

Κεφάλαιο 2

Μοτίβα πρωτεϊνικής δομής

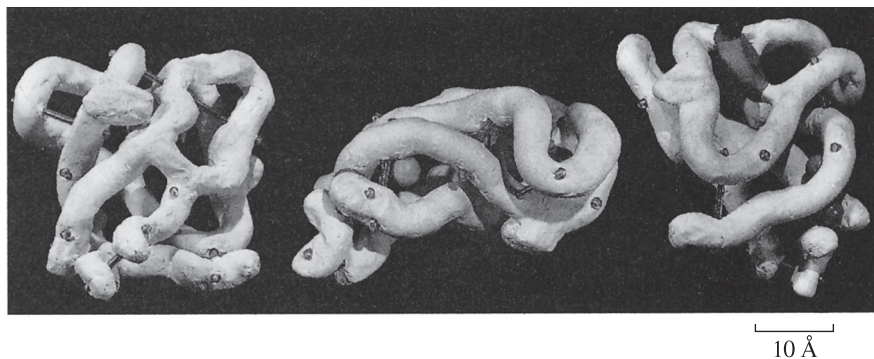
- | | |
|--|---|
| 2.1 Εισαγωγή | 2.11 Το μοτίβο β-φουρκέτας συναντάται συχνά στις πρωτεϊνικές δομές |
| 2.2 Το εσωτερικό των πρωτεϊνών είναι υδρόφοβο | 2.12 Το μοτίβο Ελληνικό κλειδί συναντάται στις αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες |
| 2.3 Η α-έλικα αποτελεί ένα σημαντικό στοιχείο της δευτεροταγούς δομής | 2.13 Το μοτίβο β-α-β περιέχει δύο παράλληλους β-κλώνους |
| 2.4 Η α-έλικα έχει διπολική ροπή | 2.14 Τα πρωτεϊνικά μόρια οργανώνονται σε μία δομική ιεραρχία |
| 2.5 Κάποια αμινοξέα προτιμώνται στις α-έλικες | 2.15 Οι μεγάλου μήκους πολυπεπτιδικές αλυσίδες σχηματίζουν πολλές επικράτειες |
| 2.6 Οι β-πτυχωτές επιφάνειες έχουν παράλληλους ή αντιπαράλληλους β-κλώνους | 2.16 Οι επικράτειες δημιουργούνται από δομικά μοτίβα |
| 2.7 Οι βρόχοι βρίσκονται στην επιφάνεια των πρωτεϊνικών μορίων | 2.17 Απλά μοτίβα συνδυάζονται για να σχηματίσουν πολύπλοκα μοτίβα |
| 2.8 Σχηματικές εικόνες των πρωτεϊνών επισημαίνουν τη δευτεροταγή δομή | 2.18 Οι πρωτεϊνικές δομές μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες κατηγορίες |
| 2.9 Τα τοπολογικά διαγράμματα είναι χρήσιμα για την ταξινόμηση των πρωτεϊνικών δομών | 2.19 Συμπεράσματα |
| 2.10 Τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής συνδέονται για να σχηματίσουν απλά μοτίβα | |

2.1 Εισαγωγή

Οι δομικές μελέτες με μεθόδους κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ έχουν παίξει καθοριστικό ρόλο στο μετασχηματισμό της χημείας από μία περιγραφική επιστήμη (όπως ήταν στις αρχές του εικοστού αιώνα) σε μία επιστήμη που επιτρέπει την πρόβλεψη των ιδιοτήτων νέων ενώσεων σε θεωρητικό επίπεδο. Όταν ο W. L. Bragg προσδιόρισε την πρώτη κρυσταλλική δομή, αυτή του ορυκτού άλατος, τα αποτελέσματα άλλαξαν ριζικά τις τότε κρατούσες απόψεις αναφορικά με τις δεσμικές αλληλεπιδράσεις των ιονικών ενώσεων.

Τα πρώτα αποτελέσματα από τη χρήση κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ σε ένα πρωτεϊνικό μόριο αναφέρθηκαν για τη μυοσφαιρίνη το 1958 (βλ. Εικόνα 2.1) και αποτέλεσαν έκπληξη για εκείνους που ήλπιζαν ότι θα υπήρχαν μερικές απλές και γενικές αρχές πρωτεϊνικής δομής και λειτουργίας, κάτι δηλαδή ανάλογο με την απλή και κανονική δομή της διπλής έλικας του DNA (η οποία είχε προσδιοριστεί πέντε χρόνια νωρίτερα από τους James Watson και Francis Crick).

Εικόνα 2.1 Το μοντέλο του Kendrew για τη δομή χαμηλής διακριτικότητας της μυοσφαιρίνης όπως φαίνεται από τρεις διαφορετικές οπτικές γωνίες. Οι επιμήκεις περιοχές αντιπροσωπεύουν τις α-έλικες οι οποίες διατάσσονται με ένα φαινομενικά ακανόνιστο τρόπο για να σχηματίσουν ένα συμπαγές σφαιρικό μόριο (χορηγία του J. C. Kendrew).



Ο John Kendrew, από το Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology, στο Cambridge του Ηνωμένου Βασιλείου (UK), ο οποίος προσδιόρισε το 1958 τη δομή της μυοσφαιρίνης σε χαμηλή διακριτικότητα, εξέφρασε την απογοήτευσή του ως προς την πολυπλοκότητα της δομής με τα ακόλουθα λόγια: «Ίσως τα πιο αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά του μορίου είναι η πολυπλοκότητα και η έλλειψη συμμετρίας του. Η διευθέτησή του φαίνεται να στερείται κανονικότητας –τις οποίες κάποιος ενστικτωδώς θα περίμενε– και είναι περισσότερο πολύπλοκη απ’ ό,τι είχε προβλεφθεί από οποιαδήποτε θεωρία σχετική με τις πρωτεϊνικές δομές».

Σήμερα, πάντως, κατανοούμε εύκολα ότι αυτή η έλλειψη κανονικότητας είναι στην πραγματικότητα απαραίτητη προκειμένου οι πρωτεΐνες να εκπληρώσουν τις ποικίλες λειτουργίες τους. Η αποθήκευση και η μεταφορά πληροφοριών από το DNA είναι κυρίως γραμμική, με αποτέλεσμα μόρια του DNA με τελείως διαφορετικό πληροφοριακό περιεχόμενο να έχουν λίγο πολύ την ίδια αδρή δομή. Αντιθέτως, οι πρωτεΐνες πρέπει να μπορούν να αναγνωρίσουν πολλές χιλιάδες διαφορετικά μόρια μέσω ειδικών αλληλεπιδράσεων, γεγονός που κάνει αναγκαία την ύπαρξη ποικίλων και (φαινομενικά) ακανόνιστων δομών για τα πρωτεϊνικά μόρια. Παρ’ όλα αυτά, ακόμα και οι πρωτεϊνικές δομές έχουν κάποιες κανονικότητες, η πλέον σημαντική από τις οποίες είναι η δευτεροταγής δομή τους.

2.2 Το εσωτερικό των πρωτεϊνών είναι υδρόφοβο

Αναλύοντας την υψηλής διακριτικότητας δομή της μυοσφαιρίνης, ο Kendrew παρατήρησε πως τα αμινοξέα στο εσωτερικό της πρωτεΐνης είχαν σχεδόν αποκλειστικά υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες. Αυτή ήταν μία από τις πρώτες βασικές αρχές που θα αναδύονταν από τις μελέτες πρωτεϊνικών δομών. Η κύρια κινητήρια δύναμη για το δίπλωμα των υδατοδιαλυτών σφαιρικών πρωτεϊνικών μορίων είναι το πακετάρισμα των υδρόφοβων πλευρικών ομάδων στο εσωτερικό του μορίου, δημιουργώντας έτσι έναν **υδρόφοβο πυρήνα** και μία υδρόφιλη επιφάνεια.

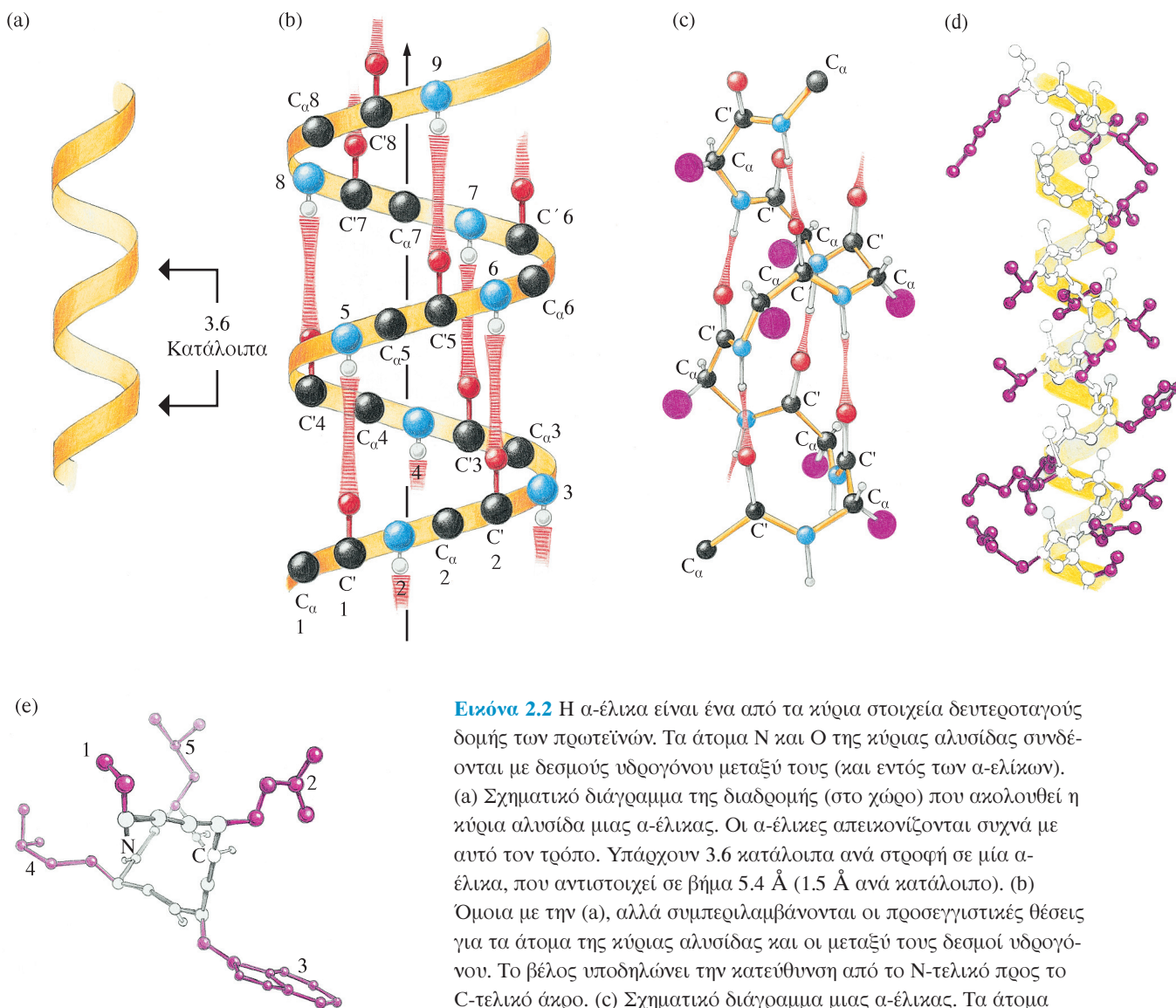
Το πακετάρισμα των πλευρικών ομάδων στον υδρόφοβο πυρήνα των πρωτεϊνών είναι ιδιαίτερα πυκνό και συμπαγές. Με δεδομένους τους περιορισμούς που προκύπτουν από τα διαφορετικά σχήματα των υδρόφοβων πλευρικών αλυσίδων και θεωρώντας ότι οι θέσεις τους πρέπει να είναι συμβατές με τη φυσιολογική δευτεροταγή δομή στο εσωτερικό της πρωτεΐνης, η προσαρμογή των πλευρικών ομάδων σ’ έναν πυκνά πακεταρισμένο πυρήνα μοιάζει με την επίλυση ενός τρισδιάστατου παζλ. Στις λιγοστές περιπτώσεις που υπάρχει κάποιος κενός χώρος στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης, αυτός συνήθως καταλαμβάνεται από ένα ή περισσότερα μόρια νερού που σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με εσωτερικές πολικές ομάδες. Τέτοια εσωτερικά, σταθερά προσδεμένα, μόρια νερού μπορούν να θεωρηθούν ως εγγενή τμήματα της πρωτεϊνικής δομής.

Ωστόσο, υπάρχει ένα μεγάλο πρόβλημα κατά το σχηματισμό ενός υδρόφοβου πυρήνα από μία πρωτεϊνική αλυσίδα. Προκειμένου να τοποθετηθούν οι πλευρικές ομάδες στον πυρήνα, η κυρίως αλυσίδα πρέπει επίσης να διπλωθεί στο εσωτερικό του μορίου. Η κυρίως αλυσίδα όμως, με το να διαθέτει ένα δότη δεσμού υδρογόνου (την ιμινομάδα NH) και ένα δέκτη δεσμού υδρογόνου (την καρβονυλομάδα C'=O) για κάθε πεπτιδική ομάδα, είναι άκρως πολική και συνεπώς υδρόφιλη. Σ' ένα υδρόφοβο περιβάλλον, οι πολικές αυτές ομάδες της κύριας αλυσίδας πρέπει να αλληλοεξουδετερώνονται μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Το πρόβλημα αυτό επιλύεται με έναν πολύ κομψό τρόπο μέσω του σχηματισμού κανονικής δευτεροταγούς δομής στο εσωτερικό του πρωτεϊνικού μορίου. Η δευτεροταγής αυτή δομή είναι συνήθως δύο τύπων: **α-έλικες** ή **β-πτυχωτές επιφάνειες** (ή β-πτυχωτά φύλλα). Και οι δύο τύποι χαρακτηρίζονται από δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στις ομάδες NH και C'=O της κύριας αλυσίδας και σχηματίζονται όταν ένας αριθμός συνεχόμενων καταλοίπων έχει τις ίδιες φ και ψ γωνίες.

Τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής που σχηματίζονται κατ' αυτό τον τρόπο συγκροτούν, αλλά και συγκρατούνται από τον υδρόφοβο πυρήνα και παρέχουν έναν άκαμπτο και σταθερό σκελετό. Τα τμήματα αυτά παρουσιάζουν σχετικά μικρή κινητικότητα και αποτελούν τα πλέον καλά καθορισμένα τμήματα των πρωτεϊνικών δομών, όπως αυτές προσδιορίζονται τόσο με τεχνικές ακτίνων Χ όσο και NMR. Σε αυτόν το σκελετό προσκολλώνται οι λειτουργικές ομάδες της πρωτεΐνης, είτε άμεσα (μέσω των πλευρικών ομάδων των καταλοίπων) είτε, συχνότερα, σε περιοχές βρόχων που συνδέουν γειτονικά –ως προς την αλληλουχία– στοιχεία δευτεροταγούς δομής. Στη συνέχεια, θα εξετάσουμε προσεκτικότερα αυτά τα δομικά στοιχεία.

2.3 Η α-έλικα αποτελεί ένα σημαντικό στοιχείο της δευτεροταγούς δομής

Η α-έλικα είναι ίσως το πιο γνωστό στοιχείο δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών. Η ύπαρξή της προβλέφθηκε από τον Linus Pauling στο California Institute of Technology, το 1951. Ο Pauling προέβλεψε ότι ήταν μία δομή σταθερή και ενεργειακά ευνοϊκή για τις πρωτεΐνες. Έκανε αυτή την αξιοσημείωτη πρόβλεψη στηριζόμενος στις ακριβείς γεωμετρικές παραμέτρους που είχε προσδιορίσει για την πεπτιδική ομάδα βάσει των αποτελεσμάτων από την κρυσταλλογραφική ανάλυση των δομών μιας ποικιλίας μικρών μορίων. Η πρόβλεψη αυτή έλαβε σχεδόν αμέσως ισχυρή πειραματική υποστήριξη από τα διαγράμματα περίθλασης ακτίνων Χ που κατέγραψε ο Max Perutz (στο Cambridge του Ηνωμένου Βασιλείου) από κρυστάλλους αιμοσφαιρίνης και ινίδια κερατίνης. Η πρόβλεψη του Pauling επαληθεύτηκε ολοκληρωτικά από την υψηλής διακριτικότητας δομή της μυοσφαιρίνης του John Kendrew, όπου όλη σχεδόν η δευτεροταγής δομή είναι ελικοειδής.



Εικόνα 2.2 Η α-έλικα είναι ένα από τα κύρια στοιχεία δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών. Τα άτομα N και O της κύριας αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους (και εντός των α-ελίκων). (a) Σχηματικό διάγραμμα της διαδρομής (στο χώρο) που ακολουθεί η κύρια αλυσίδα μιας α-ελίκας. Οι α-έλικες απεικονίζονται συχνά με αυτό τον τρόπο. Υπάρχουν 3.6 κατάλοιπα ανά στροφή σε μία α-έλικα, που αντιστοιχεί σε βήμα 5.4 Å (1.5 Å ανά κατάλοιπο). (b) Όμοια με την (a), αλλά συμπεριλαμβάνονται οι προσεγγιστικές θέσεις για τα άτομα της κύριας αλυσίδας και οι μεταξύ τους δεσμοί υδρογόνου. Το βέλος υποδηλώνει την κατεύθυνση από το N-τελικό προς το C-τελικό άκρο. (c) Σχηματικό διάγραμμα μιας α-ελίκας. Τα άτομα οξυγόνου είναι κόκκινα και τα άτομα αζώτου μπλε. Οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ O και N είναι κόκκινοι και διαγραμμισμένοι. Οι πλευρικές ομάδες παριστάνονται ως μοβ κύκλοι. (d) Ένα σκελετικό μοντέλο μιας α-ελίκας της μυοσφαιρίνης. Η διαδρομή που ακολουθεί η κύρια αλυσίδα δηλώνεται με κίτρινο χρώμα ενώ οι πλευρικές ομάδες είναι μοβ. Τα άτομα της κύριας αλυσίδας δεν έχουν χρωματιστεί. (e) Μία στροφή μιας α-ελίκας, όπως φαίνεται κάθετα στον άξονά της. Οι πλευρικές ομάδες (μοβ) προβάλλουν έξω από την α-έλικα.

Οι α-έλικες στις πρωτεΐνες συναντώνται όταν μία σειρά διαδοχικών καταλοίπων έχει φ και ψ γωνίες περίπου ίσες με -60° και -50° αντίστοιχα. Οι γωνίες αυτές αντιστοιχούν στην επιτρεπόμενη περιοχή στο κάτω αριστερά τεταρτημόριο του διαγράμματος Ramachandran (βλ. Εικόνα 1.7a). Στην α-έλικα περιέχονται 3.6 κατάλοιπα ανά στροφή και σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στην ομάδα $C' = O$ του καταλοίπου n και στην ομάδα NH του καταλοίπου $n + 4$ (βλ. Εικόνα 2.2).

Έτσι, όλες οι ομάδες NH και C' =O συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου, εκτός από τις πρώτες ομάδες NH και τις τελευταίες ομάδες C' =O στα άκρα της α-έλικας. Συνεπώς, τα άκρα των α-ελίκων είναι πολικά και σχεδόν πάντα βρίσκονται στην επιφάνεια των πρωτεϊνικών μορίων.

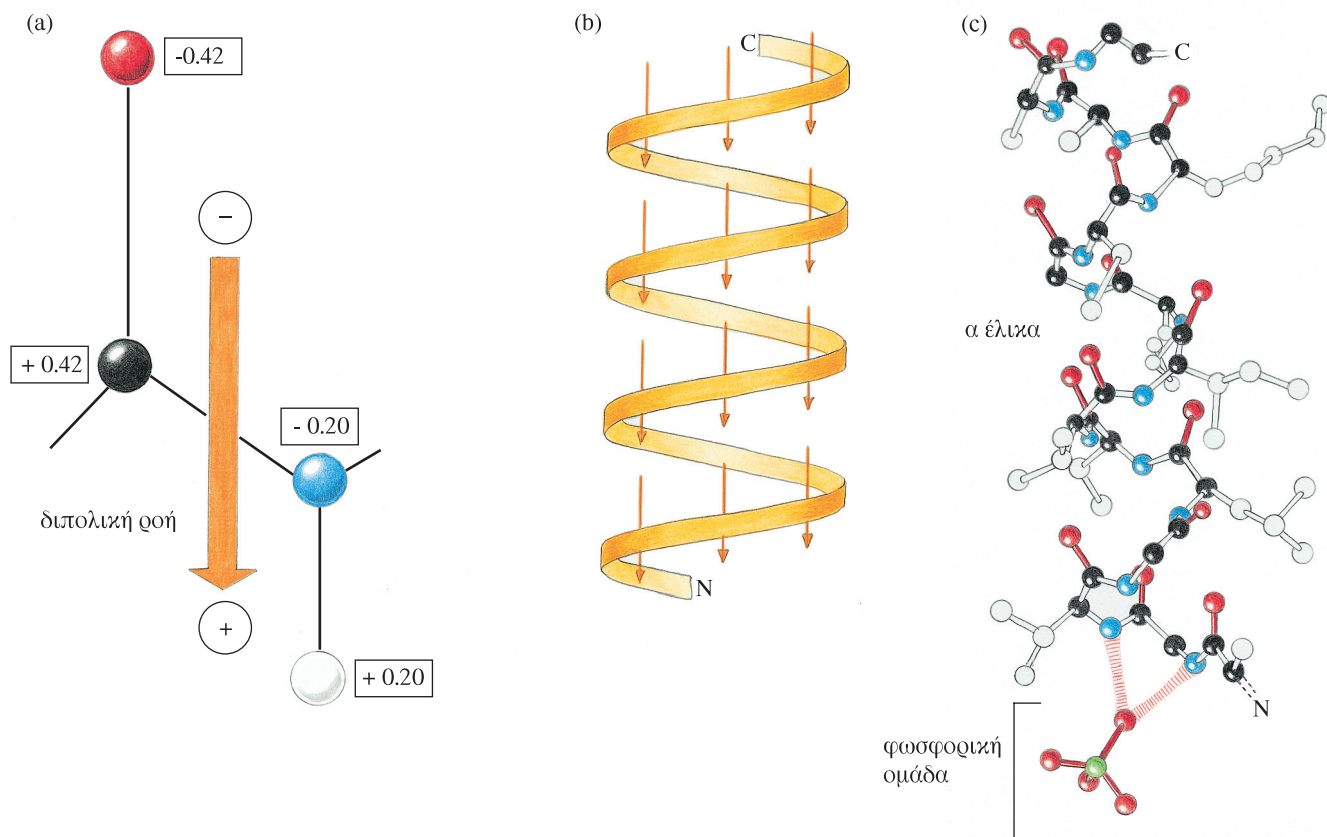
Παραλλαγές της α-έλικας στις οποίες η αλυσίδα είναι είτε χαλαρότερα είτε στενότερα συσπειρωμένη μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου ανάμεσα στο κατάλοιπο n και το κατάλοιπο $n + 5$ ή το $n + 3$ (αντί για το $n + 4$) ονομάζονται π-έλικα και 3_{10} -έλικα αντίστοιχα. Η 3_{10} -έλικα έχει 3 κατάλοιπα ανά στροφή και περιέχει 10 άτομα ανάμεσα στο δότη και στο δέκτη του δεσμού υδρογόνου (το οποίο ερμηνεύει και το όνομά της). Τόσο η π-έλικα όσο και η 3_{10} -έλικα συναντώνται σπάνια, και συνήθως μόνο στα άκρα των α-ελίκων ή ως έλικες με μία μόνο στροφή. Δεν είναι ενεργειακά σταθερές, καθώς τα άτομα της κύριας αλυσίδας είναι είτε πολύ στενά πακεταρισμένα (στην περίπτωση της 3_{10} -έλικας) είτε πολύ χαλαρά πακεταρισμένα (στην περίπτωση της π-έλικας, όπου μάλιστα δημιουργείται ένα κενό στο κέντρο της). Μόνο στην α-έλικα είναι τα άτομα της κύριας αλυσίδας σωστά πακεταρισμένα, έτσι ώστε να παρέχουν μια σταθερή δομή.

Στις σφαιρικές πρωτεΐνες, το μήκος των α-ελίκων ποικίλλει σημαντικά και κυμαίνεται από 4 ή 5 κατάλοιπα έως και πάνω από 40 κατάλοιπα. Το μέσο μήκος είναι περίπου 10 κατάλοιπα, το οποίο αντιστοιχεί σε περίπου 3 στροφές. Η αξονική απόσταση μεταξύ δύο διαδοχικών καταλοίπων μιας α-έλικας είναι 1.5 Å. Επομένως, το μήκος μιας συνηθισμένης α-έλικας με 10 κατάλοιπα, από το ένα άκρο στο άλλο, υπολογίζεται στα 15 Å.

Θεωρητικά μια α-έλικα μπορεί να είναι δεξιόστροφη ή αριστερόστροφη, ανάλογα με τη διαδρομή που ακολουθεί η έλικα στον τρισδιάστατο χώρο. Ωστόσο, η αριστερόστροφη α-έλικα δεν είναι συμβατή με την ύπαρξη L-αμινοξέων, εξαιτίας της στενής προσέγγισης που θα προέκυπτε μεταξύ των πλευρικών ομάδων των καταλοίπων και των C' O ομάδων του σκελετού. Έτσι, οι α-έλικες που παρατηρούνται στις πρωτεΐνες είναι σχεδόν πάντα δεξιόστροφες. Μικρές περιοχές αριστερόστροφων α-ελίκων (μήκους 3-5 καταλοίπων) συναντώνται μόνο περιστασιακά.

2.4 Η α-έλικα έχει διπολική ροπή

Όλοι οι δεσμοί υδρογόνου στην α-έλικα έχουν την ίδια κατεύθυνση, διότι οι πεπτιδικές ομάδες είναι στοιχισμένες με τον ίδιο προσανατολισμό κατά μήκος του άξονα της έλικας. Η κάθε πεπτιδική ομάδα έχει διπολική ροπή (που οφείλεται στη διαφορετική πολικότητα των NH και C' =O ομάδων). Στην περίπτωση της α-έλικας οι διπολικές αυτές ροπές στοιχίζονται κατά μήκος του άξονα της έλικας (βλ. Εικόνα 2.3). Το συνολικό αποτέλεσμα είναι ότι η α-έλικα έχει μία σημαντική συνολική διπολική ροπή με ένα μερικό θετικό φορτίο στο αμινοτελικό άκρο της και ένα μερικό



Εικόνα 2.3 Αρνητικά φορτισμένες ομάδες, όπως τα φωσφορικά ιόντα, συχνά προσδένονται στα αμινοτελικά άκρα των α-ελίκων. Η διπολική ροπή μιας α-έλικας, όπως και η δυνατότητα δημιουργίας υδρογονικών δεσμών με τις ελεύθερες NH ομάδες στο άκρο της έλικας ευνοούν μία τέτοια πρόσδεση. (a) Το δίπολο μιας πεπτιδικής ομάδας. Οι τιμές στα πλαίσια δίνουν τις προσεγγιστικές τιμές των μερικών φορτίων των ατόμων της πεπτιδικής ομάδας. (b) Τα δίπολα των πεπτιδικών ομάδων στοιχίζονται κατά μήκος του άξονα της α-έλικας, γεγονός που δημιουργεί μία συνολική διπολική ροπή στην α-έλικα, θετική στο αμινοτελικό άκρο και αρνητική στο καρβοξυτελικό άκρο. (c) Μία φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη μέσω δεσμού υδρογόνου με το NH άκρο μιας α-έλικας. Τα άτομα αζώτου είναι μπλε, τα άτομα οξυγόνου κόκκινα, τα άτομα άνθρακα της κύριας αλυσίδας μαύρα και ο φώσφορος πράσινο.

αρνητικό φορτίο στο καρβοξυτελικό άκρο της. Το μέγεθος αυτής της διπολικής ροπής αντιστοιχεί σε 0.5-0.7 μονάδες ηλεκτρικού φορτίου σε κάθε άκρο της έλικας. Θα αναμενόταν αυτά τα ηλεκτρικά φορτία να έλκουν υποκαταστάτες αντίθετου ηλεκτρικού φορτίου. Πράγματι, αρνητικά φορτισμένοι υποκαταστάτες (ιδιαίτερα όταν περιέχουν φωσφορικές ομάδες) προσδένονται συχνά στα N-τελικά άκρα των α-ελίκων. Αντίθετα, θετικά φορτισμένοι υποκαταστάτες σπάνια προσδένονται στα C-τελικά άκρα. Κάτι τέτοιο μπορεί να συμβαίνει διότι, εκτός από την επίδραση της διπολικής ροπής, το N-άκρο μιας α-έλικας έχει και ελεύθερες NH ομάδες οι οποίες έχουν τέτοια γεωμετρία ώστε να ευνοούν την πρόσδεση φωσφορικών ομάδων μέσω δεσμών υδρογόνου (βλ. Εικόνα 2.3). Τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις με τους υποκαταστάτες συμβαίνουν συχνά στις πρωτεΐνες και παρέχουν παραδείγματα ειδικής πρόσδεσης χάρη στη στερεοδιάταξη της κύριας αλυσίδας, χωρίς τη συμμετοχή των πλευρικών αλυσίδων.

2.5 Κάποια αμινοξέα προτιμώνται στις α-έλικες

Οι πλευρικές ομάδες των αμινοξικών καταλοίπων προβάλλουν έξω από την α-έλικα (βλ. Εικόνα 2.2ε) και δε συμμετέχουν στο σχηματισμό της. Μοναδική εξαίρεση είναι η προλίνη. Το τελευταίο άτομο της πλευρικής ομάδας της προλίνης προσδένεται στο N άτομο της κύριας αλυσίδας, σχηματίζοντας έτσι μία

Πίνακας 2.1 Αμινοξινικές αλληλουχίες τριών α-ελίκων

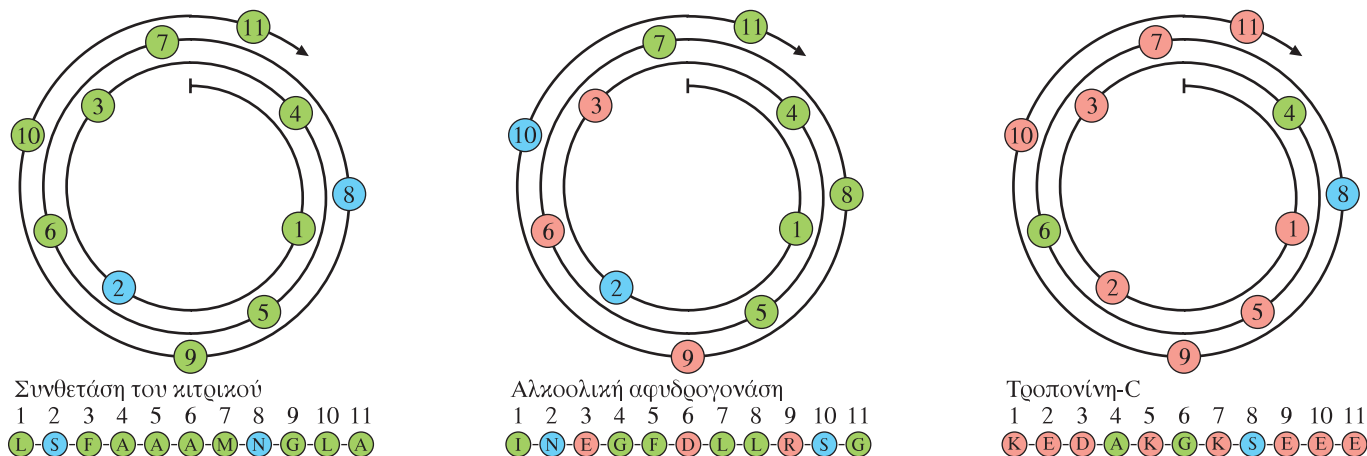
1 -	Leu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ala	Met	Asn	Gly	Leu	Ala
2 -	Ile	Asn	Glu	Gly	Phe	Asp	Leu	Leu	Arg	Ser	Gly
3 -	Lys	Glu	Asp	Ala	Lys	Gly	Lys	Ser	Glu	Glu	Glu

Η πρώτη αλληλουχία προέρχεται από το ένζυμο συνθετάση του κυτταρικού οξέος (κατάλοιπα 260-270), που σχηματίζει μία θαμμένη α-έλικα. Η δεύτερη αλληλουχία προέρχεται από το ένζυμο αλκοολική αφυδρογονάση (κατάλοιπα 355-365), που σχηματίζει μία μερικώς εκτεθειμένη έλικα. Η τρίτη αλληλουχία έχει προέλθει από την πρωτεΐνη τροπονίνη-C (κατάλοιπα 87-97), η οποία σχηματίζει μία τελείως εκτεθειμένη έλικα. Τα φορτισμένα αμινοξέα είναι χρωματισμένα κόκκινα, τα πολικά μπλε και τα υδρόφοβα πράσινα.

κυκλική δομή στην οποία συμμετέχουν τα εξής άτομα: $C_{\alpha}-CH_2-CH_2-CH_2-N$ (βλ. Πίνακα 1.1). Αυτό εμποδίζει τη συμμετοχή του ατόμου του αζώτου (της κύριας αλυσίδας) σε δεσμό υδρογόνου και προκαλεί στερικές παρεμποδίσεις στην α-έλικα. Η προλίνη μπορεί κάλλιστα να ανήκει στην πρώτη στροφή μιας α-έλικας, αλλά συνήθως δημιουργεί μια σημαντική κάμψη (ή σπάσιμο) όταν βρίσκεται οπουδήποτε αλλού μέσα σε μια έλικα. Τέτοιου είδους κάμψεις συμβαίνουν σε πολλές α-έλικες και όχι μόνο σ' αυτές (τις σχετικά λίγες) που περιέχουν μία προλίνη στο εσωτερικό τους. Συνεπώς, αν και μπορούμε να προβλέψουμε ότι ένα κατάλοιπο προλίνης μπορεί να οδηγήσει σε μια κάμψη της έλικας, δε συνεπάγεται πως όλες οι κάμψεις απορρέουν από την παρουσία μιας προλίνης.

Έχει αποδειχθεί ότι διαφορετικές πλευρικές αλυσίδες έχουν ασθενείς αλλά καθοριστικές προτιμήσεις είτε υπέρ είτε κατά της συμμετοχής τους σε α-έλικες. Έτσι, οι Ala (A), Glu (E), Leu (L) και Met (M) ευνοούν το σχηματισμό α-ελίκων, ενώ οι Pro (P), Gly (G), Tyr (Y) και Ser (S) τον αποτρέπουν. Οι προτιμήσεις αυτές ήταν θεμελιώδους σημασίας για τις πρώτες απόπειρες (υπολογιστικής) πρόβλεψης της δευτεροταγούς δομής από την αμινοξική αλληλουχία, αλλά δεν είναι αρκετά ισχυρές για να παράγουν ακριβείς προβλέψεις.

Η πιο συνηθισμένη θέση μιας α-έλικας σε μια πρωτεϊνική δομή βρίσκεται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης, με τη μία πλευρά της έλικας να αντικρίζει το διαλύτη και την άλλη πλευρά να αντικρίζει το υδρόφοβο εσωτερικό της πρωτεΐνης. Συνεπώς, με 3.6 κατάλοιπα ανά στροφή, υπάρχει μια τάση στις πλευρικές αλυσίδες να εναλλάσσονται από υδρόφοβες σε υδρόφιλες με μια περιοδικότητα τριών έως τεσσάρων καταλοίπων. Παρ' όλο που η τάση αυτή μπορεί κάποιες φορές να παρατηρηθεί στην αμινοξική ακολουθία, από μόνη της δεν αρκεί για να οδηγήσει σε μια αξιόπιστη πρόβλεψη. Ο λόγος είναι ότι αρκετά συχνά παρατηρούνται υδρόφοβα κατάλοιπα τα οποία προβάλλουν προς το διαλύτη (και όχι προς το



Εικόνα 2.4 Ο ελικοειδής τροχός ή σπείρα. Τα αμινοξικά κατάλοιπα τοποθετούνται κάθε 100° γύρω από τη σπείρα, σύμφωνα με τις αλληλουχίες που δίνονται στον Πίνακα 2.1. Χρησιμοποιείται ο ακόλουθος κώδικας χρωμάτων: πράσινα είναι τα αμινοξέα με υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα, μπλε αυτά με πολική πλευρική αλυσίδα και κόκκινα όσα έχουν φορτισμένη πλευρική αλυσίδα. Η πρώτη έλικα είναι εξολοκλήρου υδρόφοβη, η δεύτερη πολική στη μία πλευρά και υδρόφοβη στην άλλη, ενώ η τρίτη είναι εξολοκλήρου πολική.

εσωτερικό της πρωτεΐνης), ενώ σε άλλες περιπτώσεις οι α-έλικες μπορεί να είναι ολοκληρωτικά θαμμένες μέσα σε μια πρωτεΐνη ή και ολοκληρωτικά εκτεθειμένες. Ο Πίνακας 2.1 παρουσιάζει παραδείγματα των αμινοξικών αλληλουχιών μιας ολοκληρωτικά θαμμένης, μιας μερικώς θαμμένης και μιας ολοκληρωτικά εκτεθειμένης α-έλικας.

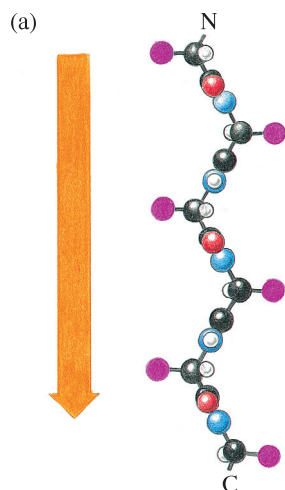
Ένας χρήσιμος τρόπος για την απεικόνιση των αμινοξικών αλληλουχιών των ελίκων είναι ο **ελικοειδής τροχός (helical wheel)** ή σπείρα. Εφόσον μια στροφή α-έλικας περιέχει 3.6 κατάλοιπα, αυτά μπορούν να τοποθετούνται κάθε $360/3.6 = 100^\circ$ γύρω από έναν κύκλο ή μια σπείρα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2.4.

Σ' ένα τέτοιο διάγραμμα απεικονίζεται η προβολή της θέσης των καταλοίπων σ' ένα επίπεδο κάθετο στον άξονα της έλικας. Τα κατάλοιπα στη μία πλευρά της έλικας αντιστοιχούν (στο διάγραμμα) με μία πλευρά της σπείρας. Οι τρεις έλικες των οποίων οι αλληλουχίες δίνονται στον Πίνακα 2.1 απεικονίζονται κατ' αυτό τον τρόπο στην Εικόνα 2.4, χρησιμοποιώντας έναν κώδικα χρωμάτων για τα υδρόφοβα, πολικά και φορτισμένα κατάλοιπα. Είναι εμφανές ότι η μία πλευρά της έλικας από την πρωτεΐνη αλκοολική αφυδρογονάση είναι υδρόφιλη και η άλλη πλευρά είναι υδρόφοβη (αμφιπαθείς έλικες).

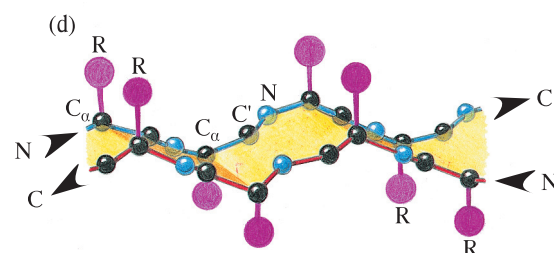
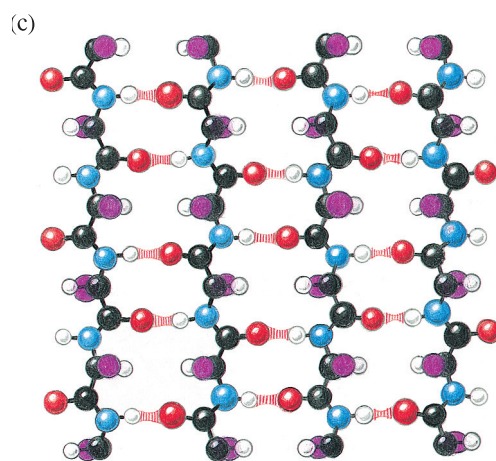
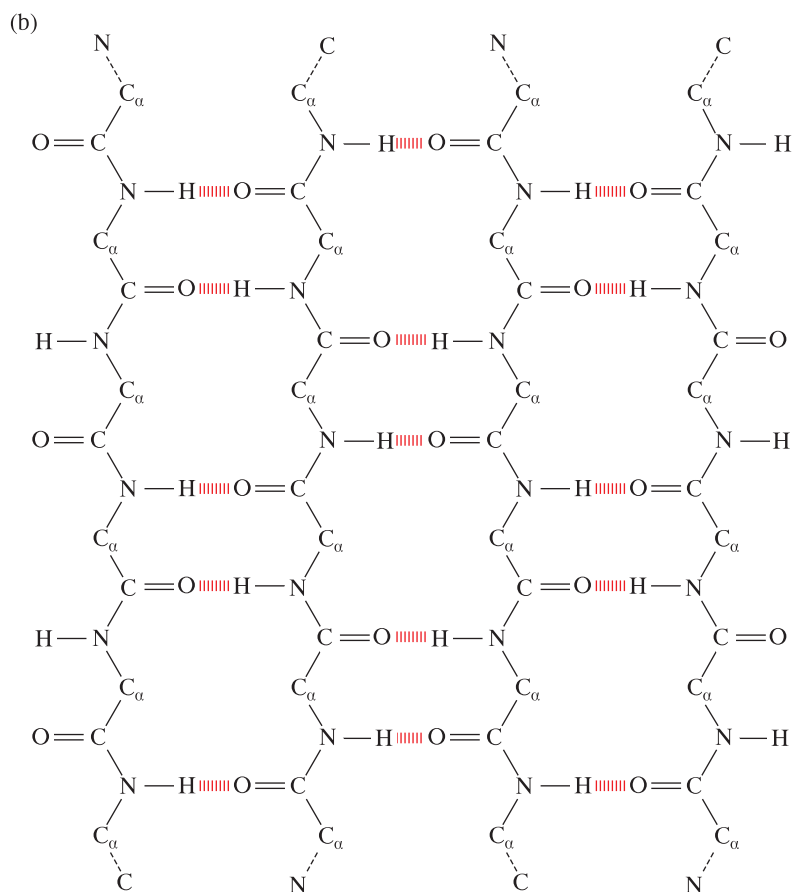
Οι α-έλικες που διαπερνούν μεμβράνες βρίσκονται σ' ένα υδρόφοβο περιβάλλον. Συνεπώς, οι περισσότερες από τις πλευρικές τους ομάδες είναι υδρόφοβες. Έτσι, μεγάλες περιοχές υδρόφοβων καταλοίπων στην αμινοξική αλληλουχία μιας πρωτεΐνης που είναι διαμεμβρανική μπορούν να προβλεφθούν ως διαμεμβρανικές έλικες με έναν υψηλό δείκτη αξιοπιστίας.

2.6 Οι β-πτυχωτές επιφάνειες έχουν παράλληλους ή αντιπαράλληλους β-κλώνους

Το δεύτερο μείζον στοιχείο δευτεροταγούς δομής που βρέθηκε στις σφαιρικές πρωτεΐνες είναι η β-πτυχωτή επιφάνεια. Η δομή αυτή συγκροτείται από ένα συνδυασμό αρκετών περιοχών της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (σε αντίθεση με τις α-έλικες οι οποί-



Εικόνα 2.5 Σχηματικές ανα-
παραστάσεις αντιπαράλλη-
λων β-πτυχωτών επιφανει-
ών. Οι β-πτυχωτές επιφά-
νειες αποτελούν το δεύτερο
κύριο στοιχείο δευτεροτα-
γούς δομής στις πρωτεΐνες.
Οι β-κλώνοι μπορούν να
είναι όλοι αντιπαράλληλοι
(όπως στην Εικόνα αυτή), ή
όλοι παράλληλοι ή μεικτοί
(όπως παρουσιάζεται στις
επόμενες Εικόνες). (a) Η
εκτεταμένη διαμόρφωση
ενός β-κλώνου. Οι πλευρι-
κές ομάδες παρουσιάζονται
ως μοβ κύκλοι. Ο προσανα-
τολισμός του β-κλώνου
είναι ίδιος με αυτόν στις
Εικόνες (b) και (c). Ένας β-
κλώνος απεικονίζεται σχη-
ματικά ως ένα βέλος από το
N προς το C-τελικό άκρο.
(b) Σχηματική αναπαραστά-
ση του προτύπου των
δεσμών υδρογόνου σε μία
αντιπαράλληλη β-πτυχωτή
επιφάνεια. Τα N και O

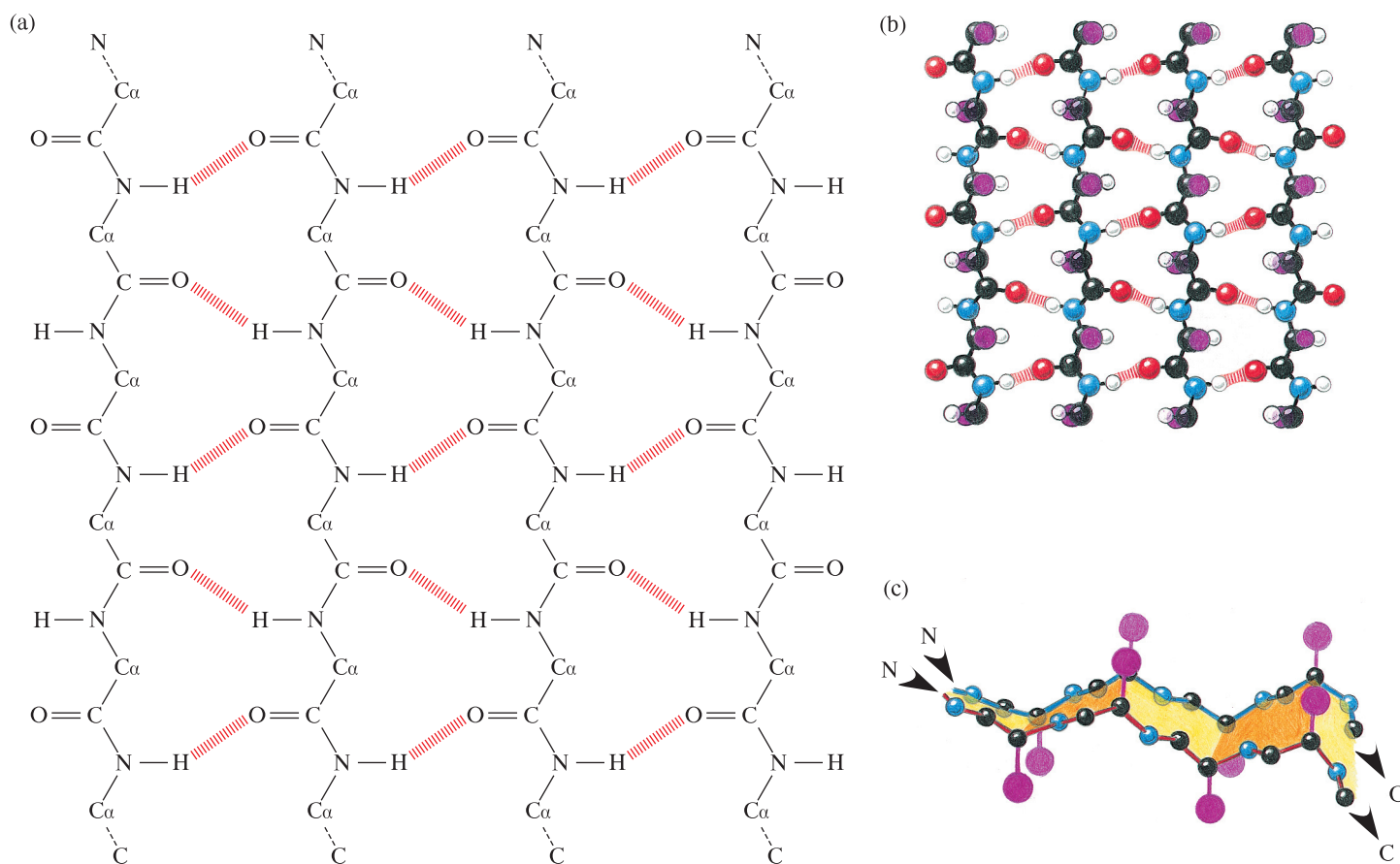


άτομα της κύριας αλυσίδας σε μία β-πτυχωτή επιφάνεια συνδέονται μεταξύ τους
με δεσμούς υδρογόνου. (c) Μια αναπαραστάση με σκελετικό μοντέλο της διευθέτη-
σης που δείχνει η Εικόνα (b). Τα άτομα οξυγόνου είναι κόκκινα, ενώ τα άτομα
αζώτου είναι μπλε. Το άτομο υδρογόνου στην ομάδα NH είναι άσπρο. Τα C_α
άτομα άνθρακα της κύριας αλυσίδας είναι μαύρα. Οι πλευρικές ομάδες απεικονί-
ζονται ως ένας μοβ κύκλος. Ο προσανατολισμός των β-κλώνων είναι διαφορετι-
κός από αυτόν της Εικόνας (a). (d) Απεικόνιση της πτύχωσης μιας β-πτυχωτής
επιφάνειας. Δύο αντιπαράλληλοι β-κλώνοι παρατηρούνται από τα πλάγια της β-
πτυχωτής επιφάνειας. Σημειώστε ότι οι κατευθύνσεις των πλευρικών ομάδων (R)
ακολουθούν την πτύχωση, η οποία επισημαίνεται με κίτρινο χρώμα.

ες δημιουργούνται από μία συνεχόμενη περιοχή). Οι περιοχές αυτές, οι β-κλώνοι, είναι συνήθως μήκους 5-10 καταλοίπων και έχουν μία σχεδόν πλήρως εκτεταμένη διαμόρφωση, με τις ϕ και ψ γωνίες να εντοπίζονται στη μεγάλη επιτρεπτή περιοχή του επάνω αριστερά τεταρτημορίου του διαγράμματος Ramachandran (βλ. Εικόνα 1.7). Οι β-κλώνοι στοιχίζονται γειτονικά ο ένας με τον άλλο (βλ. Εικόνες 2.5 και 2.6) και με τέτοιον τρόπο ώστε να μπορούν να σχηματιστούν δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις $C=O$ ομάδες του ενός β-κλώνου με τις NH ομάδες ενός παρακείμενου β-κλώνου, και αντίστροφα. Οι β-πτυχωτές επιφάνειες που σχηματίζονται από τη συνάθροιση πολλών τέτοιων β-κλώνων είναι «πτυχωμένες», με τα C_α άτομα να προβάλλουν εναλλάξ, ελαφρώς πάνω και κάτω από το επίπεδο της β-πτυχωτής επιφάνειας. Οι πλευρικές αλυσίδες ακολουθούν το ίδιο πρότυπο, έτσι ώστε μέσα σ' ένα β-κλώνο να προβάλλουν επίσης εναλλάξ, πάνω και κάτω από τη β-πτυχωτή επιφάνεια.

Οι β-κλώνοι μπορούν να αλληλεπιδράσουν με δύο τρόπους προκειμένου να σχηματίσουν μία πτυχωτή επιφάνεια. Στον πρώτο τρόπο, τα αμινοξέα των στοιχισμένων β-κλώνων έχουν όλα την ίδια βιοχημική κατεύθυνση, από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο, οπότε και η επιφάνεια χαρακτηρίζεται ως παράλληλη. Στο δεύτερο τρόπο, τα αμινοξέα διαδοχικών κλώνων έχουν αντίθετες κατευθύνσεις, δηλαδή ο ένας κλώνος κατευθύνεται από το

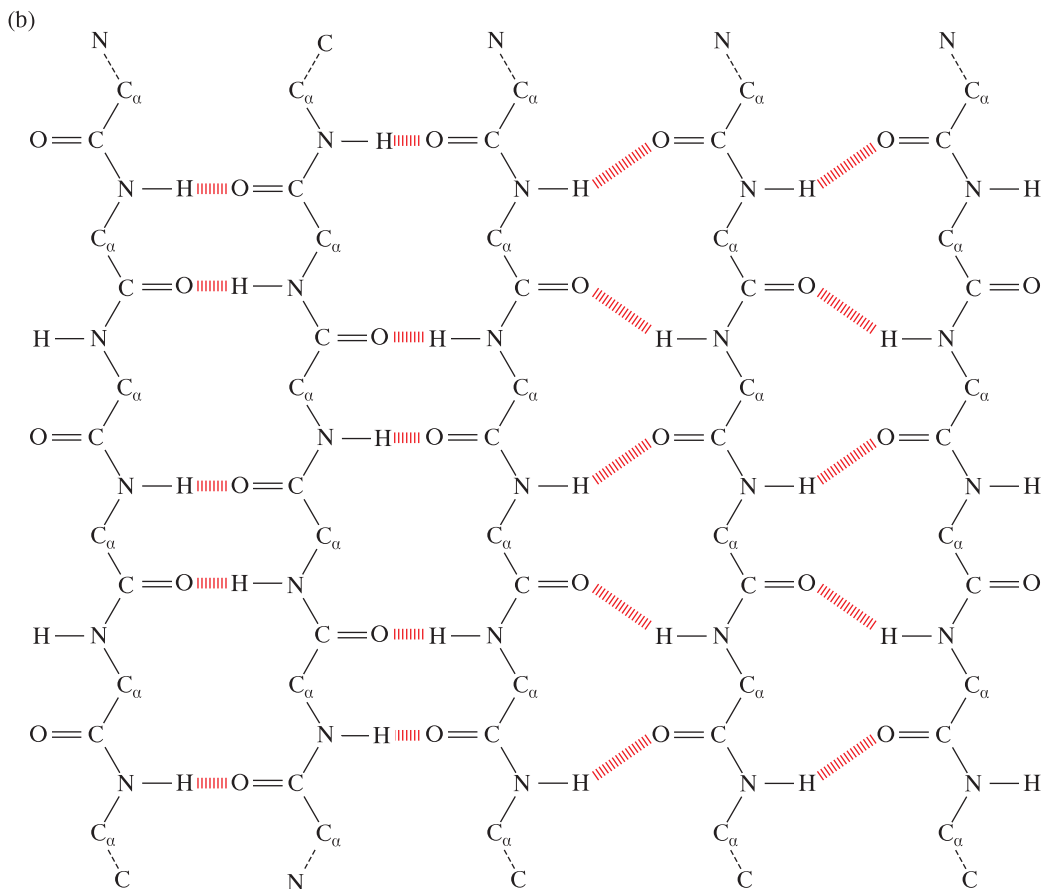
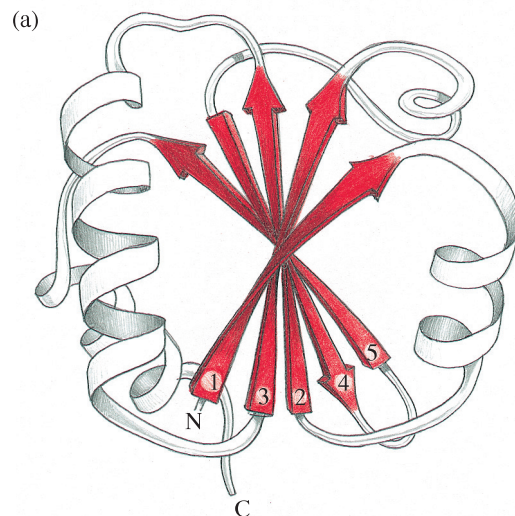
Εικόνα 2.6 Παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. (a) Σχηματικό διάγραμμα που δείχνει το πρότυπο των υδρογονοδεσμών σε μία παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. (b) Το σκελετικό μοντέλο που αντιστοιχεί στην Εικόνα (a). Χρησιμοποιείται το ίδιο χρωματικό πρότυπο, όπως και στην Εικόνα 2.5c. (c) Σχηματικό διάγραμμα στο οποίο απεικονίζεται η πτύχωση μιας παράλληλης β-πτυχωτής επιφάνειας.



αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο, ο επόμενος από το καρβοξυτελικό προς το αμινοτελικό άκρο, ο επόμενος από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό κ.ο.κ., οπότε και η πτυχωτή επιφάνεια ονομάζεται αντιπαράλληλη. Καθεμία από αυτές τις δύο διευθετήσεις χαρακτηρίζεται από ένα συγκεκριμένο και χαρακτηριστικό πρότυπο υδρογονοδεσμών.

