

# Biochimie 1

## Les 4

# Na afloop van deze les kun je...

...de primaire, secundaire, tertiaire en quaternaire structuur van eiwitten beschrijven

...het experiment van Afinsen uitleggen

...het begrip 'folding funnel' uitleggen

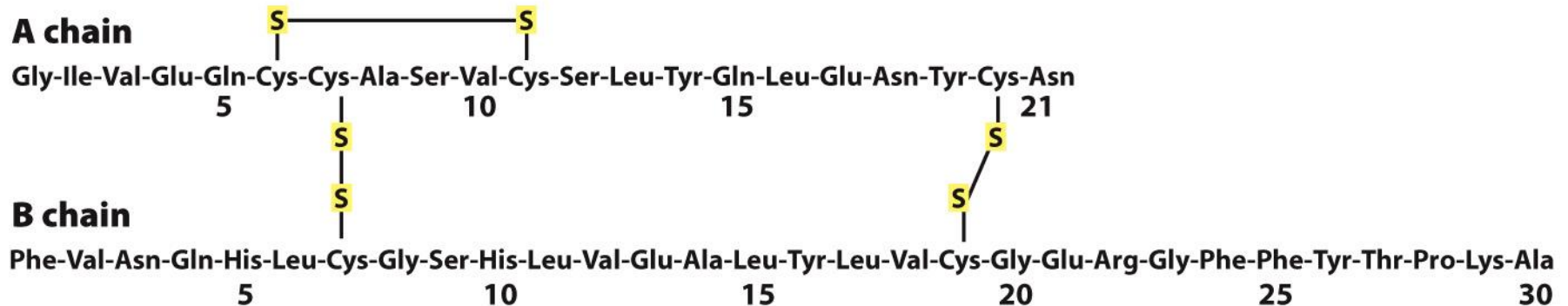
...verschillende modellen voor eiwitvouwing uitleggen

# Primaire structuur

Sequentie van aminozuren in een **polypeptide**

Een aminozuur in een polypeptide wordt een **residu** genoemd

Een eiwit bestaat uit één of meerdere polypeptiden



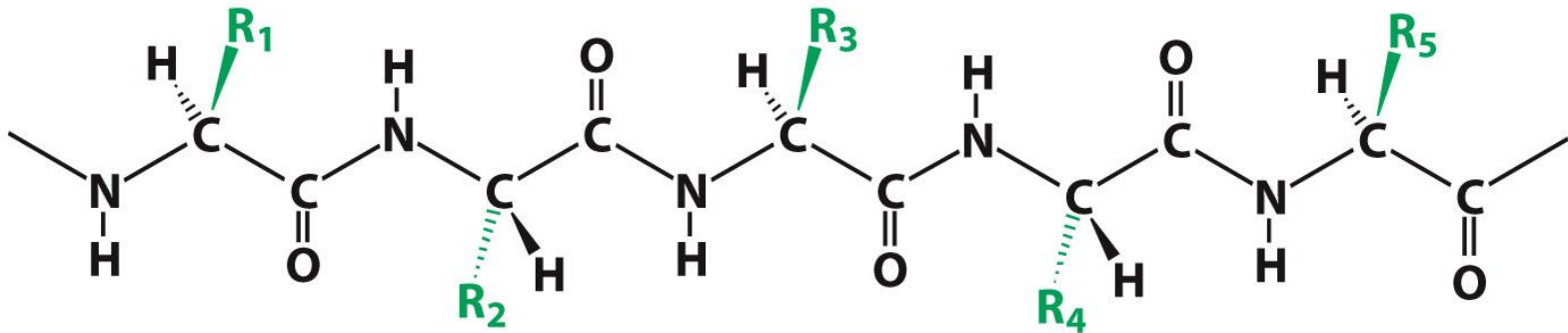
# Primaire sequentie

Waarom interessant?

- Bepalend voor de 3D structuur van eiwitten
- Meestal nodig om functie op te helderen
- Veranderingen kunnen abnormale functies veroorzaken (ziektes!)
- Geeft informatie over evolutionaire geschiedenis

# Secundaire structuur

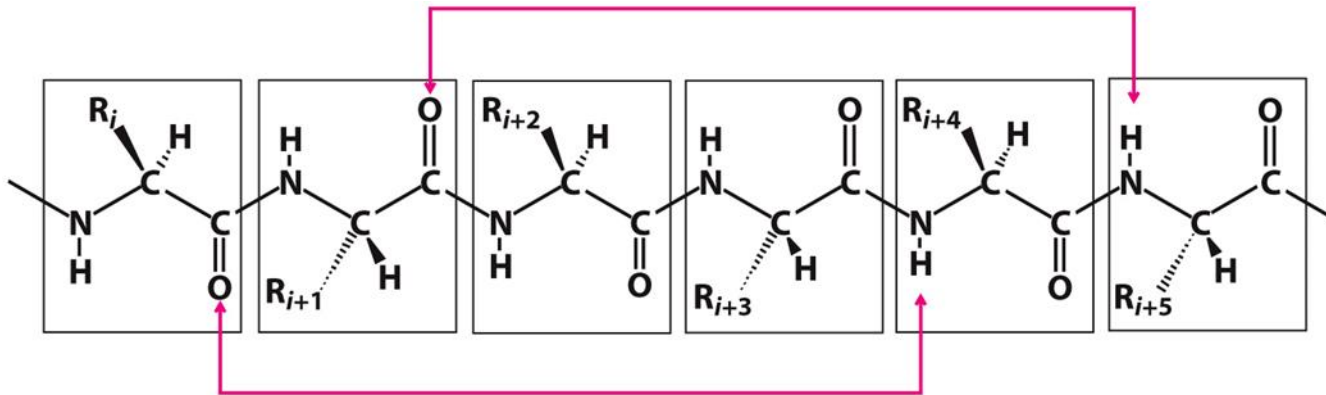
- Protein backbone kan waterstofbruggen vormen:
  - Carbonylgroep C=O (acceptor)
  - Aminogroep N-H (donor)



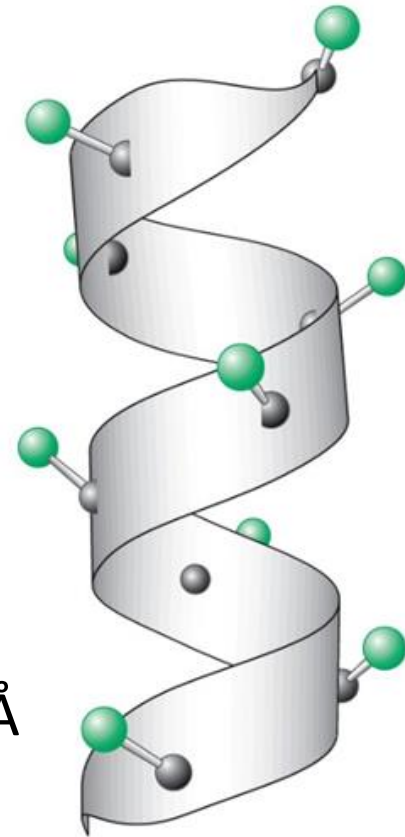
- Voorbeelden:  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -pleated sheet, turns en loops

# Secundaire structuur: $\alpha$ -helix

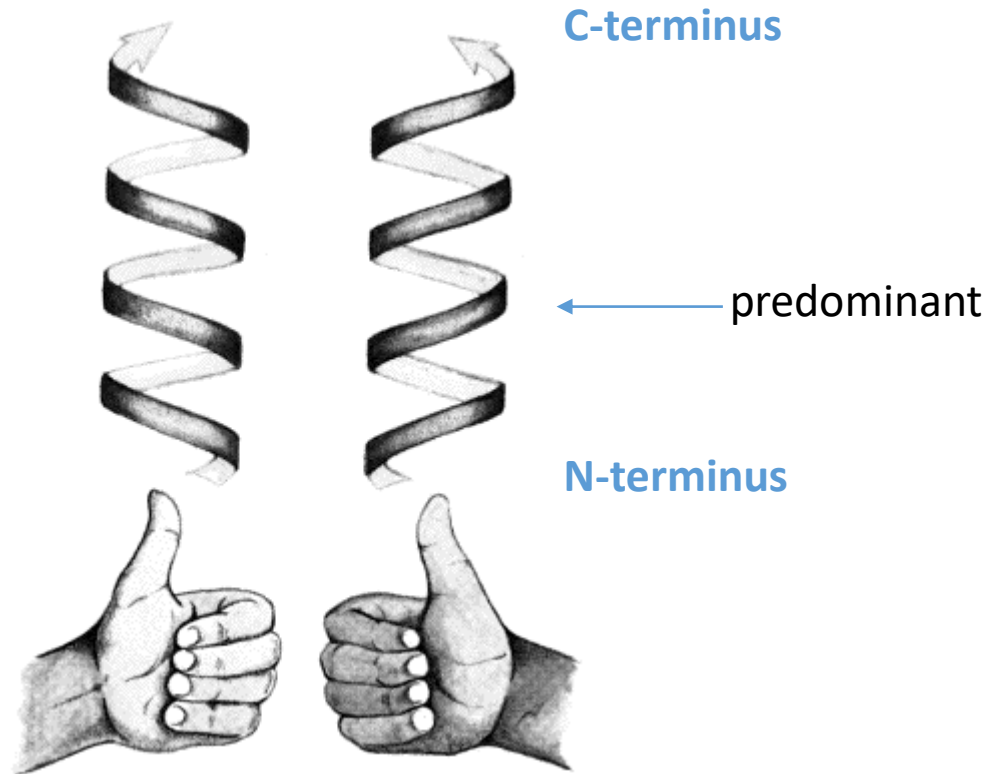
- H-brug tussen C=O en N-H 4 residuen verderop (van  $i$  naar  $i + 4$ )
- dus alle backbone C=O en N-H gebonden



