

AKTIVNOST PROTEINA

HEMOGLOBIN

# Aktivnost proteina: protein-ligand (P-L) interakcije

## Primeri

**Komplementarnost površina** *vezivnog mesta na molekulu proteinu i liganda kao osnova za specifično prepoznavanje i vezivanja P i L*

Konstanta vezivanja i energija vezivanja P i L

## Hemoglobin (Hb)

Primer proteina sa kvaternarnom strukturom

**Model alosternog proteina (kooperativno vezivanje liganda)**

# Aktivnost proteina se zasniva na njihovoj interakciji sa ligandima

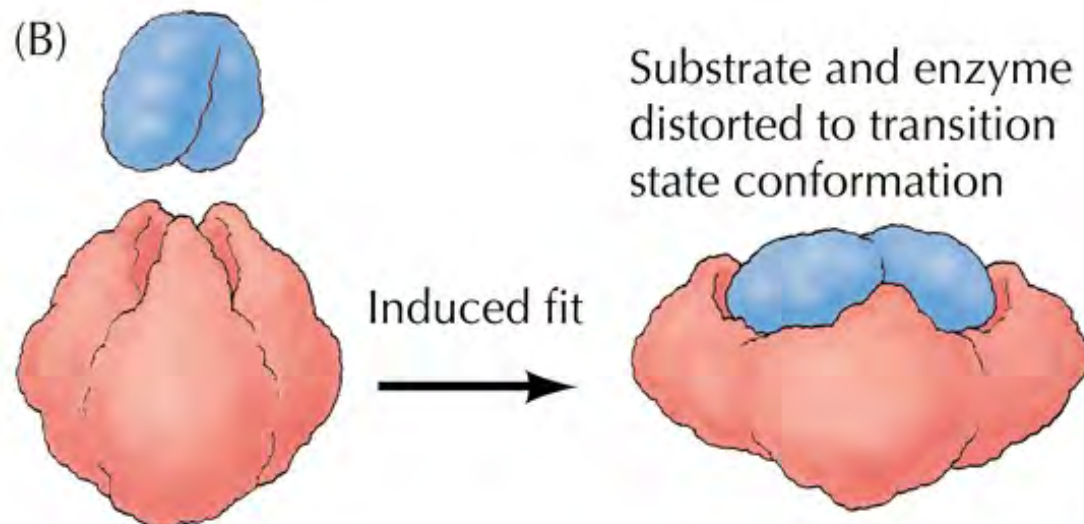
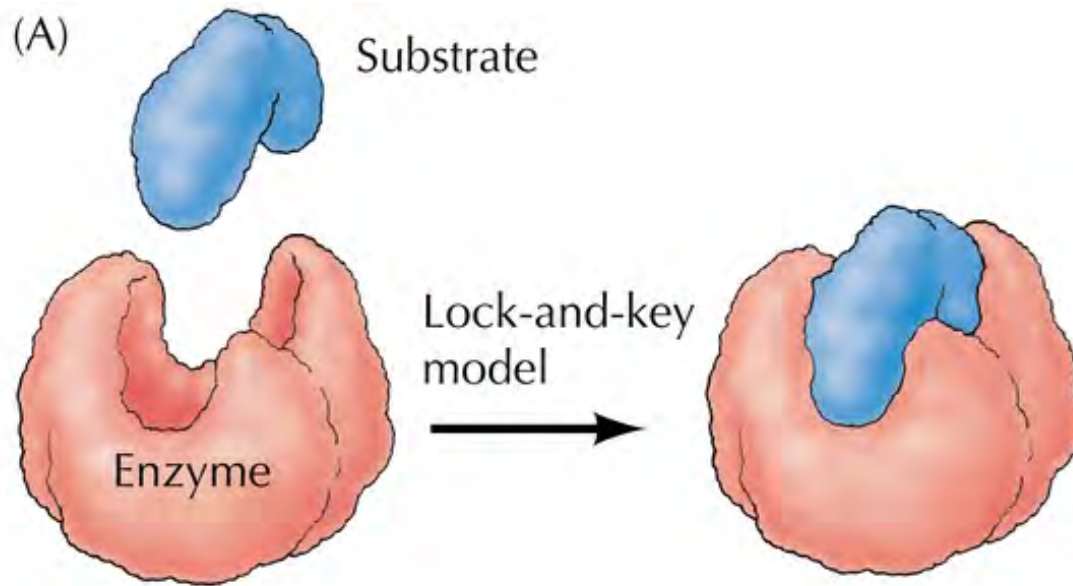
- Zajednička osobina biološki aktivnih proteina je da **specifično** interaguju sa malim brojem od prisutnih molekula u biološkim sistemima - ligandima (L) dajući **protein-ligand (PL) kompleks**.
- Ligandi:
  - mali molekuli
  - proteini

# Primeri za ligande-male molekule:

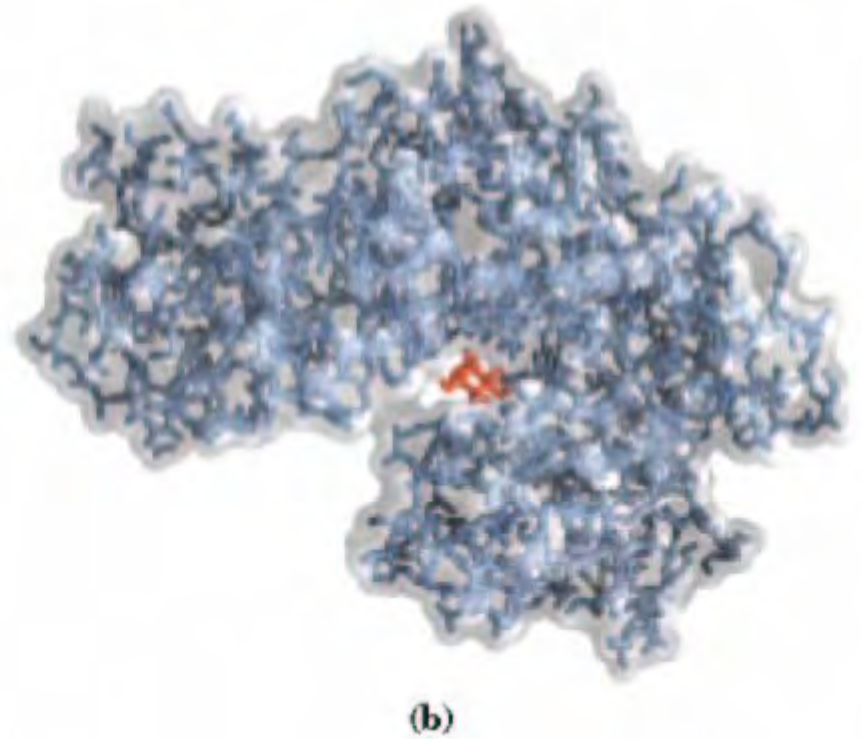
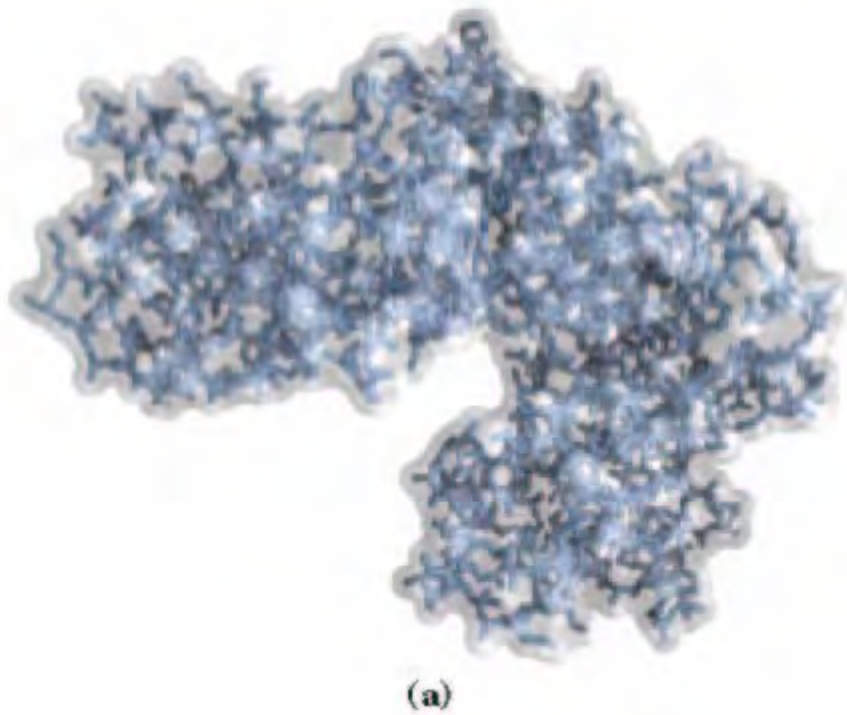
Tabela 1.2: Primeri proteina.

