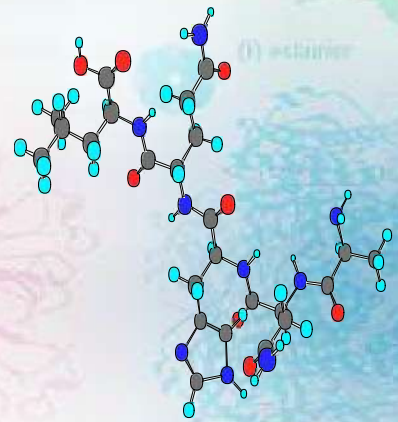


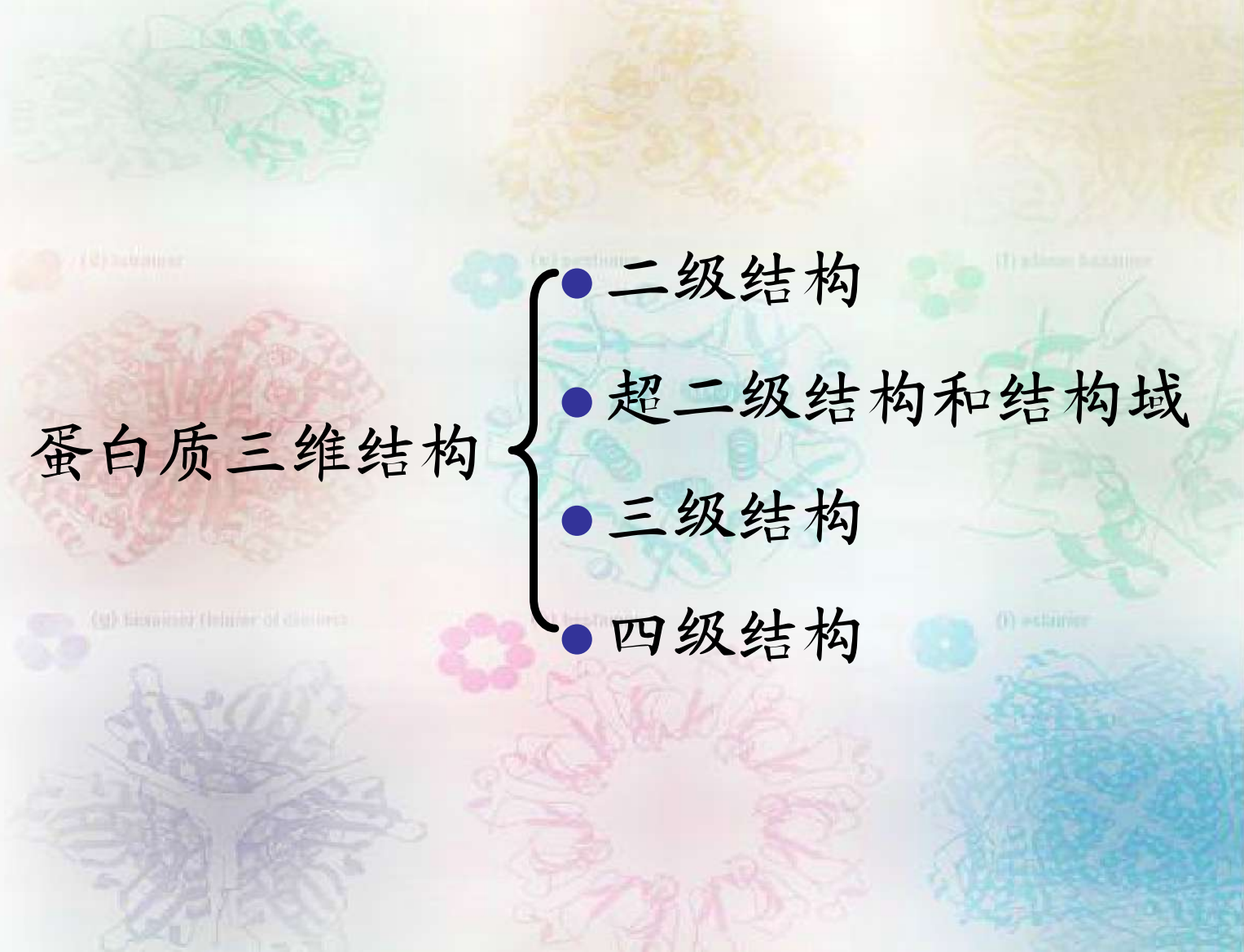


第4章 蛋白质的三维结构



蛋白质三维结构

- 二级结构
- 超二级结构和结构域
- 三级结构
- 四级结构



一、研究蛋白质构象的方法

研究蛋白质结晶体:

(一) X射线衍射法



The Nobel Prize in Physics 1901



"for their theories, developed independently,
concerning the course of chemical reactions"



Wilhelm Conrad Roentgen

Germany

Munich University

Munich, Germany

1845 - 1923

伦琴



1901年获
诺贝尔物理奖
伦琴
W.C. (Wilhelm
Conrad Roentgen
1845——1923)

主要成就：从1876年开始研究各种气体比热，证实气体中电磁旋光效应存在。1888年实验证实电介质能产生磁效应，最重要在1895年11月8日在实验中发现：当克鲁克斯管接高压电源，会放射出一种穿透力极强的射线，他命名为X射线。X射线在晶体结构分析，金相材料检验，人体疾病透视检查即治疗方面有广泛应用，因此而获得1901年诺贝尔物理奖。



The Nobel Prize in Physics 1914

"for their theories, developed independently,
concerning the course of chemical reactions"



Max von Laue

Germany

Frankfurt University

Frankfurt-on-the Main, Germany

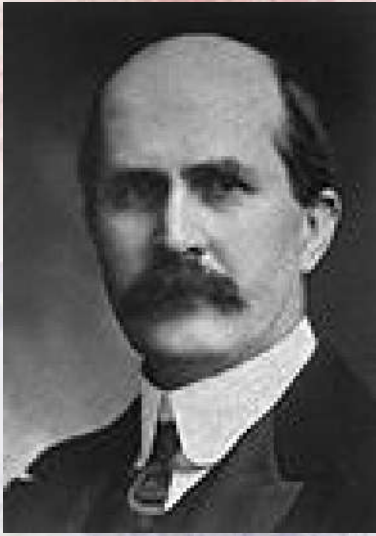
1879 - 1960

劳厄



The Nobel Prize in Physics 1915

"for their theories, developed independently,
concerning the course of chemical reactions"



Sir William Henry Bragg

Great Britain

London University

London, Great Britain

1862 - 1942

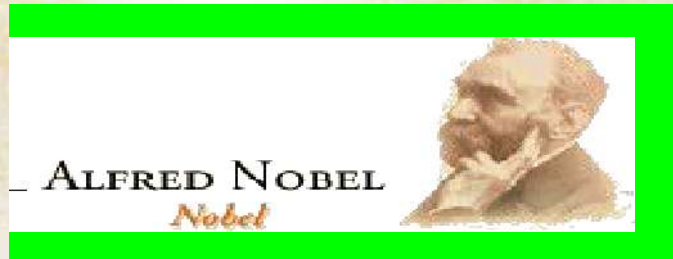
布拉格

(二) 研究处于溶液中蛋白质构象的光谱学方法



- 紫外差光谱
- 荧光和荧光偏振
- 圆二色性
- 核磁共振





1952年诺贝尔物理学奖：布洛赫(*Felix Bloch*) & 珀赛尔(*Edward Purcell*)因发展了核磁精密测量的新方法及由此所作的发现——核磁共振。



布洛赫(*Felix Bloch*)



珀赛尔 (*Edward Purcell*)



1991年诺贝尔化学奖：恩斯特R.R.Ernst（1933—）瑞士物理化学家



他的主要成就在于他在发展高分辨核磁共振波谱学方面的杰出贡献。这些贡献包括：

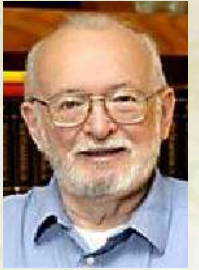
一.脉冲傅利叶变换核磁共振谱

二.二维核磁共振谱

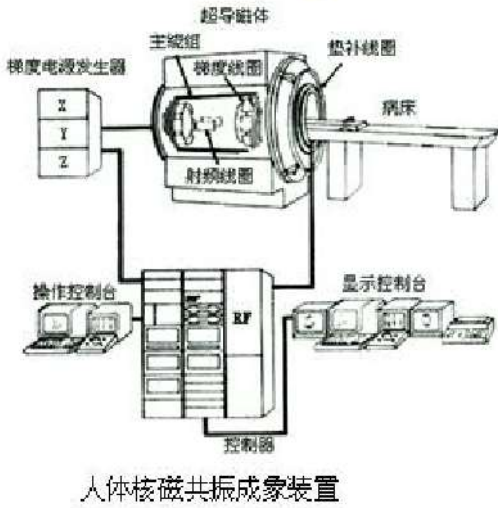
三.核磁共振成像



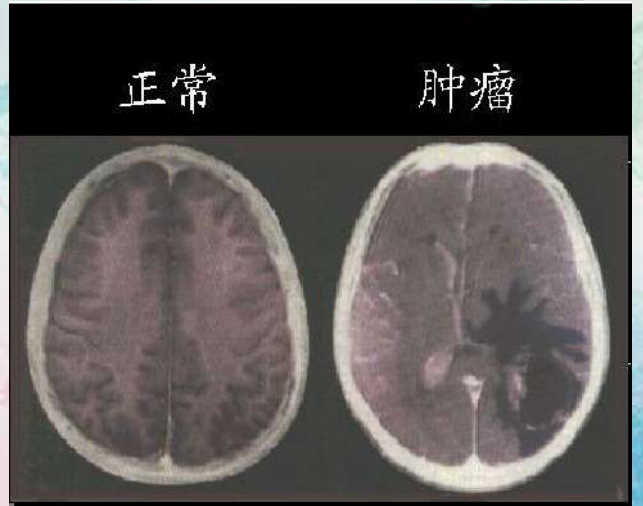
ALFRED NOBEL
Nobel



2003年诺贝尔医学奖 :美国科学家保罗·劳特布尔 (Paul Lauterbur) 和英国科学家彼得·曼斯菲尔德(Peter Mansfield)



Peter



用核磁共振层析“拍摄”的脑截面图象

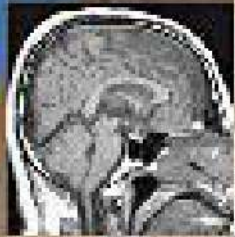
the heart
aorta
left
ventricle



liver



cross section
of the abdomen
pancreas



the brain

knee joint
tibia



femur

antenna

gradient

magnet



the spine,
the spinal canal
and the spinal cord

gall bladder



biliary tract and
pancreatic duct

二、稳定蛋白质三维结构的作用力

1、影响蛋白质三维结构的因素

 内力（内因）

蛋白质分子内各原子间作用力

 外力（外因）

与溶剂及其他溶质作用力

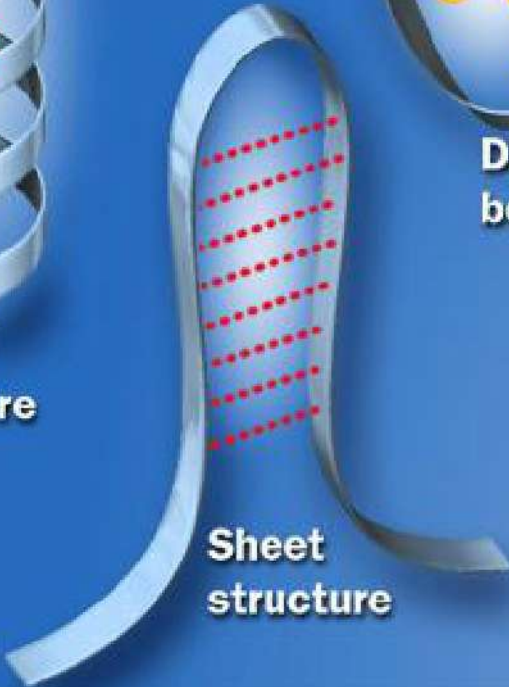
2、蛋白质分子内部的作用力

- **肽键、二硫键**——一级结构
- **氢键、疏水作用、范德华力、离子键、二硫键**——三维结构

Hydrophobic interactions



Helical structure

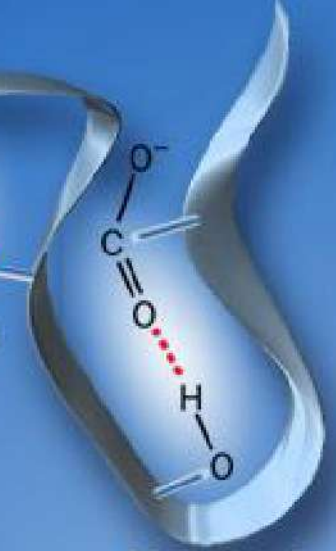


Sheet structure

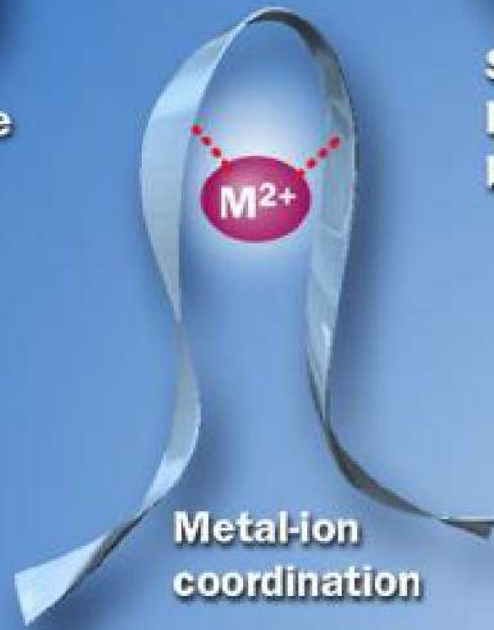


Disulfide bond

Electrostatic attraction

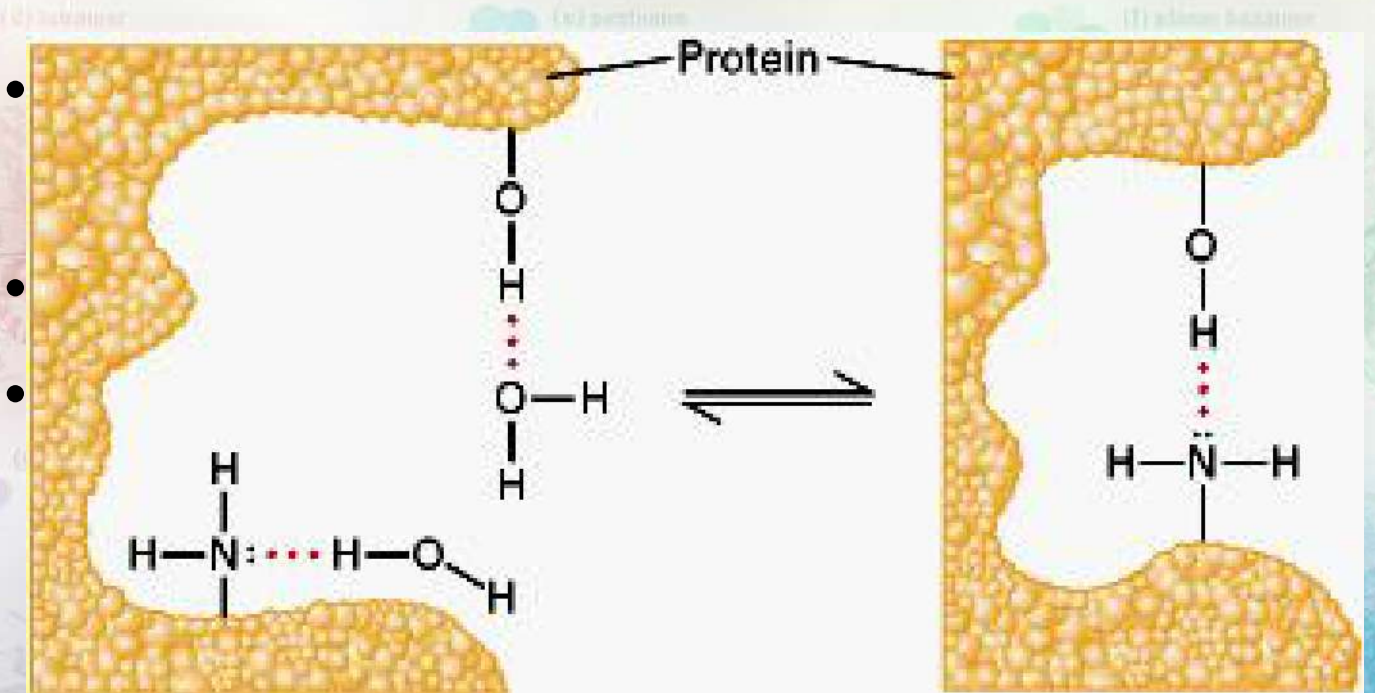


Side-chain hydrogen bonding



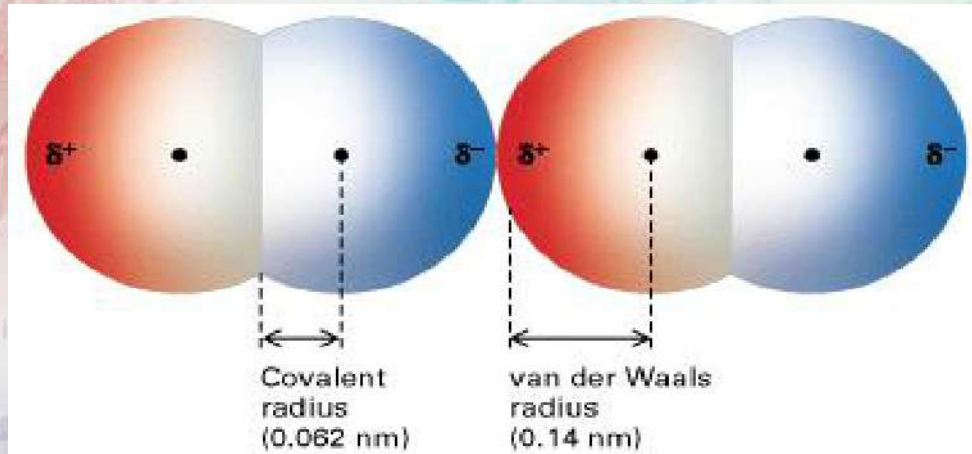
Metal-ion coordination

(1) 氢键 (Hydrogen bond)



(2) 范德华力

(van der Waals force)



(3) 疏水作用

(Hydrophobic Interactions)

- 非极性侧链为避开极性溶剂水彼此靠近所产生
- 主要存在蛋白质的内部结构
蛋白质表面通常具有极性链或区域
- 蛋白质可形成分子内疏水链/腔/缝隙
——稳定生物大分子的高级结构



(4) 离子键

(Electrostatic attraction)

- 又称盐键：具有相反电荷的两个基团间的库仑作用。

$$F = \frac{Q_1 Q_2}{\epsilon R^2}$$

F：吸引力

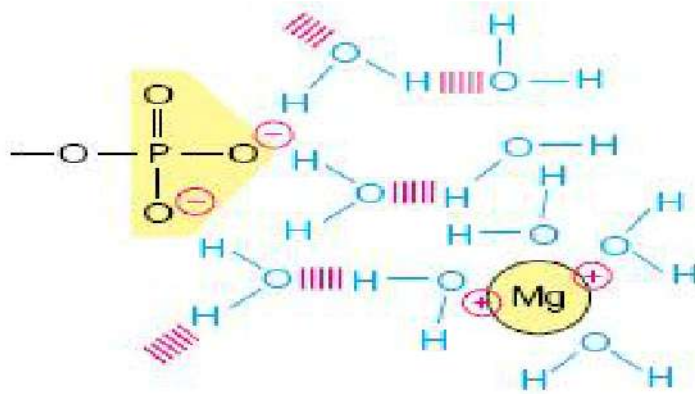
Q_{1/2}：电荷电量

ε：介质介电常数

R：电荷质点间距离

IONIC BONDS IN AQUEOUS SOLUTIONS

Charged groups are shielded by their interactions with water molecules. Ionic bonds are therefore quite weak in water.



Similarly, other ions in solution can cluster around charged groups and further weaken ionic bonds.



(5) 二硫键 (Disulfide Bond)

- 由含硫氨基酸形成
- 起稳定肽链空间结构的作用
- 二硫键被破坏，蛋白质生物活性丧失

(6) 配位键

(Metal-ion Coordination)

- 两个原子之间形成的共价键
- 共用电子对由其中一个原子提供
- 金属离子与蛋白质的结合方式

例如：铁氧还蛋白

(7) 酯键 (Ester Bond)

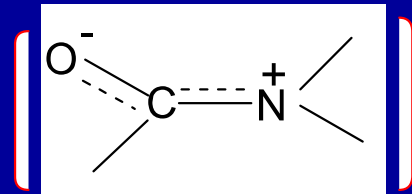
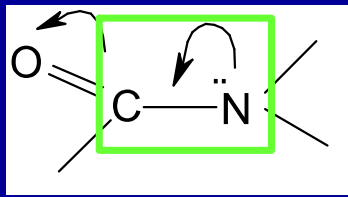
- **Ser/Thr**的羟基与**AA**的羧基形成酯键
- 磷酸与含羟基**AA**缩合形成磷酸酯键

三、多肽主链折叠

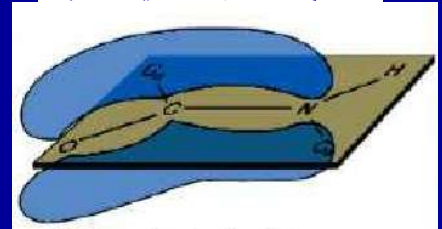
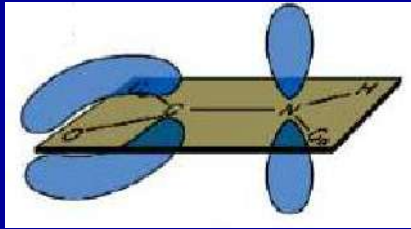
(一) 酰胺平面与 α - 碳原子的二面角

