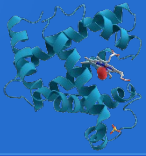


**13.03.2024**

## **Curs 3 - Structura 3D a proteinelor**

# c. Structura terțiară a proteinelor



**Structura terțiară se definește ca structura tridimensională globală a unei catene polipeptidice.**

- aranjarea, pliarea și înfășurarea segmentelor  $\alpha$ -helicoidale și  $\beta$ -pliate pentru a forma structura spațială tridimensională complexă a proteinei per ansamblu.

Interacțiuni implicate în realizarea structurii terțiare:

**-Legăturile de H dintre resturile de aminoacizi** - au rol secundar și au importanță doar în acele zone ce nu sunt  $\alpha$ -helicale,  $\beta$ -pliate sau ce formează bucle;

**-Interacțiunile dintre catenele laterale R ale aminoacizilor** – sunt esențiale în realizarea structurii terțiare. Amplasarea lor spre exteriorul  $\alpha$ -helicului și perpendicular pe planul structurii  $\beta$ -pliate expune catenele laterale R și permite interacțiunea acestora. Aceste interacțiuni pot fi:

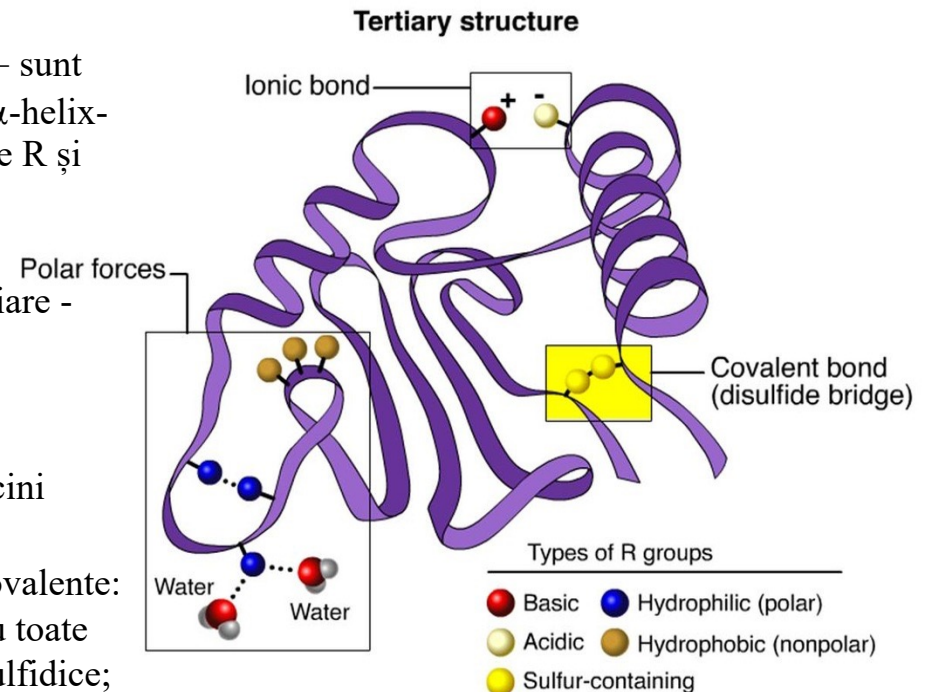
a. **legături de H** – între R aparținând la aminoacizi diferiți;

b. **interacțiunile hidrofobe** – critice pentru realizarea structurii terțiare - aminoacizii hidrofobi se vor grupa într-un **centru hidrofob**, departe de interacțiunile cu apa. Aminoacizii hidrofilii se vor amplasa la exteriorul moleculei proteice;

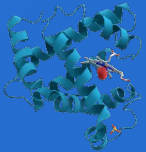
c. **interacțiuni ionice** – între doi aminoacizi încărcăți electric cu sarcini opuse (**ion pair or salt bridge**)

d. **legături covalente** – un singur aminoacid poate realiza legături covalente: Cys. Legătura formată între 2 resturi de C- legătură disulfidică (S-S). Nu toate resturile de C dintr-o proteină sunt implicate în formarea de legături disulfidice;

e. **interacțiuni cu molecule neproteice** – metale, grupe prostetice.



