

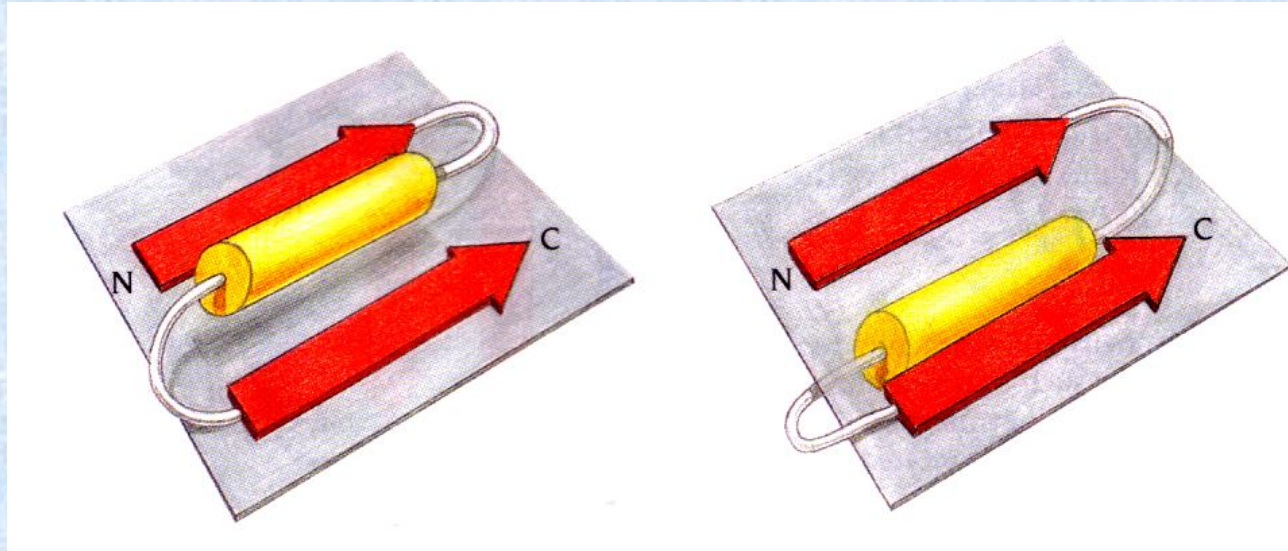
**Δομικές επικράτειες Τάξης α/β
(α/β επικράτειες)**

Οι επικράτειες τάξης α/β

Οι επικράτειες τάξης α/β χαρακτηρίζονται από την επανάληψη μοτίβων **β-α-β**. Οι δομές που προκύπτουν, κατά κανόνα αποτελούνται από παράλληλους β-κλώνους που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, οι οποίοι περιβάλλονται από α-έλικες



Οι επικράτειες τάξης α/β



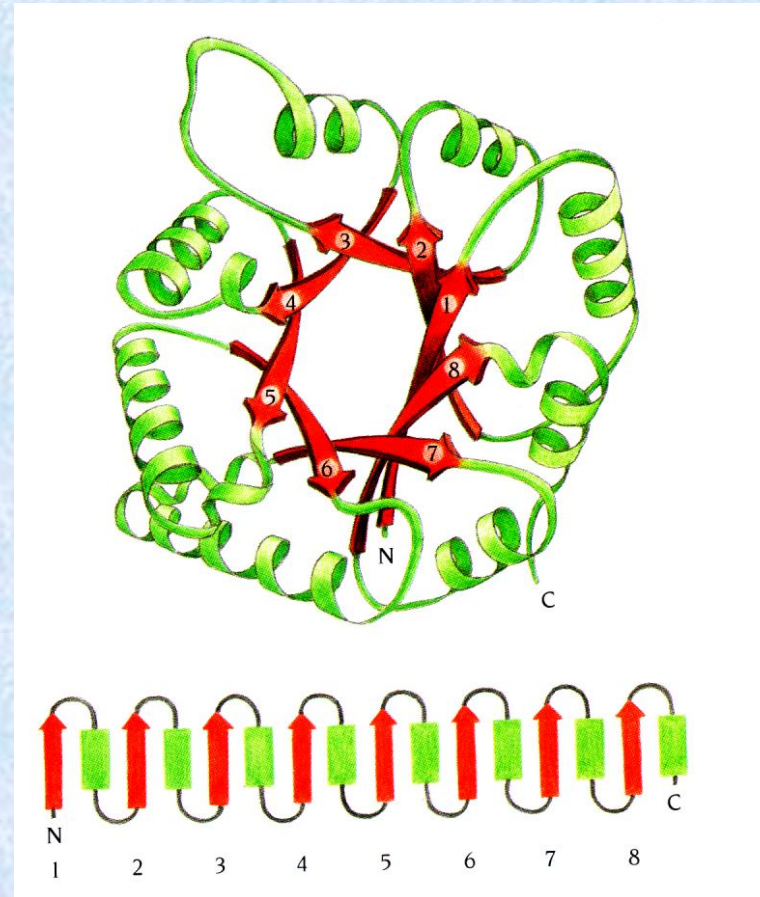
Το μοτίβο β-α-β είναι πάντα δεξιόστροφο (αριστερά) στις πρωτεΐνες. Όπως θα δούμε παρακάτω, αυτό διαμορφώνει τον τρόπο με τον οποίο αναδιπλώνονται οι επικράτειες α/β

Οι επικράτειες τάξης α/β

Στην τάξη δομών α/β διακρίνονται τρία βασικά μοτίβα αναδίπλωσης:

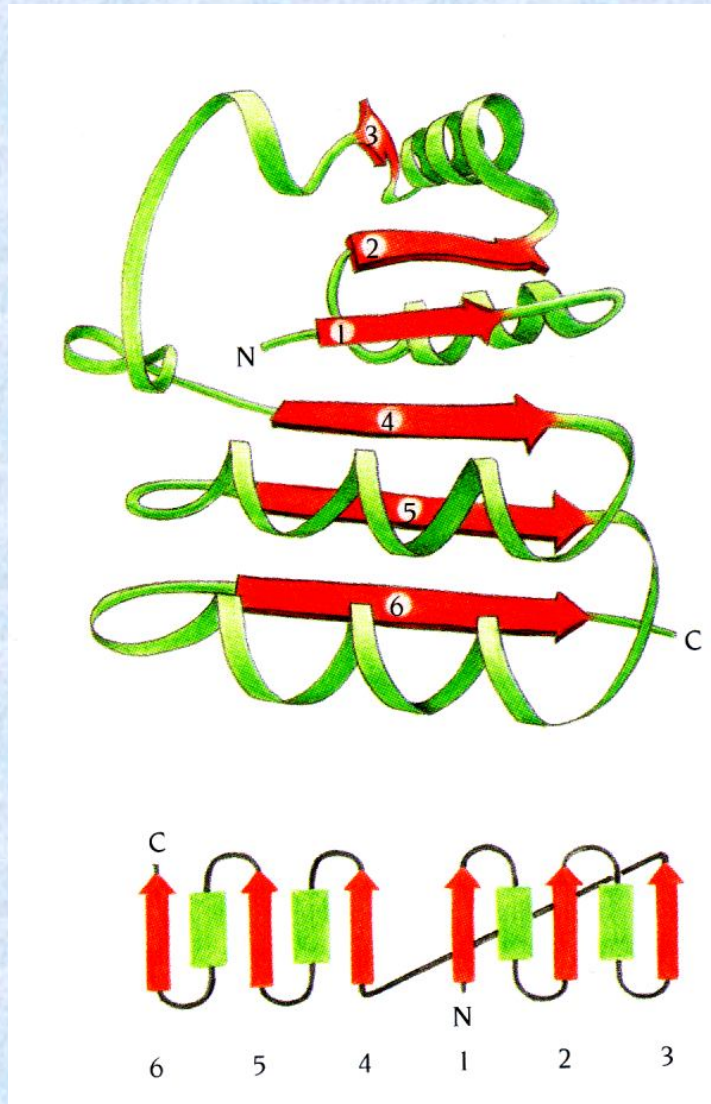
1. Τα βαρέλια **TIM** ή α/β βαρέλια
2. Το μοτίβο αναδίπλωσης κατά **Rossmann**
3. Το μοτίβο αναδίπλωσης **Horseshoe**

Βαρέλια TIM



Το χαρακτηριστικό αυτών των δομών είναι ένα κεντρικό β-βαρέλι από παράλληλους κλώνους το οποίο περιβάλλεται από α-έλικες μόνο από την μία πλευρά του

Αναδίπλωση Rossmann

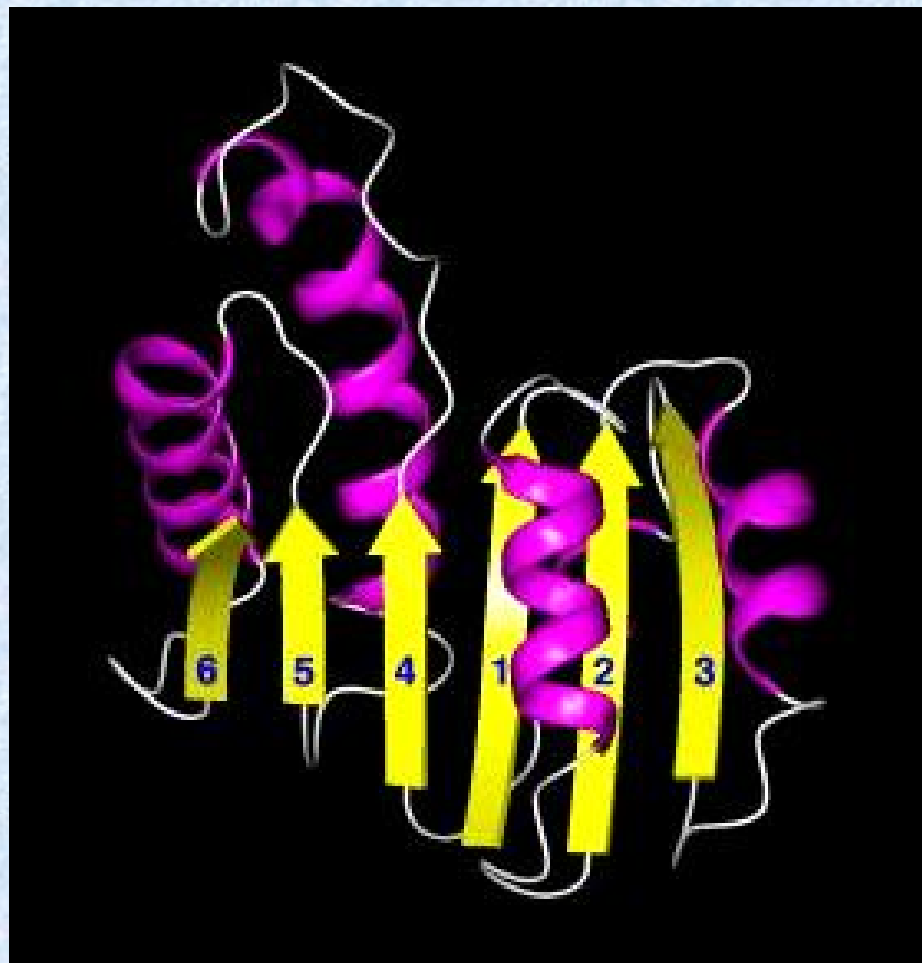


Αυτό το μοτίβο αναδίπλωσης κυριαρχείται από μια ανοικτή, συστραμμένη β-πτυχωτή επιφάνεια, συνήθως από παράλληλους κλώνους, που περιβάλλεται από α-έλικες εκατέρωθεν

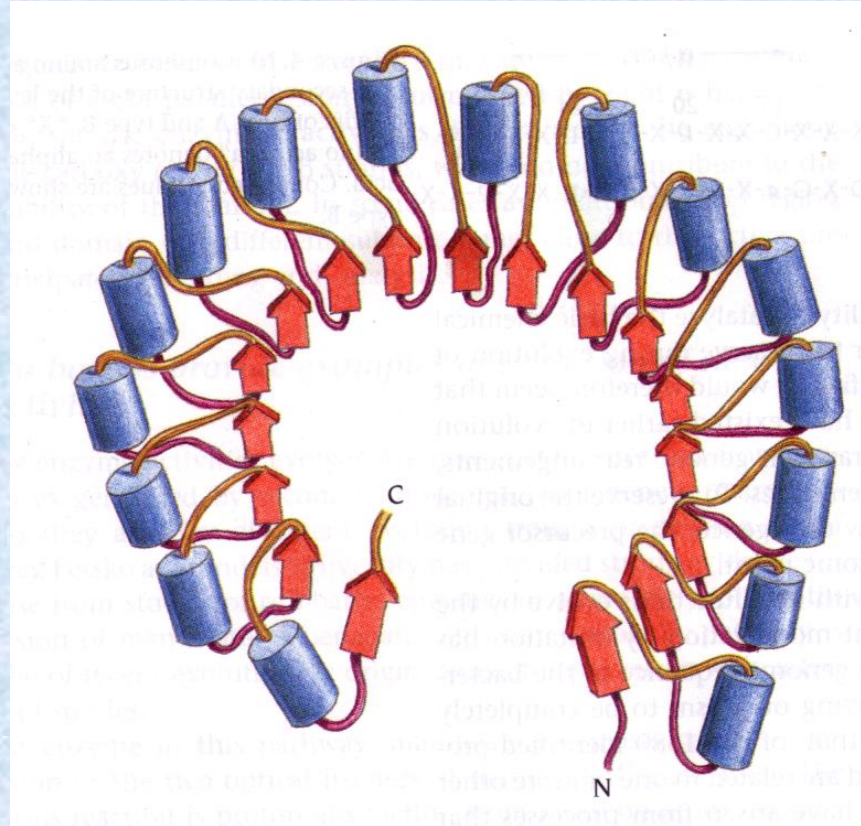
Βαρέλι TIM



Αναδίπλωση Rossman



Αναδίπλωση Horseshoe



Η αναδίπλωση αυτή χαρακτηρίζεται από μια κυρτωμένη β-πτυχωτή επιφάνεια παράλληλων κλώνων με α-έλικες μόνο στην κυρτή επιφάνειά της (πεταλοειδές δίπλωμα)

