

Лекция 3.

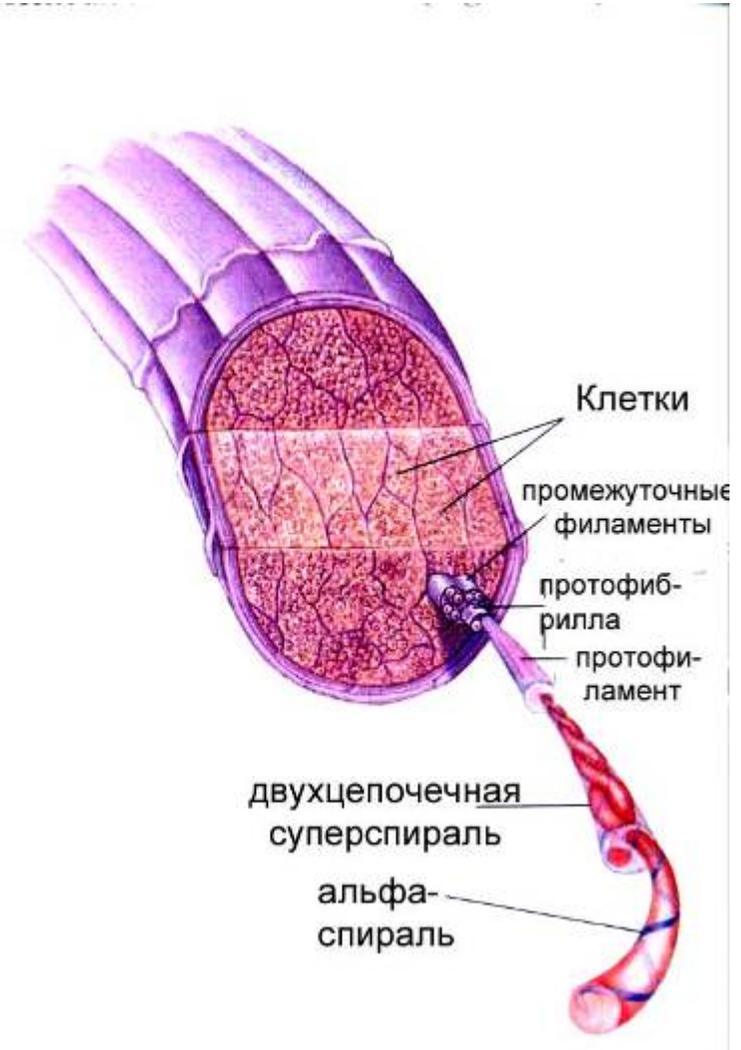
- 1. Функции белков и связь между их структурой и функцией.
- 2. Методы, используемые при работе с белками.

Функции белков

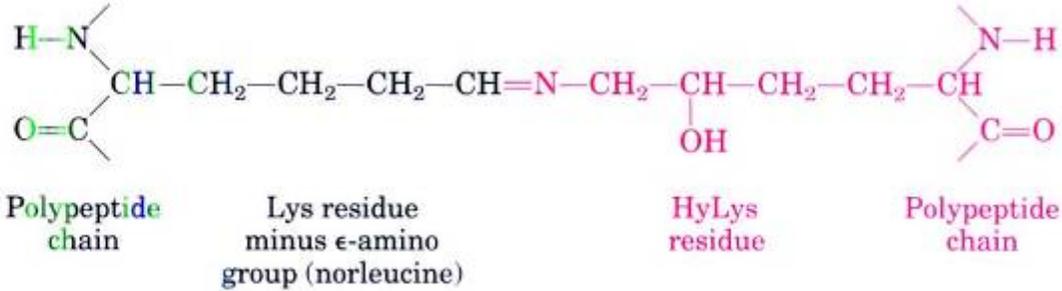
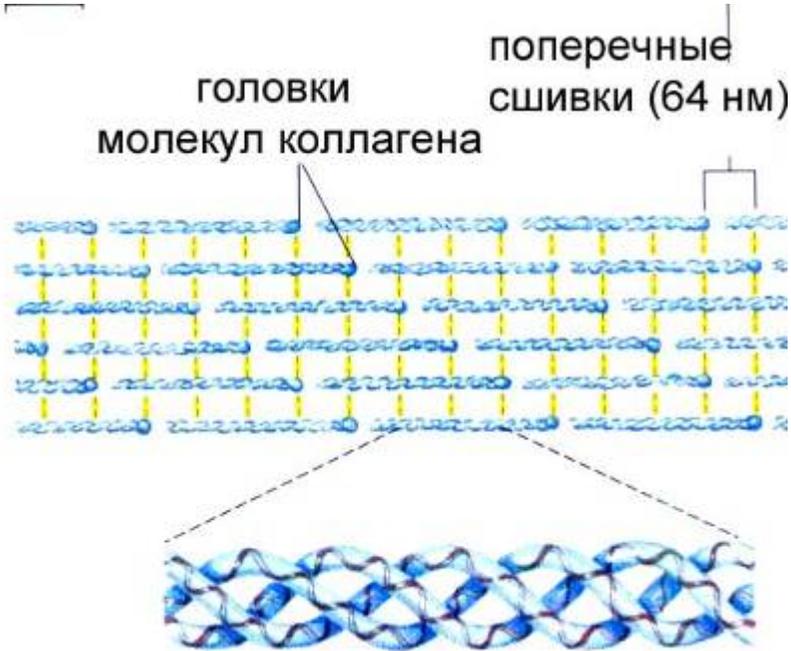
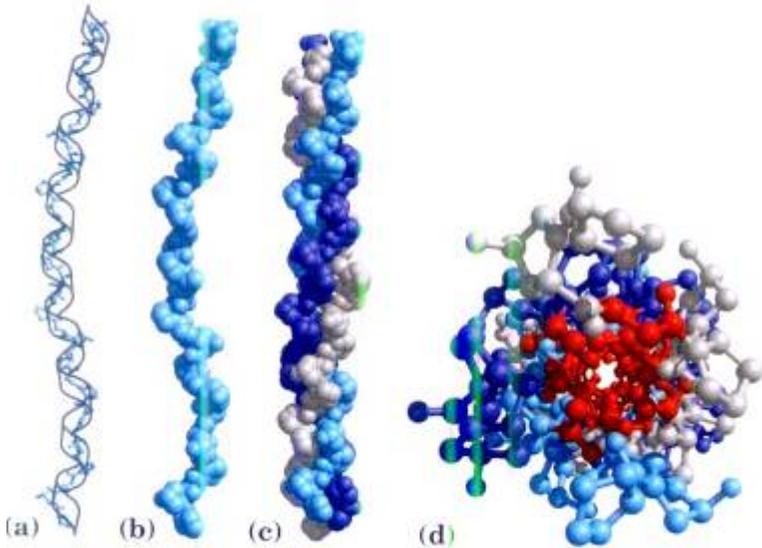
1. Ферментативная: многие белки – ферменты, катализирующие разнообразные химические реакции.
2. Строительная: белки входят в состав клеточных мембран, формируют фибриллы кератина, коллагена и т.п.
3. Транспортная: осуществляют перенос в крови кислорода (гемоглобин), липидов (липопротеиды крови), транспорт через мембрану клетки ионов и малых молекул (каналы, насосы)
4. Регуляторная: обеспечивают рецепцию сигналов, связывая сигнальные молекулы (рецепторы), сами являются сигнальными молекулами (некоторые гормоны), обеспечивают регуляцию ферментативной активности (ингибиторы и активаторы).
6. Защитная: иммунная система организма: основную функцию в ней играют антитела – белки, связывающие чужеродные для организма молекулы – антигены. Некоторые яды.
7. Сократительная: белки актин и миозин обеспечивают сократительную активность отдельных клеток и организма.
8. Энергетическая: аминокислоты, входящие в состав белков, могут окисляться с выделением энергии (1 г белка – 17,6 кДж).

