

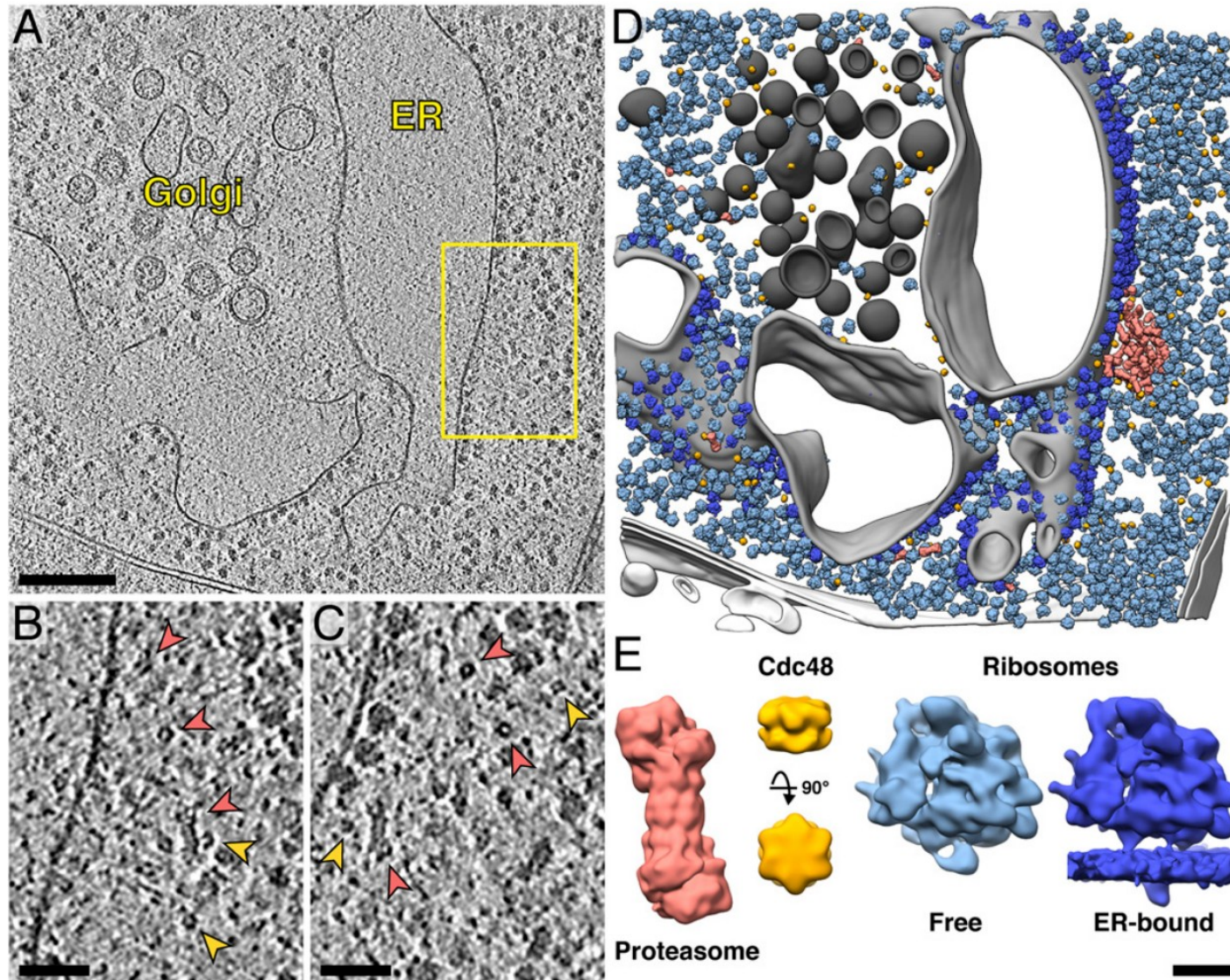
# Bioinformatika III

## Trimačių struktūrų analizė ir spėjimas

Paskaita 1  
baltymų struktūrinė organizacija

Saulius Gražulis  
2023 m.