- elk residu maakt draai van  $100^\circ$   
→ hele draai na 3,6 residuen
- elk residue “stijgt”:  $1,5\text{\AA}$  (translatie) → hele draai  $5,4\text{\AA}$
- $\alpha$ -helices zijn meestal rechtsdraaiend



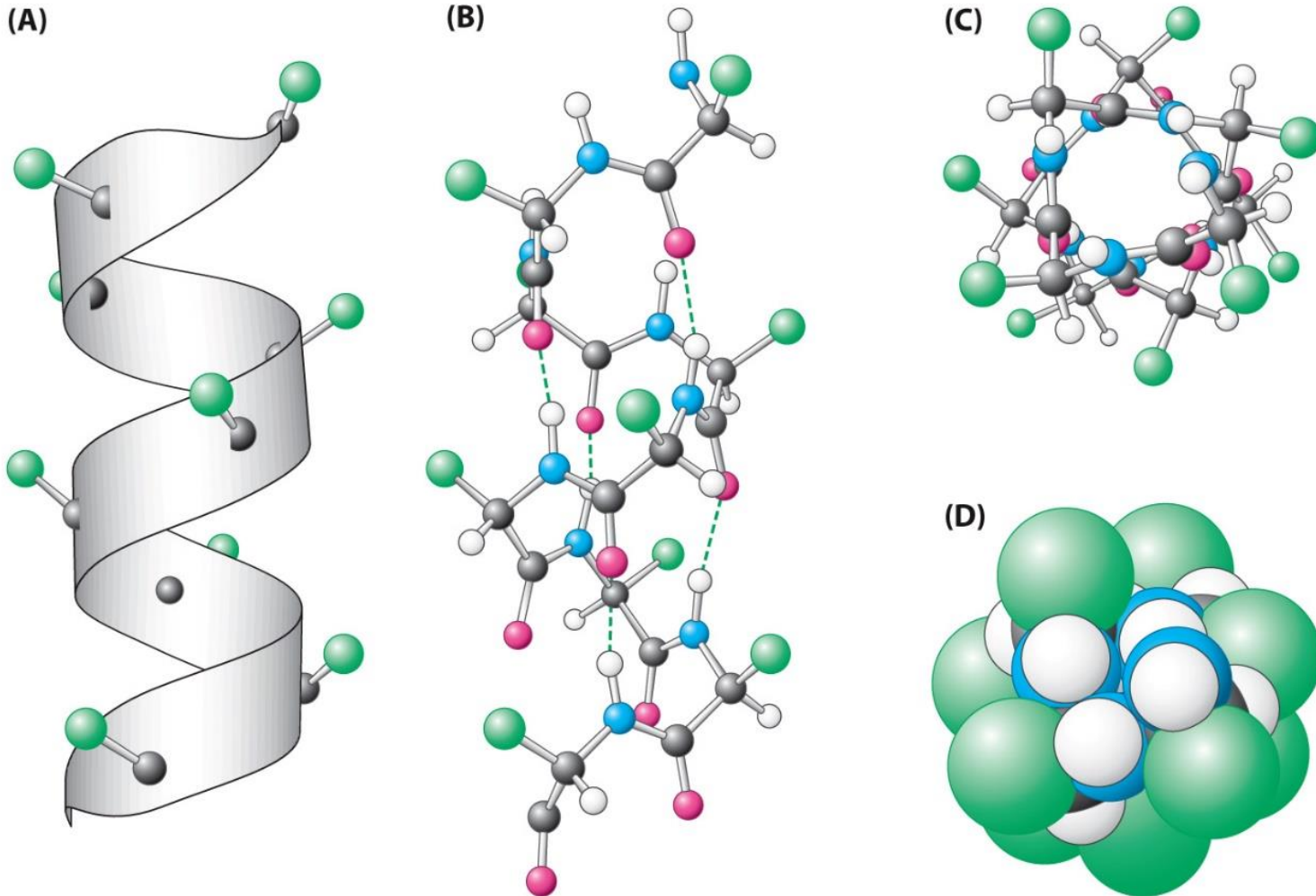
# Secundaire structuur: $\alpha$ -helix



If the helix spirals in the same direction that the four fingers of the right hand are pointing then it is a right handed helix.

Similarly if the helix spirals in the same direction that the four fingers of the left hand are pointing then it is a left handed helix

# Secundaire structuur: $\alpha$ -helix



- H-bruggen parallel aan de as van de helix
- alle zijketens (groen) naar buiten gericht



