



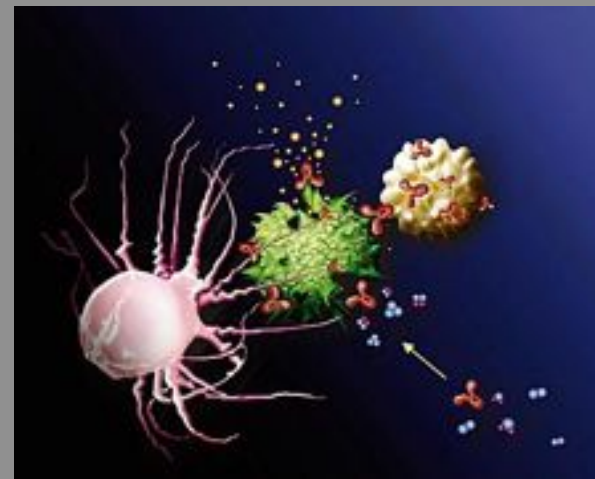
Zachodniopomorski  
Uniwersytet Technologiczny

## BIOCHEMIA

Kierunek: **Technologia Żywności  
i Żywnienie Człowieka**  
semestr III

### Wykład 5

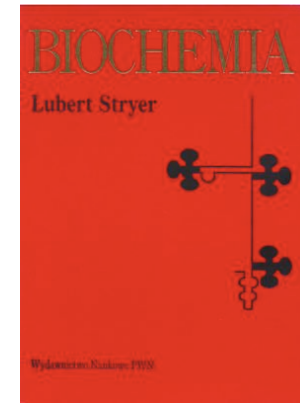
# Białka: dynamika i funkcje; przeciwciała, motory, fałdowanie



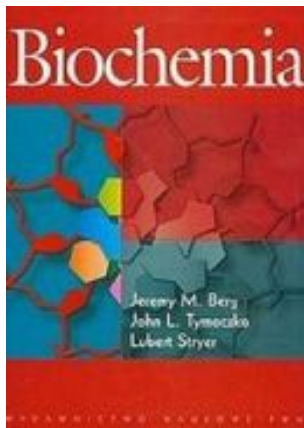
# Zakres materiału BIAŁKA

## Białka: konformacja, dynamika i funkcja

14. Przeciwciała i receptory limfocytów
15. Molekularne motory
16. Fałdowanie się i projektowanie białek



**Biochemia**, Autor: Lubert Stryer,  
PWN Warszawa 1999



**Biochemia**, Autor: Jeremy Berg, Lubert Stryer,  
John L. Tymoczko, PWN Warszawa 2005

## Odpowiedź na zmiany warunków środowiska

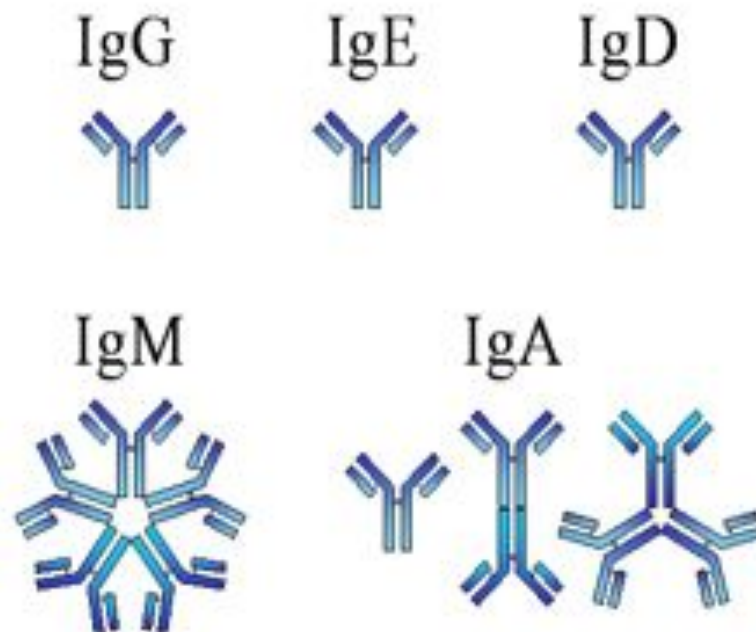
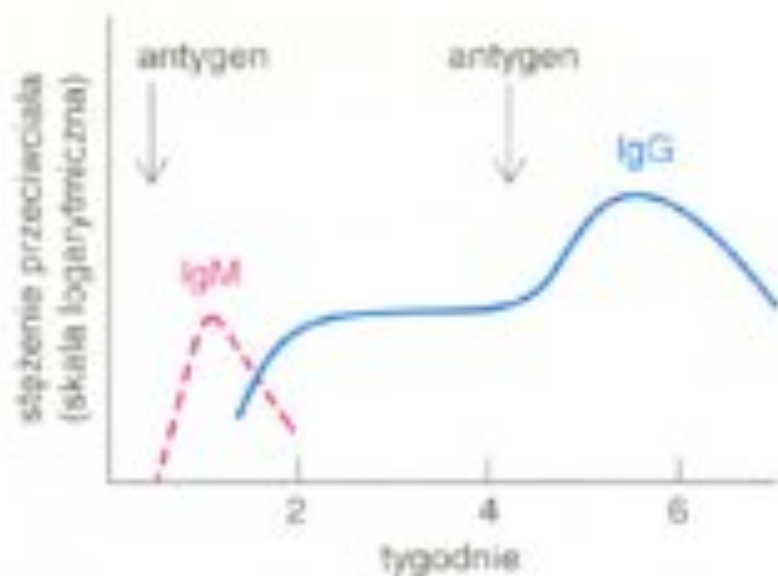
32. Systemy czucia
33. Układ odpornościowy
34. Motory molekularne

# Przeciwciała

- 1. System odpornościowy** stosuje dwa sposoby rozpoznawania obcy-swój:
  - system rozpuszczalnych przeciwciał;
  - system receptorów przymocowanych do komórek T.
- Przeciwciała są **populacjami białek (immunoglobulin)**, które są wytwarzane przez **zwierzę** w odpowiedzi na pojawienie się w ustroju obcych makrocząsteczek, zwanych **antygenami** bądź **immunogenami**.
- Przeciwciała** mają duże powinowactwo do **antygenów**, które spowodowały ich wytworzenie.
- Małe **obce cząsteczki (hapteny)** wywołują powstanie **swoistych przeciwciał** tylko wówczas, gdy są związane z jakąś makrocząsteczką. **Synteza przeciwciał** zachodzi na drodze **selekcji**, a nie instrukcji. **Antygen** wiąże się na **powierzchni limfocytów** zaprogramowanych wcześniej do **wytwarzania przeciwciał swoistych** w stosunku do tego antygeny.
- Powstanie **kompleksu antygen-receptor** powierzchniowy powoduje podział komórki i syntezę dużych ilości swoistych przeciwciał.
- Przeciwciała** skierowane przeciwko specyficznym determinantom są przeważnie **heterogenne**, ponieważ są wytwarzane przez wiele różnych linii komórkowych. **Przeciwciała** produkowane przez pojedynczą komórkę lub przez klon są **homogenne**. Przeciwciała monoklonalne powstają w komórkach hybrydoma uzyskanych dzięki fuzji "nieśmiertelych" komórek szpiczaka z limfocytami, które produkują przeciwciała o pożądanej swoistości.

# Przeciwciała – podział na klasy

1. Znanych jest 5 klas przeciwciał. Przeciwciała składają się z łańcuchów lekkich (L) i ciężkich (H). Podział:
  1. Immunoglobulina G (IgG) - główne przeciwciało osocza,
  2. Immunoglobulina M (IgM) - pierwsze przeciwciało pojawiające się po wejściu organizmu w kontakt z antygenem.
  3. Immunoglobulina A (IgA) - główna klasa przeciwciał wydzielanych przez organizm na zewnątrz,
  4. Immunoglobulina E (IgE) - obrona organizmu przed pasożytami;
  5. Immunoglobulina D (IgD) – rola nieznana.



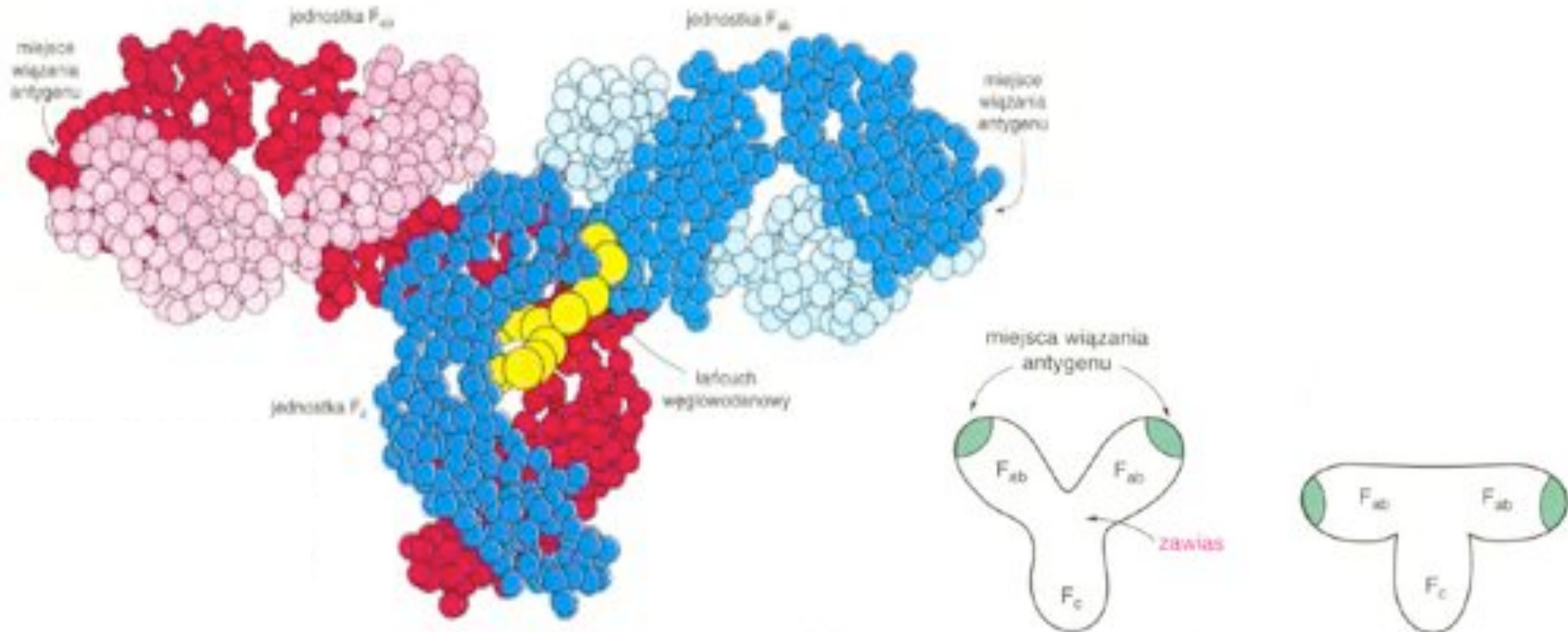
# Klasy przeciwciał – właściwości

Klasa	Stężenie w osoczu (mg/ml)	Masa (kDa)	Współczynnik sedymentacji	Rodzaje łańcuchów lekkich	Rodzaje łańcuchów ciężkich	Skład podjednostkowy
IgG	12	150	7	$\kappa$ lub $\lambda$	$\gamma$	$\kappa_2\gamma_2$ lub $\lambda_2\gamma_2$
IgA	3	160–500	7, 10, 13	$\kappa$ lub $\lambda$	$\alpha$	$(\kappa_2\alpha_2)_2$ lub $(\lambda_2\alpha_2)_2$
IgM	1	950	18–20	$\kappa$ lub $\lambda$	$\mu$	$(\kappa_2\mu_2)_3$ lub $(\lambda_2\mu_2)_3$
IgD	0,1	175	7	$\kappa$ lub $\lambda$	$\delta$	$\kappa_2\delta_2$ lub $\lambda_2\delta_2$
IgE	0,001	200	8	$\kappa$ lub $\lambda$	$\epsilon$	$\kappa_2\epsilon_2$ lub $\lambda_2\epsilon_2$

