



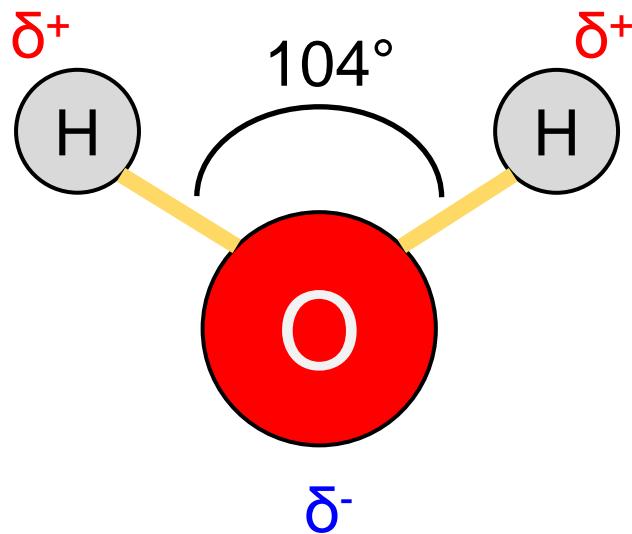
Факультет биоинженерии и биоинформатики
МГУ имени М.В.Ломоносова

Биоинформатика трансмембранных белков

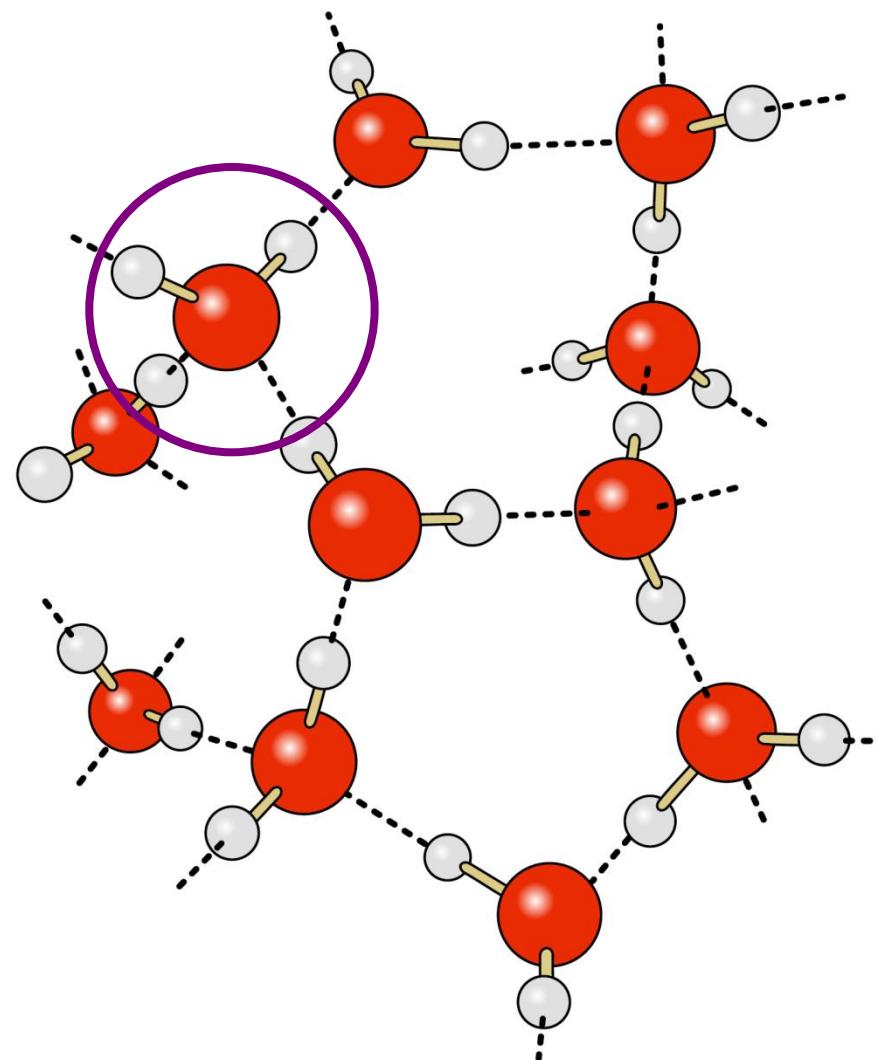
Дарья Владимировна Диброва
(к.б.н., с.н.с.)

Лекция №4 МФК «Биоинформатика»
2025 год

Молекулы воды полярны



Молекула воды (H_2O)
в растворе может
образовать 4
водородные связи

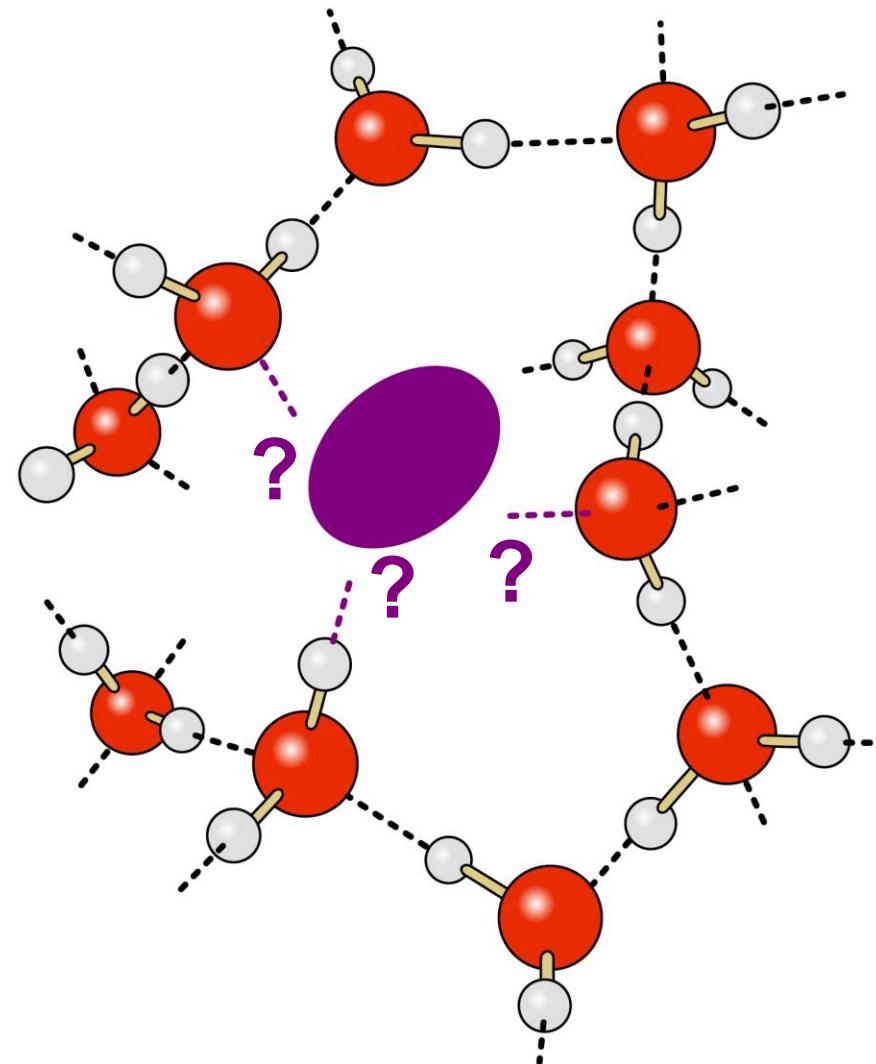


Источник рисунка:
https://ru.wikipedia.org/wiki/Водородная_связь

Что если поместить в воду **нечто**?

Два варианта:

- 1) Если вещество **полярное**, оно «встроится» в сеть водородных связей и его нахождение в водной фазе будет энергетически выгодно;
- 2) Если вещество **неполярное**, вода будет взаимодействовать сама с собой, а вещество она «вытолкнет».

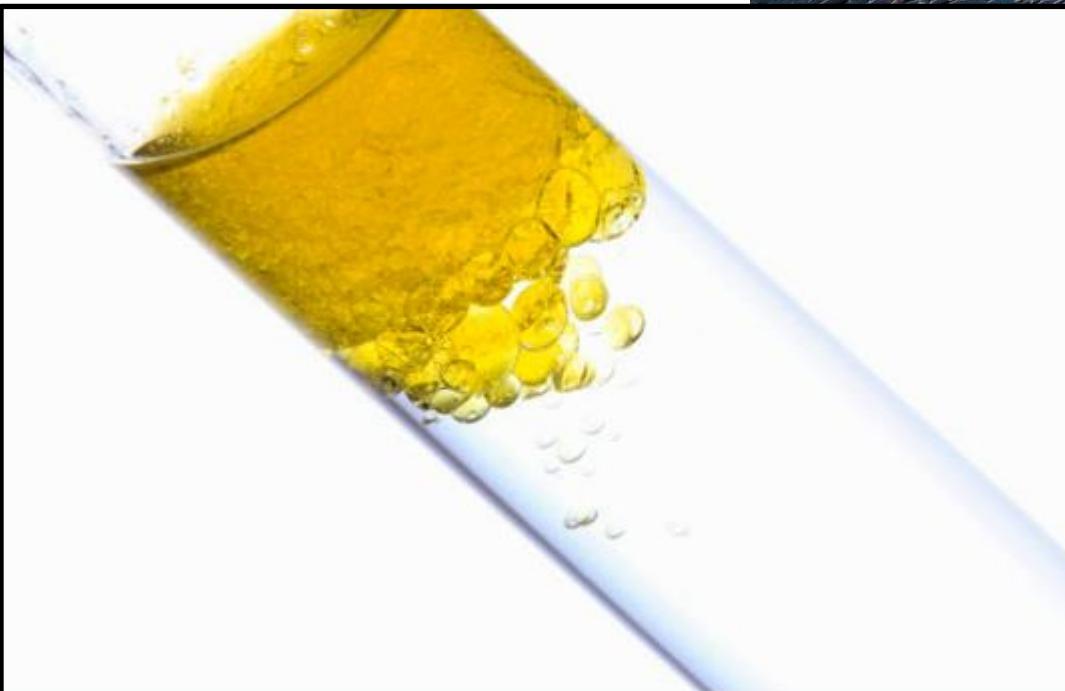


Источник рисунка:

https://ru.wikipedia.org/wiki/Водородная_связь

«Гидрофобные» вещества

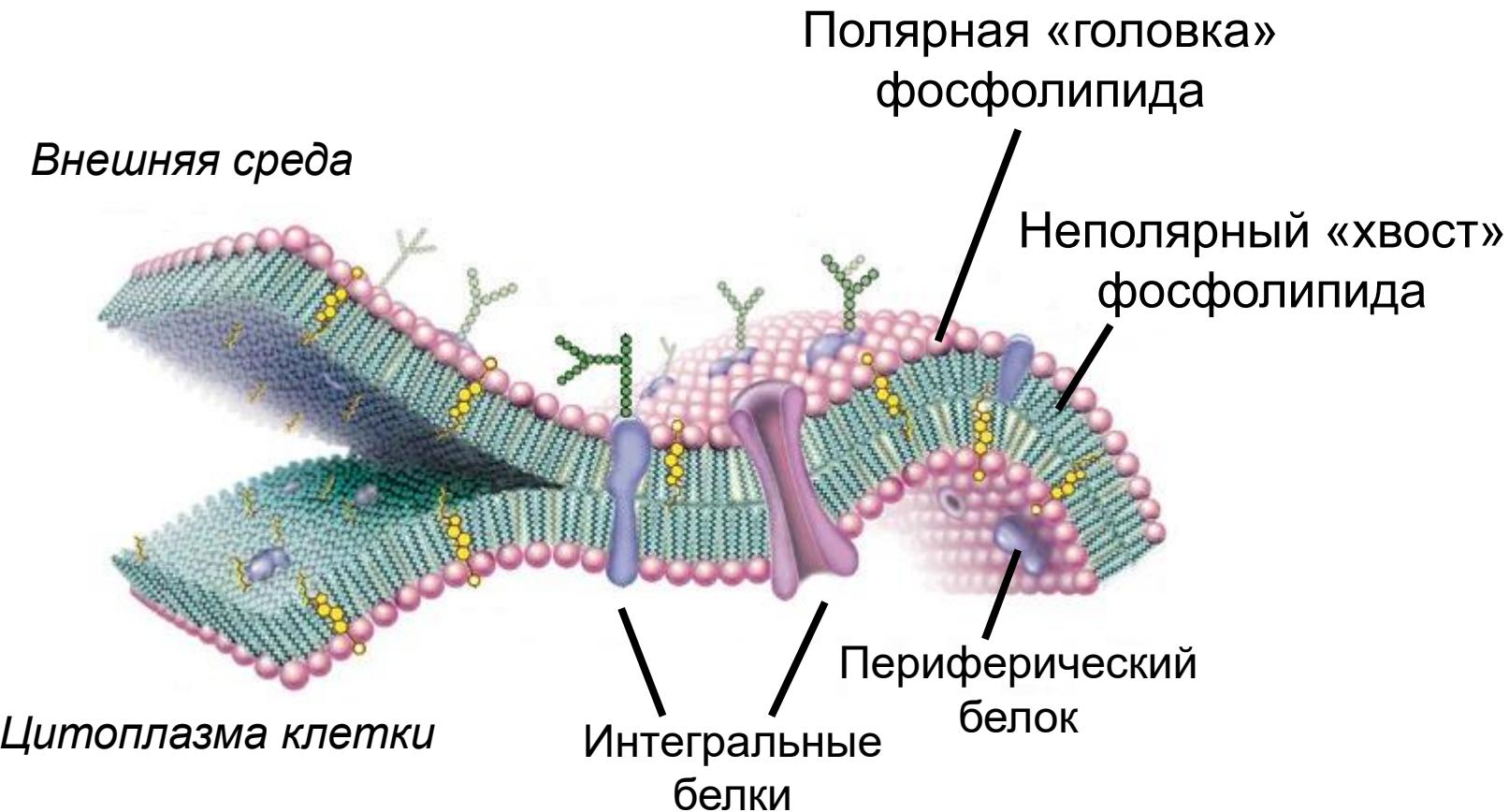
Например,
растительное масло
или нефть –
неполярные
жидкости, и они не
смешиваются с водой



