

Нивои на структурна организација на протеини. Терцијарна структура

АДАПТИРАНО СПОРЕД

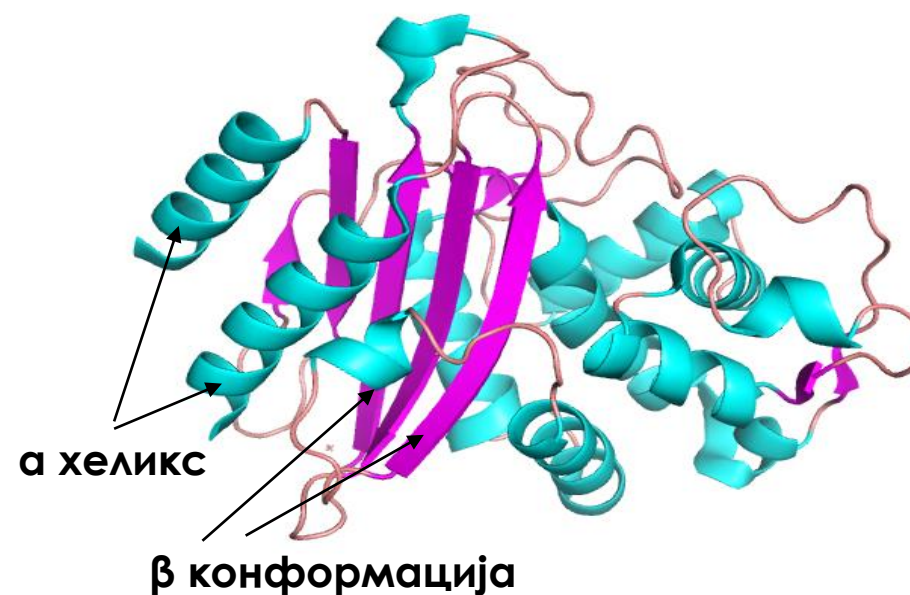
ЛЕНИНЏЕР ПРИНЦИПИ НА БИОХЕМИЈАТА , ДЕЈВИД НЕЛСОН, МАЈЛК КОКС

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

Стабилност на терцијарна протеинска структура

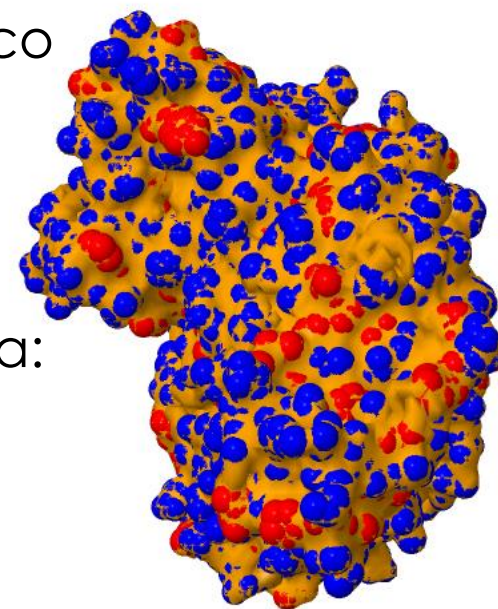
Терцијарна структура на протеини

- ▶ Вкупниот тридимензионален распоред на сите атоми во протеинот (од пептидната низа и страничните аминокиселински остатоци) се означува како **терцијарна структура** на протеинот **3°**.
- ▶ **Карактеристичната терцијарна конформација** се должи на интеракциите на поголеми растојанија во полипептидната низа.
- ▶ Основна карактеристика на протеините е да гради **кlopче** или друг тип структура кое има минимум енергија и е многу стабилна.

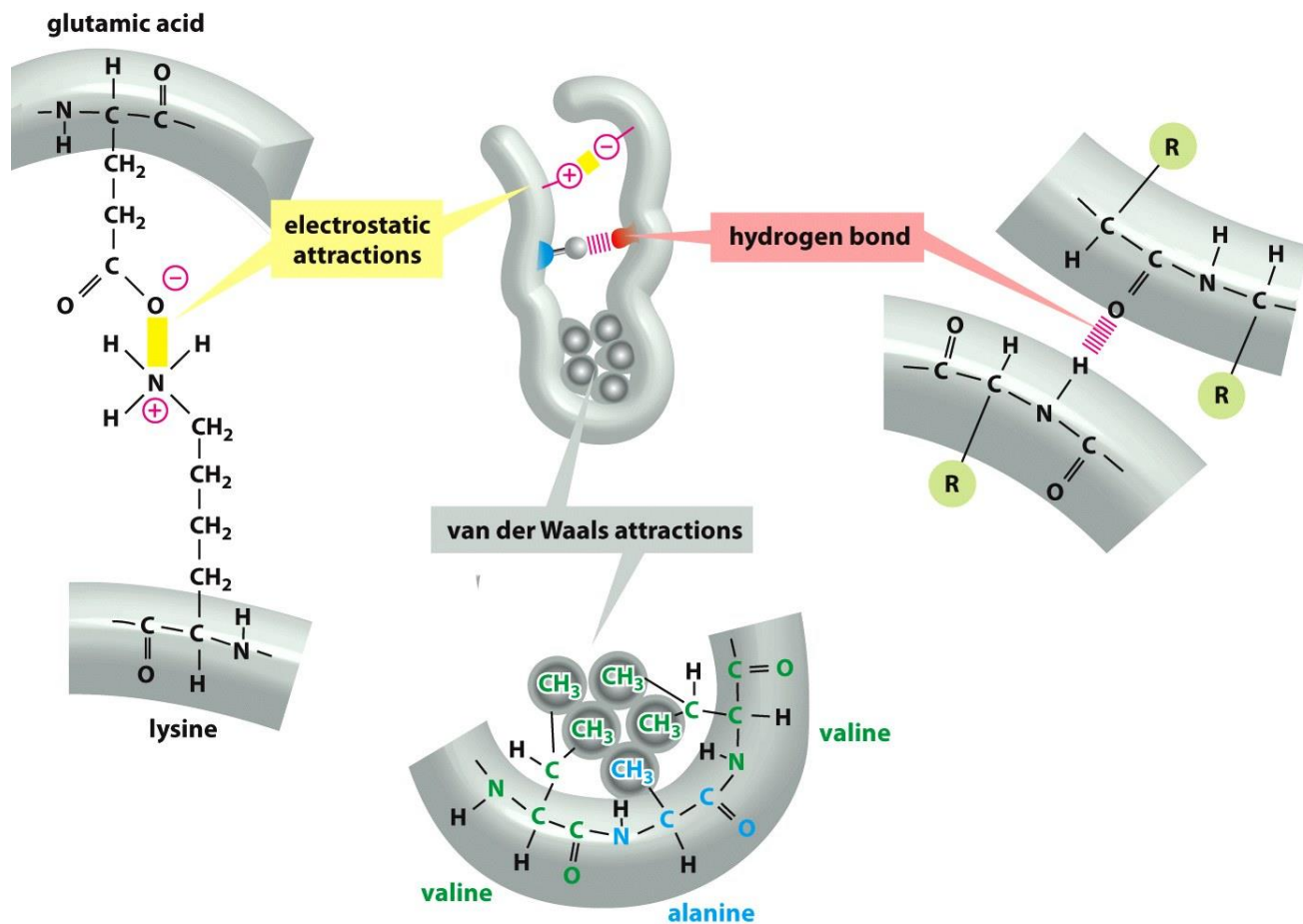


Стабилност на протеинска конформација

- ▶ Поради можноста за слободна ротација околу големиот број единечни врски од ковалентниот скелет на протеинот, може да се претпостави дека протеинот постои во значителен број конформации.
- ▶ Но, постојат само **термодинамички најстабилните** конформации, со најмала вредност за Гибсовата енергија.
- ▶ **Стабилност** – стремез за одржување на нативната природа на протеинот (**свиткана конформација – нативен протеин**).
- ▶ Хемиски интеракции кои ја стабилизираат нативната конформација:
 - ▶ Ковалентни врски (**дисулфидни врски**)
 - ▶ Нековалентни интеракции (**водородни врски, хидрофобни и јонски интеракции**).



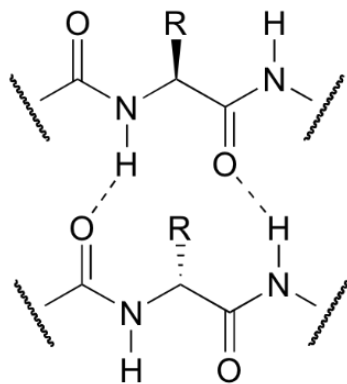
Нековалентни интеракции



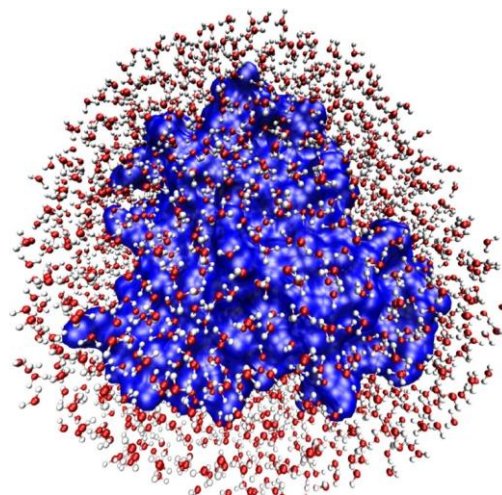
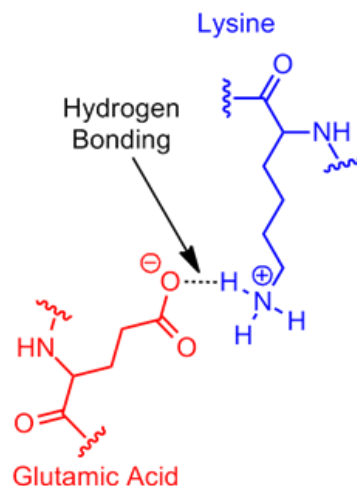
- ▶ Примарната структура на протеините е определена од ковалентни врски, додека повисоките нивоа на структурна организација на протеините се формирани и стабилизирани со **слаби нековалентни интеракции**:
- ▶ Водородна врска
- ▶ Електростатско привлекување
- ▶ Ван дер Ваалсови привлечни сили

