

Геометрия и “живые” молекулы

“Живые” молекулы

- ДНК – центральный архив информации; содержит инструкции (1) по производству белков; (2) по тому, когда, каким клеткам и какие белки производить
- Белки – активные действующие лица, “живые” ...
- РНК

Хорошо ли молекулы называть живыми?

ЭВКЛИД

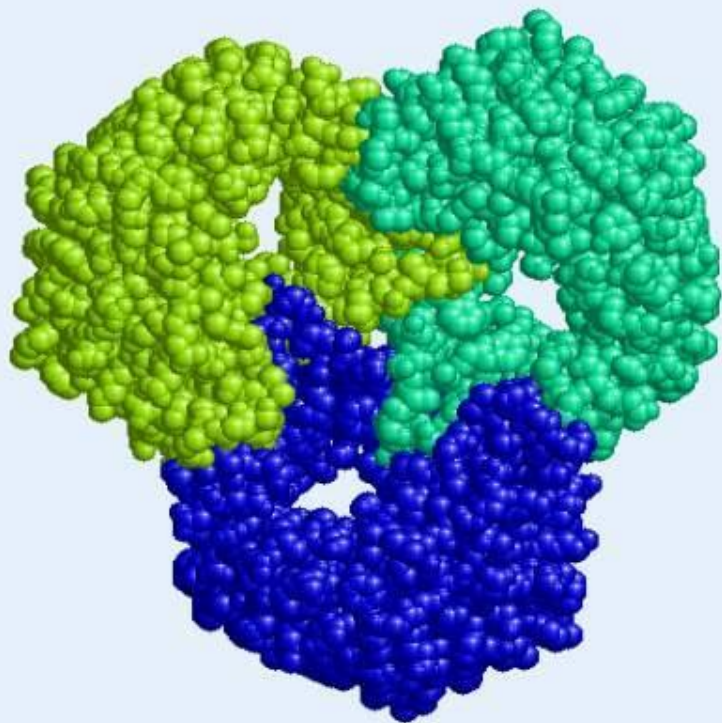


3D Геометрия – это наука о пространственных отношениях между телами, поверхностями, линиями и точками

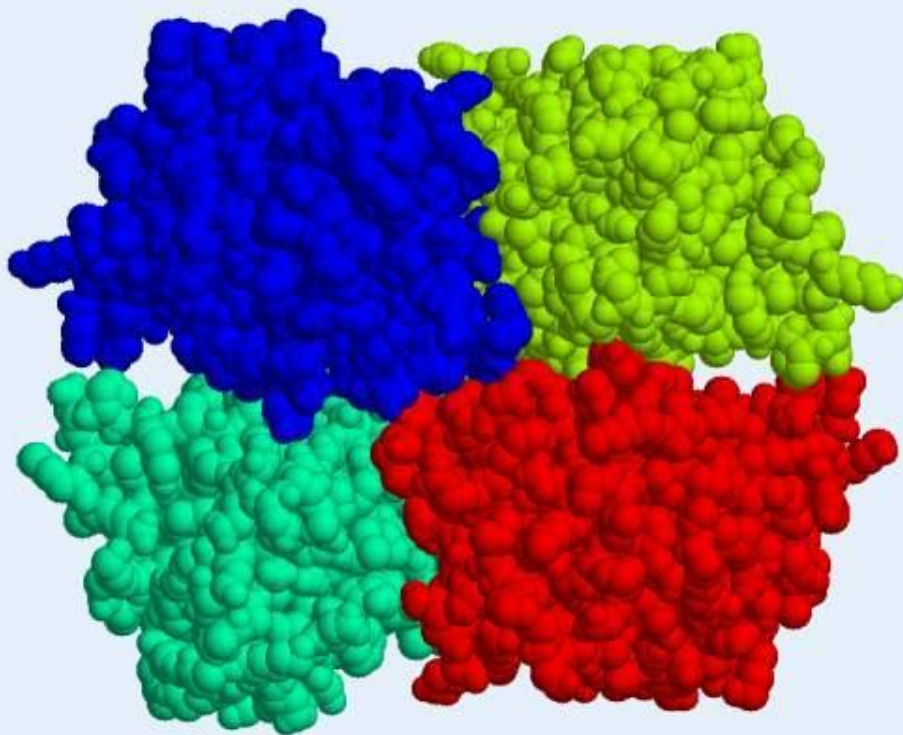
3D = three dimensional = трехмерный

Вот как выглядят белки

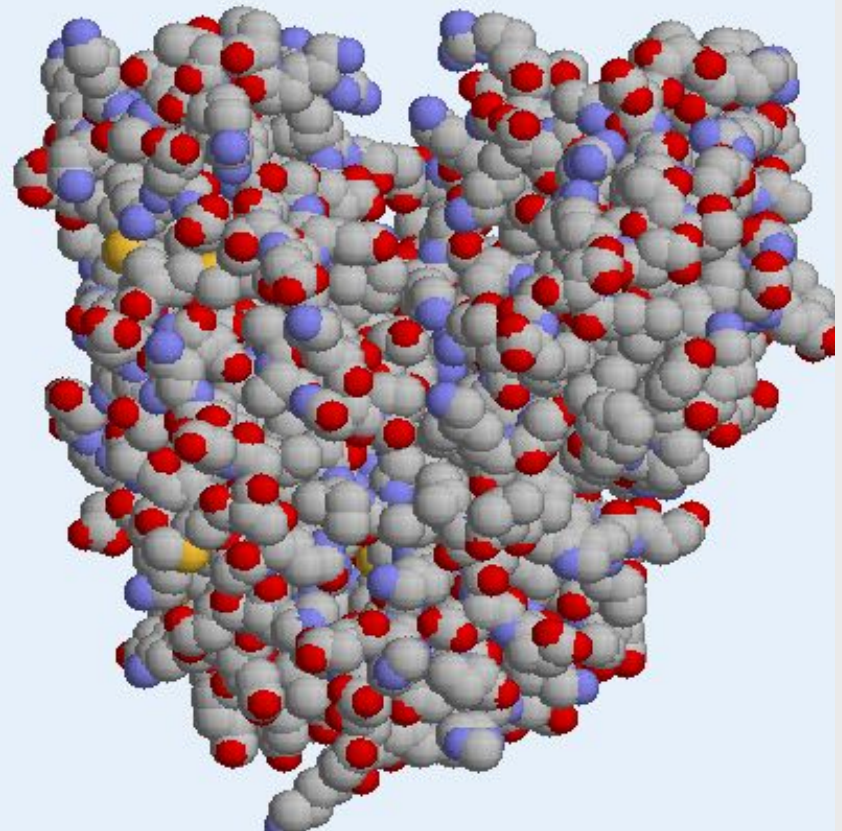
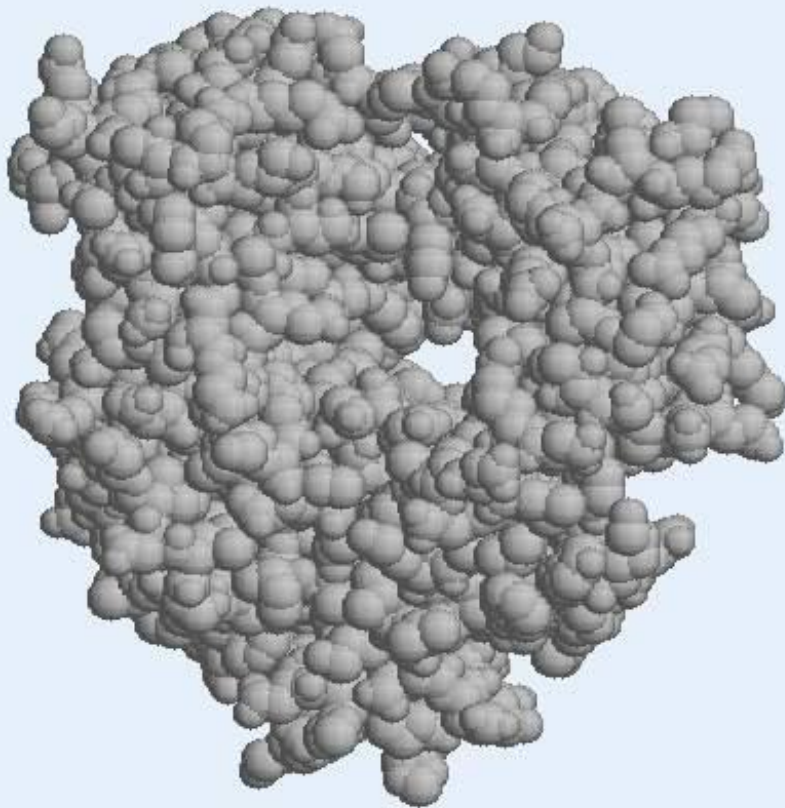
Порин из бактерии
Klebsiella pneumoniae



Зеленый флюоресцентный белок
из медузы *Aequorea victoria*



Еще примеры: РНК-зависимая РНК полимераза полиовируса



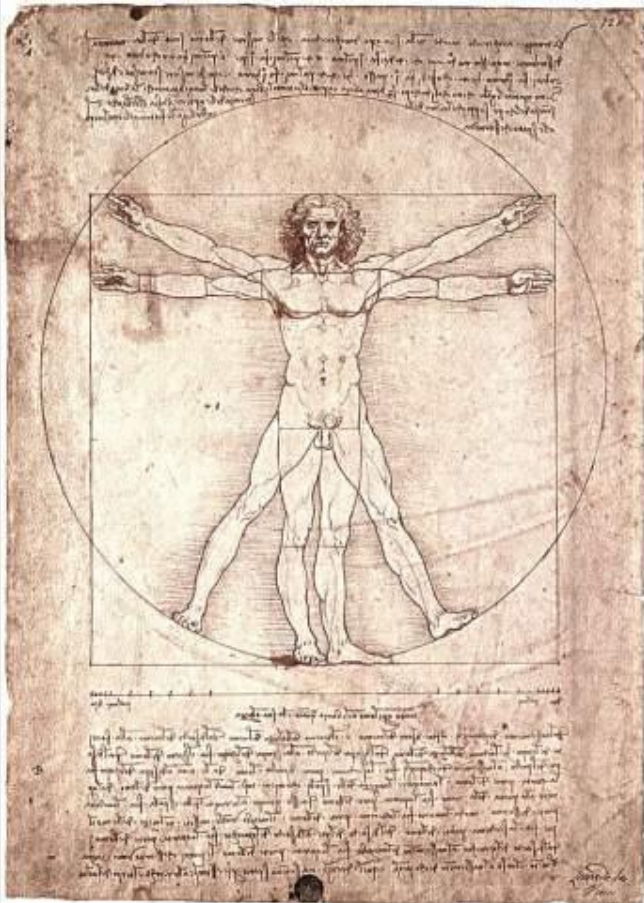
А важна ли 3D геометрия молекул?

РНК-зависимая РНК полимераза полиовируса – молекулярная машина по полимеризации новой молекулы РНК.

Как всякая машина, молекулярная машина состоит из множества согласованно работающих частей

Пример удачного описания 3D геометрии живого

Витрувианский человек



Леонардо да Винчи



В чем состоит описание этого 3D объекта

- Выделяем структурные единицы – части, эти части имеют названия
- Функции частей нам известны
- Подвижность частей нам тоже известна
- Внутреннее строение частей описано наукой (анатомией, физиологией)
- Важные геометрические параметры объекта и его частей и их вариации у разных объектов данного класса тоже описаны (рост, длина руки, форма зубов и др.)

Как мы все это узнали?

- Глаза...
- Длительное наблюдение за объектами
- Возможность измерять
- Анатомия, физиология, биометрика
-

“Живые” молекулы - маленькие

- ДНК: толщина - 20\AA , длина - ?
(участок из 10 пар оснований имеет длину около 35\AA)
(геном кишечной палочки – около 5 млн пар оснований 4639675 п.о.)
(геном человека – более 3 млрд пар оснований)
- РНК: тРНК имеет диаметр около 70\AA
- Диаметр белка может быть от 10 до многих сотен ангстрем (и даже тысяч)

Если бы мы могли стать очень
маленькими и поместились бы
в одну живую клетку, то
увидели бы

Темно ...

Разные молекулы

(вода, ионы, маленькие молекулы – лиганды, белки и др.)
налетают со всех сторон.

