

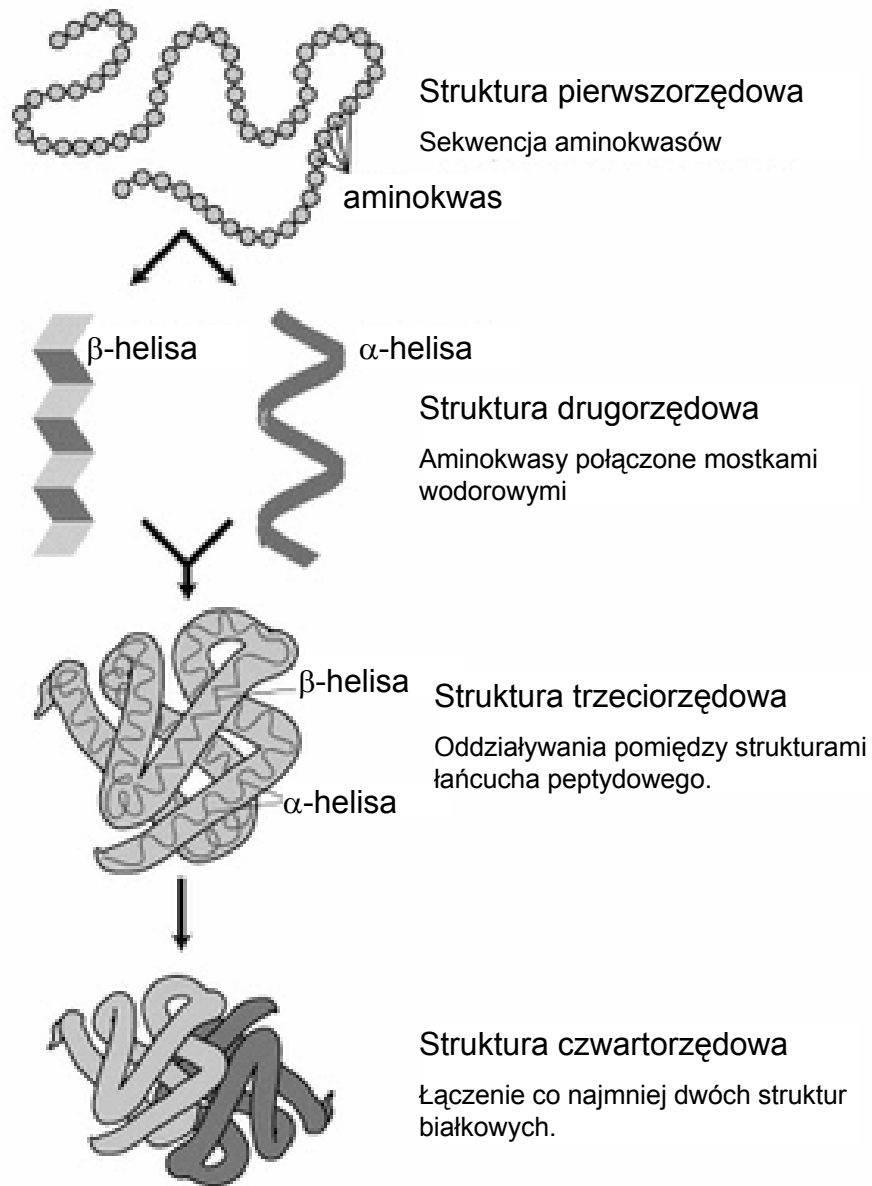
Białka

- 1) Dlaczego są ważne?
- 2) Kodowanie i budowa białek.
- 3) Procesy regulujące strukturę trzeciorzędową białek.
- 4) Allosteryczność.

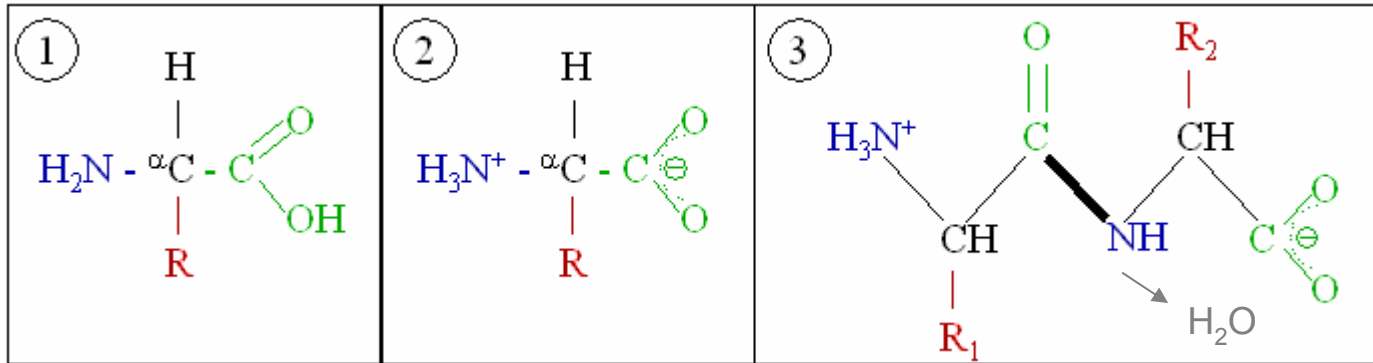
Białka stanowią ok. 15% masy ciała człowieka.

Funkcje białek

- a) Funkcje mechaniczno-strukturalne (skóra, kości, mięśnie, włosy);
- b) Receptory, transport i magazynowanie (rodopsyna, acetylocholina, hemoglobina, ferrytyny, mioglobina, cytochromy);
- c) Enzymy (acetylotransferaza cholinowa, insulina);
- d) Obrona immunologiczna (przeciwciała);
- e) Przekazywanie informacji (kontrola wzrostu i różnicowania komórek).



