

# 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

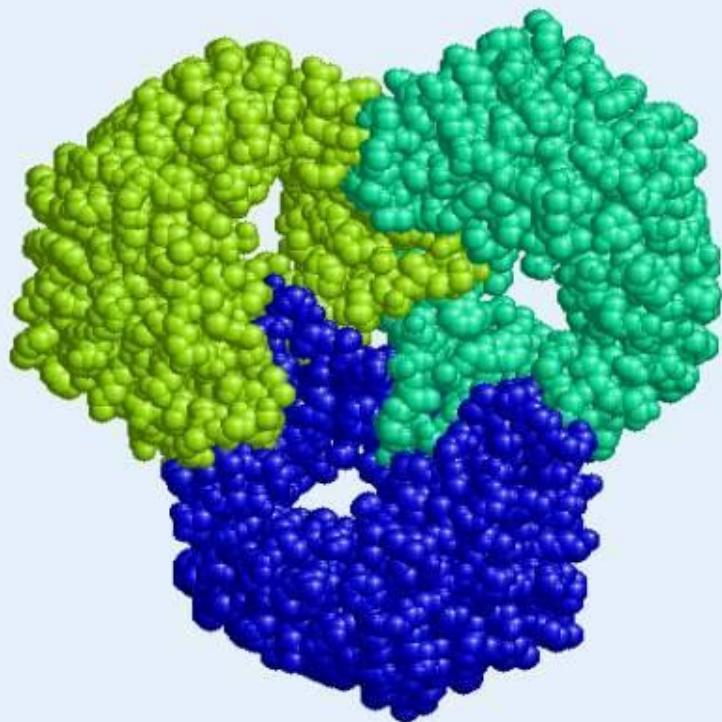


3D Геометрия – это наука о пространственных отношениях между телами, поверхностями, линиями и точками

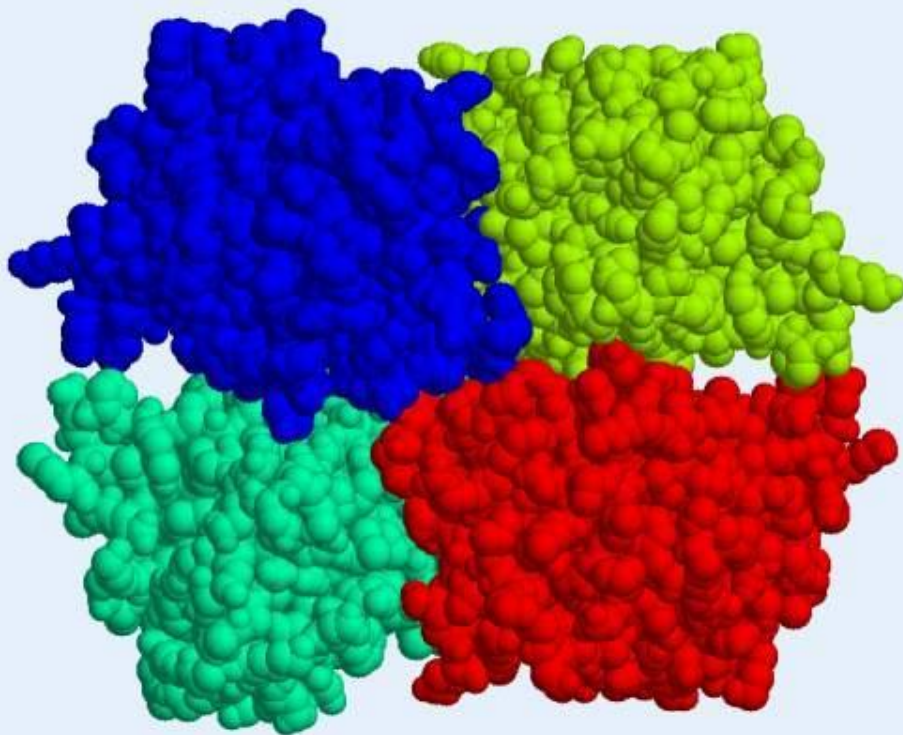
*3D = three dimensional = трехмерный*

# Вот как выглядят белки

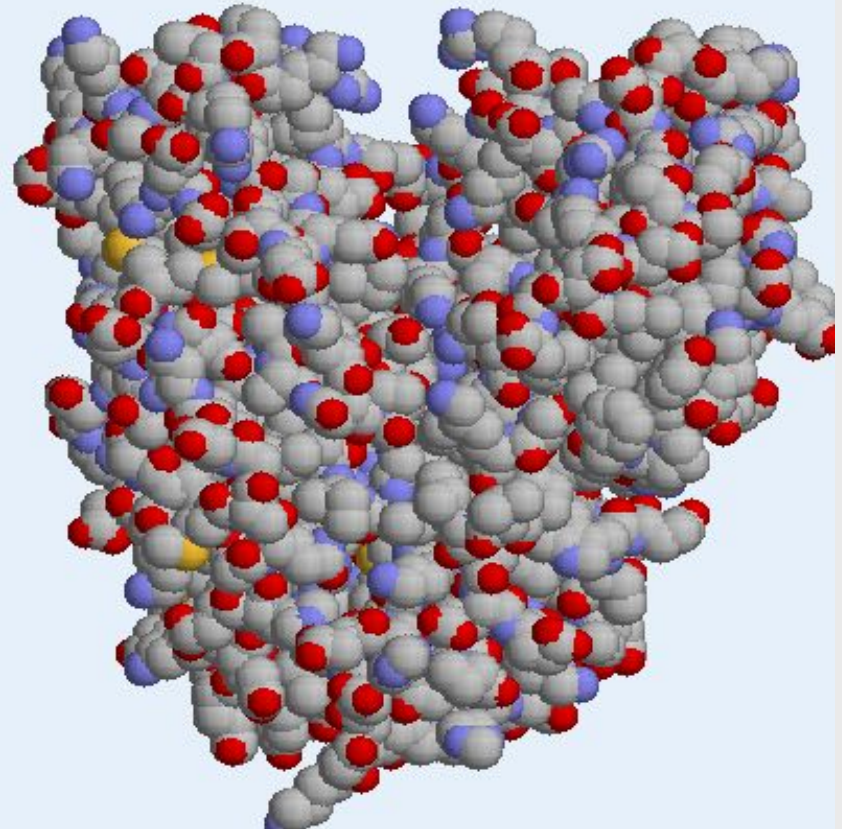
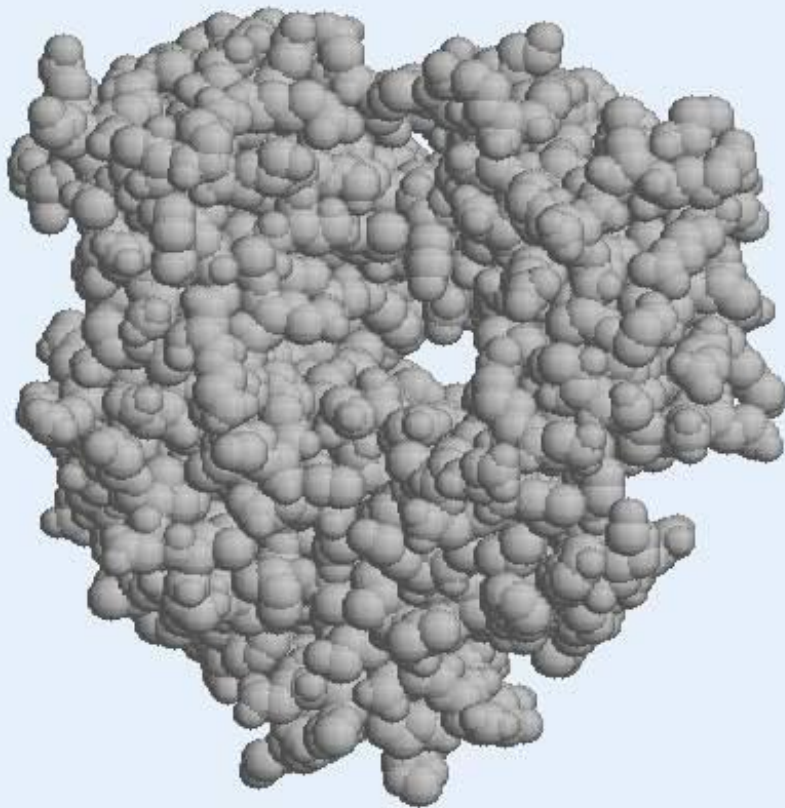
Порин из бактерии  
*Klebsiella pneumoniae*



Зеленый флюоресцентный белок  
из медузы *Aequorea victoria*



# Еще примеры: РНК-зависимая РНК полимераза полиовируса



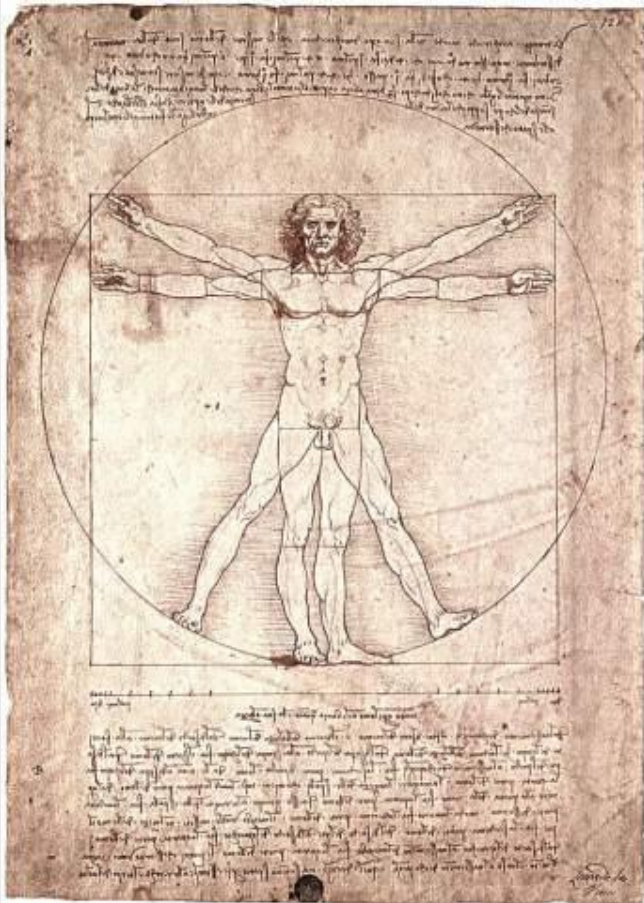
# А важна ли 3D геометрия молекул?

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 -  $20\text{\AA}$  , длина - ?  
*(участок из 10 пар оснований имеет длину около  $35\text{\AA}$ )*  
*(геном кишечной палочки – около 5 млн пар оснований 4639675 п.о.)*  
*(геном человека – более 3 млрд пар оснований)*
- РНК: тРНК имеет диаметр около  $70\text{\AA}$
- 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.

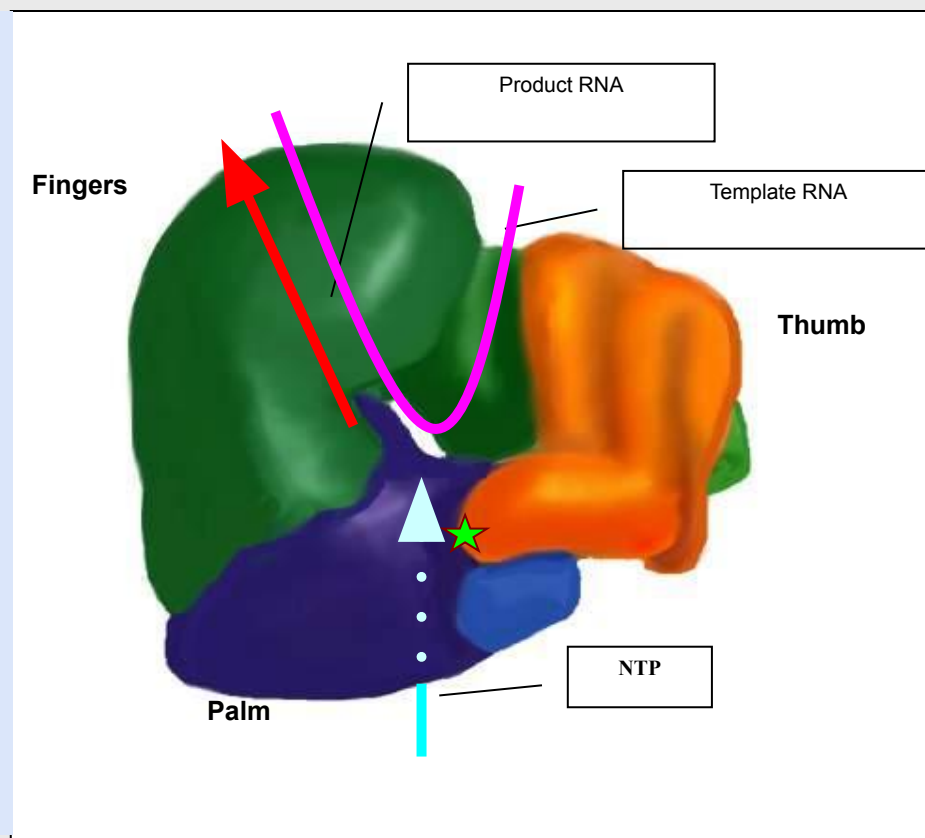
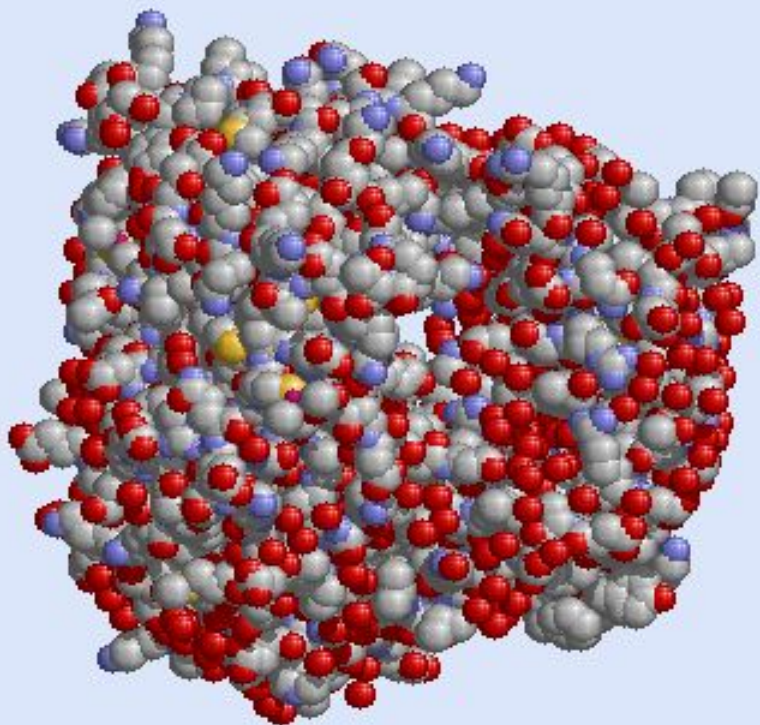
Разобраться что к чему непросто!

