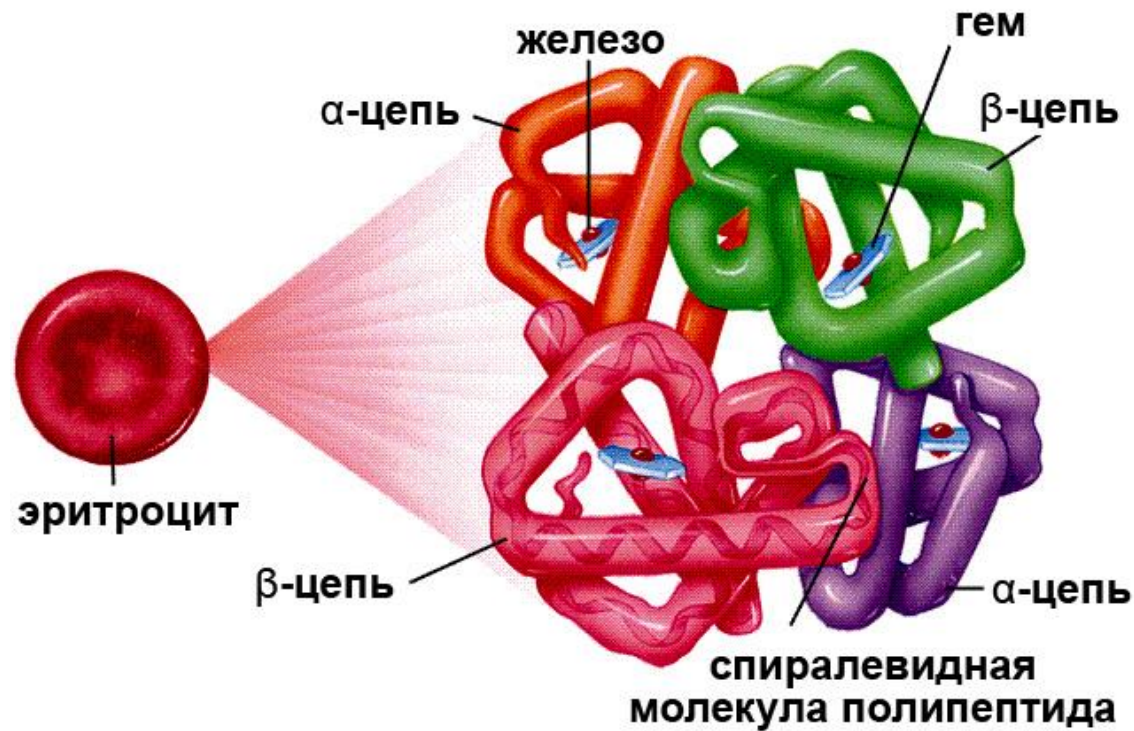


**Конформация
биомакромолекул.
Виды
конформационных
перестроек**

ЧТО ТАКОЕ «КОНФОРМАЦИЯ»

- **Конформация макромолекулы** - это способ укладки полимерной цепи (без разрыва ковалентных связей) за счет образования большого числа слабых связей, в результате этого формируется термодинамическая наиболее выгодная и стабильная пространственная структура макромолекулы.
- **Конформацией макромолекулы** называется пространственное расположение атомов и групп атомов, которое может быть изменено без разрыва химических связей основной цепи в результате теплового движения или внешних воздействий.

Изменения параметров окружающей среды (**температура, рН, ионная сила раствора, действие денатурирующих факторов**) вызывают конформационную перестройку биомакромолекул с образованием новой стабильной пространственной структуры.

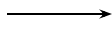


Пространственная организация
гемоглобина

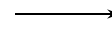
ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКА

ВИДЫ КОНФОРМАЦИЙ

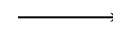
Первичная



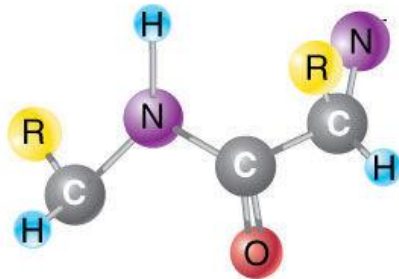
Вторичная



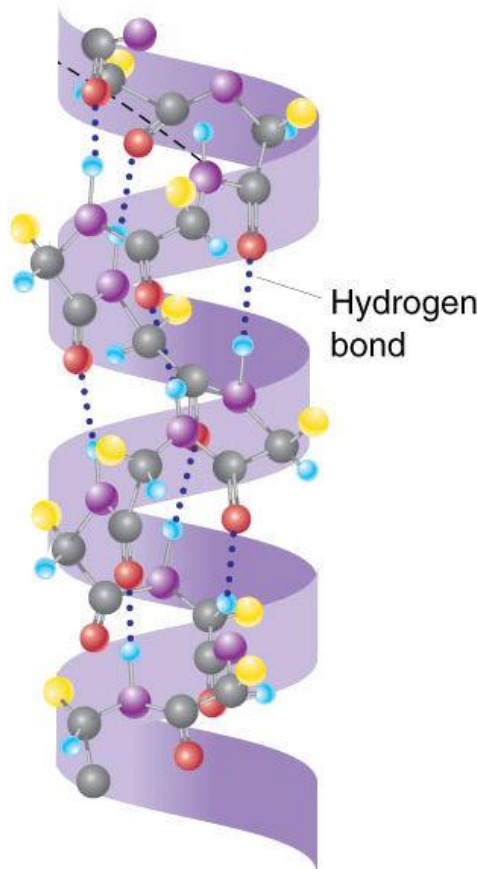
Третичная



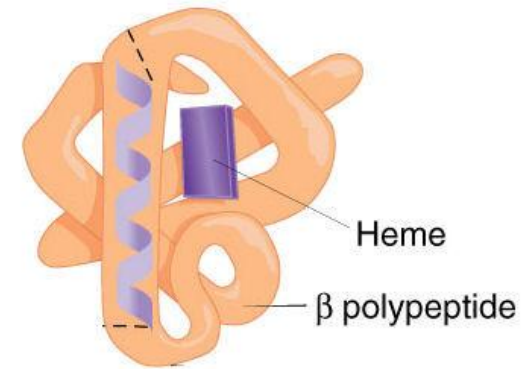
Четвертичная



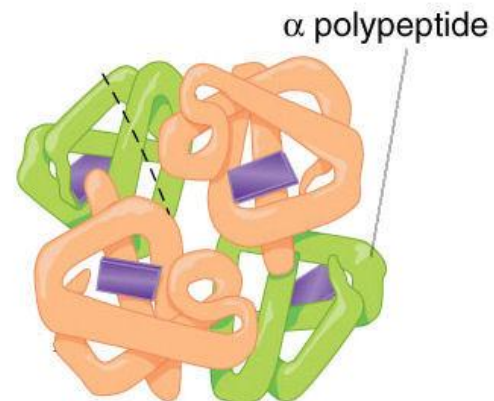
(a) Primary structure



(b) Secondary structure



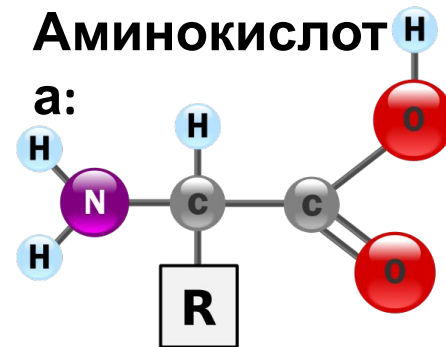
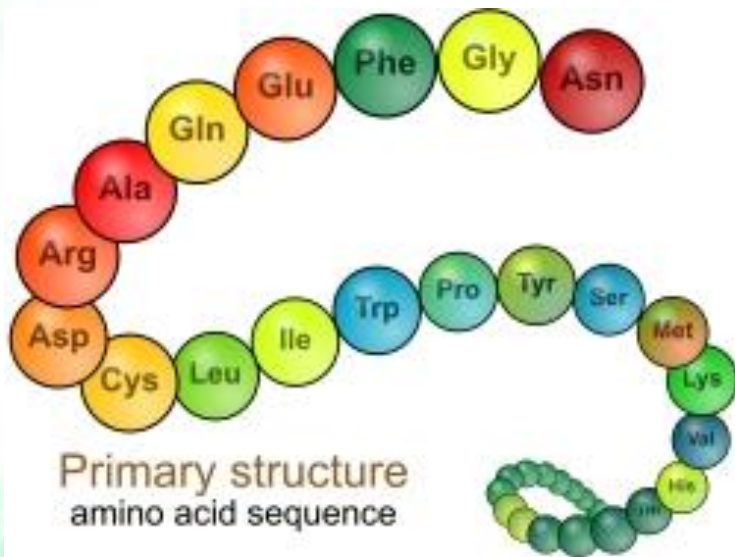
c) Tertiary structure



