

A fehérjék szerkezete és az azt meghatározó kölcsönhatások

1. A fehérjék szerepe az élőlényekben
 2. A fehérjék szerkezetének szintjei
 3. A fehérjék konformációs stabilitásáért felelős kölcsönhatások
 4. Fehérjeadatbázisok
 5. Szerkezeti családok
 6. A fehérjék térszerkezetének meghatározása
-

A fehérjék szerepe az élőlényekben

Fehérjék csoportosítása biológiai feladataik alapján

Típus és példa	Előfordulás és funkció
Enzimek	
tripszin	bélben, proteolízis
citokróm-c	elektrontranszport
RNS-polimeráz	RNS-szintézis
Transzportfehérjék	
hemoglobin	oxigénszállítás
szérumalbumin	zsírsavszállítás
Védőfehérjék	
ellenanyagok	immunválasz
trombin	véralvadás
Toxinok	
diftériatoxin	baktérium mérge
Hormonok	
inzulin	glükózanyagcsere szab.
növekedési hormon	csontok növekedése
Kontraktilis fehérjék	
miozin	izomműködés
aktin	izomműködés
dinein	csillók, ostorok
Struktúrfehérjék	
kollagén	kötőszövetek
keratin	bőr, szőr, stb.
glikoproteinek	sejthártya és sejtfal

Tartalékfehérjék	
ovalbumin	tojás
kazein	tej
ferritin	vastárolás a lépben

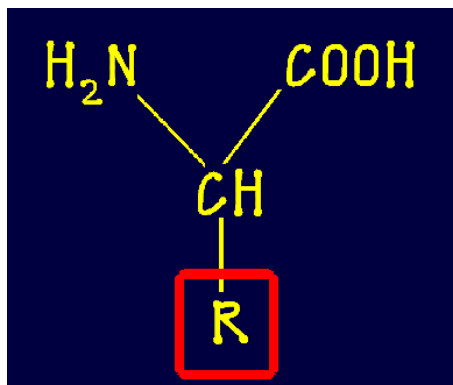
Fehérjék csoportosítása szerkezetük alapján

- Globuláris fehérjék
- Fibrilláris fehérjék

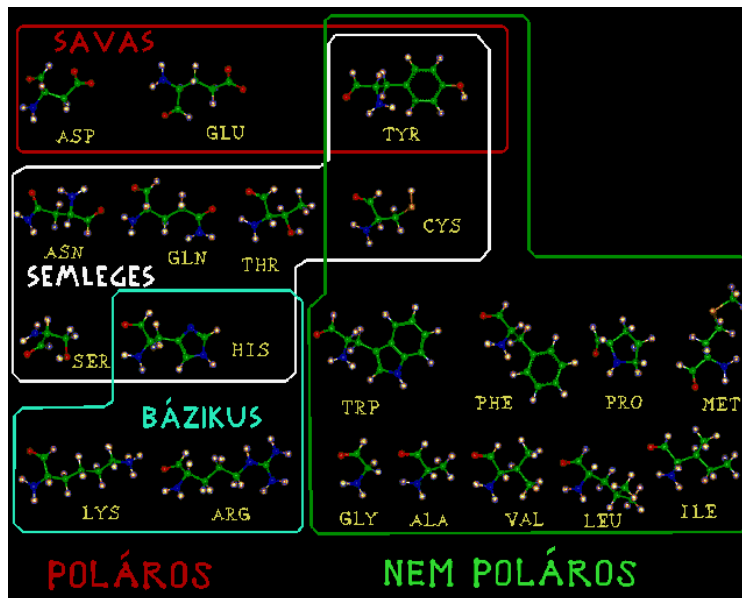
A fehérjék szerkezetének szintjei

- Elsődleges szerkezet
- Másodlagos szerkezet
 - ◆ Topológiák (szupermásodlagos szerkezet)
- Harmadlagos szerkezet
 - ◆ Architektúrák
 - ◆ Domének
- Negyedleges szerkezet

A fehérjék építőkövei: az aminosavak



Az R oldallánc húszféle lehet:

