**Ответы на вопросы заочного этапа по направлению**

**«Биотехнологии и медицина»**

**1.** 3D-структуру молекул (чаще всего белков) можно изучать при помощи таких методов, как рентгеноструктурный анализ и ядерный магнитный резонанс.

В ходе рентгеноструктурного анализа образец, который подвергается исследованию, помещают по направлению рентгеновских лучей, далее регистрируют дифракционную картину – она возникает при взаимодействии лучей с исследуемым веществом. Потом анализируют полученные результаты и путем расчетов устанавливают взаимное расположение частиц в пространстве, которые вызвали появление наблюдаемой картины.

В случае с ядерным магнитным резонансом происходит следующее: идет регистрация переходов между магнитными энергетическими уровнями атомных ядер, вызываемых радиочастотным излучением. Стоит отметить, что в ЯМР могут участвовать только ядра со спиновым квантовым числом, отличным от нуля (т.е. иметь нечетные числа нейтронов и протонов).

Данные для рентгеноструктурного анализа могут использоваться для вычисления межатомных расстояний, валентных углов, углов вращения вокруг связей, распределение поверхностного заряда, а также помогает нам понять химию биологических реакций, что необходимо для исследования пространственной организации белков.

*Источники*: Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений / Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. − М.: Мир, 2006. − 439с.; Горячева Е., Рентгеноструктурный анализ белков, 2009.

**2**. В настоящее время 3D-моделирование белков и нуклеиновых кислот применяется в следующих направлениях науки: биоинформатика, молекулярная биология, вирусология, теоретическая химия. Однако без внимания не остались и сферы промышленности (в частности, биотехнология).

Основной проблемой 3D-моделирования является точность построение модели. Также и учитывают то, что трудно предсказывать результат сворачивания произвольной пептидной последовательности.

На наш взгляд, пространственное моделирование имеет большую тенденцию к развитию в различных сферах науки и промышленности. Для будущего человечества крайне важно использование моделирования структуры белка. В частности, в сфере производства лекарственных средств, предназначенных для лечения инфекционных, онкологических и генетических болезней.

*Источники:* <http://greenfuture.ru/profile/Homa/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D0%BE%D0%B5%20%D0%BC%D0%BE%D0%B4%D0%B5%D0%BB%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%B8%20%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5>; https://habrahabr.ru/company/visual-science/blog/227371/

**3.** α-спираль имеет форму винтовой линии, в которой каждая аминогруппа в каркасе образует водородную связь с карбонильной группой аминокислоты. β-лист состоит из β-цепей, связанных по бокам двумя или тремя водородными связями, образуя слегка закрученные складчатые листы. За счет особенностей своего строения β-структура способствует выполнению транспортных, защитных, регуляторных и вспомогательных функций. α-спираль способствует образованию фибриллярных белков, которые выполняют структурную и защитную функцию. Участки белковой цепи, не уложенные в α-спираль и β-структуру, связываются, и образуются водородные связи, вследствие чего идет образование четвертичной структуры или ферментов с помощью субстратов.

*Источник*:

Биохимия : учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова ; под общ. ред. В. П. Комова. — 4-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2014. — 640 с.

**4.** Лиганд - это молекула, способная специфически связываться с активным центром белка. Функции лиганда в составе сложного белка такие: изменяет свойство белков (заряд, растворимость, термолабильность), защищает белок от прoтеолиза вне и внутри клетки, в виде лиганда обеспечивается транспорт нерастворимых в воде соединений, придает биологическую активность и определяет функцию белка, влияет на проникновение через мембраны, внутриклеточную миграцию, сортировку и секрецию белков, изменяет конфoрмацию белка.

Лиганды белков изучаются для того, чтобы проследить биологическую активность белка, какие дополнительные функции у него появляются, как с помощью него происходят реакции, как будет вести себя белок без лиганда, в каких элементах нуждается белок в качестве лигандов, узнать возможность создание определенных БАД и лекарств.

3D-моделирование более четко покажет активный центр белка и даст возможность проследить соединение лиганда с центром. Таким образом, можно будет выявить теорию соединения лиганда с белком. Также, это способствует изучению мутации белка, как в положительном плане, так и в отрицательном.

Центр связывания лиганда – это изолированный участок белка, который имеет свою аминокислотную последовательность и похож, на, так скажем, определенный индивидуальный пазл, для которого подойдет только одна пара, характерная ему.