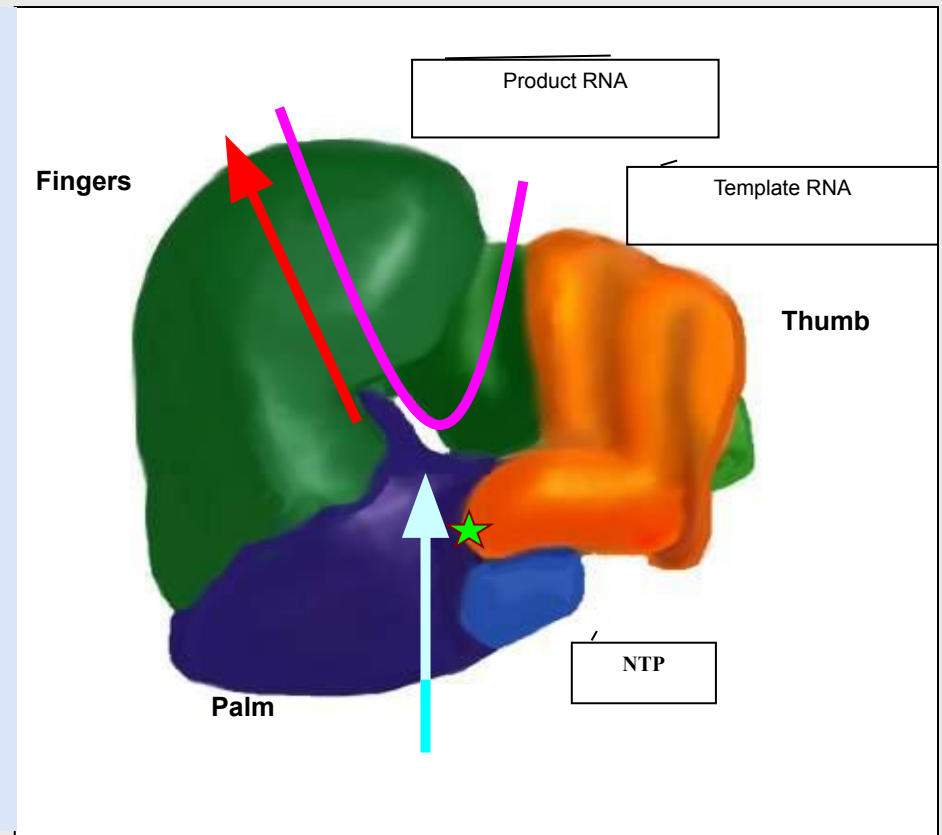
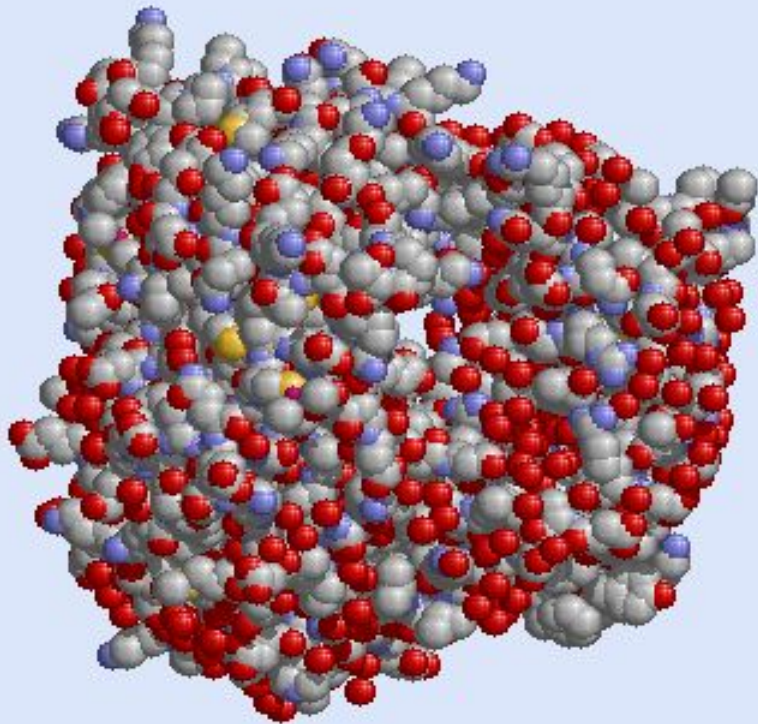
Разобраться что к чему непросто!

Как же нарисовали модели белков?

- Рентгено-структурный анализ - примерно, одномоментная фотография одной молекулы (или одновременно нескольких связанных друг с другом молекул), образующих кристаллическую структуру.
- Не видим: движения белков, подвижность отдельных частей(*), поведения при встрече с другими молекулами и др.
- Приходится а) проводить эксперименты; б) интерпретировать результаты и, часто, догадываться о том, что происходит

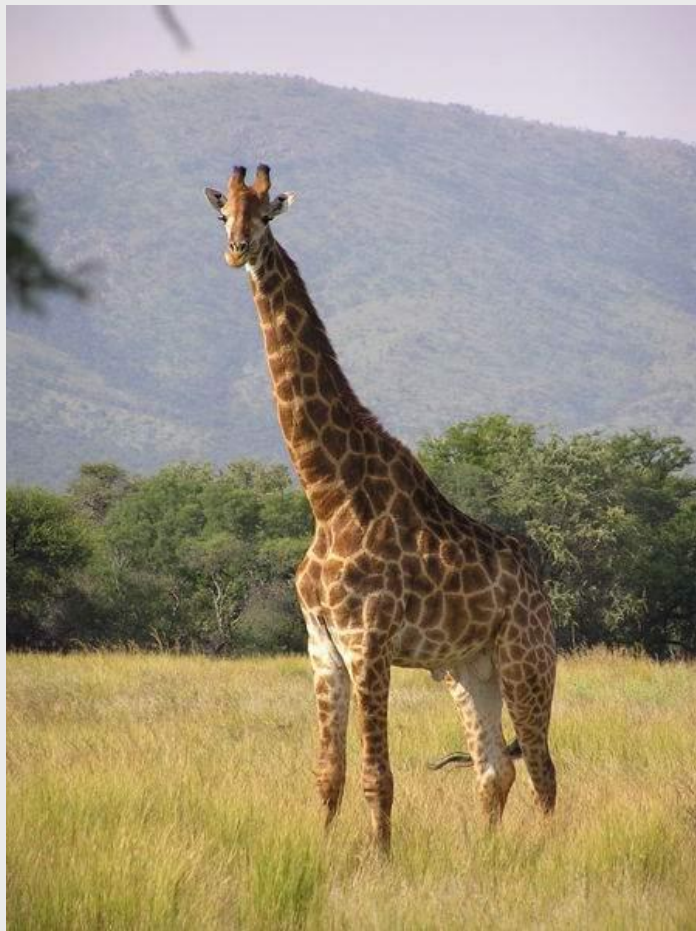
(не совсем так, иногда кое-какие движения можно восстановить на основании экспериментальных данных – ЯМР, например.*

Геометрическое описание РНК-зависимой РНК полимеразы полиовируса, наверное, ДОЛЖНО ВЫГЛЯДЕТЬ ТАК:



(нарисовано на основе существующих на сегодня 3D структур и многих других экспериментальных данных)

Про жирафа и объем наших знаний о жизни белков



Если бы биосфера была размерами с одну клетку, мы смогли бы – современными экспериментальными методами установить, что:

- (1) Основная функция жирафа – поедание верхней кроны листьев
- (2) путь развития жирафа до зрелого белк., извините, организма
- (3) проблема функции хвоста жирафа осталась бы нерешенной и загадочной:

удаление хвоста генно-инженерными методами не приводит к невыполнению функции, однако хвост закрепился в эволюции !!!???



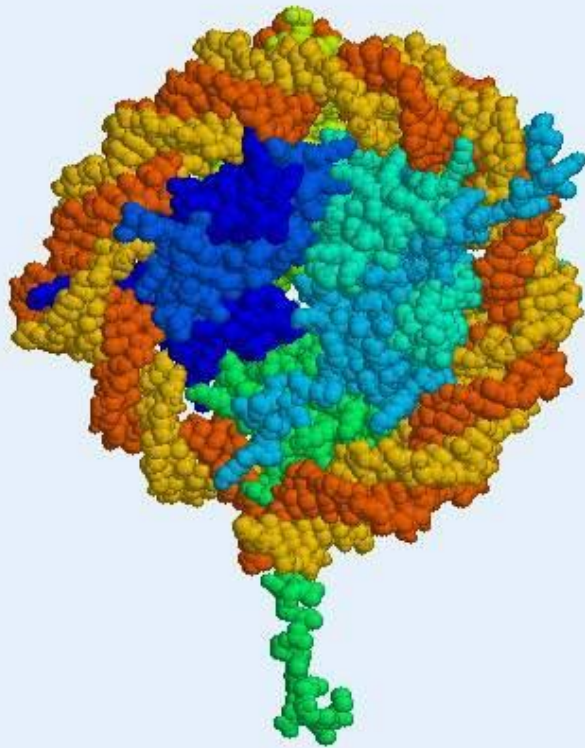
ДНК – архив информации

Значит, должны быть

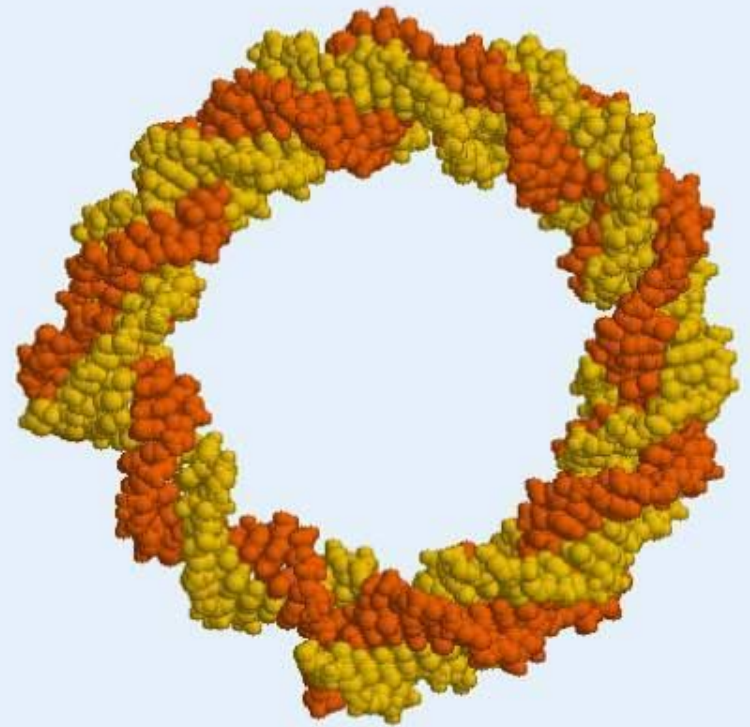
- Писатели (???)!!!)
- Читатели, которые используют информацию
- Архивариусы, которые следят за тем, чтобы нужную информацию получали нужные читатели, заботились об архиве
- Копировщики архива (клетки размножаются)

Два способа чтения ДНК белками

Фрагмент нуклеосомы лягушки
Xenopus laevis



ДНК находится в ***B*-форме**. В такой форме она обычно хранится в хромосоме



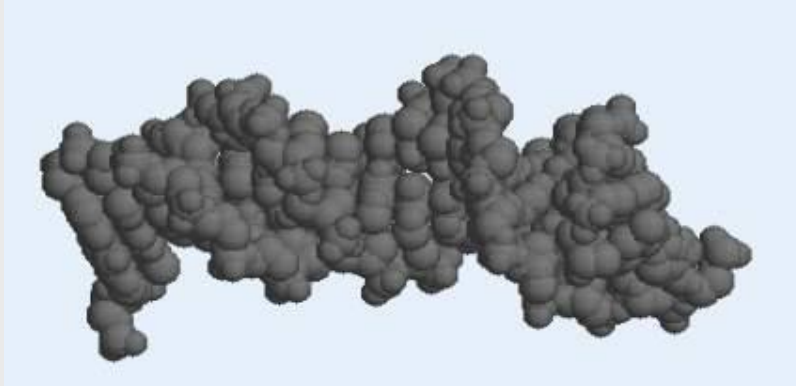
См. Rasmol

В ДНК закодирована информация

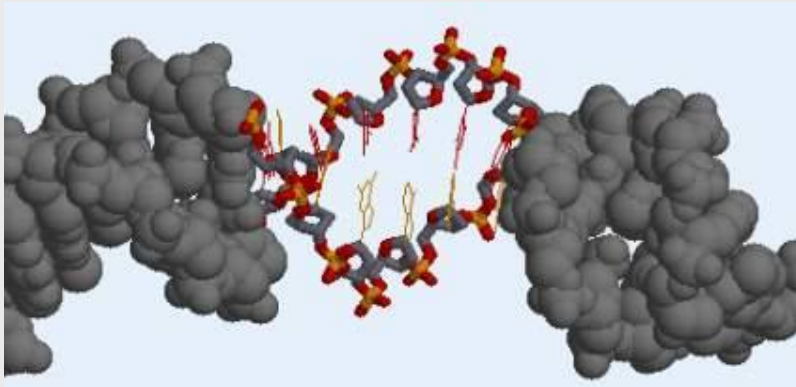
- АААТТGCGСТТТССАGGG ...
или вроде того
- И как же ее переписать, разглядывая (нам, людям) или “щупая” (ДНК-зависимой РНК-полимеразе)?