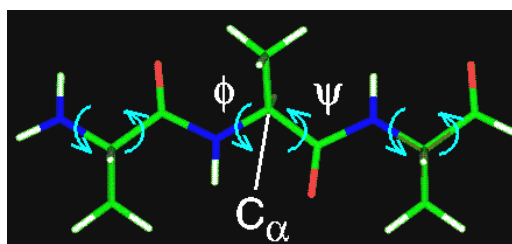


Az oldalláncok tulajdonságai

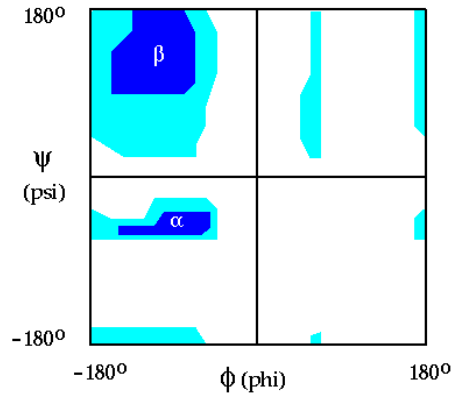
- A Gly növeli a főlánc flexibilitását
- Az elágazó oldalláncok merevebbek (Val, Ile, Leu)
- A Pro visszakapcsolódik a főláncba, ezzel merevít
- A Cys diszulfidhidakat képezhet
- A His pK-ja 6,0, lehet töltött vagy töltetlen, gyakran vesz részt a katalízisben

Másodlagos szerkezet

A polipeptidlánc flexibilitása



- A peptidkötés általában merev (részleges kettős-kötés rezonancia miatt)
 - ◆ *cisz* és *transz* állapotok lehetségesek, de a *transz* állapot sokkal kedvezőbb energetikailag a *cisz*-nél.
 - ◆ Kivéve a prolint, ahol a *cisz* állapot csak alig kedvezőtlenebb a *transz*-nál, fehérjékben gyakran elő is fordul.
- Forgás az alfa-szénatom melletti két kötés körül lehetséges (fi, pszi szögek)
- Az atomok kölcsönhatásai, ütközései miatt az egyes (fi,pszi) párokhoz tartozó konformációk nem azonos energiájúak. Ramachandran-térképen (Ala):

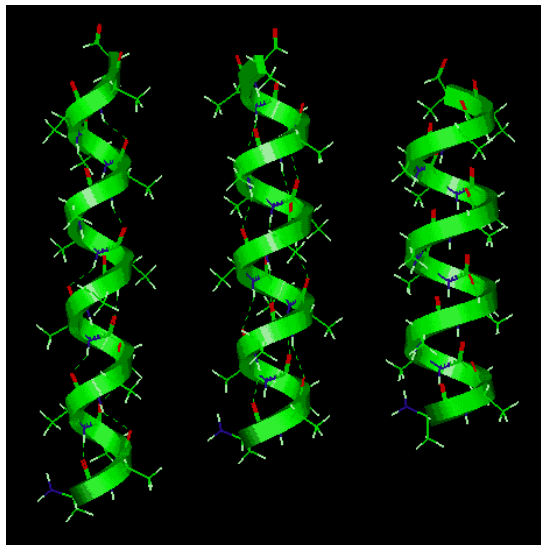


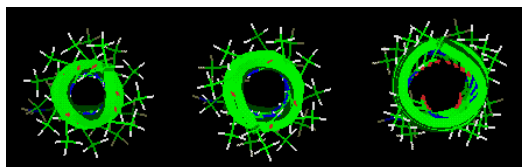
- ◆ Alfa-hélix és béta-redő energiaminimumai
- ◆ A Gly esetében a gerinc sokkal szabadabb, a Pro esetében *pszi* értéke mindig -60 fok körüli.

Másodlagos szerkezeti elemek

- Másodlagos szerkezet: **a lánc gerincének rövid távú szerkezete**
- A polipeptidláncot szakaszokra bonthatjuk:
 - ◆ Jellegzetes konformációk
 - ◇ periodikus konformációk (homokonformációk; ugyanaz a (fi,pszi) pár ismétlődik). Pl. hélixek, béta-redő.
 - ◇ aperiodikus konformációk (heterokonformációk; a (fi,pszi) változik a lánc mentén). Pl. béta-kanyarok, gamma-kanyar.
 - ◆ Nem-jellegzetes konformációk (szabálytalan szerkezetek)

