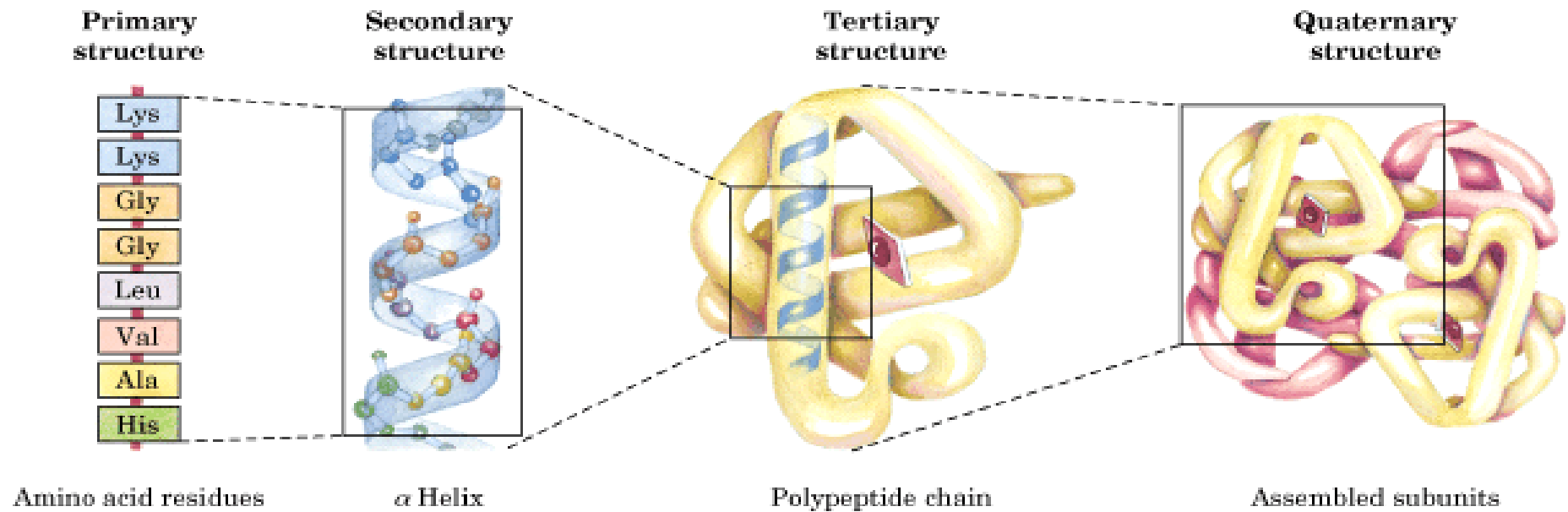


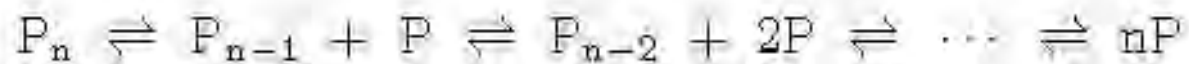
Kvaternarna struktura proteina



Šta je kvaternarna struktura?

Veliki proteini (npr globularni proteini mase veće od 100 kD) često se javljaju u obliku agregata u kojima su subjedinice asosovane na geometrijski određen način.

Asocijacija subjedinica u oligomer je ravnotežni proces koji se karakteriše konstantom asocijacije (ili disocijacije). Disocijacija može da se vrši po mehanizmu *"sve ili ništa"* ili postepeno:



Zašto kvaternarna struktura?

- Kompleksna funkcija - kompleksna struktura!
- Nastajanje strukture određene geometrije!
- Osmotski pritisak!
- Stabilnost tercijarne strukture proteina!
- Regulacija aktivnosti!!!
- Komunikacija proteina sa okolinom!!!!