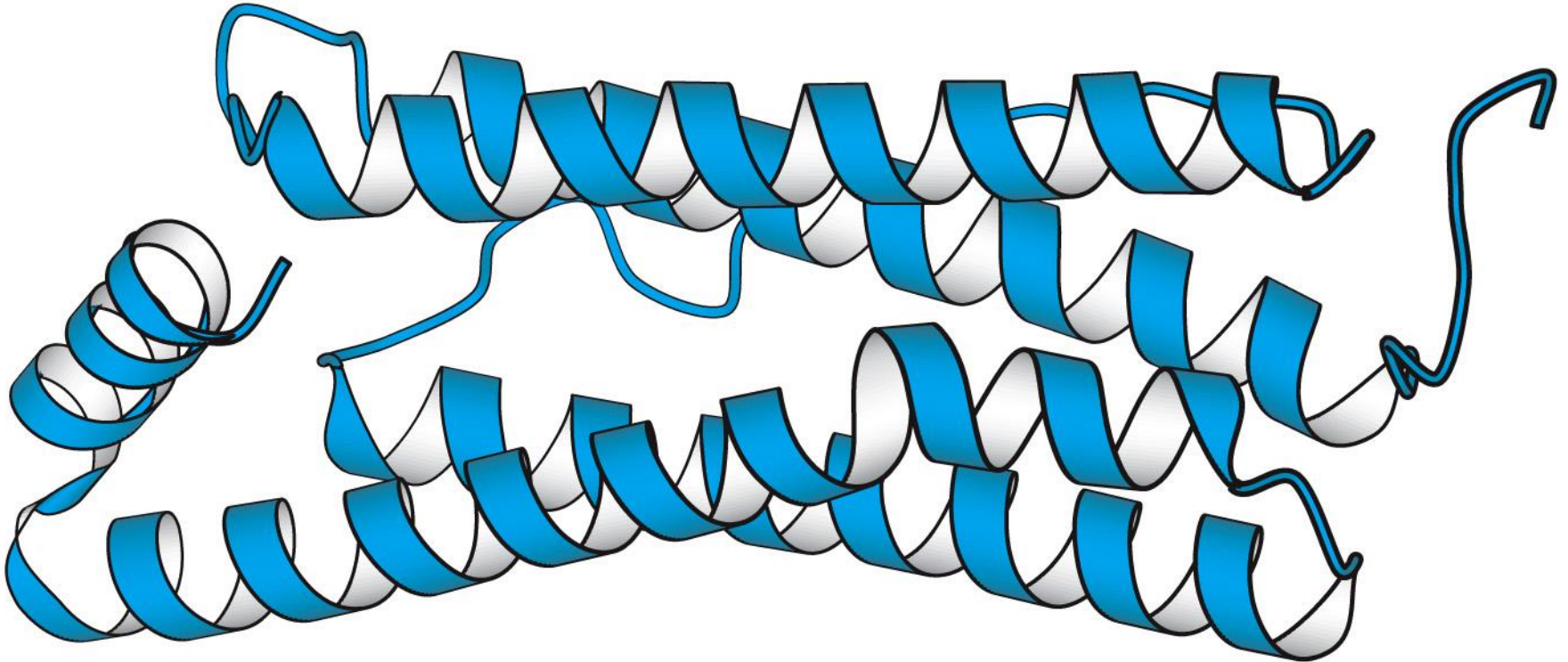
# Secundaire structuur: $\alpha$ -helix

<https://www.youtube.com/watch?v=PeFdl6KmxYM>

# Verstoring van de $\alpha$ -helix

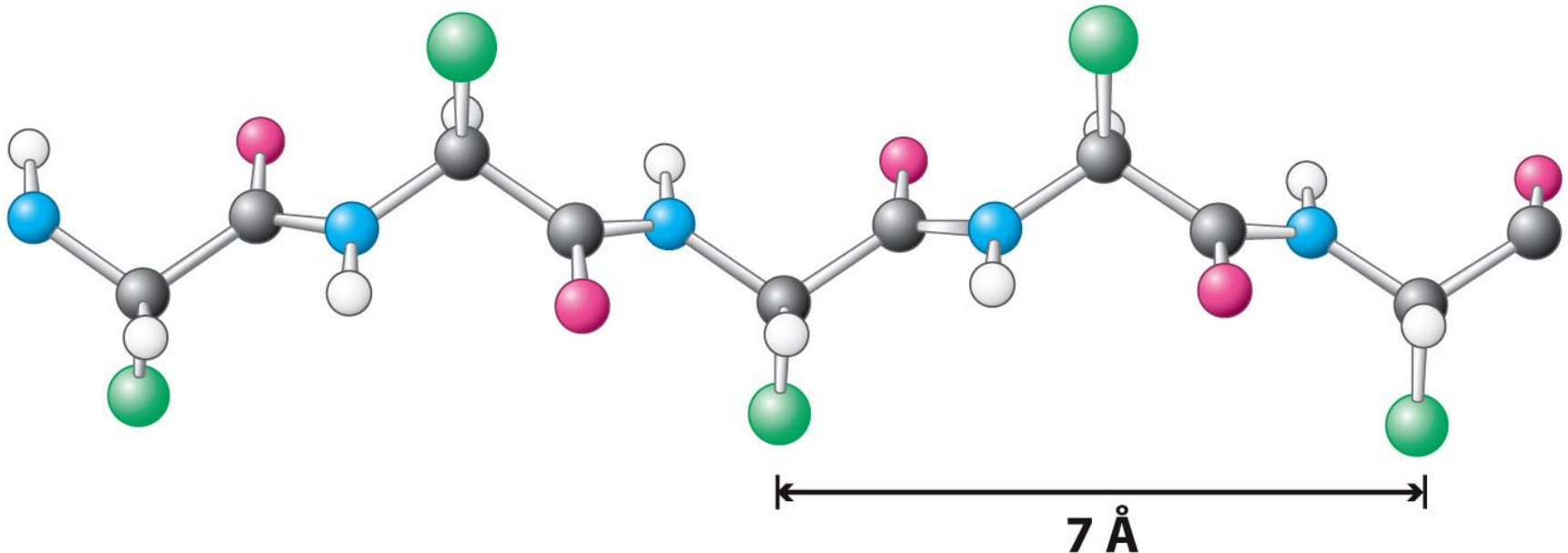
- **Proline** is een 'helix breaker':
  - de amino groep heeft geen N-H om H-bruggen te vormen
  - restricties in de rotatie a.g.v. cyclische structuur
- Sterke **elektrostatische afstoting** door gelijkwaardige lading van zijketens (b.v. Lys en Arg of Glu and Asp)
- **Sterische hindering** door grote zijketens (b.v. Val, Ile, Thr)

**Ferritin, an iron-storage protein, is built from a bundle of  $\alpha$  helices.**



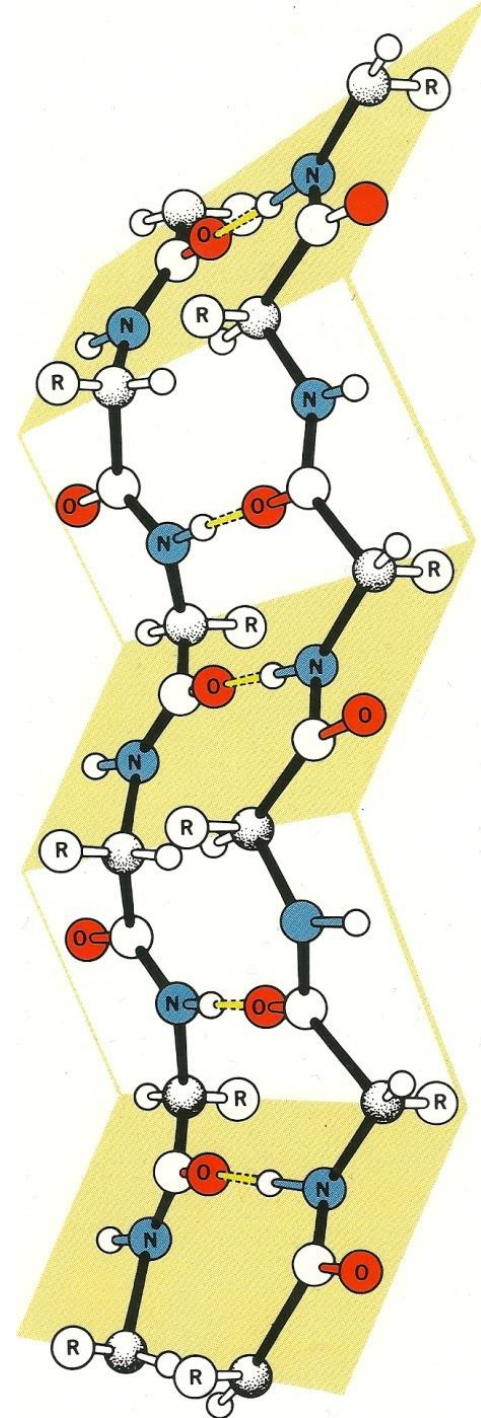
# Secundaire structuur: $\beta$ -sheet

- $\beta$ -sheet wordt gevormd door meerdere  $\beta$ -strands
- $\beta$ -strand: uitgestrekte polypeptide, afstand tussen twee residuen is 3,5 Å (vgl. 1,5 Å in  $\alpha$ -helix!)



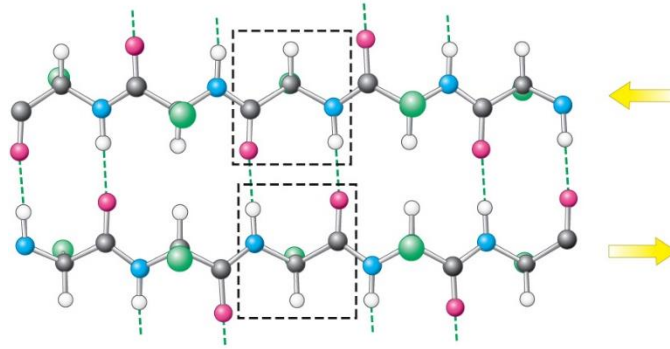
# Secundaire structuur: $\beta$ -sheet

- H-bruggen tussen C=O en N-H van verschillende  $\beta$ -strands
- richting H-bruggen loodrecht op de richting van de sheet
- zijketens alternerend boven en onder het vlak van de sheet
- een  $\beta$ -sheet kan uit één, maar ook uit meerdere, polypeptide ketens bestaan

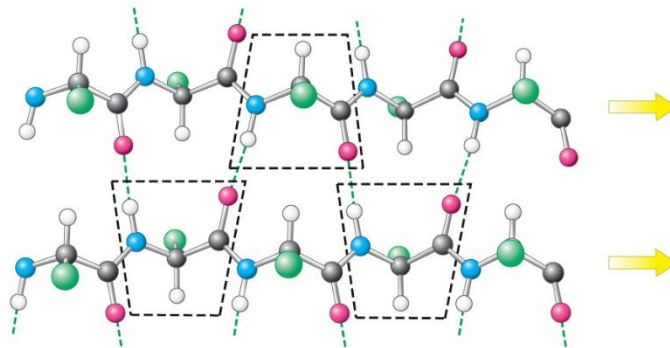


# Secundaire structuur: $\beta$ -sheet

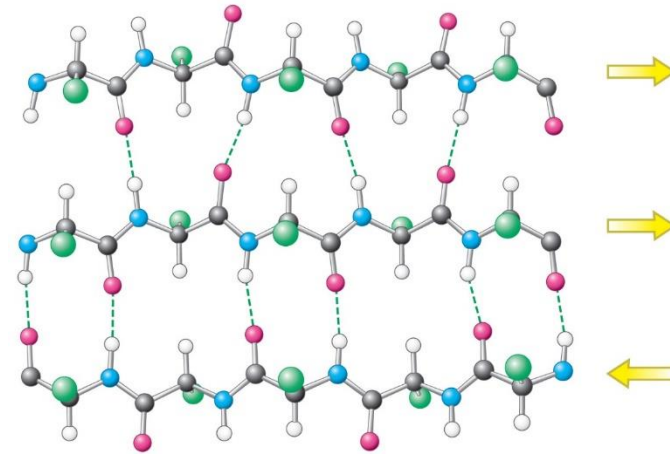
- Anti-parallel



- Parallel

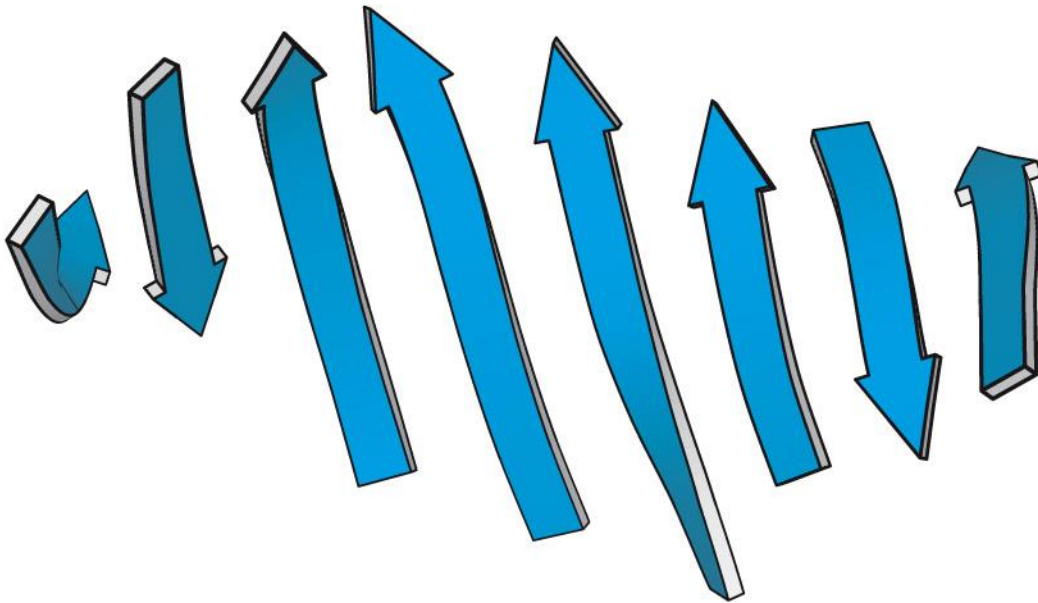


- Combinatie

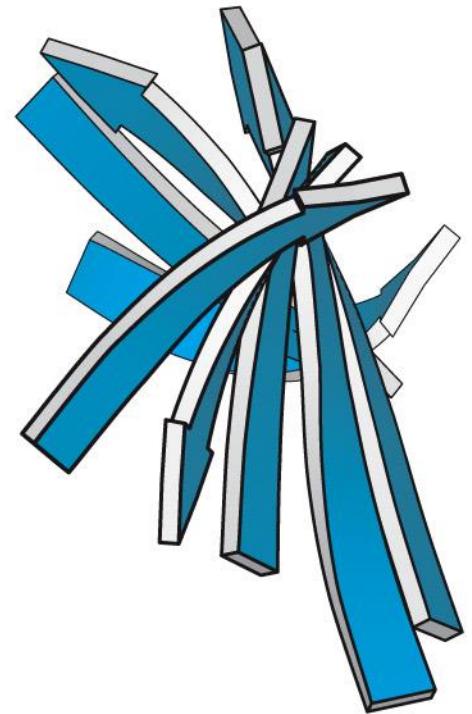


# Twisted $\beta$ -sheet

(A)



