

3. Πρωτεΐνες – Δομή και λειτουργία

Το τελικό προϊόν της έκφρασης των περισσότερων γονιδίων ενός οργανισμού είναι οι πρωτεΐνες. Στο Κεφάλαιο 2 αναλύσαμε τη σύνθεσή τους με τη δημιουργία πεπτιδικών δεσμών μεταξύ των αμινοξέων αλλά στοιχεία της λειτουργίας τους. Σε αυτό το Κεφάλαιο θα δούμε σε μεγαλύτερο βάθος τον τρόπο διεύθετης των πρωτεϊνών στο χώρο και το πώς η δομή καθορίζει τη λειτουργία τους. Για τη διευκόλυνση της μελέτης των πρωτεϊνών έχουμε χωρίσει τη δομή σε 4 ξεχωριστά επίπεδα. Ωστόσο πρέπει από την αρχή να γίνει σαφές ότι οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται στο χώρο σχεδόν ταυτόχρονα με την παραγωγή τους, δηλαδή με την προσθήκη του κάθε αμινοξέος ή μιας σειράς αυτών.

3.1 Πρωτοταγής δομή

Το πρώτο επίπεδο μελέτης της δομής των πρωτεϊνών αποτελεί την **αλληλουχία** των αμινοξέων. Η **πρωτοταγής δομή**, όπως ονομάζεται, αποτελεί τη σειρά με την οποία είναι συνδεδεμένα τα αμινοξέα μεταξύ τους, ως να ήταν η πρωτεΐνη ένα ευθύγραμμο τμήμα. Για την αναπαράσταση της πρωτοταγούς δομής χρησιμοποιούμε τον κώδικα του ενός γράμματος και λιγότερο συχνά τον κώδικα των τριών γραμμάτων των αμινοξέων. Δηλαδή αν ένα πεπτίδιο αποτελείται στη σειρά από τα αμινοξέα σερίνη, λευκίνη, λευκίνη, γλυκίνη τότε η πρωτοταγής του δομή με βάση τον κώδικα του ενός γράμματος, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.1, θα είναι «SLLG».

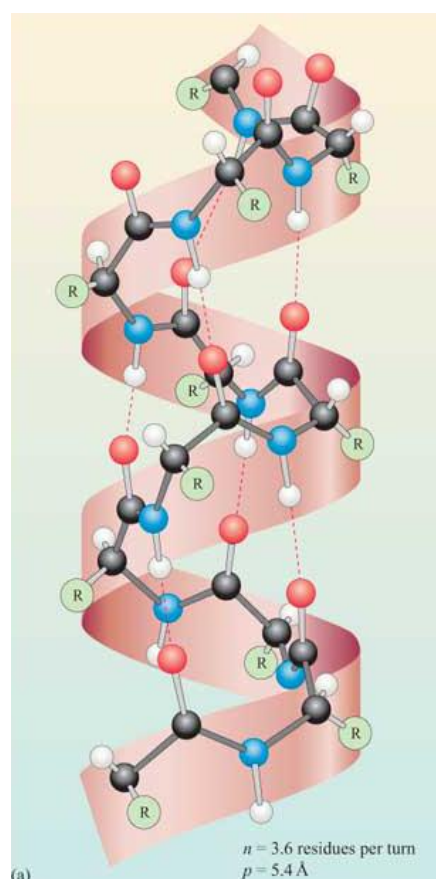
Πίνακας 3.1 Ο κώδικας του ενός και των τριών γραμμάτων των αμινοξέων.

Αμινοξέα	Κώδικας τριών γραμμάτων	Κώδικας ενός γράμματος
Γλυκίνη	Gly	G
Αλανίνη	Ala	A
Βαλίνη	Val	V
Λευκίνη	Leu	L
Ισολευκίνη	Ile	I
Θρεονίνη	Thr	T
Σερίνη	Ser	S
Μεθειονίνη	Met	M
Κυστεΐνη	Cys	C
Προλίνη	Pro	P
Φαινυλαλανίνη	Phe	F
Τυροσίνη	Tyr	Y
Τρυπτοφάνη	Trp	W
Ιστιδίνη	His	H
Λυσίνη	Lys	K
Αργινίνη	Arg	R
Ασπαρτικό	Asp	D
Γλουταμινικό	Glu	E
Ασπαράγίνη	Asn	N
Γλουταμίνη	Gln	Q

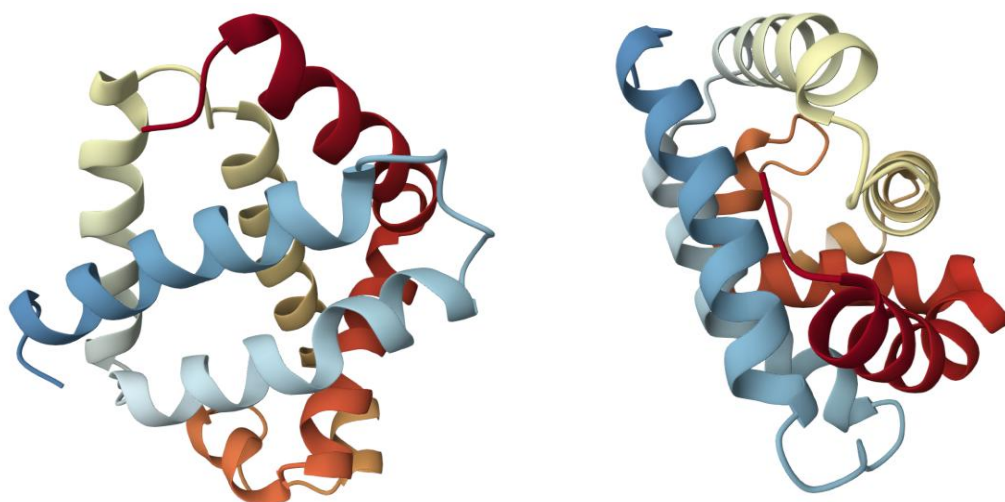
3.2 Δευτεροταγής δομή

Από τις πιο καθοριστικές για τη δομή αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αμινοξέων μια πρωτεΐνης είναι οι δεσμοί υδρογόνου που δημιουργούνται μεταξύ των ομάδων που συμμετέχουν στον σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού. Η **δευτεροταγής δομή**, όπως ονομάζεται, εξαρτάται μόνο από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της **ιμινομάδας** ($=\text{NH}$) και της **καρβονυλομάδας** ($=\text{CO}$) που σχηματίζουν το πεπτιδικό δεσμό μετά τη συμπύκνωση. Η δευτεροταγής δομή ανάλογα με τη σύνθεση της κάθε περιοχής της πρωτεΐνης σε αμινοξέα μπορεί να έχει δύο δομικές μορφές, την **α -έλικα** και το **β -πτυχωτό φύλλο**, ενώ **αγκύλες** βρίσκονται μεταξύ αυτών των δομών. Οι αγκύλες αντιστοιχούν σε τμήματα που δεν έχουν δομή στο δευτεροταγές επίπεδο.

Η α -έλικα, που ονομάζεται και έλικα Pauling–Corey–Branson από τους ερευνητές που την χαρακτήρισαν, αποτελείται από αμινοξέα που συστρέφονται γύρω από ένα νοητό άξονα όπως οι σπείρες ενός ελατηρίου (**Εικόνα 3.1**). Το βήμα της έλικας είναι 3,6 αμινοξέα. Το βήμα της έλικας είναι ακριβώς 4 αμινοξέα καθώς η καρβονυλομάδα του ενός αμινοξέος δεν αλληλεπιδρά με την ίδια ομάδα του 4^{ου} αμινοξέος για να κλείσει ένα πλήρη κύκλος, αλλά με την ιμινομάδα που βρίσκεται δομικά κατά 4/10 του αμινοξέος πιο κοντά (Εικόνα 3.1). Σε μια α -έλικα όλα τα αμινοξέα της συμμετέχουν στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου, που σημαίνει ότι ο κάθε πλήρης κύκλος σχηματίζεται από 4 δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του κάθε αμινοξέος i και του αμινοξέος $i + 4$. Στη δομή της α -έλικας οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων παίρνουν θέση περιφερειακά της σπείρας δηλαδή προς την εξωτερική της επιφάνεια. Το κέντρο της σπείρας είναι τόσο συμπαγές που δεν χωράνε άλλα μόρια.



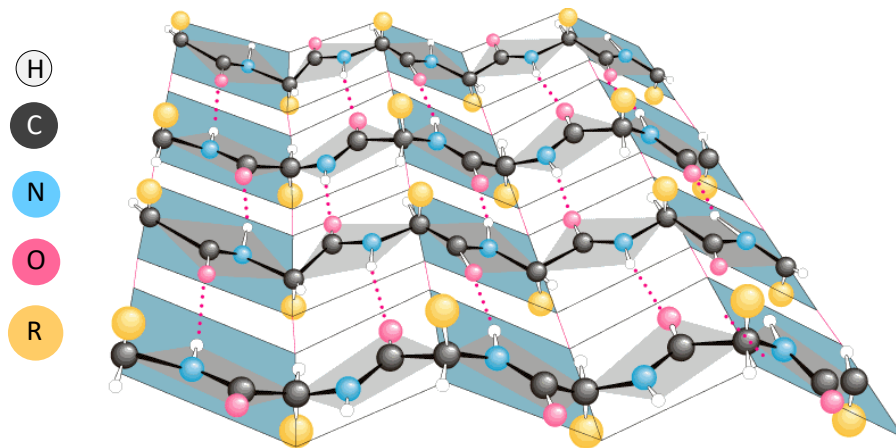
Εικόνα 3.1 Η δομή της α-έλικας. Η α-έλικα, ένα θεμελιώδες δομικό μοτίβο στις πρωτεΐνες, αποτελεί μια δεξιά ελικοειδή διαμόρφωση όπου μια ομάδα $=NH$ του πεπτιδικού δεσμού αλληλεπιδρά με την ομάδα $=CO$ ενός άλλου αμινοξέος με βήμα 3.6 αμινοξέων.