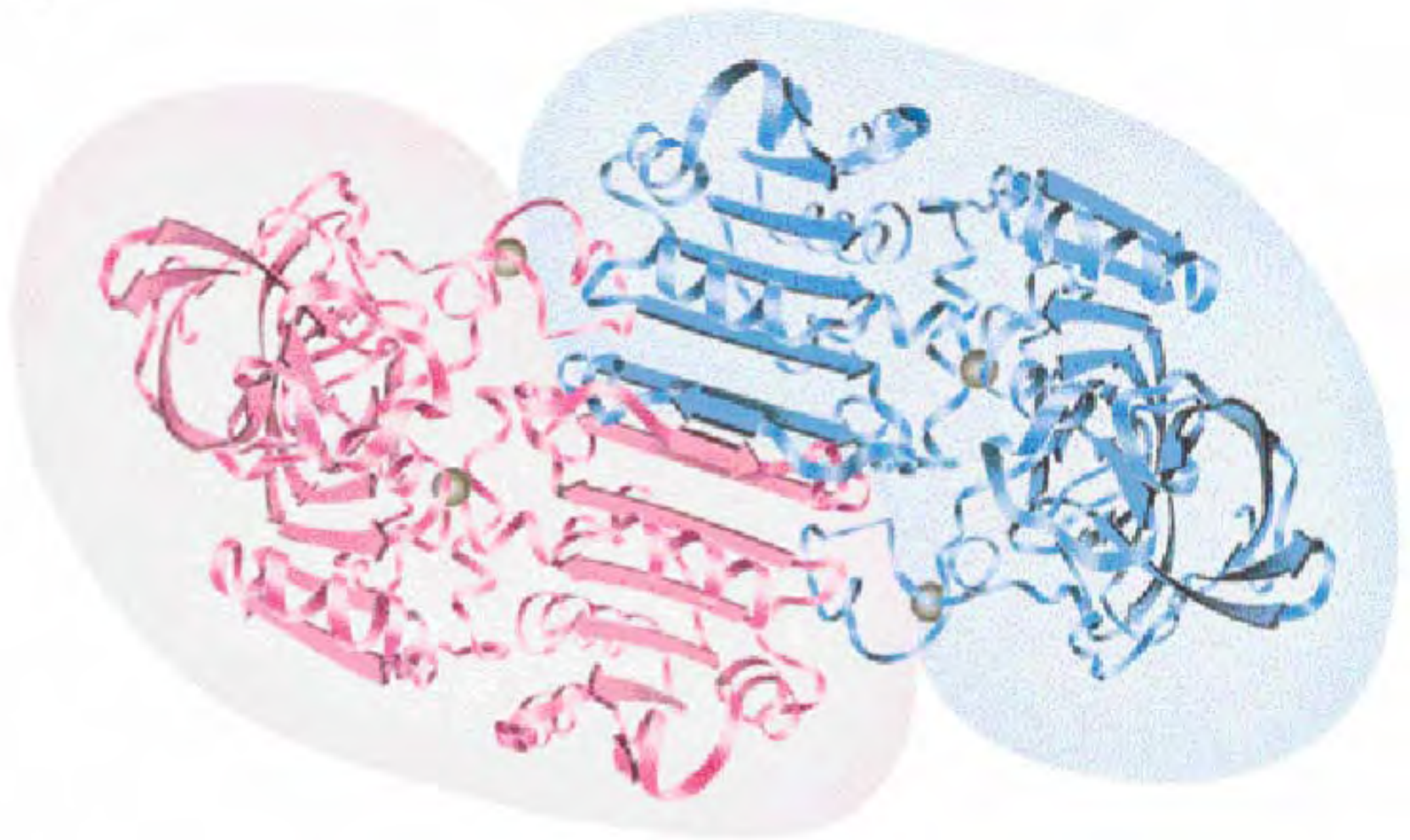
Opisivanje kvaternarne strukture:

Stehiometrija: tip i broj subjedinica

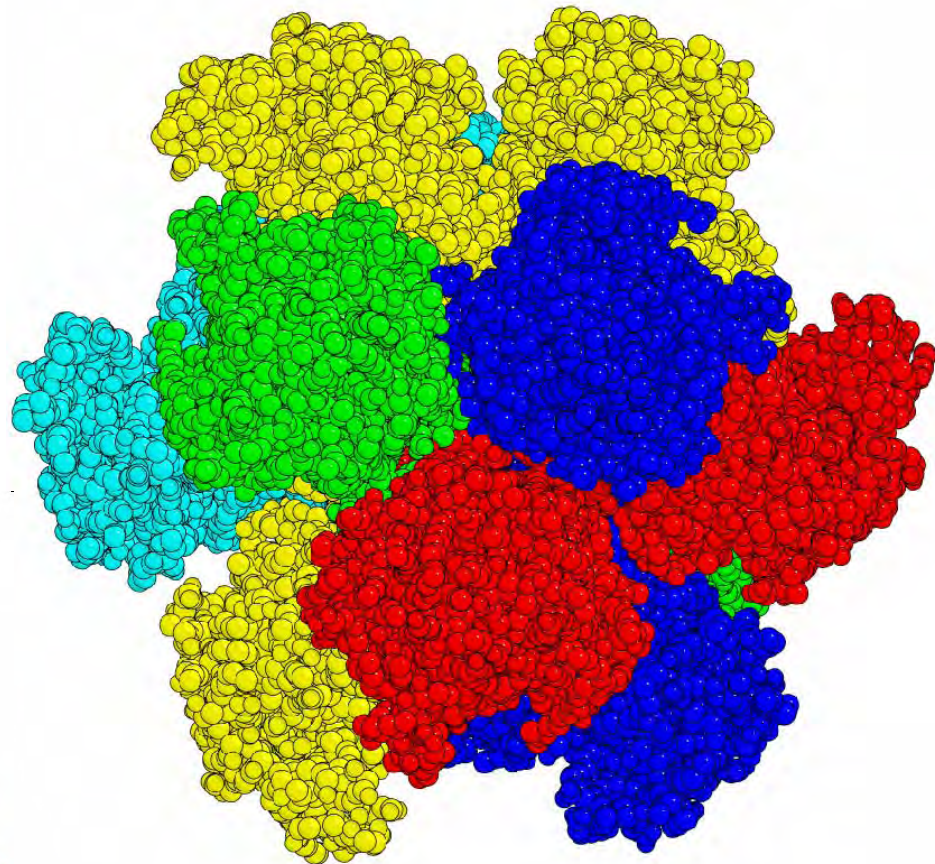
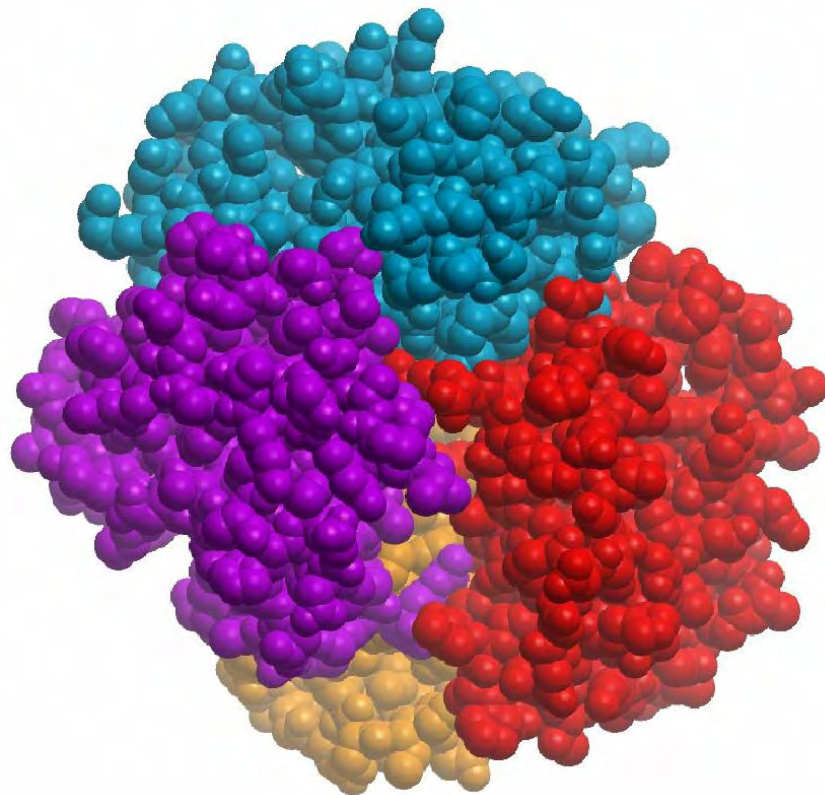
Geometrija: geometrijski raspored (tip simetrije)

