

# Лекция 2

разбита на 2 части:

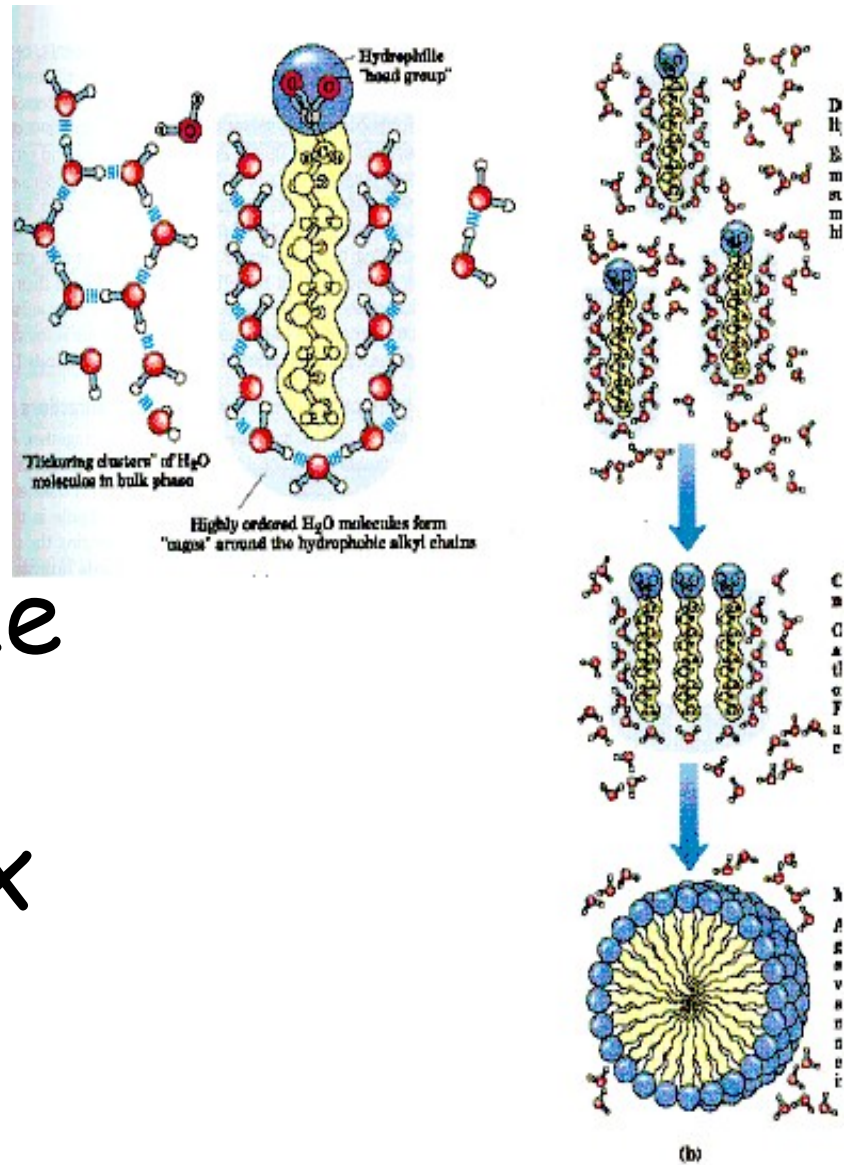
1 часть была 13.02.20

2 часть будет 20.02.20

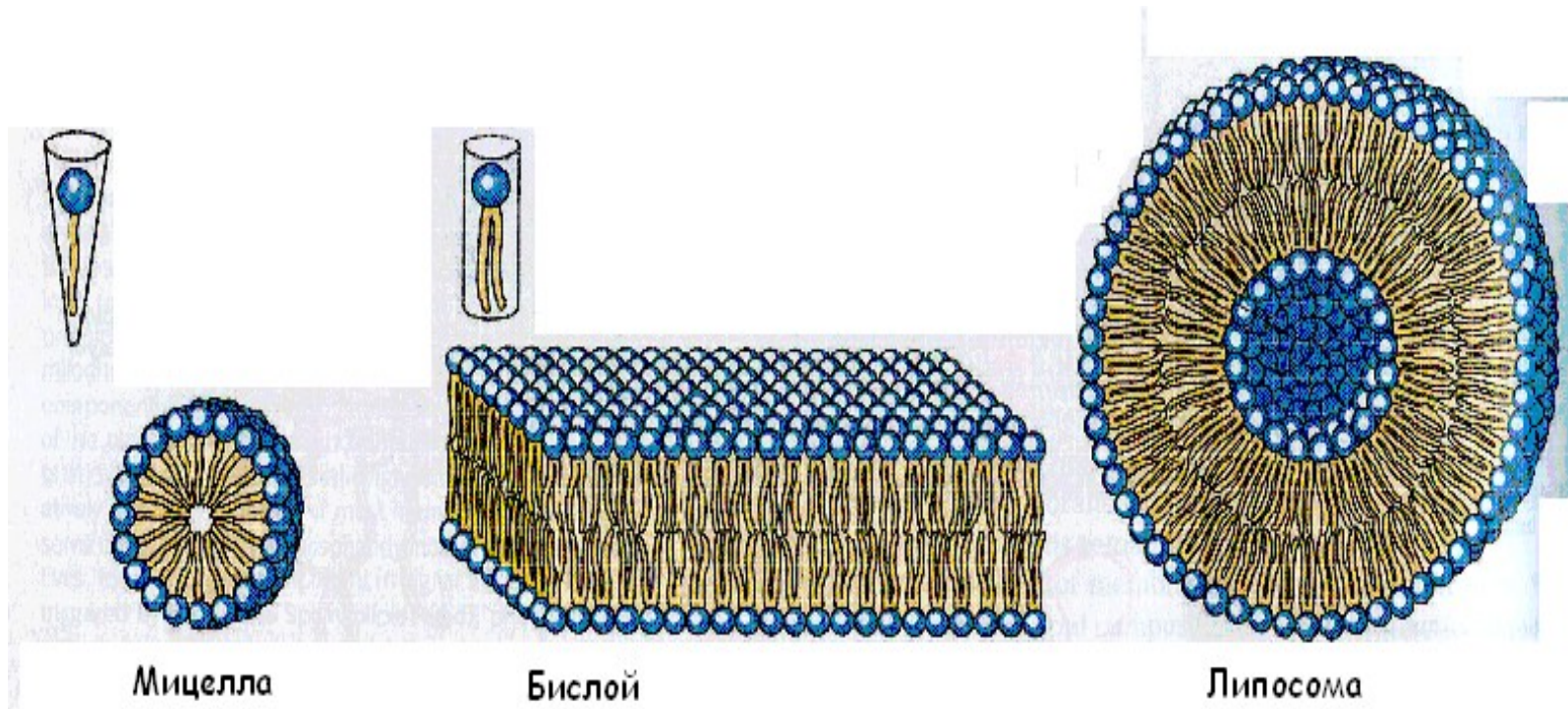
- ▶ В интернете она целиком от 13.02.20

Самоорганизация  
молекул в  
системообразующей  
3D-среде:  
жирная кислота в воде

# Гидрофобные эффекты неполярных веществ в воде



# Липидная мицелла, бислой, липосома



Свойства бислоя зависят от липидного состава:  
предельные и непредельные кислоты, холестерин

Вторая часть лекции 2 перенесена в лекцию 4 - 20.02.20

I Живое/жизнь как система

- 11. 02 Что такое живое/жизнь с точки зрения химии - 1
- 13. 02 Молекулы клетки. Вода. - 2
- 18. 02 Структура и функция белка - 3
- 20. 02 Биологические мембраны. Обмен веществом. Преобразование энергии - 4
- 25. 02 Контрольная 1

II Информационные потоки

- 27. 02 Структура нуклеиновых кислот, двойная спираль ДНК — 5
- 03. 03 Биосинтез нуклеиновых кислот — 6
- 05. 03 Упражнения с нуклеиновыми кислотами - 7
- 10.03 Биосинтез белка - 8
- 12. 03 Контрольная 2

III Генотип и фенотип

- 17. 03 Регуляция экспрессии генов. Система передачи сигнала. Рак - 9
- 19. 03 Геном, плазмиды, вирусы. Грипп, ВИЧ — 10

IV Инженерия и промышленность

- 24. 03 Генетическая инженерия - 11
- 26.03 Введение в биотехнологию. ГМО — 12
- 31.03 Контрольная 3

Семинары по группам по отдельному расписанию

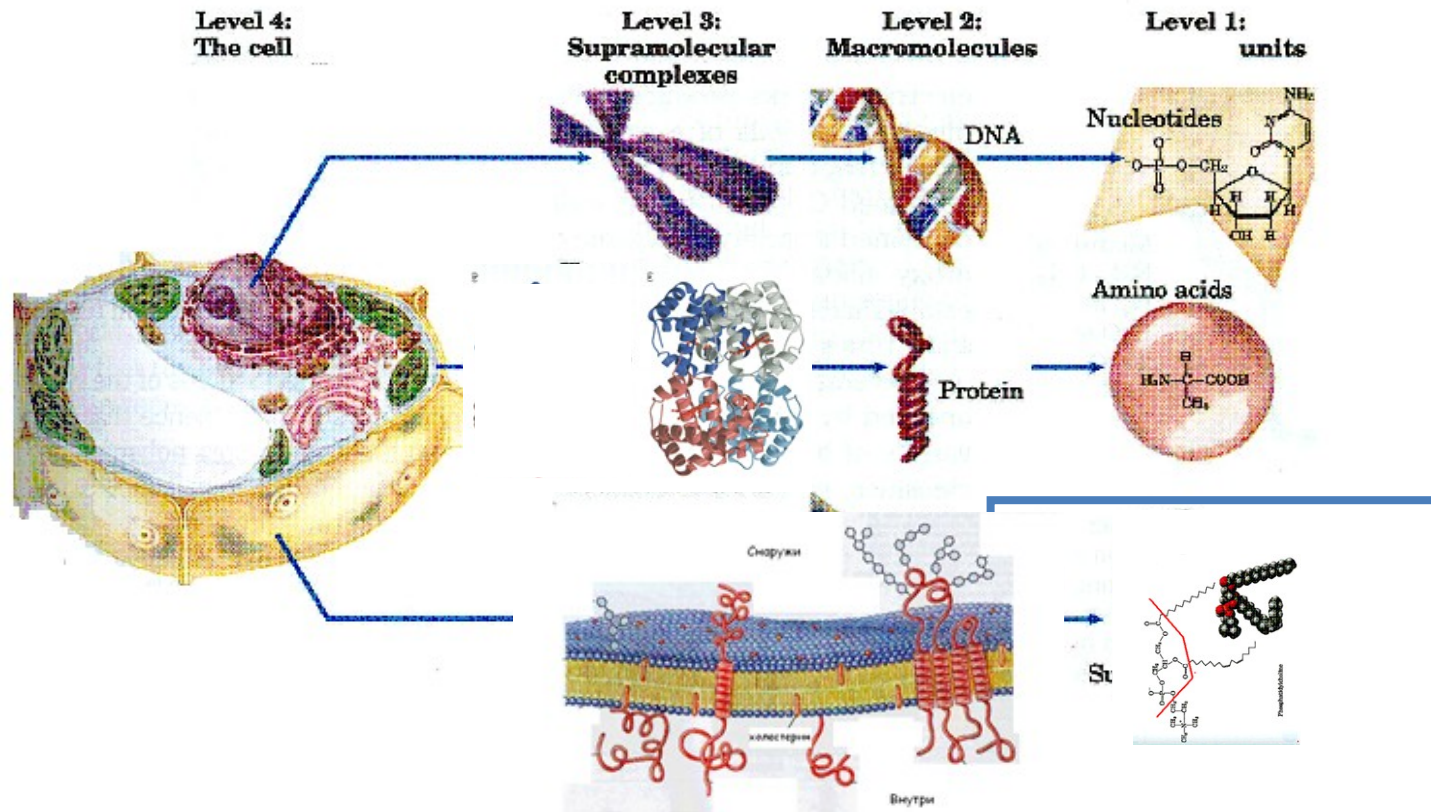
- Разбор контрольной 1
- Разбор контрольной 2
- Разбор контрольной 3

# Уровни сложности молекулярной организации клетки

Клетка

Супрамакромол.  
комплекс

Макромол. Единица



# ХИМИЯ ЖИВОГО КАК СИСТЕМЫ

МАКРОМОЛЕКУЛЫ (25)

Белки 15

Нуклеиновые кислоты 7

Полисахариды 3

Почему макромолекулы?



ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ ХИМИИ ЖИВОГО  
- ЗАЧЕМ ОНО ТАМ?

МОЛЕКУЛЫ  
(75)

Вода 70

липиды 2

органические и неорганические 3

Почему именно эти молекулы?

# Жизнь

использует именно  
макромолекулы НК и белка  
как предельный случай  
упорядоченной  
химической организации  
вещества и информации  
в пространственно -  
временном континууме  
клетки

**Макромолекула (полимер)** – химическое соединение, молекулы которого состоят из большого числа повторяющихся звеньев (структурных звеньев)

**Мономер** – низкомолекулярное вещество, из которого полимеризацией (или поликонденсацией) получается полимер

**Поликонденсация** – полимеризация, при которой, кроме полимера, образуются низкомолекулярные вещества

Если в полимеризации (поликонденсации) участвуют разные молекулы, то получается **сополимер**, структурное звено которого состоит из остатков каждой молекулы, участвующей в реакции



# Природные макромолекулы -

белки и нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК)

- получаютя поликонденсацией

- линейные, неразветвленные

- асимметричные («направленные»)

- информационные (текст из 20 ак или 4 н)

- самоорганизующиеся в пространстве

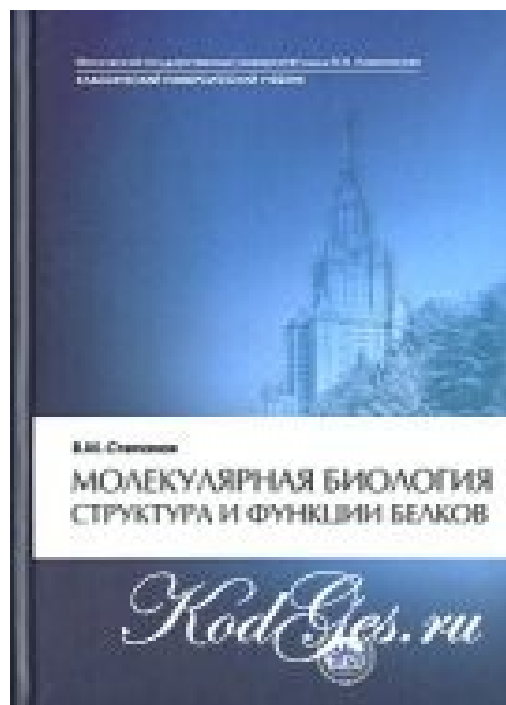
# Почему философ в 1873 был неправ, но в чем-то оказался прав?

~~«Жизнь есть способ существования белковых тел, существенным моментом которого является постоянный обмен веществ с окружающей их внешней природой, причем с прекращением этого обмена веществ прекращается и жизнь, что приводит к разложению белка. И у неорганических тел может происходить подобный обмен веществ, который и происходит с течением времени повсюду, так как повсюду происходят, хотя бы и очень медленно, химические действия. Но разница заключается в том, что в случае неорганических тел обмен веществ разрушает их, в случае же органических тел он является необходимым условием их существования». (Ф. Энгельс. Диалектика природы (1873—1883), М., 1975., Анти-Дюринг (1877-1878), М., 1983)~~

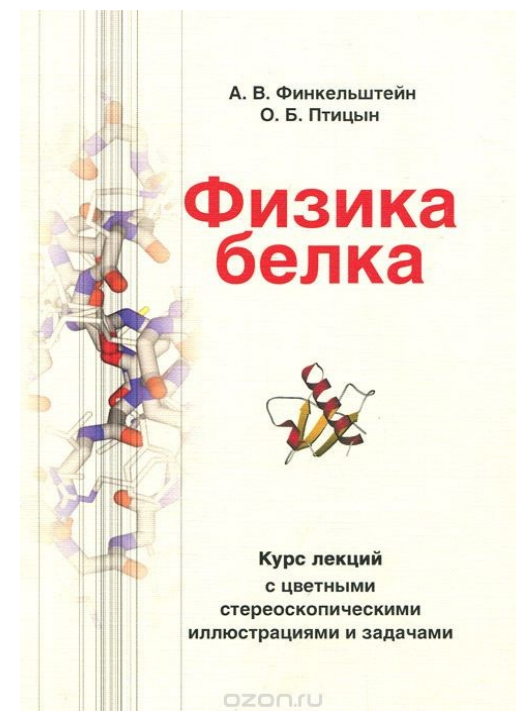
Смирнов АВ  
2011, Бином



Степанов ВМ  
1996, Высшая школа



Финкельштейн АВ  
Птицын ОБ  
2002, Университет



# Протеом - белковый портрет клетки



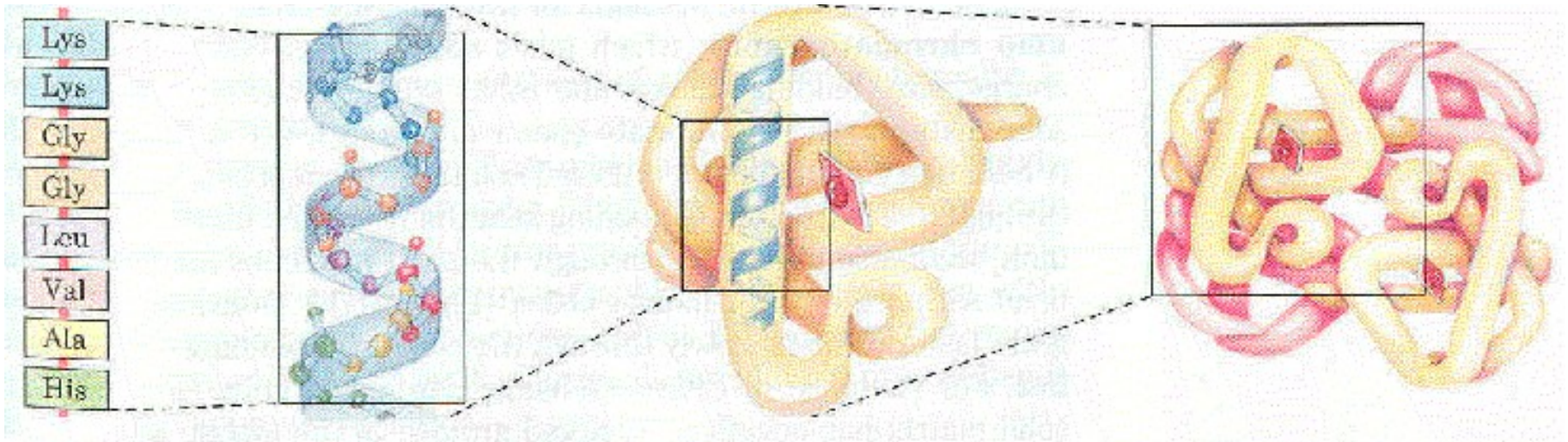
СИСТЕМНЫЕ  
«ОМИКИ»

