

ФУНКЦИЯ БЕЛКОВ КЛЕТКИ

Пардаева Сохиба

Самарканд государственный медицинский институт кафедра медицинцки
химия ассистент.

Жумаева Фаёза

Самарканд государственный медицинский институт факультет фармация.

Ахмедов Асрор

Самарканд государственный медицинский институт факультет фармация.

АННОТАЦИЯ

В этой статье обсуждается история белков, формы и структуры белков, функция белков клетки.

Ключевые слова: Фибрин, Геррит Мульдер, рентгеноструктурного анализ, размер белков

ABSTRACT

This article discusses the history of proteins, the shape and structure of proteins, the function of cell proteins

Key words: Fibrin, Gerrit Mulder, X-ray diffraction analysis, protein size

ВВЕДЕНИЕ

Антуан Франсуа де Фуркруа, основоположник изучения белков Впервые белок был получен (в виде клейковины) в 1728 г. итальянцем Якопо Бартоломео Беккари из пшеничной муки. Белки были выделены в отдельный класс биологических молекул в XVIII веке в результате работ французского химика Антуана де Фуркруа и других учёных, в которых было отмечено свойство белков коагулировать (денатурировать) под воздействием нагревания или кислот. В то время были исследованы такие белки, как альбумин («яичный белок»), фибрин (белок из крови) и глютен из зерна пшеницы.

МЕТОДЫ

В начале XIX века уже были получены некоторые сведения об элементарном составе белков, было известно, что при гидролизе белков образуются аминокислоты. Некоторые из этих аминокислот (например глицин и лейцин) уже были охарактеризованы. Голландский химик Геррит Мульдер на основе анализа химического состава белков выдвинул гипотезу, что практически все белки имеют сходную эмпирическую формулу. В 1836 году Мульдер предложил первую модель химического

строения белков. Основываясь на теории радикалов, он после нескольких уточнений пришёл к выводу, что минимальная структурная единица белка обладает следующим составом: $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$. Эту единицу он назвал «протеином» (Pr) (от греч. протос — первый, первичный), а теорию — «теорией протеина»^[4]. Сам термин «протеин» был предложен ещё шведским химиком Якобом Берцелиусом^[5]. Согласно представлениям Мульдера, каждый белок состоит из нескольких протеинных единиц, серы и фосфора. Например, он предложил записывать формулу фибрина как 10PrSP. Мульдер также исследовал продукты разрушения белков — аминокислоты и для одной из них (лейцина) с малой долей погрешности определил молекулярную массу — 131 дальтон. По мере накопления новых данных о белках теория протеина стала подвергаться критике, но, несмотря на это, до конца 1850-х всё ещё считалась общепризнанной.

К концу XIX века было исследовано большинство аминокислот, которые входят в состав белков. В конце 1880-х гг. русский учёный А. Я. Данилевский отметил существование пептидных групп (CO—NH) в молекуле белка^{[6][7]}. В 1894 году немецкий физиолог Альбрехт Коссель выдвинул теорию, согласно которой именно аминокислоты являются основными структурными элементами белков^[8]. В начале XX века немецкий химик Эмиль Фишер экспериментально доказал, что белки состоят из аминокислотных остатков, соединённых пептидными связями. Он же осуществил первый анализ аминокислотной последовательности белка и объяснил явление протеолиза.

Однако центральная роль белков в организмах не была признана до 1926 года, когда американский химик Джеймс Самнер (впоследствии — лауреат Нобелевской премии по химии) показал, что фермент уреазы является белком^[9].

Сложность выделения чистых белков затрудняла их изучение. Поэтому первые исследования проводились с использованием тех полипептидов, которые легко могли быть очищены в большом количестве, то есть белков крови, куриных яиц, различных токсинов, а также пищеварительных/метаболических ферментов, выделяемых после забоя скота. В конце 1950-х годов компания *Armour Hot Dog Co.* смогла очистить килограмм бычьей панкреатической рибонуклеазы А, которая стала экспериментальным объектом для многих исследований.

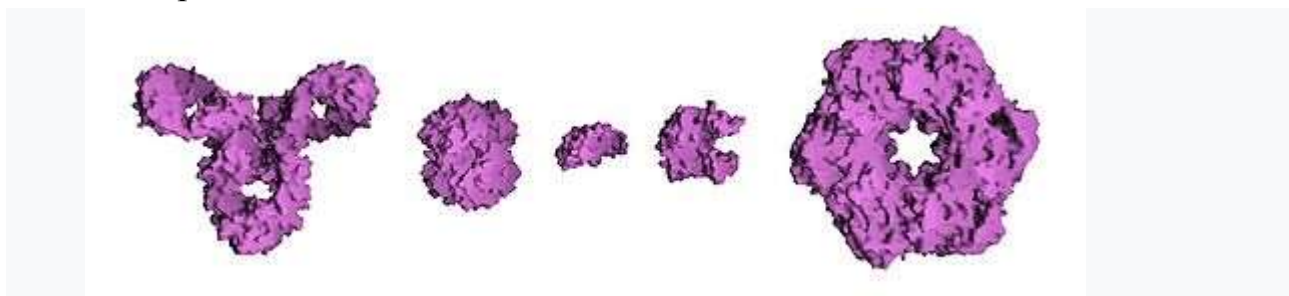
Идея о том, что вторичная структура белков — результат образования водородных связей между аминокислотными остатками, была

высказана Уильямом Астбери в 1933 году, но Лайнус Полинг считается первым учёным, который смог успешно предсказать вторичную структуру белков. Позднее Уолтер Каузман, опираясь на работы Кая Линнерстрём-Ланга, внёс весомый вклад в понимание законов образования третичной структуры белков и роли в этом процессе гидрофобных взаимодействий. В конце 1940-х — начале 1950-х годов Фредерик Сенгер разработал метод секвенирования белков, с помощью которого он к 1955 году определил аминокислотную последовательность двух цепей инсулина^{[10][11][12]}, продемонстрировав, что белки — это линейные полимеры аминокислот, а не разветвлённые (как у некоторых сахаров) цепи, коллоиды или циклолы. Первым белком, аминокислотную последовательность которого установили советские/российские учёные, стала в 1972 году аспаратаминотрансфераза^{[13][14]}.

Первые пространственные структуры белков, полученные методом дифракции рентгеновских лучей (рентгеноструктурного анализа) стали известны в конце 1950-х — начале 1960-х годов, а структуры, открытые с помощью ядерного магнитного резонанса — в 1980-х годах. В 2012 году Банк данных о белках (Protein Data Bank) содержал около 87 000 структур белков^[15].

В XXI веке исследование белков перешло на качественно новый уровень, когда исследуются не только индивидуальные очищенные белки, но и одновременное изменение количества и посттрансляционных модификаций большого числа белков отдельных клеток, тканей или целых организмов. Эта область биохимии называется протеомикой. С помощью методов биоинформатики стало возможно не только обработать данные рентгеноструктурного анализа, но и предсказать структуру белка, основываясь на его аминокислотной последовательности. В настоящее время криоэлектронная микроскопия крупных белковых комплексов и предсказание пространственных структур белковых доменов с помощью компьютерных программ приближаются к атомарной точности^[16].

Размер



Сравнительный размер молекул белков. Слева направо: антитело (IgG) (150 кДа), гемоглобин (66,8 кДа), гормон инсулин, фермент аденилаткиназа и фермент глутаминсинтетаза.

Размер белка может измеряться в числе аминокислотных остатков или в дальтонах (молекулярная масса), но из-за относительно большой величины молекулы масса белка выражается в производных единицах — килодальтонах (кДа). Белки дрожжей, в среднем, состоят из 466 аминокислотных остатков и имеют молекулярную массу 53 кДа. Самый большой из известных в настоящее время белков — титин — является компонентом саркомеров мускулов; молекулярная масса его различных вариантов (изоформ) варьирует в интервале от 3000 до 3700 кДа. Титин камбаловидной мышцы (лат. *soleus*) человека состоит из 38 138 аминокислот^[17].