Водородна врска

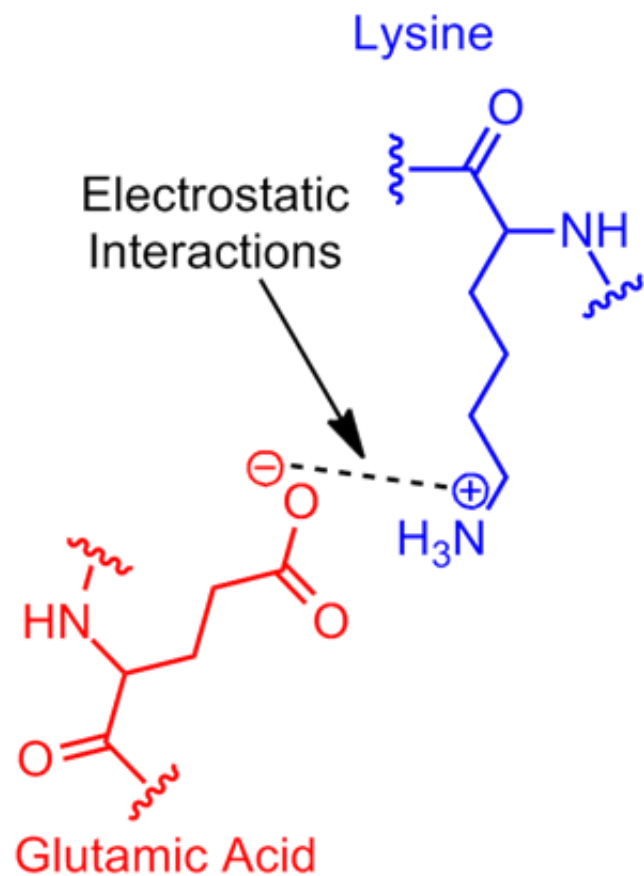
- ▶ Се формира секаде каде што е можно во протеинската структура **меѓу протон донори и акцептори**.
 - ▶ Меѓу структурните атоми од различни пептидни врски
 - ▶ Меѓу страничните групи на аминокиселинските остатоци
 - ▶ Меѓу хидрофилните аминокиселински остатоци од површината на протеинската молекула и молекулите вода.



hydrogen bonding in a β -strand



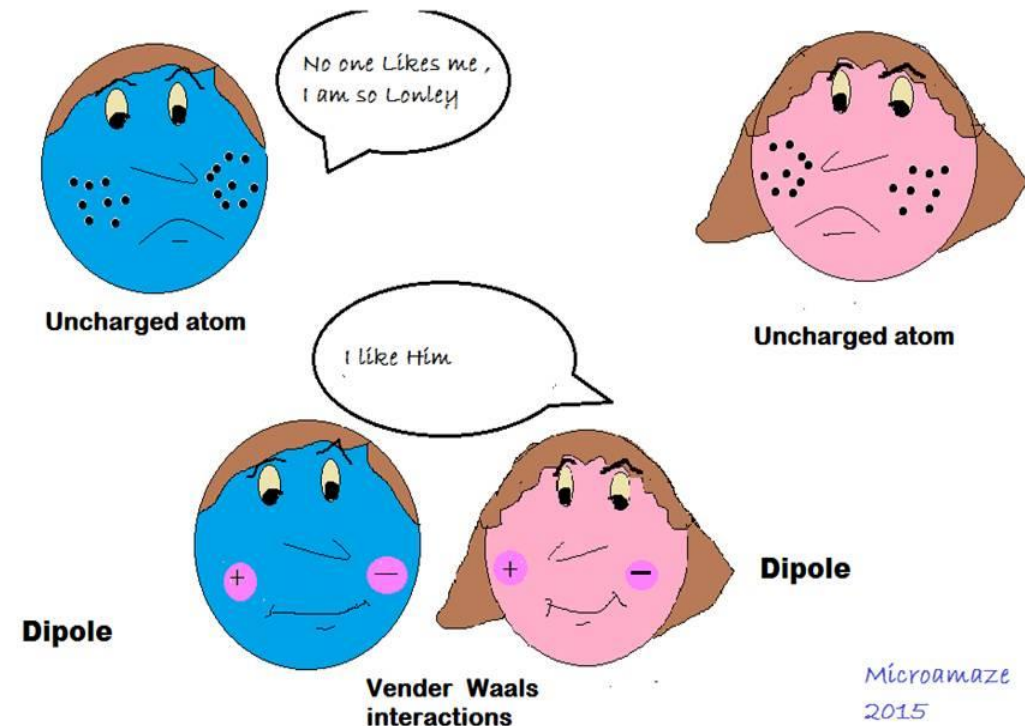
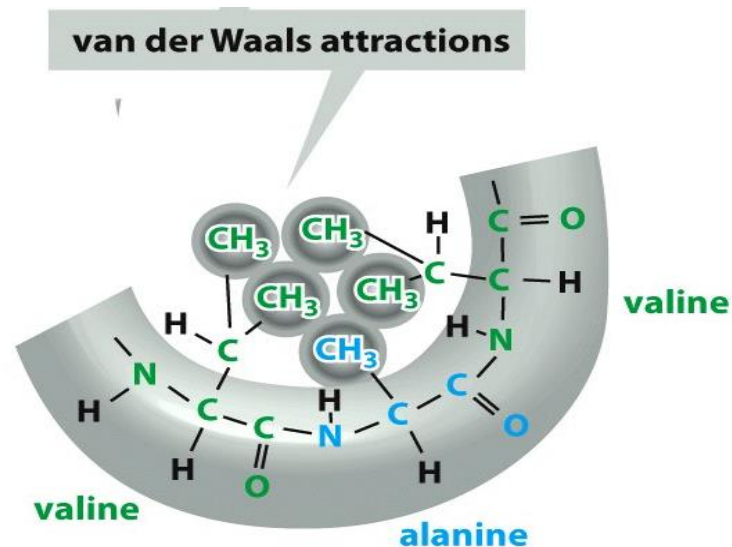
Електростатски сили



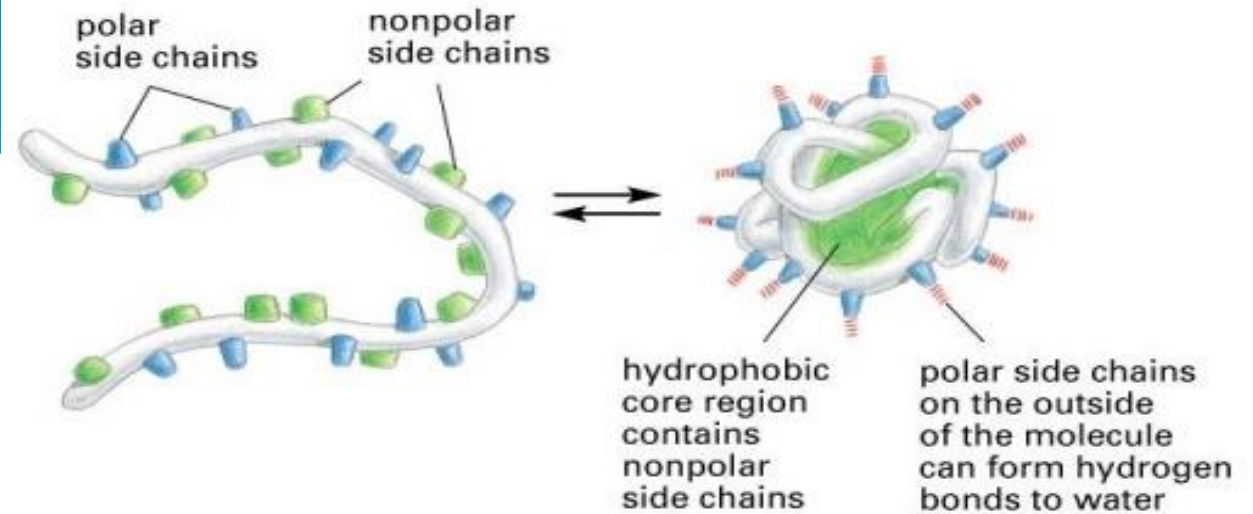
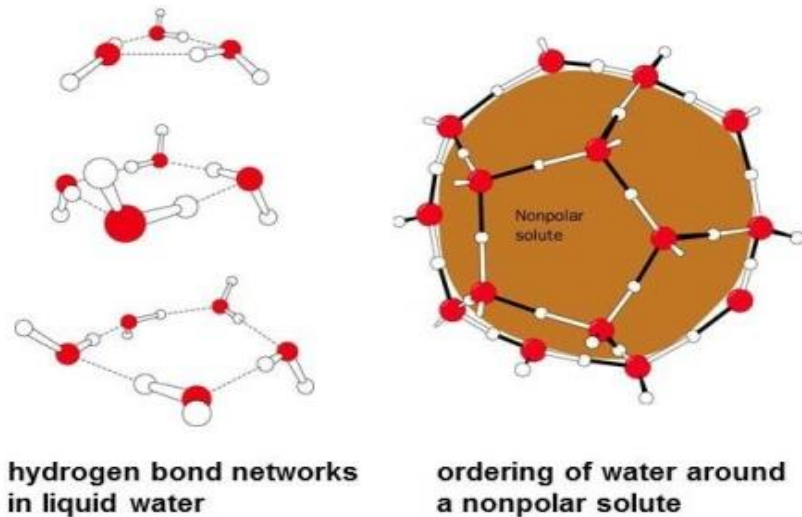
► Се јавуваат меѓу страничните групи на аминокиселинските остатоци со спротивен полнеж.

