ΕΠΙΔΡΑΣΗ 21 …ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ: Βιολογικά μακρομόρια

Μια πρωτεΐνη είναι ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται από συνδεδεμένα α-αμινοξέα, NH2CHRCOOH, όπου R είναι μια από τις περίπου 20 ομάδες. Για να λειτουργεί μια πρωτεΐνη κανονικά, θα πρέπει να έχει τη σωστή διαμόρφωση. Παραδείγματος χάριν, ένα ένζυμο έχει τη μέγιστη καταλυτική του απόδοση μόνο όταν βρίσκεται σε μια συγκεκριμένη διαμόρφωση. Η ακολουθία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης περιέχει τις απαραίτητες πληροφορίες για να υιοθετηθεί η ενεργή διαμόρφωση της πρωτεΐνης κατά τον σχηματισμό της. Ωστόσο, η πρόβλεψη της παρατηρούμενης διαμόρφωσης από την πρωτοταγή δομή, το αποκαλούμενο *πρόβλημα δίπλωσης της πρωτεΐνης*, είναι εξαιρετικά δύσκολη και αποτελεί ακόμα ερευνητικό στόχο. Η άλλη κλάση βιολογικών μακρομορίων που πρέπει να μελετήσουμε είναι τα νουκλεϊκά οξέα, τα οποία είναι τα κύρια συστατικά του μηχανισμού αποθήκευσης και μεταφοράς των γενετικών πληροφοριών στα βιολογικά κύτταρα. Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) περιέχει τις οδηγίες για τη σύνθεση των πρωτεϊνών, η οποίες εκτελείται από διαφορετικές μορφές του ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA).

(α) Πρωτεΐνες

Η προέλευση των δευτεροταγών δομών των πρωτεϊνών βρίσκεται στους κανόνες που διατύπωσαν οι Linus Pauling και Robert Corey το 1951, οι οποίοι αποσκοπούν στην αναγνώριση των κύριων συνεισφορών στην ελάττωση της ενέργειας του μορίου επικεντρώνοντας στον ρόλο των δεσμών υδρογόνου και του πεπτιδικού δεσμού, —CONH—. Ο τελευταίος μπορεί να δράσει ως δότης του ατόμου H (το NH τμήμα του δεσμού) αλλά και ως δέκτης (το τμήμα CO). Οι **κανόνες Corey-Pauling** έχουν ως εξής (Σχ. 1):

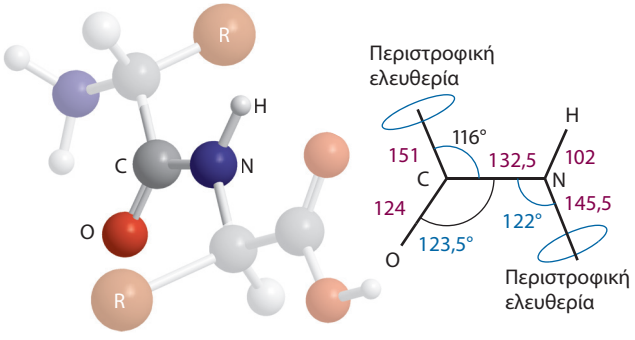
1. Τα τέσσερα άτομα του πεπτιδικού δεσμού βρίσκονται σε ένα σχεδόν άκαμπτο επίπεδο.

Το ότι ο δεσμός είναι επίπεδος οφείλεται στον απεντοπισμό των ηλεκτρονίων π στα άτομα O, C, και N και στη διατήρηση της μέγιστης επικάλυψης των p τροχιακών τους.

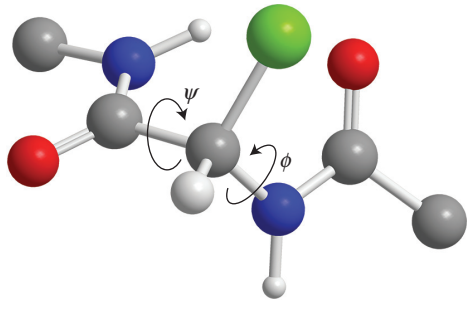
2. Τα άτομα N, H και O ενός δεσμού υδρογόνου βρίσκονται σε μια ευθεία (με την ανοχή στις μετατοπίσεις του H να μην είναι μεγαλύτερη από 30° από τη διεύθυνση N—O).
3. Όλες οι ομάδες NH και CO των πεπτιδικών δεσμών συμμετέχουν σε δεσμούς υδρογόνου.