(B)



**Figure 4.18**

*Biochemistry: A Short Course, Third Edition*

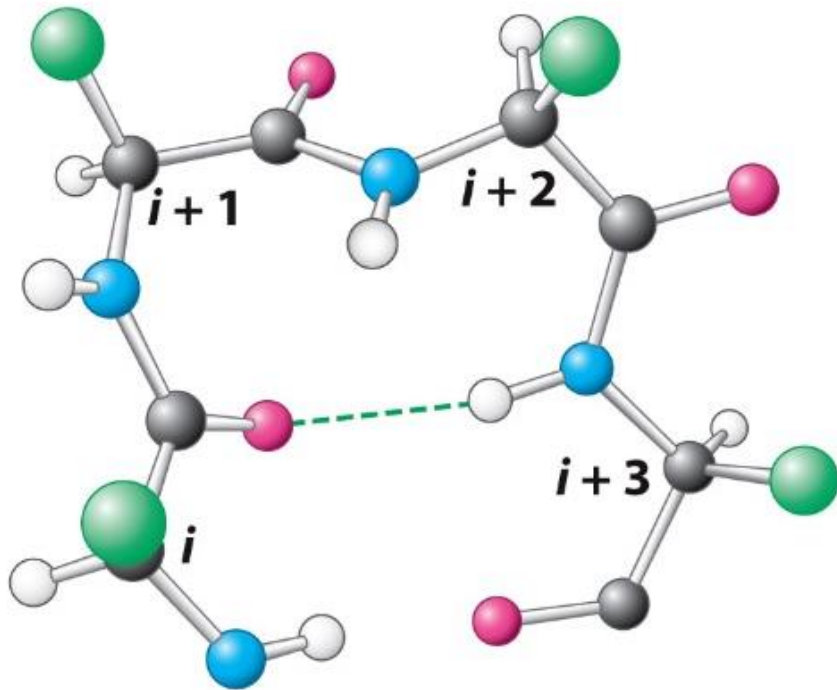
© 2015 Macmillan Education

Pijl in de richting van de C-terminus



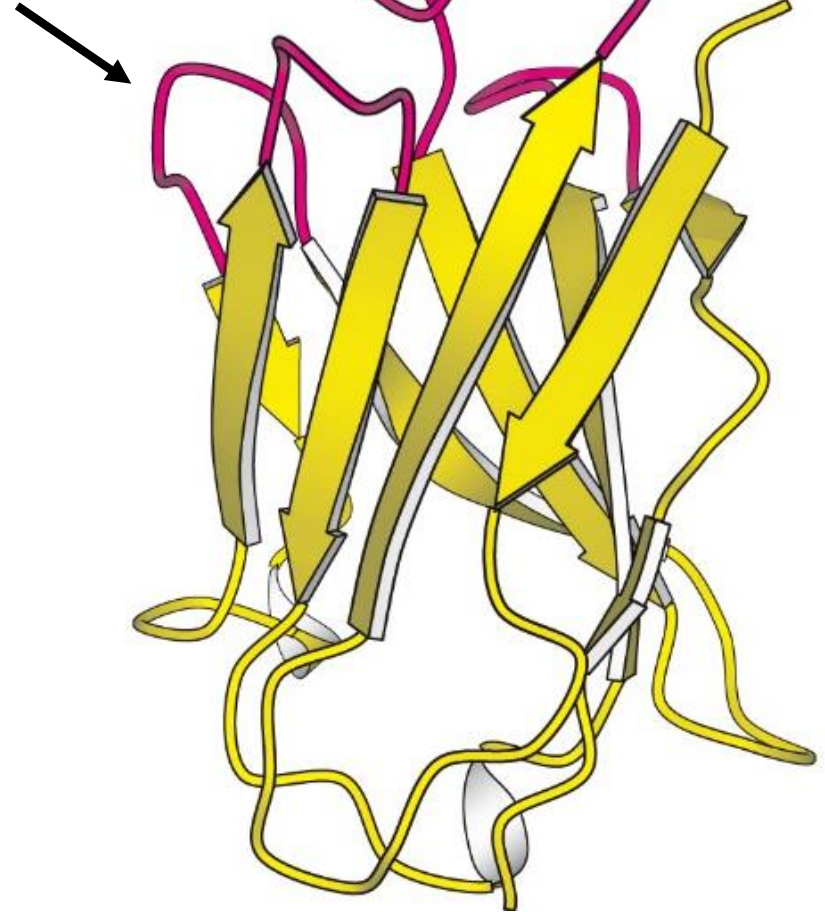
# Reverse turns en loops

[http://www.macmillanhighered.com/BrainHoney/Resource/6718/SitebuilderUploads/tymoczko3e/student/living\\_figures/viewer.html?id=2370](http://www.macmillanhighered.com/BrainHoney/Resource/6718/SitebuilderUploads/tymoczko3e/student/living_figures/viewer.html?id=2370)



