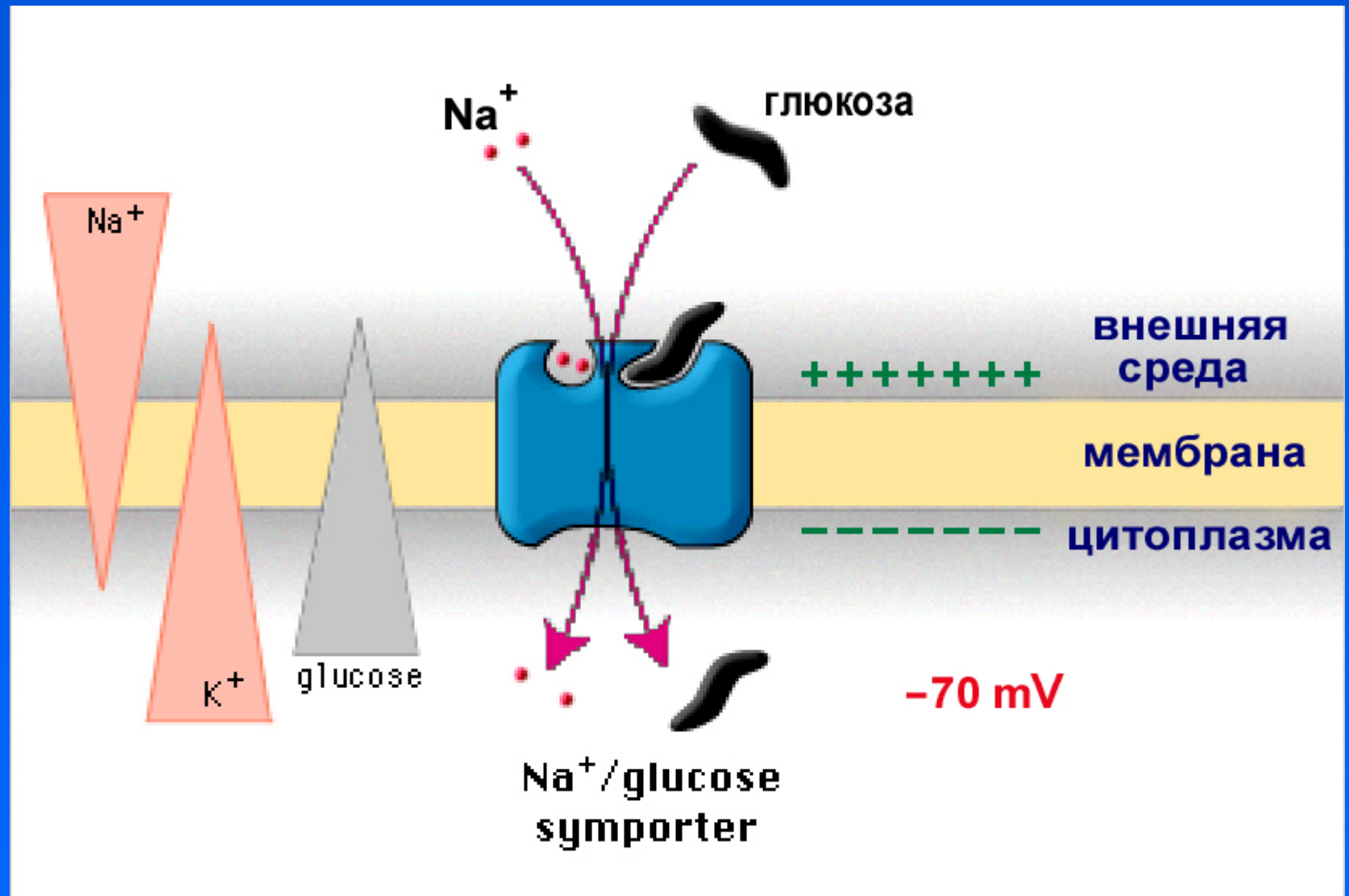
Основные ионы снаружи и внутри клетки (mM)