- АGСТGAАТТСАGСТGAАС

Этим и займемся – для участка ДНК

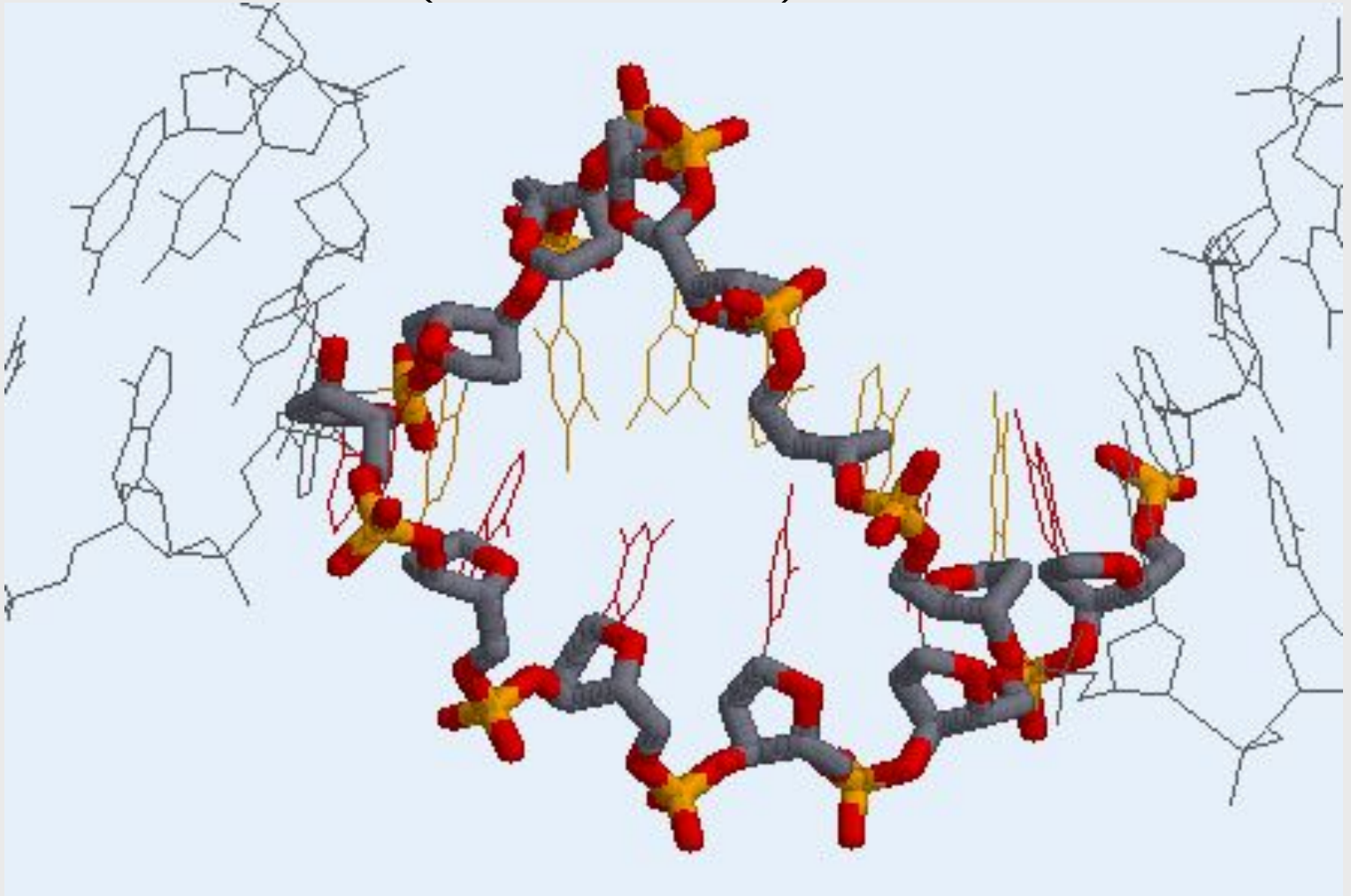


Где же буквы А, Т, G, С?

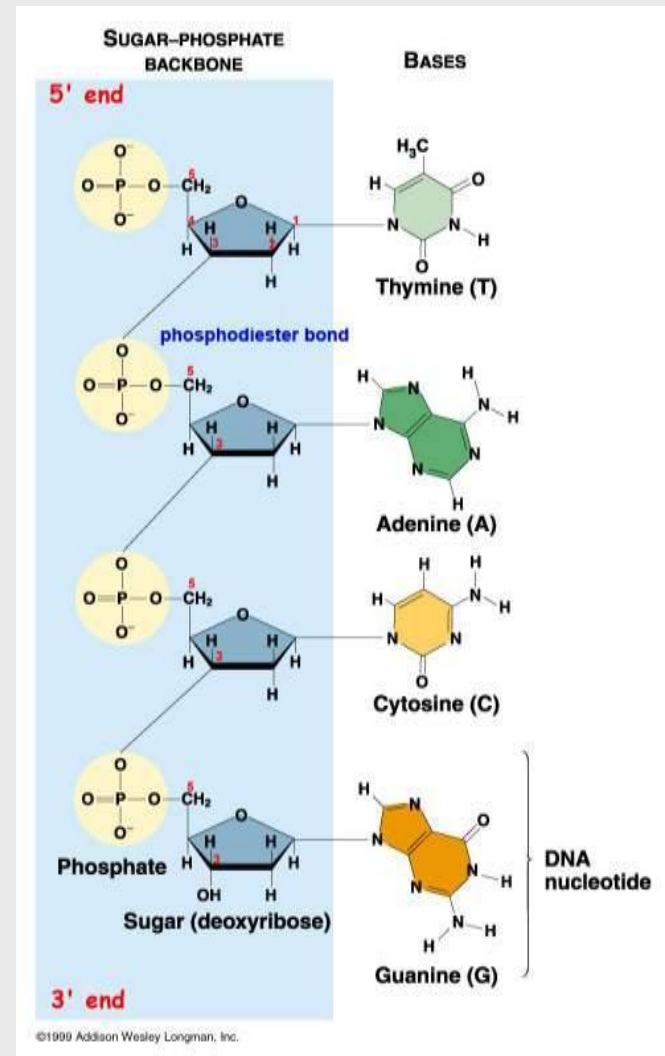
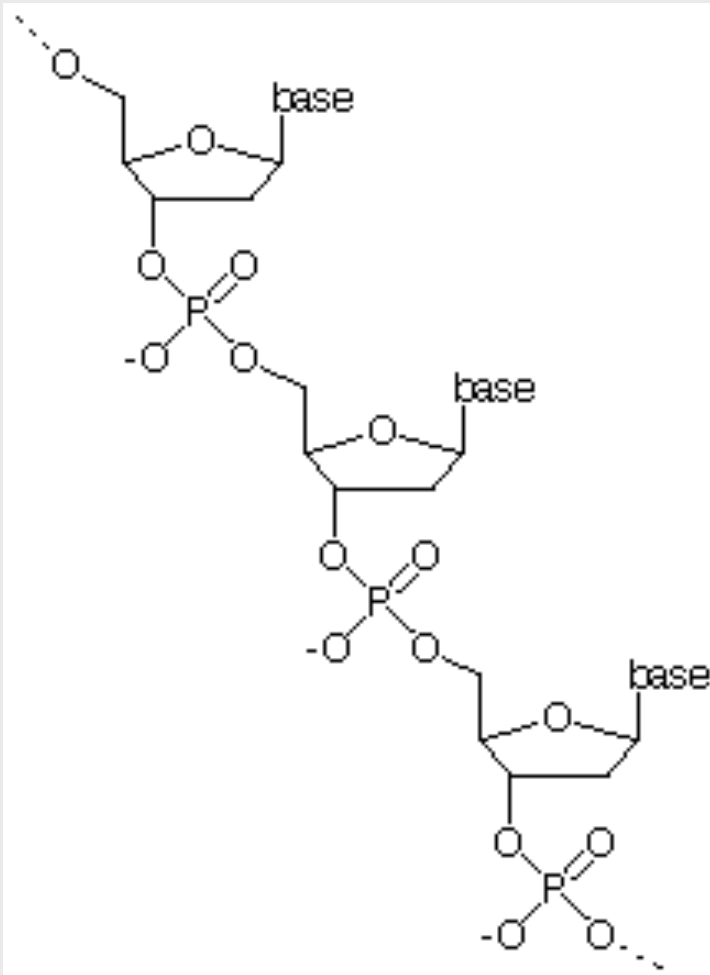


Чтобы найти буквы нам
(людям) нужно упростить
картинку, найти и назвать
части молекулы

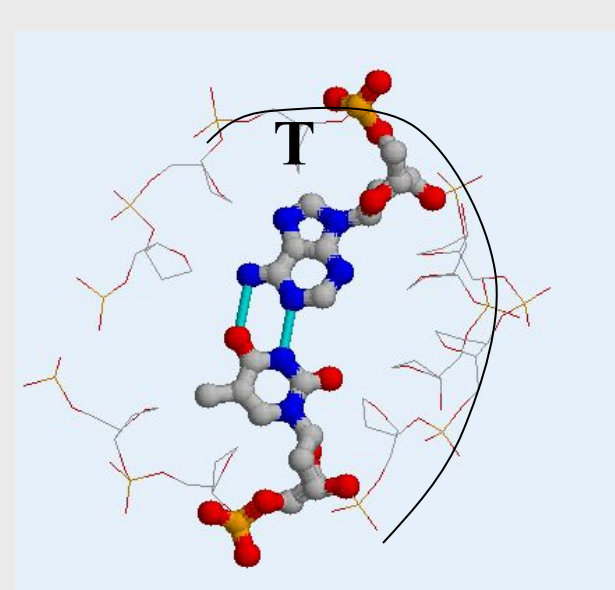
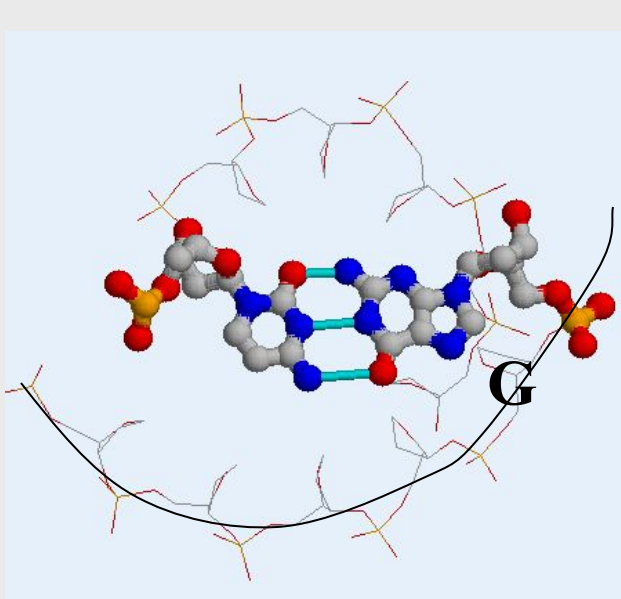
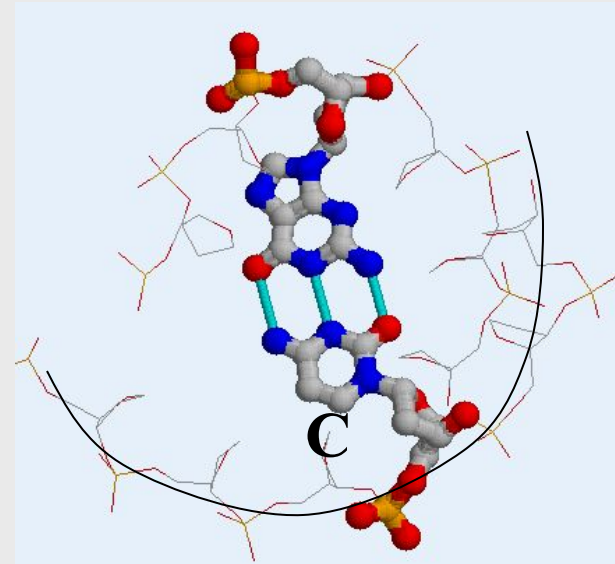
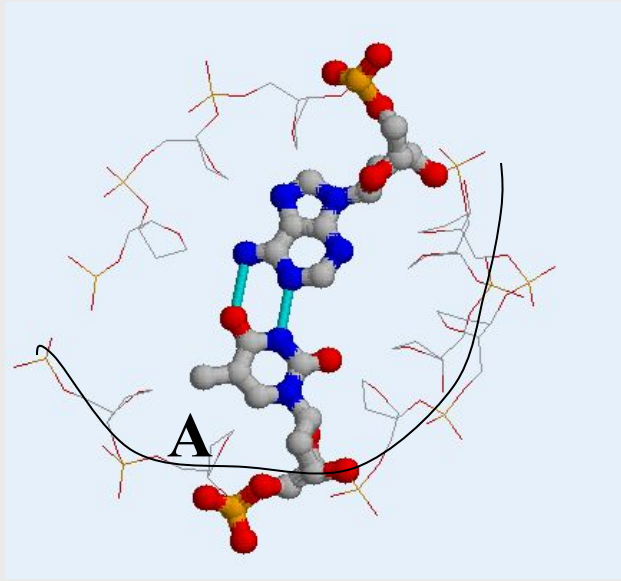
Сахаро-фосфатный остов ДНК (выделен)



В каком направлении читать ДНК?