| NAZIV PROTEINA                                                   | AKTIVNOST / FUNKCIJA / NALAZENJE                                                                                         |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Enzimi                                                           | kataliza svih reakcija u zivim sistemima                                                                                 |
| Transportni proteini<br>hemoglobin<br>mioglobin<br>serum albumin | transport kiseonika i ugljendioksida<br>transport kiseonika u misicima<br>transport masnih kiselina, steroida, lekova... |
| Kontraktilni proteini<br>miozin<br>aktin                         | pokretljivost misica                                                                                                     |
| Zastitni proteini<br>imunoglobulini<br>fibrinogen<br>trombin     | stvaraju kompleks sa stranim telom<br>prekursor fibrina pri zgrusavanju krvi<br>komponenta u zgrusavanju krvi            |
| Hormoni<br>insulin<br>hormoni rasta                              | regulise metabolizam glukoze<br>stimulisu rast                                                                           |
| Rezervni proteini<br>ovalbumin<br>kazein<br>gliadin              | rezerva aminokiselina za mladu jedinku<br>Jaje<br>Mleko<br>Psenica                                                       |
| Strukturni proteini<br>$\alpha$ -keratin<br>fibroin<br>kolagen   | kosa, koza, krzno, nokti<br>svila, paukova mreza<br>vezivno tkivo                                                        |

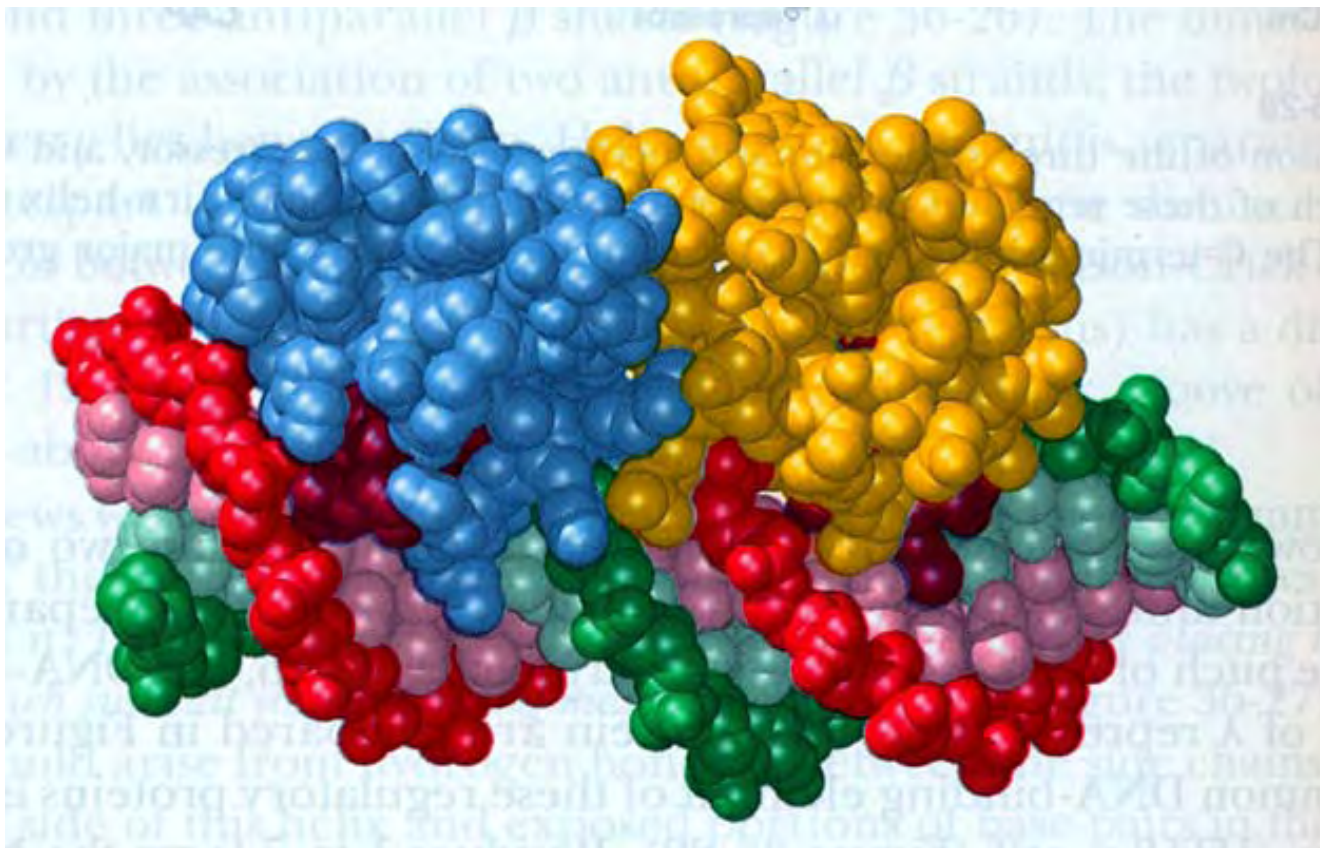
Specifično prepoznavanje proteina i liganda:  
komplementarnost površina molekula liganda i vezivnih mesta na proteinu