Структура α -кератина и волос

Самое нежное вещество в природе состоит из кератина и меланина

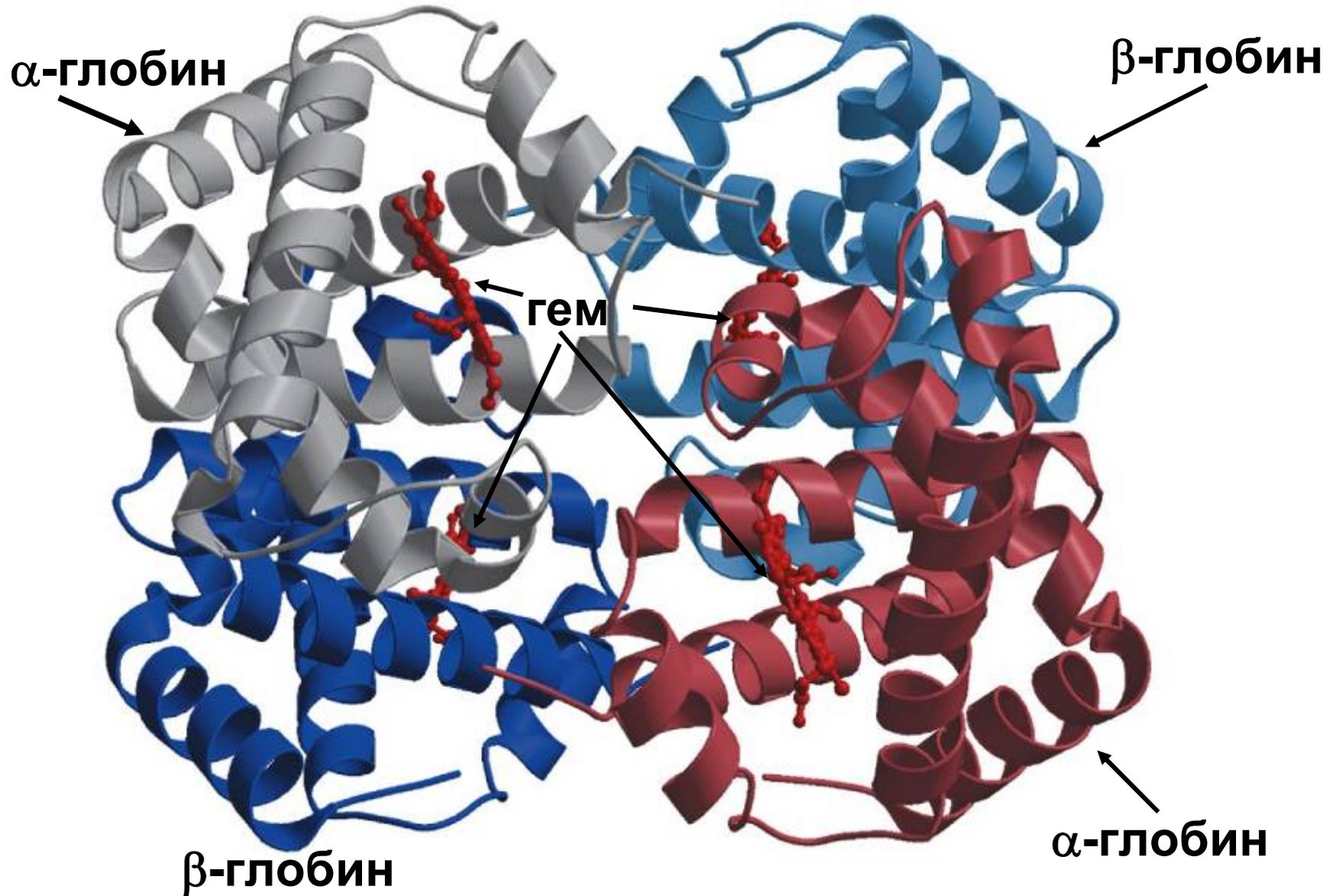


Структура коллагена



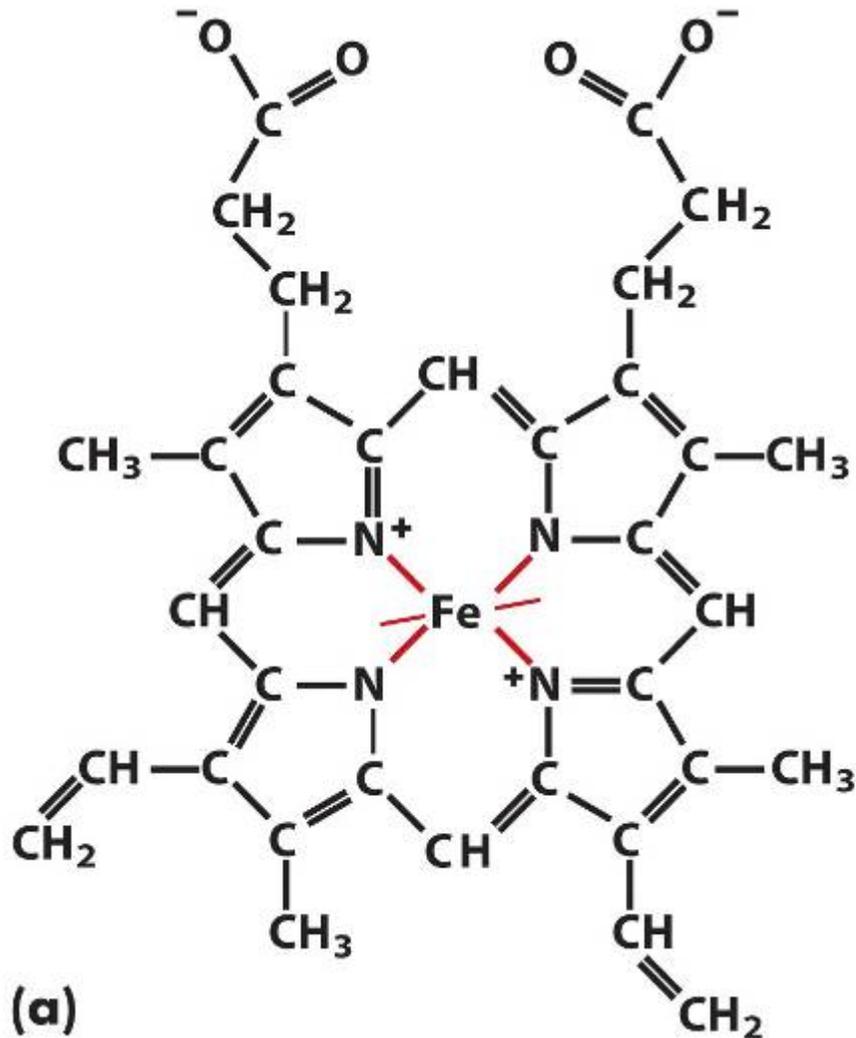
Dehydrohydroxylysinonorleucine

Молекула гемоглобина



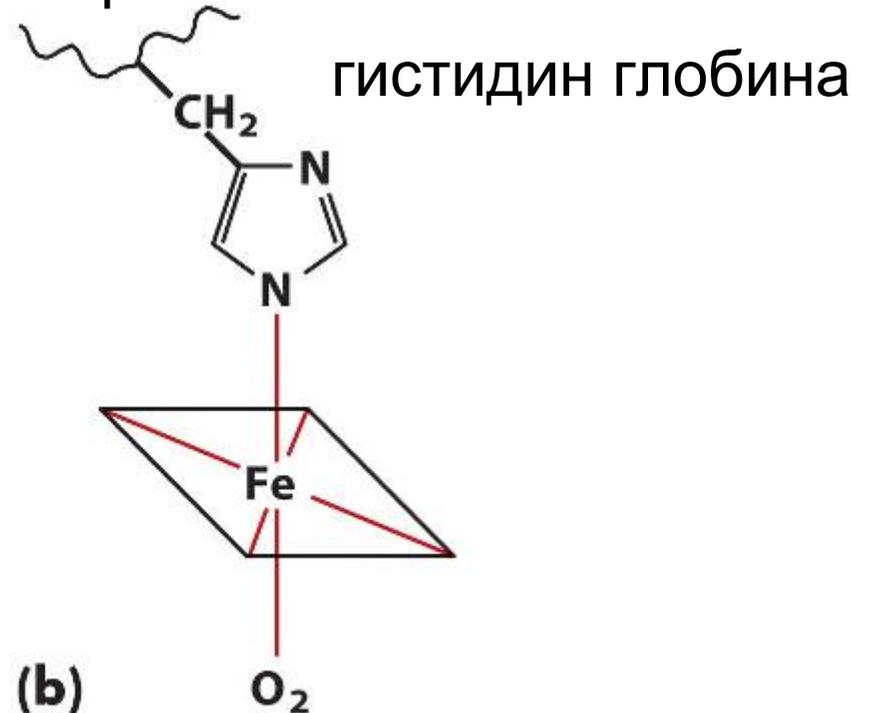
Молекула гема

Протопорфирин

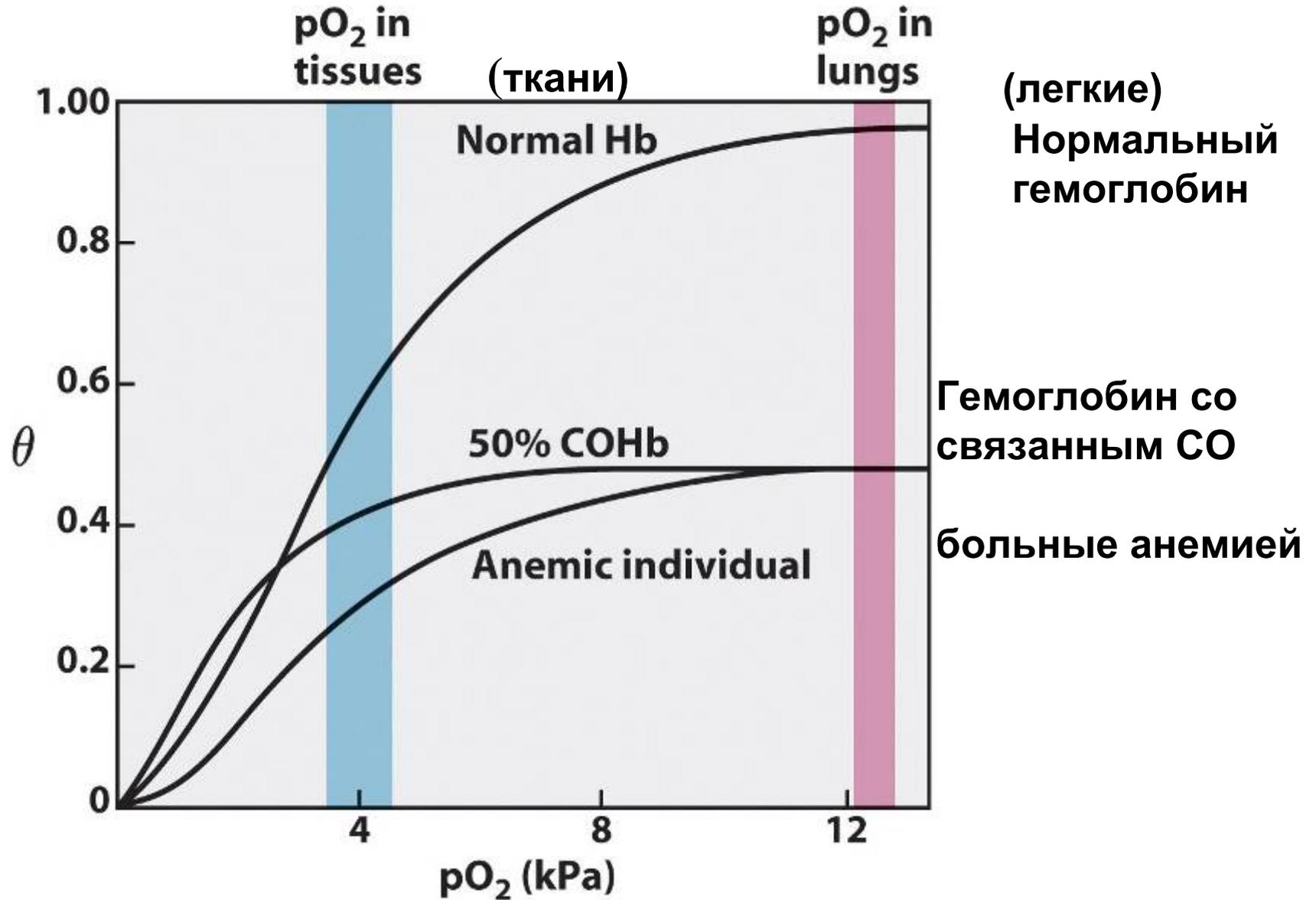


Атомы азота, связанные с Fe²⁺ координационными связями, предотвращают переход Fe²⁺ → Fe³⁺

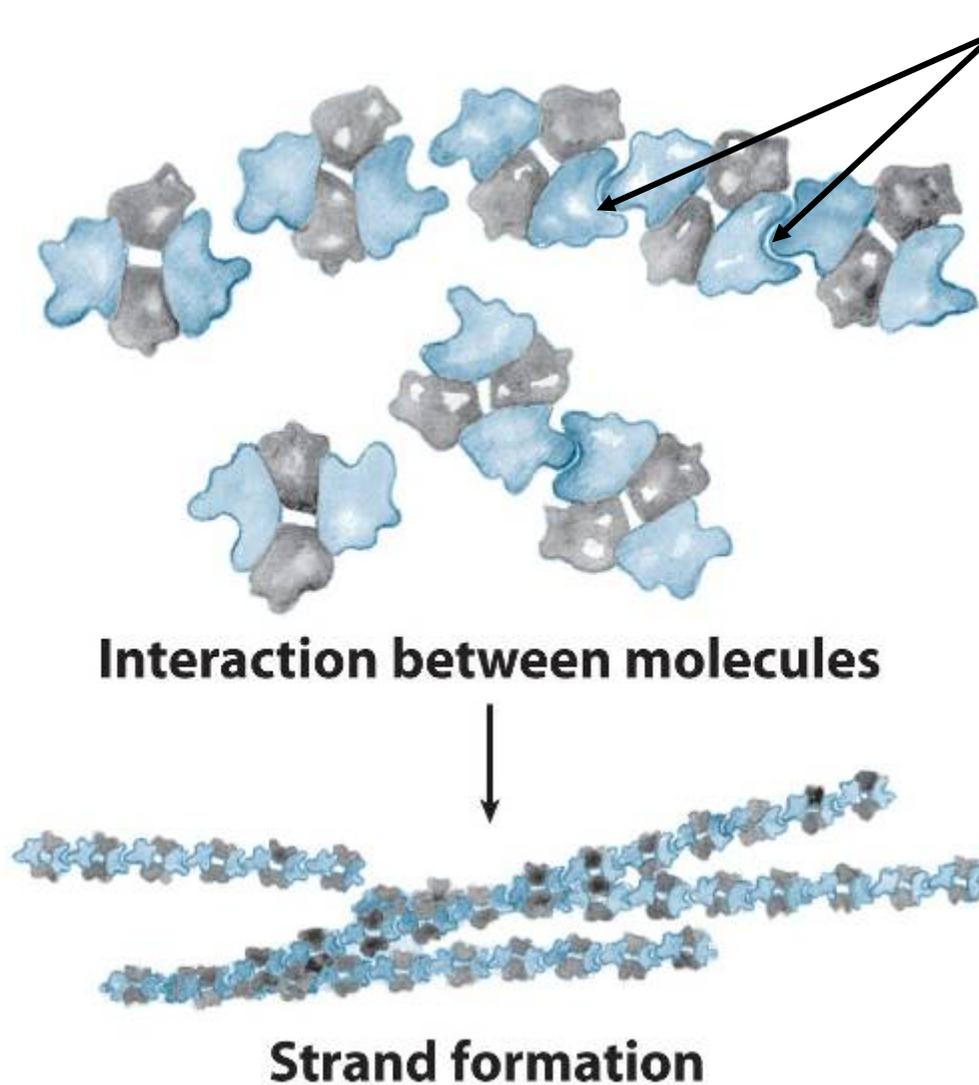
O₂ связывается с гемом обратимо



Кривая, описывающая связывание кислорода в зависимости от его парциального давления