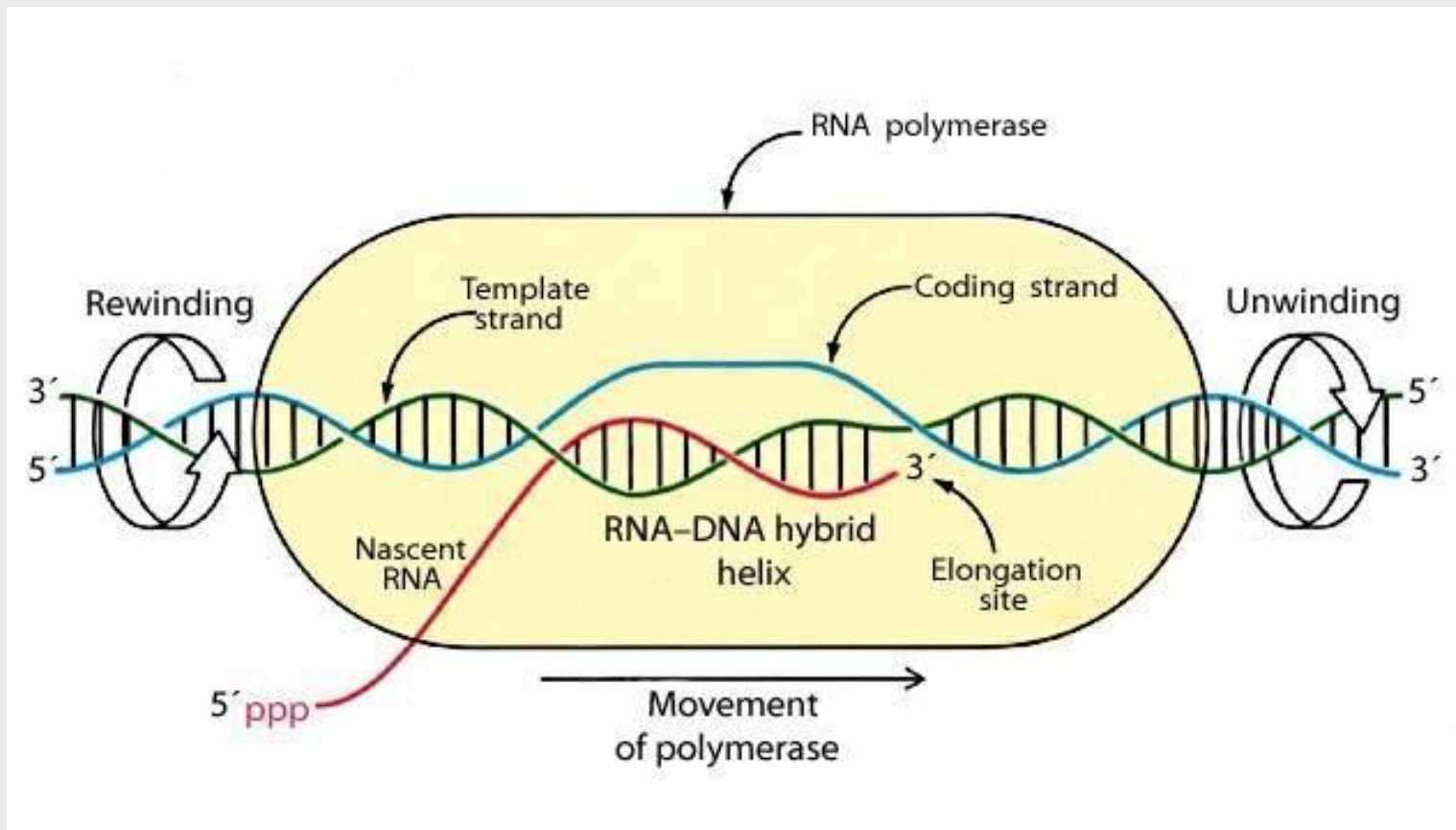
Глазами легко увидеть различные пары оснований



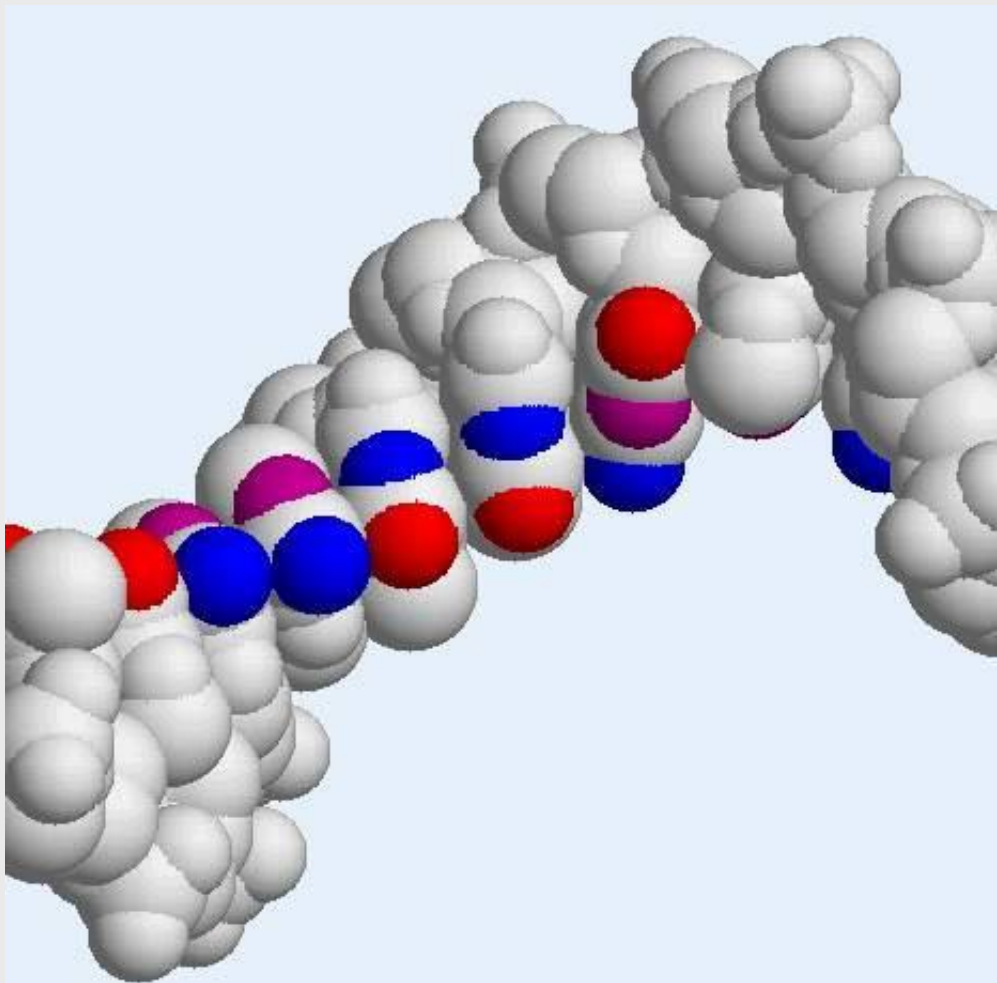
ДНК-зависимая РНК-полимераза




- только переписывает буквы
- расплетает две цепи ДНК
- изгибает одну цепь так, как ей удобно
- работает с каждым основанием по отдельности
- располагает это основание в стандартном положении
- коды атомов основания – донор протона или акцептор протона позволяют ей правильно подобрать комплементарное основание

Схема работы ДНК-зависимой РНК полимеразы



Вот как выглядят коды оснований в расплетенной цепи ДНК



-  Кислород, акцептор протона
-  Азот, Акцептор протона
-  Азот, донор протона

Коды оснований, используемые при переписывании (транскрипции)

A	T	G	C
		N Донор	O Акцептор
N Акцептор	N Донор	N Донор	N Акцептор
N Донор	O Акцептор	O Акцептор	N Донор