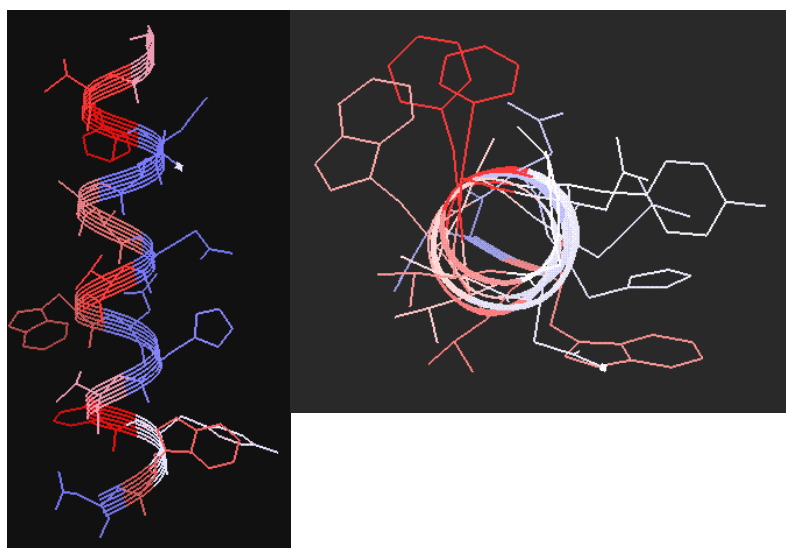
Hélixek





3₁₀ hélix	Alfa-hélix	Pi-hélix
<ul style="list-style-type: none"> • 3₁₀, menetenként 3 aminosavrész, egy H-kötés 10 atomot fog közre • $i \rightarrow i+3$ H-kötések (CO és NH között) • túl szoros pakoltság, torzult H-kötések, ezért kedvezőtlen • ritka, csak rövid szakaszok fordulnak elő, többnyire alfa-hélixek utolsó fordulataként 	<ul style="list-style-type: none"> • 3,6₁₃, menetenként 3,6 aminosavrész, két H-kötés 13 atomot fog közre • $i \rightarrow i+4$ H-kötések (CO és NH között) • nagyon stabil, kedvező, ezért igen gyakori • fehérjékben 4–30 aminosavrészből áll, átlagosan 11-ből (3 fordulat) 	<ul style="list-style-type: none"> • 4,4₁₆, menetenként 4,4 aminosavrész, két H-kötés 16 atomot fog közre • $i \rightarrow i+5$ H-kötések (CO és NH között), de nagy a távolság • számos ütközés, a hélix tengelyében lyuk van, ezért kedvezőtlen • soha nem figyelték meg
<ul style="list-style-type: none"> • Az oldalláncok kifelé állnak. • A peptidcsoportok mind ugyanúgy állnak, ezért a hélixnek makrodipólja van • A fentiek mind jobbkezes hélixek. A balkezes energetikailag kedvezőtlen az oldalláncok ütközései miatt, ezért nem fordul elő. 		

Amfipatikus alfa-hélix

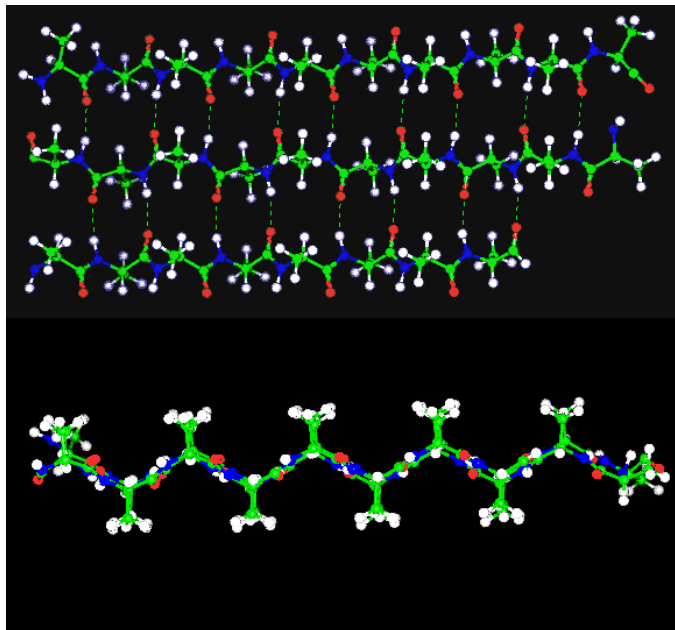


A hélixnek a fehérje belseje felé eső oldalán elsősorban apoláros, a víz felé eső oldalán poláros oldalláncok vannak.

Egyéb hélixek

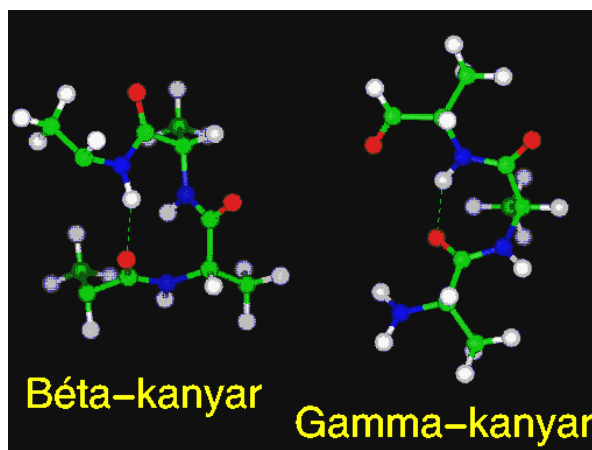
- **Kollagénhélix**: három párhuzamosan futó lánc, balkezes hélixként egymásba fonódva.
- Poliprolin hélix
- Poliglicin

Béta-redő



- **Parallel** vagy **antiparallel** módon futó szálak, közöttük H-kötések.
- Az oldalláncok váltakozva lefelé és fölfelé állnak
- Igen gyakori a fehérjékben
- A legtöbb béta-lemezben *balkezes csavar* van, mert az egyes szálak maguk is kissé csavarodnak.
- A béta-lemez méretének nincs határa. A selyemfibroin nagyon hosszú, csavart béta-lemezekből áll.