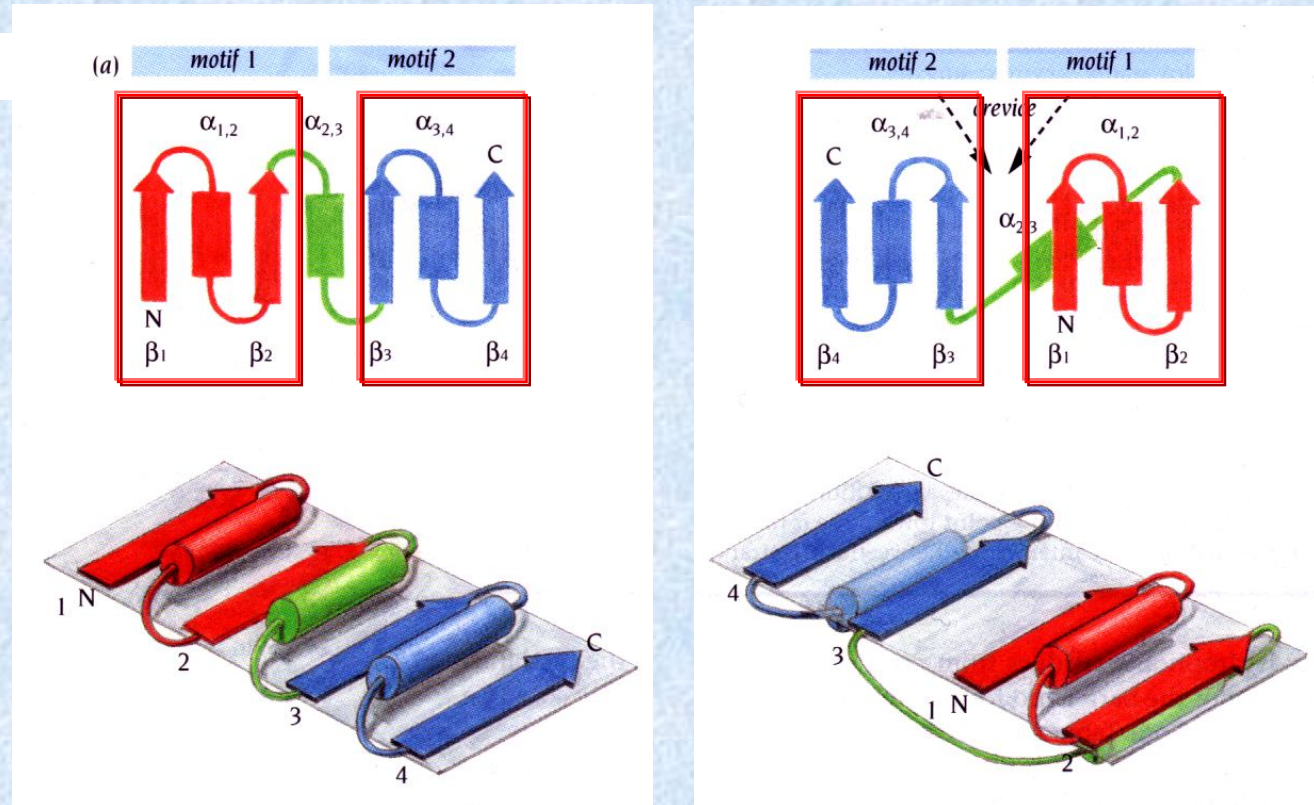
Γεωμετρία των επικρατειών α/β

Γιατί στο μοτίβα Horseshoe και βαρελιών TIM οι α -έλικες βρίσκονται στη μία πλευρά των β -πτυχωτών επιφανειών ενώ στο μοτίβο Rossmann οι έλικες βρίσκονται εκατέρωθεν;

Αυτό οφείλεται:

1. Στον τρόπο που συνδέονται τα β - α - β μοτίβα μεταξύ τους
και
2. Στο ότι τα μοτίβα β - α - β είναι δεξιόστροφα

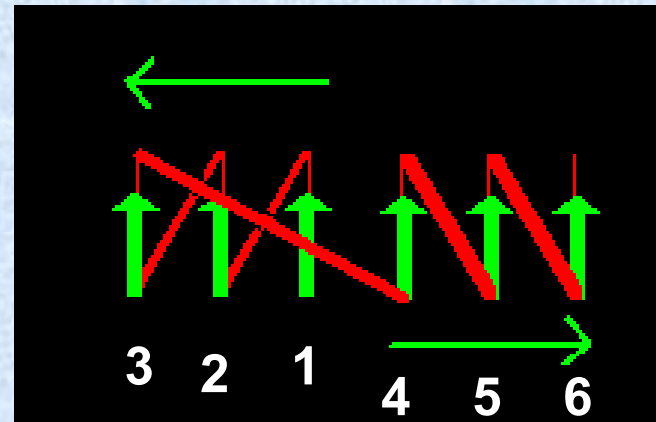
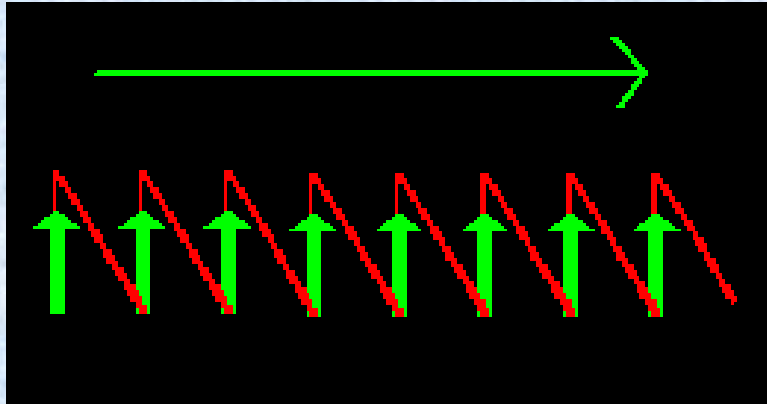
Γεωμετρία των επικρατειών α/β



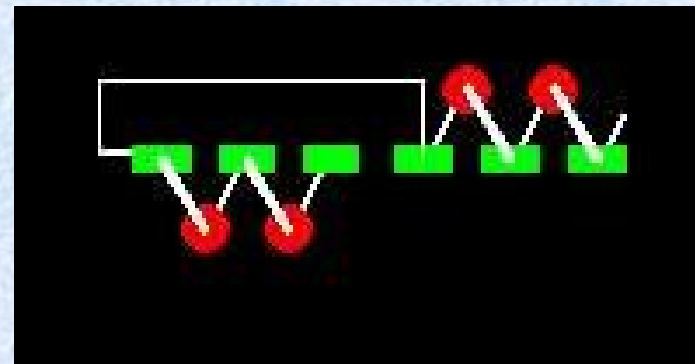
Δύο δεξιόστροφα β-α-β μοτίβα μπορεί να συνδέονται με δύο διαφορετικούς τρόπους.

Ο τρόπος σύνδεσης αριστερά παρατηρείται στα βαρέλια TIM και στα μοτίβα horseshoe. Δεξιά φαίνεται ο τρόπος σύνδεσης που εμφανίζεται στα μοτίβα αναδίπλωσης Rossmann

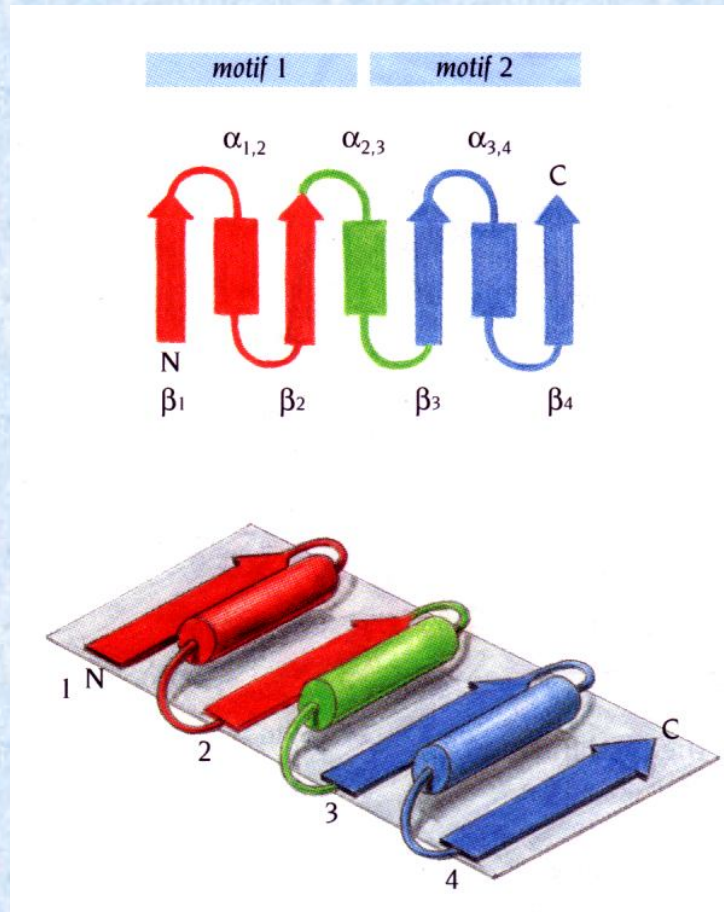
Τρόποι αναδίπλωσης α/β επικρατειών



Τρόπος σύνδεσης που παρατηρείται σε βαρέλια TIM (πάνω) και σε αναδιπλώσεις κατά Rossman (δεξιά)

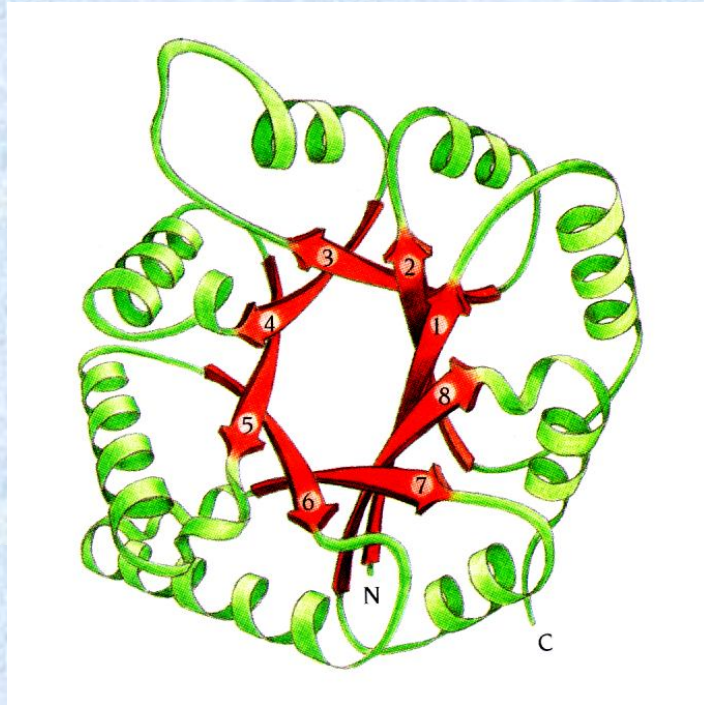


Πως δημιουργείται το βαρέλι TIM



Ο τρόπος σύνδεσης β-α-β μοτίβων που φαίνεται αφήνει τη μία πλευρά της β-πτυχωτής επιφάνειας εκτεθειμένη στον διαλύτη. Με τη δημιουργία ενός βαρελιού, αυτό αποφεύγεται. Για να «κλείσει» το βαρέλι πρέπει να έχουμε περισσότερους από τέσσερις κλώνους. Συνήθως, ο αριθμός των κλώνων είναι οκτώ και όλοι οι κλώνοι είναι παράλληλοι, αλλά έχουν παρατηρηθεί και βαρέλια με δέκα παράλληλους κλώνους ή με οκτώ παράλληλους και δύο αντιπαράλληλους κλώνους.

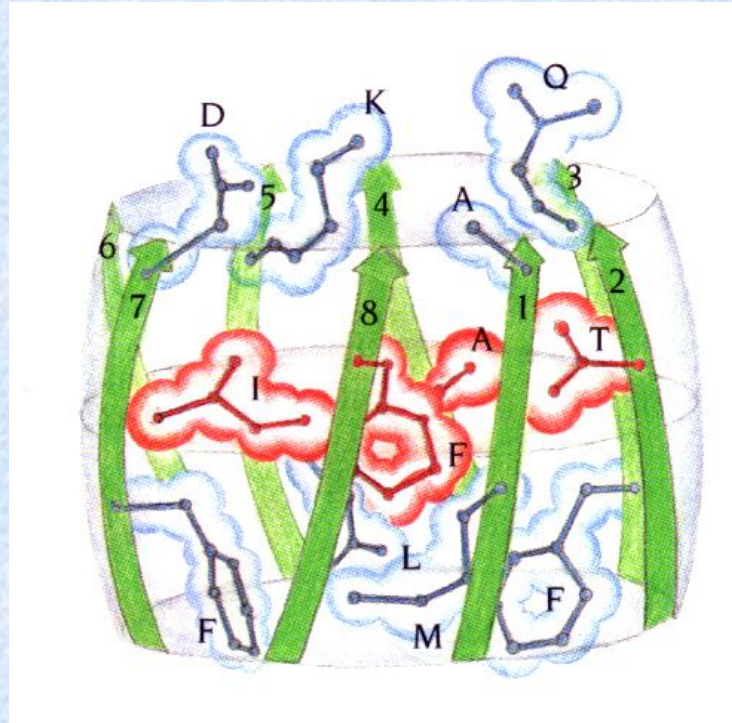
Βαρέλια TIM



Τα βαρέλια TIM με οκτώ κλώνους είναι από τα συχνότερα μοτίβα αναδίπλωσης που παρατηρούνται και έχουν βρεθεί σε πολλές πρωτεΐνες, κυρίως ένζυμα, με διαφορετικές ακολουθίες και λειτουργία. Ο πυρήνας του μοτίβου (η β-πτυχωτή επιφάνεια και οι α-έλικες) σχηματίζεται από περίπου 160 κατάλοιπα.

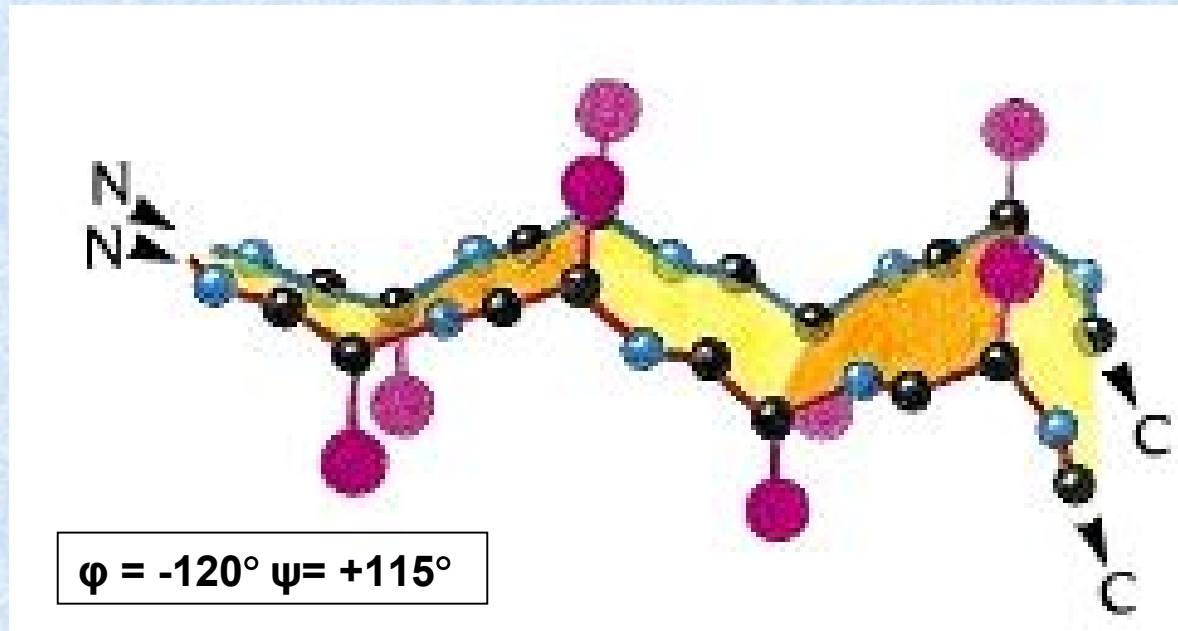
Οι α-έλικες είναι σχεδόν παράλληλες στους κλώνους, με αντιπαράλληλη διεύθυνση, και η αλυσίδα «ακολουθεί» φορά αντίθετη των δεικτών του ρολογιού αν κοιτάξουμε το βαρέλι από την πλευρά των C-άκρων των κλώνων.

