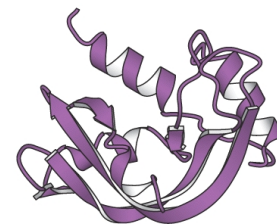
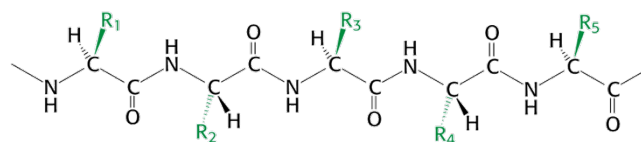
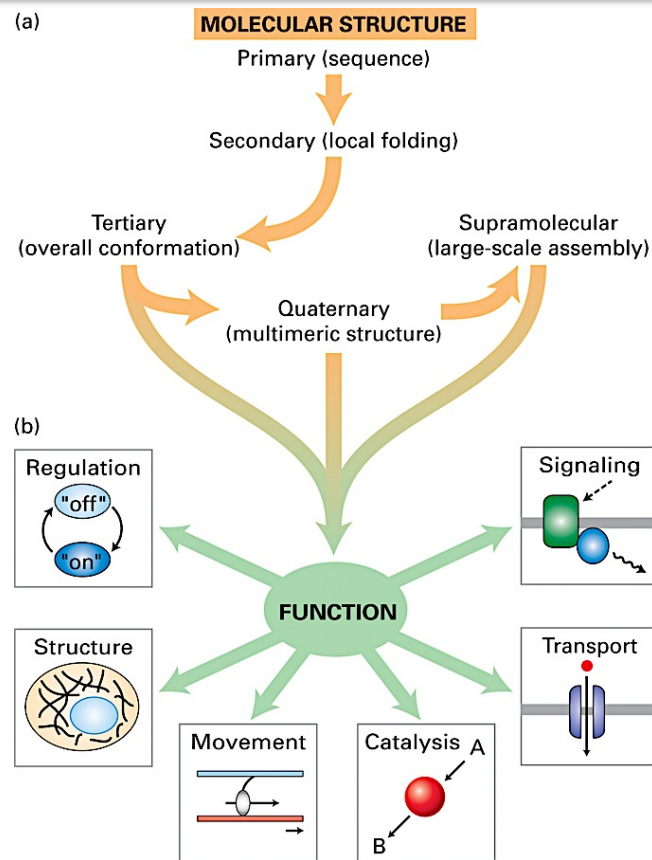


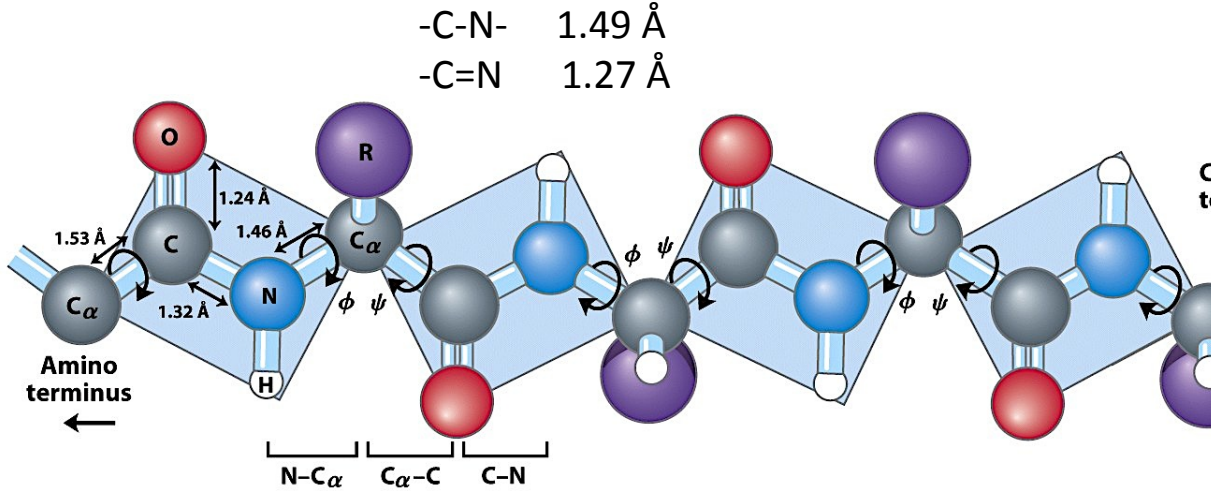
PROTEINI:

- proteini razdeljeni glede na vlogo
- proteom kvasovke 6000 proteinov
- človeški proteom 32.000 proteinov
- štiri ravni proteinske strukture
- Kako se kovalentno povezane ak zviijejo v točno določeno 3D strukturo (nativno konformacijo)

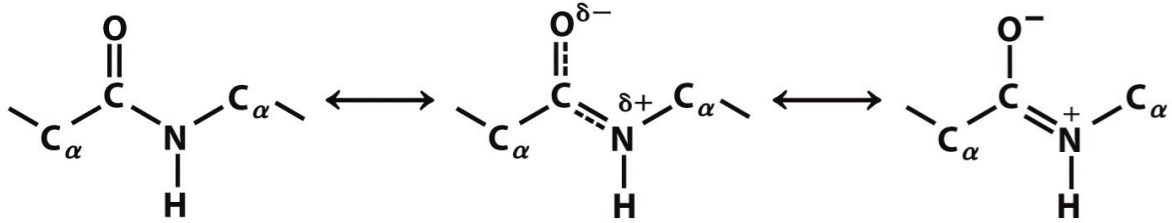


PROTEINI: peptidna vez - zgradba

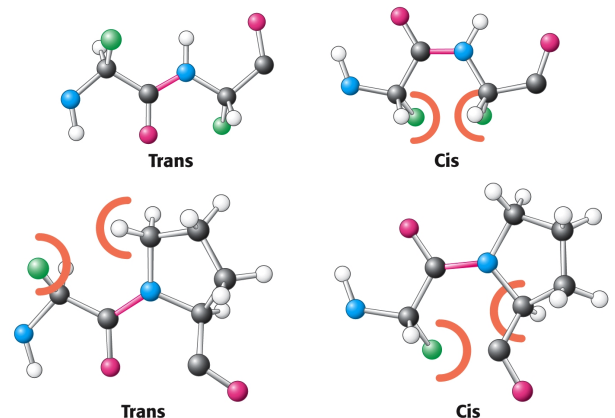
- peptidne vezi imajo pomembno vlogo pri 3D strukturi
 - C-N vez je krajša
 - značaj dvojne vezi
 - resonančna struktura
 - elektronski par si delita kisik karbonilne sk. in dušik
 - električni dipol
 - -C=O in -N-H v trans položaju
 - stranske skupine v trans položaju (izjema Pro)



- 6 atomov v ravnini
- peptidna vez je toga in planarna struktura
- rotacija okoli peptidne vezi ni mogoča

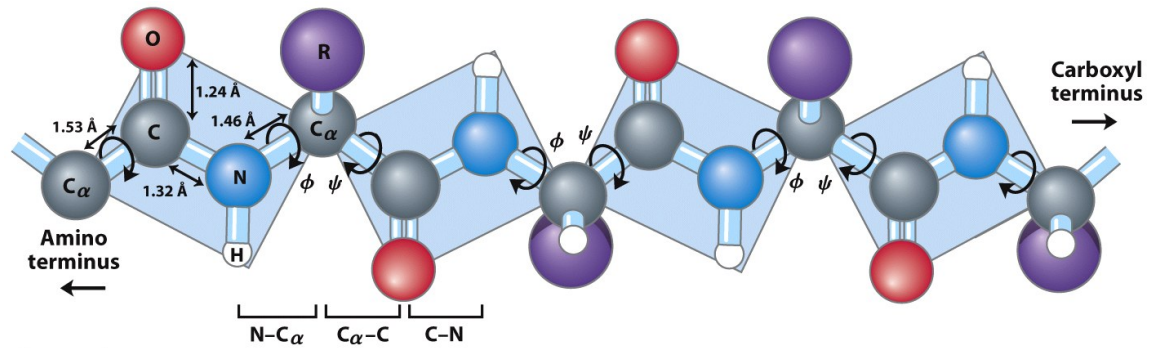


- zaporedje rigidnih plošč
 - rotacija N-C_α in C_α-N
 - kota φ (phi) in ψ (psi)
 - po konvenciji sta kota 180°, ko je peptid v iztegnjeni konformaciji
 - po rotaciji lahko dosežeta -180°
 - prosta rotacija ni mogoča zaradi steričnih ovir verige in R

