



Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Boris Gomaz

# Simetrija u kvaternoј strukturi proteina

## Kemijски seminar 1

Poslijediplomski sveučilišni studij Anorganska i strukturna kemija  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Izrađen prema:

J. A. Marsh i S. A. Teichmann, *Annu. Rev. Biochem.* **84** (2015) 551–575

Zagreb, 2022. godina.



# Sadržaj

<b>SADRŽAJ.....</b>	<b>III</b>
<b>§ 1. LITERATURNI PREGLED.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Struktura proteina.....</b>	<b>4</b>
<i>1.1.1. Kvaterna struktura proteina.....</i>	<i>5</i>
<b>1.2. Simetrija.....</b>	<b>5</b>
<i>1.2.1. Simetrijski elementi.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.2. Strukturna karakterizacija proteina.....</i>	<i>8</i>
<b>1.3. Homomerni i heteromerni kompleksi.....</b>	<b>8</b>
<b>§ 2. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>12</b>

## § 1. LITERATURNI PREGLED

### 1.1. Struktura proteina

Aminokiseline su osnovne građevne jedinice proteina i svi proteini u prirodi građeni su od dvadeset standardnih aminokiselina. Svaka aminokiselina ima središnji ugljikov atom na koji vezane tri glavne skupine: karboksilna skupina, amino skupina te tzv. bočni ogranak. Postojanje tri različita supstituenta na središnjem ugljikovom atomu čine aminokiseline kiralnim molekulama. Sve aminokiseline koje izgrađuju proteine u živom svijetu su lijeve kiralnosti (osim glicina koji za bočni ogranak ima samo atom vodika te on nije kiralan). Bočni ogranak određuje karakter same aminokiseline. Tako postoje aromatske, nearomatske, pozitivno nabijene, negativno nabijene, itd. Povezivanjem amino skupine jedne aminokiseline s karboksilnom skupinom druge nastaje peptidna veza te se dobivaju polipeptidi (čija dužina je do nekoliko desetaka aminokiselina) ili proteini (čiji polipeptidni lanci dosežu i nekoliko tisuća aminokiselina). Aminokiseline u proteinima se mogu, osim u glavnom polipeptidnom lancu, međusobno povezivati i svojim bočnim ograncima, u nekim posebnim slučajevima. Tako npr. aminokiseline cisteina mogu graditi takozvane disulfidne mostove, koji dodatno učvršćuju sam protein. Dodatno, aminokiseline mogu na sebe vezati druge manje ili veće molekule kao što su metali, ioni, šećeri i sl. kroz postranslacijske modifikacije. Ovakve promjene na proteinu mogu dovesti do različite stabilnosti ili do nastajanja novih strukturnih elemenata. Ukupno gledajući, struktura proteina se može klasificirati na četiri različite razine:<sup>1</sup>

- a) primarna struktura – određena je redoslijedom vezanja aminokiselina u polipeptidni lanac. Dakle slijed aminokiselina (tzv. sekvenca) u polipeptidnom lancu čini primarnu strukturu,
- b) sekundarna struktura – polipeptidni lanac se u proteinima organizira u neke osnovne nadstrukture uglavnom povezivanjem aminokiselina različitim nekovalentnim interakcijama. Tako nastaju elementi sekundarne strukture od kojih su najznačajnije  $\alpha$ -zavojnice,  $\beta$ -nabrane ploče i razne vrste petlji,
- c) tercijarna struktura – ona je zadana međusobnim prostornim rasporedom elemenata sekundarne strukture i određuje ukupno smatanje jednog polipeptidnog lanca proteina,

- d) kvaterna struktura – svaki protein može se sastojati od jednog ili više polipeptidnih lanaca. Ako se u proteinu nalazi više lanaca, takva organizacija naziva se kvaternom strukturom.

