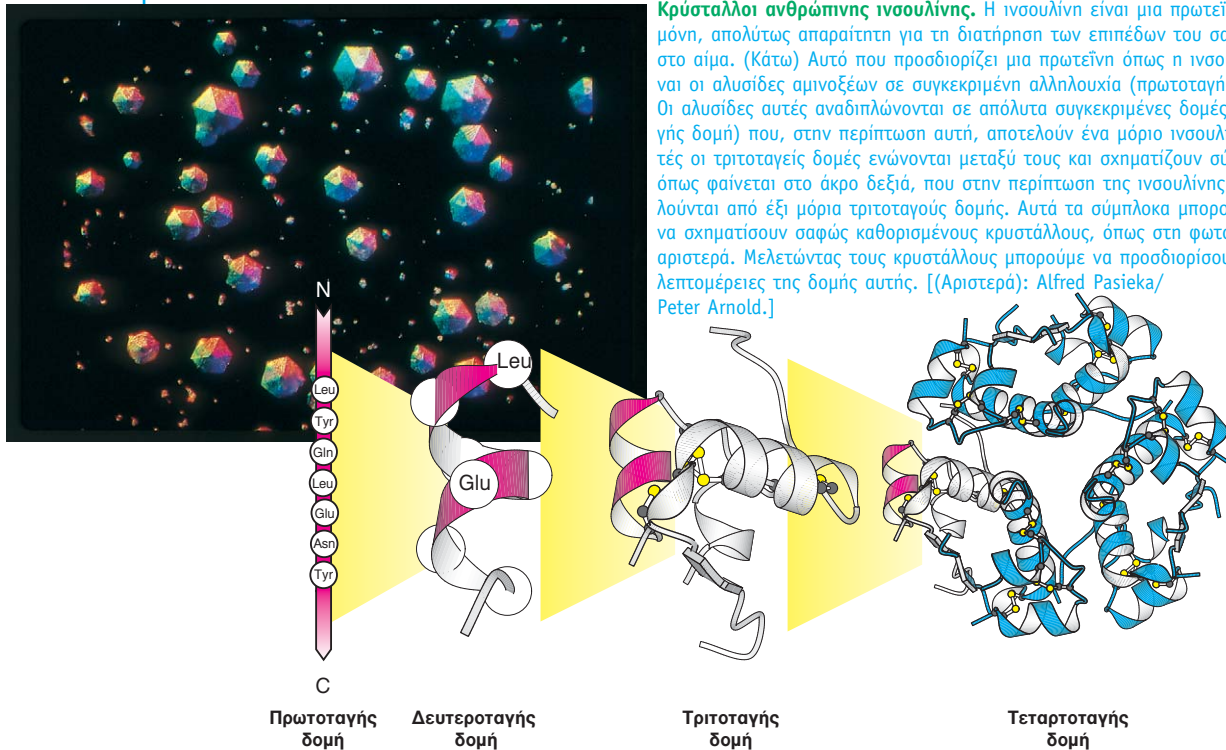


Δομή και λειτουργία των πρωτεϊνών



Οι *πρωτεΐνες* είναι τα πιο πολυδύναμα μακρομόρια στους ζώντες οργανισμούς και εξυπηρετούν βασικές λειτουργίες σε όλες σχεδόν τις βιολογικές διεργασίες. Λειτουργούν ως καταλύτες, μεταφορείς και αποθηκευτές άλλων μορίων, όπως το οξυγόνο, παρέχουν μηχανική στήριξη και ανοσοπροστασία, δημιουργούν κίνηση, διαβιβάζουν νευρικές ώσεις και ρυθμίζουν την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση. Πράγματι, ένα μεγάλο μέρος του κεφαλαίου αυτού είναι αφιερωμένο στην κατανόηση των λειτουργιών των πρωτεϊνών αλλά και των μηχανισμών που επιτρέπουν στις πρωτεΐνες να είναι τα κατάλληλα μακρομόρια για τις λειτουργίες αυτές.

Διάφορες βασικές ιδιότητες επιτρέπουν στις πρωτεΐνες να συμμετέχουν σε ένα τόσο ευρύ φάσμα λειτουργιών.

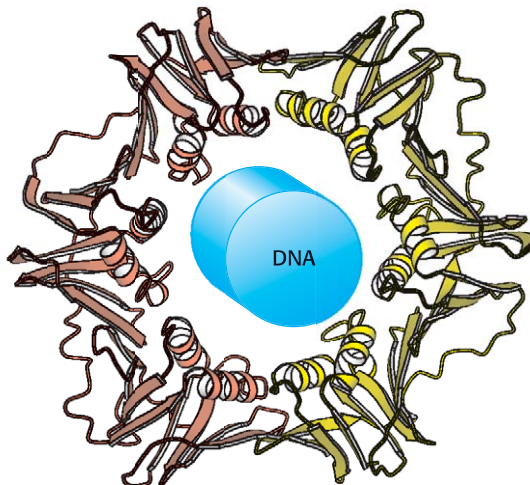
1. Οι *πρωτεΐνες* είναι γραμμικά πολυμερή δομούμενα από μονομερή αμινοξέων. Η δημιουργία μεγάλων αλυσίδων μακρομορίων που δομούνται από περιορισμένο αριθμό μονομερών είναι κάτι που απαντά συχνά στη βιοχημεία. Με ποιον τρόπο η λειτουργία μιας πρωτεΐνης εξαρτάται από τη γραμμική αλληλουχία των αμινοξέων της; Η λειτουργία μιας πρωτεΐνης εξαρτάται άμεσα από την τριδιάστατη δομή της (Εικόνα 3.1). Το εντυπωσιακό είναι ότι οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται αυτόματα σε τριδιάστατες δομές που καθορίζονται από την αλληλουχία των αμινοξέων του πρωτεϊνικού πολυμερούς. Επομένως, οι *πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν τη μετάβαση από τον μονοδιάστατο κόσμο των αλληλουχιών στον τριδιάστατο κόσμο των μορίων που παρουσιάζουν μεγάλο εύρος λειτουργιών.*

ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ

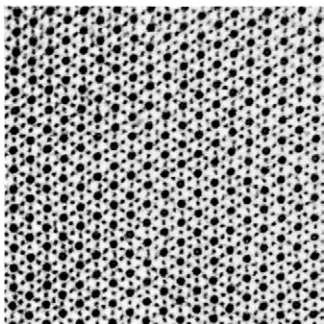
- **3.1** Οι *πρωτεΐνες* δομούνται από ένα σύνολο 20 αμινοξέων
- **3.2** Πρωτοταγής δομή: Τα αμινοξέα συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς για να σχηματίσουν πολυπεπτιδικές αλυσίδες
- **3.3** Δευτεροταγής δομή: Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να αναδιπλώνονται σε κανονικές δομές όπως η α -έλικα, η β -πτυχωτή επιφάνεια, οι στροφές και οι θηλιές
- **3.4** Τριτοταγής δομή: Οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σε συμπαγείς δομές με μη πολικά κέντρα
- **3.5** Τεταρτοταγής δομή: Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να συγκροτήσουν δομές πολλών υπομονάδων
- **3.6** Η αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριδιάστατη δομή της



ΕΙΚΟΝΑ 3.1 Η δομή καθορίζει τη λειτουργία. Ένα πρωτεϊνικό συστατικό του μηχανισμού αντιγραφής του DNA περιβάλλει μια περιοχή της διπλής έλικας του DNA. Η δομή της πρωτεΐνης επιτρέπει σε ένα μεγάλο τμήμα του DNA να αντιγραφεί χωρίς να απομακρυνθεί ο μηχανισμός από το DNA.



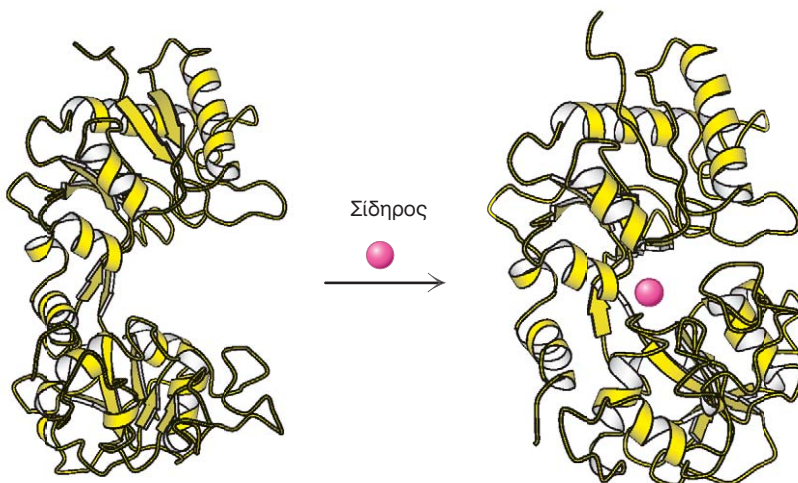
2. Οι πρωτεΐνες περιέχουν μια μεγάλη σειρά λειτουργικών ομάδων. Οι ομάδες αυτές περιλαμβάνουν αλκοόλες, θειόλες, θειοαιθέρους, καρβοξυλικές ομάδες, καρβαμίδια και ποικιλία βασικών ομάδων. Όταν συνδυάζονται σε διάφορες αλληλουχίες, οι λειτουργικές αυτές ομάδες ερμηνεύουν το φάσμα των λειτουργιών των πρωτεϊνών. Παραδείγματος χάριν, η χημική αντιδραστικότητα που οφείλεται στις ομάδες αυτές είναι απαραίτητη για τη λειτουργία των ενζύμων, των πρωτεϊνών οι οποίες καταλύουν ειδικές χημικές αντιδράσεις στα βιολογικά συστήματα (βλ. Κεφάλαια 8-10).



ΕΙΚΟΝΑ 3.2 Ένα πολύπλοκο συσσωμάτωμα πρωτεΐνης. Μια ηλεκτρονιομικρογραφία τομής ιστού εντόμου εμφανίζει εξαγωνική διάταξη που οφείλεται σε δύο πρωτεϊνικά νημάτια. [Ευγενική προσφορά Dr. Michael Reedy].

3. Οι πρωτεΐνες μπορούν να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους και με άλλα βιολογικά μακρομόρια, για να δημιουργήσουν πολύπλοκα συσσωματώματα. Μέσα στα συσσωματώματα αυτά, οι πρωτεΐνες μπορούν να δράσουν συνεργειακά και να εμφανίσουν ιδιότητες που δεν προϋπήρχαν στα ανεξάρτητα μακρομόρια (Εικόνα 3.2). Στα συσσωματώματα περιλαμβάνονται μακρομοριακές μηχανές που επιτυγχάνουν την ακριβή αντιγραφή του DNA, τη μεταγωγή σήματος μέσα στο κύτταρο, αλλά και πολλές άλλες απαραίτητες διεργασίες.

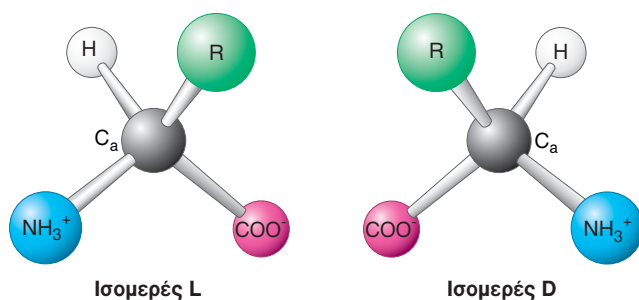
4. Μερικές πρωτεΐνες είναι σχεδόν άκαμπτες, ενώ υπάρχουν άλλες που εμφανίζουν μια σχετική ευκαμψία. Οι άκαμπτες μονάδες μπορούν να λειτουργήσουν ως δομικά στοιχεία του κυτταρικού σκελετού ή του συνδετικού ιστού. Τα τμήματα των πρωτεϊνών που παρουσιάζουν περιορισμένη ευκαμψία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αρθρωτά τμήματα, ελατήρια ή μοχλοί απαραίτητα για την πρωτεϊνική λειτουργία, για τη σύνδεση πρωτεϊνών μεταξύ τους και με άλλα μόρια σε πολύπλοκα σύμπλοκα και για τη μεταβίβαση πληροφοριών μεταξύ κυττάρων αλλά και μέσα στα κύτταρα (Εικόνα 3.3).



ΕΙΚΟΝΑ 3.3 Ευκαμψία και λειτουργία. Η πρωτεΐνη λακτοφερρίνη όταν δεσμεύει σίδηρο αλλάζει δομή, επιτρέποντας έτσι σε άλλα μόρια να ξεχωρίσουν το μόριο που έχει σίδηρο από εκείνο που δεν έχει.

3.1 ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΔΟΜΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΝΑ ΣΥΝΟΛΟ 20 ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

Τα αμινοξέα είναι οι δομικές μονάδες των πρωτεϊνών. Ένα α-αμινοξύ αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο άνθρακα, που λέγεται α-άνθρακας, συνδεδεμένο με μια αμινική ομάδα, μια καρβοξυλική ομάδα, ένα άτομο υδρογόνου και μια χαρακτηριστική ομάδα R. Η ομάδα R πολλές φορές ονομάζεται και *πλευρική αλυσίδα*. Έχοντας τέσσερις διαφορετικές ομάδες συνδεδεμένες στο τετράεδρο του ατόμου του α-άνθρακα, τα α-αμινοξέα είναι *χειρόμορφα* (chiral). Τα δύο κατοπτρικά είδωλα ονομάζονται L- και D-ισομερές (Εικόνα 3.4).



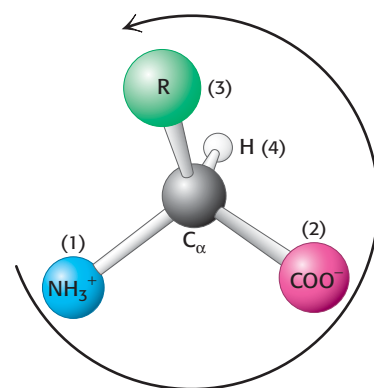
ΕΙΚΟΝΑ 3.4 Τα ισομερή των αμινοξέων είναι D και L. Το σύμβολο R σημαίνει οποιαδήποτε πλευρική αλυσίδα. Τα D και L είναι εναντιομερή, δηλαδή αποτελούν αντίστροφες εικόνες το ένα του άλλου.

Μόνο L-αμινοξέα απαντούν στις πρωτεΐνες. Για όλα σχεδόν τα αμινοξέα, το L-ισομερές έχει διαμόρφωση S και όχι R (Εικόνα 3.5). Αν και έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να εξηγηθεί γιατί τα αμινοξέα των πρωτεϊνών έχουν αυτήν την απόλυτη διαμόρφωση, δεν υπάρχει ακόμη ικανοποιητική εξήγηση. Ίσως η επιλογή του L-ισομερούς σε σχέση με το D να έγινε τυχαία αλλά νωρίς στην εξέλιξη και στη συνέχεια, αφού έγινε, παρέμεινε σταθερή.

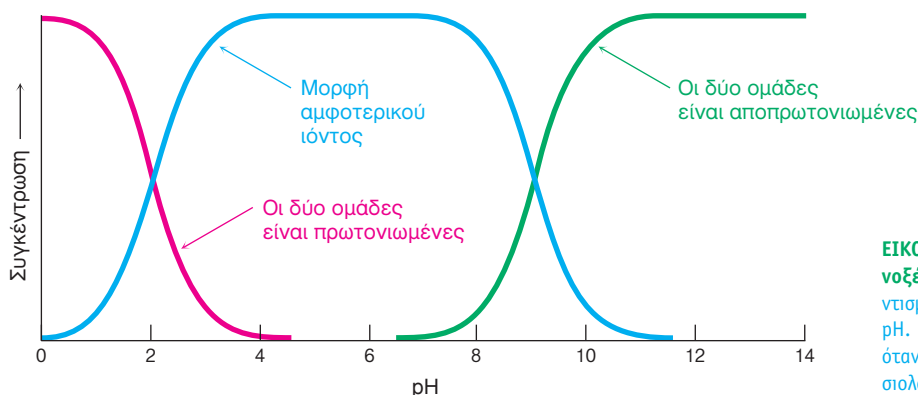
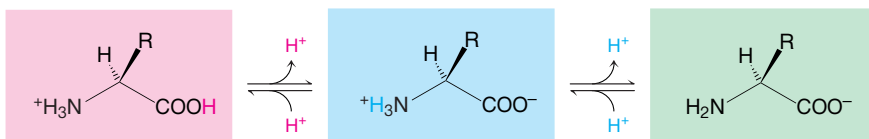
Τα αμινοξέα σε διάλυμα που έχει ουδέτερο pH συμπεριφέρονται σαν *διπολα ιόντα* (που ονομάζονται και *αμφοτερικά ιόντα*, zwitterions). Στη διπολική μορφή η αμινική ομάδα είναι πρωτονιωμένη ($-NH_3^+$) και η καρβοξυλική ομάδα είναι αποπρωτονιωμένη ($-COO^-$). Ο βαθμός ιοντισμού ενός αμινοξέος ποικίλλει ανάλογα με το pH (Εικόνα 3.6). Σε όξινο διάλυμα (π.χ. pH 1), η αμινική ομάδα είναι πρωτονιωμένη ($-NH_3^+$) και η καρβοξυλική ομάδα είναι ανέπαφη ($-COOH$). Καθώς αυξάνεται το pH, η πρώτη ομάδα που απελευθερώνει

Σημείωση για τη διάκριση των στερεομερών—

Στους τέσσερις διαφορετικούς υποκαταστάτες ενός ασύμμετρου ατόμου άνθρακα καθορίζεται προτεραιότητα ανάλογα με τον ατομικό αριθμό τους. Ο υποκαταστάτης με τη μικρότερη προτεραιότητα, συνήθως το H, είναι ο πιο απομακρυσμένος από τον παρατηρητή. Η διαμόρφωση γύρω από τον άνθρακα ονομάζεται S και R, από τις λατινικές λέξεις sinister – αριστερός και rectus – δεξιός. Διαμόρφωση S είναι εκείνη στην οποία η πρόοδος από τη μεγαλύτερη προς τη μικρότερη προτεραιότητα είναι αντίθετη προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού, ενώ διαμόρφωση R είναι εκείνη στην οποία η πρόοδος ακολουθεί τη φορά των δεικτών του ρολογιού.

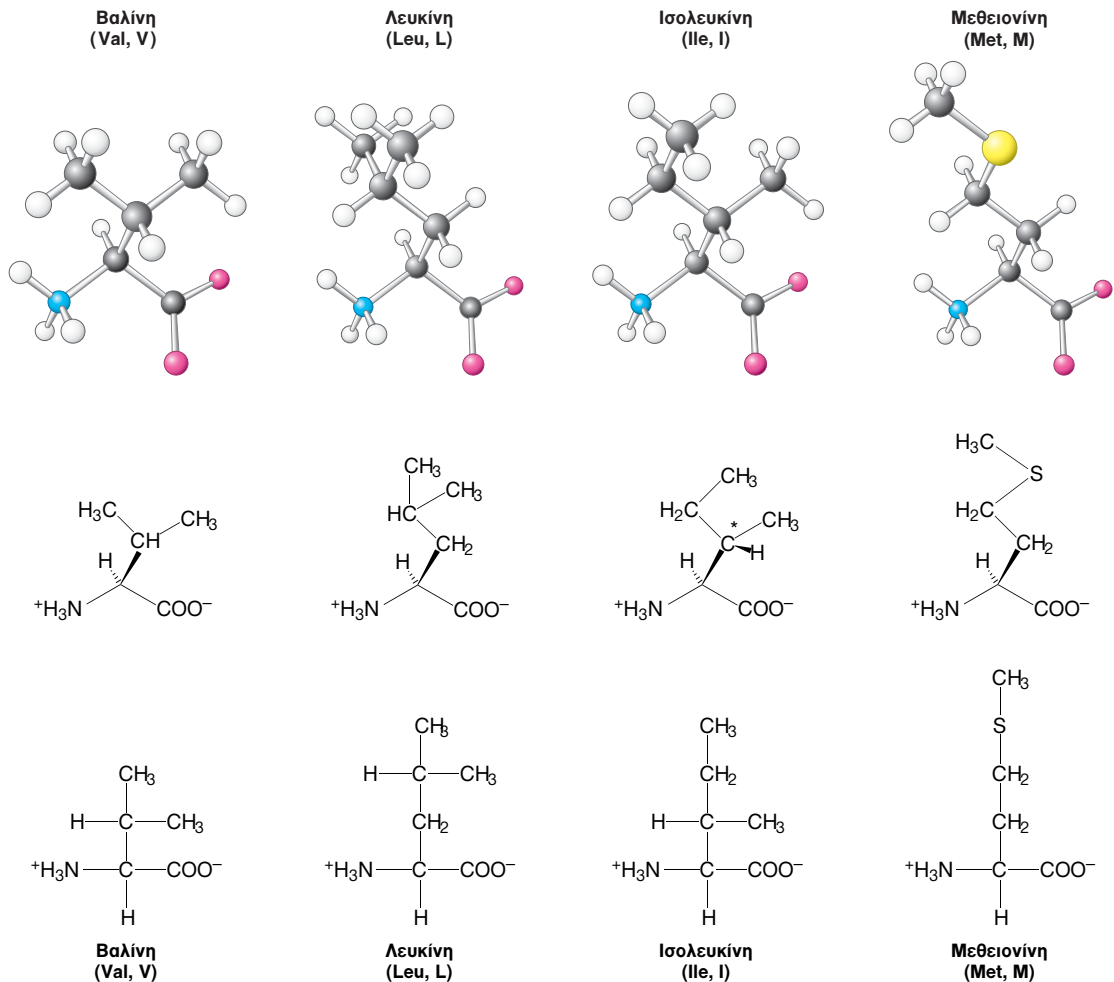
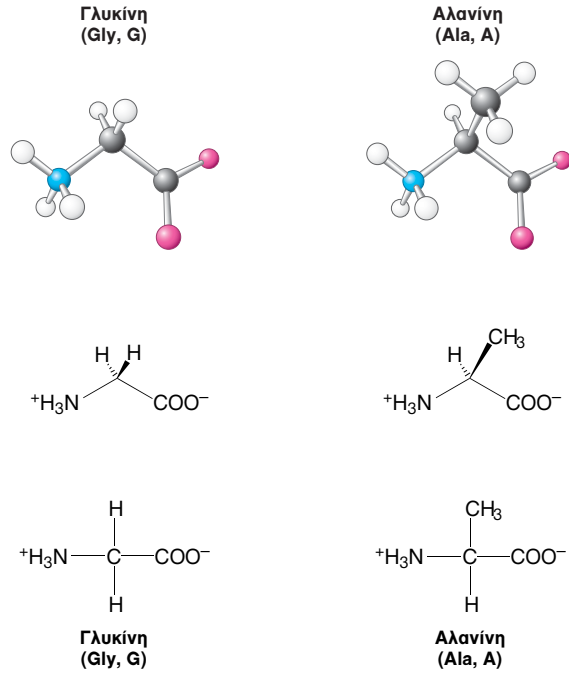


ΕΙΚΟΝΑ 3.5 Στις πρωτεΐνες απαντούν μόνο L-αμινοξέα. Όλα σχεδόν τα L-αμινοξέα έχουν απόλυτη διαμόρφωση S (από το λατινικό sinister που σημαίνει αριστερός). Το βέλος δείχνει την πρόοδο από τη μεγαλύτερη προς τη μικρότερη προτεραιότητα, η οποία είναι αντίθετη προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού και επομένως το χειρόμορφο κέντρο έχει διαμόρφωση S.



ΕΙΚΟΝΑ 3.6 Η κατάσταση ιοντισμού των αμινοξέων σχετίζεται με το pH. Η κατάσταση ιοντισμού των αμινοξέων αλλάζει όταν αλλάζει το pH. Η μορφή αμφοτερικού ιόντος υπερισχύει όταν το pH βρίσκεται κοντά στη φυσιολογική.

ΕΙΚΟΝΑ 3.7 Η δομή της γλυκίνης και της αλανίνης. (Επάνω) Τα μοντέλα με σφαίρες και ράβδους δείχνουν τη διάταξη των ατόμων και των δεσμών στον χώρο. (Μέσον) Στερεοχημικά ρεαλιστικοί τύποι δείχνουν τη γεωμετρική διάταξη των δεσμών γύρω από τα άτομα (βλ. Κεφάλαιο 1-Παράρτημα). (Κάτω) Προβολές Fischer που δείχνουν όλους τους δεσμούς κάθετους για απλούστευση της απεικόνισης (βλ. Κεφάλαιο 1-Παράρτημα).



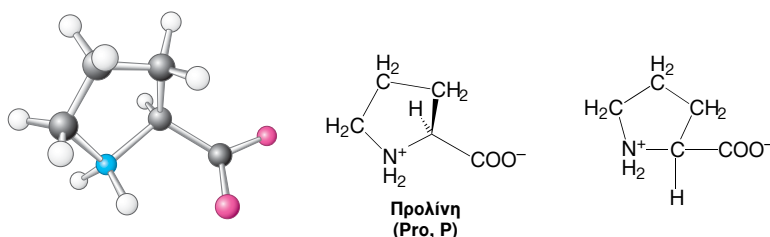
ΕΙΚΟΝΑ 3.8 Αμινοξέα με αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες. Το δεύτερο χειρόμορφο άτομο άνθρακα της ισολευκίνης σημειώνεται με αστερίσκο.

πρωτόνιο είναι η καρβοξυλική ομάδα, εφόσον το pK_a για αυτήν είναι κοντά στο 2. Η διπολική μορφή συνεχίζεται μέχρι το pH να πλησιάζει το 9, όταν η πρωτονιωμένη αμινική ομάδα χάνει ένα πρωτόνιο. Για μια επανάληψη των εννοιών οξέος - βάσης και του pH, βλέπε το παράρτημα του κεφαλαίου αυτού.

Υπάρχουν είκοσι είδη πλευρικών αλυσίδων στις πρωτεΐνες, που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος, το σχήμα, το φορτίο, τη δεσμευτική συγγένεια υδρογόνου, την υδροφοβικότητα και τη χημική αντιδραστικότητα. Πράγματι, όλες οι πρωτεΐνες, σε όλα τα είδη —βακτηριακές, αρχαϊκές και ευκαρυωτικές— είναι δομημένες από τα ίδια 20 αμινοξέα. Αυτό το βασικό αλφάβητο των πρωτεϊνών δημιουργήθηκε πριν από αρκετά δισεκατομμύρια χρόνια. Η καταπληκτική ποικιλία πρωτεϊνικών λειτουργιών είναι αποτέλεσμα της ποικιλότητας και ποικιλομορφίας αυτών των 20 δομικών στοιχείων. Η κατανόηση της χρήσης του αλφαβήτου στη δημιουργία των πολύπλοκων τριδιάστατων δομών που επιτρέπουν στις πρωτεΐνες να συμμετέχουν σε τόσες βιολογικές διεργασίες είναι ένα συναρπαστικό τμήμα της βιοχημείας και θα το αναλύσουμε στο Υποκεφάλαιο 3.6.

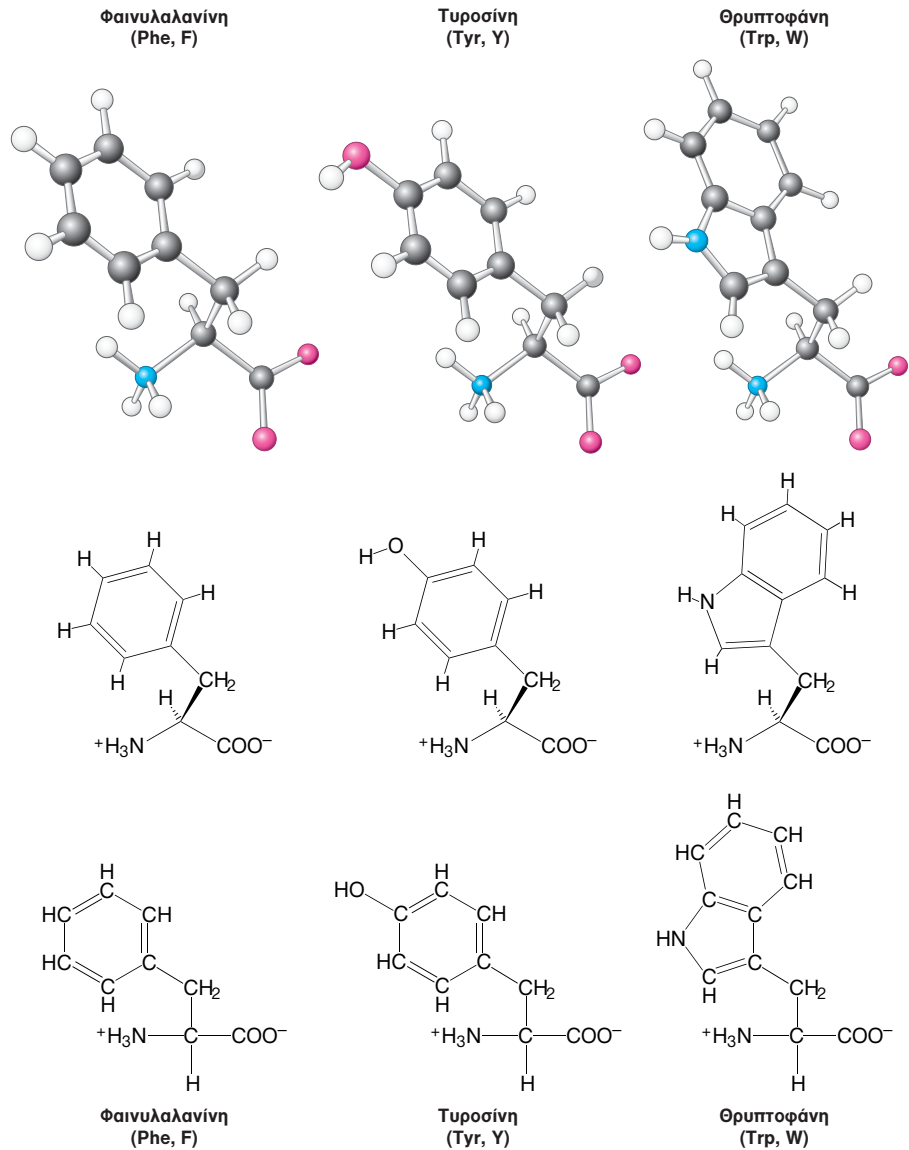
Ας παρατηρήσουμε τώρα αυτά τα 20 αμινοξέα. Το απλούστερο είναι η γλυκίνη, που έχει μόνο ένα άτομο υδρογόνου ως πλευρική αλυσίδα. Έχοντας δύο άτομα υδρογόνου συνδεδεμένα με ένα άτομο α -άνθρακα, η γλυκίνη είναι μοναδική διότι δεν είναι χειρόμορφη. Η αλανίνη, που είναι το επόμενο απλούστερο αμινοξύ, έχει μια μεθυλική ομάδα ($-\text{CH}_3$) για πλευρική αλυσίδα (Εικόνα 3.7)

Μεγαλύτερες αλυσίδες υδατανθράκων υπάρχουν στη βαλίνη, τη λευκίνη και την ισολευκίνη (Εικόνα 3.8). Η μεθειονίνη έχει μια πλευρική αλυσίδα που είναι κυρίως αλειφατική και περιλαμβάνει έναν θειοαιθέρα ($-\text{S}-$). Στην ισολευκίνη η πλευρική αλυσίδα περιλαμβάνει ένα ακόμη χειρόμορφο κέντρο, στις πρωτεΐνες όμως υπάρχει μόνο το ισομερές της Εικόνας 3.8. Οι μεγαλύτερες αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες είναι υδρόφοβες — έχουν την τάση δηλαδή να δημιουργούν συσσωματώματα μεταξύ τους παρά να έρχονται σε επαφή με το νερό. Η τριδιάστατη δομή των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών σταθεροποιείται από την τάση των υδρόφοβων ομάδων να βρίσκονται κοντά η μία στην άλλη, τάση που ονομάζεται φαινόμενο υδροφοβικότητας (Εδάφιο 1.3.4). Επειδή τα μεγέθη και τα σχήματα των υδρόφοβων ομάδων είναι διαφορετικά, τα συμπαγή κέντρα που δημιουργούνται από αυτές αφήνουν μερικούς κενούς χώρους που μοιάζουν με τρύπες. Η προλίνη έχει επίσης αλειφατική πλευρική αλυσίδα, διαφέρει όμως από τα άλλα 20 αμινοξέα διότι η πλευρική αλυσίδα της συνδέεται και με το άτομο του αζώτου και με το άτομο του α -άνθρακα (Εικόνα 3.9). Η προλίνη μπορεί να επηρεάσει ιδιαίτερα την πρωτεϊνική αρχιτεκτονική διότι ο δακτύλιος της δομής της την κάνει πιο άκαμπτη από ό,τι τα άλλα αμινοξέα.



ΕΙΚΟΝΑ 3.9 Κυκλικές δομές προλίνης. Η πλευρική αλυσίδα συνδέεται και με το άτομο του α -άνθρακα και με την αμινική ομάδα.

Στο βασικό σύνολο των αμινοξέων περιλαμβάνονται και τρία αμινοξέα με απλές αρωματικές πλευρικές αλυσίδες (Εικόνα 3.10). Η φαινυλαλανίνη, όπως δηλώνει και το όνομά της, περιέχει έναν φαινολικό δακτύλιο συνδεδεμένο στη θέση ενός από τα υδρογόνα της αλανίνης. Ο αρωματικός δακτύλιος της τυροσίνης περιέχει υδροξύλιο. Το υδροξύλιο αυτό εμφανίζει αντιδραστικότητα, σε αντίθεση με τις πλευρικές αλυσίδες άλλων αμινοξέων που συζητήσαμε ως τώρα, οι οποίες είναι μάλλον αδρανείς. Η θρυπτοφάνη έχει έναν ινδολικό δακτύ-



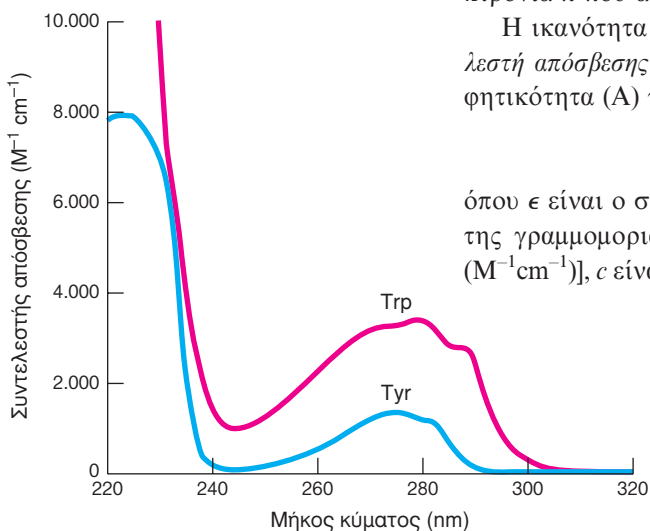
ΕΙΚΟΝΑ 3.10 Αμινοξέα με αρωματικές πλευρικές αλυσίδες. Η φαινυλαλανίνη, η τυροσίνη και η θρυπτοφάνη έχουν υδρόφοβο χαρακτήρα. Η τυροσίνη και η θρυπτοφάνη έχουν επίσης υδρόφιλες ιδιότητες διότι έχουν πλευρικές ομάδες -OH και -NH, αντίστοιχα.

λιο συνδεδεμένο με μια μεθυλενική ($-\text{CH}_2-$) ομάδα· η υνδολική ομάδα αποτελείται από δύο συνδεδεμένους δακτύλιους και μία ομάδα NH. Η φαινυλαλανίνη είναι καθαρά υδρόφοβη, ενώ η τυροσίνη και η θρυπτοφάνη είναι λιγότερο υδρόφοβες λόγω των ομάδων υδροξυλίου και NH. Ο αρωματικός δακτύλιος της θρυπτοφάνης και της τυροσίνης περιέχει απεντοπισμένα ηλεκτρόνια π που απορροφούν έντονα την υπεριώδη ακτινοβολία (Εικόνα 3.11).

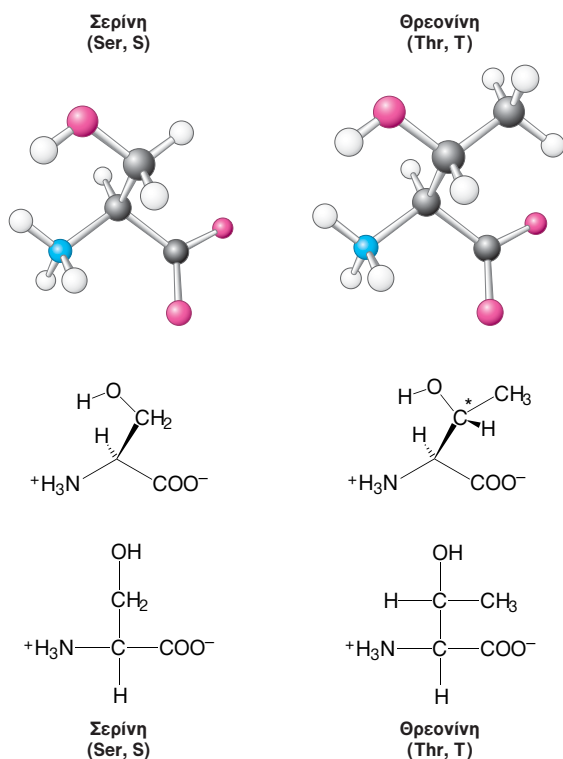
Η ικανότητα μιας ένωσης να απορροφά φως περιγράφεται από τον *συντελεστή απόσβεσης* (extinction coefficient). Ο νόμος του Beer δίνει την απορροφητικότητα (A) του φωτός για ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος:

$$A = \epsilon cl \quad \text{Νόμος του Beer}$$

όπου ϵ είναι ο συντελεστής απόσβεσης [σε μονάδες που είναι το αντίστροφο της γραμμομοριακότητας κατ' όγκο και της απόστασης σε εκατοστόμετρα ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)], c είναι η συγκέντρωση της ουσίας που απορροφά (σε μονάδες γραμ-



ΕΙΚΟΝΑ 3.11 Φάσματα απορρόφησης των αρωματικών αμινοξέων θρυπτοφάνη (κόκκινο) και τυροσίνη (μπλε). Αυτά είναι τα μόνα αμινοξέα που απορροφούν έντονα γύρω στα 280 nm. [Ευγενική προσφορά Gregory J. Gatto.]

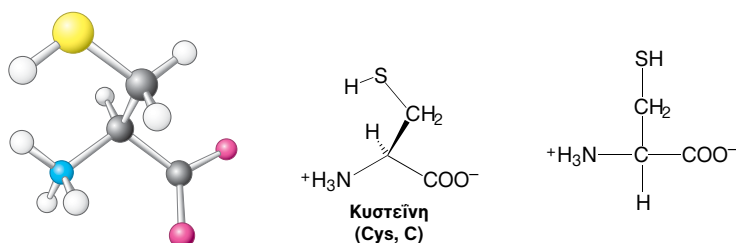


ΕΙΚΟΝΑ 3.12 Αμινοξέα που περιέχουν αλειφατικές υδροξυλικές ομάδες. Η σερίνη και η θρεονίνη περιέχουν υδροξυλικές ομάδες που τις κάνουν υδρόφιλες. Το πρόσθετο χειρόμορφο κέντρο στη θρεονίνη σημειώνεται με αστερίσκο.

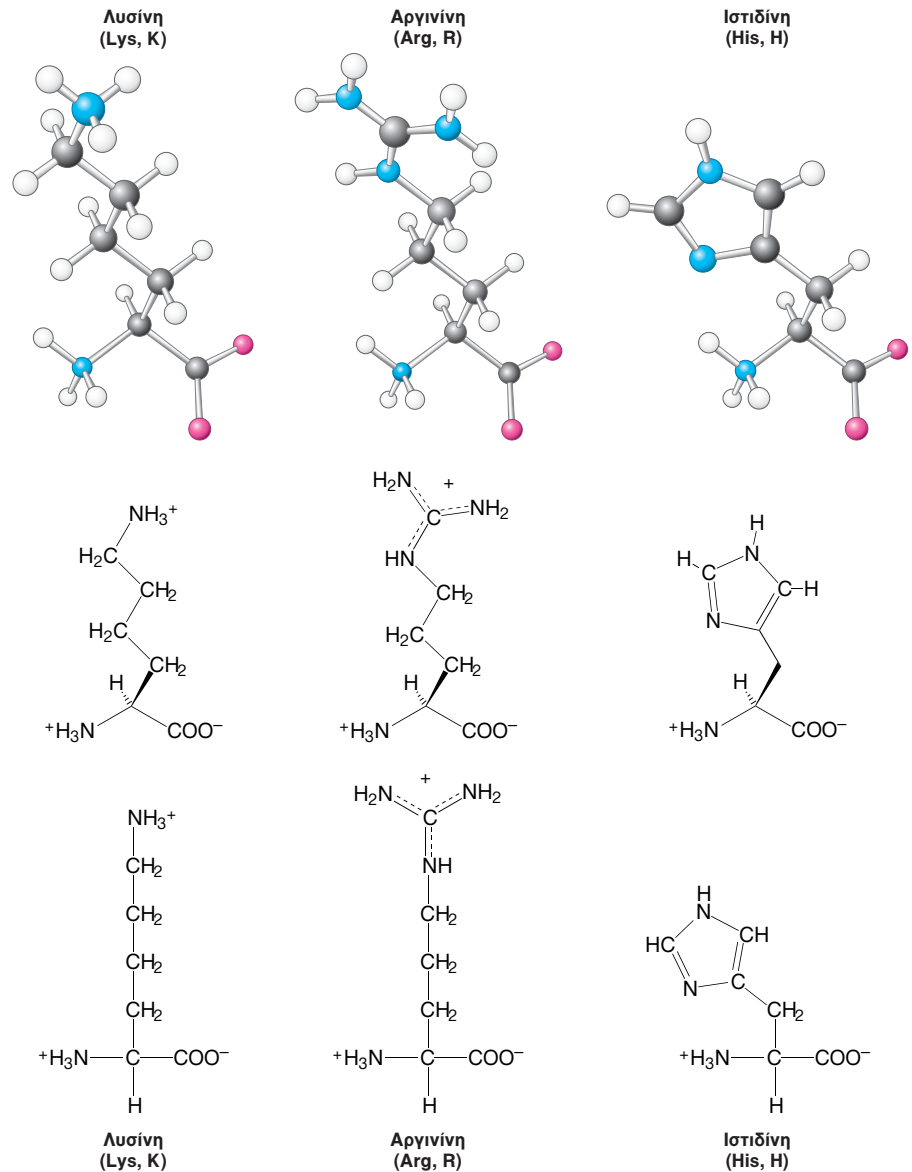
μομοριακότητας κατ' όγκο, M) και l είναι το μήκος που διανύει το φως (σε μονάδες εκατοστομέτρων). Για τη θρυπτοφάνη, το μέγιστο απορρόφησης είναι στα 280 nm και ο συντελεστής απόσβεσης $3400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, ενώ για την τυροσίνη η απορρόφηση έχει μέγιστο στα 276 nm και ο συντελεστής απόσβεσης είναι μικρότερος, $1400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Η φαινυλαλανίνη απορροφά φως λιγότερο έντονα και σε μικρότερα μήκη κύματος. Η απορρόφηση του φωτός στα 280 nm μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης μιας πρωτεΐνης στο διάλυμα, αν είναι γνωστός ο αριθμός των καταλοίπων τυροσίνης και θρυπτοφάνης που υπάρχουν στην πρωτεΐνη.

Δύο αμινοξέα, η σερίνη και η θρεονίνη, περιέχουν αλειφατικές υδροξυλικές ομάδες (Εικόνα 3.12). Η σερίνη μπορεί να θεωρηθεί μια υδροξυλιωμένη αλανίνη, ενώ η θρεονίνη μοιάζει με τη βαλίνη με μια υδροξυλική ομάδα στη θέση μιας μεθυλικής ομάδας της βαλίνης. Τα υδροξύλια της σερίνης και της θρεονίνης έχουν ως αποτέλεσμα τα αμινοξέα αυτά να είναι πολύ πιο υδρόφιλα και εύκολα στο να αντιδρούν σε σχέση με την αλανίνη και τη βαλίνη. Η θρεονίνη, όπως η ισολευκίνη, περιέχει συμπληρωματικά ασύμμετρα κέντρα· πάλι όμως μόνον ένα ισομερές εμφανίζεται στις πρωτεΐνες.

Η κυστεΐνη είναι δομικώς όμοια με τη σερίνη αλλά περιέχει μια σουλφυδρυλική, ή θειολική ($-\text{SH}$) ομάδα, στη θέση της υδροξυλικής ομάδας ($-\text{OH}$) (Εικόνα 3.13). Η υδροξυλική ομάδα είναι πολύ πιο δραστική. Τα ζεύγη των σουλφυδρυλικών ομάδων μπορεί να ενωθούν για να δώσουν δισουλφιδικούς δεσμούς, που είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στη σταθεροποίηση μερικών πρωτεϊνών, όπως θα δούμε σύντομα.



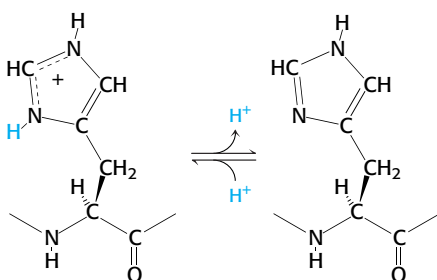
ΕΙΚΟΝΑ 3.13 Δομή της κυστεΐνης.



ΕΙΚΟΝΑ 3.14 Τα βασικά αμινοξέα λυσίνη, αργινίνη και ιστιδίνη.

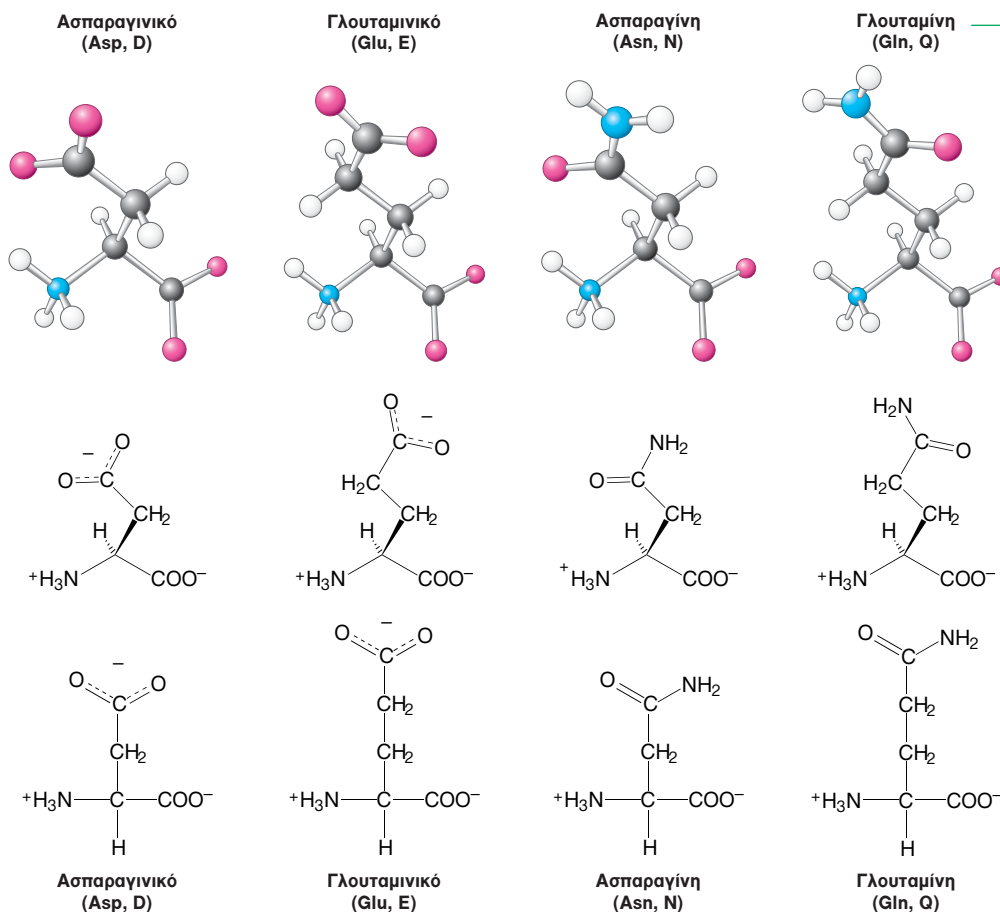


Ας πάμε τώρα σε αμινοξέα με ιδιαίτερα πολικές πλευρικές αλυσίδες που τα καθιστούν ιδιαίτερα υδρόφιλα. Η *λυσίνη* και η *αργινίνη* έχουν σχετικά μακριές πλευρικές αλυσίδες που τελειώνουν με ομάδες θετικά φορτισμένες σε ουδέτερο pH. Η λυσίνη τελειώνει σε αμινική ομάδα και η αργινίνη σε ομάδα γουανιδίνης. Η *ιστιδίνη* περιέχει μια ομάδα ιμιδαζολίου, έναν αρωματικό δακτύλιο που μπορεί να φορτιστεί (Εικόνα 3.14). Με pK_a κοντά στο 6, η ομάδα του ιμιδαζολίου μπορεί να είναι ή φορτισμένη θετικά ή αφόρτιστη σε ουδέτερο pH ανάλογα από το μικροπεριβάλλον στο οποίο θα βρεθεί (Εικόνα 3.15). Πράγματι, πολύ συχνά απαντά ιστιδίνη στο ενεργό κέντρο των ενζύμων, όπου το ιμιδαζόλιο μπορεί να δεσμεύει και να απελευθερώνει πρωτόνια κατά τη διάρκεια των ενζυμικών αντιδράσεων.



ΕΙΚΟΝΑ 3.15 Ο ιοντισμός της ιστιδίνης. Η ιστιδίνη μπορεί να δεσμεύει και να απελευθερώνει πρωτόνια κοντά στο φυσιολογικό pH.

Η ομάδα των αμινοξέων περιέχει και δύο μέλη με όξινες πλευρικές αλυσίδες: το *ασπαργινικό οξύ* και το *γλουταμινικό οξύ* (Εικόνα 3.16). Τα αμινοξέα αυτά λέγονται συνήθως *ασπαργινικό* και *γλουταμινικό* για να τονιστεί ότι οι πλευ-



ΕΙΚΟΝΑ 3.16 Αμινοξέα που έχουν καρβοξύλια και καρβοξυλαμίδια στις πλευρικές αλυσίδες τους.

ρικές αλυσίδες τους είναι τις πιο πολλές φορές αρνητικά φορτισμένες σε φυσιολογικό pH. Παρ' όλα αυτά, σε μερικές πρωτεΐνες αυτές οι πλευρικές αλυσίδες δέχονται πρωτόνια, και αυτή η ικανότητά τους είναι συχνά ιδιαίτερα σημαντική από λειτουργική άποψη. Η ομάδα αυτή διαθέτει επίσης μη φορτισμένα παράγωγα του ασπαραγινικού και του γλουταμινικού —την *ασπαραγίνη* και τη *γλουταμίνη*— που περιέχουν τελική ομάδα καρβοξυλαμιδίου αντί καρβοξυλίου (Εικόνα 3.16)

Επτά από τα 20 αμινοξέα έχουν πλευρικές αλυσίδες που εύκολα ιοντίζονται. Αυτά τα 7 αμινοξέα εύκολα δίνουν και δέχονται πρωτόνια, διευκολύνοντας αντιδράσεις ή τη δημιουργία ιοντικών δεσμών. Ο Πίνακας 3.1 περιλαμβάνει τις μορφές ισορροπίας και το pK_a ιοντισμού των πλευρικών αλυσίδων τυροσίνης, κυστεΐνης, αργινίνης, λυσίνης, ιστιδίνης, ασπαραγινικού και γλουταμινικού στις πρωτεΐνες. Δύο άλλες ομάδες στις πρωτεΐνες —η α-αμινο-τελική ομάδα και η α-καρβοξυ-τελική ομάδα— μπορούν να ιοντιστούν. Στον Πίνακα 3.1 περιλαμβάνονται επίσης τα τυπικά pK_a και για τις ομάδες αυτές.

Τα αμινοξέα συχνά χαρακτηρίζονται με ένα ή με τρία γράμματα (Πίνακας 3.2). Οι συντομογραφίες των τριών γραμμάτων χρησιμοποιούν τα τρία πρώτα γράμματα του ονόματός τους στην αγγλική, εκτός από την ασπαραγίνη (Asn), τη γλουταμίνη (Gln), την ισολευκίνη (Ile) και τη θρυπτοφάνη (Trp). Τα σύμβολα ενός γράμματος για πολλά αμινοξέα αντιστοιχούν στο πρώτο γράμμα του ονόματός τους (π.χ. G για τη γλυκίνη, L για τη λευκίνη). Τα υπόλοιπα γράμματα συμφωνήθηκαν με σύμβαση. Τα σύμβολα αυτά και οι συντομογραφίες είναι βασικά στοιχεία του λεξιλογίου της βιοχημείας.



Πώς αυτά ειδικά τα 20 αμινοξέα έγιναν τα δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών; Πρώτον, έχουν ποικιλότητα: τα δομικά και τα χημικά χαρα-

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1 Τυπικές τιμές pK_a ιοντιζόμενων ομάδων στις πρωτεΐνες.

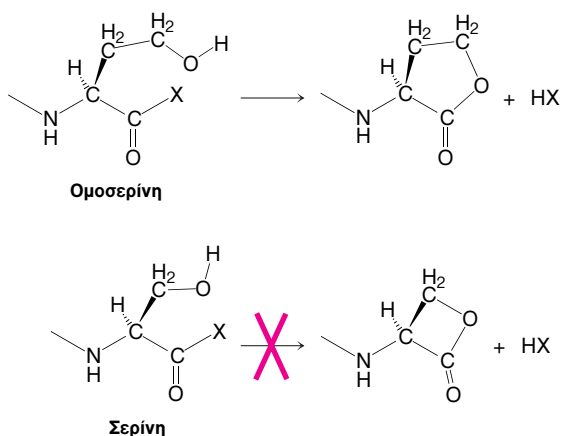
Ομάδα	Οξύ	\rightleftharpoons	Βάση	Τυπικό pK_a^*
Τελική α -καρβοξυλομάδα		\rightleftharpoons		3,1
Ασπαραγινικό οξύ Γλουταμινικό οξύ		\rightleftharpoons		4,1
Ιστιδίνη		\rightleftharpoons		6,0
Τελική α -αμινομάδα		\rightleftharpoons		8,0
Κυστεΐνη		\rightleftharpoons		8,3
Τυροσίνη		\rightleftharpoons		10,9
Λυσίνη		\rightleftharpoons		10,8
Αργινίνη		\rightleftharpoons		12,5

* Οι τιμές pK_a εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, την ιοντική ισχύ και το μικροπεριβάλλον της ιοντιζόμενης ομάδας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.2 Συντομογραφίες και σύμβολα για αμινοξέα.