Uwaga:  $\kappa$  = 1, 2 lub 3, IgM i oligomery IgA zawierają więcej łańcuchów 2 łączący cząsteczki immunoglobulin. Podczas wydzielenia IgA ma ona białeczkę sekretoryjną.

# Przeciwciała – Immunoglobulina G

1. Immunoglobulina G o składzie podjednostek  $L_2H_2$  ma dwa miejsca wiążące antygen.



2. Immunoglobulina G może być enzymatycznie przecięta na dwa fragmenty  $F_{ab}$  które wiążą antygen, ale nie powodują jego wytrącenia i jeden fragment  $F_c$  pośredniczący w funkcjach efektorowych, takich jak wiązanie dopełniacza.
3. Łańcuchy L i H składają się z regionu zmiennego (V) (około 108 aminokwasów od końca aminowego łańcucha białka) i regionu stałego (C).
4. Miejsce wiążące antygeny tworzą trzy hiperzmiennie segmenty (regiony determinujące dopasowanie - CDR) pochodzące z łańcucha L i trzy CDR pochodzące z łańcucha H.

# Budowa przeciwciał

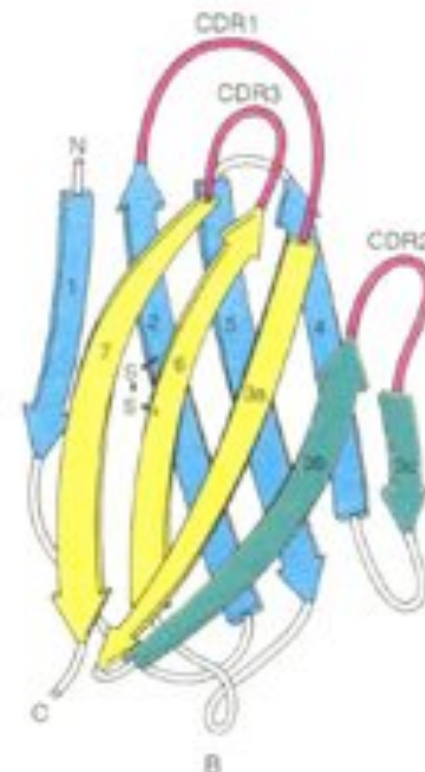
1. **Cząsteczki przeciwciał** fałdują się w zwarte **domeny** zbudowane z około **108 aminokwasów**. Domeny te mają homologiczne sekwencje.
2. Struktura przestrzenna immunoglobuliny przypomina **podwójny "dywanik"**, zbudowany z **antyrownoległe ułożonych łańcuchów  $\beta$**  i jest stabilizowana przez **wiązania dwusiarczkowe**; konstrukcja taka stanowi bardzo elastyczny szkielet.
3. **Pętle między łańcuchami  $\beta$**  mogą mieć **różne sekwencje**, nie ma to wpływu na strukturę rdzenia cząsteczki.

Domeny immunoglobulin składają się z dwóch "dywaników" antyrownoległych łańcuchów  $\beta$  (**żółty** i **niebieski**). Harmonijki te są połączone za **pomocą mostków dwusiarczkowych** umieszczonych w konserwatywnych pozycjach.

Trzy kluczowe pętle tworzą **regiony determinujące dopasowanie (CDR** - **kolor czerwony**), które wchodzą w skład miejsca **wiążącego antygen**.



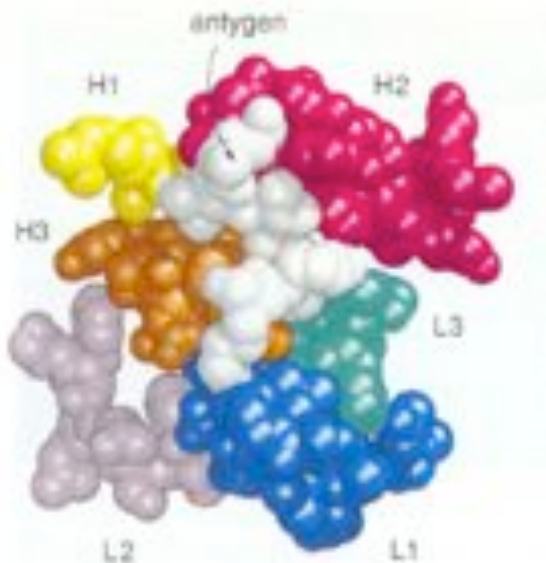
**A** - domena regionu stałego składa się z **trzech nici  $\beta$**  w jednej harmonijce i **czterech w drugiej**.



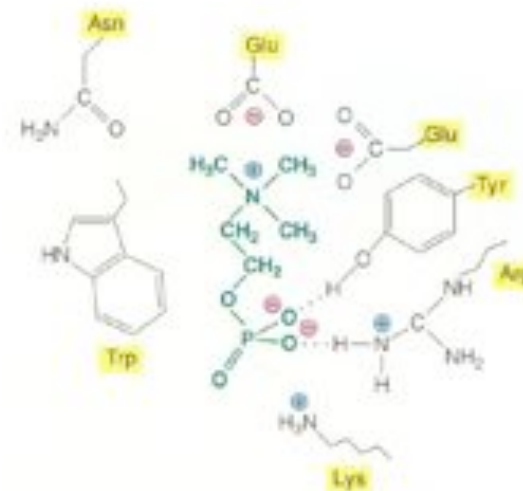
**B** - domena regionu zmiennego ma **dwie dodatkowe nici (zielony)**.

# Budowa przeciwciał

1. **Hapteny i antygeny** wiążą się do szczelin i kieszeni przeciwciała i obszernych płaskich powierzchni utworzonych przez **CDR** (regiony determinujące dopasowanie). Sposób, w jaki przeciwciało oddziałuje z **antygenem**, przypomina powstawanie kompleksu **enzym-substrat**.
2. **Domeny regionu stałego** pośredniczą w funkcjach efektorowych.
3. Powstanie **kompleksu przeciwciało-antygen** wywołuje **kaskadę reakcji aktywacji dopełniacza**, serie zmian zymogenu, na skutek których powstaje kompleks atakujący błony i powodujący lizę nieprawidłowej komórki. Aktywuje ono również **fagocytozę** prowadzona przez makrofagi i indukuje **degranulację** komórek tucznych.



**Antygen peptydowy** (biały) wchodzi w kontakt z pięcioma spośród sześciu **CDR** (różne kolory) w miejscu wiążącym antygeny przeciwciała przeciw- peptydowego. L1, L2 i L3 to CDR należące do **łańcucha lekkiego**; H1, H2 i H3 są CDR **łańcucha ciężkiego**.

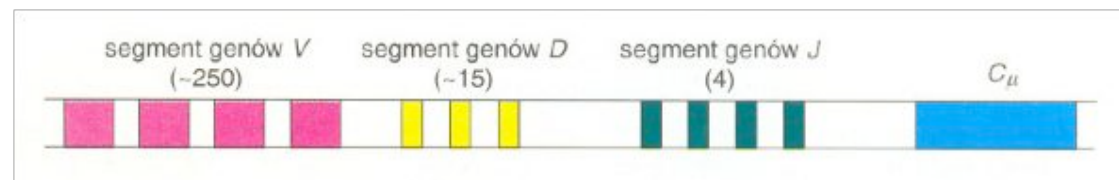
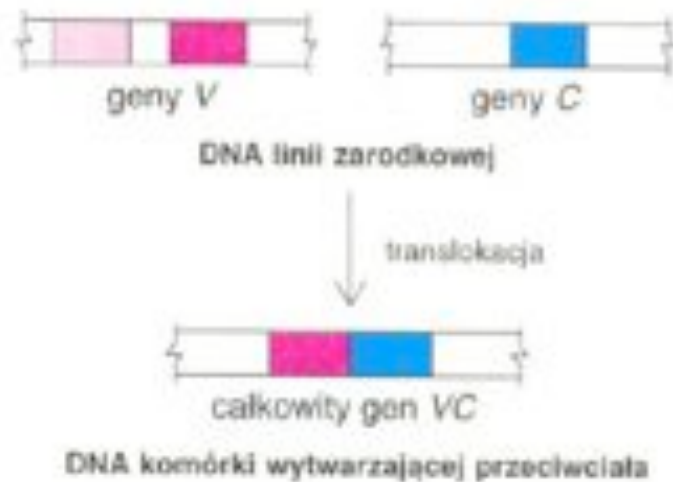


Sposób wiązania **fosfocholiny** (kolor zielony) z miejscem **wiązącym przeciwciała**



# Kodowanie limfocytów

1. **Regiony stały i zmienny** są kodowane przez **różne geny**, które są łączone podczas różnicowania się komórek.
2. **Geny V i C** są w rzeczywistości odległe od siebie w DNA linii zarodkowej, ale są położone blisko siebie w DNA komórek wytwarzających przeciwciała. Jak z tego wynika, **geny immunoglobulin** ulegają **translokacji w czasie różnicowania się limfocytów**.



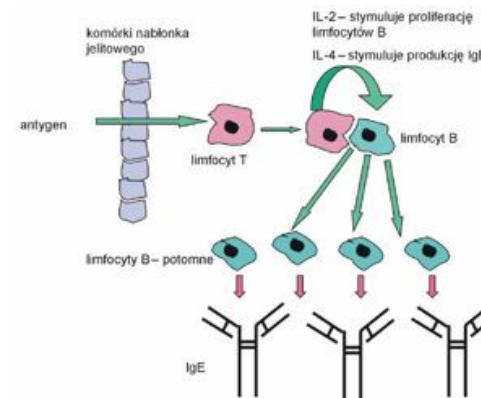
Region zmienny łańcucha ciężkiego kodowany jest przez segmenty genowe V, D i J.