● Кислород, акцептор

● Азот, акцептор

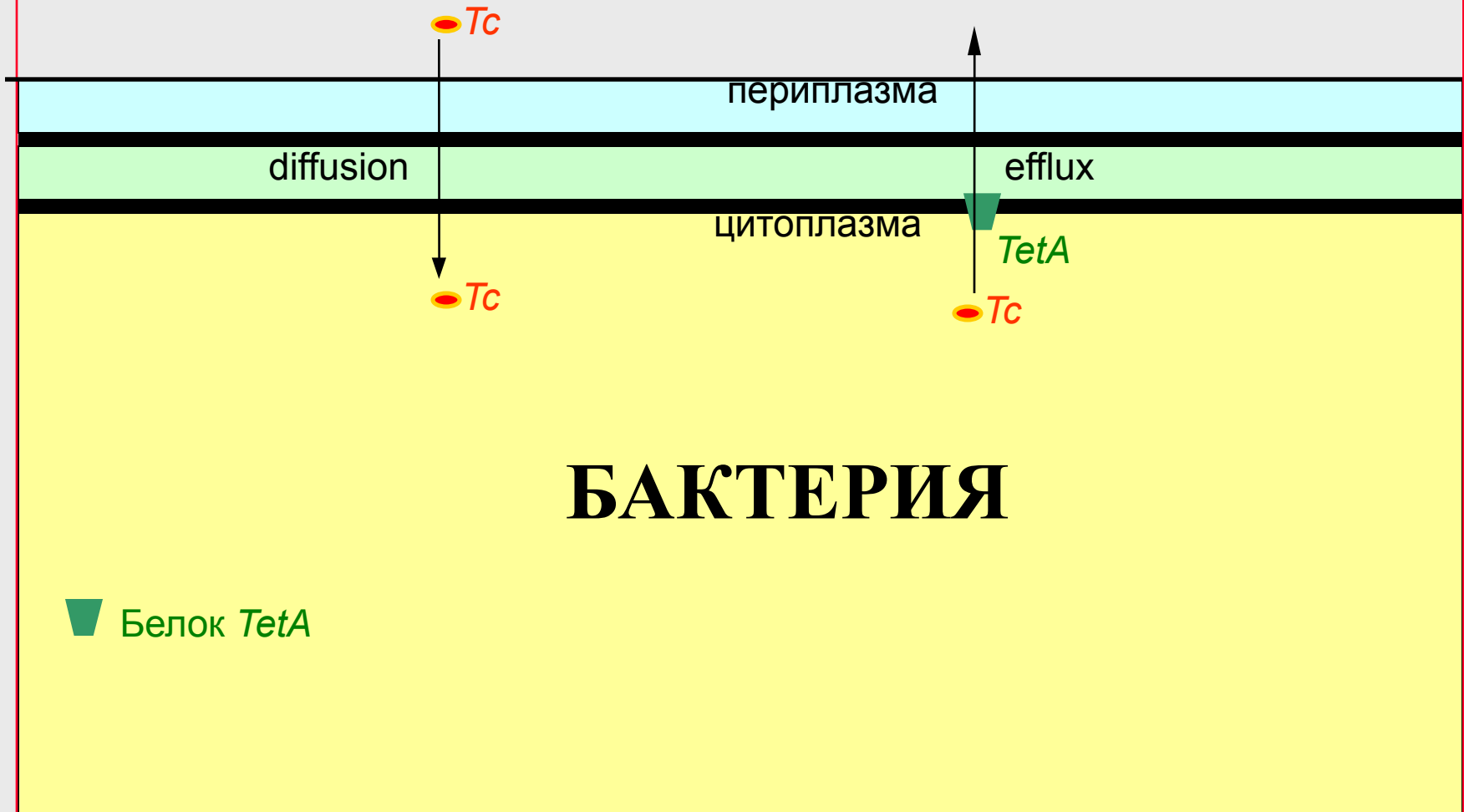
● Азот, донор

Регуляторным белкам
приходится читать ДНК, не
расплетая цепей

История про белок TetR

● Tc антибиотик тетрациклин

МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ПРОСТРАНСТВО



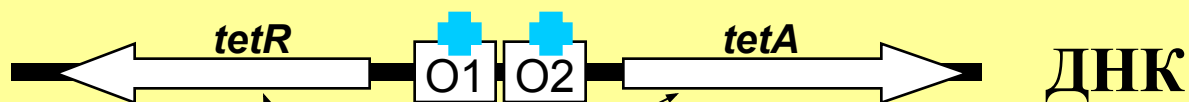
БАКТЕРИЯ

Идея бактерии простая, но так просто не получается



периплазма

цитоплазма



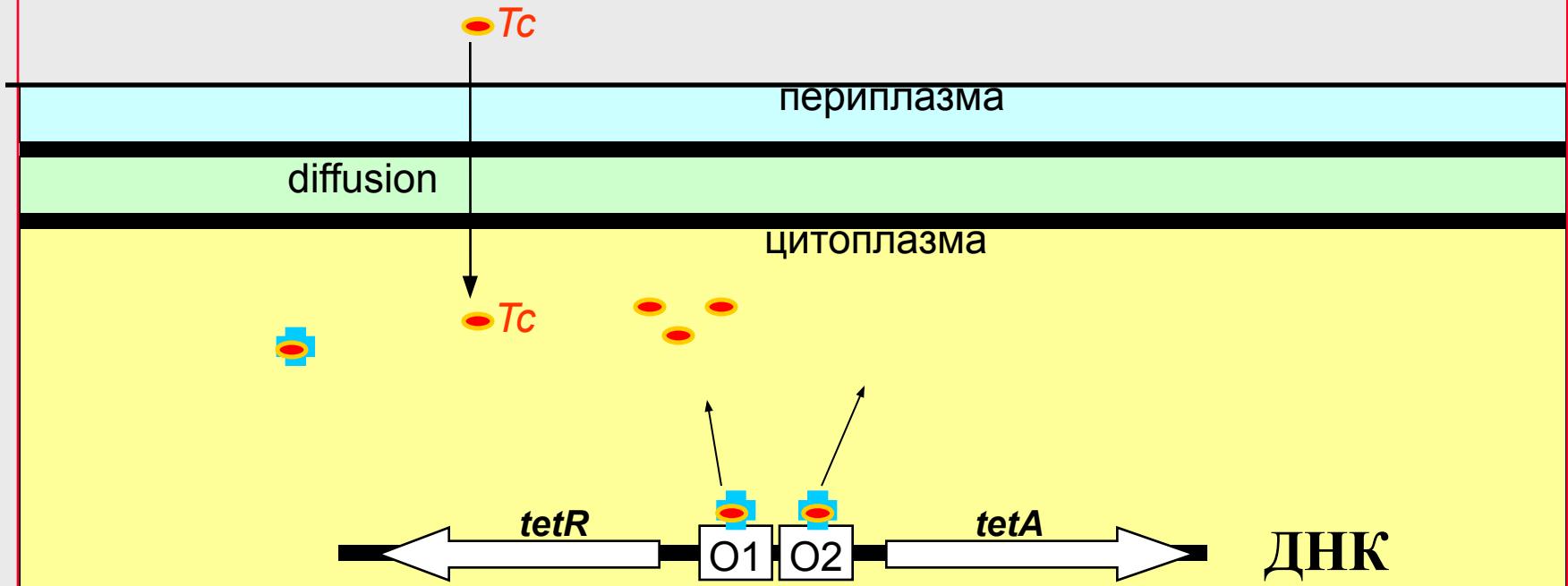
 Белок *TetA*

 Белок *TetR*

Гены не
работают

Участки ДНК, узнаваемые
TetR

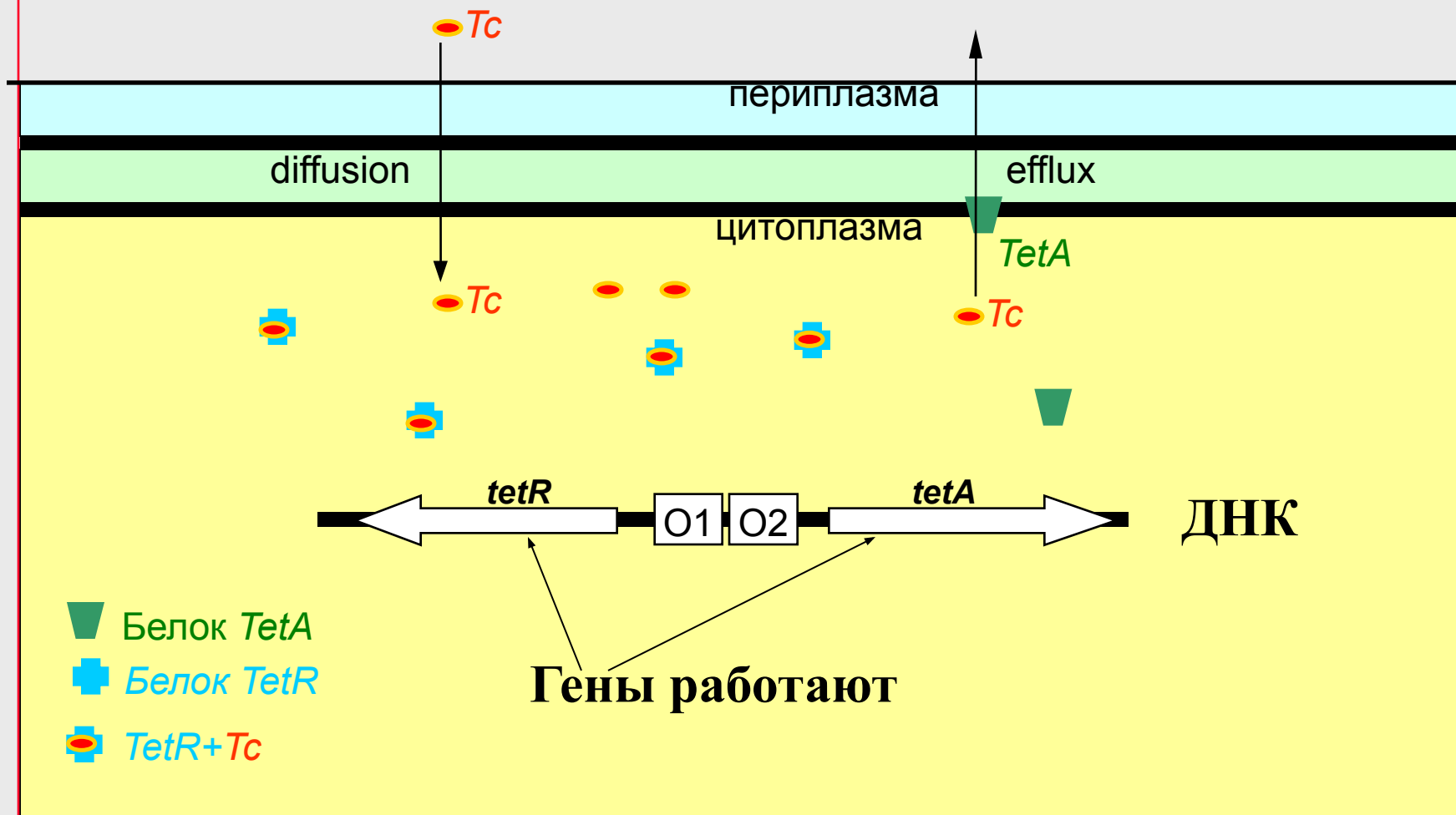
● Tc антибиотик тетрациклин



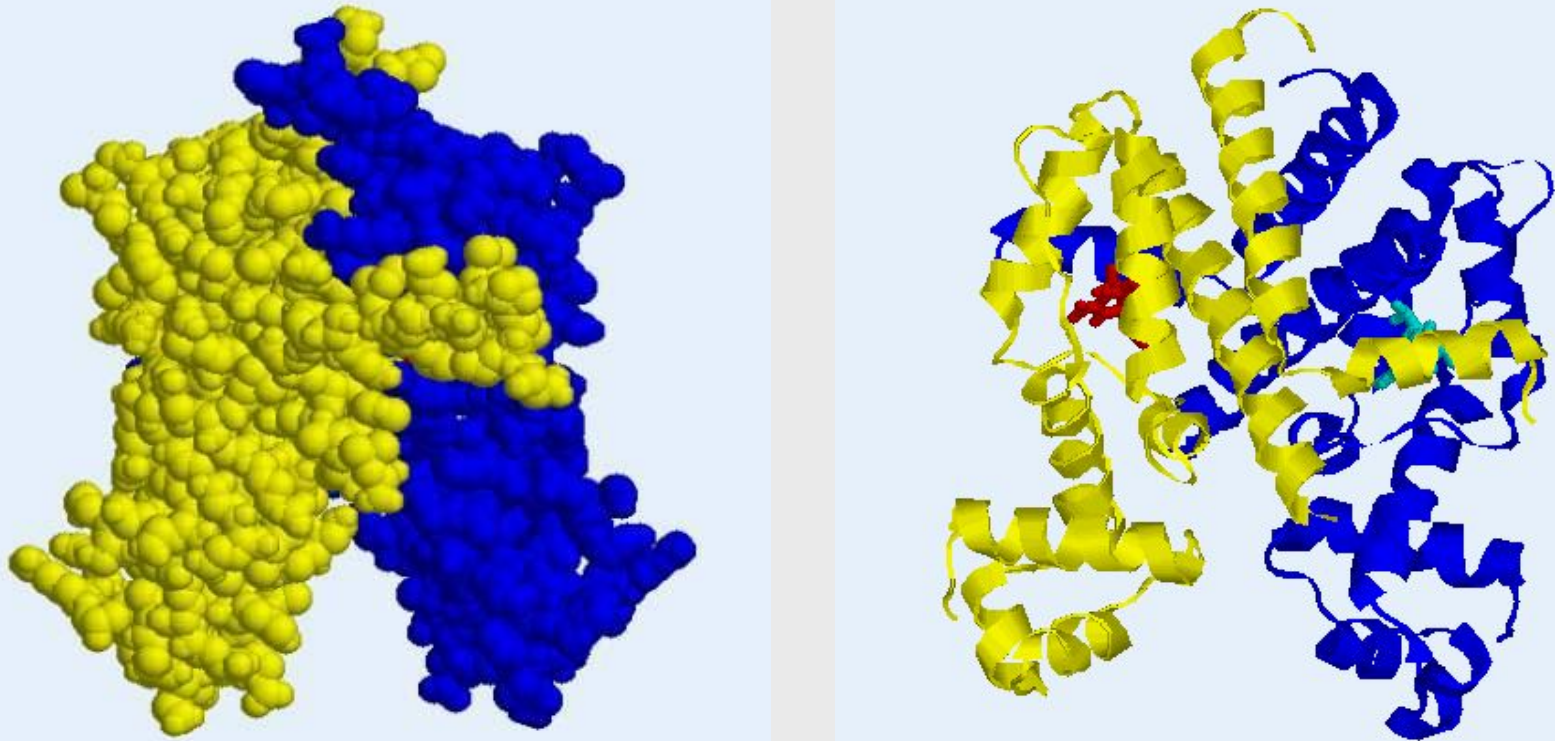
- ▼ Белок *TetA*
- ⊕ Белок *TetR*
- ⊕ *TetR+Tc*

При связывании с *Tc* белок *TetR* перестает связываться со “своим” участком ДНК

● Tc антибиотик тетрациклин



Вот он, белок TetR, собственной персоной



Димер TetR, взаимодействующий с двумя молекулами тетрациклина

Чтобы выполнить свою миссию,
молекула TetR должна отыскать на ДНК
участок с последовательностью

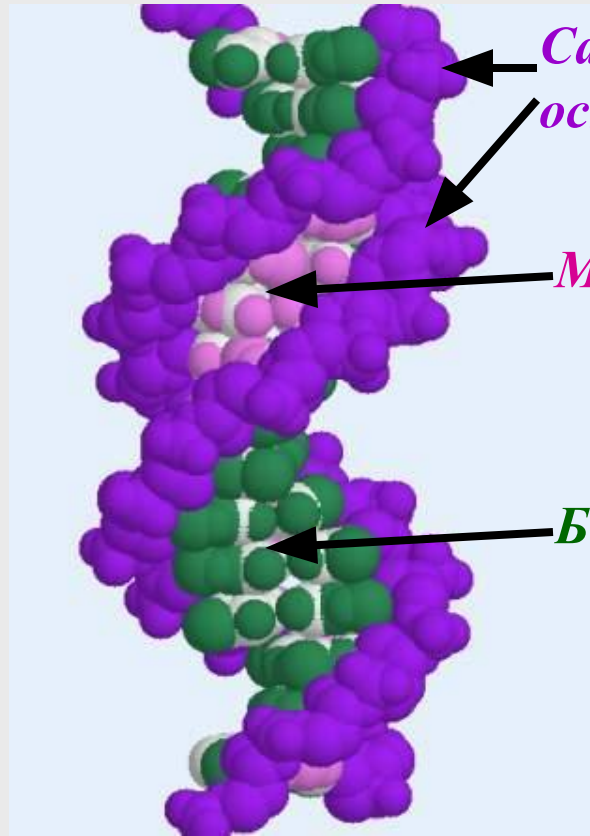
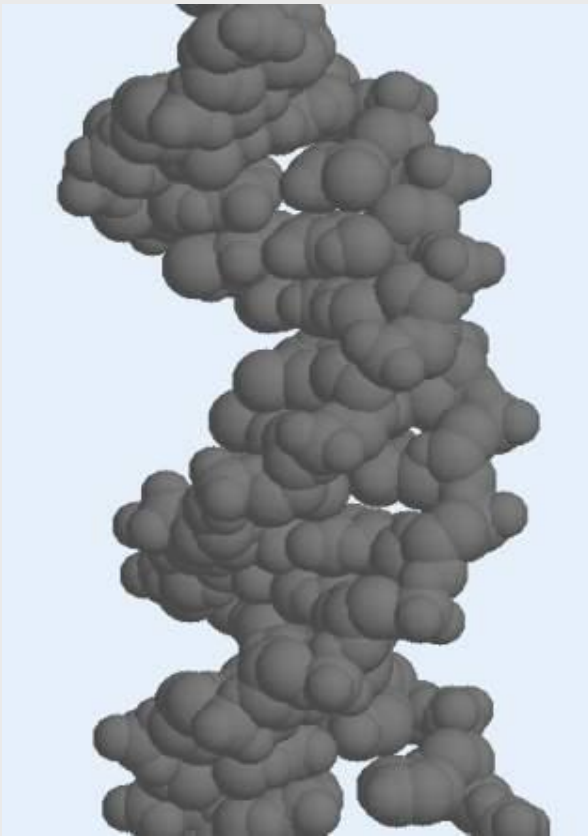
СТАТСАТТГАТАГ

(или очень на нее похожей)

и связаться с ним.

Расплетение двойной спирали ДНК
не предусмотрено!

Давайте читать ДНК, на расплетая цепей!



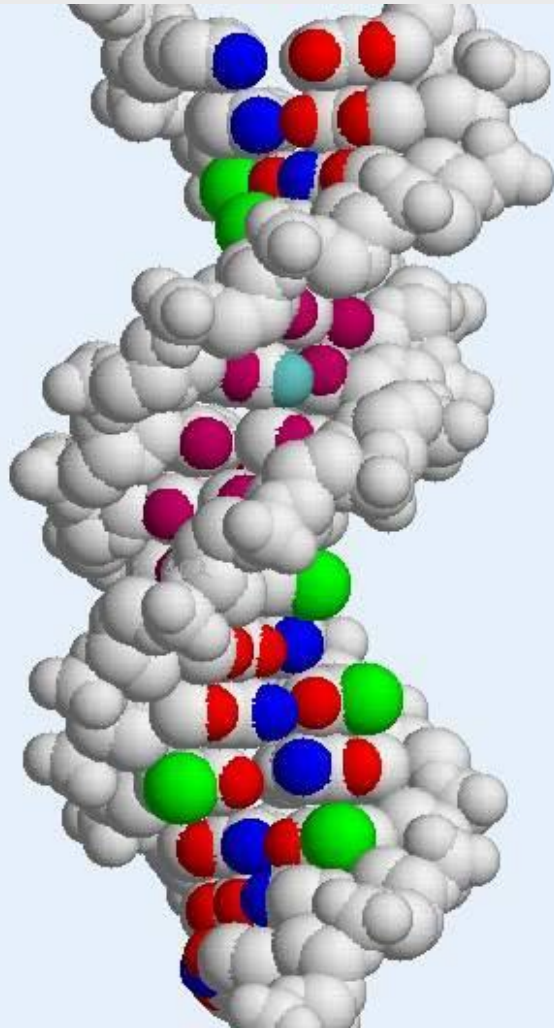
*Сахаро-фосфатный
остов*

Малая бороздка ДНК

Большая бороздка ДНК

Так ничего не понять!
Нужно выделить части!

Какие атомы на поверхности ДНК различаются в зависимости от оснований ДНК (“букв”)?