Αμινοξύ	Συντομογραφία τριών γραμμάτων	Συντομογραφία ενός γράμματος	Αμινοξύ	Συντομογραφία τριών γραμμάτων	Συντομογραφία ενός γράμματος
Αλανίνη	Ala	A	Κυστεΐνη	Cys	C
Αργινίνη	Arg	R	Λευκίνη	Leu	L
Ασπαραγίνη	Asn	N	Λυσίνη	Lys	K
Ασπαραγινικό οξύ	Asp	D	Μεθειονίνη	Met	M
Βαλίνη	Val	V	Προλίνη	Pro	P
Γλουταμίνη	Gln	Q	Σερίνη	Ser	S
Γλουταμινικό οξύ	Glu	E	Τυροσίνη	Tyr	Y
Γλυκίνη	Gly	G	Φαινυλαλανίνη	Phe	F
Θρεονίνη	Thr	T	Ασπαραγίνη ή ασπαραγινικό οξύ	Asx	B
Θρυπτοφάνη	Trp	W	Γλουταμίνη ή γλουταμινικό οξύ	Glx	Z
Ισολευκίνη	Ile	I			
Ιστιδίνη	His	H			

κτηριστικά τους καλύπτουν ένα πολύ ευρύ φάσμα, καθιστώντας τις πρωτεΐνες ικανές να αντεπεξέρχονται σε πολλούς διαφορετικούς λειτουργικούς ρόλους. Δεύτερον, όπως αναφέρθηκε στο Εδάφιο 2.1.1, πολλά από τα αμινοξέα αυτά πιθανώς υπήρχαν ήδη από τις προβιοτικές αντιδράσεις. Τελικά, ίσως άλλα πιθανά αμινοξέα να εξαφανίστηκαν διότι εμφάνιζαν έντονη εγγενή αντιδραστικότητα. Παραδείγματος χάριν, αμινοξέα όπως η ομοσερίνη και η ομοκυστεΐνη έχουν την τάση να δημιουργούν πενταμελείς κυκλικές δομές που περιορίζουν τη χρήση τους στις πρωτεΐνες, ενώ αντίθετα τα εναλλακτικά αμινοξέα που απαντούν στις πρωτεΐνες —η σερίνη και η κυστεΐνη— δεν κυκλοποιούνται εύκολα διότι οι δακτύλιοι στην περίπτωση αυτή είναι πολύ μικροί (Εικόνα 3.17).

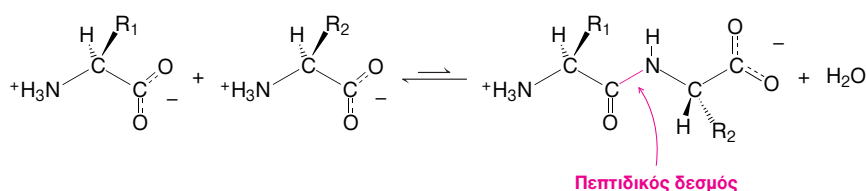


ΕΙΚΟΝΑ 3.17 Ανεπιθύμητη αντιδραστικότητα σε αμινοξέα. Μερικά αμινοξέα δεν είναι κατάλληλα για να συμπεριληφθούν σε πρωτεϊνικές δομές διότι έχουν την τάση να κυκλοποιούνται. Η ομοσερίνη σχηματίζει σταθερές δομές δακτύλιων που αποτελούνται από πέντε άτομα άνθρακα και αυτό έχει ως συνέπεια τη διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού. Η κυκλοποίηση της σερίνης θα δημιουργούσε έναν πιασμένο δακτύλιο τεσσάρων ατόμων άνθρακα, άρα δεν ευνοείται στην περίπτωση αυτή. Το X στη δομή συμβολίζει αμινοξική ομάδα από ένα γειτονικό αμινοξύ ή κάποια άλλη ομάδα που έχει τη δυνατότητα να απομακρυνθεί.

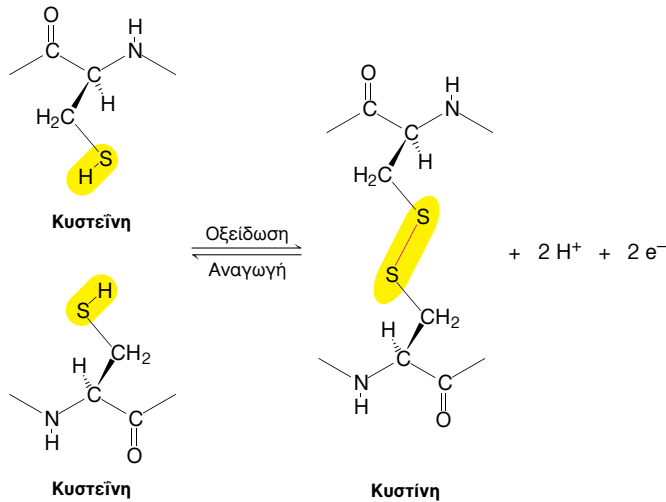
3.2 ΠΡΩΤΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ: ΤΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΚΟΥΣ ΔΕΣΜΟΥΣ ΓΙΑ ΝΑ ΣΧΗΜΑΤΙΣΟΥΝ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΕΣ ΑΛΥΣΙΔΕΣ

Οι πρωτεΐνες είναι γραμμικά πολυμερή που δημιουργούνται δεσμεύοντας την α-καρβοξυλική ομάδα ενός αμινοξέος στην α-αμινοξική ομάδα ενός άλλου αμινοξέος με έναν πεπτιδικό δεσμό (που λέγεται και αμιδικός δεσμός). Η δημιουργία ενός διπεπτιδίου από δύο αμινοξέα συνοδεύεται από την απώλεια ενός μορίου ύδατος (Εικόνα 3. 18). Η ισορροπία της αντίδρασης βρίσκεται μάλλον προς την πλευρά της υδρόλυσης παρά της σύνθεσης. Επομένως, η βιοσύνθεση του πεπτιδικού δεσμού χρειάζεται την προσθήκη ελεύθερης ενέργειας. Παρ' όλα αυτά οι πεπτιδικοί δεσμοί είναι αρκετά σταθεροί κινητικά: η διάρκεια ζωής ενός πεπτιδικού δεσμού σε υδατικό διάλυμα, όταν δεν υπάρχει καταλύτης, πλησιάζει τα 1000 χρόνια.

Μια σειρά αμινοξέων που ενώνονται με πεπτιδικούς δεσμούς δημιουργούν μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, και κάθε μονάδα αμινοξέος στο πολυπεπτιδίο ονομάζεται κατάλοιπο. Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα έχει πολικότητα διότι τα δύο άκρα της είναι διαφορετικά: μια α-αμινοξική ομάδα στο ένα άκρο, μια α-καρβοξυλική ομάδα στο άλλο άκρο. Συμβατικά, έχουμε δεχθεί ότι το αμινο-τελικό άκρο θεωρείται η αρχή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και επομένως η αλληλουχία των αμινοξέων σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα γράφεται αρχίζοντας με το αμινο-τελι-



ΕΙΚΟΝΑ 3.18 Η δημιουργία πεπτιδικού δεσμού. Η σύνδεση δύο αμινοξέων συνοδεύεται από την απώλεια ενός μορίου ύδατος.



ΕΙΚΟΝΑ 3.21 Διασυνδέσεις. Ο σχηματισμός δι-σουλφιδικού δεσμού από δύο κατάλοιπα κυστεΐνης είναι οξειδωτική αντίδραση.

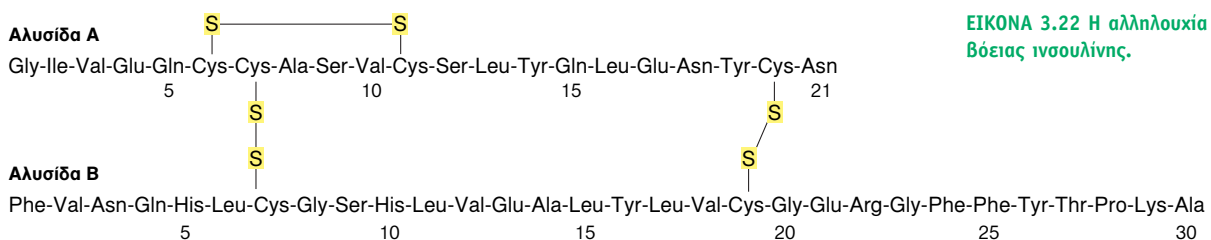
λαγόνες ίνες του συνδετικού ιστού και το ινώδες που συμμετέχει στην πήξη του αίματος ενισχύουν τη δομή τους με διασυνδέσεις μεταξύ των καταλοίπων τους.

3.2.1 Οι πρωτεΐνες έχουν μοναδικές αλληλουχίες αμινοξέων που καθορίζονται από γονίδια

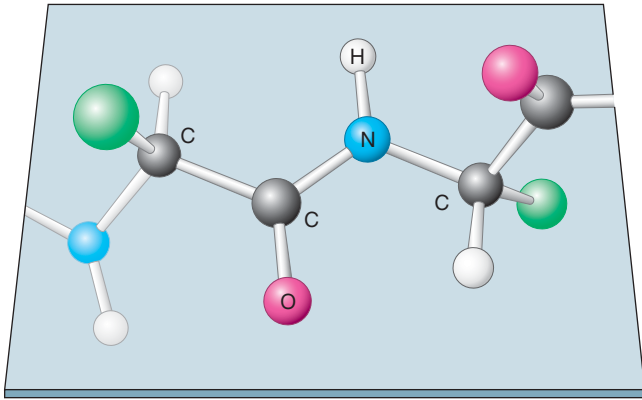
Το 1953 ο Frederick Sanger προσδιόρισε την αλληλουχία αμινοξέων της ινσουλίνης, που είναι πρωτεϊνική ορμόνη (Εικόνα 3.22). Η εργασία αυτή αποτελεί ορόσημο για τη βιοχημεία διότι απέδειξε για πρώτη φορά ότι μια πρωτεΐνη έχει μια απόλυτα καθορισμένη αλληλουχία αμινοξέων. Έδειξε ακόμη ότι η ινσουλίνη αποτελείται μόνον από L-αμινοξέα που συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ της α-αμινικής ομάδας και της α-καρβοξυλικής ομάδας. Αυτό το επίτευγμα πυροδότησε και τις μελέτες προσδιορισμού της αλληλουχίας πολλών πρωτεϊνών από άλλους επιστήμονες. Σήμερα γνωρίζουμε ολόκληρη την αλληλουχία για περισσότερες από 100.000 πρωτεΐνες. Το εντυπωσιακό είναι ότι η κάθε πρωτεΐνη έχει μια μοναδική και απόλυτα καθορισμένη αλληλουχία αμινοξέων. Η αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης συχνά ονομάζεται πρωτοταγής δομή.

Μια σειρά από αναλυτικές μελέτες στα τέλη του 1950 και στις αρχές του 1960 αποκάλυψαν ότι οι αλληλουχίες στις πρωτεΐνες καθορίζονται γενετικά. Η αλληλουχία νουκλεοτιδίων του DNA, που είναι το μόριο κληρονομικότητας, προσδιορίζει τη συμπληρωματική αλληλουχία νουκλεοτιδίων στο RNA, που με τη σειρά του καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης. Για την ακρίβεια, το κάθε ένα από τα 20 αμινοξέα της ομάδας κωδικεύεται από μία ή περισσότερες ειδικές αλληλουχίες τριών νουκλεοτιδίων (Υποκεφάλαιο 5.5).

Η γνώση των αλληλουχιών αμινοξέων είναι σημαντική για αρκετούς λόγους. Πρώτον, η γνώση της αλληλουχίας μιας πρωτεΐνης είναι συνήθως απαραίτητη για την κατανόηση του μηχανισμού δράσης της (π.χ. στην περίπτωση της καταλυτικής δράσης των ενζύμων). Ακόμη, τροποποιώντας την αλληλουχία γνωστών πρωτεϊνών μπορούμε να δημιουργήσουμε πρωτεΐνες με νέες ιδιότητες. Δεύτερον, η γνώση της αλληλουχίας των αμινοξέων καθορίζει την



ΕΙΚΟΝΑ 3.22 Η αλληλουχία αμινοξέων Βόειας ινσουλίνης.



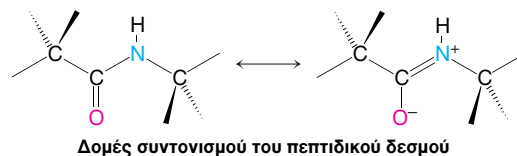
ΕΙΚΟΝΑ 3.23 Ο πεπτιδικός δεσμός είναι επίπεδος. Στο ζεύγος συνδεδεμένων αμινοξέων και τα έξι άτομα (Ca, C, O, N, H και C6) βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Οι πλευρικές αλυσίδες έχουν πράσινο χρώμα στο σχήμα.

τριδιάστατη δομή των πρωτεϊνών. Η αλληλουχία των αμινοξέων είναι ο συνδεδετικός κρίκος μεταξύ της γενετικής πληροφορίας του DNA και της τριδιάστατης δομής που καθορίζει τη βιολογική λειτουργία μιας πρωτεΐνης. Οι αναλύσεις της σχέσης μεταξύ αλληλουχίας αμινοξέων και τριδιάστατης δομής μιας πρωτεΐνης αποκαλύπτουν τους κανόνες που καθορίζουν την αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Τρίτον, ο προσδιορισμός της αλληλουχίας αποτελεί στόχο και για τη μοριακή παθολογία, μια ειδικότητα της ιατρικής που αναπτύσσεται ραγδαία. Τροποποιήσεις στην αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης μπορεί να οδηγήσουν σε ανώμαλη δράση της και ασθένεια. Σοβαρότατες και πολλές φορές θανατηφόρες ασθένειες, όπως π.χ. η δρεπανοκυτταρική αναιμία και η κυστική ίνωση, μπορεί να είναι και αποτέλεσμα σημειακής

μεταλλαγής στην αλληλουχία μιας πρωτεΐνης. Τέταρτον, η αλληλουχία μιας πρωτεΐνης αποκαλύπτει πολλά και για την εξελικτική ιστορία της (Κεφάλαιο 7). Οι πρωτεΐνες μοιάζουν μεταξύ τους σε αλληλουχία μόνο αν έχουν κοινό πρόγονο. Συνεπώς, τα μοριακά γεγονότα της εξέλιξης είναι δυνατόν να αποκαλυφθούν από τη μελέτη των αλληλουχιών των αμινοξέων και η μοριακή παλαιοντολογία αποτελεί ένα αναπτυσσόμενο πεδίο έρευνας.

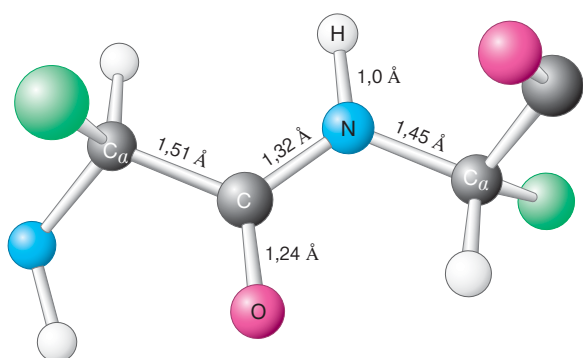
3.2.2 Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες είναι εύκαμπτες αλλά έχουν και καθορισμένη στερεοδιάταξη

Η εξέταση της γεωμετρίας του πρωτεϊνικού κορμού αποκαλύπτει αρκετά σημαντικά στοιχεία. Πρώτον, ο πεπτιδικός δεσμός είναι βασικά επίπεδος (Εικόνα 3.23). Έτσι, λοιπόν, για κάθε ζεύγος αμινοξέων τα οποία συνδέονται με πεπτιδικό δεσμό υπάρχουν έξι άτομα που βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο: το άτομο *α*-άνθρακα και η ομάδα CO του πρώτου αμινοξέος καθώς και η ομάδα NH και το άτομο *α*-άνθρακα του δεύτερου αμινοξέος. Η εξήγηση αυτής της γεωμετρικής προτίμησης βρίσκεται στη φύση του χημικού δεσμού του πεπτιδίου. Ο πεπτιδικός δεσμός έχει, εν μέρει, *χαρακτήρα διπλού δεσμού* ο οποίος αποτρέπει την περιστροφή γύρω από τον εαυτό του.

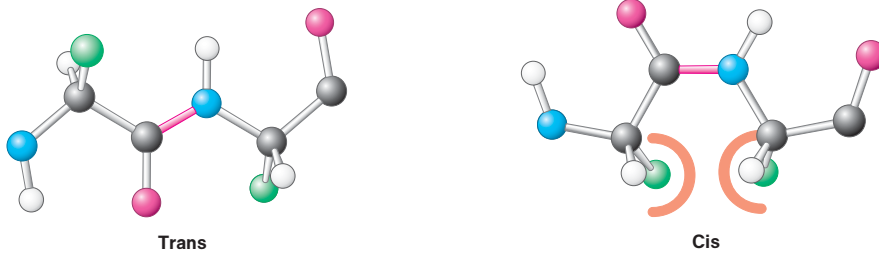


Το γεγονός ότι ο δεσμός δεν περιστρέφεται περιορίζει τις στερεοδιατάξεις του πεπτιδικού κορμού και εξηγεί την επίπεδη φύση του δεσμού. Αυτός ο χαρακτήρας διπλού δεσμού εκφράζεται και στην απόσταση μεταξύ των ομάδων CO και NH. Η απόσταση C—N σε έναν πεπτιδικό δεσμό είναι 1,32 Å, δηλαδή μια τιμή που βρίσκεται μεταξύ των αναμενόμενων για έναν απλό C—N δεσμό (1,49 Å) και έναν διπλό δεσμό C=N (1,27 Å), όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.24. Τέλος, ο πεπτιδικός δεσμός δεν έχει φορτίο, επιτρέποντας έτσι στα πολυμερή των αμινοξέων που συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς να δημιουργήσουν σφαιρικές κατασκευές χωρίς ενδιάμεσα κενά.

Υπάρχουν δύο δυνατές διαμορφώσεις για έναν επίπεδο πεπτιδικό δεσμό. Στη διαμόρφωση *trans* τα δύο άτομα *α*-άνθρακα βρίσκονται απέναντι, ενώ στη διαμόρφωση *cis* βρίσκονται

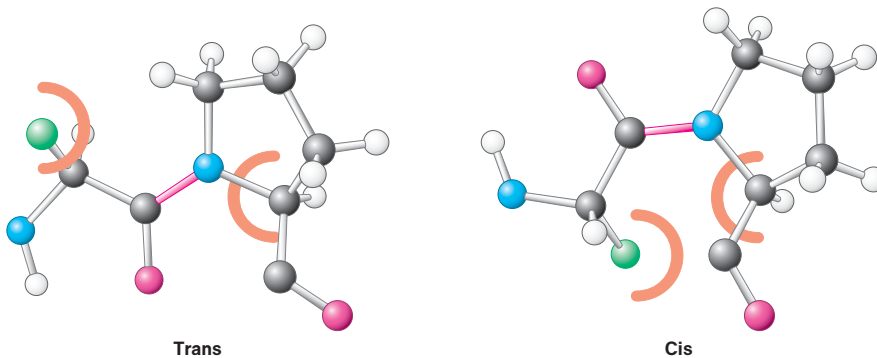


ΕΙΚΟΝΑ 3.24 Τυπικές αποστάσεις μεταξύ των πεπτιδικών ομάδων. Μια πεπτιδική ομάδα εμφανίζεται εδώ σε διαμόρφωση *trans* (ετερόπλευρη).



ΕΙΚΟΝΑ 3.25 Οι πεπτιδικοί δεσμοί *trans* και *cis*. Η μορφή *trans* είναι προτιμότεα διότι στη μορφή *cis* υπάρχουν προβλήματα χωροδιάταξης.

στην ίδια πλευρά του πεπτιδικού δεσμού. Όλοι σχεδόν οι πεπτιδικοί δεσμοί των πρωτεϊνών είναι *trans*. Αυτή η προτίμηση της διαμόρφωσης *trans* σε σχέση με τη διαμόρφωση *cis* εξηγείται από το γεγονός ότι οι στεरिकές αλληλοεπικαλύψεις των ομάδων που συνδέονται στα άτομα α -άνθρακα παρεμποδίζουν τη διαμόρφωση *cis* αλλά αφήνουν ελεύθερη την *trans* (Εικόνα 3.25). Οι πιο κοινές περιπτώσεις δεσμών *cis* αφορούν το αμινοξύ X και την προλίνη (X-Pro). Οι δεσμοί αυτοί της προλίνης έχουν διαμόρφωση *cis* αντί *trans* διότι το άζωτο της προλίνης είναι δεσμευμένο σε δύο τετρασθενή άτομα άνθρακα, γεγονός που περιορίζει ουσιαστικά τις στεरिकές διαφοροποιήσεις μεταξύ μορφών *trans* και *cis* (Εικόνα 3.26).

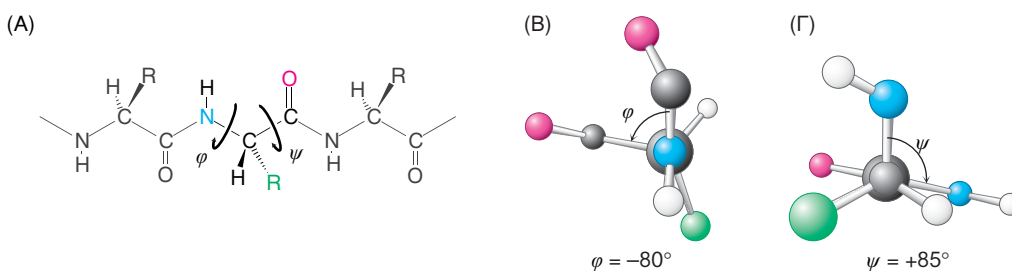


Διεδρη γωνία—

Είναι το μέγεθος μέτρησης της ικανότητας στροφής γύρω από έναν δεσμό, που συνήθως βρίσκεται μεταξύ -180° και $+180^\circ$. Οι διεδρες γωνίες μερικές φορές λέγονται και γωνίες στρέψεως.

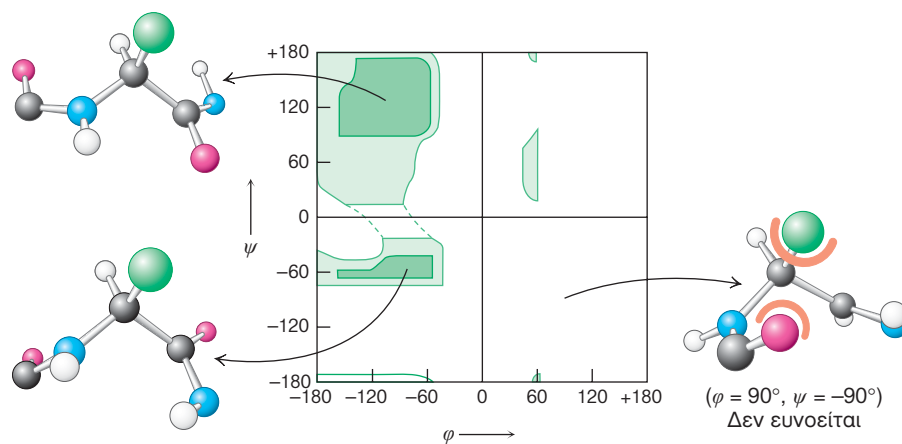
ΕΙΚΟΝΑ 3.26 *Trans* και *Cis* X-Pro. Στην περίπτωση αυτή, η ενέργεια είναι περίπου ίδια διότι υπάρχουν αντίστοιχα προβλήματα χωροδιάταξης και για τις δύο μορφές.

Σε αντίθεση με τον πεπτιδικό δεσμό, οι δεσμοί που ενώνουν τις αμινικές ομάδες με το άτομο α -άνθρακα και τις καρβονυλικές ομάδες με το άτομο α -άνθρακα είναι καθαροί απλοί δεσμοί. Τα δύο γειτονικά άκαμπτα πεπτιδικά επίπεδα μπορούν επομένως να περιστραφούν γύρω από τους δεσμούς αυτούς αποκτώντας διάφορους προσανατολισμούς. Η ελευθερία περιστροφής γύρω από τους δύο δεσμούς κάθε αμινοξέος επιτρέπει στις πρωτεΐνες να αναδιπλωθούν με πολλούς και διάφορους τρόπους. Οι περιστροφές γύρω από τους δεσμούς είναι δυνατόν να προσδιοριστούν από τις διεδρες γωνίες (Εικόνα 3.27). Η γωνία περιστροφής γύρω από τον δεσμό μεταξύ των ατόμων αζώτου και α -άνθρακα ονομάζεται ϕ . Η γωνία περιστροφής γύρω από τον δεσμό ατόμου α -άνθρακα και της καρβονυλικής ομάδας ονομάζεται ψ . Για οποιονδήποτε από τους δεσμούς η περιστροφή κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού (κοιτώντας από πίσω προς τα εμπρός) αντιστοιχεί σε θετική τιμή. Οι γωνίες ϕ και ψ καθορίζουν την κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.



ΕΙΚΟΝΑ 3.27 Η περιστροφή γύρω από τους δεσμούς ενός πολυπεπτιδίου. Η δομή κάθε αμινοξέος σε ένα πολυπεπτιδίο μπορεί να ρυθμιστεί από την περιστροφή γύρω από δύο απλούς δεσμούς. (Α) Η γωνία περιστροφής γύρω από τον δεσμό μεταξύ των ατόμων αζώτου και α -άνθρακα ονομάζεται ϕ , ενώ η γωνία περιστροφής γύρω από τον δεσμό μεταξύ του ατόμου α -άνθρακα και των ανθράκων της καρβονυλικής ομάδας ονομάζεται ψ . (Β) Μια κάτοψη του δεσμού μεταξύ αζώτου και ατόμου α -άνθρακα δείχνει πώς μετράμε τη ϕ . (Γ) Μια κάτοψη του δεσμού μεταξύ του ατόμου α -άνθρακα και του άνθρακα της καρβονυλικής ομάδας, δείχνει πώς μετράμε την ψ .

ΕΙΚΟΝΑ 3.28 Ένα διάγραμμα Ramachandran που δείχνει τις τιμές των ϕ και ψ . Οι τιμές ϕ και ψ είναι περιορισμένες λόγω των συγκρούσεων μεταξύ ατόμων. Οι επιτρεπτές τιμές ϕ και ψ φαίνονται με σκούρο πράσινο, ενώ οι οριακές τιμές φαίνονται με ανοικτό πράσινο. Η δομή που φαίνεται δεξιά είναι εκείνη που δημιουργεί τις λιγότερες συγκρούσεις μεταξύ των ατόμων.



Ποιοι συνδυασμοί είναι δυνατοί για τις γωνίες ϕ και ψ ; Ο G.N. Ramachandran διαπίστωσε ότι πολλοί συνδυασμοί δεν είναι δυνατοί λόγω των στερικών συγκρούσεων μεταξύ των ατόμων. Οι τιμές που επιτρέπονται μπορούν να τοποθετηθούν σε ένα διδιάστατο σχήμα που ονομάζεται *διάγραμμα Ramachandran* (Εικόνα 3.28). Τα τρία τέταρτα των πιθανών συνδυασμών των γωνιών ϕ και ψ είναι αδύνατον να πραγματοποιηθούν διότι δημιουργούν τοπικές στερικές συγκρούσεις. Ο *στερικός αποκλεισμός*, δηλαδή το γεγονός ότι δύο άτομα δεν μπορούν να είναι στο ίδιο σημείο συγχρόνως, μπορεί να είναι σημαντικότερος κανόνας οργάνωσης της δομής των πρωτεϊνών.

Η ικανότητα των βιολογικών πολυμερών, όπως οι πρωτεΐνες, να αναδιπλώνονται σε καλά καθορισμένες δομές είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτη θερμοδυναμικά. Φθάνει να σκεφθούμε τις ισορροπίες μεταξύ ενός ξεδιπλωμένου πολυμερούς που έχει στερεοδιάταξη τυχαίου σπειράματος (δηλαδή μείγματος πολλών πιθανών στερεοδιατάξεων) και μιας αναδιπλωμένης μορφής που αποκτά μια μοναδική στερεοδιάταξη. Η απελευθέρωση της εντροπίας σε συνδυασμό με τον μεγάλο αριθμό στερεοδιατάξεων της ξεδιπλωμένης μορφής εμποδίζει την αναδίπλωση η οποία είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί μόνο με αλληλεπιδράσεις που προωθούν την αναδιπλωμένη μορφή. Επομένως, τα πολύ ευέλικτα πολυμερή που έχουν μεγάλο αριθμό πιθανών αναδιπλώσεων δεν οδηγούν σε απόλυτα καθορισμένες μοναδικές δομές. Η *έλλειψη ευελιξίας στην πεπτιδική μονάδα και ο περιορισμένος αριθμός των επιτρεπόμενων γωνιών ϕ και ψ* περιορίζουν τον αριθμό των δομών που μπορεί να επιτύχει η ξεδιπλωμένη μορφή της πρωτεΐνης κατά τη διεργασία αναδίπλωσής της.

3.3 ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ: ΟΙ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΕΣ ΑΛΥΣΙΔΕΣ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΑΝΑΔΙΠΛΩΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΟΠΩΣ Η α -ΕΛΙΚΑ, Η β -ΠΤΥΧΩΤΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ, ΟΙ ΣΤΡΟΦΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΘΗΛΙΕΣ

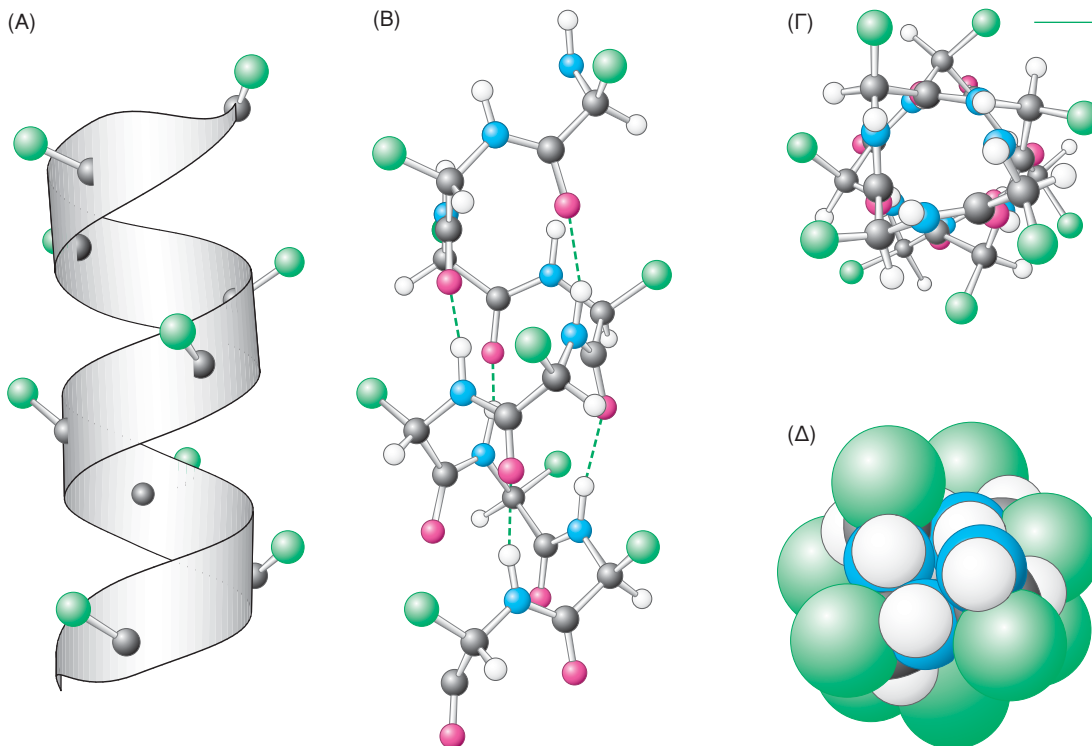
Είναι δυνατόν μια πολυπεπτιδική αλυσίδα να αναδιπλώνεται σε κανονικά επαναλαμβανόμενες δομές; Το 1951 οι Linus Pauling και Robert Corey πρότειναν δύο περιοδικές δομές που τις ονόμασαν α -έλικα και β -πτυχωτή επιφάνεια. Στη συνέχεια καθορίστηκαν και άλλες δομές όπως η β -στροφή και η Ω -θηλιά. Παρ' όλο που οι δομές αυτές δεν παρουσιάζουν περιοδικότητα, αποτελούν καλά προσδιορισμένες στροφές ή θηλιές και συνοδεύουν τις α -έλικες και τις β -πτυχωτές επιφάνειες στην τελική τριδιάστατη δομή της πρωτεΐνης.



STRUCTURAL INSIGHTS: Εμφανίζονται σε όλο το βιβλίο και είναι ιδιαίτερες διδακτικές ασκήσεις για τη μοριακή διαμόρφωση που σας επιτρέπουν να δείτε τη δομή και να μάθετε όλα τα τελευταία νέα της επιστήμης σχετικά με τον τρόπο λειτουργίας κάθε μορίου. Η διεύθυνση της ιστοσελίδας: www.whfreeman.com/biochem5, και η επλογή: Chapter, Structural Insights – και μετά ο τίτλος.



STRUCTURAL INSIGHTS, Elements of Protein Structures: αποτελούν αντιπροσωπευτικά στοιχεία πρωτεϊνικής αρχιτεκτονικής με τα οποία μπορείτε να ασκηθείτε. Θα βρείτε επίσης σε αυτήν τη θέση του δικτύου μια περίληψη των δευτεροταγών δομικών μοτίβων που περιγράφονται στο παρόν κεφάλαιο.



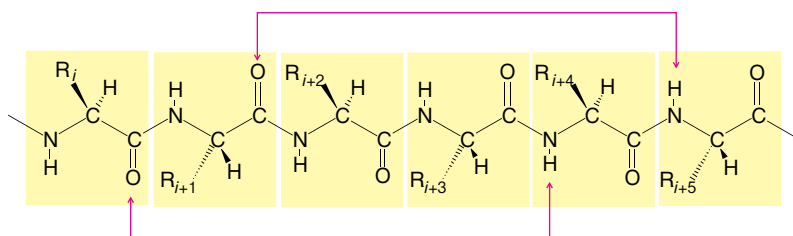
ΕΙΚΟΝΑ 3.29 Η δομή μιας α-έλικας. (Α) Η απεικόνιση κορδέλας στην οποία ξεχωρίζουν τα άτομα α-άνθρακα και οι πλευρικές αλυσίδες (πράσινο). (Β) Μια πλάγια όψη του μοντέλου με σφαίρες και ράβδους όπου διακρίνονται οι δεσμοί υδρογόνου (διακεκομμένες γραμμές) μεταξύ των ομάδων NH και CO. (Γ) Παρατηρώντας από το άκρο της έλικας και παράλληλα προς τον άξονα βλέπουμε τον περιελιγμένο κορμό να σχηματίζει το εσωτερικό της έλικας και τις πλευρικές αλυσίδες (πράσινο) να προεξέχουν προς τα έξω. (Δ) Ένα χωροπληρωτικό μοντέλο του (Γ) δείχνει πόσο λίγος κενός χώρος μένει στο κέντρο της έλικας.

3.3.1 Η α-έλικα είναι μια δομή σπειράματος που σταθεροποιείται με ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου

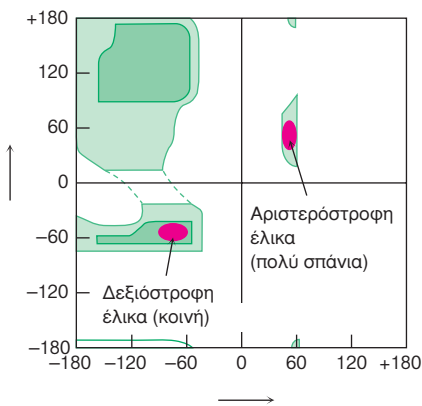
Στην προσπάθειά τους να καθορίσουν τις πιθανές δομές των πεπτιδίων, οι Pauling και Corey έλαβαν υπ' όψιν τους στερικούς περιορισμούς καθώς και την ικανότητα του κορμού του πεπτιδίου να διαμορφώνει συνθήκες δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ομάδων NH και CO. Η πρώτη δομή που πρότειναν ήταν εκείνη της α-έλικας, που είναι μια ραβδόμορφη δομή (Εικόνα 3.29). Ο κορμός, που έχει σχήμα σπειράματος, σχηματίζει το εσωτερικό της ράβδου και οι πλευρικές αλυσίδες εκτείνονται προς τα έξω, σε μια ελικοειδή διάταξη. Η α-έλικα σταθεροποιείται από δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των ομάδων NH και CO της κύριας αλυσίδας. Συγκεκριμένα, η ομάδα CO κάθε αμινοξέος σχηματίζει έναν δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH του αμινοξέος που βρίσκεται τέσσερα κατάλοιπα μπροστά στην αλληλουχία (Εικόνα 3.30). Έτσι, στη δομή αυτή όλες οι ομάδες CO και NH του πολυπεπτιδικού κορμού συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου, εκτός από εκείνες που βρίσκονται στα άκρα της έλικας. Κάθε κατάλοιπο απέχει από το επόμενο 1,5 Å κατά μήκος του άξονα της έλικας και είναι περιστραμμένο κατά 100°, δίνοντας 3,6 κατάλοιπα αμινοξέων ανά στροφή της έλικας. Συνεπώς, κατάλοιπα που απέχουν μεταξύ τους 3-4 αμινοξέα στην αλ-

Η αίσθηση της στροφής—

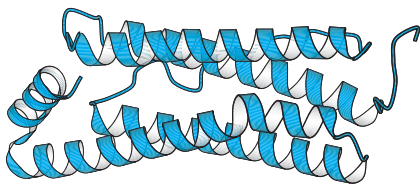
περιγράφει την κατεύθυνση προς την οποία στρέφεται μια ελικοειδής δομή σε σχέση με τον άξονά της. Όταν κοιτάμε κατά μήκος του άξονά της και η αλυσίδα στρέφεται όπως οι δείκτες του ρολογιού τότε δίνει την αίσθηση δεξιόστροφης έλικας. Αντίστοιχα, αν στρέφεται αντίθετα προς τους δείκτες του ρολογιού τότε δίνει την αίσθηση αριστερόστροφης έλικας.



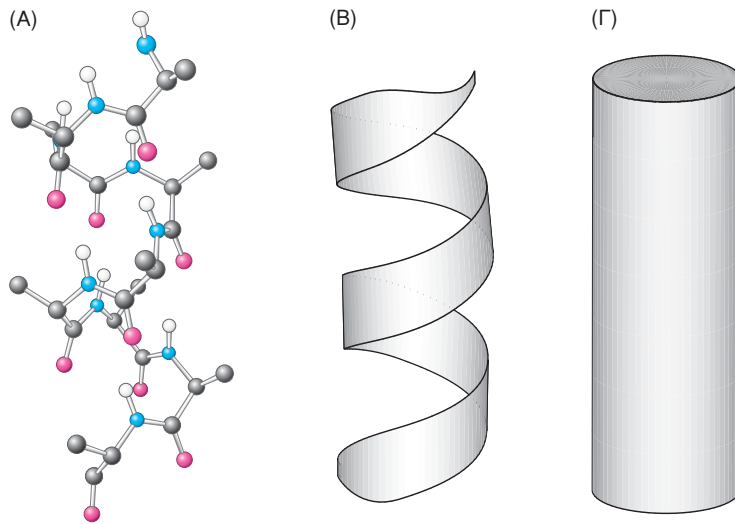
ΕΙΚΟΝΑ 3.30 Δημιουργία δεσμών υδρογόνου σε μια α-έλικα. Στην α-έλικα η ομάδα CO του καταλοίπου n δημιουργεί έναν δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH του καταλοίπου $n + 4$.



ΕΙΚΟΝΑ 3.31 Διάγραμμα Ramachandran των ελίκων. Οι δύο μορφές στροφής της έλικας, δεξιόστροφη και αριστερόστροφη, βρίσκονται σε περιοχές επιτρεπόμενων στερεοδιατάξεων όταν αναλυθούν κατά Ramachandran. Παρ' όλα αυτά, σχεδόν όλες οι α -έλικες στις πρωτεΐνες είναι δεξιόστροφες.



ΕΙΚΟΝΑ 3.33 Μια πρωτεΐνη με βασική διαμόρφωση α -έλικας. Η φερριτίνη, μια πρωτεΐνη αποθήκευσης σιδήρου, σχηματίζεται από δέσμη α -ελίκων.

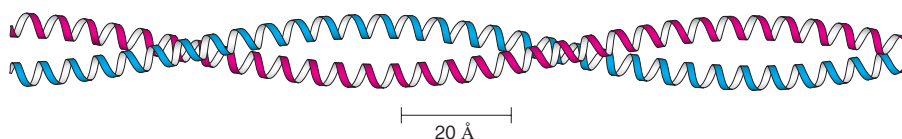


ΕΙΚΟΝΑ 3.32 Σχηματική απεικόνιση μιας α -έλικας. (Α) Μοντέλο με σφαίρες και ράβδους. (Β) Απεικόνιση κορδέλας. (Γ) Απεικόνιση κυλίνδρου.

ληλουχία βρίσκονται αρκετά κοντά το ένα στο άλλο λόγω της δομής της έλικας. Αντίθετα, αμινοξέα που είναι δίπλα στην αλληλουχία διότι βρίσκονται το ένα απέναντι στο άλλο στην έλικα δεν μπορούν να έρθουν σε επαφή. Το βήμα της α -έλικας, που ισούται με το προϊόν της μετατόπισης ($1,5 \text{ \AA}$) επί τον αριθμό των καταλοίπων ανά στροφή ($3,6$), είναι $5,4 \text{ \AA}$. Η στροφή της έλικας μπορεί να είναι δεξιόστροφη (σύμφωνα με τους δείκτες του ρολογιού) ή αριστερόστροφη (αντίθετα από τους δείκτες του ρολογιού). Το διάγραμμα Ramachandran αποκαλύπτει ότι η δεξιόστροφη και η αριστερόστροφη έλικα αποτελούν επιτρεπόμενες στερεοδιατάξεις (Εικόνα 3.31). Παρ' όλα αυτά, οι δεξιόστροφες έλικες είναι πιο ευνοούμενες ενεργειακά διότι παρουσιάζουν λιγότερες στερικές συγκρούσεις μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων και του κορμού. Ουσιαστικά, όλες οι α -έλικες που απαντούν στις πρωτεΐνες είναι δεξιόστροφες. Στο σχηματικό διάγραμμα των πρωτεϊνών, οι α -έλικες εμφανίζονται σαν στριμμένες κορδέλες ή κύλινδροι (Εικόνα 3.32).

Οι Pauling και Corey προέβλεψαν τη δομή της α -έλικας έξι χρόνια πριν αποκαλυφθεί για πρώτη φορά στη δομή της μυοσφαιρίνης με τη χρήση των ακτίνων X. Η αποκάλυψη της δομής της α -έλικας αποτελεί ορόσημο για τη βιοχημεία διότι απέδειξε ότι η στερεοδιάταξη μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας μπορεί να προβλεφθεί αν οι ιδιότητες των στοιχείων που την αποτελούν είναι αναλυτικά και απόλυτα καθορισμένες.

Το ποσοστό της α -έλικας των πρωτεϊνών ποικίλλει από 0% έως και 100% ανά περίπτωση. Παραδείγματος χάριν, 75% των καταλοίπων της φερριτίνης, της πρωτεΐνης που βοηθά στην αποθήκευση του σιδήρου, βρίσκονται σε α -έλικα (Εικόνα 3.33). Οι απλές α -έλικες συνήθως έχουν μήκος μικρότερο από 45 \AA . Παρ' όλα αυτά, δύο ή περισσότερες α -έλικες μπορούν να περιελιχθούν και να δημιουργήσουν μια πολύ σταθερή δομή η οποία μπορεί να έχει μήκος 1000 \AA (100 nm ή $0,1 \text{ \mu m}$) ή περισσότερο (Εικόνα 3.34). Τέτοια στερεοδιάταξη συσπειρωμένου σπειράματος α -ελίκων υπάρχει στη μυοσίνη και την τροπομυο-

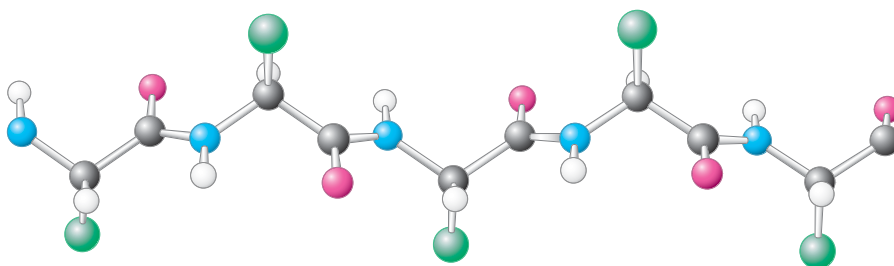


ΕΙΚΟΝΑ 3.34 Μια στερεοδιάταξη συσπειρωμένου σπειράματος α -ελίκων. Οι δύο έλικες ελίσσονται η μία γύρω από την άλλη και σχηματίζουν μια υπερέλικα. Οι δομές αυτές βρίσκονται σε πολλές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της κερατίνης των μαλλιών, των φτερών, των νυχιών και των κεράτων.

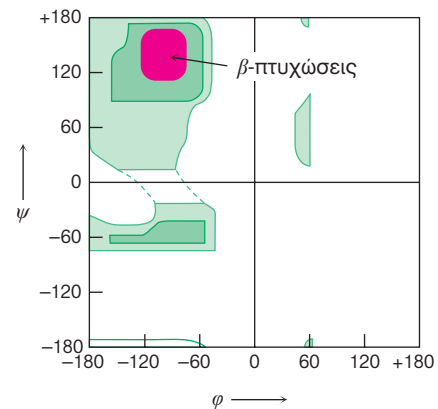
σίνη των μυών, στο ινώδες των θρόμβων του αίματος και στην κερατίνη των μαλλιών. Οι ελικοειδείς ράβδοι των πρωτεϊνών αυτών έχουν μηχανικό ρόλο και δημιουργούν άκαμπτα δεμάτια ινιδίων, όπως τα αγκάθια του σκαντζόχοιρου. Ο κυτταρικός σκελετός είναι πλούσιος στα λεγόμενα ενδιάμεσα νημάτια τα οποία είναι επίσης συσπειρωμένα σπειράματα διπλών α -ελίκων. Πολλές πρωτεΐνες που διαπερνούν βιολογικές μεμβράνες περιέχουν επίσης α -έλικες.

3.3.2 Οι β -επιφάνειες σταθεροποιούνται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των πολυπεπτιδικών αλυσίδων

Οι Pauling και Corey ανακάλυψαν άλλο ένα περιοδικό δομικό μοτίβο το οποίο ονόμασαν β -πτυχωτή επιφάνεια (β), διότι ήταν η δεύτερη δομή που προσδιόρισαν, δεδομένου ότι η πρώτη ήταν η α -έλικα). Η β -πτυχωτή επιφάνεια (ή απλώς β -επιφάνεια) διαφέρει σημαντικά από τη ραβδόμορφη α -έλικα. Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, που ονομάζεται β -πτύχωση, σε μια β -επιφάνεια είναι σχεδόν απόλυτα απλωμένη, αντίθετα από το σφιχτό σπείραμα της α -έλικας. Στην Εικόνα 3.35 βλέπουμε πώς η στερεοδιάταξη αυτή επιτρέπει μια ποικιλία από απλωμένες δομές χωρίς στερικά προβλήματα.

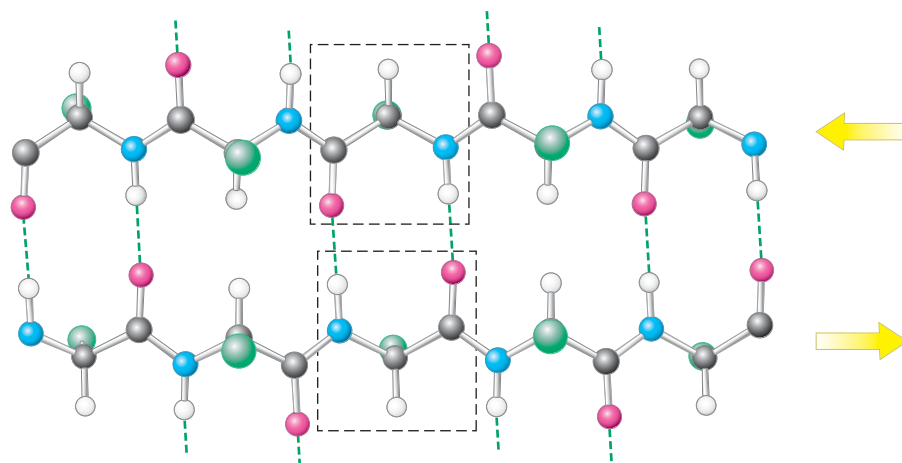


Η απόσταση μεταξύ γειτονικών αμινοξέων σε μια β -πτύχωση είναι περίπου 3,5 Å, ενώ στην α -έλικα υπενθυμίζεται ότι είναι 1,5 Å. Οι πλευρικές αλυσίδες των γειτονικών αμινοξέων έχουν αντίθετη κατεύθυνση όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.36. Μια β -επιφάνεια δημιουργείται όταν δύο ή περισσότερες β -πτυχώσεις συνδεθούν με δεσμούς υδρογόνου. Οι διαδοχικές β -πτυχώσεις στη β -επιφάνεια μπορεί να έχουν την ίδια κατεύθυνση (παράλληλη β -επιφάνεια) ή να έχουν αντίθετη κατεύθυνση (αντιπαράλληλη β -επιφάνεια). Στην αντιπαράλληλη β -επιφάνεια οι ομάδες NH και CO ενός αμινοξέος συνδέονται αντίστοιχα με δεσμούς υδρογόνου με τις ομάδες CO και NH του αμινοξέος της γειτονικής β -πτύχωσης όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.37. Στην παράλληλη β -επιφάνεια η διάταξη των δεσμών υδρογόνου είναι λίγο πιο περίπλοκη. Για κάθε αμινοξύ η ομάδα NH συνδέεται στο CO του αμινοξέος της γειτονικής β -πτύχωσης, ενώ η ομάδα CO συνδέεται στο NH του αμινοξέος που βρίσκεται



ΕΙΚΟΝΑ 3.35 Διάγραμμα Ramachandran για τις β -πτυχώσεις. Στην κόκκινη περιοχή του διαγράμματος φαίνονται οι στερεοχημικά επιτρεπόμενες δομές απλωμένων β -πτυχώσεων.

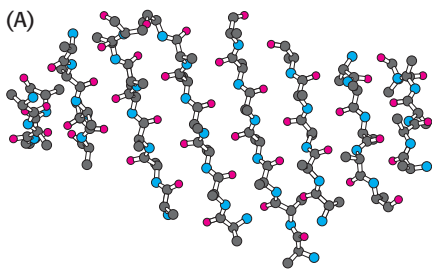
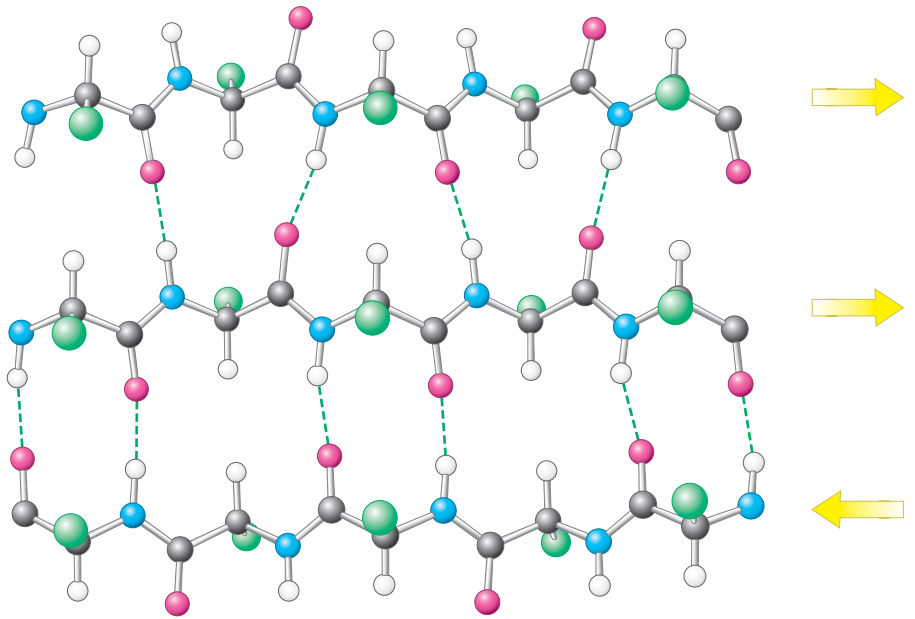
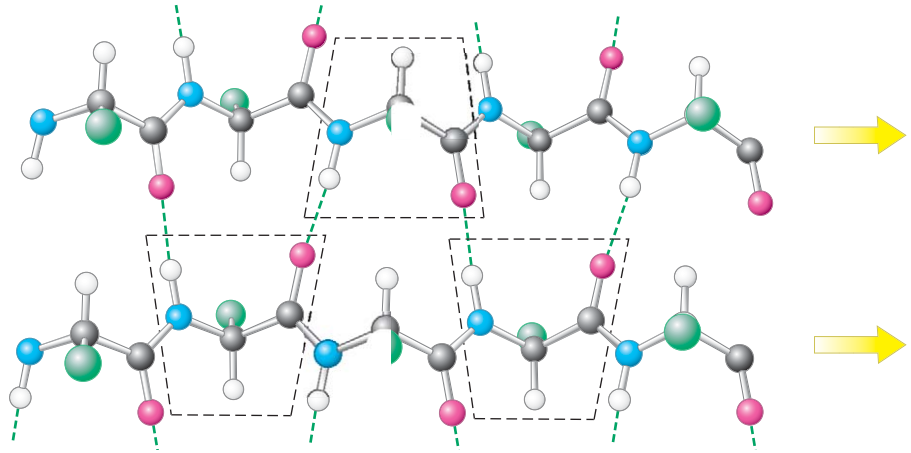
ΕΙΚΟΝΑ 3.36 Η δομή της β -πτύχωσης. Οι πλευρικές αλυσίδες (πράσινο) είναι κατ'εναλλαγμένη επάνω και κάτω από το επίπεδο της β -πτύχωσης.