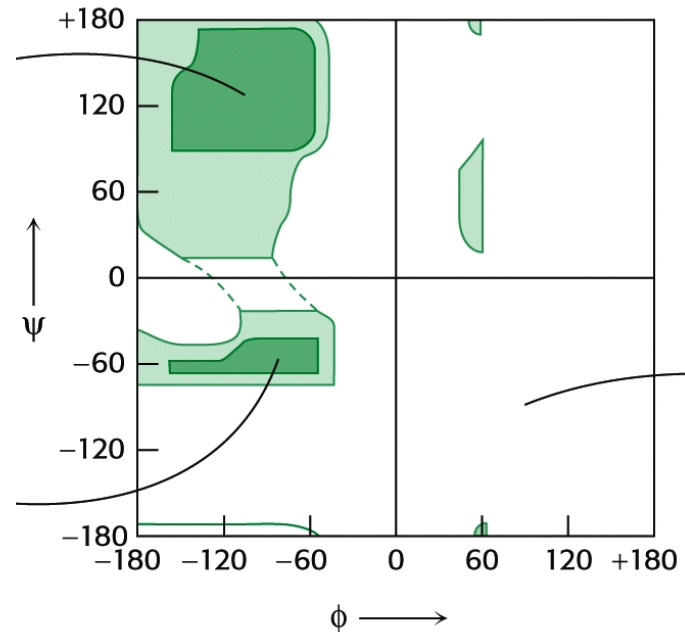


PROTEINI: peptidna vez – Ramachandranov diagram

- analiza 3D struktur
- omejena rotacija
- konformacije so možne le tiste, kjer ni steričnih ovir

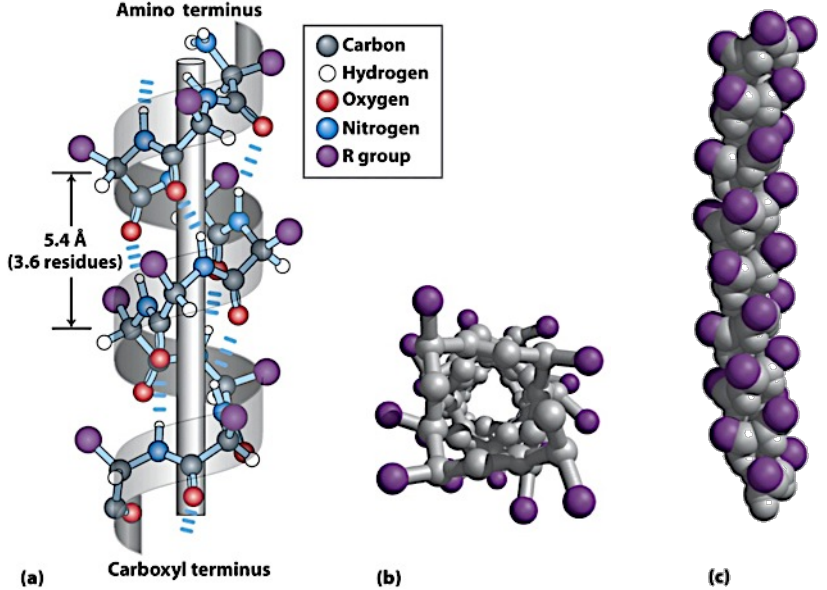


- Ramachandranov diagram:
 - temno zelene regije označujejo dovoljene konformacije
 - svetlo zelene označujejo konformacije z omejitvami
 - belo so konformacije, ki niso dovoljene



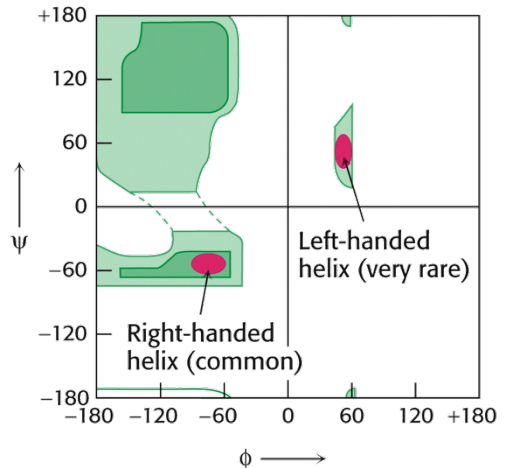
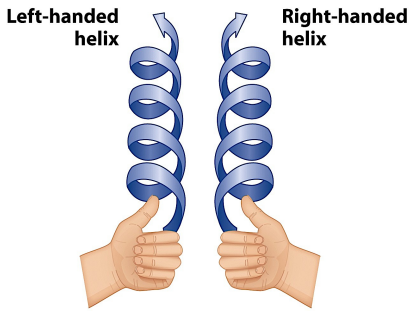
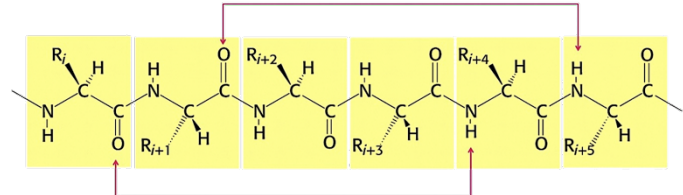
PROTEINI: sekundarna struktura – lastnosti α -vijačnice

- sekundarna struktura se nanaša na lokalno konformacijo polipeptidne verige
- v nepolarnem okolju je del polarnega polipeptidnega ogrodja (-C=O in -N-H)
- nevtralizacija s H-vezmi
- α -vijačnica in β -struktura, β -zavoj



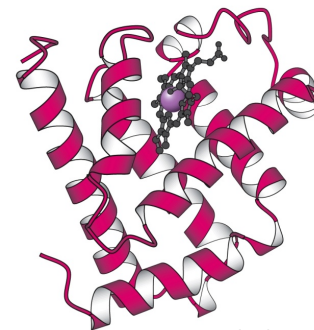
α -vijačnica

- paličasta struktura
- desna vijačnica
- stabilizacija z H-vezmi (1 \rightarrow 4)
- H-vezi so vzporedne z osjo vijačnice
- iz strukture štrlijo R
- med R ni H-vezi
- en obrat 3,6 ak in 5,4 Å

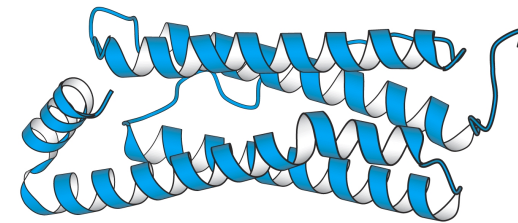


PROTEINI: sekundarna struktura – lastnosti α -vijačnice

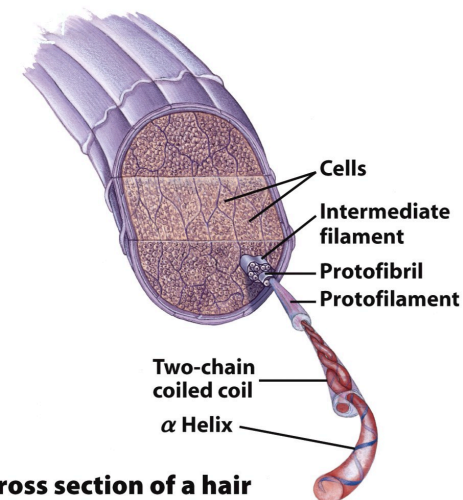
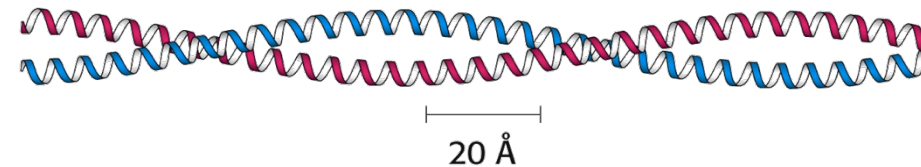
- dolžina in delež α -vijačnice v globularnih proteinih se razlikuje od proteina do proteina
 - Mb, feritin 75%
- dimenzije:
 - 1 obrat 3,6 ak in 5,4 Å
 - 5 obratov 18 ak in 27 Å
 - 12 obratov 53 ak in 80 Å
- α -vijačnica v fibrilarnih proteinih
 - 650 ak, 1000 Å
- **α -keratin**
 - sesalci, ptiči, plazilci
 - lasje, nohti, rogovi, kopita, peresa
 - fibrilarni protein za mehansko oporo
 - veliko S-S povezav (trajna)
 - dimer \rightarrow protofilament \rightarrow mikrofilril



mioglobin



feritin



PROTEINI: sekundarna struktura – stabilnost α -vijačnice

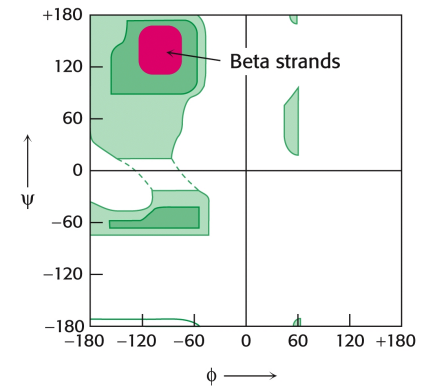
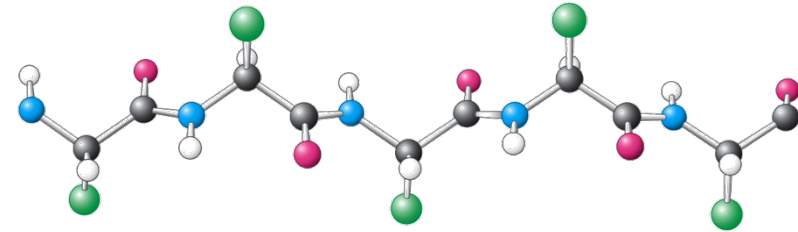
- za stabilnost α -vijačnice predstavljajo omejitve:
 - ak z velikimi R
 - ak z nabitimi R
 - Pro (ne sodeluje pri H-vezi)
 - več Gly destabilizira vijačnico