Центр связывания лиганда не предсказывают по аминокислотной последовательности, потому что уникальные свойства активного центра зависят не только от химических свойств формирующих его аминокислот, но и от их точной взаимной ориентации в пространстве. Поэтому даже незначительные нарушения общей конфoрмации белка в результате точечных изменений его первичной структуры или условий окружающей среды могут привести к изменению химических и функциональных свойств радикалов, формирующих активный центр, нарушать связывание белка с лигандом и его функцию.

*Источники:*

Ленинджер, А. Основы биохимии: в 3 т. / Альберт Ленинджер. - М.: Мир, 1985.

Биохимия: Учеб. для вузов, под ред. Е.С. Северина, 2003. 779 с. ISBN 5-9231-0254-4.

**5.** Линейная последовательность аминокислот в белке содержит информацию о построении трёхмерной пространственной структуры. Различают 4 уровня структурной организации белков, называемых первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурами.

Существуют общие правила, по которым идёт формирование пространственных структур белков: аминокислотные остатки в пептидной цепи белков чередуются не случайным образом, а расположены в определённом порядке. Линейную последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи называют первичной структурой белка. Первичная структура детерминирует вторичную, третичную и четвертичную структуру. Зная первичную структуру, местоположение каждого остатка аминокислоты, можно точно написать структурную формулу белковой молекулы.

Определение аминокислотной последовательности полипептидной цепи основано на принципах, которые были развиты Сэнгером. Чтобы расшифровать аминокислотную последовательность любого полипептида, необходимо осуществить шесть основных стадий:

- первым шагом на пути к расшифровке аминокислотной последовательности служит гидролиз всех пептидных связей чистого полипептида. Образующаяся смесь аминокислот анализируется затем при помощи ионообменной хроматографии, что позволяет определить, какие аминокислоты и в каком соотношении присутствуют в гидролизате;

- следующий шаг состоит в идентификации аминокислотного остатка, находящегося на конце полипептидной цепи, несущего свободную альфа-аминогруппу, т.е. на аминокoнце. В результате идентификации N- и С- концевых остатков полипептида получают две важных реперных точки для определения его аминокислотной последовательности (первичной структуры);

- берется еще одна порция анализируемого препарата, содержащего неповрежденные полипептидные цепи и расщепляются на более мелкие куски - короткие пептиды, состоящие в среднем из 10-15 аминокислотных остатков. Наиболее распространенный метод для проведения такого расщепления - это частичный ферментативный гидролиз пептида под воздействием пищеварительного фермента трипсина. Фрагменты, образовавшиеся под воздействием трипсина, разделяют методом ионообменной хроматографии на колонке, либо при помощи электрофореза и хроматографии на бумаге;

- на этой стадии устанавливается аминокислотная последовательность в каждом из пептидных фрагментов, полученных на стадии 3. Для этой цели обычно используют химический метод, разработанный Пером Эдманом. Расщепление по Эдману сводится к тому, что метится и отщепляется только N-концевой остаток пептида, а все остальные пептидные связи не затрагиваются;

- чтобы установить порядок расположения пептидных фрагментов, образовавшихся под действием трипсина, берут новую порцию препарата исходного полипептида и расщепляют его на более мелкие фрагменты каким-либо другим способом, при помощи которого расщепляются пептидные связи устойчивые к действию трипсина. Для этой цели предпочтительнее оказывается не ферментативные, а химические методы;

- аминокислотные последовательности в пептидных фрагментах, полученных двумя способами, сравнивают, чтобы во втором наборе найти пептиды, в которых последовательности отдельных участков совпадали бы с последовательностями тех или иных участков пептидов первого набора. Пептиды из второго набора с перекрывающимися участками позволяют соединить в правильном порядке пептидные фрагменты, полученные в результате первого расщепления исходной полипептидной цепи.

Началом считается N-концевая аминокислота, а концом C-концевая аминокислота. Критерии всегда одинаковые, если изменить окончание или начало, то возникнет мутация, которая приводит к разным заболеваниям.

*Источники*:

http://biochemistry.ru/biohimija\_severina/B5873Part5-19.html;

<http://humbio.ru/humbio/01122001/prot_dr/0000441d.htm>.

**6**. Гомологичные белки (греч. homologos — соответственный, подобный) — белки, имеющие сходную структуру, общее эволюционное происхождение и выполняющие одинаковую функцию у разных видов организмов (например, гемоглобины).

На самом деле существует несколько методов определения гомологичных аминокислотных последовательностей изофункциональных белков. Такие как: метод Сэнджера, метод Эдмана, дансилирование, ферментативный метод. Наиболее распространенные методы изучения на сегодняшний момент являются способы, применяемые в биоинформатике, рентгеноструктурный анализ или иммунные реакции.