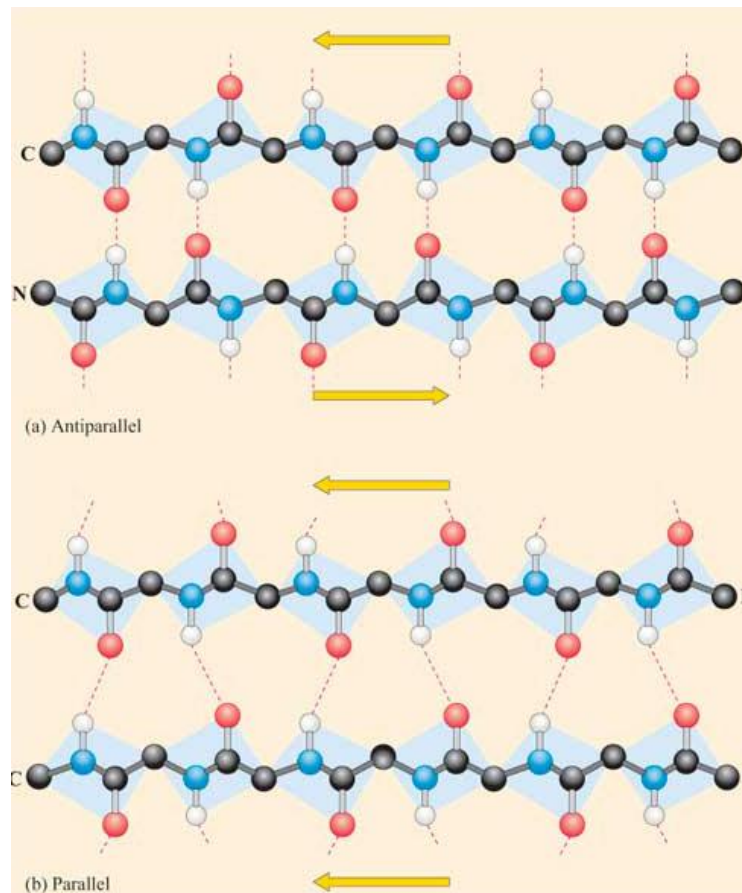
Εικόνα 3.2 Η δομή της μυοσφαιρίνης. Η μυοσφαιρίνη είναι μια μονομερής πρωτεΐνη που βρίσκεται κυρίως στον μυϊκό ιστό για τη μεταφορά του οξυγόνου. Η μυοσφαιρίνη αποτελείται από 6 α-έλικες. Μεταξύ των ελίκων βρίσκονται πιο χαλαρές δομές που ονομάζονται αγκύλες. Στην εικόνα φαίνονται δύο όψεις (περιστροφή) της δομής της μυοσφαιρίνης στο χώρο με την κάθε α-έλικα να έχει άλλο χρώμα. Η δομή της εικόνας είναι η τελική διαμόρφωση στο χώρο που εκτός από τη δευτεροταγή έχει συμπεριλάβει και την τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης. Η δομή είναι διαθέσιμη στην βάση PDB (<https://www.rcsb.org/3d-view/5MBA/1>)

Ενώ η α-έλικα δημιουργείται από αμινοξέα που είναι συνεχόμενα στην πρωτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης, το β-πτυχωτό φύλλο μπορεί να συνδυάσει τμήματα από διαφορετικά σημεία της πρωτεΐνης. Το β-πτυχωτό φύλλο δημιουργείται με τη βοήθεια δεσμών υδρογόνου μεταξύ αμινοξέων που βρίσκονται σε δύο ή περισσότερα τμήματα της πρωτεΐνης που τοποθετούνται δίπλα δίπλα μεταξύ τους, με τη μορφή φύλλου. Και στο β-πτυχωτό φύλλο οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των αμινοξέων δημιουργούνται από τις χημικές ομάδες που συμμετέχουν στον πεπτιδικό δεσμό. Η ιδιαίτερη πτυχωτή μορφή του β-πτυχωτού φύλλου οφείλεται στις γωνίες που παίρνουν τα αμινοξέα όταν δημιουργούν μια πολυπεπτιδική αλυσίδα. Με τις γωνίες αυτές που δημιουργούν μια μορφή ζικ ζακ τα αμινοξέα εκθέτουν εναλλάξ στη μία ή στην άλλη πλευρά της πολυπεπτιδικής αλυσίδας τις ομάδες $=NH$ και $=CO$. Δύο ή παραπάνω τμήματα μιας πρωτεΐνης που μπορούν να εναλλάσσονται με συμπληρωματικό τρόπο τις ομάδες αυτές έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν στη σειρά δεσμούς υδρογόνου (Εικόνα 3.2). Τα τμήματα της πρωτεΐνης που δημιουργούν ένα β-πτυχωτό φύλλο μπορούν να έχουν παράλληλη ή αντιπαράλληλη κατεύθυνση μέσα στην πρωτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης. Δηλαδή η κατεύθυνσή τους να είναι είτε κοινή είτε αντίρροπη μέσα στην αλληλουχία. Στα παράλληλα β-πτυχωτά φύλλα, όλα τα τμήματα που συμμετέχουν κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση, ενώ στα αντιπαράλληλα φύλλα, τα τμήματα κινούνται σε αντίθετες

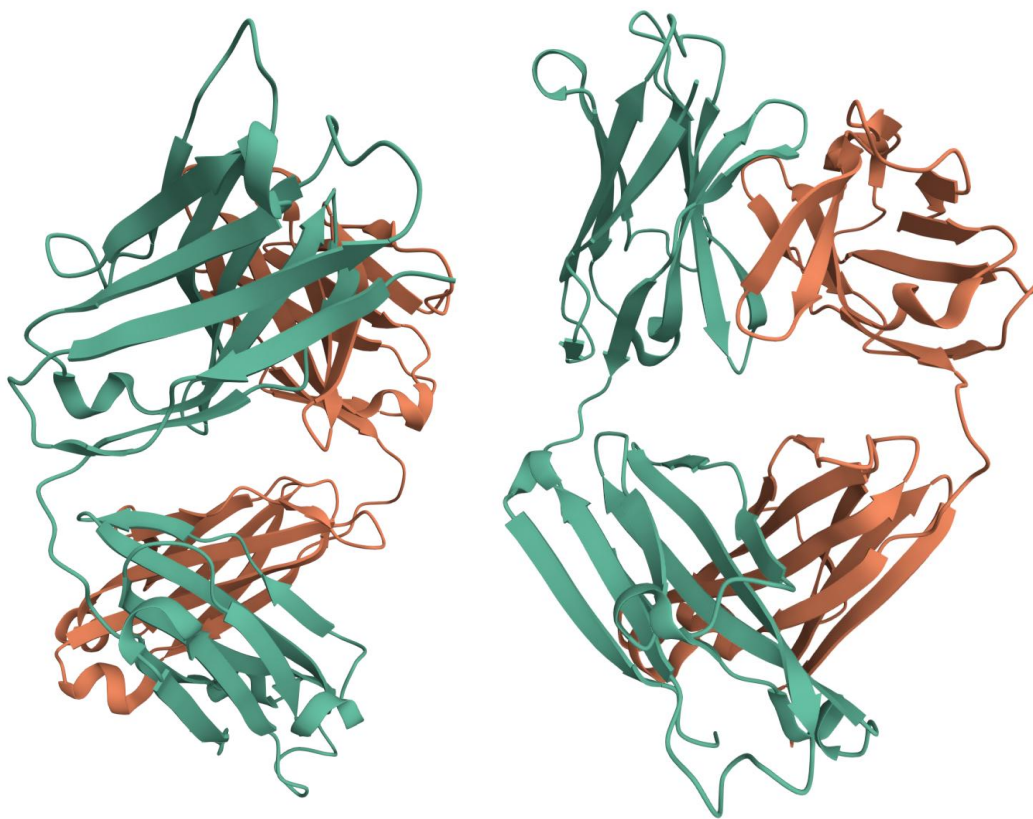
κατευθύνσεις. Στα μικτά β-πτυχωτά φύλλα περιέχονται και παράλληλα και αντιπαράλληλα τμήματα.



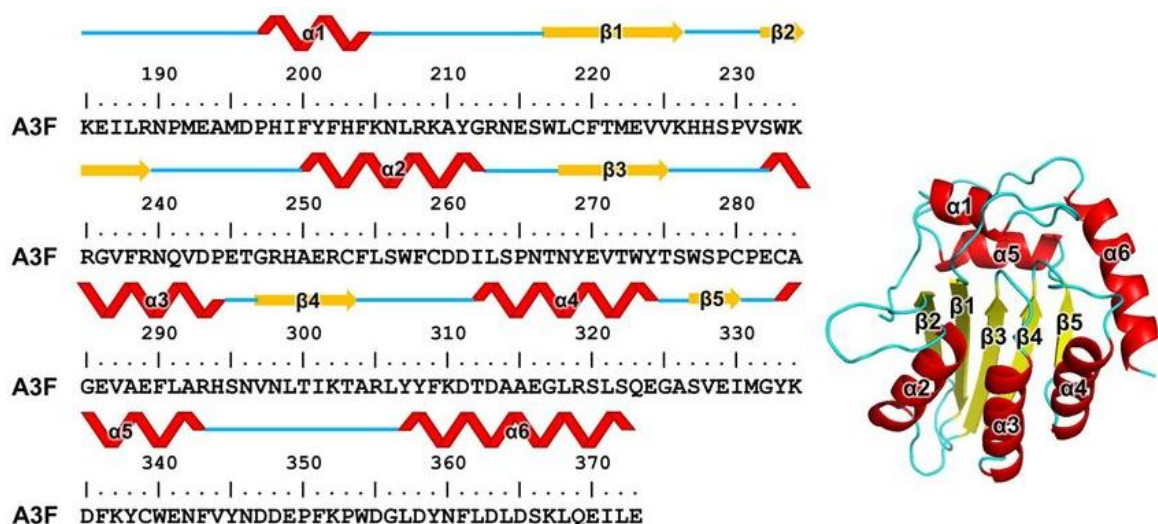
Εικόνα 3.3 Η δομή του β-πτυχωτού φύλλου. Η β-πτυχωτό φύλλο, ένα θεμελιώδες δομικό μοτίβο στις πρωτεΐνες, αποτελεί μια πτυχωμένη διαμόρφωση μεταξύ τμημάτων μιας πρωτεΐνης που έχουν διευθετηθεί με τέτοιο τρόπο ώστε να δίνουν την αίσθηση ενός φύλλου χαρτιού. Οι ομάδες $=NH$ αλληλεπιδρούν με δεσμούς υδρογόνου με τις ομάδες $=CO$ δύο ή περισσότερων τμημάτων της πρωτεΐνης που τοποθετούνται απεναντίας. Οι πλευρικές ομάδες R τοποθετούνται εναλλάξ επάνω και κάτω από το φύλλο.



Εικόνα 3.4 Παράλληλη και αντιπαράλληλη διαμόρφωση του β-πτυχωτού φύλλου. Το β-πτυχωτό φύλλο δημιουργείται από τμήματα της πρωτεΐνης που έχουν την ίδια ή αντίρροπη κατεύθυνση.