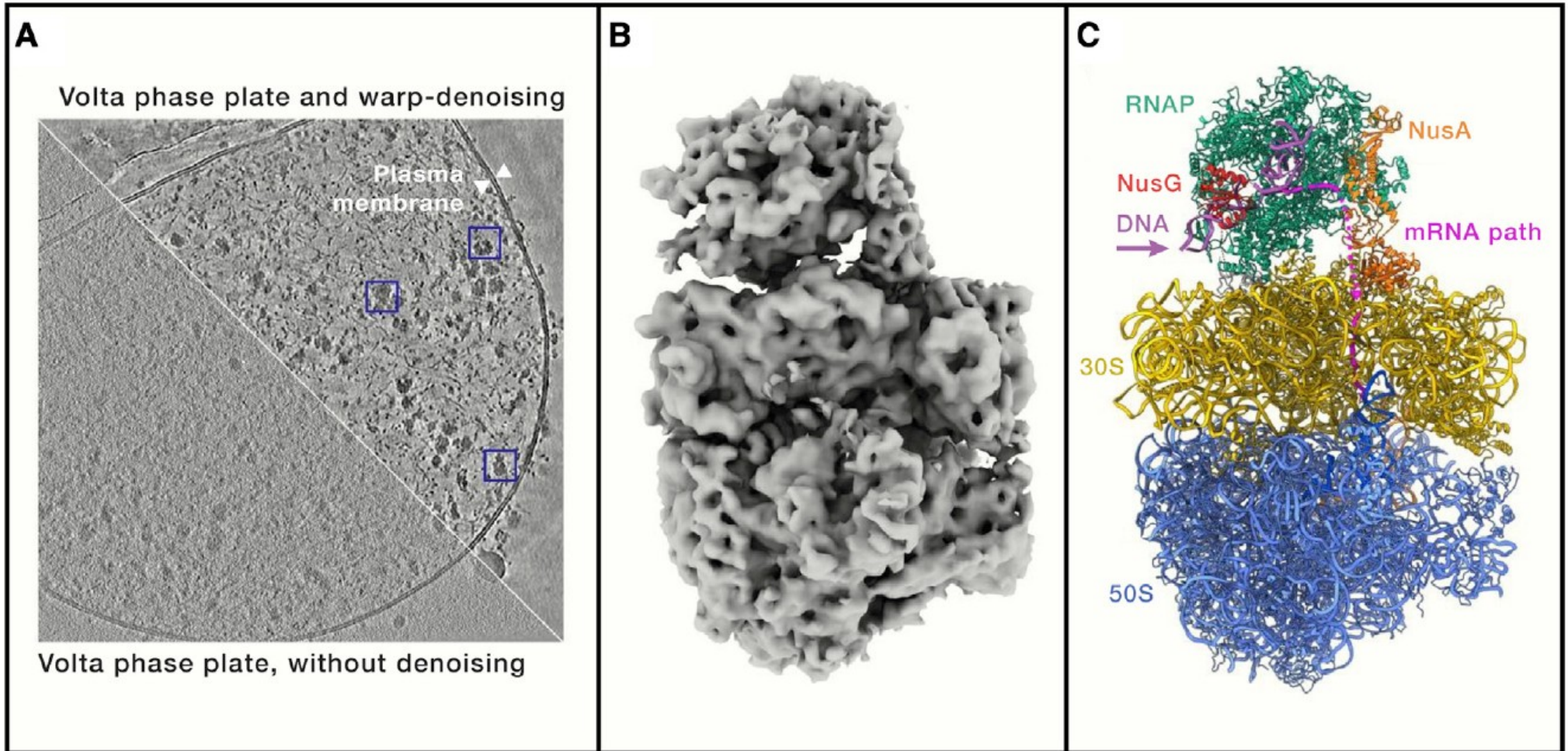
# Gyvybė bendru planu



*(Albert et al., 2019)*



# Skiriamosios gebos lygiai



# Gyvų organizmų funkcionavimas

- Gyvybės funkcijos priklauso nuo **biologinių (makro)molekulių** sąveikos:

- **baltymų**
  - **nukleininė rūgštis (nukleorūgštis)**
  - **polisacharidų**
  - lipidų
  - nedidelių organinių molekulių
  - druskų jonų
- } polimerai
- } hetero-polimerai
- } hetero- ir homo-polimerai

# Baltymų struktūrų svarba

- Trimatė baltymų struktūra priklauso nuo jų sekos
- **Baltymų funkcija priklauso nuo jų trimatės struktūros**
- Trimatė kiekvieno baltymo struktūra yra praktiškai unikali
- Jėgos, kurios formuoja trimatę baltymo struktūrą, yra palygint silpnos nekovalentinės sąveikos

# Baltymų struktūros lygiai

- Pirminė struktūra (a.r. seka)
- Antrinė struktūra (alfa-spiralės, beta-klostės, beta lakštai, kilpos ir posūkliai)
- Tretinė struktūra (baltymo globulė, domenai)
- Ketvirtinė struktūra (baltymo molekulių susijungimas į stambesnius kompleksus).

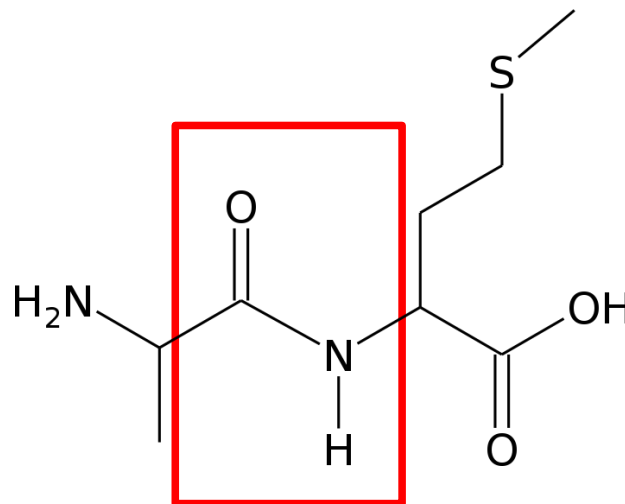
Baltymai turi sudėtingą hierarchinę struktūrą, svarbią jų funkcijai suprasti.

# Pirminē struktūra

- Pirminē struktūra = amino rūgščių (a.r.) seka. E.g.: P61823.fasta:

```
>P61823|RNAS1_BOVIN Ribonuclease pancreatic - Bos taurus (Bovine).  
MALKSLVLLSLLVLLVLLLVQPSLGKETAAAKFERQHMDSSSTAASSSNYCNQMMKSRN  
LTKDRCKPVNTFVHESLADVQAVCSQKNVACKNGQTNCYQSYSTMSITDCRETGSSKYPN  
CAYKTTQANKHIIIVACEGNPYVPVHFDASV
```

Peptidinė  
jungtis



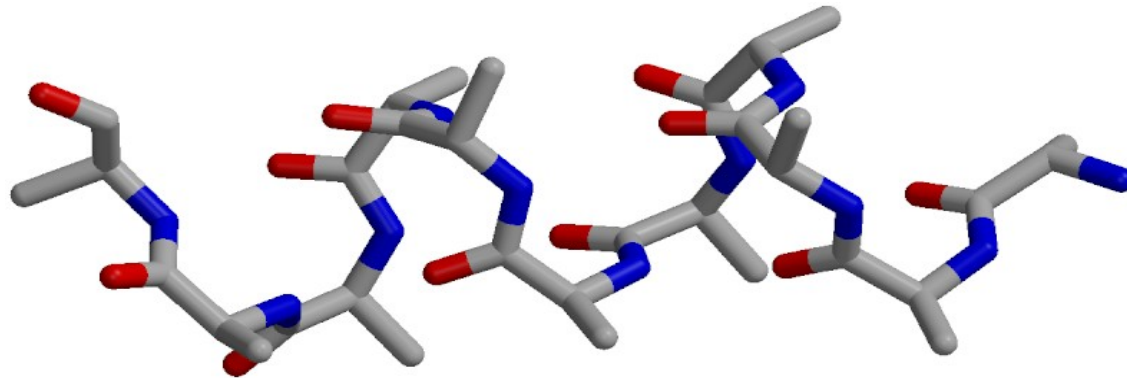
# Antrinē struktūra

- Lokālūs baltymo struktūriniai elementai:
  - alfa-spiralēs,
  - beta-klostēs,
  - beta-lakštai,
  - kilpos ir posūķiai.

