

Слайд 1

Введение в биохимию

Островский Олег Владимирович

Слайд 2

Биологическая химия

- изучает молекулярные процессы, лежащие в основе развития и функционирования организмов.
- Биохимия использует методы «молекулярных наук» - химии, физической химии, молекулярной физики. И поэтому понятие биохимия тождественно понятию молекулярная биология.
- Биохимия изучает закономерности биологической, а не химической формы движения материи.

Слайд 3

В действительности основа жизни сложная молекулярная сетевая система



Molecular network system in a cell

(From EXPASY Biochemical Pathways; http://www.expasy.org/cgi-bin/show_thumbnails.pl?2)

Слайд 4

Основные разделы биохимии:

- Статическая биохимия
- Динамическая биохимия
- Функциональная биохимия (Клиническая биохимия)
- Биотехнология

Слайд 5

Роль биохимии в системе медицинского образования

- Медицинская биохимия (биохимия человека) включает все общепрохимические направления, но в той их части, которая имеет отношение к здоровью и болезням человека. Следовательно, медицинская биохимия изучает:
 - молекулярные основы функционирования здорового человека,
 - молекулярные механизмы болезней,
 - биохимические методы диагностики и лечения.

Слайд 6

Белки



Слайд 7

Природа Белков

- А. Структура**
 - Белки – линейные, неразветвленные полимеры образованные 20 α-аминокислотами.
- В. Размеры.**
 - Масса мономерного белка обычно 10-50 kdal, хотя имеются белки массой менее 350 dal и более чем 1000 kdal
 - Олигомерные белки обычно имеют массу 200 kdal и более

Слайд 8

Растворимость белков

Нативный белок

Денатурированный белок

Гидрофильные участки

Гидрофобные участки

Гидрофильные участки (Средствыми и не зарядными)

Гидрофобные участки

Гидрофильные группы

Гидрофобные группы

Гидрофильные группы

Гидрофобные группы

Гидрофильные группы

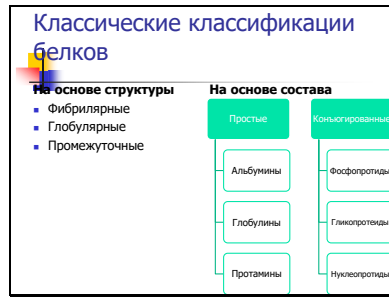
Гидрофобные группы

Слайд 9

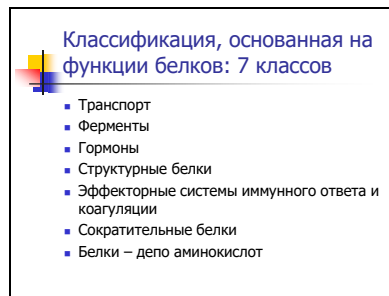
Денатурация белков

— изменение нативной конформации белковой молекулы под действием различных дестабилизирующих факторов. Аминокислотная последовательность белка не изменяется. Приводит к потере белками их естественных свойств (растворимости, гидрофильности и др.)

Слайд 10



Слайд 11



Слайд 12



Слайд 13

Белковые семейства

- На основе эволюционных связей.
- Обычно связаны с геномными семействами.
- Белки в семействе происходят от общего предка и, как правило, имеют сходные трехмерные структуры, функции и значительное сходство последовательностей.
- Наиболее важным является сходство последовательностей (обычно аминокислотная последовательность), поскольку оно является самым строгим показателем гомологии и, следовательно, самым ярким показателем общего происхождения.
- В настоящее время определено более 60 000 семейств белков



Слайд 14

Ресурсы, посвящённые семействам белков

- Pfam
- PROSITE
- InterPro
- PASS2
- SUPERFAMILY
- SCOP и CATH-классификация белков по семействам, суперсемействам и доменам
- Существуют также специализированные поисковые механизмы:
 - BLAST— поиск по последовательностям ДНК
 - BLASTp— поиск по последовательностям белков

Слайд 15

Аминокислоты – мономеры полипептидной цепи



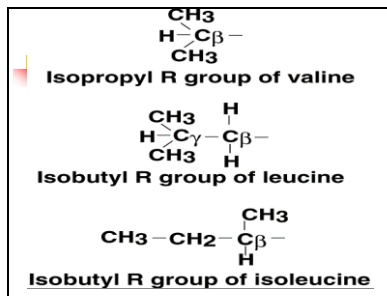
Аминокислоты содержат **амино** ($-\text{NH}_2$), и **карбокси** группы ($-\text{COOH}$), атом водорода, боковую цепь (радикал), все они связаны с атомом углерода ($\alpha\text{-C}$)

Слайд 16

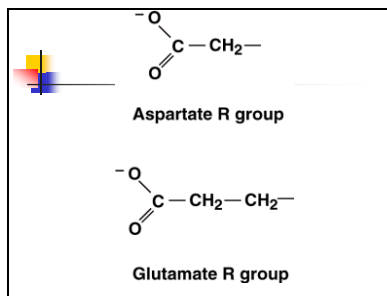
Аминокислоты, образующие полипептидную цепь

- 20 базовых аминокислот различаются только боковыми радикалами.
- Одна из 20 аминокислот, **пролин**, **иминокислота** ($-\text{NH}$).

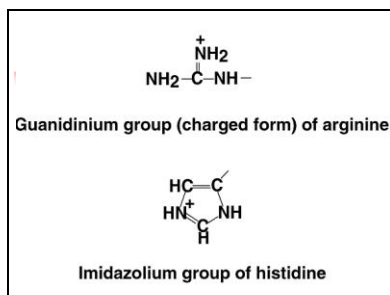
Слайд 17



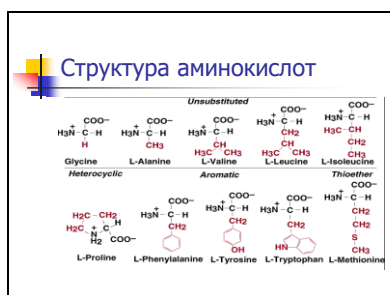
Слайд 18



Слайд 19



Слайд 20



Слайд 21



Слайд 22

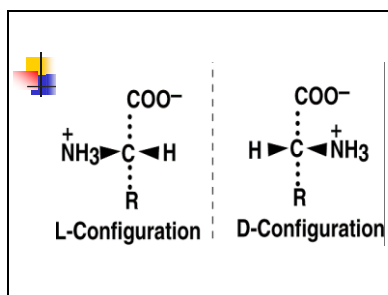
Номенклатура аминокислот	
alanine - ala - A	leucine - leu - L
arginine - arg - R	lysine - lys - K
asparagine - asn - N	methionine - met - M
aspartic acid - asp - D	phenylalanine - phe - F
cysteine - cys - C	proline - pro - P
glutamine - gln - Q	serine - ser - S
glutamic acid - glu - E	threonine - thr - T
glycine - gly - G	tryptophan - trp - W
histidine - his - H	tyrosine - tyr - Y
isoleucine - ile - I	valine - val - V

Слайд 23

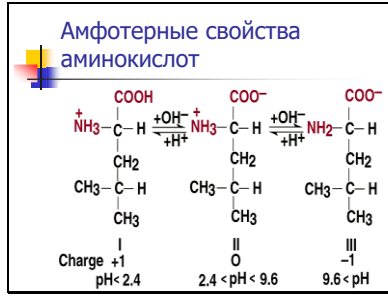
Оптическая изомерия

- За исключением глицина, все аминокислоты содержат один ассиметричный углеродный атом.
- **Энантимеры.**
 - **L-Аминокислоты** включаются в белки.
 - **D-Аминокислоты** найдены в бактериальных продуктах (e.g., in cell walls) и во многих пептидах антибиотиках.

Слайд 24



Слайд 25



Слайд 26

Некоторые аминокислоты имеют боковые радикалы, содержащие диссоциирующие группы

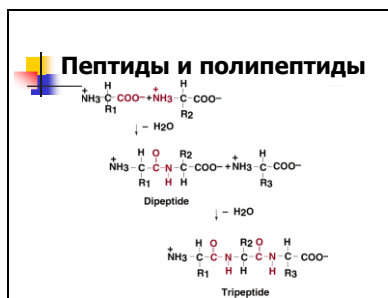
- **Боковые радикалы**
 - Аспарат и глутамат - кислые;
 - Гистидин аргинин и глицин - основные.
- **Диссоциация функциональных групп**
 - Диссоциация этих групп определяется pH раствора. Для каждой группы есть свое значение pK_a.
 - Например, глутамат имеет три диссоциирующих протона со значениями pK_a 2.19, 4.25, and 9.67.

Слайд 27

Post-translational modification

- **Гидроксирование** - добавление (—OH) групп к некоторым остаткам пролина и лизина в коллагене и желатине
- **Метилирование** – добавление (—CH₃) группы к лизину и гистидину в мышечном миозине
- **Карбоксилирование** - добавление (—COOH) групп к глутамату в протромбине
- **Фосфорилирование** добавление (—PO₃) групп к остаткам серина, треонина и тирозина.
Дефосфорилирование обратный процес.

Слайд 28

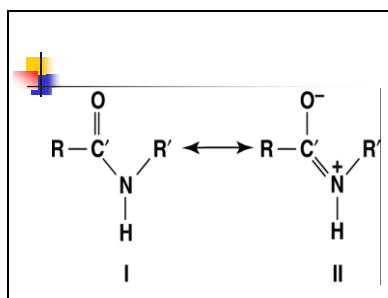


Слайд 29

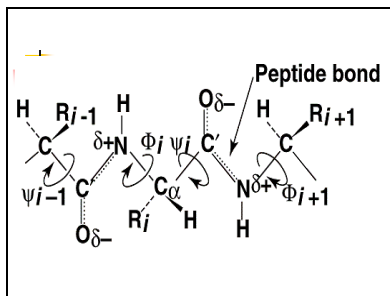
Пептидная связь

- Образование пептидной связи эндорганический процесс.
- Пептидная связь и все атомы прилегающие к ней лежат в одной плоскости. —CN— связь является частично двойной.
- Аминокислоты, входящие в полипептид обычно называются аминокислотными остатками.

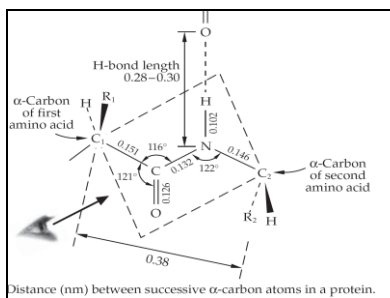
Слайд 30



Слайд 31



Слайд 32



Слайд 33

Конформация белка

Каждый белок в нативном состоянии имеет уникальную трехмерную структуру.

- Изменения конформации белков лежит в основе их функционирования.
- 4 уровня организации 3D структуры белка:

Слайд 34

Первичная структура

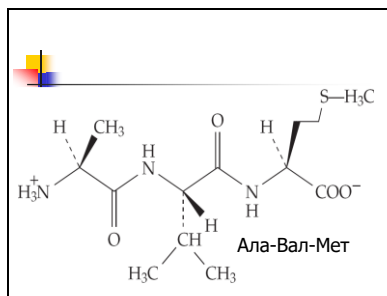
- Последовательность аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями.
- Последовательность кодируется ДНК и определяет конечную 3-х мерную структуру.
 - **N-terminal amino acid**
 - **C-terminal amino acid**
 - Ala-Glu-Lys

Слайд 35

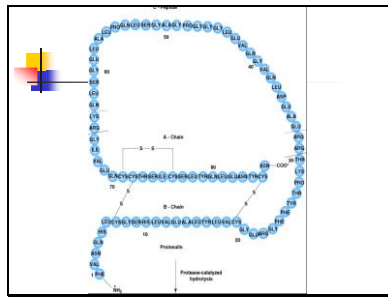
Изменения аминокислотных последовательностей

- **Замены:**
 - W26C значит, что 26 аминокислота (Триптофан, W) заменена на Цистеин (C)
 - W26X denotes that amino acid 26 (Tryptophan, W) is changed to a stop codon (X)
- **Делеции** обозначаются как "del" K29del в последовательности **СКМГНQQQCC** (C is amino acid 28) обозначает делецию аминокислоты Lysine 29 (K) к **СМГНQQQCC**

Слайд 36



Слайд 37

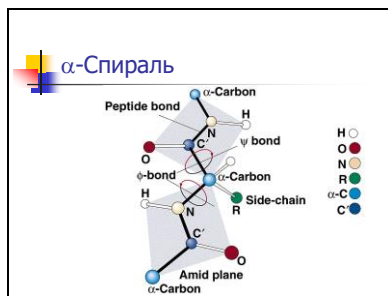


Слайд 38

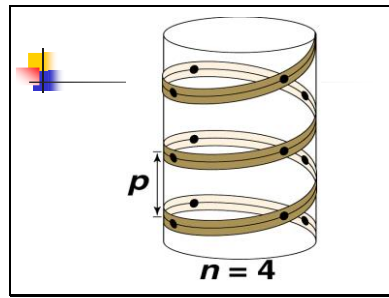
Вторичная структура -
конформация остова
полипептидной цепи

- Пространственное расположение, т.е. конформация, соседних аминокислотных остатков в полипептидной цепи
- Формируется в результате образования водородных связей

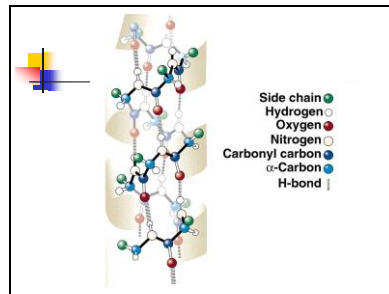
Слайд 39



Слайд 40



Слайд 41

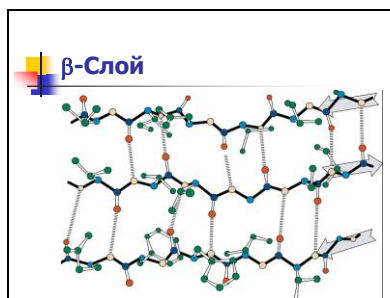


Слайд 42

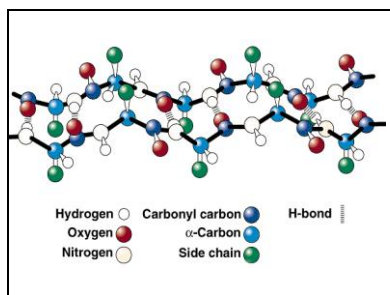
α -helix α -спираль

- The α -helix is стержнеобразную структуру с пептидными связями, скрученными плотно внутри, и боковые цепи остатков, выступающих наружу
- Каждый -CO взаимодействует с водородом, -NH пептидной связи, расположенной через четыре остатка от него.
- 3.6 аминокислотных остатка на один оборот спирали, спираль правозакрученная.

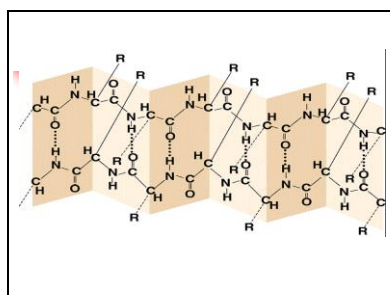
Слайд 43




Слайд 44



Слайд 45




Слайд 46



β-складчатый слой

- β-цепью (β-chain) или β-тяжем (β-strand) называют участок полипептидной цепи длиной от 3 до 10 аминокислот, в вытянутой, практически линейной форме; β-листок (β-sheet) называют структуру из как минимум двух β-цепочек, которые связаны между собой водородными связями.
- Соседние β-тяжи в β-листе расположены таким образом, что их Cα-атомы находятся рядом и их боковые цепи указывают в одном направлении.
- Складчатая структура β-тяжа объясняется тем, что углы φ и ψ (между Cα и C=O и Cα и N-H, соответственно) меньше, чем 180° (-139° и +135°), что приводит к зигзагоподобной форме цепи.
- Антипараллельное расположение более предпочтительно, поскольку в этом случае межцепочечные водородные связи ориентированы параллельно друг другу и перпендикулярны оси симметрии β-листа.


Слайд 48



Третичная структура

- Способ свертывания полипептидных цепей глобулярных белков в компактную сферическую глобулу мы будем называть третичной структурой
- В большинстве случаев внутри глобулы гидрофобная зона, а снаружи гидрофильная

Слайд 49



Укладка или фолдинг третичной структуры

- Вторичная структура
- Мотивы структуры
- Домены
- Нативная конформация

Слайд 50

Мотив ?

- **Мотив в аминокислотной последовательности** - набор консервативных остатков, важных для функции белка и расположенных на определенном (обычно коротком) расстоянии друг от друга в последовательности.
- **Мотив структуры (структурный мотив)** - часто встречающийся в белках элемент пространственной структуры (α -спираль, β -шпилька, β -поворот).

В общем случае, структурные мотивы не обязательно соответствуют мотивам в аминокислотных последовательностях.

Один домен может содержать один или несколько мотивов в аминокислотной последовательности. Мотив может не входить в домены.

Не в любом выравнивании легко найти мотив

Слайд 51

Основные мотивы

The diagram illustrates several common protein motifs: α Helix-loop-helix, α Coiled coil, α Helix bundle, β Fold sheet, β Hairpin, β Sheet, α Crank leg, and β Sandwich. Each motif is represented by a schematic drawing showing the arrangement of secondary structure elements.

Prentice Hall ©2002 Chapter 3 51

Слайд 52

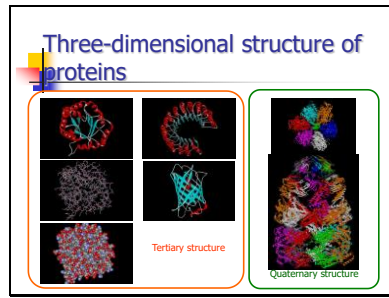
Домен – единица эволюции, структуры и функции белков.

Домен – компактная, относительно независимо сворачивающаяся структура, относительно консервативная в процессе эволюции.

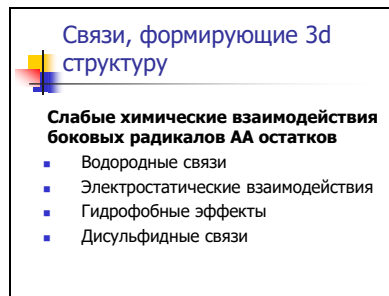
Белки могут состоять из одного или многих доменов.

The diagram shows a linear sequence of amino acids represented by colored spheres. Two regions are highlighted: a green region labeled 'SECRET' and a blue region labeled 'EFL'. Below the diagram, there is a small note: '© 2000-2004, Сандерс, Гарланд, Уайтман, Фрейденла

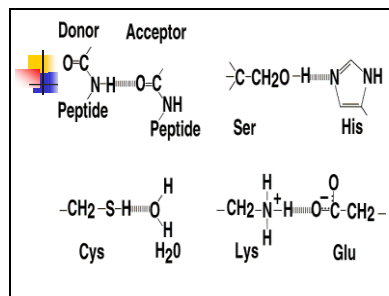
Слайд 54



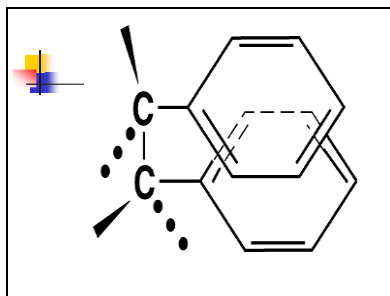
Слайд 55



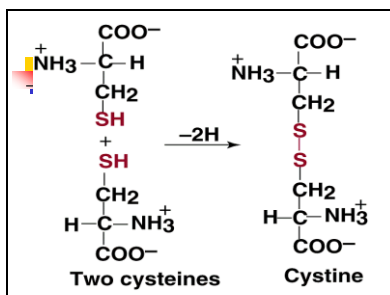
Слайд 56



Слайд 57



Слайд 58




Слайд 59

Центр связывания белка с лигандом, или активный центр

- На поверхности глобулы образуется участок, который может присоединять к себе другие молекулы, называемые **лигандами**.
- **Центр связывания с лигандом, или активный центр**, формируется из радикалов аминокислотных остатков, сближенных на уровне третичной структуры. В линейной пептидной цепи они могут находиться на расстоянии, значительно удаленном друг от друга.


Слайд 60



- Белки проявляют **высокую специфичность** (избирательность) при взаимодействии с лигандом.
- Высокая специфичность взаимодействия белка с лигандом обеспечивается комплементарностью структуры активного центра структуре лиганда. **Комплементарность** — это пространственное и химическое соответствие взаимодействующих поверхностей.
- В основе функционирования белков лежит их специфическое взаимодействие с лигандами.

Слайд 61

Кинетика связывания белка с лигандом


$$[L] + [P] \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} [LP] \xrightarrow{\alpha} \text{effect}$$

At equilibrium:
 $[L] \times [P] \times k_1 = [LP] \times k_{-1}$
so that: $\frac{[LP]}{[L][P]} = \frac{k_1}{k_{-1}}$

k_1/k_{-1} = конст. аффинности
 k_{-1}/k_1 = конст. диссоциации (k_d)

k_{-1}/k_1 = dissociation constant (k_d)

the lower the k_d the more potent the ligand

Слайд 62

Drug - Receptor Binding


$$L + P \xrightleftharpoons[\text{Affinity}]{\text{Affinity}} LP \text{ Complex}$$

Аффинность – мера сродства лиганда к протеину

- Ковалентные связи стабильны и необратимы
- Электростатические связи могут быть сильными или слабыми, но обычно обратимы

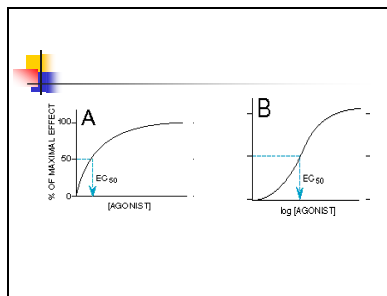
Слайд 63

Drug Receptor Interaction

LP Complex \longrightarrow Effect

Эффективность (или внутренняя активность) – способность связанного лиганта вызывать эффект.

Слайд 64



Слайд 65

Агонисты и антагонисты

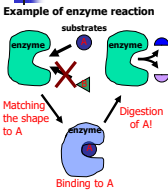
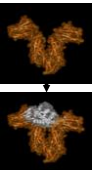
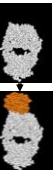
- agonist has affinity plus intrinsic activity
- antagonist has affinity but no intrinsic activity
- partial agonist has affinity and *less* intrinsic activity
- competitive antagonists can be overcome

Graph A: % OF MAXIMAL EFFECT vs log [DRUG]. Shows the effect of an agonist (X) and a competitive antagonist (Z) together. The curve for X+Z is shifted to the left compared to X alone, indicating a lower EC₅₀, but reaches the same maximal effect.

Graph B: % OF MAXIMAL EFFECT vs log [AGONIST]. Shows the effect of an agonist (X) and a non-competitive antagonist (Y) together. The curve for X+Y is lower than the curve for X alone, indicating a lower maximal effect.

Слайд 66

Close relationship between protein structure and its function

Example of enzyme reaction  <p>Matching the shape to A</p> <p>Binding to A</p> <p>Digestion of A!</p>	Hormone receptor 	Antibody 
--	--	--

Слайд 67

Четвертичная структура

- Под термином четвертичной структуры понимают расположение полипептидных цепей, входящих в состав отдельных субъединиц, относительно друг друга, т.е. способ их совместной укладки и упаковки с образованием нативной конформации олигомерного белка

Слайд 68

Гемоглобин и его производные

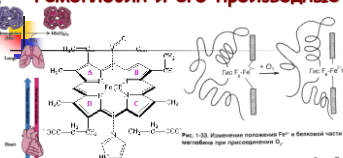


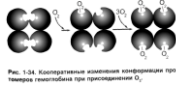
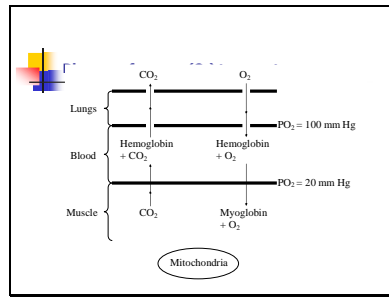
	
	

Рис. 1.33. Электронное расположение Fe²⁺ в безводной части гемоглобина при присоединении O₂
Рис. 1.34. Кооперативное изменение конформации при переходе гемоглобина при присоединении O₂

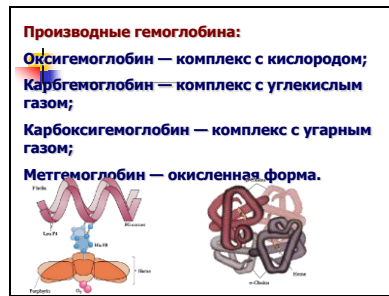
Слайд 69



Слайд 70



Слайд 71

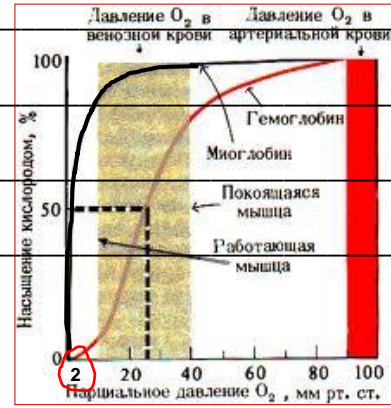


Слайд 72

Гемоглобин – тетрамер (4 СЕ), которые содержат 4 гема, 4 иона Fe^{2+} - обратимо связывает четыре молекулы кислорода.

Рис. Кривые насыщения кислородом миоглобина и гемоглобина

При парциальном P кислорода 1-2 мм рт.ст. миоглобин на 50% насыщен кислородом. Кривая насыщения имеет вид гиперболы. При парциальном P 20 мм рт.ст. – насыщение 95%.



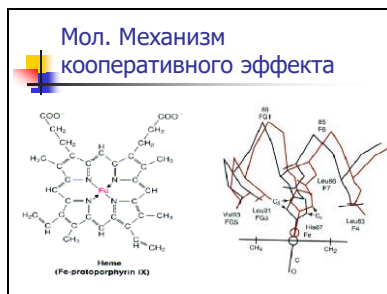
Слайд 73

У Hb более низкое сродство к кислороду, кривая насыщения имеет сигмоидную (S-образную) форму.

Это означает, что при связывании первой молекулы кислорода ($P_{50}O_2 = 10$ мм рт.ст.) Hb имеет низкое сродство к кислороду, при связывании следующих молекул O_2 это сродство увеличивается (почти в 500 раз) – крутая часть кривой.

Такой обмен информацией между 4 гемодержжащими СЕ называется кооперативным взаимодействием.


Слайд 74



Слайд 75

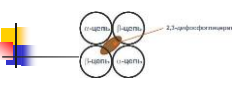
Сигмоидная кривая, полученная для гемоглобина, характерна для белков, содержащих несколько пептидных цепей и имеющих несколько мест связывания. В данном случае проявляется положительный кооперативный эффект.

В эритроцитах имеется высокое содержание 2,3-дифосфоглицерата, способного оказывать сильное влияние на связывание гемоглобина с кислородом. Связывание гемоглобина с 2,3-дифосфоглицератом происходит по аллостерическому центру Hb.



ООС Р О
1 СН-О-Р-О- О
2 СН₂ О
3 О-Р=О
 О
 О ДЕГ

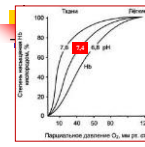
Слайд 76



2,3-Дифосфоглицерат располагается в центральной полости тетрамера дезоксигемоглобина и связывается с β-цепями, образуя связь между атомами кислорода 2,3-ДЕГ и аминокгруппами концевого **валина** обеих β-цепей.

Функция 2,3-дифосфоглицерата заключается в **снижении** сродства гемоглобина к кислороду. Это имеет особенное значение при подъеме на высоту, при нехватке кислорода во вдыхаемом воздухе. В тканях за счет увеличения содержания 2,3-дифосфоглицерата отдача кислорода **возрастает в 2 раза**. Такое повышение наблюдается у людей при гипоксии, вызванной заболеваниями легких.

Слайд 77



Изменение pH среды

Влияние pH на сродство гемоглобина к кислороду носит название эффекта Бора. При закислении среды сродство снижается, при защелачивании – повышается.

При повышении концентрации Н⁺ (снижение pH) в тканях возрастает освобождение кислорода из оксигемоглобина.

Кроме кислорода Hb осуществляет перенос двух конечных продуктов тканевого дыхания Н⁺ и СО₂. Перенос протонов (1 молекула Hb может переносить 4 Н⁺) делает гемоглобин участником буферной системы.