Οι παράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες (βλ. Εικόνα 2.6) έχουν ομοιόμορφα κατανεμημένους δεσμούς υδρογόνου, οι οποίοι σχηματίζουν γωνία ως προς τους β-κλώνους που συνδέουν. Και στους δύο τύπους των β-πτυχωτών επιφανειών σχηματίζονται όλοι οι δυνατοί δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στα άτομα των κεντρικών αλυσίδων, με εξαίρεση τους δύο ακραίους κλώνους της β-πτυχωτής επιφάνειας (καθένας από τους οποίους έχει μόνο ένα γειτονικό β-κλώνο).

Οι β-κλώνοι μπορούν επίσης να συνδυαστούν σε μεικτές β-πτυχωτές επιφάνειες, με κάποια ζεύγη β-κλώνων παράλληλα και κάποια αντιπαράλληλα. Οι μεικτές β-πτυχωτές επιφάνειες δεν είναι (ενεργειακά) προτιμώμενες: μόνο το 20% των κλώνων των β-πτυχωτών επιφανειών (από τις γνωστές πρωτεϊνικές δομές) έχει έναν παράλληλο κλώνο από τη μία πλευρά και έναν αντιπαράλληλο από την άλλη. Στην Εικόνα 2.7 απεικονίζεται πώς διευθετούνται οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των β-κλώνων μιας μεικτής β-πτυχωτής επιφάνειας.



Εικόνα 2.7 (a) Απεικόνιση της στρέψης των β-πτυχωτών επιφανειών. Στη σχηματική αυτή αναπαράσταση της πρωτεΐνης thioredoxin από την *E. coli*, οι β-κλώνοι παριστάνονται ως βέλη με κατεύθυνση από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο του β-κλώνου. Η δομή της πρωτεΐνης προσδιορίστηκε στο εργαστήριο του Carl Branden, στην Ουψάλα της Σουηδίας, σε διακριτικότητα 2.8 Å. Η μεικτή β-πτυχωτή επιφάνεια παρατηρείται από το ένα άκρο της. (b) Οι δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στους β-κλώνους στη μεικτή β-πτυχωτή επιφάνεια της ίδιας πρωτεΐνης. [(a) Προσαρμοσμένο από τον B. Furugren.]

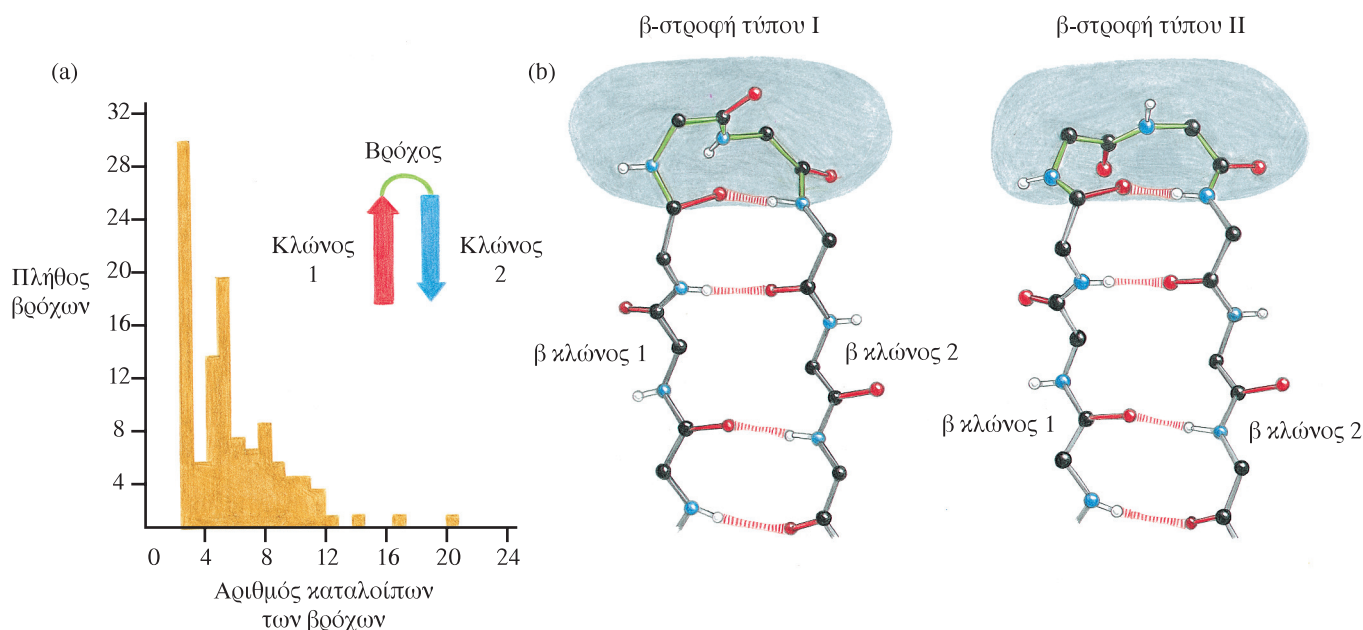
Όπως εμφανίζονται στις γνωστές πρωτεϊνικές δομές, σχεδόν όλες οι β-πτυχωτές επιφάνειες –παράλληλες, αντιπαράλληλες και μεικτές– έχουν κλώνους με κλίση μεταξύ τους, δημιουργώντας μια συνολική στρέψη της β-πτυχωτής επιφάνειας. Η στρέψη αυτή των β-κλώνων έχει πάντα την ίδια φορά, που είναι αυτή που παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.7 (και η οποία χαρακτηρίζεται ως δεξιόστροφη).

2.7 Οι βρόχοι βρίσκονται στην επιφάνεια των πρωτεϊνικών μορίων

Οι περισσότερες πρωτεϊνικές δομές σχηματίζονται από συνδυασμούς στοιχείων δευτεροταγούς δομής, α-έλικες και β-κλώνους, που συνδέονται μεταξύ τους με βρόχους διαφόρων μηκών και ακανόνιστων σχημάτων. Ένας συνδυασμός στοιχείων δευτεροταγούς δομής σχηματίζει το σταθερό υδρόφοβο πυρήνα του μορίου. Οι βρόχοι βρίσκονται στην επιφάνεια του μορίου. Οι ομάδες C' =O και NH της κύριας αλυσίδας των βρόχων συνήθως δε σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, είναι εκτεθειμένες στο διαλύτη και μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με μόρια νερού.

Οι βρόχοι που εκτίθενται στο διαλύτη είναι πλούσιοι σε φορτισμένα και πολικά (δηλαδή υδρόφιλα) κατάλοιπα. Αυτό έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά υπολογιστικά συστήματα πρόβλεψης βρόχων και έχει αποδειχθεί δυνατή η πρόβλεψη βρόχων από την αμινοξική αλληλουχία, και μάλιστα με δείκτη αξιοπιστίας μεγαλύτερο από τον αντίστοιχο για την πρόβλεψη α-ελίκων και β-κλώνων (γεγονός που είναι κάπως ειρωνικό, αφού οι βρόχοι –σε αντίθεση με τα άλλα δύο στοιχεία– έχουν ακανόνιστες δομές).

Όταν συγκρίνονται ομόλογες αμινοξικές αλληλουχίες από διαφορετικά είδη, παρατηρείται πως τα φαινόμενα εισαγωγών-διαγραφών καταλοίπων συμβαίνουν σχεδόν αποκλειστικά στις περιοχές των βρόχων. Φαίνεται λοιπόν πως κατά τη διάρκεια της εξέλιξης οι πυρήνες των πρωτεϊνών είναι περισσότερο σταθεροί από τους βρόχους. Οι θέσεις των εσωνίων στα δομικά γονίδια συχνά βρίσκονται σε περιοχές που αντιστοιχούν σε βρόχους στην πρωτεϊνική δομή. Εφόσον οι πρωτεΐνες με ομοιότητα στην πρωτοταγή τους δομή έχουν γενικά όμοιες δομές πυρήνων, είναι εμφανές ότι η διευθέτηση των στοιχείων δευτεροταγούς δομής στον πυρήνα δεν είναι ευαίσθητη στην αλλαγή του μήκους των βρόχων. Εκτός από τη λειτουργία τους ως συνδετικοί κρίκοι μεταξύ των στοιχείων δευτεροταγούς δομής, οι βρόχοι συχνά συμμετέχουν τόσο στο σχηματισμό θέσεων πρόσδεσης σε διάφορες πρωτεΐνες όσο και στη δημιουργία των ενεργών κέντρων ενζύμων. Για παράδειγμα, οι θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου στα αντισώματα δημιουργούνται από έξι βρόχους, οι οποίοι ποικίλλουν τόσο σε μήκος όσο και στην αμινοξική τους αλληλουχία. Έτσι, η δημιουργία ενός μοντέλου της θέσης πρόσδεσης ενός αντιγόνου με βάση τη γνωστή αλληλουχία ενός αντισώματος (βλ. Κεφάλαιο 17) αποτελεί, ουσιαστικά, ένα πρόβλημα πρόβλεψης των τρισδιάστατων δομών των βρόχων, καθώς οι δομές των πυρή-



νων των αντισωμάτων είναι μεταξύ τους πολύ όμοιες. Η κατασκευή τέτοιων μοντέλων είναι πλέον εφικτή, καθώς πρόσφατες ανακαλύψεις έδειξαν ότι οι βρόχοι έχουν ορισμένες προτιμητέες διαμορφώσεις. Μελέτες γνωστών τρισδιάστατων δομών βρόχων έχουν δείξει ότι αυτοί μπορούν να ομαδοποιηθούν σε έναν περιορισμένο αριθμό δομών και δεν αποτελούν μια τυχαία συλλογή πιθανών δομών (βλ. Εικόνα 2.8). Οι βρόχοι που συνδέουν δύο παρακείμενους αντιπαράλληλους β-κλώνους ονομάζονται **βρόχοι φουρκέτας**. Οι μικροί βρόχοι φουρκέτας ονομάζονται, συνήθως, **ανάστροφες στροφές** ή, απλά, **στροφές**. Η Εικόνα 2.8b παρουσιάζει δύο από τις πιο συχνά απαντώμενες στροφές: τη στροφή Τύπου I και τη στροφή Τύπου II. Η στροφή Τύπου II έχει συνήθως ένα κατάλοιπο γλυκίνης ως το δεύτερο από τα δύο κατάλοιπα της στροφής.

Οι μεγάλοι μήκους βρόχοι είναι συχνά ευέλικτοι και μπορούν να υιοθετήσουν αρκετές διαφορετικές διαμορφώσεις, γεγονός που συχνά τους καθιστά (τόσο για τις κρυσταλλογραφικά όσο και για τις NMR-προσδιορισμένες δομές) περιοχές άγνωστης (πειραματικά απροσδιόριστης) δομής. Τέτοιοι βρόχοι συχνά εμπλέκονται στη λειτουργία της πρωτεΐνης και μπορούν να μεταπηδούν από μία «ανοιχτή» διεύθεση, η οποία επιτρέπει την πρόσβαση στο ενεργό κέντρο, σε μία «κλειστή» διεύθεση, που προστατεύει τις δραστικές ομάδες του ενεργού κέντρου από το νερό.

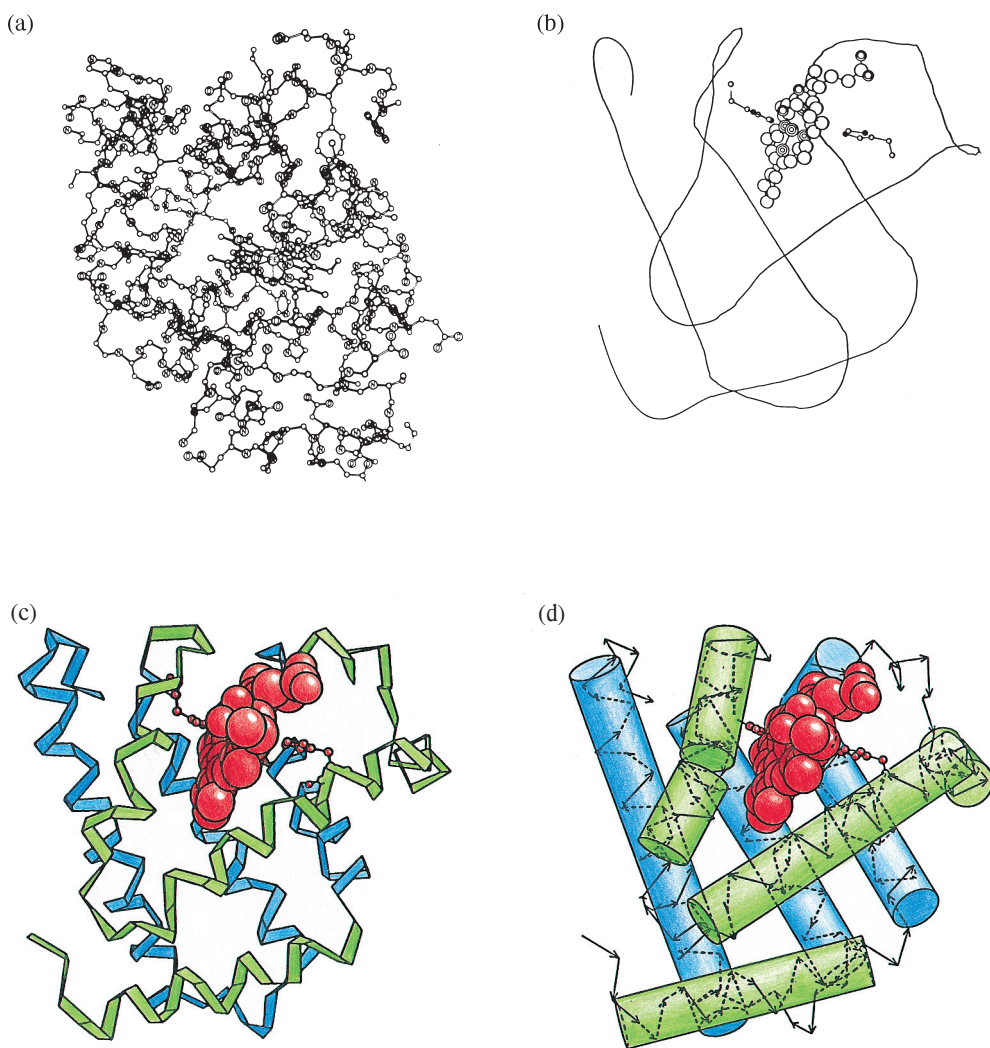
Οι μεγάλοι μήκους βρόχοι είναι σε πολλές περιπτώσεις ευάλωτοι στην πρωτεολυτική αποικοδόμηση. Ένας συγκεκριμένος τύπος μεγάλου μήκους βρόχου, ο βρόχος ωμέγα, περιέχει επαρκείς εσωτερικές αλληλεπιδράσεις και συνεπώς είναι αρκετά σταθερός. Άλλοι μεγάλοι μήκους βρόχοι (οι οποίοι από μόνοι τους θα προσβάλλονταν από πρωτεολυτικά ένζυμα) σταθεροποιούνται και προστατεύονται χάρη στη σύνδεσή τους με μεταλλικά ιόντα, και κυρίως ασβέστιο.

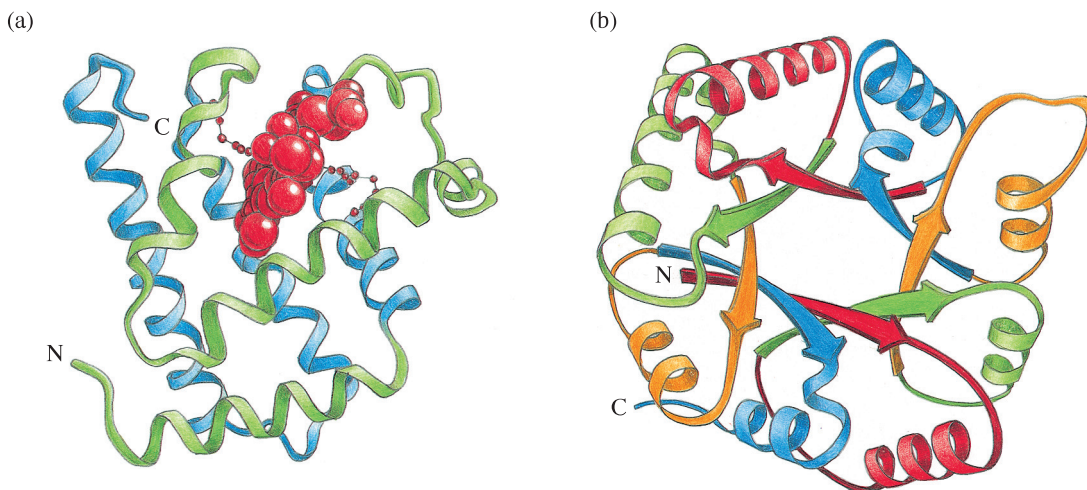
Εικόνα 2.8 Γειτονικοί αντιπαράλληλοι β-κλώνοι συνδέονται με βρόχους φουρκέτας. Τέτοιοι βρόχοι είναι συχνά μικροί και δεν έχουν κάποια κανονική δευτεροταγή δομή. Παρ' όλα αυτά, πολλοί βρόχοι σε διαφορετικές πρωτεΐνες έχουν παρόμοιες δομές. (a) Ιστόγραμμα στο οποίο απεικονίζεται η συχνότητα των φουρκετών ως συνάρτηση του μήκους τους για 62 διαφορετικές πρωτεΐνες. (b) Οι δύο πιο συχνά απαντώμενες στροφές, μήκους δύο καταλοίπων. Στροφή Τύπου I στα αριστερά και Τύπου II στα δεξιά. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί εντός των ορίων των στροφών παρουσιάζονται με πράσινο χρώμα. [Διασκευασμένο από τους B. L. Sibanda και J. M. Thornton, *Nature*, 316:170-174, 1985.]

2.8 Σχηματικές εικόνες των πρωτεϊνών επισημαίνουν τη δευτεροταγή δομή

Όλες οι σχηματικές αναπαραστάσεις των μορίων είναι απλοποιημένες εκδοχές του τρέχοντος μοντέλου που διαθέτουμε για τα πραγματικά μόρια, τα οποία (από την κβαντομηχανική σκοπιά) είναι πιθανολογικές συλλογές ατόμων που έχουν δυαδική (σωματιδιακή-κυματική) φύση. Μια τέτοια (πιθανολογική) προσέγγιση είναι εμφανώς δύσκολο να απεικονιστεί. Συνεπώς, χρησιμοποιούμε διάφορους τύπους απλοποιημένων αναπαραστάσεων, όπως χωροπληρωτικά μοντέλα και σκελετικά μοντέλα, όπου τα άτομα παριστάνονται ως σφαίρες και οι δεσμοί ως ράβδοι, καθώς και μοντέλα που απεικονίζουν ιδιότητες των επιφανειών. Οι πλέον λεπτομερείς αναπαραστάσεις είναι αυτές που παρέχονται από τα σκελετικά μοντέλα. Ωστόσο, ένα τέτοιο μοντέλο πρωτεϊνικής δομής (όταν δηλαδή παρατίθενται όλα τα άτομα) είναι πολύπλοκο και ασαφές εξαιτίας του μεγάλου όγκου πληροφορίας που περιέχει (βλ. Εικόνα 2.9a).

Εικόνα 2.9 (a) Διάγραμμα της δομής της μυοσφαιρίνης στο οποίο γίνεται πλήρης αναπαράσταση όλων των ατόμων (μικροί κύκλοι) και όλων των μεταξύ τους ομοιοπολικών δεσμών (ευθείες γραμμές). Παρ' όλο που φαίνονται μόνο οι πλευρικές αλυσίδες στην επιφάνεια του μορίου, η εικόνα περιέχει τόσα πολλά άτομα, που μια τέτοια δισδιάστατη εικόνα είναι πολύ πολύπλοκη και παρέχει πολύ λίγη πληροφορία. (b-d) Σχηματικά διαγράμματα που έχουν παραχθεί από υπολογιστή, σε διαφορετικά επίπεδα απλούστευσης της δομής της μυοσφαιρίνης. [(a) Τμήμα ενός στερεοδιαγράμματος από τον H. C. Watson, *Prog. Stereochem.* 4:299-333, 1969, με την άδεια του Plenum Press. (b-d) Από τον Arthur Lesk, *Protein Architecture: A Practical Approach*, 1991, Oxford University Press.]





Μια δισδιάστατη εικόνα του σκελετικού μοντέλου ενός μακρομορίου είναι αδύνατο να ερμηνευτεί. Ακόμα και αν αποκλειστούν από την εικόνα τα άτομα των πλευρικών αλυσίδων, εξακολουθεί να είναι δύσκολο να εξαχθούν ουσιαστικές πληροφορίες από μία δισδιάστατη εικόνα ενός τέτοιου μοντέλου, κυρίως εξαιτίας της δυσκολίας να εντοπιστούν οι σχέσεις στο χώρο μεταξύ των στοιχείων δευτεροταγούς δομής. Καθώς τα στοιχεία αυτά κυριαρχούν στη δομή, η εικόνα γίνεται καθαρότερη αν αυτά απλοποιηθούν και επισημανθούν με κάποιον τρόπο. Κάτι τέτοιο συμβαίνει, συνήθως, παριστάνοντας την πολυπεπτιδική αλυσίδα με τρία διαφορετικά σύμβολα: κυλίνδρους για τις α-έλικες, βέλη –που δείχνουν την κατεύθυνση από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο– για τους β-κλώνους, και ταινίες για τα εναπομείναντα μέρη. Τα σχηματικά αυτά διαγράμματα προσφέρουν χρήσιμες αναπαραστάσεις των πρωτεϊνικών δομών, αλλά, φυσικά, δεν παρέχουν λεπτομερείς πληροφορίες. Οι λεπτομέρειες μελετώνται καλύτερα στα συστήματα γραφικής απεικόνισης, όπου κάποιος μπορεί να χειριστεί το μοντέλο που παράγει ο υπολογιστής στην οθόνη. Με τον τρόπο αυτό, οι δυνατότητες των συστημάτων γράφησης καθίστούν δυνατή για το χρήστη μια πιο κατανοητή και σε βάθος μελέτη των πρωτεϊνικών δομών.

Η Jane Richardson του Πανεπιστημίου Duke έχει δημιουργήσει μια πολύ δημοφιλή συλλογή **σχηματικών διαγραμμάτων** ποικίλων πρωτεϊνικών μορίων με μια καλλιτεχνική χροιά, που δημιουργεί ένα καλαίσθητο αποτέλεσμα χωρίς να χάνεται μεγάλο ποσοστό ακριβείας.

Ο Arthur Lesk στο MRC Laboratory of Molecular Biology, στο Cambridge του Ηνωμένου Βασιλείου, και ο Karl Hardman, στην IBM, πρωτοστάτησαν στη χρήση προγραμμάτων υπολογιστών για την παραγωγή σχηματικών διαγραμμάτων με τη βοήθεια υπολογιστή, χρησιμοποιώντας ως βάση τις συντεταγμένες των ατόμων της κύριας αλυσίδας. Στις Εικόνες 2.9c και 2.10 παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά παραδείγματα των διαγραμμάτων τύπου Lesk και τύπου Richardson.

Εικόνα 2.10 Παραδείγματα σχηματικών διαγραμμάτων του τύπου που καθιέρωσε η Jane Richardson. Στο διάγραμμα (a) απεικονίζεται η δομή της μυοσφαιρίνης με τον ίδιο προσανατολισμό, όπως στα διαγράμματα της Εικόνας 2.9b-d. Στο διάγραμμα (b), το οποίο έχει προσαρμοστεί από την J. Richardson, παρουσιάζεται η δομή του ενζύμου ισομεράση της φωσφορικής τριόξης, προσδιορισμένη σε διακριτικότητα 2.5 Å στο εργαστήριο του David Phillips στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Τέτοια διαγράμματα μπορούν εύκολα να αποκτηθούν από βάσεις δεδομένων όπως οι PDB, SCOP ή CATH, οι οποίες είναι διαθέσιμες στο διαδίκτυο.

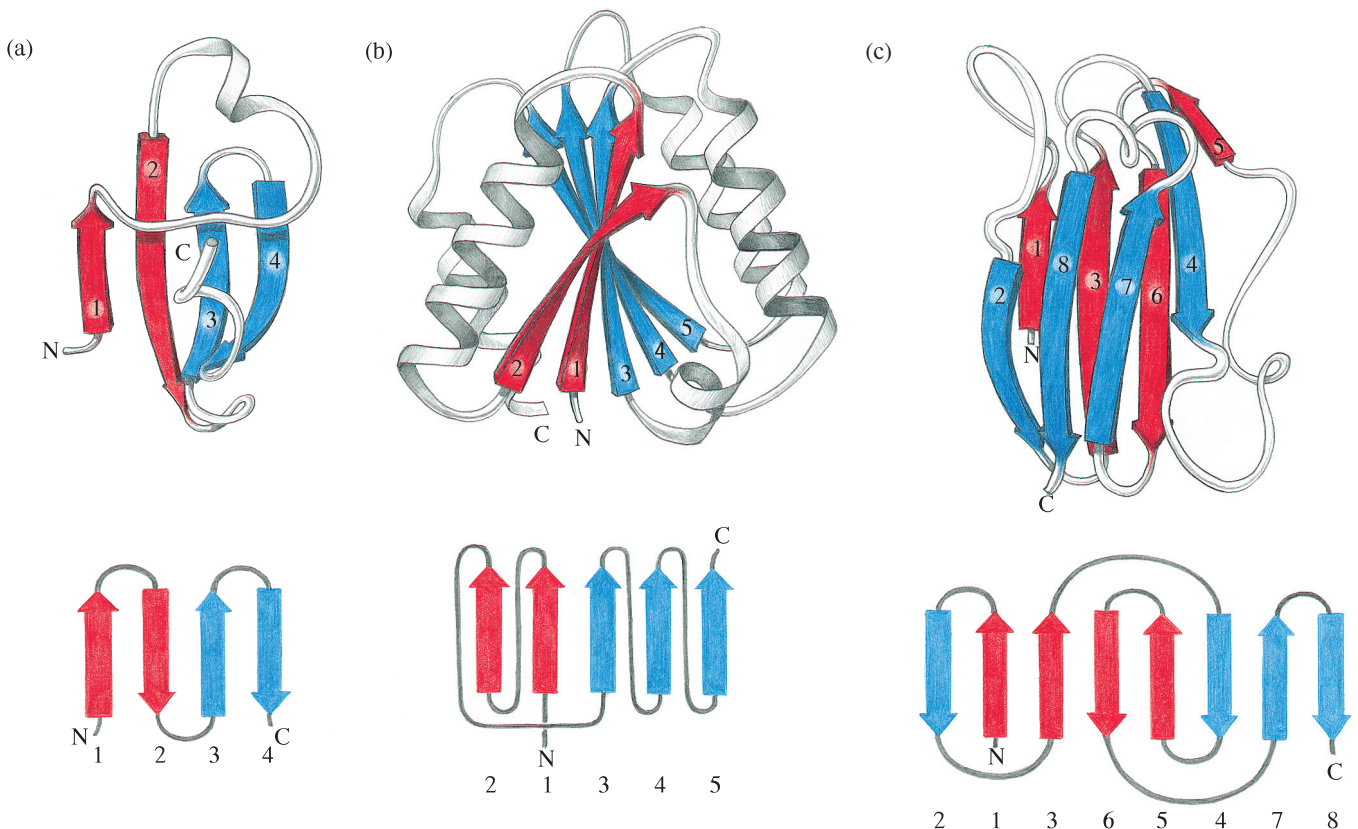
Εικόνα 2.11 Στα τοπολογικά διαγράμματα, οι β-πτυχωτές επιφάνειες απεικονίζονται συνήθως με βέλη που δείχνουν τόσο την κατεύθυνση κάθε β-κλώνου όσο και τον τρόπο με τον οποίο συνδέονται οι κλώνοι μεταξύ τους κατά μήκος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Τέτοια τοπολογικά διαγράμματα συγκρίνονται με περισσότερο λεπτομερή σχηματικά διαγράμματα για διάφορους τύπους β-πτυχωτών επιφανειών. (a) Τέσσερις κλώνοι. Μία αντιπαράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια σε μια επικράτεια του ενζύμου τρανσκαρβαμυλάση του ασπαρτικού. Η δομή του ενζύμου αυτού έχει αναλυθεί σε διακριτικότητα 2.8 Å στο εργαστήριο του William Lipscomb, Harvard University. (b) Πέντε κλώνοι. Η παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια στη ρεδουκτάση (οξειδοαναγωγή), η δομή της οποίας έχει αναλυθεί σε διακριτικότητα 1.8 Å στο εργαστήριο της Martha Ludwig, University of Michigan. (c) Οκτώ κλώνοι. Αντιπαράλληλο β-βαρέλι στο μεταφορέα ηλεκτρονίων πλαστοκυανίνη. Είναι ένα κλειστό βαρέλι, όπου η πτυχωτή επιφάνεια διπλώνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε οι β-κλώνοι 2 και 8 να είναι παρακαίμενοι. Η δομή έχει αναλυθεί σε διακριτικότητα 1.6 Å στο εργαστήριο του Hans Freeman στο Σίδνεϊ της Αυστραλίας. (Διασκευασμένο από την J. Richardson.)

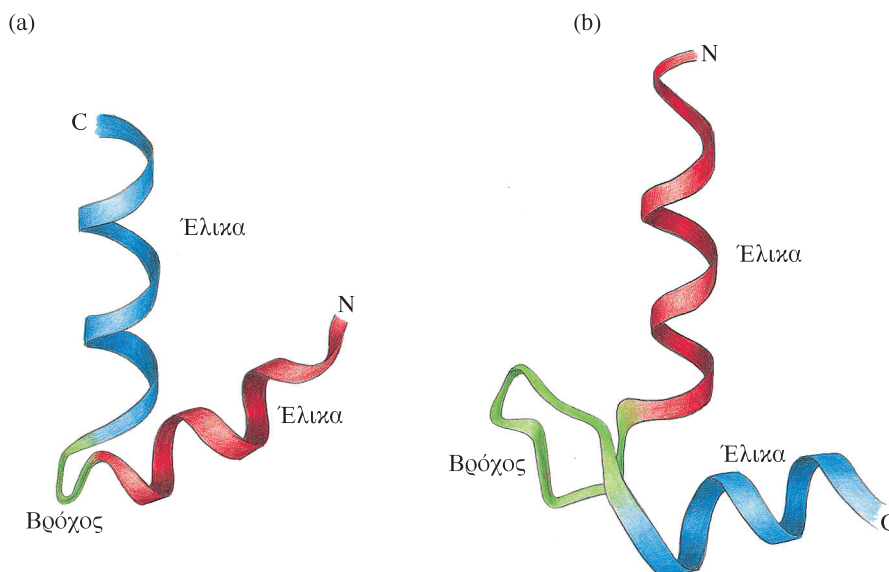
2.9 Τα τοπολογικά διαγράμματα είναι χρήσιμα για την ταξινόμηση των πρωτεϊνικών δομών

Σε μερικές περιπτώσεις είναι αναγκαίο να απλοποιήσουμε ακόμα περισσότερο την αναπαράσταση των στοιχείων δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών, ιδιαίτερα για τις β-πτυχωτές επιφάνειες. Οι πιο χαρακτηριστικές ιδιότητες μιας β-πτυχωτής επιφάνειας είναι: ο αριθμός των κλώνων, οι σχετικές τους διευθύνσεις (παράλληλες ή αντιπαράλληλες) και το πώς συνδέονται οι κλώνοι κατά μήκος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (διάταξη κλώνων). Οι πληροφορίες αυτές παρέχονται εύκολα μέσα από απλά διαγράμματα συνδεδεμένων τόξων, όπως αυτά της Εικόνας 2.11, όπου τέτοια απλά **τοπολογικά διαγράμματα** συγκρίνονται με τα πιο εξεζητημένα διαγράμματα Richardson. Η στροφή της β-πτυχωτής επιφάνειας δεν είναι εμφανής στα τοπολογικά διαγράμματα. Παρ' όλα αυτά, είναι πολύ χρήσιμα όταν χρησιμοποιούνται στη σύγκριση β-δομών ή στην ανάλυση και στην παρουσίαση δεδομένων στις αναζητήσεις σε υπολογιστικές βάσεις δεδομένων παρόμοιων δομών. Τέτοια τοπολογικά διαγράμματα θα χρησιμοποιούνται συχνά στο βιβλίο αυτό.

2.10 Τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής συνδέονται για να σχηματίσουν απλά μοτίβα

Απλοί συνδυασμοί μερικών στοιχείων δευτεροταγούς δομής με μια συγκεκριμένη γεωμετρική διεύθυνση συναντώνται συχνά στις πρωτεϊνικές δομές. Οι μονάδες αυτές ονομάζονται





είτε **υπερδευτεροταγείς δομές** είτε **μοτίβα**. Σ' αυτό το βιβλίο θα χρησιμοποιήσουμε τον όρο «μοτίβο». Κάποια από τα μοτίβα αυτά μπορούν να συσχετιστούν με μια συγκεκριμένη λειτουργία, όπως, για παράδειγμα, την πρόσδεση στο DNA. Κάποια άλλα δεν έχουν συγκεκριμένη βιολογική λειτουργία από μόνα τους, αποτελούν όμως μέρη μεγαλύτερων δομικών και λειτουργικών συστημάτων.

Το πιο απλό μοτίβο με συγκεκριμένη λειτουργία αποτελείται από δύο α-έλικες συνδεδεμένες με ένα βρόχο. Δύο τέτοια μοτίβα, το καθένα με τη δική του χαρακτηριστική γεωμετρία και αμινοξική ακολουθία, έχουν παρατηρηθεί ως τμήματα πολλών πρωτεϊνικών δομών (βλ. Εικόνα 2.12).

Ένα από τα μοτίβα αυτά, που ονομάζεται μοτίβο έλικα-στροφής-έλικα, είναι ειδικό για πρόσδεση στο DNA και περιγράφεται λεπτομερώς στα Κεφάλαια 8 και 9. Το δεύτερο μοτίβο είναι ειδικό για τη δέσμευση ασβεστίου και είναι παρόν στην παρβαλβουμίνη (parvalbumin), στην καλμοδουλίνη (calmodulin), στην τροπονίνη-C (tropoin-C) και σε άλλες πρωτεΐνες που δεσμεύουν ασβέστιο, ρυθμίζοντας έτσι διάφορες κυτταρικές λειτουργίες. Το μοτίβο δέσμευσης ασβεστίου ανακαλύφθηκε το 1973 από το Robert Kretsinger, στο Πανεπιστήμιο της Virginia, όταν προσδιόρισε τη δομή της παρβαλβουμίνης σε διακριτικότητα 1.8 Å.

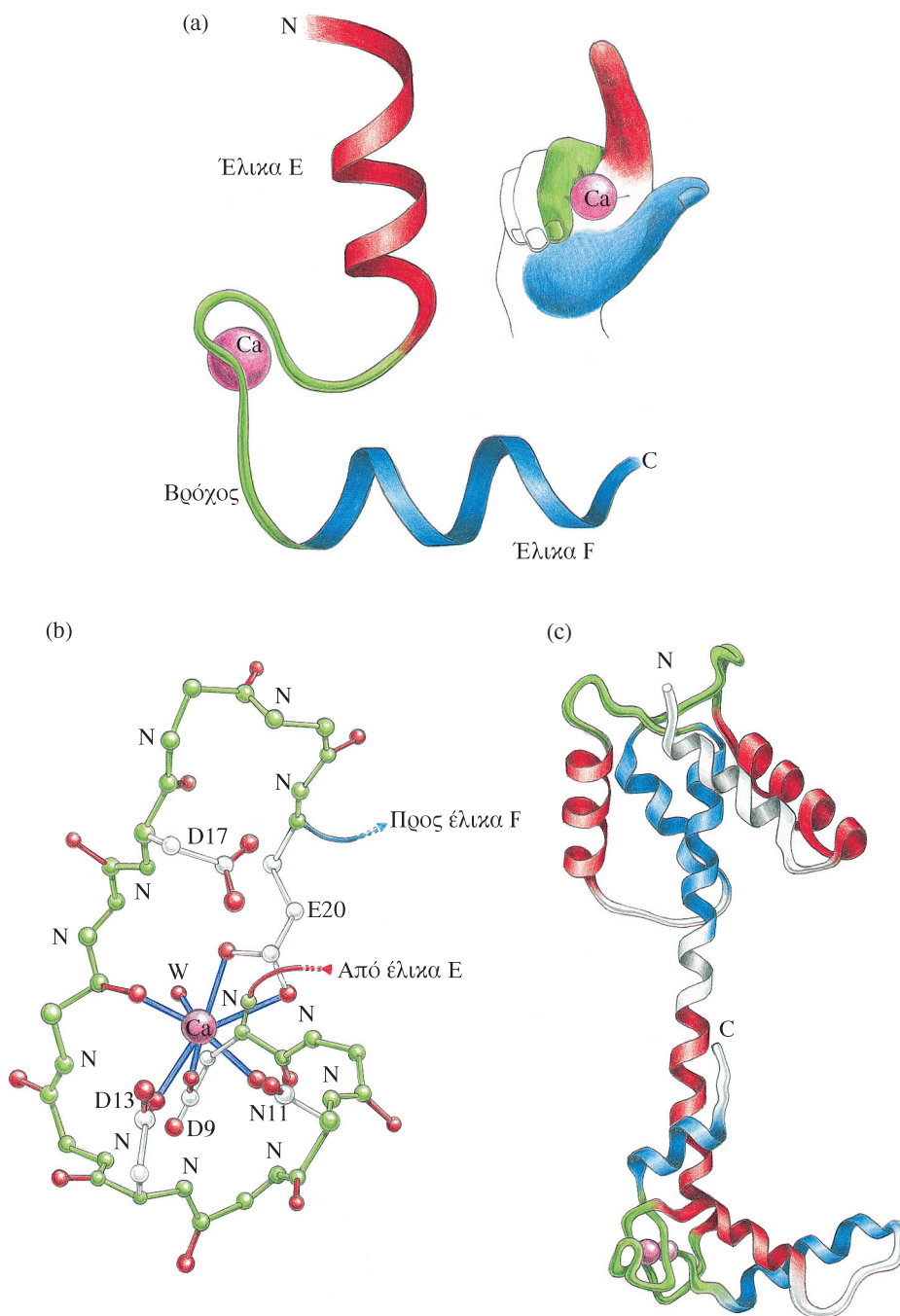
Η παρβαλβουμίνη είναι μια μυϊκή πρωτεΐνη που αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 109 αμινοξέων. Η λειτουργία της δεν είναι προσδιορισμένη, αλλά πιθανότατα η σύνδεση αυτής της πρωτεΐνης με το ασβέστιο φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη μυϊκή χαλάρωση. Το μοτίβο έλικα-στροφής-έλικα εμφανίζεται τρεις φορές στη δομή αυτή. Στις δύο (από τις τρεις) περιπτώσεις υπάρχει μία θέση δέσμευσης ασβεστίου. Στην Εικόνα 2.13 απεικονίζεται το μοτίβο αυτό, το οποίο ονομάζεται **EF hand**, διότι η πέμπτη και η έκτη (από το αμινοτελικό άκρο) έλικα στην παρβαλβουμίνη,

Εικόνα 2.12 Δύο α-έλικες που συνδέονται με ένα μικρό βρόχο συγκεκριμένης γεωμετρικής διεύθυνσης αποτελούν ένα μοτίβο έλικα-στροφής-έλικα. Παρουσιάζονται δύο τέτοια μοτίβα: (a) το μοτίβο που προσδένεται σε DNA (βλ. Κεφάλαιο 8) και (b) το μοτίβο δέσμευσης ασβεστίου, που είναι παρόν σε πολλές πρωτεΐνες των οποίων η λειτουργία ρυθμίζεται από το ασβέστιο.

οι οποίες ονομάστηκαν E και F, είναι τα μέρη εκείνα της πρωτεϊνικής δομής που αρχικά χρησιμοποιήθηκαν για να απεικονιστεί η δέσμευση του ασβεστίου από το μοτίβο αυτό. Παρά την απλοϊκότητα της προέλευσής του, το όνομα του μοτίβου έχει διατηρηθεί στη βιβλιογραφία.

Το άτομο του ασβεστίου προσδένεται στο βρόχο ανάμεσα στις δύο α-έλικες. Καρβοξυλικές πλευρικές αλυσίδες από το ασπαρτικό (Asp) και το γλουταμικό (Glu), ομάδες $C' = O$ της κύριας αλυσίδας και μόρια H_2O σχηματίζουν τη θέση πρόσδεσης του ατόμου του μετάλλου (βλ. Εικόνα 2.13b). Συνεπώς, τόσο η συγκεκρι-

Εικόνα 2.13 Σχηματικά διαγράμματα του μοτίβου δέσμευσης ασβεστίου. (a) Το μοτίβο δέσμευσης ασβεστίου συμβολίζεται με ένα δεξί χέρι. Η έλικα E (κόκκινη) ξεκινά από την κορυφή και καταλήγει στη βάση του δείκτη. Το λυγισμένο μεσαίο δάχτυλο αντιστοιχεί στον πράσινο βρόχο 12 καταλοίπων, που προσδένει το ασβέστιο (ροζ). Η έλικα F (μπλε) εντοπίζεται στο άκρο του αντίχειρα. (b) Το άτομο ασβεστίου όπως αυτό προσδένεται σε ένα από τα μοτίβα της μυϊκής πρωτεΐνης τροπονίνης-C. Στην πρόσδεση συμμετέχουν έξι άτομα οξυγόνου, τα οποία είναι τα ακόλουθα: ένα από την πλευρική αλυσίδα των Asp (D) 9, Asn (N) 11 και Asp (D) 13, ένα από την κεντρική αλυσίδα του καταλοίπου 15 και δύο από την πλευρική αλυσίδα του Glu (E) 20. Επιπλέον, ένα μόριο νερού (W) συνδέεται στο άτομο ασβεστίου. (c) Σχηματικό διάγραμμα στο οποίο φαίνεται ότι η δομή της τροπονίνης-C δημιουργείται από τέσσερα EF μοτίβα [ο χρωματικός κώδικας είναι ο ίδιος με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε στο (a)]. Δύο απ' αυτά προσδένουν άτομα ασβεστίου (ροζ σφαίρες). (Διασκευασμένο από ένα διάγραμμα της J. Richardson στη δημοσίευση των O. Herzberg και M. James, *Nature* 313: 653-659, 1985.)



Πίνακας 2.2 Αμινοξικές ακολουθίες μοτίβων δέσμευσης ασβεστίου EF σε τρεις διαφορετικές πρωτεΐνες.

Παρθαλβουμίνη	V	K	K	A	F	A	I	I	D	Q	D	K	S	G	F	I	E	E	D	E	L	K	L	F	L	Q	N	F
Καλμοδουλίνη	F	K	E	A	F	S	L	F	D	K	D	G	D	G	T	I	T	T	K	E	L	G	T	V	M	R	S	L
Τροπονίνη-C	L	A	D	C	F	R	I	F	D	K	N	A	D	G	F	I	D	I	E	E	L	G	E	I	L	R	A	T

Έλικα E

Βρόχος

Έλικα F

Τα κατάλοιπα που συμμετέχουν στη δέσμευση του ασβεστίου είναι χρωματισμένα πορτοκαλί και αυτά που δομούν τον υδρόφοβο πυρήνα είναι χρωματισμένα με ανοιχτό πράσινο. Η περιοχή έλικα-βρόχος-έλικα που φαίνεται από κάτω είναι χρωματισμένη όπως στην Εικόνα 2.13.

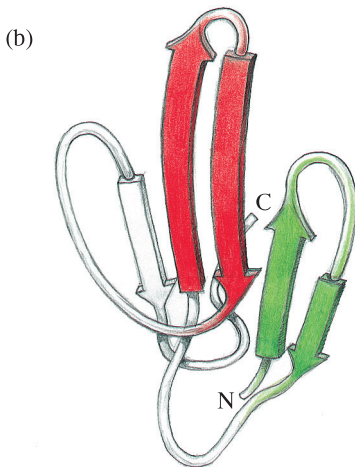
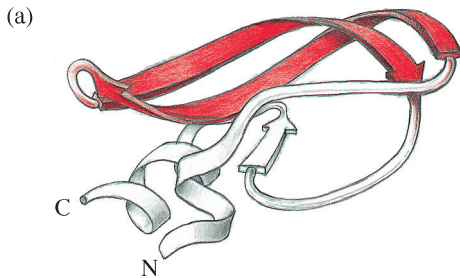
μένη διαμόρφωση της κύριας αλυσίδας του βρόχου όσο και οι συγκεκριμένες πλευρικές αλυσίδες απαιτούνται προκειμένου να είναι λειτουργικό το μοτίβο. Το μοτίβο έλικα-στροφή-έλικα παρέχει ένα ικρίωμα που συγκρατεί τους υποκαταστάτες ασβεστίου στην κατάλληλη θέση, έτσι ώστε να συνδέεται και να απελευθερώνεται το ασβέστιο.

Όταν ο Kretsinger ανέλυσε λεπτομερώς τη δομή του μοτίβου δέσμευσης ασβεστίου στην παρθαλβουμίνη το 1973, εξήγαγε ένα σύνολο περιορισμών στους οποίους πρέπει να υπακούει μια αμινοξική ακολουθία προκειμένου να σχηματίσει ένα τέτοιο μοτίβο. Το μοτίβο περιλαμβάνει δύο α-έλικες, τις E και F, που βρίσκονται εκατέρωθεν ενός βρόχου 12 συνεχόμενων καταλοίπων. Πέντε από τα κατάλοιπα του βρόχου συμμετέχουν στην πρόσδεση του ασβεστίου, και συνεπώς οι πλευρικές τους ομάδες πρέπει να περιέχουν ένα άτομο οξυγόνου. Τα κατάλοιπα αυτά θα πρέπει κατά προτίμηση να είναι Asp ή Glu (βλ. Πίνακα 2.2). Το κατάλοιπο 6 του βρόχου πρέπει να είναι γλυκίνη, διότι η πλευρική αλυσίδα οποιουδήποτε άλλου καταλοίπου θα παρεμπόδιζε τη δομή του μοτίβου. Τέλος, ένας αριθμός πλευρικών ομάδων σχηματίζει έναν υδρόφοβο πυρήνα ανάμεσα στις α-έλικες, και συνεπώς αυτά τα κατάλοιπα θα πρέπει να είναι υδρόφοβα. Εφαρμόζοντας τους περιορισμούς αυτούς, ο Kretsinger προέβλεψε πως αρκετές διαφορετικές πρωτεΐνες που προσδένουν ασβέστιο θα μπορούσαν να σχηματίσουν το μοτίβο αυτό. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες αυτές συγκαταλεγόταν η πολύ σημαντική μυϊκή πρωτεΐνη τροπονίνη C, καθώς και η καλμοδουλίνη, που ρυθμίζει μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών μέσω της δέσμευσης ασβεστίου. Μεταγενέστερες δομικές αναλύσεις των δύο αυτών πρωτεϊνών έδειξαν πως η πρόβλεψη του Kretsinger ήταν σωστή. Στην Εικόνα 2.13 παρουσιάζεται η δομή της μίας από τις δύο, της τροπονίνης C, η οποία προσδιορίστηκε από τον Osnat Herzberg στο εργαστήριο του Michael James στο Edmonton του Καναδά, σε διακριτικότητα 2.0 Å.

2.11 Το μοτίβο β -φουρκέτας συναντάται συχνά στις πρωτεϊνικές δομές

Το πιο απλό μοτίβο που περιλαμβάνει β -κλώνους, απλούστερο από το α -ελικοειδές μοτίβο δέσμευσης ασβεστίου, αποτελείται από δύο γειτονικούς αντιπαράλληλους κλώνους που συνδέονται μέσω ενός βρόχου. Το μοτίβο αυτό, που ονομάζεται είτε φουρκέτα είτε β - β -μονάδα, συναντάται αρκετά συχνά. Είναι παρόν στις περισσότερες αντιπαράλληλες β -δομές, τόσο με τη μορφή μιας απομονωμένης μονάδας όσο και ως τμήμα πιο πολύπλοκων β -πτυχωτών επιφανειών. Όταν δυο β -κλώνοι είναι διαδοχικοί σε επίπεδο αλληλουχίας, υπάρχει μια προτίμηση να είναι γειτονικοί και στις β -πτυχωτές επιφάνειες (της τρισδιάστατης δομής). Αυτό επιτυγχάνεται με το σχηματισμό ενός μοτίβου **β -φουρκέτας**. Τα μήκη των βρόχων ανάμεσα στους β -κλώνους ποικίλλουν, αλλά συνήθως περιέχουν δύο με πέντε κατάλοιπα (βλ. Εικόνα 2.8). Δεν υπάρχει συγκεκριμένη λειτουργία που να συνδέεται με το μοτίβο αυτό.

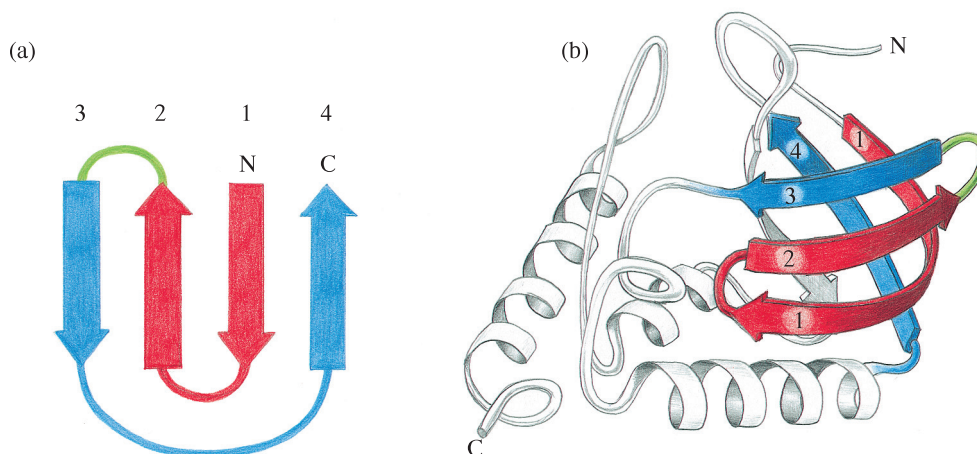
Στην Εικόνα 2.14 παρουσιάζονται παραδείγματα των δύο περιπτώσεων, δηλαδή της απομονωμένης β -φουρκέτας, και της φουρκέτας ως τμήμα μιας β -πτυχωτής επιφάνειας. Η απομονωμένη β -φουρκέτα είναι αυτή που βρέθηκε στη δομή του αναστολέα της θρυψίνης (βλ. Εικόνα 2.14a), ενός μικρού και πολύ σταθερού πολυπεπτιδίου 58 αμινοξέων που αναστέλλει τη δράση της πρωτεάσης θρυψίνης και του οποίου η δομή έχει λυθεί σε διακριτικότητα 1.0 Å στο εργαστήριο του Robert Huber στο Μόναχο της Γερμανίας. Τα μοτίβα φουρκέτας, ως μέρη μιας β -πτυχωτής επιφάνειας, παριστάνονται στη δομή της εραβουτοξίνης (erabutoxin) από το δηλητήριο των φιδιών (βλ. Εικόνα 2.14b). Αυτή η πρωτεΐνη προσδένεται και αναστέλλει τον υποδοχέα της ακετυλοχολίνης στα νευρικά κύτταρα. Η δομή έχει προσδιοριστεί σε διακριτικότητα 1.4 Å στο εργαστήριο της Barbara Low στο Πανεπιστήμιο της Columbia. Ο πυρήνας της δομής αυτής είναι μια β -πτυχωτή επιφάνεια πέντε κλώνων που περιέχει δύο μοτίβα φουρκέτας και έναν πρόσθετο β -κλώνο.



2.12 Το μοτίβο Ελληνικό κλειδί συναντάται στις αντιπαράλληλες β -πτυχωτές επιφάνειες

Τέσσερις παρακείμενοι αντιπαράλληλοι β -κλώνοι συχνά διευθετούνται με ένα πρότυπο παρόμοιο με την επαναλαμβανόμενη μονάδα ενός διακοσμητικού μοτίβου που χρησιμοποιούνταν

Εικόνα 2.14 Το μοτίβο φουρκέτας είναι πολύ συχνό στις β -πτυχωτές επιφάνειες και δημιουργείται από δύο παρακείμενους β -κλώνους που συνδέονται με ένα βρόχο. Παρουσιάζονται δύο παραδείγματα τέτοιων μοτίβων. (a) Σχηματικό διάγραμμα της δομής του αναστολέα της θρυψίνης. Το μοτίβο φουρκέτας παριστάνεται με κόκκινο χρώμα. (b) Σχηματικό διάγραμμα της δομής της εραβουτοξίνης (erabutoxin) από το δηλητήριο των φιδιών. Τα δύο μοτίβα φουρκέτας στη β -πτυχωτή επιφάνεια χρωματίζονται με κόκκινο και πράσινο. (Διασκευασμένο από την J. Richardson.)



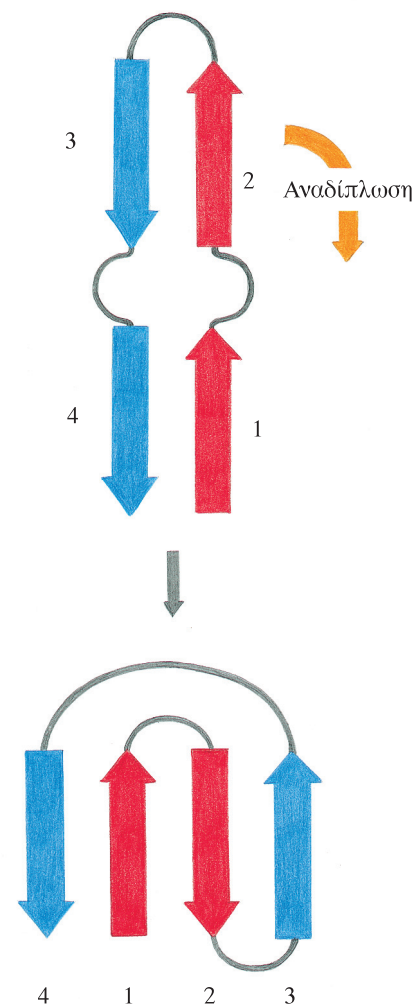
Εικόνα 2.15 Το μοτίβο Ελληνικό κλειδί συναντάται στις αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες, όταν τέσσερις παρακείμενοι β-κλώνοι διατάσσονται σύμφωνα με το πρότυπο που παρουσιάζεται ως τοπολογικό διάγραμμα στο (a). Το μοτίβο συναντάται σε πολλές β-πτυχωτές επιφάνειες. Ως παράδειγμα παρατίθεται στο (b) η δομή του ενζύμου σταφυλοκοκκική νουκλεάση. Οι τέσσερις β-κλώνοι που σχηματίζουν το μοτίβο χρωματίζονται με κόκκινο και μπλε. Η δομή αυτού του ενζύμου προσδιορίστηκε σε διακριτικότητα 1.5 Å στο εργαστήριο του Al Cotton στο MIT. (Διασκευασμένο από την J. Richardson.)

στην αρχαία Ελλάδα. Το μοτίβο αυτό πήρε και επίσημα ένα όνομα αντίστοιχο της προέλευσής του και είναι πλέον γνωστό με το όνομα «Ελληνικό κλειδί».

Στις πρωτεΐνες, το μοτίβο αυτό ονομάζεται, συνεπώς, **μοτίβο Ελληνικό κλειδί** (Greek key motif). Στην Εικόνα 2.15 παρουσιάζεται ένα παράδειγμα τέτοιου μοτίβου από τη δομή της σταφυλοκοκκικής νουκλεάσης, ενός ενζύμου που αποσυνθέτει μόρια DNA. Το μοτίβο Ελληνικό κλειδί δε σχετίζεται με κάποια συγκεκριμένη λειτουργία, αλλά συναντάται συχνά στις πρωτεϊνικές δομές.

