

Struktura proteinov

doc dr. Marko Novinec

Struktura proteinov

Urnik

30 ur predavanj (2 uri/teden) + 30 ur (2 uri/teden) seminarjev + 15 ur vaj (5 x 3 ure)

predavanja in seminarji: vsak torek od 11.00 do 14.00

Obveznosti

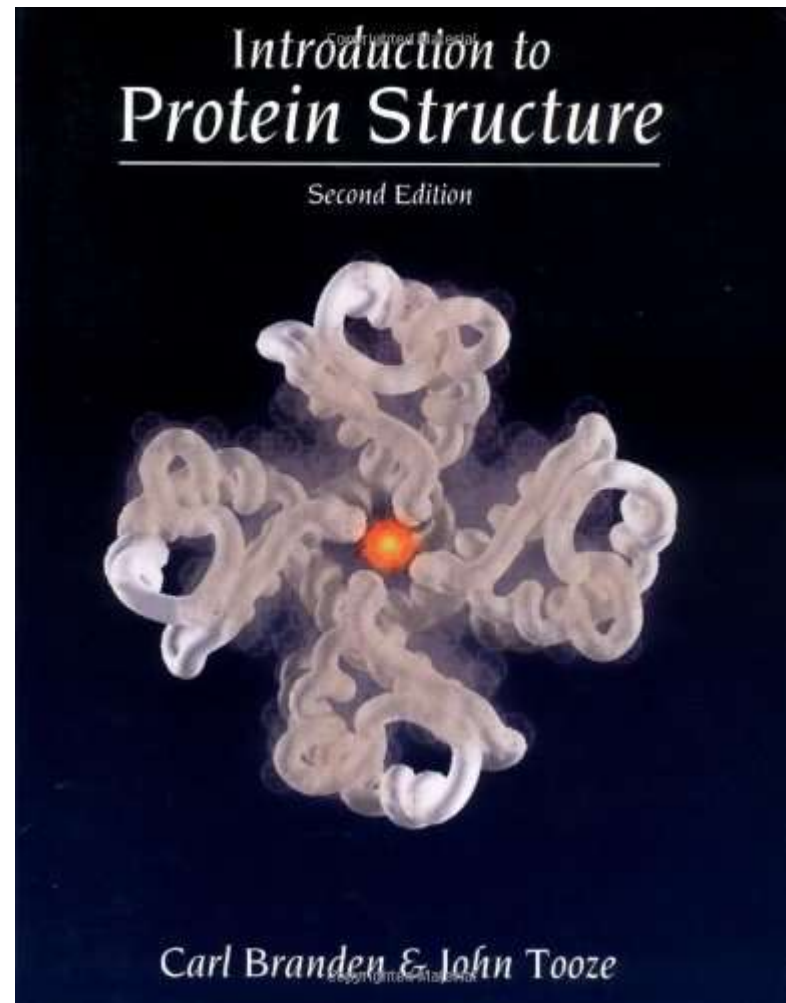
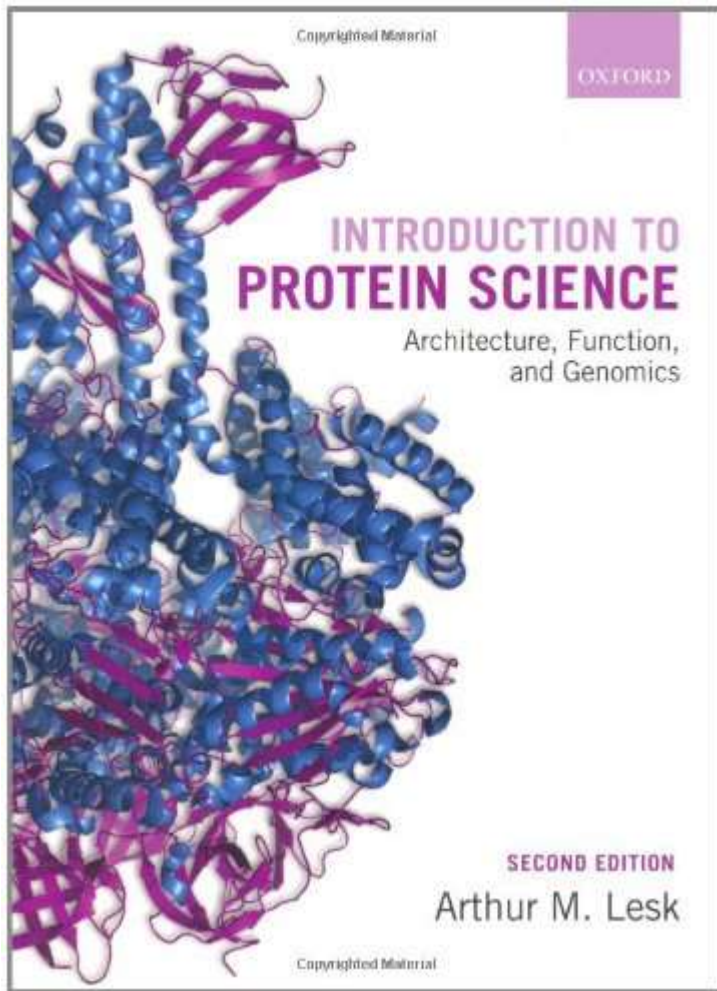
pisni izpit – 70 % končne ocene

seminarska naloga (pisni izdelek + predstavitev) – 10 % končne ocene

kolokvij iz vaj – 20 % končne ocene

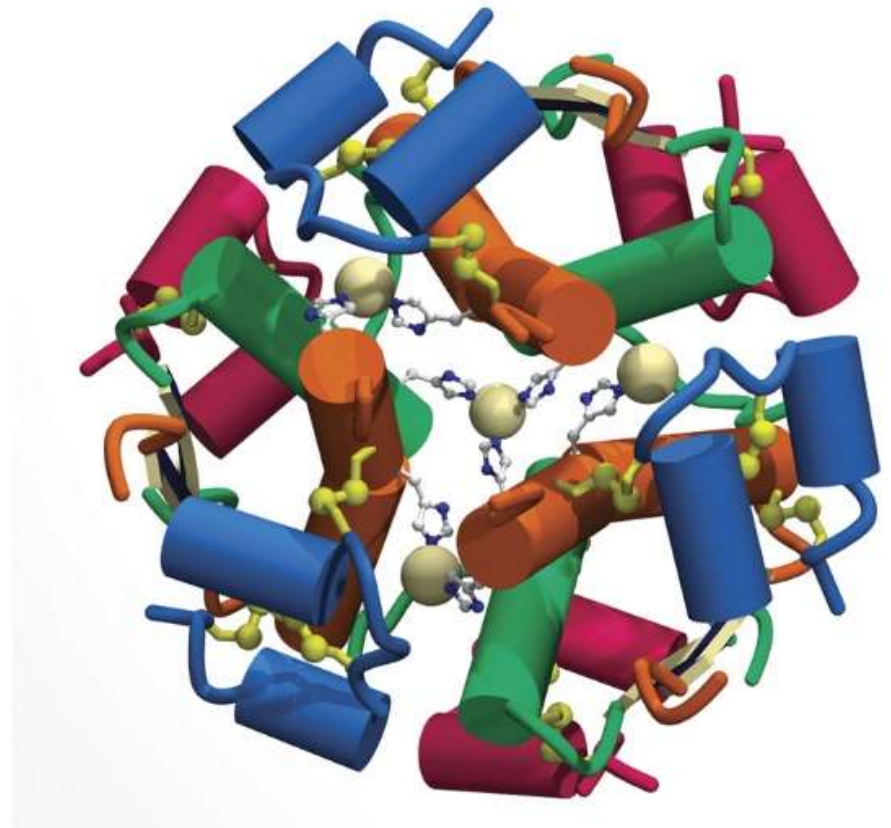
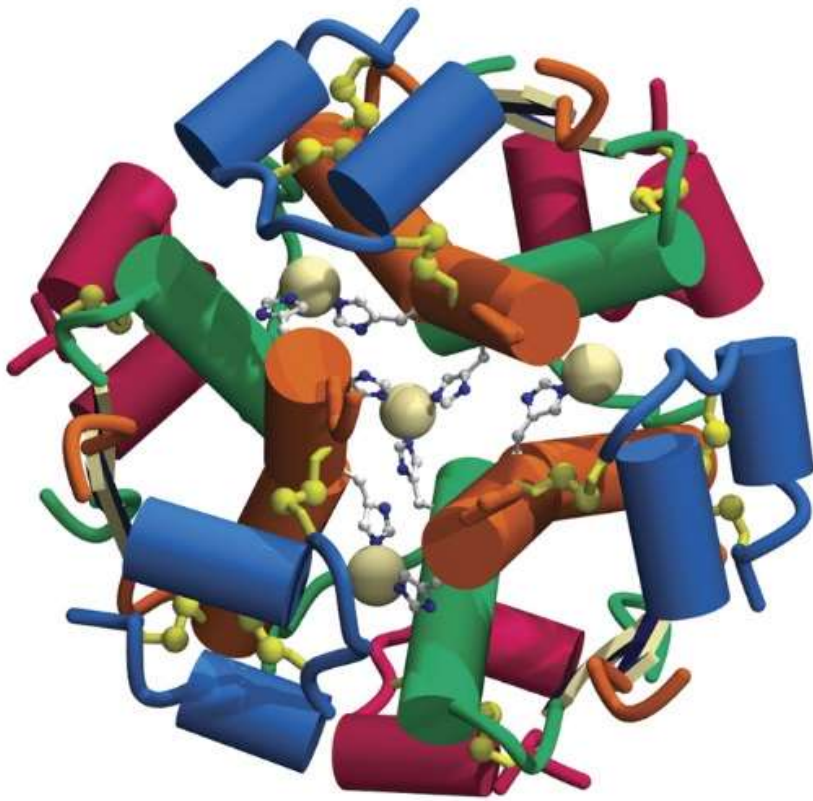
Struktura proteinov

Študijska literatura



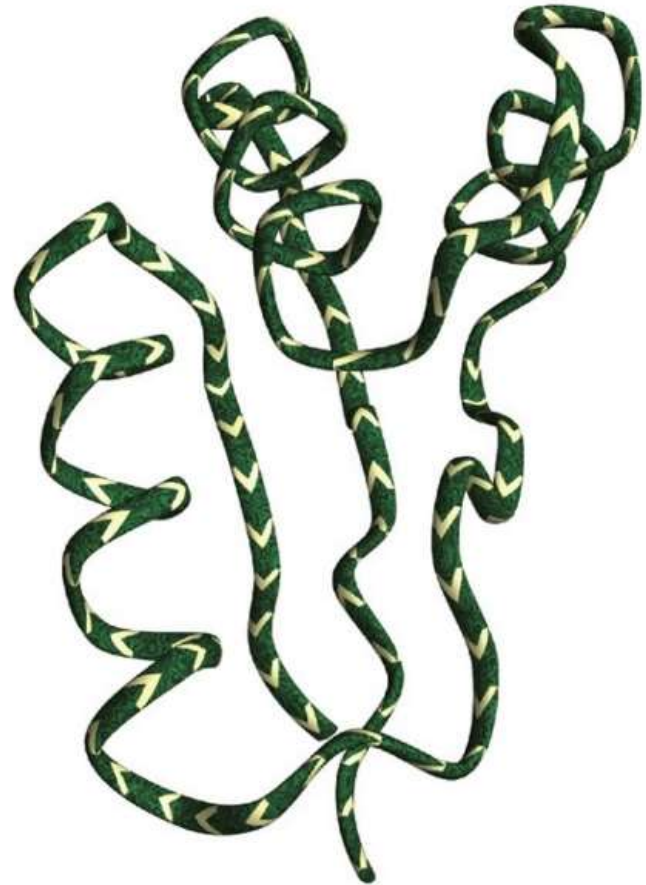
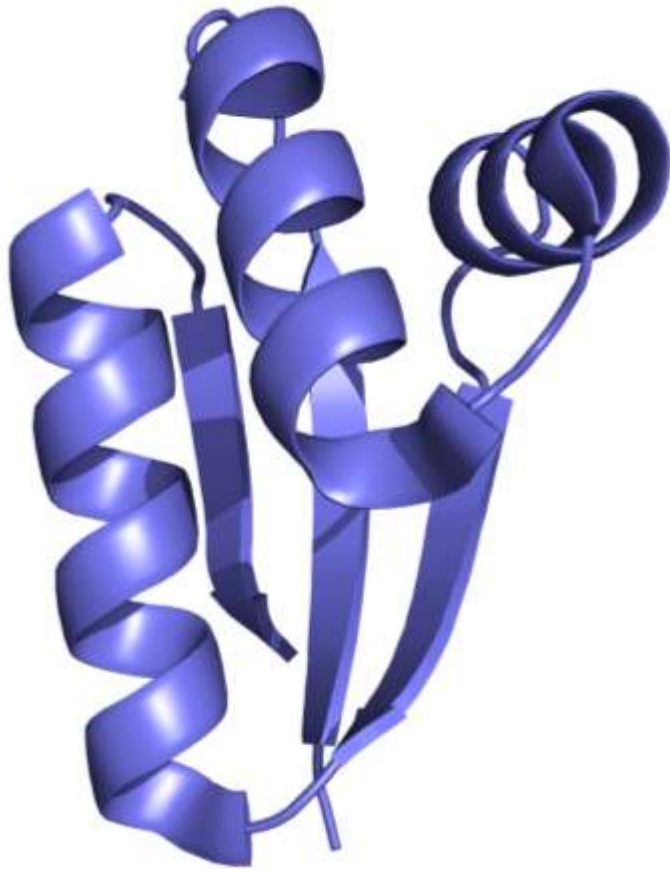
Struktura proteinov

A. Lesk: Introduction to Protein Science – stereo slike



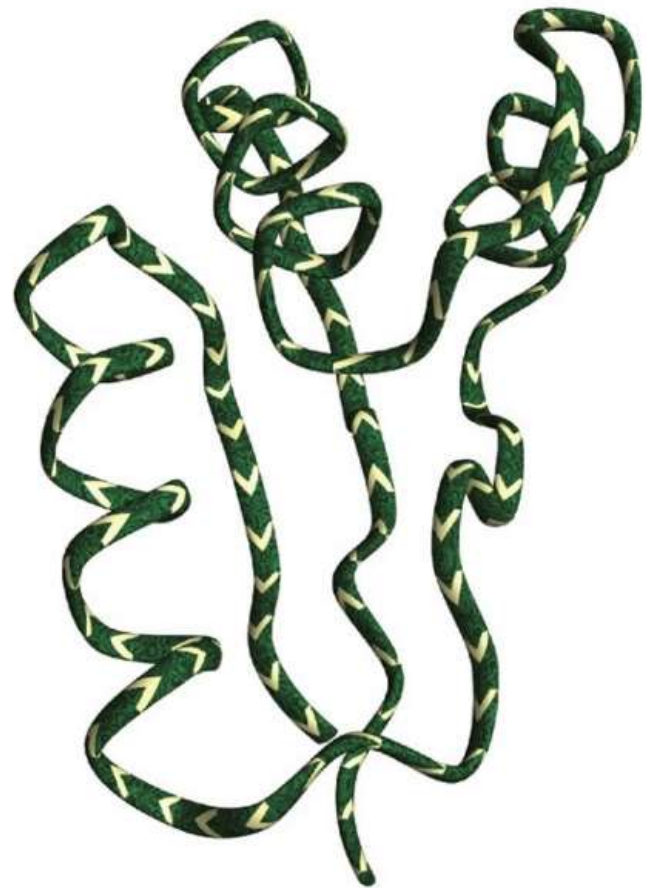
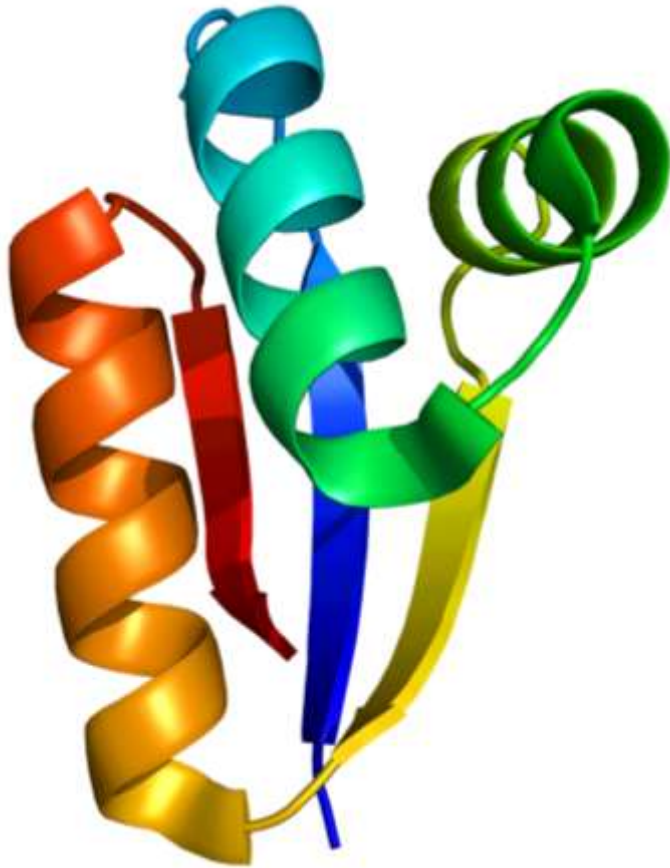
Struktura proteinov

A. Lesk: Introduction to Protein Science – prikaz proteinov na slikah



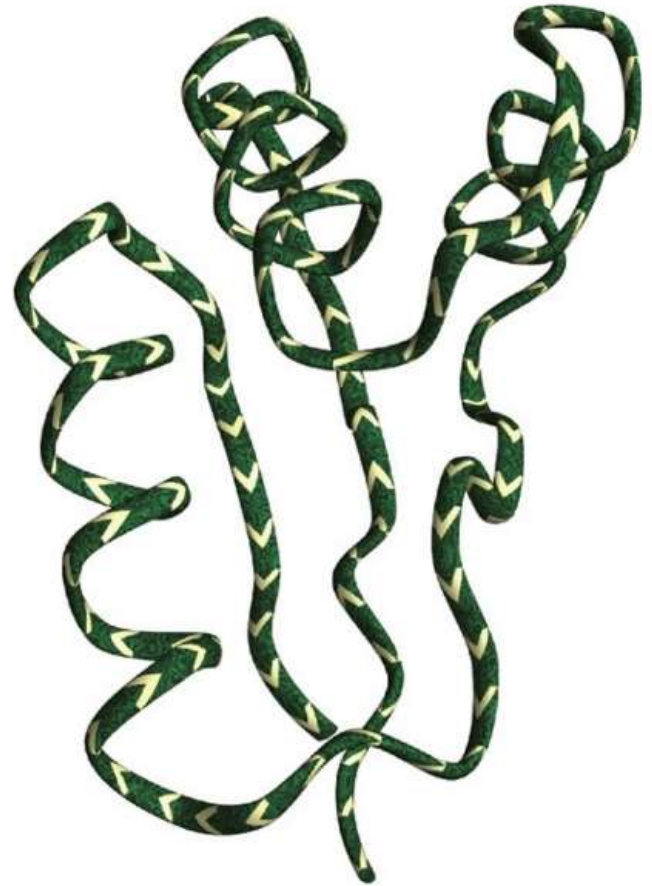
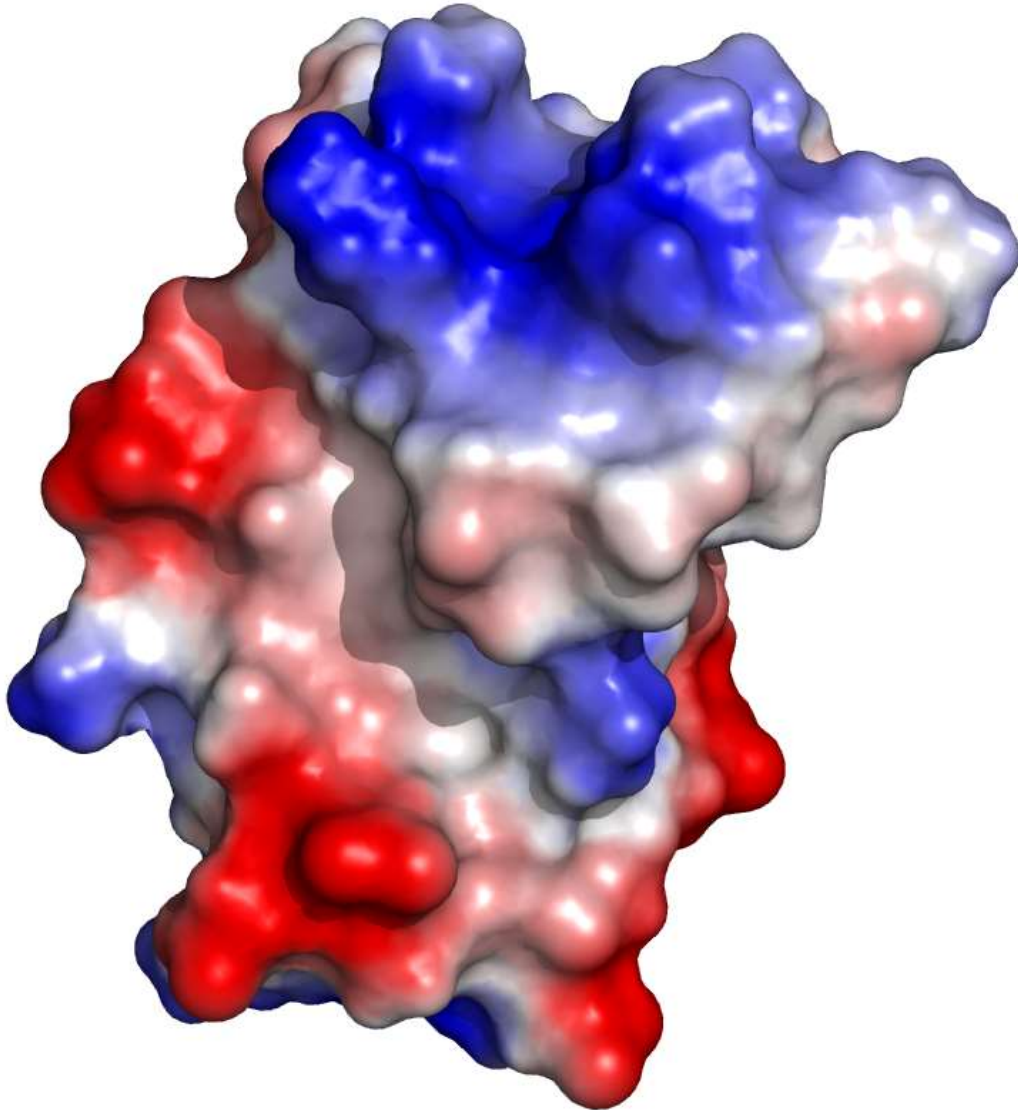
Struktura proteinov

A. Lesk: Introduction to Protein Science – prikaz proteinov na slikah



Struktura proteinov

A. Lesk: Introduction to Protein Science – prikaz proteinov na slikah



Struktura proteinov

Zasnova predmeta

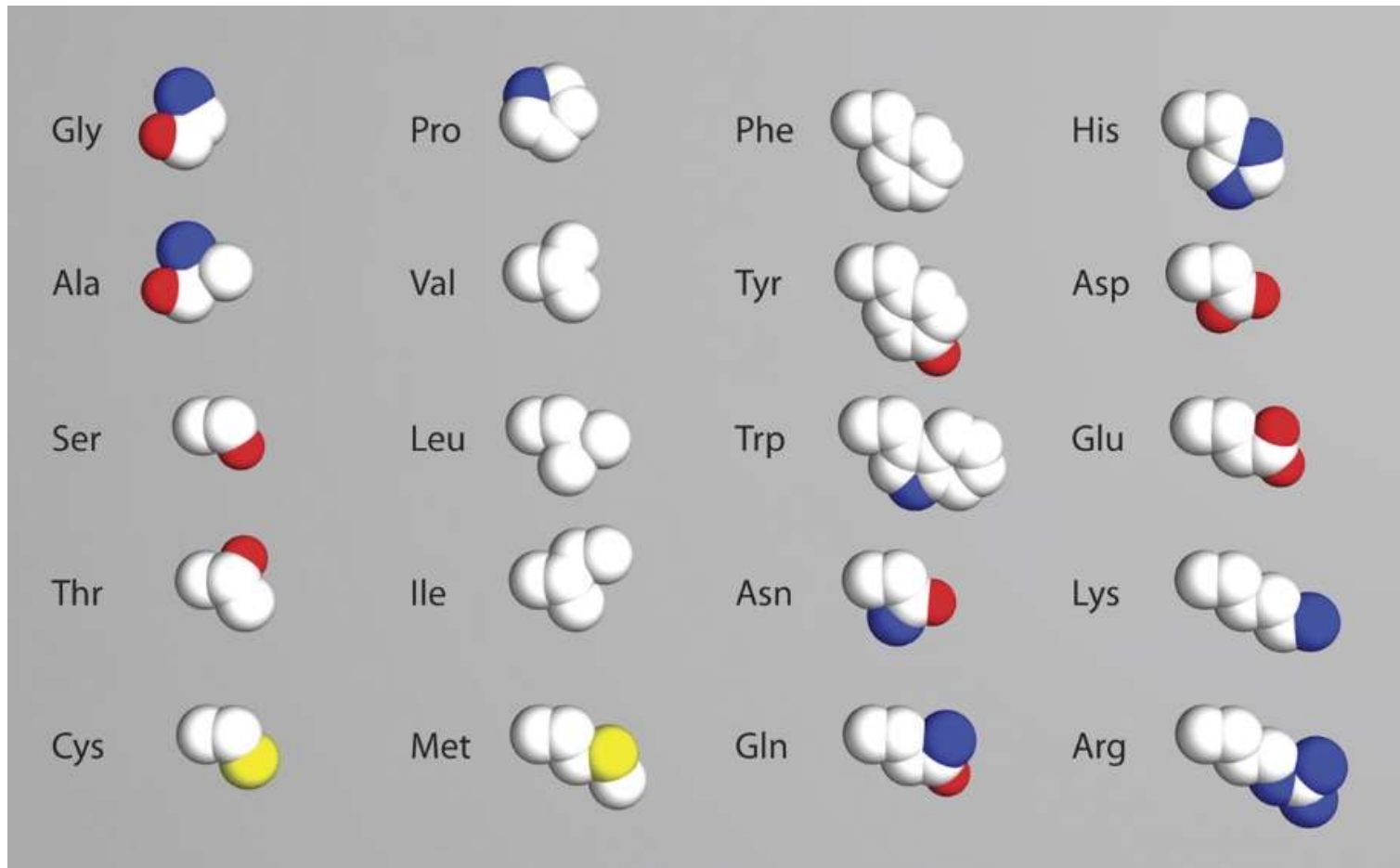
1. Primarna in sekundarna struktura proteinov
2. Klasifikacija terciarnih struktur proteinov s primeri
3. Fibrilarni proteini
4. Membranski proteini
5. Zvijanje in konformacijska fleksibilnost proteinov
6. Interakcije med proteini
7. Interakcije med proteini in DNA
8. Metode za identifikacijo in analizo proteinov (osnove proteomike)
9. Metode za določanje tridimenzionalne strukture proteinov
10. Napovedovanje strukture proteinov in proteinski inženiring

Struktura proteinov

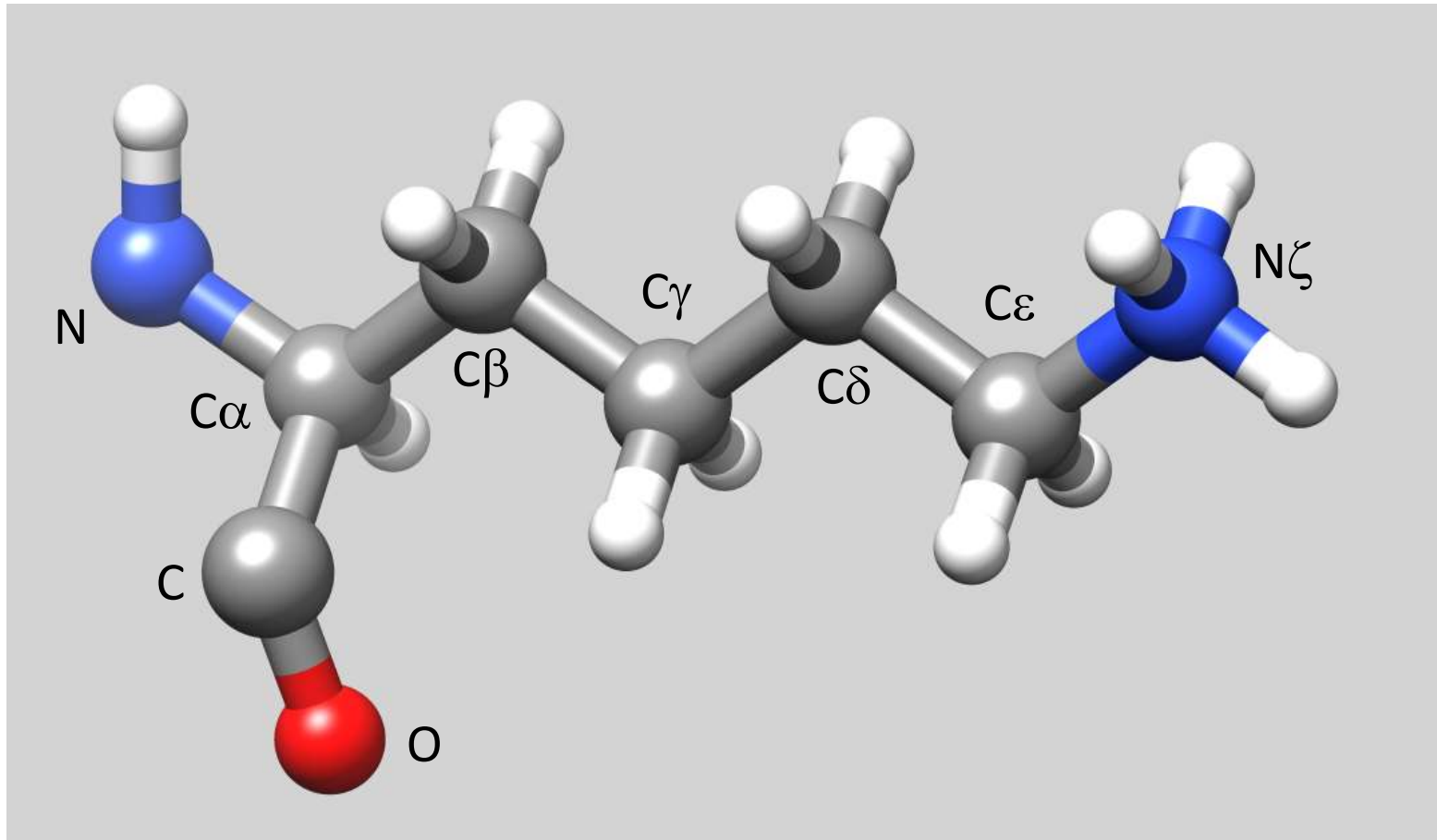
Seminarske naloge

- znanstveni članki z najbolj odmevnimi strukturami zadnjih let ali iz zbirk „Molecule of the month“ oz. „Structural view of biology“ zbirke RCSB PDB.
- v seminarski nalogi predstavite rezultate članka z vidika povezave med predstavljeno strukturo in funkcijo proteina (metodologije ni nujno potrebno predstavljati)
- predstavitev cca. 20 minut
- pisni izdelek 2 do 5 strani A4.

Aminokisline – gradniki proteinov

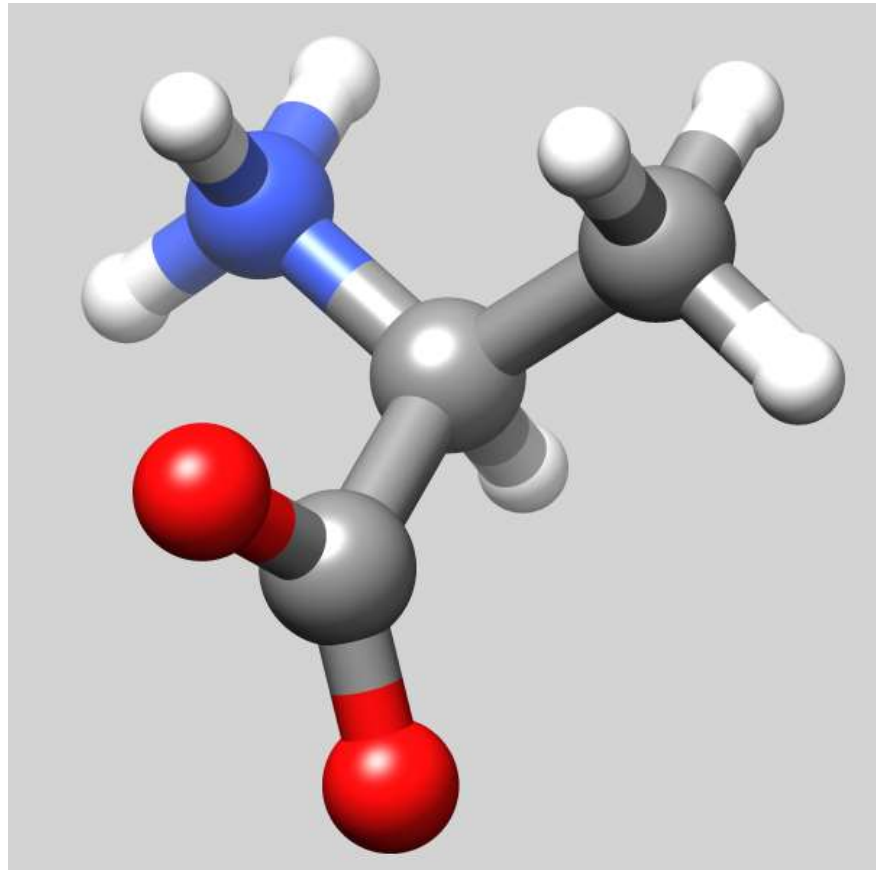


Aminokisline – gradniki proteinov



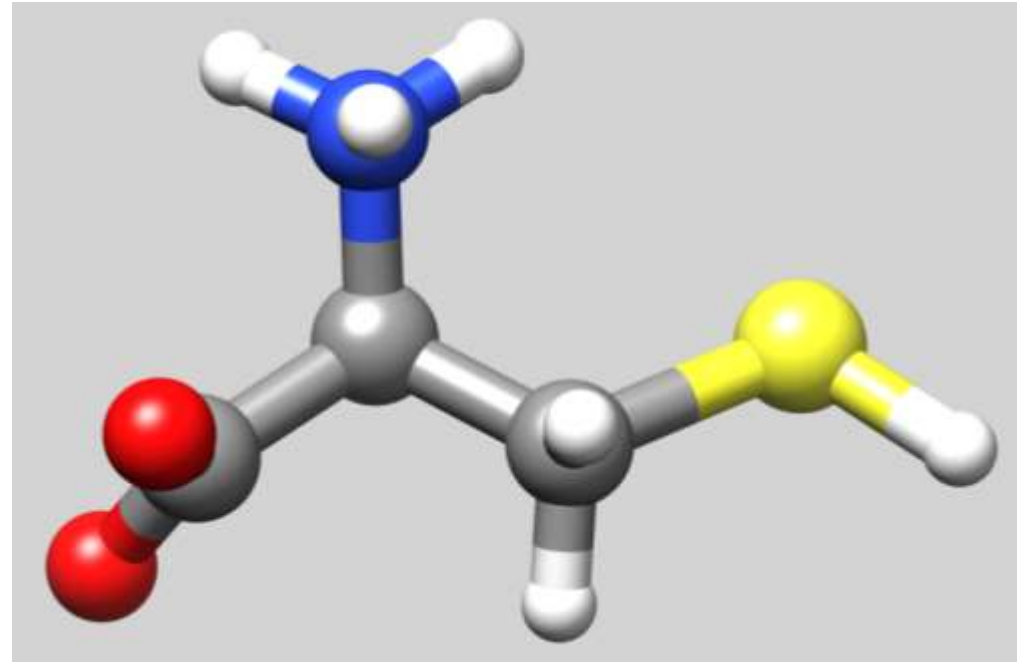
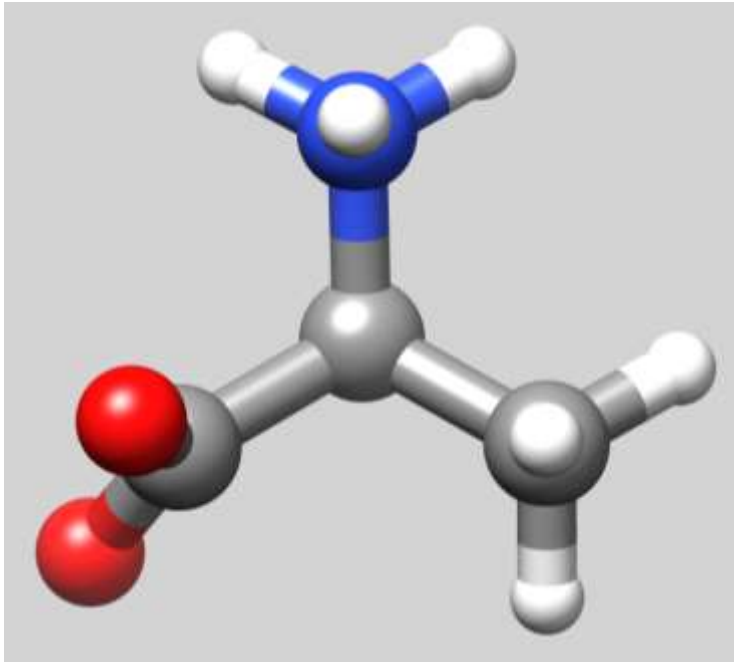
Aminokislina – gradniki proteinov

Vse AK razen Gly so optično aktivne ($C\alpha$ kiralni center). Proteini so sestavljeni iz L-aminokislin.



Aminokislina – gradniki proteinov

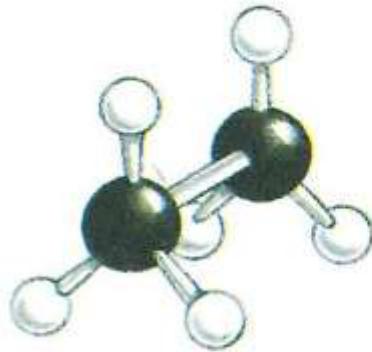
Vse kiralne aminokislina razen Cys imajo S-konfiguracijo.



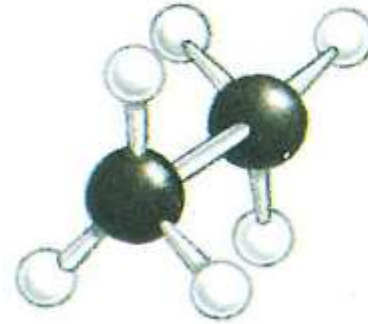
Aminokisline – gradniki proteinov

Stranske skupine obstajajo v več energetsko ugodnih konformacijah – **rotamerih**.

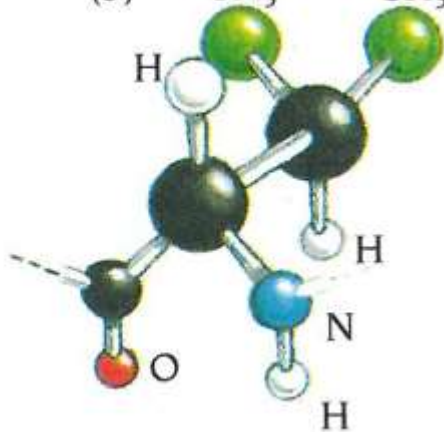
(a) not staggered



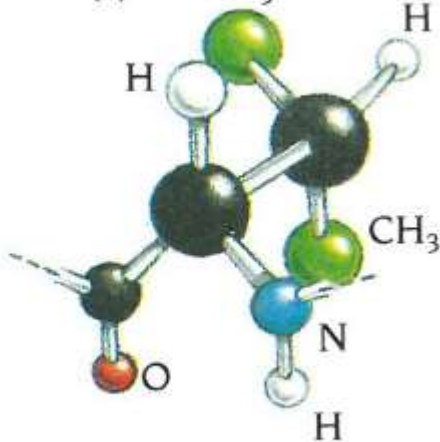
staggered



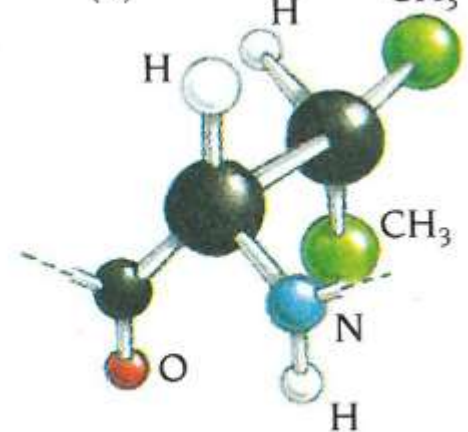
(b) CH₃ CH₃



(c) CH₃ H

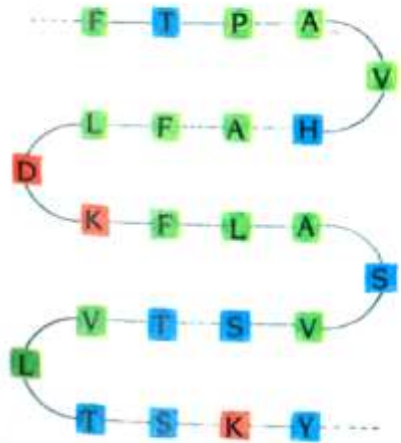


(d) H CH₃



Nivoji strukture proteinov

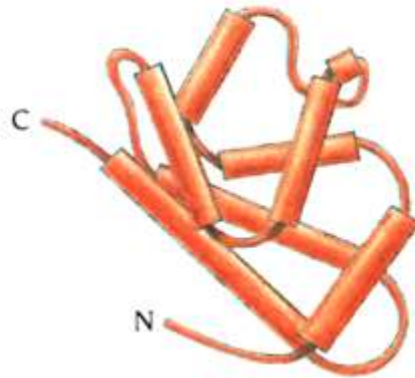
Primary



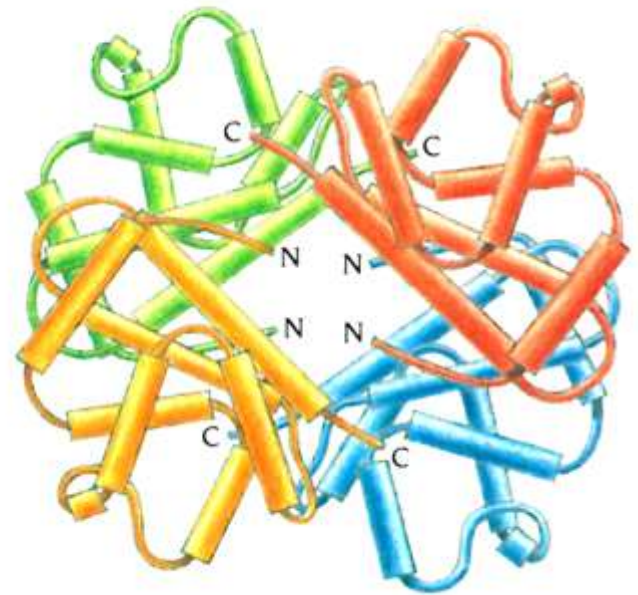
Secondary



Tertiary

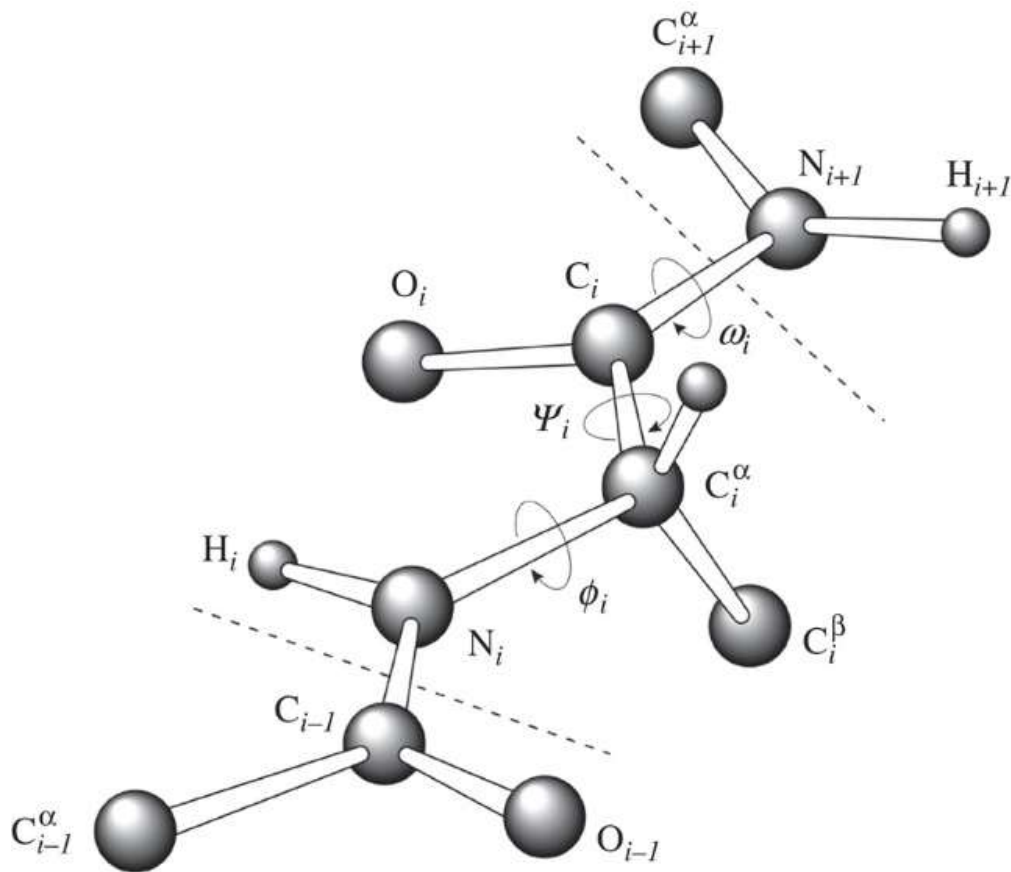


Quaternary



Torzijski (dihedralni) koti

Torzijski koti določajo konformacijo glavne verige.



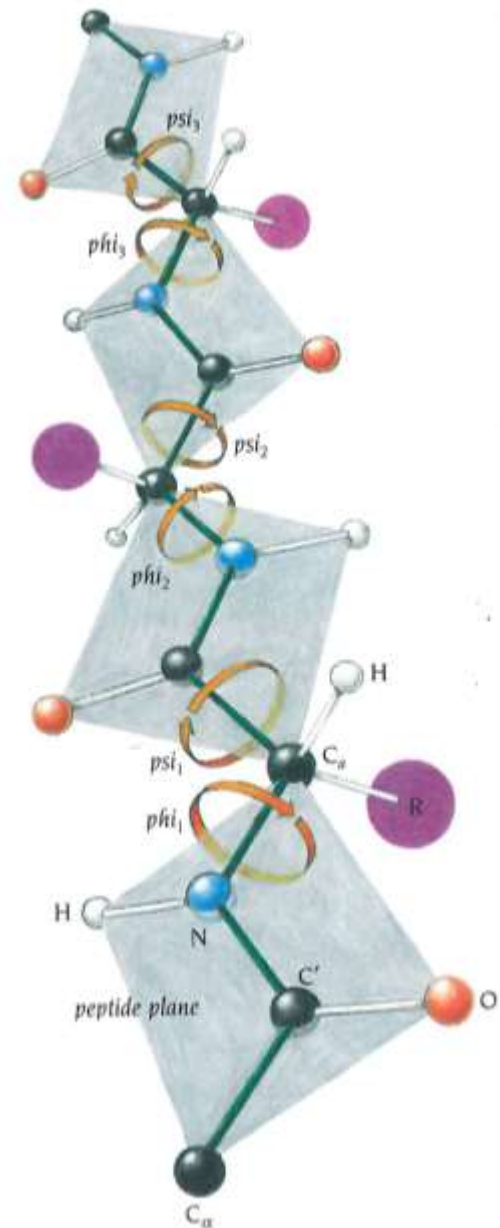
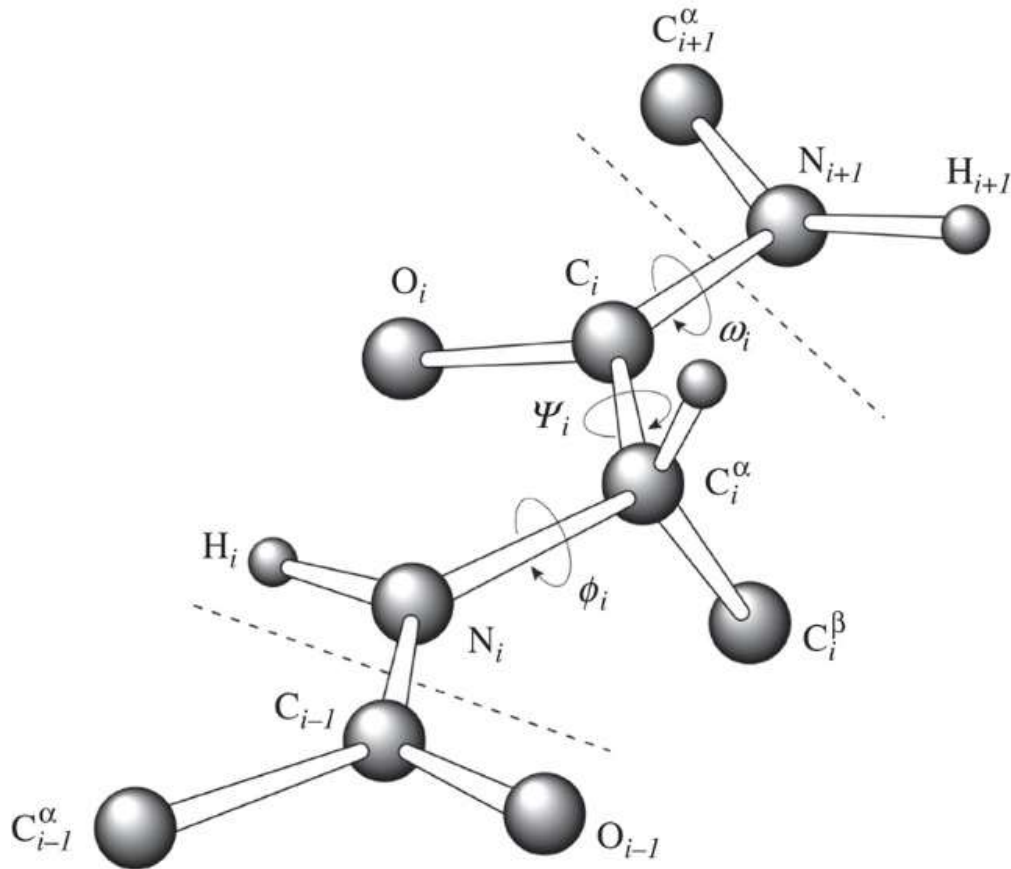
kot ϕ $C_{i-1}-N_i-C\alpha_i-C_i$

kot ψ $N_i-C\alpha_i-C_i-N_{i+1}$

kot ω $C\alpha_i-C_i-N_{i+1}-C\alpha_{i+1}$

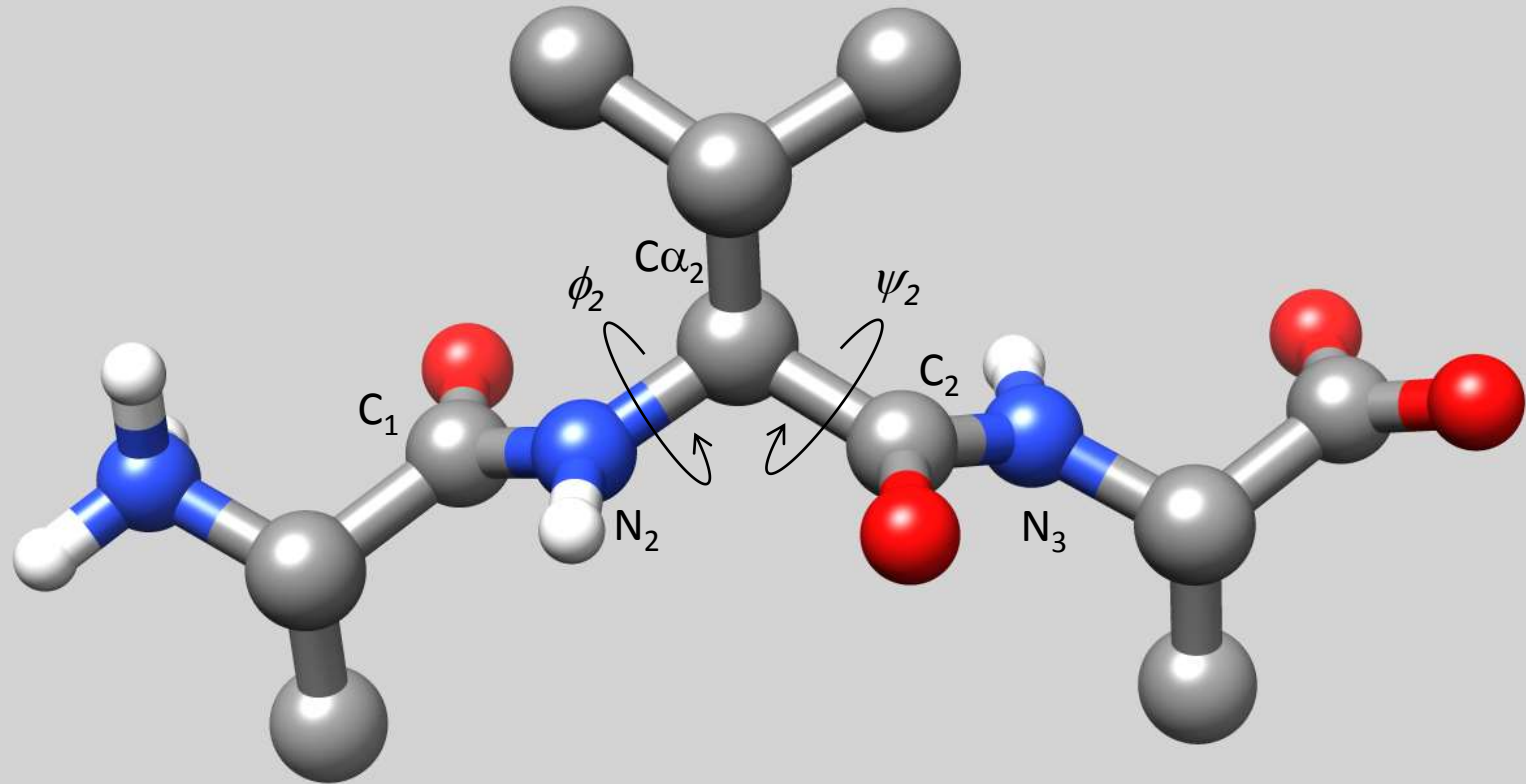
Torzijski (dihedralni) koti

Torzijski koti določajo konformacijo glavne verige.



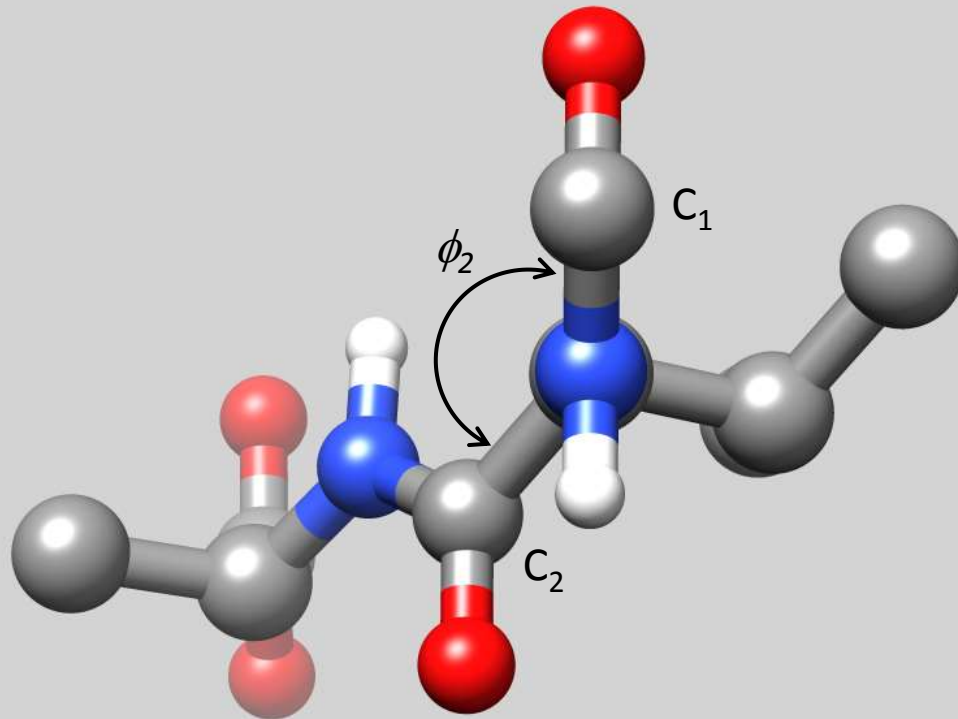
Ker je peptidna vez planarna, je kot ω vedno okoli 180° (trans peptidna vez) ali 0° (cis peptidna vez).

Torzijski (dihedralni) koti



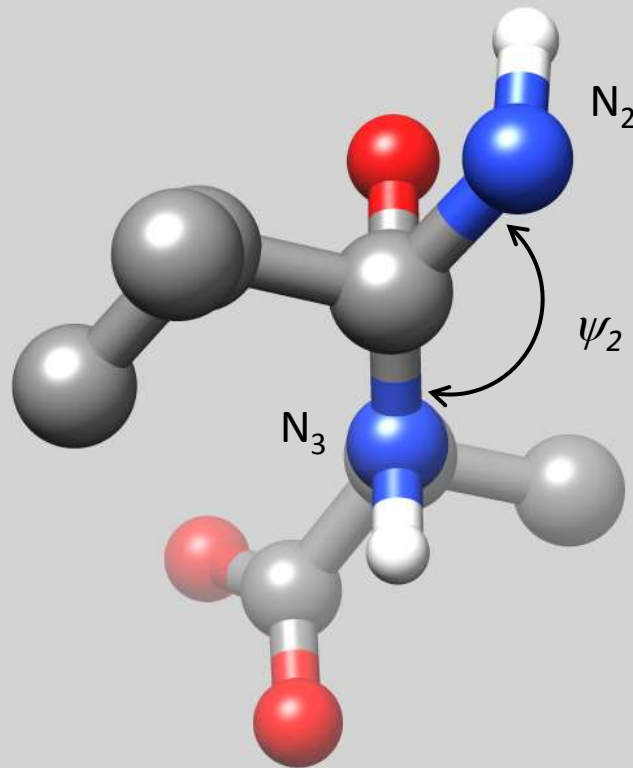
Torzijski (dihedralni) koti

kot ϕ_2 $C_1-N_2-C\alpha_2-C_2$



Torzijski (dihedralni) koti

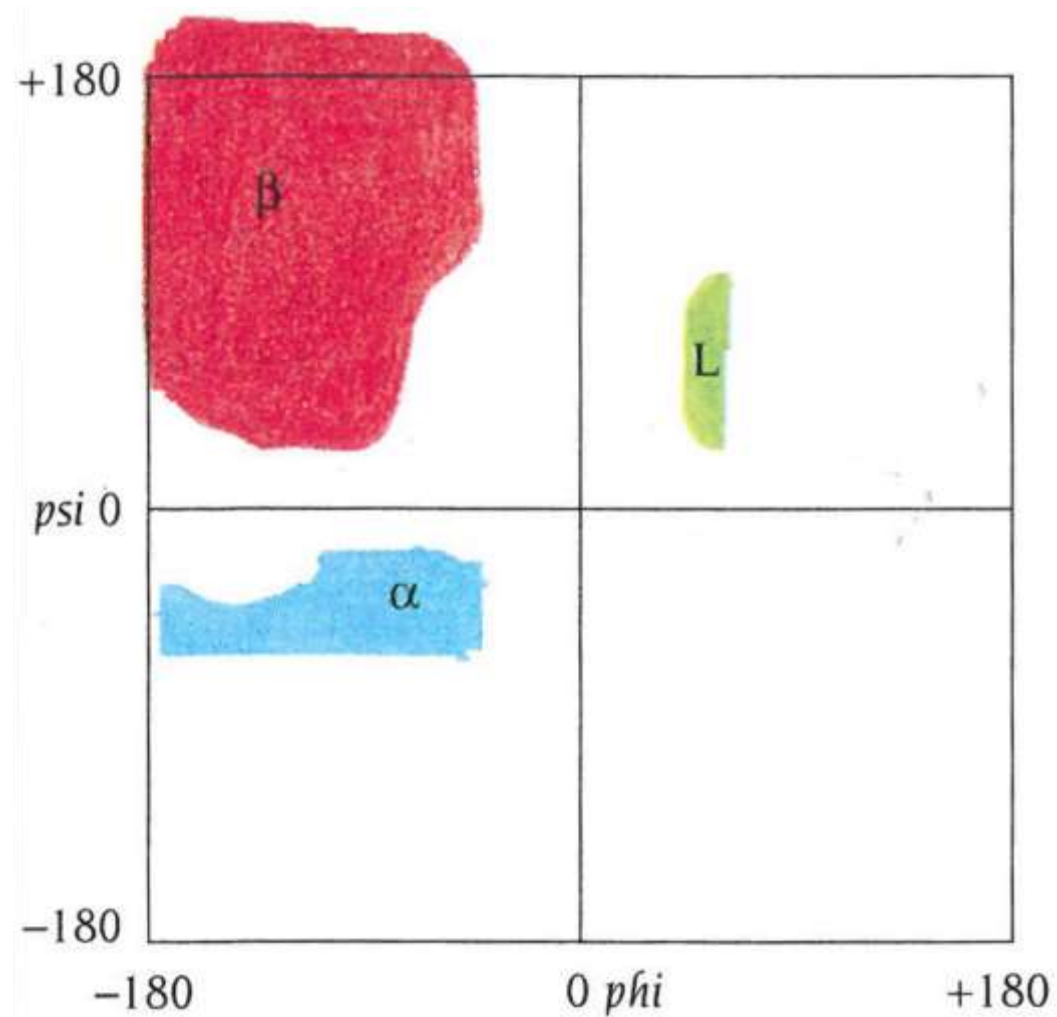
kot ψ_2 $N_2-C\alpha_2-C_2-N_3$



Ramachandranov diagram

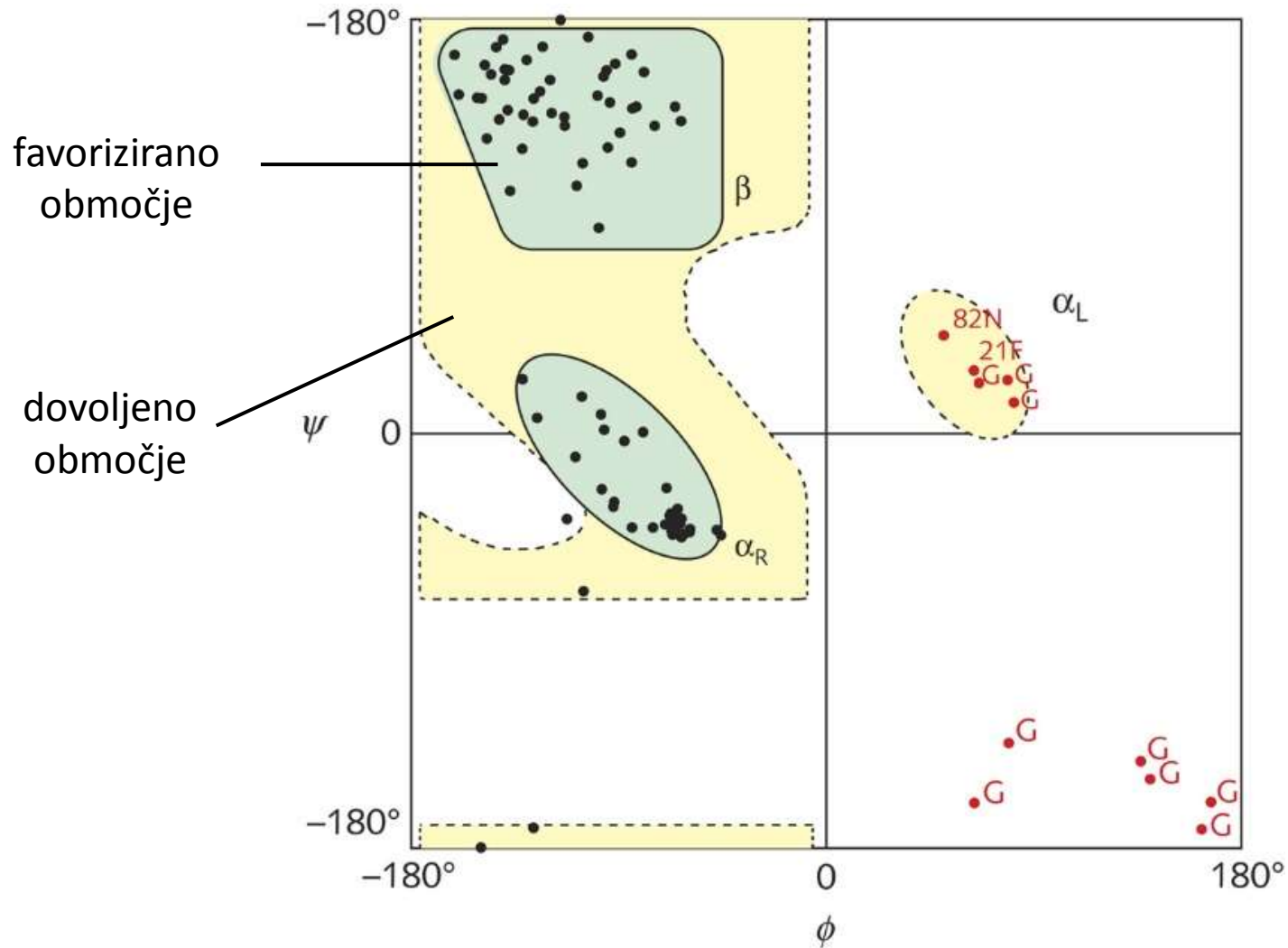
Ramachandranov diagram predstavlja „dovoljene“ kombinacije torzijskih kotov.