### 1.1.1. Kvaterna struktura proteina

Ukoliko se protein sastoji od više polipeptidnih lanaca (koji mogu imati istu ili različitu primarnu strukturu) govorimo o oligomernim proteinima. Oligomeri se vrlo često pojavljuju u živim organizmima, jer je oligomerizacija i stapanje različitih podjedinica moguće na različite načine, što omogućava regulaciju i modulaciju aktivnosti ili funkcije proteina. Stoga se proteini u prirodi mogu pojavljivati kao monomeri ili oligomeri.<sup>2</sup>

Za funkciju proteina bitna su sva četiri nivoa organizacije proteina, od primarne sekvence u kojoj je zapisan način smatanja proteina, pa sve do kvaterne strukture proteina koja može biti u vezi s alosteričkom regulacijom ili modulacijom djelovanja nekog proteina. Kako bi se pobliže opisao oligomerni protein potrebno je najprije utvrditi sastav samih podjedinica, zatim geometriju i simetriju cijelog kompleksa te interakcije aminokiselina, odnosno njihovih bočnih ogranaka, koje se nalaze na sučelju između podjedinica.<sup>3</sup> Jedan od prvih i najpoznatijih primjera oligomernih proteina je hemoglobin. Riječ je sfernom tetramernom proteinu koji se sastoji od dvije  $\alpha$  podjedinice i dvije  $\beta$  podjedinice. Zanimljiva je činjenica kako se ove podjedinice međusobno razlikuju u gotovo polovici aminokiselina u svojoj sekvenci, dok je trodimenzijska struktura gotovoidentična. Također istu sličnost, u sekvenci i trodimenzijskoj strukturi, ove podjedinice imaju i s mioglobinom (koji je monomerni protein). Važno je naglasiti kako u ovom primjeru proteina dolazi do sparivanja podjedinica međusobno, čime nastaje stabilan  $\alpha_1\beta_1$  dimer koji se zatim sparuje sa još jednim takvim dimerom tvoreći tako tetramer. Na kontaktu podjedinica dolazi do stvaranja raznih interakcija što omogućava stabiln tvorbu dimera, odnosno tetramera, a neke od tih interakcija su hidrofobne interakcije, vodikove veze te solni mostovi.<sup>4</sup>

## 1.2. Simetrija

Simetrija se može definirati kao harmonična i skladna proporcija i ravnoteža. Pojavljuje se u svemu što nas okružuje, od znanosti, poput matematike, kemije i biologije, do umjestosti, poput slikarstva, glazbe i književnosti. Fokusiramo li se na znanost, može se reći da je simetrija jedan od najmoćnijih koncepata te se njome mogu opisivati svi živi i neživi objekti.

Simetrija i kompleksnost su bit nelinearne znanosti kojima se mogu opisati širenje svemira, evoluciju života pa čak i globalizaciju ljudske ekonomije i društva.<sup>5</sup>

### 1.2.1. Simetrijski elementi

Kemija je jedno od znanstvenih polja u kojima je simetrija veoma važna, njome se objašnjavaju fundamentalna opažanja u kvantnoj kemiji, te se uvelike koristi u primjenjenim granama poput spektroskopije i kristalografije. Kod kristalografije ona je ključna u mnogim aspektima: od opisa simetrije kristala koje ona izučava pa do upotrebe simetrije u određivanju struktura molekula od kojih se kristali sastoje. Kristale možemo promatrati kao trodimenzijsko periodično ponavljanje nekog osnovnog motiva. Motiv koji se ponavlja je obično jedna ili više molekula u tzv. jediničnoj ćeliji. No i unutar jedinične ćelije možemo imati više djelova, tzv. asimetričnih jedinica, koje su povezane nekom operacijom simetrije. Operacije simetrije mogu se podijeliti na dvije velike skupine: na netranslacijske i translacijske operacije simetrije.<sup>6</sup> Elementi simetrije su skupovi točaka u prostoru koje neka operacija simetrije ostavlja invarijantnima.

Netranslacijske operacije simetrije su:

- a) inverzija – definira se još kao centar simetrije i označava se točkom ( $\circ$ ). Rezultat djelovanja ove operacije simetrije je izvrnuta slika početnog objekta.
- b) refleksija (zrcaljenje) – ova operacija simetrije zrcali objekt u nekoj ravnini. Zrcalna ravnina, kao pripadni element simetrije za operaciju zrcaljenja, označava se slovom **m**. Zrcaljenje u odnosu na neku zrcalnu ravninu, prebacuje objekt na suprotnu stranu i na jednaku udaljenost od same ravnine.
- c) rotacija – rotacija je operacija simetrije oko neke osi za neki kut. Kut bi mogao biti bilo koji da nije ograničen uvjetom periodičnosti kristalne rešetke. Tako da su rotacije koje su kompatibilne s uvjetom periodičnosti kristalne rešetke samo one koje su date formulom  $360^\circ/n$ , gdje je  $n$  samo 2, 3, 4 i 6. Takve rotacije označavamo jednostavno brojem  $n$ , a pripadene elemente simetrije nazivamo osima drugog, trećeg, četvrtog i šestog reda.
- d) rotoinverzija – je kombinacija rotacije i inverzije u točki koja se nalazi na osi rotacije. Rotoinverzije se označavaju potezom iznad oznake, npr.  $\bar{2}$ ,  $\bar{3}$ , itd.

