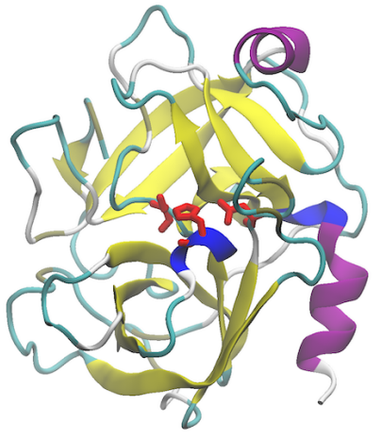
UNIWERSYTET WARSZAWSKI

CeNT CENTRUM NOWYCH TECHNOLOGII

Laboratorium Maszyn Biomolekularnych

Dynamika i funkcje białek

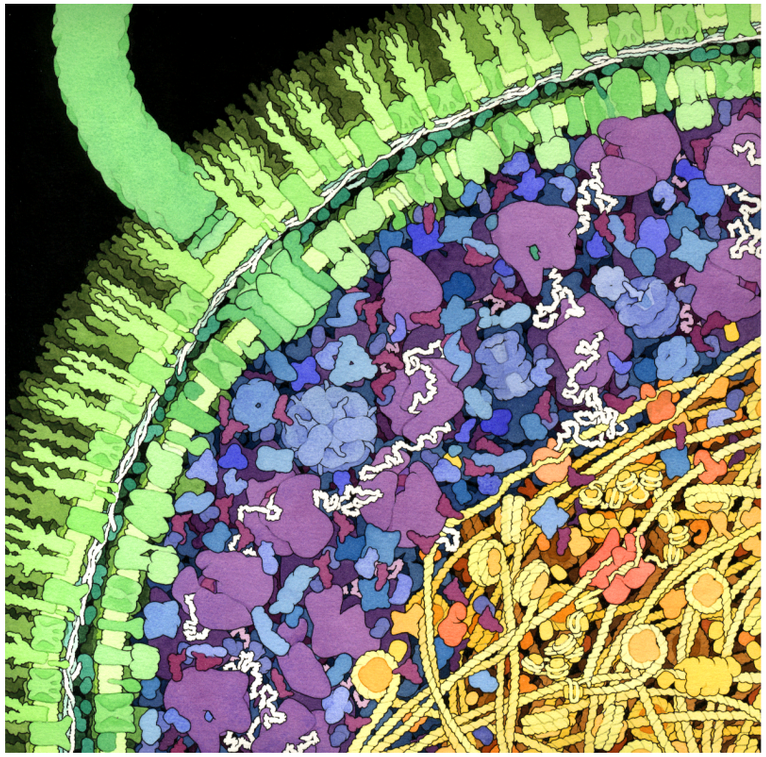


Joanna Trylska

joanna@cent.uw.edu.pl

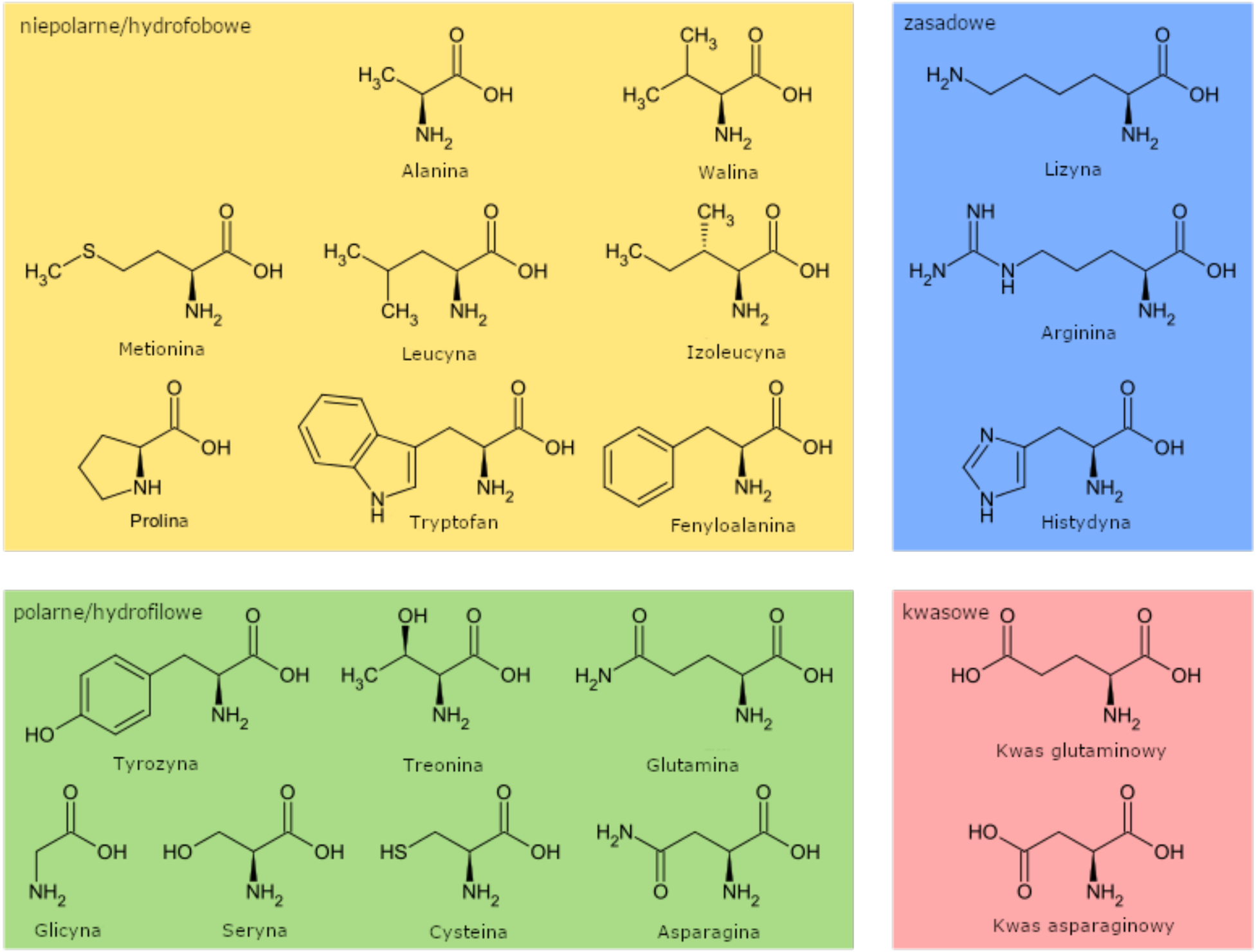
Białka

- polimery złożone z aminokwasów połączonych wiązaniami peptydowymi
- pełnią wiele istotnych funkcji w komórkach, w tym katalizują reakcje
- syntezowane w komórkach przy udziale rybosomów
- w ludzkim genomie jest ok. 20000 genów kodujących białka



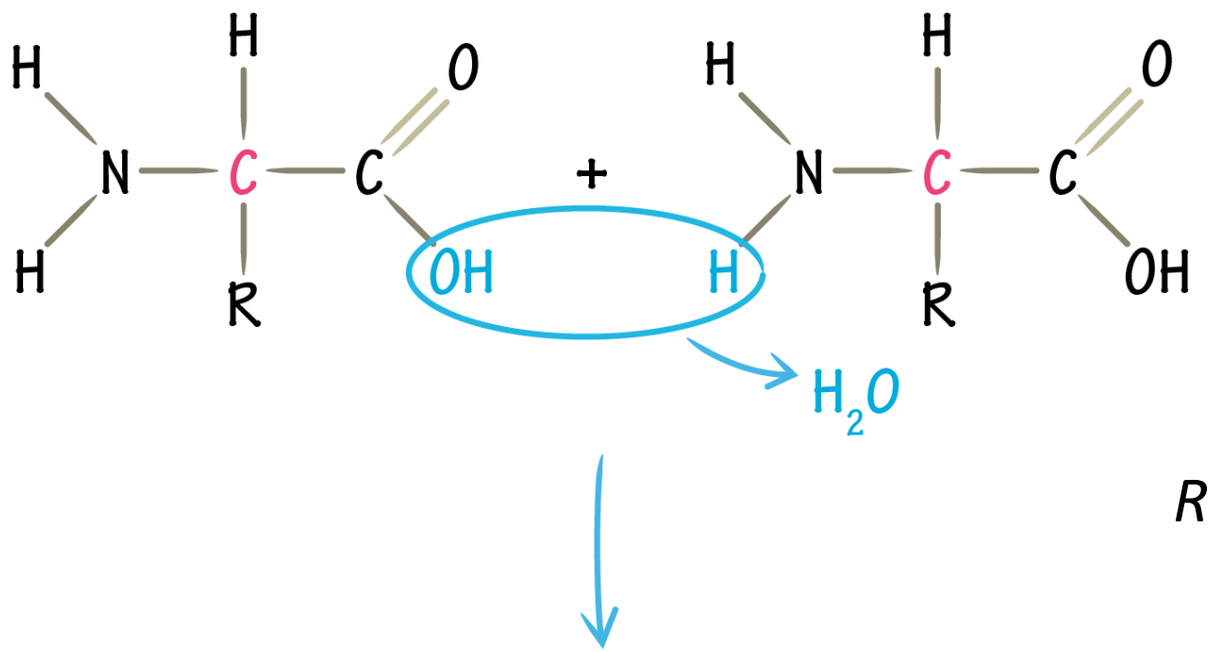
Rys. David S. Goodsell, The Scripps Research Institute. doi: 10.2210/rcsb_pdb/goodsell-gallery-001

Składniki białek - aminokwasy

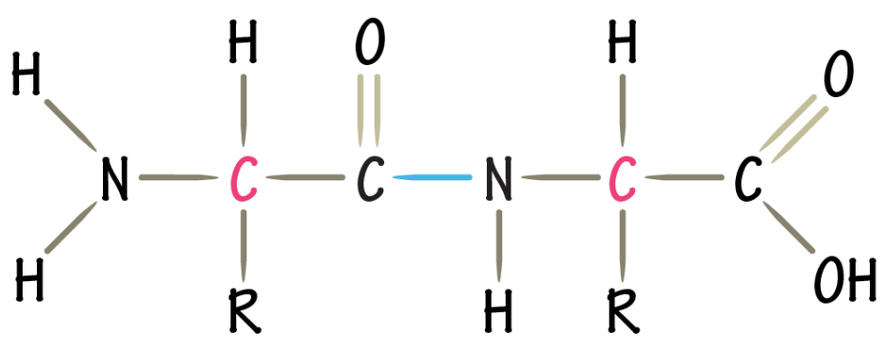


źródło: https://www.naukowiec.org/wiedza/chemia/aminokwasy-peptydy-bialka_3416.html

Tworzenie kowalencyjnych wiązań między aminokwasami



R - reszta aminokwasowa

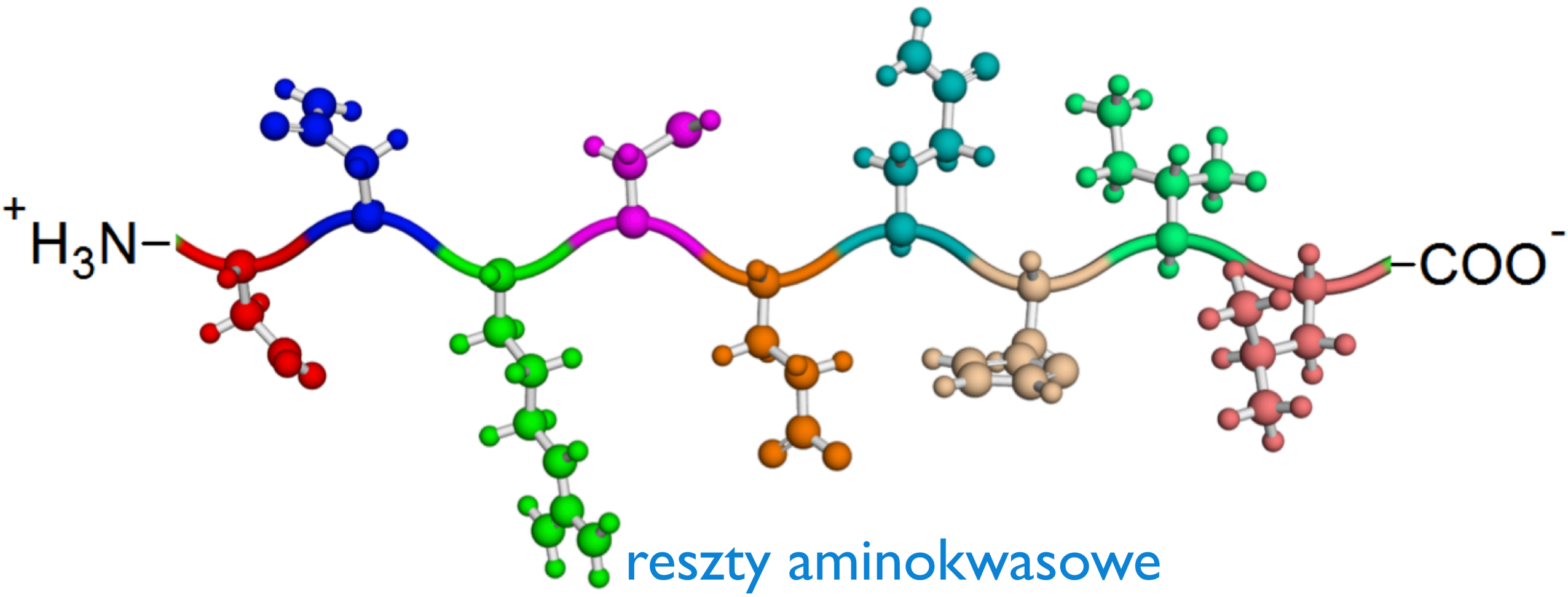


https://www.drawittoknowit.com/course/biochemistry/glossary/biochemical-pathway/peptide-bond-formation

Sekwencja aminokwasów

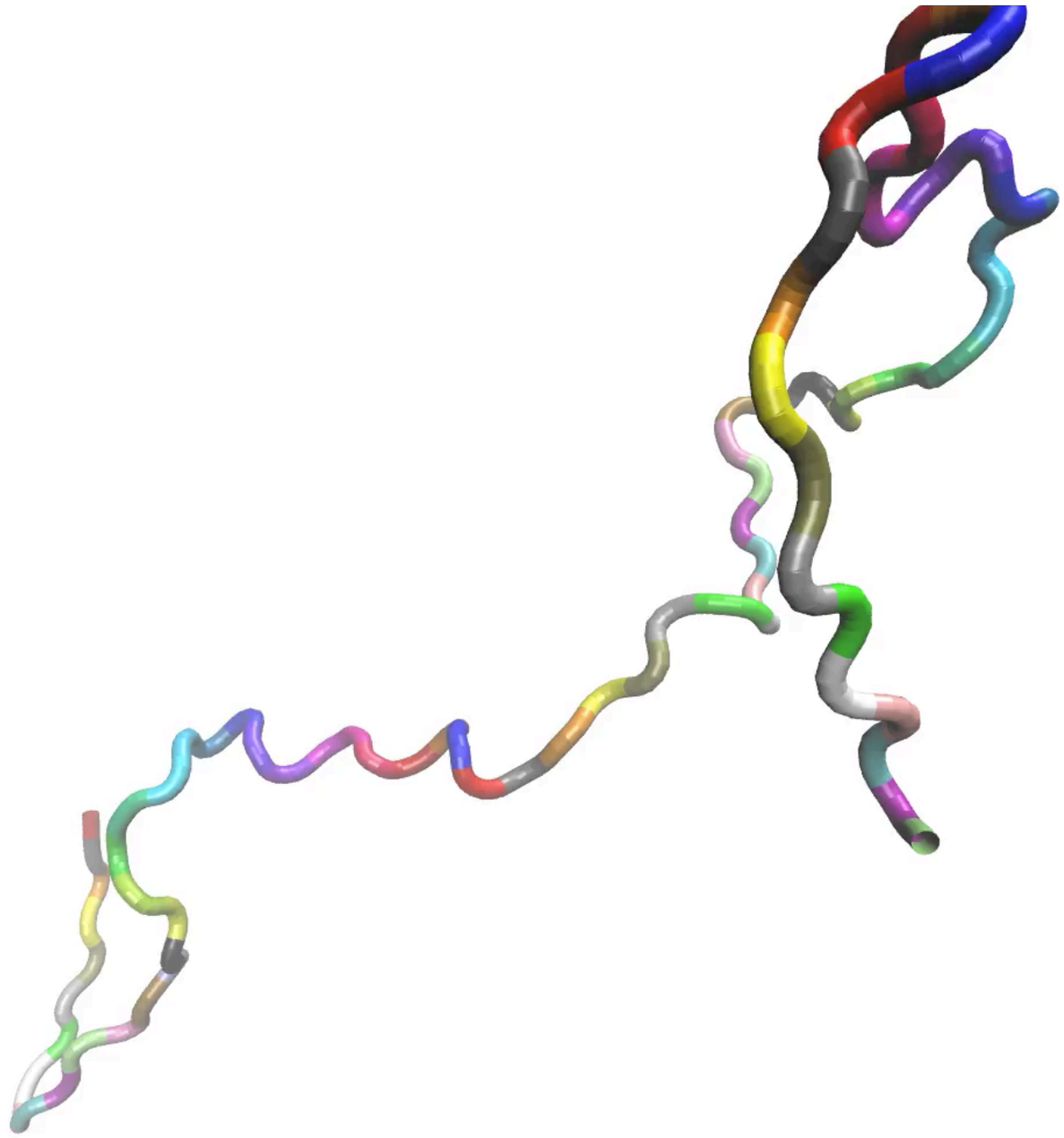
Asp--Asn--Arg--Cys--Glu--Gln--His--Ile--Leu

Łańcuch białkowy

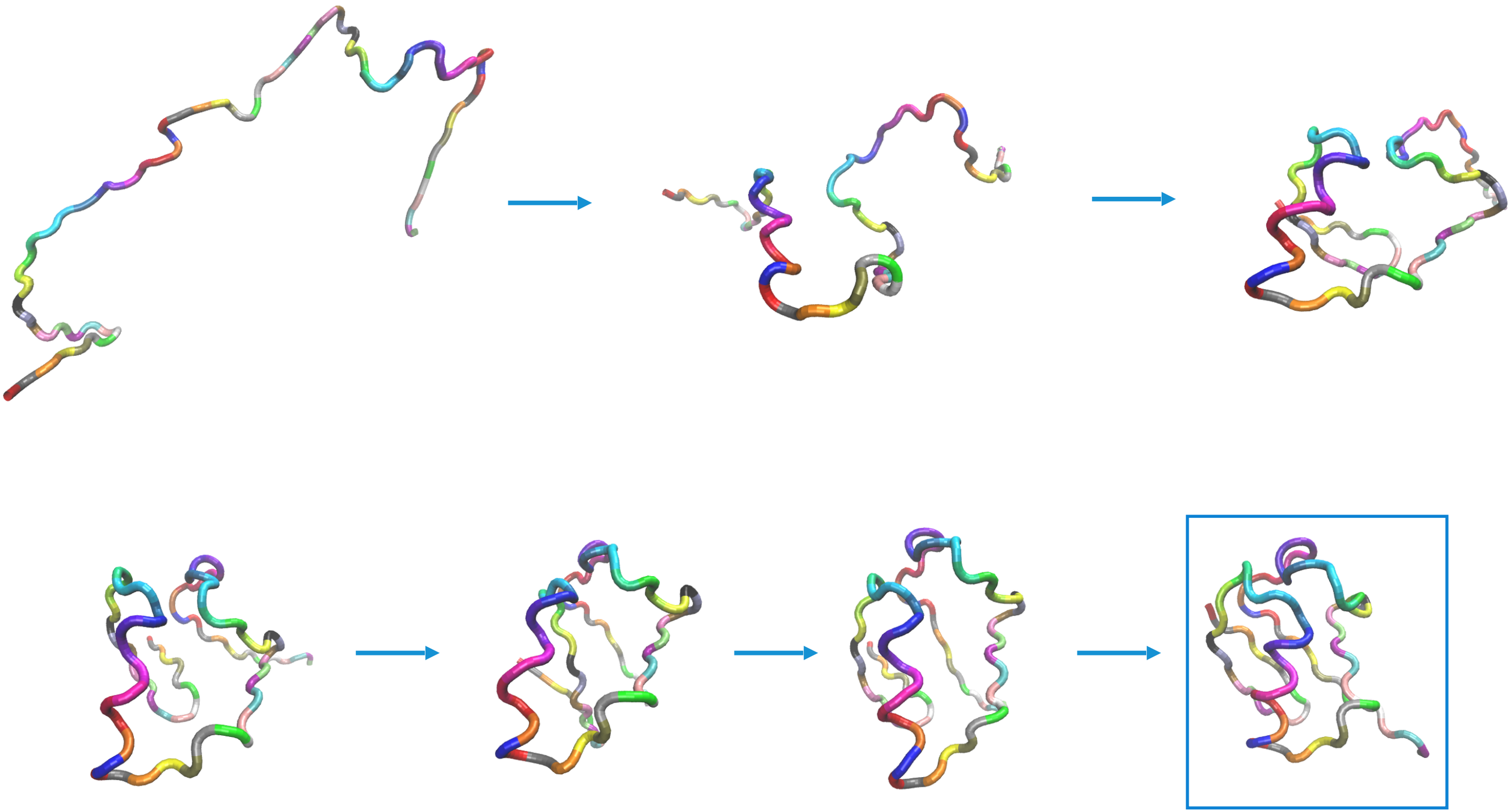


Rys. A. Kessel, N. Ben-Tal, Introduction to Proteins, 2018, CRC Press

Przykład fałdowania ubikwityny

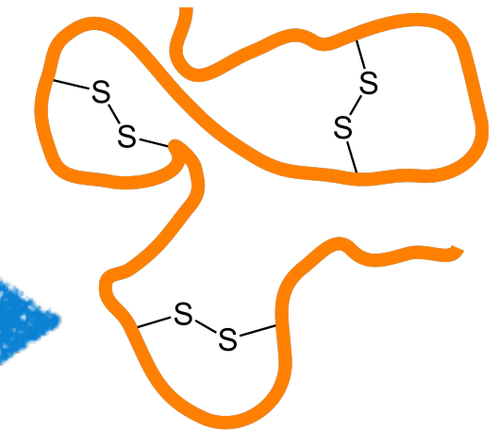


Przyjmowanie struktury przestrzennej

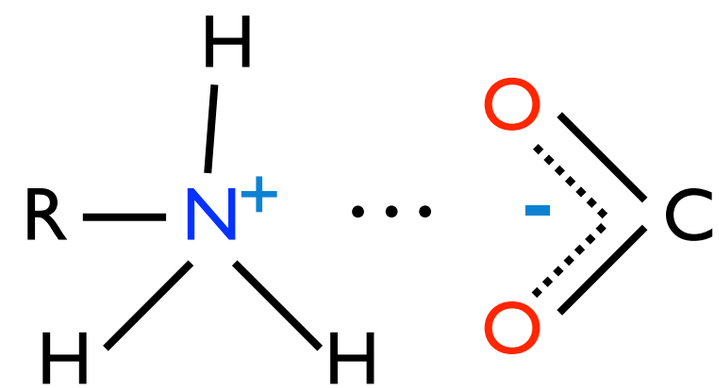


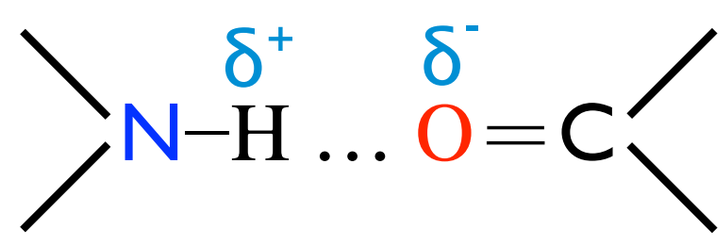
Oddziaływania międzycząsteczkowe

- wiązania kowalencyjne
  - wiązania chemiczne pomiędzy bliskimi atomami
  - mostki dwusiarczkowe pomiędzy cysteinami