# Plierea proteinelor în forma nativă

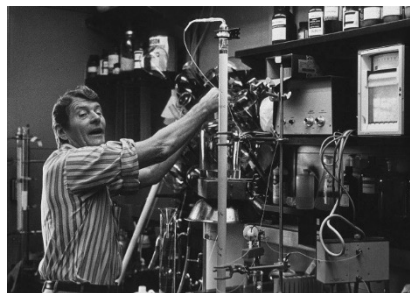


Procesul prin care catena polipeptidică a unei proteine capătă structura spațială tridimensională specifică se numește **pliere**. Structura tridimensională normală a unei proteine în care aceasta își poate îndeplini funcția specifică se numește **structură (formă) nativă**. Orice **alterare a structurii** native a unei proteine va fi însoțită **de o alterare** (mai mare sau mai mică) **a funcției** proteinei respective.

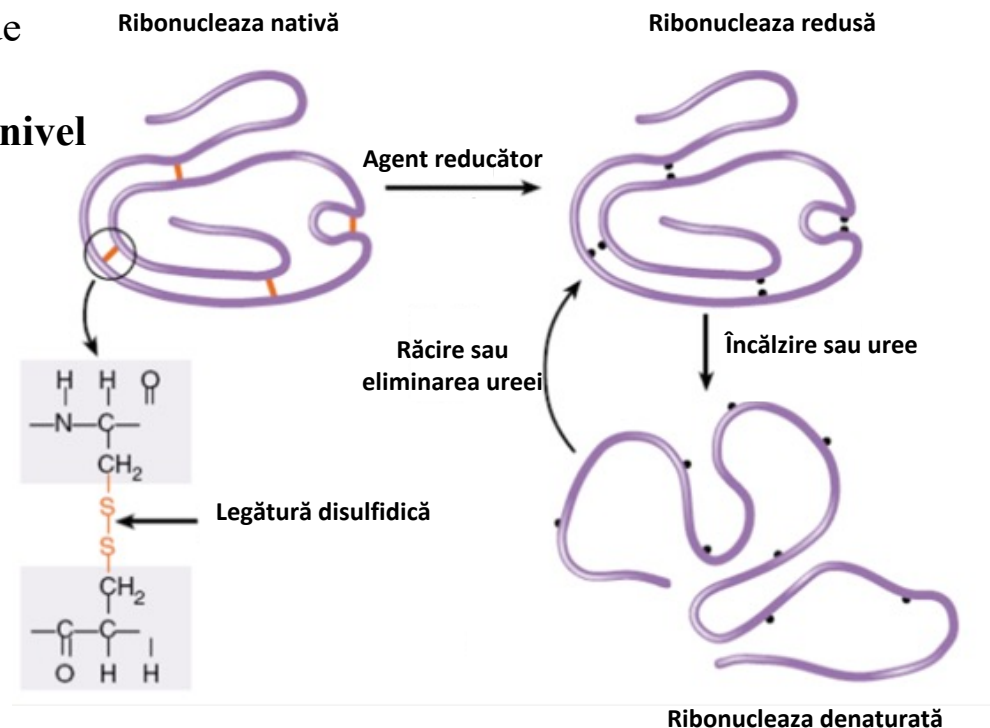
Deși mecanismul procesului de pliere a proteinelor în structurile native nu este complet cunoscut, câteva din **principiile implicate în procesul de pliere a proteinelor** ce se respectă în acest proces sunt bine aprofundate teoretic:

**1. Principiul lui Anfinsen** – proteinele sunt capabile de **auto-asamblare**. Procesul de pliere este unul strict termodinamic prin care catena ne-pliată **trece de la un nivel superior la unul inferior energetic** (proteina nativă)

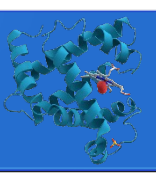
**Structura primară a catenei polipeptice, prin tipul și succesiunea aminoacizilor, este cea care conține toată informația necesară plieri proteinei în forma nativă.**