# Primer za indukovano slaganje: heksokinaza

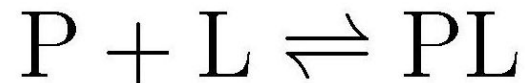


# Interakcija proteina i nukleinskih kiselina



# Konstanta vezivanja P i L

Protein i ligand se vezuju do uspostavljanja ravnoteže



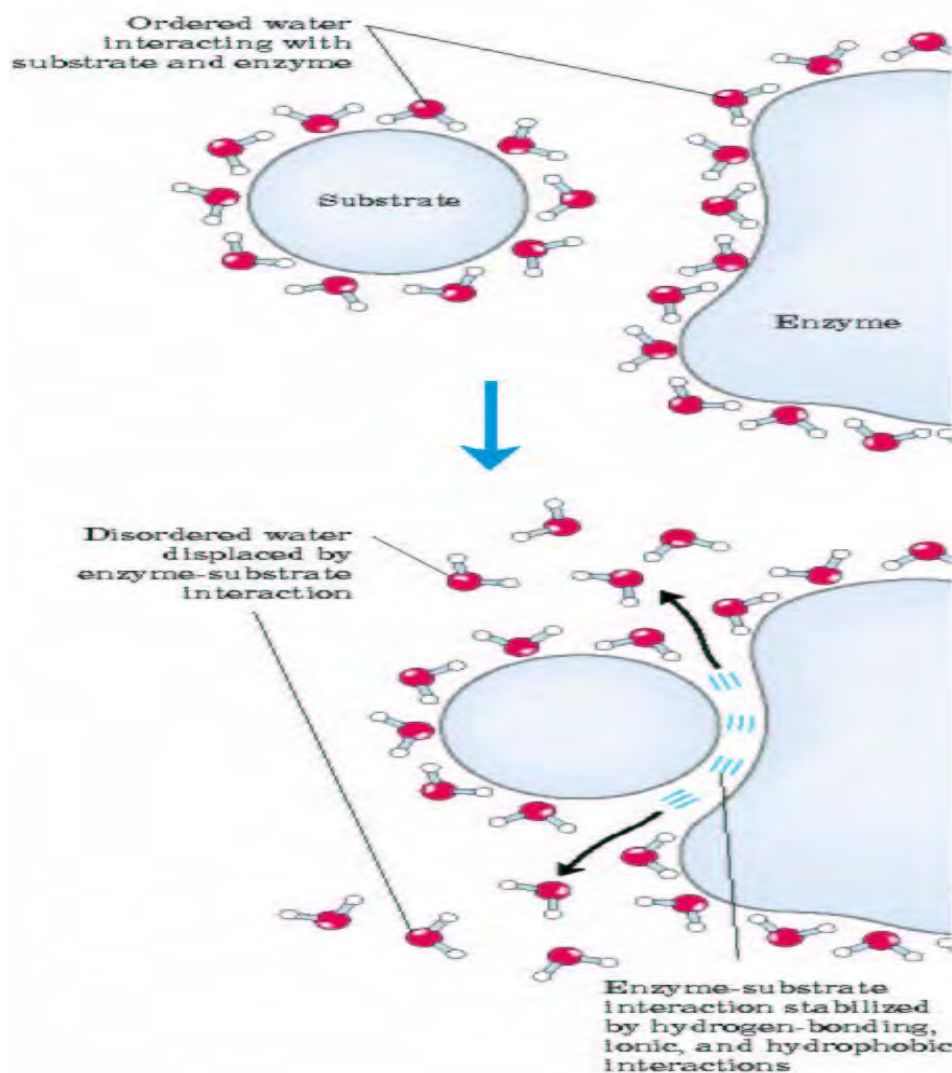
$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]} \quad K_d = \frac{[P][L]}{[PL]}$$

$K_a$  = Konstanta asocijacije

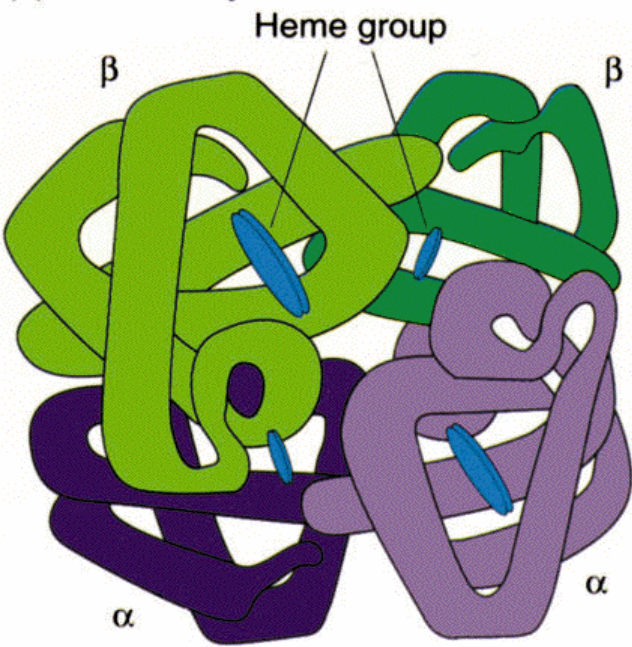
# Konstanta vezivanja i energija vezivanja

$$\Delta G = -RT \ln K_a = \Delta H - T \Delta S$$

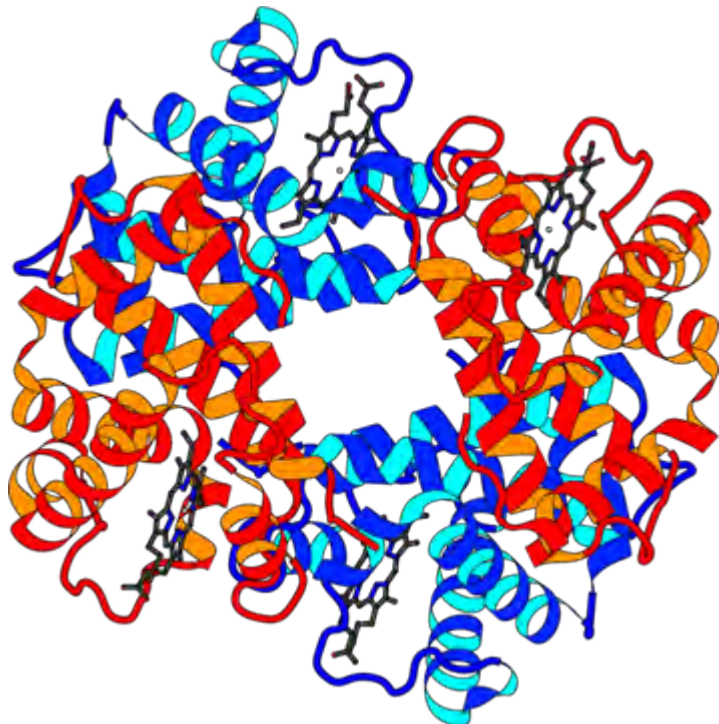
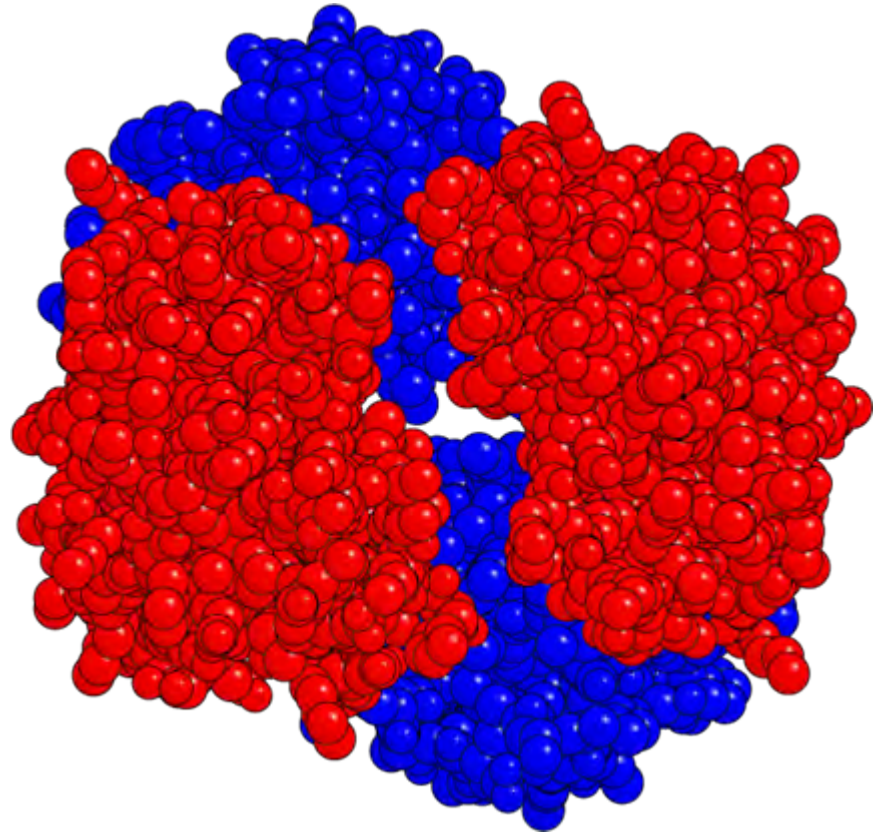
Komplementarnost površina i stabilnost PL kompleksa:  
međumolekulske sile i hidrofobni efekat stabilizuju PL kompleks



