

ХИМИЯ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

ИЛЛЮСТРИРОВАННАЯ БИОХИМИЯ

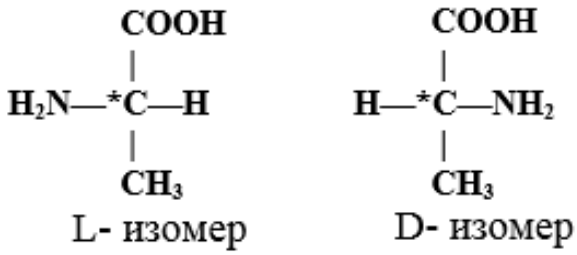
(формулы, схемы, термины и алгоритм познавания предмета)

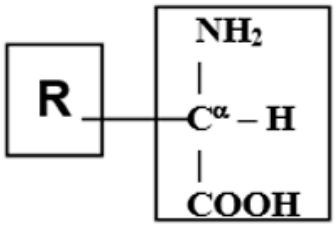
Учебное пособие для конспектирования лекций и самостоятельной подготовки к занятиям по биохимии

Тверь, 2018 г.

АМИНОКИСЛОТЫ

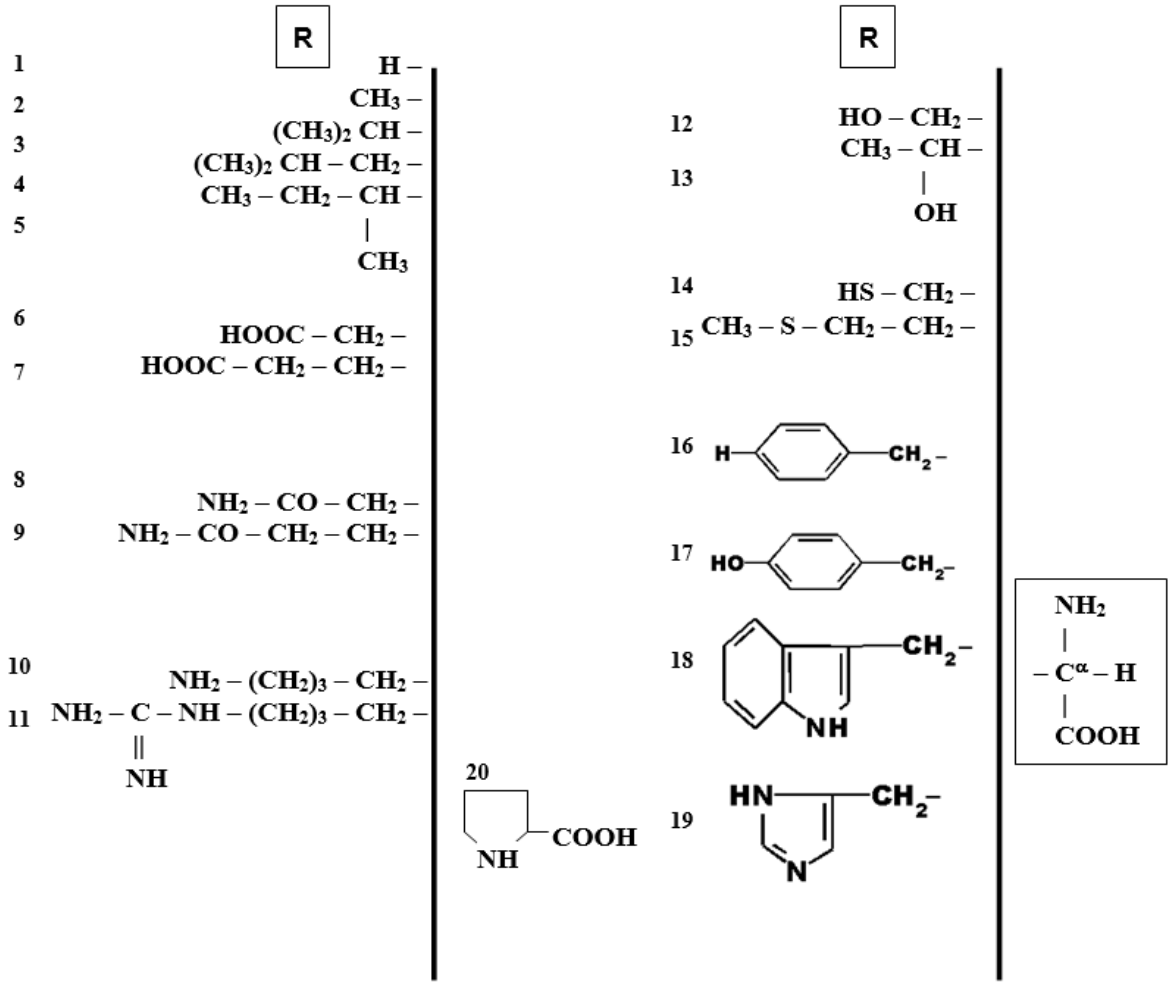
α–аминокислоты — это органические кислоты, у которых, как минимум, один из атомов водорода углеводородной цепи замещен на аминогруппу (покажите радикал, амино- и карбоксильную группы).





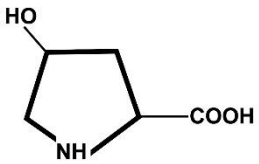
L- и D- изомеры аминокислот (объясните) на примере L- и D- аланина:

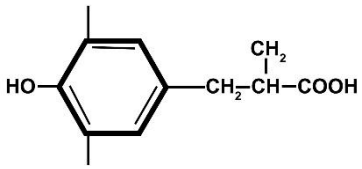
– Главные протеиногенные аминокислоты (надо знать название каждой аминокислоты):

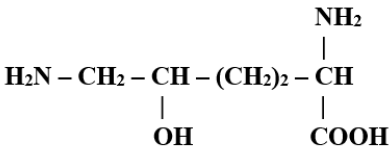


Гли	-	глицин (гликокол)	Арг	-	аргинин
Ала	-	аланин	Сер	-	серин
Вал	-	валин	Тре	-	треонин
Лей	-	лейцин	Цис	-	цистеин
Иле	-	изолейцин	Мет	-	метионин
Асп	-	аспарагиновая кислота	Фен	-	фенилаланин
Глу	-	глутаминовая кислота	Тир	-	тирозин
Асн	-	аспарагин	Три	-	триптофан
Глн	-	глутамин	Гис	-	гистидин
Лиз	-	лизин	Про	-	пролин

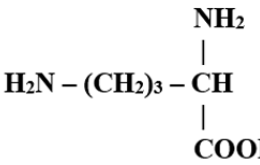
— Редкие, модифицированные протеиногенные аминокислоты (производные от лизина, пролина и тирозина) – назовите, покажите и объясните их биологические функции:

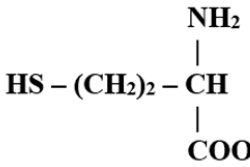


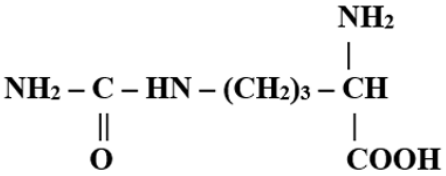




— Непротеиногенные аминокислоты – назовите, покажите и объясните их биологические функции:







-орнитин
-гомоцистеин
-цитруллин

Рацемизация – это трансформация L-изомера аминокислот в D- изомер. Протекает самопроизвольно (0,01% в год для L-аспартата). Используется для определения возраста субъекта при археологических раскопках.

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОТЕИНОГЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ

- **По строению радикала, покажите:**

  ─ алифатические
  ─ моноаминодикарбоновые
  ─ амиды аминокислот
  ─ диаминомонокарбоновые
  ─ гидроксидсодержащие
  ─ серусодержащие
  ─ циклические (ароматические, гетероциклические)

- **По полярности радикала, покажите:**

  ─ Неполярные (гидрофобные – Ала, Вал, Лей, Иле, Три, Про)
  ─ Полярные (гидрофильные):
    ─ заряженные:
      - отрицательно (Асп, Глу)
      - положительно (Арг, Лиз, Гис)
    ─ незаряженные (Гли, Сер, Тре, Цис, Тир)

- **По степени незаменимости (биологическая классификация), покажите:**

  ─ Незаменимые (ВИЛЛ, МТТФ – это: Вал, Иле, Лей, Лиз, Мет, Тре, Три, Фен)
  ─ Полузаменимые (Арг, Тир, Гис)
  ─ Заменимые (остальные)

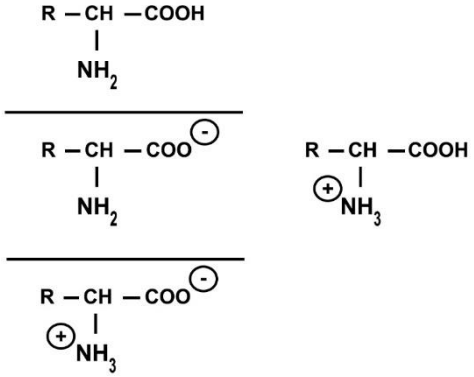
- **По кислотно-основным свойствам:**

  ─ Кислые (Асп, Глу)
  ─ Основные (Лиз, Арг, Гис)
  ─ Нейтральные (остальные)

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

- **Ионизация (протонирование и диссоциация) кислотных и основных групп аминокислот в воде (объясните и раскройте биологическое значение этого явления):**

  ─ Покажите кислые и основные группы аминокислот
  ─ Формы существования аминокислот в водной среде (покажите переходные и дипольную):

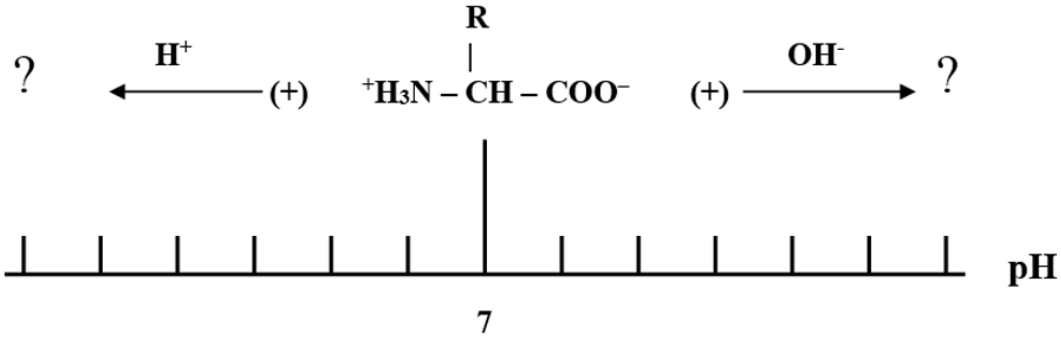


- **Влияние pH среды на ионизацию (заряд) аминокислот:**

Покажите, как в кислой и щелочной среде изменится заряд аминокислоты:

─ pH < 7, т.е. избыток [H^+] – кислая среда

─ pH > 7, т.е избыток [OH^-] – щелочная среда



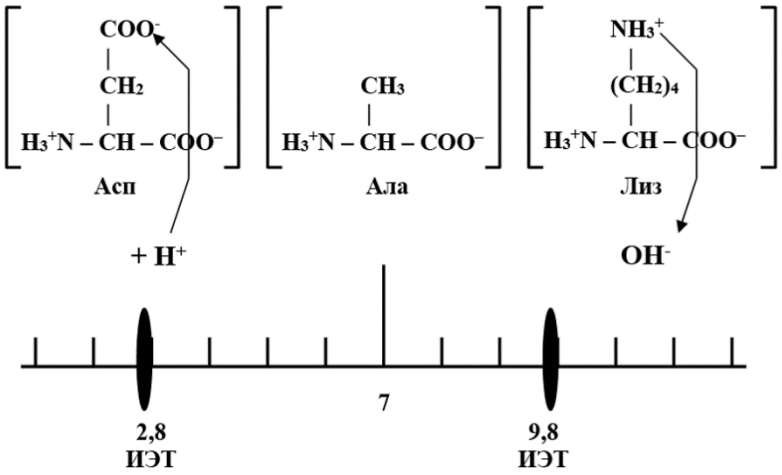
- **Изоэлектрическое состояние (ИЭС) и изоэлектрическая точка (ИЭТ) аминокислот**

Объясните понятие изоэлектрической точки аминокислот. Докажите разное значение ИЭТ для разных аминокислот:

─ Нейтральных (аланина);

─ Кислых (аспарагиновой кислоты);

─ Основных (лизина).



Амфотерность аминокислот и их буферные свойства

─ Что такое амфотерность? (Проявляют свойства и кислот и щелочей одновременно).

─ Почему аминокислоты проявляют буферные свойства? (поясните).

ФУНКЦИЯ	ПРИМЕР БЕЛКА	ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЙСТВИЯ
Ферментативная		
Гормональная		
Рецепторная		
Транспортная		
Структурная и опорная		
Сократительная		
Субстратно–энергетическая		
Электроосмотическая		
Иммунологическая		
Гемостатическая		
Энерготрансформирующая		

БЕЛКИ

Белками называют:

- высокомолекулярные,
- азотсодержащие,
- органические вещества,
- состоящие из аминокислот,
- соединенных в цепи с помощью пептидных связей,
- имеющие сложную структурную организацию.

(объясните все эти признаки)

– Элементарный состав белков ($C_{50\text{-}54\%}$, $O_{21\text{-}23\%}$, $N_{15\text{-}17\%}$, $H_{6,5\text{-}7,3\%}$, $S_{0,5\%}$).

– Что такое олигопептиды, полипептиды, белки (до 10, 10 – 40, > 50 аминокислот) и их молекулярная масса (молекулярная масса одной аминокислоты в среднем 110).

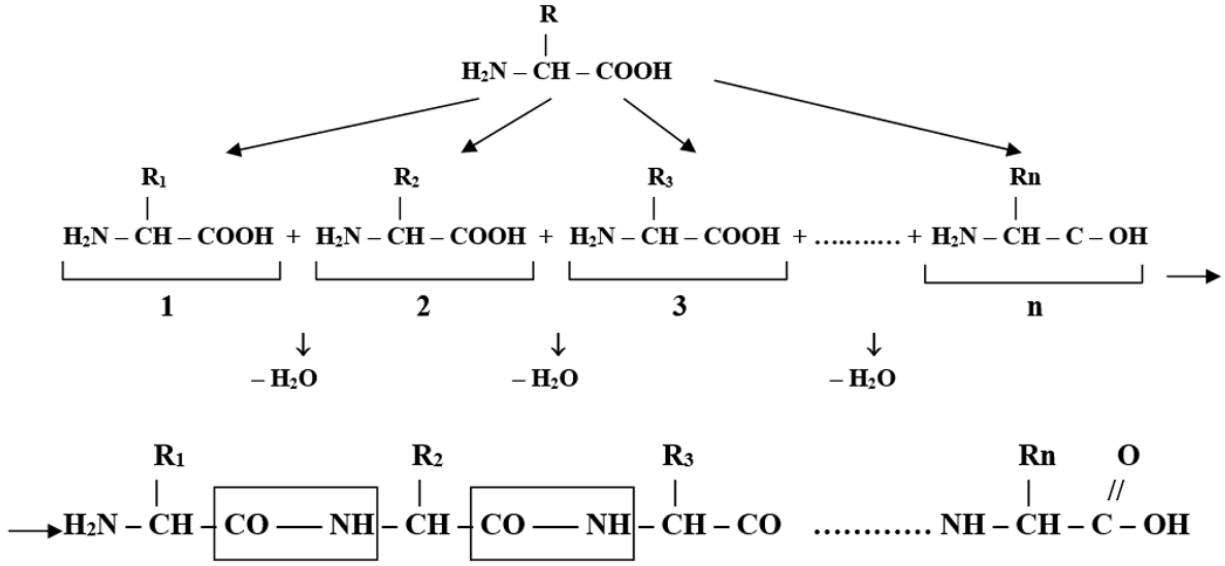
- **Биологические функции белков (приведите примеры белков с разной функцией и дайте характеристику их действия):**

  – В организме человека, полагают, функционирует около 50.000 различных белков, которые выполняют, очевидно, столько же разнообразных функций

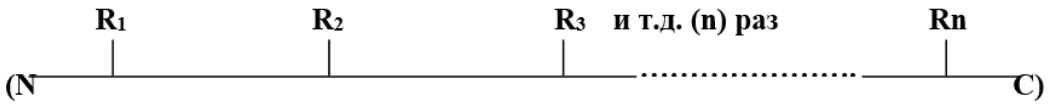
  – Чем объясняется многообразие функций белков, их видовые и иммунные свойства? (последовательностью расположения в полипептидной цепи и количеством 20 протеиногенных аминокислот). Ответ объясните. (Аминокислоты в структуре белка, как буквы в слове, несут информацию о структуре белка и определяют его функцию).

ФОРМЫ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ БЕЛКОВ

- **Первичная (линейная последовательность аминокислот, соединенных между собой в цепь пептидными связями)**



– Схема первичной структуры белка (пептидный остов)

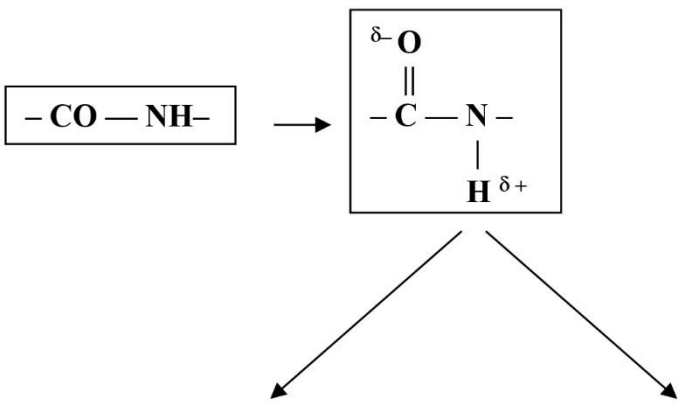


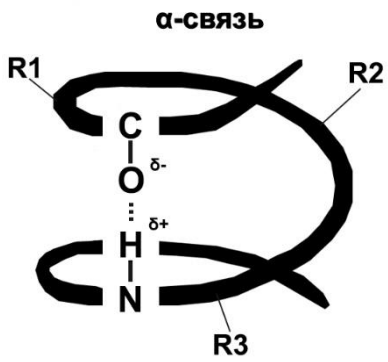
Покажите:

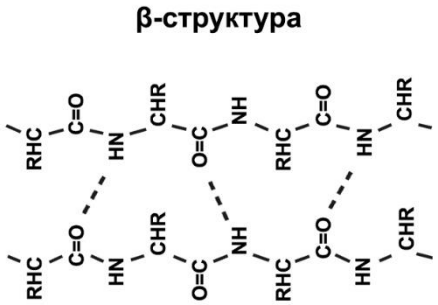
– пептидную цепь
– N– и С–концы ППЦ
– R–радикалы АК

– Состав аминокислот в цепи может быть одинаковым, но располагаются они по-разному, и это будут разные белки.

- **Вторичная** структура белка – это способ укладки стержня пептидной цепи (первичной структуры) в упорядоченную α–спираль или β–структуру (тип связи – водородная, объясните)







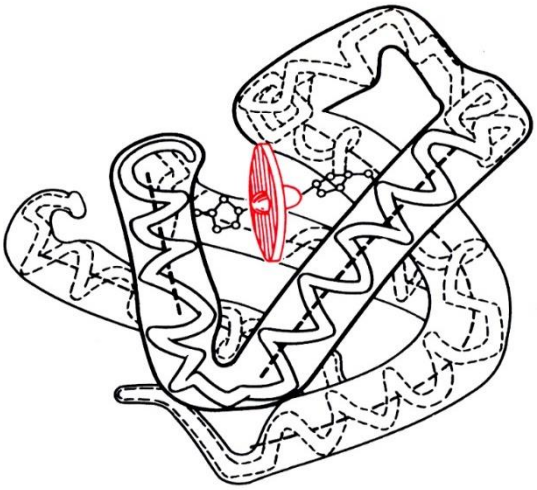
– Расскажите, чем отличается α– спираль от β– структур

α–и β– вторичные структуры обнаруживаются как в глобулярных, так и в фибриллярных белках, и их подразделяют на белки, содержащие:

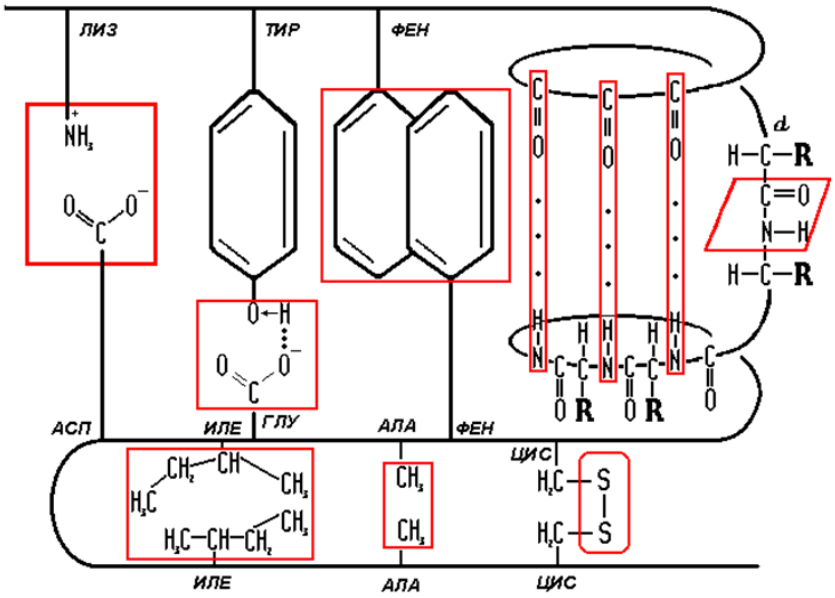
– только α– спирали (мио-, гемоглобин.);
– α– и β– структуры (ЛДГ и др.);
– только β– структуры (фибриллярные белки – коллаген и др.);
– малое количество регулярных структур.

– Супервторичная структура белков – снаружи α– спирали, внутри β– структуры (триозофосфатизомераза).

- **Третичная** структура белка – способ укладки α– спирали или β– структуры в пространстве (глобулярные, фибриллярные белки, объясните их структуру**)**

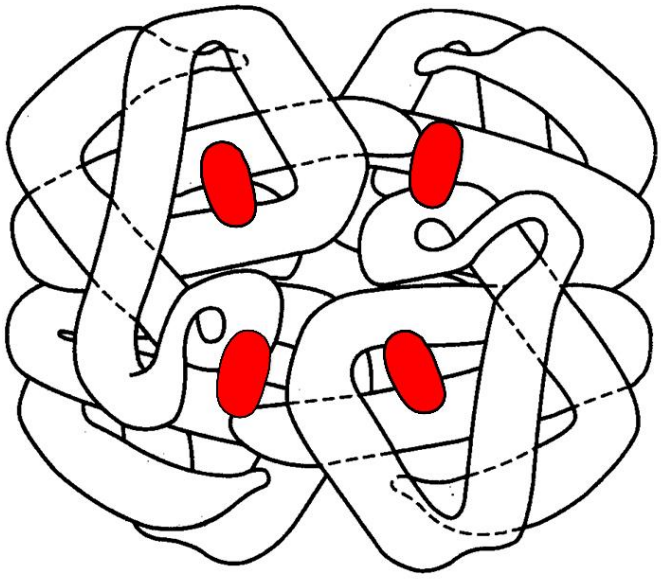


– Покажите, как третичную структуру стабилизируют ионные, водородные, ковалентные (дисульфидные) связи и гидрофобные взаимодействия.



Белки, в составе которых более 200 аминокислот имеют, как правило, несколько доменов (отдельных структурных участков одной полипептидной цепи.) Так, легкая цепь иммуноглобулина G состоит из двух доменов.

Четвертичная структура белка – это объединение нескольких ППЦ с третичной структурой в единую функциональную молекулу белка



– Что такое протомеры (субъединицы), олигомеры?
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – (тетрамер), олигомер, собранный из 4 субъединиц-протомеров. Креатинфосфокиназа (КФК) – димер.

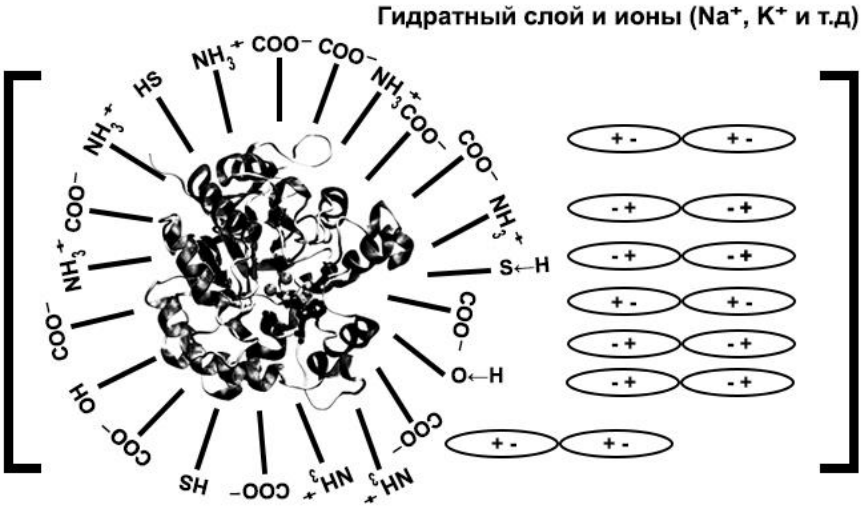
– Какие связи стабилизируют четвертичную структуру белка (покажите на выше представленной схеме связей в молекуле белка)

- **Какие молекулы содержат информацию о первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах белка, где они находятся?**

- **Поясните значение первичной – четвертичной структур белков для проявления их функциональной активности на примерах:**
  ─ серповидно–клеточной анемии
  ─ разного строения и функций миоглобина и гемоглобина
  ─ денатурации белков

ФИЗИКО–ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

СХЕМА СТРОЕНИЯ МОЛЕКУЛЫ БЕЛКА, ЕЕ ГИДРАТНОЙ И ИОННОЙ ОБОЛОЧКИ



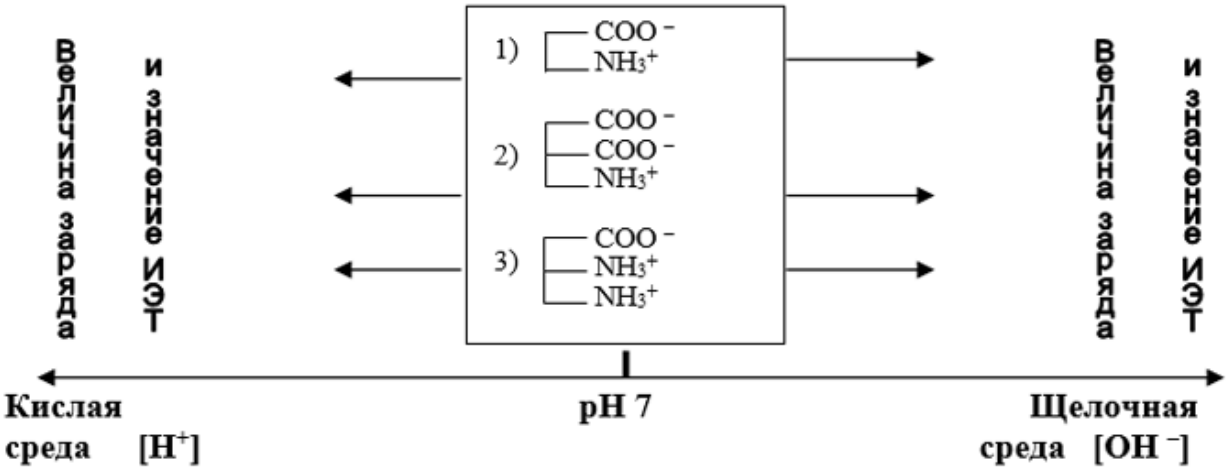
- **Растворимость белков в воде зависит от** (объясните и покажите)**:**

  - состава аминокислот и соотношения полярных и неполярных радикалов;
  - молекулярной массы;
  - формы молекулы белка;
  - величины заряда;
  - наличия гидратной оболочки;
  - pH раствора;
  - состава растворителя, ионной силы раствора.

- **Изоэлектрическая точка белка**

  ─ Используя схему, укажите величину изоэлектрической точки белков ($pH_и$>7,=7,<7):
  1) нейтральных,
  2) кислых,
  3) основных.

  ─ Объясните влияние pH среды (>7, =7, <7) на изменение величины заряда этих белков.



– Поясните по рисунку:

– изоэлектрическое состояние (ИЭС) молекулы белка,

– изоэлектрическую точку (ИЭТ) молекулы белка.

- **Амфотерные свойства белков**

–Докажите, используя схему (стр.9), что белки являются амфотерными полиэлектролитами. Какие группировки атомов придают молекуле белка кислые, а какие – щелочные свойства?

- **Буферные свойства белков**

– Что такое буферные свойства?

– За счет каких групп атомов белки проявляют буферные свойства? (покажите)

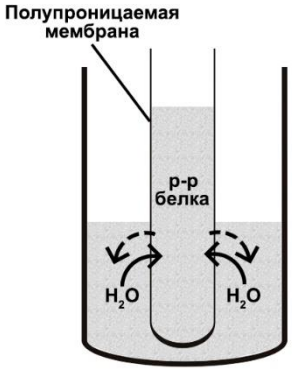
– Величина буферной емкости белков

- **Коллоидные свойства белков**

– За счет каких качеств молекулы белка приобретают коллоидные свойства (молекулярная масса, размер молекулы, заряд, гидратная оболочка). Ответ поясните.

– Перечислите коллоидные свойства растворов белков (вязкость, скорость диффузии, гелеобразование, оптические свойства, неспособность проникать через полупроницаемые мембраны и т.д.)

- **Осмотические свойства белков (диффузия и явление осмоса)**



– Осмотическое (гидростатическое) давление (показать на рисунке - **h**).

– Онкотическое давление белков (поясните).

– Объясните значение онкотического давления белков для регуляции обмена воды в организме.

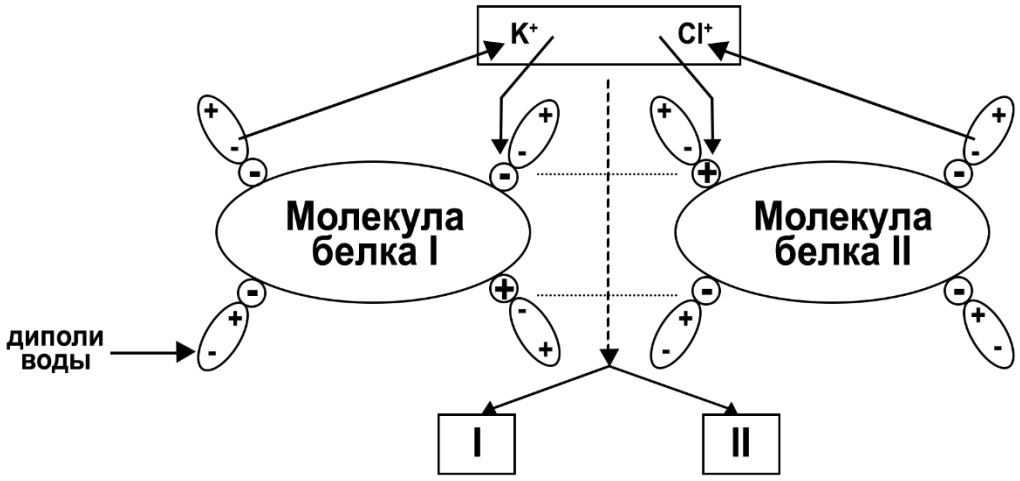
- Нативная структура белка – это функционально-активная конформация. Она обладает склонностью к небольшим изменениям II-IV структур под влиянием pH, ионов и других факторов окружающей среды, что изменяет функциональную активность этого белка.
- Денатурация белков (потеря нативной конформации и функциональной активности.)
- Ренатурация белков (восстановление II-IV структур) при очистке от денатурирующего агента.

- **Растворение, высаливание и денатурация белков**

– Объясните механизмы (используя рисунки)

– повышения растворимости белка при малых концентрациях солей щелочных и щелочноземельных металлов

– понижения растворимости белка (высаливание) при больших концентрациях указанных солей



Факторы, стимулирующие эти процессы (выберите для высаливания и для денатурации)

– высокая температура;

– вибрация;

– соли щелочных и щелочно–земельных металлов;

– соли тяжелых металлов;

– минеральные и органические кислоты;

– органические растворители;

– ионизирующее излучение;

Объясните разницу (структурную, функциональную, обратимость) в состояниях белков, полученных при высаливании и денатурации. Использование этих методов осаждения белков в медицине.

КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

— По электрохимическим признакам (кислые, основные и нейтральные), объясните, приведите примеры;
— По полярным признакам (полярные [гидрофильные], неполярные [гидрофобные], амфифильные), объясните;
— По форме молекул (глобулярные [соотношение по вертикали и горизонтали 1:3 – миоглобин], фибриллярные [> 1:10 – коллаген]).
— По молекулярной массе (низкомолекулярные – альбумин, высокомолекулярные – глобулины);
— По изменению концентрации (конститутивные – с постоянной и индуцибельные – с изменяемой скоростью синтеза);
— По продолжительности жизни (быстро обновляемые [$T_{1/2}$<60′] и медленно обновляемые [$T_{1/2}$> недели] белки);
— По функциям (транспортные, белки–ферменты, гормоны, антитела, структурные, сократительные и т.д.), приведите примеры;
— По химическому составу (простые и сложные).

- **Простые белки (опишите особенности аминокислотного состава, молекулярную массу, заряд, структуру и функции):**
  — протамины,
  — гистоны,
  — альбумины,
  — глобулины.

СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

- **Химический состав и структура сложных белков**
  — Белковая часть – апопротеин (Апо)
  — Небелковый компонент – простетическая группа

Принцип классификации (по названию простетической группы) **и классы сложных белков**

Сложный белок	*Простетическая группа*	*Пример белка и его функции*
I. Хромопротеины II. Липид–белковые комплексы (липопротеины и протеолипиды) III. Углевод–белковые комплексы (гликопротеины, протеогликаны) IV. Фосфопротеины V. Металлопротеины VI. Нуклеопроитеины	?	?

— Простетические группы сложных белков (гем, липиды, углеводы, фосфорная кислота, ионы металлов, нуклеиновые кислоты).
— Примеры (гемоглобин и миоглобин, β–липопротеины, протромбин и гастромукопротеин, казеиноген, трансферрин, ДНП и РНП).

ХРОМОПРОТЕИНЫ

Классификация хромопротеинов	Простетическая группа	Функция хромопротеина
Гемопротеины Ретинальпротеины Кобамидопротеины Флавопротеины	?	?

— Простетическая группа (гем, витамин А, витамин B_{12}, ФАД)
— Функция (участие в транспортировке кислорода, в процессах зрительного восприятия, кроветворения, в окислительно–восстановительных процессах).

ГЕМОПРОТЕИНЫ

Классификация гемопротеинов

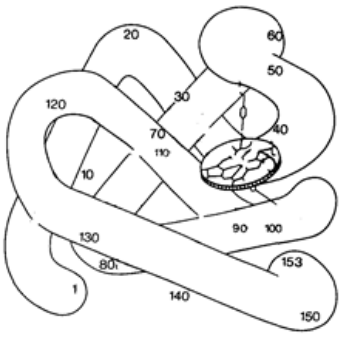
I. Неферментные

- миоглобин
- гемоглобин

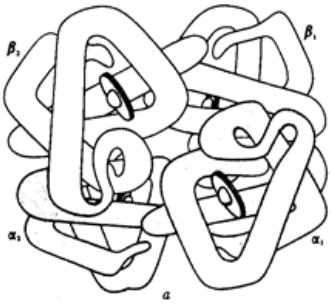
II. Ферментные

– цитохромоксидаза
– каталаза
– пероксидаза

Схема строения неферментных гемопротеинов



Пространственная структура миоглобина (диск – гем)



Миоглобин

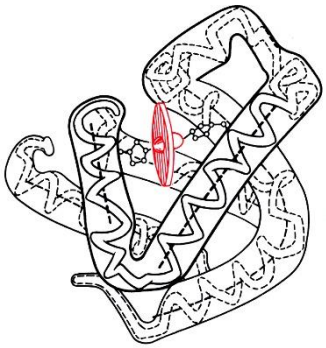
(гем + глобин)
один протомер

Гемоглобин
(2α+2β)
четыре протомера:
4 (гем + глобин)

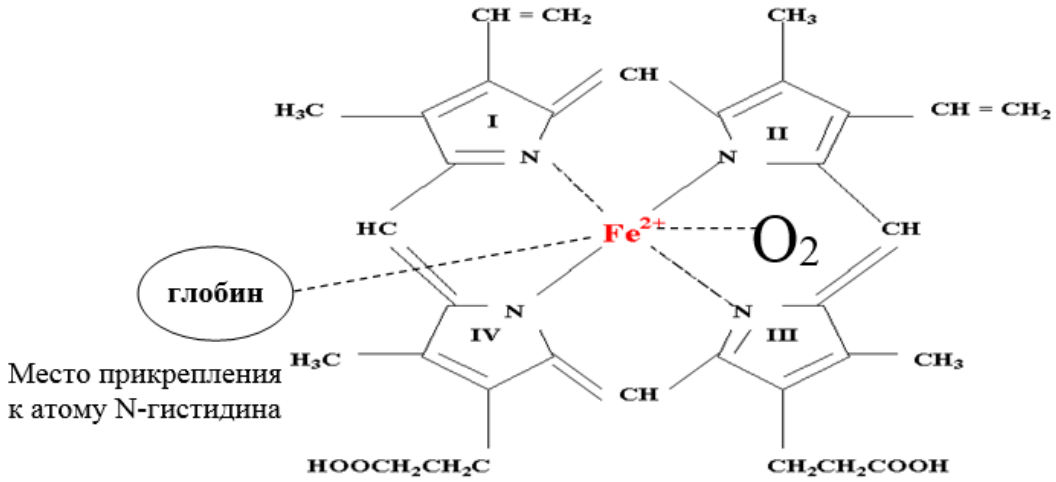
Каждая α-цепь контактирует с двумя β-цепями (гидрофобное, ионное взаимодействие, водородные связи). При изменении pH крови разрушаются эти связи, и сродство Hb кислороду изменяется.

- **Миоглобин**

— Глобин – белковый компонент (апопротеин). Молекулярная масса, число аминокислот, структура (вторичная, третичная), место прикрепления гема (гистидин)?



— Гем (простетическая группа). Покажите пиррольные кольца, протопорфирин–IX (метиновые мостики, метильные, винильные группы и остатки пропионовой кислоты), атом железа (место его прикрепления к протопорфирину и гема к глобину, обратите внимание на валентность железа):



Гем

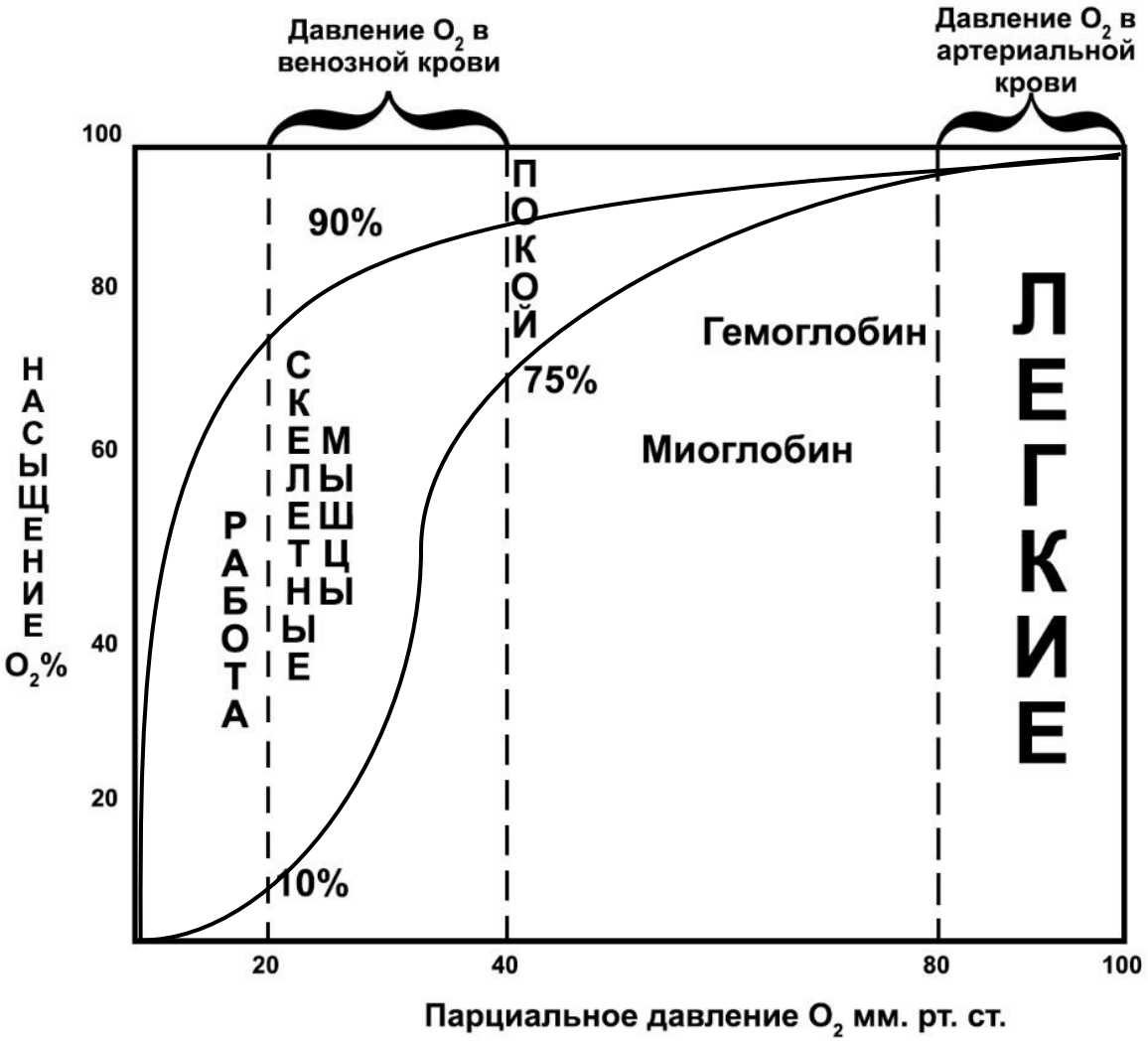
Гидрофобные остатки аминокислот препятствуют поступлению воды к гему и окислению Fe^{2+} в Fe^{3+}. Трехвалентное железо не способно присоединять O_2.

- **Гемоглобин**

— Кислород плохо растворим в виде, и 600 литров O_2 ежесуточно переносится гемоглобином эритроцитов.

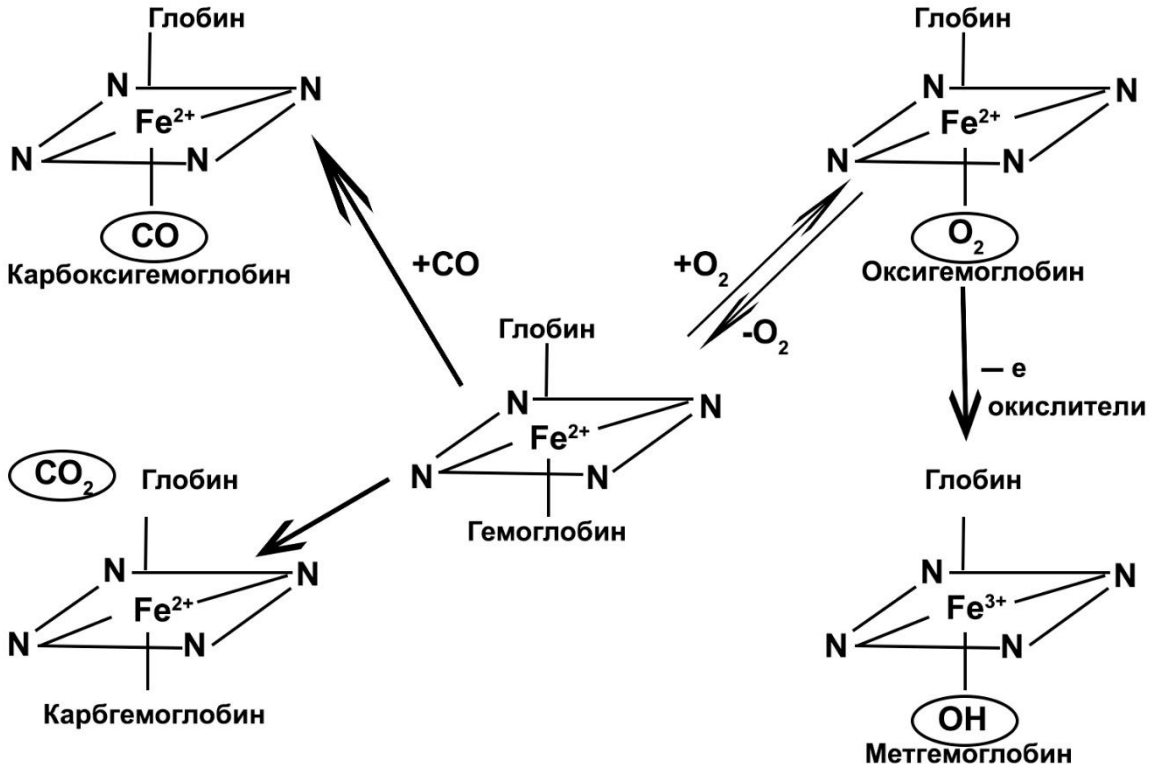
— Сходство и отличие гемоглобина от миоглобина (по молекулярной массе, структуре, сродству к кислороду).
— Олигомерная структура Hb обеспечивает регуляцию сродства Hb к кислороду в легких и тканях:
  – быстрое и полное насыщение его O_2 в легких;
  – отщепление O_2 от гемоглобина в тканях;
— Кооперативность взаимодействия белковых структур в гемоглобине и снижение его сродства к кислороду при:
  1. понижении парциального давления O_2
  2. увеличении концентрации CO_2, H^+ и 2,3-бифосфоглицерата.
— При повышении концентрации кислорода четвертая молекула O_2 присоединяется к гемоглобину в 300 раз легче, чем первая (объясните механизм кооперативного взаимодействия).

- **Биологическое значение различного сродства к кислороду миоглобина и гемоглобина**
  — Кривые насыщения кислородом гемоглобина в легких (S-образная) и миоглобина в тканях (простая гипербола) (в скелетных мышцах в покое и при



их интенсивном сокращении).

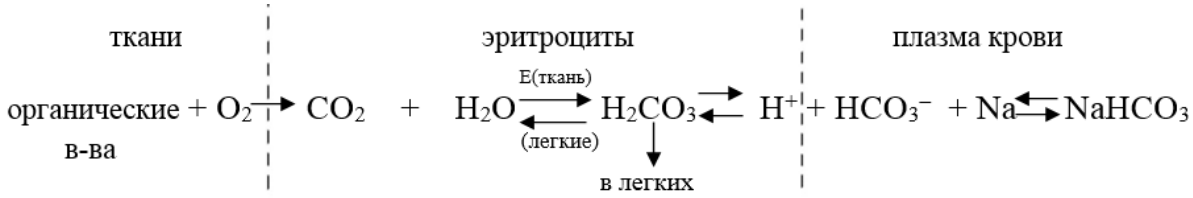
ПРОИЗВОДНЫЕ ГЕМОГЛОБИНА



Группы других атомов, способных прикрепляться к гему миоглобина и гемоглобина (CO, CO2, -CN, -OH), и названия этих комплексов:

- оксигемоглобин
- карбоксигемоглобин
- карбгемоглобин
- метгемоглобин
- циангемоглобин

Перенос H^+ и CO_2 из тканей в легкие с помощью гемоглобина; роль эритроцитов и плазмы крови (карбоангидразы, бикарбонатов) в удалении CO_2 из организма.



Эффект Бора (протоны угольной кислоты присоединяются к Hb, это уменьшает его сродство к O_2 и увеличивает освобождение O_2 в ткани).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И АНОМАЛЬНЫЕ ТИПЫ ГЕМОГЛОБИНА

— Физиологические типы гемоглобина
— Примитивный (P), фетальный (F) и гемоглобин взрослых (A)

Физиологические типы гемоглобина и периоды смены их состава

Период жизни	*Тип Hb*	*Строение субъединицы*	*Сродство к O_2*
Плод			
0 – 2 месяца	**P (примитивный)**	**4ε**	**+ +**
2 – 4 месяца	**P (примитивный)**	**2α + 2ε**	**+ +**
4 – 9 месяцев	**F (фетальный)**	**2α + 2γ**	**+ + +**
Человек			
0 – 4 месяца	**F → A**	**Смена структуры**	
4 – 40 лет	**A (взрослый)**	**2α + 2β**	**+ +**
40 – 60 лет	**A_2 (взрослый)**	**2α + 2δ**	**+ + +**
60 лет и старше	**A_3**	**Изменения структуры β–цепей**	**+**
При сахарном диабете	**A_{1C}**	**Гликозилированный гемоглобин.**	+

- **Аномальные типы гемоглобинов. Болезни гемоглобинов (гемоглобинозы):**
  - *гемоглобинопатии:* серповидно–клеточная анемия (причина нарушения физико–химических и физиологических свойств гемоглобина – замена Глу – Вал)
  - *талассемии*: гомозиготная (большая) и гетерозиготная (малая) талассемии (причины нарушения синтеза α- и β- цепей гемоглобина).

- **Ферментативные гемопротеины**

— Цитохромы b, c_1, c, a, a_3 и другие (апопротеин, простетические группы, металлы, которые входят в состав гема, их валентность). Функции цитохромов
— Каталаза (К) и пероксидаза (П) (химический состав, реакции, катализируемые этими ферментами):

1. $2\ H_2O_2 \xrightarrow{К} 2\ H_2O + O_2$
2. $R + H_2O_2 \xrightarrow{П} RO + H_2O$

ФОСФОПРОТЕИНЫ

— Химический состав, место прикрепления фосфорной кислоты и биологическое значение наличия фосфорной кислоты на примерах

  - фосфорилазы
  - гликогенсинтетазы
  - казеиногена молока

— Реципрокные взаимоотношения фосфорилазы и гликогенсинтетазы

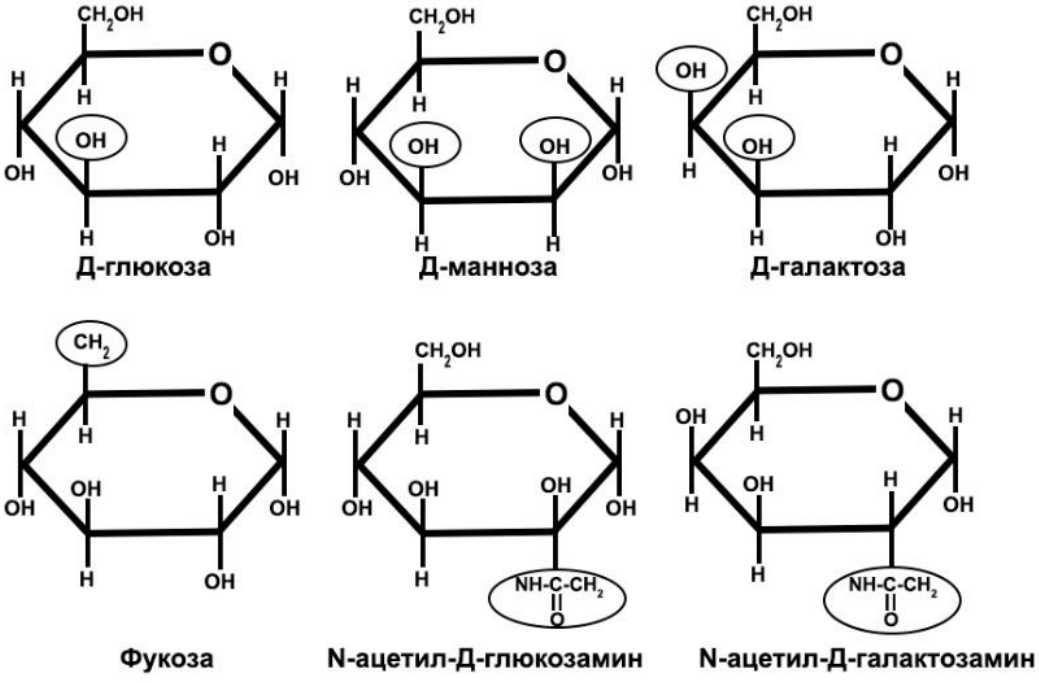
УГЛЕВОД–БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ <u>ГЛИКОПРОТЕИНЫ</u> (ГП) И <u>ПРОТЕОГЛИКАНЫ</u> (ПГ)

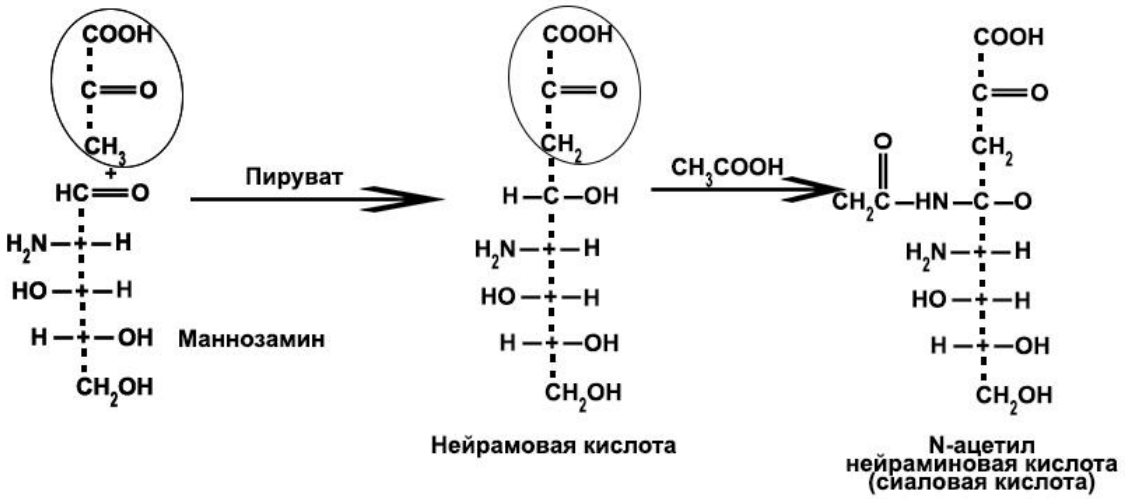
- **Гликопротеины** (соотношение белкового компонента и простетической группы ≈95 : 5)
  - — Углеводы гликопротеидов
    - химическая природа и структура,
    - роль углеводного компонента (стабильность, период полураспада, функциональное значение).

  - — Примеры гликопротеинов и выполняемые ими функции

Отдельные группы ГП	Выполняемые функции
1. ГП <u>сыворотки крови</u>: факторы свертывания, транспортные ГП, иммуноглобулины, интерфероны 2. ГП <u>слюны</u>, <u>желудочного сока</u> и <u>мочи</u>: муцин, внутренний фактор Касла, 3. ГП–<u>ферменты</u>: энтерокиназа, холинэстераза, пероксидаза 4. ГП–<u>гормоны</u>: гонадотропный, тиреотропный 5. ГП мембран	**?**

УГЛЕВОДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ГЛИКОПРОТЕИНОВ



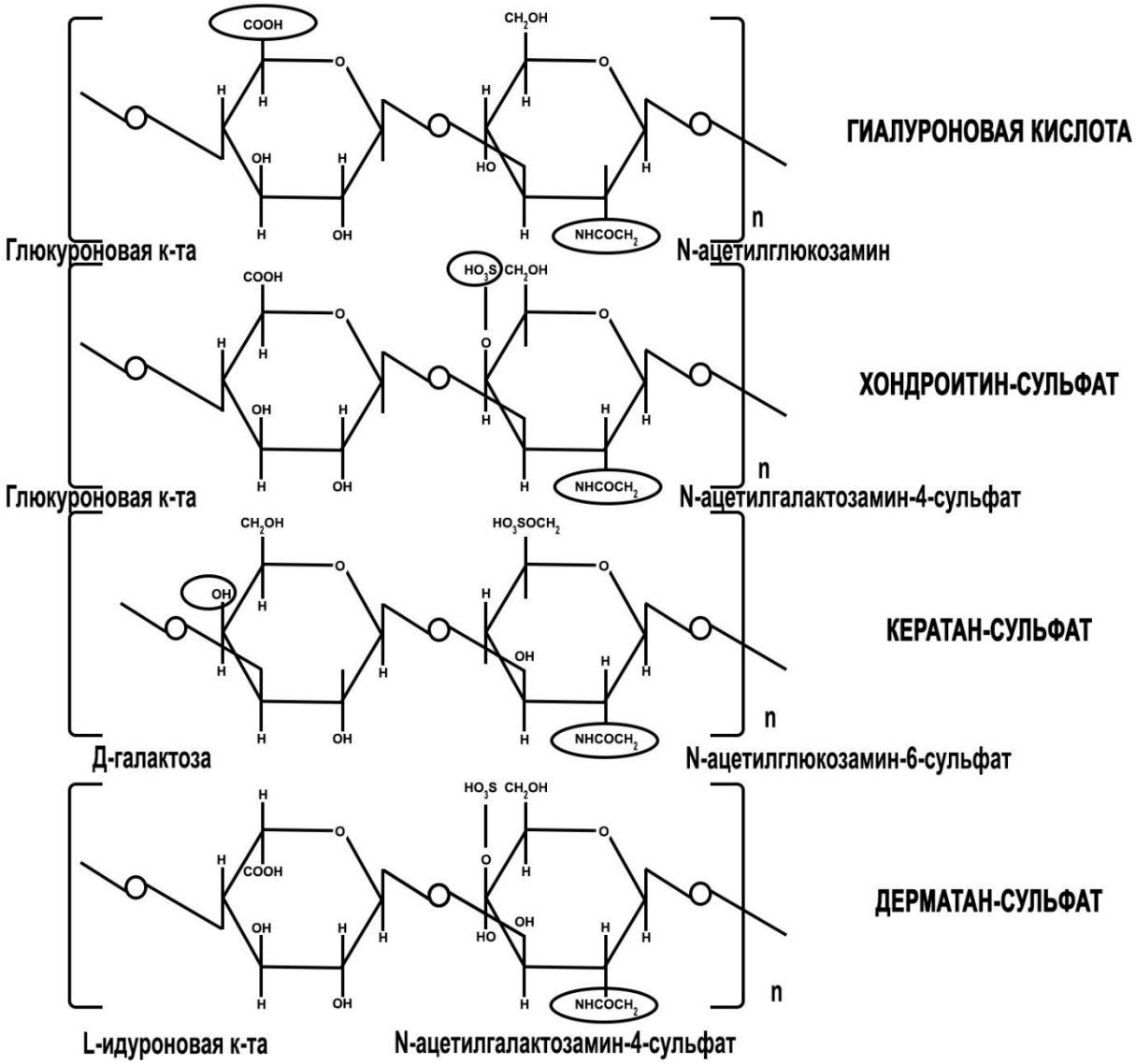


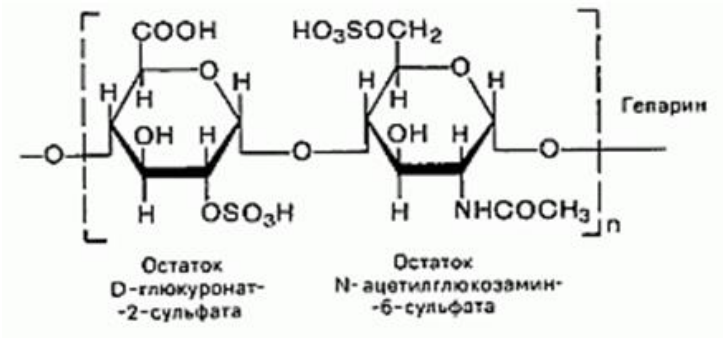
Протеогликаны (соотношение белкового компонента и простетической группы≈5 : 95)