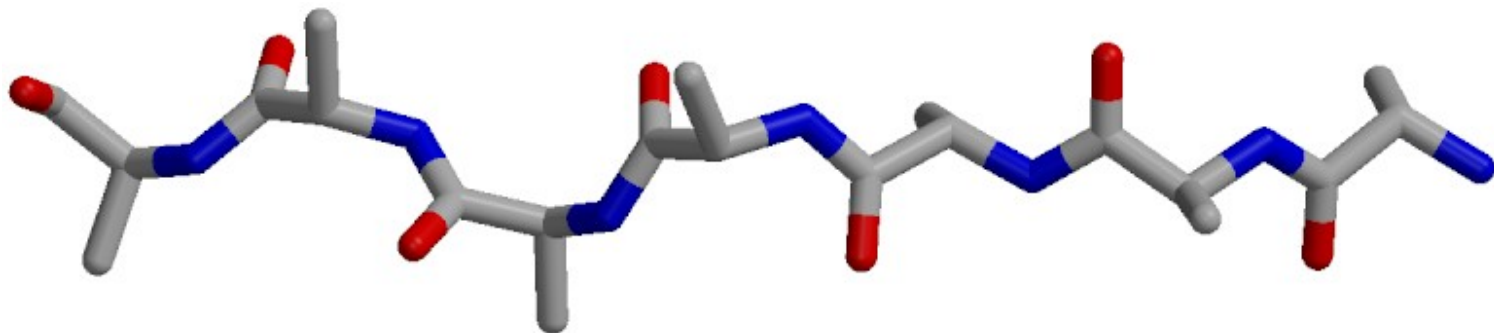


# Alfa-spiralēs ir beta-klostēs

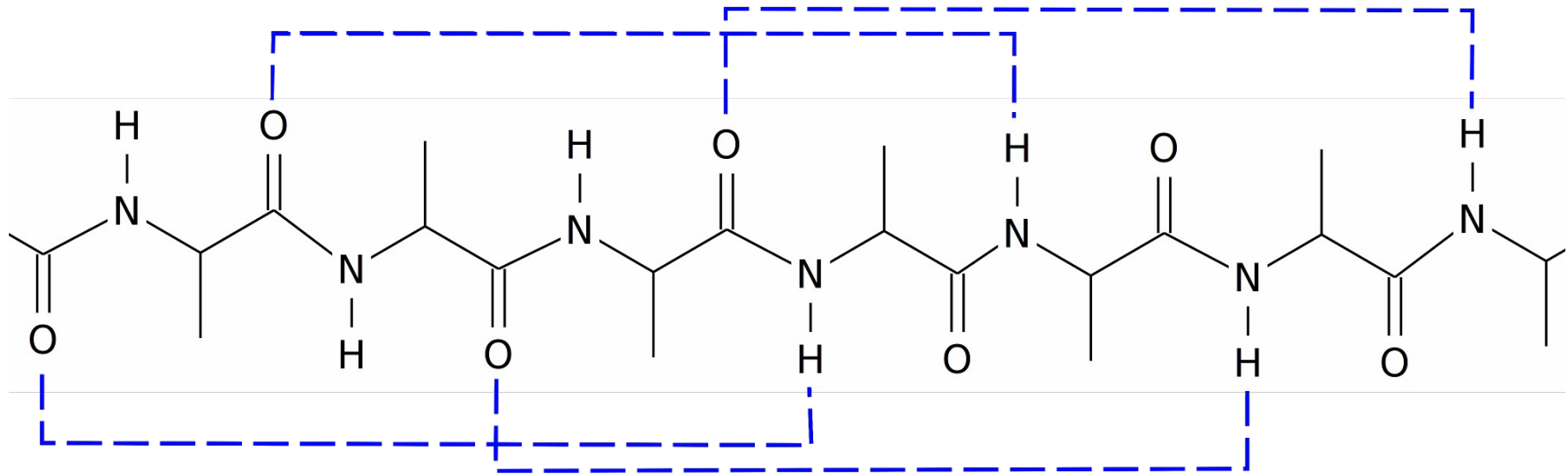
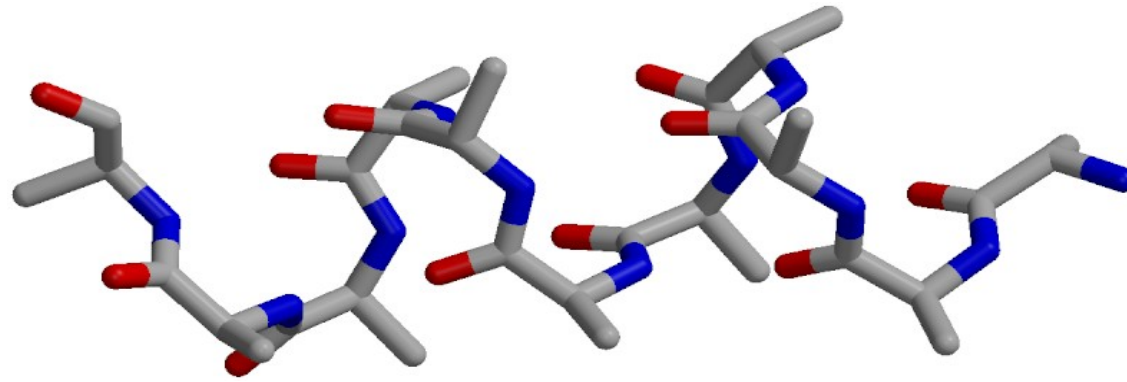
Alfa-spiralē