[\$\alpha\$ -vijačnica pyMOL](#)

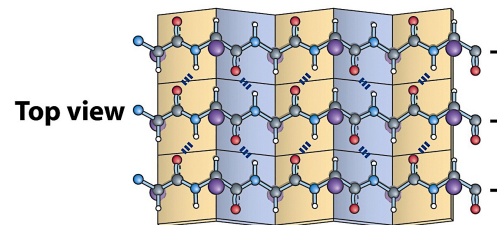
PROTEINI: sekundarna struktura – lastnosti β -strukture

- β -struktura
 - iztegnjena polipeptidna veriga
 - koti Φ in ψ
 - H-vezi med (-C=O in -N-H) se tvorijo
 - med predeli iste verige
 - med predeli različne verige
 - nastanek ploskve

- usmerjenost verig (N \rightarrow C oz. C \rightarrow N) omogoča nastanek:
 - paralelne β -strukture
 - antiparalelne β -strukture
 - bolj pogosta
 - stabilnejša

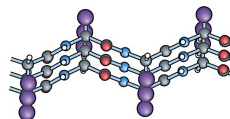


Parallel

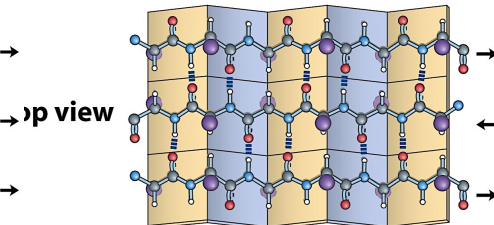


Top view

Side view

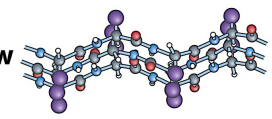


antiparallel



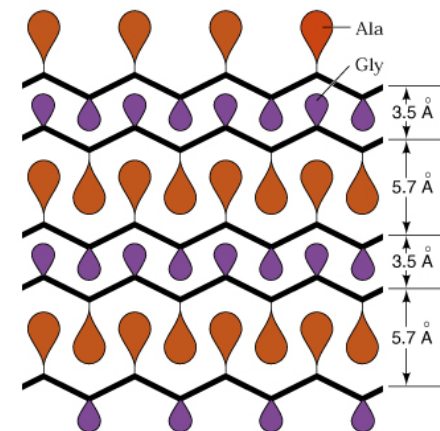
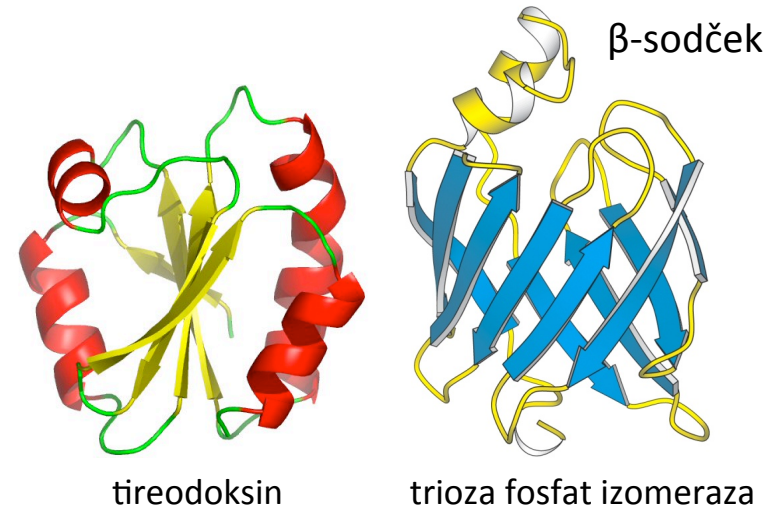
Top view

Side view



PROTEINI: sekundarna struktura – lastnosti β -strukture

- velikost β -ploskev in delež β -ploskev v globularnih proteinih se razlikuje od proteina do proteina
 - najpogostejše število je 2-5 (do 10)
 - β -sodček
- glavna omejitev pri nastanku β -ploskev so stranske verige
 - preferenca ak z majhnimi R (Ala, Gly)
- **fibroin**
 - primer fibrilarnega proteina
 - vlakna svile, pajkova mreža
 - Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-ser

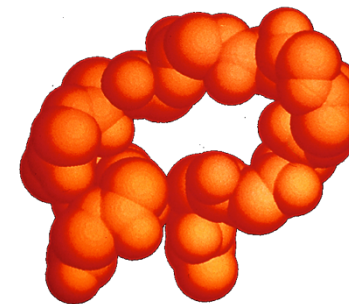
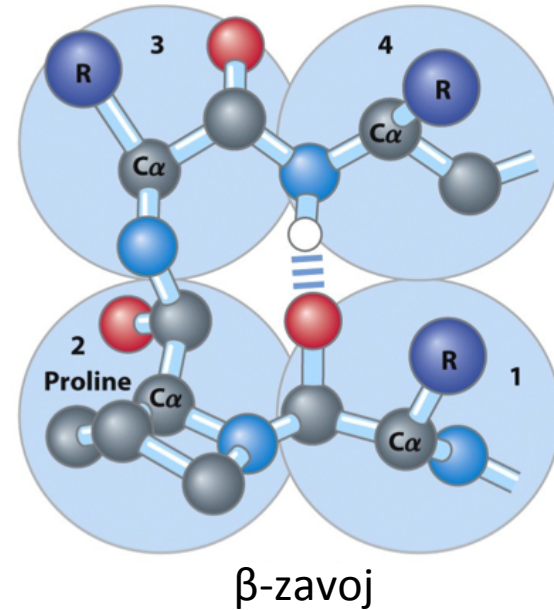


[β-struktura PyMOL](#)

[fibroin sodček PyMOL](#)

PROTEINI: sekundarna struktura – β -zanke

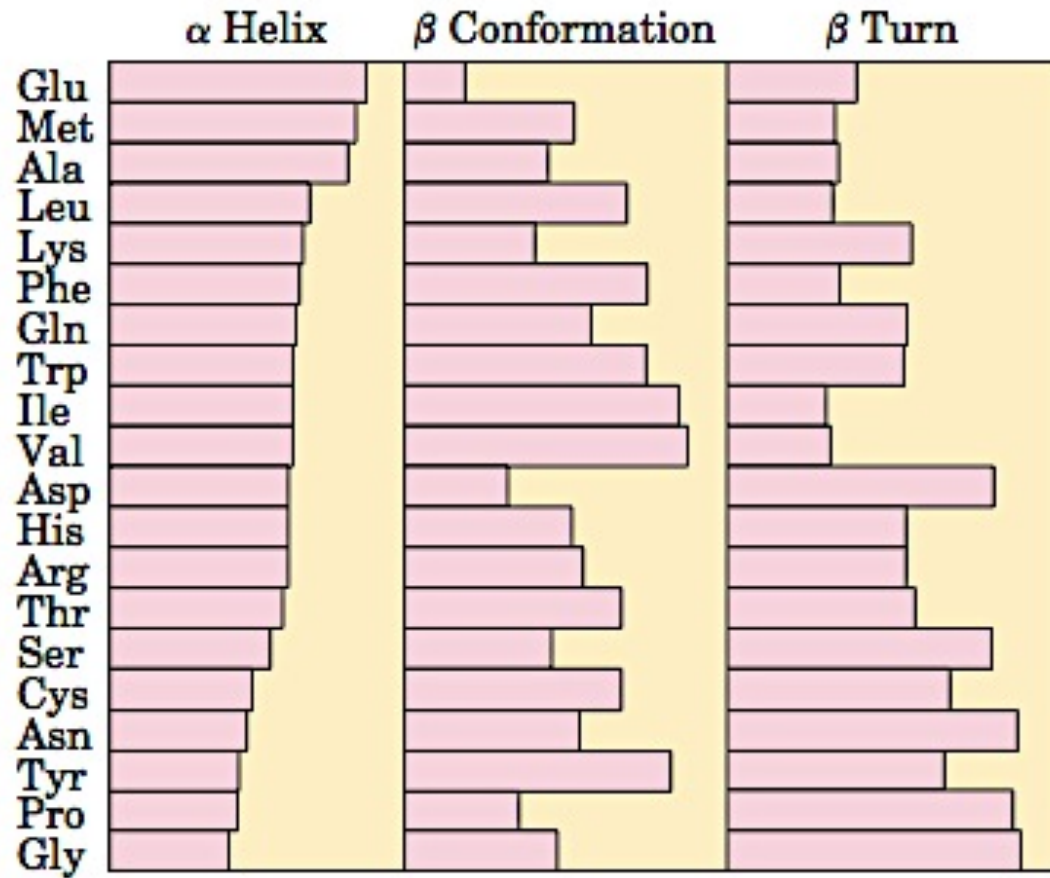
- proteini so globularne kompaktne strukture
- zavoji in zanke na površini so pomembne:
 - veriga spremeni smer
 - povezujejo predele urejenih sekundarnih struktur
- β -zanke, β -zavoj, β -lasnica
 - 4 ak
 - H-vez med prvo in četrto ak
 - rigidna struktura
 - Gly, Pro
- Ω -zavoj
 - večje zanke
 - namenjene interakcijam in prepoznavanju



