

# Δομική βιολογία

Διάλεξη 4η :

Μοριακά γραφικά & τύποι αναπαραστάσεων.  
Πρωτεΐνες : Αμινοξέα και ιδιότητες τους. Πεπτιδικός δεσμός, γωνίες στρέψης, Ramachandran plots. Μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις στα μακρομόρια. Το πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών. Μοριακή δυναμική, εμπειρικά δυναμικά πεδία (force fields).

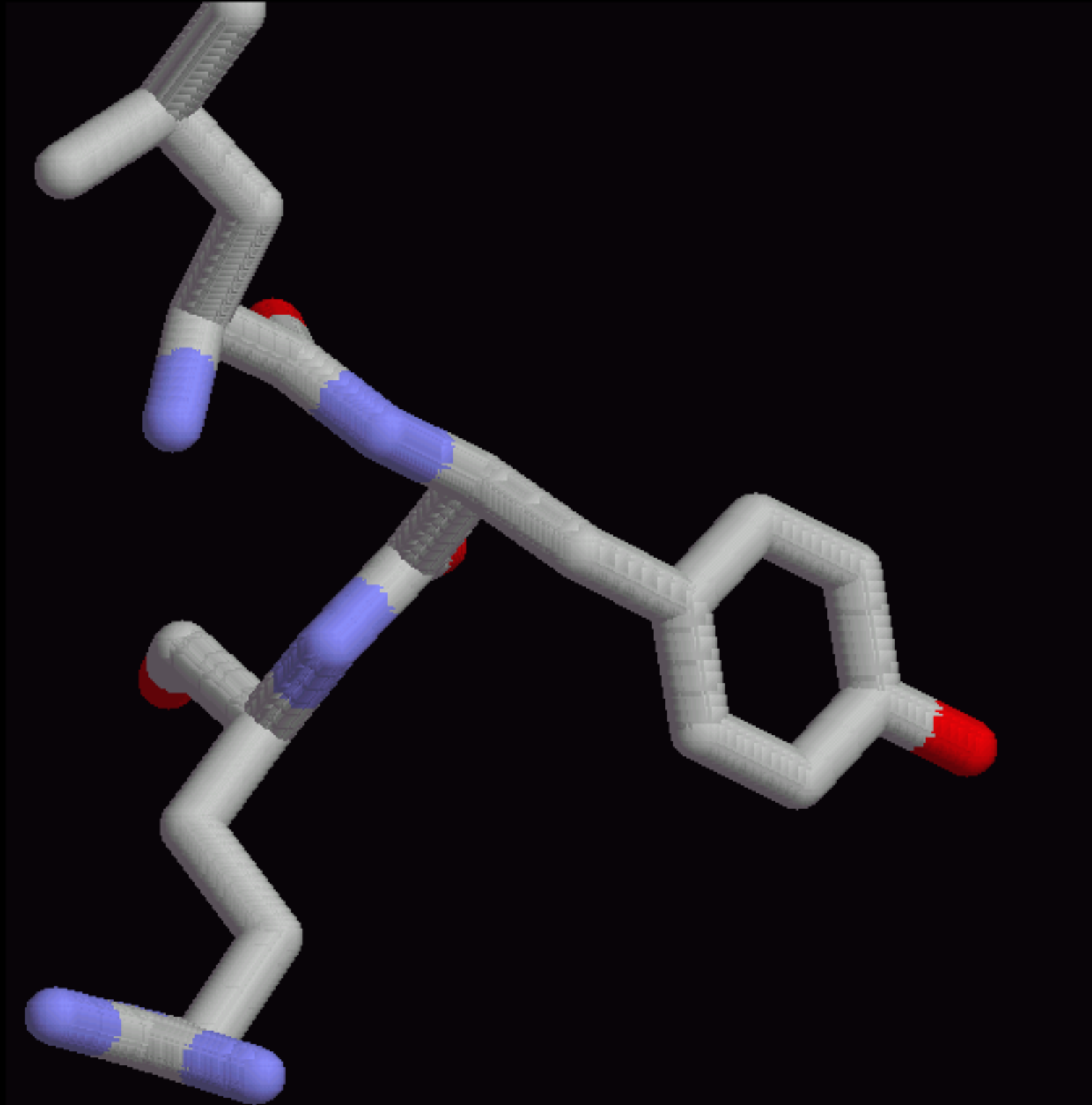
# Μοριακά γραφικά

---

Η γραφική αναπαράσταση (μέσω υπολογιστών) μορίων και μοριακών διεργασιών έχει συγκεντρώσει τόσο ενδιαφέρον, ώστε να υπάρχει διεθνές επιστημονικό περιοδικό, το Journal of Molecular Graphics, το οποίο ασχολείται αποκλειστικά με το θέμα αυτό. Για τα πλαίσια αυτού του μαθήματος, θα παρουσιαστούν μερικές από τις συνηθέστερες στατικές γραφικές απεικονίσεις μορίων ώστε όταν αυτές απαντώνται να μην προκαλούνται αμφιβολίες για το τι αναπαρίσταται.

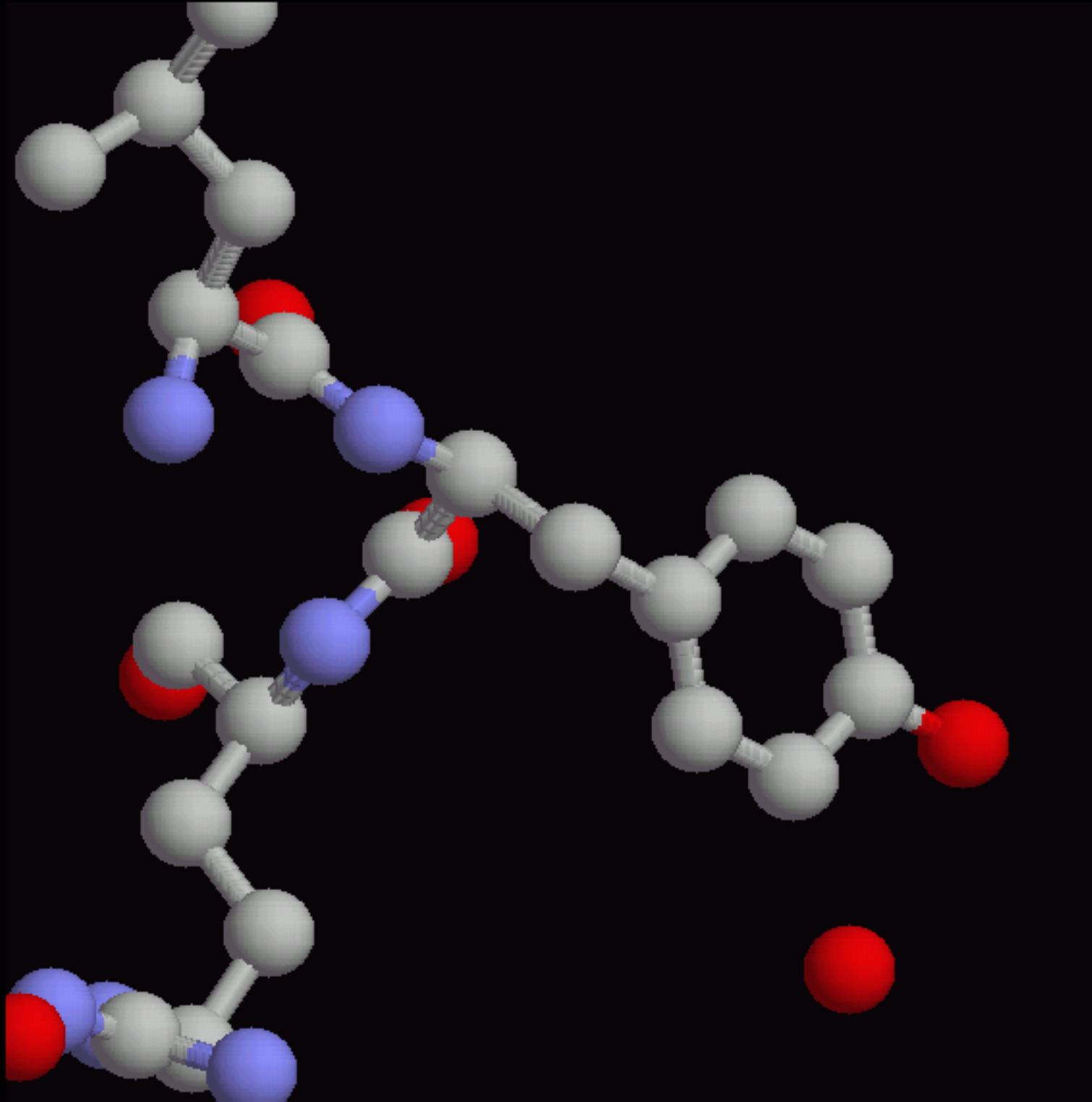
# Μοριακά γραφικά

## Ομοιοπολικοί δεσμοί



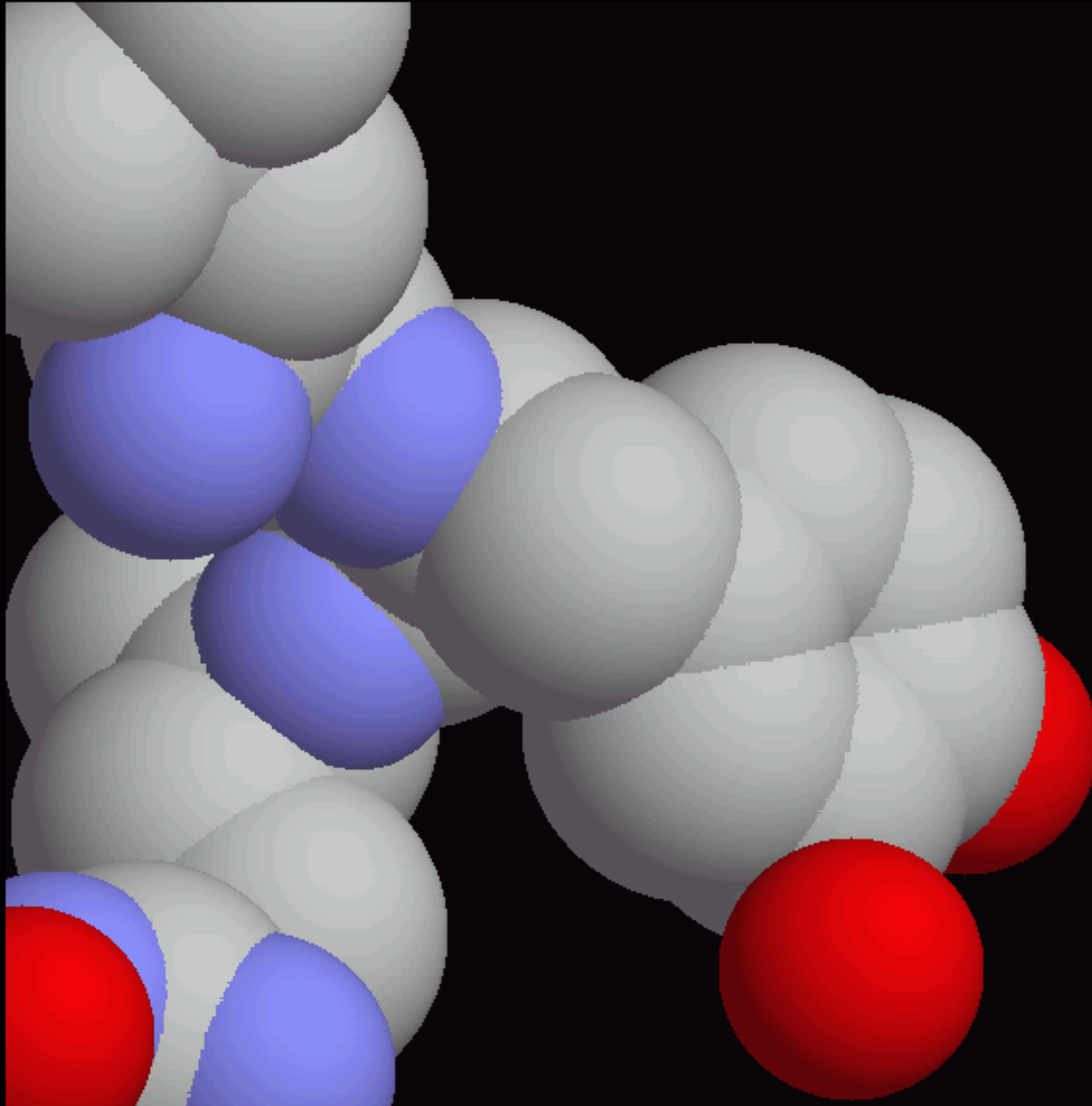
# Μοριακά γραφικά

Ομοιοπολικοί δεσμοί και ατομικές θέσεις



# Μοριακά γραφικά

## Χωροπληρωτικά μοντέλα



# Μοριακά γραφικά

Σκελετός μορίου (C $\alpha$ -C $\alpha$ , P-P)



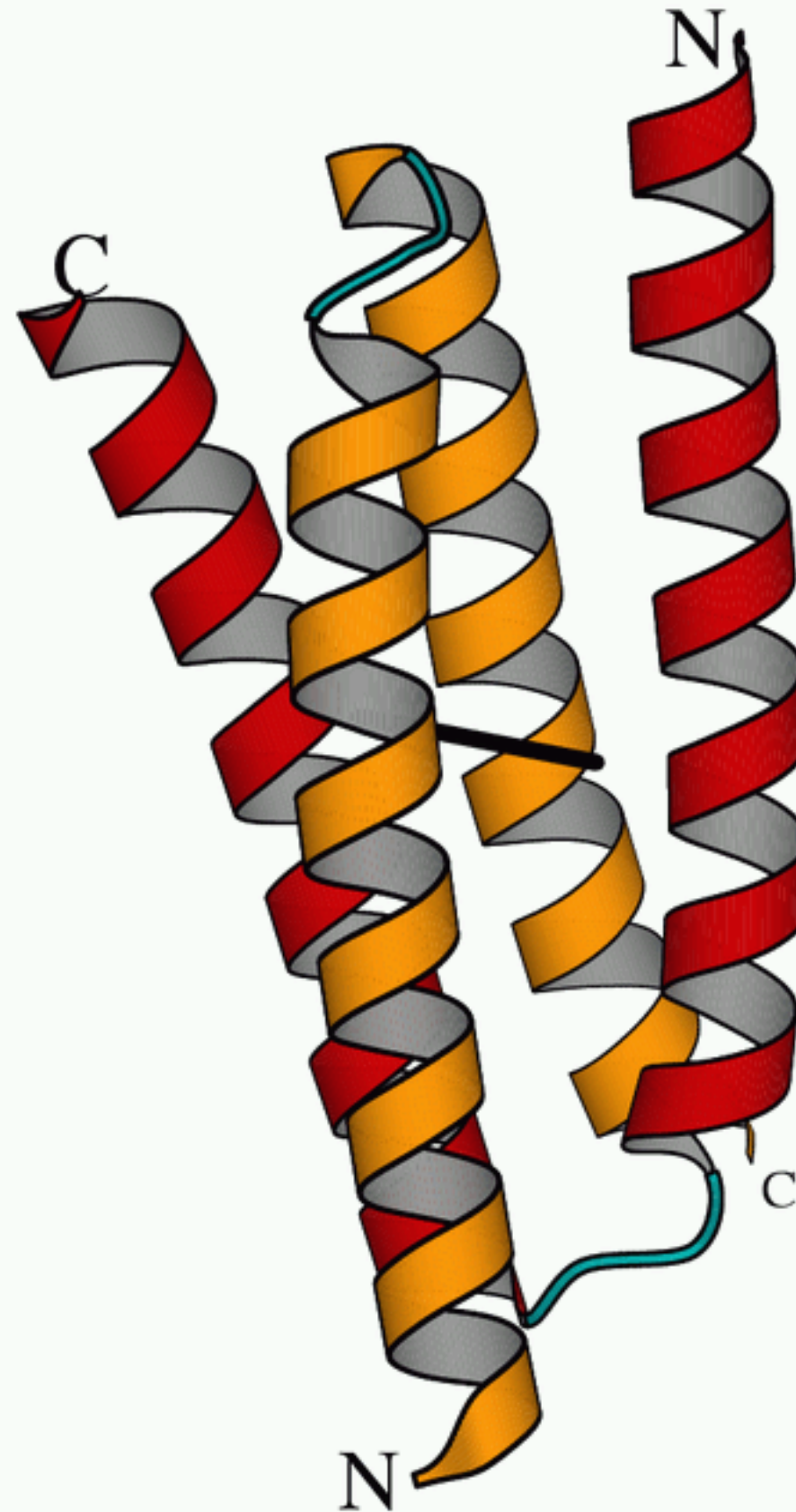
# Μοριακά γραφικά

Σχηματική αναπαράσταση τύπου 'cartoon'.