Εικόνα 3.5 Η δομή του τμήματος ενός αντισώματος IgG που αναγνωρίζει το αντιγόνο. Η μεταβλητή περιοχή ενός αντισώματος, δηλαδή η περιοχή εκείνη που αλλάζει για να αναγνωρίζει ένα διαφορετικό αντιγόνο αποτελείται κυρίως από πολλά β-πτυχωτά φύλλα. Μεταξύ των τμημάτων που συγκροτούν τα β-πτυχωτά φύλλα βρίσκονται πιο χαλαρές δομές που ονομάζονται αγκύλες. Στην εικόνα φαίνονται δύο όψεις (περιστροφή) της δομής της μεταβλητής περιοχής ενός αντισώματος IgG (**Βλέπε Κεφάλαιο XX**) ποντικού στο χώρο. Η δομή αποτελείται από δύο υπομονάδες με την κάθε με διαφορετικό χρώμα. Τα βέλη στα τμήματα των β-πτυχωτών φύλλων δείχνουν την κατεύθυνση. Όπως παρατηρείτε όλα έχουν αντιπαράλληλη διεύθυνση. Η δομή της εικόνας είναι η τελική διαμόρφωση στο χώρο που εκτός από τη δευτεροταγή έχει συμπεριλάβει και την τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης. Η δομή είναι διαθέσιμη στην βάση PDB (<https://www.rcsb.org/3d-view/8VEV/1>)



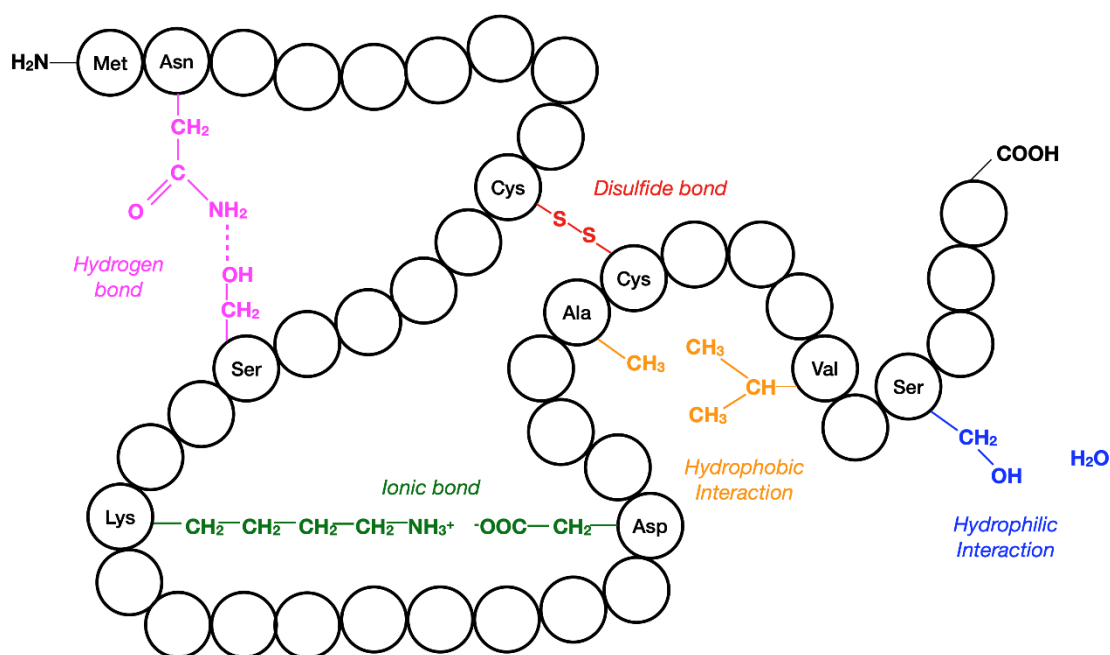
Εικόνα 3.5 Αναπαράσταση της δευτεροταγούς δομής πάνω στην πρωτοταγή. Καθώς η δευτεροταγής δομή εμπλέκει αμινοξέα που βρίσκονται στη σειρά σε μια πρωτεΐνη είναι δυνατή η αναπαράσταση της δευτεροταγούς δομής πάνω στην πρωτοταγή. Ακόμα και όταν αφορά στα β-φύλλα αλληλεπιδράσεις με άλλα τμήματα αυτές εκτείνονται κατά μήκος αρκετών συνεχόμενων αμινοξέων στην αλληλουχία της πρωτεΐνης. Με κόκκινο είναι χρωματισμένες οι α-έλικες (α1-α6), με κίτρινο τα τμήματα του β-πτυχωτού φύλλου (β1-β5) και με κυανό οι αγκύλες.

3.3 Τριτοταγής δομή

Οι αλληλεπιδράσεις εντός του μορίου της πρωτεΐνης που δημιουργούνται με τη συμμετοχή των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων αποτελούν το τρίτο επίπεδο στην ανάλυση της δομής μιας πρωτεΐνης. Οι αλληλεπιδράσεις της τριτοταγούς δομής είναι αυτές που οδηγούν στην τελική αναδίπλωση της πρωτεΐνης στο χώρο. Πλευρικές ομάδες από διάφορα σημεία της αλληλουχίας μιας πρωτεΐνης μπορούν να συμμετέχουν σε μια αλληλεπίδραση στο επίπεδο της τριτοταγούς δομής. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνουν **πολικές αλληλεπιδράσεις**, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, **ιοντικούς δεσμούς**, **δισουλφιδικούς δεσμούς** και **υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις**.

Πολικές πλευρικές ομάδες σε μια πρωτεΐνη έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους με πολικές αλληλεπιδράσεις, δηλαδή αλληλεπιδράσεις που οφείλονται στην ανισοκατανομή των φορτίων σε δύο πλευρικές ομάδες. Συχνά αναφέρονται και ως αλληλεπιδράσεις διπόλου. Οι πολικές αλληλεπιδράσεις ανάλογα με την ένταση της ανισοκατανομής των φορτίων εμφανίζουν μια ποικιλία ισχύος. Συνήθως αυτές οι αλληλεπιδράσεις είναι ασθενείς αν και υπάρχουν περιπτώσεις, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, που η δύναμη της αλληλεπίδρασης είναι ισχυρότερη. Όταν στις αλληλεπιδράσεις συμμετέχουν οι φορτισμένες ομάδες των όξινων και βασικών αμινοξέων τότε οι αλληλεπιδράσεις ονομάζονται ιοντικοί δεσμοί ή **δεσμοί άλατος**. Οι πολικές και φορτισμένες ομάδες συχνότερα συναντώνται στην επιφάνεια μιας πρωτεΐνης καθώς έχουν ισχυρό υδρόφιλο χαρακτήρα. Στον αντίποδα οι μη πολικές ή απλώς υδρόφοβες πλευρικές ομάδες προσπαθώντας να αποφύγουν το νερό αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με τις λεγόμενες

υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις δημιουργούνται με τη βοήθεια **δυνάμεων van der Waals** ανάμεσα στις υδρόφοβες πολικές ομάδες που είναι σε στενή επαφή μεταξύ τους. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις τείνουν να μεταφέρουν τις ομάδες που συμμετέχουν στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης όπου και είναι προστατευμένες από το νερό. Από τους δεσμούς που συμμετέχουν στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών οι μόνοι που είναι ομοιοπολικοί είναι οι δισουλφιδικοί δεσμοί. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί σχηματίζονται από την αντίδραση δύο πλευρικών ομάδων κυστεΐνης ανάμεσα σε δύο άτομα θείου. Ενώ οι πολικοί δεσμοί και οι δεσμοί άλατος εξαρτώνται κυρίως από το pH και την αλατότητα του διαλύματος, οι δισουλφιδικοί δεσμοί εξαρτώνται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Σε οξειδωτικές συνθήκες ένας δισουλφιδικός δεσμός είναι ισχυρός ενώ σε αναγωγικές συνθήκες διασπάται.



Εικόνα 3.6 Οι αλληλεπιδράσεις που διαμορφώνουν την τριτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης. Στην εικόνα παρουσιάζεται μια υποθετική πρωτεΐνη 42 αμινοξέων από το αμινοτελικό μέχρι το καρβοξυτελικό άκρο. Αντιπροσωπευτικά αμινοξέα και πλευρικές τους ομάδες συμμετέχουν σε παραδείγματα αλληλεπιδράσεων που περιλαμβάνουν ένα δεσμό υδρογόνου μεταξύ ασπαργίνης και σερίνης, έναν ιοντικό δεσμό μεταξύ λυσίνης και ασπαρτικού, ένα δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ δύο κυστεϊνών και μια υδρόφοβη αλληλεπίδραση μεταξύ αλανίνης και βαλίνης.

Στις περισσότερες πρωτεΐνες, η τριτοταγής δομή φέρνει κοντά μεταξύ τους αμινοξέα για τη δημιουργία ξεχωριστών συμπαγών δομικών μονάδων, των ονομαζόμενων **επικράτειών**. Οι επικράτειες έχουν συχνά τη δική τους λειτουργία που είναι ξεχωριστή από την υπόλοιπη πρωτεΐνη ή τις άλλες επικράτειες, αν και τις περισσότερες φορές οι επικράτειες συνεργάζονται για την ίδια λειτουργία. Υπάρχουν ωστόσο περιπτώσεις στις οποίες μια επικράτεια είναι τόσο ανεξάρτητη δομικά και λειτουργικά από την υπόλοιπη πρωτεΐνη που μπορεί να δράσει και μόνη της. Μια πρωτεΐνη έχοντας παραπάνω από μία λειτουργικές επικράτειες μπορεί να φέρει στο ίδιο μόριο δύο ή περισσότερα λειτουργικά χαρακτηριστικά.

3.4 Τεταροταγής δομή

Πολύ συχνά οι πρωτεΐνες αποτελούνται από παραπάνω από μία πολυπεπτιδικές αλυσίδες, τις υπομονάδες. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι δύο ή περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με πολλούς δεσμούς που περιλαμβάνουν όλους τους τύπους δεσμών και αλληλεπιδράσεων της τριτοταγούς δομής. Η αλληλεπίδραση μεταξύ δύο πολυπεπτιδικών αλυσίδων έχει ως αποτέλεσμα το συνταίριασμα των δύο επιμέρους δομών που συχνά οδηγεί σε μικρές ή μεγαλύτερες αλλαγές στην τελική τους διαμόρφωση, σε σχέση με τη διαμόρφωση που είχαν ως ξεχωριστές υπομονάδες. Συχνά οι πρωτεΐνες συμμετέχουν σε μεγάλα σύμπλοκα για την επίτευξη ενός κοινού στόχου αλλά και για την καλύτερη οργάνωση συμπληρωματικών δράσεων.