- 肽平面键长和键角一定
- 肽键的原子排列呈反式构型
- 相邻的肽平面构成两面角



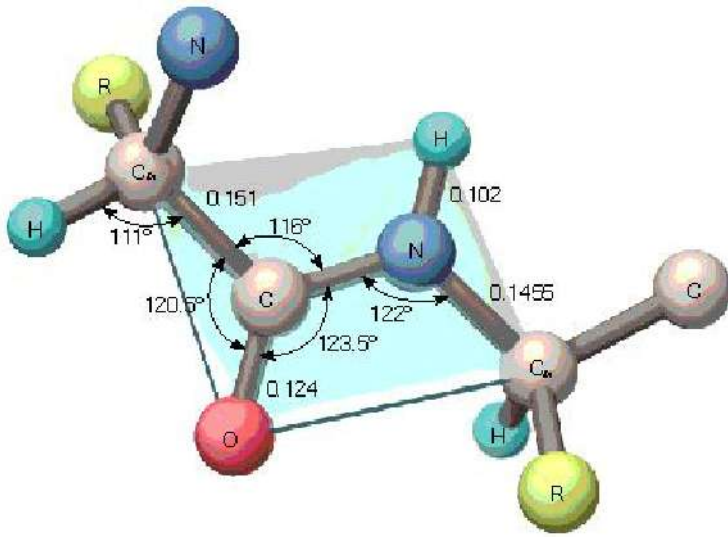


共振形式

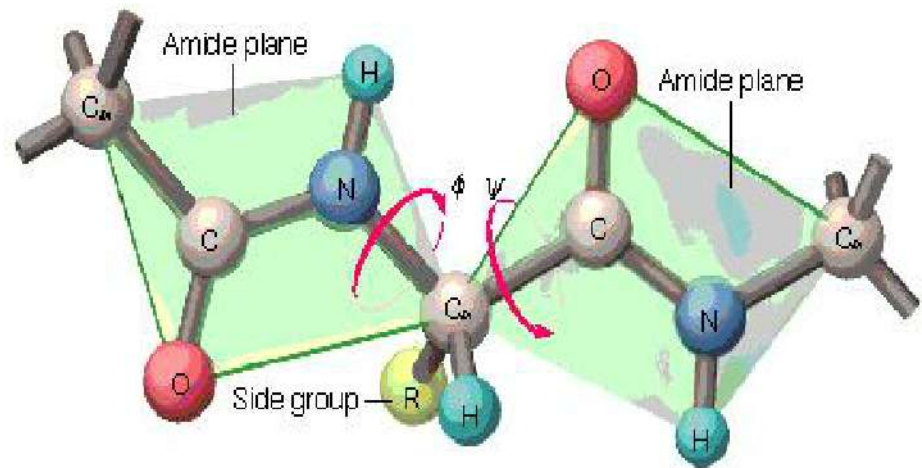


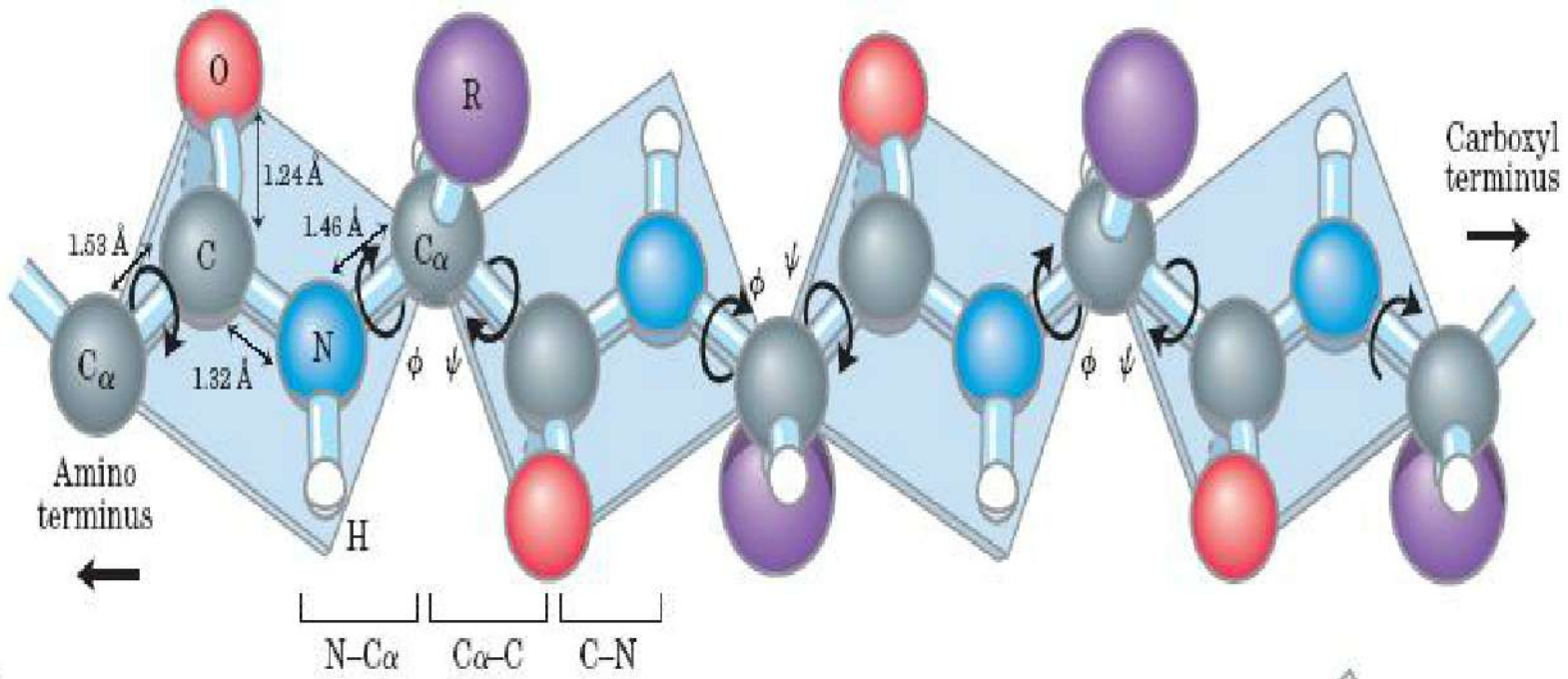
肽键中C-N键具有部分双键性质

——组成酰胺的原子处于同一平面



(b) Bond angles and lengths

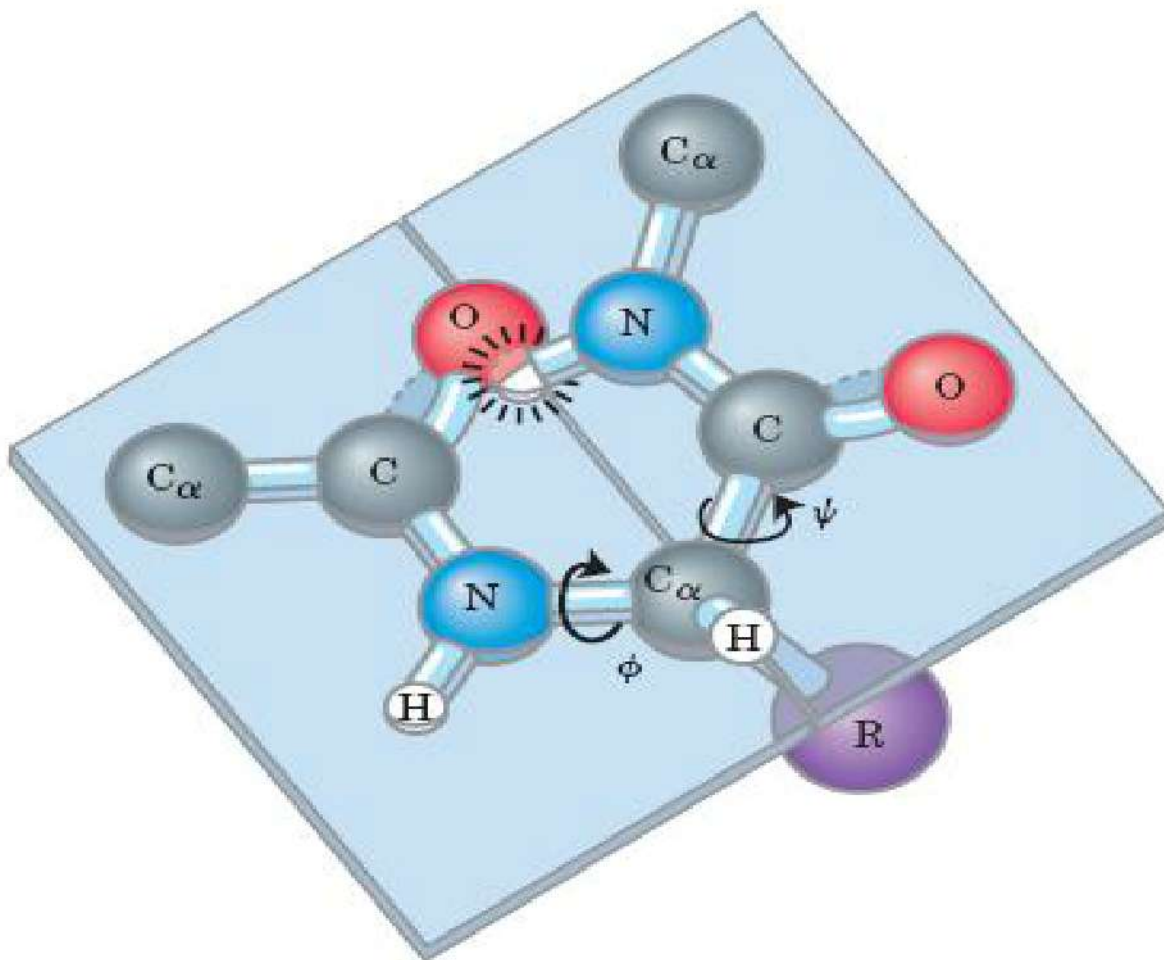




多肽链：通过可旋转的C_α连接的酰胺平面链

- 这种旋转是受到限制的

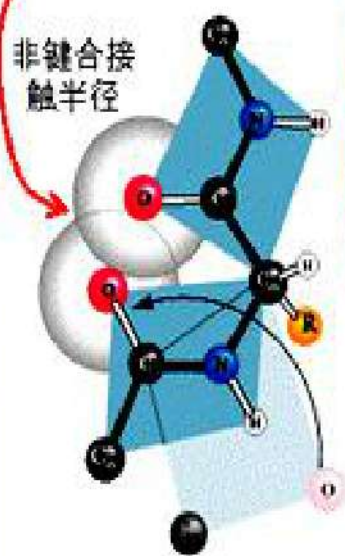




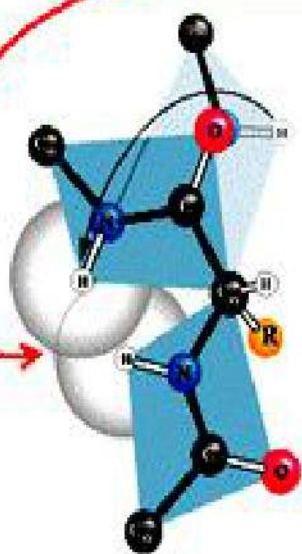
ϕ 和 $\psi = 0^\circ$ 时的主链构象

原子半径重合

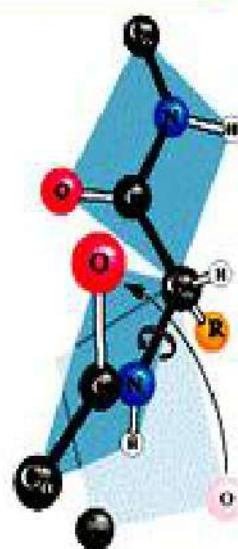
非键合接触半径



$\phi = 0^\circ, \psi = 180^\circ$

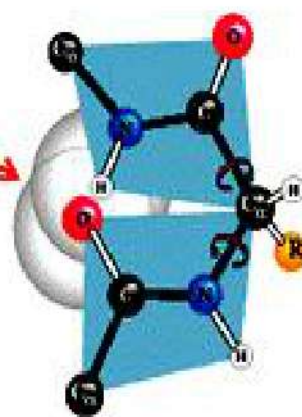


$\phi = 180^\circ, \psi = 0^\circ$



$\phi = -60^\circ, \psi = 180^\circ$

可以的构象

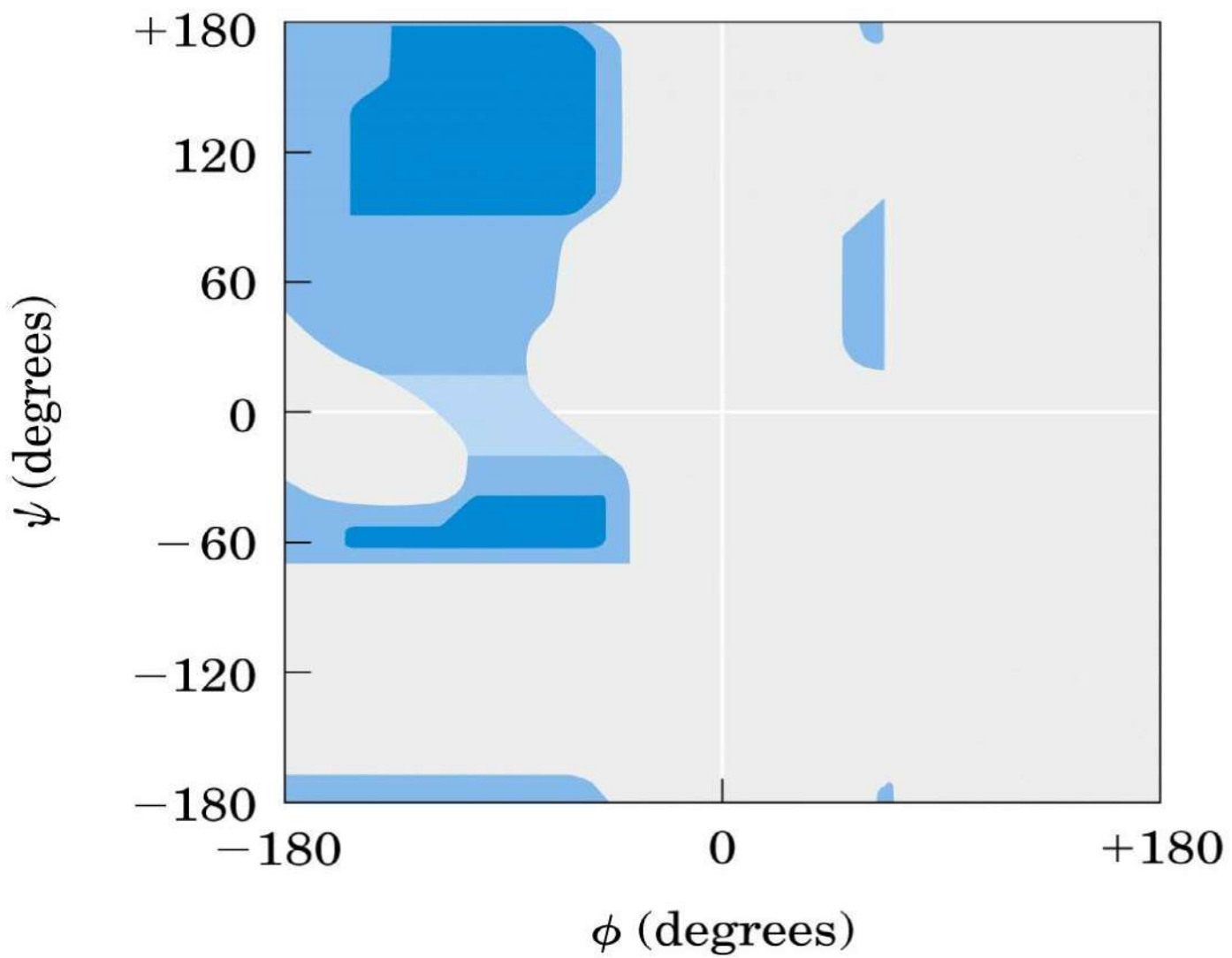


$\phi = 0^\circ, \psi = 0^\circ$

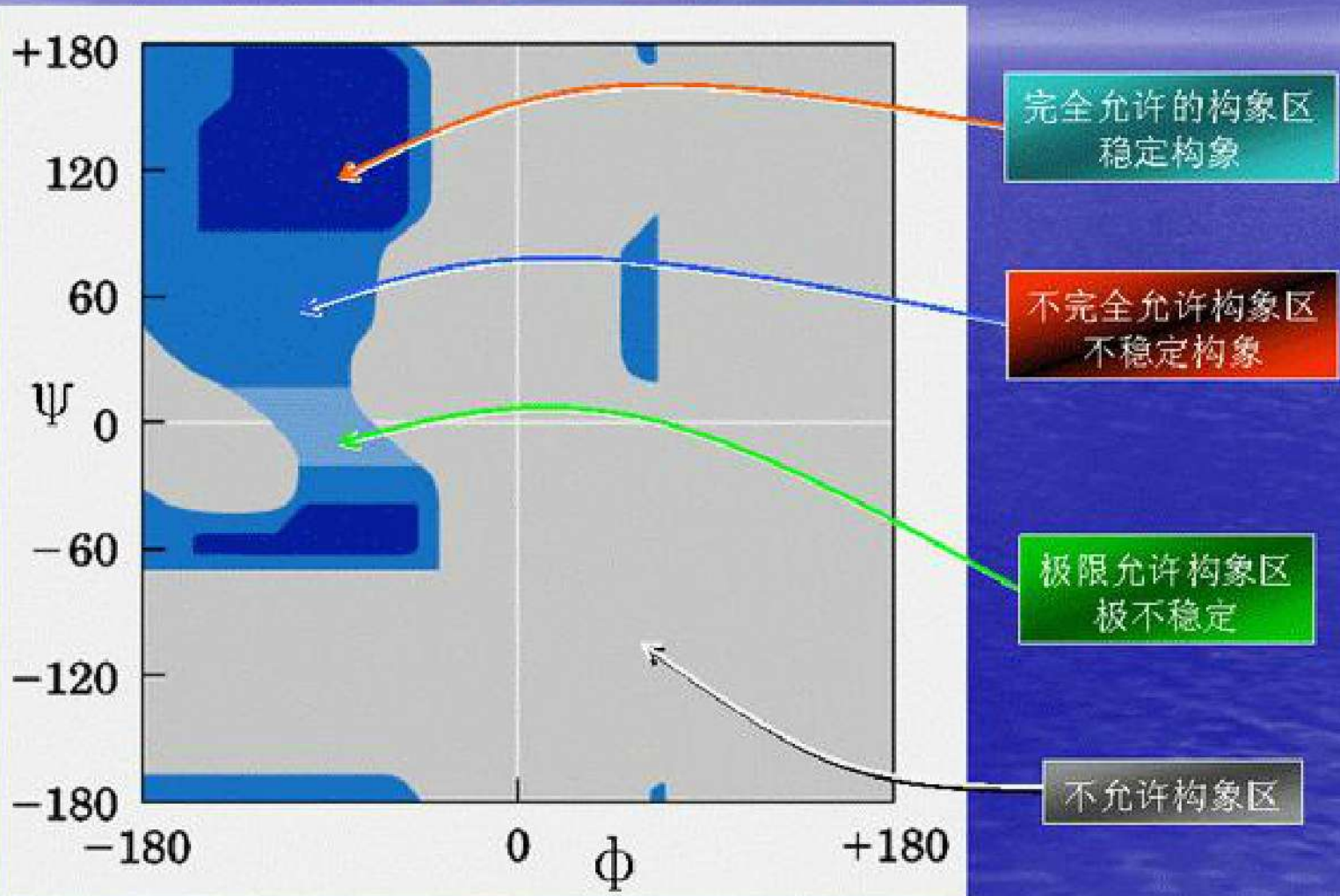
(二) 可允许的 ϕ 和 ψ 值:

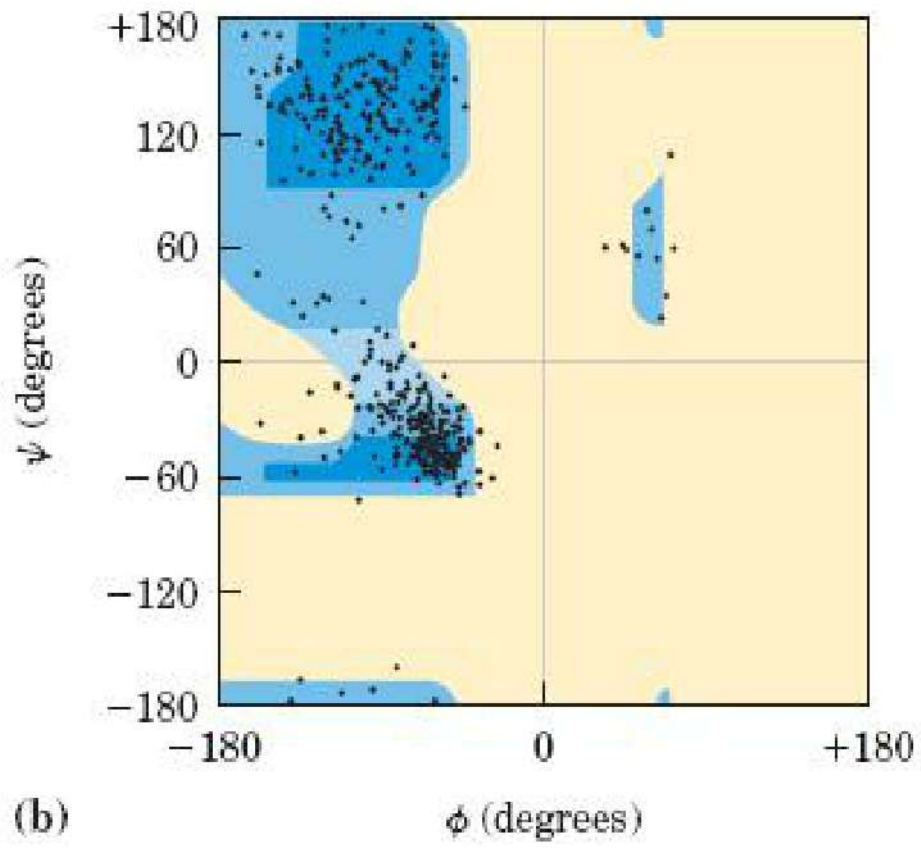
- 拉氏构象图





空间构象分布图





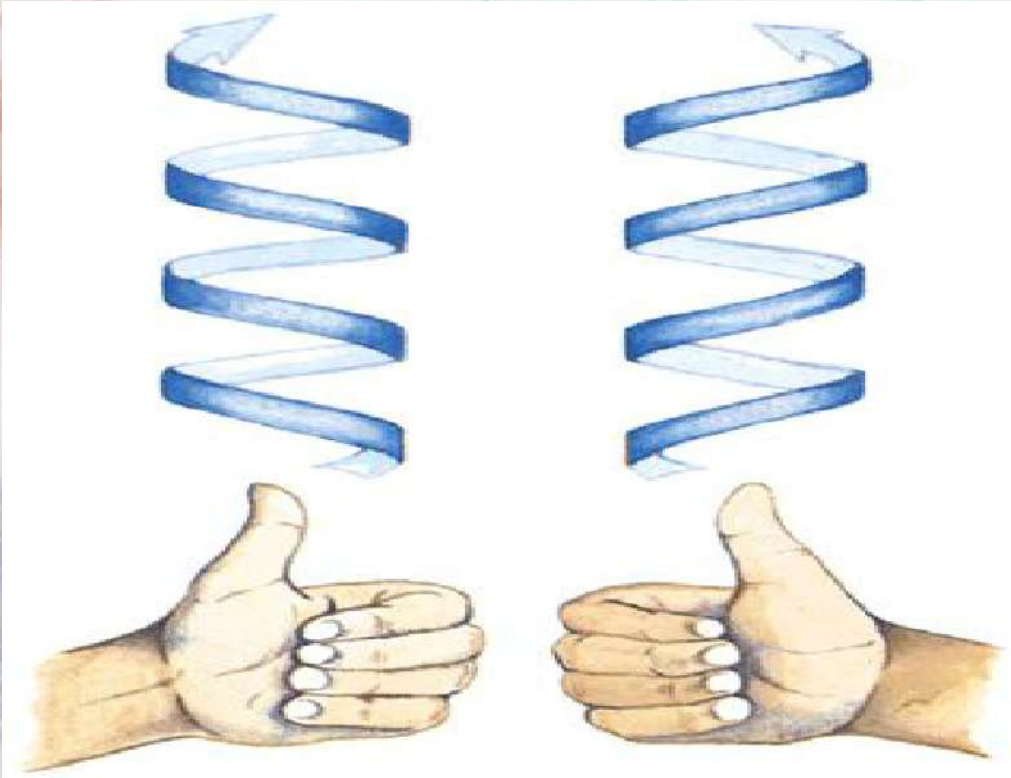
四、二级结构 (Secondary Structure)

- 指肽链的主链在空间的排列, 或规则的几何走向、旋转及折叠。
- 只涉及主链构象及链内/间形成的氢键
- 主要有 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规卷曲、 π -螺旋、 Ω 环等。

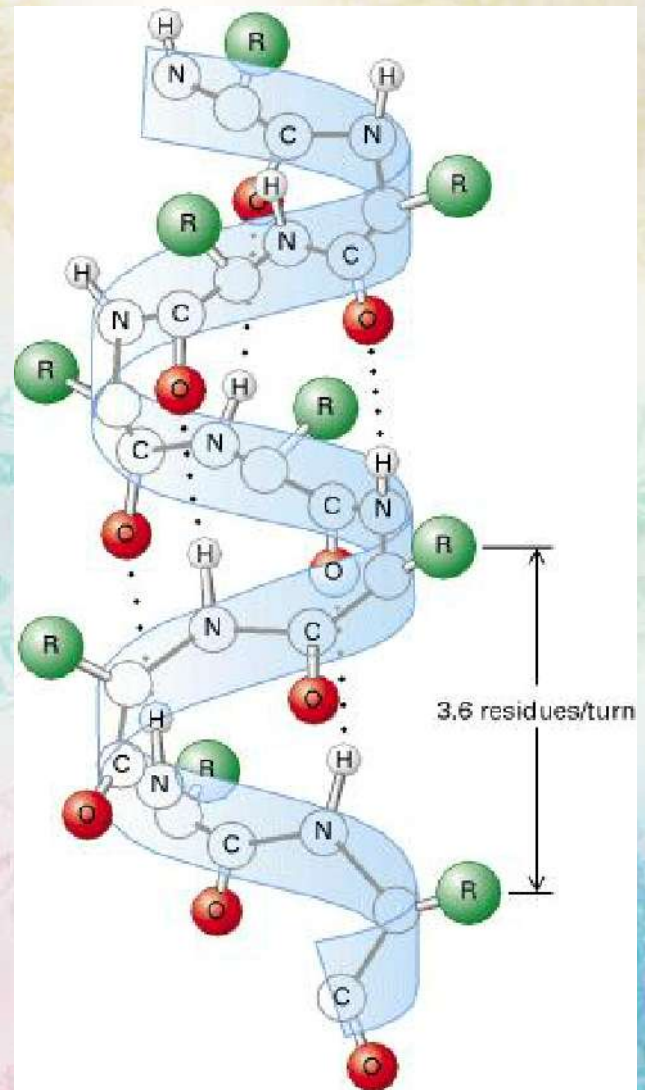


(一) α -螺旋 (α -helix)

1、 α -螺旋的结构



- 螺距**0.54nm**
- 每圈含**3.6**个AA残基
每个AA残基占**0.15nm**
绕轴旋转**100°**
- 链内形成氢键与轴平行
- 多为右手螺旋



2、 α -螺旋的特点

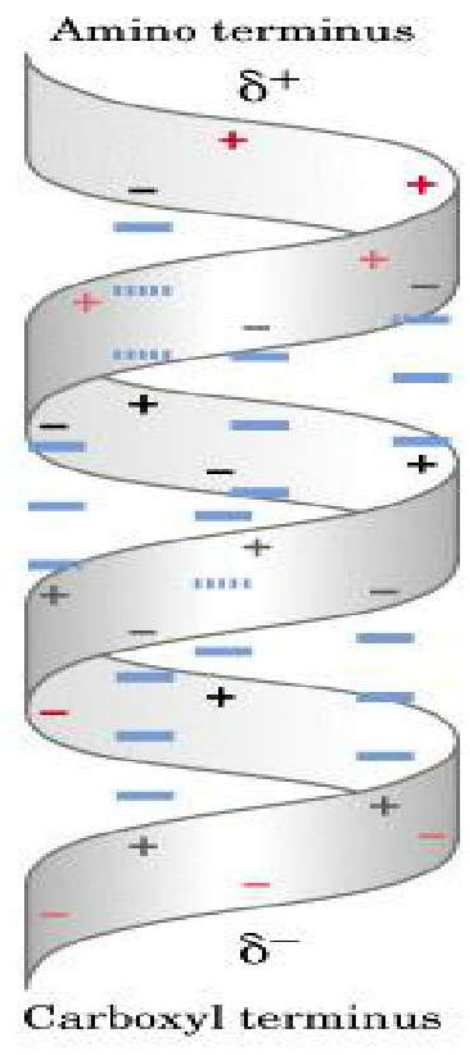
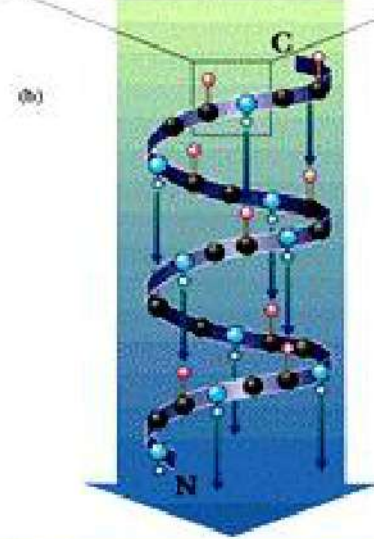
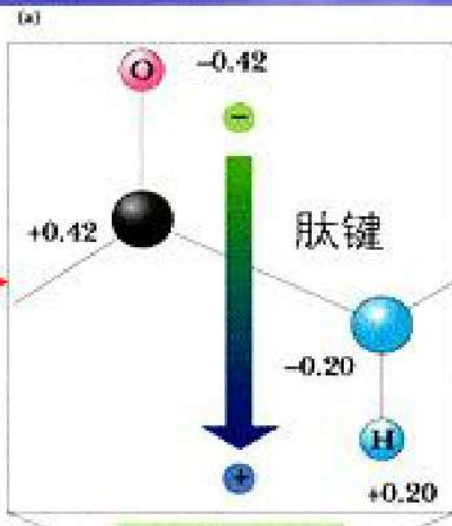


(1) 又称 3.6_{13} -螺旋

(2) α 螺旋的偶极矩：由于每一肽键
N-H和**C=O**的极性而产生



肽键极性
偶极矩



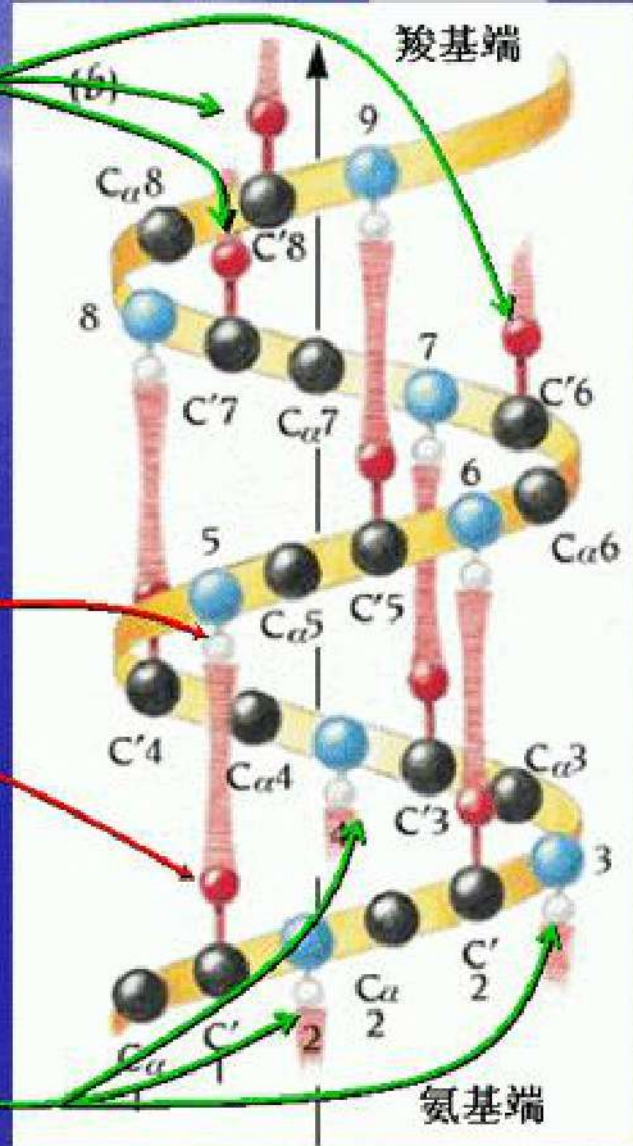
羧基端的后3个肽键内
C=O不能形成氢键

α -螺旋的氢键连接发生在
C=O和NH之间

第n个残基
(第n个肽键)

第n+4个残基
(第n+3个肽键)

氨基端的前3个肽键内
NH不能形成氢键



2、 α -螺旋的特点

(3) α 螺旋的手性

- 左/右手螺旋都由**L-AA**残基构成
——不是对映体
- 右手 α 螺旋空间位阻较小，构象稳定
在肽链折叠中容易形成。

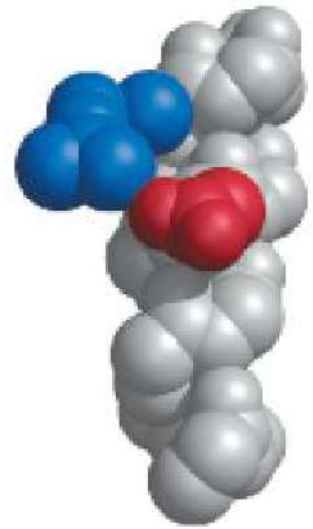


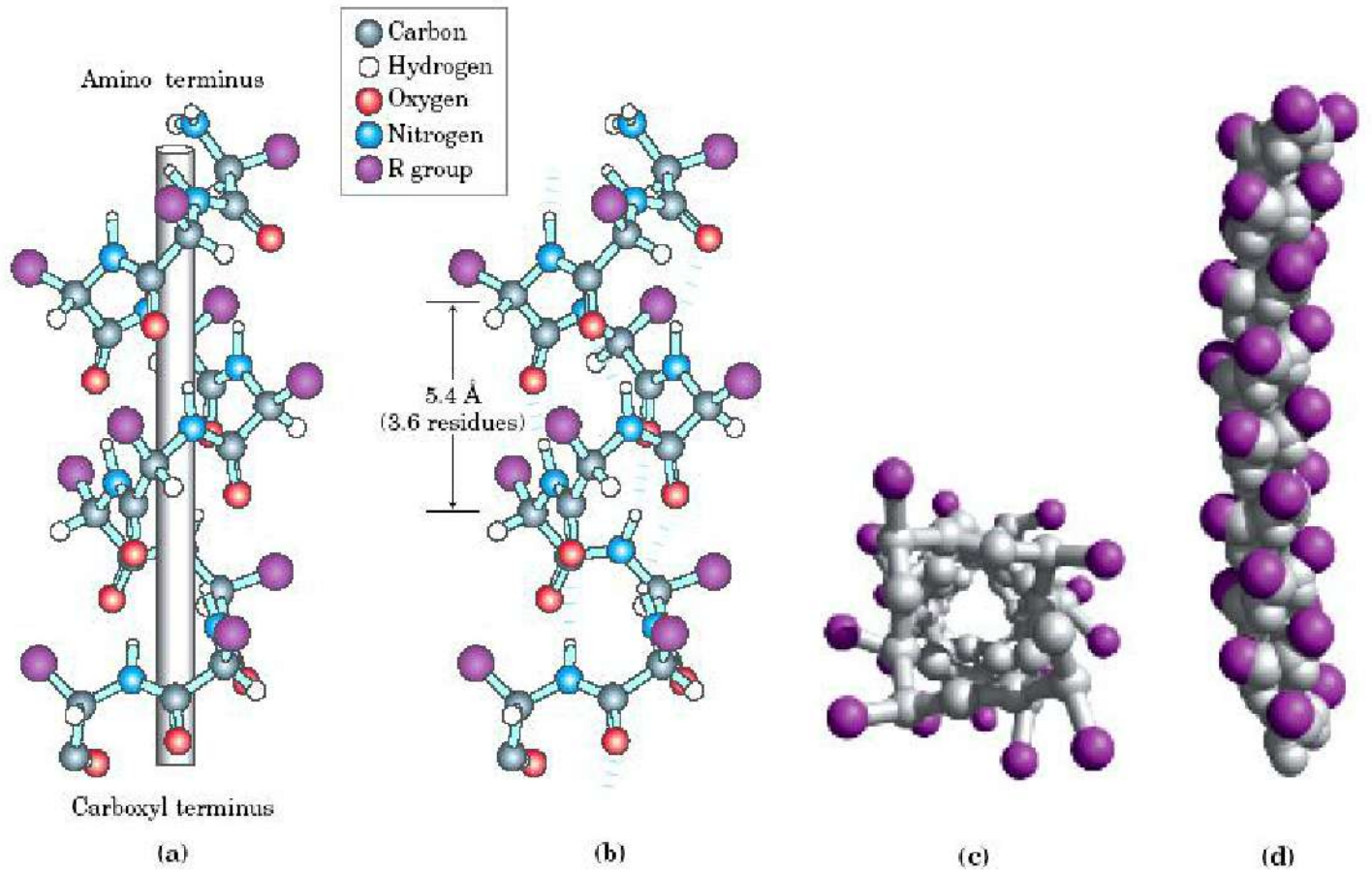
3、影响 α -螺旋形成的因素



- ① **R基大小**：较大的难形成，如多聚Ile
- ② **R基的电荷性质**：不带电荷易形成
- ③ **Pro吡咯环的形成**

C_{α} -N / C-N不能旋转
无法形成链内氢键



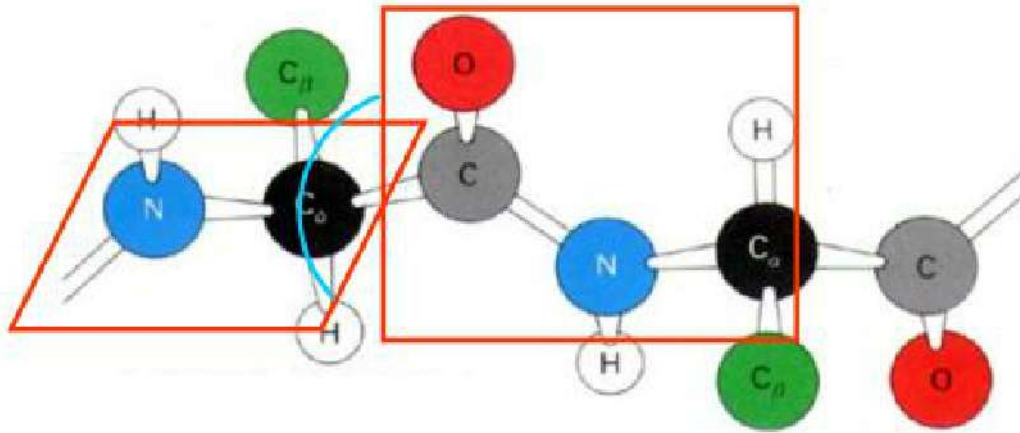


4、其他类型的螺旋

- 3_{10} - 螺旋
- π 螺旋 ($4_1 4_{16}$ - 螺旋)

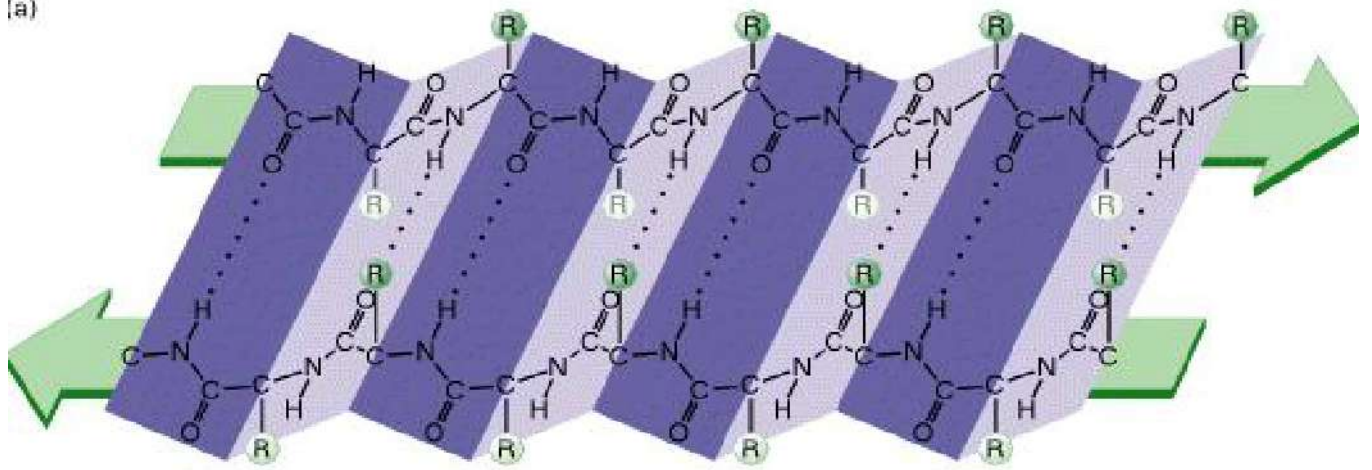


(二) β -折叠 (β -pleated sheet)



- 由两/多条几乎完全伸展的肽链平行排列，通过链间的氢键交联而形成。
- 肽链主链呈锯齿状折叠构象。

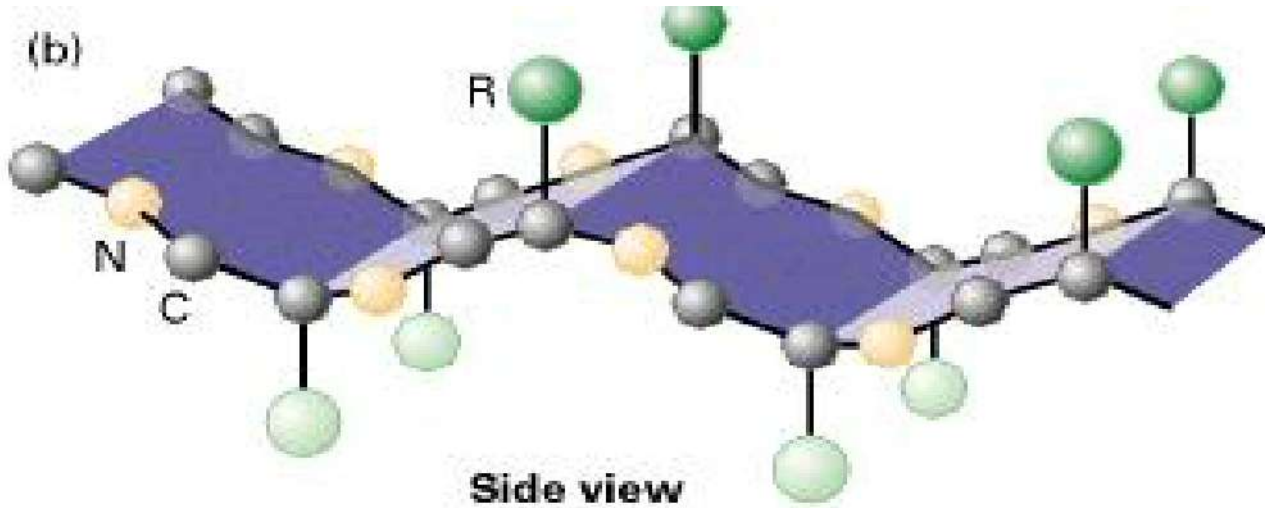
(a)



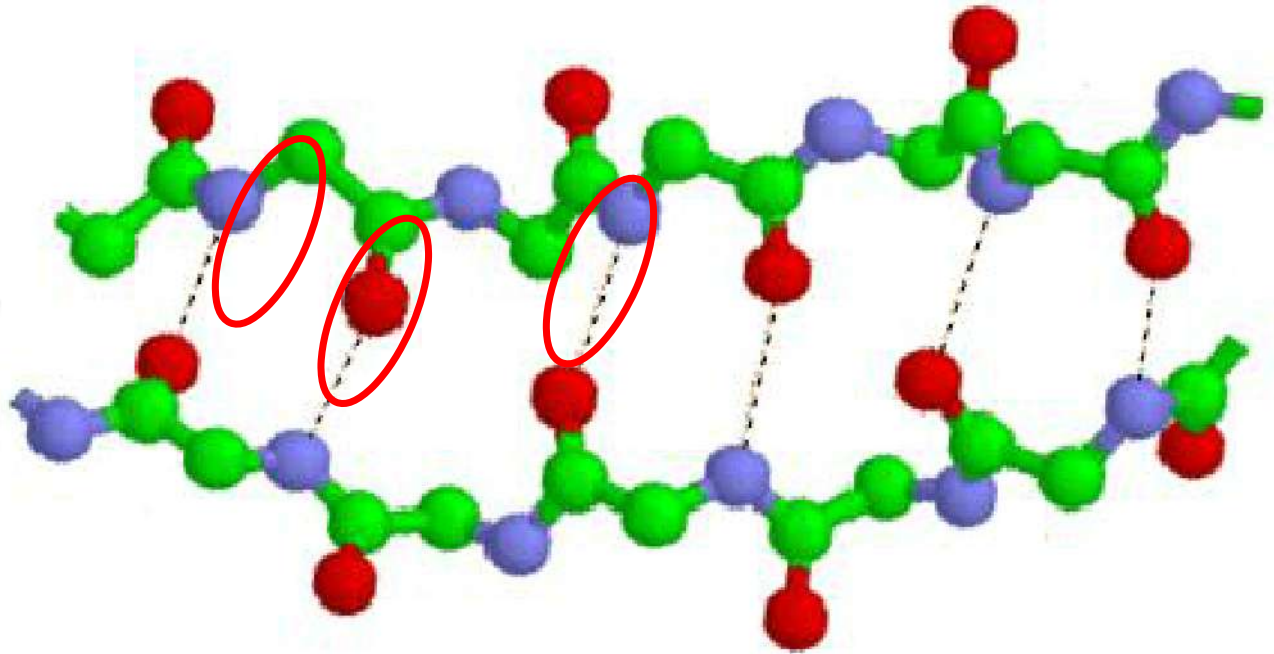
1、 β -折叠结构特点

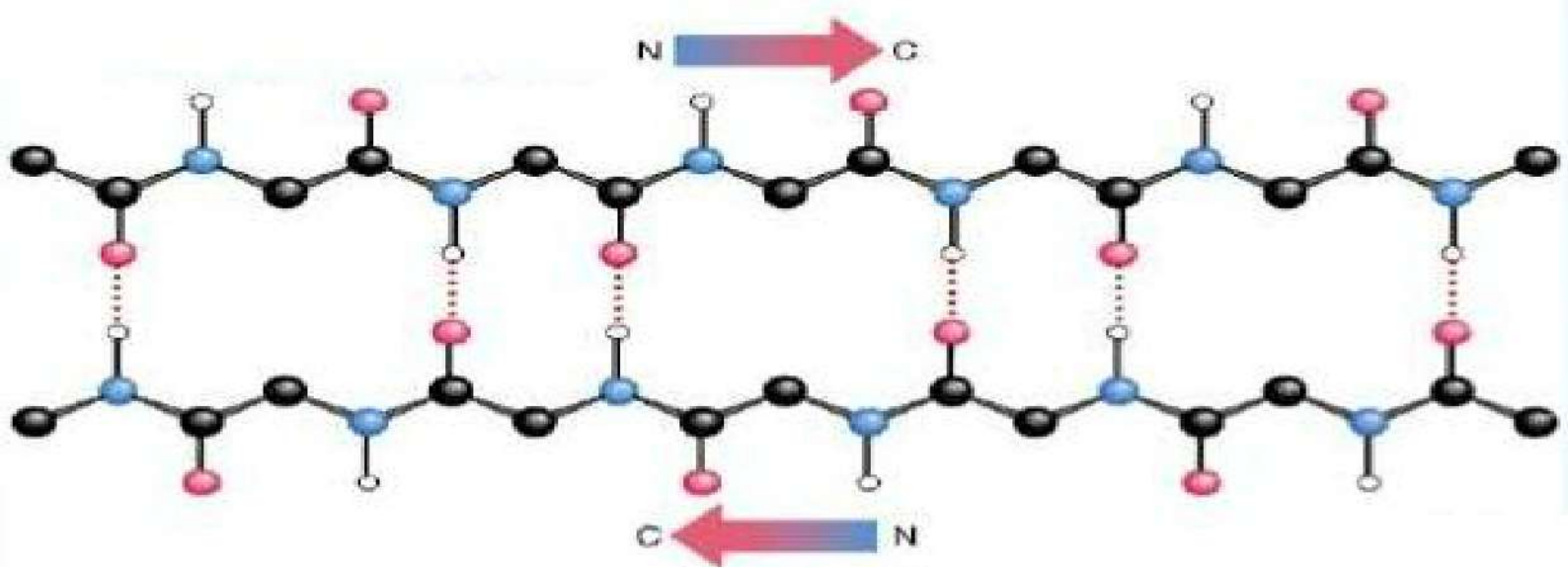
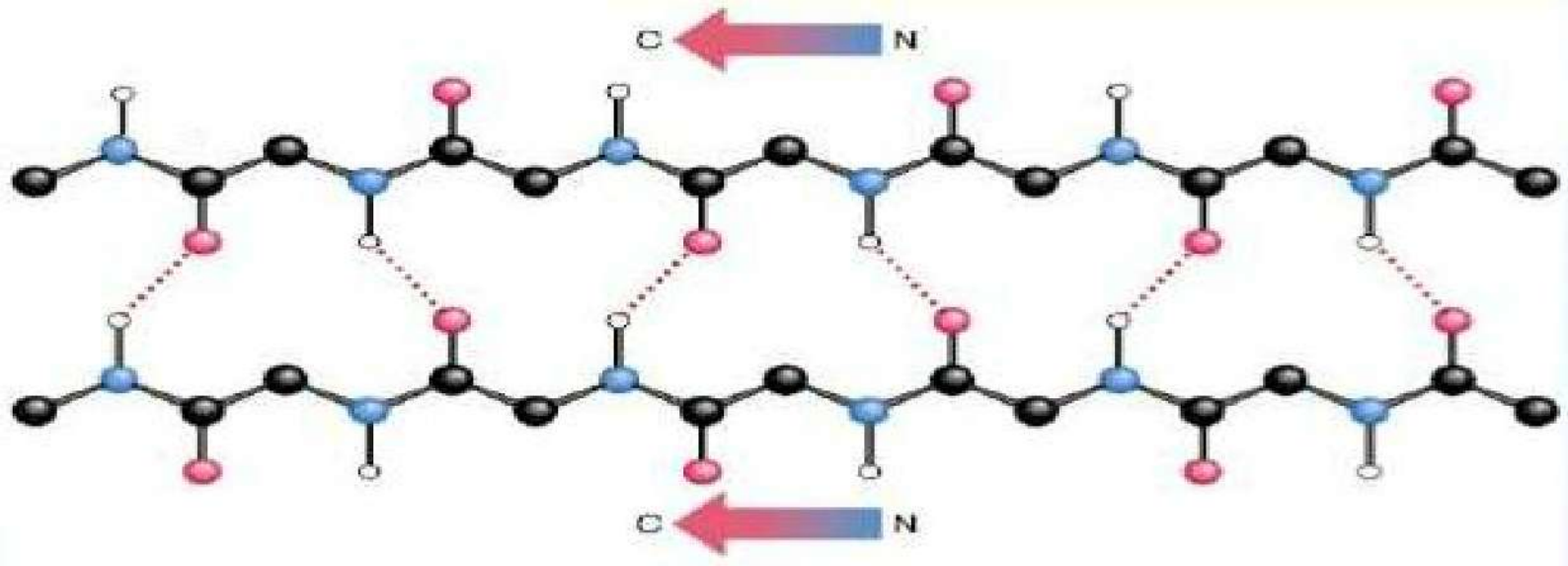
- $C\alpha$ 总是处于折叠的角上
- AA的R基团处于折叠的棱角上并与之垂直
- 两个AA之间的轴心距为**0.35nm**

- 氢键主要在链间/同一肽链不同部分间形成
- 几乎所有肽键都参与链内氢键的交联
- 氢键与链的长轴接近垂直



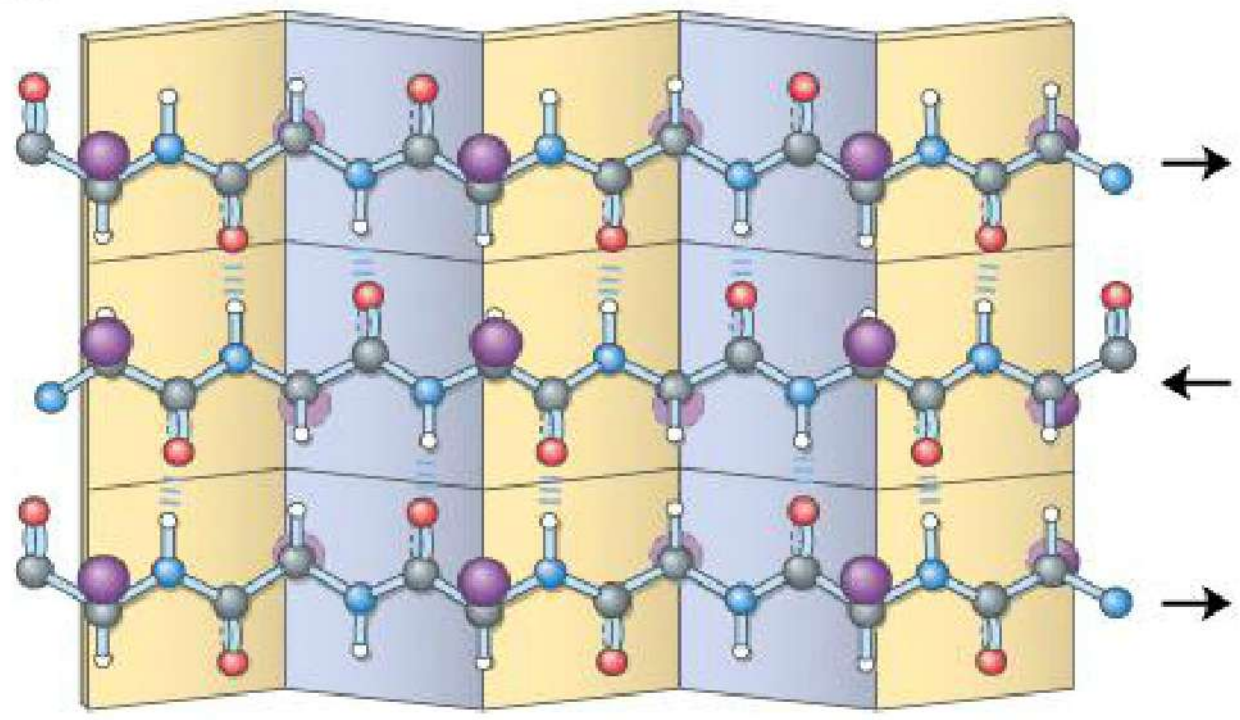
- 平行肽链间以氢键从侧面连接的构象



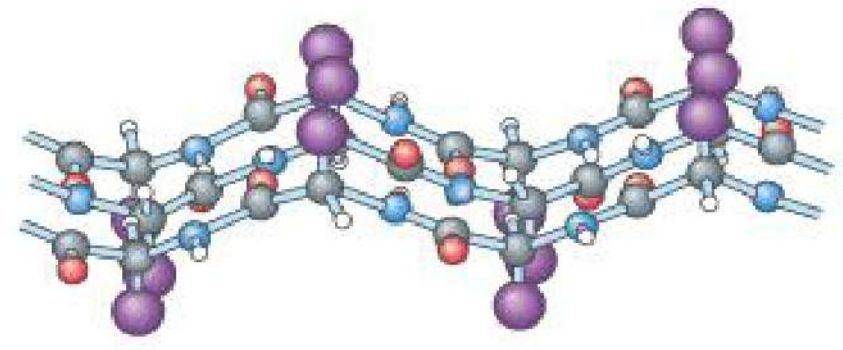


(a) Antiparallel

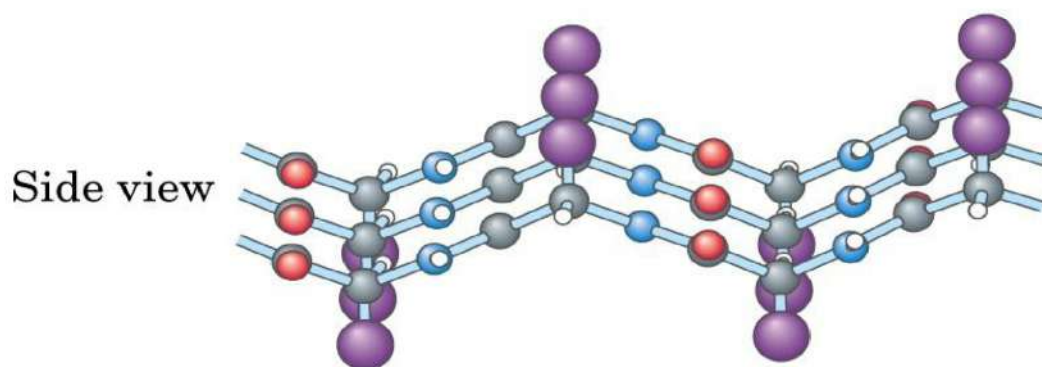
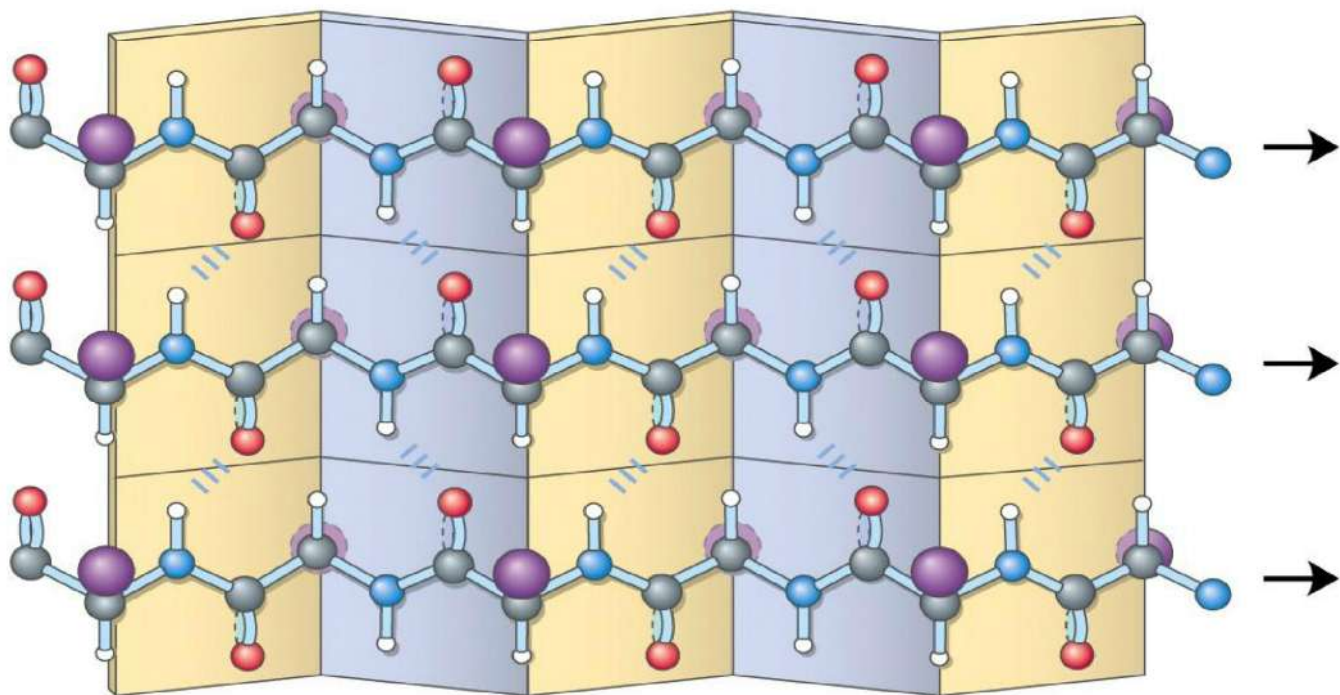
Top view