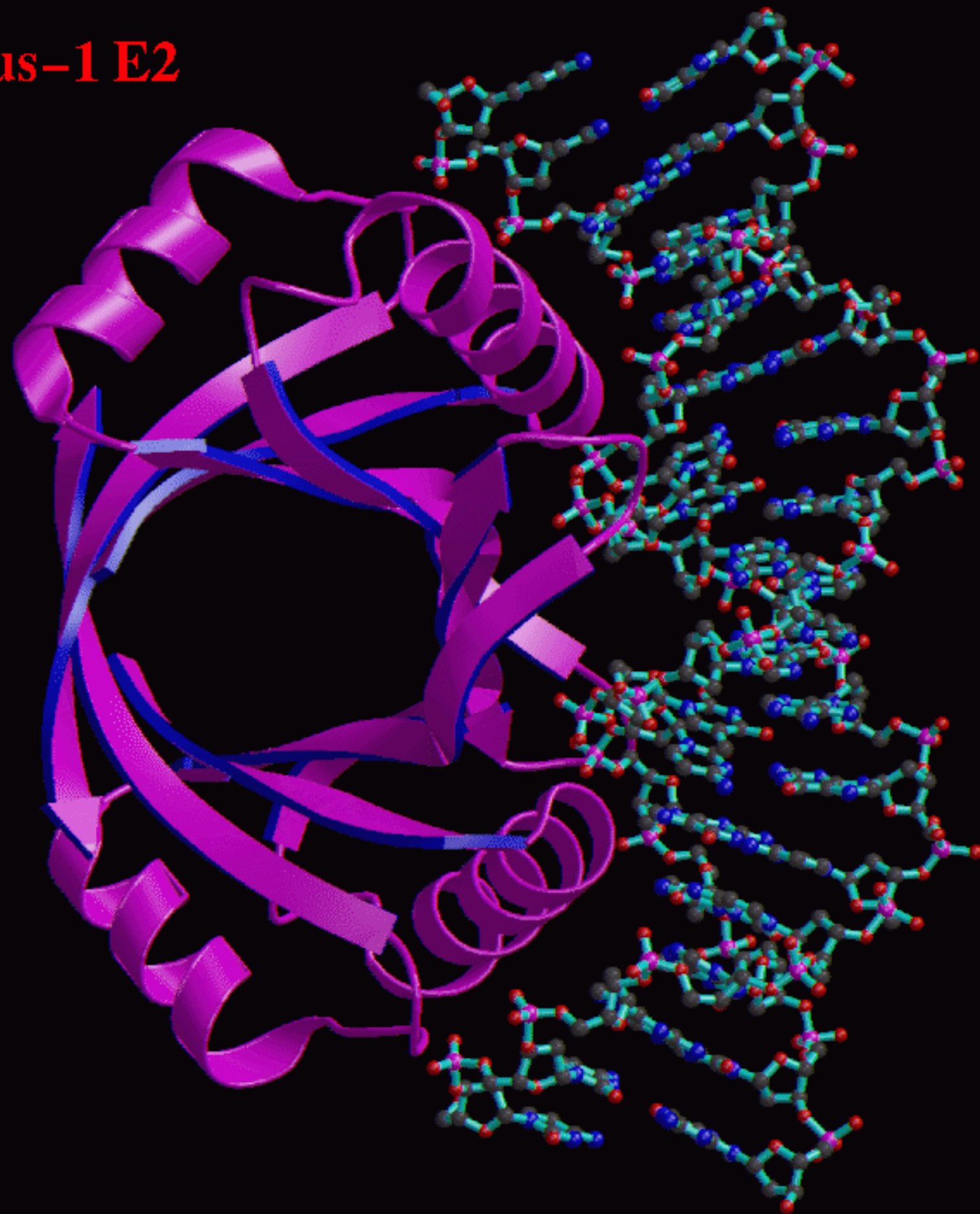


# Μοριακά γραφικά



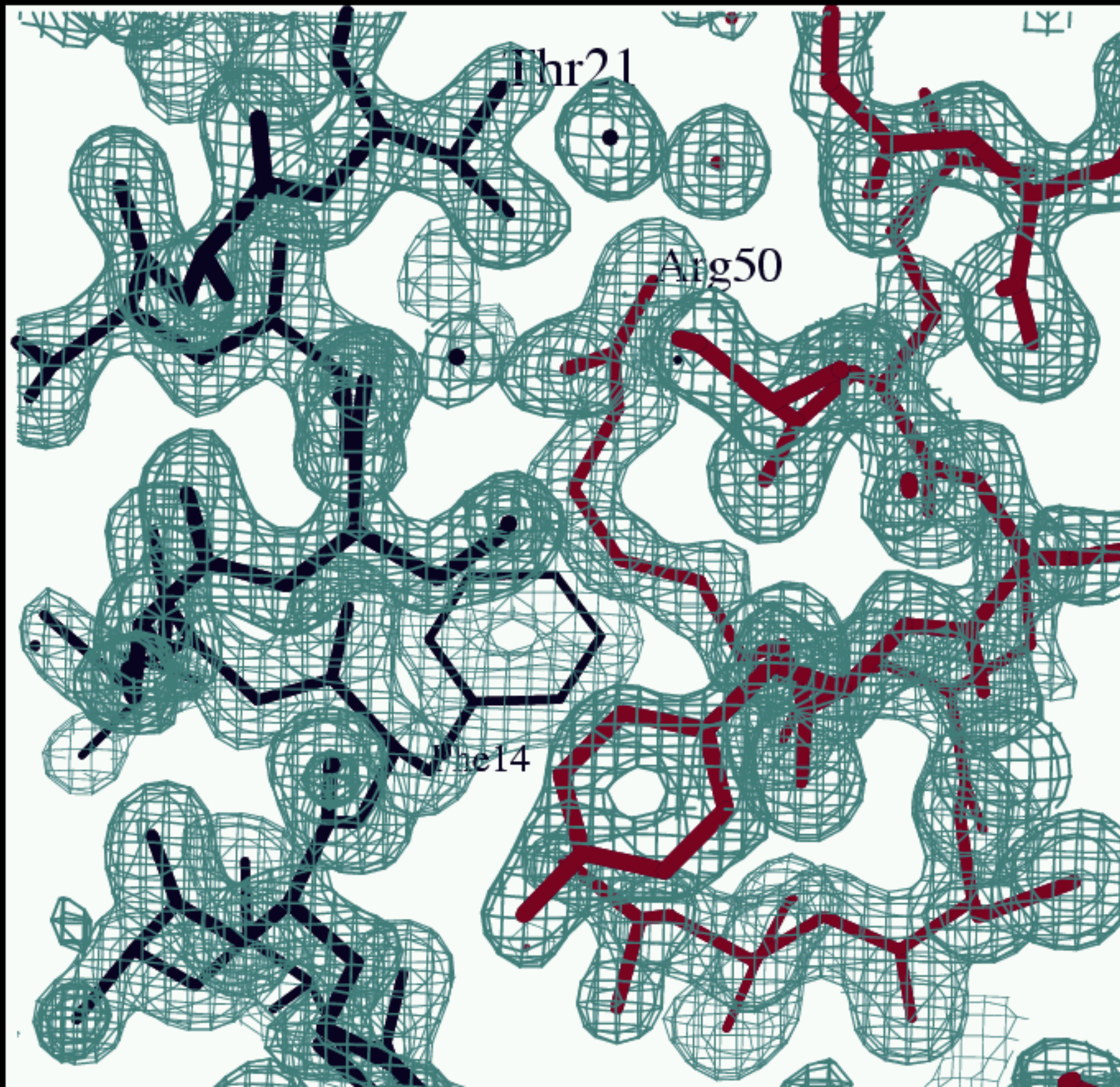


# Papillomavirus-1 E2



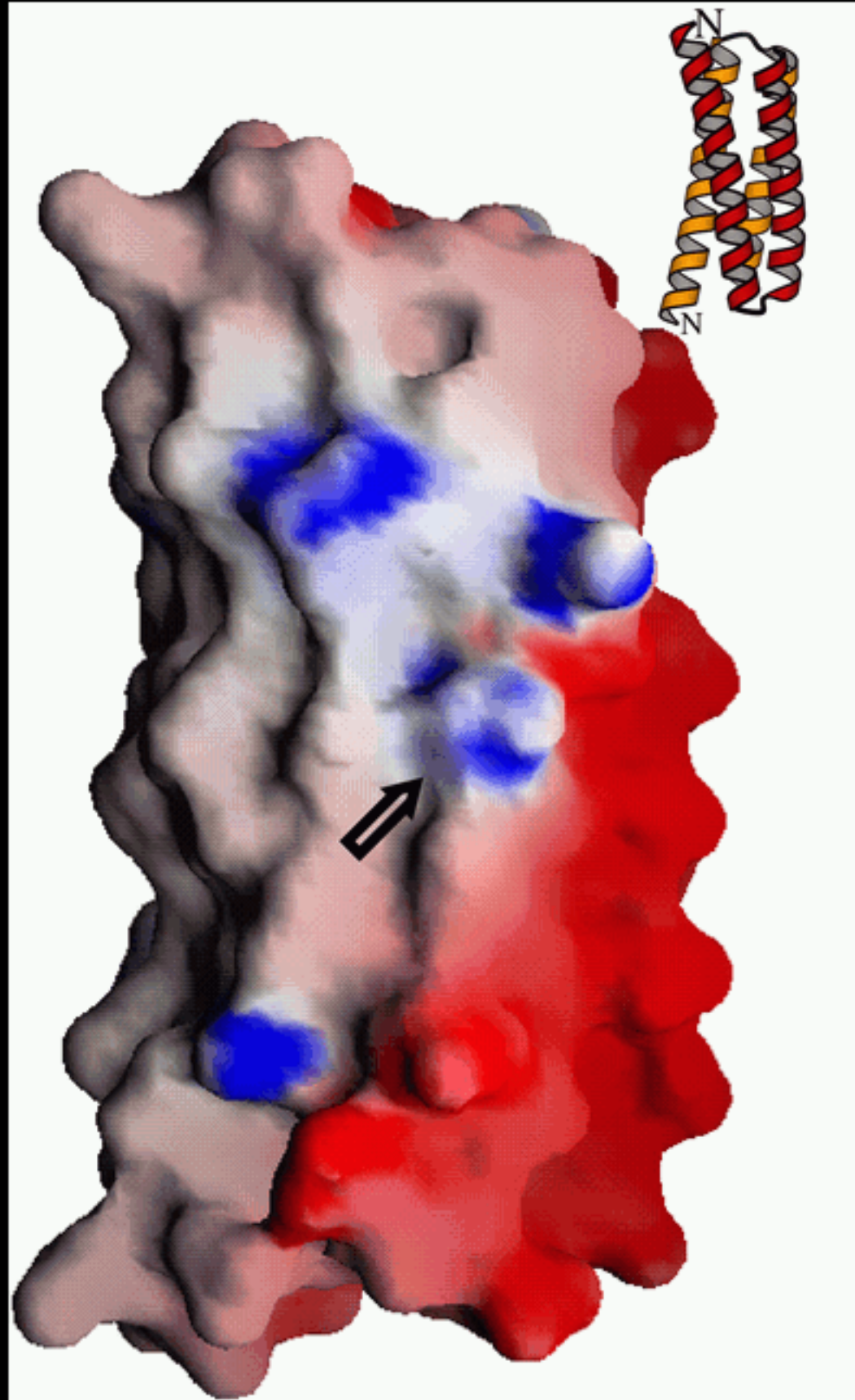


# Μοριακά γραφικά



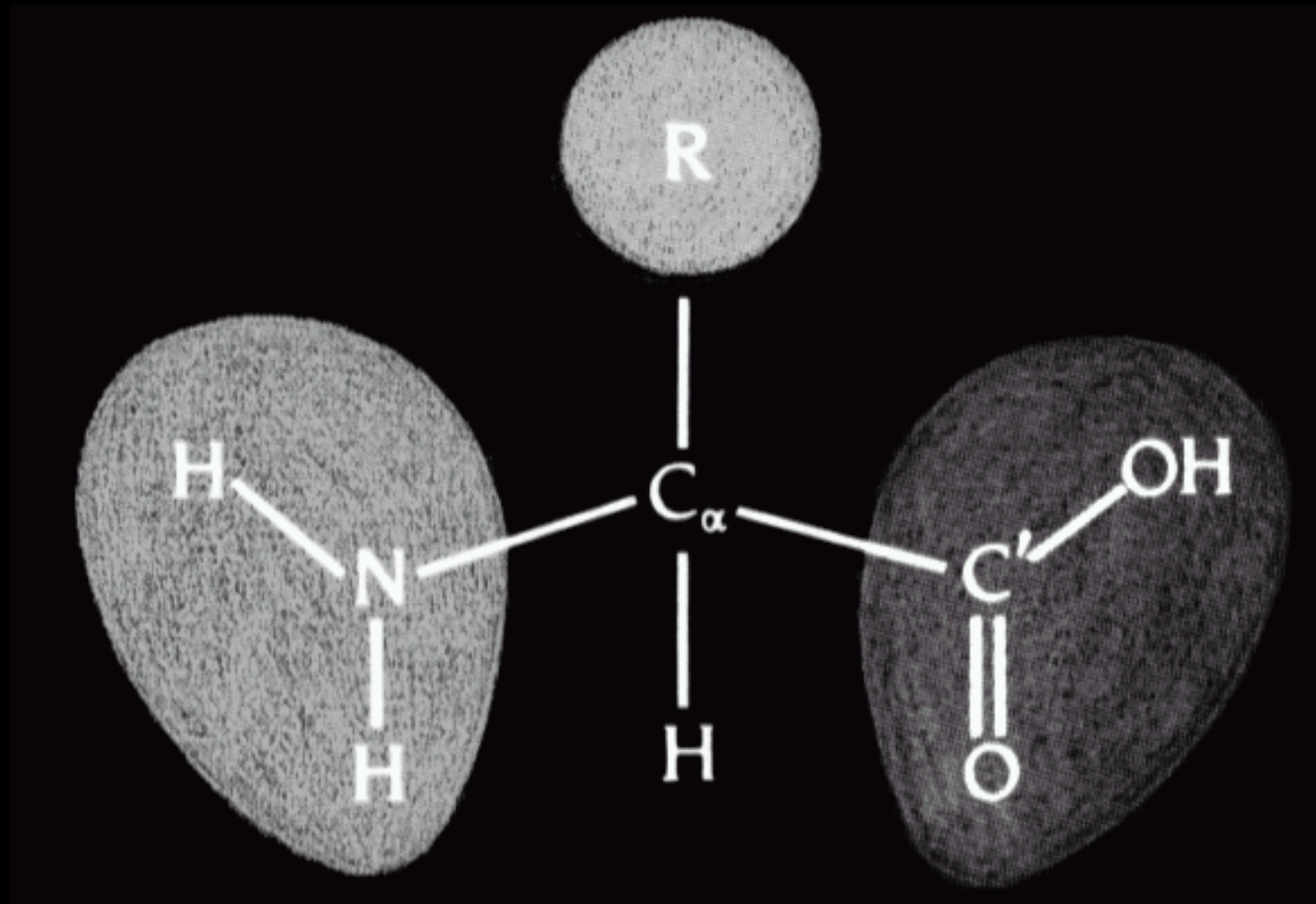


# Μοριακά γραφικά



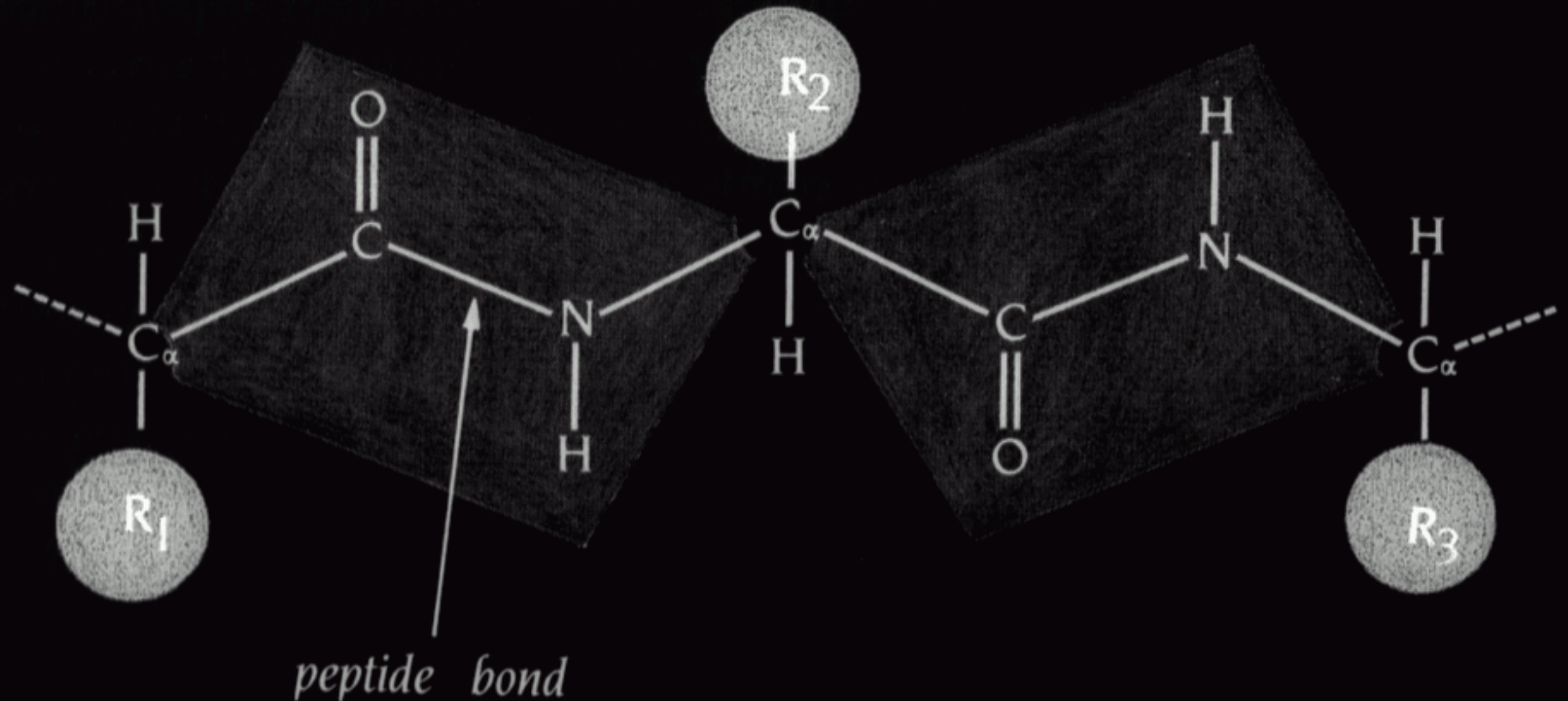
# Πρωτεΐνες : μία επανάληψη

α-αμινοξέα



# Πρωτεΐνες : μία επανάληψη

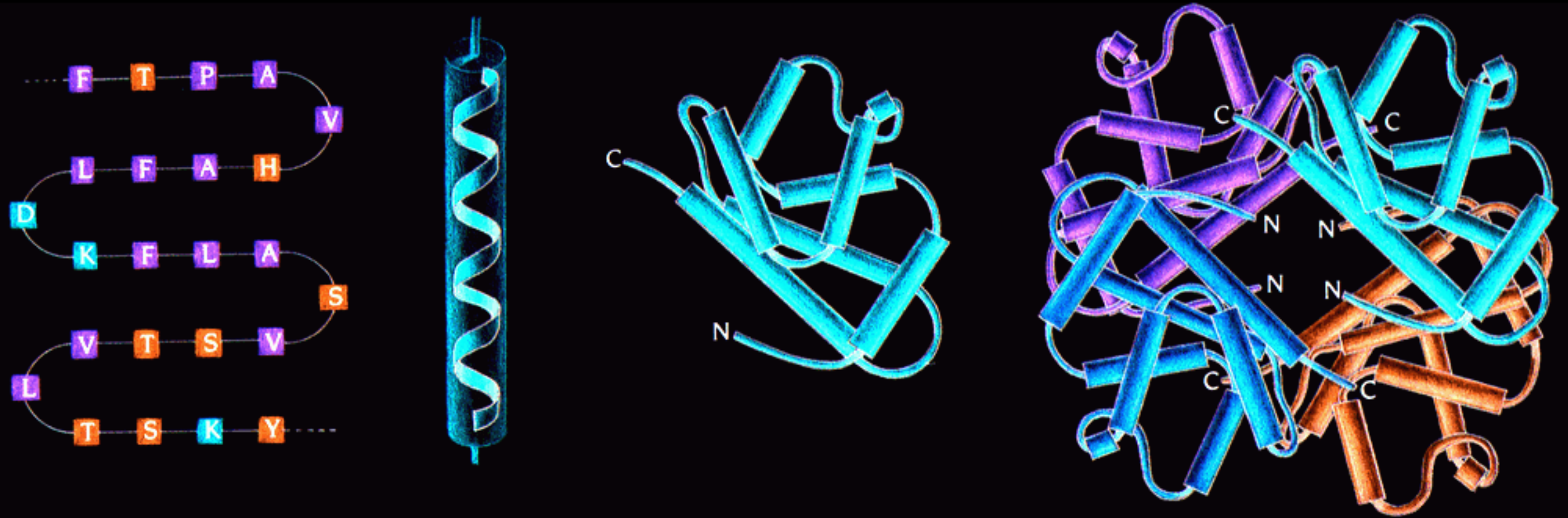
## Πεπτιδικός δεσμός





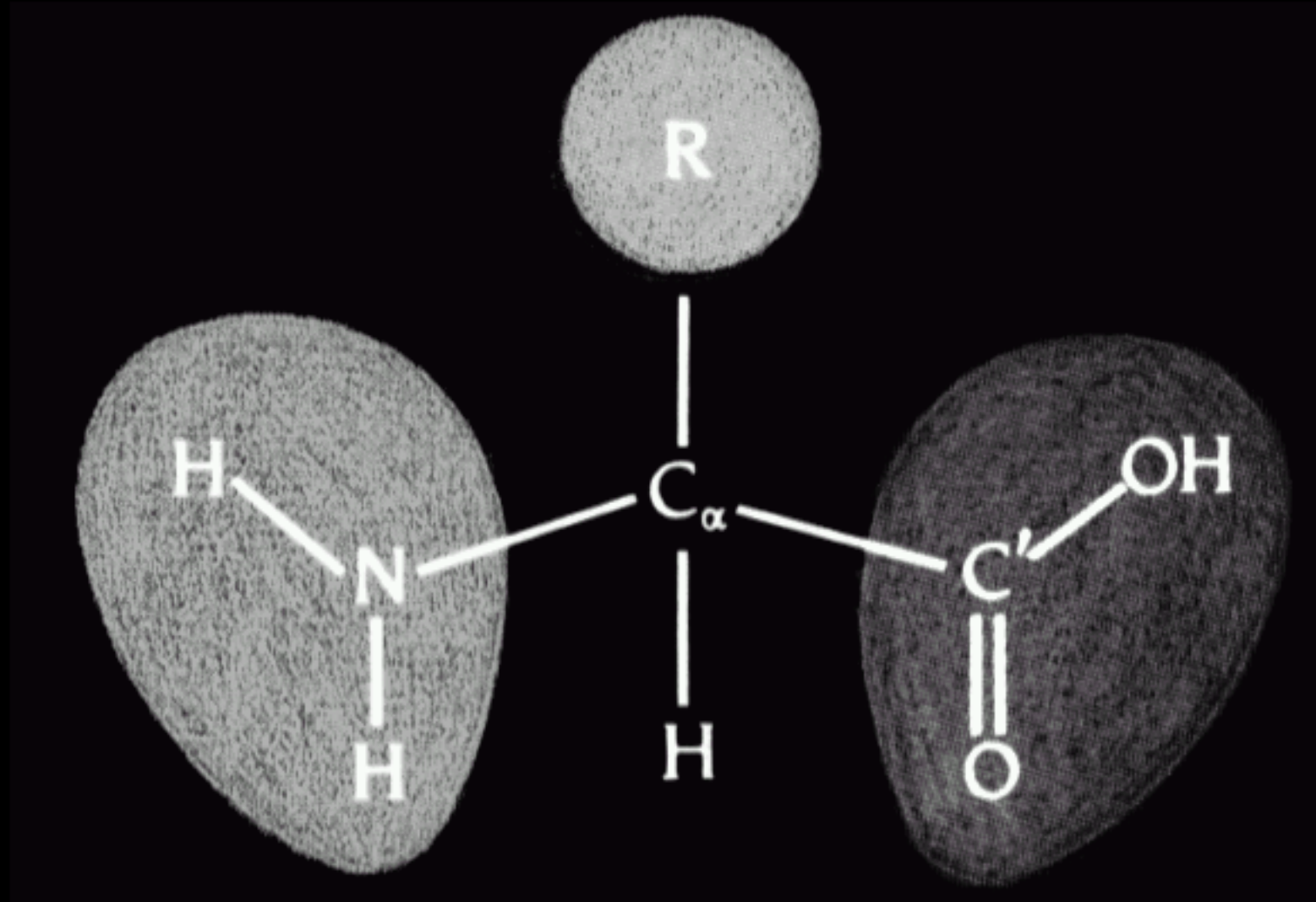
# Πρωτεΐνες : επανάληψη

## Επίπεδα οργάνωσης πρωτεϊνών

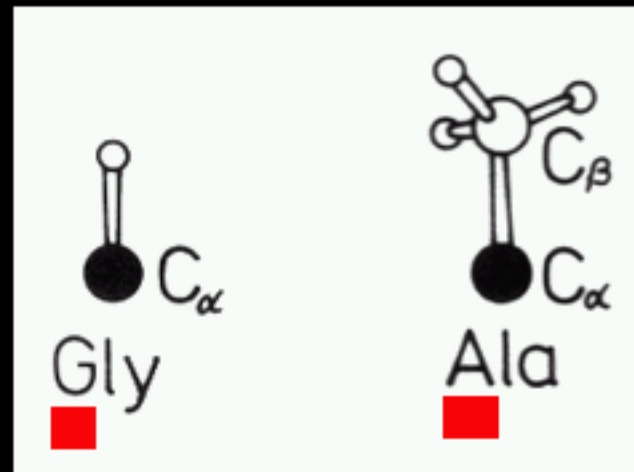




# α-αμινοξέα

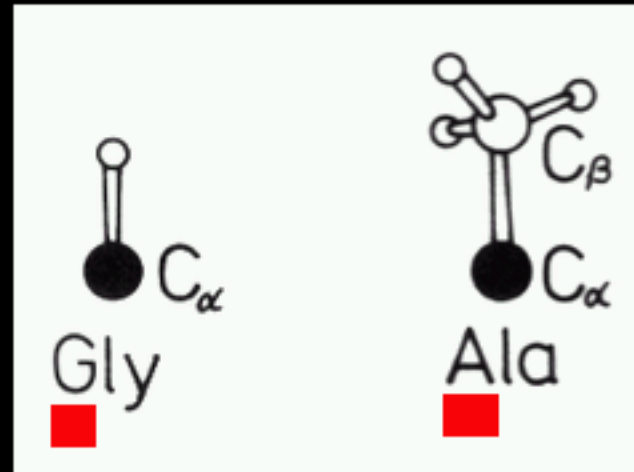


# Gly (G), Ala (A)



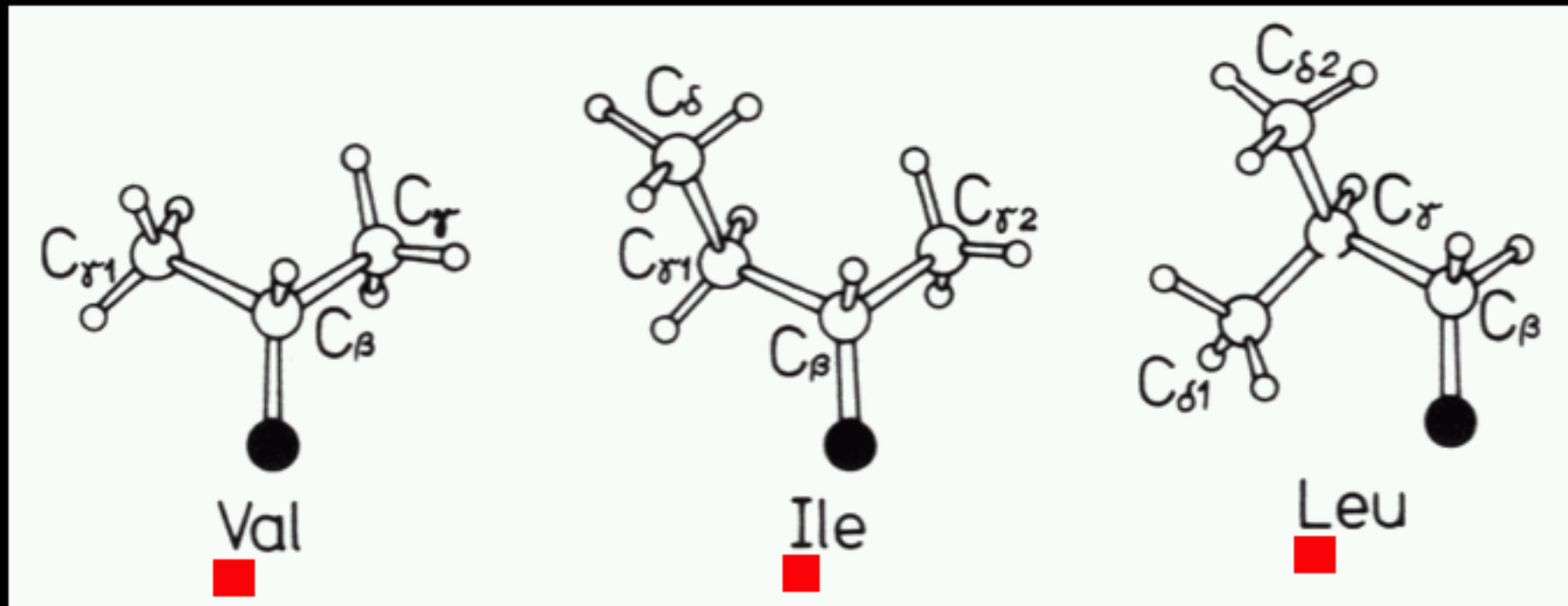
Η γλυκίνη είναι το μοναδικό αμινοξύ χωρίς πλευρική ομάδα (μόνο ένα άτομο υδρογόνου). Η απουσία πλευρικής ομάδας (και συνεπώς η απουσία στεreoχημικών παρεμποδίσεων με την κυρίως αλυσίδα) της επιτρέπουν να υιοθετεί διαμορφώσεις οι οποίες είναι ενεργειακά ανέφικτες για τα υπόλοιπα αμινοξέα (π.χ. απότομες μεταβολές στη διεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας ('σπασίματα', kinks)). Για το λόγο αυτό οι εξελικτικά συντηρημένες γλυκίνες είναι αρκετά συχνές.

# Gly (G), Ala (A)



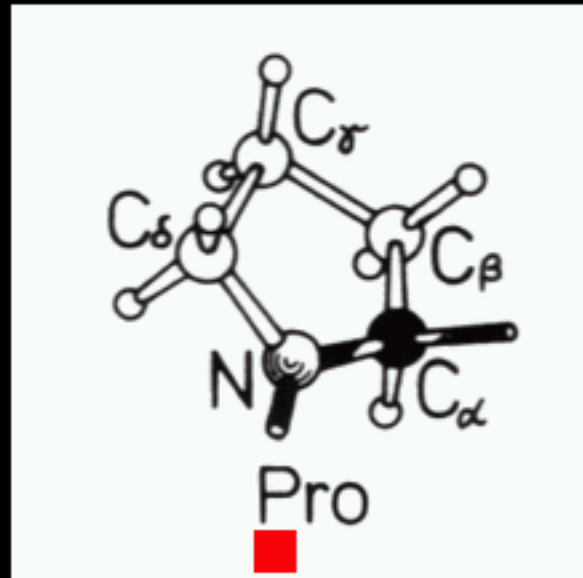