Christian Boehmer Anfinsen Jr. (1916 – 1995)  
Premiul Nobel in Chimie in 1972



# Plierea proteinelor în forma nativă



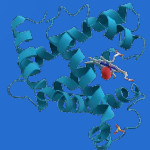
**2. Paradoxul lui Levinthal** – timpul necesar pentru ca o peptidă să se plieze aleatoriu în structura nativă respectând strict regulile termodinamicii este **mai lung decât durata de viață a universului**. Majoritatea proteinelor se pliază în fracțiuni de secundă => **paradoxul**

**3. Secvențele proteice sunt supuse selecției evolutive.** Evoluția a selectat și păstrat doar acele secvențe proteice ce se pliază **rapid, corect și repetabil** în forma nativă. Acest lucru este demonstrat de faptul că o peptidă sintetizată în laborator având o secvență aleatorie nu se pliază niciodată într-o structură ordonată.

**Plierea proteinelor nu este un proces aleatoriu, ci este direcționat prin evoluție.**

**4. Plierea** proteinelor în forma nativă poate fi **asistată** de alte proteine – **chaperoni moleculari**. În cazul proteinelor de peste 100 de aminoacizi, pliarea poate dura un timp mai lung și poate conține etape intermediare în care proteina este parțial pliată. În aceste etape intermediare există pericolul ca proteina parțial pliată să interacționeze cu alte proteine și să formeze **agregate proteice** – aglomerări de proteine în stare denaturată, puțin solubile. Chaperonii moleculari au rolul de a proteja aceste forme parțial pliate și de a le ‘dirija’ către forma nativă.

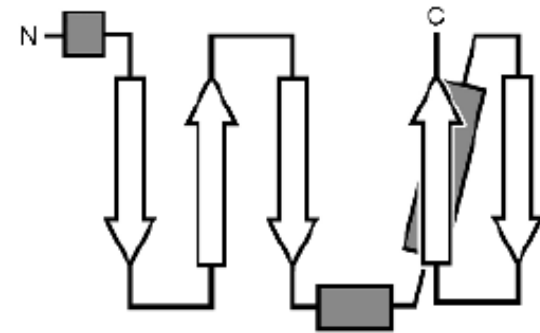
# Modalități de reprezentare grafică a structurii terțiare



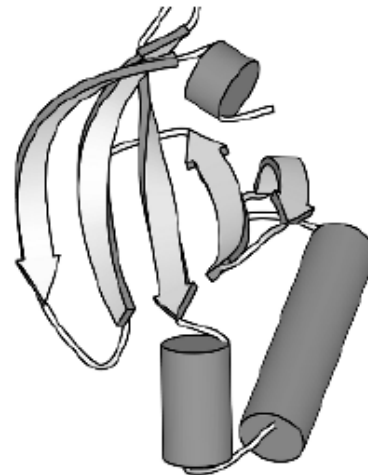
**A.Reprezentare cu linii** – legăturile covalente dintre atomi sunt reprezentate prin linii; **utilitate redusă**, caracteristicile structurale sunt greu de identificat;



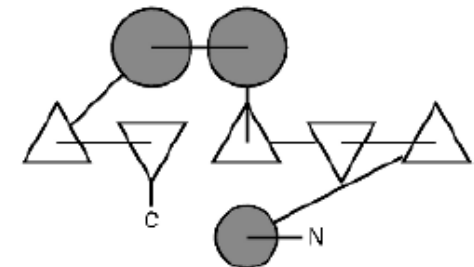
**B.Diagramă cu topologia** – structurile  $\beta$ -pliate sunt reprezentate cu săgeți cu vârful spre capătul C-terminal,  $\alpha$ -helixurile ca cilindri, buclele sunt reprezentate ca linii ce conectează structurile secundare; **utilă pentru a identifica succesiunea structurilor secundare**;



**C.Reprezentare 'cartoon'** – indică topologia elementelor de structură secundară, dar și amplasarea în spațiu în coordonate 3D; cea mai frecvent utilizată reprezentare;

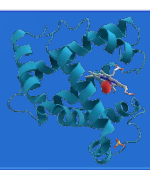


**D.Diagramă TOPS** – proteina este privită în secțiune, elementele de structură secundară sunt perpendiculare pe planul hârtiei;  $\alpha$ -helixurile sunt reprezentate ca cilindri, zonele  $\beta$ -pliate ca triunghiuri (cu vârful în sus dacă direcția este dinspre privitor spre planul foii) și cu vârful în jos dacă direcția este către privitor.