(d) Quarternary structure

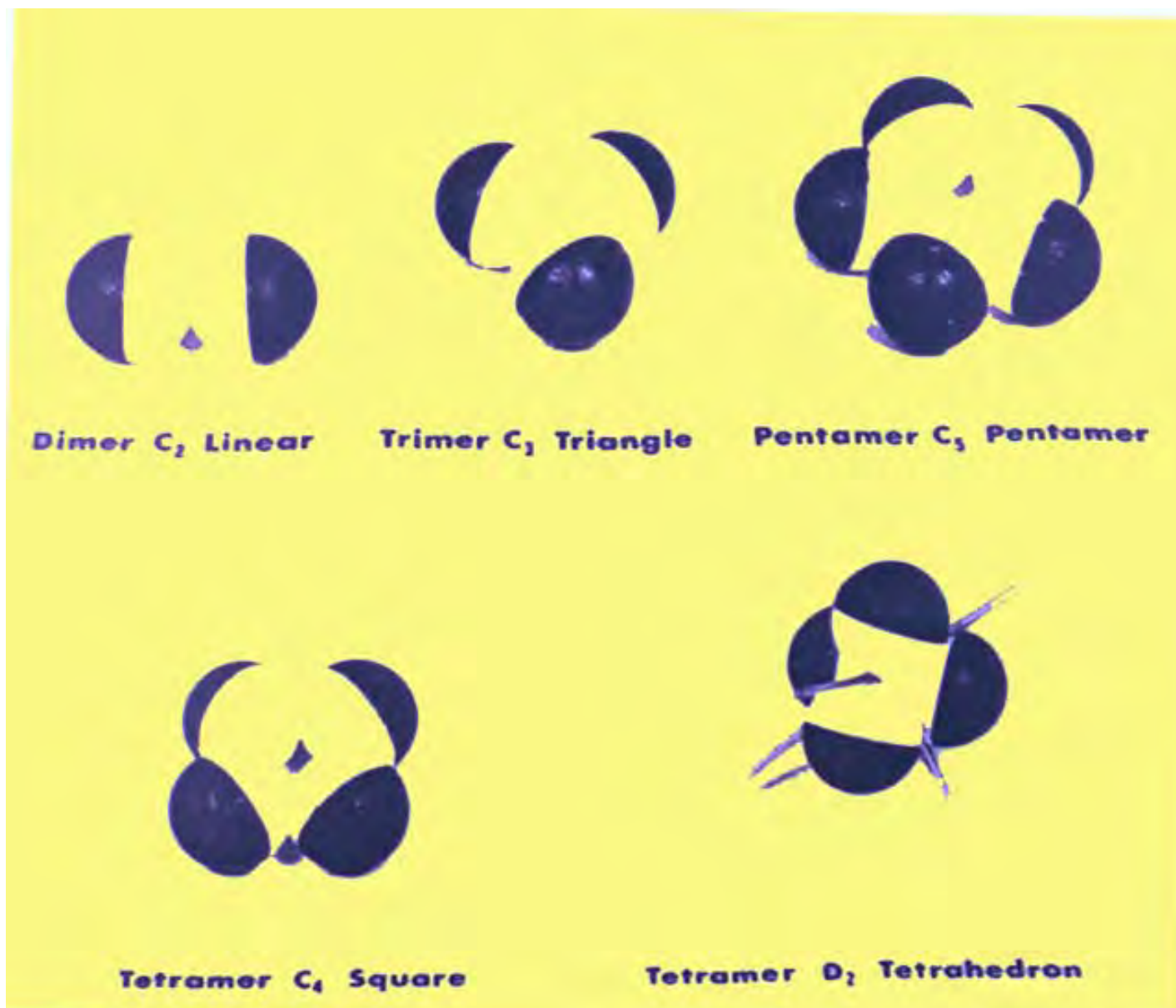


## Hemoglobin: primer proteina sa kvaternernom strukturom



Komplementarnost  
dodirnih površina subjedinica!!!

# Stehiometrija i geometrija subjedinica



# Aktivnost proteina sa kvaternernom strukturom

**Nezavisni centri:** vezivanje liganda za vezivno mesto (centar) na jednoj subjedinici ne utiče na vezivanje liganda na drugim subjedinicama (konstante vezivanja/disocijacije za centar su iste).

**Zavisni centri (alosterni proteini; kooperativno vezivanje liganada):** vezivanje liganda za centar na jednoj subjedinici utiče na vezivanje liganda za centre na drugim subjedinicama (konstante vezivanja/disocijacije se povećavaju ili smanjuju!!).

# Jednačina vezivanja proteina i liganda

$$\nu = \frac{\text{Ukupna koncentracija L vezanog za P}}{\text{Ukupna koncentracija proteina}}$$

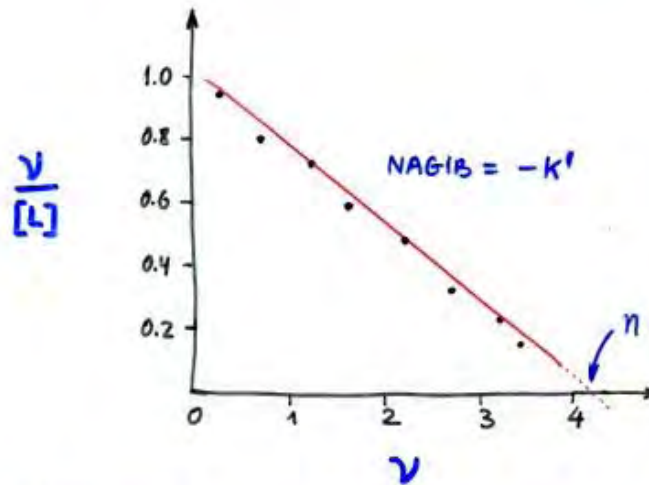
$\nu$  = stepen zasićenja

$$K_d = \frac{[P][L]}{[PL]} \qquad \nu = \frac{[L]}{K_d + [L]}$$

**$K_d$**  - konstanta disocijacije  
PL kompleksa

$v$ : stepen zasićenja  
 $n$ : broj mesta vezivanja  
 $k'$ : konstanta disocijacije za  
 jedan centar

$$v = \frac{n \cdot K' [L]}{1 + K' [L]} \quad / : [L] \Rightarrow \quad \underline{\underline{\frac{v}{[L]}}} = \underline{\underline{nK' - vK'}}$$

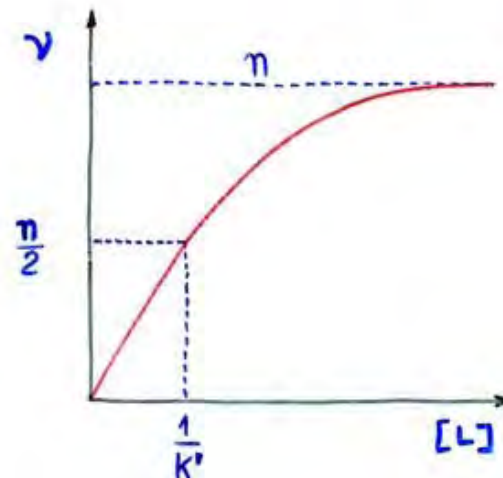


... A  $\frac{1}{L}$  i  $\frac{1}{v}$ ?  
 DIJAGRAM (PLOT<sup>n</sup>)

