

Лекция 9

Взаимодействия определяющие структуру молекул белков.
Согласованность структуры белков по ближним взаимодействиям.
Согласованность локальных и дальних по цепи, взаимодействий. Энергетика локальных структурных фрагментов. Основные принципы термодинамической стабильности глобулярных белков.

Самоорганизация полипептидной цепи. Термодинамические аспекты. Энтальпийно-энтропийная компенсация. Кинетические аспекты. Основные гипотезы и модели самоорганизации молекулы белка. Энергетический конформационный спектр. Способность к самоорганизации и аминокислотный состав белковой молекулы. Решеточные модели полипептидов. Связь между энергетическим конформационным спектром и способностью последовательности к самоорганизации в уникальную структуру.

Взаимодействия определяющие структуру молекул белков

- **стандартный набор взаимодействий**
- упругие деформации валентного остова,
- потенциалы внутреннего вращения,
- ван дер ваальсовы взаимодействия валентно не связанных атомов,
- электростатические взаимодействия валентно не связанных атомов,
- Н-связи
- S-S мостики - специальная валентная связь
- взаимодействие с растворителем

Согласованность структуры белков по ближним взаимодействиям

а) карта Рамачандрана для дипептида; б) статистика ϕ, ψ реальных белков

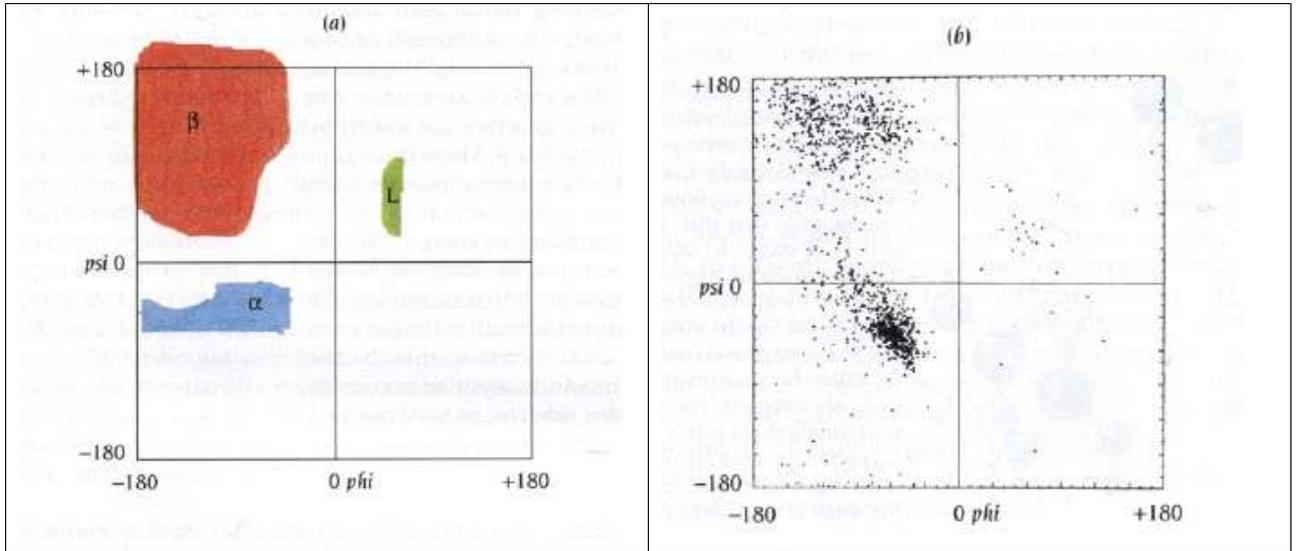


Рис. 9-1.

хорошее сходство карт =

- конформации выгодные на уровне дипептида, (взаимодействия соседних по цепи атомов) остаются выгодными и в длинных полимерных белковых структурах
- конформации выгодные по ближним по цепи атомам закрепляются и стабилизируются в полимерных структурах
- конформации и энергии локальных структурных образований макромолекулы близки к оптимальным
- макромолекула сложена из энергетически не напряженных блоков

= принцип согласованности ближних и дальних по цепи взаимодействий

Энергетика локальных структурных фрагментов

?????????? ?????????? ?????? ??????? ??????????? ?????????? ?????????? ?
?????? ?????? ???

?????????? ? ? ? ? ? (????????? ???????????) ~

$$\exp(- ????????(????????? ???????????)/kT_c)$$

??? T_c ?????? ? ?????????????? ?????????????? ??????

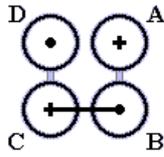
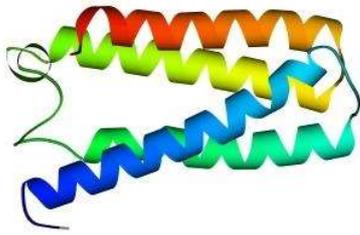
??? ??????????????, ?????? ??? ?????????????? ?????????????? ??????????? ??????????
?????????? ?? ?????????? ?????????????????????????? ?????????????? ??????? -

$$?????????(????????? ???????????) =$$
$$- kT_c \ln[????????? ? ? ? ? ? (????????? ???????????)]$$

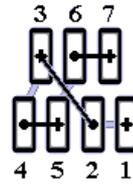
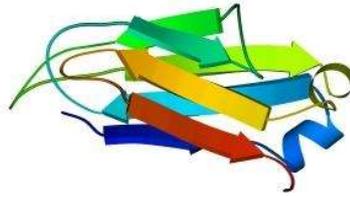
Основные принципы термодинамической стабильности глобулярных белков

1. Вторичная структура белков формируется в результате взаимодействия различных функциональных групп аминокислотных остатков. Основными элементами вторичной структуры являются α -спираль и β -лист. Стабильность этих элементов обеспечивается водородными связями, образованными между карбонильными группами и аминами соседних аминокислотных остатков. Кроме того, важную роль играют гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие ядро белка.
2. Третичная структура белка определяется совокупностью различных взаимодействий, обеспечивающих его компактность и стабильность. К основным факторам, влияющим на третичную структуру, относятся:
 - электростатические взаимодействия (ионные пары) между противоположно заряженными группами;
 - гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие ядро белка;
 - дисульфидные связи, образующиеся между цистеиновыми остатками;
 - водородные связи, стабилизирующие различные элементы структуры.

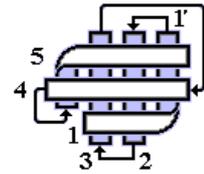
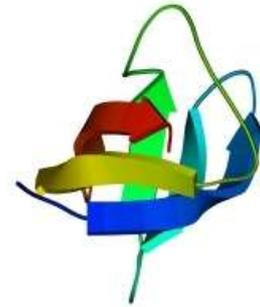
???????????? ???? ???? ???? ???? ???? ? α , β доменах



α : пучок спиралей



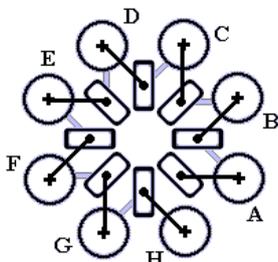
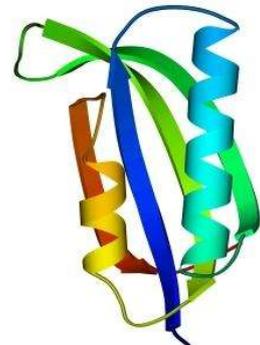
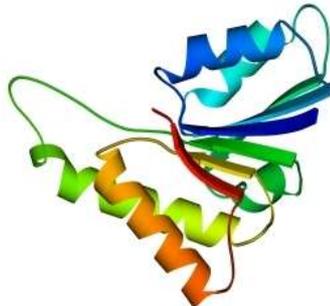
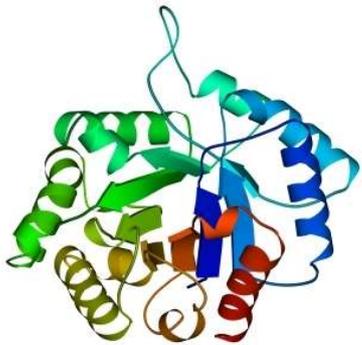
β : иммуноглобулиновая укладка



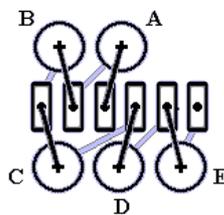
β : ОБ-укладка

???. 9-2.

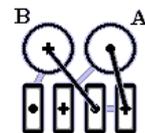
?????????? ?????? ??????? ?????????? ????? ? α/β ? $\alpha+\beta$??????.
 ??????? ?????????? α - ? β -?????????, ?????? ????? ??????? ?????? ?????? ?? α -
 ?????????, ????? ??????? ?? β -?????, ?? ?? ?? α -????????? ? β -?????
 ???????????????



α/β : α/β -цилиндр



α/β : укладка Россманна



$\alpha+\beta$: $\alpha\beta$ -складка

Рис. 9-3.

Основные принципы термодинамической стабильности глобулярных белков

нативная конформация оптимально стабилизирована различными типами взаимодействий:

- **ван дер ваальсовы** (плотная, идеальная подгонка боковых групп)
- **гидрофобные** (поверхность доступная водному растворителю – **минимальная**)
- **полная энергия электростатических взаимодействий** атомов между собой и с растворителем – **минимальная**

Энергии неправильно сложенных структур 7-ми белков относительно нативной в зависимости от RMSD отклонения от нативной структуры

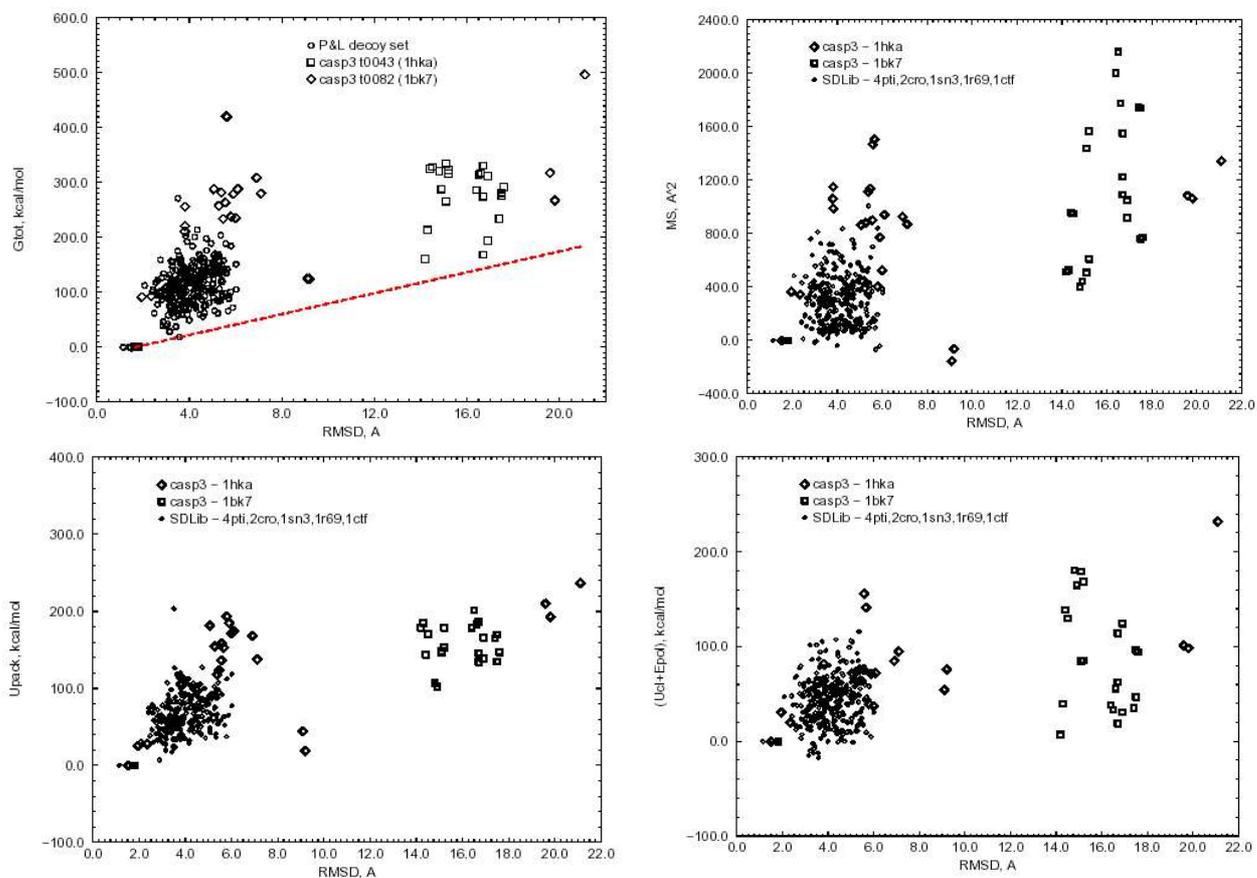


Рис.9-4.

мера соответствия двух конформаций 1,2 молекулы

$$RMSD = \left[\frac{1}{N} \sum_i (r_{1i} - r_{2i})^2 \right]^{1/2}$$

энергетическая щель $\Delta G \sim 20 \text{ kcal/mol}$ отделяет нативные конформации от ближайших по энергии ненативных

[Y.N.Vorobjev and J.Hermans *Protein Science* (2001) 10: 2498-2506]

Самоорганизация полипептидной цепи

Термодинамические аспекты

Стабильность структуры – зависит от условий среды (Т, рН, агентов денатурантов (мочевины))

Плавление – тепловая денатурация – **обратима**, т.е. полное восстановление нативной структуры (Анфинсен, 1960)

Белок в воде – описывается стандартной статистической термодинамикой

Эксперимент – плавление = переход типа ВСЕ или НИЧЕГО = присутствуют два состояния

- фазовый переход первого рода (тв.т. – жидкость) в микроскопической системе - S образный

плавление = переход типа ВСЕ или НИЧЕГО = наблюдаются два состояния, нет промежуточных

фазовый переход первого рода (тв.т. – жидкость) в микроскопической системе

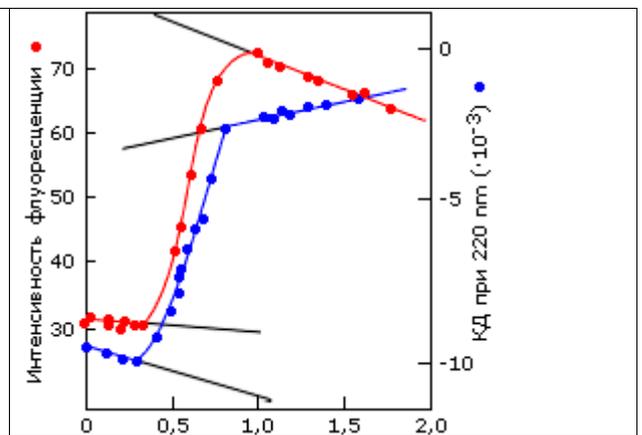


Рис. 9-5.

???????????? ???? "??-??-?????" ?????????? ? ?????????? ?????????????
?????? ? ?????????? ?????????? ?????????? ??????, ? ????????????? ?????????
???????????? ??????, ??? ????????????? ?????????????????? ??????, ??????????? ??
???????????? ?????????? ? ??? ??????????

Типичные оценки термодинамических величин

$$\Delta G_m = \Delta G_N - \Delta G_U = 0 \quad \text{при } T=T_m$$

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T_m \Delta S_m$$

При физиологических условиях

$$\Delta G_m \sim -0.1 \text{ -- } -0.5 \text{ ккал/моль/остаток}$$

$$\Delta H_m \sim -2.5 \text{ -- } -2.0 \text{ ккал/моль/остаток}$$

$$T \Delta S_m \sim 1.0 \text{ -- } 1.5 \text{ ккал/моль/остаток}, \quad \Delta S_m \sim 3. \text{ -- } 5. \text{ э.е. /остаток},$$

э.е.=кал/моль/град

Транспорт остатков гидрофобного ядра в раствор

$$\Delta G_{\text{solv}} \sim -1. \text{ -- } -1.5 \text{ ккал/моль/остаток}$$

Белки – энтропийно – энтальпийно компенсированные системы

Оценка потери энтропии – относительное уменьшение доступного фазового пространства (ϕ, ψ)

$$\Delta S_m \sim R \ln(\Omega_U / \Omega_N) \sim 3 \text{ -- } 5. \text{ э.е.}$$

$\Omega_U / \Omega_N \sim 5 \text{ -- } 10$ т.е. в расплавленном белке число состояний на остаток больше (с учетом ротамеров боковых групп) в 5 – 10 раз

Профиль ППЭ в окрестности нативного состояния

- Глубокий минимум
- Отделенный от ближайших состояний достаточно высоким потенциальным барьером
- необходимость противостоять тепловым флуктуациям энергии

$$\langle \Delta H^2 \rangle^{1/2} = RT(3N_{at})^{1/2} = RT(C_V/R)^{1/2} \sim 30 - 40 \text{ kcal/mol}$$

$$N_{at} \sim 1000 - 2000 \sim 100 - 200 \text{ остатков}$$

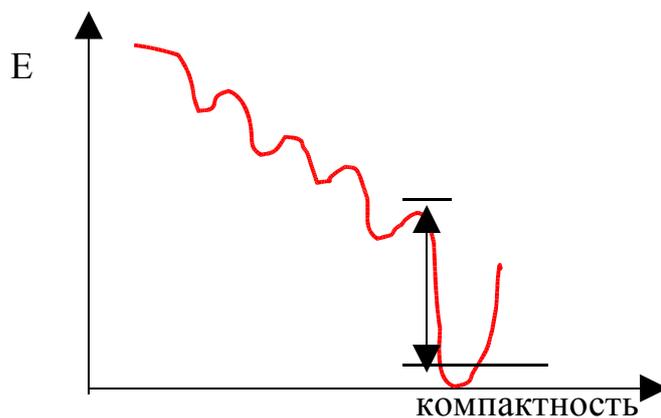


Рис.9-6.

Кинетические аспекты самоорганизации

Время самоорганизации домена – 10^{-2} – 10 сек

Время образования альфа спирали - 10^{-6} сек

Полное число конформационных состояний белковой глобулы

$\sim 10^N$, $N \sim 100$ остатков

время перескока в соседнее состояние $\sim 10^{-13}$ сек

время самосборки при случайном блуждании по ППЭ

$\sim 10^{N-13}$ сек $\sim 10^{100}$ сек \gg время жизни вселенной

- **Парадокс Левинталя** – приводит к выводу
- пути самоорганизации белковой глобулы не случайны, хорошо определены, детерминированы последовательностью остатков, ППЭ должна иметь вороночную структуру.

Вороночная структура ППЭ

Экспериментальная интерпретация ППЭ (2000)

Hen egg Lysozyme, 129 остатков

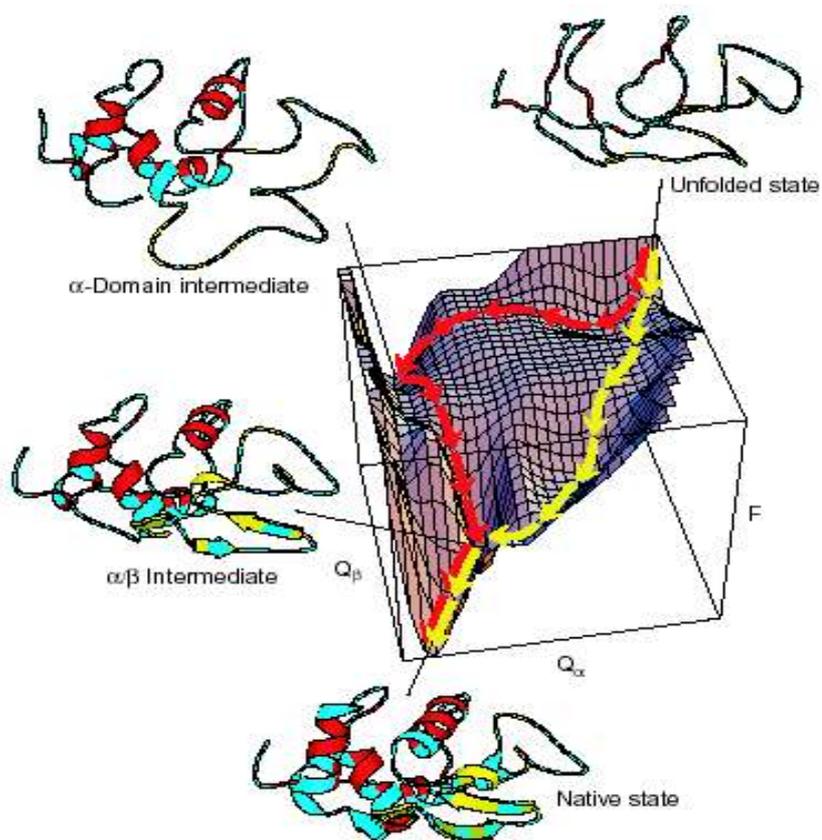


Рис. 9-7.

Модель ППЭ для решеточной модели НР

5*5 решеточная модель, бусиничная НР модель 125-бусинок, гидрофобно-гидрофильный контактный потенциал взаимодействия бусинок, моделирование методом МК (2000)

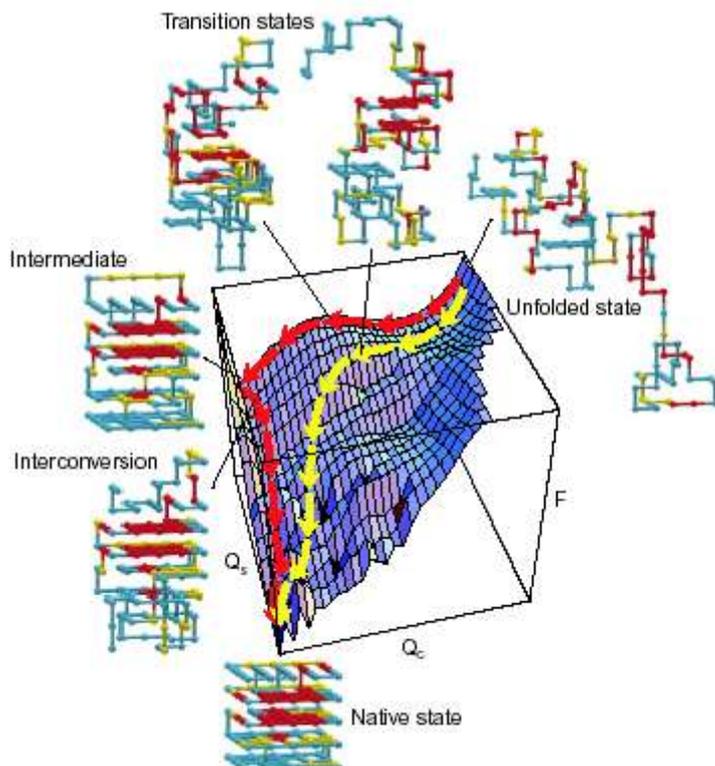
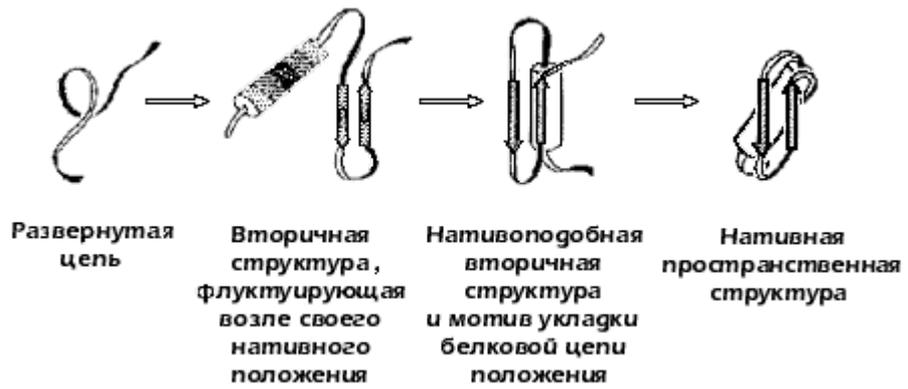


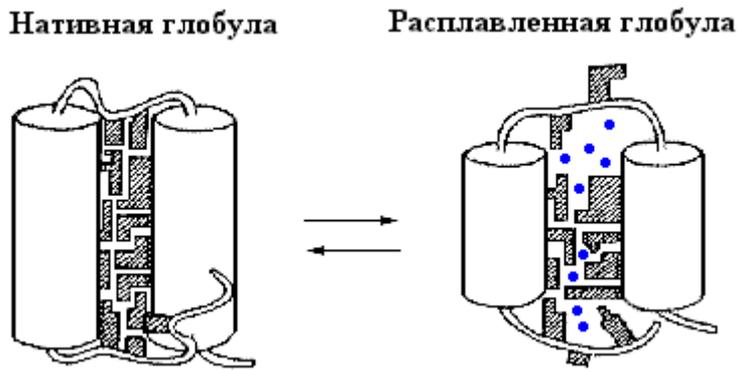
Рис. 9-8.

Стадийная модель самоорганизации Птицина (1973)



???. 9-9.

•???????????????? ???? – ?????? ?????? ?? ?????????? ??????????



???. 9-10.

????????????????? ?????????????????? ??????
 ?????????????????? ?????????????????? ??????

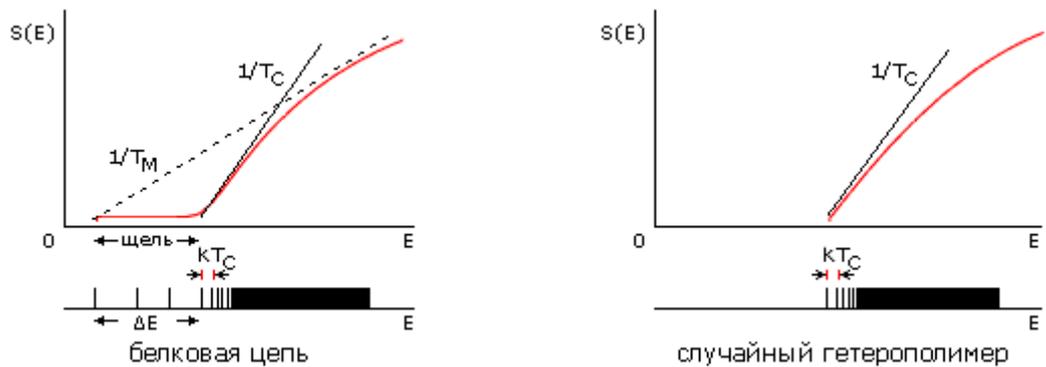
◆ ??? ?? ?????????????????????????????????????? ? ?????????????????????????????????????? – ???

????????????????? ?? ?????????????????? ?????????? ?? – ?????????????????? ??????????

- число состояний велико, но конечно, может быть перебрано методом МК
- исследована корреляция между последовательностью, спектром энергии, способностью к самосборке и её скоростью

основное требование к энергетическому спектру –

- нативное состояние должно быть отделено достаточно широкой энергетической щелью от ближайших ненативных



9-11. ?????????????????? ?????????? S ?? ?????????? ? ??? ?????????? ????? (?) ? ??? ?????
 ?????????????????? ?????????????????????? (?). ?????????????????? ? ?????????? ?????? ?????????? $S(E)$, ??????????????????
 ?????????????????? T_c ?????????????????? ?????????????????? ?????????????? ? ?????????????????? T , ?????????????????? ??????
 (?????? ? ?????? ?????????????????? ?????????????????? ??????????, н.н. T_c ?????????????????? ?????? T_c). ??????
 ?????????????????? ?????????????????? ?????? ?????????????????????????????????????? ?????????????????? ??????????????????
 ?????????????????? ?????????? ?????????? ?????? — "?????????????????" ?????????????????????????????????????? — ?????????????
 ?????????????????????????????????? ?????? (????????? $\Delta? \gg kT_c$) ?????????? ??????????????????, ?????? ?????????????????? ?????????????
 ?????? ? ??????????, ?? ?????????????????? ?? ???
 ?????????????????? ??????????????????, ?? ?????????????????? ?????????????????????? ?? ??????????????????, ?????????????????????? ?????????? ?????? ?????
 ?????? "?????????????????" ?? "?????????????????" ?????????????????? ?????????????????? ?????????????????? ??????

(?? ?????????? ????????) ?????????? ?????????? ??????????, ??. ??
???????????? ??????? ??????.

Е-щель необходима и для **быстрого и безошибочного**
сворачивания его нативной структуры.