

Нивои на структурна организација на протеини. Примарна структура

АДАПТИРАНО СПОРЕД

ЛЕНИНЏЕР ПРИНЦИПИ НА БИОХЕМИЈАТА , ДЕЈВИД НЕЛСОН, МАЈЛК КОКС

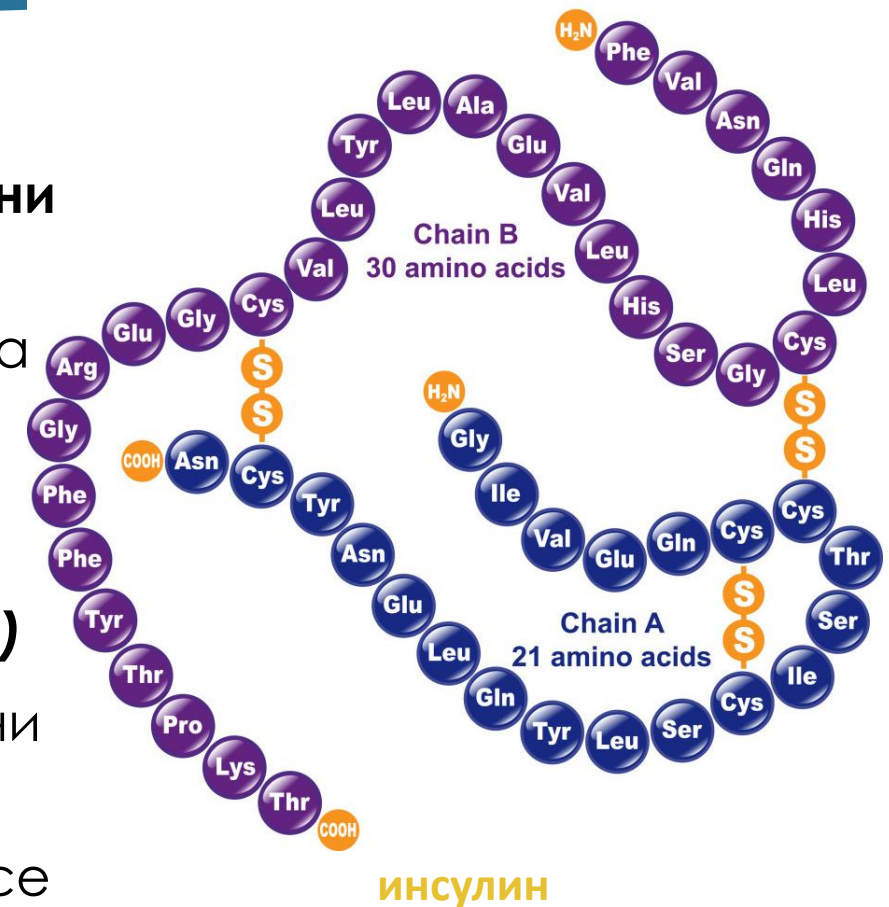
доц. д-р Наташа Ристовска, Институт за хемија, ПМФ-Скопје

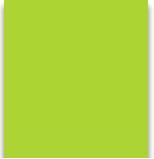
Протеини и нивниот состав

ПОИМ
КЛАСИФИКАЦИЈА
ИЗОЛАЦИЈА
ИДЕНТИФИКАЦИЈА

Поим за протеини

- ▶ Протеини се високомолекуларни соединенија чии долги **полипептидни низи се изградени од 100 до неколку илјади аминокиселински остатоци, поврзани со пептидни (амидни) врски.** (Види табела)
- ▶ Некои протеини се составени од една полипептидна низа - **мономерни протеини.**
- ▶ Протеините изградени од две или повеќе полипептидни низи поврзани со нековалентни врски се **мултимерни протеини (протеини со субединици)**
- ▶ Кај некои протеини полипептидните низи се поврзани ковалентно, со дисулфидни врски (пр. инсулин).
- ▶ Протеинот со најмалку две идентични субединици се нарекува **олигомерен**, а субединиците - **протомери.**





	Molecular weight	Number of residues	Number of polypeptide chains
Cytochrome c (human)	12,400	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (chicken egg white)	14,300	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,700	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	25,200	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	25,700	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	66,000	609	1
Hexokinase (yeast)	107,900	972	2
RNA polymerase (<i>E. coli</i>)	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase (<i>E. coli</i>)	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

Класификација на протеините

- ▶ Имајќи ја предвид различноста на протеините во еден организам, неопходна е нивна систематизација (класификација).
- ▶ За илустрација, бактеријата *Escherichia coli* има 3 000 различни протеини, а во човечкиот организам околу 5 000 000.
- ▶ Класификација според:
 - ▶ Хемиски состав
 - ▶ Растворливост
 - ▶ Биолошка функција

Класификација на протеините според хемиски состав

- ▶ Протеините кои содржат само аминокиселински остатоци, се нарекуваат **прости протеини**.
- ▶ Приближниот број аминокиселински остатоци во прост протеин можеме да го пресметаме со делење на неговата молекулска маса со 110.
- ▶ Протеините кои покрај аминокиселините содржат и постојани хемиски компоненти, се наречени **конјугирани (сложени) протеини**.
- ▶ Непротеинскиот дел на конјугираниот протеин е наречен **простетична група**.
- ▶ Конјугираните протеини се класифицирани според хемиската природа на нивните простетични групи: липопротеини, гликопротеини, хемопроотеини,...
- ▶ Некои протеини содржат повеќе од една простетична група.

Конјугирани протеини

Class	Prosthetic group	Example
Lipoproteins	Lipids	β_1-Lipoprotein of blood
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase
Metalloproteins	Iron Zinc Calcium Molybdenum Copper	Ferritin Alcohol dehydrogenase Calmodulin Dinitrogenase Plastocyanin

Класификација на протеините според биолошката функција

Функција	Протеини
Каталитичка	Ензими
Контракциска	Актин, миозин
Регулација на работа на гените	Хистони, нехистонски јадрени протеини
Хормонска	Пре-проинсулин, проинсулин
Заштитна	Фибрин, имуноглобулини-антитела, интерферон
Структурна	Колаген, еластин, кератин
Транспортна	Албумин, липопротеин, трансферин, церулоплазмин, тиреоглобулин

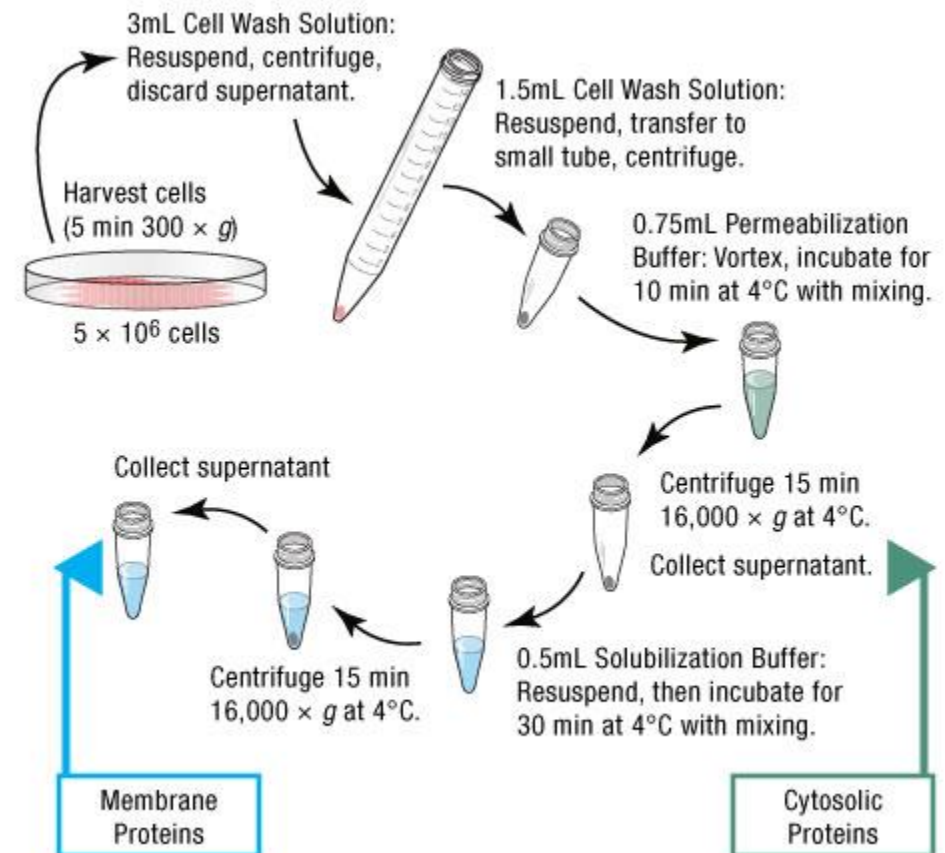
Класификација на протеините според нивната растворливост

- ▶ **Глобуларни протеини** – растворливи во вода (водни раствори на соли)
- ▶ Глобуларните протеини кои добро се раствораат во вода се **псевдоглобулини**, а протеините нерастворливи во вода и растворливи во раствори на соли се **субглобулини**.
- ▶ **Склеропротеини** – нерастворливи во вода и раствори на соли.

Протеини	Растворливост
Албумини	Растворливи во вода и раствори на соли
Глобулини	Слабо растворливи во вода, добро се раствораат во раствори на соли
Проламини	Не се раствораат во вода, не се раствораат во апсолутен алкохол, се раствораат во 70-80% етанол
Хистони	Растворливи во раствори на соли (Богати со аргинин)
Склеропротеини	Не се раствораат во вода и во раствори на соли (содржат големи количества на глицин, аланин и пролин.