Kombinacije torzijskih kotov pri rednih sekundarnih strukturah.

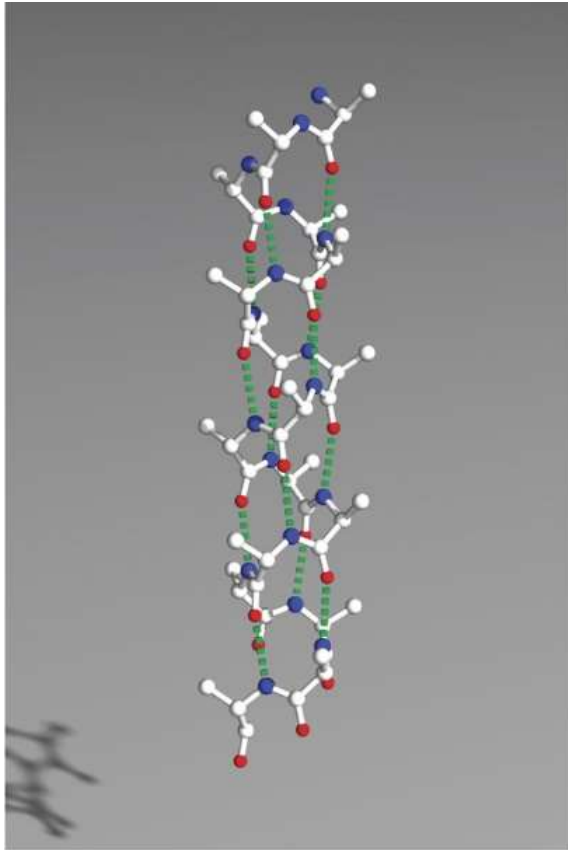


Ramachandranov diagram

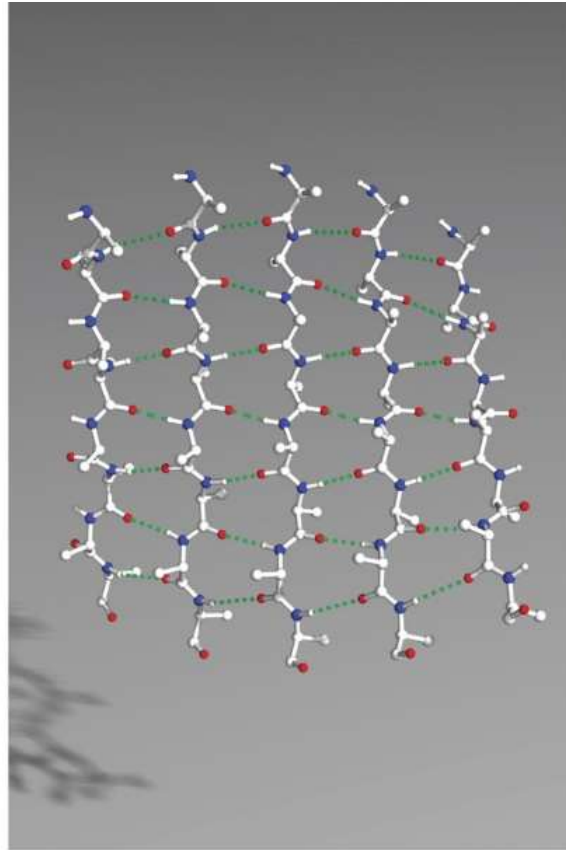
Primer: Ramachandranov diagram goveje acilfosfataze.



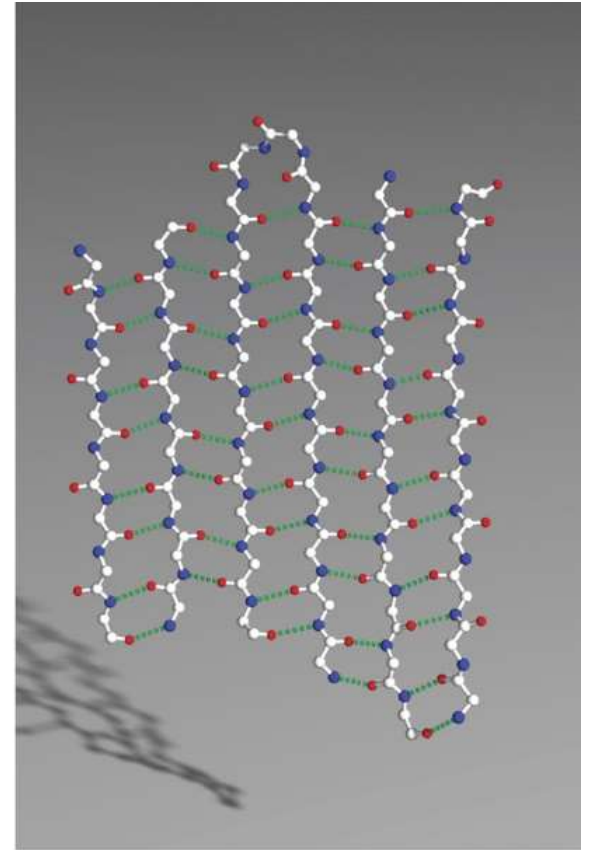
Sekundarna struktura proteinov



(a)

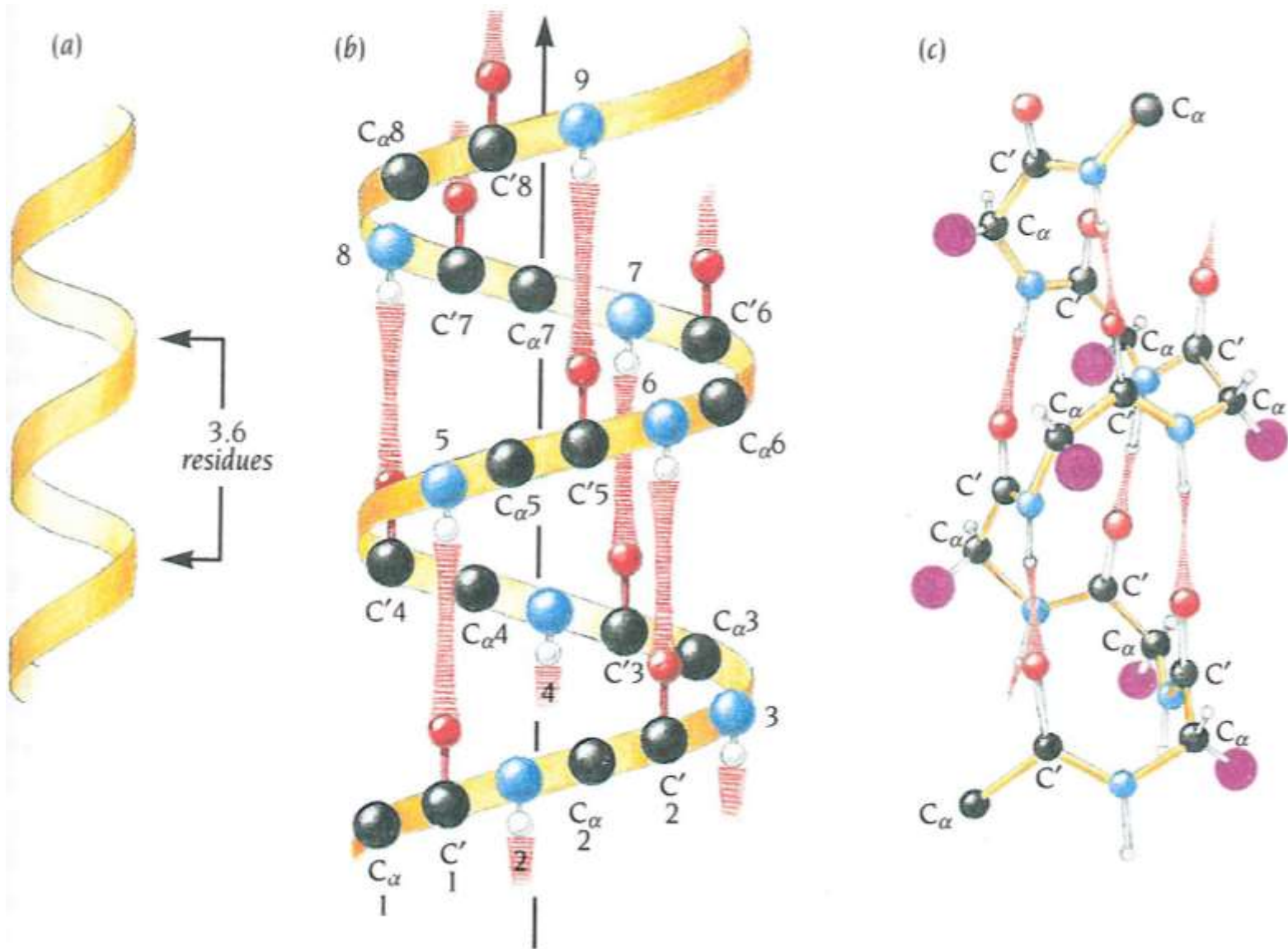


(b)

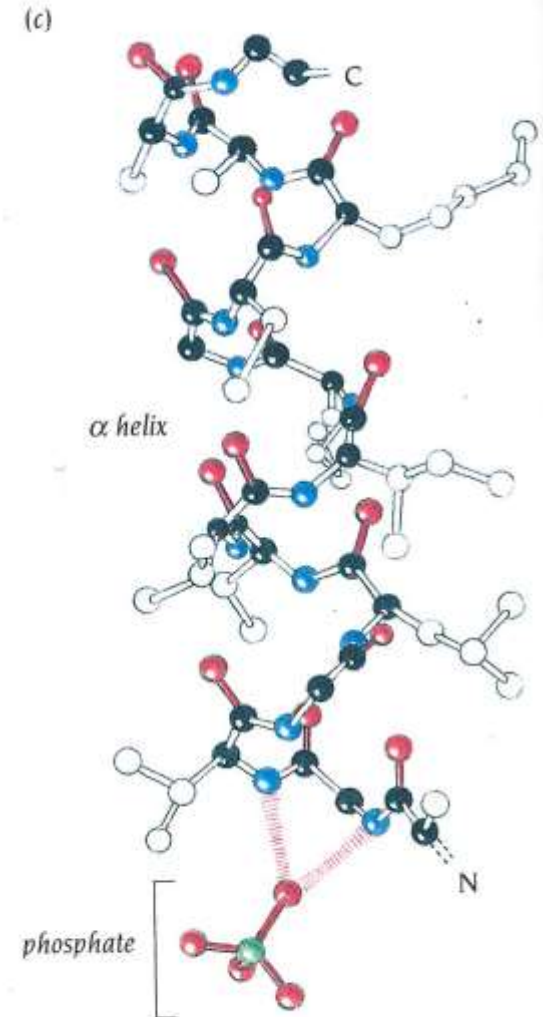
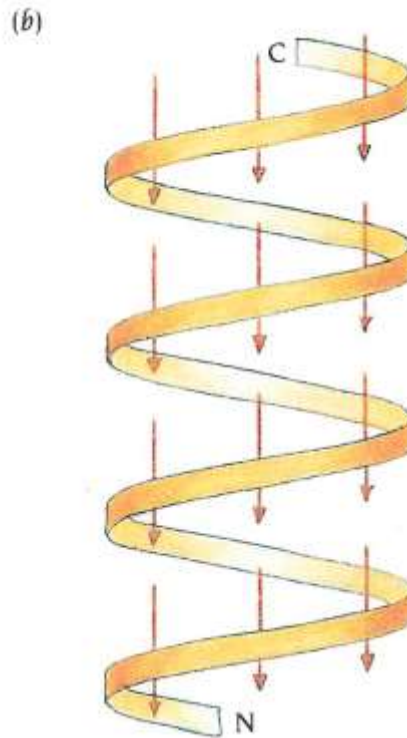
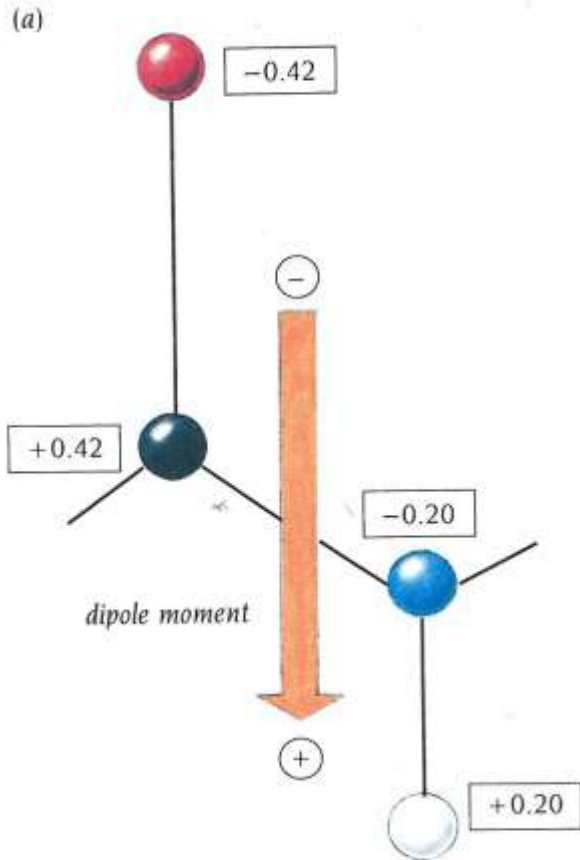


(c)

Alfa vijačnica



Alfa vijačnica



Nagnjenost ostankov k tvorbi alfa vijačnice

*nagnjenost
pada*

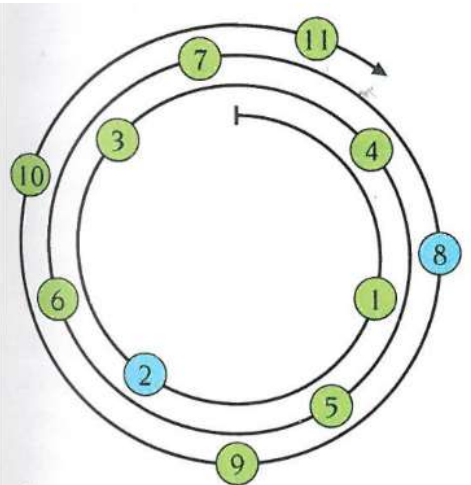


<i>ostanek</i>	<i>rel. nagnjenost</i>	<i>ostanek</i>	<i>rel. nagnjenost</i>
Ala	0.00	Phe	0.54
Leu	0.21	His ⁰	0.56
Arg	0.21	Val	0.61
Met	0.24	Thr	0.66
Lys	0.26	His ⁺	0.66
Gln	0.39	Asn	0.65
Glu	0.40	Cys	0.68
Ile	0.41	Asp	0.69
Trp	0.49	Gly	1.00
Ser	0.50	Pro	3.10
Tyr	0.53		

Osnova za napovedovanje alfa vijačnic v primarnem zaporedju.

Vijačno kolo

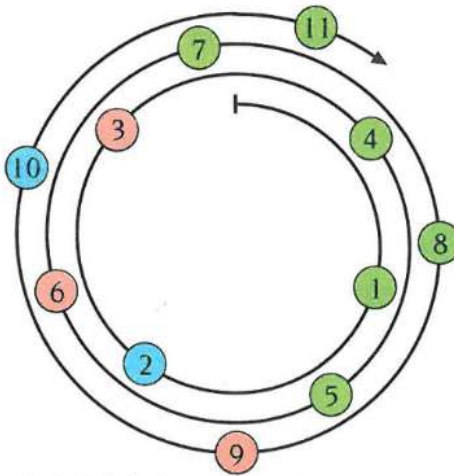
1. - Leu - Ser - Phe - Ala - Ala - Ala - Met - Asn - Gly - Leu - Ala -
2. - Ile - Asn - Glu - Gly - Phe - Asp - Leu - Leu - Arg - Ser - Gly -
3. - Lys - Glu - Asp - Ala - Lys - Gly - Lys - Ser - Glu - Glu - Glu -



citrate synthase

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
L S F A A A M N G L A

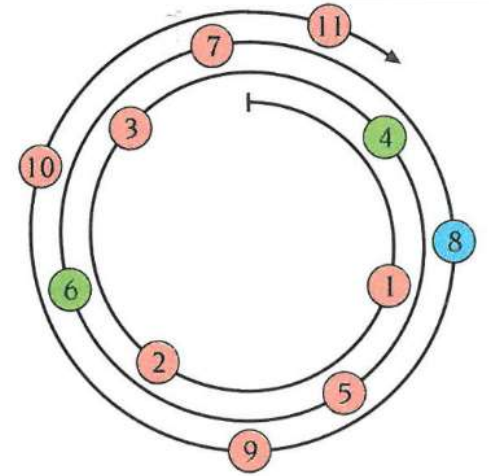
*vijačnica zakopana v
notranjosti proteina*



alcohol dehydrogenase

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
I N E G F D L L R S G

*amfipatična, na površini
proteina*

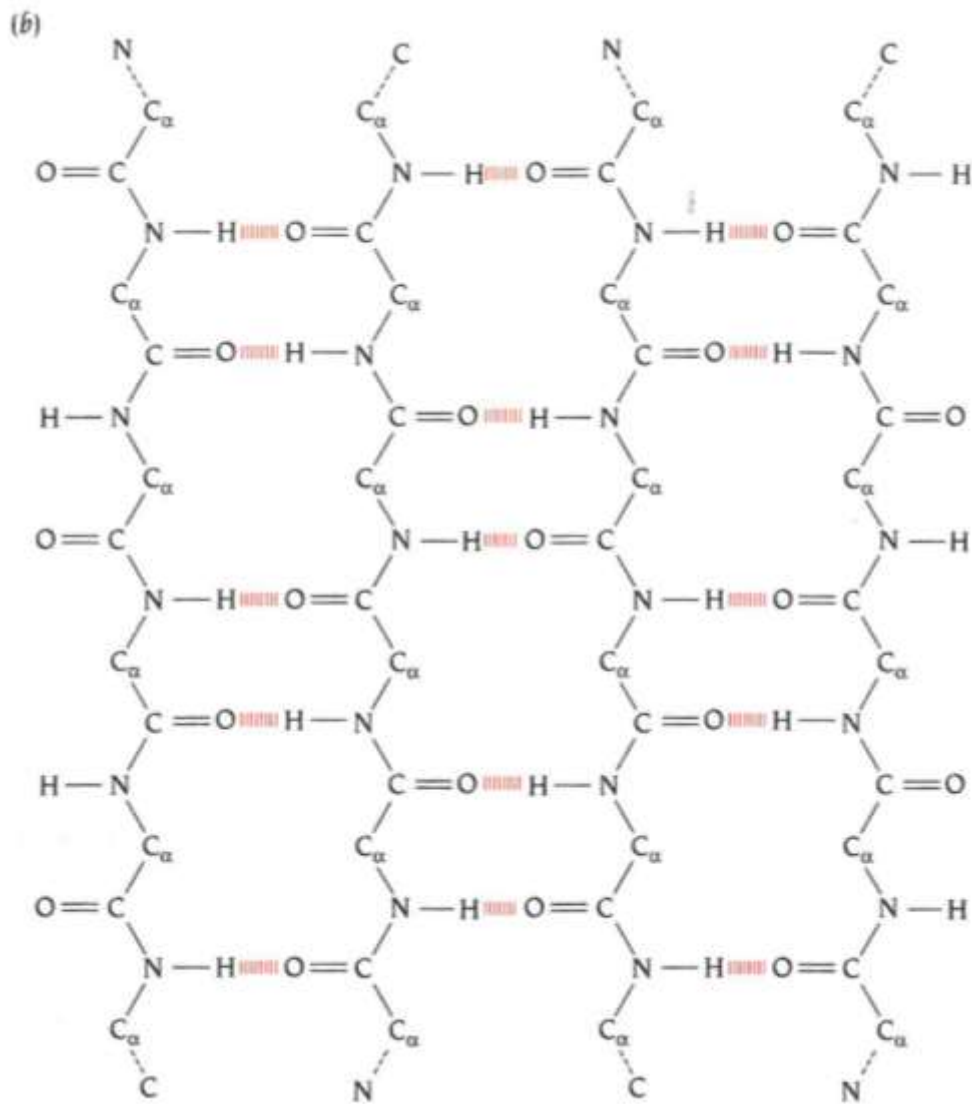
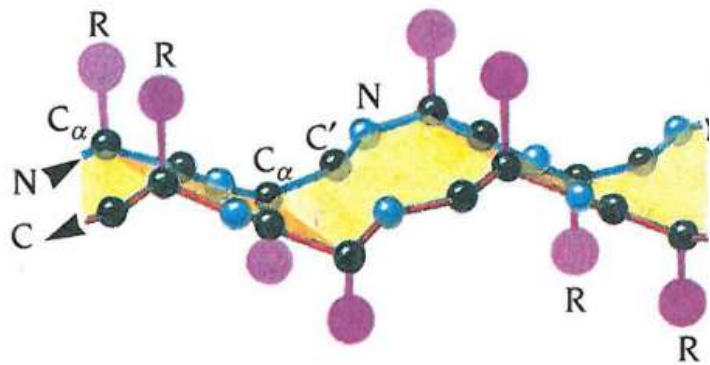
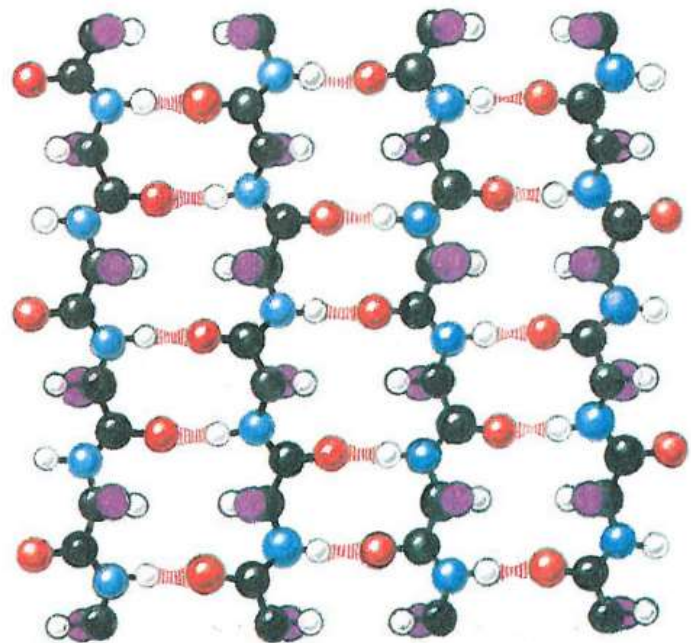