Kanyarok (*turn*ök)



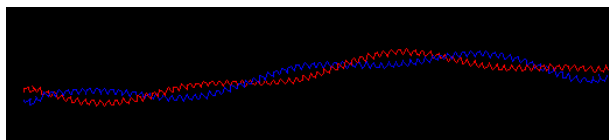
- **Béta-kanyar:** olyan, nemhelikális tetrapeptid, amelynél az első és az utolsó alfa-szénatom távolsága 7 angströmnél kisebb.
- **Gamma-kanyar:** olyan tripeptid, melyben az első és az utolsó peptidcsoport között hidrogénkötés van.
- Számos kanyartípust definiáltak a szögek alapján: 7-féle béta kanyar (+ háromnak a tükörképe is), 2-féle gamma-kanyar

Topológiák

A másodlagos szerkezeti elemek jellegzetes elrendeződései



- A béta–valami–béta motívumok általában jobbkezesek, mert a polipeptidlánc gerince jobbfelé szívesebben csavarodik.
- 2 hélixből álló motívum a "coiled coil" (csavart csavar): két hosszú hélix egymás köré csavarodva. Pl. keratin, tropomiozin.



Harmadlagos szerkezet

A teljes polipeptidlánc térbeli szerkezete, a másodlagos szerkezeti elemek térbeli elrendeződése

Architektúrák: jellegzetes harmadlagos szerkezetek. Pl.:



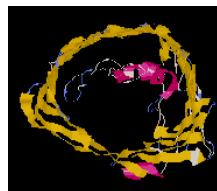
Hélixköteg (citokróm C)



Hélixek (hemoglobin)



Egyszeres redő (heregulin alfa)



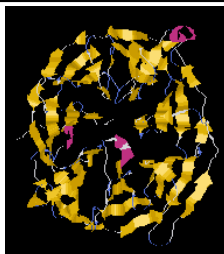
Béta hordó (porin)



Béta szendvics (hisztokomp. antigén)



Béta hasáb (agglutinin)



Béta propeller (metilamin dehidrogenáz)



Béta szolenoid (Fágfehérje)



Alfa-Béta tekercs (scytalone dehidratáz)



Alfa-Béta hordó (triózfoszfát izomeráz)



Alfa-Béta 2-szendvics (barnáz)



Alfa-Béta 3-szendvics (génszabályozó fehérje)



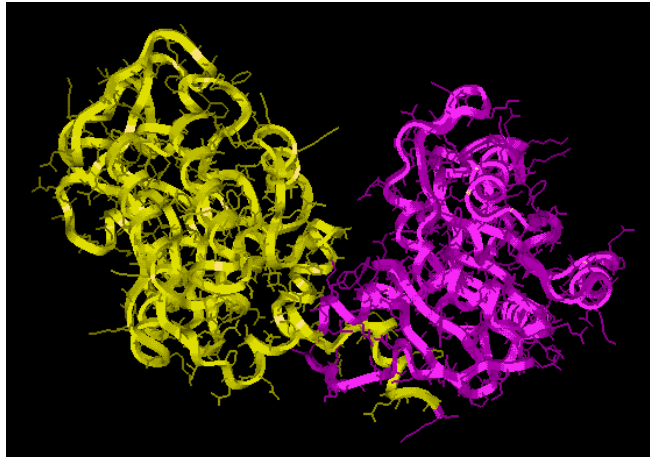
Alfa-Béta 4-szendvics (DNáz)



Alfa-Béta Lópatkó (RNáz inhibitor)

Domének

- A polipeptidlánc globuláris régiói
- Feltehetően a felgombolyodás egységei
- A nagyobb fehérjék mind 100–150 aminosavnyi doménekre oszlanak
- Az egyes doméneknek gyakran más-más funkciója van



Foszfoglicerát kináz két doménje

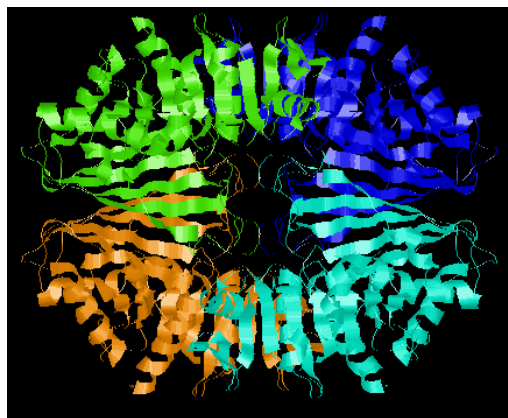
Fold ("gomboly")

A gomboly (angolul *fold*) egy fehérjedomén globális, nagy vonalakban vett szerkezete. Lényegében a polipeptidlánc gerincének hozzávetőleges térbeli lefutását értjük alatta. Magában foglalja tehát a másodlagos szerkezeti elemek egymáshoz viszonyított körülbelüli térbeli elhelyezkedését, és az összeköttetések sorrendjét, a topológiát.