# Уровни организации структуры белка

## Пространственная структура

первичная      вторичная      третичная      четвертичная

2 понятия



Первичная структура – это информация, а не химическая структура

# Белок как линейная информационная макромолекула

(Мономер

- аминоацил-тРНК, см биосинтез белка)

## Повторяющееся звено

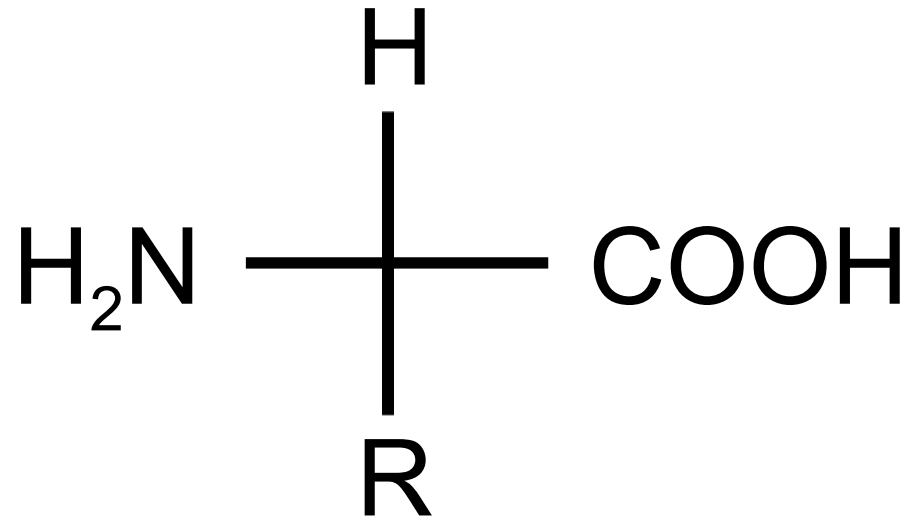
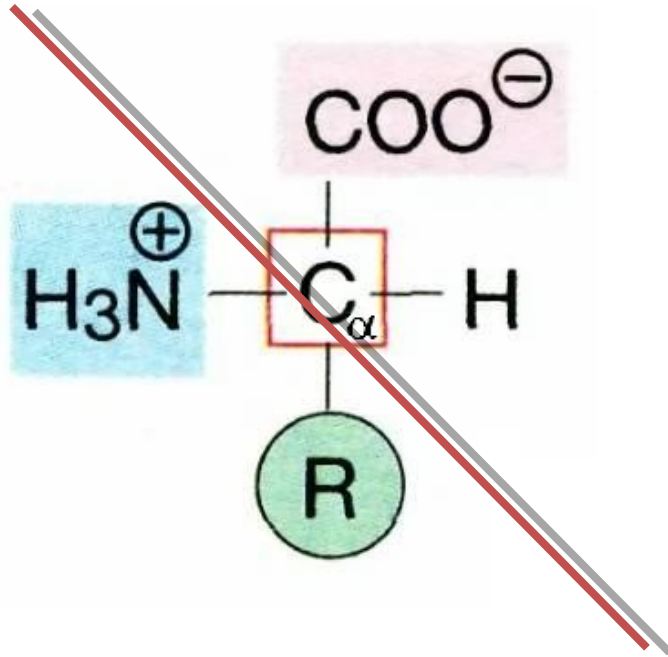
- аминокислотный остаток

## Тип связи

- пептидная (амидная)

Направленность цепи макромолекулы:  
от N-конца (слева) до C-конца (справа)

Аминокислоты в плоском изображении  
не по правилам стереохимии (Кана-Ингольда-Прелога)



20  $\alpha$ -L-аминокислот -  
повторяющиеся единицы белков

# Структура бокового радикала

```
graph TD; A[Структура бокового радикала] --> B[НЕПОЛЯРНЫЙ]; A --> C[ПОЛЯРНЫЙ]; B --> D[алифатический]; B --> E[ароматический]; C --> F[заряженный]; C --> G[незаряженный]; F --> H[положительно]; F --> I[отрицательно];
```

НЕПОЛЯРНЫЙ

ПОЛЯРНЫЙ

алифатический

заряженный

ароматический

положительно

отрицательно

незаряженный

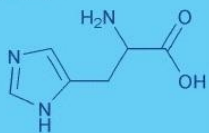


# Periodic Chart of Amino Acids

www.bachem.com

**H** **His**

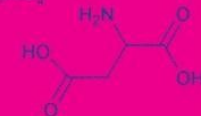
155.16  
137.14  
C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>



Histidine

**D** **Asp**

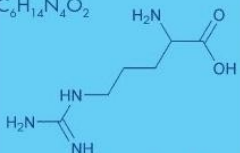
133.10  
115.09  
C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>



Aspartic Acid

**R** **Arg**

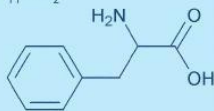
174.20  
156.19  
C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>



Arginine

**F** **Phe**

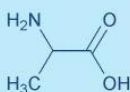
165.19  
147.18  
C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>



Phenylalanine

**A** **Ala**

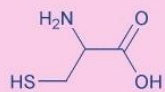
89.09  
71.08  
C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>



Alanine

**C** **Cys**

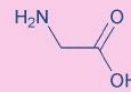
121.16  
103.14  
C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S



Cysteine

**G** **Gly**

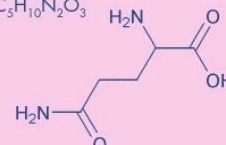
75.07  
57.05  
C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>



Glycine

**Q** **Gln**

146.15  
128.13  
C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



Glutamine

**E** **Glu**

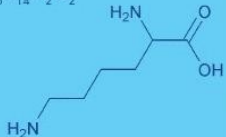
147.13  
129.11  
C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>



Glutamic Acid

**K** **Lys**

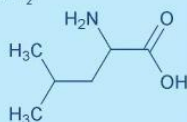
146.19  
128.17  
C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Lysine

**L** **Leu**

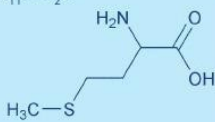
131.18  
113.16  
C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>



Leucine

**M** **Met**

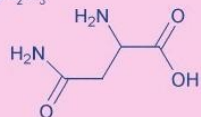
149.21  
131.20  
C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S



Methionine

**N** **Asn**

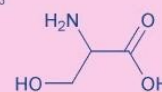
132.12  
114.10  
C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



Asparagine

**S** **Ser**

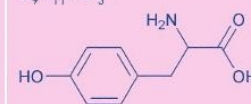
105.09  
87.08  
C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>



Serine

**Y** **Tyr**

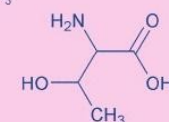
181.19  
163.17  
C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>



Tyrosine

**T** **Thr**

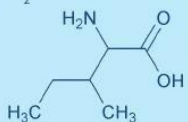
119.12  
101.10  
C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>



Threonine

**I** **Ile**

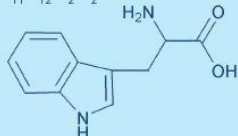
131.18  
113.16  
C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>



Isoleucine

**W** **Trp**

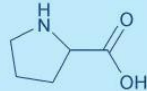
204.23  
186.21  
C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Tryptophan

**P** **Pro**

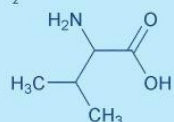
115.13  
97.12  
C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>



Proline

**V** **Val**

117.15  
99.13  
C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>



Valine

- Basic
- Non-polar (hydrophobic)
- Polar, uncharged
- Acidic

1-Letter Amino Acid Code: **S**

3-Letter Amino Acid Code: **Ser**

Relative Molecular Mass: 105.09

M<sub>r</sub> - H<sub>2</sub>O: 87.08

Molecular Formula: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>

Chemical Structure:



Chemical Name: **Serine**

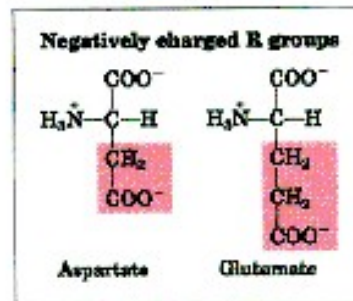
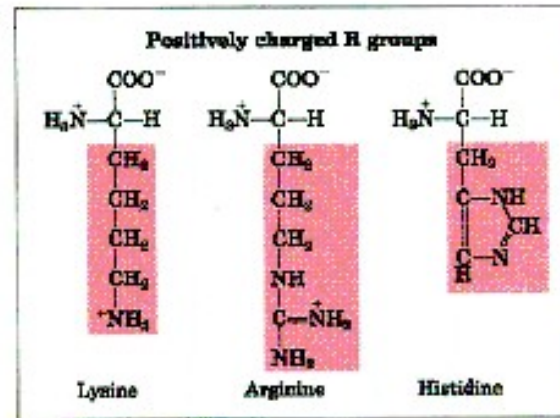
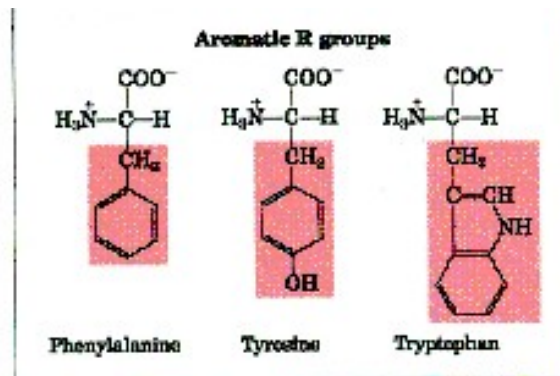
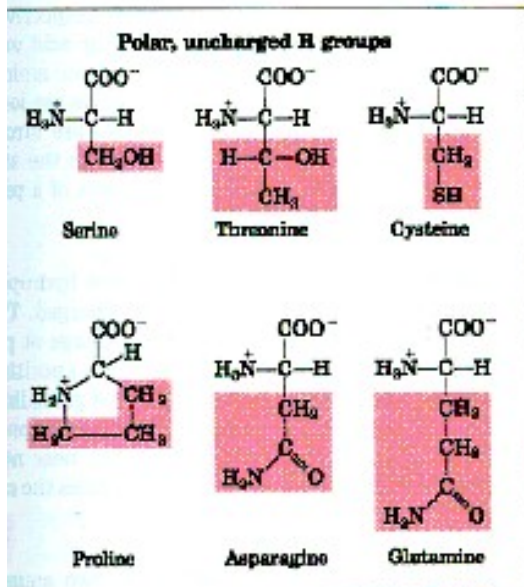
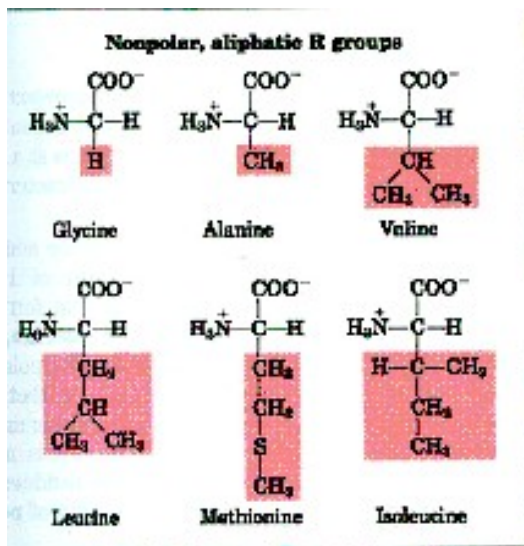
# Боковые радикалы аминокислот

Глицин Аланин  
Gly Ala  
G A

Лейцин  
Leu  
L

Серин  
Ser  
S

Пролин  
Pro  
P

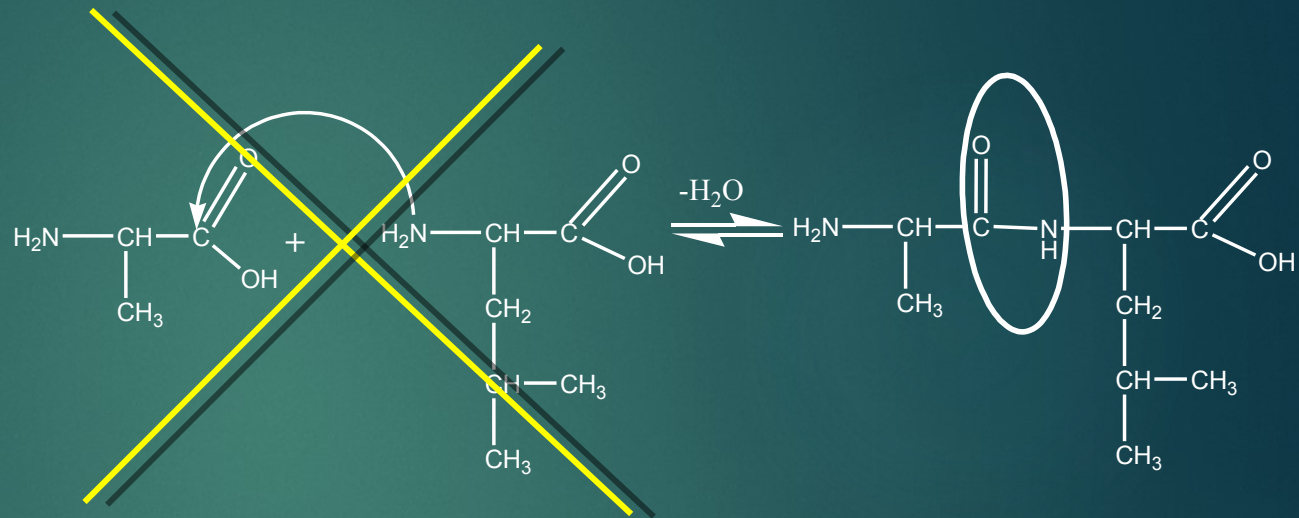


Фенилаланин  
Phe  
F

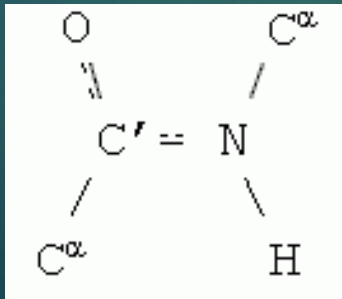
ЛИЗИН  
Lys  
K

Аспарагиновая  
кислота  
Asp  
D

# Пептидная связь



Аминокислотные остатки в белке соединены между собой **пептидными** **связями:**



Плоские  
Не вращаются: цис-транс  
Неполярные

# Белок как информационная макромолекула

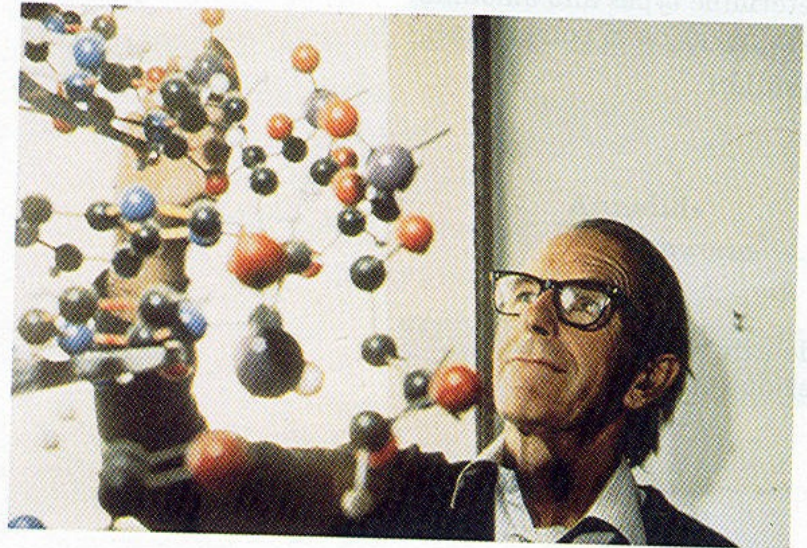
mprrrvigqrkilpdpkfgsellakfvnilmvdgkkstaesivysaletlaqrsg  
[pervichnayastrvktvra](#)

Первичная структура белка –  
последовательность  
аминокислот

Это информация

Разнообразие –  $20^L$

где  $L$  – длина белка в аминокислотах  
средний белок – 300 Ак

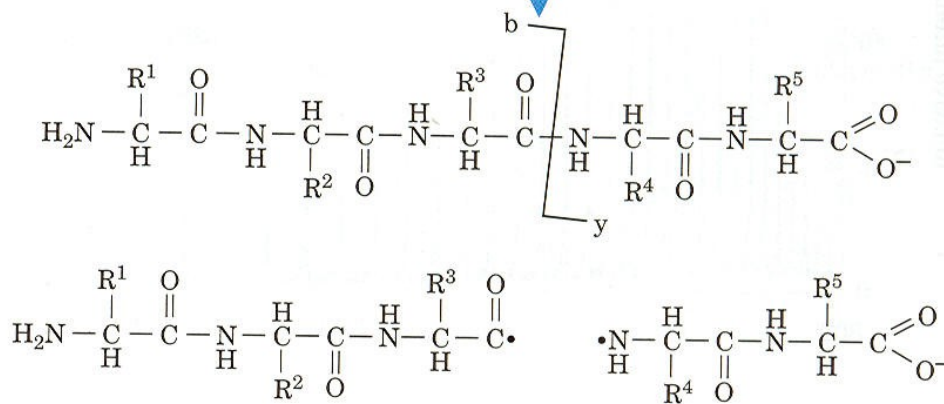
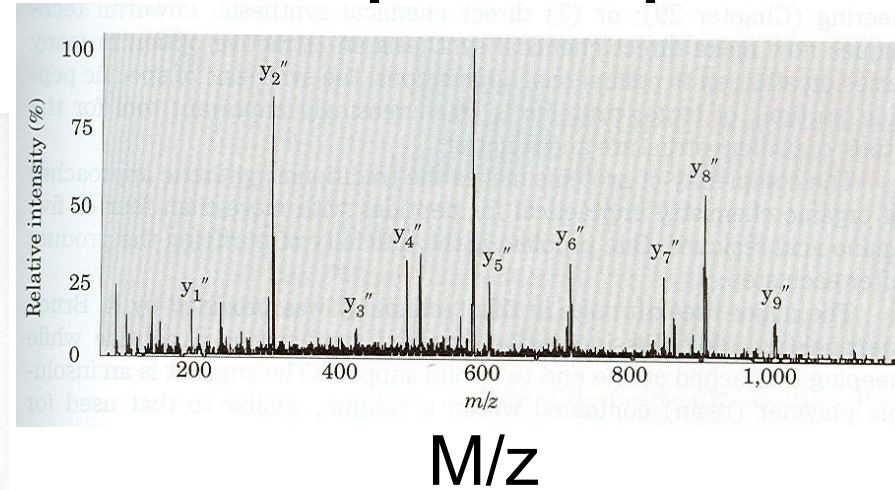
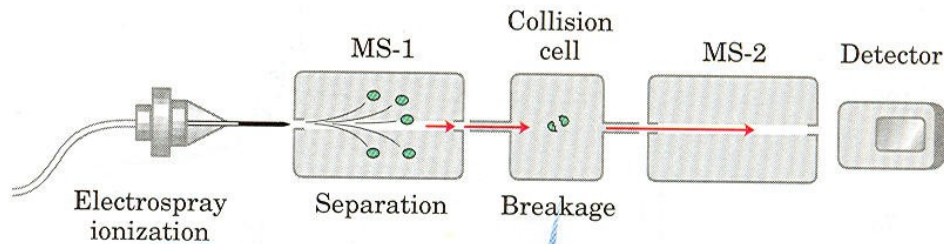


Frederick Sanger

Базы данных: региональные (напр. UniProtKB/Swiss-Prot) и единые



# Определение первичной структуры масс - спектрометрией



- Случайная фрагментация
- Разделение и идентификация
- Компьютерная реконструкция **перекрывающихся последовательностей**

Сравнение набора библиотек

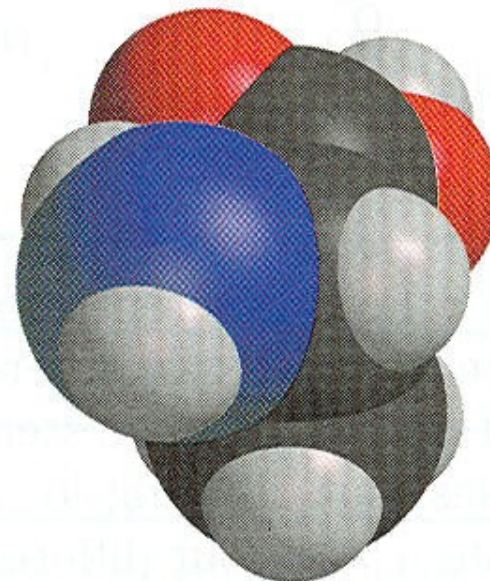
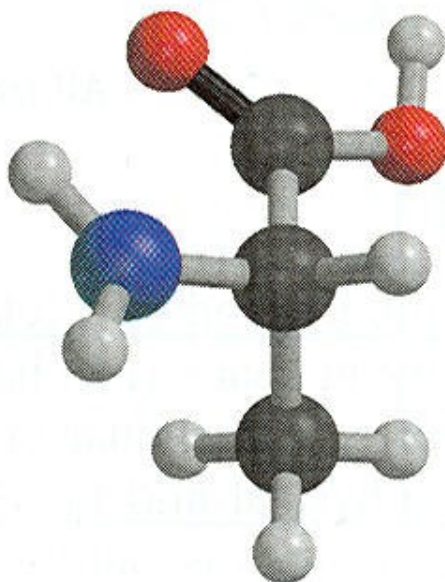
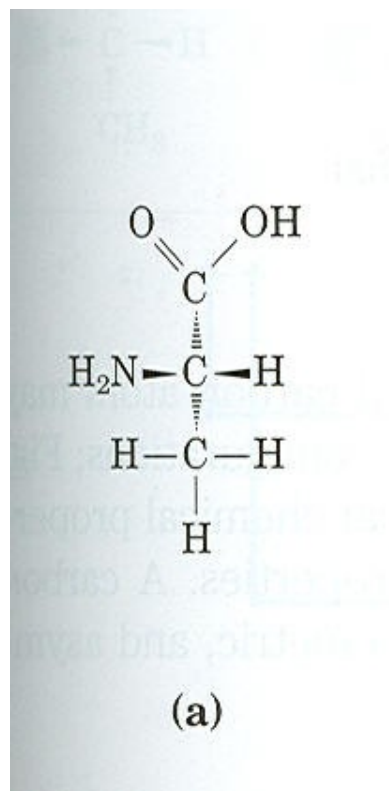
# Пространственная структура белка

## Пространственные модели аланина (Ala, A)

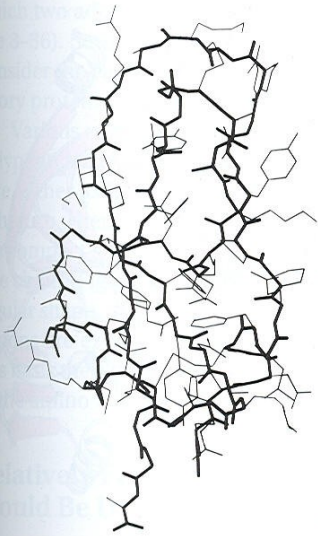
графическая  
формула

шаро-стержневая  
длина и угол связи

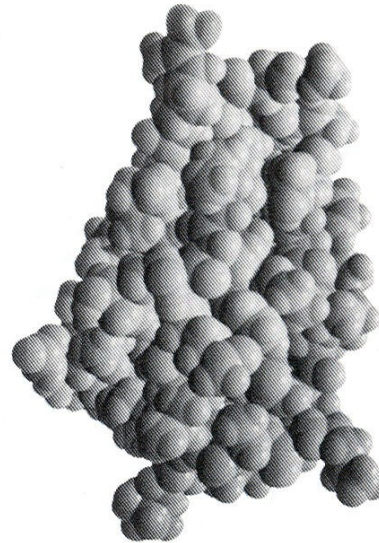
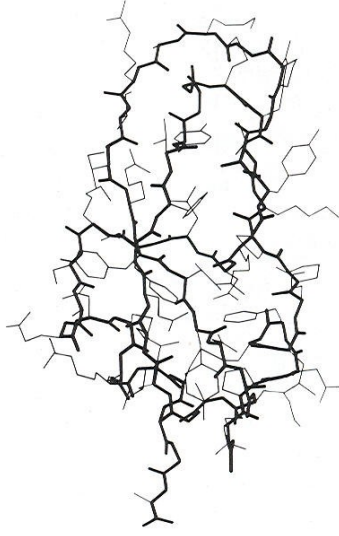
объемная  
ван-дер-ваальсов R



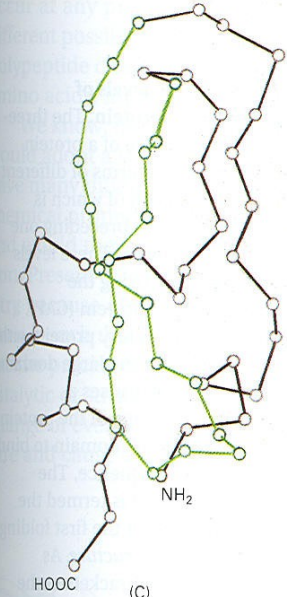
# Способы изображения структуры белка в пространстве



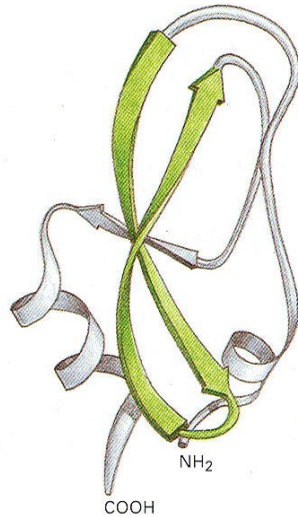
(A)



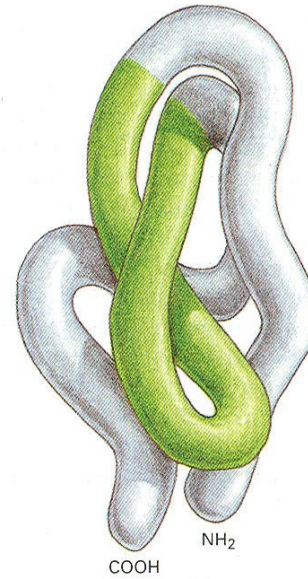
(B)



(C)



(D)

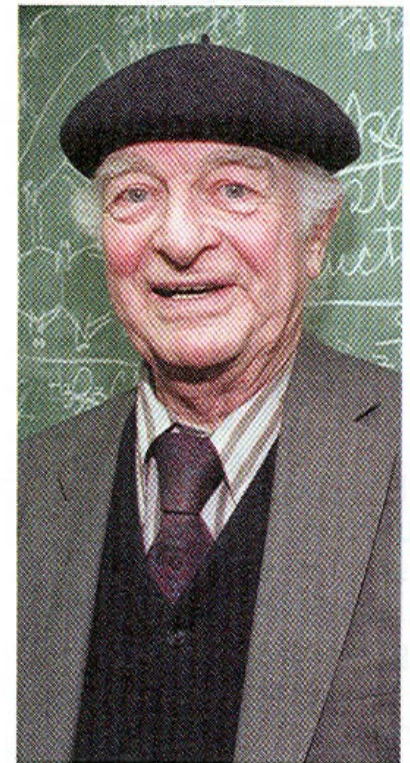


(E)

# Вторичная структура белка

водородная связь в полипептидной цепи

$\beta$ -структура  
 $\alpha$ -спираль

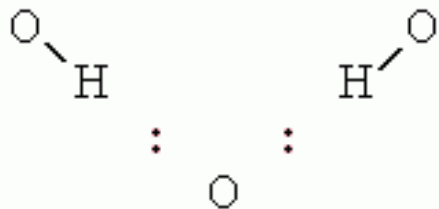
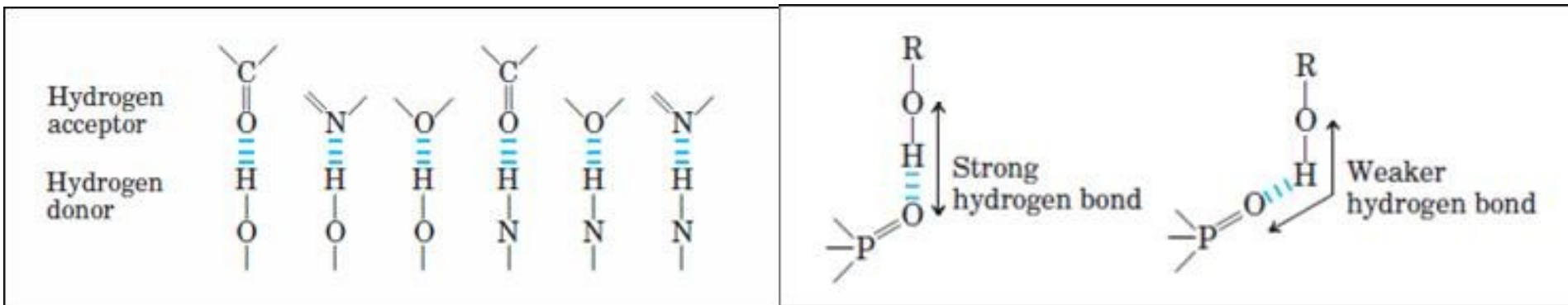
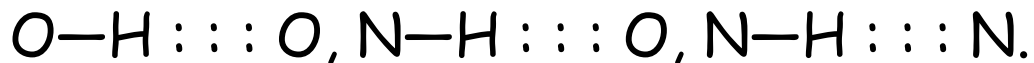


Linus Pauling  
1901–1994



# Водородные связи

Водородная связь - водород химически связан с одним электроотрицательным атомом и близок к другому электроотрицательному атому.

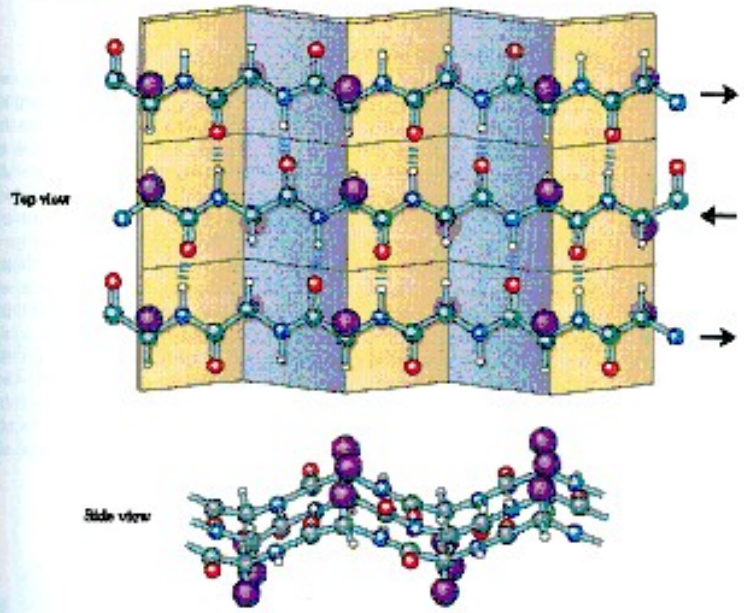


У каждой Н-связи 1 донор и 1 акцептор. При этом Н почти всегда выступает донором только одной Н-связи, а О может быть акцептором двух Н-связей.