Kombinatoryka segmentów genowych i mutacje somatyczne umożliwiają tworzenie ponad  $10^8$  różnych przeciwciał.

3. Istnieje **kilkaset genów kodujących region V łańcuchów H i L**. Kompletny gen regionu V łańcucha lekkiego powstaje przez łączenie segmentu genowego V z **jednym z kilku segmentów J** kodującym część ostatniego **rejonu hiperzmiennego**.
4. **Tandemowo ułożone geny J** znajdują się w pobliżu **geny C**. **Gen regionu zmiennego łańcucha ciężkiego** powstaje dzięki **rekombinacji segmentów genowych V, D i J**. Dzięki kombinacji tych segmentów, mutacjom somatycznym w segmentach i kombinacji różnych łańcuchów L i H może powstać **więcej niż  $10^8$  przeciwciał** o różnej specyficzności. Przeciwciała różnych klas powstają przez translokacje genu  $V_H$  od genu  $C_H$  jednej klasy do genu innej klasy.

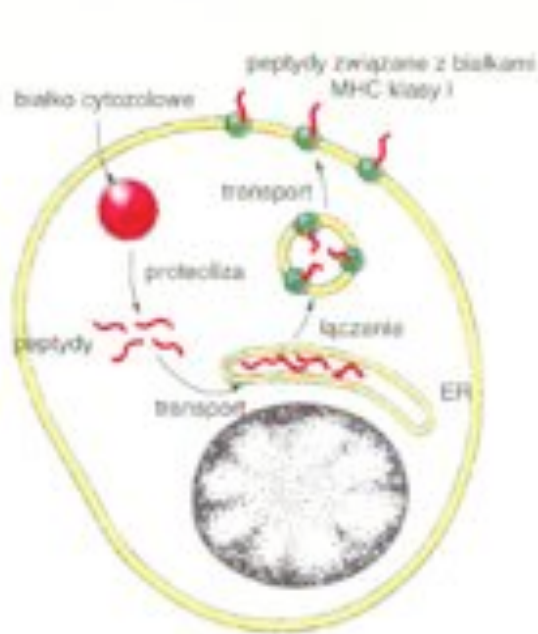
# Limfocyty T

1. Odporność, w której pośredniczą **limfocyty T**, służy do **walki z patogenami wewnątrzkomórkowymi**, chronionymi przed przeciwciałami przez błonę komórkową gospodarza.
2. **Limfocyty T** bezustannie sprawdzają **powierzchnie wszystkich komórek** i zabijają te, które eksponują **obce oznakowanie**. **Komórki kręgowców** prezentują na swojej powierzchni **próbki peptydów** powstałe w wyniku **trawienia białek w cytozolu**. Peptydy powstające w wyniku działalności **proteasomów** są transportowane do światła **retikulum endoplazmatycznego**.
3. Wiążą się tam z nowo wytworzonymi białkami głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy I; miejsce wiązania peptydów znajduje się w długim rowku białka MHC. Kompleksy peptyd-białko MHC są transportowane do powierzchni błony komórkowej w celu sprawdzenia ich przez limfocyty T. Białka MHC klasy I są silnie polimorficzne, chroni to organizm przed zmutowanymi wirusami, które w innym przypadku mogłyby uniknąć prezentacji. Obce peptydy związane z białkami MHC klasy I są rozpoznawane przez limfocyty T cytotoksyczne.



# Limfocyty T

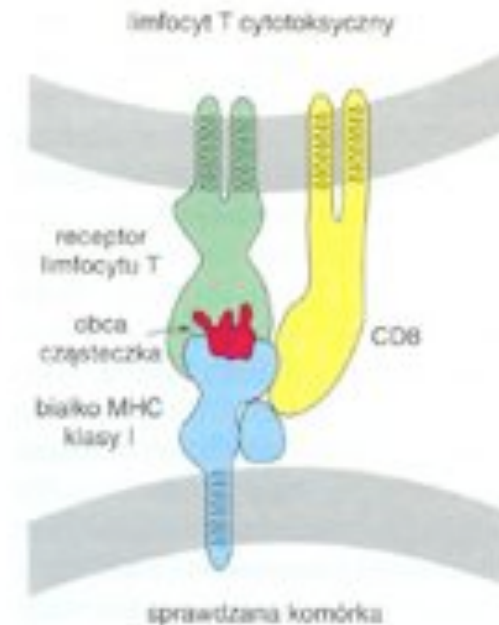
1. **Receptory limfocytów T** są białkami przypominającymi **przeciwciała**, zawierają one regiony stałe i zmienne. Dzięki różnorodności linii zarodkowej i zmienności somatycznej może powstać potencjalnie olbrzymi **repertuar receptorów limfocytów T**.
2. Połączenie obcego peptydu z **białkiem MHC klasy I** powoduje **kaskadę reakcji** inicjowana wspólnie przez **receptor limfocytu T** oraz CD3 i CD8. Zasocjowana z nimi **cytozolowa kinaza tyrozynowa (p56lck)** odgrywa kluczową rolę w **sygnalizacji**.



**Białka MHC klasy I** na powierzchni większości komórek prezentują **peptydy** powstałe w trakcie proteolizy **białek cytozoiowych**.



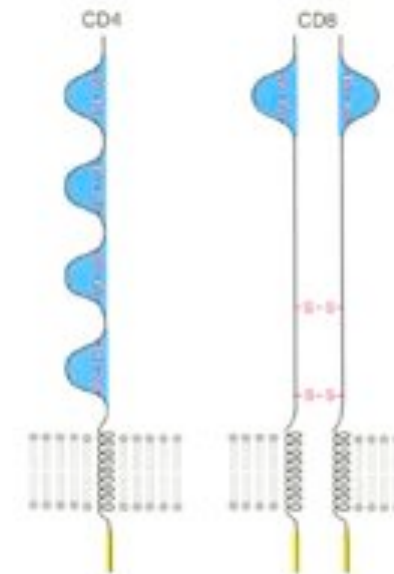
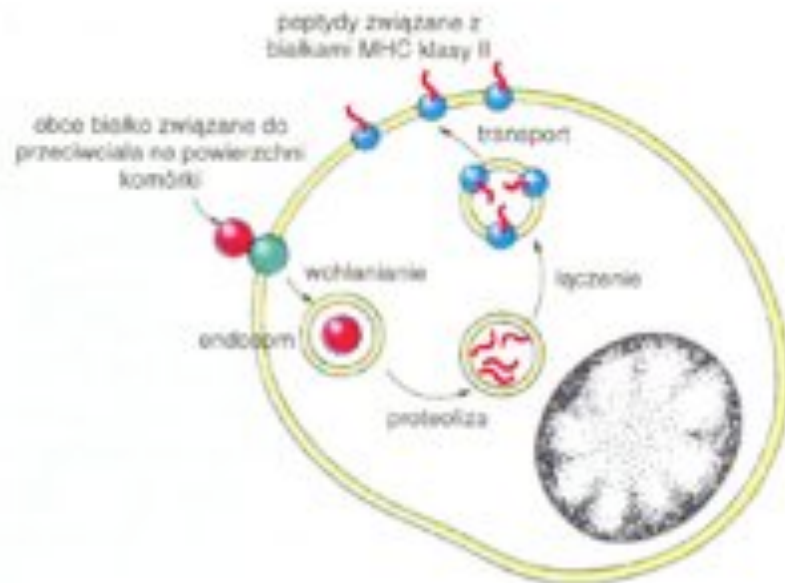
**Receptory limfocytów T cytotoksycznych** rozpoznają obce peptydy związane z **białkami MHC klasy I** na powierzchni zakażonych komórek



**Białko MHC klasy I** prezentuje **obcą** receptorowi **limfocytu T**. **Białko CD8** obecne na powierzchni limfocytów T cytotoksycznych, wiąże się do **białka MHC klasy I**.

# Limfocyty T pomocnicze

1. **Limfocyty T pomocnicze** stymulują mnożenie się **swoistych limfocytów B**, przez co są partnerem w określaniu, jaki **rodzaj przeciwciał** ma być **wytwarzany przez limfocyty B**.
2. Reakcje **limfocytów T pomocniczych** wywołują **obce peptydy związane z białkiem MHC klasy II**. Peptydy te powstają w wyniku **trawienia białek**, które dostały się do wnętrza limfocytu B lub makrofaga na **drodze endocytozy**.
3. Sygnalizują one, że **komórka napotkała patogen** i służą jako **„wołanie o pomoc”**. Natomiast obecność obcego peptydu związanego z **białkiem MHC klasy I** oznacza, że **patogen wniknął do komórki** i musi ona być **zabita**, aby chronić organizm.
4. **Limfocyty T pomocnicze** rozpoznają **białka MHC klasy II**, a nie I, ponieważ mają **białko CD4** zamiast **CD8**. Kiedy są one **zaktywowane**, stymulują **mnożenie się limfocytów B**.

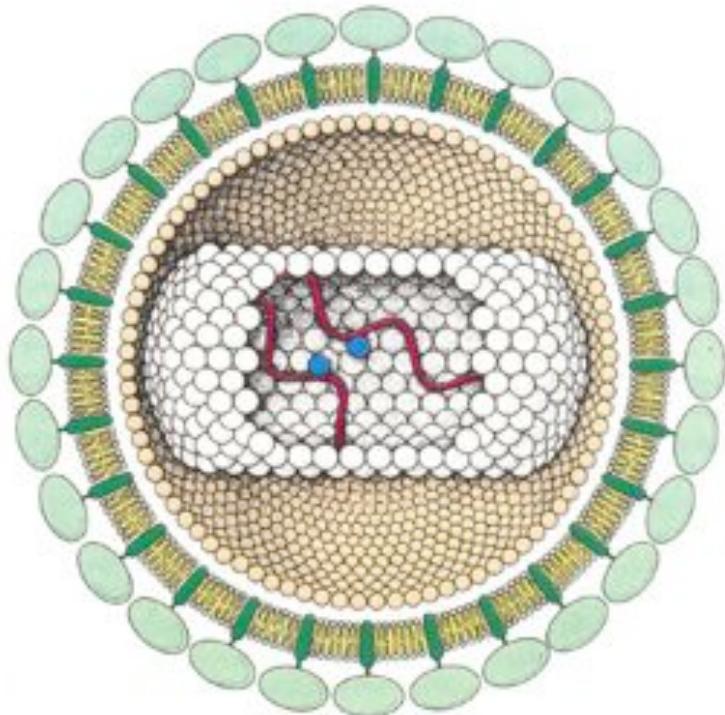


**Białka MHC klasy II** na powierzchni komórek **prezentujących antygen** (np, makrofagów) - peptydami powstałymi w wyniku **trawienia** **pochłoniętych przez komórkę białek zewnątrzkomórkowych**