troponin-C

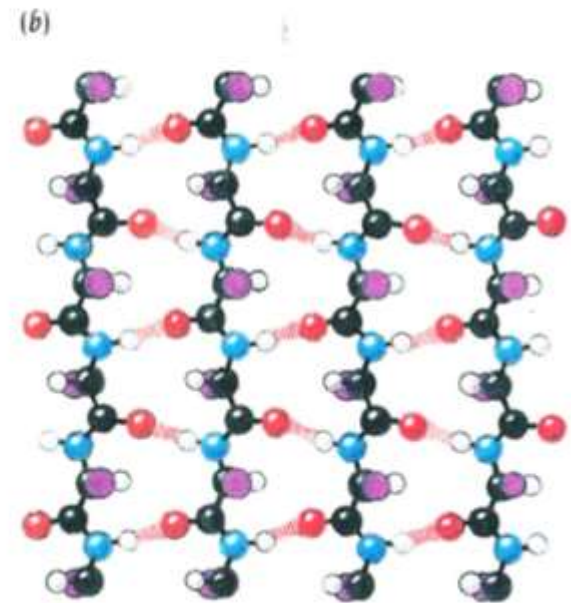
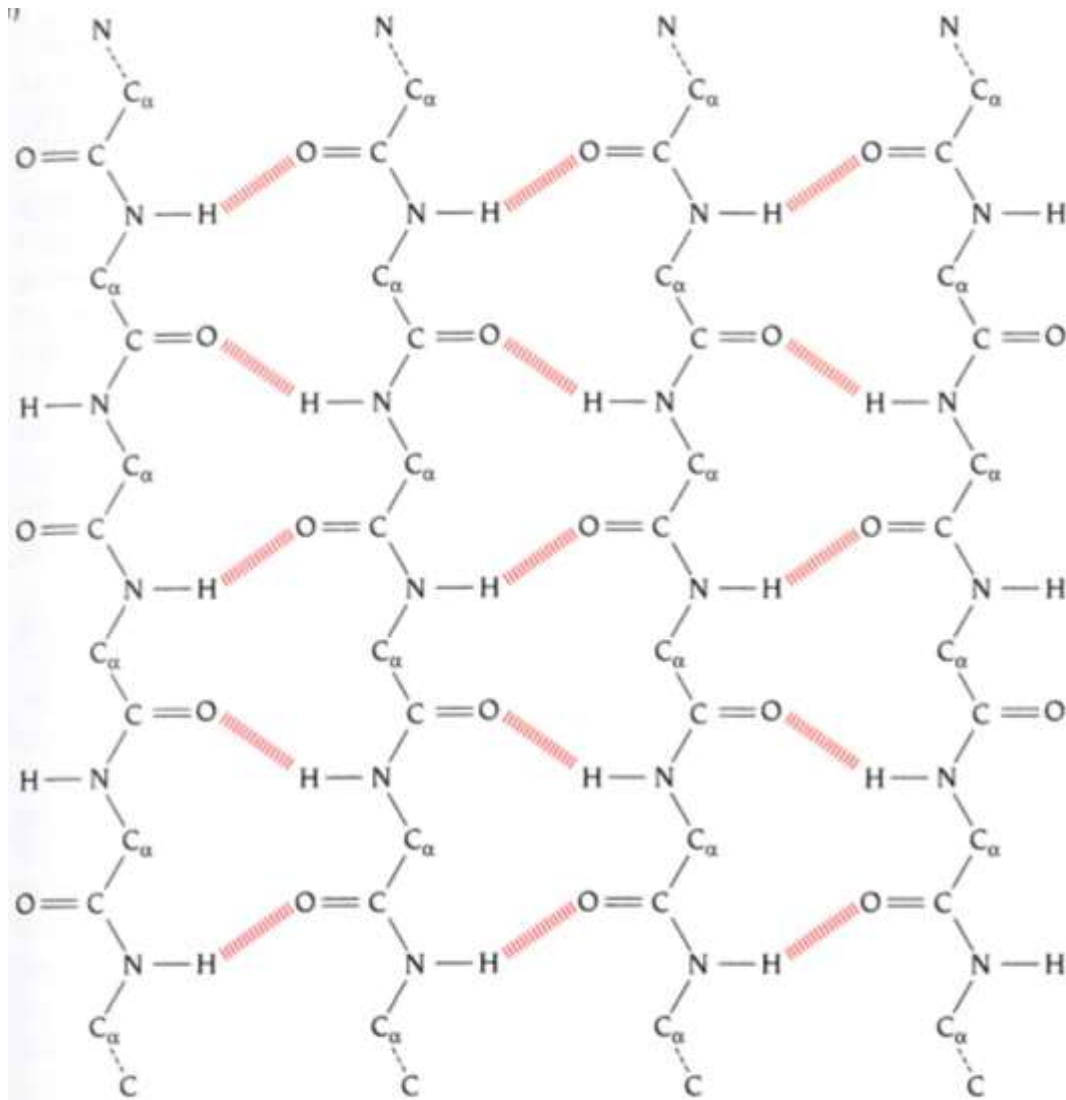
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
K E D A K G K S E E E

*hidrofilna, izpostavljena
topilu*

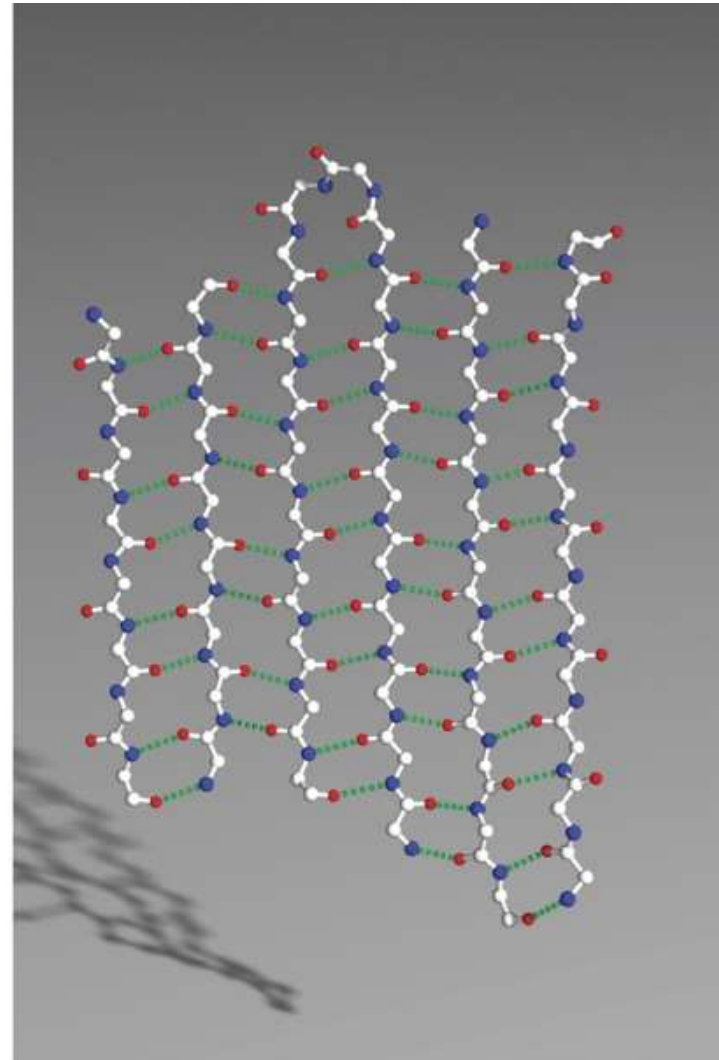
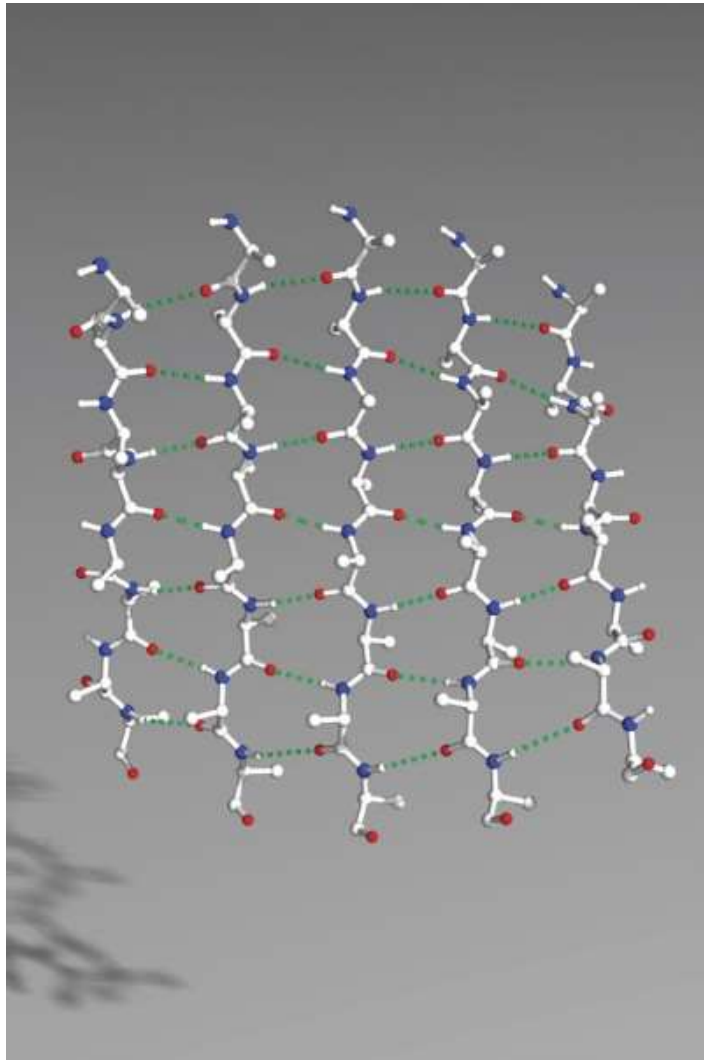
Antiparalelna beta ploskev



Paralelna beta ploskev

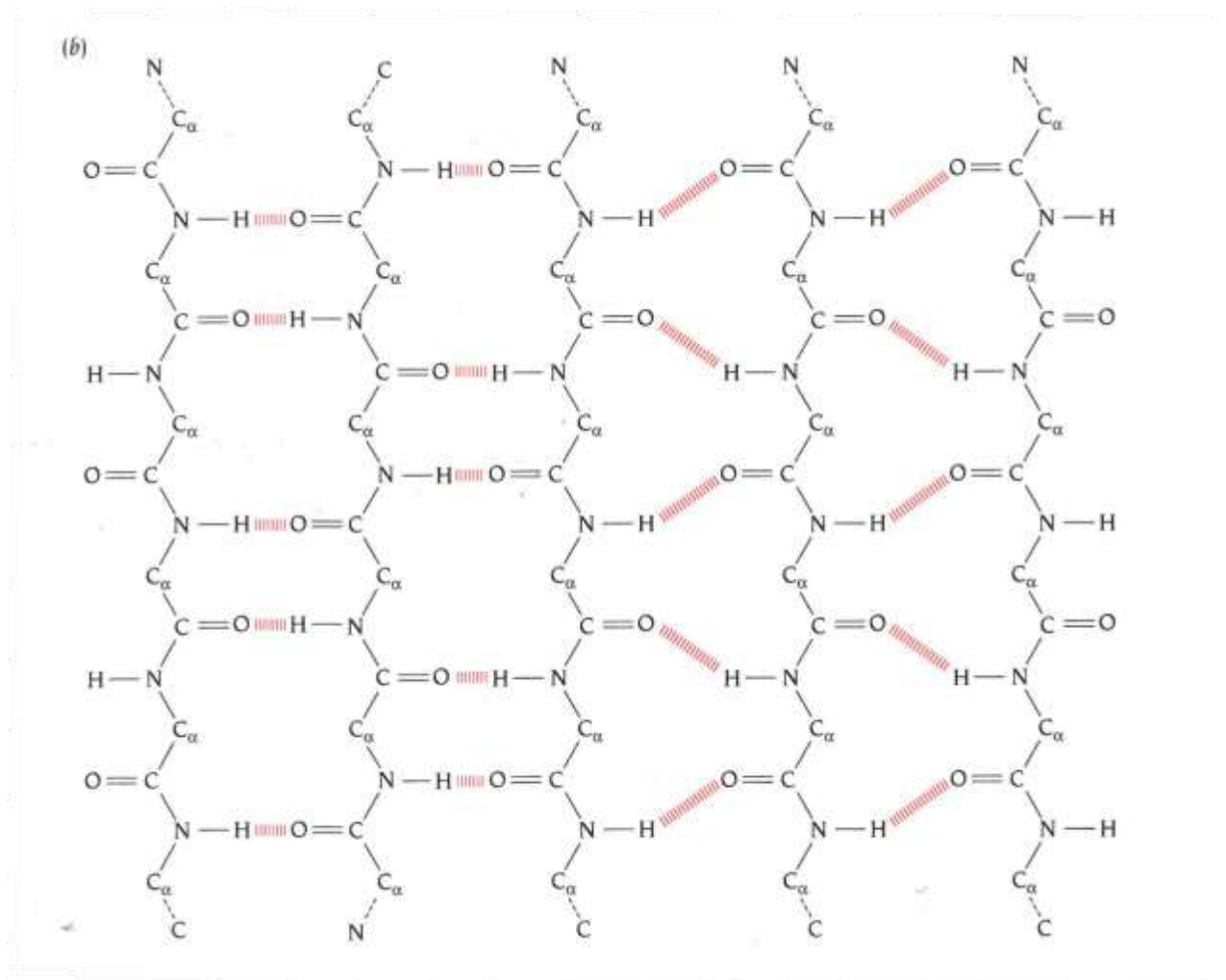


Paralelna in antiparalelna beta ploskev

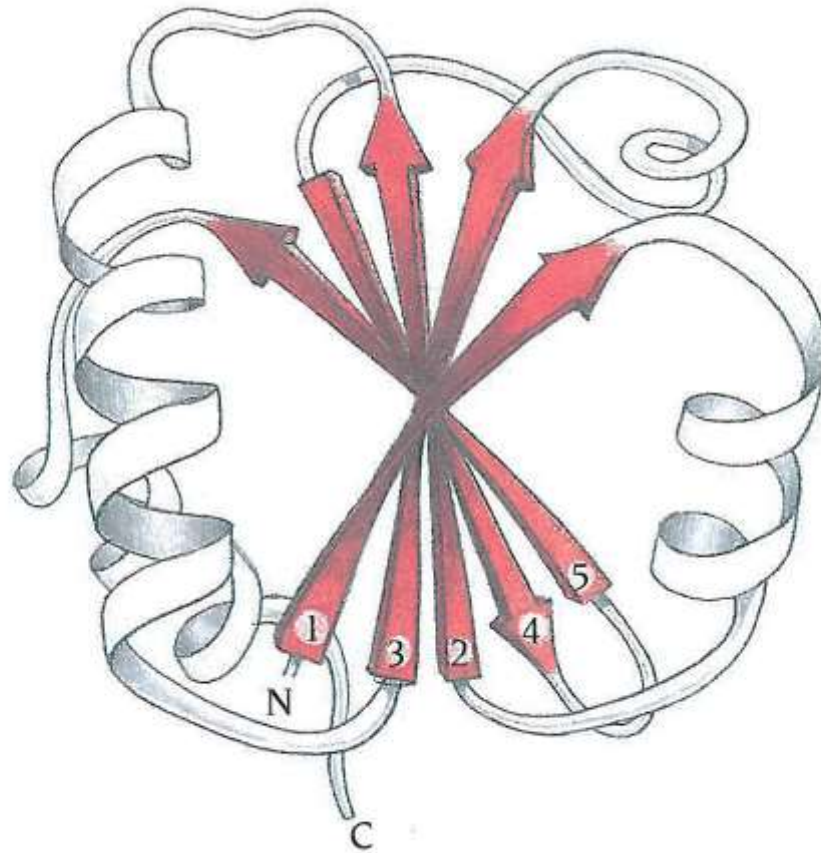


Mešana beta ploskev

Manj pogosta, le okoli 20% vseh beta trakov



Ukrivljenost beta ploskev



Zanke

Zanke (*angl. loops*) regije, ki povezujejo elemente sekundarne strukture v proteinih.

Različnih dolžin.

Nimajo regularnega (ponavljajočega se) vzorca torzijskih kotov

Sestava je odvisna od okolja, v katerem se nahajajo.

Občutljive na proteolizo.

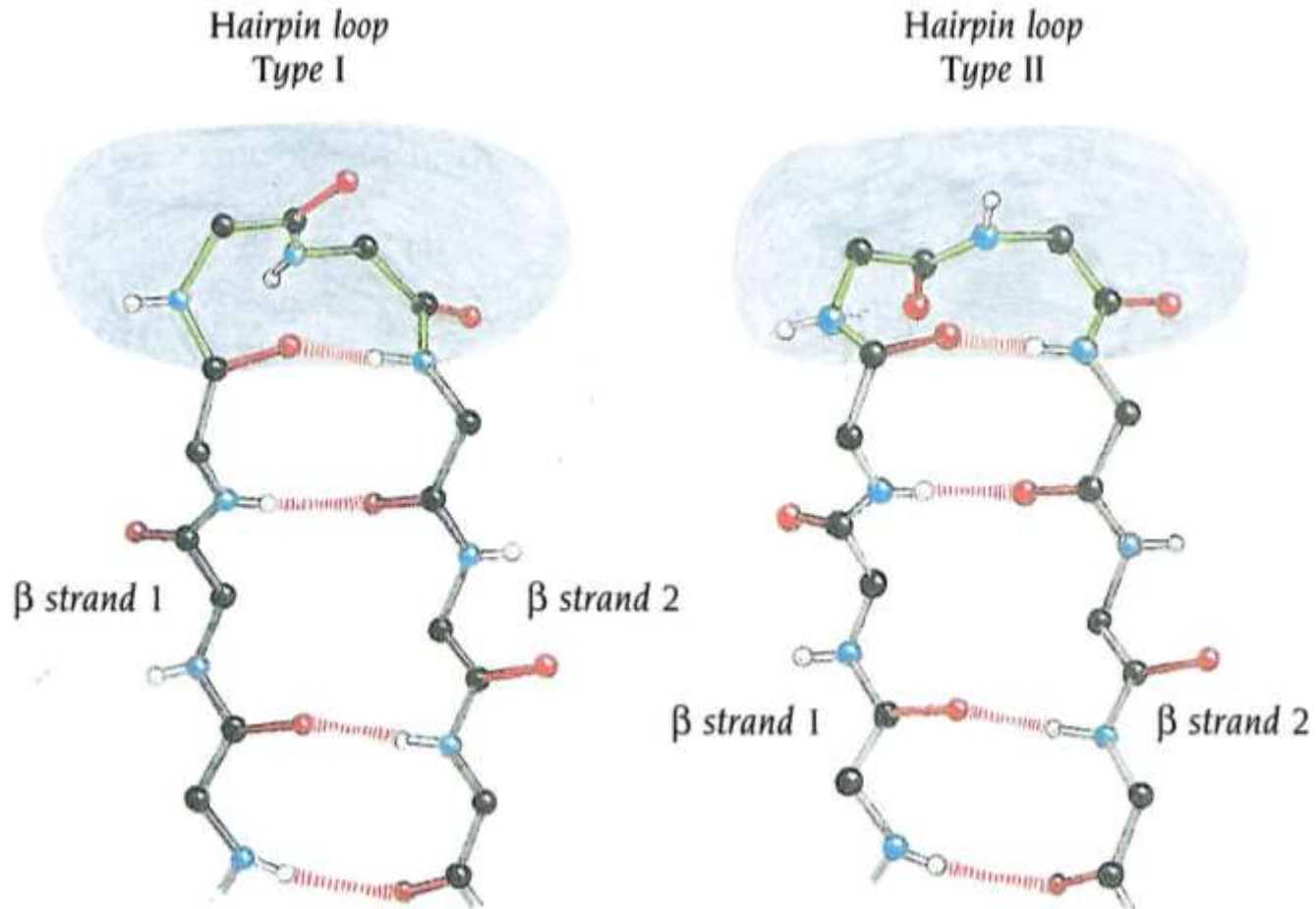
Evolucijsko manj stabilne od elementov sekundarne strukture.

Mesta, kjer se v genih ponavadi nahajajo introni.

Zavoj (*angl. turn*) – krajše zanke, pri katerih pride do nenadnega zavoja

Lasnična zanka

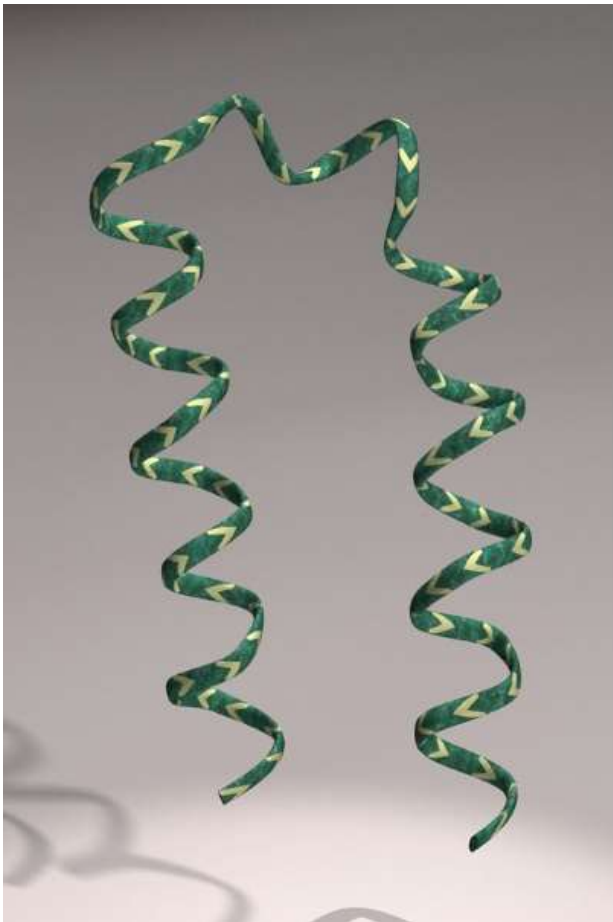
Posebna oblika zanke – zavojev, ki povezuje dve sosednja antiparalelna beta trakova.