Beta-klostē

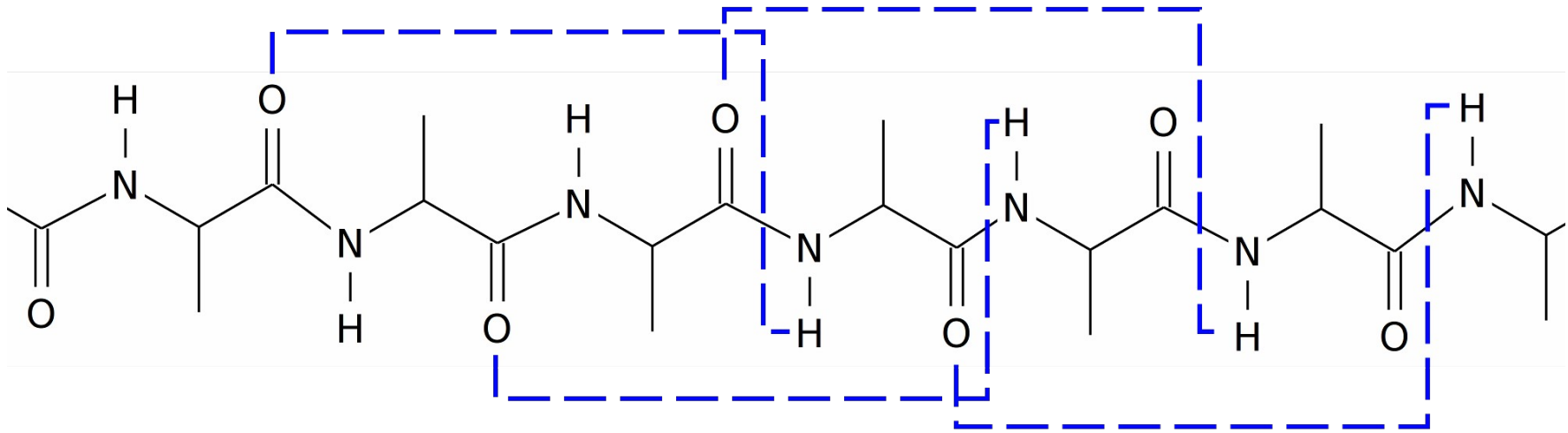


# Alfa-spiralių struktūra



$\alpha$ -spirale ==  $4_{13}$  spirale

# Kitos spiralės



3<sub>10</sub> spiralė

Dar gamtoje sutinkamos: 2<sub>7</sub>; 5<sub>16</sub>, arba π – spiralės

(Финкельштейн & Птицын, Физика белка (2005), стр. 87)

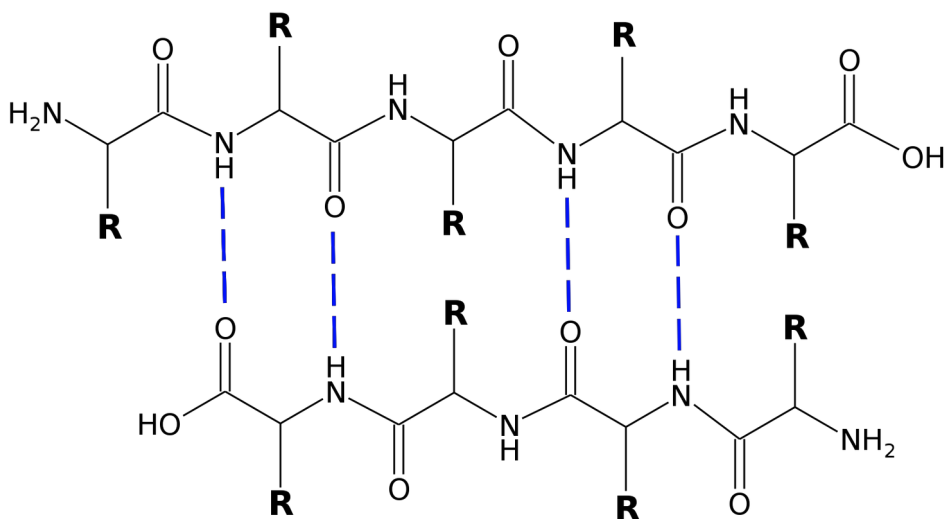
[http://en.wikipedia.org/wiki/Alpha\\_helix](http://en.wikipedia.org/wiki/Alpha_helix)

[http://en.wikipedia.org/wiki/3\\_10\\_helix](http://en.wikipedia.org/wiki/3_10_helix)

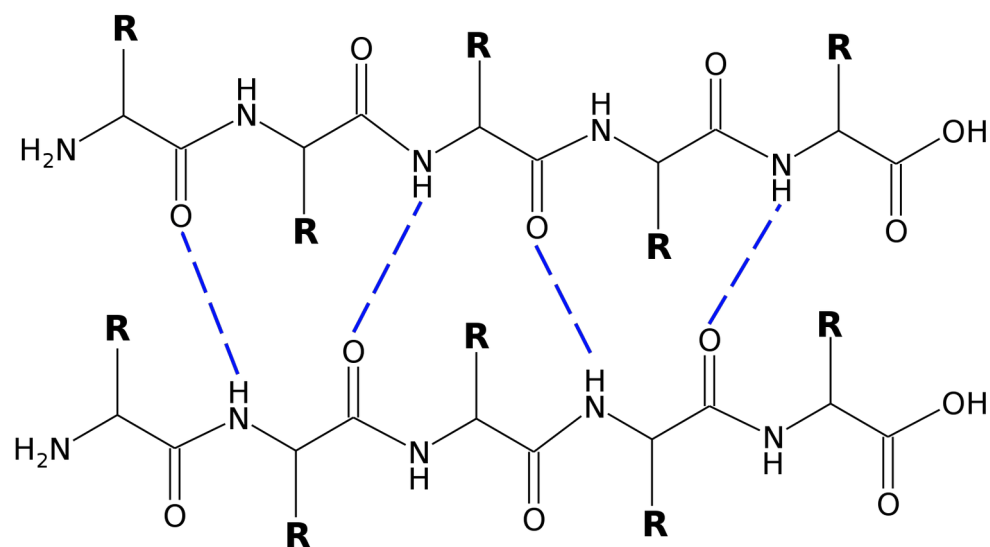
[http://en.wikipedia.org/wiki/Pi\\_helix](http://en.wikipedia.org/wiki/Pi_helix)