Источник рисунка:
<https://tomsk.bezformata.com/>

Источник рисунка:
<https://www.istockphoto.com/>

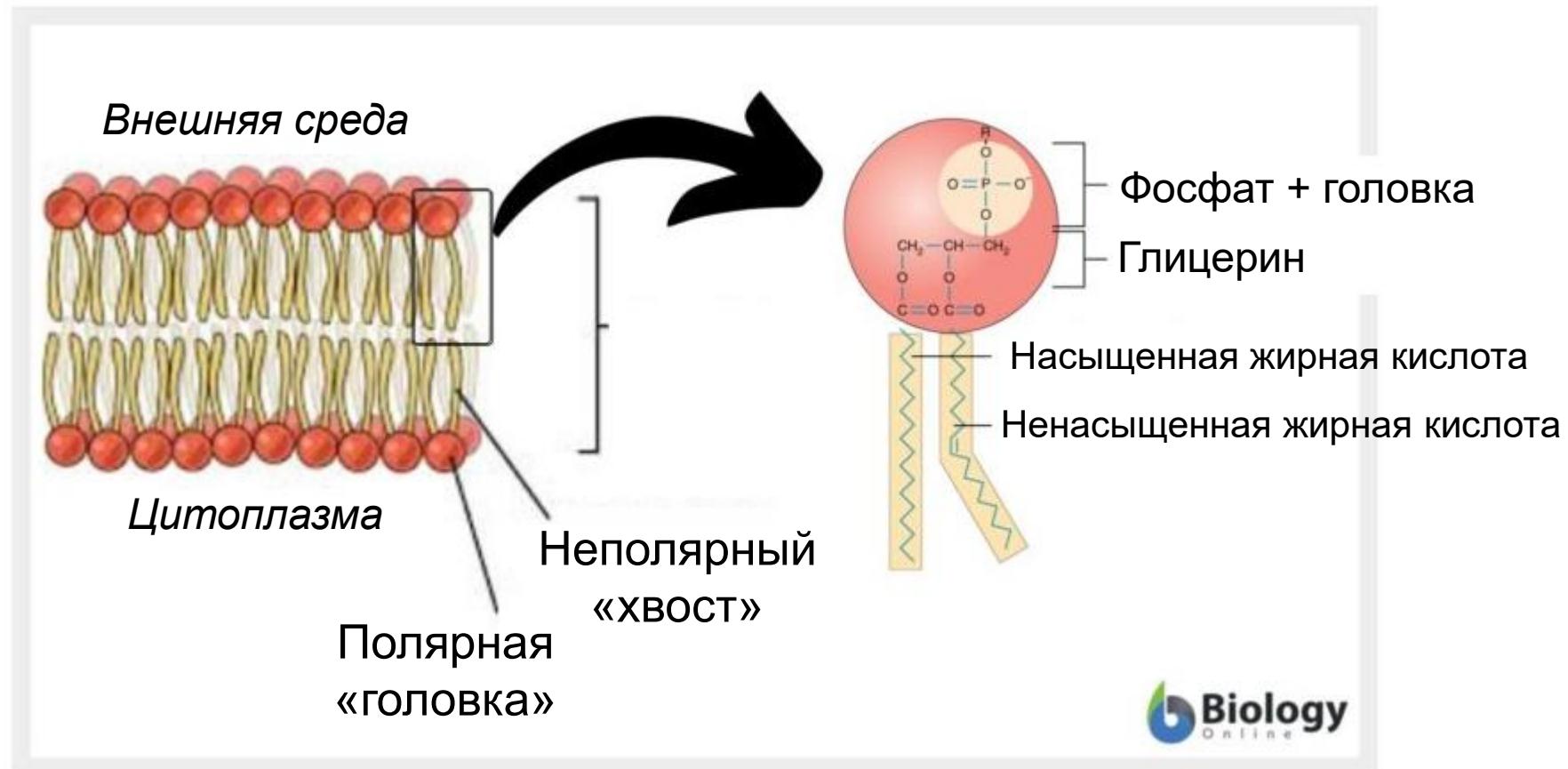
Строение клеточных мембран: издалека



Источник рисунка:

<https://www.britannica.com/science/cell-membrane>

Строение клеточных мембран: поближе



Источник рисунка:

<https://www.biologyonline.com/dictionary/cell-membrane>

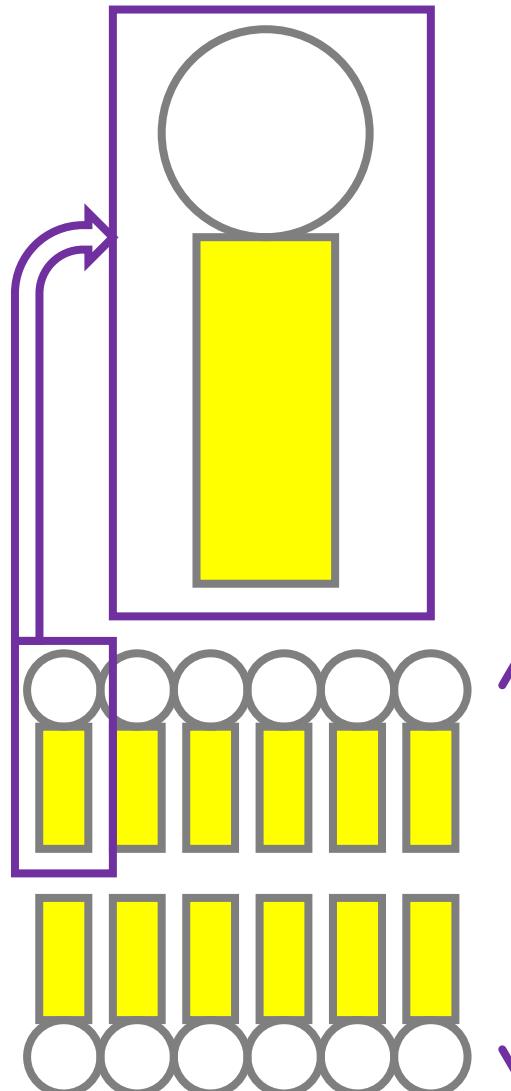
Два важных факта о клеточной мемbrane

(1)

Клеточная мембра предоставляет **гидрофобное окружение** молекулам, погруженным в нее (внутри нее содержит групп, которые способны образовывать водородные связи)

(2)

Клеточная мембра всегда **ориентирована**, т.е. ее две стороны качественно различаются



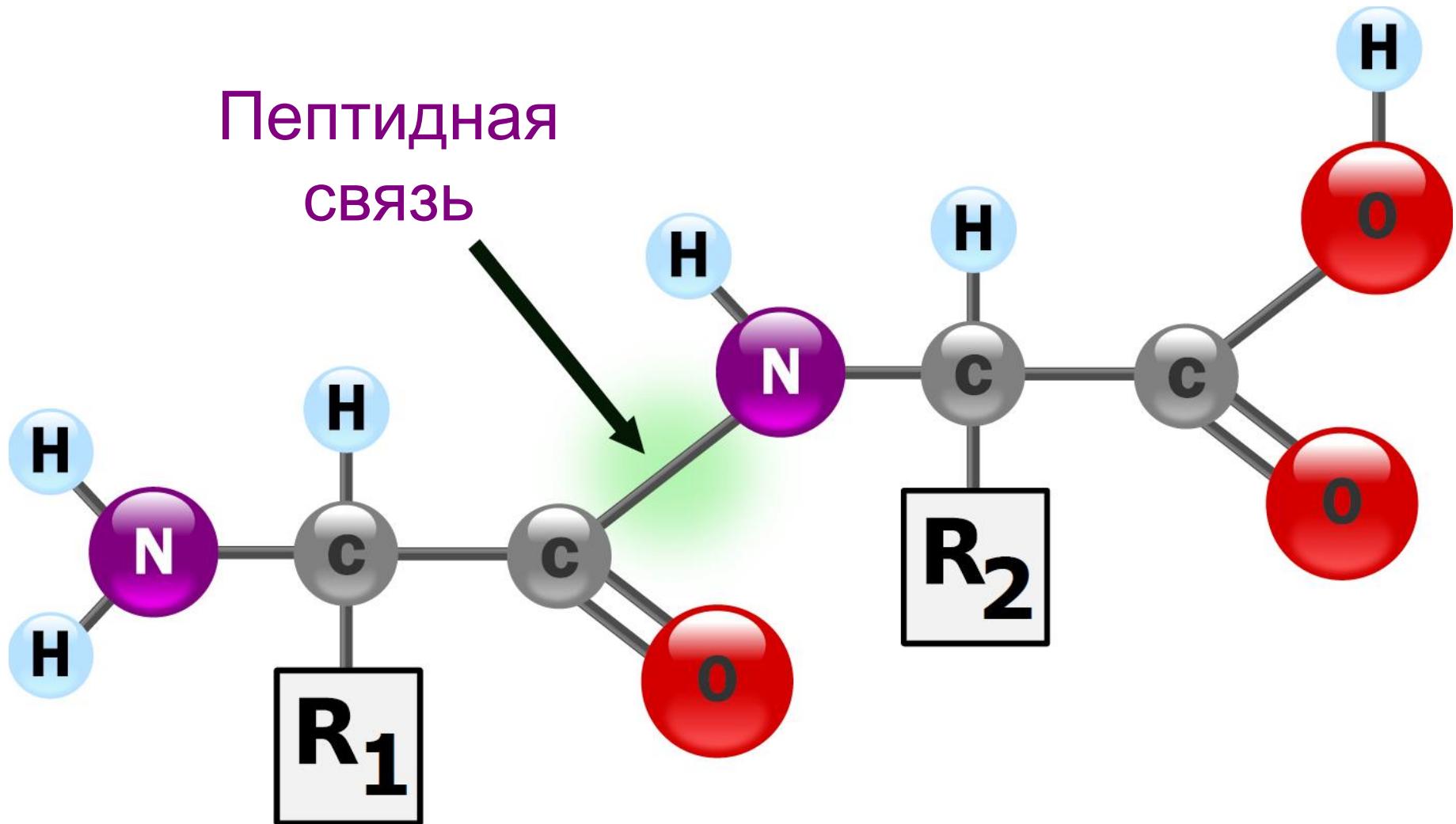
Полярная
«ГОЛОВКА»

Гидрофобные
«ХВОСТЫ»

Липидный
бислой
 $\sim 40\text{\AA}$

Каково белку в клеточной мембране?

Пептидная
связь



Источник рисунка:

https://ru.wikipedia.org/wiki/Пептидная_связь

Как поместить белок в мембрану?