	Цитоплазма	Кровь
K^+	139	4
Na^+	12	145
Ca^{++}	<0.0002	1.8
Cl^-	4	116
HCO_3^-	12	29
Proteins ⁻	138	9

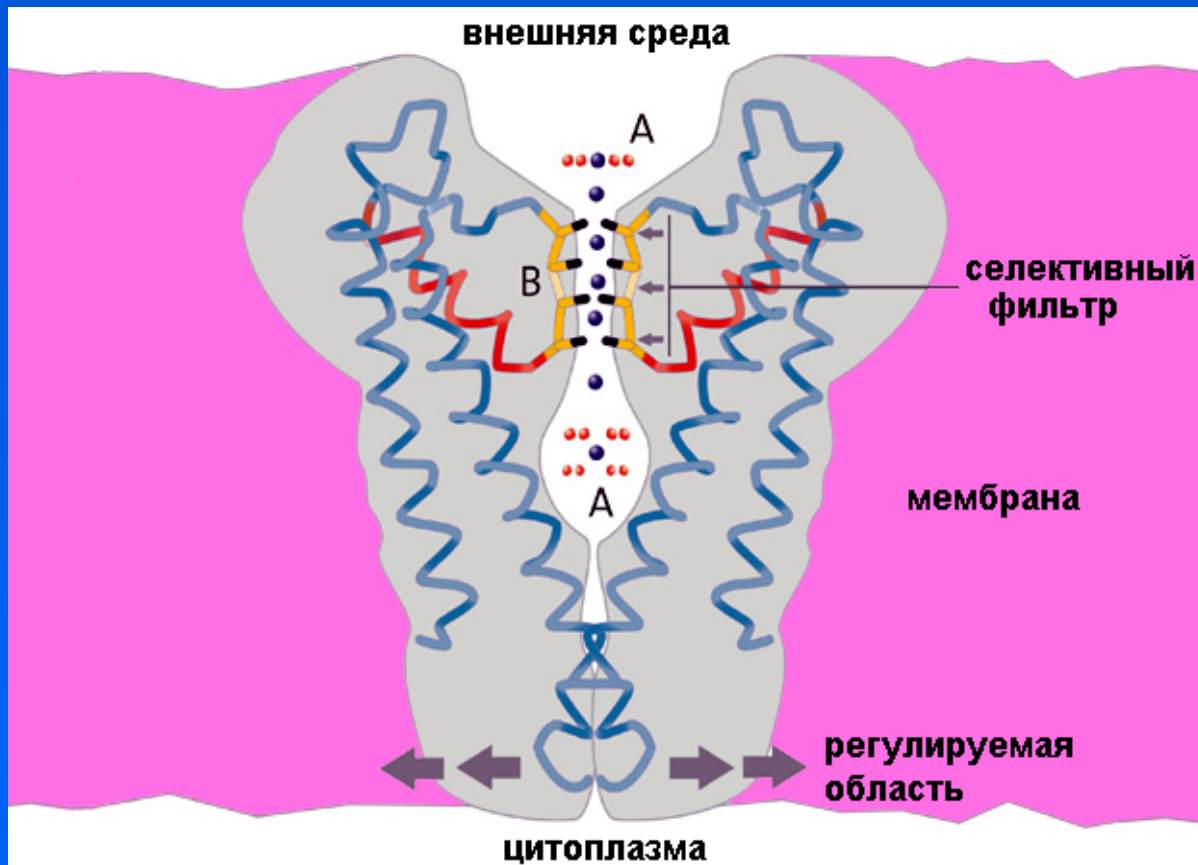
Различные способы переноса молекул через мембрану клетки