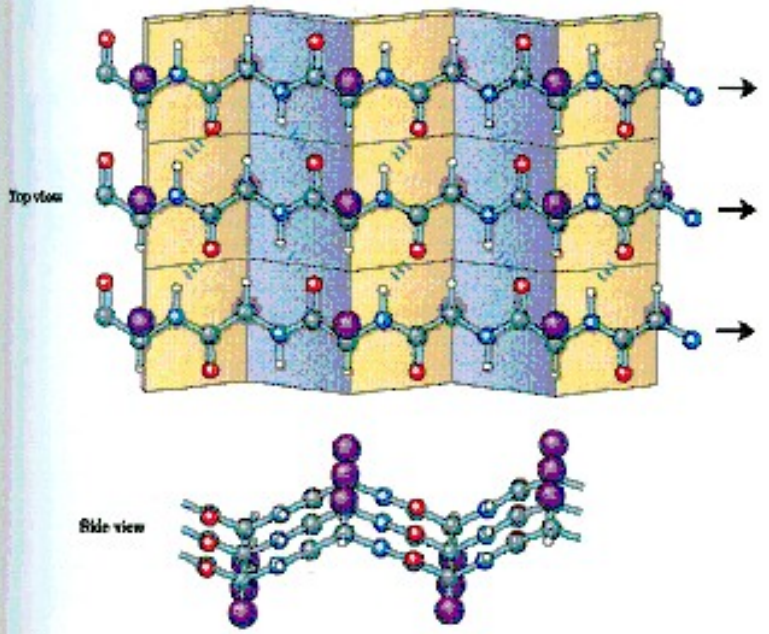
Энергия водородной связи около 20-25 кДж/моль

**Направленность!**

(a) Antiparallel



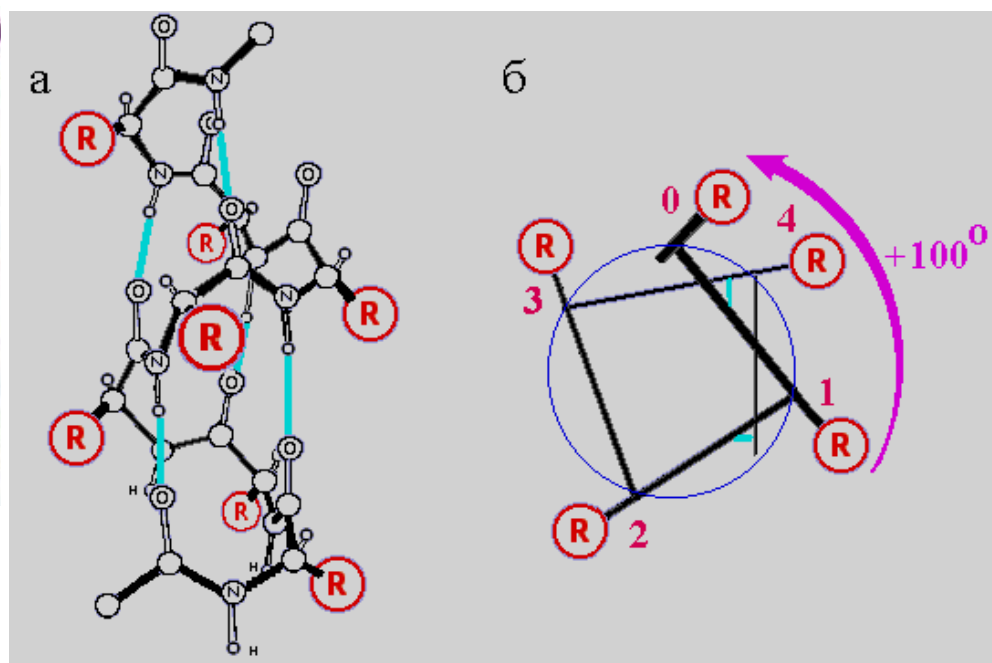
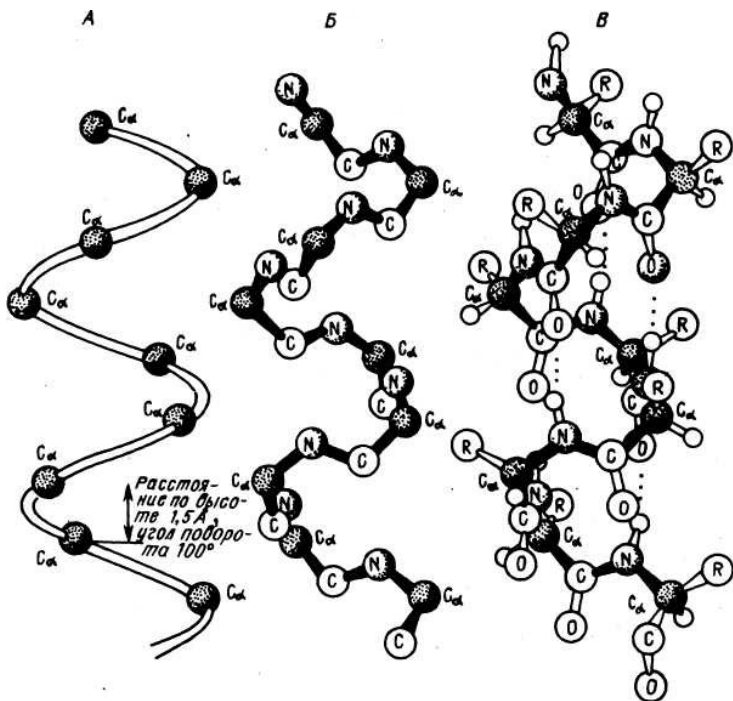
(b) Parallel



# $\beta$ -структура

водородная связь в  
полипептидной  
цепи

# Правая альфа-спираль и водородная связь

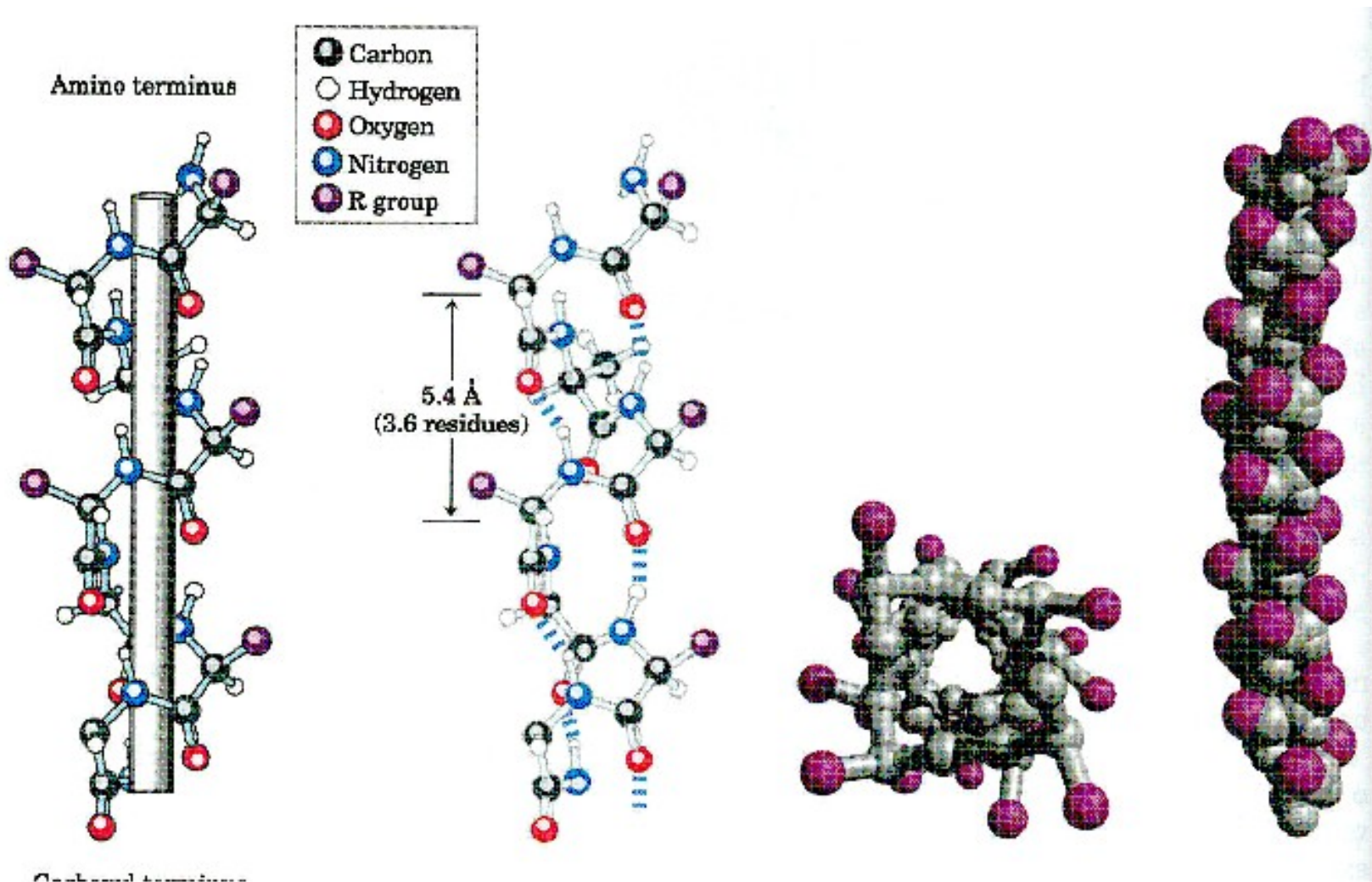


(а) R — боковые группы. Голубые линии — водородные связи. C=O группа  $i$ -го остатка соединяется H-связью с NH-группой  $i+4$ -го остатка

(б) Схема одного витка  $\alpha$ -спирали, вид с торца. Стрелка — поворот спирали на один остаток

# α-спираль

водородная связь в полипептидной цепи



# Третичная структура белка (конформация)

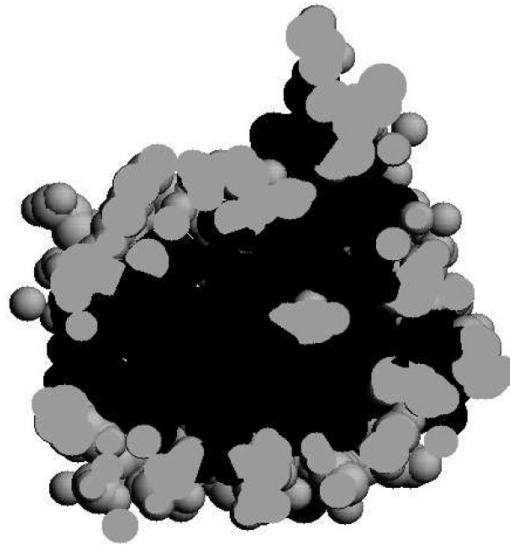
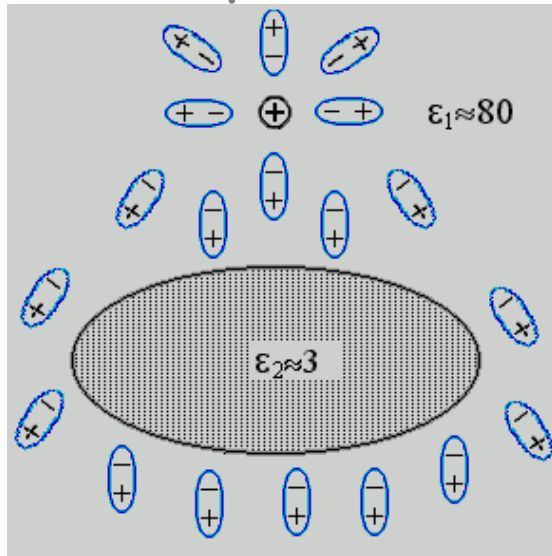
Уникальная укладка  
полипептидной цепи  
в трехмерную структуру

определяется структурой  
бокового радикала, т.е.  
первичной структурой белка

Можно ли предсказать сворачивание белка?

# Самый общий принцип формирования структуры белковой глобулы в воде.

Традиционная историческая концепция



$$F = 1/e^* \times q_1 \cdot q_2 / r^2$$

Проницаемость -  
во сколько раз меньше,  
чем в вакууме

А что будет в  
гидрофобной среде?

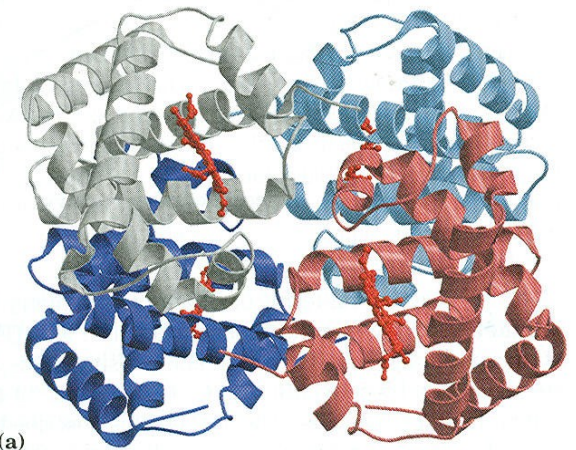
Гидрофобные боковые радикалы благодаря гидрофобному эффекту формируют «ядро» белка.

Поверхность «ядра» формируется гидрофильными боковыми радикалами, которые контактируют с водой

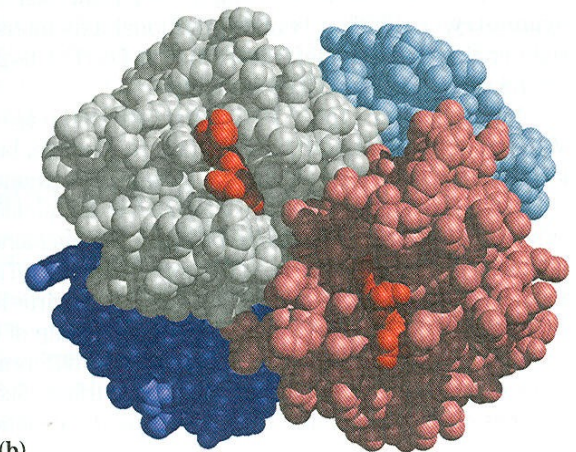
# Трети́чная структура белка



Max Perutz (left)  
John Kendrew, 1917–1997 (right)



(a)

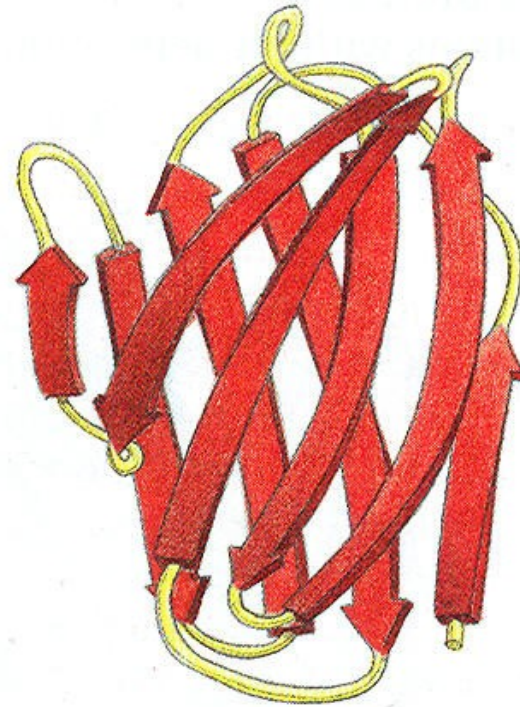
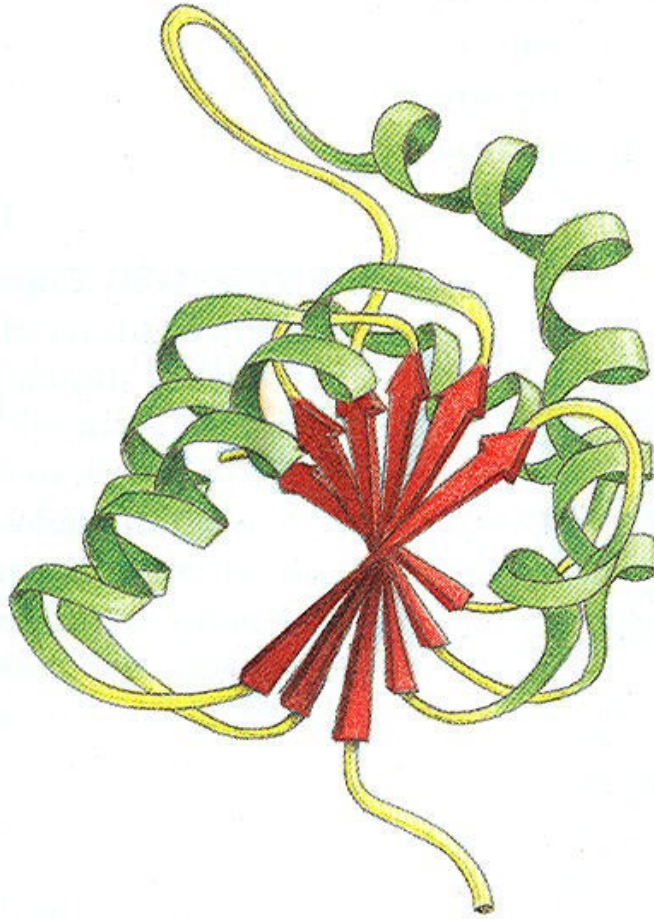


(b)

РСА, ЯМР  
фабрики  
базы данных PDB

# Примеры типичной структуры белков

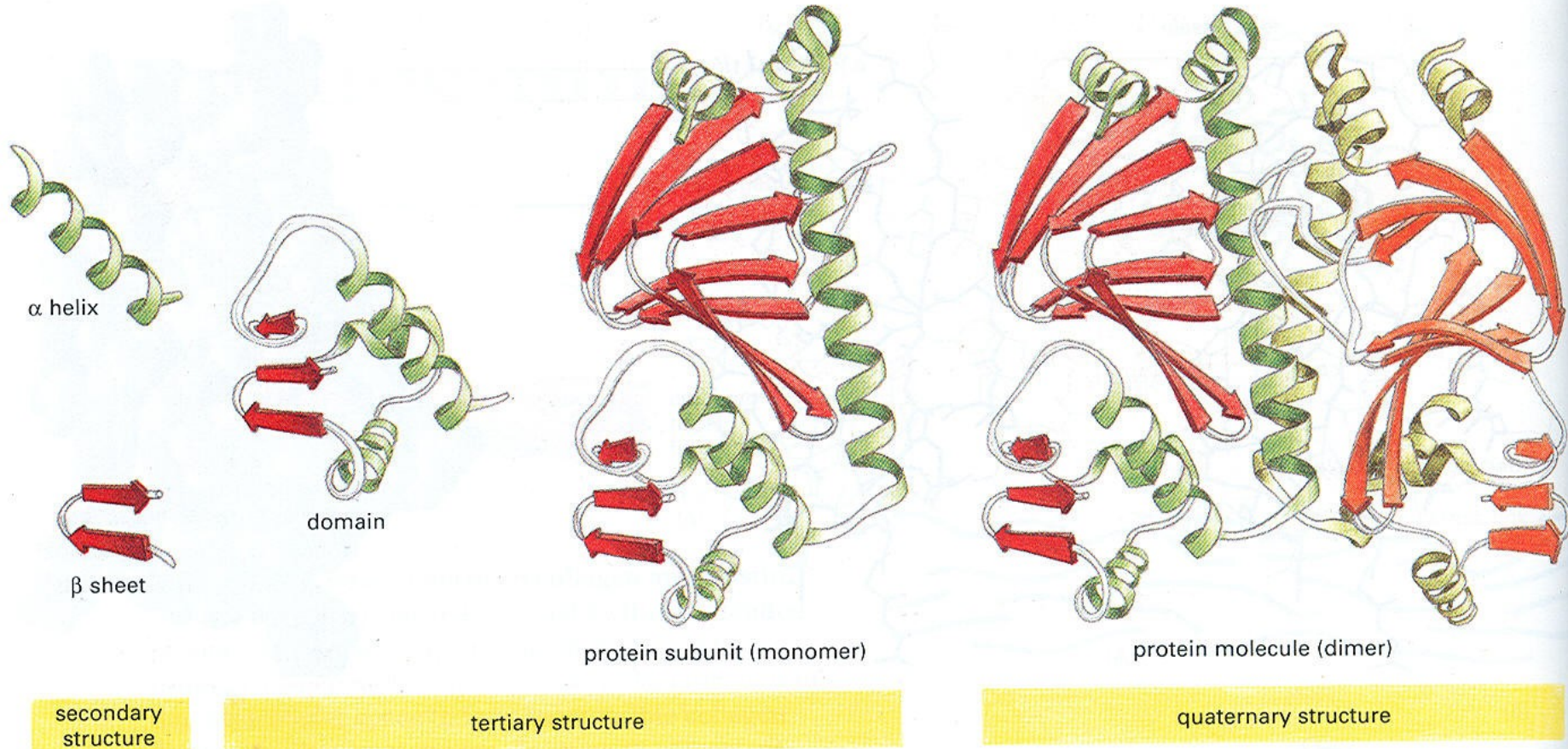
альфа                      альфа-бета                      бета