Translacijskih operacija simetrije u kristalografiji ima samo dvije, a to su:

- a) vijčana os – kombinacija rotacije i translacije u smjeru osi translacije. Ove se osi opisuju sa dva broja gdje prvi broj označava vrijednost rotacije, a drugi (u indeksu) vrijednost translacije te se to može zapisati kao  $M_n$ . Rotacijski broj, kao i u gornjim primjerima može biti 2, 3, 4 i 6 te označava rotaciju u smjeru suprotnom od kazaljke na satu ( $360^\circ/M$ ), a translacijski broj mora uvijek biti manji od rotacijskog te označava koliko se objekt pomiče u smjeru prema gore ( $n/M$ ). Ako se kao primjer uzme rotacijska os trećeg reda, onda postoje dvije moguće vijčane osi  $3_1$  i  $3_2$ . Kod primjera  $3_1$  dolazi do rotacije za  $120^\circ$  te zatim do pomicanja za  $1/3$  u smjeru prema gore, potom se ovakva iteracija napravi još dva puta kako bi se izvršila ukupna rotacija za  $360^\circ$  i ukupna translacija za 1 dužinu osi jedinične ćelije. Kod primjera  $3_2$  dolazi također do rotacije za  $120^\circ$ , ali do translacije za  $2/3$ . Nakon tri ovakve iteracije ispunjava se cijela kružnica, a objekt se vraća u poziciju iz koje se i kreće.
- b) klizna ravnina – može se promatrati kao kombinacija dvaju operacija simetrije: translacija i refleksija. Klizne ravnine označavaju se slovom kristalografske osi duž koje se izvodi translacija:  $a$ ,  $b$ ,  $c$ , i nešto kompliciranije  $n$  (označava translaciju po dijagonali u  $ac$  ravnini jedinične ćelije) te  $d$  (označava translaciju duž prostorne dijagonale jedinične ćelije). Ako se objekt nalazi na kliznoj ravnini, najprije se translira za vrijednost pola duljine te ravnine te se reflektira u svoju zrcalnu sliku. Ponavljanjem ovog postupka dobiva se objekt jednak onom od kojeg se kreće, ali pomaknut za duljinu jedinične ćelije.

Kao što je već spomenuto u prvom odjeljku, proteini su makromolekule, odnosno polimeri koji su sastavljeni od dvadeset proteinogenih aminokiselina. Kod kiralnih molekula, primjenom simetrijskih operatora zrcaljenja i inverzije, dolazi do promjene konfiguracije iz D u L i obratno, a te dvije konfiguracije strukturno se ne mogu preklopiti. Iz navedenog se može zaključiti kako se kod proteinskih molekula ne smiju primjeniti simetrijski elementi centra inverzije i zrcalne ravnine (jer u prirodi ne postoje D aminokiseline). To znači da se u kristalnim strukturama proteina ne mogu pojavljivati prostorne grupe s tim operacijama simetrije, što smanjuje broj mogućih prostornih grupa sa 230 na samo 65 koje uključuju samo simetrijske operacije koje čuvaju kiralnost.

### 1.2.2. Strukturna karakterizacija proteina

Tri metode koje se najčešće koriste kod određivanja kristalne strukture proteina su rendgeska kristalografija, nuklearna magnetska rezonancija (NMR) te elektronska mikroskopija (EM). Strukture određene bilo kojom od tih metoda deponiraju se u jedinstvenu bazu podataka Protein Data Bank (PDB)<sup>7</sup> u kojoj je trenutno 189 735 struktura. Rendgenska kristalografija najzastupljenija je metoda te je od ukupnog broja deponiranih struktura čak 87% njih određeno upravo pomoću nje. NMR je druga po redu odabirana metoda te se u bazi podataka nalazi nešto više od 7% struktura koje su riješene ovom metodom. EM je metoda koja je u punom zamahu te se sve više razvija i koristi u sve više područja istraživanja pa tako i u određivanju struktura makromolekula. Ovom metodom riješeno je nešto manje od 6% ukupnog broja struktura.