Большая бороздка ДНК:

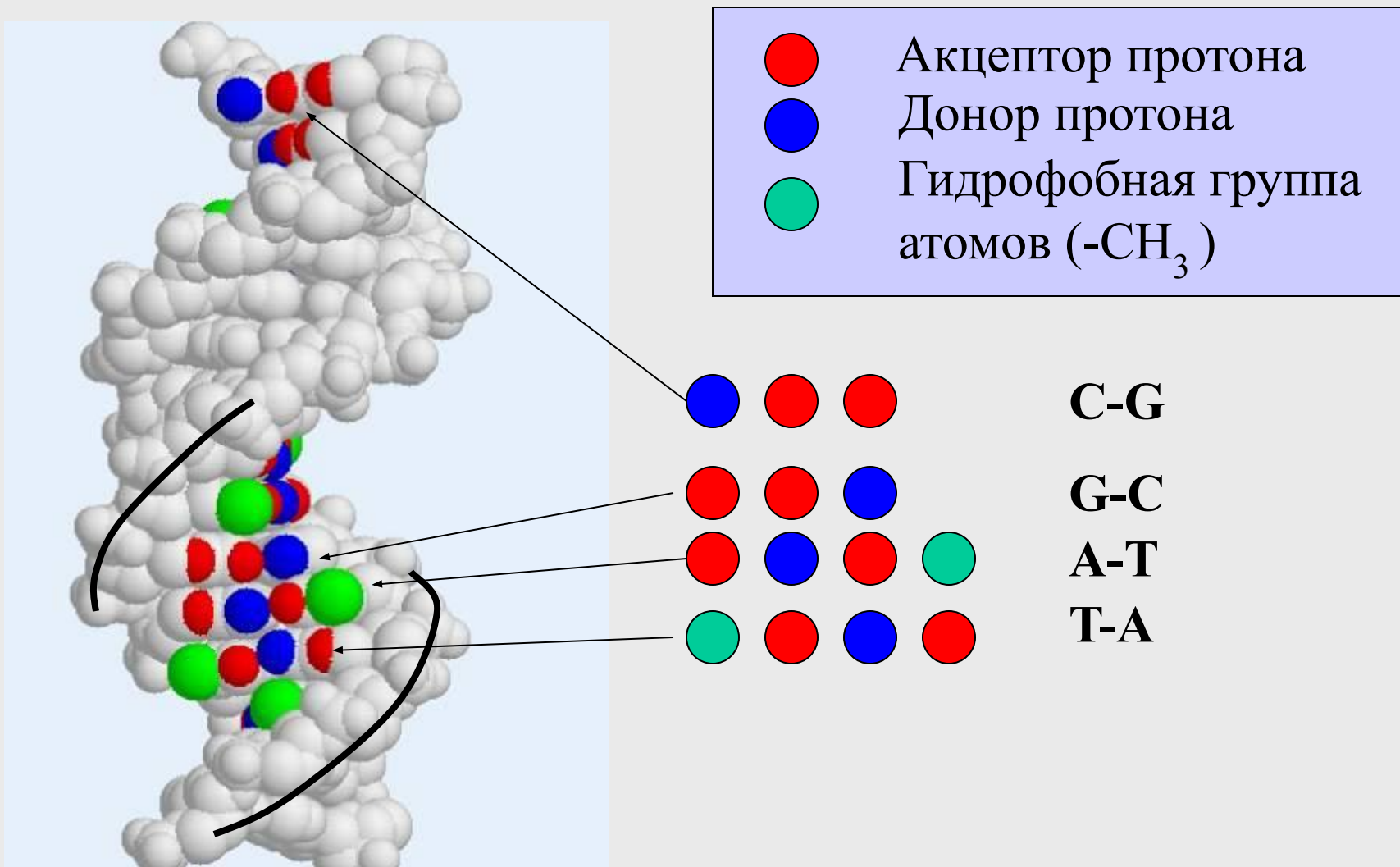
- Акцептор протона
- Донор протона

Малая бороздка ДНК:

- Акцептор протона
- Донор протона

Основные различия – в большой бороздке!

“Химический код” в большой бороздке ДНК

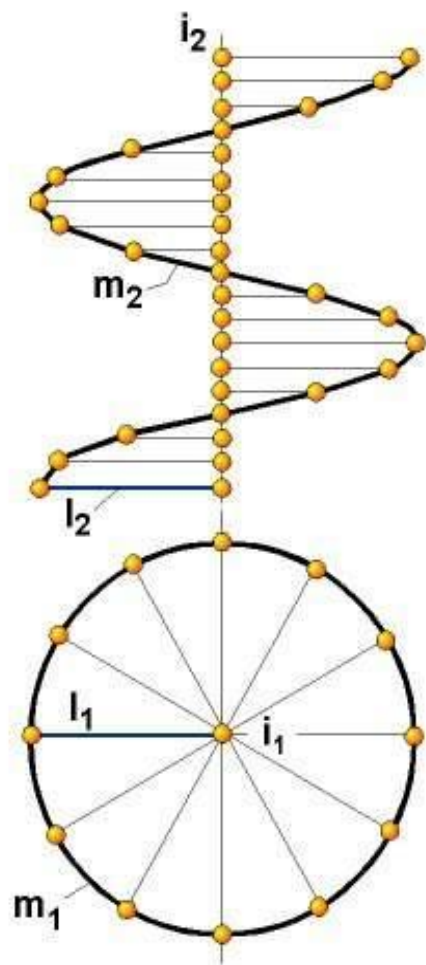


Разглядывая большую бороздку, человек может узнать последовательность ДНК, не расплетая двойной спирали.

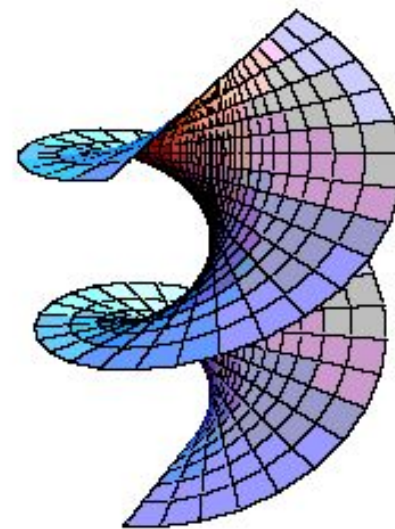
Но у белков нет глаз, им приходится работать на ощупь, различая атомы по их свойствам

Очевидно, важна геометрия большой бороздки ДНК!

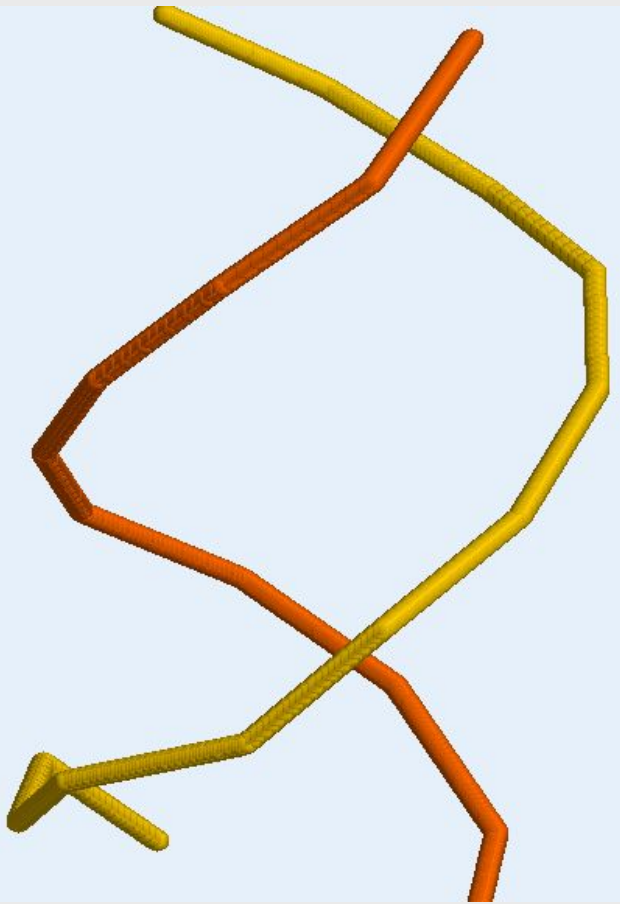
Поверхность дна большой бороздки ДНК хорошо приближается поверхностью, называемой “Геликоид”.



Определение 1. Геликоид – поверхность, образованная равномерным вращением отрезка, перпендикулярного оси, и равномерно перемещающегося вдоль нее.



Определение 2. Геликоид – поверхность, образованная мыльной пленкой, натянутой на двойную спираль из проволоки (т.н., минимальная поверхность)

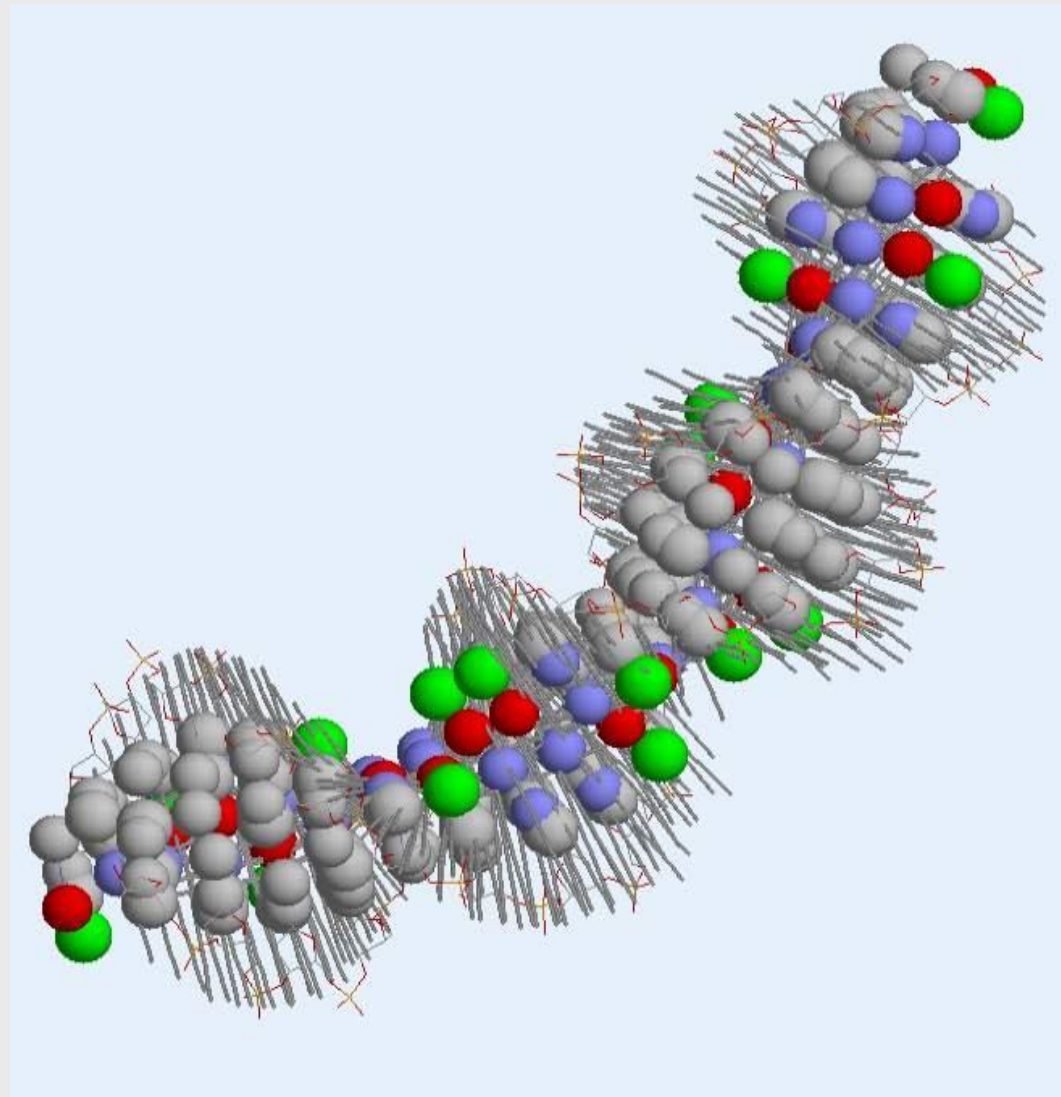


Двойная спираль



Геликоид

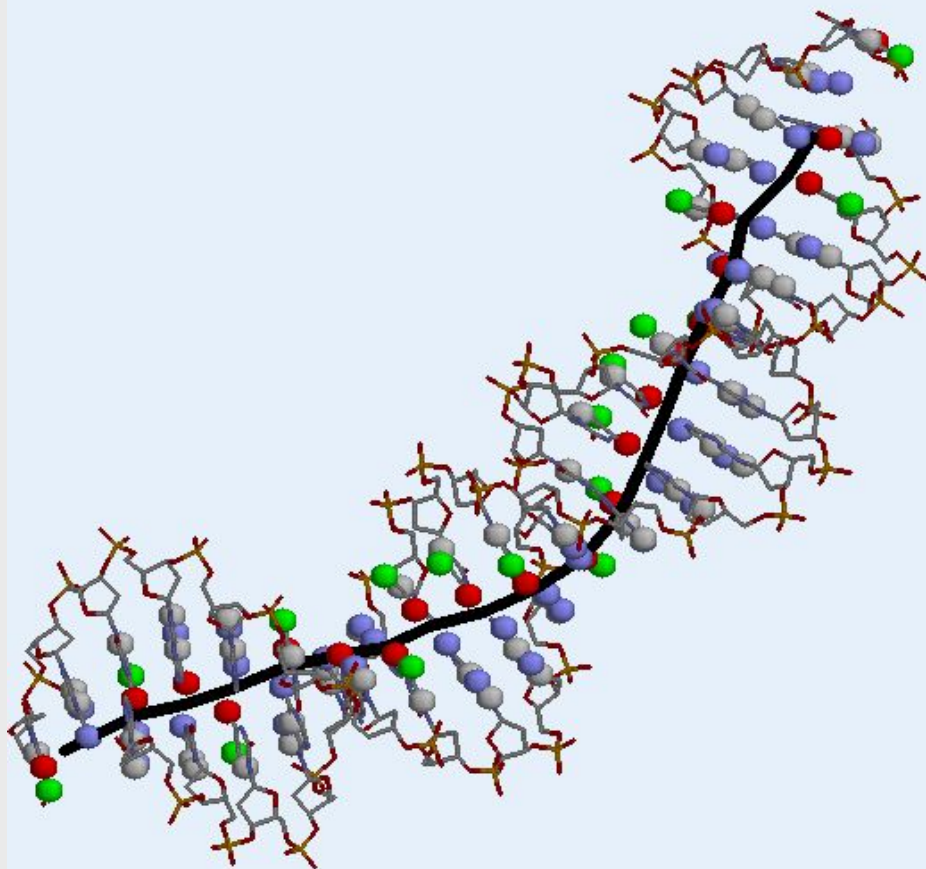
Большая бороздка ДНК, приближенная геликоидом



Параметры геликоида
подгоняются к каждому
участку ДНК.