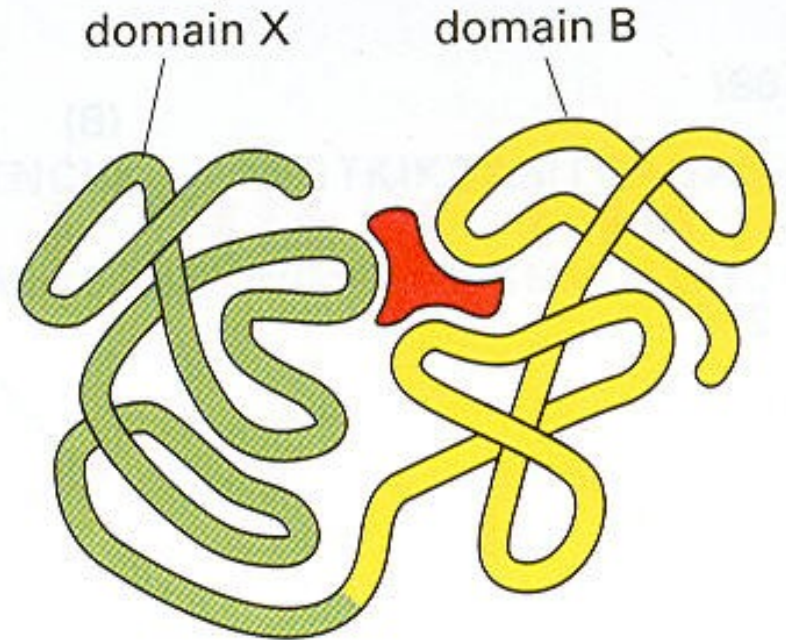
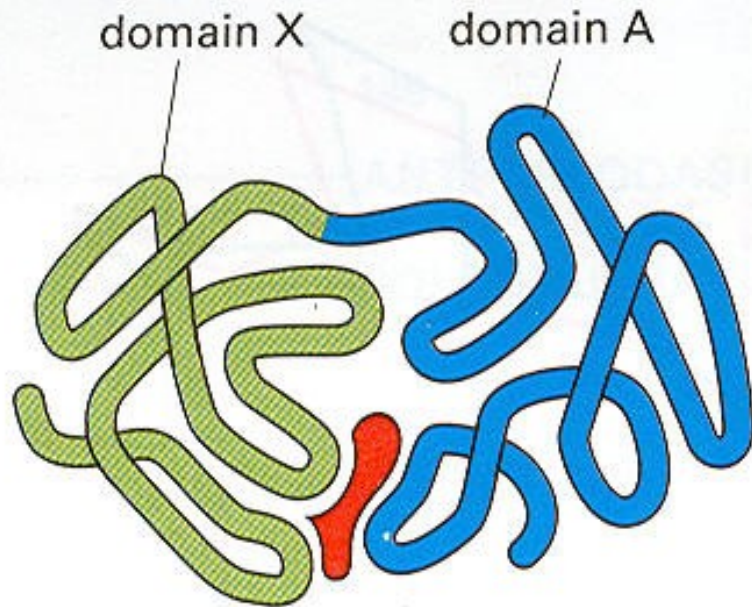
IDP, белки с неупорядоченной структурой  
Заболевания, напр. онкобелки



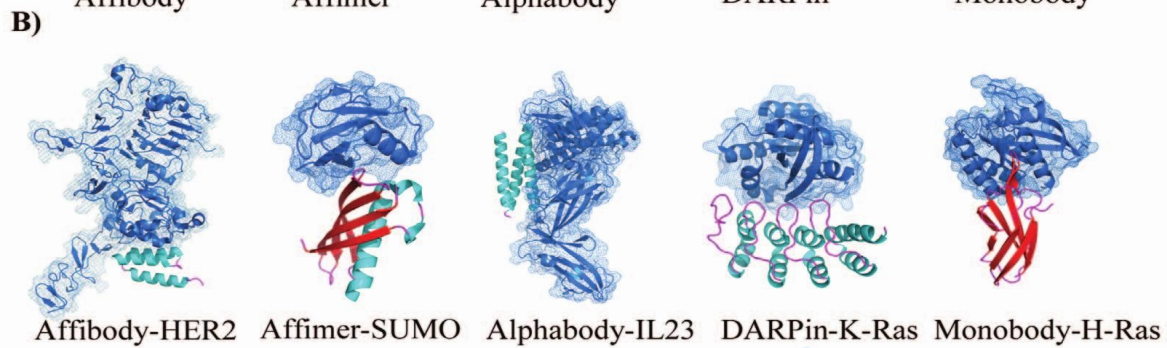
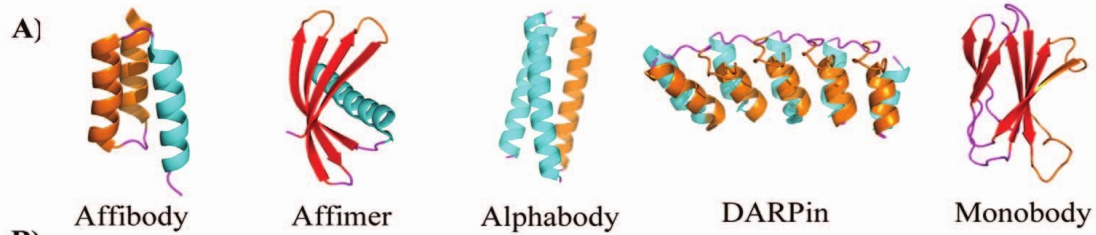
# Уровни структурной организации белков



Природа в эволюции создает новые  
белки  
комбинированием готовых доменов  
путем комбинирования их генов



# Искусственные каркасные модули для связывания других молекул

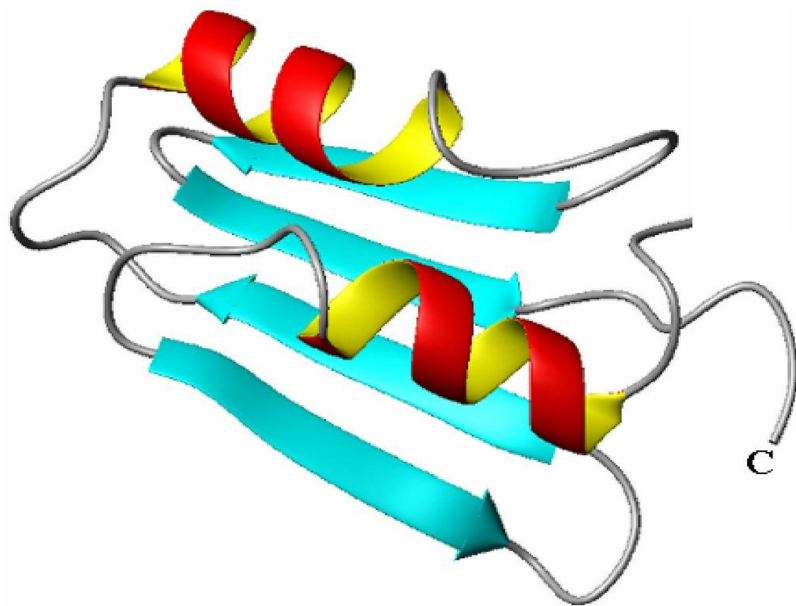


# Можно ли сконструировать искусственный белок de novo?

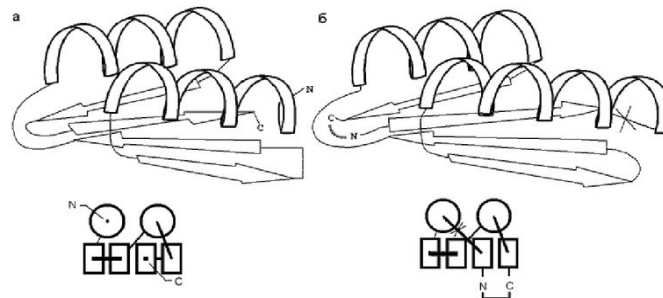
Альбегетин.

Кирпичников МП, Финкельштейн АВ, Птицын ОБ

1991 г.



## Альбегетин - белок de novo



Белок с заданной вторичной структурой - **альбегетин** - кооперативно не плавится и находится в состоянии расплавленной глобулы.

Был использован в качестве носителя функциональной активности:

**Альбегетин =**

альбегетин + фрагмент 131-138

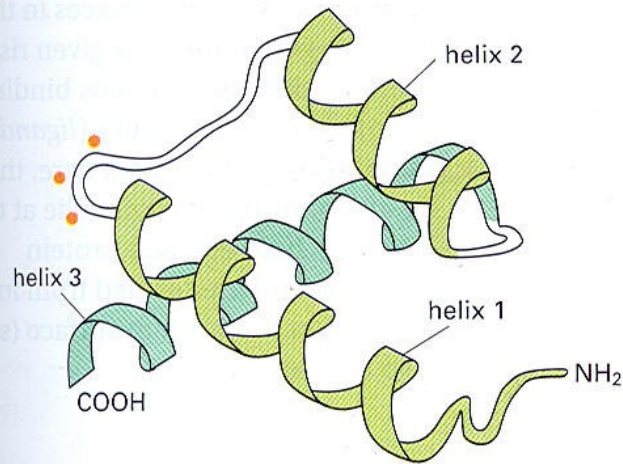
(активирует бласт-трансформацию тимоцитов)  
интерферона  $\alpha 2$  человека.

Еще один белок со структурой, запланированной для альбегетина, был получен при помощи циркулярной пермутации рибосомального белка S6 - обладает твердой, кооперативно плавящейся пространственной структурой.

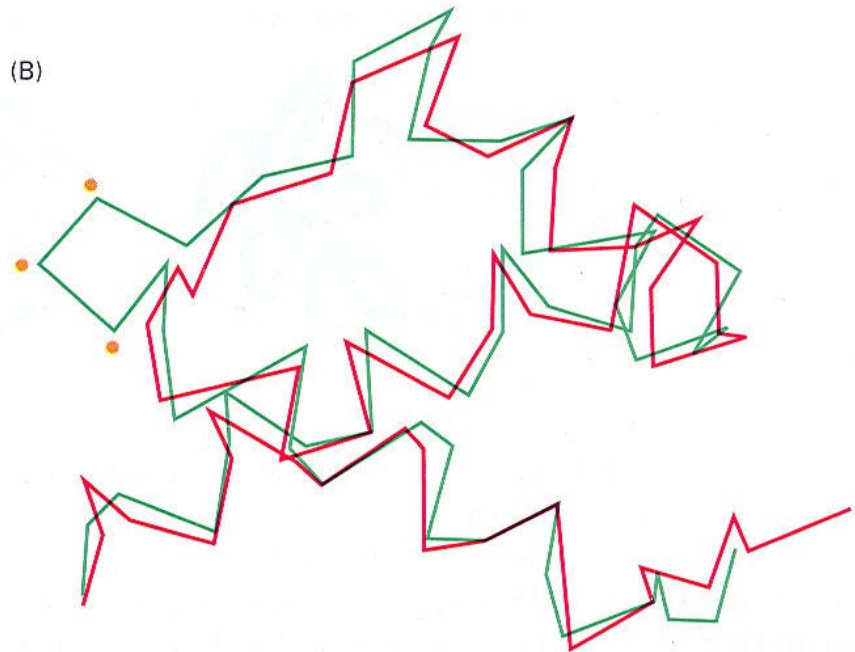
# КОНСЕРВАТИВНОСТЬ СТРУКТУРЫ

Малые структурные различия  
ключевых белков из организмов,  
разделенных 2 млн лет эволюции

(A)



(B)



(C)