ΕΙΚΟΝΑ 3.37 Μια αντιπαράλληλη β -επιφάνεια. Οι γειτονικές β -πτυχώσεις έχουν αντίθετες κατευθύνσεις. Οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ομάδων NH και CO συνδέουν το κάθε αμινοξύ με ένα και μόνο αμινοξύ στη γειτονική β -πτύχωση, σταθεροποιώντας τη δομή.

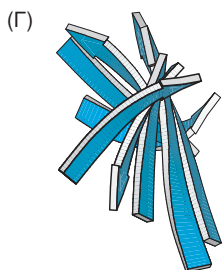
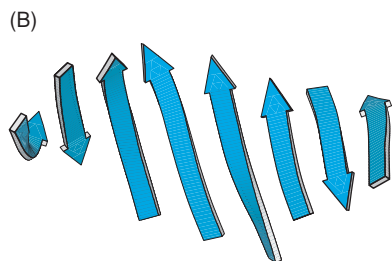
ΕΙΚΟΝΑ 3.38 Μια παράλληλη β -επιφάνεια.

Οι γειτονικές β -πτυχώσεις έχουν την ίδια κατεύθυνση. Οι δεσμοί υδρογόνου συνδέουν κάθε αμινοξύ της μιας πτύκωσης με δύο διαφορετικά αμινοξέα στη γειτονική πτύκωση.

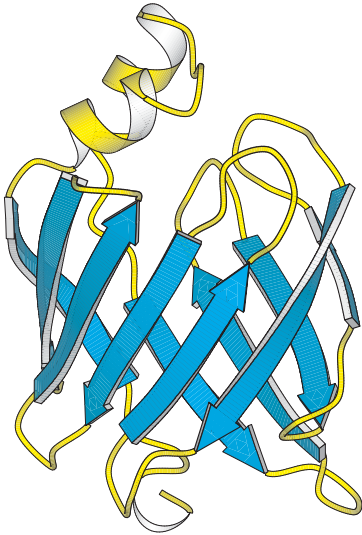
**ΕΙΚΟΝΑ 3.39** Δομή μιας μεικτής β -επιφάνειας.

δύο κατάλοιπα πιο κάτω στην αλυσίδα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.38. Πολλές πτυχώσεις, συνήθως 4-5 αλλά μπορεί και 10 ή και περισσότερες, συνδέονται προκειμένου να δημιουργήσουν β -επιφάνειες και μπορεί να είναι είτε καθαρά παράλληλες είτε αντιπαράλληλες είτε μεικτές (Εικόνα 3.39).

Στα σχηματικά διαγράμματα, οι β -πτυχώσεις συνήθως εμφανίζονται ως φαρδιά βέλη με κατεύθυνση προς το καρβοξυ-τελικό άκρο, προσδιορίζοντας τον τύπο της β -επιφάνειας που σχηματίζεται, παράλληλη ή αντιπαράλληλη. Οι β -επιφάνειες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλία από τις α -έλικες, μπορεί να είναι σχετικά ευθείες αλλά οι περισσότερες εμφανίζονται με την κάθε πτύκωση ελαφρά στριμμένη (Εικόνα 3.40). Η β -επιφάνεια είναι σημαντικό συστατικό πολλών πρωτεϊνών. Παραδείγματος χάριν, οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν τα λιπαρά οξέα και είναι τόσο σημαντικές για τον μεταβολισμό των λιπών αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από β -επιφάνειες (Εικόνα 3.41).

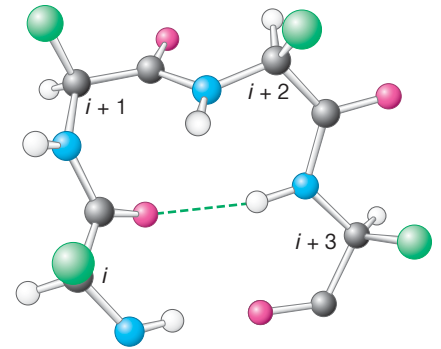


ΕΙΚΟΝΑ 3.40 Μια β -επιφάνεια όπου η κάθε πτύκωση είναι ελαφρώς στριμμένη σε σχέση με την προηγούμενη. (Α) Μοντέλο με σφαίρες και ράβδους. (Β) Σχηματικό μοντέλο. (Γ) Σχηματική διαμόρφωση που έχει στραφεί κατά 90° για να εμφανίσει καλύτερα το στρίψιμο.



ΕΙΚΟΝΑ 3.41 Μια πρωτεΐνη πλούσια σε β -επιφάνειες. Η δομή μιας πρωτεΐνης που δεσμεύει λιπαρά οξέα.

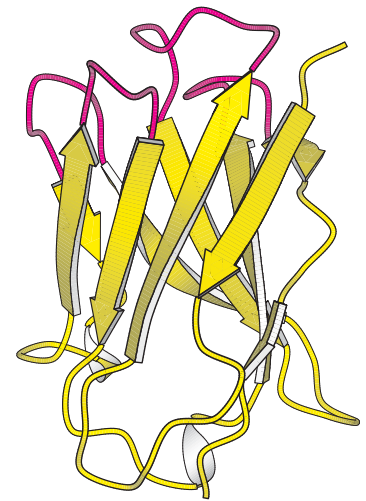
ΕΙΚΟΝΑ 3.42 Η δομή μιας στροφής αναστροφής της αλυσίδας. Η ομάδα CO του καταλοίπου i της πολυπεπτιδικής αλυσίδας δεσμεύεται με δεσμό υδρογόνου στην ομάδα NH του καταλοίπου $i + 3$ και σταθεροποιεί τη στροφή.



3.3.3 Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να αλλάξουν κατεύθυνση δημιουργώντας αντίθετες στροφές και θηλιές

Οι πιο πολλές πρωτεΐνες έχουν συμπαγές σφαιρικό σχήμα και επομένως για τη δημιουργία τους απαιτούνται αναστροφές της πολυπεπτιδικής αλυσίδας τους. Πολλές από τις αναστροφές επιτυγχάνονται με ένα κοινό δομικό στοιχείο που ονομάζεται *στροφή αναστροφής* (γνωστό επίσης και ως β -στροφή ή *κάμψη φουρκέτας*) και απεικονίζεται στην Εικόνα 3.42. Σε πολλές β -στροφές η ομάδα CO του καταλοίπου i της αλυσίδας του πολυπεπτιδίου δημιουργεί δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH του καταλοίπου $i + 3$. Η αλληλεπίδραση αυτή σταθεροποιεί την απότομη αλλαγή στην κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Υπάρχουν βέβαια και περιπτώσεις όπου η αναστροφή της αλυσίδας γίνεται μέσω πιο πολύπλοκων δομών που ονομάζονται *θηλιές* ή και Ω -θηλιές λόγω του σχήματός τους. Οι θηλιές, σε αντίθεση με τις α -έλικες και τις β -επιφάνειες, δεν έχουν κανονικές περιοδικές δομές. Παρ' όλα αυτά, και οι δομές θηλιάς έχουν συχνά σταθερή και απόλυτα καθορισμένη δομή (Εικόνα 3.43).

Οι στροφές και οι θηλιές βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των πρωτεϊνών και επομένως συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών με άλλα μόρια. Η κατανομή της πρωτεϊνικής αλυσίδας σε α -έλικες, β -πτυχώσεις και στροφές περιγράφεται συνήθως ως *δευτεροταγής δομή*.

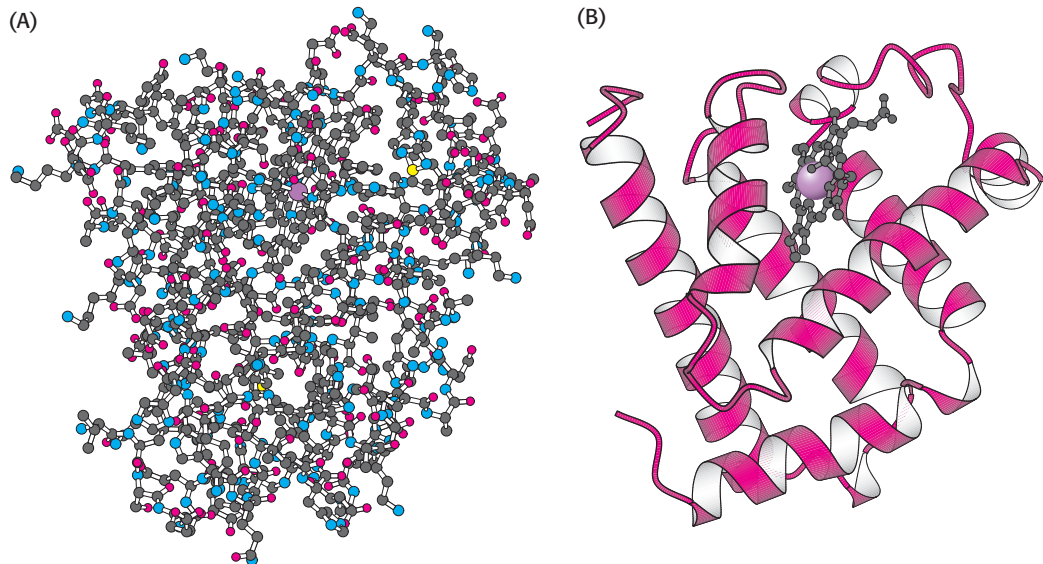


ΕΙΚΟΝΑ 3.43 Οι θηλιές στην επιφάνεια μιας πρωτεΐνης. Ένα τμήμα του μορίου του αντισώματος έχει θηλιές στην επιφάνειά του (κόκκινο χρώμα) που αλληλεπιδρούν με άλλα μόρια.

3.4 ΤΡΙΤΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ: ΟΙ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΑΝΑΔΙΠΛΩΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΣΥΜΠΑΓΕΙΣ ΔΟΜΕΣ ΜΕ ΜΗ ΠΟΛΙΚΑ ΚΕΝΤΡΑ

Ας δούμε τώρα πώς ομαδοποιούνται τα αμινοξέα σε μια πρωτεΐνη. Η τριδιάστατη δομή χιλιάδων πρωτεϊνών είναι σήμερα γνωστή με μεγάλη λεπτομέρεια και αυτό οφείλεται στη χρήση της κρυσταλλογραφίας με ακτίνες X και του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Υποκεφάλαιο 4.5). Ας αρχίσουμε με τη δομή της *μυοσφαιρίνης*, της πρώτης πρωτεΐνης που μελετήθηκε σε ατομική λεπτομέρεια.

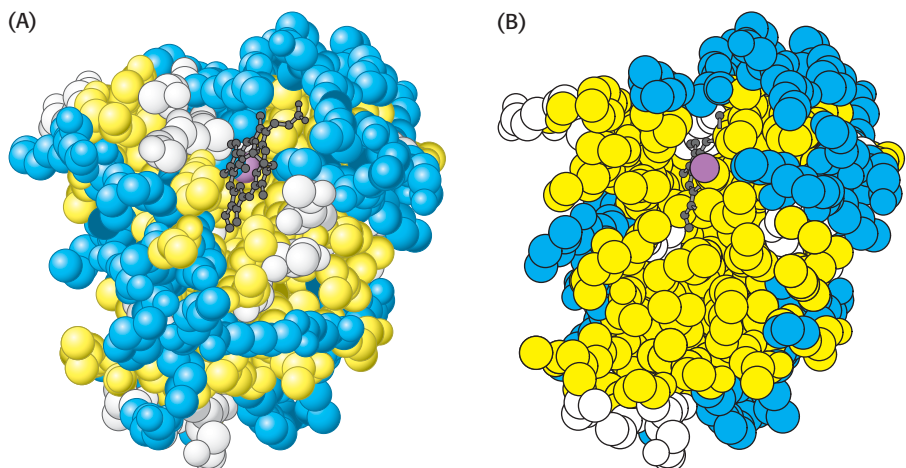
Η μυοσφαιρίνη, ο φορέας οξυγόνου στους μυς, είναι μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 153 αμινοξέων (βλ. επίσης Κεφάλαια 7 και 10). Η ικανότητα της μυοσφαιρίνης να δεσμεύει οξυγόνο εξαρτάται από την παρουσία της *αίμης*, μιας μη πολυπεπτιδικής *προσθετικής (βοηθητικής) ομάδας* που αποτελείται από πρωτοπορφυρίνη IX και από ένα κεντρικό άτομο σιδήρου. Η *μυοσφαιρίνη είναι μια εξαιρετικά συμπαγής πρωτεΐνη*. Οι διαστάσεις της είναι $45 \times 35 \times 25 \text{ \AA}$, δηλαδή μικρότερες κατά μία τάξη μεγέθους από τις διαστάσεις της αν ήταν σε στερεοδιατάξη απλωμένης πολυπεπτιδικής αλυσίδας (Εικόνα 3.44). Το 70% περίπου



ΕΙΚΟΝΑ 3.44 Η τριδιάστατη δομή της μυοσφαιρίνης. (Α) Το μοντέλο με σφαίρες και ράβδους δείχνει όλα τα άτομα εκτός του υδρογόνου και αποκαλύπτει πολλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αμινοξέων. (Β) Η σχηματική απεικόνιση φανερώνει ότι η πρωτεΐνη αποτελείται κυρίως από α -έλικες. Η ομάδα της αίμης φαίνεται με μαύρο ενώ ο σίδηρος φαίνεται ως πορφυρή σφαίρα.

της κύριας αλυσίδας βρίσκεται σε οκτώ α -έλικες, ενώ η υπόλοιπη αλυσίδα δημιουργεί στροφές και θηλιές μεταξύ των ελίκων.

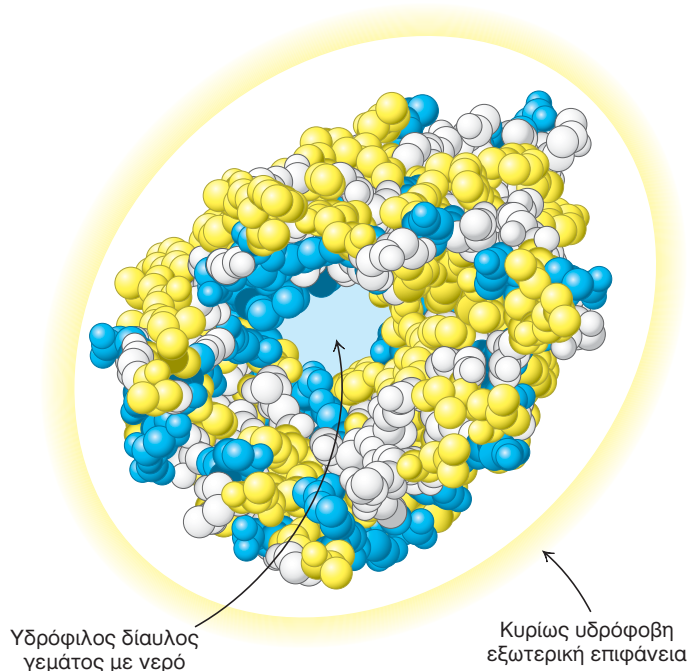
Η αναδίπλωση της κύριας αλυσίδας της μυοσφαιρίνης, όπως συμβαίνει και σε πολλές άλλες πρωτεΐνες, είναι πολύπλοκη και στερείται συμμετρίας. Η διαδρομή που ακολουθεί η πολυπεπτιδική αλυσίδα μιας πρωτεΐνης στον χώρο ονομάζεται *τριτοταγής δομή* (tertiary structure). Στις τριτοταγείς δομές, παρ' ότι ασύμμετρες, παρατηρούμε έναν γενικό κανόνα σχετικά με τις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων. Είναι εντυπωσιακό ότι *τα μη πολικά αμινοξέα, όπως η λευκίνη, η βαλίνη, η μεθειονίνη και η φαινυλαλανίνη, βρίσκονται στο εσωτερικό της δομής* (Εικόνα 3.45). Φορτισμένα κατάλοιπα, όπως το γλουταμινικό, το ασπαραγινικό, η λυσίνη και η αργινίνη, δεν υπάρχουν στο εσωτερικό της μυοσφαιρίνης. Τα μόνα φορτισμένα κατάλοιπα στο εσωτερικό είναι δύο κατάλοιπα ιστιδίνης με ιδιαίτερο ρόλο στη λειτουργία της δέσμευσης σιδήρου και οξυγόνου. Το εξωτερικό της μυοσφαιρίνης περιέχει πολικά και μη πολικά κατάλοιπα, ενώ το χωροπληρωτικό μοντέλο αποκαλύπτει ότι υπάρχει ελάχιστος κενός χώρος στο εσωτερικό της.



ΕΙΚΟΝΑ 3.45 Η κατανομή των αμινοξέων στη μυοσφαιρίνη. (Α) Χωροπληρωτικό μοντέλο της μυοσφαιρίνης με τα υδρόφοβα αμινοξέα σε κίτρινο, τα φορτισμένα αμινοξέα σε μπλε και τα υπόλοιπα σε άσπρο χρώμα. Η επιφάνεια του μορίου έχει πολλά φορτισμένα αμινοξέα καθώς και μερικά υδρόφοβα αμινοξέα. (Β) Μια εγκάρσια τομή του μορίου δείχνει ότι τα υδρόφοβα αμινοξέα είναι κυρίως στο εσωτερικό της δομής, ενώ τα φορτισμένα αμινοξέα βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια της πρωτεΐνης.

Αυτός ο διαχωρισμός πολικών και μη πολικών καταλοίπων αποκαλύπτει ένα βασικό χαρακτηριστικό της πρωτεϊνικής αρχιτεκτονικής. Στο υδάτινο περιβάλλον η δόμηση των πρωτεϊνών διαμορφώνεται από την τάση των υδρόφοβων αμινοξέων να απομακρύνονται από το νερό (βλ. Εδάφιο 1.3.4). Υπενθυμίζεται ότι ένα σύστημα είναι πιο σταθερό θερμοδυναμικά όταν οι υδρόφοβες υπομονάδες συγκεντρώνονται στον ίδιο χώρο και όχι όταν βρίσκονται διασκορπισμένες στο υδάτινο περιβάλλον. Παρατηρούμε λοιπόν ότι η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται έτσι ώστε οι υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες να θάβονται στο εσωτερικό της ενώ συγχρόνως οι φορτισμένες αλυσίδες να βρίσκονται εκτεθειμένες στην επιφάνεια. Πολλές α -έλικες και β -πτυχώσεις είναι αμφιπαθείς, δηλαδή έχουν ένα υδρόφοβο τμήμα προς την πλευρά του εσωτερικού της πρωτεΐνης και ένα υδρόφιλο τμήμα προς την πλευρά του διαλύματος. Ο πολυπεπτιδικός κορμός που συνοδεύει τις υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες παίζει επίσης σπουδαίο ρόλο. Ένα πεπτίδιο με ελεύθερη ομάδα NH ή CO σίγουρα προτιμά το νερό από ένα μη πολικό περιβάλλον. Το κλειδί για την τοποθέτηση του πολυπεπτιδικού κορμού σε υδρόφοβο περιβάλλον είναι η δέσμευση όλων των ομάδων NH και CO με δεσμούς υδρογόνου. Η δέσμευση αυτή επιτυγχάνεται θαυμάσια μέσα σε μια α -έλικα ή σε μια β -επιφάνεια. Οι αλληλεπιδράσεις van der Waals μεταξύ πλευρικών αλυσίδων υδρογονανθράκων που βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους σταθεροποιούν ακόμη περισσότερο την πρωτεΐνη. Έτσι μπορούμε να καταλάβουμε γιατί τα 20 αμινοξέα περιλαμβάνουν αρκετά μόρια τα οποία διαφέρουν ελάχιστα σε μέγεθος ή σχήμα. Μπορούμε να φανταστούμε τη δεξαμενή αυτή σαν μια παλέτα από την οποία επιλέγεται κάθε φορά το αμινοξύ που ταιριάζει καλύτερα στη συγκεκριμένη θέση, έτσι ώστε να γεμίσει το εσωτερικό της πρωτεΐνης σωστά και κατά συνέπεια να αυξηθούν οι αλληλεπιδράσεις van der Waals που χρειάζονται πολύ στενές επαφές.

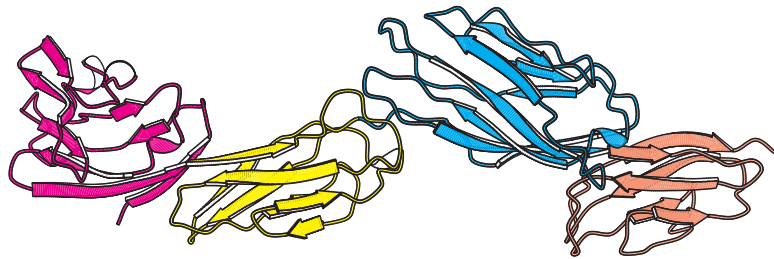
Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν τις μεμβράνες είναι «οι εξαιρέσεις που επιβεβαιώνουν τον κανόνα» σε σχέση με την κατανομή των υδρόφοβων και υδρόφιλων αμινοξέων στην αναδιπλωμένη μορφή τους στον χώρο. Παραδείγματος χάριν, ας εξετάσουμε τις πορίνες, τις πρωτεΐνες δηλαδή που βρίσκονται στην εξωτερική μεμβράνη πολλών βακτηρίων (Εικόνα 3.46). Το διαπερατό φράγμα της βακτηριακής μεμβράνης αποτελείται κυρίως από αλυσίδες αλκανίων που εμφανίζουν μεγάλη υδροφοβικότητα (Υποκεφάλαιο 12.4). Επομένως, οι πορί-



ΕΙΚΟΝΑ 3.46 Η πορίνη έχει κατανομή αμινοξέων «μέσα-έξω». Το εξωτερικό της πορίνης (που έρχεται σε επαφή με υδρόφοβα τμήματα των μεμβρανών) καλύπτεται κυρίως από υδρόφοβα κατάλοιπα, ενώ το κέντρο περιλαμβάνει έναν διάυλο γεμάτο νερό που απαρτίζεται από φορτισμένα και πολικά αμινοξέα.

νες καλύπτονται στην εξωτερική τους επιφάνεια από υδρόφοβες υπομονάδες που αλληλεπιδρούν με τις γειτονικές αλυσίδες αλκανίων. Αντίθετα, το κέντρο των πορινών περιέχει πολλά φορτισμένα και πολικά αμινοξέα που περιβάλλουν έναν διάυλο γεμάτο νερό ο οποίος διατρέχει το κέντρο της πρωτεΐνης. Επομένως, επειδή οι πορίνες λειτουργούν σε υδρόφοβο περιβάλλον, έχουν διάταξη «μέσα-έξω» σε σχέση με τις πρωτεΐνες που λειτουργούν σε υδατικό διάλυμα.

Μερικά πολυπεπίδια, από την άλλη μεριά, αναδιπλώνονται σε δύο ή περισσότερες συμπαγείς περιοχές οι οποίες ενώνονται μεταξύ τους με εύκαμπτα τμήματα πολυπεπτιδικής αλυσίδας και μοιάζουν με μαργαριτάρια σε κλωστή. Αυτές οι συμπαγείς σφαιρικές μονάδες ονομάζονται *δομικές περιοχές* (domains) και έχουν μέγεθος που ποικίλλει από 30 έως 400 αμινοξέα. Παραδείγματος χάριν, το εξωκυτταρικό τμήμα του CD4, μιας πρωτεΐνης που βρίσκεται στην επιφάνεια ορισμένων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος όπου συνδέεται ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), αποτελείται από 4 παρόμοιες δομικές περιοχές που περιλαμβάνουν 100 αμινοξέα η κάθε μία (Εικόνα 3.47). Πολλές φορές οι πρωτεΐνες μπορεί να έχουν κοινές δομικές περιοχές ακόμη και αν η τριτοταγής δομή τους είναι πολύ διαφορετική.



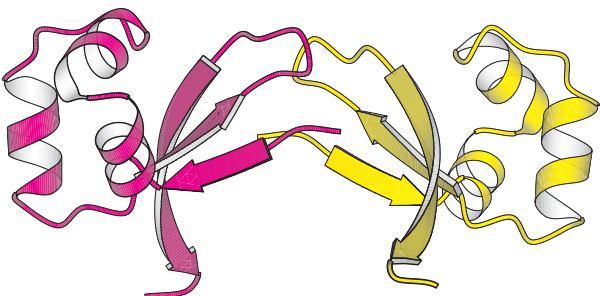
ΕΙΚΟΝΑ 3.47 Οι δομικές περιοχές των πρωτεϊνών. Η μεμβρανική πρωτεΐνη CD4 αποτελείται από τέσσερις παρόμοιες δομικές περιοχές.

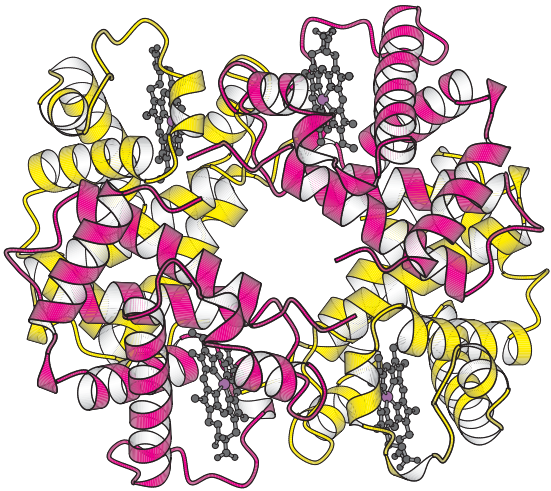
3.5 ΤΕΤΑΡΤΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ: ΟΙ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΕΣ ΑΛΥΣΙΔΕΣ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΣΥΓΚΡΟΤΗΣΟΥΝ ΔΟΜΕΣ ΠΟΛΛΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ

Όταν συζητάμε την πρωτεϊνική αρχιτεκτονική συνήθως αναφερόμαστε σε τέσσερα επίπεδα δομών. Μέχρι τώρα αναλύσαμε τα τρία. Η *πρωτοταγής δομή* αναφέρεται στην αλληλουχία αμινοξέων. Η *δευτεροταγής δομή* αναφέρεται στη χωροταξική τοποθέτηση των αμινοξέων που γειτονεύουν στην πρωτοταγή δομή. Ορισμένες από τις τοποθετήσεις αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν περιοδικές επαναλήψεις επιμέρους δομών, όπως η α -έλικα και η β -πτύχωση, που αποτελούν στοιχεία της δευτεροταγούς δομής. Η *τριτοταγής δομή* αναφέρεται στη χωροταξική σχέση αμινοξέων που απέχουν μεταξύ τους στην αλληλουχία και στη θέση των δισουλφιδικών δεσμών. Ας μελετήσουμε τώρα τις πρωτεΐνες που έχουν περισσότερες από μία πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Οι πρωτεΐνες αυτές εμφανίζουν το τέταρτο επίπεδο της δομικής οργάνωσης. Κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα στις πρωτεΐνες αυτές ονομάζεται *υπομονάδα*. Η *τεταρτοταγής δομή*, αναφέρεται στη χωροδιάταξη των υπομονάδων και τα είδη των αλληλεπιδράσεων

που εμφανίζουν. Η απλούστερη δομή στο επίπεδο αυτό είναι το *διμερές*, που αποτελείται από δύο ίδιες υπομονάδες. Η πρωτεΐνη Cro του βακτηριακού ιού λ που δεσμεύεται στο DNA έχει μια τέτοια οργάνωση (Εικόνα 3.48). Είναι αρκετά κοινές όμως και άλλες, πιο πολύπλοκες τεταρτοταγείς δομές, με περισσότερα είδη και διαφορετικούς αριθμούς υπομονάδων. Παραδείγματος χάριν, η ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη, η πρωτεΐνη που μεταφέρει οξυγόνο στο αίμα, έχει δύο υπομονάδες α και δύο υπομονάδες β , όπως φαίνε-

ΕΙΚΟΝΑ 3.48 Τεταρτοταγής δομή. Η πρωτεΐνη Cro του βακτηριοφάγου λ είναι ένα διμερές που αποτελείται από παρόμοιες υπομονάδες.