# 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

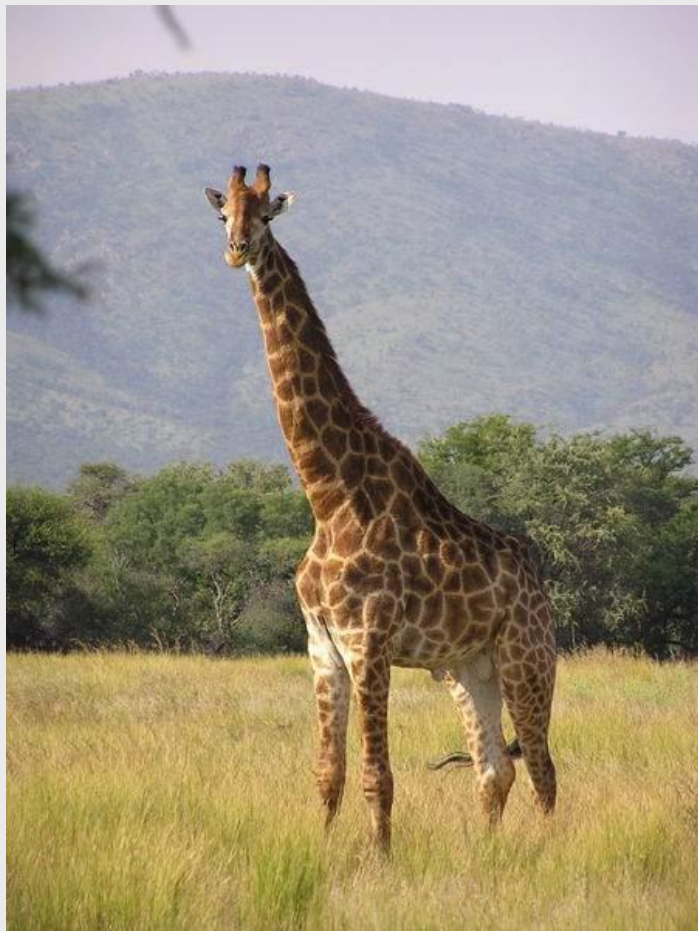
*(\* не совсем так, иногда кое-какие движения можно восстановить на основании экспериментальных данных – ЯМР, например.*

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

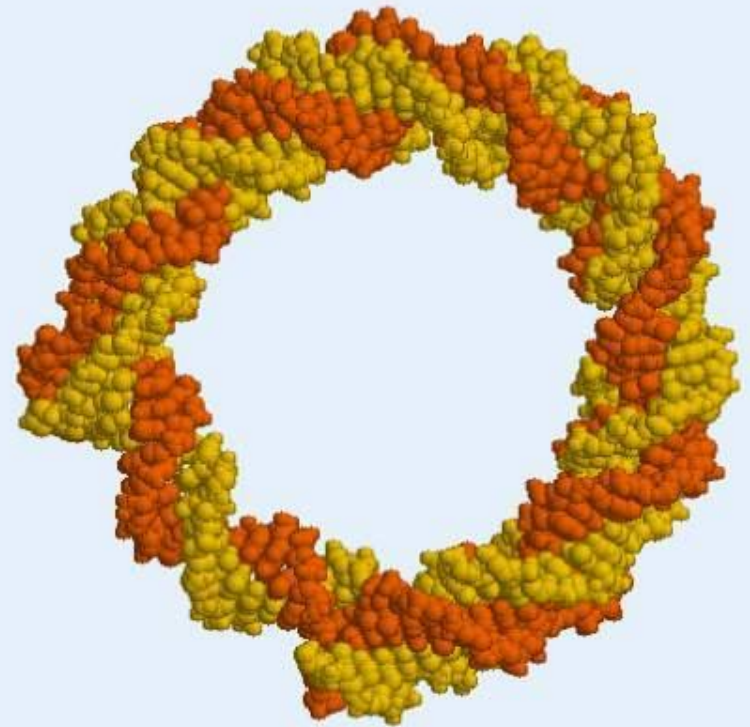
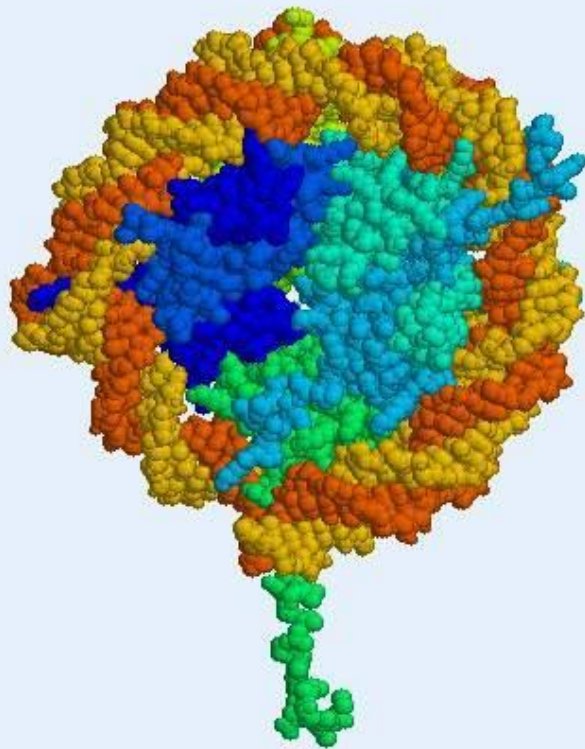
- Писатели (???)!!!)
- Читатели, которые используют информацию
- Архивариусы, которые следят за тем, чтобы нужную информацию получали нужные читатели, заботились об архиве
- Копировщики архива (клетки размножаются)



# Два способа чтения ДНК белками

Фрагмент нуклеосомы лягушки  
*Xenopus laevis*

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

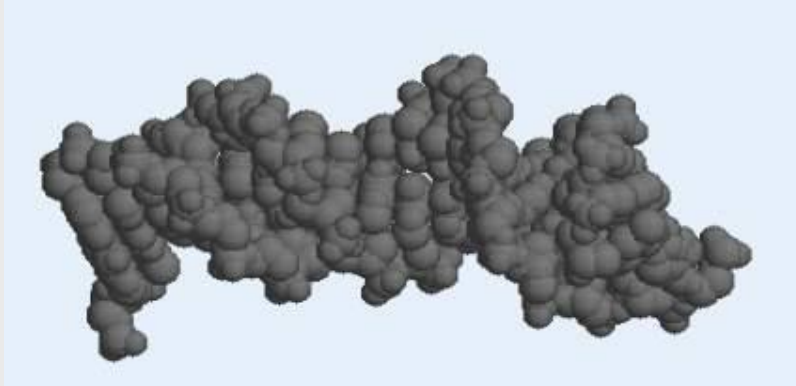


*См. Rasmol*

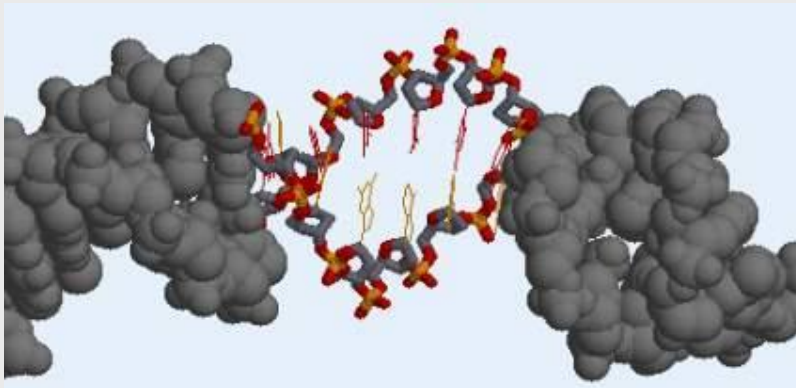
# В ДНК закодирована информация

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

# Этим и займемся – для участка ДНК

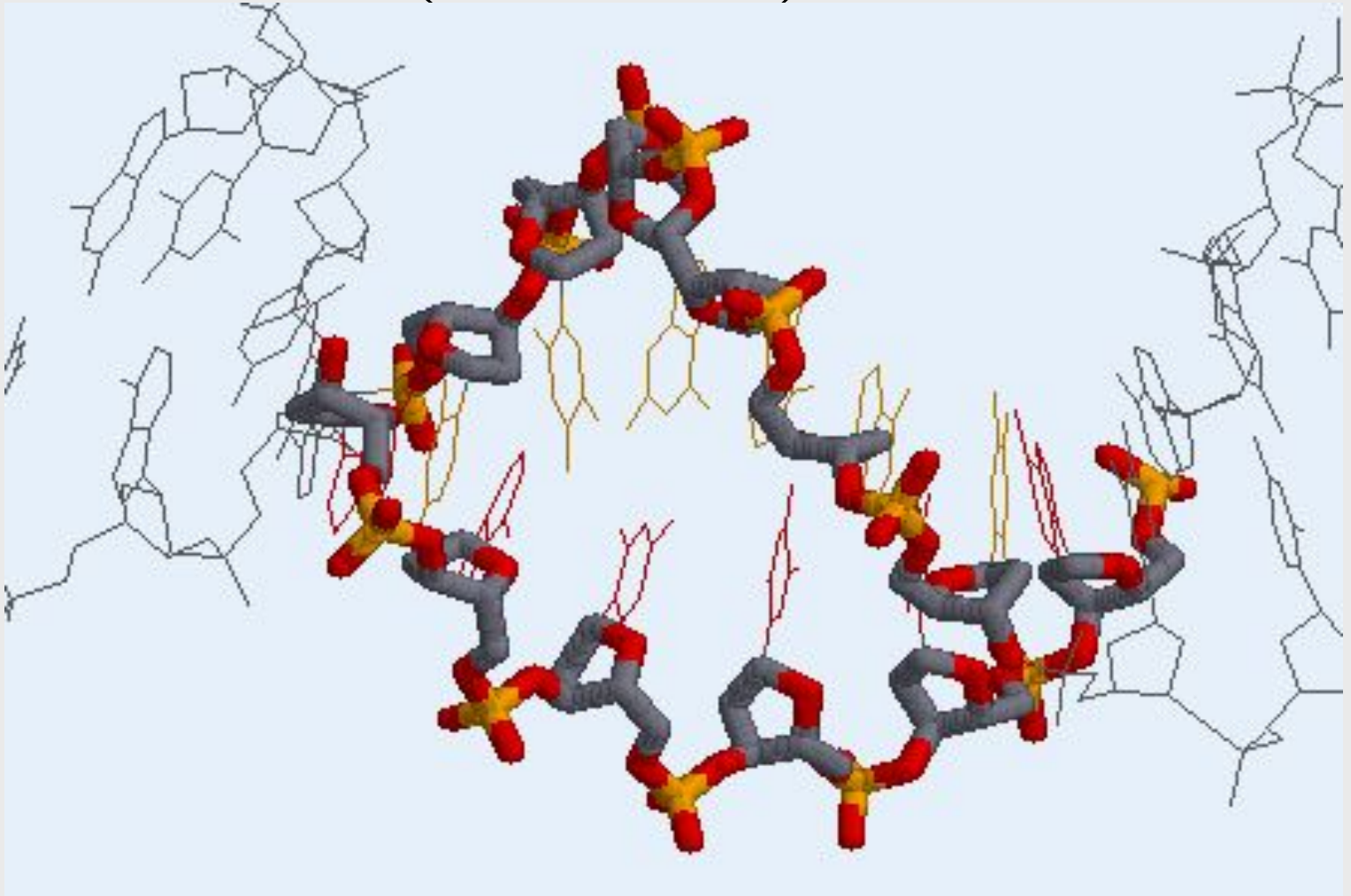


Где же буквы А, Т, G, С?