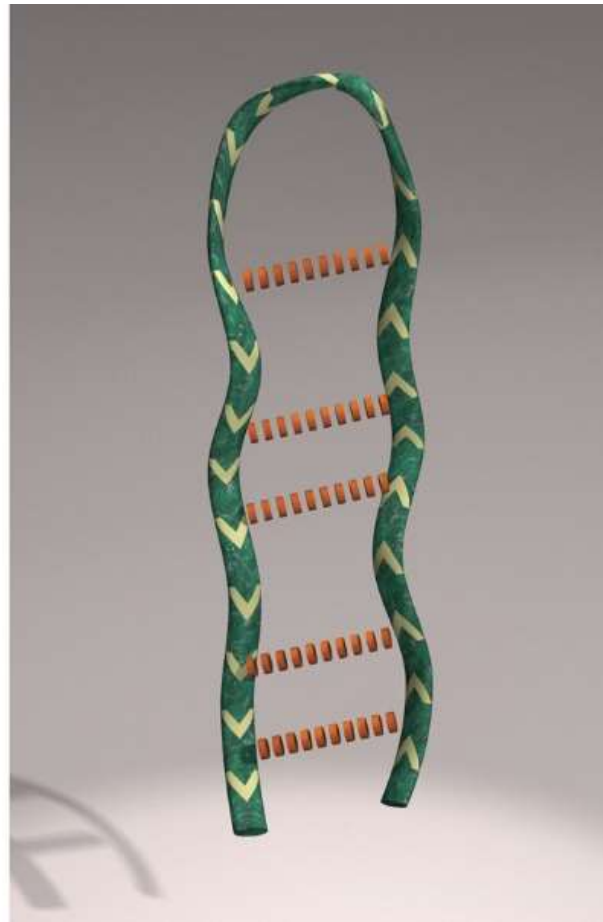
Nadsekundarna struktura

Motivi sestavljeni iz manjšega števila enot sekundarne strukture

α -lasnica

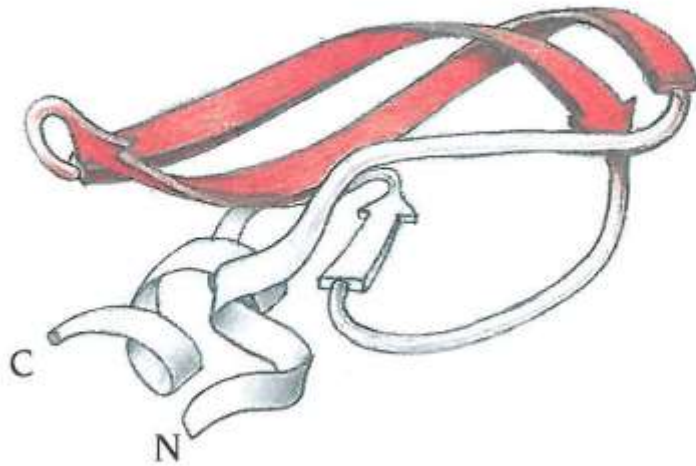


β -lasnica

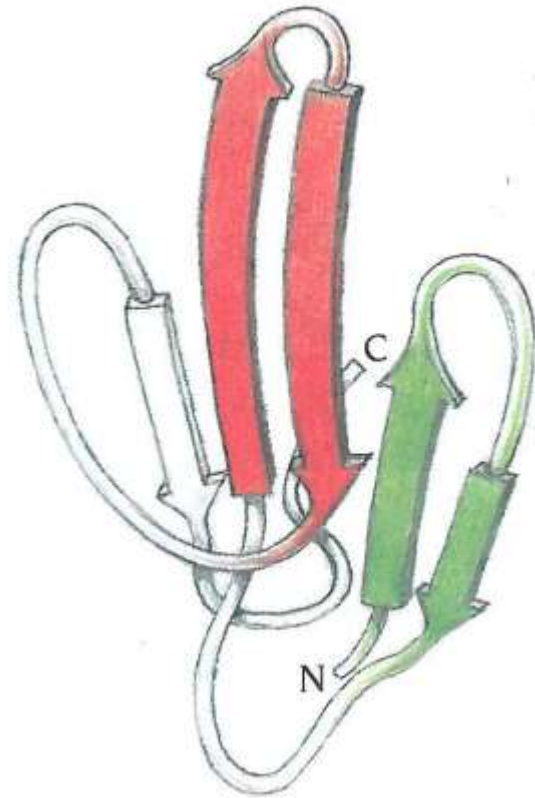


Nadsekundarna struktura

Motivi β -lasnice so pogosti v proteinih z antiparalelnimi β -ploskvami



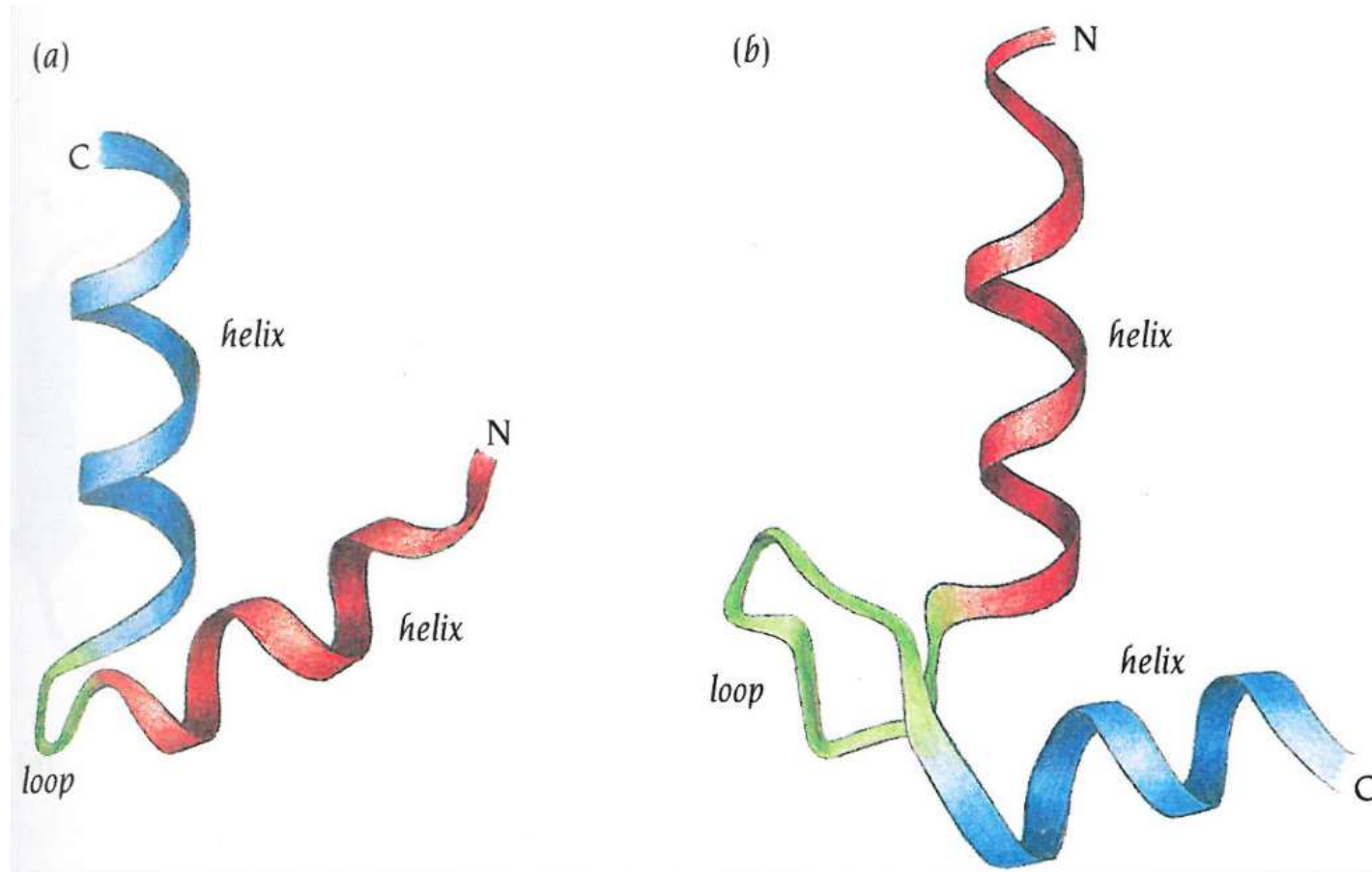
*inhibitor tripsina iz goveje slinavke
(BPTI)*



*erabutoksin
(strup iz morske kače)*

Nadsekundarna struktura

Motiv vijačnica-zanka-vijačnica (*helix-loop-helix; HLH*)

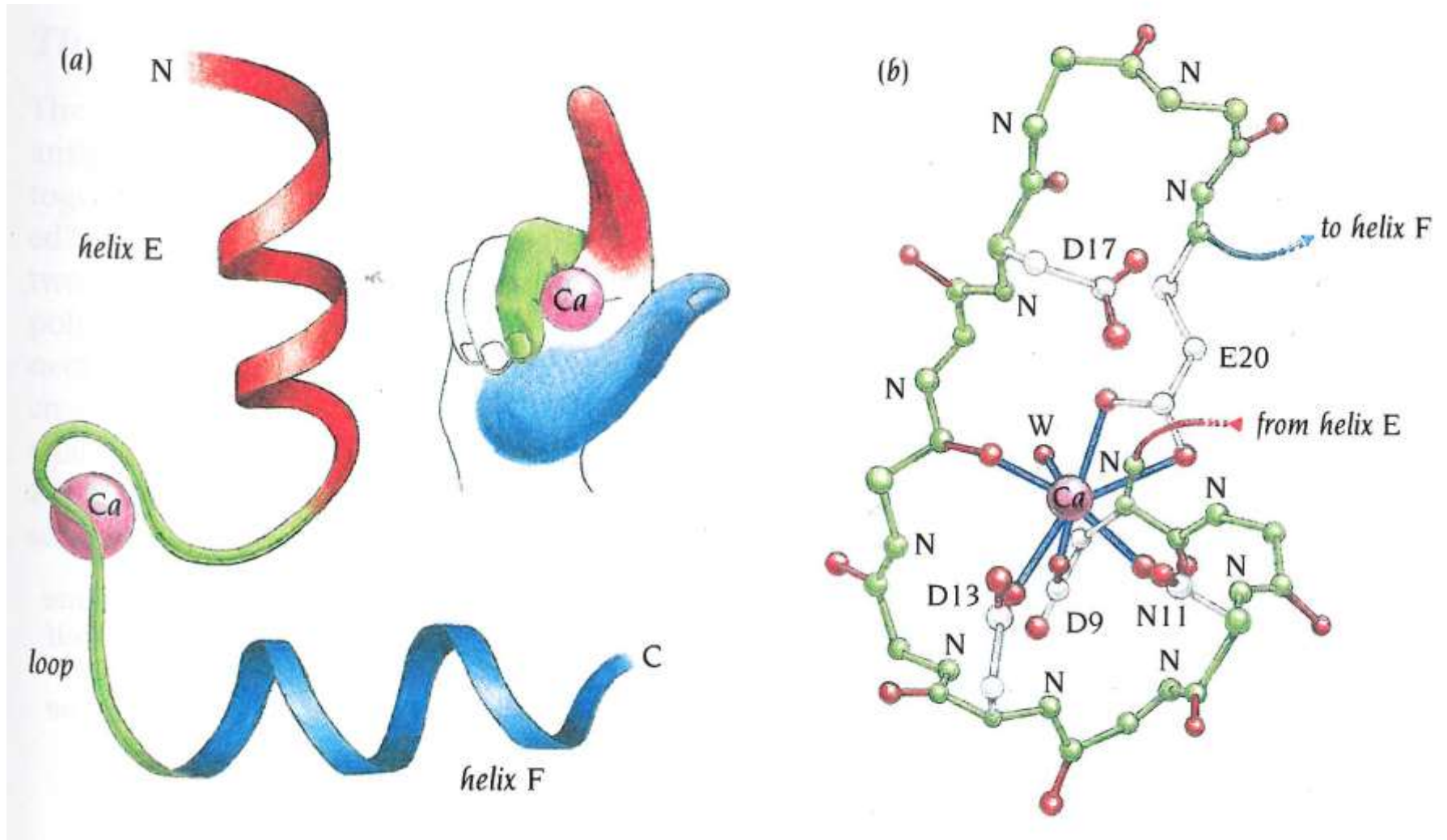


DNA-vezavni motiv

Ca²⁺-vezavni motiv – EF dlan
(poimenovanje po nomenklaturi vijačnic v parvalbuminu)

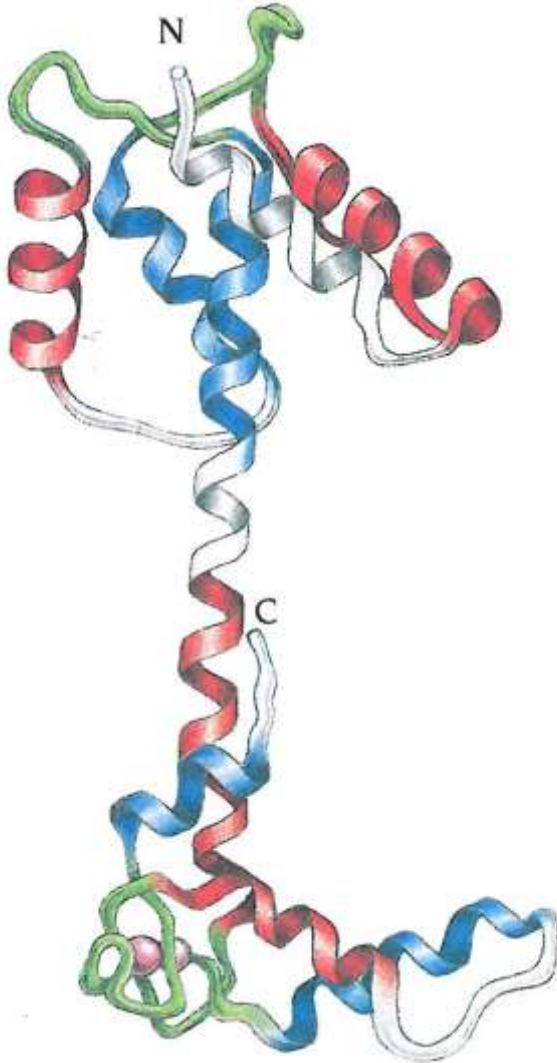
Nadsekundarna struktura

Motiv vijačnica-zanka-vijačnica – EF-dlan



Nadsekundarna struktura

Motiv vijačnica-zanka-vijačnica – EF-dlan



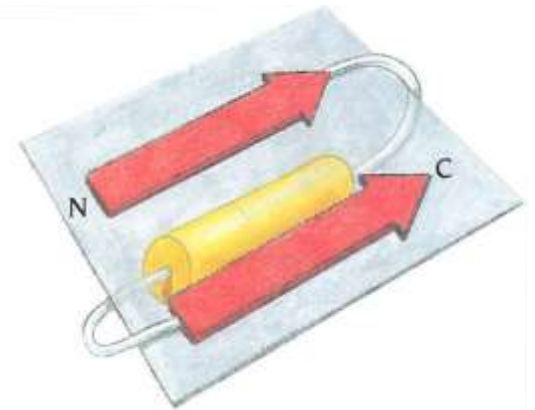
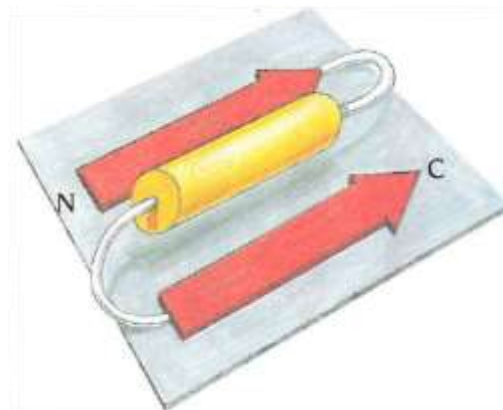
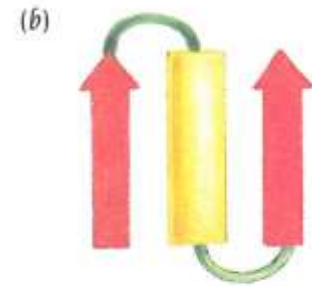
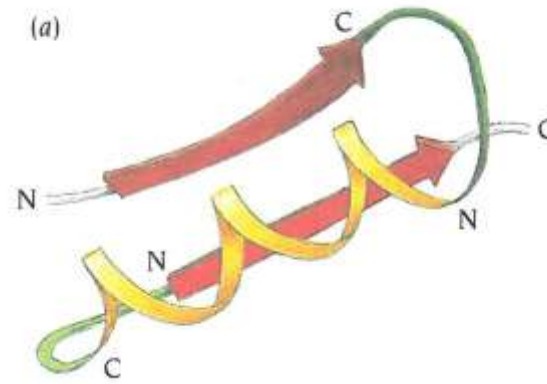
Kalmodulin

vsebuje 4 EF-dlani – veže 4 Ca^{2+}

Deluje kot sekundarni prenašalec

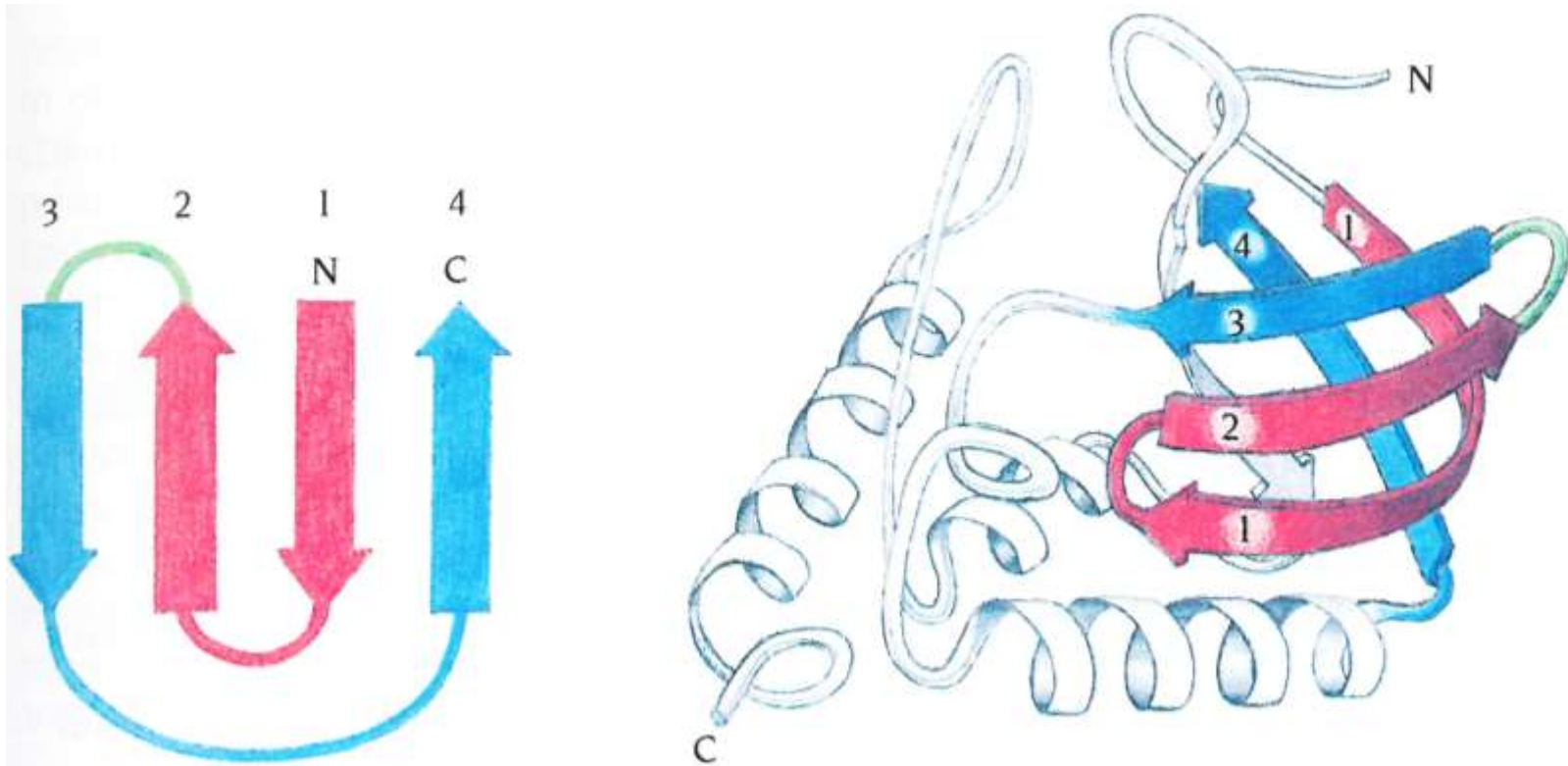
Nadsekundarna struktura

Motiv β - α - β



Nadsekundarna struktura

Motiv grškega ključa – sestavljen iz dveh zaporednih motivov β -lasnice



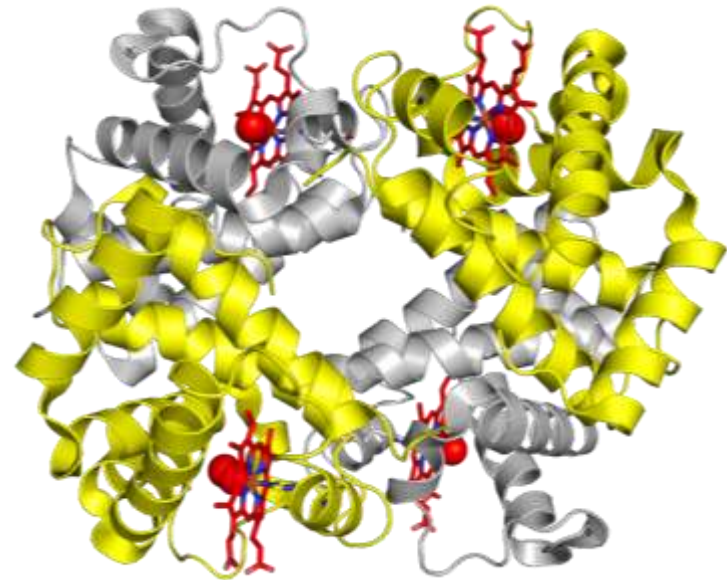
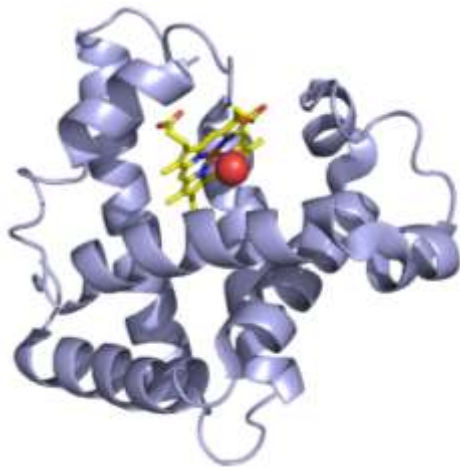
Najdemo ga v antiparalelnih β -ploskvah. Primer: nukleaza iz stafilokoka

Terciarna in kvartarna struktura

Terciarna struktura je prostorska organizacija polipeptidne verige in vzorci interakcij med elementi sekundarne in primarne strukture v prostoru.