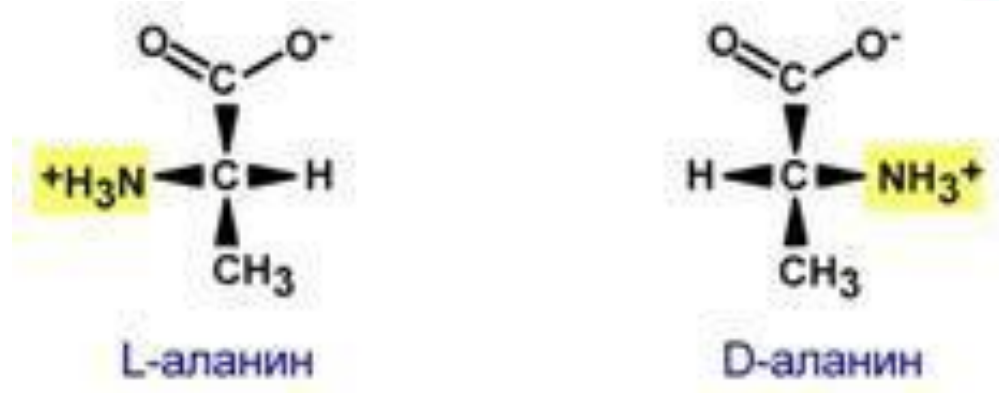
(d) Quaternary structure

Первичная структура белка

Белки - биополимеры, состоящие из аминокислот. Различают L- и D- формы (оптические изомеры) аминокислот. Однако белки состоят преимущественно из L-аминокислот.



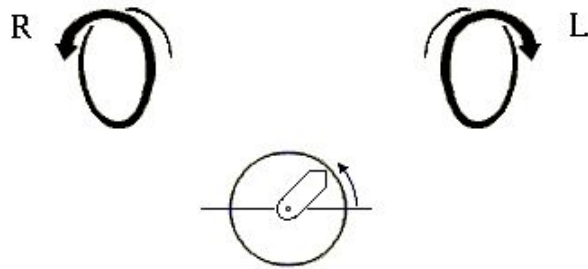
Оптические изомеры:



Вторичная структура белка

Выделяют правозакрученную и левозакрученную α -спираль и параллельные и антипараллельные β -складчатые структуры.

α -петля:



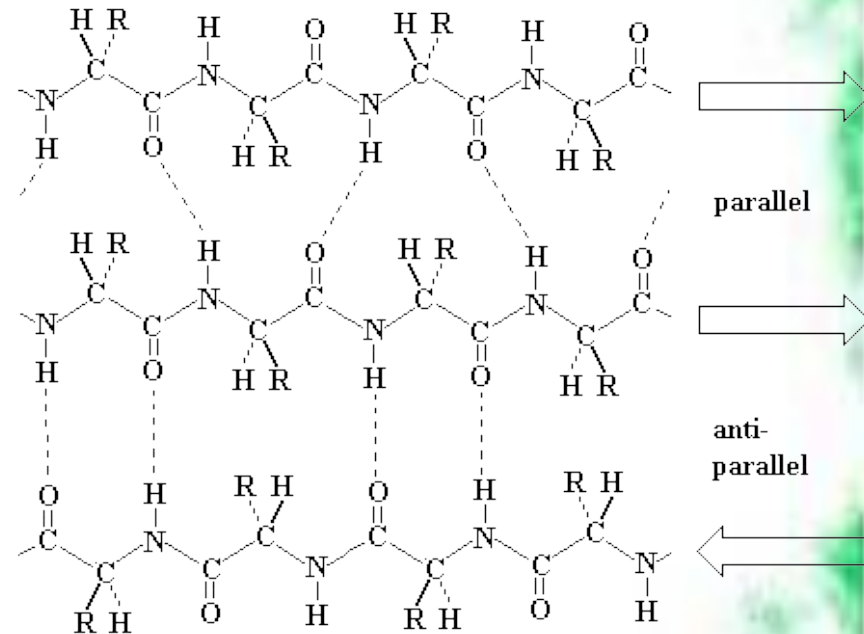
правозакрученная

левозакрученная

($\phi=132^\circ$, $\psi=123^\circ$)

($\phi=228^\circ$, $\psi=237^\circ$)

β -складчатая структура:



parallel

anti-parallel

Сверхвторичные структуры

Термодинамически и кинетически стабильные комплексы α -спиралей и β -складчатых структур, образующиеся за счет взаимодействия между радикалами.

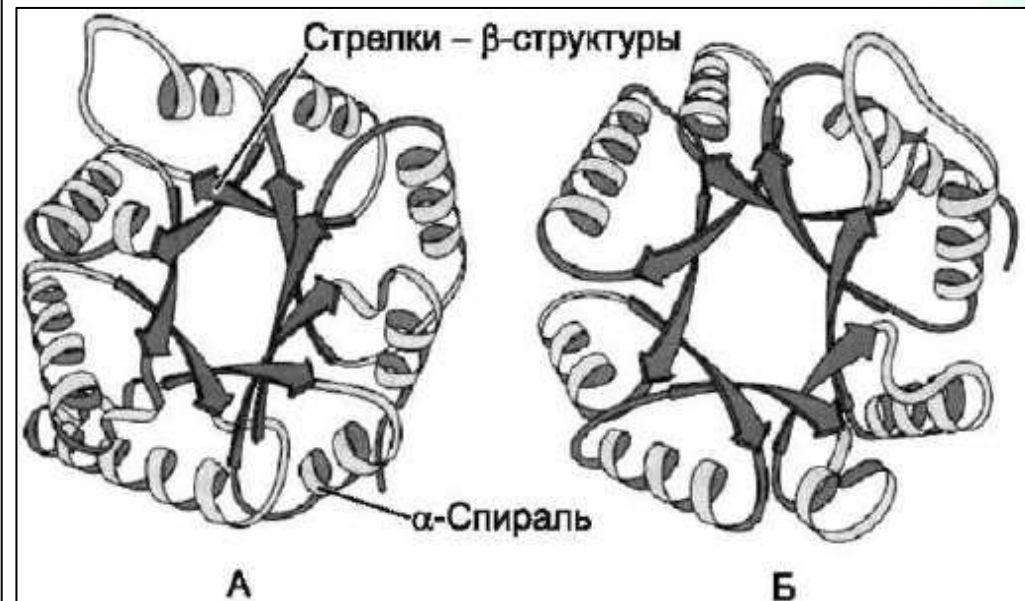
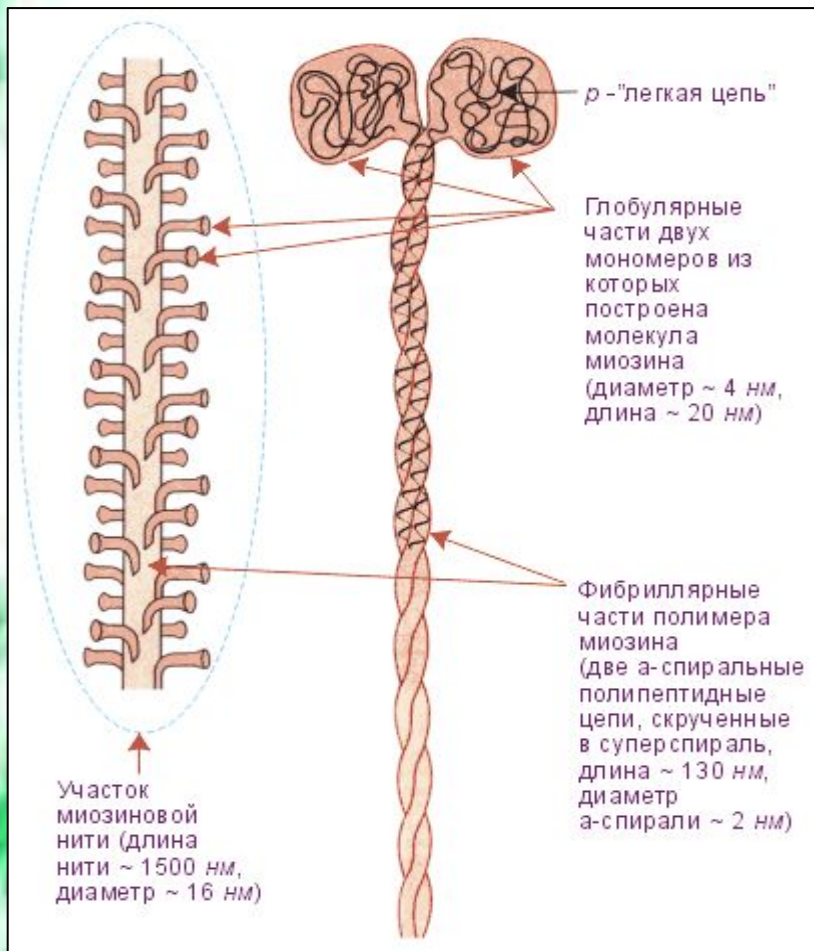
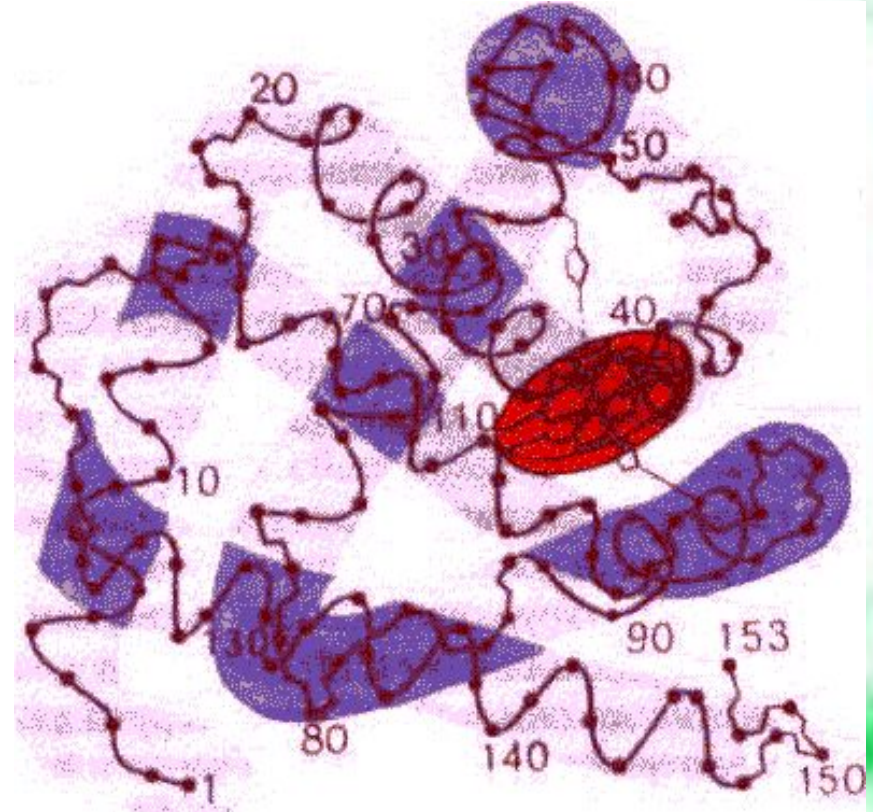


