

Структурно-функциональные  
основы протеомики.  
Вторичная структура и др.

Лекция 3

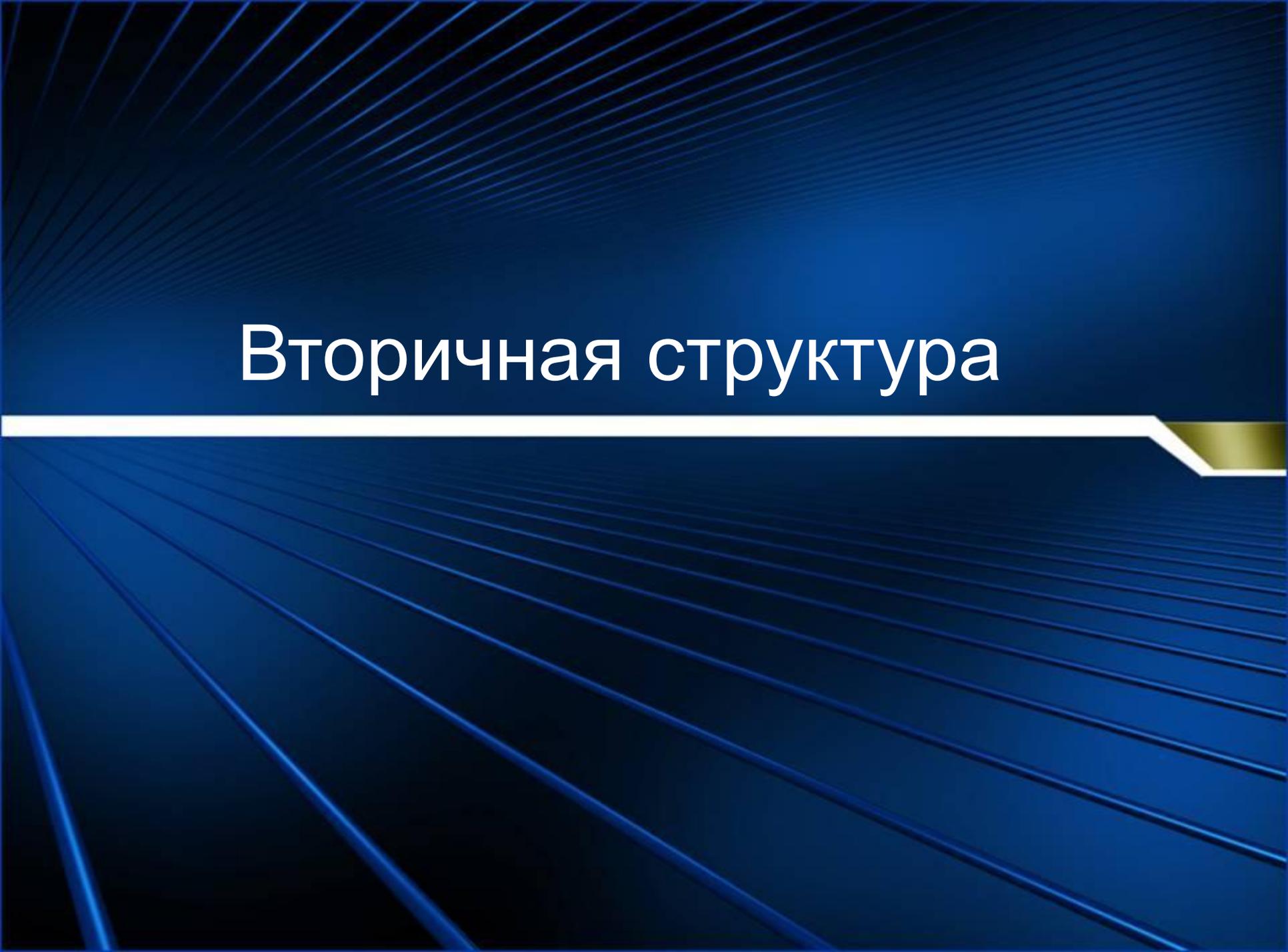


# План лекции



1. Вторичная структура
2. Третичная структура
3. Четвертичная структура

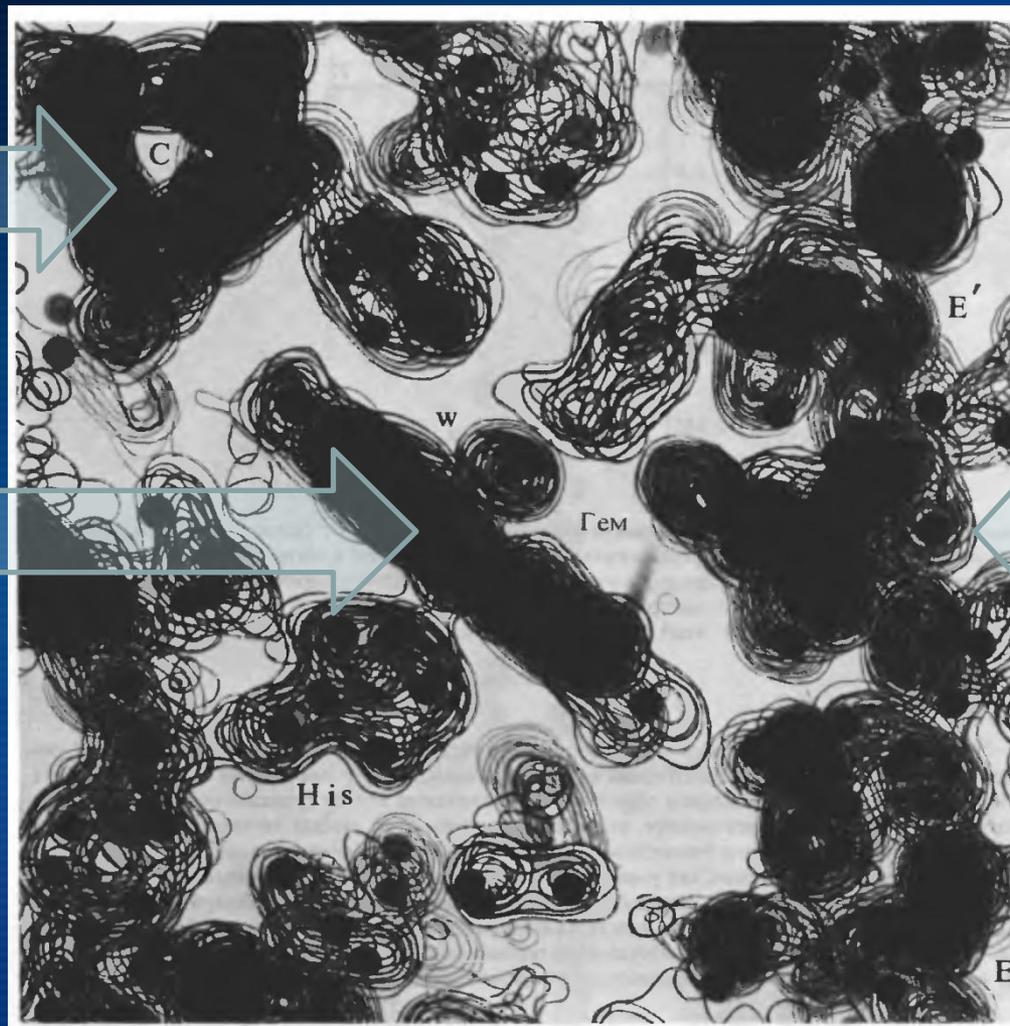
# Вторичная структура

The background features a dark blue gradient with a pattern of thin, parallel lines radiating from the top-left corner. A prominent white horizontal bar spans the width of the slide, ending on the right side in a gold-colored, folded-edge shape.