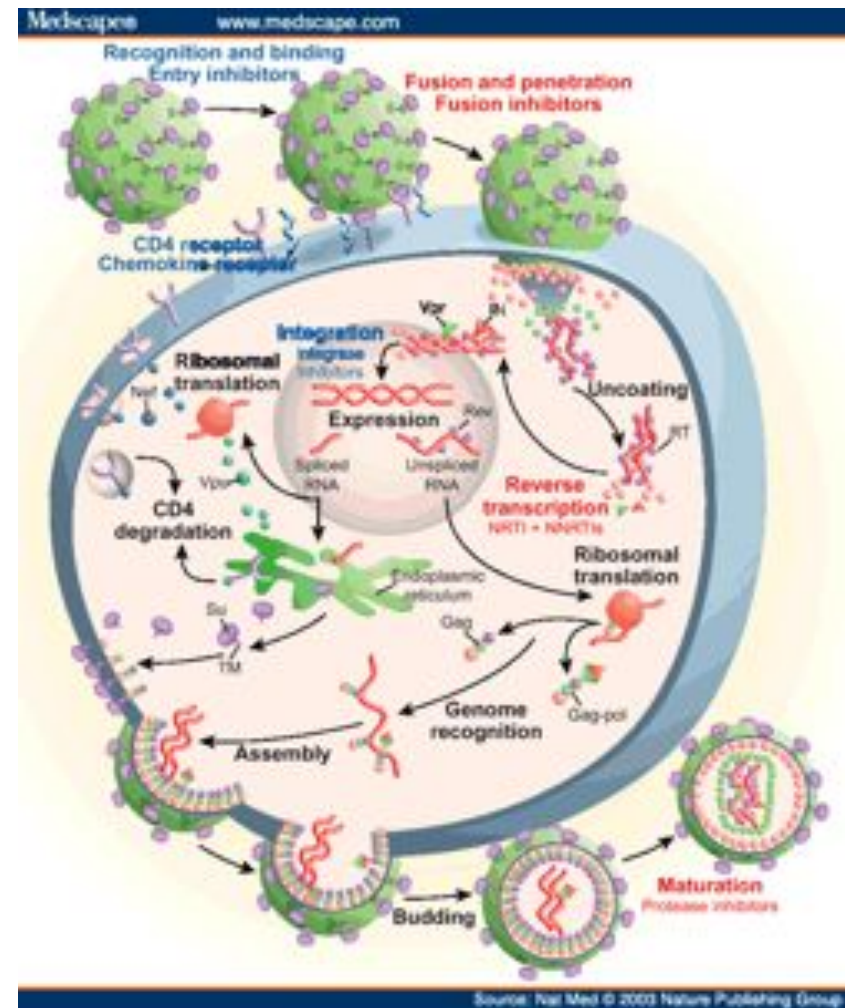
Białka **limfocytów T** - **CD4** i **CD8** biorą udział w rozpoznawaniu **kompleksów peptyd-białko MHC** na powierzchni kontrolowanych komórek.

# HIV-1 – cichy zabójca limfocytów T pomocniczych

1. **HIV-1**, renowirus powodujący **AIDS** zw. zespołem nabytego niedoboru odporności (AIDS - *ang. acquired immune deficiency syndrome*), dezorganizuje pracę układu odpornościowego przez niszczenie **limfocytów T pomocniczych**.
2. **Białko gp120** z błony otaczającej wirusa łączy się z **białkiem CD4** na powierzchni **komórki T pomocniczej**, powoduje **fuzję błon** i umożliwia wniknięcie wirusa do wnętrza komórki gospodarza.

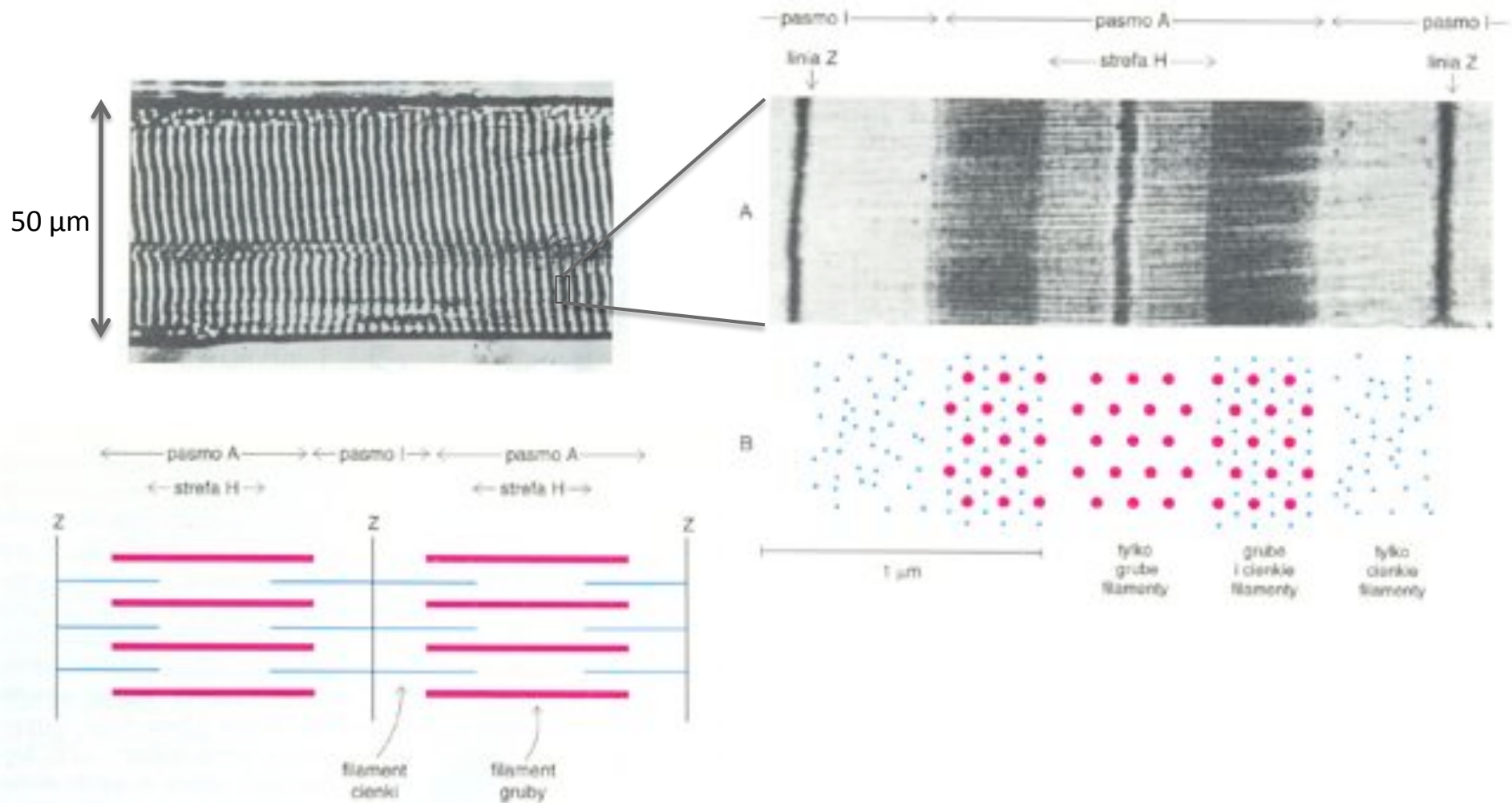


**Schemat wirusa HIV-1** - Błonowe glikoproteiny wirusa **gp41** i **gp120** - kolor ciemno- i jasnozielony. Rdzeń wirusa zawiera dwa rodzaje podjednostek białkowych: **p18** i **p24** (biały), **genomowy RNA** i kilka **czasteczek odwrotnej transkryptazy**.



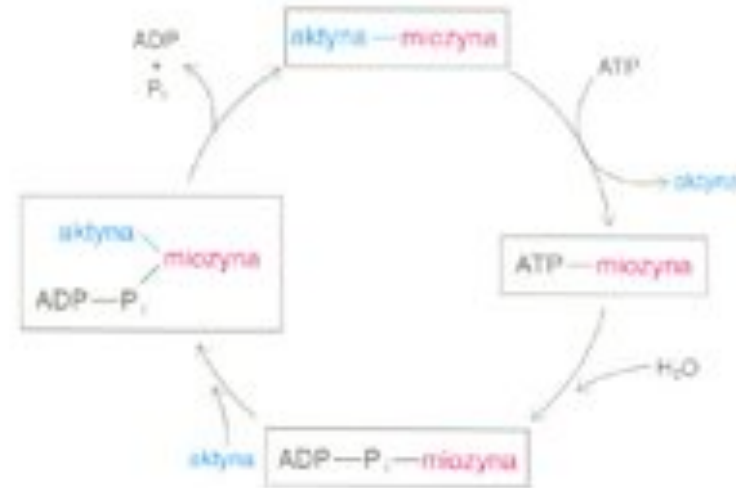
# Molekularne Motory - Mięśnie

1. Mięśnie prążkowane kręgowców składają się z **dwóch rodzajów współdziałających białkowych filamentów**.
2. **Grube filamenty** zawierają miozynę, natomiast **cienkie filamenty** zawierają **aktyne**, **tropomiozynę** i **troponinę**.

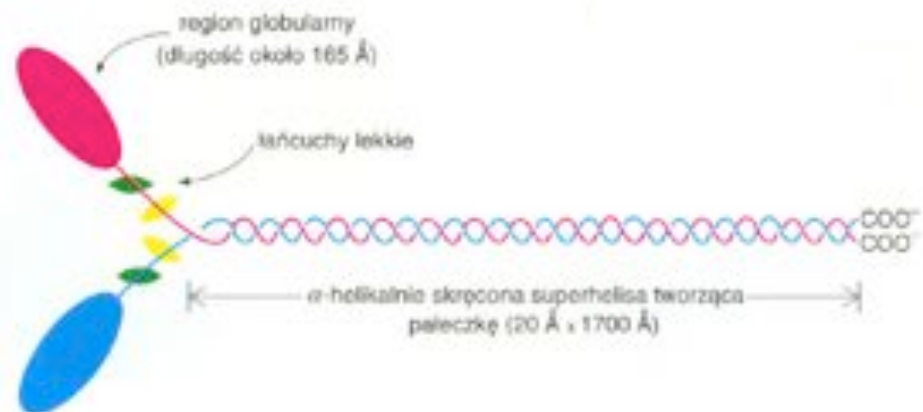
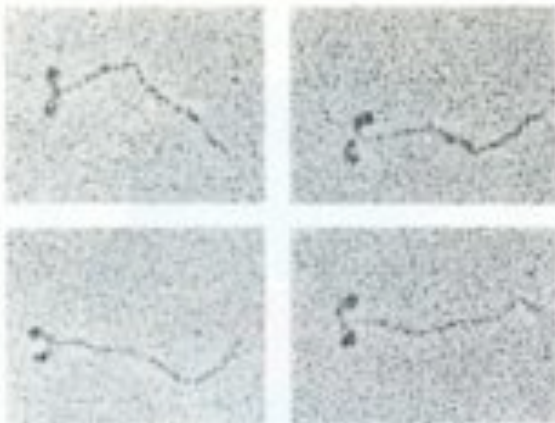


# Molekularne Motory - Mięśnie

1. **Hydroliza ATP** związanego z miozyna napędza **ruch ślizgowy** tych filamentów, jednego po powierzchni drugiego.

