

A fehérjék hierarchikus szerkezete

Smeller László
Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Fehérjék felosztása

Biológiai funkció alapján

- Enzimek (pl.: tripszin, citokróm-c...)
- Transzportfehérjék (pl.: hemoglobin, mioglobin...)
- Védőfehérjék (pl.: ellenanyagok, interferonok...)
- Toxinok (pl.: ricin, kígyómérgek...)
- Hormonok (pl.: inzulin, növekedési hormon...)
- Kontraktilis fehérjék (pl.: miozin, aktin, dinein)
- Struktúrfehérjék (pl.: kollagén, elasztin ...)
- Taratlékfehérjék (pl.: ovalbumin, kazein, ferritin...)
- Egyéb (pl.: hisztonok...)

Szerkezeti hierarchia

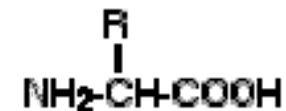
- Elsődleges szerkezet
- Másodlagos szerkezet
- Harmadlagos szerkezet
- Negyedleges szerkezet

Szupramolekuláris szerveződések

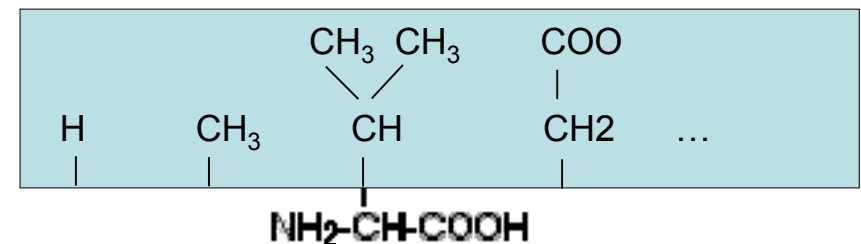
A fehérjék építőkövei az aminosavak

Az aminosavak

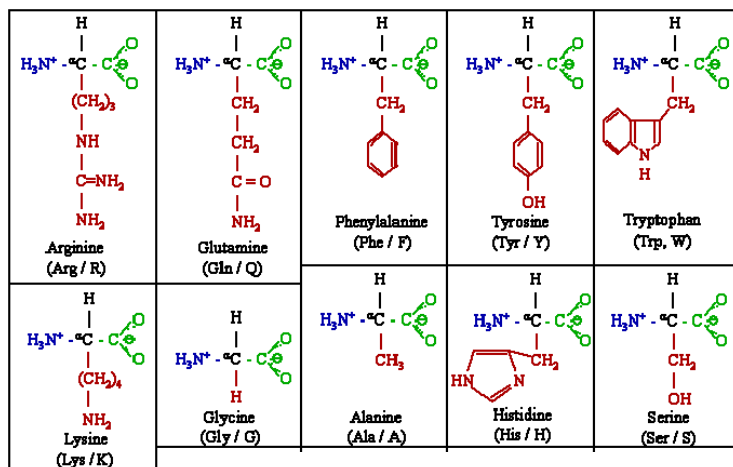
általános felépítése:



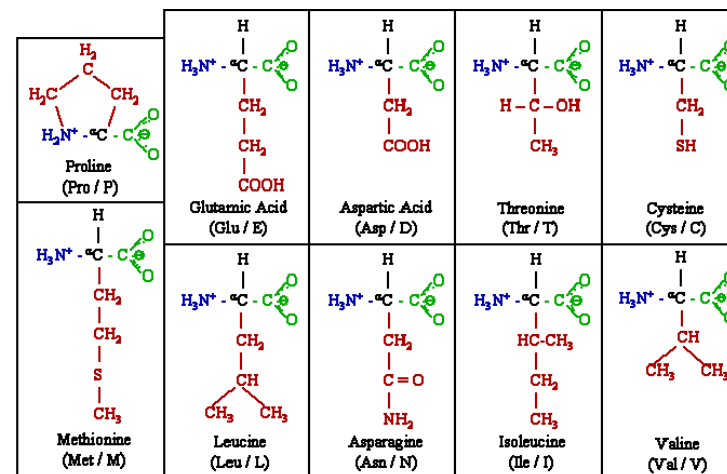
Szerkezeti variabilitás:



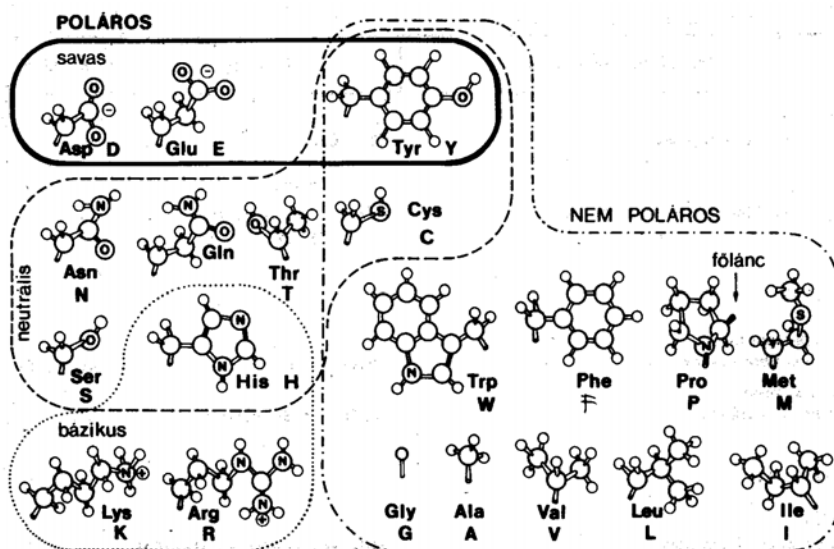
A fehérjékben előforduló aminosavak



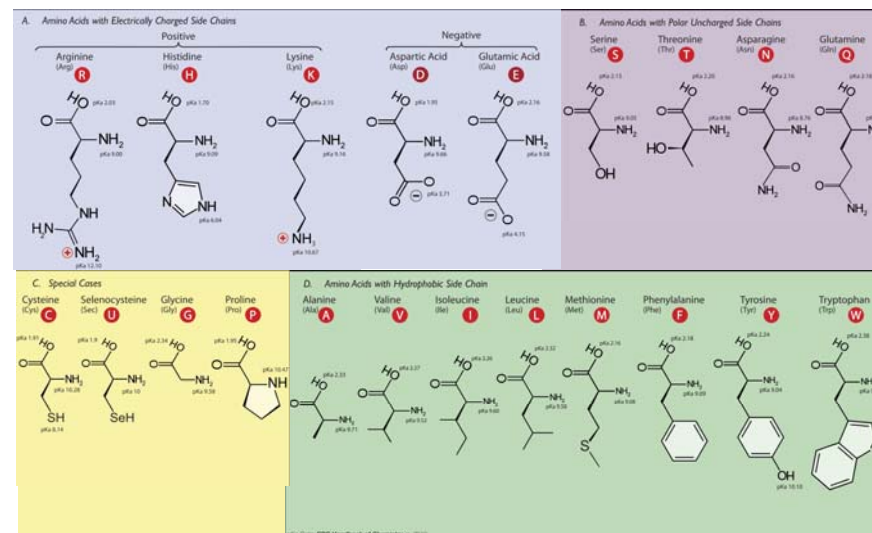
A fehérjékben előforduló aminosavak



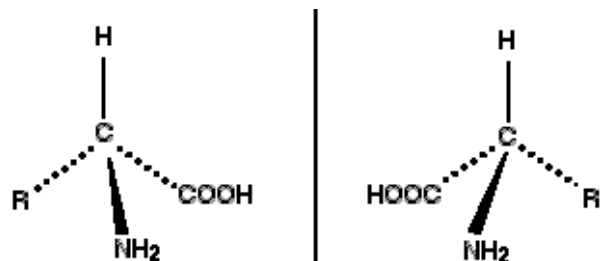
Az aminosavak tulajdonságai



Az aminosavak tulajdonságai



Kiralitás



Tükör

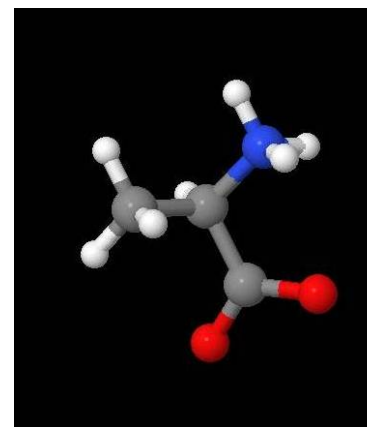
Kiralitásközpont:
egy szénatomhoz 4 különböző
atom ill. atomcsoport kapcsolódik

⇒ Optikai aktivitás
(polarizációsík elforgatása)

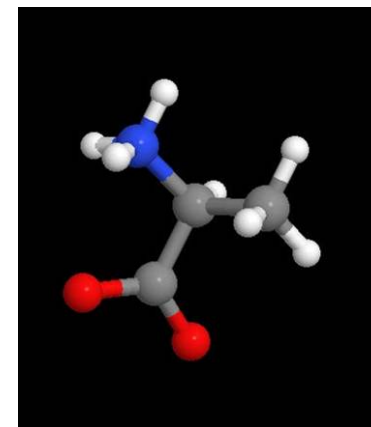
Kéz:



Kiralitás az alanin példáján

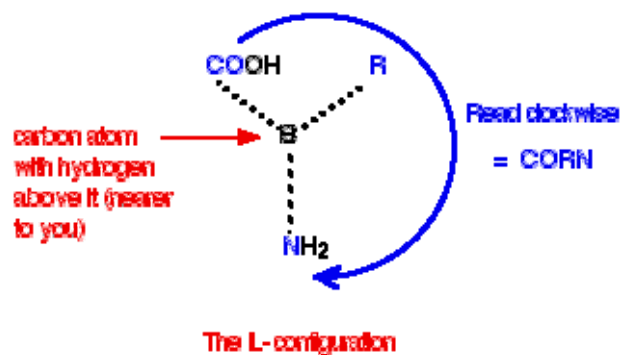


D



L

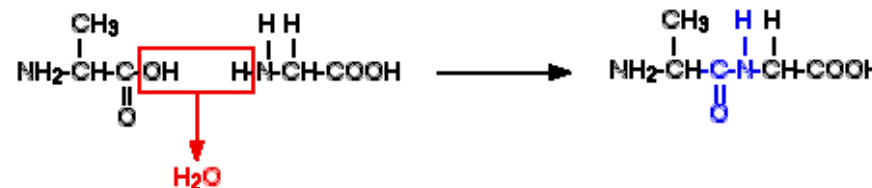
D és L enantiomerek



Élő szervezetekben: L módosulat

A polarizációs sík forgatásának iránya és L-D között nincs egyértelmű kapcsolat.
Pl.: (+)alanin (-)cisztein (-)tirozin (+)valin

Aminosavak kapcsolódása: peptidkötés



Peptid 2.. kb 20 aminosav kapcsolódása (láncszerű molekula)

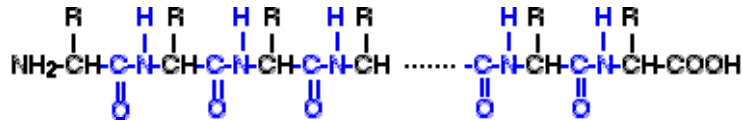
Fehérje több mint 20 aminosav kapcsolódása

Az elsődleges szerkezet

Elsődleges szerkezet:

az aminosavak sorrendje a polipeptid láncban

Milyen irányban? N terminális -> C-terminális



PI: (mioglobin, 1YMB)

GLY LEU SER ASP GLY GLU TRP GLN GLN VAL LEU ASN VAL...

... ALA LYS TYR LYS GLU LEU GLY PHE GLN GLY

Példa: Mioglobín

Elsődleges szerkezet 3 betűs kóddal (153 as.):

GLY LEU SER ASP GLY GLU TRP GLN GLN VAL LEU ASN VAL
TRP GLY LYS VAL GLU ALA ASP ILE ALA GLY HIS GLY GLN
GLU VAL LEU ILE ARG LEU PHE THR GLY HIS PRO GLU THR
LEU GLU LYS PHE ASP LYS PHE LYS HIS LEU LYS THR GLU
ALA GLU MET LYS ALA SER GLU ASP LEU LYS LYS HIS GLY
THR VAL VAL LEU THR ALA LEU GLY GLY ILE LEU LYS LYS
LYS GLY HIS HIS GLU ALA GLU LEU LYS PRO LEU ALA GLN
SER HIS ALA THR LYS HIS LYS ILE PRO ILE LYS TYR LEU
GLU PHE ILE SER ASP ALA ILE ILE HIS VAL LEU HIS SER
LYS HIS PRO GLY ASP PHE GLY ALA ASP ALA GLN GLY ALA
MET THR LYS ALA LEU GLU LEU PHE ARG ASN ASP ILE ALA
ALA LYS TYR LYS GLU LEU GLY PHE GLN GLY

Példa: Mioglobin

Elsődleges szerkezet 1 betűs kóddal (153 as.):

```
>1YMB:A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
```

GLSDGEWQQVLNVWGKVEADIAGHGQEV LIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAE
MKASEDLKKHGTVVLTALGGILKKKGHHEAE LKPLAQSHATKHKIPKYLEFIS
DAIIHVLHSHKHPGDFGADAQGAMTKALELFRNDIAAKYKELGFQG

(FASTA format)

Merev és elforgatható kötések a fehérje gerincén rotációs szabadsági fokok

Aminosavanként:

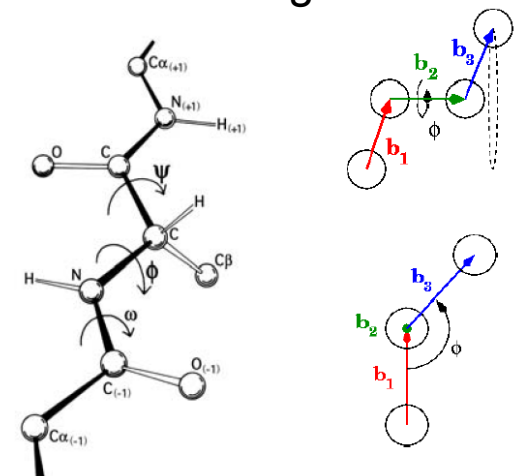
3 kötés

ebből:

1 fix (delokalizáció)

2 elforgatható:

Φ, Ψ dihedrális szögek

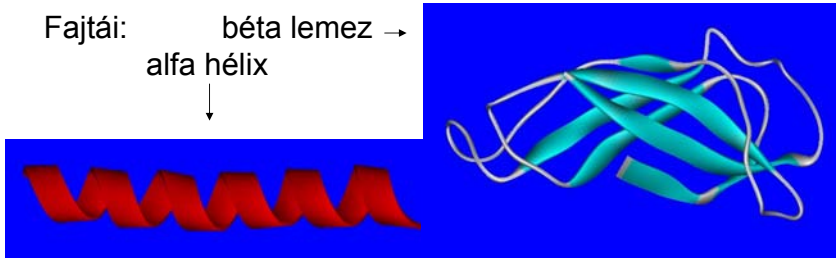


2N rotációs szabadsági fok: konformáció

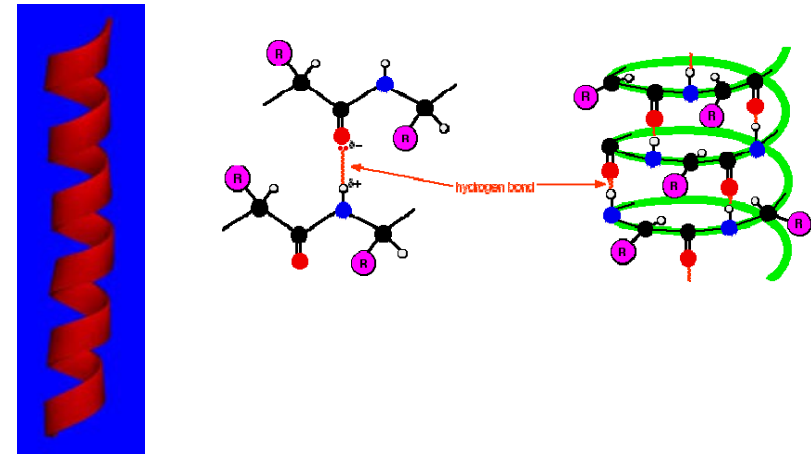
Másodlagos szerkezet

A másodlagos vagy szekunder szerkezeten a peptidgerinc hidrogénkötések által stabilizált **lokális** (legalább négy aminosavra kiterjedő) **rendezettségét** értjük.