# Что можно увидеть на картах электронной плотности

Спираль  
(ось  
перпендикулярно  
плоскости рисунка)

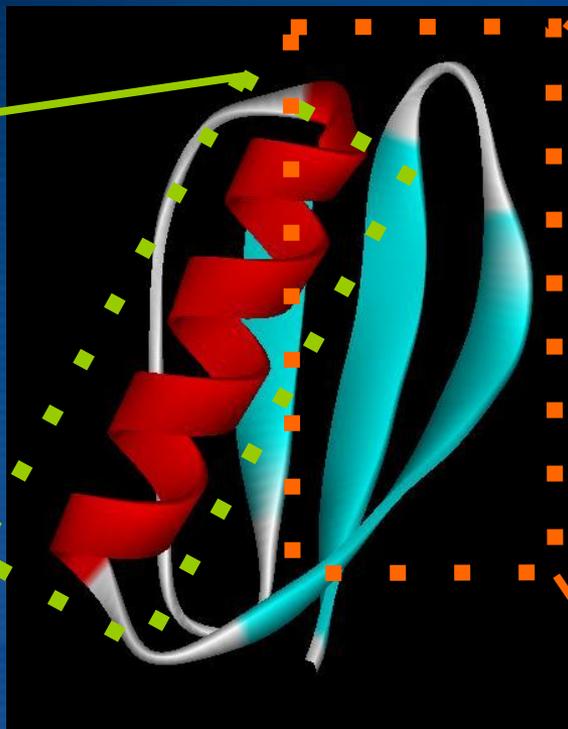
Гем  
(плоскость  
перпендикуляр  
но плоскости  
рисунка)



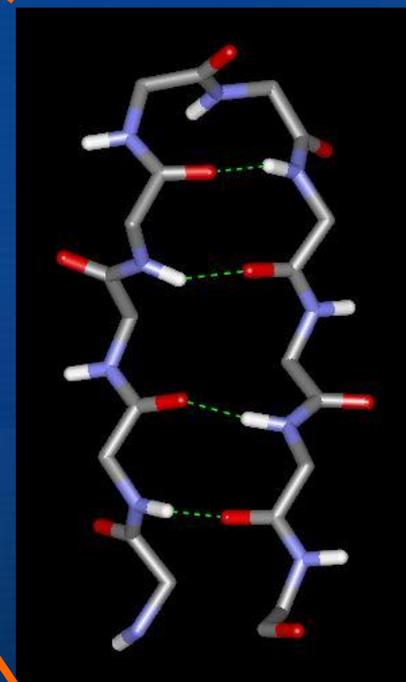
Спираль  
(ось в  
плоскости  
рисунка)

# Элементы пространственной организации белков

$\alpha$ -спираль



$\beta$ -слой



Вторичные структуры,  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -слой, содержат регулярные водородные связи.

# $\alpha$ -спираль

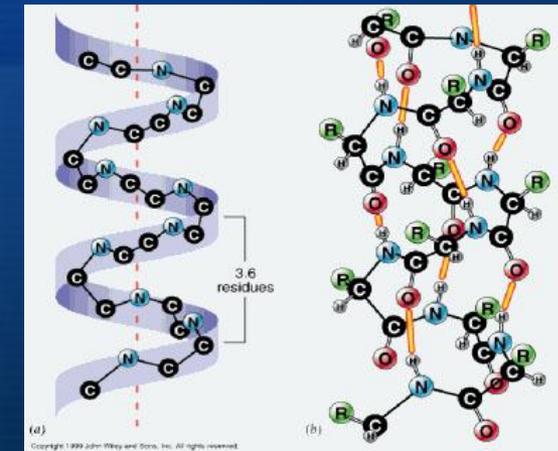
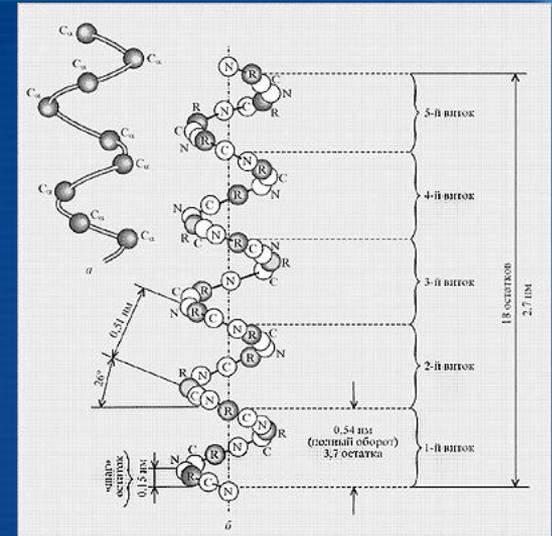
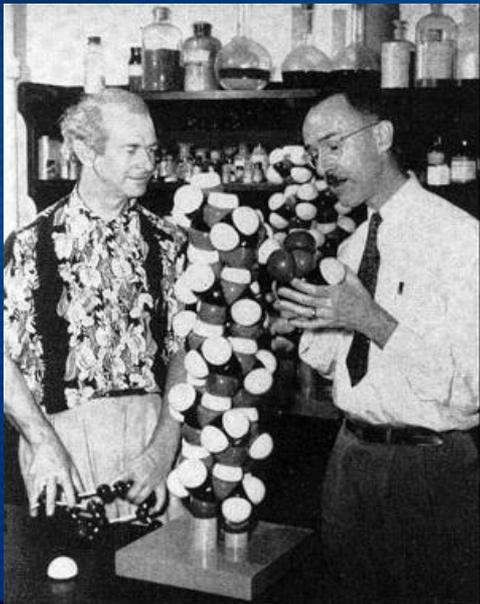
## Классическая альфа-спираль Полинга-Кори-Брэнсона

**Альфа-спираль** ( $\alpha$ -спираль) — типичный элемент вторичной структуры белков, которая имеет форму правозакрученной винтовой линии, и в которой каждая *амино-группа* ( $-\text{NH}_2$ ) в каркасе образует водородную связь с *карбонильной группой* ( $-\text{C} = \text{O}$ ) аминокислоты, находящийся на 4 аминокислоты раньше (водородная связь).

Л.К. Полинг, Р.Б. Кори  
1951 г.

## Роль АК в образовании спирали

Спираль нарушают электростатические взаимодействия глутаминовой кислоты, лизина, аргинина. Расположенные близко друг к другу остатки аспарагина, серина, треонина и лейцина могут стерически мешать образованию спирали, остатки пролина вызывает изгиб цепи и также нарушает  $\alpha$ -спираль.



Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

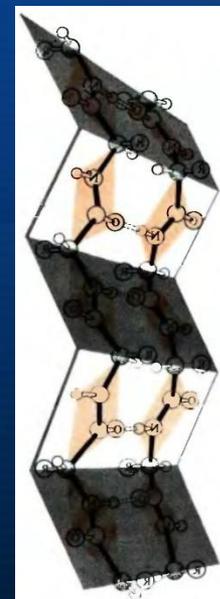
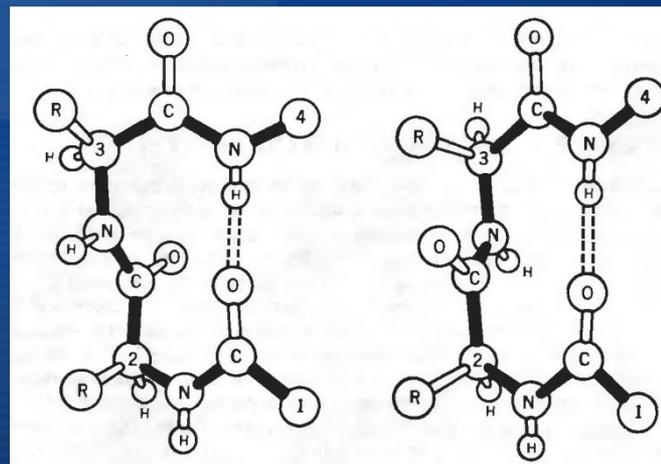
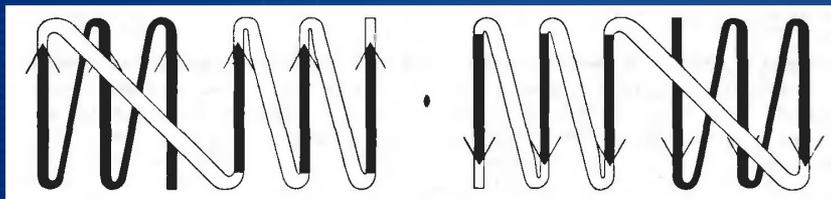
# β-слои и другие типы вторичной структуры

**β-листы (складчатые слои)** — несколько зигзагообразных полипептидных цепей, в которых водородные связи образуются между относительно удалёнными друг от друга (0,347 нм на аминокислотный остаток) в первичной структуре аминокислотами или разными цепями белка, а не близко расположенными, как имеет место в α-спирали. Эти цепи обычно направлены N-концами в противоположные стороны (антипараллельная ориентация). Для образования β-листов важны небольшие размеры боковых групп аминокислот, преобладают обычно глицин и аланин.

π-спирали;

3<sub>10</sub>-спирали;

неупорядоченные фрагменты.



# Полипролиновые спирали коллаген



Полипролиновые спирали **не содержат** водородных связей в цепи:

**Полипролин I** – левая спираль, пептидные связи в цис-положении  
10 остатков на 3 витка

**Полипролин II** – левая спираль, пептидные связи в транс-положении  
3 остатка на виток, смещение вдоль оси 3,12 Å на остаток

Существует в водных растворах  
Стабилизирована стерическими ограничениями

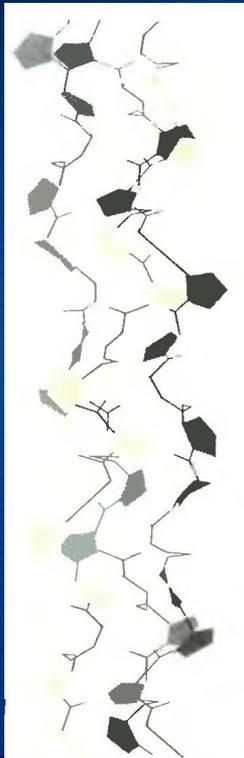
Вторичная структура встречается редко, в семействе коллагенов

# Коллаген

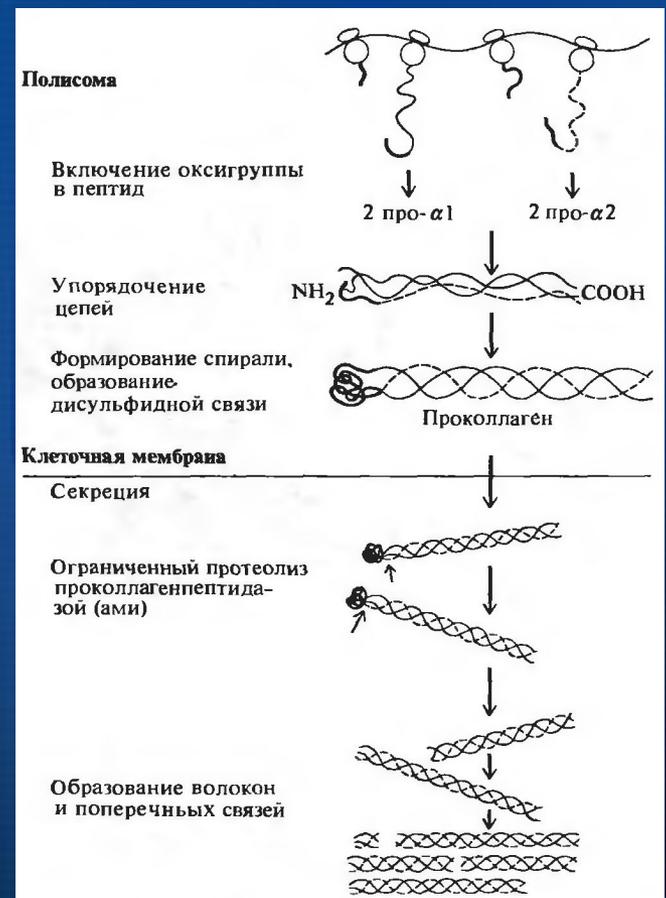
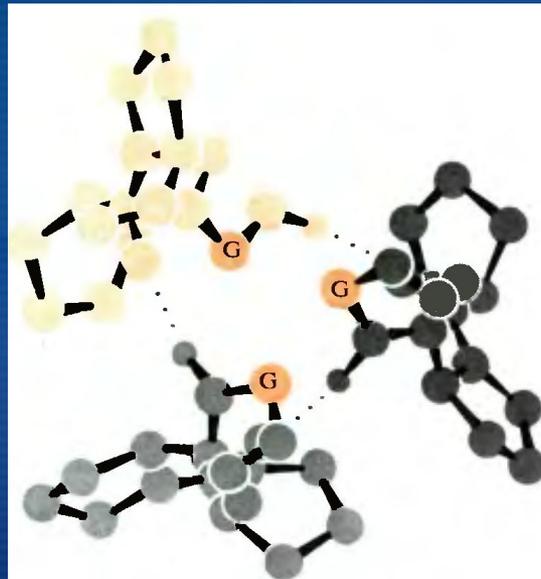
Преобладают пролин, гидроксипролин, глицин.

