

Biochimie

24.02.2021

Curs IV – Generalități privind suportul material al funcției biologice
Proteinele

Proteinele

Din punct de vedere chimic, **proteinele sunt polimeri rezultați în urma condensării unui număr mare de L-aminoacizi cu formarea de legături peptidice între grupările $-COOH$ și $-NH_2$ a doi aminoacizi succesivi**. Resturile de aminoacizi uniți prin legături peptidice formează **lanțuri sau de catene polipeptidice cu o lungime variabilă**. Indiferent de dimensiunea lor, toate proteinele sunt alcătuite prin combinarea în proporții variabile a celor 20-22 aminoacizi proteinoși diferiți. Funcția unei proteine nu este dată doar de tipul și numărul de aminoacizi conținuți, ci de forma sau conformația tridimensională pe care catena de aminoacizi o adoptă.

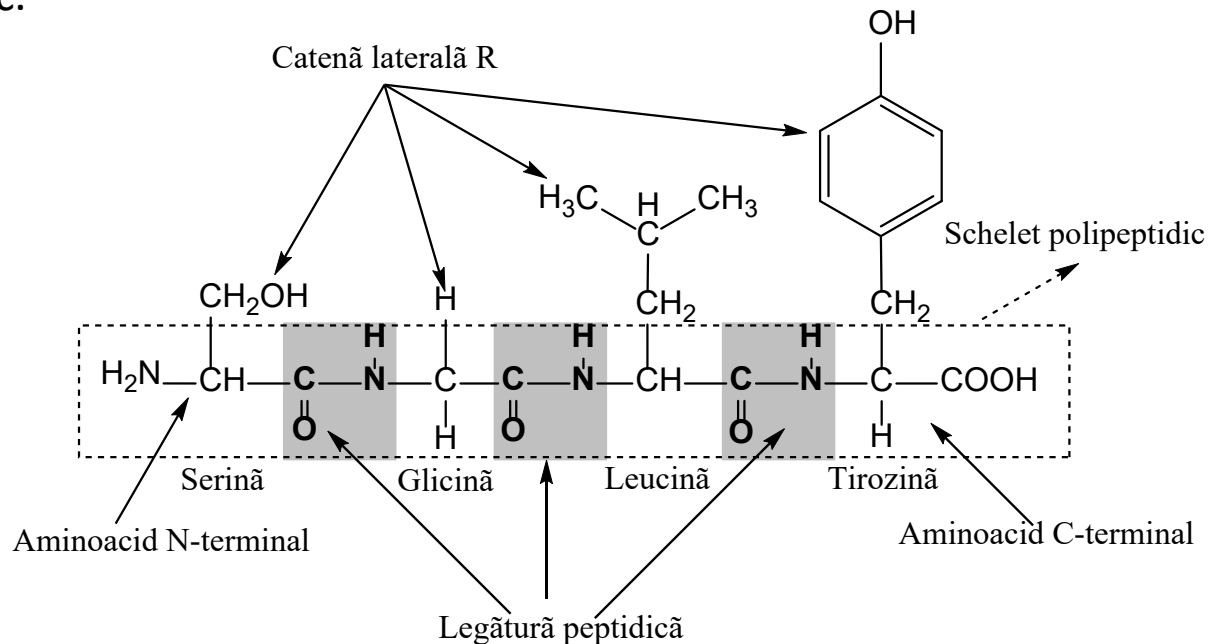
Descrierea formei tridimensionale a unei proteine presupune cunoașterea nu doar a numărului și tipului de atomi constituenți, ci și precizarea amplasării în spațiu a fiecărui atom. (**Un calcul simplist arată că o proteină cu 100 de aminoacizi poate conține între 700 și 2400 atomi diferiți, media fiind de 1620 atomi**). Forma spațială a proteinelor are drept fundament noțiunile și regulile ce stau la baza explicării tuturor formulelor și structurilor compușilor chimici, însă numărul mare de atomi implicați și interacțiunile ce se stabilesc între aceștia, adaugă niveluri suplimentare de complexitate. De aceea, pentru a înțelege și prezenta conformația tridimensională a proteinelor, aceasta este descrisă folosind patru niveluri de organizare structurală a proteinelor în funcție de tipurile de legături chimice implicate și gradul de complexitate.

Numărul mare de aminoacizi din structura proteinelor face imposibilă utilizarea unei metode sistematice de denumire a acestor compuși și de aceea în cazul proteinelor se utilizează doar denumirile uzuale.

Niveluri de organizare a structurii proteinelor

Niveluri de organizare structurală a proteinelor:

1. Structura primară este dată de numărul, natura și succesiunea resturilor de aminoacizi în catena polipeptidică a proteinei. Caracteristic pentru acest nivel de organizare este legătura peptidică ce unește aminoacizi între ei într-o succesiune sau secvență specifică. Lanțul de aminoacizi este o înșiruire de unități $-NH-C\alpha-CO-$ conectate prin legături peptidice și poartă numele de **schelet polipeptidic** (*peptide backbone*). Radicalii R specifici fiecărui aminoacid sunt grefați pe $C\alpha$, "perpendicular" pe scheletul polipeptidic.



Niveluri de organizare a structurii proteinelor

Ca și în cazul peptidelor, prin convenție, secvența de aminoacizi a peptidelor și proteinelor se notează de la stânga la dreapta și în sensul sintezei acestor molecule în organismele vii, de la capătul sau aminoacidul N terminal spre capătul sau aminoacidul C terminal. Cel mai frecvent, aminoacizii constituenți sunt notați folosind codul de o literă, ca în exemplul de mai jos, reprezentând secvența de aminoacizi a unei subunități de hemoglobină:

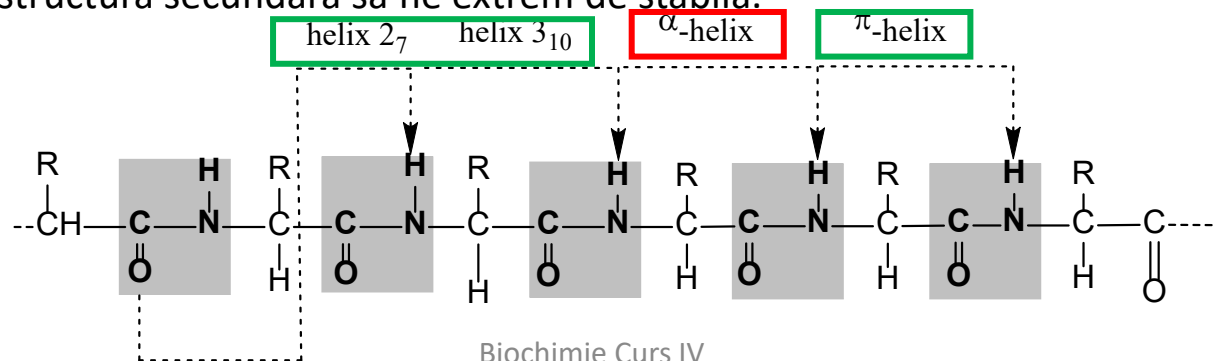
```
1   vlspadktnv kaawgkvgah ageygaeale rmflsfpttk tyfphfdlsh gsaqvkghgk
61  kvadaltnav ahvddmpnal salsdlhahk lrvdpvnfkl lshcllvvla ahlpaeftpa
121 vhasldkfla svstvltsky r
```

Niveluri de organizare a structurii proteinelor

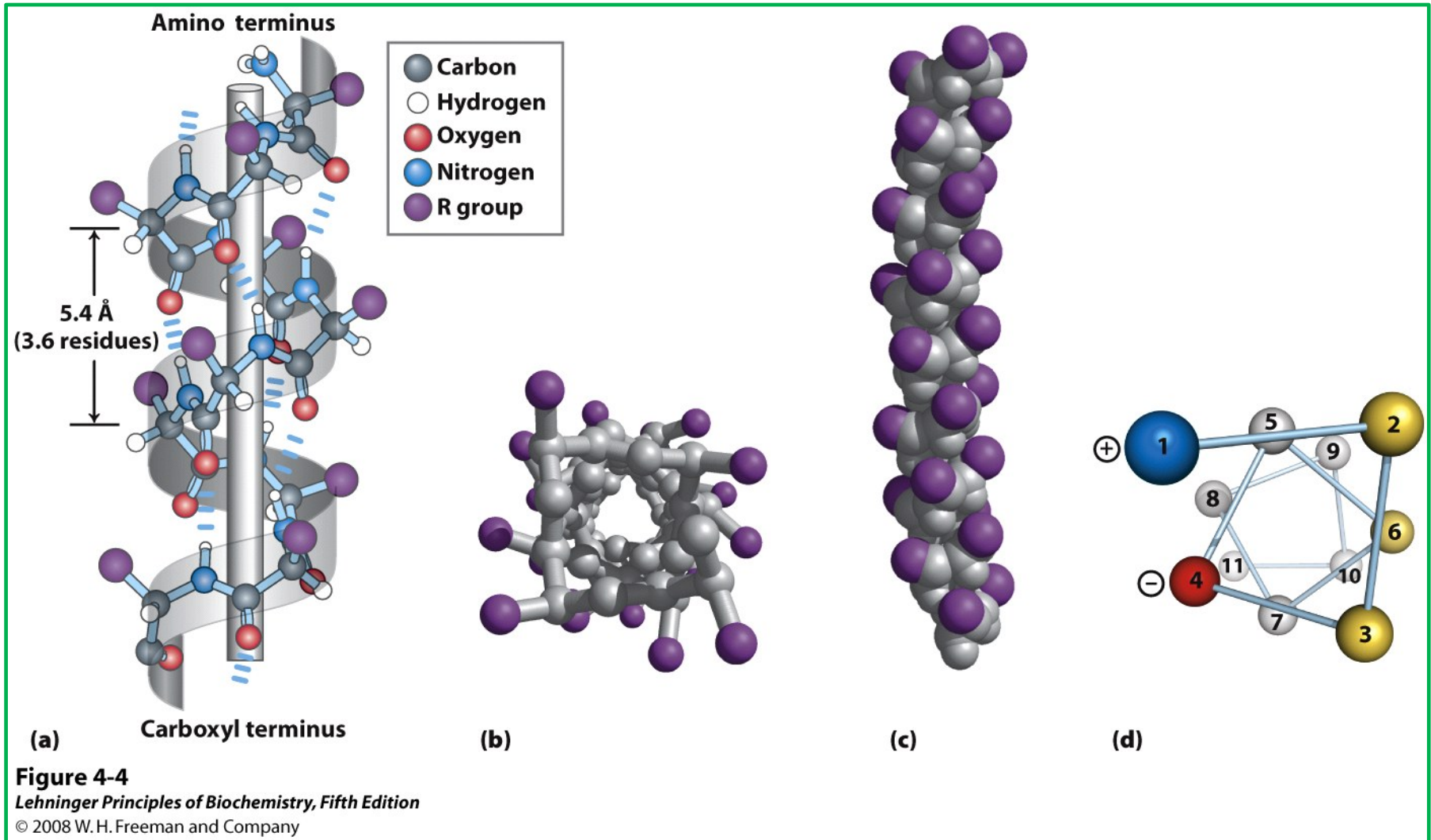
2. Structura secundară a proteinelor este reprezentată de orientarea spațială locală a unei catene peptidice, independentă de forma restului de catenă peptidică. Caracterul parțial de dublă legătură al legăturii peptidice și posibilitatea de rotație a legăturilor N-C α și C α -C duce la posibilitatea formării de legături de hidrogen între atomul de oxigen din -C=O și atomul de hidrogen din -NH după tipare foarte clar definite. **Această comportare favorizează apariția unui set limitat de conformații specifice ale lanțului polipeptidic cunoscute sub numele de structuri secundare.** Caracteristic pentru acest nivel de organizare sunt așadar **legăturile de hidrogen între grupările carbonil și imino implicate în legăturile peptidice**, fără a lua în calcul interacțiunile dintre catenele laterale R ale aminoacizilor.