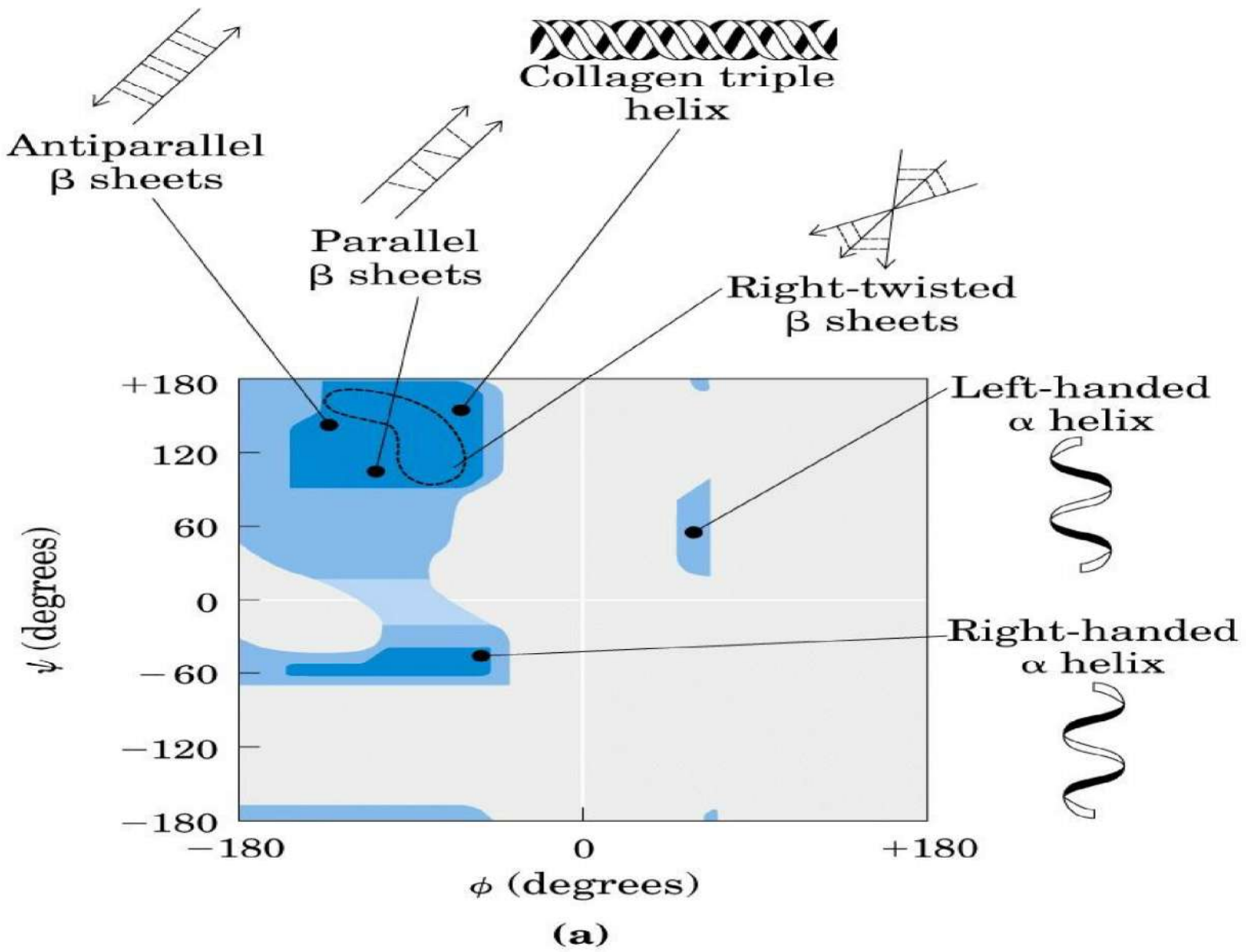


Side view



(b) Parallel





(三) β -转角和 β 凸起

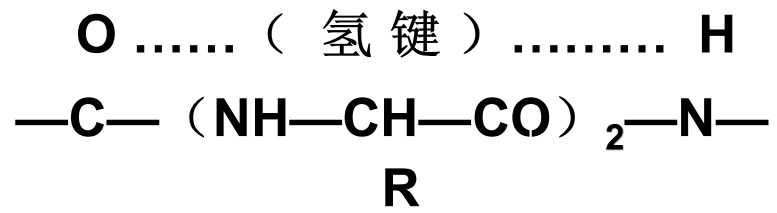
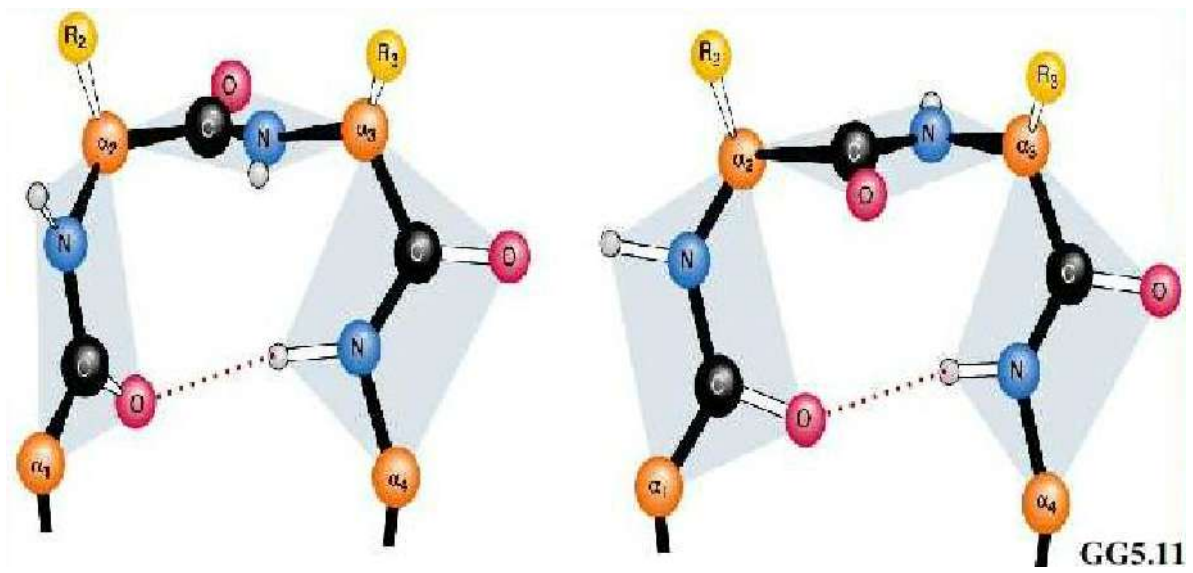


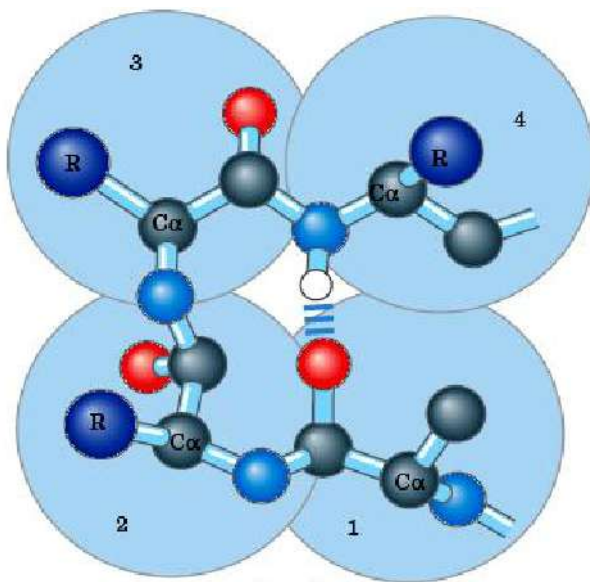
1、 β 转角 (β turn/bend/hairpin structure)

- 肽链主链骨架 180° 的回折结构

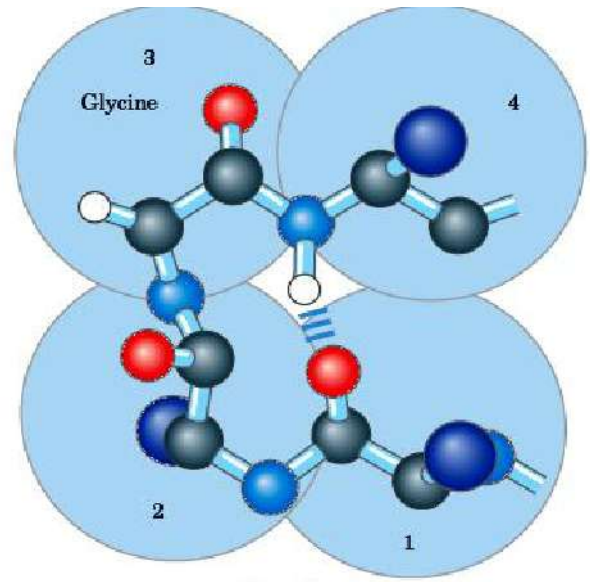
特点:

- 由4个连续的**AA**残基组成
 - 第一个残基**C=O**
 - 第四个残基**NH**
- } ● 形成氢键





Type I



Type II

- 比较稳定的环状结构
 - 主要存在于球状蛋白分子中
 - 多数处在蛋白质分子的表面

2、 β 凸起 (β bugle)

- 反平行 β 折叠片中的一种不规则排列
- 实质上是多出来的一个AA残基

(a) hexameric cluster of dimers

(b) heptamer

(c) octamer



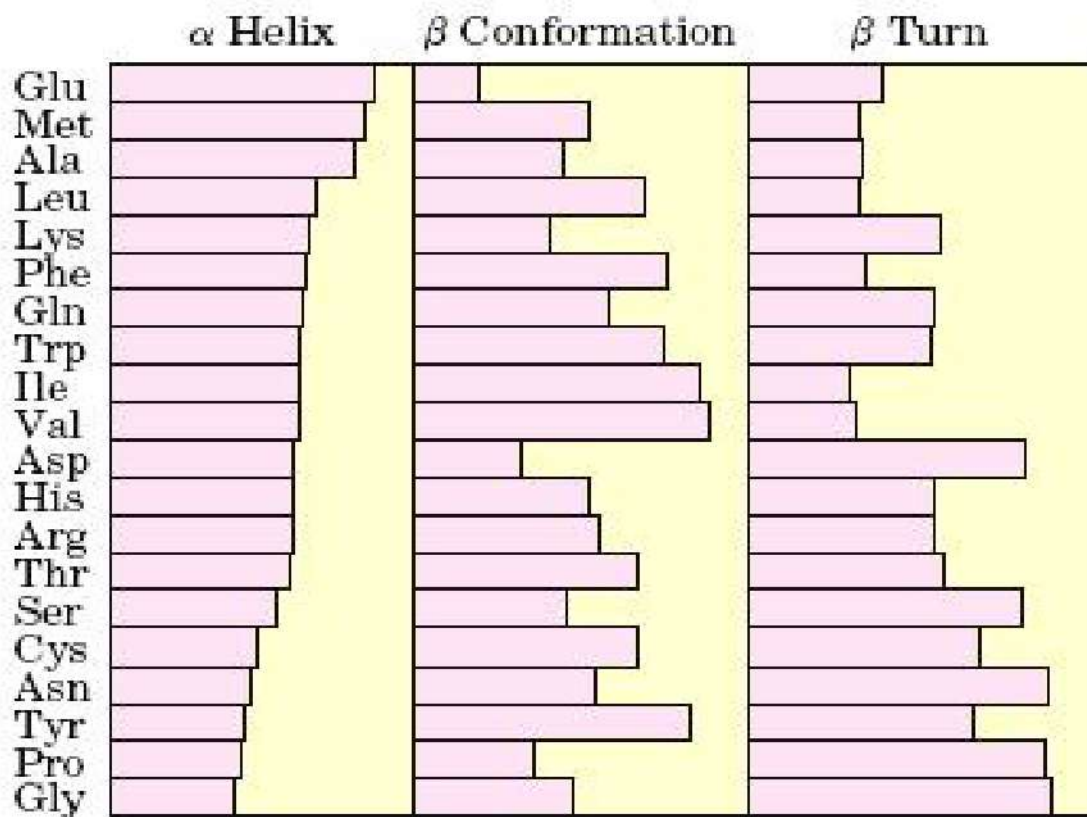
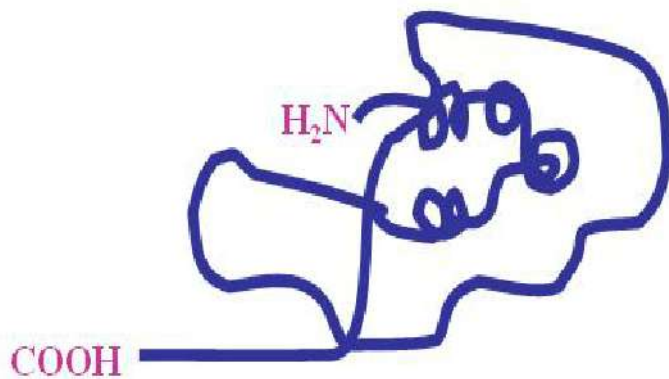


FIGURE 4-10 Relative probabilities that a given amino acid will occur in the three common types of secondary structure.

(四) 无规卷曲 (random coil)

——泛指不能归入明确的二级结构
如折叠片和螺旋的多肽片断。



五、纤维状蛋白质



- 脊椎动物体中50%以上是纤维状蛋白质
- 支架、防护作用
- 规则的线性结构

硬蛋白

- 不溶性纤维蛋白
(角蛋白、胶原蛋白、弹性蛋白)

纤维蛋白

- 可溶性纤维蛋白
(肌球蛋白 血纤蛋白原)

(一) α -角蛋白 (Keratin)

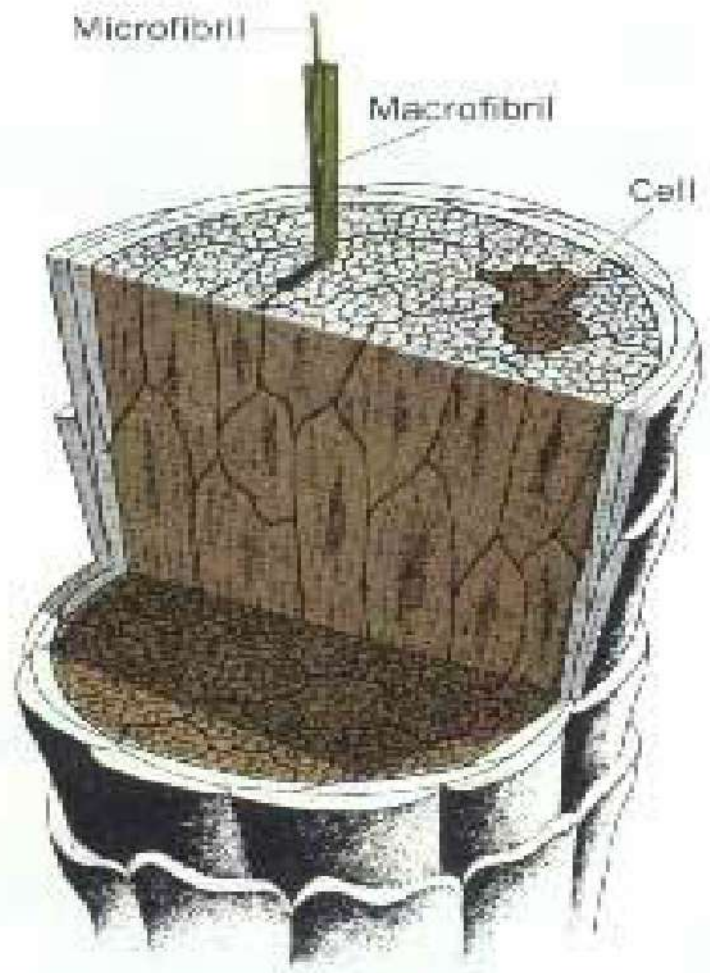
α -角蛋白 { ● 软-角蛋白 弱
● 硬-角蛋白 强

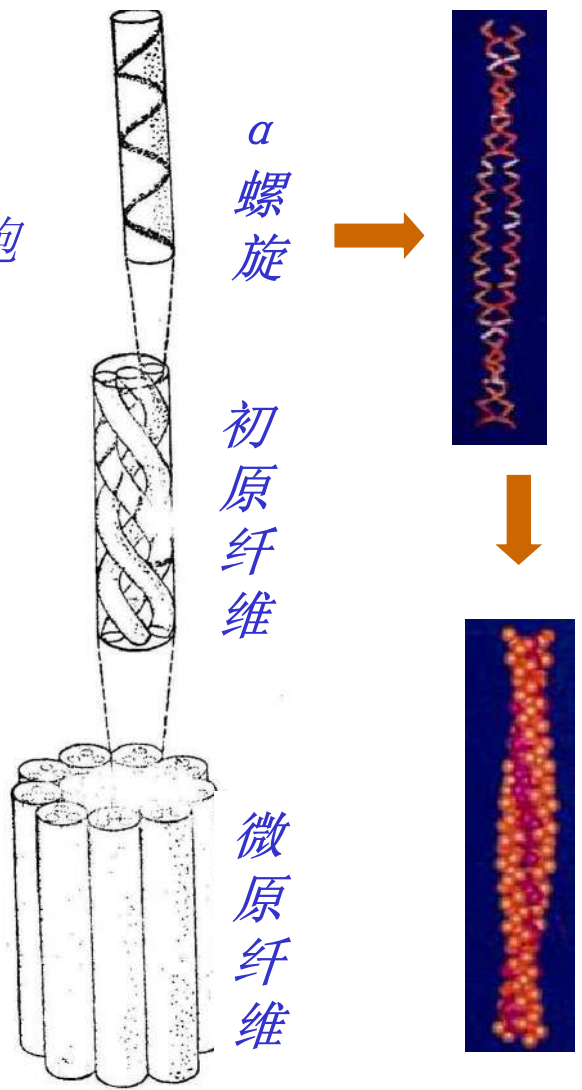
皮肤与皮肤的衍生物

主要由 α -螺旋构象的多肽链组成



毛发的结构





基础

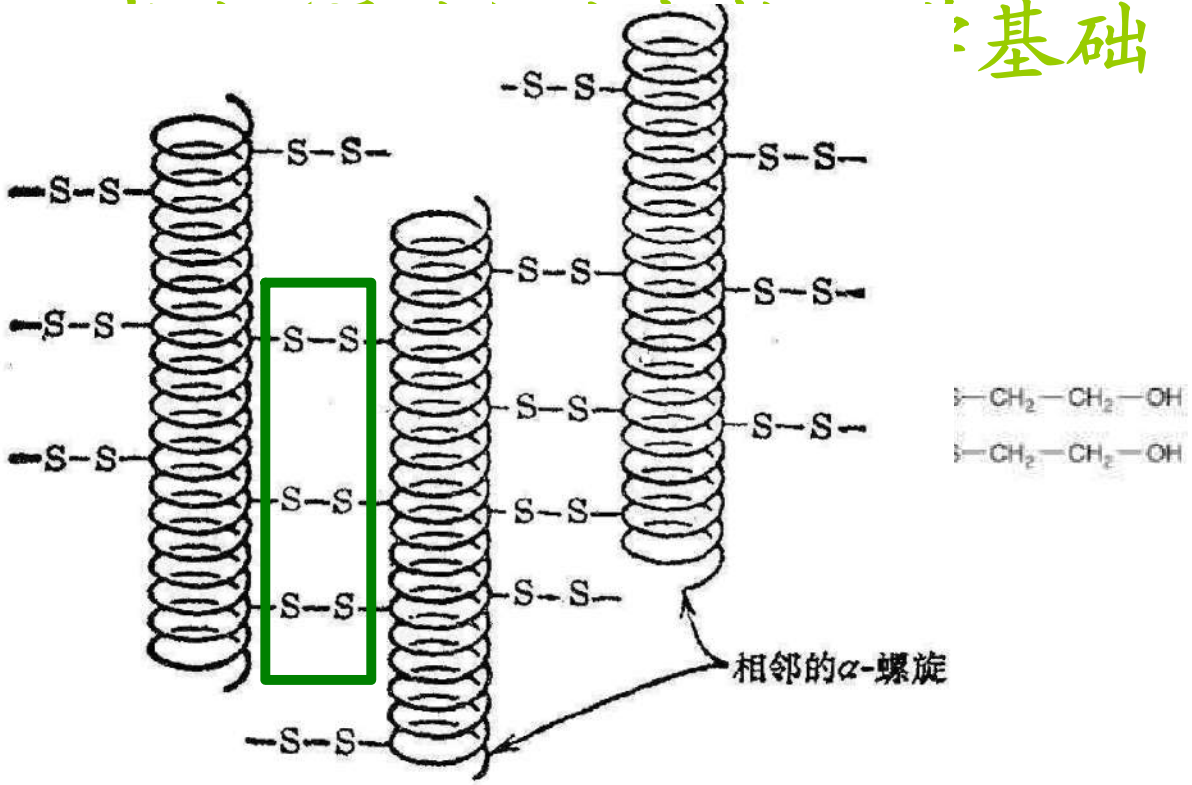
α)