### 1.3. Homomerni i heteromerni kompleksi

Kao što je u gornjim odjeljcima već spomenuto, trodimenzijskom organizacijom sekundarnih struktura proteini tvore tercijarnu strukturu te se time definira monomer nekog proteina. Dakle, monomer čini slijed aminokiselinska koje su međusobno, kovalentno, povezane u jedan lanac preko okosnice. Monomerni proteini mogu daljnjom organizacijom tvoriti kvaternu strukturu čime se radi bitna razlika između proteina koji tvore kvaternu strukturu i onih koji ne tvore, odnosno između monomernih proteina i kompleksnih proteina. Kvaterna struktura se u proteinskim kompleksima definira na način kako se njene podjedinice organiziraju jedna u odnosu na drugu. Ako te podjedinice imaju istu primarnu sekvencu radi se o homomernim proteinima, a ako su im sekvence različite, radi se o heteromernim proteinima.<sup>8</sup> Jedan primjer homomernog proteina, odnosno homoheksamera, je purinska nukleozidna fosforilaza, što bi značilo da ovaj enzim ima šest istih podjedinica koje tvore stabilan heksamer. Apo forma znači da protein u svojoj strukturi nema niti jedan ligand. Dakle, u apo formi ovog proteina očuvana je simetrija trećeg reda (trimer dimera), no ako se u nekom od aktivnih mjesta nađe jedan od dva moguća supstrata dolazi do narušavanja te simetrije.<sup>9</sup> Najpoznatiji primjer heteromernog proteina je, kao što je već navedeno, hemoglobin, koji čini  $\alpha_2\beta_2$  tetramer te se sastoji od dva para različitih monomernih podjedinica.<sup>4</sup>

Molekulski kompleksi sve su više od interesa znanstvenicima u području strukturne biologije. Razvoj tehnologije, a posebice infrastrukture za određivanje struktura velikih



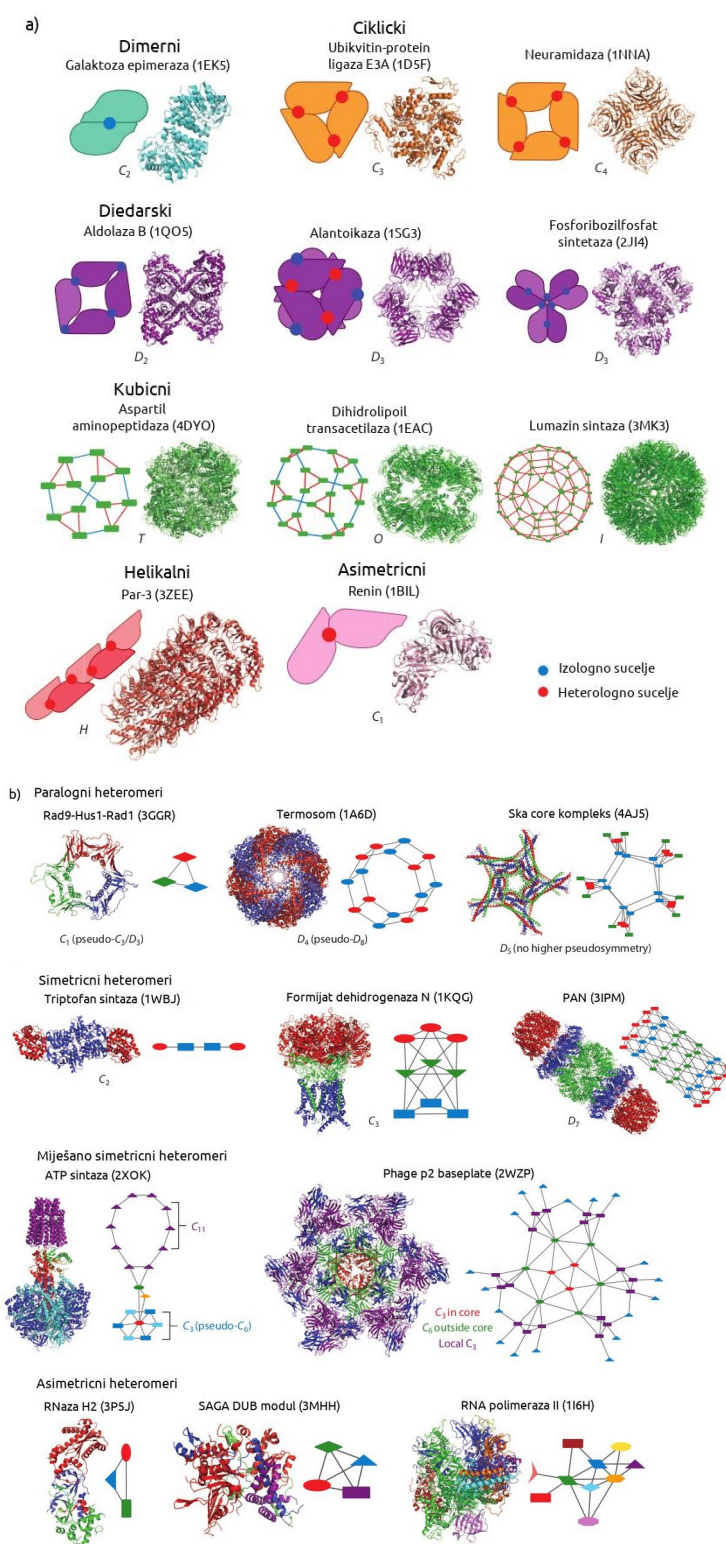
proteinskih kompleksa tome uvelike pomaže. Jedna od najbitnijih komponenata koja se proučavaju u opisanim kompleksima jesu protein-protein interakcije. One su te koje su zaslužne za regulaciju staničnih aktivnosti poput staničnih ciklusa, translacije, transkripcije, itd. Precizan opis interakcija između proteina te njihove kvaterne strukture od velike je važnosti kako bi se dobio detaljan opis funkcionalnosti nekog proteina.<sup>10</sup>