Ван дер Ваалсови интеракции

- ▶ Потекнуваат од индуцираните диполи меѓу соседни несврзани атоми без полнеж, како последица на движење на електроните во орбиталите.
- ▶ Привлечни - интеракции меѓу индуцирани диполи со спротивен полнеж, во хидрофобниот регион од протеинот.



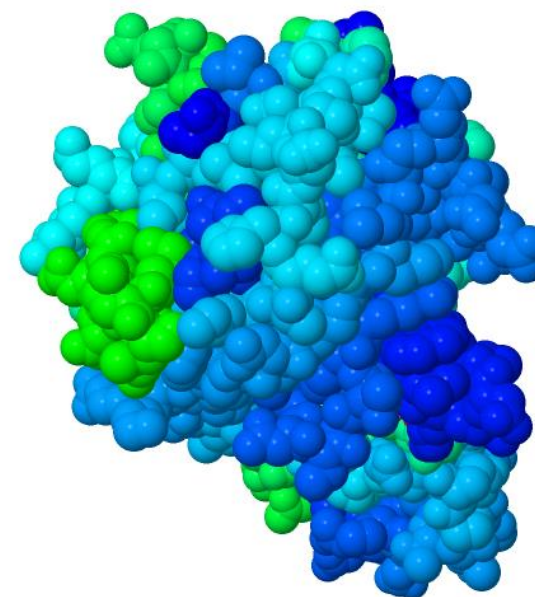
Хидрофобни интеракции



- ▶ Молекулите на вода (течност) се подредени во тридимензионална мрежа околу протеинската молекула како резултат на водородните врски меѓу нив.
- ▶ Ако на површината од протеинот се присутни кластери (групи) од неполярни странични групи, доаѓа до **раскинување на некои од водородните врски** и преуредување на молекулите вода, со што се зголемува енталпијата.
- ▶ Најстабилна енергетска состојба е кога **хидрофобните аминокиселински странични групи ќе се најдат во внатрешниот дел на протеинот.**

Запомни

- ▶ Секој протеин има специфична хемиска или структурна функција, според тоа **секој протеин има единствена тридимензионална структура**.
- 1. Тридимензионалната структура на протеинот е определена од неговата аминокиселинска секвенца.
- 2. Од структурата зависи функцијата на протеинот.
- 3. Еден изолиран протеин постои во една или неколку стабилни структурни форми.
- 4. Специфичната структура на еден протеин е стабилизирана од нековалентните интеракции.
- 5. Огромен број специфични протеински структури имаат неколку општи структурни мотиви кои помагаат во образување на тридимензионалните структури.



Глобуларен протеин

Класификација на протеините според структурната организација

ФИБРИЛАРНИ ПРОТЕИНИ
(КЕРАТИНИ, ЕЛАСТИН,
КОЛАГЕН, ФИБРОИН)

ГЛОБУЛАРНИ ПРОТЕИНИ

Класификација на протеините

- ▶ При изучување на повисоките нивоа на структурна организација на протеините, корисна е следната нивна класификација:
 - ▶ Фиброзни (фибриларни) протеини
 - ▶ Глобуларни протеини
 - ▶ Липопротеини
 - ▶ Гликопротеини

Фибриларни протеини

Структура	Карактеристики	Примери и наоѓање
α-Хеликс со попречни дисулфидни мостови	Цврсти, нерастворливи заштитни структури со различна јачина и флексибилност	Кератин на косата, пердувите и ноктите
β-конформација	Меки, флексибилни филаменти	Фиброин од свилата
Колагенски троен хеликс	Многу растеглива структура, без истегнување	Колаген од тетивите, коскената срцевина

Фибриларни протеини

- ▶ Полипептидните низи се распоредени во долги влакна или набрани структури.
- ▶ Содржат најмногу еден тип на секундарна структура.
- ▶ Релативно едноставна терцијарна структура.
- ▶ Слаба растворливост во вода
- ▶ Ја одржуваат формата и учествуваат во надворешната заштита на 'рбетниците.

α -Кератин

- ▶ α -Кератините се дел од семејството **интермедијарни филаментозни протеини** (IF протеини).
- ▶ Го сочинуваат речиси целосно сувиот остаток од косата, волната, ноктите, канџите, боцките, роговите, копитата и поголемиот дел од надворешниот слој на кожата.
- ▶ Аминокиселински состав: богати се со хидрофобните остатоци Ala, Val, Leu, Ile, Met и Phe.



Структура на α -кератин

Keratin α helix — 

Two-chain coiled coil — 

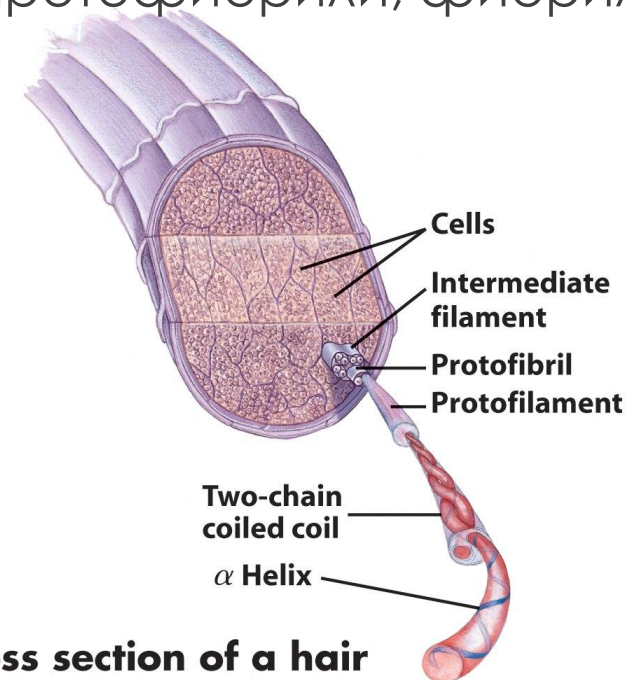
- ▶ α -Кератините имаат **деснорак α -хеликс**. (повеќе поврзани меѓусебно – терцијарна структура)
- ▶ Две нишки од α -кератинот се паралелно ориентирани, испреплетени една околу друга во **суперспирала** – кватернерна структура на протеини.
- ▶ Хеликсот од суперспиралната структура има леворака форма.

Структура на α -кератин

- ▶ Кватернерната структура на α -кератините е стабилизирана со попречни дисулфидни мостови.
- ▶ Голем број суперспирали можат меѓусебно да се сплетат и да образуваат **супрамолекуларни комплекси**: протофиламенти, протофибрили, фибрили, кои го градат средишниот дел на влакното.

Protofilament {  } 20–30 Å

Protofibril {  }

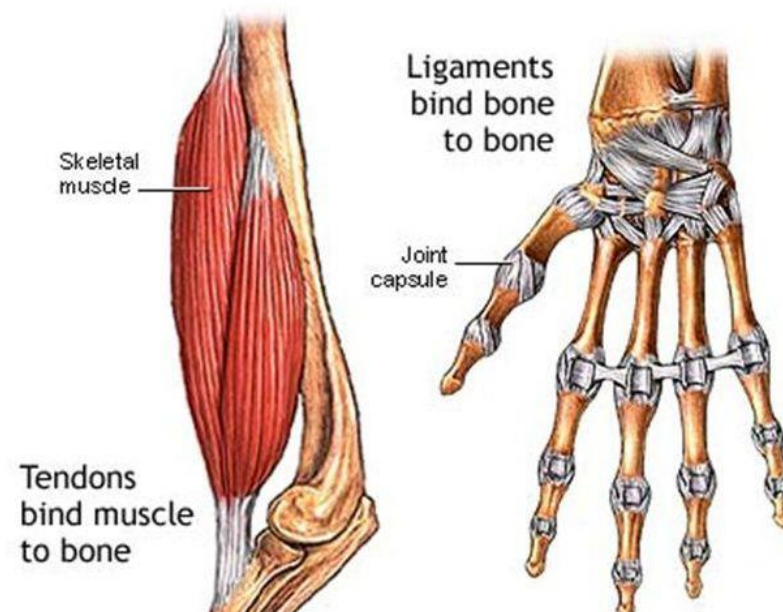
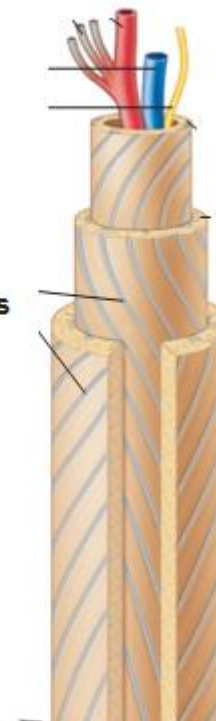