# Beta lakštu struktūra

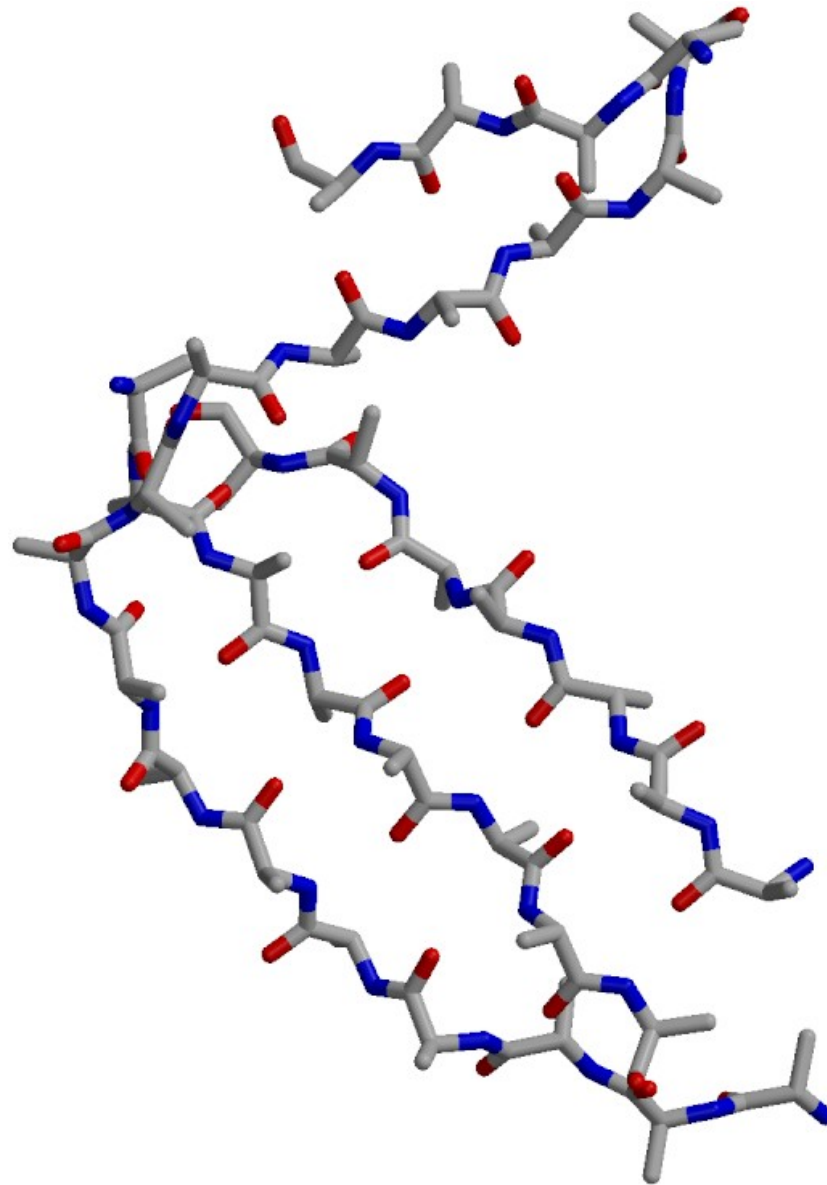
- Antilygiagretūs  $\beta$ -lakštai



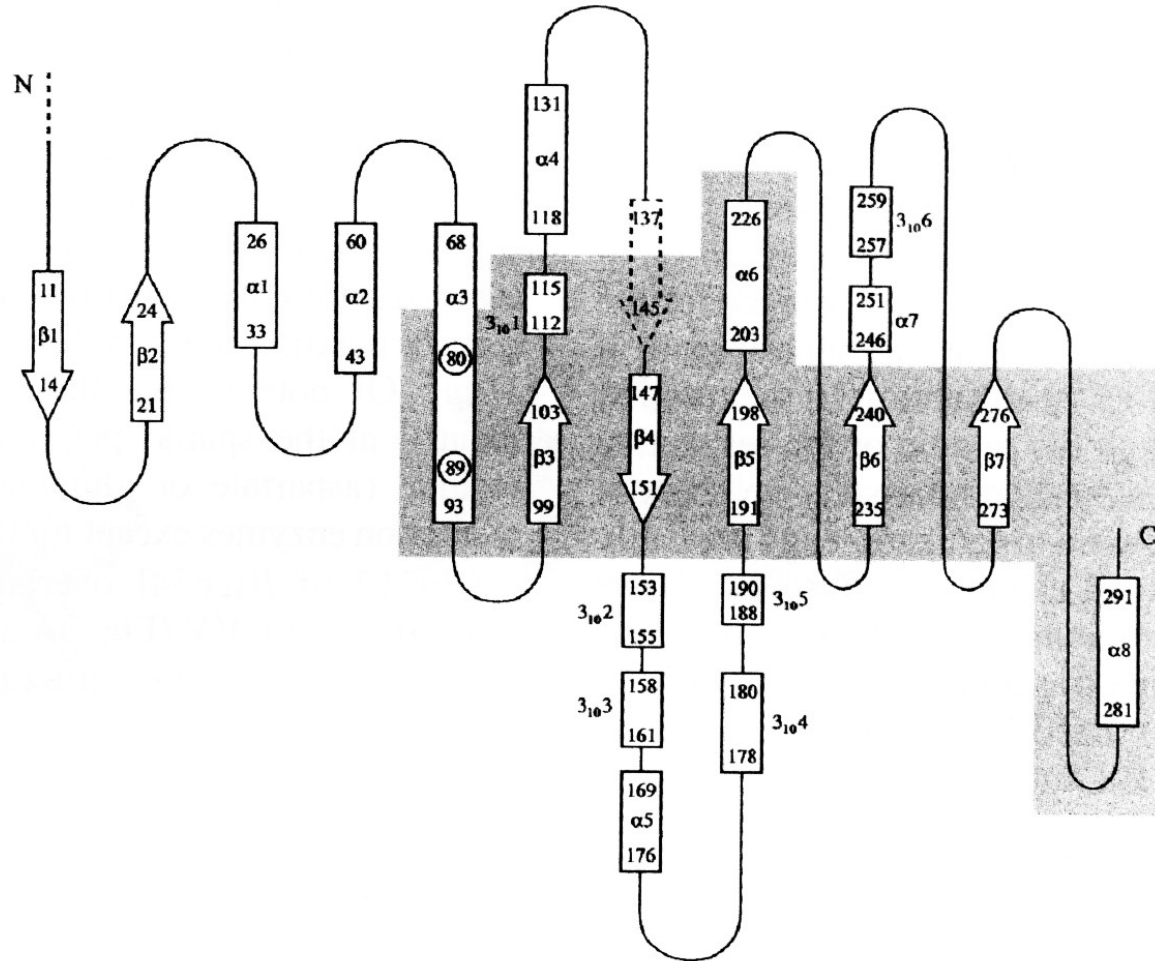
- Lygiagretūs  $\beta$ -lakštai



# Beta-lakštai

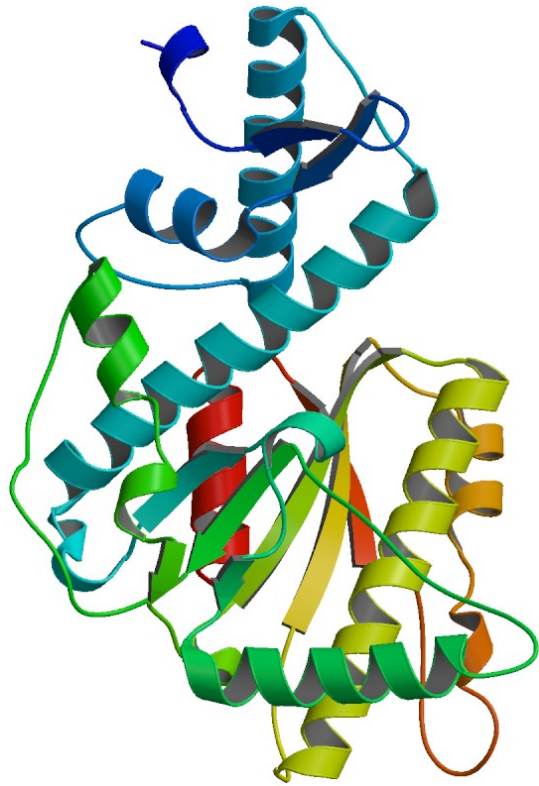


# Topologija



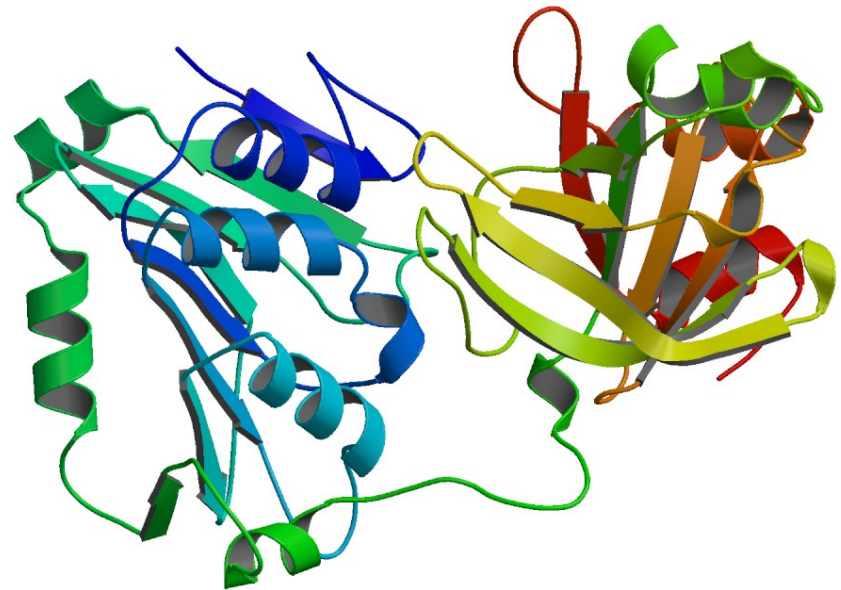