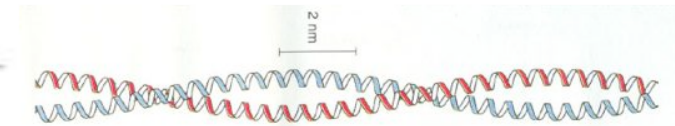
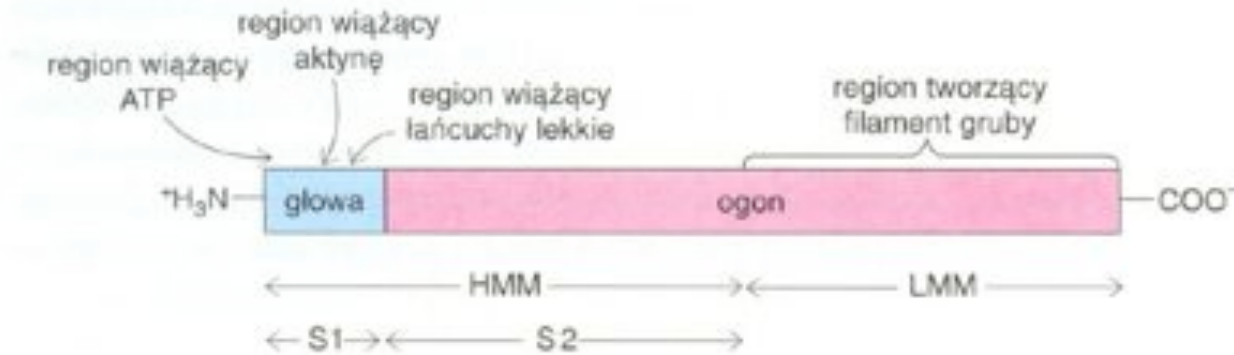


2. **Miozyna** jest dużym białkiem (520 kDa) składającym się z **dwóch łańcuchów ciężkich** i **czterech lekkich**. **Ciężkie łańcuchy** są złożone z **dwóch wydłużonych głów S1**, które są przyłączone do dwuniciowej pałeczki o strukturze  $\alpha$ -helikalnej superhelisy. **Dwa łańcuchy lekkie**, które mają funkcje modulacyjne, są **przyłączone do każdej głowy S1**.



# Molekularne Motory - Mięśnie

1. Głowy S1 i część pałeczki tworzą mostki poprzeczne, które reagują z aktyna w celu wytworzenia siły skurczu. Pozostałość cząsteczki miozyny tworzy trzon grubego filamentu.



Model dwuniciowej  $\alpha$ -helikalnie skręconej superhelisy

2. Aktyna jest **białkiem globularnym** (42 kDa), które polimeryzując **tworzy cienkie filamenty**. Zarówno cienkie, jak i grube filamenty mają ukierunkowanie, które zmienia się na odwrotne w połowie drogi między liniami Z.



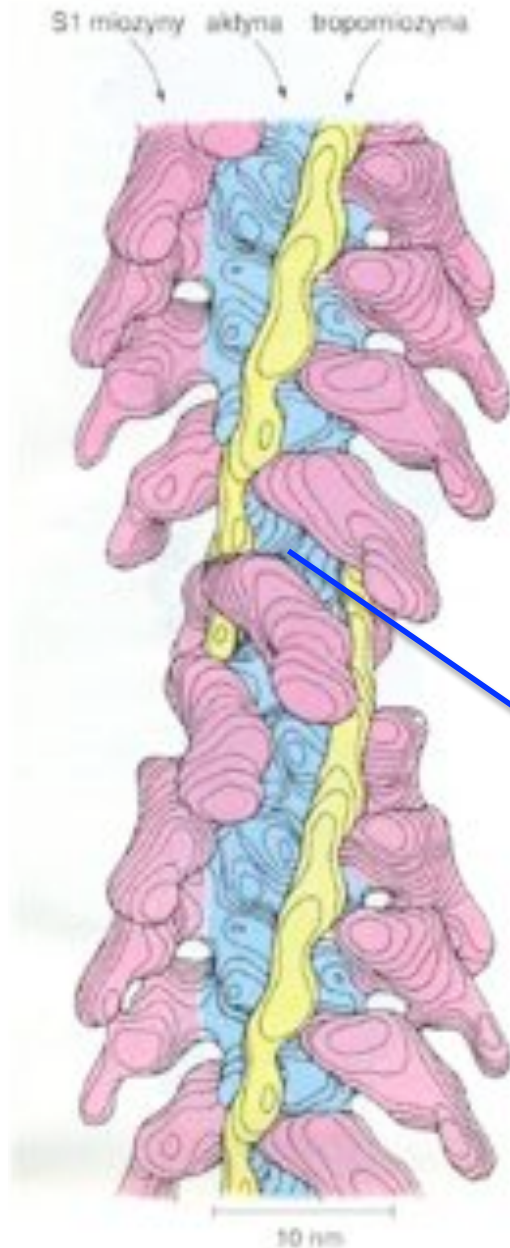
**Aktyna G.** Reszty biorące udział w wiązaniu głów S1 miozyny. **ATP** (kolor żółty).



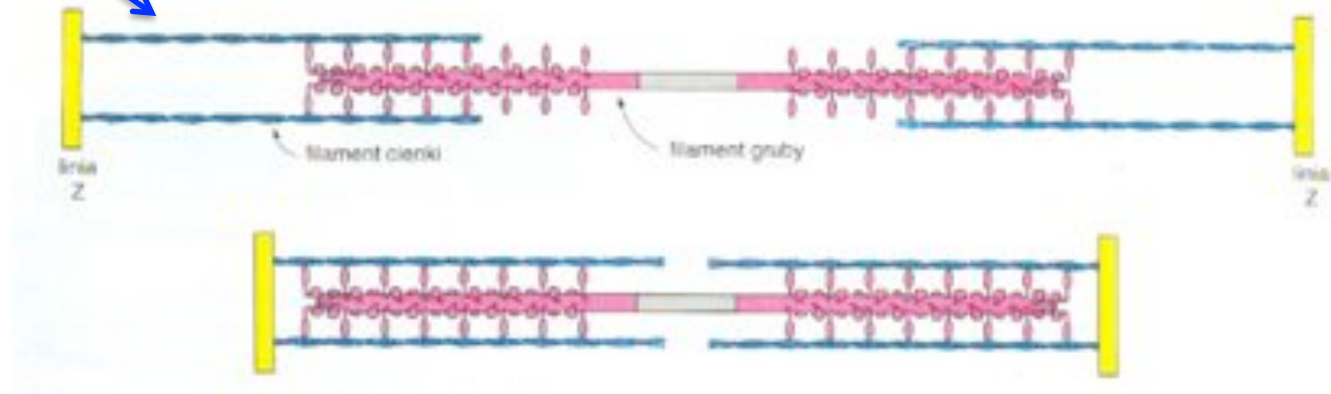
**Aktyna F.** Monomery są jednakowe (helisa powtarza się co 13 podjednostek). **Miejsca wiązania miozyny** na obrzeżach filamentu.



# Skurcz mięśni



1. **Cienki filament**. Długa os **subfragmentu S1** jest nachylona pod kątem  $45^\circ$  w stosunku do osi **helisy aktyny F**. Groty strzał na udekorowanym filamencie zawsze są ułożone w tym samym kierunku na całej jego długości.
2. W części **centralnej grubego filamentu** występuje **nagi obszar** o długości 150 nm pozbawiony wystających mostków poprzecznych. Cząsteczki miozyny po jednej stronie tego obszaru skierowane są w jednym kierunku, natomiast po drugiej stronie zwrócone są w kierunku przeciwnym. Dzięki temu **gruby filament** jest **dwubiegunowy**, gdy tymczasem **filament cienki** jest **jednobiegunowy**.



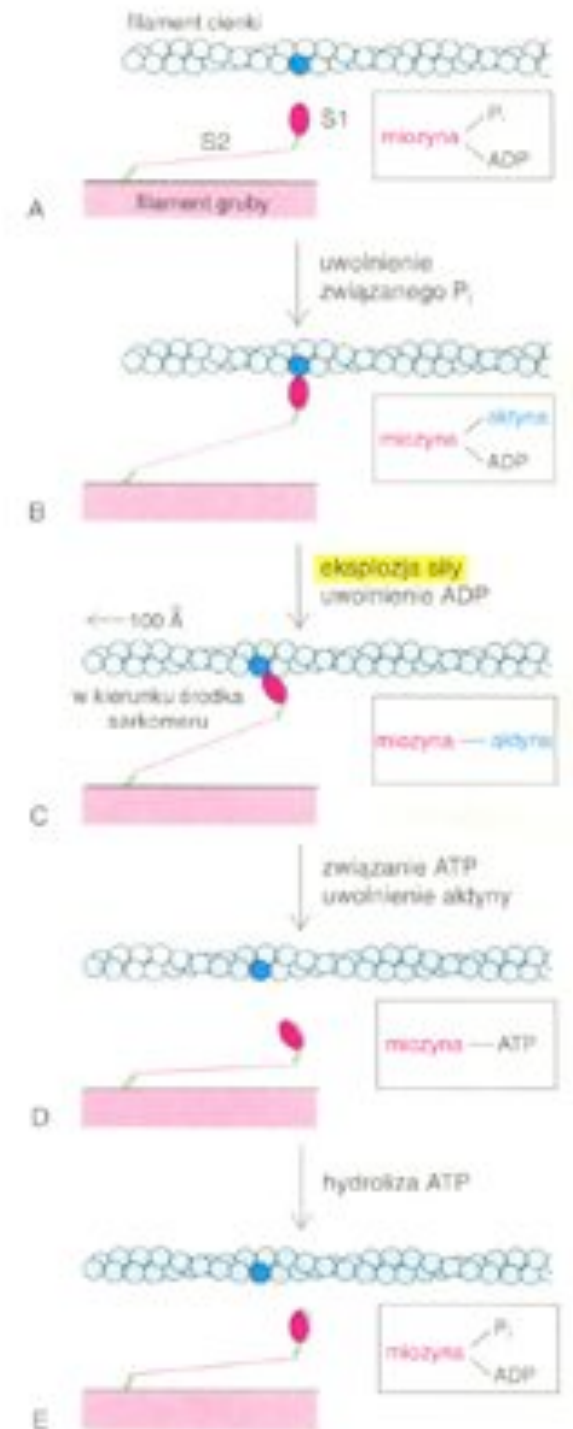
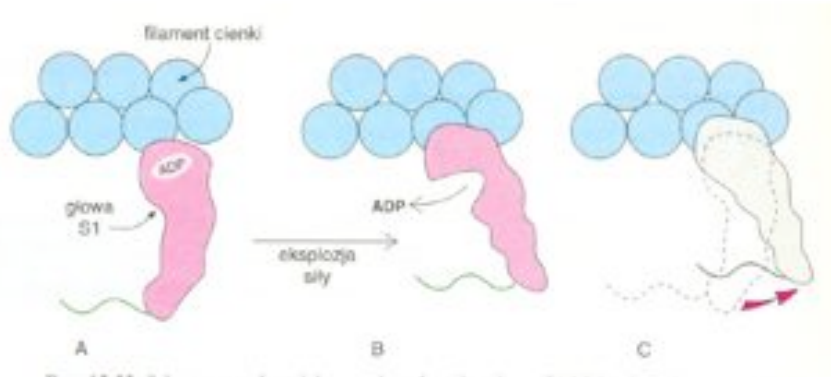
**Cienki filament** udekorowany subfragmentami **S1 miozyny**.

interakcja filamentów **grubych** i **cienkich** podczas skurczu mięśnia szkieletowego.