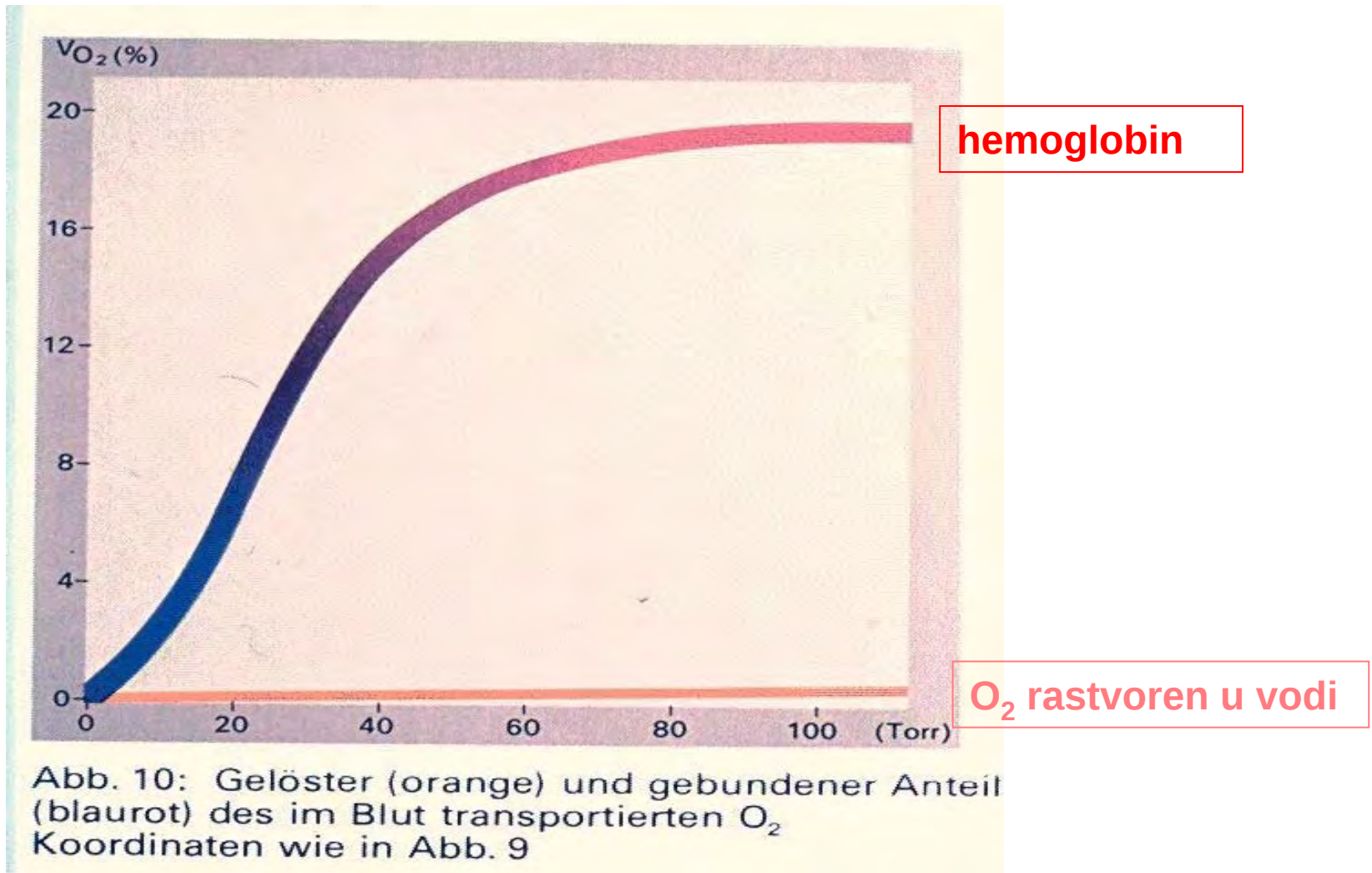
$n=1$  proteini sa tercijernom  
 strukturom

SCATCHARD-OV DIJAGRAM ZA LAKTAT-DEHIDROGENAZU/NADH

$n > 1$  (2, 3, 4....)  
 proteini sa  
 kvaternernom strukturom:  
 nezavisni centri

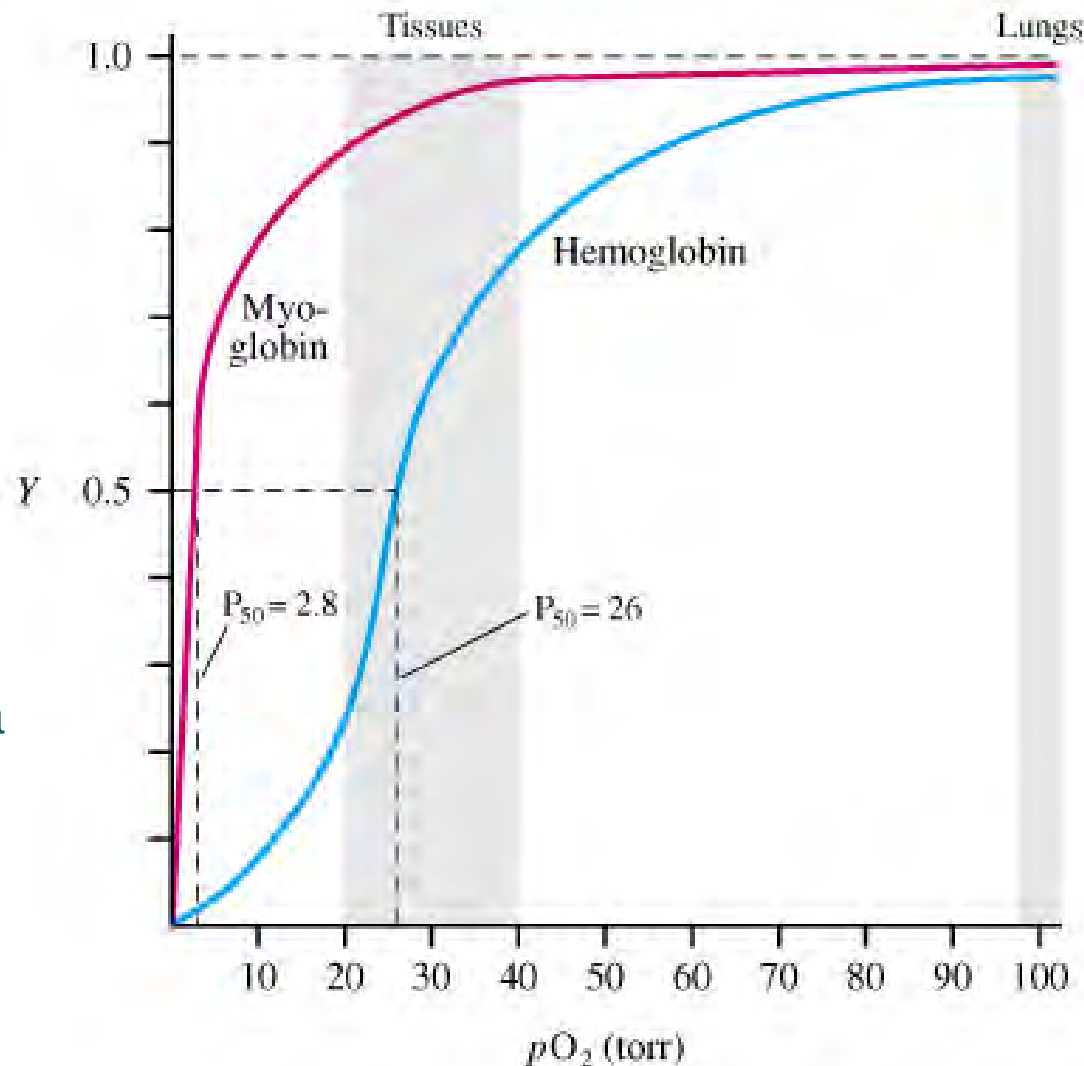


# Kriva vezivanja $O_2$ za hemoglobin



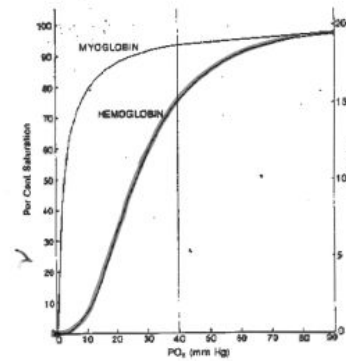
# Krive vezivanja $O_2$ za mioglobin i hemoglobin: sličnosti i razlike i značaj za njihovu funkciju

- **Mioglobin:**
  - Veći afinitet za  $O_2$
  - Kriva vezivanja je **hiperbola**  $O_2:Mb$  1:1
  - Mb vezuje  $O_2$  u tkivima
- **Hemoglobin:**
  - Manji afinitet za  $O_2$
  - **Sigmoidna** kriva
  - $O_2:Hb$  4:1
  - Hb vezuje  $O_2$  u plućima, a oslobađa ga u tkivima
  - Hb je idealno podešen za funkciju koju obavlja!!!!