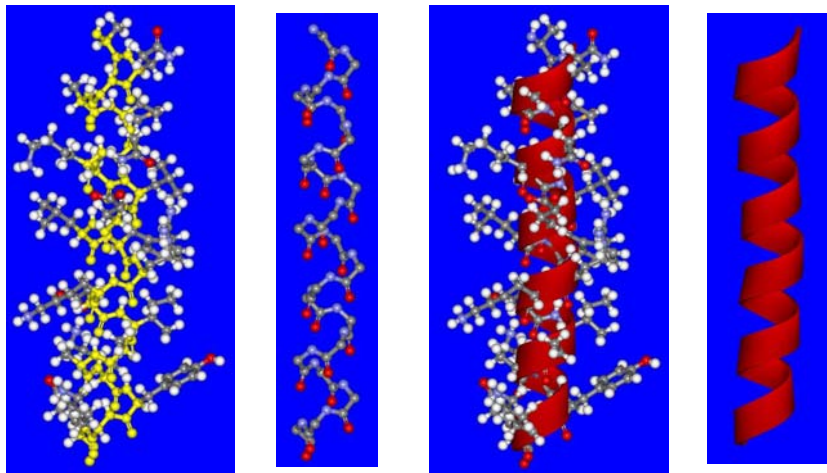
Fajtái: béta lemez →
 ↓
 alfa hélix



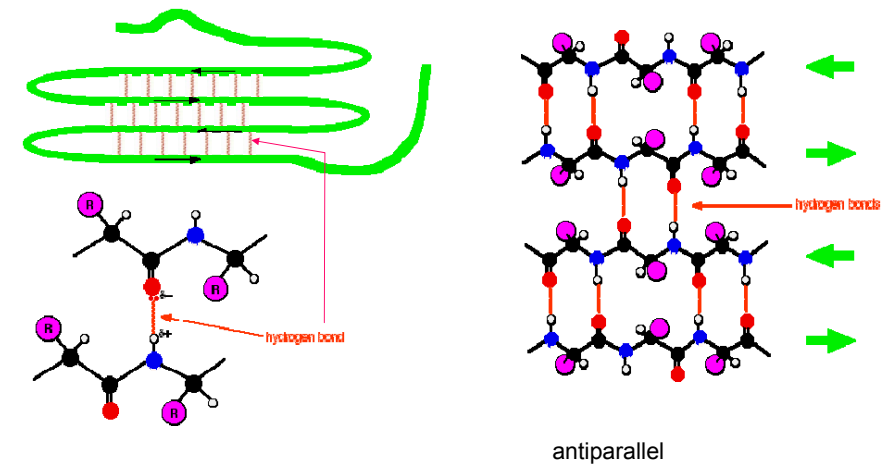
Alfa hélix



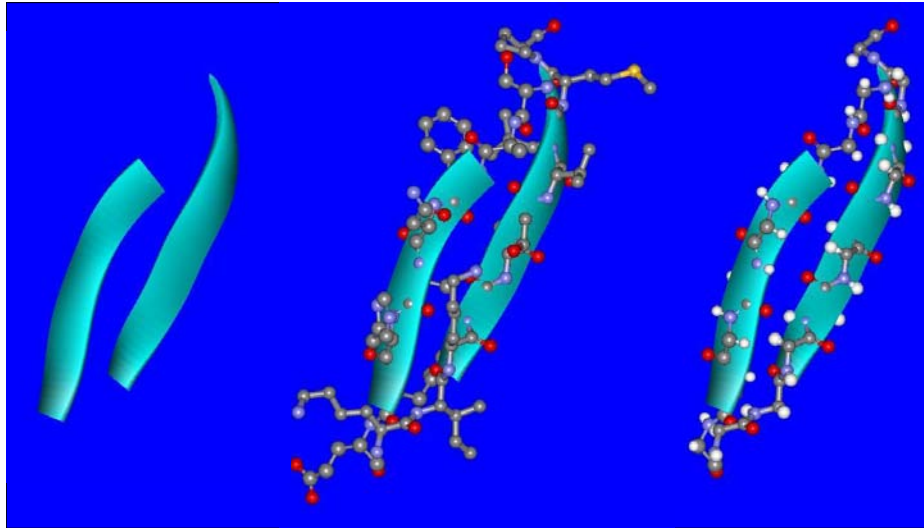
Alfa hélix



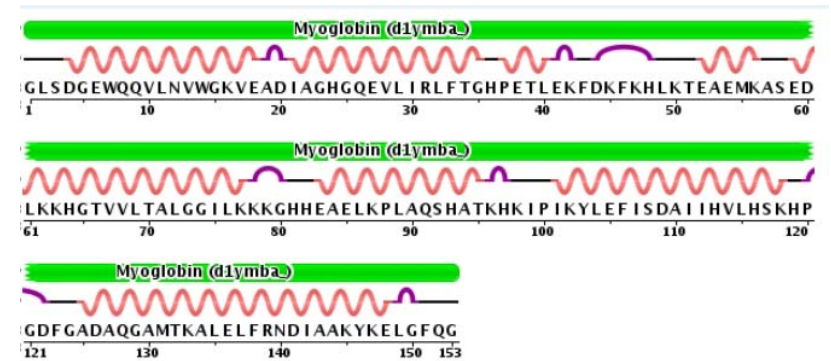
Béta lemez



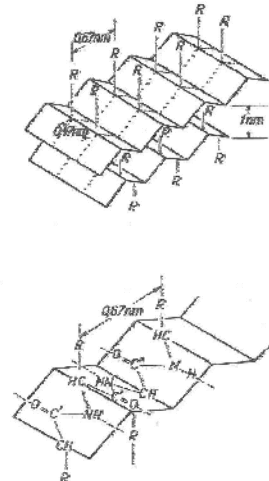
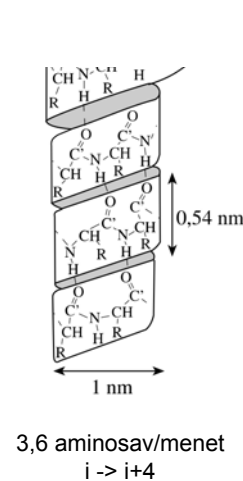
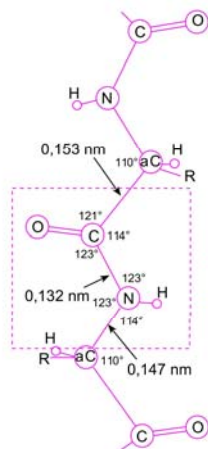
Béta lemez



Másodlagos szerkezet megjelenítése egy dimenzióban



Méretetek



Stabilizáló hidrogénhidak

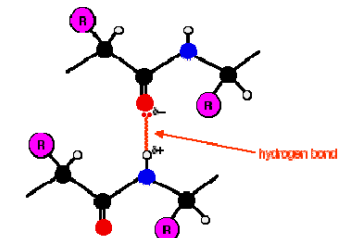
12-30 kJ/mol

vö: kovalens: 200 kJ/mol

Van der Waals: 1-2 kJ/mol

termikus energia (RT):

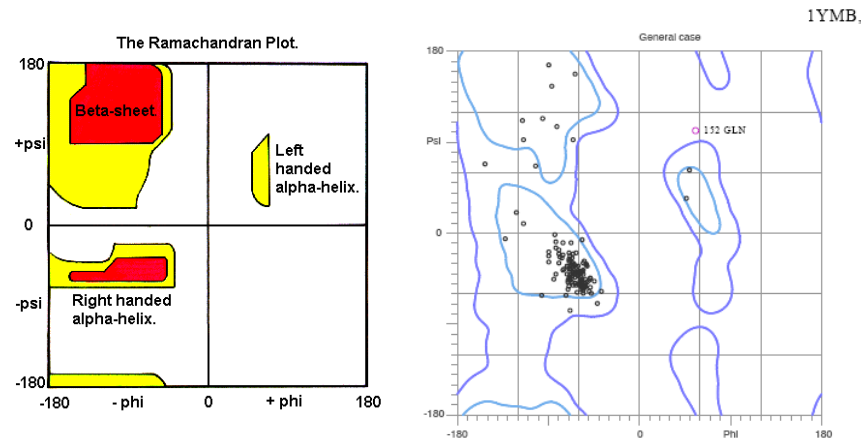
2.5 kJ/mol (T=300K)



Boltzmann faktor:
$$e^{-\frac{\Delta E}{RT}} = 0.000335 = \frac{1}{2981}$$

($\Delta E=20\text{kJ/mol}$)

Ramachandran plot



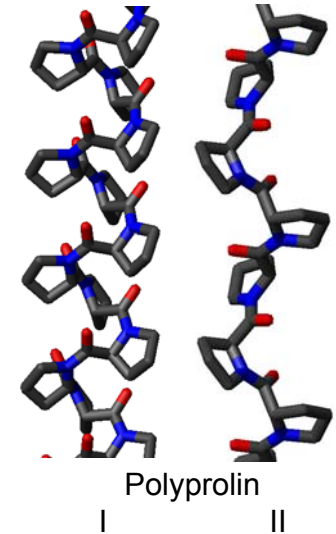
Egyéb speciális helikális szerkezetek

3_{10} -hélix* $i \rightarrow i+3$ (10 atom)

π -hélix $i \rightarrow i+5^*$

Polyprolin I helix cis

Polyprolin II helix*** trans



*az α -hélix: $i \rightarrow i+4$ $3,6_{16}$ helix

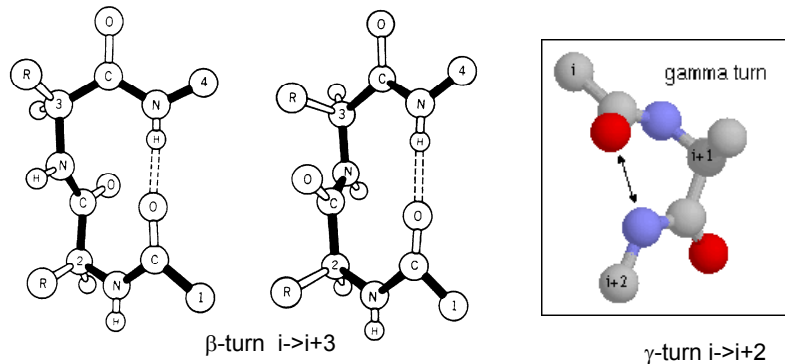
**nem fordul elő fehérjékben

*** vízben ez keletkezik

Egyéb nem helikális szerkezetek

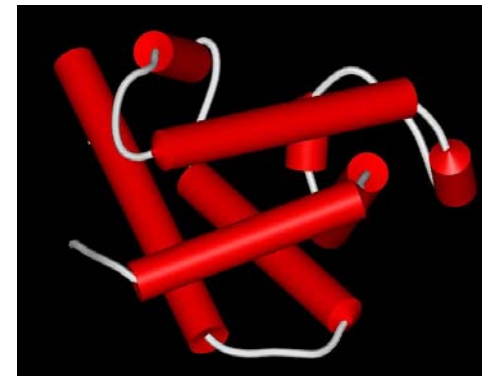
Hurkok és kanyarok

(loop) (turn)



Harmadlagos szerkezet

A másodlagos szerkezeti elemek térbeli elrendeződése (A teljes polipeptidlánc térbeli szerkezete)

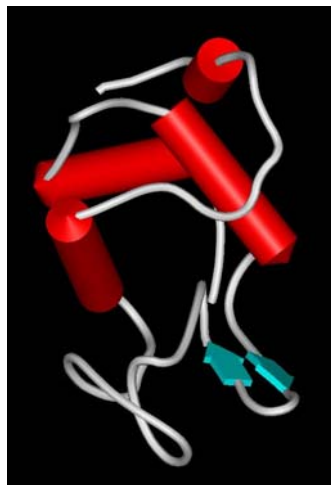
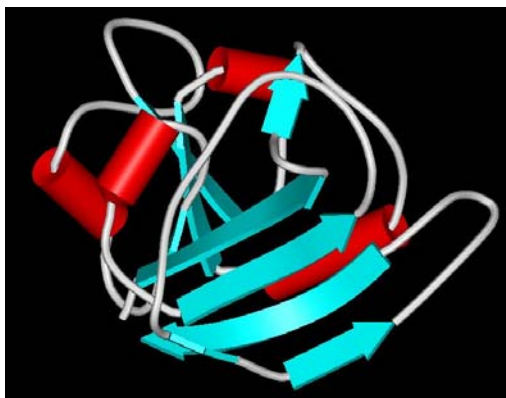


