

## Лекция 16-ая «Методы биоинформатики в изучении метаболизма белков. Обзор»

---

### Спецкурс "Информационная Биология"

Лектор: С.В.Николаев.

#### К слайду 3.

"Жизненный цикл" белков:

- синтез белка;
- функционирование белка;
- распад белка.

В синтез белка вовлекаются аминокислоты, образующиеся как в процессе распада белков, так и в реакциях метаболизма.

Синтезированный белок распределяется по клеточным органеллам и действует либо как фермент, либо как структурная основа (например, цитоскелет), либо как "деталь" сократительного комплекса (например, акто-миозиновый комплекс в мышцах). При этом случается, что одна молекула сочетает в себе сразу несколько функций.

Когда белок выполнит свою роль или "поломается", он должен быстро подвергнуться деградации до аминокислот - жизненный цикл данного белка завершен.

#### К слайду 4.

Общая схема синтеза белка.

В ядре на молекуле ДНК синтезируется молекула матричной РНК (мРНК), которая затем транспортируется в цитоплазму. В цитоплазме рибосомы на мРНК как на матрице синтезируют белок. Кроме мРНК в ядре на молекуле ДНК как на матрице синтезируются транспортные РНК (тРНК) и рибосомальные РНК (рРНК), также необходимые для синтеза белков.

#### К слайду 5.

Процесс синтеза РНК на ДНК называется транскрипцией. Транскрипция осуществляется белковым комплексом, куда входят транскрипционные факторы и РНК-полимераза, которые сами состоят из нескольких белков. На слайде показаны основные этапы транскрипции.

#### К слайду 6.

Транскрипция определенного гена может регулироваться дополнительными белками, когда они "сажаются" на определенные (для данного гена) места на ДНК, иногда сильно удаленные от самого гена.

**К слайдам 7-9.** На слайдах 6-8 приведена схема основных этапов трансляции - процесса синтеза белковой цепи на мРНК. Трансляция осуществляется рибосомами которые состоят из двух субъединиц, каждая из которых включает в себя молекулы рРНК и белки. Ключевую роль в "материализации" генетического кода в процессе трансляции играют молекулы тРНК, которые одним участком узнают кодон на мРНК, а на другом участке "несут" соответствующую аминокислоту.

**К слайду 10.**

Матричные РНК - молекулы со сравнительно коротким временем жизни. Чтобы успеть насинтезировать достаточное количество белка, на одной молекуле мРНК одновременно могут вести синтез довольно много рибосом.

**К слайду 11.**

Клетка имеет сложное строение. Она содержит множество различных органелл, которые выполняют разные функции, и имеют разную структуру и молекулярный состав. Эти органеллы могут быть окружены мембранами (например, митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, и т.д.) или представлять белковую конструкцию, погруженную непосредственно в цитоплазму (например, центриоли, цитоскелет, и т.д.). Такая сложная архитектура клетки заставляет клетку в процессе обмена белков решать задачи адресного распределения белков по органеллам и транспорт белков через мембраны.

**К слайду 13.**

Используя специальные приемы, можно увидеть, что внутри клетки имеется состоящая из белков тубулина ажурная конструкция, которая определяет форму клетки и её изменения - это цитоскелет. Предполагается, что цитоскелет играет важную роль в процессах внутриклеточного транспорта. Кроме того, существуют гипотезы, что цитоскелет является сложной и динамической сетью, по которой распространяются возбуждения либо в виде фононов (кванты механических колебаний гиперзвуковой частоты) либо в виде различающихся квантовых состояний тубулина. Взаимодействия таких потоков возбуждений можно интерпретировать как вычисления внутри клетки, результатом которых являются молекулярные события, изменяющие состояние клетки (её метаболизм или её движение).

**К слайду 14.** Цитоскелет состоит из микротрубочек.

**К слайду 15.**

Каждая микротрубочка состоит из молекул тубулина, который в свою очередь является димером, т.е. белком, состоящим из двух полипептидных цепей - альфа- и бета-тубулина. Микротрубочки являются динамическими структурами, которые одновременно разбираются и собираются. Эти процессы требуют затрат энергии.

**К слайду 16.**

Транспортные функции цитоскелет осуществляет с помощью молекул белков, ассоциированных с микротрубочками.

