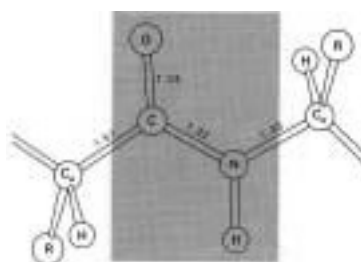


2.3. Πρωτοταγής πρωτεϊνική δομή, δευτεροταγής δομικές ενότητες, τριτοταγής αρχιτεκτονική και τεταρτοταγής οργάνωση

2.3.1. Η πρωτοταγής δομή της πρωτεΐνης

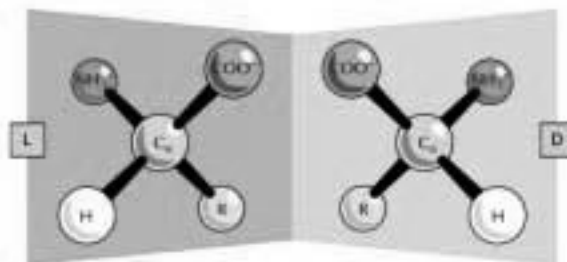
2.3.1.1. Τα αμινοξικά κατάλοιπα

Οι πρωτεΐνες είναι πολυμερικές αλυσίδες που αποτελούνται από μονομερή που καλούνται αμινοξέα (εικόνα 2.7). Όλες οι δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι άμεσα συνδεδεμένες με τις χημικές ιδιότητες της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Υπάρχουν τέσσερα επίπεδα δομικής οργάνωσης στις πρωτεΐνες: Η πρωτοταγής, η δευτεροταγής, η τριτοταγής και η τεταρτοταγής. Ως πρωτοταγής δομή ορίζεται η γραμμική ακολουθία των αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Η δευτεροταγής δομή αναφέρεται σε συγκεκριμένες κανονικές γεωμετρικές στερεοδιατάξεις της αλυσίδας. Η τριτοταγής δομή αναφέρεται στην στερεοδιάταξη της αλυσίδας στο χώρο και είναι αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ατόμων της αλυσίδας. Η τεταρτοταγής δομή είναι η οργάνωση των πρωτεϊνικών υπομονάδων, δηλ δύο ή και περισσότερων πολυπεπτιδικών αλυσίδων.



Εικόνα 2.7. Ένα αμινοξύ αποτελείται από την πεπτιδική ομάδα που είναι επίπεδη και τον ασύμμετρο άνθρακα. Όλες οι αποστάσεις των δεσμών είναι σε Angströms (10^{-10}m).

Τα αμινοξέα είναι οι χημικές μονάδες που συνθέτουν τις πρωτεΐνες και χαρακτηρίζονται από ένα κεντρικό ασύμμετρο άτομο άνθρακα (α -άνθρακας). Το α υποδεικνύει την θέση από όπου αρχίζει η αρίθμηση για όλα τις υπόλοιπες συνδεδεμένες σε αυτόν χημικές υποομάδες. Τέσσερις υποκαταστάτες είναι συνδεδεμένοι σε αυτό τον α -άνθρακα (C_α): Ένας υποκαταστάτης είναι το α πρωτόνιο (H_α), ένας άλλος η πλευρική αλυσίδα ($-R$) που δίνει την χημική ποικιλομορφία των αμινοξέων, ο τρίτος είναι η καρβοξυλική ομάδα ($-COOH$) και η τέταρτη η αμινομάδα ($-NH$). Ο α -άνθρακας είναι το ασύμμετρο κέντρο του αμινοξέος για τα 19 από τα 20 αμινοξέα εκτός της γλυκίνης που έχει ένα πρωτόνιο ως πλευρική αλυσίδα. Η στερεοδιάταξη γύρω από τον α -άνθρακα πρέπει να είναι το L-ισομερές για πρωτεΐνες που συντίθενται στο ριβόσωμα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε μία τυχαία επιλογή της χημικής εξέλιξης όπου το L-ισομερές να επιλέχθηκε από τα πρωτόγονα προβιωτικά συστήματα και παρέμεινε στην εξελικτική ιστορία στον πλανήτη μας.



Εικόνα 2.8. Τα οπτικά στερεοϊσομερή του α-άνθρακα στις πρωτεΐνες.

Οι πλευρικές αλυσίδες έχουν μεγάλη χημική ποικιλομορφία που είναι απαραίτητη για τις μοναδικές λειτουργίες των πρωτεϊνών. Οι πλευρικές αλυσίδες μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες: μη-πολικές, αφόρτιστες πολικές και φορτισμένες πολικές. Το απλούστερο αμινοξύ είναι η γλυκίνη. Η αλανίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη και προλίνη είναι αμινοξέα με αποκλειστικά αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες. Η αλανίνη έχει ένα μεθύλιο ως πλευρική αλυσίδα. Η βαλίνη έχει δύο μεθυλομάδες που συνδέονται στον β-άνθρακα και αυτό το αμινοξύ έχει β-διακλάδωση. Η λευκίνη έχει ένα επιπλέον άτομο άνθρακα στην πλευρική αλυσίδα από την βαλίνη ώστε οι δύο μεθυλομάδες να συνδέονται με τον γ-άνθρακα. Η λευκίνη και η ισολευκίνη είναι ισομερή με μόνη δομική διαφορά στην θέση των μεθυλομάδων. Η ισολευκίνη έχει β-διακλάδωση και ένα δεύτερο ασύμμετρο άνθρακα στην β-θέση. Η προλίνη περιέχει μία αλειφατική αλυσίδα που είναι ομοιολογικά συνδεδεμένη με το άτομο αζώτου της α-αμινομάδας, σχηματίζοντας ένα αμιδικό δεσμό και την δημιουργία ενός πενταμελούς δακτύλιου.

Οι πλευρικές αλυσίδες που είναι γενικά μη-πολικές, έχουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερό γιατί μπορούν να αλληλεπιδρούν μόνο με δυνάμεις Van der Waals με τα άτομα νερού. Αντίθετα τα υπόλοιπα αμινοξέα περιέχουν ετεροάτομα στις πλευρικές τους αλυσίδες και έτσι έχουν περισσότερες δυνατότητες αλληλεπίδρασης. Τα μη φορτισμένα μέλη της ομάδας των πολικών αμινοξέων περιέχουν: την σερίνη, θρεονίνη, ασπαραγίνη, γλουταμίνη, τυροσίνη και τρυπτοφάνη. Η σερίνη, θρεονίνη και τυροσίνη περιέχουν υδροξυλομάδες ώστε να συμπεριφέρονται και σαν δότες και δέκτες πρωτονίων. Η θρεονίνη έχει επίσης μία μεθυλομάδα σε β-διακλάδωση. Ο βενζολικός δακτύλιος της τυροσίνης επιτρέπει την σταθεροποίηση του ανιονικού φαινυλίου με την απώλεια του πρωτονίου του υδροξυλίου, το οποίο έχει μια σταθερά pK περίπου 10. Η σερίνη και η θρεονίνη δεν μπορούν να αποπρωτονιοθούν σε συνηθισμένες τιμές pH . Η ασπαραγίνη και η γλουταμίνη είναι σχετικά πολικές και μπορούν να είναι δότες και δέκτες πρωτονίων σε υδρογονικούς δεσμούς. Το άζωτο και το πρωτόνιο του ινδολικού δακτύλιου της τρυπτοφάνης μπορεί επίσης να συμμετέχει σε αλληλεπιδράσεις με υδρογονικούς δεσμούς.

Μία άλλη ομάδα πολικών αμινοξέων μπορεί να φέρει πλήρες φορτίο ανάλογα με το pH αλλά οι τιμές του pK_a αυτών είναι έτσι διαμορφωμένες ώστε η φορτισμένη μορφή των να παρατηρείται στην περιοχή του ουδέτερου pH ($pH=7$). Αυτή η ομάδα των αμινοξέων περιέχει τα θετικά φορτισμένα αμινοξέα λυσίνη, αργινίνη και ιστιδίνη και τα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα ασπαρτικό και γλουταμικό οξύ και την κυστεΐνη. Η λυσίνη και η αργινίνη είναι δύο βασικά αμινοξέα που φέρουν θετικό φορτίο στο τέλος της πλευρικής τους αλυσίδας. Η α-αμινομάδα της λυσίνης έχει μια τιμή pK_a κοντά στο 10 ενώ η γουανιδομάδα της αργινίνης έχει μία τιμή pK_a περίπου 12. Η ιστιδίνη είναι επίσης βασικό αμινοξύ, με πλευρική ομάδα ένα πενταμελή δακτύλιο που περιέχει δύο άτομα αζώτου. Ένα από τα άτομα αζώτου είναι πρωτονιωμένο αλλά το άλλο έχει μία διαθέσιμη θέση όπου μπορεί να δεχθεί ένα επιπλέον πρωτόνιο και να σχηματίσει μία φορτισμένη ομάδα με pK_a περίπου 6. Το ασπαρτικό και το γλουταμικό οξύ διαφέρουν μόνο στον αριθμό των μεθυλενίων ($-CH_2-$) στην πλευρική αλυσίδα με μία ή δύο μεθυλενομάδες αντίστοιχα. Οι

καρβοξυλομάδες τους είναι πολύ πολικές και μπορούν να δρουν ως δότες και δέκτες πρωτονίων σε υδρογονικούς δεσμούς με τιμές pKa περίπου 4.5.

Πίνακας 2.1

Table 1.1. Properties of amino acid residues

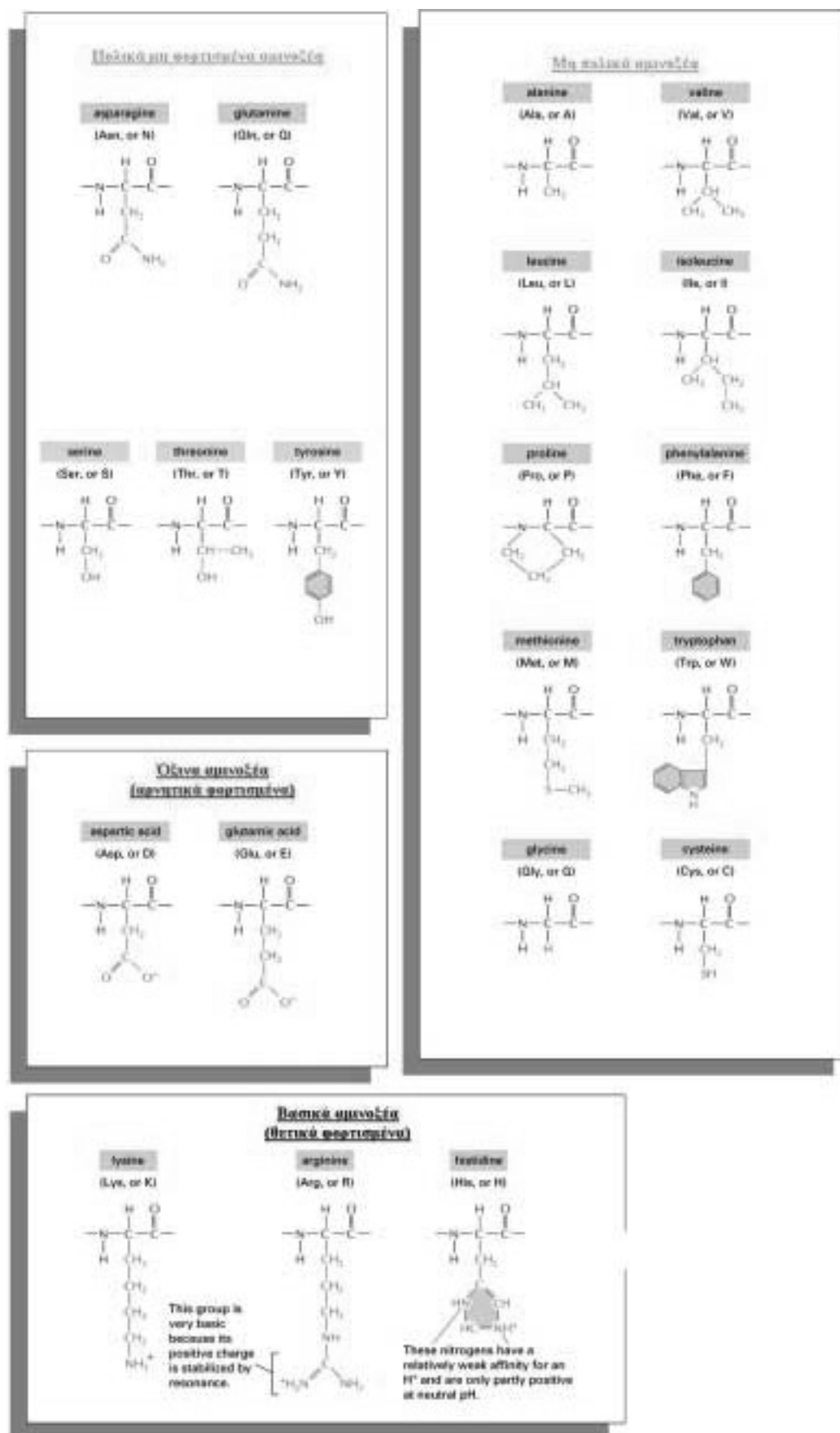
Amino acid residue	van der Waals volume ($\text{\AA}^3$)	Accessible surface area ($\text{\AA}^2$) ^a		Intrinsic pK of ionizable group	Hydrophilicity of side chain (kJ/mol) ^b	Hydrophobicity (kJ/mol)	
		Total residue	Side chain polar atoms			Side chain analogues ^c	N-acetyl amides ^c
Alanine	67	113			-1.89	-3.65	-1.30
Arginine	148	241	107	12.0	-93.66	66.61	4.24
Asparagine	96	158	69		-50.69	21.83	2.52
Aspartic acid	91	151	58	3.9-4.0	-56.02	40.57	3.23
Cysteine	86	140	69	9.0-9.5	-15.24	-1.42	-6.46
Glutamine	114	189	91		-49.43	27.21	0.92
Glutamic acid	109	183	77	4.3-4.5	-53.05	32.55	2.69
Glycine	48	85			0	0	0
Histidine	118	194	49	6.0-7.0	-53.17	23.52	-0.54
Isoleucine	124	182			-1.00	-16.71	-7.56
Leucine	124	180			-0.46	-16.71	-7.14
Lysine	135	211	48	10.4-11.1	-50.02	27.25	4.15
Methionine	124	204	43		-16.25	-5.92	-5.17
Phenylalanine	135	218			-13.23	-8.57	-7.52
Proline	90	143					-3.02
Serine	73	122	36		-31.29	18.23	0.17
Threonine	93	146	28		-30.53	14.74	-1.09
Tryptophan	163	259	27		-34.73	-5.84	-9.45
Tyrosine	141	229	43	10.0-10.3	-35.7	4.54	-4.03
Valine	105	160			-1.68	-13.02	-5.12

^a Measured in a Gly-X-Gly tripeptide in an extended conformation [Miller, S., Janin, J., Lesk, A.M., and Chothia, C. (1987) *J. Mol. Biol.*, **196**, 641].

^b Hydrophilicity was measured by the partition coefficient of the model for each side chain (backbone replaced by hydrogen atom) from vapour $\rightarrow$ water, hydrophobicity from water $\rightarrow$ cyclohexane. For ionizing side chains, the values were corrected for the fraction of each side chain that is ionized at pH 7. Both scales were normalized to zero for the value for Gly [Radzicka, A. and Wollenden, R. (1988) *Biochemistry*, **27**, 1664].

^c Measured from the partition coefficient between water and octanol of the N-acetyl amino acid amides [Faucett, J. and Pliska, V. (1983) *Eur. J. Med. Chem.*, **18**, 369].

Εικόνα 2.9. Οι 20 πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων.



Το σουλφιδρίλιο της κυστεΐνης μπορεί να ιονίζεται σε σχετικά αλκαλικές τιμές pH με pKa κοντά στο 9. Στην θειολική μορφή μπορεί να αντιδρά με άλλο ένα σουλφιδρίλιο για να σχηματίζει ένα δισουλφιδικό δεσμό που είναι αντιστρεπτός με αναγωγή. Η μεθειονίνη έχει μία μακρύτερη αλκυλική αλυσίδα που περιέχει ένα ετεροάτομο θείου αλλά είναι υδρόφοβη. Αυτό το άτομο θείου είναι αδρανές και δεν δρα ως δέκτης υδρογονικών δεσμών.

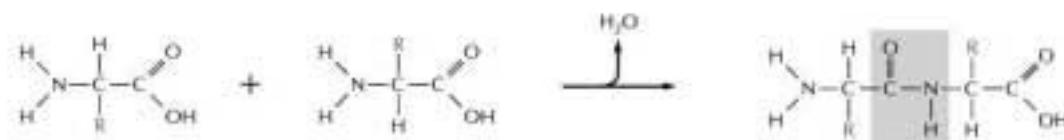
Τα αμινοξέα μπορούν να ομαδοποιηθούν και με άλλους τρόπους. Μία ομάδα τριών αμινοξέων που περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους είναι η φαινυλαλανίνη, η ιστιδίνη, η τρυπτοφάνη και η τυροσίνη. Ο αρωματικός δακτύλιος της φαινυλαλανίνης είναι όμοιος με αυτό του βενζολίου ή του τολουενίου. Είναι πολύ υδρόφοβος και χημικά ενεργός μόνο σε ακραίες συνθήκες, αλλά τα ηλεκτρόνια του δακτυλίου μπορούν εύκολα να πολωθούν. Οι πλευρική αλυσίδα της ιστιδίνης μπορεί να θεωρηθεί αρωματική. Ακολουθεί τους ηλεκτρονικούς κανόνες στην πρωτονιωμένη της κατάσταση αλλά δεν παρουσιάζει την χαρακτηριστική απορρόφηση στην εγγύτερη υπεριώδη περιοχή του φάσματος όπως τα άλλα τρία αρωματικά αμινοξέα. Το υπεριώδες φάσμα των τριών άλλων αρωματικών αμινοξέων είναι χαρακτηριστικό όπως και οι συντελεστές απορρόφησης και αυτές οι ιδιότητες αντικατοπτρίζονται στο ηλεκτρονικό φάσμα των πολυπεπτιδίων που τα περιέχουν.

Τέλος η α-αμινο και η α-καρβοξυλομάδα των αμινοξέων μπορούν επίσης να ιονίζονται, κατέχοντας τιμές pKa 6.8-7.9 και 3.5-4.3 αντίστοιχα για τα αλιφατικά αμινοξέα ενώ οι γειτονικές φορτισμένες ομάδες των πολικών αμινοξέων μπορούν να τροποποιούν τις τιμές pKa αυτών των ομάδων.

Κάθε αμινοξύ που ενσωματώνεται στην πολυπεπτιδική αλυσίδα αναφέρεται ως αμινοξικό κατάλοιπο. Ετσι μόνο τα αμινοτελικά και τα καρβοξυλοτελικά κατάλοιπα κατέχουν α-αμινο και α-καρβόξυ ομάδες που είναι διαθέσιμες.

2.3.2.2. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα

Για να σχηματισθεί η πολυμερική πρωτεϊνική αλυσίδα από τα μονομερή αμινοξέα, αυτά συνδέονται μεταξύ τους με την απώλεια ενός μορίου νερού. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα όταν ένα μόριο νερού χάνεται μεταξύ της καρβοξυλομάδας ενός αμινοξέος και της αμινομάδας του επομένου με την δημιουργία ενός δεσμού C-N. Αυτές οι αντιδράσεις πολυμερισμού συμβαίνουν στο ριβόσωμα και απαιτούν ενέργεια. Τα ριβοσώματα, σύμπλοκα πρωτεϊνών και RNA, μεταφράζουν μία νουκλεοτιδική ακολουθία, ένα γονίδιο, σε πρωτεϊνική. Τα 20 αμινοξέα κωδικοποιούνται με από το γονίδιο και προστίθενται από τον ριβοσωμικό μηχανισμό κατά την διάρκεια της πρωτεϊνοσύνθεσης. Άλλες τροποποιήσεις στην αμινοξική ακολουθία συμβαίνουν με τις μεταβιοσυνθετικές αλλαγές.



Εικόνα 2.10. Ο σχηματισμός του πεπτιδικού δεσμού με την απώλεια ενός μορίου νερού.

Η αντίθετη αντίδραση της υδρόλυσης του πεπτιδικού δεσμού δεν συμβαίνει επίσης από μόνη της. Μπορεί να επιτευχθεί χημικά, αλλά μόνο με ακραίες συνθήκες. Για παράδειγμα, η επεξεργασία με ισχυρά οξειδωτικά (1M HCl) και βρασμό στους 100°C για μερικές ώρες μπορεί να επιτύχει την υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών. Ετσι φαίνεται ότι οι πρωτεΐνες είναι χημικά και βιολογικά σταθερές εκτός εάν αποπολυμερίζονται (υδρολύονται) επί τούτου. Η αποδόμηση των πολυπεπτιδίων σε ξεχωριστά αμινοξέα μπορεί να υποβοηθηθεί από υδρολυτικά ένζυμα.

Πολλές πρωτεΐνες είναι ετεροπολυμερή (δηλαδή περιέχουν τα περισσότερα ή και όλα τα διαφορετικά αμινοξέα). Σπανιότερα περιοχές πρωτεϊνών αποτελούνται από συγκεκριμένα αμινοξέα. Συνεπώς κάθε περιοχή μιας τυπικής πρωτεΐνης θα δημιουργεί ένα ετερόλογο χημικά περιβάλλον. Αυτό ενισχύεται περισσότερο με τα υψηλότερα επίπεδα οργάνωσης της πρωτεϊνικής δομής, δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή.

2.3.2.3. Ο πεπτιδικός δεσμός.

Ο πεπτιδικός δεσμός μεταξύ δύο αμινοξέων είναι μία ιδιαίτερη περίπτωση αμιδικού δεσμού που περιβάλλεται εκατέρωθεν από α-άνθρακες. Οι γωνίες και τα μήκη δεσμών είναι γνωστά από πολλές παρατηρήσεις σε πρωτεϊνοδομές. Ο πεπτιδικός δεσμός (C-N) έχει μήκος 1.33Å, λίγο μικρότερος από ένα απλό δεσμό (όχι πεπτιδικό) C-N, αλλά μακρύτερος από ένα διπλό δεσμό όπως C=O με μήκος 1.23Å (εικόνα 2.7).

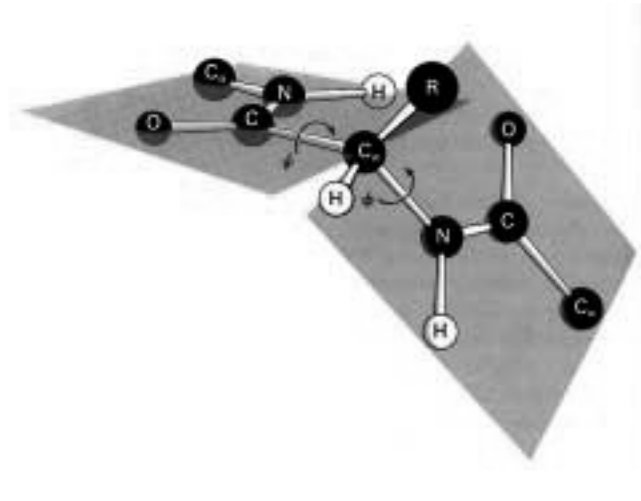
Τα μήκη των δεσμών όπως και οι γωνίες αντικατοπτρίζουν την κατανομή ηλεκτρονίων μεταξύ ατόμων, εξ αιτίας της διαφορετικής πολικότητας των ατόμων και του υβριδισμού των δεσμικών τροχιακών. Τα περισσότερα ηλεκτραρνητικά άτομα, O και N, μπορούν να φέρουν μερικά αρνητικά φορτία και τα δύο λιγότερο ηλεκτραρνητικά άτομα, C και H, μπορούν να φέρουν μερικά θετικά φορτία. Η πεπτιδική ομάδα που αποτελείται από αυτά τα τέσσερα άτομα μπορεί να θεωρηθεί ως μία δομή σε κατάσταση συντονισμού. Έτσι ο πεπτιδικός δεσμός έχει χαρακτήρα μερικού διπλού δεσμού που δικαιολογεί και το ενδιάμεσο μήκος δεσμού.

Όπως σε κάθε διπλό δεσμό, η περιστροφή γύρω από τον πεπτιδικό δεσμό (δίδωρη γωνία ω) είναι περιορισμένη με ένα ενεργειακό φράγμα ~ 3 Kcal/mole μεταξύ cis και trans μορφές. Τα δύο ισομερή ορίζονται από την κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας εκατέρωθεν του άξονα του δεσμού. Διαδοχικοί α-άνθρακες στη αλυσίδα ($n, n+1$) βρίσκονται στην ίδια πλευρά του δεσμού στο cis ισομερές και εκατέρωθεν στο trans ισομερές. Για όλα τα αμινοξέα εκτός από την προλίνη η cis μορφή δεν ευνοείται στις πρωτεΐνες εξ' αιτίας στερεικών παρεμποδίσεων μεταξύ διαδοχικών πλευρικών αλυσίδων. Το κλείσιμο του δακτυλίου στην πλευρική αλυσίδα της προλίνης φέρνει το β-άνθρακα μακριά από το προηγούμενο αμινοξύ, οδηγώντας σε ασθενέστερες στερεικές παρεμποδίσεις κατά μήκος του πεπτιδικού δεσμού. Για τα περισσότερα αμινοξέα η αναλογία trans-cis είναι 90-10 ενώ για την προλίνη 70-30.

Επίσης όπως και για κάθε διπλό δεσμό, ορισμένα άτομα βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο που ορίζεται από τον πεπτιδικό δεσμό. Η ομάδα των έξι ατόμων μεταξύ διαδοχικών α-ανθράκων, βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο όπως τα έξι άτομα του αιθυλενίου. Στην trans στερεοδιάταξη του πεπτιδικού δεσμού η πολικότητα των ατόμων οδηγεί στην δημιουργία μιας μόνιμης διπολικής ροπής κατά μήκος του πεπτιδικού δεσμού με το αρνητικό άκρο στην πλευρά του καρβονυλικού οξυγόνου. Το επίπεδο του πεπτιδικού δεσμού έχει σημαντικές συνέπειες στην πολυπεπτιδική δομή.

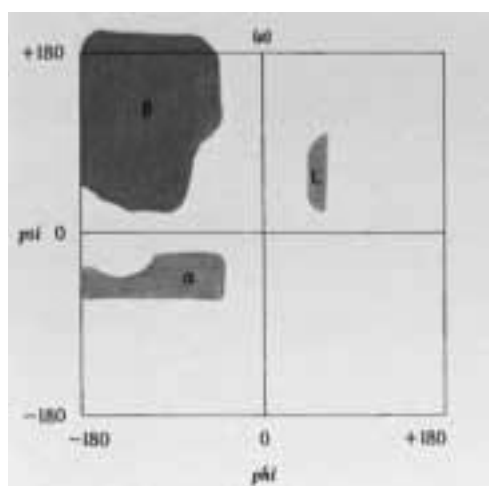
2.3.2.4. Περιορισμοί στις περιστροφές δίδωρων γωνιών

Ενώ η περιστροφή γύρω από τον πεπτιδικό δεσμό είναι περιορισμένη, η περιστροφή γύρω από τους τέσσερις απλούς δεσμούς του α-άνθρακα κάθε αμινοξικού καταλοίπου μπορεί να γίνει ελεύθερα. Δύο από αυτές τις περιστροφές σχετίζονται άμεσα με την στερεοδομή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η δίδωρη γωνία με κεντρικό δεσμό α-άνθρακα-καρβονυλικό άνθρακα ονομάζεται Ψ . Η δίδωρη γωνία με κεντρικό δεσμό α-άνθρακα-άζωτο της αμινομάδας ονομάζεται Φ . Επειδή ο α-άνθρακας είναι ένα από τα έξι άτομα που σχηματίζουν το επίπεδο του πεπτιδικού δεσμού, περιστροφές γύρω από τις γωνίες ϕ και ψ εκατέρωθεν του α-άνθρακα C_α περιστρέφουν ολόκληρο το επίπεδο της πεπτιδικής ομάδας.



Εικόνα 2.11. Ο ορισμός των διέδρων γωνιών ϕ και ψ γύρω από τον α -άνθρακα.

Μερικές τιμές των διέδρων γωνιών ϕ και ψ δεν είναι δυνατές εξ' αιτίας στερικών παρεμποδίσεων. Οι επιτρεπτές περιοχές των τιμών ϕ και ψ διαφέρουν για κάθε αμινοξύ λόγω των διαφορετικών υποκαταστάσεων στην πλευρική αλυσίδα. Ακόμα και για την γλυκίνη ($R=H$) ορισμένες τιμές δεν είναι επιτρεπτές. Το διάγραμμα των επιτρεπτών τιμών των γωνιών ϕ και ψ λέγεται διάγραμμα Ramachandran. Οι επιτρεπτές περιοχές μπορούν να οριστούν σαν τιμές ενεργειακού κόστους που απαιτείται για την είσοδο στις μή επιτρεπτές περιοχές. Για αμινοξέα με διακλάδωση στο β -άνθρακα οι περιορισμοί είναι μεγάλοι και μόνον μικρές περιοχές του χώρου τιμών (ϕ - ψ) είναι επιτρεπτές. Για την βαλίνη και την ισολευκίνη μόλις το 5% του χώρου (ϕ - ψ) είναι επιτρεπτό. Όλα τα αμινοξικά κατάλοιπα μπορούν να πάρουν τιμές από την άνω και κάτω αριστερή περιοχή του διαγράμματος Ramachandran (εικόνα 2.12). Αυτές οι περιοχές αντιστοιχούν σε συνδυασμούς τιμών των γωνιών ϕ και ψ που χαρακτηρίζουν τις δύο περισσότερο κοινές δευτεροταγείς στερεοδομές που μπορεί να πάρει η πολυπεπτιδική αλυσίδα, την α -έλικα και την β -πτυχωτή επιφάνεια. Μεταξύ της περιοχής της α -έλικας και της περιοχής της β -πτυχωτής επιφάνειας υπάρχει ένα ενεργειακό φράγμα. Έτσι η εναλλαγή στερεοδομών από α -έλικα σε β -πτυχωτή επιφάνεια παρεμποδίζεται παρ' ότι τα περισσότερα αμινοξέα μπορούν να πάρουν και τις δύο στερεοδομές.

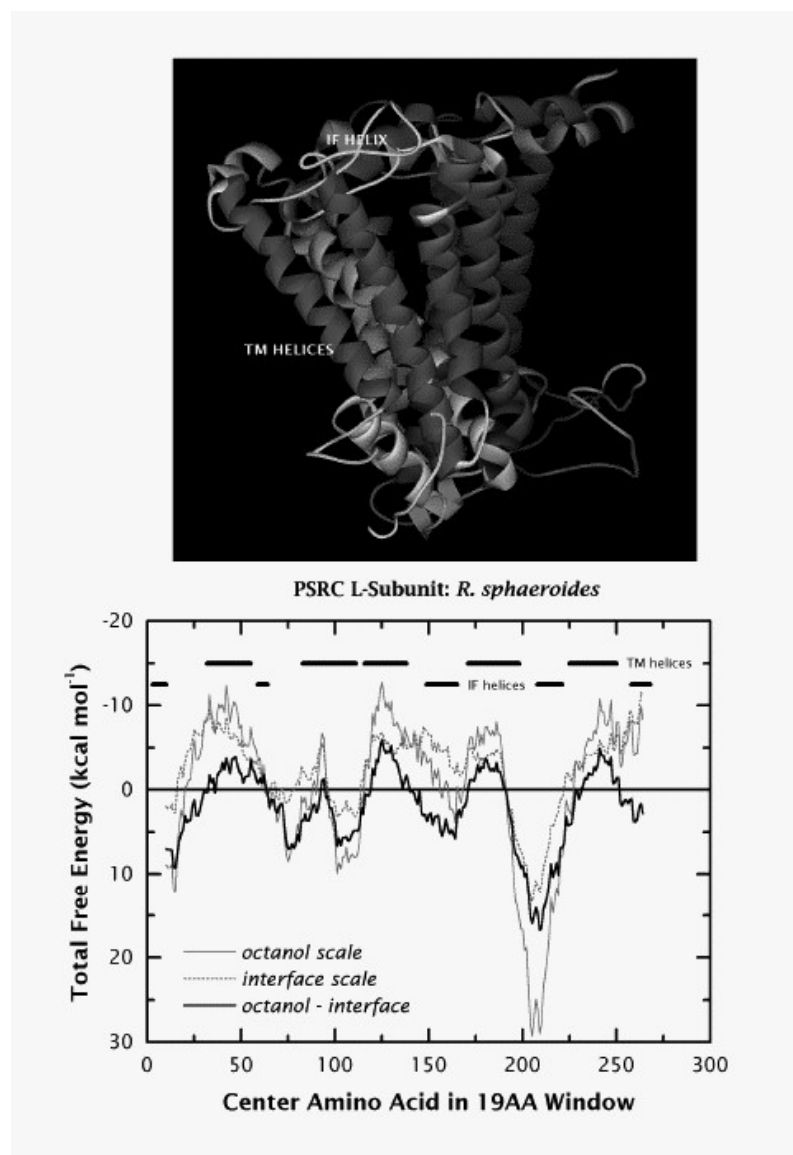


Εικόνα 2.12. Το διάγραμμα Ramachandran των γωνιών ϕ και ψ . Η κόκκινη περιοχή υποδεικνύει την β -πτυχωτή επιφάνεια και η μπλε την α -έλικα (δεξιόστροφη). Πράσινη είναι η περιοχή της αριστερόστροφης έλικας (για γλυκίνες).

Από πρόσφατες δομικές αναλύσεις προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα: Πρώτα ότι υπάρχει απόκλιση από τον επίπεδο πεπτιδικό δεσμό σε μεγάλο ποσοστό. Αυτό επιτρέπει την αύξηση των επιτρεπτών περιοχών τιμών ϕ και ψ και την ελάττωση του ενεργειακού φράγματος μεταξύ α -έλικας και β -πτυχωτής επιφάνειας. Κατά δεύτερο λόγο για συγκεκριμένα αμινοξέα, κυρίως μικρά πολικά αμινοξέα, παρατηρούνται πληθώρα τιμών ϕ/ψ εκτός των επιτρεπτών περιοχών. Πιθανώς αυτά να σχηματίζουν τοπικές αλληλεπιδράσεις που να αντισταθμίζουν ενεργειακά την συνεισφορά που απαιτείται για αυτές τις περιοχές ϕ/ψ .

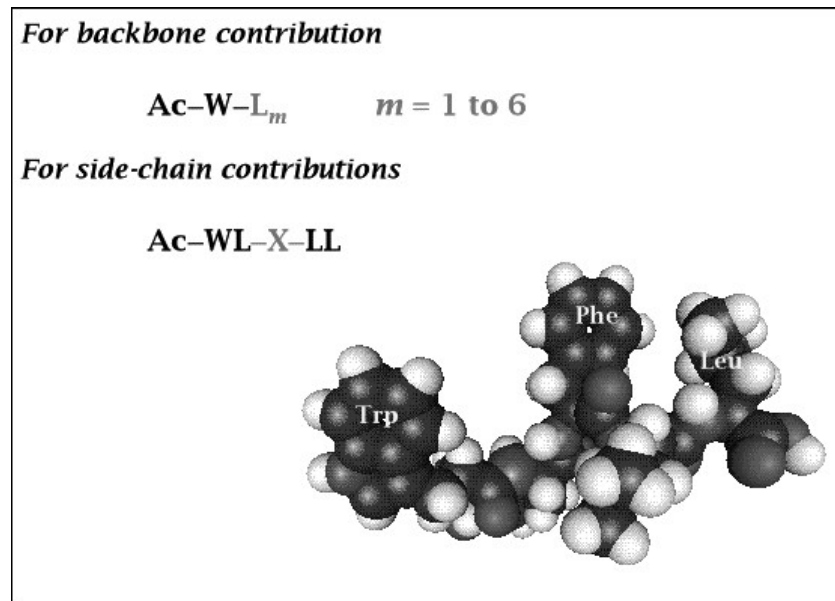
2.3.2.5. Η κλίμακα υδροφοβικότητας / πολικότητας των αμινοξέων

Η κλίμακα υδροφοβικότητας / πολικότητας των αμινοξέων είναι απαραίτητη για την κατανόηση των ενεργειακών μεγεθών στο δίπλωμα της πρωτεΐνης αλλά και στην αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης με άλλες ή και το περιβάλλον (πολικό ή υδρόφοβο) που βρίσκεται (εικόνα 2.13).



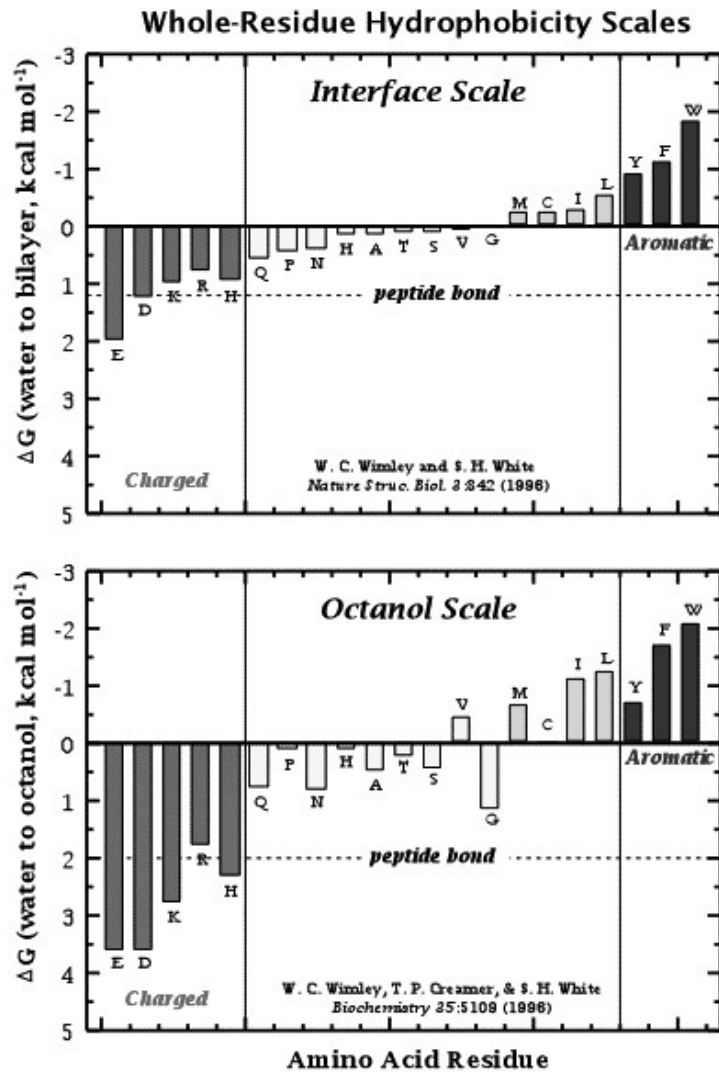
Εικόνα 2.13. Διάγραμμα της ολικής ελεύθερης ενέργειας (που εκφράζει την υδροφοβικότητα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας) κατά μήκος της αμινοξικής ακολουθίας μεμβρανικής πρωτεΐνης.

Οι κλίμακες υδροφοβικότητας αποτελούνται από πειραματικές μετρήσεις της ελεύθερης ενέργειας μεταφοράς για κάθε αμινοξύ. Δύο κλίμακες είναι απαραίτητες: Μία για την μεταφορά ξεδιπλωμένων αλυσίδων από νερό σε διλιπιδική επιφάνεια και μία για την μεταφορά διπλωμένων αλυσίδων από νερό σε λιπόφιλο διαλύτη. Η συμμετοχή του πεπτιδικού δεσμού στον υπολογισμό είναι απαραίτητη γιατί ολόκληρα αμινοξικά κατάλοιπα και όχι μόνο πλευρικές αλυσίδες συμμετέχουν στις πραγματικές αλληλεπιδράσεις. Οι κλίμακες που παρατίθενται είναι για POPC διλιπιδική επιφάνεια και η-οκτανόλη σε δύο οικογένειες πεπτιδίων : πενταπεπτίδια της μορφής AcWL-X-LL για τον καθορισμό της υδροφοβικότητας της πλευρικής αλυσίδας και της ομόλογης σειράς AcWL_m (m=1-6) για τον καθορισμό της υδροφοβικότητας του πεπτιδικού δεσμού (Εικόνα 2.14).



Εικόνα 2.14.

Οι δύο κλίμακες επιτρέπουν την σύγκριση μεταξύ διλιπιδικής στοιβάδας και υδρόφοβου διαλύτη. Η ολική ελεύθερη ενέργεια μεταφοράς αμινοξικών καταλοίπων δίνεται στην εικόνα 2.15 και τον πίνακα 2.2.



Εικόνα 2.15. Η ολική ελεύθερη ενέργεια μεταφοράς αμινοξικών καταλοίπων για POPC διλιπιδική επιφάνεια και η-οκτανόλη.

Πίνακας 2.2. Κλίμακα υδροφοβικότητας που δίνει την ελεύθερη ενέργεια μεταφοράς ΔG (kcal/mol) από νερό σε POPC στοιβάδα (*wif*) και *n*-octanol (*woct*).

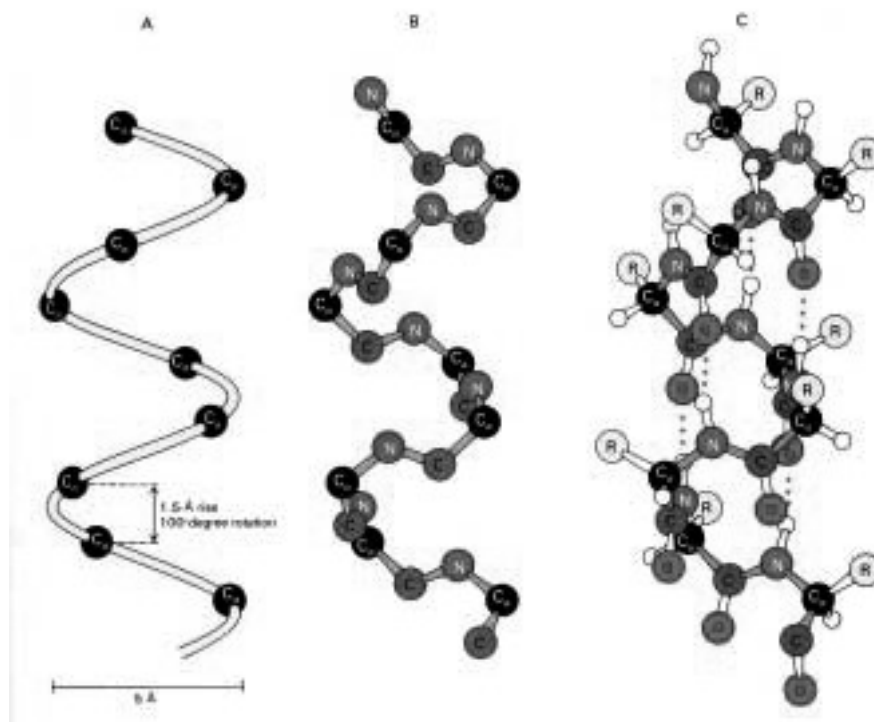
Amino Acid	Interface Scale ΔG_{wif} (kcal/mol)	Octanol Scale ΔG_{woct} (kcal/mol)	Octanol - Interface Scale
Ala	0.17 ± 0.06	0.50 ± 0.12	0.33 ± 0.12
Arg ⁺	0.81 ± 0.11	1.81 ± 0.13	1.00 ± 0.17
Asn	0.42 ± 0.06	0.85 ± 0.12	0.43 ± 0.13
Asp ⁻	1.23 ± 0.07	3.64 ± 0.17	2.41 ± 0.18
Asp ⁰	-0.07 ± 0.11	0.43 ± 0.13	0.50 ± 0.17
Cys	-0.24 ± 0.06	-0.02 ± 0.13	0.22 ± 0.14
Gln	0.58 ± 0.08	0.77 ± 0.12	0.19 ± 0.14
Glu ⁻	2.02 ± 0.11	3.63 ± 0.18	1.61 ± 0.21
Glu ⁰	-0.01 ± 0.15	0.11 ± 0.12	0.12 ± 0.19
Gly	0.01 ± 0.05	1.15 ± 0.11	1.14 ± 0.12
His ⁺	0.96 ± 0.12	2.33 ± 0.11	1.37 ± 0.16
His ⁰	0.17 ± 0.06	0.11 ± 0.11	-0.06 ± 0.13
Ile	-0.31 ± 0.06	-1.12 ± 0.11	-0.81 ± 0.13
Leu	-0.56 ± 0.04	-1.25 ± 0.11	-0.69 ± 0.12
Lys ⁺	0.99 ± 0.11	2.80 ± 0.11	1.81 ± 0.16
Met	-0.23 ± 0.06	-0.67 ± 0.11	-0.44 ± 0.13
Phe	-1.13 ± 0.05	-1.71 ± 0.11	-0.58 ± 0.12
Pro	0.45 ± 0.12	0.14 ± 0.11	-0.31 ± 0.16
Ser	0.13 ± 0.08	0.46 ± 0.11	0.33 ± 0.14
Thr	0.14 ± 0.06	0.25 ± 0.11	0.11 ± 0.13
Trp	-1.85 ± 0.06	-2.09 ± 0.11	-0.24 ± 0.13
Tyr	-0.94 ± 0.06	-0.71 ± 0.11	0.23 ± 0.13
Val	0.07 ± 0.05	-0.46 ± 0.11	-0.53 ± 0.12

2.3.3. Οι δευτεροταγείς δομές της πρωτεΐνης.

Οι περιορισμοί που προκύπτουν από την στεreoχημική παρεμπόδιση μεταξύ ατόμων της κύριας και της πλευρικής αλυσίδας είναι ο κυρίως λόγος δημιουργίας των α και β στερεοδομών. Επειδή οι περιορισμοί στις τιμές ϕ/ψ προκύπτουν για κάθε αμινοξύ δεν υπάρχει άμεση σύνδεση στεreoχημικών παρεμποδίσεων της α/β στερεοδομής και του τύπου του αμινοξέος (εκτός της προλίνης). Όμως μία ακολουθία αμινοξέων με παρόμοιες τιμές ϕ/ψ δημιουργεί μία α -έλικα ή β -πτυχωτή επιφάνεια σε ένα τμήμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Επομένως οι δευτεροταγείς δομές οφείλουν την δημιουργία τους και στις παρεμποδίσεις της κύριας αλλά και της πλευρικής αλυσίδας. Αυτό το συμπέρασμα βοηθά σημαντικά στην κατανόηση της προέλευσης των πρωτεϊνικών δευτεροταγών δομών. Οι στερεοδομές αυτές είναι ενεργειακά επιθυμητές για την πολυπεπτιδική αλυσίδα κάτω από όλες τις συνθήκες ανεξάρτητα της σύνθεσης της.

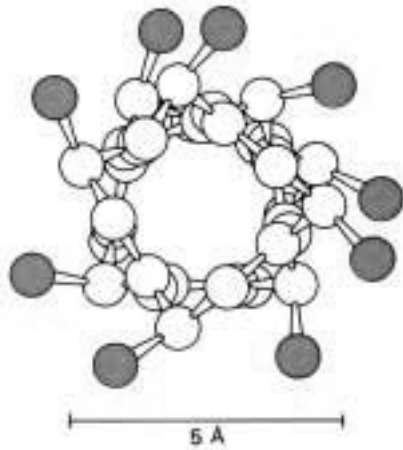
2.3.3.1. α -Έλικα

Η στερεοδομή της έλικας μοιάζει με ελατήριο (εικόνα 2.16Α). Η δεξιόστροφη α -έλικα που ορίζεται με ένα μήκος επανάληψης 3.6 αμινοξέα και βήμα 5.4Å ανά στροφή είναι η πλέον συνηθισμένη μορφή έλικας στις πρωτεΐνες. Σε αυτή τα κατάλοιπα $n+3$ και $n+4$ βρίσκονται πλησιέστερα στο κατάλοιπο n . Οι διαστάσεις και το βήμα της έλικας φέρνουν κοντά επίσης τις διπολικές ροπές διαδοχικών πεπτιδίων ώστε τα ετερόνυμα φορτία να εξουδετερώνονται σημαντικά στο μέσον της έλικας. Στα άκρα της έλικας η διπολική ροπή δεν εξουδετερώνεται δημιουργώντας μία μακροδιπολική ροπή περίπου $\frac{1}{2}$ ηλεκτρονικού φορτίου σε κάθε άκρο. Η ιδιότητα αυτή χρησιμοποιείται από ορισμένες πρωτεΐνες αλλά μπορεί και να απαιλειωθεί με την κατανομή γειτονικών φορτισμένων πλευρικών αλυσίδων.



Εικόνα 2.16. Η δεξιόστροφη α -έλικα (Α) Σχηματικά με τους α -άνθρακες, (Β) μόνον N-Cα-C' της κύριας αλυσίδας, και (C) με όλα τα άτομα της κύριας αλυσίδας.