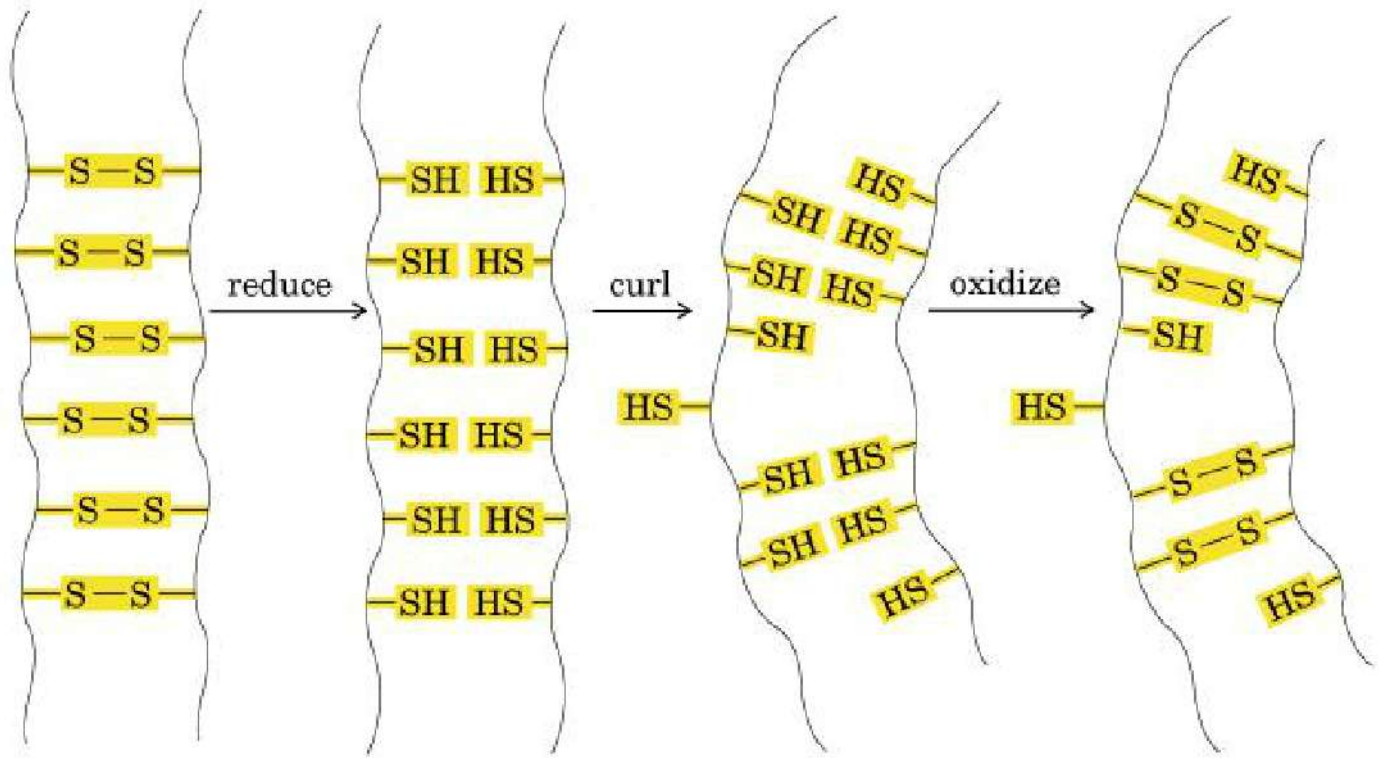
冷

•

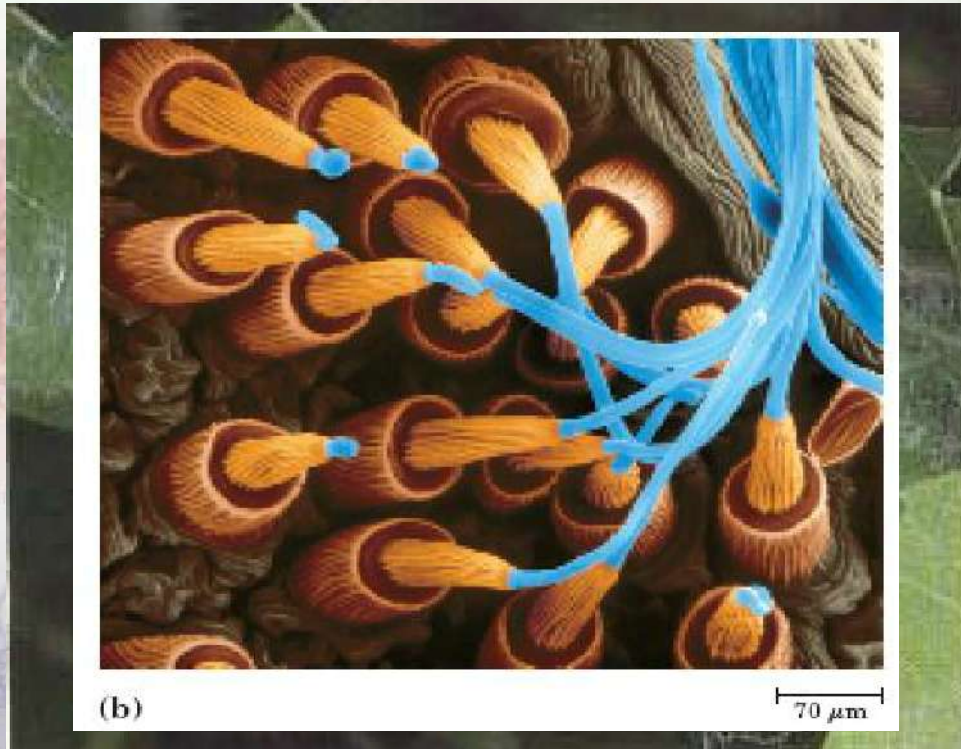
•

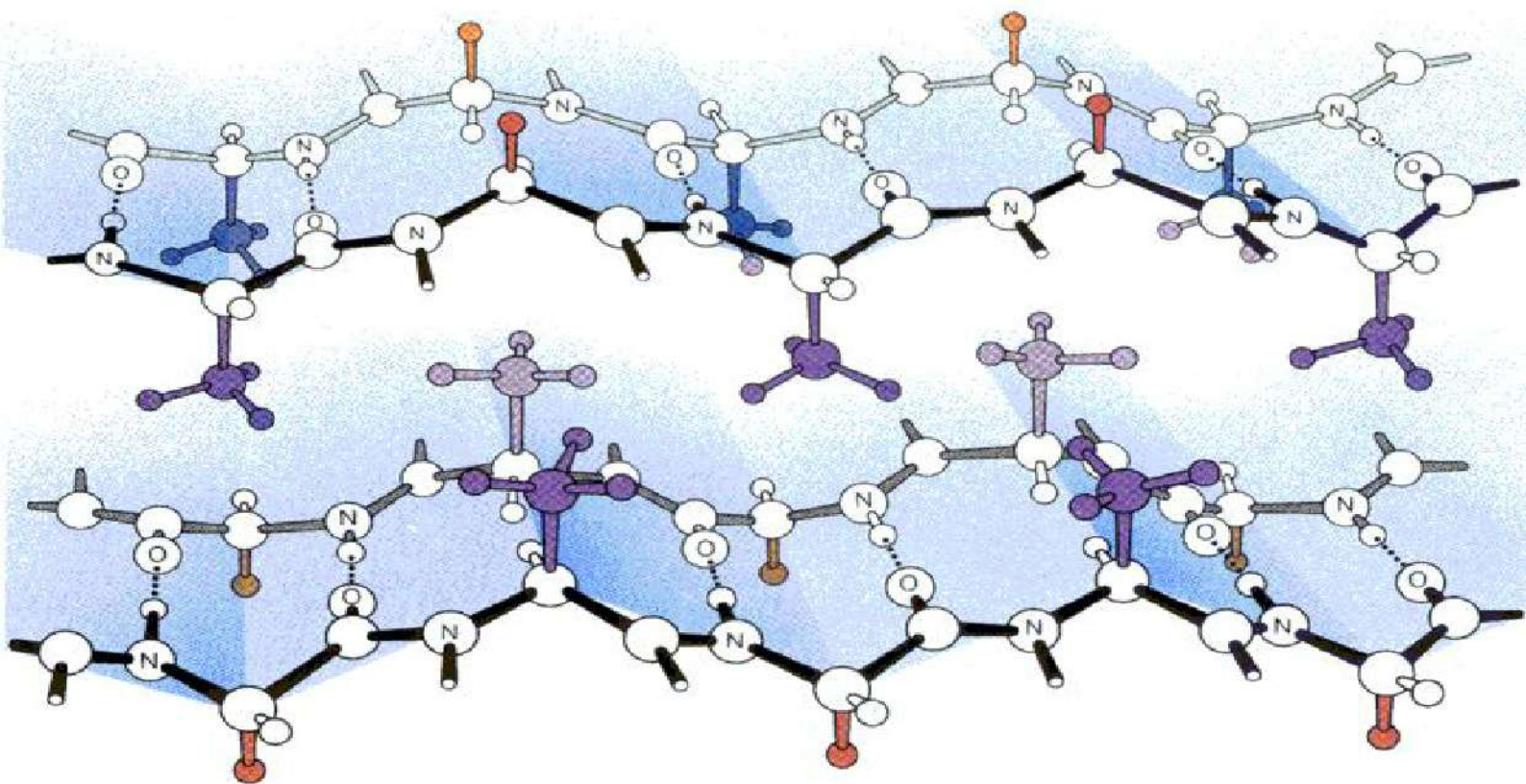
—



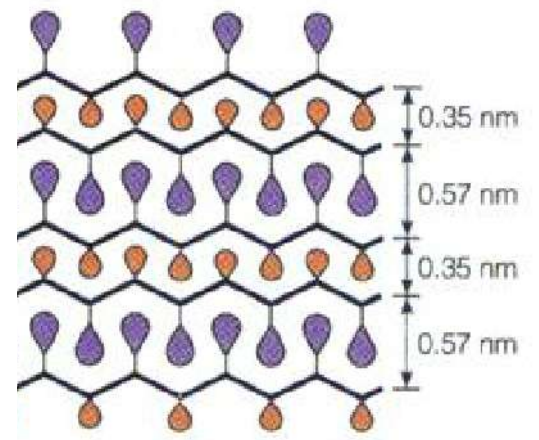
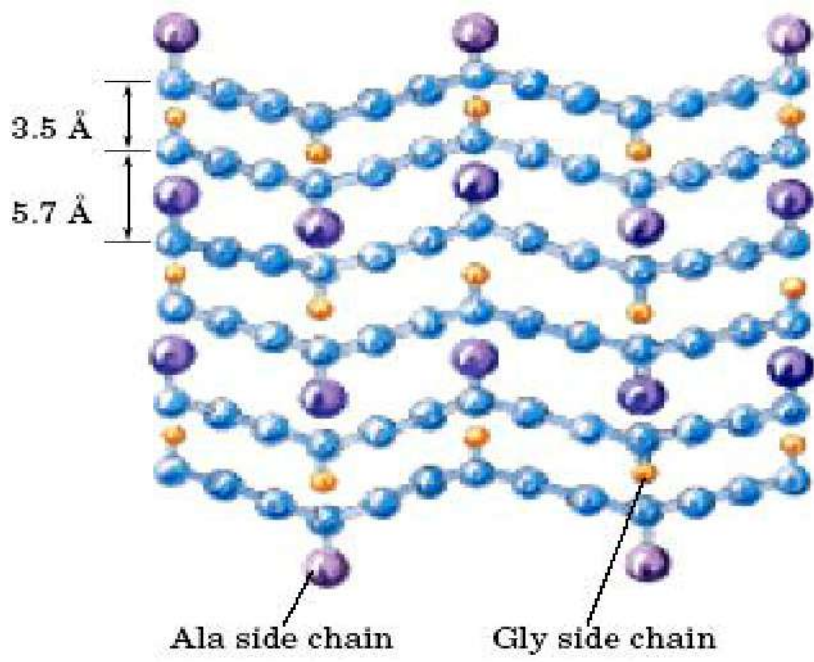


(二) β -角蛋白





Side chains of
Gly (—H)
Ala (—CH₃)



(三) 胶原蛋白 (collagen)

1、组织分布与类型

- 属结构蛋白质
- 使骨、腱、软骨和皮肤具有机械强度

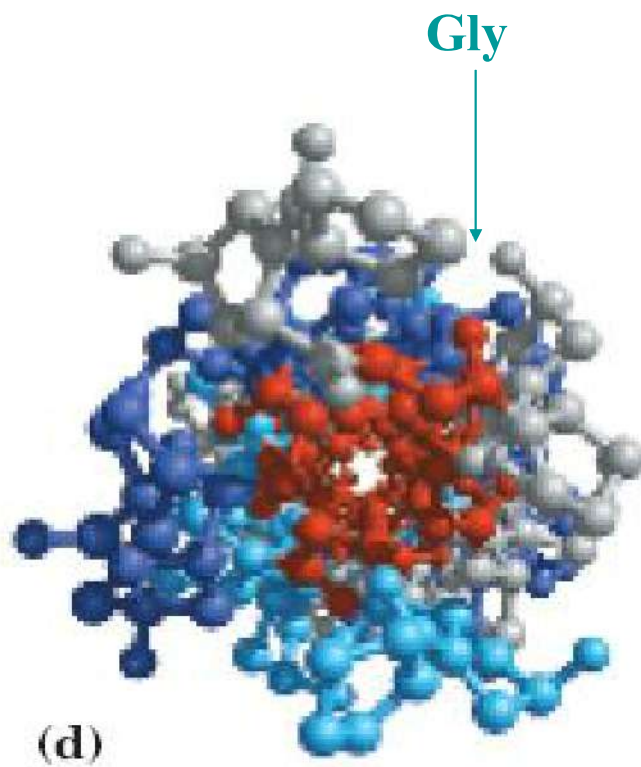
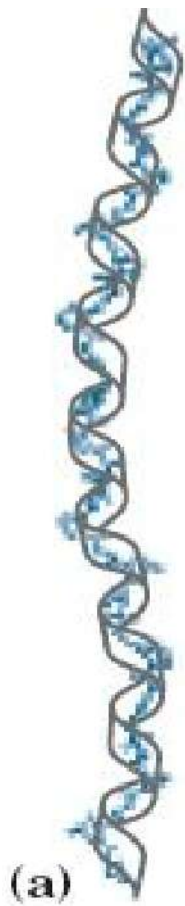


2、AA组成

- 皮肤中胶原蛋白肽链的96%是按三联体 $(\text{Gly—x—y})_n$ 顺序重复排列
 - Gly数目占残基总数1/3
 - X 常为Pro, y常为Hy-Pro/Hy-Lys
- 需Vc、是糖蛋白

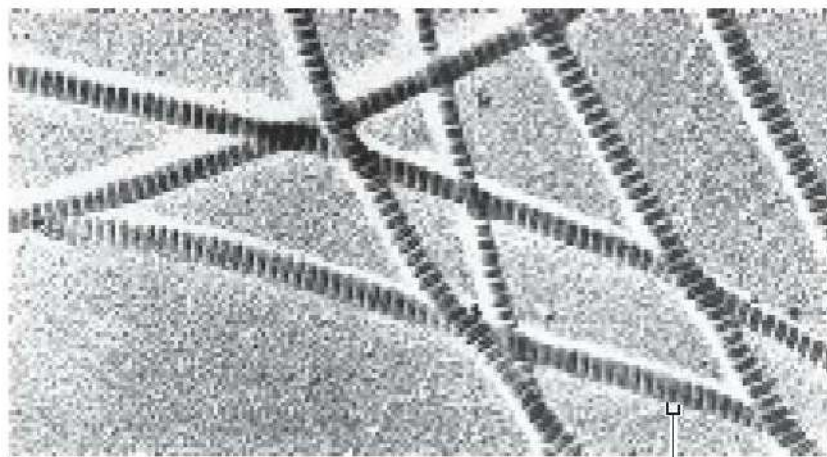
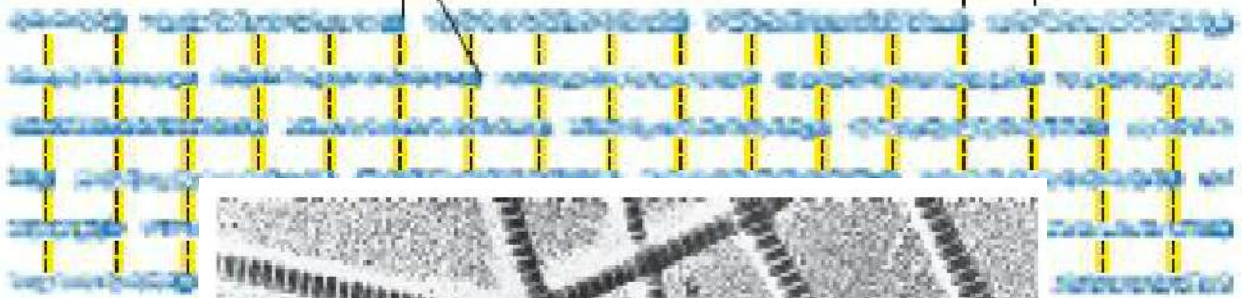


3、结构



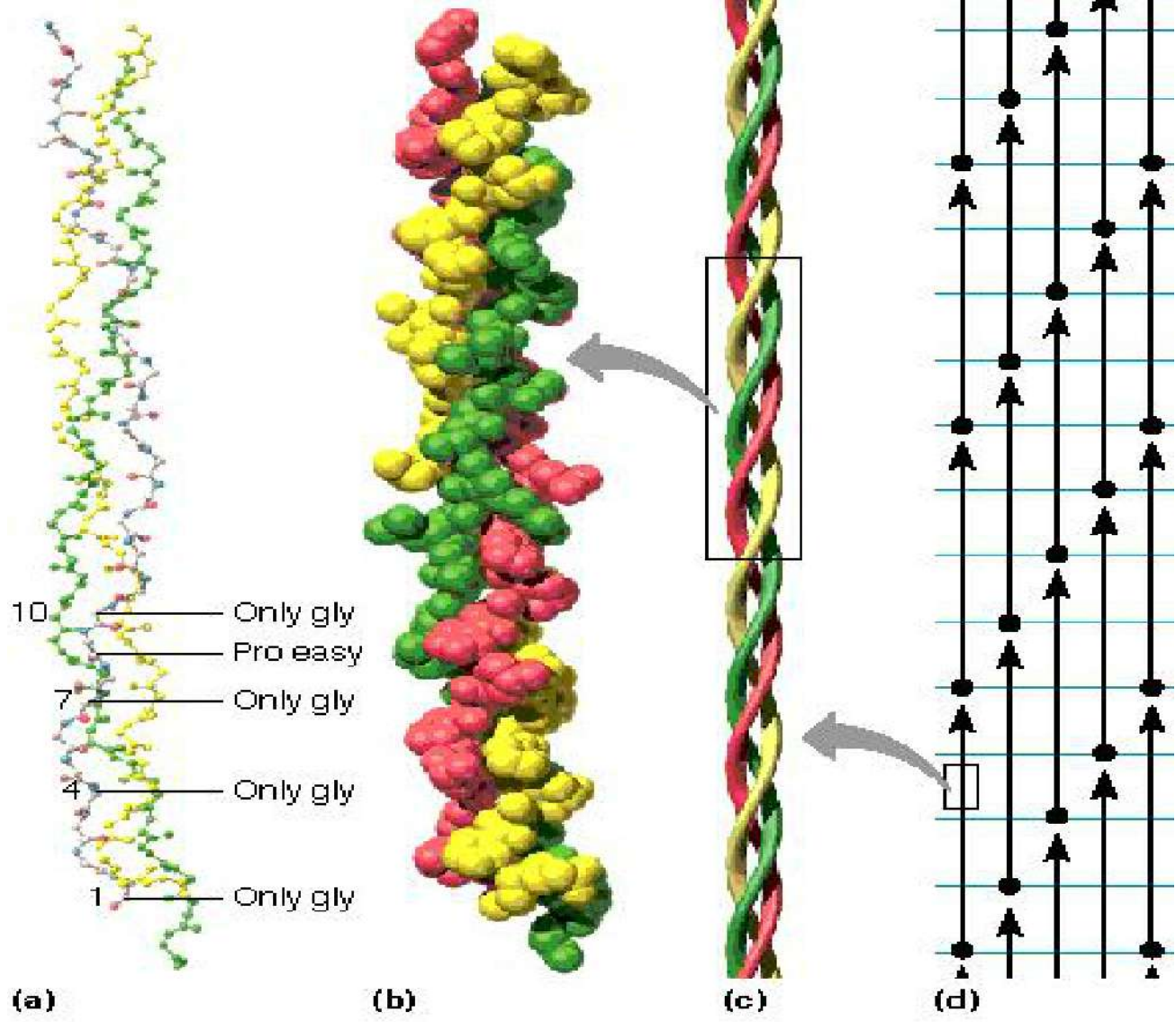
Heads of collagen molecules

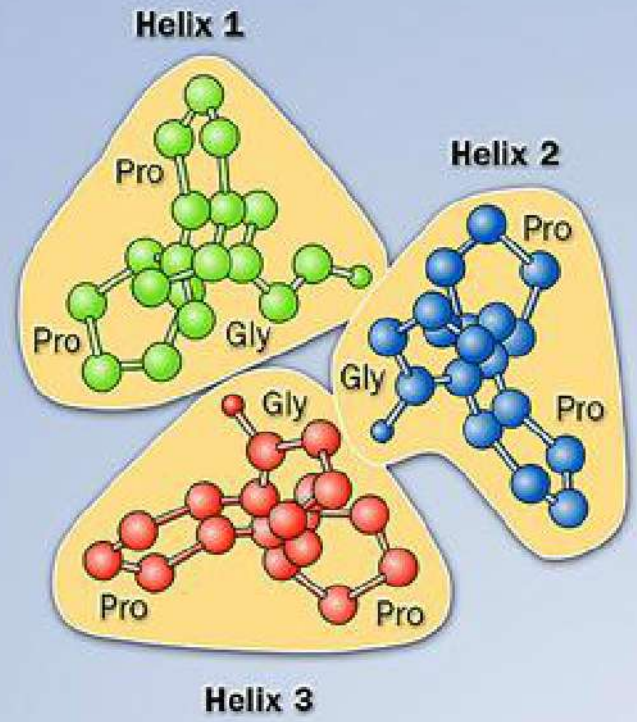
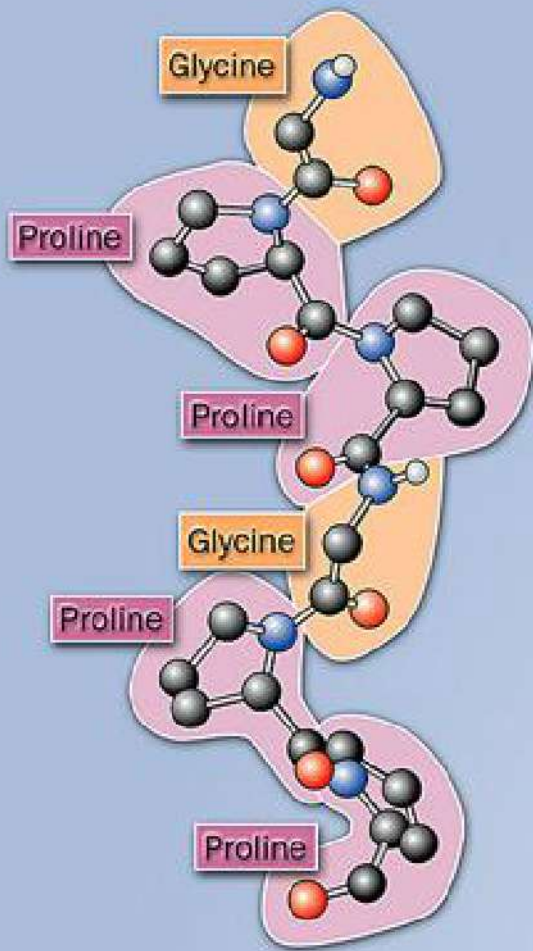
Cross-striations
640 Å (64 nm)



250
nm

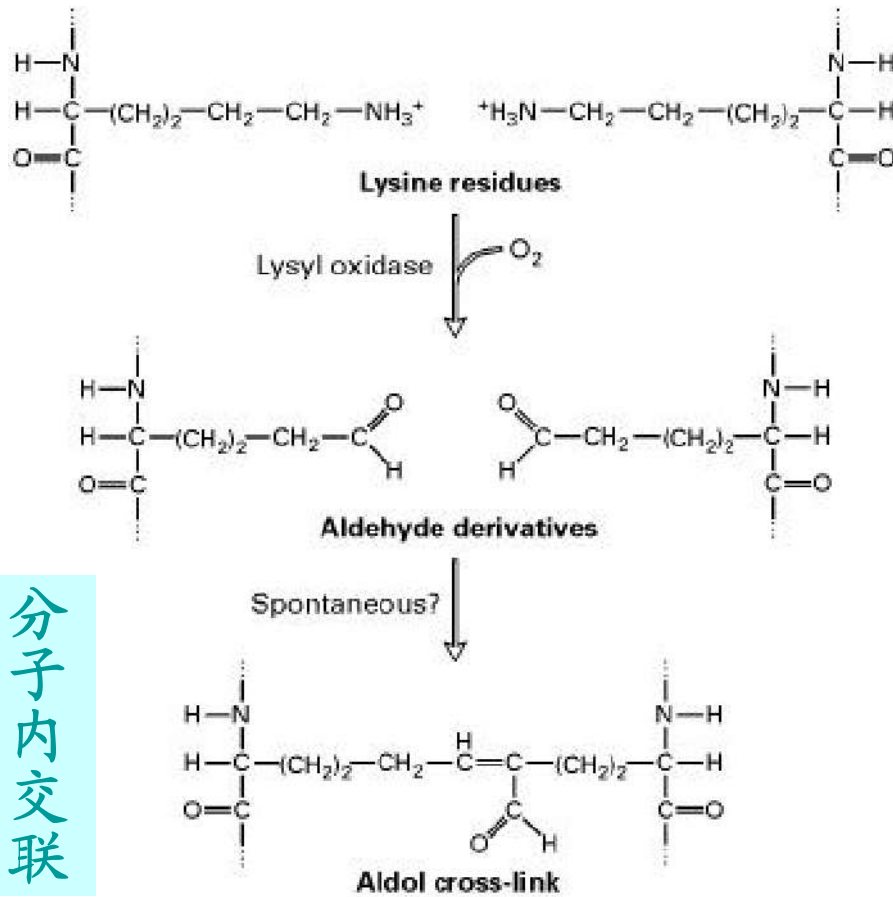


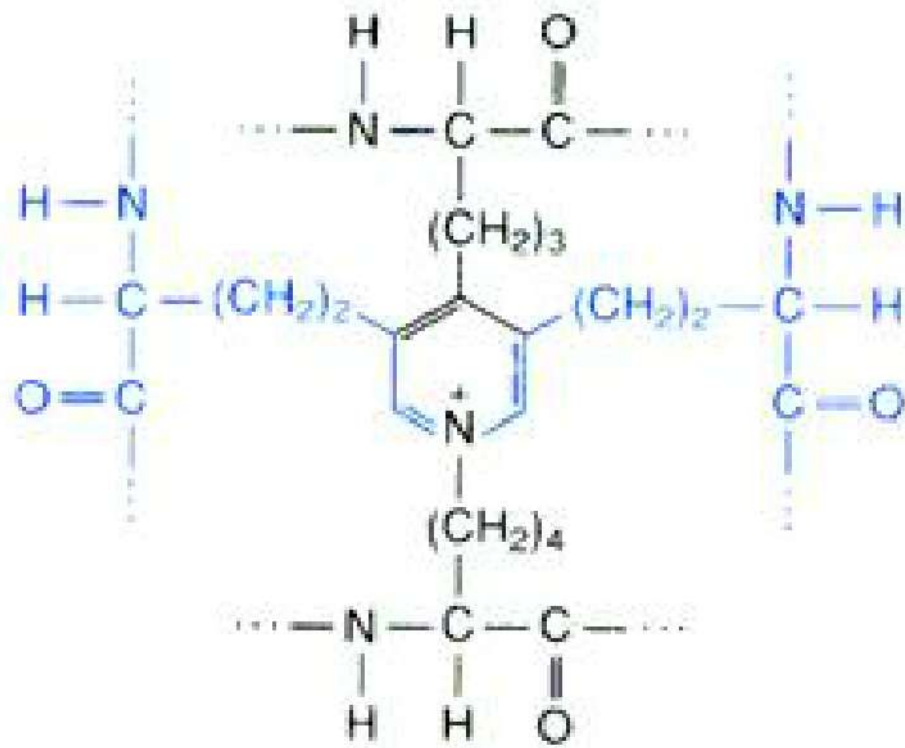




Collagen

4、胶原蛋白中的共价交联 🌸

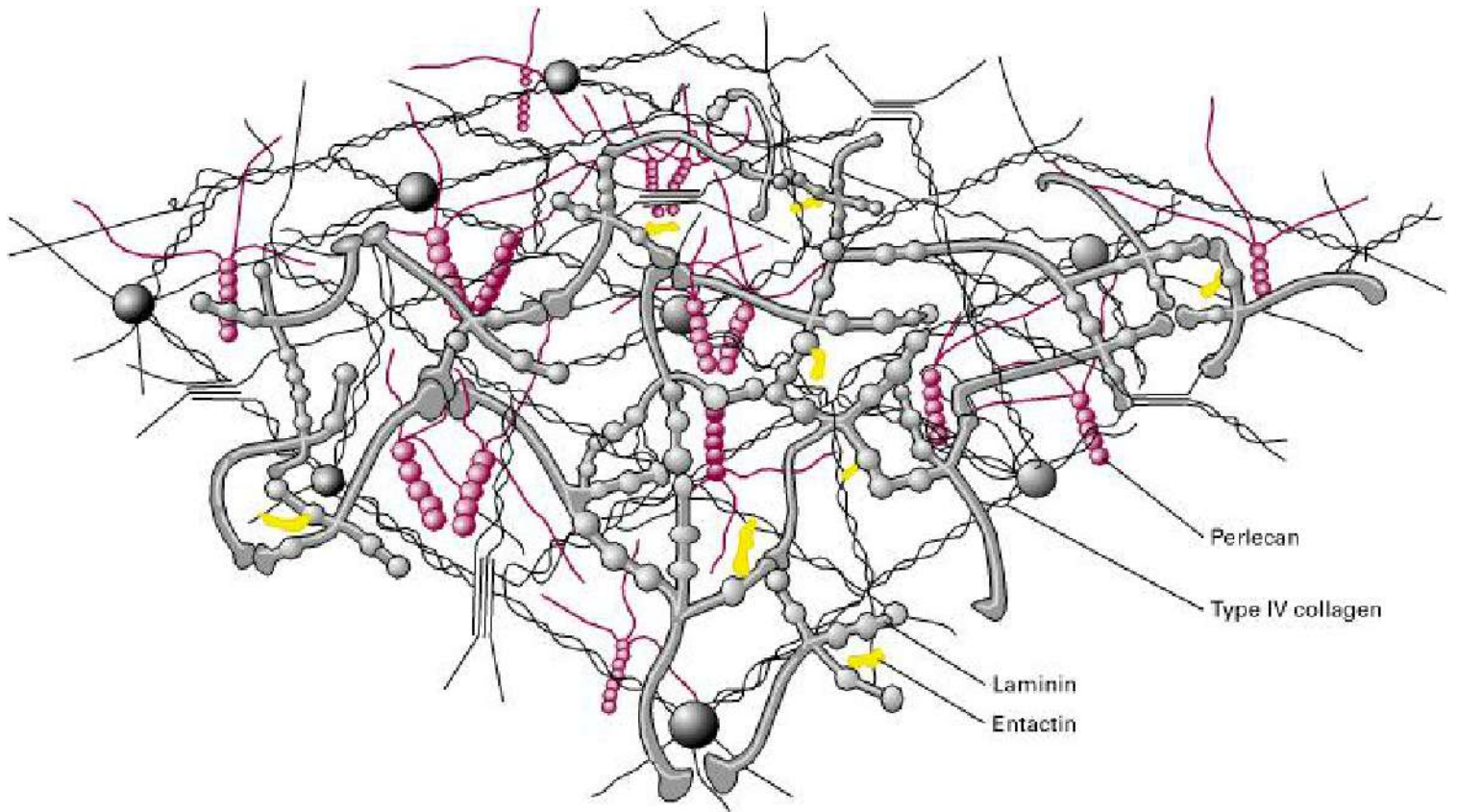




5、胶原蛋白的类型



- 由 α 肽组成
- 至少有： $\alpha_1(I) / \alpha_1(II) / \alpha_1(III) / \alpha_1(IV)$ 和 α_2
胶原蛋白I: $[\alpha_1(I)]_2\alpha_2$ 三螺旋
- 五种肽链AA顺序不同，分子量介于95000到100000之间，含1000个残基左右