Două tipuri de structuri secundare sau dovedite a fi majoritare:

- **α -helixului peptidic** - **șelțul polipeptidic se curbează și se pliază în jurul unui cilindru ipotetic pentru a forma un tirbușon (helix), radicalii R fiind amplasați spre exterior.** α -Helixul peptidic este un tirbușon răsucit spre dreapta, în care o spiră completă are 3,6 resturi de aminoacizi, distanța între ture de-a lungul axei α -helixului fiind egală cu 0,541nm (Å) iar diametrul α -helixului de 0,101nm (Å). Atomul de oxigen din CO al fiecărui rest de aminoacid formează o legătură de hidrogen cu protonul din gruparea NH al celui de-al patrulea rest de aminoacid de pe aceeași catenă. Toate legăturile de hidrogen posibil a fi realizate se formează, ceea ce face ca această structură secundară să fie extrem de stabilă.



Niveluri de organizare a structurii proteinelor



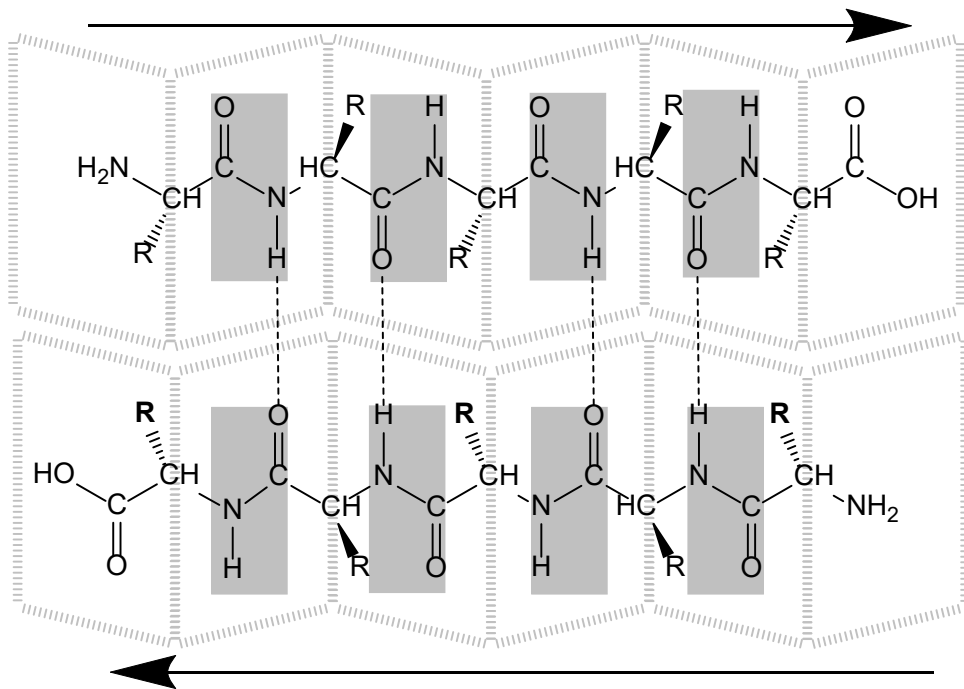
Niveluri de organizare a structurii proteinelor

- **structurile β -pliate** – în acest caz **legăturile de hidrogen se stabilesc între NH și CO ai resturilor de aminoacizi amplasați fie pe catene diferite sau fie pe aceeași catenă, dar la distanțe mari unul pe de celălalt**. Datorită acestor legături, zone definite ale scheletului polipeptidic se apropie și se aliniază în același plan. Datorită conformației specifice în zig-zag a unităților -NH-C α -CO-, planul format are aspect vălurit. Structura β -pliată poate fi astfel imaginată ca o foaie pliată, în care foaia este planul format prin alinierea scheletului peptidic iar catenele laterale R sunt orientate alternativ către partea superioară și inferioară a planului foii, pe partea convexă a fiecărui pliu.

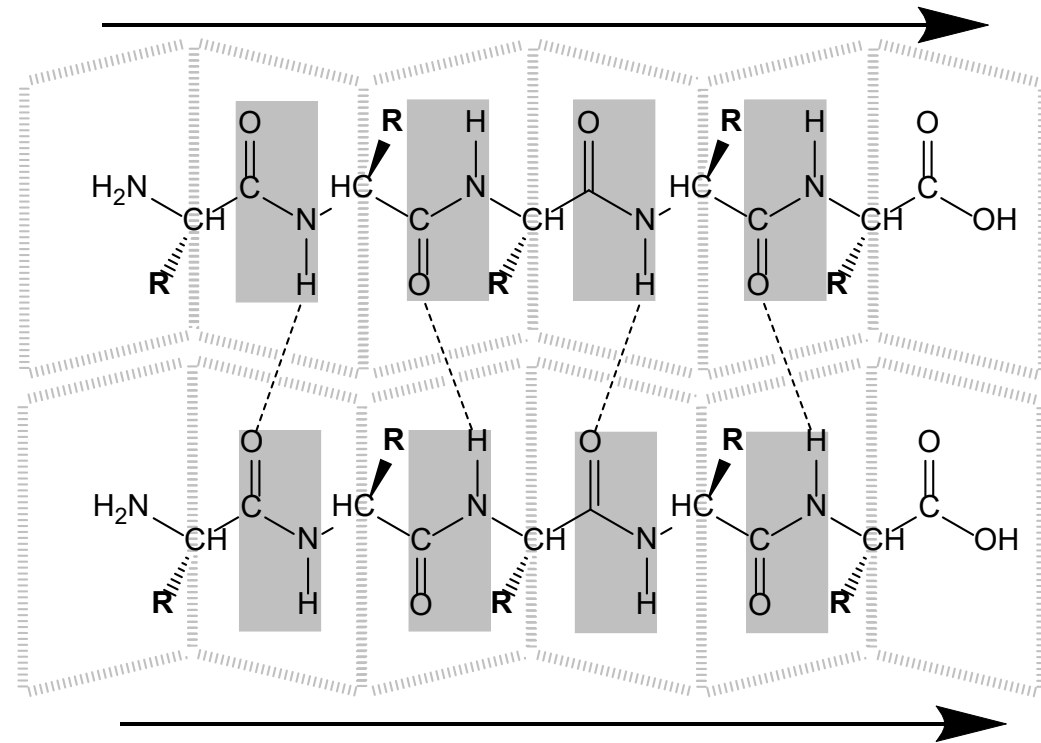
În funcție de direcția catenelor (sau porțiunile îndepărtate ale aceleiași catene) ce formează o zonă β -pliată au fost descrise 3 tipuri de structuri β -pliate:

1. antiparalele – o catena are orientarea N-C și cealaltă C-N, iar un pliu are 7 Å;
2. paralele – ambele catene au aceeași orientare, iar un pliu are 6,5 Å;
3. mixte - ambele tipuri de orientări, apar extrem de rar.