Тропоколлаген сод. 3 ПП цепи (95 000 Да) – тройная спираль, длина 3000 А диаметр 15 А

## Тройная спираль тропоколлагена



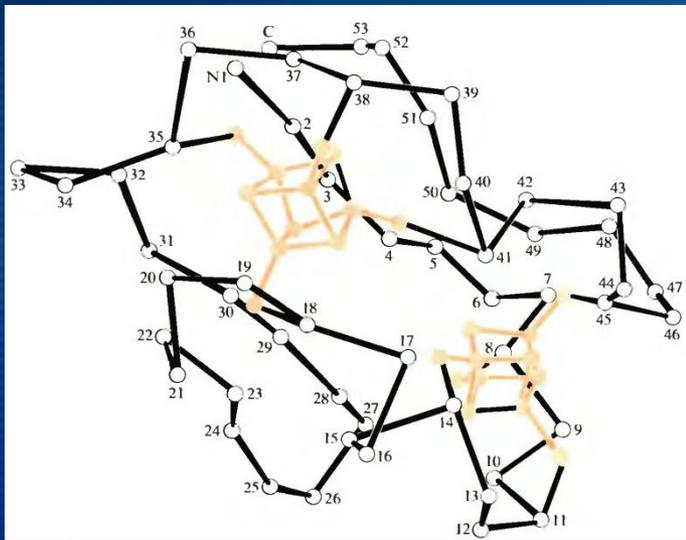
## Межцепочечные водородные СВЯЗИ



# Распространенность вторичных структур в белках

В типичном белке в формировании вторичных структур участвуют 60% АК

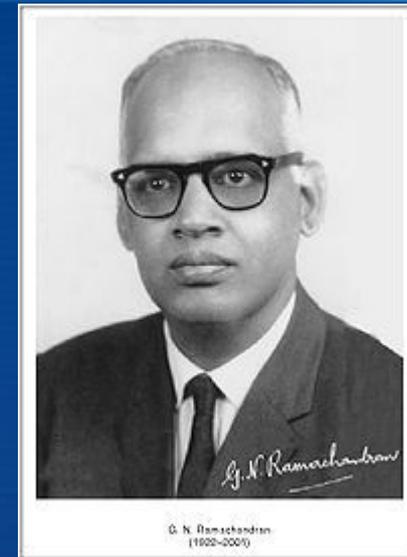
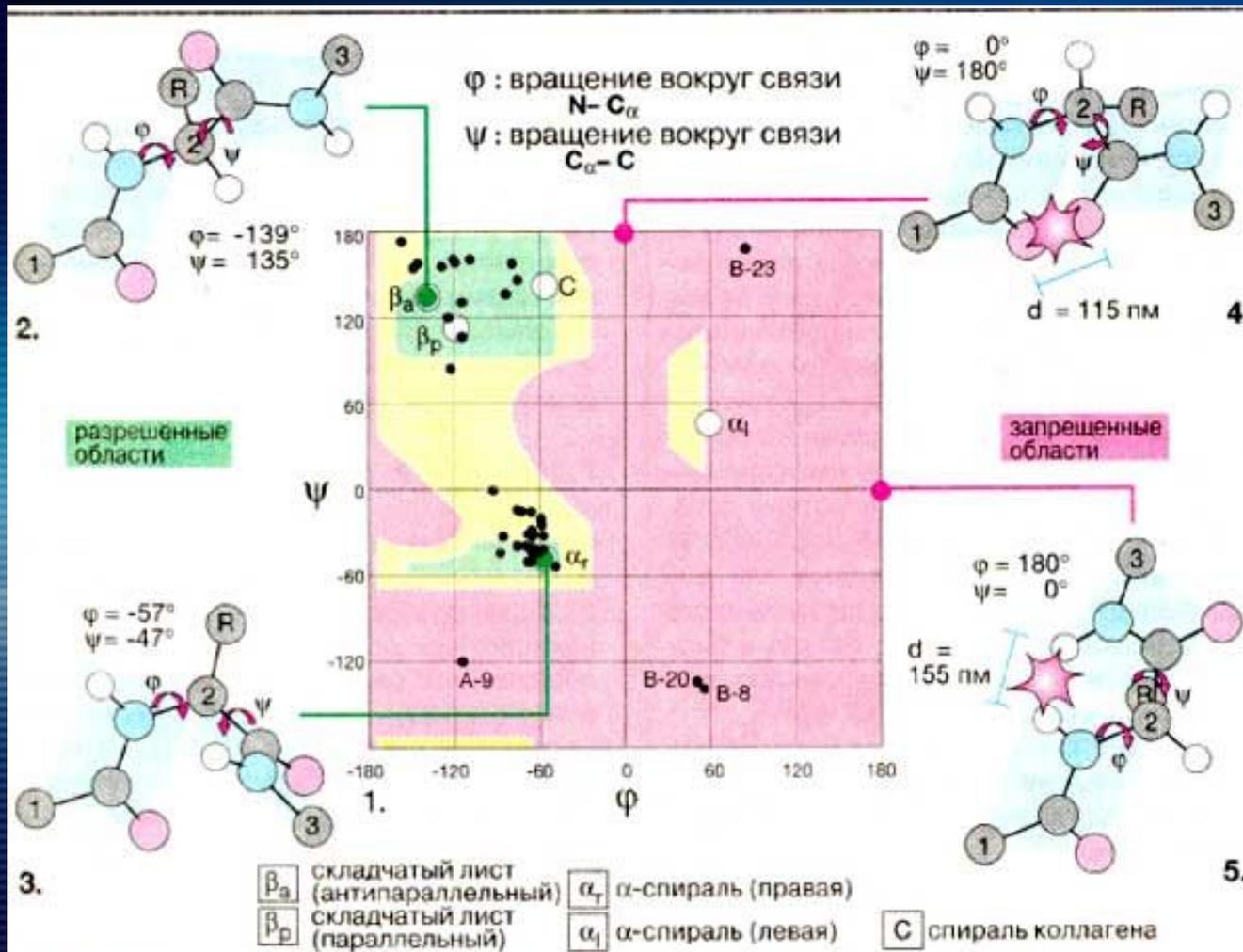
Ферредоксин *Pseudomonas aeruginosa* (54 АК, 8 Cys) не содержит детектируемых элементов вторичной структуры.