Для определения молекулярной массы белков применяют такие методы, как гель-фильтрация, электрофорез в полиакриламидном геле, масс-спектрометрический анализ, седиментационный анализ и другие^[18].

Физико-химические свойства

Белки обладают свойством амфотерности, то есть в зависимости от условий проявляют как кислотные, так и основные свойства. В белках присутствуют несколько типов химических группировок, способных к ионизации в водном растворе: карбоксильные остатки боковых цепей кислых аминокислот (аспарагиновая и глутаминовая кислоты) и азотсодержащие группы боковых цепей основных аминокислот (в первую очередь, ϵ -аминогруппа лизина и амидиновый остаток $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ аргинина, в несколько меньшей степени — имидазольный остаток гистидина). Каждый белок характеризуется изоэлектрической точкой (pI) — кислотностью среды (pH), при которой суммарный электрический заряд молекул данного белка равен нулю и, соответственно, они не перемещаются в электрическом поле (например при электрофорезе). В изоэлектрической точке гидратация и растворимость белка минимальны. Величина pI зависит от соотношения кислых и основных аминокислотных остатков в белке: у белков, содержащих много кислых аминокислотных остатков, изоэлектрические точки лежат в кислой области (такие белки называют кислыми), а у белков, содержащих больше основных остатков, — в щелочной (основные белки). Значение pI данного белка также может меняться в зависимости от ионной силы и типа буферного раствора, в котором он находится, так как нейтральные соли влияют на степень ионизации

химических группировок белка. pI белка можно определить, например из кривой титрования или с помощью изоэлектрофокусирования^[18].

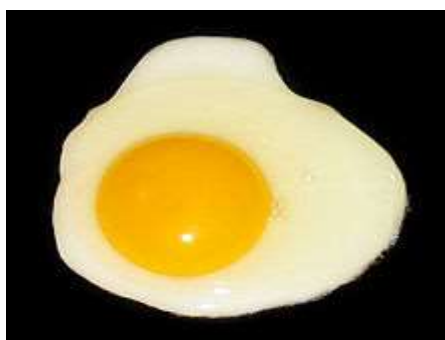
В целом, pI белка зависит от выполняемой им функции: изоэлектрическая точка большинства белков тканей позвоночных лежит в пределах от 5,5 до 7,0, однако в некоторых случаях значения лежат в экстремальных областях: так, например, для пепсина — протеолитического фермента сильнокислого желудочного сока pI ~ 1^[19], а для сальмина — белка-протамина молока лосося, особенностью которого является высокое содержание аргинина, — pI ~ 12. Белки, связывающиеся с нуклеиновыми кислотами за счёт электростатического взаимодействия с фосфатными группами, часто являются основными белками. Примером таких белков служат гистоны и протамины.

Растворимость

Белки различаются по степени растворимости в воде. Водорастворимые белки называются альбуминами, к ним относятся белки крови и молока. К нерастворимым, или склеропротеинам, относятся, например, кератин (белок, из которого состоят волосы, шерсть млекопитающих, перья птиц и т. п.) и фиброин, входящий в состав шёлка и паутины^[20]. Растворимость белка определяется не только его структурой, но внешними факторами, такими как природа растворителя, ионная сила и pH раствора^[18].

Белки также делятся на гидрофильные и гидрофобные. К гидрофильным относится большинство белков цитоплазмы, ядра и межклеточного вещества, в том числе нерастворимые кератин и фиброин. К гидрофобным относится большинство белков, входящих в состав биологических мембран, — интегральных мембранных белков, которые взаимодействуют с гидрофобными липидами мембраны^[21] (у этих белков, как правило, есть и гидрофильные участки).

Денатурация



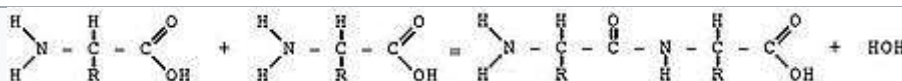
Деструкция белка куриного яйца под воздействием высокой температуры

Денатурацией белка называют любые изменения в его биологической активности и/или физико-химических свойствах, связанные с потерей четвертичной, третичной или вторичной структуры (см. раздел «Структура белка»). Как правило, белки достаточно стабильны в тех

условиях (температура, pH и др.), в которых они в норме функционируют в организме^[9]. Резкое изменение этих условий приводит к денатурации белка. В зависимости от природы денатурирующего агента выделяют механическую (сильное перемешивание или встряхивание), физическую (нагревание, охлаждение, облучение, обработка ультразвуком) и химическую (кислоты и щёлочи, поверхностно-активные вещества, мочевины) денатурацию^[18].