Από την πρωτοταγή στην τριτοταγή δομή

Εδώ και δεκαετίες ήταν γνωστό ότι η πληροφορία για την τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών κρύβεται κυρίως στην αλληλουχία των αμινοξέων δηλαδή στην πρωτοταγή δομή μιας πρωτεΐνης. Ωστόσο για πάρα πολλά χρόνια το πλήθος και η πολυπλοκότητα των αλληλεπιδράσεων σε ένα μόριο πρωτεΐνης περιόρισε σε λίγες μόνο επιτυχημένες περιπτώσεις πρόβλεψη της δομής μιας πρωτεΐνης. Ο υπολογισμός των περιοχών α-έλικας και β-πτυχωτού φύλλου αποτελούσε την πιο εύκολη προσέγγιση για την πρόβλεψη της δομής. Συχνά η πρόβλεψη της δομής μιας πρωτεΐνης γινόταν με τη σύγκρισή της με άλλες παρόμοιες ή εξελικτικά συγγενικές. Η συνεχής κατάθεση νέων δομών σε βάσεις δεδομένων μετά από κρυσταλλογραφία ακτινών Χ αλλά και πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (NMR), βοήθησε προς την κατεύθυνση της πρόβλεψης νέων δομών μέσω μοριακής σύγκρισης. Αυτή η μοριακή σύγκριση με συγγενικές-ομόλογες δομές ονομάζεται **μοντελοποίηση ομολογίας** (homology modeling).

Με την είσοδο της τεχνητής νοημοσύνης σε όλους τους κλάδους της επιστήμης το 2021 αναπτύχθηκε ένα υπολογιστικό σύστημα που μπορεί να προβλέψει τη δομή όλων των πρωτεϊνών. Το AlphaFold είναι ένα σύστημα τεχνητής νοημοσύνης που αναπτύχθηκε από την Google DeepMind και το Ευρωπαϊκό Ινστιτούτο Βιοπληροφορικής του EMBL (EMBL-EBI) και προβλέπει την τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης από την αλληλουχία αμινοξέων της πολύ συχνά με την ακρίβεια εφάμιλλη της πειραματικής προσέγγισης. Η τελευταία έκδοση βάσης δεδομένων του AlphaFold (Μάρτιος 2024) περιέχει πάνω από 200 εκατομμύρια καταχωρήσεις δομών, παρέχοντας ευρεία κάλυψη ανθρώπινου **πρωτεόματος**, δηλαδή του συνόλου των πρωτεϊνών του ανθρώπου, αλλά και άλλων 47 οργανισμών.



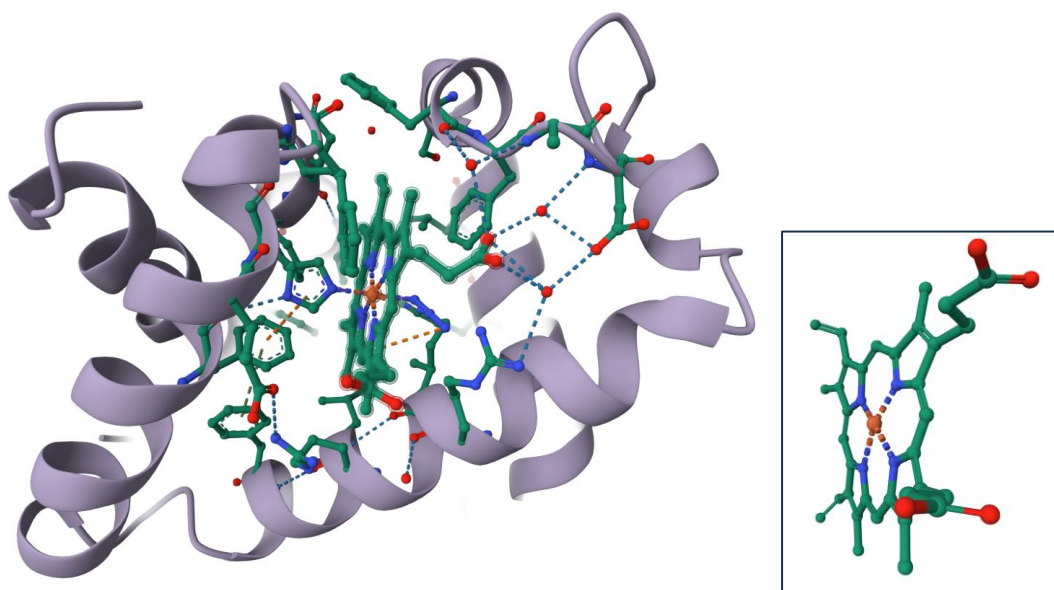
Εικόνα 3.7 Το εξώφυλλο του περιοδικού Nature στο οποίο δημοσιεύτηκε η δημιουργία του AlphaFold. Το εξώφυλλο έχει αφιέρωμα στη δημιουργία του δικτύου τεχνητής νοημοσύνης για την πρόβλεψη της τρισδιάστατης δομής των πρωτεϊνών από την πρωτοταγή δομή.

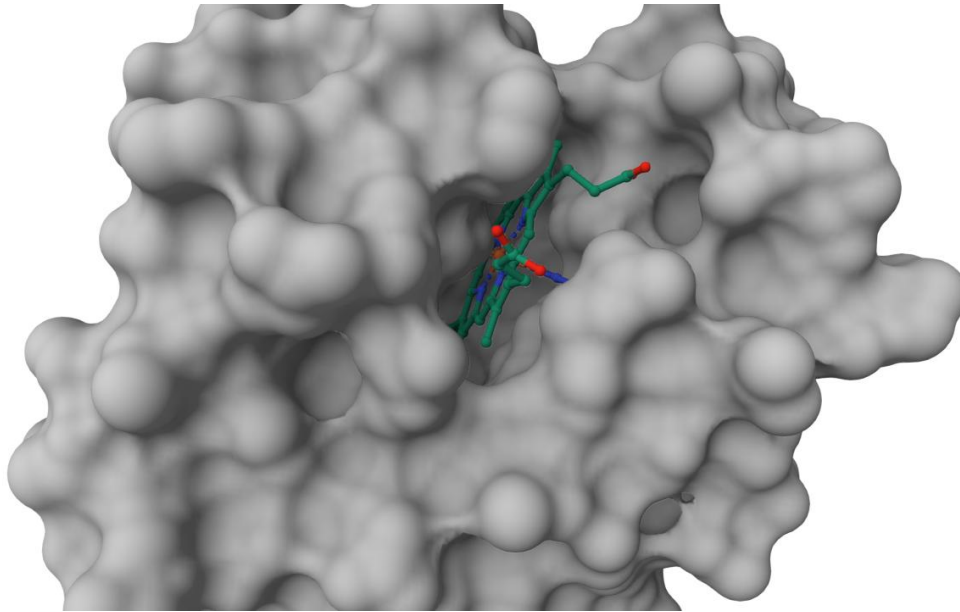
3.4 Δομή και βοηθητικές πρωτεΐνες

Η τελική διαμόρφωση μιας πρωτεΐνης αρκετές φορές χρειάζεται τη βοήθεια **βοηθητικών πρωτεϊνών** για να επιτευχθεί. Οι βοηθητικές πρωτεΐνες σε αρκετές περιπτώσεις είναι απαραίτητες και για τη διατήρηση της δομής μιας πρωτεΐνης μετά τη σύνθεσή της, προλαμβάνοντας την αποδιάταξή της, τη συναρμολόγηση συμπλόκων και την αποσύνθεση κακώς αναδιπλωμένων πρωτεϊνών. Η πιο γνωστή οικογένεια βοηθητικών πρωτεϊνών είναι οι **πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Hsp)**. Παρόλο που οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ χαρακτηρίστηκαν αρχικά σε συνθήκες θερμικού στρες, είναι απαραίτητες σε διάφορες συνθήκες κυτταρικού στρες αλλά και σε διάφορες αναπτυξιακές διαδικασίες του οργανισμού. Υπό κανονικές συνθήκες, οι Hsp αντιπροσωπεύουν το 5–10% της συνολικής πρωτεΐνης μέσα σε ένα κύτταρο και λειτουργούν ως ένα ολοκληρωμένο δίκτυο για τη διατήρηση της ομοιόστασης των πρωτεϊνών γνωστής και ως **πρωτεόστασης**. Υπό συνθήκες στρες, οι Hsp αυξάνονται σε ποσότητα για να υποστηρίξουν τη λειτουργία των περισσότερων πρωτεϊνών του κυττάρου..

3.5 Αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών με άλλα μόρια

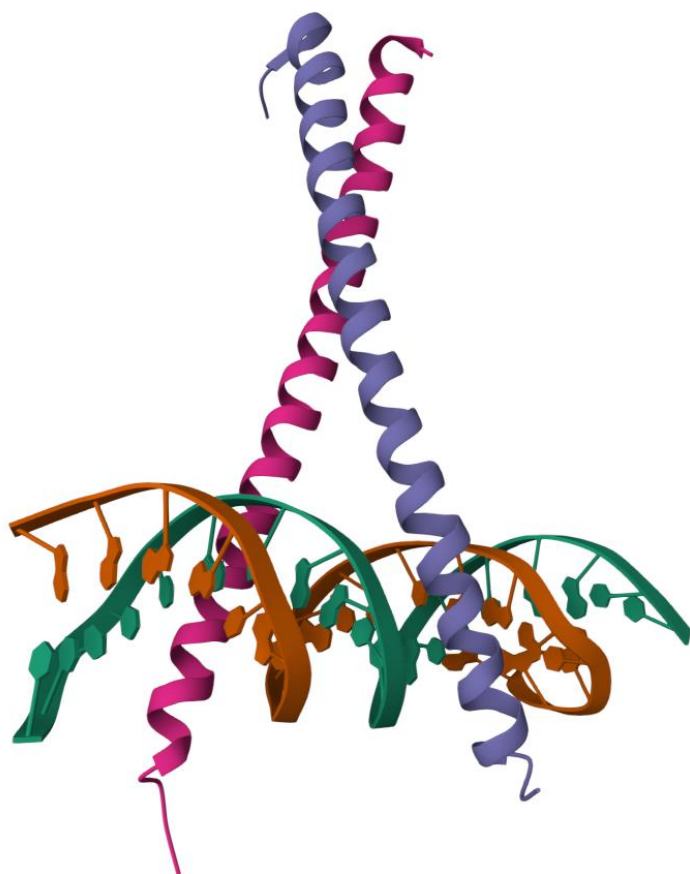
Ο ρόλος πολλών πρωτεϊνών περνάει μέσα από την αλληλεπίδρασή τους με άλλα μόρια, που με έναν γενικό όρο ονομάζονται **προσδέτες**. Κάποιες φορές τα μόρια είναι μικρές χημικές ενώσεις ενώ άλλες φορές μπορεί να είναι άλλα μακρομόρια. Μικρά μόρια δρουν ως συμπαράγοντες σε μια πρωτεΐνη όπως για παράδειγμα η αίμη στην αιμοσφαιρίνη και τη μυοσφαιρίνη. Σε άλλες περιπτώσεις μικρά ή και μεγαλύτερα μόρια αποτελούν **υπόστρωμα**, το οποίο προσδεδεμένο στην περιοχή του ενεργού κέντρου ενός ενζύμου μετατρέπεται σε μια άλλη χημική ένωση. Σε κάθε περίπτωση οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της πρωτεΐνης και του προσδεδεμένου μορίου είναι πολλές και ασθενείς. Στη βιολογία ευνοούνται οι πολλές αλλά ασθενείς αλληλεπιδράσεις ώστε να είναι πιο εύκολα αντιστρεπτή μια αλληλεπίδραση. Δηλαδή οι ασθενείς δεσμοί δίνουν την ευχέρεια στο κύτταρο και τον οργανισμό να δημιουργεί και χαλάει αλληλεπιδράσεις ανάλογα με τις συνθήκες. Η εύκολη διάσπαση μιας αλληλεπίδρασης σημαίνει συχνά γρήγορη απόκριση στην αλλαγή των εξωτερικών αλλά και εσωτερικών συνθηκών. Οι αλληλεπιδράσεις των αμινοξέων με τον προσδέτη γίνονται σε μία κοιλότητα στην επιφάνειά της πρωτεΐνης, η οποία ονομάζεται **θέση πρόσδεσης** ή **θέση αγκυροβόλησης**. Στην περίπτωση των ενζύμων η θέση πρόσδεσης του υποστρώματος είναι το **ενεργό κέντρο**, στο οποίο και καταλύεται η αντίδραση. Ο ρόλος των πολλών ασθενών αλληλεπιδράσεων είναι ιδιαίτερα εμφανής στα ένζυμα καθώς μετά την κατάλυση μιας αντίδρασης το προϊόν ή τα **προϊόντα της αντίδρασης** πρέπει να απελευθερωθούν για να δώσουν τη θέση τους σε ένα νέο υπόστρωμα.