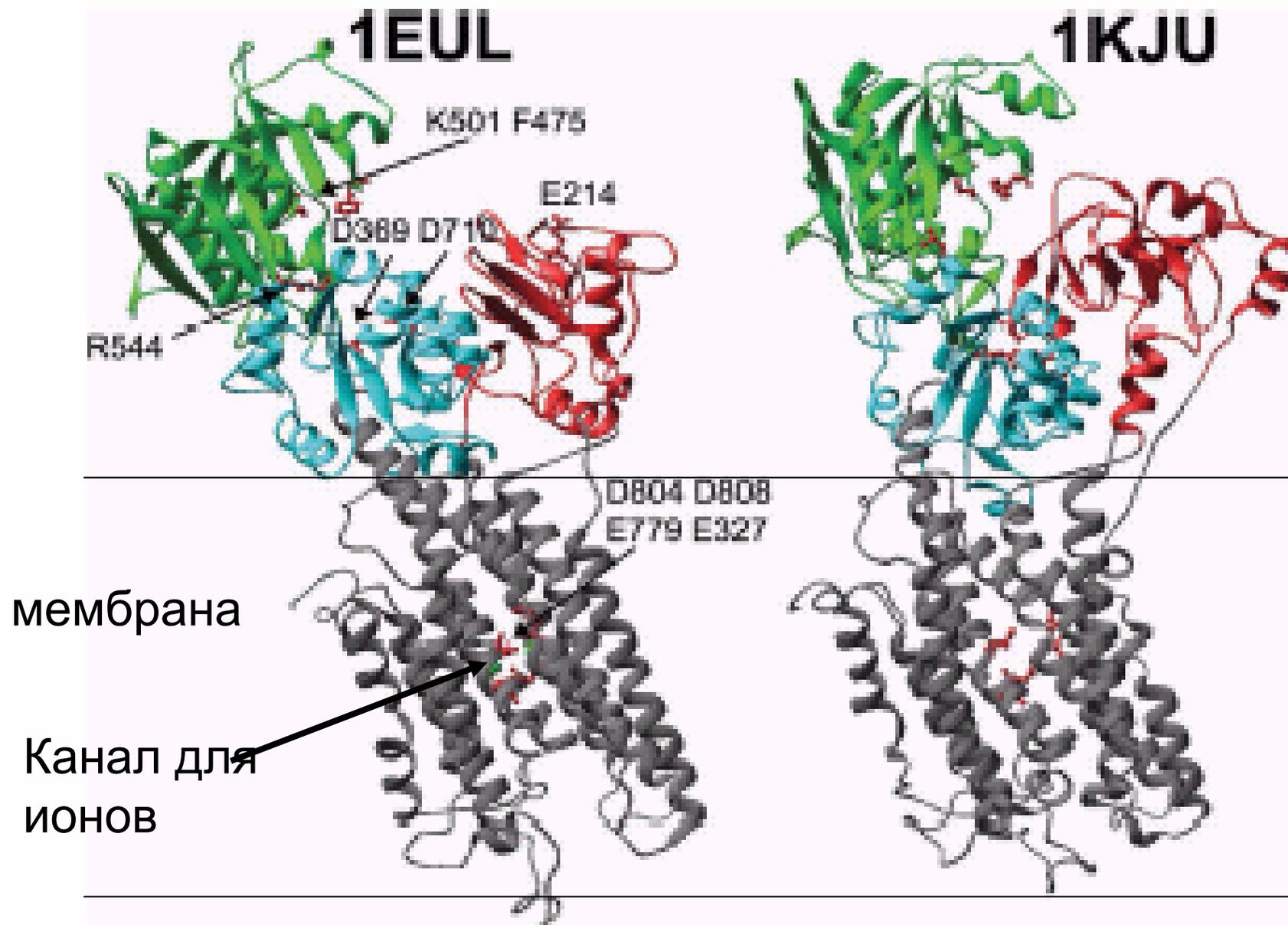


Серповидноклеточная анемия

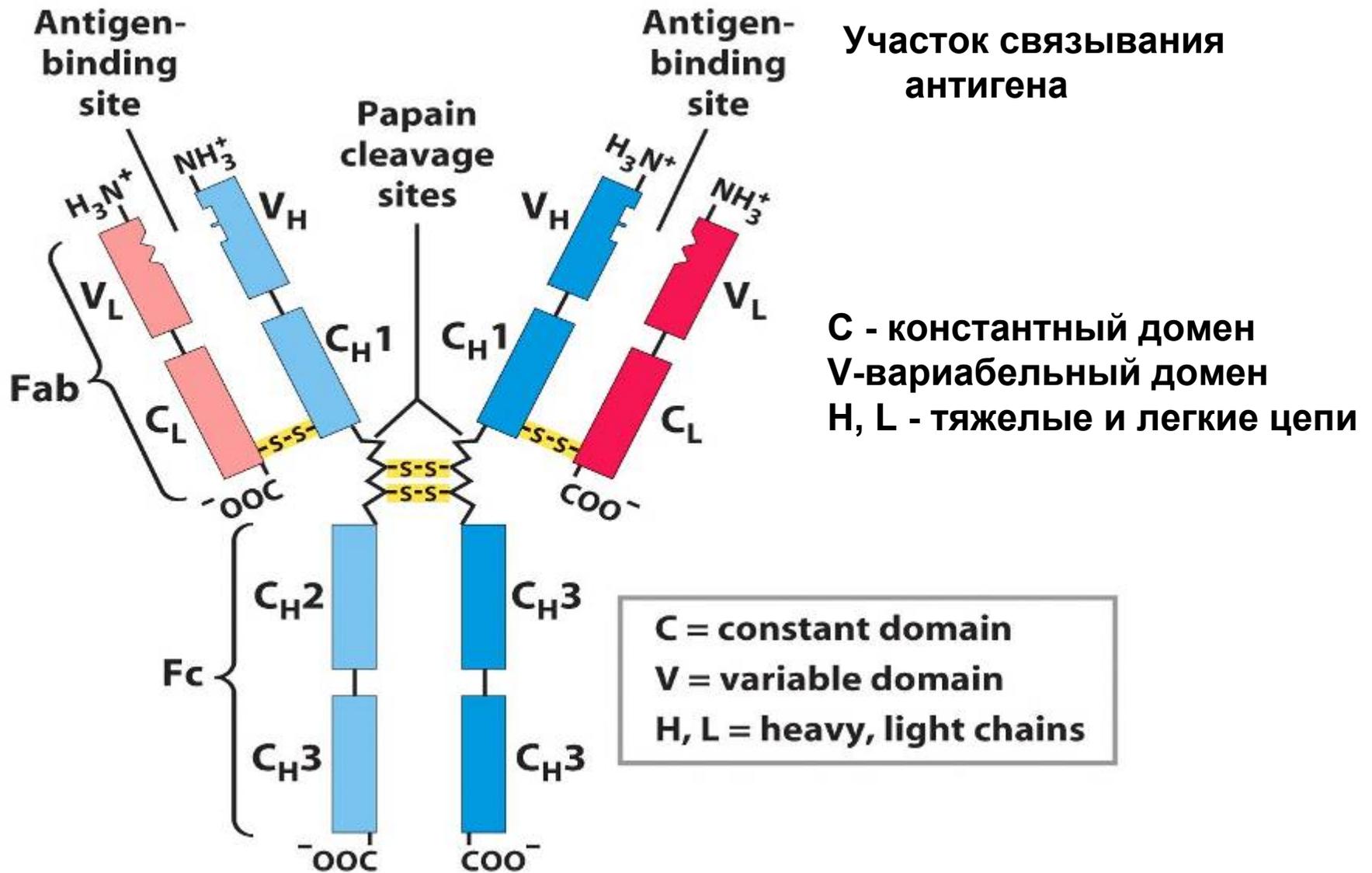


В S-гемоглобине происходит замена Glu на Val в 6 позиции двух β -цепей. После деоксигенации молекулы гемоглобина S взаимодействуют друг с другом, формируя фибриллы.