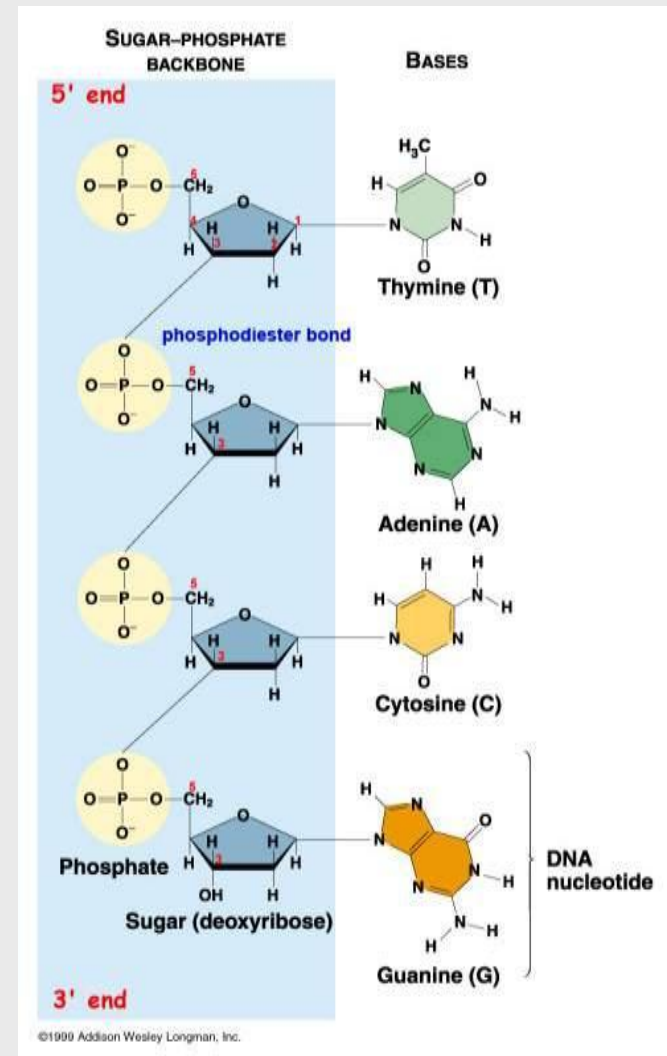
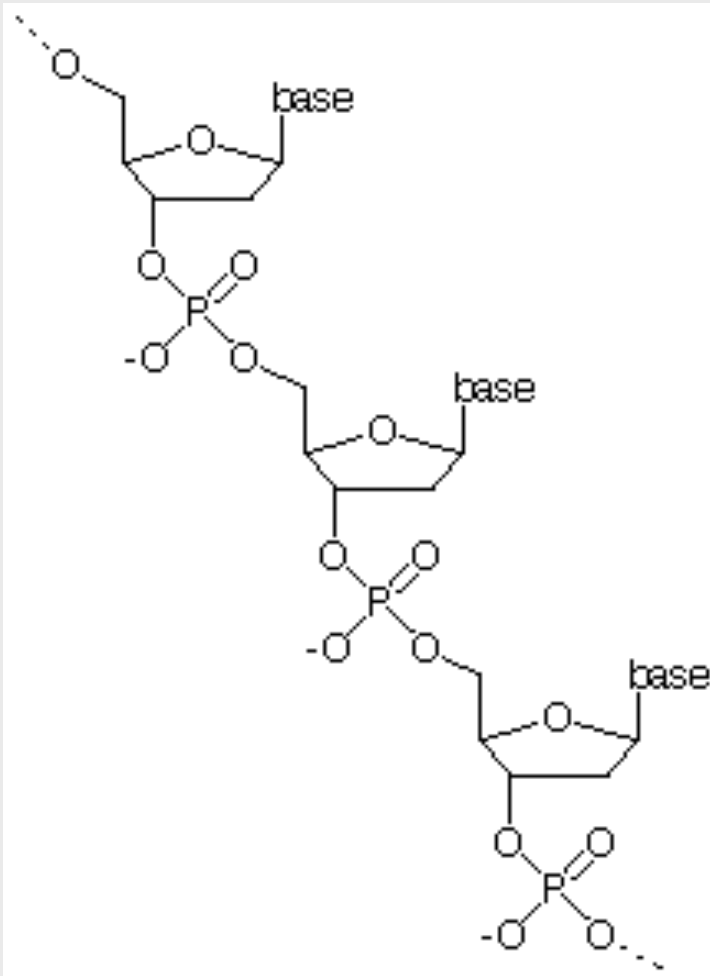


Чтобы найти буквы нам  
(людям) нужно упростить  
картинку, найти и назвать  
части молекулы

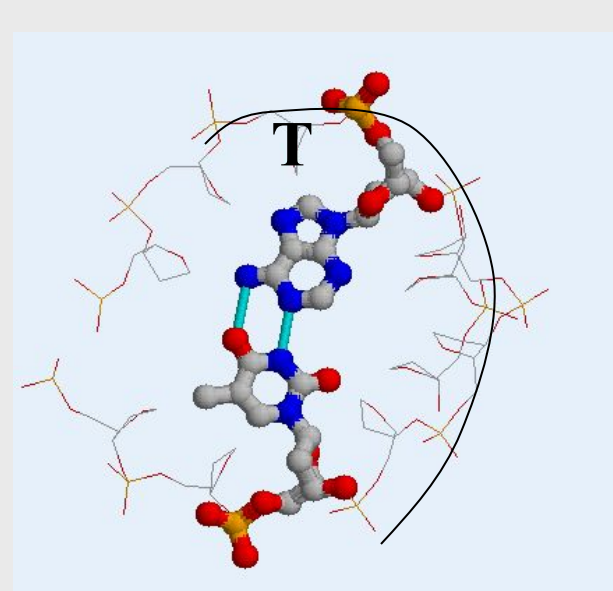
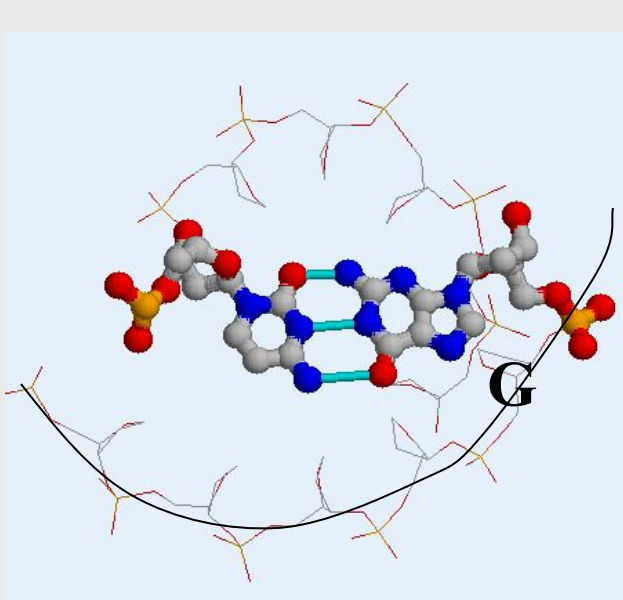
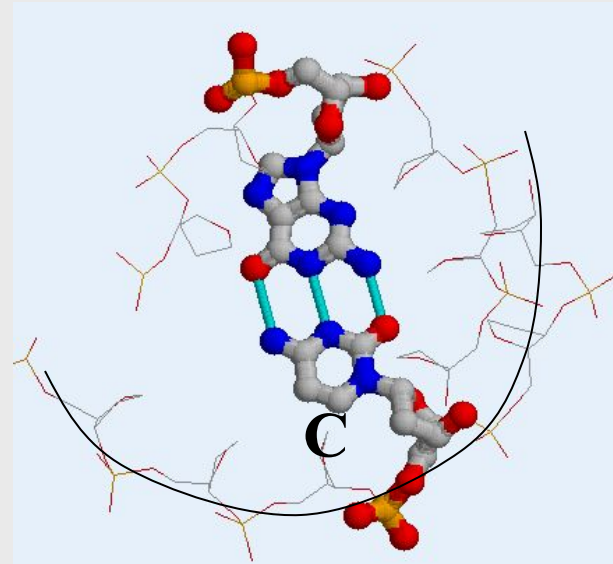
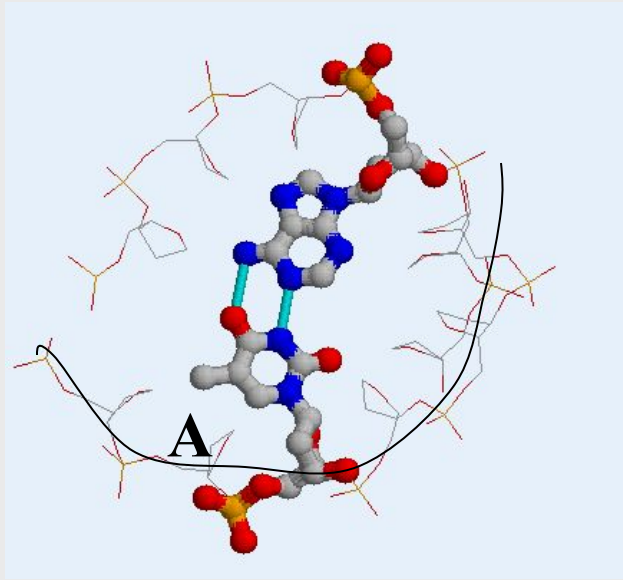
# Сахаро-фосфатный остов ДНК (выделен)



# В каком направлении читать ДНК?



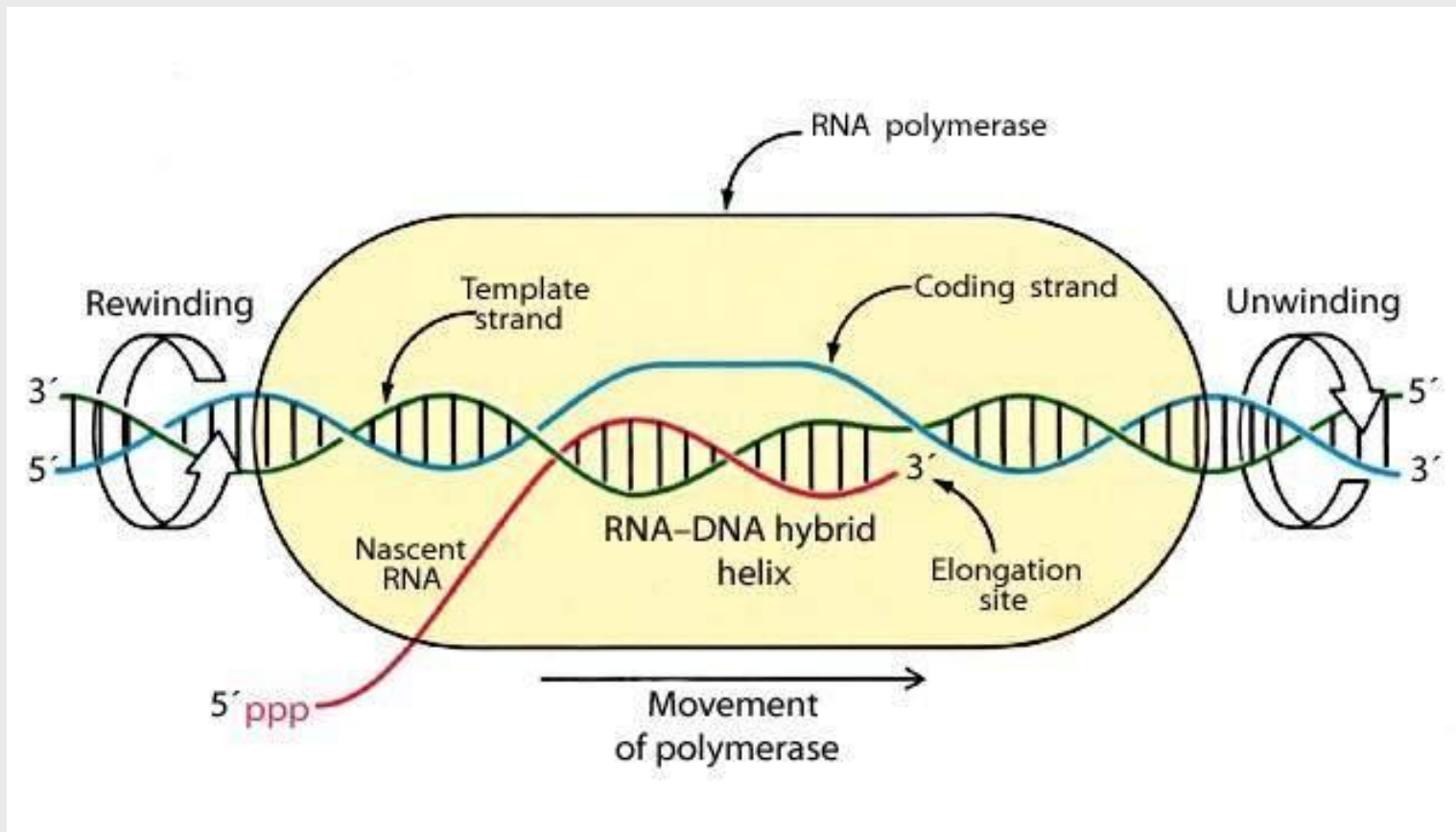
# Глазами легко увидеть различные пары оснований