Изолирање на протеините

- ▶ **Протеините се застапени со околу 50% од масата на клетката.** Како да се изолира протеин (**суров екстракт**)
- ▶ Примероците од ткиво најпрвин се лизираат, за да се раскинат клеточните мембрани;
- ▶ Во зависност од стабилноста на протеинот се користат следните постапки за изолација:
 - a) смрзнување и топење,
 - b) екстракција со ултразвучна бања,
 - c) хомогенизација под висок притисок,
 - d) хомогенизација со ситнење,
 - e) третирање со детергенти или ензими,
 - f) центрифугирање

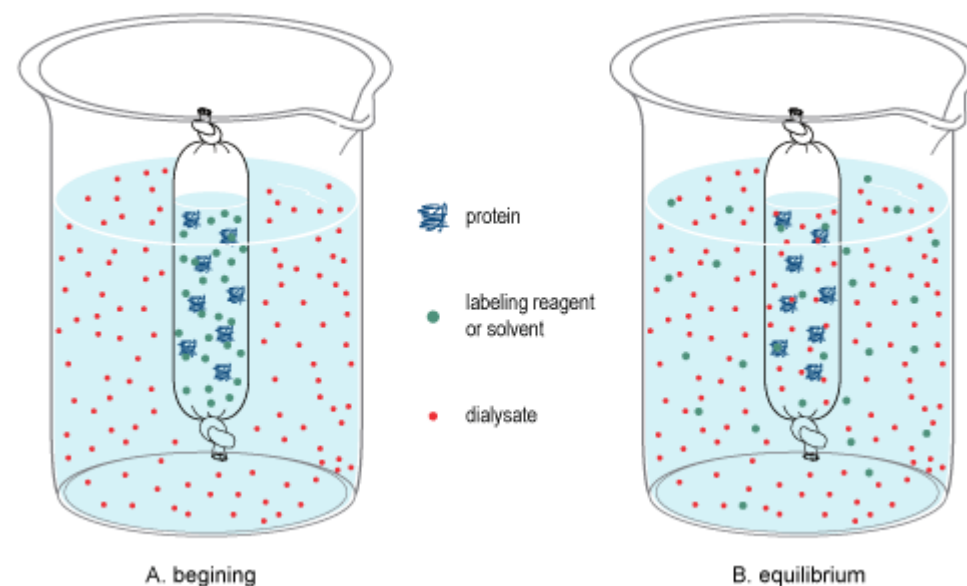
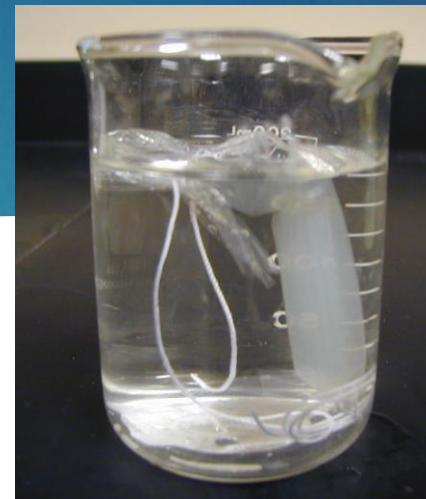


Разделување и идентификација на протеините

- ▶ Методи кои се темелат на **разликите во големината на молекулската маса** (дијализа, гел филтрирање – величинско ексклузиона хроматографија),
- ▶ Методи кои се темелат на **разликите во полнежот при дадена pH** (исолување, јонско-изменувачка хроматографија) и
- ▶ Методи кои се темелат на разликите во **способноста за сврзување на лиганди** за протеините (афинитетна хроматографија).
- ▶ Електрофореза – разделување на протеини во зависност **од нивниот полнеж и молекулска маса**.

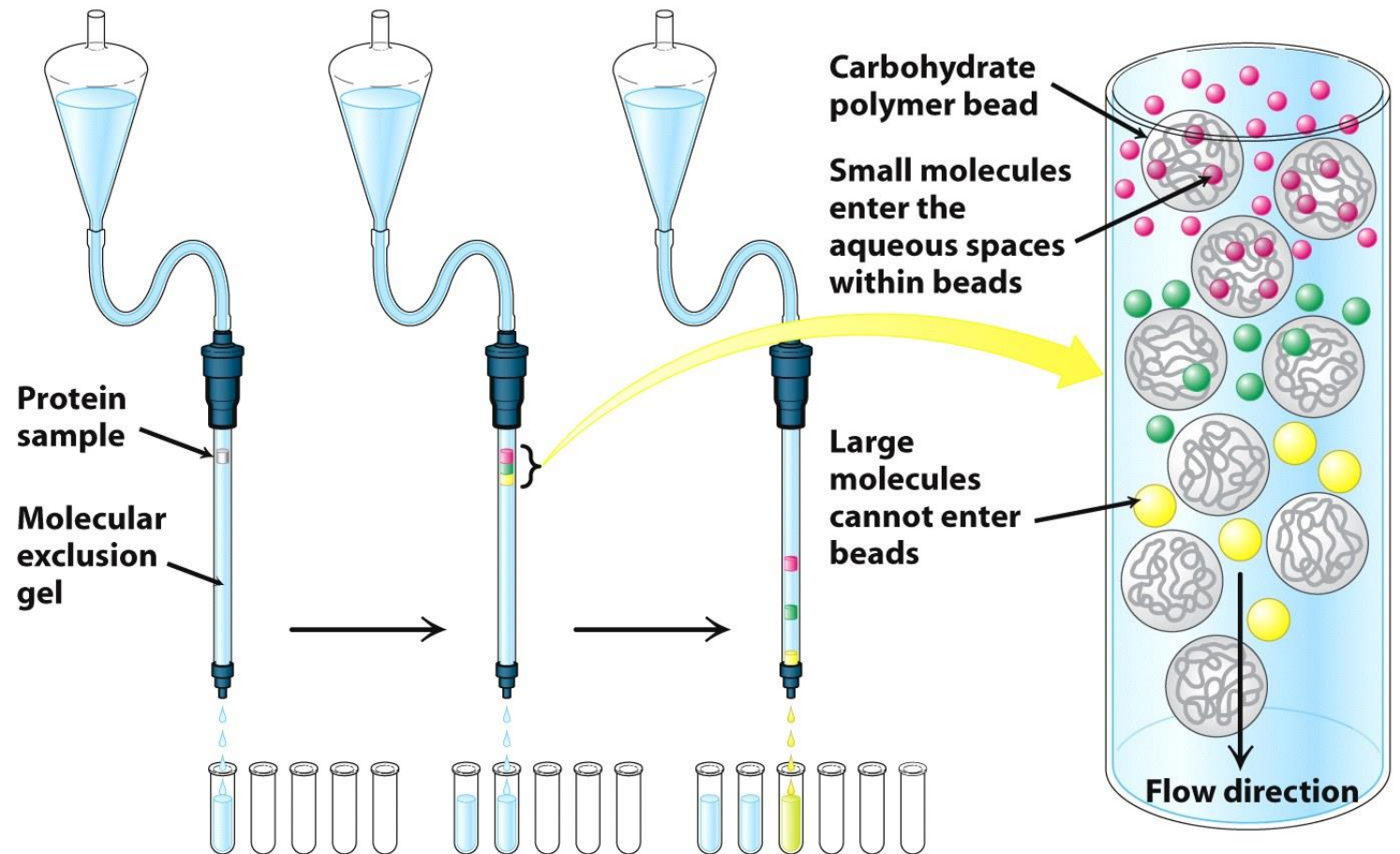
Дијализа

- ▶ **Принцип:** Растворените нискомолекулски соединенија дифундираат преку семи-пермеабилна мембрана.
- ▶ Мембраната за дијализа има пори со одредена големина.
- ▶ Со оваа метода се отстрануваат вишокот од соли употребени при таложење или екстракција, како $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и пуфери.



Гел филтрирање (величинско ексклузиона хроматографија)

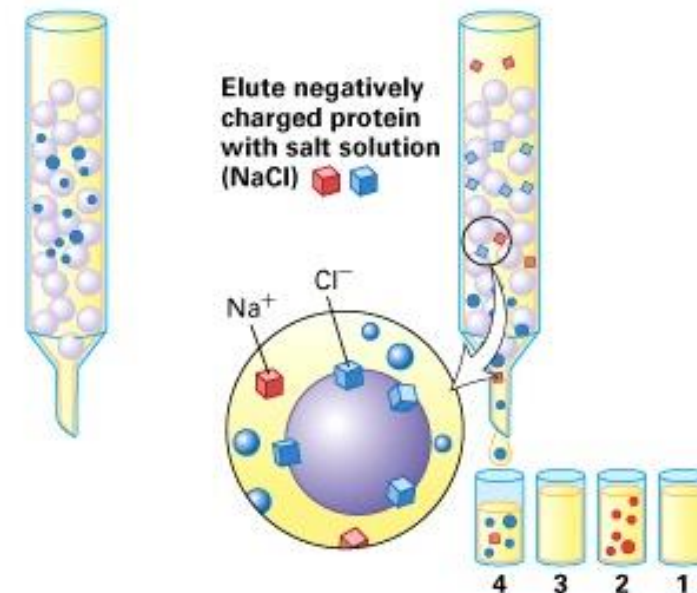
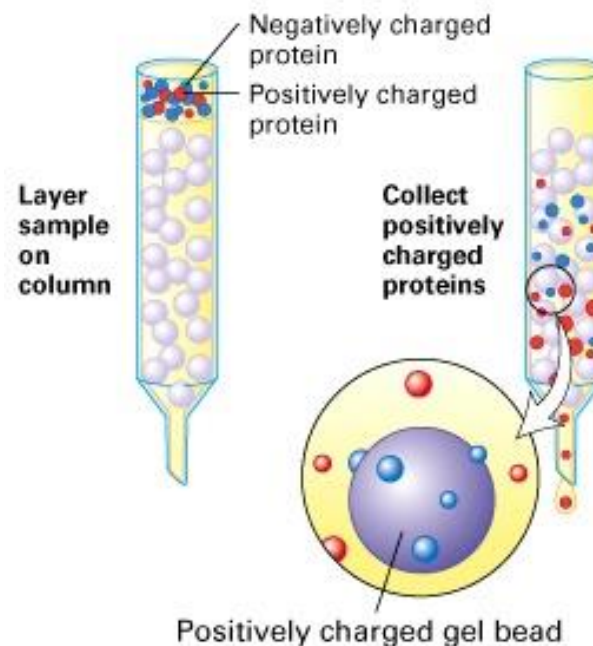
- ▶ **Принцип:** Разделување на молекули со различна големина на молекулската маса со смоли со различен степен на вмрежување.
- ▶ Молекулите со големи молекулски маси не навлегуваат во порите на смолата, побрзо патуваат и први елуираат.



Јонско-изменувачка хроматографија

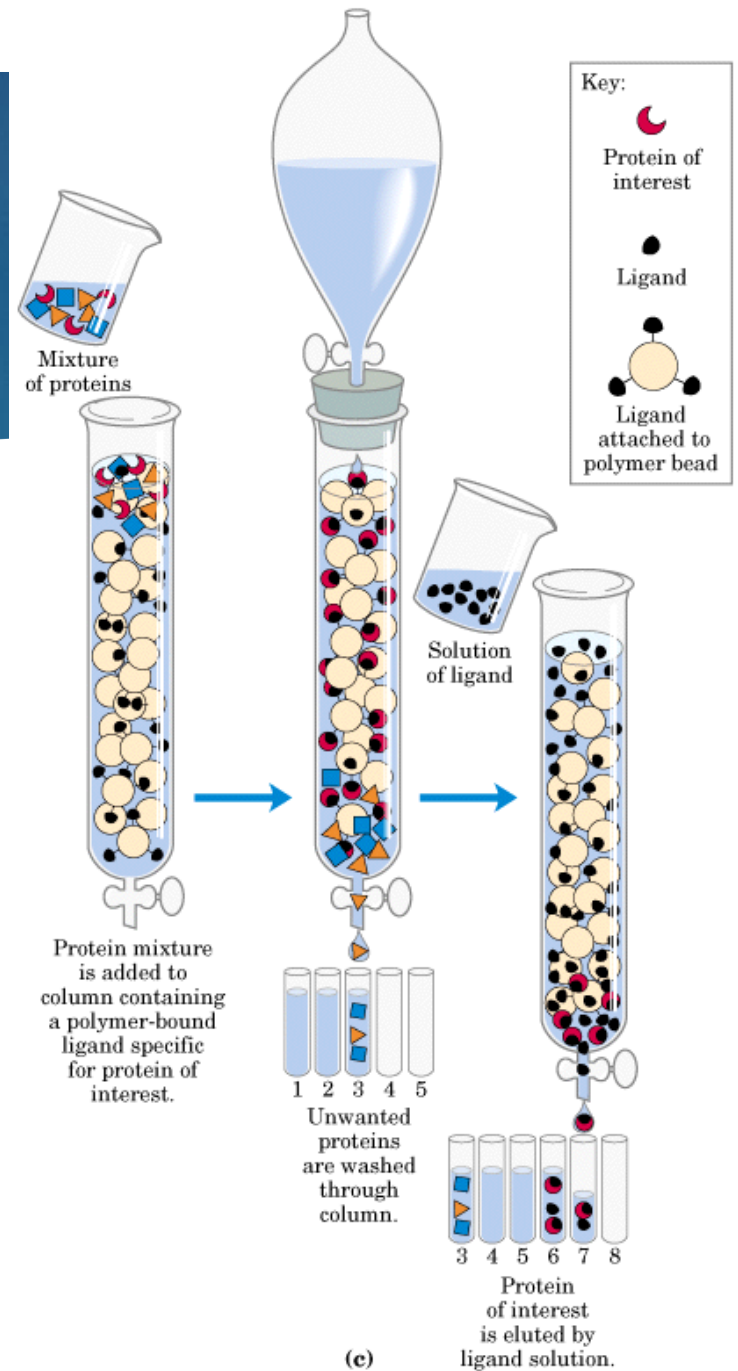
- **Принцип:** Разделување на протеини според полнеж, како последица на реверзибилни интеракции меѓу наелектризираните протеински честици и спротивно наелектризираните функционални групи на површината од смолата (јоноизменувач).
- Смола со позитивно наелектризирани групи сврзува протеини со негативен полнеж (анјонска изменувачка хроматографија)