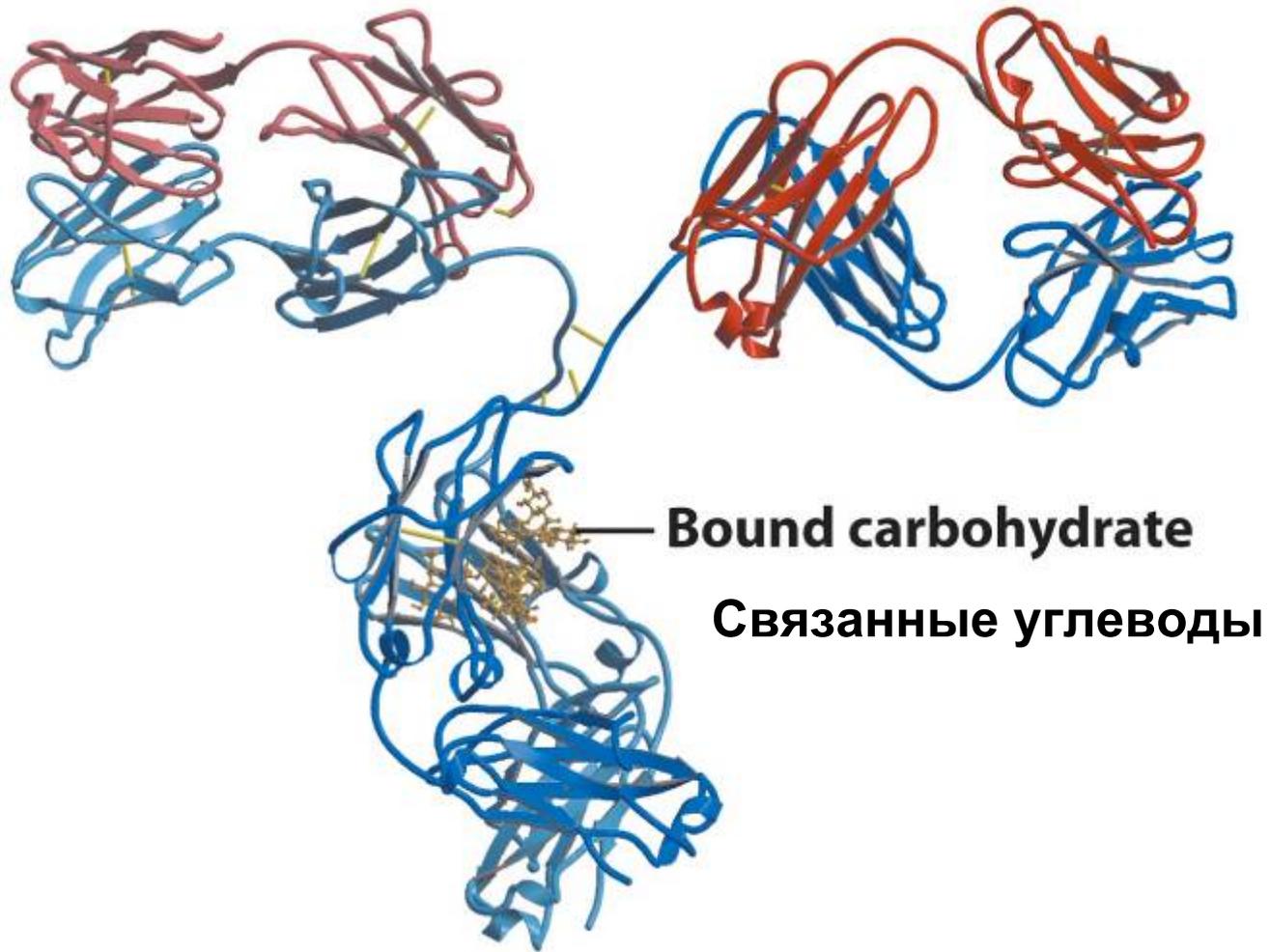
Транспортный белок мембраны – Na-насос



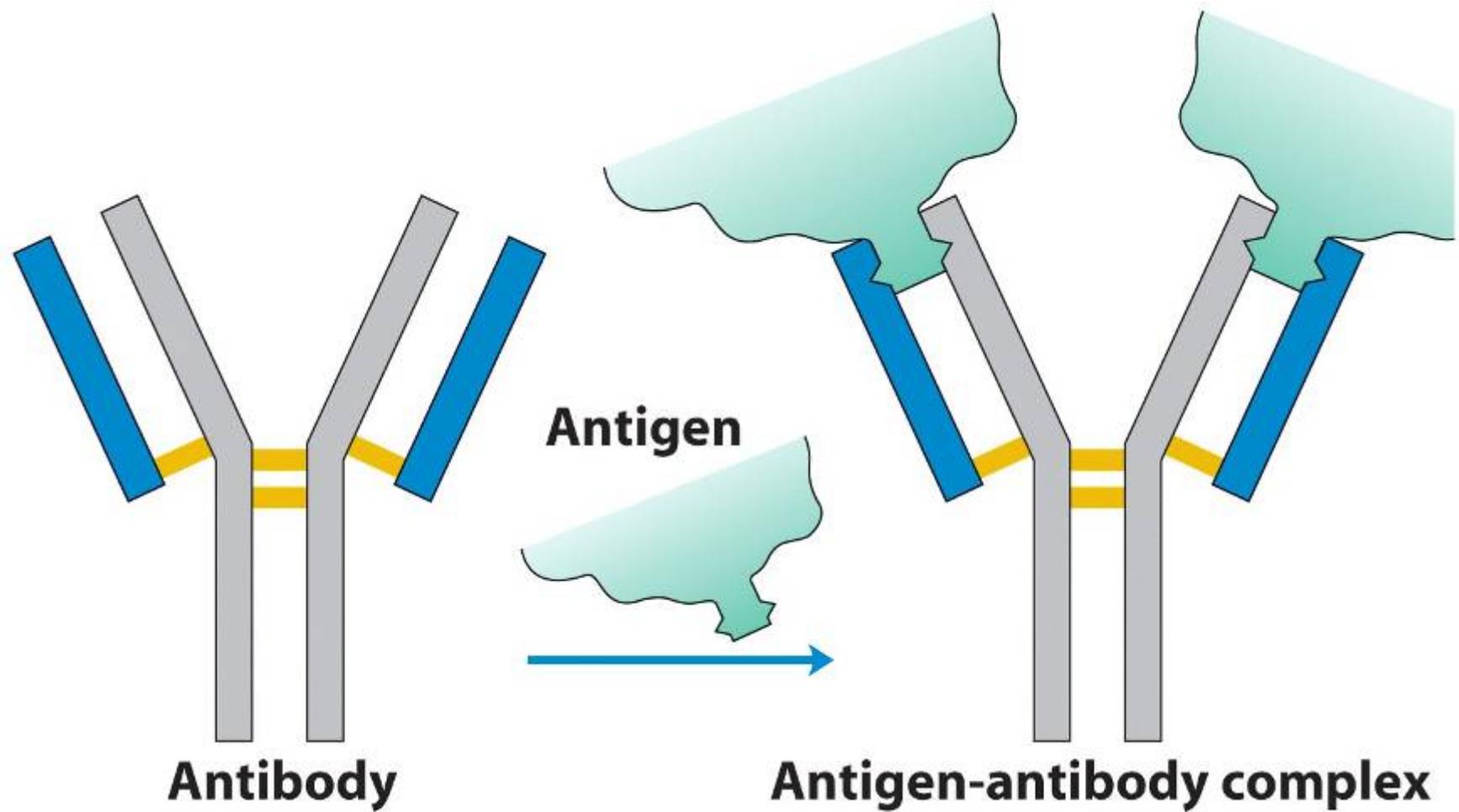
Антитела (структура иммуноглобулина G, схема)



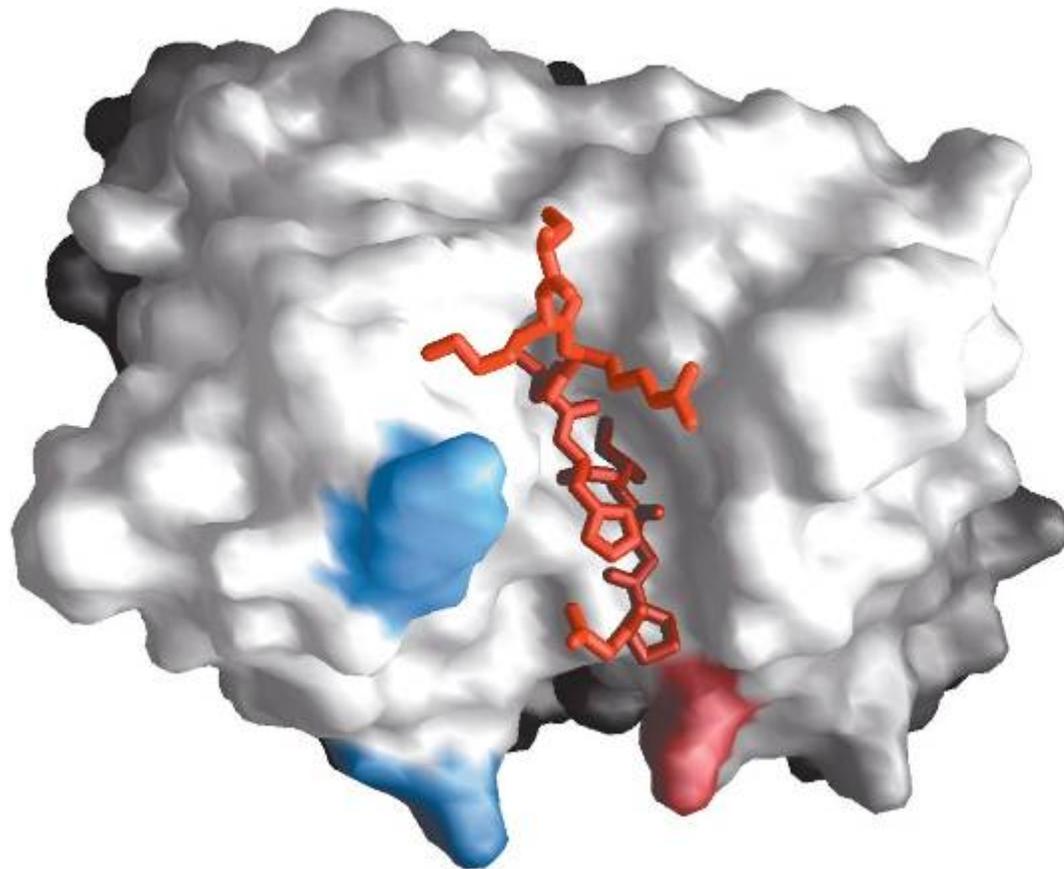
Модель иммуноглобулина G



Комплекс антиген-антитело (схема)

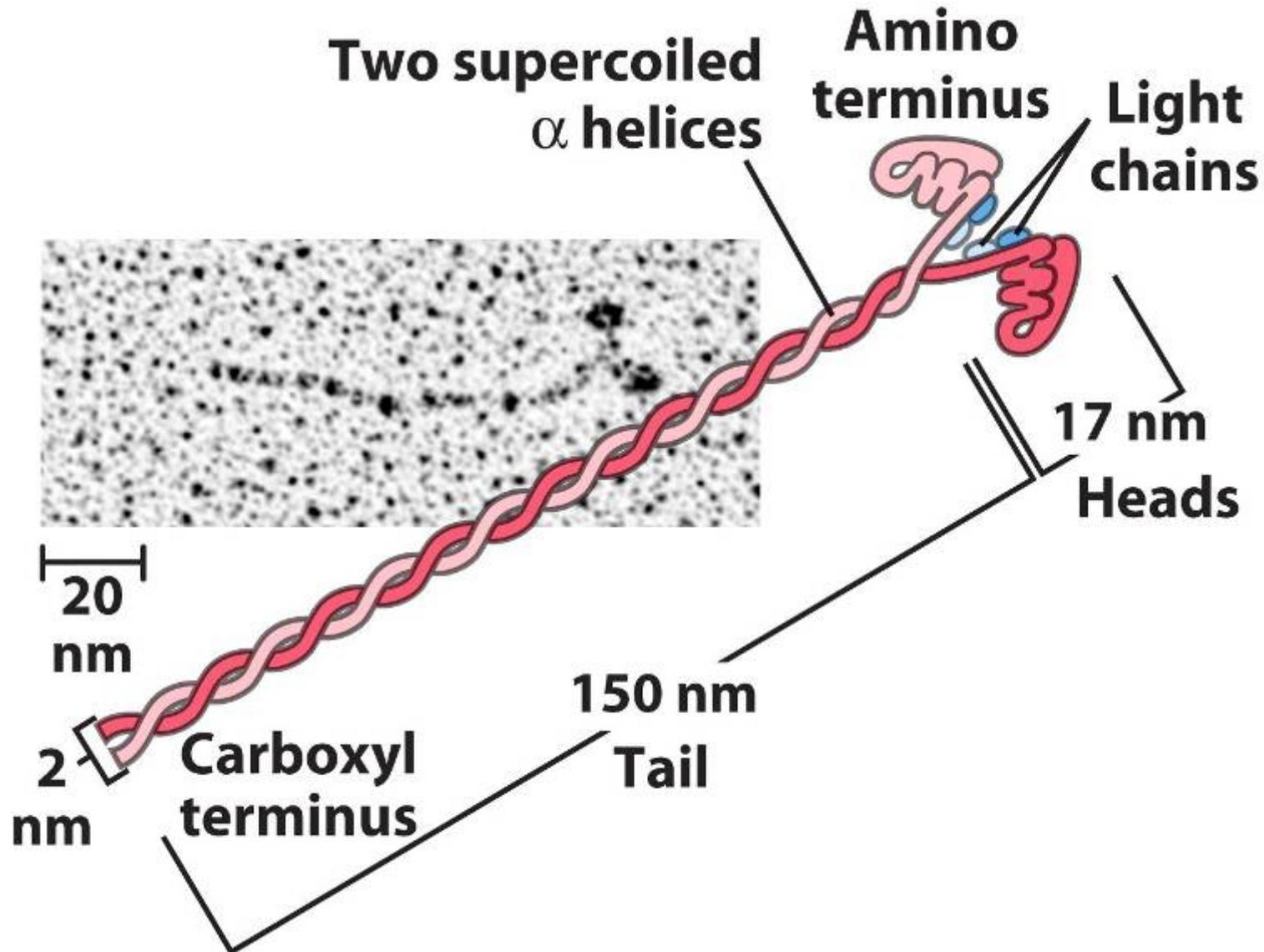


Комплекс антиген-антитело (модель)

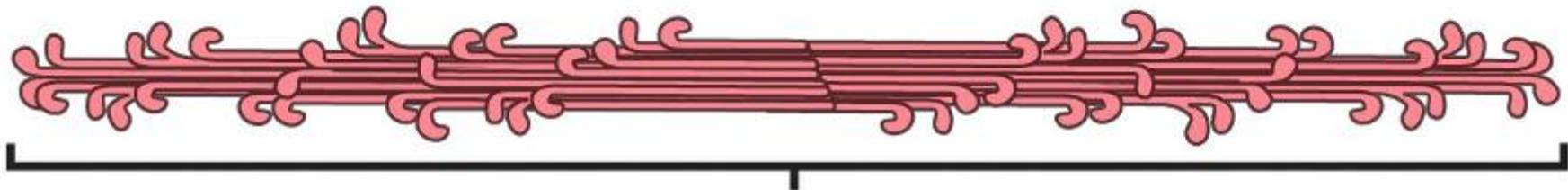


**Antigen
bound
(shown)**

Сократительный белок миозин

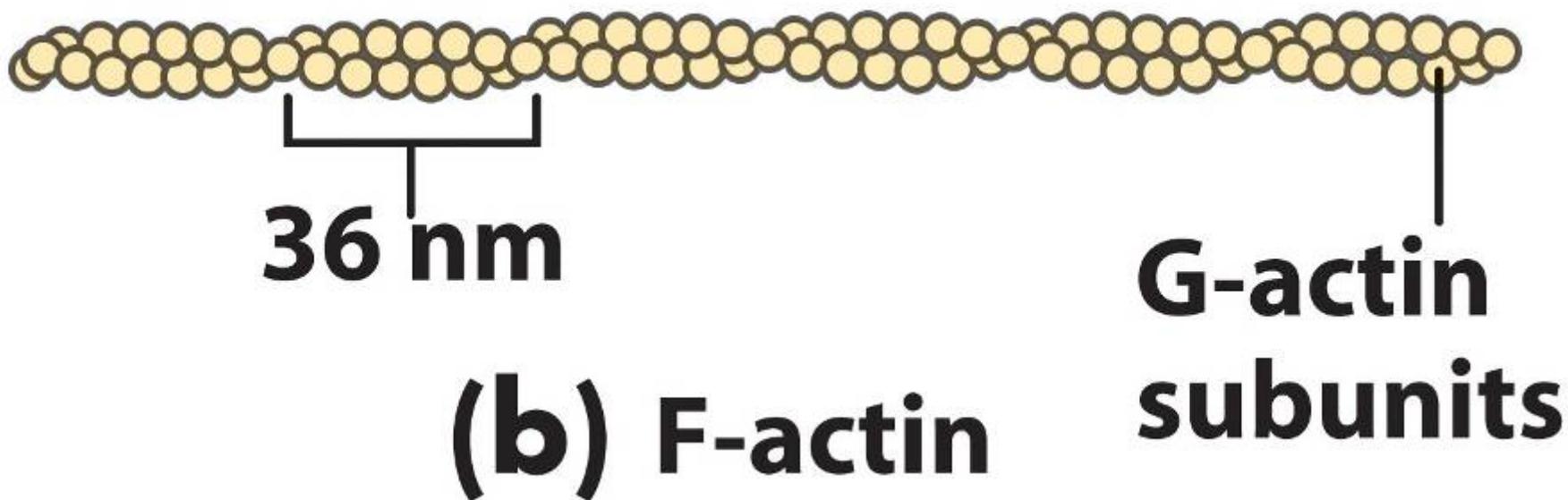
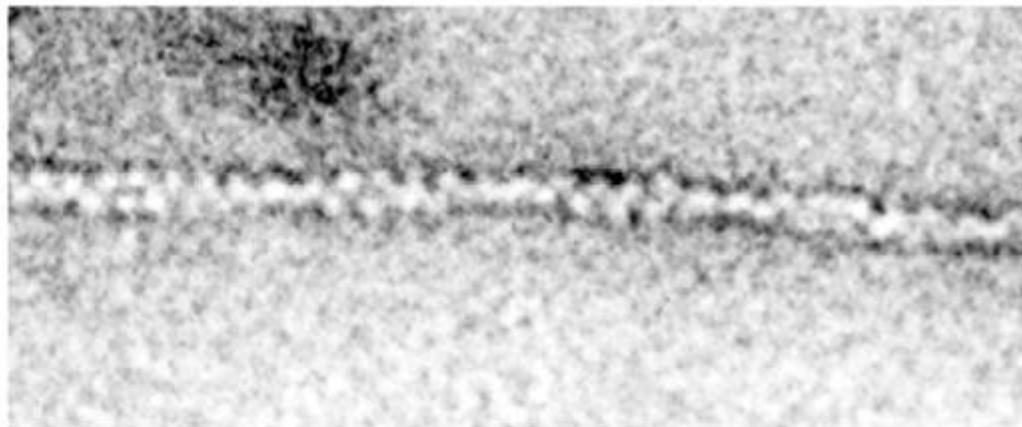