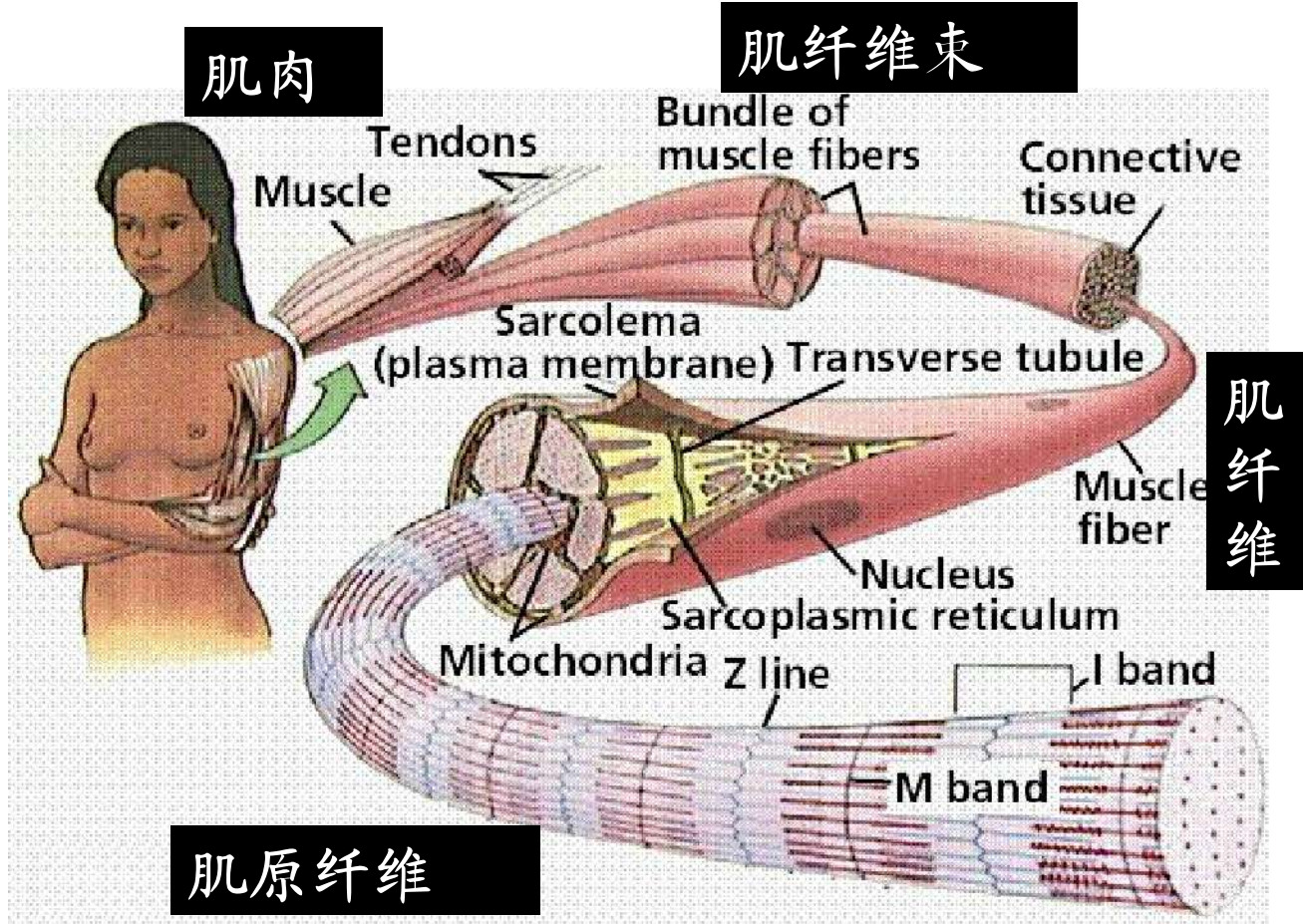


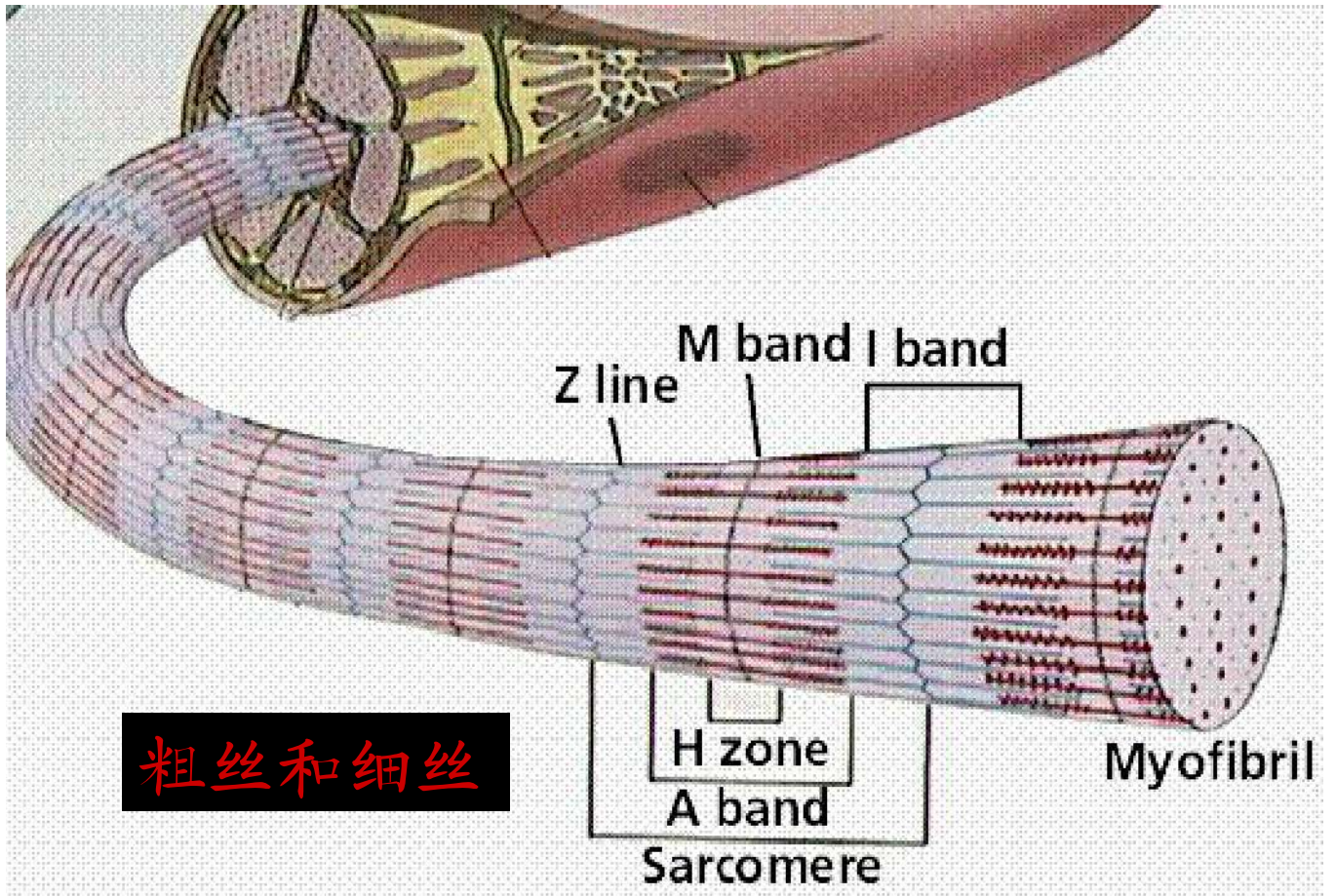
(四) 弹性蛋白 (elastin)

- 由可溶性的单体合成
- 是弹性蛋白纤维的基本单位
- 含有各种各样无规卷曲构象

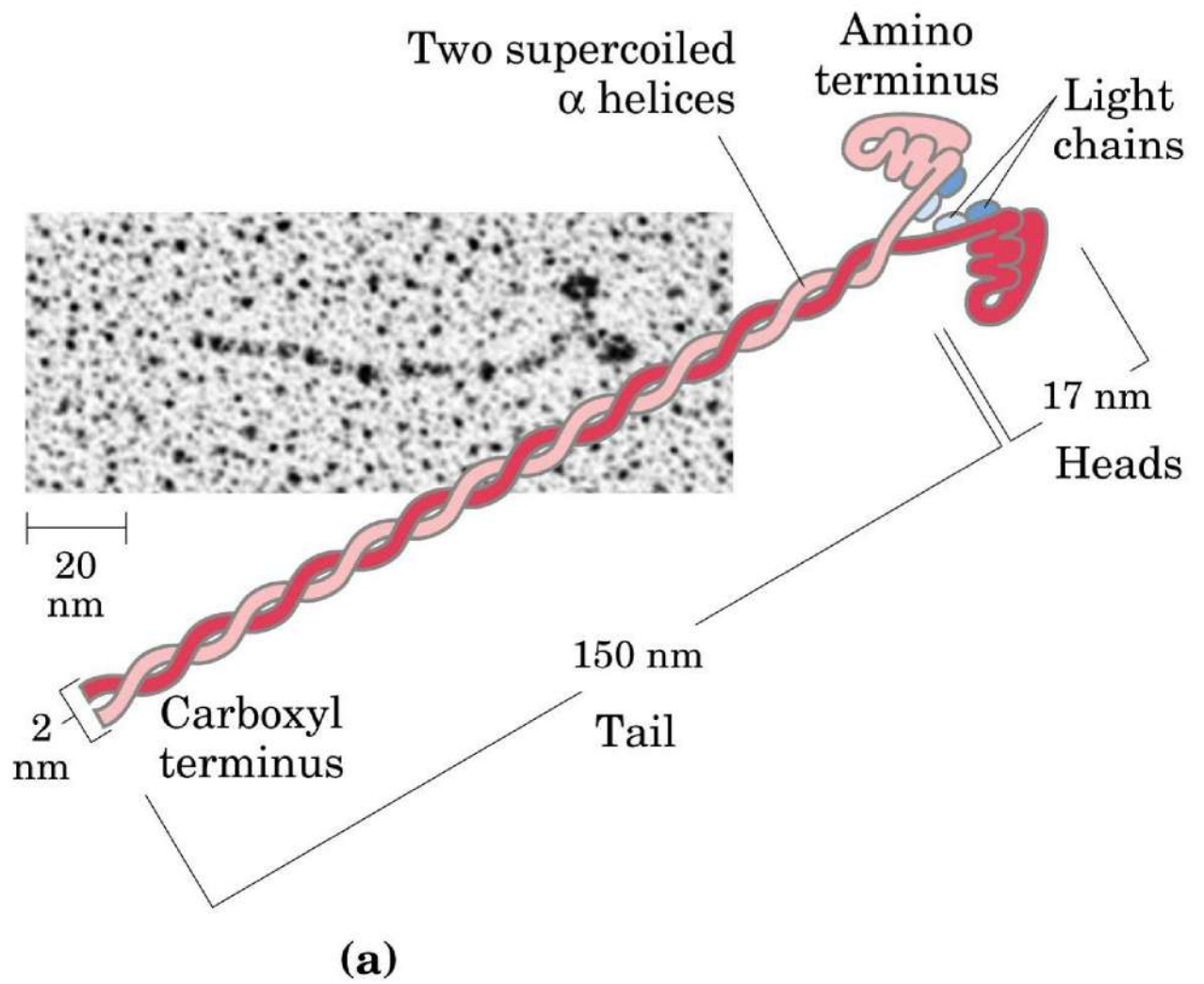


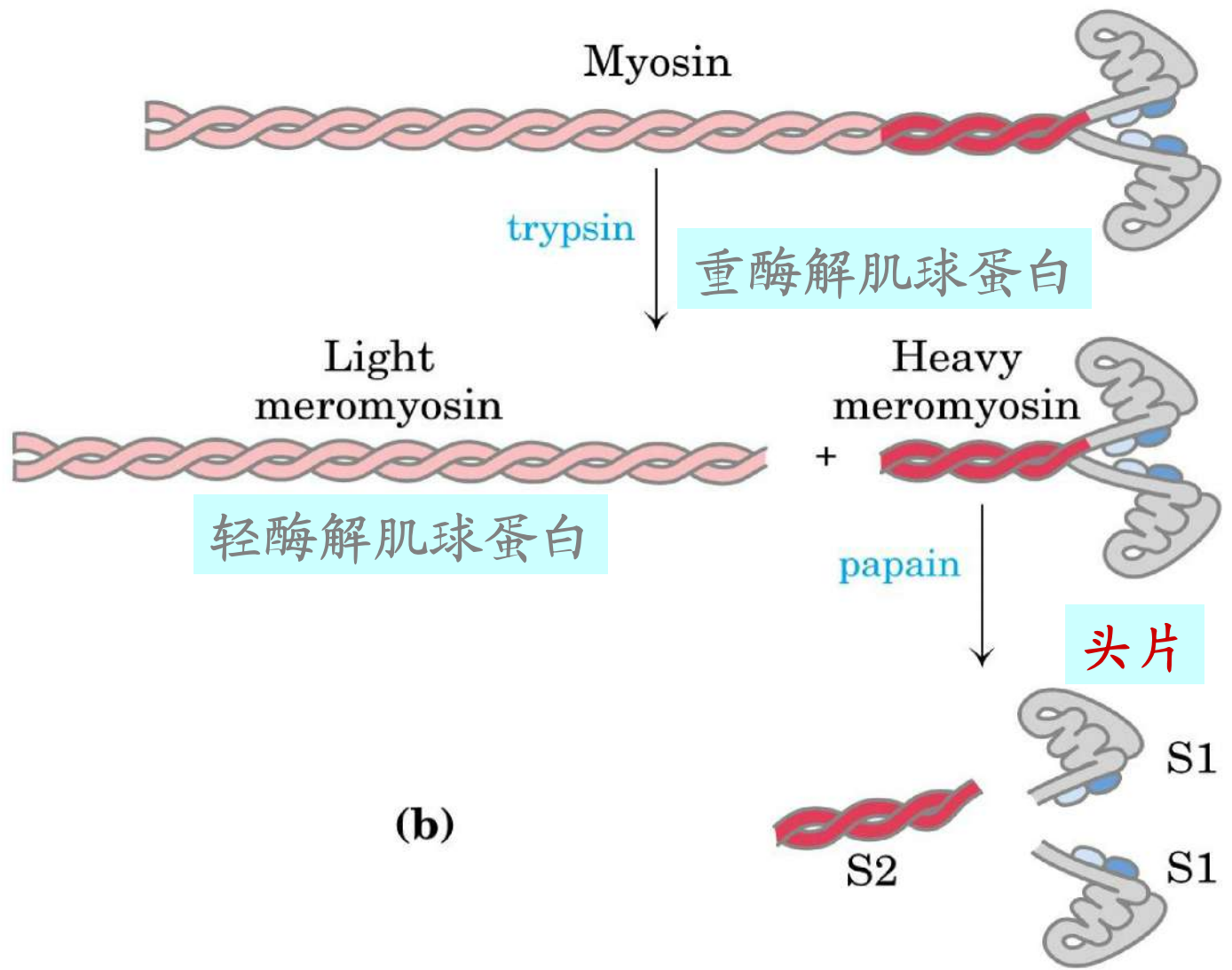
(五) 肌球蛋白和原肌球蛋白





粗丝和细丝

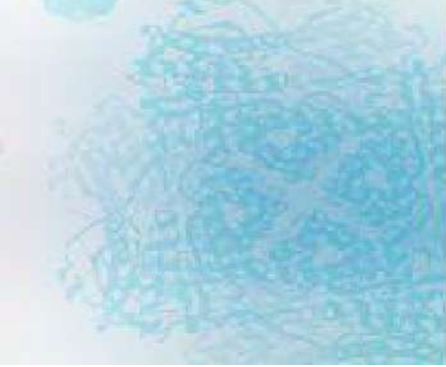
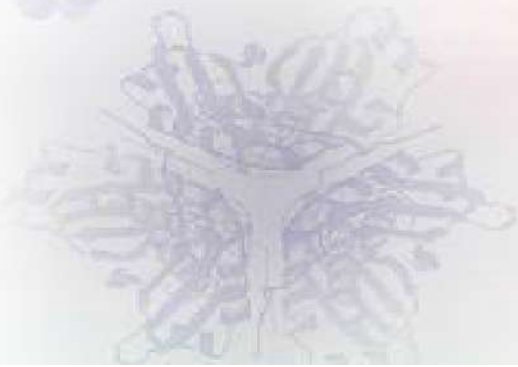


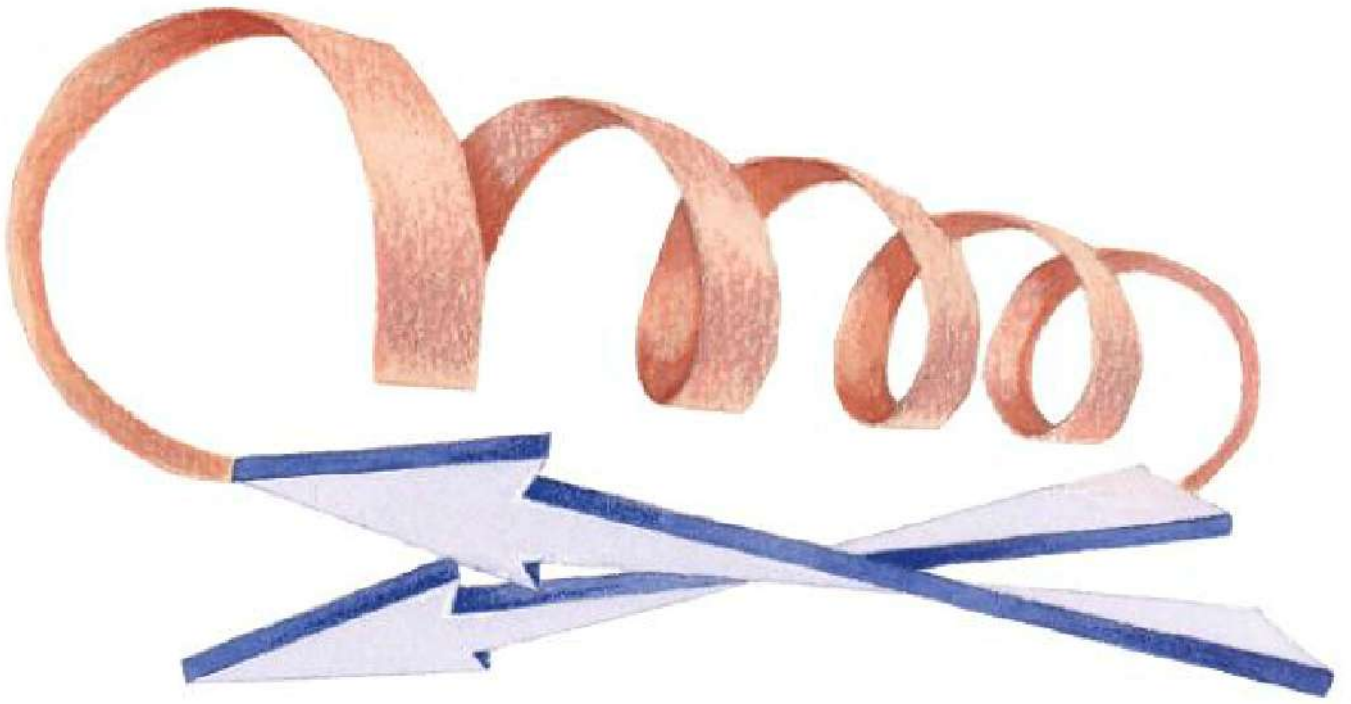


六、超二级结构与结构域

(一) 超二级结构

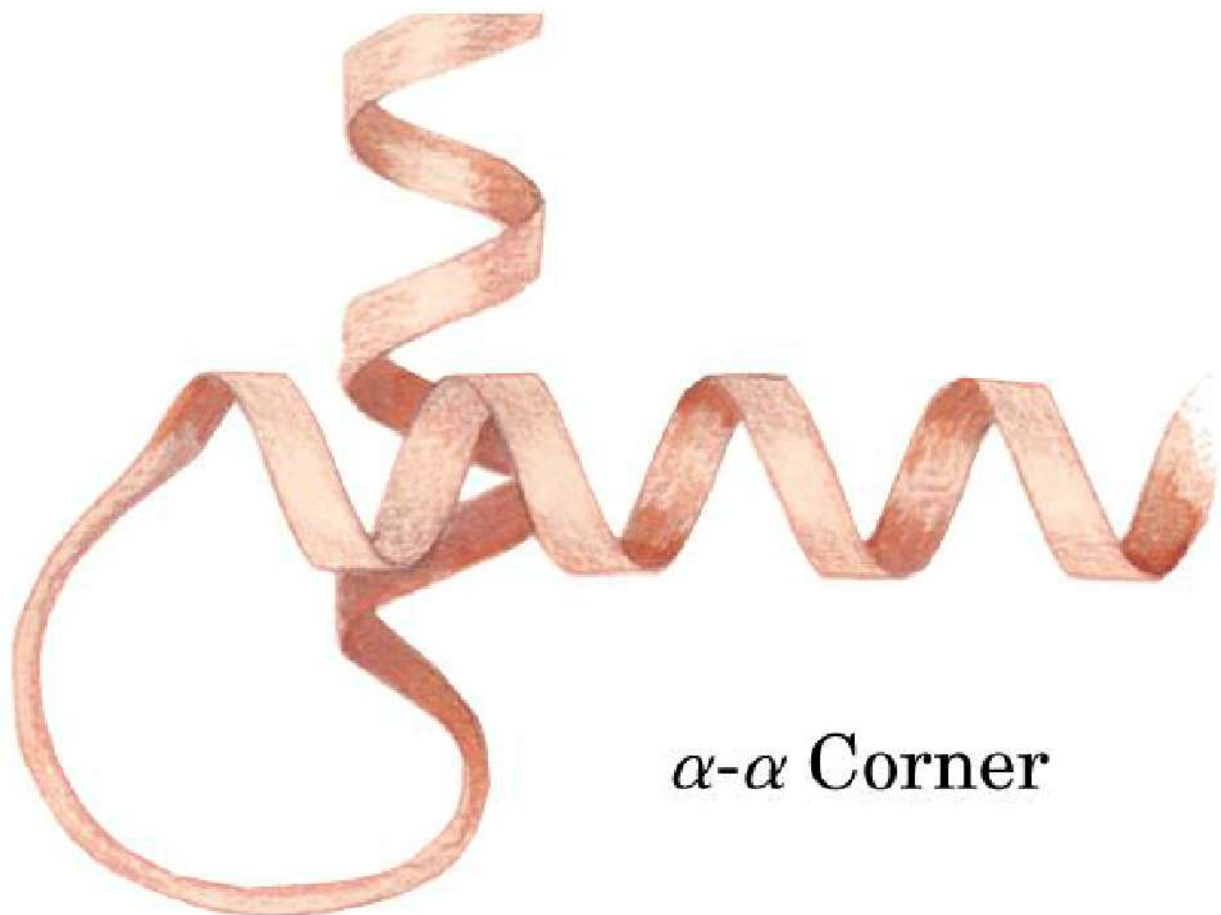
若干相邻的二级结构单元按照一定规律有规则组合在一起、相互作用，形成在空间构象上可彼此区别的二级结构组合单位。



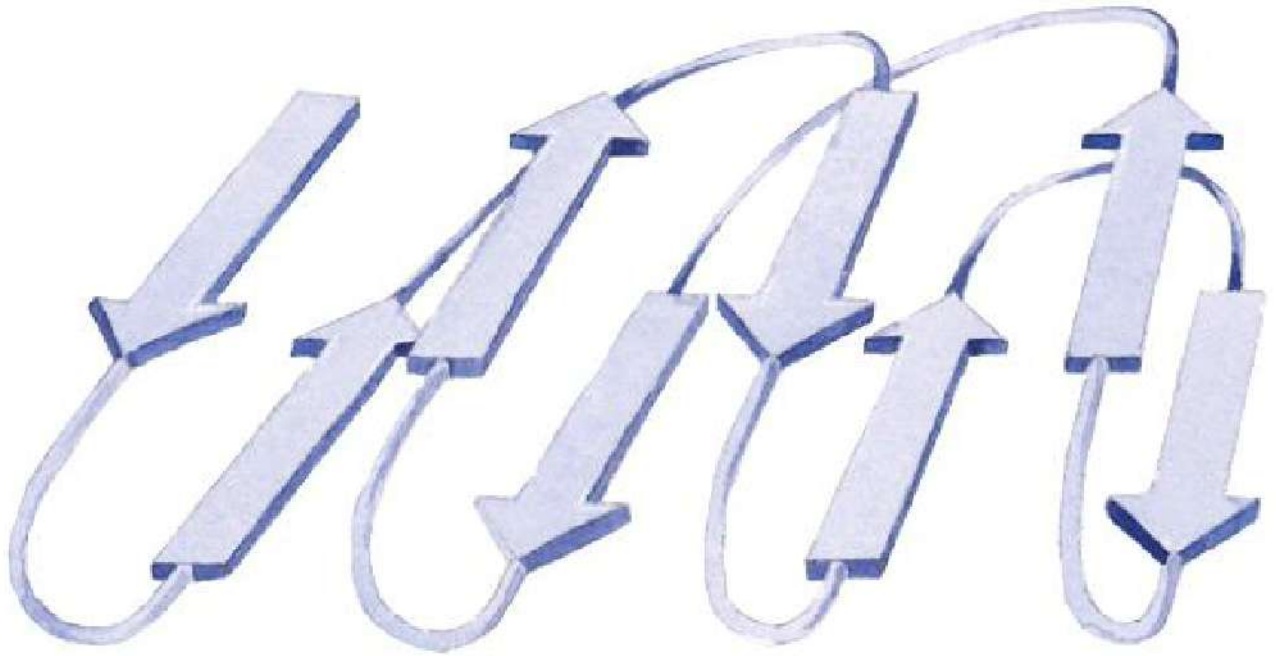


(a)