Svi proteini mogu se podijeliti u tri skupine: monomerni, homomerni i heteromerni proteini. Monomerni proteini ne tvore kvaternu strukturu čime se fokus prebacuje na homomerne i heteromerne proteine. Kod heteromernih proteina dolazi do udruživanja dva ili više različitih proteinskih lanaca zbog čega se teže postiže simetrija između podjedinica, dok se kod homomernih proteina udružuju identični lanci i između podjedinica se češće javlja simetrija. Kompleksi koje tvore ili homomerni ili heteromerni proteini mogu se klasificirati prema tome kakva im se simetrija javlja u strukturi što se može vidjeti na slici 1a za homomerne proteine i na slici 1b za heteromerne proteine. Također, detaljniji popis klasifikacije grupa simetrija koje se javljaju kod homomernih proteina može se razvrstati u šest kategorija:<sup>8</sup>

- a) dvostruki dimerni kompleksi koji sadrže simetrijsku grupu  $C_2$ . U ovakvim je kompleksima par podjedinica međusobno povezan rotacijskom osi drugog reda, tzv. digirom. Zbog digire između podjedinica interakcija između njih je također simetrična te uključuje iste dijelove monomera. Takvo se međusobno sparivanje naziva glava-glava pozivanje (eng. *head-to-head interface*),
- b) ciklički kompleksi pripadaju simetrijskoj grupi  $C_{n(n>2)}$  te njih karakterizira rotacijska simetrija višeg reda kao npr. trigira ili tetragira. Na sučelju podjedinica, u ovakvim kompleksima, interakcije su asimetrične budući da se podjedinice povezuju kružno što bi se također moglo nazvati glava-rep povezivanje (eng. *head-to-tail interface*). Dvostruki dimerni kompleks iz grupe a) bi se također mogao smatrati cikličkim kompleksom, no podjedinice kompleksa ne tvore zatvoreni prsten pa se ta grupa izdvaja kao posebna kategorija,
- c) diedarski kompleksi pripadaju simetrijskoj grupi  $D_{n(n>1)}$  te ih se karakterizira dvjema simetrijskim osima koje su međusobno okomite. Jedna od rotacijskih osi je digira, dok druga također može biti digira ili neka os višeg reda. Npr. kompleks  $D_2$  se može smatrati dimerom dimera dok se  $D_3$  može smatrati trimerom dimera ili dimerom trimera,