Формирование толстого филамента

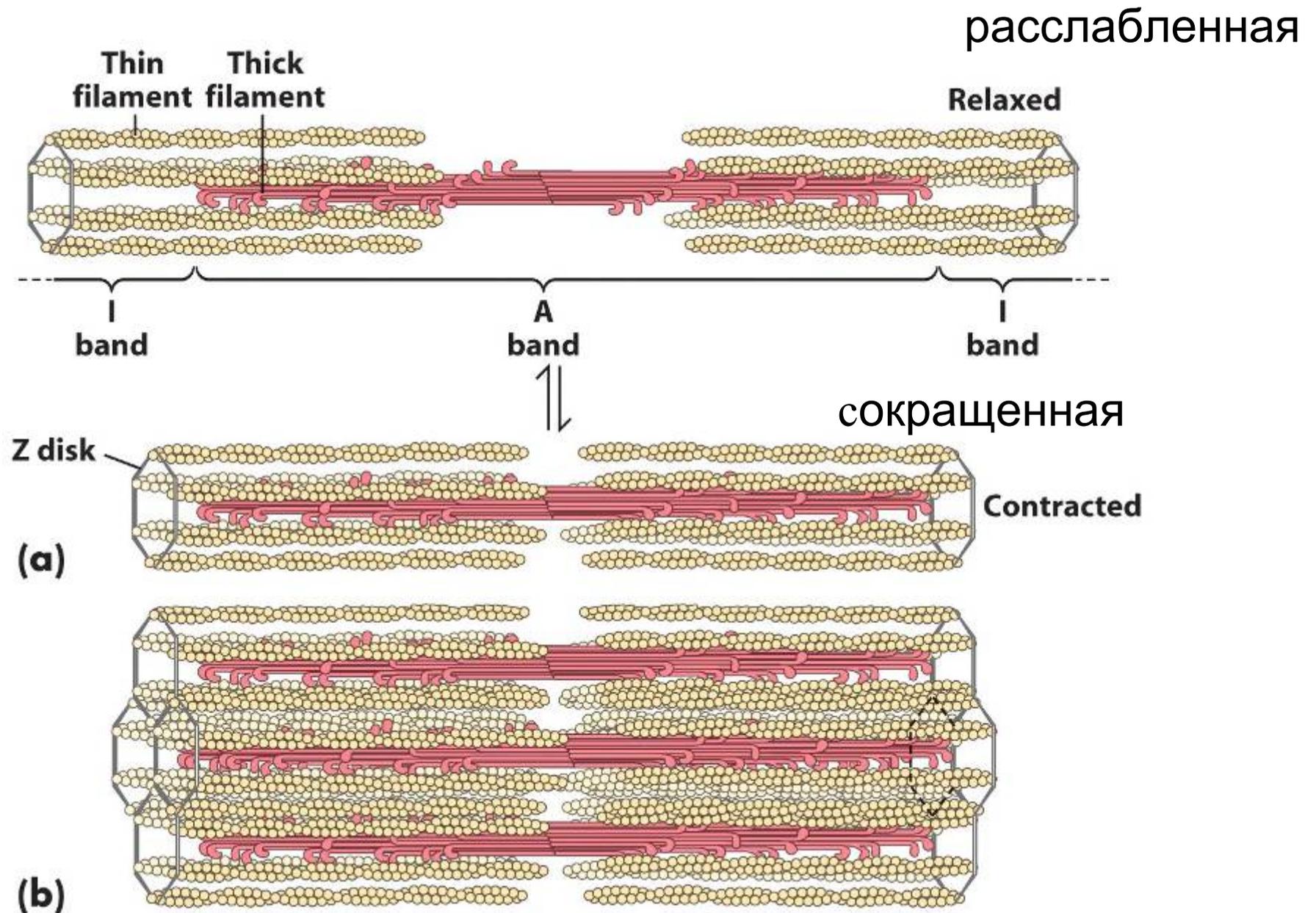


~325 nm
(a) Myosin

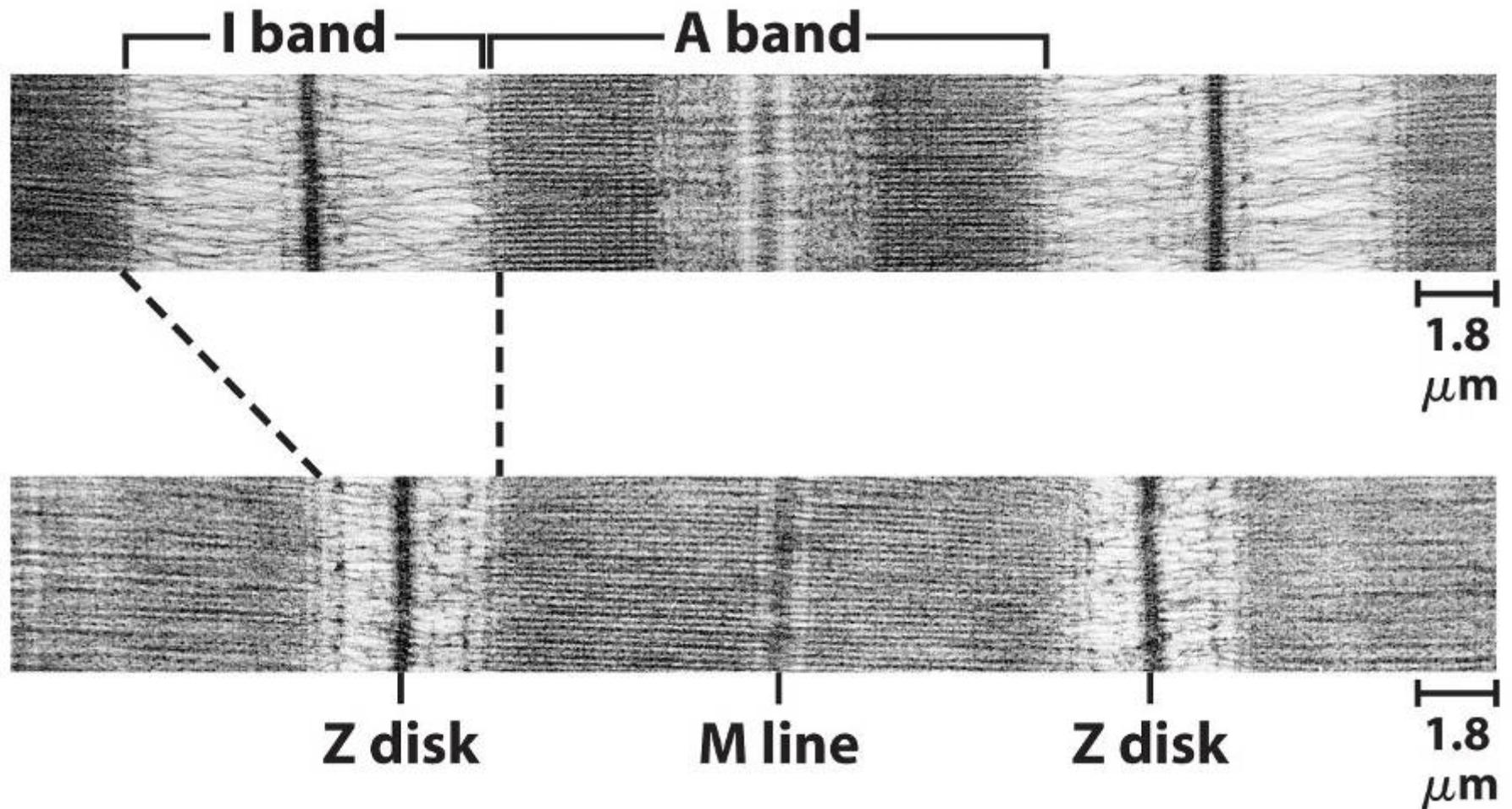
Сократительный белок актин,
формирование тонкого филамента



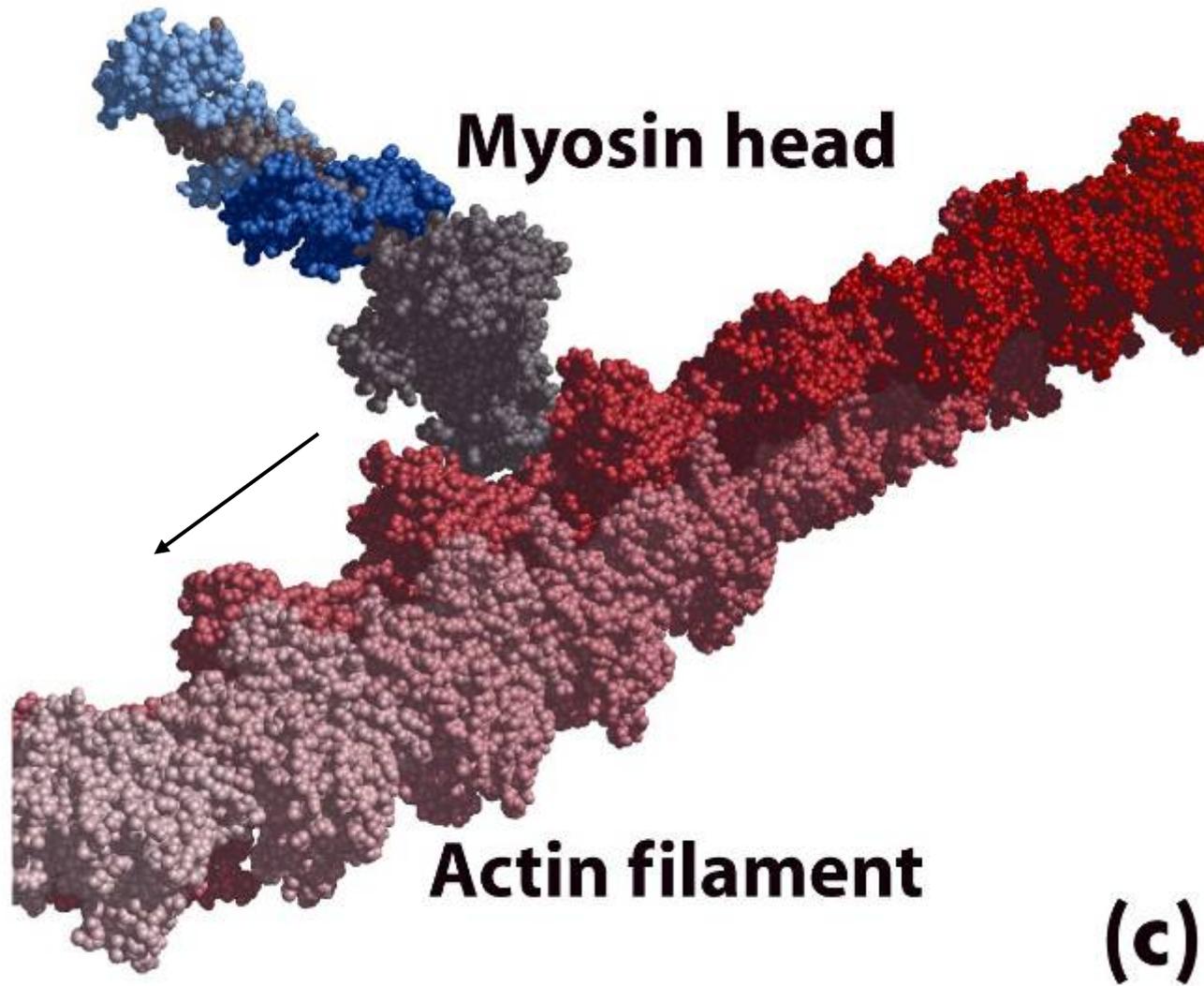
Сокращение мышцы



Фотография расслабленного и сокращенного мышечного волокна



Перемещение головы миозина по актиновому филламенту



Основные методы, используемые для исследования белков

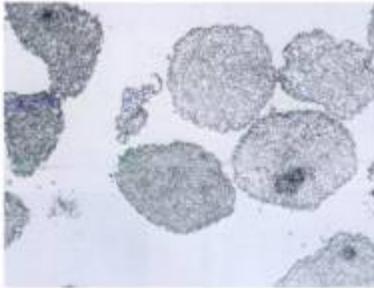
1. Получение белков в чистом виде. Критерии гомогенности – одна полоса при проведении ЭФ (желательно двумерного), одна полоса при центрифугировании.
2. Характеристика белка и его идентификация: определение молекулярной массы, выявление небелковых компонентов (ионы металлов, липиды, углеводы), определение N-концевой последовательности, определение аминокислотного состава и аминокислотной последовательности, масс-спектрометрия самого белка и продуктов его протеолиза, кристаллизация белка и рентгеноструктурный анализ.

Везикулы, образованные из фрагментов клеточных мембран

1. Гомогенизация ткани (гомогенизаторы Поттера, Уорринга, политрон, растирание с кварцевым песком, лизис клеток)
2. Дифференциальное центрифугирование



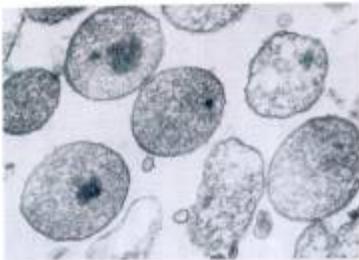
Центрифугирование в градиенте плотности



Ядра



Шероховатый ретикулум



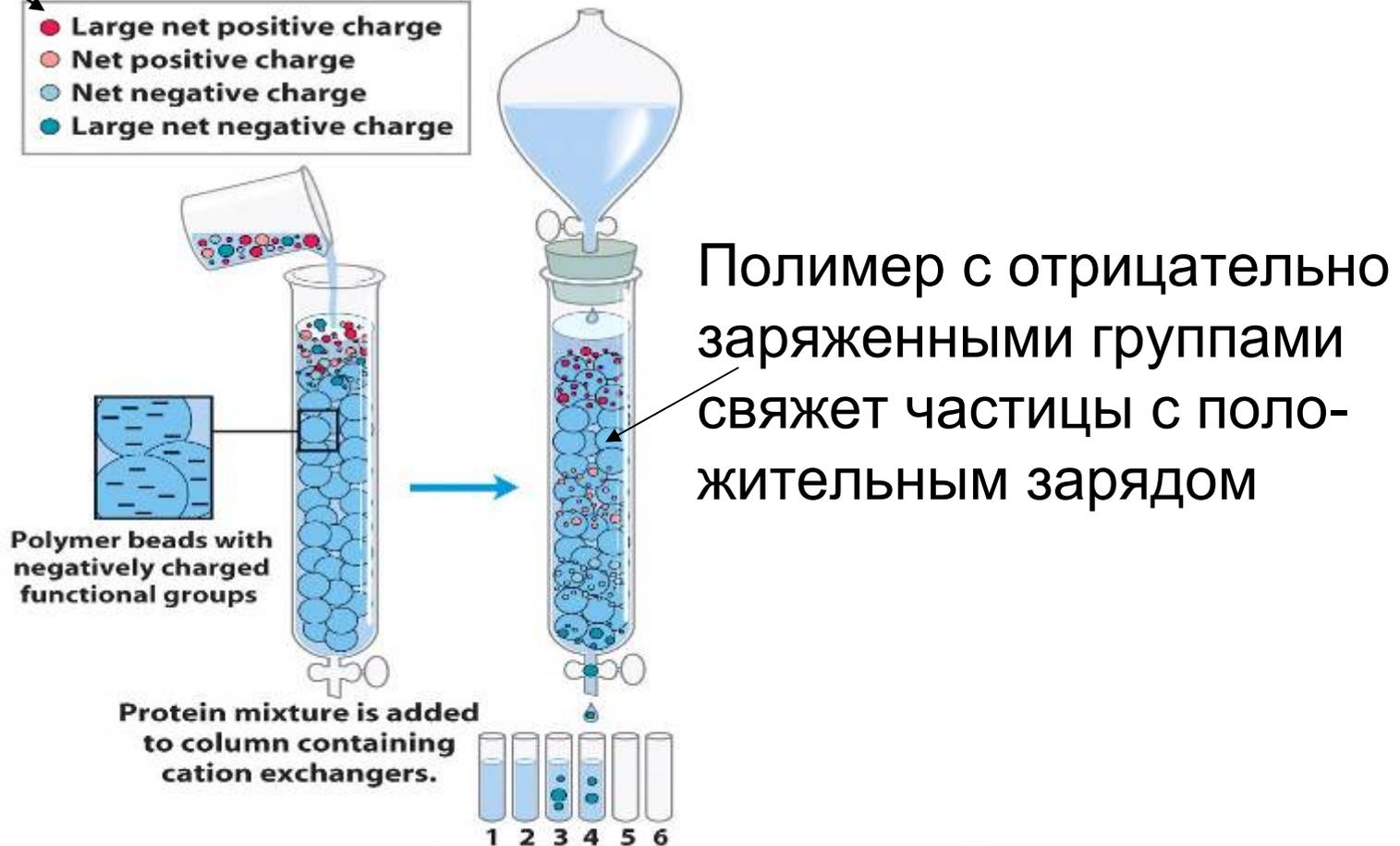
Лизосомы



Ионнообменная хроматография

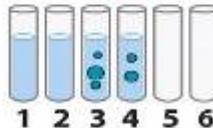
Частица (белок) с суммарным положительным зарядом