Myoglobin

További példák

Lizozim (HEW)

Dihidrofolát reduktáz

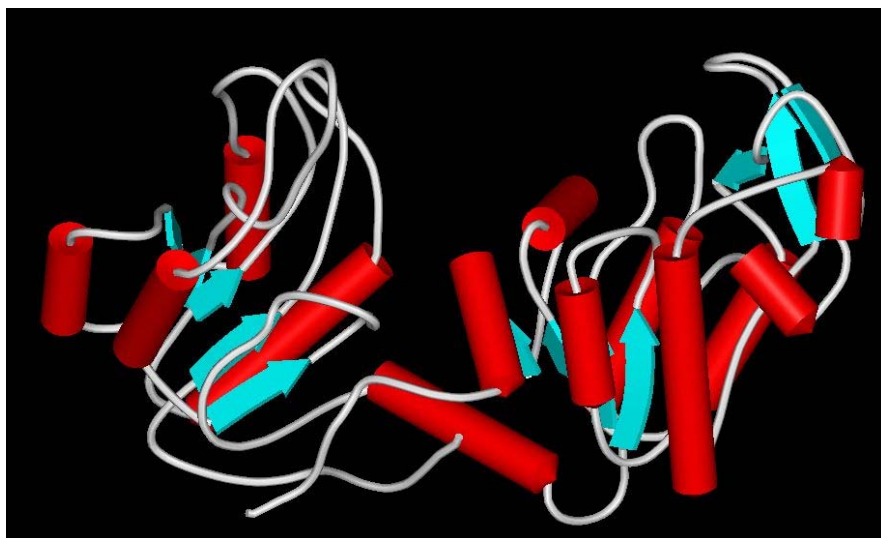


További példák

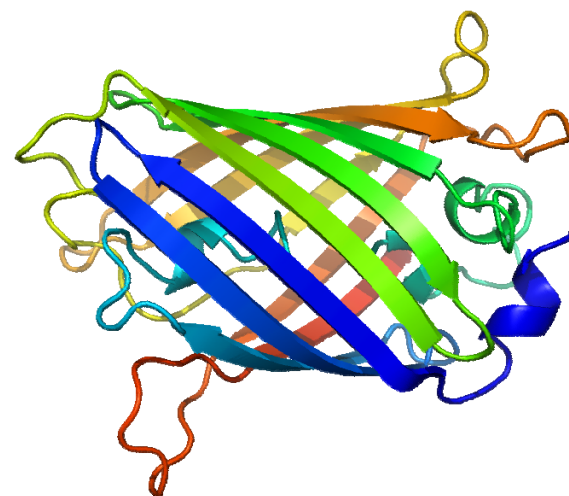
Lipoxigenáz



Példák: Foszfoglicerát-kináz



Példák: GFP



A harmadlagos szerkezetet stabilizáló kötések

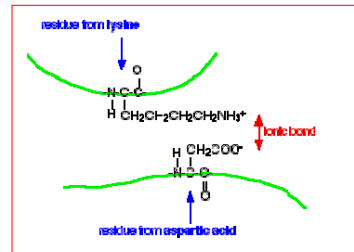
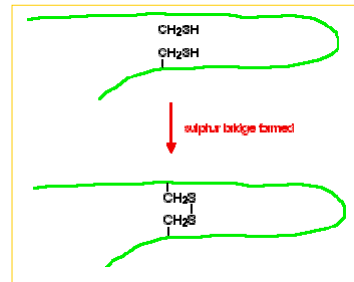
Oldalláncok között:

diszulfid híd

ionos

hidrogénhíd

Van der Waals



A harmadlagos szerkezetet stabilizáló kötések

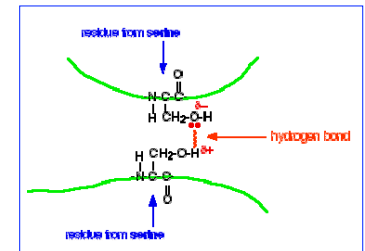
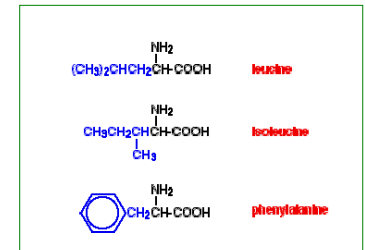
Oldalláncok között:

diszulfid híd

ionos

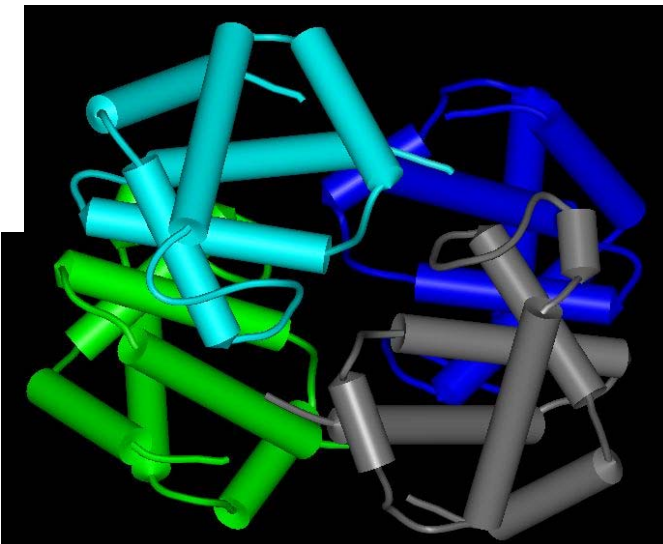
hidrogénhíd

Van der Waals

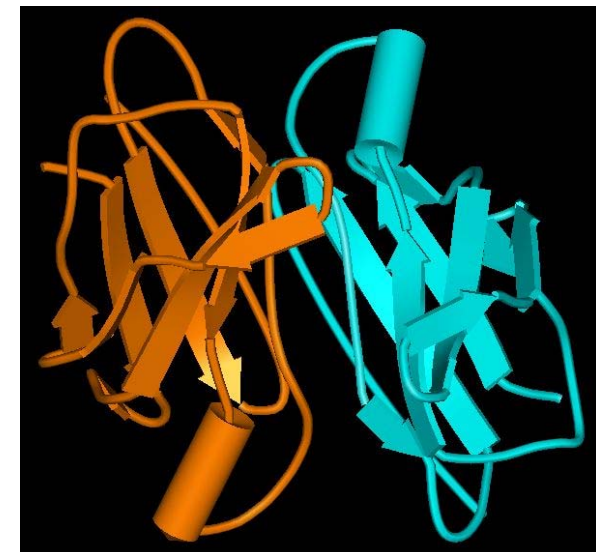


Negyedleges szerkezet

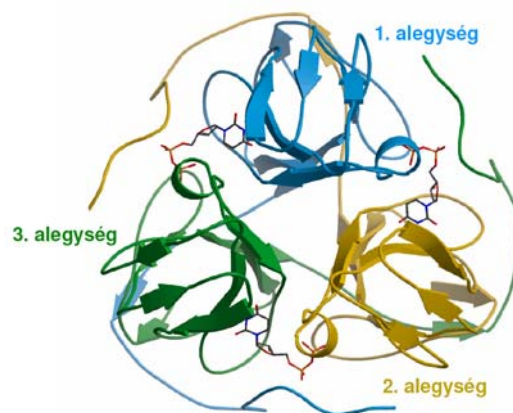
Csak több
láncból álló
fehérjéknél.
Pl:
Hemoglobin
tetramer