Ω -zavoj

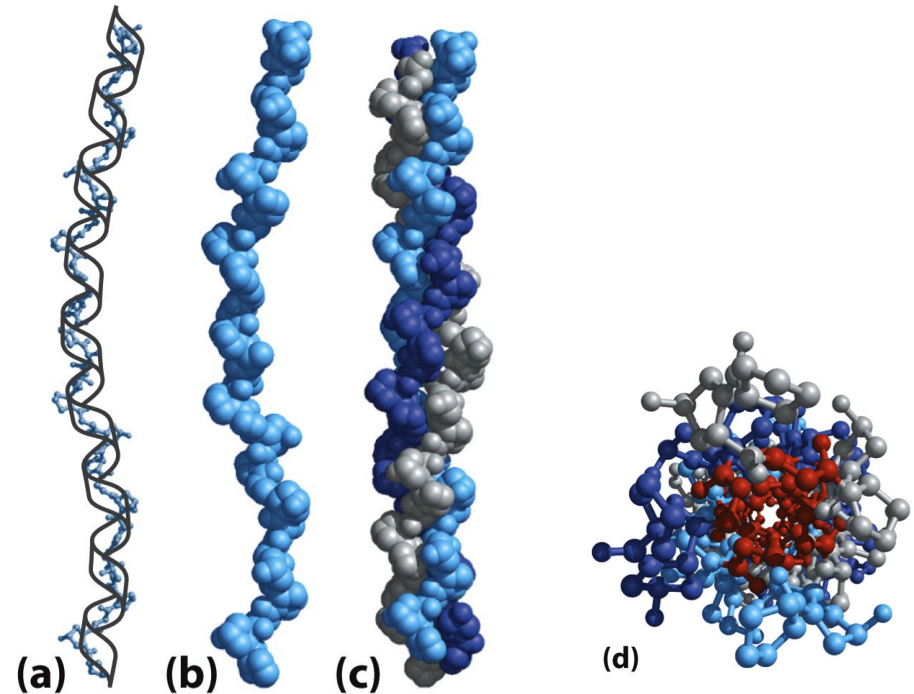
PROTEINI: sekundarna struktura

- verjetnost posameznih ak v sekundarnih strukturah



PROTEINI: sekundarna struktura - kolagen

- kolagen
- fibrilarni protein (3000 Å, 15 Å)
- trojna vijačnica
- najpogostejše oblike kolagena
 - kolagen I (ligamenti, vezi)
 - kolagen II (hrustanec)
 - kolagen II (arterije, črevo, uterus)
 - kolagen IV (bazalna lamina)
- zgradba
 - značilno ponavljajoče zaporedje
 - Pro-Gly-X
 - Hyp-Gly-X
 - iztegnjena vijačnica
 - leva vijačnica (3ak/obrat)
 - \neq α -heliks, ni H-vezi
 - trojno-vijačni heliks stabiliziran s
 - H-vezmi
 - kovalentno vezjo med Lys in His
- napake v strukturi
 - imperfektna osteogeneza (krhkost kosti)
 - “gumijasti človek”



PROTEINI: nadsekundarna struktura - motivi

- elementi sekundarnih struktur se nadalje lahko povežejo v stabilne in geometrijsko urejene strukture

- motiv $\alpha\alpha$

- povezan s funkcijo
 - vezava na DNA
 - vezava Ca^{2+}



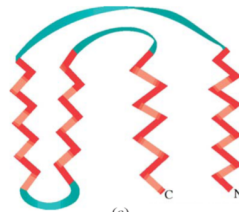
- motiv $\beta\beta$

- antiparalelni verigi povezani z zanko
- povezava z biološko vlogo ni poznana

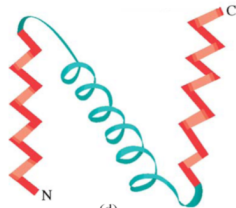


- motiv grškega ključa

- prisoten v številnih proteinih



- motiv $\beta\alpha\beta$

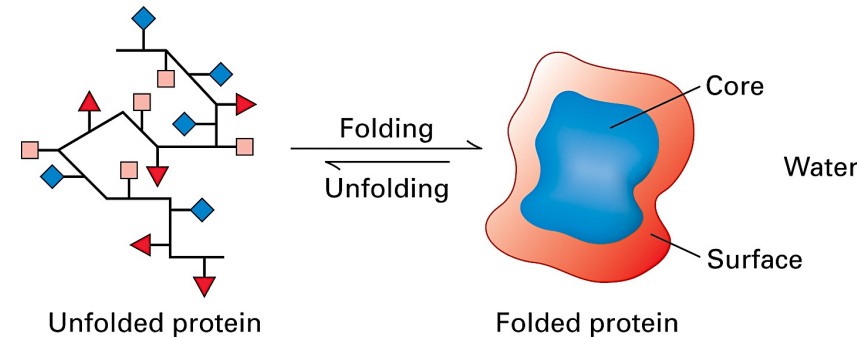


- β -sodček



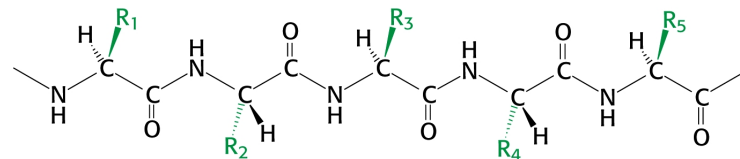
PROTEINI: terciarna struktura – 3D konformacija proteina

- terciarna struktura opiše položaj vseh atomov v prostoru
- elementi sekundarne strukture in predeli neurejene strukture se zložijo v kompaktne strukture (nativna konformacija)
- voda je iz strukture izključena
- stabilizacijske sile
 - nekovalentne vezi
 - pri nekaterih strukturah še S-S vezi
- nativna konformacija je fleksibilna



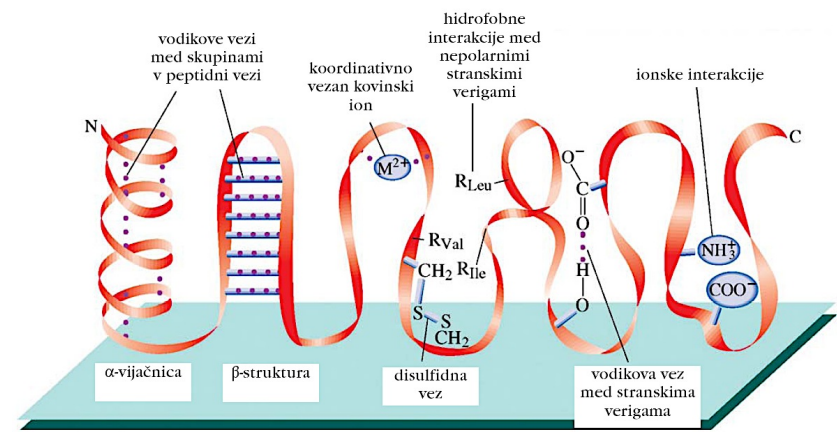
PROTEINI:

- terciarna struktura definira ureditev atomov v prostoru



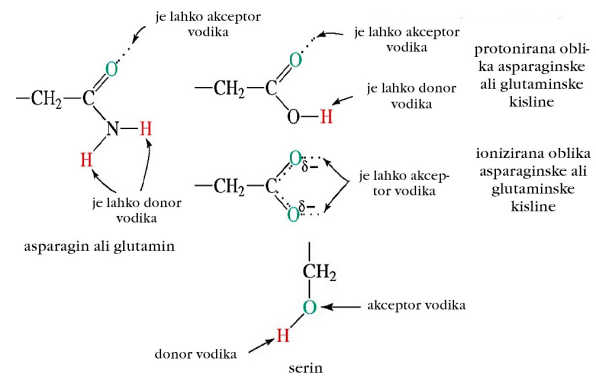
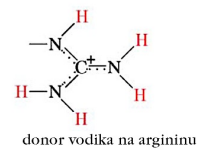
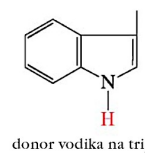
- težnja k zvijanju v vodi

- hidrofobni efekt
 - število neugodnih interakcij med hidrofobnimi ak in vodo je minimalno
 - število stabilizirajočih interakcij med proteinom in vodo maksimalno