Требование:

все способные образовывать водородные и ионные связи атомы должны быть уже задействованы в таких связях

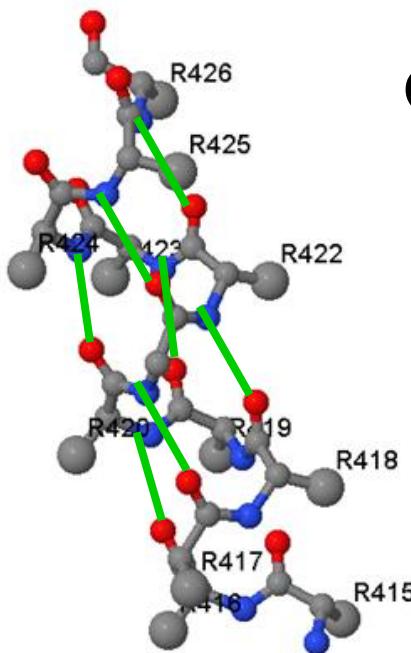
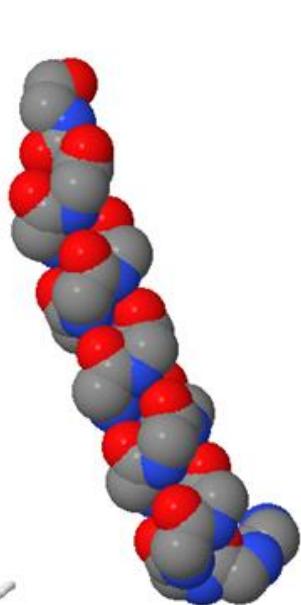
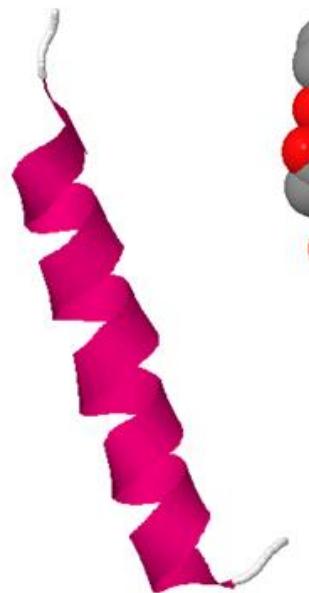
Решение, 1 часть:

Упаковать главную цепь белка в структуру, где все возможные водородные связи уже образованы

1а) Одна или несколько α -спиралей, пронизывающих мембрану
(чаще всего)

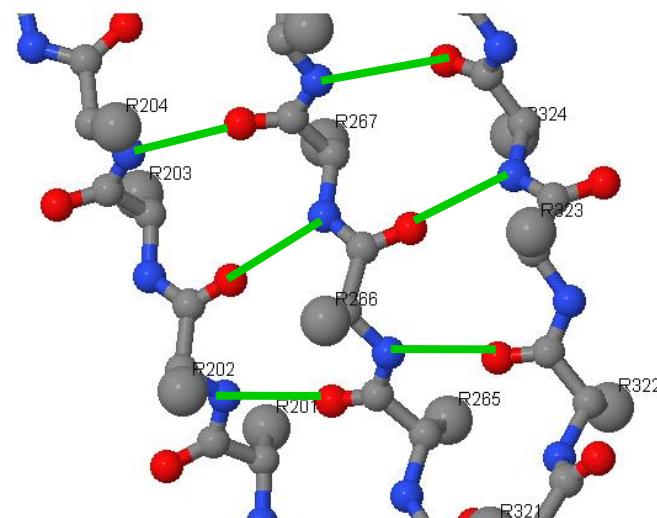
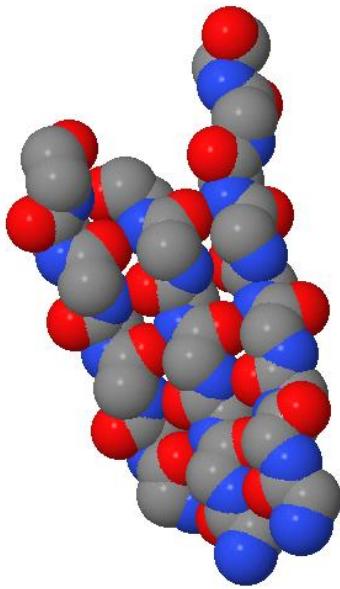
1б) Циклический β -лист

Элементы вторичной структуры



α-спираль

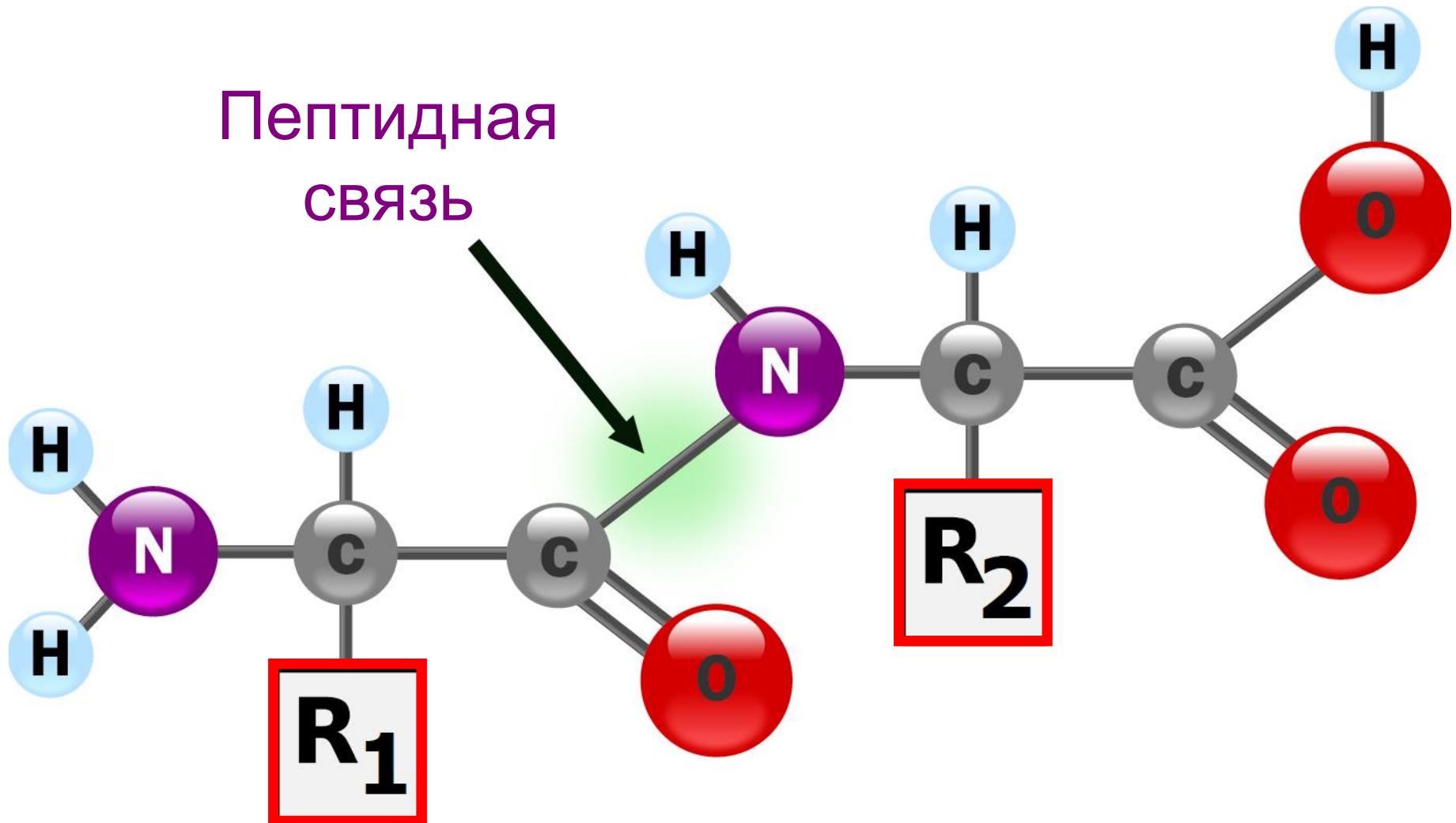
— < 3 Å
(водородные
связи)



β-лист

Кроме «главной цепи» есть еще боковые!

Пептидная связь



Источник рисунка:

https://ru.wikipedia.org/wiki/Пептидная_связь

Классификация протеиногенных аминокислот

ДВАДЦАТЬ ОДНА ПРОТЕИНОГЕННАЯ α -АМИНОКИСЛОТА

Заряд боковой цепи указан при физиологическом pH 7.4

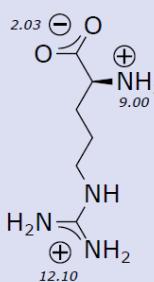
Величины pK_a показаны курсивом

⊕ Положительно
⊖ Отрицательно

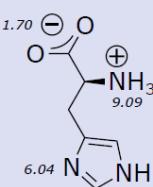
А. Аминокислоты с заряженными боковыми цепями

Положительно заряженные

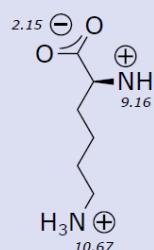
Аргинин
Arg R



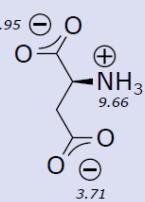
Гистидин
His H



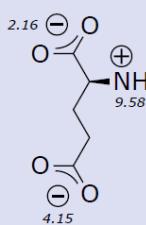
Лизин
Lys K



Аспартат
Asp D

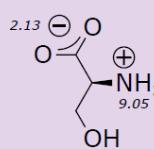


Глутамат
Glu E

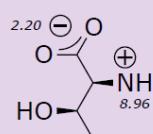


Б. Аминокислоты с полярными незаряженными цепями

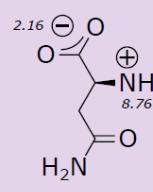
Серин
Ser S



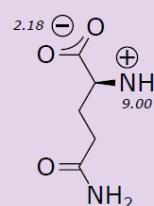
Тreonин
Thr T



Аспарагин
Asn N

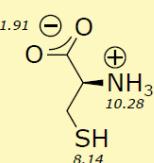


Глутамин
Gln Q

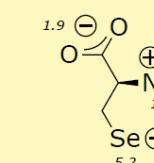


В. Особые случаи

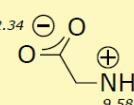
Цистеин
Cys C



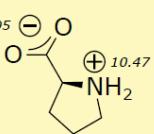
Селеноцистеин
Sec U



Глицин
Gly G

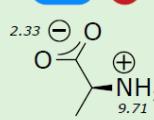


Пролин
Pro P

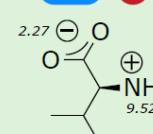


Г. Аминокислоты с гидрофобными боковыми цепями

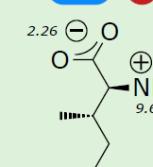
Аланин
Ala A



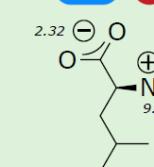
Валин
Val V



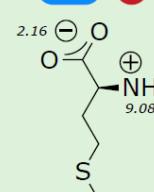
Изолейцин
Ile I



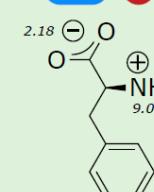
Лейцин
Leu L



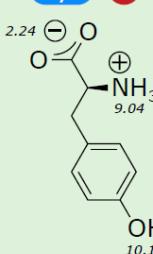
Метионин
Met M



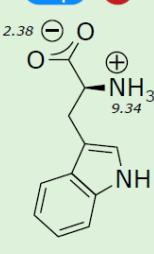
Фенилаланин
Phe F



Тирозин
Tyr Y



Триптофан
Trp W



Источник рисунка:

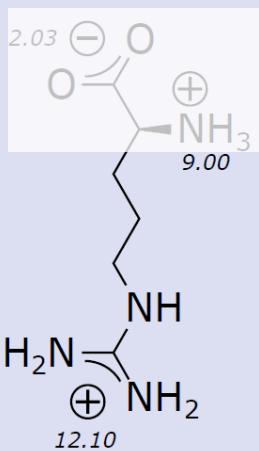
https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid

Аминокислоты с заряженными боковыми цепями

Положительно заряженные

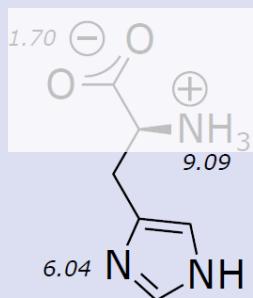
Аргинин

Arg R



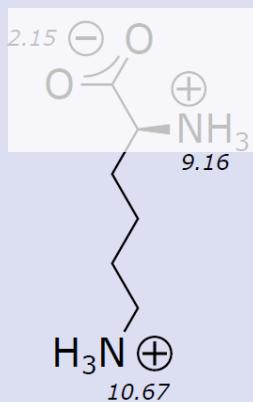
Гистидин

His H



Лизин

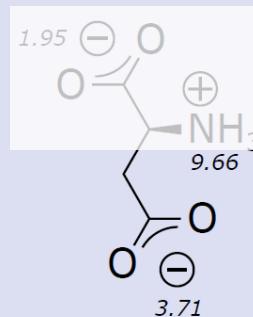
Lys K



Отрицательно заряженные

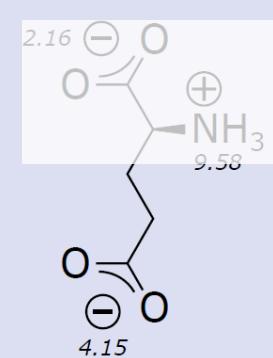
Аспартат

Asp D



Глутамат

Glu E



Заряженные остатки = «очень полярные»,
у них не частичный заряд (δ^+ или δ^-), а
полноценный!