Rečemo ji tudi **vzorec zvitja** oz. **zvitje** proteina.

O **kvartarni strukturi** govorimo pri proteinih, ki so sestavljeni iz večih podenot oz. polipeptidnih verig. Gre za prostorsko organizacijo podenot.



Zvitje proteinov

Predvideva se, da v naravi obstaja okoli 1000 – 2000 različnih vzorcev zvitja.

Domena je osnovna enota terciarne strukture proteina in predstavlja del polipeptidne verige s samostojnim stabilnim zvitjem.

Celoten repertoar proteinov se je razvil z mehanizmi:

1. Divergentne evolucije

Podobnost – skupne lastnosti na nivoju primarne, sekundarne in terciarne strukture

Homologija – izvor iz skupnega prednika

2. Tvorbo kompleksnih struktur iz enostavnejših elementov

a. Podaljševanje polipeptidne verige znotraj enote zvitja

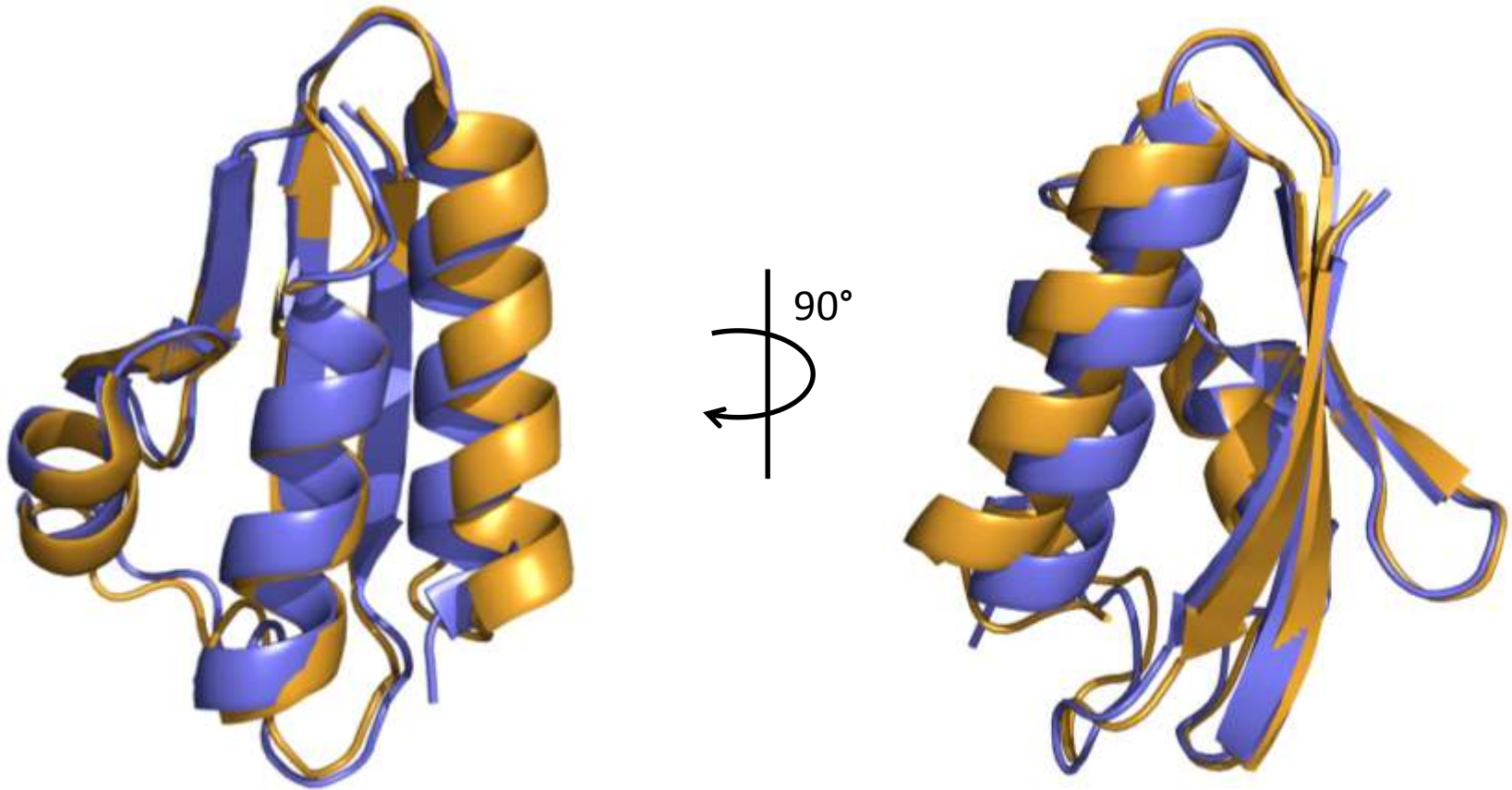
b. Tvorba oligomerov iz monomerov

c. Tvorba večdomenskih proteinov

Zvitje proteinov

Primer homolognih proteinov:

Proteina HPr iz *Escherichie coli* (oranžen) in *Streptococcus faecalis* (moder).

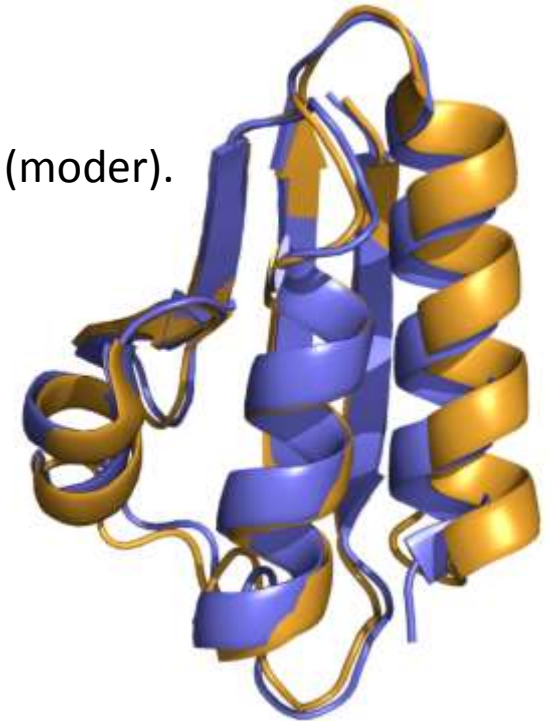


Zvitje proteinov

Primer homolognih proteinov:

Proteina HPr iz *Escherichie coli* (oranžen) in *Streptococcus faecalis* (moder).

Ohranjeno ujemanje terciarne strukture in elementov sekundarne strukture, le 38% ujemanje na nivoju primarne strukture (zaporedja).



```
S. faecalis MEKKEFHIVAETGIHARPATLLVQTASKFNSDINLEYKKGKSVNL
           |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
E. coli    MFQQEVTITAPNGLHTRPAAQFVKEAKGFTSEITVTSNGKSASA

S. faecalis KSIMGVMSLGVGQGSDVTITVDGADEAEGMAAIVETLQKEGLAE
           ||      ||  ||  ||  |  ||      |  |  |  |
E. coli    KSLFKLQTLGLTQGTVVTISAEGEDEQKAVEHLVK-LMAE-LE-
```

Večdomenski proteini

Večina proteinov je sestavljenih iz več domen.

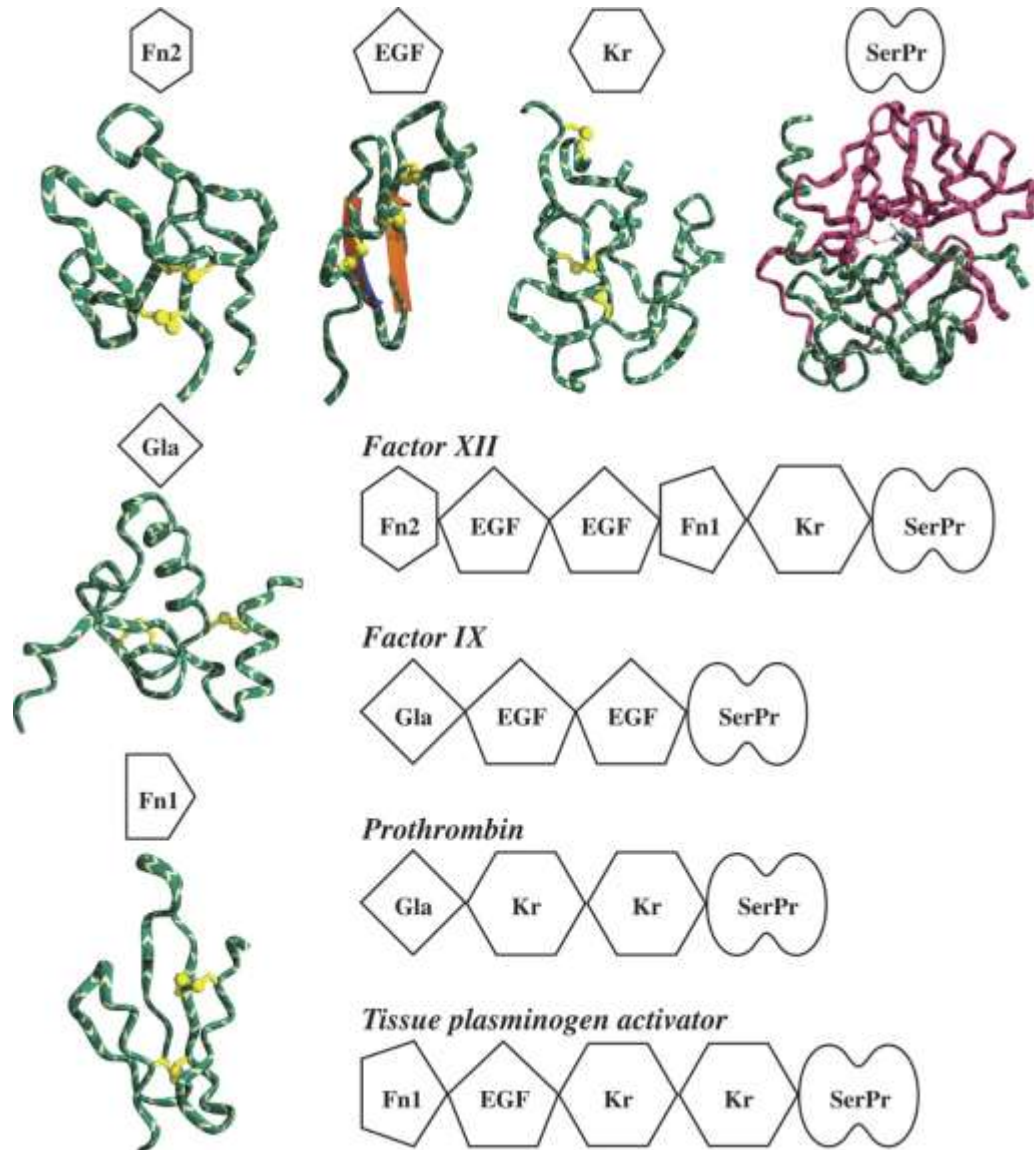
Prokarionti:

pribl. $2/3$ vseh proteinov je večdomenskih
sestavljani iz okoli 400 različnih vrst domen

Eukarionti:

pribl. $3/4$ vseh proteinov je večdomenskih
sestavljani iz 600-700 različnih vrst domen

Večdomenski proteini

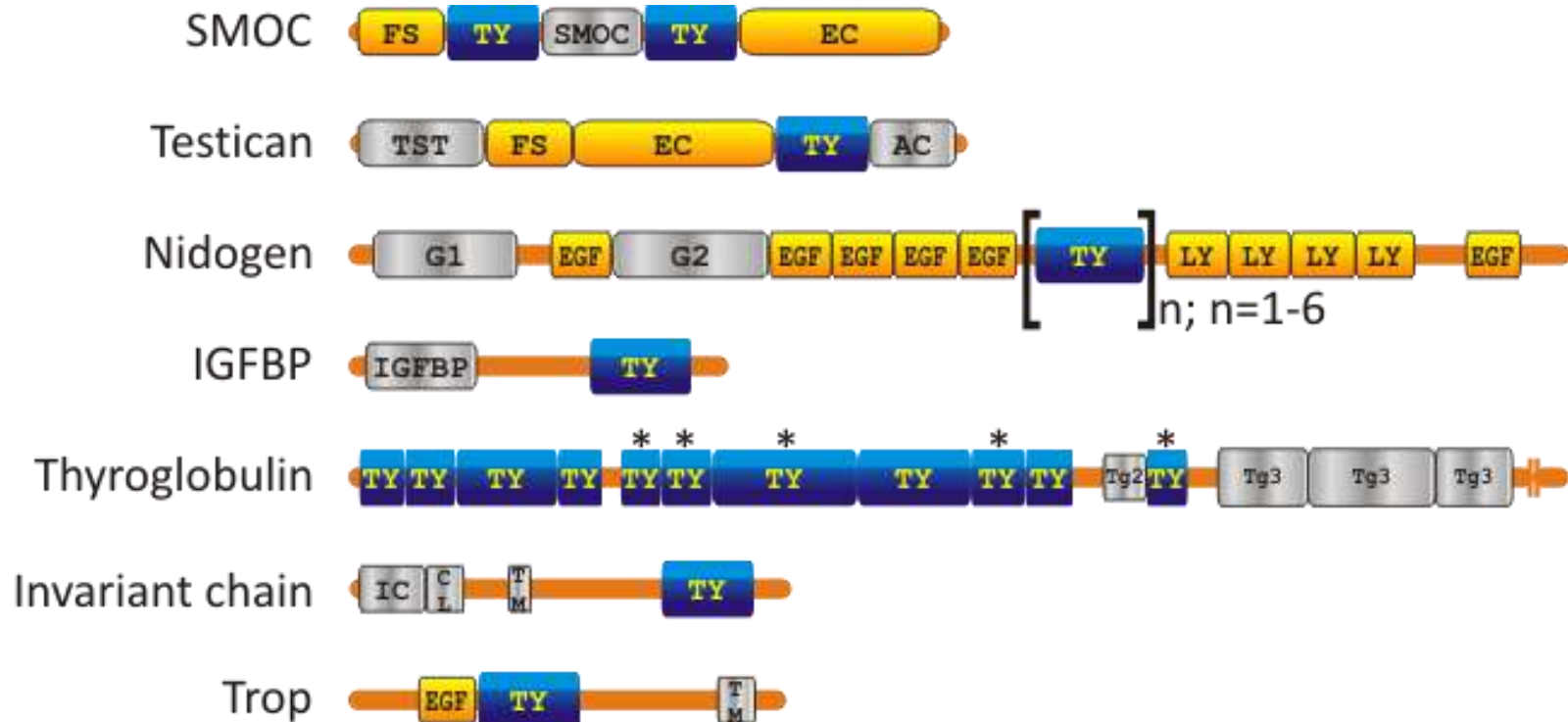


Primer: proteini iz kaskade strjevanja krvi.

Večdomenski proteini

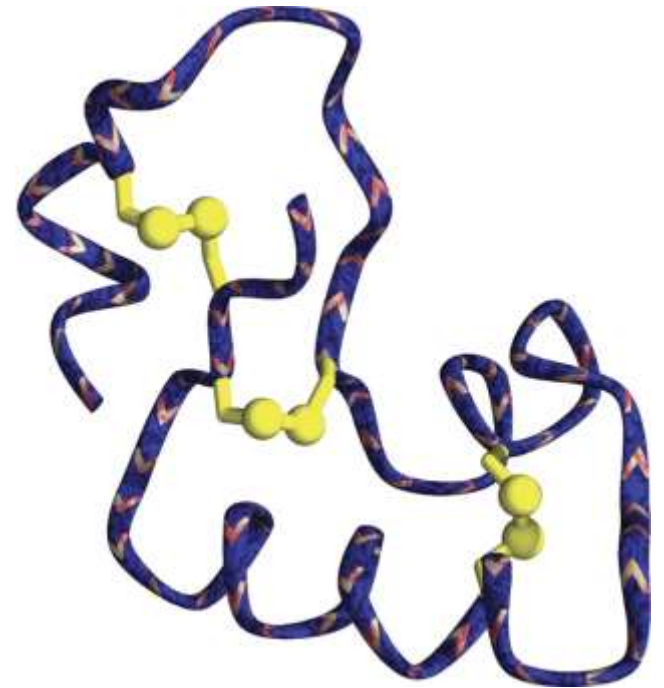
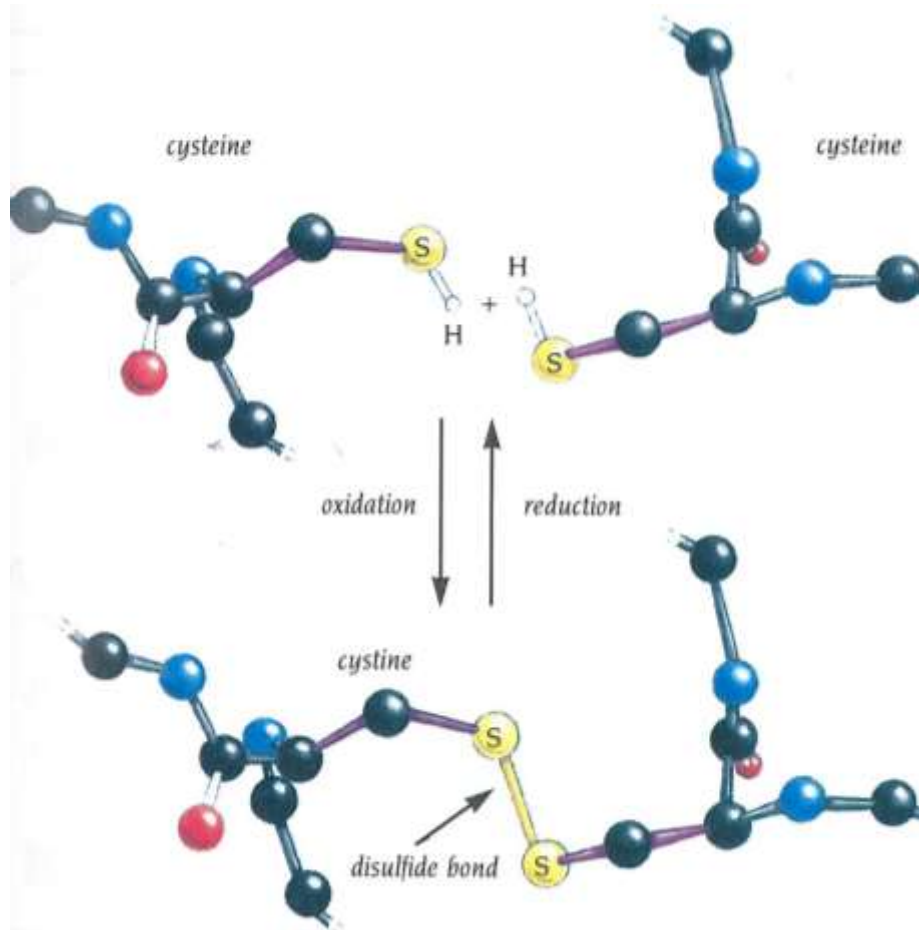
Domene, ki se pojavljajo kot samostojne enote v različnih funkcijsko in strukturno (arhitekturno) nesorodnih proteinih, imenujemo **moduli**, proteine zgrajene iz modulov pa **modularni proteini**.