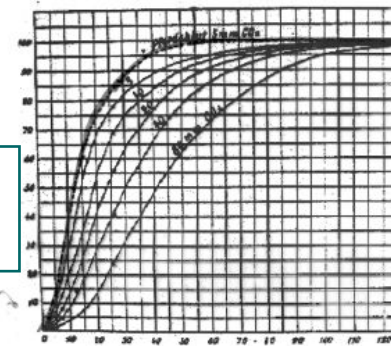


# Vezivanje O<sub>2</sub> za hemoglobin: prelomna istraživanja

1904



Efekat CO<sub>2</sub>  
na vezivanje O<sub>2</sub> za Hb



1910

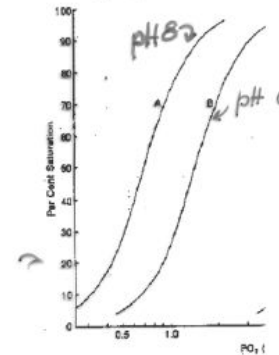


$$K = \frac{[\text{Hb}][\text{O}_2]^n}{[\text{Hb}(\text{O}_2)_n]}$$

$$y = \frac{[\text{O}_2]^n}{K + [\text{O}_2]^n}$$

→ % ZASIĆENJA Hb sa O<sub>2</sub>

Efekat pH na vezivanje  
O<sub>2</sub> za Hb (Bohrov efekat)

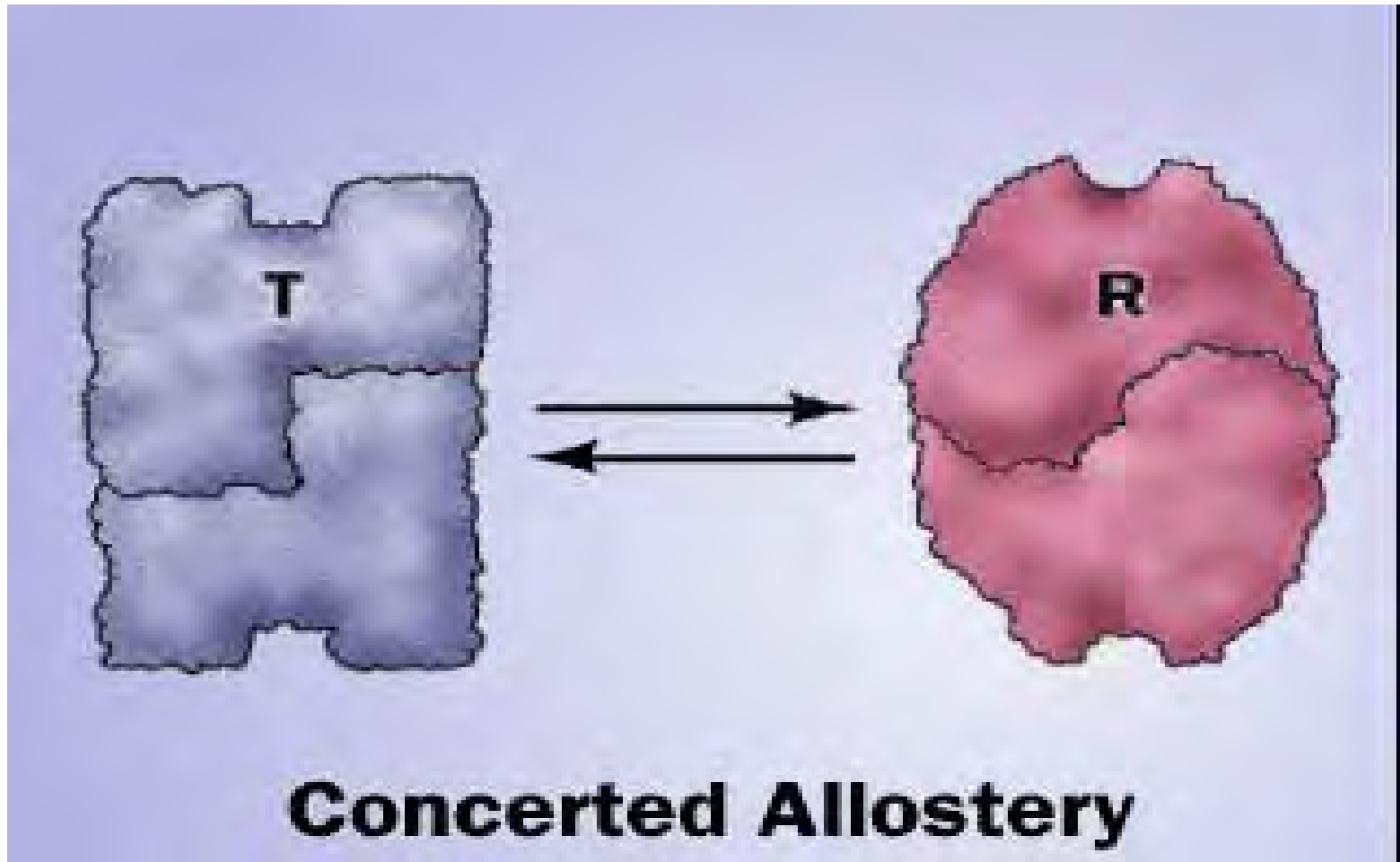


A.Hill: kooperativno  
vezivanje O<sub>2</sub> za Hb!!!

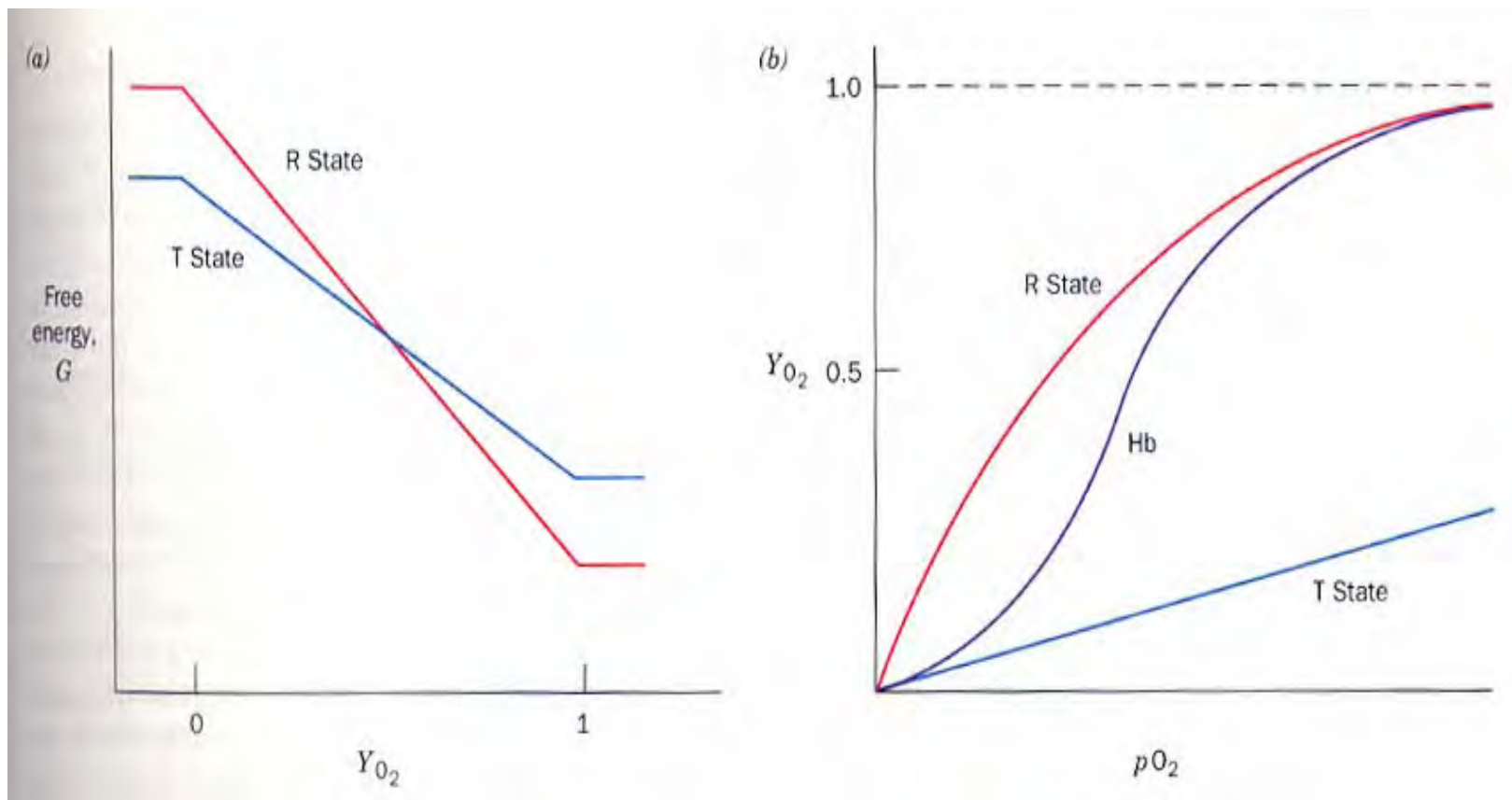
# Kako objasniti kooperativnost?