# ДНК-зависимая РНК-полимераза

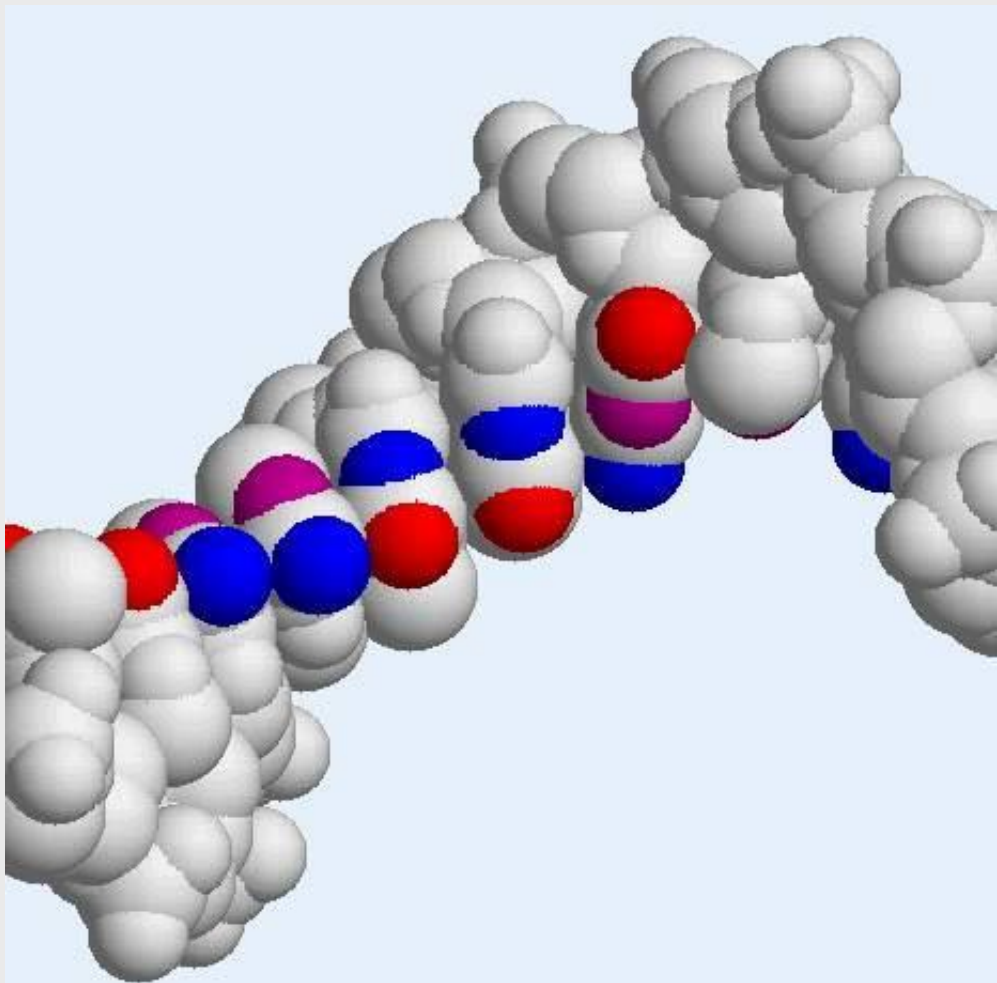
- только переписывает буквы
- расплетает две цепи ДНК
- изгибает одну цепь так, как ей удобно
- работает с каждым основанием по отдельности
- располагает это основание в стандартном положении
- коды атомов основания – донор протона или акцептор протона позволяют ей правильно подобрать комплементарное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



# Схема работы ДНК-зависимой РНК полимеразы





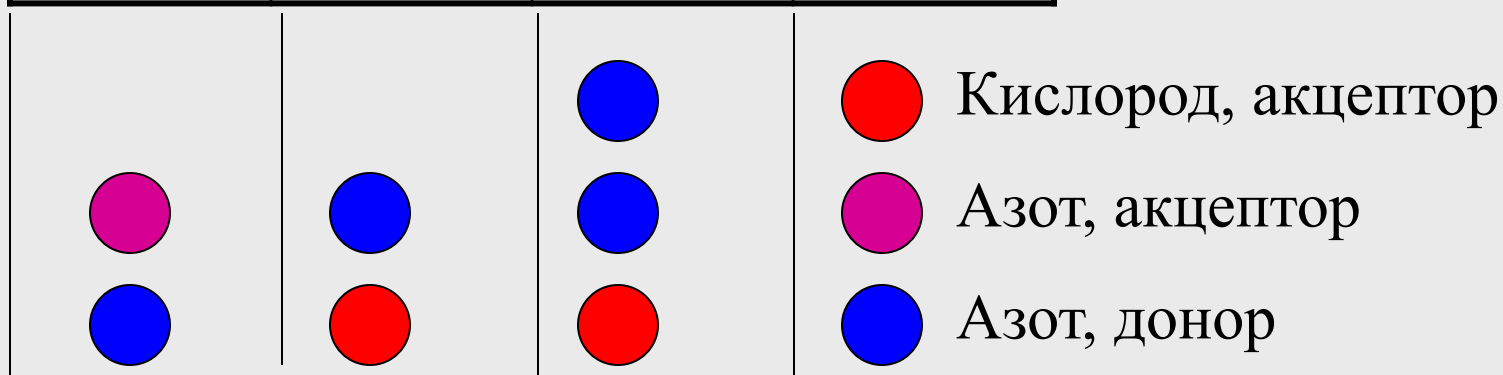
# Вот как выглядят коды оснований в расплетенной цепи ДНК