Structura terțiară a protein-kinazei A

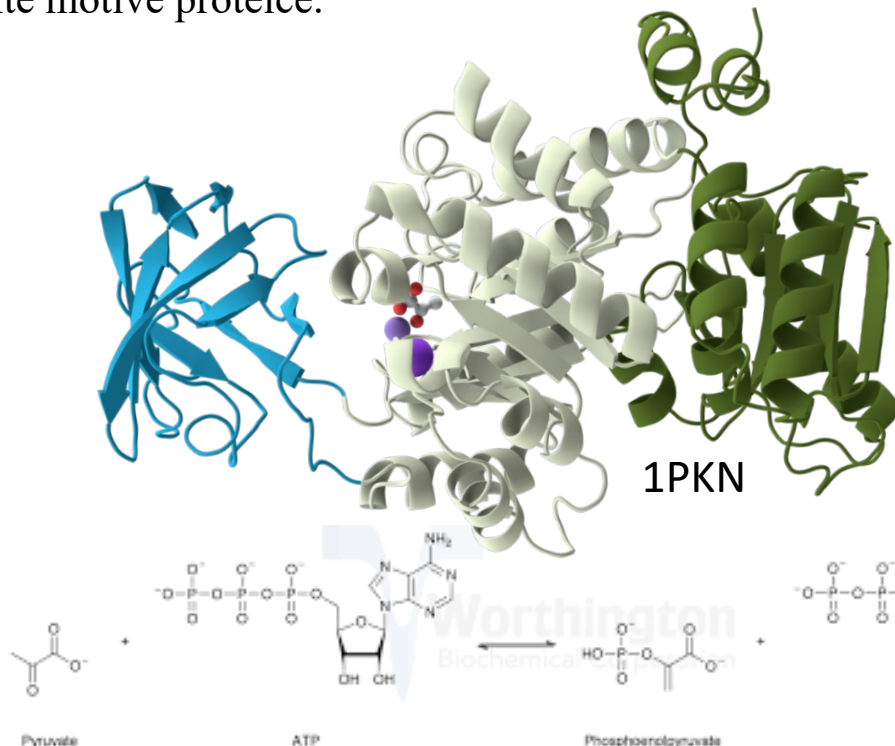
# Motive și domenii proteice



În principiu proteinele cu secvențe diferite ar trebui să aibă structuri tridimensionale native total diferite. Analiza unui număr mare de structuri proteice a demonstrat existența unei oarecare repetabilități la nivel de structură și au fost definite noțiunile de:

**-Motiv proteic** – frecvent numit și **structură supersecundară** – o porțiune dintr-o proteină ce conține câteva elemente de structură secundară aranjate într-o succesiune specifică;

**-Domeniu proteic** – o secțiune compactă dintr-o proteină independentă structural și frecvent și funcțional de restul proteinei. Un domeniu proteic va avea aceeași structură tridimensională și frecvent aceeași funcție chiar dacă este separat de proteina din care provine. Un același domeniu se poate întâlni în două proteine diferite, caz în care va avea aceeași structură și va îndeplini cel mai probabil același rol. Un domeniu proteic poate conține unul sau mai multe motive proteice.



## Structura tridimensională nativă a piruvat kinazei

**Alabstru** – domeniul de legare a ATP-ului, întâlnit și la ATP-sintază;

**Alb** – domeniu de legare al substratului întâlnit la triofo-fosfat isomereză și numeroase alte enzime;

**Verde** – domeniu reglator;

OPEN ACCESS Freely available online



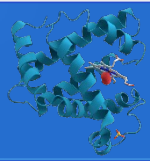
## The Crystal Structure of *Toxoplasma gondii* Pyruvate Kinase 1