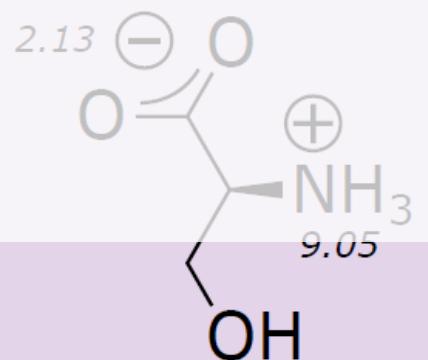
Источник рисунка:

https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid

Аминокислоты с полярными боковыми цепями

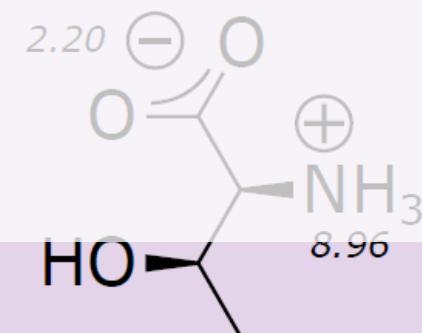
Серин

Ser S



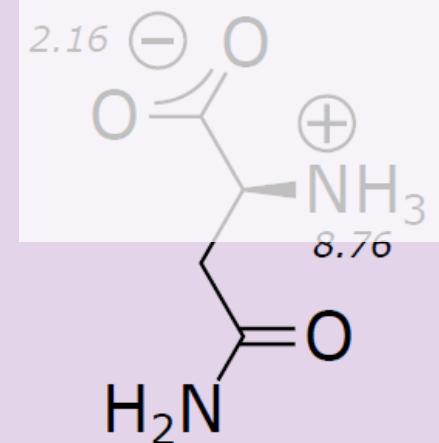
Тreonин

Thr T



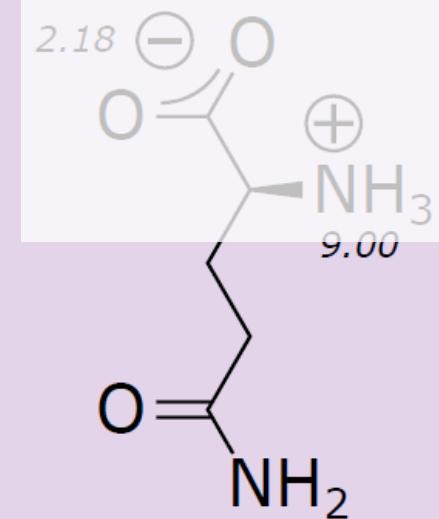
Аспарагин

Asn N



Глутамин

Gln Q



Охотно образуют водородные связи между собой или с молекулами воды – и как доноры, и как акцепторы

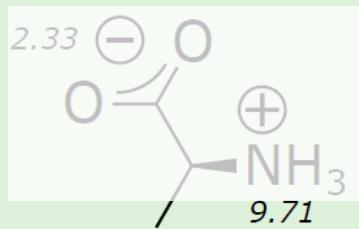
Источник рисунка:

https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid

Аминокислоты с неполярными боковыми цепями

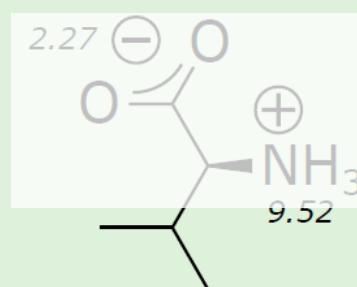
Аланин

Ala A



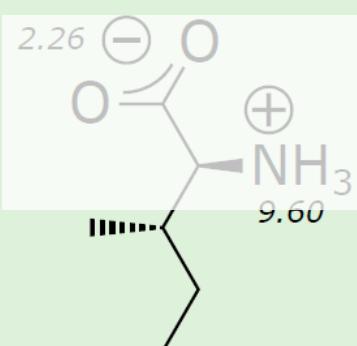
Валин

Val V



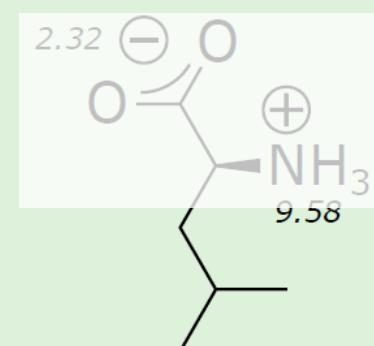
Изолейцин

Ile I



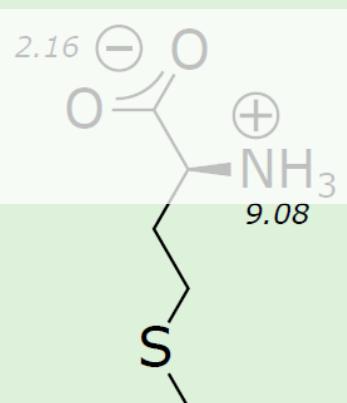
Лейцин

Leu L



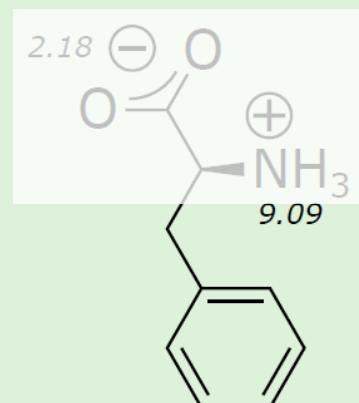
Метионин

Met M



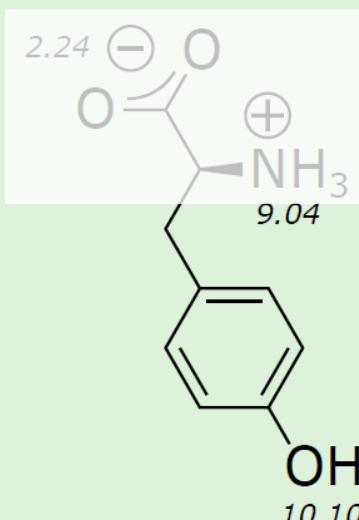
Фенилаланин

Phe F



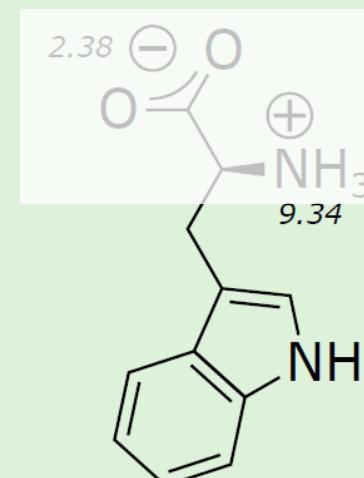
Тирозин

Tyr Y



Триптофан

Trp W



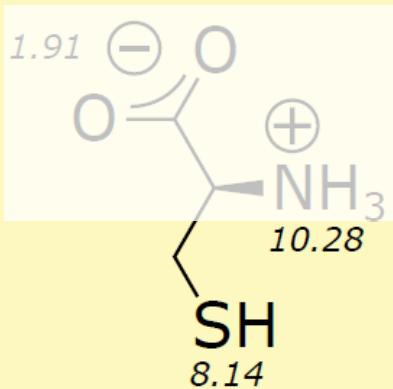
Источник рисунка:

https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid

«Особые случаи»

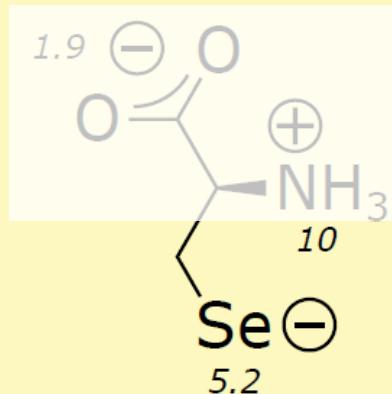
Цистеин

Cys C



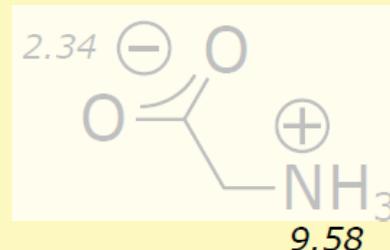
Селеноцистеин

Sec U



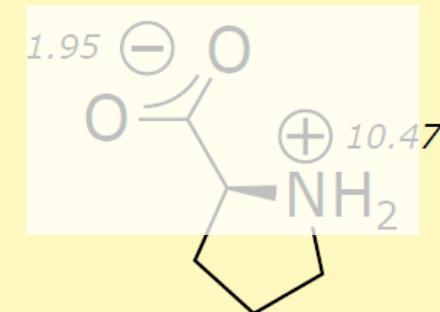
Глицин

Gly G



Пролин

Pro P



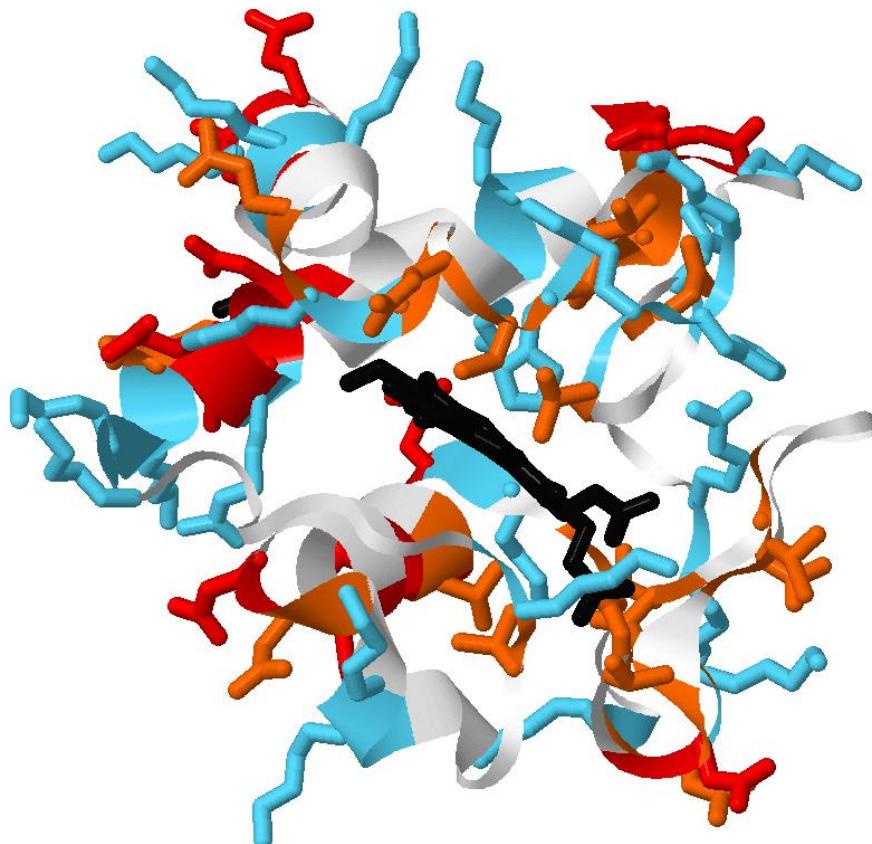
Боковая цепь цистеина тоже может образовывать разные водородные связи

Mazmanian K. et al. (2016) Preferred Hydrogen-Bonding Partners of Cysteine: Implications for Regulating Cys Functions. *J. Phys. Chem. B.*, 120:39, 10288–10296.

Источник рисунка:

https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid

С полярными боковыми цепями нужно что-то делать



- У белков обычно много полярных остатков, и в **воде** они могут быть свободно экспонированы наружу
- **Внутри мембраны** это энергетически невыгодно: этим группам не с кем образовать связь

Цитохром с лошади
(PDB:1hrc)

Lys, Arg, His Asn, Gln, Ser,
Asp, Glu Thr

Как поместить белок в мембрану?

Требование:

все способные образовывать водородные и ионные связи атомы должны быть уже задействованы в таких связях

Решение, 1 часть:

Упаковать главную цепь белка в структуру, где все возможные водородные связи уже образованы

1а) Одна или несколько α -спиралей, пронизывающих мембрану
(чаще всего)

1б) Циклический β -лист

Решение, 2 часть:

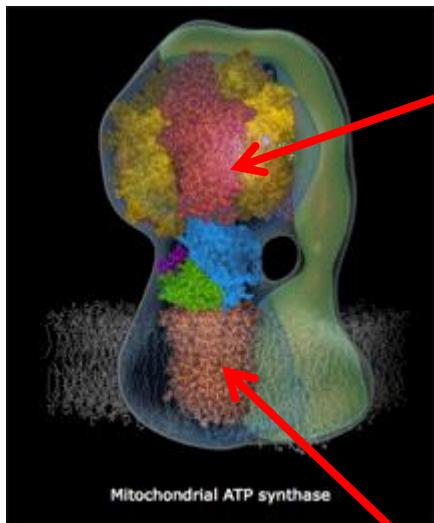
Убрать из мембраны способные образовывать водородные связи (Ser, Thr, Asn, Gln, Cys) и особенно заряженные (Arg, Lys, Asp, Glu, His) остатки

! Если такие остатки встречаются посредине мембраны – они должны взаимодействовать с другими молекулами (например, образовывать олигомерный комплекс, координировать гем)

Роторные мембранные АТФ-синтазы

Источник анимации:

<http://www.mrc-mbu.cam.ac.uk/>



Цитоплазматическая часть
(в том числе каталитический гексамер $\alpha_3\beta_3$)

Мембранная часть
(в том числе кольцевой олигомер из нескольких с-субъединиц)