Stabilnost kvaternarne strukture

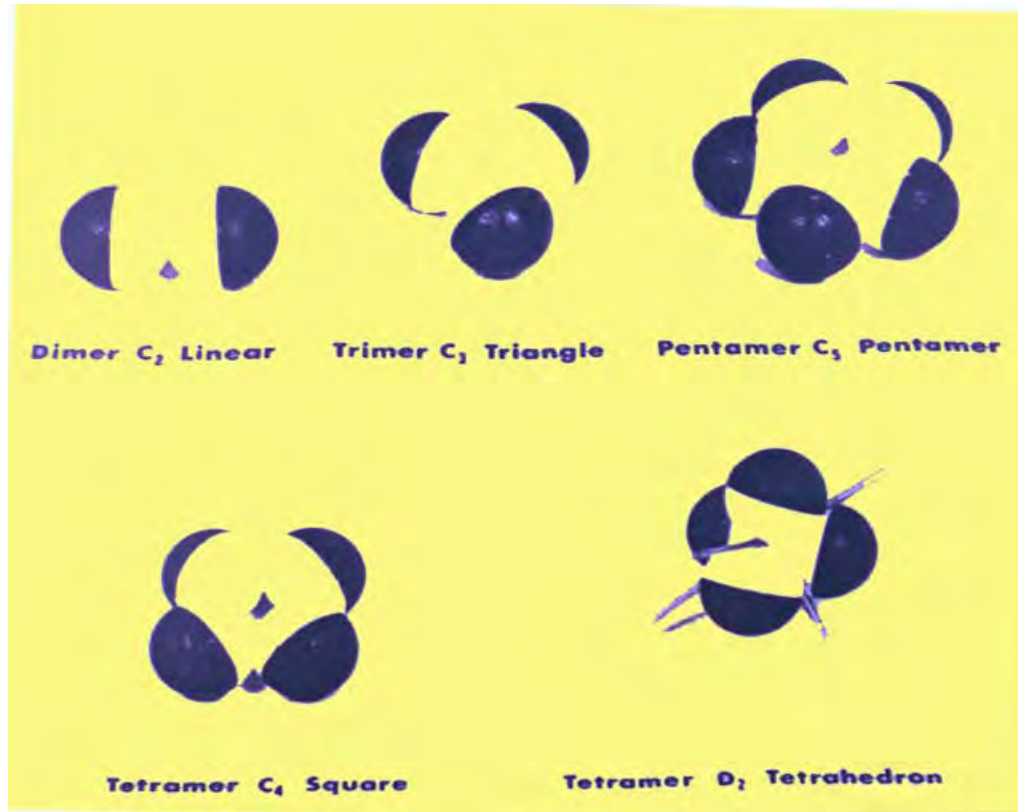
2 identične subjediniice



Obratiti pažnju na
komplementarnost
dodirnih površina
među
subjedinicama!



Geometrijski raspored subjedinica



Sve subjedinice se nalaze u ekvivalentnoj ili pseudo-ekvivalentnoj okolini: **linearni raspored subjedinica se isključuje!**

Stabilnost kvaternarne strukture

- Dodirne površine subjedinica su komplementarne!!!
- Aminokiselinski sastav na dodirnim površinama subjedinica je sličan sastavu u unutrašnjosti molekula globularnih proteina: dominiraju nepolarni ostaci (Ile, Leu, Phe, Val, Cys i Met)
- Arg se češće javlja na dodirnim površinama nego što bi se očekivalo na osnovu prosečnog sadržaja u Arg u proteinima!

Zaključak o doprinosu stabilnosti 4^o strukture:

(1) Hidrofobni efekat: najveći doprinos!

(2) Vodonične veze/soni mostovi na dodirnim površinama subjedinica!!!

Interakcije sa ligandima: nezavisni centri

Makroskopske i mikroskopske konstante

Jednačina i kriva vezivanja

Scatchardov grafik

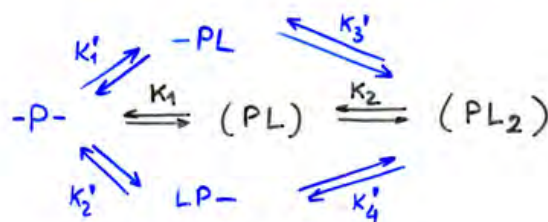
JEDAN CENTAR VEZIVANJA:



$$v = \frac{K[L]}{1 + K[L]} = \frac{1}{1 + \frac{1}{K[L]}}$$

$$v = \frac{[L]}{K_d + [L]} \quad v = \frac{1}{2} \quad \therefore K_d = [L] \quad K = ?$$