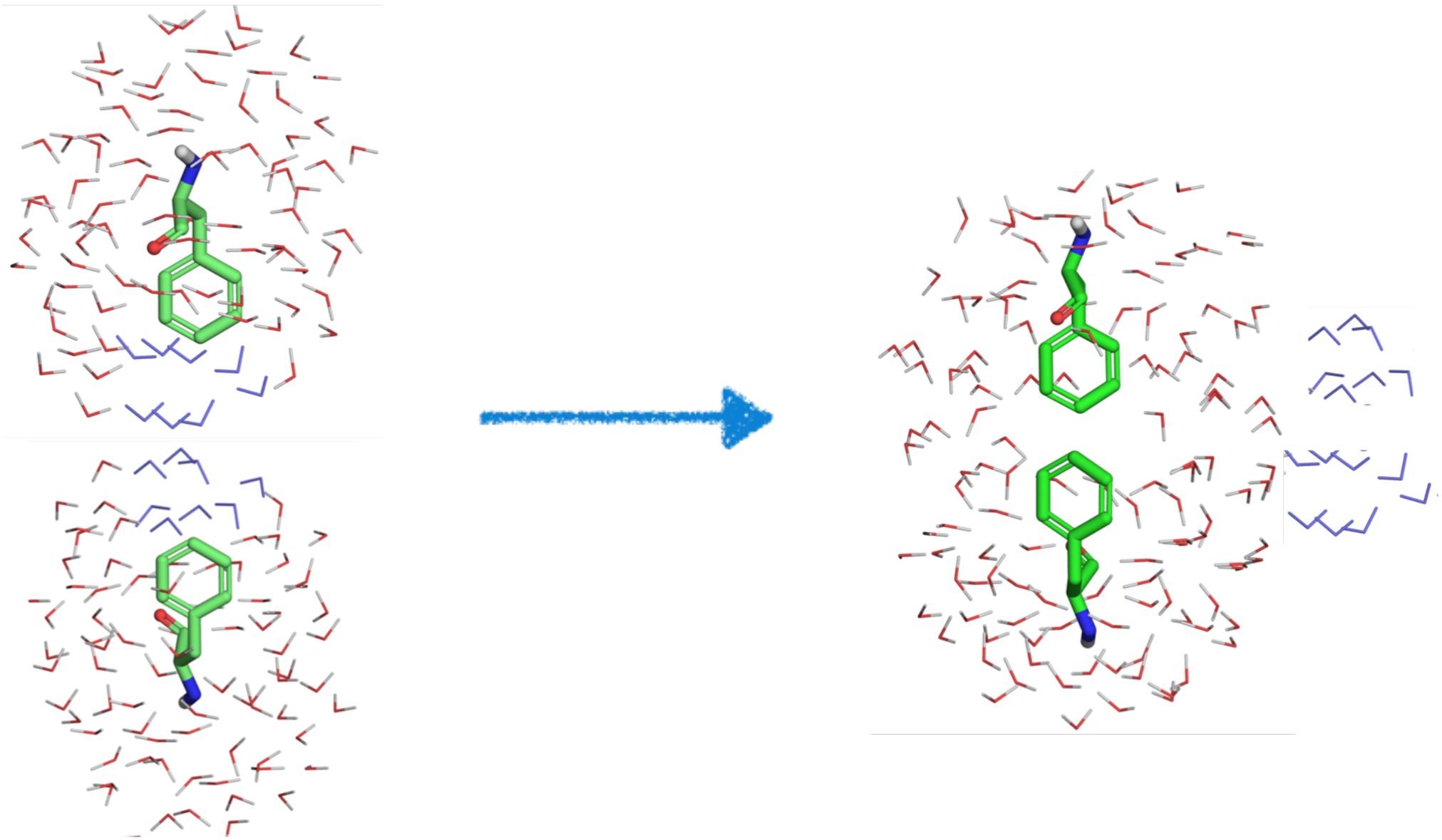
- oddziaływania niekowalencyjne
  - jonowe
  - wiązania wodorowe
  - van der Waalsa
  - warstwowe





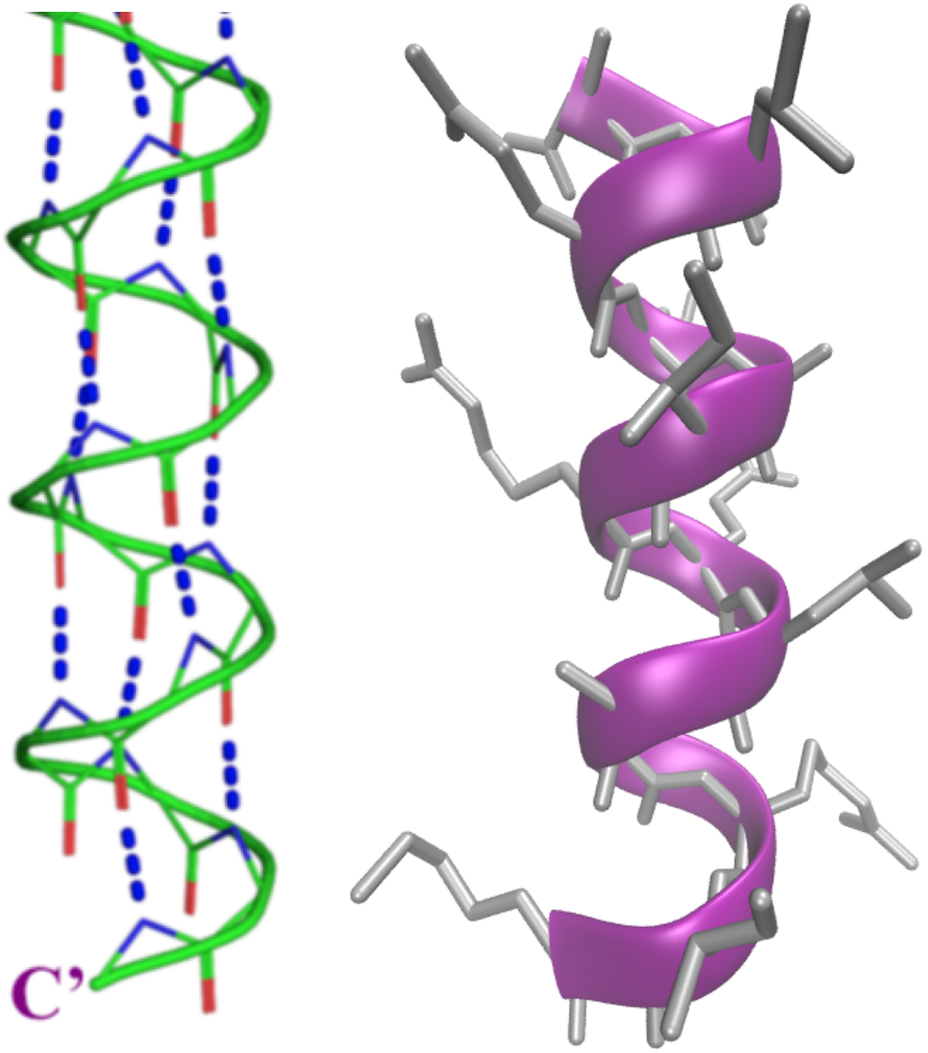
- efekt hydrofobowy

Efekt hydrofobowy

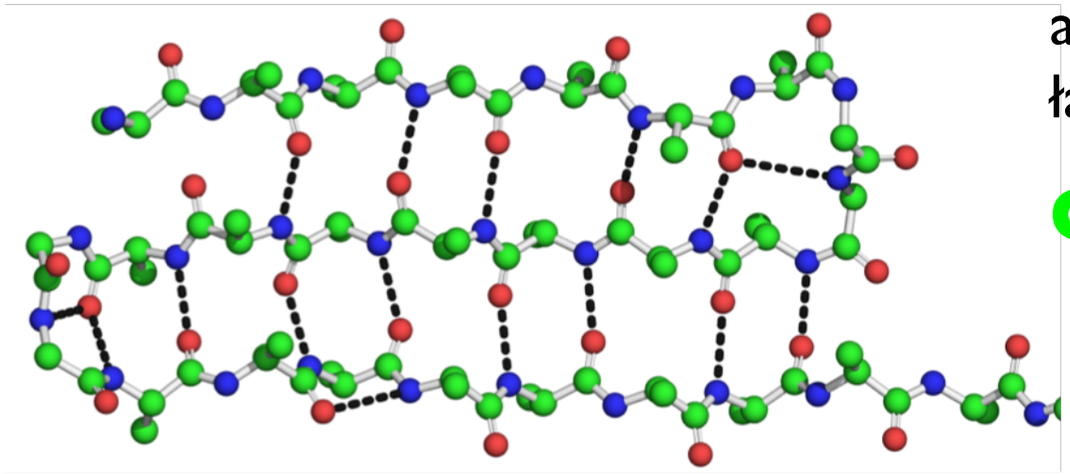


Rys. A. Kessel, N. Ben-Tal, Introduction to Proteins, 2018, CRC Press

Struktury drugorzędowe w białkach

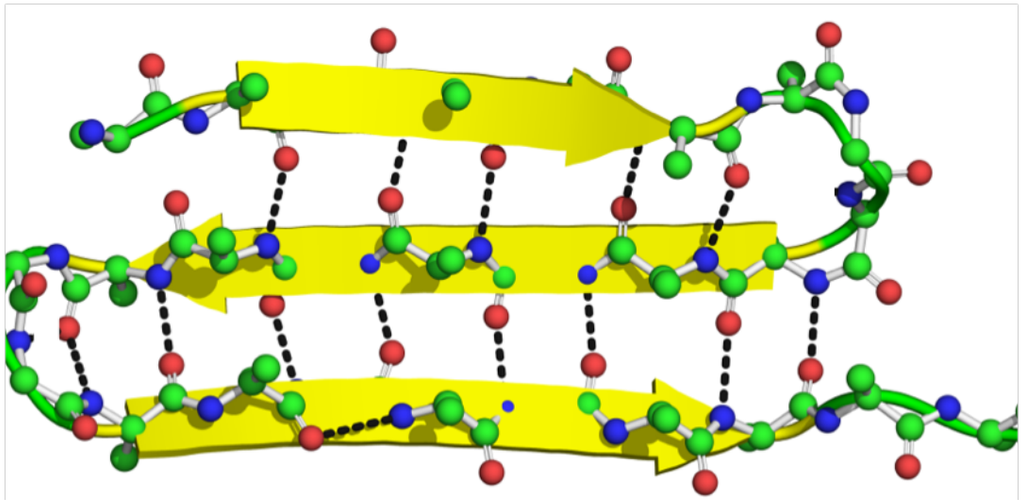


helisa α



kolory atomów łańcucha

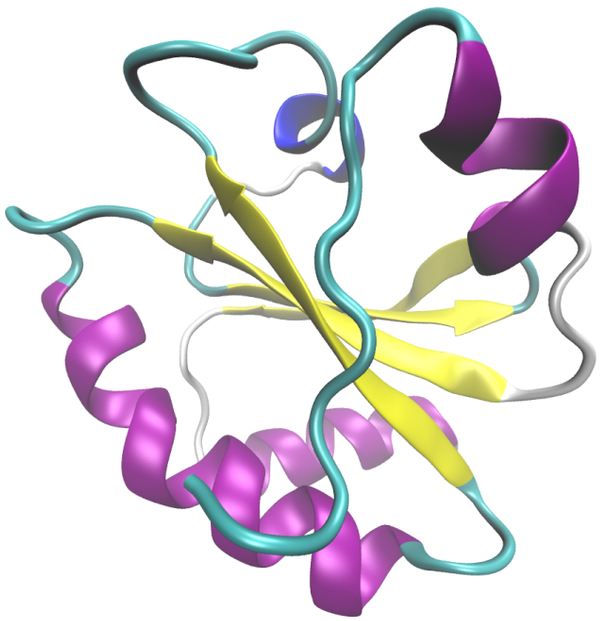
C O N



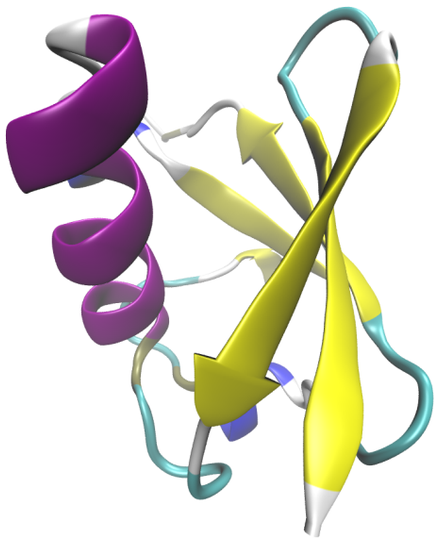
kartka β

A. Kessel, N. Ben-Tal, Introduction to Proteins, 2018, CRC Press

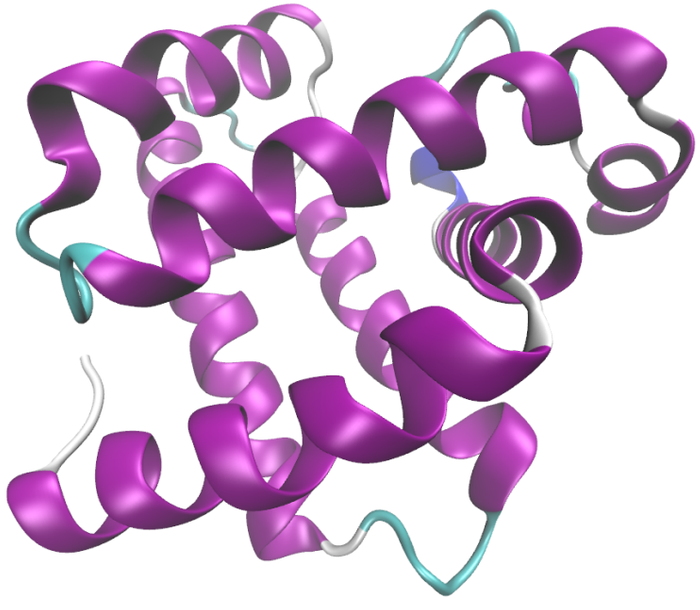
Ułożenie struktur drugorzędowych w białkach