(b) Ion-exchange chromatography



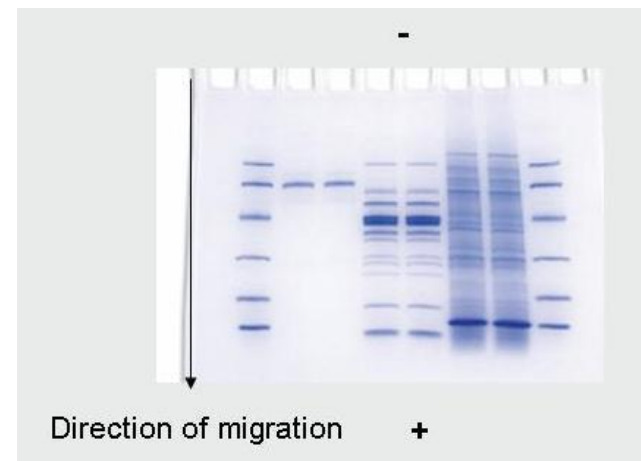
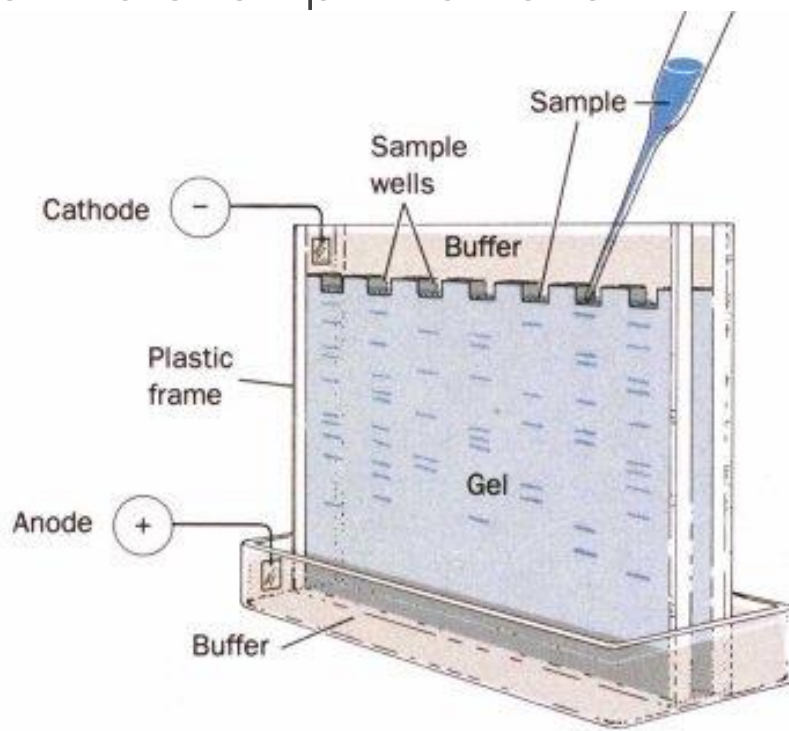
Афинитетна хроматографија

- **Принцип:** Разделување на протеини според афинитет за сврзување со лиганд на површината од смолата.



Електрофореза

- **Принцип:** Разделување на протеини со различна маса и полнеж во електрично поле



Аминокиселински состав

1. **Хидролиза на пептидните врски** од протеинот со силна киселина или силна база.
 - ▶ Киселата хидролиза на протеинот со 6 M HCl на 110 °C дава подобри резултати, се одвива без рацемизација и деструкција на некои аминокиселини.
2. Хроматографско **разделување на смесата од аминокиселини**: јонско-изменувачка хроматографија или реверзно-фазна HPLC.
3. Утврдување на количеството на секоја аминокиселина : **аминокиселински анализатори** – автоматизирани инструменти за сепарација и анализа на аминокиселините.

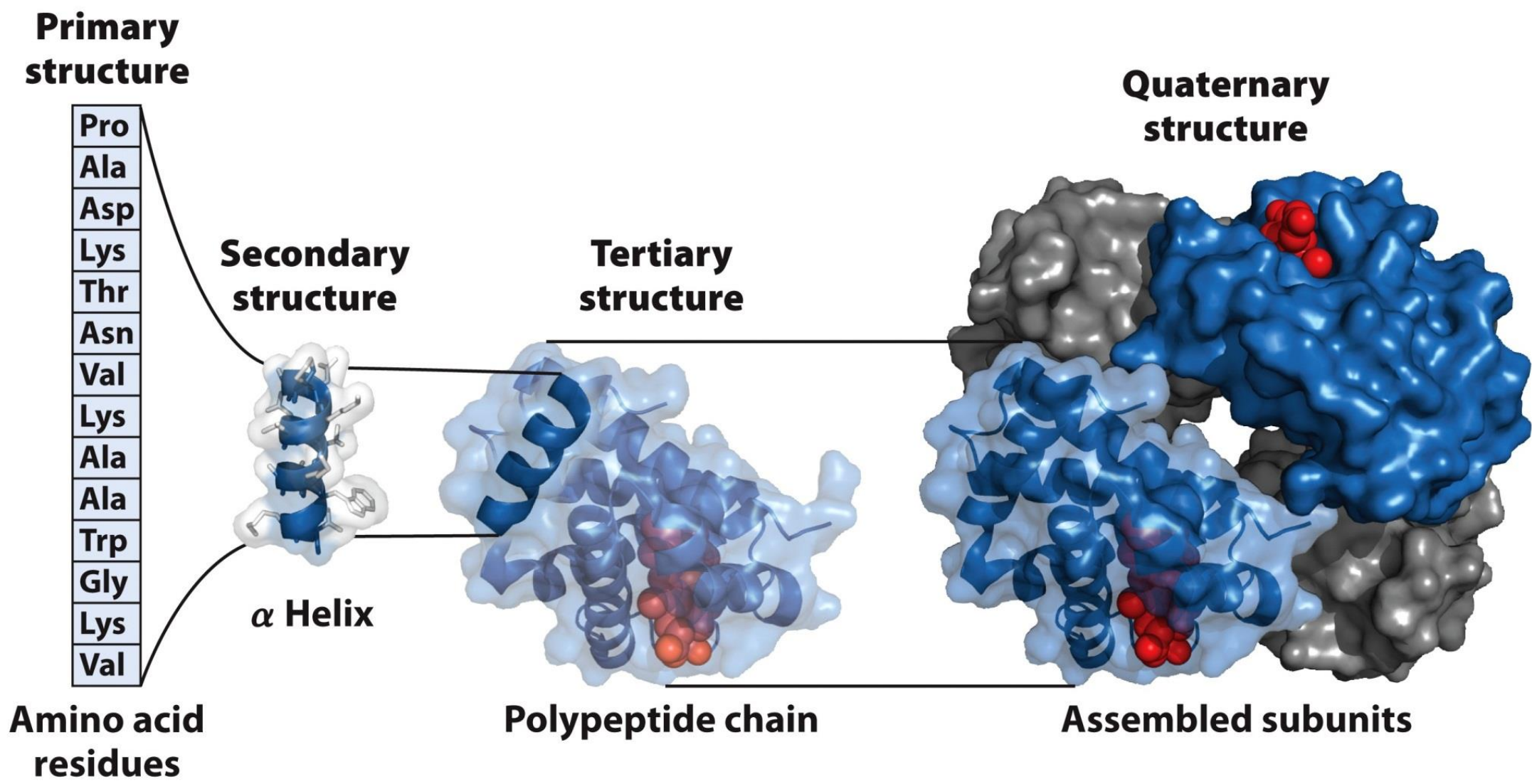
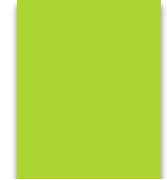
- ▶ Застапеноста на дваесетте стандардни аминокиселини не е подеднаква во сите протеини.
- ▶ Најчесто се среќаваат Leu, Ala, Gly, Ser, Val и Glu, а најретко Trp, Cys, Met и His.
- ▶ Присуството на некоја аминокиселина во дадена положба на протеинот влијае врз тридимензионалниот облик на протеинот, а со тоа и на неговите својства.

Amino Acid	Proteins*				
	RNase	ADH	Mb	Histone H3	Collagen
Ala	6.9	7.5	9.8	13.3	11.7
Arg	3.7	3.2	1.7	13.3	4.9
Asn	7.6	2.1	2.0	0.7	1.0
Asp	4.1	4.5	5.0	3.0	3.0
Cys	6.7	3.7	0	1.5	0
Gln	6.5	2.1	3.5	5.9	2.6
Glu	4.2	5.6	8.7	5.2	4.5
Gly	3.7	10.2	9.0	5.2	32.7
His	3.7	1.9	7.0	1.5	0.3
Ile	3.1	6.4	5.1	5.2	0.8
Leu	1.7	6.7	11.6	8.9	2.1
Lys	7.7	8.0	13.0	9.6	3.6
Met	3.7	2.4	1.5	1.5	0.7
Phe	2.4	4.8	4.6	3.0	1.2
Pro	4.5	5.3	2.5	4.4	22.5
Ser	12.2	7.0	3.9	3.7	3.8
Thr	6.7	6.4	3.5	7.4	1.5
Trp	0	0.5	1.3	0	0
Tyr	4.0	1.1	1.3	2.2	0.5
Val	7.1	10.4	4.8	4.4	1.7
Acidic	8.4	10.2	13.7	8.1	7.5
Basic	15.0	13.1	21.8	24.4	8.8
Aromatic	6.4	6.4	7.2	5.2	1.7
Hydrophobic	18.0	30.7	27.6	23.0	6.5

Структурна организација на протеините

Структурна организација на протеините

- ▶ Четири различни нивои на структурна организација:
- ▶ **Примарна** - **аминокиселинска секвенца** (редослед на аминокиселински остатоци)
- ▶ **Секундарна** – просторен распоред на пептидниот скелет, без страничните остатоци: **спирала α -хеликс**, **β -набрана структура** и **несредена структура**
- ▶ **Терцијарна** - просторен распоред на сите атоми од полипептидната низа: тридимензионална структура на една субединица (**клопче**)
- ▶ **Кватернерна** структура на протеините - **начин на поврзување на подединиците (субединиците)**: Протеините со неколку полипептидни низи се поврзуваат меѓусебно со различни типови хемиски врски и интеракции (ковалентна врска, водородна врска и ван дер Ваалсови сили) градејќи поголеми агрегати.