Niveluri de organizare a structurii proteinelor



Structuri β -plate antiparalele

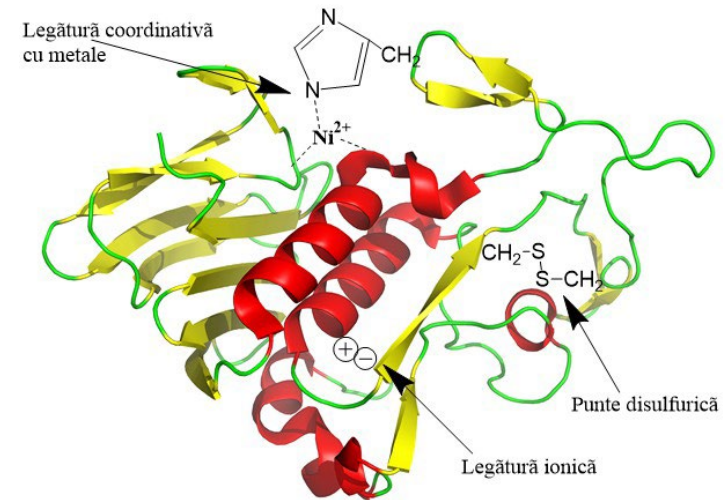


Structuri β -plate paralele

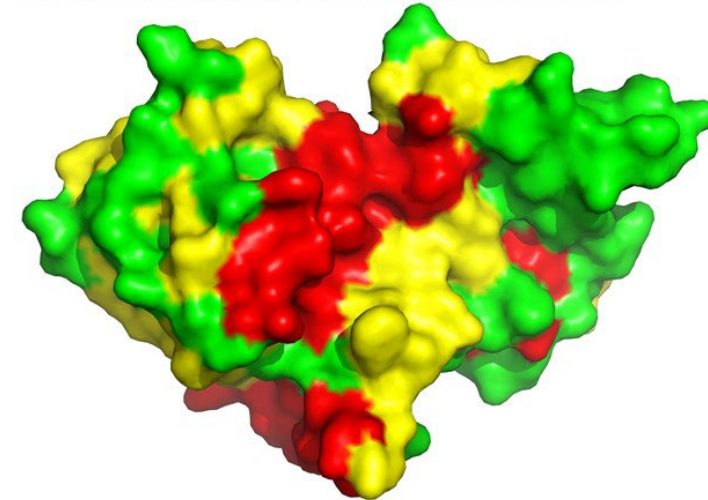
Niveluri de organizare a structurii proteinelor

3. **Structura terțiară** se definește ca structura **tridimensională globală a unei catene polipeptidice realizată prin aranjarea, pliarea și înfășurarea segmentelor α -helicoidale și β -pliate într-o organizare spațială complexă**. Legăturile implicate în realizarea structurii terțiare sunt cele rezultate în urma interacțiunii dintre catenele laterale R ale aminoacizilor. Interacțiunile ce apar între catenele laterale R pot fi:

- legături de hidrogen** – între catenele laterale R aparținând unor aminoacizi diferiți;
- interacțiuni hidrofobe** – critice pentru realizarea structurii terțiare - **aminoacizii hidrofobi se vor grupa într-un centru hidrofob**, departe de interacțiunile cu apa; **aminoacizii hidrofili se vor amplasa la exteriorul moleculei proteice**;
- interacțiuni ionice** – între doi aminoacizi încărcăți electric, cu sarcini opuse;
- legături covalente** – un singur aminoacid poate realiza legături covalente și anume cisteina; două resturi de cisteină se unesc cu formarea unei legături disulfidice (S-S);
- interacțiuni cu molecule neproteice**, precum metale și alte molecule.



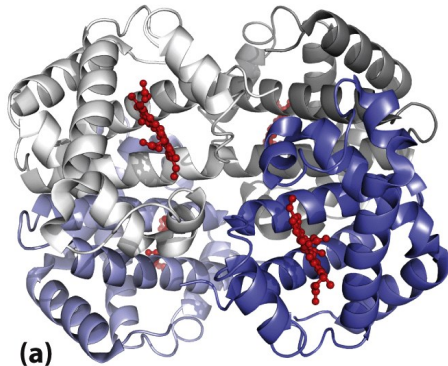
Tipuri de legături implicate în formarea structurii terțiare a proteinelor



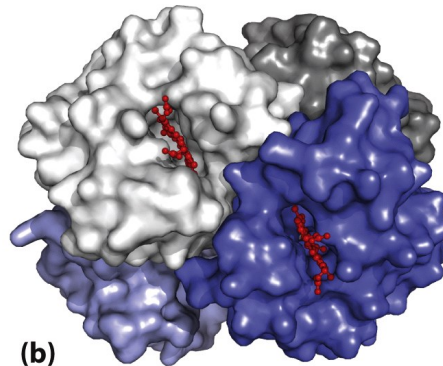
Forma tridimensională a unei molecule proteice

Niveluri de organizare a structurii proteinelor

4. **Structura cuaternară** reprezintă nivelul de organizare structurală cel mai înaltă și este specifică unor proteine numite **proteine multimerice**. Aceste proteine conțin două sau mai multe lanțuri polipeptidice numite **subunități proteice sau protomeri**, fiecare cu structura sa primară, secundară și terțiară specifice. Protomerii se asociază necovalent pentru a forma un conglomerat spațial complex – proteină multimeră. Asocierea protomerilor este stabilă datorită interacțiunilor dintre radicalii R ai aminoacizilor aflați în zone de contact dintre protomeri și pot fi: legături de hidrogen, legături S-S sau interacțiuni hidrofobe.