Reverse turn: H-brug van  $i$  naar  $i + 3$

Loops



Turns en loops liggen altijd aan de buitenkant van het eiwit

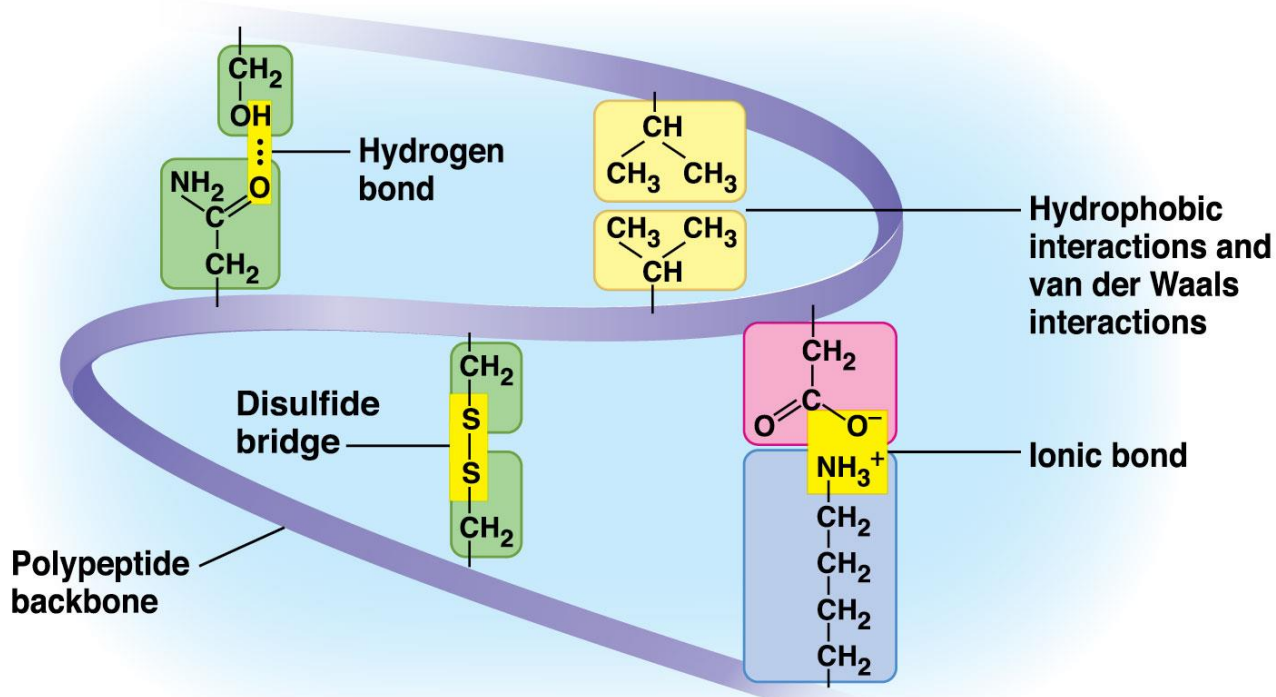


# Tertiaire structuur

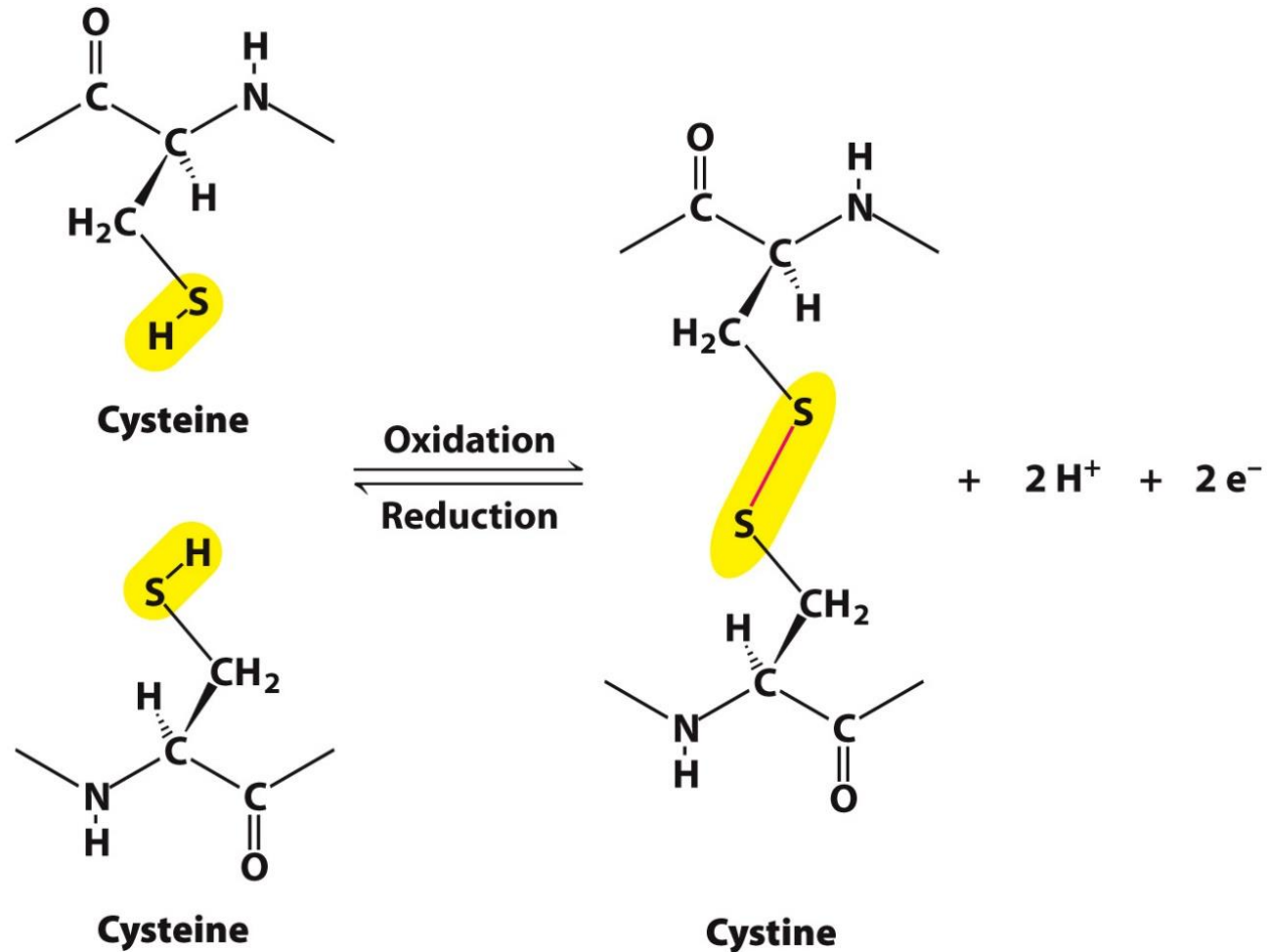
Drie-dimensionale schikking van alle atomen in het eiwit

Afhankelijk van zijgroepen van aminozuren

Vaak niet-covalente interacties. Soms covalent (disulfide brug!)

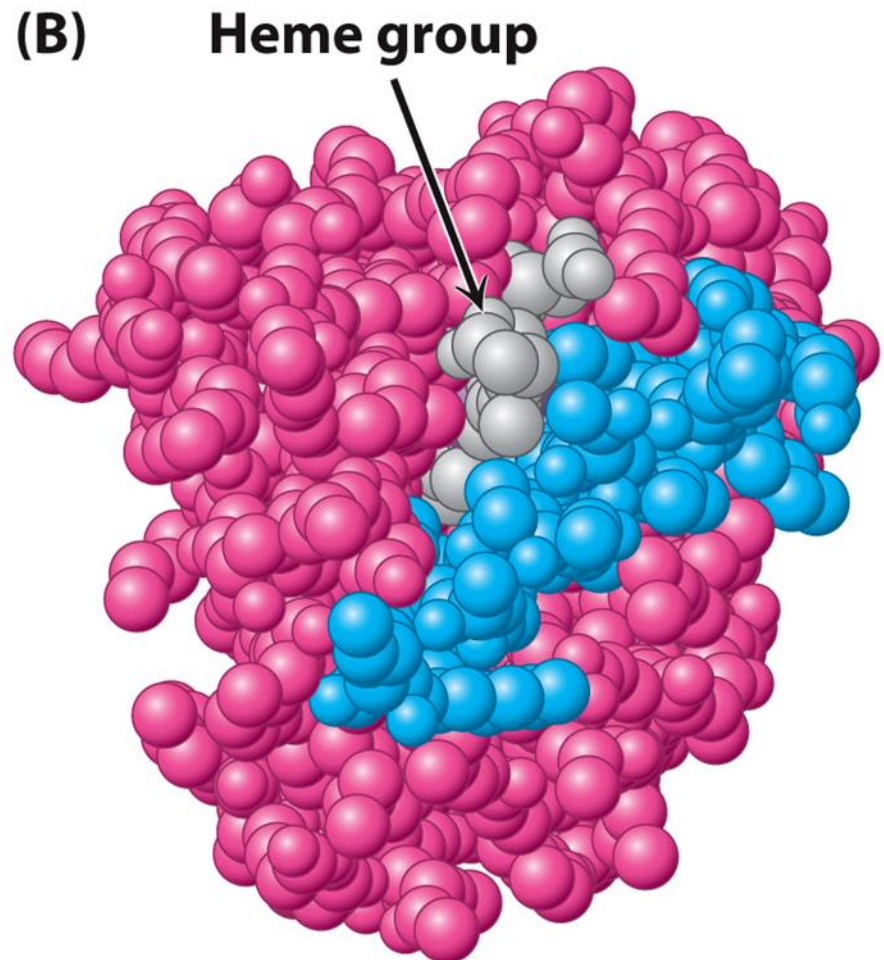
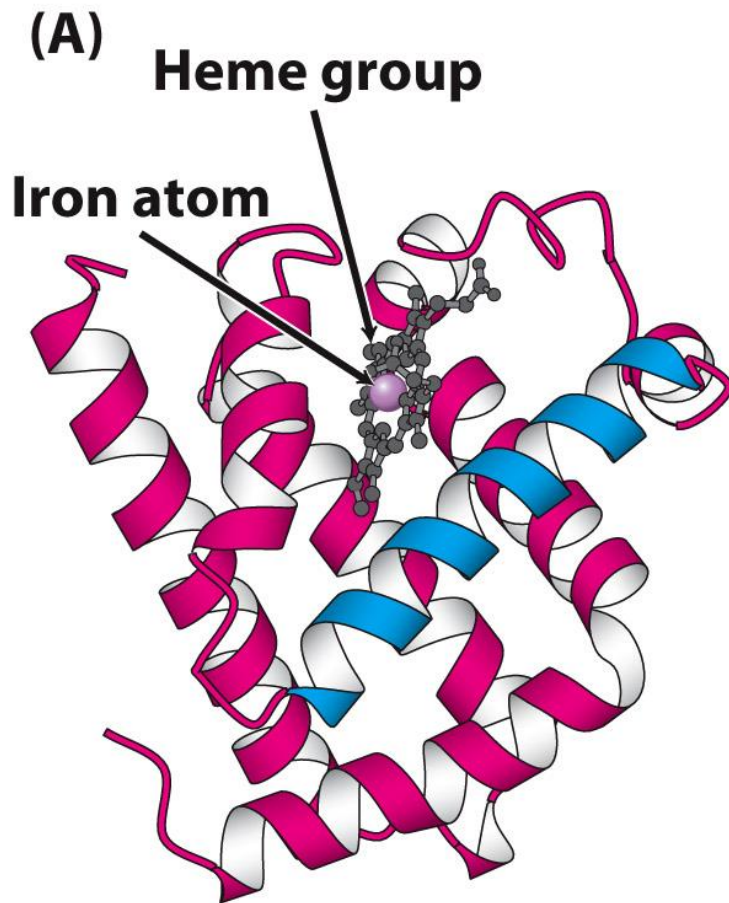