Денатурация белка может быть полной или частичной, обратимой или необратимой. Самый известный случай необратимой денатурации белка в быту — это приготовление куриного яйца, когда под воздействием высокой температуры растворимый в воде прозрачный белок овальбумин становится плотным, нерастворимым и непрозрачным. Денатурация в некоторых случаях обратима, как в случае осаждения водорастворимых белков с помощью солей аммония (метод высаливания), и этот метод используется как способ их очистки^[22].

Структура



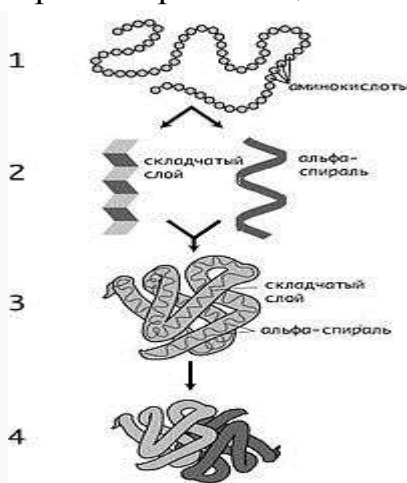
Схематическое изображение образования пептидной связи (справа). Подобная реакция происходит в молекулярной машине, синтезирующей белок, — рибосоме

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулы белков представляют собой линейные полимеры, состоящие из остатков α -L-аминокислот (которые являются мономерами), также в состав белков могут входить модифицированные аминокислотные остатки и компоненты неаминокислотной природы. Для обозначения аминокислот в научной литературе используются одно- или трёхбуквенные сокращения. Хотя на первый взгляд может показаться, что использование в большинстве белков «всего» 20 видов аминокислот ограничивает разнообразие белковых структур, на самом деле количество вариантов трудно переоценить: для цепочки из 5 аминокислотных остатков оно составляет уже более 3 миллионов, а цепочка из 100 аминокислотных остатков (небольшой белок) может быть представлена более чем в 10^{130} вариантах. Цепочки длиной от 2 до нескольких десятков аминокислотных остатков часто называют пептидами, при большей степени полимеризации — белками, хотя это деление весьма условно.

При образовании белка в результате взаимодействия α -карбоксильной группы (-COOH) одной аминокислоты с α -аминогруппой (-NH₂) другой аминокислоты образуются пептидные связи. Концы белка называют N- и С-концом, в зависимости от того, какая из групп концевого аминокислотного остатка свободна: -NH₂ или -COOH, соответственно. При синтезе белка на рибосоме первым (N-концевым) аминокислотным остатком обычно является остаток метионина, а последующие остатки присоединяются к С-концу предыдущего.

Уровни организации



Уровни структурной организации белков: 1 — первичная, 2 — вторичная, 3 — третичная, 4 — четвертичная

К. Линдстрём-Ланг предложил выделять 4 уровня структурной организации

белков: первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры. Хотя такое деление несколько устарело, им продолжают пользоваться^[4]. Первичная структура (последовательность аминокислотных остатков) полипептида определяется структурой его гена и генетическим кодом, а структуры более высоких порядков формируются в процессе сворачивания белка^[23]. Хотя пространственная структура белка в целом определяется его аминокислотной последовательностью, она является довольно лабильной и может зависеть от внешних условий, поэтому более правильно говорить о предпочтительной или наиболее энергетически выгодной конформации белка^[4].