Η αλανίνη έχει τη δεύτερη μικρότερη πλευρική ομάδα, μια μεθυλομάδα. Είναι ένα μη πολικό κατάλοιπο το οποίο παρ'όλα αυτά απαντάται αρκετά συχνά και στην επιφάνεια των πρωτεϊνών. Η συχνότητα της Ala στις πρωτεϊνικές αλληλουχίες είναι αρκετά υψηλή, ίσως λόγω του μικρού ενεργειακού κόστους σύνθεσης της.

# Val (V), Ile (I), Leu (L)



Αυτά είναι και τα τρία υδρόφοβα αμινοξέα τα οποία χαρακτηρίζονται από την διακλαδιζόμενη πλευρική τους αλυσίδα. Η ύπαρξη διακλάδωσης (ιδιαίτερα για τις Val και Ile που διακλαδίζονται στο  $C_\beta$ ) περιορίζει αισθητά τις προτιμώμενες διαμορφώσεις τους (γνωστές ως rotamers).

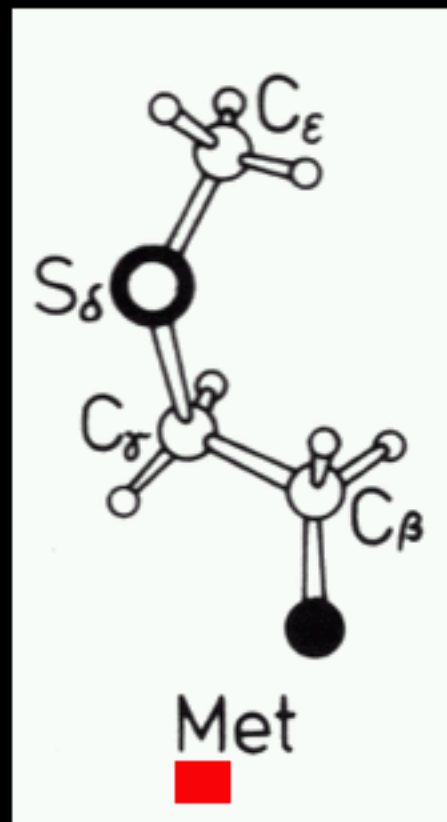
# Pro (P)



Η προλίνη είναι ένα ιδιαίτερο αμινοξύ : Η πλευρική ομάδα επιστρέφει και συνδέεται ομοιοπολικά με το σκελετό της πρωτεΐνης. Η πιο άμεση συνέπεια είναι ότι αυτή η πλευρική ομάδα είναι πρακτικά ακίνητη (ο μοναδικός βαθμός ελευθερίας βρίσκεται στη διαμόρφωση του δακτυλίου). Η δεύτερη συνέπεια είναι ότι η δίεδρη γωνία ανάμεσα στο NH και το C $\alpha$  περιορίζεται σε ένα πολύ μικρό εύρος ενεργειακά αποδεκτών τιμών.



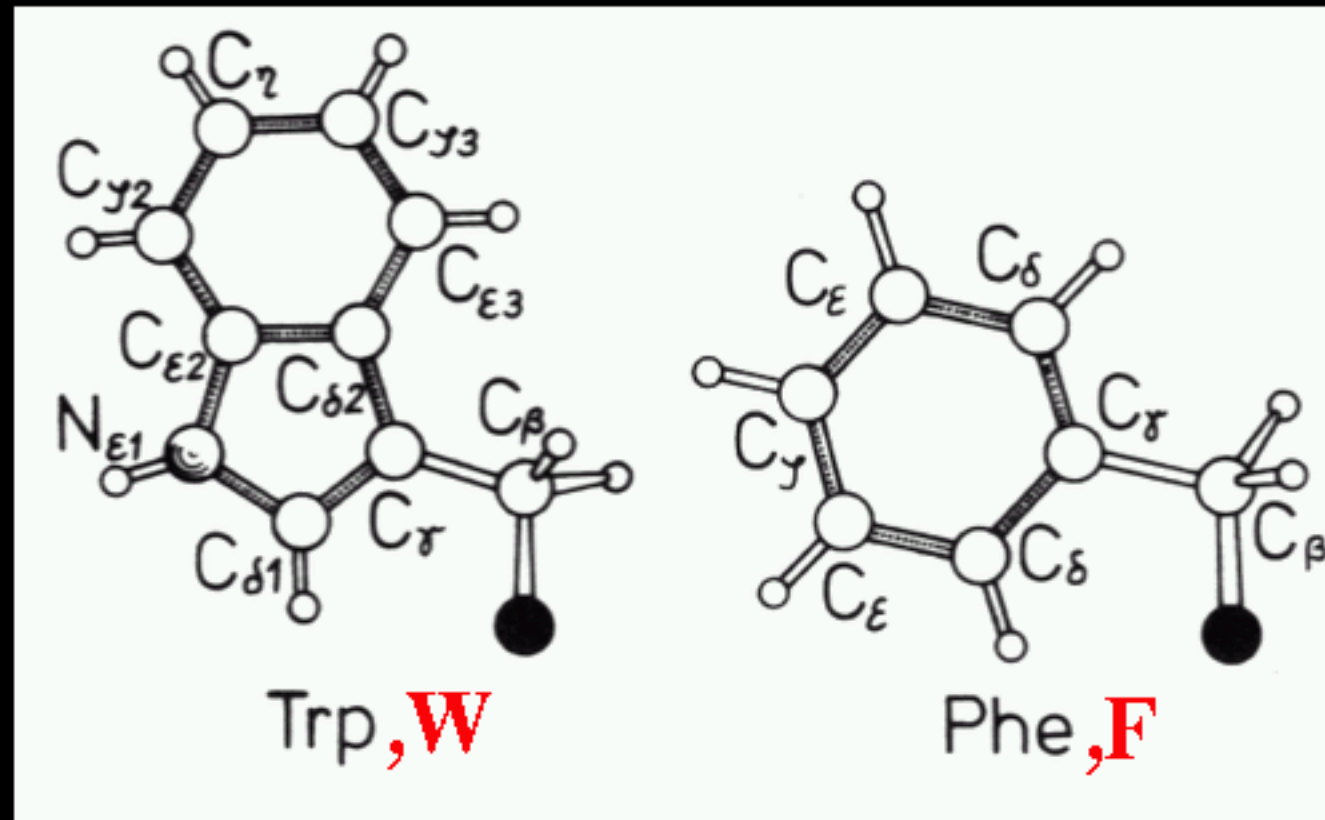
# Met (M)



Η μεθειονίνη έχει μια μάλλον ευκίνητη πλευρική με ένα άτομο θείου σε θειο-αιθερικό δεσμό. Η διαφορά ηλεκτραρνητικότητας ανάμεσα στο θείο και τον άνθρακα οδηγεί στην δημιουργία διπολικής ροπής. Ως επί το πλείστον απαντάται στο εσωτερικό των πρωτεϊνικών δομών.