ΕΙΚΟΝΑ 3.49 Το τετραμερές της ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης είναι $\alpha_2\beta_2$. Η δομή των δύο ίδιων υπομονάδων α (κόκκινο) μοιάζει αλλά δεν είναι ίδια με εκείνη των δύο ίδιων υπομονάδων β (κίτρινο). Το μόριο περιέχει τέσσερις ομάδες αίμης (μαύρο· με πορφυρό το άτομο του σιδήρου).

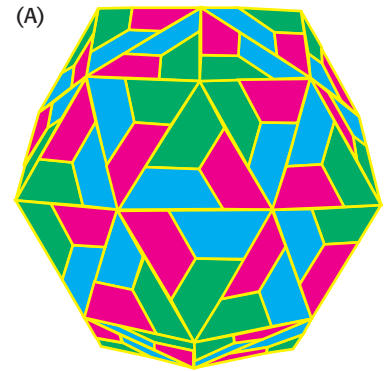
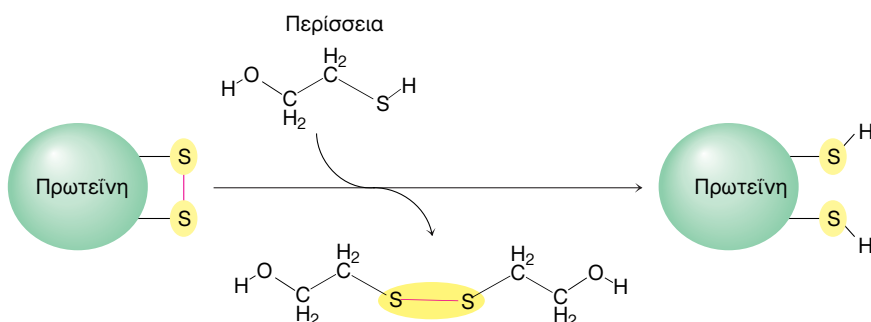
ται στην Εικόνα 3.49. Επομένως, το μόριο της αιμοσφαιρίνης είναι τετραμερές $\alpha_2\beta_2$. Ανεπαίσητες αλλαγές στη διάταξη των υπομονάδων μέσα στο μόριο της αιμοσφαιρίνης επιτρέπουν στο μόριο να μεταφέρει, με ιδιαίτερα αποδοτικό τρόπο, οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς (Υποκεφάλαιο 10.2).

Οι ιοί αξιοποιούν ιδιαίτερα καλά τις περιορισμένες γενετικές πληροφορίες, σχηματίζοντας καλύμματα αποτελούμενα από την ίδια υπομονάδα με συμμετρικές διασυνδέσεις. Το κάλυμμα του ρινοϊού, του ιού που προκαλεί το κοινό κρυολόγημα, περιλαμβάνει τέσσερις υπομονάδες σε 60 αντίγραφα την κάθε μία (Εικόνα 3.50). Οι υπομονάδες αυτές ενώνονται για να δημιουργήσουν ένα σχεδόν σφαιρικό κέλυφος που περιβάλλει το γονιδίωμα του ιού.

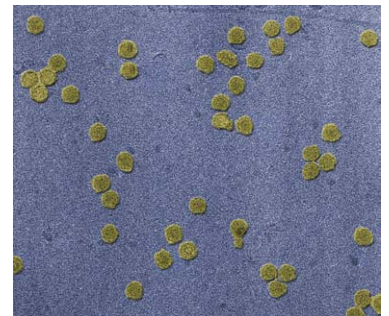
3.6 Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΤΡΙΔΙΑΣΤΑΤΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ

Ερωτήματα όπως: πώς επιτυγχάνεται η πολύπλοκη τριδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης, ή πώς συνδέεται η τριδιάστατη δομή της με την πληροφορία της μονοδιάστατης αλληλουχίας αμινοξέων της, αντιμετωπίστηκαν για πρώτη φορά κατά τη δεκαετία του 1950 από τον Christian Anfinsen. Ο Anfinsen, χρησιμοποιώντας το ένζυμο ριβονουκλεάση σε μια σειρά κλασικών τώρα πειραμάτων, αποκάλυψε τη σχέση μεταξύ της αλληλουχίας των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης και της στερεοδιάταξής της. Η ριβονουκλεάση είναι μια πολυπεπτιδική αλυσίδα που αποτελείται από 124 αμινοξέα διασυνδεδεμένα με τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς (Εικόνα 3.51). Το σχέδιο του Anfinsen ήταν να καταστρέψει την τριδιάστατη δομή του ενζύμου και μετά να προσδιορίσει τις συνθήκες που απαιτούνται για να επανακτήσει το ένζυμο τη δομή του.

Αντιδραστήρια όπως η ουρία ή η υδροχλωρική γουανιδίνη έχουν την ικανότητα να διασπούν μη ομοιοπολικούς δεσμούς με τρόπους που δεν είναι ακόμη απόλυτα κατανοητοί. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί είναι δυνατόν να αναχθούν με αντιδραστήρια όπως η β -μερκαπτοαιθανόλη (Εικόνα 3.52). Όταν υπάρχει πε-

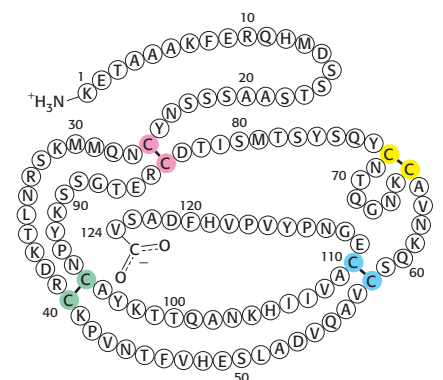


(A)



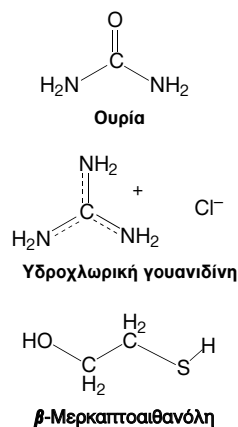
(B)

ΕΙΚΟΝΑ 3.50 Πολύπλοκη τεταρτοταγής δομή. Το κάλυμμα του ρινοϊού αποτελείται από 60 αντίγραφα κάθε μιας από τις τέσσερις υπομονάδες. (A) Σχηματική απεικόνιση που εμφανίζει τρεις τύπους υπομονάδων (σε χρώματα κόκκινο, μπλε και πράσινο) όπως φαίνονται από το εξωτερικό του ιού. (B) Ηλεκτρονιομικρογραφία σωματιδίων του ρινοϊού. [Ευγενική προσφορά Norm Olson, Dept. of Biological Sciences, Purdue University.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.51 Η αλληλουχία αμινοξέων της β-βενζοπυρρολίνης ριβονουκλεάσης. Οι τέσσερις δισουλφιδικοί δεσμοί φαίνονται με χρώματα. [Κατά C.H.W. Hirs, S. Moore και W.H. Stein, *J. Biol. Chem.*, 235 (1960) 633.]

ΕΙΚΟΝΑ 3.52 Ο ρόλος της β -μερκαπτοαιθανόλης στην αναγωγή δισουλφιδικών δεσμών. Σημειώνεται ότι ενώ οι δισουλφιδικοί δεσμοί ανάγονται, η β -μερκαπτοαιθανόλη οξειδώνεται και σχηματίζει διμερή.

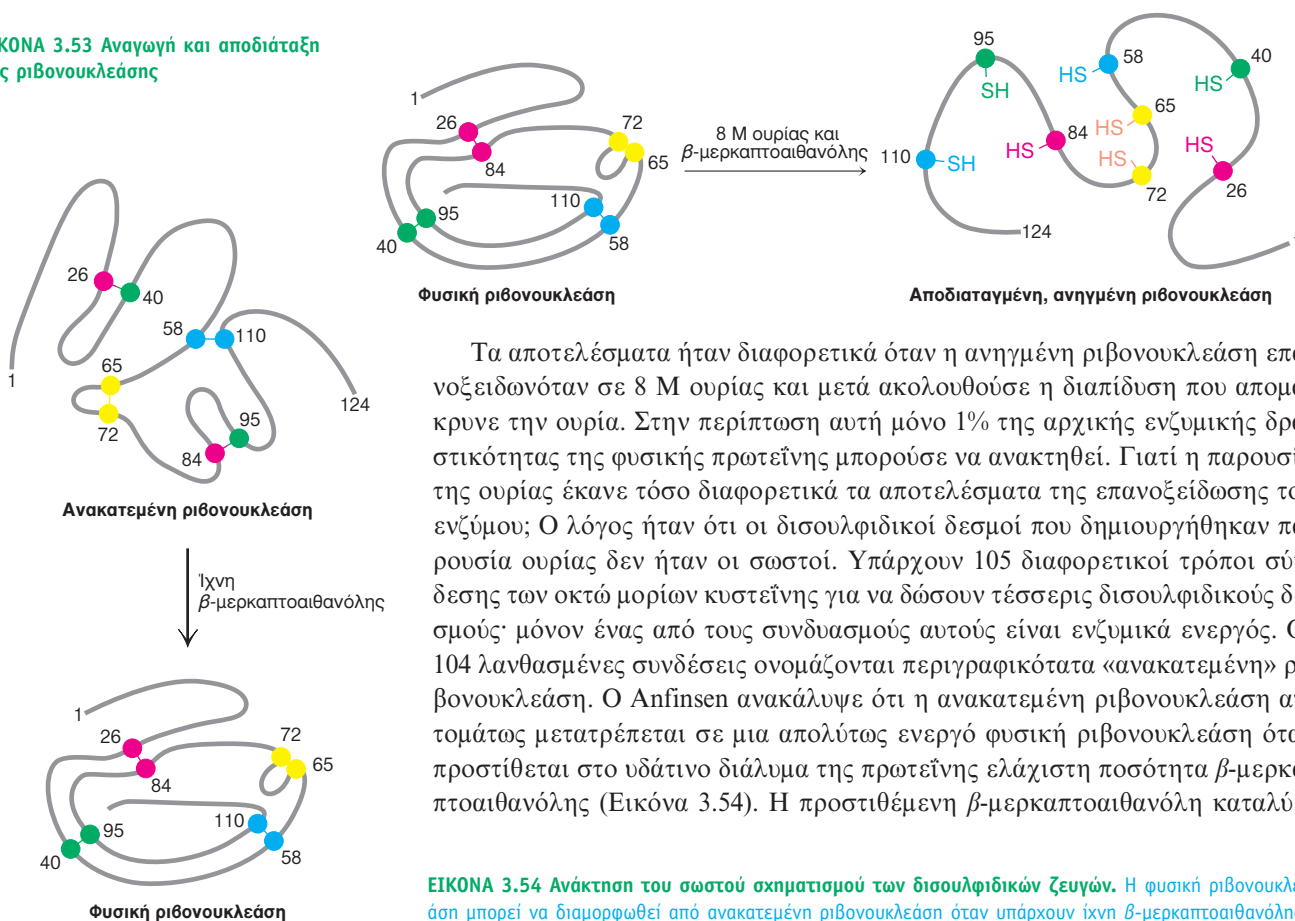


ρίσσεια β-μερκαπτοαιθανόλης, παράγεται μια πρωτεΐνη της οποίας τα δι-σουλφίδια (κυστίνες) μετατρέπονται σε σουλφιδρύλια (κυστεΐνες).

Οι περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες που δεν έχουν διασυνδέσεις παίρνουν στερεοδιάταξη τυχαίου σπειράματος σε διαλύματα 8 M ουρίας ή 6 M υδροχλωρικής γουανιδίνης. Το φαινόμενο μπορούμε να το μελετήσουμε μετρώντας τις μεταβολές στις φυσικές ιδιότητες του διαλύματος, όπως στο ιζώδες και στην οπτική δραστηριότητα. Όταν η ριβονουκλεάση έρθει σε επαφή με β-μερκαπτοαιθανόλη σε διάλυμα 8 M ουρίας, το προϊόν της αντίδρασης είναι ένα ανηγμένο πολυπεπτιδίο τυχαίου σπειράματος που δεν έχει ενζυμική δραστηριότητα. Με άλλα λόγια, η ριβονουκλεάση αποδιατάσσεται κάτω από τις συνθήκες αυτές (Εικόνα 3.53).

Ο Anfinsen έκανε τη σημαντικότερη παρατήρηση ότι η αποδιατεταγμένη ριβονουκλεάση που απελευθερώνεται από την ουρία και τη β-μερκαπτοαιθανόλη με διαπίδυση, αποκτά σταδιακά ενζυμική δραστηριότητα. Αμέσως κατανόησε τη σημασία αυτού του τυχαίου ευρήματος: τα σουλφιδρύλια του αποδιατεταγμένου ενζύμου οξειδώθηκαν από τον αέρα και το ένζυμο αυτομάτως αναδιπλώθηκε σε μια καταλυτικά ενεργό μορφή. Αναλυτικές μελέτες έδειξαν ότι σχεδόν όλη η αρχική ενζυμική δραστηριότητα ανακτάται όταν τα σουλφιδρύλια οξειδωθούν κάτω από κατάλληλες συνθήκες (Εικόνα 3.53). Όλες οι φυσικές και χημικές ιδιότητες του αναδιπλωμένου ενζύμου ήταν σχεδόν ταυτόσημες με εκείνες του αρχικού φυσικού ενζύμου. Τα πειράματα αυτά απέδειξαν ότι οι πληροφορίες που απαιτούνται για να καθοριστεί η πολύπλοκη και καταλυτικά ενεργός τριδιάστατη δομή της ριβονουκλεάσης περιέχονται στην αλληλουχία των αμινοξέων της. Μελέτες άλλων πρωτεϊνών που ακολούθησαν, καθιέρωσαν τη γενικότητα αυτού του κεντρικού δόγματος της βιοχημείας: η αλληλουχία καθορίζει τη στερεοδιάταξη. Η εξάρτηση της στερεοδιάταξης από την αλληλουχία έχει ιδιαίτερη σημασία λόγω της απόλυτης σύνδεσης μεταξύ δομής και λειτουργίας.

ΕΙΚΟΝΑ 3.53 Αναγωγή και αποδιάταξη της ριβονουκλεάσης



Τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά όταν η ανηγμένη ριβονουκλεάση επανοξειδωνόταν σε 8 M ουρίας και μετά ακολουθούσε η διαπίδυση που απομάκρυνε την ουρία. Στην περίπτωση αυτή μόνο 1% της αρχικής ενζυμικής δραστηριότητας της φυσικής πρωτεΐνης μπορούσε να ανακτηθεί. Γιατί η παρουσία της ουρίας έκανε τόσο διαφορετικά τα αποτελέσματα της επανοξείδωσης του ενζύμου; Ο λόγος ήταν ότι οι δισουλφιδικοί δεσμοί που δημιουργήθηκαν παρουσία ουρίας δεν ήταν οι σωστοί. Υπάρχουν 105 διαφορετικοί τρόποι σύνδεσης των οκτώ μορίων κυστεΐνης για να δώσουν τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς· μόνον ένας από τους συνδυασμούς αυτούς είναι ενζυμικά ενεργός. Οι 104 λανθασμένες συνδέσεις ονομάζονται περιγραφικότερα «ανακατεμένη» ριβονουκλεάση. Ο Anfinsen ανακάλυψε ότι η ανακατεμένη ριβονουκλεάση αυτομάτως μετατρέπεται σε μια απολύτως ενεργό φυσική ριβονουκλεάση όταν προστίθεται στο υδατικό διάλυμα της πρωτεΐνης ελάχιστη ποσότητα β-μερκαπτοαιθανόλης (Εικόνα 3.54). Η προστιθέμενη β-μερκαπτοαιθανόλη καταλύει

ΕΙΚΟΝΑ 3.54 Ανάκτηση του σωστού σχηματισμού των δισουλφιδικών ζευγών. Η φυσική ριβονουκλεάση μπορεί να διαμορφωθεί από ανακατεμένη ριβονουκλεάση όταν υπάρχουν ίχνη β-μερκαπτοαιθανόλης.

τον σωστό σχηματισμό δισουλφιδικών ζευγών μέχρι να επανακτηθεί η φυσική στερεοδιάταξη, διαδικασία που διαρκεί σχεδόν δέκα ώρες. Αυτό το φαινόμενο κατευθύνεται μόνον από την ελάττωση ελεύθερης ενέργειας που δημιουργείται όταν οι ανακατεμένες στερεοδιατάξεις μετατρέπονται στη σταθερή, φυσική στερεοδιάταξη του ενζύμου. Επομένως, τα φυσικά δισουλφιδικά ζεύγη της ριβονουκλεάσης συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της θερμοδυναμικά προτιμώμενης δομής.

Αντίστοιχα πειράματα αναδίπλωσης έγιναν για πολλές άλλες πρωτεΐνες. Σε πολλές περιπτώσεις η φυσική δομή μπορεί να επανακτηθεί κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Υπάρχουν και πρωτεΐνες όμως που δεν μπορούν να αναδιπλωθούν ξανά στην αρχική μορφή τους. Στις περιπτώσεις αυτές η ελεύθερη αλυσίδα μπερδεύεται και σχηματίζει συσσωματώματα. Μέσα στα κύτταρα υπάρχουν ειδικές πρωτεΐνες που λέγονται *συνοδές πρωτεΐνες* (chaperones) οι οποίες παρεμποδίζουν αυτές τις αθέμιτες αλληλεπιδράσεις (Εδάφιο 11.3.6).

3.6.1 Τα αμινοξέα έχουν διαφορετικές προτιμήσεις για τον σχηματισμό α-έλικας, β-επιφάνειας και β-στροφής

Πώς καθορίζεται η τριδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης από την αλληλουχία των αμινοξέων της; Πώς μια πολυπεπτιδική αλυσίδα παίρνει τη στερεοδιάταξη της φυσικής πρωτεΐνης; Αυτά τα βασικά ερωτήματα της βιοχημείας μπορούμε να τα προσεγγίσουμε μέσα από απλούστερα ερωτήματα όπως, τί καθορίζει αν η δομή μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης είναι α-έλικα, β-πτυχώση ή στροφή; Προσπαθήσαμε να απαντήσουμε στο ερώτημα παρατηρώντας τη συχνότητα με την οποία βρίσκουμε το κάθε αμινοξύ σε μια συγκεκριμένη δευτεροταγή δομή (Πίνακας 3.3). Παρατηρούμε λοιπόν ότι η αλανίνη, το γλουταμινικό και η λευκίνη έχουν την τάση να βρίσκονται σε α-έλικες, ενώ η βαλίνη και η ισολευκίνη βρίσκονται σε β-πτυχώσεις. Η γλυκίνη, η ασπαραγίνη και η προλίνη έχουν την τάση να βρίσκονται σε στροφές.

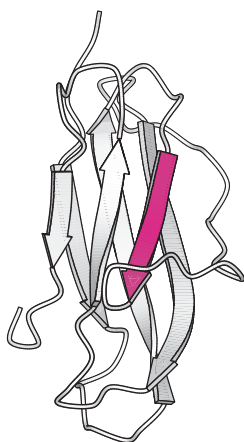
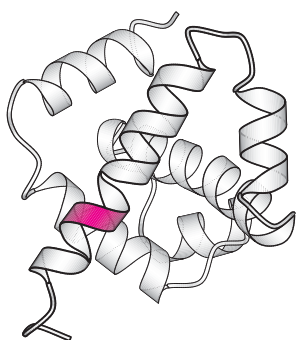
Μελέτες πρωτεϊνών και συνθετικών πεπτιδίων αποκάλυψαν μερικούς λόγους για την προτίμηση αυτή. Η α-έλικα μπορεί να θεωρηθεί ως η φυσική δομή των πρωτεϊνών. Οι διακλαδώσεις των ατόμων β-άνθρακα της βαλίνης, θρεονίνης και ισολευκίνης αποσταθεροποιούν τις α-έλικες διότι δεν μπορούν να τακτοποιηθούν εύκολα στη συγκεκριμένη γεωμετρική διάταξη. Αυτά τα αμινοξέα προσαρμόζονται άνετα στις β-πτυχώσεις όπου οι πλευρικές αλυσίδες τους προβάλλουν έξω από το επίπεδο που περιέχει την κύρια αλυσίδα. Η σερίνη, το ασπαραγινικό και η ασπαραγίνη έχουν την τάση να παρεμποδίζουν τις α-έλικες διότι οι πλευρικές αλυσίδες τους περιέχουν δότες και δέκτες δεσμών υδρογόνου σε μικρή απόσταση από την κύρια αλυσίδα, συναγωνιζόμενοι έτσι τις ομάδες NH και CO της κύριας αλυσίδας. Η προλίνη παρεμποδίζει και τις α-έλικες και τις β-πτυχώσεις διότι δεν έχει ομάδα NH και διότι ο δακτύλιος της δομής της περιορίζει τη γωνία φ σε -60° περίπου. Η γλυκίνη ταιριάζει εύκολα σε όλες τις δομές και επομένως δεν διευκολύνει ιδιαίτερα την α-έλικα.

Μπορεί να προβλέψει κανείς τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών γνωρίζοντας την προτίμηση των αμινοξέων για συγκεκριμένες δομές; Οι εκτιμήσεις αυτού του είδους αποδείχθηκαν κατά 60-70% ακριβείς όταν πρόκειται για αλληλουχίες μέχρι έξι αμινοξέων. Γιατί δεν μπορούμε να κάνουμε ακριβέστερες προβλέψεις; Σημειώνεται ότι τα αμινοξέα δεν έχουν μία και μόνη προτίμηση για μια δομή (Πίνακας 3.3). Παραδείγματος χάριν, το γλουταμινικό, αμινοξύ που απαντά με μεγάλη συχνότητα στις έλικες, προτιμά την α-έλικα από τη β-πτυχώση, μόνο όμως με μια διπλάσια τάση. Οι λόγοι των πρώτων προτιμήσεων όλων των άλλων αμινοξέων είναι ακόμη μικρότεροι σε σχέση με τις δεύτερες προτιμήσεις τους. Στην πραγματικότητα, μερικές αλληλουχίες πέντε ή έξι αμινοξέων βρέθηκε ότι έχουν τελείως διαφορετικές στερεοδιατάξεις σε

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3 Σχετικές συχνότητες παρουσίας καταλοίπων αμινοξέων σε δευτεροταγείς δομές.

Αμινοξύ	α -έλικα	β -πτυχωτή επιφάνεια	Στροφή
Ala	1,29	0,90	0,78
Cys	1,11	0,74	0,80
Leu	1,30	1,02	0,59
Met	1,47	0,97	0,39
Glu	1,44	0,75	1,00
Gln	1,27	0,80	0,97
His	1,22	1,08	0,69
Lys	1,23	0,77	0,96
Val	0,91	1,49	0,47
Ile	0,97	1,45	0,51
Phe	1,07	1,32	0,58
Tyr	0,72	1,25	1,05
Trp	0,99	1,14	0,75
Thr	0,82	1,21	1,03
Gly	0,56	0,92	1,64
Ser	0,82	0,95	1,33
Asp	1,04	0,72	1,41
Asn	0,90	0,76	1,28
Pro	0,52	0,64	1,91
Arg	0,96	0,99	0,88

Σημείωση: Τα αμινοξέα ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με την τάση τους να βρίσκονται σε α -έλικες (πρώτη ομάδα), β -πτυχωτές επιφάνειες (δευτέρη ομάδα) ή στροφές (τρίτη ομάδα). Η αργινίνη δεν δείχνει καμιά ιδιαίτερη προτίμηση για κάποια από τις τρεις δομές. [Κατά: T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2d ed. (W.H. Freeman and Company, 1992), p. 256.]



διαφορετικές πρωτεΐνες (Εικόνα 3.55). Επομένως, υπάρχουν αλληλουχίες αμινοξέων που δεν καθορίζουν απόλυτα δευτεροταγείς δομές. Οι τριτοταγείς αλληλεπιδράσεις —εκείνες που παρατηρούνται μεταξύ καταλοίπων που βρίσκονται μακριά επάνω στην αλληλουχία— μπορεί να είναι καθοριστικές στο να προσδιορίζουν τη δευτεροταγή δομή μερικών τμημάτων. Το μικροπεριβάλλον είναι συχνά ουσιαστικό στον καθορισμό της στερεοδιάταξης. Η αναδιπλωμένη πρωτεΐνη εξελίχθηκε έτσι ώστε να λειτουργεί σε συγκεκριμένο περιβάλλον ή συγκεκριμένες συνθήκες.



Υπάρχουν παθολογικές καταστάσεις που δημιουργούνται όταν οι πρωτεΐνες δεν πάρουν τη σωστή στερεοδιάταξη και επομένως δεν μπορούν να λειτουργούν σε συγκεκριμένες συνθήκες. Εντυπωσιακό παράδειγμα είναι οι ασθένειες *prion*, όπως η νόσος Creutzfeldt-Jacob, η κούρου και η νόσος των τρελών αγελάδων. Όλες αυτές οι ασθένειες είναι αποτέλεσμα αλλαγής της δομής της πρωτεΐνης του εγκεφάλου που ονομάζουμε *prion* από τη φυσιολογική της στερεοδιάταξη (Prp^C) στην παθολογική μορφή (Prp^Sc). Η παθολογική μορφή τροποποιεί και τη φυσιολογική στερεοδιάταξη σε παθολογική, δημιουργώντας μεγάλα συσσωματώματα PrP^Sc στον εγκέφαλο. Ο ρόλος των συσσωματωμάτων στη δημιουργία της παθολογικής κατάστασης δεν είναι ακόμη γνωστός.