# Disulfidebruggen zijn covalente bindingen



Niet-disulfide crosslinks (tussen andere zijketens) zijn zeldzaam

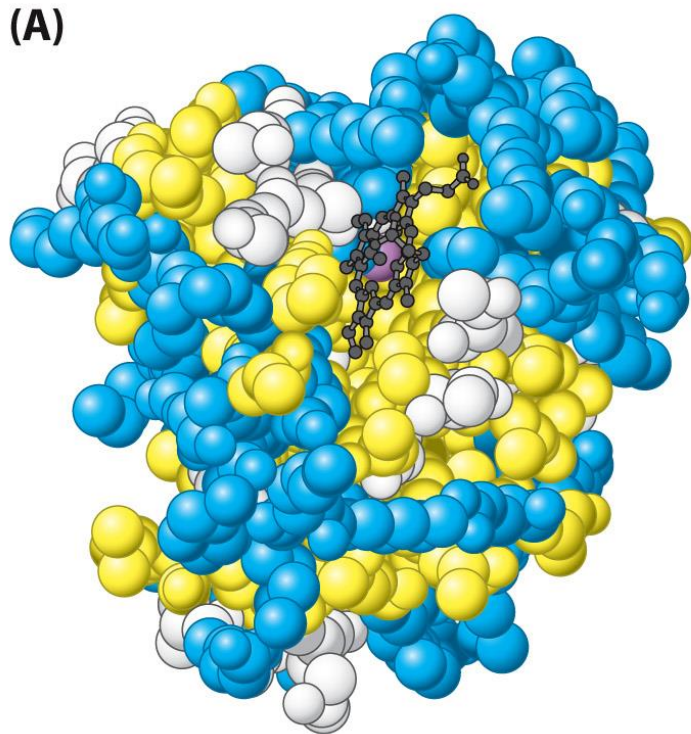
# Voorbeeld tertiäre structuur: myoglobine



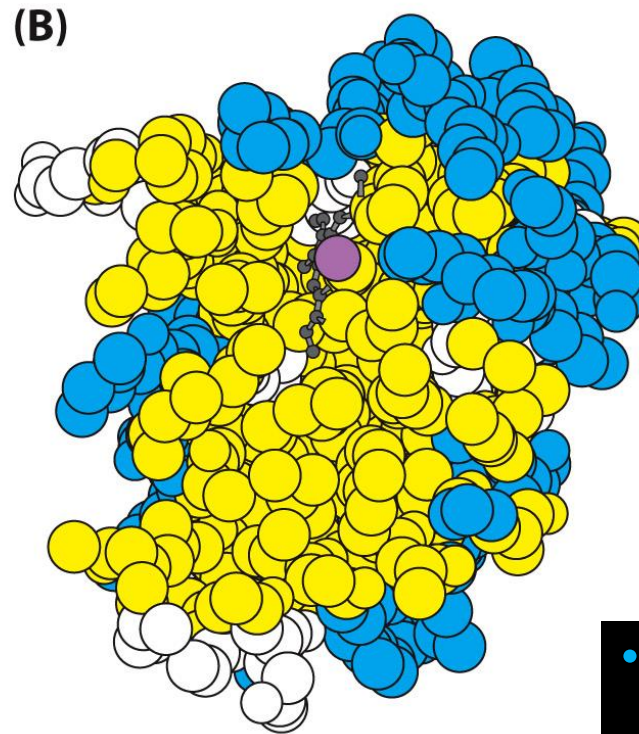
Myoglobine is een globulair eiwit

# Voorbeeld tertiäre structuur: myoglobine

- Zeer compact molecuul. 70%  $\alpha$ -helices (8 stuks)
- Nauwelijks open ruimte binnenin eiwit
- Water oplosbaar



space filling model

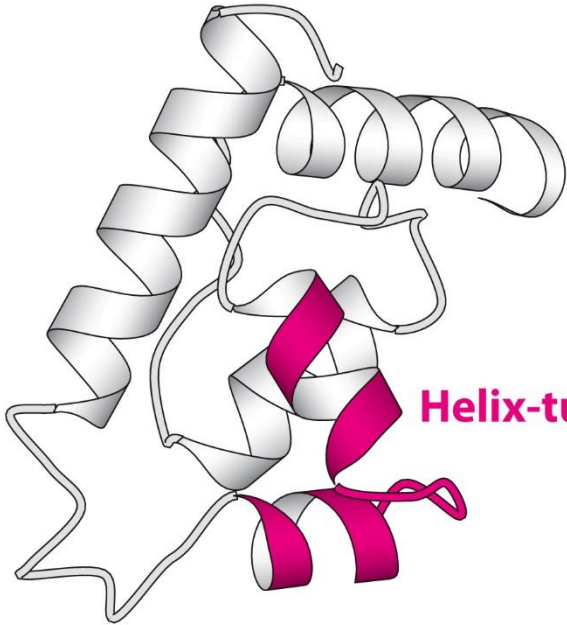


cross-sectional view

- Geladen residuen
- hydrofobe residuen
- Polair (wit)

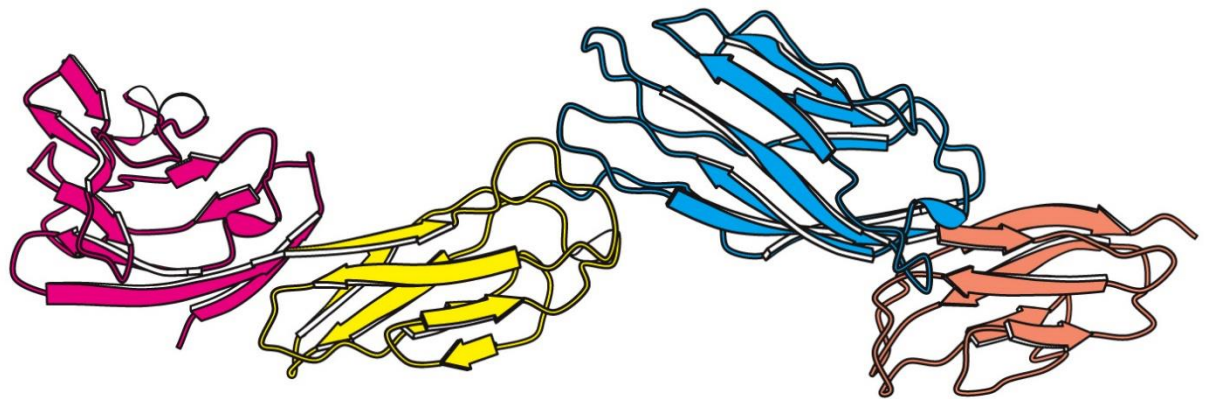


# Motieven en domeinen



**Helix-turn-helix**

dit **motief** komt vaak voor in DNA-bindingseiwitten



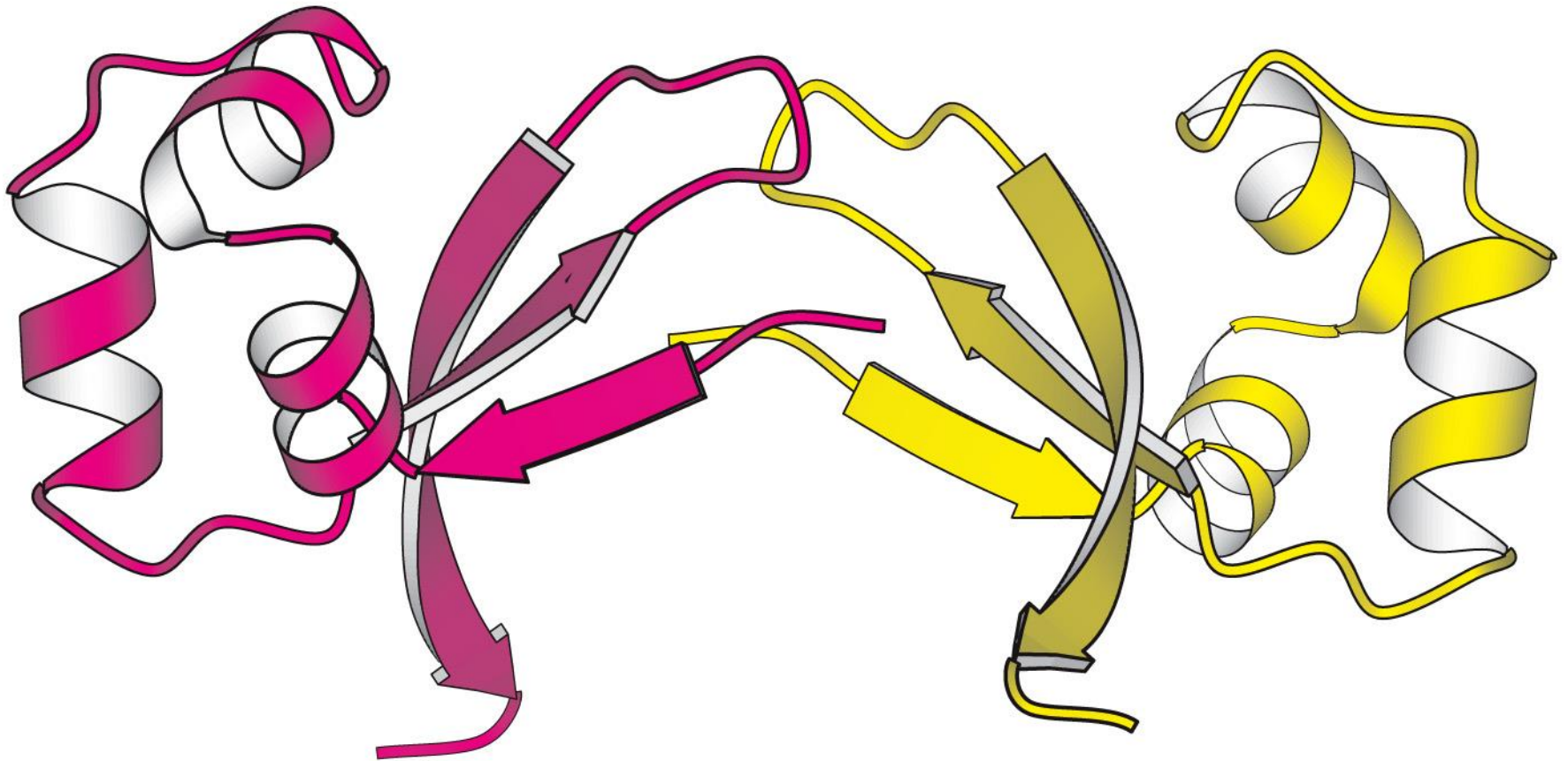
CD4 bevat vier vergelijkbare **domeinen**