# Tretinē struktūra



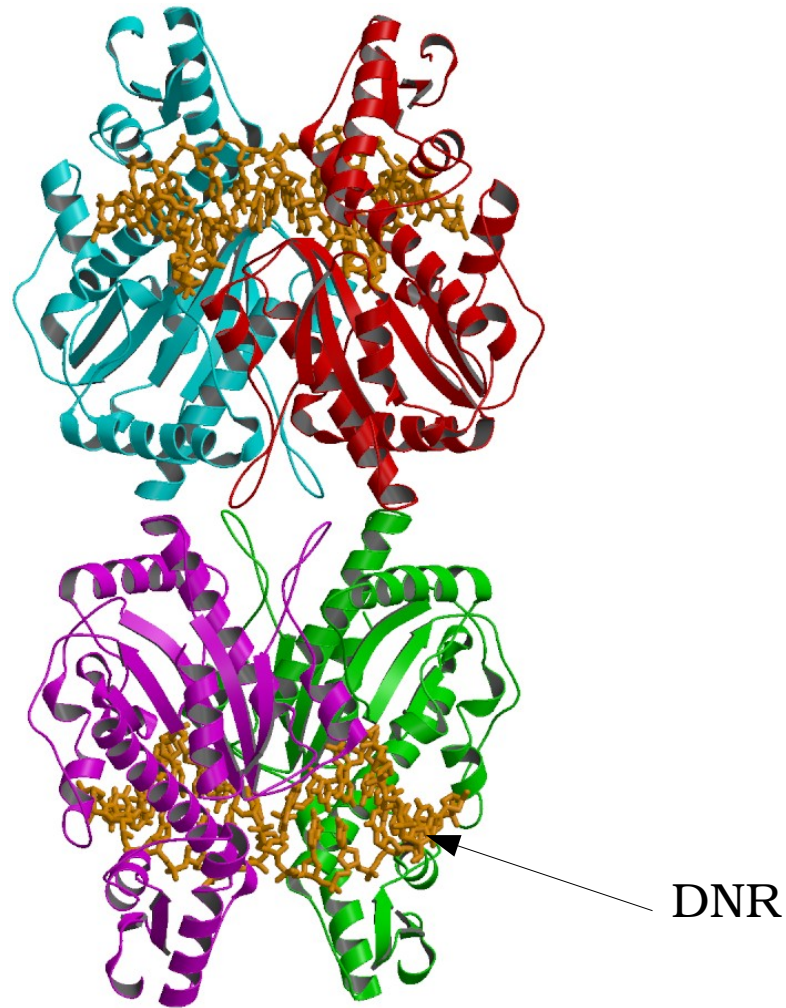
Bse634I restrikcijas endonukleazē  
Gražulis *et al.* NAR 2002 p.876

BfiI restrikcijas endonukleazē  
Gražulis *et al.* PNAS 2005 p.15797



# Ketvirtinė struktūra

Bse634I REazės  
tetrameras kristale