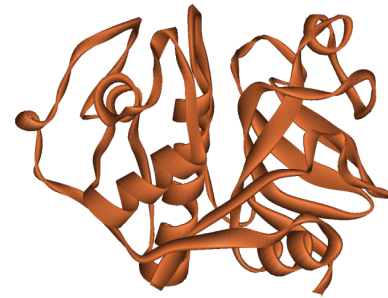
- nekovalentne interakcije

- H-vezi
- ionske vezi
- van der Waalsove vezi
- hidrofobne vezi

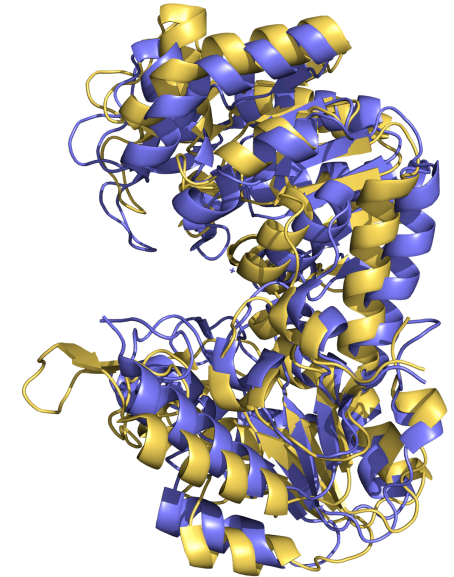


PROTEINI: terciarna struktura – domene, motivi

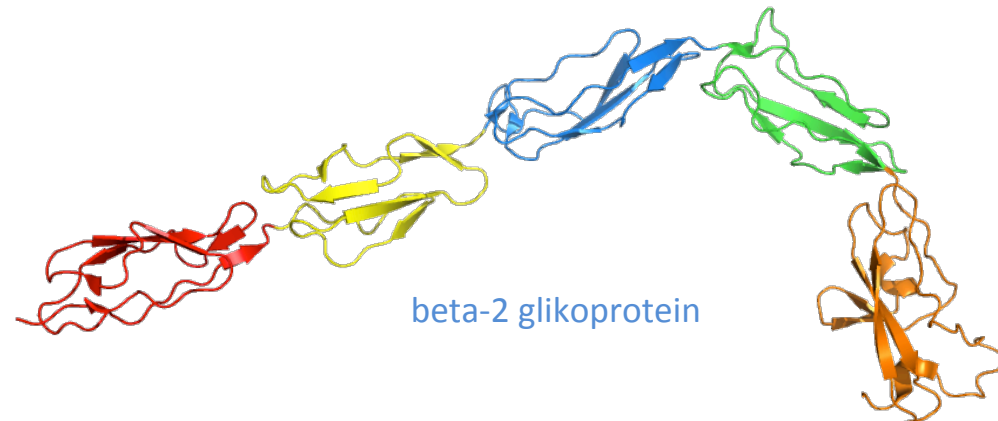
- globularni proteini zavzamejo različne terciarne strukture
- v strukturah ni simetrije
- večji proteini so organizirani v **domene**
- **moduli**, kot samostojne globularne enote (običajno povezano s funkcijo)
- majhni proteini brez hidrofobnega jedra



papain



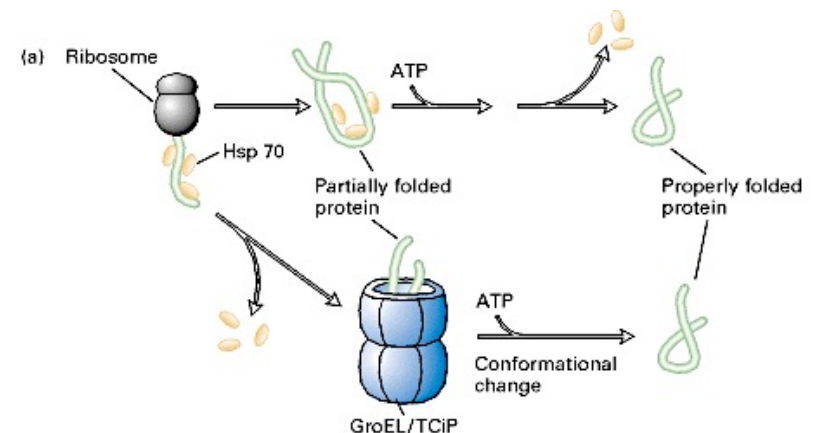
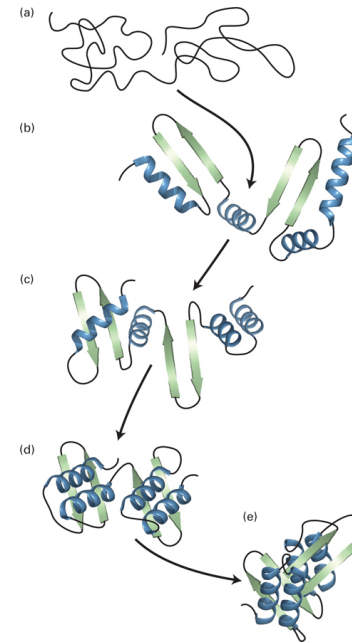
fosfoglicerat-kinaza



beta-2 glikoprotein

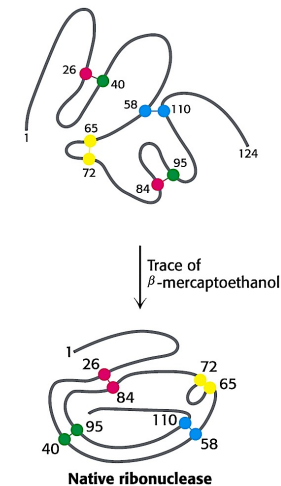
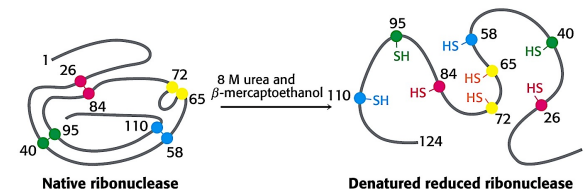
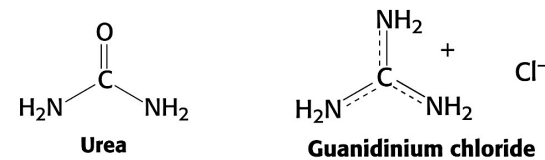
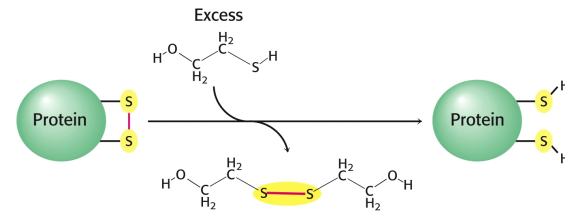
PROTEINI: terciarna struktura – proteinsko zvijanje

- primarna struktura daje informaciju za terciarno strukturo
- zvijanje proteina je stopenjski proces
 - najprej lokalne sekundarne strukture
 - sledi nalaganje okoli nastalega jedra
- proces je kooperativen
 - vsaka stopnja olajša tvorbo novih ugodnih interakcij
 - S-S vezi se vzpostavijo na koncu
- vsi proteini se ne zvijejo spontano
 - šaperoni
 - šaperonini
 - ATP



PROTEINI: terciarna struktura – razvijanje proteina

- ali se lahko nativni protein razvije?
- reducenti
 - β -merkaptanol, ditiotretitol, cistein
- denaturanti:
 - organska topila (etanol, aceton)
 - urea
 - gvanidinijev klorid
 - detergents
 - kisline, baze
- denaturacija proteina
 - ireverzibilna (jajce)
 - reverzibilna
- porušitev sekundarne in terciarne (kvartarne strukture)
- razbijejo se nekovalentne interakcije
- izguba biološke aktivnosti
- renaturacija?
- primer ribonukleaze
 - 8 Cys \rightarrow 105 možnih povezav
 - 104 napačnih



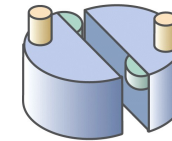
PROTEINI: kvartarna struktura

- številni iz ene same polipeptidne verige (**monomerni**)
- večji proteini sestavljeni iz več verig (**oligomerni, multimerni**) 2-več 100 verig
- posamezne verige – **podenote**
 - identične (homotipična struktura)
 - različne (heterotipična struktura)
 - vse imajo svojo primarno, sekundarno in terciarno strukturo
- združitev podenot v funkcionalni protein je **kvartarna struktura**
- podenote so med seboj povezane z nekovalentnimi vezmi
- podenote so simetrično organizirane
 - ciklična simetrija
 - dihedralna simetrija
 - tetraedrična, ikozaedrična simetrija (20 trikotnih ploskev)