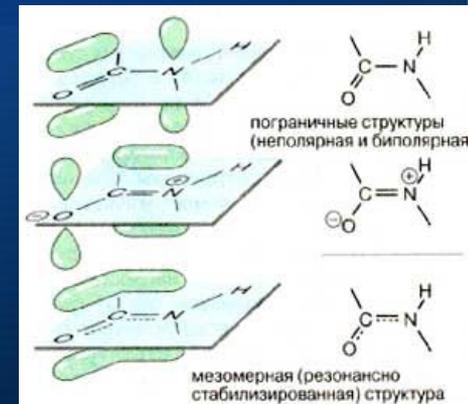
ВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ В БЕЛКОВЫХ КРИСТАЛЛАХ<sup>1)</sup>

Белок	Спирали			β-слои			β-изгибы		
	%	число	типы	%	число β-слоев	число цепей	типы	число β(I)	число β(II)
Карбоангидраза	20	7	$\alpha, \alpha_{II}, 3_{10}$	37	2	13	п, а, (ш)	3	1
Карбоксипептидаза А	38	9	$\alpha, \alpha_{II}$	17	1	8	п, а	10	3
Химотрипсин (эластаза, трипсин)	14	3	$3_{10}, \alpha$	45	2	12	а, 2ш	11	6
Конканавалин А	2	1	—	57	3	18	а, а2а	—	—
Цитохром $b_5$	52	6	$\alpha, 3_{10}$	25	1	5	п, а	1	1
Цитохром с	39	5	—	—	—	—	—	3	3
Ферредоксин	—	—	—	4	1	2	а	—	—
Флаводоксин	30	4	—	30	1	5	—	—	—
Инсулин	52	3	$\alpha, 3_{10}$	6	1	1	а, а2а	—	—
Лактатдегидрогеназа (или малатдегидрогеназа)	45	10	—	20	3	12	п, а	6	4
Лизоцим	40	6	$\alpha, \alpha_{II}, 3_{10}$	12	2	6	а	4	2
Миоген	57	6	$\alpha, 3_{10}$	4	1	2	—	5	—
Миоглобин (гемоглобин)	79	8	$\alpha, 3_{10}, \pi$	—	—	—	—	6	—
Нуклеаза	24	3	—	14	1	3	а	—	—
Ингибитор трипсина из поджелудочной железы	28	2	$\alpha, \pi\pi$	33	1	3	а	—	—
Папаин	28	5	—	15	1	7	а	—	—
Рибонуклеаза	26	3	$\alpha, 3_{10}$	35	1	6	(п), а	1	1
Субтилизин	31	8	—	16	2	8	п, а	16	1
Термолизин	38	7	—	22	1	10	п, а, (ш), кл	—	—

# Карты Рамачандрана



$$f : [-\pi, \pi) \times [-\pi, \pi) \rightarrow \mathbb{R}_+$$

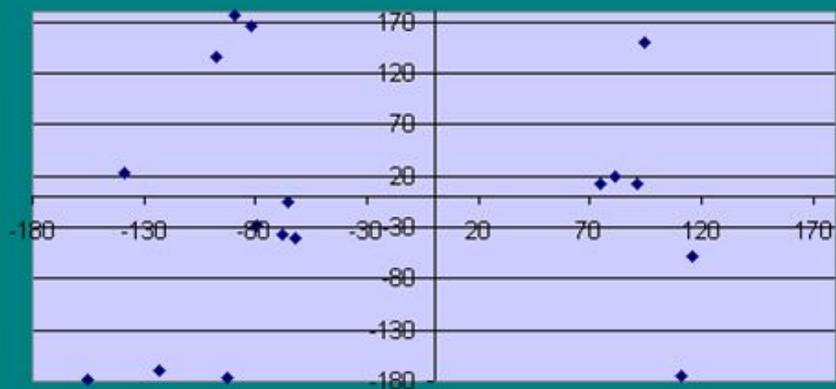


# Глицин, пролин

ПРИБЛИЗИТЕЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ТОРСИОННЫХ УГЛОВ  
ДЛЯ НЕКОТОРЫХ РЕГУЛЯРНЫХ СТРУКТУР<sup>1</sup>

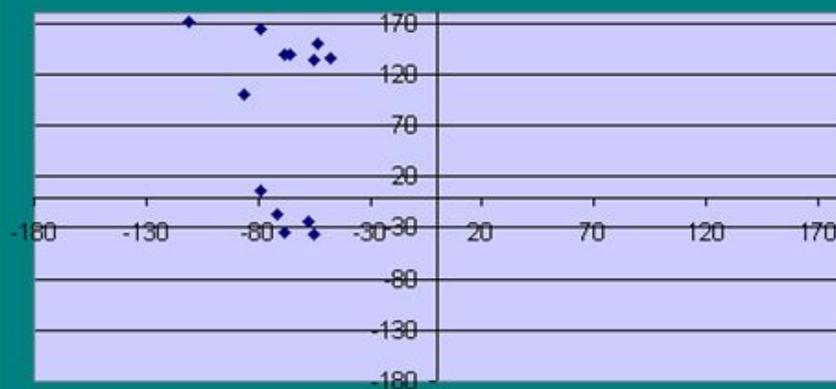
Структура	$\phi$ , град.	$\psi$ , град.
Правая $\alpha$ -спираль [ $\alpha$ -поли(L-аланин)]	-57	-47
Левая $\alpha$ -спираль	+57	+47
$\beta$ -Слой с параллельными цепями	-119	+113
$\beta$ -Слой с антипараллельными цепями [ $\beta$ -поли(L-аланин)]	-139	+135
Полиглицин II	-80	+150
Коллаген (тройная спираль)	-51, -76, -45	+153, +127, +148
Поли(L-пролин) I	-83	+158
Поли(L-пролин) II	-78	+149

карта Рамачандрана для глицина



Глицин очень интересен тем, что значения его торсионных углов распределены по всему полю, поэтому он скорее всего находится в местах поворота полипептидной цепи.

карта Рамачандрана для пролина



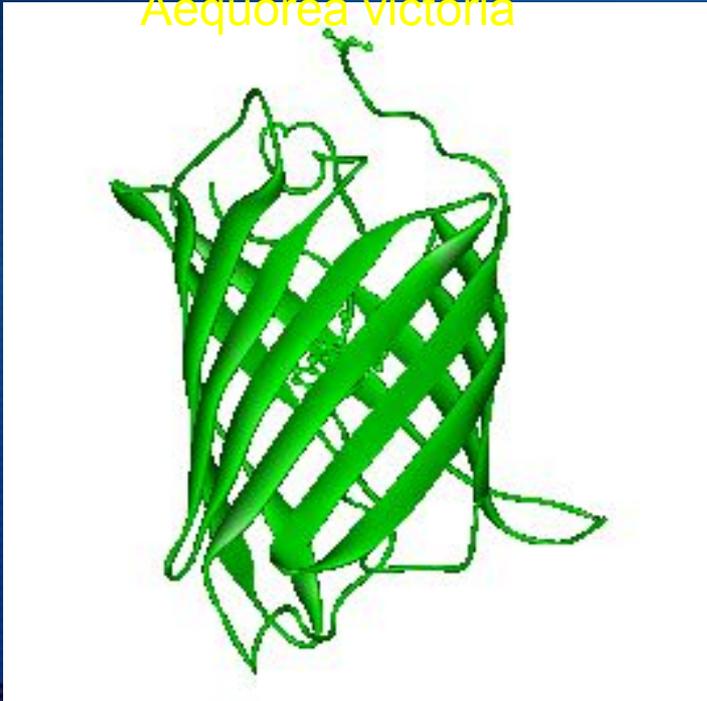
Значение торсионных углов пси у пролина строго отрицательно, а значение углов пси варьируется от -40 до 180

# Третичная структура

# Общая организация пептидного скелета

- Типичная альфа-спираль состоит из 10 АК, длина 15 А;
  - бета-слой содержит 4-6 цепей и 20-40 АК остатков;
  - антипараллельные  $\beta$ -слои встречаются чаще чем параллельные;
1. Третичная структура как единое целое
  2. Третичная структура как совокупность доменов

Зеленый флуоресцирующий белок  
*Aequorea victoria*



Цитохром b5 печени крысы  
(гидрофильный домен)



## Окружение отдельных остатков

1. Конформации отдельных пептидных групп лежат в областях наибольшей стабильности;
2. Заряженные остатки располагаются на поверхности белка (кластерное и однородное распределение зарядов, стабильность определяется ионной силой);
3. Гидрофобные неполярные остатки располагаются внутри третичной структуры глобулярного водорастворимого белка;
4. Все доноры и акцепторы водородных связей находятся там, где они могут образовывать эти связи;
5. Полярные и неполярные боковые группы АК могут располагаться периодически если  $\alpha$ -спираль располагается вблизи поверхности;
6. Остатки пролина ограничивают  $\alpha$ -спираль.