Γεωμετρία των βαρελιών TIM



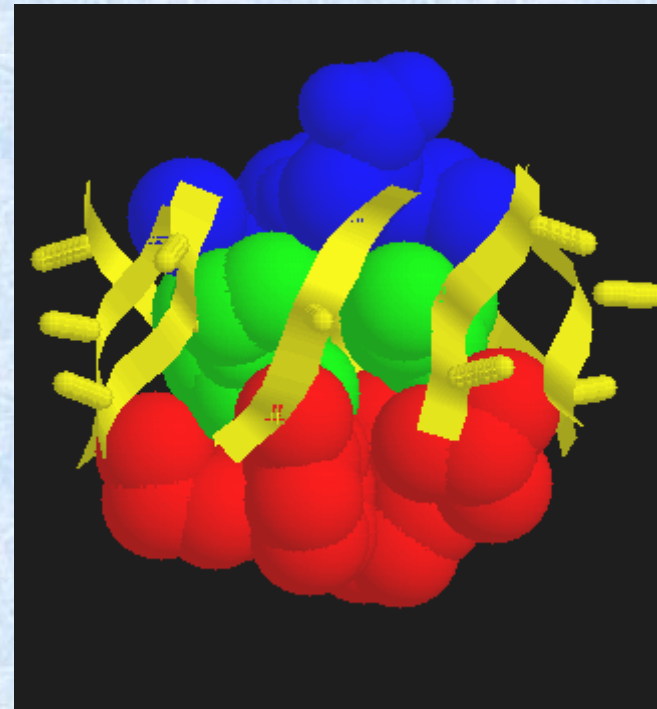
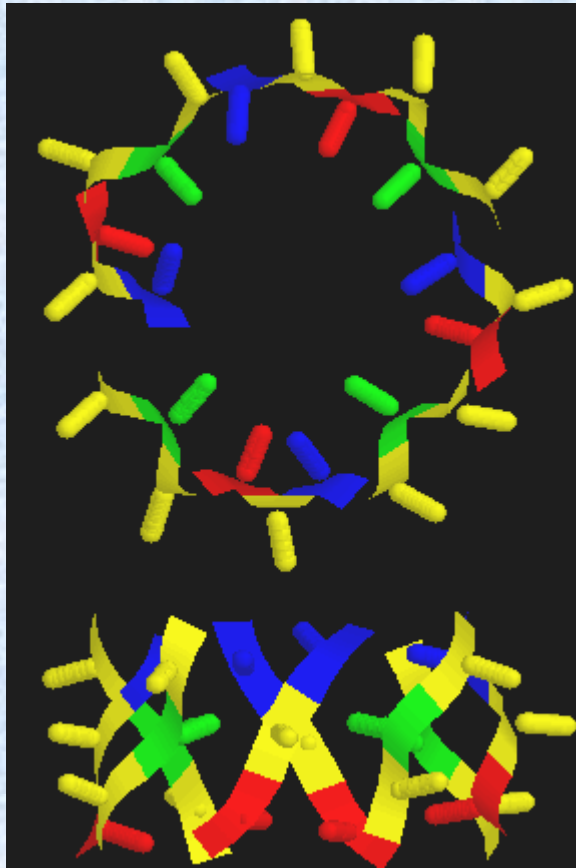
Αν παρατηρήσουμε το πακετάρισμα στο εσωτερικό του βαρελιού της οξειδάσης του γλυκολικού βλέπουμε ότι σχηματίζονται 3 «επίπεδα» από τις πλευρικές ομάδες των καταλοίπων. Σε κάθε «επίπεδο» συνεισφέρουν τέσσερα κατάλοιπα, ένα ανά κάθε δεύτερο β-κλώνο (π.χ. 1,3,5,7, η 2,4,6,8). Τα κατάλοιπα αυτά είναι συνήθως. κατάλοιπα με **διακλαδισμένες υδρόφοβες αλυσίδες**.

β-πτυχωτές επιφάνειες



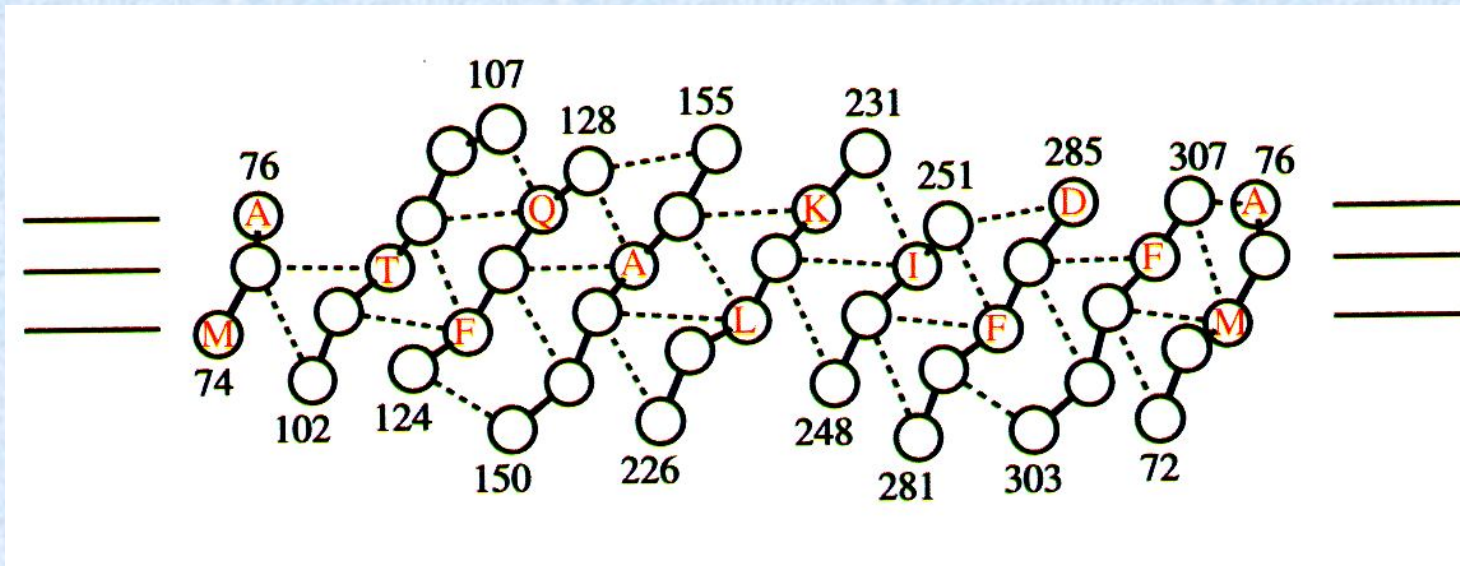
Μια παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια

Γεωμετρία των επικρατειών α/β



Τα τρία υδρόφοβα επίπεδα στο εσωτερικό του α/β βαρελιού της γλυκολικής οξειδάσης

Γεωμετρία των βαρελιών TIM



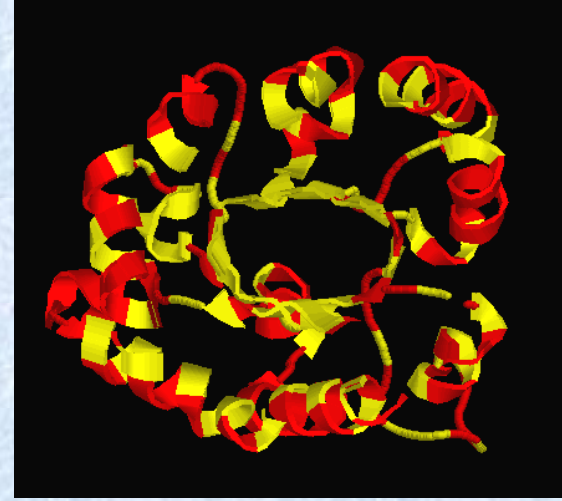
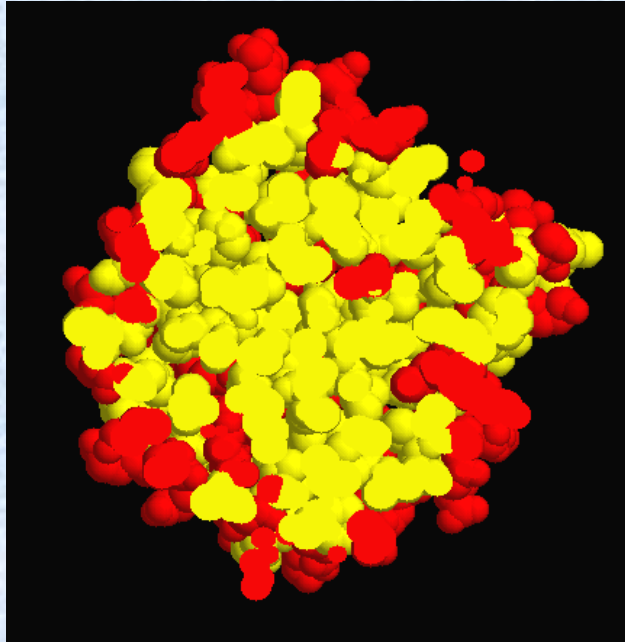
Ένα παράδειγμα είναι το βαρέλι TIM της οξειδάσης του γλυκολικού (glycolate oxidase) όπου τα κατάλοιπα που «δείχνουν» στο εσωτερικό του βαρελιού είναι σημειωμένα. Σχηματίζονται 3 «επίπεδα» από τις πλευρικές ομάδες αυτών των καταλοίπων. Παρατηρήστε ότι τα κατάλοιπα που βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο δεν είναι γειτονικά στους κλώνους.

Κατάλοιπα και βαρέλια TIM

Strand no.	Residue no.	Positions				
		1	2	3	4	5
1	6–10	Phe	Val	Gly	Gly	Asn
2	37–41	Glu	Val	Val	Cys	Gly
3	59–63	Gly	Val	Ala	Ala	Gln
4	89–93	Trp	Val	Ile	Leu	Gly
5	121–125	Gly	Val	Ile	Ala	Cys
6	158–162	Lys	Val	Val	Leu	Ala
7	204–208	Arg	Ile	Ile	Tyr	Gly
8	227–231	Gly	Phe	Leu	Val	Gly

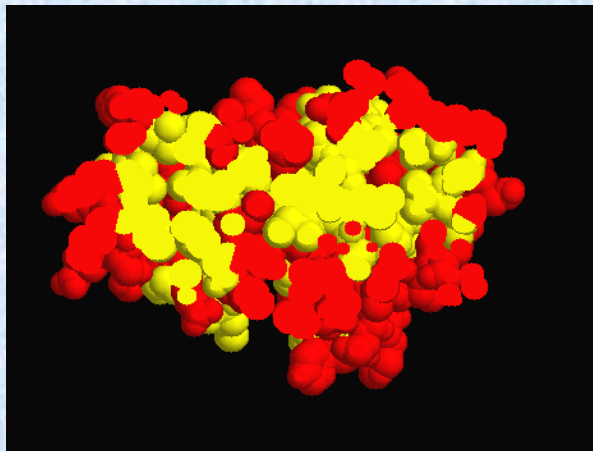
Η προτίμηση των καταλοίπων με πλευρικές ομάδες που κατευθύνονται προς το εσωτερικό του βαρελίου αντικατοπτρίζεται στην ακολουθία. Για παράδειγμα, παρατηρήστε τα κατάλοιπα που σχηματίζουν τις θέσεις 1, 3 και 5, οι οποίες «δείχνουν» στο εσωτερικό του βαρελίου σε σχέση με αυτά στις θέσεις 2 και 4 που αλληλεπιδρούν με τις α-έλικες στο εξωτερικό του βαρελίου του ενζύμου ισομεράση της φωσφορικής τριόζης (triosephosphate isomerase).

Υδροφοβικότητα σε TIM δομές



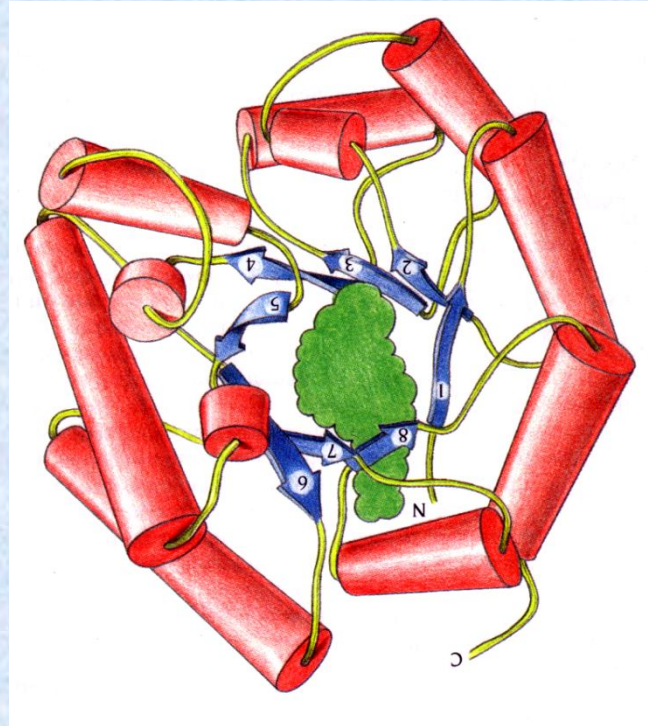
Υδροφοβικά κατάλοιπα (κίτρινο)
σε μια α/β TIM επικράτεια

Το εσωτερικό των TIM βαρελιών
είναι εξαιρετικά υδρόφοβο



Υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες των
 α -ελικών πακετάρονται άπέναντι
από υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες
των β -κλώνων.