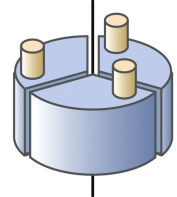
hemoglobin

Twofold



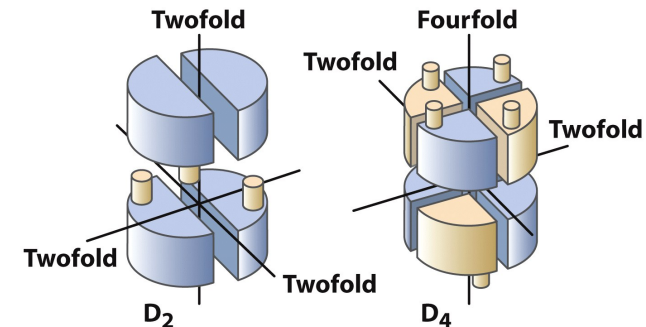
C_2

Threefold

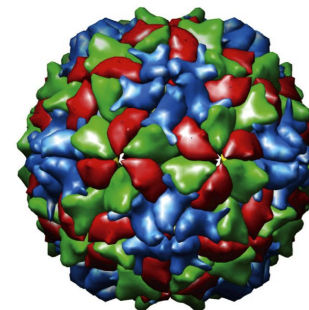


C_3

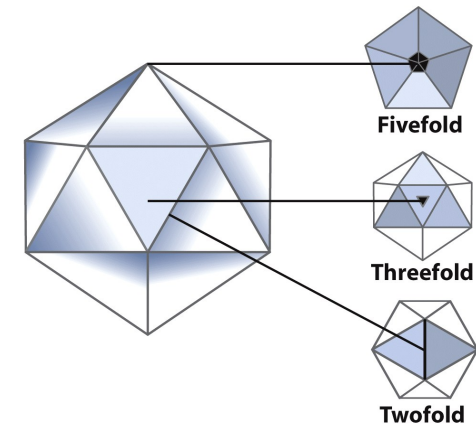
Two types of cyclic symmetry



Two types of dihedral symmetry



poliovirus

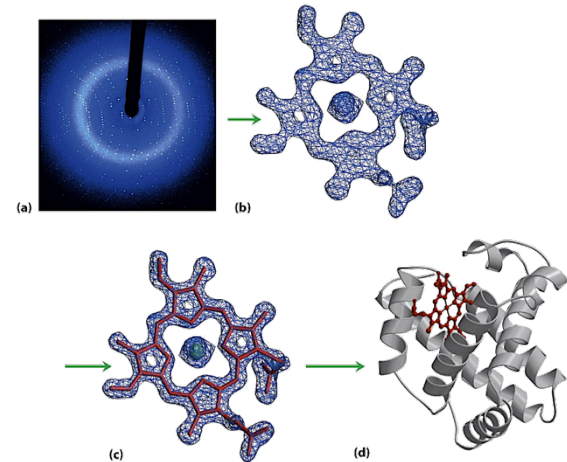
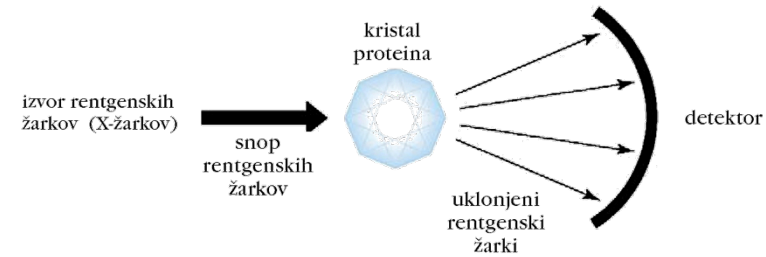


Icosahedral symmetry

PROTEINI: določanje 3D strukture proteinov

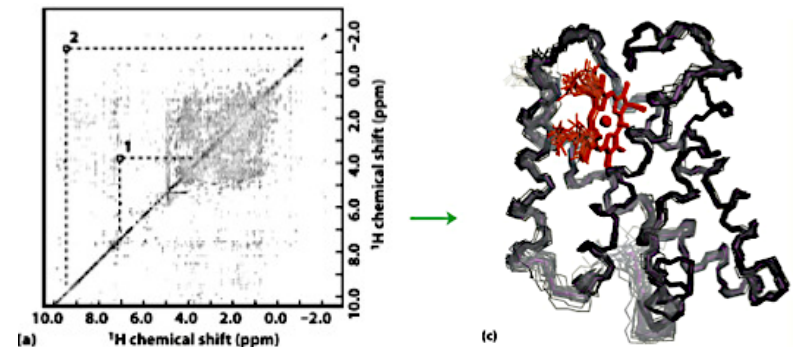
- **rentgenska difrakcijska analiza**

- potrebe
 - kristal proteina
 - izvor rentg. žarkov (X-žarki)
 - detektor
- difrakcijski vzorec po uklonu žarkov
- izračun mape elektronske gostote
- struktura v kristalu



- **NMR (jedrska magnetna resonanca)**

- potrebe
 - izotopsko označen protein v raztopini
 - NMR spektrometer
- struktura v raztopini
- dvo- ali večdimenzionalni spektri, ki predstavljajo kemijske premike posameznih atomov



PROTEINI: Mb/Hb - struktura

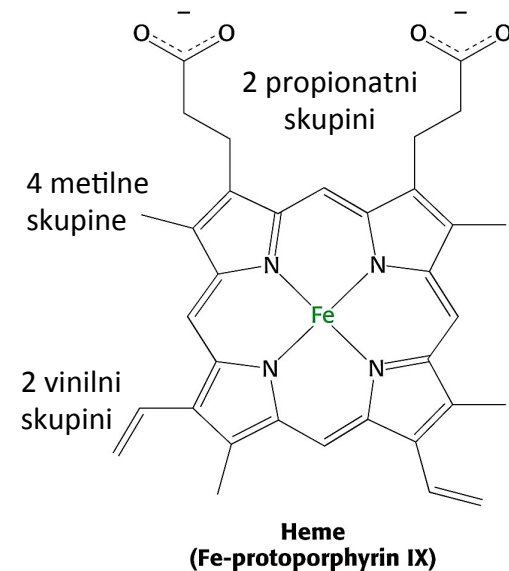
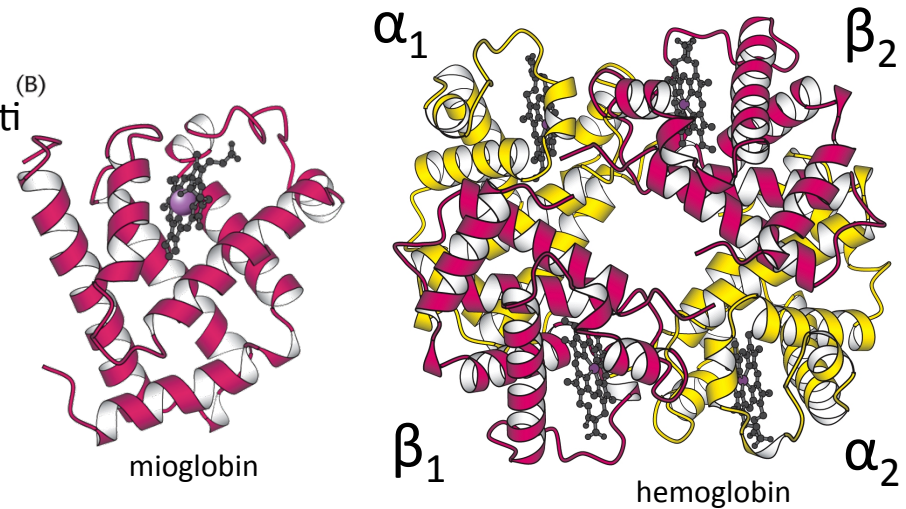
- biološka vloga
 - Hb, prenos kisika na daljše razdalje, eritrociti
 - Mb, lokalna rezerva kisika, srce in skeletne mišice

- struktura

- pretežno helična struktura
- Mb, vedno monomerni protein
- Hb, prvi poznani oligomerni protein
 - HbA
 - Hb odraslega
 - dve α in dve β podenoti
 - podenoti sta homologni
 - HbF
 - fetusni Hb
 - dve α in dve γ podenoti
 - podenoti homologni
- vse oblike imajo hidrofobni žep

- prostetična skupina hem

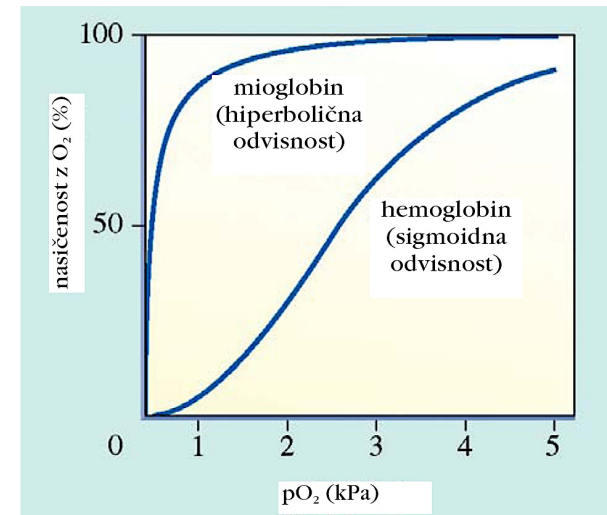
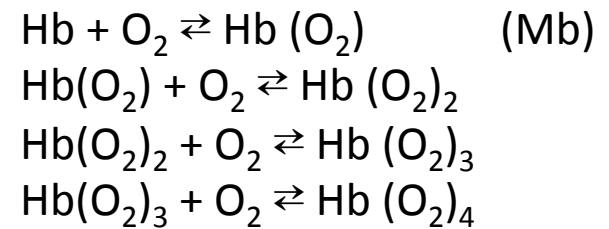
- planarni porfirinski obroč
- s koord. vezmi vezan Fe^{2+}
- nameščen v hidrofobno režo podenote
- Fe^{2+} dodatno stabiliziran s koordinativno vezjo z dušikom His
- Fe^{2+} veže O_2 ,
- metHb ima vezan Fe^{3+} , ni sposoben vezave O_2