— Углеводы протеогликанов:
  - химическая природа и структура - гетерополисахариды (гликозамингликаны, старое название – мукополисахариды),
  - роль углеводного компонента (стабильность, период полураспада, функциональное значение),
  - сульфопроизводные гликозаминогликанов

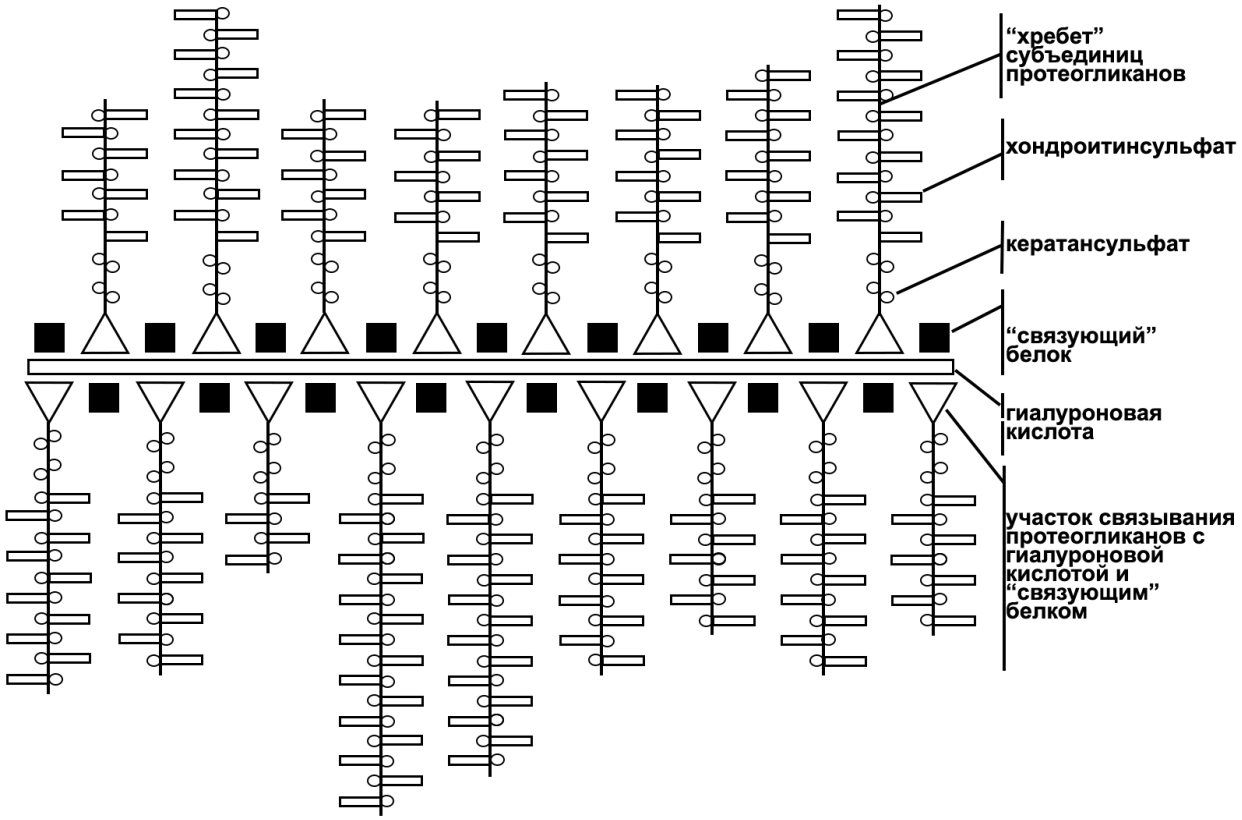
— Примеры протеогликанов, гликозаминогликанов (опишите их состав, структуру и биологические функции):
  - гиалуроновая кислота,
  - хондроитинсульфат,
  - дерматансульфат,
  - кератансульфат,
  - гепарин.

ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ





СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА (ФРМАГМЕНТ КОМПЛЕКСА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ С ПРОТЕОГЛИКАНОМ)



МЕТАЛЛОПРОТЕИНЫ

— **Примеры металлопротеинов, содержащих:**
- Негеминовое железо (ферритин, трансферрин, гемосидерин)
- Медь (цитохромоксидаза а3, тирозиназа)
- Натрий, калий, кальций (АТФ–азы)
- Цинк (карбоангидразы, алкогольдегидрогеназа, инсулин)
- Молибден (ксантиноксидаза)

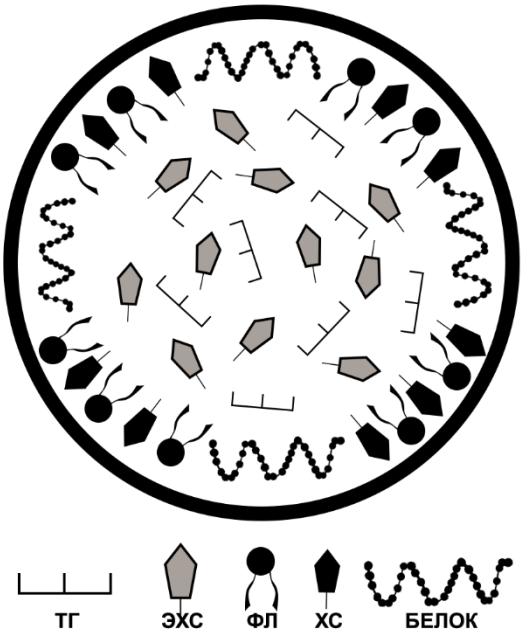
— **Функции металлопротеинов**
- транспортная
- депонирующая
- структурная
- ферментативная

ЛИПИД–БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Свободные липид–белковые комплексы (липопротеины плазмы крови)
Структурные протеолипиды (протеолипиды мембран)

- **Липопротеины плазмы крови**

— Химический состав липопротеинов плазмы крови (ТГ, ЭХС,ФЛ, ХС, белки).
— Предпосылки их формирования (липиды – гидрофобные молекулы).
— Схема строения липопротеиновой частицы (гидрофильные и гидрофобные компоненты):



— **Классификация липопротеинов плазмы крови**

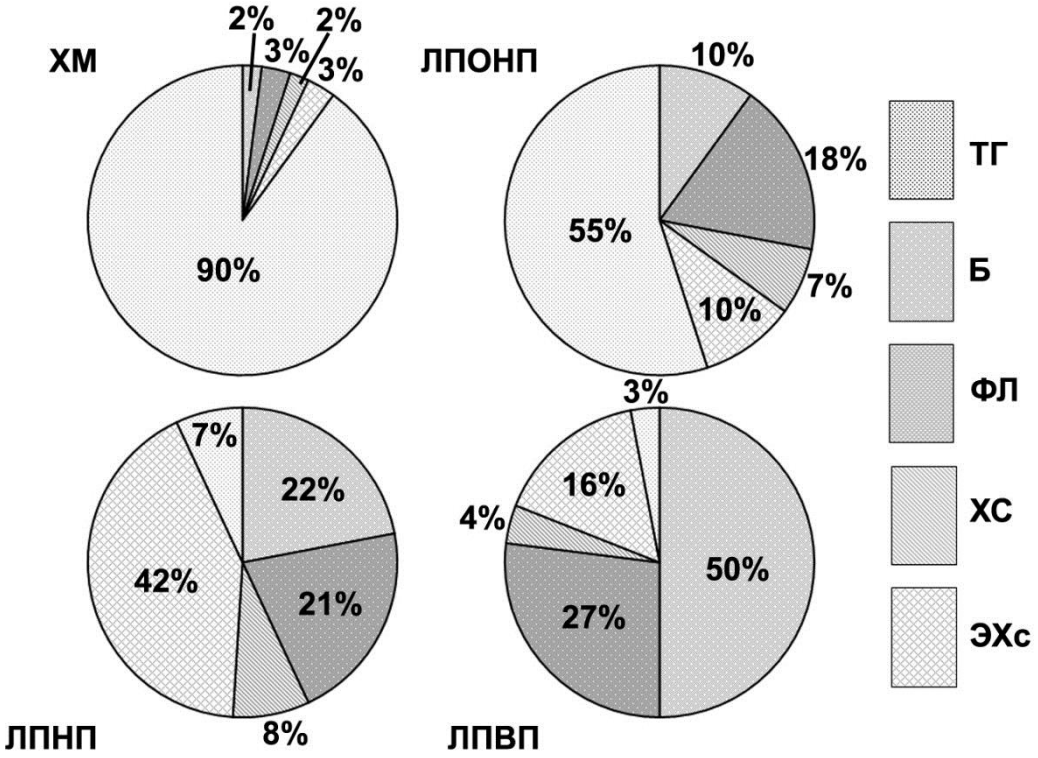
[1] – классификация по плотности (флотации)
[2] – классификация по электрофоретической подвижности

Классификация	***1***	ХМ	ЛПОНП	ЛППП	ЛПНП	ЛПВП
	2	γ–ЛП	пре–β–ЛП	флотирующие ЛП	β–ЛП	α–ЛП
Химический состав, %		Белки – 2 ФЛ – 3 Хс – 2 ЭХс – 3 **ТГ – 90**	Белки – 10 ФЛ – 18 Хс – 7 ЭХс – 10 ТГ – 55	Белки – 11 ФЛ – 23 Хс – 8 ЭХс – 30 ТГ – 26	Белки – 22 ФЛ – 21 Хс – 8 **ЭХс – 42** ТГ – 7	**Белки – 50** ФЛ – 27 Хс – 4 ЭХс – 16 ТГ – 3
Апопротеин		B, C	B, C	B	B	A
Место образования		Эпителий тонкого кишечника	Клетки печени и эпителий тонкого кишечника	Плазма крови	Плазма крови (из ЛПОНП)	Клетки печени
Функция		Транспорт экзогенных липидов из тонкого кишечника	Транспорт эндогенных липидов из печени и слизистой тонкого кишечника	Предшественник ЛПНП	Транспорт холестерина в ткани	Транспорт холестерина из тканей в печень
Плотность, г/мл		0,92–0,98	0,96–1,00	1,007–1,019	1,00–1,06	1,06–1,21
Диаметр частиц, нм		Больше 120	30–100	27	21–25	7–15

- ХМ — хиломикроны
- ЛПОНП (пре–β–ЛП) — липопротеины очень низкой плотности (пре–β–липопротеины)
- ЛПНП (β–ЛП) — липопротеины низкой плотности (β-липопротеины)
- ЛПВП (α–ЛП) — липопротеины высокой плотности (α-липопротеины)

— **Атерогенные и антиатерогенные липопротеины плазмы крови** (покажите зависимость этих свойств от химического состава, размеров и функций липопротеинов)

Схема соотношения отдельных классов липидов и белков в составе липопротеинов плазмы крови



- **Стр**

уктурные липопротеины (протеолипиды мембран клеток и субклеточных структур)

— Соотношение белков и липидов в различных мембранах (плазматических, митохондриальных и миелиновых – 50:50; 80:20; 20:80)

— Липиды мембран амфифильны (фосфолипиды, фосфатидилнозитол, холестерин, плазмалогены, сфинголипиды,кардиолипины, гликолипиды)

— Белки мембран и их биологические функции (структурные, антигенные, рецепторные, ферментные, транспортные и др.)

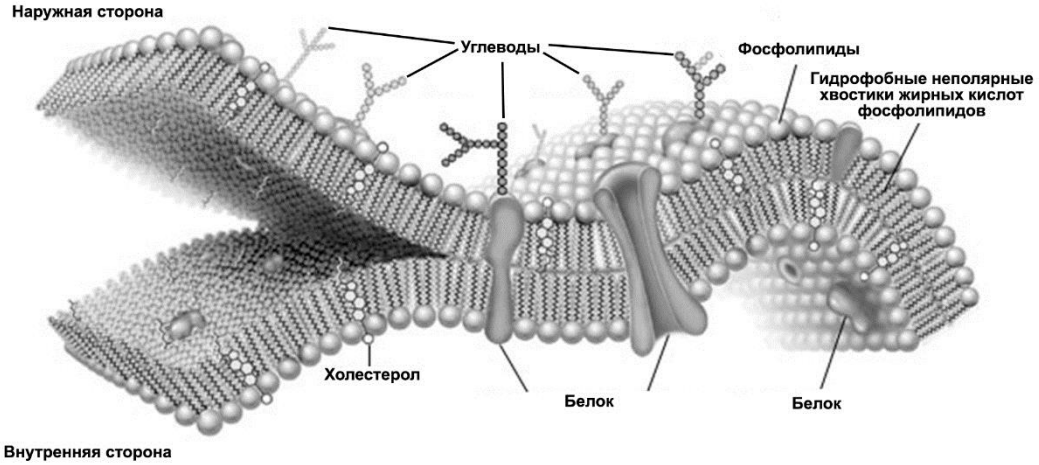
Взаимоотношения белков и липидов в мембранах клеток:

— унитарная модель мембраны клеток типа сэндвича (Даниэли и Даусон, 1931): фосфолипидный бислой, пронизанный порами, покрытыми белками;

— жидкостно–мозаичная модель мембраны клеток (Сингер и Николсон, 1972): фосфолипидный бислой жидкой консистенции, на поверхности которого и в глубине распределены, как на мозаике, различные белки – поверхностные, интегральные. Последние пронизывают липидный бислой, образуя пространства (поры), заполненные водой. Неселективные каналы, через которые по градиенту концентрации проходят молекулы с молекулярной массой 10 КД, селективные каналы содержат радикалы аминокислот, которые пропускают ионы одноименного знака заряда.

Холестерин снижает текучесть мембраны и придает структурную организованность фосфолипидному бислою.

Схема строения жидкостно-мозаичной модели мембраны

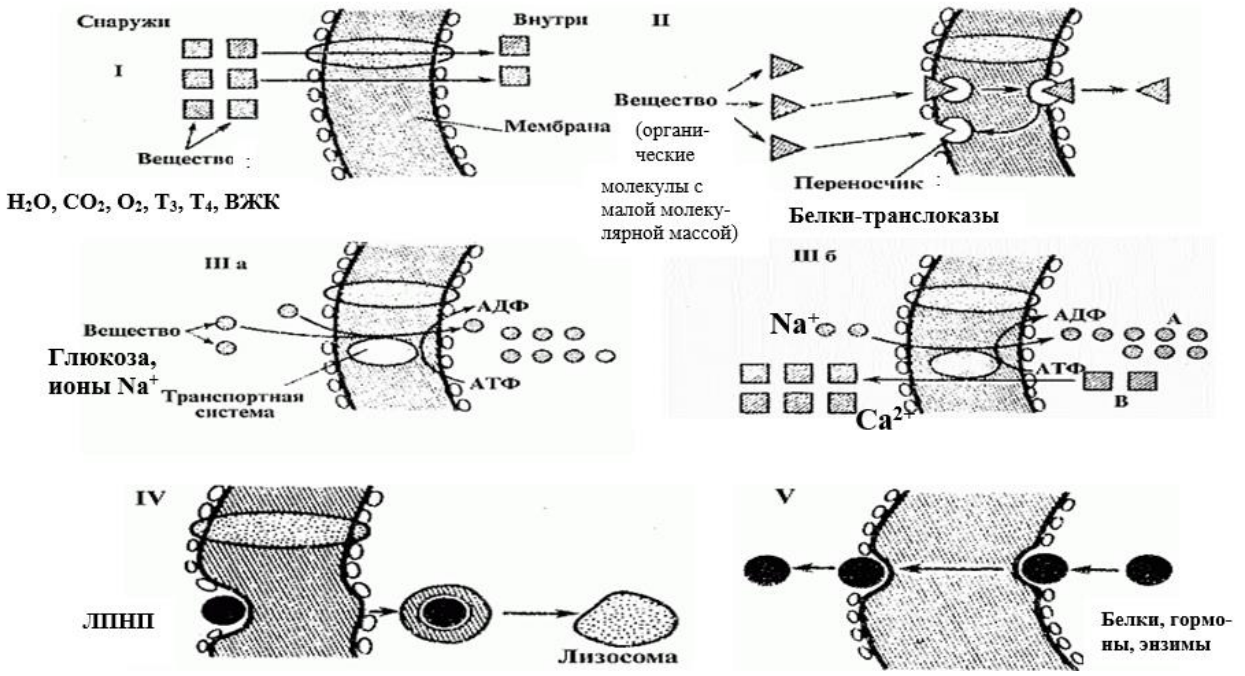


— Молекулы липидов и белков в мембране постоянно перемещаются в **определенной закономерности** (латеральное перемещение, перевертывание и др.)
— Асимметричность мембран по химическому составу, структуре и биологическое значение этого явления
— Рецепторы мембран:
- интегрины, обеспечивают передачу информации из межклеточного — пространства в клетку и обратно;
- кадгерины и селектины – участвуют в формировании межклеточной адгезии.

Механизмы транспорта веществ через мембраны клеток для липофильных и гидрофильных веществ:

— механизмы транспорта по законам диффузии (обычная [I] и облегченная [II] диффузия)
— активный транспорт веществ через мембраны клеток (унипорт) против градиента концентрации (белки–переносчики, энергия АТФ), унипорт, симпорт [IIIа], антипорт [IIIб])
— везикулярный транспорт макромолекул через мембраны клеток (эндо– [IV], экзоцитоз [V])

Схемы транспорта веществ через биологические мембраны



Функции биологических мембран (поясните и приведите пример):

— *Разделительная* — мембраны разделяют внутри- и внеклеточное пространства;
— *Интегративная (объединяющая)* — мембраны объединяют отдельные разрозненные биохимические процессы в единое структурное целое;
— *Транспортная* — участвуют в переносе веществ между различными пространствами клетки и внеклеточной средой;
— *Осмотическая* — функция по концентрированию веществ (например, катионов Na^+ и K^+) между внутри- и внеклеточными пространствами;
— *Электрическая* — благодаря мембранам создаются условия для возникновения разности электрических потенциалов;
— *Энерготрансформирующая* — мембрана обеспечивает трансформацию электрической и осмотической энергии в химическую энергию АТФ;
— *Рецепторная* — мембрана воспринимает сигналы из внешней среды благодаря наличию на ее поверхности специальных белков–рецепторов. Воспринятый сигнал передается внутрь клетки;
— *Регуляторная* — мембраны участвуют в образовании внутриклеточных регуляторов обмена веществ — 3′, 5′-цАМФ и 3′, 5′-цГМФ;
— *Метаболическая* — ферменты мембран участвуют в различных превращениях как природных, так и чужеродных веществ;
— *Антигенная* — гликопротеиды клеточных мембран определяют их способность вызывать образование специфических антител;
— *Адгезивная* — адгезия, или контакт с другими клетками, зависит от узнающих зон, содержащих углеводные компоненты.