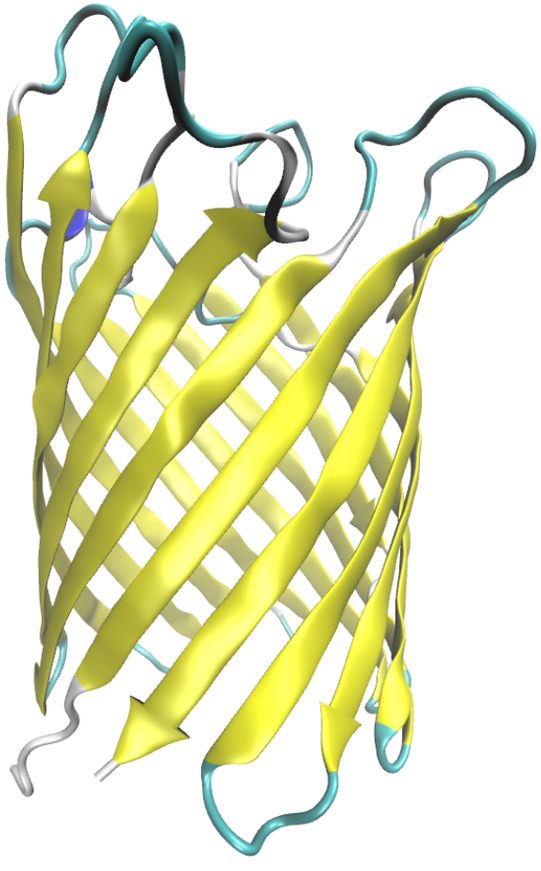
tioredoksyna



ubikwityna



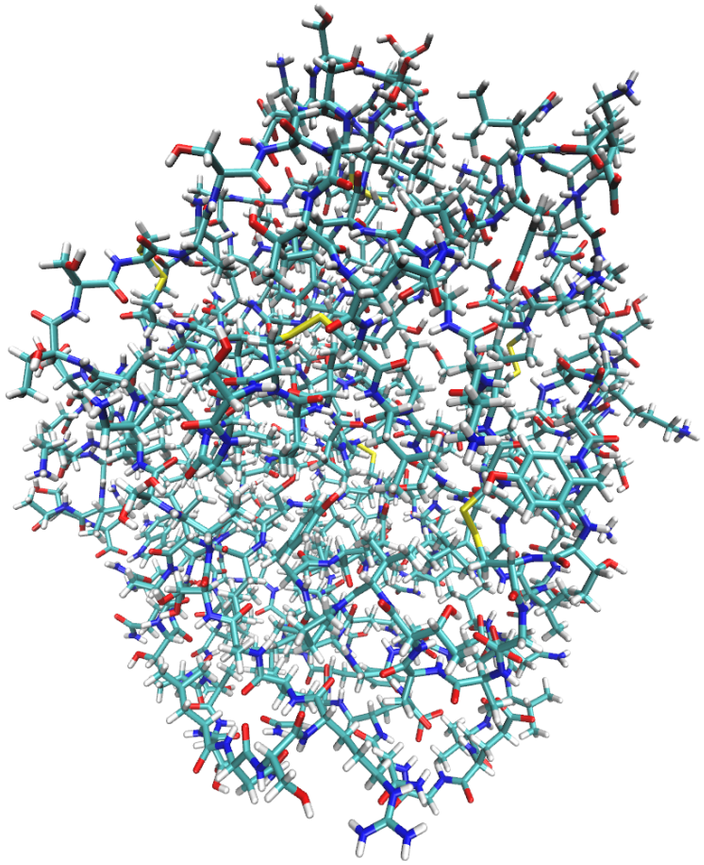
mioglobina

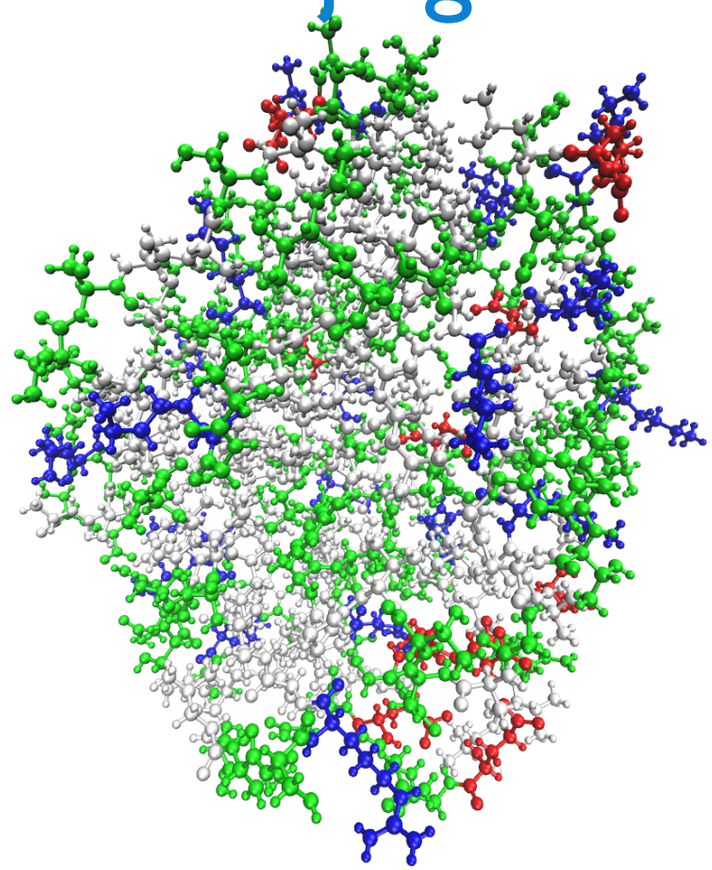


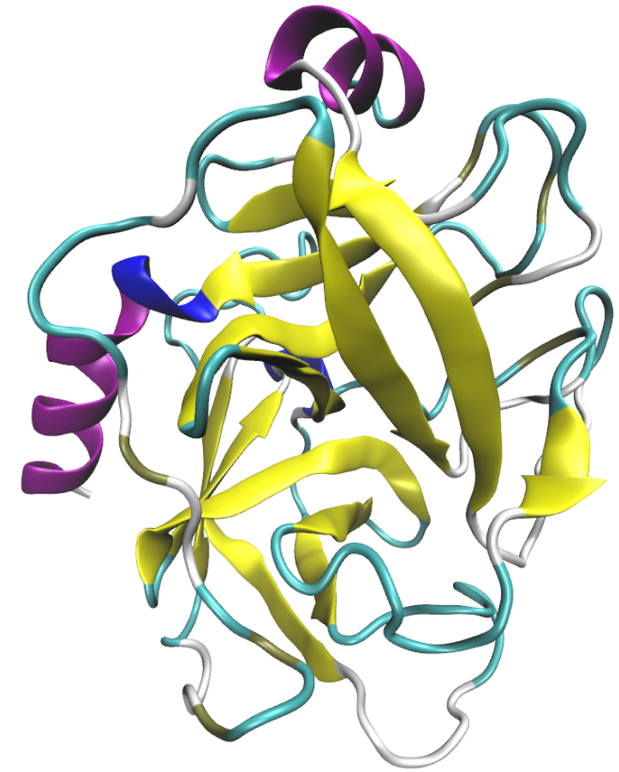
poryna

β-kartka
helisa
pętla

Różne reprezentacje graficzne trypsyny

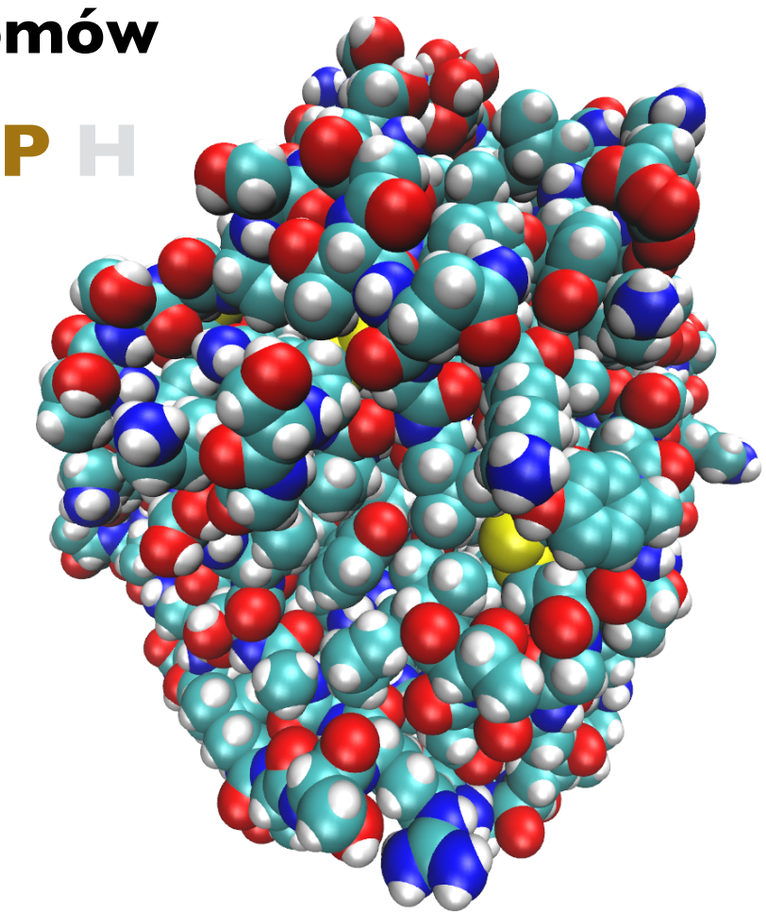


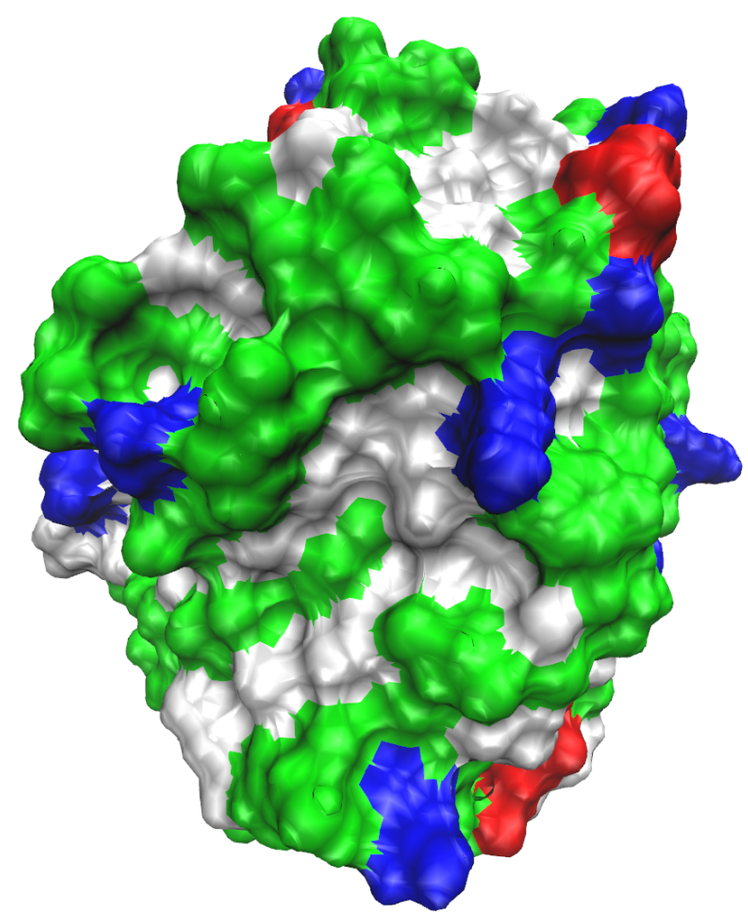




kolory atomów

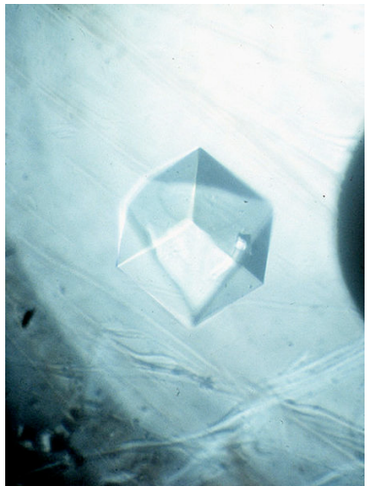
C O N S P H



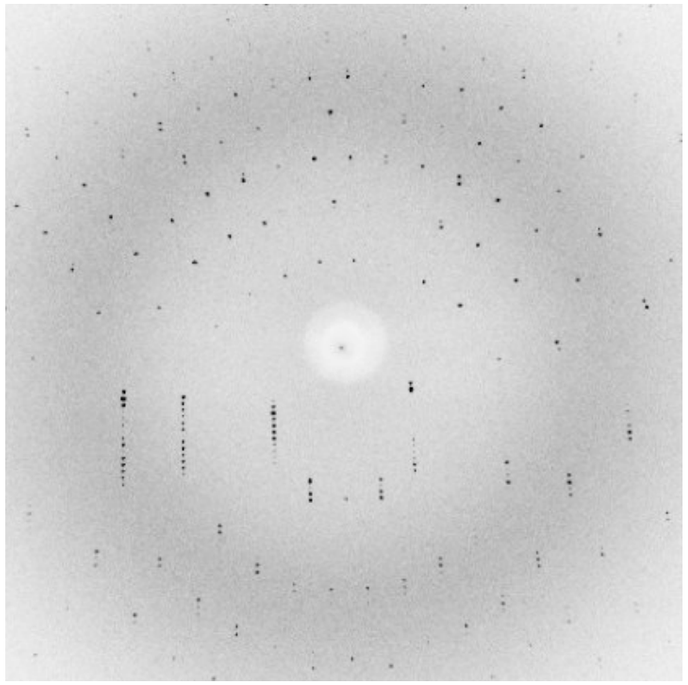


Krystalografia cząsteczek biologicznych

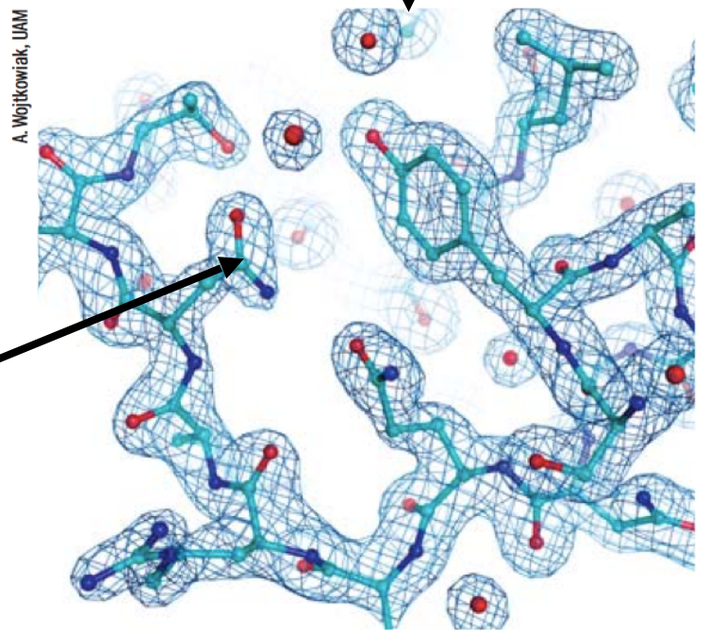
Źródło
promieni X



warunki tworzenia kryształów



analiza obrazu
dyfrakcyjnego



położenia jąder atomów

kolory: C O N

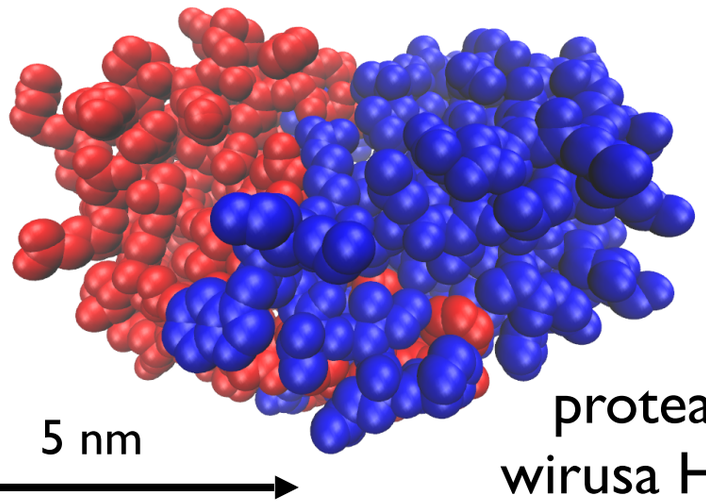
Źródło: M. Jaskólski, M. Gilski, Panorama Krystalografia białek, ACADEMIA, 3(11), 2007

Funkcje białek

- kataliza enzymatyczna
- transport i magazynowanie
- ruch uporządkowany
- strukturalne
- immunologiczne
- przekazywanie sygnałów (np. impulsów nerwowych)
- regulacja przebiegu procesów biochemicznych