## Simetrični MWC model

(Monod, Wyman i Changeux)



# R i T stanje Hb u funkciji koncentracije $O_2$



$K_1 = 8,8$  tora  $K_2 = 6.1$  tora  $K_3 = 0.85$  tora  $K_4 = 0.25$  tora

Eksperimentalno određene konstante disocijacije za  $Hb(O_2)_4$



MAX PERUTZ

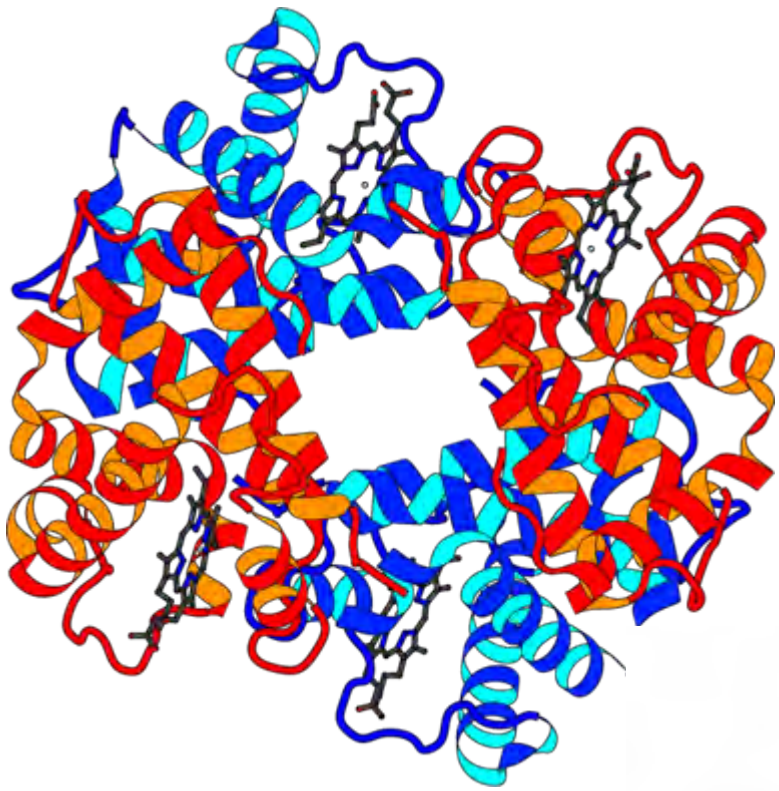
- 1936 ZAPOČEO DOKTORAT .....KRISTALNA STRUKTURA HEMOGLOBINA
- 1959 KRISTALNA STRUKTURA MET-HEMOGLOBINA
- 1962 NOBELOVA NAGRADA
- 1962 KRISTALNA STRUKTURA DEZOKSI-HEMOGLOBINA



"Making a discovery is such a wonderful thing. It is like falling in love and getting to the top of the mountain all in one. When you get to the top after a hard climb, a view of a new landscape opens before you."

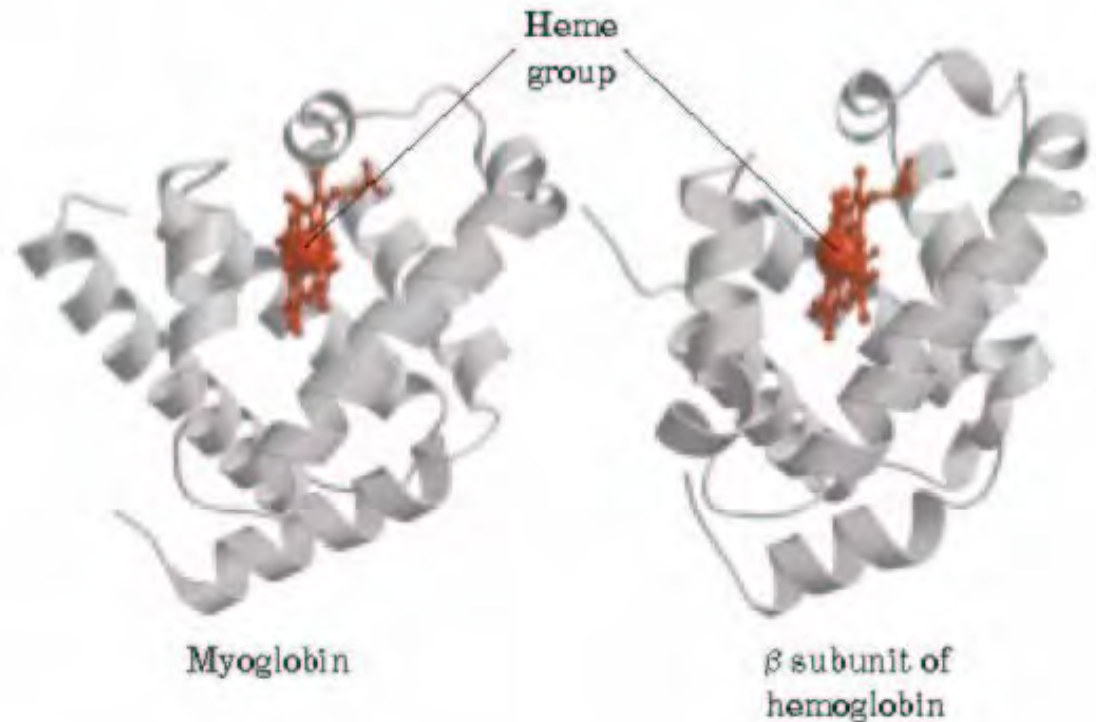
## Molekulski mehanizam kooperativnosti hemoglobina

Alan Fersht (2004):  
"Max sought the truth in science and what was right and worthwhile in life".