«Τούνελ» σε βαρέλια TIM



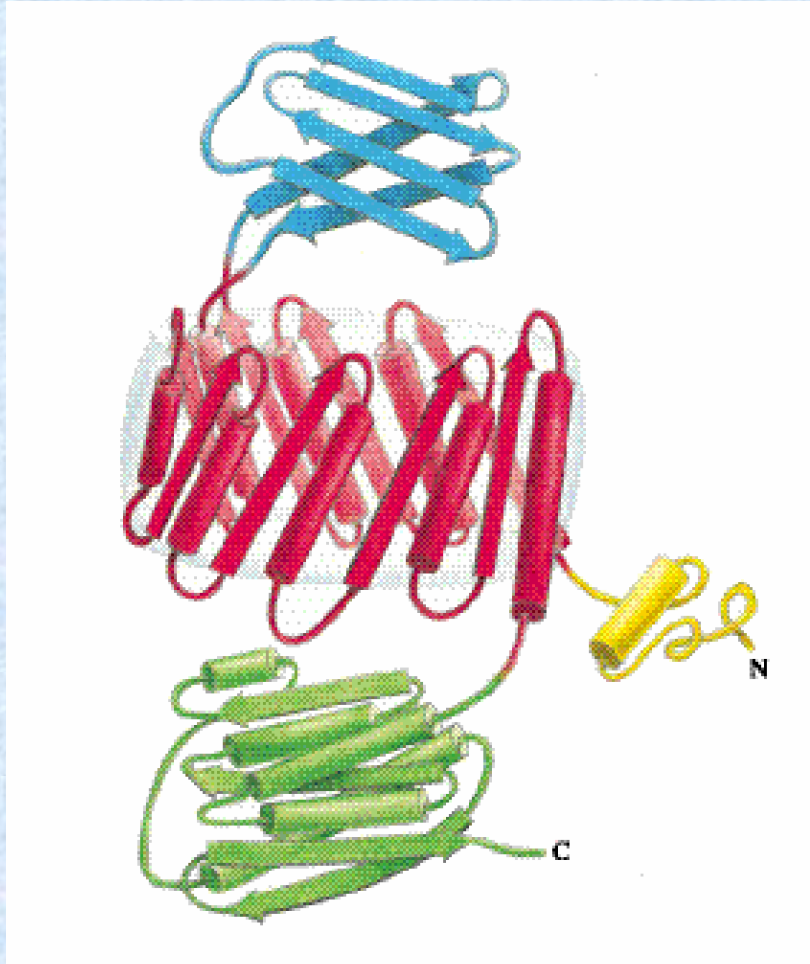
Σε κάποιες σπάνιες περιπτώσεις το εσωτερικό των βαρελιών δεν καλύπτεται πλήρως από υδρόφοβα κατάλοιπα αλλά από κατάλοιπα με μικρές πολικές αλυσίδες, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται υδρόφιλες οπές οι οποίες μπορεί να χρησιμοποιούνται στη πρόσδεση μικρών μορίων. Π.χ. το ένζυμο **μουτάση του μεθυλομηλονυλο-συνενζύμου A** (methylmalonyl-coenzyme A mutase) προσδένει συνένζυμο-A (πράσινο) όπως φαίνεται στο σχήμα.

Λειτουργία και βαρέλια TIM

Σε σχέση με τη λειτουργία τους, όλες οι γνωστές δομικές επικράτειες με βαρέλια TIM οκτώ κλώνων έχουν **ενζυμικές δράσεις** με πιο συχνές αυτές του ισομερισμού μικρών σακχάρων, της οξειδωσης από συνένζυμα, της μεταφοράς φωσφορικών ομάδων και της αποικοδόμησης πολυμερών σακχάρων.

Είναι χαρακτηριστικό ότι τα περισσότερα ένζυμα της γλυκόλυσης έχουν επικράτειες με βαρέλια TIM ή μοτίβα Rossman.

Λειτουργία και βαρέλια TIM



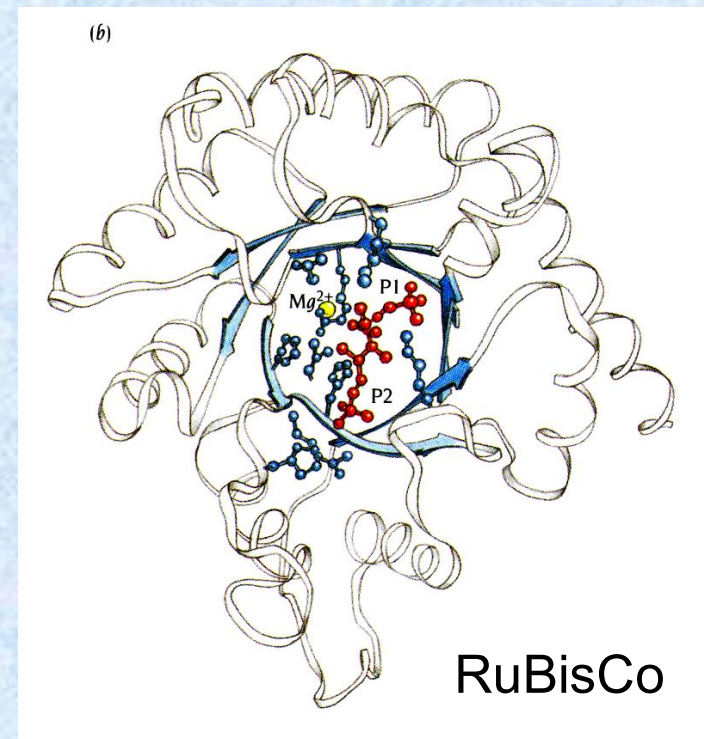
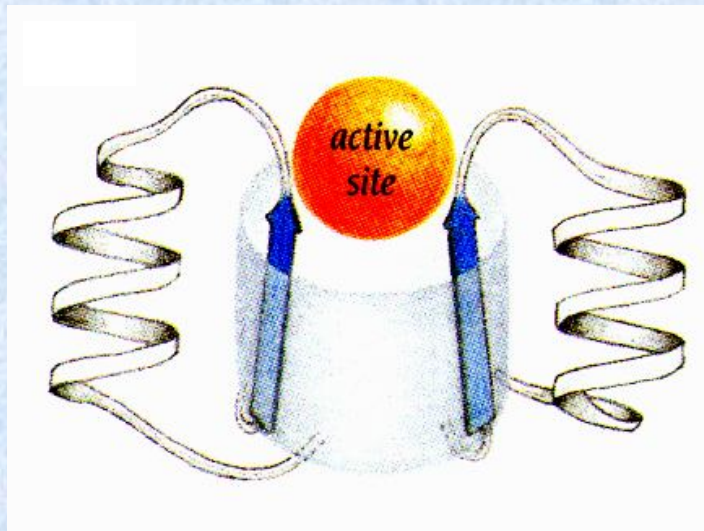
Το ένζυμο κινάση του πυροσταφυλικού αποτελείται από τέσσερις επικράτειες.

Το ενεργό κέντρο βρίσκεται στο κεντρικό α/β βαρέλι (κόκκινο)

Στο σχήμα φαίνεται μόνο ένα από τα τέσσερα μονομερή του ενζύμου.

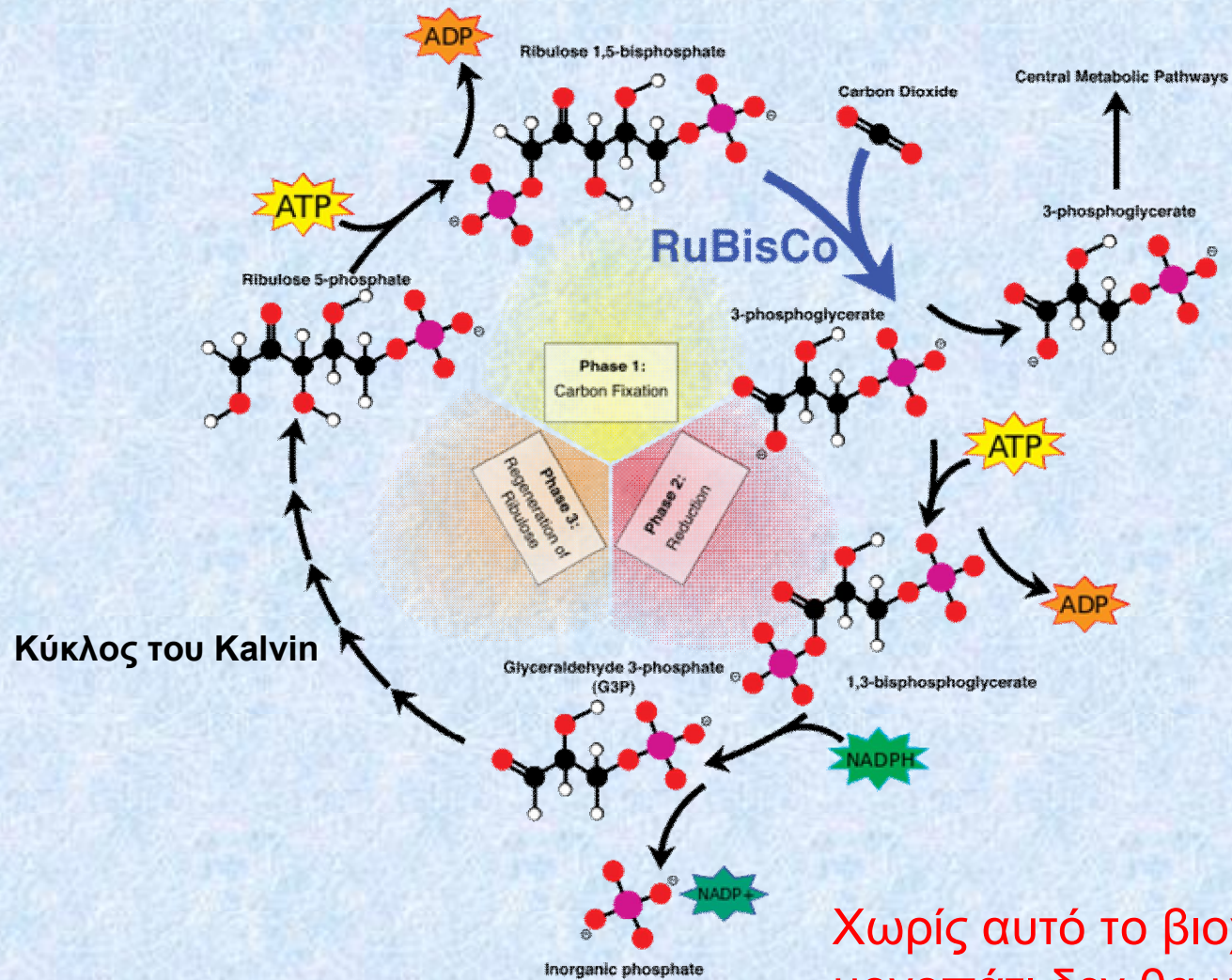
Ενεργό κέντρο βαρελιών TIM

Σε όλες τις προηγούμενες περιπτώσεις το ενεργό κέντρο των ενζύμων βρίσκεται στον πυθμένα μιας χοάνης που σχηματίζεται από τους οκτώ βρόχους που συνδέουν τα καρβοξυτελικά άκρα των β-κλώνων με τα αμινοτελικά άκρα των α-ελίκων.



RuBisCo: καρβοξυλάση της διφωσφορικής ριβουλόζης

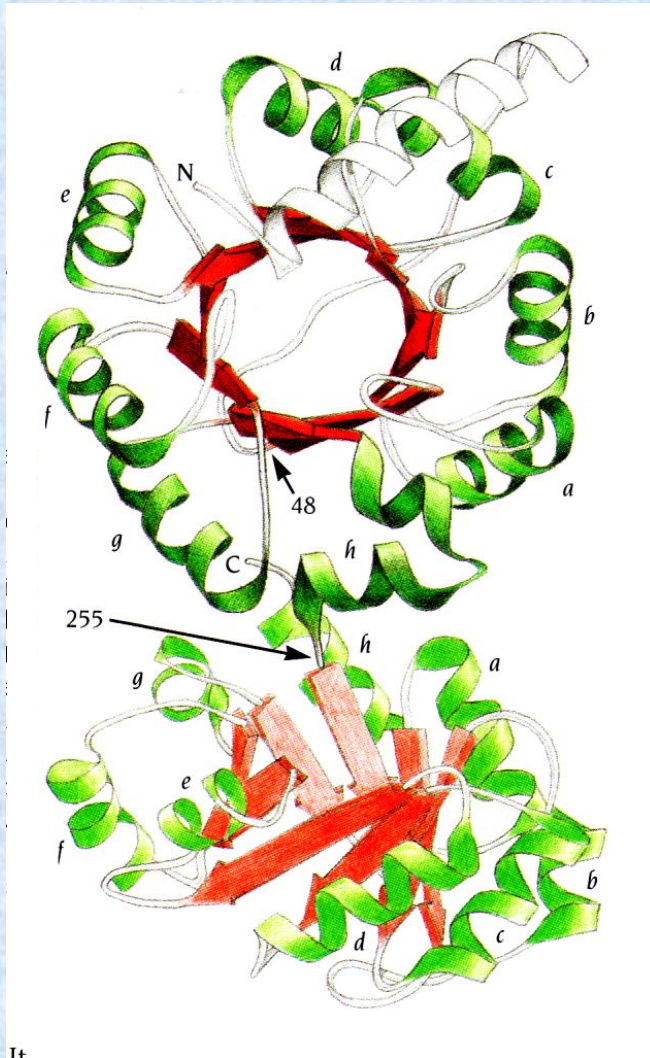
RuBisCo



Κύκλος του Kalvin

Χωρίς αυτό το βιοχημικό μονοπάτι δεν θα υπήρχαμε!