További példa: Transztiretin



További példa: DUTPáz



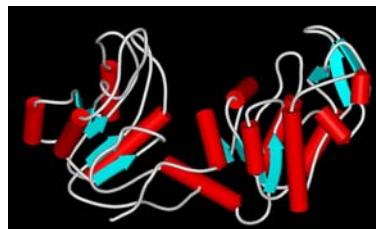
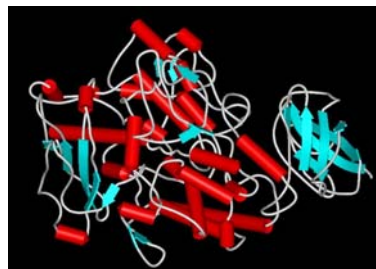
Ábra forrása: http://www.enzim.hu/~vertessy/kovari_phd.pdf

A fehérjeszerkezettel kapcsolatos további fontos fogalmak

- Domének
- Prosztetikus csoportok
- Poszttranszlációs módosulások
- Active site
- Zseb

Domének

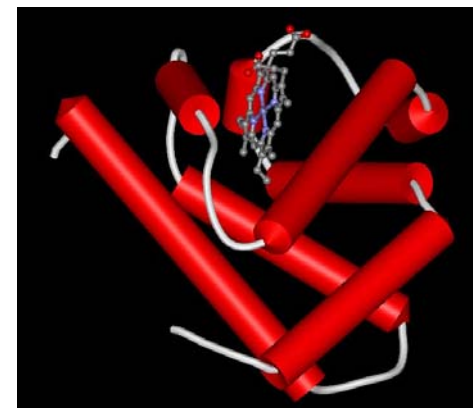
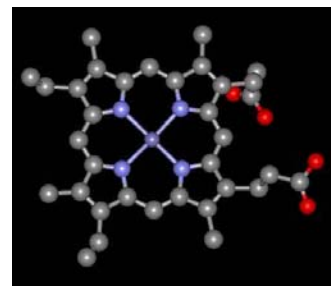
A domén a fehérjeszerkezet egy része, ami önállóan feltekeredik, a fehérje többi része nélkül is stabil és működőképes. Gyakran az egyes domének eltérő funkcióval bírnak. pl. ATP-kötő domén, stb.



További alkotóelemek: prosztetikus csoportok

Nem fehérje természetű molekulák amelyek a fehérjéhez erősen kapcsolódnak.

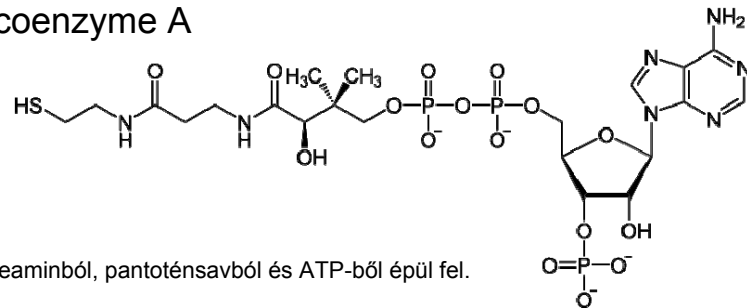
Pl: hem



További alkotóelemek: koenzimek

Az enzimek aktiválásához szükséges, gyengén, reverzibilisen kapcsolódó, nem fehérje-természetű molekula

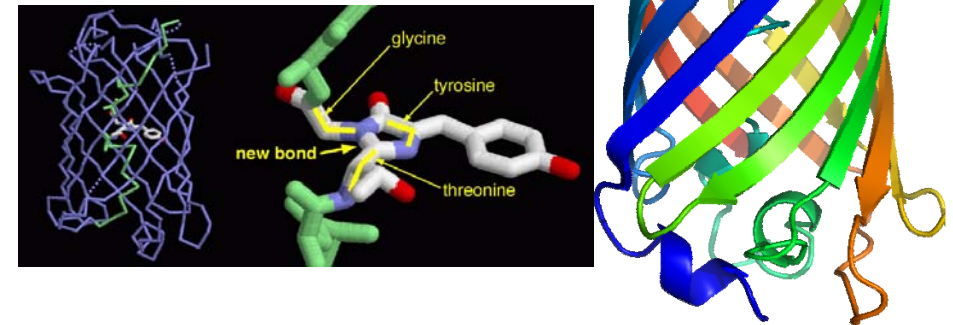
Pl: coenzyme A



Ciszteaminból, pantoténsavból és ATP-ből épül fel.

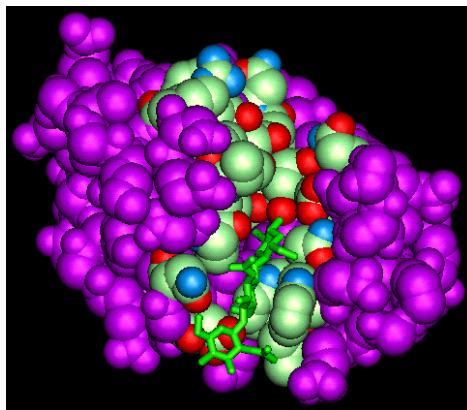
Poszttranszlációs módosulások

pl: kromofor kialakulása a GFP-ben

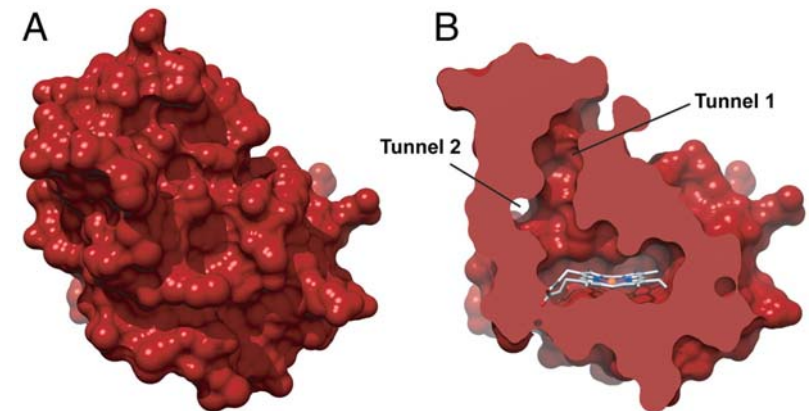


Aktív centrum

Aktív centrum (active site): az enzimnek az a része, ahol a katalizált reakció végbemegy.