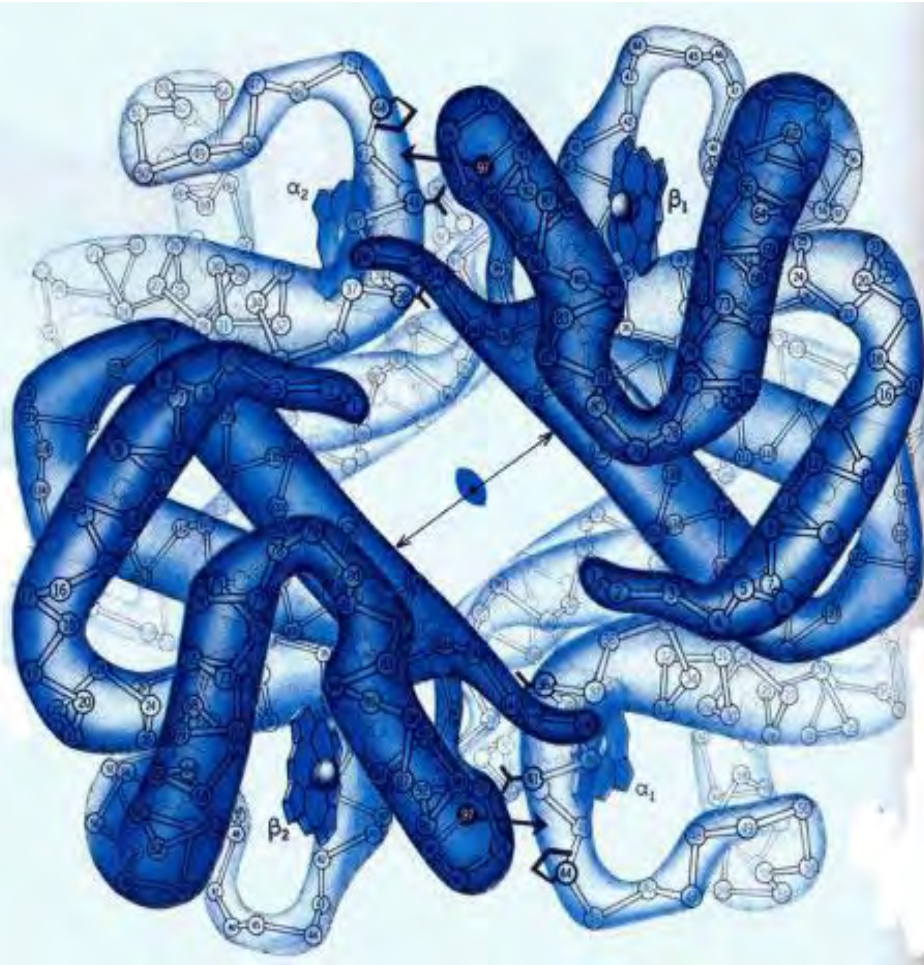


## Molekulski mehanizam kooperativnosti hemoglobina

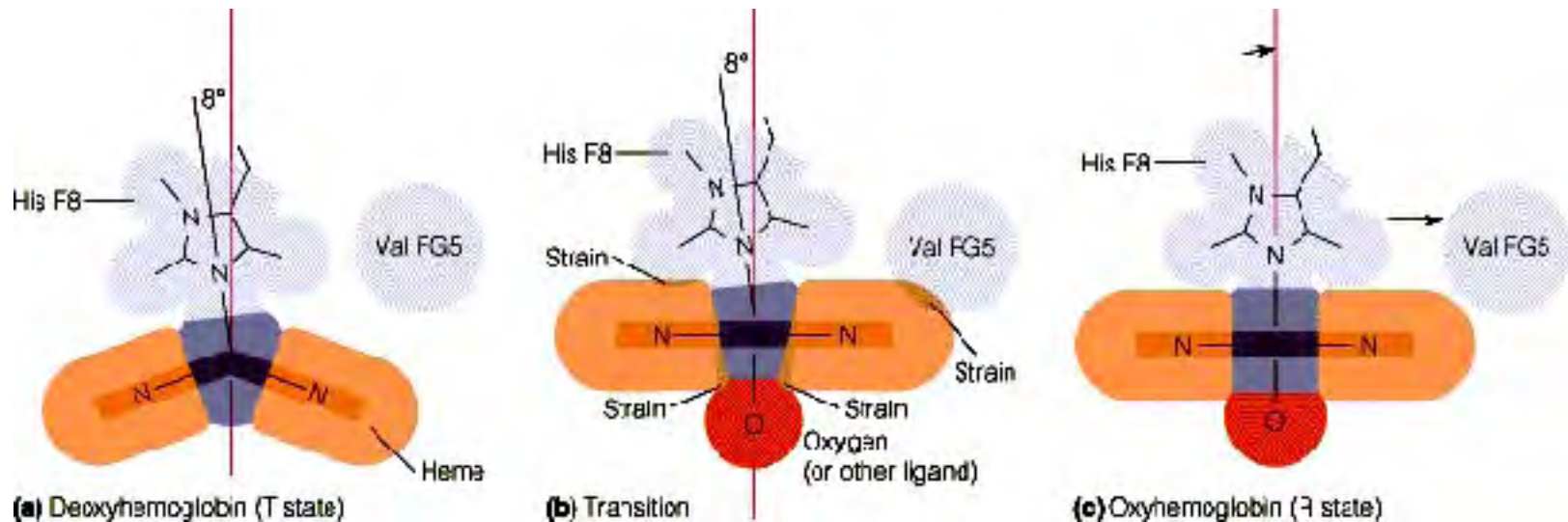
Struktura mioglobina i subjedinica Hb su vrlo slične!!!  
Zaključak?



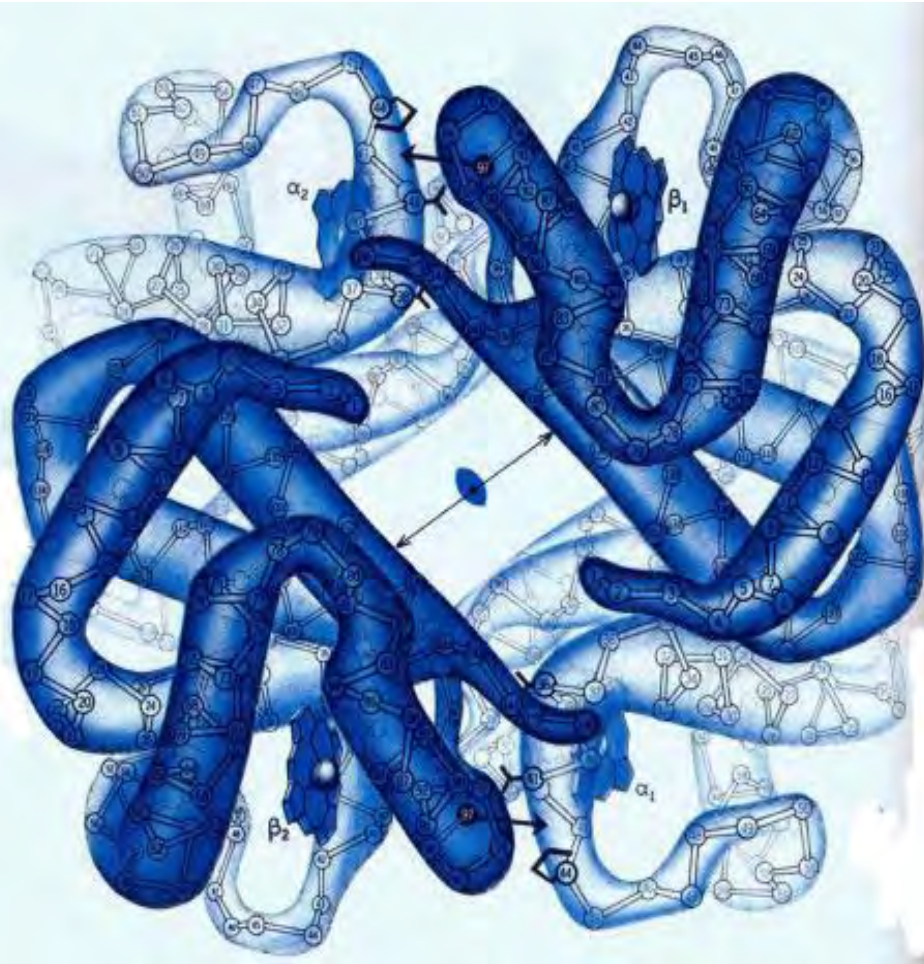
# Struktura dezoksi (T) i **oksi (R)**-hemoglobina



# Mehanizam okidača za prelaz T u R: vezivanje $O_2$ za hem



# Struktura dezoksi (T) i **oksi (R)**-hemoglobina



# Komunikacija **Hb** sa okolinom: bis fosfoglicerat (BPG)