-  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

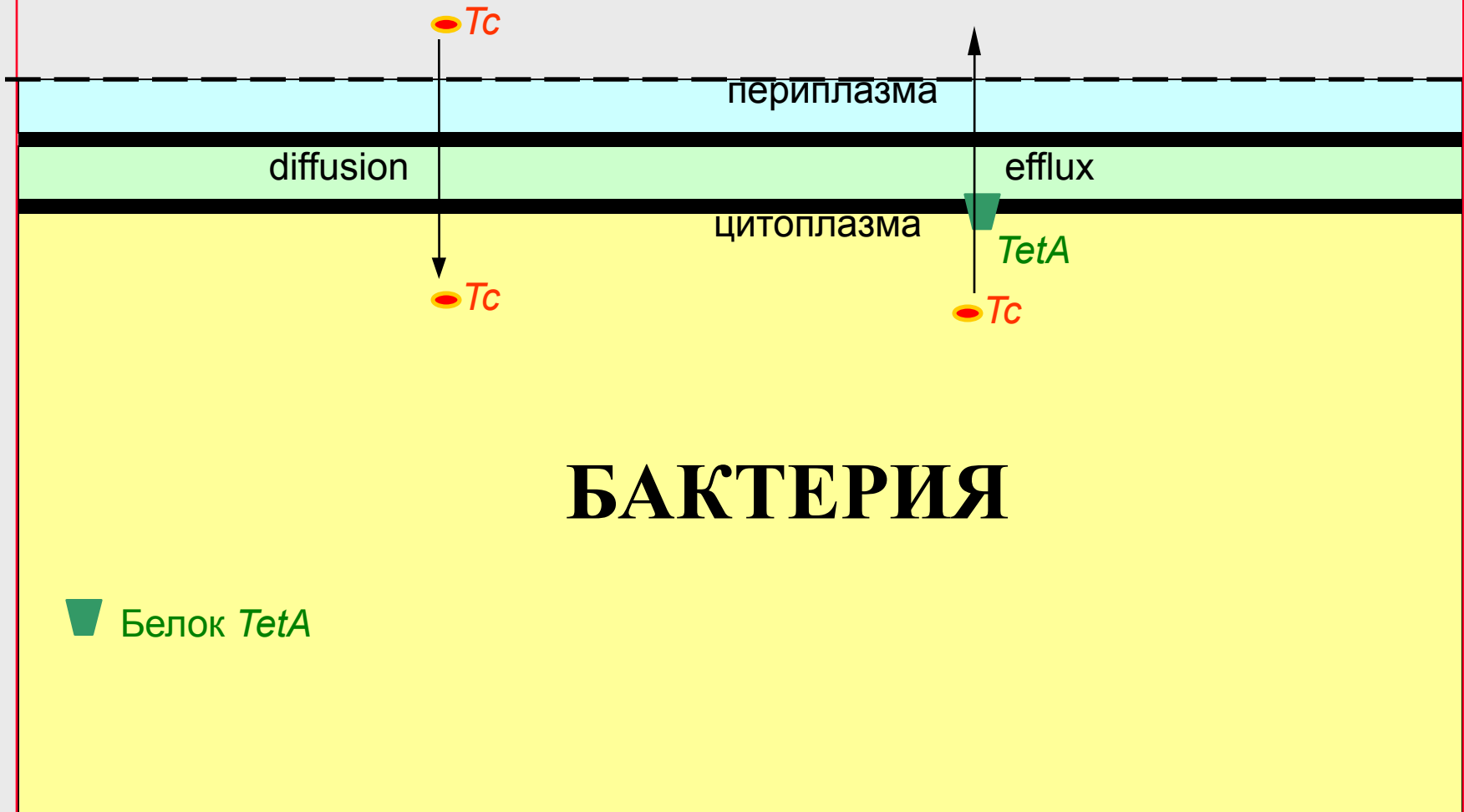


Регуляторным белкам  
приходится читать ДНК, не  
расплетая цепей

История про белок TetR

# МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ПРОСТРАНСТВО

● Tc антибиотик тетрациклин

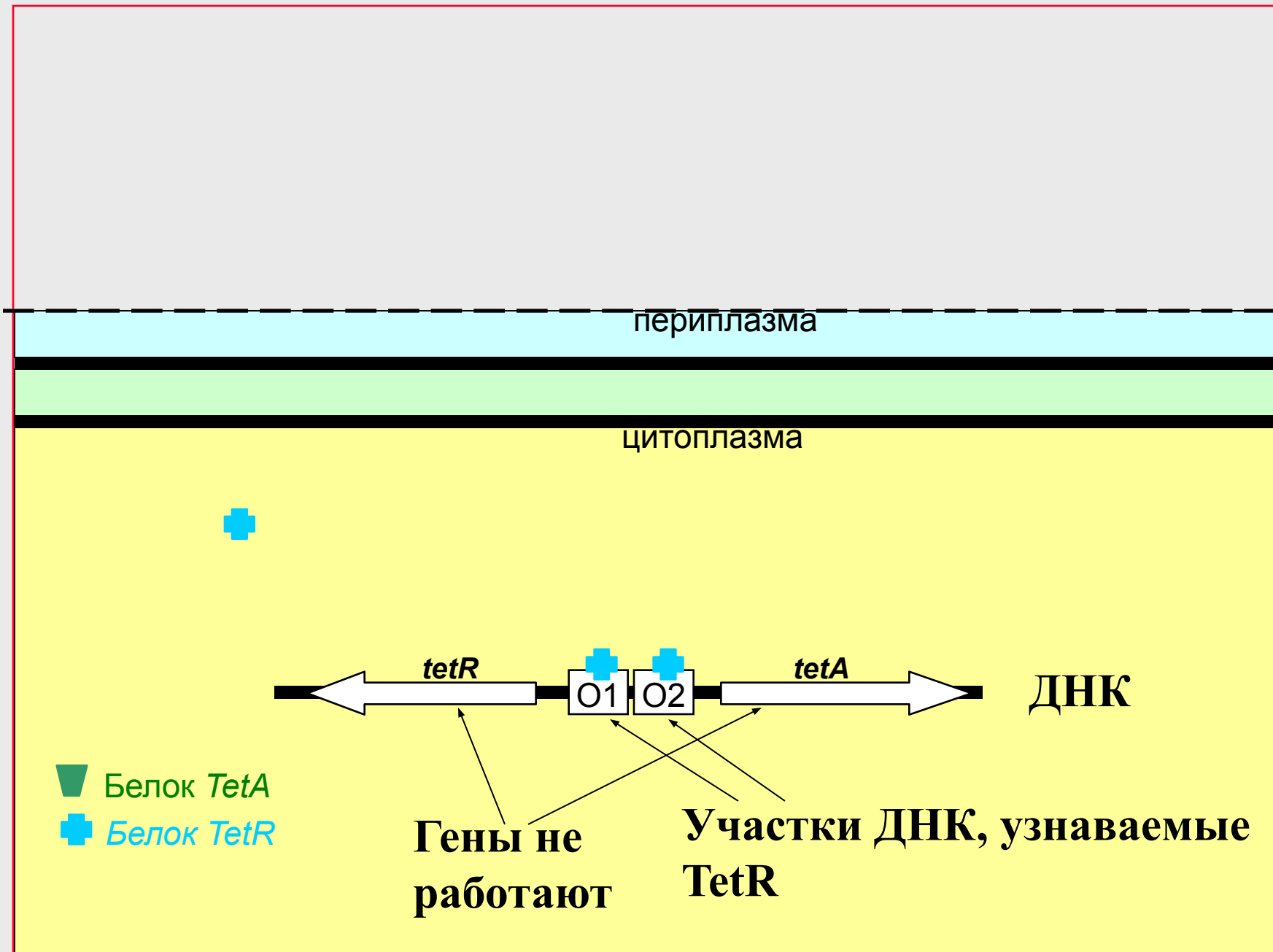


# БАКТЕРИЯ

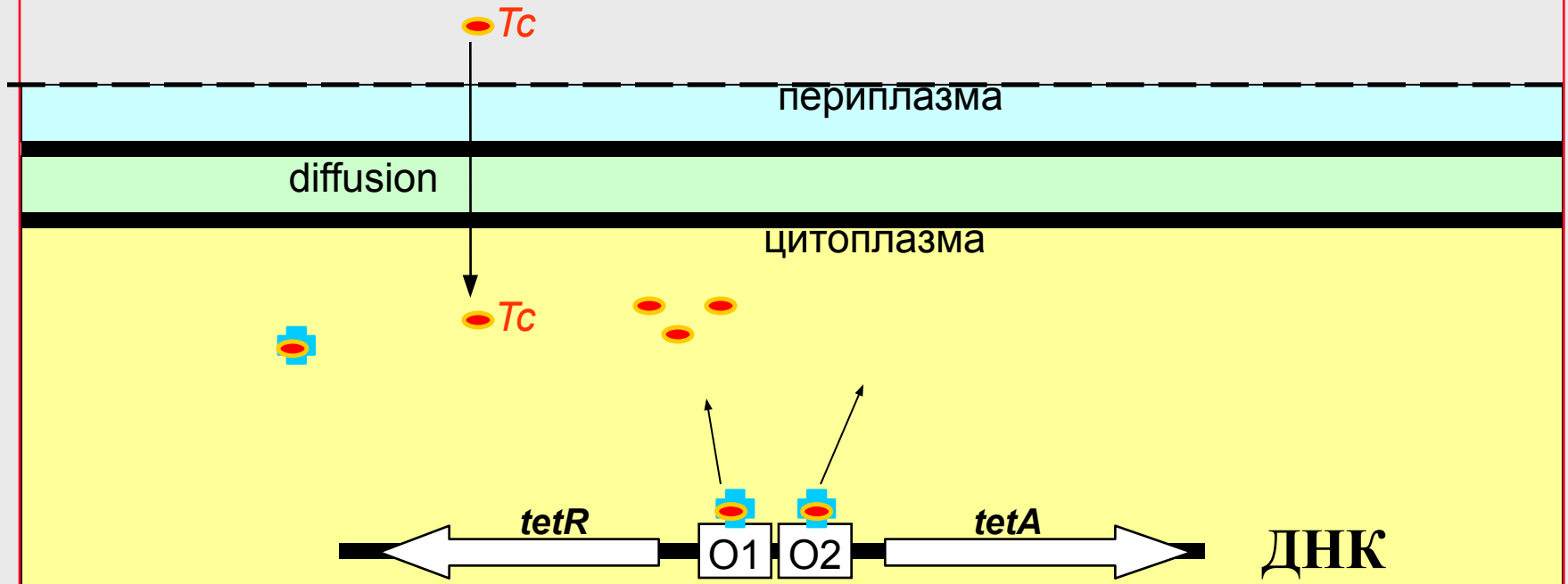
▼ Белок TetA

Идея бактерии простая, но так просто не получается





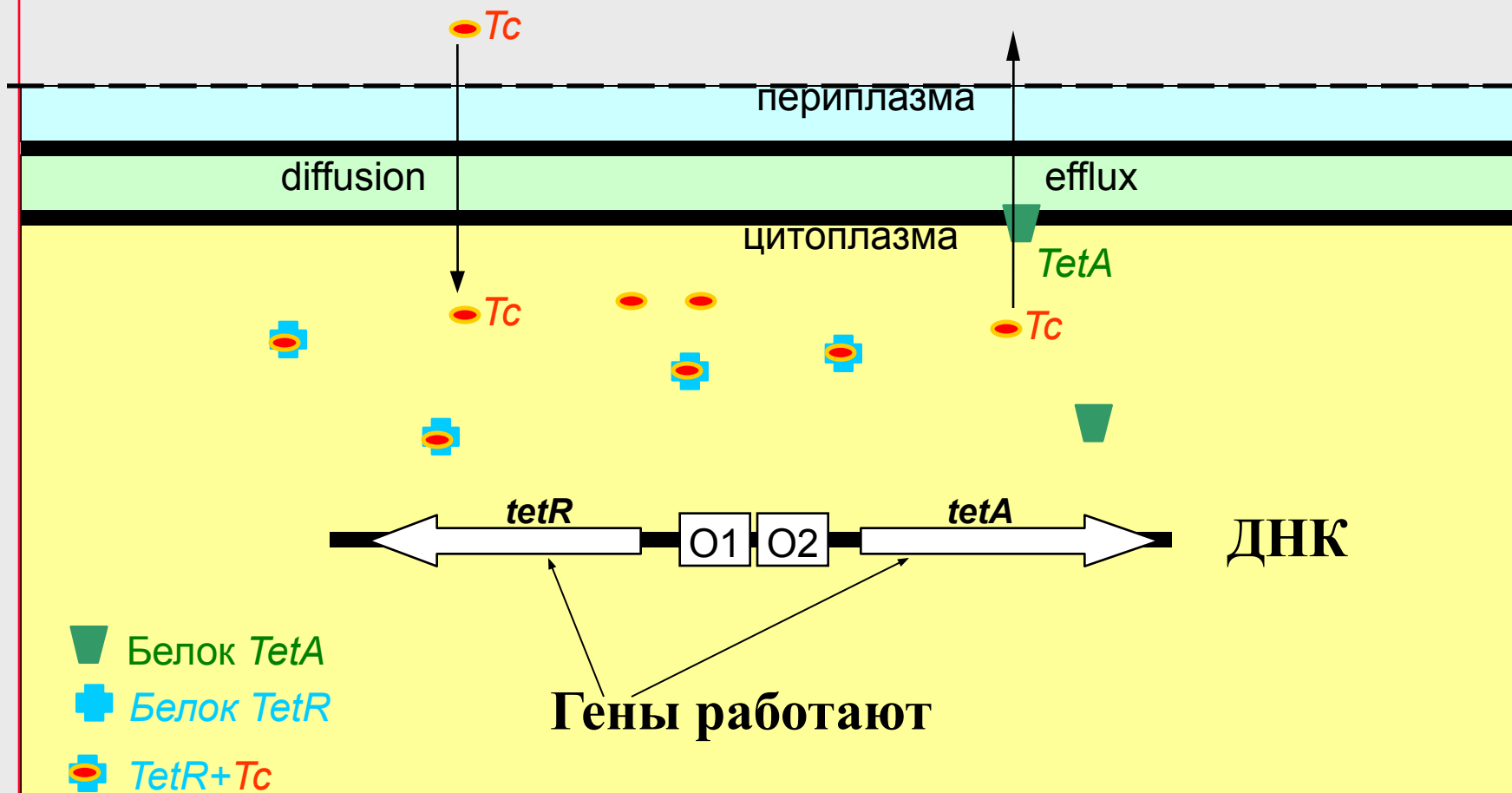
● *Tc* антибиотик тетрациклин



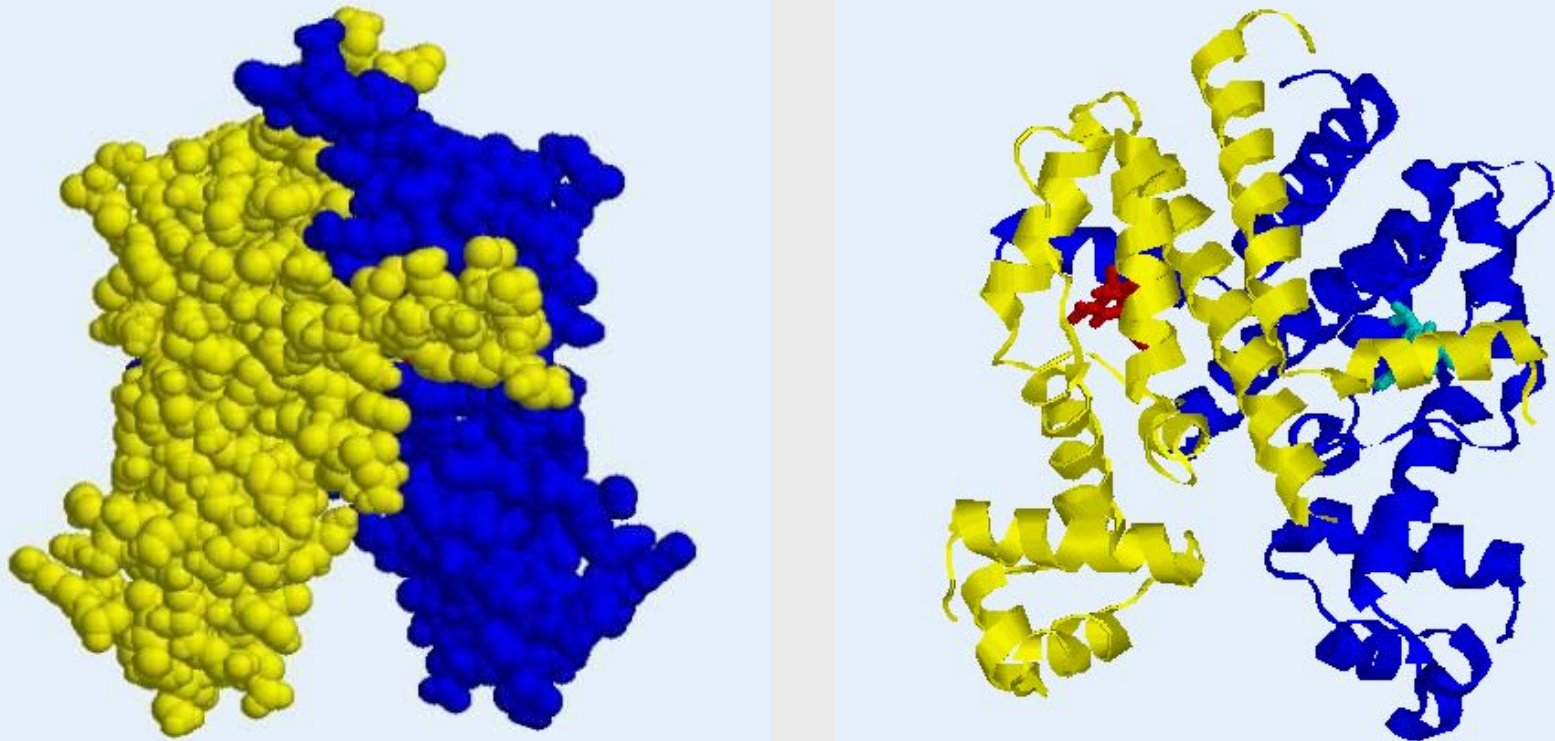
- ▼ Белок *TetA*
- ⊕ Белок *TetR*
- ⊕ *TetR+Tc*

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

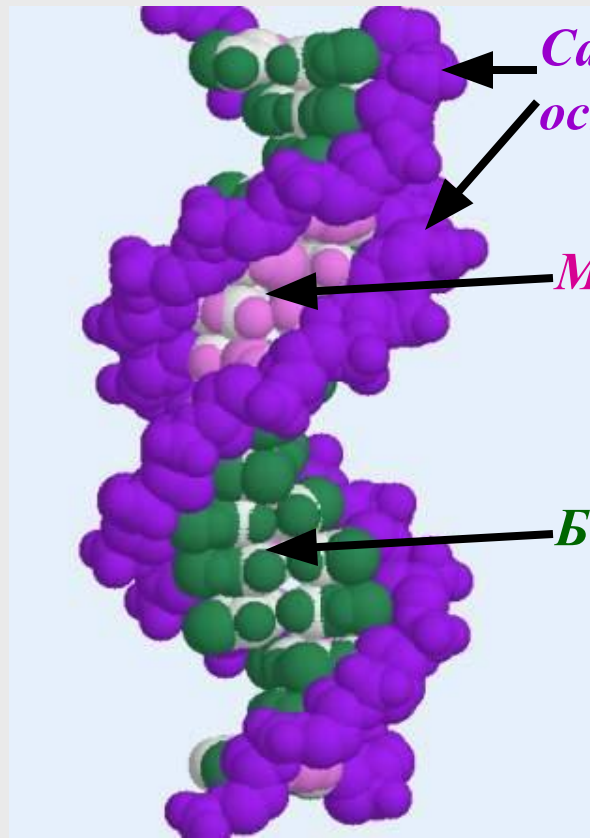
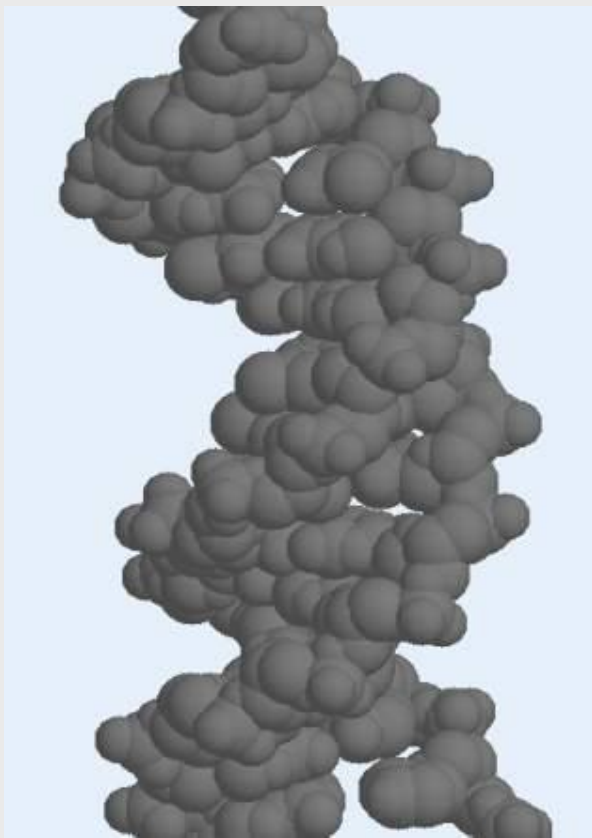
СТАТСАТТГАТАГ

*(или очень на нее похожей)*

и связаться с ним.