Rebecca Bakszt<sup>1,2</sup>, Amy Wernimont<sup>1</sup>, Abdellah Allali-Hassani<sup>1</sup>, Man Wai Mok<sup>1</sup>, Tanya Hills<sup>1</sup>, Raymond Hui<sup>1</sup>, Juan C. Pizarro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The Structural Genomics Consortium (SGC), University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada, <sup>2</sup>Molecular Biotechnology, Department of Physics and Measurement Technology, Biology and Chemistry (IFM), Linköping University, Linköping, Sweden



# Clasificarea proteinelor funcție de structura terțiară



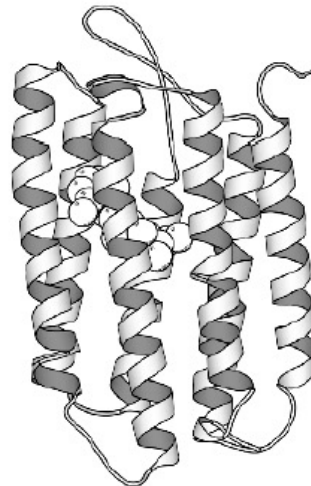
Datorită numărului enorm de mare de combinații pe care le pot forma cei 20 de aminoacizi există o diversitate foarte mare de structuri proteice. Deși clasificarea lor este dificilă, s-au impus până în acest moment 2 sisteme diferite de clasificare a structurilor tridimensionale native ale proteinelor:

**A. Pe baza proprietăților biochimice** au fost descrise 3 tipuri mari de proteine:

- 1. Proteine globulare** - se găsesc în citosol, fiind în contact cu apa; conțin un **nucleu hidrofob și suprafață hidrofilă**;
- 2. Proteine transmembranare** – fiind inserate în membrană, **suprafața lor este hidrofobă iar centrul cel mai frecvent hidrofil**. Unele proteine sunt ancorate de membrana celulară printr-un domeniu transmembrantar de care se atasează un domeniu globular ce este expus spre exteriorul membranei.
- 3. Proteine fibrilare** – sunt în general alcătuite dintr-un singur tip de structură secundară (**de multe ori atipică ex: triplul helix din colagen**) ce se repetă de foarte multe ori.



Ex. proteină globulară: Mioglobina, PDB ID 1A6M

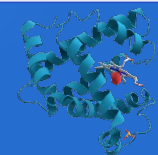


Ex. proteină transmembranară: Rhodopsina, PDB ID 1AT9



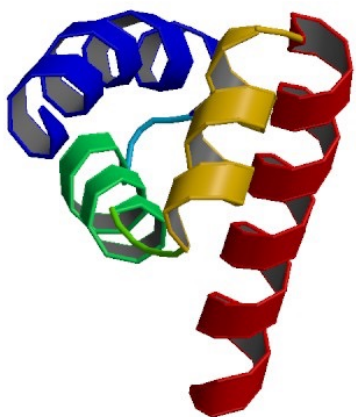
Ex. proteină fibrilară: Colagenul, PDB ID 1QSU