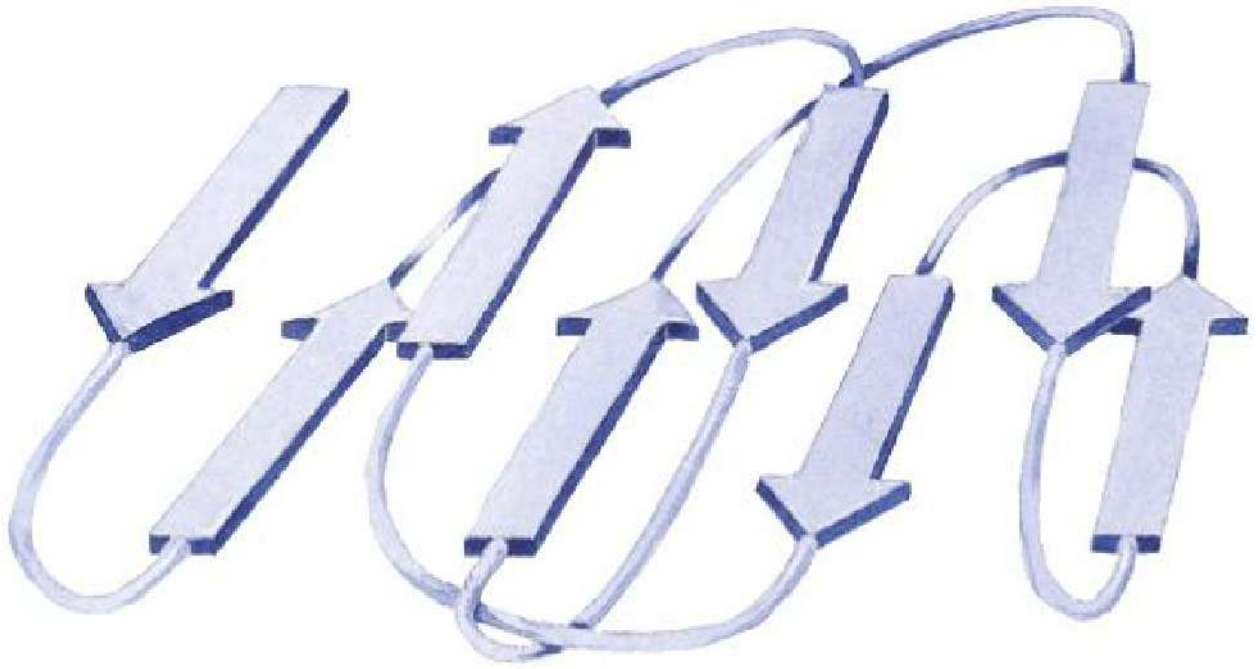
β - α - β Loop



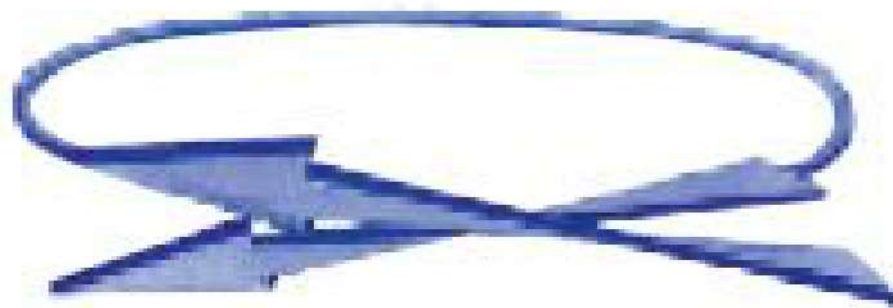
α - α Corner



(b) Typical connections
in an all- β motif

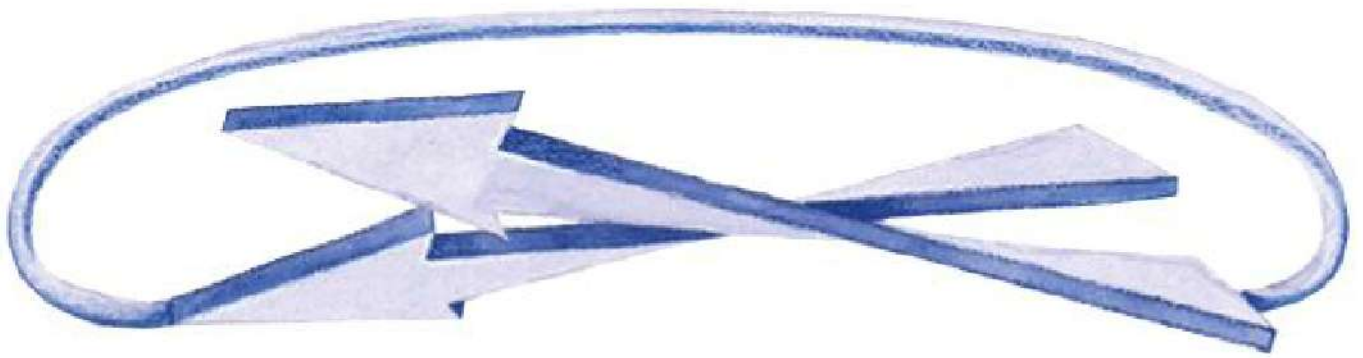


Crossover connection
(not observed)



(c) Right-handed connection
between β strands





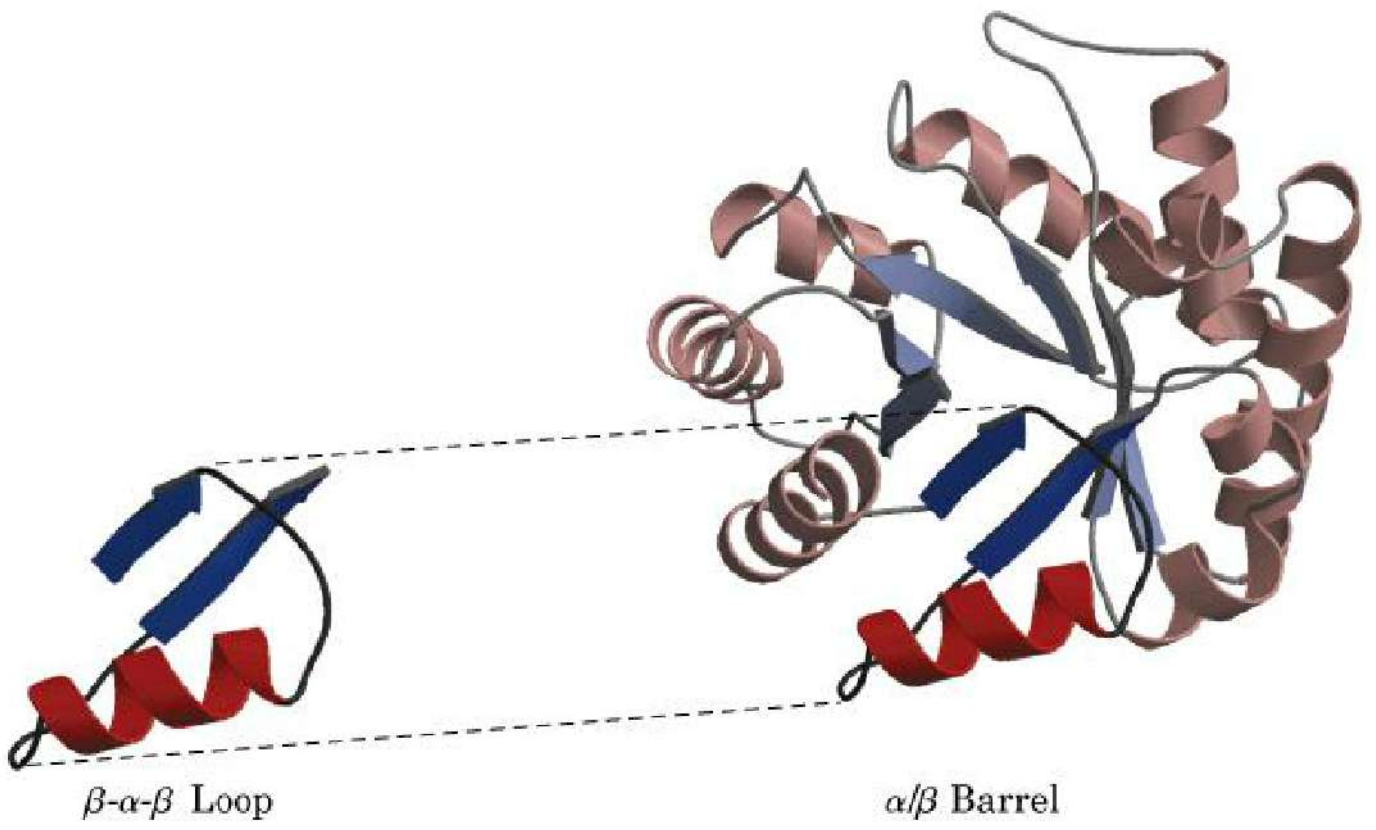
Left-handed connection
between β strands
(very rare)



(d) β Barrel



Twisted β sheet



(二) 结构域

二级/超二级结构基础上形成的特定区域

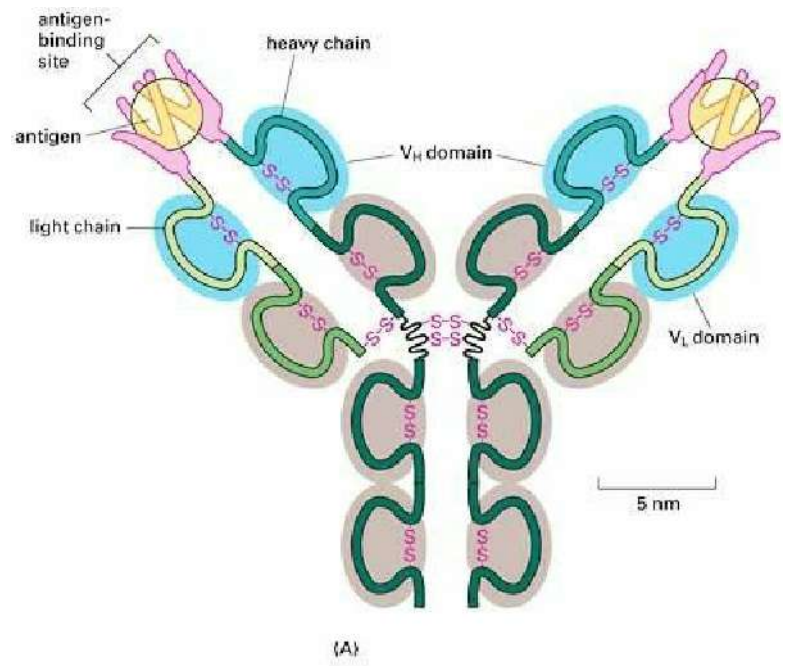
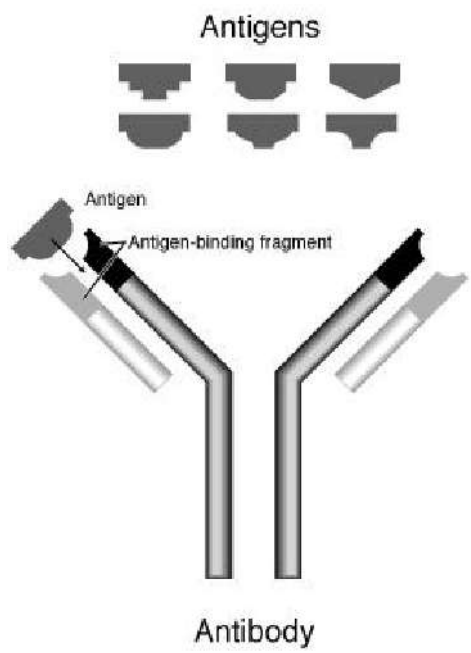
结构域存在的原因:

- 1、局域分别折叠比整条肽链折叠在动力学上更为合理
- 2、结构域之间由肽链连接，有利于结构的调整

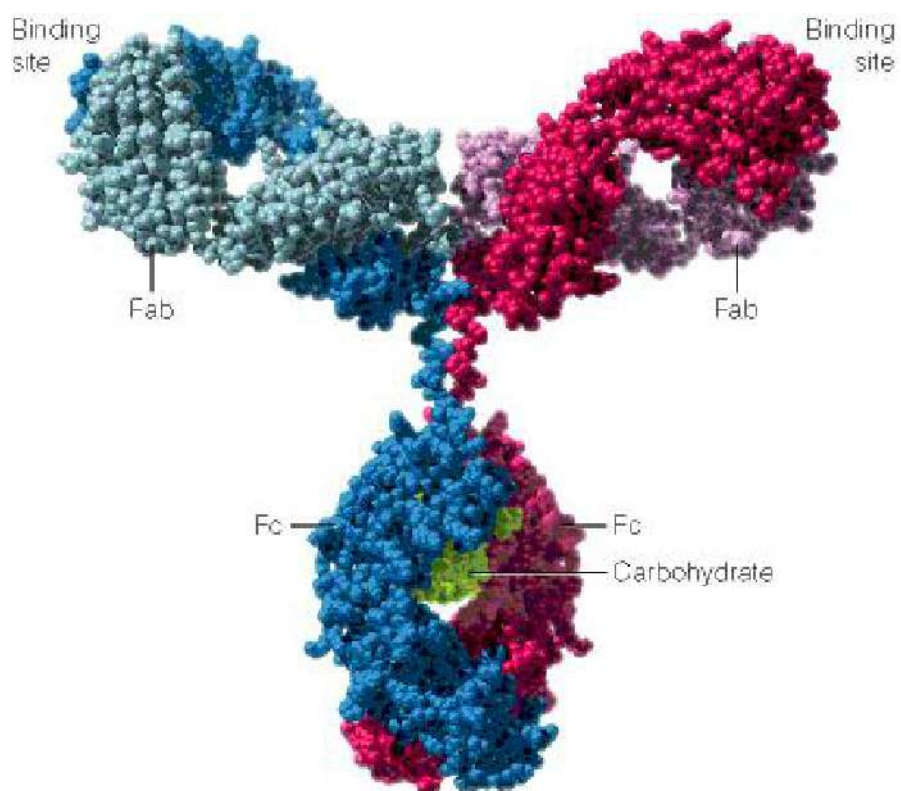




免疫球蛋白的结构



立体结构模型



七、球状蛋白质与三级结构

(Tertiary Structure)

——由二级结构元件构建成的总三维结构，包括一级结构中相距较远的肽段间的几何相互关系和侧链在三维空间中彼此间的相互关系。

维系力有氢键/疏水键/离子键/范德华力

- 在二级结构基础上
- 包括主链和侧链构象在内的三维结构

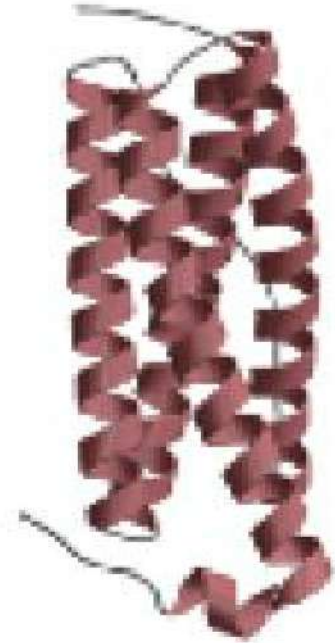
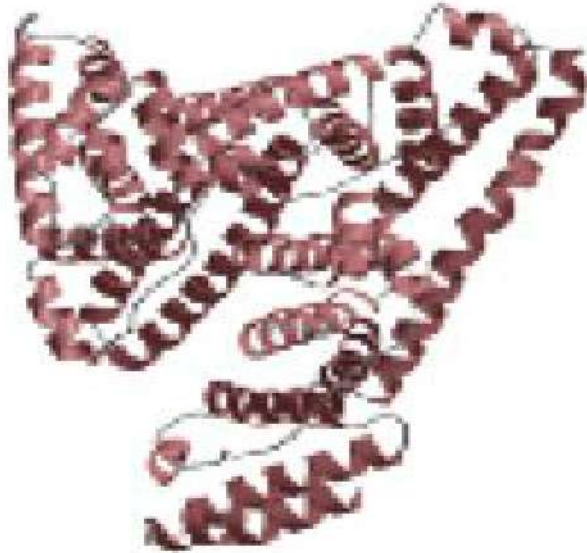
(一) 球状蛋白质的分类:

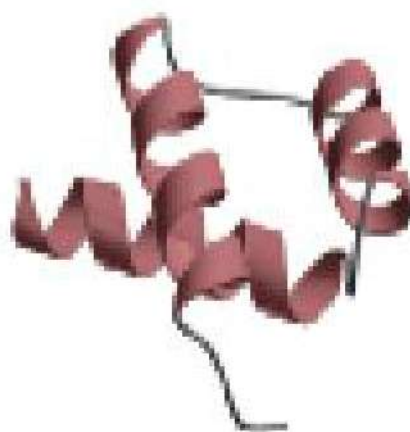
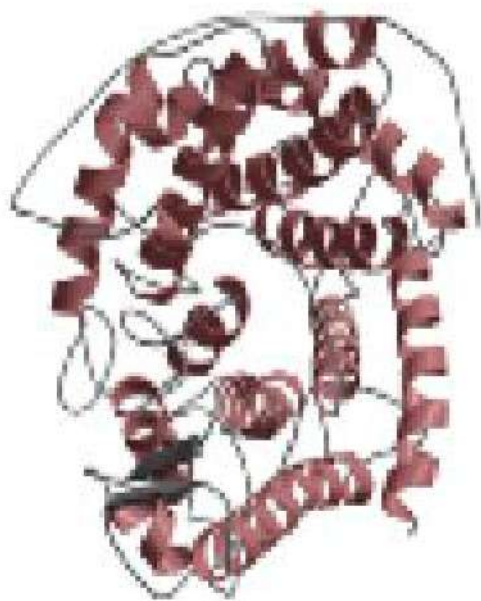
——根据其结构域分为4大类



1、全 α -结构（反平行 α 螺旋）蛋白质

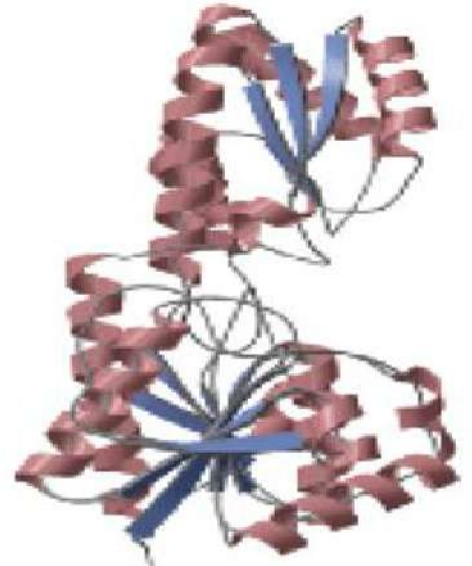
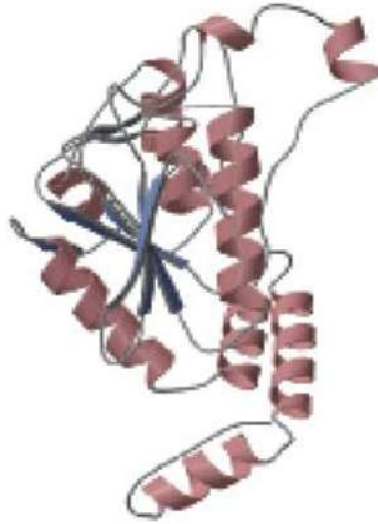
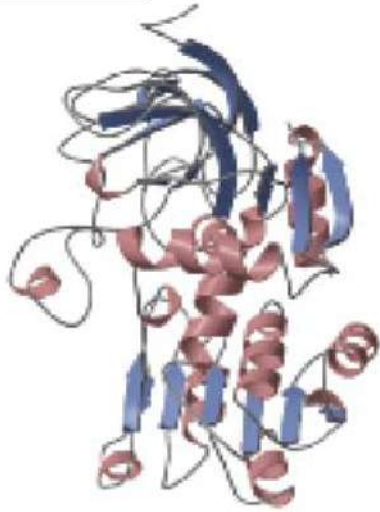
All α



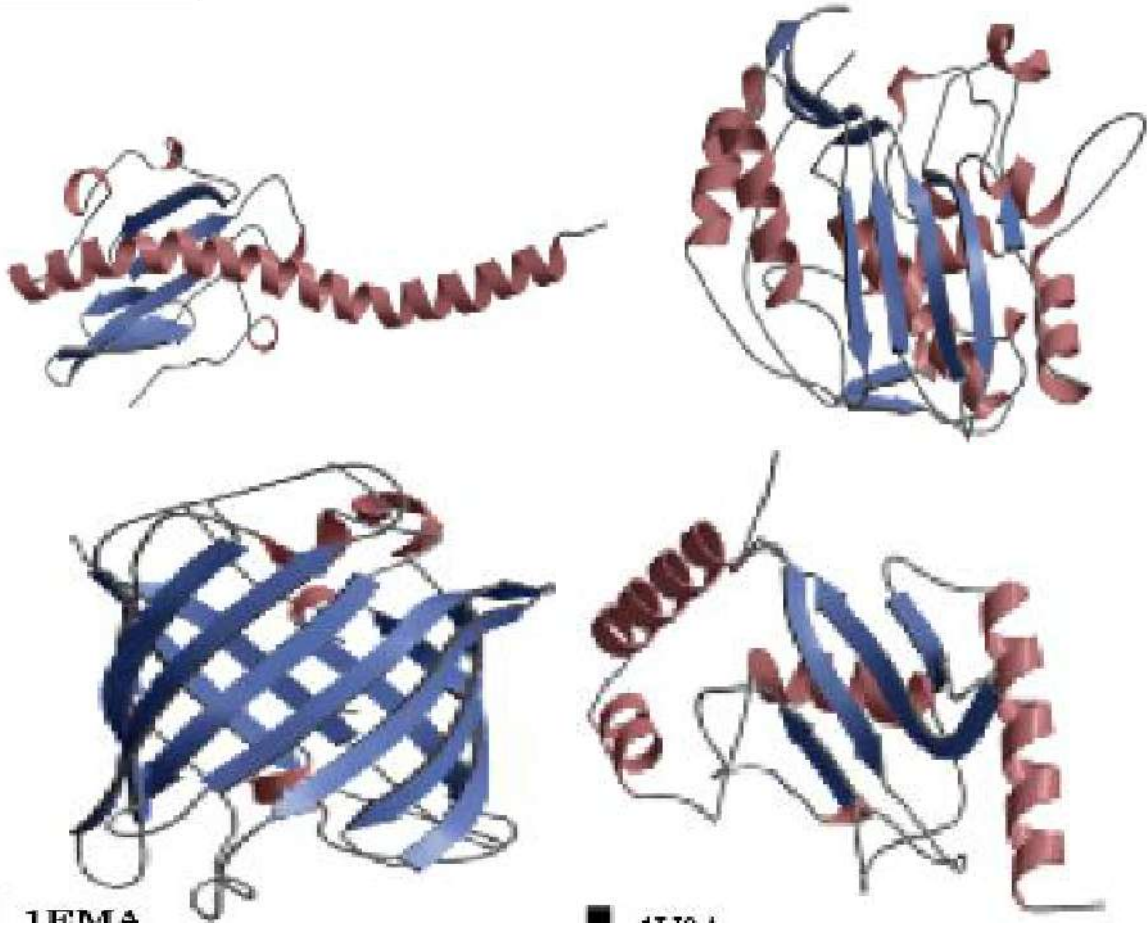


2、 α ， β - 结构蛋白质

α/β



$\alpha + \beta$



3、全 β - 结构 (反平行 β 折叠片) 蛋白质



(d) β Barrel



Twisted β sheet

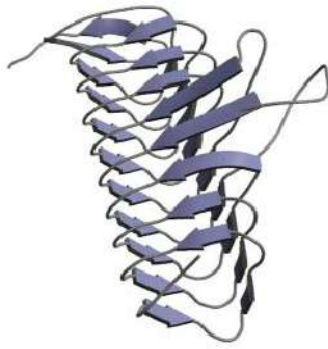
反平行 β 桶



All β



1hoe
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 α -Amylase inhibitor
 HOE-467A
Streptomyces tendae 4158



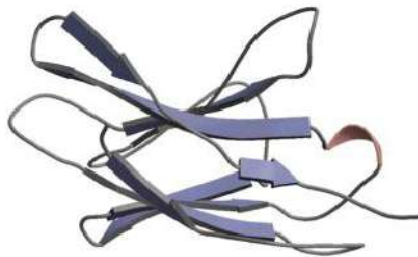
1lxa
 Single-stranded left-handed β helix
 Trimeric LpxA-like enzymes
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
 UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
Escherichia coli



1pex
 Four-bladed β propeller
 Hemopexin-like domain
 Hemopexin-like domain
 Collagenase-3 (MMP-13),
 carboxyl-terminal domain
 Human (*Homo sapiens*)



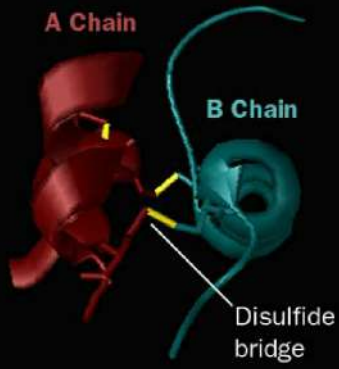
1jpc
 β -Prism II
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 α -D-Mannose-specific plant lectins
 Lectin (agglutinin)
 Snowdrop (*Galanthus nivalis*)



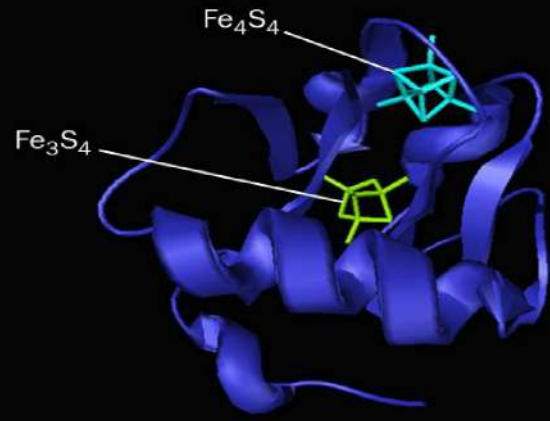
1cd8
 Immunoglobulin-like β sandwich
 Immunoglobulin
 Antibody variable domain-like
 CD8
 Human (*Homo sapiens*)

Key	
■	PDB identifier
■	Fold
■	Superfamily
■	Family
■	Protein
■	Species

4、富含金属或二硫键（小的不规则）蛋白质



Insulin



Ferredoxin

(二) 球状蛋白质三维结构的特征

(1) 含多种二级结构元件

table 6-2

Protein (total residues)	Residues (%)	
	α Helix	β Conformation
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome <i>c</i> (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Source: Data from Cantor, C.R. & Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry, Part I: The Conformation of Biological Macromolecules*, p. 100, W.H. Freeman and Company, New York.

*Portions of the polypeptide chains that are not accounted for by α helix or β conformation consist of bends and irregularly coiled or extended stretches. Segments of α helix and β conformation sometimes deviate slightly from their normal dimensions and geometry.