DVA (i više) ISTIH NEZAVISNIH (NEINTERAGUJUĆIH) CENTARA
VEZIVANJA: PROTEIN SE SASTOJI IZ DVE SUBJEDINICE (PROTEINER)



$$K_1' = K_2' = K_3' = K_4'$$

Mikroskopske konstante
(afinitet svakog centra za L)

$$K_1 = \frac{[PL]}{[P][L]} \quad K_2 = \frac{[PL_2]}{[PL][L]}$$

K_1, K_2 = Makroskopske konstante (koje se određuju eksperimentalno).

$$P + L \rightleftharpoons PL$$

$$K_1 = \frac{[PL]}{[P][L]} = \frac{[-PL] + [LP]}{[P][L]} = \frac{(K_1' + K_2') \cancel{[P]} \cancel{[L]}}{\cancel{[P]} \cancel{[L]}} = K_1' + K_2'$$

$$K_1 = 2 K' \quad k' = \frac{K_1}{2}$$

$$K_2 = \frac{[PL_2]}{[PL][L]} = \frac{[PL_2]}{([-PL] + [LP])[L]} = \dots = \frac{1}{\frac{1}{K_3'} + \frac{1}{K_4'}} = \left(\frac{1}{\frac{1}{K_1'} + \frac{1}{K_1'}} \right)$$

$$K_2 = \frac{K'}{2} \quad k' = 2 K_2$$

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{2K'}{K'/2} = 4 \quad \text{STATISTIČKI FAKTOR ZA DVA CENTRA}$$

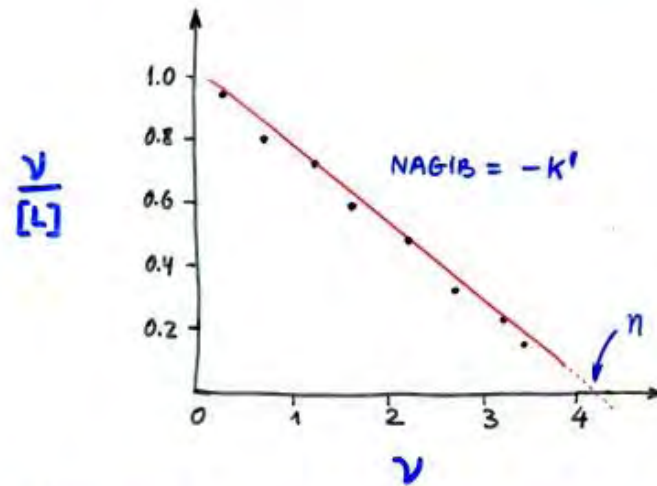
$$K_1 = 4 K_2 : \text{ NA OSNOVU VEROVATNOĆE } K_1 = 4 \times \text{VEĆE OD } K_2.$$

$$\begin{aligned} v &= \frac{[PL] + 2[PL_2]}{[P] + [PL] + [PL_2]} = \frac{K_1 \cancel{[P]} \cancel{[L]} + 2 K_1 K_2 \cancel{[P]} \cancel{[L]}^2}{\cancel{[P]} + K_1 \cancel{[P]} \cancel{[L]} + K_1 K_2 \cancel{[P]} \cancel{[L]}^2} = \\ &= \frac{K_1 [L] + 2 K_1 K_2 [L]^2}{1 + K_1 [L] + K_1 K_2 [L]^2} \quad \text{ALI } K_1 = 2 K' \text{ i } K_2 = K'/2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} v &= \frac{2 K' [L] + 2 K'^2 [L]^2}{1 + 2 K' [L] + 2 K'^2 [L]^2} = \frac{2 K' [L] (1 + K' [L])}{(1 + K' [L])^2} = \\ &= \frac{2 K' [L]}{1 + K' [L]} = \frac{2}{\frac{1}{K' [L]} + 1} \end{aligned}$$

$$v = \frac{n \cdot K' [L]}{1 + K' [L]} \quad \text{U OPŠTEM SLUČAJU ZA } n \text{ ISTIH NEINTERAKUJUĆIH CENTARA}$$

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



... A $\frac{1}{L}$ i $\frac{1}{v}$?
DIDAGRAM (PLOT)

SCATCHARD-UV DIDAGRAM ZA LAKTAT-DEHIDROGENAZU/NADH