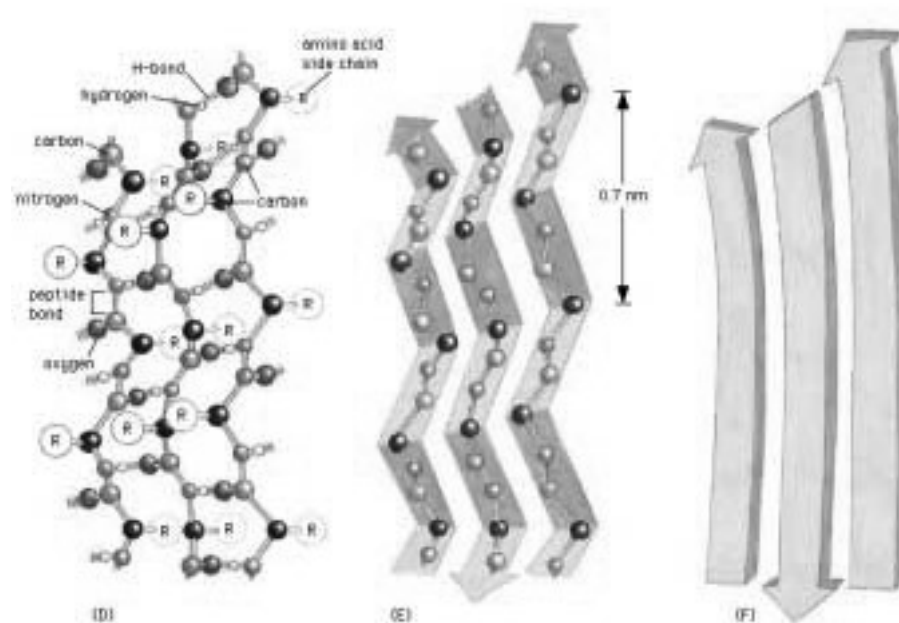
Το βήμα και οι διαστάσεις της έλικας επίσης φέρνουν το πρωτόνιο του αμιδίου του αμινοξέος $n+3$ ή $n+4$ κοντά στο καρβονυλικό οξυγόνο του αμινοξέος n (εικόνα 2.16C) ώστε να υπάρχει η δυνατότητα δημιουργίας υδρογονικού δεσμού. Στην έλικα όλοι οι δότες και οι δέκτες πρωτονίων των πεπτιδικών ομάδων συμμετέχουν στη δημιουργία υδρογονικών δεσμών εκτός από τα ακραία πεπτιδία και στα δύο άκρα. Οι υδρογονικοί δεσμοί συμμετέχουν στην δημιουργία μιας σταθερής ελικοειδούς στερεοδομής.



Εικόνα 2.17. Προβολή της α -έλικας κάθετα στον άξονά της. Με πράσινο αναπαρίστανται οι θέσεις των πλευρικών αλυσίδων.

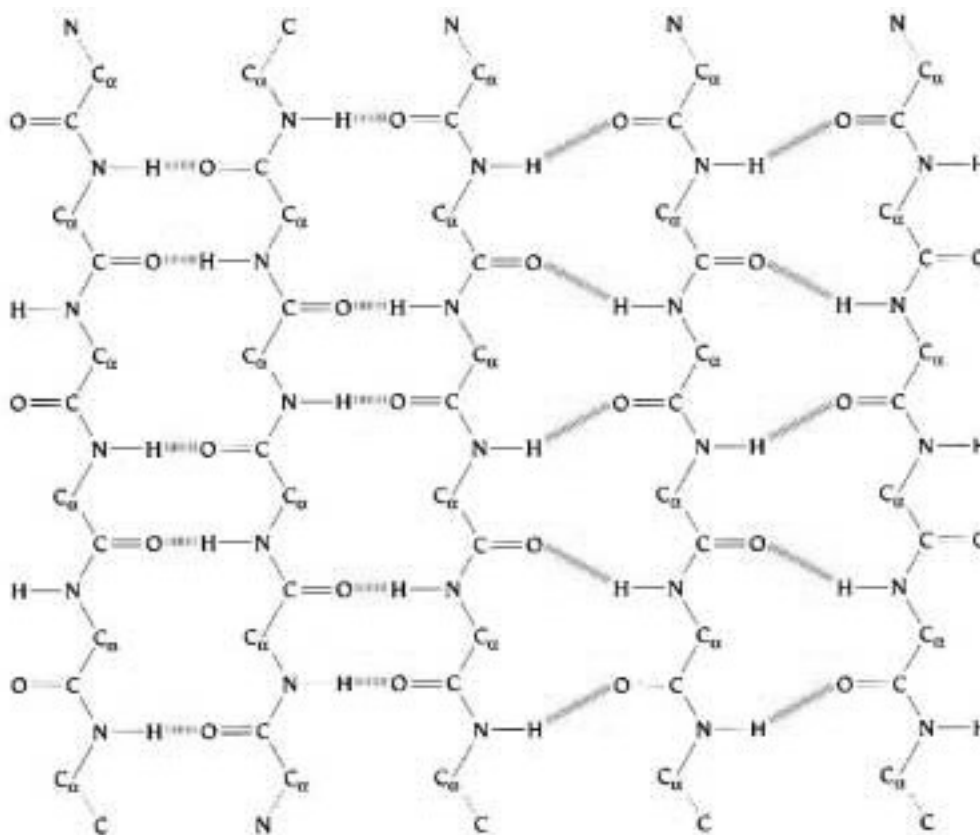
2.3.3.2. β -Κλώνοι και β -πτυχωτές επιφάνειες.

Οι β -κλώνοι είναι το άλλο στοιχείο κανονικής δευτεροταγούς στερεοδομής που παρατηρούνται στις πρωτεΐνες. Είναι εκτεταμένες στερεοδομές όπου οι διαδοχικές διπολικές ροπές των πεπτιδίων εναλλάσσονται σε κατεύθυνση κατά μήκος της αλυσίδας.



Εικόνα 2.18. Η β -πτυχωτή επιφάνεια αποτελείται από β -κλώνους σε παράλληλη ή αντιπαράλληλη διάταξη.

Επειδή η δομή είναι εκτεταμένη η στερεοχημική παρεμπόδιση των ομάδων είναι μικρότερη και έτσι οι περιορισμοί των φ/ψ δίδρων γωνιών μικρότεροι από την α-έλικα. Δύο ή περισσότερα τμήματα β-κλώνων μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με εναλλασσόμενους υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ του πρωτονίου του αμιδίου ενός κλώνου και του καρβονυλικού οξυγόνου του άλλου κλώνου και να σχηματίζουν μία β-πτυχωτή επιφάνεια. Αντίθετα με τις ελικοειδείς στερεοδομές στους υδρογονικούς δεσμούς όλοι οι δότες και οι δέκτες πρωτονίων των πεπτιδικών ομάδων που συμμετέχουν ανήκουν σε γειτονικούς στο χώρο β-κλώνους που όμως μπορεί να βρίσκονται μακριά στην αμινοξική ακολουθία. Έτσι οι β-κλώνοι δεν υπάρχουν ανεξάρτητα αλλά σε ομάδες (δύο ή και περισσότερα). Η κατεύθυνση της κύριας αλυσίδας γειτονικών β-κλώνων μπορεί να είναι παράλληλη οπότε σχηματίζονται παράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες ή αντιπαράλληλη οπότε σχηματίζονται αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες. Στην ίδια β-πτυχωτή επιφάνεια μπορεί να παρατηρούνται και οι δύο περιπτώσεις. Η αντιπαράλληλη διάταξη των β-κλώνων είναι ενεργειακά περισσότερο σταθερή γιατί οι υδρογονικοί δεσμοί που σχηματίζονται είναι περισσότερο γραμμικοί (εικόνα 19α,β) .



Εικόνα 2.19. Αντιπαράλληλες (Α) και παράλληλες (Β) πτυχωτές επιφάνειες.

2.3.3.3. Στροφές και βρόγχοι.

Οι στροφές ή βρόγχοι μπορούν να θεωρηθούν επίσης ως στοιχεία δευτεροταγούς δομής αλλά αντίθετα με τις έλικες και τους β-κλώνους δεν έχουν κανονική επαναλαμβανόμενη γεωμετρία. Η στερεοδομή των στροφών χαρακτηρίζεται από ορισμένες τιμές φ/ψ και συχνά απαιτούνται συγκεκριμένοι τύποι αμινοξικών ακολουθιών και σχήματα υδρογονικών δεσμών. Οι περισσότερες στροφές έχουν τοπικό χαρακτήρα στην πρωτοταγή δομή, αλλά υπάρχουν και βρόγχοι όπου μεταξύ των αμινοξέων που σχηματίζουν την αλληλεπίδραση και που η στερεοδομή τους και συχνά ο τύπος τους είναι καθορισμένος, μεσολαβούν και άλλα αμινοξέα.

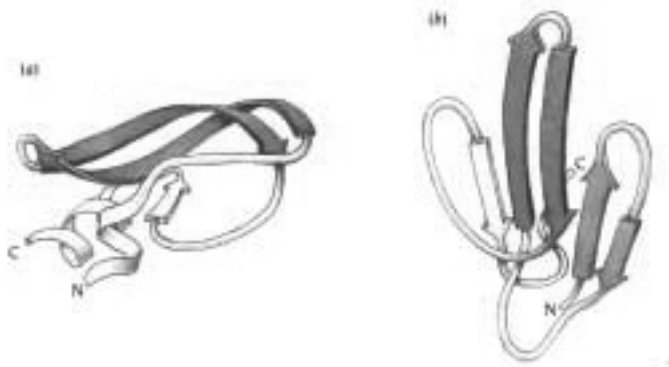
Οι στροφές επιτρέπουν στην πολυπεπτιδική αλυσίδα να αναδιπλώνεται δημιουργώντας τριτοταγείς αλληλεπιδράσεις. Συνήθως αυτές οι αλληλεπιδράσεις είναι μακράς εμβέλειας και έχουν ως αποτέλεσμα την σύμπτυξη της πρωτεΐνης σε μία σφαιρική μορφή. Οι περιοχές των στροφών γενικά βρίσκονται στην επιφάνεια της σφαιροειδούς μορφής με τις έλικες και τις β-πτυχωτές επιφάνειες στο εσωτερικό. Οι περιοχές στροφής στην επιφάνεια των πρωτεϊνών μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο κινητικές ανάλογα με την θέση τους και τις αλληλεπιδράσεις που συμμετέχουν.