Εικόνα 3.6 Η αλληλεπίδραση της μυοσφαιρίνης με την αίμη. Η μυοσφαιρίνη με ένα μόριο αίμης για τη μεταφορά του οξυγόνου. Το οξυγόνο που μεταφέρεται από τη μυοσφαιρίνη συνδέεται απευθείας με το άτομο σιδήρου (Fe^{2+} , πορτοκαλί άτομο) της προσθετικής ομάδας αίμης. Η ομάδα αίμης εισάγεται σε μια υδρόφοβη σχισμή της μυοσφαιρίνης και σταθεροποιείται με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις του δακτυλίου της και υδρόφοβων ομάδων αμινοξέων που οι πλευρικές ομάδες σχηματίζουν την σχισμή που αποτελεί και τη θέση πρόσδεσης. Στην εικόνα έχουν τονιστεί με τη μορφή χρωματισμένων μοριακών δομών οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων της μυοσφαιρίνης (γκρι δομή κορδέλας) που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση με την αίμη. Επίσης με διακεκομμένες γραμμές αποτυπώνονται οι δεσμοί μεταξύ μυοσφαιρίνης και αίμης. Το μόριο της αίμης παρατίθεται στην ένθετη εικόνα για σύγκριση. Στο κάτω μέρος της εικόνας παρουσιάζεται η μοριακή επιφάνεια της μυοσφαιρίνης με ακόμα πιο εμφανή την παρουσία της σχισμής που αποτελεί τη θέση πρόσδεσης της αίμης. Η δομή είναι διαθέσιμη στην βάση PDB (<https://www.rcsb.org/3d-view/5MBA/1>)

Όπως αναφέραμε και στο προηγούμενο κεφάλαιο υπάρχουν πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με μόρια DNA ή RNA. Οι προσδενόμενες στο RNA ή στο DNA πρωτεΐνες έχουν συνήθως στη θέση πρόσδεσης χημικές ομάδες θετικά φορτισμένες ή με θετική πολικότητα για να αλληλεπιδράσουν με τον αρνητικά φορτισμένο σκελετό των φωσφορικών των νουκλεϊκών οξέων. Οι πρωτεΐνες που προσδένουν RNA έχουν επικράτειες που είναι υπεύθυνες για την πρόσδεση στο RNA. Η πιο συχνά απαντούμενη επικράτεια είναι το **μοτίβο αναγνώρισης RNA** (RNA recognition motif, RRM). Οι πρωτεΐνες που προσδένουν RNA ρυθμίζουν τη δομή και τη λειτουργία και την έκφραση πολλών RNA και αποτελούν βασικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Οι πρωτεΐνες που προσδένουν DNA είτε αποτελούν δομικά στοιχεία της οργάνωσης του DNA στον πυρήνα του κυττάρου είτε αποτελούν ρυθμιστές της λειτουργίας των γονιδίων. Η παραγωγή του mRNA από όλα τα γονίδια εξαρτάται από γενικές και ειδικές πρωτεΐνες που προσδένουν DNA.



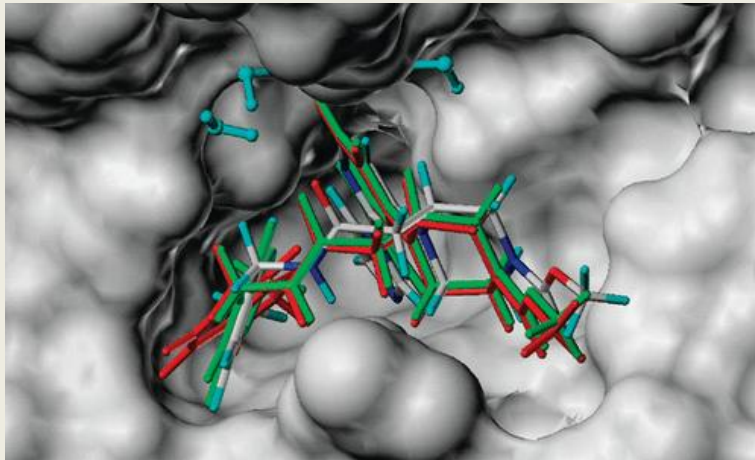
Εικόνα 3.7 Η αλληλεπίδραση της μυοσφαιρίνης με την αίμη. Η μυοσφαιρίνη με ένα μόριο αίμης για τη μεταφορά του οξυγόνου. Το οξυγόνο που μεταφέρεται από τη μυοσφαιρίνη συνδέεται απευθείας με το άτομο σιδήρου (Fe^{2+} , πορτοκαλί άτομο) της προσθετικής ομάδας αίμης. Η ομάδα αίμης εισάγεται σε μια υδρόφοβη σχισμή της μυοσφαιρίνης και σταθεροποιείται με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις του δακτυλίου της και υδρόφοβων ομάδων

<https://www.rcsb.org/3d-view/1YSA/1>

Έξυπνος σχεδιασμός φαρμάκων

Η ανακάλυψη νέων φαρμάκων αποτελεί μια μακροχρόνια διαδικασία στις φαρμακευτικές βιομηχανίες αλλά και στα ακαδημαϊκά ερευνητικά ιδρύματα. Η διαδικασία εύρεσης ενός φαρμάκου έναντι μιας πρωτεΐνης στόχου συνήθως περιλαμβάνει την ανάλυση της απόδοσης της πρωτεΐνης σε ένα πειραματικό σύστημα ποσοτικού ελέγχου της λειτουργίας της παρουσία μιας βιβλιοθήκης μορίων. Χιλιάδες ακόμα και εκατοντάδες χιλιάδες χημικές ενώσεις, που αποτελούν τη **βιβλιοθήκη μορίων**, δοκιμάζονται στο σύστημα ποσοτικού ελέγχου της λειτουργίας ένα προς ένα. Ωστόσο, η έλευση νέων υπολογιστικών εργαλείων που ενσωματώνουν τη δομή των στοχευόμενων πρωτεϊνών έδωσε νέες διεξόδους στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Οι βιβλιοθήκες μορίων μετατράπηκαν σε βάσεις δεδομένων των δομών τους και η ανάλυση μεταφέρθηκε στους υπολογιστές με *in silico* δοκιμές, όπως ονομάζονται οι βιολογικές αναλύσεις με μεθόδους πληροφορικής. Ο **έξυπνος σχεδιασμός φαρμάκων** απαιτεί την υπολογιστική τοποθέτηση όλων των ουσιών μιας βάσης δεδομένων πάνω στη δομή μιας πρωτεΐνης με τον υπολογισμό των δυνάμεων και των δεσμών που αναπτύσσονται μεταξύ της επιφάνειας της πρωτεΐνης και της κάθε χημικής ουσίας. Ο υπολογιστικός αυτό έλεγχος που ονομάζεται μοριακή αγκυροβόληση ελέγχει την ικανότητα των μορίων να προσδένονται σε ένα σημείο της πρωτεΐνης. Ο αλγόριθμος στο τέλος της διαδικασίας βαθμολογεί τα μόρια και προτείνει μερικές μόνο δεκάδες

υποψήφια μόρια από τα εκατομμύρια που ελέγχθηκαν. Τα μόρια αυτά εν τέλει ελέγχονται εργαστηριακά για την απόδοσή τους.



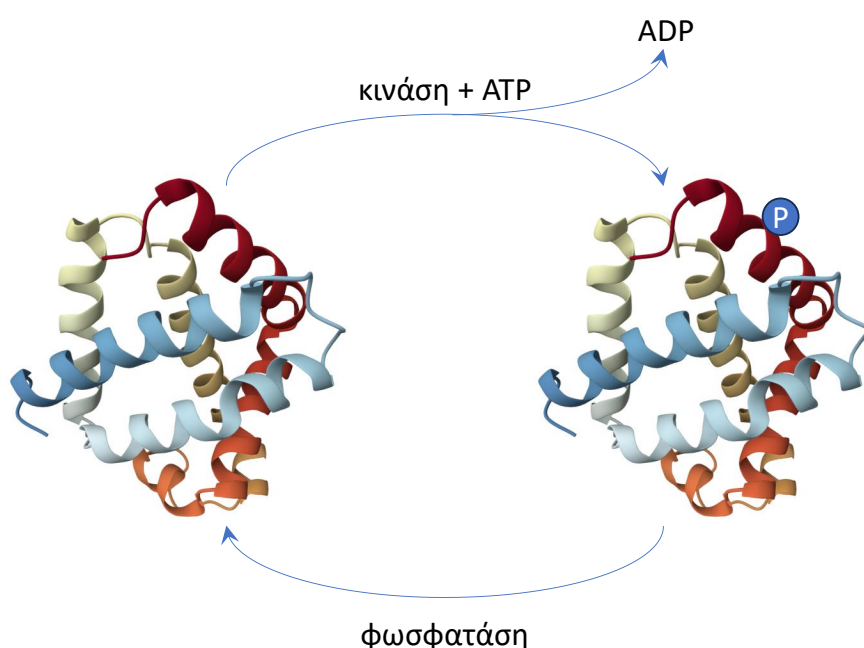
Εικόνα 3.8 Μοριακή αγκυροβόληση μιας χημικής ουσίας. Η χημική ένωση, που αποτελεί υποψήφιο φάρμακο, τοποθετείται με όλους τους δυνατούς τρόπους πάνω σε μία κοιλότητα της επιφάνειας μια πρωτεΐνης στόχου. Η ανάλυση της καλύτερης πρόσδεσης αυτής της χημικής ένωσης αλλά και μιας μεγάλης ποικιλίας άλλων μπορεί να οδηγήσει σε ένα νέο φάρμακο.