# Плотность упаковки АК остатков в свернутых молекулах белка

Большинство белков – плотные структуры, возможно существование полостей

Белок	Характер полости
Миоглобин	Полость размером с атом ксенона
Рибонуклеаза S	Несколько пустых полостей
Лизоцим	Полости заполненные растворителем
$\alpha$ -химотрипсин	Несколько полостей включающих 16 молекул воды

Плотность упаковки белковой молекулы -

$$\frac{\sum_{i=1}^n V_{i-\text{го атома}}}{V_{\text{области}}}$$

<b>Сфера</b>	<b>0,74</b>
Бесконечный цилиндр	0,81
Сплошное твердое тело	1,00
Рибонуклеаза S	0,75

\*Возможно «рыхлое» расположение атомов вблизи активного центра молекулы – большая гибкость

# Объем и плотность белков

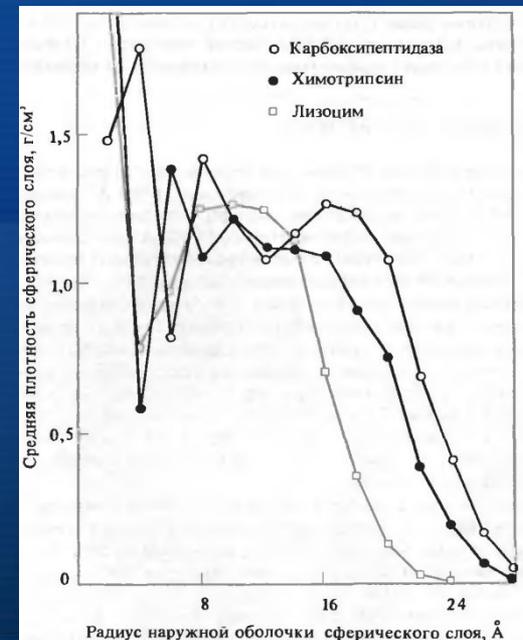
$\Sigma$  вандерваальсовых объемов всех атомов на 10% больше экспериментально определенных величин:

1. Электрострикционный эффект ( $16 \text{ \AA}^3$  на заряженную группу)
2. Внешние области белка имеют большую плотность чем внутренние
3. Внутри белка находится больше воды, чем детектируется по результатам рентгеноструктурного анализа.

Объем молекул белка рассчитанный как сумма вандерваальсовых объемов отдельных атомов

Белок	Объем, $\text{А}^3$
Рибонуклеаза S	16 900
Лизоцим	18 100

Зависимость средней плотности сферического слоя от радиуса этого слоя для нескольких белков



# Динамичность третичной структуры

- Методы изучения динамики – поляризованная флуоресценция, ЯМР  $C^{13}$ , МД
- Оценка проницаемости – тушение флуоресценции, хим. модификация АК

**АК остатки**

**Внутри молекулы**

Недоступны  
Малоподвижны

**На поверхности  
молекулы**

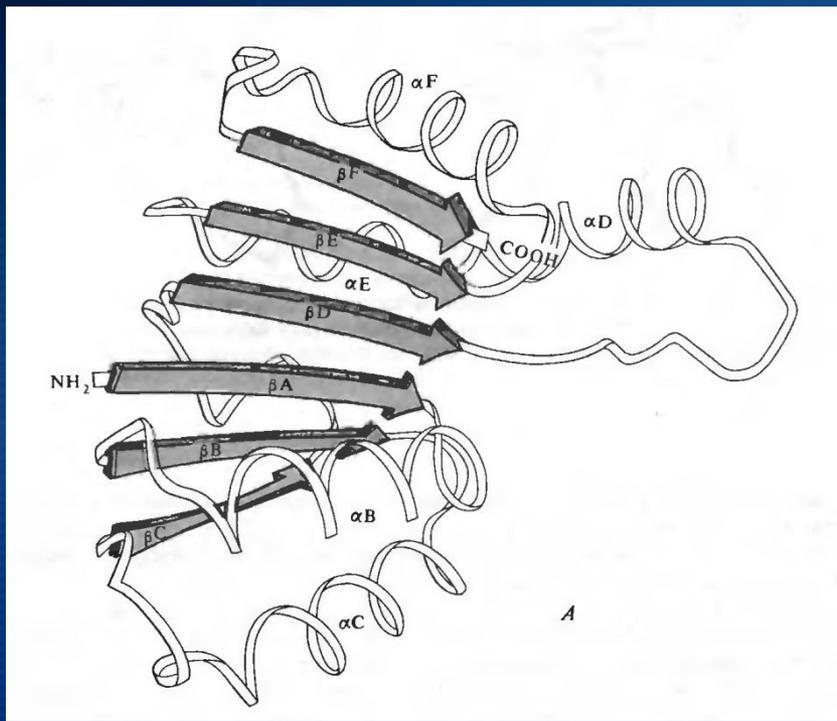
Доступны  
Подвижны

**В активном центре  
молекулы**

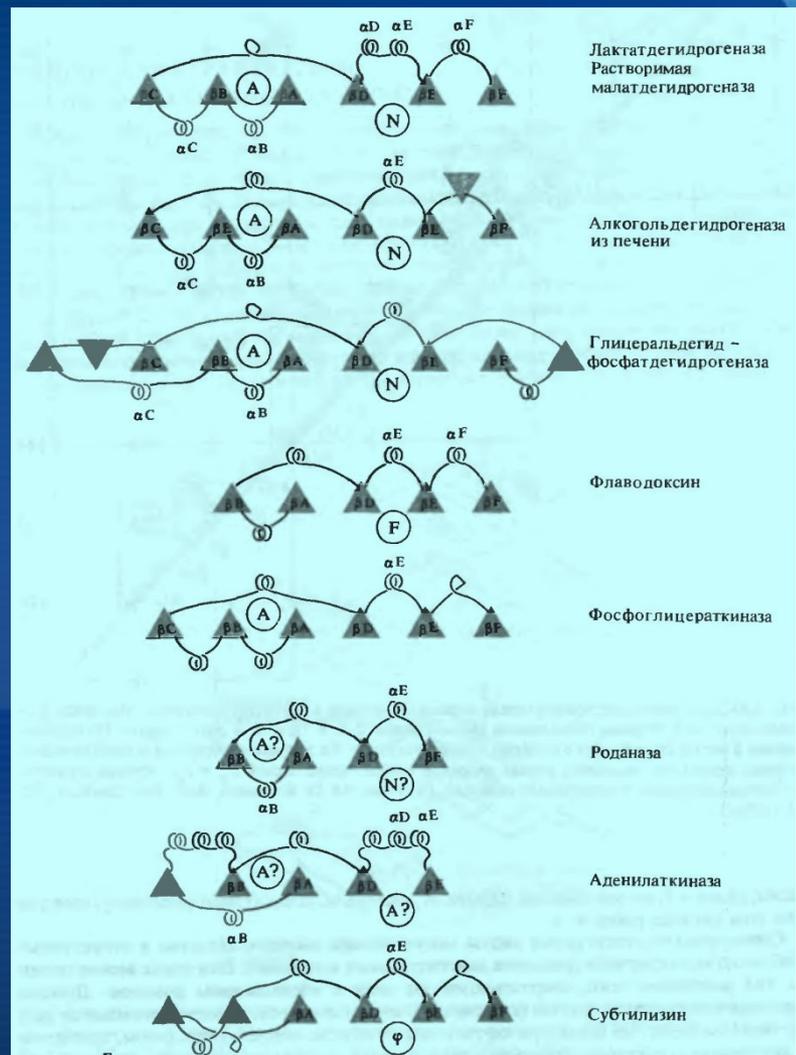
Ограниченно доступны  
Ограниченно подвижны