2.3.3.4. Τοπολογικά διαγράμματα

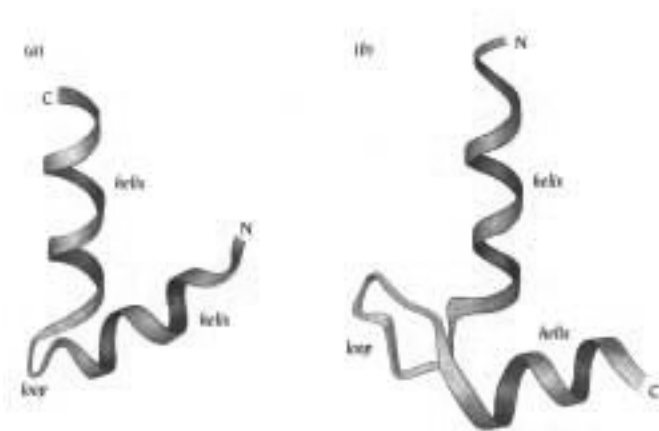
Τοπολογικά διαγράμματα ονομάζονται οι επίπεδες αναπαραστάσεις της τριτοταγούς δομής των πρωτεϊνών με σύμβολα (κύλινδροι για τις α-έλικες, βέλη για τους β-κλώνους) και βοηθούν στην κατανόηση της συνδετικότητας των στοιχείων της δευτεροταγούς δομής της πρωτεΐνης (εικόνες 2.22, 2.23 και 2.24)

Απλοί συνδυασμοί μερικών στοιχείων δευτεροταγούς δομής με καθορισμένες γεωμετρικές θέσεις ονομάζονται **μοτίφ** και εμφανίζονται συχνά στις πρωτεϊνικές δομές με συγκεκριμένη λειτουργικότητα.

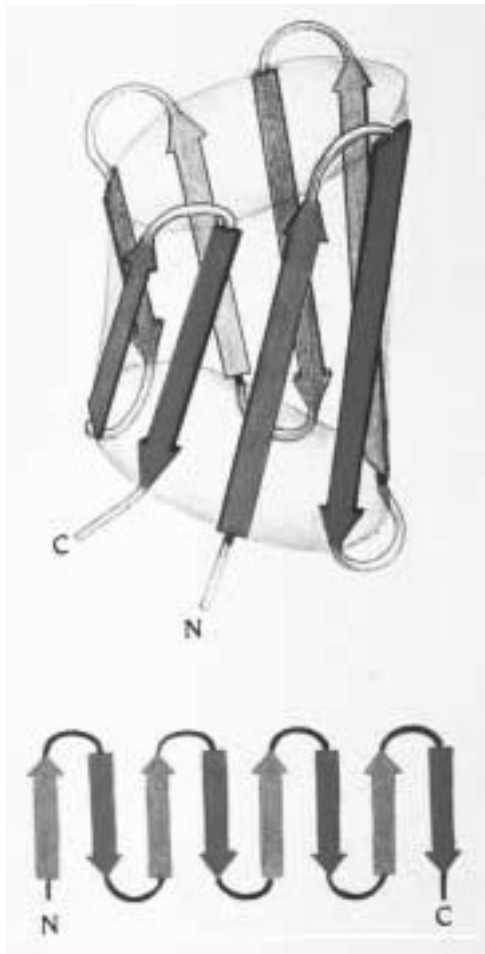
Ορισμένα χαρακτηριστικά μοτίφ είναι:



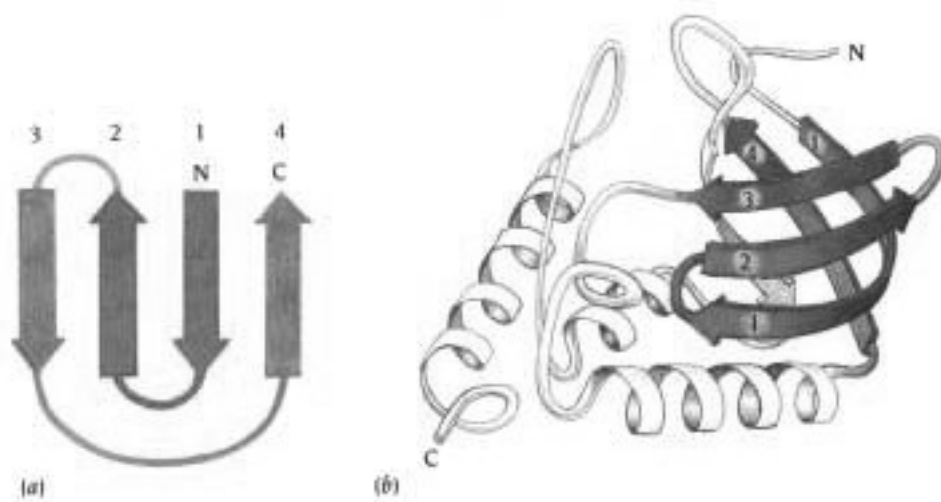
Εικόνα 2.20. β-κλώνος – στροφή – β-κλώνος



Εικόνα 2.21. α-έλικα -- στροφή -- α-έλικα (α) το μοτίφ δέσμευσης του DNA (β) το μοτίφ δέσμευσης ιόντων ασβεστίου.



Εικόνα 2.22. κύλινδρος β-πτυχωτών επιφανειών (jelly roll barrel)

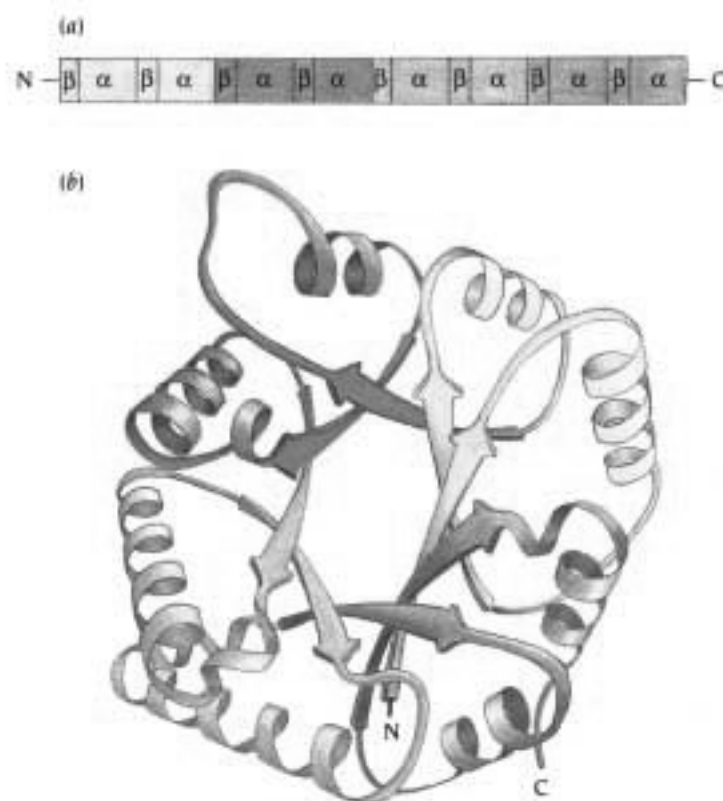


Εικόνα 2.23. Το Ελληνικό κλειδί με τέσσερις αντιπαράλληλους β-κλώνους



Εικόνα 2.24. β-κλώνος – α-έλικα – β-κλώνος που χρησιμοποιείται για την σύνδεση παράλληλων β-κλώνων.

Συχνά απλά μοτίφ συνδυάζονται για να σχηματίσουν πολύπλοκα μοτίφ (εικόνα 2.25).

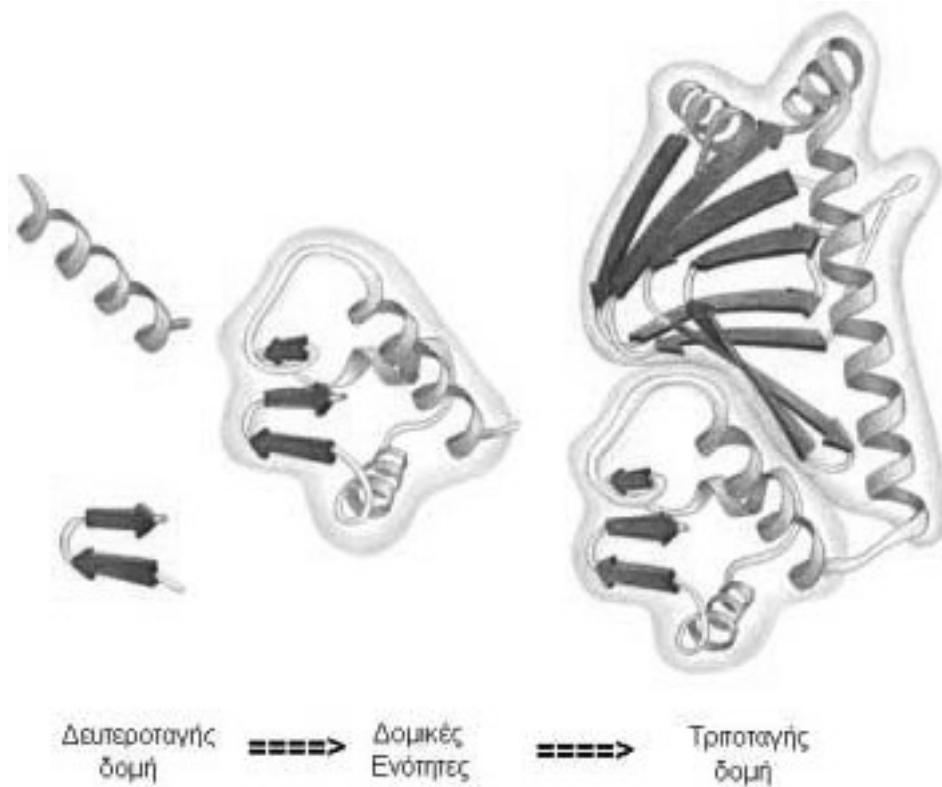


Εικόνα 2.25. Ο συνδυασμός τεσσάρων β-α-β-α μοτίφ σχηματίζει το TIM (Triose phosphate Isomerase) κύλινδρο, μοτίφ που παρατηρείται σε πολλά ένζυμα.