Мембранные белки отличаются по последовательностям

Источник анимации:
<http://www.mrc-mbu.cam.ac.uk/>

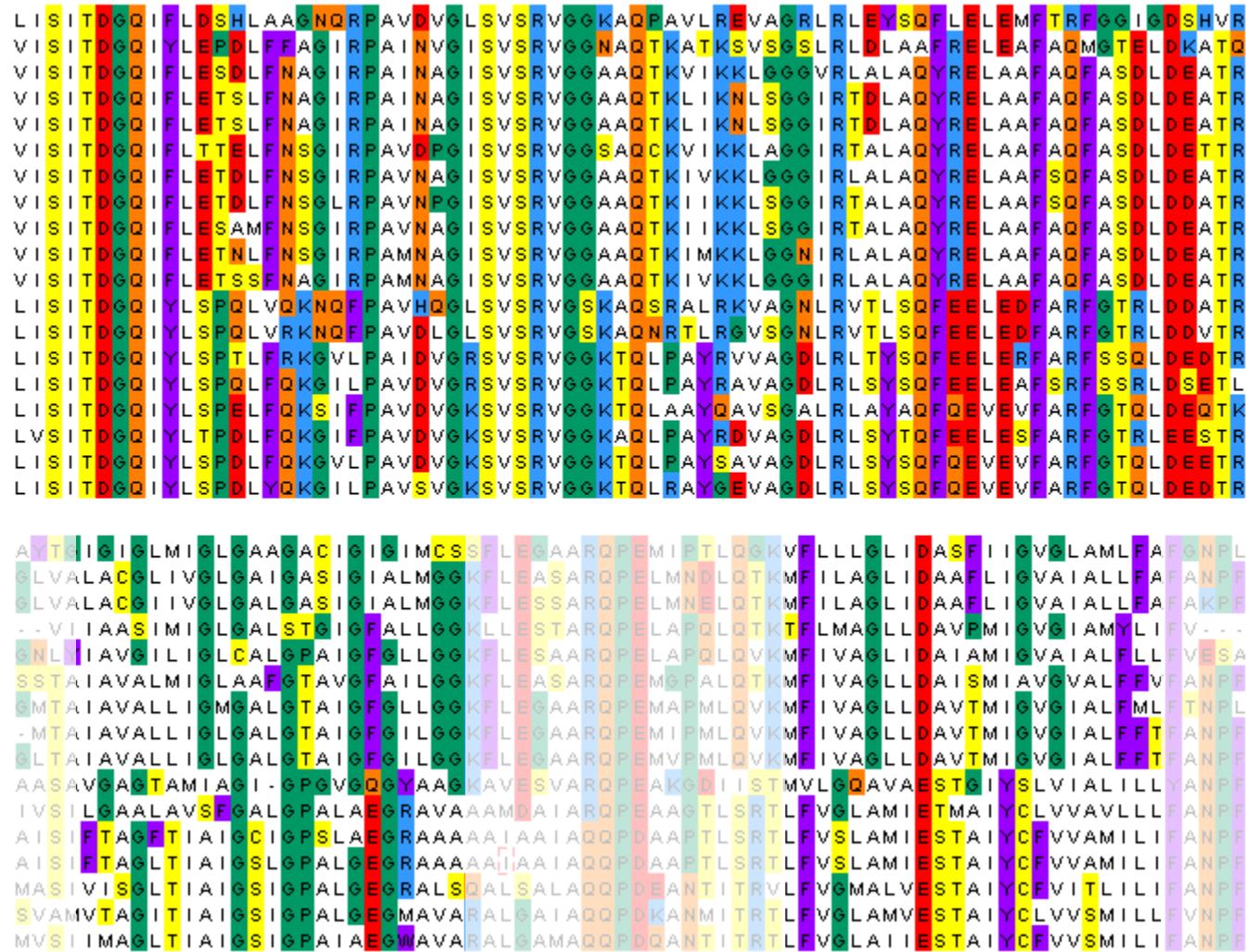
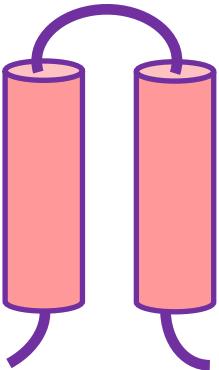
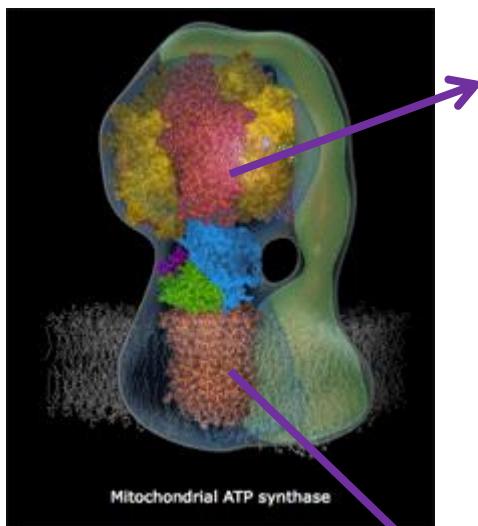
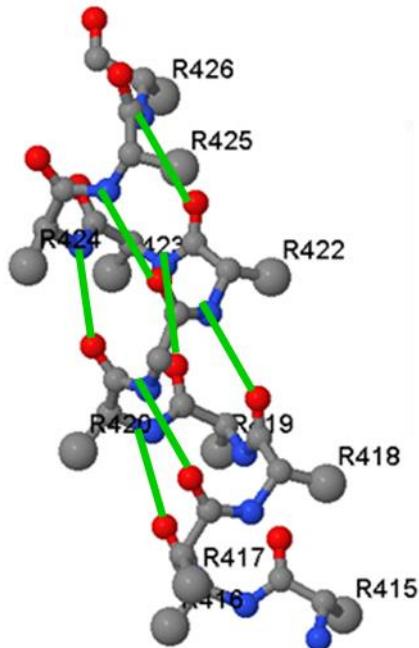


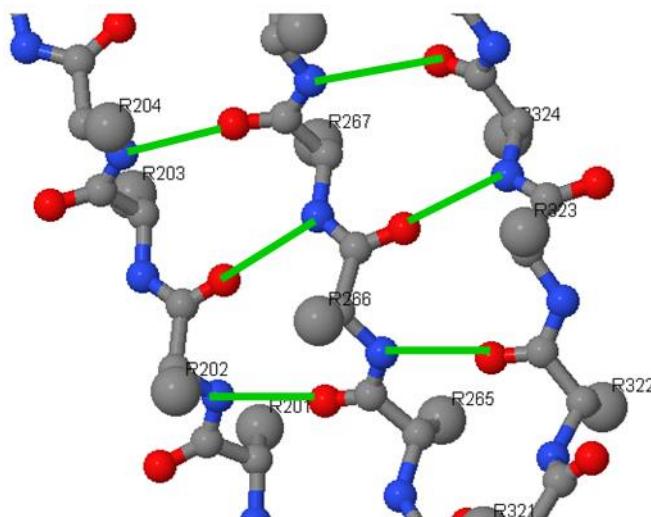
Схема с-субъединицы

Расположение гидрофобных остатков



α -спираль в мембране:
неполярные остатки должны
следовать **подряд** друг за
другом в последовательности

— < 3 Å (водородные связи)

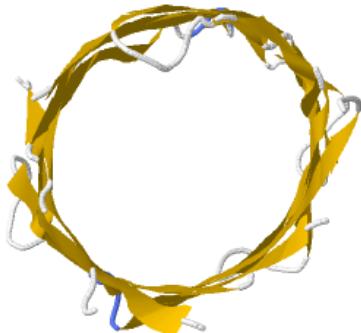


β -лист в мембране:
остатки чередуются в
направлении внутрь-наружу от
плоскости листа

Внутри не обязательно гидрофобная среда

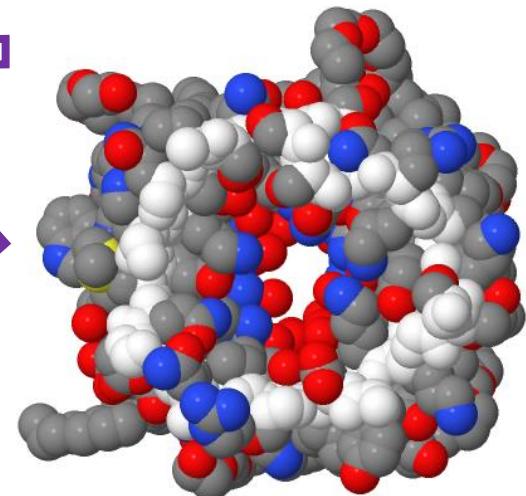
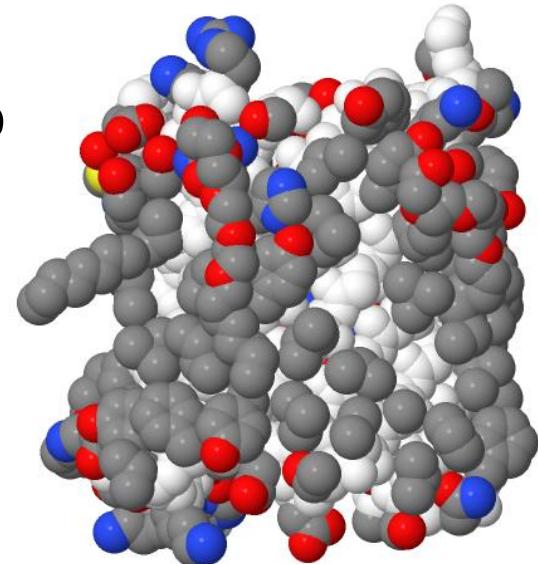


В виде β -листов часто организованы **порины**, через которые может осуществлять диффузия молекул



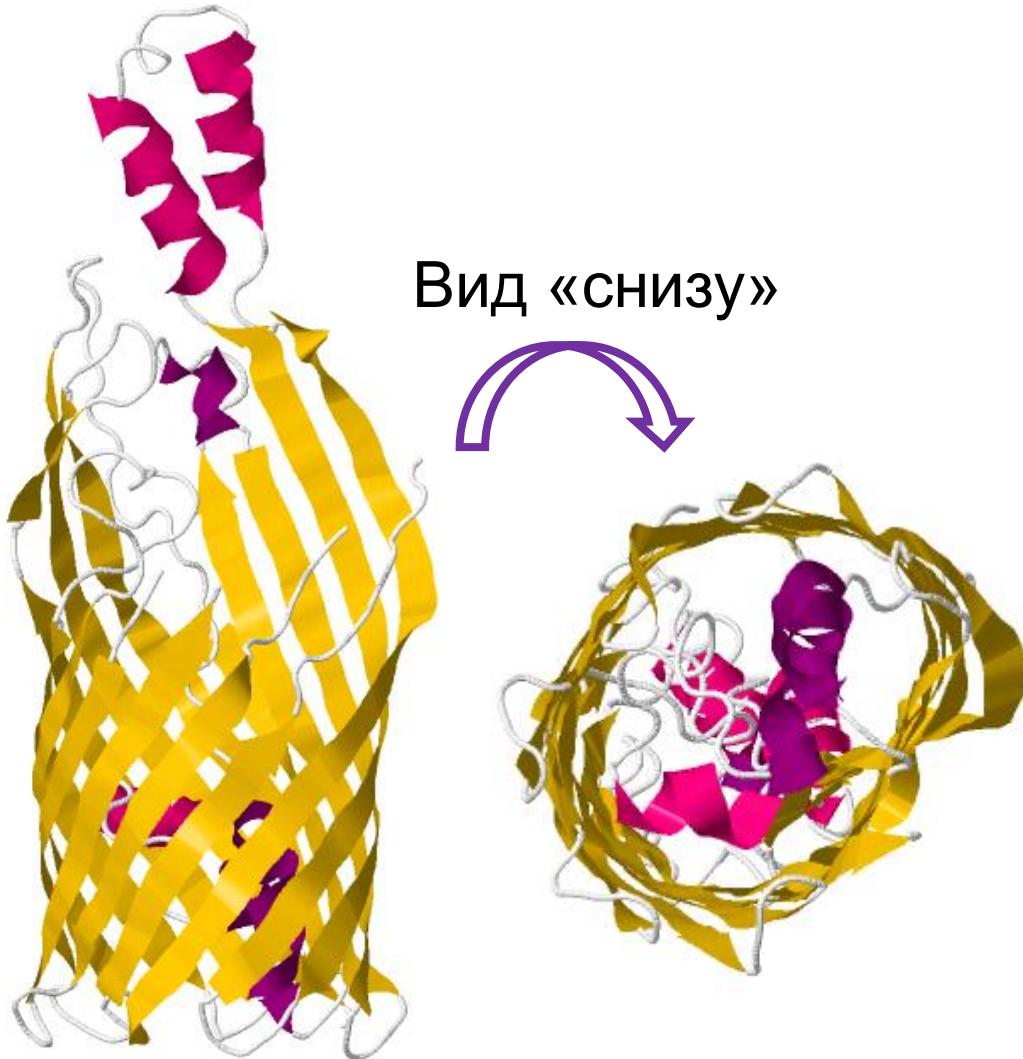
Вид «сверху»

(Атомы покрашены по химическому типу, кроме атомов главной цепи, покрашенный белым)



Oligogalacturonate-specific porin KdgM (PDB: 4fqe)

Внутри не обязательно гидрофобная среда



Часто бывает, что
внутри β -бочонка
находится «пробка»
из других частей
белка или связанных
молекул

Fatty Acid Transporter FadL (PDB:2r88)

... а β -бочонок не всегда мембранный



Медуза
Aequorea victoria

Источник рисунка:

https://en.wikipedia.org/wiki/Aequorea_victoria

Белок **GFP** (green fluorescent protein) чрезвычайно широко применяется в генной инженерии: его ген присоединяют к целевому гену и визуально смотрят, где экспрессируется белок!



