

Υπερδευτεροταγής Δομή Πρωτεϊνών

Δομικά μοτίβα

Τα μοτίβα ακολουθιών (sequence motifs) είναι τοπικά διατηρημένες ακολουθίες που σχετίζονται (ή όχι) με μια συγκεκριμένη λειτουργία (βλ. τη βάση δεδομένων **PROSITE**)

κατ' αναλογία

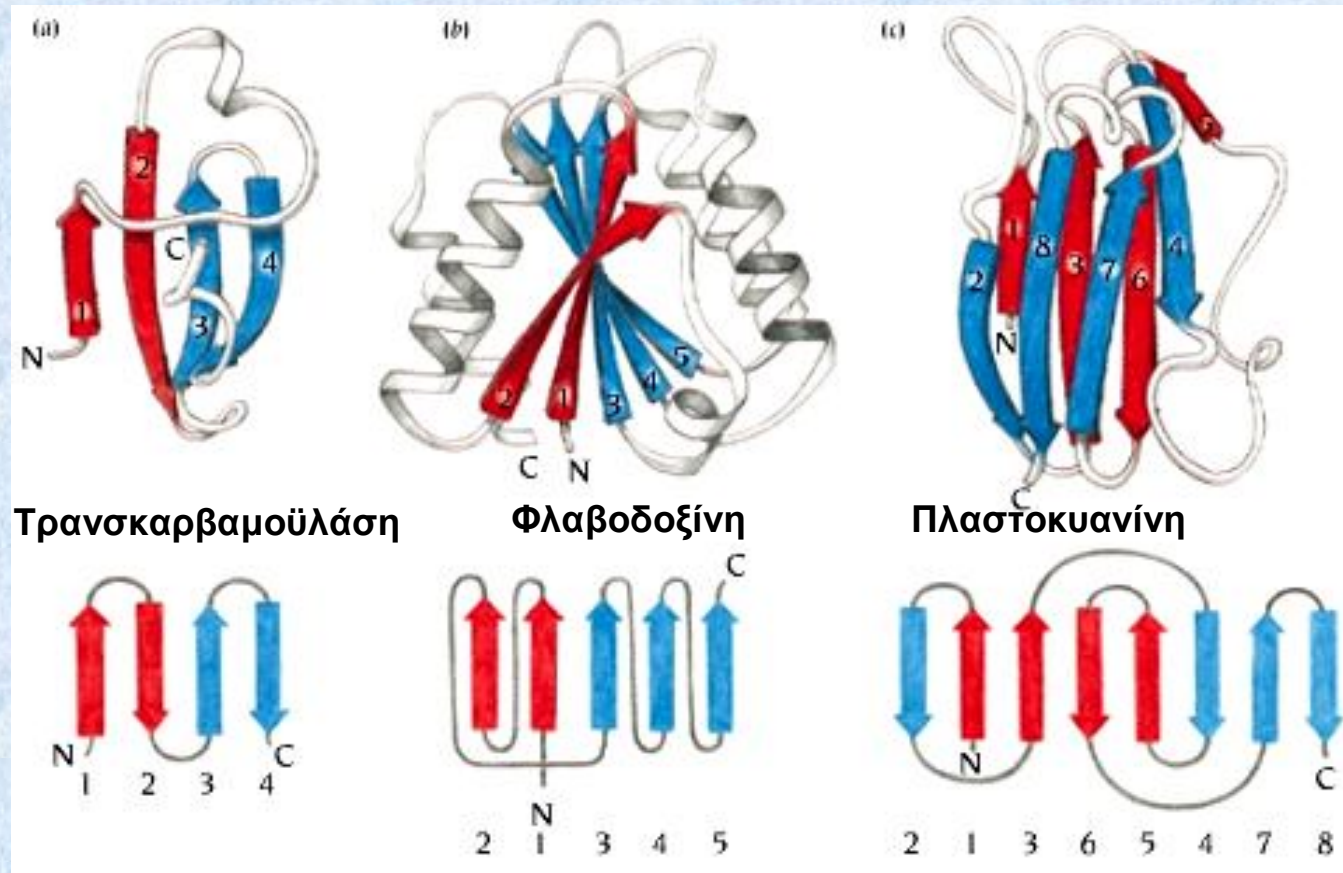
Τα **δομικά μοτίβα** ή απλά **μοτίβα** είναι

- διατηρημένες (συχνά παρατηρούμενες),
- τοπικές (συνεχόμενες στη ακολουθία) και
- συγκεκριμένες γεωμετρικά

διατάξεις στοιχείων δευτεροταγούς δομής στον χώρο.

Τα δομικά μοτίβα λέγονται και υπερδευτεροταγείς δομές (supersecondary structures) και μπορεί να συνδέονται ή όχι με μια λειτουργία

Τοπολογικά διαγράμματα

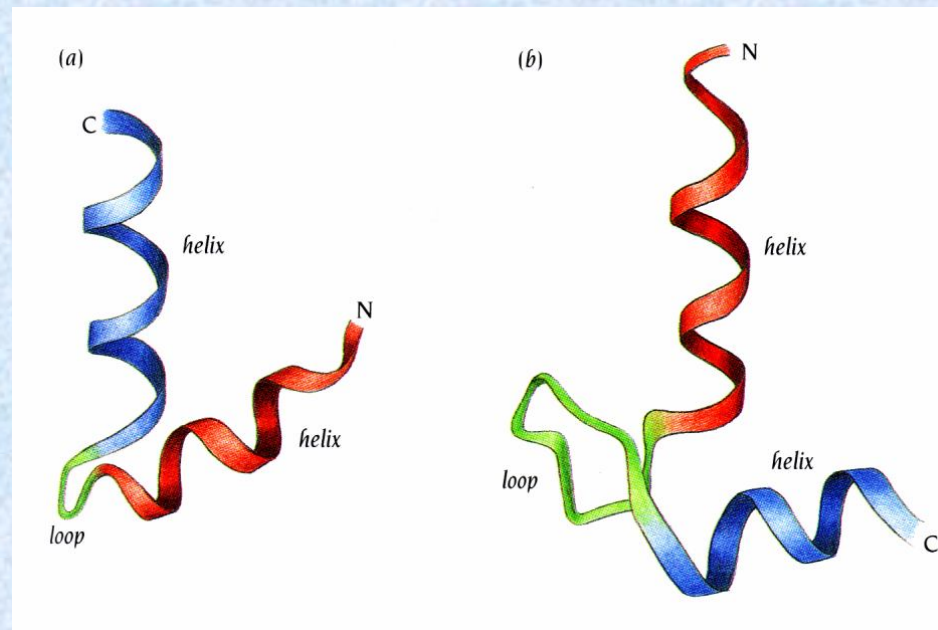


Τα τοπολογικά διαγράμματα (topology diagrams) είναι 2D-αναπαραστάσεις που χρησιμεύουν στην ταξινόμηση των πρωτεϊνικών δομών. Δείχνουν

- την διεύθυνση,
- τον αριθμό
- τρόπο σύνδεσης β-κλώνων σε β-πτυχωτές επιφάνειες.

Έλικά-στροφή-έλικα

Το απλούστερο μοτίβο με κάποια λειτουργία είναι το μοτίβο έλικά-στροφή-έλικα, όπου δύο έλικες ενώνονται με μια μικρή λούπα (στροφή).

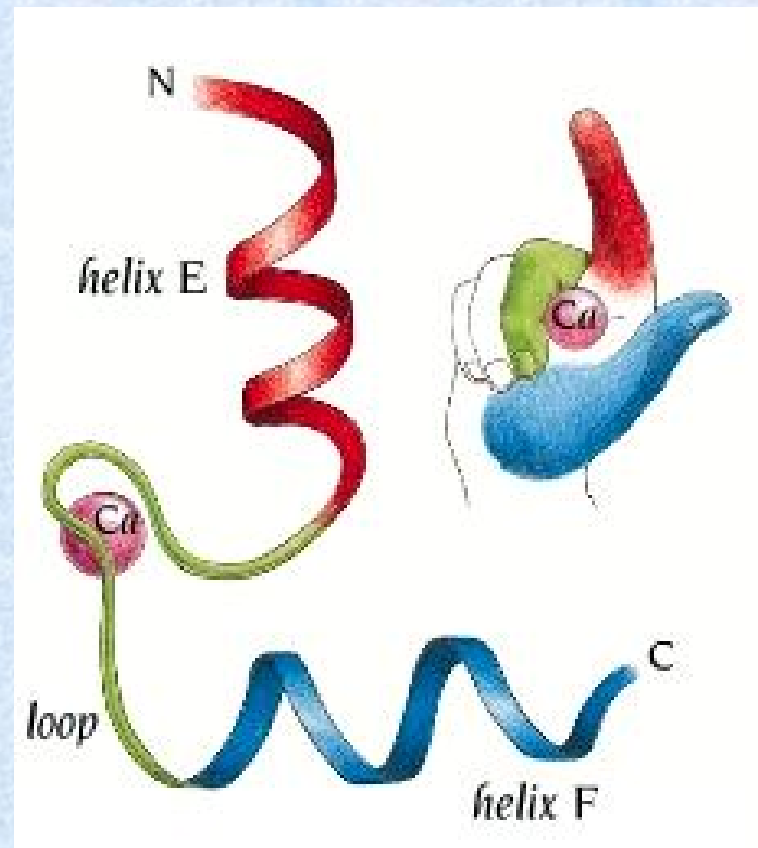


Το μοτίβο αυτό χρησιμοποιείται για την πρόσδεση DNA (αριστερά) και σε μια παραλλαγή του στην πρόσδεση ασβεστίου (δεξιά)

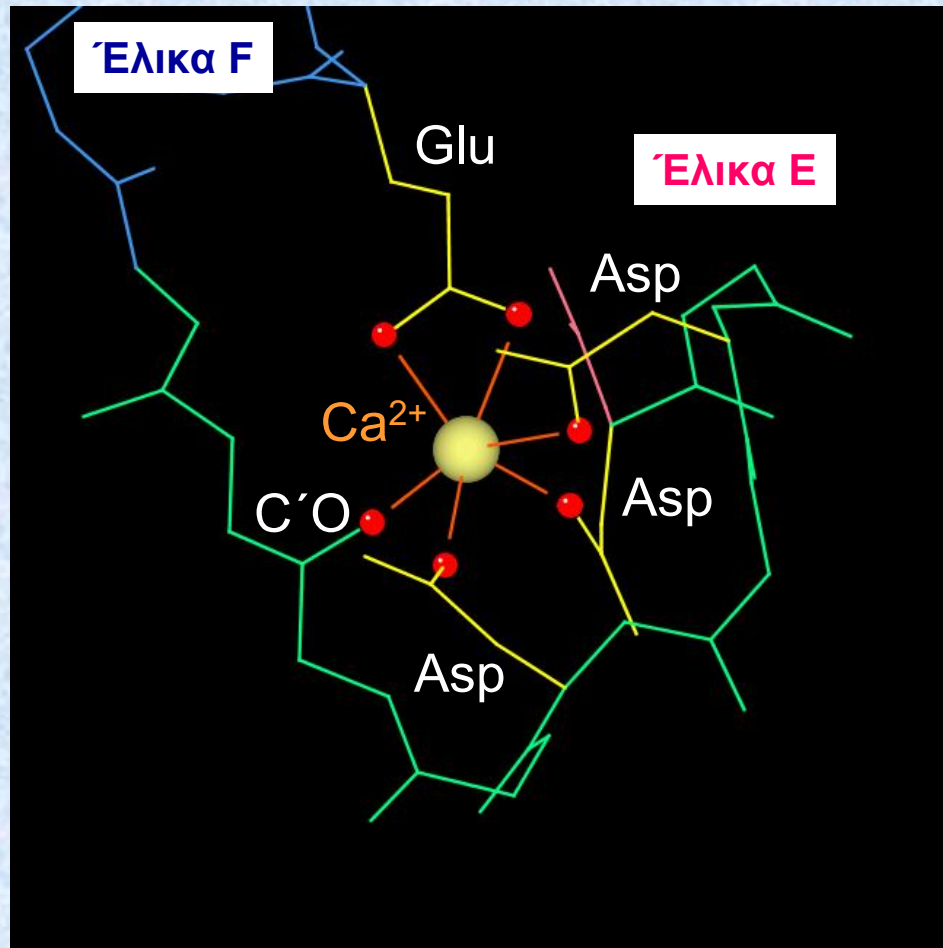
EF-hand

Το 1973 ο **Robert Kretsinger** λύνοντας τη δομή της παρβαλβουμίνης ανακάλυψε το μοτίβο έλικά-στροφή-έλικά που χρησιμοποιείται για την πρόσδεση ασβεστίου. Η πρωτεΐνη αυτή έχει τρία τέτοια μοτίβα.

Το μοτίβο αυτό είναι γνωστό με το όνομα **EF-hand** λόγω των ελίκων E και F που το σχηματίζουν. Το ιόν ασβεστίου δένεται στην μικρή λούπα που αποτελείται από 12 κατάλοιπα

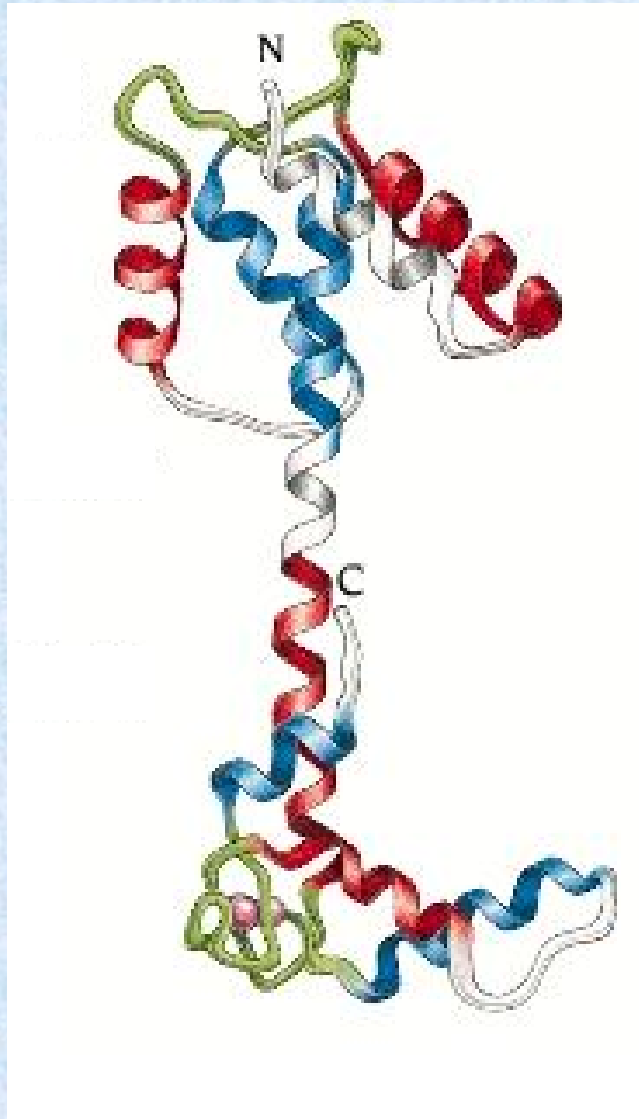


EF-hand



Το EF-hand της καλμοδουλίνης είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων μοτίβων

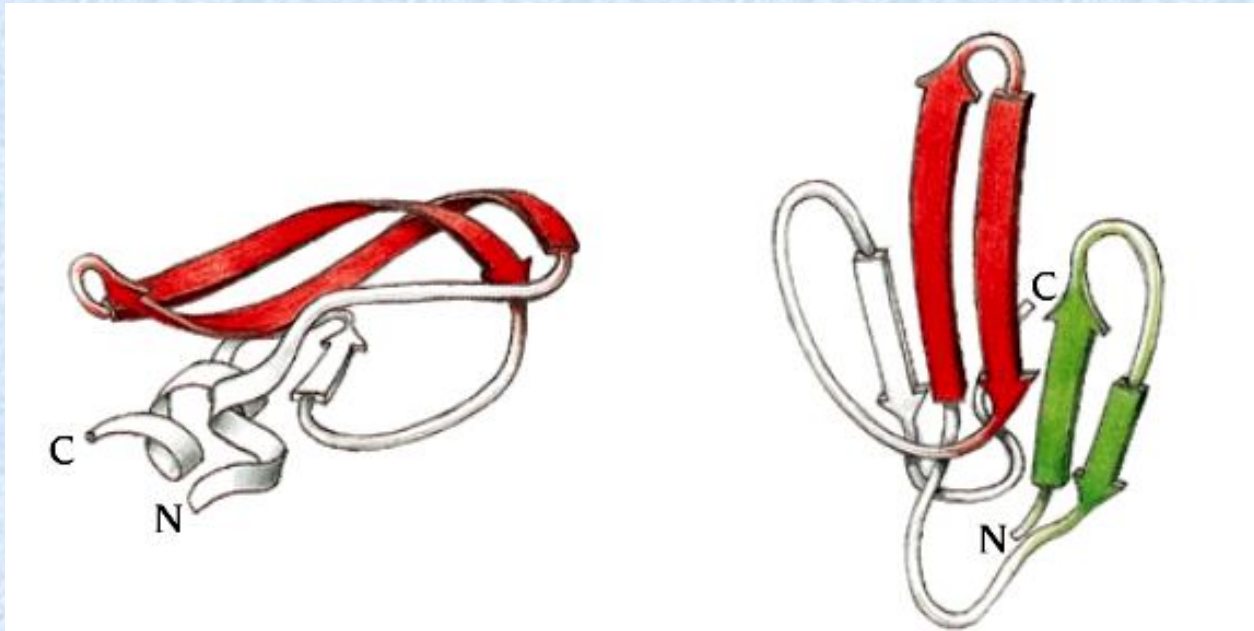
EF-hand



Μια πολύ γνωστή πρωτεΐνη που περιέχει EF-hands είναι η τροπονίνη.

Η τροπονίνη δένει δύο, τρία ή τέσσερα ιόντα ασβεστίου, ανάλογα με τη λειτουργική της κατάσταση στους μύες.

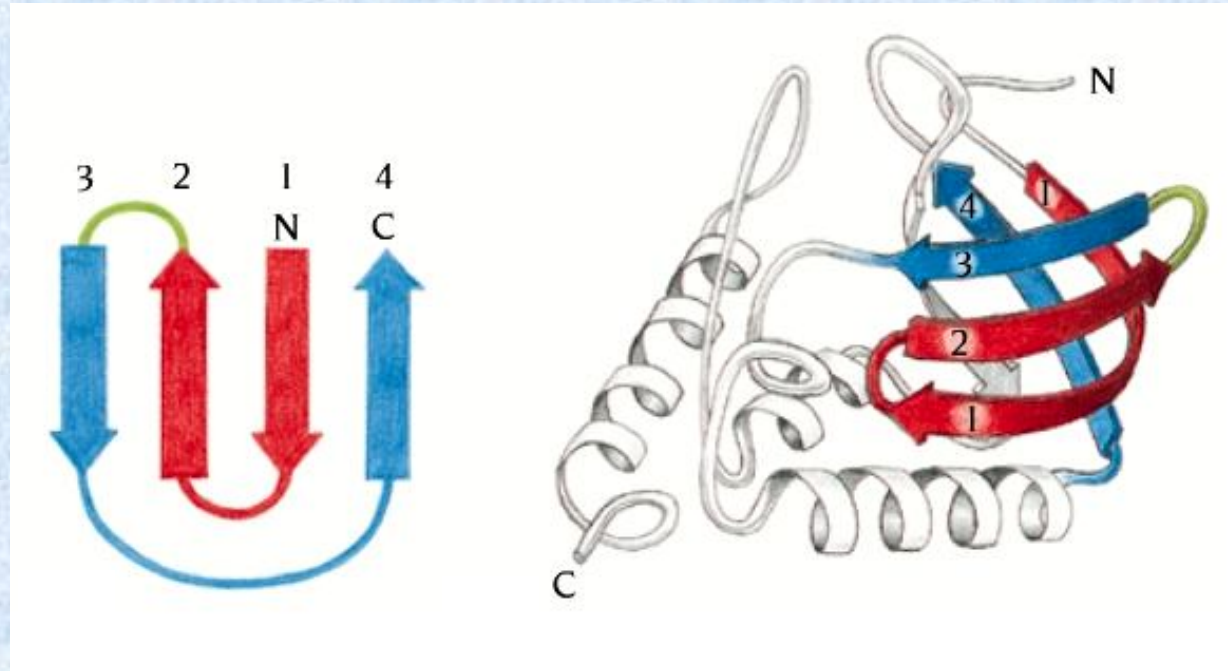
β-φουρκέτες



Το απλούστερο μοτίβο που περιλαμβάνει β-κλώνους είναι η **β-φουρκέτα** ή **μονάδα β-β**, όπου δύο αντιπαράλληλοι β-κλώνοι ενώνονται με μια στροφή (φουρκέτα). Η στροφή έχει μήκος συνήθως 3-5 καταλοίπων. Το μοτίβο αυτό δεν έχει συγκεκριμένη λειτουργία και απαντάται πολύ συχνά.

Αριστερά βλέπουμε ένα τέτοιο μοτίβο στον αναστολέα της τρυψίνης και δεξιά δύο μοτίβα στην εραβουτοξίνη, μια τοξίνη φιδιών.

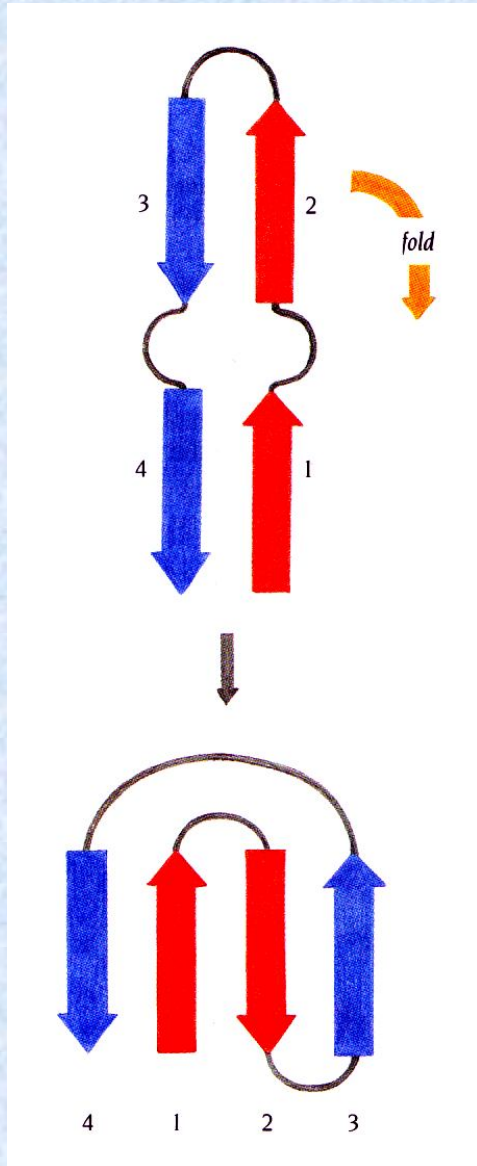
Το μοτίβο Greek key



Το μοτίβο Greek key είναι η διεύθυνση **τεσσάρων αντιπαράλληλων** β-κλώνων σε μια β-πτυχωτή επιφάνεια με τρόπο που μοιάζει σε ένα συχνό διακοσμητικό σχέδιο αρχαίων Ελληνικών αγγείων (δεξιά).

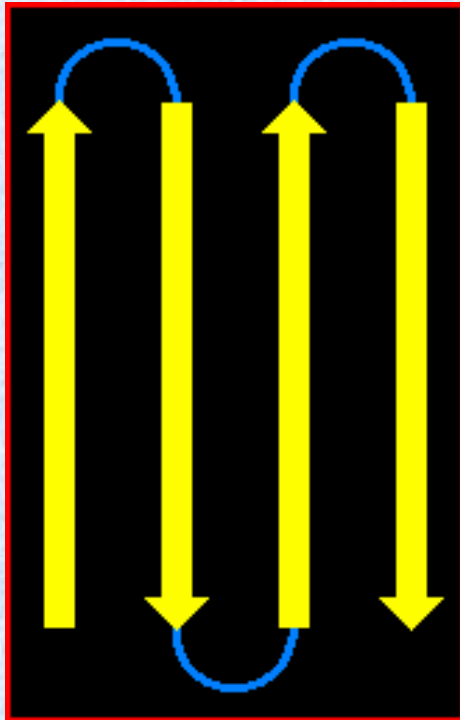
Αριστερά, βλέπετε μια νουκλεάση του *Staphylococcus*.

Το μοτίβο Greek key



Το μοτίβο Greek key είναι αρκετά συχνό σε αντιπαράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες. Αυτό μπορεί να οφείλεται στον ευνοϊκό τρόπο με τον οποίο μπορεί να σχηματίζεται, από την αναδίπλωση μιας αρχικής αντιπαράλληλης δομής.

β-μαίανδροι



Διαδοχικά συνδεόμενοι αντιπαράλληλοι β-κλώνοι που συνδέονται με φουρκέτες σχηματίζουν ένα μοτίβο που λέγεται **β-μαίανδρος** (beta meander)

Το μοτίβο αυτό εμφανίζεται συχνά διότι εξασφαλίζει:

1. Το μέγιστο αριθμό υδρογονικών δεσμών μεταξύ ατόμων της κύριας αλυσίδας
2. Την καλύτερη «διασπορά» των καταλοίπων έτσι ώστε να αλληλεπιδράσουν με άλλες δομικές περιοχές

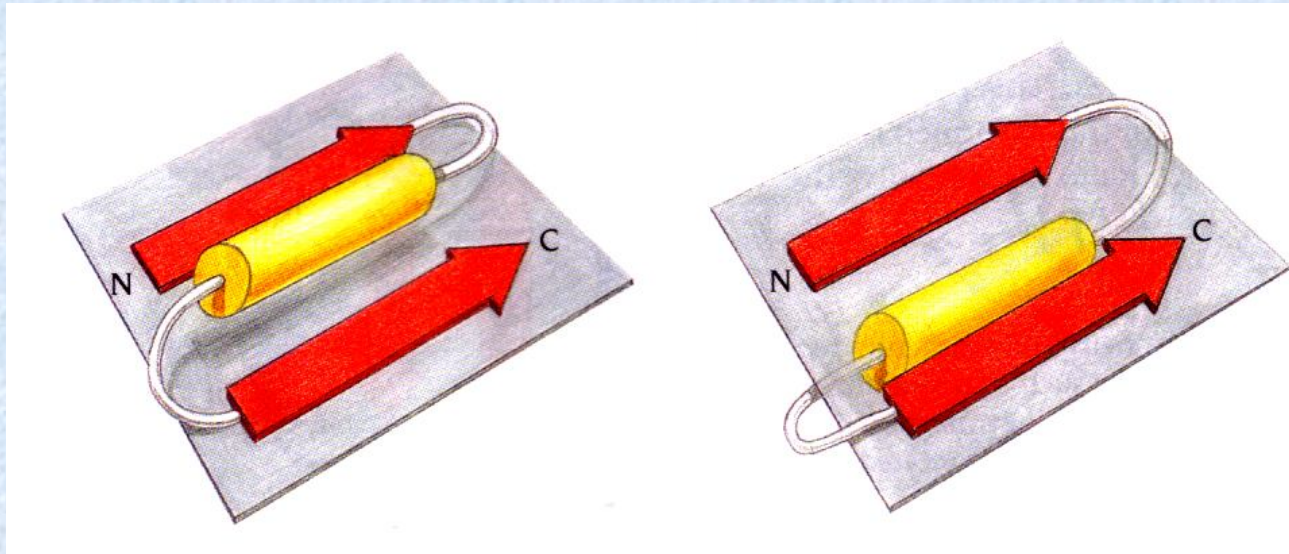
Το μοτίβο β-α-β



Για να συνδεθούν δύο παράλληλοι μη-διαδοχικοί β-κλώνοι πρέπει η αλυσίδα να αλλάξει κατεύθυνση δις.
Αν ανάμεσα στους β-κλώνους υπάρχει μια α-έλικα, το μοτίβο που δημιουργείται ονομάζεται β-α-β.
Ο άξονας της έλικας είναι σχεδόν παράλληλος με τον άξονα των κλώνων.
Οι δύο λούπες μπορεί να έχουν μήκος από 2 έως 100 κατάλοιπα. Η λούπια που συνδέει το C-άκρο του κλώνου με το N-άκρο της έλικας έχει συνήθως λειτουργικό ρόλο.
Το μοτίβο αυτό είναι πολύ συχνό σε πρωτεΐνες με παράλληλες β-πτυχωτές επιφάνειες.

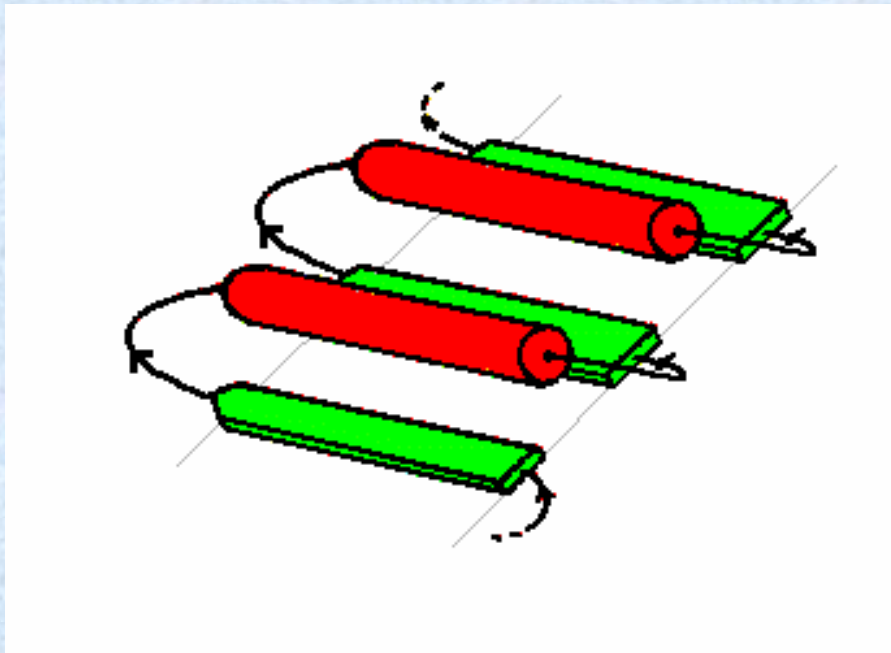
Το μοτίβο β-α-β

Το μοτίβο β-α-β μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει ελικοειδή διάταξη στον χώρο. Η διάταξη αυτή μπορεί να είναι δεξιόστροφη (αριστερά) ή αριστερόστροφη (δεξιά), όπως φαίνεται παρακάτω.



Η διάταξη που απαντάται σε όλες σχεδόν τις πρωτεΐνες που έχουν β-α-β μοτίβα είναι η δεξιόστροφη.

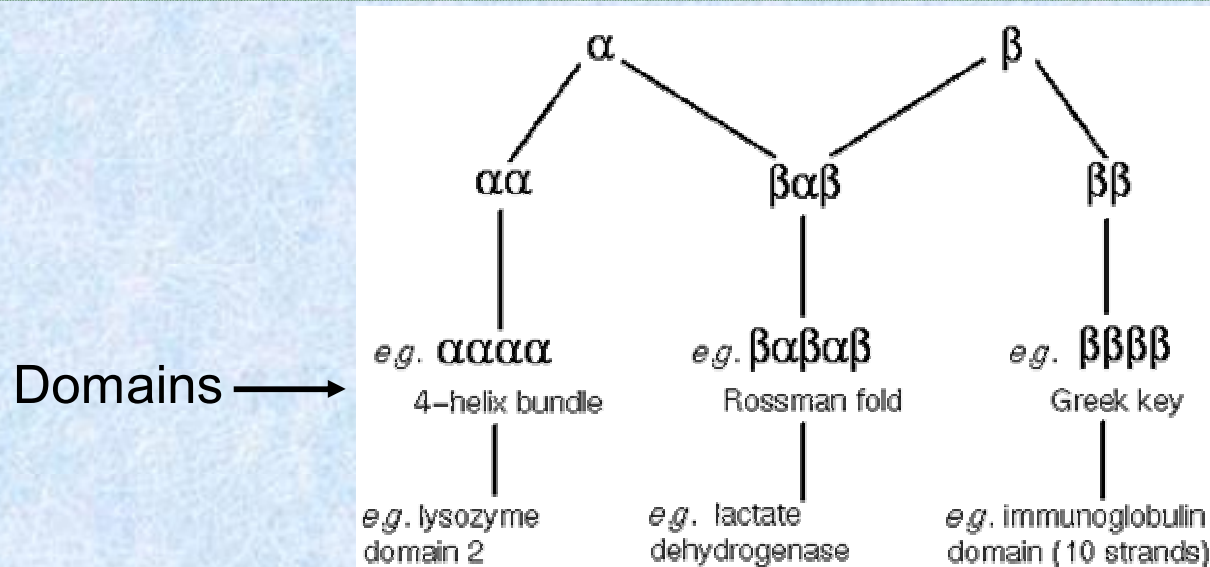
Rossman fold



Ο συνδυασμός δεξιόστροφων β-α-β μοτίβων στη διάταξη που φαίνεται στο σχήμα απαντάται συχνά σε πρωτεΐνες που δεσμεύουν νουκλεοτίδια και ονομάζεται αναδίπλωση **Rossman** (Rossman fold)

β-α-β-α-β

Δομικές επικράτειες



Το επόμενο επίπεδο οργάνωσης είναι η οργάνωση υπερδευτεροταγών στοιχείων σε **συμπαγείς, αυτοτελείς** και **σταθερές** δομές που ονομάζονται **δομικές επικράτειες** (domains).

Οι δομικές επικράτειες

-είναι σε ένα μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες ως προς την δομή (και την αναδίπλωσή τους), και την λειτουργία τους.

Μια πρωτεΐνη μπορεί να περιέχει μόνο μια δομική επικράτεια ή και περισσότερες π.χ. πολλές δεκάδες.

-**Επαναλαμβανόμενες** όμοιες επικράτειες στην ίδια πολυπεπτιδική αλυσίδα ονομάζονται **modules** και οι πρωτεΐνες που τις περιέχουν μωσαϊκές (mosaic proteins)

Δομικές επικράτειες

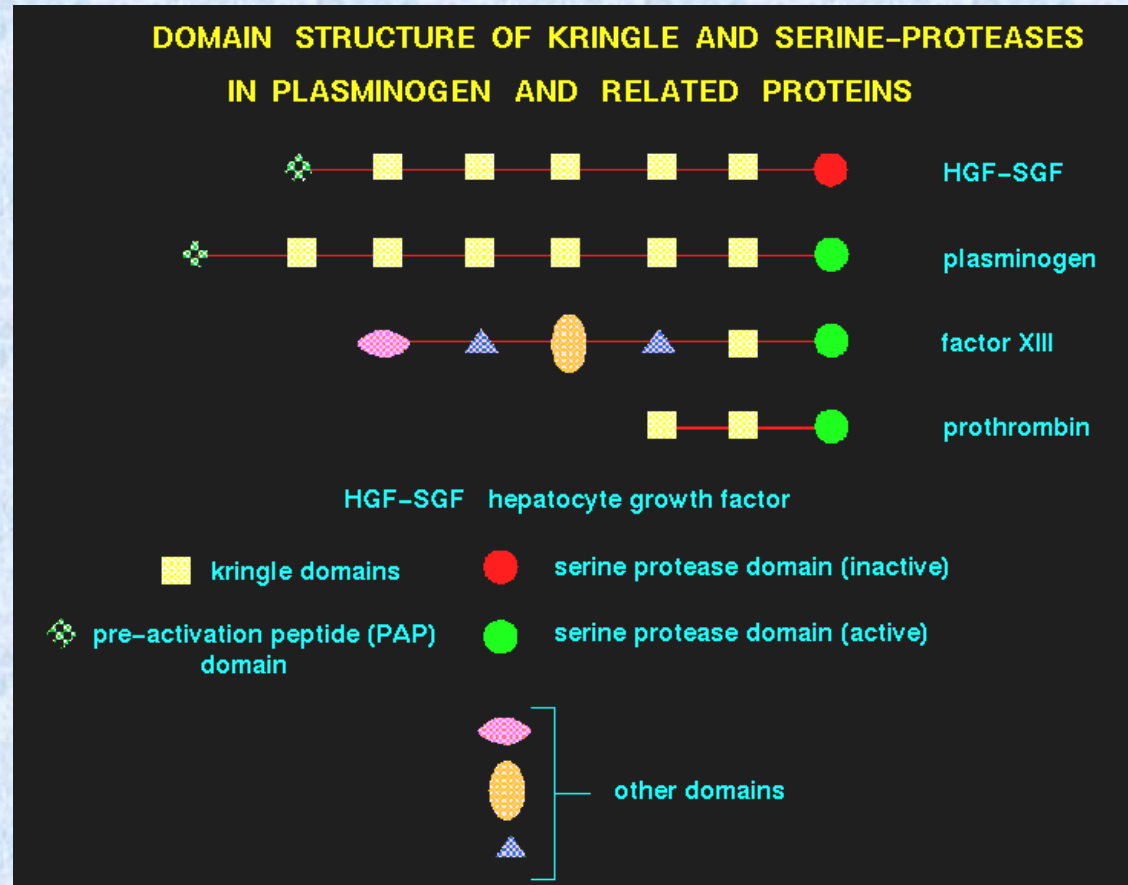
Δεν υπάρχει θεμελιώδης δομική διαφορά μεταξύ μιας υπομονάδας και μιας δομικής επικράτειας, αφού σε πολλές περιπτώσεις μπορούν να έχουν την ίδια δομή (και/ή λειτουργία), π.χ. η υπομονάδα μια πρωτεΐνης να έχει εξελιχθεί σε δομική επικράτεια σε μια μεταγενέστερη εξελικτικά πρωτεΐνη.

Οι δομικές επικράτειες οργανώνονται από ένα συνδυασμό μοτίβων και δευτεροταγών δομών. Μοτίβα που προέρχονται από συνεχόμενα κομμάτια της ακολουθίας τείνουν να είναι κοντά στην τρισδιάστατη δομή, έτσι ώστε η δομή να είναι, σε πρώτη προσέγγιση, μια γραμμική διευθέτηση των μοτίβων.

Ο αριθμός των συνδυασμών των μοτίβων είναι **περιορισμένος** και στατιστικά κάποιοι συνδυασμοί ευνοούνται δομικά.

Το αποτέλεσμα είναι παρόμοιες δομικές επικράτειες να εμφανίζονται συχνά σε διαφορετικές πρωτεΐνες, με διαφορετικές αμινοξικές ακολουθίες ΚΑΙ λειτουργία.

Δομικές επικράτειες



Ένα παράδειγμα multi-domain πρωτεϊνών δείχνει το παραπάνω σχήμα όπου φαίνονται δομικές επικράτειες του πλασμινογόνου και παρομοίων πρωτεϊνών. Συχνά οι δομικές επικράτειες εκφράζονται από εξώνια που συνδυάζονται με γονιδιακή σύμπτυξη (gene fusion)

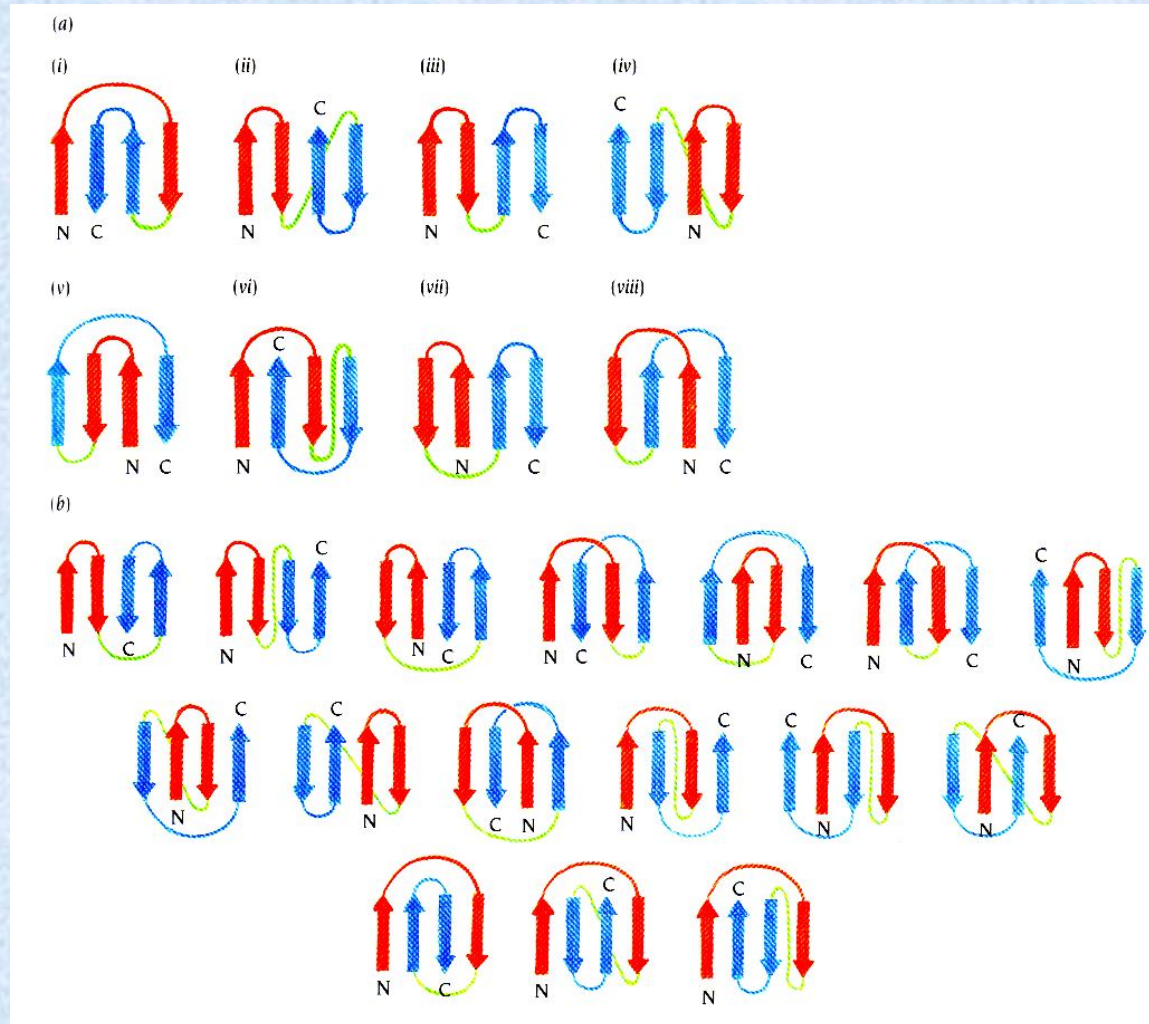
Οργάνωση μοτίβων

Όπως είπαμε, ορισμένες διατάξεις μοτίβων εμφανίζονται στατιστικά συχνότερα σε πραγματικές δομές.

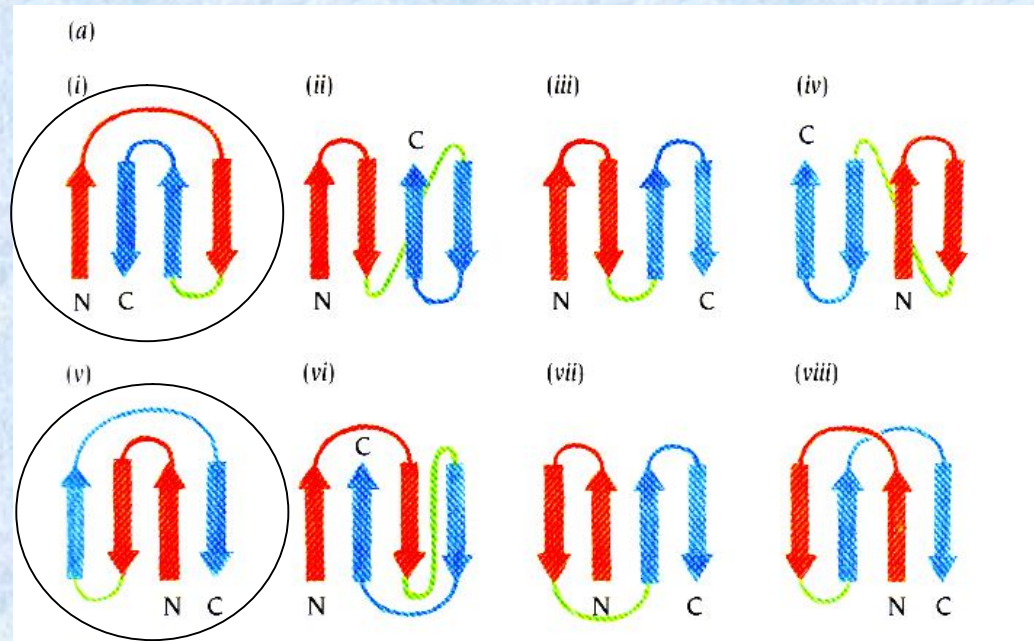
Αυτό δείχθηκε σε μια μελέτη στην οποία συγκρίθηκαν οι παρατηρούμενες τοπολογίες τεσσάρων διαδοχικών β-κλώνων ενωμένων με δύο β-φουρκέτες σε σχέση με τις θεωρητικά δυνατές.

Οργάνωση μοτίβων

Οι θεωρητικά πιθανές τοπολογίες των τεσσάρων β -κλώνων είναι 24



Οργάνωση μοτίβων



Από τις 24 πιθανές τοπολογίες, μόνο οι πρώτες οκτώ εμφανίζονται σε πρωτεΐνες. Μάλιστα οι πιο συχνές από τις οκτώ είναι η i) και v) δηλ. οι τοπολογίες Greek key. Είναι λοιπόν φανερό ότι δύο β-φουρκέτες προτιμούν να συνδυάζονται έτσι ώστε και οι τέσσερις β-κλώνοι να είναι αντιπαράλληλοι. Οι υπόλοιποι 16 συνδυασμοί δεν εμφανίζονται ποτέ.

Ταξινόμηση των πρωτεϊνικών δομών

Ταξινόμηση δομών

Το 1976 οι **Levitt** και **Chothia** πρώτοι πρότειναν μια ιεραρχική ταξινόμηση των πρωτεϊνικών δομών ανάλογα με την δευτεροταγή και υπερδευτεροταγή δομή τους. Σύμφωνα με αυτή την κατάταξη, οι **δομικές επικράτειες** των πρωτεϊνών κατατάσσονται σε τέσσερις τάξεις:

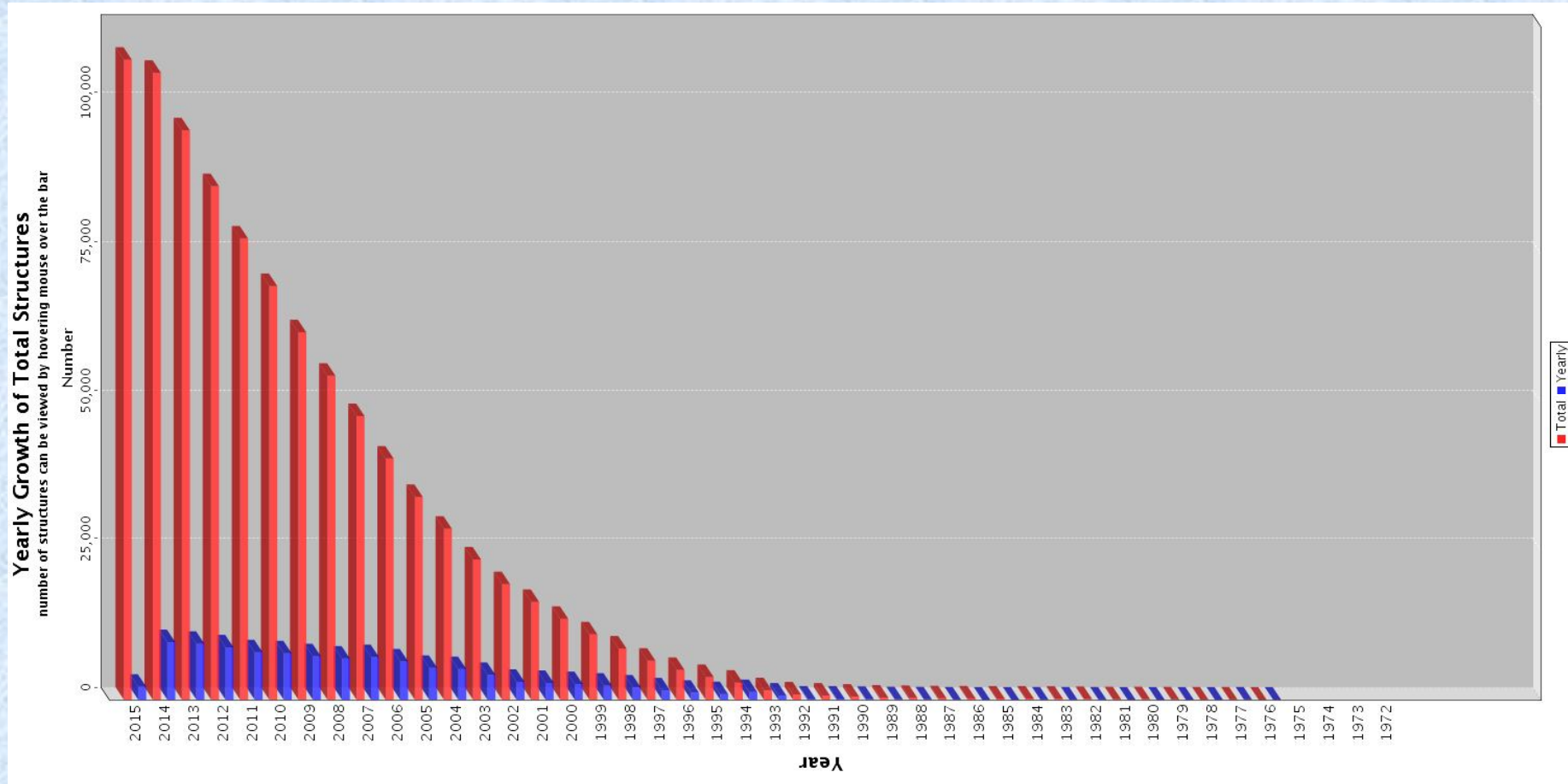
1. **Τάξη α** (η δευτεροταγής δομή κυριαρχείται από α-έλικες)
2. **Τάξη β** (η δευτεροταγής δομή κυριαρχείται από β-πτυχωτές επιφάνειες)
3. **Τάξη α/β** (το κύριο χαρακτηριστικό είναι η ύπαρξη επαναλαμβανόμενων μοτίβων β-α-β. Συνήθως η επανάληψη δημιουργεί μια κεντρική β-πτυχωτή επιφάνεια που περιβάλλεται από τις α-έλικες)
4. **Τάξη α+β** (α-έλικες και β-πτυχωτές επιφάνειες σε διακριτές θέσεις στη δομή. Έλλειψη των μοτίβων β-α-β)

Ταξινόμηση δομών

Επιπρόσθετα, μια πέμπτη τάξη περιλαμβάνει μικρές πρωτεΐνες με χωρίς ή ελάχιστη κανονική δευτεροταγή δομή οι οποίες σταθεροποιούνται δομικά με δισουλφιδικούς δεσμούς ή με αλληλεπιδράσεις με μεταλλικά ιόντα

Κατατεθειμένες δομές στην PDB

~ 107.600 δομές στην βάση PDB (2/2015)



Ιεραρχικές βάσεις δεδομένων δομών

Δύο βάσεις δεδομένων περιέχουν μια ιεραρχική ομοαδοποίηση των δομικών χαρακτηριστικών των πρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, η ομοαδοποίηση στηρίζεται στη δομή των δομικών επικρατειών αφού πολλές πρωτεΐνες περιέχουν πολλαπλές δομικές επικράτειες.

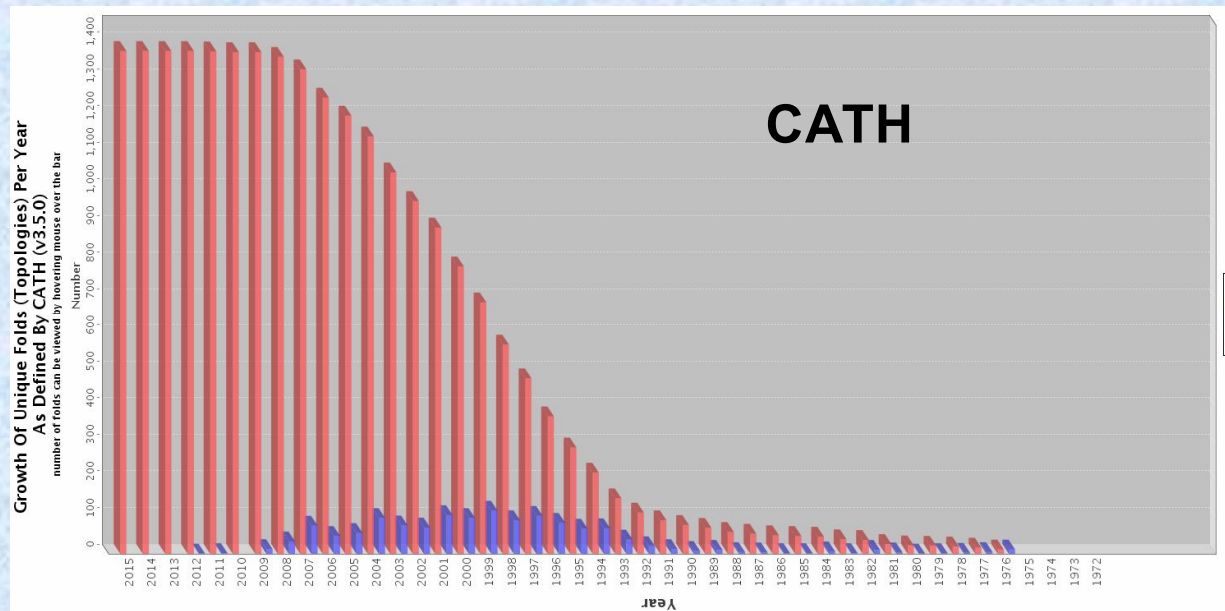
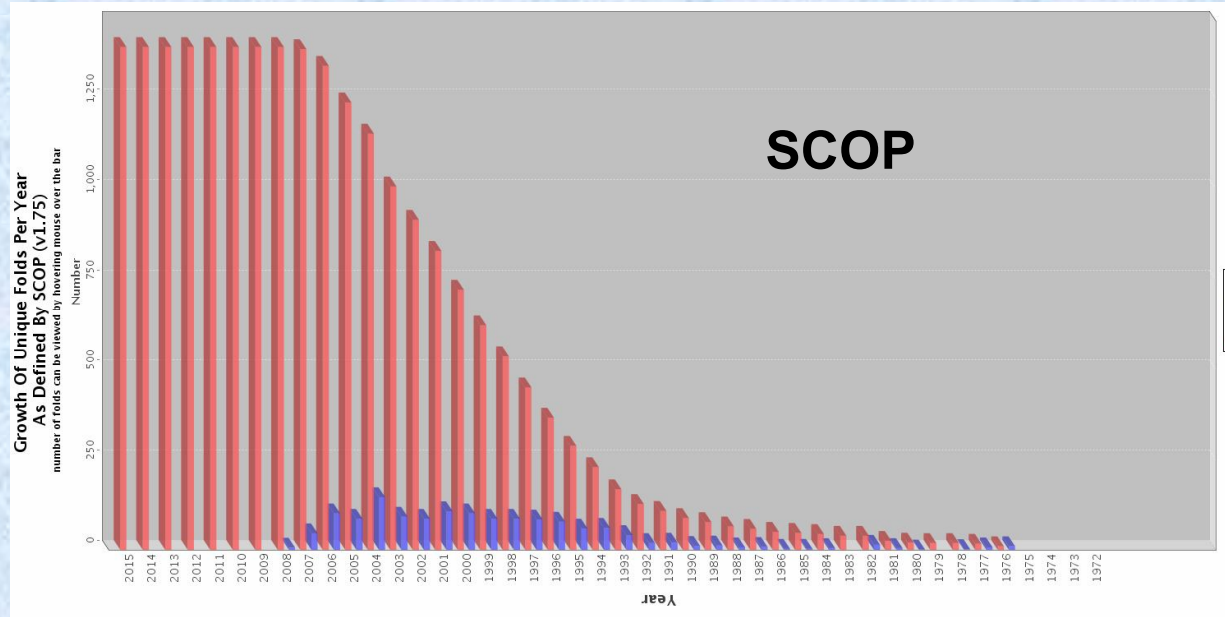
SCOP (Structural Classification of Proteins)

scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/

CATH (Class, Architecture, Topology, Homologous superfamily)

cathwww.biochem.ucl.ac.uk/latest/

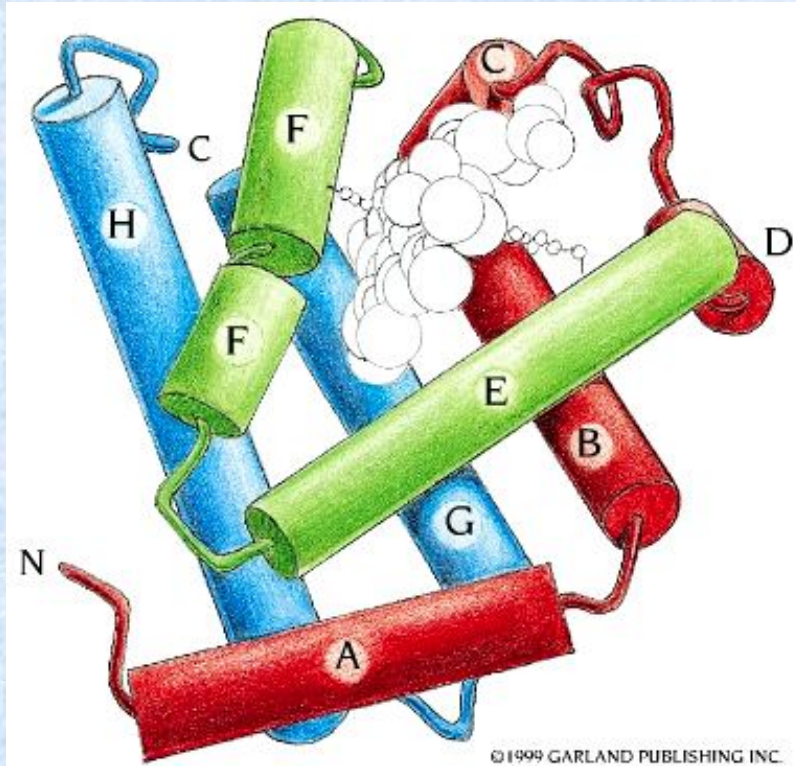
Διακριτές δομικές επικράτειες (folds)



**Μόνο
~ 1.300 – 1.400 (!)**

**Δομικές επικράτειες τάξης α
(α-επικράτειες)**

Πρωτεΐνες τάξης α



Μυοσφαιρίνη
(μοτίβο αναδίπλωσης σφαιρινών,
globin fold)

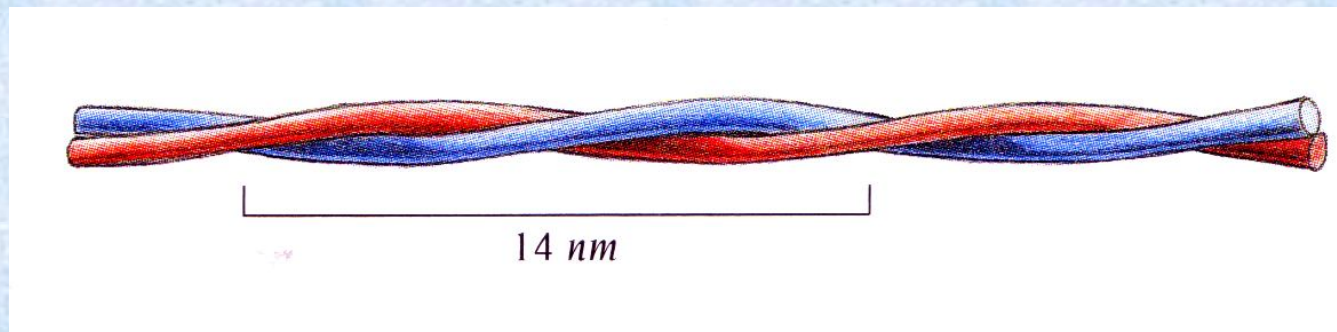
Η δομή των πρωτεϊνών αυτών κυριαρχείται από α-έλικες.

Επομένως, ένα μεγάλο μέρος της γεωμετρίας των δομών αυτών έχει να κάνει με τον τρόπο που αλληλεπιδρούν οι α-έλικες μεταξύ τους.

Η αλληλεπίδραση αυτή γίνεται κυρίως μέσω υδρόφοβων πλευρικών ομάδων

Υπερελικωμένες έλικες (coiled coil)

Στο μοτίβο αυτό, το οποίο προτάθηκε το 1953 από τον **Francis Crick**, οι α-έλικες περιελίσσονται η μία γύρω από την άλλη. Οι έλικες μπορεί να έχουν παράλληλη ή αντιπαράλληλη διεύθυνση ενώ η υπερελίκωση είναι συνήθως **αριστερόστροφη**. Το μήκος του μοτίβου μπορεί να είναι αρκετά μεγάλο, όπως στις ινώδεις πρωτεΐνες. Το βήμα της υπερέλικας είναι 140 Å.



Υπερελικωμένες έλικες (coiled coil)

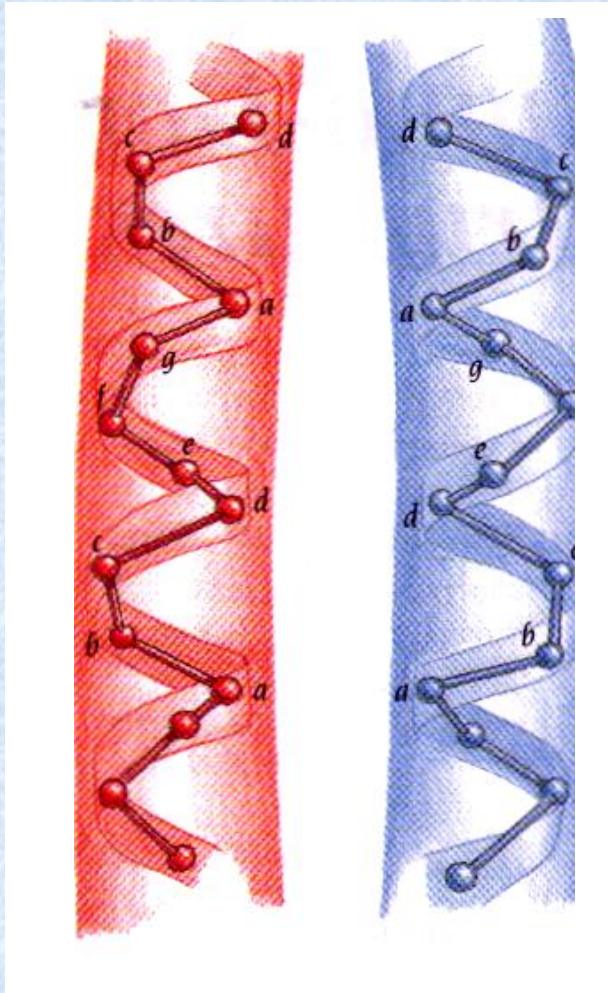
Η υπερελίκωση δημιουργεί μια διαταραχή στην γεωμετρία των α-ελίκων με αποτέλεσμα να έχουμε 3.5 αντί για 3.6 κατάλοιπα ανά στροφή. Σε αυτήν την περίπτωση τα κατάλοιπα ανά επτά θέσεις βρίσκονται σε ισοδύναμες δομικά θέσεις στην έλικα και αυτό αφορά και τις πλευρικές αλυσίδες τους. Παρατηρείται δε στις α-έλικες που συμμετέχουν σε υπερελικωμένες έλικες μια επανάληψη ανά επτά κατάλοιπα, η **επταδική επανάληψη** (heptad repeat).

	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>g</i>	
NH ₂ -	Met	Lys	Gln	Leu	Glu	Asp	Lys	-
	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Ser	Lys	-
	Asn	Tyr	His	Leu	Glu	Asn	Glu	-
	Val	Ala	Arg	Leu	Lys	Lys	Leu	- COOH

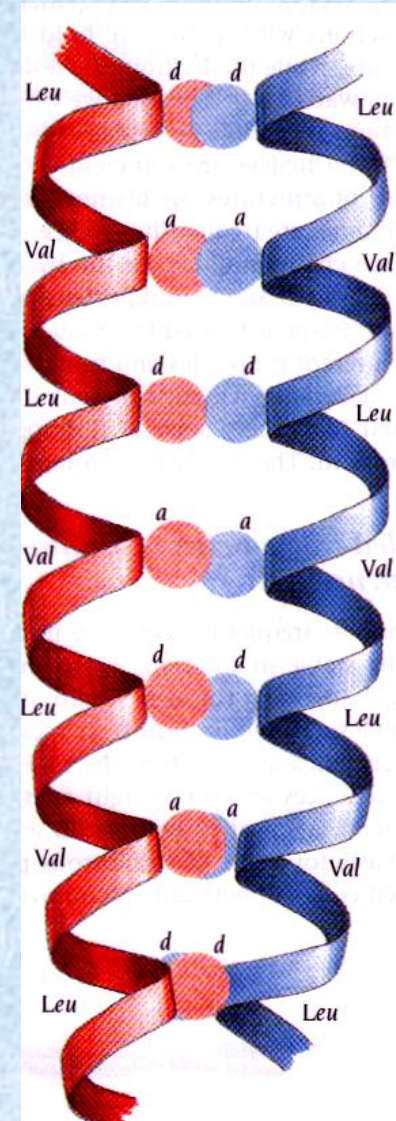
Επταδική επανάληψη στην ακολουθία του μεταγραφικού παράγοντα GCN4

Υπερελικωμένες έλικες (coiled coil)

Οι επτά θέσεις της επανάληψης έχουν καθορισμένο συμβολισμό,
a, b, c, d, e, f, g

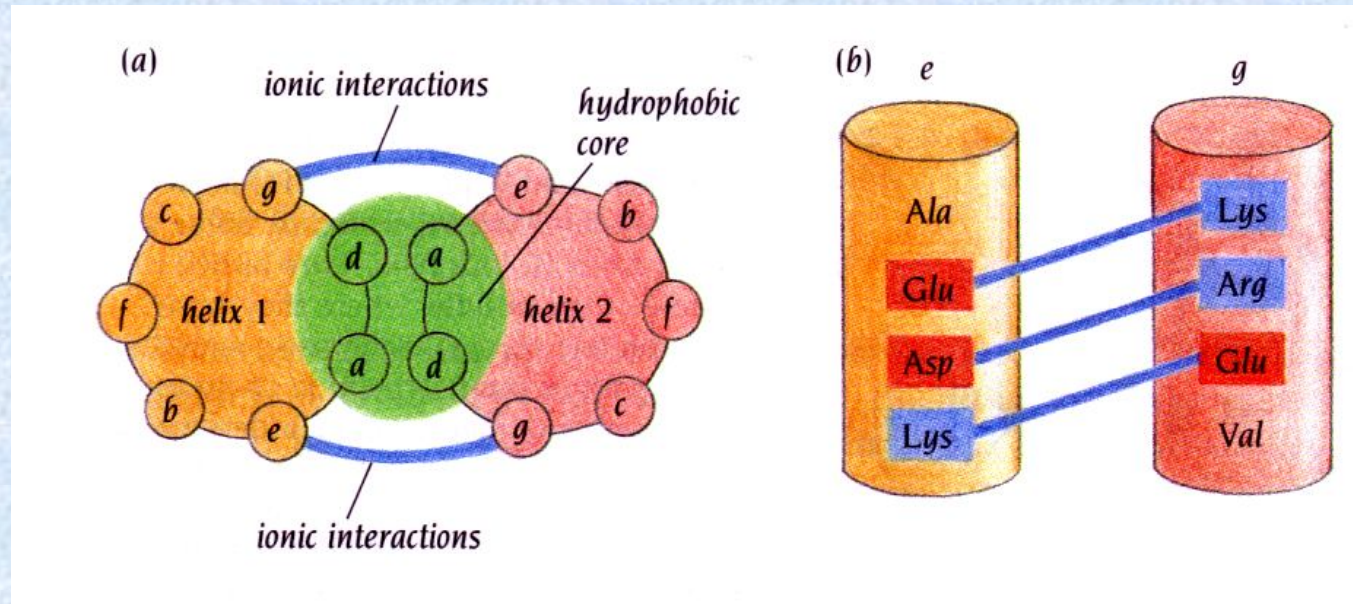


Το κατάλοιπο **d** είναι συνήθως Leu ή Ile ενώ το κατάλοιπο **a** είναι συνήθως υδρόφοβο και συμπληρώνει μαζί με το **d** την υδρόφοβη «πλευρά» της κάθε έλικας. Κατά την υπερελίκωση, οι πλευρικές ομάδες των καταλοίπων d από κάθε έλικα πακετάρονται απέναντι η μία στην άλλη ανά δύο στροφές της έλικας.



Υπερελικωμένες έλικες (coiled coil)

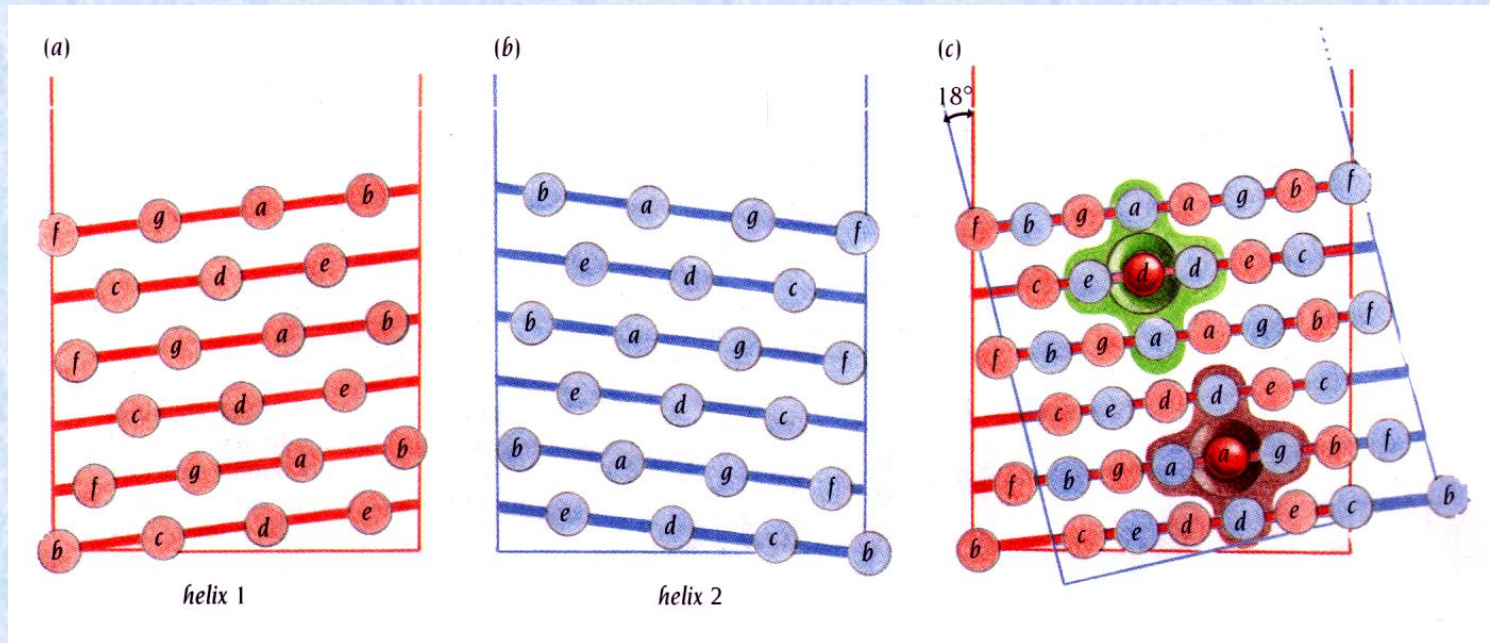
Τα κατάλοιπα **e** και **g** που περιβάλλουν τον υδρόφοβο πυρήνα κατά μήκος των ελίκων είναι συχνά φορτισμένα και αλληλεπιδρούν ιοντικά (συνήθως με γέφυρες άλατος). Πολλές φορές η αλληλεπίδραση αυτή καθορίζει την σχετική στοίχιση και διεύθυνση των ελίκων



Υπερελικωμένες έλικες (coiled coil)

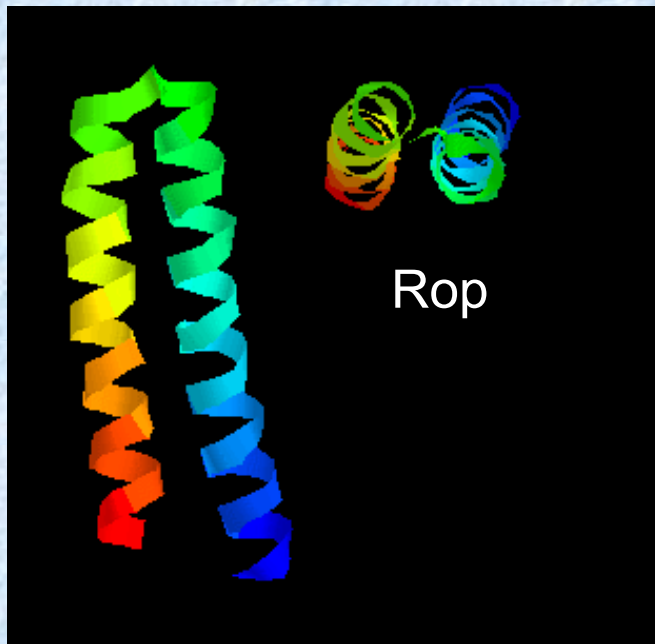
Ποιά όμως είναι η ακριβής γεωμετρία της αλληλεπίδρασης των ελίκων στις υπερέλικες;

Οι πλευρικές ομάδες των καταλοίπων **d** και **a** της κάθε έλικας αλληλεπιδρούν σε «οπές» που σχηματίζονται από τέσσερα κατάλοιπα στην δεύτερη έλικα. Αυτό το μοντέλο αλληλεπίδρασης ονομάζεται «**knobs in holes**»

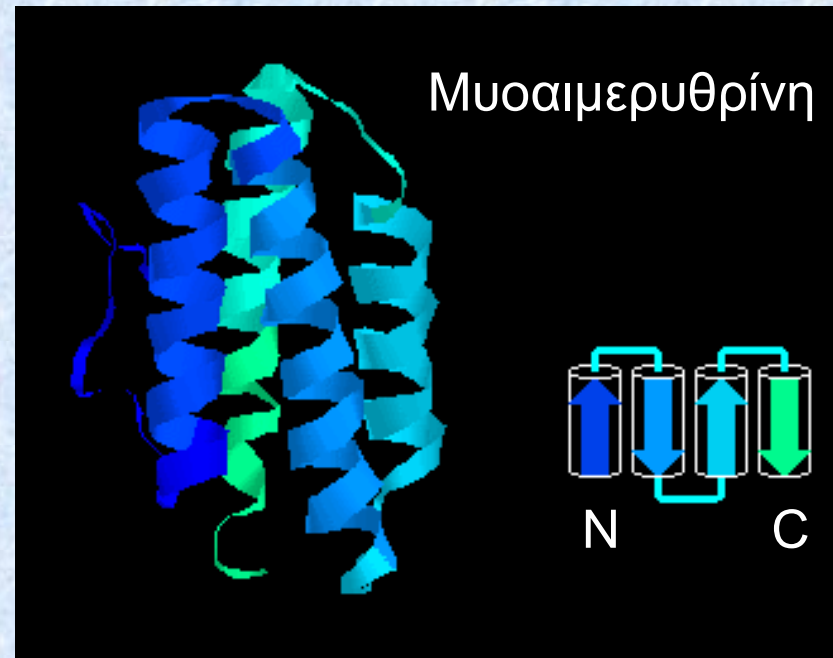


4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)

Το μοτίβο υπερελικωμένων ελίκων δεν είναι αρκετό για τη δημιουργία μιας σφαιρικής α-πρωτεΐνης. Το πιο απλό μοτίβο αλληλεπίδρασης α-ελίκων που παρατηρείται στις σφαιρικές πρωτεΐνες είναι το πακετάρισμα δύο ή τεσσάρων ελίκων με τους άξονες τους σχεδόν παράλληλους. Το δεύτερο μοτίβο ονομάζεται μοτίβο **4-ελικοειδών δεματίων**



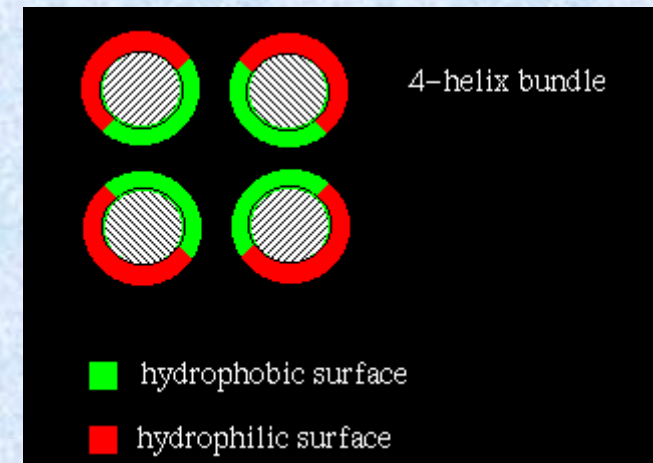
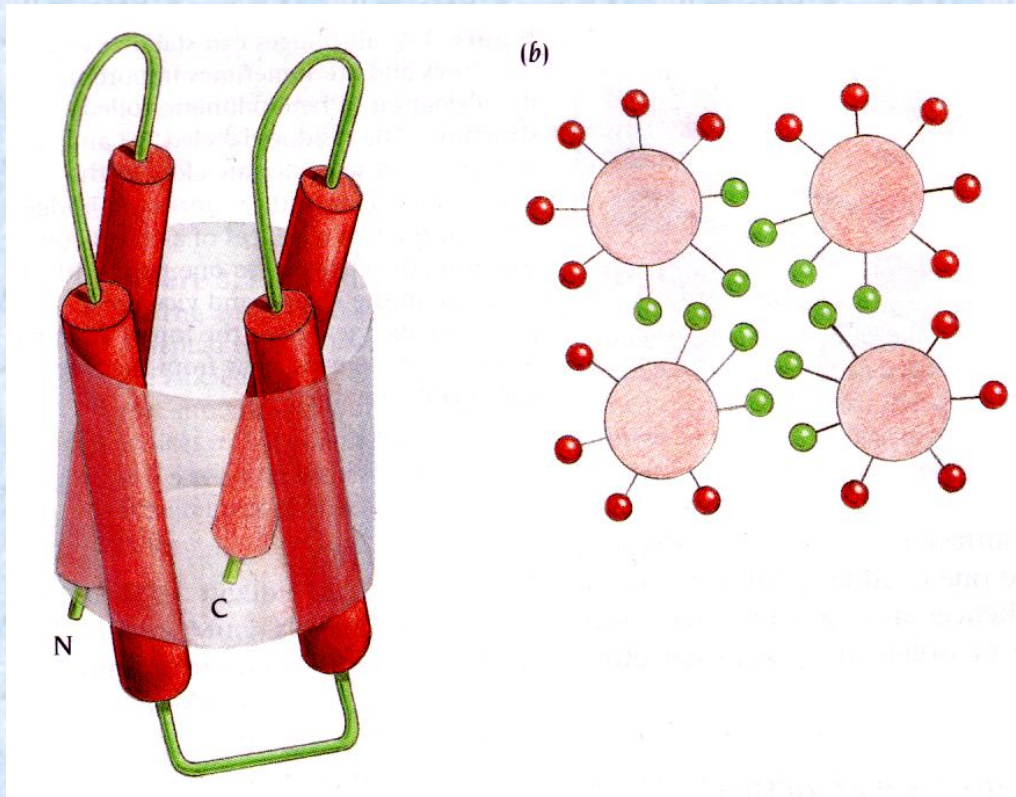
2 έλικες



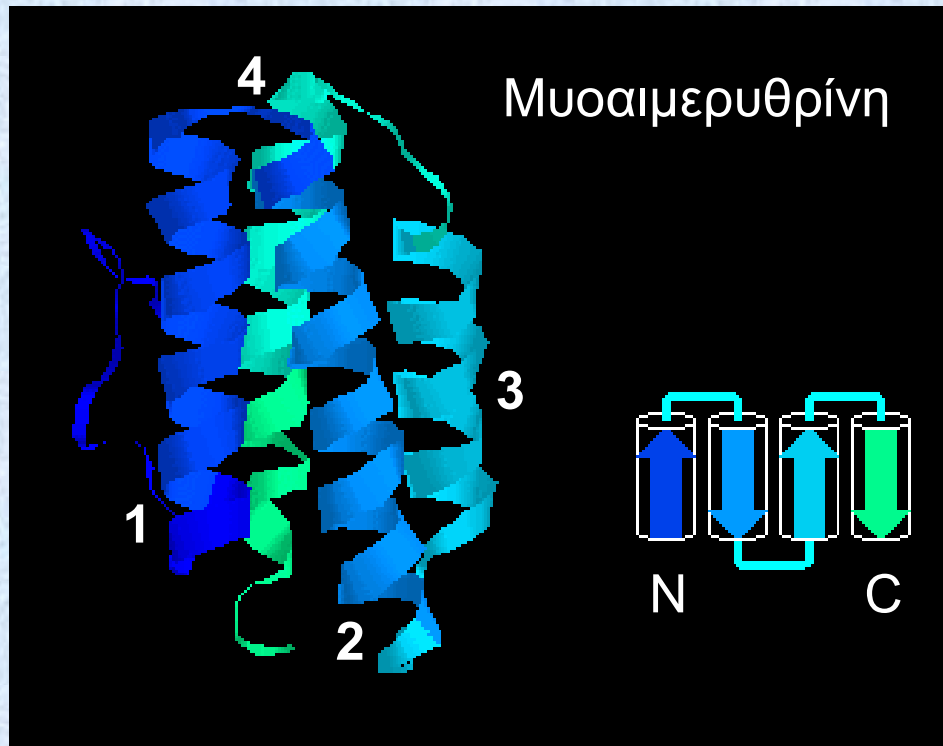
4 έλικες

4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)

Στο σχήμα φαίνεται η αλληλεπίδραση τεσσάρων ελίκων σε μοτίβο 4-ελικοειδούς δεματίου με ταυτόχρονη δημιουργία υδρόφοβου πυρήνα



4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)



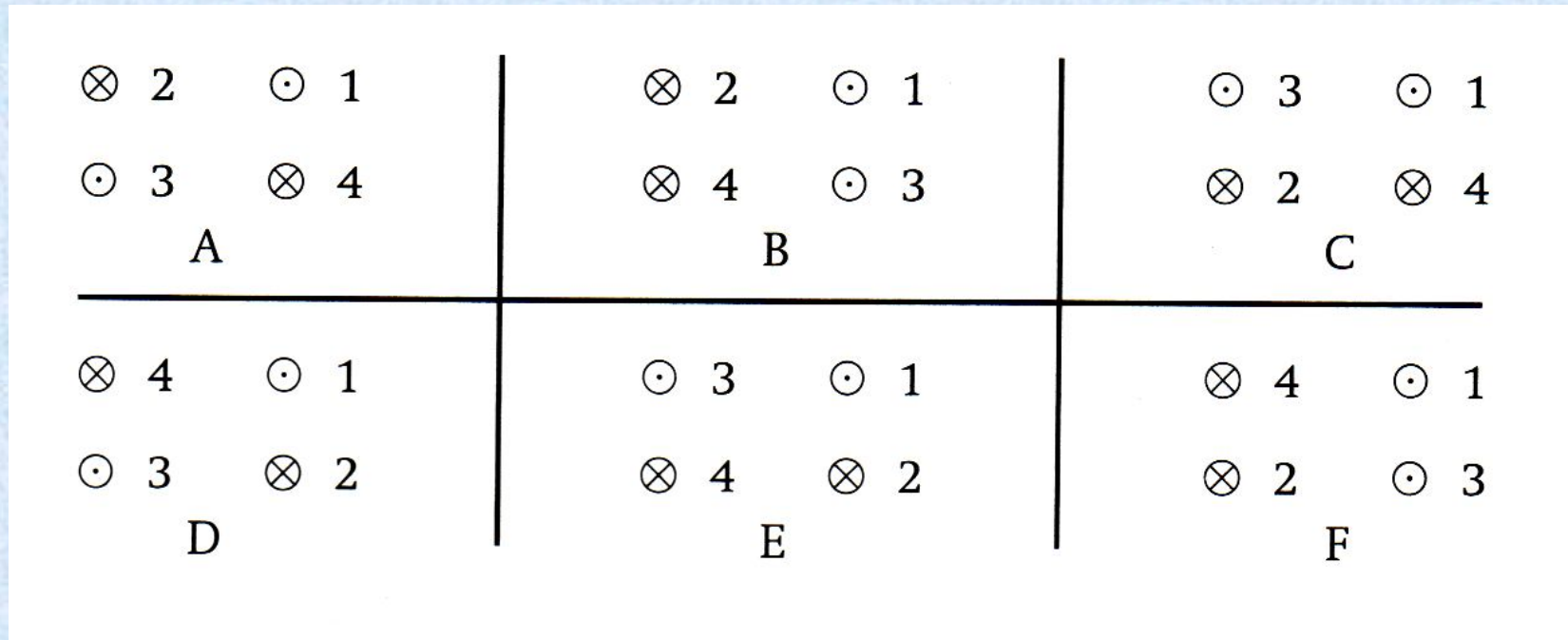
Η τοπολογία ενός 4-ελικοειδούς δεματίου μπορεί να απλοποιηθεί όπως φαίνεται παρακάτω για την πρωτεΐνη μυοαιμερυθρίνη



4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)

Πόσες όμως είναι οι πιθανές τοπολογίες τεσσάρων ελίκων σε ένα 4-ελικοειδές δεμάτιο;

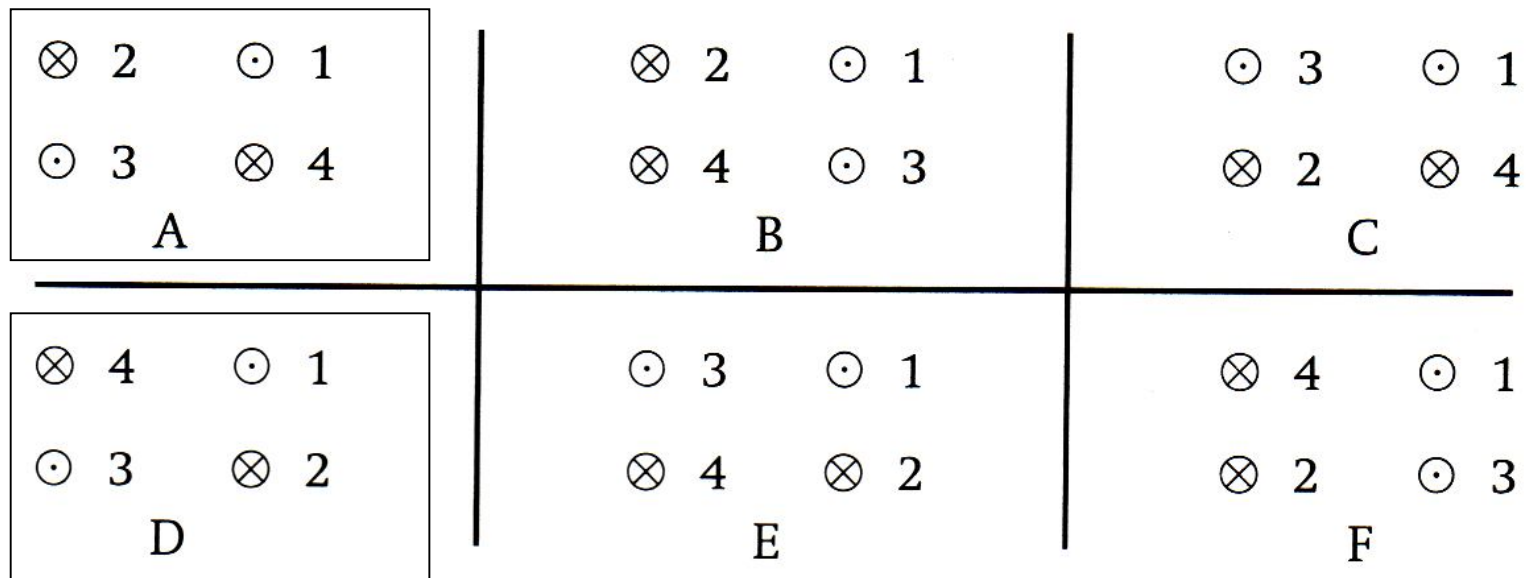
Συνολικά υπάρχουν έξι διαφορετικές διευθετήσεις:



4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)

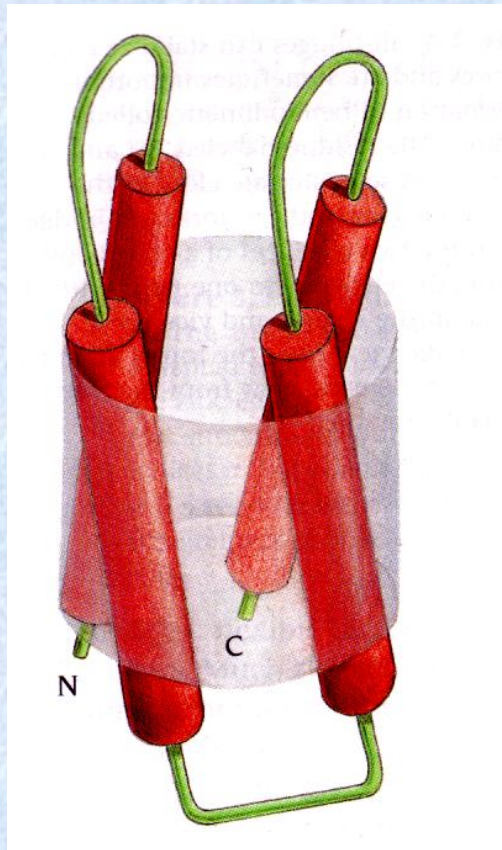
Στην πράξη, μόνο οι τοπολογίες **A** και **D** παρατηρούνται συχνά.
Αυτό οφείλεται στο ότι:

1. Όλες οι αλληλεπιδράσεις στην περιφέρεια των ελίκων στις τοπολογίες αυτές είναι αντιπαράλληλες
2. Μόνο οι τοπολογίες αυτές δεν έχουν μακρούς διαγώνιες συνδέσεις μεταξύ των ελίκων

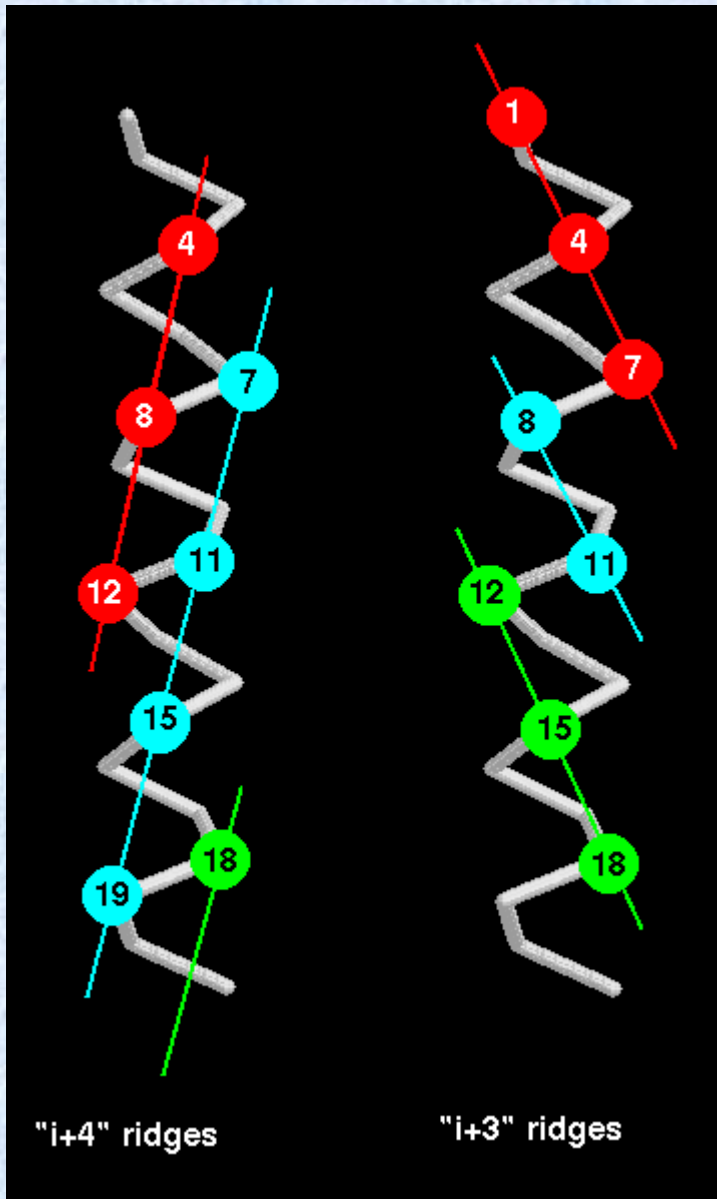


4-ελικοειδή δεμάτια (four-helix bundle)

Η διάταξη των ελίκων στα 4-ελικοειδή δεμάτια μπορεί να θεωρηθεί ως μια υπερέλικα. Η υπερέλικα αυτή μπορεί να είναι δεξιόστροφη ή αριστερόστροφη. Στις περισσότερες των περιπτώσεων είναι αριστερόστροφη.



Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων



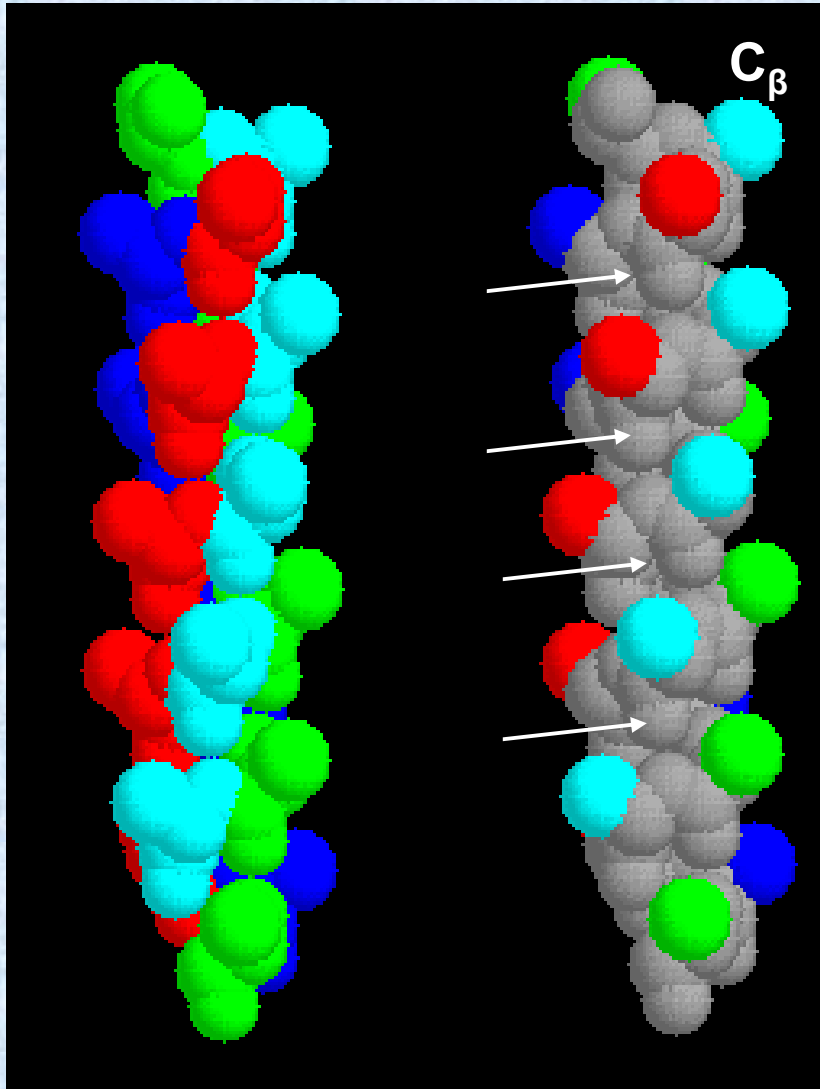
Η γωνία μεταξύ των αξόνων δύο αλληλεπιδρώντων α-ελίκων καθορίζεται από τη γεωμετρία της α-έλικας.

Συνέπεια της περιοδικότητας είναι η δημιουργία **όρων** (ridges) και **κοιλιάδων** (grooves) στην **εξωτερική επιφάνεια** των ελίκων.

Όρη σχηματίζονται από πλευρικές ομάδες καταλοίπων που διαφέρουν στην αλληλουχία κατά συγκεκριμένο αριθμό καταλοίπων.

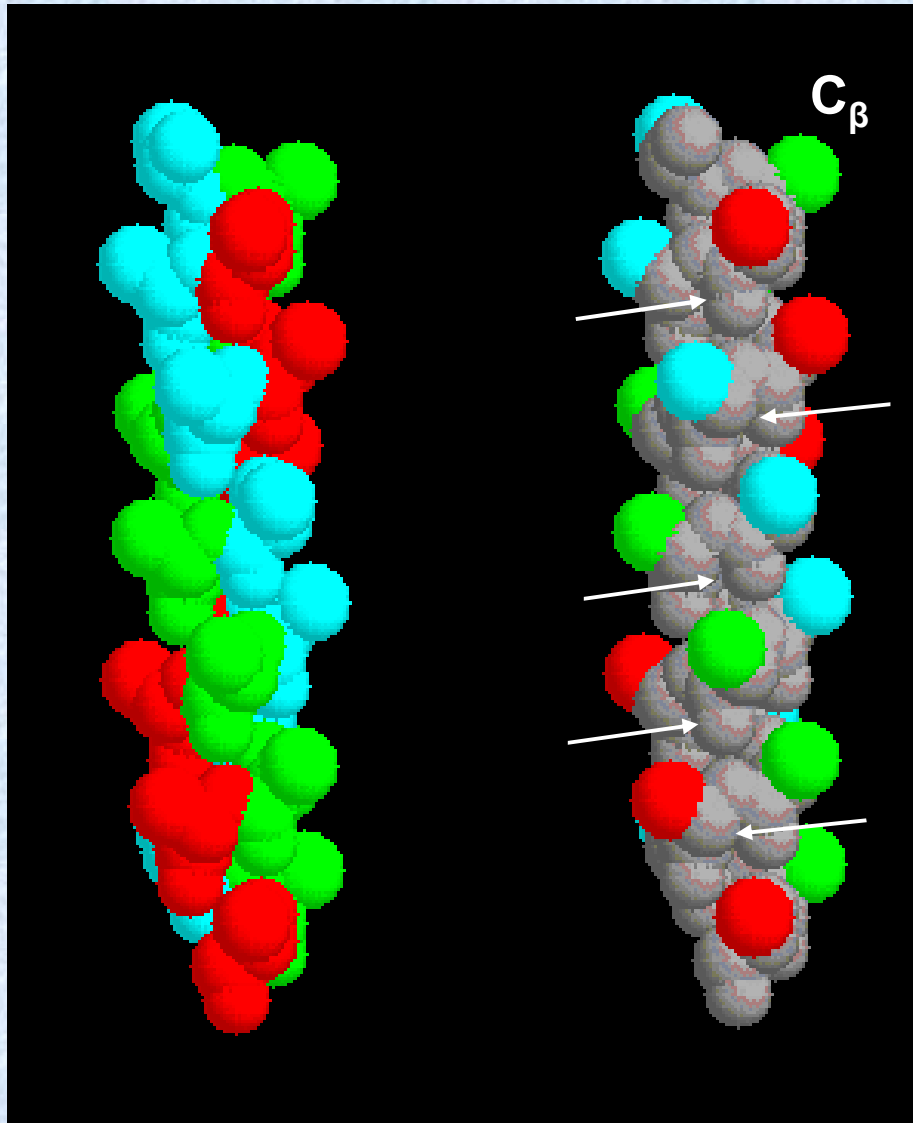
Φαίνονται στην εικόνα όρη $i \pm 3$ και $i \pm 4$, αντίστοιχα.

Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων



Στο διπλανό σχήμα φαίνονται τα
όρη $i \pm 4$ μιας α-έλικας
πολυαλανίνης. Κάποιες κοιλάδες
φαινονται με βέλη.

Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων



Όρη $i \pm 3$ της προηγούμενης α-έλικας. Προσέξτε ότι τα όρη και οι κοιλάδες έχουν αλλάξει θέση σε σχέση με την προηγούμενη περίπτωση.

Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων

Μοντέλο αλληλεπίδρασης α-ελίκων

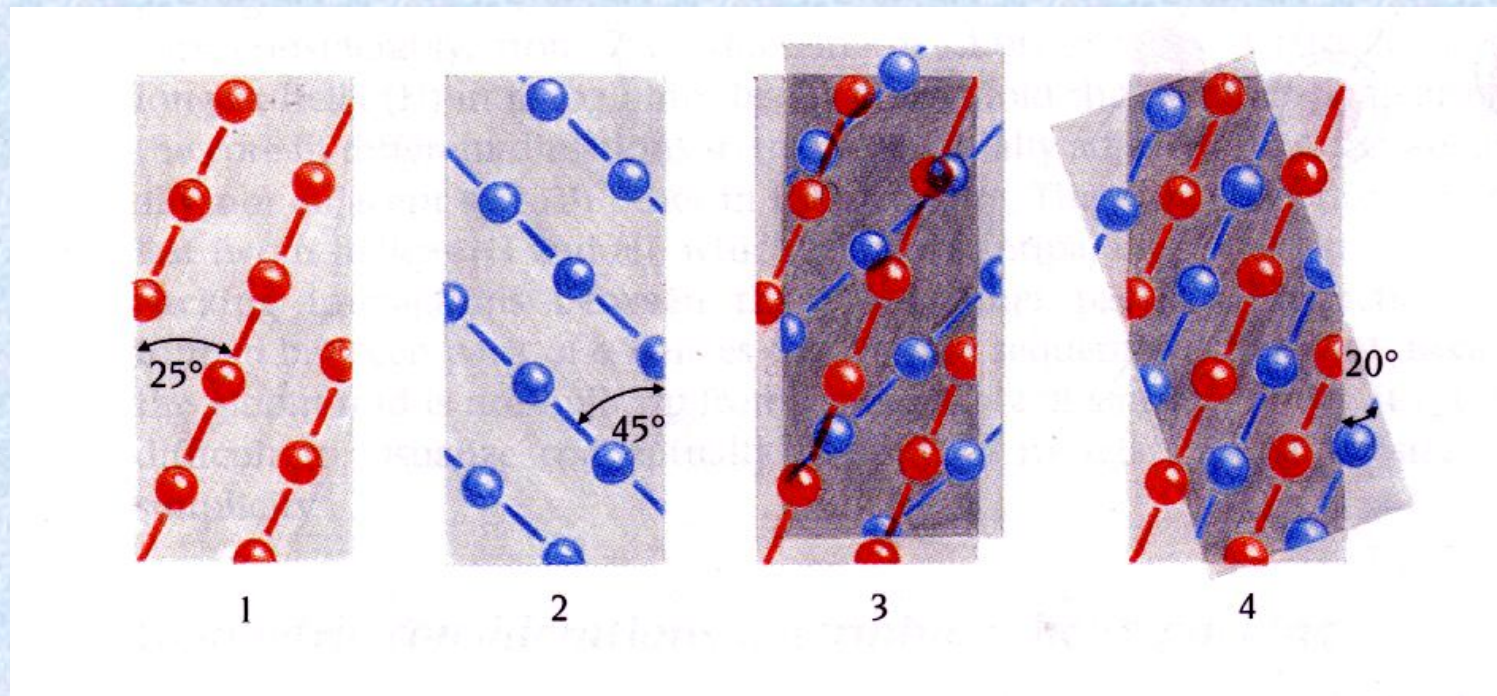
όρη σε κοιλάδες («**ridges in grooves**»):

$$i \pm 4 / i \pm 4$$

$$i \pm 3 / i \pm 4$$

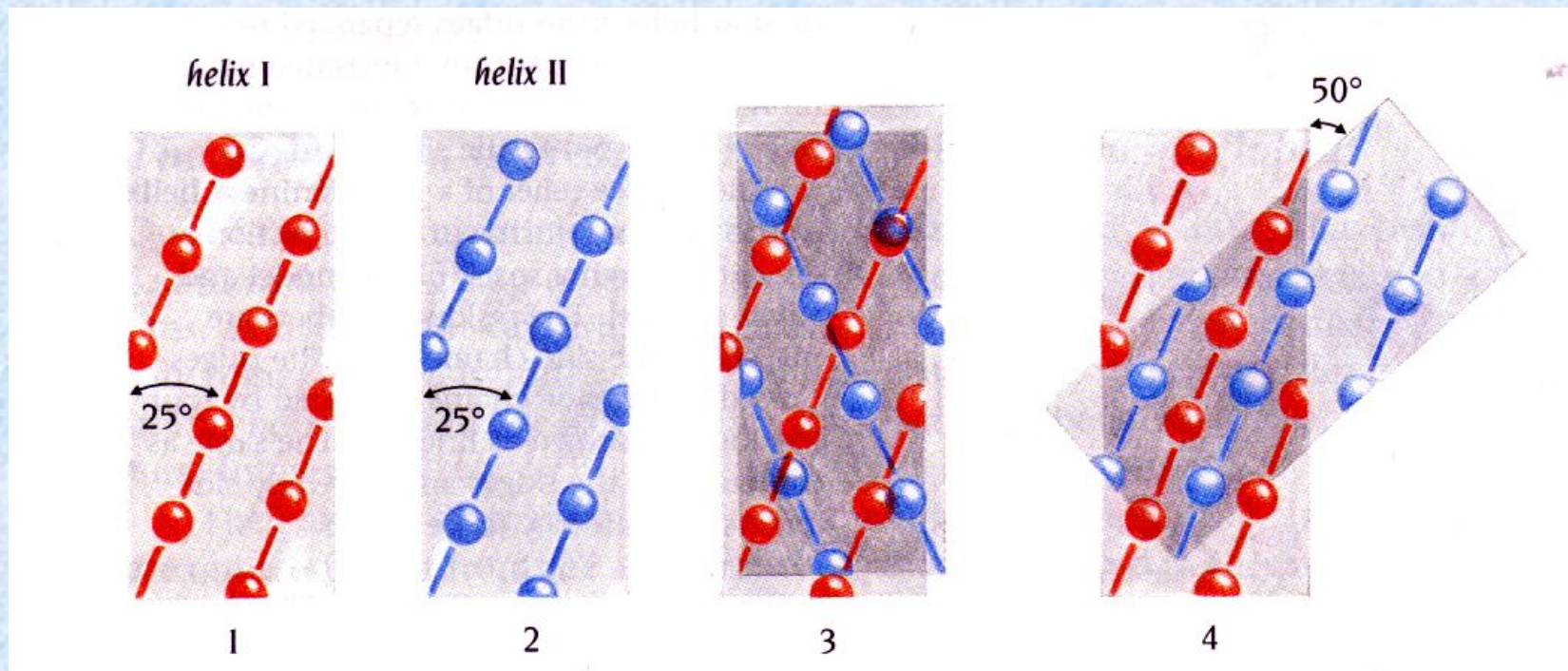
Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων

Στα μοτίβα 4-ελικοειδών δεματίων η αλληλεπίδραση μεταξύ των ελίκων είναι της κλάσης $i \pm 3 / i \pm 4$



Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων

Στις σφαιρίνες η αλληλεπίδραση μεταξύ των ελίκων είναι συχνά της κλάσης $i \pm 4 / i \pm 4$



Γεωμετρία αλληλεπίδρασης α-ελίκων

Σε κάποιες περιπτώσεις 4-ελικοειδών δεματίων το δεμάτιο σχηματίζεται από ένα διμερές υπερελικωμένων ελίκων οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με το μοντέλο **knobs in holes**, ενώ τα διμερή αλληλεπιδρούν με το μοντέλο **ridges in grooves**. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι το διμερές της Rop.