Cross section of a hair

Колаген

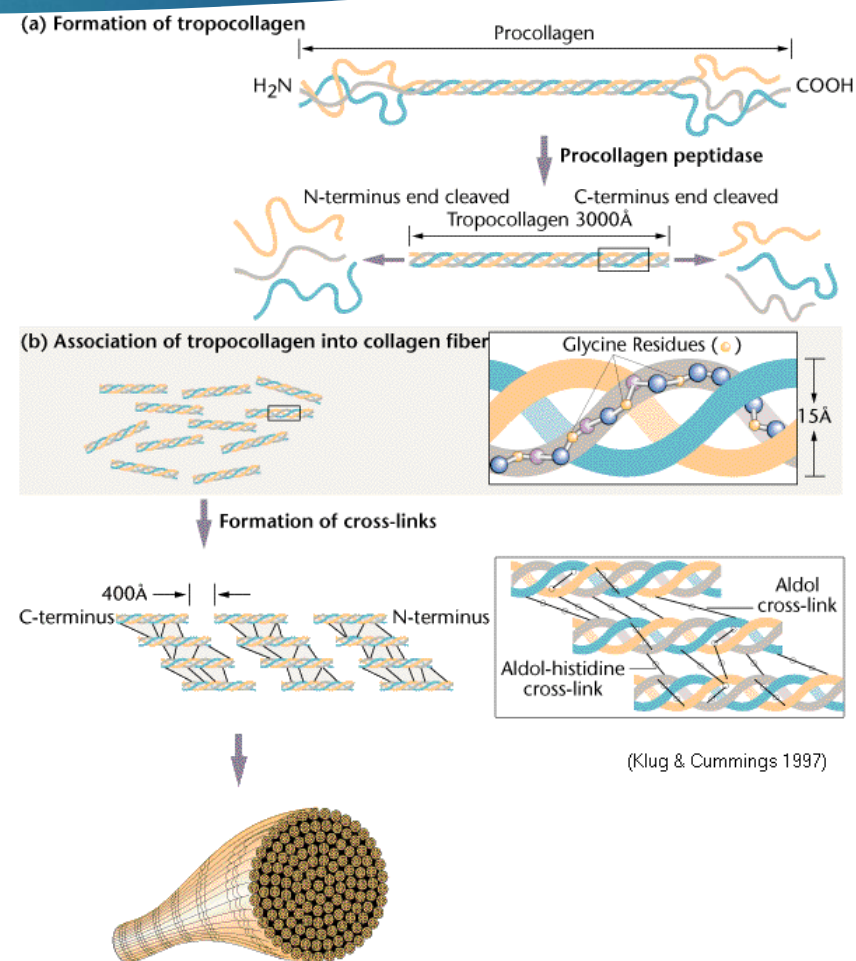
- ▶ Најчесто се наоѓа во **сврзните ткива** како што се тетивите, 'рскавицата, органскиот матрикс на коските, во корнеата на окото.
- ▶ Сочинува половина од масата на сите протеини во организмот, ја обезбедува **цврстината на ткивата**.
- ▶ Аминокиселински состав: најчесто содржат околу 35% Gly, 11% Ala и 21% Pro и 4-Нур (4-хидроксипролин).
- ▶ Размисли: Која е причината за ригидноста и зголемената тврдост на сврзното ткиво кај старите луѓе?

Collagen fibers and mineral salts align and run in opposite directions from one layer to the next



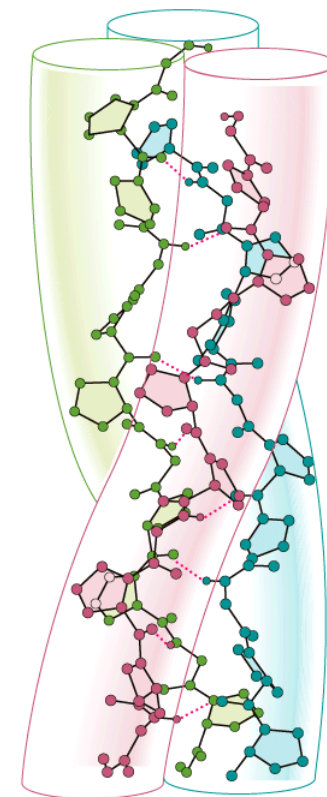
Структура на колаген

- ▶ Полипептидна низа ја сочинуваат левораки α -спирали ($\phi = -51^\circ$, $\psi = +153^\circ$)- **терцијарна структура**.
- ▶ Три полипептиди се плетат една околу друга во деснорака суперспирала, плетенка - **тропоколаген**, со три аминокиселински остатоци во еден завој – **кватернерна структура**.
- ▶ Молекулите на колагенот се пакуваат во форма на **фибрили** (vlakна).
- ▶ Овие фибрили потоа се вмрежуваат преку ковалентни врски.



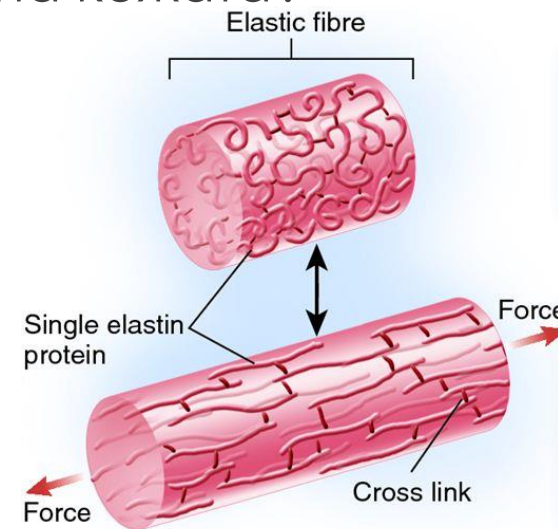
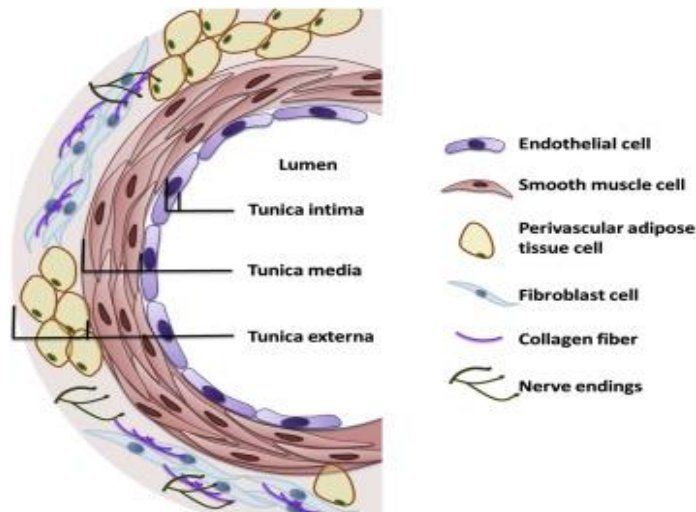
Структура на колаген

- ▶ Необичниот аминокиселински состав на колагенот, кој вклучува Lys, HyLys (5-хидроксилизин) или His не е погоден за градење на низи α - хеликси или β – структури.
- ▶ Овој состав е погоден за градење на колагенски тројни спирали.
- ▶ Овие аминокиселини ја стабилизираат колагенската структура, најверојатно преку образување на водородни врски со молекулите од водата.
- ▶ Во структурата се градат истегнати низи слични на α - хеликс со од $2.9 \text{ \AA}$
- ▶ Низата има 3,3 остатоци на завој
- ▶ Деформирање на низата кога содржи дел од низа со состав Gly-Pro-Pro/HyP.



ЕЛАСТИН

- ▶ Тој е главен составен дел на **екстрацелуларниот матрикс**.
- ▶ Еластин е протеин кој ја дава **еластичноста на ткивата**: белите дробови, сидовите од главните крвни садови и еластичните лигаменти.
- ▶ Има способност да се истегнува неколку пати повеќе од својата должина.
- ▶ Размисли: Која е причината за стареење на кожата?

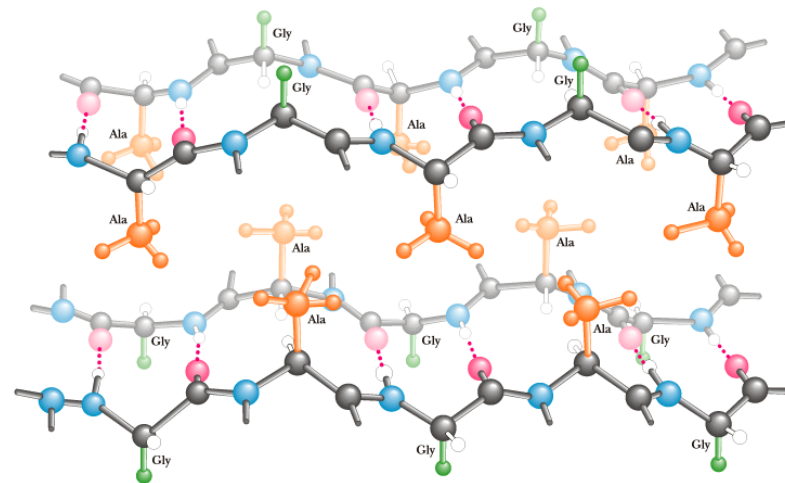
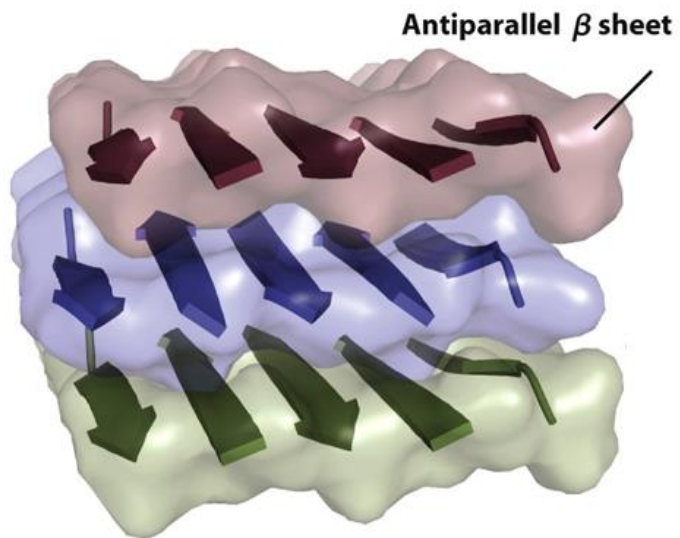


Структура на еластин

- ▶ Еластинот е составен во полипептидни низи во форма на спирали (**терцијарна структура**) кои образуваат фибрили (**кватернерна структура**), како кај колагенот.
- ▶ Аминокиселински состав: најмногу застапени се глицин, аланин и пролин, кои имаат способност за вмрежување со лизинските остатоци.
- ▶ Врз еластичноста најголемо влијание имаат хидрофобните сегменти.
- ▶ И во овој протеин настанува вмрежување со хемиски трансформации на аминокиселинските остатоци на лизинорелуцин, дезмосин и изодезмосин.
- ▶ **Дезмосинот и изодезмосинот** се среќаваат само кај еластинот и ја дават жолтата боја на овие ткива.
- ▶ Задача: Кои се структурните формули на овие аминокиселини?