# Mięśnie – biochemia skurczu

1. **Wiązanie i hydroliza ATP** kierują **cyklicznym procesem tworzenia i dysocjacji kompleksów** między mostkami poprzecznymi miozyny grubych filamentów a jednostkami aktyny cienkich filamentów, skracając odległość pomiędzy liniami Z.
2. **Eksplozja siły skurczu** mięśnia pochodzi ze **zmian konformacyjnych** w obrębie **głowy S1**, towarzyszących uwalnianiu ADP z miejsc wiążących nukleotydy.
3. **Przeguby** między domenami miozyny umożliwiają **głowom S1** odwracalne przyłączanie się i odłączanie od aktyny oraz zmianę ich nachylenia po połączeniu się.
4. **Ruch zależny od ATP** może być **rekonstruowany** w prostych, dobrze zdefiniowanych układach.
5. **Kulki opłaszczone** miozyna poruszają się jednokierunkowo po aktynowym kablu. **Krok** wykonywany przez pojedynczą cząsteczkę miozyny wynosi około **11 nm**.



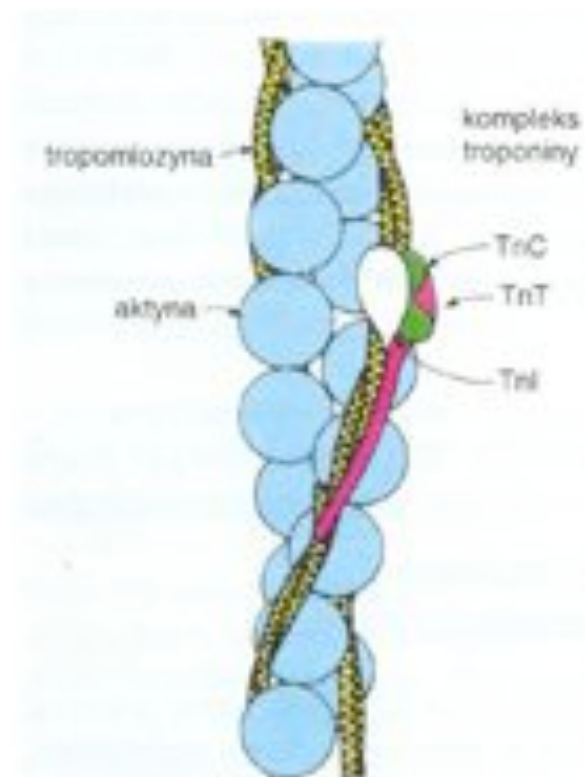
# Skurcz mięśni – funkcja $\text{Ca}^{2+}$

1. Skurcz mięśnia szkieletowego jest regulowany przez jony  $\text{Ca}^{2+}$ .
2. Współdziałanie aktyny i miozyny jest **zahamowane** przez kompleks troponiny i tropomiozyny, gdy poziom  $\text{Ca}^{2+}$  jest **niski**. Pobudzenie nerwowe uruchamia uwalnianie  $\text{Ca}^{2+}$  z siateczki sarkoplazmatycznej.
3. Wiązanie  $\text{Ca}^{2+}$  do troponiny C, członka rodziny receptorów wapniowych działających według modelu dłoni EF, zmienia współdziałanie tropomiozyny z aktyną, co pozwala miozynie związać aktynę i wytworzyć siłę skurczu.
4.  $\text{Ca}^{2+}$  kontroluje skurcz mięśnia poprzez **mechanizm allosteryczny**, w którym informacja przepływa w następujący sposób:

$\text{Ca}^{2+} \longrightarrow$  troponina  $\longrightarrow$  tropomiozyna  $\longrightarrow$  aktyna  $\longrightarrow$  miozyna



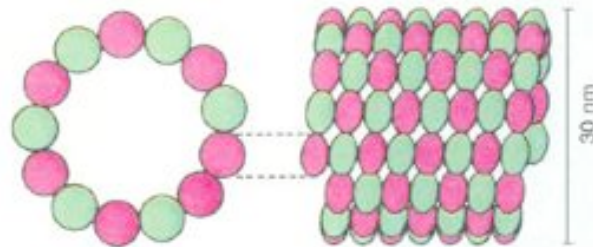
Schemat struktury **troponiny C** odpowiedzialnej za **wiązanie  $\text{Ca}^{2+}$** . Cztery odcinki łańcucha białkowego o motywie dłoni EF (miejsca wiązania wapnia) przedstawiono w kolorach. Miejsca wiązania  $\text{Ca}^{2+}$  w domenie regulatorowej są puste w krystalicznej postaci troponiny C. **Dwa jony wapnia** związane do miejsc o dużym powinowactwie domeny końca karboksylowego.



**Cienki filament** - w mięśniach spoczynkowych (niski poziom  $\text{Ca}^{2+}$ ), **tropomiozyna** zabezpiecza **aktynę** przed interakcją z jednostkami **S1 miozyny**.

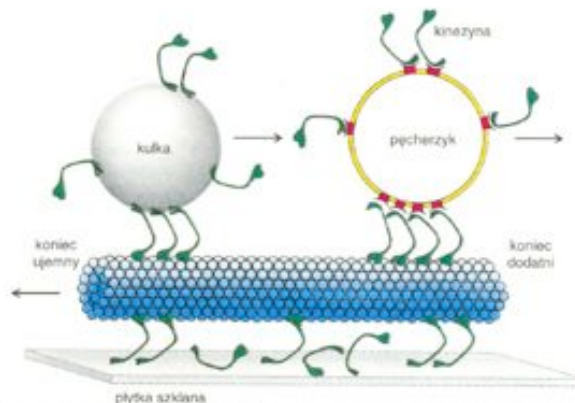
# Komórki mięśniowe – eukariota a prokariota

1. **Aktyna i miozyna** są konserwatywnymi białkami, co wykazano na podstawie ich obecności także u **drożdży i śluzowców**.
2. **Białka** te odgrywają **rolę w skurczu** prawie we wszystkich **komórkach eukariotycznych**.
3. **Aktyna**, która występuje szczególnie obficie, tworzy **mikrofilamenty** o średnicy **7 nm**.
4. Uczestniczą one w szerokim zakresie **ruchów komórkowych**, jak tego dowodzi **migracja komórek w ontogenezie** i **przemieszczanie się makrofagów** do uszkodzonych tkanek..
5. Dynamiczne **cytoszkielety komórek eukariotycznych** zawierają trzy klasy włóknistych struktur: **mikrofilamenty** (o średnicy około 7 nm są zbudowane z aktyny), **filamenty pośrednie** (około 10 nm średnicy) i **mikrotubule** (około 30 nm średnicy).
6. **Filamenty pośrednie** utworzone są z białek, które mają powszechnie występujący rdzeń o strukturze **2- lub 3-niciowej  $\alpha$ -helikalnej superhelisy**. **Keratyny włosów** są wyróżniającymi się białkami filamentów pośrednich.
7. **Mikrotubule** są wydrążonymi cylindrycznymi strukturami, zbudowanymi z dwóch rodzajów podobnych podjednostek,  **$\alpha$ - i  $\beta$ -tubuliny** o masie 50 kDa każda. Mikrotubule są głównymi składnikami rzęsek i wici komórek eukariotycznych.

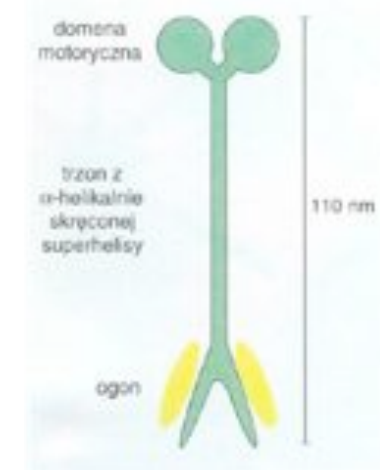


# Mikrotubule – rola i znaczenie

1. **Mikrotubule** pełnią na ogół różnorodne **funkcje architektoniczne i skurczowe** prawie we wszystkich komórkach eukariotycznych.
2. **Kolchicyna hamuje ruch**, w którym pośredniczą mikrotubule, przez **blokowanie ich polimeryzacji**.
3. **Mikrotubule** służą również jako ścieżki dla **ruchu pęcherzyków i organelli**.
4. Szybka, **GTP-zależna asocjacja i dysocjacja** mikrotubul jest istotą ich działania w rozwoju komórek.
5. **Mikrotubule** spontanicznie rozmontowują się, jeśli nie są obciążone ładunkiem stabilizującym ich końce.
6. Dwa rodzaje **ATP-zależnych motorów**, **kinezyzna** i cytoplazmatyczna **dyneina** transportują pęcherzyki i organelle wzdłuż szlaków mikrotubulinowych.
7. **Kinezyzna** transportuje cząstki ze środku komórki na jej obwód (transport anterogradowy), natomiast **cytoplazmatyczna dyneina** przemieszcza je w przeciwnym kierunku (transport retrogradowy).