Οι κανόνες ικανοποιούνται από δύο δομές. Η μια, στην οποία οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των πεπτιδικών δεσμών οδηγούν σε ελικοειδή δομή, είναι μια *έλικα*, η οποία μπορεί να διαταχθεί είτε σε μορφή δεξιόστροφου είτε σε μορφή αριστερόστροφου κοχλία. Η άλλη, στην οποία οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των πεπτιδικών δεσμών οδηγούν σε επίπεδη δομή, είναι ένα *φύλλο*· η μορφή αυτή είναι η δευτεροταγής δομή της πρωτεΐνης ινοΐνη, που είναι συστατικό του μεταξιού.

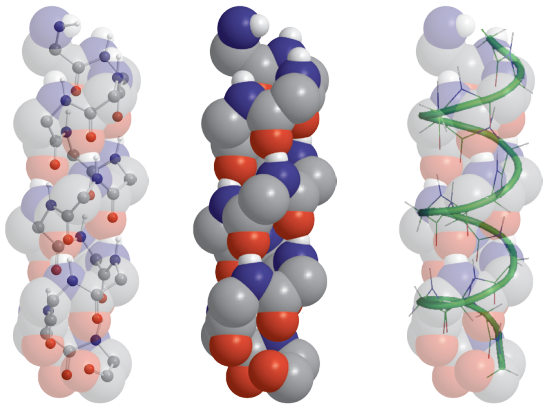
Επειδή ο επίπεδος πεπτιδικός δεσμός είναι σχεδόν άκαμπτος, η γεωμετρία μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας μπορεί να καθοριστεί από τις δύο γωνίες που σχηματίζουν μεταξύ τους δύο γειτονικοί επίπεδοι πεπτιδικοί δεσμοί. Στο Σχ. 2 φαίνονται οι δύο γωνίες ϕ και ψ που συνήθως χρησιμοποιούνται για τον καθορισμό αυτού του σχετικού προσανατολισμού. Η σύμβαση για τα πρόσημα είναι ότι θετική γωνία σημαίνει ότι το μπροστινό άτομο πρέπει να περιστραφεί σύμφωνα με τους δείκτες του ρολογιού ώστε να έλθει σε εκλειπτική θέση ως προς το πίσω άτομο. Για μια πλήρως *trans* μορφή της αλυσίδας, όλες οι γωνίες ϕ και ψ είναι 180°. Μια έλικα προκύπτει όταν όλες ϕ οι είναι ίσες και όταν όλες οι ψ είναι ίσες. Για μια δεξιόστροφη έλικα, μια α-έλικα (Σχ. 3), όλες οι ϕ είναι περίπου ίσες με −57°, και όλες οι ψ περίπου −47°. Για αριστερόστρο-



Σχήμα 1 Οι διαστάσεις που χαρακτηρίζουν τον πεπτιδικό δεσμό. Τα άτομα C–NH–CO–C ορίζουν ένα επίπεδο (ο δεσμός C–N έχει εν μέρει χαρακτήρα διπλού δεσμού), αλλά υπάρχει περιστροφική ελευθερία γύρω από τους δεσμούς C–CO και N–C.



Σχήμα 2 Ο ορισμός των γωνιών στρέψης ψ και ϕ μεταξύ δύο πεπτιδικών δεσμών. Σε αυτή την περίπτωση (ένα α-L-πολυπεπτίδιο), η αλυσίδα έχει πάρει την πλήρως trans μορφή, με $\psi = \phi = 180°$.



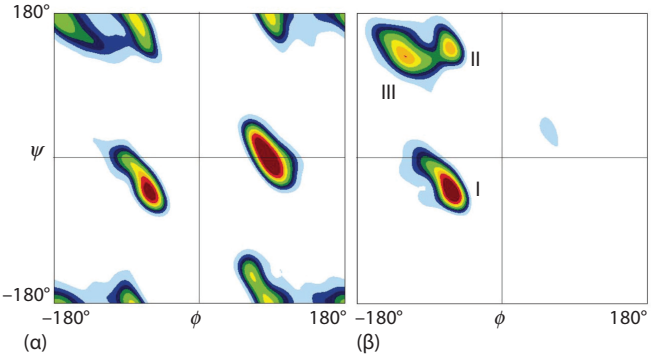
Σχήμα 3 Η πολυπεπτιδική α-έλικα, με την πολυ-L-γλυκίνη ως παράδειγμα. Υπάρχουν 3,6 κατάλοιπα ανά στροφή, και μεταφορά κατά μήκος της έλικας κατά 150 pm ανά κατάλοιπο, που δίνει βήμα 540 pm. Η διάμετρος (αγνοώντας τις πλευρικές αλυσίδες) είναι περίπου 600 pm.