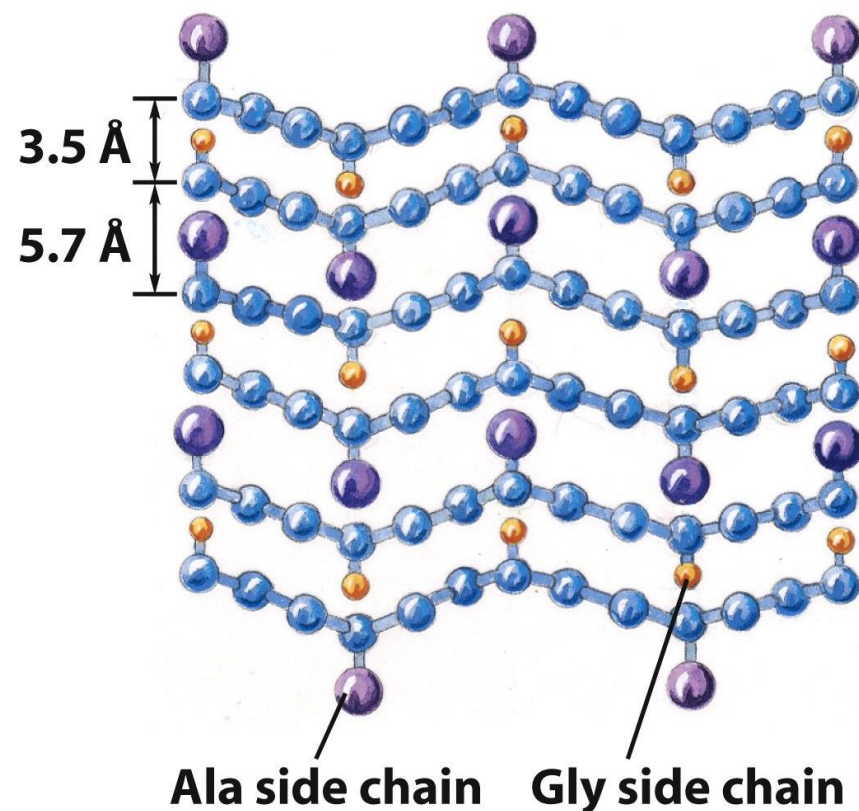
Фиброин

- Фиброинот е **протеин на свилата**. Го создаваат инсектите и пајациите.
- Полипептидните низи главно се наоѓаат во β -конформација.



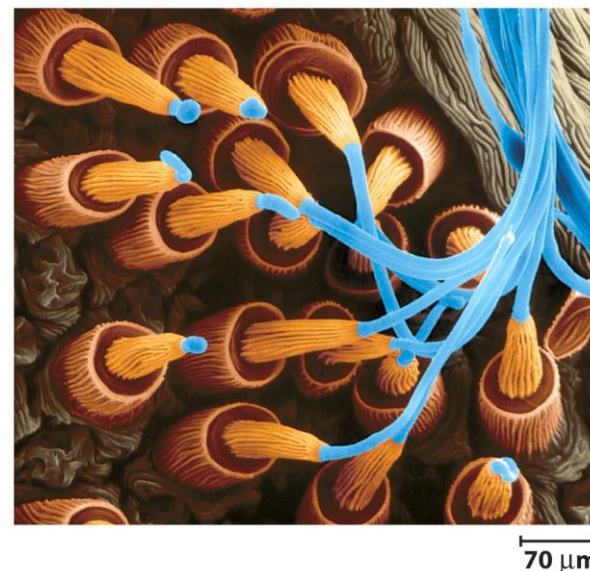
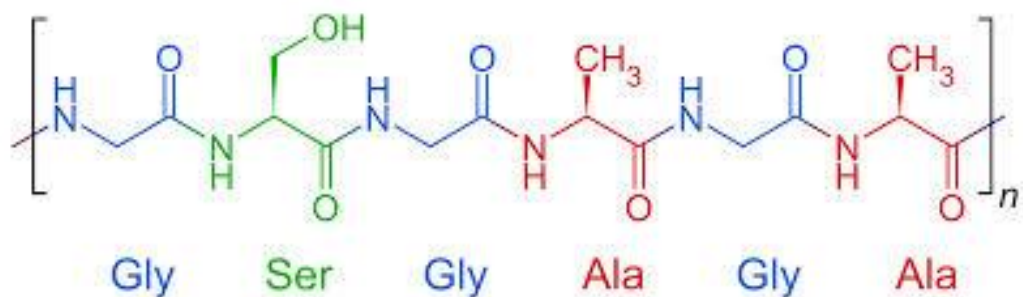
Структура на фиброин

- ▶ Кај β -конформациите од една страна на полипептидната низа се наоѓаат остатоците на Gly, а од другата страна се Ala/Ser.
- ▶ Со тоа е овозможено густо пакување на β набраните структури, една врз друга.
- ▶ Структурата е стабилизирана со голем број водородни врски меѓу пептидните групи.
- ▶ Структурата е флексибилна поради поврзувањето на β -конформациите преку слаби нековалентни интеракции.



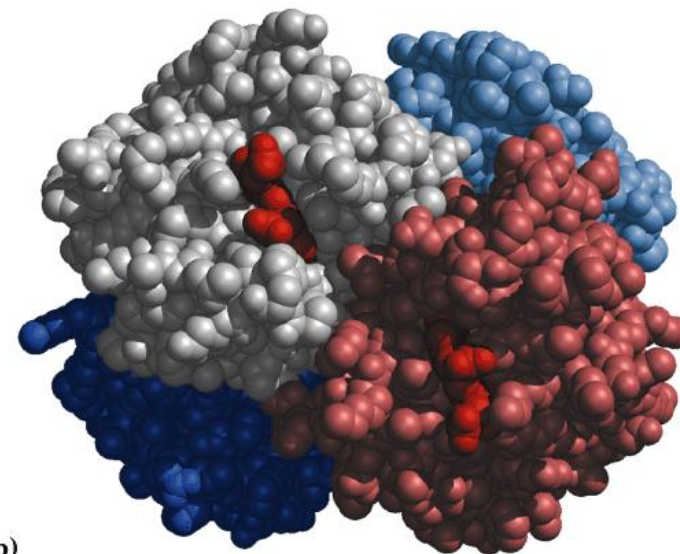
Структура на фиброин

- ▶ За фиброинот е карактеристично повторувањето [Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-Gly-Ala-Ala-Gly-(Ser-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly)₈]
- ▶ Регионите со аминокиселинските остатоци на валин и тирозин ја прекинуваат β -конформацијата и со тоа придонесуваат за растегливост.



Глобуларни протеини

- ▶ Глобуларните протеини имаат компактен (густо спакувани аминокиселински остатоци) **сферен облик**.
- ▶ Причина: **различни делови од полипептидната низа се свиткуваат една во друга**.
- ▶ Нивната функција е поврзана со клеточниот метаболизам: биосинтеза, катаболизам, транспорт, катализатори.
- ▶ Во глобуларни протеини спаѓаат: ензимите, транспортните протеини, протеините-мотори, регулаторните протеини, имуноглобулините и протеините со многу други функции.



(b)

Модел со калоти на хемоглобин

Структура на глобуларни протеини

- ▶ Поларните аминокиселински остатоци се наоѓаат на надворешната страна од големата протеинска молекула.
- ▶ Последица: глобуларните протеини се растворливи во вода.
- ▶ Хидрофобните остатоци се наоѓаат во внатрешноста на молекулата и взаеMODEЈСТВУВААТ меѓусебно.
- ▶ Пакувањето на остатоците е компактно.
- ▶ Односот на ван дер Валсовиот волумен на протеинските низи со волуменот на протеинот е само 0,72 до 0,77. Тоа значи дека околу 25 % од вкупниот волумен е празен простор.
- ▶ Празниот простор во протеините е во форма на мали шуплини.