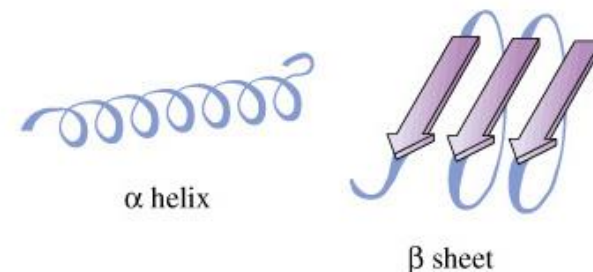
Претставување на структурата на протеините

- ▶ Безиерови ленти
- ▶ Стрелки
- ▶ Спирали
- ▶ Цилиндри модели
- ▶ Компјутерски модели
- ▶ Шематски прикази и др.

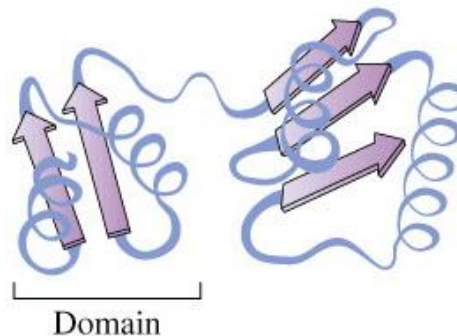
(a) Primary structure

– Ala – Glu – Val – Thr – Asp – Pro – Gly –

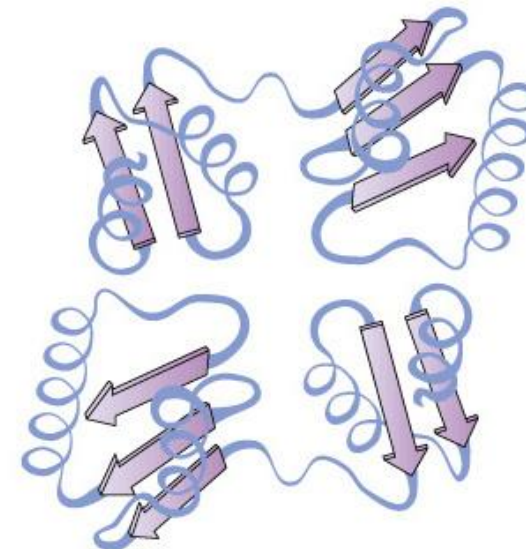
(b) Secondary structure



(c) Tertiary structure

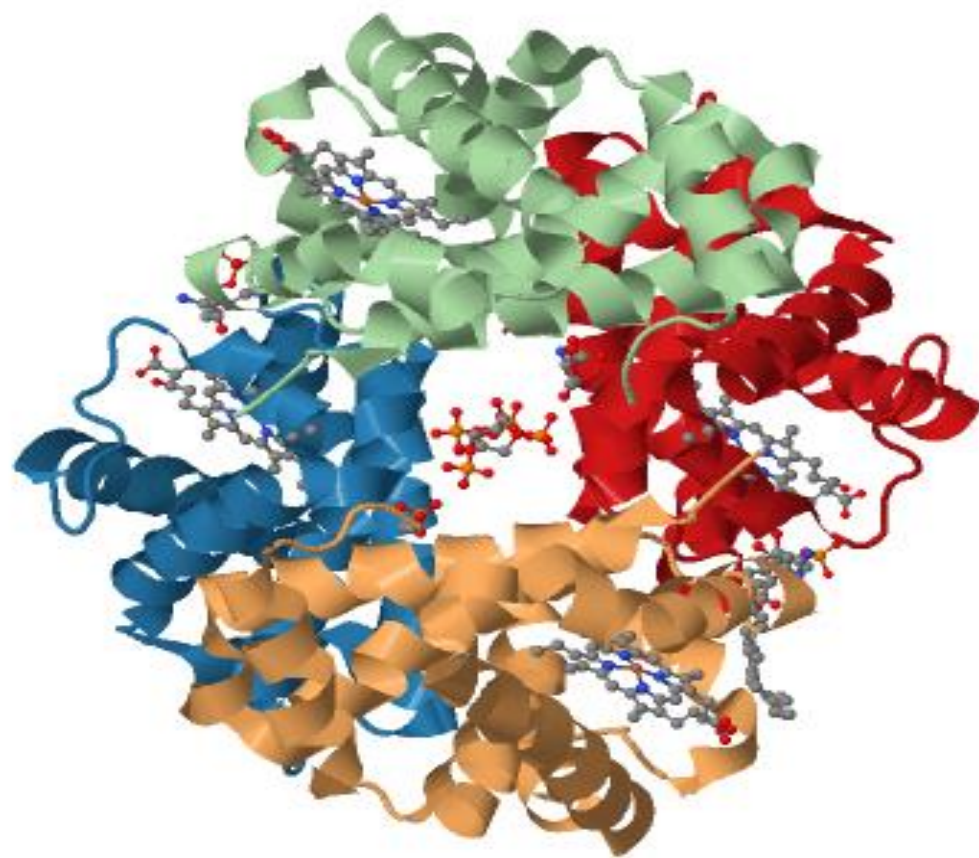


(d) Quaternary structure





Лизозим од белка на јајце



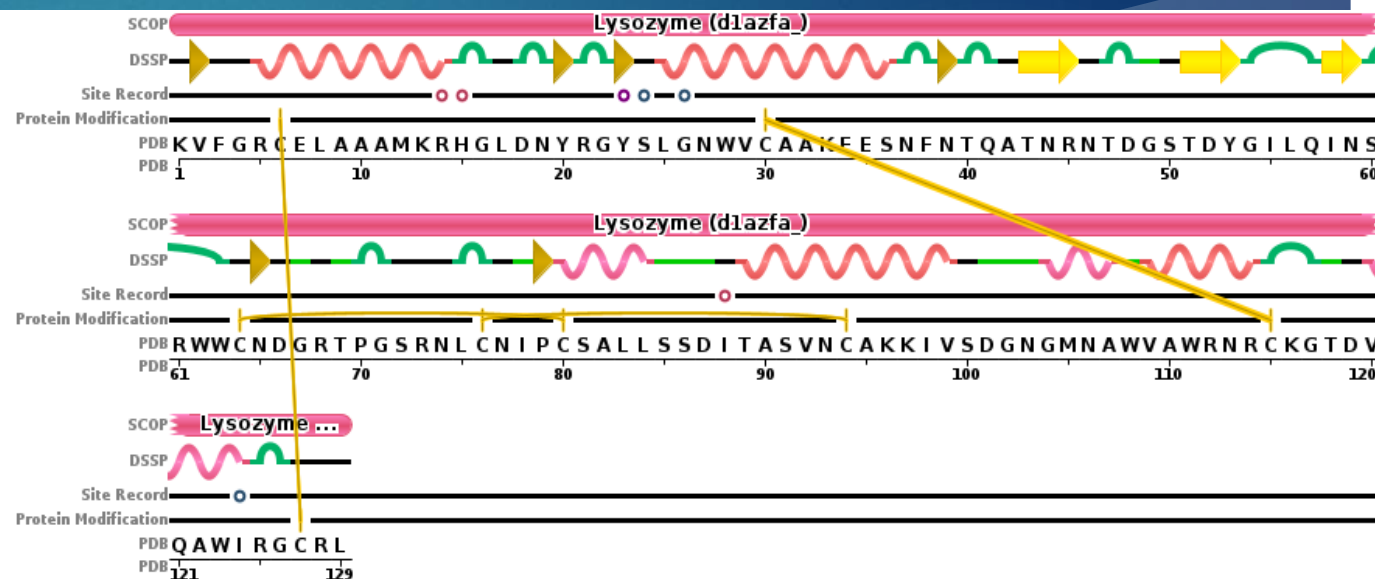
Хемоглобин од човек



Лизозим од белка на јајце:

>1AZF:A | PDBID | CHAIN | SEQUENCE

KVFGRCELAAAMKRHGLDNYRGYSLGNWV
CAAKFESNFNTQATNRNTDGSTDYGILQINSR
WWCNDGRTPGSRNLCNIPCSALLSSDITASV
NCAKKIVSDGNGMNAWVAWRNRCKGTDV
QAWIRGCRL



Protein Modification Legend

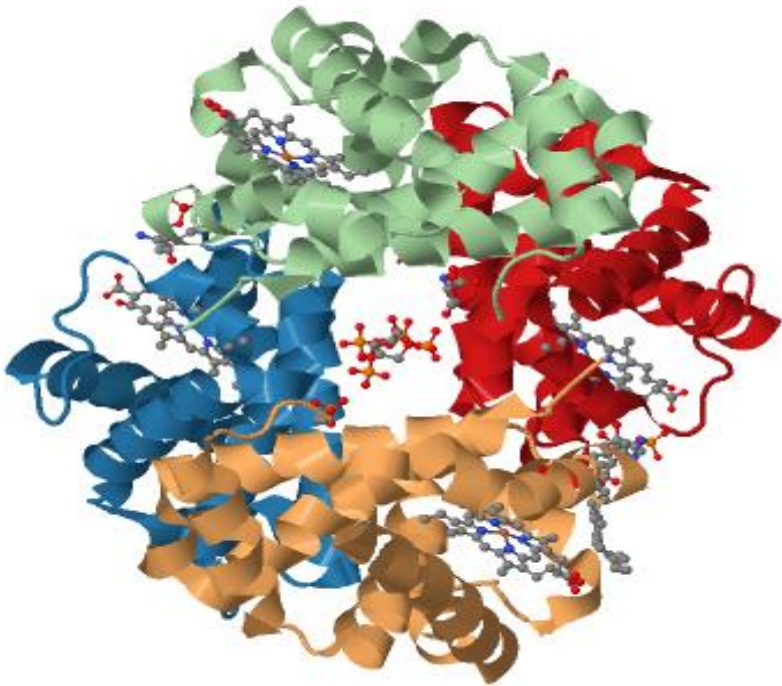
— L-cystine

Site Record Legend

- BINDING SITE FOR RESIDUE BR A 286 (Software)
- BINDING SITE FOR RESIDUE BR A 287 (Software)
- BINDING SITE FOR RESIDUE BR A 288 (Software)

DSSP Legend

- empty: no secondary structure assigned
- B: beta bridge
- S: bend
- T: turn
- E: beta strand
- G: 3/10-helix
- H: alpha helix