# Quaternaire structuur

- Meerdere polypeptiden in een eiwit
- Elke polypeptide in het eiwit wordt “subunit” genoemd
- Interacties tussen subunits zijn zwak

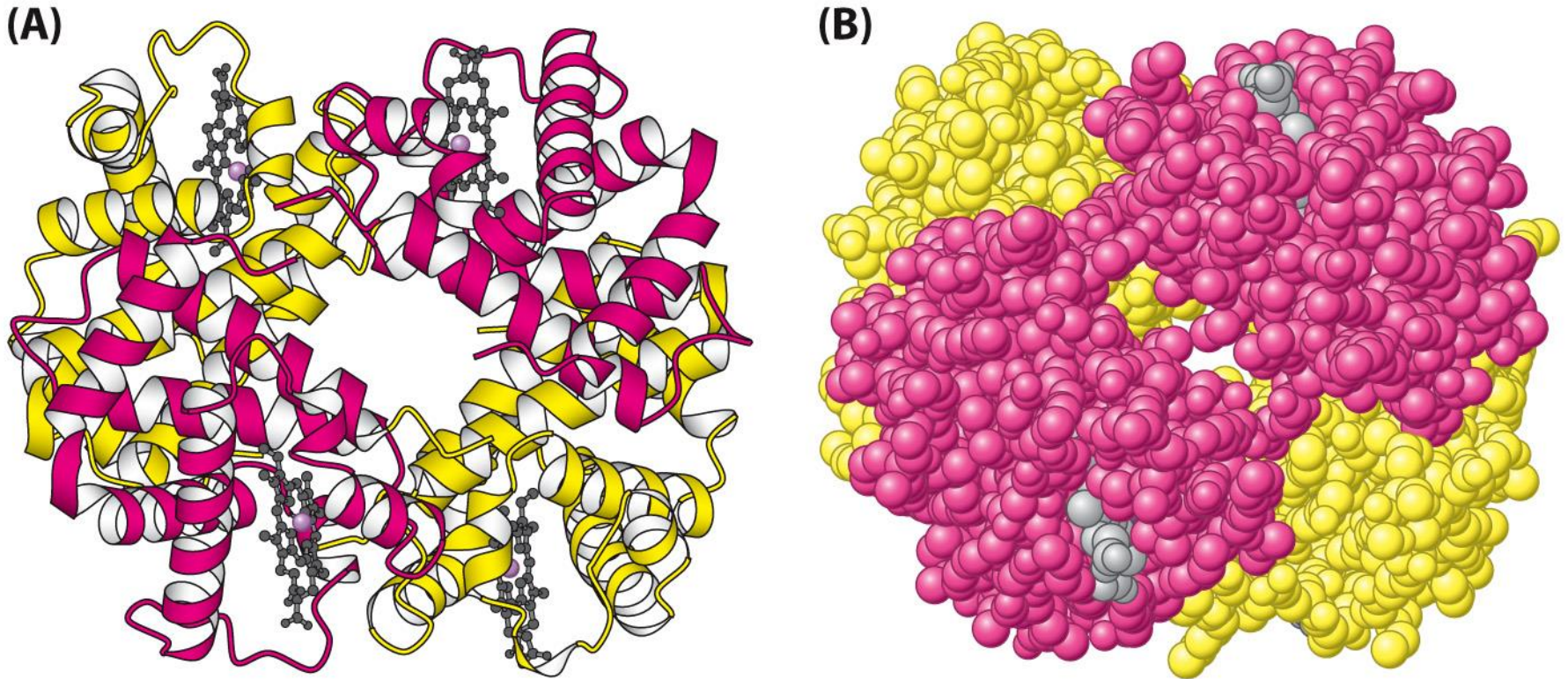
# Quaternaire structuur

Het Cro eiwit van bacteriofaag lambda is een **dimeer** en bestaat uit twee identieke **subunits**.



# Quaternaire structuur

Hemoglobine is een **tetrameer** en bestaat uit twee identieke  $\alpha$ -subunits (roze) en twee identieke  $\beta$ -subunits (geel)



**Figure 4.30**  
*Biochemistry: A Short Course, Third Edition*  
© 2015 Macmillan Education

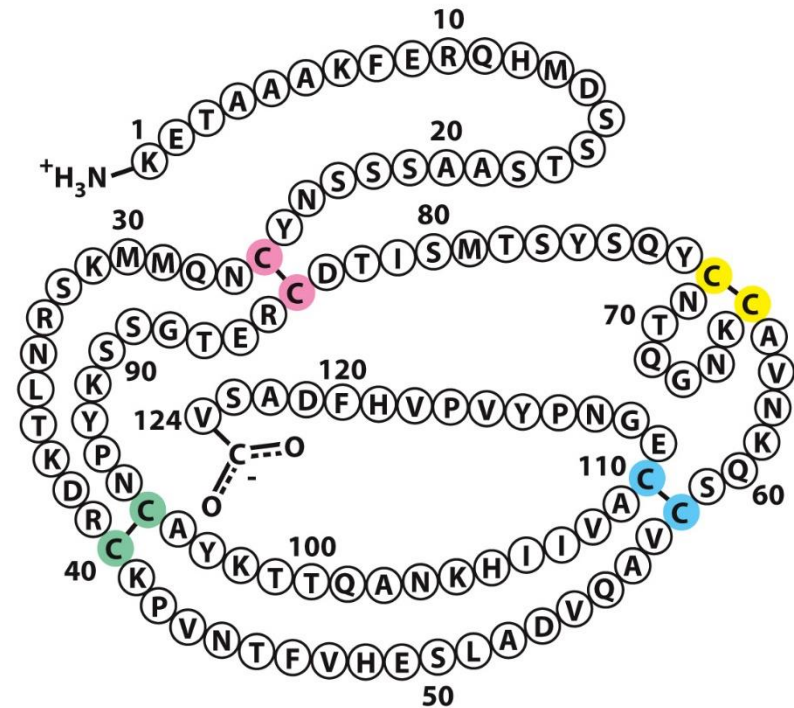
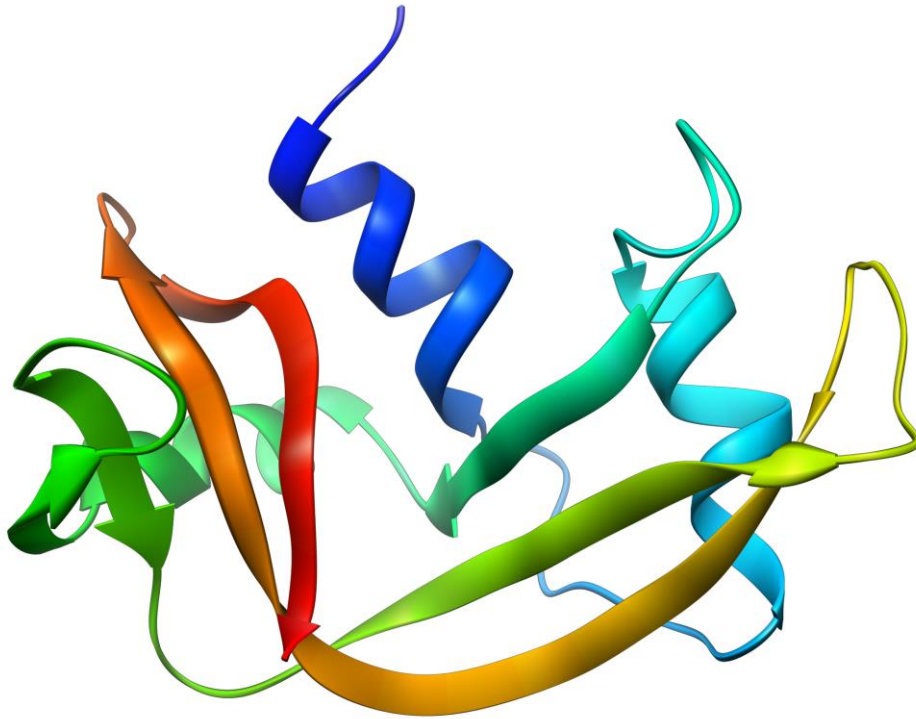


# Van primaire sequentie naar structuur

- <https://www.youtube.com/watch?v=sD6vyfTtE4U>
- Eiwitten hebben alle info die nodig is om te vouwen in hun primaire sequentie