# Clasificarea proteinelor funcție de structura terțiară

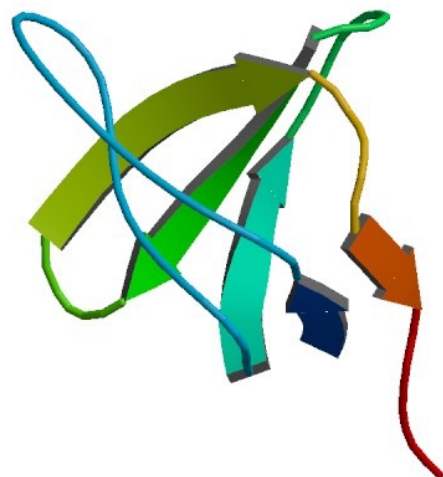


## A. Pe baza tipului de structuri secundare predominante:

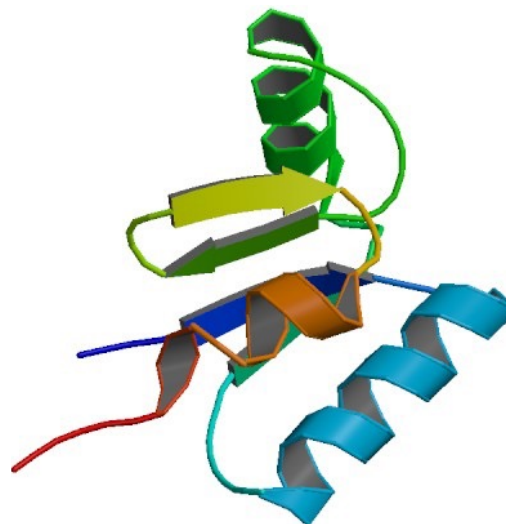
1. **Numai  $\alpha$**  - conțin numai structuri  $\alpha$ -helicale;
2. **Numai  $\beta$**  – conțin numai structuri  $\beta$ -pliate;
3.  **$\alpha/\beta$**  – conțin structuri  $\alpha$ -helicale și  $\beta$ -pliate dispuse alternativ, cel mai frecvent sub formă de structuri  $\beta$ -pliate paralele conectate prin  $\alpha$ -helixuri;
4.  **$\alpha+\beta$** – conțin structuri  $\alpha$ -helicale și  $\beta$ -pliate segregate;



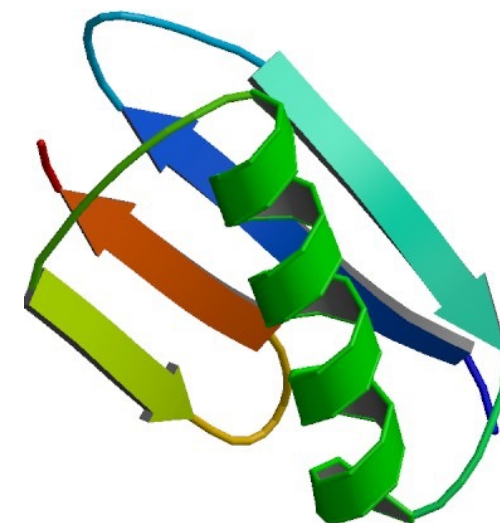
1I2T



1K76



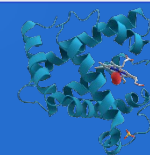
1H75



1EM7



# d. Structura cuaternară a proteinelor



Structura secundară descrie organizarea structurală a unui singur lanț peptidic. Există însă și cazuri în care mai multe lanțuri peptidice ce se pliază independent unul de celălalt și se **asociază necovalent** pentru a forma **proteine multimerе**. O catenă polipeptidică dintr-o proteină multimeră se numește **subunitate proteică** sau **protomer**.

**Numărul și modul de aranjarea a subunităților proteice în cadrul proteinelor multimerе reprezintă structura cuaternară.**

O proteină multimeră poate fi:

**După tipul de protomeri:**

**-homomeră** - alcătuită din asocierea mai multor protomeri identici;

**-heteromeră** – alcătuită din asocierea mai multor protomeri diferiți; Ex: imunoglobuline.

**După numărul de protomeri:**

**-dimeră;**

**-trimeră;**

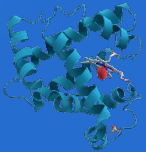
**-tetrameră;**

**-pentameră, etc.**

<ul style="list-style-type: none"><li>• 1 = monomer/subunit</li><li>• 2 = dimer</li><li>• 3 = trimer</li><li>• 4 = tetramer</li><li>• 5 = pentamer</li><li>• 6 = hexamer</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 7 = heptamer</li><li>• 8 = octamer</li><li>• 9 = nonamer</li><li>• 10 = decamer</li><li>• 11 = undecamer</li><li>• 12 = dodecamer</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 13 = tridecamer</li><li>• 14 = tetradecamer</li><li>• 15 = pentadecamer*</li><li>• 16 = hexadecamer</li><li>• 17 = heptadecamer*</li><li>• 18 = octadecamer</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 19 = nonadecamer</li><li>• 20 = eicosamer</li><li>• 21-mer</li><li>• 22-mer</li><li>• 23-mer*</li><li>• etc.</li></ul>
--	---	---	--

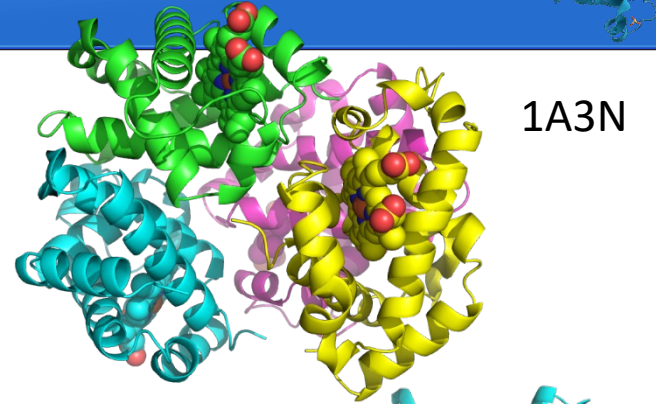
Complexul proteic alcătuit prin asocierea protomerilor este stabil datorită interacțiunilor ce apar între protomeri. Aceste interacțiuni apar între radicalii R ai aminoacizilor aflați în zone de contact dintre protomeri și pot fi: legături de H, legături S-S, interacțiuni hidrofobe.

# Semnificația funcțională a structurii cuaternare



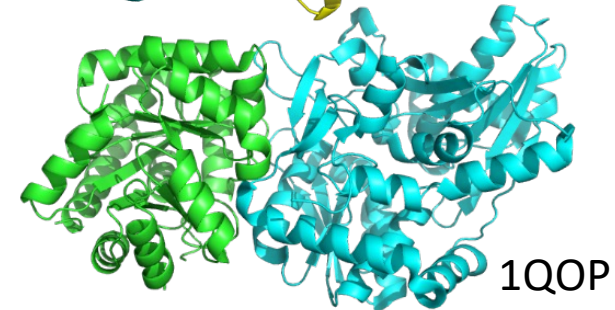
1. **Cooperarea în realizarea unei funcții.** Asocierea unor subunități ce au capacitatea de a lega un substrat duce la creșterea afinității proteinei pentru substrat peste afinitatea unui singur protomer;

Ex: Hemoglobina;

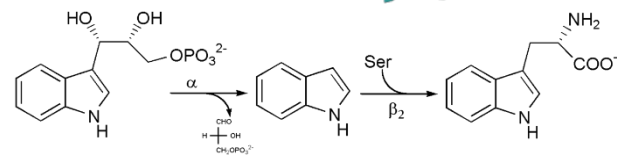


1A3N

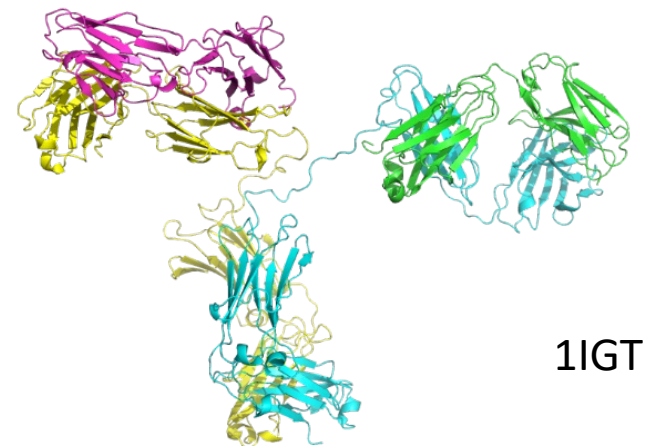
2. **Co-localizarea unor funcții.** Două subunități cu funcții diferite se pot asocia astfel cele două funcții vor fi realizate de aceeași proteină. Cel mai frecvent aceste funcții sunt legate de etape diferite de procesare a unui substrat; Ex: Triptofan sintaza;



1QOP



3. **Modificarea unei funcții.** Funcția unei proteine se poate modifica funcție de tipul de subunitate legată; Ex: Imunoglobulinele;



1IGT

4. **Realizarea unor structuri moleculare de dimensiuni mari.** Ex: actina și miozina, microfilamentele de actină, microtubulii, filamentele intermediare;



# Semnificația funcțională a structurii cuaternare