φη έλικα, οι γωνίες είναι και οι δύο θετικές. Η συνεισφορά της στρέψης στην ολική δυναμική ενέργεια είναι

$$V_{\text{στρέψης}} = A(1 + \cos 3\phi) + B(1 + \cos 3\psi) \qquad (1)$$

όπου τα A και B είναι σταθερές της τάξης του 1 kJ mol^{-1}. Επειδή απαιτούνται μόνο δύο γωνίες για τον καθορισμό της διαμόρφωσης της έλικας, και αυτές κυμαίνονται από −180° έως 180°, η δυναμική ενέργεια στρέψης όλου του μορίου μπορεί να αναπαρασταθεί από ένα **διάγραμμα Ramachandran**, ένα ισοϋψές διάγραμμα στο οποίο ο ένας άξονας αναπαριστά το ϕ και ο άλλος το ψ.

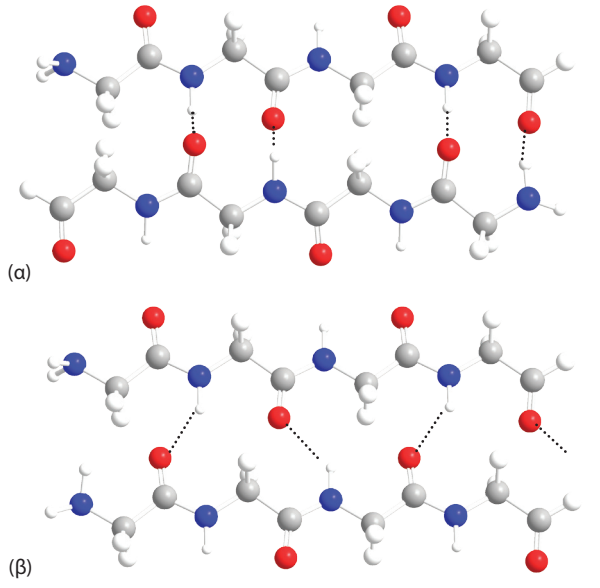
Στο Σχ. 4 φαίνονται διαγράμματα Ramachandran για την ελικοειδή μορφή πολυπεπτιδικών αλυσίδων που σχηματίζονται από το μη χειρόμορφο αμινοξύ γλυκίνη (R = H) και το χειρόμορφο αμινοξύ L-αλανίνη (R = CH_3). Ο χάρτης της γλυκίνης είναι συμμετρικός, με κοιλάδες ίσου βάθους, που φαίνονται ως κόκκινες περιοχές στο Σχ. 4α. Αντίθετα, ο χάρτης της L-αλανίνης δεν είναι συμμετρικός, και υπάρχει ένα έντονο ελάχιστο (που δηλώνεται ως I) σε γωνίες συνεπείς με δεξιόστροφη έλικα. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σε συμφωνία με την παρατήρηση ότι τα πολυπεπτίδια των φυσικά εμφανιζόμενων L-αμινοξέων τείνουν να σχηματίζουν δεξιόστροφες έλικες.



Σχήμα 4 Ισοϋψή διαγράμματα δυναμικής ενέργειας ως προς τις γωνίες ψ και ϕ, γνωστά ως διάγραμμα Ramachandran, για (α) ένα κατάλοιπο γλυκίνης μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας και (β) ένα κατάλοιπο αλανίνης. Το διάγραμμα της γλυκίνης είναι συμμετρικό, αλλά εκείνο της αλανίνης δεν είναι και το ολικό ελάχιστο αντιστοιχεί σε α-έλικα. (T. Hovmoller, et al., *Acta Cryst*. **D58**, 768 (2002).)

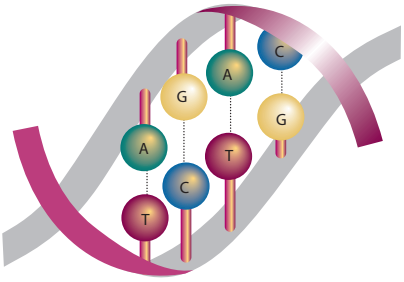
Ένα **β-φύλλο** σχηματίζεται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ δύο εκτεταμένων πολυπεπτιδικών αλυσίδων (με μεγάλες απόλυτες τιμές των γωνιών στρέψης ϕ και ψ). Σε ένα **αντιπαράλληλο β-φύλλο** (Σχ. 5α), $\phi \approx 139°$, $\psi \approx 113°$, και τα άτομα N–H···O των δεσμών υδρογόνου βρίσκονται σε ευθεία γραμμή. Η διάταξη αυτή είναι συνέπεια της αντιπαράλληλης διάταξης των αλυσίδων: κάθε δεσμός N—H σε μια αλυσίδα είναι ευθυγραμμισμένος με έναν δεσμό C—O από μια άλλη αλυσίδα. Τα αντιπαράλληλα β-φύλλα είναι πολύ συνηθισμένα στις πρωτεΐνες. Σε ένα **παράλληλο β-φύλλο** (Σχ. 5β), $\phi \approx 119°$, $\psi \approx 113°$ και τα άτομα N–H···O των δεσμών υδρογόνου δεν είναι τελείως ευθυγραμμισμένα. Η διάταξη αυτή είναι αποτέλεσμα της παράλληλης διάταξης των αλυσίδων: κάθε δεσμός N—H σε μια αλυσίδα είναι ευθυγραμμισμένος με έναν δεσμό N—H σε μια άλλη αλυσίδα, και ως αποτέλεσμα, κάθε δεσμός C—O σε μια αλυσίδα είναι ευθυγραμμισμένος με έναν δεσμό C—O σε μια άλλη αλυσίδα. Οι δομές αυτές δεν είναι συνήθεις στις πρωτεΐνες.

Οι ομοιοπολικές και οι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μπορεί να προκαλέσουν τη δίπλωση πολυπεπτιδικών αλυσίδων με καλά ορισμένη δευτεροταγή δομή σε τριτοταγείς δομές. Παρόλο που οι κανόνες που διέπουν τη δίπλωση των πρωτεϊνών είναι ακόμα υπό διερεύνηση, μπορούμε να βγάλουμε κάποια γενικά συμπεράσματα από μελέτες περίθλασης ακτίνων X σε υδατοδιαλυτές φυσικές πρωτεΐνες και συνθετικά πολυπεπτίδια. Σε υδατικό περιβάλλον, οι αλυσίδες διπλώ-



Σχήμα 5 Οι δύο τύποι β-φύλλων: (α) αντιπαράλληλο, (β) παράλληλο. Οι δύο κλώνοι είναι σε καλύτερη ευθυγράμμιση για να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου στην αντιπαράλληλη διάταξη από ό,τι στην παράλληλη.

νονται με τρόπο ώστε οι μη πολικές ομάδες R να τοποθετούνται στο εσωτερικό (που συχνά δεν είναι εύκολα προσβάσιμο από τον διαλύτη) και οι φορτισμένες ομάδες R να τοποθετούνται στην επιφάνεια (σε άμεση επαφή με τον πολικό διαλύτη). Άλλοι παράγοντες που προωθούν τη δίπλωση των πρωτεϊνών περιλαμβάνουν τους ομοιοπολικούς δισουλφιδικούς δεσμούς (—S—S—), τις κουλομπικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φορτισμένων ομάδων (που εξαρτώνται από τον βαθμό πρωτονίωσής τους και επομένως από το pH), αλληλεπιδράσεις van der Waals, και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις (Ενότητες 14B και 14E). Η συσσώρευση των μη πολικών, υδρόφοβων καταλοίπων αμινοξέων στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης οδηγείται κυρίως από υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

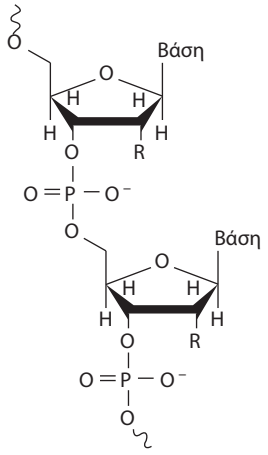


Σχήμα 6 Η διπλή έλικα του DNA, στην οποία δύο πολυνουκλεοτιδιακές αλυσίδες ενώνονται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ αδενίνης (A) και θυμίνης (T) και μεταξύ κυτοσίνης (C) και γουανίνης (G).

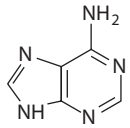
(β) Νουκλεϊκά οξέα

Το DNA και το RNA είναι και τα δύο *πολυνουκλεοτίδια* (Εικ. **1**), στα οποία φωσφορικές μονάδες με βάση σάκχαρα συνδέονται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Στο RNA το σάκχαρο είναι η β-D-ριβόζη και στο DNA είναι η β-D-2′-δεοξυριβόζη (όπως φαίνεται στην εικόνα **1**). Οι πιο συνήθεις βάσεις είναι η αδενίνη (A, Εικ. **2**), η κυτοσίνη (C, Εικ. **3**), η γουανίνη (G, Εικ. **4**), η θυμίνη (T, βρίσκεται μόνο στο DNA, Εικ. **5**) και η ουρακίλη (U, βρίσκεται μόνο στο RNA, Εικ. **6**). Σε φυσιολογικό pH, κάθε φωσφορική ομάδα της αλυσίδας φέρει αρνητικό φορτίο και οι βάσεις είναι αποπρωτονιωμένες και ουδέτερες. Αυτή η κατανομή φορτίου οδηγεί σε δύο σημαντικές ιδιότητες. Η μια είναι ότι η πολυνουκλεοτιδιακή αλυσίδα είναι ένας πολυηλεκτρολύτης, ένα μακρομόριο με πολλές διαφορετικές φορτισμένες θέσεις, με μεγάλο και αρνητικό ολικό επιφανειακό φορτίο. Η δεύτερη είναι ότι οι βάσεις μπορούν να αλληλεπιδρούν με δεσμούς υδρογόνου, όπως φαίνεται για τα ζεύγη βάσεων A—T (Εικ. **7**) και C—G (Εικ. **8**). Οι δευτεροταγείς και τριτοταγείς δομές του DNA και του RNA προέρχονται κυρίως από το σχήμα αυτών των δεσμών υδρογόνου μεταξύ βάσεων μιας ή περισσότερων αλυσίδων.

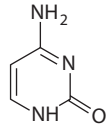
Στο DNA, δύο πολυνουκλεοτιδιακές αλυσίδες τυλίγονται η μια γύρω από την άλλη και σχηματίζουν μια διπλή έλικα (Σχ. **6**). Οι αλυσίδες συγκρατούνται από δεσμούς που εμπλέκουν ζεύγη βάσεων A—T και C—G που βρίσκονται παράλληλα ο ένας στον άλλον και κάθετα στον άξονα της έλικας. Η δομή σταθεροποιείται περαιτέρω από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των επίπεδων συστημάτων π των βάσεων. Στο B-DNA, την πιο συνήθη μορφή του DNA που βρίσκεται στα βιολογικά κύτταρα, η έλικα είναι δεξιόστροφη με διάμετρο 2,0 nm και βήμα 3,4 nm.



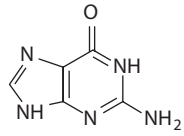
1 Μια πολυνουκλεοτιδιακή αλυσίδα με D-ριβόζη (R=HO) και 2'-δεοξύ-D-ριβόζη (R=H)



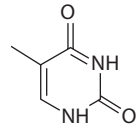
2 Αδενίνη, A



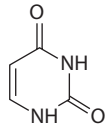
3 Κυτοσίνη, C



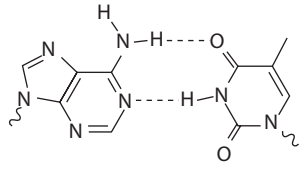
4 Γουανίνη, G



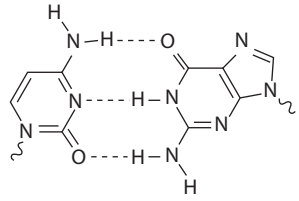
5 Θυμίνη, T



6 Ουρακίλη, U



7 Ζεύγος βάσεων A-T



8 Ζεύγος βάσεων C-G