Architecture of *Aequorea victoria* Green Fluorescent Protein

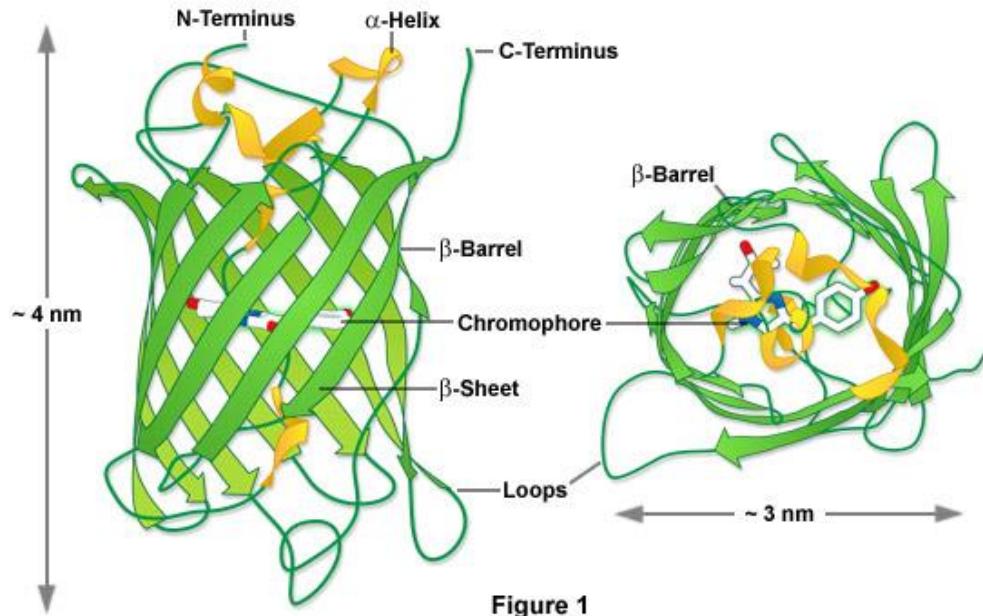


Figure 1

Источник рисунка:

<https://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/probes/jellyfishfps.html>

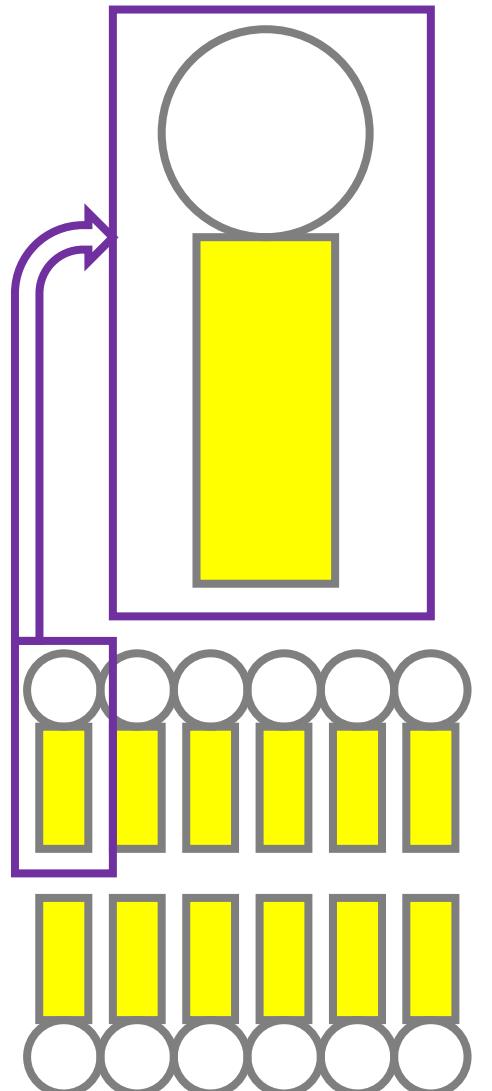
Два важных факта о клеточной мемbrane

(1)

Клеточная мембра
представляет
гидрофобное окружение
молекулам, погруженным в
нее (внутри нее содержит
группы, которые способны
образовывать водородные
связи)

(2)

Клеточная мембра
всегда **ориентирована**,
т.е. ее две стороны
качественно различаются

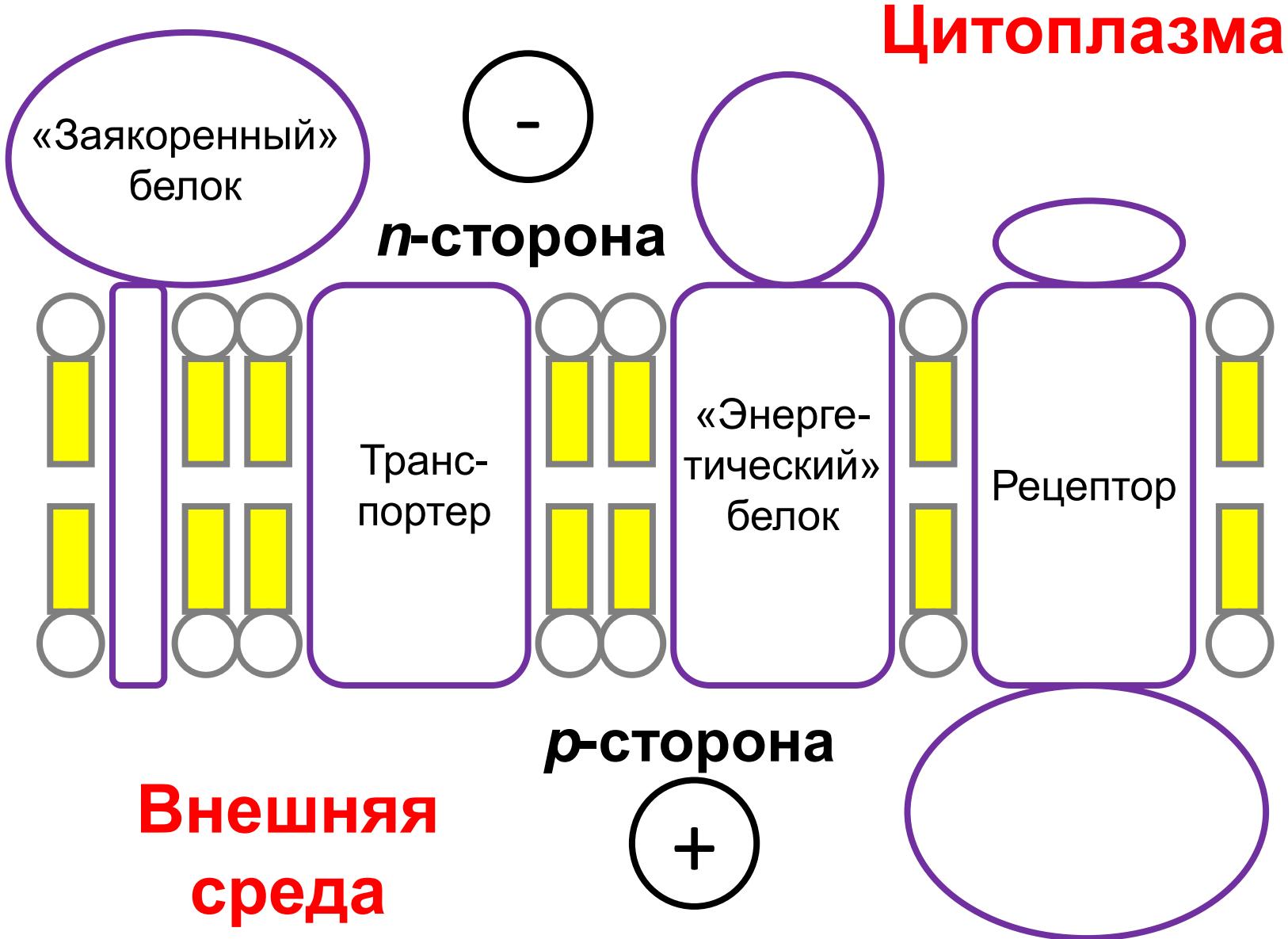


Полярная
«головка»

Гидрофобные
«хвосты»

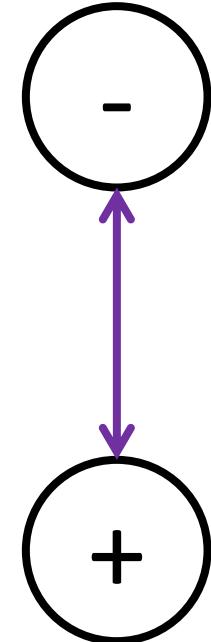
Липидный
бислой
~ 40 Å

Ориентация мембранные и трансмембранные белки



Правило “positive-inside”

Часть белка, расположенная с *n*-стороны от мембраны (цитоплазма бактерии, матрикс митохондрии и строма хлоропласта по отношению к внутренним мембранам и т.п.), содержит больше **положительно заряженных** остатков (Lys, Arg, His)



Gunnar von Heijne (1992)

Membrane protein structure prediction: hydrophobicity analysis and the positive-inside rule

J Mol Biol, 225(2):487-494

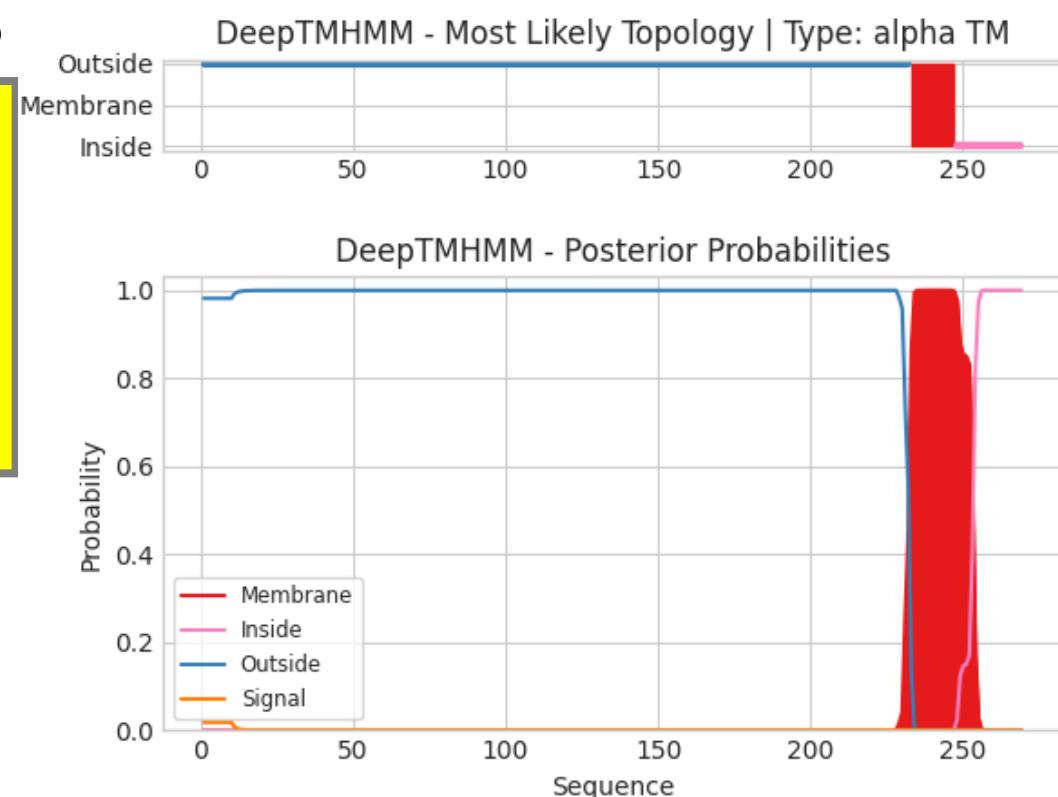
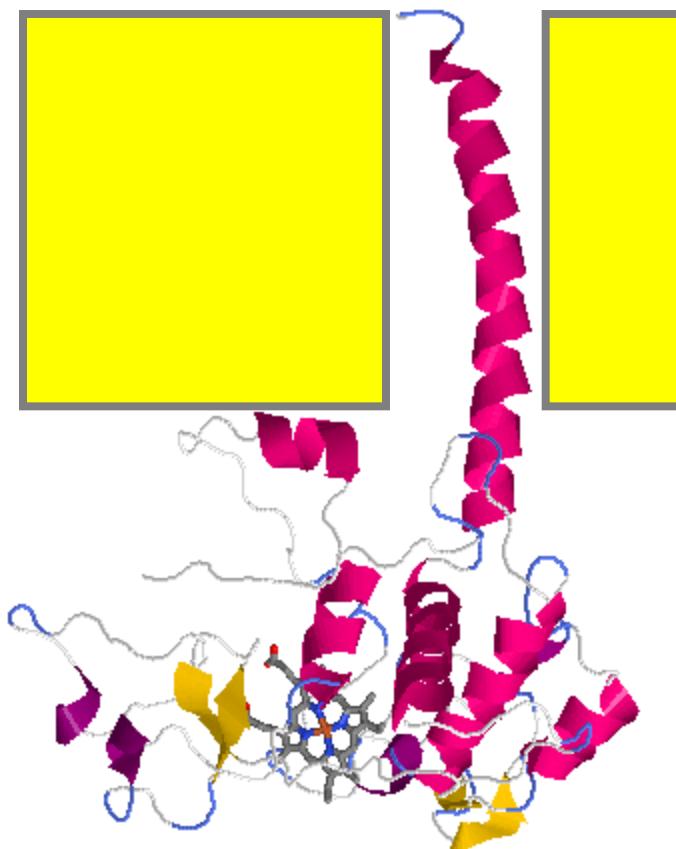