3.6 Ένζυμα

Ένα σημαντικό ποσοστό των πρωτεϊνών λειτουργούν εντός αλλά και εκτός του κυττάρου ως ένζυμα, δηλαδή ως καταλύτες αντιδράσεων. Η πλειοψηφία των ενζύμων εμπλέκεται σε κάποιο **μεταβολικό μονοπάτι** σύνθεσης ή διάσπασης μιας χημικής ουσίας. Για παράδειγμα δέκα ένζυμα χρειάζονται για τη διάσπαση της γλυκόζης σε πυροσταφυλικό οξύ. Ωστόσο ένα εξίσου σημαντικό μέρος των ενζύμων έχουν ρυθμιστικούς ρόλους απαραίτητος για τη λειτουργία του κυττάρου έξω από τα μεταβολικά μονοπάτια. Για παράδειγμα, τα ένζυμα είναι ζωτικής σημασίας στη μεταφορά σήματος, όπου συμμετέχουν στη μετάδοση μηνυμάτων μέσα στα κύτταρα μέσω μιας σειράς μοριακών τροποποιήσεων, οδηγώντας τελικά σε μια κυτταρική απόκριση (**Βλέπε Κεφάλαιο XX**).

Η πιο κοινή μοριακή τροποποίηση είναι **φωσφορυλίωση** με την οποία ένα ένζυμο που ονομάζεται **κινάση** μεταφέρει από το ATP μια φωσφορική ομάδα ($-PO_4$) σε μια άλλη πρωτεΐνη. Η προσθήκη ενός φωσφορικού για παράδειγμα στο αμινοξύ σερίνη στην επιφάνεια μιας πρωτεΐνης αλλάζει σημαντικά τον όγκο και το φορτίου του αμινοξέος με αποτέλεσμα να αλλάζει σημαντικά την επιφάνεια της πρωτεΐνης. Αλλαγή της πρωτεϊνικής επιφάνειας και των φυσικοχημικών της χαρακτηριστικών σημαίνει αλλαγή της λειτουργίας της αλλά και της δυνατότητας που έχει να αλληλεπιδρά με άλλα μόρια. Συχνά η φωσφορυλίωση ενός ή περισσότερων αμινοξέων μιας πρωτεΐνης συμπαρασύρει σε δομικές αλλαγές περισσότερα αμινοξέα τα οποία αναδιατάσσονται κάτω από τις νέες συνθήκες και ενεργοποιούν ή απενεργοποιούν την πρωτεΐνη. Άλλωστε η κινάση πήραν το όνομα τους από το ρήμα κινεῖν. Εκτός από τις φωσφορικές ομάδες μια ποικιλία χημικών ομάδων μπορεί να προστεθεί με τη βοήθεια ενζύμων σε μια πρωτεΐνη ή άλλα βιομόρια. Για παράδειγμα οι **μεθυλοτρανσφεράσες** και οι **μεθυλάσες** προσθέτουν μεθυλομάδες ($-CH_3$), οι

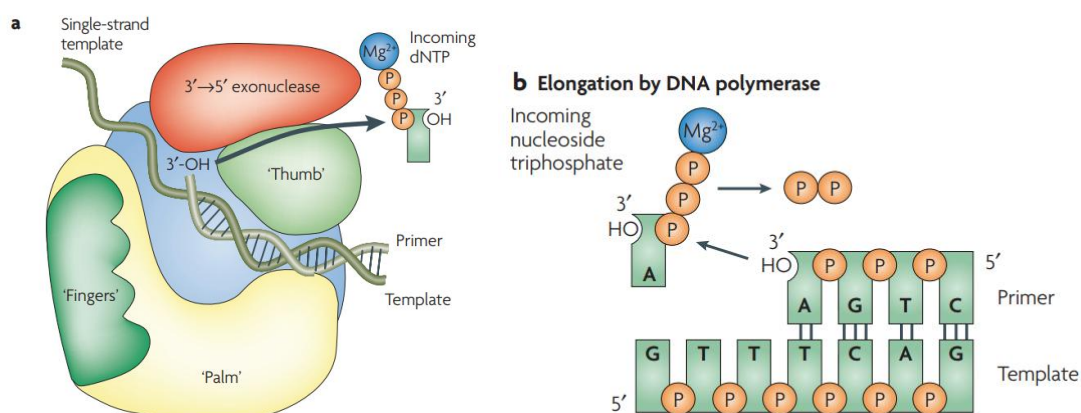
ακετυλοτρανσφεράσες και οι **ακετυλάσες** προσθέτουν ακετυλομάδες ($-\text{COCH}_3$) και οι **γλυκοζυλοτρανσφεράσες** προσθέτουν μονοσακχαρίτες. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορούν να προστεθούν με τη βοήθεια ενζύμων ολόκληρες πρωτεΐνες. Για παράδειγμα οι **λιγάσες ουμπικουΐτινης** προσθέτουν μόρια της μικρής πρωτεΐνης **ουμπικουΐτινης** πάνω σε άλλες πρωτεΐνες. Η ομοιοπολική πρόσδεση μορίων ουμπικουΐτινης σηματοδοτεί την ενεργοποίηση ή πιο συχνά την καταστροφή των πρωτεϊνών πάνω στις οποίες προσδένονται τα μόρια ουμπικουΐτινης. Καθώς στη βιολογία σχεδόν τα πάντα πρέπει να είναι αντιστρεπτά για να είναι δυνατή η ισορροπία σε όλες τις συνθήκες και οι τροποποιήσεις που κάνουν τα ένζυμα σε άλλα μόρια είναι αντιστρεπτές. Για παράδειγμα, εκεί που υπάρχει μια κινάση για να φωσφορυλιώνει μια πρωτεΐνη υπάρχει και η αντίστοιχη **φωσφατάση** που απομακρύνει τη φωσφορική ομάδα. Η απομάκρυνση της φωσφορικής ομάδας έχει ως αποτέλεσμα την επαναφορά της πρωτεΐνης στόχου στην αρχική της κατάσταση.



Εικόνα 3.9 Η φωσφορυλίωση και αποφωσφορυλίωση μιας πρωτεΐνης. Ένζυμα που ονομάζονται κινάσες έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν φωσφορικές ομάδες που παίρνουν από το ATP. Η αντίστροφη αντίδραση καταλύεται από τις φωσφατάσες. Οι κινάσες και οι φωσφατάσες είναι ειδικές για την κάθε πρωτεΐνη και το κάθε αμινοξύ με αποτέλεσμα το κύτταρο να έχει μια πληθώρα παρόμοιων πρωτεϊνών.

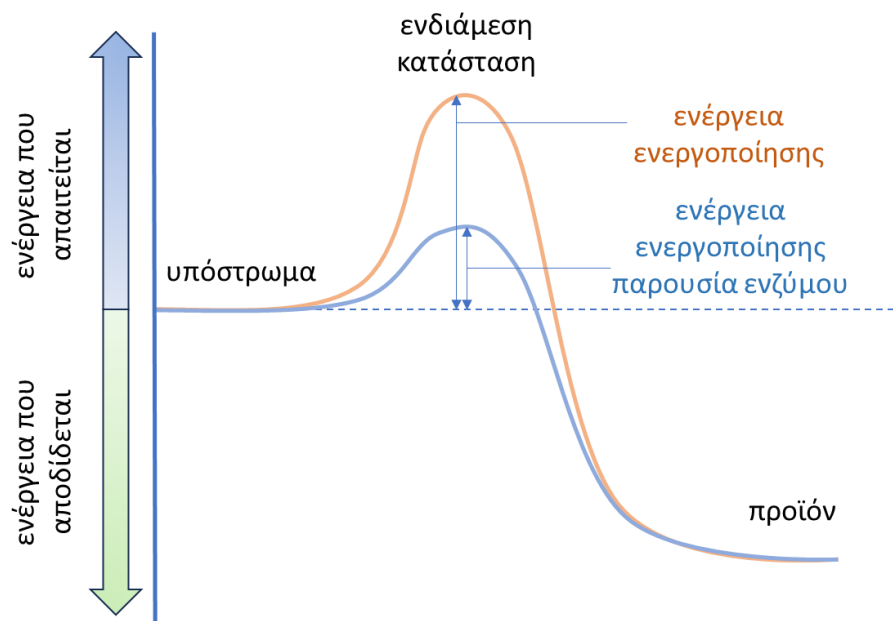
Τα ένζυμα που έχουν **ενεργότητα**, δηλαδή λειτουργία, πολυμερισμού ονομάζονται πολυμεράσες. Για παράδειγμα οι **DNA πολυμεράσες** έχουν τη δυνατότητα να τοποθετούν στη σειρά δεοξυριβονουκλεοτίδια καταλύοντας τον φωσφοδιεστερικό δεσμό μεταξύ τους. Το υπόστρωμα μιας DNA πολυμεράσης είναι ένα ολιγο- ή πολυνουκλεοτίδιο στον οποίο λείπει μέρος του ενός κλώνου. Με τη βοήθεια των κανόνων συμπληρωματικότητας μια DNA πολυμεράση προσθέτει στον κλώνο που υπολείπεται τριφωσφορικά νουκλεοτίδια τα οποία μετά την αντίδραση μετατρέπονται σε πολυμερισμένα μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια και ένα ελεύθερο **πυροφωσφορικό**. Τα ένζυμα που πολυμερίζουν RNA αντίστοιχα ονομάζονται RNA πολυμεράσες ενώ υπάρχει και μια ποικιλία **νουκλεασών** με σκοπό την καταστροφή των

μορίων DNA και RNA. Όταν οι νουκλεάσες δρουν στο άκρο ενός μορίου DNA ή RNA ονομάζονται **εξωνουκλεάσες** ενώ όταν δρουν στο εσωτερικό του ονομάζονται **ενδονουκλεάσες**.



Εικόνα 3.10 Η δομή και η καταλυτική λειτουργία μιας DNA πολυμεράσης. Μια DNA πολυμεράση αποτελείται από αρκετές επικράτειες που φαίνονται με ξεχωριστό χρώμα μέσα στο μοντέλο της αγκαλιάζοντας τους δύο κλώνους του DNA. Διακρίνεται μια επικράτεια που έχει ενεργότητα εξωνουκλεάσης 3'→5', δηλαδή που έχει τη δυνατότητα να λειτουργεί ως νουκλεάση αφαιρώντας νουκλεοτίδια από την άκρη (έξω-) ενός πολυνουκλεοτιδίου με κατεύθυνση από το 3' προς το 5' άκρο. Κατά τον πολυμερισμό η DNA πολυμεράση με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας πολυμερίζει το DNA χρησιμοποιώντας τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια τα οποία και προσθέτει ως χρησιμοποιώντας μονοφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια αποβάλλοντας ένα πυροφωσφορικό (PP). Ο πολυμερισμός γίνεται πάντα προς την κατεύθυνση 5'→3' με τη βοήθεια ενός ιόντος μαγνησίου (Mg^{2+}) που λειτουργεί ως συμπαραγόντες στην αντίδραση.