Różnorodność budowy białek

dimer

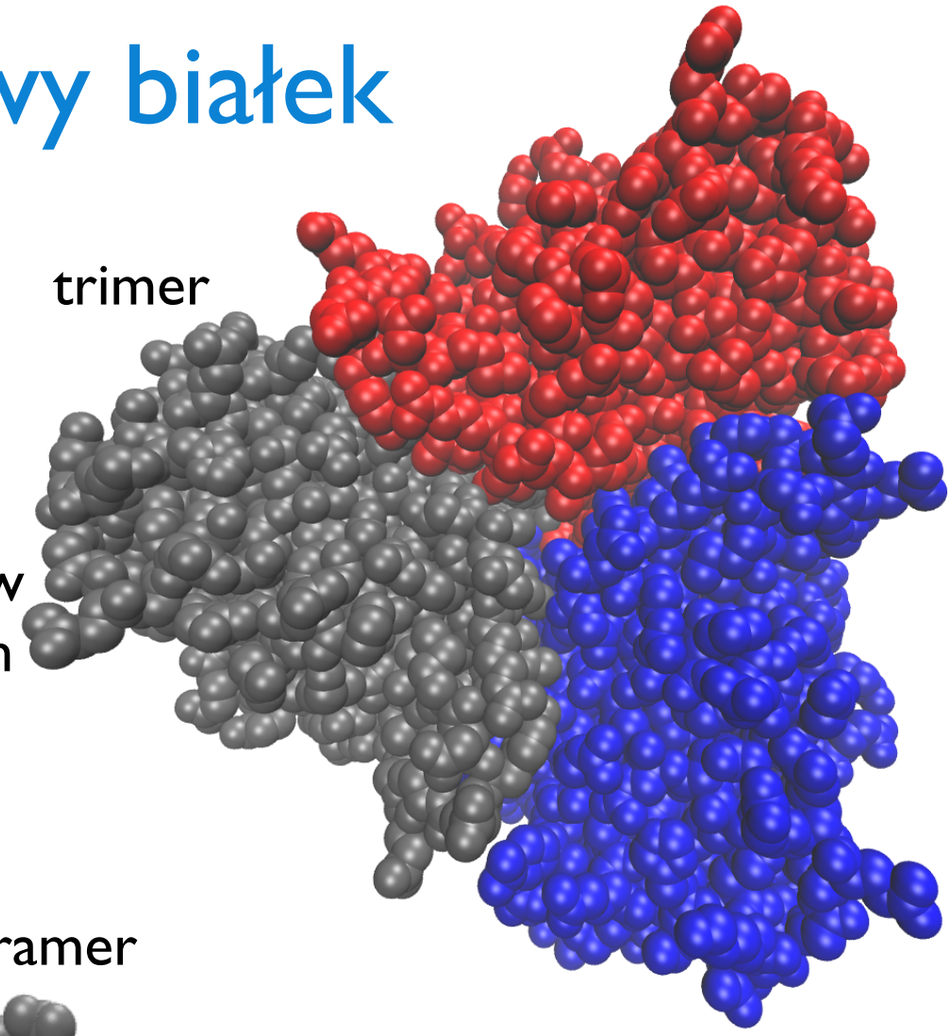


5 nm

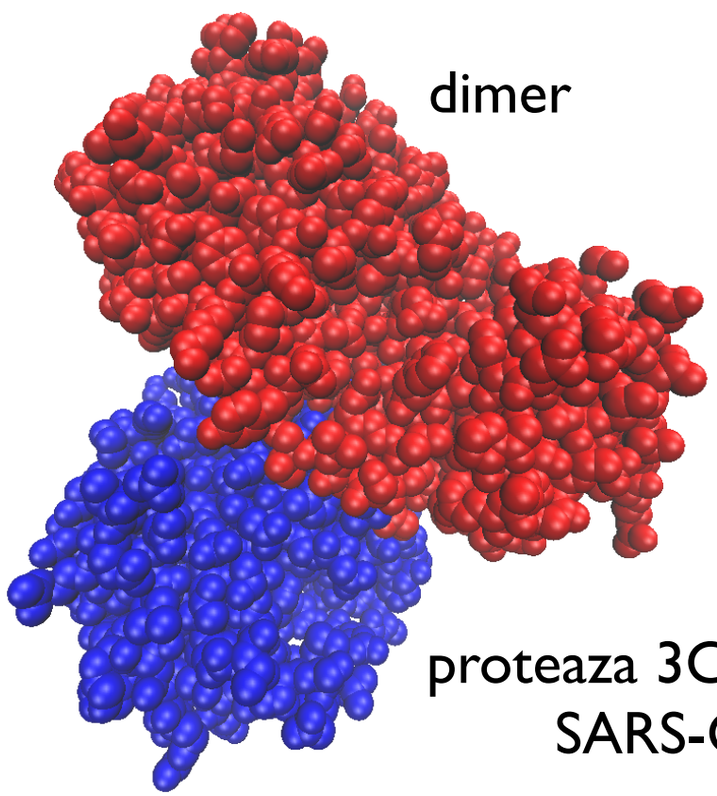
proteaza
wirusa HIV-1

trimer

fosforylaza
nukleozydów
purynowych

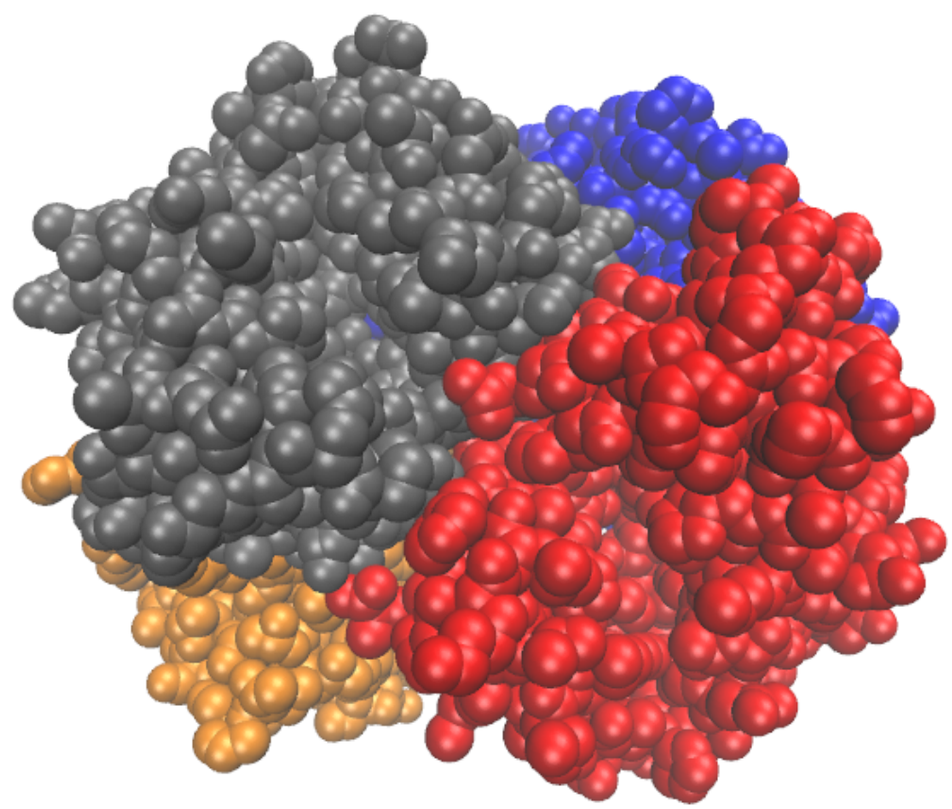


dimer



proteaza 3CL^{Pro} wirusa
SARS-Cov-2

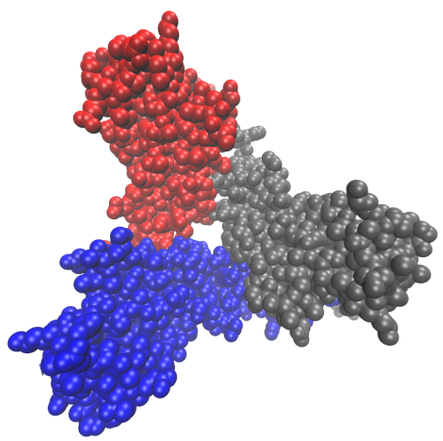
tetramer



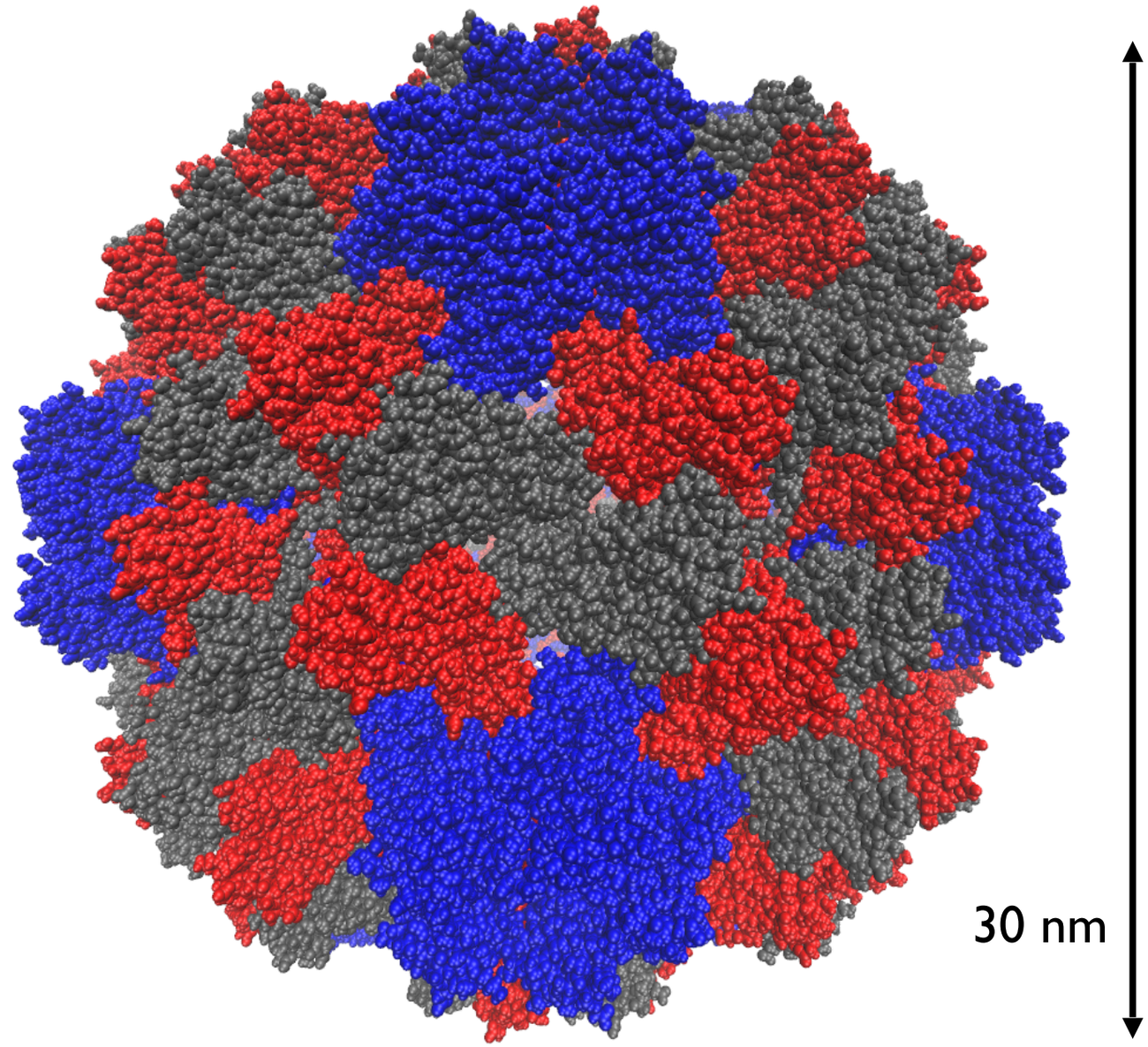
hemoglobina

Otoczka białkowa wirusa CCMV

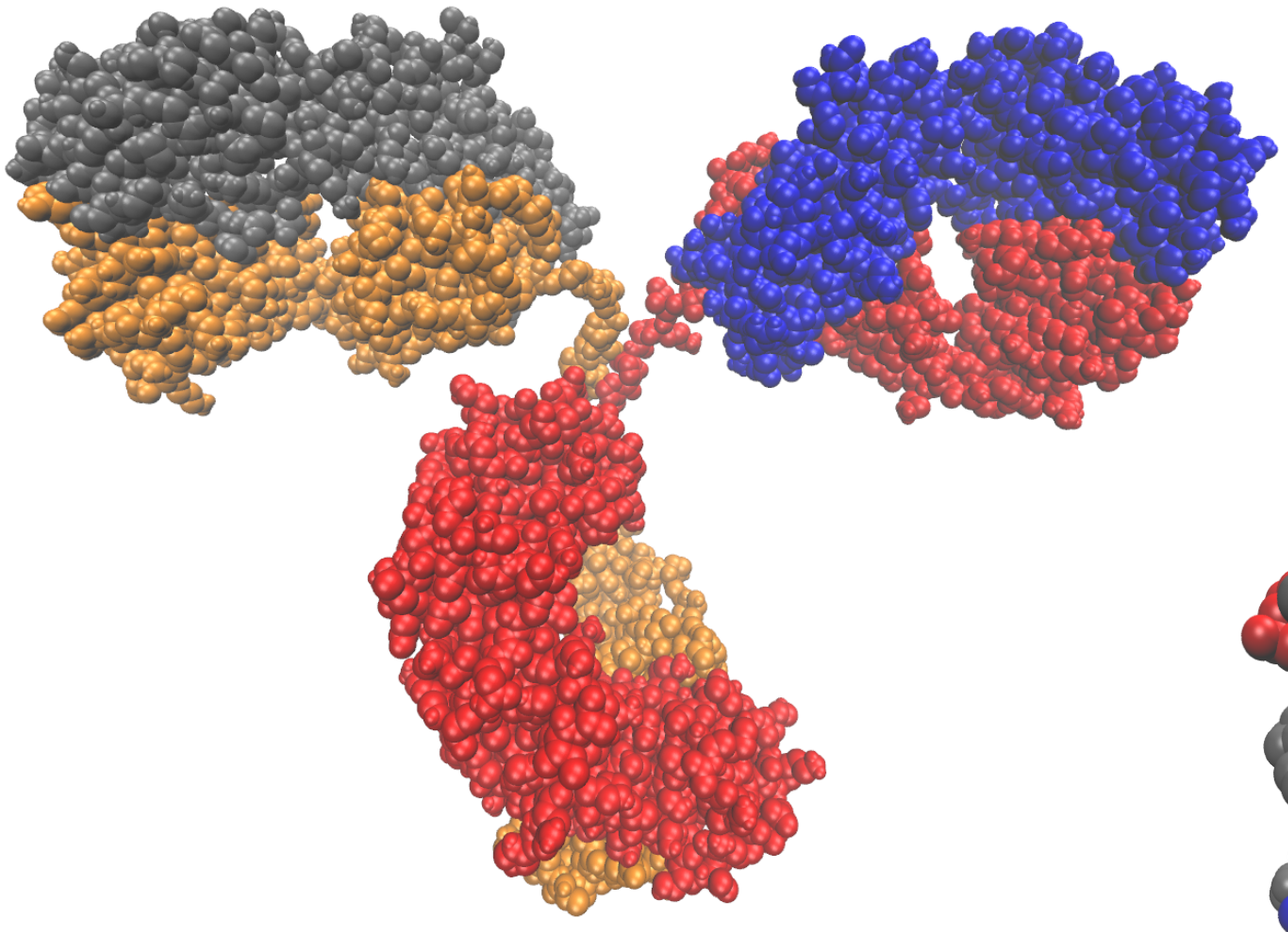
trimer



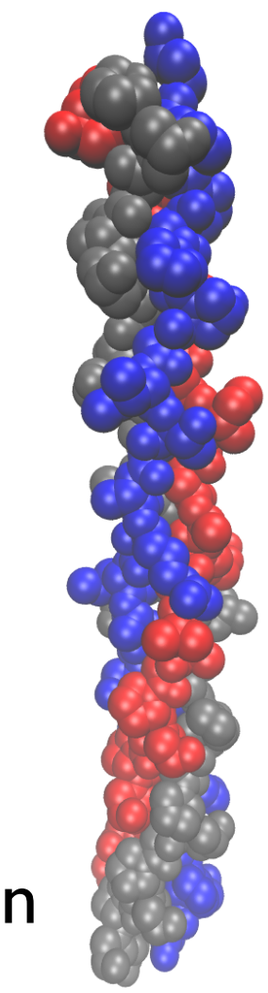
60 trimerów
(180 białek)