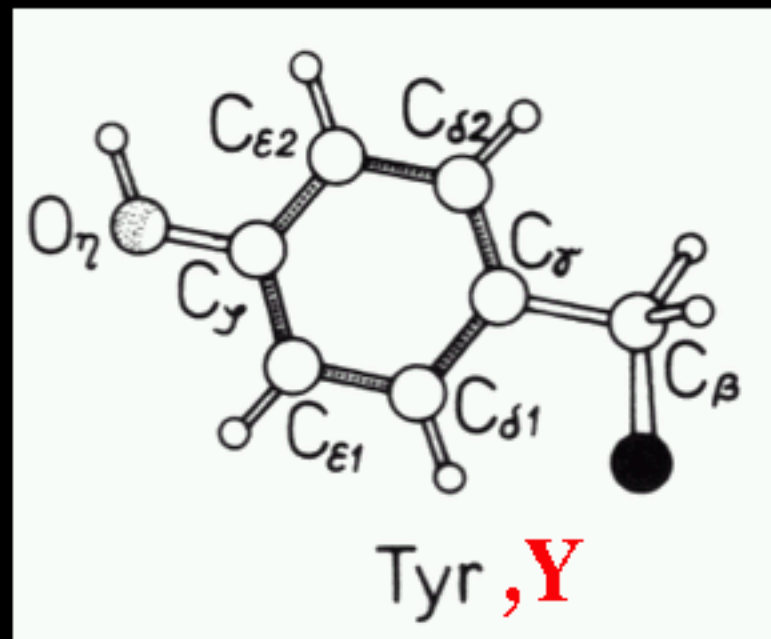


# Trp (W), Phe (F)



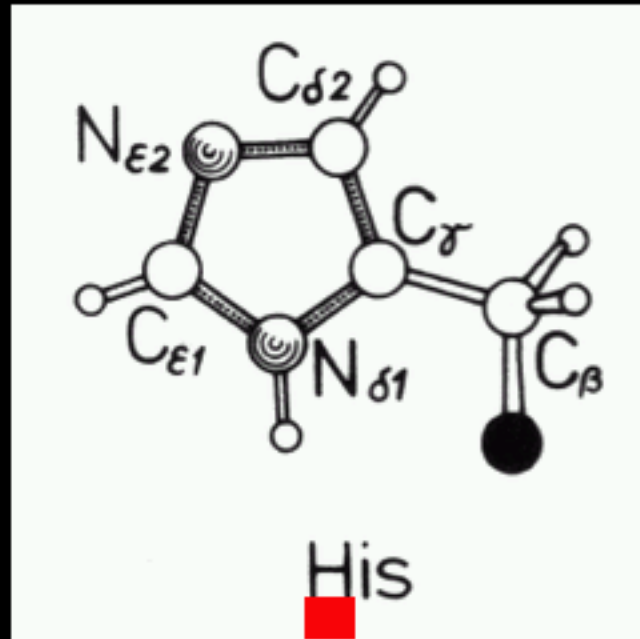
Η τρυπτοφάνη και η φαινυλαλανίνη είναι από τα πλέον υδρόφοβα αμινοξέα και ως εκ τούτου απαντώνται κατά κύριο λόγο στο εσωτερικό των πρωτεϊνών, αν και η πλευρική ομάδα της τρυπτοφάνης είναι ελαφρά πολική λόγω του ετεροκυκλικού ινδολικού δακτυλίου.

# Tyr (Y)



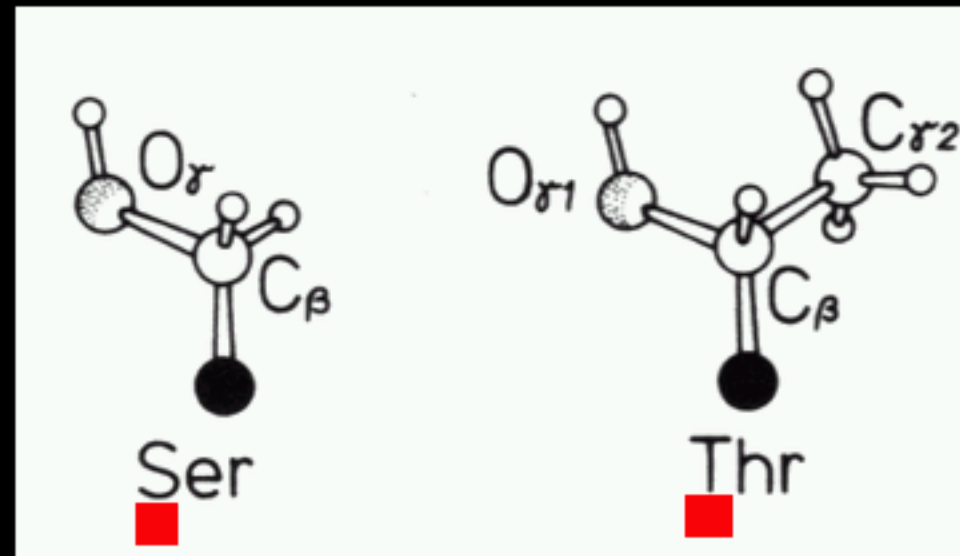
Η τυροσίνη έχει την ιδιαιτερότητα ότι αν και έχει αρωματικό δακτύλιο, έχει επίσης μια υδροξυλομάδα (με pK 10.1) η οποία την κατατάσσει στα πολικά αμινοξέα (και μάλιστα με δυνητικά ισχυρούς υδρογονικούς δεσμούς). Όπως τα περισσότερα αφόρτιστα αλλά πολικά αμινοξέα, η τυροσίνη μπορεί το ίδιο καλά να βρεθεί στο εσωτερικό ή την επιφάνεια των δομών.

# His (H)



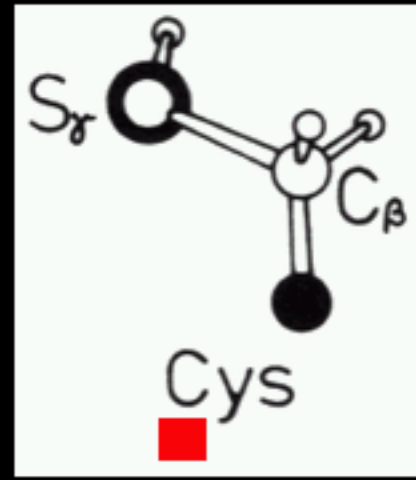
Η ιστοιδίνη έχει ένα ετεροκυκλικό αρωματικό δακτύλιο με μία χαρακτηριστική ιδιαιτερότητα : το  $pK$  της είναι 6, το οποίο σημαίνει ότι στα φυσιολογικά (ενδοκυτταρικά)  $pH$ , οι ιστοιδίνες μπορούν να είναι είτε αφόρτιστες ( $pH > 6$ ) ή φορτισμένες ( $pH < 6$ ). Επειδή, δε, η ακριβής τιμή του  $pK$  εξαρτάται (και μπορεί να ρυθμιστεί) από το περιβάλλον της ιστοιδίνης, αυτό είναι ένα από τα συνηθέστερα αμινοξέα σε ενζυμικά καταλυτικά κέντρα.

# Ser (S), Thr (T)



Η σερίνη και η θρεονίνη είναι τυπικά αφόρτιστα-πολικά κατάλοιπα. Έχουν και οι δύο υδροξυλομάδες οι οποίες μπορούν να συμμετάσχουν στο σχηματισμό υδρογονικών δεσμών. Το C $\beta$  της θρεονίνης είναι ασύμμετρο (και όπως συνήθως, μόνο το ένα ισομερές απαντάται σε φυσικές πρωτεΐνες).

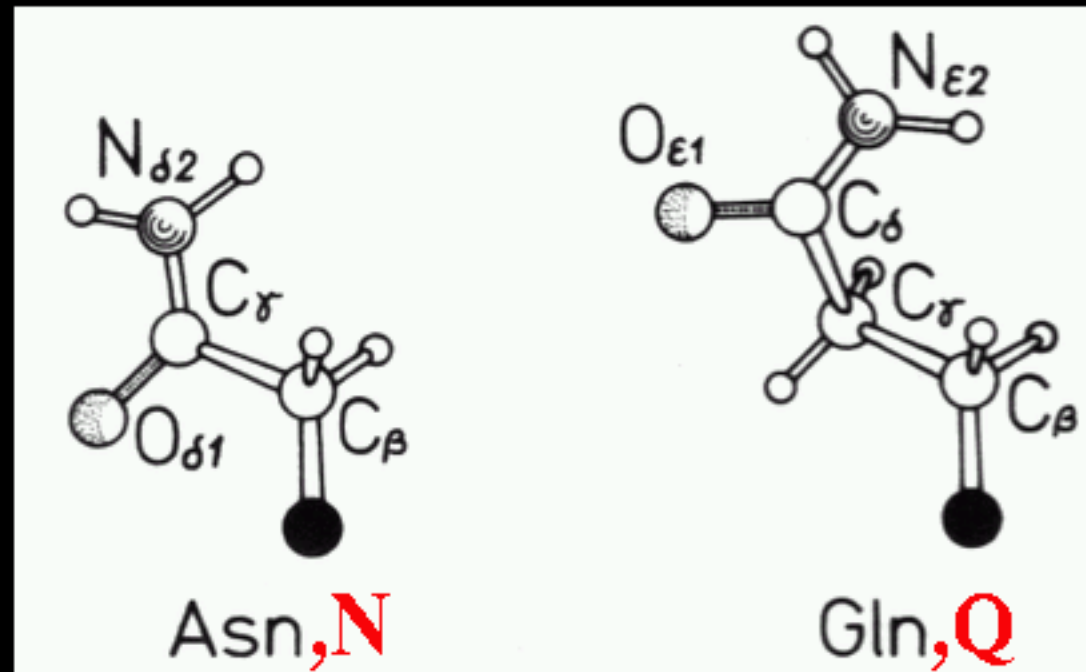
# Cys (C)



Η κυστεΐνη είναι η μοναδική πλευρική ομάδα η οποία (μέσω της οξείδωσης της σε κυστίνη) μπορεί να δημιουργήσει ομοιοπολικούς δεσμούς οι οποίοι είναι ειδικοί και χαρακτηριστικοί για μια συγκεκριμένη πρωτεϊνική δομή. Οι δισουλφιδικές γέφυρες σταθεροποιούν την τρισδιάστατη δομή και είναι ιδιαίτερα συνηθισμένες σε εξωκυτταρικές (εκκρινόμενες) πρωτεΐνες.



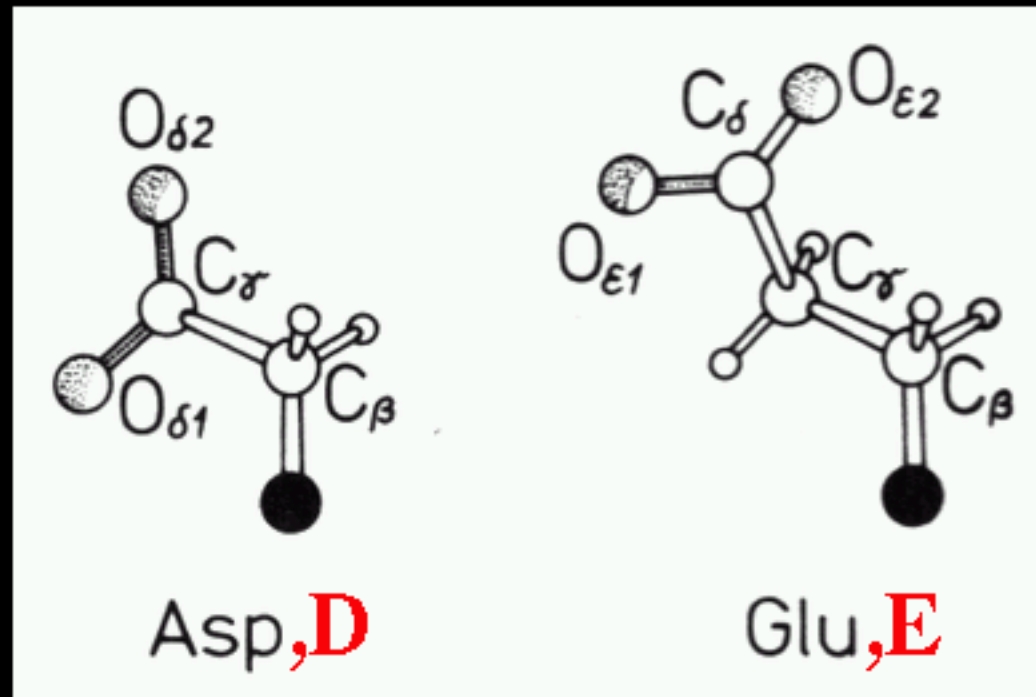
# Asn (N), Gln (Q)



Η ασπαραγίνη και η γλουταμίνη έχουν την ιδιαιτερότητα ότι μπορούν ταυτόχρονα να είναι δότες (αμιδική ομάδα) και δέκτες (καρβονυλική ομάδα) υδρογονοδεσμών. Είναι σχετικά ευκίνητες πλευρικές ομάδες (ιδιαίτερα της γλουταμίνης) οι οποίες όταν βρίσκονται στο εσωτερικό πρωτεϊνών σχεδόν πάντα εμπλέκονται στο σχηματισμό δεσμών υδρογόνου.

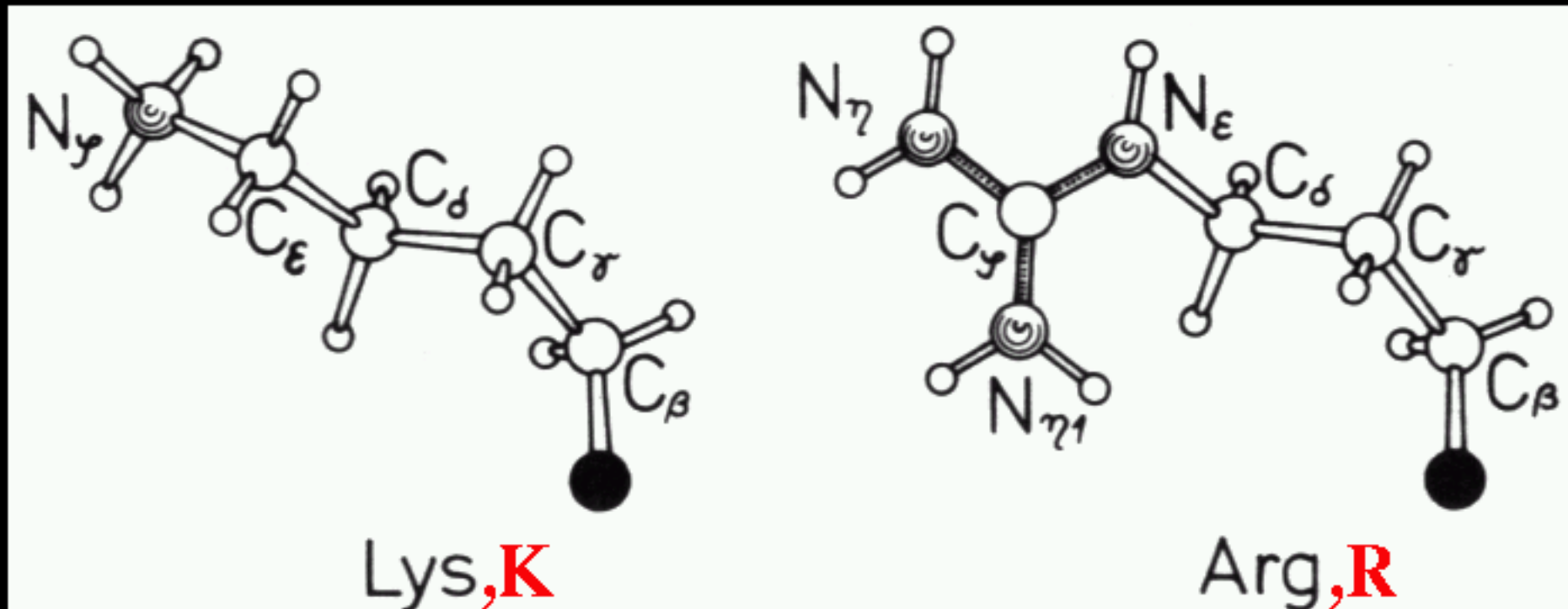


# Asp (D), Glu (E)



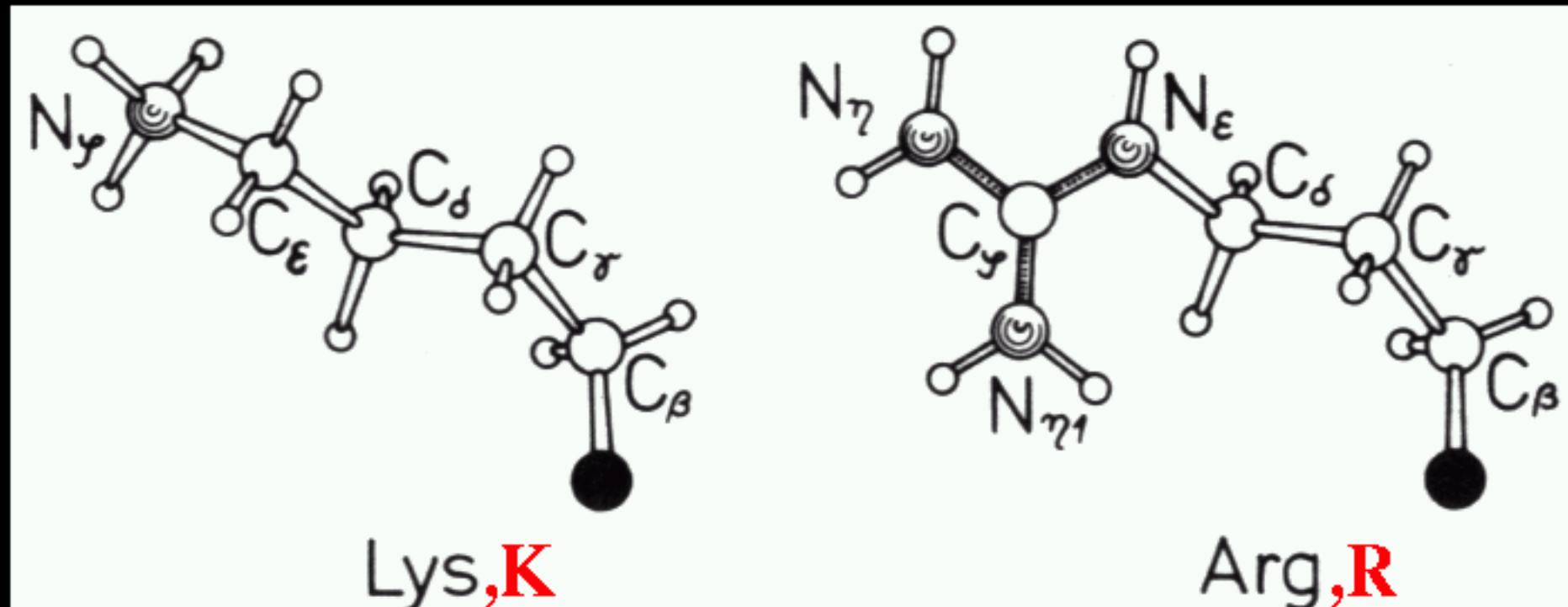
Το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμικό οξύ είναι αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα (σε φυσιολογικά pH : τα pK είναι 3.9 και 4.3 αντίστοιχα). Η σχετικά μικρή πλευρική ομάδα του ασπαρτικού μειώνει το εύρος των πιθανών διαμορφώσεων του και το κάνει πιο συνηθισμένο σε ενεργά κέντρα ενζύμων.