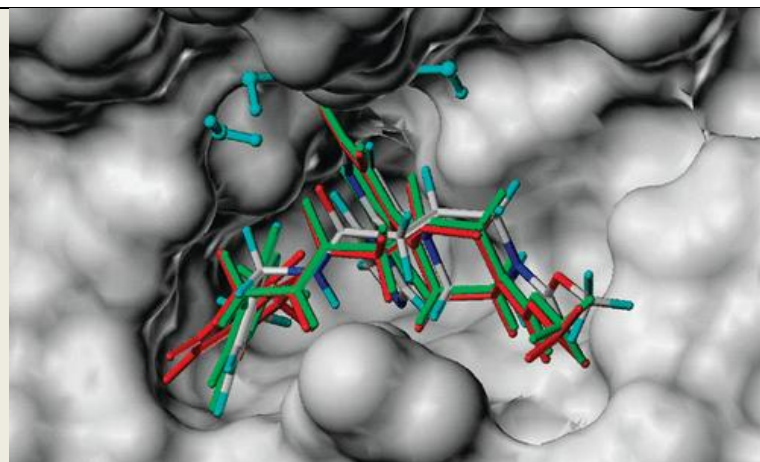
Παρά την μεγάλη ποικιλία των ενζύμων, όλα τα ένζυμα έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό. Το κοινό τους χαρακτηριστικό είναι η συμμετοχή των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων σε μια αντίδραση στην οποία παίρνουν μέρος αλλά στο τέλος της επανέρχονται στην αρχική τους κατάσταση. Ο αναλλοίωτος χαρακτήρας των ενζύμων στο τέλος των αντιδράσεων τους έδωσε τον προσδιορισμό τους ως **βιολογικοί καταλύτες** ή **βιοκαταλύτες**. Ο βασικός ρόλος των ενζύμων στη διευκόλυνση μιας αντίδρασης είναι η ελαχιστοποίηση της ενέργειας που χρειάζονται τα μόρια του υποστρώματος για να αντιδράσουν. Η λεγόμενη ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης είναι η ενέργεια που χρειάζεται να παρασχεθεί σε μία αντίδραση ώστε να είναι εφικτή. Παρότι θα μπορούσε κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, π.χ. σε συνθήκες βρασμού, να προσφερθεί αυτή η ενέργεια, οι συνθήκες αυτές είναι απαγορευτικές για τη ζωή. Τα ένζυμα, έχοντας τη δυνατότητα να χωρίσουν ενεργειακά μια αντίδραση σε αρκετά **μεταβατικά στάδια**, μειώνουν την ενέργεια που χρειάζεται και την επιταχύνουν.



Εικόνα 3.11 Τα ένζυμα μειώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης μιας αντίδρασης. Μια αντίδραση χρειάζεται ένα ποσό ενέργειας για να επιτευχθεί. Η ενέργεια ενεργοποίησης είναι η ενέργεια που χρειάζεται για να πυροδοτήσει την αντίδραση και η οποία με τη βοήθεια των χημικών ομάδων του ενζύμου που δρα ως καταλύτης μειώνεται σε διαχειρίσιμα από τη ζωή επίπεδα. Έτσι ένα υπόστρωμα μπορεί να μετατραπεί σε προϊόν με την παροχή μικρότερης ενέργειας.

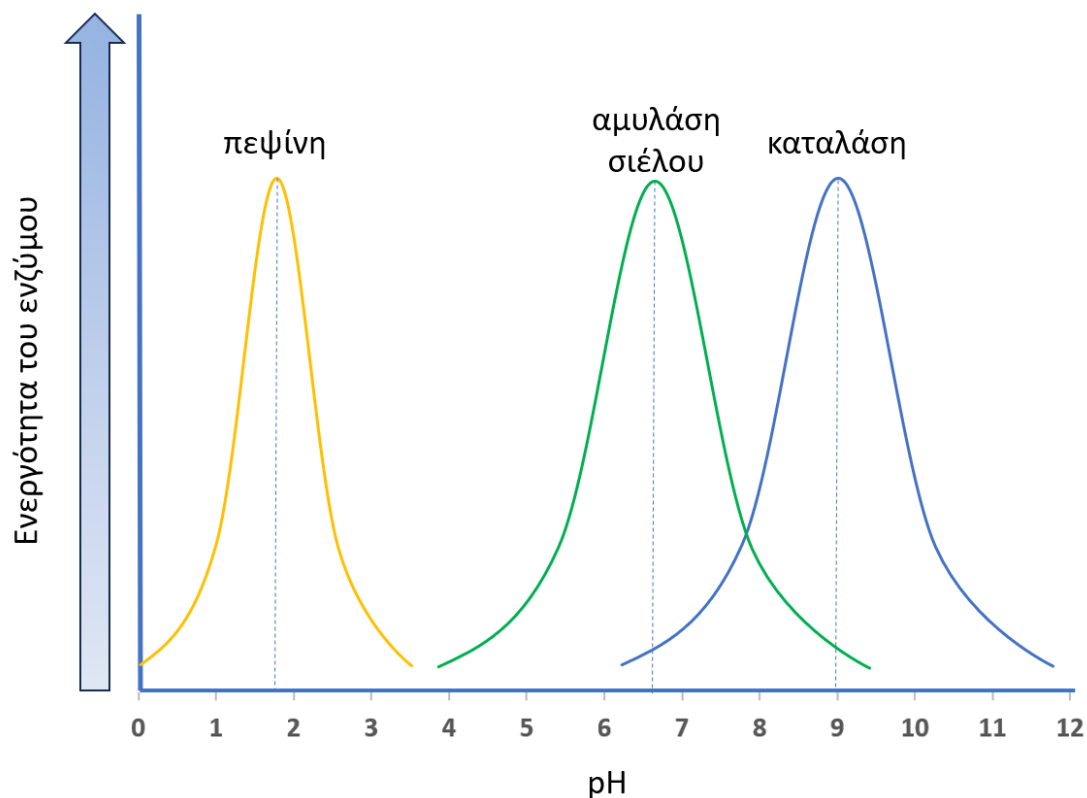
De novo σχεδιασμός ενζύμων

Η ανακάλυψη νέων φαρμάκων αποτελεί μια μακροχρόνια διαδικασία στις φαρμακευτικές βιομηχανίες αλλά και στα ακαδημαϊκά ερευνητικά ιδρύματα. Η διαδικασία εύρεσης ενός φαρμάκου έναντι μιας πρωτεΐνης στόχου συνήθως περιλαμβάνει την ανάλυση της απόδοσης της πρωτεΐνης σε ένα πειραματικό σύστημα ποσοτικού ελέγχου της λειτουργίας της παρουσία μιας βιβλιοθήκης μορίων. Χιλιάδες ακόμα και εκατοντάδες χιλιάδες χημικές ενώσεις, που αποτελούν τη **βιβλιοθήκη μορίων**, δοκιμάζονται στο σύστημα ποσοτικού ελέγχου της λειτουργίας ένα προς ένα. Ωστόσο, η έλευση νέων υπολογιστικών εργαλείων που ενσωματώνουν τη δομή των στοχευόμενων πρωτεϊνών έδωσε νέες διεξόδους στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Οι βιβλιοθήκες μορίων μετατράπηκαν σε βάσεις δεδομένων των δομών τους και η ανάλυση μεταφέρθηκε στους υπολογιστές με **in silico δοκιμές**, όπως ονομάζονται οι βιολογικές αναλύσεις με μεθόδους πληροφορικής. Ο **έξυπνος σχεδιασμός φαρμάκων** απαιτεί την υπολογιστική τοποθέτηση όλων των ουσιών μιας βάσης δεδομένων πάνω στη δομή μιας πρωτεΐνης με τον υπολογισμό των δυνάμεων και των δεσμών που αναπτύσσονται μεταξύ της επιφάνειας της πρωτεΐνης και της κάθε χημικής ουσίας. Ο υπολογιστικός αυτό έλεγχος που ονομάζεται μοριακή αγκυροβόληση ελέγχει την ικανότητα των μορίων να προσδένονται σε ένα σημείο της πρωτεΐνης. Ο αλγόριθμος στο τέλος της διαδικασίας βαθμολογεί τα μόρια και προτείνει μερικές μόνο δεκάδες υποψήφια μόρια από τα εκατομμύρια που ελέγχθηκαν. Τα μόρια αυτά εν τέλει ελέγχονται εργαστηριακά για την απόδοσή τους.



Εικόνα 3.12 Μοριακή αγκυροβόληση μιας χημικής ουσίας. Η χημική ένωση, που αποτελεί υποψήφιο φάρμακο, τοποθετείται με όλους τους δυνατούς τρόπους πάνω σε μία κοιλότητα της επιφάνειας μια πρωτεΐνης στόχου. Η ανάλυση της καλύτερης πρόσδεσης αυτής της χημικής ένωσης αλλά και μιας μεγάλης ποικιλίας άλλων μπορεί να οδηγήσει σε ένα νέο φάρμακο.