Поэтому геликоид
искривлен

Ось ДНК проходит по дну большой бороздки и совпадает с осью геликоида



Давайте изобретать белок для распознавания ДНК!

- Белок глобулярный, т.е. сохраняет свою форму, очень условно, эллипсоидальную
- В нем нет длинных гибких “щупалец”
- Значит, надо изобрести структурную единицу белка, помещающуюся в большую бороздку
- Такой структурной единицей может быть альфа-спираль

Вот как это делает
тетрациклиновый репрессор

См. Rasmol

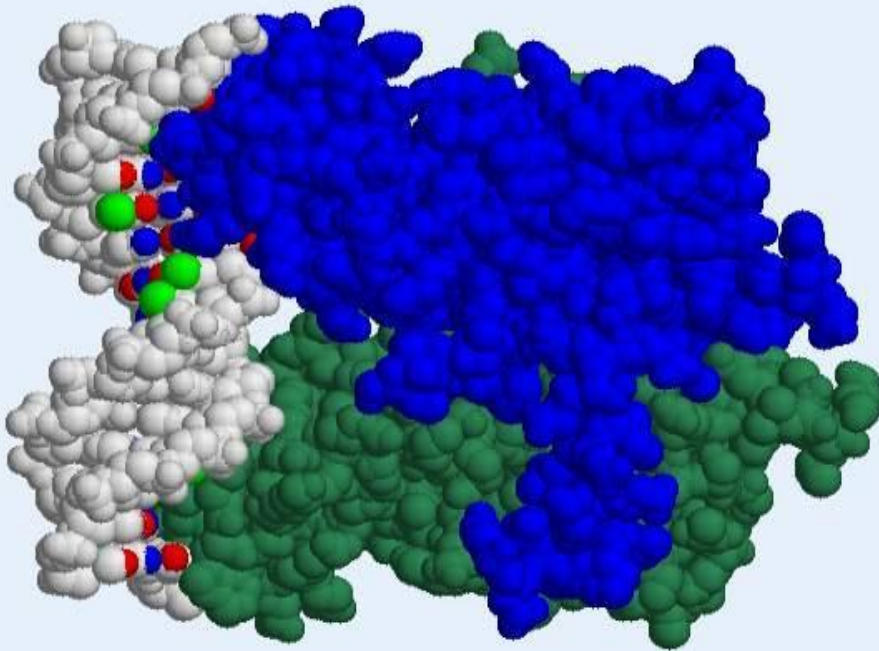
Некоторые выводы

- Одна молекула белка взаимодействует с коротким участком ДНК - 4-5 пар оснований
- В большой бороздке ДНК белок ищет шифр в области поверхности большой бороздки; для него ДНК не разделена на пары оснований
- Форма поверхности большой бороздки важна для узнавания своего участка ДНК

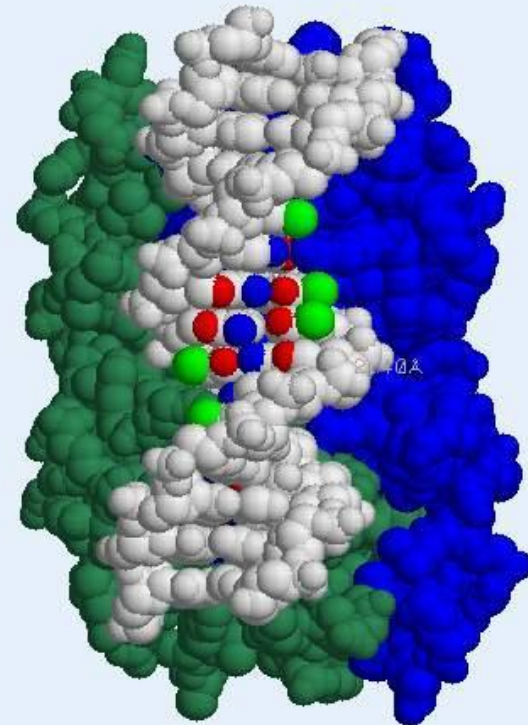
Регуляторным белкам надо узнавать участки ДНК из ок. 10 пар оснований, как минимум...

- Димеризация белка – это способ удлинить узнаваемый участок
- *Какое свойство последовательности регуляторного участка ДНК (участка, который узнает регуляторный белок) следует ожидать из-за того, что этот белок димеризуется?*

Димер тетрациклинового репрессора на ДНК



Вид сбоку



Вид со стороны ДНК

Вот последовательность, узнаваемая
тетрациклиновым репрессором

СТАТСАТТГАТАГ

Что в ней особенного?

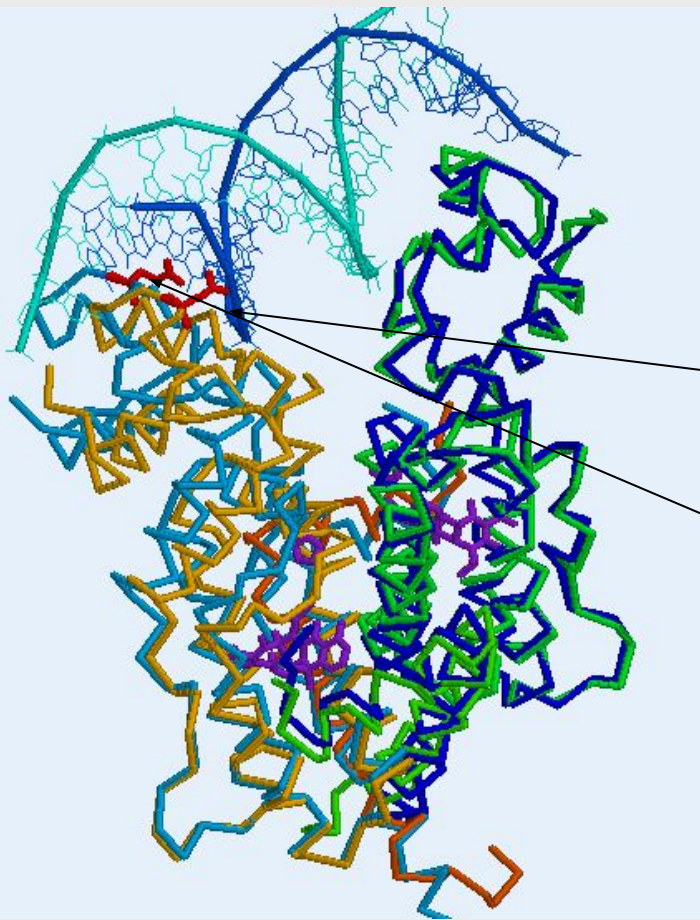
- Тетрациклиновый репрессор умеет узнавать участок ДНК со своей любимой последовательностью
- Люди (даже ученые ☺) не научились как следует решать эту задачу!!!

Задача. Дан регуляторный белок; знаем все о его строении. Найти участок ДНК, с которым этот белок свяжется – т.е. указать последовательность ДНК этого участка

Значит, мы знаем не все, что использует белок для узнавания

- Роль растворителя – воды, ионов
- Геометрия участка ДНК может зависеть от последовательности оснований
- Изгибаемость двойной спирали ДНК может зависеть от последовательности оснований
-

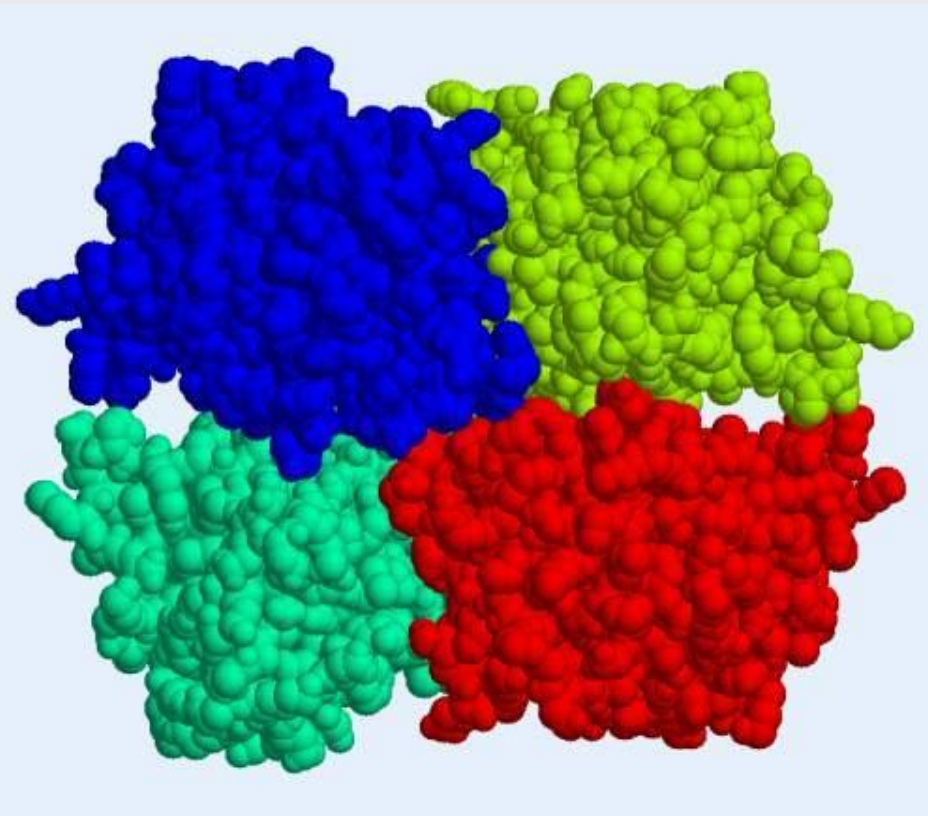
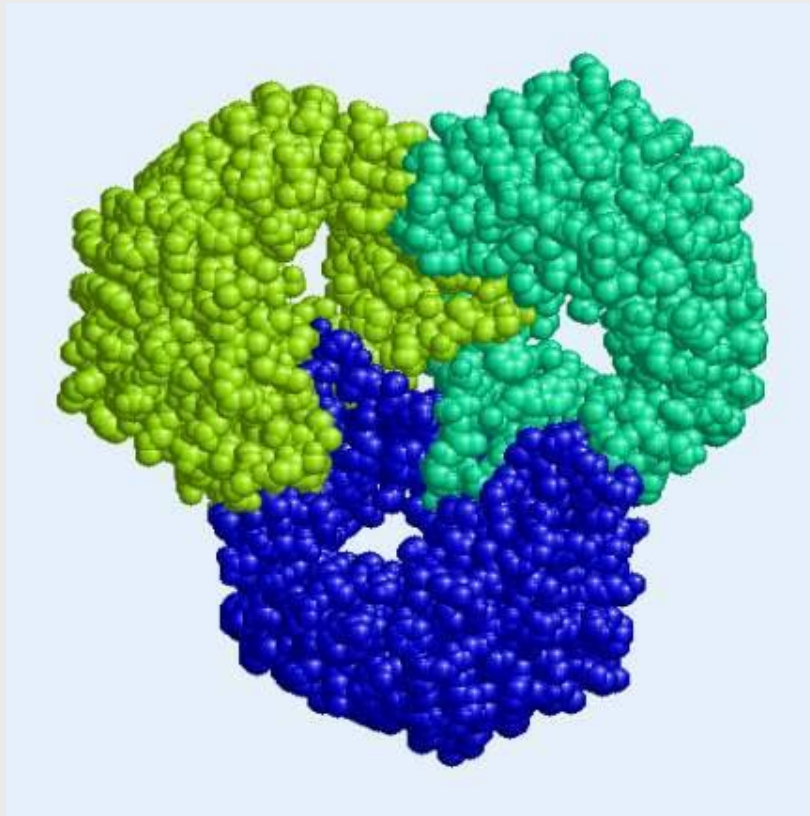
Почему же тетрациклиновый репрессор, связавшись с тетрациклином, перестает связываться с ДНК?



Две структуры наложе друг на друга

В структуре с тетрациклином, например, глутамин-38 изменил свое положение по сравнению со структурой с ДНК и наезжает на ДНК.