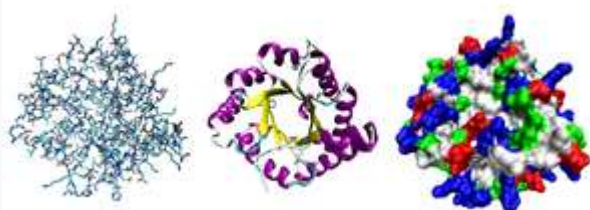
Вторичная структура — локальное упорядочивание фрагмента полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями. Ниже приведены самые распространённые типы вторичной структуры белков^[23]:

• α -спирали — плотные витки вокруг длинной оси молекулы. Один виток составляет 3,6 аминокислотных остатка, шаг спирали равен 0,54 нм^[25] (на один аминокислотный остаток приходится 0,15 нм). Спираль стабилизирована водородными связями между Н и О пептидных групп, отстоящих друг от друга на 4 звена. Хотя α -спираль может быть как левозакрученной, так и правозакрученной, в белках преобладает правозакрученная. Спираль нарушают электростатические взаимодействия глутаминовой кислоты, лизина, аргинина. Расположенные близко друг к другу остатки аспарагина, серина, треонина и лейцина могут стерически мешать образованию спирали, остатки пролина вызывают изгиб цепи и тоже нарушают α -спирали;

• β -листы (складчатые слои) — несколько зигзагообразных полипептидных цепей, в которых водородные связи образуются между относительно удалёнными друг от друга (0,34 нм на аминокислотный остаток^[26]) аминокислотами в первичной структуре или разными цепями белка (а не близко расположенными, как в α -спирали). Эти цепи обычно направлены N-концами в противоположные стороны (антипараллельная ориентация) или в одну сторону (параллельная β -структура). Также возможно существование смешанной β -структуры, состоящей из параллельной и антипараллельной β -структур^[27]. Для образования β -листов важны небольшие размеры боковых групп аминокислот, преобладают обычно глицин и аланин;

- π -спирали;
- 3_{10} -спирали;
- неупорядоченные фрагменты.

Третичная структура



Разные способы изображения трёхмерной структуры белка на примере триозофосфатизомеразы. Слева — «стержневая» модель, с изображением всех атомов и связей между ними; цветами показаны элементы. В середине — мотив укладки. Справа — контактная поверхность белка, построенная с учётом ван-дер-ваальсовых радиусов атомов; цветами показаны особенности активности участков

Третичная структура — пространственное строение полипептидной цепи. Структурно состоит из элементов вторичной структуры, стабилизированных различными типами взаимодействий, в которых гидрофобные взаимодействия играют важнейшую роль. В стабилизации третичной структуры принимают участие:

- ковалентные связи (между двумя остатками цистеина — дисульфидные мостики);
- ионные связи между противоположно заряженными боковыми группами аминокислотных остатков;
- водородные связи;
- гидрофобные взаимодействия. При взаимодействии с окружающими молекулами воды белковая молекула сворачивается так, чтобы неполярные боковые группы аминокислот оказались изолированы от водного раствора; на поверхности молекулы оказываются полярные гидрофильные боковые группы.

Исследования принципов укладки белков показали, что между уровнем вторичной структуры и атомарной пространственной структурой удобно выделять ещё один уровень — мотив укладки (архитектура, структурный мотив). Мотив укладки определяется взаимным расположением элементов вторичной структуры (α -спиралей и β -тяжей) в пределах белкового домена — компактной глобулы, которая может существовать или сама по себе или входить в состав более крупного белка наряду с другими доменами. Рассмотрим для примера один из характерных мотивов строения белков. Изображённый на рисунке справа глобулярный белок, триозофосфатизомераза, имеет мотив укладки, который называется α/β -цилиндр: 8 параллельных β -тяжей формируют β -цилиндр внутри ещё одного цилиндра, сложенного из 8 α -спиралей. Такой мотив обнаруживается примерно в 10 % белков^[28].

Известно, что мотивы укладки являются довольно консервативными и встречаются в белках, которые не имеют ни функциональных, ни эволюционных связей. Определение мотивов укладки лежит в основе физической, или рациональной классификации белков (такой как CATH или SCOP)^[28].

Для определения пространственной структуры белка применяют методы рентгеноструктурного анализа, ядерного магнитного резонанса и некоторые виды микроскопии.