- Large net positive charge
- Net positive charge
- Net negative charge
- Large net negative charge



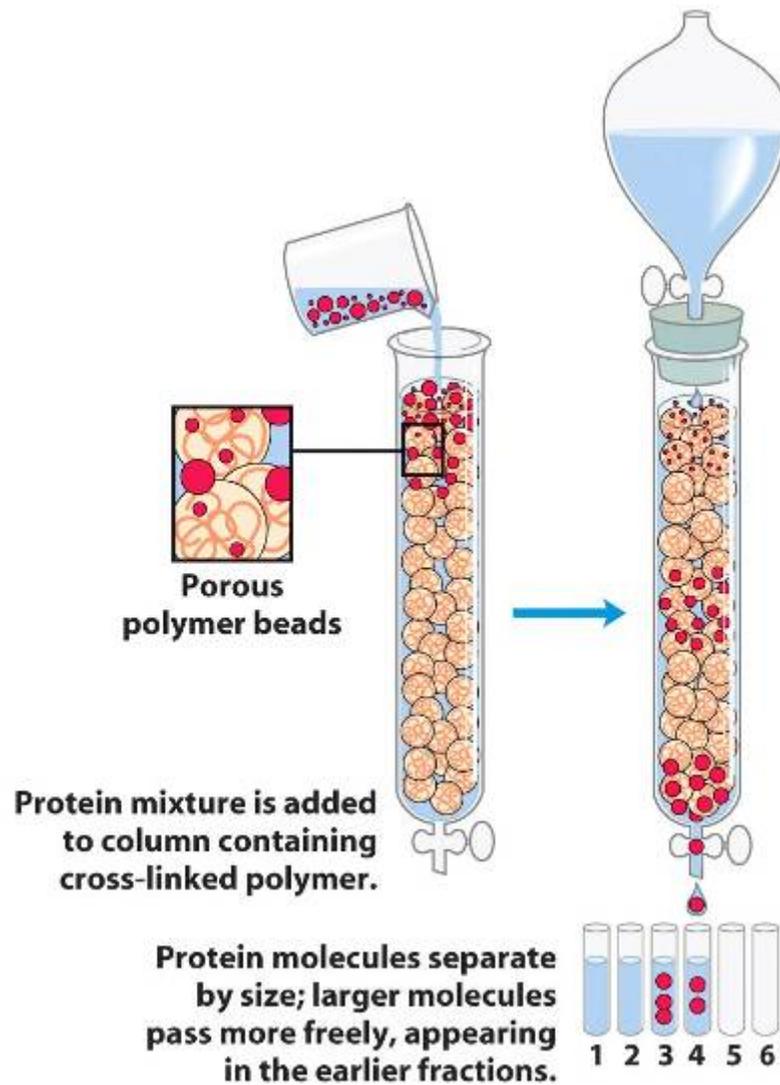
Polymer beads with negatively charged functional groups

Protein mixture is added to column containing cation exchangers.



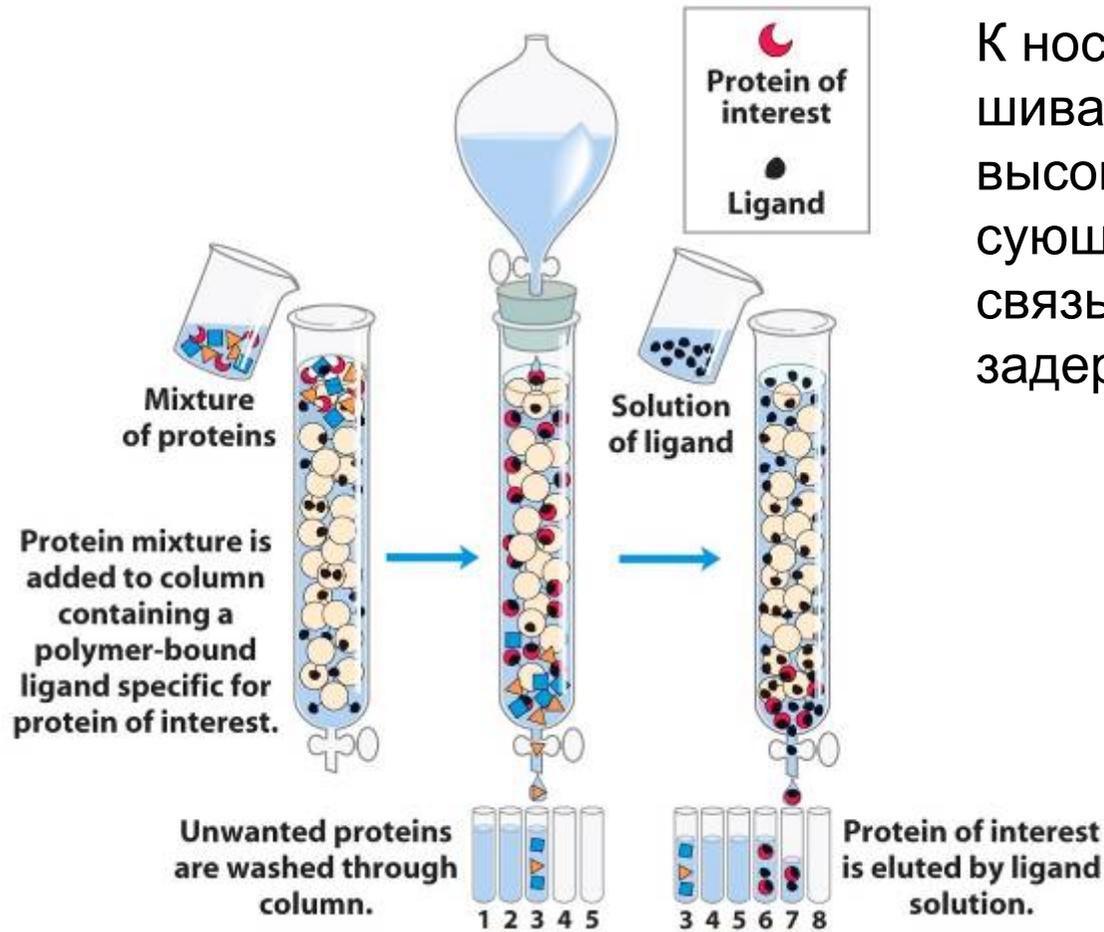
Proteins move through the column at rates determined by their net charge at the pH being used. With cation exchangers, proteins with a more negative net charge move faster and elute earlier.

Гель-хроматография (молекулярное сито)



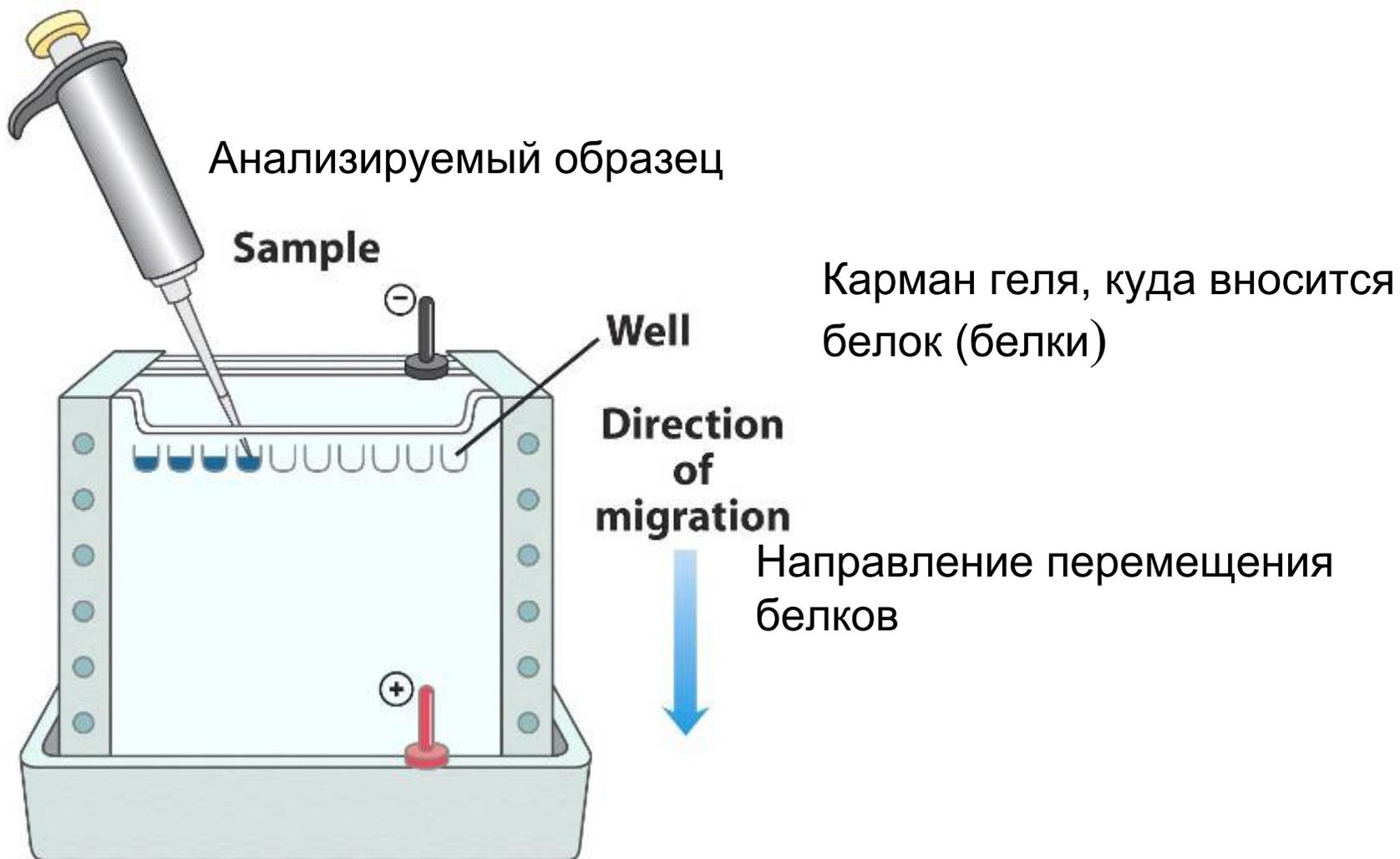
Малые молекулы проникают внутрь полимерных гранул, их движение на колонке замедляется.
Большие молекулы проходят через колонку, не задерживаясь