(a)



(b)

Figure 4-22
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company



Max Perutz, 1914–2002 (left)
John Kendrew, 1917–1997 (right)

Unnumbered 4 p138
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Un exemplu de proteină multimeră este **hemoglobina**. Aceasta conține 4 catene polipeptidice, identice două câte două și numite **catene α** (conțin 141 de aminoacizi fiecare, de culoare gri în figura de mai sus) și **β** (146 aminoacizi fiecare, albastru în figură). Hemoglobina are o structură simetrică, o catenă α interacționează cu o catenă β , astfel încât despre hemoglobină se spune că este un **tetramer** sau un **dimer de protomeri $\alpha\beta$** . Suplimentar, hemoglobina conține și componente neproteice – 4 atomi de Fe^{2+} (Fe feros) în centrul unei molecule de hem.

Hemoglobina este prima proteină multimeră a cărei structură a fost stabilită experimental – M. Perutz și J. Kendrew.

Cum își îndeplinesc proteinele rolurile specifice?

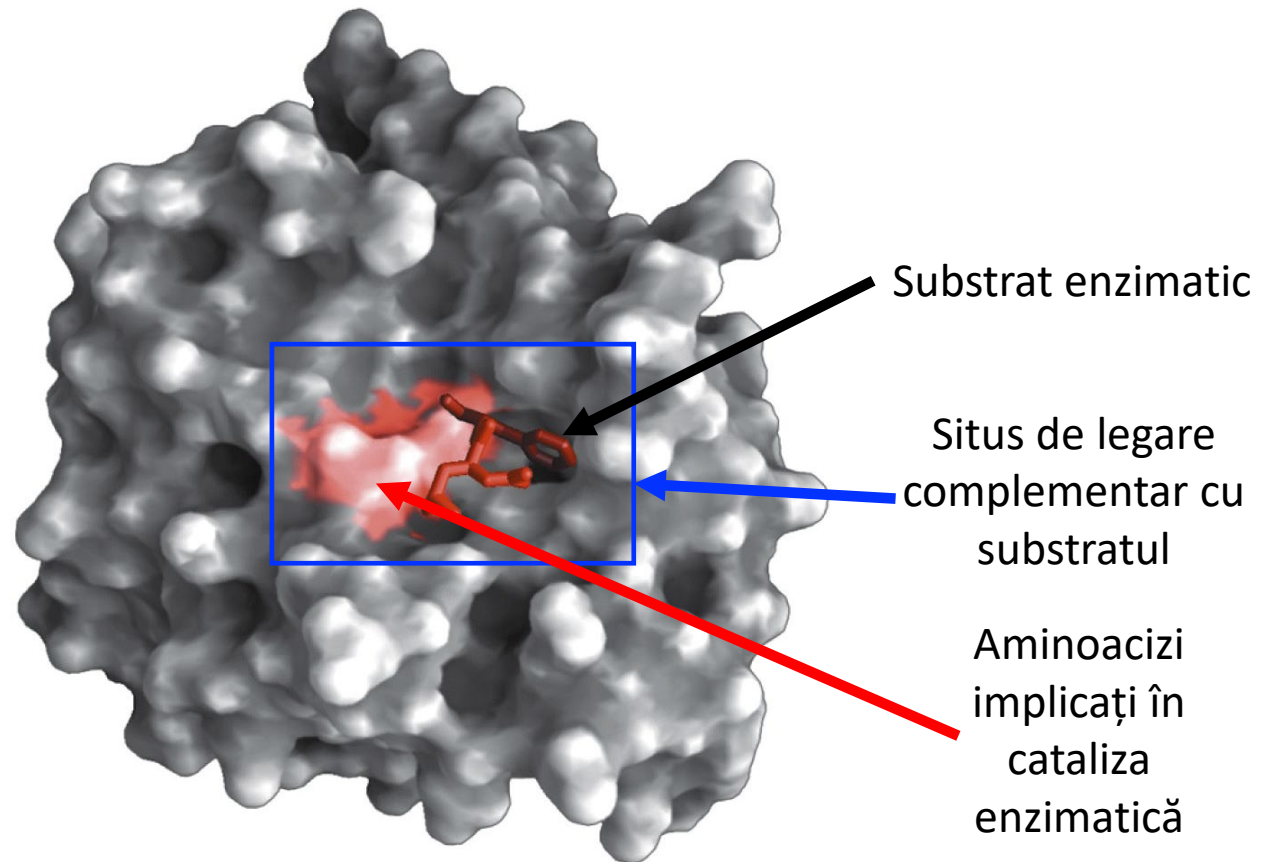
Oricare ar fi funcția sa specifică (**rolurile proteinelor au fost detaliate în cursul anterior**), pentru a o îndeplini **orice proteină trebuie să interacționeze cu alte molecule**. Interacțiunea se realizează prin formarea permanentă sau temporară de legături chimice (legături de H, coordinative, ionice, interacțiuni hidrofobe sau Van der Waals) între catenele laterale R ale aminoacizilor din structura proteică și atomii moleculei cu care proteina interacționează.

Interacțiunile dintre o proteină și altă moleculă pot fi de 2 tipuri:

- 1. interacțiuni în urma căror structura sau conformația moleculei nu sunt alterate.** Aceste interacțiuni pot fi sau nu temporare și sunt extrem de importante din punct de vedere biochimic. Dacă interacțiunile sunt **tranzitorii** (temporare), molecula cu care o proteina interacționează reversibil se numește **ligand** (**termenul nu trebuie confundat cu ligandul din combinațiile complexe**). Dacă interacțiunile sunt **permanente**, molecula cu care o proteina interacționează reversibil se numește **grupare prostetică**. Zona specifică în care o moleculă se leagă de o proteină se numește **situs de legare**.
- 2. interacțiuni în urma căror structura sau conformația moleculei este alterată.** (Ex. alcoolul etilic este transformat în aldehydă acetică printr-o reacție de dehidrogenare). În acest caz molecula proteică funcționează ca un bio-catalizator și poartă numele de **enzimă**, iar molecula ce suferă o **reacție enzimatică** se numește **substrat enzimatic**. Zona specifică în care substratul enzimatic se leagă de enzimă și suferă transformarea se numește **situs catalitic**.