3.6.2 Η αναδίπλωση των πρωτεϊνών είναι μια άκρως συνεργειακή διεργασία

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι πρωτεΐνες μπορεί να αποδιαταχθούν όταν θερμανθούν ή με τη χρήση χημικών αποδιατακτικών παραγόντων όπως είναι η ουρία και η υδροχλωρική γουανιδίνη. Για πολλές πρωτεΐνες, η μέτρηση του

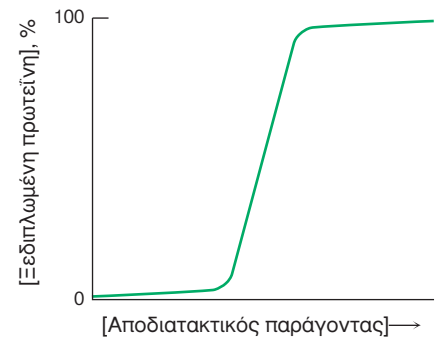
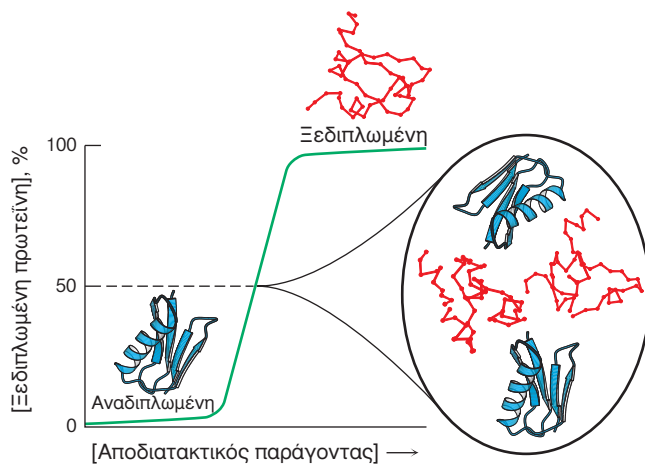


ΕΙΚΟΝΑ 3.55 Εναλλακτικές στερεοδιατάξεις μιας πεπτιδικής αλληλουχίας. Πολλές αλληλουχίες μπορούν να αποκτήσουν εναλλακτικές στερεοδιατάξεις όταν βρεθούν σε διαφορετικές πρωτεΐνες. Εδώ η αλληλουχία VDLLKN εμφανίζεται με κόκκινο και παρατηρούμε ότι είναι σε δομή α -έλικας σε μια πρωτεΐνη (επάνω) και σε δομή β -πτυχώσης σε μια άλλη (κάτω).

βαθμού αποδιάταξης σε συνάρτηση με την αύξηση της συγκέντρωσης του αποδιατακτικού παράγοντα αποκάλυψε μια σχετικώς απότομη μετάπτωση από τη φυσική ή αναδιπλωμένη μορφή στην αποδιατεταγμένη ή ξεδιπλωμένη μορφή, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν ουσιαστικά μόνο αυτές οι δύο στερεοδομικές μορφές της πρωτεΐνης (Εικόνα 3.56). Μια παρόμοια απότομη μετάπτωση παρατηρείται αν ξεκινήσουμε από την αποδιατεταγμένη πρωτεΐνη και απομακρύνουμε σταδιακά τον αποδιατακτικό παράγοντα ώστε να της επιτρέψουμε να ξαναπάρει τη φυσική μορφή της.

Επομένως, η αναδίπλωση της πρωτεΐνης είναι μια *διεργασία με μορφή «ή όλα ή τίποτα»* και είναι αποτέλεσμα *συνεργειακής μετάπτωσης*. Ας υποθέσουμε, παραδείγματος χάριν, ότι η πρωτεΐνη βρίσκεται σε συνθήκες που δημιουργούν θερμοδυναμική αστάθεια σε συγκεκριμένο τμήμα της. Καθώς αυτό το τμήμα της πρωτεΐνης χάνει τη στερεοδιάταξή του, χάνονται και οι αλληλεπιδράσεις του με την υπόλοιπη πολυπεπτιδική αλυσίδα. Η απώλεια των αλληλεπιδράσεων αυτών θα αποσταθεροποιήσει την υπόλοιπη δομή. Έτσι, λοιπόν, η απώλεια οποιουδήποτε τμήματος μιας πρωτεΐνης είναι πιθανόν να ξεδιπλώσει πλήρως την πρωτεΐνη. Οι δομικές ιδιότητες των πρωτεϊνών δίνουν τη λογική για αυτήν τη συνεργειακή μετάπτωση.

Οι επιπτώσεις της συνεργειακότητας στην αναδίπλωση κατανοούνται αν σκεφθούμε το περιεχόμενο του διαλύματος της πρωτεΐνης όταν αυτό βρίσκεται στο 50% της αναδίπλωσης. Η πρωτεΐνη τότε είναι «μισοδιπλωμένη». Το διάλυμα στην περίπτωση αυτή όμως δεν έχει μισοδιπλωμένα μόρια, έχει 50% αναδιπλωμένα και 50% ξεδιπλωμένα μόρια (Εικόνα 3.57). Οι δομές που είναι μερικώς αναδιπλωμένες υπάρχουν μόνο ως μεταβατικές καταστάσεις και δεν είναι θερμοδυναμικά σταθερές. Με τη συνεργειακή αναδίπλωση, οι μεταβατικές δομές που θα μπορούσαν να διαταράξουν διεργασίες μέσα στα κύτταρα δεν συσσωρεύονται.



ΕΙΚΟΝΑ 3.56 Η μετάπτωση από την αναδιπλωμένη στην ξεδιπλωμένη κατάσταση. Οι περισσότερες πρωτεΐνες εμφανίζουν μια έντονη μετάπτωση από την αναδιπλωμένη στην ξεδιπλωμένη κατάσταση όταν αντιμετωπίζουν αυξανόμενες συγκεντρώσεις αποδιατακτικών παραγόντων.

ΕΙΚΟΝΑ 3.57 Συστατικά πρωτεϊνικού διαλύματος που βρίσκεται σε κατάσταση μερικού ξεδιπλώματος. Στην περίπτωση διαλύματος πρωτεΐνης η οποία είναι μισοξεδιπλωμένη, το διάλυμα αυτό περιέχει 50% ξεδιπλωμένα και 50% αναδιπλωμένα μόρια.

3.6.3 Οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σταθεροποιώντας σταδιακά ενδιάμεσες δομές και όχι αναζητώντας τυχαία τη σωστή δομή

Η συνεργειακή αναδίπλωση των πρωτεϊνών είναι μια θερμοδυναμική ιδιότητα και δεν εξηγεί την κινητική και τον μηχανισμό της διεργασίας. Πώς μπορεί μια πρωτεΐνη να μεταπηδήσει από ένα σύνολο ξεδιπλωμένων δομών στη μοναδική στερεοδιάταξη της φυσικής μορφής της; Μια *a priori* πιθανότητα είναι ότι δοκιμάζονται όλες οι δυνατές στερεοδιατάξεις, καθώς η πρωτεΐνη προσπαθεί να βρει τη μορφή που είναι πιο σταθερή ενεργειακά. Πόσο θα διαρκούσε ένα τέτοιο ψάξιμο; Ας φανταστούμε μια μικρή πρωτεΐνη 100 αμινοξέων. Ο Cyrus Levinthal υπολόγισε ότι αν το κάθε αμινοξύ μπορεί να πάρει 3

διαφορετικές στερεοδιατάξεις, ο συνολικός αριθμός δομών είναι 3^{100} , δηλαδή 5×10^{47} . Με την προϋπόθεση ότι απαιτούνται 10^{-13} δευτερόλεπτα για τη μετατροπή της μιας δομής στην άλλη, ο συνολικός χρόνος θα ήταν $5 \times 10^{47} \times 10^{-13}$ s, δηλαδή 5×10^{34} s, ή $1,6 \times 10^{27}$ χρόνια! Είναι σαφές ότι ακόμη και μια μικρή πρωτεΐνη θα χρειαζόταν πάρα πολύ χρόνο μέχρι να δοκιμάσει όλους τους πιθανούς συνδυασμούς. Η τεράστια διαφορά μεταξύ του υπολογισμένου και του αληθινού χρόνου αναδίδωσής ονομάζεται *παράδοξο του Levinthal*.

Ένας τρόπος προσέγγισης του προβλήματος σχετίζεται με την αναγνώριση της δύναμης της *συσσωρευτικής επιλογής*. Ο Richard Dawkins στο βιβλίο του *The Blind Watchmaker* (Ο τυφλός ωρολογοποιός), έθεσε το εξής ερώτημα: Πόσο χρόνο θα χρειαζόταν ένας πίθηκος για να γράψει την παρατήρηση του Άμλετ προς τον Πολώνιο “Methinks it is like a weasel” (Εικόνα 3.58), αν χτυπάει τυχαία τα πλήκτρα μιας γραφομηχανής; Ο αριθμός των χτυπημάτων θα ήταν αστρονομικός, της τάξεως του 10^{40} . Αν όμως διατηρήσουμε τους σωστούς χαρακτήρες και επιτρέψουμε στον πίθηκο να ξαναχτυπήσει μόνο τα λάθη, τότε θα χρειαστούν μόνο λίγες χιλιάδες προσπάθειες για να επιτύχει το σωστό. Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο περιπτώσεων είναι ότι στην πρώτη η αναζήτηση γίνεται τελείως τυχαία, ενώ στη δεύτερη *τα μερικά σωστά ενδιάμεσα διατηρούνται*.

Κατ’ ουσίαν, η αναδίπλωση των πρωτεϊνών είναι η διατήρηση των μερικών σωστών αναδιπλώσεων. Το πρόβλημα πάντως της αναδίπλωσης μιας πρωτεΐνης είναι πολύ πιο δύσκολο από εκείνο του πιθήκου-Σαίξπηρ. Πρώτον, το κριτήριο ορθότητας δεν είναι κάτι που εξαρτάται μόνο από την ύπαρξη του σωστού αμινοξέος στη σωστή θέση για τη στερεοδιάταξη, αλλά ουσιαστικά το σημαντικό είναι το σύνολο της ελεύθερης ενέργειας της ενδιάμεσης στερεοδιάταξης. Δεύτερον, οι πρωτεΐνες είναι ελάχιστα σταθερές όταν δημιουργούνται. Η διαφορά ελεύθερης ενέργειας μεταξύ της αναδιπλωμένης και της ξεδιπλωμένης πρωτεΐνης 100 περίπου αμινοξέων είναι 10 kcal mol^{-1} (42 kJ mol^{-1}) και επομένως κάθε υπομονάδα συνεισφέρει κατά μέσον όρο μόλις $0,1 \text{ kcal mol}^{-1}$ ($0,42 \text{ kJ mol}^{-1}$) ενέργειας στη διατήρηση της αναδιπλωμένης δομής. Η ποσότητα αυτή είναι μικρότερη από τη θερμική ενέργεια που είναι $0,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ ($2,5 \text{ kJ mol}^{-1}$) σε θερμοκρασία δωματίου. Αυτή η χαμηλή ενέργεια σταθεροποίησης σημαίνει ότι τα σταθερά ενδιάμεσα και ιδιαίτερα εκείνα που δημιουργούνται στην αρχή των προσπαθειών αναδίπλωσης, μπορεί να χαθούν και να μην σταθεροποιηθούν. Αν επανέλθουμε στο παράδειγμα του πιθήκου, θα λέγαμε ότι είναι σαν να μπορούσε να ξαναχτυπήσει τα σωστά πλήκτρα. Παρ’ όλα αυτά, οι αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στη συνεργειακή αναδίπλωση μπορούν να σταθεροποιούν τα ενδιάμεσα καθώς η πρωτεΐνη αναδιπλώνεται. Επομένως, οι τοπικές περιοχές που προτιμούν ιδιαίτερα μια συγκεκριμένη δομή, παρ’ όλο που από μόνες τους μπορεί να μην είναι σταθερές, πρέπει να έχουν την τάση να διαμορφώνουν την προτιμητέα δομή και, καθώς σχηματίζονται, τέτοια επιμέρους τμήματα μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, οδηγώντας σε συνεχώς αυξανόμενη σταθεροποίηση

3.6.4 Η πρόβλεψη της τριτοταγούς δομής από την αλληλουχία των αμινοξέων παραμένει μια μεγάλη πρόκληση

Η πρωτοταγής δομή καθορίζει απόλυτα την τριδιάστατη δομή των πρωτεϊνών. Παρ’ όλα αυτά, η πρόβλεψη της σωστής στερεοδιάταξης των πρωτεϊνών παραμένει εξαιρετικά δύσκολη. Όπως είδαμε, οι τοπικές αλληλουχίες καθορίζουν μόνο το 60-70% της δευτεροταγούς δομής, ενώ απαιτούνται αλληλεπιδράσεις μεταξύ των απομακρυσμένων στην πρωτοταγή δομή αμινοξέων για να μπορέσει να διατηρηθεί η πλήρης δευτεροταγής και τριτοταγής δομή.

Οι ερευνητές ακολουθούν δύο θεμελιωδώς διαφορετικές προσεγγίσεις προκειμένου να προβλέψουν την τριδιάστατη δομή από τις αλληλουχίες αμινο-

```

200 ?T(\G{+s x[A.N5~, #ATxSGpn .e□@
400 oDr'Jh7s DFR:W4l'u+^v6zpJseOi
600 e2ih'8zs n527x8l8d_ih=Hldseb.
800 S#dh>)/s JtZqC%lP%DK<|!^aseZ.
1000 V0th>nLs ut/isjl_kwojJWasef.
1200 juth+nvs it is{luKh?SCw=aseS.
1400 Iitdn4s it is0l/ks/IxwLase-.
1600 M?thinrs it is lXk?T"woasel.
1800 MStinWs it is lwkN7□kw(asel.
2000 Mhthin`s it is likv,aww_asel.
2200 MMthinns it is lik+5avwLasel.
2400 MethinXs it is likydaqw)asel.
2600 Methin4s it is lik2dasweasel.
2800 MethinHs it is like□aTweasel.
2883 Methinks it is like a weasel.

200 }z~hg)W4{{cu!kO{d6jS!NlEyUx}p
400 "W h1\kR.<εCfA%4-YlG!iT$6{({|6
600 .L=hinkm4 (uMGP^lAwO6klwW=yiS
800 AthinkaPa_vyH liR\Hb,Uo4\~"(
1000 OFthinksP}@fzO li8v) /+Eln26B
1200 6ithinksMvt -v likm+gl#K~}BFk
1400 vxthinksaE□w like.SlGoutks.
1600 :Othinks<lit MC likesN2[eaVe4.
1800 uxthinksqit Or likeQh)weaoew.
2000 Y/thinks it id like7aIwea)ε.
2200 Methinks it iw like a(weaWel.
2400 Methinks it is like a;weasel.
2431 Methinks it is like a weasel.

```

ΕΙΚΟΝΑ 3.58 Πώς δακτυλογραφεί ένας πίθηκος. Ένας πίθηκος χτυπώντας στην τύχη τα πλήκτρα της γραφομηχανής θα μπορούσε να γράψει σωστά μια γραμμή από τον Άμλετ του Σαίξπηρ, εφ’ όσον διατηρούνται οι σωστοί χαρακτήρες που θα χτυπήσει στην τύχη. Παρατίθενται δύο προσομοιώσεις με υπολογιστή της κατάστασης. Ο συνολικός αριθμός χτυπημάτων στο πληκτρολόγιο δίνεται στο αριστερό μέρος της γραμμής.

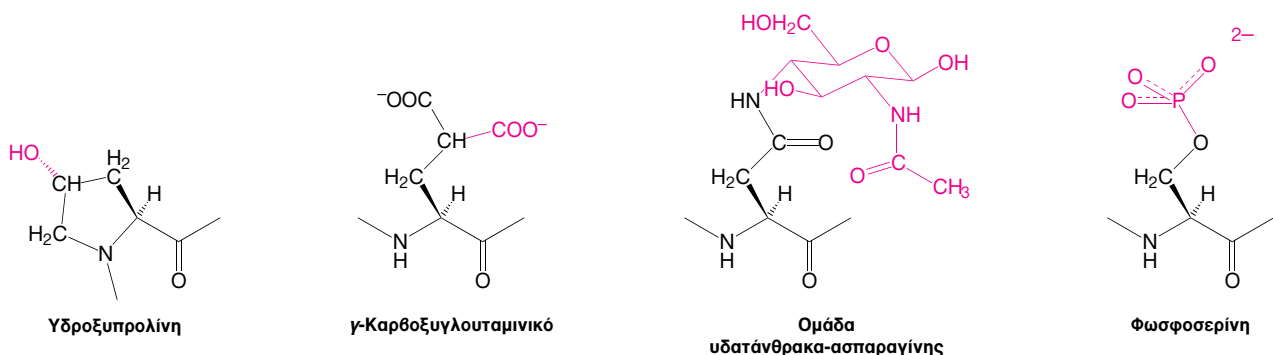
ξέων. Η πρώτη είναι η *εξ αρχής πρόβλεψη* (ab initio prediction), δηλαδή η πρόβλεψη της δομής χωρίς την άμεση αναφορά σε άλλες γνωστές δομές. Στην περίπτωση αυτή, οι υπολογισμοί γίνονται με προγράμματα που υπολογίζουν την ελεύθερη ενέργεια του πολυπεπτιδίου προσπαθώντας να την ελαχιστοποιήσουν ή να προσομοιώσουν τη διεργασία αναδίπλωσης. Η χρησιμότητα των μεθόδων αυτών περιορίζεται από τον μεγάλο αριθμό των πιθανών στερεοδιατάξεων, την περιορισμένη σταθερότητα των πρωτεϊνών και την ελάχιστη ενέργεια των ασθενών αλληλεπιδράσεων στα υδάτινα διαλύματα. Η δεύτερη προσέγγιση λαμβάνει υπ' όψιν τις γνώσεις σχετικά με τις γνωστές τριδιάστατες στερεοδιατάξεις των πρωτεϊνών. Με τη μέθοδο αυτή, που *στηρίζεται σε προηγούμενη γνώση*, μια αλληλουχία αμινοξέων άγνωστης δομής εξετάζεται σε σχέση με γνωστές δομές πρωτεϊνών. Αν βρεθεί κάτι που να ταιριάζει, τότε αυτό χρησιμοποιείται ως αρχικό μοντέλο εργασίας. Με τον τρόπο αυτό έχουν διαλευκανθεί αρκετές στερεοδιατάξεις πρωτεϊνών γνωστής αλληλουχίας αλλά άγνωστης δομής.

3.6.5 Η τροποποίηση ή διάσπαση μιας πρωτεΐνης προσθέτει νέες δυνατότητες

Οι πρωτεΐνες μπορούν να επιτελούν αναρίθμητες λειτουργίες, βασισμένες αποκλειστικά στην ευελιξία που τις παρέχουν τα 20 αμινοξέα. Παρ' όλα αυτά, πολλές πρωτεΐνες είναι δυνατόν να τροποποιηθούν ομοιοπολικά με την προσθήκη άλλων ομάδων, εκτός των αμινοξέων, για να εμπλουτίσουν την ποικιλία των δράσεών τους (Εικόνα 3.59). Παραδείγματος χάριν, *ακετυλικές ομάδες* προστίθενται στο αμινο-τελικό άκρο πολλών πρωτεϊνών, αυξάνοντας την ανθεκτικότητά τους στην αποικοδόμηση. Η προσθήκη *υδροξυλικών ομάδων* στις προλίνες του νεοσυντιθέμενου κολλαγόνου σταθεροποιεί τις ίνες της πρωτεΐνης στον συνδετικό ιστό και τα οστά. Η βιολογική σημασία της τροποποίησης γίνεται φανερή στην ασθένεια σκορβούτο, όπου η έλλειψη της βιταμίνης C οδηγεί σε ανεπαρκή υδροξυλίωση του κολλαγόνου και επομένως σε ανωμαλίες στις ίνες, οι οποίες αδυνατούν να διατηρήσουν την αντοχή των ιστών σε φυσιολογικά επίπεδα. Άλλο ένα εξειδικευμένο αμινοξύ που παράγεται σαν «τελική πινελιά» είναι το *γ-καρβοξυγλουταμικό*. Η έλλειψη της βιταμίνης K μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγίες λόγω ανωμαλιών στην καρβοξυλίωση του γλουταμικού της προθρομβίνης, μιας πρωτεΐνης της πήξης του αίματος. Πολλές πρωτεΐνες, ιδιαίτερα εκείνες της επιφάνειας των κυττάρων ή οι εκκρινόμενες, αποκτούν *μονάδες υδατανθράκων* σε συγκεκριμένες υπομονάδες ασπαραγίνης. Η προσθήκη σακχάρων κάνει τις πρωτεΐνες πιο υδρόφιλες και διευκολύνει τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλες πρωτεΐνες. Αντίστροφα, η προσθήκη *λιπαρού οξέος* στην α-αμινική ομάδα ή στο σουλφυδρύλιο της κυστεΐνης παράγει μια περισσότερο υδρόφοβη πρωτεΐνη.

Πολλές ορμόνες, όπως η επινεφρίνη (αδρεναλίνη), μεταβάλλουν τη δραστητικότητα ενζύμων ενεργοποιώντας τη φωσφορυλίωση των υδροξυ-αμινοξέων

ΕΙΚΟΝΑ 3.59 Τελικές πινελιές. Μερικές κοινές και σημαντικές ομοιοπολικές τροποποιήσεις πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων.



σερίνη και θρεονίνη. Η *φωσφοσερίνη* και η *φωσφοθρεονίνη* είναι τα πιο συχνά απαντώμενα τροποποιημένα αμινοξέα στις πρωτεΐνες. Οι παράγοντες ανάπτυξης, όπως η ινσουλίνη, λειτουργούν ενεργοποιώντας τη φωσφορυλίωση των υδροξυλικών ομάδων καταλοίπων τυροσίνης με συνέπεια τη δημιουργία *φωσφοτυροσίνης*. Τα φωσφορικά απομακρύνονται εύκολα και από τα τρία τροποποιημένα αμινοξέα και επομένως η φωσφορυλίωσή τους αποτελεί έναν αντιστρεπτό διακόπτη για πολλές ρυθμίσεις κυτταρικών διεργασιών. Οι ρόλοι της φωσφορυλίωσης στη μεταγωγή σήματος θα αναφερθούν αναλυτικά στο Κεφάλαιο 15.

Οι προηγούμενες τροποποιήσεις αφορούσαν την προσθήκη ειδικών ομάδων στα αμινοξέα. Υπάρχουν όμως και άλλες τροποποιήσεις που αφορούν τη δημιουργία ειδικών ομάδων μέσω χημικής ανακατανομής πλευρικών αλυσίδων και μερικές φορές και του ίδιου του πεπτιδικού κορμού. Παραδείγματος χάριν, οι μέδουσες παράγουν μια πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, την GFP (Εικόνα 3.60). Η πηγή φθορισμού είναι μια ομάδα που δημιουργείται από την ανακατανομή και οξείδωση της αλληλουχίας Ser-Tyr-Gly στο κέντρο της πρωτεΐνης. Η πρωτεΐνη αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στους ερευνητές ως κυτταρικός σηματοδότης (Εδάφιο 4.3.5).

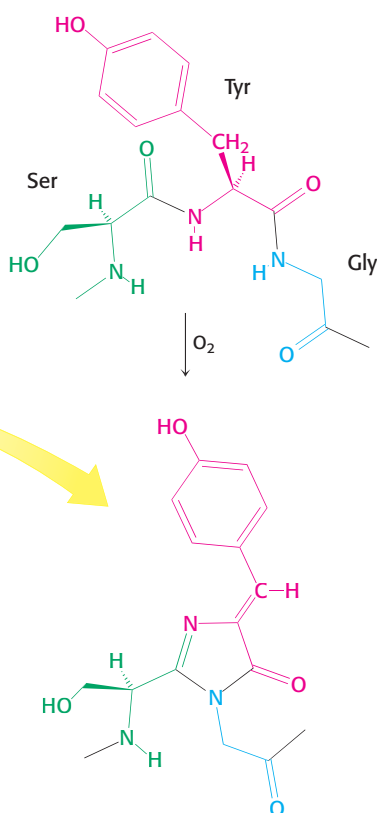
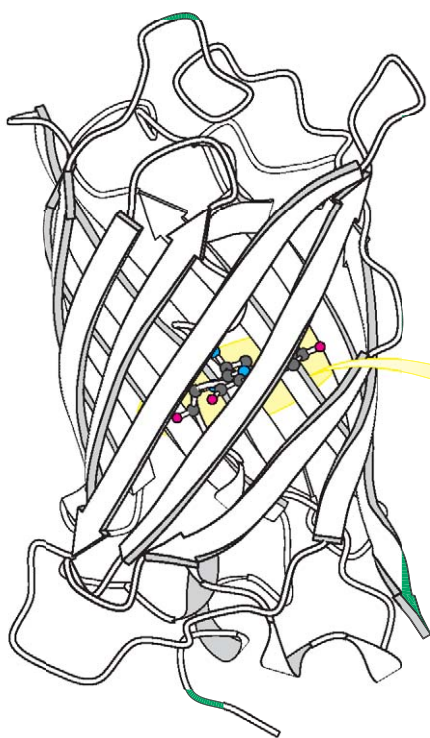
Τελικά, πολλές πρωτεΐνες κόβονται και ράβονται μετά τη σύνθεσή τους. Παραδείγματος χάριν, τα ένζυμα της πέψης συντίθενται ως ανενεργά πρόδρομα μόρια που μπορούν έτσι να αποθηκευθούν στο πάγκρεας χωρίς συνέπειες. Η ενεργοποίηση των πρόδρομων μορίων πραγματοποιείται στο λεπτό έντερο με διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού. Κατά την πήξη του αίματος η διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού μετατρέπει το διαλυτό ινωδογόνο σε αδιάλυτο ινώδες. Ένας αριθμός πολυπεπτιδικών ορμονών, όπως η επινεφριδιοφλοιοτρόπος ορμόνη, δημιουργούνται από τη διάσπαση ενός μεγαλύτερου πολυπεπτιδικού πρόδρομου μορίου. Ομοίως, πολλές πρωτεΐνες ιών παράγονται από τη διάσπαση μεγάλων πολυπρωτεϊνικών προδρόμων. Θα συναντήσουμε πολλά ακόμη παραδείγματα τροποποιήσεων και διασπάσεων που αποτελούν αναπόσπα-



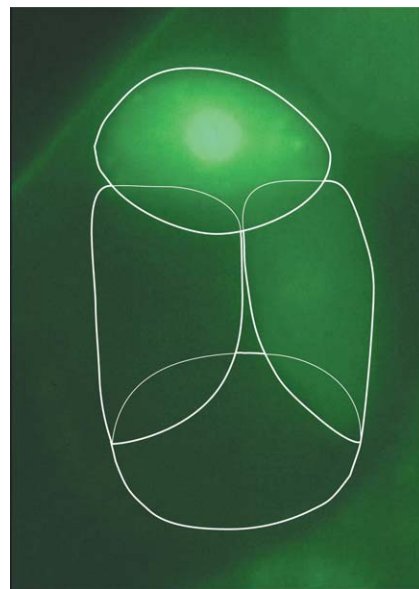
ΕΙΚΟΝΑ 3.60 Χημική αναδιάταξη

στην GFP. (Α) Η δομή της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης. Η πηγή του φθορισμού είναι η αναδιάταξη και οξείδωση της αλληλουχίας Ser-Tyr-Gly. (Β) Φωτομικρογραφία φθορισμού ενός εμβρύου στο στάδιο των τεσσάρων κυττάρων (τα κύτταρα είναι σχεδιασμένα). Το έμβryo είναι από τον νηματώδη σκώληκα *C. elegans* και περιέχει μια πρωτεΐνη, την PIE-1, που έχει σμμανθεί με GFP. Η πρωτεΐνη εκφράζεται μόνο στο κύτταρο της κορυφής (επάνω) που θα δώσει τα κύτταρα των γαμετών. [(Β) Ευγενική προσφορά Geraldine Seydoux.]