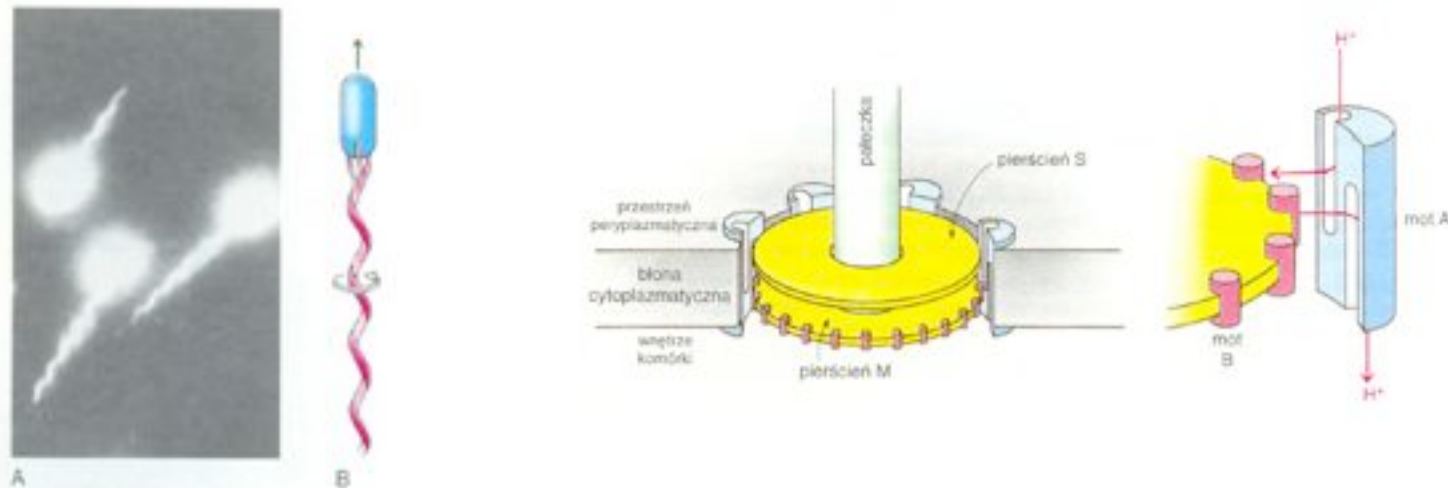


**KINEZYNA**



# Motoryka bakterii – wici

1. **Bakterie** pływają dzięki rotacji ich **wici**. Są to bierne **zewnętrzkomórkowe wypustki** obracane przez **odwracalne motory** umiejscowione w błonie cytoplazmatycznej.
2. **Ruch obrotowy** jest zasilany przez **siłę protonomotoryczną**, a nie przez hydrolizę ATP lub GTP. Każdy obrót jest spowodowany przepływem około 1000 protonów przez błonę.
3. Motor jest utworzony z produktów dwóch genów. **Białko motA** tworzy **kompleksowy kanał protonowy**, zaś **białko motB** tworzy miejsca **wiążące protony na obwodzie pierścienia M**.
4. **Protony** nie mogą przepływać wprost przez białko motA, ponieważ jego dwa półkanały nie są ciągłe, ale muszą być **przemieszczane** z motA do motB. Po rotacji pierścienia M, protony są przemieszczane z motB na drugą stronę motA.
5. **Działanie motoru** skonstruowanego z wici wykazuje, że **gradient protonów** może być użyty jako **źródło energii swobodnej**.



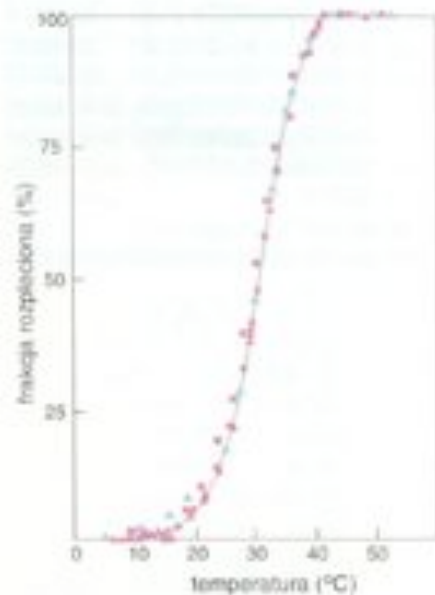
# Fałdowanie się białek

1. **Bogactwo i złożoność struktur białek** wynika z możliwości **zmian struktur przestrzennych** (rozplatanie i fałdowanie łańcuchów białek).
2. **Fałdowanie białek** polega na postępującej **stabilizacji stadiów pośrednich**, częściowo podobnych konformacyjnie do stanu ostatecznego.
3. **Natywna forma białka** jest bardziej stabilna od formy rozplecionej przeciętnie tylko o **42 kJ/mol** (10 kcal/mol), co oznacza, że średni udział pojedynczej reszty aminokwasowej w stabilizacji białka wynosi mniej niż wartość energii ruchów cieplnych.
4. **Natywna forma białka** jest konsekwencją wielu wzajemnie wzmacniających się oddziaływań. **Liczne białka** wyselekcjonowane w trakcie ewolucji mają tylko **niewielką stabilność**, ponieważ ich **elastyczność** jest istotna dla procesu fałdowania się, funkcjonowania i usuwania białek.

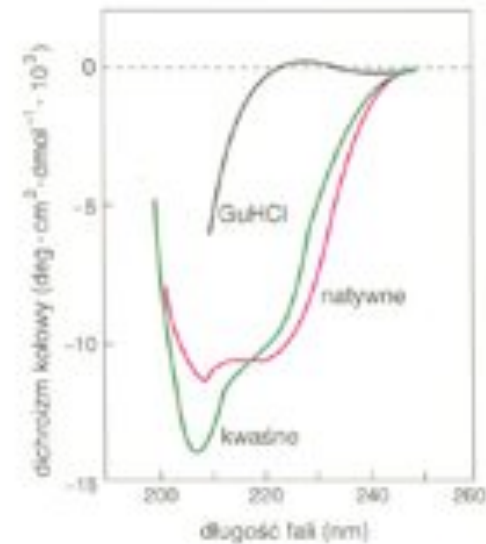


# Proces fałdowania - kinetyka

1. Badania kinetyczne **procesu fałdowania** się wielu białek wykazały, że białko na wczesnych etapach fałdowania przyjmuje konformację częściowo **statystycznego kłębka**.
2. Formy **statystycznych kłębków** zawierają w dużej mierze struktury **drugorzędowe białka natywnego**, lecz ich **struktura trój-wymiarowa** tylko w bardzo niewielkim stopniu przypomina **ostateczną konformację natywnego białka**.
3. **Oddziaływania** między **jednostkami struktur drugorzędowych** w tych stadiach pośrednich **zmieniają się bardzo szybko**. Siła napędową tworzenia się statystycznych kłębków są **oddziaływania hydrofobowe** prowadzące do fałdowania się i tworzenia **struktur drugo- rzędowych**.



Termiczne przejście rybonukleazy pomiędzy dwoma stanami jest wysoce kooperatywne i w pełni odwracalne.

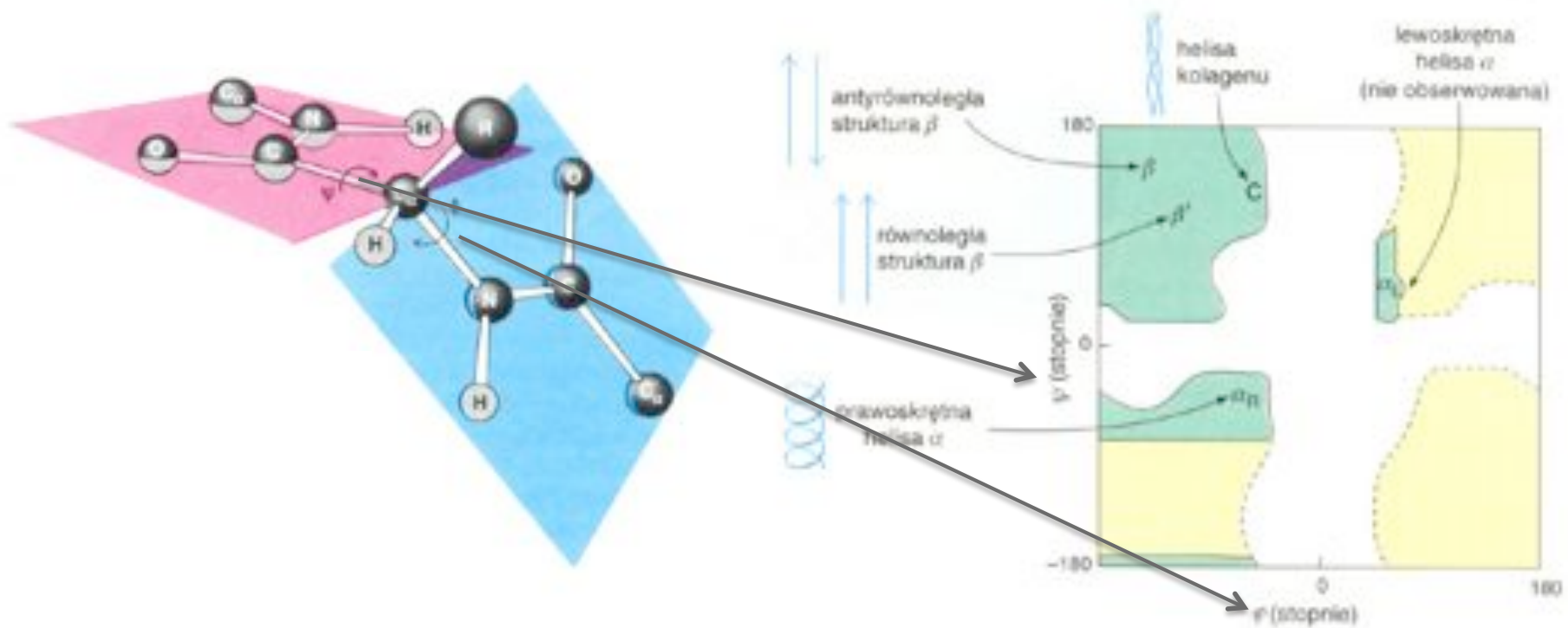


Widmo dichroizmu kołowego **natywnej  $\alpha$ -albuminy** (czerwone), formy rozplecionej pod wpływem **kwaśnego środowiska** i formy rozplecionej pod wpływem **chlorowodoru guanidyny** (czarne).



# Proces fałdowania

1. Utworzenie **helis  $\alpha$**  i **struktur  $\beta$**  jest jednym z najistotniejszych etapów **procesu fałdowania**.
2. Możliwości konformacyjne głównego łańcucha przedstawia się w formie **wykresów Ramachandrana**, które pokazują dozwolone kombinacje kątów  $\phi$  i  $\psi$ .