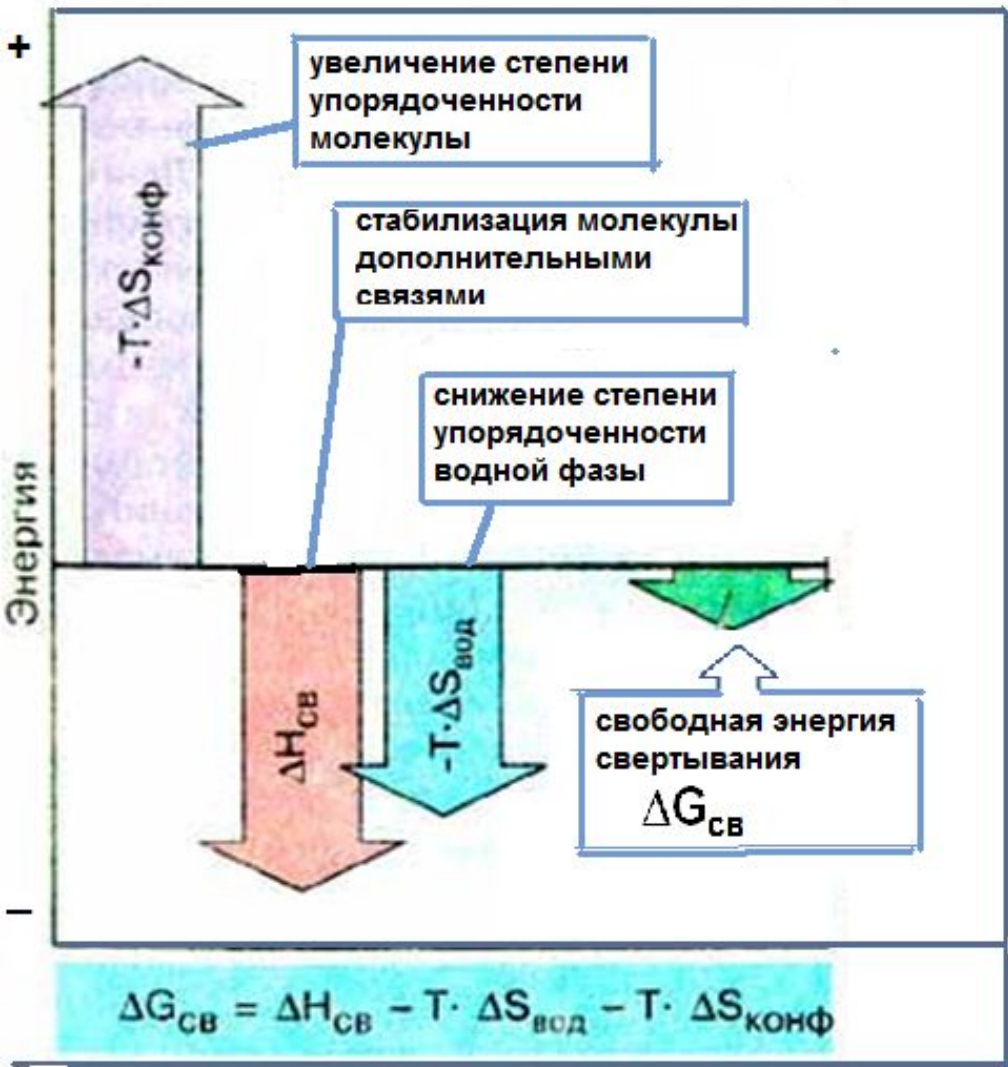
Рис. 1-16. Супервторичная структура в виде α/β -бочонка. А — триозофосфатизомераза; Б — домен пируваткиназы.

Третичная структура

Пространственная ориентация полипептидной спирали или способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме. Результат – образование глобулы.



Термодинамика образования глобулы



энергетика образования глобулы

СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ ГИББСА

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

для САМОПРОИЗВОЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ $\Delta G < 0$

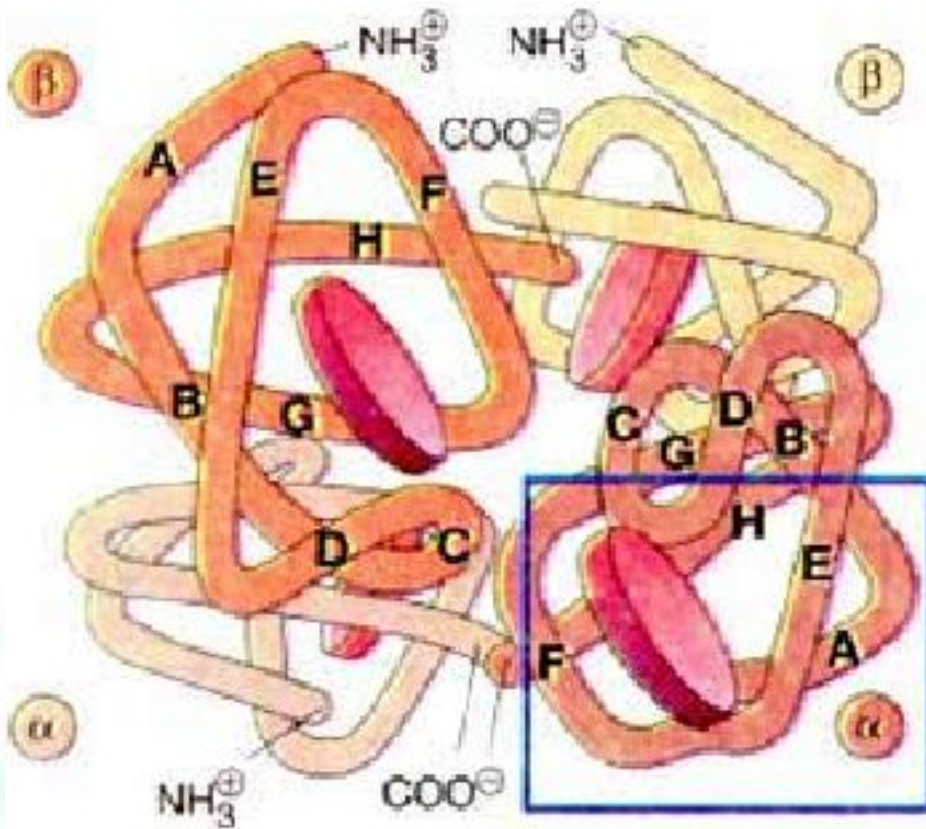
ВЫГОДНО
УМЕНЬШЕНИЕ ЭНТАЛЬПИИ
или
УВЕЛИЧЕНИЕ ЭНТРОПИИ

При свертывании белковой глобулы **выигрыша в числе водородных связей не происходит**, т. к. одновременно утрачиваются водородные связи «полипептидная цепь – вода».