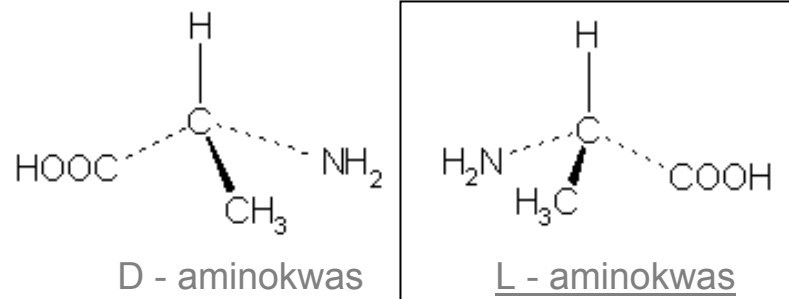
Struktura aminokwasów



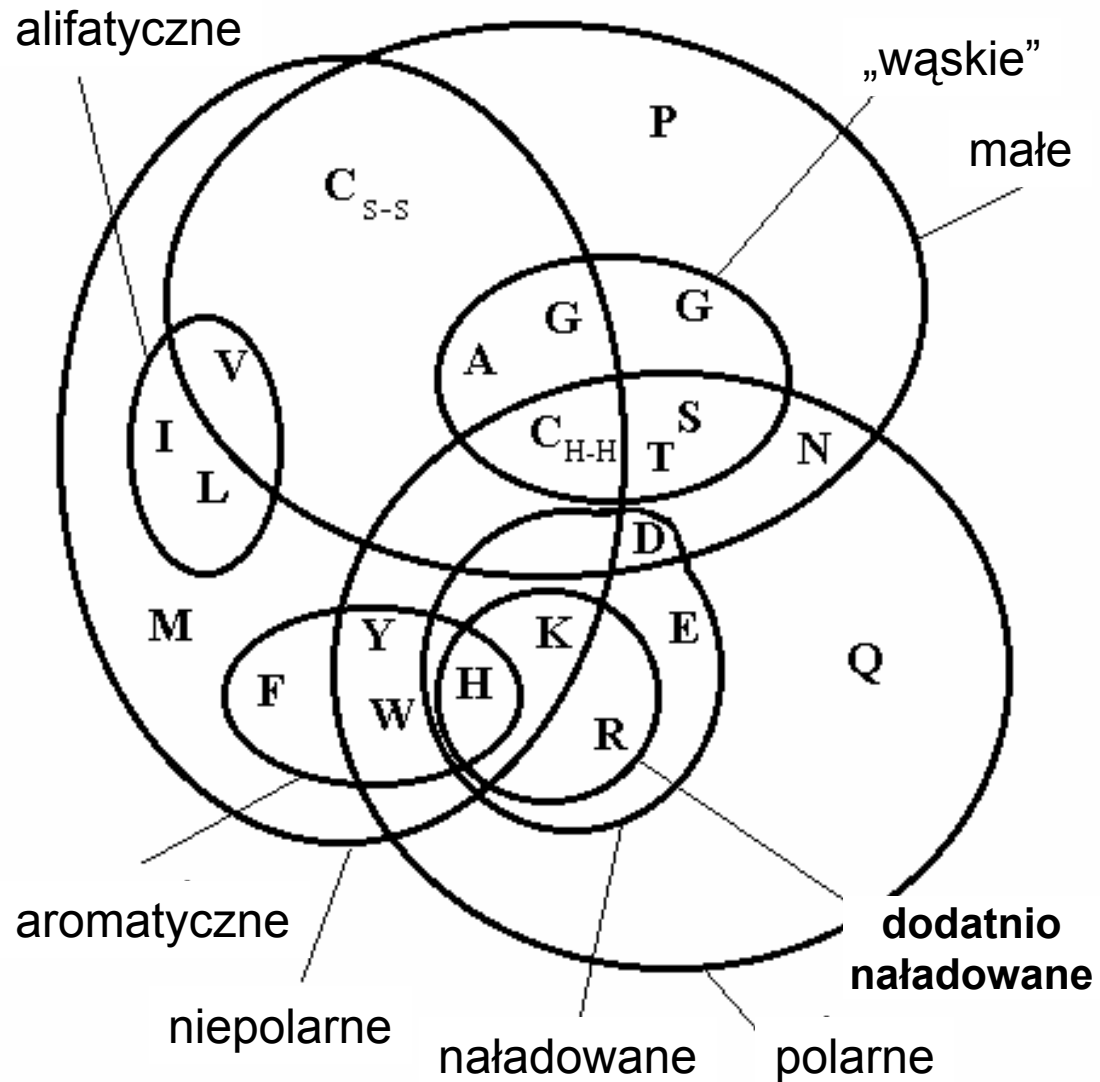
Wiązanie peptydowe

- Reszta R: - kwasowa
 - zasadowa
 - hydrofobowa (niepolarna)
 - hydrofilna (polarna)

Izomeryzm optyczny



$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Arginine (Arg / R)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Glutamine (Gln / Q)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ <p>Phenylalanine (Phe / F)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Tyrosine (Tyr / Y)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$ <p>Tryptophan (Trp / W)</p>
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Lysine (Lys / K)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$ <p>Glycine (Gly / G)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Alanine (Ala / A)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2 \end{array}$ <p>Histidine (His / H)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$ <p>Serine (Ser / S)</p>
$\begin{array}{c} \text{H}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \quad \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \end{array}$ <p>Proline (Pro / P)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ <p>Glutamic Acid (Glu / E)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ <p>Aspartic Acid (Asp / D)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Threonine (Thr / T)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$ <p>Cysteine (Cys / C)</p>
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Methionine (Met / M)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Leucine (Leu / L)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p>Asparagine (Asn / N)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{HC} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Isoleucine (Ile / I)</p>	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O}^- \end{array} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>Valine (Val / V)</p>



Różne własności aminokwasów

Amino acid	Abbr. v.	Side chain	Hydrophobic	Polar	Charged	Small	Tiny	Aromatic or Aliphatic	van der Waals volume	Codon	Occurrence in proteins (%)
Alanine	Ala, A	-CH ₃	X	-	-	X	X	-	67	GCU, GCC, GCA, GCG	7.8
Cysteine	Cys, C	-CH ₂ SH	X	-	-	X	-	-	86	UGU, UGC	1.9
Aspartate	Asp, D	-CH ₂ COOH	-	X	negative	X	-	-	91	GAU, GAC	5.3
Glutamate	Glu, E	-CH ₂ CH ₂ COOH	-	X	negative	-	-	-	109	GAA, GAG	6.3
Phenylalanine	Phe, F	-CH ₂ C ₆ H ₅	X	-	-	-	-	Aromatic	135	UUU, UUC	3.9
Glycine	Gly, G	-H	X	-	-	X	X	-	48	GGU, GGC, GGA, GGG	7.2
Histidine	His, H	-CH ₂ -C ₃ H ₃ N ₂	-	X	positive	-	-	Aromatic	118	CAU, CAC	2.3
Isoleucine	Ile, I	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	X	-	-	-	-	Aliphatic	124	AUU, AUC, AUA	5.3
Lysine	Lys, K	-(CH ₂) ₄ NH ₂	-	X	positive	-	-	-	135	AAA, AAG	5.9
Leucine	Leu, L	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	X	-	-	-	-	Aliphatic	124	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG	9.1

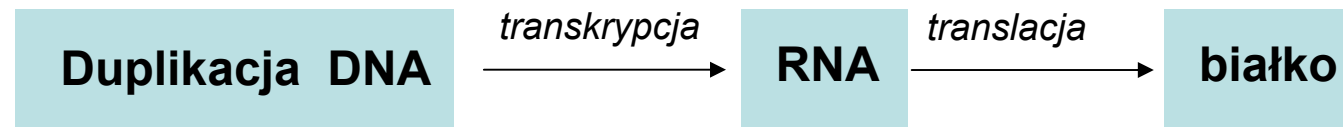
Metionina M (Met) -CH₂CH₂SCH₃ hydrofobowy 124 AUG 2.3

Asparagine	Asn, N	-CH ₂ CONH ₂	-	X	-	X	-	-	96	AAU, AAC	4.3
Proline	Pro, P	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	X	-	-	X	-	-	90	CCU, CCC, CCA, CCG	5.2
Glutamine	Gln, Q	-CH ₂ CH ₂ CONH ₂	-	X	-	-	-	-	114	CAA, CAG	4.2
Arginine	Arg, R	-(CH ₂) ₃ NH-C(NH)NH ₂	-	X	positive	-	-	-	148	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	5.1
Serine	Ser, S	-CH ₂ OH	-	X	-	X	X	-	73	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC	6.8
Threonine	Thr, T	-CH(OH)CH ₃	X	X	-	X	-	-	93	ACU, ACC, ACA, ACG	5.9
Valine	Val, V	-CH(CH ₃) ₂	X	-	-	X	-	Aliphatic	105	GUU, GUC, GUA, GUG	6.6

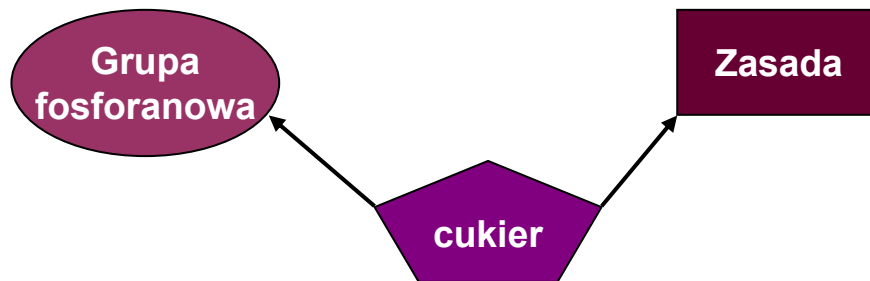
Tryptofan W (Trp) -CH(CH₃)₂ hydrofobowy aromatyczny 163 UGG 1.4

Tyrosine	Tyr, Y	-CH ₂ -C ₆ H ₄ OH	X	X	-	-	-	Aromatic	141	UAU, UAC	3.2
--------------------------	--------	--	---	---	---	---	---	----------	-----	----------	-----

Synteza białek



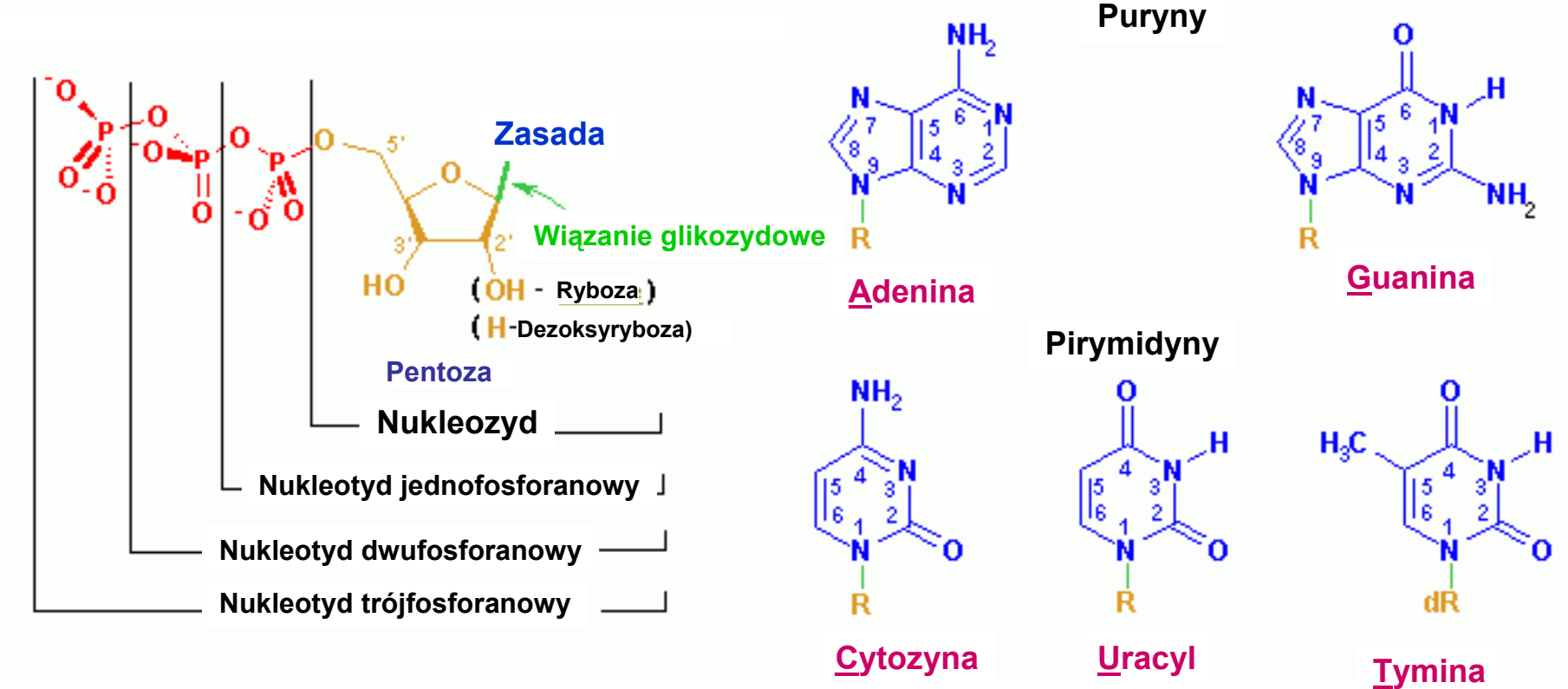
Budowa kwasu nukleinowego



Długość DNA dla *E.coli*: 50 nm
Długość DNA dla człowieka: 1.5 m!

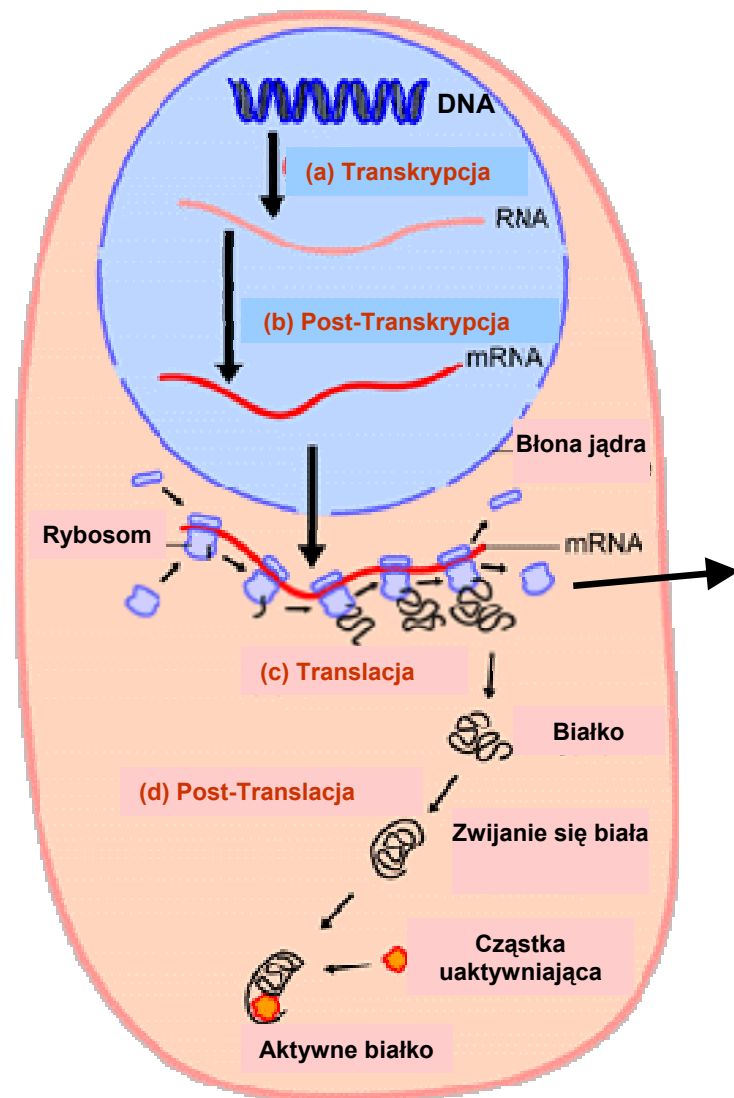
Struktura DNA typu A,B i Z
(sekwencja i środowisko wodne
decydują o tworzeniu struktury typu B,
struktura typu Z niefizjologiczna)

Nukleotydy



A – T podwójne wiązania wodorowe
 G – C potrójne wiązania wodorowe

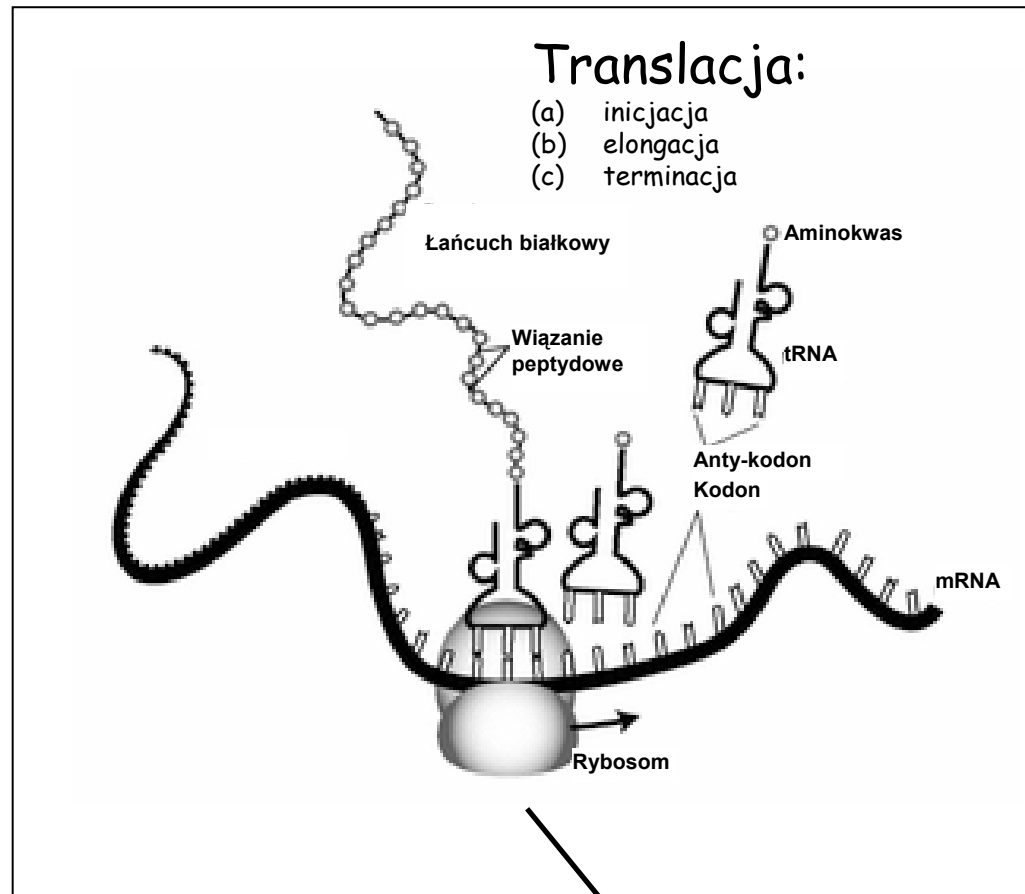
Synteza białek rybosomalnych



-nierybosomalne (rośliny, grzyby, jednokomórkowce)
 -powstałe w procesach trawiennych

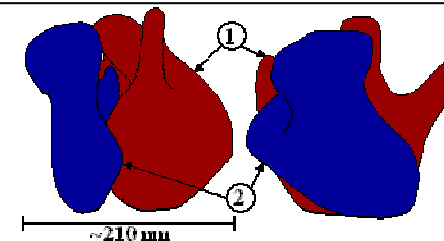
Translacja:

- (a) inicjacja
- (b) elongacja
- (c) terminacja



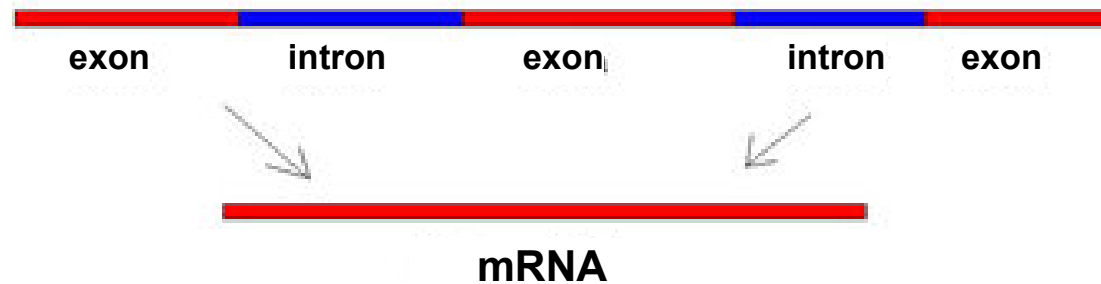
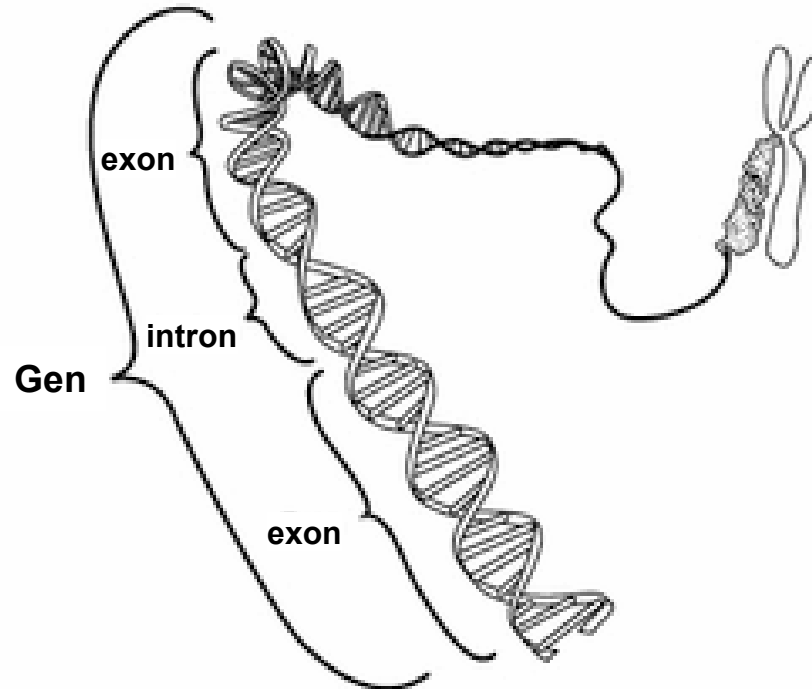
Rybosom 2 podjednostki

Występują we wszystkich komórkach (również chloroplastach i mitochondriach)

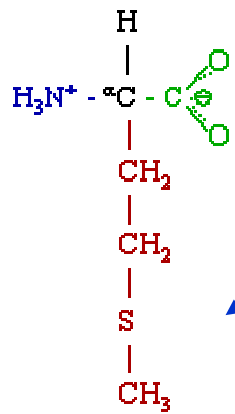
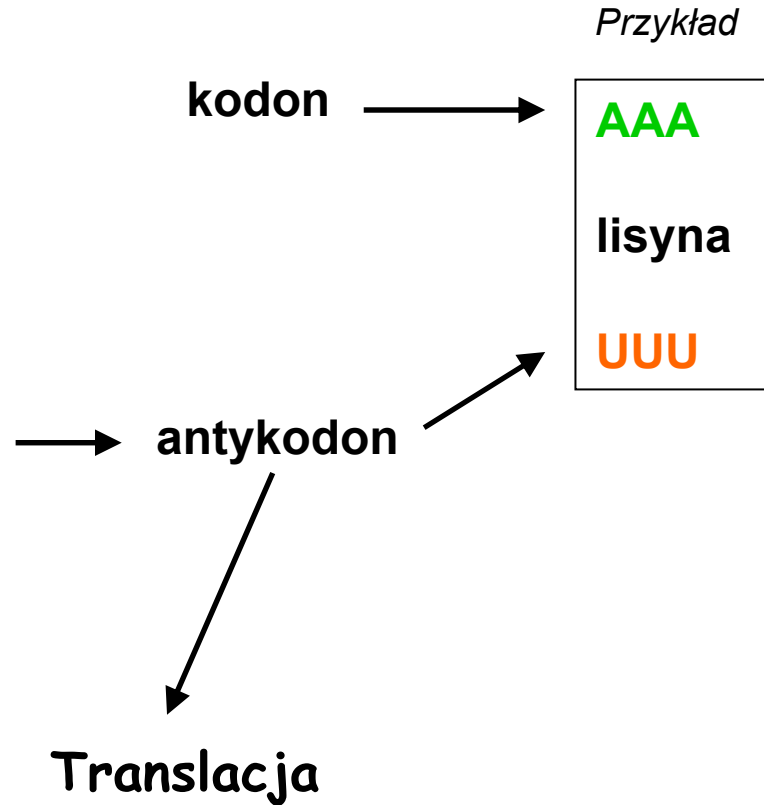
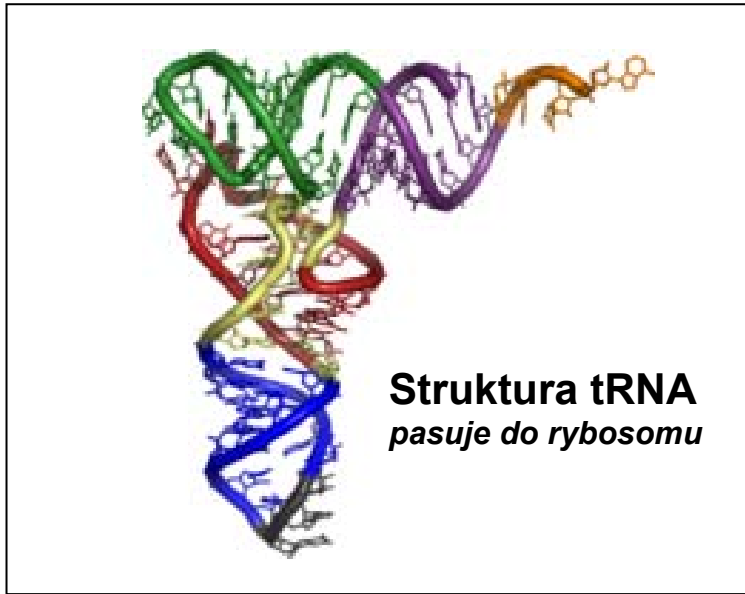


Květoslava Burda, AGH

Łączenie aktywnych genów zależne od II-go rzędowej struktury RNA

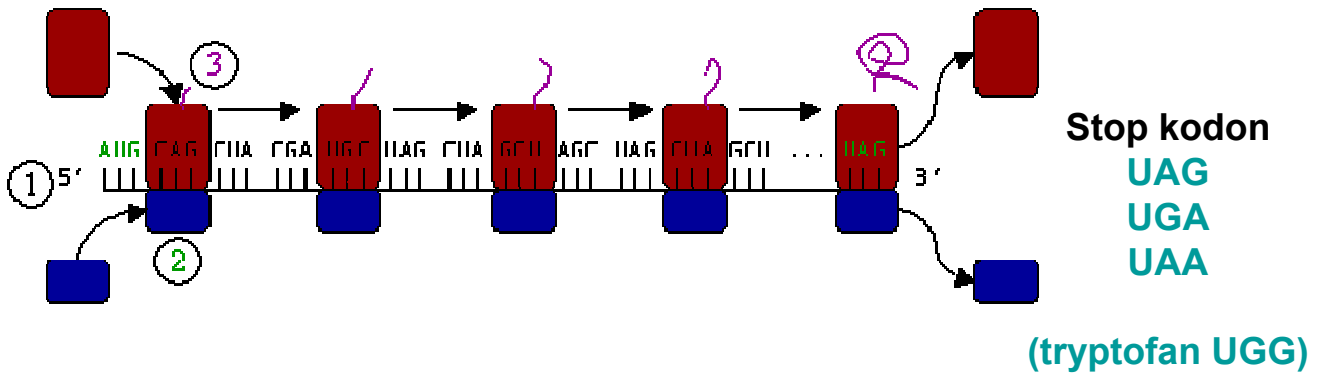


Mogą powstać różne białka !



Methionine
(Met / M)

Start kodon
AUG
lub
GUG

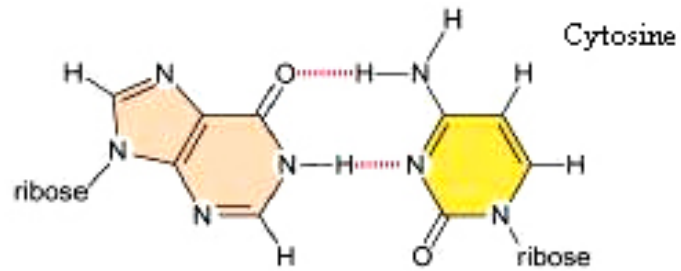


Mniej restrykcyjna od transkrypcji !

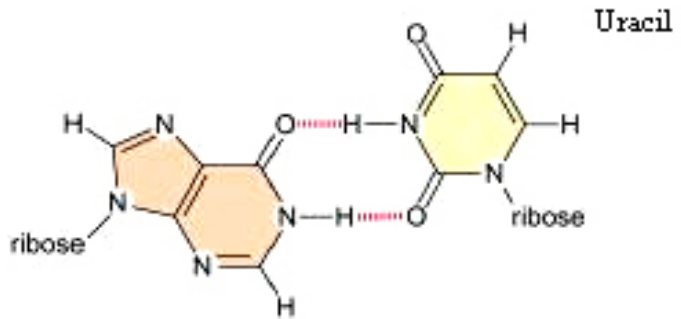
Květoslava Burda, AGH

Steryczna swoboda kodowania

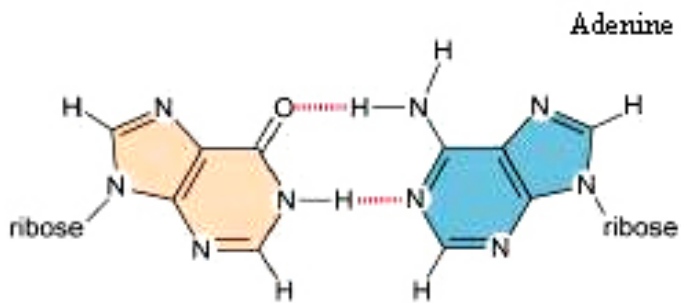
Jonizyna I



Cytosine



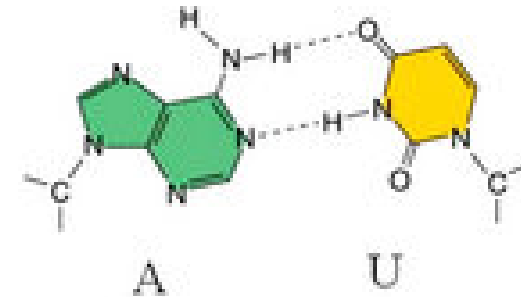
Uracil



Aderine

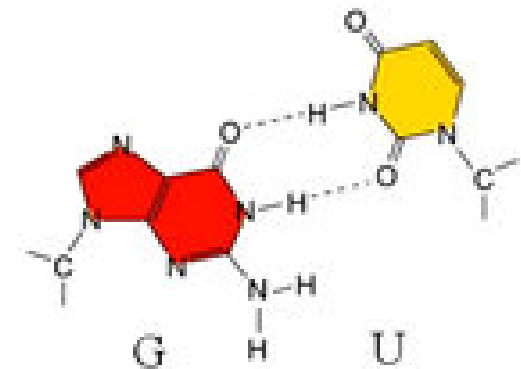
Antykodon - Kodon

Uracyl I



A

U



G

U

Antykodon - Kodon

Oddziaływania ładunków determinują między innymi konformacje polimerów biologicznych.



Stała dysocjacji wody jest stała w stałych warunkach temperaturowych.

$$c_{H^+} c_{OH^-} = 1 \times 10^{-14} M^2 = K_w \quad \text{Dla } T = 37 \text{ }^\circ\text{C}$$

c_{H^+} *koncentracja jonów wodorowych*

c_{OH^-} *koncentracja jonów hydroksylowych*

Dodanie kwasu lub zasady zaburza równowagę dysocjacji wody równowagę kwas/zasada.

$$pH = -\log c_{H^+}$$

Typowe wartości pH w warunkach fizjologicznych

Komórek pH od 6.5 do 8.0.

Silne kwasy: pH 1-2

Silne zasady: pH 12-13

Gdy kwas dysocjuje w roztworze , to stała dysocjacji kationów H^+ , K_a , wynosi:



to

$$K_a = \frac{c_{H^+} c_{A^-}}{c_{HA}}$$

c_{H^+} koncentracja jonów wodorowych

c_{A^-} koncentracja anionów kwasowych

c_{HA} koncentracja cząsteczek kwasu

$$pK_a = -\log K_a$$

Równanie Hendersona – Hasselbacha:

$$pH = pKa + \log \left\{ \frac{c_{A^-}}{c_{HA}} \right\}$$

Znajomość pH r-ru i pKa grup zasadowych lub kwasowych pozwala, w pierwszym przybliżeniu, na wyznaczenie frakcji danej grupy molekularnej

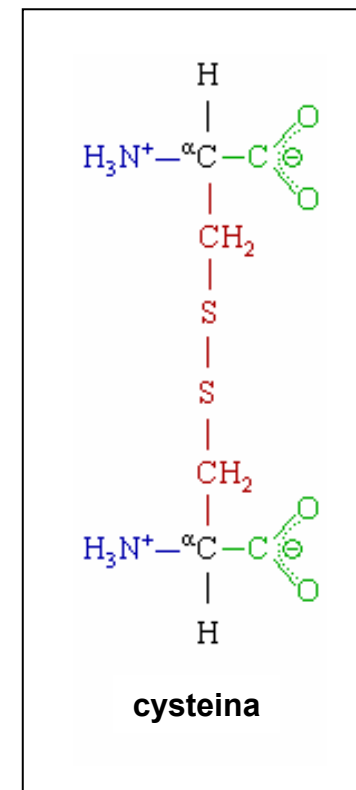
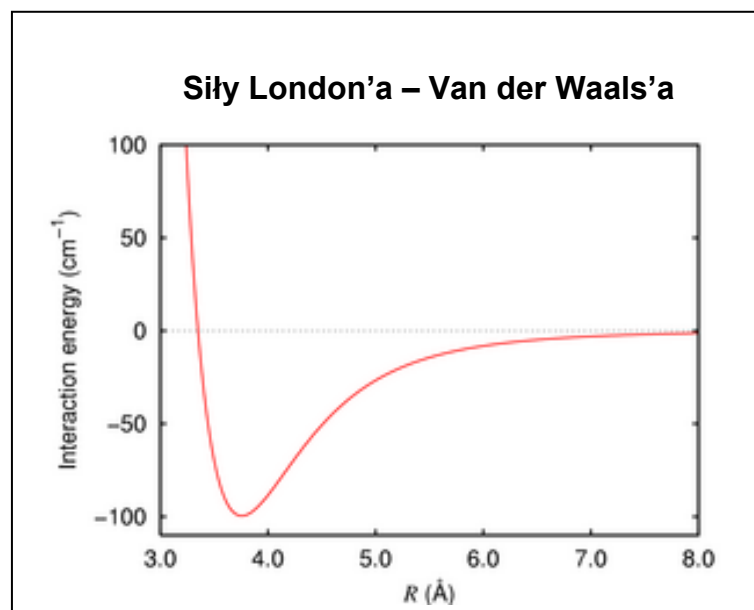
Zwijanie się białek (inne ważne oddziaływania):

-wiązania kowalencyjne

-wiązania wodorowe

-oddziaływania Van der Waals'a

O—H...:N (7 kcal/mol)
O—H...:O (5 kcal/mol)
N—H...:N (3 kcal/mol)
N—H...:O (2 kcal/mol)



Skala siły wiązań:

Rodzaj wiązania	Względna siła wiązania
jonowe	1000
wodorowe	100
dipol-dipol	10
Van der Waals'a	1

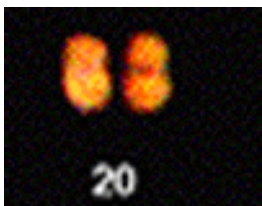
Kontrola prawidłowego zwiwania się białek

'heat shock proteins' ← 'chaperons'

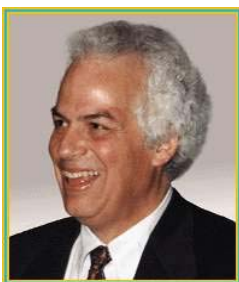
obrona

Denaturacja białek:

temperatura, kwasy, zasady, detergenty, alkohole, metale ciężkie, sole, czynniki redukujące.



Prion (PrP - prion protein, pronounced pree-ahns)
uczestniczą w przesyłaniu sygnałów na brzegach komórek nerwowych
Składają się z ok.. 230 aminokwasów



1981 Stanley Prusiner, Nagroda Nobla1997



**Te same elementy,
ale inna struktura**

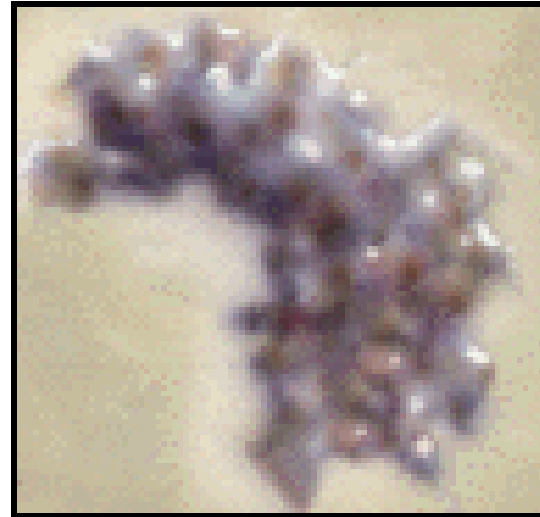


**"spongiform encephalopathies,,
choroba mózgu wywołana prionami
PrPC**

Jedna forma białka PrP jest przyczyną chorób, druga ich nie wywołuje.

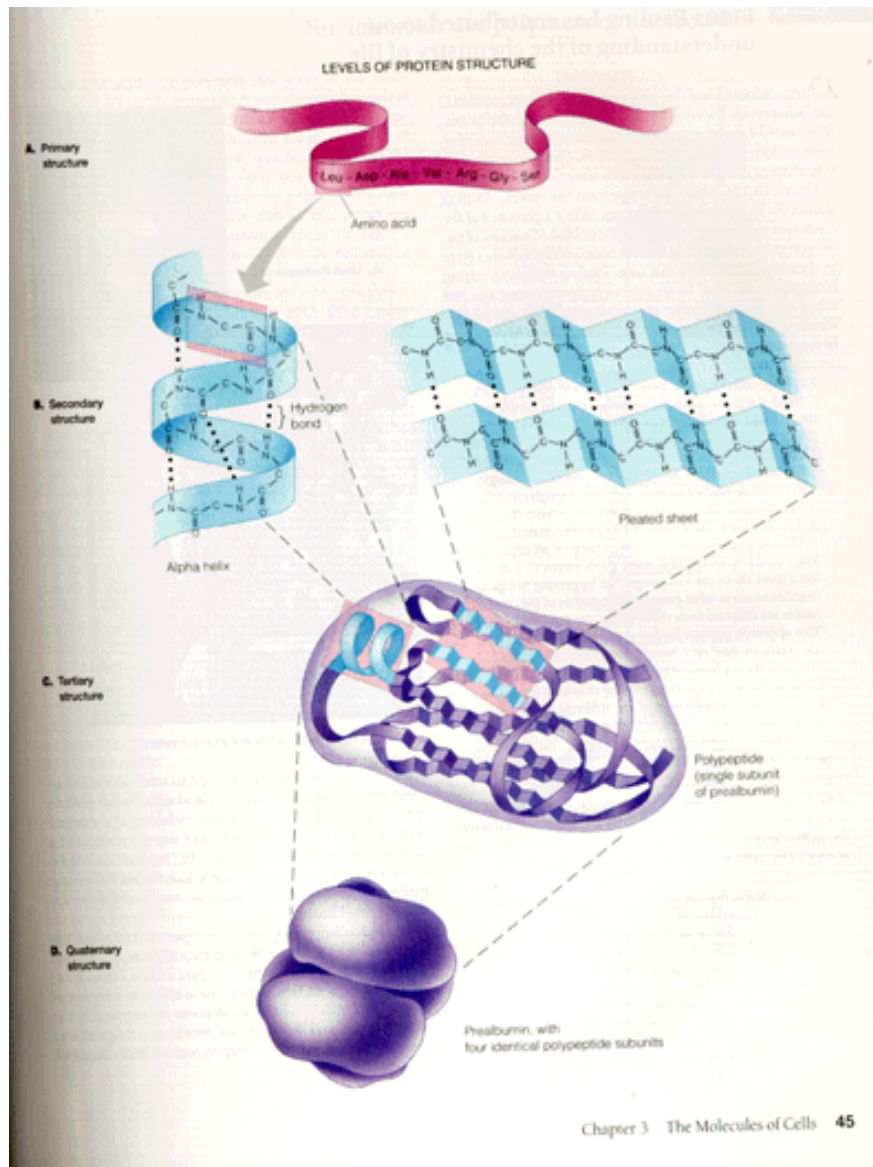


PrP^c



PrP^{Sc}

W 1988 uzyskano klon genu PrP z organizmu człowieka chorego na syndrom GSS (Gerstmannna-Strausslera-Scheinkera). Po porównaniu z genami ludzi zdrowych wykazano, że zawiera on mutację punktową. W kodonie 102 zamiast leucyny znaleziono prolinę.