Метод аффинной хроматографии

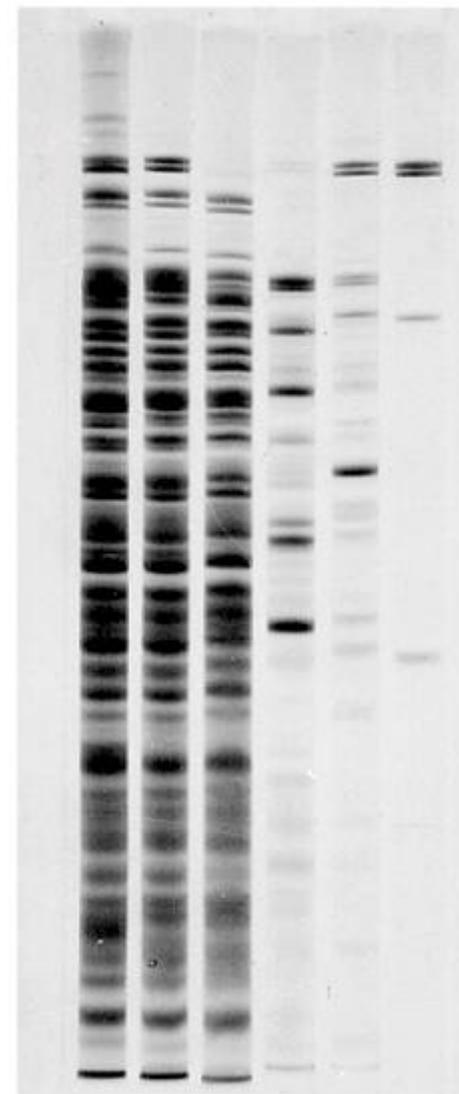
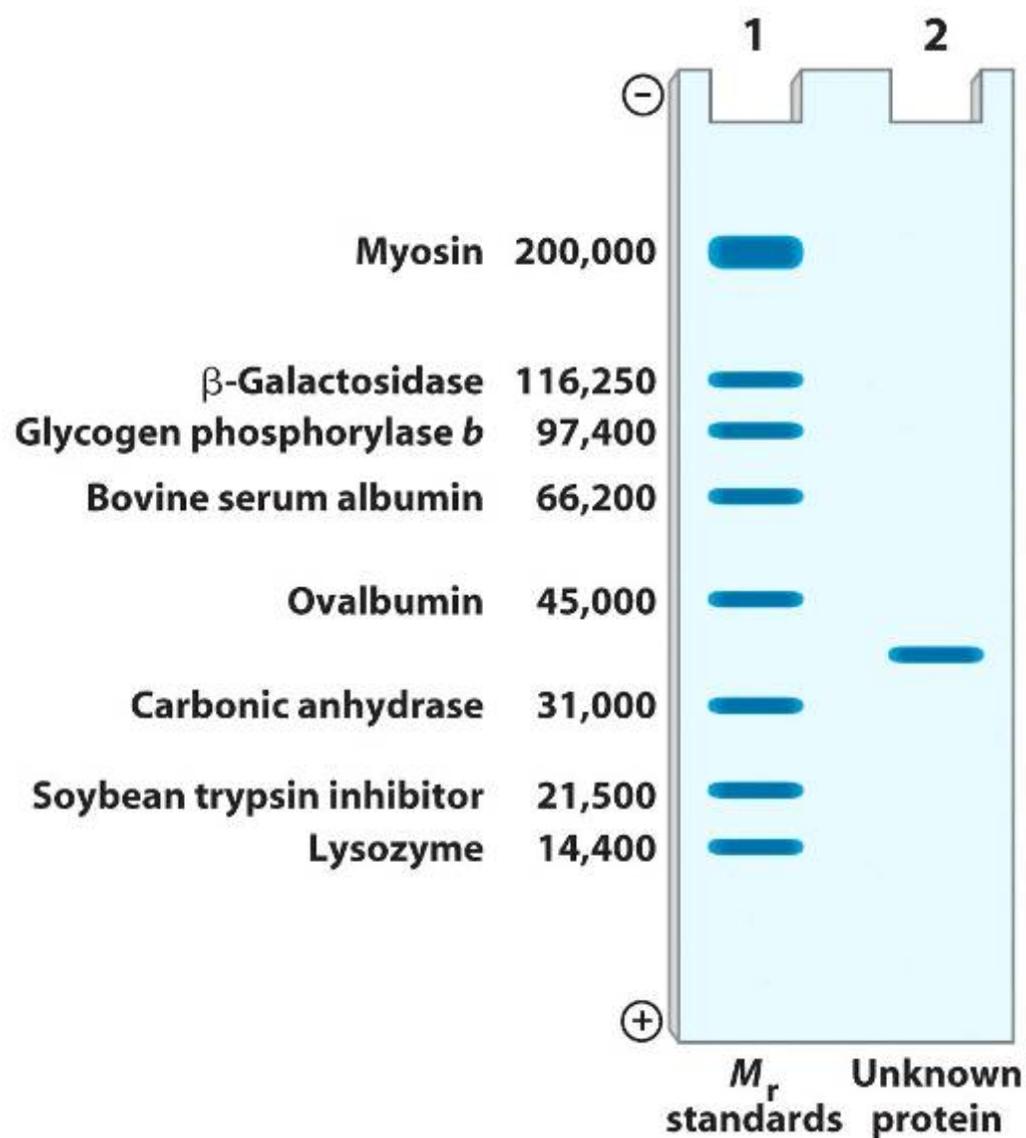


К носителю ковалентно пришивается лиганд, имеющий высокое сродство к интересующему белку. Белок связывается с лигандом и задерживается на колонке.

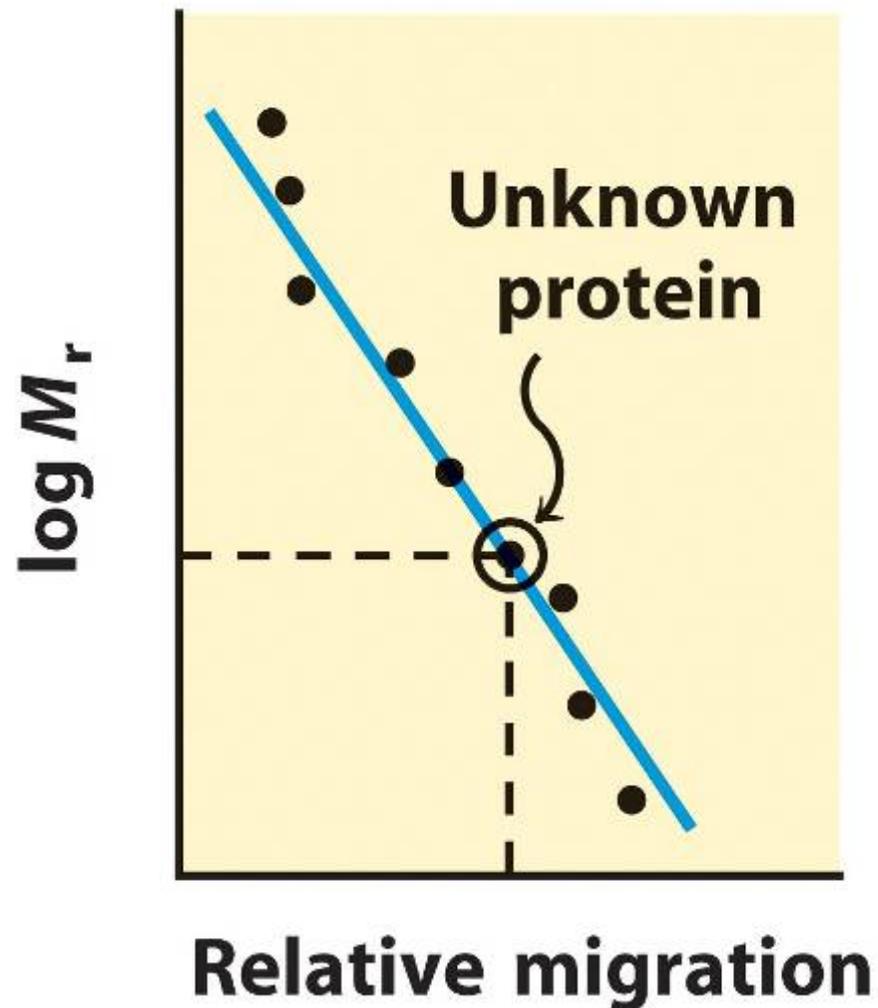
Электрофорез в полиакриламидном геле.



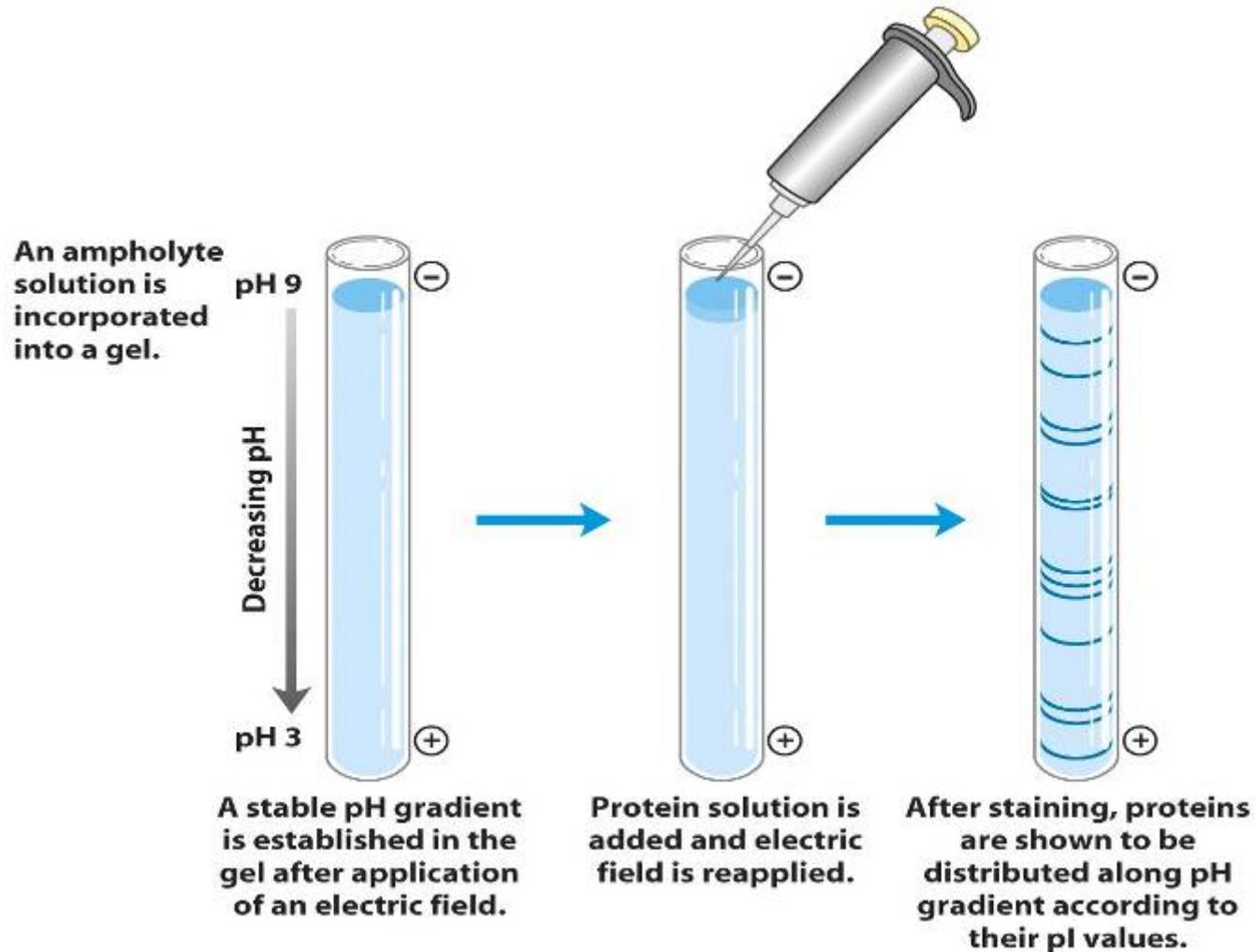
Результат электрофоретического разделения белков



Определение молекулярной массы неизвестного белка электрофоретическим методом



Изоэлектрофокусирование



Двумерный электрофорез