4 pirolovi obroči povezani z metilenskim mostom

PROTEINI: Mb/Hb – vezava kisika

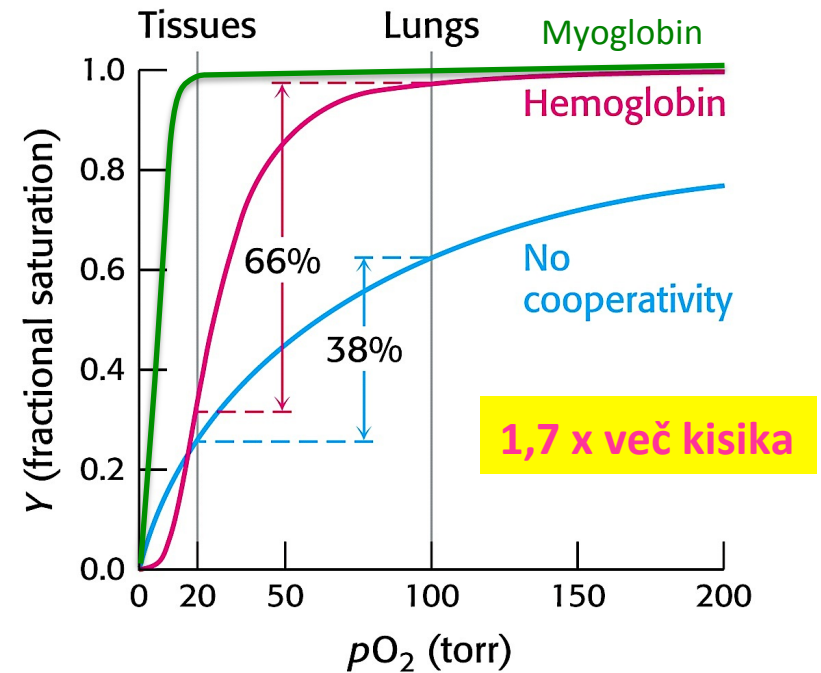
- reakcija vezave kisika na Hb in Mb
 - reverzibilna vezava O₂
- krivulja vezave kisika na Hb in Mb
 - Mb
 - hiperbolična odvisnost (veže samo 1 ligand)
 - pomaknjena v levo → večja afiniteta do O₂
 - Hb
 - sigmoidna odvisnost (veže več ligandov)
 - pomaknjena v desno, manjša afiniteta
 - deoksiHb ima majhno afiniteto do O₂
 - po vezavi prve molekule → konformacijske spremembe v ostalih podenotah (**kooperativni efekt**)
 - sporočilo se prenese na druge podenote (**alosterične interakcije**)
 - sproščanje vezanega kisika je kooperativno



$$\text{nasicenost (y)} = \frac{\text{zasedena mesta}}{\text{st. vseh vezavnih mest}}$$

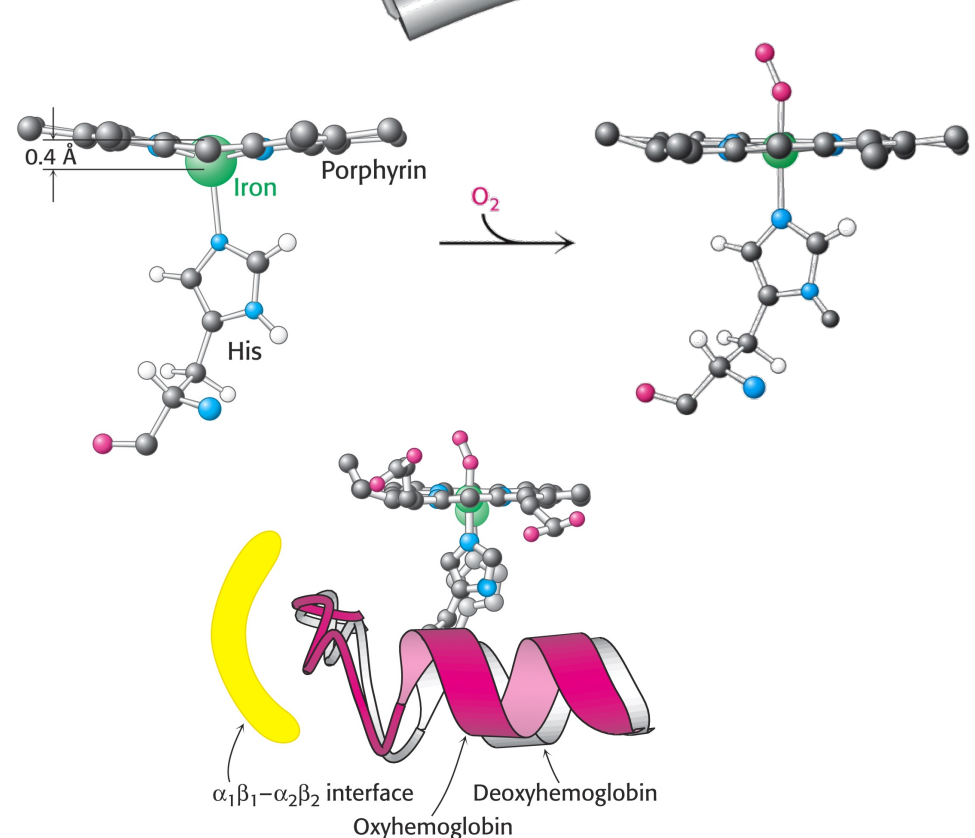
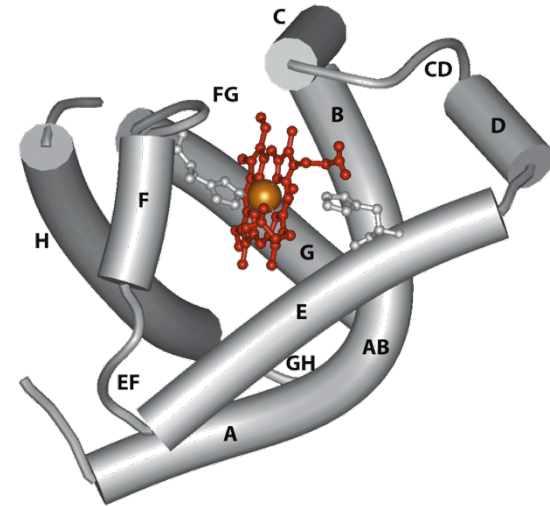
PROTEINI: Hb – fiziološki pomen kooperativne vezave O₂

- kisik se prenaša po krvi
 - od pljuč pO₂ (100 torov)
 - do tkiva pO₂ (20 torov)
 - v pljučih ~ 98% vezavnih mest zasedenih
 - v tkivu ~ 32% vezavnih mest zasedenih
 - 66% kisika se odpusti v tkivu
- nekooperativni efekt (modro)
- kooperativna vezava O₂ omogoči za 1,7x večje dostavljanje O₂
- mioglobin kot prenašalec (zeleno)
 - odpusti se 2% kisika
- Kaj se dogaja na atomskem nivoju?



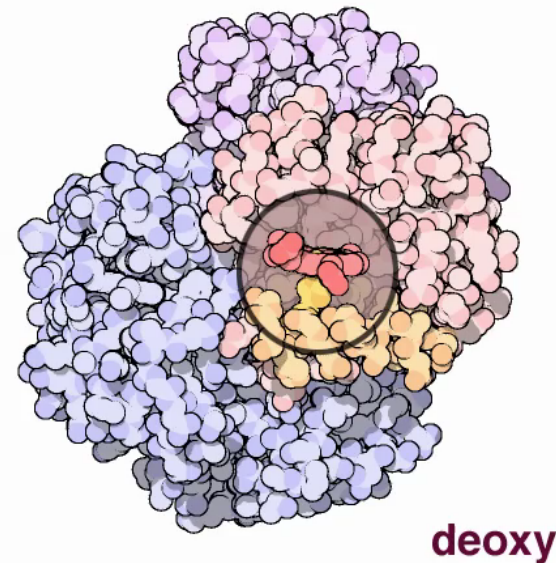
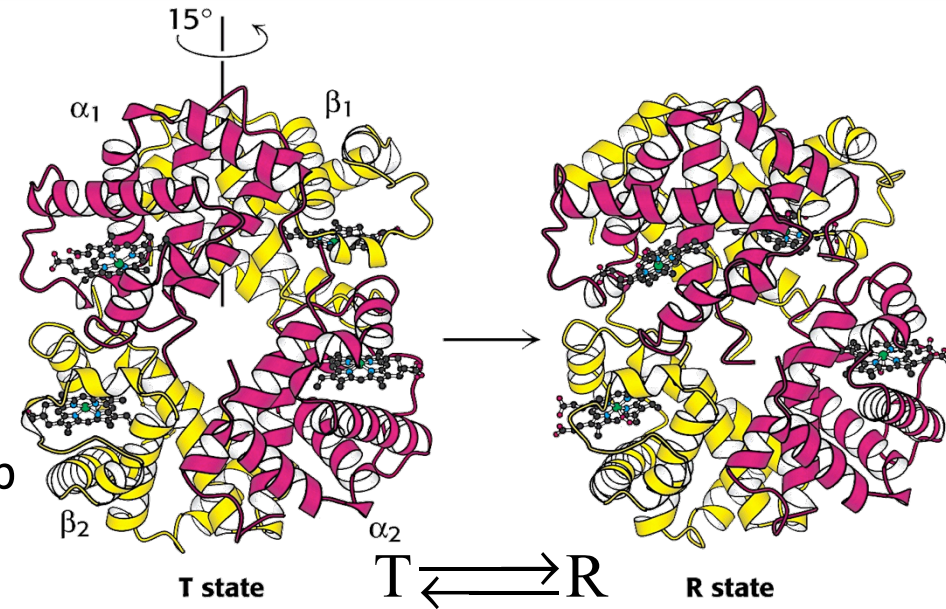
PROTEINI: Hb – kooperativni efekt