Расплетение двойной спирали ДНК  
не предусмотрено!

# Давайте читать ДНК, на расплетая цепей!



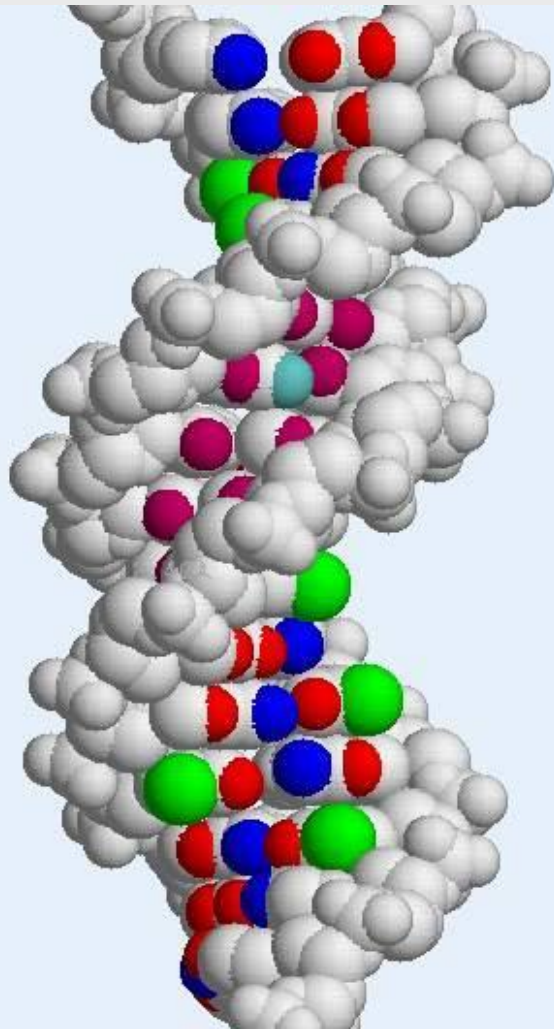
*Сахаро-фосфатный  
остов*

*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:**

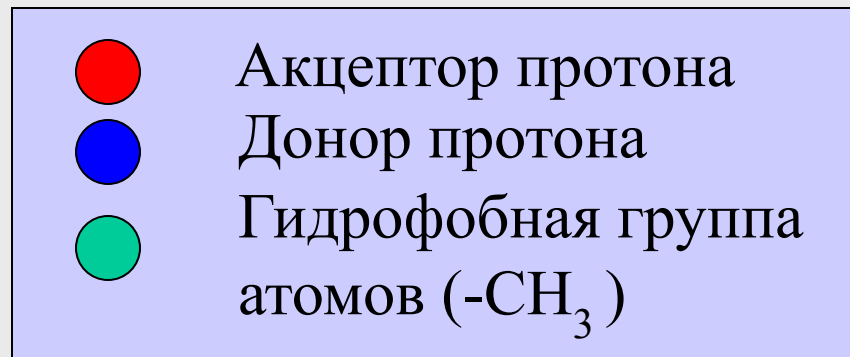
- Акцептор протона
- Донор протона

**Малая бороздка ДНК:**

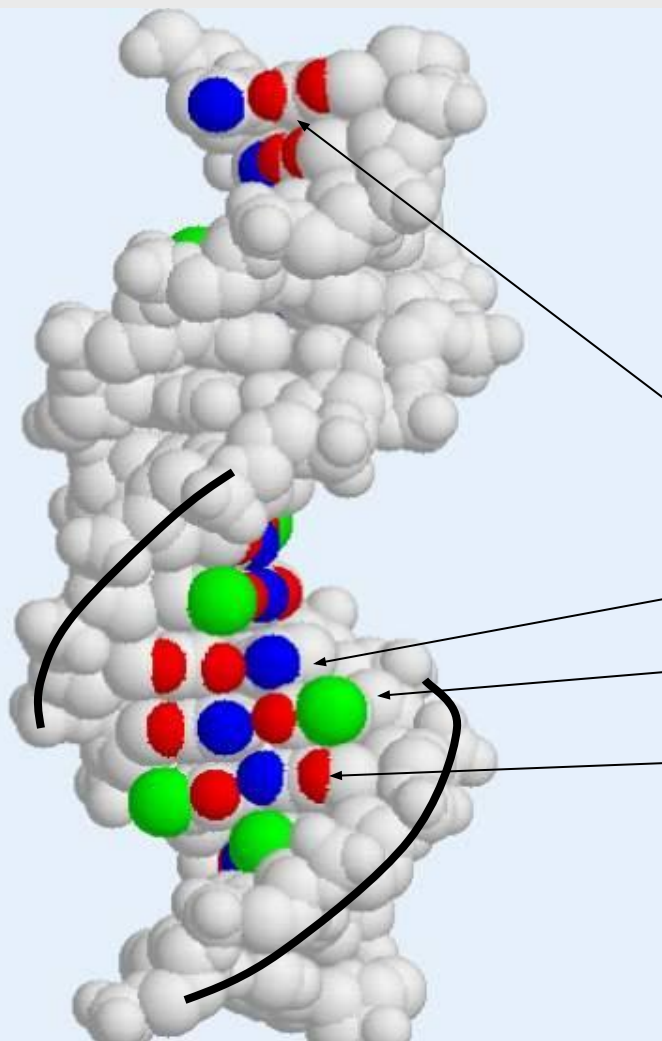
- Акцептор протона
- Донор протона

*Основные различия – в большой бороздке!*

# “Химический код” в большой бороздке ДНК



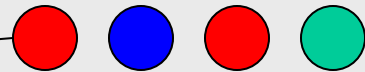
● Акцептор протона  
● Донор протона  
● Гидрофобная группа атомов (-CH<sub>3</sub>)



**C-G**



**G-C**



**A-T**



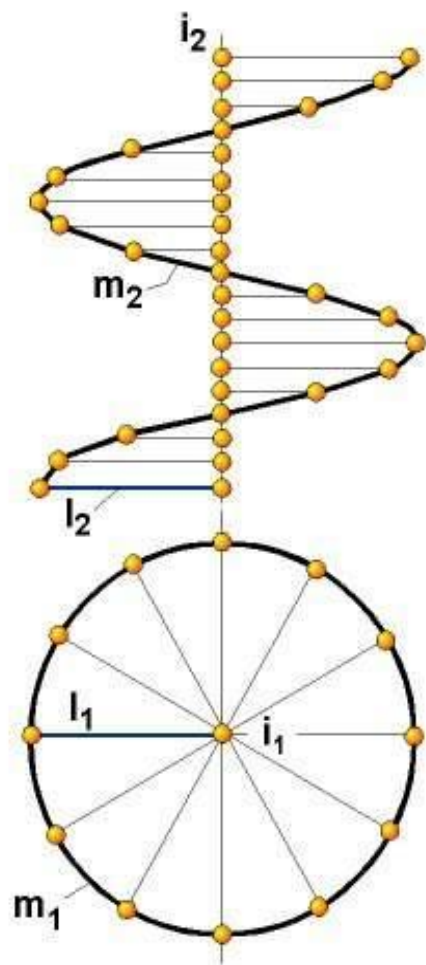
**T-A**

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

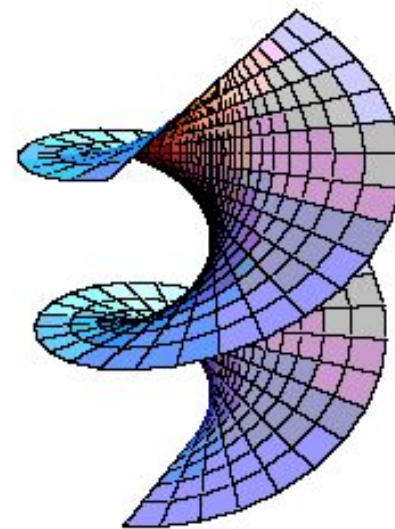
Но у белков нет глаз, им приходится работать на ощупь, различая атомы по их свойствам

*Очевидно, важна геометрия большой бороздки ДНК!*

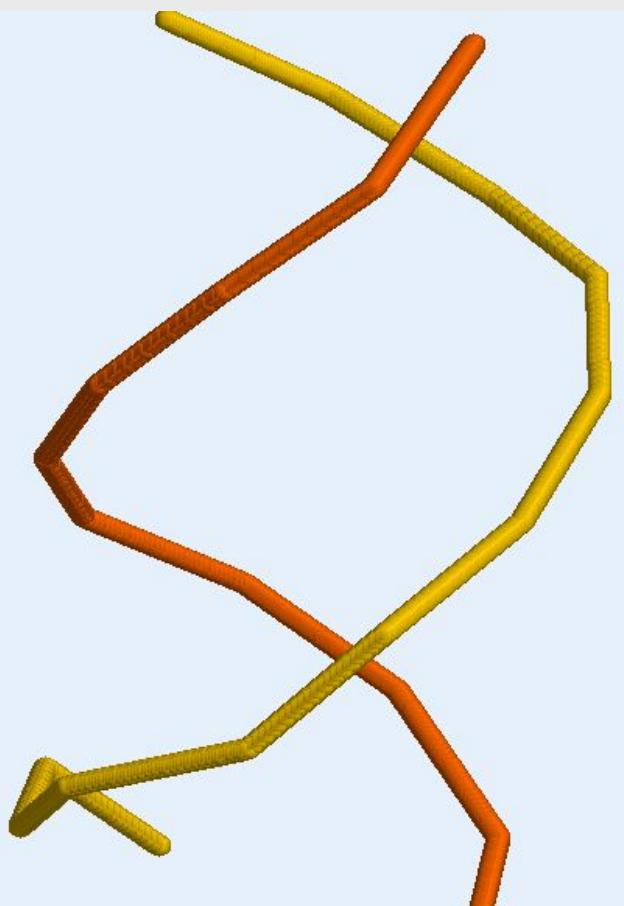
Поверхность дна большой бороздки ДНК хорошо приближается поверхностью, называемой “Геликоид”.



*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)