- d) kubični komplekski mogu pripadati više simetrijskih grupa; tetraedarskoj ( $T$ ), oktaedarskoj ( $O$ ) ili ikozaedarskoj ( $I$ ). Tetraedarski kompleksi imaju 12 podjedinica koje su međusobno povezane digirama i trigirama. Oktaedarski kompleksi imaju 24 podjedinice povezane digirama, trigirama i tetragirama. Ikozaedarski kompleksi imaju 60 podjedinica koje povezuju digire, trigire i pentagire,
- e) helikalni kompleksi imaju vijčanu simetriju ( $H$ ), odnosno kombinaciju rotacije i translacije. Kompleksi u kategorijama od a) do d) pripadaju zatvorenim simetrijskim grupama, a helikalni kompleksi pripadaju otvorenim što bi značilo da se, teoretski, podjedinice mogu beskonačno povezivati. U praksi broj podjedinica u kompleksu ovisi o puno čimbenika kao što su npr. steričke smetnje, koncentracija podjedinica ili kinetika vezanja i otpuštanja,
- f) asimetrični homomeri predstavljeni su simetrijskom grupom  $C_1$  te se podjedinice mogu organizirati na različite načine. No, prema definiciji, u svakom ovakavom asimetričnom kompleksu različite (monomerne) podjedinice postoje u neekvivalentnim pozicijama.

Heteromerni proteini klasificiraju se u četiri grupe. Prva i najjednostavnija od njih su paralogni heteromeri. U ovu grupu heteromera spadaju različiti proteini kod kojih se javlja ili globalna simetrija ili pseudosimetrija. Globalna simetrija je obično slična onoj koja se javlja kod simetričnih homomera, a pseudosimetrija znači da se simetrija javlja samo u nekim dijelovima kompleksa ili pak u samoj podjedinici. Druga grupa heteromernih proteina su simetrični heteromeri kod kojih se javlja prava globalna simetrija u cijelom proteinskom kompleksu. Treća skupina su miješano simetrični heteromeri kod kojih se različite simetrije javljaju u različitim dijelovima kompleksa. Zadnja grupa heteromernih proteina su asimetrični kompleksi kod kojih se ne javlja nikakva simetrija ni pseudosimetrija.



Slika 1. a) Raznolikost kvaternih struktura kod homomera te primjeri za svaku klasu, i b) raznolikost kvaternih struktura kod heteromera te primjeri za svaku klasu (preuzeto i prilagođeno iz reference 8).

## § 2. LITERATURNI IZVORI

- 1 D. L. Nelson i M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, Fourth edition, W. H. Freeman and Company, USA (2005), str. 589, 902–910.
- 2 J. M. Berg, J. L. Tymoczko i L. Stryer, *Biochemistry*, Fifth edition, W. H. Freeman and Company, USA (2002), str. 114–115.
- 3 J. Janin, R. P. Bahadur i P. Chakrabarti, *Q. Rev. Biophys.* **41** 2 (2008) 133–180.
- 4 M. H. Ahmed, M. S. Ghatge i M. K. Safo, *Hemoglobin: Structure, Function and Allostery* u U. Hoeger i J. R. Harris (ur.) *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins*, Springer, Švicarska (2020) str. 345–387.
- 5 B. Kojić-Prodić i Z. Štefanić, *Symmetry* **2** 2 (2010) 884–906.
- 6 L.-L. Ooi, *Principles of X-ray crystallography*, Oxford University Press, UK, 2010, str. 36–43.
- 7 H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, P. E. Bourne, *Nucleic Acids Res.* **28** (2000) 235-242.
- 8 J. A. Marsh i S. A. Teichmann, *Annu. Rev. Biochem.* **84** (2015) 551–575.
- 9 M. Narczyk, B. Bertoša, L. Papa, V. Vuković, I. Leščić Ašler, B. Wielgus-Kutrowska, A. Bzowska, M. Luić i Z. Štefanić, *FEBS J.* **285**(7) (2018) 1305–1325.
- 10 M. Bertoni, F. Kiefer, M. Biasini, L. Bordoli i T. Schwede, *Sci. Rep.* **7** (2017) 10480–10495.