Четвертичная структура

Четвертичная структура (или субъединичная, доменная) — взаимное расположение нескольких полипептидных цепей в составе единого белкового комплекса. Белковые молекулы, входящие в состав белка с четвертичной структурой, образуются на рибосомах по отдельности и лишь после окончания синтеза образуют общую надмолекулярную структуру. В состав белка с четвертичной структурой могут входить как идентичные, так и различающиеся полипептидные цепочки. В стабилизации четвертичной структуры принимают участие те же типы взаимодействий, что и в стабилизации третичной. Надмолекулярные белковые комплексы могут состоять из десятков молекул.

Классификация по типу строения

По общему типу строения белки можно разбить на три группы:

1. Фибриллярные белки — образуют полимеры, их структура обычно высокорегулярна и поддерживается, в основном, взаимодействиями между разными цепями. Они образуют микрофиламенты, микротрубочки, фибриллы, поддерживают структуру клеток и тканей. К фибриллярным белкам относятся кератин и коллаген.
2. Глобулярные белки — водорастворимы, общая форма молекулы более или менее сферическая.
3. Мембранные белки — имеют пересекающие клеточную мембрану домены, но части их выступают из мембраны в межклеточное окружение и цитоплазму клетки. Мембранные белки выполняют функцию рецепторов, то есть осуществляют передачу сигналов, а также обеспечивают трансмембранный транспорт различных веществ. Белки-транспортёры специфичны, каждый из них пропускает через мембрану только определённые молекулы или определённый тип сигнала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Простые и сложные белки

Помимо пептидных цепей, в состав многих белков входят и неаминокислотные группы, и по этому критерию белки делят на две большие группы — простые и сложные белки (протеиды). Простые белки состоят только из полипептидных цепей, сложные белки содержат также неаминокислотные, или простетические, группы. В зависимости от химической природы простетических групп среди сложных белков выделяют следующие классы^[20]:

• Гликопротеины, содержащие в качестве простетической группы ковалентно связанные углеводные остатки; гликопротеины, содержащие остатки мукополисахаридов относятся к подклассу протеогликанов. В

образовании связи с углеводными остатками обычно участвуют гидроксильные группы серина или треонина. Большая часть внеклеточных белков, в частности, иммуноглобулины относится к гликопротеинам. В протеогликанах углеводная часть составляет ~95 % от общей массы молекулы белка, они являются основным компонентом межклеточного матрикса;

- Липопротеины, содержащие в качестве простетической части нековалентно связанные липиды. Липопротеины, образованные белками-аполипопротеинами и связывающимися с ними липидами, используются для транспорта липидов в крови;

- Металлопротеиды, содержащие негемовые координационно связанные ионы металлов. Среди металлопротеидов есть белки, выполняющие депонирующие и транспортные функции (например железосодержащие ферритин и трансферрин) и ферменты (например цинксодержащая карбоангидраза и различные супероксиддисмутазы, содержащие в активных центрах ионы меди, марганца, железа и других металлов);

- Нуклеопротеиды, содержащие нековалентно связанные ДНК или РНК. К нуклеопротеидам относится хроматин, из которого состоят хромосомы;

- Фосфопротеины, содержащие в качестве простетической группы ковалентно связанные остатки фосфорной кислоты. В образовании сложноэфирной связи с фосфатом участвуют гидроксильные группы серина, треонина и тирозина. Фосфопротеином, в частности, является казеин молока^[29];

- Хромопротеиды, содержащие окрашенные простетические группы различной химической природы. К ним относится множество белков с металлсодержащей порфириновой простетической группой, выполняющие разнообразные функции: гемопроотеины (белки, содержащие в качестве простетической группы гем, например гемоглобин и цитохромы), хлорофиллы, флавопротеиды с флавиновой группой и др.

REFERENCES

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. И др. Молекулярная биология клетки. В 3 томах. — М. Мир, 1994. — ISBN 5-03-001986-3.
2. Ленинджер А. Основы биохимии. В 3 томах. — М.: Мир, 1985.
3. Страйер Л. Биохимия. В 3 томах. — М. Мир, 1984.