Az egymáshoz nagyjából hasonló térszerkezetű fehérjéknek tehát ugyanolyan a "gombolyuk". Az azonos gombolyt mutató fehérjék egy szerkezeti családba tartoznak.

Negyedleges szerkezet

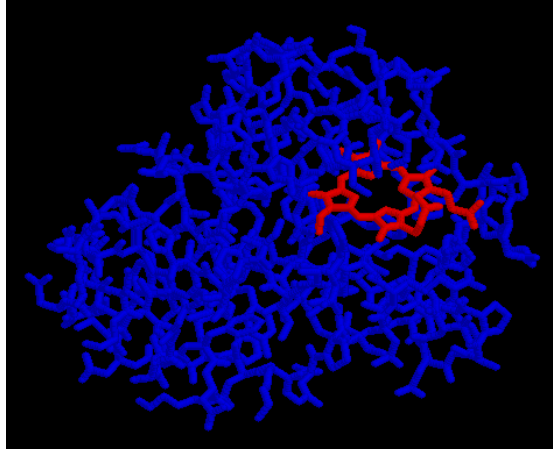
A több polipeptidláncból álló fehérjék alegységszerkezete



Gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz

Koenzimek, prosztetikus csoportok

- Nem fehérje természetű molekulák, melyek a fehérjéhez kapcsolódnak
- Koenzim: könnyen disszociál
- Prosztetikus csoport: erősen kötődik a fehérjéhez



Mioglobin, benne hem csoporttal

Mag és felszín

- A fehérje belsejében az oldalláncok szorosan illeszkednek
- A térkitöltés sűrűsége: átlagosan 0,75 (mint egy jó kristály)
- A belső magban eltemetett oldalláncok többségében hidrofóbok, a felszínen lévők polárosak vagy töltöttek
- A hidrofób oldalláncok 63%–a belül van, a maradék hidrogénkötött poláros oldallánc.
- A töltött oldalláncok a felszín 27%–át teszik ki.
- Előfordulnak belső üregek, ha elég nagyok, víz is lehet bennük, hidrogénkötötten.

A fehérjék konformációs stabilitásáért felelős kölcsönhatások

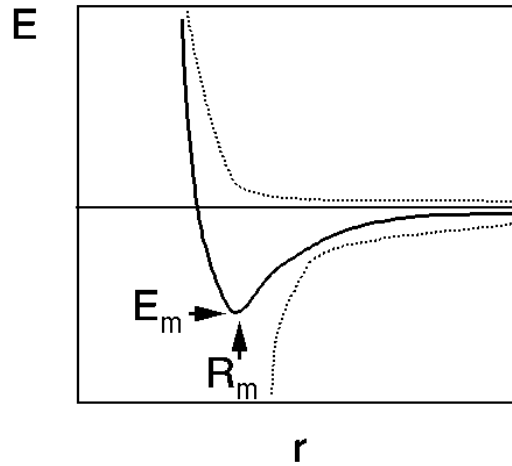
- Rövid távú tasztítás
- Van der Waals kölcsönhatás
- Elektrosztatikus kölcsönhatás
- Hidrogénkötés
- Hidrofób kölcsönhatás
- Diszulfidhidak
- Kooperativitás

Rövid távú tasztítás

- Az elektronpályák tasztítása miatt
- A távolság csökkenésével rohamosan nő az energia (szokás $1/r^{12}$ -es függvénnel közelíteni)
- Jó közelítéssel meghatározott sugarú, kemény gömböknek tekinthetjük az atomokat. Sugaruk a Van der Waals–sugár.

Van der Waals–kölcsönhatás

- más néven **London–erők** vagy **diszperziós erők**
- bármely két atom között hatnak, az *indukált dipólmomentumok kölcsönhatása miatt*
- távolságfüggése $1/r^6$ -os



- A rövid távú tasztással összevonva adódik a **Lennard–Jones potenciál**:

$$E = A/r^{12} - B/r^6$$

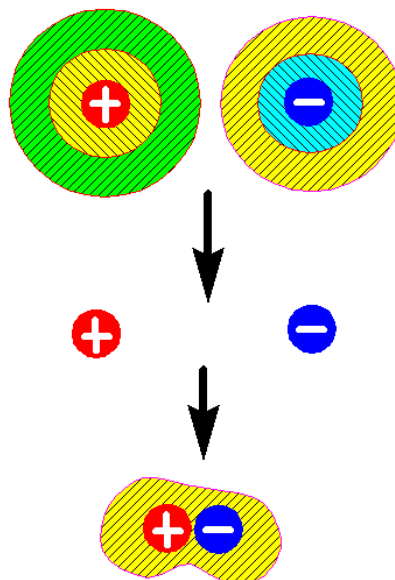
Elektrosztatikus kölcsönhatás

A Coulomb–kölcsönhatás szerint:

$$E = \frac{q_1 q_2}{\epsilon_0 \epsilon_r r_{12}}$$

- A relatív dielektromos állandó a fehérje belsejében kb. 4, a vízben kb. 80 (erős árnyékolás).
- Sóhidak (ionpárok): Lys, Arg és Glu, Asp között
- A peptidkötés dipólmomentumát hélix felerősíti
- A láncvégeken töltött amino–, ill. karboxilcsoportok

Vizes oldatban:



- A töltések körül nagyméretű hidrátburkok van. Ha két ellentétes előjelű töltést közel akarunk vinni egymáshoz, hogy kialakuljon a Coulomb–kölsönhatás, ahhoz előbb le kell választani róluk a hidrátburkot (deszolvatáció), ami igen energiaigényes.
- A két töltés kölcsönhatásba lépésekor kedvező Coulomb–kölsönhatás jön létre, és egy kisebb hidrátburkok. Ez az energianyereség *nem fedezi* a hidrátburkok lefejtéséhez felhasznált energiát.
- **Vizes oldatban tehát az elektrosztatikus kölcsönhatás energiája általában kedvezőtlen!**
- Fehérjében: Gyakran destabilizál (nem a stabilitásban, hanem a szerkezet specificitásában van szerepe), de stabilizálhat, ha egyéb kölcsönhatások "rásegítenek", ill. ha az ionpárok hálózatot képeznek.
- **Magas hőmérsékleten:** a hidrátburkok jóval vékonyabb, lazább. A deszolvatáció "olcsóbb" (kevésbé energiaigényes). A **kölcsönhatás energiája kedvező lehet.** Termofil fehérjéknél gyakori.

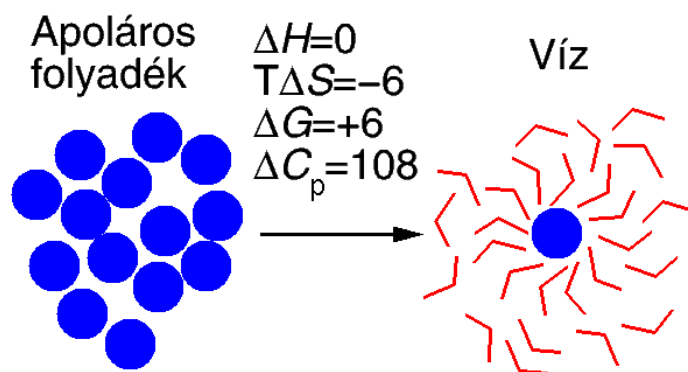
Hidrogénkötések

- Nagy elektronegativitású atomhoz kapcsolódó hidrogének létesítik, nagyrészt elektrosztatikus kölcsönhatás
- Típusai a fehérjékben:

Donor–akceptor	Séma
Hidroxil–hidroxil	–O–H...OH
hidroxil–karbonil	–O–H...O=C<
amid–karbonil	>N–H...O=C<
amid–hidroxil	>N–H...OH
amid – imidazol	>N–H...N<
amid–kén	>N–H...S<

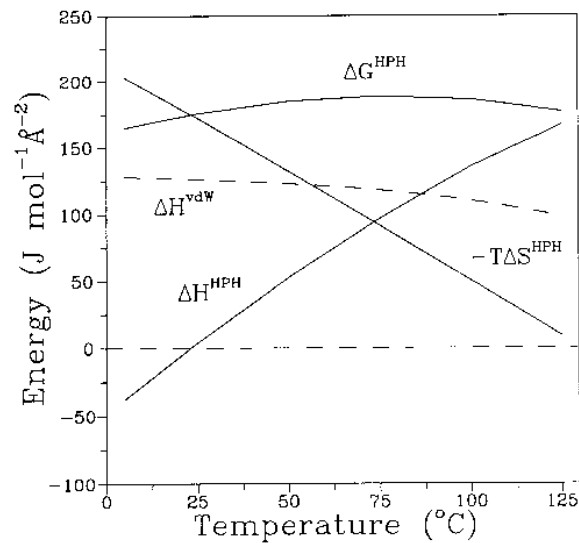
- Bifurkáció lehetséges (egyazon akceptor két donorhoz is köt)
- A proton az akceptort és a donort összekötő vonalon helyezkedik el, de a két dipólus gyakran nem esik egy vonalba, így csökkent az energia.

Hidrofób kölcsönhatás



- Hidrofób molekulát szobahőmérsékleten apoláros folyadékból vízbe viszünk át. Ekkor
 - ♦ A víz kb. ugyanolyan energiájú kölcsönhatásokat létesít a hidratáció során, mint az apoláros folyadékban a molekulák egymás közötti VdW kölcsönhatásai → **entalpiaváltozás kb. 0.**
 - ♦ A víz az apoláros molekula körül (mivel nem tud H–kötést képezni vele) nagymértékben rendeződik, ketrec–szerű hidrogénkötött szerkezetbe. Emiatt **jelentős entrópiacsökkenés** van.
 - ♦ Ebből adódóan az átvitel **szabadentalpiája nagy**, tehát kedvezőtlen.
 - ♦ A hőmérsékletet emelve az apoláros molekula körül rendeződött vizet ki kell "olvasztani". Emiatt a **hőkapacitás nagy.**
- Az átvitelkor az entrópiacsökkenés arányos az apoláros molekula felszínével.
- Az apoláros molekulák aggregálódásakor az apoláros felszín csökken, a ketrec–szerű szerkezetbe rendeződött vízmolekulák nagy része felszabadulhat, ami entrópiánövekedéssel jár, ezért a folyamat kedvező. Ez a **hidrofób kölcsönhatás.**

- Mivel az aggregáció entrópiánövekedéssel jár, a hőmérséklet növelése kedvez neki. A hőmérséklet növelésével a hidrofób kölcsönhatás eleinte erősödik (szabadentalpiában mérve).
- A kölcsönhatás hőmérsékletfüggése bonyolult: A hőmérséklet emelésével az entrópianyereség csökken (kb. 125 Celsius-fokon 0 lesz), az entalpikus járuléka (itt nem részletezendő okok miatt) viszont nő. Ezért magas hőmérsékleten már csökken a hidrofób kölcsönhatás erőssége. A kölcsönhatás maximuma kb. 75 Celsius-foknál lehet.



DeltaG^{HPH}: szabadentalpia, a hidrofób kölcsönhatás erősségét jellemzi

- Hidrofobitási skálák: sokféle definíció a többféle mérési módszer alapján
- Aminosav-oldalláncok hidrofobitása: arányos az apoláros felszínük nagyságával

Diszulfidhidak

- Magára a felgombolyodott szerkezetre kevés hatása van
- Szerepe az, hogy a szétgombolyodott polipeptidlánc mozgásszabadságát, *konformációs entrópiáját* csökkenti, ezáltal a legombolyodás kedvezőtlenebb lesz.
- A konformációs entrópiára gyakorolt hatása becsülhető:

$$\Delta S_{\text{konf}} = -b - (3/2)R \ln n$$

ahol n a két ciszteint elválasztó aminosavrészek száma, b egy konstans (értéke nehezen becsülhető)

- Tehát minél távolabbi részei vannak összekapcsolva a láncnak, annál nagyobb a stabilizáló hatás.

Kooperativitás

- A fehérjemolekula konformációját eléggé gyenge kölcsönhatások stabilizálják, de igen sok van belőlük
- A kölcsönhatások között **kooperáció** áll fenn: erősítik egymást, ezért együttes hatásuk nagyobb, mint a külön-külön vett hatásaik összege.
- A konformációs stabilitás nagy számú stabilizáló és destabilizáló hatás eredőjeként áll elő (nagy számok kis különbsége).

Fehérjeadatbázisok

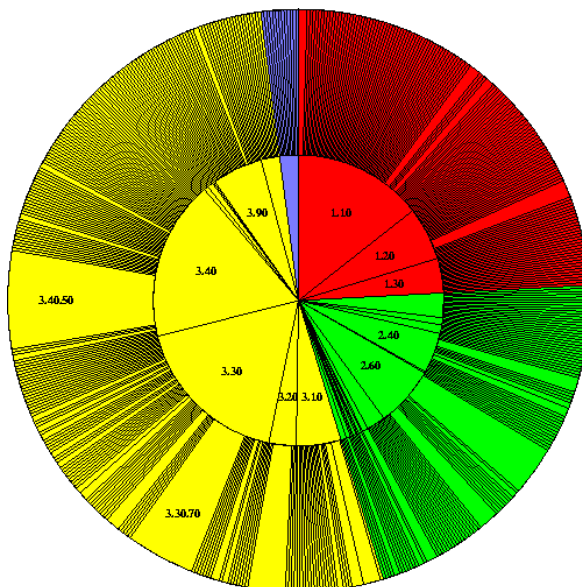
- **PDB: Protein Data Bank**
 - ◆ Az ismert térszerkezetek adatbázisa
 - ◆ Mintegy 13 000 szerkezet (de ezek között csak kb. 1000 lényegesen különböző). (Becslések szerint kb. 10 000 lényegesen különböző fehérjeszerkezet létezik az élővilágban.)
- **SWISS-PROT**
 - ◆ Az ismert fehérjeszekvenciák adatbázisa
 - ◆ Mintegy 90 000 szekvencia, és részletes leírások a fehérjékről.

- **Egyéb:** számos más adatbázis, pl. fehérjecsaládok, domének, negyedleges szerkezetek, fehérjék génjei, szekvencia-összerendezések, szerkezetek minőségellenőrzéseinek eredményei, termodinamikai paraméterek, stb.

Szerkezeti családok

A fehérjék térszerkezetük alapján családokba sorolhatóak.

- **SCOP** és **CATH** adatbázisok
- Hierarchikus felépítésűek
- SCOP hierarchia teteje: *osztályok*:
 1. Tisztán alfa fehérjék
 2. Tisztán béta
 3. Alfa és béta (a/b) (*parallel béta, váltakozó alfa és béta régiók*)
 4. Alfa és béta (a+b) (*antiparallel béta, elkülönülő alfa és béta régiók*)
 5. Többdoménes fehérjék (domének más-más osztályban)
 6. Membrán- és sejtfelszíni fehérjék és peptidok
 7. Kis fehérjék (nagy része ligandum vagy proszterikus csoport)
 8. "Coiled coil" fehérjék
 9. Kisfelbontású fehérjék
 10. Peptidok
 11. Tervezett fehérjék
- **CATH:**



"CATH-kerék": a CATH adatbázisban lévő szerkezetek megoszlása a főbb osztályok szerint

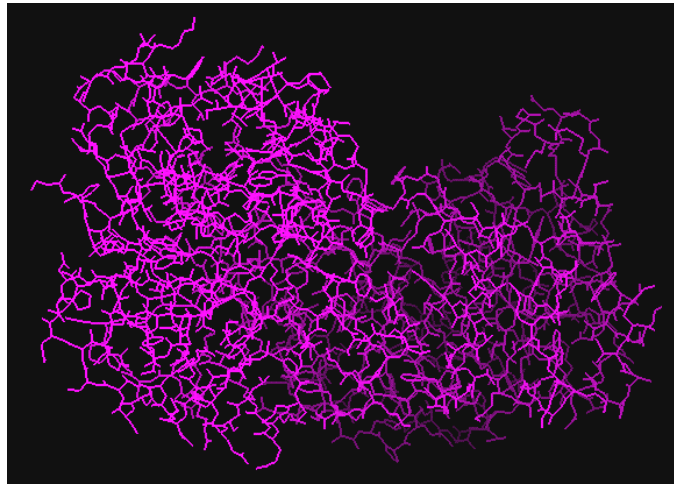
- ◆ Színek: piros: alfa, zöld: béta, sárga: alfa/béta, kék: nincs másodl. szerk.
- ◆ Belső kerék: architektúrák
- ◆ Külső kerék: topológiák
- A SCOP hierarchia további szintjei:
 - ◆ **Család:** *egyértelmű evolúciós rokonság*
A szekvenciaazonosság a család tagjai között 30% vagy nagyobb, vagy pedig a hasonló funkcióból és szerkezetből egyértelmű az evolúciós rokonság (akár 15% szekvenciaazonosság mellett is)
 - ◆ **Főcsalád** (superfamily): *Valószínűsíthető közös evolúciós eredet*
Alacsony szekvenciaazonosság, de a funkcionális és szerkezeti hasonlóságok közös evolúciós eredetre utalnak
 - ◆ **Fold** ("gomboly"): *Jelentős szerkezeti hasonlóság*
Lényegében ugyanolyan másodlagos szerkezeti elemek, ugyanolyan sorrendben, ugyanolyan topológiával. A perifériális részek jelentősen eltérhetnek. Nem feltétlenül közös eredet magyarázza a hasonló szerkezetet.

A szerkezet sokkal konzerváltabb, mint a szekvencia

- 30%-os szekvenciaazonosság a legtöbb esetben nagymértékű szerkezeti hasonlóságra utal
- 10% alatti szekvenciaazonosság esetén is lehet lényegi hasonlóság két szerkezet között

- 20–30% közötti szekvenciaazonosság: **alkonyzóna**. Lehet, hogy hasonlítanak a szerkezetek, de lehet, hogy nem. Nehezen kezelhető.
-

A fehérjék szerkezetének meghatározása



A triózfoszfát izomeráz térszerkezete

A térszerkezet meghatározásának módszerei

- Röntgendiffrakció: kristályos állapotból, tetszőlegesen nagy méretű fehérjékre. A hidrogéneket nem mutatja.
 - NMR (mágneses magrezonancia): oldatban, csak kisméretű fehérjékre.
 - Neutrodiffrakció (még nem elterjedt, de ígéretes)
-