Cum își îndeplinesc proteinele rolurile specifice?

În situsul de legare sau situsul catalitic sunt amplasați acei aminoacizi din structura proteinei ce au grupările funcționale necesare pentru a interacționa cu ligandul sau substratul enzimatic. Mai mult decât atât, acești aminoacizi au o amplasare în spațiu bine definită în așa fel încât **situsul de legare sau cel catalitic** să fie **perfect complementar ca formă și proprietăți cu ligandul, respectiv substratul enzimatic**. Acest lucru face ca interacțiunea dintre moleculele proteice și alte molecule să fie extrem de specifice.



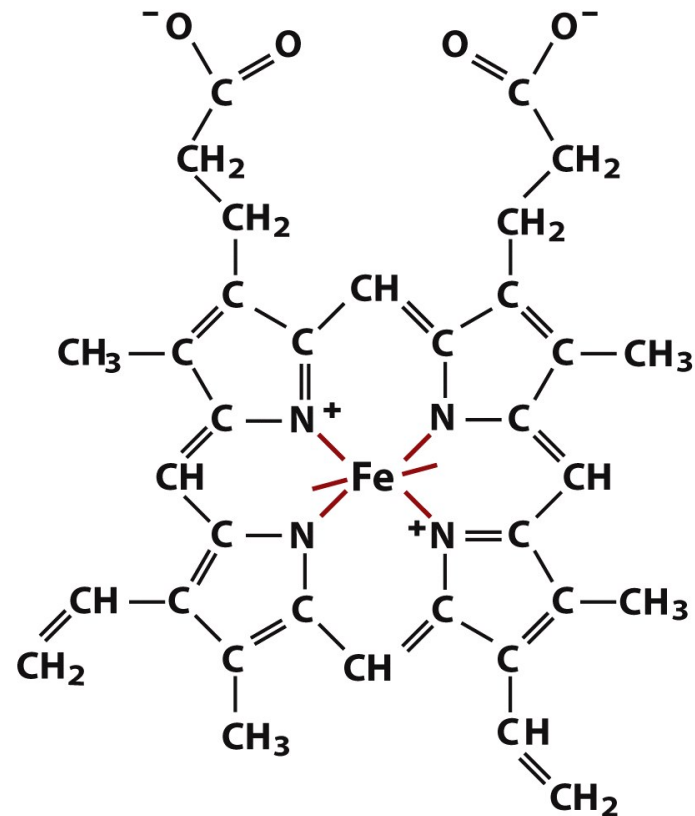
Exemple de interacțiuni realizate de proteine

Interacțiuni în urma căror **structura** sau **conformația moleculei legate nu sunt alterate:**

Legarea O₂ de Hemoglobină

Datorită faptului că O₂ este o moleculă nepolară, **solubilitatea sa în H₂O este relativ redusă** astfel încât cantitatea dizolvată în plasma sanguină nu este suficientă pentru funcționarea țesuturilor. De aceea **organismele multicelulare și-au creat mecanisme de transport** al acestui gaz sub forma unor proteine specifice, precum **hemoglobina (Hb)**.

Nici unul însă din aminoacizii proteinogeni nu este capabil să interacționeze cu O₂. Unele metale tranzitionale precum Fe sau Cu au capacitatea interacționa puternic cu O₂ prin formarea de legături coordinative, însă duc la formare de compuși periculoși (**ioni superoxid sau apă oxigenată ce afectează moleculele de ADN**). Pentru a rezolva această problemă, în proteinele ce transportă O₂ folosind Fe²⁺, metalul este chelatat de ligandul **protoporfirină** ce îi reduce activitatea. **Fe²⁺ împreună cu protoporfirina formează gruparea prostetică numită hem**. În molecula tetramerică de hemoglobină există 4 molecule de hem câte una pentru fiecare dintre cele 2 subunități α și β.



Exemple de interacțiuni realizate de proteine

Fe feros (Fe^{2+}) are o geometrie octaedrală și deci poate forma 6 legături coordinative. Patru dintre acestea sunt saturate de către 4 inele porfirinice, însă cele 2 legături perpendiculare pe planul protoporfirinei rămân libere și ar putea reacționa cu O_2 , acest lucru ducând la reducerea Fe^{2+} (Fe feros) la Fe^{3+} (Fe feric). Fe^{3+} însă nu poate lega O_2 , și deci hem-ul nu și-ar putea îndeplini funcția.

În Hb, aminoacidul histidină dintre structura uneia dintre subunități este amplasat în spațiu în așa fel încât să satureze cea de-a 5-a legătură coordinativă pe care o poate forma Fe^{2+} și o blochează.

Transformarea $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ nu mai este posibilă, iar hem-ul poate lega O_2 prin intermediul celei de-a 6 coordinații. Fiecare moleculă de hem leagă câte o moleculă de O_2 . În alveolele pulmonare unde concentrația de O_2 este mare, echilibrul reacției de legare este orientat spre formarea complexului HbHemO_2 , iar în țesuturi concentrația O_2 scade, astfel încât echilibrul reacției de legare este orientat spre desfacerea complexului și obținerea de HbHem și O_2 .