- hem v hidrofobnem žepu
- stabiliziran s koord vezjo His
- Fe ion je pri deoksi obliki 0.4 Å iz ravnine
- vezava O₂ pomakne Fe v ravnino porfirina
- His se tudi premakne, potegne še heliks
- karboksilni konec heliksa leži na stičišču αβ dimera
- prerazporeditev solnih mostičkov
- prerazporeditev položaja podenot



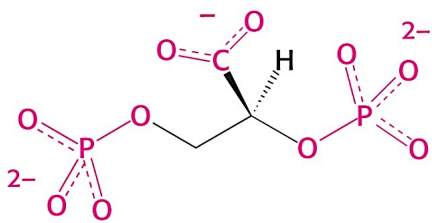
PROTEINI: Hb – kooperativni efekt

- z vezavo O_2 dobimo na Hb dve konformacijski stanji/obliki
 - rotacija $\alpha\beta$ dimera za 15°
- T (tense):
 - odsotnost substrata (O_2), deoksiHb
 - manjša afiniteta do substrata
- R (relax):
 - substrat (O_2) vezan (oksiHb)
 - večja afiniteta do substrata
- obe stanji v ravnotežju
- vezava O_2 na očiščen Hb bistveno močnejša kot na Hb v eritrocitih

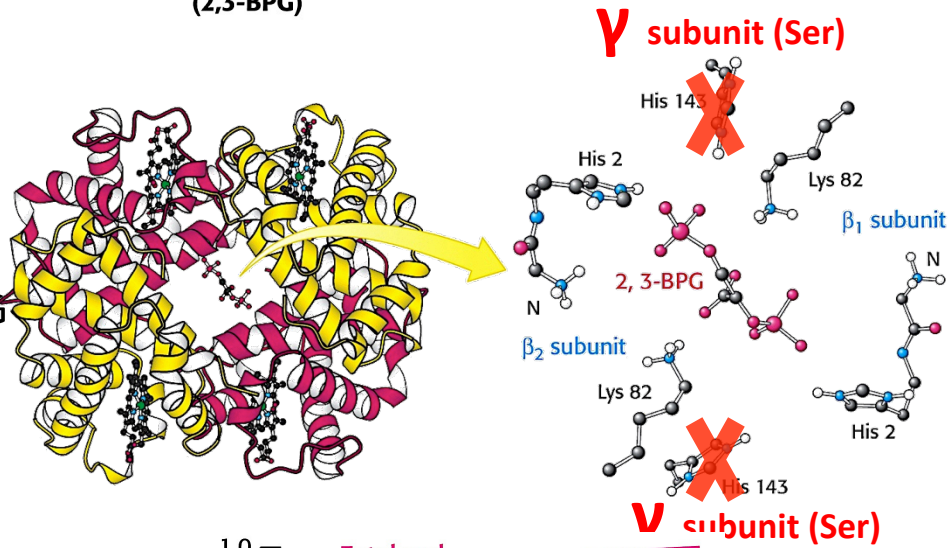


PROTEINI: Hb – bifosfoglicerat

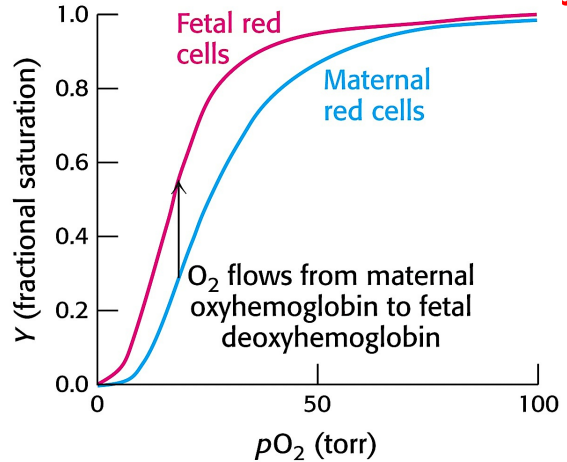
- izoliran Hb sprosti 8 % O₂
- Hb v eritrocitih sprosti 66 % O₂
- 2,3-bifosfoglicerat (2,3-BPG)
 - anionska molekula
 - naredi Hb učinkovit transporter
 - veže se v žep med vse štiri podenote
 - vezan stabilizira T stanje (↓ afiniteta do O₂)
 - pri prehodu T→R žep kolabira, 2,3-BPG izstopi (↑afiniteta do O₂)



2,3-Bisphosphoglycerate (2,3-BPG)

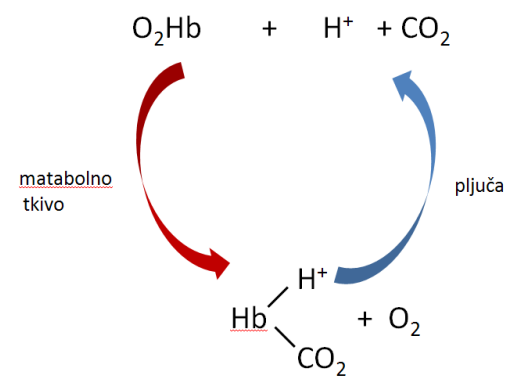
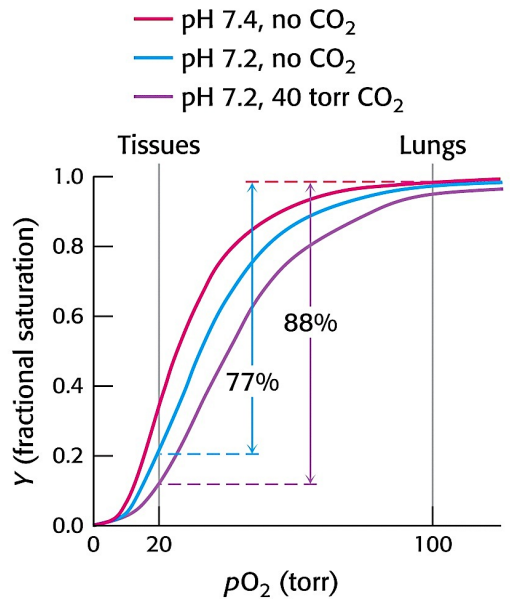


- drugi fiziološki pomen
 - HbF fetusni Hb (2α in 2γ podenoti)
 - γ-podenota mutacija His143→Ser
 - manj tesno vezan 2,3-BPG
 - afiniteta do O₂ nekoliko večja
 - dovolj, da fetus pobira O₂ ob materinega Hb (HbA)
 - prilagajanje na višinsko razliko



PROTEINI: Hb – alosterija

- alosterija opisuje spremembe v afiniteti do liganda zaradi vezave druge molekule na mesto, ki je oddaljeno od aktivnega mesta
 - alosterija ≠ kooperativnost
 - kooperativnost naredi krivuljo sigmoidno
 - alosterija premakne krivuljo v levo ali desno
 - alosterija vpliva na kooperativnost
 - alosterični efektorji:
 - homotropni, pozitivni
 - kisik
 - heterotropni, negativni:
 - 2,3 BPG
 - CO₂
 - reakcija z N-koncem
- $$\text{CO}_2 + \text{Hb-NH}_3^+ \longrightarrow \text{Hb-NH-COO}^-$$
- zmanjša se afiniteta do kisika
 - 15 % CO₂ se prenese na ta način
- protoni (Bohrov efekt)
 - pri nakisanosti tkiva (↓pH)
 - preusmerijo ravnotežje proti T stanju
 - vežejo se na ak



CO se z 200x večjo afiniteto veže na Fe²⁺ kot na O₂

PROTEINI: Hb – anemija srpastih celic

- 400 različnih oblik Hb
 - večina brez posebne klinične slike
- HbS
- odgovoren za anemijo srpastih celic
- Glu6→Val6 (na β -podenoti)
- značilna nizka topnost Hb
- obarjanje povzroči deformacijo krvničk