Гомологию белков изучают для того, чтобы проследить их эволюцию и мутации, получить сведения о числе различий в аминокислотных последовательностях гомологичных белков из разных видов, используют для построения эволюционных карт, отражающих последовательные этапы возникновения и развития различных видов животных и растений в процессе эволюции.

Такие различия имеют большое значение при сравнительном изучении гомологичных белков различных видов растений и животных, а также при определении генетических изменений в структуре белка, возникающих в результате точечной мутации.

Перекрестные реакции интересны с методической точки зрения при исследованиях структурных гомологий, но могут также представлять неудобства в некоторых областях, как, например, выявление происхождения белков в пищевых продуктах.

Признаки гомологичности белков: сходная 3D-структура, в той или иной степени похожая аминокислотная последовательность, аналогичная функция.

*Источник:*

Ленинджер, А. Основы биохимии: в 3 т. / Альберт Ленинджер. - М.: Мир, 1985.

Биохимия: Учеб. для вузов, под ред. Е.С. Северина, 2003. 779 с. ISBN 5-9231-0254-4.

**7**. Консервативные последовательности — схожие или идентичные последовательности, встречающиеся в биологических полимерах: в нуклеиновых кислотах, в первичной и пространственной структурах белков, полисахаридах, как в пределах особей разных видов (ортологичные последовательности), так и в пределах одной особи (паралогичные последовательности).

Ортологичные последовательности являются подтверждением того, что определённые последовательности могут поддерживаться эволюцией, несмотря на процесс видообразования. Так как информация о последовательности аминокислот в белках в норме передаётся от родителей потомкам, то наличие в белках консервативных последовательностей свидетельствует о наличии консервативного гена.

Выcококонсервативные белки часто необходимы для таких фундаментальных процессов, как жизнедеятельность и деление клетки. Консервативность белковой последовательности можно определить по наличию одинаковых аминокислот в аналогичных частях белков. Консервативность же белковой структуры определяется наличием функционально эквивалентных, но не обязательно одинаковых аминокислот в аналогичных частях белков.

Консервативность участков белка используется в процессе выравнивания. Выравниванием последовательностей азотистых оснований в нуклеиновых кислотах или аминокислот в полипептидных цепях белков называют определение взаимного соответствия остатков (нуклеиновых оснований или аминокислотных остатков, соответственно) в двух или нескольких последовательностях, при котором сохраняется исходный порядок остатков в последовательностях. Выравнивание последовательностей – это основной инструмент биоинформатики, его проводят с целью установления структурных, функциональных и эволюционных отношений между аминокислотными последовательностями.

Выравнивание проводят для подтверждения гомологичости последовательностей. Если открыта новая последовательность с неизвестной функцией, но при этом в базах данных могут быть найдены подобные ей последовательности с ранее установленными структурами и функциями, то результаты выравнивания (сравнения) этой новой последовательности с уже исследованными последовательностями могут стать основанием для предсказания функции или структуры этой новой последовательности.

Консервативность белковой последовательности можно определить по наличию одинаковых аминокислот в аналогичных частях белков. Консервативность же белковой структуры определяется наличием функционально эквивалентных, но не обязательно одинаковых аминокислот в аналогичных частях белков.

## *Источники:* <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BD%D1%81%D0%B5%D1%80%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%B2%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%BF%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B8>; Соболев Б. Н., Матвеев И. В., Поройков В. В., Анализ выровненных последовательностей оболочечных белков вируса Гепатита С.

**8.** Историю молекулярной эволюции обычно связывают с работами Лайнуса Цолинга и Эмиля Цукеркланда, которые в середине 1960х годов стали активно использовать нуклеотидные и аминокислотные последовательности для изучения эволюционного процесса. Основа этой науки обманчиво проста. Если два организма родственны друг другу, то последовательности их генов и белков должны быть похоже. По мере эволюционного расхождения организмов эти последовательности начинают сильно различаться. Перспективы развития такого подхода стали проясняться в 1970х годах, когда Карл Вёзе использовал последовательности рибоcомных РНК для выделения архей в отдельную группу, не принадлежащую к бактериям или эукариотам. Белковые последовательности часто предоставляют возможность для уточнения имеющейся информации. По мере реализации проектов по изучению геномов самых разных организмов от бактерий до человека число доступных последовательностей растёт с огромной скоростью. Эту информацию можно использовать, чтобы проследить ход эволюции. Проблема заключается в расшифровке генетических иероглифов.