Сервис DeepTMHMM

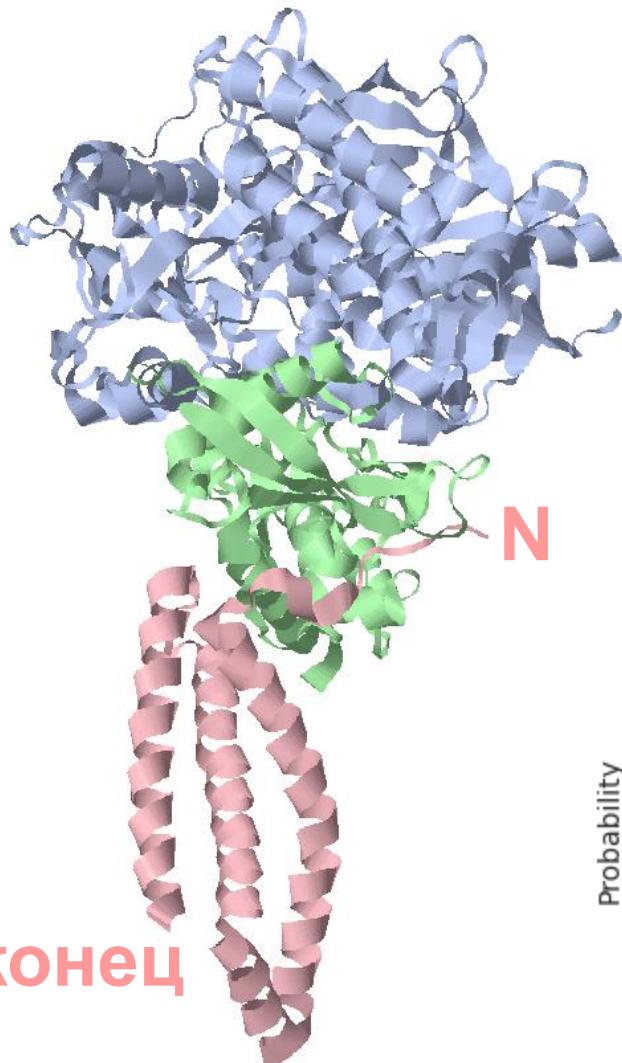
DeepTMHMM – программа для предсказания трансмембранных участков по последовательности

<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM>

PDB:2fyn, цепь В



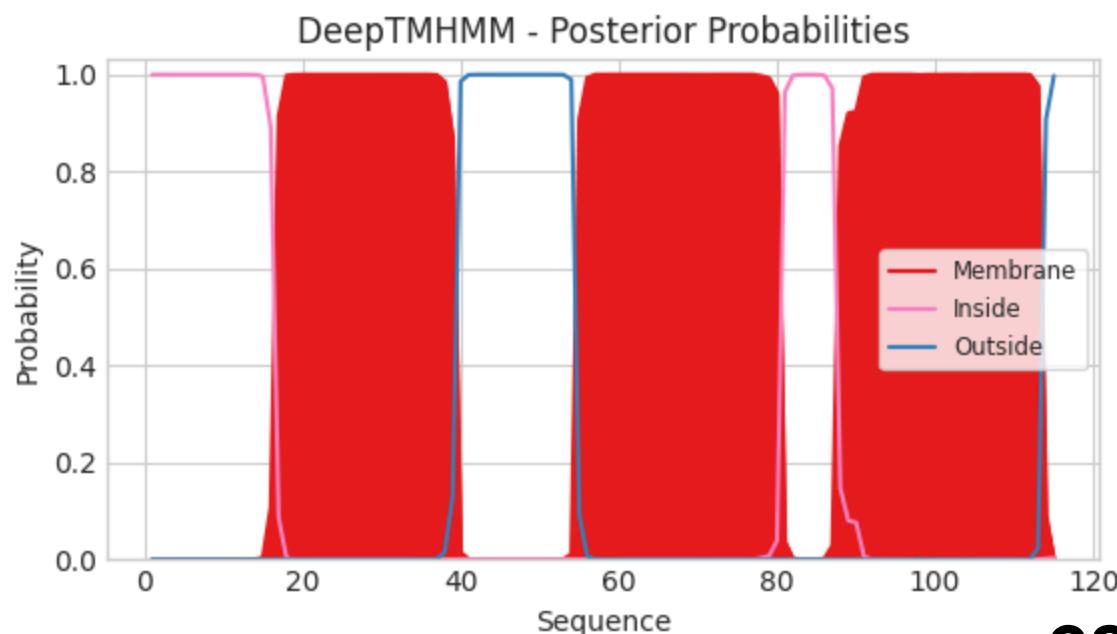
Пример: сукцинатдегидрогеназа



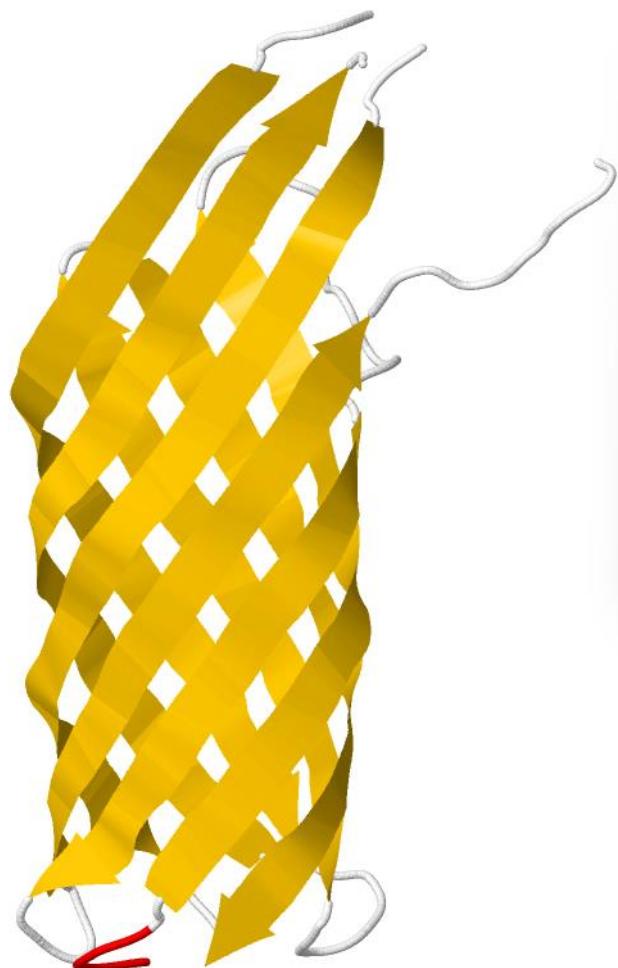
PDB:2wp9, цепь D

Топология:

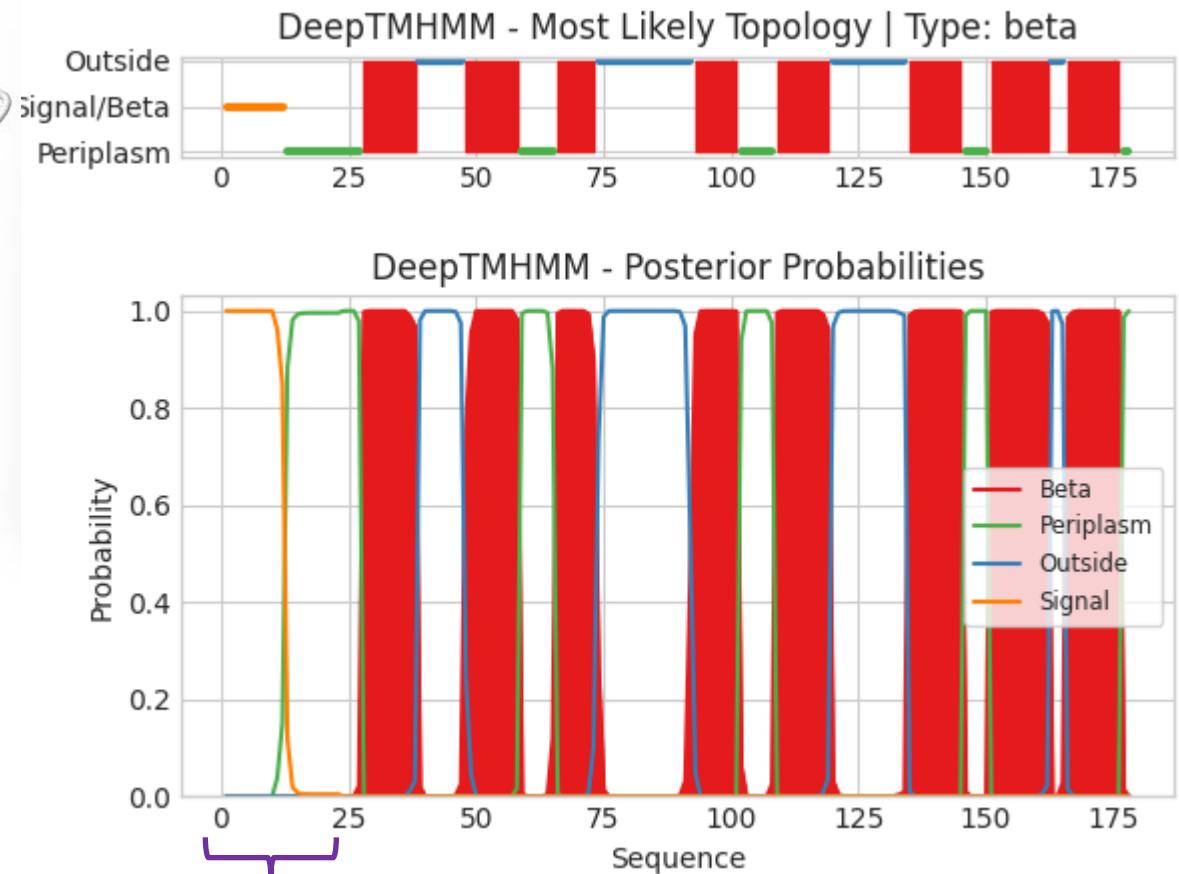
2WP9_4	inside	1	16
2WP9_4	TMhelix	17	39
2WP9_4	outside	40	54
2WP9_4	TMhelix	55	80
2WP9_4	inside	81	87
2WP9_4	TMhelix	88	113
2WP9_4	outside	114	115



Пример выдачи с сигнальным пептидом



Attachment invasion
locus protein (PDB:3qra)



Отрезается,
в зрелом белке
нет!

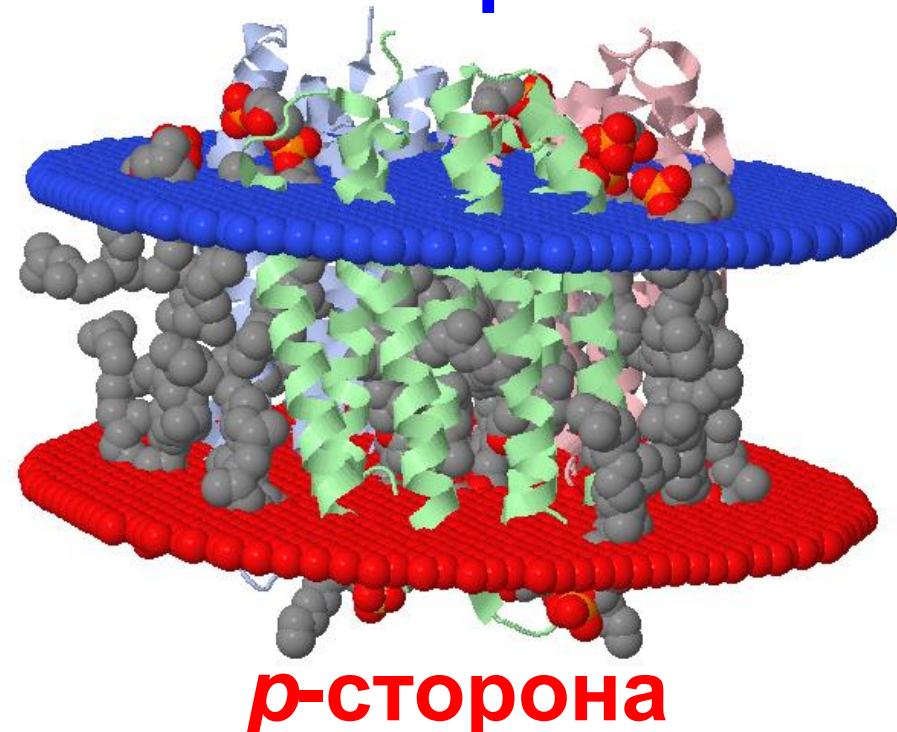
(Orientation of Proteins in the Membrane)

<http://opm.phar.umich.edu/>

- В базе данных содержатся предсказания о положении белков относительно мембраны
- Есть сервер (PPM) для создания предсказания для любого исходного белка по PDB-файлу

PDB:2zzl

n-сторона



Полезная справочная информация

orientations of (OPM) database
proteins in membranes

UNIVERSITY OF MICHIGAN | COLLEGE OF PHARMACY | LOMIZE GROUP

Search proteins by PDB ID or name

HOME ABOUT OPM BIOLOGICAL MEMBRANES SEARCH DOWNLOAD OPM FILES CONTACT US PPM TMPFOLD SERVER

Protein Classification

Types (3)
Classes (11)
Superfamilies (530)
Families (1090)
Species (1056)
Localizations (24)
Proteins (8915)

Assembly

Superfamilies (9)
Families (19)
Localizations (8)
Assemblies (205)

Protein Links

PDB Sum [🔗](#), PDB [🔗](#), MPKS [🔗](#), MPDB [🔗](#)

PPM Server

BIOLOGICAL MEMBRANES

Orientations of Proteins in Membranes (OPM) database

OPM provides spatial arrangements of membrane proteins with respect to the hydrocarbon core of the lipid bilayer.

OPM includes all unique experimental structures of transmembrane proteins and some peripheral proteins and membrane-active peptides ([Features](#)).

Each protein is positioned in a lipid bilayer of adjustable thickness and curvature by minimizing its transfer energy from water to the membrane ([Methods](#)).