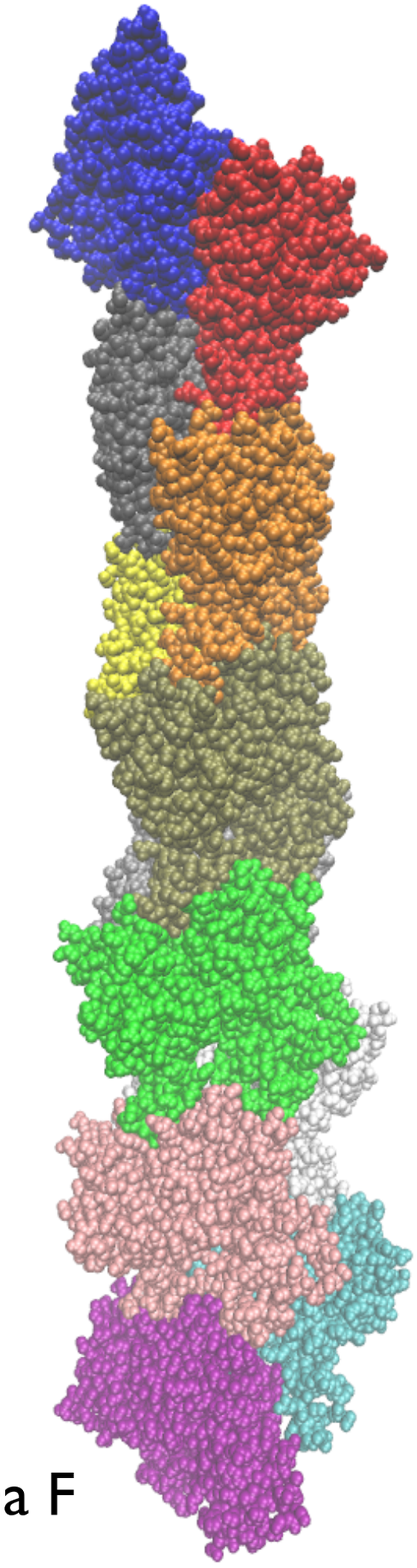
Różne kompleksy białek



immunoglobulina G

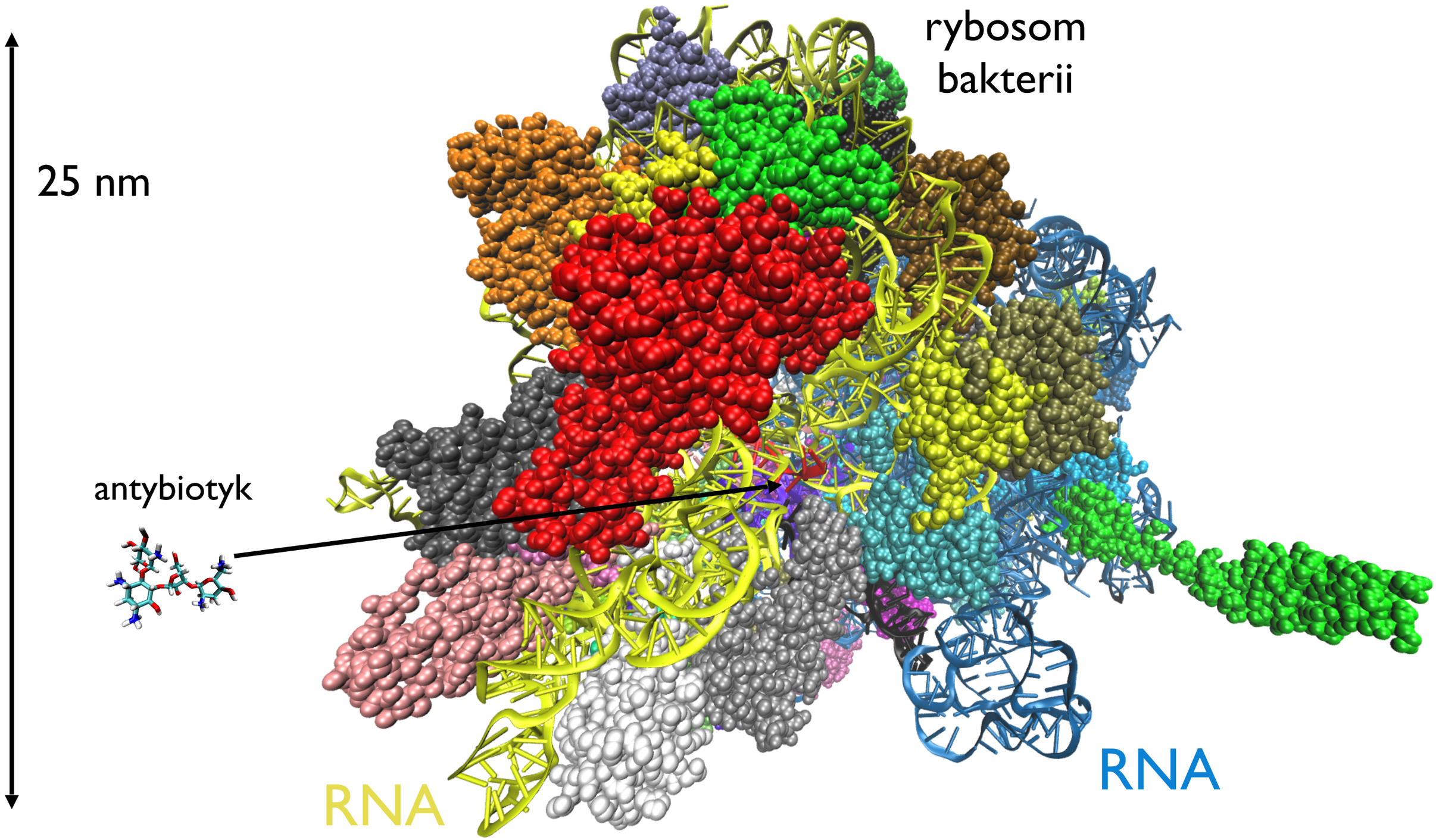


kolagen

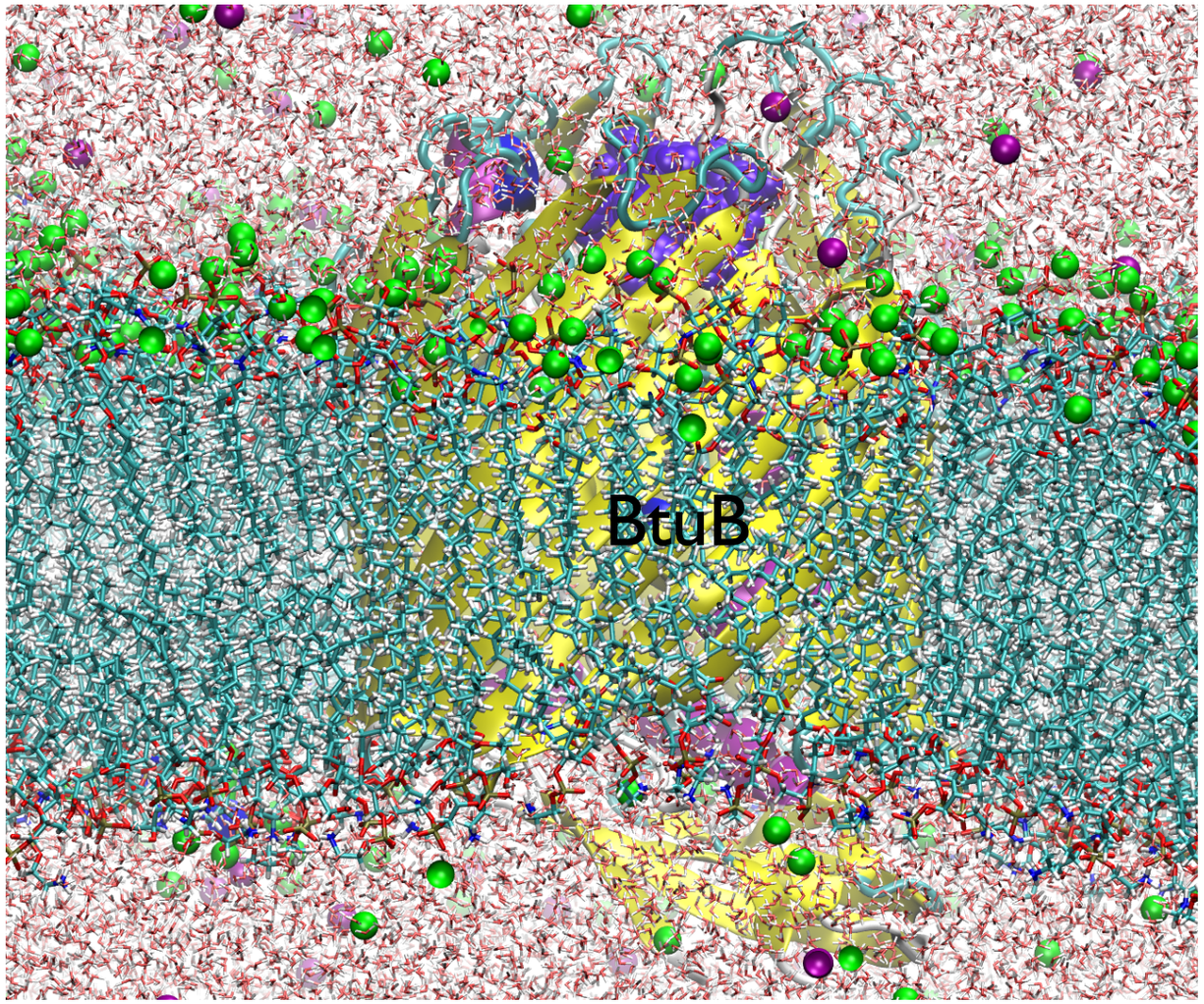


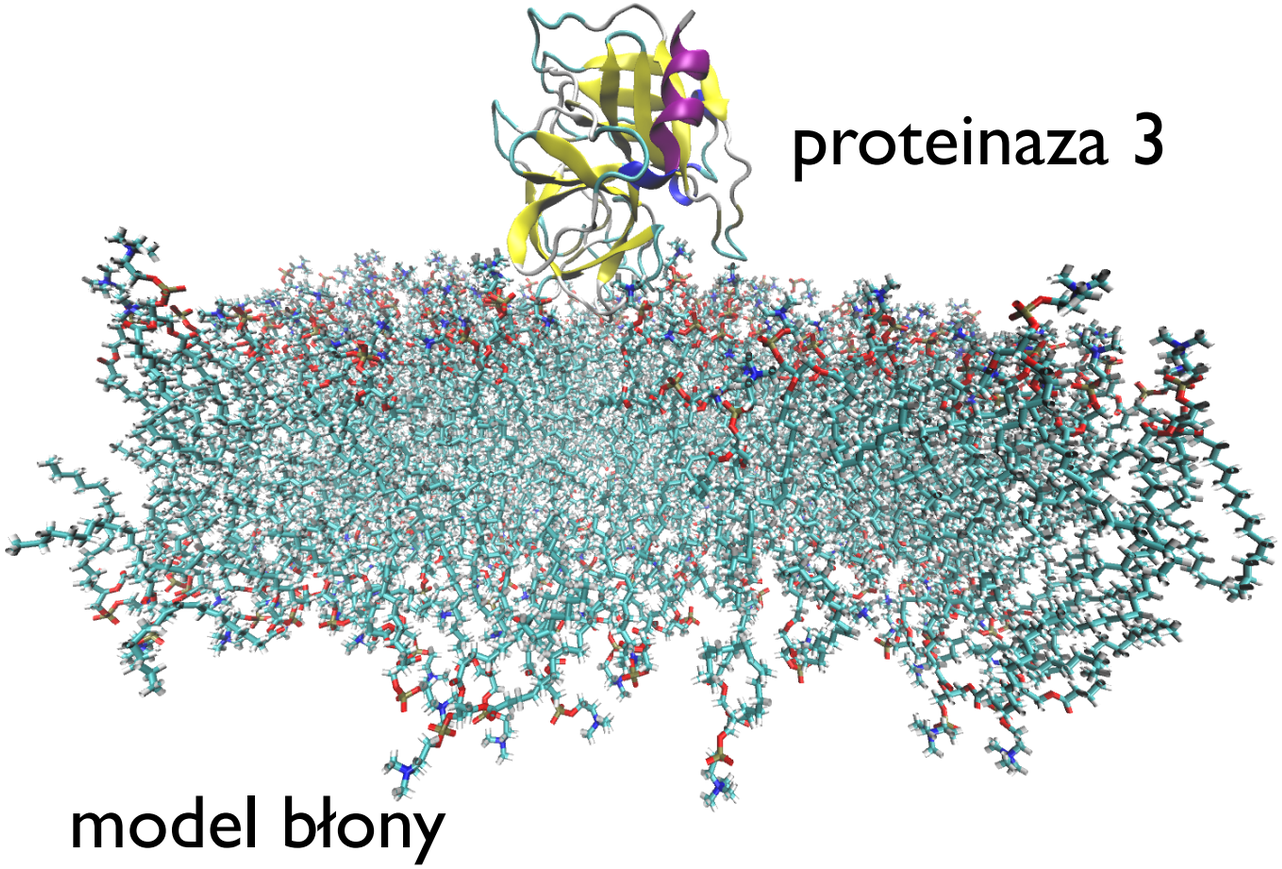
aktyna F

Białka w kompleksach z kwasami nukleinowymi

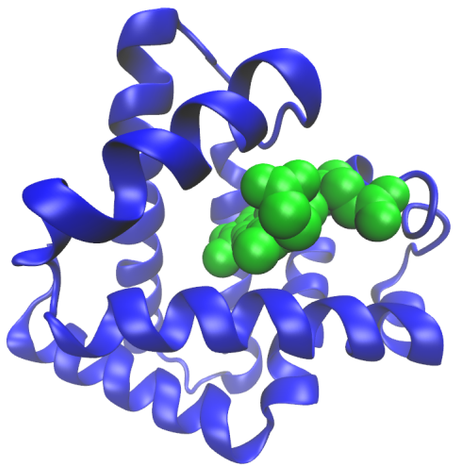


Białka a błony biologiczne

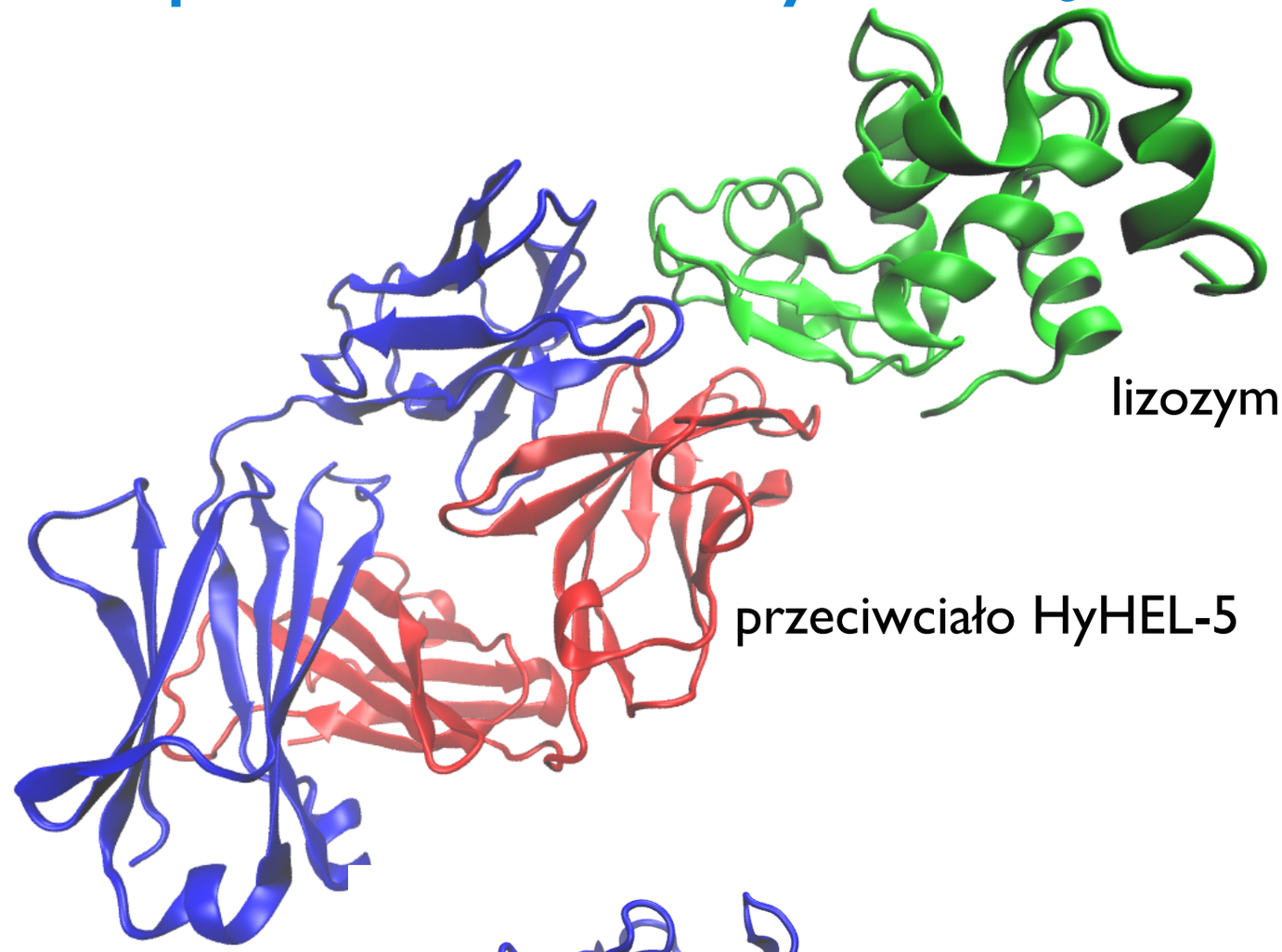


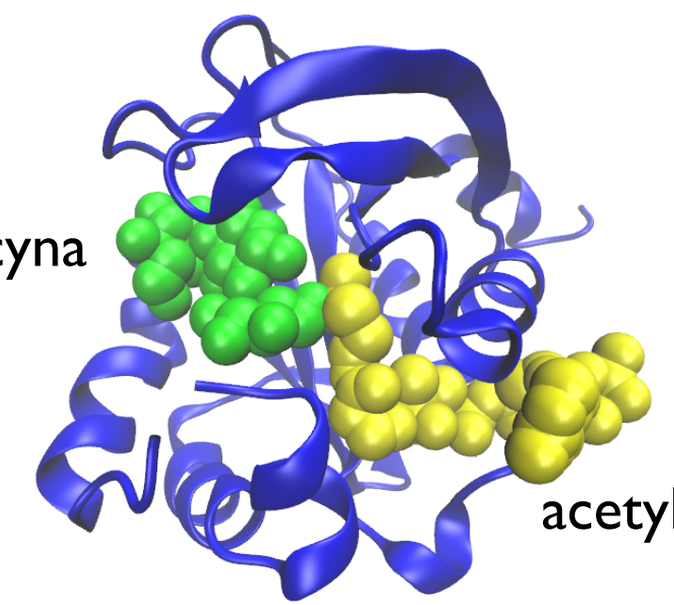


Działanie białek wymaga rozpoznawania innych cząsteczek

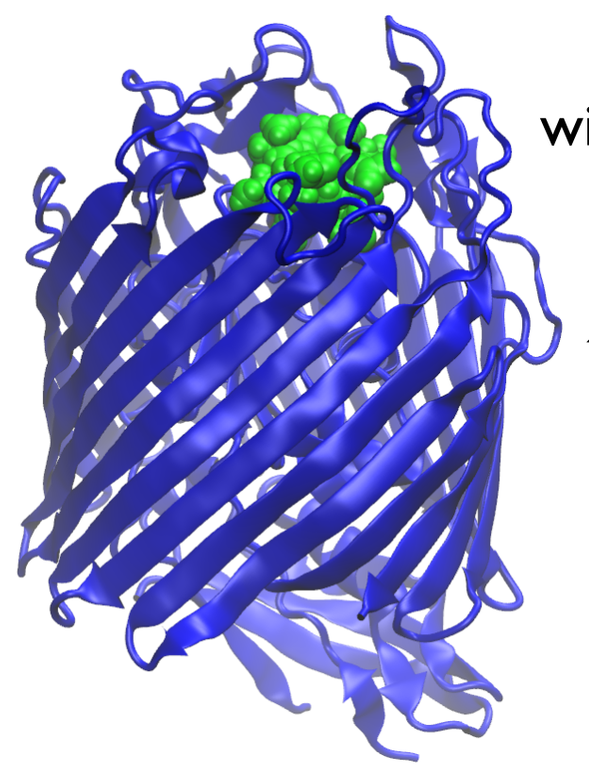


mioglobina



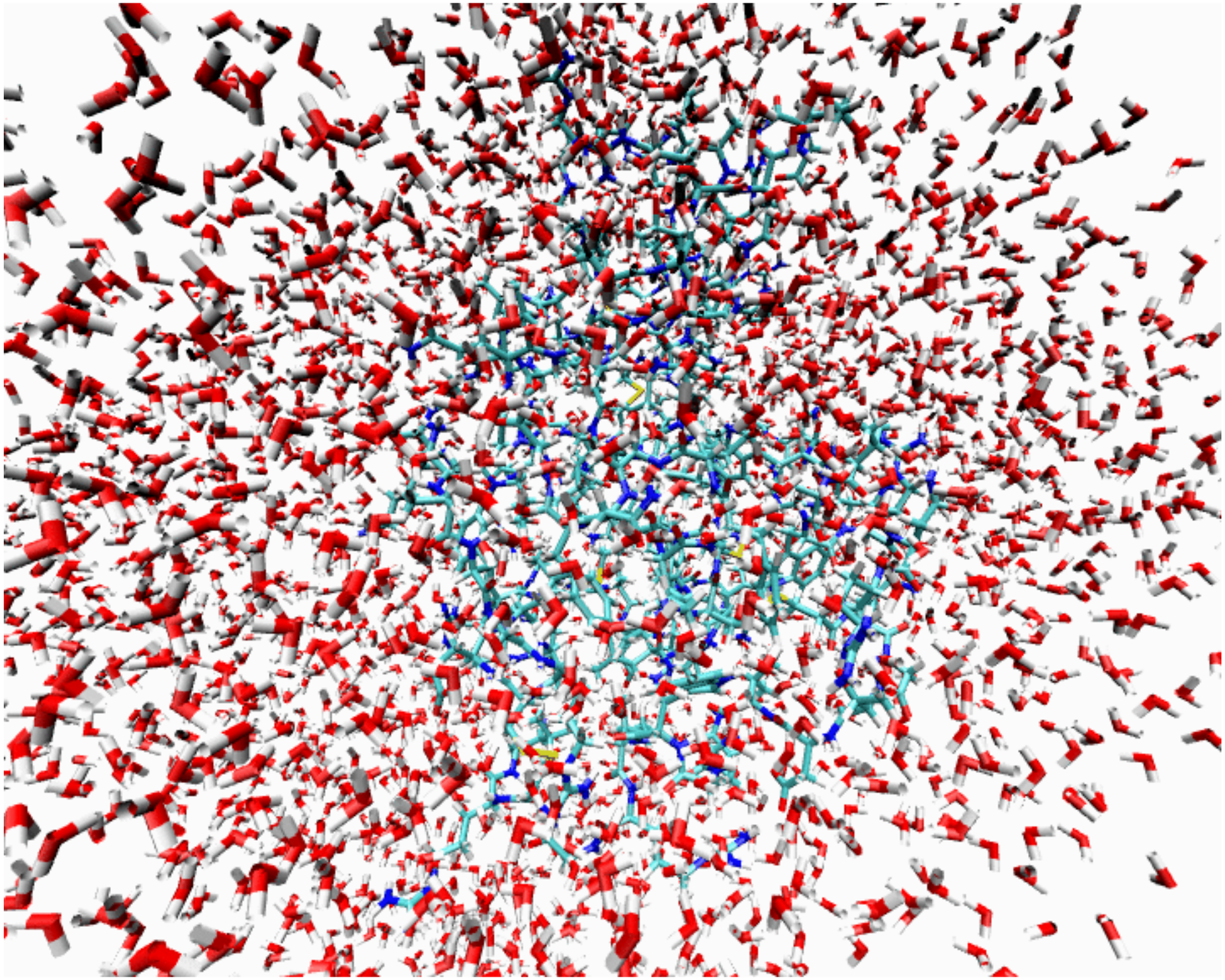


acetylotransferaza
E. coli



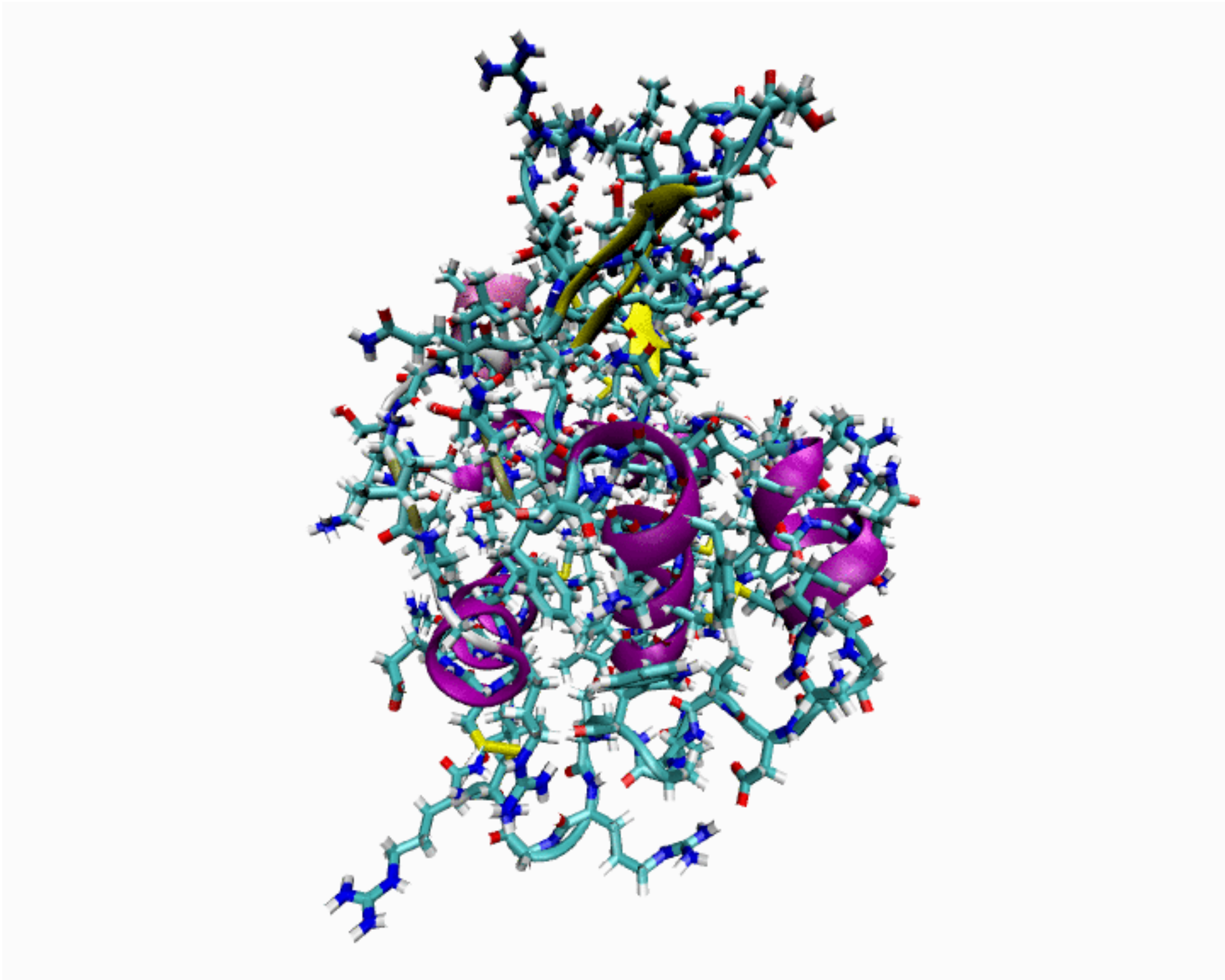
transporter BtuB
E. coli

Białka są w ciągłym ruchu



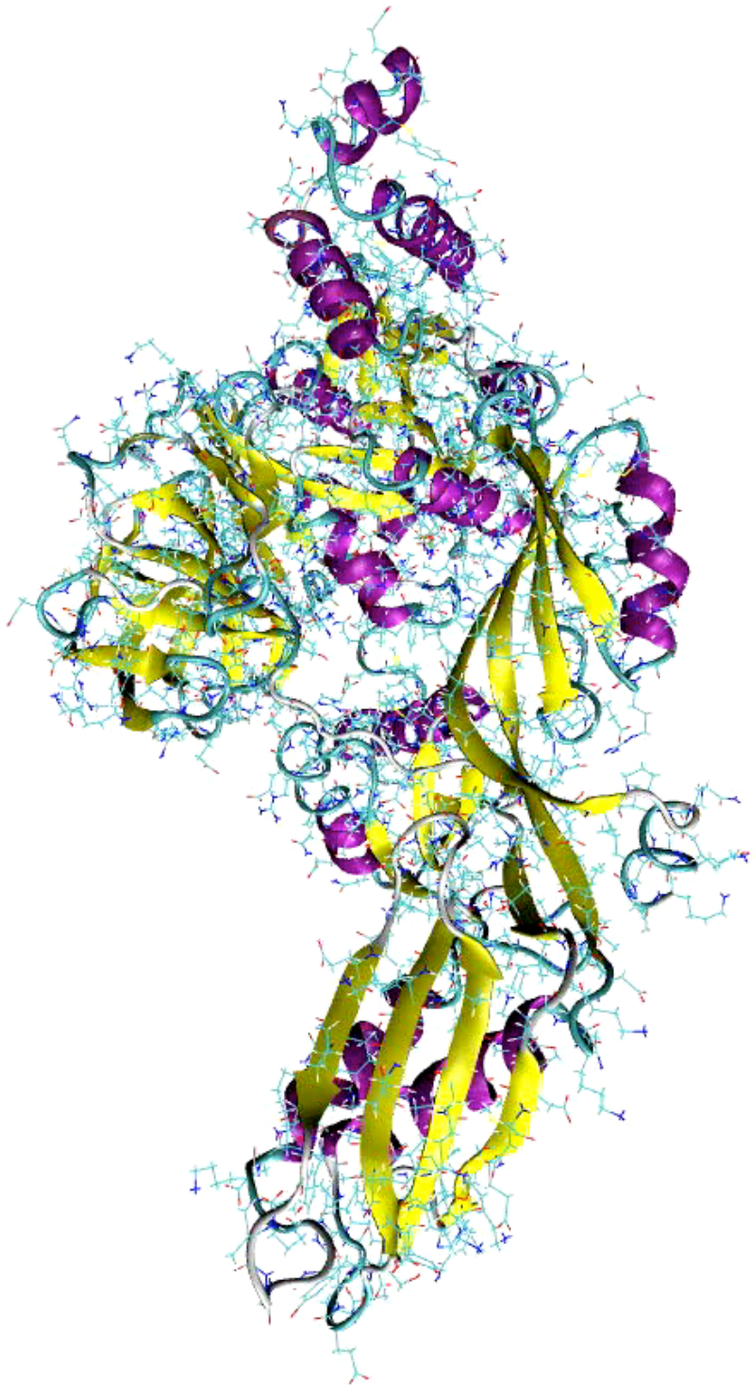
kolory: C O N S P H

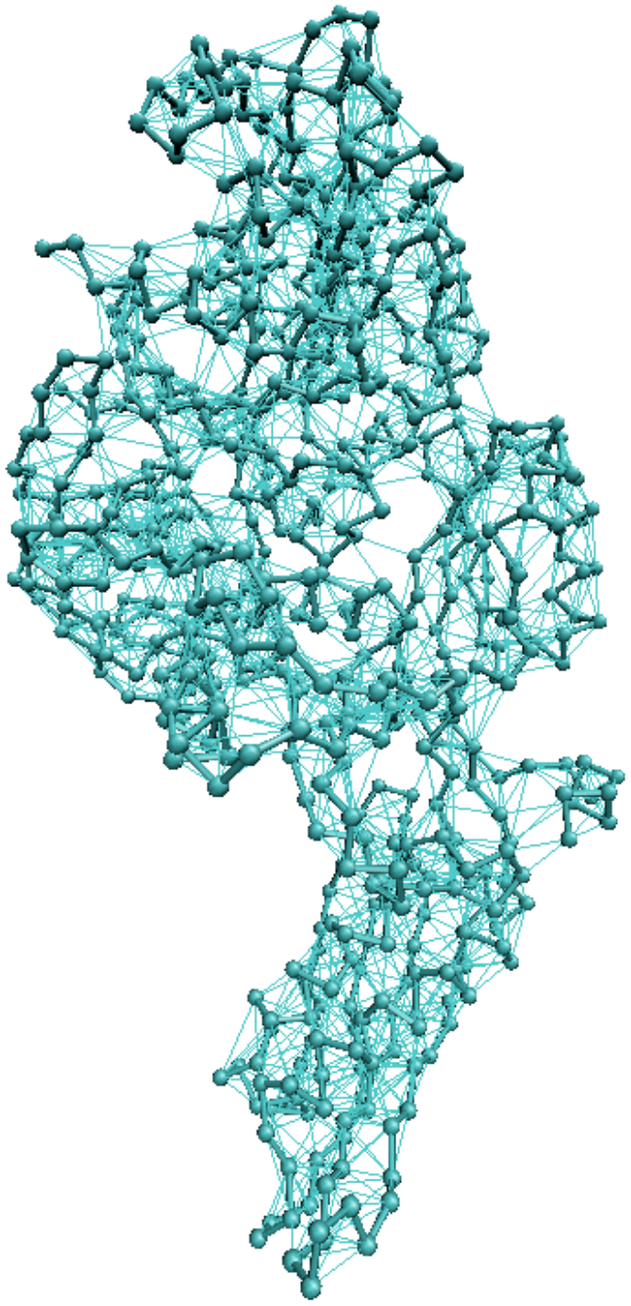
Trajektoria ruchu zwiniętego białka



dynamika molekularna lizozymu

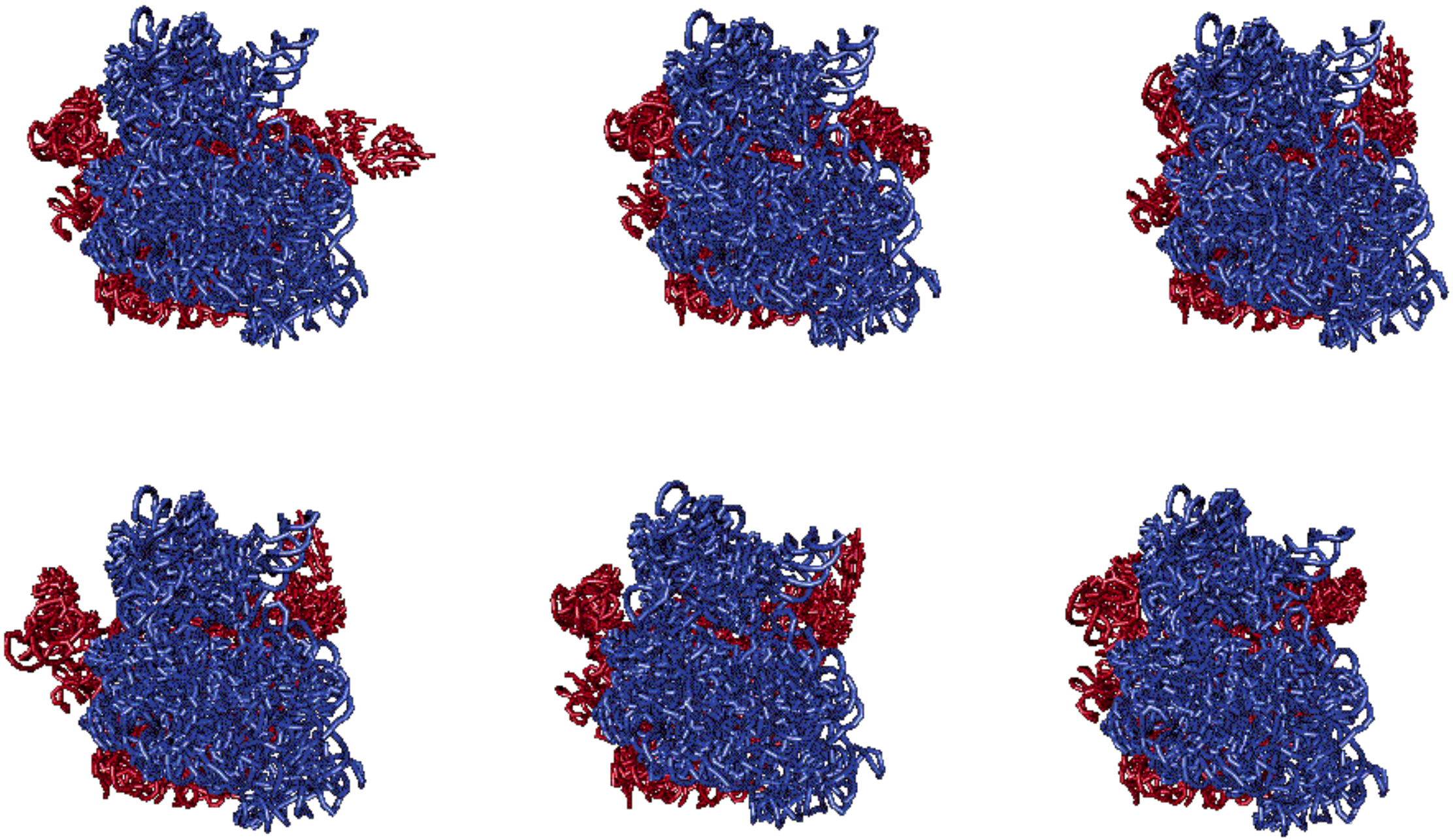
Dynamika molekularna białka EF-G





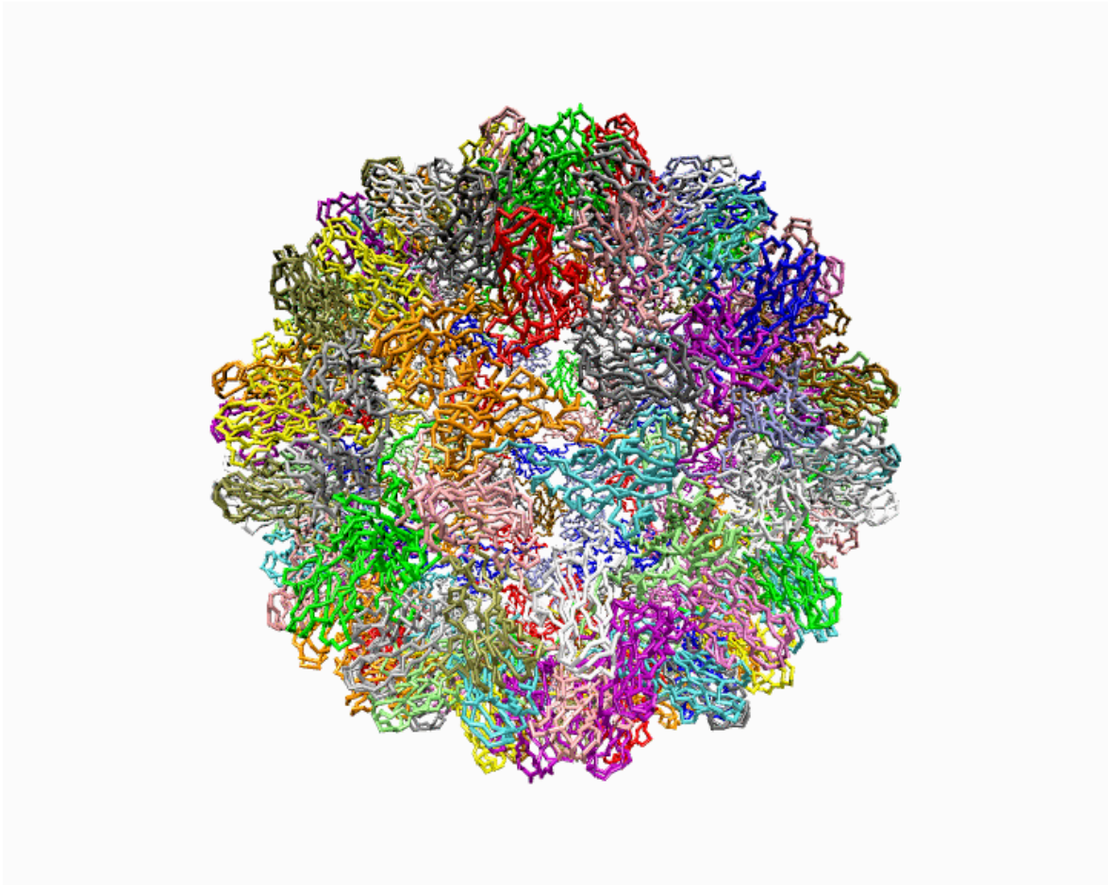
K. Kulczycka et al., *Eur. Biophys. J.*, 2010