Hem-zseb (heme pocket)

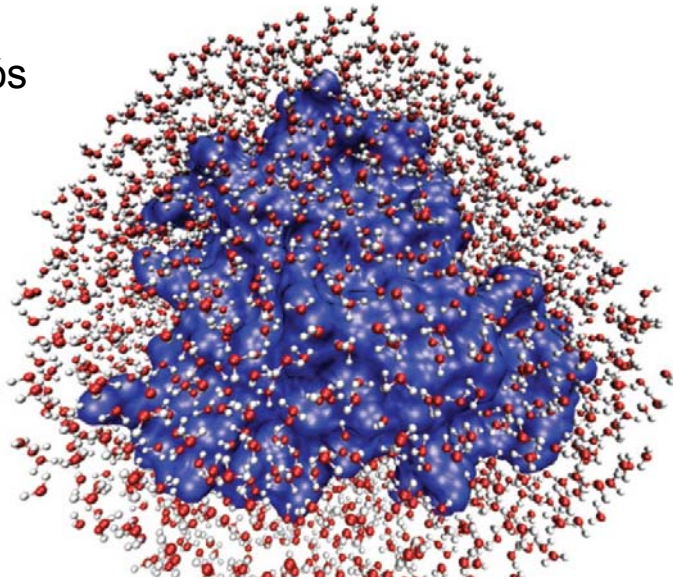


heme nitric oxide/oxygen binding (H-NOX) domain

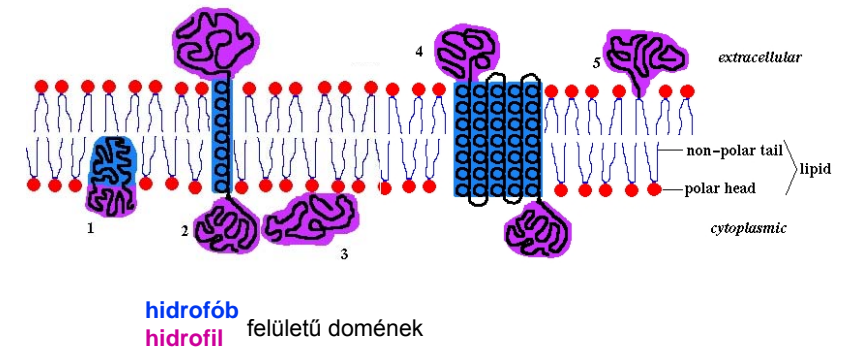
Winter M B et al. PNAS 2011;108:E881-E889

A víz szerepe

hidrációs
réteg
2-3
víz-
réteg

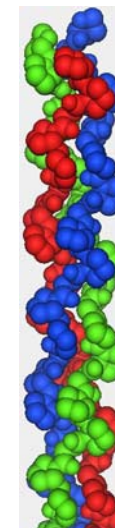
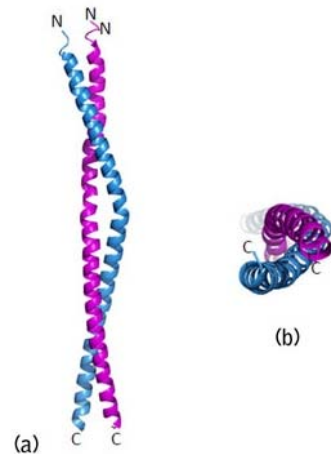


Membránfehérjék

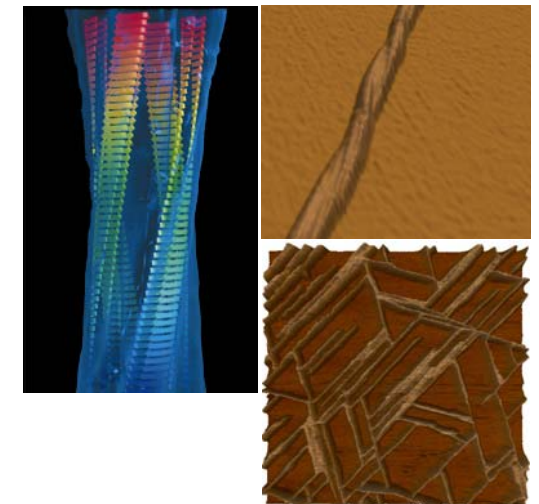


Szupramolekuláris szerveződések

- Coiled coil
- Kollagén
- Fibrillumok



kollagén



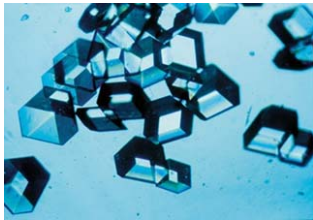
fibrillumok

A fehérjeszerkezet meghatározásra használható módszerek

Röntgen kristallográfia

NMR

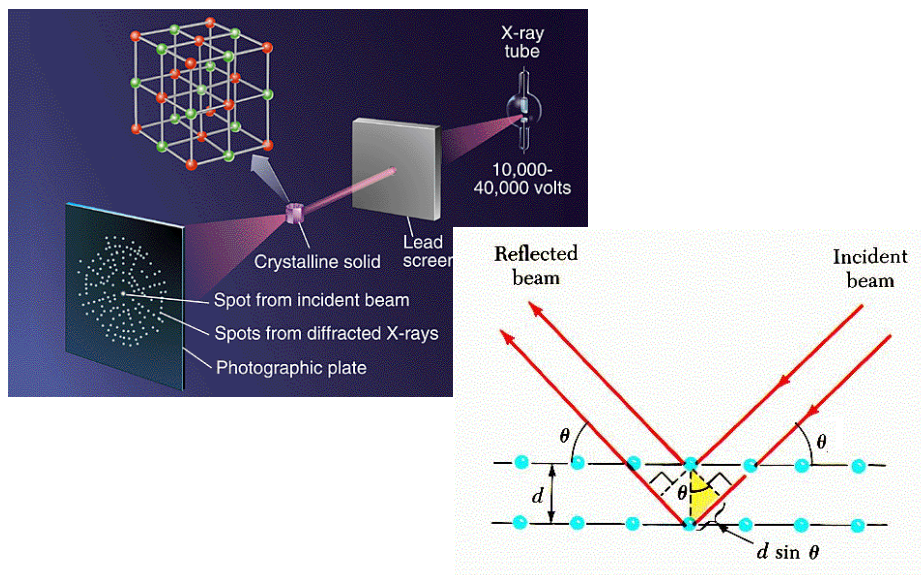
Predikációs módszerek (homológia modellezés)



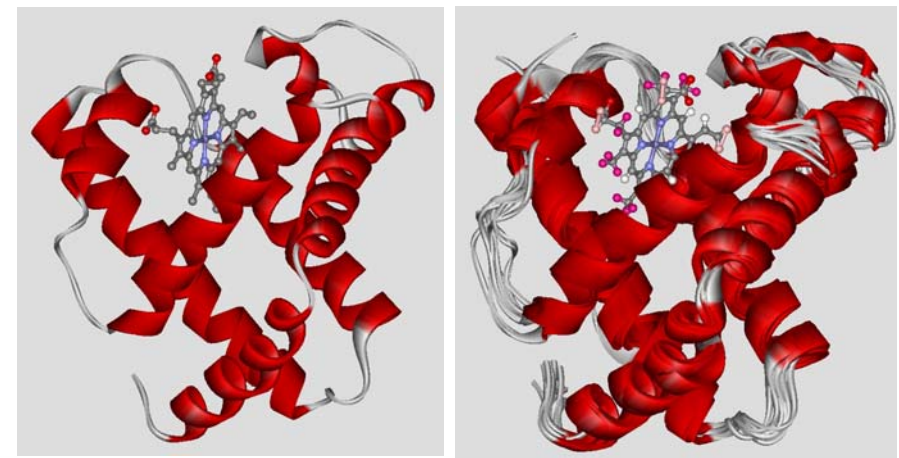
A fehérjeszerkezet változásaira érzékeny spektroszkópai módszerek

- Cirkuláris dikroizmus (CD)
- Infravörös spektroszkópia (IR, FTIR)
- Lumineszcencia spektroszkópia
- UV abszorpciós spektroszkópia
- ...