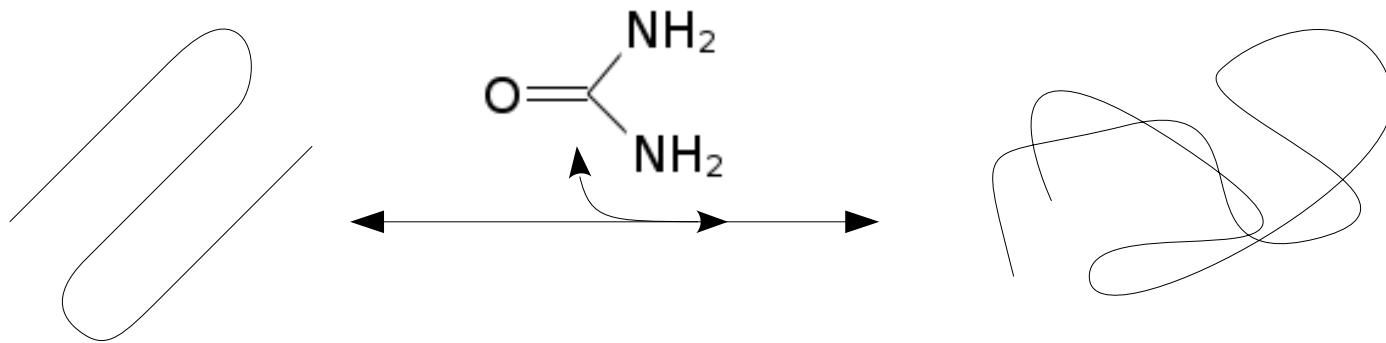


# Mokslo (filosofijos) nuostata...

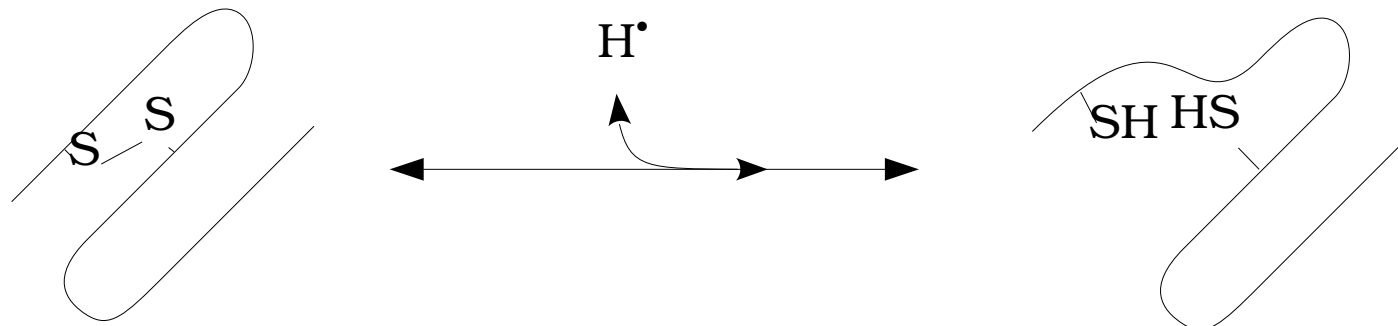
- Teorijos turi būti neprieštaringos, gražios, elegantiškos, paprastos; bet...
- ... jų teisingumas ir tinkamumas patvirtinamas arba paneigiamas stebėjimais (pvz. eksperimentais).