(Α)



(Β)



στα στοιχεία του σχηματισμού και της λειτουργίας των πρωτεϊνικών αλυσίδων. Πράγματι, αυτές οι τελικές πινελιές των πρωτεϊνών ευθύνονται για την ιδιαίτερη ευελιξία, ακρίβεια και κομψότητα της δράσης τους και της ρύθμισης αυτής της δράσης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

- Οι πρωτεΐνες είναι οι εργάτες της βιοχημείας, συμμετέχοντας σε όλες σχεδόν τις κυτταρικές διεργασίες. Η πρωτεϊνική δομή μπορεί να περιγραφεί σε τέσσερα επίπεδα. Η πρωτοταγής δομή αναφέρεται στην αλληλουχία των αμινοξέων. Η δευτεροταγής δομή αναφέρεται στη στερεοδιάταξη των τοπικών περιοχών της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η τριτοταγής δομή περιγράφει τη συνολική αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Τέλος, η τεταρτοταγής δομή αναφέρεται στην ειδική σύνθεση του συνόλου των πολυπεπτιδικών αλυσίδων μιας πρωτεΐνης και στη δημιουργία συμπλόκων πολλών υπομονάδων.
- **Οι πρωτεΐνες δομούνται από ένα σύνολο 20 αμινοξέων**
Οι πρωτεΐνες είναι γραμμικά πολυμερή αμινοξέων. Κάθε αμινοξύ αποτελείται από ένα κεντρικό τετρασθενές άτομο άνθρακα που συνδέεται με μια αμινική ομάδα, μια καρβοξυλική ομάδα, μια χαρακτηριστική πλευρική αλυσίδα και ένα υδρογόνο. Αυτά τα τετραεδρικά κέντρα, με εξαίρεση εκείνο της γλυκίνης, είναι χειρόμορφα και μόνο το L-ισομερές απαντά στις φυσικές πρωτεΐνες. Όλες οι φυσικές πρωτεΐνες δομούνται από τα ίδια 20 αμινοξέα. Οι πλευρικές αλυσίδες των 20 αυτών δομικών μορίων διαφέρουν σημαντικά σε μέγεθος, σε σχήμα και σε παρουσία λειτουργικών ομάδων. Μπορούμε να ταξινομήσουμε τα αμινοξέα σε ομάδες ως εξής: (1) αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες – γλυκίνη, αλανίνη, βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη και προλίνη, (2) αρωματικές πλευρικές αλυσίδες – φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, θρυπτοφάνη, (3) υδροξυλικές-αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες – σερίνη, θρεονίνη, (4) κυστεΐνες που περιέχουν σουλφυδρύλια, (5) βασικές πλευρικές αλυσίδες – λυσίνη, αργινίνη και ιστοιδίνη, (6) όξινες πλευρικές αλυσίδες – ασπαραγινικό και γλουταμινικό οξύ και (7) αμιδικές πλευρικές αλυσίδες – ασπαραγίνη και γλουταμίνη. Οι ομαδοποιήσεις αυτές είναι κάπως αυθαίρετες και φυσικά είναι πιθανές πολλές άλλες δυνατότητες ομαδοποιήσεων.
- **Πρωτοταγής δομή: Τα αμινοξέα συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς για να σχηματίσουν πολυπεπτιδικές αλυσίδες**
Τα αμινοξέα στην πολυπεπτιδική αλυσίδα συνδέονται με αμιδικούς δεσμούς που δημιουργούνται μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας ενός αμινοξέος και της αμινικής ομάδας του επομένου. Η σύνδεση αυτή, που ονομάζεται πεπτιδικός δεσμός, έχει πολλές σημαντικές ιδιότητες. Πρώτον, είναι εντυπωσιακά ανθεκτική στην υδρόλυση, με συνέπεια οι πρωτεΐνες να χαρακτηρίζονται από κινητική σταθερότητα. Δεύτερον, η πεπτιδική ομάδα είναι επίπεδη διότι ο δεσμός C—N έχει χαρακτηριστικά μερικού διπλού δεσμού. Τρίτον, κάθε πεπτιδικός δεσμός έχει έναν δότη (την ομάδα NH) και έναν δέκτη (την ομάδα CO) δεσμών υδρογόνου. Η δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ομάδων αυτών του κορμού είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της πρωτεϊνικής δομής. Τέλος, ο πεπτιδικός δεσμός δεν έχει φορτίο, επιτρέποντας έτσι στις πρωτεΐνες να δημιουργούν συμπαγείς σφαι-

ρικές δομές με το μεγαλύτερο μέρος του κορμού βυθισμένο στο εσωτερικό της πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες, επειδή είναι γραμμικά πολυμερή, μπορούν να περιγραφούν και ως αλληλουχίες αμινοξέων. Κατά σύμβαση αυτές οι αλληλουχίες γράφονται με κατεύθυνση από το αμινο-τελικό προς το καρβοξυ-τελικό άκρο.

- **Δευτεροταγής δομή: Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να αναδιπλώνονται σε κανονικές δομές όπως η α -έλικα, η β -πτυχωτή επιφάνεια, οι στροφές και οι θηλιές**

Δύο κύρια δομικά στοιχεία της δευτεροταγούς δομής είναι η α -έλικα και η β -πτυχώση. Στην α -έλικα η πολυπεπτιδική αλυσίδα ελίσσεται και δημιουργεί μια συμπαγή ράβδο. Στο εσωτερικό της έλικας η ομάδα CO κάθε αμινοξέος δεσμεύεται με δεσμό υδρογόνου στην ομάδα NH του αμινοξέος που βρίσκεται τέσσερα κατάλοιπα πιο κάτω στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Στη β -πτυχώση η πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι σχεδόν πλήρως εκτεταμένη. Δύο ή περισσότερες β -πτυχώσεις, συνδεδεμένες με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ NH και CO, πλησιάζουν η μία την άλλη δημιουργώντας β -πτυχωτές επιφάνειες.

- **Τριτοταγής δομή: Οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σε συμπαγείς δομές με μη πολικά κέντρα**

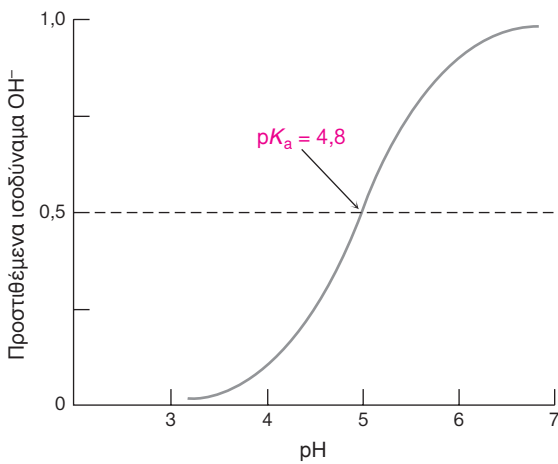
Η συμπαγής, ασύμμετρη δομή του κάθε πολυπεπτιδίου στον χώρο ονομάζεται τριτοταγής δομή. Οι τριτοταγείς δομές των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών έχουν κοινά χαρακτηριστικά: (1) στο εσωτερικό τους τοποθετούνται τα αμινοξέα με υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες και (2) η επιφάνειά τους περιέχει κατά κύριο λόγο τα υδρόφιλα αμινοξέα που αλληλεπιδρούν με το υδάτινο περιβάλλον. Η κινητήρια δύναμη των αναδιπλώσεων των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών είναι οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις των αμινοξέων του εσωτερικού. Μερικές πρωτεΐνες που βρίσκονται σε υδρόφοβο περιβάλλον, όπως στις μεμβράνες, εμφανίζουν αντίθετη κατανομή υδρόφοβων και υδρόφιλων αμινοξέων. Στις πρωτεΐνες αυτές τα υδρόφοβα αμινοξέα βρίσκονται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης για να αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον, ενώ οι υδρόφιλες ομάδες βυθίζονται στο εσωτερικό της πρωτεΐνης αποφεύγοντας το περιβάλλον.

- **Τεταρτοταγής δομή: Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να συγκροτήσουν δομές πολλών υπομονάδων**

Οι πρωτεΐνες που αποτελούνται από περισσότερες της μιας πολυπεπτιδικές αλυσίδες εμφανίζουν τεταρτοταγή δομή και το κάθε ένα από τα ανεξάρτητα πολυπεπτιδία ονομάζεται υπομονάδα. Οι τεταρτοταγείς δομές μπορεί να είναι απλές όταν αποτελούνται από δύο ίδιες υπομονάδες ή πολύπλοκες όταν αποτελούνται από πολλές διαφορετικές υπομονάδες. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι υπομονάδες συγκροτούνται με μη ομοιοπολικούς δεσμούς.

- **Η αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριδιάστατη δομή της**

Η αλληλουχία αμινοξέων καθορίζει απόλυτα την τριδιάστατη δομή και κατ' επέκταση όλες τις άλλες ιδιότητες μιας πρωτεΐνης. Ορισμένες πρωτεΐνες μπορεί να αποδιαταχθούν και η αναδίπλωση γίνεται αυτόματα με την προϋπόθεση να απομακρυνθούν οι αποδιατακτικοί παράγοντες και να δημιουργηθούν συνθήκες που επαναφέρουν την πρωτεΐνη σε σταθερή κατάσταση. Η αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης καθορίζεται από την αλληλουχία των βάσεων στο μόριο του DNA. Η μονοδιάστατη αυτή γραμμική πληροφορία μετατρέπεται σε τριδιάστατη δομή λόγω της ικανότητας

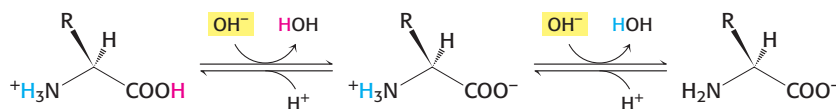


ΕΙΚΟΝΑ 3.61 Καμπύλη τιτλοδότησης του οξικού οξέος.

αυτού από την ποσότητα του OH^- που προστίθεται λέγεται *καμπύλη τιτλοδότησης* (Εικόνα 3.61). Επισημαίνεται ότι υπάρχει ένα σημείο καμψής στην καμπύλη για pH 4,8 που είναι το pK_a του οξικού οξέος. Κοντά στο pH αυτό, σχετικά μεγάλες ποσότητες προστιθέμενου OH^- δίνουν μικρές αλλαγές στο pH . Με άλλα λόγια, το ρυθμιστικό διάλυμα διατηρεί την τιμή pH κοντά σε μια δεδομένη τιμή, παρά την προσθήκη άλλων είτε πρωτονίων είτε ιόντων υδροξειδίου. Γενικά, ένα ασθενές οξύ είναι καλύτερο ρυθμιστικό διάλυμα για αλλαγές pH κοντά στο pK_a του.

Οι τιμές pK_a των αμινοξέων

Ένα αμινοξύ όπως η γλυκίνη περιέχει δύο ομάδες που ιοντίζονται: ένα α -καρβοξύλιο και μια πρωτονιωμένη α -αμινική ομάδα. Καθώς προσθέτουμε βάση, αυτές οι δυο ομάδες εξισορρο-



ΕΙΚΟΝΑ 3.62 Τιτλοδότηση της α -καρβοξυλικής ομάδας και της α -αμινικής ομάδας ενός αμινοξέος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4 Τιμές pK_a μερικών αμινοξέων.

Αμινοξύ	τιμές pK_a (25°C)		
	ομάδα α -COOH	ομάδα α -NH ₃ ⁺	Πλευρική αλυσίδα
Αλανίνη	2,3	9,9	
Γλυκίνη	2,4	9,8	
Φαινυλαλανίνη	1,8	9,1	
Σερίνη	2,1	9,2	
Βαλίνη	2,3	9,6	
Ασπαραγινικό οξύ	2,0	10,0	3,9
Γλουταμινικό	2,2	9,7	4,3
Ιστιδίνη	1,8	9,2	6,0
Κυστεΐνη	1,8	10,8	8,3
Τυροσίνη	2,2	9,1	10,9
Λυσίνη	2,2	9,2	10,8
Αργινίνη	1,8	9,0	12,5

Κατά J. T. Edsall and J. Wyman, *Biophysical Chemistry* (Academic Press, 1958), Κεφάλαιο 8.

πούνται (Εικόνα 3.62). Το pK_a της ομάδας α -COOH είναι 2,3 ενώ εκείνο της ομάδας α -NH₃⁺ είναι 9,8. Οι τιμές του pK_a των ομάδων αυτών είναι σχεδόν οι ίδιες και στα άλλα αμινοξέα (Πίνακας 3.4). Μερικά αμινοξέα, όπως π.χ. το ασπαραγινικό, περιέχουν επίσης ιοντιζόμενες πλευρικές αλυσίδες. Τα pK_a στις ιοντιζόμενες πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων ποικίλλουν από 3,9 (στο ασπαραγινικό) μέχρι 12,5 (στην αργινίνη).

ΟΡΟΙ-ΚΛΕΙΔΙΑ

πλευρική αλυσίδα (ομάδα R), 47
L-αμινοξύ, 47
διπολικό ή αμφοτερικό ιόν, 47
πεπτιδικός (αμιδικός) δεσμός, 55
δισουλφιδικός δεσμός, 56
πρωτοταγής δομή, 57
γωνία φ , 59

γωνία ψ , 59
διάγραμμα Ramachandran, 60
 α -έλικα, 61
 β -πτυχωτή επιφάνεια, 63
 β -πτύχωση, 63
στροφή αναστροφής (β -στροφή, κάμψη φουρκέτας), 65

δευτεροταγής δομή, 65
τριτοταγής δομή, 66
δομική περιοχή, 68
υπομονάδα, 68
τεταρτοταγής δομή, 68
συνεργειακή μετάπτωση, 73

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Από πού να αρχίσετε

Richardson, J. S., 1981. The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv. Protein Chem.* 34:167-339.
Doolittle, R. F., 1985. Proteins. *Sci. Am.* 253(4):88-99.
Richards, F. M., 1991. The protein folding problem. *Sci. Am.* 264(1): 54-57.
Weber, A. L., and Miller, S. L., 1981. Reasons for the occurrence of the twenty coded protein amino acids. *J. Mol. Evol.* 17:273-284.

Βιβλία

Branden, C., Tooze, J., 1999. *Introduction to Protein Structure* (2d ed.). Garland.
Perutz, M. F., 1992. *Protein Structure: New Approaches to Disease and Therapy*. W. H. Freeman and Company.
Creighton, T. E., 1992. *Proteins: Structures and Molecular Principles* (2d ed.). W. H. Freeman and Company.
Schultz, G. E., and Schirmer, R. H., 1979. *Principles of Protein Structure*. Springer-Verlag.

Η στερεοδιάταξη των πρωτεϊνών

- Richardson, J. S., Richardson, D. C., Tweedy, N. B., Gernert, K. M., Quinn, T. P., Hecht, M. H., Erickson, B. W., Yan, Y., McClain, R. D., Donlan, M. E., and Suries, M. C., 1992. Looking at proteins: Representations, folding, packing, and design. *Biophys. J.* 63: 1186-1220.
- Chothia, C., and Finkelstein, A. V., 1990. The classification and origin of protein folding patterns. *Annu. Rev. Biochem.* 59:1007-1039.

α-έλικες, β-πτυχωτές επιφάνειες, θηλιές

- O'Neil, K. T., and DeGrado, W. F., 1990. A thermodynamic scale for the helix-forming tendencies of the commonly occurring amino acids. *Science* 250:646-651.
- Zhang, C., and Kim, S. H., 2000. The anatomy of protein beta-sheet topology. *J. Mol. Biol.* 299:1075-1089.
- Regan, L., 1994. Protein structure: Born to be beta. *Curr. Biol.* 4:656-658.
- Leszczynski, J. F., and Rose, G. D., 1986. Loops in globular proteins: A novel category of secondary structure. *Science* 234:849-855.
- Srinivasan, R., and Rose, G. D., 1999. A physical basis for protein secondary structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 14258-14263.

Δομικές περιοχές

- Bennett, M. J., Choe, S., and Eisenberg, D., 1994. Domain swapping: Entangling alliances between proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:3127-3131.
- Bergdoll, M., Eltis, L. D., Cameron, A. D., Dumas, P., and Bolin, J. T., 1998. All in the family: Structural and evolutionary relationships among three modular proteins with diverse functions and variable assembly. *Protein Sci.* 7:1661-1670.
- Hopfner, K. P., Kopetzki, E., Kresse, G. B., Bode, W., Huber, R., and Engh, R. A., 1998. New enzyme lineages by subdomain shuffling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:9813-9818.
- Ponting, C. P., Schultz, J., Copley, R. R., Andrade, M. A., and Bork, P., 2000. Evolution of domain families. *Adv. Protein Chem.* 54:185-244.

Αναδίπλωση πρωτεϊνών

- Anfinsen, C. B., 1973. Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 181:223-230.
- Baldwin, R. L., and Rose, G. D., 1999. Is protein folding hierarchic? I. Local structure and peptide folding. *Trends Biochem. Sci.* 24:26-33.
- Baldwin, R. L., and Rose, G. D., 1999. Is protein folding hierarchic? II. Folding intermediates and transition states. *Trends Biochem. Sci.* 24:77-83.
- Staley, J. P., and Kim, P. S., 1990. Role of a subdomain in the folding of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Nature* 344:685-688.
- Neira, J. L., and Fersht, A. R., 1999. Exploring the folding funnel of a polypeptide chain by biophysical studies on protein fragments. *J. Mol. Biol.* 285:1309-1333.

Ομοιοπολική τροποποίηση πρωτεϊνών

- Krishna, R. G., and Wold, F., 1993. Post-translational modification of proteins. *Adv. Enzymol. Relat. Ar. Mol. Biol.* 67:265-298.
- Aletta, J. M., Cimato, T. R., and Ettinger, M. J., 1998. Protein methylation: A signal event in post-translational modification. *Trends Biochem. Sci.* 23:89-91.
- Glazer, A. N., DeLange, R. J., and Sigman, D. S., 1975. *Chemical Modification of Proteins*. North-Holland.
- Tsien, R. Y., 1998. The green fluorescent protein. *Annu. Rev. Biochem.* 67:509-544.

Μοριακή απεικόνιση

- Kraulis, P., 1991. MOLSCRIPT: A program to produce both detailed and schematic plots of protein structures. *J. Appl. Cryst.* 24:946-950.
- Ferrin, T., Huang, C., Jarvis, L., and Langridge, R., 1988. The MIDAS display system. *J. Mol. Graphics* 6:13-27.
- Richardson, D. C., and Richardson, J. S., 1994. Kinemages: Simple macromolecular graphics for interactive teaching and publication. *Trends Biochem. Sci.* 19:135-138.

ΑΣΚΗΣΕΙΣ

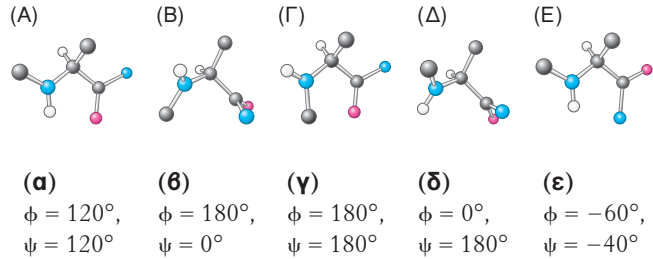
1. *Σχήμα και διαστάσεις.* (α) Η τροπομοσίνη είναι μια πρωτεΐνη 70 kD που βρίσκεται στους μυς και αποτελείται από δύο αλυσίδες με δομή α-έλικας που είναι υπερελικωμένες. Να καθορίσετε το μήκος του μορίου. (β) Ας υποθέσουμε ότι ένα τμήμα της πρωτεΐνης, 40 αμινοξέων, αναδιπλώνεται σε μια δομή από δύο αλυσίδες με αντιπαράλληλη β-δομή και 4 κατάλοιπα σε στροφή φουρκέτας. Ποιο μπορεί να είναι το μεγαλύτερο μήκος αυτού του μοτίβου;
2. *Αντίθετα ισομερή.* Η πολυ-L-λευκίνη όταν βρίσκεται σε οργανικό διαλύτη, όπως το διοξάνιο, έχει δομή α-έλικας. Η πολυ-L-ισολευκίνη παρ' όλο που έχει τον ίδιο αριθμό αμινοξέων και τα ίδια είδη ατόμων δεν έχει δομή α-έλικας στο διοξάνιο. Να εξηγήσετε γιατί τα δύο αμινοξέα έχουν διαφορετικές δομικές προτιμήσεις.
3. *Η δραστικότητα ξανακερδίζεται.* Μια μετάλλαξη που τροποποιεί μια αλανίνη σε βαλίνη στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης οδηγεί σε απώλεια της δραστικότητας της πρωτεΐνης. Μια δεύτερη μετάλλαξη όμως που τροποποιεί μια ισολευκίνη σε γλυκίνη επαναφέρει τη δραστικότητα, αν και συμβαίνει σε τελείως διαφορετικό σημείο της πολypeptidικής αλυσίδας. Πώς μπορείτε να το εξηγήσετε αυτό;
4. *Τεστ ανακατανομής.* Απομονώθηκε ένα ένζυμο που καταλύει αντιδράσεις δισουλφιδίων σε σουλφιδρύλια και ονομάστηκε ισομεράση των πρωτεϊνικών δισουλφιδίων (protein disulfide isomerase, PDI). Η PDI μετατρέπει εύκολα την ανενεργό ανακατεμένη ριβονουκλεάση σε ενεργό ένζυμο ενώ απενεργοποιεί την ινσουλίνη. Να προσδιορίσετε τί συμπέρασμα μπορούμε να αποκομίσουμε από αυτή τη σημαντική παρατήρηση σχετικά με την ινσουλίνη και ιδιαίτερα όσον αφορά τη σχέση της αλληλουχίας των αμινοξέων της με τη χωροδιάταξη του μορίου της.
5. *Το άνοιγμα του στόχου.* Πρωτεύση χαρακτηρίζουμε το ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση ενός πεπτιδικού δεσμού στις πρωτεΐνες-στόχους. Πώς μπορεί μια πρωτεύση να δεσμεύεται στην πρωτεΐνη-στόχο και να την ξεδιπλώνει έτσι ώστε να αποκαλύπτεται ο ζητούμενος ευαίσθητος πεπτιδικός δεσμός;

6. Πολλές φορές αναντικατάστατη. Η γλυκίνη είναι ένα αμινοξύ που διατηρείται σχεδόν πάντοτε αμετάβλητο κατά την εξέλιξη των πρωτεϊνών. Γιατί;
7. Πιθανοί σύντροφοι; Να προσδιορίσετε τις ομάδες της πρωτεΐνης που μπορούν να δίνουν δεσμούς υδρογόνου ή ηλεκτροστατικούς δεσμούς με την πλευρική αλυσίδα της αργινίνης σε pH 7.
8. Περιμανάν στα μαλλιά. Το σχήμα των μαλλιών μας καθορίζεται κατά ένα μεγάλο μέρος από το είδος των δι-σουλφιδικών δεσμών στην κερατίνη, την κύρια πρωτεΐνη τους. Πώς μπορούμε να κάνουμε τα μαλλιά σγουρά;
9. Η θέση είναι το παν. Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες συχνά περιέχουν α-έλικες. Γνωρίζοντας ότι το εσωτερικό των μεμβρανών είναι ιδιαίτερα υδρόφοβο (Εδάφιο 12.2.1), σκεφθείτε ποιος τύπος αμινοξέων μπορεί να ταιριάζει σε μια τέτοια έλικα. Γιατί η α-έλικα είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για δομές στα υδρόφοβα περιβάλλοντα του εσωτερικού των μεμβρανών;
10. Θέματα σταθερότητας. Οι πρωτεΐνες είναι αρκετά σταθερά μόρια. Η διάρκεια ζωής ενός πεπτιδικού δεσμού σε υδατικό διάλυμα είναι σχεδόν 1000 χρόνια. Παρ' όλα αυτά, η ΔG° της υδρόλυσης των πρωτεϊνών είναι αρνητική και αρκετά μεγάλη. Πώς εξηγείτε τη σταθερότητα των πεπτιδικών δεσμών γνωρίζοντας ότι η υδρόλυσή τους απελευθερώνει πολλή ενέργεια;
11. Οι μειωψήφεις. Για αμινοξέα όπως η αλανίνη, η κύρια μορφή σε pH 7 είναι το αμφοτερικό ιόν. Αν υποθέσουμε ότι $pK_a = 8$ για την αμινική ομάδα και $pK_a = 3$ για την καρβοξυλική ομάδα να υπολογίσετε το κλάσμα της συγκέντρωσης ουδέτερων αμινοξέων (το καρβοξυλικό να είναι πρωτονιωμένο και το αμιδικό ουδέτερο) προς τη συγκέντρωση των αμφοτερικών ιόντων σε pH 7.
12. Θέματα σύμβασης. Όλα τα L-αμινοξέα έχουν απόλυτη διαμόρφωση S εκτός από την L-κυστεΐνη που έχει διαμόρφωση R. Να εξηγήσετε γιατί η L-κυστεΐνη έχει διαμόρφωση R.

13. Κρυμμένο μήνυμα. Γράψτε τα αμινοξέα που ακολουθούν με τον κωδικό ενός γράμματος: Leu – Glu – Ala – Arg – Asn – Ile – Asn – Gly – Ser – Cys – Ile – Glu – Asn – Cys – Glu – Ile – Ser – Gly – Arg – Glu – Ala – Thr.

14. Ποιος πάει πρώτος; Τί περιμένετε από την αλληλουχία Pro-X; Θα έχει στερεοδιάταξη cis όπως η αλληλουχία X-Pro; Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.

15. Κάντε ζεύγη. Για κάθε ένα από τα παράγωγα αμινοξέων που βλέπετε (A-E) να βρείτε τις τιμές ϕ και ψ που ταιριάζουν (α-ε).



16. Συγκεντρωθείτε στις συγκεντρώσεις. Ένα διάλυμα μιας πρωτεΐνης που περιέχει τρία κατάλοιπα θρυπτοφάνης, αλλά δεν έχει τυροσίνη και φαινυλαλανίνη, δίνει απορρόφηση 0,1 στα 280 nm σε κυψελίδα με διαδρομή φωτός 1 cm. Να υπολογίσετε τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης με μονάδες γραμμομοριακότητας κατ' όγκο. Αν η μάζα της πρωτεΐνης είναι 100 kd, να υπολογίσετε τη συγκέντρωση σε μονάδες μg πρωτεΐνης ανά ml διαλύματος.



Άσκηση πολυμέσων

Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε το “Structural Insights” και το “Conceptual Insights” ως οπτικές βοήθειες (visual aids) για να βοηθηθείτε να απαντήσετε στις Ασκήσεις Πολυμέσων (Media Problems). Πηγαίνετε στην ιστοσελίδα: www.whfreeman.com/biochem.5 και διαλέξτε το στοιχείο (module) που ταιριάζει.

17. Το μέσα-έξω και το εμπρός-πίσω. Όταν πάτε στις Ασκήσεις Πολυμέσων στην τοποθεσία του δικτύου **Structural Insights** και στο module (πρωτεΐνες-δομή), θα βρείτε τέσσερις πιθανές πρωτεϊνικές δομές. Μία από αυτές καθορίστηκε με κρυσταλλογραφία με ακτίνες X. Οι άλλες τρεις είναι μη πραγματικές δομές και μάλιστα απίθανο να εμφανιστούν ποτέ. Να προσδιορίσετε ποιες δομές είναι αδύνατες και να εξηγήσετε το γιατί.