Вернемся к порину и зеленому флюоресцентному белку:

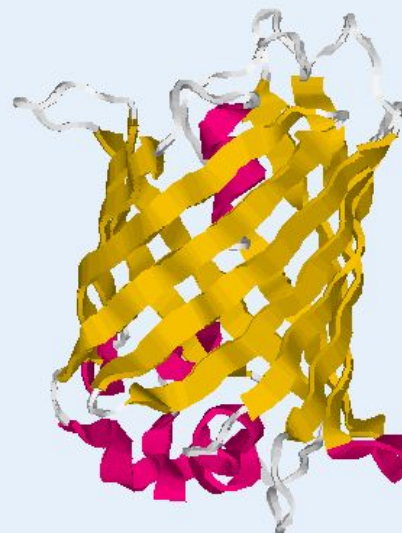
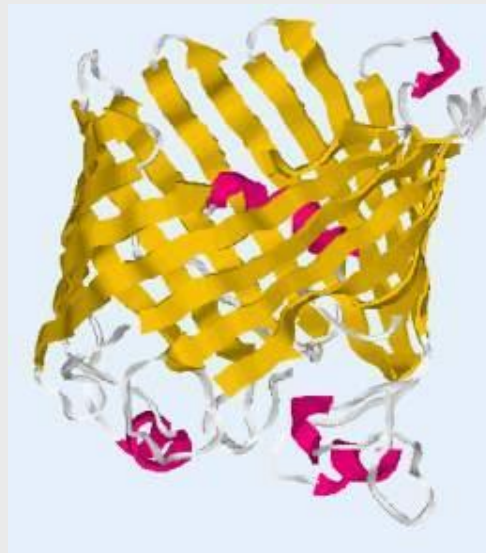
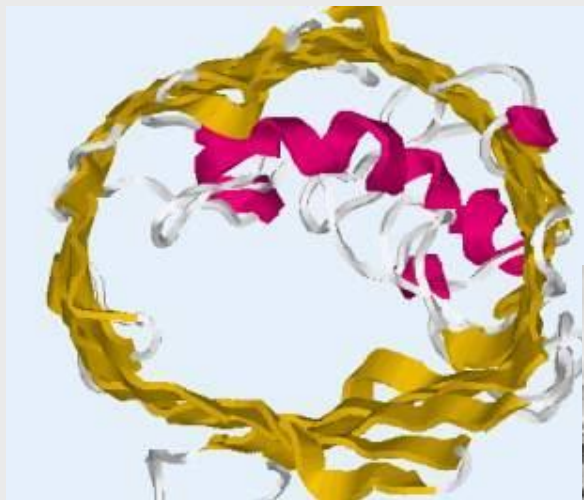


Ничего общего?

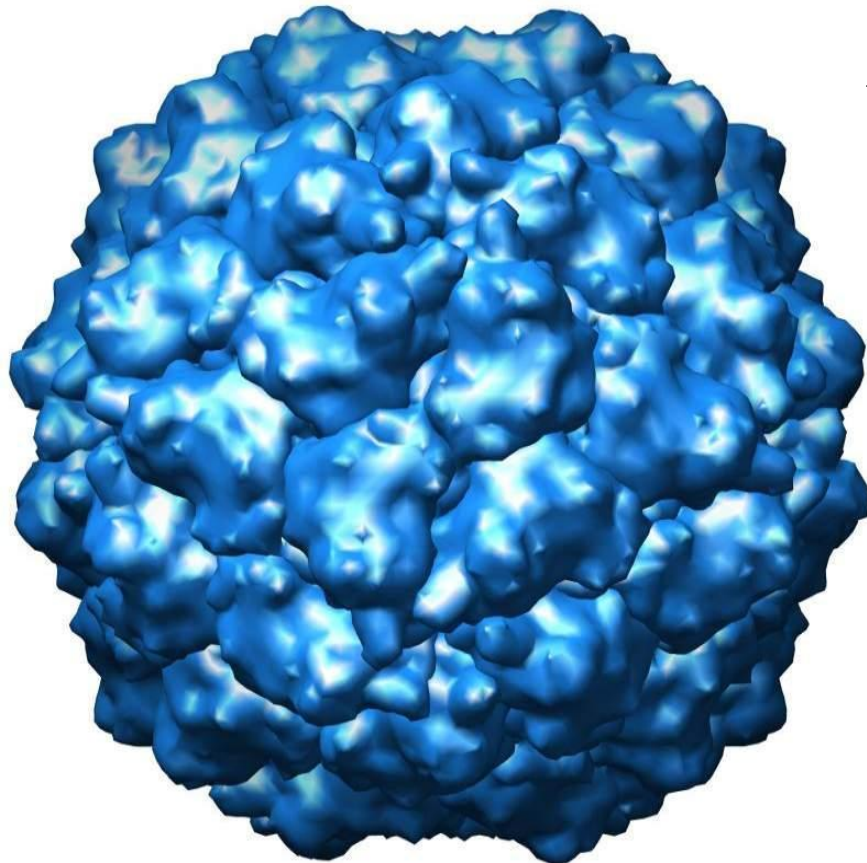
Скелеты похожи!

Порин

Зеленый флюоресцентный белок



Капсид вируса - сателлита вируса табачной мозаики – сложен из 60 одинаковых молекул белка.



Задача. Как сшить сферу из одинаковых лоскутов?

Вот адрес базы данных PDB, в которой хранятся 3D структуры белков, ДНК, РНК:

<http://www.rcsb.org/>

Ключевое слово

The screenshot shows the RCSB PDB website homepage. At the top left is the logo "RCSB PDB PROTEIN DATA BANK". To the right, it says "An Information Portal to Biological Macromolecules" and "As of Tuesday Mar 21, 2006 there are 35701 Structures". Below this is a search bar with "PDB ID or keyword" and "Author" options, and a "SEARCH" button. A navigation menu on the left includes "Home", "Tutorial About This Site", "Getting Started", "Download Files", "Deposit and Validate", "Structural Genomics", "Dictionaries & File Formats", "Software Tools", "Educational Resources", "General Information", "Acknowledgements", and "Frequently Asked Questions". The main content area has a "Welcome to the RCSB PDB" heading and several paragraphs of text describing the database's mission and resources.

*Сохранение файла
в формате PDB
(нужно знать PDB
код, например, 2trt)*

Вот откуда можно скачать программу Rasmol, позволяющую смотреть на 3D структуры в формате PDB

<http://www.openrasmol.org/doc/rasmol.html>

Версия 2.7.3 под Windows и help file

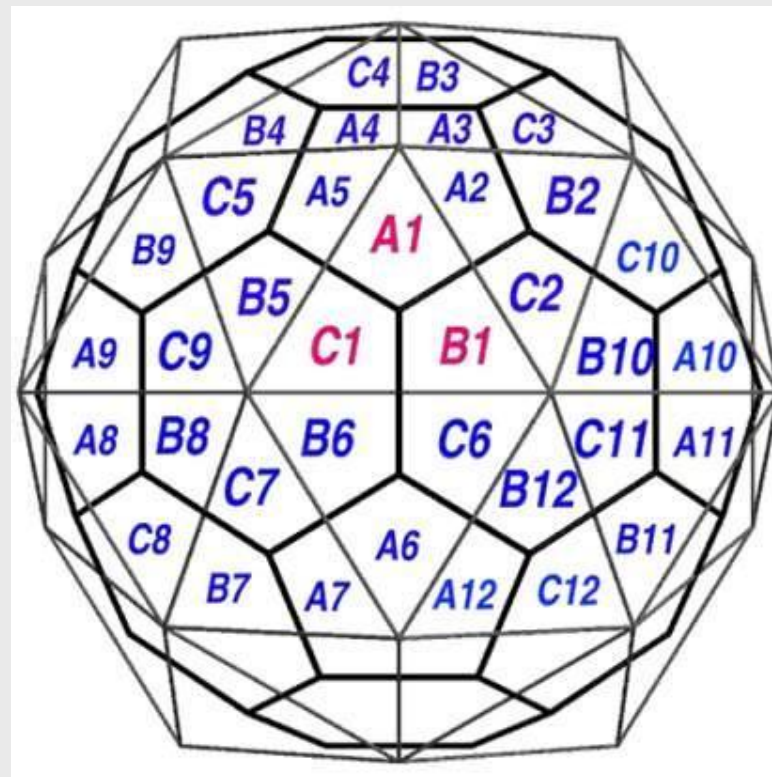
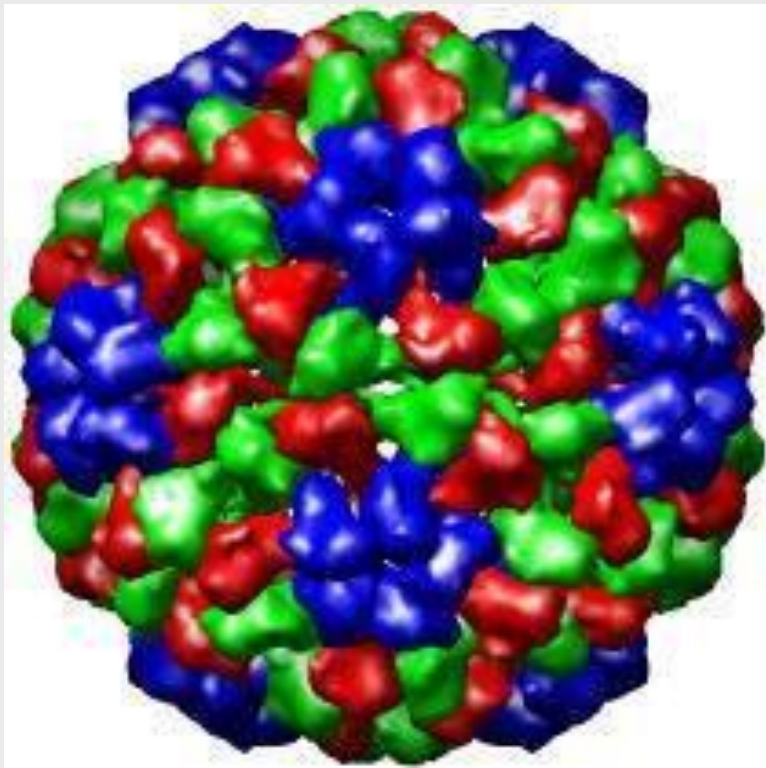
По этому адресу найдете описание многих важных белков и их 3D структур (англ.)

<http://www.scripps.edu/mb/goodsell/pdb/>

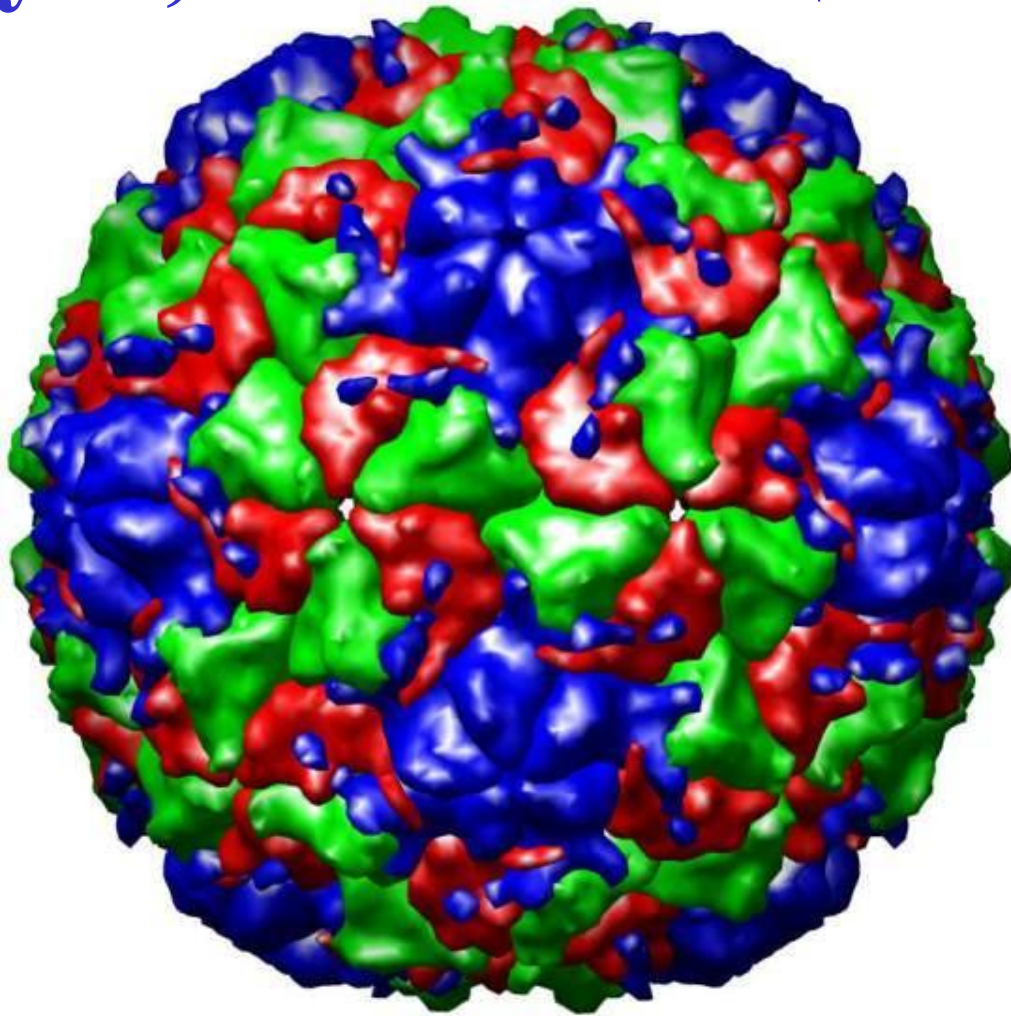
Вот PDB коды 3D структур, использованных в презентации

- Нуклеосома 1aoi
- Зеленый флюоресцентный белок 1hcsj
- Порин 1osm
- Тетрациклиновый репрессор в комплексе с тетрациклином 2trt (скачивать Biological unit)
- Тетрациклиновый репрессор в комплексе с ДНК 1qpi (скачивать Biological unit)
- РНК-зависимая РНК-полимераза 1rab

Оболочка вируса, вызывающего “мозаику” огурцов



Оболочка риновируса – вируса, вызывающего насморк



Вирус ящера