При свертывании глобулы **убывает энтропия пептидной цепи**, но одновременно происходит **возрастание энтропии растворителя - воды**, что играет решающую роль в стабилизации третичной структуры белка.

Четвертичная структура

Образуется, когда гидрофильные остатки не полностью закрывают гидрофобное ядро, что приводит к образованию надмолекулярных структур.



Молекула гемоглобина образована 4-мя глобулами

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ
ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРИЕНТАЦИИ
БИОМАКРОМОЛЕКУЛ**

СПЕЦИФИКА БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

Специфика полимерных молекул в отличие от малых молекул определяется большим числом однотипных звеньев (мономеров), связанных в линейную цепь (***статистический характер поведения***).

Тепловое движение входящих в полимерную цепь атомов и атомных групп, повороты и вращения их вокруг единичных связей обуславливают большое число степеней свободы макромолекулы. Это позволяет рассматривать макромолекулы как **макроскопическую систему**. Каждое макросостояние полимера может быть осуществлено большим числом микросостояний (конформаций).

Своеобразие биологических макромолекул как физического объекта заключается в тесном сочетании *статистических* и *детерминистских (механических)* особенностей их поведения:

с одной стороны → большое число взаимодействующих атомов и, как следствие, большое количество разных конформаций (форма и размеры молекулы зависят от статистической подвижности);

→ с другой стороны → определенный химический характер и конформационные изменения при функционировании биополимеров

Если будем считать, что полимерная цепь состоит из ряда прямолинейных сегментов, каждый из которых включает определенное число отдельных звеньев. Внутри каждого сегмента сохраняется абсолютная корреляция в ориентации звеньев, но между сегментами эта корреляция полностью отсутствует.

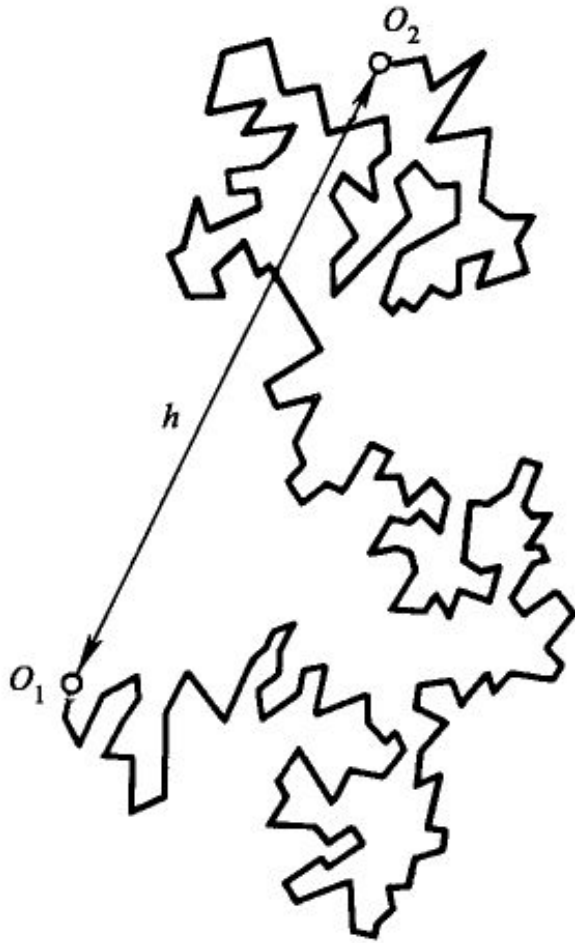
То такая модельная цепь, состоящая из отдельных сегментов, взаимно независимых в отношении своей ориентации в пространстве, называется

СВОБОДНО-СОЧЛЕНЕННОЙ

Разбиение реальной цепи на статистические сегменты должно происходить так, чтобы **число звеньев m** в составе сегмента было достаточно большим для обеспечения независимой ориентации сегментов. При этом **число сегментов N** , равное $N = n/m$, где n – полное число звеньев в цепи, должно быть $N \geq 10$.

В молекуле биополимера из N сегментов, каждый из которых имеет длину l , **расстояние между концами биополимера h** будет составлять:

$$h = \sum_{i=1}^N l_i$$



Реальная длинная цепная молекула принимает огромное количество конфигураций.

h принимает значения в диапазоне:

$h = 0$ (концы цепи совпали)

$h = N \cdot l$ (вытянутая цепь).

В клубке эти разные значения h принимаются с разной вероятностью.

Свободно-сочлененная цепь

(по В. Н. Цветкову, В. Е. Эскину, С. Я. Френкелю, 1964)

ГИБКОСТЬ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

Сворачивание гибкой цепи в клубок определяется ее **термодинамической гибкостью**:

чем \uparrow гибкость, тем $\downarrow h^2$ при заданных N и l

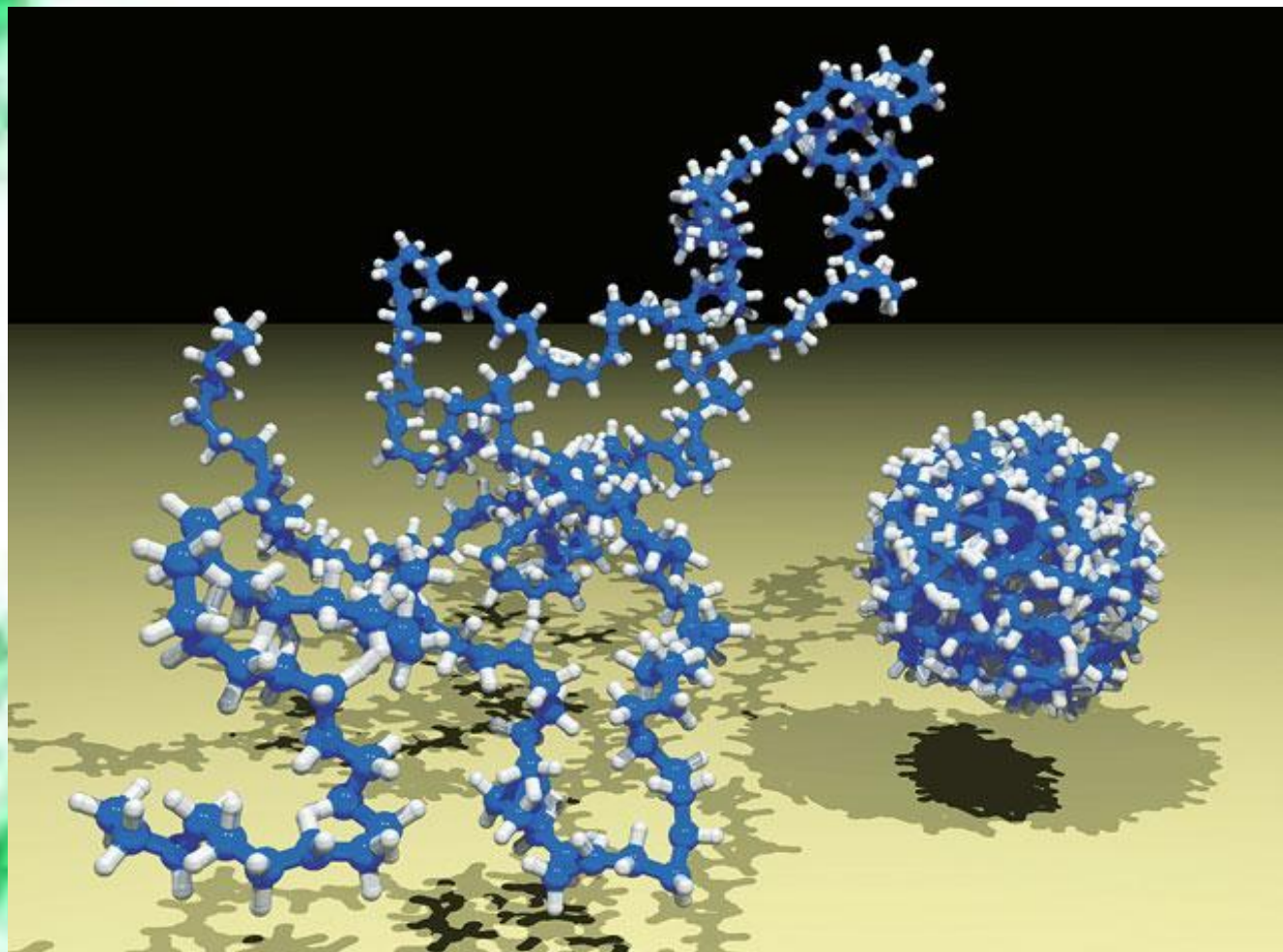
$$h^2 = N \cdot l^2 \frac{1 + \cos \omega}{1 - \cos \omega}$$

h^2 - среднеквадратичное расстояние между концами полимера, ω – валентный угол

В растворе наиболее вероятная конформация полимера — **свернутый клубок**, в котором энтропия системы максимальна. **При растяжении полимера** происходит **развертывание клубка** и уменьшение числа возможных конформаций, что сопровождается уменьшением энтропии.

ОБЪЕМНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ. ПЕРЕХОД БЕЛОК-ГЛОБУЛА

Клубок — вид пространственной структуры полимера, при котором взаимодействуют только соседние звенья, с большим количеством конформаций и отсутствует внутренняя структура

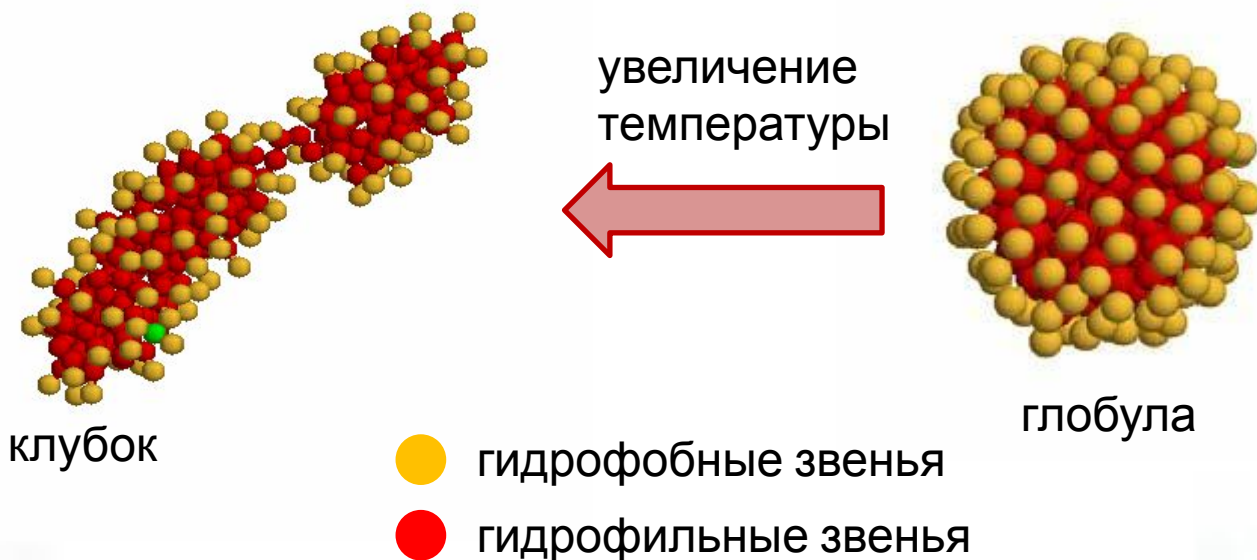


Глобула — вид пространственной структуры полимера, с компактной пространственной структурой, с малыми флуктуациями плотности, с однородной сердцевиной и постоянной концентрацией звеньев n_0 .

УСЛОВИЯ СУЩЕСТВОВАНИЯ КЛУБКА И ГЛОБУЛЫ

Вследствие объёмных взаимодействий сблизившиеся участки полимера могут притягиваться или отталкиваться. **Повышение** температуры приводит к увеличению **отталкивания** между мономерами, а **понижение** - к **сближению**.

Существует температура, при которой отталкивание мономеров полностью компенсируется их взаимным притяжением. Эта температура называется **θ -точкой** или **θ -температурой**.



В θ -точке объемные взаимодействия отсутствуют, и макромолекула представляет клубок с $h \sim lN^{1/2}$, сохраняющийся и при температуре $T > \theta$. Однако в области $T > \theta$ из-за увеличения сил отталкивания размеры клубка возрастают: $h > lN^{1/2}$.

В **хороших растворителях** притяжение атомов цепи и растворителя больше, чем между атомами цепи, что равносильно **увеличению их взаимного отталкивания** в таком растворителе (область $T > \theta$). Наоборот, в **плохих растворителях** взаимное притяжение звеньев полимера больше, чем их притяжение к молекулам растворителя (область $T < \theta$). В области $T < \theta$ в объемном взаимодействии преобладают **силы притяжения**, которые могут привести к конденсации полимерного клубка в плотную, слабо флуктуирующую глобулу.

Замечания о θ -точке

1. Полная компенсация притяжения и отталкивания в θ -точке является специфическим свойством полимеров. Это явление связано с низкой (в термодинамическом пределе - бесконечно низкой) концентрацией звеньев в полимерном клубке.
2. Доминирование отталкивания при высоких температурах ($T > \theta$) и притяжения - при низких ($T < \theta$) характерно для обычной формы потенциала взаимодействия звеньев $U(r)$. Для более сложных форм потенциала ситуация может быть более сложной: возможна обратная зависимость от температуры, а при некоторых условиях - и немонотонная зависимость с несколькими θ -точками

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ

В процессе тепловой денатурации происходит изменение теплоемкости биополимера при переходе от нативного (спиральное, глобулярное состояние) в денатурированное (клубкообразное).

Изменение **энтальпии** этого перехода вычисляется:

$$\Delta H_{\text{ден}} = \Delta H_d - \int_{T_1}^{T_d} \Delta C_{p,d} dT$$

ΔH_d - молярная энтальпия перехода,

T_d - температура перехода,

T_1 - температура начала плавления,

$\Delta C_{p,d}$ - разность теплоемкостей в нативном и денатурированном состояниях перехода,

Изменение **энтропии** этого процесса составляет:

$$\Delta S_{\text{ден}} = \frac{\Delta H_d}{T_d} - \int_{T_1}^{T_d} \Delta \frac{C_{p,d}}{T} dT$$

Было показано, что молекула белка может претерпевать обратимые конформационные переходы в частично дезорганизованное состояние не только при нагревании, но и охлаждении раствора. В обоих случаях денатурация осуществляется как кооперативный процесс. Однако **при тепловой денатурации энтальпия и энтропия увеличиваются, а при холодной - снижаются.**

ПОВОРОТНАЯ ИЗОМЕРИЯ И СТЕРИЧЕСКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Зависимость конформации линейной полимерной цепи от характера взаимодействия атомных групп

Сворачивание полипептидной цепи (как и любой другой полимерной молекулы) есть статистическая и механическая форма поведения, зависящая от возникновения **ротамеров**, которые возникают за счет вращения атомов вокруг одинарных связей.

Вращение вокруг одинарных связей не всегда свободно, так как между соседними атомами возникает **тормозный потенциал внутреннего вращения**, который зависит от угла поворота и от электронных орбиталей соседних атомов.

Энергия конформации полимера $E\{\Phi\}$ зависит от энергии взаимодействия соседних звеньев ($E(\phi)$) или от соседних углов вращения (ϕ):

$$E\{\phi\} = \sum_{i=2}^{n-1} E_i(\phi_{i-1}, \phi_i)$$

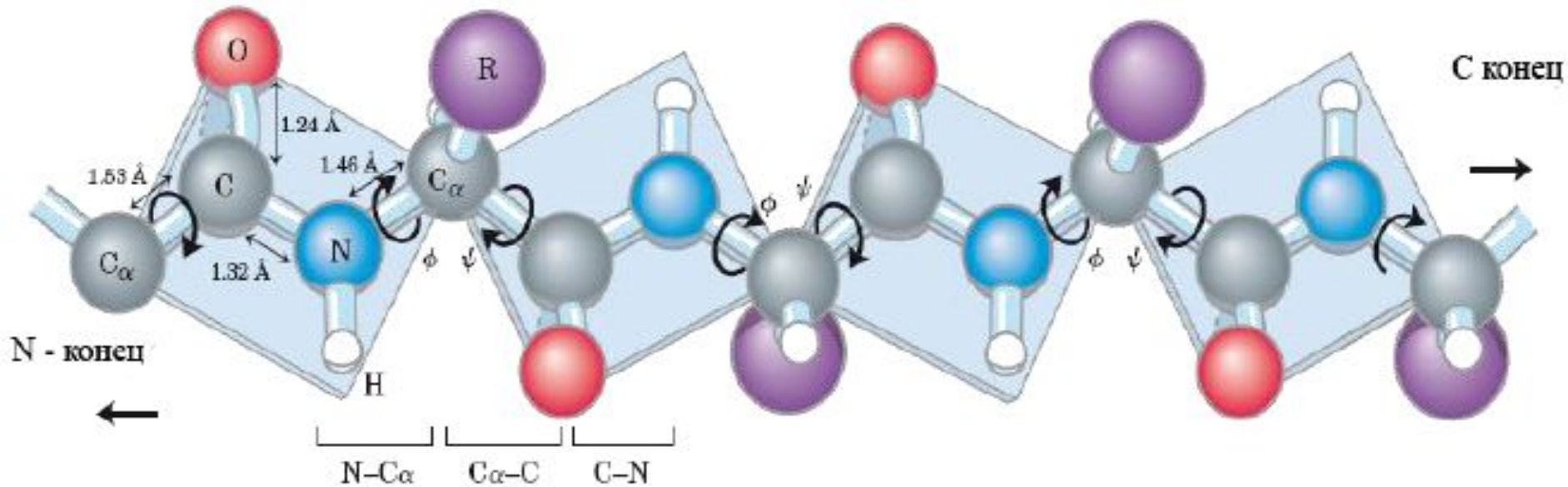
В 1951 г. М.В. Волькенштейн выдвинул **теорию поворотного-изомерного строения** биополимеров.