OPM provides structural classification and sorting according to different criteria ([Classification](#)).

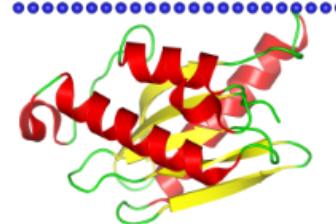
OPM also provides a few preliminary results of our computational analysis of transmembrane α -helix association in experimental structures of selected polytopic proteins ([Assembly pages](#)).

For more information on single-spanning transmembrane proteins please see our Membranome database

In citing the Orientations of Proteins in Membranes (OPM) database please refer to
Lomize MA, Pogozheva ID, Joo H., Mosberg HI, Lomize AL (2012) OPM database and PPM web server: resources for positioning of proteins in membranes. *Nucleic Acids Res.* **40** (Database issue), D370-D376. [PDF](#) [PubMed](#) [🔗](#)

For an explanation of our method please refer to
Lomize AL, Pogozheva ID, Lomize MA, Mosberg HI (2006) Positioning of proteins in membranes: A computational approach. *Protein Science*. **15**, 1318-1333. [PDF](#) [PubMed](#) [🔗](#)

Lomize AL, Pogozheva ID, Mosberg HI (2011) Anisotropic solvent model of the lipid bilayer. 2. Energetics of insertion of small molecules, peptides, and proteins in membranes. *J Chem Inf Model*. **51**, 930-946. [PDF](#) [PDF \(supplementary\)](#) [PubMed](#) [🔗](#)

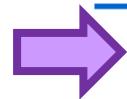


Synaptobrevin homolog 1 pdb-1iou

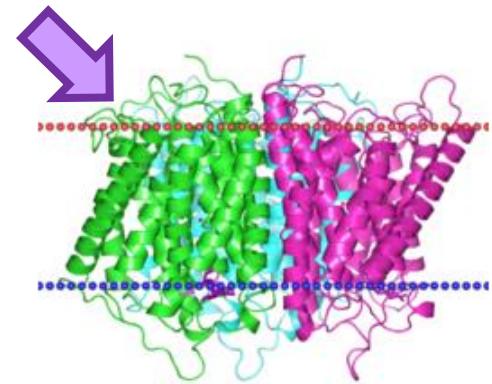
Download File: 1iou.pdb

Запись в базе данных ОРМ

1u7g » Ammonia Channel



- Type: [1. Transmembrane \(3 classes\)](#)
- Class: [1.1. Alpha-helical polytopic \(105 superfamilies\)](#)
- Superfamily: [1.1.017. Ammonia and urea transporters \(2 families\)](#) [1.A.11 \(TCDB\)](#)
- Family: [1.1.17.01. Ammonia transporter Amt \(8 proteins\)](#) [1.A.11 \(TCDB\)](#)
- Species: [Escherichia coli](#) (240 proteins)
- Localization: [Bacterial Gram-negative inner membrane](#) (440 proteins)



3D view in [Jmol](#) or [Webmol](#)

[Download Coordinates](#)

Topology in Bacterial Gram-negative inner membrane

out side

in side



1u7g » Ammonia Channel	
Hydrophobic Thickness	29.8 ± 1.3 Å
Tilt Angle	0 ± 0°
ΔG _{transfer}	-148.7 kcal/mol
Links to 1u7g	PDB Sum , PDB , SCOP , MSD , OCA , MMDB
Topology	subunit A (N-terminus out)
Resolution	1.40 Å
Other PDB entries representing this structure	1u77 , 1u7c , 1xqe , 1xqf , 2nmr , 2nop , 2now , 2npc , 2npd , 2npe , 2npg , 2npj , 2npk , 3c1g , 3c1h , 3c1i , 3c1j , 4nh2
Number of TM Secondary Structures	33

3 transmembrane subunits

- A - Tilt: 7° - Segments: 1(11-32), 2(44-68), 3(98-120), 4(125-149), 5(164-179), 6(200-219), 7(227-251), 8(258-278), 9(281-299), 10(312-333), 11(349-377)
- B - Tilt: 7° - Segments: 1(11-32), 2(44-68), 3(98-120), 4(125-149), 5(164-179), 6(200-219), 7(227-251), 8(258-278), 9(281-299), 10(312-333), 11(349-377)
- C - Tilt: 7° - Segments: 1(11-32), 2(44-68), 3(98-120), 4(125-149), 5(164-179), 6(200-219), 7(227-251), 8(258-278), 9(281-299), 10(312-333), 11(349-377)

«Толщина гидрофобной части»

- Толщина мембраны – около 4 нм (40\AA).
- Но – это вместе с головками фосфолипидов (а они большие!)
- Величина D поэтому всегда меньше «табличного» значения

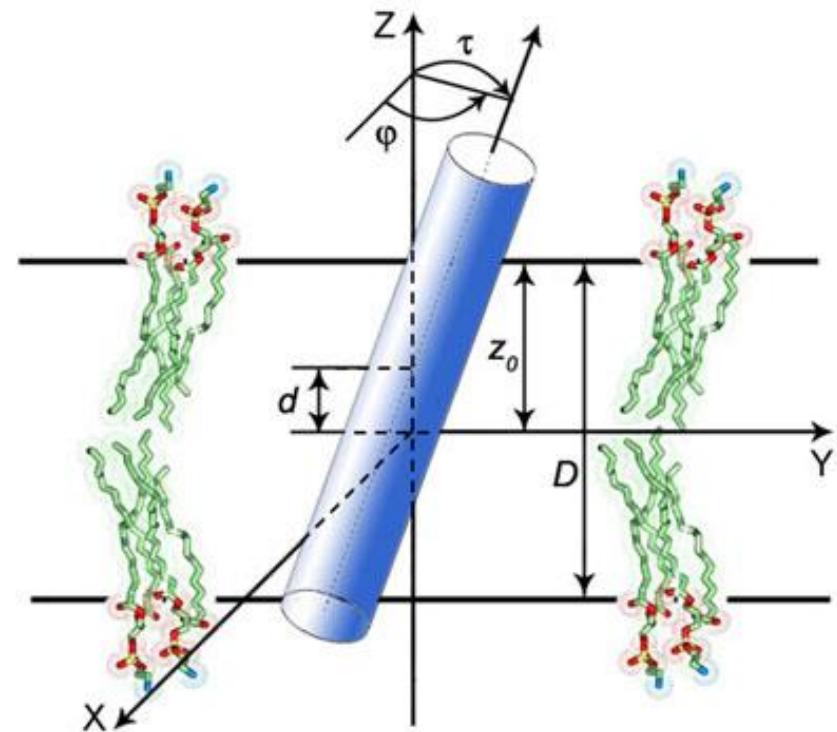
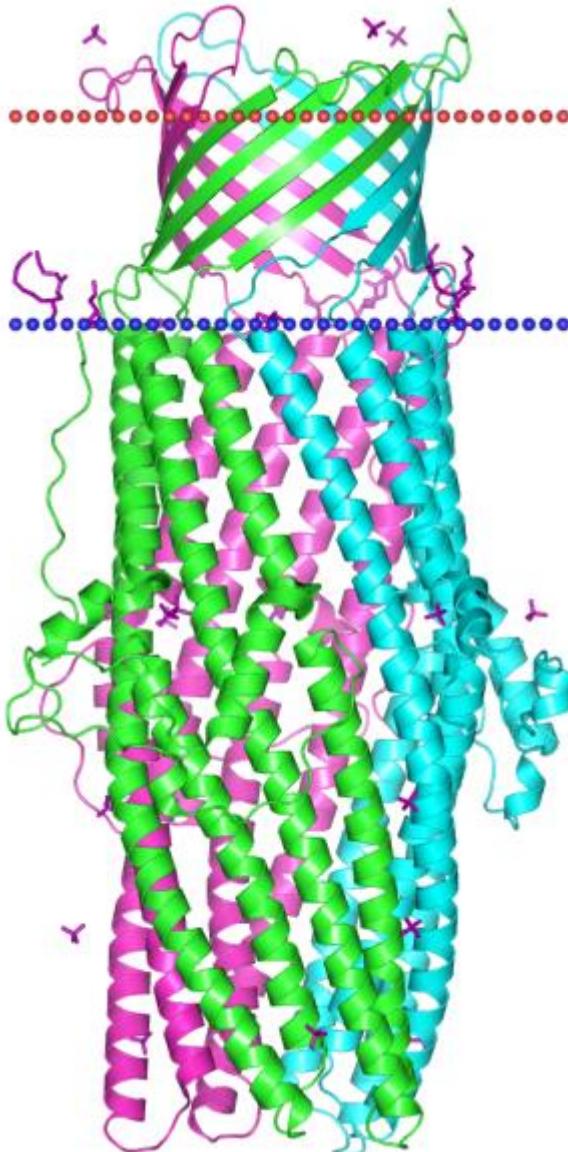


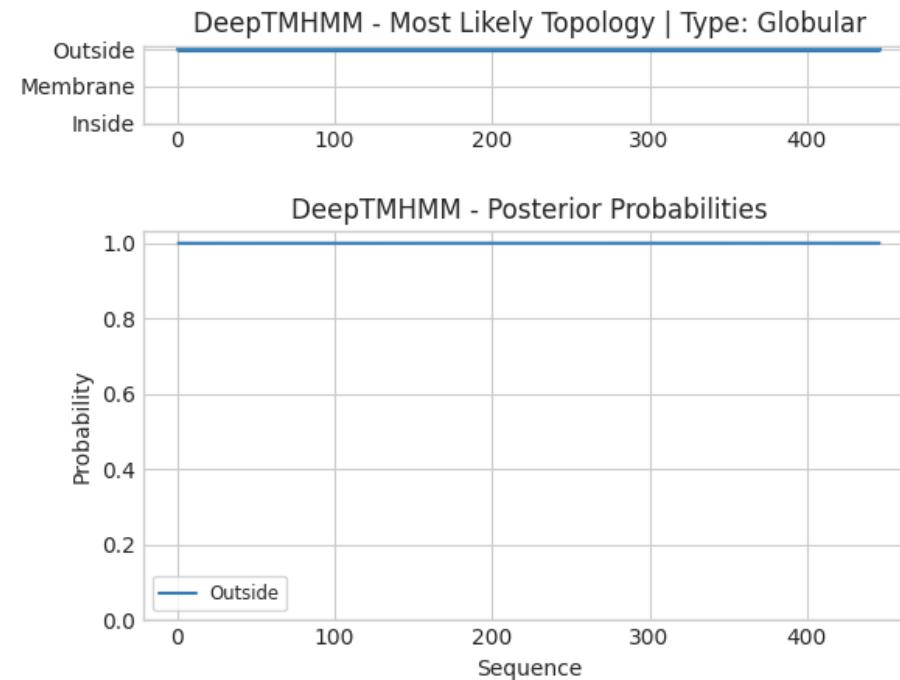
Figure 1. Schematic representation of a transmembrane protein in a hydrophobic slab.

d , shift along the bilayer normal; D , **hydrophobic thickness** ($D=2z_0$); Φ , rotation angle; τ , tilt angle.

DeepTMHMM может ошибаться



Как вы думаете, почему в данном случае DeepTMHMM не смог предсказать трансмембранных участков?



Cation efflux system protein CusC (PDB:3pik)

База данных транспортеров TCDB

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

Полезная база данных: можно найти белки сходные с заданным в базе, почитать про них (со ссылками), посмотреть, т.е. «вытащить» комплекс белков по одной субъединице

Система классификации ТС (Transport Classification)

TCV.W.X.Y.Z.


Класс, подкласс, Субстрат?..
семейство

Классификация в TCDB

Transporter Classification Database

Search TCDB: (?)

HOME CONTENTS SUPERFAMILIES TC-SYSTEM HELP

Functional and Phylogenetic Classification of Membrane Transport Proteins

The database details a comprehensive IUBMB approved classification system for membrane transport proteins known as the Transporter Classification (TC) system. The TC system is similar to the Enzyme Commission (EC) system for enzymes, except that it incorporates both functional and sequence information. The system uses external references for 1920 families of transporters, each with its own unique identifier and detailed description. The classification is based on specific criteria, and each of these criteria corresponds to a specific type of transporter.

(you can find more detailed information about the TC system at [this link](#))

Some facts about TCDB:

- » TCDB is a curated database of factual information about membrane transporters.
- » The database contains 23500 protein sequences.
- » These proteins are classified into 1920 transport families.

[1] Saier MH, Reddy VS, Moreno-Hagelsieb G, Hwang D, Soto A. (2021). The Transporter Classification System: Recent updates. Nucleic Acids Res. 44(D1):D1-D10.

[2] Saier MH, Reddy VS, Tsu BV, Ahmed MS, Li Y, Hwang D, Soto A. (2021). Recent advances. Nucleic Acids Res. 44(D1):D11-D19.

[3] Saier MH, Reddy VS, Tamang DG, Vastermaan S, Hwang D, Soto A. (2021). The Transporter Classification System: Recent updates. Nucleic Acids Res. 44(D1):D251-8 [24225317].

[4] Saier MH Jr, Yen MR, Noto K, Tamang DG, Hwang D, Soto A. (2021). Recent advances. Nucleic Acids Res. 37:D274-8. [19022853].

[5] Saier MH Jr, Tran CV, Barabote RD. (2006). The Transporter Classification System: Recent updates. Nucleic Acids Res. 34:D181-6. [16381841].