# Моделирование по подобию для белков из разных организмов



 **EcoS7 модель**

 **BstS7**

 **TthS7 в рибосоме**

 **TthS7**

Конформация белка -  
результат большого числа  
слабых взаимодействий

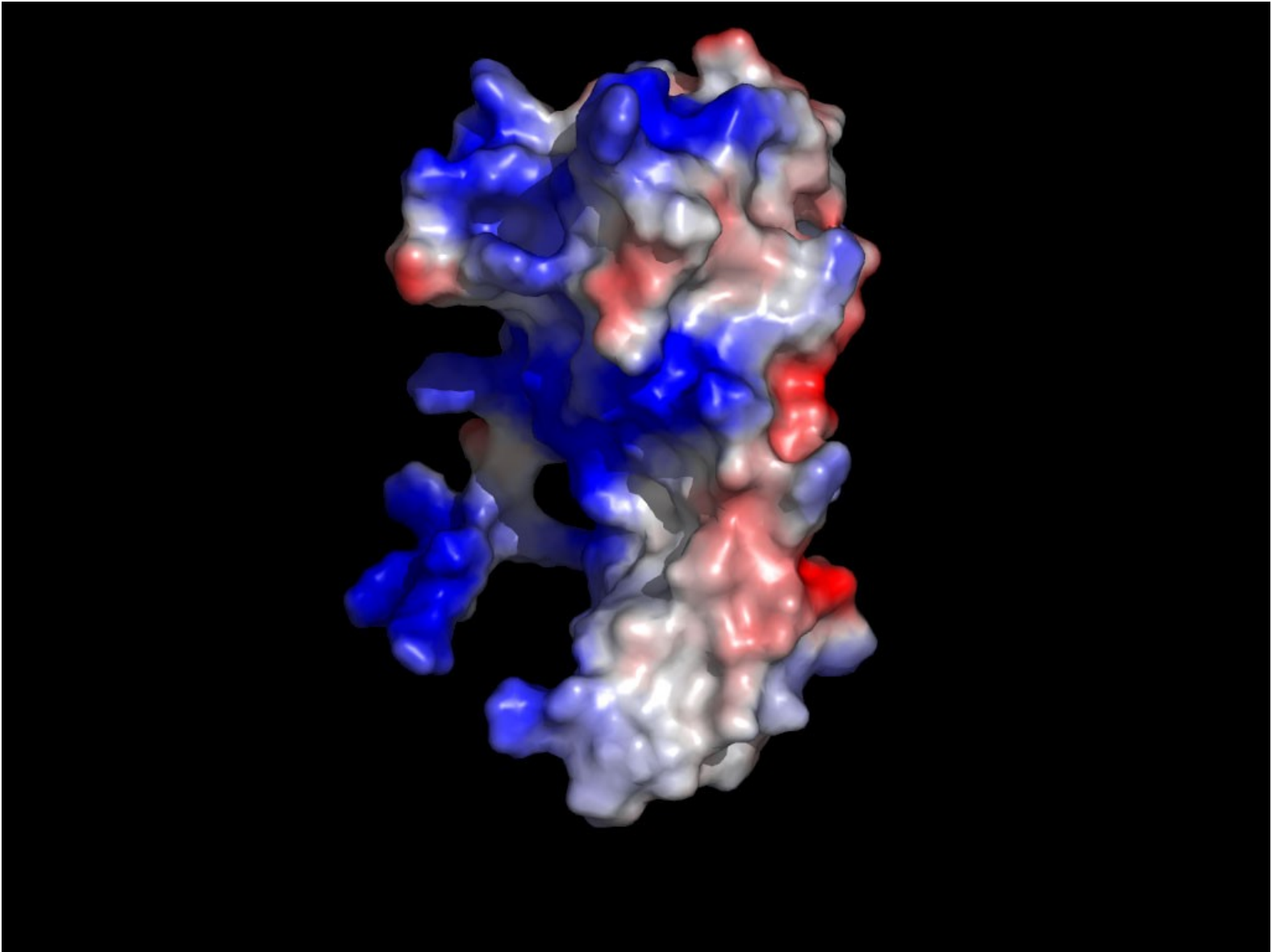
Сложная поверхность белка

Сложный рельеф

Распределение заряда

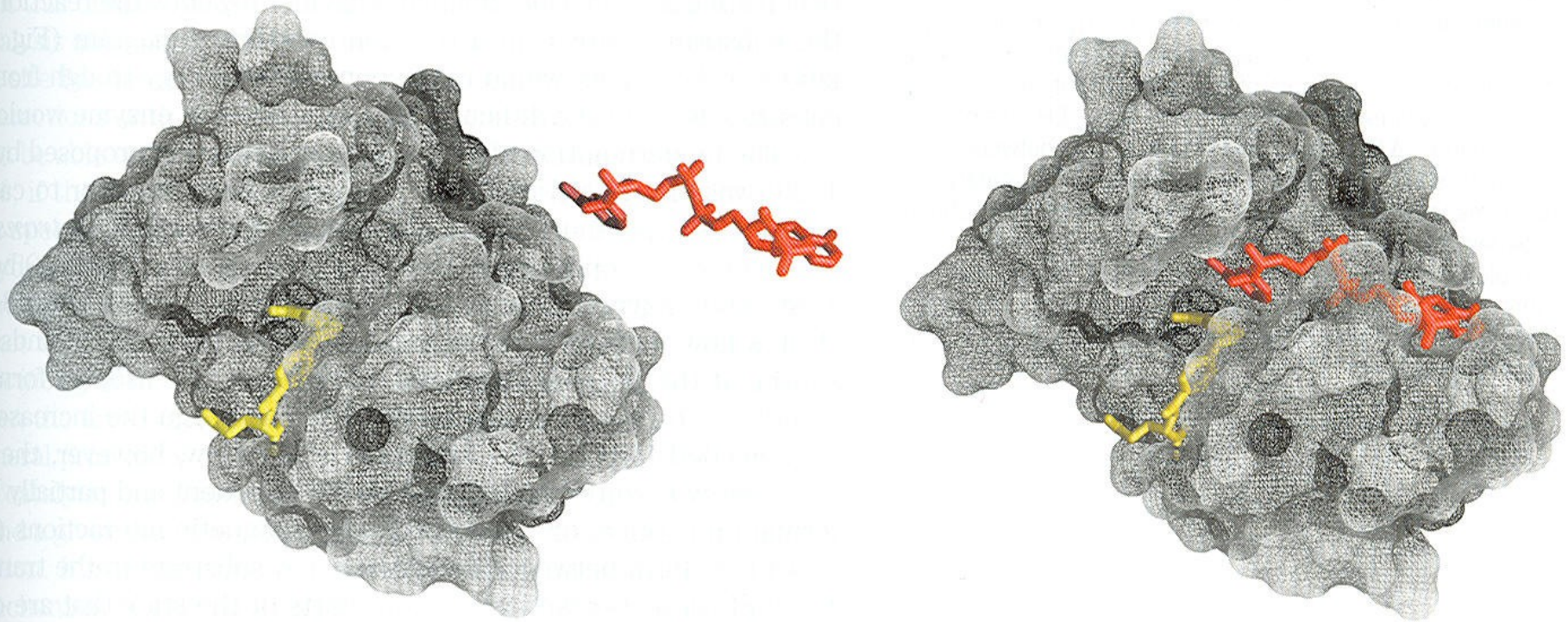
Распределение функциональных групп

# Поверхность белка и распределение заряда



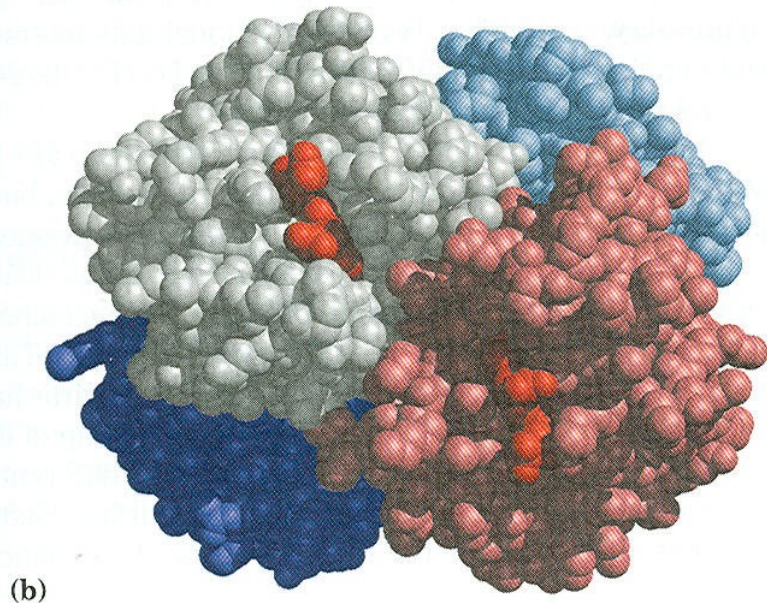
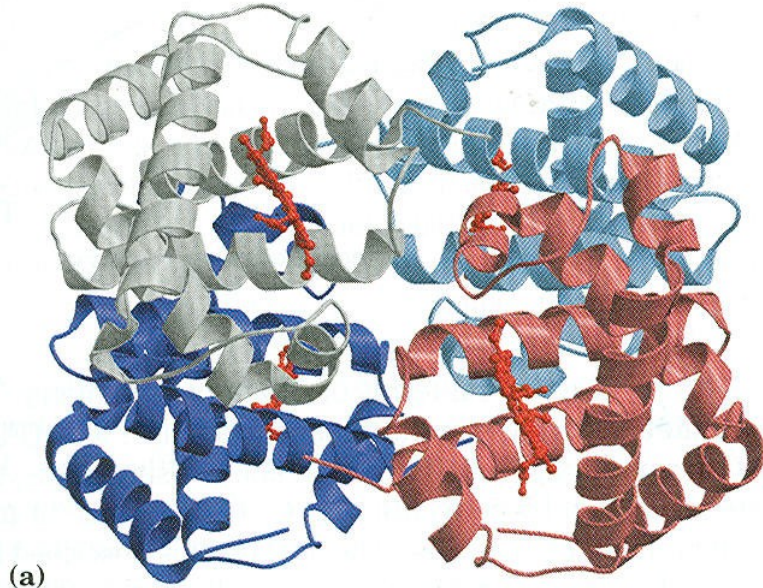


Сложная поверхность белка  
обеспечивает специфичность его  
взаимодействия с другими  
молекулами



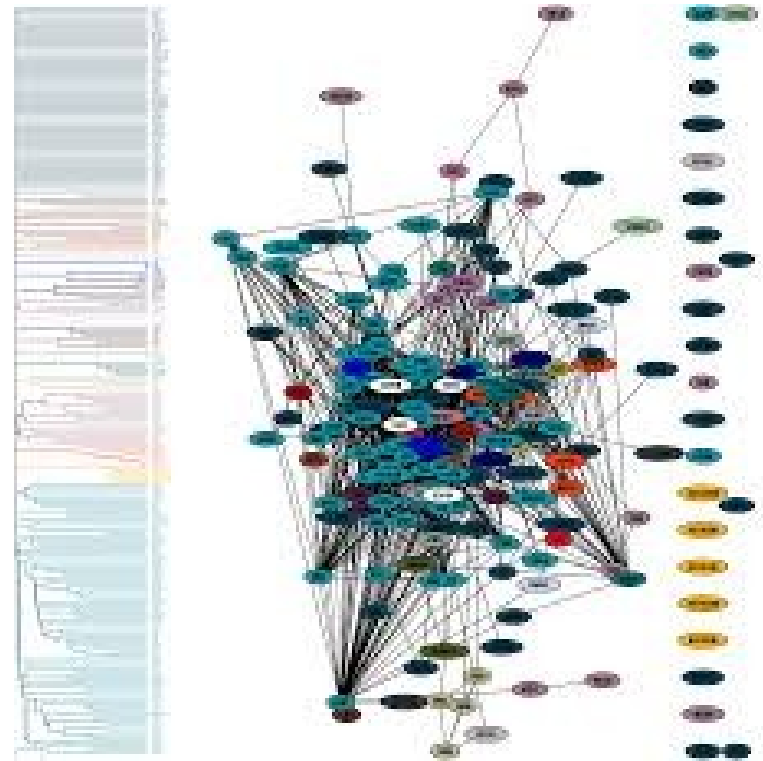
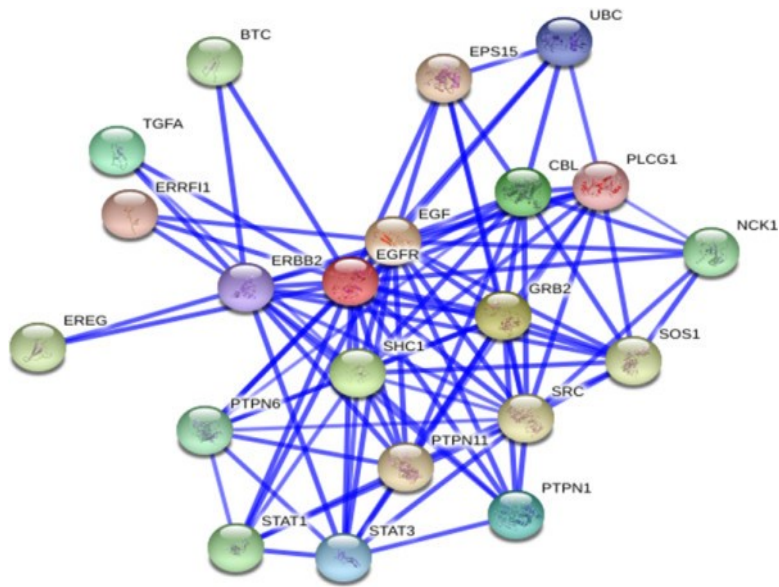
Гипотеза «ключ – замок»

# Взаимодействие с другим белком - четвертичная структура белка (стабильный «интерактом»)



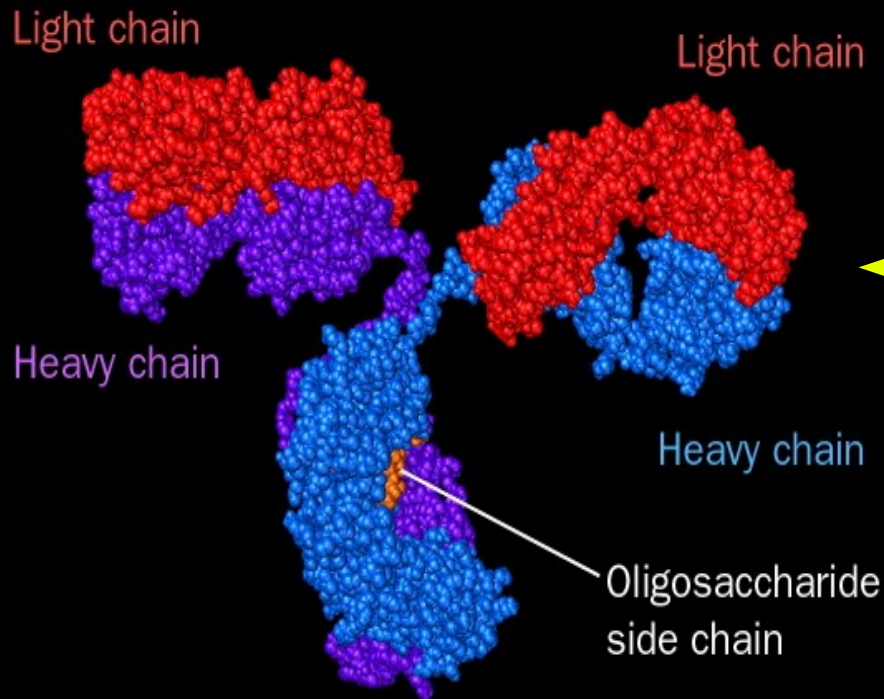
Max Perutz (left)  
John Kendrew, 1917–1997 (right)

# Динамический интерактом белков на примере EGFR

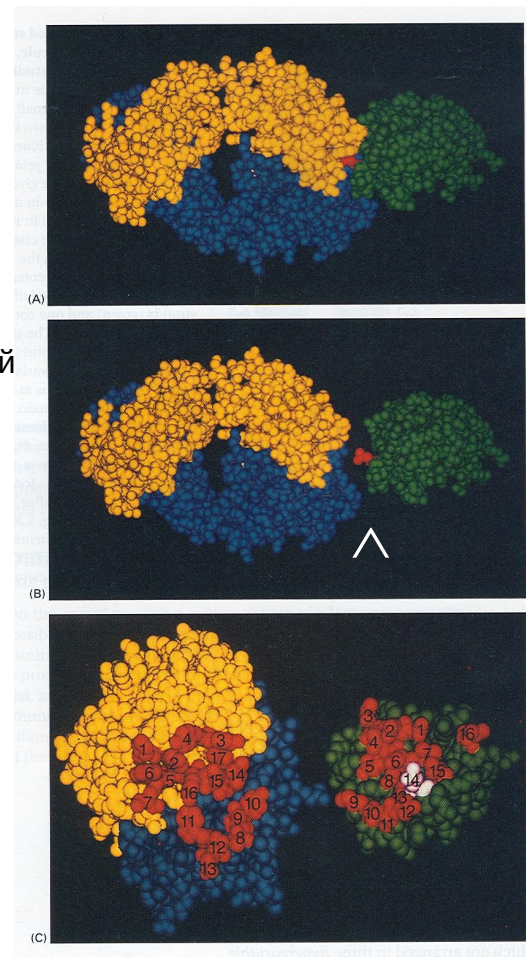


Трёхмерные графы

# Супрамолекулярный комплекс антитело - антиген

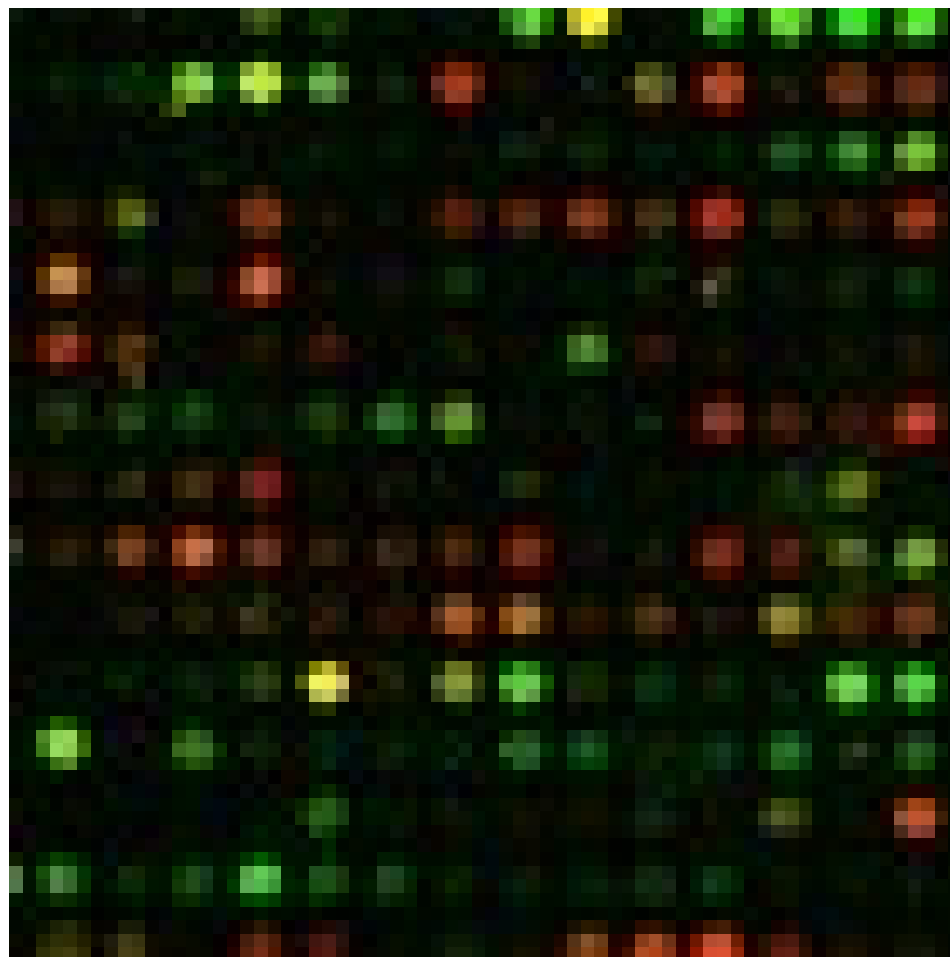


Антиген –  
связывающий  
участок



Молекулярный узнающий элемент:  
специфичный, высокоаффинный

# Белковые микрочипы для детекции антигенов



# Тест на беременность

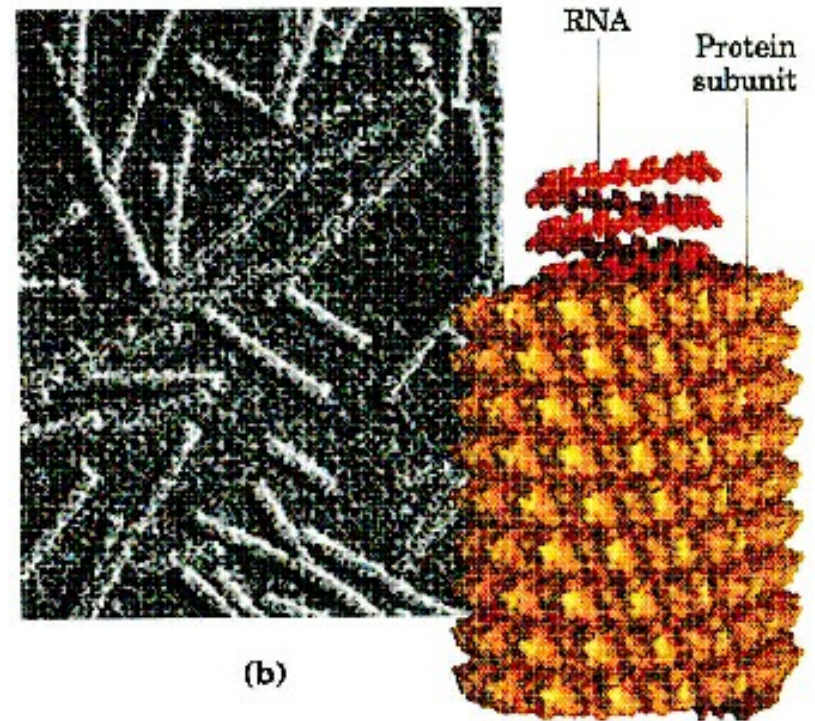


Все тесты на беременность действуют по одному принципу - распознают в моче (тесты для домашнего использования) или крови (лабораторные тесты) гормон под названием хорионный гонадотропин человека (ХГЧ). Он вырабатывается только во время беременности хорионом/плацентой (наружная оболочка зародыша). У не беременной женщины его нет.