Τα μοτίβο αυτό έχει αναλυθεί λεπτομερώς και έχει προταθεί ότι η συχνή του εμφάνιση (σε σύγκριση με άλλες διευθετήσεις τεσσάρων αντιπαράλληλων β-κλώνων) βασίζεται στη δημιουργία μιας αρχικής μεγάλου μήκους αντιπαράλληλης δομής, με βρόχους μεταξύ τεσσάρων διαδοχικών β-κλώνων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.16. Μέσω δομικών αλλαγών στους βρόχους μεταξύ των β-κλώνων 1-2 και 3-4, το άνω μέρος διπλώνεται προς τα κάτω, έτσι ώστε ο β-κλώνος 2 να πλησιάζει το β-κλώνο 1. Στη συνέχεια, οι κλώνοι 1 και 2 σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου και έτσι σχηματίζεται το μοτίβο Ελληνικό κλειδί.

Εικόνα 2.16 Προτεινόμενος τρόπος μετάβασης από μία δομή όμοια με φουρζέτα στο μοτίβο Ελληνικό κλειδί. Οι β-κλώνοι 2 και 3 διπλώνουν με τέτοιο τρόπο, ώστε ο κλώνος 2 να στοιχίζεται γειτονικά και αντιπαράλληλα στον κλώνο 1. Το τοπολογικό διάγραμμα του μοτίβου Ελληνικό κλειδί που παρουσιάζεται εδώ είναι το ίδιο με αυτό της Εικόνας 2.15a, αλλά έχει περιστραφεί κατά 180° γύρω από έναν άξονα κάθετο στην επιφάνεια της σελίδας.



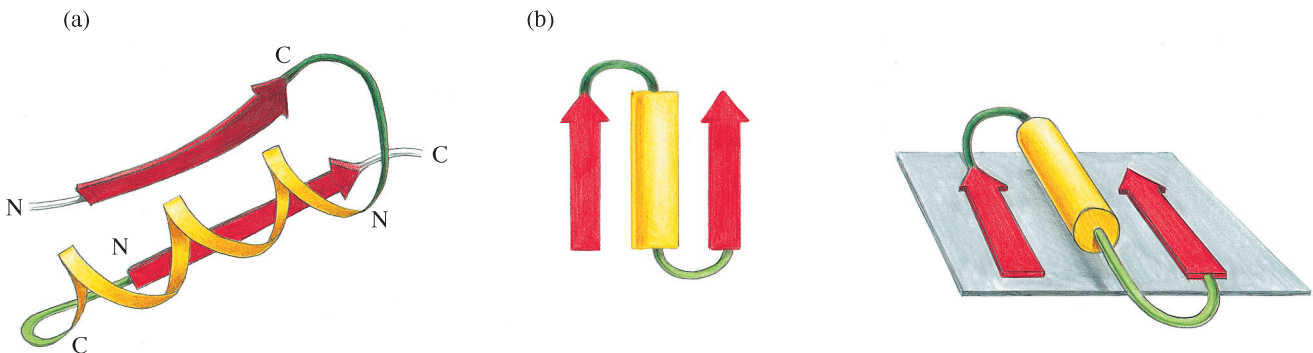
2.13 Το μοτίβο β - α - β περιέχει δύο παράλληλους β -κλώνους

Το μοτίβο φουρκέτας είναι ένας απλός και συνήθης τρόπος για να συνδεθούν δύο αντιπαράλληλοι β -κλώνοι, καθώς τα συνδεδεμένα άκρα των β -κλώνων βρίσκονται κοντά μεταξύ τους, στην ίδια πλευρά της β -πτυχωτής επιφάνειας. Πώς όμως συνδέονται οι παράλληλοι β -κλώνοι; Αν δύο παράλληλοι παρακείμενοι κλώνοι είναι συνεχόμενοι στην αμινοξική αλληλουχία, τα δύο άκρα τους (αυτά που θα πρέπει να ενωθούν) βρίσκονται σε αντίθετες πλευρές της β -πτυχωτής επιφάνειας. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα θα πρέπει λοιπόν να ακολουθήσει μια τέτοια διαδρομή ώστε να συνδεθεί η μία πλευρά της β -πτυχωτής επιφάνειας με την άλλη (ούτως ώστε να συνδεθεί ο δεύτερος β -κλώνος με τον πρώτο). Τέτοιες σταυρωτές συνδέσεις γίνονται, συχνά, από α -έλικες. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα πρέπει να καμφθεί δύο φορές χρησιμοποιώντας βρόχους. Κατά συνέπεια, το μοτίβο που δημιουργείται είναι ένας β -κλώνος που ακολουθείται από ένα βρόχο, μία α -έλικα, έναν ακόμα βρόχο και τελικά το δεύτερο β -κλώνο.

Το μοτίβο αυτό ονομάζεται **β - α - β** (βλ. Εικόνα 2.17) και συναντάται ως τμήμα σχεδόν κάθε πρωτεϊνικής δομής που περιέχει μία παράλληλη β -πτυχωτή επιφάνεια. Για παράδειγμα, το μόριο που παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.10b, η ισομεράση της φωσφορικής τριόζης, δομείται ολοκληρωτικά από επαναλαμβανόμενους συνδυασμούς αυτού του μοτίβου, όπου δύο διαδοχικά μοτίβα μοιράζονται ένα β -κλώνο. Εναλλακτικά, μπορεί να θεωρηθεί πως δομείται από τέσσερα διαδοχικά μοτίβα β - α - β .

Η α -έλικα στο μοτίβο β - α - β συνδέει το καρβοξυτελικό άκρο του ενός β -κλώνου με το αμινοτελικό άκρο του επόμενου β -κλώνου (βλ. Εικόνα 2.17) και είναι συνήθως προσανατολισμένη με τέτοιο τρόπο, ώστε ο άξονάς της να είναι κατά προσέγγιση παράλληλος με τους επιμήκεις άξονες των δύο β -κλώνων. Η α -έλικα «σκεπάζει» τους β -κλώνους κι επομένως προστατεύει τα υδρόφοβα κατάλοιπα τους από το διαλύτη. Το μοτίβο β - α - β αποτελείται λοιπόν από δύο παράλληλους β -κλώνους, μία α -έλικα και δύο βρόχους (εκτός από λίγες περιπτώσεις, όπου η σύνδεση ανάμεσα στους δύο παράλληλους β -κλώνους δε γίνεται μέσω α -έλικας, αλλά μέσω ενός τμήματος πολυπεπτιδικής αλυσίδας με ακα-

Εικόνα 2.17 Δύο γειτονικοί παράλληλοι β -κλώνοι συνήθως ενώνονται μέσω μίας α -έλικας που συνδέει το C-άκρο του κλώνου 1 με το N-άκρο του κλώνου 2. Οι περισσότερες πρωτεϊνικές δομές που περιέχουν παράλληλες β -πτυχωτές επιφάνειες σχηματίζονται από συνδυασμούς τέτοιων μοτίβων β - α - β . Οι β -κλώνοι είναι κόκκινοι και οι α -έλικες κίτρινες. Τα βέλη αντιπροσωπεύουν τους β -κλώνους και οι κύλινδροι τις έλικες. (a) Σχηματικό διάγραμμα του σκελετού της κύριας αλυσίδας. (b) Τοπολογικά διαγράμματα του μοτίβου β - α - β .



Εικόνα 2.18 Το μοτίβο β-α-β μπορεί να είναι δεξιόστροφο ή αριστερόστροφο. (a) Η σύνδεση αυτή (με την έλικα πάνω από την επιφάνεια) συναντάται σε όλες σχεδόν τις πρωτεΐνες και ονομάζεται δεξιόστροφη επειδή η διαδρομή του πρωτεϊνικού σκελετού στο χώρο ακολουθεί τη διαδρομή μιας δεξιόστροφης έλικας. (b) Η αριστερόστροφη σύνδεση, με την έλικα κάτω από την επιφάνεια.

νότιστο σχήμα). Οι βρόχοι μπορεί να ποικίλλουν σε μήκος, από ένα ή δύο κατάλοιπα μέχρι και πάνω από εκατό. Οι δύο βρόχοι έχουν διαφορετικές λειτουργίες. Ο βρόχος (με σκούρο πράσινο στην Εικόνα 2.17) που συνδέει το καρβοξυτελικό άκρο του β-κλώνου με το αμινοτελικό άκρο της α-έλικας συχνά σχετίζεται με το σχηματισμό της λειτουργικής θέσης δέσμευσης ή του ενεργού κέντρου αυτών των δομών. Αυτές οι περιοχές, κατά συνέπεια, έχουν συνήθως συντηρημένες αμινοξικές αλληλουχίες στις ομόλογες πρωτεΐνες. Αντιθέτως, ο άλλος βρόχος (με ανοιχτό πράσινο στην Εικόνα 2.17) δεν έχει ποτέ βρεθεί να συμμετέχει στο σχηματισμό κάποιου ενεργού κέντρου.

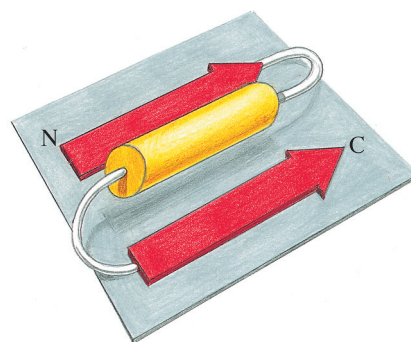
Το μοτίβο β-α-β μπορεί να θεωρηθεί ως μία χαλαρή ελικοειδής στροφή, που ξεκινάει από τον ένα β-κλώνο, συνεχίζει γύρω από τη σύνδεση και καταλήγει στον επόμενο β-κλώνο. Συνεπώς, το μοτίβο β-α-β μπορεί να είναι δεξιόστροφο ή αριστερόστροφο (βλ. Εικόνα 2.18).

Σχεδόν όλα τα β-α-β μοτίβα γνωστών πρωτεϊνικών δομών έχουν βρεθεί να είναι δεξιόστροφα, δηλαδή να έχουν τον ίδιο προσανατολισμό με μία δεξιόστροφη α-έλικα. Δεν έχει βρεθεί κάποια ικανοποιητική εξήγηση γι' αυτήν την κανονικότητα, παρ' ότι είναι ο μόνος γενικός κανόνας που περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο διευθετούνται τρία στοιχεία δευτεροταγούς δομής μεταξύ τους. Αυτή η δεξιόστροφη σύνδεση έχει σημαντικές δομικές και λειτουργικές συνέπειες όταν πολλά απ' αυτά τα μοτίβα συνδέονται σε μία επικράτεια, όπως θα περιγραφεί στο Κεφάλαιο 8.

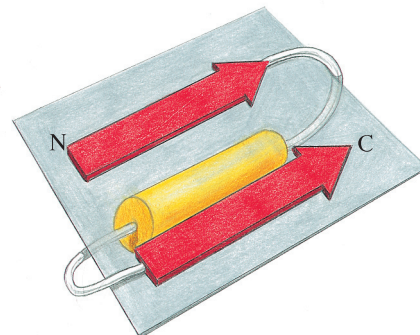
2.14 Τα πρωτεϊνικά μόρια οργανώνονται σε μία δομική ιεραρχία

Ο Δανός βιοχημικός Kai Linderstrom-Lang επινόησε τους όρους «πρωτοταγής», «δευτεροταγής» και «τριτοταγής» δομή προκειμένου να δώσει έμφαση στην ιεραρχική δόμηση των πρωτεϊνών (βλ. Εικόνα 1.1). Η **πρωτοταγής δομή** είναι η αμινοξική αλληλουχία ή, με άλλα λόγια, η διευθέτηση των αμινοξέων κατά μήκος μιας γραμμικής πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Δύο διαφορετικές πρωτεΐνες που έχουν σημαντικές ομοιότητες στις πρωτοταγείς δομές τους θεωρούνται ομόλογες μεταξύ τους και, καθώς οι αντίστοιχες ακολουθίες DNA μάλλον θα είναι εξίσου όμοιες, συμπεραίνεται ότι οι δύο πρωτεΐνες έχουν κάποια εξελικτική συγγένεια, δηλαδή έχουν προέλθει από ένα κοινό προγονικό γονίδιο.

(a)



(b)



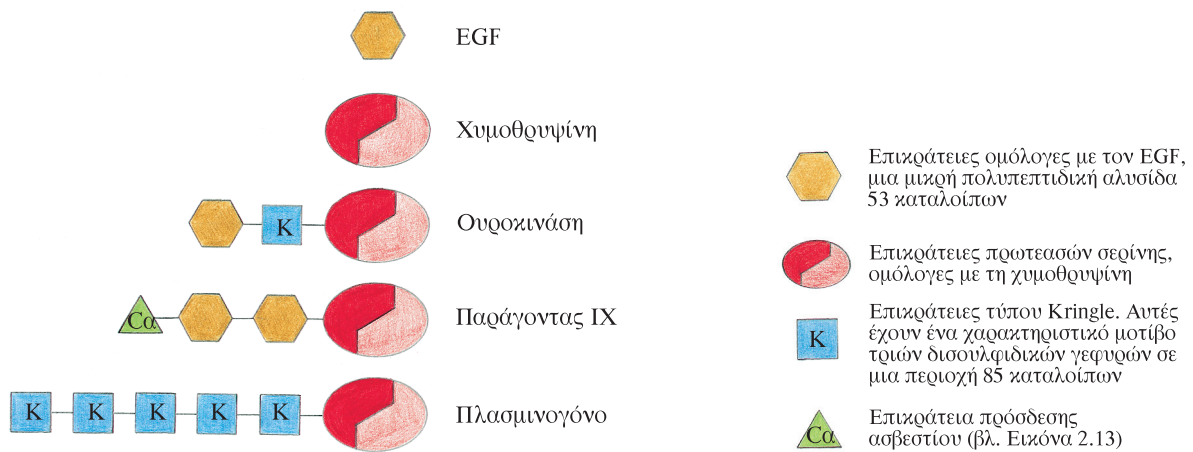
Η **δευτεροταγής δομή** εμφανίζεται κυρίως μέσω της παρουσίας α-ελίκων και β-κλώνων στην τρισδιάστατη δομή. Η δημιουργία της δευτεροταγούς δομής σε μία περιοχή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας καθορίζεται, ως ένα βαθμό, από την πρωτοταγή δομή. Συγκεκριμένες αλληλουχίες αμινοξέων ευνοούν το σχηματισμό είτε α-ελίκων είτε β-κλώνων, ενώ άλλες ευνοούν το σχηματισμό βρόχων. Τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής συνήθως οργανώνονται σε απλά μοτίβα, όπως περιγράφηκε και παραπάνω. Τα μοτίβα σχηματίζονται από το πακετάρισμα των πλευρικών αλυσίδων γειτονικών α-ελίκων ή β-κλώνων.

Συνήθως, πολλά μοτίβα συνδυάζονται προκειμένου να σχηματίσουν συμπαγείς σφαιρικές δομές, οι οποίες ονομάζονται **επικράτειες (domains)**. Στο βιβλίο αυτό θα χρησιμοποιήσουμε τον όρο **τριτοταγής δομή** τόσο για να περιγράψουμε τον τρόπο με τον οποίο οργανώνονται τα μοτίβα στις επικράτειες, όσο και για να αναφερθούμε στον τρόπο με τον οποίο μία πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται για να σχηματίσει μία ή περισσότερες επικράτειες. Σε όλες τις περιπτώσεις που έχουν εξεταστεί μέχρι τώρα, έχει βρεθεί πως αν υπάρχει σημαντική ομοιότητα στην αμινοξική αλληλουχία δύο επικρατειών από διαφορετικές πρωτεΐνες, τότε αυτές οι επικράτειες έχουν όμοιες τριτοταγείς δομές.

Τα πρωτεϊνικά μόρια που αποτελούνται από μία μόνο πολυπεπτιδική αλυσίδα ονομάζονται **μονομερείς** πρωτεΐνες. Όμως, ένας αρκετά μεγάλος αριθμός πρωτεϊνών διαθέτει **τεταρτοταγή δομή**, η οποία συγκροτείται από αρκετές πανομοιότυπες πολυπεπτιδικές αλυσίδες (υπομονάδες) που οργανώνονται σ' ένα πολυμερές μόριο με ένα συγκεκριμένο τρόπο. Αυτές οι υπομονάδες μπορούν να λειτουργήσουν είτε ανεξάρτητα είτε συνεργικά, έτσι ώστε η λειτουργία μιας υπομονάδας να εξαρτάται από τη λειτουργική κατάσταση των υπόλοιπων υπομονάδων. Άλλα πρωτεϊνικά μόρια συγκροτούνται από αρκετές διαφορετικές υπομονάδες με ποκίλες λειτουργίες· για παράδειγμα, η RNA πολυμεράση από το βακτήριο *E. coli* περιέχει πέντε διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

2.15 Οι μεγάλοι μήκους πολυπεπτιδικές αλυσίδες σχηματίζουν πολλές επικράτειες

Η θεμελιώδης μονάδα της τριτοταγούς δομής είναι η επικράτεια. Αυτή ορίζεται ως μία πολυπεπτιδική αλυσίδα ή ως ένα τμήμα μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας που μπορεί να αναδιπλωθεί ανεξάρτητα παράγοντας μία σταθερή τριτοταγή δομή. Οι επικράτειες πέρα από δομικές μονάδες είναι και λειτουργικές μονάδες. Συχνά, οι διάφορες επικράτειες μιας πρωτεΐνης σχετίζονται με διαφορετικές λειτουργίες. Για παράδειγμα, στον καταστολέα του βακτηριοφάγου λάμδα (βλ. Κεφάλαιο 8) μία επικράτεια στο N-άκρο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας προσδένεται στο DNA, ενώ μία άλλη επικράτεια (στο C-τελικό άκρο) περιέχει μία θέση απαραίτητη για το διμερισμό δύο πολυπεπτιδικών αλυσίδων, προκειμένου να σχηματιστεί ο διμερής καταστολέας.



Ο αριθμός επικρατειών που μπορεί να περιέχει μια πρωτεΐνη ποικίλλει από μία μόνο επικράτεια μέχρι και πολλές δωδεκάδες (βλ. Εικόνα 2.19). Δεν υπάρχει κάποια θεμελιώδης δομική διάκριση ανάμεσα σε μία επικράτεια και σε μία υπομονάδα (subunit). Σε πολλές περιπτώσεις, βιολογικές λειτουργίες που πραγματοποιούνται μέσω της δράσης πολλών ξεχωριστών πρωτεϊνών σε ένα είδος πραγματοποιούνται από διακριτές επικράτειες μιας και μόνο πρωτεΐνης σε ένα άλλο είδος. Για παράδειγμα, η σύνθεση των λιπαρών οξέων απαιτεί την πραγματοποίηση επτά διαφορετικών χημικών αντιδράσεων.

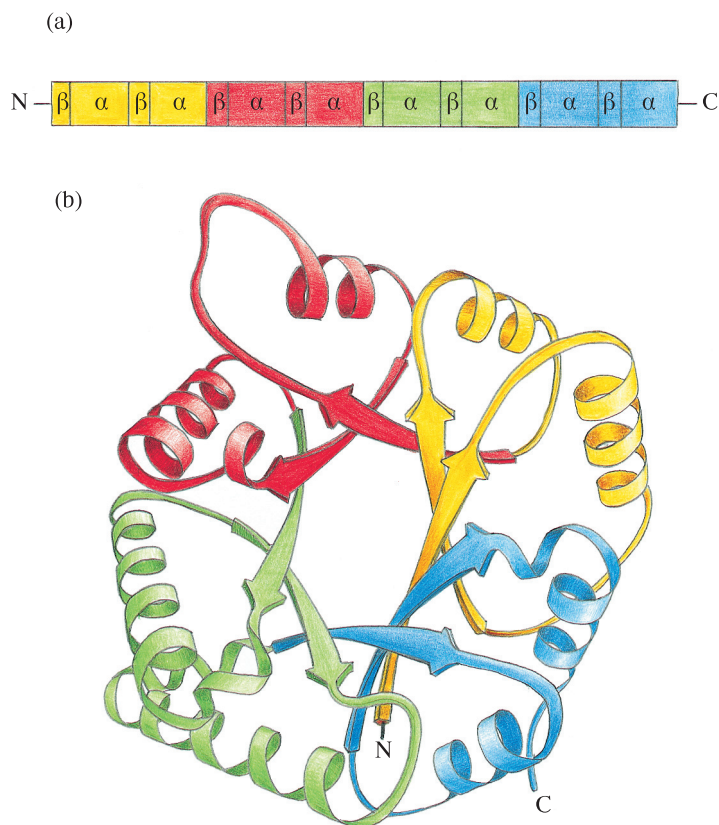
Ενώ στους χλωροπλάστες των φυτών οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται από επτά διαφορετικές πρωτεΐνες, στα θηλαστικά πραγματοποιούνται από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα οργανωμένη σε επτά επικράτειες (με μικρές συνδετικές περιοχές μεταξύ των επικρατειών). Τέτοιου τύπου διαφορές αντανakλούν διαφορές στην οργάνωση των γονιδιωμάτων και όχι στη δομική βιολογία των υπό εξέταση συστημάτων.

Εικόνα 2.19 Οργάνωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων σε επικράτειες. Μικρά πρωτεϊνικά μόρια, όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), αποτελούνται από μία επικράτεια. Άλλα, όπως η χυμοθρυψίνη (μία πρωτεάση σερίνης) συγκροτούνται από δύο επικράτειες οι οποίες απαιτούνται προκειμένου να σχηματιστεί μια λειτουργική μονάδα (βλ. Κεφάλαιο 11). Πολλές από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην πήξη του αίματος και την ινωδόλυση, όπως η ουροκινάση, ο παράγοντας IX και το πλασμινογόνο, έχουν μεγάλου μήκους πολυπεπτιδικές αλυσίδες που περιέχουν διάφορους συνδυασμούς επικρατειών, μερικές από τις οποίες είναι ομόλογες με τον EGF και με τις πρωτεάσες της σερίνης, ενώ άλλες δρουν ως επικράτειες δέσμευσης ασβεστίου ή ανήκουν στις λεγόμενες επικράτειες Kringle.

2.16 Οι επικράτειες δημιουργούνται από δομικά μοτίβα

Οι επικράτειες σχηματίζονται με το συνδυασμό διαφόρων στοιχείων δευτεροταγούς δομής και μοτίβων. Οι α-έλικες και β-κλώνοι των μοτίβων πακετάρονται μεταξύ τους στην τρισδιάστατη δομή και συνδέονται με περιοχές βρόχων. Μοτίβα που είναι διαδοχικά στην αλληλουχία, ή και μοτίβα που σχηματίζονται από συνεχόμενες περιοχές της πρωτοταγούς δομής μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας, συνήθως βρίσκονται κοντά μεταξύ τους και στην τρισδιάστατη δομή (βλ. Εικόνα 2.20). Κατά συνέπεια, σε μια πρώτη προσέγγιση, η πολυπεπτιδική αλυσίδα μπορεί να θεωρηθεί ως μία διαδοχή τέτοιων απλών μοτίβων. Ο αριθμός τέτοιων συνδυασμών μοτίβων που συναντώνται στις πρωτεΐνες είναι περιορισμένος και κάποιοι συνδυασμοί φαίνεται πως ευνοούνται δομικά. Το αποτέλεσμα είναι ότι επικράτειες με παρόμοιες δομές συναντώνται συχνά σε διαφορετικές πρωτεΐνες με διαφορετικές λειτουργίες και τελείως διαφορετικές αμινοξικές αλληλουχίες.

Εικόνα 2.20 Τα μοτίβα που είναι γειτονικά στην αμινοξική ακολουθία είναι συνήθως και γειτονικά στην τρισδιάστατη δομή. Η ισομεράση της φωσφορικής τριόξης (TIM barrel) δομείται από τέσσερα μοτίβα β-α-β-α που είναι συνεχόμενα και στην αμινοξική ακολουθία (a), αλλά και στην τρισδιάστατη δομή (b).



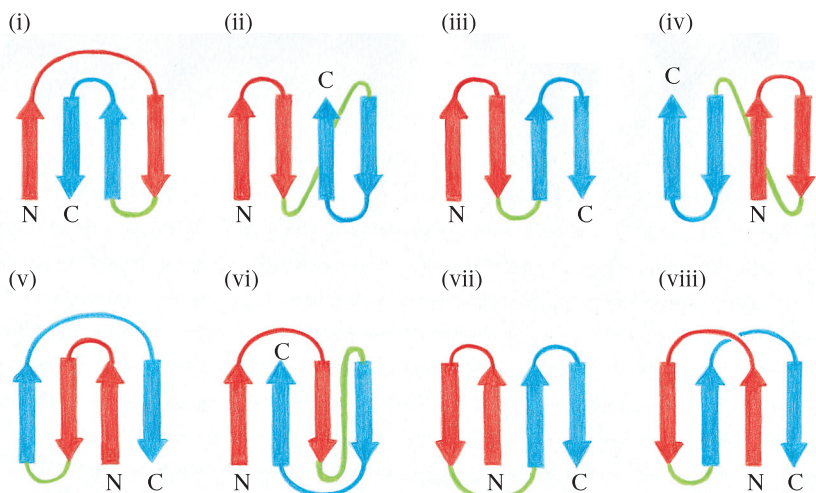
2.17 Απλά μοτίβα συνδυάζονται για να σχηματίσουν πολύπλοκα μοτίβα

Στην Εικόνα 2.21(a και b) παρουσιάζονται οι 24 πιθανοί τρόποι με τους οποίους δύο γειτονικά μοτίβα β-φουρκέτας, καθένα από τα οποία αποτελείται από δύο αντιπαράλληλους β-κλώνους συνδεδεμένους μέσω ενός βρόχου, μπορούν να συνδυαστούν για να σχηματίσουν ένα πιο πολύπλοκο μοτίβο.

Μια επισκόπηση όλων των γνωστών –μέχρι και το 1991– δομών, έδειξε ότι από αυτούς τους 24 συνδυασμούς, μόνο οι οχτώ διευθετήσεις που παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.21a εμφανίζονται στις πειραματικά προσδιορισμένες δομές (σημειώστε ότι τα μοτίβα αυτά μπορούν να αντιστοιχούν είτε σε ολόκληρες β-πτυχωτές επιφάνειες, είτε σε τμήματα μιας β-πτυχωτής επιφάνειας με περισσότερους από τέσσερις κλώνους). Η συχνότητα εμφάνισης αυτών των μοτίβων στις γνωστές δομές ήταν 65, 29, 23, 11, 9, 3, 2, 1 για τα (i) έως (viii) αντίστοιχα.

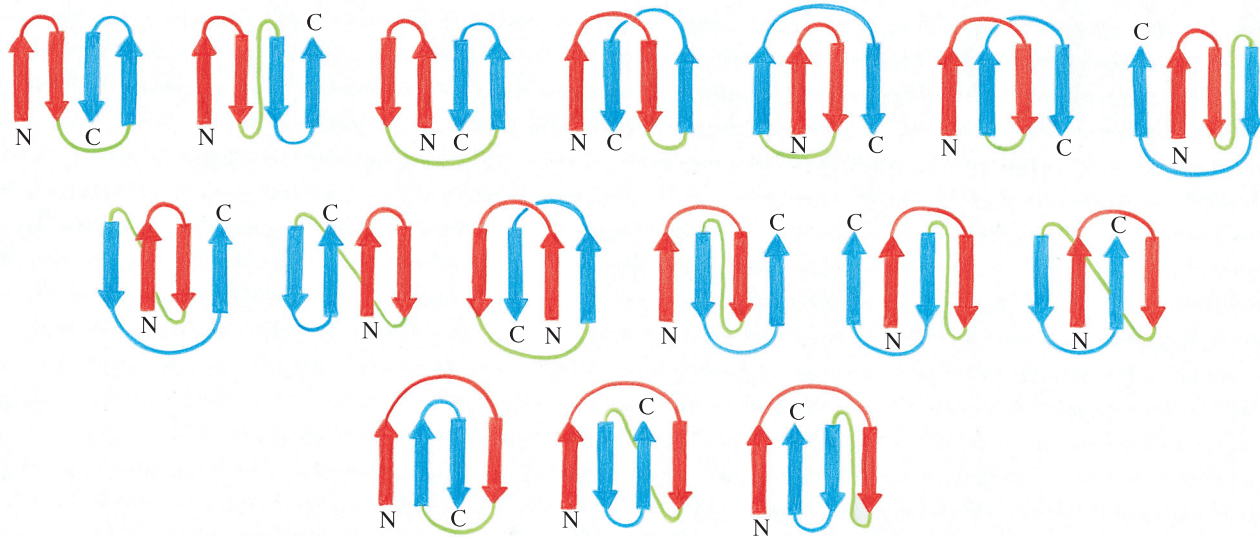
Τα μοτίβα του τύπου Ελληνικό κλειδί που παρουσιάζονται στα (i) και (v) (της Εικόνας 2.21a) εμφανίζονται, συνεπώς, πιο συχνά απ' ό,τι όλα τα άλλα πιθανά μοτίβα μαζί. Είναι επίσης εμφανές ότι δύο μοτίβα φουρκέτας προτιμούν να συνδυάζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε και οι τέσσερις κλώνοι να είναι αντιπαράλληλοι παρά να προκύπτουν δύο παρακείμενοι παράλληλοι β-κλώνοι. Από τις 143 β-πτυχωτές επιφάνειες με 4 κλώνους, οι 138 ήταν

(a)



Εικόνα 2.21 Δύο παρακείμενες (στην αλληλουχία) β-φουρκέτες μπορούν να διευθετηθούν με 24 διαφορετικούς τρόπους σε μία β-πτυχωτή επιφάνεια τεσσάρων β-κλώνων. (a) Τοπολογικά διαγράμματα των διευθετήσεων που έχουν παρατηρηθεί πειραματικά (με βάση μια έρευνα όλων των δομών που ήταν γνωστές το 1991). Τα μοτίβα του τύπου Ελληνικό κλειδί στα (i) και (v) εμφανίστηκαν 74 φορές, ενώ η διευθέτηση που παρουσιάζεται στην (viii) εμφανίστηκε μόνο μία φορά. (b) Τοπολογικά διαγράμματα για τις 16 διευθετήσεις που δεν απαντήθηκαν σε καμία γνωστή, ως εκείνη την περίοδο, δομή. Οι περισσότερες απ' αυτές τις διευθετήσεις περιέχουν ένα ζευγάρι γειτονικών παράλληλων β-κλώνων.

(b)



αντιπαράλληλες, και μόνο 5 περιείχαν παρακείμενους παράλληλους β-κλώνους.

Τα 16 πιθανά μοτίβα που παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.21b δε συναντώνται ποτέ. Παρ' ότι η βάση δεδομένων που χρησιμοποιήθηκε ήταν πολύ περιορισμένη (σε σύγκριση με την πληθώρα των υπάρχουσών πρωτεϊνών), η έρευνα αυτή εμφανώς έδειξε πως λίγες σχετικά τοπολογικές διευθετήσεις εμφανίζονται πολύ συχνότερα από κάποιες άλλες και ότι τα πιο πολύπλοκα (από όλα τα πιθανά) μοτίβα δεν εμφανίζονται ποτέ ή σε ελάχιστες μόνο περιπτώσεις. Το 1995, μια προκαταρκτική έρευνα μιας πολύ μεγαλύτερης βάσης δεδομένων γνωστών δομών κατέληξε στα ίδια βασικά συμπεράσματα.

2.18 Οι πρωτεϊνικές δομές μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες κατηγορίες

Με βάση μερικές απλές αρχές για το πώς συνδέονται μεταξύ τους τα μοτίβα, οι Michael Levitt και Cyrus Chothia του MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, δημιούργησαν ένα σύστημα ταξινόμησης των πρωτεϊνικών δομών και κατέταξαν τις δομές των επικρατειών σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: τις επικράτειες τύπου α, β και α/β. Στις δομές τύπου α ο πυρήνας αποτελείται αποκλειστικά από α-έλικες (βλ. Εικόνα 2.9). Στις δομές τύπου β ο πυρήνας περιλαμβάνει αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες, και συνήθως υπάρχουν δύο β-πτυχωτές επιφάνειες στοιβαγμένες η μία απέναντι στην άλλη (βλ. Εικόνα 2.11c). Οι δομές τύπου α/β δημιουργούνται από συνδυασμούς μοτίβων β-α-β, γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό μιας κατά κύριο λόγο παράλληλης β-πτυχωτής επιφάνειας η οποία περιστοιχίζεται από α-έλικες (βλ. Εικόνες 2.10b και 2.11b).

Μερικές πρωτεΐνες χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη δύο διακριτών περιοχών, μιας περιοχής πλούσιας σε μοτίβα τύπου α και μιας περιοχής πλούσιας σε μοτίβα τύπου β. Οι δομές τέτοιων πρωτεϊνών συνήθως αποτελούνται από μία μικρή αντιπαράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια η οποία πακετάρεται με έναν αριθμό α-ελίκων (βλ. Εικόνα 2.15). Οι δομές αυτές ανήκουν σε μία μικρότερη, τέταρτη ομάδα που ονομάζεται α+β. Εκτός από τις ομάδες αυτές, υπάρχει ένας αριθμός μικρών πρωτεϊνών που είναι πλούσιες σε δισουλφιδικούς δεσμούς ή άτομα μετάλλων και σχηματίζουν μια ειδική ομάδα. Οι δομές των πρωτεϊνών αυτών επηρεάζονται έντονα από την παρουσία των συγκεκριμένων μετάλλων ή των δισουλφιδικών δεσμών και συχνά εμφανίζονται ως παραμορφωμένες εκδοχές κανονικών πρωτεϊνών.

Στο βιβλίο αυτό οι επικράτειες των γνωστών πρωτεϊνικών δομών ταξινομούνται σύμφωνα με το σύστημα των Levitt και Chothia. Οι τρεις κύριες τάξεις (α, β και α/β) θα εξεταστούν με περισσότερες λεπτομέρειες στα Κεφάλαια 3, 4 και 5. Η ομάδα του Cyrus Chothia κατασκεύασε μια βάση δεδομένων στην οποία όλες οι διαθέσιμες πρωτεϊνικές δομές οργανώνονται με βάση αυτήν την ιεραρχία. Σε κάθε τάξη, οι δομές οργανώνονται σε υπεροικογένειες σύμφωνα με την τριτοταγή δομή τους και, μέσα στις υπεροικογένειες, σε οικογένειες ανάλογα με τη λειτουργία τους και την ύπαρξη ομολογιών (σε επίπεδο αλληλουχίας). Αυτή η βάση δεδομένων είναι ελεύθερα προσβάσιμη μέσω του διαδικτύου.

2.19 Συμπεράσματα

Το εσωτερικό των πρωτεϊνικών μορίων περιέχει κυρίως υδρόφοβες πλευρικές ομάδες. Η κυρίως αλυσίδα, όταν βρίσκεται στο εσωτερικό του μορίου, διευθετείται σε δευτεροταγείς δομές ούτως ώστε να αλληλοεξουδετερώνονται τα πολικά της άτομα μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Υπάρχουν δύο κύριοι

τύποι δευτεροταγούς δομής: οι α-έλικες και β-πτυχωτές επιφάνειες. Οι β-πτυχωτές επιφάνειες (ή β-πτυχωτά φύλλα) μπορούν να έχουν τους κλώνους τους παράλληλους, αντιπαράλληλους ή μεικτούς.

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από συνδυασμούς στοιχείων δευτεροταγούς δομής, τις α-έλικες και τους β-κλώνους. Τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής σχηματίζουν τον πυρήνα –το εσωτερικό– του μορίου και συνδέονται μεταξύ τους με (συνήθως επιφανειακούς) βρόχους. Σχηματικά και απλά τοπολογικά διαγράμματα, όπου επισημαίνονται αυτά τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής, είναι πολύ χρήσιμα και χρησιμοποιούνται συχνά. Οι α-έλικες και οι β-κλώνοι που είναι παρακείμενοι στην αμινοξική αλληλουχία είναι συνήθως παρακείμενοι και στην τρισδιάστατη δομή. Κάποιοι συνδυασμοί στοιχείων δευτεροταγούς δομής, που ονομάζονται μοτίβα, συναντώνται αρκετά συχνά, συμπεριλαμβανομένων των μοτίβων έλικα-βρόχος-έλικα και β-φουρκέτας. Ένα μοτίβο έλικα-βρόχος-έλικα που προσδένεται στο DNA, καθώς και ένα μοτίβο έλικα-βρόχος-έλικα για δέσμευση ασβεστίου, το καθένα με τη δική του συγκεκριμένη γεωμετρία και αμινοξική ακολουθία, χρησιμοποιούνται σε πολλές διαφορετικές πρωτεΐνες.

Το μοτίβο β-α-β, που αποτελείται από δύο παράλληλους β-κλώνους οι οποίοι συνδέονται με μία α-έλικα, συναντάται σε όλες σχεδόν τις δομές που έχουν μία παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. Τέσσερις αντιπαράλληλοι β-κλώνοι, που διατάσσονται με ένα συγκεκριμένο τρόπο, συνιστούν το μοτίβο Ελληνικό κλειδί, το οποίο συναντάται συχνά σε δομές με αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες.

Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες αναδιπλώνονται σε μία ή περισσότερες ξεχωριστές μονάδες, τις επικράτειες, οι οποίες αποτελούν τις θεμελιώδεις λειτουργικές και δομικές μονάδες. Οι πυρήνες των επικρατειών σχηματίζονται από συνδυασμούς μικρών μοτίβων δευτεροταγούς δομής, όπως έλικα-βρόχος-έλικα, κλώνος-βρόχος-κλώνος ή μοτίβα τύπου β-α-β. Οι επικράτειες ταξινομούνται σε τρεις κύριες τάξεις δομών: τις δομές α, όπου ο πυρήνας είναι αποκλειστικά δομημένος από α-έλικες, τις δομές β, που περιέχουν αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες, και τις δομές α/β, όπου συνδυασμοί μοτίβων β-α-β σχηματίζουν μία κυρίως παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια, περιστοιχιζόμενη από α-έλικες.