Kierunki ruchów wewnętrznych rybosomu



Film: Robert Jernigan lab, Iowa State University, USA

Dynamika kapsydu wirusa CCMV



R. Konecny et al., Biopolymers, 2006

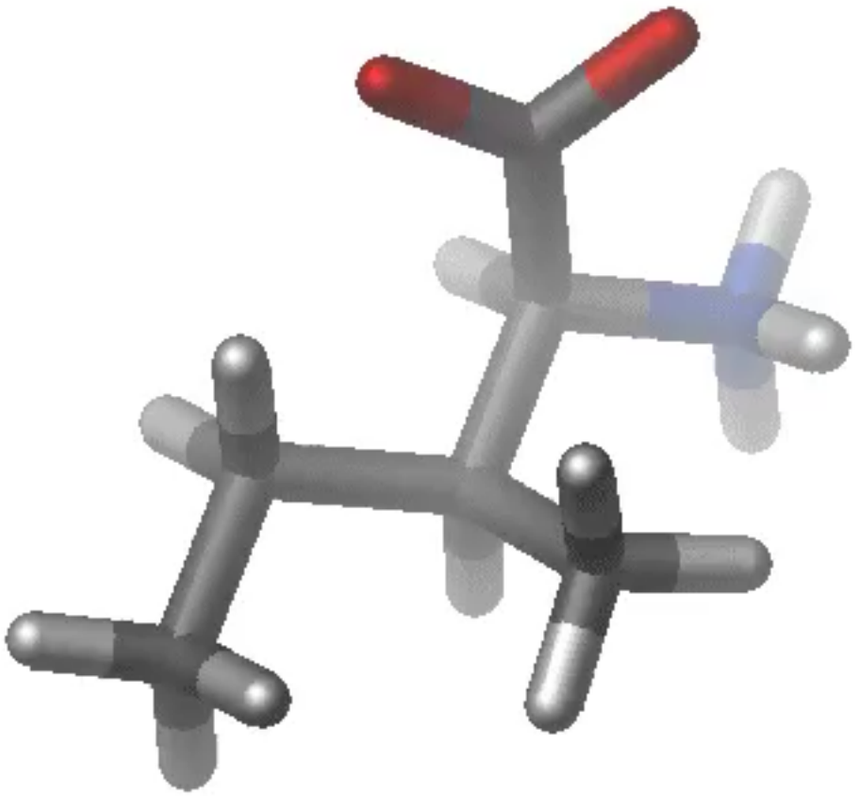
Skale czasowe i przestrzenne ruchów wewnętrznych białek

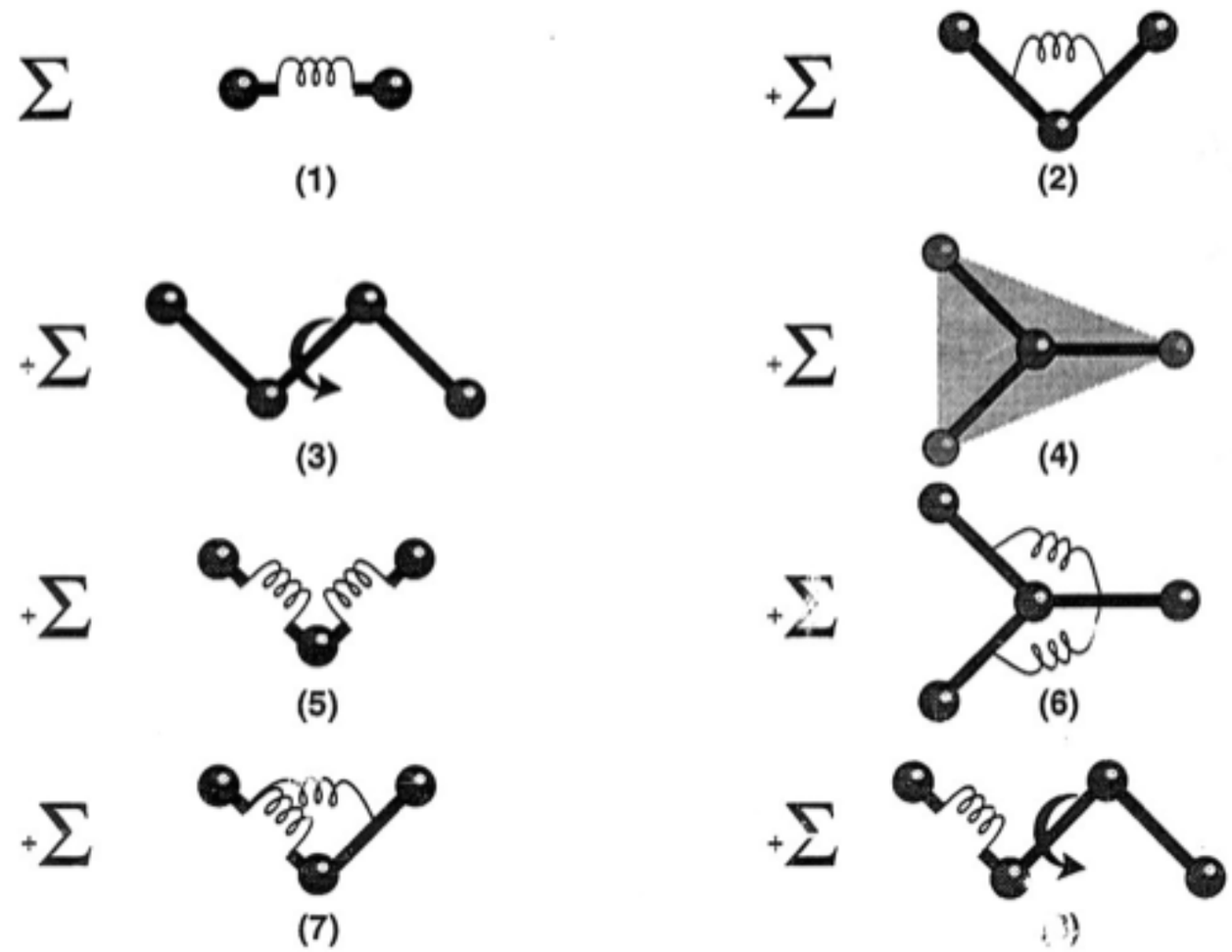
0,1 nm

- drgania pojedynczych wiązań ~ 10 fs
- rotacje reszt aminokwasowych ~ns
- kolektywne ruchy domen lub podjednostek ~ns-μs
- zwijanie polipeptydu ~μs-ms
- złączenie dwóch aminokwasów w rybosomie ~0.1s

25 nm

Mechanika molekularna w zastosowaniu do białek





atomy modelujemy jako kule o lokalnych punktowych ładunkach
+
oddziaływania (prawo Hooke'a, elektrostatyka, wyłączona objętość)
+
równania ruchu Newtona

długość wiązań ~0.1-0.15 nm

http://www.ch.embnet.org/MD_tutorial/index.html

Funkcja określająca energię potencjalną białka

$$V(\mathrm{X}^{3N}) = E(\mathrm{R}) = E_{bonded} + E_{nonbonded}$$

$$E(\mathrm{R}) = \sum_{pairs} \frac{1}{2} k_{bond}(r - r_0)^2 + \sum_{angles} \frac{1}{2} k_{ang}(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{dihedrals} \sum_{n=1}^{3} \frac{1}{2} k_{dih}(1 + cos(n\phi - \phi_0))$$

$$+ \sum_{i>j} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_{i>j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{6}}\right)$$

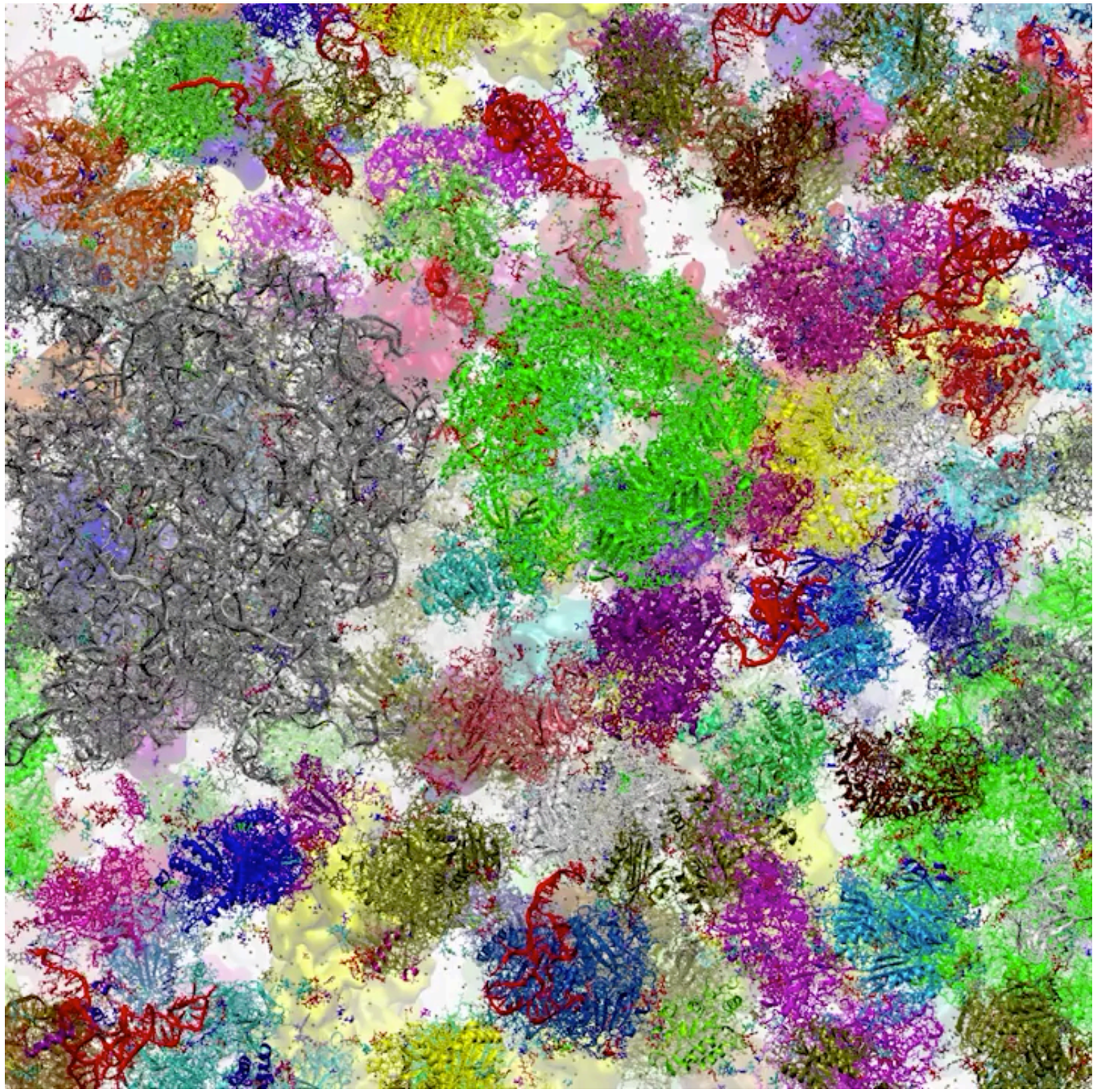
$k_{bond}, k_{ang}, k_{dih}, q_i, q_j, A_{ij}, B_{ij}$

$r_0, \theta_0, \phi_0, r_{ij}^0$

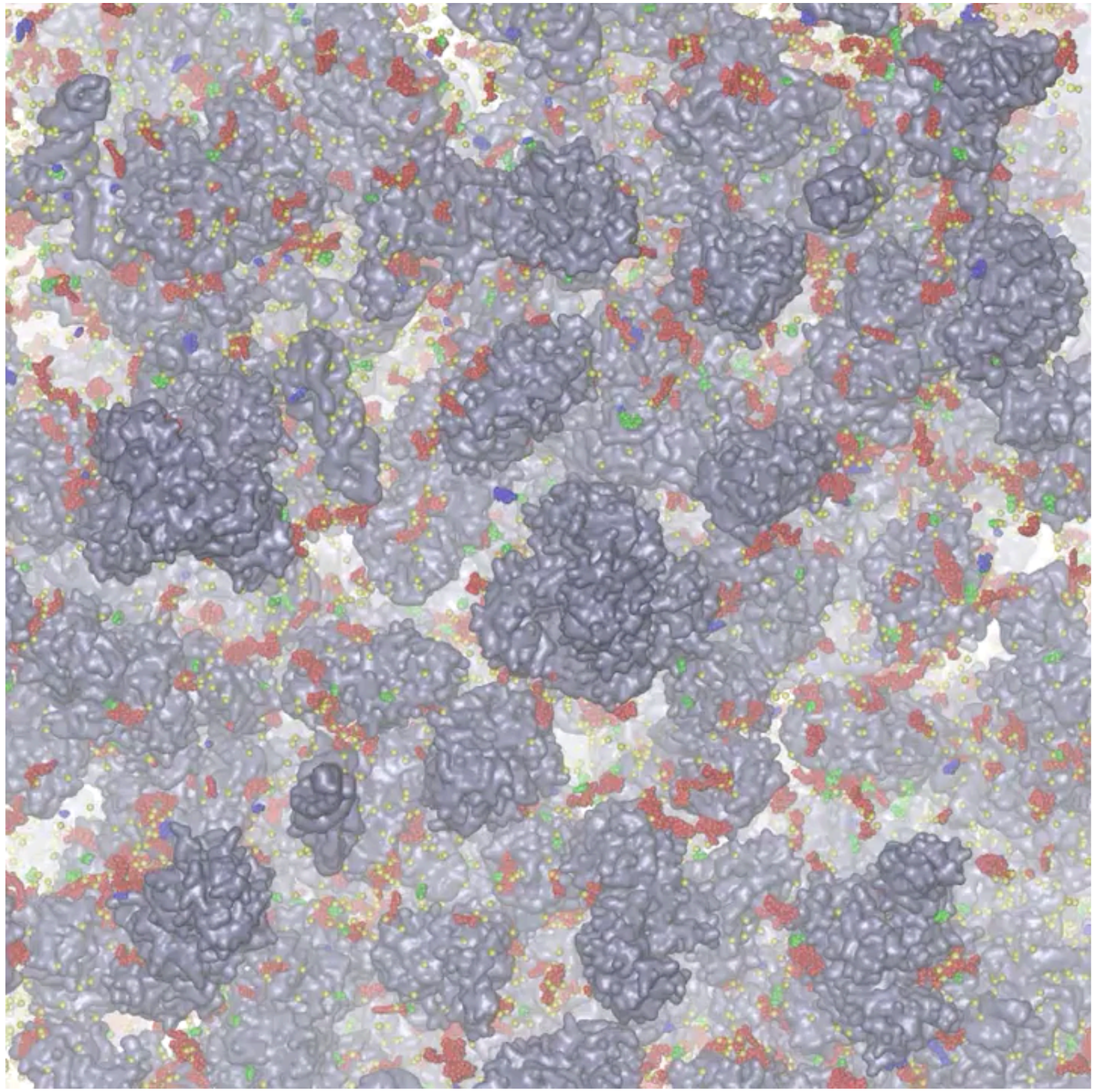
$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i} = m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2}$$

Historia symulacji dynamiki molekularnej

- 1957 symulacje oddziaływania twardych kul (Alder, B. J. , Wainwright, T. E. J. Chem. Phys. 27, 1208, 1957)
- 1964 pierwsza symulacja dynamiki molekularnej argonu (Rahman, A. Phys. Rev. A136, 405, 1964)
- 1974 pierwsza symulacja dynamiki molekularnej wody (Stillinger, F. H., Rahman, A. J. Chem. Phys. 60, 1545, 1974)
- 1977 pierwsza symulacja dynamiki molekularnej małego białka (McCammon, J. A., Gelin, B. R., Karplus, M. Nature (Lond.) 267, 585, 1977)

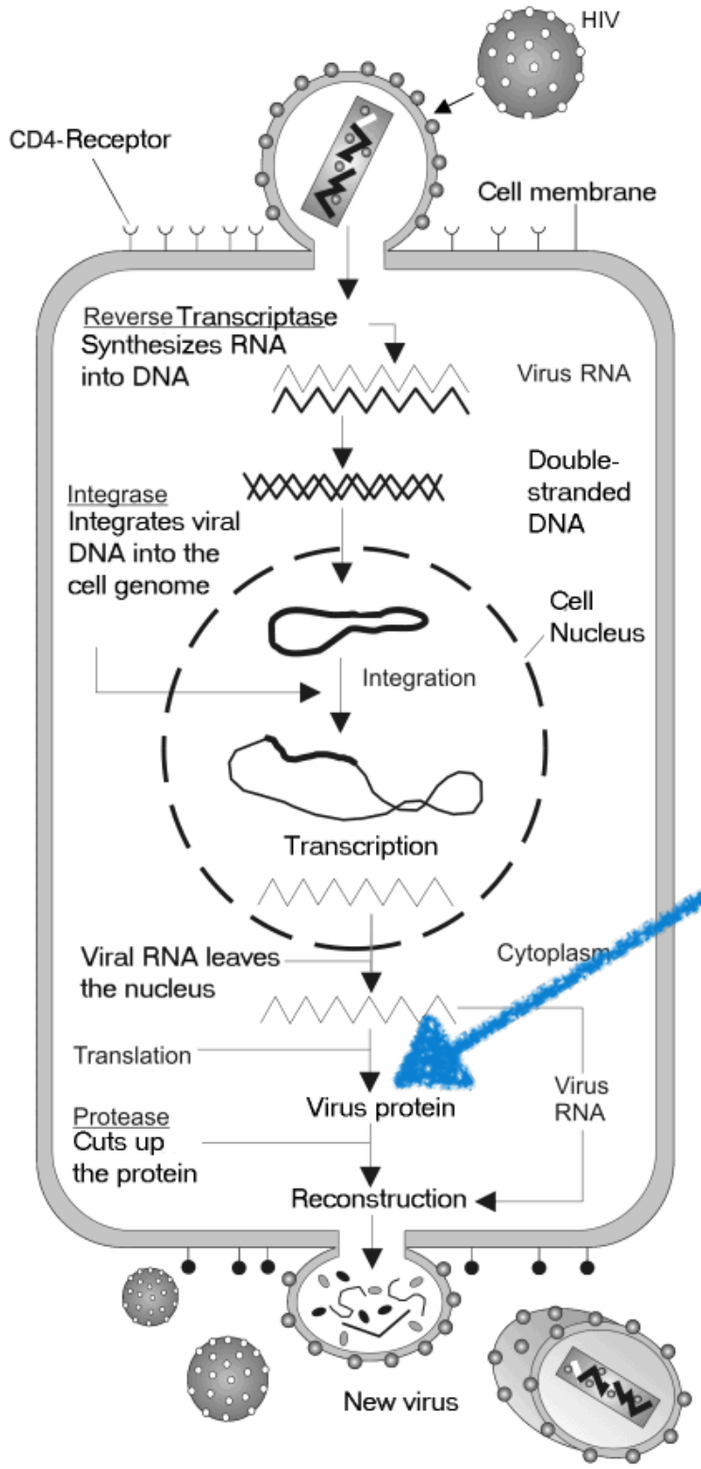


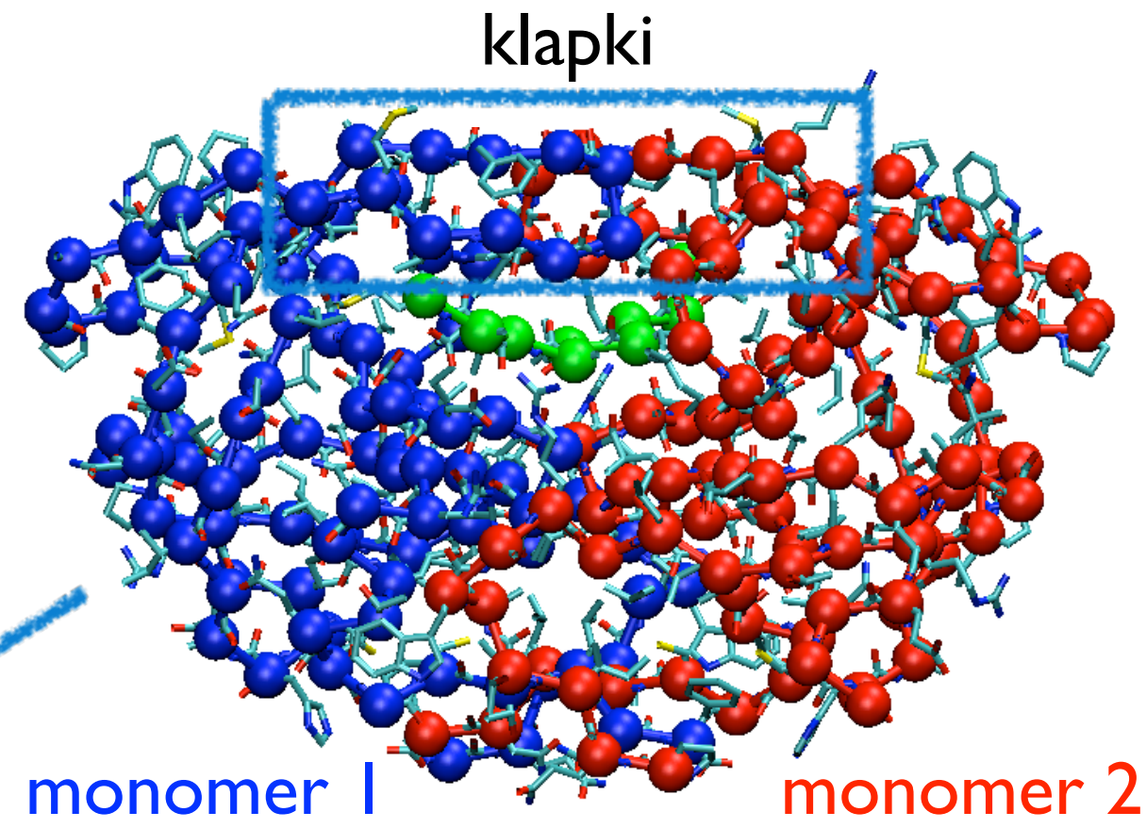
film: Yu et al. eLife 2016;5:e19274. DOI: 10.7554/eLife.19274



film: Yu et al. eLife 2016;5:e19274. DOI: 10.7554/eLife.19274

Przykład: białko kodowane przez wirusa HIV-1





fragment substratu o sekwencji

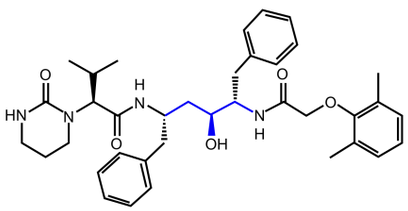
Lys-Ala-Arg-Val-Leu-||-Ala-Glu-Ala-Met

miejsce cięcia substratu

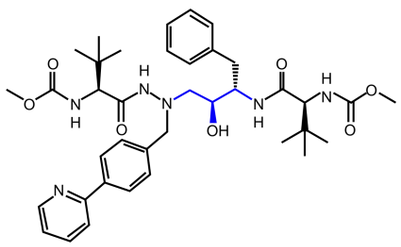
NMR: otwieranie "klapek" µs-msec
(szybsze fluktuacje ~10 ns)
Ishima et al. Nat Struct Biol 2000