Терцијарна структура на глобуларните протеини

СТРУКТУРЕН МОТИВ

ДОМЕН

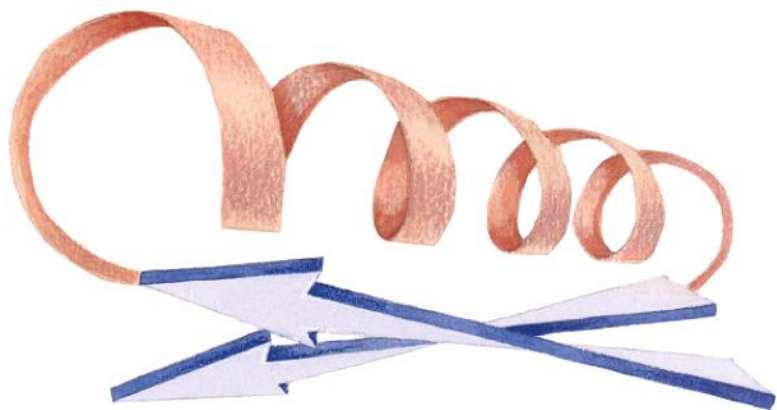
ПРОТЕИНСКО СЕМЕЈСТВО

Терцијарна структура на глобуларните протеини

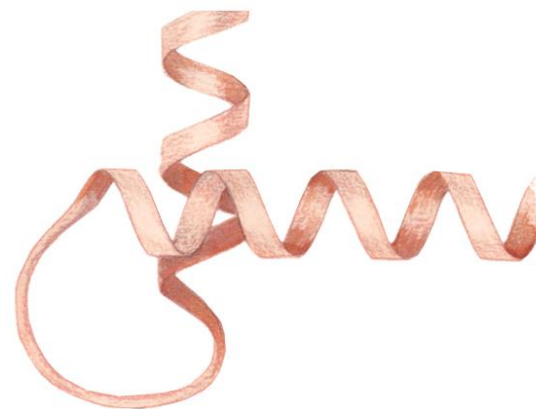
- ▶ Сложена структура од полипептидни низи со α спирална и β набрана конформација, поврзани со кратки сегменти за сврзување – завои и испакнувања.
- ▶ Основните секундарни структури (α -хеликс, β структури, како навои и испакнувања) ги нарекуваме **градбени елементи на терцијарната структура.**

Структурен мотив

- ▶ **Структурен мотив** познат и како **суперсекундарна структура или свиток**.
- ▶ Структурен мотив е најпрепознатливиот свиток со два или повеќе елементи на секундарната структура, како и делот (деловите) коишто ги поврзуваат елементите.
- ▶ Со него се опишува мал дел на протеинот или целата полипептидна низа.



Едноставен (прост) мотив: $\beta - \alpha - \beta$ јамка



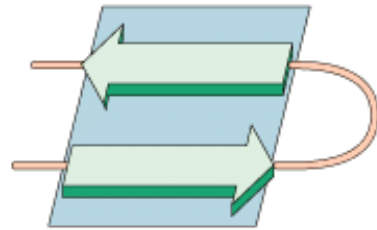
$\alpha - \alpha$ кош

Поврзување на алфа спиралите

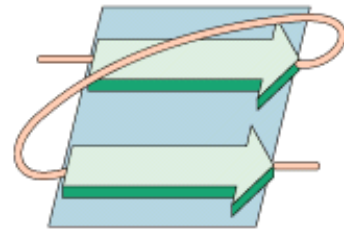
- ▶ Најпрост начин за пакување на антипаралелните низи со α -спирали е поврзување преку куси завои (свиоци).
- ▶ Во овие протеини се градат сложени структури во форма на „снопче“, „врзоп“, „свиток“.
- ▶ Пример за протеини изградени од антипаралелни низи со α – структура се глобинските (глобуларни) протеини миоглобин и хемоглобин.

Поврзување на β -конформациите

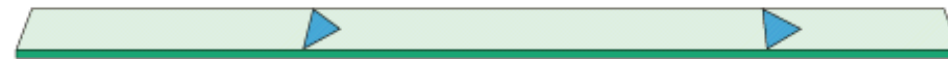
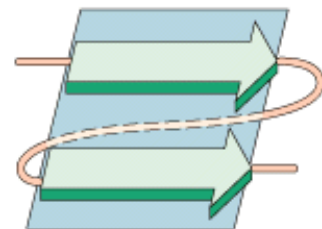
Antiparallel



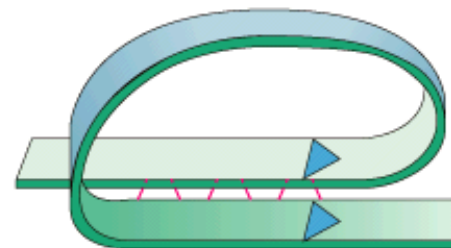
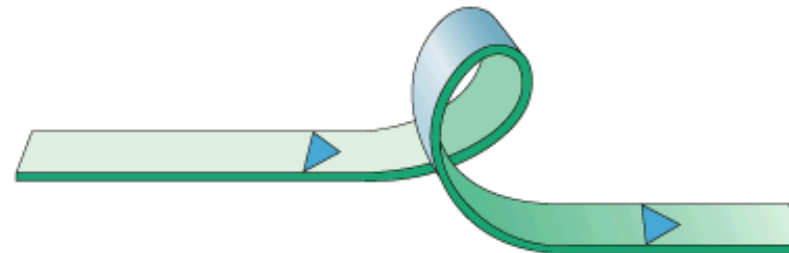
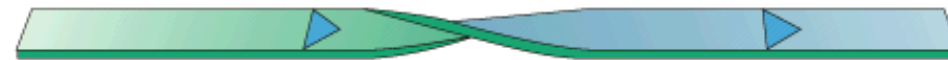
Parallel, right-handed



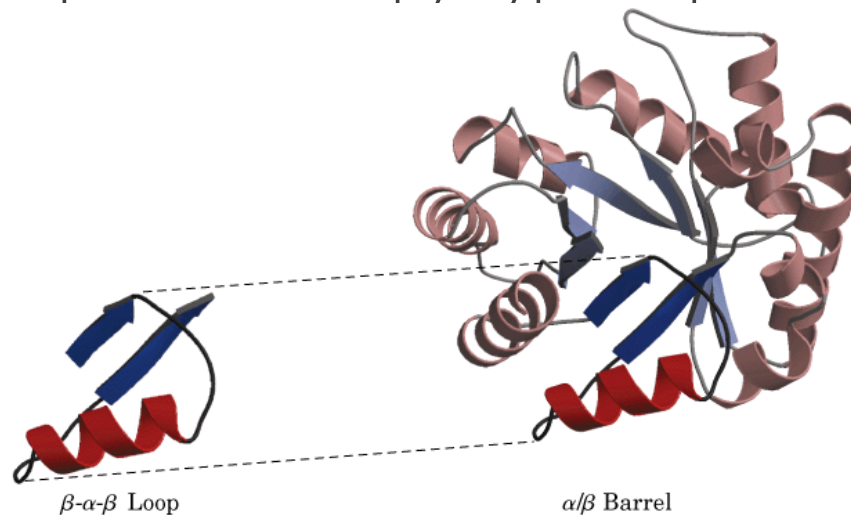
Parallel, left-handed



Natural right-handed twist by polypeptide chain

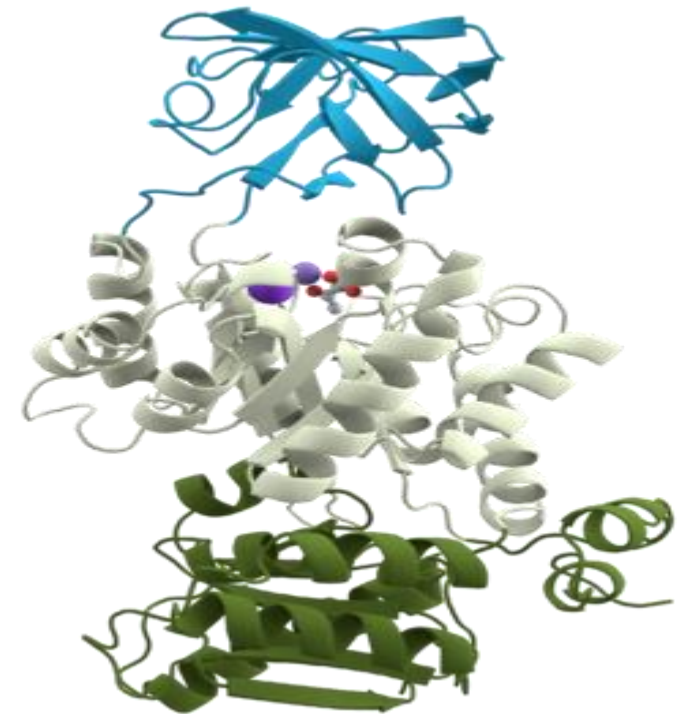


- ▶ Во β -структурите неполарните остатоци се распоредени од двете страни на слојот од низи
- ▶ Тоа значи дека двете страни од слојот се заштитени од растворувачот
- ▶ На овој начин се гради т.н. структура наречена **β - буре**



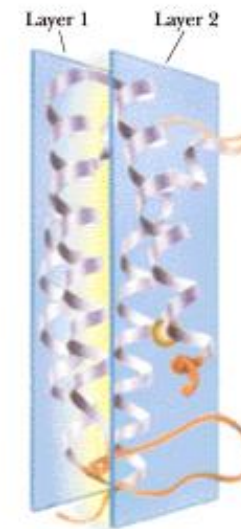
Домен

- ▶ Jane Richardson (1981): домен е **дел од полипептидната низа, кој е самостојно стабилен или кој би можел да извршува функција како посебен дел на протеинот** во однос на целиот протеин.
- ▶ Домен е основна структурна единица на протеинската молекула.
- ▶ Ја задржува својата природна тридимензионална структура, дури и кога е одделен од остатокот од полипептидната низа.
- ▶ Различни домени имаат различни функции.
- ▶ Бројот на домени во протеинската молекула зависи од нејзината големина: малите протеини најчесто имаат само еден домен.