Хемоглобин од човек:

>5KSI:A | PDBID | CHAIN | SEQUENCE

VLSPADKTNVKA AWGKVG AHAGEYGAEAL
ERMFLSFPTTKTYFPHFDLSHGSAQVKGHGKKV
ADALTNAVAHVDDMPNALSALSDLHAHKLRV
DPVNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLD
KFLASVSTVLTSKYR

5KSI:B | PDBID | CHAIN | SEQUENCE

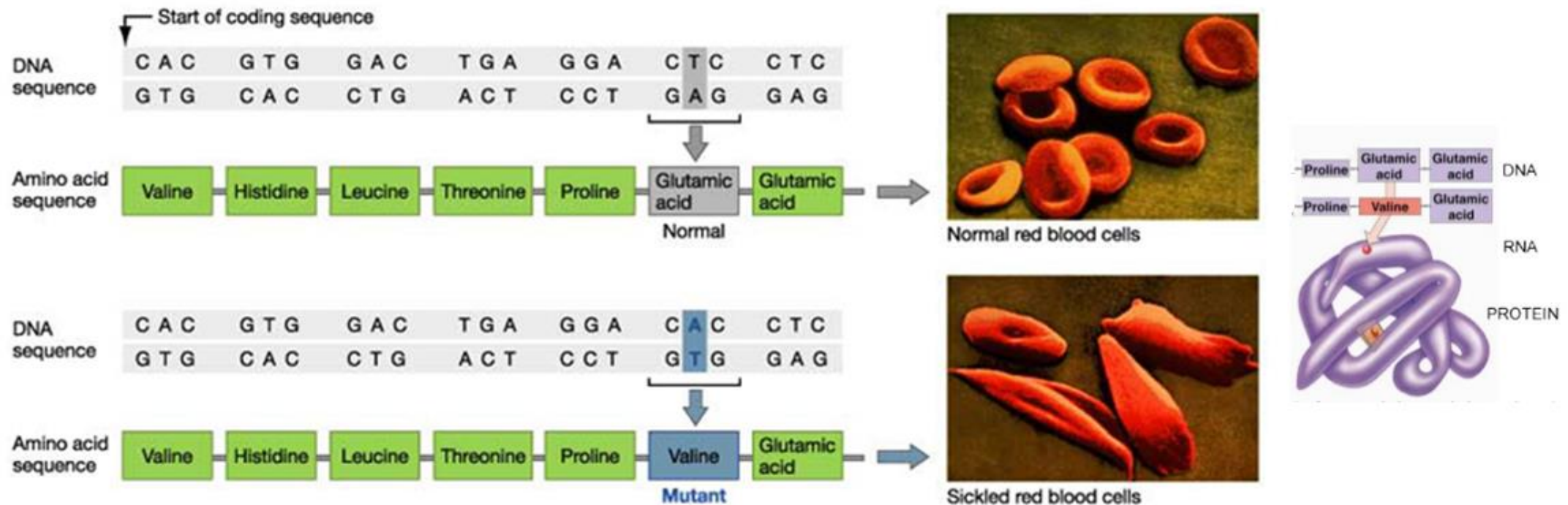
VHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLL
LVVYPWTQRFFESFGDLSTPD AVMGNPKVKA
HGKKVLGAFSDGLAHL DNLKGTFATLSELHCD
KLHVDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPV
QAAYQKVVAGVANALAHKYH

Определување на аминокиселинска секвенца

Аминокиселинска секвенца

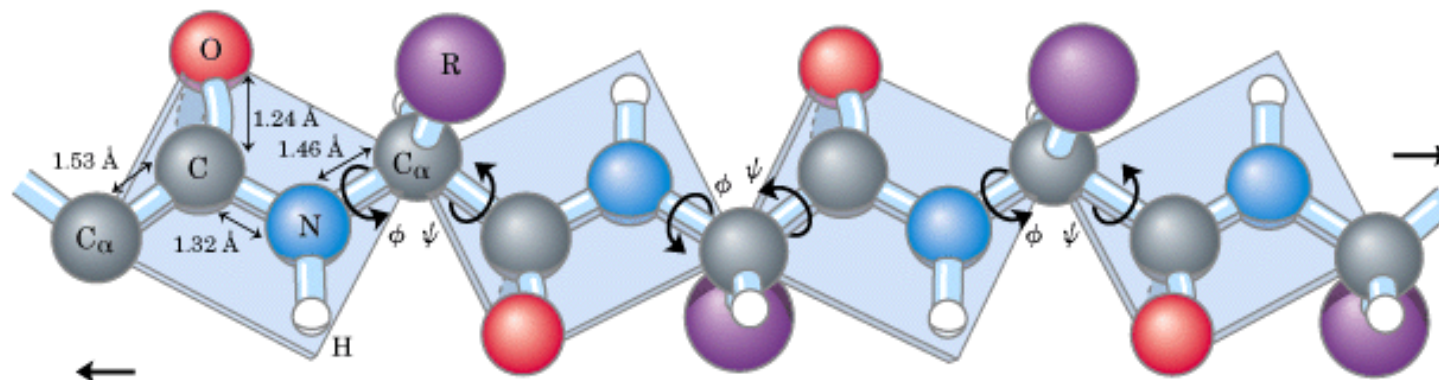
- ▶ Аминокиселинската секвенца е **карактеристика на протеинот**. (Секој протеински вид има специфична аминокиселинска секвенца)
- ▶ Протеините од различни видови честопати имаат слични аминокиселински секвенци (околу 20%–30% од протеините кај човекот се **полиморфни**, имаат различни варијанти на аминокиселинската секвенца).
- ▶ **Секвенцата е кодирана од нуклеотидната секвенца на DNA**. Поради мутација во кодонот (аденин наместо тимин), се менува примарната структура, се сврзува валин наместо глутамат.
- ▶ Со промена на примарната структура се менува и функцијата на протеинот.

- ▶ Српеста анемија – промената во аминокиселинската секвенца му дава на протеинот српеста форма (– HbS).
- ▶ При намалено ниво на кислород, оваа форма на хемоглобин кристализира.

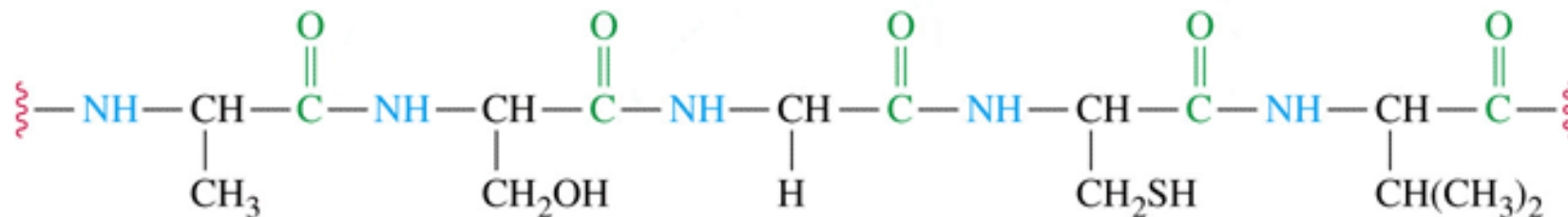


Начини на претставување на примарна структура

Скелет



Скелет и
странични
групи



Аминокиселинска
секвенца



Определување на аминокиселинска секвенца

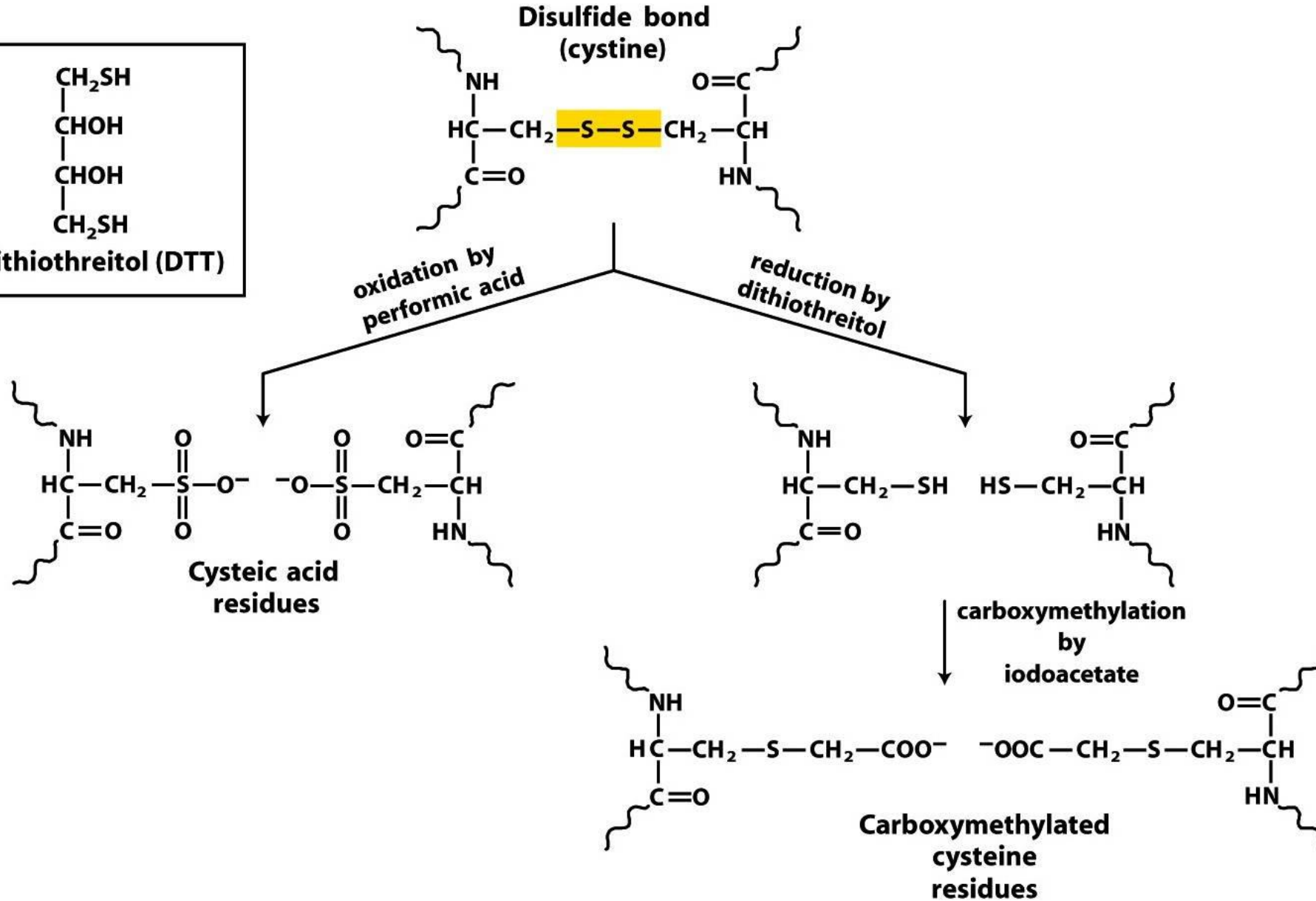
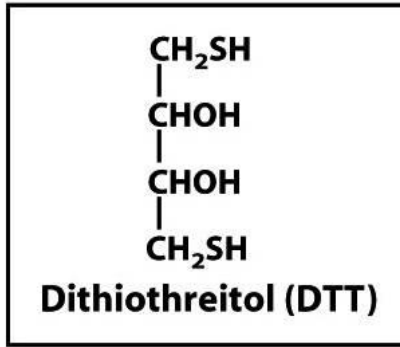
- ▶ Досега се определени аминокиселинските секвенци на преку 20000 различни протеини.
- ▶ Како се определува аминокиселинската секвенца на протеинот?
 - ▶ **Директно:** определување на секвенцата на изолиран и пречистен протеин.
 - ▶ **Индиректно:** определување на нуклеотидната секвенца на DNA.

Определување на секвенца на изолиран протеин

- ▶ Прв чекор: **Денатурација на протеинот**
- ▶ **Раскинување на ковалентните дисулфидни врски:**
 - ▶ оксидација на цистинскиот остаток со перформна киселина или
 - ▶ редукција со дитиотреитол (DTT) или β -меркаптоетанол.
- ▶ **Раскинување на нековалентните меѓумолекулски врски** со силно кисели или силно базни раствори и денатурирачки средства 8M уреа, 6M гванидин хидрохлорид, SDS..
- ▶ Втор чекор: **Карбоксиметилирање на реактивните –SH групи** од цистеинските остатоци со јодоацетат или јодоацетамид.

Определување на секвенца на изолиран протеин

- ▶ Трет чекор: **Фрагментирање на полипептидните низи.**
- ▶ Четврт чекор: **Секвенционирање на фрагментите со Едманова фрагментација** и идентификација на аминокиселинските деривати
- ▶ Петти чекор: Определување на редоследот на аминокиселините преку **преклопување на фрагментите** добиени со различни методи.

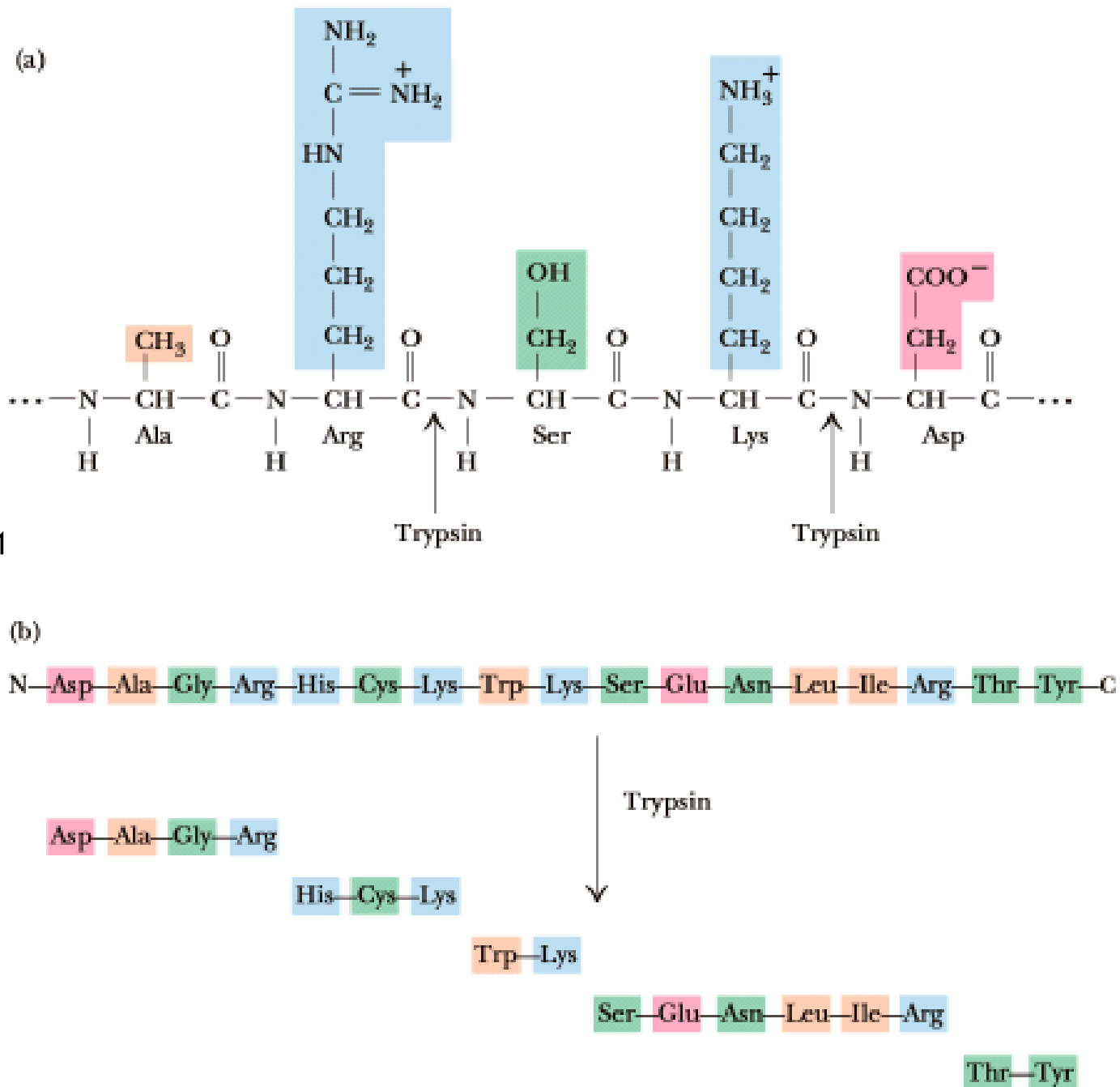


Фрагментирање на полипептидната низа

- ▶ Хидролитичко раскинување на пептидните врски со **хемиски реагенси или ензими-протеази**.
- ▶ Раскинувањето на пептидните врски настанува кај карбонилната (C) или аминокиселински остаток.

Реагенс	Места на раскинување
Трипсин	Lys, Arg(C)
Протеаза(Submaxillarus)	Arg(C)
Химотрипсин	Phe, Trp, Tyr(C)
V8 Протеаза (Staphilococcus aureus)	Asp, Glu(C)
Asp-N-протеаза	Asp, Glu(N)
Пепсин	Phe, Trp, Tyr(N)
Цијаноген бромид	Met(C)

- Трипсинот ја катализира хидролизата на пептидните врски од карбонилниот крај на лизин или аргинин.



- ▶ Како да ги подредиме пептидните фрагменти, за да ја добиеме аминокиселинската секвенца на протеинот?
- ▶ Препокривање на пептидните фрагменти добиени со две различни методи на дигестија.

Хидролиза со трипсин

Ala-Ala-Trp-Gly-Lys

Thr-Phe-Val-Lys

Хидролиза со химотрипсин

Val-Lys-Ala-Ala-Trp

Решение:

Фрагмент по хидролиза со трипсин

Фрагмент по хидролиза со трипсин

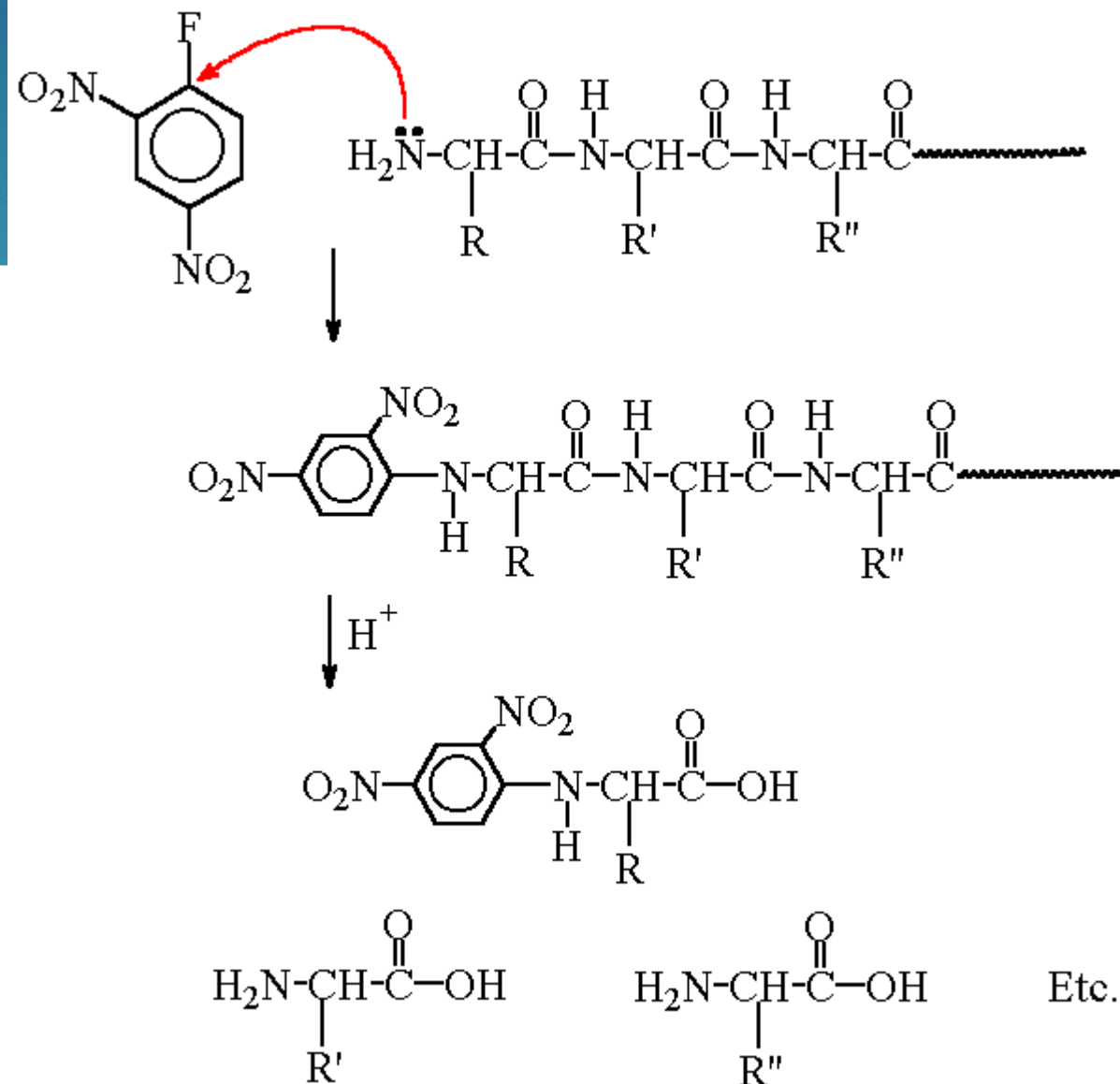
← Thr-Phe-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Gly-Lys →

← →

Фрагмент по хидролиза со химотрипсин

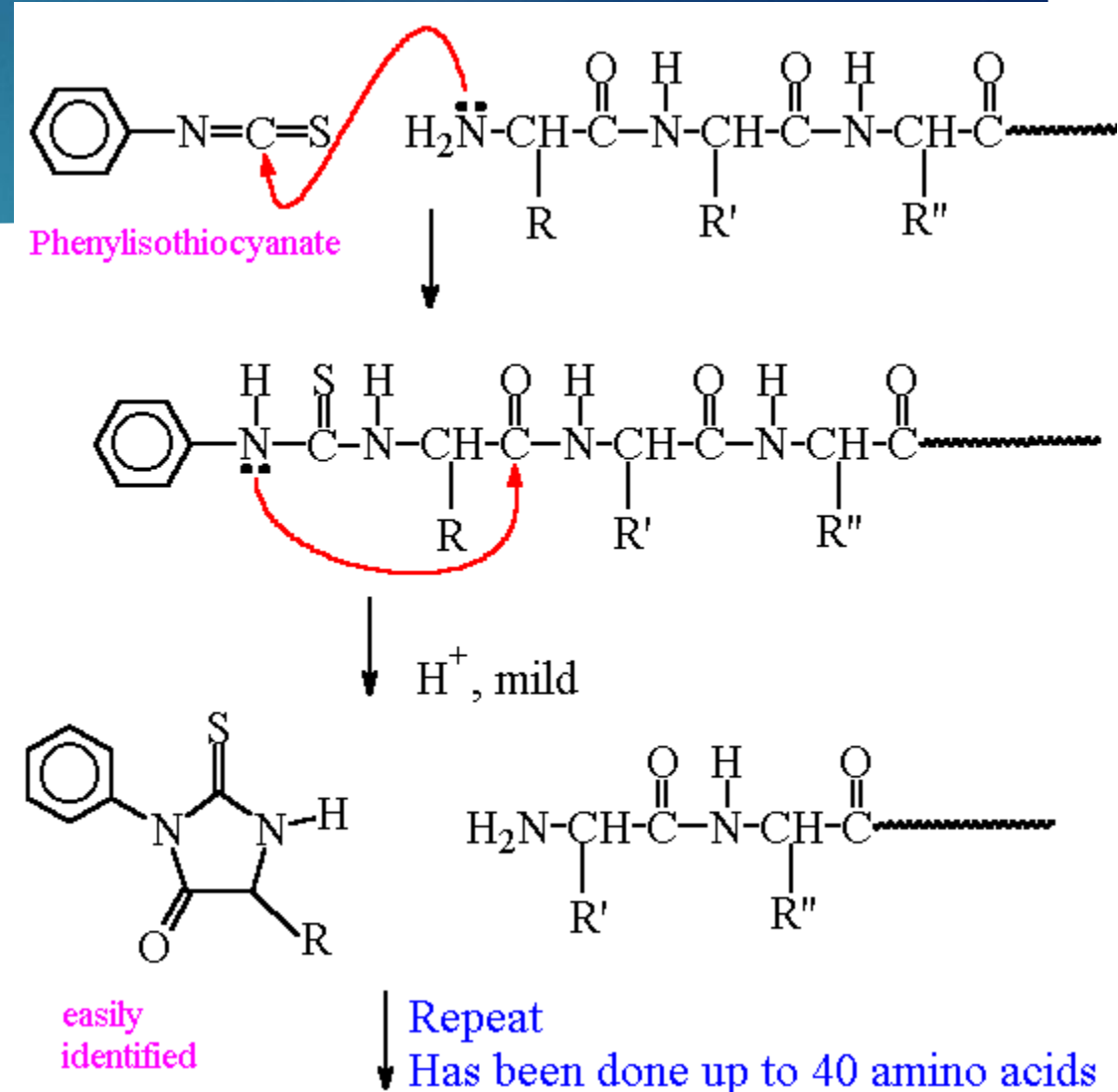
Сангера метода

- ▶ Сангеров реагент: 2,4-динитрофлуоробензен.
- ▶ Продукт: 2,4-динитрофенил дериват на аминокиселинскиот остаток од *N*- крајот на пептидната низа.
- ▶ Хидролиза во кисела средина: дериват на аминокиселината од *N*-терминалниот крај на пептидната низа и смеса од слободни аминокиселини.

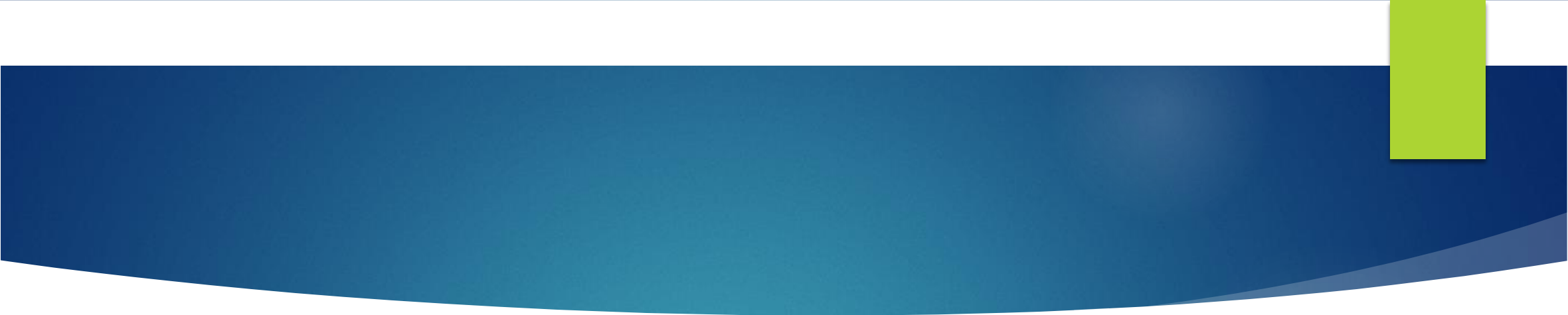


Едманова метода

- ▶ Реагенс: фенилизотиоцијанат во слабо алкални услови.
- ▶ Продукт: аминокиселината на N-крајот преминува во фенилтиокарбамоил (PTC) од пептидната низа.
- ▶ При умерена хидролиза (трифлуорооцетна киселина) се добива **фенилтиохидаントински** дериват на аминокиселината кој лесно се идентификува, и скратена пептидна низа.
- ▶ Можно е понатамошно секвенционирање.
- ▶ Едмановата деградација се изведува во апарат наречен **секвенатор**.



Важност на аминокиселинската секвенца

- 
- ▶ Протеинските секвенци се богат извор на информации за **тридимензионалната структура** на протеините и нивната **функција**, како и **за еволуцијата** на животот на Земјата.
 - ▶ Повеќето информации за функцијата на протеините содржани во протеинската секвенца се наоѓаат во форма на **консензус секвенци** (најчеста аминокиселина за секоја положба).
 - ▶ Софистицирани методи за следење на еволуцијата со анализирање на бавните промени во аминокиселинските секвенци на **хомологните протеини** (протеини кои извршуваат слични функции во различни организми, со слична аминокиселинска секвенца и приближно идентични по должина полипептидни низи).

Бази на аминокиселински секвенци

- ▶ Базите на податоци на аминокиселинските секвенци се содржани во различни атласи на бази на аминокиселински секвенци.
 - ▶ Atlas of protein Sequence and structure,
 - ▶ PIR (Protein Identification Resource Protein Sequence Database),
 - ▶ GenBank (Genetic Sequence Data Bank),
 - ▶ EMBL(European Molecular Biology Laboratory Data Library) и други.

RCSB Protein Data Bank - RC X +

https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do 90% differential centrifugation

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More MyPDB Login

RCSB PDB 134251 Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthroughs in Research and Education

Search by PDB ID, author, macromolecule, sequence, or ligands Go

Advanced Search | Browse by Annotations

PDB-101 WORLDWIDE PDB PROTEIN DATA BANK EMDatabank NUCLEIC ACID DATABASE Worldwide Protein Data Bank Foundation

Take the RCSB PDB User Survey

Facebook Twitter YouTube

Welcome

- Deposit
- Search
- Visualize
- Analyze
- Download
- Learn

A Structural View of Biology

This resource is powered by the Protein Data Bank archive-information about the 3D shapes of proteins, nucleic acids, and complex assemblies that helps students and researchers understand all aspects of biomedicine and agriculture, from protein synthesis to health and disease.

As a member of the wwPDB, the RCSB PDB curates and annotates PDB data.

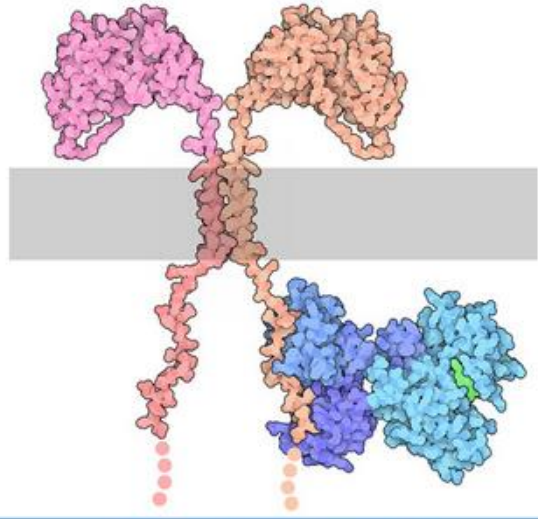
The RCSB PDB builds upon the data by creating tools and resources for research and education in molecular biology, structural biology, computational biology, and beyond.

2017 RCSB PDB User Survey

RCSB PDB User Survey

- I visit rcsb.org every ...
- I'm a depositor
- I'm a student
- My research interests are ...
- I use PDB-101 every ...
- I wish rcsb.org offered ...
- My favorite rcsb.org feature is ...
- I work at ...

October Molecule of the Month



Chimeric Antigen Receptors

Contact Us

Линк на Интернет:

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

Structure Summary

3D View

Annotations

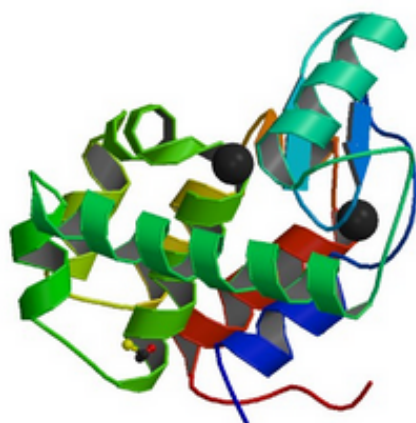
Sequence

Sequence Similarity

Structure Similarity

Experiment

Biological Assembly 1 ?