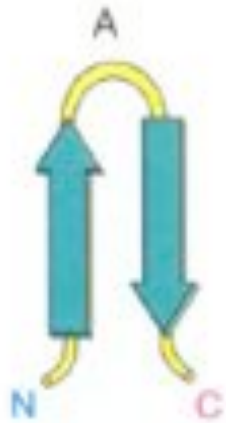
3. **Reszty aminokwasowe** mają **różne skłonności** do tworzenia **helis  $\alpha$** , **struktur  $\beta$**  i **zwrotów**. Na przykład **alanina** i **leucyna** sprzyjają powstawaniu **helisy  $\alpha$** , natomiast **walina** i **izoleucyna** – **struktury  $\beta$** . **Glicyna** i **prolina** mają tendencje do tworzenie **zwrotów**.

# Proces fałdowania

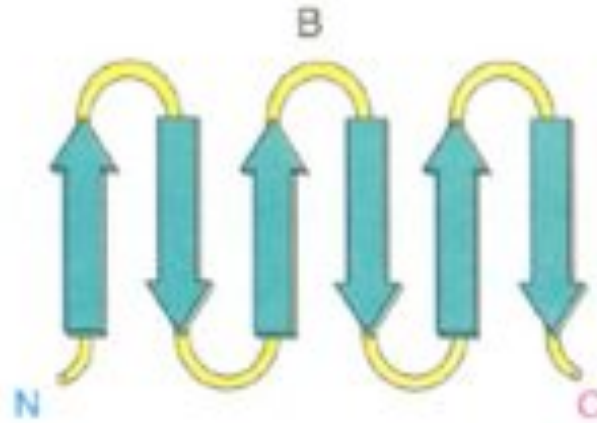
1. Ponad **60% struktur drugorzędowych** większości białek stanowią **helisy  $\alpha$**  i **struktury  $\beta$** . Te właśnie elementy strukturalne tworzą **wspólnie motywy fałdowania** (struktury naddrugorzędowe) takie jak pęczki czterech helis, struktury  $\beta$  typu spinek i jednostki  $\beta\alpha\beta$ .

Typowe struktury typu  $\beta$  :

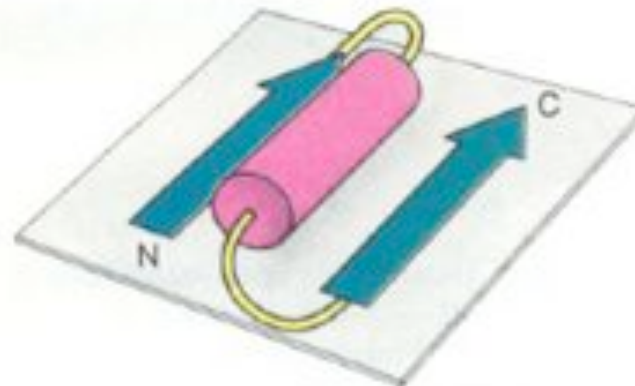
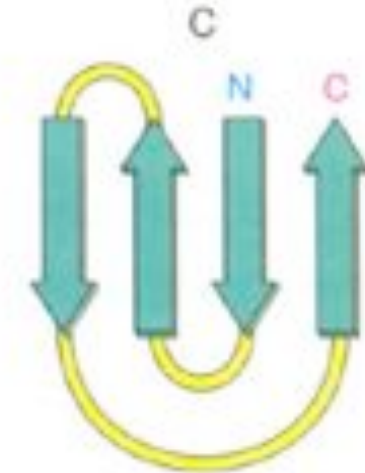
A –spinka  $\beta$ ;



B - struktura dywanowa,



C - klucz grecki.

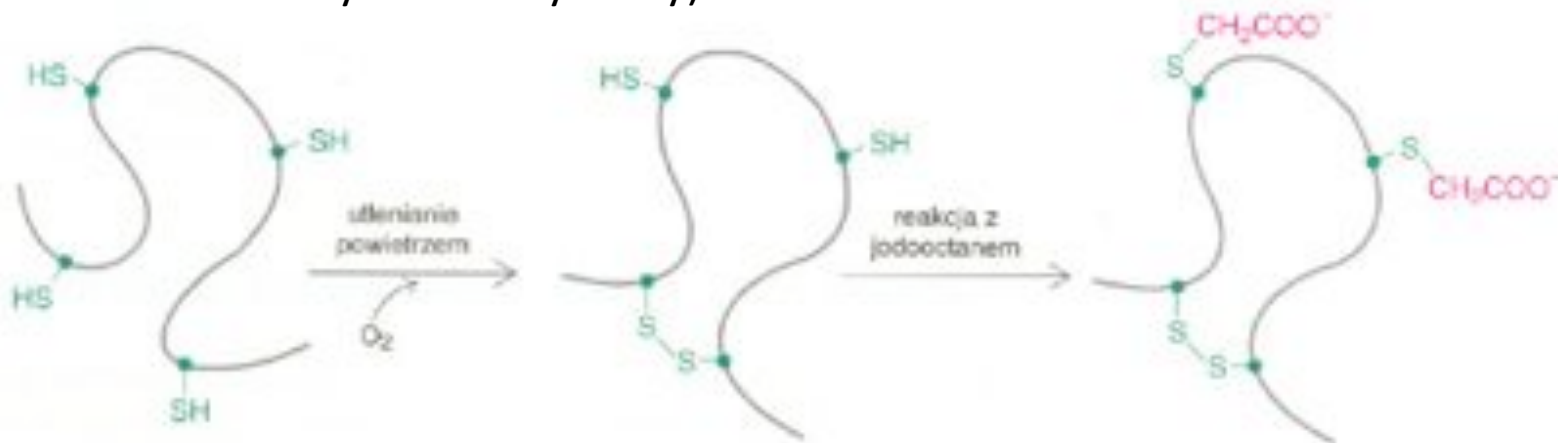


Schemat motywu  $\beta\alpha\beta$

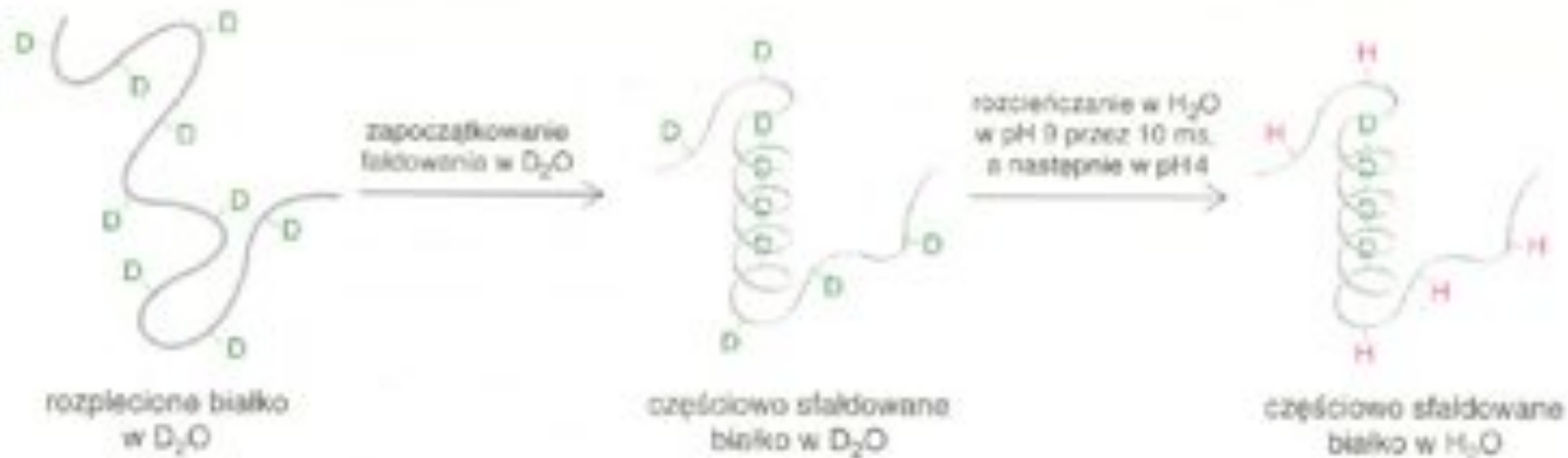
# Pośrednie stadia fałdowania się białek - charakteryzacja

Techniki umożliwiające wgląd w proces fałdowania się białek:

- badania metodami szybkiej kinetyki;
- uchwycenie intermediatów mających mostki dwusiarczkowe (zablokowanie jodoctanem wolnych reszt cysteiny)



- metoda NMR - technika pulsacyjnej wymiany wodór-deuter – śledzenie "nabywania" struktury drugorzędowej w trakcie fałdowania się białek

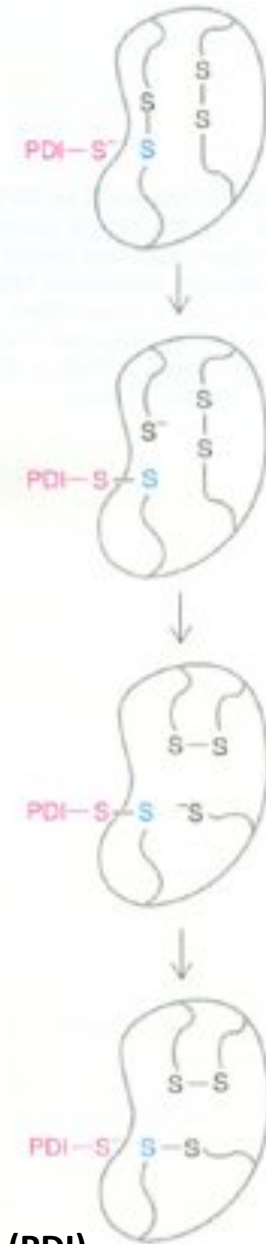


# Kataliza fałdowania białek

1. **Fałdowanie się białek** w komórce jest **wspomagane katalitycznie**.
2. **Disulfidoizomeraza białek (PDI)** kilka tysięcy razy przyspiesza reakcje **wymiany mostków dwusiarczkowych** w stadiach pośrednich uchwycionych kinetycznie.
3. **Izomeraza peptydyloprolilowa (PPIaza)** znacznie przyspiesza izomeryzację wiązań peptydowych X-Pro, które mogą być cis- lub trans-; niemalże wszystkie pozostałe wiązania peptydowe są trans.
4. **Rozplecione lub częściowo sfałdowane białka** w dużych stężeniach mają tendencje do **agregacji**.
5. **Białka chaperonowe** zapobiegają nieprawidłowym wiązaniom i eliminują błędne połączenia. Rozplątujące działanie wielu **chaperonów** jest napędzane przez **hydrolizę ATP**.



Struktury **cyklofiliny A**, izomerazy peptydyloprolilowej (PPIazy).



## Disulfidoizomera (PDI)

Katalizuje wymianę mostków dwusiarczkowych Anion tiolowy enzymu pełni kluczową rolę w katalizie

# Wykład 6

## Uzyskiwanie energii w procesach metabolicznych i jej magazynowanie

- metabolizm: podstawowe pojęcia i organizacja
- węglowodany I glikoliza
- cykl kwasu cytrynowego
- fosforylacja oksydacyjna