Он предложил заменить непрерывную функцию $E(\phi)$ разрывной в соответствии с набором дискретных поворотных состояний. На основе теории зная энергии различных поворотных изомеров, можно вычислить вероятность определенной конформации молекул.

Энергия вращения атомных групп вокруг единичных связей дает основной вклад в **общую конформационную энергию полимерной цепи.**

КОНФОРМАЦИОННАЯ ЭНЕРГИЯ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ И ОСОБЕННОСТИ ЕЕ СТРОЕНИЯ

Конформационная энергия полипептидной цепи определяется всеми видами взаимодействий и зависит от энергии внутреннего вращения аминокислотных остатков вокруг единичных связей.



В силу двойного характера пептидной связи $C=N$ вращение вокруг нее затруднено и учитывается только вращение вокруг связей $N - C_{\alpha}$ (**угол ϕ**) и $C_{\alpha} - C$ (**угол ψ**).

Последовательность углов ϕ и ψ для всех остатков белка определяет конформацию белковой цепи. Принцип, согласно которому два атома не могут занимать одно и тоже место в пространстве, ограничивает набор возможных значений конформационных углов.

Общее **значение потенциала** для конформационной энергии имеет вид:

$$U(\phi, \psi) = \sum_{i,k} U_{i,k}(\phi, \psi) + \frac{U_{\phi}^0}{2} (1 - \cos 3\phi) + \frac{U_{\psi}^0}{2} (1 - \cos 3\psi) + U_{\text{эл.стат}}$$

где $U_{i,k}(\phi, \psi)$ - полный потенциал взаимодействия с расстоянием $r_{i,k}$ между взаимодействующими атомами, зависящим от углов ϕ и ψ , $U_{\text{эл.стат}}$ - энергия электростатических взаимодействий, определяемая по формуле:

$$U_{\text{эл.стат}} = - \sum \frac{q_i q_k}{\epsilon r_{ik}},$$

где q_i и q_k - заряды на атомах (i и k), ϵ - диэлектрическая постоянная, r_{ik} - расстояние между атомами

ПРЕДСКАЗАНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ ПО ИХ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЕ

Основной особенностью пространственной структуры белка является способность полипептидной цепи образовывать детерминированную структуру, обладающую необходимыми динамическими свойствами для осуществления биологической функции.

С вычислительной точки зрения проблема предсказания структуры белка сводится **к поиску глобального минимума конформационной энергии.**

В современных исследованиях делают попытки предсказать на основе конкретной аминокислотной последовательности вторичную и третичную структуры белка. Существуют в основном два подхода к решению этой проблемы.

Эмпирический метод основан на выявлении корреляции между вторичной структурой белка и его аминокислотным составом и последовательностью. Экспериментальной базой метода являются результаты рентгеноструктурного анализа глобулярных белков в кристаллическом состоянии, близком к нативному. Строго говоря, он не учитывает в явном виде энергию и механизмы взаимодействий между соседними остатками в основной цепи.

Метод физического моделирования основан на поэтапной оценке взаимодействий валентно не связанных атомов между собой и с растворителем. Предполагается, что нативная конформация белка отвечает \min свободной энергии и характеризуется согласованностью между всеми видами внутримолекулярных взаимодействий.

МЕТОДЫ ПРЕДСКАЗАНИЯ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ ПО АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

1. **Предсказание вторичной структуры белка без укладки ее в пространственную структуру.** В результате получается список сегментов, для которых предсказано, что они формируют α -спирали или тяжи β -листов.
2. **Распознавание фолдов** (фолд – способ укладки полипептидной цепи). Дана библиотека известных структур и их аминокислотных последовательностей с известной структурой. Задача сводится к нахождению в библиотеке трехмерных конфигураций структуры, которая с наибольшей вероятностью имеет способ укладки, сходный с укладкой неизвестного белка.
3. **Моделирование по гомологии:** предсказание трехмерной структуры белка на основе известной структуры одного или нескольких гомологичных белков. В результате получается полный список всех координат, всех атомов как главной цепи, так и боковых радикалов. Считается, что, если последовательности двух родственных белков имеют 50% или более идентичных остатков, то они, вероятно, обладают аналогичной конформацией пространственной структуры с вероятностью не менее, чем 50%.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНУРИМОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ БЕЛКОВ

Изучение быстрых внутренних движений в молекуле белка осуществляется с помощью современных физических методов:

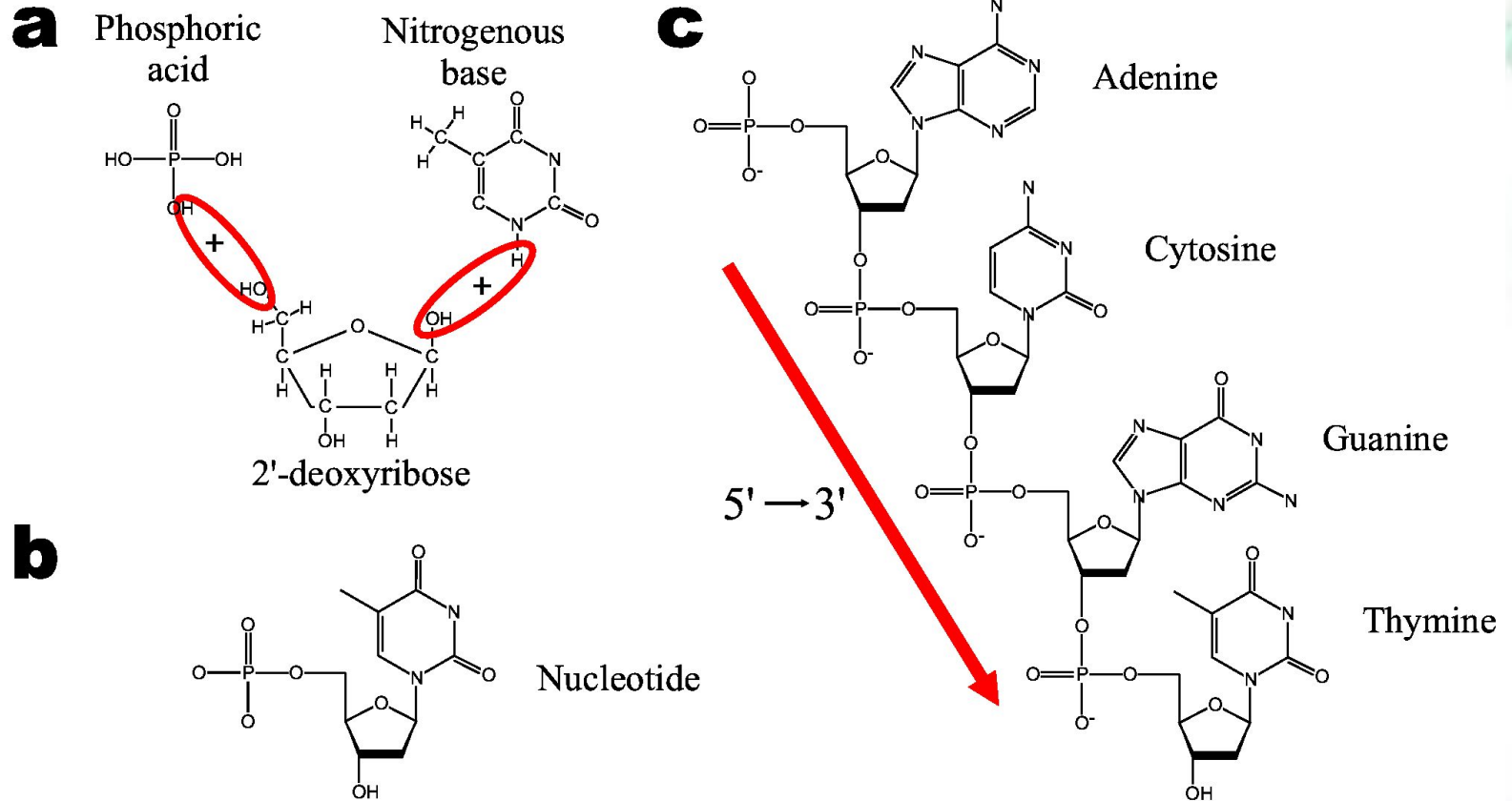
- 1. Люминесцентные методы.**
- 2. Радиоспектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).**
- 3. Радиоспектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР).**
- 4. Радиоспектроскопия ядерного гамма-резонанса (ЯГР).**