Совместный перенос



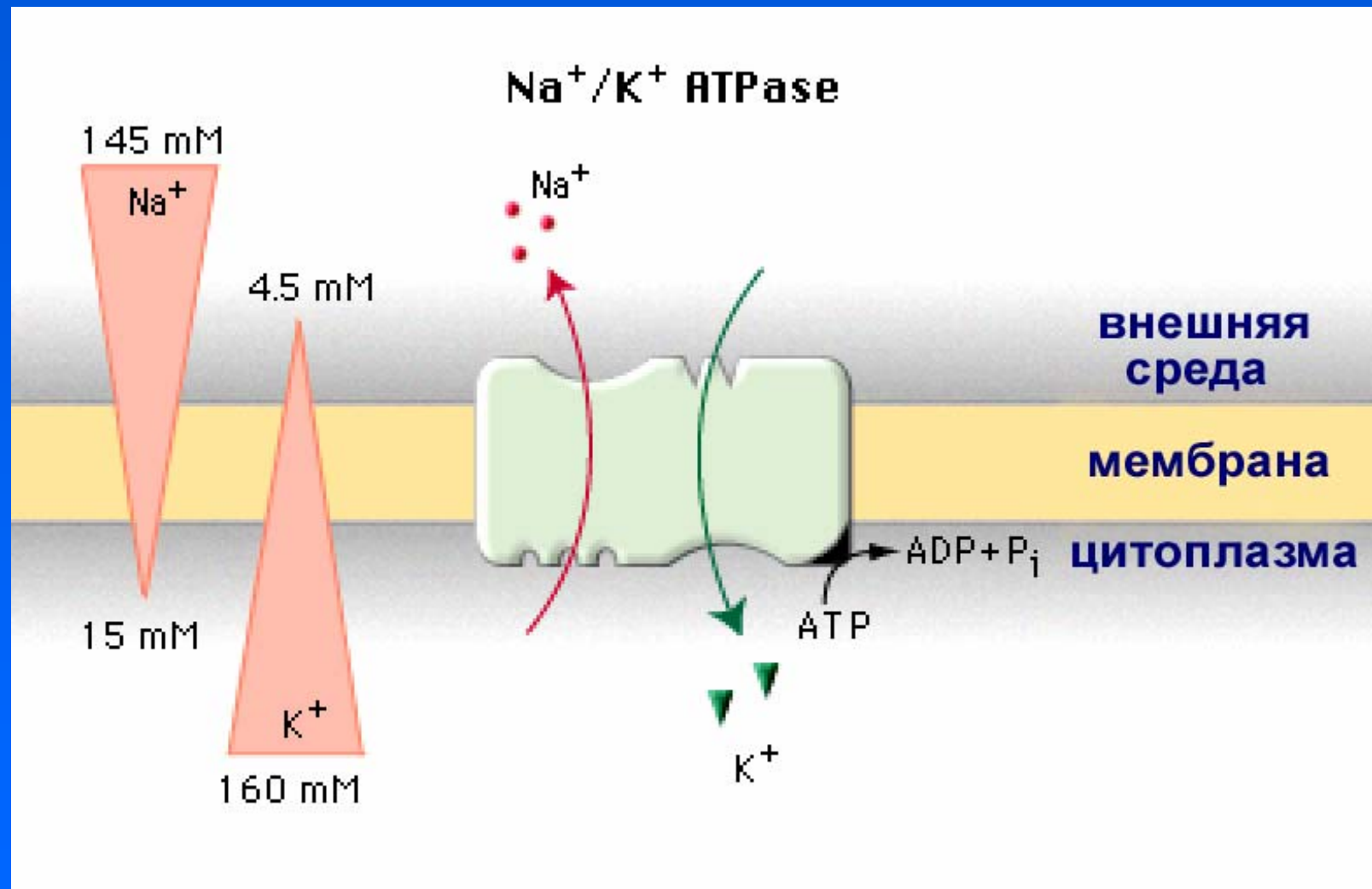
Ионный канал



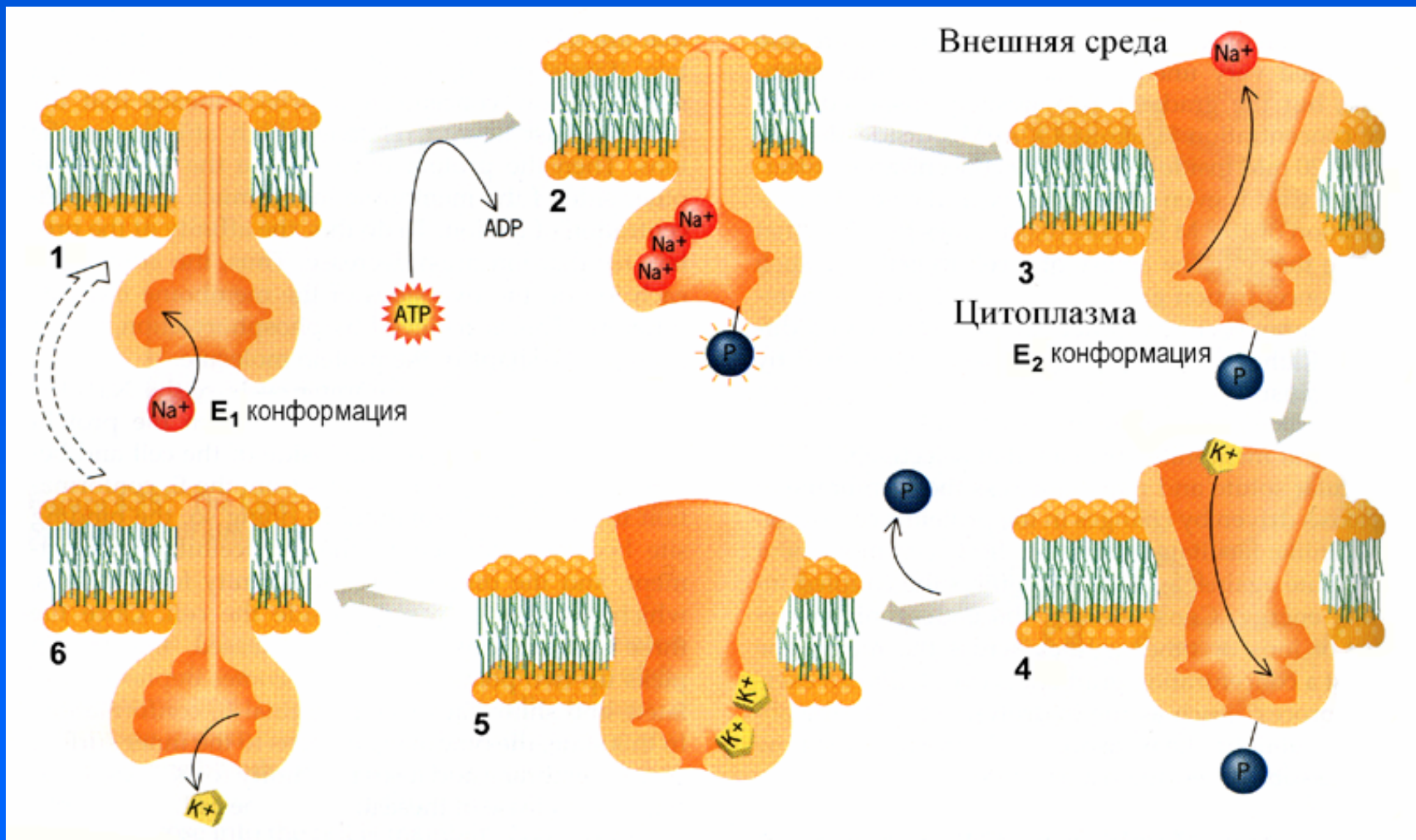
Канал связан с рецептором, и транспорт ионов регулируется (вкл/выкл) за счет взаимодействия рецептора с лигандом.

Каналы активируются: разностью потенциалов (voltage gated), лигандом (ligand gated), напряжением механическим (tension gated).