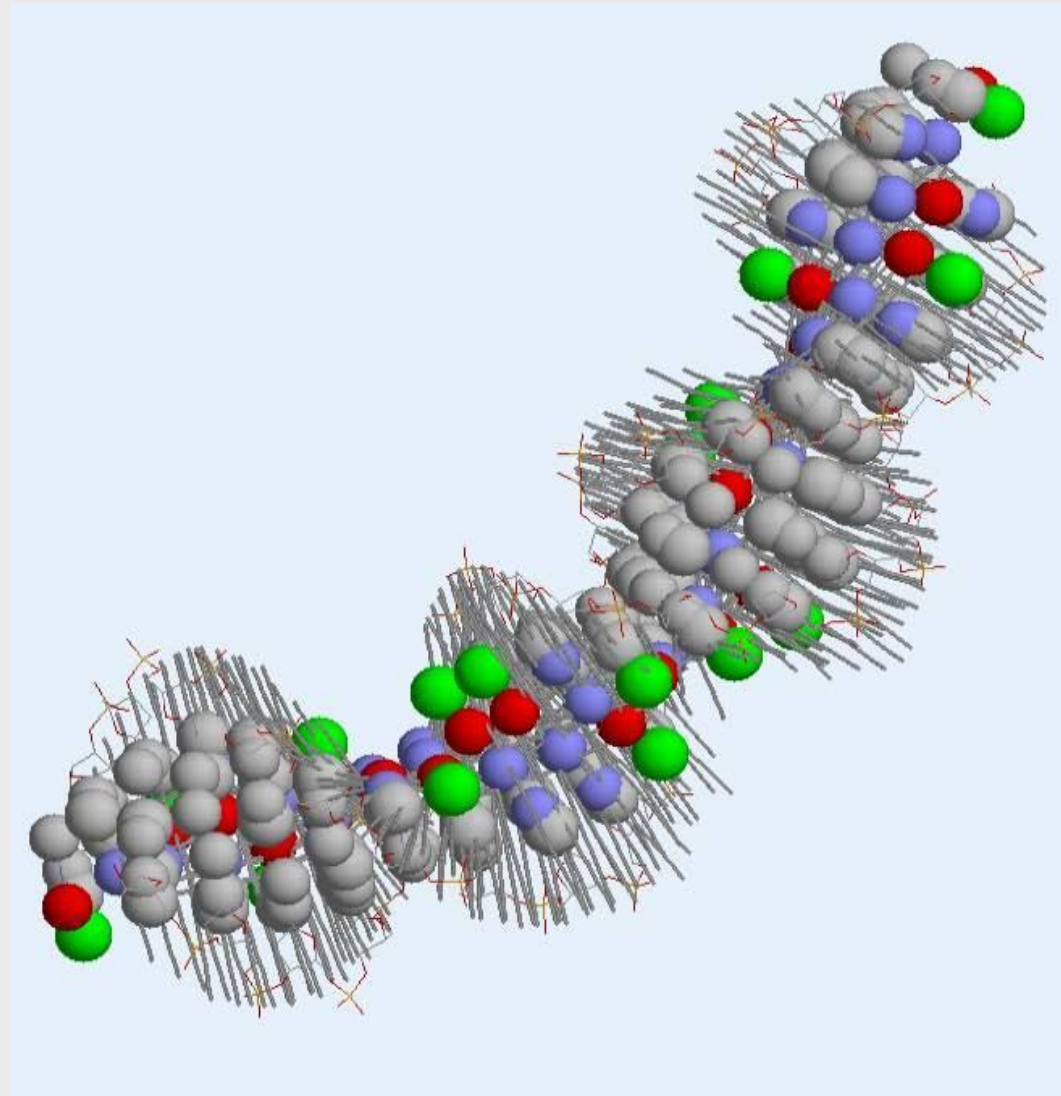


Двойная спираль



Геликоид

# Большая бороздка ДНК, приближенная геликоидом

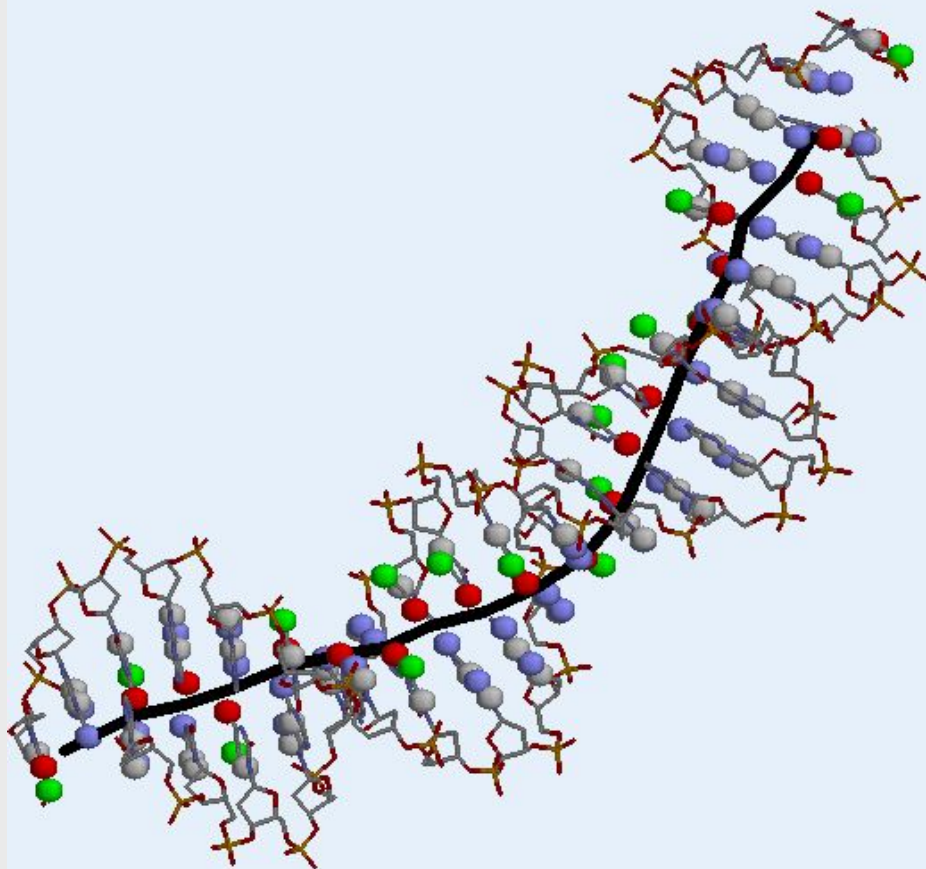


Параметры геликоида  
подгоняются к каждому  
участку ДНК.

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*

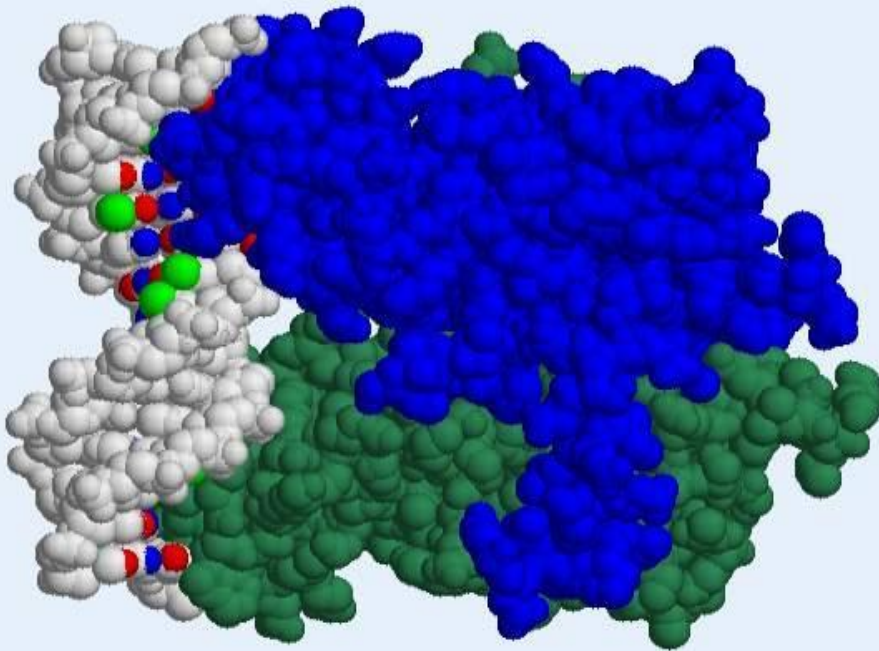
# Некоторые выводы

- 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

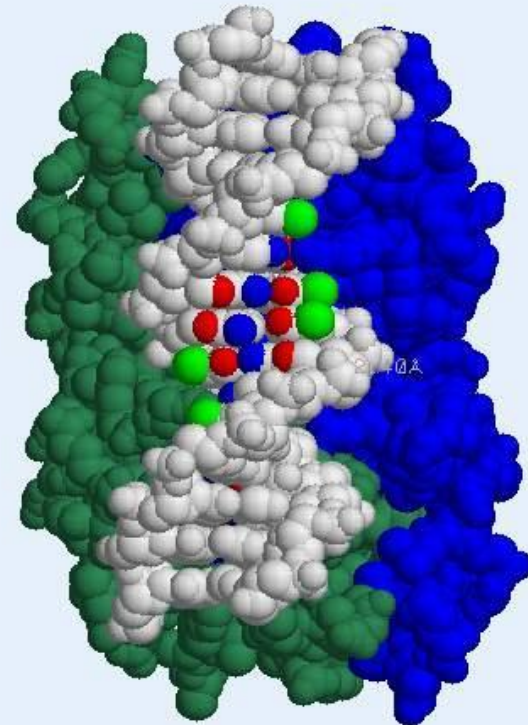
Регуляторным белкам надо узнавать участки ДНК из ок. 10 пар оснований, как минимум...

- 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!!!

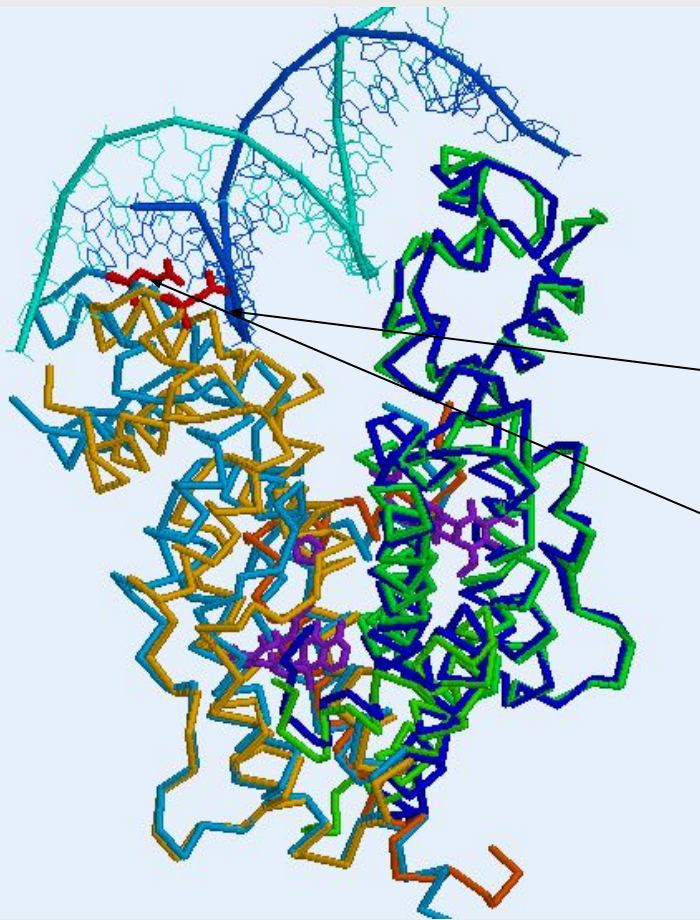
*Задача. Дан регуляторный белок; знаем все о его строении. Найти участок ДНК, с которым этот белок свяжется – т.е. указать последовательность ДНК этого участка*



# 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
- .....

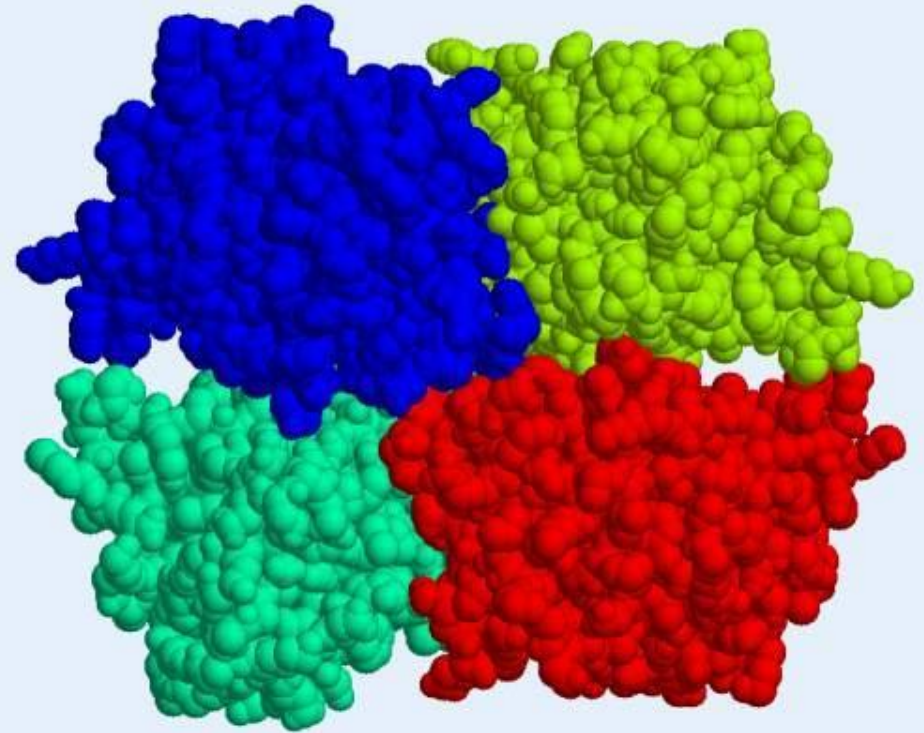
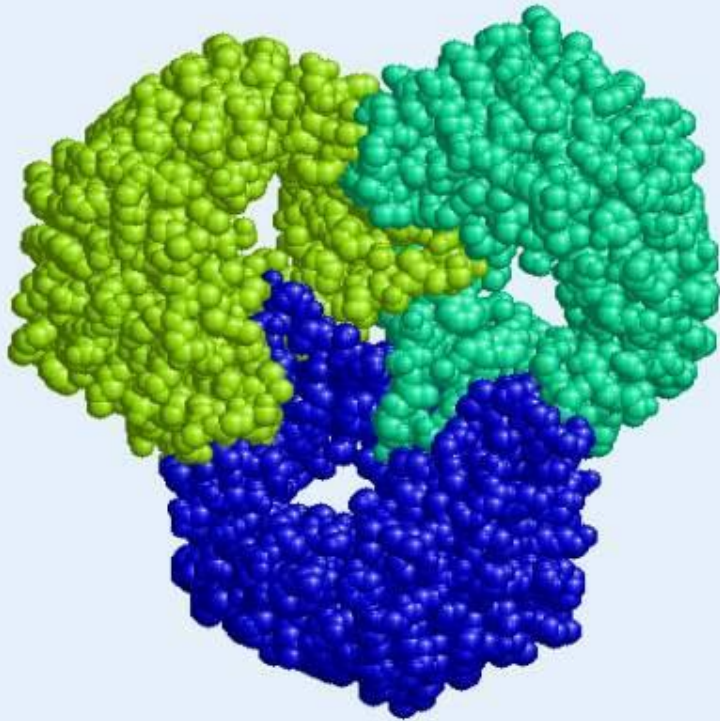
# Почему же тетрациклиновый репрессор, связавшись с тетрациклином, перестает связываться с ДНК?