# Baltymų sekos-struktūros sąryšio tyrimas

1. Karbamidą (urea) denatūruoja baltymus:



2. Oksidacija sukuria, o redukcija suardo Cys S-S tiltelius:



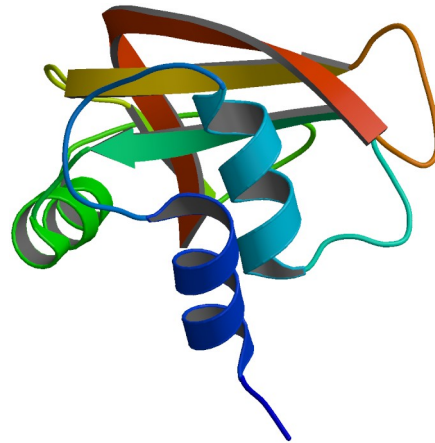
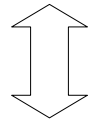
Anson & Mirsky JGP 1931 p.341, Anfinsen PNAS 1961 p.1309

# Baltymų sekos ir struktūros sąryšis

- Anfinseno (Christian B. Anfinsen) eksperimentai:
  - RNazė A pilnai išsivynioja 8M karbamido tirpale;
  - jei fermentas oksiduojamas prieš pašalinant karbamidą, atstatoma 1% aktyvumo;
  - jei pradžioje pašalinamas karbamidas, o po to oksiduojama, atstatoma 90% aktyvumo;
  - tie patys eksperimentai atsikartoja, naudojant chemiškai susintetintą baltymo grandinę.

# Baltymo sekos ir struktūros sąryšis

KETAAAKFERQHMDSSSTAASSSNYCNQMMKSRNLTKDRCKPVNTFVHE  
SLADVQAVCSQKNVACKNGQTNCYQSYSTMSITDCRETGSSKYPNCAYKT  
TQANKHIIVACEGNPYVPVHFDASV

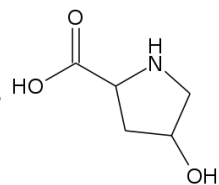


Išvada: baltymo struktūrą ir funkciją iš esmės apsprendžia jo a.r. seka.



# Kitos baltymų strutūros: pluoštiniai (fibriliariniai) baltymai

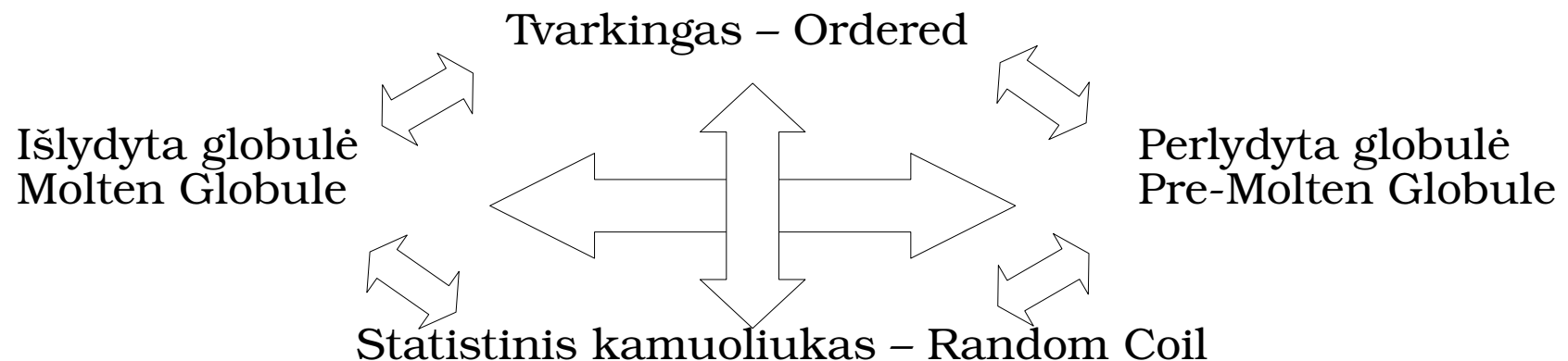
Baltymas	Struktūra	Skersiniai ryšiai
$\alpha$ -keratinas	ilga $\alpha$ -spirale	-Cys-Cys-
kolagenas (GXP   GXH) <sub>n</sub> , H = hidroksiprolinas	triguba (!) kairioji (!) spirale (sutinkama tik kolagene)	-Nor <sup>1</sup> -Lys-
elastinas	„Gly-spiralė“ (būdinga tik elastinui)	-Nor-Lys-, Lys- } Des <sup>2</sup> < -Lys Lys- } < -Lys
fago „kojelės“ baltymas	„Beta-spiralė“	



<sup>1</sup>(Nor = norleucinas) <sup>2</sup>(Des = desmozinas)

# Natūraliai išsivynioję baltymai

- Natūraliai išsivynioję baltymai (naturally unfolded proteins):
  - natūralios „išlydytos globulės“ (molten globules)
  - natūralios „perlydytos globulės“ (pre-molten globules)
  - natūralūs statistiniai kamuoliukai (random coils)



# Levintalio (Levinthal) paradoksas

- Baltymo grandinės galimų konformacijų skaičius: 100 a.r.,  $\sim 2^{100}$  galimų konformacijų; joms išsamiai perrinkti reikėtų:
- jei patikrinama 1 konformacija per 1 ps,
- $\pi$  s = 1 nano-amžius. (3.14 s =  $10^{-7}$  metų)
- $2^{100}$  ps  $\approx 10^{30}$  ps  $\sim$   **$10^{10}$  metų.**

Nei realus baltymas, nei kompiuteris visų konformacijų perrinkti negali.

# Baltymų struktūrų nustatymo būdai

- Eksperimentiniai:
  - Rentgenostruktūrinė analizė, BMR, EM
- Spėjimas:
  - *Ab initio*
  - Homologinis modeliavimas
  - Sanklodos atpažinimas (fold recognition)
  - Funkcijos nustatymas pagal struktūrą
  - Fragmentų metodai
  - Kompleksų spėjimas

# Kiti spėjimo tikslai

- Mažo matavimų skaičiaus spėjimai
  - antrinės struktūros spėjimai
  - kontaktų analizė
- Membraninių baltymų spėjimas
- Kompleksų spėjimas
- Mažų molekulių pritaikymas (docking),  
racionali vaistų paieška

# Resursai tinkle

Protein Data Bank (PDB)

<http://www.rcsb.org/pdb/>

Macromolecular Structure Database

<http://www.ebi.ac.uk/msd/>

Nucleic acid database

<http://ndbserver.rutgers.edu/>

Crystallography Open Database (COD)

<http://www.crystallography.net/>