Proteaza wirusa HIV-1 jest celem dla leków

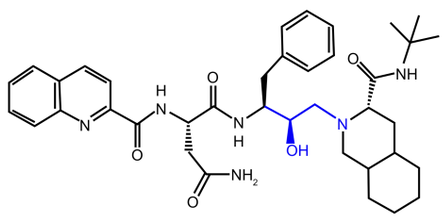
Cząsteczki podobne do substratu jako leki



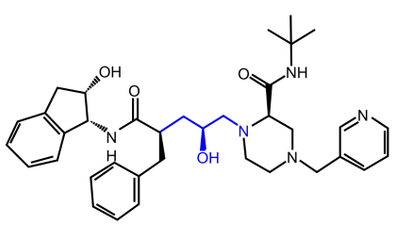
Lopinavir



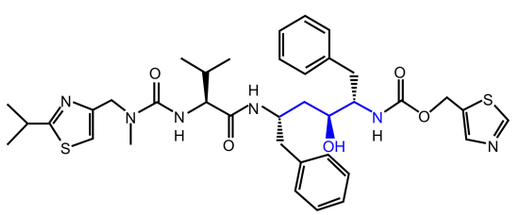
Atazanavir



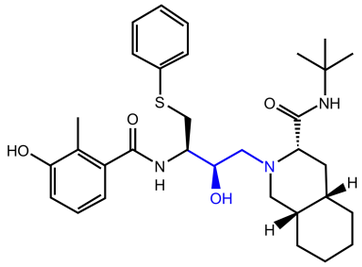
Saquinavir



Indinavir

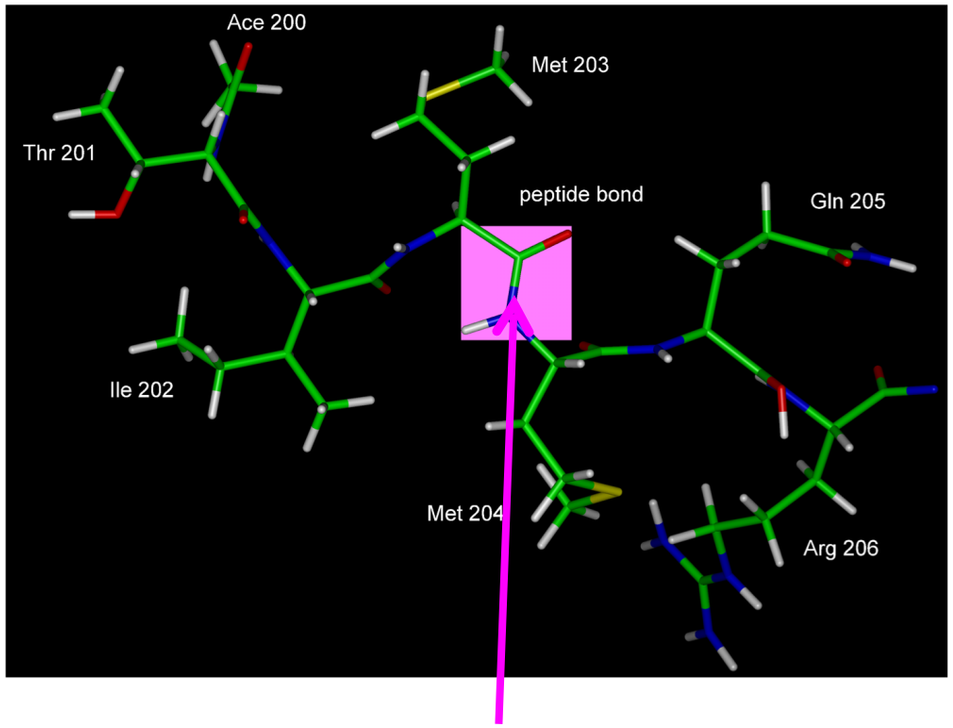


Ritonavir



Nelfinavir

Przykład substratu

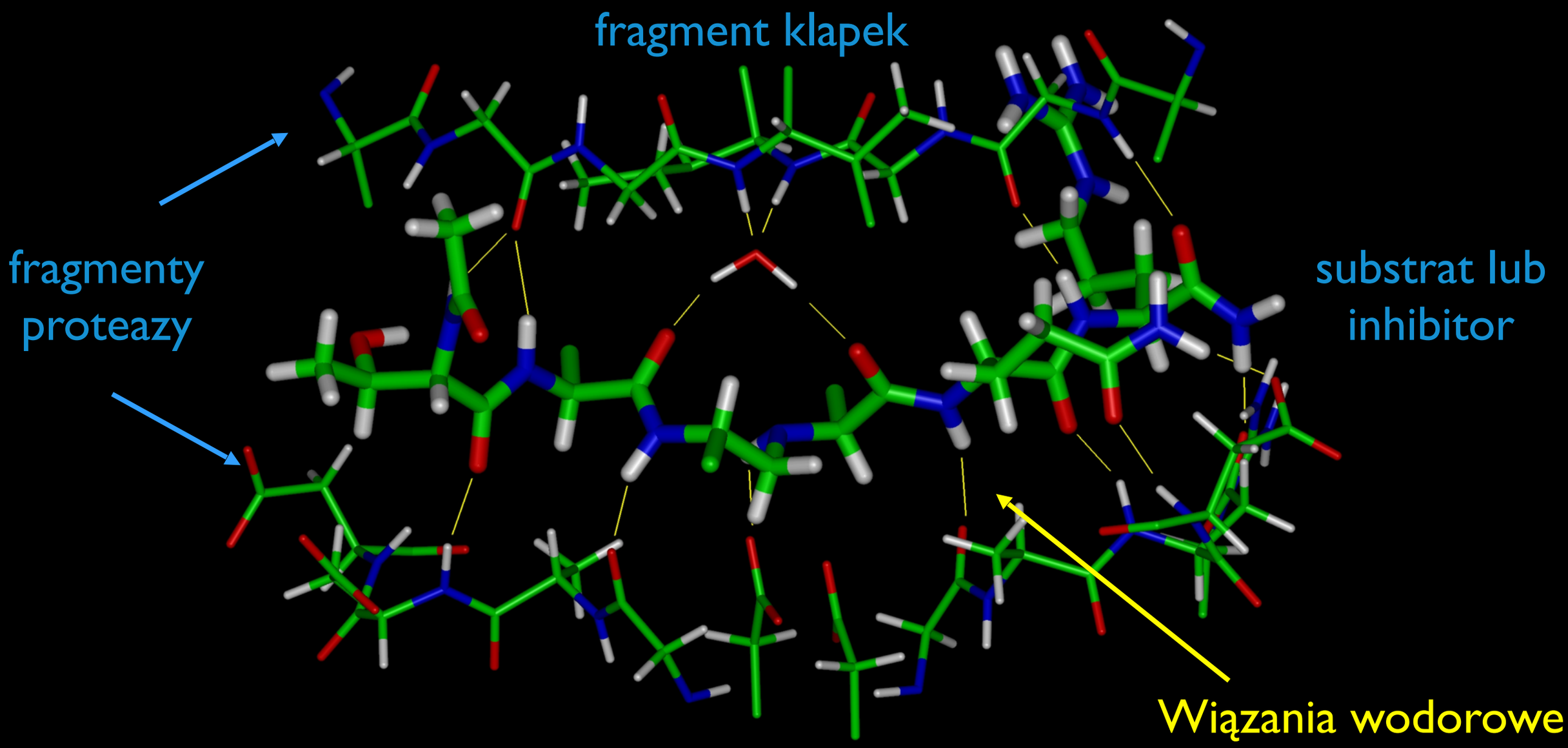


miejsce hydrolizy substratu

leki te konkurują z substratem o miejsce oddziaływania z enzymem

Rys inhibitorów. Lv Z. et al., HIV/AIDS – Research and Palliative Care 2015:7 95–104, DOI:10.2147/HIV.S79956

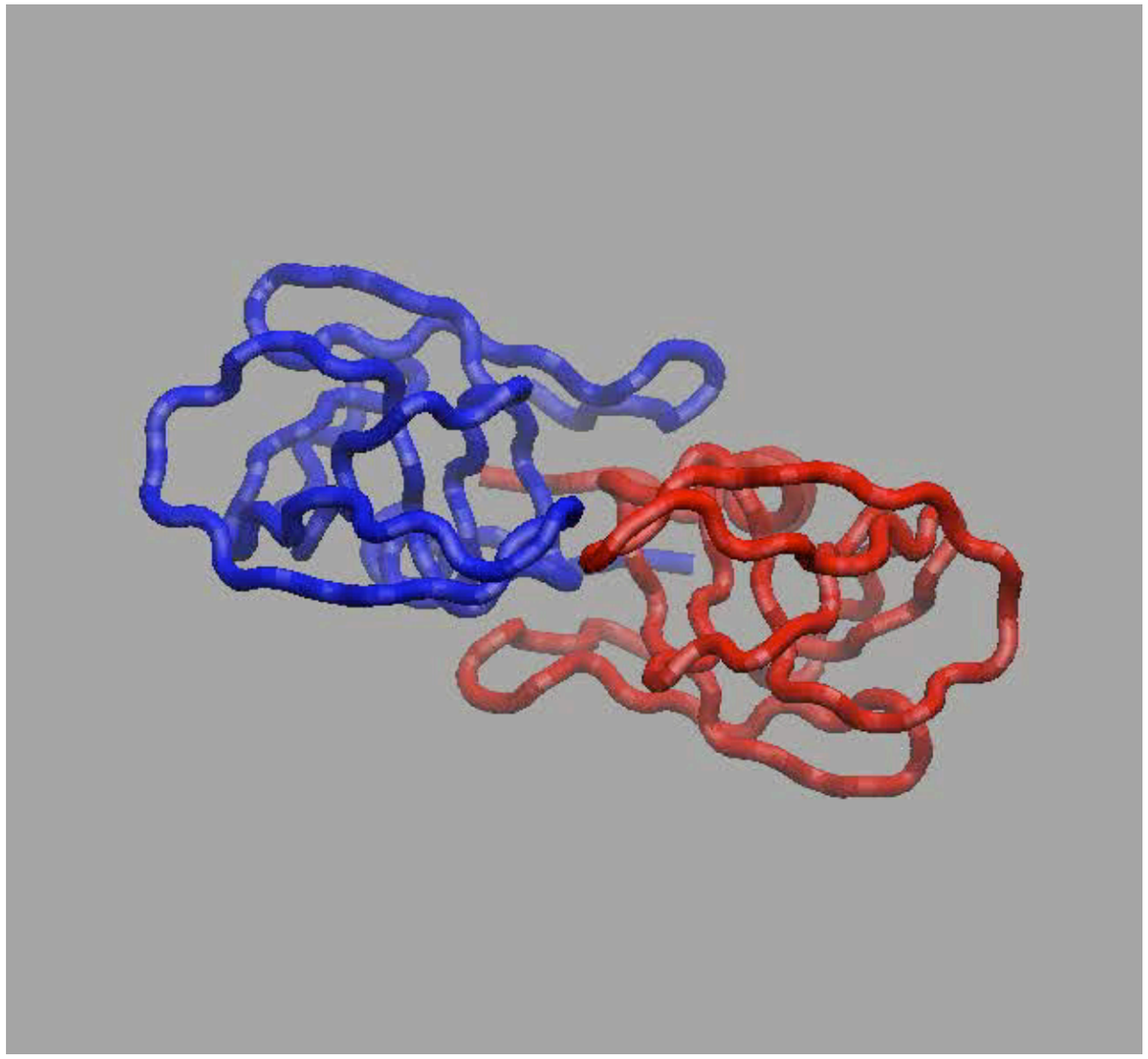
Oddziaływania proteazy wirusa HIV-1 z substratem



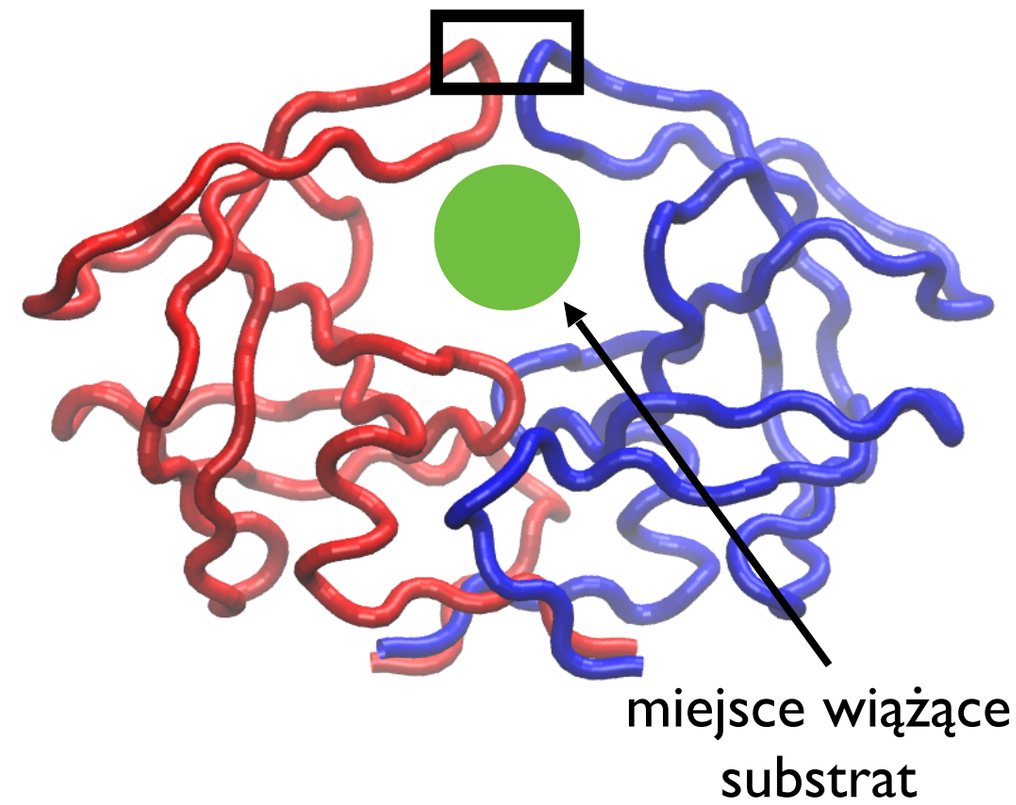
Fazy reakcji katalizowanej przez proteazę

- dyfuzja substratu i enzymu
- rozpoznanie substratu przez enzym i ich asocjacja
- utworzenie stabilnego kompleksu enzym-substrat
- utworzenie stanu przejściowego i reakcja “cięcia”
- dysocjacja utworzonych produktów od enzymu

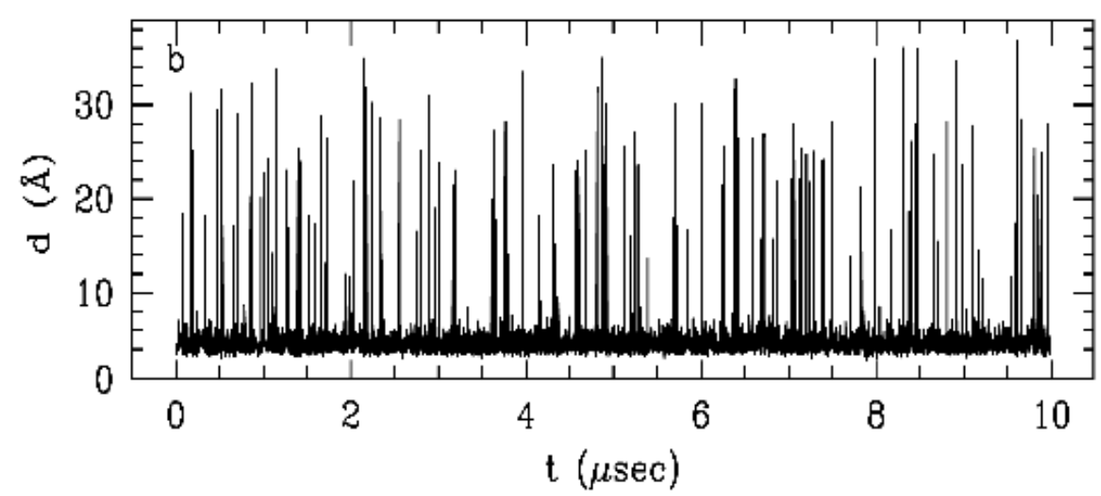
Ruchliwość wewnętrzna proteazy wirusa HIV-1



śledzimy tę odległość (d)

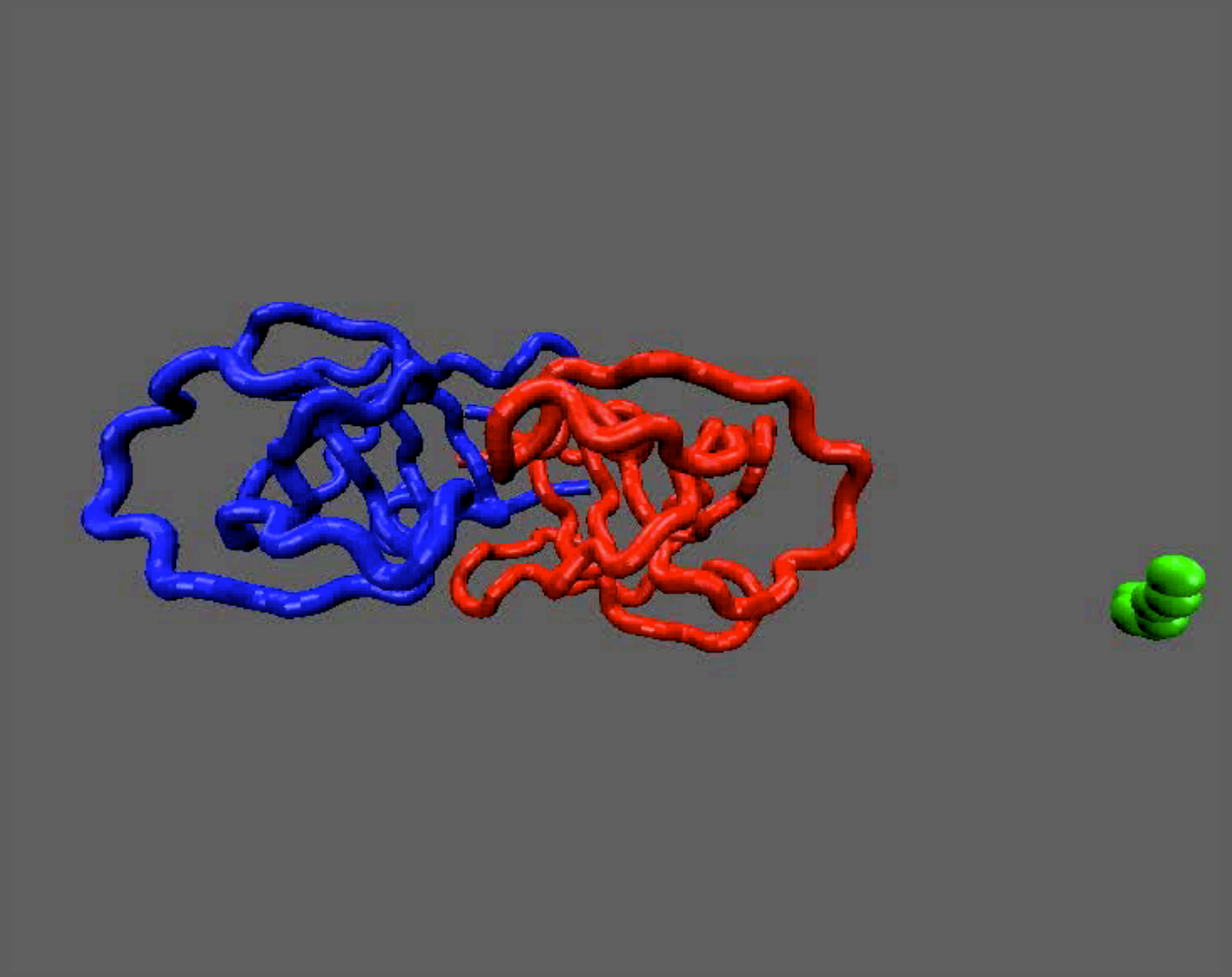


końce "klapek"