**К слайду 17.**

Другим большим классом белков являются мембранные белки. Мембраны клетки - наружная (цитоплазматическая) мембрана и внутренние (эндоплазматический ретикулум, мембраны органелл), - состоят из одной или двух элементарных мембран. Элементарная мембрана, показанная на слайде, состоит из двух слоёв фосфолипидов, обращенных полярными головками наружу мембраны. Внутренняя часть мембраны "заполнена" углеводородными "хвостами" фосфолипидов. Поэтому часть мембранного белка, которая находится внутри мембраны должна иметь гидрофобную поверхность. Как и некоторые другие белки, мембранные белки могут быть ковалентно связаны с углеводами (гликопротеины).

**К слайду 18.**

Мембранные белки выполняют множество самых разных функций. Транспортные функции

выполняются как белками, образующими поры в мембране, так и сложными белковыми комплексами, осуществляющими активный (т.е. с затратами энергии) транспорт с одной стороны мембраны на другую.

Другая группа мембранных белков связывает белки с какой-либо стороны мембраны. При этом может образовываться устойчивый ферментативный "конвейер", либо обеспечивается дополнительная жесткость участка мембраны.

Рецептор может взаимодействовать с определенными молекулами на внешней стороне клеточной мембраны. Такое взаимодействие вызывает изменение пространственной структуры рецептора, что приводит к молекулярным событиям, в которые вовлечена часть рецептора, обращенная внутрь клетки. Это может быть, например, освобождение определенной молекулы, до этого ассоциированной с рецептором, - начинается цепь событий передачи сигнала в клеточное ядро.

В мембрану могут быть встроены ферменты, которые поставляют энергию для транспорта, или участвуют в реакциях продукты которых нужны в околосмембранном пространстве.

### **К слайду 19.**

Мембраны разделяют пространство клетки на топологически эквивалентные компартменты - области пространства, внутри которых можно перемещаться, не пересекая мембран.

### **К слайдам 20-22.**

Эндоплазматический ретикулум - область внутриклеточного пространства, отделенная от остальной цитоплазмы элементарной мембраной. Участвует в транспорте веществ как внутри клетки, так и наружу. Выполняет роль депо для различных молекул. Шероховатый ретикулум назван так из-за того что с ним ассоциировано большое число рибосом, осуществляющих биосинтез белков. Эндоплазматический ретикулум в зависимости от типа клеток и функционального состояния может принимать самые разнообразные формы. Это приводит к тому, что цитоплазматические конструкции такие как, например, цитоскелет нигде не пересекают мембран.

### **К слайдам 23-24.**

Большое количество белков, синтезируемых в цитоплазме, выполняют свои функции или снаружи клетки или в некоторых органеллах. Эти белки должны покинуть цитоплазматический компартмент, т.е. пересечь мембрану. На слайдах 22, 23 показано как клетка решает эту задачу.

### **К слайду 25.**

От эндоплазматического ретикулума отшнуровываются пузырьки, содержащие определенные белки, которые затем сливаются комплексом Гольджи - комплексом, состоящим из динамичной системы ограниченных мембранами уплощенных пузырьков.

### **К слайду 26**

Комплекс (аппарат) Гольджи транспортирует внутри клетки "комплекты" молекул. "Адресация" транспортных потоков осуществляется набором рецепторных белков в мембранах аппарата Гольджи.

### **К слайду 27.**

Так выглядит аппарат Гольджи под электронным микроскопом.

**К слайду 28.** Мембранные белки "встраиваются" в мембрану во время синтеза. Для этого рибосома образует комплекс с транслоконом - мембранным белком, который "встраивает" синтезируемый белок в мембрану.

**К слайду 30.**

Основная часть цитоплазматических белков разрезается на фрагменты протеасомами. По некоторым данным до одной трети вновь синтезируемых белков в клетках сразу подвергается процессу деградации протеасомами. С одной стороны, это плата за возможные ошибки синтеза белка и его сворачивания в нативную пространственную структуру, с другой стороны - это начало процесса контроля за синтезируемыми белками в данной клетке со стороны других клеток, другими словами - это основа иммунитета в многоклеточном организме. Фрагменты белков, полученные в результате протеасомального протеолиза - эпитопы, транспортируются в эндоплазматический ретикулум, где ассоциируются с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС-1). При участии аппарата Гольджи комплекс эпитоп-МНС-1 транспортируется на поверхность клетки. Таким образом, на поверхности клетки постоянно присутствуют фрагменты белков, синтезируемых клеткой. Определенные лимфоциты "следят" за тем, какие белки синтезируются клеткой. И если появляются фрагменты "не своих" белков (например, белков размножающегося вируса), запускается иммунная реакция, в результате которой клетка уничтожается.

**К слайду 31.**

Протеасома состоит из коровой части, которая составлена из двух одинаковых полупротеасом, соединенных почти симметрично (голова к голове). Каждая полупротеасома в свою очередь состоит из двух колец по семь белковых субъединиц в каждом. С торцов коровой части находятся регуляторные субъединицы, которые распознают полиубиквитиновую цепь на разрезаемом белке (роль убиквитина описана дальше в лекции), и, используя энергию АТФ, разворачивают белковую цепь, чтобы она прошла в канал протеасомы.

**К слайду 32.**

На поверхности внутренней камеры протеасомы находятся активные центры, которые и осуществляют разрыв пептидной связи (по три активных центра на каждом кольце).

**К слайду 33.**

Чтобы белок подвергнулся убиквитин-зависимой протеасомальной деградации, к аминокислотной группе некоторых лизинов этого белка должна быть ковалентно присоединена цепочка из четырех убиквитинов (убиквитин - небольшой белок из 78 аминокислот). Такую ковалентную пришивку убиквитина к белку осуществляет фермент убиквитин-лигаза (или по-другому, E3). E3 распознает определенный участок на белке (дегрон), связывается с ним и переносит на белок убиквитин, "забирая" его у фермента E2. На E2 убиквитин переносится с фермента E1. E1 активирует убиквитин (делает убиквитин активным, т.е. вовлекает его в регуляторные процессы) ковалентно присоединяя его к себе с использованием энергии АТФ.

**К слайду 34.**

Другой путь деградации белков - лизосомальный. Лизосомы - клеточные органеллы, окруженные мембранами и содержащие гидролитические ферменты. Внутри лизосом поддерживается повышенная кислотность, необходимая для функционирования этих

ферментов. На слайде показана одна из ключевых стадий формирования набора белков-ферментов лизосомы.

**К слайду 35.**

Логично, что в лизосомах разрушаются белки, которые до этого функционировали в мембранах или снаружи клетки. Здесь же разрушаются белки, попавшие в клетку в процессе эндоцитоза - это могут быть, например, бактерии, поглощенные некоторыми типами лимфоцитов.

**К слайду 37.**

Регуляция транскрипции структурно и функционально сложный процесс. В его основе лежат взаимодействия белковых молекул с регуляторными районами молекулы ДНК.

**К слайду 38.**

Распознавание регуляторных районов на молекуле ДНК требует как разработки соответствующих алгоритмов, так и создания базы данных. Подобные базы данных по разным аспектам жизнедеятельности клетки содержат исходный материал для многих разделов биоинформатики.

**К слайду 39.**

На схеме представлен пример регуляции транскрипции генов определенной подсистемы, как он может выглядеть в обзорной статье.

**К слайду 40.**

В результате сбора и согласования информации из разных источников формируется база данных по генной сети регуляции все более крупных блоков (в идеале - всей клетки), информация из которой может представляться (и обрабатываться пользователем) в графическом виде.

**К слайду 41.**

Другой важной задачей биоинформатики, возникающей при изучении обмена белков, является распознавание "адресных этикеток" на белках. Это могут быть сигнальные пептиды, определяющие эндоплазматический ретикулум местом назначения белка, последовательность ядерной локализации - участок белка, который определяет ядро в качестве места назначения белка, трансмембранные сегменты на белке, и т.д.

**К слайдам 43-45.**

Методы анализа белкового состава клетки и его динамики на протяжении жизненного цикла клетки показывают, что разные белки и группы белков синтезируются согласованно для выполнения своей функции в жизни клетки. И многие регуляторные белки появляются в нужное время, выполняют свою функцию, и быстро разрушаются протеасомами.

**К слайдам 47-48.** На слайдах 46-48 приведен пример моделирования регуляции биосинтеза холестерина - одного из этапов обмена данного белка в клетке.

**К слайдам 50-51.**

Сеть регуляции синтеза некоторого белка может быть достаточно сложной. Такая сложная сеть взаимодействий между компонентами системы регуляции белкового обмена (т.е. регуляции функции клетки) создает трудности для анализа такой системы при моделировании её в виде дифференциальных уравнений. Дополнительную информацию о поведении системы и её свойствах могут дать дискретные модели, и в частности, сети Петри. Пакеты для моделирования и анализа сетей Петри позволяют как имитировать динамику системы, так и анализировать такие важные свойства системы, как пространство её состояний, свойства достижимости состояний и инварианты переходов.