Уровень ХГЧ в организме с момента прикрепления плодного яйца к стенке матки увеличивается вдвое примерно каждые 2-3 дня и достигает максимума к 7-12 неделям беременности. Его присутствие в крови и моче сохраняется приблизительно до третьей недели после рождения ребенка.

2 нед

Вирус - это  
супрамакромолекулярный  
химический комплекс  
ОН НЕ ЖИВОЙ



молекулярный комплекс ЭДТА –  $Mg^{2+}$

# Белок как динамическая структура



Симуляция динамики белка  
на суперкомпьютерах

Белок как молекулярная машина  
Теория машин и механизмов





# Третичная структура белка (конформация)

Уникальная укладка полипептидной цепи в трехмерную структуру

определяется структурой бокового радикала,  
т.е. первичной структурой белка  
(проблема не имеет общего решения)

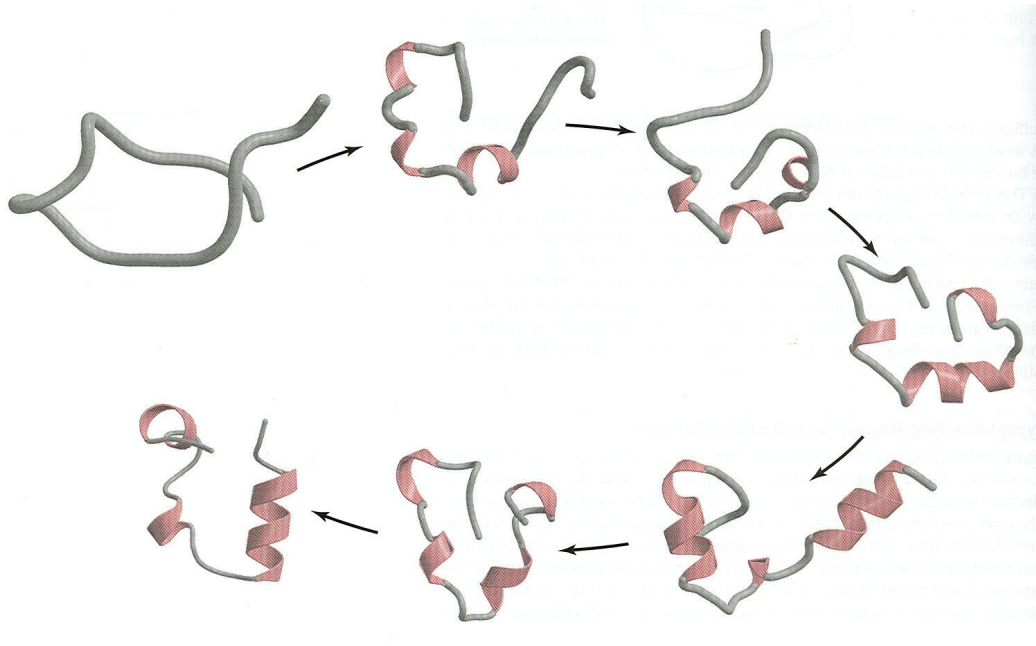
**СПОСОБНОСТЬ К  
САМООРГАНИЗАЦИИ**

# Способность к самоорганизации

## третичной структуры белка

(переход денатурированной формы в нативную)

D/U



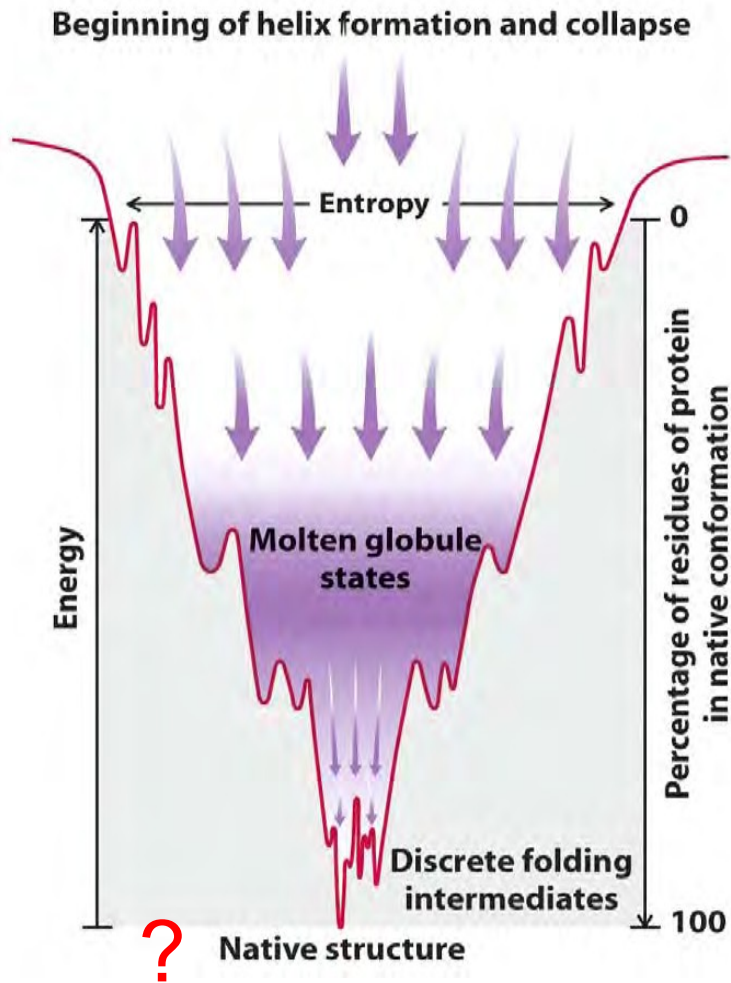
Проблемы фолдинга  
в биотехнологии

Биосимиляры

N/F

Эффект Сайруса Левинталя: белок в 100 а.к. имеет 99 связей,  
т. е. 198 углов поворота, каждый из которых — 3 стаб. конформации; итого  $3 \times 10^{198}$   
Случайный перебор займет  $10^{80}$  лет, если каждый переход будет  $10^{-13}$  сек (?)  
Решение: поверхностные энтропийные и энтальпийные эффекты ( $dF = dE - TdS$ )  
Реальный диапазон от  $10^{-3}$  до  $10^{-6}$  сек

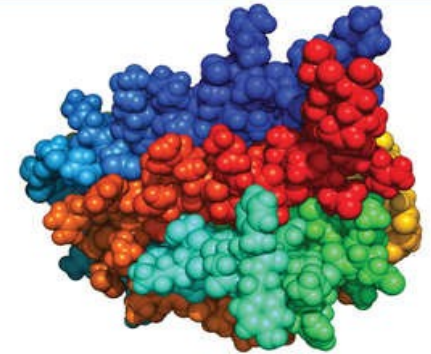
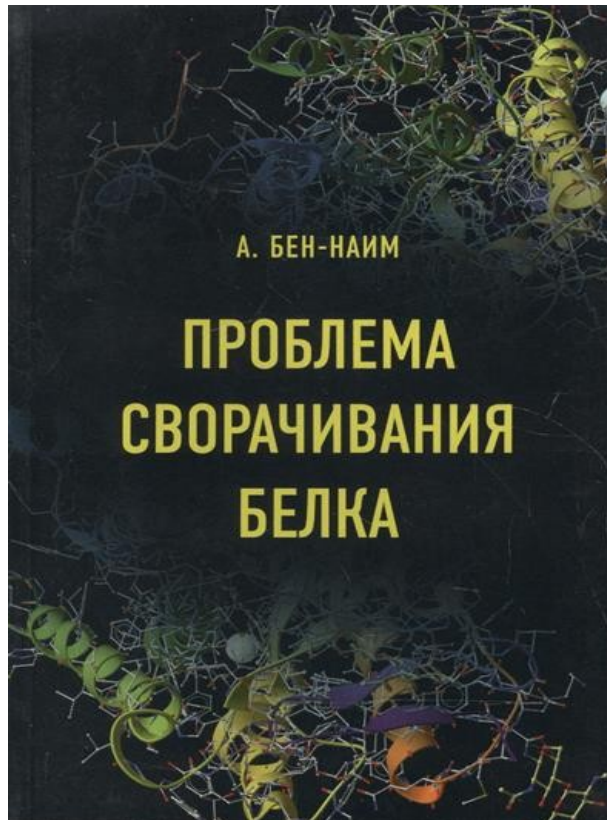
# Энергетика самоорганизации третичной структуры белка



D (денатурированное состояние)

N (нативное состояние)

Для углубленного изучения



БИНОМ

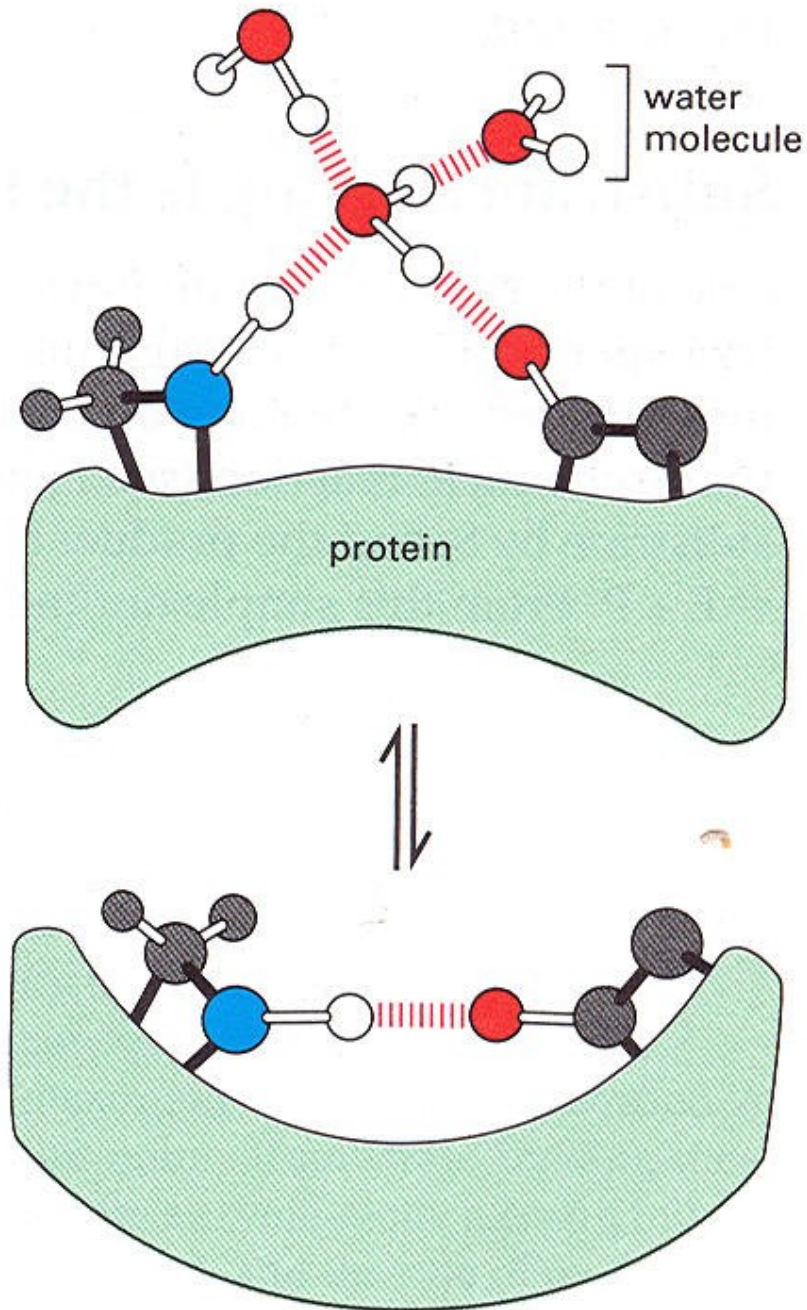
В биотехнологии -  
очень дорогая проблема

# Третичная структура белка (конформация)

Уникальная укладка полипептидной цепи в трехмерную структуру

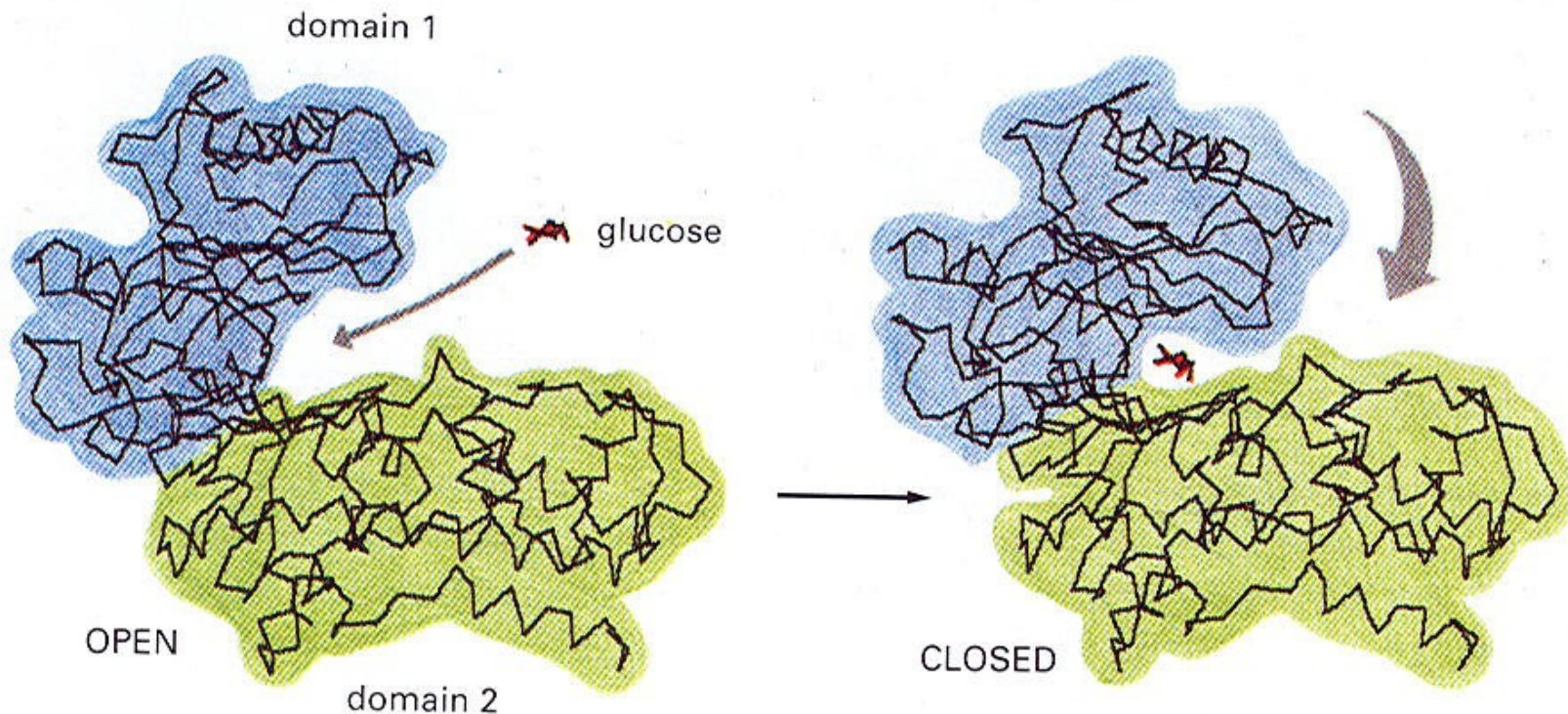
определяется структурой бокового радикала, т.е. первичной структурой белка

**КОНФОРМАЦИОННЫЙ ПЕРЕХОД**  
**ПРОИСХОДИТ БЕЗ РАЗРЫВА**  
**ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ**



Стабильная  
конформация  
белка  
поддерживается  
балансом  
слабых сил  
между  
боковыми  
радикалами  
аминокислот