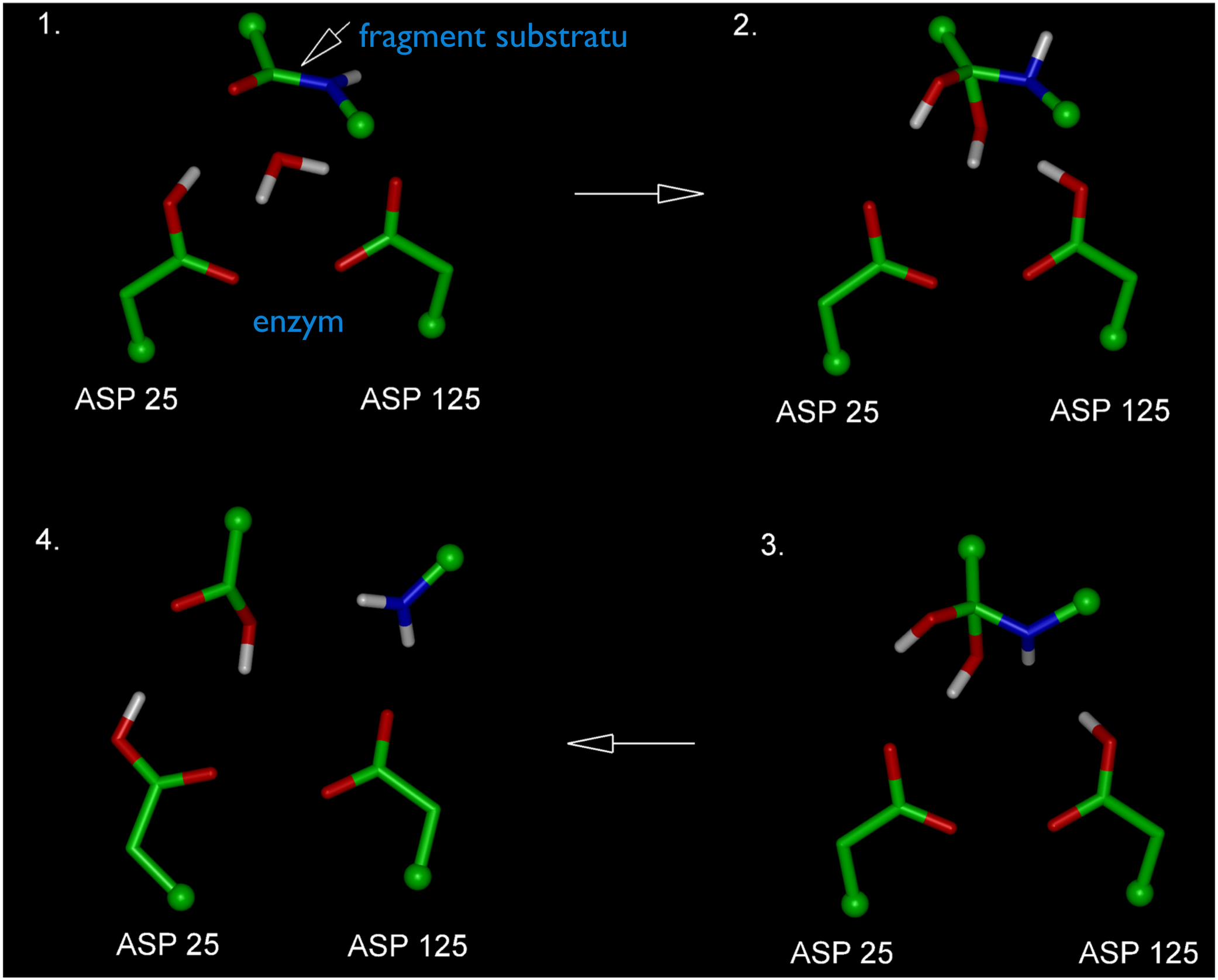
Trylska et al., Biophys. J., 2007

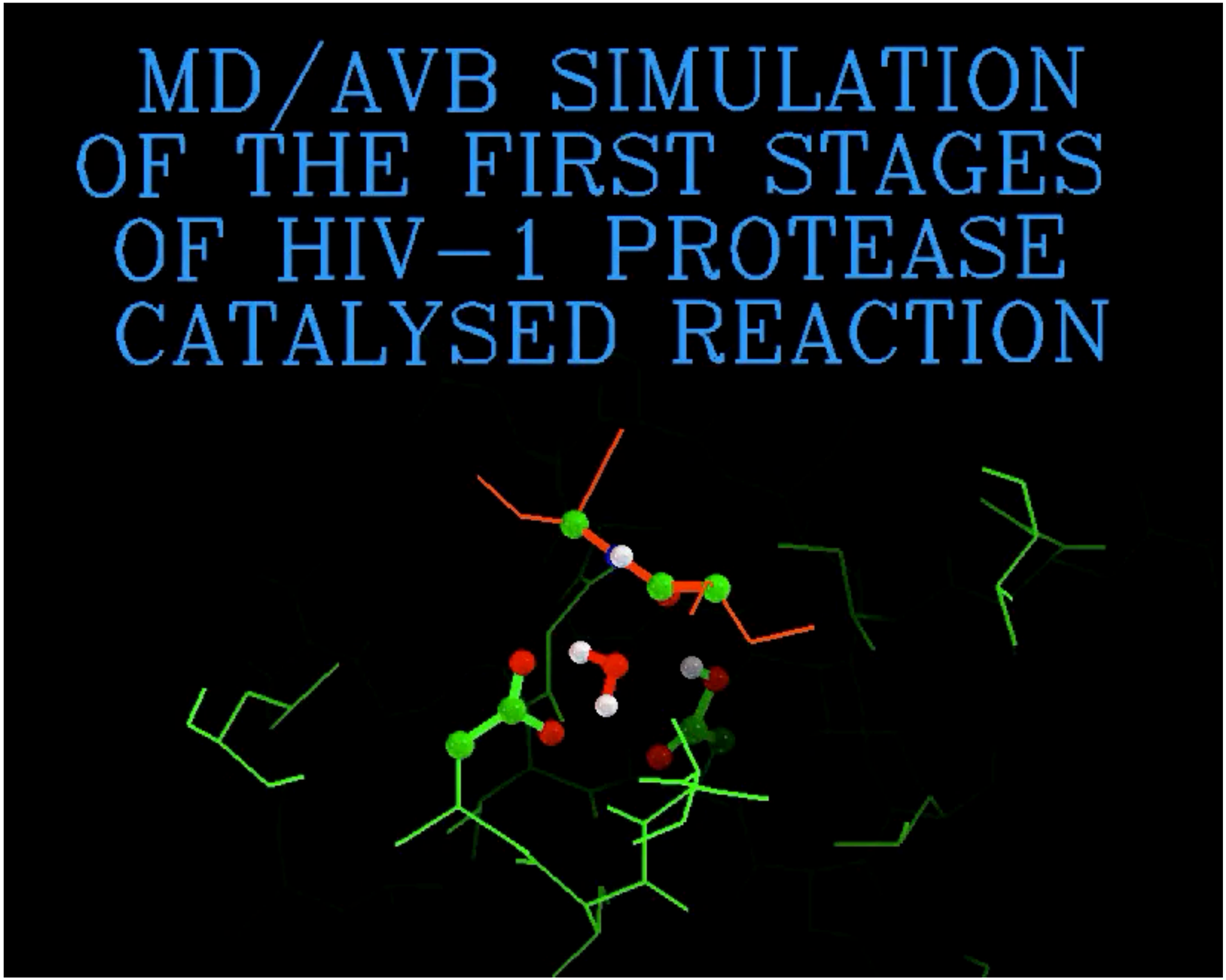
Dyfuzja substratu i asocjacja z enzymem



monomer 1 monomer 2 substrat

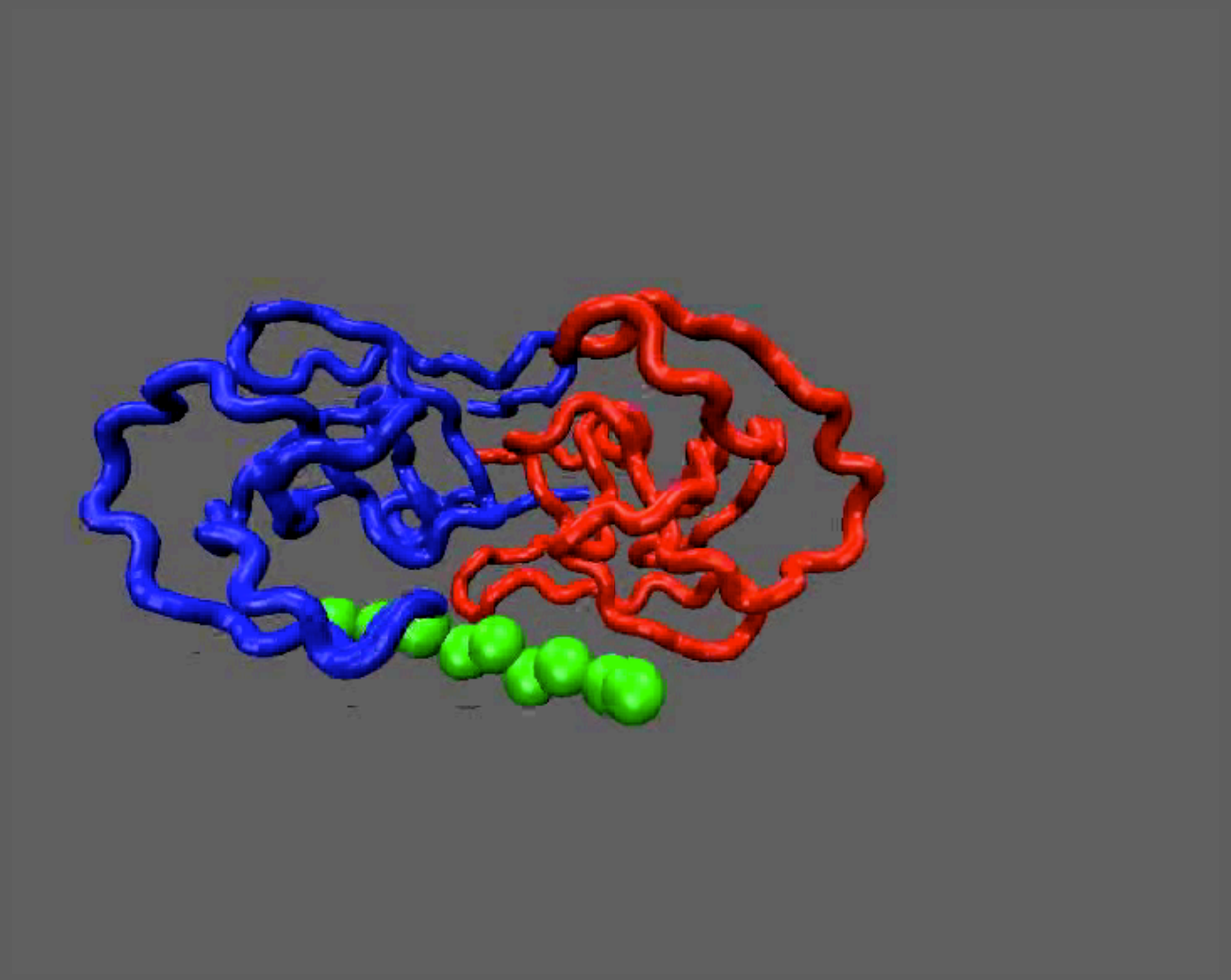
Etapy reakcji katalizowanej przez proteazę wirusa HIV-1



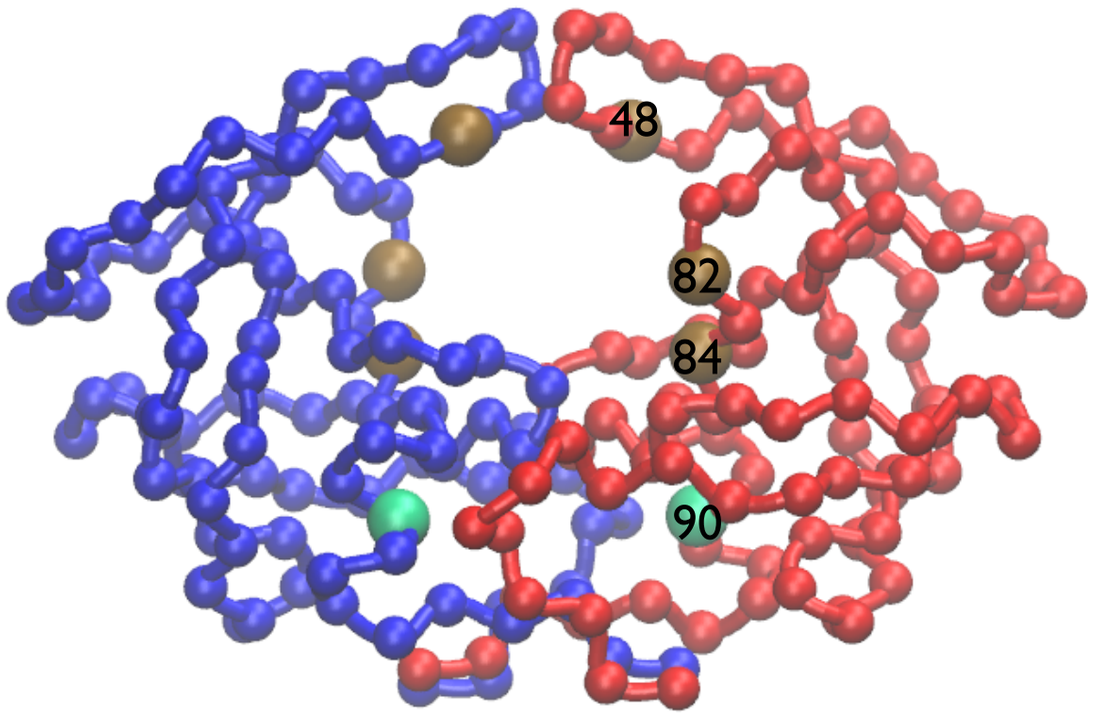


film: Krzysztof Nowiński

Dyfuzja produktów od enzymu

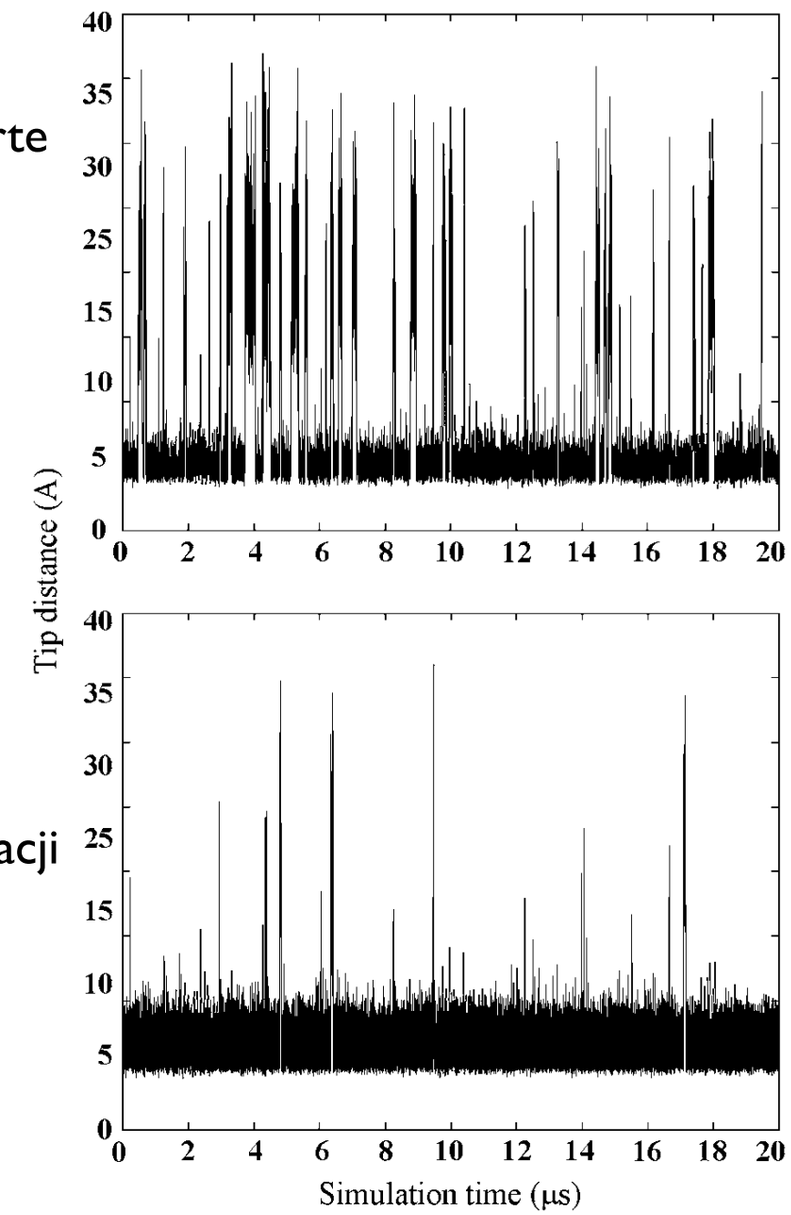


Zmutowane formy proteazy wirusa HIV-1



WT i L90M klapki otwarte 14% czasu symulacji

odległość między końcami klapek

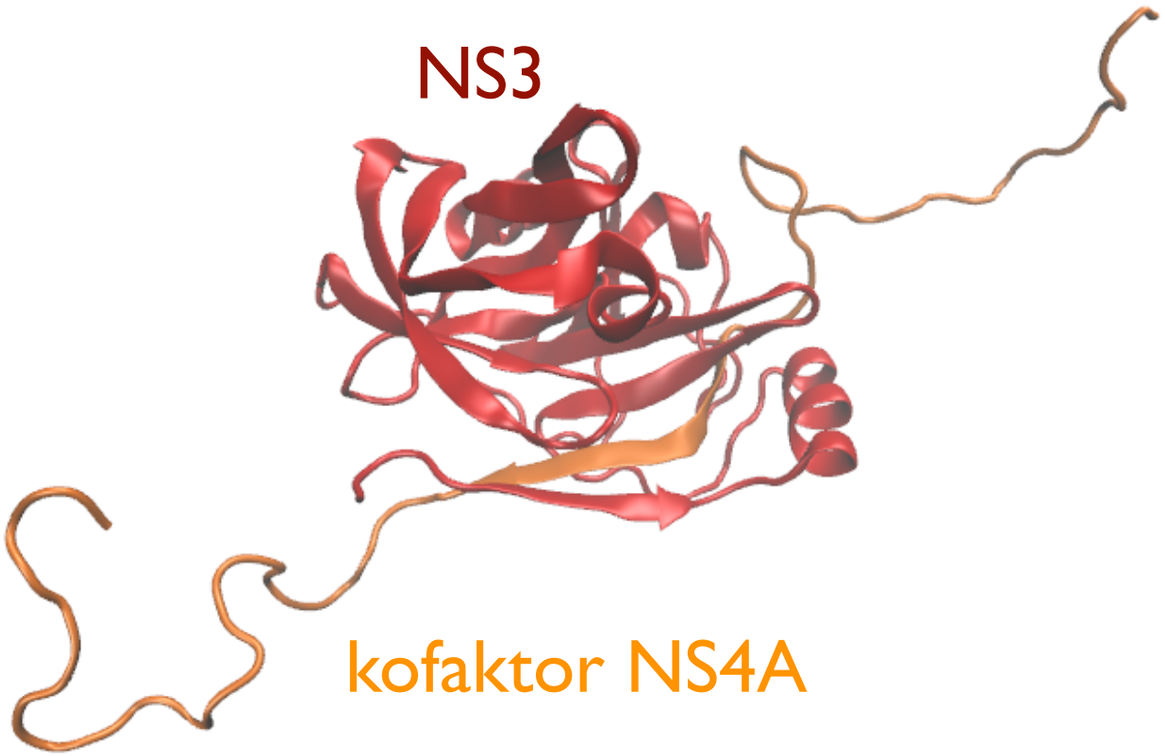


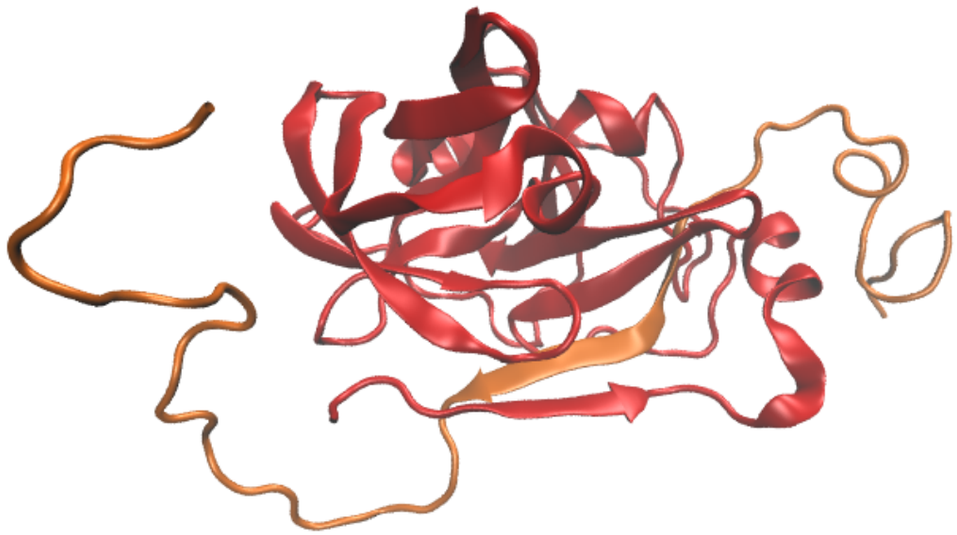
G48V,V82A, I84V klapki otwarte 2% czasu symulacji

- mutacje wpływają na dynamikę wewnętrzną enzymu
- średni czas kiedy klapki są w konformacji otwartej różni się w zależności od mutanta

Chang et al., Biophys. J., 2006

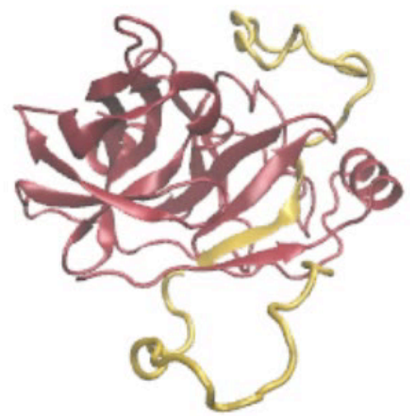
Proteaza wirusa HCV





- NS3/4A katalizuje hydrolizę wiązania peptydowego w substratach
- kofaktor NS4A nie przyjmuje określonej struktury drugorzędowej w wodzie
- szybkość reakcji zależy od środowiska

A. Popielec, N. Ostrowska et al., *Biochimie*, 2020



proteaza
kofaktor
substrat
PEG

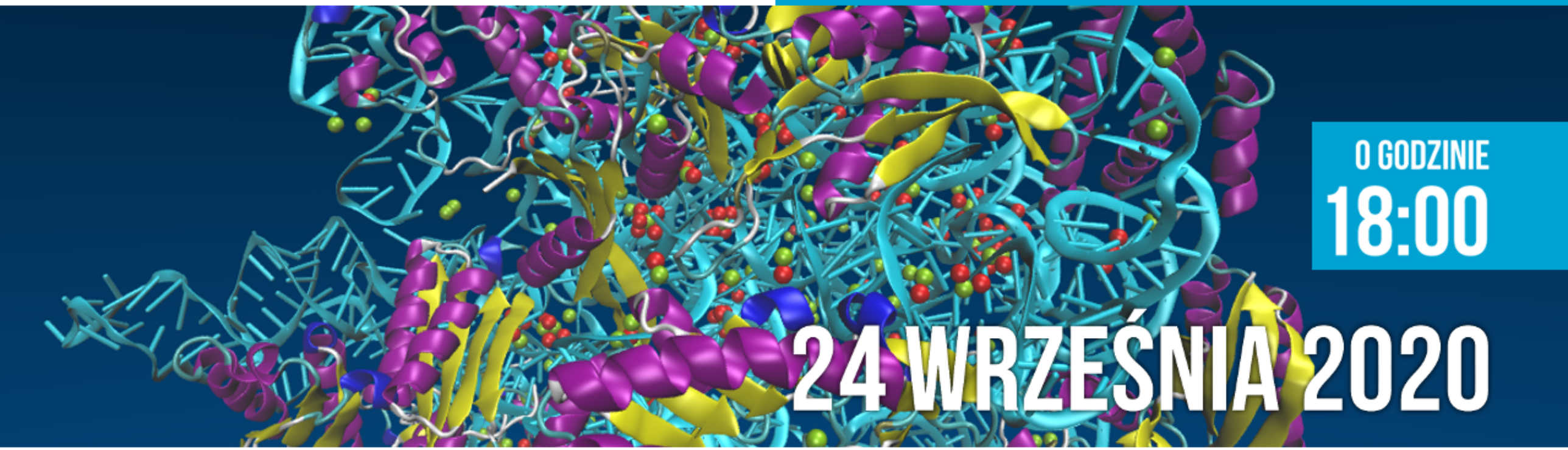
film: Natalia Ostrowska

ZAPYTAJ FIZYKA

Festiwal nauki WARSZAWA

DYNAMIKA I FUNKCJE BIAŁEK

PROF. JOANNA TRYLSKA



O GODZINIE
18:00

24 WRZEŚNIA 2020

Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój

Rzeczpospolita Polska

UNIWERSYTET WARSZAWSKI

WYDZIAŁ FIZYKI

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny