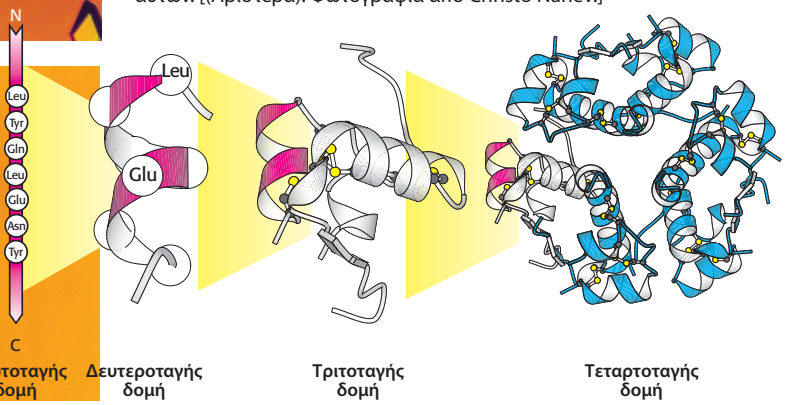
Δομή και λειτουργία των πρωτεϊνών

Η ινσουλίνη είναι μια πρωτεϊνική ορμόνη, απολύτως απαραίτητη για τη ρύθμιση των επιπέδων του σακχάρου στο αίμα. (Κάτω) Αυτό που προσδιορίζει μια πρωτεΐνη όπως η ινσουλίνη είναι οι αλυσίδες αμινοξέων σε συγκεκριμένη αλληλουχία (πρωτοταγής δομή). Αμινοξέα που γειτονεύουν στην αλληλουχία αυτή μπορούν να αναδιπλωθούν σε κανονικές δομές (δευτεροταγής δομή), όπως η *α*-έλικα. Ολόκληρες αλυσίδες αναδιπλώνονται σε απόλυτα συγκεκριμένες δομές (τριτοταγής δομή) που, στην περίπτωση αυτή, αποτελούν ένα και μόνο μόριο ινσουλίνης. Τέτοιες τριτοταγείς δομές ενώνονται με άλλες αλυσίδες και σχηματίζουν σύμπλοκα, όπως το σύμπλοκο από έξι μόρια ινσουλίνης που φαίνεται στο άκρο δεξιά (τεταρτοταγής δομή). Τα σύμπλοκα αυτά μπορούν συχνά να σχηματίσουν σαφώς καθορισμένους κρυστάλλους, όπως στη φωτογραφία αριστερά. Μελετώντας τους κρυστάλλους μπορούμε να προσδιορίσουμε τις λεπτομέρειες των δομών αυτών. [(Αριστερά): Φωτογραφία από Christo Nanev.]



Οι *πρωτεΐνες* είναι τα πιο πολυδύναμα μακρομόρια στους ζώντες οργανισμούς και εξυπηρετούν βασικές λειτουργίες σε όλες σχεδόν τις βιολογικές διεργασίες. Λειτουργούν ως καταλύτες, μεταφέρουν και αποθηκεύουν άλλα μόρια όπως το οξυγόνο, παρέχουν μηχανική στήριξη και ανοσοπροστασία, δημιουργούν κίνηση, διαβιβάζουν νευρικές ώσεις και ρυθμίζουν την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση. Ένα μεγάλο μέρος του βιβλίου αυτού είναι αφιερωμένο στην κατανόηση των λειτουργιών των πρωτεϊνών και των μηχανισμών που τους επιτρέπουν να εκτελούν 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,* τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με φορά ουράς προς κεφαλή. Η αλληλουχία των συνδεδεμένων αμινοξέων ονομάζεται πρωτοταγής δομή. Το εντυπωσιακό είναι ότι οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται αυτόματα σε τριδιάστατες δομές που καθορίζονται από την αλληλουχία των αμινοξέων του πρωτεϊνικού πολυμερούς. Η τριδιάστατη δομή που προκύπτει μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ γειτονικών αμινοξέων ονομάζεται δευτεροταγής δομή, ενώ η τριτοταγής δομή των πρωτεϊνών προκύπτει από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ απομακρυσμένων αμινοξέων. Η λειτουργία μιας πρωτεΐνης εξαρτάται άμεσα από την τριδιάστατη δομή της (Εικόνα 2.1). Επομένως, *οι πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν τη μετάβαση από τον μονοδιάστατο κόσμο των αλληλουχιών στον τριδιάστατο κόσμο των μορίων που παρουσιάζουν μεγάλο εύρος λειτουργιών.* Πολλές πρωτεΐνες εμφανίζουν και τεταρτοταγή δομή, στην οποία η λειτουργική πρωτεΐνη σχηματίζεται από διάφορες διακριτές μεταξύ τους πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

ΠΕΡΙΓΡΑΜΜΑ

2.1 Οι πρωτεΐνες δομούνται από ένα σύνολο 20 αμινοξέων

2.2 Πρωτοταγής δομή: τα αμινοξέα συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς για να σχηματίσουν πολυπεπτιδικές αλυσίδες

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

2.4 Τριτοταγής δομή: οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σε συμπαγείς δομές με μη πολικά κέντρα

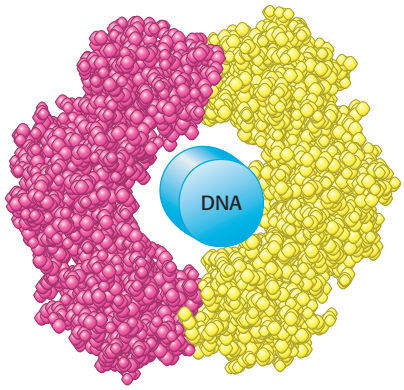
2.5 Τεταρτοταγής δομή: οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να συγκροτήσουν δομές πολλών υπομονάδων

2.6 Η αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριδιάστατη δομή της

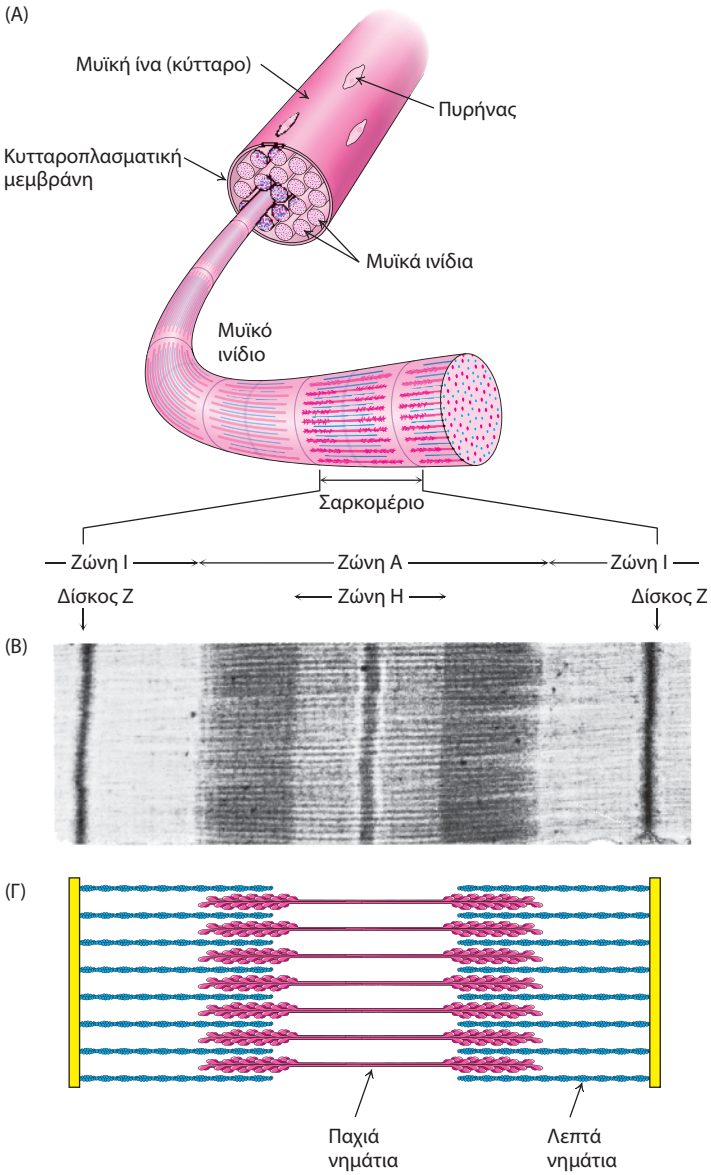
2. *Οι πρωτεΐνες περιέχουν μια μεγάλη σειρά λειτουργικών ομάδων*. Οι ομάδες αυτές περιλαμβάνουν αλκοόλες, θειόλες, θειοαιθέρες, καρβοξυλικές ομάδες, καρβαμίδια και ποικιλία βασικών ομάδων. Οι περισσότερες από αυτές είναι χημικά δραστικές. Όταν συνδυάζονται σε διάφορες αλληλουχίες, οι λειτουργικές αυτές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

3. *Οι πρωτεΐνες μπορούν να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους και με άλλα βιολογικά μακρομόρια, για να δημιουργήσουν πολύπλοκα συγκροτήματα.* Οι πρωτεΐνες μέσα στα συγκροτήματα αυτά μπορούν να δράσουν συνεργειακά και να εμφανίσουν ιδιότητες που ίσως δεν έχουν τα ανεξάρτητα μακρομόρια (Εικόνα 2.2). Παραδείγματα τέτοιων συγκροτημάτων αποτελούν οι μακρομοριακές μηχανές που επιτυγχάνουν την ακριβή αντιγραφή του DNA, τη μεταγωγή σήματος μέσα στο κύτταρο, καθώς και τη συστολή του μυϊκού κυττάρου (Εικόνα 2.2).

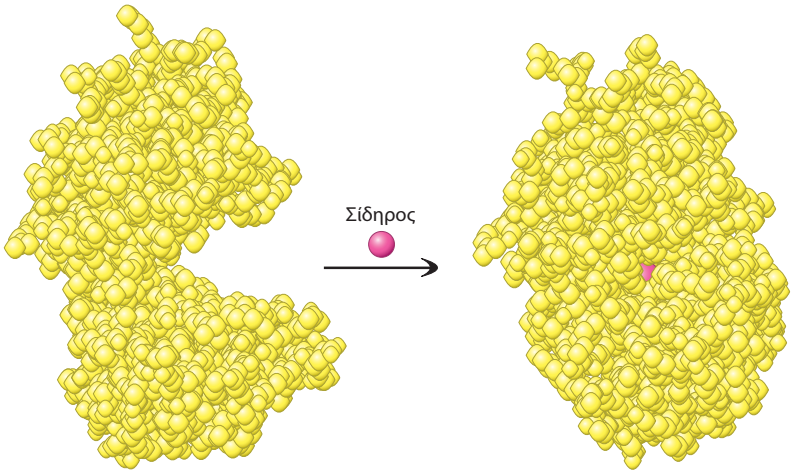
4. *Μερικές πρωτεΐνες είναι σχεδόν άκαμπτες, ενώ άλλες εμφανίζουν αξιοσημείωτη ευκαμψία.* Οι άκαμπτες μονάδες μπορούν να λειτουργήσουν ως δομικά στοιχεία του κυτταρικού σκελετού (της ενδοκυτταρικής «σκαλωσιάς») ή του συνδετικού ιστού. Τα τμήματα των πρωτεϊνών που παρουσιάζουν περιορισμένη ευκαμψία



ΕΙΚΟΝΑ 2.1 Η δομή καθορίζει τη λειτουργία. Ένα πρωτεϊνικό συστατικό τού μηχανισμού αντιγραφής του DNA περιβάλλει μια περιοχή της διπλής έλικας του DNA που εμφανίζεται ως κύλινδρος. Η πρωτεΐνη, που αποτελείται από δύο πανομοιότυπες υπομονάδες (κόκκινο και κίτρινο), λειτουργεί ως «τανάλια» και επιτρέπει σε ένα μεγάλο τμήμα του DNA να αντιγραφεί χωρίς να απομακρυνθεί ο μηχανισμός αντιγραφής από το DNA. [Σχεδιάστηκε από 2POL.pdb.]



ΕΙΚΟΝΑ 2.1 Ένα πολύπλοκο συγκρότημα πρωτεϊνών. (A) Ένα μυϊκό κύτταρο περιέχει πολλαπλά μυϊκά ινίδια, κάθε ένα από τα οποία αποτελείται από πολυάριθμες επαναλήψεις ενός πολύπλοκου συγκροτήματος πρωτεϊνών που είναι γνωστό ως σαρκομέριο. (B) Το πρότυπο των ζωνών του σαρκομερίου, που εμφανίζεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, οφείλεται (Γ) στη διασύνδεση νηματίων που αποτελούνται από πολλές ξεχωριστές πρωτεΐνες. [(B) Ευγενική προσφορά του Dr. Hugh Huxley.]



ΕΙΚΟΝΑ 2.3 Ευκαμψία και λειτουργία. Η πρωτεϊνη λακτοφερίνη όταν δεσμεύει σίδηρο αλλάζει δομή, επιτρέποντας έτσι σε άλλα μόρια να ξεχωρίσουν το μόριο που έχει σίδηρο από εκείνο που δεν έχει. [Σχεδιασμένο από 1 LFH.pdb και 1 LFG.pdb.]

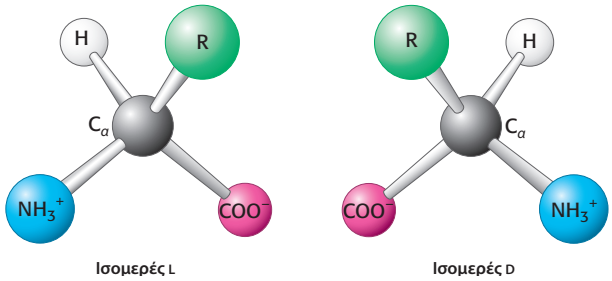
μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αρθρωτά τμήματα, ελατήρια ή μοχλοί. Επιπλέον, αλλαγές στη στερεοδιάταξη των πρωτεϊνών επιτρέπουν τη ρυθμισμένη συγκρότηση μεγαλύτερων πρωτεϊνικών συμπλόκων καθώς και τη μεταβίβαση πληροφοριών μεταξύ κυττάρων αλλά και στο εσωτερικό τους (Εικόνα 2.3).

Σημείωση για τη διάκριση μεταξύ των στερεοϊσομερών

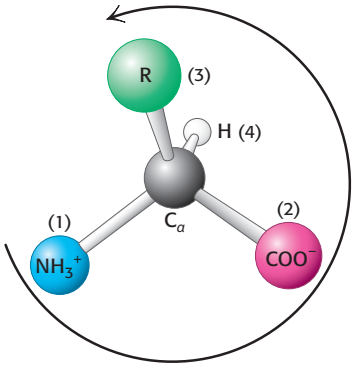
Η προτεραιότητα στους τέσσερις διαφορετικούς υποκαταστάτες ενός ασύμμετρου ατόμου άνθρακα καθορίζεται ανάλογα με τον ατομικό τους αριθμό. Ο υποκαταστάτης με τη μικρότερη προτεραιότητα, συνήθως το H, είναι ο πιο απομακρυσμένος από τον παρατηρητή. Η διαμόρφωση γύρω από τον άνθρακα μπορεί αν είναι *S* ή *R*, από τις λατινικές λέξεις sinister (αριστερός) και rectus (δεξιός). Διαμόρφωση *S* είναι εκείνη στην οποία η φορά 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.

2.1 Οι πρωτεϊνες δομούνται από ένα σύνολο 20 αμινοξέων

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 *πλευρική αλυσίδα*. Έχοντας τέσσερις διαφορετικές ομάδες συνδεδεμένες στο τετράεδρο του ατόμου του *α*-άνθρακα, τα *α*-αμινοξέα είναι *χειρόμορφα* (chiral): μπορεί δηλαδή να υπάρχουν σε μία από δύο μορφές που αποτελούν η μια κατοπτρικό είδωλο της άλλης, και ονομάζονται L- και D-ισομερές (Εικόνα 2.4).



ΕΙΚΟΝΑ 2.4 Τα L- και D- ισομερή των αμινοξέων. Το γράμμα R αναφέρεται στην πλευρική αλυσίδα. Τα ισομερή L- και D- είναι το ένα κατοπτρικό είδωλο του άλλου.

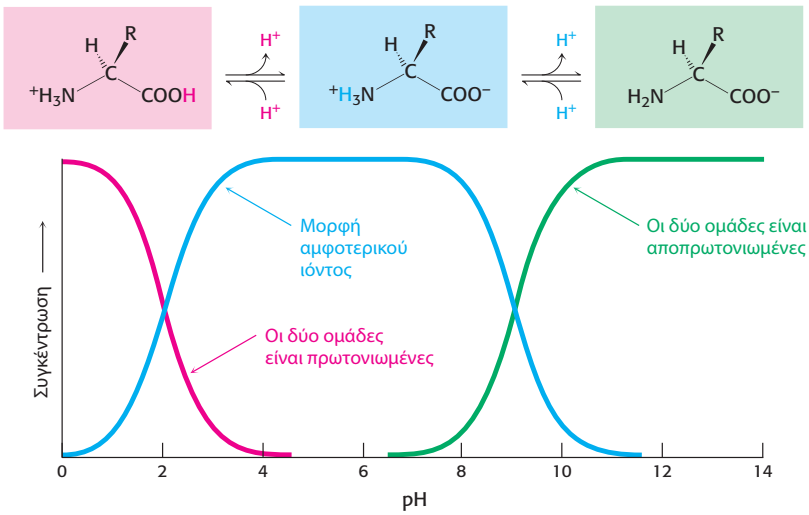


ΕΙΚΟΝΑ 2.5 Στις πρωτεϊνες απαντούν μόνο L-αμινοξέα. Όλα σχεδόν τα L-αμινοξέα έχουν απόλυτη διαμόρφωση *S*. Το βέλος δείχνει τη φορά από τον υποκαταστάτη με τη μεγαλύτερη προς τη μικρότερη προτεραιότητα, η οποία φορά είναι αντίθετη από εκείνη των δεικτών του ρολογιού και επομένως το χειρόμορφο κέντρο έχει διαμόρφωση *S*.

Μόνο τα L-αμινοξέα απαντούν στις πρωτεϊνες. Για όλα σχεδόν τα αμινοξέα, το L-ισομερές έχει απόλυτη διαμόρφωση *S* και όχι *R* (Εικόνα 2.5). Ποια όμως είναι η βάση για την προτίμηση των L-αμινοξέων; Η απάντηση έχει χαθεί στην εξελικτική ιστορία, αλλά είναι πιθανό να αποτελεί συνέπεια τυχαίας επιλογής. Φαίνεται ότι τα L-αμινοξέα είναι ελαφρώς πιο διαλυτά σε σύγκριση με το ρακεμικό μείγμα D- και L-αμινοξέων, το οποίο έχει την τάση να σχηματίζει κρυστάλλους. Αυτή η μικρή διαφορά στη διαλυτότητα ίσως ενισχύθηκε με την πάροδο του χρόνου έτσι ώστε τα L-ισομερή να γίνουν η επικρατούσα μορφή στο διάλυμα.

Τα αμινοξέα σε διάλυμα ουδέτερου pH υπάρχουν κυρίως ως *διπολικά 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 2.6). Σε όξινο διάλυμα (π.χ. pH 1), η αμινική ομάδα είναι πρωτονιωμένη ($–NH_3^+$) και η καρβοξυλική ομάδα δεν έχει διασταθεί (–COOH). Καθώς αυξάνεται το pH, η πρώτη ομάδα που απελευθερώνει πρωτόνιο είναι η καρβοξυλική, εφόσον το pK_a γι' αυτήν είναι κοντά στο 2. Η διπολική μορφή διατηρείται μέχρι το pH να πλησιάσει το 9, οπότε η πρωτονιωμένη αμινική ομάδα χάνει ένα πρωτόνιο.



ΕΙΚΟΝΑ 2.6 Η κατάσταση ιοντισμού των αμινοξέων ως συνάρτηση του pH. Η κατάσταση ιοντισμού των αμινοξέων μεταβάλλεται όταν αλλάζει το pH. Η μορφή αμφοτερικού ιόντος υπερισχύει όταν η τιμή του pH βρίσκεται κοντά στη φυσιολογική.

Υπάρχουν συνήθως είκοσι είδη πλευρικών αλυσίδων στις πρωτεΐνες, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το *μέγεθος*, το *σχήμα*, το *φορτίο*, την *ικανότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου*, την *υδροφοβικότητα* και τη *χημική αντιδραστικότητα*. Πράγματι, όλες οι πρωτεΐνες σε όλα τα είδη –βακτηριακές, αρχαϊκές και ευκαρυωτικές– είναι δομημένες από το ίδιο σύνολο 20 αμινοξέων με πολύ λίγες εξαιρέσεις. Αυτό το βασικό αλφάβητο για τη δόμηση των πρωτεϊνών δημιουργήθηκε πριν από αρκετά δισεκατομμύρια χρόνια. Η καταπληκτική ποικιλία των πρωτεϊνικών λειτουργιών είναι αποτέλεσμα της ποικιλομορφίας και της πολυχρηστικότητας αυτών των 20 δομικών στοιχείων. Η κατανόηση της χρήσης του αλφαβήτου στη δημιουργία των πολύπλοκων τριδιάστατων δομών που επιτρέπουν στις πρωτεΐνες να διεκπεραιώνουν τόσες βιολογικές διεργασίες αποτελεί ένα συναρπαστικό τμήμα της βιοχημείας και θα το αναλύσουμε στο Υποκεφάλαιο 2.6.

Παρόλο που υπάρχουν πολλοί τρόποι να κατηγοριοποιήσουμε τα αμινοξέα, θα τα ταξινομήσουμε σε τέσσερις ομάδες, με βάση τα γενικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πλευρικών τους αλυσίδων R:

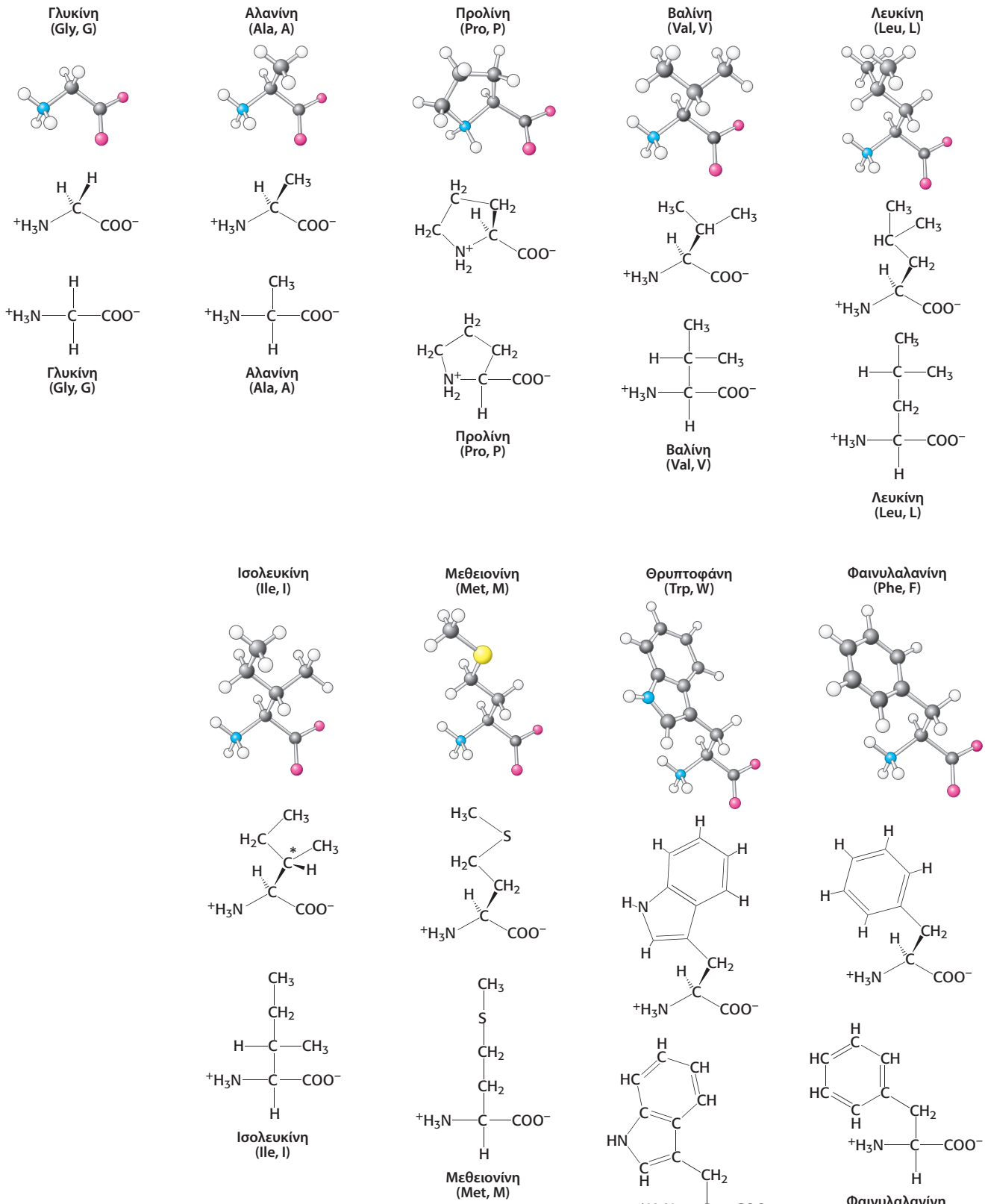
1. Υδρόφοβα αμινοξέα με μη πολικές ομάδες R

2. Πολικά αμινοξέα με ουδέτερες ομάδες R, όπου όμως το ηλεκτρικό φορτίο δεν είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο

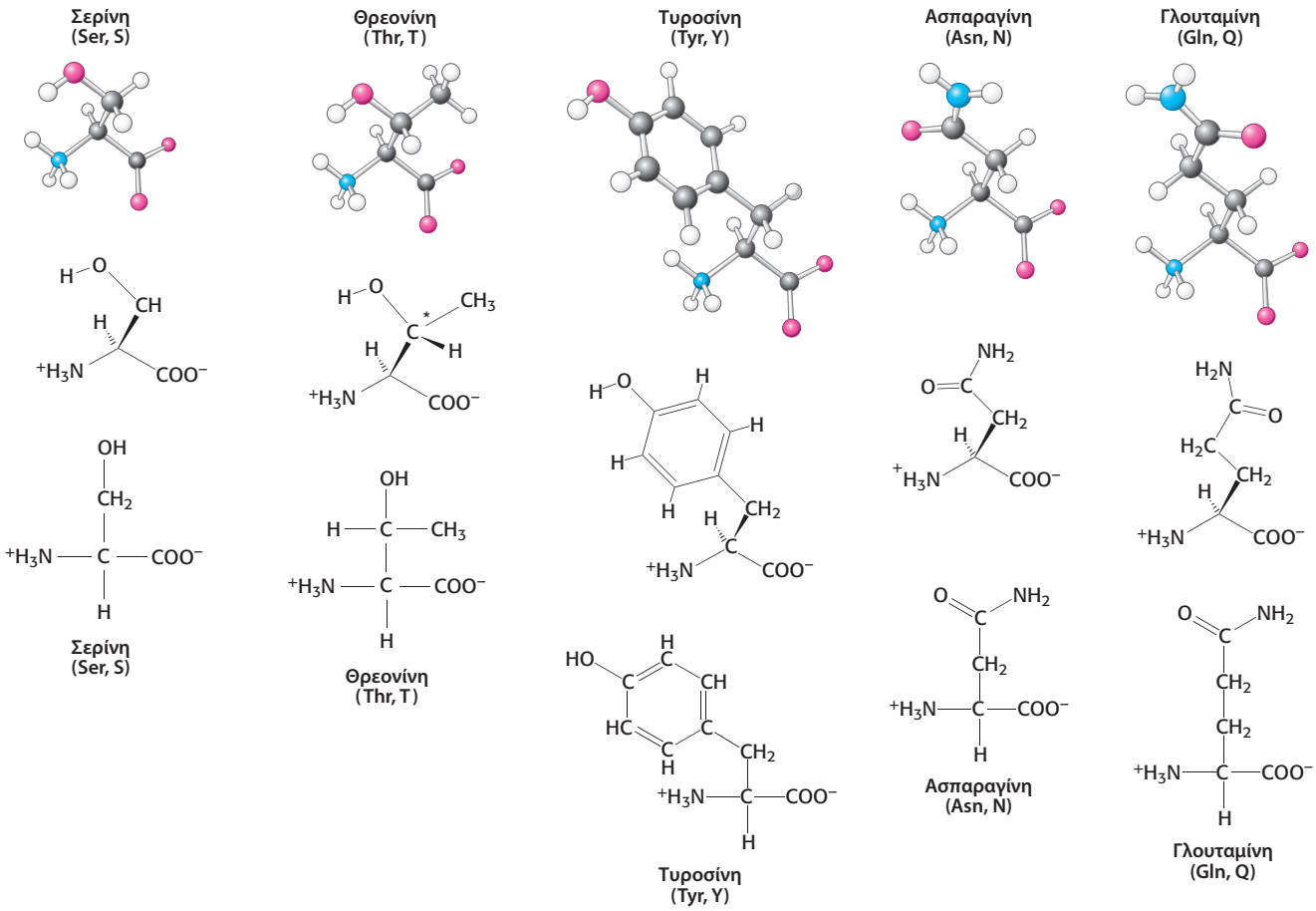
3. Θετικά φορτισμένα αμινοξέα με ομάδες R που έχουν θετικό φορτίο σε φυσιολογικό pH

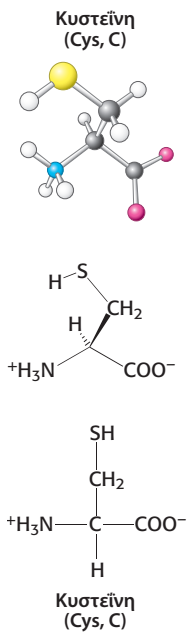
4. Αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα με ομάδες R που έχουν αρνητικό φορτίο σε φυσιολογικό pH

Υδρόφοβα αμινοξέα. Το απλούστερο αμινοξύ είναι η *γλυκίνη*, που έχει μόνο ένα άτομο υδρογόνου ως πλευρική αλυσίδα. Έχοντας δύο άτομα υδρογόνου συνδεδεμένα στο άτομο *α*-άνθρακα, η γλυκίνη είναι μοναδική διότι *δεν είναι χειρόμορφη* (achiral). Η *αλανίνη*, το επόμενο απλούστερο αμινοξύ, έχει μια μεθυλική ομάδα (—CH_3) για πλευρική αλυσίδα (Εικόνα 2.7)

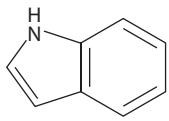


ΕΙΚΟΝΑ 2.7 Δομές υδρόφοβων αμινοξέων. Για κάθε αμινοξύ, το μοντέλο με σφαίρες και ράβδους (επάνω) δείχνει τη διάταξη των ατόμων και των δεσμών στον χώρο. Ένας στερεοχημικώς ρεαλιστικός τύπος δείχνει τη γεωμετρική διάταξη των δεσμών γύρω από τα άτομα (μέσον), ενώ η προβολή Fischer (κάτω) δείχνει όλους τους δεσμούς κάθετους για απλούστευση της απεικόνισης (βλ. Κεφάλαιο 1-Παράρτημα). Το δεύτερο χειρόμορφο άτομο άνθρακα της ισολευκίνης σημειώνεται με αστερίσκο.





ΕΙΚΟΝΑ 2.8 Δομές των πολικών αμινοξέων. Το πρόσθετο χειρόμορφο κέντρο στη θρεονίνη σημειώνεται με αστερίσκο.

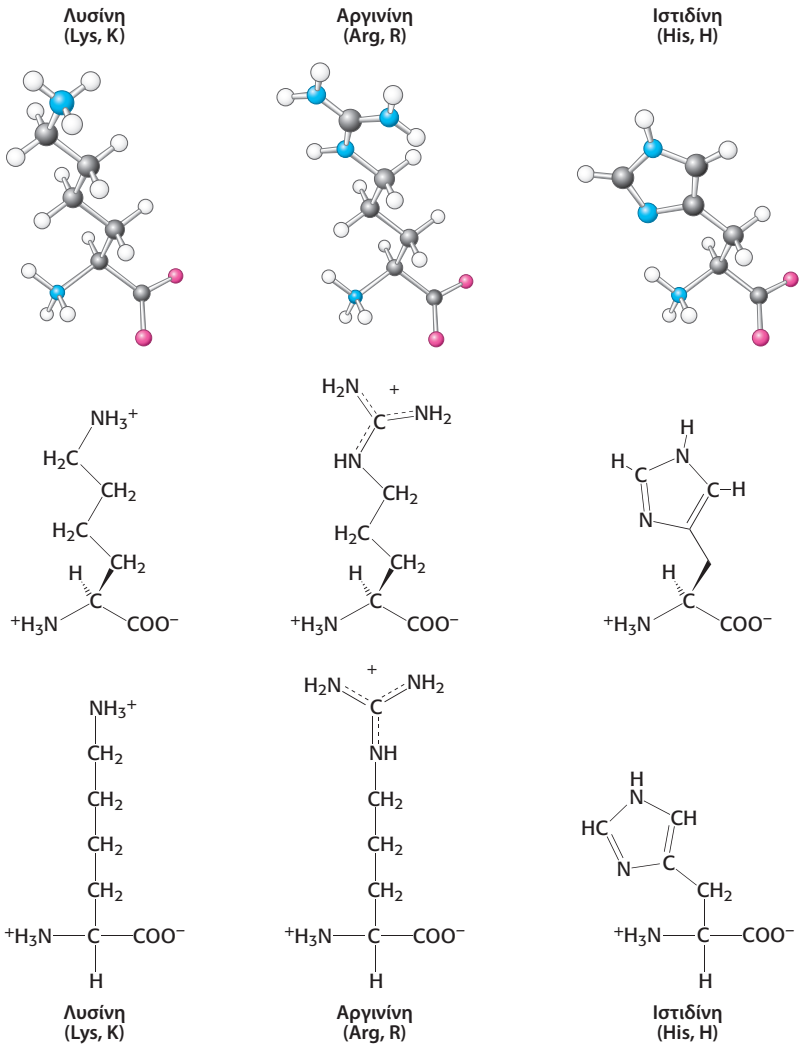


Ινδόλιο

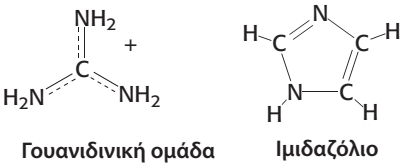
Μεγαλύτερες αλυσίδες υδρογονανθράκων υπάρχουν στη *βαλίνη*, τη *λευκίνη* και την *ισολευκίνη*. Η *μεθειονίνη* έχει μια πλευρική αλυσίδα που είναι κυρίως *αλειφατική* και περιλαμβάνει μια ομάδα *θειοαιθέρα* (—S—). Στην ισολευκίνη, η πλευρική αλυσίδα περιλαμβάνει ένα ακόμη χειρόμορφο κέντρο, στις πρωτεΐνες όμως υπάρχει μόνο το ισομερές της Εικόνας 2.7. Οι μεγαλύτερες αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες είναι ιδιαίτερα υδρόφοβες, δηλαδή έχουν την τάση να συναθροίζονται παρά να έρχονται σε επαφή με το νερό. Η τριδιάστατη δομή των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών σταθεροποιείται από την τάση των υδρόφοβων ομάδων να βρίσκονται η μία κοντά στην άλλη, τάση που ονομάζεται *φαινόμενο υδροφοβικότητας* (Κεφάλαιο 1). Τα διαφορετικά μεγέθη και σχήματα αυτών των υδρογονανθρακικών ομάδων τους επιτρέπουν να συναθροίζονται σχηματίζοντας συμπαγείς δομές με πολύ λίγους κενούς χώρους. Η *προλίνη* έχει επίσης αλειφατική πλευρική αλυσίδα, διαφέρει όμως από τα άλλα μέλη του συνόλου των 20 στο ότι η πλευρική αλυσίδα της συνδέεται τόσο με το άτομο του αζώτου όσο και με το άτομο του *α*-άνθρακα σχηματίζοντας έναν δακτύλιο πυρρολιδίνης. Η προλίνη μπορεί να επηρεάσει ιδιαίτερα την πρωτεϊνική αρχιτεκτονική διότι ο δακτύλιος της δομής της καθιστά τη στεροδιάταξή της πιο άκαμπτη από εκείνη των άλλων αμινοξέων.

Στο βασικό σύνολο των υδρόφοβων αμινοξέων περιλαμβάνονται και δύο αμινοξέα με απλές *αρωματικές πλευρικές αλυσίδες*. Η *φαινυλαλανίνη*, όπως δηλώνει και το όνομά της, περιέχει έναν φαινολικό δακτύλιο συνδεδεμένο στη θέση ενός από τα υδρογόνα της αλανίνης. Η *θρυπτοφάνη* έχει έναν ινδολικό δακτύλιο συνδεδεμένο με μια μεθυλενική (—CH_2—) ομάδα· η ινδολική ομάδα αποτελείται από δύο συντηγμένους δακτυλίους και μία ομάδα NH. Η φαινυλαλανίνη είναι καθαρά υδρόφοβη, ενώ η θρυπτοφάνη είναι λιγότερο υδρόφοβη λόγω της ομάδας NH.

Πολικά αμινοξέα. Έξι αμινοξέα είναι πολικά αλλά αφόρτιστα. Τρία αμινοξέα, η *σερίνη*, η *θρεονίνη* και η *τυροσίνη*, περιέχουν *υδροξυλικές ομάδες* (—OH) προσδε-



ΕΙΚΟΝΑ 2.9 Τα θετικά φορτισμένα αμινοξέα λυσίνη, αργινίνη και ιστιδίνη.



μένες σε μια υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα (Εικόνα 2.8). Η σερίνη μπορεί να θεωρηθεί ως μια εκδοχή υδροξυλιωμένης αλανίνης, η θρεονίνη μοιάζει με τη βαλίνη με μια υδροξυλική ομάδα στη θέση μιας μεθυλικής, και η τυροσίνη είναι μια εκδοχή της φαινυλαλανίνης με την υδροξυλομάδα να αντικαθιστά ένα από τα υδρογόνα του αρωματικού δακτυλίου. Η υδροξυλομάδα καθιστά τούτα τα αμινοξέα πολύ πιο *υδρόφιλα* και *αντιδραστικά* απ' ό,τι τα υδρόφοβα ανάλογά τους. Η θρεονίνη, όπως η ισολευκίνη, περιέχει ένα επιπλέον ασύμμετρο κέντρο· πάλι όμως μόνο ένα ισομερές εμφανίζεται στις πρωτεΐνες.

Επιπλέον, η ομάδα αυτή περιλαμβάνει την *ασπαραγίνη* και τη *γλουταμίνη,* δύο αμινοξέα τα οποία περιέχουν μια τελική ομάδα *καρβοξυλαμιδίου* αντί καρβοξυλικού οξέος. Η πλευρική αλυσίδα της γλουταμίνης είναι μεγαλύτερη κατά μία μεθυλενική ομάδα από εκείνη της ασπαραγίνης.

Η *κυστεΐνη* είναι δομικώς όμοια με τη σερίνη αλλά περιέχει μια *σουλφυδρυλική*, ή *θειολική* (—SH), ομάδα στη θέση της υδροξυλικής ομάδας (—OH). Η σουλφυδρυλική ομάδα είναι πολύ πιο δραστική. Ζεύγη σουλφυδρυλικών ομάδων μπορεί να ενωθούν για να δώσουν δισουλφιδικούς δεσμούς, που είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στη σταθεροποίηση μερικών πρωτεϊνών, όπως θα δούμε σύντομα.

Θετικά φορτισμένα αμινοξέα. Ας πάμε τώρα σε αμινοξέα με πλήρως θετικά φορτία, κάτι που τα καθιστά ιδιαιτέρως υδρόφιλα. Η *λυσίνη* και η *αργινίνη* έχουν σχετικά μακριές πλευρικές αλυσίδες που σε ουδέτερο pH τελειώνουν με ομάδες *θετικά φορτισμένες*. Η λυσίνη καταλήγει σε πρωτοταγή αμινική ομάδα και η αργινίνη σε γουανιδινική ομάδα. Η *ιστιδίνη* περιέχει μια ομάδα ιμιδαζολίου, έναν αρωματικό δακτύλιο που κι αυτός μπορεί να φορτιστεί θετικά (Εικόνα 2.9).

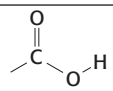
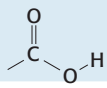
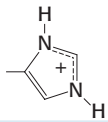
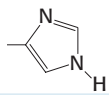
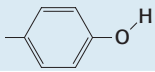
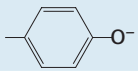
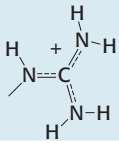
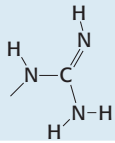
Με τιμή pK_a κοντά στο 6, η ομάδα του ιμιδαζολίου μπορεί να είναι είτε φορτισμένη θετικά είτε αφόρτιστη σε ουδέτερο pH, ανάλογα με το μικροπεριβάλλον στο οποίο θα βρεθεί (Εικόνα 2.10). Η ιστιδίνη απαντά πολύ συχνά στο ενεργό κέντρο ενζύμων, όπου ο ιμιδαζολικός δακτύλιος μπορεί να δεσμεύει και να απελευθερώνει πρωτόνια κατά τη διάρκεια των ενζυμικών αντιδράσεων.

Αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα. Η συγκεκριμένη ομάδα αμινοξέων αποτελείται από δύο μέλη με *όξινες πλευρικές αλυσίδες*: το *ασπαραγινικό οξύ* και το *γλουταμινικό οξύ* (Εικόνα 2.11). Τα αμινοξέα αυτά είναι τα φορτισμένα παράγωγα της ασπαραγίνης και της γλουταμίνης (Εικόνα 2.8), με μια ομάδα καρβοξυλικού οξέος αντί καρβοξυλαμιδίου. Λέγονται συνήθως *ασπαραγινικό* και *γλουταμινικό* για να τονιστεί ότι οι πλευρικές τους αλυσίδες είναι τις πιο πολλές φορές αρνητικά φορτισμένες σε φυσιολογικό pH, επειδή συνήθως το αντίστοιχο πρωτόνιο έχει διασταθεί από την καρβοξυλομάδα. Παρ' όλα αυτά, σε μερικές πρωτεΐνες, τούτες οι πλευρικές αλυσίδες δέχονται πρωτόνια, και αυτή η ικανότητά τους είναι συχνά ιδιαίτερα σημαντική από λειτουργική άποψη.

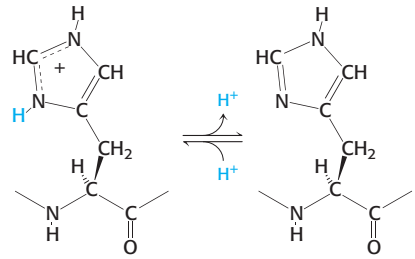
Επτά από τα 20 αμινοξέα έχουν πλευρικές αλυσίδες που ιοντίζονται εύκολα. Αυτά τα 7 αμινοξέα μπορούν να δίνουν και να δέχονται πρωτόνια διευκολύνο-

ντας αντιδράσεις, όπως και τη δημιουργία ιοντικών δεσμών. Ο Πίνακας 2.1 περιλαμβάνει τις μορφές ισορροπίας και το pK_a ιοντισμού των πλευρικών αλυσίδων τυροσίνης, κυστεΐνης, αργινίνης, λυσίνης, ιστιδίνης, ασπαραγινικού και γλουταμινικού οξέος στις πρωτεΐνες. Δύο άλλες ομάδες στις πρωτεΐνες που μπορούν να ιοντιστούν είναι η *α*-αμινο-τελική ομάδα και η *α*-καρβοξυ-τελική ομάδα. Στον Πίνακα 2.1 περιλαμβάνονται τα τυπικά pK_a και για τις ομάδες αυτές. Τα αμινοξέα συχνά συντομογραφούνται με ένα ή με τρία γράμματα (Πίνακας 2.2). Οι συντομογραφίες των τριών γραμμάτων χρησιμοποιούν τα τρία πρώτα γράμματα του ονόματός τους στην Αγγλική, εκτός από την ασπαραγίνη (Asn), τη γλουταμί-

Πίνακας 2.1 Τυπικές τιμές pK_a ιοντιζόμενων ομάδων στις πρωτεΐνες

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

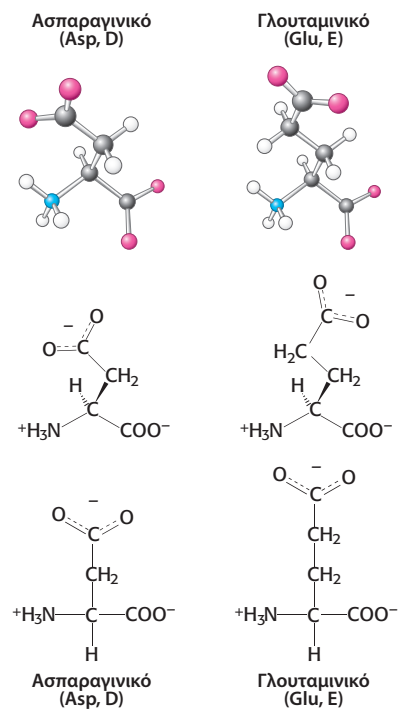
* Οι τιμές pK_a εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, την ιοντική ισχύ και το μικροπεριβάλλον της ιοντιζόμενης ομάδας.



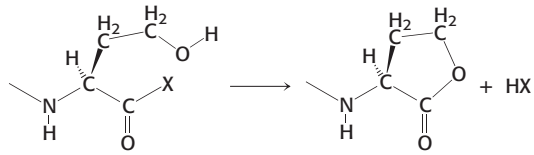
ΕΙΚΟΝΑ 2.10 Ο ιοντισμός της ιστιδίνης. Η ιστιδίνη μπορεί να δεσμεύει και να απελευθερώνει πρωτόνια κοντά στο φυσιολογικό pH.

Πίνακας 2.2 Συντομογραφίες και σύμβολα για αμινοξέα

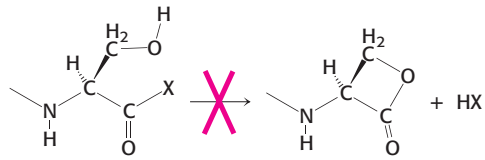
Αμινοξύ	Συντ/γραφία τριών γραμμάτων	Συντ/γραφία ενός γράμματος	Αμινοξύ	Συντ/γραφία τριών γραμμάτων	Συντ/γραφία ενός γράμματος
Αλανίνη	Ala	A	Ιστιδίνη	His	H
Αργινίνη	Arg	R	Κυστεΐνη	Cys	C
Ασπαραγίνη	Asn	N	Λευκίνη	Leu	L
Ασπαραγινικό οξύ	Asp	D	Λυσίνη	Lys	K
Βαλίνη	Val	V	Μεθειονίνη	Met	M
Γλουταμίνη	Gln	Q	Προλίνη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



ΕΙΚΟΝΑ 2.11 Αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα.



Ομοσερίνη



Σερίνη

ΕΙΚΟΝΑ 2.12 Ανεπιθύμητη αντιδραστικότητα στα αμινοξέα. Μερικά αμινοξέα δεν είναι κατάλληλα για να συμπεριληφθούν σε πρωτεϊνικές δομές διότι έχουν την τάση να κυκλοποιούνται. Η ομοσερίνη σχηματίζει σταθερές δομές δακτυλίων που αποτελούνται από πέντε άτομα άνθρακα και αυτό έχει ως εν δυνάμει συνέπεια τη διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού. Η κυκλοποίηση της σερίνης θα δημιουργούσε έναν δακτύλιο τεσσάρων ατόμων άνθρακα με δεσμούς υπό ένταση, και άρα δεν ευνοείται. Το X στη δομή συμβολίζει την αμινική ομάδα ενός γειτονικού αμινοξέος ή κάποια άλλη ομάδα που μπορεί να απομακρυνθεί.

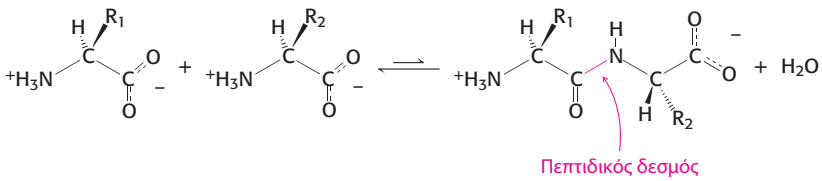
νη (Gln), την ισολευκίνη (Ile) και τη θρυπτοφάνη (Trp). Τα σύμβολα ενός γράμματος αντιστοιχούν, για πολλά αμινοξέα, στο πρώτο γράμμα του ονόματός τους (π.χ. G για τη γλυκίνη, L για τη λευκίνη). Τα υπόλοιπα γράμματα συμφωνήθηκαν με σύμβαση. Τα σύμβολα αυτά και οι συντομογραφίες είναι βασικά στοιχεία του λεξιλογίου της βιοχημείας.

Με ποιον τρόπο και για ποιους λόγους αυτό το συγκεκριμένο σύνολο αμινοξέων έγινε το σύνολο των δομικών λίθων στις πρωτεΐνες; Πρώτον, ως σύνολο παρουσιάζει όντως εξαιρετική ποικιλομορφία: οι δομικές και οι χημικές ιδιότητές τους καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος περιπτώσεων, προικίζοντας έτσι τις πρωτεΐνες με τη δυνατότητα να έχουν πολυσχιδείς λειτουργίες. Δεύτερον, πολλά από αυτά τα αμινοξέα ήταν μάλλον διαθέσιμα από προβιωτικές αντιδράσεις, δηλαδή από αντιδράσεις που έλαβαν χώρα πριν καν υπάρξει ζωή. Τέλος, κάποια άλλα πιθανά αμινοξέα να εμφάνιζαν έντονη εγγενή δραστικότητα. Παραδείγματος χάριν, αμινοξέα όπως η ομοσερίνη και η ομοκυστεΐνη έχουν την τάση να δημιουργούν πενταμελείς κυκλικές δομές που περιορίζουν τη χρήση τους στις πρωτεΐνες· 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 2.12).

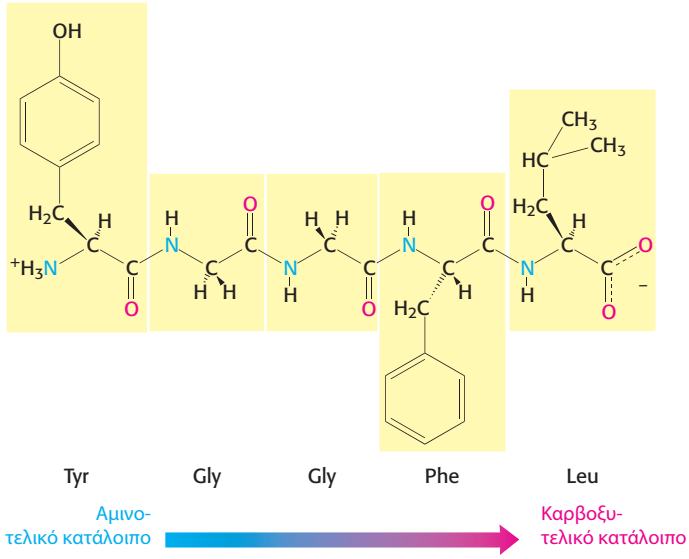
2.2 Πρωτοταγής δομή: τα αμινοξέα συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς για να σχηματίσουν πολυπεπτιδικές αλυσίδες

Οι πρωτεΐνες είναι *γραμμικά πολυμερή* που σχηματίζονται δεσμεύοντας την *α*-καρβοξυλική ομάδα ενός αμινοξέος στην *α*-αμινική ομάδα ενός άλλου αμινοξέος. Αυτή η δέσμευση ονομάζεται *πεπτιδικός δεσμός* ή *αμιδικός δεσμός*. Ο σχηματισμός ενός διπεπτιδίου από δύο αμινοξέα συνοδεύεται από την απώλεια ενός μορίου ύδατος (Εικόνα 2.13). Η ισορροπία της αντίδρασης βρίσκεται προς την πλευρά της υδρόλυσης παρά της σύνθεσης, κάτω από τις περισσότερες συνθήκες. Επομένως, η βιοσύνθεση του πεπτιδικού δεσμού χρειάζεται την προσθήκη ελεύθερης ενέργειας. Παρ' όλα αυτά οι πεπτιδικοί δεσμοί είναι κινητικά αρκετά σταθεροί επειδή η ταχύτητα υδρόλυσής τους είναι πάρα πολύ αργή· 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 πολυπεπτίδιο ονομά-



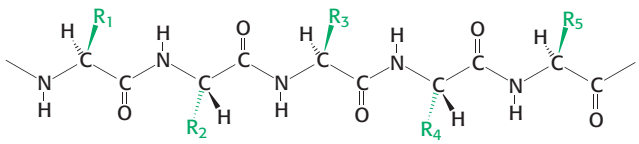
ΕΙΚΟΝΑ 2.13 Σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού. Η σύνδεση δύο αμινοξέων συνοδεύεται από την απώλεια ενός μορίου ύδατος.



ΕΙΚΟΝΑ 2.14 Η αλληλουχία αμινοξέων διαβάζεται προς μία μόνο κατεύθυνση. Η εικόνα του πενταπεπτιδίου Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (YGGFL) δείχνει την αλληλουχία από το αμινο-τελικό προς το καρβοξυ-τελικό άκρο. Αυτό το πενταπεπτίδιο, η λευκινο-εγκεφαλίνη, είναι ένα ενδογενές οπιοειδές που τροποποιεί την αντίληψη του πόνου από τον εγκέφαλο. Το αντίθετο πενταπεπτίδιο, το Leu-Phe-Gly-Gly-Tyr (LFGGY), είναι ένα διαφορετικό μόριο που δεν ασκεί καμία επίδραση στον εγκέφαλο.

ζεται *κατάλοιπο*. *Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα έχει πολικότητα* διότι τα δύο άκρα της είναι διαφορετικά: μια *α*-αμινική 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 της γράφεται αρχίζοντας με το αμινο-τελικό κατάλοιπο. Έτσι, στο πενταπεπτίδιο Tyr—Gly—Gly—Phe—Leu (YGGFL), η τυροσίνη είναι το αμινο-τελικό κατάλοιπο και η λευκίνη το καρβοξυ-τελικό κατάλοιπο (Εικόνα 2.14). Το πενταπεπτίδιο Leu—Phe—Gly—Gly—Tyr (CFGGY) είναι διαφορετικό πολυπεπτίδιο, με διαφορετικές χημικές ιδιότητες.

Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από ένα σταθερά επαναλαμβανόμενο τμήμα, το οποίο ονομάζεται *κύρια αλυσίδα* ή *κορμός*, και ένα μεταβλητό τμήμα, που αποτελείται από διάφορες *πλευρικές αλυσίδες* (Εικόνα 2.15). Ο κορμός του πολυπεπτιδίου έχει πολλές δυνατότητες δημιουργίας δεσμών υδρογόνου. Κάθε κατάλοιπο έχει μια καρβονυλική ομάδα (C=O), που είναι καλός δέκτης δεσμών υδρογόνου και, με εξαίρεση την προλίνη, μια αμιδική ομάδα (NH), η οποία είναι καλός δότης δεσμών υδρογόνου. Αυτές οι ομάδες αλληλεπιδρούν τόσο μεταξύ τους όσο και με λειτουργικές ομάδες των πλευρικών αλυσίδων, σταθεροποιώντας έτσι συγκεκριμένες δομές, όπως θα αναλύσουμε στο Υποκεφάλαιο 2.3.



ΕΙΚΟΝΑ 2.15 Οι συνιστώσες της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από έναν σταθερό κορμό (με μαύρο χρώμα) και μια ποικιλία πλευρικών αλυσίδων (με πράσινο χρώμα).

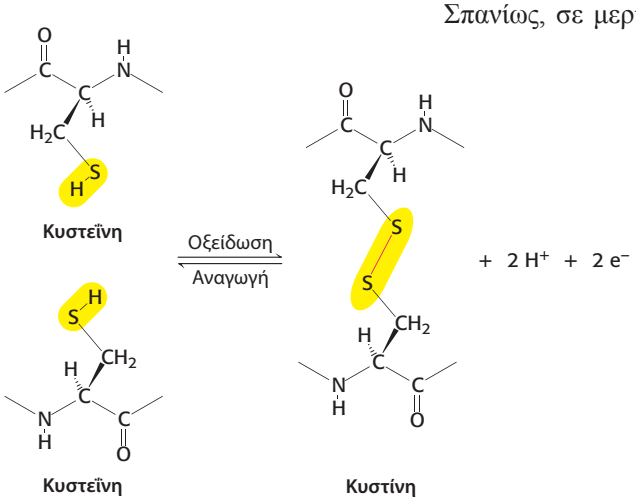
Οι περισσότερες φυσικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες περιέχουν από 50 έως 2.000 κατάλοιπα αμινοξέων και συνήθως ονομάζονται *πρωτεΐνες*. Η μεγαλύτερη γνωστή πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι μια πρωτεΐνη των μυών, η *τιτανίνη* (titin), η οποία έχει περισσότερα από 27.000 αμινοξέα. Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες που έχουν μικρό αριθμό αμινοξέων ονομάζονται *ολιγοπεπτίδια* ή απλώς *πεπτίδια*. Το μέσο μοριακό βάρος ενός καταλοίπου αμινοξέος είναι περίπου 110 g mol^{-1} και έτσι το μοριακό βάρος των περισσότερων πρωτεϊνών είναι μεταξύ 5.500 και 220.000 g mol^{-1}. Μπορούμε να αναφερθούμε επίσης στη μάζα μιας πρωτεΐνης, που εκφράζεται σε μονάδες dalton, όπου ένα *dalton* ισούται με τη μονάδα ατομικής μάζας. Μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 50.000 g mol^{-1} έχει μάζα 50.000 dalton ή 50 kd.

Dalton
Μονάδα μάζας ίση περίπου με τη μάζα του υδρογόνου. Ονομάστηκε προς τιμήν του John Dalton (1766-1844), που ανέπτυξε την ατομική θεωρία της ύλης.

Kilodalton (kd)
Μονάδα μάζας ίση με 1000 dalton

Σε μερικές πρωτεΐνες υπάρχουν διασυνδέσεις στη γραμμική πολυπεπτιδική αλυσίδα. Οι πιο κοινές διασυνδέσεις προκύπτουν από τον *δισουλφιδικό δεσμό*, που σχηματίζεται από την οξείδωση ενός ζεύγους καταλοίπων κυστεΐνης (Εικό-

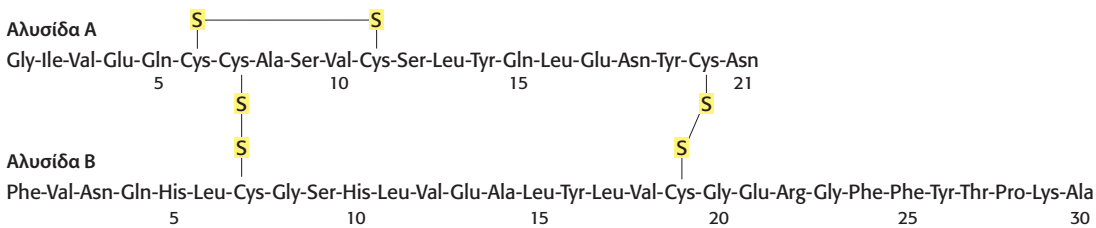
να 2.16). Το αποτέλεσμα της σύνδεσης των δύο κυστεϊνών ονομάζεται *κυστίνη*. Οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες συχνά έχουν αρκετούς δισουλφιδικούς δεσμούς, στις ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες όμως οι δεσμοί αυτοί συνήθως απουσιάζουν. Σπανίως, σε μερικές πρωτεΐνες υπάρχουν μη δισουλφιδικές διασυνδέσεις που προέρχονται από άλλες πλευρικές αλυσίδες. Παραδείγματος χάριν, οι κολλαγόνες ίνες του συνδετικού ιστού και το ινώδες που συμμετέχει στην πήξη του αίματος ενισχύουν τη δομή τους με τέτοιες διασυνδέσεις (Υποκεφάλαιο 10.4).



ΕΙΚΟΝΑ 2.16 Διασυνδέσεις. Ο σχηματισμός δισουλφιδικού δεσμού από δύο κατάλοιπα κυστεϊνης είναι οξειδωτική αντίδραση.

Οι πρωτεΐνες έχουν μοναδικές αλληλουχίες αμινοξέων που καθορίζονται από γονίδια

Το 1953 ο Frederick Sanger προσδιόρισε την αλληλουχία αμινοξέων της ινσουλίνης, μιας πρωτεϊνικής ορμόνης (Εικόνα 2.17). *Η εργασία αυτή αποτελεί ορόσημο για τη βιοχημεία διότι απέδειξε για πρώτη φορά ότι μια πρωτεΐνη έχει μια απόλυτα καθορισμένη αλληλουχία αμινοξέων* αποτελούμενη μόνο από L-αμινοξέα που συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς. Αυτό το επίτευγμα πυροδότησε μια σειρά από μελέτες προσδιορισμού της αλληλουχίας πολλών πρωτεϊνών από άλλους επιστήμονες. Σήμερα γνωρίζουμε ολόκληρη την αλληλουχία αμινοξέων για περισσότερες από 2.000.000 πρωτεΐνες. *Το εντυπωσιακό είναι ότι κάθε πρωτεΐνη έχει μια μοναδική και απόλυτα καθορισμένη αλληλουχία αμινοξέων* – αυτή είναι και η λεγόμενη *πρωτοταγής δομή* της.



ΕΙΚΟΝΑ 2.17 Αλληλουχία αμινοξέων της βόειας ινσουλίνης.

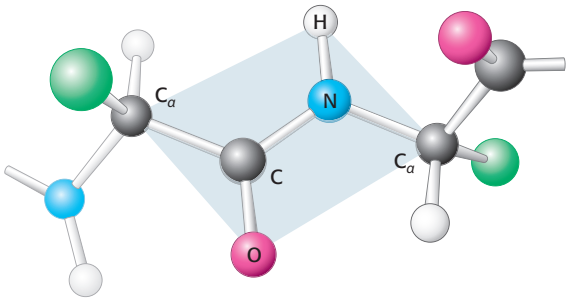
Μια σειρά από αναλυτικές μελέτες στα τέλη της δεκαετίας του 1950 και στις αρχές της δεκαετίας του 1960 αποκάλυψαν ότι οι αμινοξικές αλληλουχίες στις πρωτεΐνες καθορίζονται από αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στα γονίδια. Η αλληλουχία νουκλεοτιδίων του DNA προσδιορίζει τη συμπληρωματική αλληλουχία νουκλεοτιδίων στο RNA, που με τη σειρά της καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης. Για την ακρίβεια, το κάθε ένα από τα 20 αμινοξέα κωδικεύεται από μία ή περισσότερες ειδικές αλληλουχίες τριών νουκλεοτιδίων (Υποκεφάλαιο 4.6).

Η γνώση της αμινοξικής αλληλουχίας μιας πρωτεΐνης είναι σημαντική για αρκετούς λόγους. Πρώτον, η γνώση της αλληλουχίας είναι συνήθως απαραίτητη για την κατανόηση του μηχανισμού δράσης της (π.χ. την καταλυτική δράση των ενζύμων). Για την ακρίβεια, τροποποιώντας την αλληλουχία γνωστών πρωτεϊνών μπορούμε να δημιουργήσουμε πρωτεΐνες με νέες ιδιότητες. Δεύτερον, οι αλληλουχίες των αμινοξέων καθορίζουν τις τριδιάστατες δομές των πρωτεϊνών. Η αλληλουχία των αμινοξέων είναι ο συνδετικός κρίκος μεταξύ του γενετικού μηνύματος του DNA και της τριδιάστατης δομής της πρωτεΐνης που καθορίζει τη βιολογική της λειτουργία. Οι αναλύσεις της σχέσης μεταξύ αλληλουχίας αμινοξέων και τριδιάστατης δομής μιας πρωτεΐνης αποκαλύπτουν τους κανόνες που καθορίζουν την αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Τρίτον, τροποποιήσεις στην αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης μπορούν να οδηγήσουν σε μη φυσιολογική λειτουργία της και πρόκληση νόσου. Σοβαρότατες και ενίοτε θανατηφόρες νόσους, όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία (Κεφάλαιο 7) και η κυστική ίνωση, είναι δυνατόν να οφείλονται σε αλλαγή ενός αμινοξέος στην αλληλουχία μιας πρωτεΐνης. Τέταρτον, η αλληλουχία μιας πρωτεΐνης αποκαλύπτει πολλά για

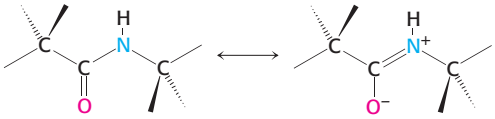
την εξελικτική ιστορία της (Κεφάλαιο 6). Οι πρωτεΐνες μοιάζουν μεταξύ τους ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων τους μόνο αν έχουν κοινό πρόγονο. Συνεπώς, τα μοριακά γεγονότα της εξέλιξης είναι δυνατόν να αποκαλυφθούν από τη μελέτη των αμινοξικών αλληλουχιών· μάλιστα, η μοριακή παλαιοντολογία αποτελεί ένα πεδίο έρευνας με σημαντική άνθηση.

Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες είναι εύκαμπτες αλλά έχουν καθορισμένη στερεοδιάταξη

Η εξέταση της γεωμετρίας τού πρωτεϊνικού κορμού αποκαλύπτει αρκετά σημαντικά στοιχεία. Πρώτον, *ο πεπτιδικός δεσμός είναι βασικά επίπεδος* (Εικόνα 2.18). Έτσι, 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 φύση των χημικών δεσμών σε ένα πεπτίδιο εξηγεί την επίπεδη διάταξη των έξι ατόμων. Ο πεπτιδικός δεσμός συντονίζεται μεταξύ απλού και διπλού δεσμού. Εξαιτίας του *μερικού χαρακτήρα διπλού δεσμού* αποτρέπεται η περιστροφή γύρω από τον εαυτό του και, έτσι, περιορίζονται οι στερεοδιατάξεις του πεπτιδικού κορμού.

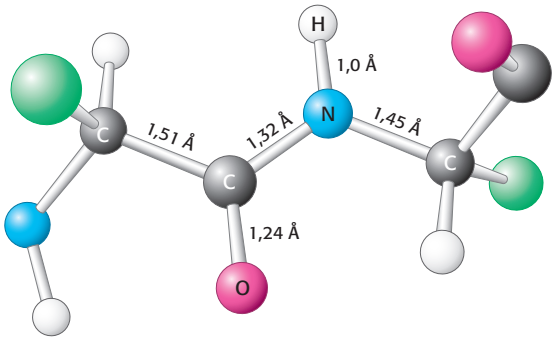


ΕΙΚΟΝΑ 2.18 Οι πεπτιδικοί δεσμοί είναι επίπεδοι. Στο ζεύγος συνδεδεμένων αμινοξέων, και τα έξι άτομα (C_α, C, O, N, H και C_α) βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Οι πλευρικές αλυσίδες παρουσιάζονται ως πράσινες σφαίρες.



Δομές συντονισμού του πεπτιδικού δεσμού

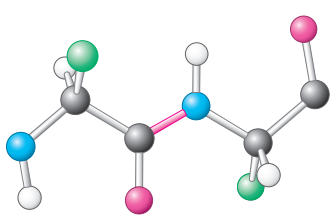
Τούτος ο μερικός χαρακτήρας διπλού δεσμού φαίνεται και στην απόσταση μεταξύ των ομάδων CO και NH. Η απόσταση C—N σε έναν πεπτιδικό δεσμό είναι 1,32 Å, δηλαδή μια τιμή που βρίσκεται μεταξύ των αναμενόμενων για έναν απλό δεσμό C—N (1,49 Å) και για έναν διπλό δεσμό C=N (1,27 Å), όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.19. Τέλος, ο πεπτιδικός δεσμός δεν έχει φορτίο, επιτρέποντας έτσι στα πολυμερή των αμινοξέων που συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς να δημιουργήσουν συμπαγείς σφαιρικές κατασκευές.



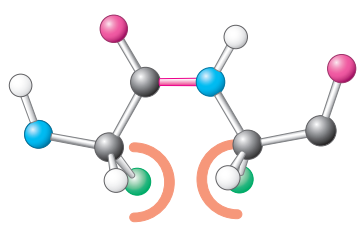
ΕΙΚΟΝΑ 2.19 Τυπικές αποστάσεις μέσα σε μια πεπτιδική μονάδα. Η πεπτιδική μονάδα εμφανίζεται εδώ σε διαμόρφωση trans (ετερόπλευρη).

Υπάρχουν δύο πιθανές διαμορφώσεις για έναν επίπεδο πεπτιδικό δεσμό. Στη διαμόρφωση *trans*, τα δύο άτομα *α*-άνθρακα βρίσκονται σε αντίθετες θέσεις σε σχέση με τον πεπτιδικό δεσμό. Στη διαμόρφωση *cis*, αυτές οι ομάδες βρίσκονται στην ίδια πλευρά του πεπτιδικού δεσμού. *Όλοι σχεδόν οι πεπτιδικοί δεσμοί των πρωτεϊνών είναι trans*. Τούτη η προτίμηση της διαμόρφωσης trans σε σχέση με τη διαμόρφωση cis εξηγείται από το γεγονός ότι οι στερικές αλληλεπικαλύψεις των ομάδων που συνδέονται στα άτομα *α*-άνθρακα παρεμποδίζουν τη διαμόρφωση cis αλλά δεν προκύπτουν στη διαμόρφωση trans (Εικόνα 2.20). Οι πιο κοινές περιπτώσεις δεσμών cis αφορούν την προλίνη (X-Pro, όπου X οποιοδήποτε άλλο αμινοξύ). Οι δεσμοί αυτοί έχουν μικρότερη προτίμηση για τη διαμόρφωση trans διότι το άζωτο της προλίνης είναι δεσμευμένο σε δύο τετρασθενή άτομα άνθρακα, γεγονός που περιορίζει ουσιαστικά τις στερικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των μορφών trans και cis (Εικόνα 2.21).

Σε αντίθεση με τον πεπτιδικό δεσμό, οι δεσμοί που ενώνουν την αμινική ομάδα με το άτομο *α*-άνθρακα και τις καρβονυλικές ομάδες με το άτομο *α*-άνθρακα

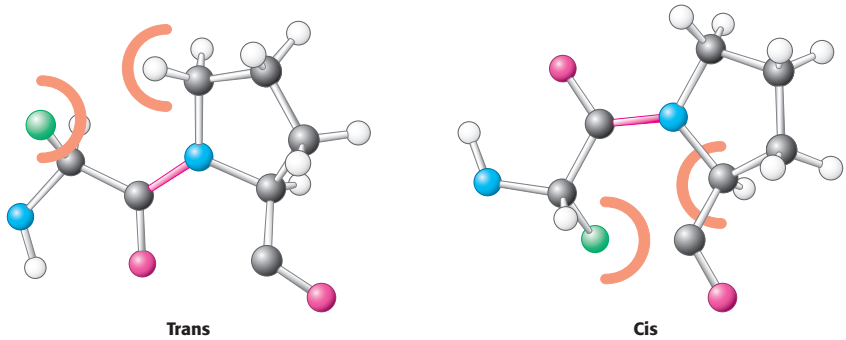


Trans



Cis

ΕΙΚΟΝΑ 2.20 Πεπτιδικοί δεσμοί trans και cis. Η μορφή trans ευνοείται ιδιαιτέρως διότι στη μορφή cis υπάρχουν προβλήματα στερικών συγκρούσεων, που υποδεικνύονται με τα πορτοκαλί ημικύκλια.



ΕΙΚΟΝΑ 2.21 Δεσμοί Χ-προλίνης trans και cis. Η ενέργεια είναι περίπου ίδια διότι υπάρχουν αντίστοιχα προβλήματα στερικών συγκρούσεων και στις δύο μορφές, που υποδεικνύονται με τα πορτοκαλί ημικύκλια.

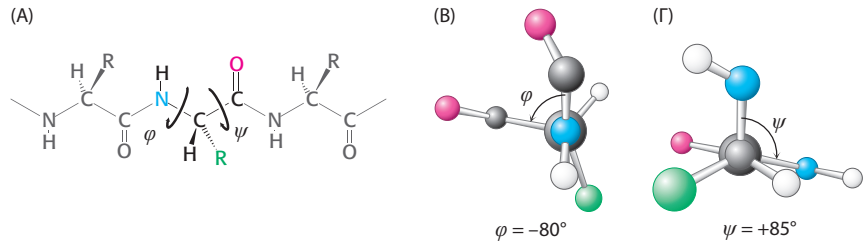
είναι καθαροί απλοί δεσμοί. Τα δύο γειτονικά άκαμπτα πεπτιδικά επίπεδα μπορούν επομένως να περιστραφούν γύρω από τους δεσμούς αυτούς αποκτώντας διάφορους προσανατολισμούς. *Η ελευθερία περιστροφής κάθε αμινοξέος γύρω από τους δύο δεσμούς επιτρέπει στις πρωτεΐνες να αναδιπλωθούν με πολλούς και διάφορους τρόπους*. Οι περιστροφές γύρω από τους δεσμούς είναι δυνατόν να προσδιοριστούν από τις *δίεδρες γωνίες* (Εικόνα 2.22). 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. Η περιστροφή κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού όταν βλέπουμε από το άτομο αζώτου προς το άτομο του α-άνθρακα, ή από το άτομο του α-άνθρακα προς την καρβονυλομάδα, αντιστοιχεί σε θετική τιμή. Οι γωνίες φ και ψ καθορίζουν την πορεία της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Δίεδρη γωνία

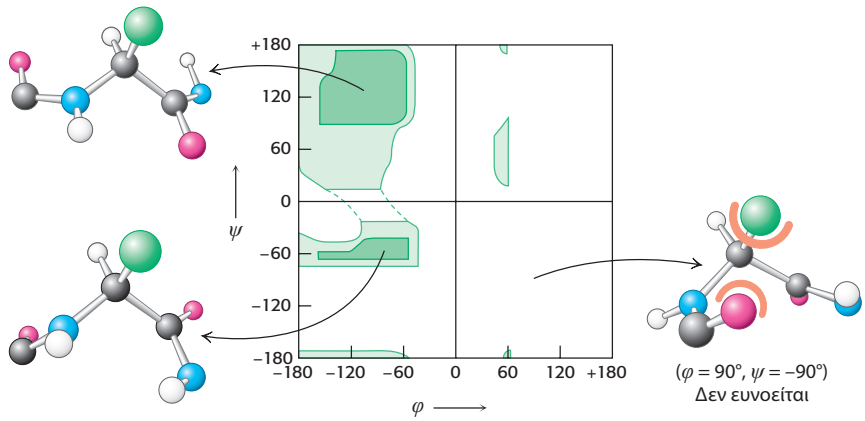
Είναι ένα μέτρο της περιστροφής γύρω από έναν δεσμό, που συνήθως βρίσκεται μεταξύ −180° και +180°. Οι δίεδρες γωνίες μερικές φορές λέγονται και γωνίες στρέψης.

Ποιοι συνδυασμοί είναι, όμως, δυνατοί για τις γωνίες φ και ψ; Ο Gopalasamudram Ramachandran διαπίστωσε ότι πολλοί συνδυασμοί δεν είναι δυνατοί λόγω των στερικών συγκρούσεων μεταξύ των ατόμων. Οι επιτρεπτές τιμές εμφανίζονται σε ένα διδιάστατο σχήμα που ονομάζεται *διάγραμμα Ramachandran* (Εικόνα 2.23). Τα τρία τέταρτα των πιθανών συνδυασμών των γωνιών φ και ψ αποκλείονται 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 σημαντικότατος κανόνας οργάνωσης της δομής των πρωτεϊνών*.

Η ικανότητα των βιολογικών πολυμερών, όπως οι πρωτεΐνες, να αναδιπλώνονται σε καλά καθορισμένες δομές είναι θερμοδυναμικώς ιδιαίτερα αξιοσημείωτη. Ένα ξεδιπλωμένο πολυμερές έχει στερεοδιάταξη τυχαίου σπειράματος: κάθε αντίγραφο του ξεδιπλωμένου πολυμερούς θα έχει διαφορετική στερεοδιάταξη, άρα θα υπάρχει ένα μείγμα πολλών πιθανών στερεοδιατάξεων. Η ευνοϊκή εντροπία που αφορά ένα μείγμα πολλών στερεοδιατάξεων αντιστρατεύεται την αναδίπλωση και πρέπει να υπερνικηθεί με αλληλεπιδράσεις που ευνοούν την αναδιπλωμένη μορφή. Επομένως, τα πολύ ευέλικτα πολυμερή που έχουν μεγάλο αριθμό πιθανών αναδιπλώσεων δεν οδηγούν σε απόλυτα καθορισμένες μοναδι-



ΕΙΚΟΝΑ 2.22 Περιστροφή γύρω από τους δεσμούς ενός πολυπεπτιδίου. Η δομή κάθε αμινοξέος σε ένα πολυπεπτίδιο 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 ου άνθρακα της καρβονυλικής ομάδας ονομάζεται ψ. (Β) Μια κάτοψη του δεσμού μεταξύ των ατόμων αζώτου και α-άνθρακα δείχνει πώς μετράμε τη φ. (Γ) Μια κάτοψη του δεσμού μεταξύ του ατόμου α-άνθρακα και του ατόμου άνθρακα της καρβονυλικής ομάδας δείχνει πώς μετράμε την ψ.



ΕΙΚΟΝΑ 2.23 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 ανοιχτό πράσινο. Η δομή που φαίνεται δεξιά δεν ευνοείται λόγω στερικών συγκρούσεων μεταξύ των ατόμων.

κές δομές. *Το συμπαγές της πεπτιδικής μονάδας και το μικρό εύρος των επιτρεπόμενων γωνιών φ και ψ περιορίζουν αρκετά τον αριθμό των δομών που μπορεί να επιτύχει η ξεδιπλωμένη μορφή της πρωτεΐνης ώστε να επιτραπεί η διεργασία αναδίπλωσής της.*

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

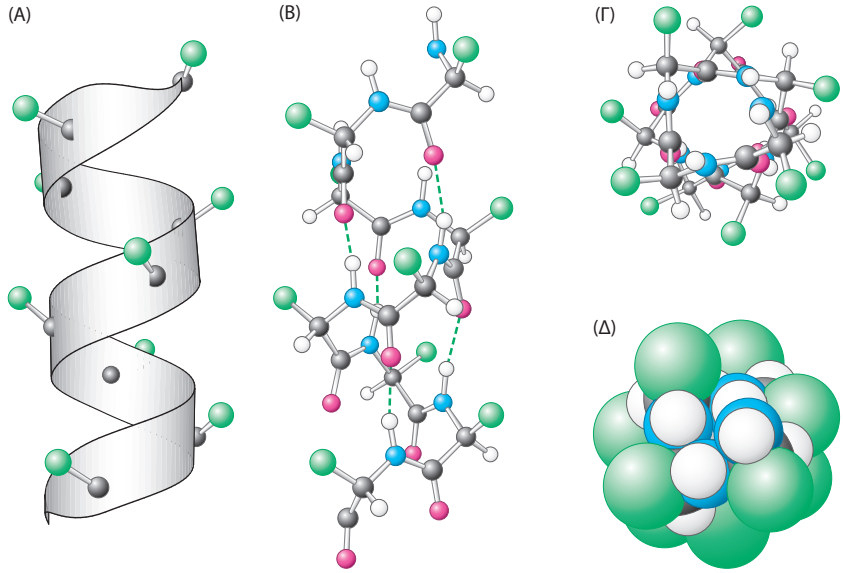
Είναι δυνατόν μια πολυπεπτιδική αλυσίδα να αναδιπλώνεται σε κανονικά επαναλαμβανόμενες δομές; Το 1951 οι Linus Pauling και Robert Corey πρότειναν δύο τέτοιες περιοδικές δομές που τις ονόμασαν *α-έλικα* και *β-πτυχωτή επιφάνεια*. Στη συνέχεια καθορίστηκαν και άλλες δομές όπως η *β-στροφή* και η *Ω-θηλιά*. Παρόλο 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. Οι α-έλικες, οι β-πτυχώσεις και οι στροφές σχηματίζονται από ένα κανονικό σχήμα δεσμών υδρογόνου μεταξύ των πεπτιδικών ομάδων N—H και C=O εκείνων των αμινοξέων που είναι *κοντά το ένα στο άλλο στη γραμμική αλληλουχία* τους. Τούτα τα αναδιπλωμένα τμήματα συνθέτουν τη *δευτεροταγή δομή* της πρωτεΐνης.

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

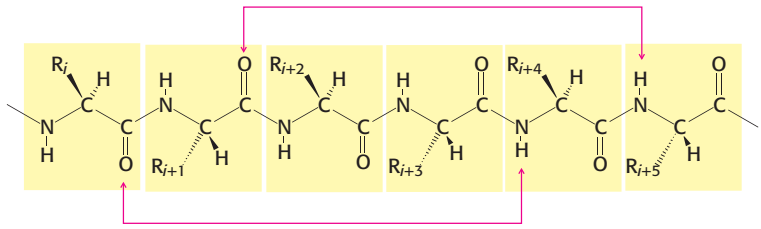
Στην προσπάθειά τους να καθορίσουν τις πιθανές δομές των πεπτιδίων, οι Pauling και Corey έλαβαν υπ' όψιν τους στερικούς περιορισμούς καθώς και την ικανότητα του πολυπεπτιδικού κορμού να διαμορφώνει συνθήκες δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ομάδων NH και CO. Η πρώτη δομή που πρότειναν ήταν εκείνη της *α-έλικας*, που είναι ραβδόμορφη (Εικόνα 2.24). Ο συμπαγής σπειραματοειδής κορμός 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 2.25). Έτσι, *όλες οι ομάδες CO και NH του πολυπεπτιδικού κορμού συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου*, εκτός από εκείνες που βρίσκονται στα άκρα της α-έλικας. Κάθε κατάλοιπο σχετίζεται με το επόμενο κατά άνοδο (ή *μετατόπιση*) 1,5 Å στον άξονα της έλικας, και περιστροφή κατά 100°, δίνοντας έτσι 3,6 κατάλοιπα αμινοξέων ανά στροφή της έλικας. Συνεπώς, κατάλοιπα που απέχουν μεταξύ τους 3-4 θέσεις στην αμινοξική αλληλουχία βρίσκονται αρκετά κοντά το ένα στο άλλο λόγω της δομής της α-έλικας. Αντιθέτως, αμινοξέα που απέχουν δύο θέσεις στην αλληλουχία, βρίσκονται το

Η κατεύθυνση 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. Αντιθέτως, αν στρέφεται αντίθετα από τους δείκτες του ρολογιού τότε δίνει την αίσθηση αριστερόστροφης έλικας.



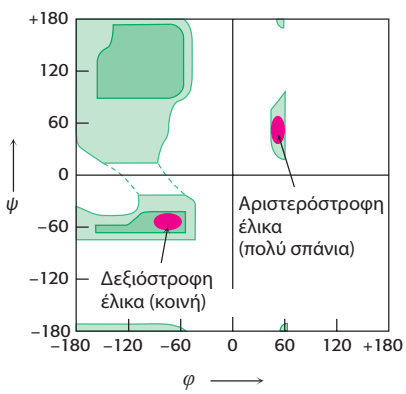
ΕΙΚΟΝΑ 2.24 Η δομή μιας α-έλικας. (Α) Η απεικόνιση κορδέλας στην οποία ξεχωρίζουν τα άτομα α-άνθρακα και οι πλευρικές αλυσίδες (πράσινο). (Β) Μια πλάγια όψη του μοντέλου με σφαίρες και ράβδους, όπου διακρίνονται οι δεσμοί υδρογόνου (διακεκομμένες γραμμές) μεταξύ των ομάδων NH και CO. (Γ) Παρατηρώντας 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.



ΕΙΚΟΝΑ 2.25 Δημιουργία δεσμών υδρογόνου σε μια α-έλικα. Στην α-έλικα η ομάδα CO του καταλοίπου *i* δημιουργεί έναν δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH του καταλοίπου *i* + 4.

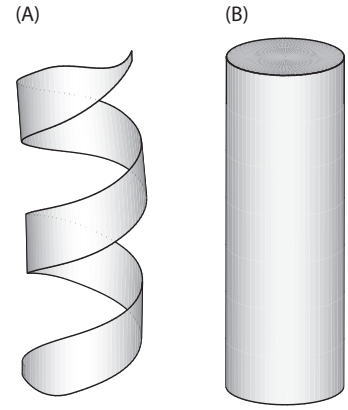
ένα απέναντι από το άλλο στην έλικα και είναι απίθανο να έρθουν σε επαφή. Το *βήμα* της α-έλικας, που ορίζεται ως το μήκος κατ' άξονα μιας πλήρους στροφής επάνω στην έλικα, ισούται με το γινόμενο της μετατόπισης (1,5 Å) επί τον αριθμό των καταλοίπων ανά στροφή (3,6), και είναι 5,4 Å. Η έλικα μπορεί να είναι δεξιόστροφη (να στρέφεται σύμφωνα με τους δείκτες του ρολογιού) ή αριστερόστροφη (να στρέφεται αντίθετα από τους δείκτες του ρολογιού). Το διάγραμμα Ramachandran αποκαλύπτει ότι και η δεξιόστροφη και η αριστερόστροφη έλικα αποτελούν επιτρεπτές στερεοδιατάξεις (Εικόνα 2.26). Ωστόσο, οι δεξιόστροφες έλικες είναι ενεργειακά πιο ευνοούμενες 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 2.27).

Δεν μπορούν όλα τα αμινοξέα να βρεθούν σε δομή α-έλικας με την ίδια ευκολία. Οι διακλαδώσεις των ατόμων β-άνθρακα της βαλίνης, της θρεονίνης και της ισολευκίνης τείνουν να αποσταθεροποιούν τις α-έλικες λόγω στερικών συγκρούσεων. Η σερίνη, το ασπαραγινικό και η ασπαραγίνη έχουν την τάση να αποδιατάσσουν 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 επίσης διασπά τη συνέχεια στις α-έλικες, διότι δεν έχει ομάδα NH και διότι η δομή του δακτυλίου της την εμποδίζει να έχει την κατάλληλη τιμή για τη γωνία φ που να ταιριάζει σε α-έλικα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.26 Διάγραμμα Ramachandran των ελίκων. Οι δύο μορφές της έλικας, δεξιόστροφη και αριστερόστροφη, βρίσκονται σε περιοχές επιτρεπόμενων στερεοδιατάξεων όταν αναλυθούν κατά Ramachandran. Ωστόσο, σχεδόν όλες οι α-έλικες στις πρωτεΐνες είναι δεξιόστροφες.

Το ποσοστό της *α*-έλικας των πρωτεϊνών ποικίλλει από 0% έως και 100% ανά περίπτωση. Παραδείγματος χάριν, το 75% περίπου των καταλοίπων της φερριτίνης, μιας πρωτεΐνης που βοηθά στην αποθήκευση του σιδήρου, βρίσκονται σε *α*-έλικες (Εικόνα 2.28). Για την ακρίβεια, περίπου το 25% όλων των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών απαρτίζονται από *α*-έλικες συνδεδεμένες μεταξύ τους με στροφές και θηλιές της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Οι μονές *α*-έλικες συνήθως έχουν μήκος μικρότερο από 45 Å. Πολλές πρωτεΐνες που διασχίζουν βιολογικές μεμβράνες περιέχουν επίσης *α*-έλικες στα ενδομεμβρανικά τους τμήματα.

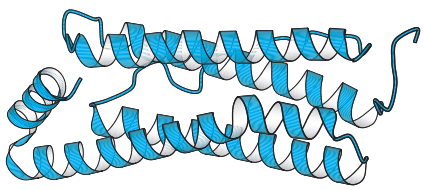


ΕΙΚΟΝΑ 2.27 Σχηματική απεικόνιση μιας *α*-έλικας. (A) Απεικόνιση κορδέλας. (B) Απεικόνιση κυλίνδρου.

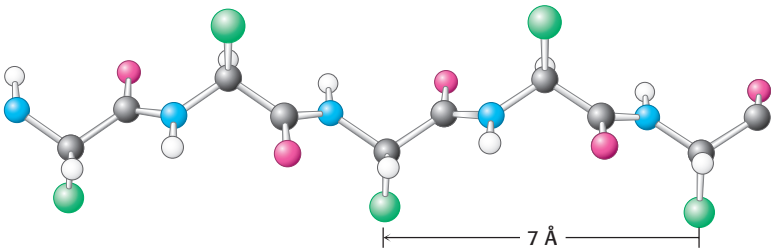
Οι *β*-πτυχωτές επιφάνειες σταθεροποιούνται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των πολυπεπτιδικών αλυσίδων

Οι Pauling και Corey πρότειναν 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. Αποτελείται από δύο ή περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες, που ονομάζονται *β-πτυχώσεις*. Μια *β*-πτύχωση είναι σχεδόν πλήρως εκτεταμένη, αντίθετα από το συμπαγές σπείραμα στην *α*-έλικα. Η στερεοδιάταξη αυτή επιτρέπει ένα φάσμα από εκτεταμένες δομές χωρίς στερικά προβλήματα (Εικόνα 2.29).

Η απόσταση μεταξύ γειτονικών αμινοξέων σε μια *β*-πτύχωση είναι περίπου 3,5 Å, σε αντίθεση με την απόσταση των 1,5 Å κατά μήκος της *α*-έλικας. Οι πλευρικές αλυσίδες των γειτονικών αμινοξέων έχουν αντίθετη κατεύθυνση (Εικόνα 2.30). Μια *β*-επιφάνεια δημιουργείται όταν δύο ή περισσότερες *β*-πτυχώσεις,

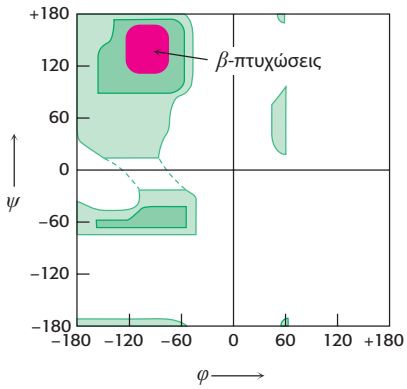


ΕΙΚΟΝΑ 2.28 Μια πρωτεΐνη με βασική διαμόρφωση *α*-έλικας. Η φερριτίνη, μια πρωτεΐνη αποθήκευσης σιδήρου, σχηματίζεται από δέσμη *α*-ελίκων. [Σχεδιασμένο από 1AEW.pdb.]

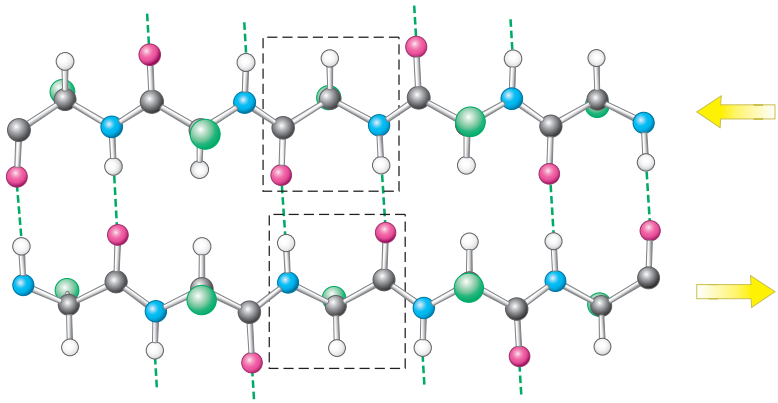


ΕΙΚΟΝΑ 2.30 Η δομή της *β*-πτύχωσης. Οι πλευρικές αλυσίδες (πράσινο) βρίσκονται εναλλάξ επάνω και κάτω από το επίπεδο της *β*-πτύχωσης.

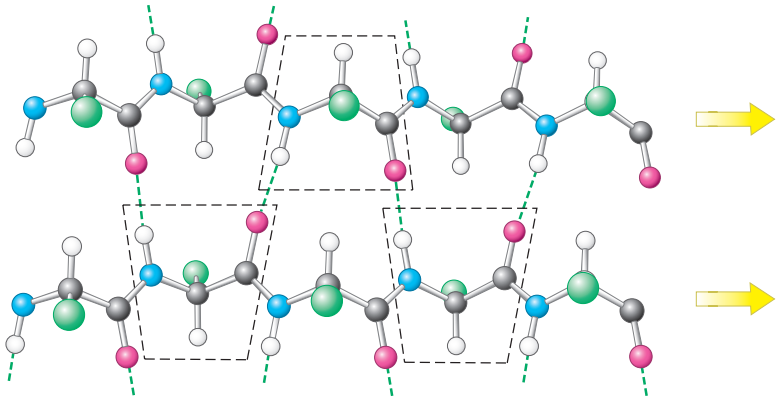
που βρίσκονται η μία δίπλα στην άλλη, συνδεθούν με δεσμούς υδρογόνου. Οι διαδοχικές *β*-πτυχώσεις στη *β*-επιφάνεια μπορούν να έχουν την ίδια κατεύθυνση (παράλληλη *β*-επιφάνεια) ή να έχουν αντίθετη κατεύθυνση (αντιπαράλληλη *β*-επιφάνεια). Στην αντιπαράλληλη *β*-επιφάνεια, οι ομάδες NH και CO ενός αμινοξέος συνδέονται αντίστοιχα με δεσμούς υδρογόνου με τις ομάδες CO και NH του αμινοξέος της γειτονικής *β*-πτύχωσης (Εικόνα 2.31). Στην παράλληλη



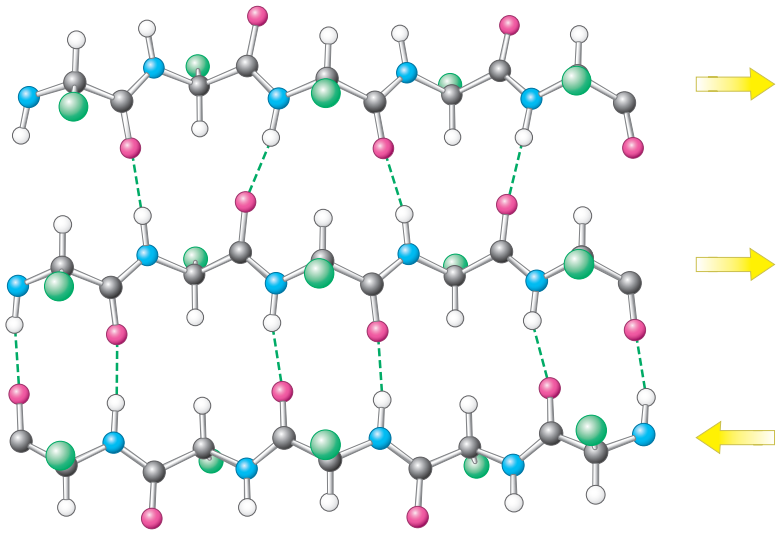
ΕΙΚΟΝΑ 2.29 Διάγραμμα Ramachandran για τις *β*-πτυχώσεις. Στην κόκκινη περιοχή του διαγράμματος φαίνονται οι στερεοχημικά επιτρεπτές δομές εκτεταμένων *β*-πτυχώσεων.



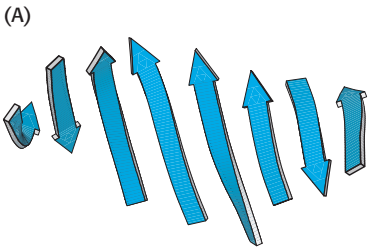
ΕΙΚΟΝΑ 2.31 Μια αντιπαράλληλη *β*-επιφάνεια. Οι γειτονικές *β*-πτυχώσεις έχουν αντίθετες κατευθύνσεις, όπως υποδεικνύουν τα βέλη. Οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ομάδων NH και CO συνδέουν το κάθε αμινοξύ με ένα μόνο αμινοξύ στη γειτονική *β*-πτύχωση, σταθεροποιώντας τη δομή.



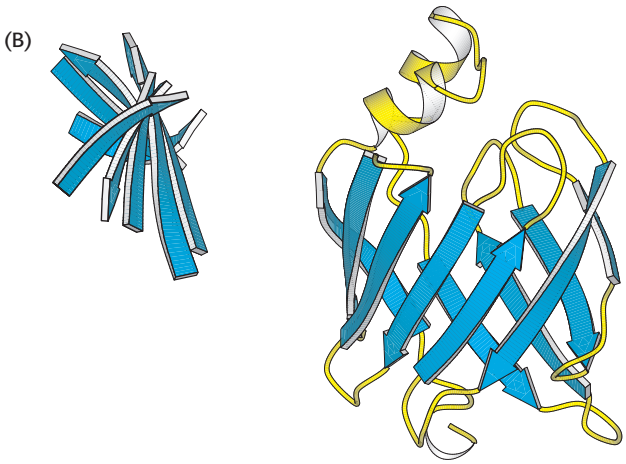
ΕΙΚΟΝΑ 2.32 Μια παράλληλη *β*-επιφάνεια. Οι γειτονικές *β*-πτυχώσεις έχουν την ίδια κατεύθυνση, όπως υποδεικνύουν τα βέλη. Οι δεσμοί υδρογόνου συνδέουν κάθε αμινοξύ της μιας πτύχωσης με δύο διαφορετικά αμινοξέα στη γειτονική πτύχωση.



ΕΙΚΟΝΑ 2.33 Δομή μιας μεικτής *β*-πτυχωτής επιφάνειας. Τα βέλη υποδεικνύουν την κατεύθυνση κάθε β-πτύχωσης.



ΕΙΚΟΝΑ 2.34 Μια *β*-επιφάνεια όπου η κάθε πτύχωση είναι ελαφρώς συνεστραμμένη σε σχέση με την προηγούμενη. (A) Σχηματικό μοντέλο. (B) Σχηματική διαμόρφωση που έχει περιστραφεί κατά 90° για να εμφανίσει καλύτερα τη συστροφή.



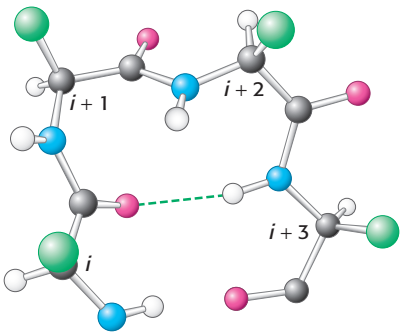
ΕΙΚΟΝΑ 2.35 Μια πρωτεΐνη πλούσια σε *β*-πτυχώσεις. Η δομή μιας πρωτεΐνης που προσδένει λιπαρά οξέα. [Σχεδιασμένο από 1FTP.pdb.]

β-επιφάνεια η διάταξη των δεσμών υδρογόνου είναι λίγο πιο περίπλοκη. Για κάθε αμινοξύ, η ομάδα NH συνδέεται στο CO ενός αμινοξέος της γειτονικής *β*-πτύχωσης, ενώ η ομάδα CO συνδέεται στο NH του αμινοξέος που βρίσκεται δύο κατάλοιπα πιο κάτω στη γειτονική *β*-πτύχωση (Εικόνα 2.32). Για να προκύψουν *β*-επιφάνειες πρέπει να συνδεθούν πολλές πτυχώσεις, συνήθως 4-5, αλλά μπορεί και 10 ή περισσότερες. Τέτοιες *β*-επιφάνειες μπορεί να είναι μόνο αντιπαράλληλες, μόνο παράλληλες, ή μεικτές (Εικόνα 2.33).

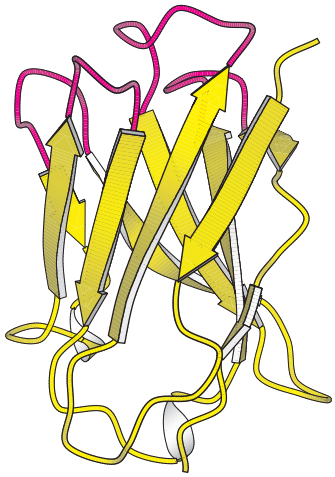
Στις σχηματικές αναπαραστάσεις, οι *β*-πτυχώσεις συνήθως εμφανίζονται ως φαρδιά βέλη με κατεύθυνση προς το καρβοξυ-τελικό άκρο, προσδιορίζοντας τον τύπο της *β*-επιφάνειας που σχηματίζεται – παράλληλη ή αντιπαράλληλη. Οι *β*-επιφάνειες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλία από τις *α*-έλικες, μπορούν να είναι σχεδόν επίπεδες, όμως οι περισσότερες εμφανίζονται με την κάθε πτύχωση ελαφρά συνεστραμμένη (Εικόνα 2.34). Η *β*-επιφάνεια είναι σημαντικό δομικό συστατικό πολλών πρωτεϊνών. Παραδείγματος χάριν, οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν τα λιπαρά οξέα και είναι τόσο σημαντικές για τον μεταβολισμό των λιπιδίων αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από *β*-επιφάνειες (Εικόνα 2.35).

Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να αλλάξουν κατεύθυνση δημιουργώντας ανάστροφες στροφές και θηλιές

Οι πιο πολλές πρωτεΐνες έχουν συμπαγές σφαιρικό σχήμα λόγω των αναστροφών στην κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας τους. Πολλές από τις αναστροφές επιτυγχάνονται με ένα κοινό δομικό στοιχείο που ονομάζεται *ανάστροφη στροφή* (γνωστό επίσης και ως *β-στροφή* ή *στροφή φουρκέτας*)· το βλέπουμε στην Εικόνα 2.36. 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 περιπτώσεις στις οποίες η αναστροφή της αλυσίδας γίνεται μέσω πιο πολύπλοκων δομών. Αυτές οι δομές 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, οι δομές θηλιάς έχουν συχνά σταθερή και απόλυτα καθορισμένη δομή (Εικόνα 2.37). Οι στροφές και οι θηλιές βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των πρωτεϊνών και επομένως συμμετέχουν συχνά στην αλληλεπίδρασή τους με άλλα μόρια.



ΕΙΚΟΝΑ 2.36 Δομή μιας ανάστροφης στροφής. Η ομάδα CO του καταλοίπου *i* της πολυπεπτιδικής αλυσίδας σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH του καταλοίπου *i* + 3 για τη σταθεροποίηση της στροφής.

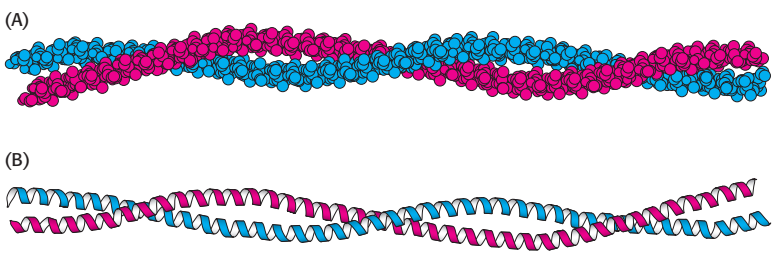


ΕΙΚΟΝΑ 2.37 Θηλιές στην επιφάνεια μιας πρωτεΐνης. Οι θηλιές που υπάρχουν σε τμήμα της επιφάνειας ενός μορίου αντισώματος (με κόκκινο) συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με άλλα μόρια. [Σχεδιασμένο από 7FTP.pdb.]

Οι ινώδεις πρωτεΐνες παρέχουν δομική στήριξη σε κύτταρα και ιστούς

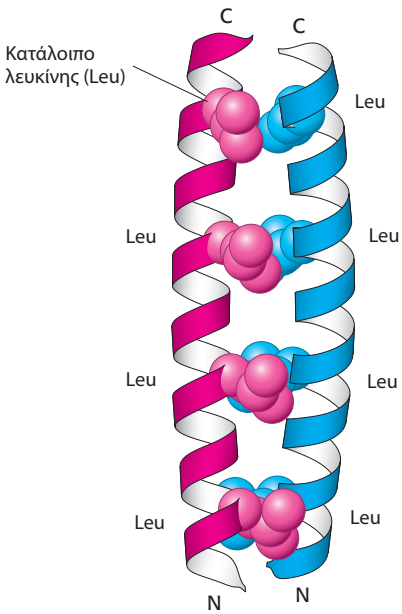
Σε δύο πολύ κοινές πρωτεΐνες, την *α*-κερατίνη και το κολλαγόνο, υπάρχουν έλικες ιδιαίτερης μορφής. Οι πρωτεΐνες αυτές σχηματίζουν πολύ επιμήκεις ίνες οι οποίες χρησιμεύουν για δομικούς σκοπούς.

Η *α*-κερατίνη, που είναι το κύριο συστατικό στο μαλλί, στις τρίχες και στο δέρμα, αποτελείται από δύο δεξιόστροφες *α*-έλικες περιπλεγμένες μεταξύ τους έτσι ώστε να σχηματίζεται μια αριστερόστροφη υπερέλικα που ονομάζεται *α-ελικοειδές σπείραμα*. Η *α*-κερατίνη είναι μέλος μιας υπεροικογένειας πρωτεϊνών οι οποίες ονομάζονται *πρωτεΐνες ελικοειδούς σπειράματος* (Εικόνα 2.38). Σε αυτές τις πρωτεΐνες, δύο ή περισσότερες *α*-έλικες περιπλέκονται μεταξύ τους για να σχηματιστεί μια πολύ σταθερή δομή, η οποία μπορεί να έχει μήκος 1000 Å (100 nm ή 0,1 μm) ή περισσότερο. Υπάρχουν περίπου 60 μέλη της συγκεκριμένης οικογένειας στον άνθρωπο, στα οποία συμπεριλαμβάνονται οι πρωτεΐνες των ενδιάμεσων νηματίων, οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στον κυτταρικό σκελετό και οι μυϊκές πρωτεΐνες μυοσίνη και τροπομυοσίνη (Υποκεφάλαιο 35.2). Τα μέλη αυτής της οικογένειας χαρακτηρίζονται από μια κεντρική περιοχή 300 αμινοξέων που περιέχει ατελείς επαναλήψεις μιας αλληλουχίας επτά αμινοξέων (η λεγόμενη *επαναληπτική επτάδα)*.



ΕΙΚΟΝΑ 2.38 Ένα *α*-ελικοειδές σπείραμα. (A) Χωροπληρωτικό μοντέλο. (B) Διάγραμμα κορδέλας. Οι δυο έλικες ελίσσονται η μία γύρω από την άλλη και σχηματίζουν μια υπερέλικα. Οι δομές αυτές απαντούν σε πολλές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της κερατίνης των μαλλιών, των φτερών, των νυχιών και των κεράτων των ζώων. [Σχεδιασμένο από 1 C1G.pdb.]

Οι δύο *α*-έλικες στην *α*-κερατίνη είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με ασθενείς αλληλεπιδράσεις, όπως ιοντικές αλληλεπιδράσεις καθώς και δυνάμεις van der Waals. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις ευνοούνται από το γεγονός ότι η αριστερόστροφη υπερέλικα αλλάζει κάπως τη δομή των δύο *α*-ελίκων, έτσι ώστε να υπάρχουν 3,5 κατάλοιπα ανά στροφή αντί των 3,6. Συνεπώς, το συγκεκριμένο σχήμα αλληλεπιδράσεων μπορεί να επαναλαμβάνεται κάθε δύο στροφές, σχηματίζοντας τις επαναληπτικές επτάδες. Δύο έλικες με τέτοιες επαναλήψεις είναι δυνατόν να αλληλεπιδρούν εάν οι επαναλήψεις είναι συμπληρωματικές (Εικόνα 2.39). Παραδείγματος χάριν, τα επαναλαμβανόμενα κατάλοιπα μπορεί να είναι υδρόφοβα, επιτρέποντας αλληλεπιδράσεις van der Waals, ή να είναι αντίθετα φορτισμένα, επιτρέποντας έτσι ιοντικές αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον, οι δύο έλικες μπορεί να είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς που σχηματίζονται μεταξύ γειτονικών καταλοίπων κυστεΐνης. Οι τρόποι αλληλεπίδρασης των δύο ελίκων εξηγούν τις φυσικές ιδιότητες του μαλλιού, ένα παράδειγμα της *α*-κερατίνης. Το μαλλί είναι εκτατό και μπορεί να επεκταθεί μέχρι το διπλάσιο του μήκους του, διότι οι *α*-έλικες μπορούν να τεντωθούν, αναιρώντας έτσι τις ασθενείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ γειτονικών ελίκων. Ωστόσο, οι ομοιοπολικοί δισουλφιδικοί δεσμοί ανθίστανται στη διάσπαση και συνεπώς η ίνα επιστρέφει στην αρχική της κατάσταση μόλις πάψει να υφίσταται η εκτατική δύναμη. Ο αριθμός των διασυνδέσεων μέσω δισουλφιδικών δεσμών είναι ένας δεύτερος τρόπος διάκρισης μεταξύ διάφορων ινών. Το μαλλί και οι τρίχες, έχοντας λιγότερες τέτοιες διασυνδέσεις, είναι εύκαμπτα. Αντιθέτως, τα κέρατα, οι γαμψώνυχες και οι οπλές έχουν περισσότερες διασυνδέσεις και είναι πολύ πιο σκληρά.



ΕΙΚΟΝΑ 2.39 Επαναληπτικές επτάδες σε μια πρωτεΐνη με δομή ελικοειδούς σπειράματος. Το έβδομο κατάλοιπο σε κάθε έλικα είναι λευκίνη. Οι δύο έλικες συγκρατούνται μεταξύ τους μέσω αλληλεπιδράσεων van der Waals, κυρίως μεταξύ των καταλοίπων λευκίνης. [Σχεδιασμένο από 2ZTA.pdb.]

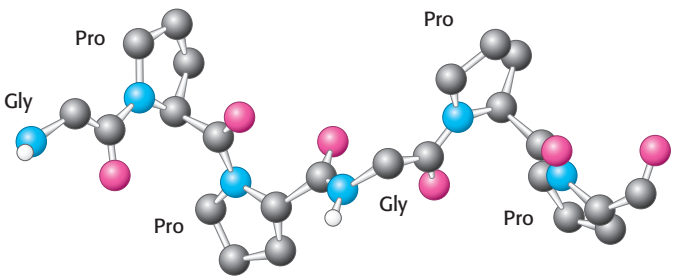
Το κολλαγόνο, η πρώτη σε αφθονία πρωτεΐνη των θηλαστικών, έχει ένα πολύ διαφορετικό τύπο έλικας. Το κολλαγόνο είναι το κύριο ινώδες συστατικό στο δέρμα, τα οστά, τους τένοντες, τους χόνδρους και τα δόντια. Αυτή η εξωκυτταρική πρωτεΐνη είναι ένα ραβδόμορφο μόριο, μήκους περίπου 3.000 Å αλλά μόνο 15 Å σε διάμετρο. Περιέχει τρεις ελικοειδείς πολυπεπτιδικές αλυσίδες, η κάθε μία με περίπου 1.000 αμινοξέα. Η γλυκίνη εμφανίζεται σε κάθε τρίτο κατάλοιπο στην αλληλουχία αμινοξέων, και μάλιστα το μοτίβο γλυκίνη-προλίνη-υδροξυπρολίνη εμφανίζεται συχνά (Εικόνα 2.40). Η υδροξυπρολίνη είναι παράγωγο της προλίνης που έχει υδροξυλομάδα αντί ενός από τα υδρογόνα στον δακτύλιο πυρρολιδίνης.

13
-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Ser-Gly-Pro-Arg-
22
-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Hyp-
31
-Gly-Pro-Gln-Gly-Phe-Gln-Gly-Pro-Hyp-
40
-Gly-Glu-Hyp-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ala-Ser-
49
-Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp-
58
-Gly-Pro-Hyp-Gly-Lys-Asn-Gly-Asp-Asp-

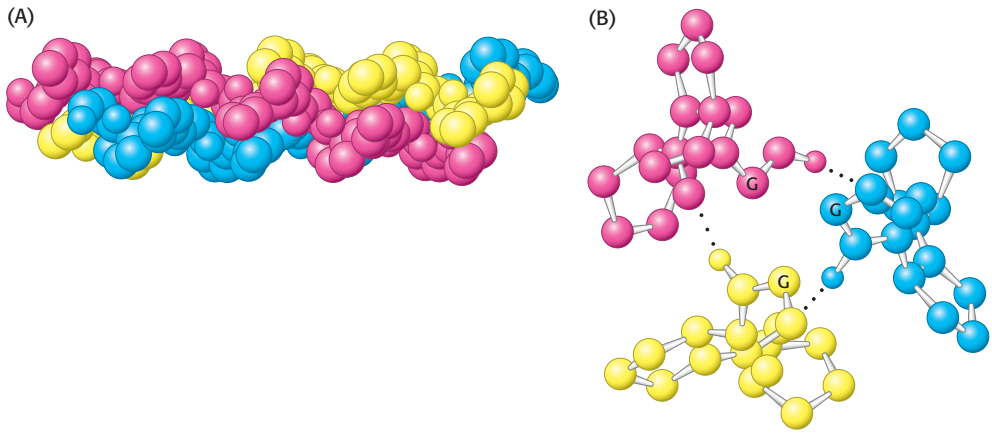
ΕΙΚΟΝΑ 2.40 Αλληλουχία αμινοξέων τμήματος της κολλαγονικής αλυσίδας. Κάθε τρίτο κατάλοιπο είναι γλυκίνη. Υπάρχουν επίσης άφθονα κατάλοιπα προλίνης και υδροξυπρολίνης (Hyp).

Η έλικα του κολλαγόνου έχει πολύ διαφορετικές ιδιότητες από την *α*-έλικα. Δεν υπάρχουν δεσμοί υδρογόνου μεταξύ ατόμων της ίδιας αλυσίδας. Αντ' αυτού, *η έλικα σταθεροποιείται με τις στερικές απώσεις των δακτυλίων πυρρολιδίνης των καταλοίπων προλίνης και υδροξυπρολίνης* (Εικόνα 2.41). Οι δακτύλιοι πυρρολιδίνης δεν εμποδίζουν ο ένας τον άλλο όταν το πολυπεπτίδιο έχει μορφή έλικας, με περίπου τρία κατάλοιπα ανά στροφή. Οι τρεις κλώνοι τυλίγονται ο ένας γύρω από τους άλλους δύο, σχηματίζοντας ένα *υπερελικοειδές καλώδιο* το οποίο σταθεροποιείται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των κλώνων. Οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ των πεπτιδικών ομάδων NH της γλυκίνης και των ομάδων CO από κατάλοιπα των άλλων αλυσίδων.

Το εσωτερικό του τριπλού ελικοειδούς καλωδίου δεν έχει σχεδόν καθόλου κενό χώρο, κάτι που εξηγεί γιατί πρέπει να υπάρχει γλυκίνη ως αμινοξύ σε κάθε τρίτη θέση κάθε αλυσίδας (Εικόνα 2.42Α). *Το μόνο κατάλοιπο που μπορεί να χωρέσει σε εσωτερική θέση σε μια τέτοια διάταξη είναι η γλυκίνη*. Τα αμινοξέα στις άλλες δύο αλυσίδες απέναντι από τη γλυκίνη βρίσκονται εξωτερικά του καλωδίου, όπου υπάρχει όντως χώρος για τα πιο ογκώδη κατάλοιπα της προλίνης και της υδροξυπρολίνης (Εικόνα 2.42Β).



ΕΙΚΟΝΑ 2.41 Η στερεοδιάταξη μιας αλυσίδας της τριπλής κολλαγονικής έλικας.



ΕΙΚΟΝΑ 2.42 Δομή της πρωτεΐνης κολλαγόνο. (Α) Χωροπληρωτικό μοντέλο του κολλαγόνου. Κάθε αλυσίδα εμφανίζεται με διαφορετικό χρώμα. (Β) Εγκάρσια τομή μοντέλου δομής του κολλαγόνου. Κάθε αλυσίδα σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με τις άλλες δύο. Το άτομο *α*-άνθρακα του καταλοίπου γλυκίνης υποδεικνύεται με το γράμμα G. Κάθε τρίτο κατάλοιπο πρέπει να είναι γλυκίνη, διότι στο κέντρο της έλικας δεν υπάρχει χώρος για κάτι ογκωδέστερο. *Προσέξτε* ότι οι δακτύλιοι πυρρολιδίνης του καταλοίπου προλίνης βρίσκονται στην εξωτερική πλευρά της έλικας.

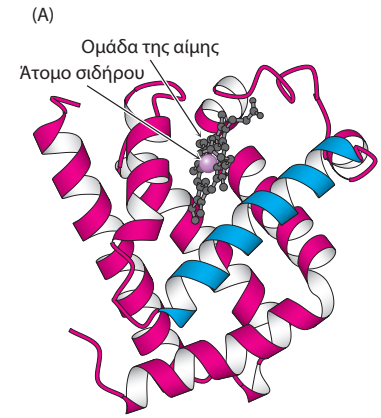
Η σημασία της τοποθέτησης της γλυκίνης στο εσωτερικό της τριπλής έλικας του κολλαγόνου φαίνεται στη διαταραχή της ατελούς οστεογένεσης, γνωστής και ως οστεοψαθύρωσης. Στη συγκεκριμένη κατάσταση, η σοβαρότητα της οποίας ποικίλλει από ήπια μέχρι πολύ βαριά, το κατάλοιπο γλυκίνης στο εσωτερικό αντικαθίσταται από άλλο αμινοξύ. Αυτή η αντικατάσταση οδηγεί σε καθυστερημένη και εσφαλμένη αναδίπλωση του κολλαγόνου. Το πιο σοβαρό σύμπτωμα είναι η οξεία ψαθυρότητα των οστών. Εναπόθεση ελαττωματικού κολλαγόνου στα μάτια έχει ως αποτέλεσμα το άσπρο των ματιών (Σ.τ.Μ.: σκληρός χιτώνας) να έχει μια μπλε απόχρωση (κυανούς σκληρός).

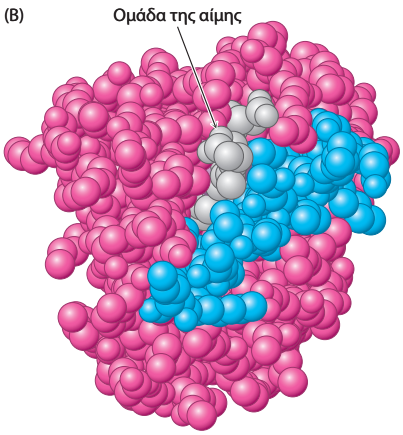
2.4 Τριτοταγής δομή: οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σε συμπαγείς δομές με μη πολικά κέντρα

Ας δούμε τώρα πώς ομαδοποιούνται τα αμινοξέα σε μια πλήρη πρωτεΐνη. Η τριδιάστατη δομή χιλιάδων πρωτεϊνών είναι σήμερα γνωστή με μεγάλη λεπτομέρεια χάρη στην κρυσταλλογραφία με ακτίνες Χ και τον πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (Υποκεφάλαιο 3.5). Ας αρχίσουμε με τη δομή της *μυοσφαιρίνης*, της πρώτης πρωτεΐνης που μελετήθηκε σε επίπεδο ατόμου.

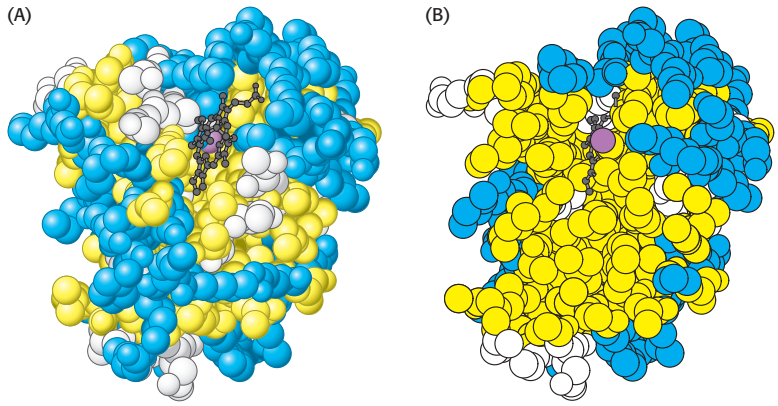
Η μυοσφαιρίνη, ο φορέας οξυγόνου στους μυς, είναι μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 153 αμινοξέων (βλ. Κεφάλαιο 7). Η ικανότητά της να δεσμεύει οξυγόνο εξαρτάται από την παρουσία της *αίμης*, μιας μη πολυπεπτιδικής *προσθετικής (βοηθητικής) ομάδας* που αποτελείται από πρωτοπορφυρίνη IX και από ένα κεντρικό άτομο σιδήρου. *Η μυοσφαιρίνη είναι μια εξαιρετικά συμπαγής πρωτεΐνη*. Οι διαστάσεις της είναι 45 × 35 × 25 Å, δηλαδή μικρότερες κατά μία τάξη μεγέθους από τις διαστάσεις που θα είχε αν ήταν σε στερεοδιάταξη ξεδιπλωμένης πολυπεπτιδικής αλυσίδας (Εικόνα 2.43). Το 70% περίπου της κύριας αλυσίδας αναδιπλώνεται σε οκτώ *α*-έλικες, ενώ μεγάλο μέρος της υπόλοιπης αλυσίδας 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 η *τριτοταγής της δομή*. Από την κατανομή των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων προκύπτει μια γενική αρχή: το *εσωτερικό της δομής αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά* από *μη πολικά αμινοξέα,* όπως η λευκίνη, η βαλίνη, η μεθειονίνη και η φαινυλαλανίνη (Εικόνα 2.44), ενώ τα φορτισμένα κατάλοιπα, όπως το γλουταμινικό, το ασπαραγινικό, η λυσίνη και η αργινίνη, απουσιάζουν. Τα μόνα φορτισμένα κατάλοιπα στο εσωτερικό της είναι δύο κατάλοιπα ιστιδίνης που παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στη λειτουργία της δέσμευσης σιδήρου και οξυγόνου. Αντιθέτως, το εξωτερικό της μυοσφαιρίνης περιέχει πολικά και μη πολικά κατάλοιπα, ενώ το χωροπληρωτικό μοντέλο αποκαλύπτει ότι υπάρχει ελάχιστος κενός χώρος στο εσωτερικό της.



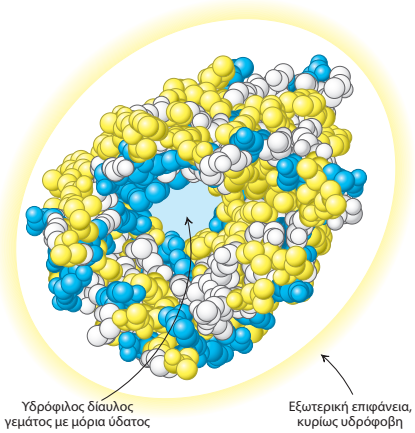


ΕΙΚΟΝΑ 2.43 Η τριδιάστατη δομή της μυοσφαιρίνης. (Α) Το διάγραμμα κορδέλας δείχνει ότι η πρωτεΐνη αποτελείται κυρίως από *α*-έλικες. (Β) Χωροπληρωτικό μοντέλο (στον ίδιο ακριβώς προσανατολισμό) δείχνει πόσο συμπαγής είναι η αναδιπλωμένη πρωτεΐνη. *Προσέξτε* ότι η ομάδα της αίμης βρίσκεται μέσα σε μια εσοχή με εκτεθειμένη μόνο μία άκρη της. Η μία έλικα φαίνεται με μπλε ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση των δύο εικόνων. [Σχεδιασμένο από 1A6N.pdb.]



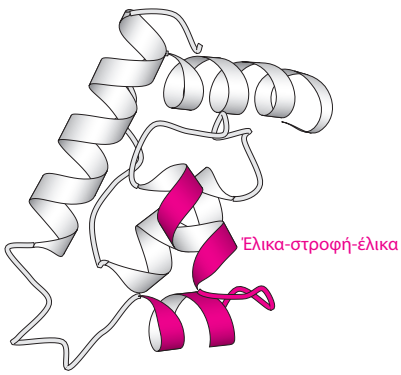
ΕΙΚΟΝΑ 2.44 Η κατανομή των αμινοξέων στη μυοσφαιρίνη. (A) Χωροπληρωτικό μοντέλο της μυοσφαιρίνης με τα υδρόφοβα αμινοξέα με κίτρινο, τα φορτισμένα αμινοξέα με μπλε και τα υπόλοιπα με άσπρο χρώμα. *Προσέξτε* ότι η επιφάνεια του μορίου έχει πολλά φορτισμένα αμινοξέα καθώς και μερικά υδρόφοβα. (B) Σε τούτη την εγκάρσια τομή του μορίου *προσέξτε* ότι τα υδρόφοβα αμινοξέα βρίσκονται κυρίως στο εσωτερικό της δομής, ενώ τα φορτισμένα βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια της πρωτεΐνης. [Σχεδιασμένο από 1MBD.pdb.]

Αυτός ο διαχωρισμός πολικών και μη πολικών καταλοίπων αποκαλύπτει ένα βασικό χαρακτηριστικό της πρωτεϊνικής αρχιτεκτονικής. Στο υδάτινο περιβάλλον, η αναδίπλωση των πρωτεϊνών ωθείται από την τάση των υδρόφοβων αμινοξέων να απομακρύνονται από το νερό. Υπενθυμίζουμε ότι ένα σύστημα είναι πιο σταθερό θερμοδυναμικά όταν οι υδρόφοβες ομάδες συγκεντρώνονται στον ίδιο χώρο και όχι όταν εκτείνονται στο υδάτινο περιβάλλον (σελ. 9). Συνεπώς, *η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται έτσι ώστε οι υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες να βυθίζονται στο εσωτερικό της, ενώ οι φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες να βρίσκονται εκτεθειμένες στην επιφάνεια*. Πολλές *α*-έλικες και *β*-πτυχώσεις είναι αμφιπαθείς, δηλαδή έχουν ένα υδρόφοβο τμήμα προς το εσωτερικό 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 μυστικό για την τοποθέτηση ενός τμήματος 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 υδρογονανθρακικών πλευρικών αλυσίδων 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. Ας 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 σωστά το εσωτερικό της πρωτεΐνης και κατά συνέπεια να αυξηθούν οι αλληλεπιδράσεις van der Waals, που χρειάζονται πολύ στενές επαφές.



ΕΙΚΟΝΑ 2.45 Η πορίνη έχει αντίστροφη κατανομή αμινοξέων. Το εξωτερικό της πορίνης (που έρχεται σε επαφή με υδρόφοβα τμήματα των μεμβρανών) καλύπτεται κυρίως από υδρόφοβα κατάλοιπα, ενώ το κέντρο περιλαμβάνει έναν δίαυλο γεμάτο νερό που απαρτίζεται από φορτισμένα και πολικά αμινοξέα. [Σχεδιασμένο από 1PRN.pdb.]

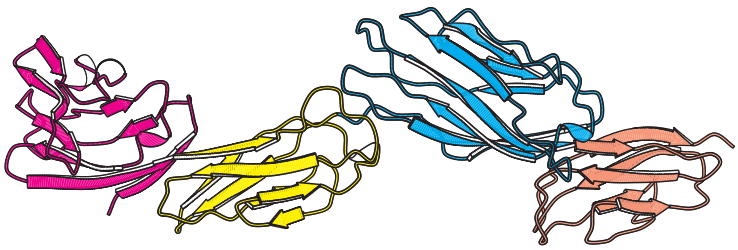
Οι εξαιρέσεις που επιβεβαιώνουν τον κανόνα είναι ορισμένες πρωτεΐνες που διαπερνούν τις μεμβράνες, επειδή έχουν αντίστροφη κατανομή των υδρόφοβων και υδρόφιλων αμινοξέων στην αναδιπλωμένη τους μορφή στον χώρο. Ας εξετάσουμε, π.χ., τις πορίνες, πρωτεΐνες που βρίσκονται στην εξωτερική μεμβράνη πολλών βακτηρίων (Εικόνα 2.45). Οι μεμβράνες δομούνται κυρίως από υδρόφοβες αλυσίδες αλκανίων (Υποκεφάλαιο 12.2). Επομένως, οι πορίνες καλύπτονται στην εξωτερική τους επιφάνεια από υδρόφοβα κατάλοιπα που αλληλεπιδρούν με τις γειτονικές αλυσίδες αλκανίων. Αντιθέτως, το κέντρο των πορινών περιέχει πολλά φορτισμένα και πολικά αμινοξέα που περιβάλλουν έναν δίαυλο γεμάτο νερό, ο οποίος διατρέχει το κέντρο της πρωτεΐνης. Επομένως, επειδή οι πορίνες λειτουργούν σε υδρόφοβο περιβάλλον, έχουν αντίστροφη διάταξη εσωτερικού-εξωτερικού σε σχέση με τις πρωτεΐνες που λειτουργούν σε υδατικό διάλυμα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.46 Το μοτίβο έλικας-στροφής-έλικας, ένα στοιχείο υπερδευτεροταγούς δομής. Τα μοτίβα έλικας-στροφής-έλικας απαντούν σε πολλές πρωτεΐνες οι οποίες προσδένονται στο DNA. [Σχεδιασμένο από 1LMB.pdb.]

Σε πολλές πρωτεΐνες απαντούν ορισμένοι συνδυασμοί δευτεροταγούς δομής που συχνά εμφανίζουν παρόμοιες λειτουργίες. Αυτοί οι συνδυασμοί ονομάζονται *μοτίβα*, ή *υπερδευτεροταγείς δομές*. Παραδείγματος χάριν, ένα κοινό μοτίβο σε πολλές πρωτεΐνες που προσδένονται στο DNA είναι μια στροφή η οποία μεσολαβεί μεταξύ δύο *α*-ελίκων, και ονομάζεται *έλικα-στροφή-έλικα* (Εικόνα 2.46).

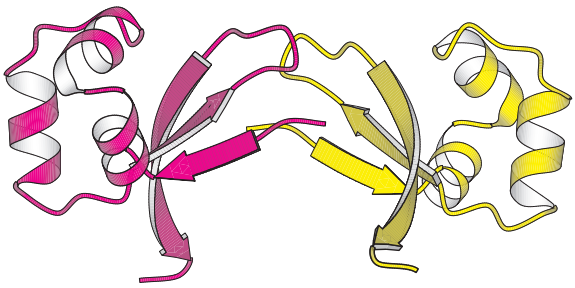
Μερικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες, από την άλλη μεριά, αναδιπλώνονται σε δύο ή περισσότερες συμπαγείς περιοχές οι οποίες ενώνονται μεταξύ τους με εύκαμπτα τμήματα πολυπεπτιδικής αλυσίδας και μοιάζουν με μαργαριτάρια σε κλωστή. Αυτές οι συμπαγείς σφαιρικές μονάδες ονομάζονται *δομικές περιοχές* (domains) και έχουν μέγεθος που ποικίλλει από 30 έως 400 αμινοξέα. Παραδείγματος χάριν, το εξωκυτταρικό τμήμα του μορίου CD4, μιας πρωτεΐνης που βρίσκεται στην επιφάνεια ορισμένων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (Υποκεφάλαιο 34.4), αποτελείται από 4 παρόμοιες δομικές περιοχές που περιλαμβάνουν 100 αμινοξέα η κάθε μία (Εικόνα 2.47). Οι πρωτεΐνες μπορεί να έχουν κοινές δομικές περιοχές ακόμη και αν η συνολική τριτοταγής δομή τους είναι πολύ διαφορετική.



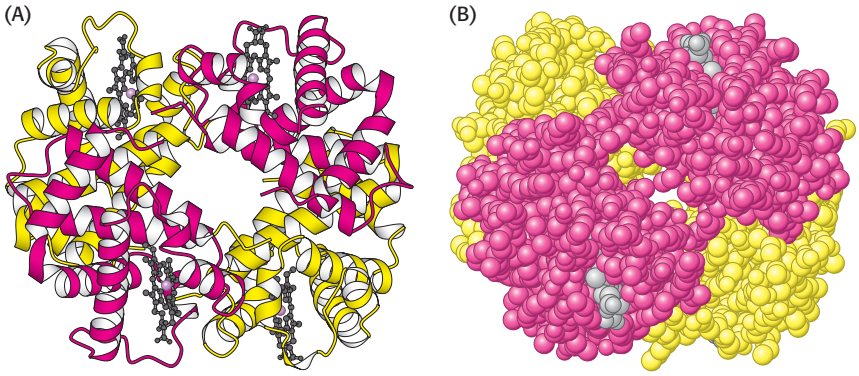
ΕΙΚΟΝΑ 2.47 Οι δομικές περιοχές των πρωτεϊνών. Η μεμβρανική πρωτεΐνη CD4 αποτελείται από τέσσερις παρόμοιες δομικές περιοχές. [Σχεδιασμένο από 1WIO.pdb.]

2.5 Τεταρτοταγής δομή: οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να συγκροτήσουν δομές πολλών υπομονάδων

Όταν εξετάζουμε την πρωτεϊνική αρχιτεκτονική, συνήθως αναφερόμαστε σε τέσσερα επίπεδα δομής. Μέχρι τώρα αναλύσαμε τα τρία. Η *πρωτοταγής δομή* αναφέρεται στην αλληλουχία αμινοξέων. Η *δευτεροταγής δομή* αναφέρεται στη χωροδιάταξη των αμινοξέων που γειτονεύουν στην πρωτοταγή δομή. Ορισμένες από τις διατάξεις αυτές έχουν κανονικότητα ώστε να προκύπτουν περιοδικές επαναλήψεις επιμέρους δομών. Η α-έλικα και η β-πτύχωση αποτελούν στοιχεία δευτεροταγούς δομής. Η *τριτοταγής δομή* αναφέρεται στη χωροταξική σχέση αμινοξέων που απέχουν αρκετά 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 δομικής οργάνωσης. Κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα σε τούτα τα μόρια ονομάζεται *υπομονάδα*. Η *τεταρτοταγής δομή* αναφέρεται στη χωροδιάταξη των υπομονάδων και στα είδη των αλληλεπιδράσεων που εμφανίζουν. Η απλούστερη δομή στο επίπεδο αυτό είναι το *διμερές*, που αποτελείται από δύο ίδιες υπομονάδες. Η πρωτεΐνη Cro που δεσμεύεται στο DNA του βακτηριακού ιού λ έχει μια τέτοια οργάνωση (Εικόνα 2.48). Είναι αρκετά κοινές όμως και άλλες, πιο πολύπλοκες, τεταρτοταγείς δομές. Μπορεί να υπάρχουν περισσότερα είδη και διαφορετικοί αριθμοί υπομονάδων. Παραδείγματος χάριν, η ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη, η πρωτεΐνη που μεταφέρει οξυγόνο στο αίμα, έχει δύο υπομονάδες α και δύο υπομονάδες β, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.49. Επομένως, το μόριο της αιμοσφαιρίνης είναι τετραμερές $\alpha_2\,\beta_2$. Ανεπαίσθητες αλλαγές στη διάταξη των υπομονάδων μέσα στο μόριο της αιμοσφαιρίνης του επιτρέπουν να μεταφέρει, με ιδιαίτερα αποδοτικό τρόπο, οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς (Κεφάλαιο 7).

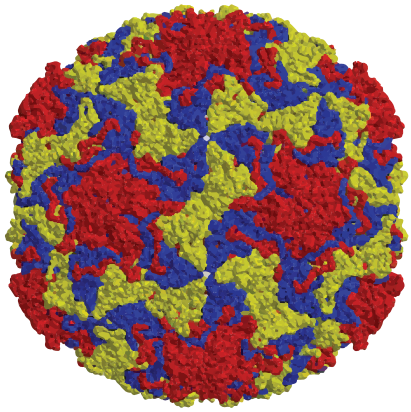


ΕΙΚΟΝΑ 2.48 Τεταρτοταγής δομή. Η πρωτεΐνη Cro του βακτηριοφάγου λ είναι ένα διμερές που αποτελείται από πανομοιότυπες υπομονάδες. [Σχεδιασμένο από 5CRO.pdb.]



ΕΙΚΟΝΑ 2.49 Το τετραμερές $\alpha_2\beta_2$. της αιμοσφαιρίνης του ανθρώπου είναι Η δομή των δύο πανομοιότυπων υπομονάδων α (κόκκινο) μοιάζει αλλά δεν είναι ίδια με εκείνη των δύο πανομοιότυπων υπομονάδων β (κίτρινο). Το μόριο περιέχει τέσσερις ομάδες αίμης (γκρίζο, με μωβ πορφυρό το άτομο του σιδήρου). (A). Το διάγραμμα κορδέλας σκιαγραφεί την ομοιότητα μεταξύ των αλυσίδων α και β και δείχνει ότι αποτελούνται κυρίως από α-έλικες. (B) Το χωροπληρωτικό μοντέλο δείχνει ότι τα μόρια της αίμης καταλαμβάνουν εσοχές. [Σχεδιασμένο από 1A3N.pdb.]

Οι ιοί αξιοποιούν ιδιαίτερα καλά τις περιορισμένες πληροφορίες του γονιδιώματός τους, σχηματίζοντας καλύμματα αποτελούμενα από το ίδιο είδος υπομονάδας τοποθετημένο συμμετρικά. Το κάλυμμα του ρινοϊού, του ιού που προκαλεί το κοινό κρυολόγημα, περιλαμβάνει τέσσερις διαφορετικές υπομονάδες σε 60 αντίγραφα η κάθε μία (Εικόνα 2.50). Οι υπομονάδες αυτές ενώνονται για να δημιουργήσουν ένα σχεδόν σφαιρικό κέλυφος που περιβάλλει το ιικό γονιδίωμά του.



ΕΙΚΟΝΑ 2.50 Πολύπλοκη τεταρτοταγής δομή. Το κάλυμμα του ανθρώπινου ρινοϊού, που προκαλεί το κοινό κρυολόγημα, αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες με 60 αντίγραφα η κάθε μία. Οι τρεις πιο προφανείς υπομονάδες παρουσιάζονται με διαφορετικά χρώματα.

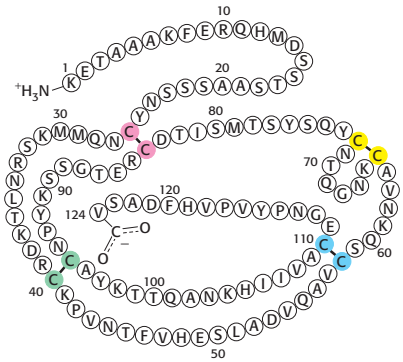
2.6 Η αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριδιάστατη δομή της

Πώς άραγε επιτυγχάνεται η πολύπλοκη τριδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης; Η κλασική εργασία του Christian Anfinsen κατά τη δεκαετία του 1950 πάνω στο ένζυμο ριβονουκλεάση αποκάλυψε τη σχέση μεταξύ της αλληλουχίας των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης και της στερεοδιάταξής της. Η ριβονουκλεάση είναι μια μονή πολυπεπτιδική αλυσίδα που αποτελείται από 124 αμινοξέα διασυνδεδεμένα με τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς (Εικόνα 2.51). 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.

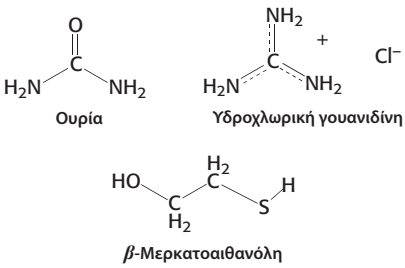
Αντιδραστήρια όπως η *ουρία* ή η *υδροχλωρική γουανιδίνη* έχουν την ικανότητα να διασπούν τους μη ομοιοπολικούς δεσμούς μιας πρωτεΐνης. Αν και οι μηχανισμοί με τους οποίους το επιτυγχάνουν δεν είναι πλήρως κατανοητοί, η προσομοίωση με υπολογιστές μάς επιτρέπει να θεωρούμε ότι τα δύο αυτά μόρια αντικαθιστούν το νερό ως διαλύτη των πρωτεϊνών και στη συνέχεια είναι σε θέση να παρεμποδίσουν τις αλληλεπιδράσεις van der Waals οι οποίες σταθεροποιούν την πρωτεϊνική δομή. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί μπορούν να διασπαστούν αντιστρεπτά με αντιδραστήρια όπως η *β-μερκαπτοαιθανόλη* (Εικόνα 2.52). Όταν υπάρχει περίσσεια *β*-μερκαπτοαιθανόλης, παράγεται μια πρωτεΐνη της οποίας τα δισουλφίδια (κυστίνες) μετατρέπονται πλήρως σε σουλφυδρύλια (κυστεΐνες).

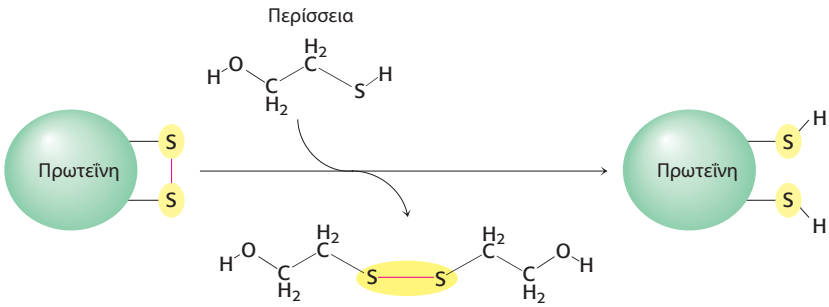
Οι περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες που δεν έχουν διασυνδέσεις σε διαλύματα 8 M ουρίας ή 6 M υδροχλωρικής γουανιδίνης καταλήγουν σε *στερεοδιάταξη τυχαίου σπειράματος*. Στο πείραμα του Anfinsen, όταν η ριβονουκλεάση διαλύθηκε σε διάλυμα ουρίας 8 M που περιείχε *β*-μερκαπτοαιθανόλη, το προϊόν της αντίδρασης ήταν ένα πλήρως ανηγμένο πολυπεπτίδιο τυχαίου σπειράματος *χωρίς ενζυμική δραστικότητα*. Όταν μια πρωτεΐνη μετατρέπεται σε πολυπεπτίδιο τυχαίου σπειράματος χωρίς να διατηρεί τη φυσιολογική της δραστικότητα, λέμε ότι έχει *αποδιαταχθεί* (Εικόνα 2.53).

Ο Anfinsen έκανε τη σημαντικότατη παρατήρηση ότι η αποδιατεταγμένη ριβονουκλεάση, που απελευθερώνεται από την ουρία και τη *β*-μερκαπτοαιθανόλη με διαπίδυση (Υποκεφάλαιο 3.1), αποκτά σταδιακά ενζυμική δραστικότητα. Αμέσως κατανόησε τη σημασία αυτού του τυχαίου ευρήματος: τα σουλφυδρύλια του αποδιατεταγμένου ενζύμου είχαν οξειδωθεί από τον αέρα και το ένζυμο αυτομάτως είχε αναδιπλωθεί σε μια καταλυτικά ενεργό μορφή. Αναλυτικές μελέτες έδειξαν ότι σχεδόν όλη η αρχική ενζυμική δραστικότητα ανακτήθηκε όταν τα σουλφυδρύλια οξειδώθηκαν κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Όλες οι καταμετρημένες φυσικές και χημικές ιδιότητες του αναδιπλωμένου ενζύμου ήταν

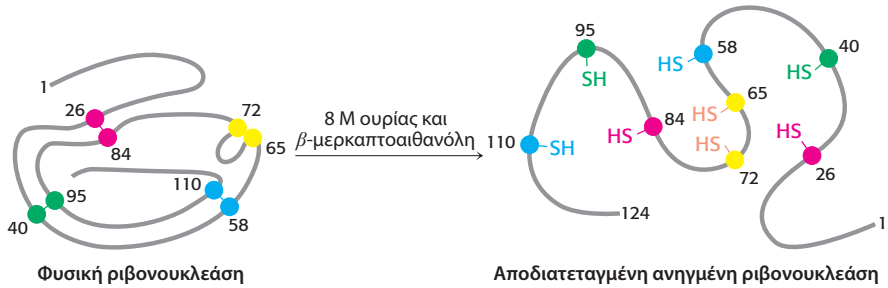


ΕΙΚΟΝΑ 2.51 Η αλληλουχία αμινοξέων της βόειας ριβονουκλεάσης. Οι τέσσερις δισουλφιδικοί δεσμοί φαίνονται έγχρωμοι. [Κατά C.H.W. Hirs, S. Moore & W.H. Stein, *J. Biol. Chem.*, 235:633-647, 1960.]





ΕΙΚΟΝΑ 2.52 Ο ρόλος της *β*-μερκαπτοαιθανόλης στην αναγωγή δισουλφιδικών δεσμών. Επισημαίνεται ότι ενώ οι δισουλφιδικοί δεσμοί ανάγονται, η *β*-μερκαπτοαιθανόλη οξειδώνεται και σχηματίζει διμερή.

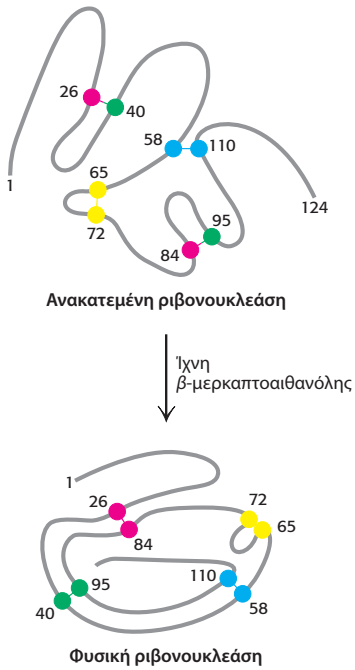


ΕΙΚΟΝΑ 2.53 Αναγωγή και αποδιάταξη της ριβονουκλεάσης.

ουσιαστικά ταυτόσημες με εκείνες του αρχικού φυσικού ενζύμου. Τα πειράματα αυτά έδειξαν 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 της κεντρικής αρχής της βιοχημείας: *η αλληλουχία καθορίζει τη στερεοδιάταξη*. Η εξάρτηση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία λόγω της στενής σχέσης μεταξύ δομής και λειτουργίας.

Τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά όταν η ανηγμένη ριβονουκλεάση επανοξειδώθηκε σε 8 M ουρίας και μετά ακολούθησε η διαπίδυση που απομάκρυνε την ουρία. Στην περίπτωση αυτή μόνο το 1% της αρχικής ενζυμικής δραστικότητας της φυσικής πρωτεΐνης μπόρεσε να ανακτηθεί. Γιατί όμως η παρουσία της ουρίας έκανε τόσο διαφορετικά τα αποτελέσματα της επανοξείδωσης του ενζύμου; Ο λόγος ήταν ότι οι δισουλφιδικοί δεσμοί που δημιουργήθηκαν παρουσία της ουρίας δεν ήταν οι σωστοί. Υπάρχουν 105 διαφορετικοί τρόποι σύνδεσης των οκτώ μορίων κυστεΐνης για να δώσουν τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς· μόνο ένας από τους συνδυασμούς αυτούς είναι ενζυμικά ενεργός. Οι 104 λανθασμένες συνδέσεις ονομάζονται περιγραφικότατα «ανακατεμένη» ριβονουκλεάση. Ο Anfinsen ανακάλυψε ότι η ανακατεμένη ριβονουκλεάση αυτομάτως μετατρέπεται σε μια απολύτως ενεργό φυσική ριβονουκλεάση όταν στο υδατικό διάλυμα της πρωτεΐνης προστεθεί ελάχιστη ποσότητα *β*-μερκαπτοαιθανόλης (Εικόνα 2.54). Η προστεθείσα *β*-μερκαπτοαιθανόλη κατέλυσε τον σωστό σχηματισμό δισουλφιδικών ζευγών μέχρι να επανακτηθεί η φυσική στερεοδιάταξη, διεργασία που διήρκεσε σχεδόν δέκα ώρες. *Αυτή η διεργασία κατευθυνόταν μόνο από την ελάττωση ελεύθερης ενέργειας που προέκυπτε όταν οι ανακατεμένες στερεοδιατάξεις μετατρέπονταν στη σταθερή, φυσική στερεοδιάταξη του ενζύμου*. Επομένως, τα φυσικά δισουλφιδικά ζεύγη της ριβονουκλεάσης συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της θερμοδυναμικά προτιμώμενης δομής.

Αντίστοιχα πειράματα αναδίπλωσης έχουν γίνει για πολλές άλλες πρωτεΐνες. Σε πολλές περιπτώσεις, η φυσική δομή μπορεί να επανακτηθεί κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Υπάρχουν πρωτεΐνες, όμως, που δεν μπορούν να αναδιπλωθούν ξανά στην αρχική μορφή τους. Στις περιπτώσεις αυτές, οι ξεδιπλωμένες αλυσίδες μπερδεύονται και σχηματίζονται συσσωματώματα. Μέσα στα κύτταρα, ειδικές πρωτεΐνες που λέγονται *συνοδές πρωτεΐνες* (chaperones) παρεμποδίζουν αυτές τις αθέμιτες αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον, όπως θα δούμε σύντομα, έχει ήδη καταδειχθεί ότι μερικές πρωτεΐνες δεν λαμβάνουν μια καθορισμένη δομή προτού αλληλεπιδράσουν με μοριακούς «συνεργάτες».



ΕΙΚΟΝΑ 2.54 Επανάκτηση των σωστών δισουλφιδικών ζευγών. Η φυσική ριβονουκλεάση μπορεί να προκύψει από ανακατεμένη ριβονουκλεάση όταν υπάρχουν ίχνη *β*-μερκαπτοαιθανόλης.

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 ξεδιπλωμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα παίρνει τη στερεοδιάταξη της φυσικής πρωτεΐνης; Αυτά τα βασικά ερωτήματα της βιοχημείας μπορούμε να τα προσεγγίσουμε θέτοντας αρχικά ένα απλούστερο: τι καθορίζει αν η δομή μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης είναι *α*-έλικα, *β*-πτύχωση ή στροφή; Μια πηγή γνώσης είναι να εξετάσουμε τη συχνότητα με την οποία βρίσκουμε

συγκεκριμένα κατάλοιπα αμινοξέων σε αυτές τις δευτεροταγείς δομές (Πίνακας 2.3). Κατάλοιπα όπως η αλανίνη, το γλουταμινικό και η λευκίνη έχουν την τάση να εντοπίζονται σε *α*-έλικες, ενώ η βαλίνη και η ισολευκίνη απαντούν σε *β*-πτυχώσεις. Η γλυκίνη, η ασπαραγίνη και η προλίνη βρίσκονται συνήθως σε στροφές.

Μελέτες πρωτεϊνών και συνθετικών πεπτιδίων αποκάλυψαν μερικούς λόγους για τις προτιμήσεις αυτές. Η διακλάδωση των αμινοξέων στον *β*-άνθρακα, όπως στη βαλίνη, τη θρεονίνη και την ισολευκίνη, τείνει να αποδιατάξει την *α*-έλικα λόγω στερικών περιορισμών. Αυτά τα κατάλοιπα διευθετούνται άνετα σε *β*-πτυχώσεις, στις οποίες οι πλευρικές αλυσίδες τους προβάλλουν έξω από το επίπεδο του πολυπεπτιδικού κορμού. Η σερίνη και το ασπαραγινικό έχουν την τάση να αποδιατάσσουν τις *α*-έλικες, διότι οι πλευρικές αλυσίδες τους περιέχουν δότες και δέκτες δεσμών υδρογόνου σε μικρή απόσταση από την κύρια αλυσίδα, συναγωνιζόμενες έτσι τις ομάδες NH και CO της κύριας αλυσίδας. Η προλίνη αποδιατάσσει 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, αλλά η ευελιξία της στερεοδιάταξής της την καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλη για ανάστροφες στροφές.

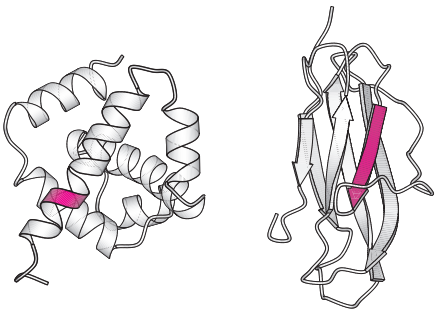
Μπορεί να προβλέψει κανείς τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών γνωρίζοντας την προτίμηση των αμινοξέων για συγκεκριμένες δομές; Ακριβείς εκτιμήσεις τέτοιου είδους, ακόμη και για βραχείες αλληλουχίες αμινοξέων αποδείχθηκαν δύσκολες. Τι είναι λοιπόν εκείνο που εμποδίζει να γίνει μια ακριβέστερη πρόβλεψη; Σημειώνεται ότι τα αμινοξέα δεν έχουν μία και μόνη προτίμηση για μία δομή (Πίνακας 2.3). Παραδείγματος χάριν, το γλουταμινικό, αμινοξύ που απαντά με μεγάλη συχνότητα στις έλικες, προτιμά την *α*-έλικα από τη *β*-πτύχωση, μόνο όμως κατά τρεις φορές. Η αναλογία προτίμησης των περισσότερων άλλων αμινοξέων είναι ακόμη μικρότερη. Πράγματι, μερικές αλληλουχίες πέντε ή έξι αμινοξέων βρέθηκε ότι έχουν τελείως διαφορετικές στερεοδιατάξεις σε διαφορετικές πρωτεΐνες (Εικόνα 2.55). Επομένως, υπάρχουν αλληλουχίες αμινοξέων που δεν καθορίζουν απόλυτα τη δευτεροταγή δομή. Οι τριτοταγείς αλληλεπιδρά-

Πίνακας 2.3 Σχετικές συχνότητες παρουσίας καταλοίπων αμινοξέων σε δευτεροταγείς δομές.

Αμινοξύ	*α*-έλικα	*β*-πτυχωτή επιφάνεια	Ανάστροφη στροφή
Glu	1,59	0,52	1,01
Ala	1,41	0,72	0,82
Leu	1,34	1,22	0,57
Met	1,30	1,14	0,52
Gln	1,27	0,98	0,84
Lys	1,23	0,69	1,07
Arg	1,21	0,84	0,90
His	1,05	0,80	0,81
Val	0,90	1,87	0,41
Ile	1,09	1,67	0,47
Tyr	0,74	1,45	0,76
Cys	0,66	1,40	0,54
Trp	1,02	1,35	0,65
Phe	1,16	1,33	0,59
Thr	0,76	1,17	0,96
Gly	0,43	0,58	1,77
Asn	0,76	0,48	1,34
Pro	0,34	0,31	1,32
Ser	0,57	0,96	1,22
Asp	0,99	0,39	1,24

Σημείωση: Τα αμινοξέα ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με την τάση τους να βρίσκονται σε *α*-έλικες (αριστερά), *β*-πτυχωτές επιφάνειες (μέσον) ή στροφές (δεξιά). [Κατά T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2nd ed. (W. H. Freeman and Company, 1992), p. 256.]

σεις –εκείνες που παρατηρούνται μεταξύ καταλοίπων τα οποία απέχουν πολύ μεταξύ τους επάνω στην αλληλουχία– μπορεί να είναι καθοριστικές στον προσδιορισμό της δευτεροταγούς δομής ορισμένων τμημάτων. Το μικροπεριβάλλον συχνά παίζει ουσιαστικότατο ρόλο: η στερεοδιάταξη μιας πρωτεΐνης έχει εξελιχθεί έτσι ώστε να λειτουργεί σε συγκεκριμένο περιβάλλον. Ουσιαστικές βελτιώσεις στην πρόβλεψη της δευτεροταγούς δομής μιας πρωτεΐνης έχουν, ωστόσο, προκύψει με τη χρήση οικογενειών συγγενικών αλληλουχιών, καθεμία από τις οποίες υιοθετεί την ίδια δομή.

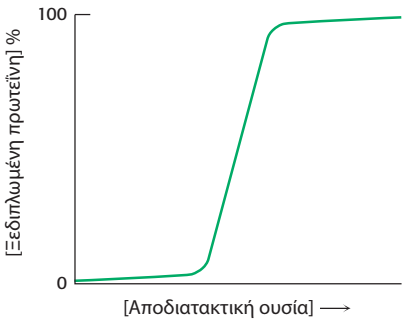


ΕΙΚΟΝΑ 2.55 Εναλλακτικές στερεοδιατάξεις μιας πεπτιδικής αλληλουχίας. Πολλές αλληλουχίες μπορούν να αποκτήσουν εναλλακτικές στερεοδιατάξεις όταν βρεθούν σε διαφορετικές πρωτεΐνες. Εδώ η αλληλουχία VDLLKN (εμφανίζεται με κόκκινο) υιοθετεί δομή α-έλικας σε κάποια πρωτεΐνη (αριστερά) και δομή β-πτύχωσης σε κάποια άλλη (δεξιά). [Σχεδιασμένο από (αριστερά) 3WRP.pdb, και (δεξιά) 2HLA.pdb.]

Η αναδίπλωση των πρωτεϊνών είναι μια άκρως συνεργειακή διεργασία

Οι πρωτεΐνες μπορούν να αποδιαταχθούν με οποιαδήποτε επεξεργασία διασπά τους ασθενείς δεσμούς που σταθεροποιούν την τριτοταγή δομή, όπως με θέρμανση, ή με χρήση χημικών αποδιατακτικών παραγόντων όπως η ουρία και η υδροχλωρική γουανιδίνη. Για πολλές πρωτεΐνες, η μέτρηση του βαθμού αποδιάταξης σε συνάρτηση με την αύξηση της συγκέντρωσης του αποδιατακτικού παράγοντα αποκαλύπτει μια απότομη μετάπτωση από τη φυσική ή αναδιπλωμένη μορφή στην αποδιατεταγμένη ή ξεδιπλωμένη μορφή, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μόνο αυτές οι δύο μορφές στερεοδιάταξης της πρωτεΐνης υπάρχουν σε αξιοσημείωτη συγκέντρωση (Εικόνα 2.56). Παρόμοια απότομη μετάπτωση παρατηρείται και αν ξεκινήσουμε από την αποδιατεταγμένη πρωτεΐνη και απομακρύνουμε σταδιακά τον αποδιατακτικό παράγοντα ώστε να της επιτρέψουμε να αναδιπλωθεί.

Η απότομη μετάπτωση που φαίνεται στην Εικόνα 2.56 υποδηλώνει ότι η πρωτεϊνική αναδίπλωση και αποδιάταξη είναι μια *διεργασία της μορφής «όλα ή τίποτε»,* και ότι είναι αποτέλεσμα *συνεργειακής μετάπτωσης*. Ας υποθέσουμε, παραδείγματος χάριν, ότι μια πρωτεΐνη βρίσκεται σε συνθήκες που δημιουργούν θερμοδυναμική αστάθεια σε κάποιο τμήμα της. Καθώς αυτό το τμήμα της αναδιπλωμένης δομής χάνει τη στερεοδιάταξή του, χάνονται και οι αλληλεπιδράσεις του με την υπόλοιπη πρωτεΐνη. Η απώλεια των αλληλεπιδράσεων αυτών θα αποσταθεροποιήσει την υπόλοιπη δομή. Έτσι, οι συνθήκες που οδηγούν στην αποδιάταξη της δομής οποιουδήποτε τμήματος μιας πρωτεΐνης πιθανότατα θα ξεδιπλώσουν πλήρως ολόκληρη την πρωτεΐνη. Οι δομικές ιδιότητες των πρωτεϊνών παρέχουν ξεκάθαρο υπόβαθρο γι' αυτή τη συνεργειακή μετάπτωση.

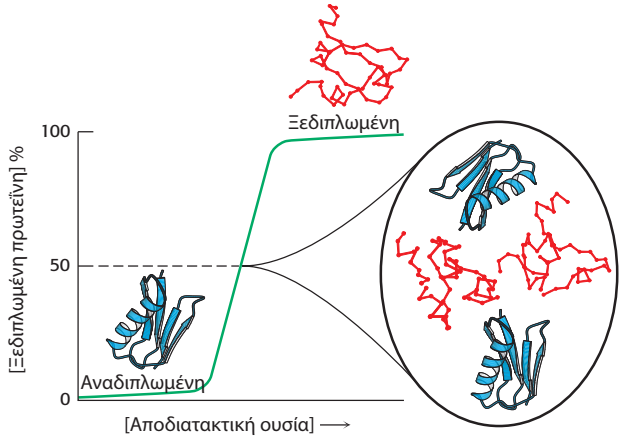


ΕΙΚΟΝΑ 2.56 Η μετάπτωση από την αναδιπλωμένη στην ξεδιπλωμένη κατάσταση. Οι περισσότερες πρωτεΐνες εμφανίζουν μια απότομη μετάπτωση από την αναδιπλωμένη στην ξεδιπλωμένη κατάσταση όταν αντιμετωπίζουν αυξανόμενες συγκεντρώσεις αποδιατακτικών παραγόντων.

Οι επιπτώσεις της συνέργειας στην αναδίπλωση κατανοούνται αν σκεφθούμε το περιεχόμενο του διαλύματος της πρωτεΐνης όταν αυτό βρίσκεται στη μέση της μετάπτωσης μεταξύ αναδιπλωμένης και ξεδιπλωμένης μορφής. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η πρωτεΐνη είναι «μισοδιπλωμένη». Στην περίπτωση αυτή, όμως, το διάλυμα θα εμφανίζεται σαν να περιέχει όχι μισοδιπλωμένα μόρια, αλλά ένα μείγμα από 50% αναδιπλωμένα και 50% ξεδιπλωμένα μόρια (Εικόνα 2.57). Μολονότι η πρωτεΐνη φαίνεται σαν να υπάρχει μόνο σε δύο καταστάσεις, η συγκεκριμένη απλούστευση είναι πρακτικά αδύνατη σε μοριακό επίπεδο. Ακόμη και απλές χημικές αντιδράσεις προχωρούν μέσω κάποιων ενδιαμέσων, οπότε ένα πολύπλοκο μόριο, όπως μια πρωτεΐνη, δεν μπορεί απλά να μεταπέσει από την πλήρως ξεδιπλωμένη στη φυσική της κατάσταση σε ένα μόνο βήμα. Θα πρέπει να υπάρχουν ασταθή, μεταβατικά ενδιάμεσα μεταξύ της φυσικής και της αποδιατεταγμένης δομής. Ο προσδιορισμός της φύσης αυτών των ενδιάμεσων δομών αποτελεί πεδίο εντατικής έρευνας στη βιοχημεία.

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

Πώς μεταβαίνει μια πρωτεΐνη από μια ξεδιπλωμένη δομή στη μοναδική στερεοδιάταξη της φυσικής μορφής της; Μια *a priori* πιθανότητα είναι ότι δοκιμάζονται όλες οι δυνατές στερεοδιατάξεις, προκειμένου να βρεθεί εκείνη η μορφή που είναι πιο σταθερή ενεργειακά. Πόσο θα διαρκούσε μια τέτοια αναζήτηση;

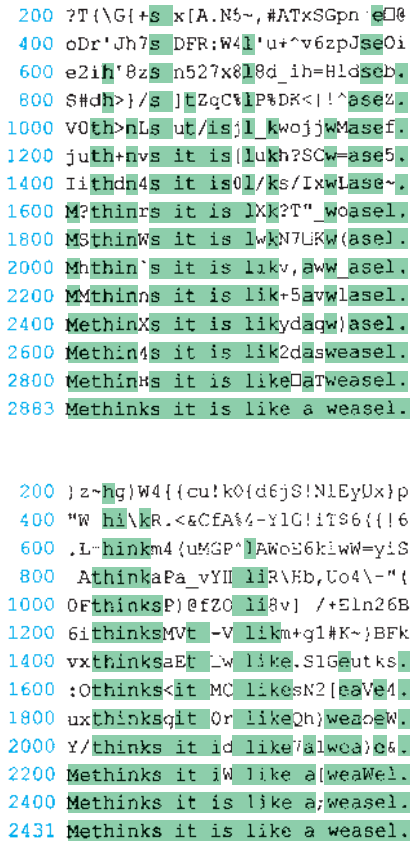


ΕΙΚΟΝΑ 2.57 Συστατικά πρωτεϊνικού διαλύματος που βρίσκεται σε κατάσταση μερικού ξεδιπλώματος. Στην περίπτωση διαλύματος πρωτεΐνης η οποία είναι μισοξεδιπλωμένη, λανθασμένα μπορούμε να θεωρήσουμε ότι υπάρχουν 50% πλήρως ξεδιπλωμένα και 50% πλήρως αναδιπλωμένα μόρια.

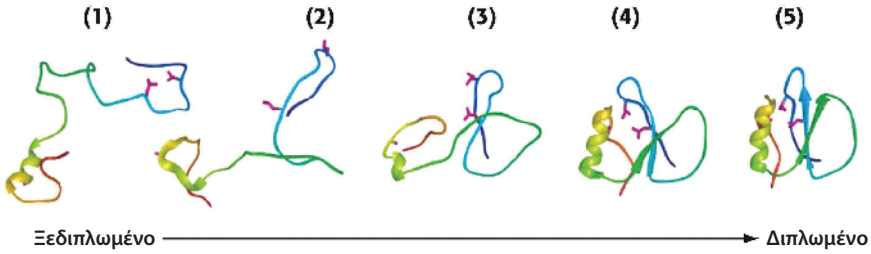
Ας φανταστούμε μια μικρή πρωτεΐνη 100 αμινοξέων. Ο Cyrus Levinthal υπολόγισε ότι αν το κάθε αμινοξύ μπορεί να πάρει 3 διαφορετικές στερεοδιατάξεις, ο συνολικός αριθμός δομών είναι 3^{100}, δηλαδή 5×10^{47}. Με την προϋπόθεση ότι απαιτούνται 10^{-13} δευτερόλεπτα για τη μετατροπή της μιας δομής στην άλλη, ο συνολικός χρόνος αναζήτησης θα ήταν $5 \times 10^{47} \times 10^{-13}$ s, δηλαδή 5×10^{34} s, ή $1{,}6 \times 10^{27}$ χρόνια! Στην πραγματικότητα, οι μικρές πρωτεΐνες μπορούν να αναδιπλωθούν σε λιγότερο από ένα δευτερόλεπτο. Είναι σαφές ότι ακόμη και μια μικρή πρωτεΐνη θα χρειαζόταν πάρα πολύ χρόνο μέχρι να δοκιμάσει όλες τις πιθανές στερεοδιατάξεις. Η τεράστια διαφορά μεταξύ του υπολογισμένου και του πραγματικού χρόνου αναδίπλωσης ονομάζεται *παράδοξο του Levinthal*. Το παράδοξο αποδεικνύει ξεκάθαρα ότι οι πρωτεΐνες δεν αναδιπλώνονται δοκιμάζοντας κάθε πιθανή στερεοδιάταξη· αντ' αυτού, πρέπει να ακολουθούν μια μερικώς καθορισμένη πορεία αναδίπλωσης που αποτελείται από ενδιάμεσες δομές μεταξύ της πλήρως ξεδιπλωμένης πρωτεΐνης και της φυσικής της δομής.

Μια προσέγγιση του παράδοξου αυτού είναι η 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 επισήμανση του Άμλετ προς τον Πολώνιο "Methinks it is like a weasel" (Εικόνα 2.58), 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 μερικώς σωστά ενδιάμεσα διατηρούνται*.

Η ουσία της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης είναι η τάση διατήρησης των μερικώς ορθών ενδιαμέσων. Το πρόβλημα πάντως της αναδίπλωσης μιας πρωτεΐνης είναι πολύ πιο δύσκολο από εκείνο του πιθήκου με τον Σαίξπηρ. Πρώτον, το κριτήριο ορθότητας δεν είναι ο έλεγχος της στερεοδιάταξης κατάλοιπο-προς-κατάλοιπο από έναν παντογνώστη παρατηρητή, αλλά ουσιαστικά ο έλεγχος του συνόλου της ελεύθερης ενέργειας της ενδιάμεσης στερεοδιάταξης. Δεύτερον, οι πρωτεΐνες είναι οριακά σταθερές. Η διαφορά ελεύθερης ενέργειας μεταξύ της αναδιπλωμένης και της ξεδιπλωμένης πρωτεΐνης 100 περίπου αμινοξέων είναι 42 kJ mol^{-1} (10 kcal mol^{-1}) και επομένως κάθε κατάλοιπο συνεισφέρει κατά μέσο όρο μόλις 0,42 kJ mol^{-1} (0,1 kcal mol^{-1}) ενέργειας στη διατήρηση της αναδιπλωμένης δομής. Η ποσότητα αυτή είναι μικρότερη από τη θερμική ενέργεια του μορίου που είναι 0,6 kcal mol^{-1} (2,5 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. Αν επανέλθουμε στο παράδειγμα του πιθήκου, θα λέγαμε ότι είναι σε κά-



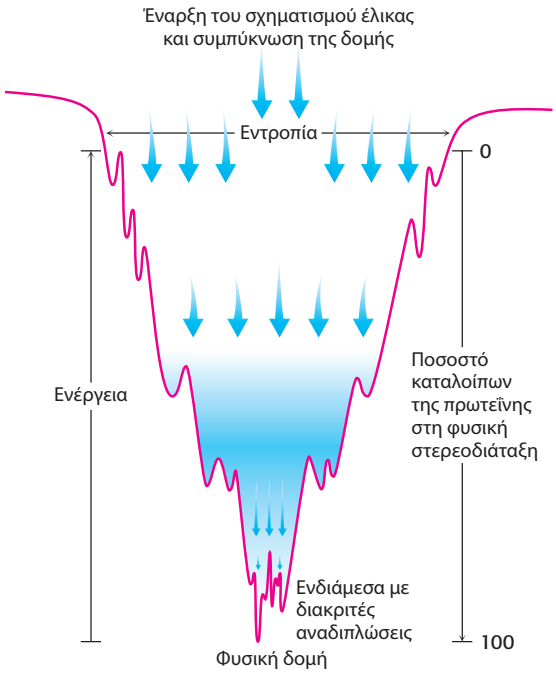
ΕΙΚΟΝΑ 2.58 Πώς «δακτυλογραφεί» ένας πίθηκος. Ένας πίθηκος χτυπώντας στην τύχη τα πλήκτρα της γραφομηχανής θα μπορούσε να γράψει σωστά μια γραμμή από τον *Άμλετ* του Σαίξπηρ, εφόσον διατηρούνται οι σωστοί χαρακτήρες που θα χτυπήσει στην τύχη. Παρατίθενται δύο προσομοιώσεις με υπολογιστή όπου ο συνολικός αριθμός χτυπημάτων στο πληκτρολόγιο δίνεται στο αριστερό μέρος της γραμμής.



ΕΙΚΟΝΑ 2.59 Προτεινόμενη πορεία αναδίπλωσης του αναστολέα της χυμοθρυψίνης. Τοπικές περιοχές με δεδομένη δομική προτίμηση έχουν την τάση να υιοθετούν αρχικά την προτιμώμενη δομή (1). Αυτές οι δομές συναθροίζονται ώστε να σχηματιστεί ένας πυρήνας με δομή που προσομοιάζει προς αυτή της φυσικής κατάστασης, η οποία όμως έχει κινητικότητα (4). Η δομή αυτή στη συνέχεια συμπυκνώνεται για τον σχηματισμό της φυσικής και πιο συμπαγούς δομής (5). [Από A.R. Fesht & V. Daggett, *Cell* 108: 573-582, 2002, κατόπιν αδείας από Elsevier.]

ποιο βαθμό ελεύθερος να ξαναχτυπήσει (λανθασμένα) τα σωστά πλήκτρα. Παρ' όλα αυτά, οι αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στη συνεργειακή αναδίπλωση μπορούν να σταθεροποιούν τα ενδιάμεσα καθώς οικοδομείται η δομή. Επομένως, τοπικές περιοχές που προτιμούν ιδιαίτερα μια συγκεκριμένη δομή, μολονότι από μόνες τους μπορεί να μην είναι σταθερές, έχουν την τάση να υιοθετούν την προτιμητέα δομή και, καθώς σχηματίζονται, τέτοια επιμέρους τμήματα μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, οδηγώντας σε ολοένα μεγαλύτερη σταθεροποίηση. Αυτό το εννοιολογικό πλαίσιο αναφέρεται συχνά ως *μοντέλο πυρήνωσης-συμπύκνωσης*.

Η προσομοίωση της αναδίπλωσης μιας πρωτεΐνης, που βασίζεται στο μοντέλο πυρήνωσης-συμπύκνωσης, φαίνεται στην Εικόνα 2.59. Το μοντέλο αυτό παραδέχεται ότι ορισμένες πορείες αναδίπλωσης ίσως είναι προτιμητέες. Παρότι στην Εικόνα 2.59 δημιουργείται η εντύπωση μιας καθορισμένης πορείας, κάθε ένα από τα εμφανιζόμενα ενδιάμεσα αντιπροσωπεύει ένα σύνολο παρόμοιων δομών, και συνεπώς η πρωτεΐνη ακολουθεί μια γενική μάλλον, παρά μια καθορισμένη, πορεία στη μετάπτωσή της από την ξεδιπλωμένη στη φυσική μορφή. Η μεταβολή ενέργειας κατά τη διάρκεια αυτής της διεργασίας μπορεί να παρομοιαστεί με μια χοάνη ενέργειας (Εικόνα 2.60). Το πλατύ άνοιγμα της χοάνης αντιπροσωπεύει τον μεγάλο αριθμό των δομών που είναι διαθέσιμες στο σύνολο των αποδιαταγμένων μορίων πρωτεΐνης. Όσο η ελεύθερη ενέργεια του πληθυσμού των μορίων τής πρωτεΐνης μειώνεται, οι πρωτεΐνες προχωρούν προς το κάτω μέρος της χοάνης ενέργειας, όπου είναι διαθέσιμες λιγότερες στερεοδιατάξεις. Στον πυθμένα της χοάνης βρίσκεται η αναδιπλωμένη κατάσταση με την καλώς καθορισμένη στερεοδιάταξή της. Πολλές πορείες οδηγούν στο ίδιο ελάχιστο ενέργειας.



ΕΙΚΟΝΑ 2.60 Ενεργειακή χοάνη αναδίπλωσης. Η ενεργειακή χοάνη αναδίπλωσης απεικονίζει τη θερμοδυναμική της αναδίπλωσης πρωτεϊνών. Η κορυφή της χοάνης αντιπροσωπεύει όλες τις πιθανές αποδιατεταγμένες δομές – δηλαδή, τη μέγιστη εντροπία στερεοδιάταξης. Τα ελάχιστα στις πλευρές της χοάνης αντιπροσωπεύουν ημισταθερά ενδιάμεσα τα οποία μπορούν να διευκολύνουν ή να παρεμποδίσουν τον σχηματισμό της φυσικής δομής, ανάλογα με το μέγεθος του ελάχιστου. Δευτεροταγείς δομές, όπως οι έλικες, σχηματίζονται και προσεγγίζουν η μια την άλλη, ώστε να ξεκινήσει η αναδίπλωση. [Κατά D.L. Nelson and M.M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th ed. (W.H. Freeman and Company, 2008) p. 143.]

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

Η πρόβλεψη της σωστής στερεοδιάταξης των πρωτεϊνών από την αλληλουχία των αμινοξέων παραμένει εξαιρετικά δύσκολη. Οι τοπικές αλληλουχίες φαίνεται να καθορίζουν μόνο το 60-70% της δευτεροταγούς δομής· απαιτούνται αλληλεπιδράσεις μεταξύ των απομακρυσμένων στην πρωτοταγή δομή αμινοξέων για να σταθεροποιηθεί η πλήρης δευτεροταγής και η τριτοταγής δομή.

Οι ερευνητές ακολουθούν δύο θεμελιωδώς διαφορετικές προσεγγίσεις προκειμένου να προβλέψουν την τριδιάστατη δομή από την αλληλουχία αμινοξέων. Η πρώτη είναι η *εξαρχής πρόβλεψη*, κατά την οποία επιχειρείται να προβλεφθεί η αναδίπλωση μιας αλληλουχίας αμινοξέων χωρίς να προϋπάρχει γνώση για παρόμοιες αλληλουχίες σε γνωστές πρωτεϊνικές δομές. Χρησιμοποιούνται υπολογιστικά προγράμματα σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιηθεί η ελεύθερη ενέργεια μιας δομής με δεδομένη αλληλουχία αμινοξέων ή για την προσομοίωση της διεργασίας αναδίπλωσης. Η χρησιμότητα των μεθόδων αυτών περιορίζεται από τον μεγάλο αριθμό των πιθανών στερεοδιατάξεων, την οριακή σταθερότητα των πρωτεϊνών και την ελάχιστη ενέργεια των ασθενών αλληλεπιδράσεων στα υδατικά διαλύματα. Η δεύτερη προσέγγιση λαμβάνει υπ' όψιν τις συνεχώς διευ-

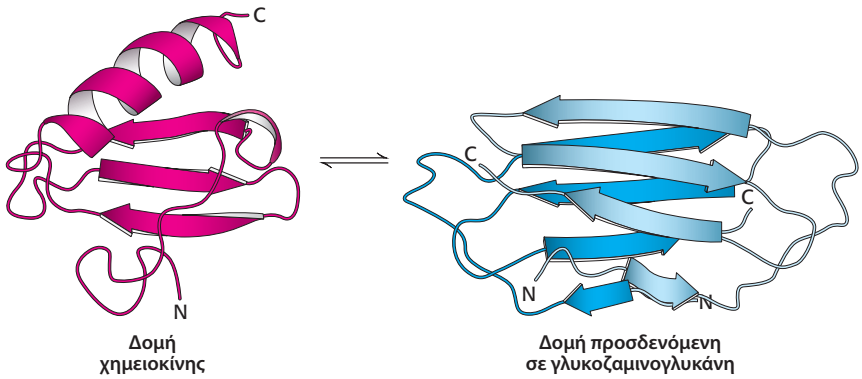
ρυνόμενες γνώσεις σχετικά με τις τριδιάστατες δομές πολλών πρωτεϊνών. Με τις μεθόδους αυτές, *που στηρίζονται σε προϋπάρχουσα γνώση*, μια αλληλουχία αμινοξέων άγνωστης δομής εξετάζεται σε σχέση με γνωστές δομές πρωτεϊνών ή θραυσμάτων τους. Αν διαπιστωθεί σημαντική ταύτιση, τότε η γνωστή δομή χρησιμοποιείται ως αρχικό μοντέλο εργασίας. Με τις συγκεκριμένες μεθόδους έχουν διαλευκανθεί πολλές στερεοδιατάξεις πρωτεϊνών γνωστής αλληλουχίας αλλά άγνωστης δομής.

Μερικές πρωτεΐνες είναι ενδογενώς αδόμητες και μπορούν να υπάρξουν σε πολλαπλές στερεοδιατάξεις

Η συζήτηση για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών βασίστηκε μέχρι στιγμής στον κανόνα ότι μια δεδομένη αλληλουχία αμινοξέων θα αναδιπλωθεί σε συγκεκριμένη τριδιάστατη δομή. Αυτός ο κανόνας ισχύει για πάρα πολλές πρωτεΐνες. Όμως, είναι εδώ και καιρό γνωστό ότι ορισμένες πρωτεΐνες μπορούν να έχουν δύο διαφορετικές στερεοδιατάξεις, η μία εκ των οποίων οδηγεί σε συσσωμάτωση των μορίων της και σε παθολογικές καταστάσεις (σελ. 57). Τέτοιες εναλλακτικές δομές που προκύπτουν από την ίδια αλληλουχία αμινοξέων θεωρούνταν σπάνιες, η εξαίρεση του κανόνα. Πρόσφατες εργασίες έχουν θέσει υπό αμφισβήτηση την καθολικότητα της ιδέας ότι από κάθε αλληλουχία αμινοξέων προκύπτει μία δομή για ορισμένες πρωτεΐνες, ακόμη και κάτω από φυσιολογικές κυτταρικές συνθήκες.

Το πρώτο παράδειγμα που θα εξετάσουμε είναι μια κατηγορία πρωτεϊνών οι οποίες ονομάζονται *ενδογενώς αδόμητες πρωτεΐνες* (intrinsically unstructured proteins, IUP). Όπως δηλώνει το όνομά τους, αυτές οι πρωτεΐνες, εν μέρει ή καθ' ολοκληρίαν, δεν έχουν συγκεκριμένη τριδιάστατη δομή κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Μάλιστα, έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 50% των ευκαρυωτικών πρωτεϊνών έχουν τουλάχιστον μία περιοχή δίχως καθορισμένη δομή, μήκους μεγαλύτερου των 30 αμινοξέων. Αυτές οι περιοχές ακαθόριστης δομής είναι πλούσιες σε πολικά και φορτισμένα αμινοξέα με λίγα υδρόφοβα κατάλοιπα. Οι πρωτεΐνες αυτές αποκτούν καθορισμένη τριδιάστατη δομή όταν αλληλεπιδράσουν με άλλες πρωτεΐνες. Αυτή η μοριακή προσαρμοστικότητα σημαίνει ότι μια πρωτεΐνη μπορεί να έχει διαφορετικές δομές και να αλληλεπιδρά με διαφορετικούς «εταίρους», παρουσιάζοντας διαφορετικές βιοχημικές λειτουργίες. Οι IUP φαίνεται μάλιστα να είναι ιδιαίτερα σημαντικές στις σηματοδοτικές και ρυθμιστικές πορείες.

Άλλη μια κατηγορία πρωτεϊνών οι οποίες δεν υπακούουν στον κανόνα ονομάζονται *μεταμορφικές πρωτεΐνες*. Οι πρωτεΐνες αυτές φαίνεται να βρίσκονται σε ένα σύνολο δομών περίπου ίδιας ενέργειας και σε ισορροπία μεταξύ τους. Μικρά μόρια ή άλλες πρωτεΐνες μπορεί να προσδεθούν σε διαφορετικά μέλη αυτού του συνόλου δομών, οπότε προκύπτουν διάφορα σύμπλοκα με διαφορετική βιοχημική λειτουργία το κάθε ένα. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα μεταμορφικής πρωτεΐνης είναι η χημειοκίνη λεμφοτακτίνη. Οι χημειοκίνες είναι σηματοδοτικά μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος τα οποία προσδένονται σε πρωτεϊνικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια ανοσοκυττάρων, εκκινώντας έτσι μια ανοσιακή απόκριση. Η λεμφοτακτίνη απαντά σε δύο πολύ διαφορετικές δομές οι οποίες βρίσκονται σε ισορροπία (Εικόνα 2.61). Η μία δομή, που είναι χαρακτηριστική πολλών χημειοκινών, αποτελείται από τρεις β-πτυχώσεις και μία έλικα στο καρβοξυ-τελικό άκρο. Αυτή η δομή προσδένεται στον αντίστοιχο υποδοχέα και τον ενεργοποιεί. Η εναλλακτική δομή είναι ένα διμερές πανομοιότυπων υπομονάδων αποκλειστικά με β-πτυχώσεις. Όταν η λεμφοτακτίνη έχει τούτη τη δομή, προσδένεται σε γλυκοζαμινογλυκάνη, έναν πολύπλοκο υδατάνθρακα (Κεφάλαιο 11). Οι βιοχημικές δραστικότητες κάθε δομής είναι αμοιβαία αποκλειόμενες: στη δομή χημειοκίνης, η λεμφοτακτίνη δεν μπορεί να προσδεθεί στη γλυκοζαμινογλυκάνη, ενώ η δομή του διμερούς των β-πτυχώσεων δεν μπορεί να προσδεθεί στον υποδοχέα. Είναι όμως αξιοσημείωτο ότι απαιτούνται και οι δύο δραστικότητες για να είναι πλήρης η βιολογική δραστικότητα της λεμφοτακτίνης.



ΕΙΚΟΝΑ 2.61 Η λεμφοτακτίνη υπάρχει σε δύο στερεοδιατάξεις που βρίσκονται σε ισορροπία μεταξύ τους. [R.L. Tuinstra, F.C. Peterson, S. Kutlesa, E.S. Elgin, M.A. Kron, and B.F. Volkman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105: 5057-5062, 2008, Fig. 2A.]

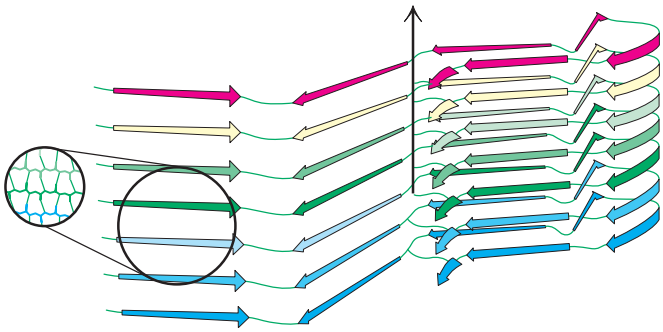
Να σημειωθεί ότι οι IUP και οι μεταμορφικές πρωτεΐνες διευρύνουν ουσιαστικά τη δυνατότητα κωδίκευσης πρωτεϊνών από το γονιδίωμα. Σε μερικές περιπτώσεις, ένα γονίδιο μπορεί να κωδικεύει μια πρωτεΐνη η οποία έχει περισσότερες της μίας δομές και λειτουργίες. Τα παραδείγματα αυτά καταδεικνύουν επίσης τη δυναμική φύση της μελέτης της βιοχημείας και τον ενθουσιασμό που τη συνοδεύει: ακόμη και οι καθιερωμένες απόψεις υπόκεινται συχνά σε τροποποιήσεις!

Η εσφαλμένη αναδίπλωση και το συσσωμάτωμα των πρωτεϊνών σχετίζονται με ορισμένες νόσους του νευρικού συστήματος

Η κατανόηση της σωστής και της εσφαλμένης αναδίπλωσης των πρωτεϊνών δεν έχει μόνο θεωρητικό ενδιαφέρον. Υπάρχει ολόκληρη ομάδα νοσημάτων, μεταξύ των οποίων η νόσος Alzheimer, η νόσος Parkinson, η νόσος Huntington και οι μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες (νόσος του πρίον), που σχετίζονται με λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες. Όλες αυτές οι νόσοι έχουν ως αποτέλεσμα την εναπόθεση συσσωματωμάτων πρωτεΐνης, που ονομάζονται *ινίδια αμυλοειδούς* ή *πλάκες*, εξ ού και ονομάζονται *αμυλοειδώσεις*. Ένα κοινό γνώρισμα των αμυλοειδώσεων είναι ότι φυσιολογικά διαλυτές πρωτεΐνες μετατρέπονται σε αδιάλυτα ινίδια τα οποία είναι πλούσια σε *β*-πτυχωτές επιφάνειες. Η ορθά αναδιπλωμένη πρωτεΐνη είναι μόνον οριακά πιο σταθερή από την εσφαλμένα αναδιπλωμένη. Όμως, η δεύτερη συσσωματώνεται έλκοντας όλο και περισσότερη από την πρώτη. Θα εστιάσουμε εδώ την προσοχή μας στις μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες.

Μια από τις μεγάλες εκπλήξεις τις σύγχρονης ιατρικής ήταν η διαπίστωση ότι ορισμένα μολυσματικά νοσήματα του νευρικού συστήματος μεταδίδονται από παράγοντες που είναι όμοιοι σε μέγεθος με ιούς, αλλά αποτελούνται μόνον από πρωτεΐνη. Αυτά τα νοσήματα περιλαμβάνουν τη *βόεια σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια* (γνωστή και ως *νόσο των τρελών αγελάδων*) και ανάλογα νοσήματα σε άλλους οργανισμούς, όπως η *νόσος Creutzfeld-Jakob* (CJD) στους ανθρώπους, η *τρομώδης νόσος* στα πρόβατα και η *χρόνια απισχναντική νόσος* στα ελάφια και τους ταράνδους. Οι παράγοντες που προκαλούν αυτά τα νοσήματα ονομάζονται *πρίον* (prion, *pr*otein infect*ion* agent). Τα πρίον αποτελούνται κυρίως, αν όχι αποκλειστικά, από μια κυτταρική πρωτεΐνη που ονομάζεται PrP, η οποία κάτω από φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει στον εγκέφαλο, μολονότι η ακριβής λειτουργία της δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή. Τα λοιμογόνα πρίον είναι συσσωματωμένες μορφές της πρωτεΐνης PrP που ονομάζονται PrP^{SC}.

Σε τι διαφέρει όμως η δομή της συσσωματωμένης μορφής της πρωτεΐνης από εκείνη της πρωτεΐνης στη φυσιολογική της κατάσταση μέσα στον εγκέφαλο; Η φυσιολογική κυτταρική πρωτεΐνη PrP περιέχει εκτεταμένες περιοχές *α*-έλικας και σχετικά λίγες *β*-πτυχώσεις. Η δομή της PrP που βρίσκεται μέσα στον μολυσμένο εγκέφαλο, δηλαδή της PrP^{SC}, δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη λόγω των μεγάλων προκλήσεων που προκύπτουν από την αδιάλυτη και ετερογενή φύση της. Ωστόσο, διάφορες ενδείξεις συνηγορούν στο ότι ορισμένα τμήματα της πρωτεΐ-



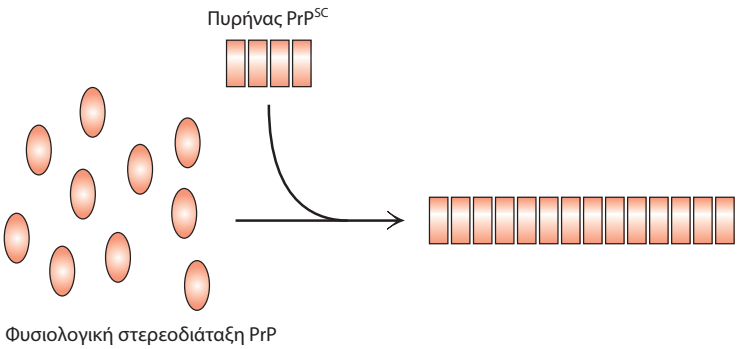
ΕΙΚΟΝΑ 2.62 Προσομοίωση του αμυλοειδούς της ανθρώπινης πρωτεΐνης πρίον. Λεπτομερές μοντέλο ενός ινιδίου αμυλοειδούς ανθρώπινου πρίον, όπως προέκυψε μετά από μελέτη σήμανσης ιδιοστροφορμής και φασματοσκοπίας ηλεκτρονιακού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR). Φαίνεται ότι η συσσωμάτωση της πρωτεΐνης οφείλεται στον σχηματισμό μεγάλων παράλληλων β-πτυχωτών επιφανειών. Το μαύρο βέλος δείχνει τον επιμήκη άξονα του ινιδίου. [N.J. Cobb, F.D. Sönnichsen, H. Mchaourab, and W.K. Surewicz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104: 18946-18951, 2007, Fig. 4E.]

νης τα οποία ήταν σε μορφή α-έλικας ή στροφής έχουν μετατραπεί σε μορφή β-πτύχωσης (Εικόνα 2.62). Οι β-πτυχώσεις, που προκύπτουν σε μεγάλο βαθμό από επίπεδα μονομερή, συσσωρεύονται η μία επάνω στην άλλη με τις πλευρικές αλυσίδες τους σφιχτά περιπλεγμένες μεταξύ τους. Η όψη από τα πλάγια μας δείχνει το εκτεταμένο δίκτυο δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μονομερών. Αυτά τα ινώδη συσσωματώματα πρωτεΐνης συχνά ονομάζονται *αμυλοειδείς* μορφές.

Με τη διαπίστωση ότι ο μολυσματικός παράγοντας στις νόσους των πρίον είναι η συσσωματωμένη μορφή μιας πρωτεΐνης που ήδη βρίσκεται στον εγκέφαλο, προέκυψε και ένα μοντέλο για τη μετάδοση της νόσου (Εικόνα 2.63). Συσσωματώματα πρωτεϊνών που αποτελούνται από τις ελαττωματικές μορφές της PrP^{SC} λειτουργούν ως πυρήνες στους οποίους προσελκύονται και προσδένονται και άλλα μόρια PrP. Τα νοσήματα των πρίον μπορούν έτσι να μεταδοθούν από ένα άτομο σε ένα άλλο, μέσω της μεταφοράς του συσσωματωμένου πυρήνα, όπως κατά πάσα πιθανότητα συνέβη με την εκδήλωση της νόσου των τρελών αγελάδων στο Ηνωμένο Βασίλειο τη δεκαετία του 1990. Αγελάδες στις οποίες είχε δοθεί τροφή που περιείχε υλικό από ήδη νοσούντα ζώα ανέπτυξαν στη συνέχεια τη νόσο.

Ινίδια αμυλοειδούς παρατηρούνται και στον εγκέφαλο ασθενών με ορισμένες μη μολυσματικές νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η νόσος Alzheimer και η νόσος Parkinson. Παραδείγματος χάριν, ο εγκέφαλος ασθενών με νόσο Alzheimer περιέχει συσσωματώματα πρωτεϊνών τα οποία ονομάζονται *πλάκες αμυλοειδούς* και αποτελούνται κυρίως από ένα πολυπεπτίδιο, που συμβολίζεται ως Aβ. Το πολυπεπτίδιο αυτό προκύπτει από μια κυτταρική πρωτεΐνη, την *πρόδρομο πρωτεΐνη του αμυλοειδούς* (amyloid precursor protein, APP), με τη δράση ειδικών πρωτεασών. Το πολυπεπτίδιο Aβ έχει την τάση να σχηματίζει αδιάλυτα συσσωματώματα. Παρά τις δυσκολίες που δημιουργεί η μη διαλυτότητα της πρωτεΐνης, έχει προκύψει ένα λεπτομερές δομικό μοντέλο του Aβ, χάρη στη χρήση τεχνικών πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (nuclear magnetic resonance, NMR) που μπορούν να εφαρμοστούν σε στερεά παρά σε μόρια σε διάλυμα. Όπως ήταν αναμενόμενο, η δομή είναι πλούσια σε β-πτυχώσεις, οι οποίες συναθροίζονται και σχηματίζουν εκτεταμένες παράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες (βλ. Εικόνα 2.62).

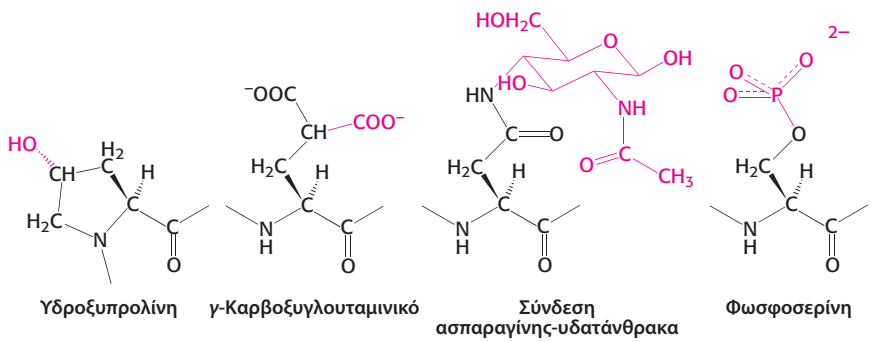
Πώς όμως είναι δυνατόν τέτοια συσσωματώματα να οδηγήσουν σε θάνατο τα κύτταρα τα οποία τα περιέχουν; Η απάντηση εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη. Μια υπόθεση είναι ότι το πραγματικό αίτιο δεν είναι τα μεγάλα συσσωματώματα, αλλά μάλλον μικρότερα συσσωματώματα των ίδιων πρωτεϊνών, τα οποία ίσως προκαλούν βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες.



ΕΙΚΟΝΑ 2.63 Το πρότυπο της μετάδοσης της νόσου του πρίον αποκλειστικά μέσω πρωτεϊνών. Ένας πυρήνας που αποτελείται από πρωτεΐνες παθολογικής στερεοδιάταξης, αυξάνεται με την προσθήκη πρωτεϊνών φυσιολογικής στερεοδιάταξης.

Η τροποποίηση και η διάσπαση των πρωτεϊνών προσφέρουν νέες δυνατότητες

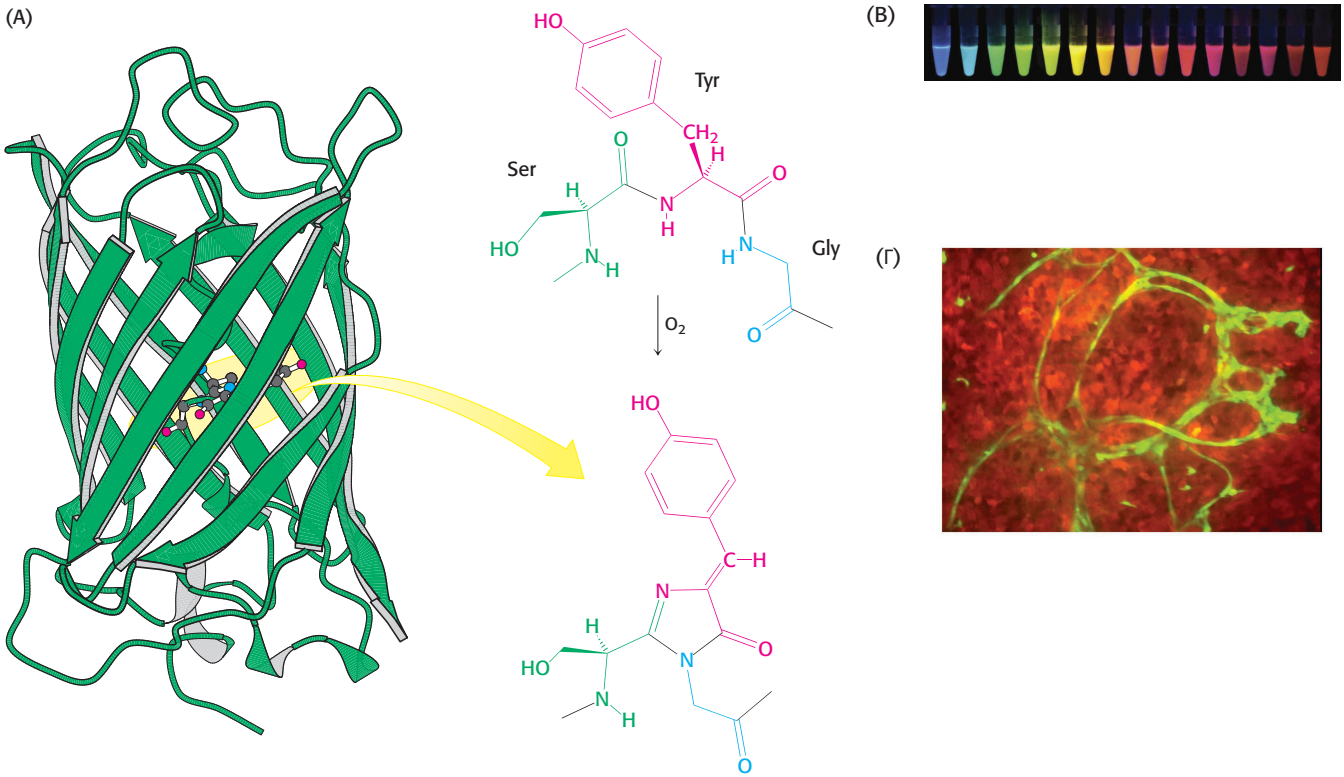
Οι πρωτεΐνες μπορούν να επιτελούν αναρίθμητες λειτουργίες που βασίζονται αποκλειστικά στην πολυχρηστικότητα των 20 αμινοξέων τους. Επιπλέον, πολλές πρωτεΐνες είναι δυνατόν να τροποποιηθούν ομοιοπολικά με την προσθήκη άλλων ομάδων, εκτός των αμινοξέων, για να αυξήσουν την ποικιλία των δράσεών τους (Εικόνα 2.64). Παραδείγματος χάριν, *ακετυλικές ομάδες* προστίθενται στο αμινο-τελικό άκρο πολλών πρωτεϊνών, αυξάνοντας την ανθεκτικότητά τους στην αποικοδόμηση. Όπως συζητήσαμε προηγουμένως (σελ. 46), η προσθήκη *υδροξυλικών ομάδων* στα κατάλοιπα προλίνης σταθεροποιεί τις ίνες του νεοσυντιθέμενου κολλαγόνου. Η βιολογική σημασία της τροποποίησης αυτής γίνεται φανερή στη νόσο σκορβούτο: η έλλειψη της βιταμίνης C οδηγεί σε ανεπαρκή υδροξυλίωση του κολλαγόνου και επομένως σε ανωμαλίες στις ίνες του, οι οποίες αδυνατούν να διατηρήσουν τη δύναμη των ιστών σε φυσιολογικά επίπεδα (Υποκεφάλαιο 27.6). Άλλο ένα εξειδικευμένο αμινοξύ είναι το *γ-καρβοξυγλουταμινικό*. Στην ανεπάρκεια βιταμίνης K, η ανεπαρκής καρβοξυλίωση του γλουταμινικού της προθρομβίνης, μιας πρωτεΐνης της πήξης του αίματος, μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγίες (Υποκεφάλαιο 10.4). Πολλές πρωτεΐνες, ιδίως εκείνες της επιφάνειας των κυττάρων ή οι εκκρινόμενες, αποκτούν *μονάδες υδατανθράκων* σε συγκεκριμένα κατάλοιπα ασπαραγίνης, σερίνης ή θρεονίνης (Κεφάλαιο 11). Η προσθήκη σακχάρων καθιστά τις πρωτεΐνες πιο υδρόφιλες και διευκολύνει τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλες πρωτεΐνες. Αντιστρόφως, η προσθήκη *λιπαρού οξέος* στην *α*-αμινική ομάδα ή στο σουλφυδρύλιο της κυστεΐνης παράγει μια πιο υδρόφοβη πρωτεΐνη.



ΕΙΚΟΝΑ 2.64 «Τελικές πινελιές». Απεικονίζονται μερικές κοινές και σημαντικές ομοιοπολικές τροποποιήσεις των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων.

Πολλές ορμόνες, όπως η επινεφρίνη (αδρεναλίνη), μεταβάλλουν τη δραστικότητα ενζύμων ενεργοποιώντας τη φωσφορυλίωση των υδροξυ-αμινοξέων σερίνη και θρεονίνη· η *φωσφοσερίνη* και η *φωσφοθρεονίνη* είναι τα πιο συχνά απαντώμενα τροποποιημένα αμινοξέα στις πρωτεΐνες. Αυξητικοί παράγοντες, όπως η ινσουλίνη, λειτουργούν ενεργοποιώντας τη φωσφορυλίωση της υδροξυλικής ομάδας 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 14.

Οι προηγούμενες τροποποιήσεις αφορούν την προσθήκη ειδικών ομάδων στα αμινοξέα. Υπάρχουν όμως και άλλες τροποποιήσεις που αφορούν τη δημιουργία ειδικών ομάδων μέσω χημικής αναδιάταξης των πλευρικών αλυσίδων και, μερικές φορές, του ίδιου του πεπτιδικού κορμού. Παραδείγματος χάριν, η μέδουσα *Aequorea victoria* παράγει μια πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, την GFP, η οποία εκπέμπει πράσινο φως όταν διεγερθεί με μπλε φως. Ο φθορισμός προέρχεται από μια ομάδα που δημιουργείται από την αυθόρμητη αναδιάταξη και οξείδωση της αλληλουχίας Ser–Tyr–Gly στο κέντρο της πρωτεΐνης (Εικόνα 2.65A). Με γενετική μηχανική έχει δημιουργηθεί ένας αριθμός μεταλλαγμένων



ΕΙΚΟΝΑ 2.65 Χημική αναδιάταξη στην GFP. (A) Η δομή της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (GFP). Πηγή του φθορισμού είναι η αναδιάταξη και οξείδωση της αλληλουχίας Ser-Tyr-Gly. (B) Μεταλλαγμένες μορφές της GFP εκπέμπουν φως σε διάφορα μήκη κύματος του ορατού φάσματος. (Γ) Μια σειρά κυττάρων μελανώματος γενετικά τροποποιημένη ώστε να εκφράζει μία από αυτές τις μεταλλαγμένες GFP, την κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (RFP), ενέθηκε σε ποντικό, τα αιμοφόρα αγγεία του οποίου εκφράζουν την GFP. Σε αυτή τη μικροφωτογραφία φθορισμού εύκολα διακρίνεται ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων (πράσινο) στον όγκο (κόκκινο). [(A) Σχεδιασμένο από 1GFL.pdb· (B) R. Y. Tsien, *Integr. Biol.* 2:77-93, 2010, flG. 12; (C) M. Yang, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100: 14259-14262, 2003, Fig. 2B.]

μορφών της GFP, οι οποίες απορροφούν και εκπέμπουν φως σε όλο το ορατό φάσμα (Εικόνα 2.65B). Οι πρωτεΐνες αυτές είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στους ερευνητές ως ενδοκυτταρικοί δείκτες.

Τέλος, πολλές πρωτεΐνες τέμνονται και «ψαλιδίζονται» 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 αφού απελευθερωθούν στο έντερο πραγματοποιείται με διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών (Υποκεφάλαιο 10.4). Κατά την πήξη του αίματος, η διάσπαση πεπτιδικών δεσμών 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 τροποποίησης και διάσπασης που αποτελούν αναπόσπαστα στοιχεία του σχηματισμού και της λειτουργίας των πρωτεϊνών. Στην πραγματικότητα, τούτες οι «τελικές πινελιές» των πρωτεϊνών εξηγούν το πολυσχιδές, την ακρίβεια και την κομψότητα της δράσης τους και της ρύθμισης αυτής της δράσης.

Περίληψη

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 σύνδεση του συνόλου των πολυπεπτιδικών αλυσίδων μιας πρωτεΐνης για να σχηματιστεί ένα σύμπλοκο πολλών υπομονάδων.

2.1 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 άτομο υδρογόνου. Αυτά τα τετραεδρικά κέντρα, με εξαίρεση εκείνο της γλυκίνης, είναι χειρόμορφα· μόνο το L-ισομερές απαντά στις φυσικές πρωτεΐνες. Σχεδόν όλες οι φυσικές πρωτεΐνες δομούνται από τα ίδια 20 αμινοξέα. Οι πλευρικές αλυσίδες των 20 αυτών δομικών λίθων διαφέρουν σημαντικά σε μέγεθος, σε σχήμα και σε παρουσία λειτουργικών ομάδων. Μπορούμε να τις ταξινομήσουμε σε ομάδες ως εξής: (1) υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες – ομάδα η οποία περιλαμβάνει τα αλειφατικά αμινοξέα (γλυκίνη, αλανίνη, βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη και προλίνη) και αρωματικές πλευρικές αλυσίδες (φαινυλαλανίνη και θρυπτοφάνη)· (2) πολικές πλευρικές αλυσίδες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που περιέχουν υδροξυλική ομάδα (σερίνη, θρεονίνη και τυροσίνη)· κυστεΐνη που περιέχει σουλφυδρύλιο· καθώς και τις πλευρικές αλυσίδες με καρβοξυλαμίδιο (ασπαραγίνη και γλουταμίνη)· (3) βασικές πλευρικές αλυσίδες (λυσίνη, αργινίνη και ιστιδίνη)· και (4) όξινες πλευρικές αλυσίδες (ασπαραγινικό και γλουταμινικό οξύ). Οι ομαδοποιήσεις αυτές είναι κάπως αυθαίρετες και φυσικά είναι πιθανές πολλές άλλες τεκμηριωμένες ομαδοποιήσεις.

2.2 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 αρκετές 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 αυτών των ομάδων του κορμού είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της πρωτεϊνικής δομής. Τέλος, ο πεπτιδικός δεσμός δεν έχει φορτίο, γεγονός που επιτρέπει στις πρωτεΐνες να δημιουργούν συμπαγείς σφαιρικές δομές με σημαντικό μέρος του κορμού βυθισμένο στο εσωτερικό τους. Οι πρωτεΐνες, επειδή είναι γραμμικά πολυμερή, μπορούν να περιγραφούν και ως αλληλουχίες αμινοξέων. Αυτές οι αλληλουχίες γράφονται με κατεύθυνση από το αμινο-τελικό προς το καρβοξυ-τελικό άκρο.

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

Δύο κύρια στοιχεία δευτεροταγούς δομής είναι η α-έλικα και η β-πτύχωση. 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-πτύχωση, 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. Οι πτυχώσεις στις β-επιφάνειες μπορεί να είναι αντιπαράλληλες, παράλληλες ή μεικτές.

2.4 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 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 (π.χ. στις μεμβράνες) εμφανί-

ζουν αντίθετη κατανομή υδρόφοβων και υδρόφιλων αμινοξέων. Στις πρωτεΐνες αυτές, τα υδρόφοβα αμινοξέα βρίσκονται στην επιφάνεια για να αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον, ενώ οι υδρόφιλες ομάδες βυθίζονται στο εσωτερικό προκειμένου να το αποφύγουν.

2.5 Τεταρτοταγής δομή: οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες μπορούν να συγκροτήσουν δομές πολλών υπομονάδων

Οι πρωτεΐνες που αποτελούνται από περισσότερες της μίας πολυπεπτιδικές αλυσίδες εμφανίζουν τεταρτοταγή δομή και το κάθε ένα από τα ανεξάρτητα πολυπεπτίδια ονομάζεται υπομονάδα. Η τεταρτοταγής δομή μπορεί να είναι πολύ απλή, αποτελούμενη από δύο ίδιες υπομονάδες, ή ιδιαίτερα πολύπλοκη, όταν συγκροτείται από πολλές διαφορετικές υπομονάδες. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι υπομονάδες συγκρατούνται μεταξύ τους με μη ομοιοπολικούς δεσμούς.

2.6 Η αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριδιάστατη δομή της

Η αλληλουχία αμινοξέων καθορίζει την τριδιάστατη δομή και κατ' επέκταση όλες τις άλλες ιδιότητες μιας πρωτεΐνης. Ορισμένες πρωτεΐνες μπορούν να ξεδιπλωθούν τελείως, και η επαναδίπλωσή τους γίνεται αποτελεσματικά όταν βρεθούν σε συνθήκες στις οποίες η αναδιπλωμένη τους μορφή είναι σταθερή. Η αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης καθορίζεται από την αλληλουχία των βάσεων στο μόριο του DNA. Η μονοδιάστατη αυτή πληροφορία για την αλληλουχία μετατρέπεται σε τριδιάστατη δομή λόγω της ικανότητας της πρωτεΐνης να αναδιπλώνεται αυθόρμητα. Η αναδίπλωση της πρωτεΐνης αποτελεί μια ιδιαίτερα συνεργειακή διεργασία· τα δομικά ενδιάμεσα της ξεδιπλωμένης και της αναδιπλωμένης μορφής δεν συσσωρεύονται.

Ορισμένες πρωτεΐνες, όπως οι ενδογενώς αδόμητες και οι μεταμορφικές, δεν υπακούουν στον κανόνα που λέει ότι δεδομένη αλληλουχία αμινοξέων οδηγεί σε δεδομένη τριδιάστατη δομή. Λόγω αυτής της προσαρμοστικότητας, διευρύνεται η ικανότητα του γονιδιώματος να κωδικεύει πρωτεΐνες.

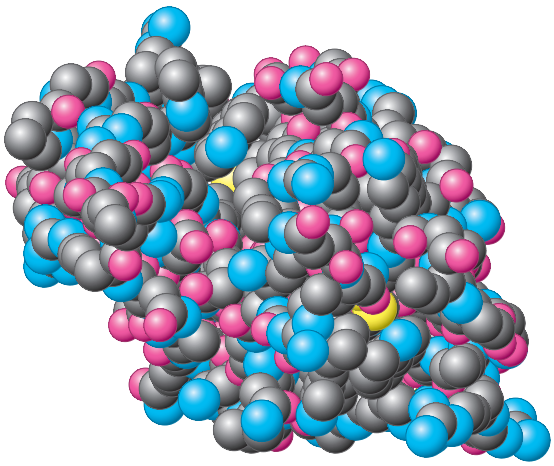
Η προσαρμοστικότητα των πρωτεϊνών ενισχύεται περαιτέρω από τις ομοιοπολικές τροποποιήσεις. Οι τροποποιήσεις αυτές μπορούν να ενσωματώνουν λειτουργικές ομάδες εκτός των 20 αμινοξέων. Υπάρχουν και άλλες τροποποιήσεις που είναι σημαντικές για τη ρύθμιση της πρωτεϊνικής δραστικότητας. Μέσω της δομικής τους σταθερότητας, της ποικιλότητας και της ικανότητας για χημικές αντιδράσεις, οι πρωτεΐνες πραγματοποιούν τις περισσότερες βασικές λειτουργίες που σχετίζονται με τη ζωή.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Απεικόνιση μοριακών δομών ΙΙ: Πρωτεΐνες

Όπως θα δούμε στο Κεφάλαιο 3, οι επιστήμονες έχουν αναπτύξει πανίσχυρες τεχνικές για τον προσδιορισμό της δομής των πρωτεϊνών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι τεχνικές αυτές επιτρέπουν τον προσδιορισμό της ακριβούς θέσης χιλιάδων ατόμων μέσα στο μόριο της πρωτεΐνης. Τα τελικά αποτελέσματα ενός τέτοιου πειράματος περιλαμβάνουν τις συντεταγμένες x, y, z για κάθε άτομο στη δομή. Τα αρχεία για αυτές τις συντεταγμένες αποθηκεύονται στην Τράπεζα Πρωτεϊνικών Δεδομένων (Protein Data Bank, http://www.pdb.org), από την οποία είναι δυνατόν να μεταφορτωθούν εύκολα. Αυτές οι δομές περιλαμβάνουν χιλιάδες έως δεκάδες χιλιάδες άτομα. Η πολυπλοκότητα των πρωτεϊνών με χιλιάδες άτομα συνιστά μεγάλη πρόκληση όσον αφορά την απεικόνισή τους. Υπάρχουν πολλοί και ποικίλοι τρόποι για να απεικονιστούν οι πρωτεΐνες, ο κάθε ένας από τους οποίους έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά του. Οι τρόποι τους οποίους θα συναντήσετε πιο συχνά στο βιβλίο αυτό είναι τα χωροπληρωτικά μοντέλα, τα μοντέλα με σφαίρες και ράβδους, τα μοντέλα κορμού και τα διαγράμματα κορδέλας. Όπου χρειάζεται, δομικά γνωρίσματα ιδιαίτερης σημασίας ή σχέσης θα σημειώνονται στις λεζάντες των αντίστοιχων εικόνων.

Χωροπληρωτικά μοντέλα

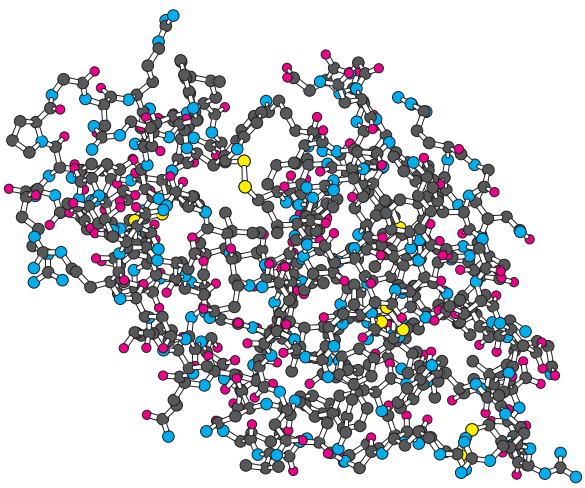
Τα χωροπληρωτικά μοντέλα είναι τα πιο ρεαλιστικά από όλα τα είδη απεικονίσεων. Το κάθε άτομο εμφανίζεται σαν μια σφαίρα με μέγεθος που αντιστοιχεί στην ακτίνα van der Waals (Υποκεφάλαιο 1.3). Οι δεσμοί δεν φαίνονται ως τέτοιοι, όμως γίνονται αντιληπτοί όταν οι σφαίρες που εκπροσωπούν δύο γειτονικά άτομα τέμνονται μεταξύ τους, οπότε η απόστασή τους είναι μικρότερη από το αντίστοιχο άθροι-



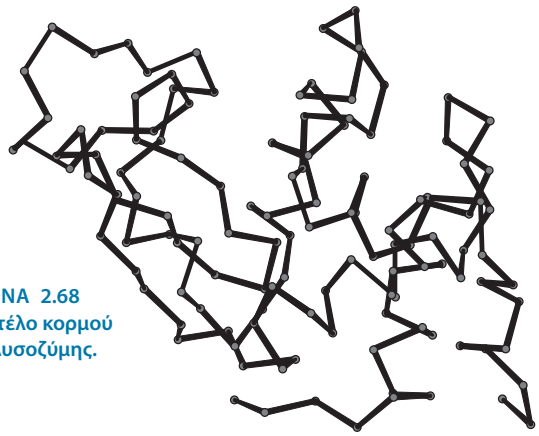
ΕΙΚΟΝΑ 2.66 Χωροπληρωτικό μοντέλο της λυσοζύμης. *Προσέξτε* πόσο συμπαγής είναι η δομή της λυσοζύμης, με λίγο κενό χώρο. Απεικονίζονται όλα τα άτομα με εξαίρεση εκείνα του υδρογόνου. Τα άτομα του υδρογόνου συχνά παραλείπονται, διότι αφενός οι θέσεις τους δεν προσδιορίζονται επακριβώς από την κρυσταλλογραφία με ακτίνες Χ και αφετέρου διότι έτσι διακρίνονται καλύτερα τα υπόλοιπα άτομα.

σμα των ακτίνων van der Waals. Εμφανίζονται όλα τα άτομα, τόσο εκείνα του πολυπεπτιδικού κορμού, όσο και εκείνα των πλευρικών αλυσίδων. Το χωροπληρωτικό μοντέλο της λυσοζύμης φαίνεται στην Εικόνα 2.66.

Με τα χωροπληρωτικά μοντέλα αντιλαμβανόμαστε πόσο λίγος πραγματικά κενός χώρος υπάρχει στη δομή μιας πρωτεΐνης, η οποία έχει πάντα πολλά άτομα σε επαφή van der Waals μεταξύ τους. Αυτά τα μοντέλα είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για να απεικονίζουν τις αλλαγές στη στερεοδιάταξη μιας πρωτεΐνης, από μία κατάσταση σε μια άλλη. Ένα μειονέκτημά τους είναι ότι δύσκολα απεικονίζουν τη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης. Συνεπώς, δεν είναι πολύ αποτελεσματικά στο να διακρίνουν τη μία πρωτεΐνη από την άλλη – πολλά χωροπληρωτικά μοντέλα πρωτεϊνών μοιάζουν πολύ μεταξύ τους.



ΕΙΚΟΝΑ 2.67 Μοντέλο της λυσοζύμης με σφαίρες και ράβδους. Και εδώ, τα άτομα υδρογόνου δεν εμφανίζονται.



ΕΙΚΟΝΑ 2.68 Μοντέλο κορμού της λυσοζύμης.

Μοντέλα με σφαίρες και ράβδους

Τα μοντέλα με σφαίρες και ράβδους δεν είναι όσο ρεαλιστικά είναι τα χωροπληρωτικά. Σε μια πραγματική απεικόνιση τα άτομα εμφανίζονται μεγαλύτερα (σύμφωνα με την ακτίνα van der Waals τους) απ' ό,τι απεικονίζονται στο μοντέλο με σφαίρες και ράβδους. Πάντως, ο τρόπος δέσμευσης είναι πιο εύκολα κατανοητός, διότι φαίνεται σαφώς με τις ράβδους (Εικόνα 2.67). Ένα μοντέλο με σφαίρες και ράβδους αποκαλύπτει την πολύπλοκη δομή πιο καθαρά απ' ό,τι το χωροπληρωτικό. Ωστόσο, και αυτή η απεικόνιση είναι τόσο σύνθετη ώστε δομικά στοιχεία όπως οι *α*-έλικες και δυνητικές θέσεις πρόσδεσης δεν διακρίνονται με ευκολία.

Επειδή το χωροπληρωτικό μοντέλο και εκείνο με σφαίρες και ράβδους απεικονίζουν τη δομή των πρωτεϊνών σε ατομικό επίπεδο, όπου φαίνονται στην κυριολεξία χιλιάδες άτομα είναι δύσκολο να διακρίνει κανείς τα σχετικά δομικά χαρακτηριστικά. Συνεπώς, έχουν επινοηθεί άλλες μακρομοριακές απεικονίσεις –όπως τα μοντέλα κορμού και τα διαγράμματα κορδέλας– οι οποίες είναι πιο σχηματικές. Σε αυτές τις παραστάσεις, τα περισσότερα ή όλα τα άτομα δεν εμφανίζονται ξεκάθαρα.

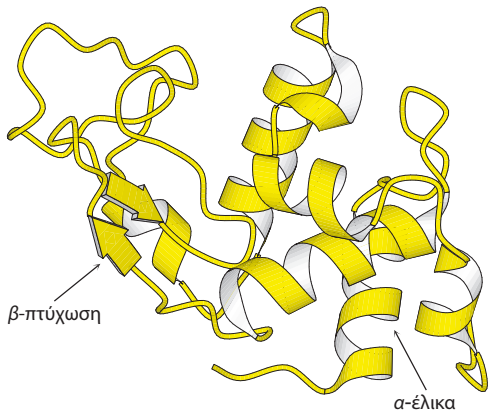
Μοντέλα κορμού

Τα μοντέλα κορμού δείχνουν μόνο τα άτομα του πολυπεπτιδικού κορμού της πρωτεΐνης, ή μόνο τα άτομα *α*-άνθρακα κάθε αμινοξέος. Τα άτομα συνδέονται μεταξύ τους με γραμμές που αντιπροσωπεύουν δεσμούς· αν εμφανίζονται μόνον οι *α*-άνθρακες, τότε οι γραμμές συνδέουν τα άτομα *α*-άνθρακα αμινοξέων τα οποία γειτνιάζουν στην αλληλουχία της πρωτεΐνης (Εικόνα 2.68). Στο βιβλίο αυτό, τα μοντέλα κορμού δείχνουν μόνο τις γραμμές που συνδέουν τα άτομα *α*-άνθρακα· τα άλλα άτομα άνθρακα δεν εμφανίζονται.

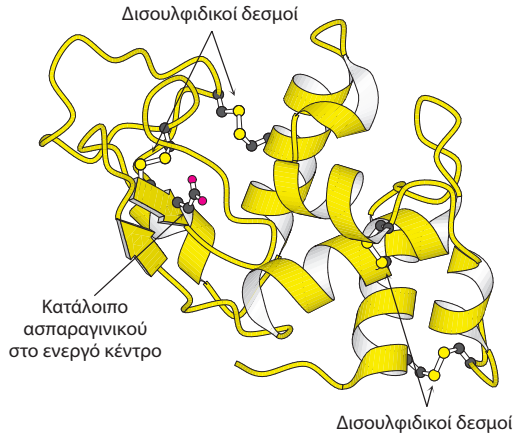
Ένα μοντέλο κορμού δείχνει τη συνέχεια της πορείας της πολυπεπτιδικής αλυσίδας πολύ καλύτερα απ' ό,τι το χωροπληρωτικό μοντέλο ή εκείνο με σφαίρες και ράβδους. Εντούτοις, τα στοιχεία της δευτεροταγούς δομής, ακόμη και εδώ, φαίνονται με δυσκολία.

Διαγράμματα κορδέλας

Τα διαγράμματα κορδέλας είναι πολύ σχηματικά και χρησιμοποιούνται συνήθως για να τονιστούν μερικά εντυπωσιακά χαρακτηριστικά της δομής των πρωτεϊνών, όπως π.χ. εκείνο της *α*-έλικας (σαν στριφτή κορδέλα ή κύλινδρος), της *β*-πτύχωσης



ΕΙΚΟΝΑ 2.69 Διάγραμμα κορδέλας της λυσοζύμης. Οι α-έλικες απεικονίζονται ως στριφτές κορδέλες, ενώ οι β-πτυχώσεις εμφανίζονται ως βέλη. Οι πιο ακανόνιστες δομές εμφανίζονται ως λεπτοί σωλήνες.



ΕΙΚΟΝΑ 2.70 Διάγραμμα κορδέλας της λυσοζύμης με επιπλέον λεπτομέρειες. Φαίνονται οι τέσσερις δισουλφιδικοί δεσμοί καθώς και ένα λειτουργικά σημαντικό κατάλοιπο ασπαραγινικού, όλα σε μορφή σφαίρας και ράβδου.

(ένα πλατύ βέλος) και των θηλιών (λεπτοί σωλήνες), παρέχοντας απλές και σαφείς όψεις των προτύπων αναδίπλωσης των πρωτεϊνών (Εικόνα 2.69). Το διάγραμμα κορδέλας επιτρέπει να παρακολουθήσουμε την πορεία της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και αναδεικνύει με άμεσο τρόπο τα στοιχεία της δευτεροταγούς δομής. Συνεπώς, πρωτεΐνες που σχετίζονται μεταξύ τους μέσω απόκλισης κατά την εξέλιξη, εμφανίζουν παρόμοια διαγράμματα κορδέλας (βλ. Εικόνα 6.15), ενώ οι άσχετες πρωτεΐνες είναι εμφανώς διακριτές.

Σε αυτό το βιβλίο, οι στριφτές κορδέλες θα χρησιμοποιηθούν για την απεικόνιση α-ελίκων. Ωστόσο, στην περίπτωση των μεμβρανικών πρωτεϊνών, που συχνά είναι αρκετά περίπλοκες, θα χρησιμοποιούμε κυλίνδρους. Αυτή η σύμβαση θα επιτρέψει επίσης την πιο εύκολη αναγνώριση των μεμβρανικών πρωτεϊνών με τα τμήματα α-έλικας τα οποία διασχίζουν τη μεμβράνη (Εικόνα 12.18).

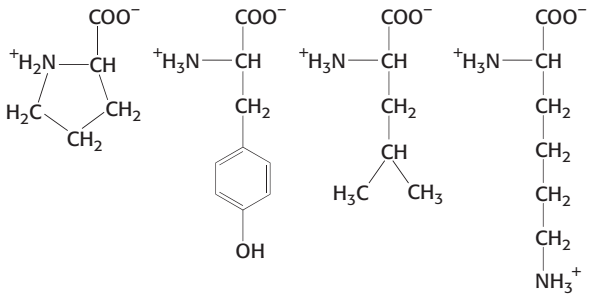
Κρατήστε κατά νου ότι η αίσθηση του ελεύθερου χώρου που έχει κανείς στα διαγράμματα κορδέλας είναι απατηλή. Όπως σημειώσαμε προηγουμένως, οι δομές πρωτεϊνών είναι πολύ συμπαγείς και έχουν πολύ λίγο ελεύθερο χώρο. Η ευρυχωρία των διαγραμμάτων κορδέλας τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα ως πλαίσια για να τονιστούν πρόσθετα χαρακτηριστικά της δομής μιας πρωτεΐνης. Σε ένα τέτοιο διάγραμμα μπορεί κανείς να προσθέσει ενεργά κέντρα, υποστρώματα, δεσμούς και άλλα τμήματα της δομής, σε χωροπληρωτική μορφή, ή μορφή σφαίρας και ράβδου (Εικόνα 2.70).

Όροι-κλειδιά

πλευρική αλυσίδα (ομάδα R), σελ. 30
L-αμινοξύ, σελ. 30
διπολικό ή αμφοτερικό ιόν, σελ. 30
πεπτιδικός (αμιδικός) δεσμός, σελ. 36
δισουλφιδικός δεσμός, σελ. 37
πρωτοταγής δομή, σελ. 38
δίεδρη γωνία, σελ. 40
γωνία φ, σελ. 40
γωνία ψ, σελ. 40
διάγραμμα Ramachandran, σελ. 40
δευτεροταγής δομή, σελ. 41
α-έλικα, σελ. 41
άνοδος (μετατόπιση), σελ. 41
β-πτυχωτή επιφάνεια, σελ. 43
β-πτύχωση, σελ. 43
ανάστροφη στροφή (β-στροφή, στροφή φουρκέτας), σελ. 45
ελικοειδές σπείραμα, σελ. 45
επαναληπτική επτάδα, σελ. 45
τριτοταγής δομή, σελ. 47
μοτίβο (υπερδευτεροταγής δομή), σελ. 48
δομική περιοχή, σελ. 49
υπομονάδα, σελ. 49
τεταρτοταγής δομή, σελ. 49
συνεργειακή μετάπτωση, σελ. 53
ενδογενώς αδόμητες πρωτεΐνες (IUP), σελ. 56
μεταμορφική πρωτεΐνη, σελ. 56
πρίον, σελ. 57

Ασκήσεις

1. *Ταυτοποιήστε*. Εξετάστε τα παρακάτω αμινοξέα (Α-Δ):



Α Β Γ Δ

Ποιο είναι το όνομα του καθενός, ποια η συντομογραφία του με τρία γράμματα και ποια με ένα γράμμα;

2. *Ιδιότητες*. Αναφορικά με τα αμινοξέα που εμφανίζονται στην άσκηση 1, σε ποια αναφέρονται τα παρακάτω χαρακτηριστικά;

(α) Υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα _____

(β) Βασική πλευρική αλυσίδα _____

(γ) Τρεις ιοντιζόμενες ομάδες _____

(δ) Τιμή pK_a περίπου 10 όταν βρίσκεται σε πρωτεΐνες _____

(ε) Τροποποιημένη μορφή φαινυλαλανίνης _____

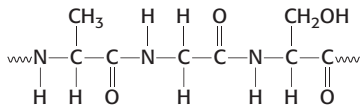
3. *Ταιριάξτε τα*. Ταιριάξτε κάθε αμινοξύ στην αριστερή στήλη με τις ιδιότητές του στη δεξιά στήλη.

(α) Leu	(1) υδροξυλούχο
(β) Glu	(2) όξινο
(γ) Lys	(3) βασικό
(δ) Ser	(4) θειούχο
(ε) Cys	(5) μη πολικό αρωματικό
(στ) Trp	(6) μη πολικό αλειφατικό

4. *Διαλυτότητα*. Στο κάθε ένα από τα παρακάτω ζεύγη αμινοξέων ταυτοποιήστε εκείνο που είναι πιο διαλυτό στο νερό: (α) Ala, Leu· (β) Tyr, Phe· (γ) Ser, Ala· (δ) Trp, His.

5. *Η δέσμευση είναι καλή*. Ποια από τα παρακάτω αμινοξέα έχουν πλευρικές αλυσίδες R οι οποίες έχουν δυνατότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου; Ala, Gly, Ser, Phe, Glu, Tyr, Ile και Thr.

6. *Ονοματίστε τις συνιστώσες*. Εξετάστε το παρακάτω τμήμα της πρωτεΐνης.



(α) Ποια είναι τα τρία αμινοξέα της αλληλουχίας;

(β) Από τα τρία, ποιο είναι το αμινο-τελικό;

(γ) Ταυτοποιήστε τους πεπτιδικούς δεσμούς.

(δ) Ταυτοποιήστε τα άτομα *α*-άνθρακα.

7. *Ποιος είναι φορτισμένος;* Σχεδιάστε τη δομή του διπεπτιδίου Gly-His. Ποιο είναι το φορτίο του πεπτιδίου σε pH 5,5; Σε pH 7,5;

8. *Σούπα αλφαβήτου*. Πόσα διαφορετικά πεπτίδια μήκους πενήντα αμινοξέων μπορούν να παρασκευαστούν από τα 20 κοινά αμινοξέα;

9. *Γλυκό, αλλά και με λίγες θερμίδες*. Η Ασπαρτάμη (NutraSweet), ένα τεχνητό γλυκαντικό, είναι ένα διπεπτίδιο το οποίο αποτελείται από Asp-Phe, όπου το καρβοξυ-τελικό άκρο έχει τροποποιηθεί με την προσθήκη ενός μεθυλίου. Σχεδιάστε τη δομή της Ασπαρτάμης σε pH 7.

10. *Πρωτεΐνες σπονδυλωτών;* Τι σημαίνει ο όρος *πολυπεπτιδικός κορμός*;

11. *Όχι ένα απλό προσάρτημα*. Να δώσετε τον ορισμό του όρου *πλευρική αλυσίδα*, στο πλαίσιο της δομής ενός αμινοξέος ή μιας πρωτεΐνης.

12. *Ένα από πολλά*. Κάντε τη διάκριση ανάμεσα στην *αλληλουχία αμινοξέων* και στη *σύσταση αμινοξέων*.

13. *Σχήμα και διαστάσεις*. (α) Η τροπομυοσίνη είναι μια μυϊκή πρωτεΐνη 70 kd αποτελούμενη από δύο αλυσίδες με δομή *α*-έλικας που είναι υπερελικωμένες. Καθορίστε το μήκος του μορίου. (β) Έστω ότι ένα τμήμα της πρωτεΐνης, μήκους 40 αμινοξέων, αναδιπλώνεται σε μια δομή από δύο αλυσίδες με αντιπαράλληλη *β*-δομή και 4 κατάλοιπα σε στροφή φουρκέτας. Ποιο μπορεί να είναι το μέγιστο μήκος αυτού του μοτίβου;

14. *Αντίθετα ισομερή*. Όταν η πολυ-L-λευκίνη βρίσκεται σε οργανικό διαλύτη, όπως το διοξάνιο, έχει δομή *α*-έλικας. Η πολυ-L-ισολευκίνη παρόλο που έχει τον ίδιο αριθμό αμινοξέων και τα ίδια είδη ατόμων δεν έχει δομή *α*-έλικας στο διοξάνιο. Εξηγήστε γιατί τα δύο αμινοξέα έχουν διαφορετικές δομικές προτιμήσεις.

15. *Εξαιρέσεις στον κανόνα*. Τα διαγράμματα Ramachandran για δύο αμινοξέα διαφέρουν σημαντικά από εκείνο που παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.23. Ποια είναι αυτά τα δύο αμινοξέα και γιατί;

16. *Η δραστικότητα ξανακερδίζεται*. Μια μετάλλαξη που τροποποιεί μια αλανίνη σε βαλίνη στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης οδηγεί σε απώλεια της δραστικότητάς της. Μια δεύτερη μετάλλαξη όμως που τροποποιεί μια ισολευκίνη σε γλυκίνη επαναφέρει τη δραστικότητα, αν και συμβαίνει σε τελείως διαφορετικό σημείο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Πώς μπορεί η δεύτερη μετάλλαξη να επαναφέρει τη δραστικότητα;

17. *Ζητήματα έκθεσης*. Πολλές από τις θηλιές στις πρωτεΐνες αποτελούνται από υδροφιλικά αμινοξέα. Γιατί συμβαίνει αυτό;

18. *Τεστ ανακατανομής*. Απομονώθηκε ένα ένζυμο που καταλύει αντιδράσεις δισουλφιδίων σε σουλφυδρύλια 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. Τι συμπέρασμα μπορούμε να βγάλουμε

από αυτή τη σημαντική παρατήρηση σχετικά με την ινσουλίνη, ιδίως όσον αφορά τη σχέση της αλληλουχίας των αμινοξέων της με τη χωροδιάταξη του μορίου της;

19. *Το άνοιγμα του στόχου*. Η πρωτεάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση ενός πεπτιδικού δεσμού στις πρωτεΐνες-στόχους. Πώς μπορεί μια πρωτεάση να δεσμεύεται στην πρωτεΐνη-στόχο και να την ξεδιπλώνει έτσι ώστε να αποκαλύπτεται ο ζητούμενος ευαίσθητος πεπτιδικός δεσμός;

20. *Συχνά αναντικατάστατη*. Η γλυκίνη είναι ένα υψηλά διατηρημένο αμινοξύ στην εξέλιξη των πρωτεϊνών. Γιατί;

21. *Πιθανοί σύντροφοι*. Προσδιορίστε τις ομάδες μιας πρωτεΐνης που έχουν την ικανότητα να δίνουν δεσμούς υδρογόνου ή ιοντικούς δεσμούς με την πλευρική αλυσίδα της αργινίνης σε pH 7.

22. *Περμανάντ στα μαλλιά*. Το σχήμα των μαλλιών μας καθορίζεται εν μέρει από το είδος των δισουλφιδικών δεσμών στην κερατίνη, την κύρια πρωτεΐνη τους. Πώς μπορούμε να κάνουμε τα μαλλιά σγουρά;

23. *Η θέση είναι το παν 1*. Οι περισσότερες πρωτεΐνες έχουν υδρόφιλο εξωτερικό και υδρόφοβο εσωτερικό. Θα αναμένατε αυτή η δομή να ισχύει και για πρωτεΐνες που είναι ενσωματωμένες στο υδρόφοβο περιβάλλον μιας μεμβράνης; Εξηγήστε.

24. *Η θέση είναι το παν 2*. Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες συχνά περιέχουν *α*-έλικες. Γνωρίζοντας ότι το εσωτερικό των μεμβρανών είναι ιδιαίτερα υδρόφοβο (Υποκεφάλαιο 12.2), σκεφθείτε ποιος τύπος αμινοξέων μπορεί να ταιριάζει σε μια τέτοια έλικα. Γιατί είναι η *α*-έλικα τόσο κατάλληλη για δομές στα υδρόφοβα περιβάλλοντα του εσωτερικού των μεμβρανών;

25. *Πίεση των συνομιλήκων της γειτονιάς;* Ο Πίνακας 2.1 δείχνει τις τυπικές τιμές της pK_a για τις ιοντισμένες ομάδες των πρωτεϊνών. Ωστόσο, έχουν προσδιοριστεί περισσότερες από 500 τιμές pK_a για μεμονωμένες ομάδες στις αναδιπλωμένες πρωτεΐνες. Εξηγήστε αυτή τη διαφορά.

26. *Λιπαρές κηλίδες*. Οι υπομονάδες *α* και *β* της αιμοσφαιρίνης παρουσιάζουν αξιοσημείωτη δομική ομοιότητα με τη μυοσφαιρίνη. Ωστόσο, ορισμένα κατάλοιπα που είναι υδρόφιλα στη μυοσφαιρίνη, στις υπομονάδες της αιμοσφαιρίνης είναι υδρόφοβα. Γιατί μπορεί να συμβαίνει αυτό;

27. *Ίσως το μέγεθος μετράει*. Η ατελής οστεογένεση παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία συμπτωμάτων, από ήπια μέχρι βαριά. Με βάση τις γνώσεις σας για τη δομή των αμινοξέων και του κολλαγόνου, προτείνετε μια βιοχημική βάση για την ποικιλία των συμπτωμάτων.

28. *Θέματα σταθερότητας*. Οι πρωτεΐνες είναι αρκετά σταθερά μόρια. Η διάρκεια ζωής ενός πεπτιδικού δεσμού σε υδατικό διάλυμα είναι σχεδόν 1.000 χρόνια. Παρ' όλα αυτά, η ελεύθερη ενέργεια της υδρόλυσης των πρωτεϊνών είναι αρνητική και αρκετά μεγάλη. Πώς εξηγείτε τη σταθερότητα των πεπτιδικών δεσμών γνωρίζοντας ότι η υδρόλυσή τους απελευθερώνει πολλή ενέργεια;

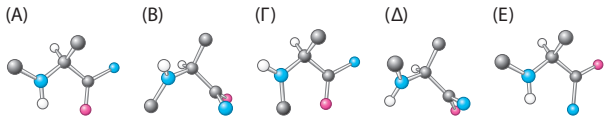
29. *Οι μειοψηφίες*. Για αμινοξέα όπως η αλανίνη, η κύρια μορφή σε pH 7 είναι το αμφοτερικό ιόν. Αν υποθέσουμε ότι $pK_a = 8$ για την αμινική ομάδα και $pK_a = 3$ για την καρβοξυλική ομάδα, υπολογίστε το κλάσμα της συγκέντρωσης των ουδέτερων αμινοξέων (το καρβοξυλικό να είναι πρωτονιωμένο και το αμιδικό ουδέτερο) προς τη συγκέντρωση των αμφοτερικών ιόντων σε pH 7 (Βλ. Υποκεφάλαιο 1.3).

30. *Θέματα σύμβασης*. Όλα τα L-αμινοξέα έχουν απόλυτη διαμόρφωση *S* εκτός από την L-κυστεΐνη που έχει διαμόρφωση *R*. Εξηγήστε γιατί η L-κυστεΐνη έχει διαμόρφωση *R*.

31. *Κρυμμένο μήνυμα*. Γράψτε την αλληλουχία των παρακάτω αμινοξέων με κώδικα ενός γράμματος: Glu – Leu – Val – Ile – Ser – Ile – Ser – Leu – Ile – Val – Ile – Asn – Gly – Ile – Asn – Leu – Ala – Ser – Val – Glu – Gly – Ala – Ser.

32. *Ποιος πάει πρώτος*; Θα περιμένατε από τους πεπτιδικούς δεσμούς Pro-X να τείνουν να έχουν στερεοδιατάξεις cis όπως οι πεπτιδικοί δεσμοί X-Pro; Δικαιολογήστε την απάντησή σας.

33. *Ζευγάρωμα*. Για κάθε ένα από τα παράγωγα αμινοξέων που βλέπετε (Α-Ε) βρείτε τις τιμές φ και ψ που ταιριάζουν (α-ε).



(α)	(β)	(γ)	(δ)	(ε)
$\varphi = 120°$, $\psi = 120°$	$\varphi = 180°$, $\psi = 0°$	$\varphi = 180°$, $\psi = 180°$	$\varphi = 0°$, $\psi = 180°$	$\varphi = -60°$, $\psi = -40°$

34. *Ανακατεμένη ριβονουκλεάση*. Στα πειράματά του για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών, τα αποτελέσματα του Christian Anfinsen ήταν διαφορετικά όταν προκαλούσε επανοξείδωση της ανηγμένης ριβονουκλεάσης σε περιβάλλον 8 M ουρίας, και στη συνέχεια η ουρία απομακρυνόταν μέσω διαπίδυσης. Η ριβονουκλεάση που επανοξειδωνόταν με αυτό τον τρόπο είχε μόνο το 1% της ενζυμικής δραστικότητας της φυσιολογικής πρωτεΐνης. Γιατί ήταν τα αποτελέσματα τόσο διαφορετικά;