# Методы сравнения третичных структур (1-ый способ)

Построение простейшей схемы, отражающей основные особенности вторичной структуры и взаимосвязь составляющих элементов



Нуклеотидсвязывающий домен лактатдегидрогеназы



# Методы сравнения третичных структур (2-ой способ)

Для сравнения используются расстояния между атомами (как правило,  $C\alpha$ )

Для каждого белка строится своя карта

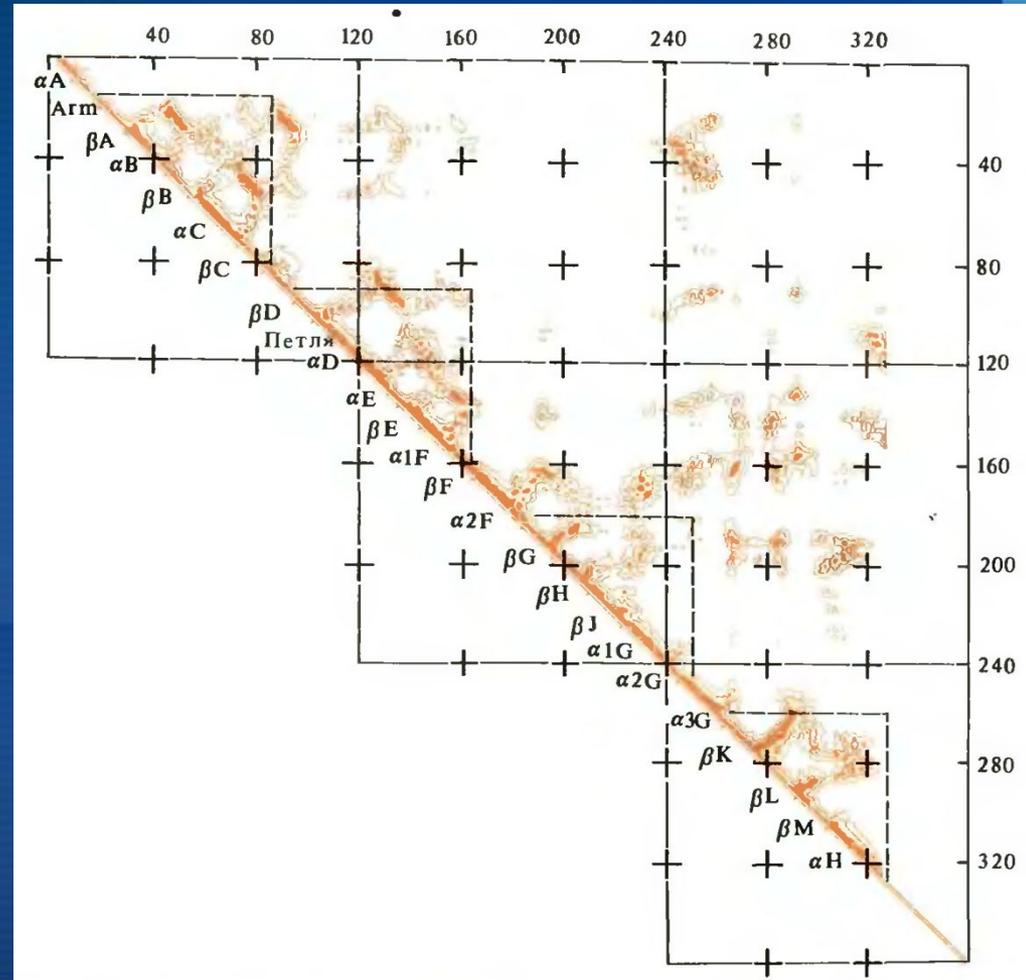
Структура	tg
-----------	----

$\alpha$ -спираль	-1
-------------------	----

Параллельный $\beta$ -слой	-1
----------------------------	----

Антипараллельный $\beta$ -слой	1
--------------------------------	---

## Матрица контактов



# Парадокс Левинтала

1968 г., Сайрус Левинталь

«Промежуток времени, за который полипептид приходит к своему скрученному состоянию, на много порядков меньше, чем если бы полипептид просто перебирал все возможные конфигурации».

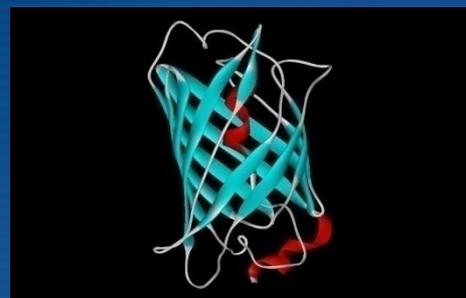
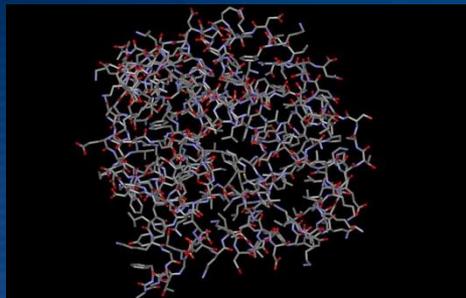
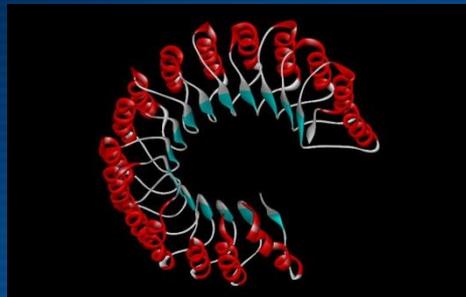
Причины парадокса:

1. теоретические модели, используемые для доказательства твердости не соответствуют тому, что природа старается оптимизировать;
2. в ходе эволюции были отобраны только те белки, которые легко сворачиваются;
3. белки могут сворачиваться разными путями, не обязательно следуя глобально оптимальному пути.