Активный транспорт Na^+ и K^+

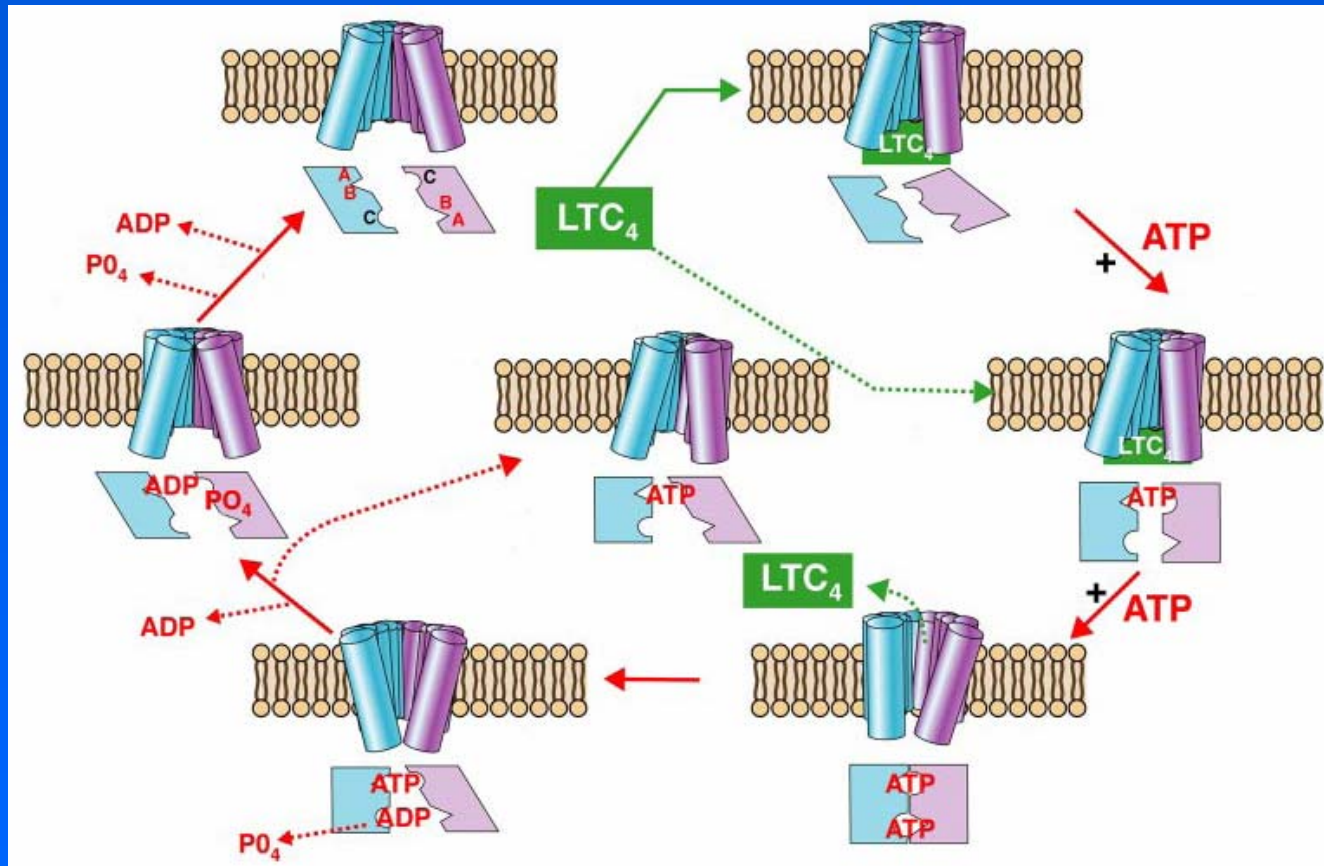


Цикл Na-K-АТФазы



Гидролиз АТФ фактически растянут во времени – он обеспечивает необратимость переноса ионов.

Комплекс множественной лекарственной устойчивости



Белки МЛУ – мембранные АТФ-азы, которые постоянно откачивают широкий спектр ядовитых метаболитов из цитоплазмы.

Один цикл сопряжен с гидролизом двух молекул АТФ.