Röntgendiffrakció



Kristallográfia <-> NMR



mioglobin

Különböző szerkezetvizsgáló módszerek a szerkezet eltérő nívóira érzékenyek

CD, IR: másodlagos szerkezeti arányok

Fluoreszcencia:

trp: lokális környezet hidrofobicitása,
harmadlagos struktúra változása, kitekeredés

fluoreszcens jelzők: energiatranszfer kötődés
kitekeredés,

quenching: szerkezet kompaktsága (KI, akrilamid)

ANS kötés: hidrofób felszínek

...

UV absz.: aromás aminosavak környezete, kitekeredés,
harmadlagos szerkezet

Fehérje adatbázisok

- PDB

Protein Data Bank

3D szerkezetek kb (80 ezer)

Röntgenkristallográfiai ill.

NMR mérésekből

Swiss-prot

Szekvenciák

Proteomikai segédprogramok,

Szerkezet becslés (homológia modellezés)

Kémiai paraméterek becslése (pl. izoelektromos pont...)

Szekvenciák hasonlósága...

PDB adatbázis: fehérje 3D szerkezetek Rtg és NMR alapján

The screenshot shows the PDB website interface. At the top, there's a navigation bar with links like 'Fájl', 'Szerkesztés', 'Nézet', 'Előzmények', 'Könyvtárak', 'Eszközök', and 'Súgó'. Below this is a search bar with the text 'Search | All Categories: e.g., PDB ID, molecule name, author'. The main content area is titled 'Biological Macromolecular Resource' and features a 'Full Description' section. On the left, there's a sidebar with links to 'Home', 'News & Publications', 'Usage/Reference Policies', 'Website FAQ', and 'Deposition FAQ'. The main content area includes a 'Featured Molecules' section with a 'Structural View of Biology' and a 'Molecule of the Month' section highlighting 'Aminoglycoside Antibiotics'.

PDB file

```
HEADER      OXYGEN TRANSPORT                      27-SEP-93   1YMB   1YMB   2
COMPND      METMYOGLOBIN (HORSE HEART)
SOURCE      HORSE (EQUUS CABALLUS)
AUTHOR      S.V.EVANS,G.D.BRAYER
REVDAT      1   31-JAN-94  1YMB   0
JRNL        AUTH   S.V.EVANS,G.D.BRAYER
JRNL        TITL   HIGH RESOLUTION STUDY OF THE THREE-DIMENSIONAL
...
SEQRES      1   153  GLY LEU SER ASP GLY GLU TRP GLN GLN VAL LEU ASN VAL  1YMB  38
SEQRES      2   153  TRP GLY LYS VAL GLU ALA ASP ILE ALA GLY HIS GLY GLN  1YMB  39
...
HET         HEM      154      43      PROTOPORPHYRIN IX CONTAINS FE(II)      1YMB  50
...
HELIX       1   A SER      3   GLU      18   1
...
ATOM        1   N   GLY      1      -3.224  16.888  15.241  1.00  24.67      1YMB  74
ATOM        2   CA  GLY      1      -3.120  15.454  14.959  1.00  24.55      1YMB  75
ATOM        3   C   GLY      1      -2.299  14.719  16.007  1.00  24.06      1YMB  76
ATOM        4   O   GLY      1      -2.669  13.528  16.285  1.00  24.75      1YMB  77
ATOM        5   N   LEU      2      -1.312  15.335  16.627  1.00  23.47      1YMB  78
ATOM        6   CA  LEU      2      -0.482  14.622  17.641  1.00  21.68      1YMB  79
ATOM        7   C   LEU      2      -0.991  14.649  19.051  1.00  21.75      1YMB  80
...
END
```

PDB file

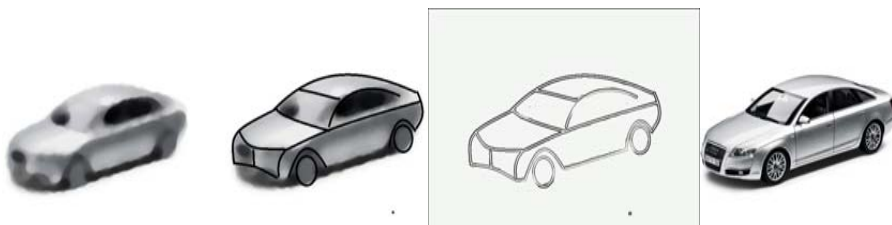
Definíció:

http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=file_formats/index.jsp

<http://www.wwpdb.org/docs.html>

[ftp://ftp.wwpdb.org/pub/pdb/doc/format_descriptions/Form at v33 A4.pdf](ftp://ftp.wwpdb.org/pub/pdb/doc/format_descriptions/Form%20at%20v33%20A4.pdf)

Felbontás: 1,5-2 Å (1 Å=10⁻¹⁰ m)



Expasy



Fehérjevizualizáló programok

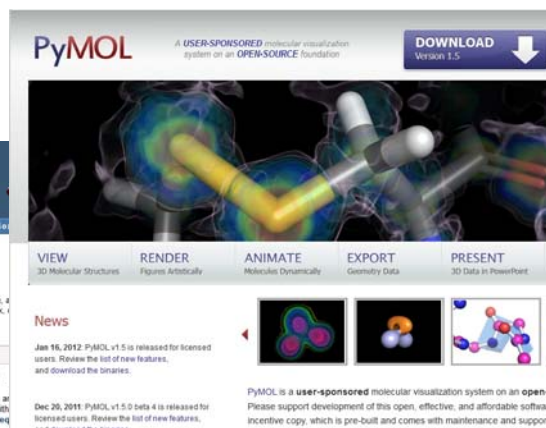
Rasmol (ingyenes, már nem fejlesztik)

ViwerLite (ingyenes, már nem fejlesztik) csak fizetős verziója van

VLMD

PyMOL

JMol (Java) www.jmol.org



Irodalom

<http://www.molecularmodels.ca/molecule/modelfiles/jb16alan.html>

<http://www.chemguide.co.uk/organicprops/aminoacids/background.html#top>

<http://www.chemguide.co.uk/organicprops/aminoacids/proteinstruct.html>

http://www.enzim.hu/~vertessy/kovari_phd.pdf

<http://www.pdb.org/>

T. E Chreighton: Proteins, Freeman and Company, New York

Orvosi Biofizika Szerk: Damjanovich, Fidy, Szöllösi

Tarján Imre: A biofizika alapjai

Elődi Pál: Biokémia

<http://www.pnas.org/content/108/43/E881.full>

<http://imtech.res.in/raghava/>

<http://www.cryst.bbk.ac.uk/PPS2/course/>

<http://www.cryst.bbk.ac.uk/PPS95/course/>

http://mkk.szie.hu/dep/aeet/tanweb/Fogalomtar/index_fogalom.htm

<http://www.med.upenn.edu/shorterlab/research.html>