(2) 三维结构具有明显的折叠层次

(3) 分子是“紧密”的球状/椭球状实体

——活性部位密度较低，有空间可塑性

(4) 疏水核和亲水膜

(5) 表面空穴

——营造疏水环境、活性功能部位

八、亚基缔合和四级结构

蛋白质四级结构 (Quaternary Structure)

指由多条各自具有一、二、三级结构的肽链通过非共价键连接起来的结构形式。

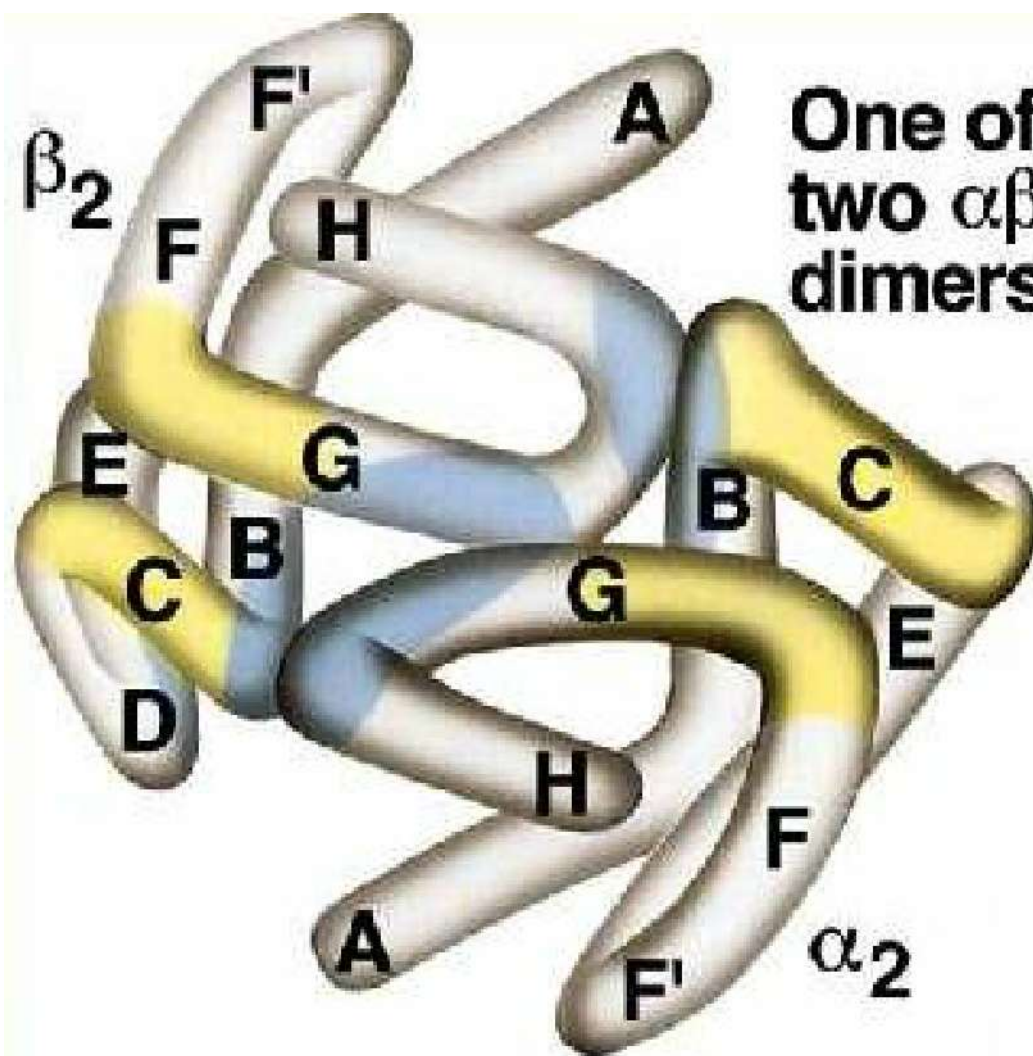
包括各亚基：

- 种类、数目、空间排列方式
- 亚基间的相互作用关系

(一) 有关四级结构的概念

- 1、单体蛋白
- 2、亚基
- 3、聚集体（二、三、寡）
- 4、同多聚蛋白、异多聚蛋白





One of the two $\alpha\beta$ dimers in Hb



(二) 稳定四级结构的作用力 (次级键)

结构互补 (极性) 和非共价键

- 离子键和氢键——缔合的专一性
- 疏水相互作用——驱动缔合



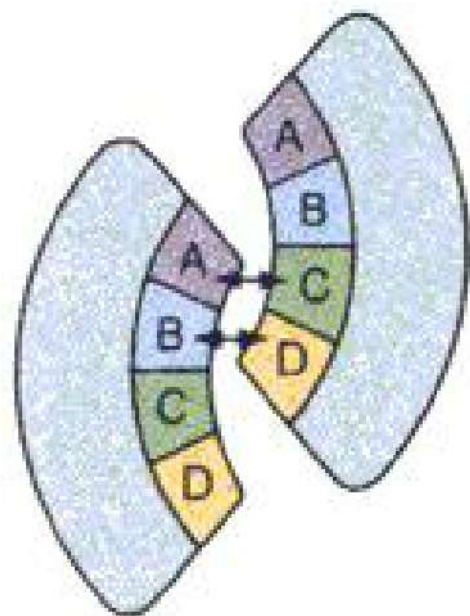
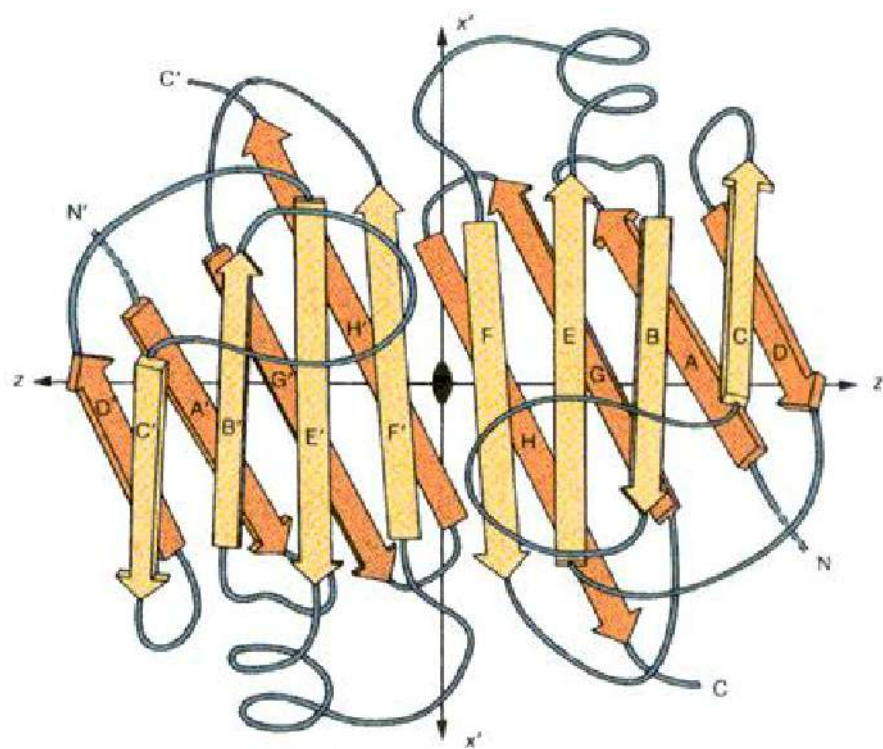
(三) 亚基相互作用的方式

多聚蛋白质

同种缔合
异种缔合

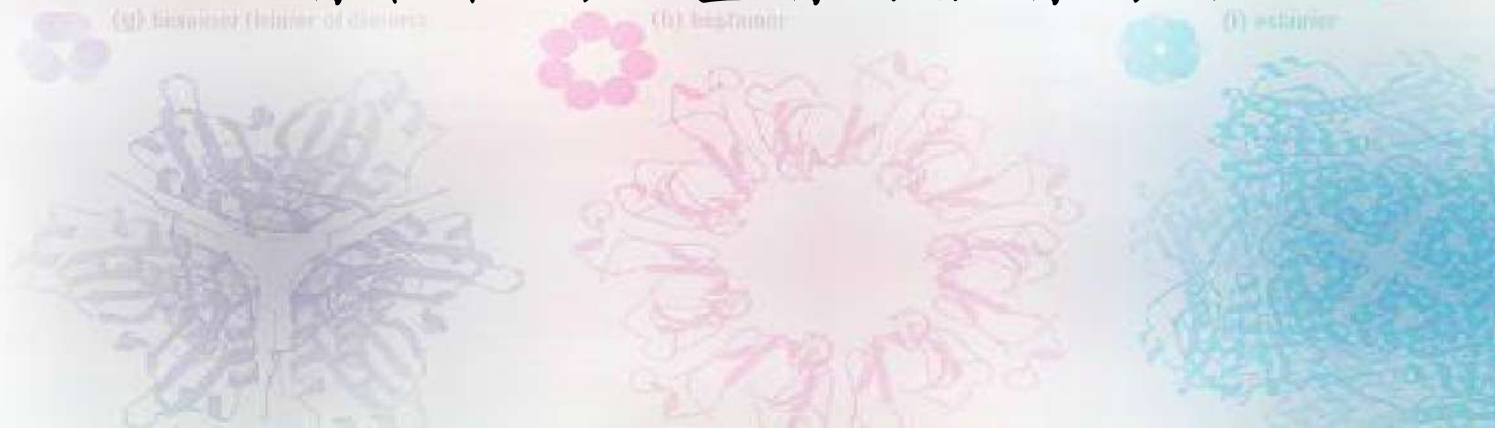


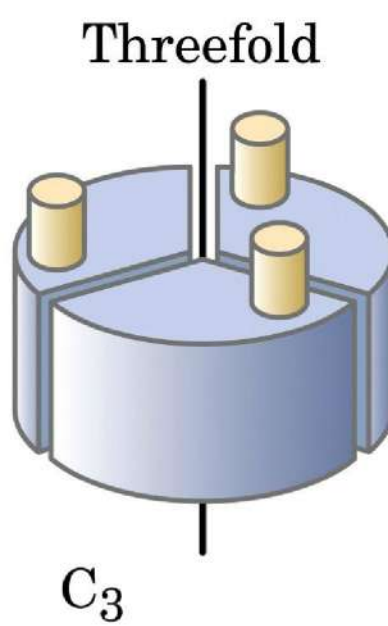
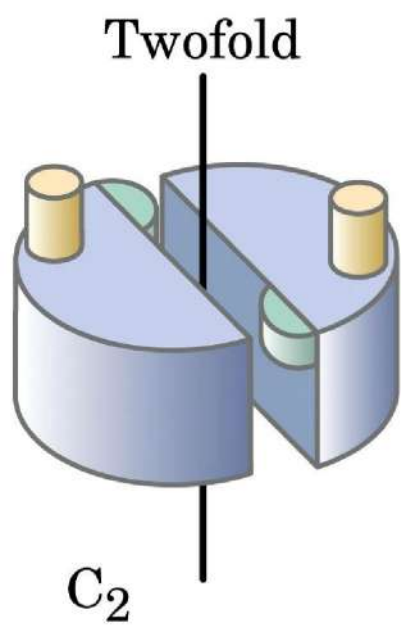
两个亚基的结构



(四) 四级结构的对称性

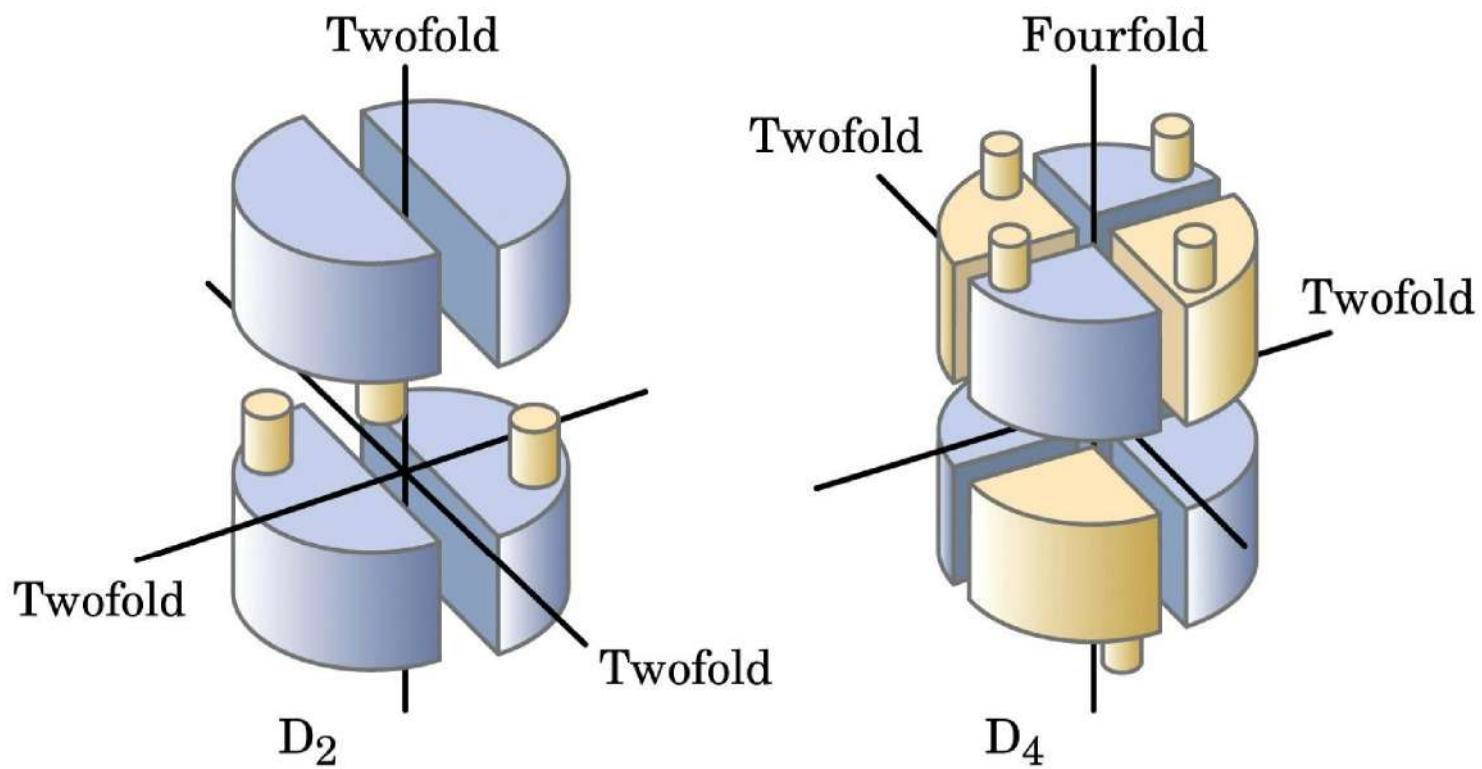
- 单体蛋白没有对称性；
- 含两/多种不同单拷贝亚基的异多聚体没有对称性；
- 只有含相同亚基有可能有对称性。



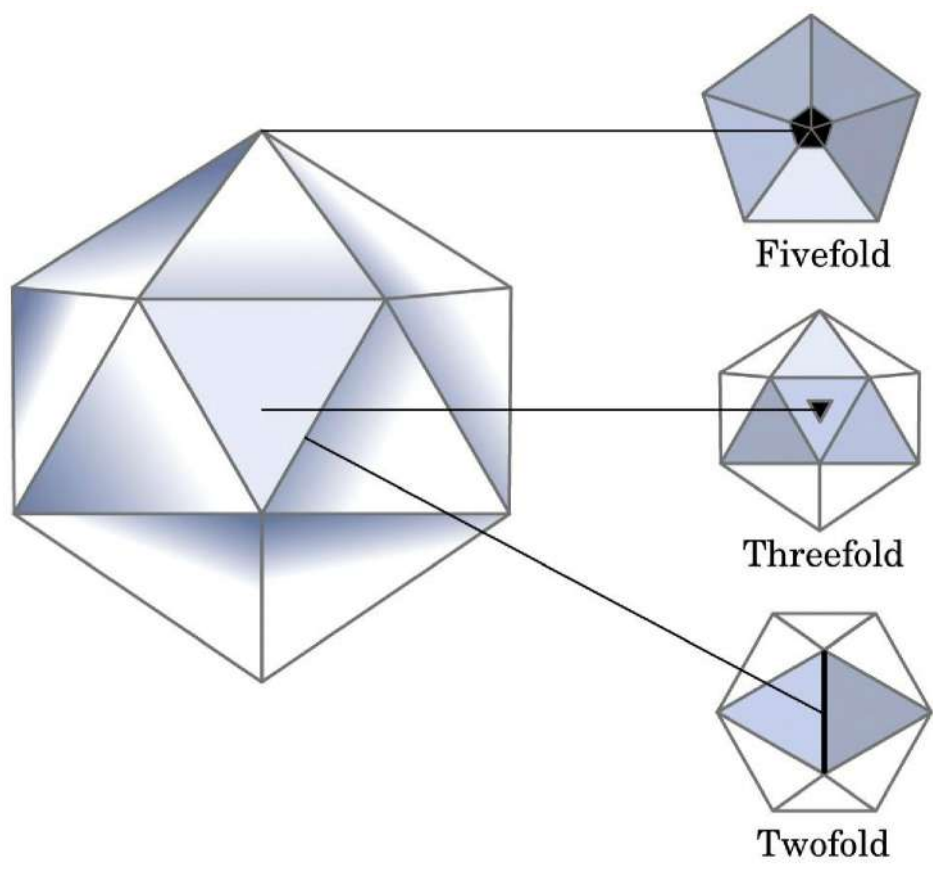


Two types of cyclic symmetry
(a)

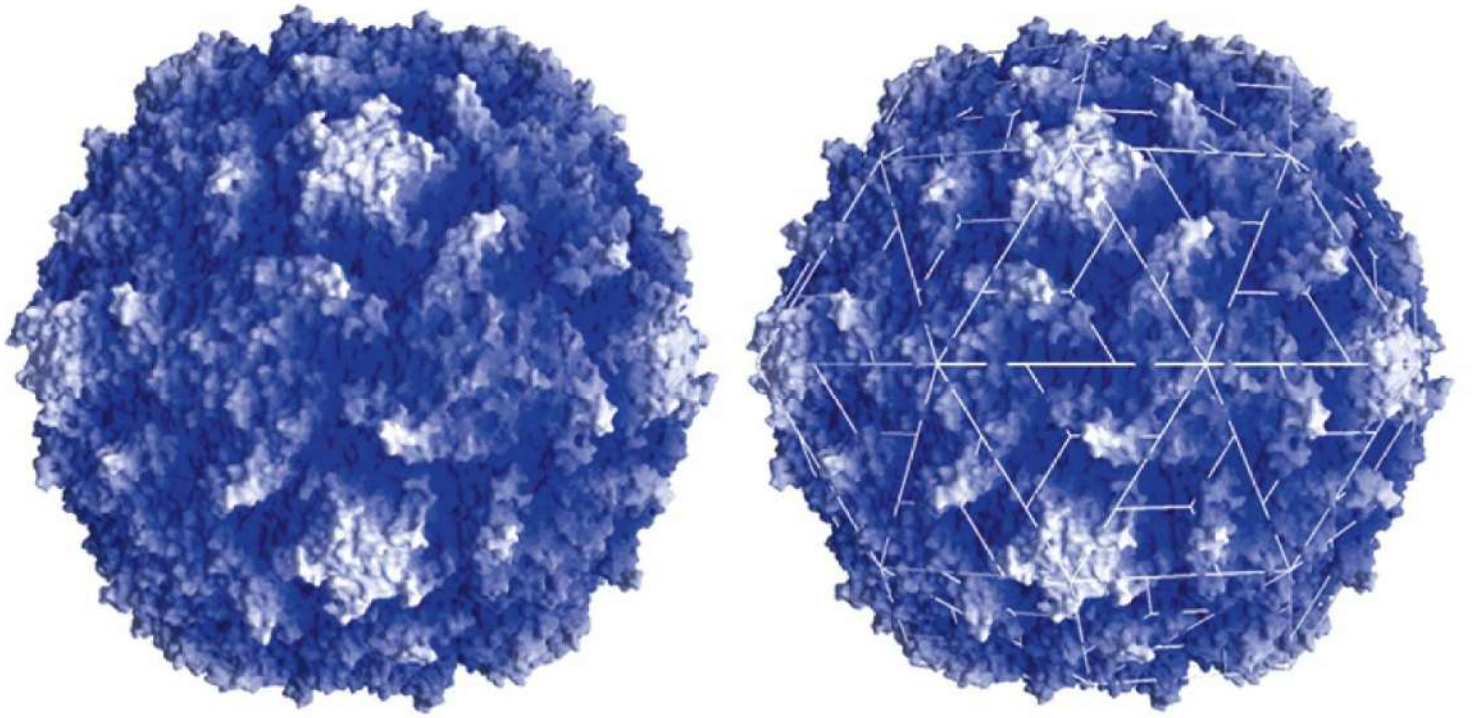




**Two types of dihedral symmetry
(b)**



Icosahedral symmetry
(c)



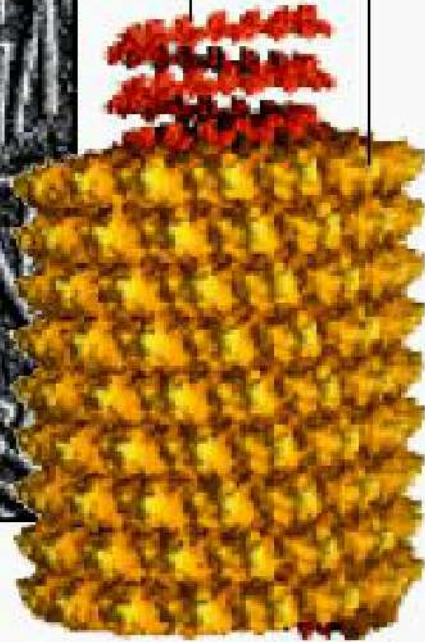
(a)



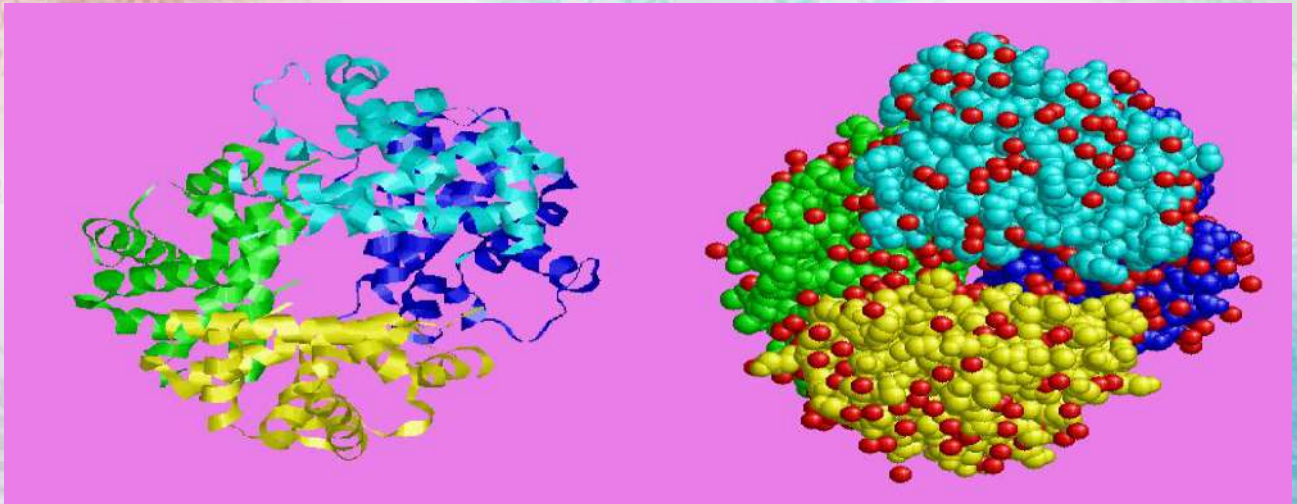


RNA

Protein subunit



四级缔合在结构和功能上有很多优越性：增强结构稳定性；提高遗传经济性和效率；使催化基团汇集在一起；具有协同性和别构效应。



小结：蛋白质分子的结构层次

一级结构→二级结构→超二级结构→结构域→三级结构→亚基→四级结构

一级结构（氨基酸排列顺序）



二级结构（ α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规卷曲）



超二级结构（二级结构单位的集合）



结构域（在空间上可以明显区分区域）

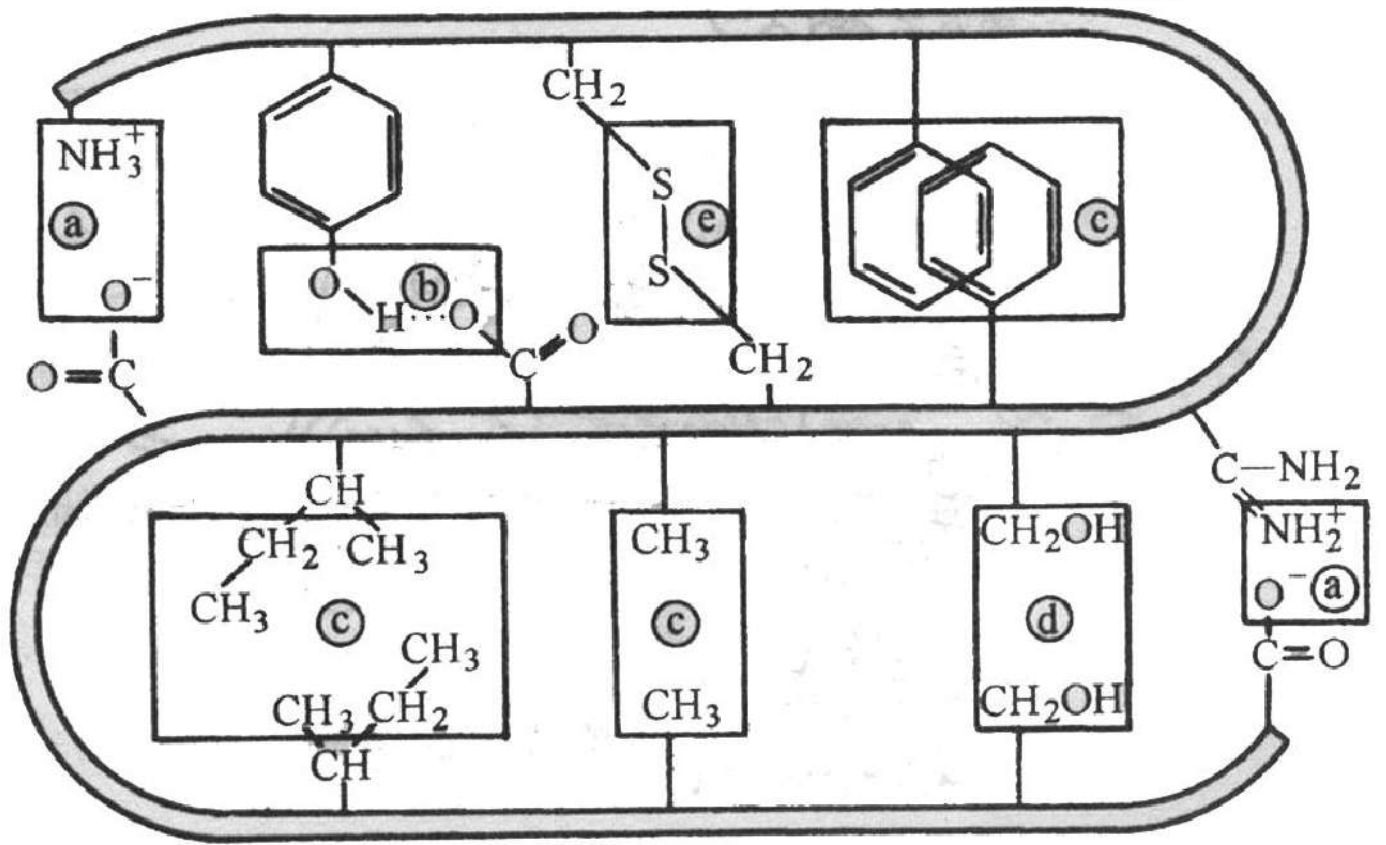


三级结构（球状蛋白质中所有原子的空间位置）



四级结构（复合蛋白质的结构特征，亚基的聚集体）

- 维系蛋白质分子的一级结构：肽键、二硫键
 - 维系蛋白质分子的二级结构：氢键
 - 维系蛋白质分子的三级结构：疏水相互作用力、氢键、范德华力、盐键
 - 维系蛋白质分子的四级结构：氢键、盐键
- 氢键、范德华力、疏水相互作用力、盐键，均为次级键
 - 氢键、范德华力虽然键能小，但数量大
 - 疏水相互作用力对维持三级结构特别重要
 - 盐键数量小
 - 二硫键对稳定蛋白质构象很重要，二硫键越多，蛋白质分子构象越稳定



R基团间的相互作用及稳定蛋白质三维构象的作用力

a. 盐键 b. 氢键 c. 疏水键 d. 范德华力 e. 二硫键