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:

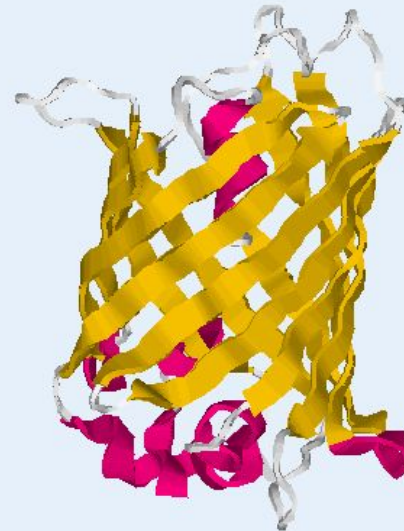
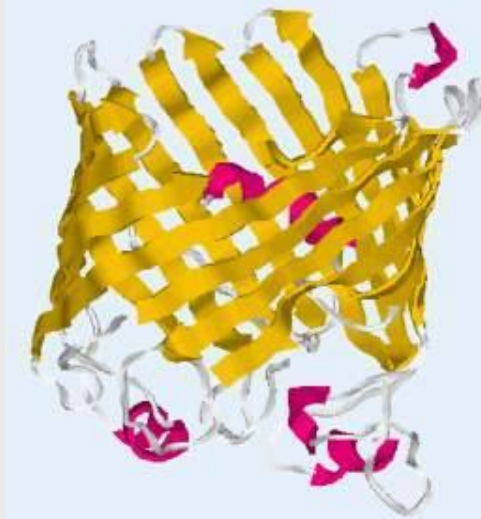
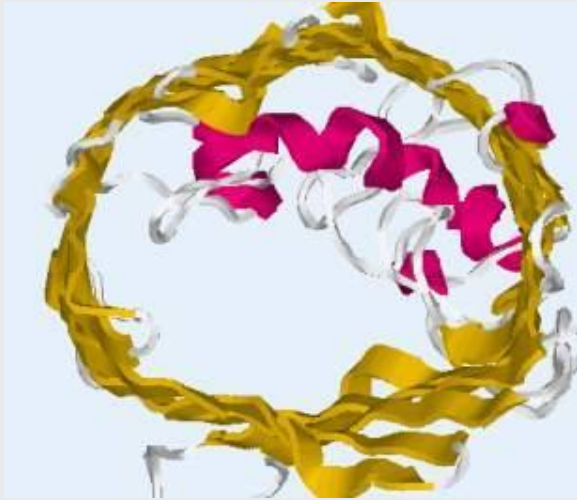


Ничего общего?

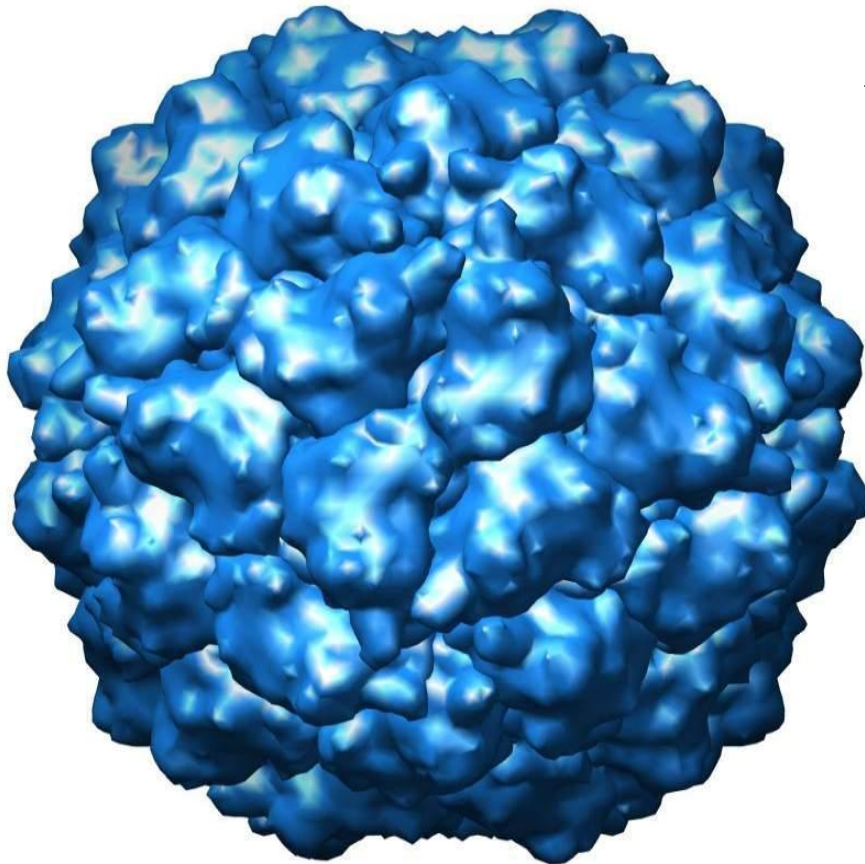
# Скелеты похожи!

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*



*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.)

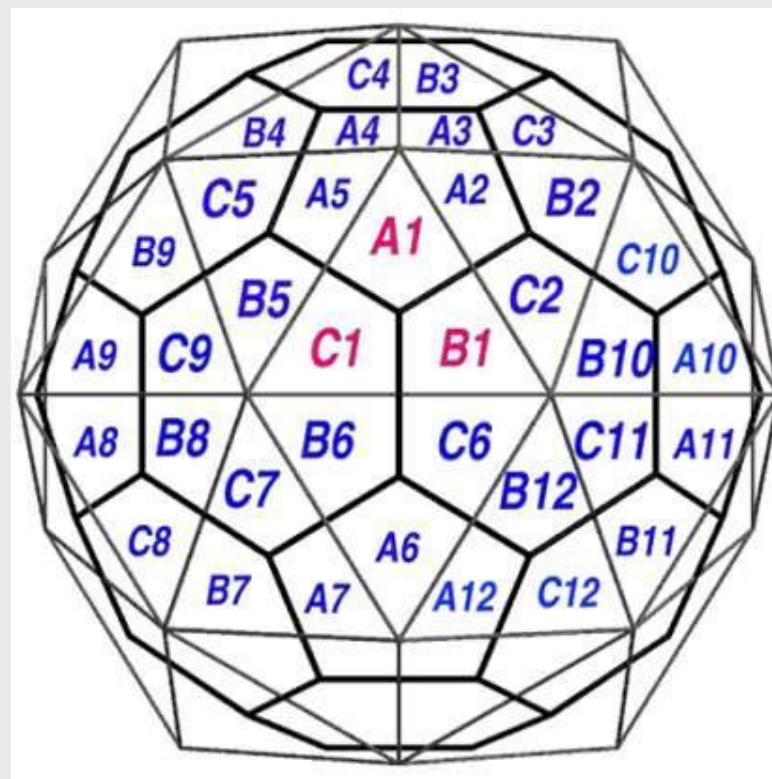
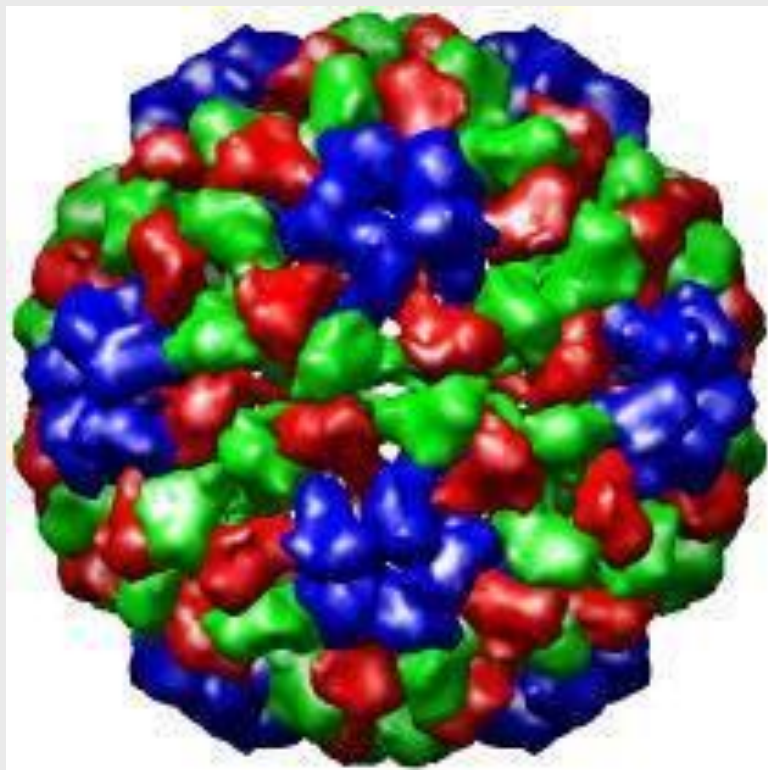
<http://www.scripps.edu/mb/goodsell/pdb/>

# Вот PDB коды 3D структур, использованных в презентации

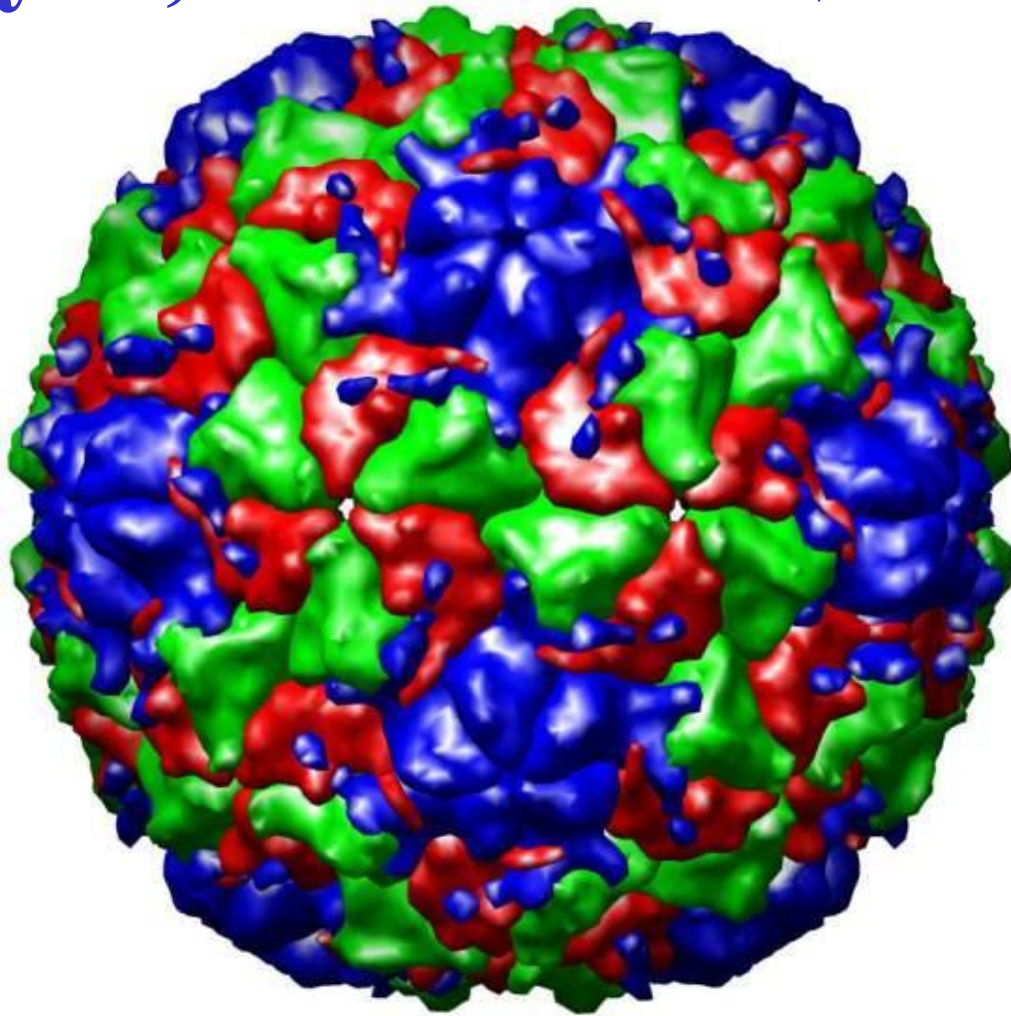
- Нуклеосома 1aoi
- Зеленый флюоресцентный белок 1hcsj
- Порин 1osm
- Тетрациклиновый репрессор в комплексе с тетрациклином 2trt (скачивать Biological unit)
- Тетрациклиновый репрессор в комплексе с ДНК 1qpi (скачивать Biological unit)
- РНК-зависимая РНК-полимераза 1rab



# Оболочка вируса, вызывающего “мозаику” огурцов



# Оболочка риновируса – вируса, вызывающего насморк



# Вирус ящера