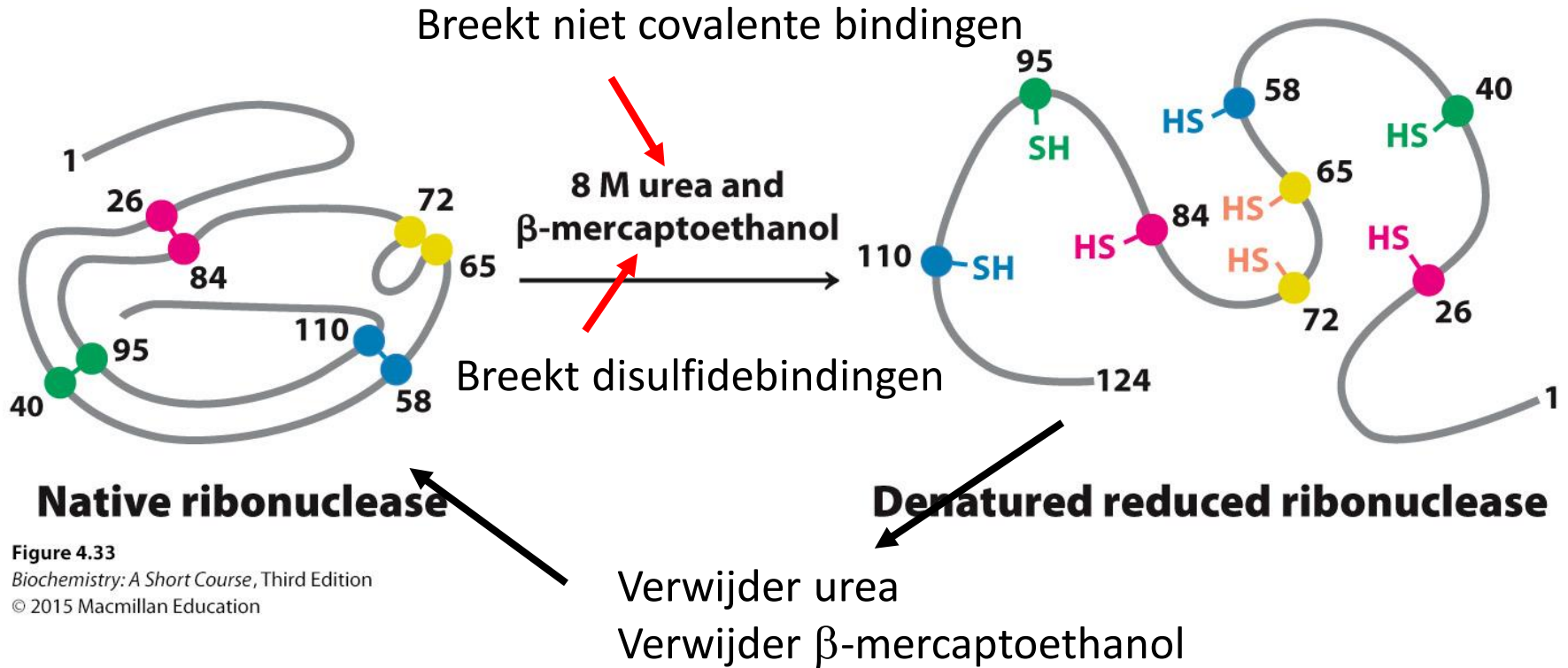
# Experiment van Afinsen

Ribonuclease is een eiwit van 128 aminozuren en 4 disulfidebindingen



**Figure 4.31**  
*Biochemistry: A Short Course*, Third Edition  
© 2015 Macmillan Education

# Experiment van Afinsen



**Figure 4.33**  
*Biochemistry: A Short Course*, Third Edition  
© 2015 Macmillan Education

# Levinthal paradox

- Stel: een eiwit met 100 aminozuren
- Elk residue kan 3 verschillende conformaties aannemen
- Totaal aantal structuren is:  $3^{100} \approx 5 \times 10^{47}$
- Wisselen van conformatie kost  $10^{-13}$  s
- Alle conformaties uitproberen kost:  $5 \times 10^{47} \times 10^{-13}$  s
- $= 5 \times 10^{34}$  s of  $1,6 \times 10^{27}$  jaar!
- Afinsen laat zien dit veel sneller kan: dit verschil heet het Levinthal paradox

# Cumulatieve selectie

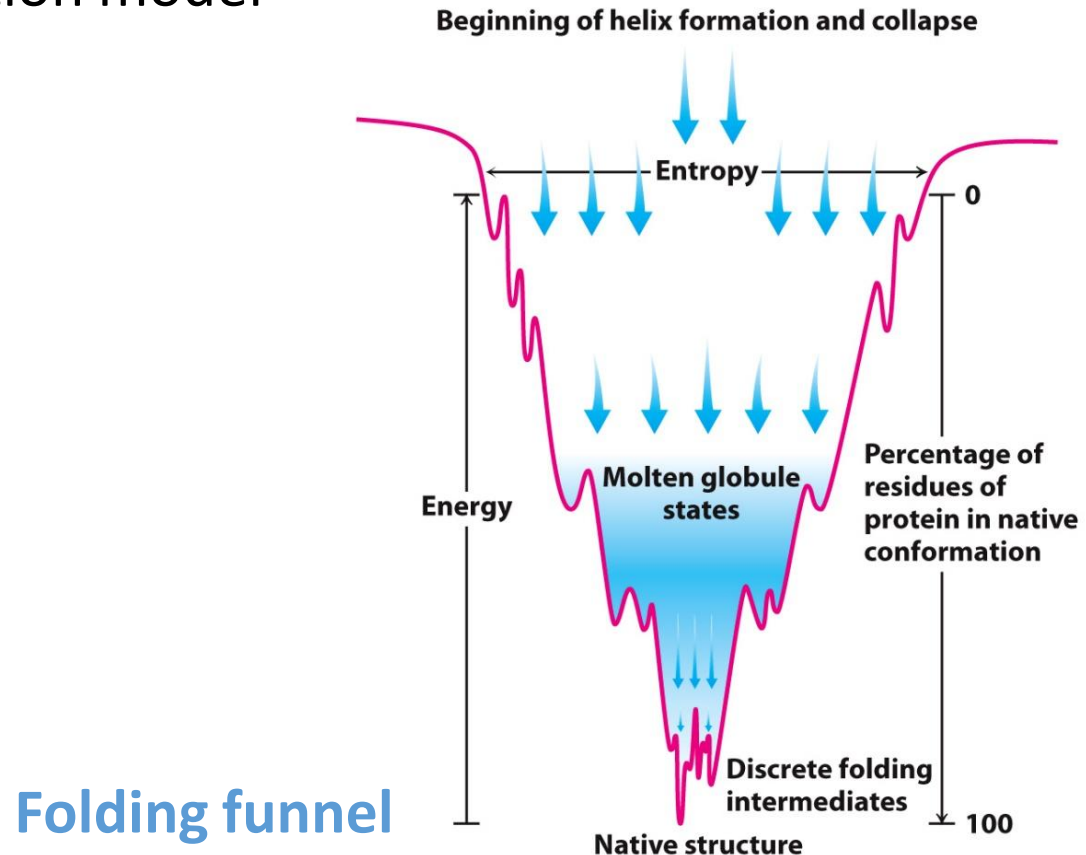
- Aap die een zin moet typen
- Random zou dit  $\sim 10^{40}$  aanslagen kosten
- Als elke juist karakter wordt bewaard is de aap veel eerder klaar
- Paar duizend aanslagen!

```
200 ?T(\G{+s x[A.N5~, #ATxSGpn`e□@
400 oDr'Jh7s DFR:W4l'u+^v6zpJseOi
600 e2ih'8zs n527x8l8d_ih=Hldseb.
800 S#dh>}/s ]tZqC%lP%Dk<|!^aseZ.
1000 V0th>nLs ut/isjl_kwojjwMasef.
1200 juth+nvs it is[lukh?SCw=ase5.
1400 Iithdn4s it is0l/ks/IxwLase~.
1600 M?thinrs it is lXk?T"_woasel.
1800 MStthinWs it is lwkN7□Kw(asel.
2000 Mhthin`s it is likv,aww_asel.
2200 MMthinns it is lik+5avwlasel.
2400 MethinXs it is likydaqw)asel.
2600 Methin4s it is lik2dasweasel.
2800 MethinHs it is like□aTweasel.
2883 Methinks it is like a weasel.
```

Eiwitten behouden deels correct gevouwen intermediaire structuren

# Eiwitvouwing

- Verschillende modellen:
  - Eerst vorming van secundaire structuur
  - Eerst hydrofobe collaps (en dus hydrofobe kern)
  - Nucleation – condensation model



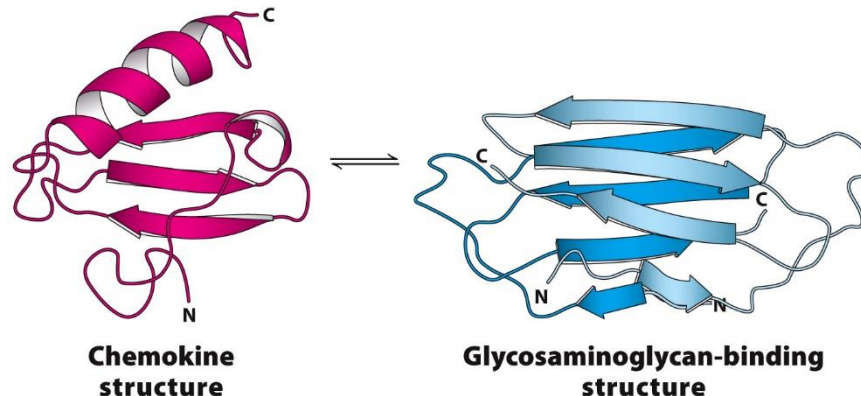
# Ongestructureerd of meerdere structuren

- Een grote groep eiwitten in eukaryoten is (deels) ongestructureerd. *Intrinsically unstructured*
- Vaak geeft interactie met andere biomoleculen een vorm van structuur. Bijvoorbeeld binden aan DNA

# Ongestructureerd of meerdere structuren

- Kleine groep kan meerdere natieve structuren aannemen, afhankelijk van omgeving en binden van liganden
- Deze twee structuren zijn in evenwicht, het binden van receptor of ligand verandert dit evenwicht

Lymphotactin  
(een cytokine)



**Figure 4.36**  
*Biochemistry: A Short Course, Third Edition*  
© 2015 Macmillan Education