Primer: tiroglobulinske domene tipa 1



Stabilizacija strukture proteinov

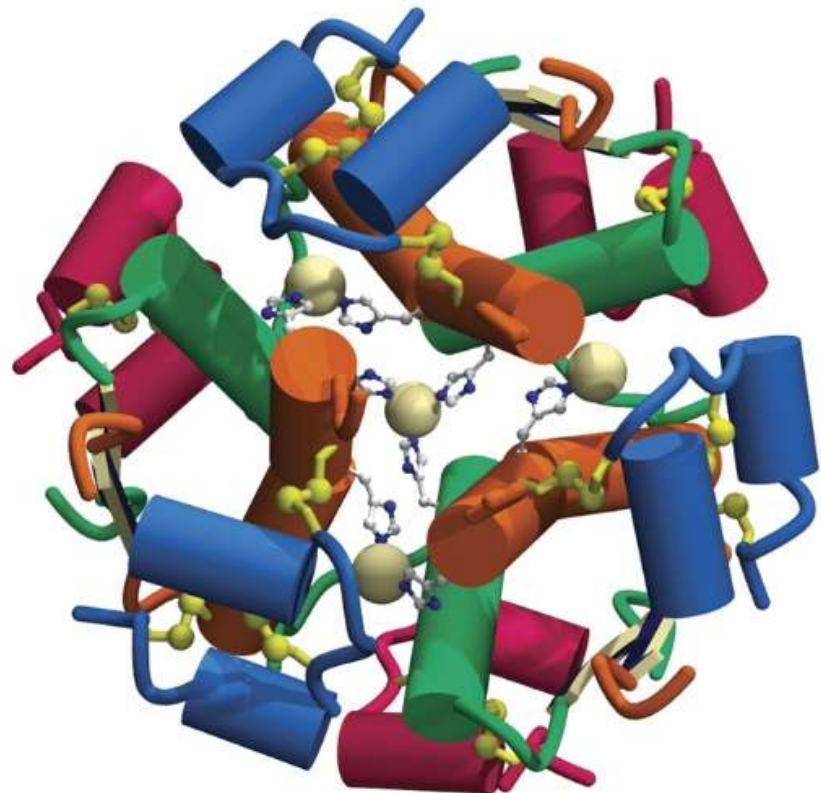
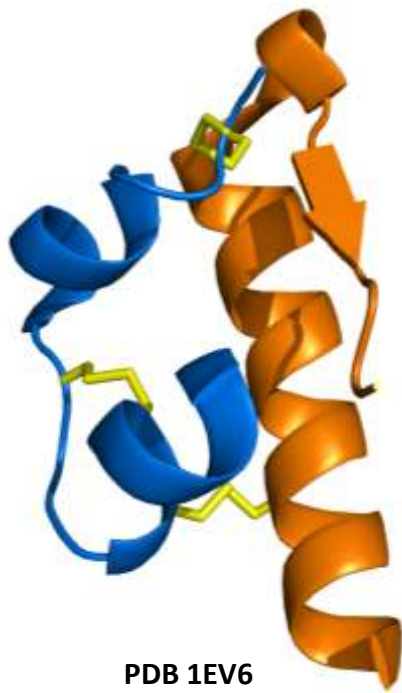
Disulfidna vez – stabilizira zvitje, poveča odpornost na proteolizo, lahko znotraj ene polipeptidne verige ali med dvema različnima.



Stabilizacija strukture proteinov

Koordinacija kovinskih ionov – stalna (stabilizira strukturo) ali začasna (signaliziranje).

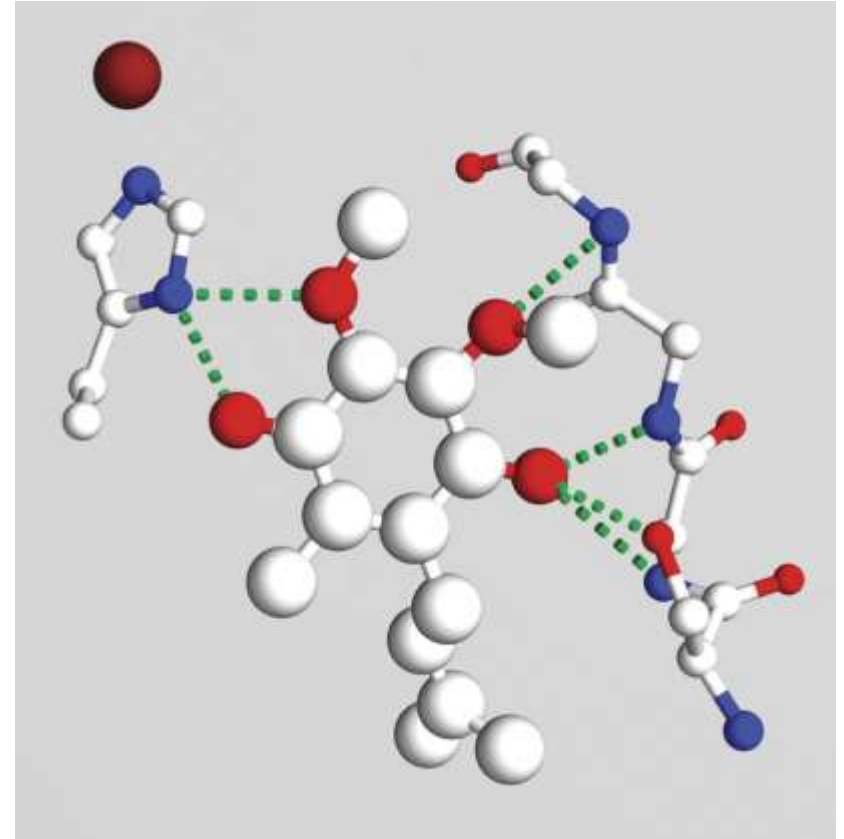
Primer: inzulin – aktivna oblika je monomer (levo), shranjuje se kot heksamer stabiliziran s Zn^{2+} (desno)



Stabilizacija strukture proteinov

Vodikova vez

- Stabilizira elementi sekundarne strukture
- Sodeluje pri vezavi ligandov (slika)
- Tvorijo jih atomi glavne verige (N-H in O)
in nekaterih stranskih verig (Ser, Thr, His,
Lys, Arg, Asp, Glu, Asn, Gln)

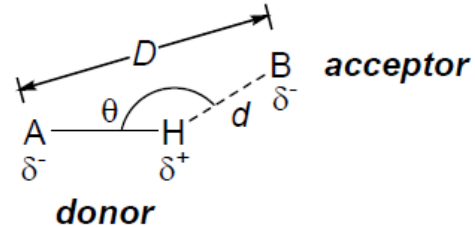
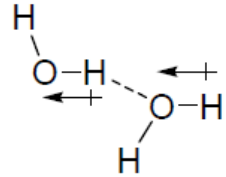


Primer: ubikinon v fotoreakcijskem centru
Rhodospseudomonas viridis

Stabilizacija strukture proteinov

Vodikova vez

Classification of Hydrogen Bonds

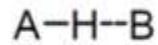


	strong	medium	weak
bond energy (kcal/mol)	14-40	4-14	0-4
interaction type	mostly covalent	mostly electrostatic	electrostatic
bond lengths (A)	A---H = H...B	A---H < H...B	A---H << H...B
A---B	2.2 - 2.5	2.5 - 3.2	3.2 - 4.0
H...B	1.2 - 1.5	1.5 - 2.2	2.2 - 3.2
bond angle (°)	175-180	130-180	90-150
reduction in IR stretch frequency	25%	10-25%	<10%
examples	proton sponges, HF complexes, hydrated protons	carboxylic acids, alcohols, biomolecules	C-H...O/N O/N-H...π

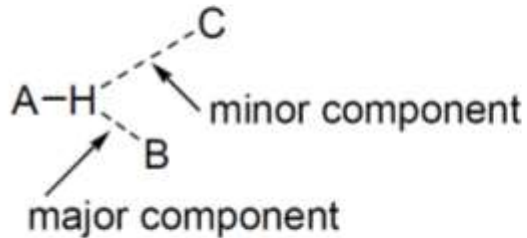
Stabilizacija strukture proteinov

Vodikova vez

Bonding Terminology



normal hydrogen bond
(two-centered)



bifurcated hydrogen bond
(three-centered)

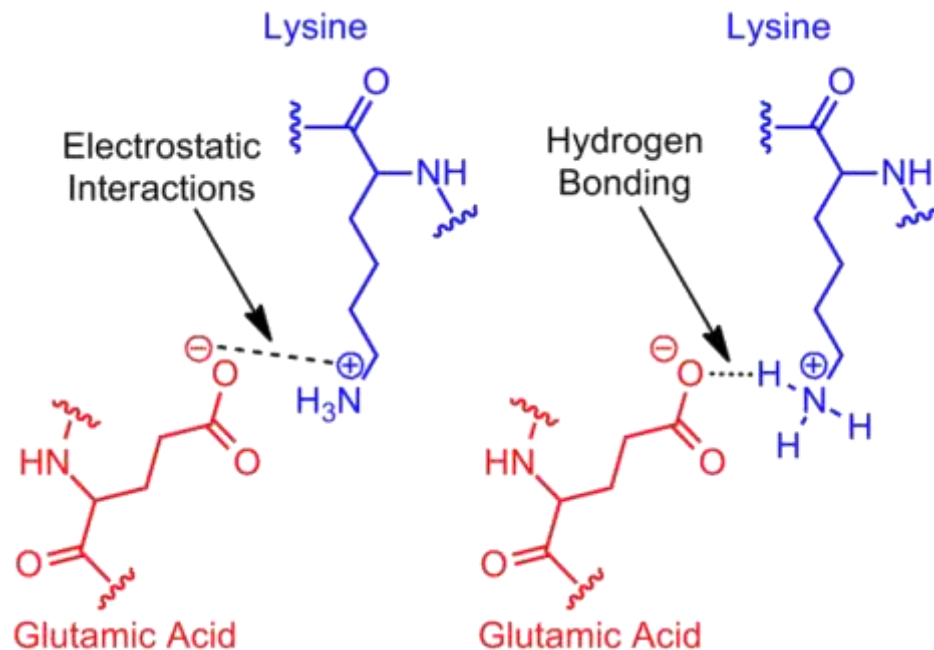
- over 25% of H-bonds in carbohydrates are multifurcated; more in amino acids and proteins

Stabilizacija strukture proteinov

Solni mostički – vodikova vez med dvema skupinama z nasprotnim nabojem z znatnim prispevkom elektrostatske interakcije. So daljnosežne interakcije (razdalja 4 Å in več).

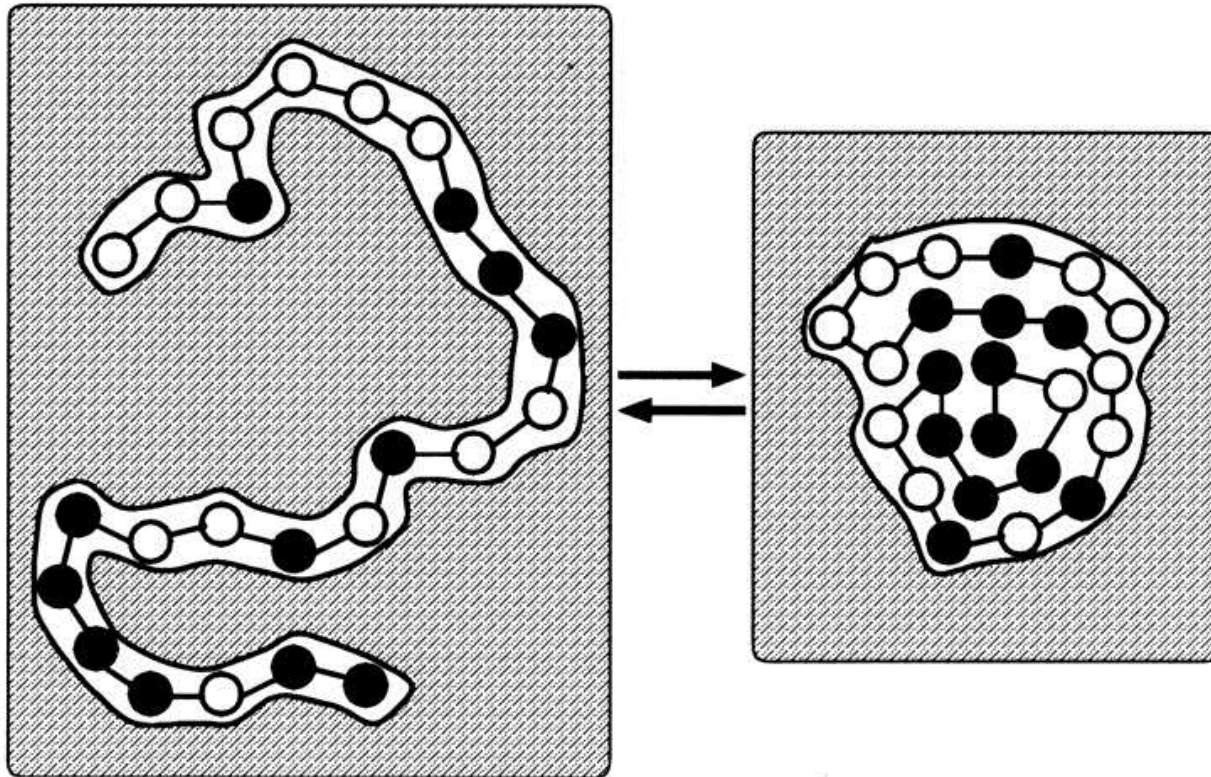
Pozitivno nabite skupine: N-konec, stranske skupine Lys, Arg, His ($pK_a = 6$)

Negativno nabite skupine: C-konec, stranske skupine Asp, Glu, Cys ($pK_a = 8$), Tyr ($pK_a = 10$)



Stabilizacija strukture proteinov

Hidrofobni efekt – interakcija hidrofobnih stranskih skupin z vodo je energijsko neugodna. Pakiranje takih skupin v notranjost proteina je pomembna gonilna sila zvižanja proteinov.



Stabilizacija strukture proteinov

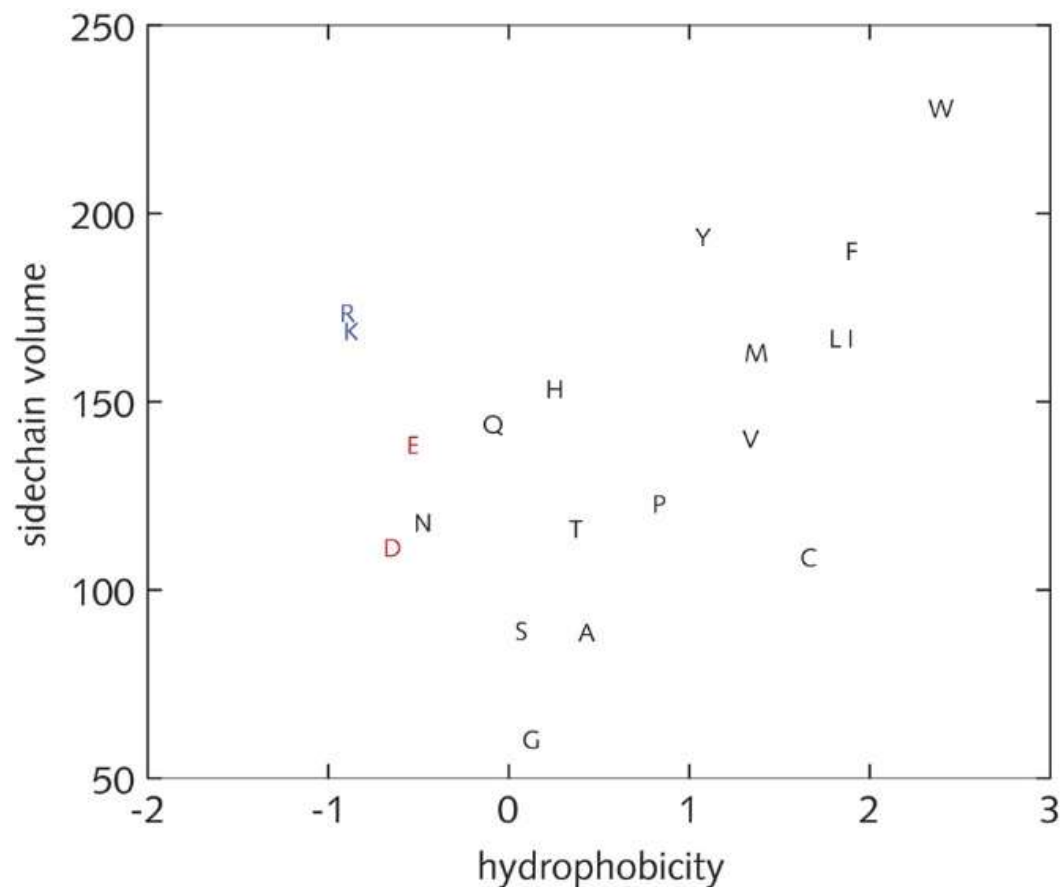
Hidrofobni efekt – voda okoli nepolarnih molekul tvori kletko (klatratni kompleks), ki je bolj urejen kot sama voda, kar je energetsko neugodno.



Model molekule metana v vodni kletki.

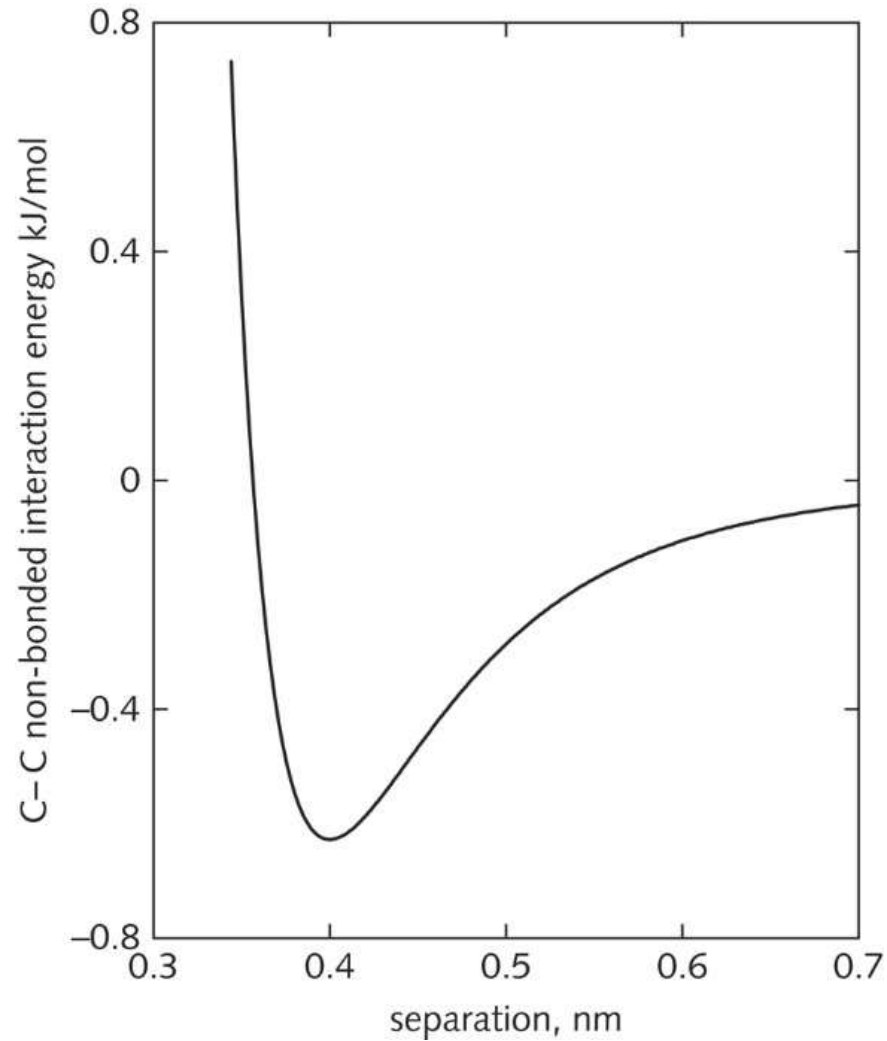
<http://www.homepages.ucl.ac.uk/~ucfbanf/research/clathrate.htm>

Skala hidrofobnosti aminokislin



Stabilizacija strukture proteinov

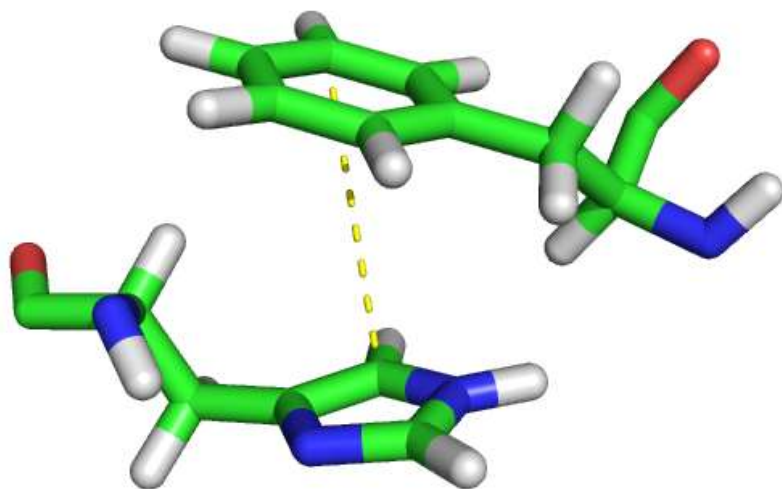
Van der Waalove sile – v notranjosti proteina prispevajo k pakiranju proteina v kompaktno strukturo. So kratkosežne.



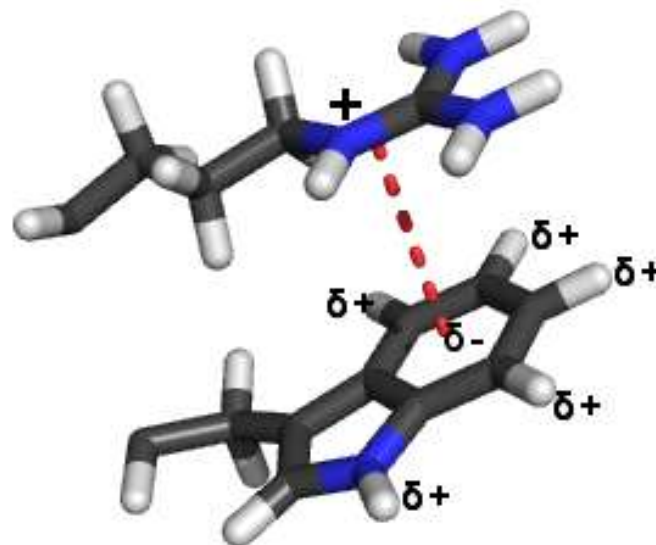
Stabilizacija strukture proteinov

π -interakcije (aromske interakcije) – so daljnosežne (vsaj do 6-7 Å).

π - π interakcije
(π - π stacking)



kation- π interakcije



najpogosteje med Arg in Trp
energija primerljiva s H-vezjo

Stabilizacija strukture proteinov

π -interakcije (aromske interakcije) – so daljnosežne (vsaj do 6-7 Å).

Primer: kation- π interakcija v glukoamilazi iz *Aspergillus awamori*. Energija interakcije je -92 kJ/mol.