Основной подход состоит в том, чтобы, изучая определенные физические параметры (люминесцентные, парамагнитные) специально внедренных во внутрь белка низкомолекулярных соединений, получить характеристику подвижности окружающей их среды, т. е. характеристику внутримолекулярной подвижности белка.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

- ❑ дезоксирибонуклеиновая (ДНК)
- ❑ рибонуклеиновая кислота (РНК)

Первичная структура

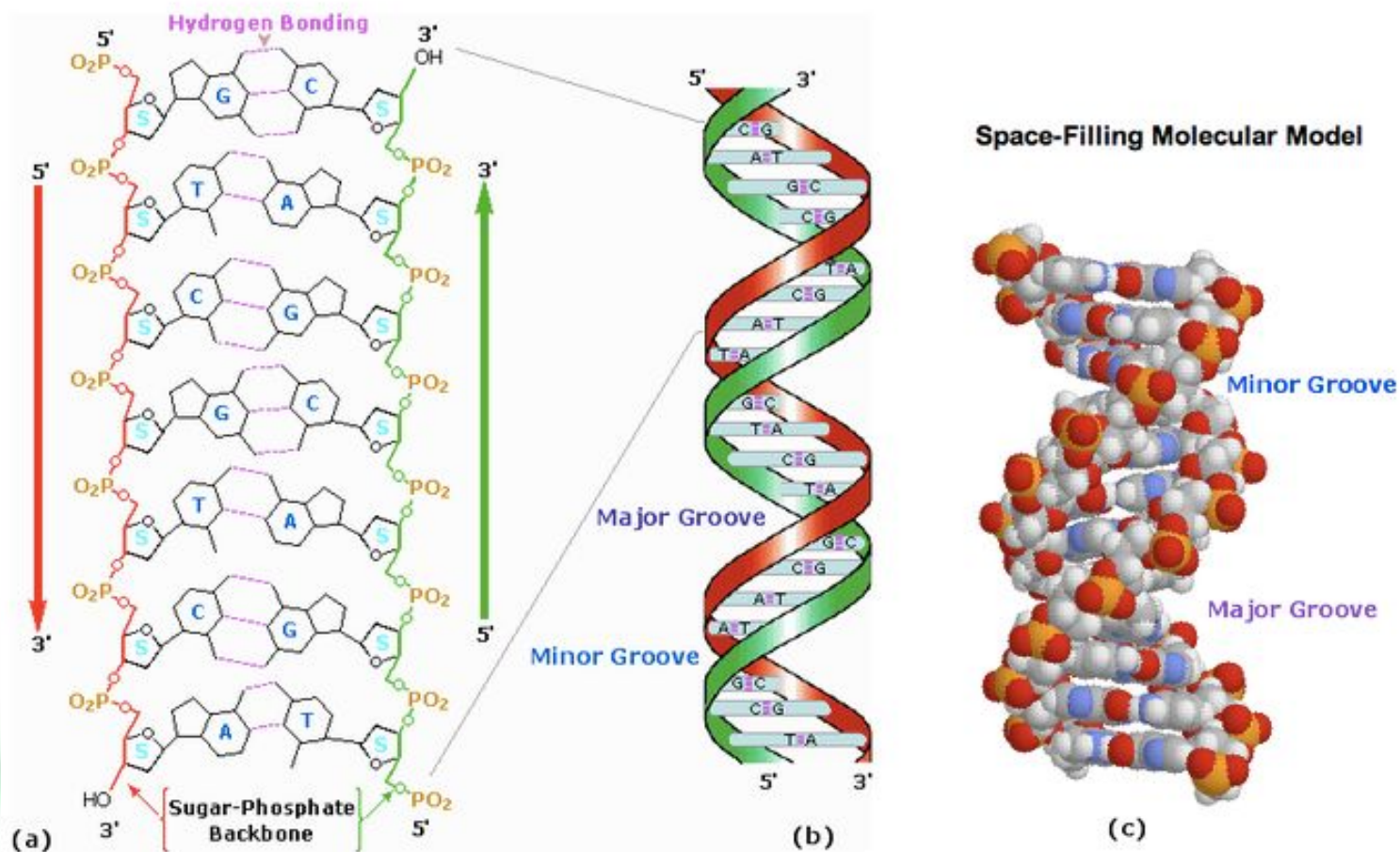


Нити НК представляют непрерывную цепь ковалентно соединенных фосфодиэфирными связями фосфатных групп с остатками сахара. В каждом нуклеотиде сахар соединен с помощью гликозидной связи с азотистым основанием.

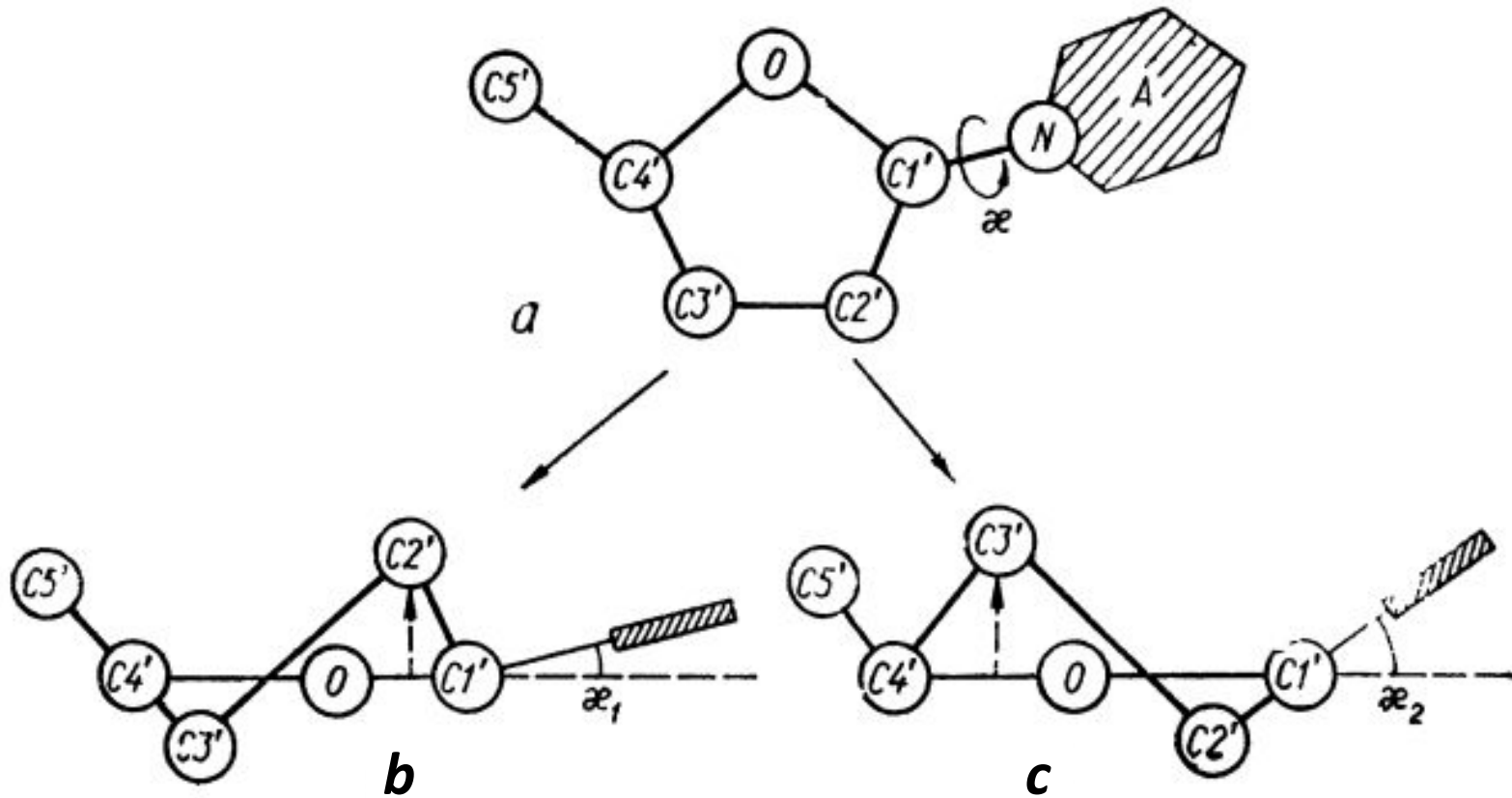
Вторичная структура ДНК

ДНК – двойная спираль, образованная двумя полинуклеотидными цепями, которые стабилизированы водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями.