# Lys (K), Arg (R)



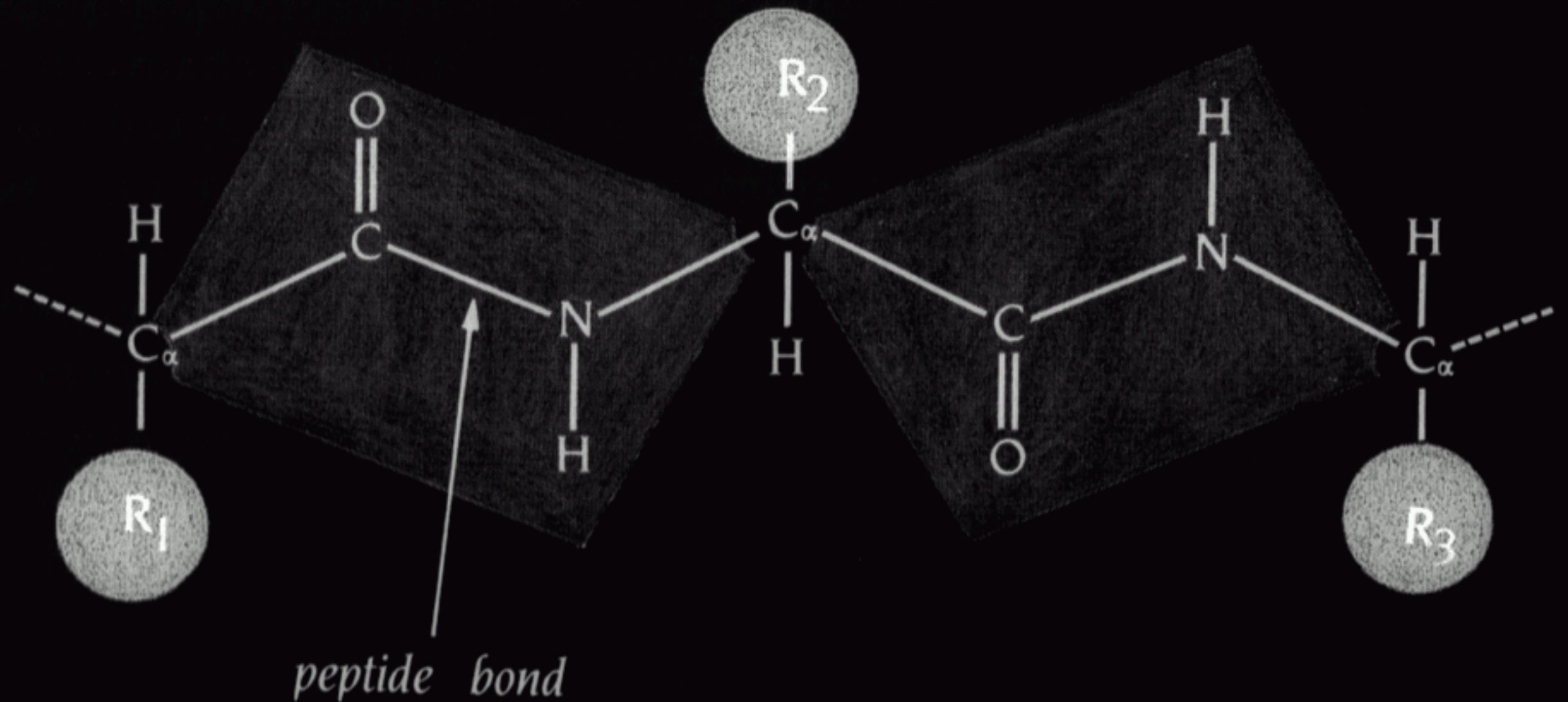
Η λυσίνη και η αργινίνη είναι θετικά φορτισμένα αμινοξέα (σε φυσιολογικά pH : τα pK είναι 10.5 και 12.5 αντίστοιχα). Είναι από τις πλέον ευκίνητες επιφανειακές πλευρικές ομάδες των πρωτεϊνών, σε τέτοιο βαθμό ώστε συνηθέστατα να μην υπάρχει πληροφορία για τη διαμόρφωσή τους (τουλάχιστον από κρυσταλλογραφικά πειράματα).

# Lys (K), Arg (R)



Παρ'όλα αυτά, μερικές φορές μπορούν να λάβουν μέρος σε γέφυρες άλατος (στο εσωτερικό των πρωτεϊνών) ή να είναι τμήματα του καταλυτικού κέντρου ενζύμων (για παράδειγμα, στις οψίνες το χρωμοφόρο συνδέεται ομοιοπολικά με μια λυσίνη).

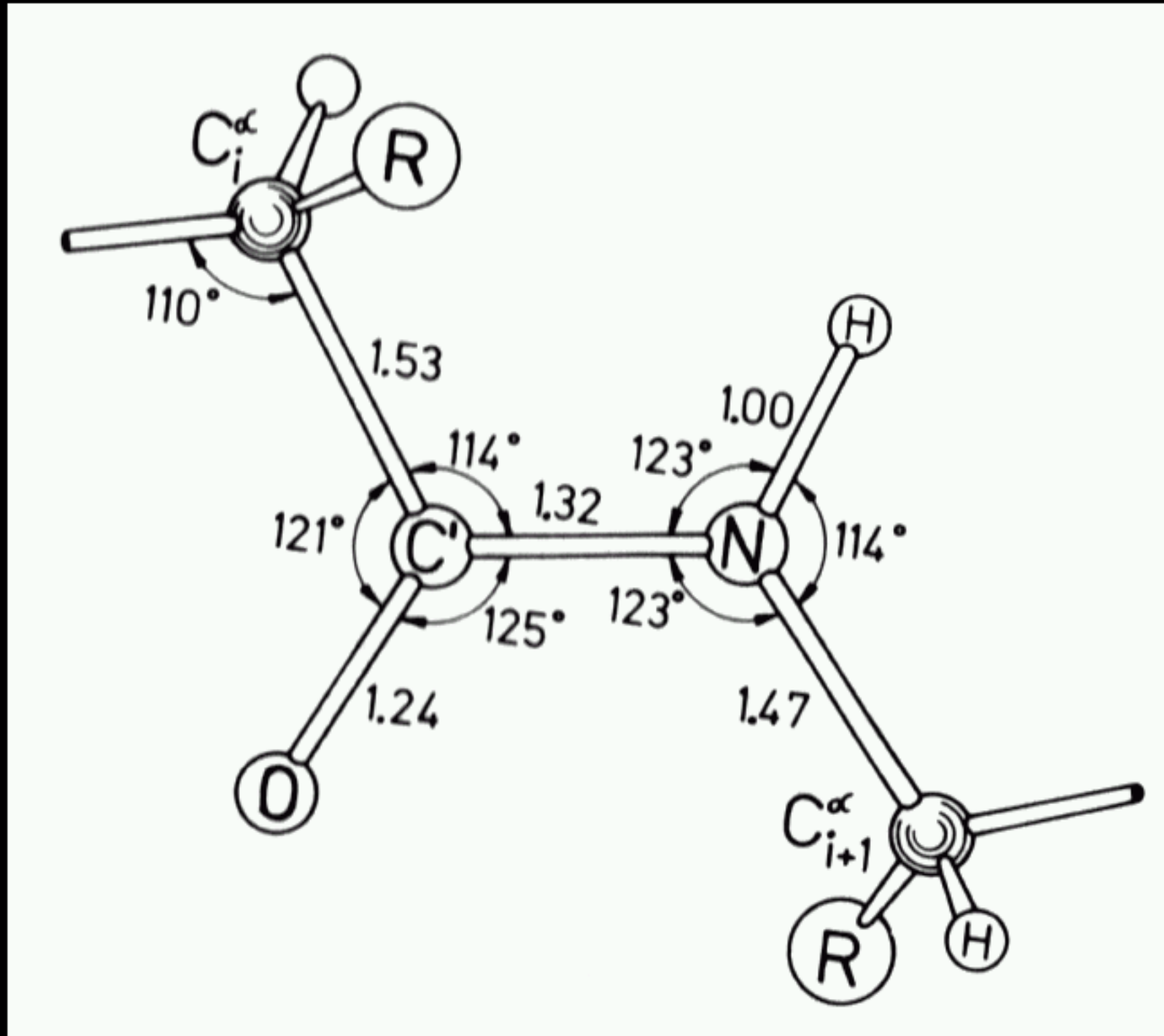
# Πεπτιδικός δεσμός





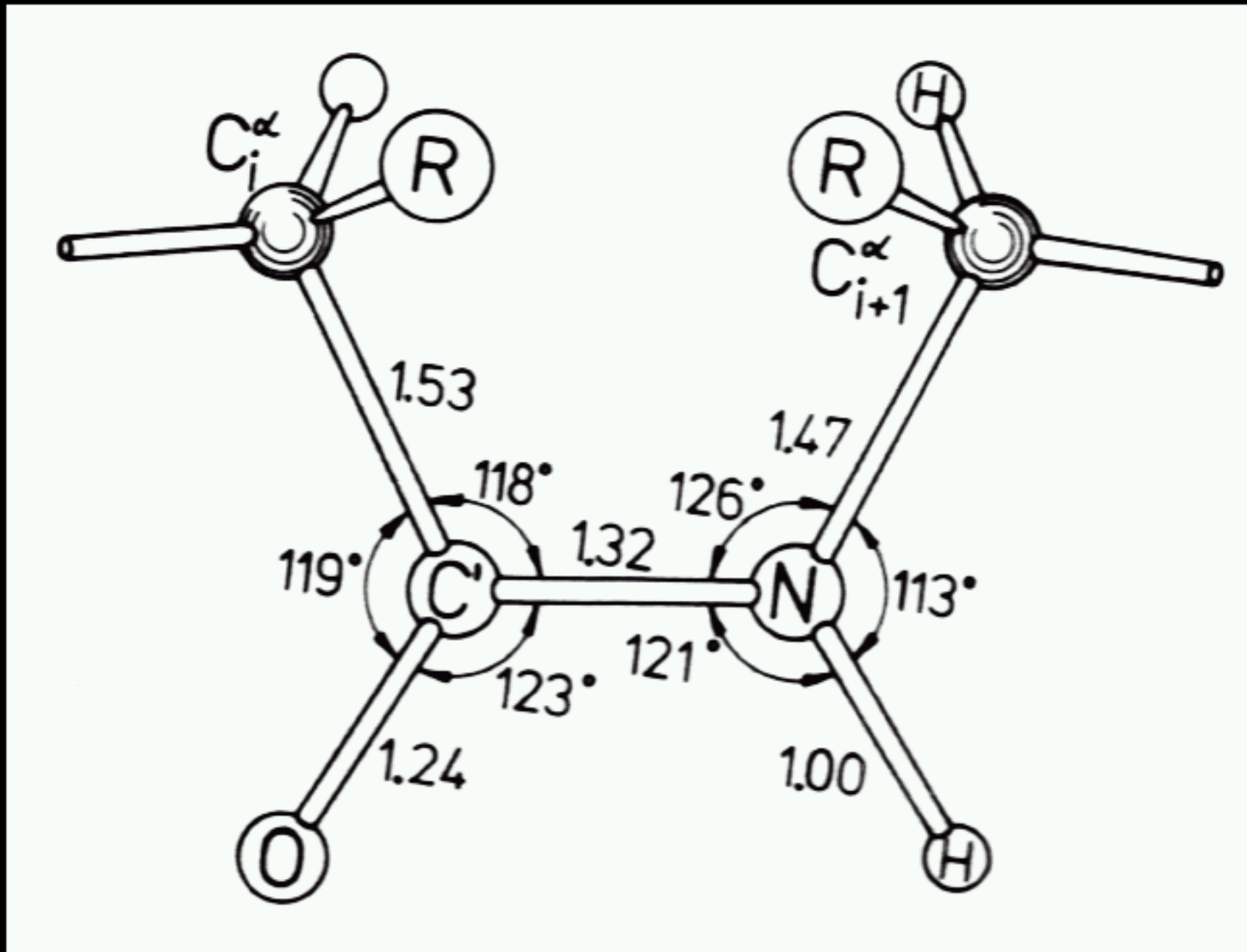
# Πεπτιδικός δεσμός (trans)

## Μήκη και γωνίες δεσμών



# cis-ΠΕΠΤΙΔΙΚός δεσμός

## Μήκη και γωνίες δεσμών



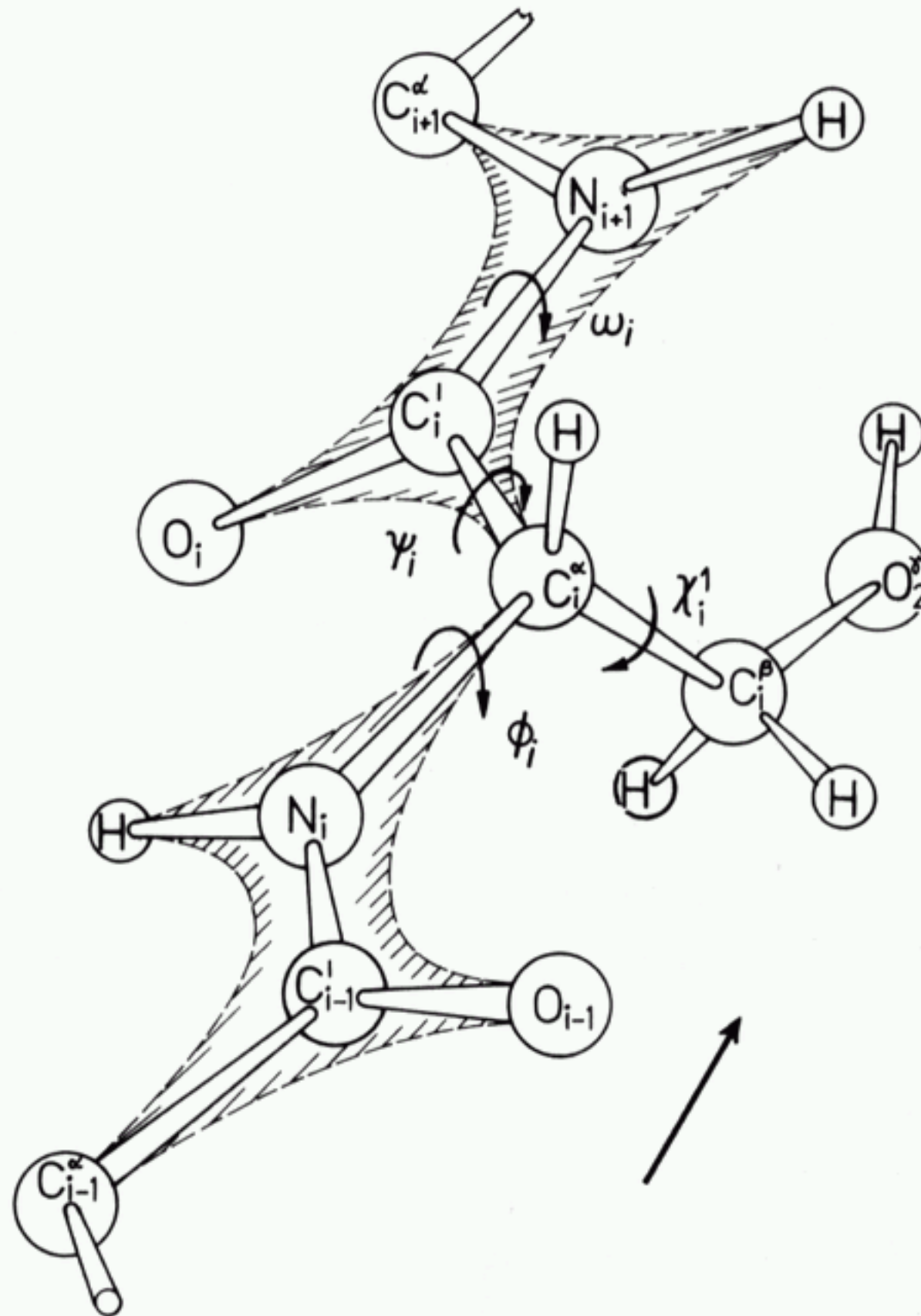


# Γωνίες στρέψης (torsion angles).

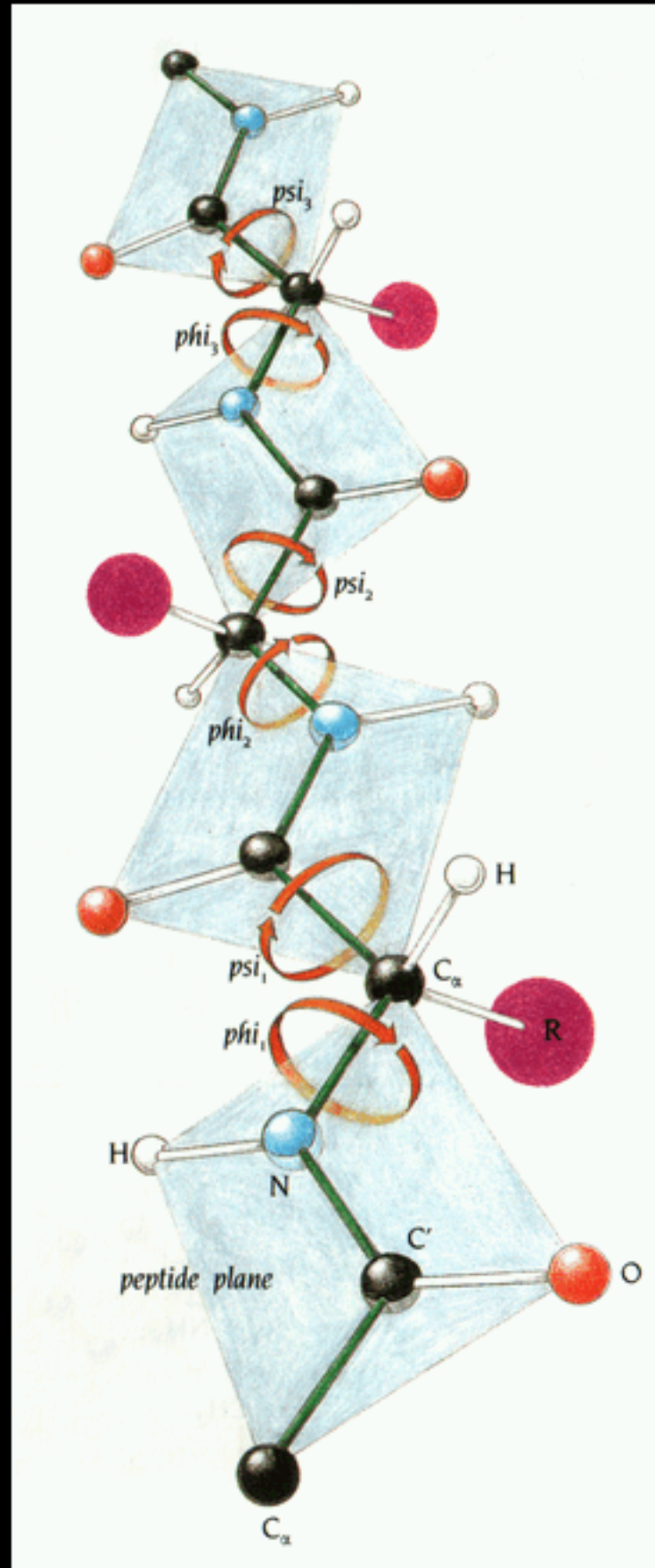
Επειδή ο πεπτιδικός δεσμός έχει χαρακτήρα διπλού δεσμού (με τα C=O και N-H σχεδόν συνεπίπεδα), η διαμόρφωση (στον τρισδιάστατο χώρο) του πρωτεϊνικού σκελετού μπορεί να περιγραφεί με την παράθεση δύο μόνο δиеδρων γωνιών ανά κατάλοιπο. Οι δύο αυτές δиеδρες γωνίες είναι οι 'φ' και 'ψ' και έχουν οριστεί από την IUPAC-IUB ως εξής :

$$\begin{aligned}\psi_i &= 0 : C_i^\alpha - N_i \quad trans \quad C_i' - O_i \\ \phi_i &= 0 : C_i^\alpha - C_i' \quad trans \quad N_i - H_i\end{aligned}$$

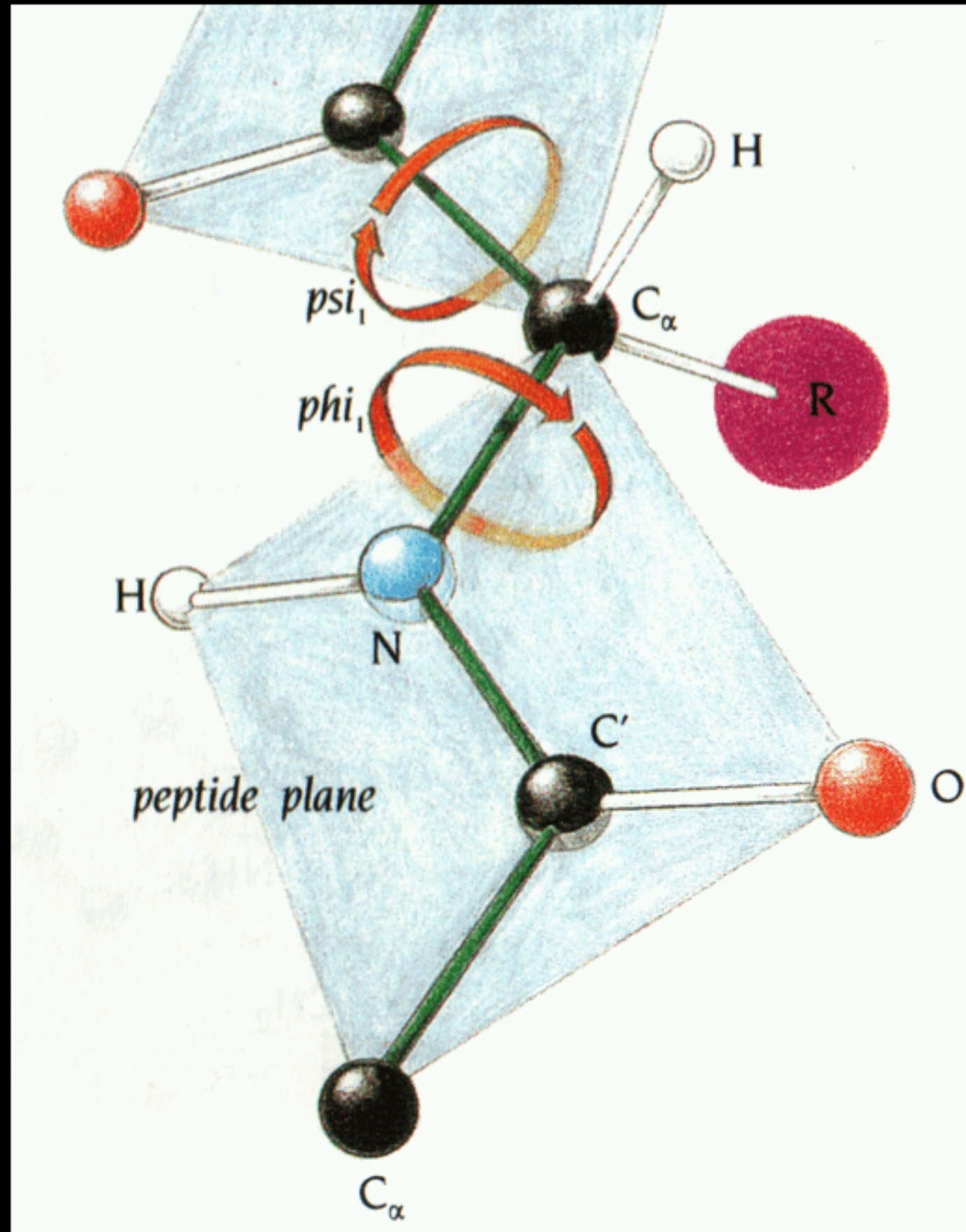
# Γωνίες στρέψης (torsion angles).



# Γωνίες στρέψης (torsion angles).



# Γωνίες στρέψης (torsion angles).





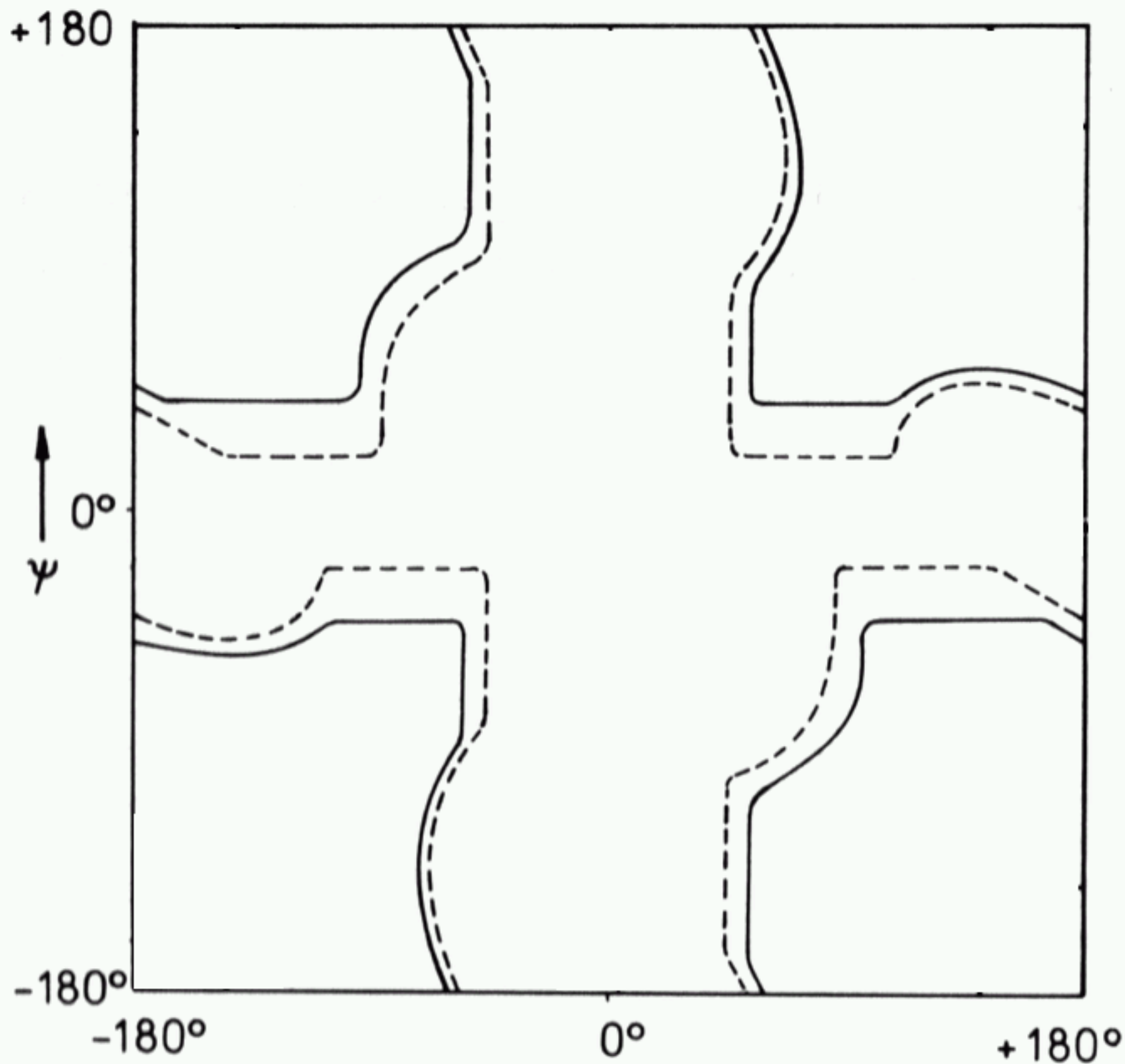
# Γωνίες στρέψης (torsion angles).

Από τα προηγούμενα διαγράμματα εύκολα συνάγεται ότι για μερικούς συνδυασμούς  $\phi, \psi$  γωνιών θα προκύπτουν στερεοχημικές παρεμποδίσεις μεταξύ των ατόμων της πρωτεΐνης, ακόμα και απουσία πλευρικής αλυσίδας (ακόμα, δηλ. και για την γλυκίνη). Τα  $\phi$ - $\psi$  διαγράμματα που δείχνουν τους ενεργειακά αποδεκτούς συνδυασμούς διαμόρφωσης της κυρίως αλυσίδας των πρωτεϊνών είναι γνωστά ως διαγράμματα Ramachandran.

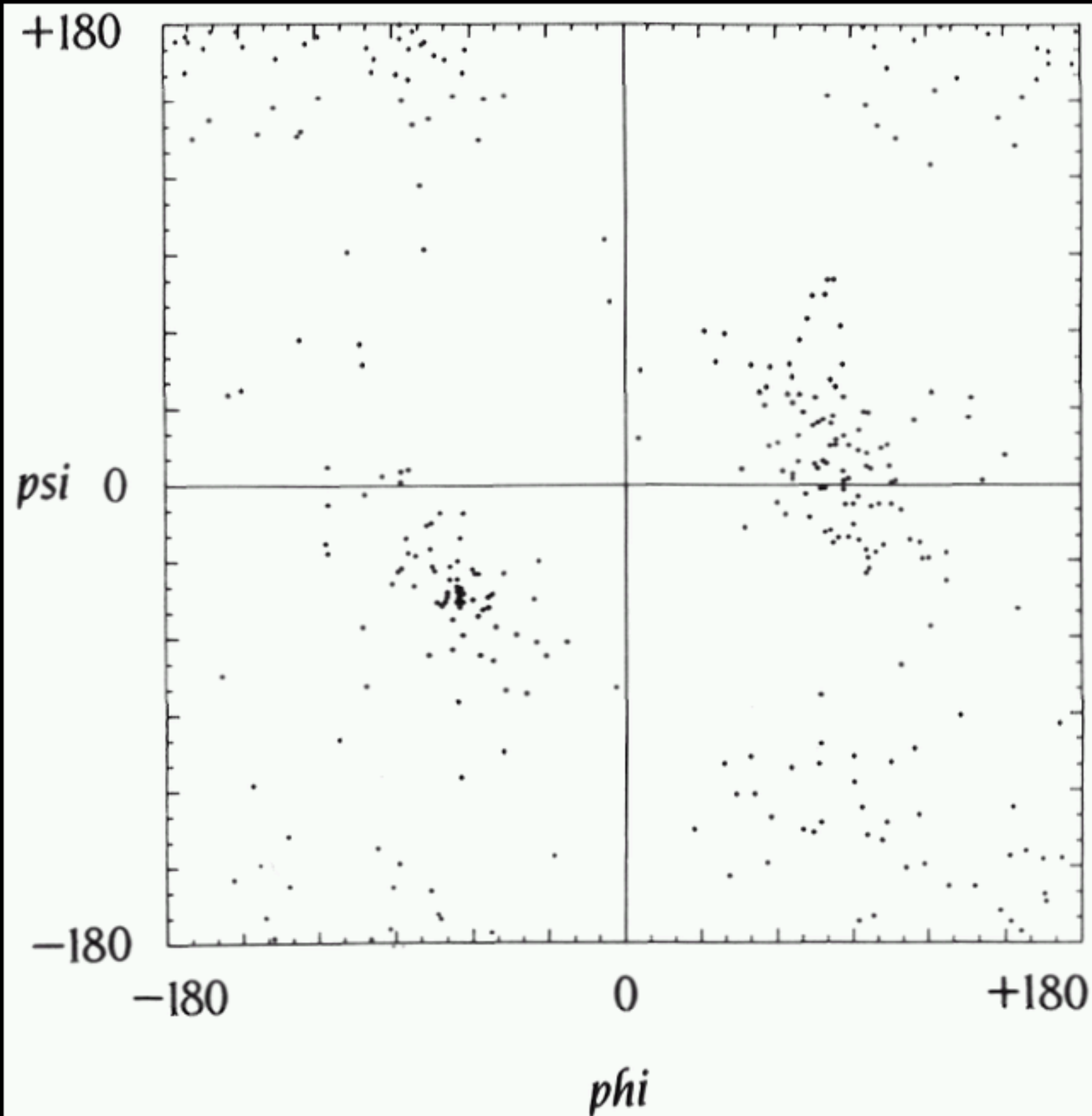
Το διάγραμμα Ramachandran και η παρατηρούμενη (από γνωστές δομές) κατανομή των  $\phi, \psi$  γωνιών για τη γλυκίνη είναι :



# Ramachandran plots



# Ramachandran plots



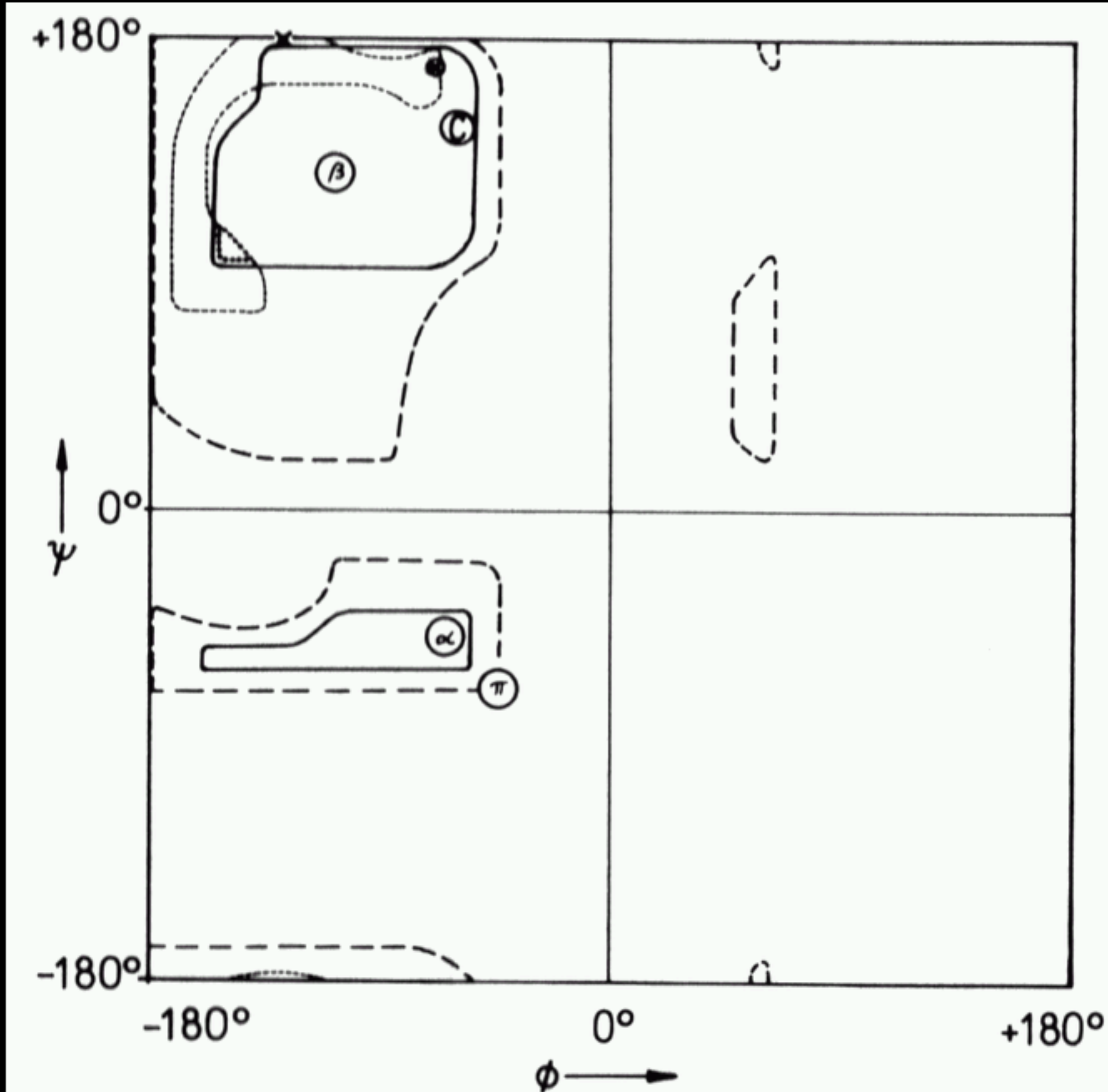
# Ramachandran plots

Παρουσία των Cβ (από τις πλευρικές αλυσίδες) οι ενεργειακά αποδεκτοί συνδυασμοί των  $\phi, \psi$  γωνιών μειώνονται ακόμα περισσότερο. Επειδή οι αποδεκτοί συνδυασμοί των  $(\phi, \psi)$  γωνιών που οδηγούν σε διαφορετικού τύπου δευτεροταγείς δομές είναι σε διαφορετικές περιοχές του διαγράμματος

Ramachandran, είναι εφικτό να χαρακτηριστεί μια πρωτεΐνη ως π.χ. μόνο-α ή μόνο-β ή α/β, κατευθείαν από ένα τέτοιο διάγραμμα.

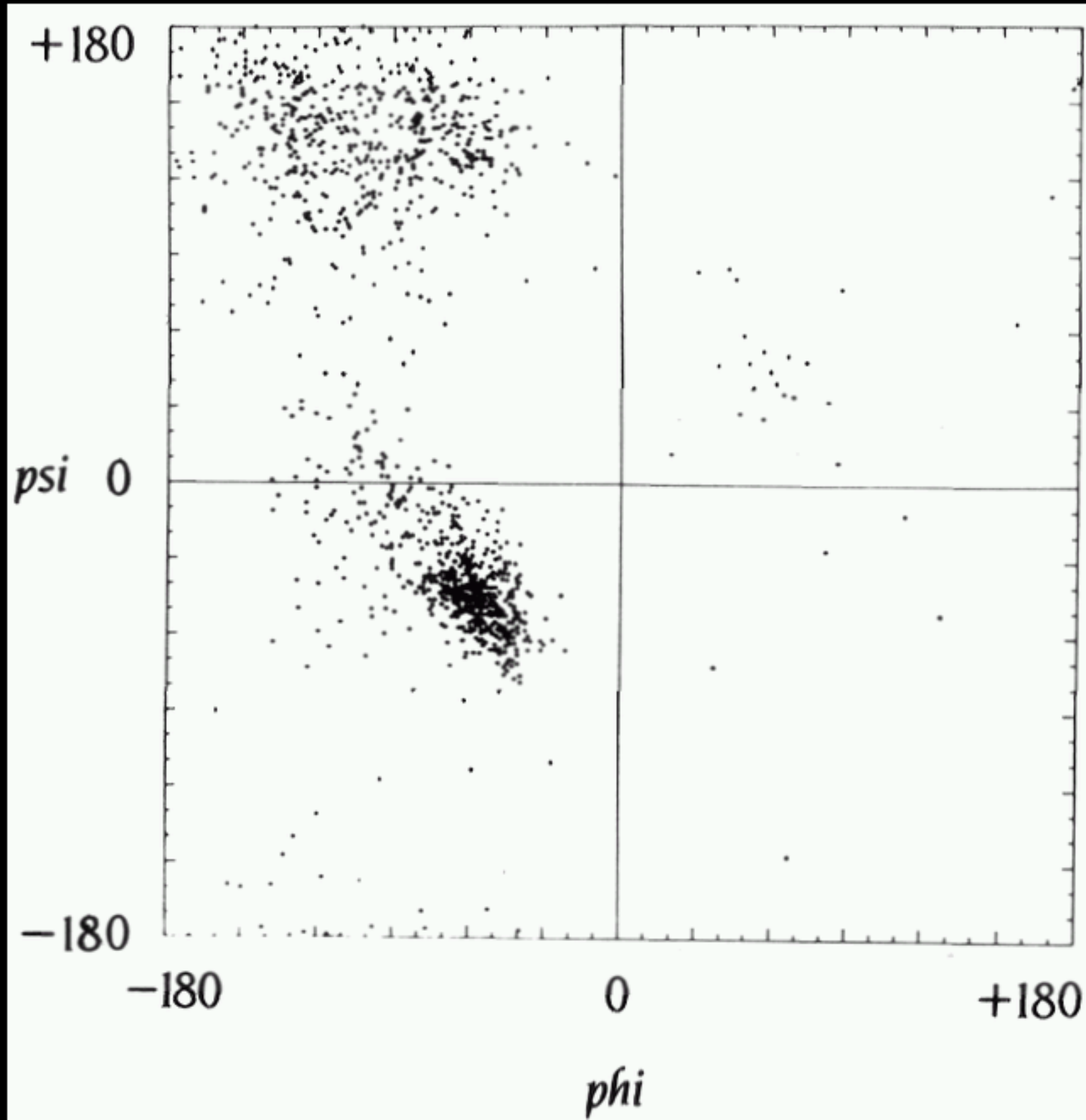
Το διάγραμμα Ramachandran και η παρατηρούμενη (από γνωστές δομές) κατανομή των  $\phi, \psi$  γωνιών για τα αμινοξέα πλην της γλυκίνης είναι :

# Ramachandran plots





# Ramachandran plots

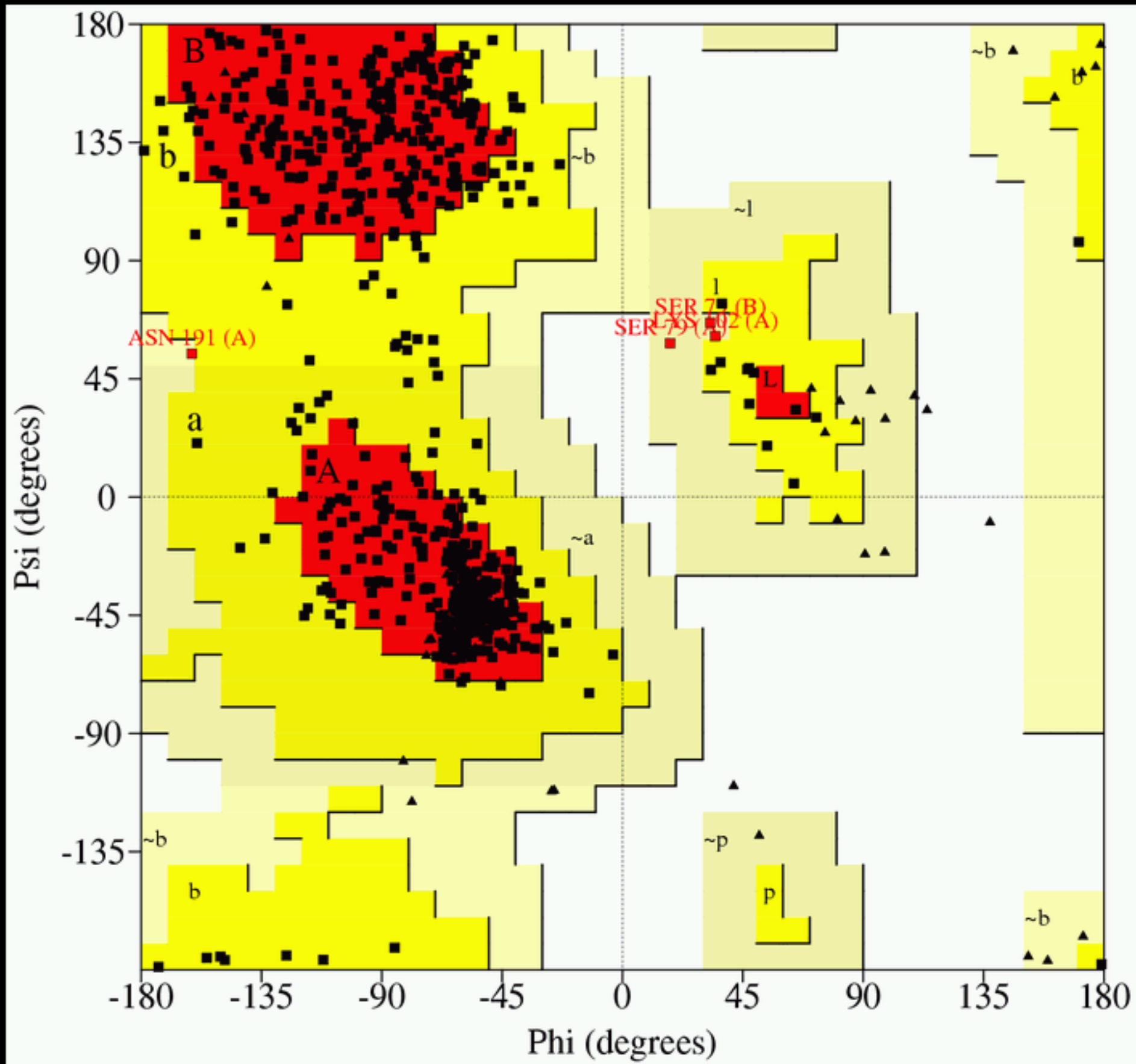


# Ramachandran plots

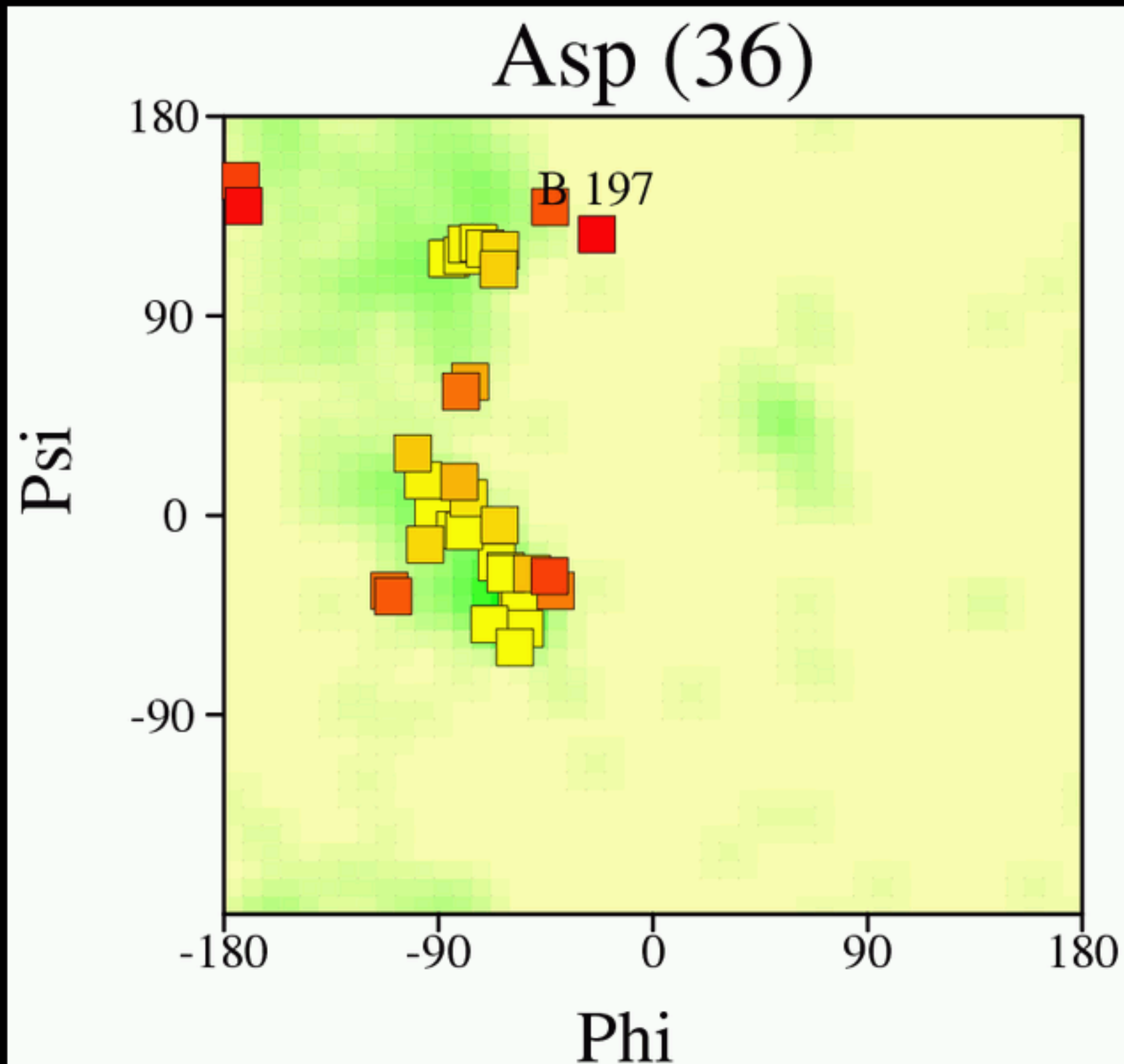
---

Τα Ramachandran plots έχουν τόσο ισχυρή διαγνωστική αξία, που χρησιμοποιούνται ευρέως για την ταυτοποίηση προβλημάτων κατά τη διάρκεια του προσδιορισμού δομών καθώς και για την διάγνωση προβληματικών (λανθασμένων) δομών στη PDB. Σχεδόν όλα τα προγράμματα που πραγματοποιούν ποιοτικό έλεγχο δομών υπολογίζουν Ramachandran plots τόσο για ολόκληρη την πρωτεΐνη, όσο και για κάθε ένα αμινοξικό τύπο :

# Ramachandran plots



# Ramachandran plot (Asp)

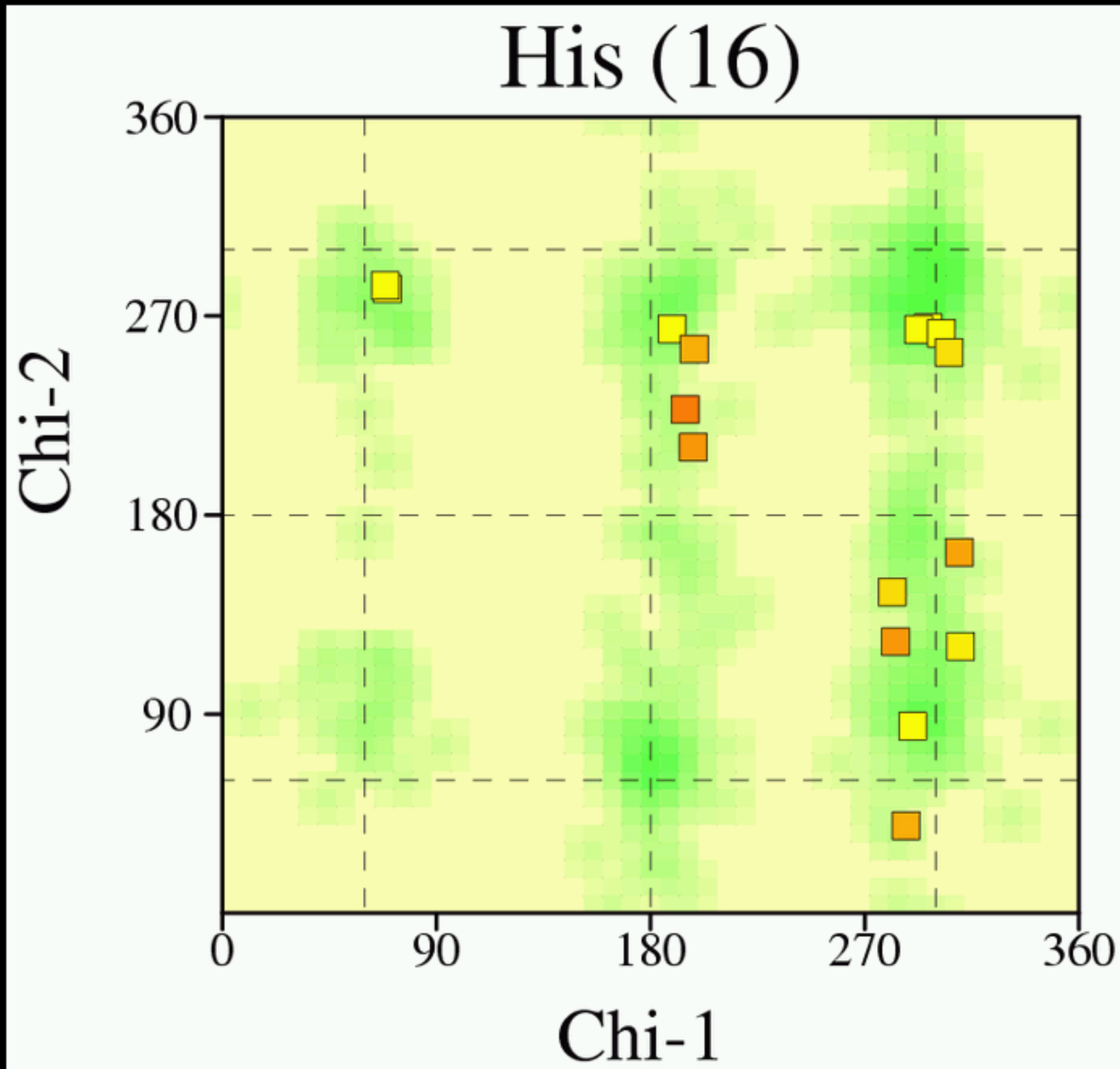




# Διαμόρφωση πλευρικών ομάδων

Όπως η διαμόρφωση της κυρίως αλυσίδας μπορεί να περιγραφεί με τις  $\phi, \psi$  γωνίες, έτσι και η διαμόρφωση των πλευρικών ομάδων μπορεί να περιγράψει με μια ακολουθία δίδρωνων γωνιών ( $\chi_1, \chi_2, \dots$ ) για κάθε ελεύθερο (περιστροφικά) δεσμό της πλευρικής ομάδας. Το πόσες τέτοιες δίδρες γωνίες απαιτούνται για την περιγραφή της διαμόρφωσης μίας πλευρικής ομάδας αλλάζει από αμινοξύ σε αμινοξύ. Όπως και για τις  $\phi, \psi$  γωνίες, έτσι και οι  $\chi$ -γωνίες έχουν περιορισμένο εύρος ενεργειακά αποδεκτών συνδυασμών. Για παράδειγμα, το διάγραμμα των αποδεκτών συνδυασμών των  $\chi_1$ - $\chi_2$  γωνιών της ιστιδίνης είναι :

# Παράδειγμα διαγράμματος $\chi_1$ - $\chi_2$



# Εναλλακτική περιγραφή δομών

Οι γωνίες στρέψης ( $\phi, \psi, \chi_1, \chi_2, \dots$ ) δίνουν έναν εναλλακτικό (και πιο οικονομικό) τρόπο περιγραφής μιας πρωτεϊνικής δομής : Αντί να παραθέτονται οι  $(x, y, z)$  συντεταγμένες των ατόμων του μορίου, δίδονται για κάθε κατάλοιπο οι τιμές των  $(\phi, \psi)$  γωνιών και όσων  $\chi$ -γωνιών απαιτούνται για την περιγραφή της συγκεκριμένης πλευρικής ομάδας. Οι βασικότεροι λόγοι που αυτή η μορφή περιγραφής της δομής δεν έχει επεκταθεί είναι : (i) όλα τα μήκη δεσμών και όσες γωνίες δεν ορίζονται θα πρέπει να θεωρούνται σταθερές (ii) Για πιο απλά μόρια (π.χ. μόρια νερού συνδεδεμένα με την πρωτεΐνη) θα πρέπει πάλι να παρατίθενται Καρτεσιανές συντεταγμένες.

# Μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις

Οι ομοιοπολικοί δεσμοί καθορίζουν την χημική ταυτότητα των μακρομορίων, αλλά όχι τη δομή τους (τη διεύθυνση των ατόμων στον τρισδιάστατο χώρο). Η δομή (και η διαδικασία αναδίπλωσης) των μακρομορίων καθορίζεται από τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις τόσο ανάμεσα στο μακρομόριο και τον περιβάλλοντα διαλύτη (συνήθως νερό + ιόντα), όσο και από τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ατόμων του μακρομορίου. Σημειώστε ότι οι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις είναι (ενεργειακά) 10 με 1000 φορές ασθενέστερες από τους ομοιοπολικούς δεσμούς.



# Μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις

Οι βασικότερες μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις είναι :

- Δυνάμεις διασποράς (γνωστές και ως London dispersion forces)
- Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις
- Υδρογονικοί δεσμοί
- Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις (εντροπικές 'δυνάμεις').

# Δυνάμεις διασποράς

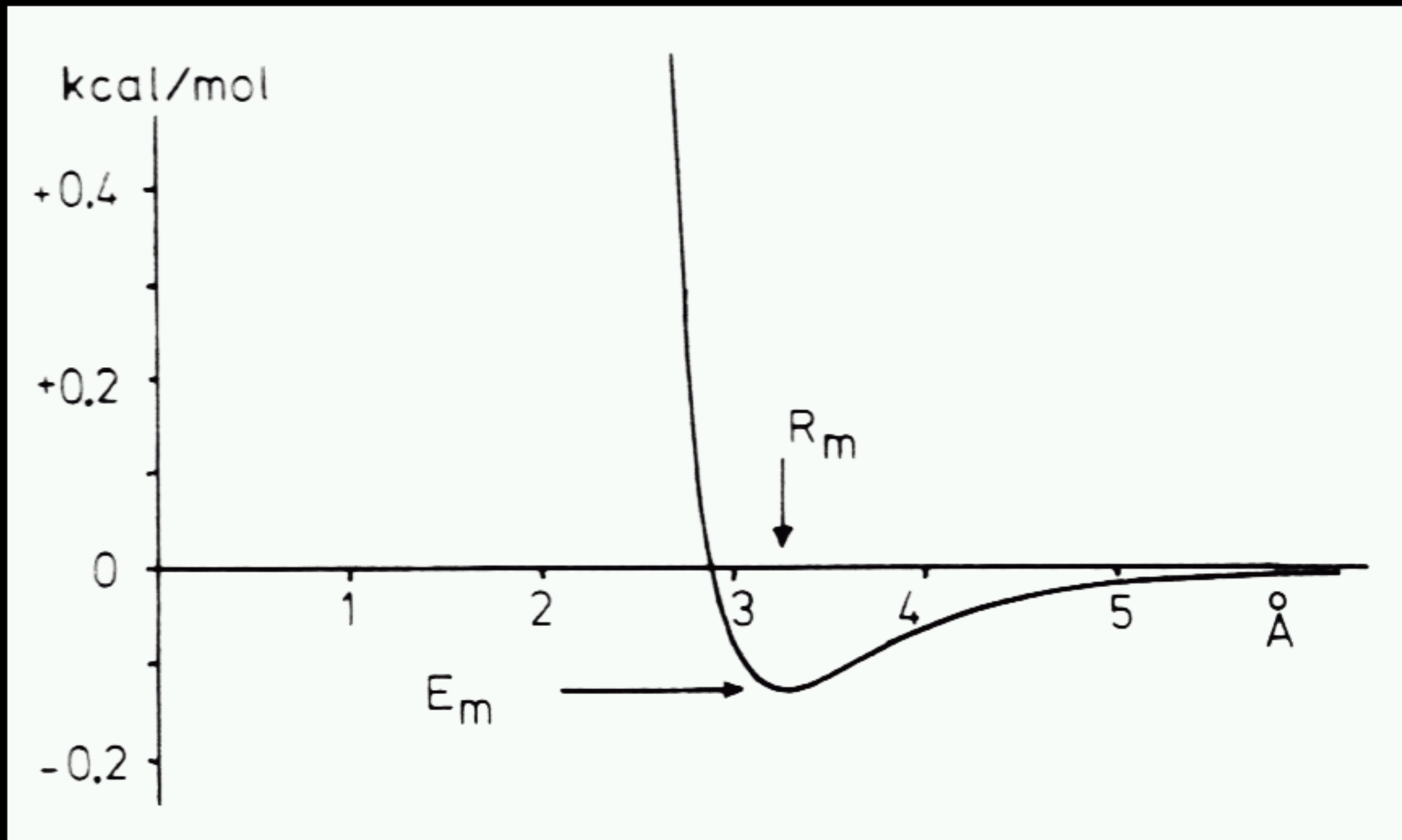
---

Περιστασιακή ασυμμετρία στην κατανομή των ηλεκτρονίων ενός ατόμου οδηγεί στη δημιουργία ενός διπόλου. Εάν δύο άτομα είναι σε μικρή (μεταξύ τους) απόσταση, τότε η εμφάνιση διπολικής ροπής στο ένα, επάγει τη δημιουργία διπολικής ροπής αντιθέτου φοράς στο άλλο. Τα επαγόμενα αυτά δίπολα έλκονται, δίνοντας γέννεση στις λεγόμενες δυνάμεις διασποράς (οι οποίες είναι πάντα ελκτικές). Οι δυνάμεις διασποράς είναι αντιστρόφως ανάλογες της απόστασης μεταξύ των ατόμων στην έκτη δύναμη.

# Δυνάμεις διασποράς

Καθώς η απόσταση μεταξύ δύο ατόμων μειώνεται, οι ελκτικές δυνάμεις διασποράς αντισταθμίζονται από την άπωση μεταξύ των ηλεκτρονικών νεφών των ατόμων. Αυτή η άπωση δρα πολύ πιο απότομα από τις δυνάμεις διασποράς και είναι αντιστρόφως ανάλογη της απόστασης μεταξύ των ατόμων εις τη 12η δύναμη. Ο συνδυασμός της έλξης (λόγω δυνάμεων διασποράς) και της άπωσης (λόγω των ηλεκτρονικών νεφών) δίνουν ένα μικτό δυναμικό γνωστό ως δυναμικό των Lennard-Jones ή δυναμικό 6-12.

# Δυναμικό Lennard-Jones (6-12)





# Ηλεκτροστατικές δυνάμεις

Στην πιο απλή μορφή τους είναι δυνάμεις Coulomb μεταξύ φορτισμένων αμινοξέων (π.χ. γέφυρες άλατος). Αλλά δεν είναι μόνο τα φορτισμένα αμινοξέα που έχουν φορτία : Η διαφορά στην ηλεκτραρνητικότητα των ατόμων που συνθέτουν τα μακρομόρια οδηγεί στην ασύμμετρη κατανομή των δεσμικών ηλεκτρονίων και συνεπώς στην εμφάνιση μερικών φορτίων (partial charges) στα επιμέρους άτομα. Τέτοια φορτία υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα άτομα των μορίων (ακόμα και στα Ca). Αυτό περιπλέκει τον υπολογισμό της συνεισφοράς των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων στην ολική ενέργεια των μακρομορίων.

# Δυναμικά van der Waals

Προσθήκη των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων στο δυναμικό Lennard-Jones οδηγεί στο λεγόμενο δυναμικό van der Waals (ή 1-6-12) :

$$E = \frac{A}{R^{12}} - \frac{B}{R^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R}$$

όπου  $E$  είναι η ενέργεια της αλληλεπίδρασης μεταξύ των ατόμων, ο πρώτος όρος περιγράφει την άπωση των ηλεκτρονικών νεφών, ο δεύτερος όρος αντιστοιχεί στις (ελκτικές) δυνάμεις διασποράς, και ο τρίτος στις δυνάμεις Coulomb.

# Δυναμικά van der Waals

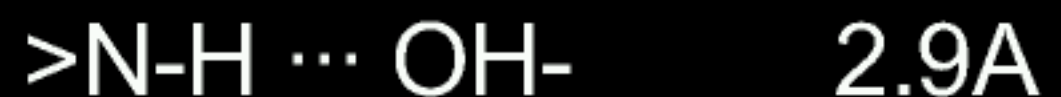
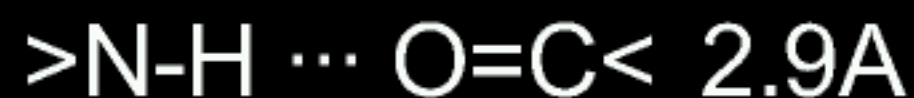
Από τέτοιου τύπου δυναμικά μπορεί να προσδιοριστούν οι λεγόμενες 'van der Waals αποστάσεις επαφής' μεταξύ δύο ατόμων (γνωστών ατομικών τύπων).

Αυτές οι αποστάσεις είναι τέτοιες ώστε να αντιστοιχούν σε απωστικές δυνάμεις με ενέργεια  $\sim 1$  kcal/mol.

Υποθέτοντας ότι οι αποστάσεις επαφής δύο ατόμων αντιστοιχούν στο άθροισμα της ακτίνας κάθε ατόμου, μπορούν να υπολογιστούν οι γνωστές ακτίνες van der Waals των ατόμων π.χ. H : 1.2Å (1.0Å για αρωματικά), O : 1.5Å, N : 1.6Å, C : 1.7Å, S : 1.8Å. Οι ακτίνες αυτές είναι κάπως μεγαλύτερες ( $\sim 10\%$ ) από τις ακτίνες που είχε συνάγει ο Ramachandran από γνωστές δομές

# Δεσμοί υδρογόνου

Οι λεγόμενοι 'δεσμοί υδρογόνου' είναι στην πραγματικότητα ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ατόμων υδρογόνου με υψηλά θετικά μερικά φορτία και ηλεκτραρνητικών ατόμων (με αρνητικά μερικά φορτία). Προφανώς, τα εν λόγω άτομα υδρογόνου έχουν θετικά φορτία γιατί είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένα με ηλεκτραρνητικά άτομα. Συνδυασμοί που απαντώνται συχνά στις πρωτεΐνες είναι :



|



# Δεσμοί υδρογόνου

---

Οι δεσμοί υδρογόνου (λόγω της μικρής απόστασης των φορτίων, και συνεπώς του υψηλού δυναμικού Coulomb) είναι μία από τις ισχυρότερες μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις με ενέργεια διάσπασης της τάξεως των 3 kcal/mol. Αυτό, μαζί με την υψηλή συχνότητα εμφάνισης των δεσμών υδρογόνου στα μακρομοριακά συστήματα (μακρομόρια + διαλύτης), εξηγεί την σημασία που έχουν για τη δομή και λειτουργία των μακρομορίων.

# Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Θεωρούνται οι κυρίως υπεύθυνες για την αναδίπλωση των πρωτεϊνών. Το βασικότερο πρόβλημα είναι ότι, κυριολεκτικά μιλώντας, δεν υφίστανται (δεν υπάρχει κάποια 'υδροφοβική δύναμη'). Αυτό που συγκεντρωτικά αναφέρουμε ως 'υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις' είναι μία έμμεση αναφορά στη θερμοδυναμική σταθερότητα των πρωτεϊνών σε υδατικό διάλυμα.

Οι ίδιες θερμοδυναμικές ιδέες μπορούν να παρουσιαστούν με περισσότερους από έναν τρόπους. Εδώ θα ακολουθήσουμε μια απλοποιημένη παρουσίαση που στηρίζεται στην μεταβολή της εντροπίας του συστήματος [ πρωτεΐνη + διαλύτης ].

# Εντροπία

Διαφορετικοί επιστημονικοί κλάδοι έχουν διαφορετικούς ορισμούς για μεγέθη τα οποία όλα φέρουν το όνομα 'εντροπία' (π.χ. εντροπία θερμοδυναμικής, φυσικοχημείας, στατιστικής μηχανικής, θεωρίας πληροφοριών).

Η εντροπία ( $S$ ) στην οποία θα αναφερόμαστε είναι η γνωστή σας από την φυσικοχημεία,

$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$ , όπου ' $G$ ' είναι η Gibbs free energy, ' $H$ ' είναι η ενθαλπία, και, ' $T$ ' η θερμοκρασία.

Η μετάβαση ('αντίδραση') που μας ενδιαφέρει είναι αυτή που περιγράφει τη διαδικασία αναδίπλωσης των πρωτεϊνών [ από τυχαίο σπείραμα (random coil) στη φυσική 3D δομή ].

# Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Οι 'υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις' είναι αυτές οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη διαφορεική κατανομή των αμινοξικών καταλοίπων στην επιφάνεια και το εσωτερικό των πρωτεϊνών (πολικά - μη πολικά αντίστοιχα).

Η εντροπική εξήγηση για αυτή τη διαφορεική κατανομή έγκειται στην οργάνωση των μορίων του νερού [ με τη μορφή εγκλείστων (clathrates, κλείθρα ?) ] γύρω από τα υδρόφοβα κατάλοιπα. Πιο αναλυτικά :



# Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Ενώ τα πολικά και φορτισμένα κατάλοιπα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μόρια του διαλύτη με τρόπο ανάλογο του πως αλληλεπιδρούν τα μόρια του διαλύτη μεταξύ τους (δηλ. μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων ή δεσμών υδρογόνου), τα μη πολικά κατάλοιπα (λόγω των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους) είναι μάλλον αδρανή ως προς τον διαλύτη. Η συνέπεια είναι ότι τα μόρια του νερού οργανώνονται γύρω από τα μη πολικά κατάλοιπα με τέτοιο τρόπο ώστε να δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους (και όχι με τις υδρόφοβες ομάδες).

# Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Η οργανωμένη δομή των μορίων νερού (όσο η πρωτεΐνη είναι random coil) οδηγεί σε μείωση της εντροπίας του συστήματος. Αναδίπλωση της πρωτεΐνης με τέτοιο τρόπο ώστε τα υδρόφοβα κατάλοιπα να είναι στο εσωτερικό και τα υδρόφιλα στο εξωτερικό του μορίου, οδηγεί σε αύξηση της εντροπίας, αύξηση του  $\Delta S$ , μείωση του  $\Delta G$ , και συνεπώς, σε αύξηση της θερμοδυναμικής σταθερότητας της φυσικής (αναδιπλωμένης) πρωτεΐνης σε σχέση με το random coil.

Μεταφορικά, αυτό που περιγράψαμε είναι ανάλογο με την παρουσία προσκολλημένων σταγονιδίων λαδιού πάνω σε ένα κατά τα άλλα υδρόφιλο σχοινί.

# Το πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών

---

Η παρουσίαση των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μας έφερε κοντά στο πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών (folding problem) : με μοναδικό δεδομένο την πρωτοταγή αλληλουχία μιας πρωτεΐνης πως μπορούμε να προσδιορίσουμε την τρισδιάστατη δομή της ; Ισοδύναμα : πως η αλληλουχία μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τρισδιάστατη δομή της ; Πριν ασχοληθούμε με το πως η πρωτοταγής δομή μιας πρωτεΐνης καθορίζει την τριτοταγή της δομή, θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι η πρωτοταγής δομή μιας όντως αρκεί για να καθορίσει την τριτοταγή της δομή.



# Τα πειράματα του Anfinsen

## The Observation:



Native  
(100% active)

1. Reduce  
2. 8 M urea



Denatured  
(inactive)

1. Remove urea  
2. Oxidize



Native  
(>90% active)

## The Control:



Native

1. Reduce  
2. 8 M urea



Denatured

1. Oxidize  
2. Remove urea



"Scrambled"  
(1-2% active)



# Τα πειράματα του Anfinsen

---

Αυτά τα πειράματα έδειξαν ότι (i) η τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών καθορίζεται από την πρωτοταγή δομή τους, και, (ii) ότι η διαδικασία αναδίπλωσης είναι αυθόρμητη, δηλ. ότι η θερμοδυναμικά σταθερότερη κατάσταση είναι αυτή της αναδιπλωμένης πρωτεΐνης. Το (ii) επίσης υπονοεί ότι η φυσική δομή της πρωτεΐνης αντιστοιχεί στο ολικό (ή σε πλησίον του ολικού) ελάχιστο της ελεύθερης ενέργειας του συστήματος. Άρα το πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών μπορεί να διατυπωθεί και ως εξής : με δεδομένη την πρωτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης, ποιά τριτοταγή της δομή αντιστοιχεί στο ολικό ενεργειακό ελάχιστο;

# Το παράδοξο του Levinthal

Υποθέστε ότι για κάθε κατάλοιπο υπάρχουν μόνο 10 ενεργειακά αποδεκτοί συνδυασμοί των φ,ψ γωνιών. Τότε, ο ολικός αριθμός πιθανών δομών για μια αλυσίδα 40 αμινοξέων είναι  $10^{40}$ . Ακόμα και εάν μια πρωτεΐνη μπορούσε να περάσει από  $10^{14}$  (100 τρις) δομές ανά δευτερόλεπτο, πάλι θα χρειαζόνταν  $\sim 67$  εκατομμύρια φορές την ηλικία του σύμπαντος για να διπλωθεί. Ευτυχώς, τους παίρνει πολύ λιγότερο από αυτό : από χιλιοστά του δευτερολέπτου έως λεπτά.

# Το πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών

---

Μετά από 30 χρόνια εντατικής ερευνητικής προσπάθειας, το πρόβλημα της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών παραμένει αμετακίνητο στην κορυφή των βασικών άλυτων προβλημάτων της Μοριακής Βιολογίας. Μία περίοδος αισιοδοξίας στις αρχές της δεκαετίας του '90 έχει αντικατασταθεί από τη σχεδόν πλήρη αποδοχή της απιθανότητας να λυθεί το πρόβλημα στο άμεσο μέλλον. Την ακριβέστερη εικόνα για το πόσο πολύπλοκο είναι το πρόβλημα μας τη δίνουν οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής :

# Μοριακή δυναμική

Προκειμένου να καταστεί εφικτή η προσομοίωση (σε ατομικό επίπεδο) ενός συστήματος, θα πρέπει να μπορεί να υπολογιστεί η ενέργεια του συστήματος ως συνάρτηση των ατομικών θέσεων.

Η ενέργεια ενός συστήματος ατόμων αποτελείται από δυο όρους : την κινητική και τη δυναμική ενέργεια.

Η κινητική ενέργεια υπολογίζεται εύκολα ως συνάρτηση των μαζών και των ταχυτήτων των ατόμων.

Η ουσία του προβλήματος βρίσκεται στον υπολογισμό της δυναμικής ενέργειας.



# Ενέργεια πρωτεϊνών

---

Το ζητούμενο είναι να βρεθεί η δυναμική ενέργεια των πρωτεϊνών ως συνάρτηση της δομής τους (της διαμόρφωσης τους στον τρισδιάστατο χώρο). Θεωρητικά, ότι μπορούμε να μάθουμε για το σύστημα (συμπεριλαμβανομένης και της ενέργειας του) βρίσκεται στην επίλυση της εξίσωσης του Schrodinger. Δυστυχώς, οι κβαντομηχανικοί υπολογισμοί είναι τόσο χρονοβόροι που γίνονται πρακτικά ανέφικτοι για περισσότερα από μερικές δεκάδες ή εκατοντάδες άτομα. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί εμπειρικές μέθοδοι προσδιορισμού της δυναμικής ενέργειας των μακρομορίων, τα λεγόμενα δυναμικά πεδία (force fields).

# Force fields

---

Τυπικά, αυτά τα δυναμικά πεδία περιγράφουν την ολική δυναμική ενέργεια του μορίου ως άθροισμα δύο όρων, ενός για τις δεσμικές (μέσω δεσμών) αλληλεπιδράσεις, και ενός για μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις. Οι δεσμικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνουν όρους για τα μήκη δεσμών, τις γωνίες δεσμών, για άτομα που πρέπει να μείνουν συνεπίπεδα (π.χ. αρωματικά), κλπ. Οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις είναι το άθροισμα των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων συν ένα Lennard-Jones δυναμικό που περιγράφει τις δυνάμεις διασποράς και την άπωση μεταξύ των ηλεκτρονιακών νεφών.

# Force fields

---

$$\mathcal{H} = \mathcal{K} + \mathcal{V}$$

$$\mathcal{V} = \mathcal{V}_{\text{bonding}} + \mathcal{V}_{\text{non-bonding}}$$

$$\mathcal{V}_{\text{bonding}} = \mathcal{V}_{\text{lengths}} + \mathcal{V}_{\text{angles}} + \mathcal{V}_{\text{dihedral}} + \mathcal{V}_{\text{improper}}$$

$$\mathcal{V}_{\text{non-bonding}} = \mathcal{V}_{\text{electr}} + \mathcal{V}_{\text{L-J}}$$

# Force fields

$$\mathcal{V}_{\text{lenghts}} = \sum_{\text{bonds}} \frac{1}{2} k_b (b - b_0)^2$$

$$\mathcal{V}_{\text{angles}} = \sum_{\text{angles}} \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_0)^2$$

$$\mathcal{V}_{\text{dihedral}} = \sum_{\text{dihedrals}} \frac{1}{2} V_n (1 + \cos(n\phi - \delta))$$



# Force fields

---

$$\mathcal{V}_{\text{electr}} = \sum_{\text{allpairs}} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}$$

$$\mathcal{V}_{\text{L-J}} = \sum_{\text{allpairs}} \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6}$$

# Μοριακή δυναμική

$$\mathcal{H} = \mathcal{K} + \mathcal{V}$$

$$\mathcal{K} = \frac{1}{2} \sum_{all\ atoms} m_i \mathbf{u}_i^2$$

$$\mathbf{F}_i = m_i \mathbf{a}_i = m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = - \frac{\partial \mathcal{V}}{\partial \mathbf{r}_i}$$