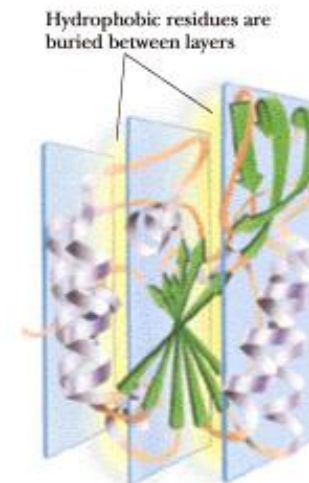


**Пируват киназа
(мономерен
протеин); три домени**

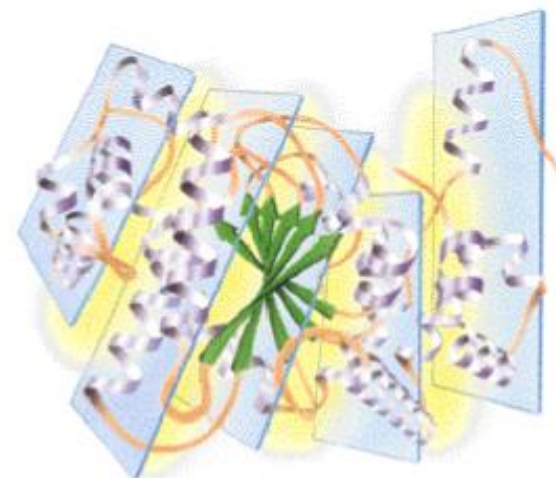
- ▶ Домените се комбинација од структурни мотиви.
- ▶ Домените се независни мали клопчиња во 3° структура.
- ▶ Домените се стабилизирани со хидрофобни интеракции, при што се формираат мали клопчиња.



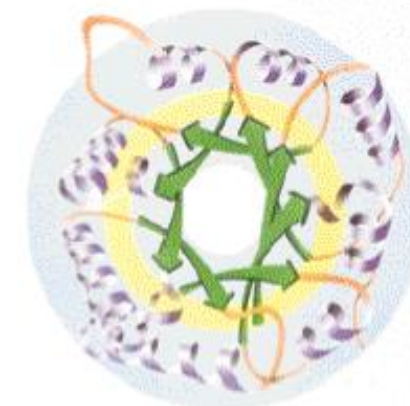
(a) Cytochrome c'



(b) Phosphoglycerate kinase
(Domain 2)



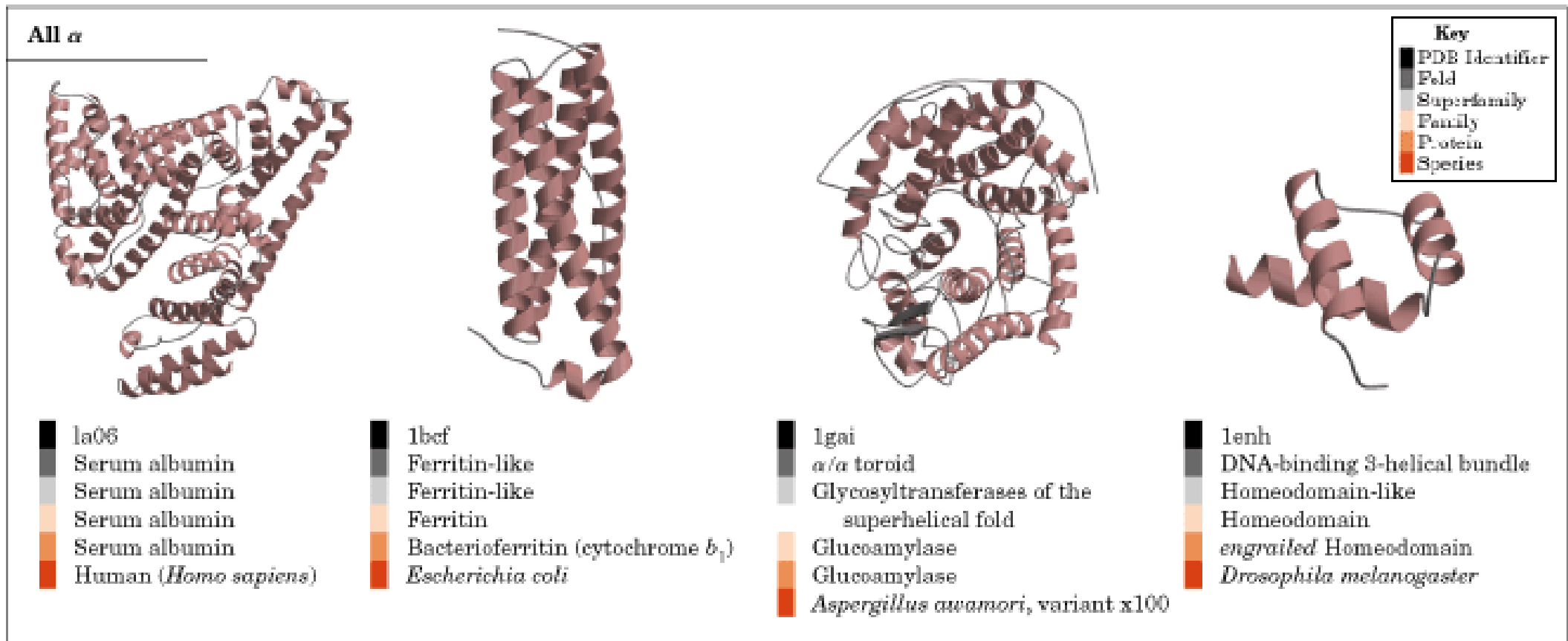
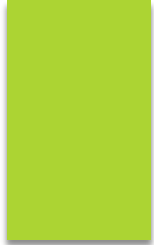
(c) Phosphorylase
(Domain 2)



(d) Triose phosphate isomerase

Структурна класификација на протеините

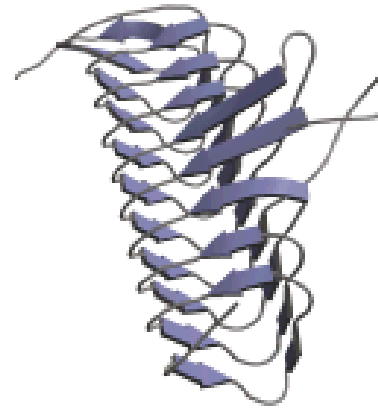
- ▶ Две нивоа на **структурна** организација – **класа и свиток**.
- ▶ Според највисокото ниво на класификација на SCOP базата, протеинските структури се поделени на **4 класи: α , β , α/β (наизменични α и β сегменти) $\alpha+\beta$ (сегменти од α и β , кои се одвоени едни од други)**
- ▶ Со комбинација на повеќе мотиви (различни начини на свиткување) се добиваат субединици на протеините - **субструктура**.
- ▶ Потоа следи класификацијата според **еволуциските врски**.



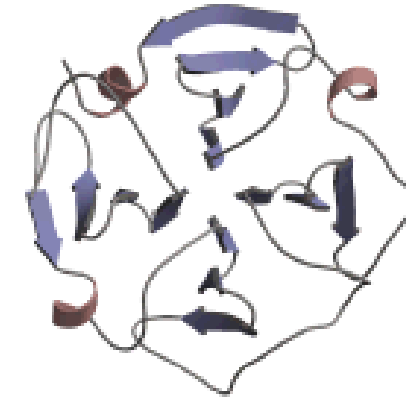
All β



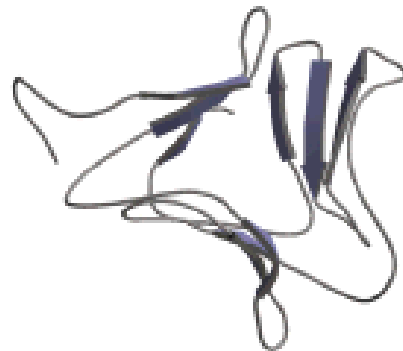
1hoe
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 HOE-467A
Streptomyces tendae 4158



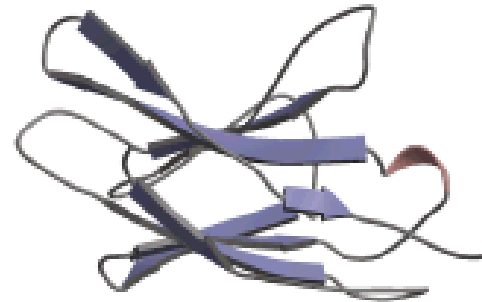
1lxe
 Single-stranded left-handed β helix
 Trimeric LpxA-like enzymes
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
Escherichia coli



1pex
 Four-bladed β propeller
 Hemopexin-like domain
 Hemopexin-like domain
 Collagenase-3 (MMP-13),
 carboxyl-terminal domain
 Human (*Homo sapiens*)



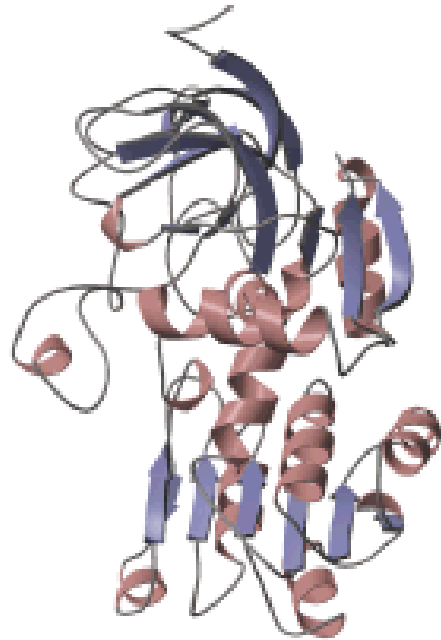
1jpc
 β -Prism II
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 Lectin (agglutinin)
 Snowdrop (*Galanthus nivalis*)



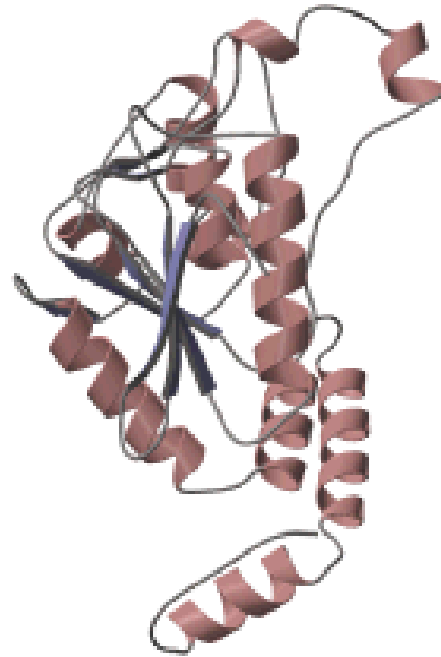
1cd8
 Immunoglobulin-like β sandwich
 Immunoglobulin
 Antibody variable domain-like
 CD8
 Human (*Homo sapiens*)