View in 3D: NGL or JSmol (in Browser)

Standalone Viewers

[Simple Viewer](#) [Protein Workshop](#) [Ligand Explorer](#)
[Kiosk Viewer](#)

Protein Symmetry: Asymmetric (View in 3D)

Protein Stoichiometry: Monomer

Biological assembly 1 assigned by authors

Macromolecule Content

253L

LYSOZYME

DOI: 10.2210/pdb253l/pdb

Classification: [HYDROLASE](#)

Deposited: 1997-11-10 Released: 1998-01-28

Deposition author(s): [Kuroki, R.](#), [Shoichet, B.](#), [Weaver, L.H.](#), [Matthews, B.W.](#)Organism: [Enterobacteria phage T4 sensu lato](#)

Expression System: Escherichia coli

Mutation(s): 3

Display Files

Download Files

Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION

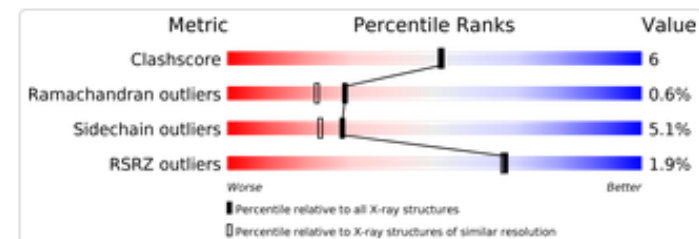
Resolution: 2.0 Å

R-Value Observed: 0.164

wwPDB Validation

3D Report

Full Report



Literature

Download Primary Citation

A relationship between protein stability and protein function.

[Shoichet, B.K.](#), [Baase, W.A.](#), [Kuroki, R.](#), [Matthews, B.W.](#)

(1995) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 92: 452-456

PubMed: 7831309 [Search on PubMed](#)

Сличност меѓу аминокиселинските секвенци

- 5EXQ:A|PDBID|human (104)

GDVEKGKKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFGR
KTGQAPGYSHTAANKNKGIIWGEDTLMEYLENPKKYIPG
TKMIFVGIKKKEERADLIAYLK KATNE

- 5DFS:A|PDBID|spider monkey (105)

MGDVEKGKRIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFG
RKTGQASGFTYTEANKNKGIIWGEDTLMEYLENPKKYIP
GTKMIFVGIKKKEERADLIAYLK KATNE

- 1HRC:A|PDBID| horse (105)

XGDVEKGKKIFVQKCAQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFG
RKTGQAPGFTYTDANKNKGITWKEETLMEYLENPKKYIP
GTKMIFAGIKKKTEREDLIAYLK KATNE

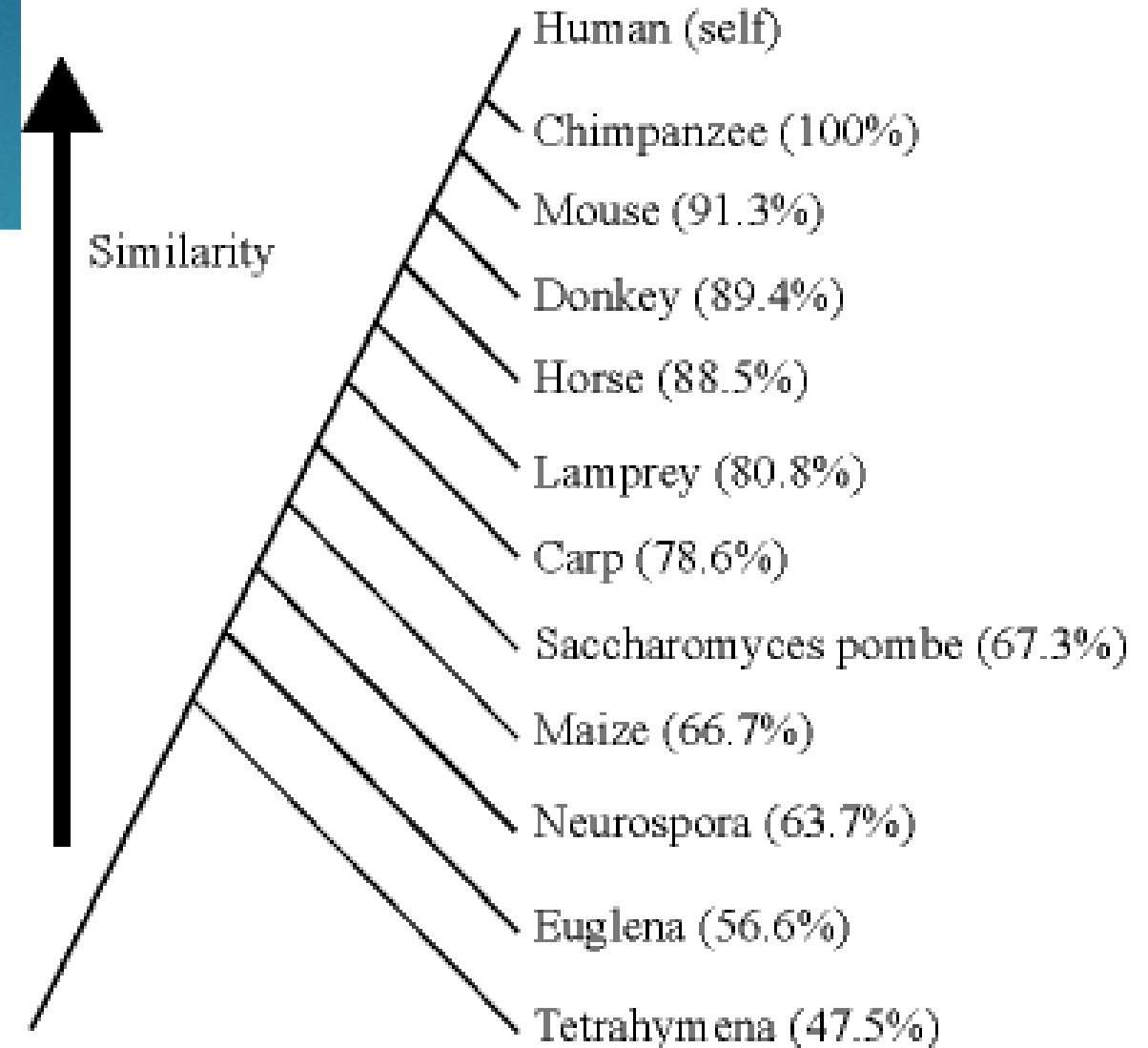
- 2AIU:A|PDBID| mouse (105)

MGDAEAGKKIFVQKCAQCHTVEKGGKHKTGPNLWGLF
GRKTGQAPGFSYTDANKNKGVIWSEETLMEYLENPKKYI
PGTKMIFAGIKKKSEREDLIKYLKQATSS

- 1YCC:A|PDBID| baker's yeast (108)

TEFKAGSAKKGATLFKTRCLQCHTVEKGGPHKVGPNLH
GIFGRHSGQAEGYSYTDANIKKNVLWDENNMSEYLTNP
KKYIPGTKMAFGGLKKEKDRNDLITYLK KACE

Cytochrome C Protein Sequences Compared to Humans (Percent Homology)

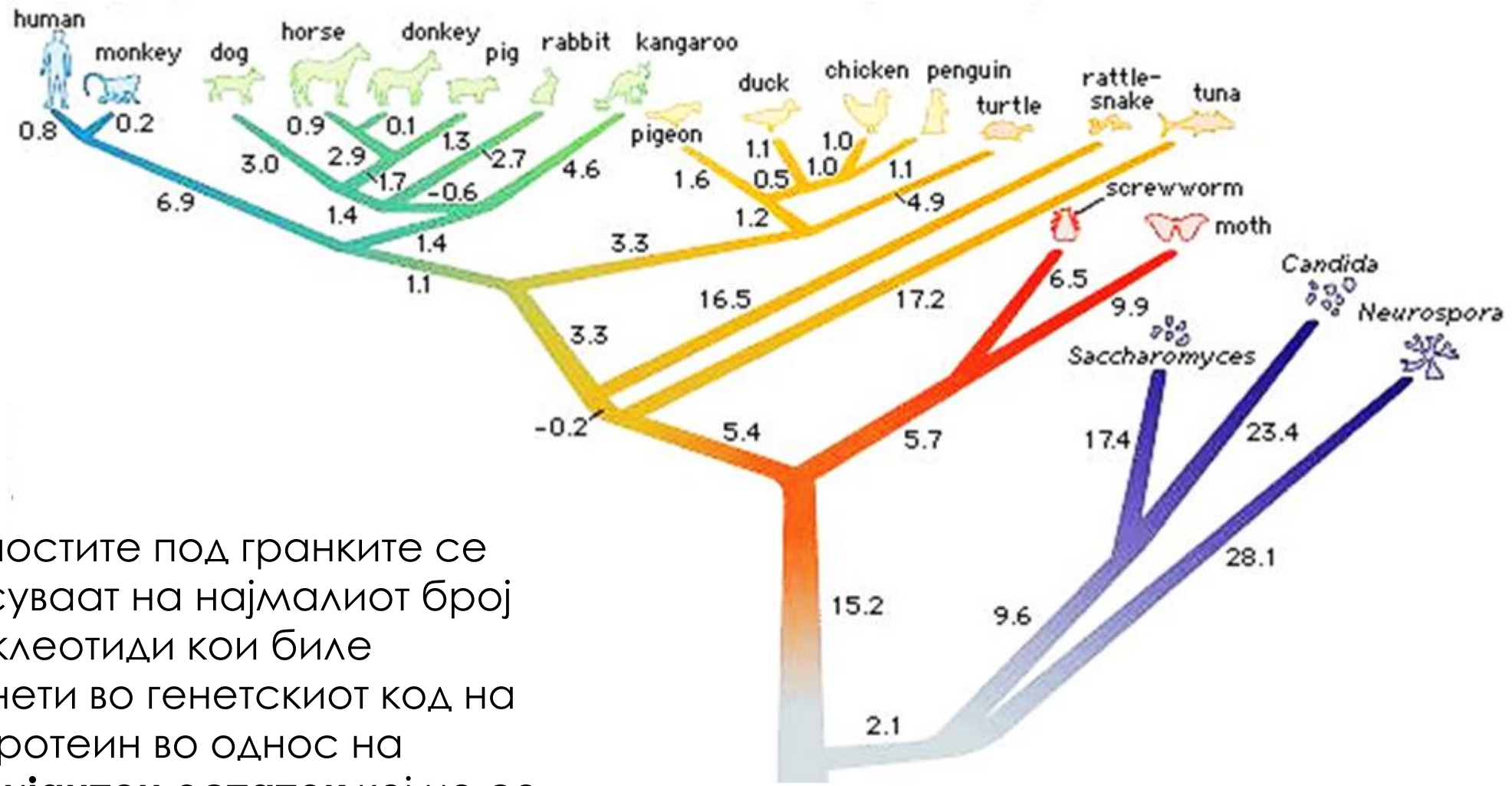


Во текот на еволуцијата се зачувани структурните фрагменти (домени) кои ја детерминираат функцијата на протеинот (трансфер на електрони):

Еволуционо стебло

- ▶ Делови од секвенцата со особено добро совпаѓање претставуваат функционални домени зачувани во текот на еволуцијата.
- ▶ Определени делови од протеинските секвенци можат да се најдат во организми во една таксономска група, но не во други групи - **сигнатурни (карактеристични) секвенци**.
- ▶ Со испитување на целосната секвенца на еден протеин, може да се направат **еволуциони дрва (родослови)** со многу видови во секоја таксономска група.

Родословно (еволюционо) дрво добиено со споредување на нуклеотидите кај генот на цитохром С



Вредностите под гранките се однесуваат на најмалиот број на нуклеотиди кои биле заменети во генетскиот код на овој протеин во однос на **инваријантен остаток** кој не се менува со еволуцијата.