Zmiana α -helisy w β -helisę

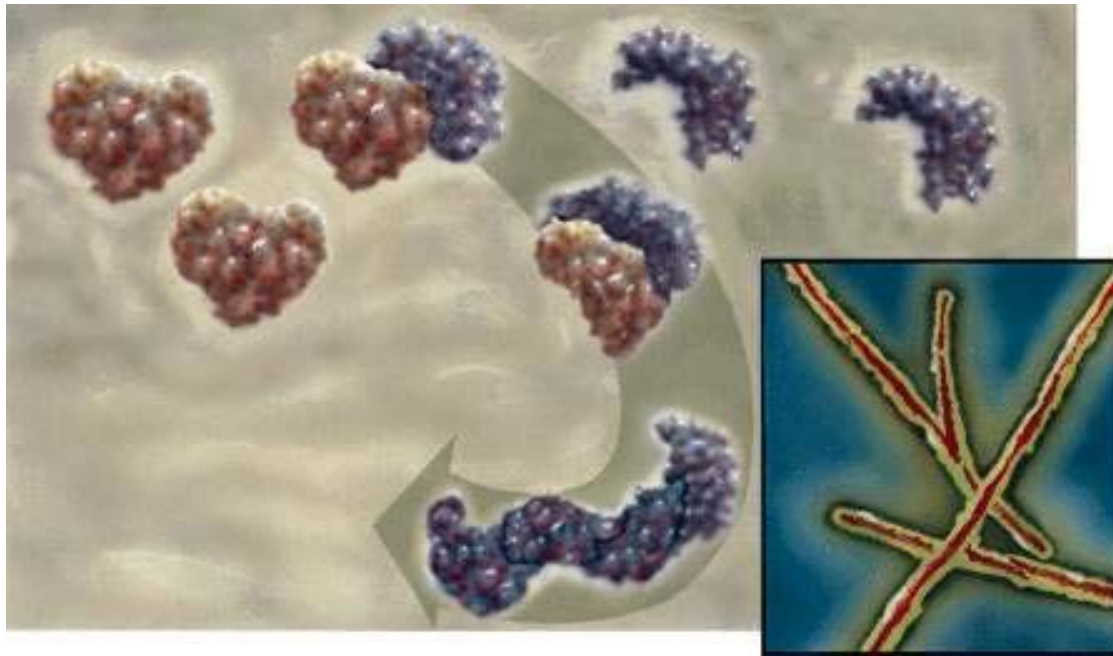
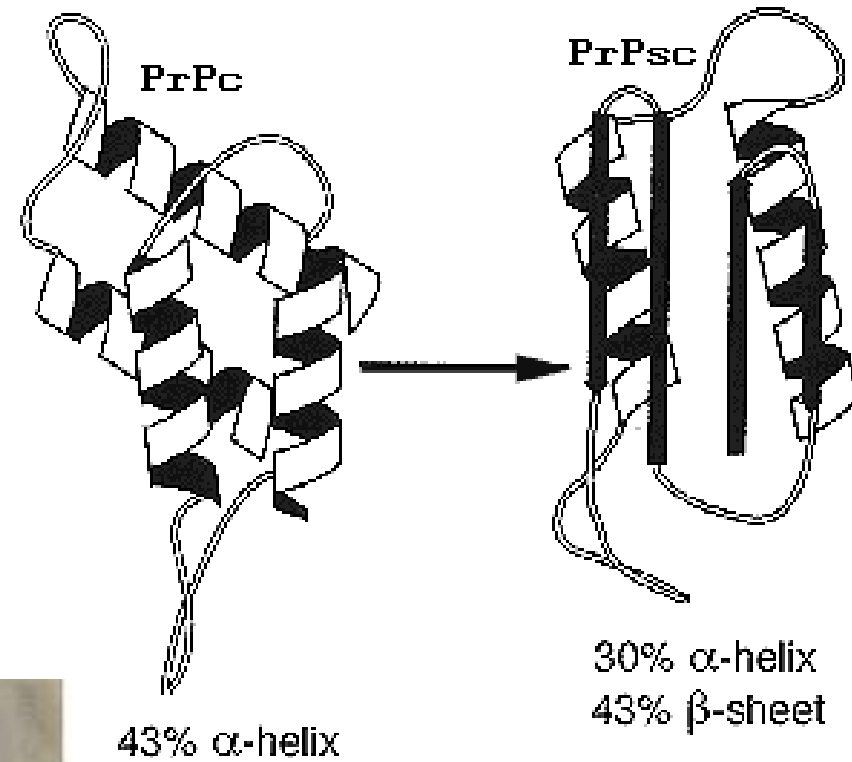


Powstawanie agregatów

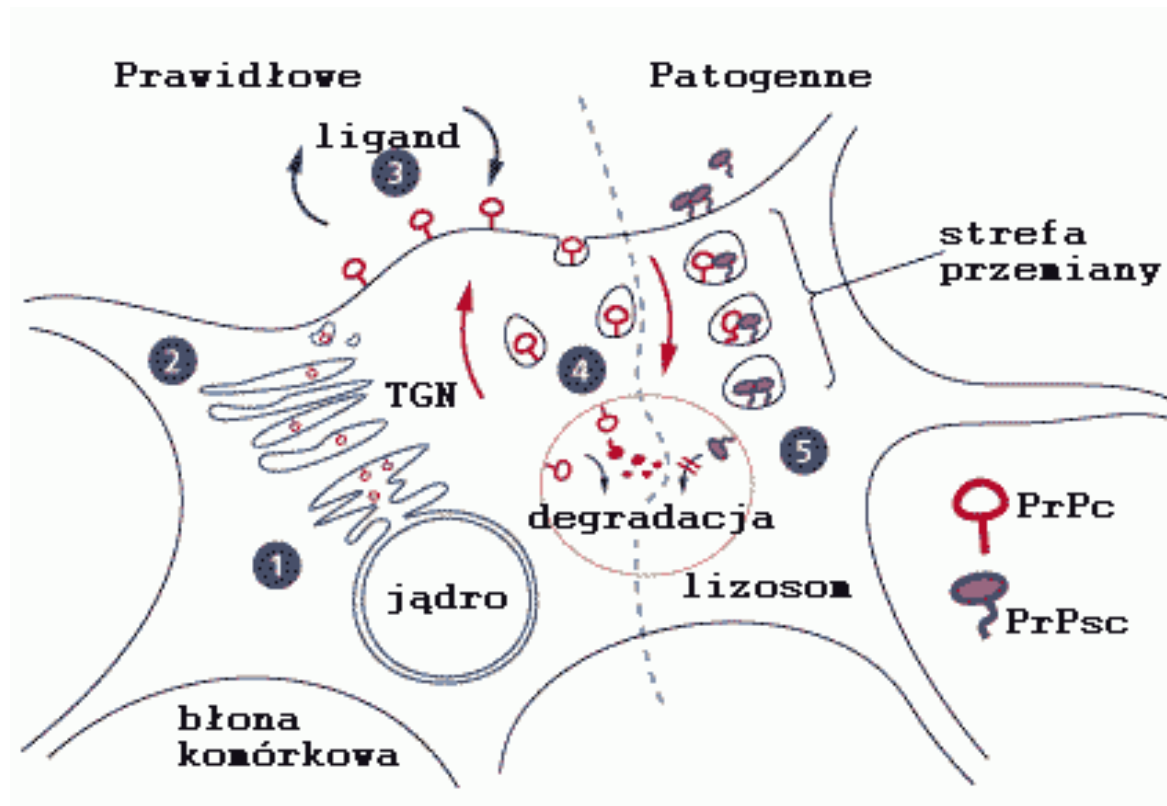


Niszczenie komórek mózgu
(jak ser szwajcarski)

Przekształcenie PrPc w PrPsc następuje w wyniku indukcji zmiany kształtu.