# Связывании лиганда изменяет баланс слабых сил и белок изменяет конформацию



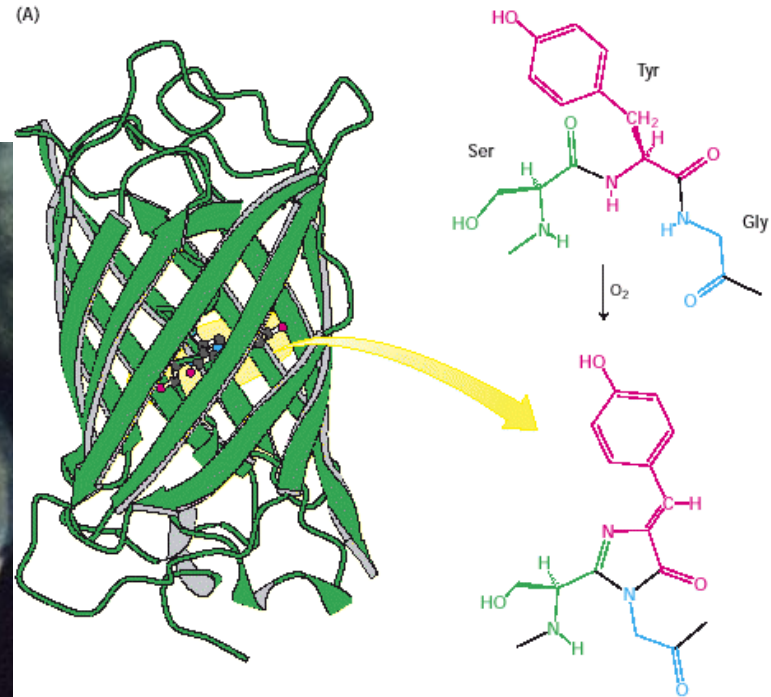
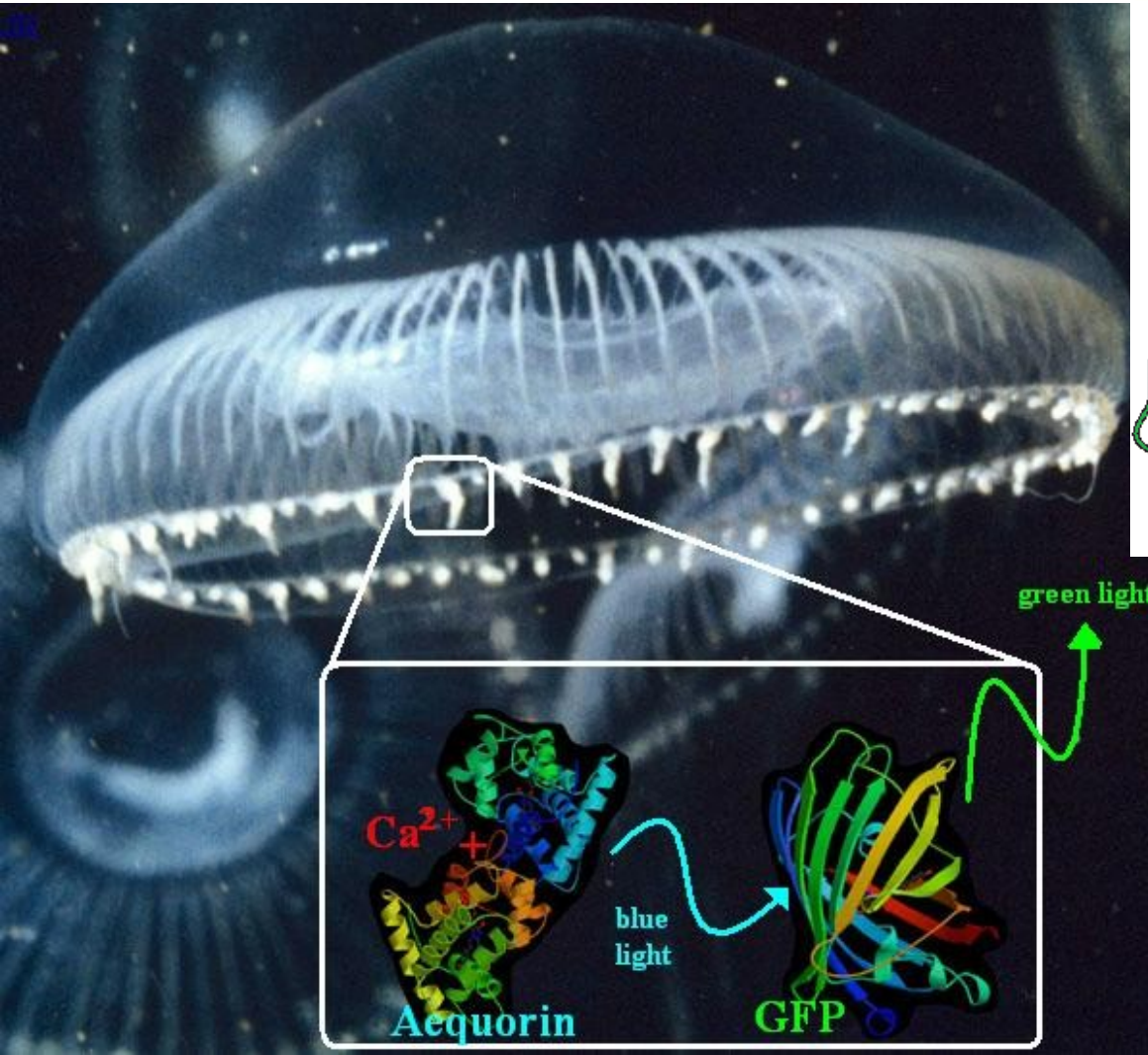
При связывании лиганда (особенно заряженного)  
белок меняет конформацию



И чем значительнее нарушение баланса (напр., появление заряда,  $P_i$ ),  
тем сильнее меняется конформация

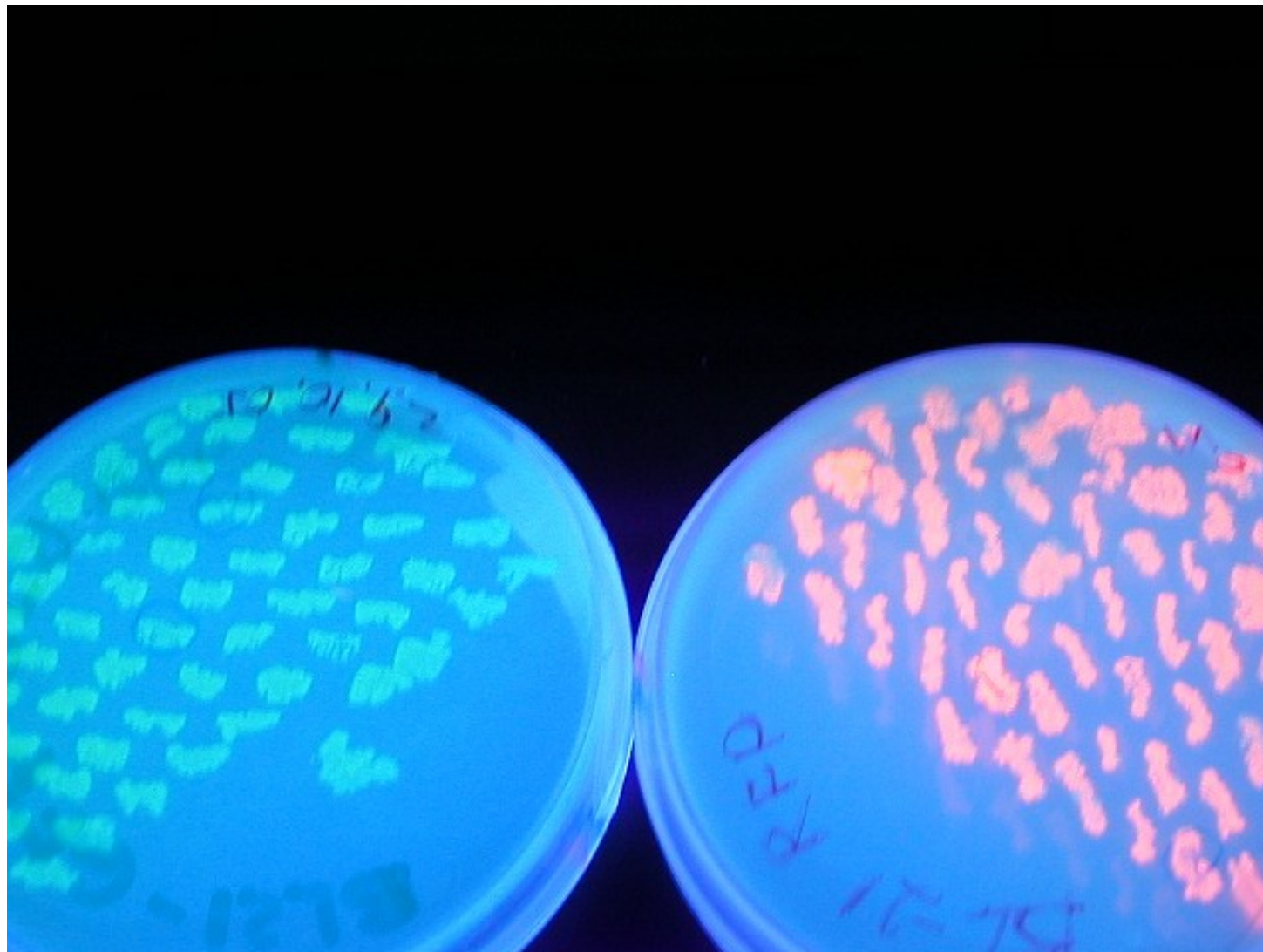


# Флуоресцентные белки из медузы

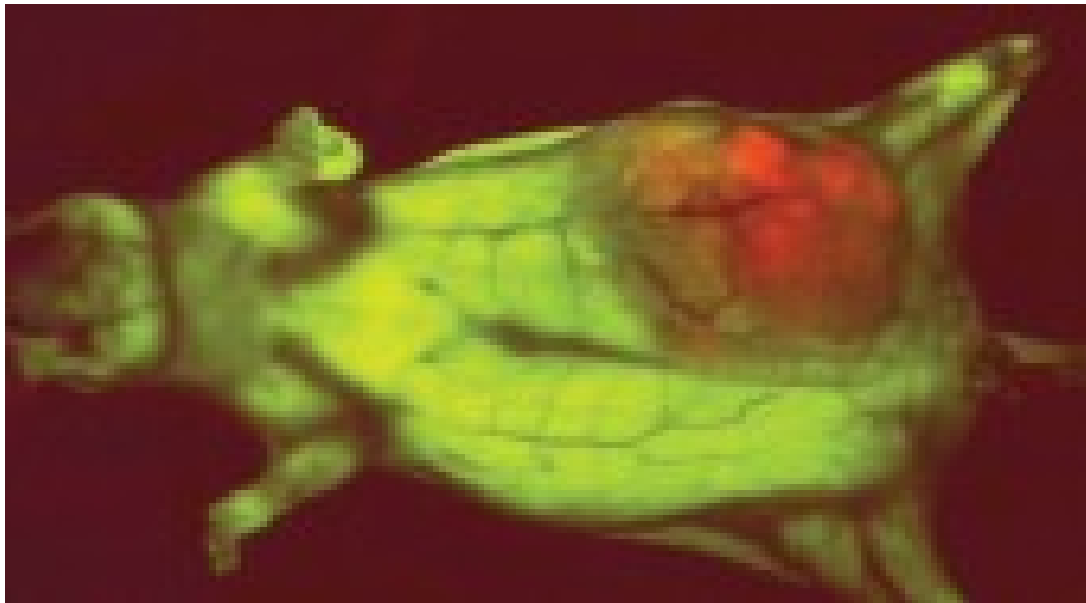
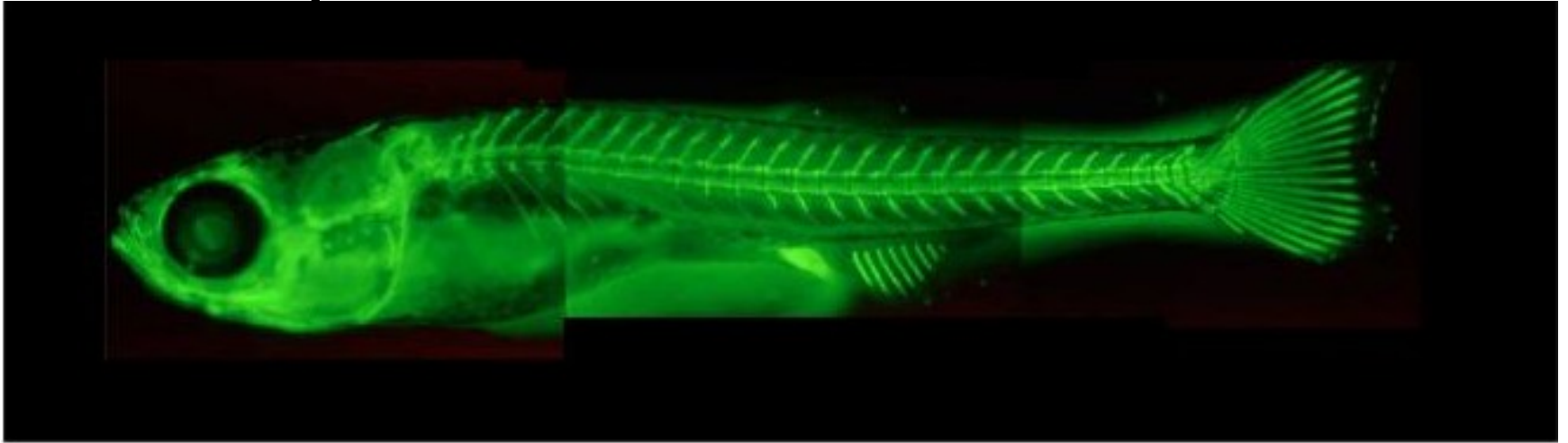


Нобелевская  
премия 2008 г.

# Гены флуоресцентных белков медузы «работают» в бактериях



# Гены флуоресцентных белков медузы «работают» в животных

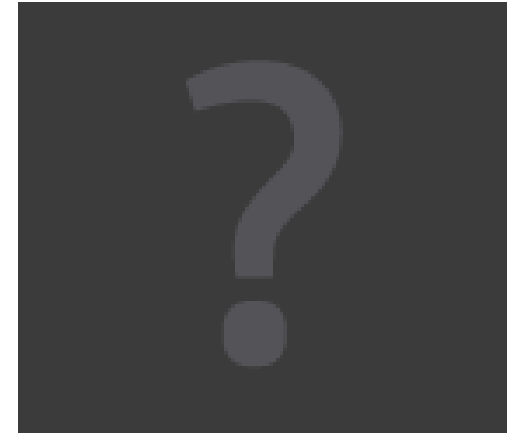


экспрессия  
химеры  
из белка клетки  
(раковый белок)  
и  
флуоресцентного белка

# Визуализация индивидуальных молекул белка в одной клетке

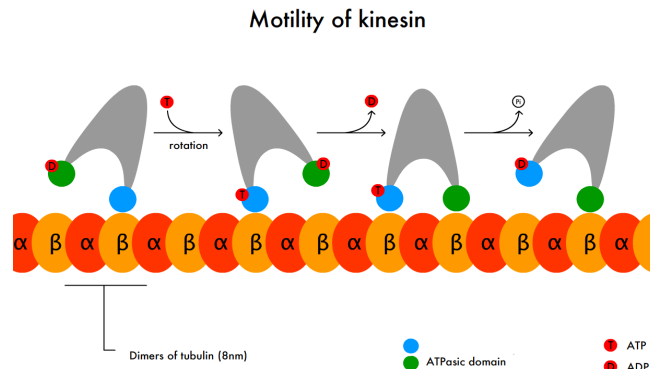
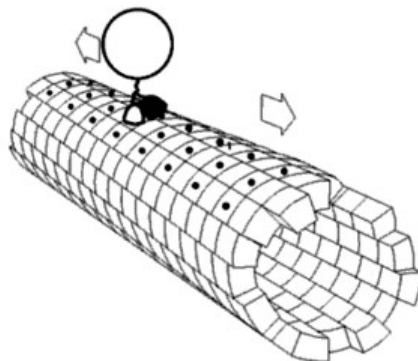
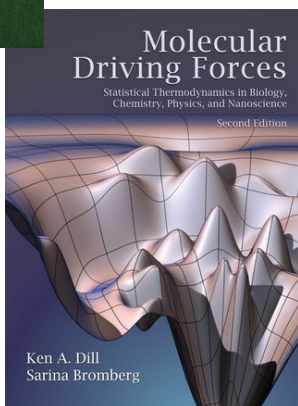
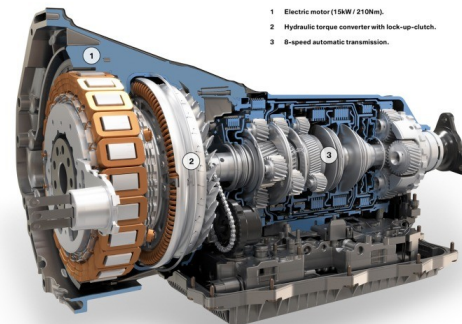
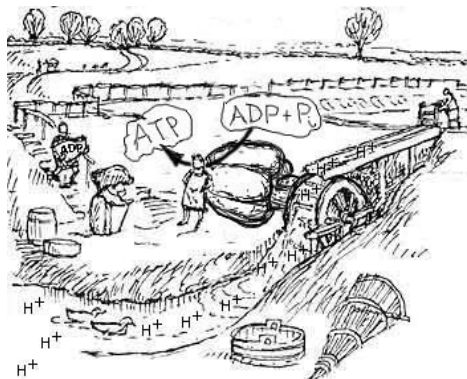
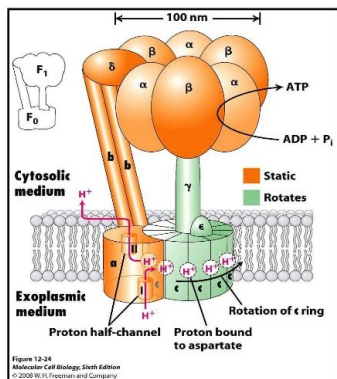


# Визуализация изменения конформации индивидуальных молекул белка



Белок как  
наномотор

# Белок как наномотор



Организация и принципы работы молекулярных машин отличаются от таковых для макромашин