The Double Helix Structure for DNA



Конформации ДНК



Конформации кольца дезоксирибозы пиранозы: А – азотистое основание; α – угол ориентации азотистого основания; а) атомы дезоксирибозы в плоскости фигуры; б) C-(2')-эндоконформация; в) C-(3')-эндоконформация

Конформации ДНК



а

B-DNA



б

A-DNA



в

Z-DNA

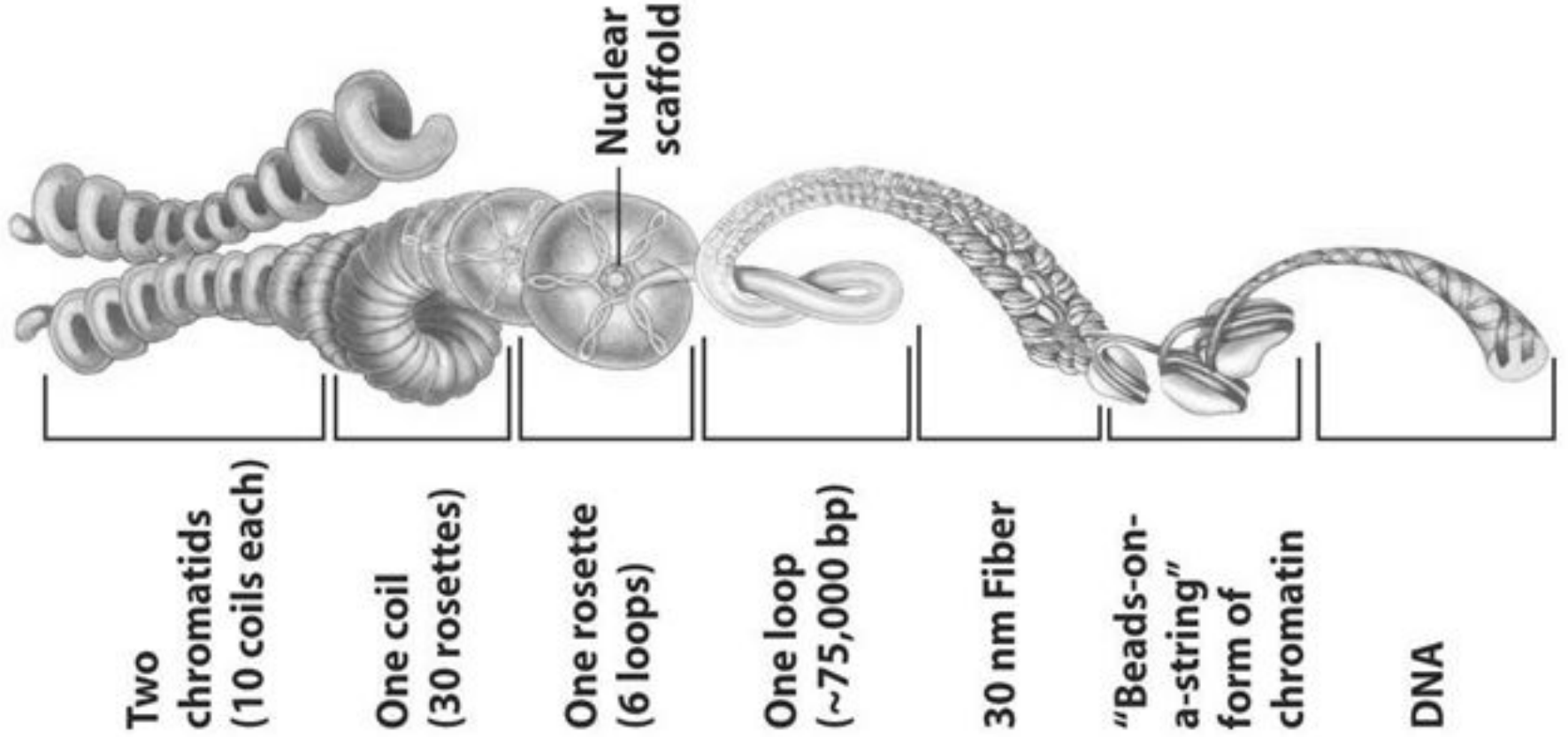
**В-ДНК – обусловлена
С-(2´)-
эндоконформацией
кольца
дезоксирибозы;**

**А-ДНК – обусловлена
С-(3´)-
эндоконформацией
кольца
дезоксирибозы;**

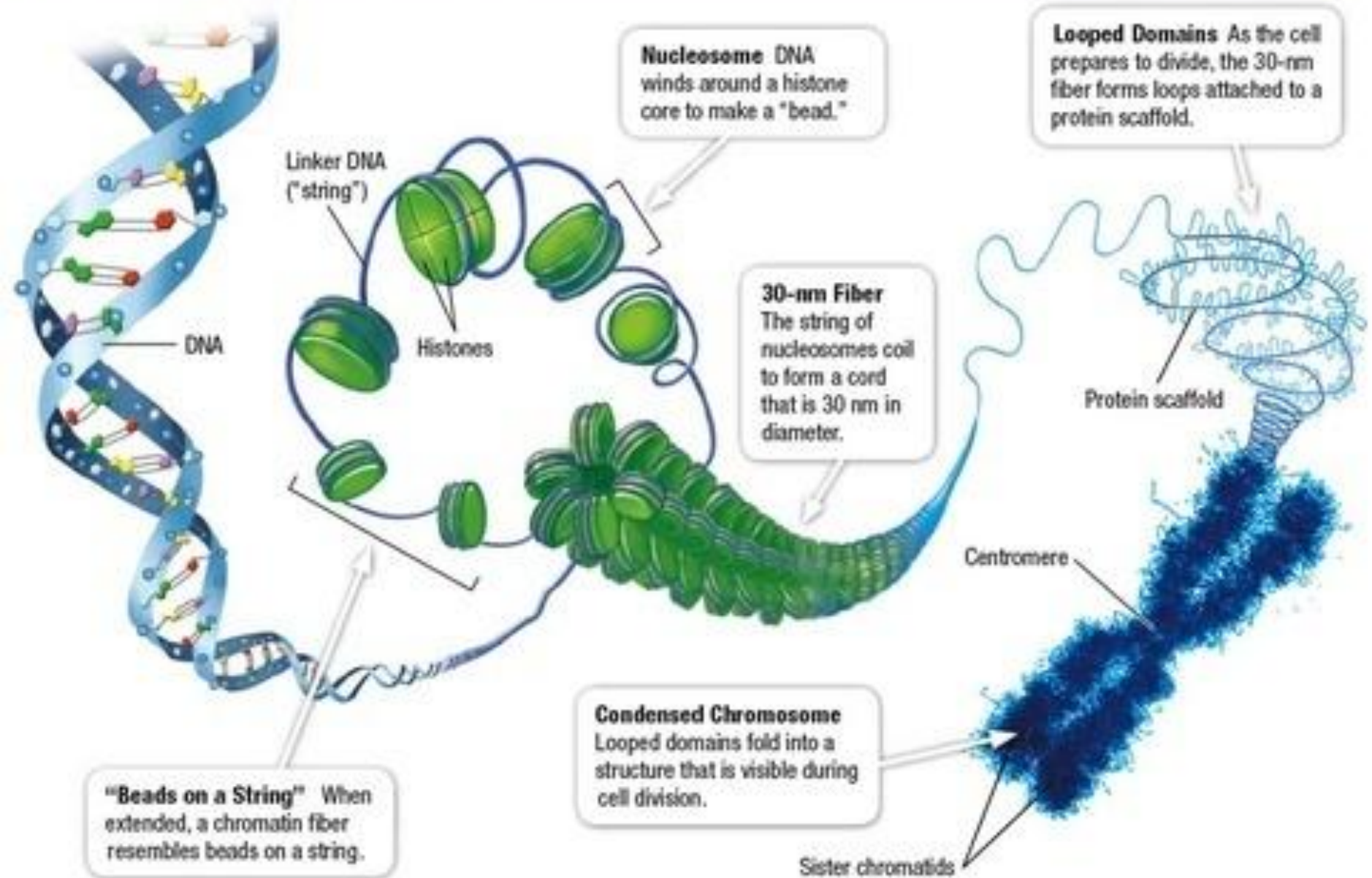
**правозакрученн
ая**

**левозакрученн
ая**

Третичная структура ДНК



Eukaryotic Chromosome Structure



**БЛАГОДАРЮ
ЗА
ВНИМАНИЕ!**