НУКЛЕОПРОТЕИНЫ

ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОПРОТЕИНЫ (**ДНП**) И РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНЫ **(РНП)**

Сложные белки, состоящие из простых белков (протамины, гистоны и негистоновые белки) + ДНК или РНК

<u>Историческая справка</u>

1868. ***Мишер:*** выделение из ядер клеток нуклеинов

1943. ***Эвери, Мак Леод, Маккарти:*** обнаружение, что ДНК вирулентных бактерий переводит невирулентный штамм бактерий в вирулентный, т.е. ДНК несет иформацию о наследственности

1949. ***Чаргафф и его коллеги:*** выявление закономерности формирования структуры ДНК

1953. ***Уотсон и Крик:*** модель ДНК

1967. ***Корнберг:*** синтез ДНК вируса

1970. ***Корана:*** синтез искусственного гена

1977. Установление нуклеотидной последовательности ДНК бактериофага

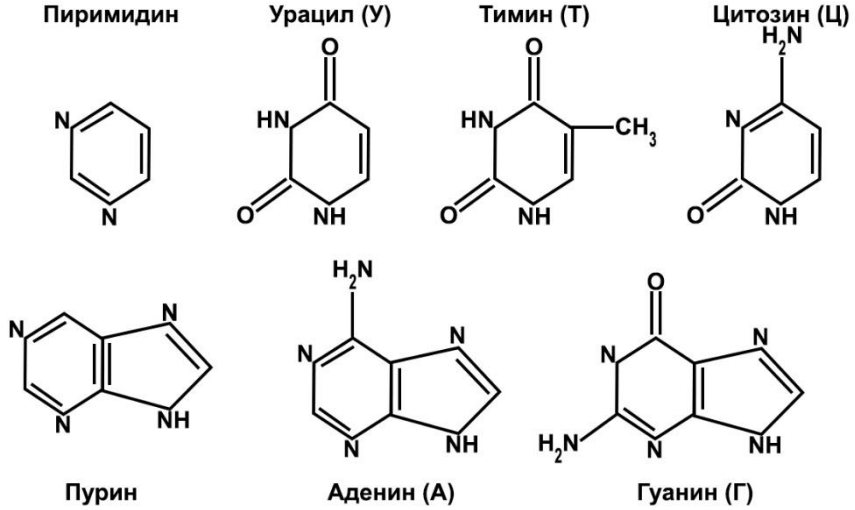
1978. ***Арбер, Смит, Натансон:*** открытие явления рестрикции ДНК

2000. ***Ученые различных стран приблизились к полной расшифровке ДНК (генома) человека***

2002. ***В Англии разрешен синтез отдельных органов и тканей путем клонирования***

— Химический состав нуклеопротеинов
- При *полном гидролизе* нуклеопротеинов (ДНП и РНП) обнаружены:
  - аминокислоты,
  - пентозы,
  - фосфорная кислота,
  - N–содержащие молекулы (А, Г, Т, Ц, У)

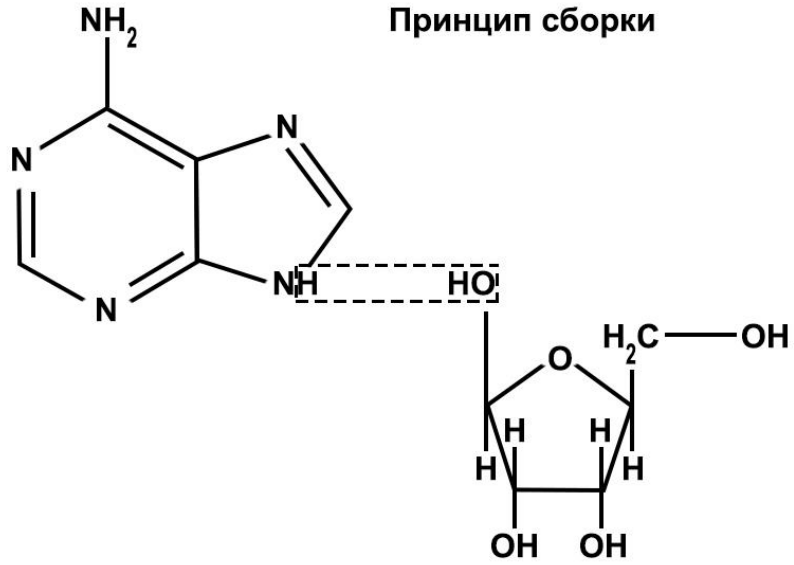
- **N–содержащие молекулы в нуклеиновых кислотах** (производные пурина и пиримидина)



- 2,4–диоксопиримидин (урацил)
- 5–метилурацил (тимин)
- 2–оксо–4–амино-пиримидин (цитозин)
- 6–аминопурин (аденин)
- 2–амино–6–оксопурин (гуанин)

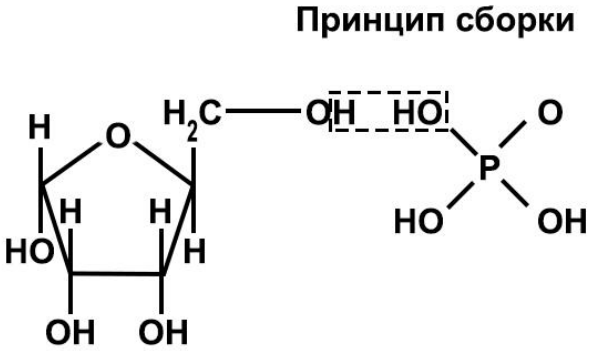
- При *неполном гидролизе* обнаружены:
  - олигопептиды и белки (протамины, гистоны),
  - нуклеозиды, рибозо-5-фосфат, мононуклеотиды, олигонуклеотиды, нуклеиновые кислоты

- **<u>Нуклеозиды</u> (азотистое основание + рибоза или дезоксирибоза):**



Рибонуклеозиды	***Дезоксирибонуклеозиды***
аденозин	*дезоксиаденозин*
гуанозин	*дезоксигуанозин*
цитидин	*дезоксицитидин*
уридин	*дезокситимидин*

- **<u>Рибозо–5'–фосфат</u>**



- **<u>Мононуклеотиды</u> (азотистое основание + рибоза + фосфорная кислота)**

  — Принцип сборки (см. предыдущую страницу)
  — Названия рибомононуклеотидов
    - адениловая кислота (аденозинмонофосфат, АМФ)
    - гуаниловая кислота (гуанозинмонофосфат, ГМФ)
    - цитидиловая кислота (цитидинмонофосфат, ЦМФ)
    - уридиловая кислота (уридинмонофосфат, УМФ)
  — Названия дезоксирибомононуклеотидов
    - дезокситимидинмонофосфат (d-АМФ) и т.д.
  — Минорные мононуклеотиды, их азотистые основания (5–метиладенин, 1–метиладенин и др.) и биологическая роль (защитная, регуляторная).

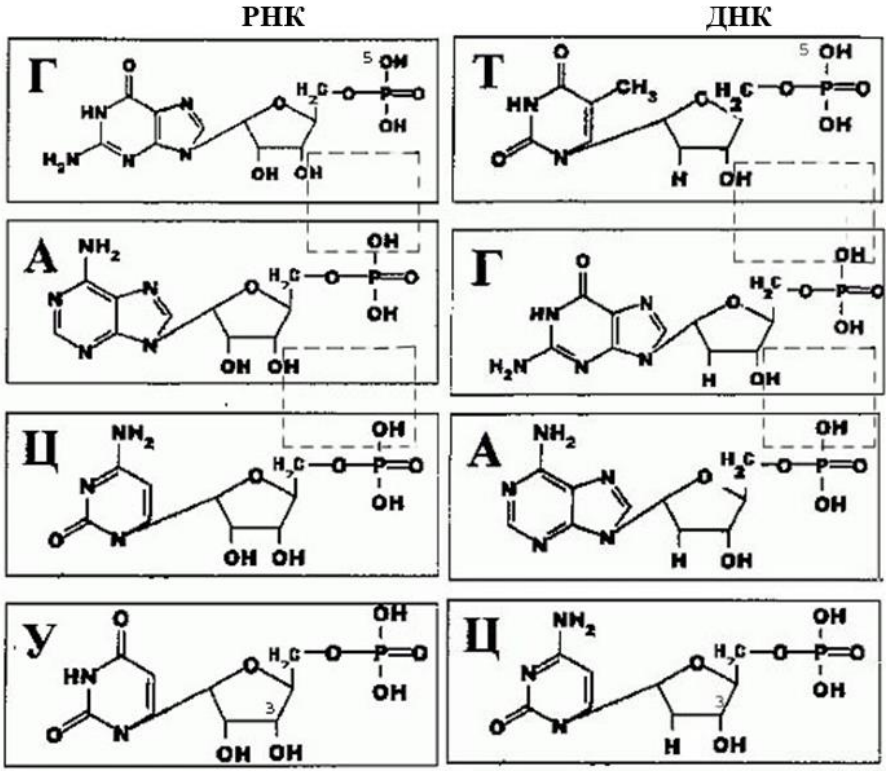
- **<u>Нуклеиновые кислоты</u>** (полимеры, собранные из отдельных мононуклеотидов). В их составе могут быть либо тимин, либо урацил, а также либо рибоза, либо дезоксирибоза. В зависимости от этого нуклеиновые кислоты называют рибонуклеиновые – РНК или дезоксирибонуклеиновые кислоты – ДНК.

  — Принцип сборки: сложно-эфирная ковалентная связь (3',5') между рибозой предыдущего мононуклеотида (С3'–ОН) и фосфорной кислотой последующего мононуклеотида (С5'–ОН)

  ДНК и РНК имеют первичную, вторичную и третичную структуры.

- **Первичная структура нуклеиновых кислот**

  — Линейная последовательность мононуклеотидов в полинуклеотидной цепи
  — 3' и 5'–концы нуклеиновых кислот
  — Покажите и поясните все эти положения на рисунке.



- **Различия между РНП и ДНП:**

РАЗЛИЧИЯ	РНП	ДНП
По химическому составу	Рибоза Аденин Гуанин Цитозин *Урацил*	Дезоксирибоза Аденин Гуанин Цитозин *Тимин*
Белки	Мало	Много
Мм	$4 \cdot 10^4 - 0{,}6 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^{11} - 10 \cdot 10^{11}$
Расположение	Цитоплазма	Ядро
Строение	Нерегулярное	Двойная спираль
Биологическая функция	Перенос информации	Хранение информации

ДНК И ДНП

- **Вторичная структура ДНК:**

— ключ к разгадке вторичной структуры ДНК:

- правила Чаргаффа

I. $A = T;\ Г = Ц$ $\quad \frac{A}{T} = 1;\ \frac{Г}{Ц} = 1$

II. $A + Г = Ц + T$ $\quad \frac{A + Г}{Ц + T} = 1$

III. $A + Ц = T + Г$ $\quad \frac{A + Ц}{Г + T} = 1$

IV. Коэффициент специфичности

$$\frac{Г + Ц}{A + T} < 1$$

(у животных)

V. ДНК не меняется в течение жизни, не зависит от питания и окружающей среды.

(Современный взгляд на эту проблему - СПИД, радиация).

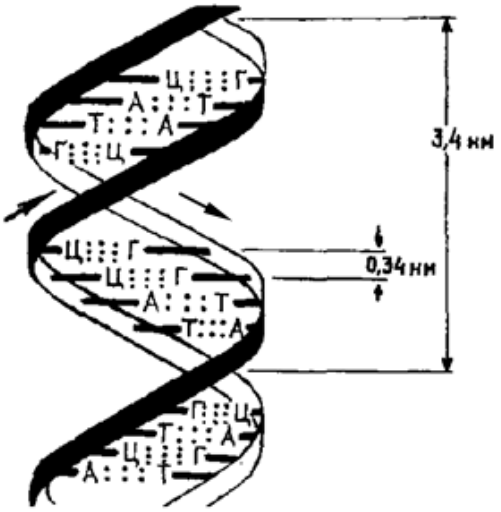
- Результаты рентгено–структурного анализа (работы Франклина и Уилкинса)
  - периодичность полимерной цепи ДНК вдоль оси 0,34 и 3,4 нм.

— Модель Уотсона и Крика – двойная правозакрученная спираль ДНК
  - цепи антипараллельны (5',3' и 3',5')

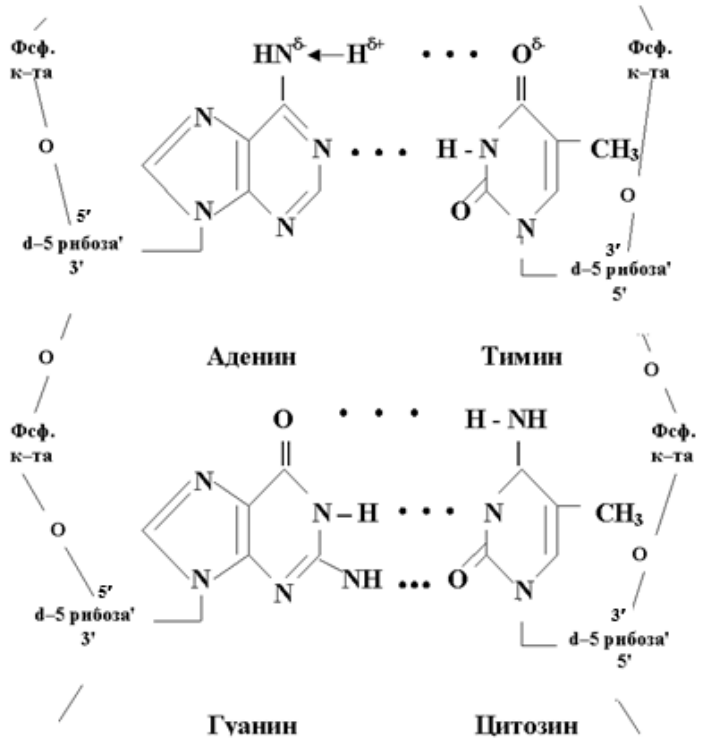
- внешняя сторона спирали – фосфорная кислота, связанная с дезоксирибозой
- внутренние компоненты спирали – азотистые основания, расположенные комплементарно (А : : : Т, Г М М М Ц)

— Принцип комплементарности (объяснить на рисунке)

С



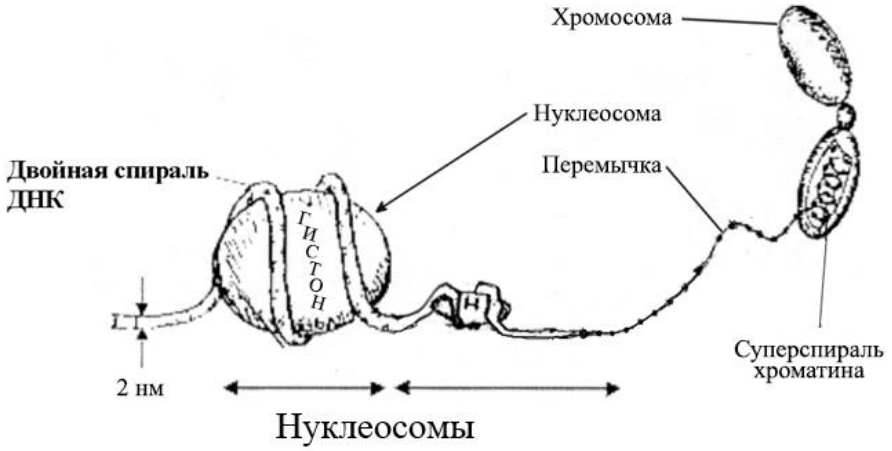
Двойная спираль ДНК



- **Третичная структура ДНК: (суперспираль = хромосома)**

— 46 хромосом (23 пары) - это 46 молекул ДНК, содержащих генетическую информацию.
— Ген с позиции биохимии – фрагмент ДНК, кодирующий один или несколько белков. (Число генов в ДНК одного человека составляет 31780 – 39114 (данные 2001 г.))
— Генетический текст: триплет мононуклеотидов (кодоген - покажите).
— Геном – совокупность всех генов в ядре.
— Количество генов в ядре (соответствует, как минимум, количеству разновидностей белков в организме).
— Разновидности генов (структурные, регуляторные и др.).

Схема структурной организации ДНК в хроматине (комплекса белков с ДНК) и образование хромосомы



— Принцип сборки:

- белки-гистоны + отрезок ДНК (~ 145 пар мононуклеотидов) = нуклеосома;
- в клетке генетический материал сгруппирован в форме хромосом;
- суперспираль нуклеосом образует хроматин.

РНК И РНП

— Принципы классификации РНК (молекулярная масса, локализация, функции)
- м–РНК (и–РНК)
- т–РНК
- р–РНК

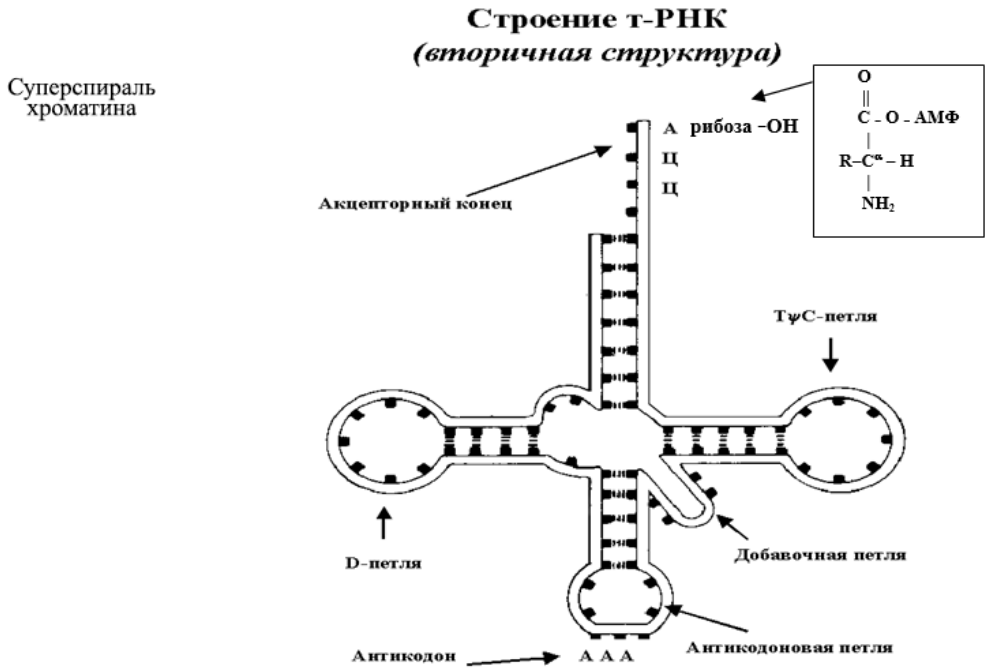
- **м–РНК**
  - — Появляется после списывания информации с ДНК.
  - — Служит матрицей, на которой строится аминокислотная последовательность белков.
  - — Кодирует одну или несколько полипептидных цепей (ППЦ).
  - — Генетический код м–РНК: триплет (кодон).
  - — м–РНК + белок = информосома.

- **р–РНК**
  - — Функция р–РНК: каркас будущей рибосомы – малой (40S) и большой (60S) субъединиц.
  - — Биологическая роль рибосомы (участвует в процессах сборки молекулы белка)
- **т–РНК**
  - — Химический состав.
  - — Количество мононуклеотидов (90).
  - — Вторичная структура т–РНК (принцип формирования – «клеверный листок») и функционально важные участки:

- акцепторный участок (ЦЦА),
- антикодон (триплет),
- псевдоуридиловая петля – место связывания с рибосомой (TψC – петля),
- дигидроуридиловая петля – место прикрепления фермента аа–т–РНК–синтетазы, ответственной за присоединение специфической аминокислоты к данной т–РНК (D –петля).

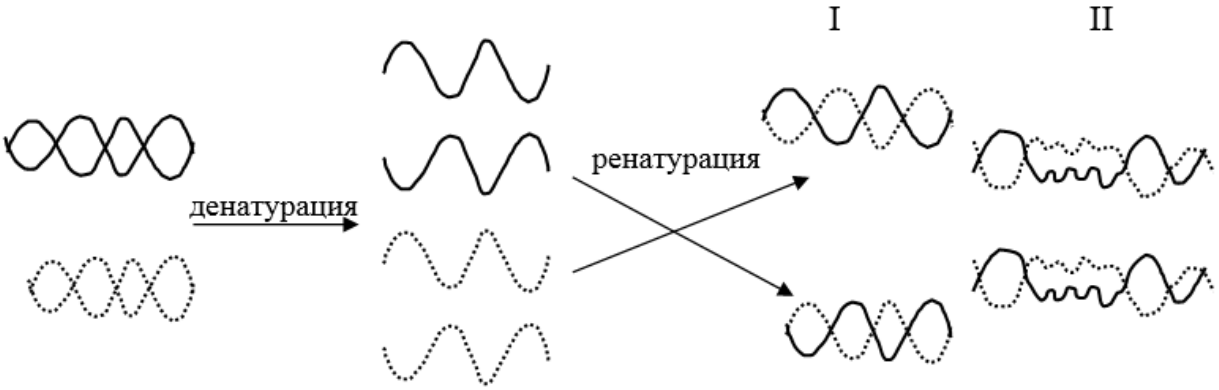
— 20 протеиногенных аминокислот и более 60 т–РНК (объясните причину избыточности последних):
  - одну аминокислоту транспортируют 2–3 т–РНК, но одна т–РНК транспортирует только одну определенную аминокислоту).

— Аминоацил – т–РНК (аа-т-РНК) — активная транспортная форма аминокислоты



- **Физико–химические свойства нуклеиновых кислот и нуклеопротеинов**

— Молекулярная масса.
— Заряд молекулы.
— Коллоидные свойства.
— Вязкость.
— Способность к денатурации и ренатурации (ренативации).
— Молекулярная гибридизация – состоит из стадии денатурации ДНК различных видов и ренативации ДНК, содержащей теперь цепи разных видов



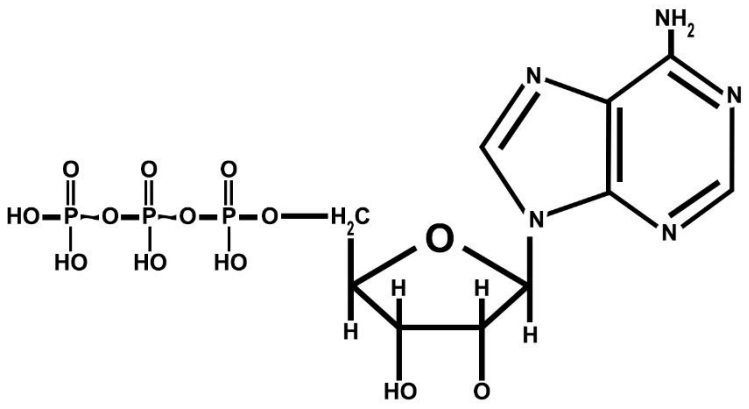
- молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот как метод определения степени гомологичности (определение степени родства) организмов, I – имеется сродство, II – не имеется сродства
- гомологичность ДНК человека и обезьяны

- **Генная инженерия**
  - Направление в молекулярной генетике по разработке методов получения и пересадки нужных генов в ДНК клетки хозяина с целью изменения ее генетических свойств
  - Методы генной инженерии (основные стадии):
    - получение интересующего гена, т.е. фрагмента ДНК,
    - соединение этого гена с векторной молекулой (плазмида и др.),
    - введение нужного гена в ДНК клетки хозяина,
    - отбор клеток, где размножается (клонируется) введенный нужный ген.

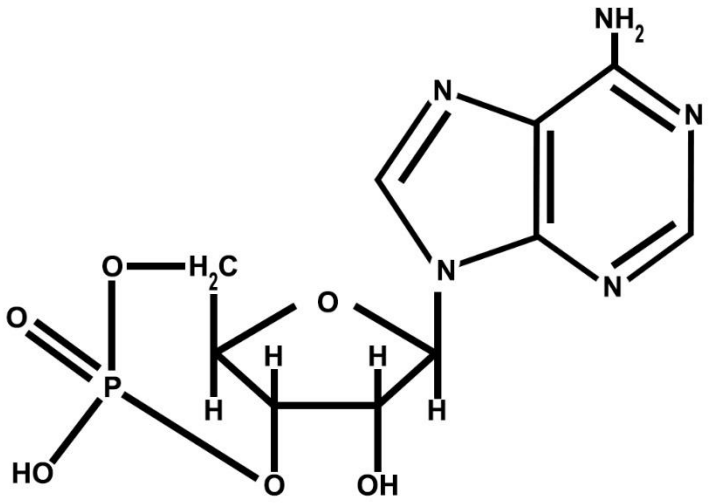
- **Способы защиты ДНК клетки от чуждых нуклеиновых кислот**
  - Энзимы рестриктазы (их функция).
  - Минорные азотистые основания (2–метиладенин, 5–метилцитозин):
    - способ защиты ДНК от действия рестриктаз.
    - участие в регуляции транскрипции.

- **Свободные мононуклеотиды, динуклеотиды и коферменты**

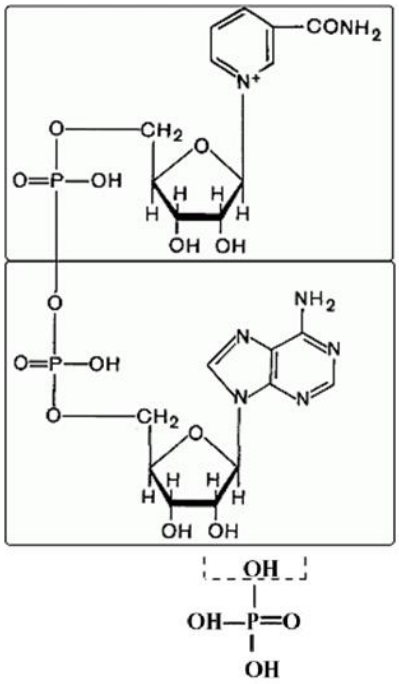
  - Свободные мононуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ, ГТФ, ГДФ, ГМФ и т.д.).
  - Макроэрги, их биологическая роль. АТФ – универсальный макроэрг.



— Циклические мононуклеотиды (цАМФ, цГМФ) и их биологическая роль (вторичные мессенджеры).

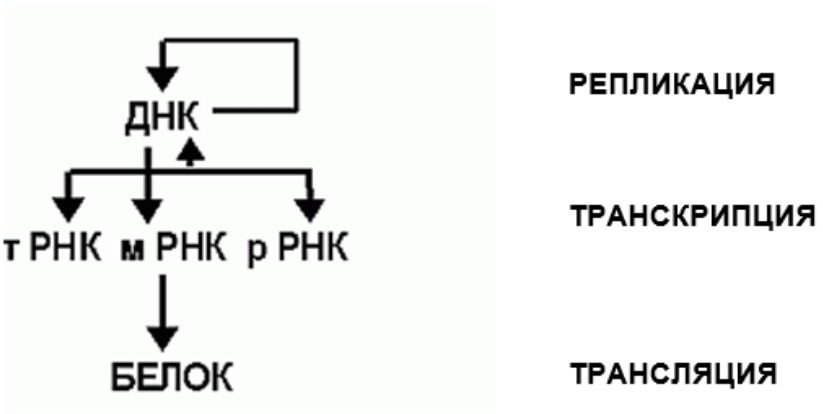


Динуклеотиды (НАД, НАДФ, ФАД) и их биологическая роль (коферменты)



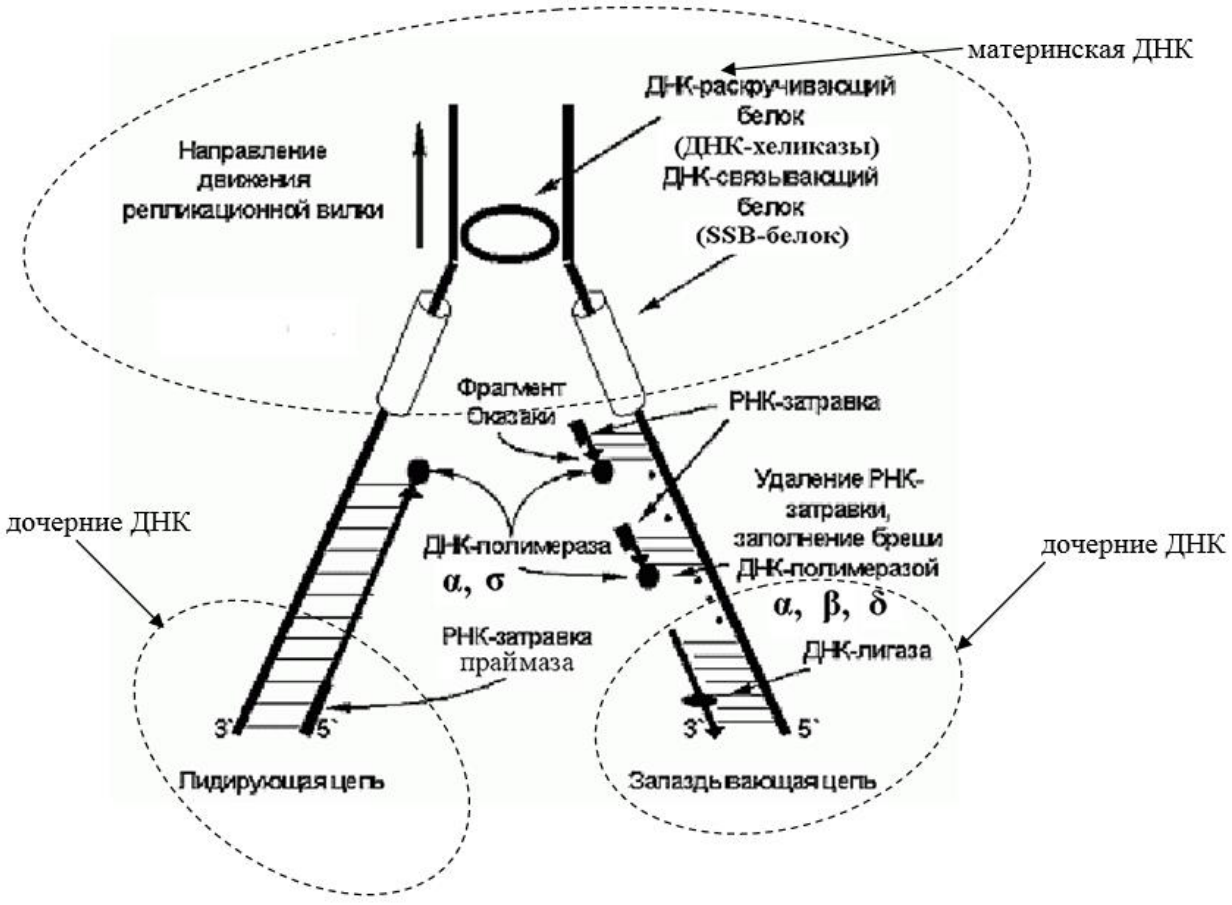
МАТРИЧНЫЕ СИНТЕЗЫ (БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКОВ)

- **Виды переноса генетической информации**



БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

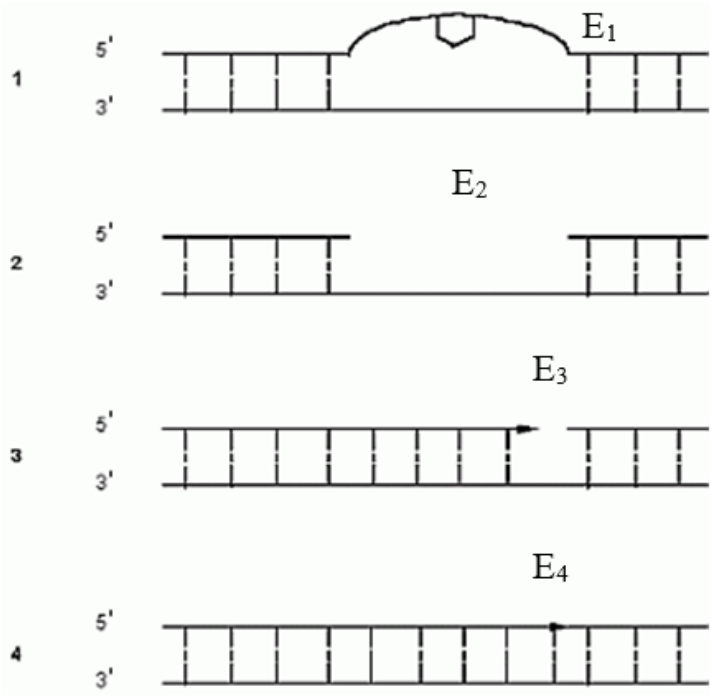
- **Биосинтез ДНК (репликация)**



— Что служит матрицей? (материнская ДНК).
— Дочерние молекулы ДНК: сколько их?
— Состав новообразованных молекул ДНК (материнская цепь и новообразованная дочерняя).
— Этапы репликации:
  - узнавание точки начала репликации и расплетение нитей ДНК (ДНК-топоизомеразы, ДНК-раскручивающий и ДНК-связывающий белки),
  - инициация синтеза дочерних цепей (праймаза, РНК–затравка),
  - лидирующая (ведущая) и запаздывающая (отстающая) цепи; объясните различия.
  - элонгация (d-АТФ, d-ГТФ, d-ЦТФ, d-ТТФ, ДНК-полимеразы α, β, γ, δ, ε; фрагменты Оказаки, лигазы),
  - закручивание нитей в двойную спираль
  - терминация (исчерпание матрицы ДНК, метилирование дочерних ДНК).
  - формирование на конце ДНК теломерной последовательности (100-1000 мононуклеотидов) для сохранения генетической информации.
— Скорость формирования дочерних цепей(50-60 встроенных мононуклеотидов в минуту).
— ДНК – репликационная система (ДНК–полимераза и др. ферменты).
— Частота ошибок при репликации (10^{-10}), т.е. одна на 10^5-10^6 пар встроенных мононуклеотидов.

- **Повреждение и репарация (исправление ошибок) ДНК**

— *Причины повреждения* (УФ–облучение, радиация, ксенобиотики, лекарственные препараты и другие химические повреждения).
— *Механизмы повреждения* ДНК (покажите, используя схему первичной структуры ДНК):
  - отрыв групп атомов от пуринового или пиримидинового ядра
  - отщепление азотистых оснований (депуринизация и образование АП-сайта);
  - склеивание пуриновых или пиримидиновых оснований (образование димеров),
  - удаление из цепи отдельных мононуклеотидов и сдвиг рамки,
  - замена отдельных мононуклеотидов,
— *Репарация* ДНК – (если повреждена одна цепь на базе второй, по принципу комплиментарности, восстанавливается другая).



Этапы репарации:

Узнавание места повреждения (E_1: АП-эндонуклеаза)

Удаление поврежденного участка (E_2: АП-экзонуклеаза)

Достройка "нужными" мононуклеотидами (E_3: ДНК-полимераза, в том числе и осуществляющая «шаг» назад)

«Сшивание» репарируемой цепи (E_4: ДНК-лигаза)

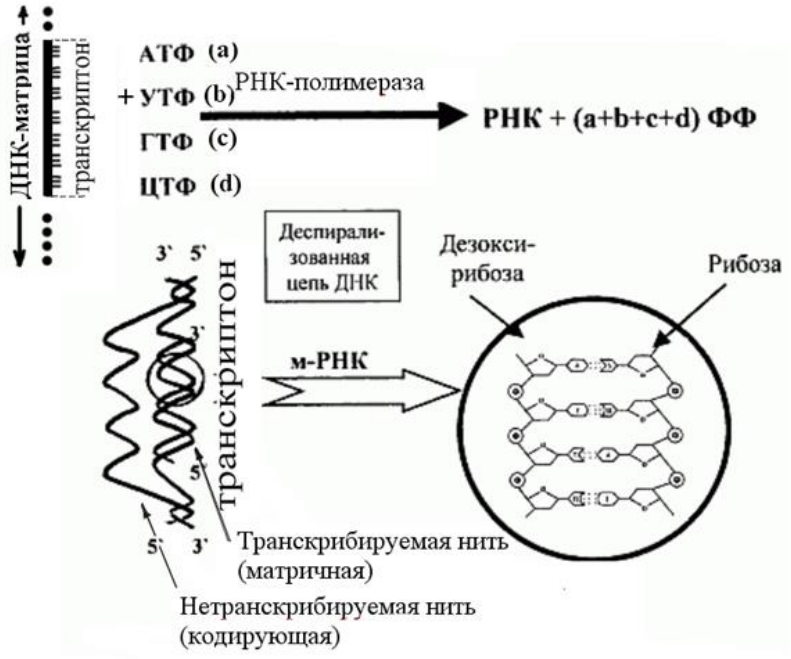
- Репаративная система: эндонуклеаза(E1), экзонуклеаза(E_2), ДНК–полимераза репарирующая(E_3), ДНК–лигаза(E_4). Объясните их роль по схеме.

— *Генные мутации* (нерепарированные наследуемые изменения первичной структуры ДНК, их накопление). Если они произошли не в соматических, а в половых клетках, то передаются по наследству, и вызывают наследственное заболевание.

- мутации по типу замены мононуклеотида в составе кодогена;
- мутации по типу вставки или делеции (утраты) мононуклеотида;
- биологические последствия мутаций:
  - нейтральные,
  - отрицательные (наследственная патология на примере серповидно–клеточной анемии),
  - положительные (фактор эволюции).

- **Биосинтез РНК (транскрипция)**

Информация считывается с фрагмента ДНК (транскриптона), ограниченного с одного конца промотором, а с другого сайтом терминации.



— Различия между процессами репликации и транскрипции

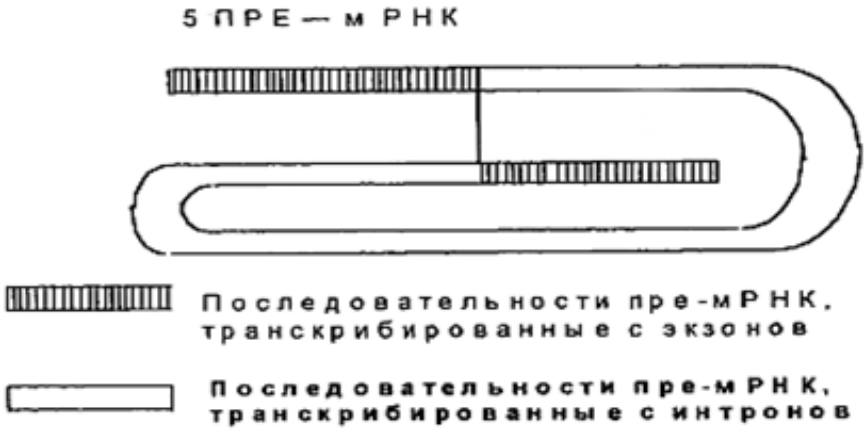
Репликация	Транскрипция
Биосинтез ДНК	Биосинтез РНК
Тимин, дезоксирибоза	Урацил, рибоза
Копируется вся хромосома	Переписывание информации с отдельных фрагментов хромосомы (транскриптонов)
Образуется новая дочерняя копия ДНК	Образуются т-РНК, м-РНК, р-РНК
Двухцепочечные молекулы дочерних ДНК, идентичные материнской	Одноцепочечные молекулы РНК

— Ферменты транскрипции (ДНК–зависимые–РНК–полимеразы I (синтез пре-р-РНК), II (синтез пре-м-РНК), III (синтез пре-т-РНК)).

— Этапы транскрипции:
- узнавание точки начала транскрипции (промотор ДНК-матрицы, δ-субединица РНК-полимеразы) и расплетение фрагмента ДНК (δ-субединица РНК-полимеразы)
- инициация (α-субъединица РНК-полимеразы)
- элонгация (β-субъединица РНК-полимеразы, АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ)
- терминация (терминирующий участок гена, белок-фактор терминации)

Процессинг пре-м-РНК — посттранскрипционная модификация её структуры и образование пригодной для трансляции «зрелой» молекулы м-РНК:

- *сплайсинг* — удаление некодирующих интронных последовательностей из м-РНК и сшивание (компановка) экзонов



- *кэпирование* — химическая модификация 5′-концевой последовательности м-РНК (защита от ферментов распада) с помощью N_7-метилгуанозина.
- *полиаденилирование* — химическая модификация 3′-концевой последовательности м-РНК (формирование “хвоста” из 100-1000 остатков адениловой кислоты и защита от ферментов распада).

Процессинг пре-р-РНК и пре-т-РНК:

– Пре-т-РНК содержит ≈ 100 нуклеотидов, в ходе процессинга остается 70-90 и формируется вторичная и третичная структуры с антикодоном, акцепторным и другим функциональными участками.
– Пре-р-РНК (≈ 13000 нуклеотидных остатков), после процессинга образуются малая и большая субъединицы рибосом.

- транскрипцию проводят сразу 80 – 100 молекул РНК–полимеразы

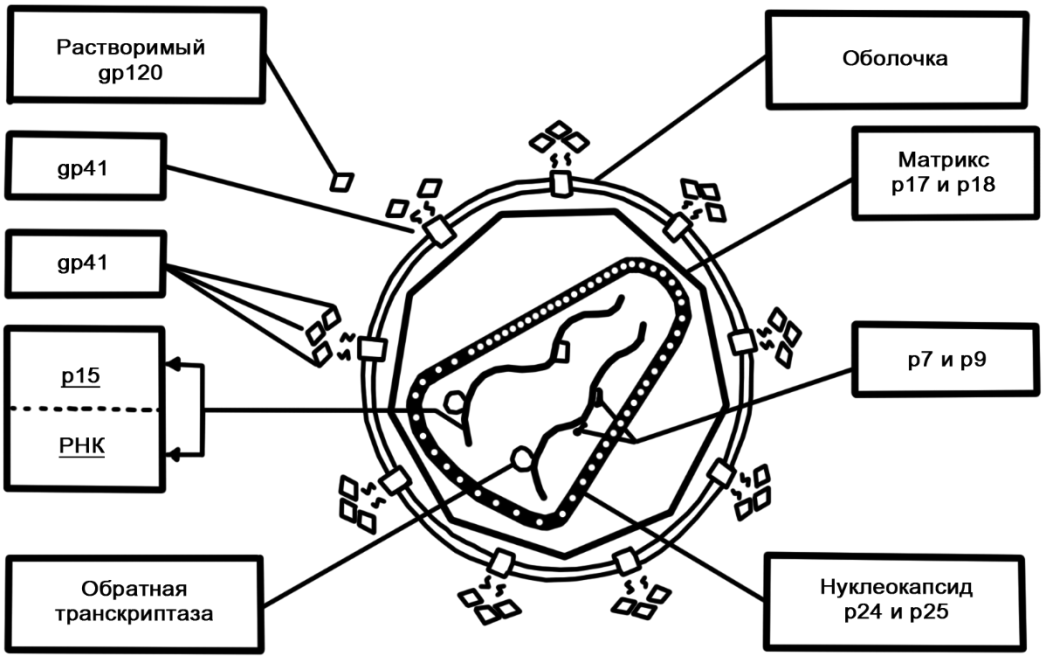


— Обратная транскриптаза (РНК–зависимая–ДНК–полимераза).
— Вирусы, содержащие обратную транскриптазу и биологические последствия их действия (онкология, вирусный гепатит, ВИЧ–инфекция и др. заболевания).

- **Вирус иммунодефицита человека. ВИЧ–инфекция (AIDS)**
  — *Источники ВИЧ–инфекции* – кровь, сперма, секреты половых желез, спиномозговая жидкость, грудное молоко.

— Наиболее опасные пути передачи инфекции (гемотранфузия и половые контакты).
— Гипотезы происхождения ВИЧ–инфекции человека (мутации генов вируса обезьян).

- *Строение вируса* ВИЧ–инфекции:



  - мембрана вируса,фосфолипидный бислой и белки (gp–41, gp–120),
  - матрикс вируса (p–17, p–18),
  - нуклеокапсид (p–24, p–25),
  - содержимое нуклеокапсида (РНК, обратная транскриптаза, эндонуклеаза),
  - геном ВИЧ–I (3 структурных, кодируют вышеназванные белки, и 5 регуляторных генов.)

— *Этапы ВИЧ инфицирования*:
  - связывание ВИЧ с гликопротеидами (рецепторами) на поверхности мембран клеток хозяина,
  - слияние мембран ВИЧ и клетки хозяина. Проникновение нуклеокапсида вируса в цитоплазму клетки хозяина,
  - высвобождение вирусной РНК с помощью протеаз,
  - биосинтез провирусной ДНК на матрице вирусной РНК с помощью обратной транскриптазы, мононуклеотидов и макроэргов клетки хозяина.
  - встраивание генома провирусной ДНК в геном (ДНК) клетки хозяина,
  - латентный период (нет транскрипции с ДНК–провируса). Диагностика ВИЧ–инфекции сомнительна,
  - провоцирование (повышение температуры, алкогольная интоксикация, изменения гормонального статуса) и активация транскрипции с провирусной ДНК. Образование большого числа вирусной РНК,
  - продукция на вирусной РНК всех компонентов вируса и сборка дочерних вирусов,
  - цитолиз мембран клеток — высвобождение вирусов из клетки и заражение ими других клеток хозяина,

- повышение в крови антигенов вируса и антител к ним,
- клинические проявления заболевания.

— Лабораторная диагностика ВИЧ–инфекции. Цель:
- установление факта инфицированности,
- определение стадии развития патологии,
- установление прогноза заболевания и эффективности лечения.

— Наличие инфицированности доказывается обнаружением в плазме крови:
- антигенов ВИЧ,
- антител к ВИЧ,
- ДНК–провируса.

— Методы анализа:
- иммуноферментный анализ,
- метод гибридизации нуклеиновых кислот со специфическими ДНК–зондами,
- метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).

— Сомнительные результаты диагностики (через 3-6 месяцев повторное обследование).

— Окончательный диагноз ВИЧ–инфекции (клиника + эпидемиология + лабораторная диагностика).

- **Биосинтез белка (трансляция) и его регуляция**

— Последовательность аминокислот в будущей полипептидной цепи зашифрована в м-РНК (последовательностью кодонов в м-РНК).

— Вырожденность кодонов – это избыточность кодонов для каждой аминокислоты, что повышает устойчивость клетки к повреждающим воздействиям внешней и внутренней среды.

— Универсальность кодонов – в цитоплазме и митохондрии один и тот же кодон может кодировать разные аминокислоты.

— Основные компоненты белок-синтезирующей системы:

1. 20 протеиногенных аминокислот;
2. ≈60 т-РНК;
3. специфичная молекула м-РНК;
4. специфичные для каждой аминокислоты аминоацил-т-РНК-синтетазы
5. белковые факторы инициации, элонгации, терминации;
6. рибосомы
7. АТФ и ГТФ как источники энергии (4 макроэрга на присоединение к полипептидной цепи одной аминокислоты).

— Этапы трансляции:

I. Активация аминокислот,
II. Инициация трансляции,
III. Элонгация,

IV. Терминация,
V. Посттрансляционная модификация.

— Участники трансляции (ферменты, аминокислоты, т–РНК, р–РНК, м–РНК, факторы инициации, элонгации, терминации, макроэрги и др.)

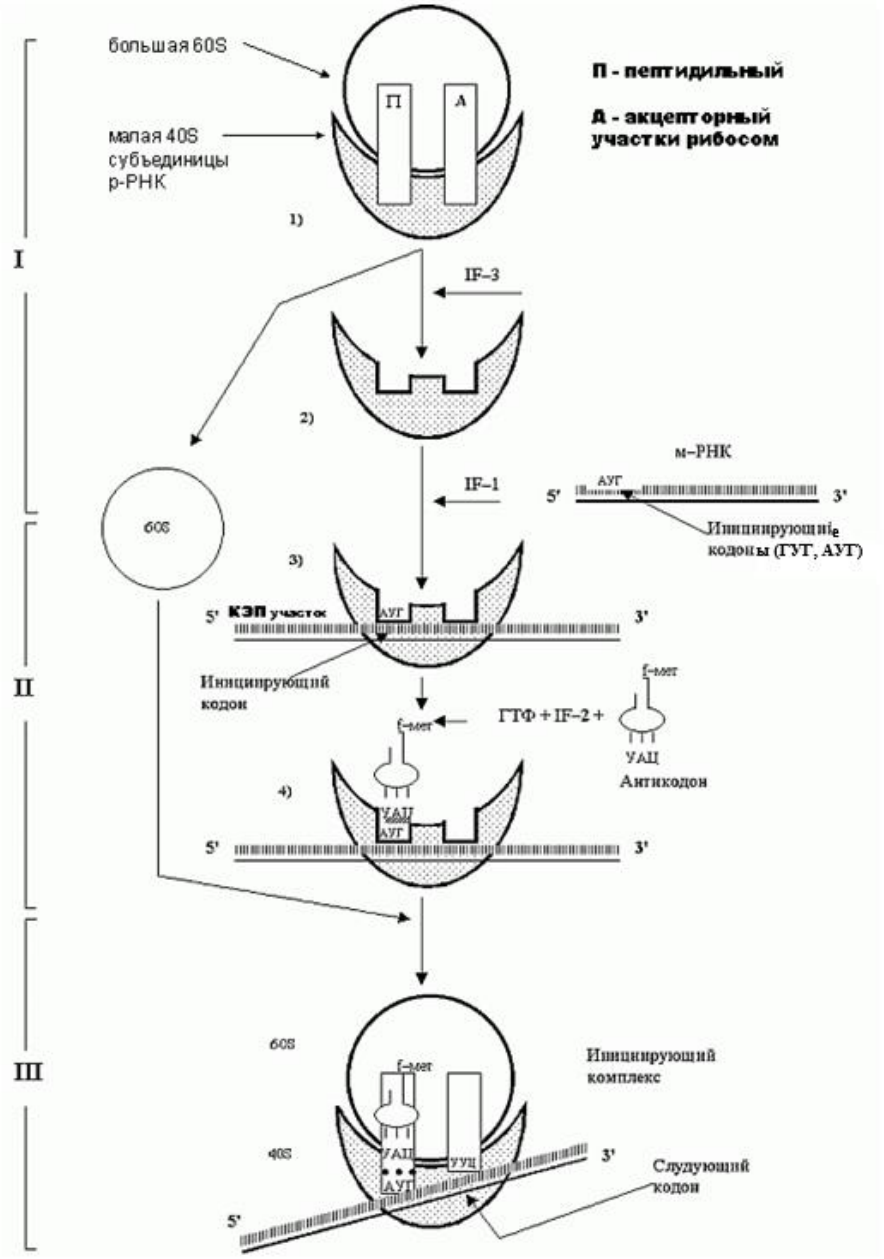
I. Активация аминокислот. Участники:

— аминокислота
— 2 АТФ
— аминоацил(аа)–т–РНК–синтетаза, тРНК

} 1) аа–аденилат

} 2) аа–т–РНК

II. Инициация (образование инициирующего комплекса):



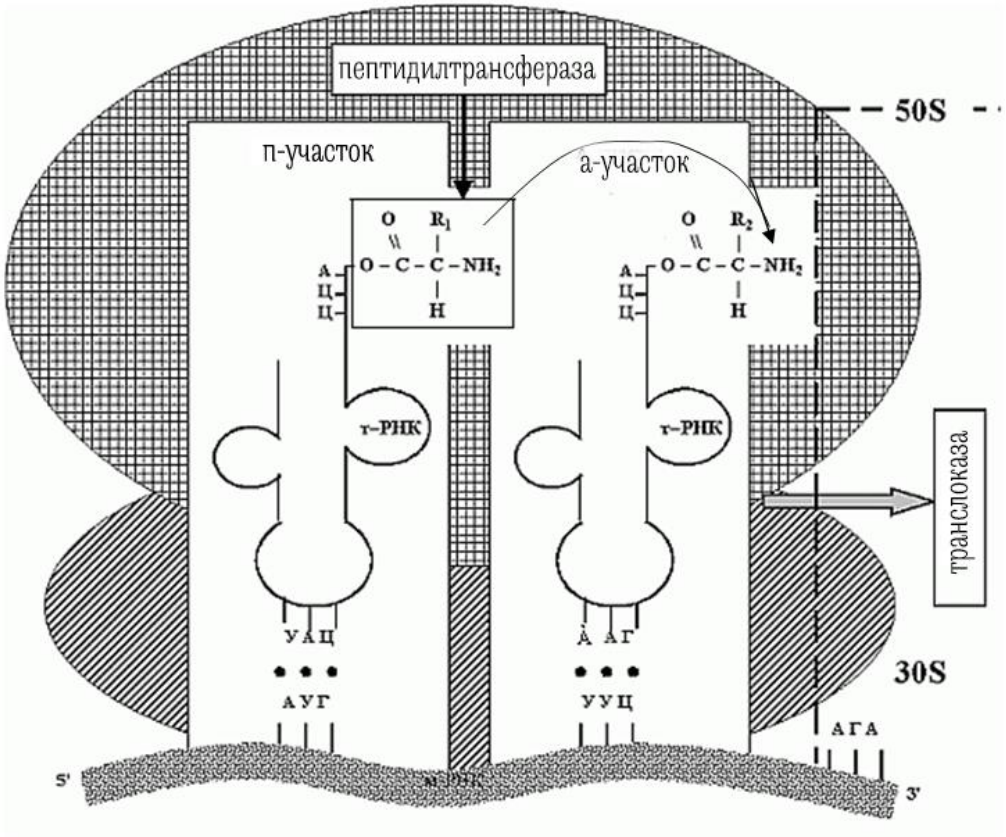
III. Элонгация:

Участники:

- $аа_1$–т–РНК, $аа_2$–т–РНК… и т.д.
- пептидилтрансфераза,
- м–РНК,
- рибосома,
- ГТФ – транслоказа,
- факторы элонгации (EF–1α, EF–1αβ, EF–2);

— Включение каждой аминокислоты в синтезируемый белок происходит в 3 стадии:

- аа-т-РНК вносится в участок А-рибосомы в соответствии с принципом комплементарности кодона и антикодона м-РНК и т-РНК.
- пептид с участка П переносится (пептидилтрансферазой) в участок А и присоединяется к аминокислоте в участке А; в результате полипептидная цепь удлиняется на 1 аминокислоту;
- перемещения рибосомы (транслокация – энзим транслоказа) вдоль м-РНК на один кодон, в результате полипептид закрепленный на последней т-РНК, оказывается в участке П рибосомы, а в участке А – следующий кодон м-РНК.



Процесс повторяется столько раз, сколько аминокислот закодировано в м-РНК.

IV. Терминация.

Участники:

- терминирующие стоп-кодоны м–РНК (УАА, УАГ, УГА), для них нет соответствующих т-РНК;
- факторы терминации (RF–1, RF–2, RF–3), которые катализируют:
  - отщепление полипептидной цепи от последней т–РНК,
  - отделение последней т–РНК от м–РНК,
  - диссоциация рибосомы на субъединицы,
  - распад м–РНК;

скорость биосинтеза белка (полисомы – до 80 рибосом); каждая рибосома способна в минуту удлинять на ≈100 аминокислот полипептидную цепь.

V. Посттрансляционная модификация:

- формирование пространственной структуры белка
  - молекула, содержащая информацию о структурах белка (ДНК);
  - "Фолдинг" белков – формирование структур молекул белка, протекает при участии специальных белков "шаперонов", которые препятствуют повреждению незрелой структуры формирующейся полипептидной цепи.

    Белки теплового шока (БТШ) – шапероны, которые появляют ся при стрессе (изменении pH, t^0, появлении токсинов и др.) препятствуют денатурации белков.

- модификация белка:
  - присоединение простетической группы - образование фосфопротеидов, нуклеопротеидов, липопротеидов, хромопротеидов, гликопротеидов, металлопротеидов,
  - химическая модификация аминокислот (гидроксипролин, гидроксилизин – биосинтез коллагеновых белков);
  - ограниченный протеолиз и активация белка (пепсиноген $\rightarrow$ пепсин, препроинсулин $\rightarrow$ проинсулин $\rightarrow$ инсулин).

— Механизм перемещения белка к месту функционирования – лидерные последовательности аминокислот («почтовый индекс», рецепторы).

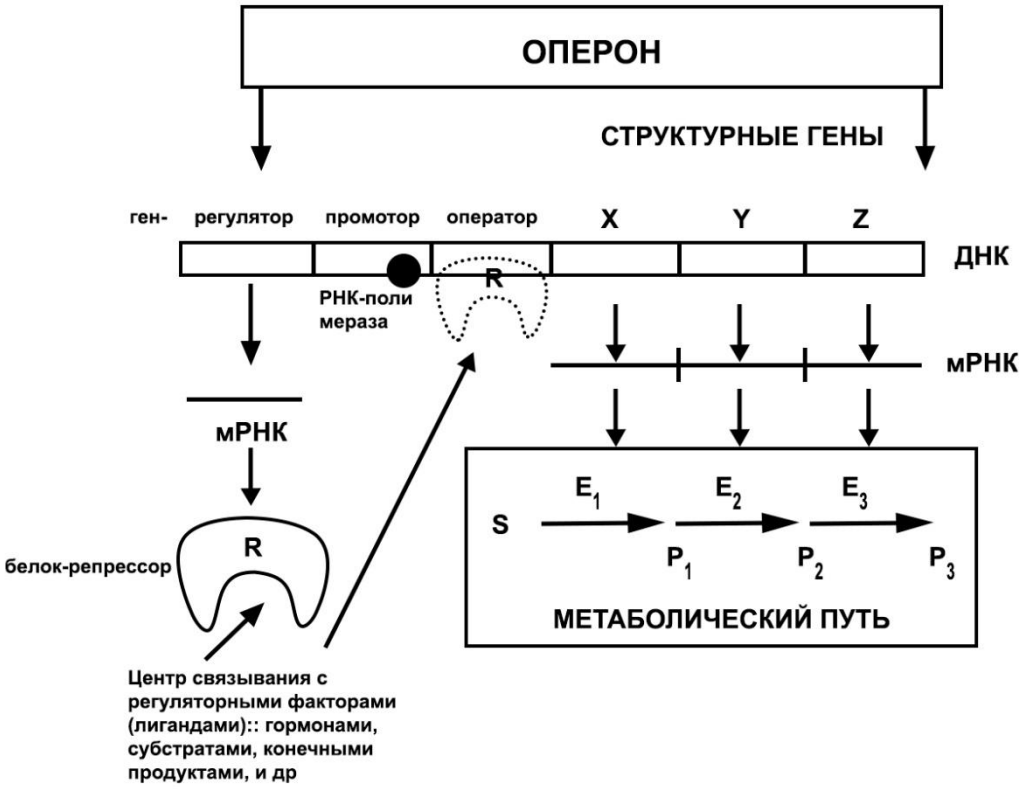
Механизмы регуляции матричных синтезов.

- **Механизмы регуляции репликации и экспрессии генов.**

  - Изменением количества генов (амплификация - увеличение генов антител – утрата генетического материала в эритроцитах).
  - Перестройкой генов (генетическая рекомбинация):
    - при половом слиянии яйцеклетки и сперматозоида
    - в лимфоцитах формирование "библиотеки генов" в ответ на внедрение в организм новых антигенов.
  - Ингибиторы репликации (антибиотики и противоопухолевые препараты – дауномицин, доксорубицин, новобиоцин и др.) – взаимодействуя с ДНК, изменяют её структуру и ингибируют репликацию, а также транскрипцию.

- **Регуляция скорости биосинтеза белка на уровне транскрипции (гипотеза Жакоба и Моно – гипотеза оперона)**

Оперон – это участок ДНК, который содержит группу структурных генов и сайты регуляции, контролирующие транскрипцию этих генов.



—Транскрипция структурных генов зависит от способности ДНК-зависимой-РНК-полимеразы присоединяться к промотору; контролирует этот процесс белок репрессор, образуемый с помощью гена-регулятора.

— Участники:
  - структурные гены,
  - регуляторные гены,
  - промотор,
  - оператор,
  - ДНК–зависимая–РНК–полимераза,
  - м–РНК,
  - белок–репрессор,
  - белки–ферменты,
  - субстраты,
  - гормоны,
  - конечные продукты.

— Гипотезу оперона Жакоба и Моно подтвердите на примере инкубации бактерий на среде, содержащей глюкозу (◆) или аминокислоты (■):

  - белок–репрессор соединяется с субстратом (◆■) инкубационной среды,

- белок репрессор меняет конформацию и покидает оператор,
- РНК-полимераза перемещается на структурные гены и обеспечивает списывание информации со структурных генов (образование м-РНК),
- на основе м-РНК синтезируются белки-энзимы, необходимые для метаболизма субстратов (◆■) инкубационной среды,
- по исчерпании этих субстратов белок-репрессор, снова соединяясь с оператором, блокирует работу РНК-полимеразы, списывание информации со структурных генов прекращается и заканчивается синтез ненужных бактерии белков.

Лиганды – индукторы и репрессоры транскрипции (стероидные гормоны, кальцитриол, T_3 и T_4, конечные продукты определенного пути метаболизма и др.)

Энхансеры, сайленсеры – участки ДНК (10-20 мононуклеотидов) прикрепление к которым регуляторных белков повышает или снижает скорость транскрипции.

— Биологическая роль регуляции скорости биосинтеза белка на уровне транскрипции — адаптация к изменяющимся условиям среды.

– Индукторы синтеза белка (анаболические средства)
  - гормональные:
    - анаболические стероиды (производные мужских и женских половых гормонов);
    - инсулин;
  - негормональные:
    - предшественники нуклеотидов (оротат калия, инозин).

- **Регуляция скорости биосинтеза белка на уровне трансляции**

- Скорость синтеза сложных белков (трансляция) зависит от количества простетических групп, например синтез глобина зависит от количества гема.

- Токсины бактерий, вирусов, ядовитых грибов, рицин, дифтерийный энтеротоксин и другие инактивируют факторы элонгации, подавляют образование белков и нуклеиновых кислот.

— Антибиотики и антибактериальные препараты специфично ингибируют разные стадии белкового синтеза:
  - *Актиномицины* — действуют на уровне транскрипции, связываясь с кодирующий цепью ДНК;
  - *Тетрациклины* — нарушают связывание аминокислот и аминоацил–т–РНК в А–центре рибосомы:
  - *Эритромицин* — ингибирует активность транслоказ в 70S рибосомах;

- *Пуромицин* — благодаря структурному сходству с концевым АМФ в т-РНК действует как акцептор ППЦ пептидил–т–РНК (связанной с П–участком), в результате терминация белкового синтеза ингибируется.
- *Левомицетин* — подавляет пептидилтрансферазную активность;
- *Стрептомицин* — ингибирует инициацию синтеза белка;
- *Рифамицин* — действует только на бактериальную ДНК-зависимую-РНК-полимеразу и препятствует образованию инициирующего комплекса.

Полиморфизм белков

- У каждого человека имеется только два аллеля одного гена (у гомозиготов они одинаковы, у гетерозиготов они отличаются, и потому у последних синтезируется 2 белка с разной аминокислотной последовательностью, но с равной функцией).
- В популяции людей существует большое число аллелей одного гена, это объясняет полиморфизм белков (индивидуальность и даже биохимическую уникальность каждого человека).
- Изобелки – варианты белков, выполняющих одну и ту же функцию в организме одного вида.
  - 300 вариантов гемоглобина HbA.
  - 3 варианта энзима гликозилтрансферазы (А, В, О), катализирующего присоединение к поверхности эритроцитов разных олигосахаридов (А: N-ацетилгалактозамин; В: галактозу; О: блокируется присоединение этих сахаров), что предопределяет индивидуальную группу крови (О-I ; А-II ; В-III ;АВ-IV) в организме человека.
  - Изоферменты $ЛДГ_{1-5}$; $КФК_{1-3}$.
- Изофункциональные белки (например Hb-P, Hb-F, Hb-A – функция одна, но разное сродство к O_2.)
- Гомологичные белки (например, инсулин человека, коровы, свиньи – функция одна, но обладают антигенными свойствами.)

Изменения белкового состава организма в ходе:
- онтогенеза (Hb-P, Hb-F, Hb-A);
- наследственные (серповидно-клеточная анемия) и приобретенные протеинопатии.

- Приобретенные протеинопатии:

— снижение или увеличение содержания белков при различных заболеваниях;
— нарушения физико-химических и функциональных свойств молекул белков при изменении pH, t^o, содержания микроэлементов, витаминов, коферментов, и других лигандов, способных присоединиться к молекуле белка.

Лекарственные препараты как модуляторы белковых фракций. Присоединяясь к белку, они либо усиливают (агонисты), либо снижают (антагонисты) эффект действия природных лигандов.

Болезни, индуцируемые нарушением фолдинга белков

- α-конформации трансформируются в β-складчатые структуры, при этом формируются плохорастворимые, способные к агрегации молекулы белков. Из них далее образуются фибриллярные отложения (амилоиды) и соединительно-тканные структуры, которые стимулируют дегенеративные изменения в клетках:
  - Болезнь Альцхаймера (β-амилоидоз белков нервной системы) – расстройство памяти и полная деградация личности.

- Прионовые болезни (Куру, Кройтцфельда-Якоба) – причиной их развития является особый класс белков, обладающих инфекционными свойствами. Попадая в организм, они стимулируют образование прионовых белков. В прионовом белке возникает много β- слоев, из них формируется “ядро полимеризации”, которое стимулирует дальнейшее β-повреждение белков ЦНС.

БИОХИМИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

- **Иммунитет с позиции биохимии:**
  - Идентификация.
  - Нейтрализация.
  - Разрушение генетически чужеродной структуры.

- **Важнейшие элементы иммунной системы:**
  - Т–лимфоциты, В–лимфоциты и антитела, которые вырабатываются последними в ответ на поступление в организм чуждых структур-антигенов.
  - Гуморальные факторы (системы комплемента и пропердина).
  - Макрофаги.

Антитела (иммуноглобулины) — схема строения



- вариабельные участки (V_L и V_H)
- константные участки (C_L и C_H)
- гипервариабельный участок (***** - место присоединения антигена)

- **Классификация иммуноглобулинов** (основана на типе тяжелых цепей)

  — **Ig A, Ig G, Ig M, Ig D, Ig E**

Общее строение	**Антитела состоят из легких (L) и тяжелых (H) цепей**		
Типы тяжелых цепей	**H^{α}**	**H^{γ}**	**H^{M}**
Классы антител (иммуногло-булинов, Ig)	**Ig A**	**Ig G**	**Ig M**
Четвертичная структура	**$(L_2H_2^{\alpha})_n$, n = 2 или 4**	**$L_2H_2^{\gamma}$**	**$(L_2H_2^{M})_5$**
Масса	**360 – 720 тыс.**	**150 тыс.**	**950 тыс.**
Доля в сыворотке	**10 – 20 %**	**70 – 80 %**	**5 – 10 %**

Ig M — встраиваясь в плазматическую мембрану В-лимфоцитов, выполняют роль антиген-распознающих рецепторов.

Ig G (4 подкласса) — секретируются В-лимфоцитами при вторичном иммунном ответе, т.е. когда антиген повторно попадает в организм;

Ig A содержится в секретах желез (слюна, пищеварительные соки, секрет дыхательных путей, молоко и др.) препятствует прикреплению антигенов к поверхности эпителиальных клеток и их продвижению в организм.

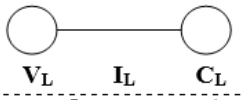
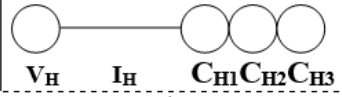
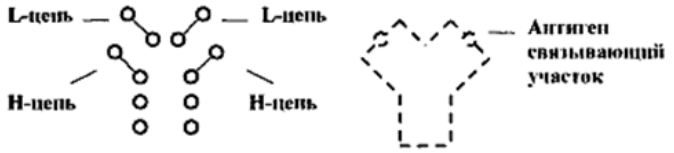
Ig E связываясь с белками тучных клеток и базофилов, они становятся рецепторами антигенов; прикрепление последних к ним стимулирует образование этими клетками медиаторов воспаления и аллергии – гистамина и серотонина.

Ig D — выполняют роль рецепторов В-лимфоцитов.

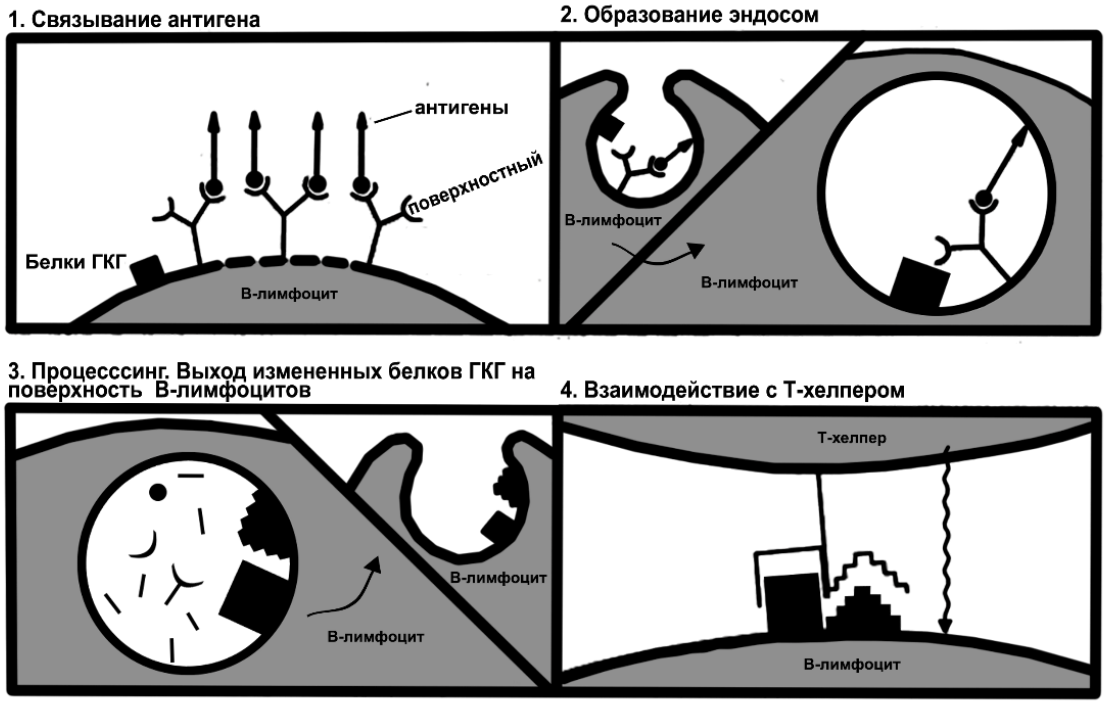
- Специфичность антител (определяется строением вариабельных участков)

  Многообразие (вариабельность) антител

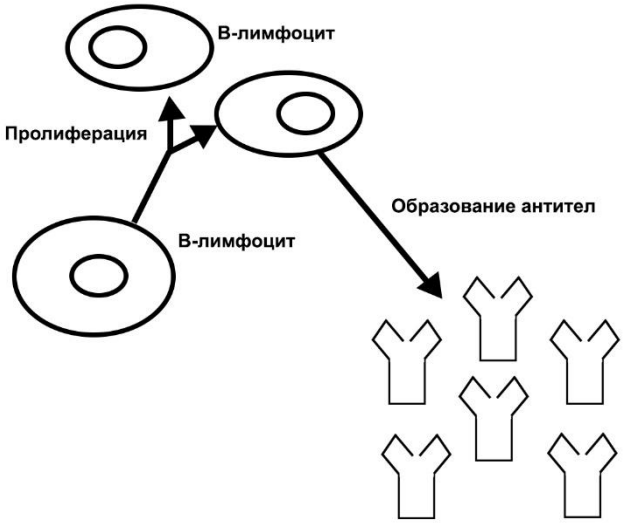
  — В процессе эволюции организмы сталкивались с огромным количеством чужеродных агентов (антигенов) – это способствовало образованию и накоплению большого числа новых генов–антител.
  — Соматические мутации в генах и сборка самих генов из мини–генов (~ 600) многократно увеличивают разнообразие антител (10^7).

<table>
<tr><td>Четвертичная структура</td><td>2 легкие цепи (L)</td><td>2 тяжелые цепи (H)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Строение цепей</td><td>В L-цепи – 2 домена:

</td><td>В H-цепи – 4 домена:

</td></tr>
<tr><td colspan="2">V – вариабельные части (отличные у разных антител)
C – константные, I – промежуточные участки</td></tr>
<tr><td>Изображение антитела (химическая структура)</td><td colspan="2">
</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Вариабельность антител</td><td>V_L – ~ 350 разл. видов</td><td>I_L – ~ 10 видов</td><td>C_L – 1 вид для Ig G</td><td>V_H – ~ 200 видов</td><td>I_H – ~ 10 видов</td><td>C_{H1}, C_{H2}, C_{H3},– по 1 виду для всех Ig G</td></tr>
<tr><td colspan="3">Всего: 350 * 10 * 1 = 3500 видов L- цепей</td><td colspan="3">Всего: 200 * 10 * 1 = 2000 видов H- цепей</td></tr>
<tr><td colspan="6">Итого: 3500 * 2000 = 7 * 10^6 (~10 млн.) различных антител, т.е. ~10 млн. образуется за счет комбинации всего около 600 различных пептидных участков (350 + 200 + 10 + 10 + 1 + 3)</td></tr>
</table>

- **Схема возникновения иммуноглобулинов**



5. Пролиферация В-лимфоцитов и секреция ими антител



- в организме имеется 10^7 разных клонов В–лимфоцитов, каждый из которых имеет на поверхности свой тип минорных Ig M, выполняющих роль антиген-распознающих рецепторов,
- поступивший антиген связывается с поверхностным Ig M определенного клона В–лимфоцитов (1),
- антиген с поверхностным Ig M и белками главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) поступает внутрь В-лимфоцита (образование эндосом – 2),
- изменяются белки ГКГ этого клона В-лимфоцита (процессинг – 3)
- измененные белки ГКГ выходят на поверхность В-лимфоцита (3) и распознаются Т-хелперами (4),
- Т-хелперы выделяют факторы пролиферации (4),
- активируется пролиферация этого клона В–лимфоцитов и усиливается синтез специфических антител (5).

Т-лимфоциты взаимодействуют также с антигенами на поверхности клеток, поврежденных вирусом, опухолевых клеток и обеспечивают клеточный иммунитет.

- **Взаимодействие антитела с антигеном**

Ig взаимодействуют с чуждыми структурами, попавшими в кровь, лимфу, межклеточную жидкость, секреты желез.

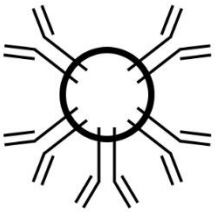
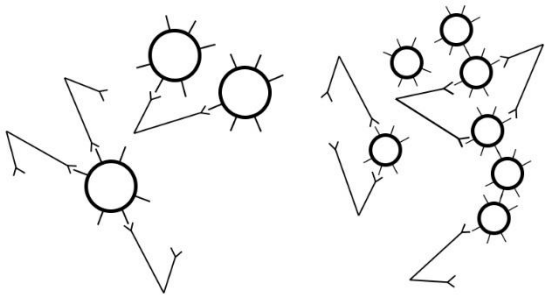


Схема пентамерной молекулы IgM

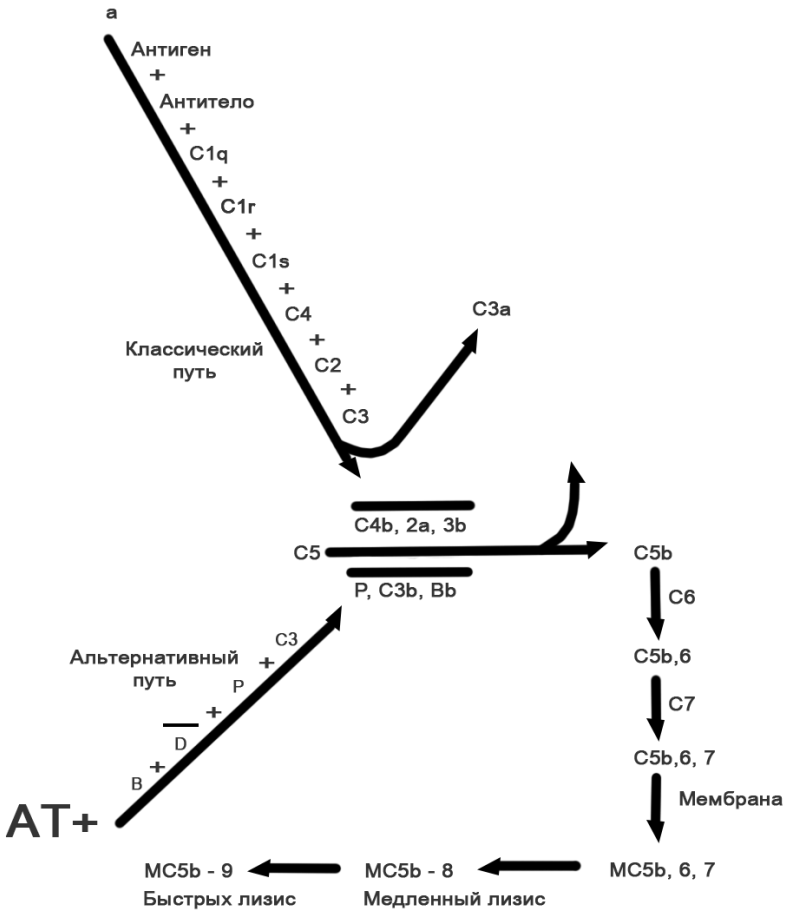


Комплекс антиген-антитело

— Центры связывания (вариабельные и гипервариабельные участки) – 20-30 остатков аминокислот.
— Типы связей (водородные и гидрофобные взаимодействия).
— Образование ассоциатов антиген–антитело и их дальнейшая нейтрализация при участии гуморальных факторов и макрофагов.

ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

- **Комплемент – семейство специфических белков плазмы крови C_1–C_9**



— В физиологических условиях белки комплемента находятся в плазме крови в неактивной форме.

— 2 способа активации:
  - классический: запускается комплексом антиген-антитело;
  - альтернативный: активируется полисахаридами или антителом
— Оба пути актививируют компонент C_3 комплемента далее каскадный механизм активации системы комплемента запускается протеазами и сопровождается высвобождением гистамина.
— Функции комплемента:
  - взаимодействие с антигенами, расположенными на поверхности бактериальных мембран;
  - лизис бактерий: внедрение компонентов комплемента в мембрану бактерий и образование на её поверхности отверстий, через которые проходят свободно Na^+ и Ca^{++} внутрь клетки, а K^+ — в среду, в результате увеличивается объем бактерии и разрывается её мембрана – бактерия гибнет;
  - прикрепление лейкоцитов и фагоцитоз бактерий.

- **Пропердиновая система – семейство специфических белков плазмы крови (пропердина, β– гликопротеида и протеазы D)**
  — Активируется липополисахаридами бактерий и инсулином.
  — Функции пропердиновой системы: протеолиз антигенов даже в отсутствии антител, а так же активирование комплемента (образование комплекса C_5–C_9).

- **Интерфероны – гетерогенная группа низкомолекулярных белков** (≈160 аминокислот)
  — Основные защитные белки против вирусной инфекции и при опухолевых поражениях (подавляют рост злокачественных опухолей).
  — Образуются в ответ на внедрение в организм вирусной инфекции-(РНК вируса).
  — Синтезируются В-лимфоцитами, макрофагами и Т–клетками.
  — Ограничивают вирусную инфекцию (ингибируют биосинтез белков вируса на уровне трансляции).
  — Активируют расщепление м–РНК и р–РНК клеток и хозяина, и вириона.
  — Это ведет к гибели клетки–хозяина. Вместе с ней погибает и вирион: самопожертвование небольшой части клеток может спасти организм в целом от болезни.
  — Повышают цитотоксическую активность макрофагов, Т–клеток и клеток Т–киллеров.

- **Нарушения функций иммунной системы:**
  — Гиперчувствительность (аллергия).
  — Иммунотолерантность (отсутствие селекции).
  — Иммунодефицитность (полная или частичная утрата некоторых компонентов иммунной системы в результате повреждений).