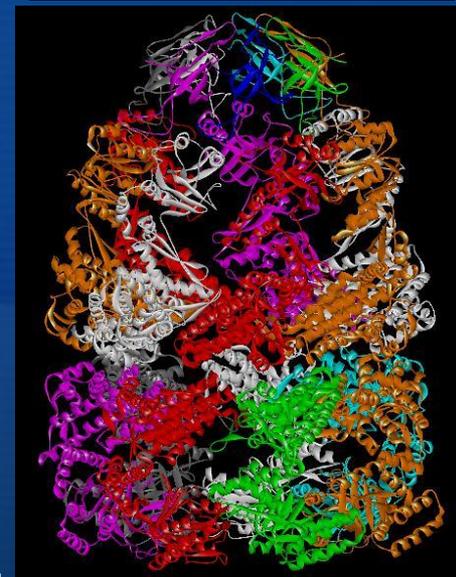
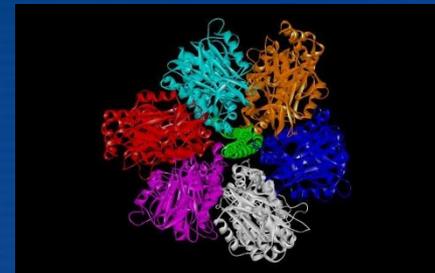
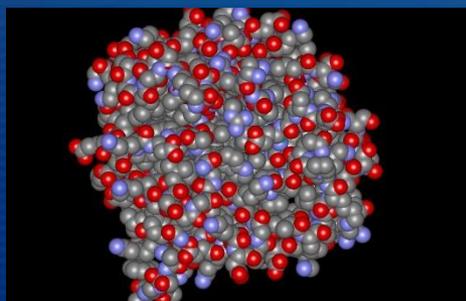
«Как белок выбирает свою нативную структуру среди бесчисленного множества возможных?». Для цепи из 100 остатков число возможных конформаций  $\sim 10^{100}$ , и их полный перебор занял бы  $\sim 10^{80}$  лет, если один переход осуществлять за  $\sim 10^{-13}$  секунды. Поэтому сложность проблемы заключается в том, что данный вопрос нельзя решить экспериментально, так как придется ждать  $\sim 10^{80}$  лет.

# Четвертичная структура

# Четвертичная структура



Третичная структура



Четвертичная структура

# Субъединичный состав белков

СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ БОЛЕЕ ОДНОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ<sup>1)</sup>

Белок	Источник	Молекулярная масса белка	Число субъединиц	Молекулярная масса субъединиц
Фактор роста нервов	Мышь	26 518	2	13 259
Лютеинизирующий гормон	Овца	27 322	1	12 500
			1	14 830
Ингибитор химотрипсина	Картофель	39 000	4	9800
Супероксиддисмутаза	<i>E. coli</i>	39 500	2	21 600
Гемозритрин	<i>Phascolosoma</i>	40 600	3	12 700
Галактокиназа	Человек	53 000	2	27 000
Гемоглобин	Млекопитающее	64 500	2	16 000
			2	16 000
Tu·Ts-комплекс	<i>E. coli</i>	65 000	1	41 500
			1	28 500
Малатдегидрогеназа	Крыса	66 300	2	37 500
Авидин	Куриное яйцо	68 300	4	18 000
Тропонин	Кролик	80 000	1	37 000
			1	24 000
			1	20 000
Щелочная фосфатаза	<i>E. coli.</i>	86 000	2	43 000
Прокарбоксипептидаза А	Крупный рогатый скот	88 000	1	40 000
			2	23 000
Серил-гРНК-синтетаза	<i>E. coli</i>	100 000	2	50 000
Нуклеозиддифосфокиназа	Дрожжи	102 000	6	17 000
Тубулин	Поросенок	110 000	1	56 000
			1	53 000
Лактатдегидрогеназа	“ “	140 000	4	35 000
Триптофансинтетаза	<i>E. coli</i>	148 000	2	45 000
			2	28 700

# Субъединичный состав белков

Белок	Источник	Молекулярная масса белка	Число субъединиц	Молекулярная масса субъединиц
<i>lac</i> -Репрессор	То же	160 000	4	40 000
Метионин-тРНК-синтетаза	“ “	170 000	2	85 000
Репликаза фага Q $\beta$	“ “	205 000	1	70 000
			1	65 000
			1	45 000
			1	35 000
Ариламидаза	Человек	223 500	6	38 100
Лейцинаминопептидаза	Свинья	255 000	4	63 500
Изоцитратдегидрогеназа	Дрожжи	300 000	8	39 000
Аспартаттранскарбамоилаза	<i>E. coli</i>	310 000	6	33 000
			6	17 000
Нитрогеназа	<i>Clostridium</i>	330 000	2	59 500
			4	27 500
			2	50 700
Енолаза	<i>T. aquaticus</i>	355 000	8	44 000
Глутаминсинтетаза	<i>Neurospora</i>	360 000	4	90 000
РНК-полимераза (кор)	<i>E. coli</i>	400 000	2	39 000
			1	155 000
			1	165 000
Апоферритин	Лошадь	443 000	24	18 500
Глутаминсинтетаза	<i>E. coli</i>	592 000	12	48 500
Изоцитратдегидрогеназа	Крупный рогатый скот	670 000	16	41 000
Овомакроглобулин	Куриное яйцо	650 000	2	325 000
Гемоглобин	<i>Arenicola</i>	2 850 000	48	54 000
Пируватдегидрогеназный комплекс	<i>E. coli</i>	5 000 000	24	91 000
			24	65 000
			24	56 000

# Контакты между субъединицами

## ПРИРОДА КОНТАКТОВ МЕЖДУ СУБЪЕДИНИЦАМИ<sup>1)</sup>

Белок	Симметрия	Контактирующие области	Число вандерваальсовых контактов	Число водородных связей	Число пар ионов
$\alpha$ -Химотрипсин	$C_2$	A	443	9	1
		B	57	6	—
Конканавалин А	$D_2$	II к A	—	2	—
		II к B	142	14	6
		II к C	174	14	—
Гемоглобин					
Оксигемоглобин	$C_2$	$\alpha_1\beta_1$	110	5	—
		$\alpha_1\beta_2$	80	1	—
		$\alpha_1\alpha_2$	—	—	—
		$\beta_1\beta_2$	—	—	—
		$\alpha_1\beta_1$	98	5	—
Дезоксигемоглобин	$C_2$	$\alpha_1\beta_2$	69	1	1
		$\alpha_1\alpha_2$	—	—	2
		$\beta_1\beta_2$	—	—	1
Инсулин	$D_3$	OP	111	8	—
		OQ	99	2	1

# Заключение



- Белки – АК, металлы, простетические группы, сахара.
- Существует корреляция между составом, структурой и функцией.
- В белках с большим содержанием пролина формируются спирали полипролинового типа.
- Третичные структуры организованы в плотно упакованные глобулы или несколько плотноупакованных доменов.
- Четвертичные структуры делят на 2 типа – с глобулярными и спиральным расположением субъединиц.