Key	
	PDB Identifier
	Fold
	Superfamily
	Family
	Protein
	Species

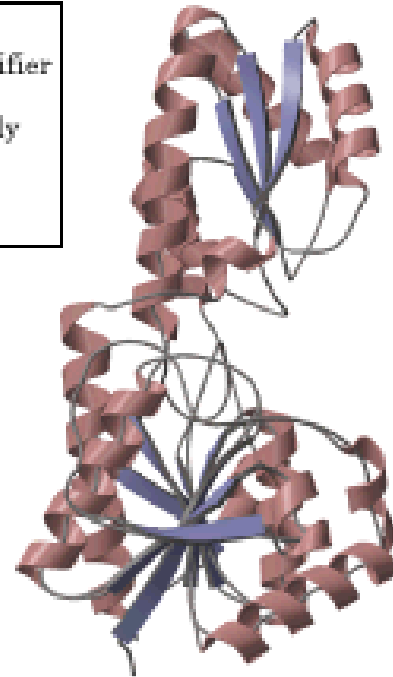
α/β



- 1deh
- NAD(P)-binding Rossmann-fold domains
- NAD(P)-binding Rossmann-fold domains
- Alcohol/glucose dehydrogenases, carboxyl-terminal domain
- Alcohol dehydrogenase
- Human (*Homo sapiens*)



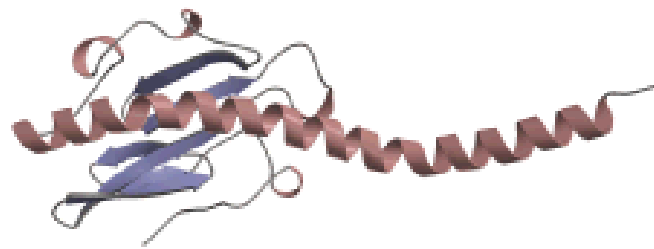
- 1dub
- Crotonase-like
- Crotonase-like
- Crotonase-like
- Enoyl-CoA hydratase
- Rat (*Rattus norvegicus*)



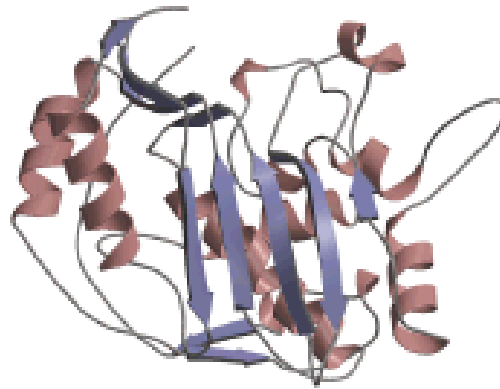
- 1pfk
- Phosphofructokinase
- Phosphofructokinase
- Phosphofructokinase
- Phosphofructokinase
- Escherichia coli*

- Key**
- PDB Identifier
 - Fold
 - Superfamily
 - Family
 - Protein
 - Species

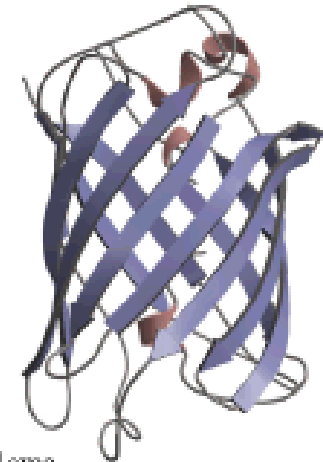
$\alpha + \beta$



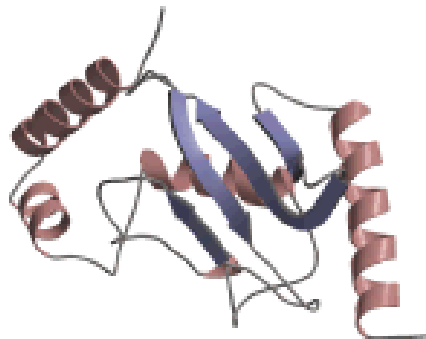
2pil
Pilin
Pilin
Pilin
Pilin
Neisseria gonorrhoeae



1syn
Thymidylate synthase
Thymidylate synthase
Thymidylate synthase
Thymidylate synthase
Escherichia coli



1ema
Green fluorescent protein
Green fluorescent protein
Green fluorescent protein
Green fluorescent protein
Jellyfish (Aequorea victoria)



1u9a
Ubiquitin-conjugating enzyme
Ubiquitin-conjugating enzyme
Ubiquitin-conjugating enzyme
Ubiquitin-conjugating enzyme
Human (*Homo sapiens*)

Key

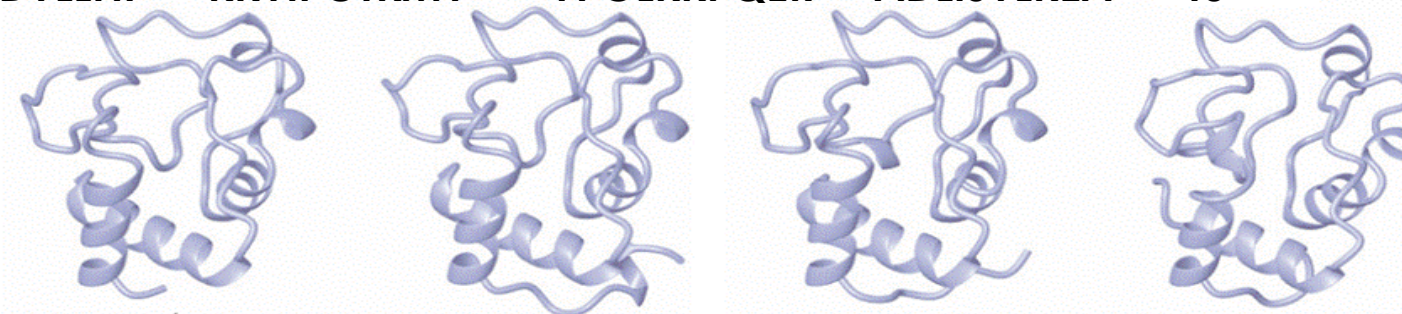
PDB identifier
Fold
Superfamily
Family
Protein
Species

Протеинско семејство

- ▶ Протеините со слична примарна структура имаат слична терцијарна структура.

туна	1	GDVAKGKKT	VQKCAQCHTV	ENG	GKH	VGP	NLW	GLF	GRKT	GQA	E	G	S	Y	T	D	A	N	K	S	K	G	I	V	W	N																									
квасец	1	GSAKKGATL	KTRCLQCHT	VEK	G	G	P	H	K	V	G	P	N	L	H	G	I	F	G	R	H	S	G	Q	A	E	G	S	Y	T	D	A	N	I	K	K	N	V	W	D	E										
ориз	1	GNPKAGEKI	F	K	T	K	C	A	Q	C	H	T	V	D	K	G	A	G	H	K	Q	G	P	N	L	N	G	L	F	G	R	Q	S	G	T	P	G	S	Y	S	T	A	N	K	M	A	V	I	W	E	E

туна	61	ETLMEYLENP	KKYIPGTKMI	FAGIKKKGER	QDLVAYLKSA	TS
квасец	61	NNMSEYLTNP	KKYIPGTKMA	FGGLKKEKDR	NDLITYLKKA	CE
ориз	61	NTLYDYLLNP	KKYIPGTKMV	FPGLKKPQER	ADLISYLKEA	TS



туна

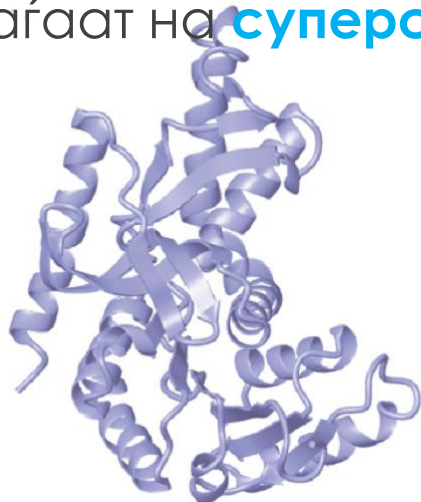
ориз

квасец

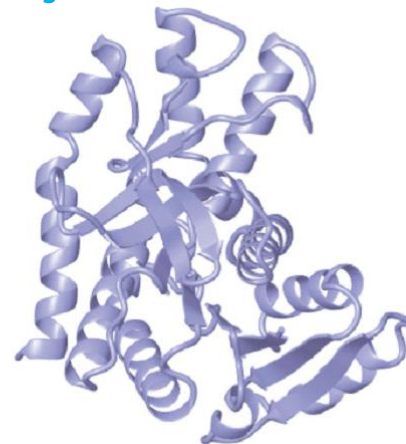
бактерија

Протеинско семејство

- ▶ Протеините со слична терцијарна структура имаат слични домени.
- ▶ Протеините со значителна сличност во примарната структура и **слична терцијарна структура и функција** спаѓаат во исто **протеинско семејство (фамилија)**.
- ▶ Две или повеќе фамилии со мала сличност во аминокиселинската секвенца, а слична терцијарна структура (исти главни мотиви и иста функција), припаѓаат на **суперсемејство**.



Лактат дехидрогеназа



Малат дехидрогеназа