2.3.4. Η τριτοταγής δομή της πρωτεΐνης

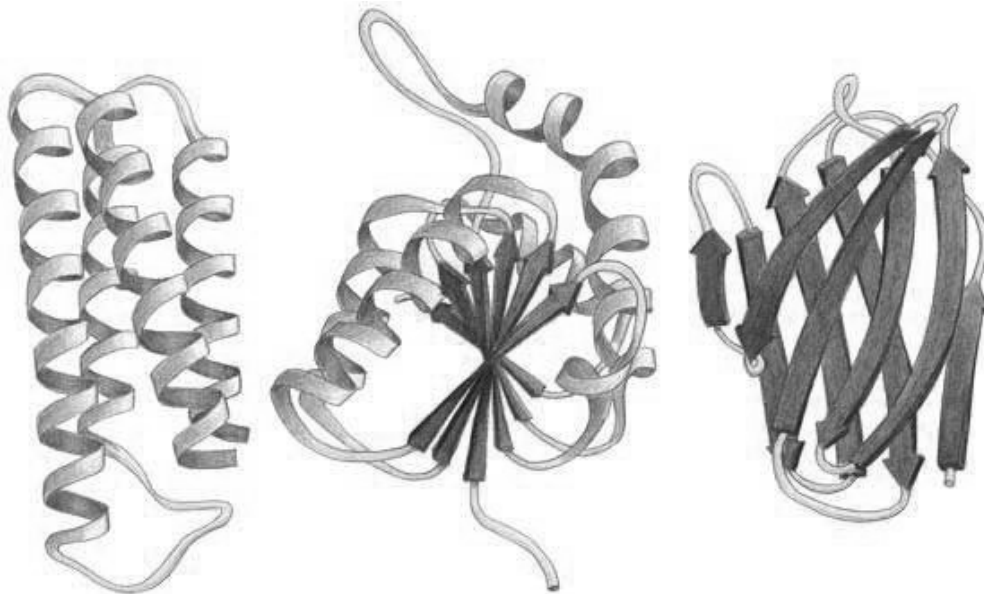
Οι πλευρικές αλυσίδες που προεξέχουν από τις α-ελικοειδείς δομές και τους β-κλώνους είναι διαθέσιμες για αλληλεπιδράσεις με άλλες περιοχές της πρωτεϊνικής αλυσίδας με υδρόφοβες επαφές, ηλεκτροστατικές δυνάμεις ή και ομοιοπολικούς ή υδρογονικούς δεσμούς. Όταν τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής της πρωτεΐνης

αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους τότε η πρωτεϊνική αλυσίδα διπλώνει στην τελική στερεοδομή της στο χώρο που λέγεται και τριτοταγής δομή της πρωτεΐνης.



Εικόνα 2.26. Στοιχεία δευτεροταγούς δομής σχηματίζουν δομικές ενότητες και αυτές συμπύσσονται μεταξύ τους για να σχηματίσουν την τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης.

Συνδυασμός στοιχείων δευτεροταγών δομών και μοτίφ δίνουν ανεξάρτητες δομικές μονάδες σε μία πρωτεΐνη και λέγονται **δομικές ενότητες (Domains)** (εικόνα 2.27).



Εικόνα 2.27. Τρεις διαφορετικές δομικές ενότητες (domains) που παρατηρούνται σε πρωτεΐνες (δέσμη α-ελίκων, β-α-β-α και β-σάντουιτς).

Εάν τα στοιχεία της δευτεροταγούς δομής (α-έλικες, β-κλώνοι) προκύπτουν εξ' αιτίας των στερεοχημικών περιορισμών στο χώρο των ϕ και ψ , δεν είναι άμεσα ορατό γιατί σχηματίζονται οι τριτοταγείς δομές. Πρωτείνες με καλά οργανωμένη τριτοταγή δομή έχουν ένα εσωτερικό υδρόφοβο κέντρο όπου τα αμινοξέα ανήκουν σε πολλά διαφορετικά στοιχεία δευτεροταγούς δομής. Έτσι οι δευτεροταγείς και η τριτοταγής δομή είναι γενικά αλληλένδετες. Τα εσωτερικά αμινοξέα είναι πολύ καλά πακεταρισμένα ώστε οι δυνατότητες περιστροφής των πλευρικών αλυσίδων να είναι πολύ περιορισμένες. Σε πολικούς διαλύτες η υδροφοβικότητα οδηγεί την αμινοξική αλυσίδα σε συμπαγή οργάνωση για την αποφυγή αλληλεπιδράσεων του πολικού διαλύτη και των υδρόφοβων πλευρικών αλυσίδων αλλά και ο περιορισμός των βαθμών ελευθερίας της αλυσίδας που διπλώνει έχει εντροπικό κόστος ώστε τα δύο φαινόμενα να αναιρούνται ενεργειακά μεταξύ τους.

Η αμοιβαία εξάρτηση δευτεροταγούς και τριτοταγούς δομής είναι το κύριο αίτιο σε μοριακό επίπεδο της δομικής σταθερότητας των πρωτεϊνών. Αυτό αντικατοπτρίζεται στο γεγονός της έλλειψης δευτεροταγούς και τριτοταγούς δομής συγχρόνως όταν στο περιβάλλον της πρωτεΐνης προκύψουν αλλαγές που δεν ευνοούν το δίπλωμα της όπως υψηλή θερμοκρασία ή ορισμένοι διαλύτες (ουρία κλπ.)

Σύμφωνα με τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής και τα μοτίφ που περιέχουν οι πρωτείνες κατατάσσονται σε:

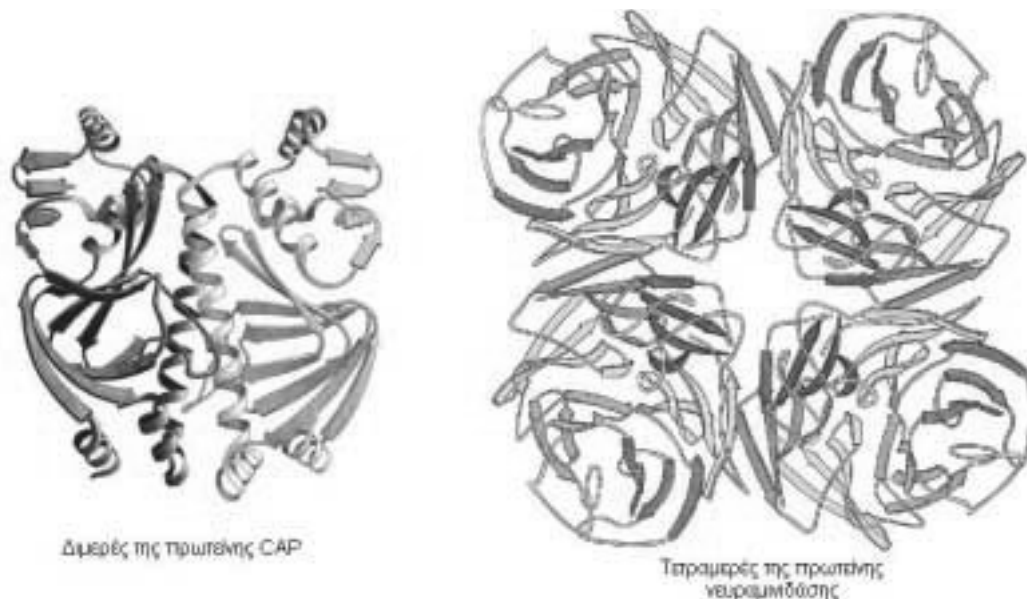
α- δομές (μόνον α-έλικες)

α/β δομές (α-ελικές και β-πτυχωτές επιφάνειες)

β-αντιπαράλληλες δομές (β-αντιπαράλληλες πτυχωτές επιφάνειες)

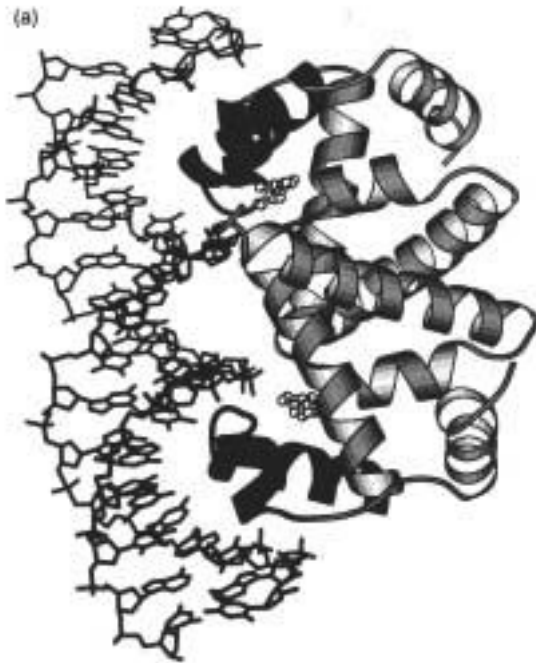
2.3.5. Η τεταρτοταγής δομή της πρωτεΐνης

Το υψηλότερο επίπεδο οργάνωσης είναι η τεταρτοταγής δομή. Οι υπομονάδες που συνενώνονται μπορεί να είναι ακριβώς όμοιες (π.χ. δισμουσάσες), ή τελείως διαφορετικές (π.χ. φωτοσύνθεση) και η οργάνωση τους συμμετρική (π.χ. αιμοσφαιρίνη) ή όχι (ακετυλοχολινικός υποδοχέας). Γενικά η τεταρτοταγής δομή είναι αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων της επιφάνειας των ανεξαρτήτων τριτοταγών δομικών μονάδων (εικόνα 2.28).



Εικόνα 2.28. Παραδείγματα σχηματισμού τεταρτοταγούς δομής.

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός πρωτεϊνικών δομών όπου η τριτοταγής δομή διαμορφώνεται ταυτόχρονα με την τεταρτοταγή. Έτσι στο διμερές του καταστολέα της τρυπτοφάνης (εικόνα 2.29) οι περισσότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των στοιχείων της δευτεροταγούς δομής σχηματίζονται στην επιφάνεια διεπαφής των δύο πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Αυτό δείχνει την συχνή εξάρτηση μεταξύ τριτοταγούς και τεταρτοταγούς δομής και υποδεικνύει ότι τα όρια διαφοροποίησης μεταξύ των επιπέδων οργάνωσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας είναι μάλλον ασαφή.



Εικόνα 2.29 Σχηματικό διάγραμμα του καταστολέα της τρυπτοφάνης.