Květoslava Burda, AGH



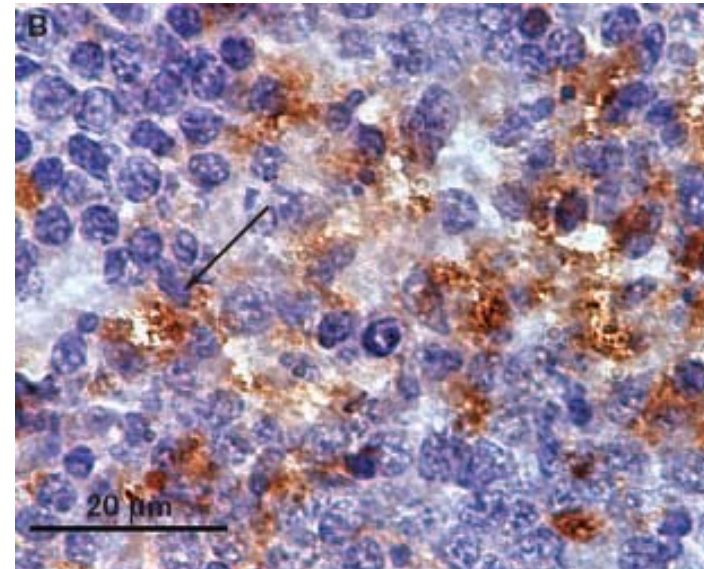
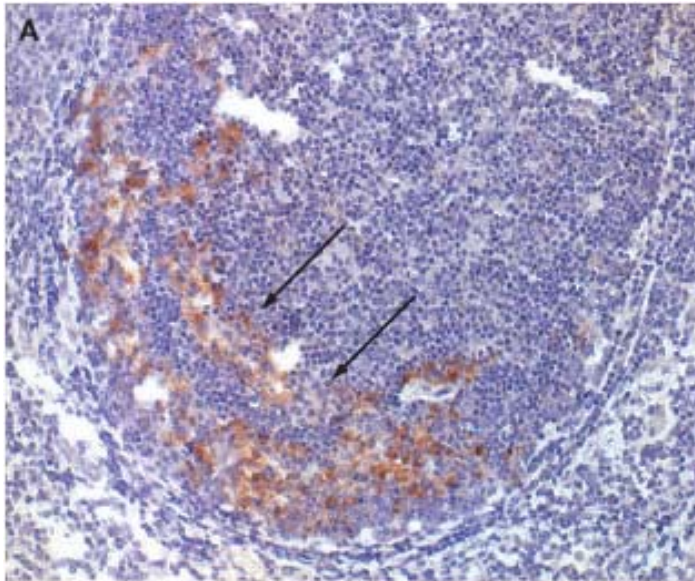
Przemiany prionów w komórce zdrowej i chorej

1,2,3 – synteza prionów naturalnych. Kompleks z białkami błony komórkowej, PrPc wbudowywane są do plazmolemmy. Składniki błony ulegają ciągłej wymianie, degradowane są w lizosomach pod wpływem enzymów.

4 – PrPsc na drodze endocytozy wnikają do komórki. Są odporne na enzymy – bez zmian lub częściowa degradacja.

5 – w aparacie Golgiego z tych elementów syntetyzowane są patogenne białka prionowe. Wbudowywane są w błonę. TGN=trans-Golgi network, transportowe pęcherzyki Golgiego.

W hodowlach komórkowych przekształcenie normalnego białka w PrPsc zachodzi wewnątrz neuronów. PrPsc gromadzi się w lizosomach, które pękają w mózgu i uszkodzają komórki. Po śmierci chorych komórek tworzą się ubytki (mózg wygląda jak gąbka).



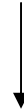
Rozpad PrPsc powoduje powstawanie fragmentów tego białka w formie płytek w mózgu. U niektórych osobników płytki nie tworzą się.

- A. Aguzzi, M. Glatzel „Prion infections, blood and transfusion”
- B. www.nature.com/clinicalpractice/neuro June 2006 vol 2 no 6

Rozpoznane schorzenia

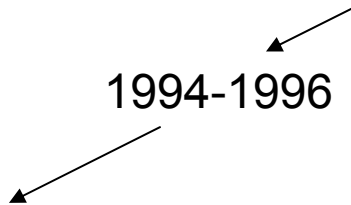


Scarpie – chroba owiec znana od 250 lat
"transmissible spongiform encephalopathies" (TSE),



bovine spongiform encephalopathy (BSE)
choroba szalonych krów

1994-1996



Creutzfeldt Jakob Disease (CJD)

(może też mieć podłoże genetyczne, np. Słowacja, Chile, Izrael)

Inne:

- Kuru (śmiejąca się śmierć) w Nowej Gwinei
- Fatal Familial Insomnia (FFI), 1992, *gen.*
- Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome (GSSS)
(pojawiają się struktury płytkowe podobne jak w chorobie Alzheimer'a)

CHOROBA	TYPOWE OBJAWY	DROGI ZAKAŻENIA	ROZPRZESTRZENIANIE SIĘ	OKRES ROZWIJANIA SIĘ CHOROBY
kuru	Utarta koordynacji, ośpienie	kanibalizm	Papua-Nowa Gwinea	3 miesiące do roku
CJD Creutzfeldta-Jakoba	Ośpienie, utrata koordynacji	Mutacja (10-15%), nieznanne	1 osoba na milion, 100	Okolo roku, do 10 lat
GSS Strusslera-Scheinkera choroba	Utarta koordynacji, ośpienie	mutacja	50 rodzin	2-6 lat
FFI fatal familial insomnia	Kłopoty ze snem,	mutacja	9 rodzin	Okolo roku

Kora mózgowa Gdy zainfekowana zostaje kora mózgowa, wystepujce symptomy to utrata pamieci oraz utrata zdolności mentalnych, czasami omamy wzrokowe (CJD).

Podwzgórze Uszkodzenie podwzgórza moze wywołać bezsenność (FFI).

Mzdek Uszkodzenie mózdku powoduje problemy z koordynacj ruchową oraz trudności z utrzymaniem rownowagi (kuru, GSS).

Pień mózgu Choroba szalonych krów (BSE) moze powodować uszkodzenie pnia mózgowego. (Znajduj się tam liczne ośrodkie odpowiedzialne za utrzymanie funkcji życiowych: ośrodek oddychania, regulujący prace serca, ośrodek integracji bodźców ruchowych).

Droga zakażenia

Priony mogą rozprzestrzeniać się trzema różnymi drogami:

1. Poprzez transmisję międzygatunkową np. od owcy na krowę (BSE).
2. Poprzez odziedziczone mutacje genu „prionowego” (od rodziców na dziecko).
3. Mogą powstawać spontanicznie.

Źródłem chorób prionowych może być żywność pochodzenia zwierzęcego, żelatyna, kosmetyki zawierające proteiny pochodzenia zwierzęcego, leki pochodzenia zwierzęcego, preparaty krwi.

Trudno „zabić” priony.

Są odporne na wysoką temperaturę (inaktywacja w 300 C), promieniowanie UV, promieniowanie X, enzymy proteolityczne.

W autoklawie, w temp. 131 C, ulegają deaktywacji po około godzinie.

Stężone roztwory wodorotlenku sodu i podchlorynu sodu (10-15%) niszczą priony.

Udowodniono, że bariera gatunkowa zależy od sekwencji aminokwasów białka PrP.

Widok na przyszłość

- Badania na drożdżach potwierdziły hipotezę, że mogą istnieć priony nie mające podobieństwa w sekwencji aminokwasowej z białkiem PrP.
- Chorobom prionowym towarzyszy rozwój retrowirusów. Mogą one „upakowywać” białko PrPsc w swoją osłonkę i przyczyniać się do roznoszenia chorób prionowych (Nature, sierpień 2006).
- Nieudane próby z lekami (lipiec 2006). W 2001 roku były doniesienia o lekarstwie, które spowalnia rozwój choroby. Okazało się, że nie powstrzymuje i nie spowalnia on choroby. Zazwyczaj po roku od wystąpienia objawów ludzie umierali (156 „zabitych”)
- Wcześniejsze wykrywanie obecności prionów we krwi (lipiec 2006). Po 20 dniach od zakażenia wykrywalność wynosi 50%, po 40 dniach 60%, podczas gdy objawy chorób prionowych pojawiają się po około 114 dniach.
- Powiązanie z innymi chorobami neurodegeneracyjnymi (Alzheimer, Parkinson, stwardnienie rozsiane). Choroby te występują w formie sporadycznej, czasem atakują całe rodziny. Są chorobami wieku średniego i późnego. Wykazują podobną patologię: degeneracja neuronów, akumulacja białka w postaci płytek, powiększenie komórek glejowych w reakcji na uszkodzone neurony.