 Эволюция не следует простым линейным путём. Сложности возникают при каждой попытке извлечь связанную с эволюцией информацию, заключенную в белковых последовательностях. В каждом конкретном белке на протяжении всего хода эволюции неизменными оставались аминокислотные остатки, имеющие наибольшее значение для его функционирования. Остатки, не играющие такой важной роли в активности белка, могли со временем меняться, т.е. одна аминокислота могла заменить другую, и именно эти изменившиеся остатки могут сказать что-то о ходе эволюционного процесса. Но аминокислотные замены не всегда случайны. В некоторых участках аминокислотной последовательности возможны только строго определенные замены, что связано с необходимостью сохранения функции белка. Аминокислотный состав некоторых белков изменялся сильнее, чем других. По этим и другим причинам скорость, с которой белки эволюционируют, разная.

Еще один фактор, мешающий проследить ход эволюции, - перенос генов или групп генов от одного организма в другой, называемый горизонтальным (латеральным) переносом генов. Перенесенные гены могут быть довольно похожими на те, что были в исходном организме, в то время как большинство остальных генов в этих двух организмах имеют лишь весьма отдаленно сходство. Результатом горизонтального переноса генов является наблюдающееся сегодня быстрое распространение устойчивости к антибиотикам в популяции бактерий. Белки, синтезируемые на основе этих перенесенных генов, будут неудачными кандидатами для изучения эволюции бактерий, поскольку история их эволюции в новом «хозяйском» организме очень коротка.

Предметом исследования в молекулярной эволюции обычно служат семейства близкородственных белков. Для анализа отбирают семейства белков, играющих важную роль в клеточном метаболизме, поскольку они обязательно должны были присутствовать и в клетках-предшественниках, а это сильно снижает вероятность их появления в клетках в результате горизонтального переноса генов.

 Для изучения процесса эволюции в первую очередь необходимо идентифицировать подходящие семейства гомологичных белков, а затем уже на их основе восстановить ход эволюции. Идентификация гомологов осуществляется с помощью мощных компьютерных программ, которые позволяют напрямую сравнивать две или несколько белковых последовательностей, а также осуществлять поиск близких последовательностей в базах данных.

Домен белка – это элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную и независимую часть белка, формирование которой проходит независимо от остальных частей. Как правило, он выполняет специфичную частную функцию.

Ученые специально объединили схожие элементы структуры, назвав доменами, для того, чтобы прослеживать филогенез домена, который разделяет эволюцию белков. Близкие "родственники", разделяя общую идентичность выше 50% и набор функциональных свойств, также могут быть сгруппированы в семейства и подсемейства. В свою очередь, эти семьи разделяют также эволюционные отношения с другими доменами и образуют вместе так называемые надсемейства доменов.
Как было описано выше, эволюция домена белка, как правило, является результатом сочетания ряда случайных мутаций и ограничений выбора, наложенного на функции, то есть при взаимодействии с лигандом. Взаимодействие между белком и лигандом можно представить как нарушение энергетической структуры белка, который в свою очередь говорит о конкретных, пространственных изменениях в строении белка. Связующие энергетические связи не должны быть плавно распределены по связывающим "карманам" белка, как ограниченное количество аминокислот может составлять большую часть изменения свободной энергии, которая возникает при связывании. В этих случаях новые связывающие специфичности (включая потерю связывания) могут возникать из-за мутаций в этих горячих точках.

*Источник:* Нэльсон Д., Кокс М. «Основы биохимии Ленинджера», Т.1, ч. 1. III Аминокислоты, пептиды и белки

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2945003/#

**9.** Необходимую информацию об интересующем белке необходимо искать в специальных базах данных, куда заносятся расшифрованные их виды. Например, это могут быть электронные базы данных (NCBI, GenBank, UniProt, EMBL) национальные центры, институты (Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук). Однако, кроме наличия у этого способа преимуществ, существуют также и недостатки. Плюсы: само наличие информации, необходимой для читателя; пополнение базы данных новыми данными; доступность. Минусами являются: трудность поиска из-за того, что в основном эти базы данных на иностранном языке (в частности английский или немецкий); необходимость знания профессиональный иностранных языков.

Информацию о белке, на наш взгляд, стоит проверять путем сравнения ее при помощи разных баз данных. Лишь сравнивая, например, два источника, можно определить – правильны ли данные или нет. Наиболее полной и авторитетной информационной базой является американская NCBI (Национальный центр биотехнологической информации).

*Источник:* http://www.ncbi.nlm.nih.gov/.