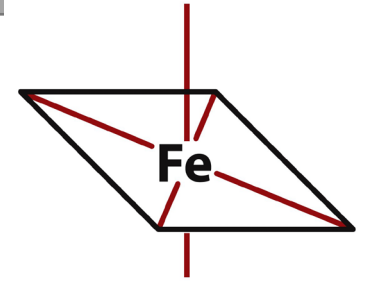


Figure 5-1d
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

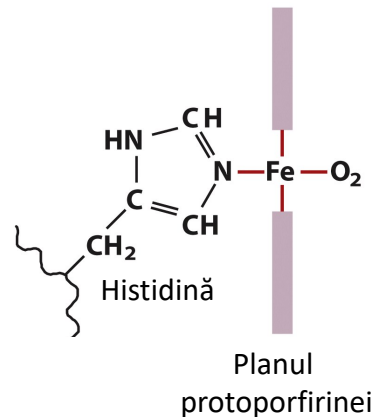


Figure 5-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

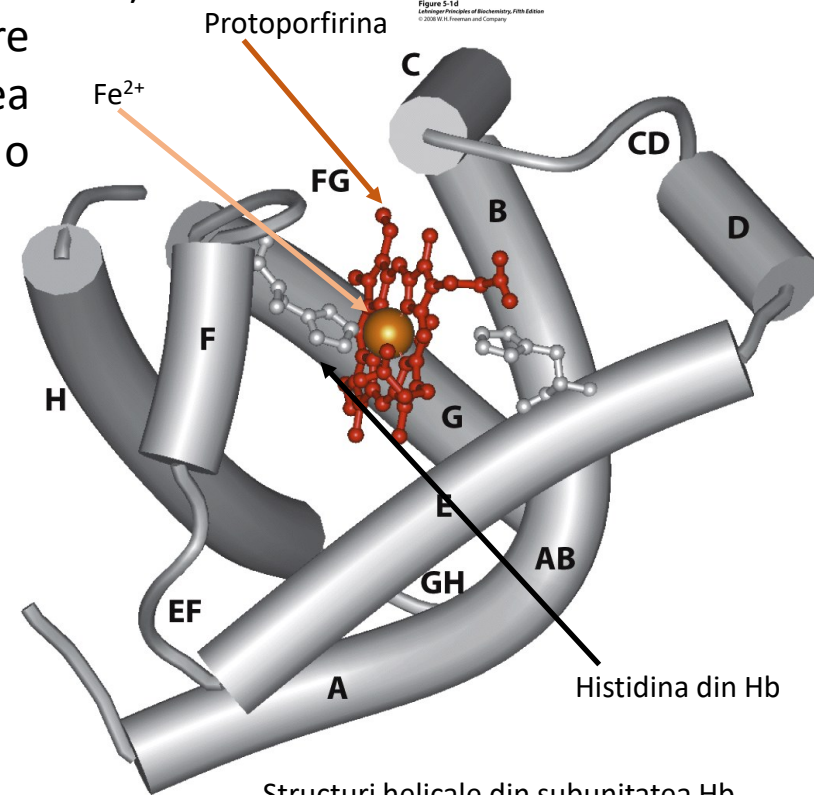


Figure 5-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Exemple de interacțiuni realizate de proteine

Interacțiuni în urma căror **structura** sau **conformația moleculei legate sunt alterate:**

Reacția de hidroliză ca catalizată de chimiotripsină

Enzima chimiotripsină este o proteină ce catalizează hidroliza legăturilor peptidice din apropierea unor aminoacizi ce conțin nuclee aromatice precum triptofanul, fenilalanina sau tirozina. Forma buzunarului în care se află **situsul catalitic** este complementară cu o serie de peptide ce conțin acești aminoacizi. În situsul catalitic există aminoacidul **Serină** amplasat în așa fel încât gruparea sa **hidroxil** să poată realiza o reacție de acilare cu peptida prin care legătura peptidică se rupe. Printr-o reacție de de-acilare cu apa, gruparea OH este refăcută și enzima poate să participe la o nouă reacție.

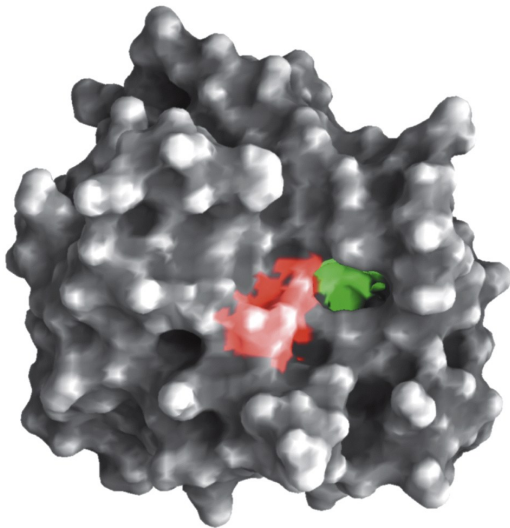


Figure 6-18b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

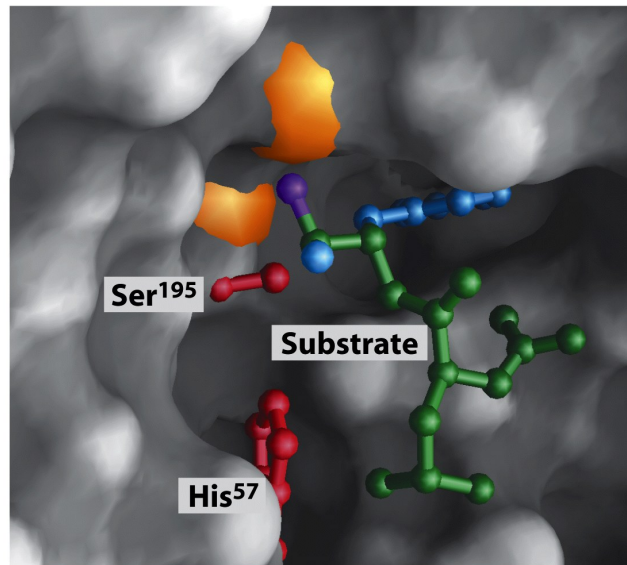


Figure 6-18d
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

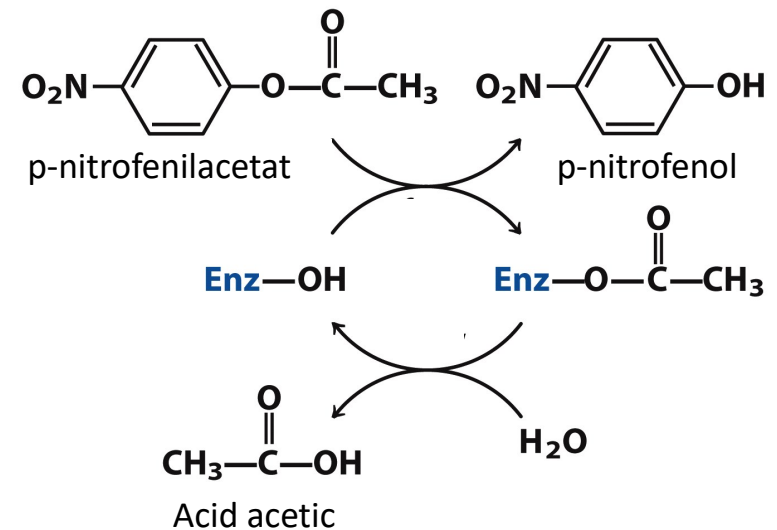


Figure 6-19 part 2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Mecanismul de reacție al chimiotripsinei cu analogul p-nitrofenilacetat

Enzimele – bio-catalizatorii celulari

Cu câteva excepții, toate **enzimele ce catalizează reacțiile biochimice în organismele vii sunt proteine** (**Care sunt excepțiile?**). Reacțiile chimice catalizate de enzime au ca suport material catenele laterale ale unor aminoacizi cheie amplasați în **situsul catalitic** numiți **aminoacizi catalitici**. Activitatea catalitică e enzimelor depinde de structura tridimensională a situsului catalitic și de amplasarea optimă a aminoacizilor catalitici, deci de structura nativă a catenei polipeptidice pe ansamblu. Dacă aceasta este afectată (**ex. prin încălzire proteinele sunt denaturate – albumina din ou**), activitatea enzimatică dispare.

Însă, numărul de radicali disponibili pe catenele laterale ale aminoacizilor este limitat și nu este suficient pentru a putea realiza toate reacțiile biochimice necesare pentru a funcționa o celulă. De aceea, unele enzime conțin suplimentar în structura lor o moleculă ne-proteică ce participă la procesul catalitic și care este numită:

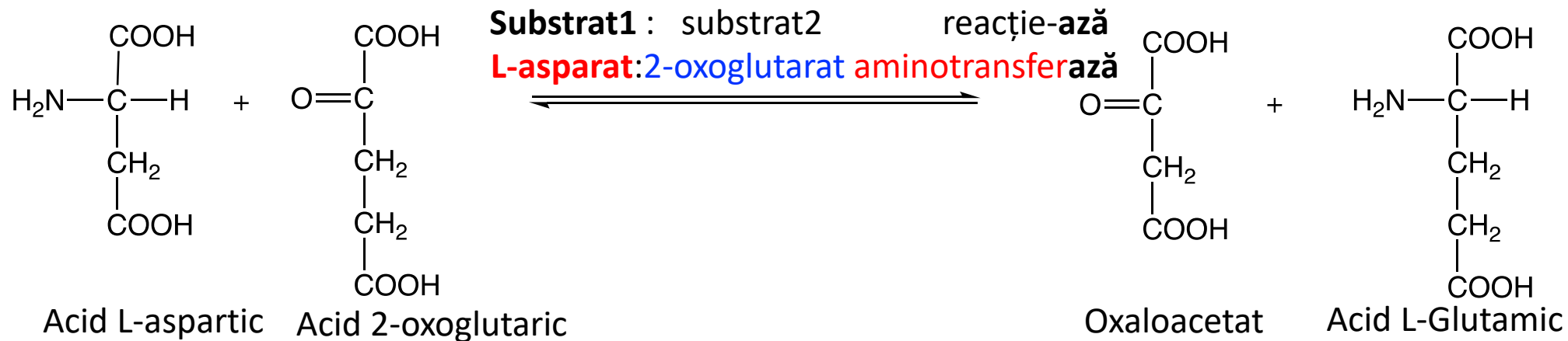
- 1. cofactor enzimatic** – orice moleculă neproteică legată necovalent de proteină. Poate fi un atom metalic (Ex: Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) sau o moleculă organică cu sau fără atomi metalici adică o:
- 2. coenzimă** - cofactor enzimatic de natură organică cu sau fără atomi metalici;
- 3. grupare prostetică** – dacă molecula este legată printr-o legătură covalentă de molecula proteică.

Enzima completă, activă din punct de vedere catalitic se numește holoenzimă și este alcătuită din partea proteică numită apoenzimă (apoproteină) și cofactor/coenzimă/grupă prostetică după caz.

Denumirea formală a enzimelor conform normelor internaționale se face precizând substratul asupra cărei acesta acționează (dacă enzima acționează simultan asupra 2 substraturi, se precizează ambele despărțite de semnul :) alături de denumirea reacției pe care enzima o catalizează urmată de sufixul **-ază** (**hidrolază, izomerază**):

Substrat(:substrat2) reacție-ază

Enzimele – bio-catalizatorii celulari



Unele enzime au de asemenea denumiri uzuale (tripsină, pepsină, glutamat oxaloacetat transaminază - GOT).

Funcție de tipul de reacții pe care le catalizează, enzimele se clasifică în 6 clase distincte:

Clasa I – oxidoreductaze – catalizează reacții de oxido-reducere biologică care cel mai frecvent constau în transferul de e^- și a unui H^+ ;

Clasa II – transferaze – transferul unor grupe funcționale de la substrat la produsul de reacție;

Clasa III – hidrolaze – reacții de hidroliză – ruperea unor legături cu participarea unei molecule de H_2O sau transferul unor grupe funcționale către molecula de H_2O ;

Clasa IV – liaze – clivarea de legături C-C; C-O; C-N sau adăugarea de grupe funcționale la legături nesaturate;

Clasa V – izomeraze – transferul de grupe în cadrul aceleiași molecule cu formarea de izomeri;

Clasa VI – Ligaze – formarea de legături C-C; C-O; C-N prin reacții de condensare cuplate cu clivarea unei molecule de ATP sau altui cofactor similar.