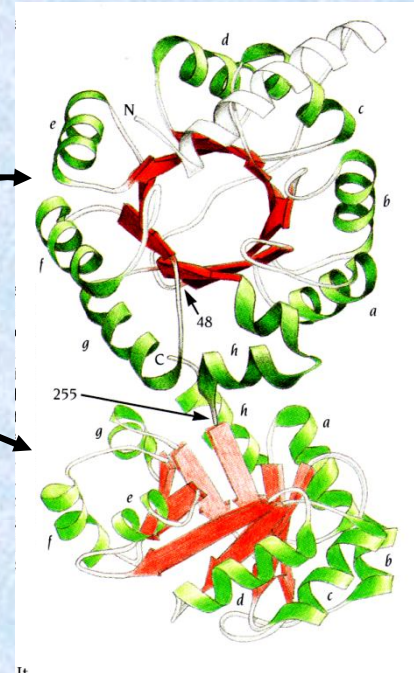
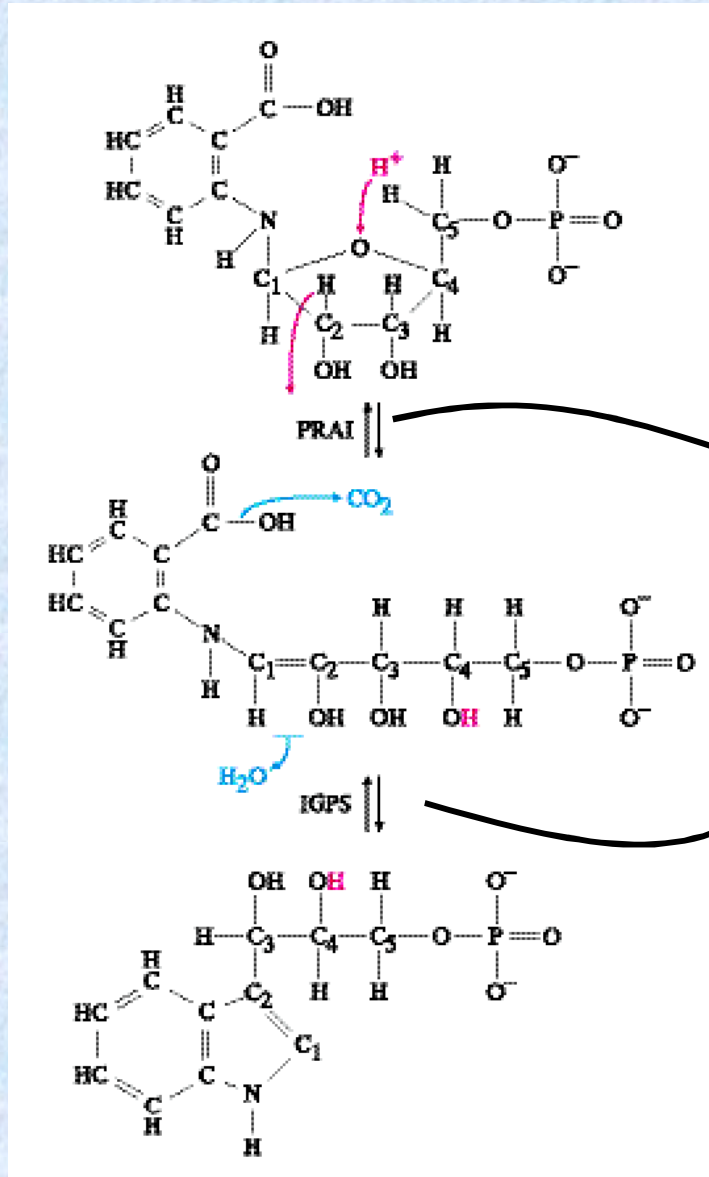
Παραλλαγές λόγω σύντηξης



Κάποιες φορές, λόγω γονιδιακής σύντηξης, μια πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται σε δύο βαρέλια TIM, το καθένα με διαφορετική ενζυμική λειτουργία. Π.χ. η PRA-ισομεράση:IGP-συνθετάση της *E. coli*, ένα ένζυμο της βιοσύνθεσης της **τρυπτοφάνης** (αριστερά) .

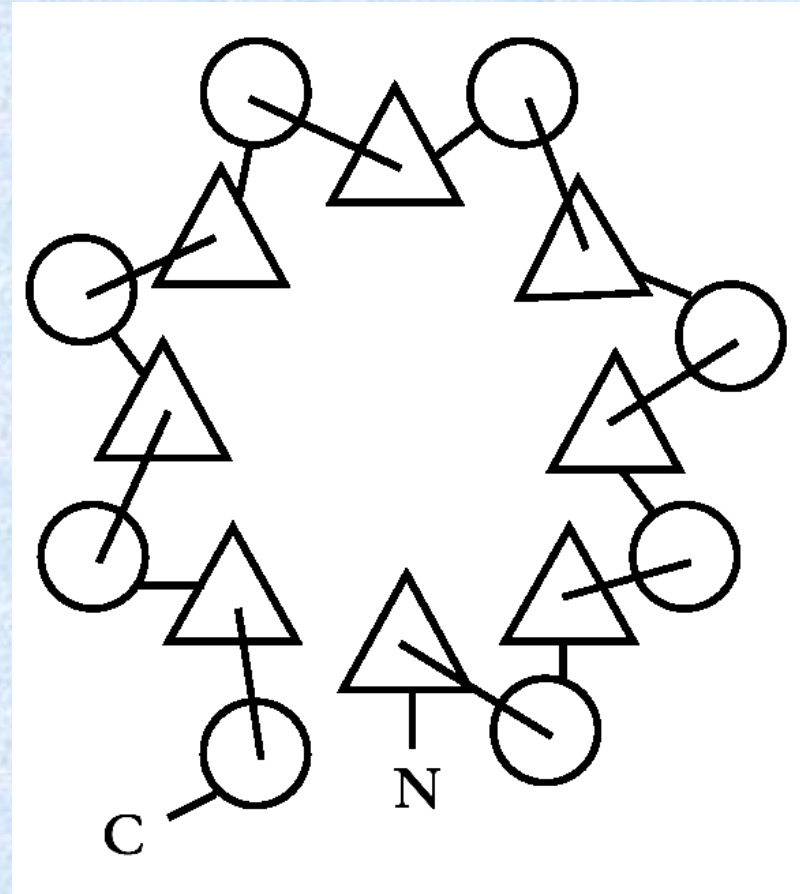
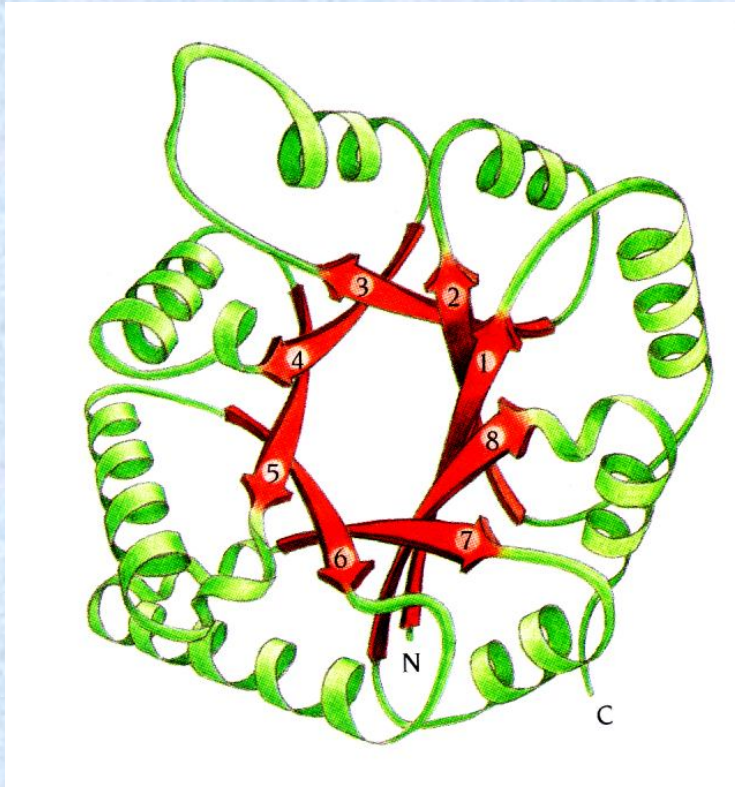
Στον βάκκιλο *Bacillus subtilis* οι δύο αυτές αντιδράσεις καταλύονται από δύο ένζυμα ενώ στην *Neurospora crassa* υπάρχει ένα αντίστοιχο ένζυμο με τρεις ενεργότητες στην ίδια αλυσίδα

Παραλλαγές λόγω σύντηξης



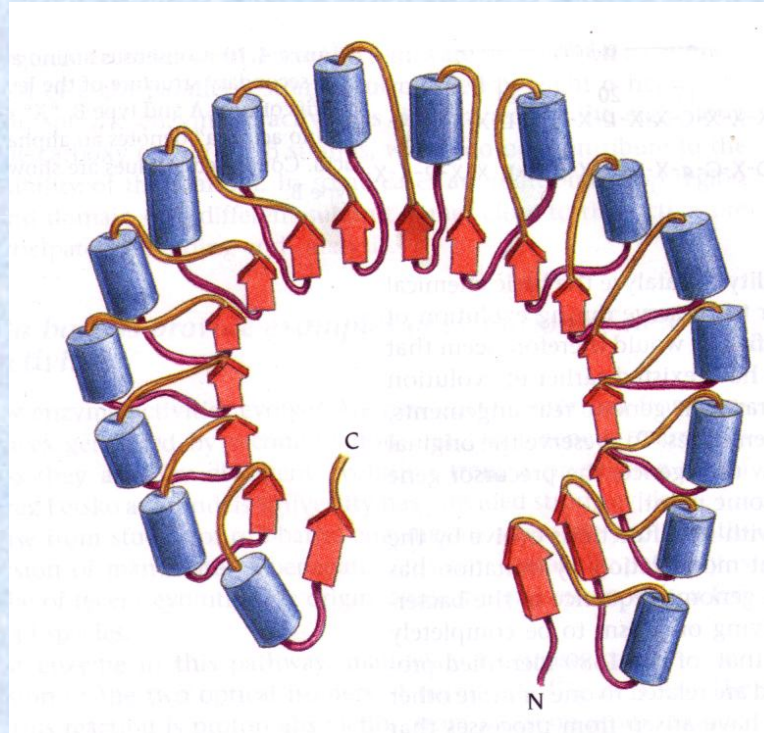
PRA: φωσφοριβοζυλο-ανθρανιλικό
IGP: ινδολογλυκεροφωσφορικό

Τοπολογικό διάγραμμα TOPS ενός βαρελιού TIM



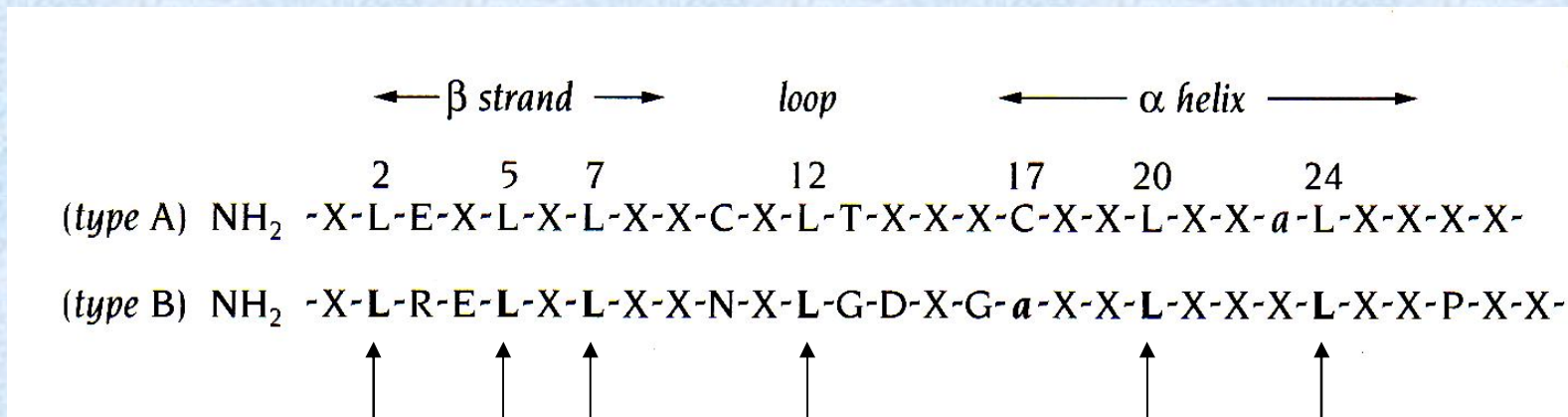
Το μοτίβο αναδίπλωσης horseshoe

Μία τυπική περίπτωση πρωτεΐνης με μοτίβο αναδίπλωσης horseshoe είναι ο αναστολέας της ριβονουκλεάσης. Μια προσεκτική εξέταση της ακολουθίας της πρωτεΐνης αποκαλύπτει ότι υπάρχουν **15** διαδοχικές επαναλήψεις μιας ακολουθίας 29 (τύπος A) ή 28 (τύπος B) καταλοίπων η οποία είναι **πλούσια σε λευκίνες**.



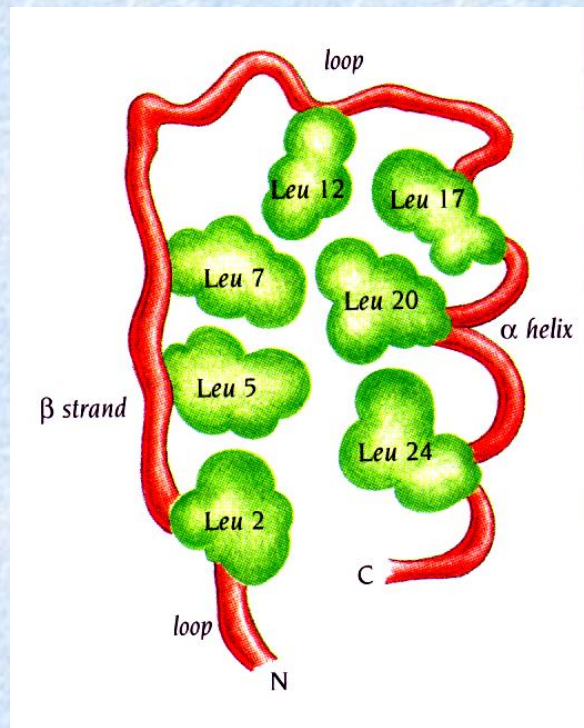
Το μοτίβο αναδίπλωσης horseshoe

Η ομόφωνη (consensus) ακολουθία των επαναλήψεων τύπου A και B δείχνει ότι και οι δυο τύποι χαρακτηρίζονται από ένα πρότυπο επανάληψης καταλοίπων λευκίνης. Κάθε επανάληψη δημιουργεί ένα δεξιόστροφο μοτίβο **β-βρόχος-α** στη δομή. Η σύνδεση των μοτίβων αυτών στη δομή γίνεται με τρόπο όμοιο με αυτόν στα α/β βαρέλια.



Το μοτίβο αναδίπλωσης horseshoe

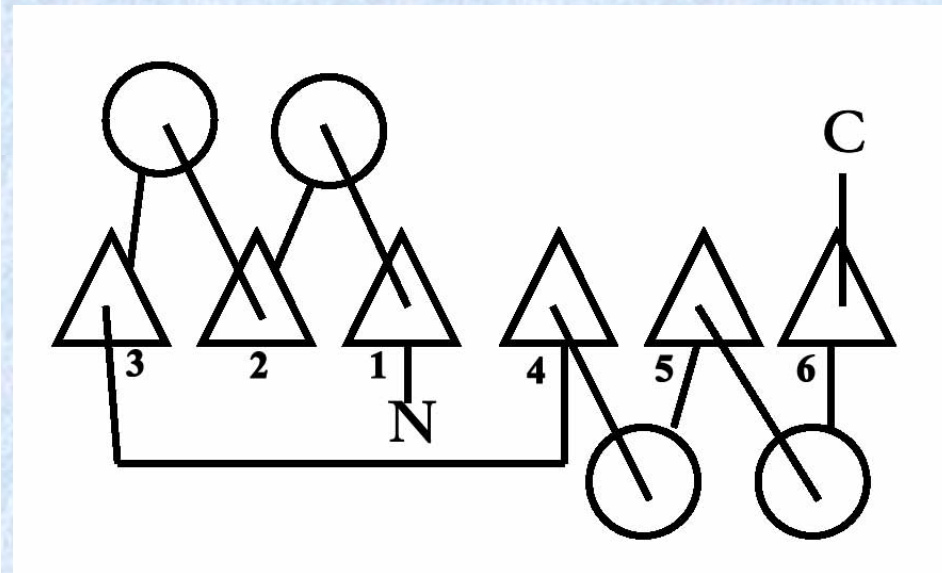
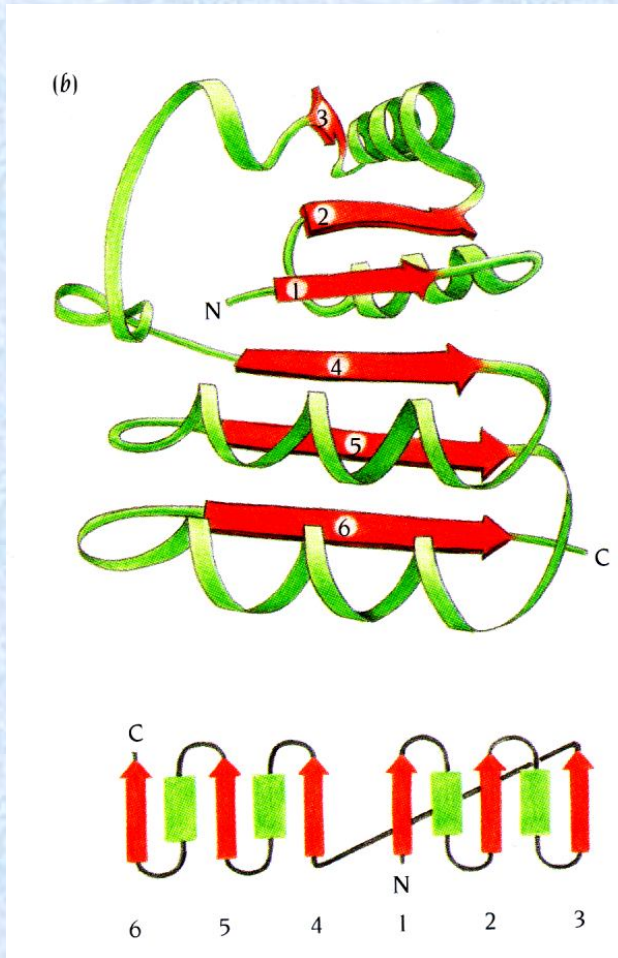
Τα κατάλοιπα λευκίνης παίζουν σημαντικό δομικό ρόλο δημιουργώντας τον υδρόφοβο πυρήνα μεταξύ του β-κλώνου και της α-έλικας στο επαναλαμβανόμενο μοτίβο β-βρόχος-α, όπως φαίνεται στο σχήμα.



Τα κατάλοιπα στις θέσεις 20 και 24 μπορεί να είναι διαφορετικά υδρόφοβα κατάλοιπα εκτός λευκίνης. Τα κατάλοιπα στις θέσεις 2, 5, 7 και 12 είναι πάντα λευκίνες.

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann

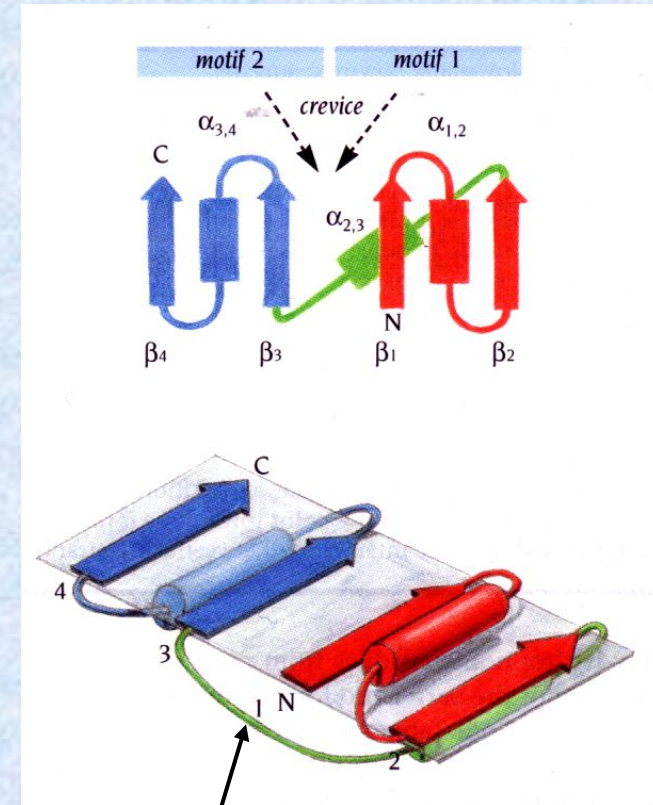
Η τρίτη κατηγορία μοτίβων α/β είναι τα μοτίβα κατά Rossman.



Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann

Σε αντίθεση με τα βαρέλια TIM, οι γεωμετρικές «επιλογές» για δομική ποικιλότητα σε πρωτεΐνες με μοτίβα Rossmann είναι πολύ περισσότερες. Έτσι:

1. Ο αριθμός των β-κλώνων ποικίλλει από 4 σε 10
2. Οι δύο κλώνοι με ανάστροφη (σταυρωτή) σύνδεση μπορούν να μην είναι διαδοχικοί στην ακολουθία, αν και το μοτίβο β-α-β όπου οι κλώνοι είναι διαδοχικοί είναι η βασική προτιμώμενη μονάδα.
3. Η β-πτυχωτή επιφάνεια μπορεί να είναι **μικτή**

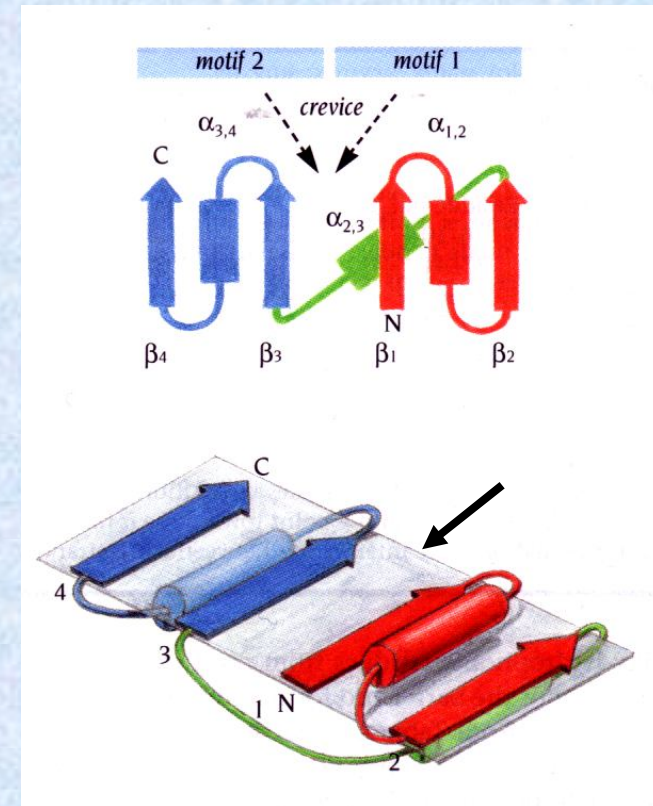


Ανάστροφη σύνδεση

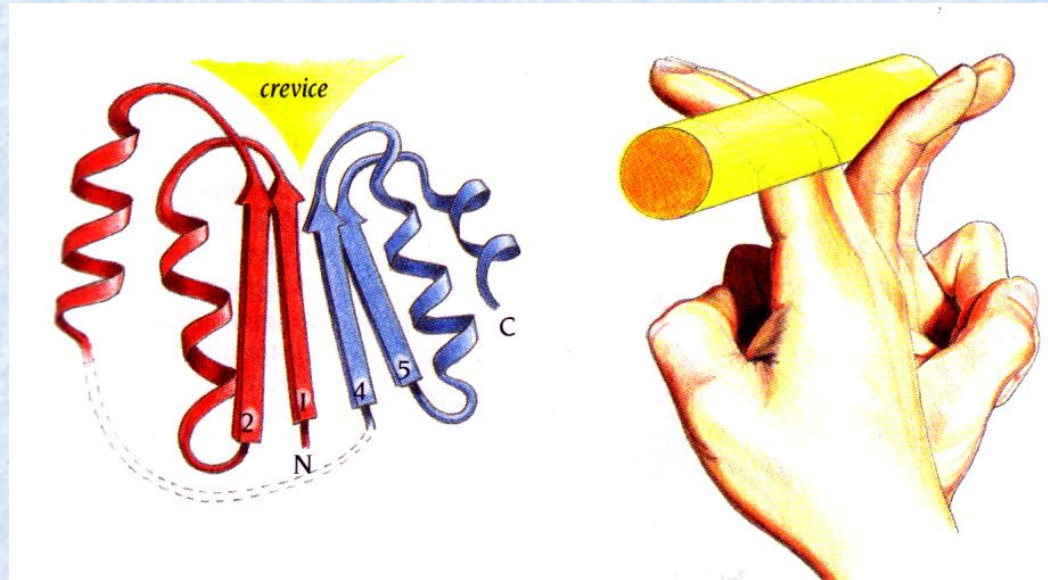
Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann

Στο σημείο που φαίνεται με το βέλος (δεξιά) δημιουργείται μια πιθανή εγκόλπωση διότι οι λούπες βρίσκονται πάνω και κάτω από το επίπεδο του β-πτυχωτού φύλλου. Οι περιοχές αυτές ονομάζονται **τοπολογικά σημεία διακόπτες** (topological switch)

Αυτό σημαίνει ότι θα μπορούσαν να προβλεφθούν πιθανές θέσεις της πτύχωσης (άρα και πιθανές θέσεις πρόσδεσης μορίων) σε μια πρωτεΐνη με μοτίβο Rossman από ένα απλό τοπολογικό της διάγραμμα.

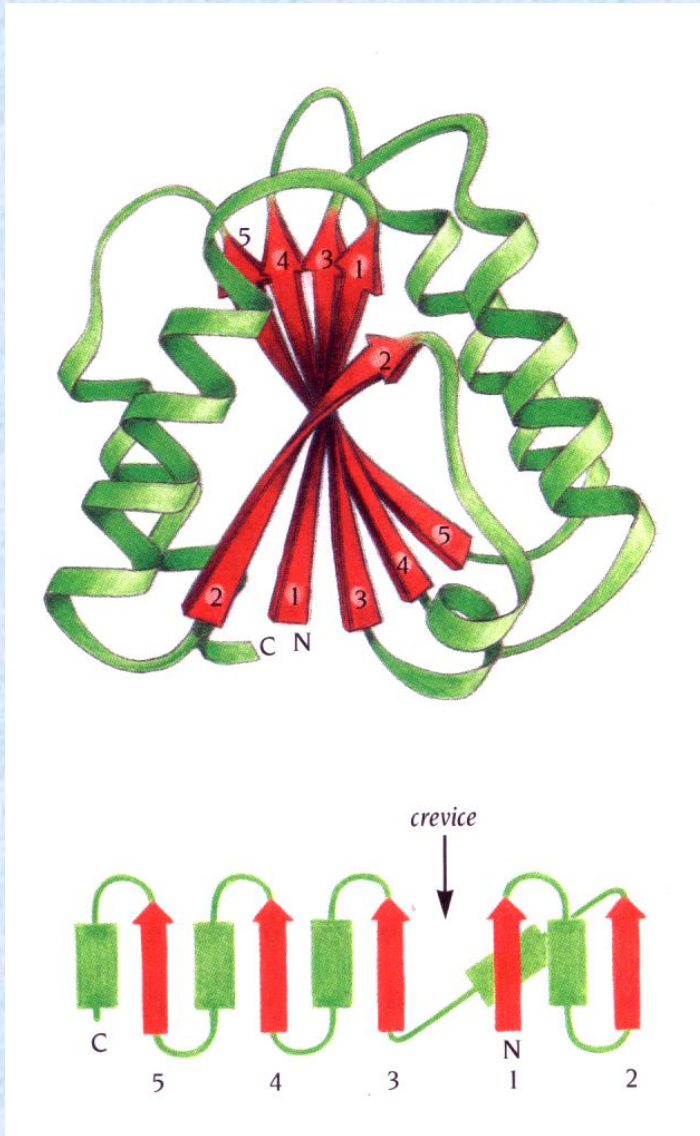


Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann



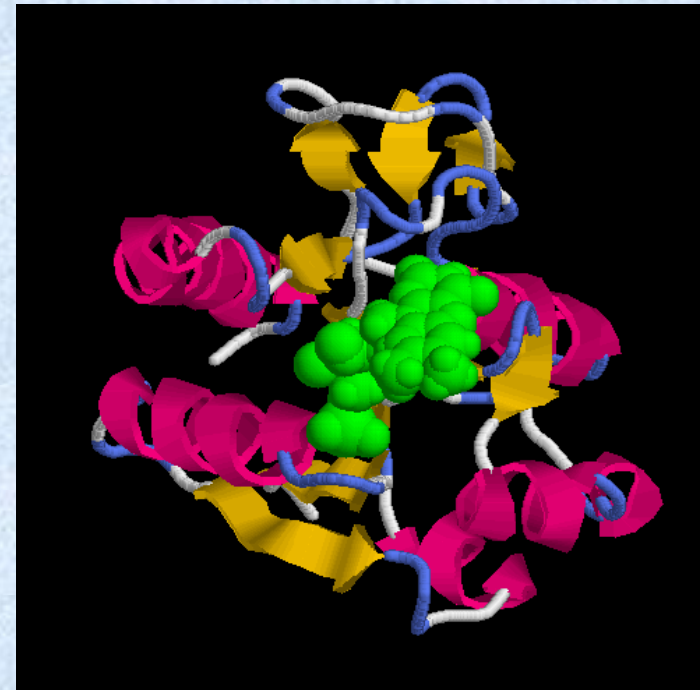
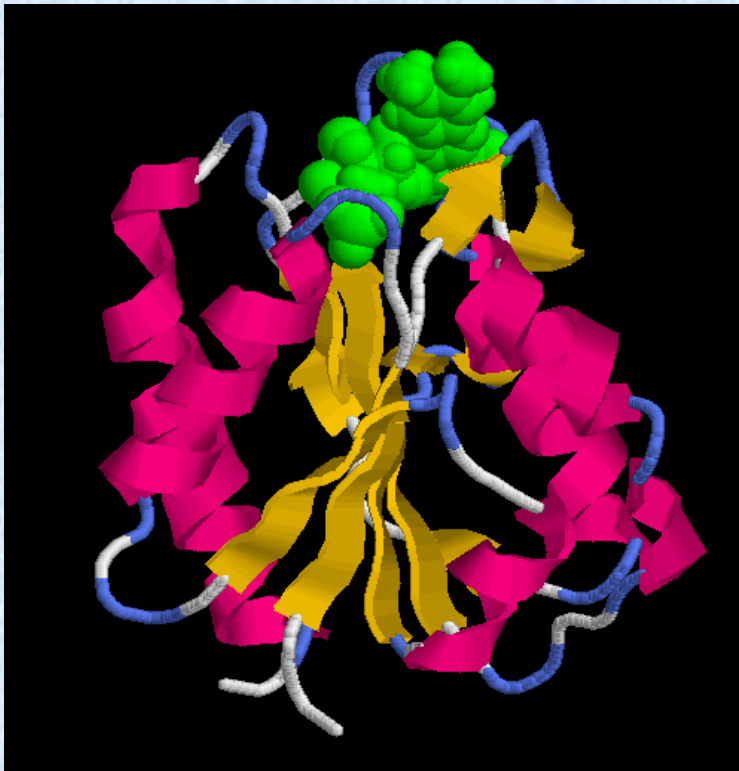
Πράγματι αυτό μπορεί να γίνει βλέποντας το σημείο που αλλάζει η διεύθυνση των βρόχων που εκβάλλουν από τα καρβοξυτελικά άκρα **γειτονικών** (όχι απαραίτητα διαδοχικών) στο τοπολογικό διάγραμμα β-κλώνων

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossman



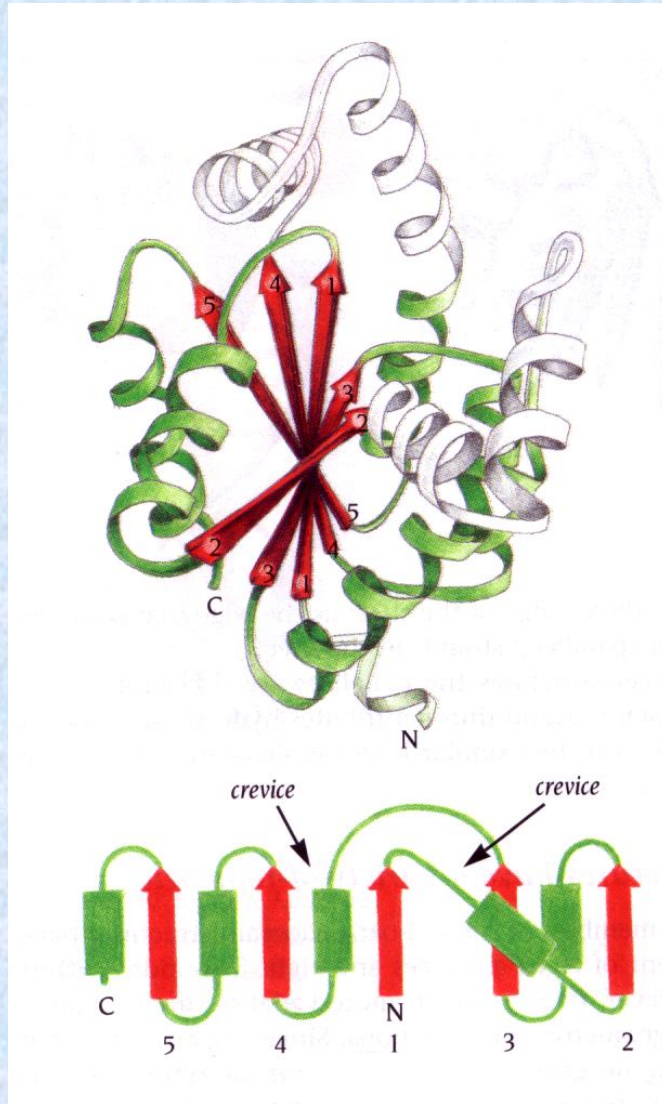
Ένα πρώτο παράδειγμα είναι το ένζυμο φλαβοδοξίνη (flavodoxin) το οποίο προσδένει FMN (flavin mononucleotide). Στην περίπτωση αυτή έχουμε μια πτύχωση στο σημείο που δείχνει το βέλος

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossman



Η θέση πρόσδεσης του FMN στην φλαβοδοξίνη

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann

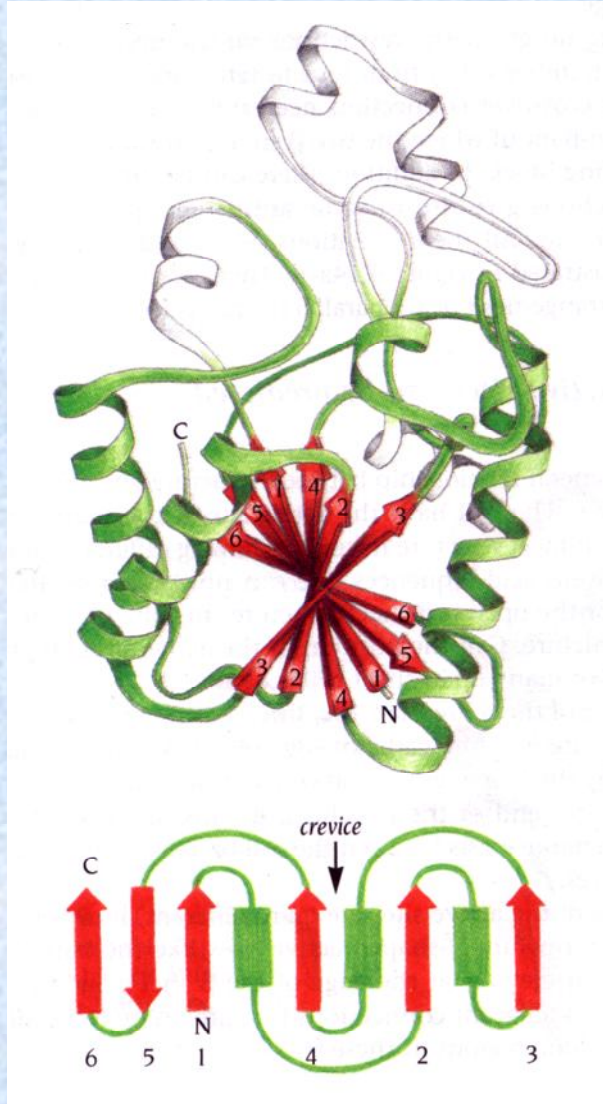


Το ένζυμο κινάση του
αδενυλικού (adenylate kinase)
καταλύει την αντίδραση:



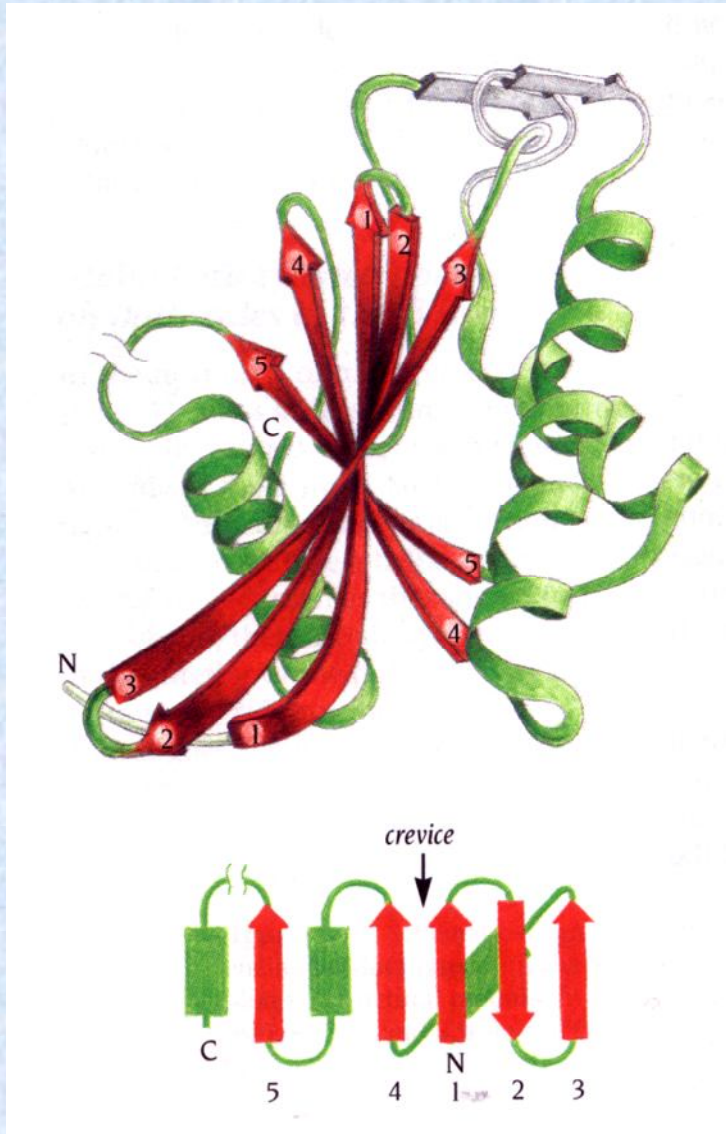
Εδώ, η δομή δείχνει δύο
πτυχώσεις. Η μία δένει το ATP
και η άλλη το AMP

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossman



Το ένζυμο της γλυκόλυσης, μούτάση του φωσφογλυκερινικού (phosphoglycerate mutase) έχει ένα σημείο διακόπτη το οποίο δημιουργεί μια σχισμή στην οποία προσδένεται το υπόστρωμα φωσφογλυκερινικό.

Το μοτίβο αναδίπλωσης Rossmann



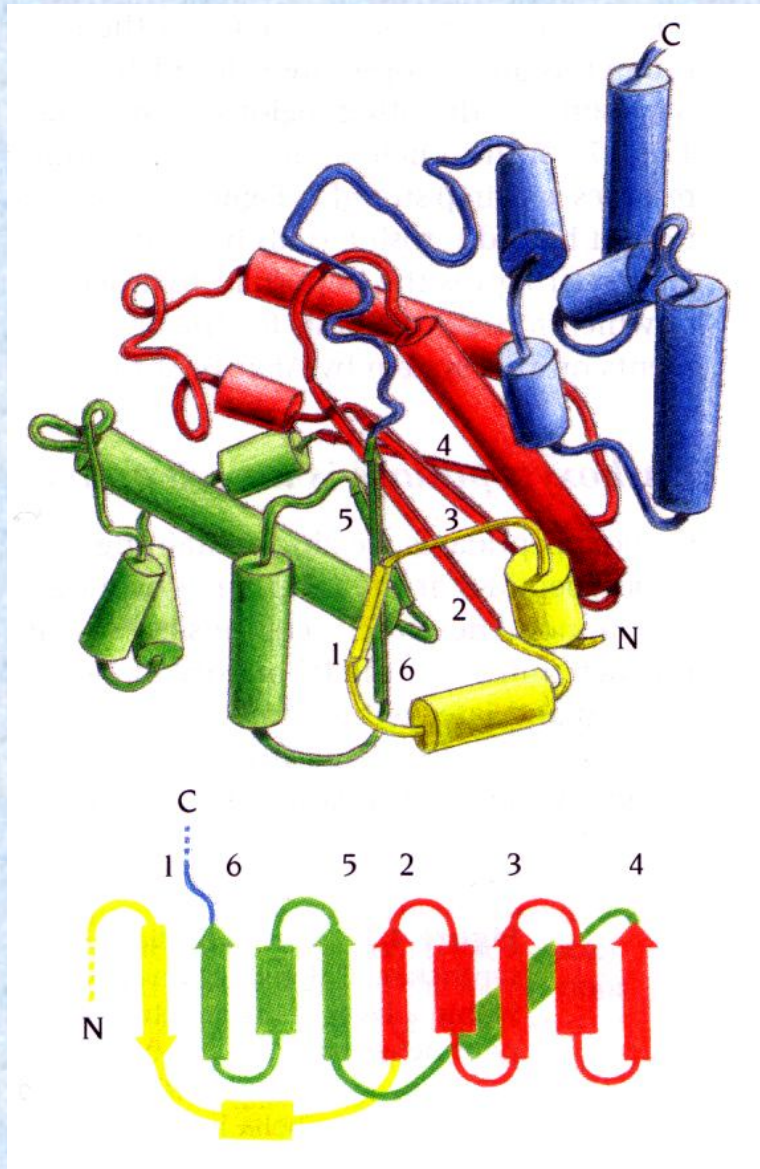
Μια δομική επικράτεια ενός διαφορετικού ενζύμου της γλυκόλυσης, της εξωκινάσης (hexokinase), το οποίο φωσφορυλιώνει μόρια γλυκόζης έχει επίσης ένα τοπολογικό διακόπτη

Θέση πρόσδεσης σε ένα βαρέλι TIM



Θέση πρόσδεσης της 2-φωσφογλυκερικού οξέως (πράσινο) στο ένζυμο triosephosphate isomerase (TIM)

Παραδείγματα δομών α/β

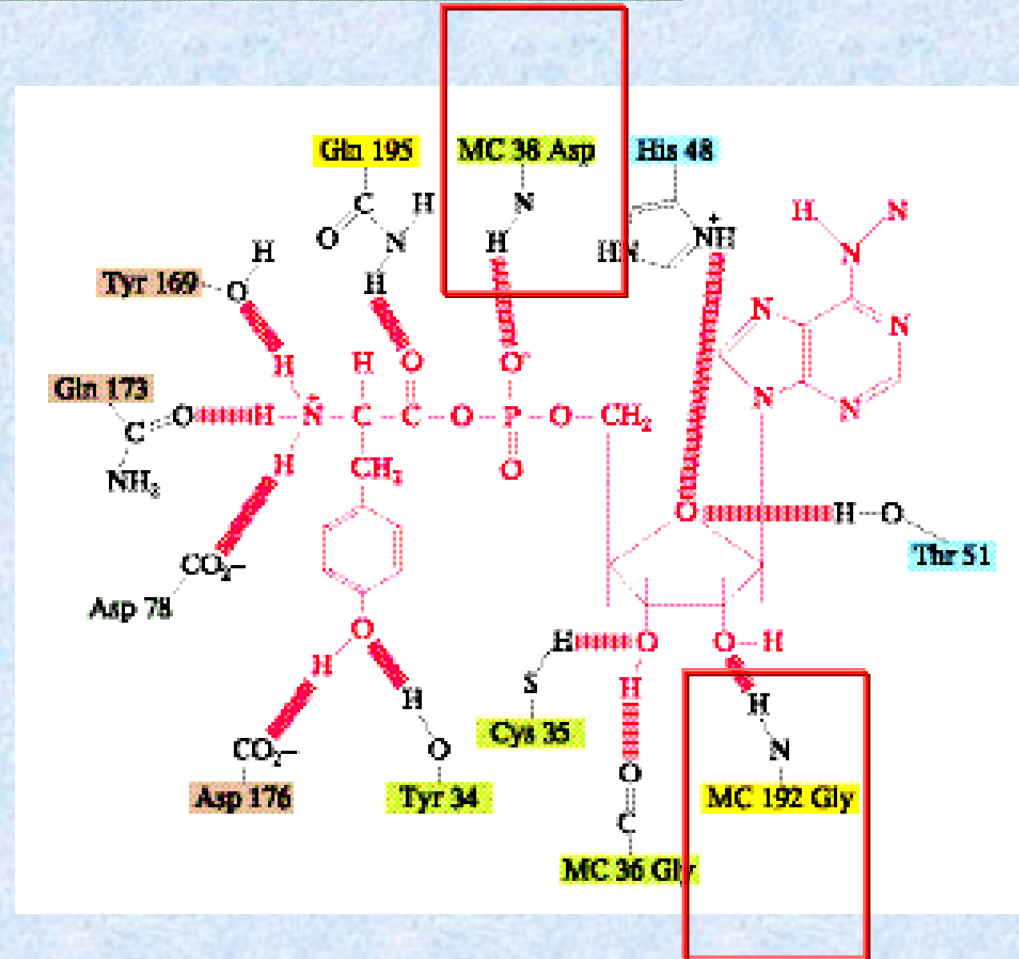
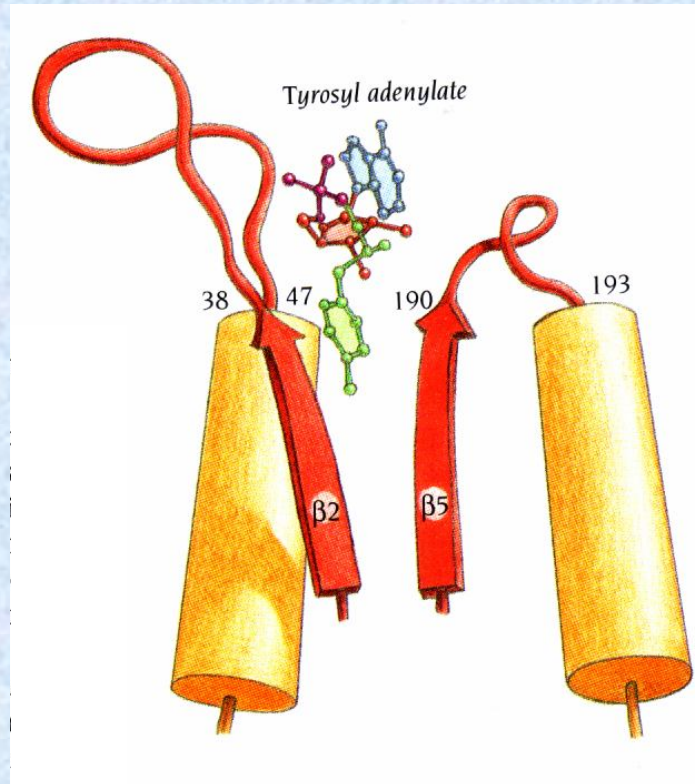


Το ένζυμο συνθετάση του τυροσυλο-tRNA (tyrosyl-tRNA synthase) έχει δύο δομικές επικράτειες, μία α/β και μία α.

Στην πρώτη φάση της ενζυμικής αντίδρασης το αμινοξύ τυροσίνη ενεργοποιείται με ATP και προκύπτει ένα τυροσυλο-αδενυλικό οξύ. Στη δεύτερη φάση το τυροσυλο-αδενυλικό οξύ συνδέεται στο tRNA και δημιουργείται το τελικό προϊόν, τυροσυλοακυλο-tRNA.

Μπορείτε να προβλέψετε που είναι το ενεργό κέντρο;

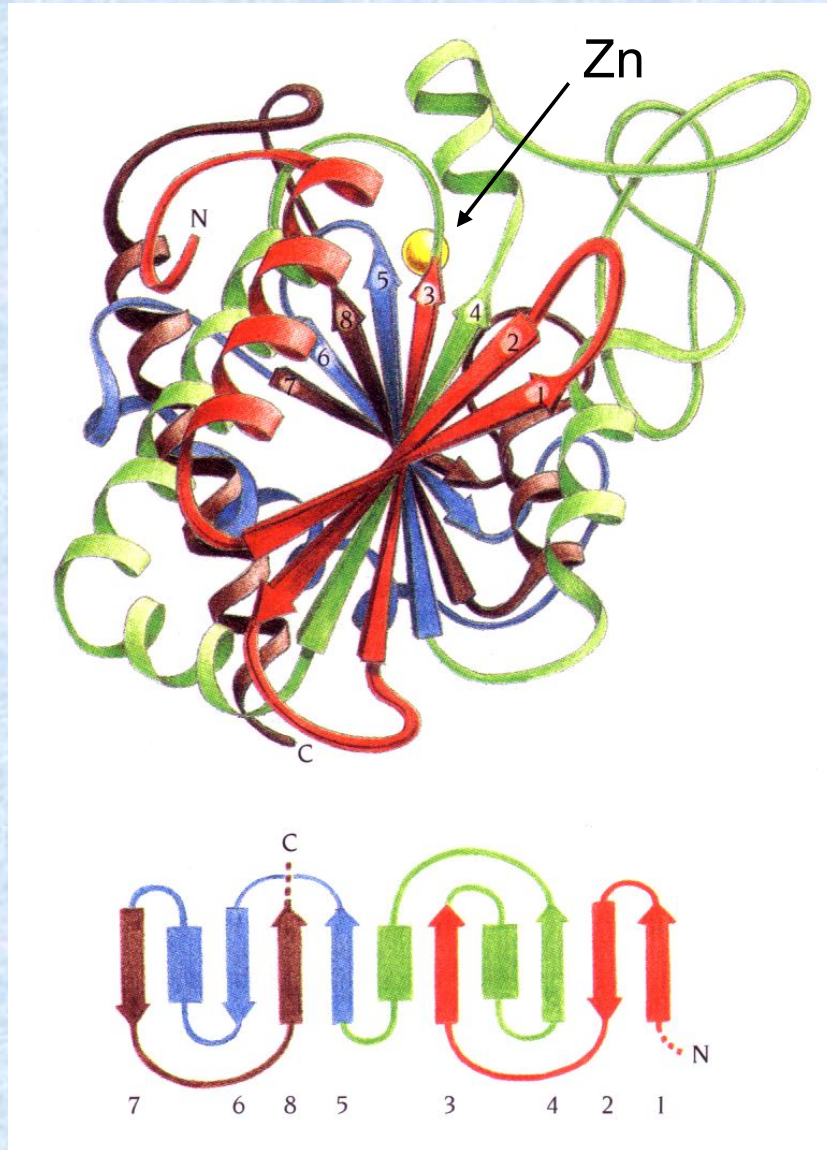
Παραδείγματα δομών α/β



Η πρόβλεψή σας ήταν σωστή;

Το ενεργό κέντρο βρίσκεται μεταξύ των καρβοξυλικών άκρων των κλώνων 2 και 5.

Παραδείγματα δομών α/β

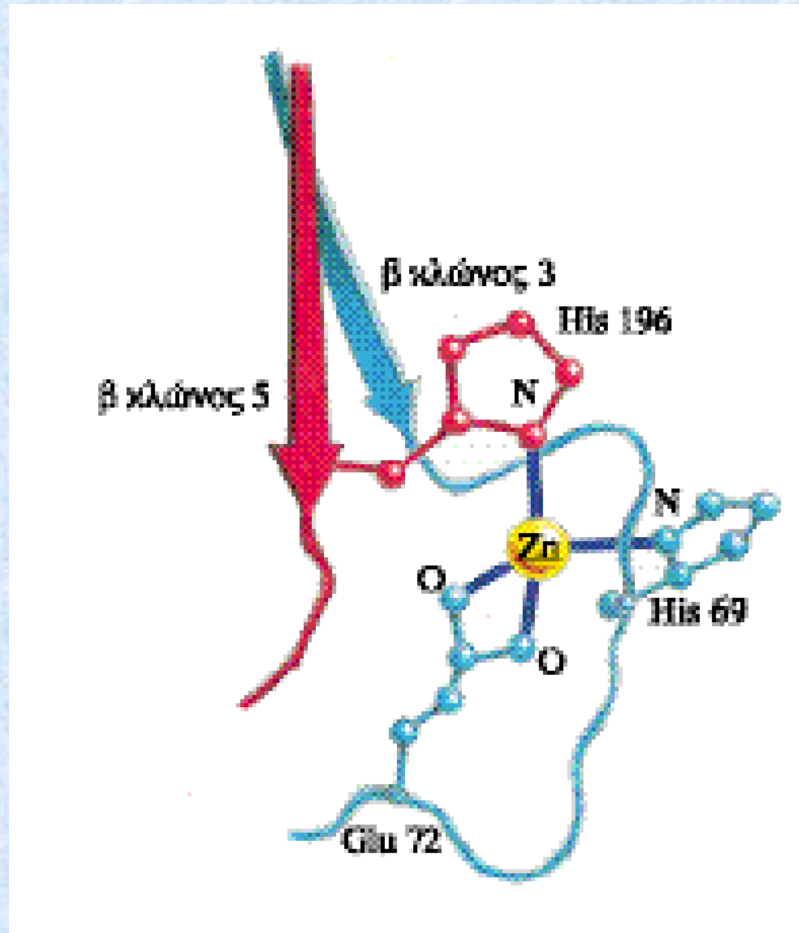


Το ένζυμο καρβοξυπεπτιδάση (carboxypeptidase) καταλύει την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών στα C-άκρα πεπτιδίων.

Το σημείο-διακόπτης βρίσκεται μεταξύ των κλώνων 3 και 5, όπου ακριβώς βρίσκεται και ένα ιόν ψευδαργύρου στη δομή το οποίο παίρνει μέρος στη κατάλυση

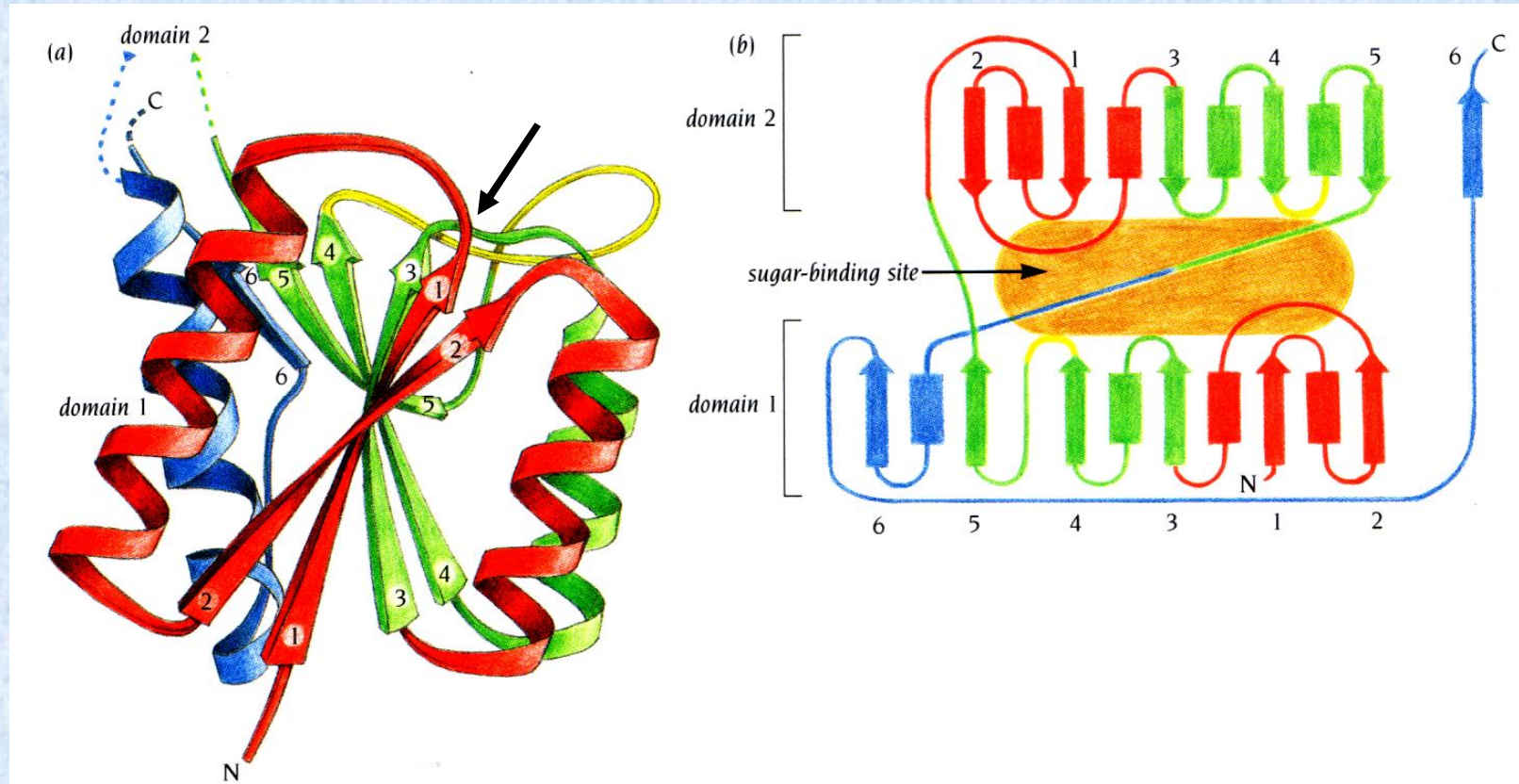
Παρατηρείστε ότι μόνο τέσσερις από τους οκτώ κλώνους είναι παράλληλοι

Παραδείγματα δομών α/β



Η θέση πρόσδεσης του
ιόντος ψευδαργύρου στην
καρβοξυπεπτιδάση

Παραδείγματα δομών α/β



Τέλος, η πρωτεΐνη που προσδένει και μεταφέρει αραβινόζη (arabinose-binding protein) έχει δύο όμοιες δομικά α/β επικράτειες με διάταξη όπως φαίνεται στο παραπάνω τοπολογικό διάγραμμα.

Που είναι το σημείο δέσμευσης της αραβινόζης;