Τα ένζυμα όπως όλες οι πρωτεΐνες για να επιτελέσουν τις λειτουργίες τους έχουν το καθένα τις δικές του ιδανικές συνθήκες λειτουργίας. Όπως περιγράψαμε οι αλληλεπιδράσεις των ενζύμων με το υπόστρωμα αλλά και κάθε άλλης πρωτεΐνης με τον προσδέτη της γίνεται με τις πλευρικές ομάδες των αμινοξέων. Οι πλευρικές ομάδες των βασικών και όξινων αμινοξέων ανάλογα με το pH του διαλύματος έχουν διαφορετικό φορτίο. Αυτό σημαίνει ότι οι δομές και οι λειτουργίες που εξαρτώνται από αυτά τα αμινοξέα θα είναι διαφορετικές ανάλογα με το pH. Επίσης είναι εμφανές ότι απόκλιση είτε προς τα επάνω είτε προς τα κάτω στο pH θα εκτρέπει από το βέλτιστο τη λειτουργία. Γι' αυτό και η ενεργότητα ενός ενζύμου σε συνάρτηση με το pH προσομοιάζει μια καμπύλη κανονικής κατανομής. Με την ίδια λογική που παρουσιάστηκε για το pH οι φορτισμένες αλλά και οι πολικές ομάδες εξαρτώνται από τα ιόντα που υπάρχουν μέσα στο διάλυμα με τα οποία οι ομάδες αυτές αλληλεπιδρούν. Συνεπώς και για τα άλατα που η διάστασή τους παράγει τα ιόντα που αλληλεπιδρούν οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων ισχύει η ίδια καμπύλη ενεργότητας που ισχύει και για το pH. Δηλαδή, για το κάθε ένζυμο υπάρχει μια συγκέντρωση άλατος, που αποτελεί τη βέλτιστη συνθήκη αλατότητας. Αυξάνοντας ή μειώνοντας τη συγκέντρωση του άλατος στο διάλυμα η ενεργότητα του ενζύμου μειώνεται. Η τελευταία συνθήκη που είναι απαραίτητη για την ενεργότητα ενός ενζύμου είναι η θερμοκρασία. Τα άτομα μέσα μόρια βρίσκονται σε μια συνεχή κίνηση, δηλαδή πάλλονται. Με την αύξηση της θερμοκρασίας, η θερμική ενέργεια αυξάνει την κινητική ενέργεια των ατόμων και άρα την αστάθεια μιας πρωτεΐνης. Αντίθετα όταν πέφτει η θερμοκρασία, απάγεται θερμότητα από το σύστημα της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα τη μείωση της κίνησης των ατόμων. Καθώς η ευελιξία ενός ενζύμου είναι απαραίτητη, ώστε να γίνει η σωστή προσαρμογή του υποστρώματος, η απελευθέρωση των προϊόντων, αλλά και η κίνηση επικρατειών που συμμετέχουν στην κατάλυση, η θερμοκρασία παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του.

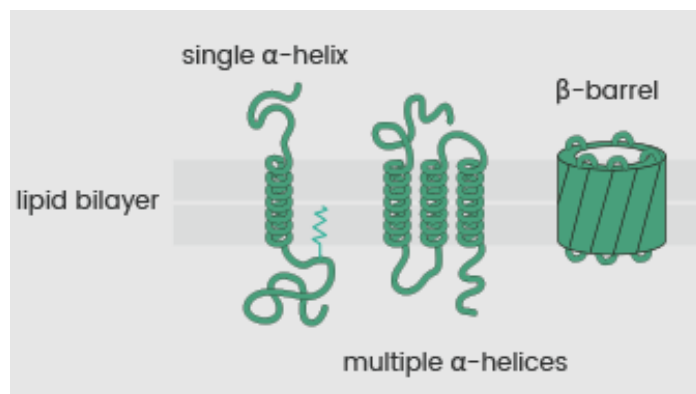


Εικόνα 3.13 Τα ένζυμα έχουν το καθένα το δικό του βέλτιστο pH δράσης. Η πεψίνη, μια πρωτεάση του στομάχου, έχει εξελιχθεί να λειτουργεί σε όξινο pH, ενώ σε ουδέτερο pH απόδιατάσσεται. Η αμυλάση του σιέλου, που διασπά το άμυλο, λειτουργεί σε σχεδόν ουδέτερο pH. Η καταλάση είναι ένα ένζυμο που μετατρέπει το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό λειτουργεί βέλτιστα σε αλκαλικό pH. Η καταλάση εντοπίζεται στα υπεροξειδισώματα και έχουν στο εσωτερικό τους αλκαλικό pH.

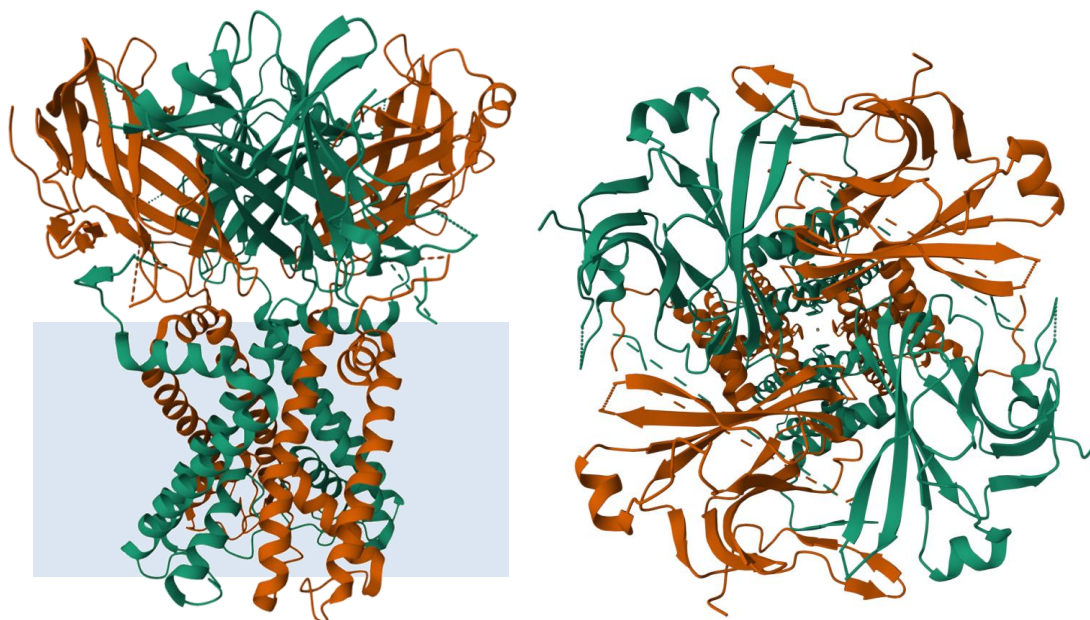
3.6 Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες.

Οι μεμβράνες ενός κυττάρου, όπως είπαμε και στο προηγούμενο κεφάλαιο έχουν τη δομή μιας διπλής στιβάδας από φωσfolιπίδια. Οι υδρόφιλες κεφαλές των φωσfolιπιδίων έρχονται σε επαφή με το υδατικό διάλυμα από τις δύο πλευρές της μεμβράνης ενώ οι υδρόφοβες ουρές των φωσfolιπιδίων έρχονται σε επαφή μεταξύ τους φτιάχνοντας ένα υδρόφοβο εσωτερικό στρώμα. Οι πρωτεΐνες που τοποθετούνται στις μεμβράνες το κάνουν κάτω από ένα ειδικό όρο. Ο όρος αυτός είναι ότι το τμήμα της πρωτεΐνης που περνάει μέσα από το υδρόφοβο εσωτερικό της μεμβράνης πρέπει να είναι υδρόφοβο. Για να το πετύχει αυτό μία πρωτεΐνη πρέπει μία ή περισσότερες α-έλικες να έχουν σε όλο τους το μήκος που περνάει μέσα από τη μεμβράνη υδρόφοβα αμινοξέα. Η α-έλικα προσφέρει σαν δομή τη δυνατότητα να κρύβεται ο υδρόφιλος σκελετός της πολυπεπτιδικής αλυσίδας στο εσωτερικό της σπείρας με τις υδρόφοβες πλευρικές ομάδες να εκτείνονται ακτινωτά. Πολλαπλές α-έλικες όταν διαπερνούν τη μεμβράνη ταυτόχρονα έχουν τη δυνατότητα να δημιουργούν μια συμπαγή δομή παρουσιάζοντας περιφερειακά της δομής αυτής τα υδρόφοβα αμινοξέα. Στο κέντρο της δομής μπορεί να δημιουργείται ένας αυλός με υδρόφιλο χαρακτήρα που χρησιμεύει σαν πέρασμα για υδρόφοβα μόρια (Βλέπε Κεφάλαιο 4). Έναν παρόμοιο αυλό

μπορούν να δημιουργήσουν και εκτεταμένα β-πτυχωτά φύλλα τα οποία κλείνουν σε μια μορφή που μοιάζει με βαρέλι και ονομάζεται **β-βαρέλι**. Τα αμινοξέα του β-βαρελίου που βρίσκονται σε επαφή προς τα έξω με το υδρόφοβο κομμάτι της μεμβράνης είναι υδρόφοβα ενώ τα αμινοξέα του αυλού είναι υδρόφιλα.



Εικόνα 3.14 Οι τρόποι με τους οποίους μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη περνάει μέσα από τη μεμβράνη. Μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη μπορεί να διαπεράσει τη μεμβράνη είτε ως μια απλή α -έλικα, είτε ως συνδυασμός α -ελίκων, είτε ως β -βαρέλι.



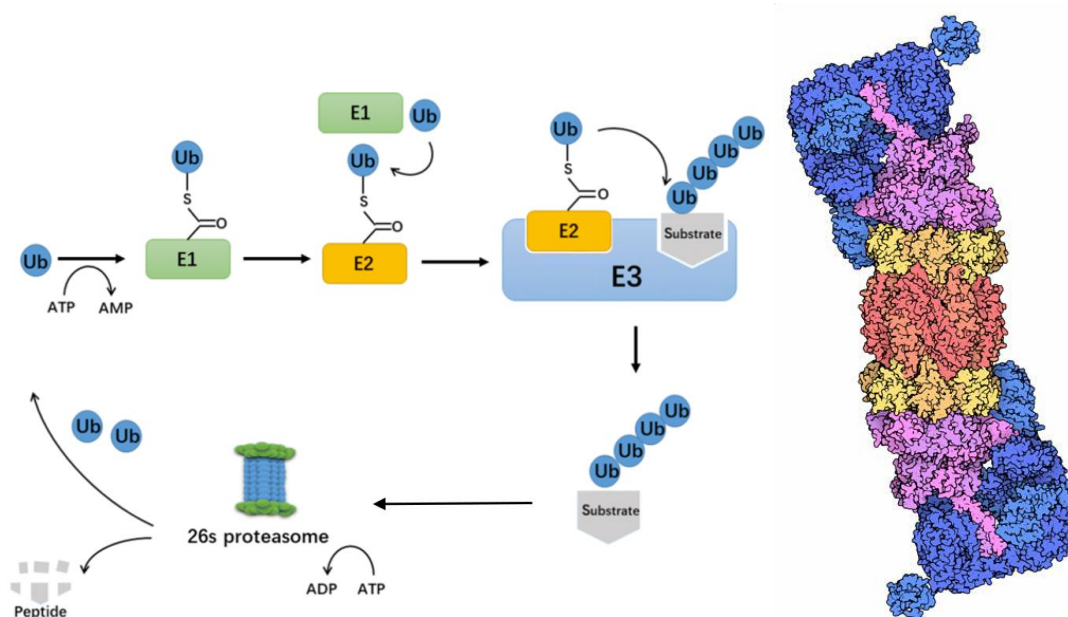
Εικόνα 3.15 Η δομή ενός καναλιού καλίου. Οι πρωτεΐνες που φτιάχνουν υδρόφιλους αυλούς από α -έλικες εκθέτουν προς την υδρόφοβη μεμβράνη τα υδρόφοβα αμινοξέα των α -ελίκων ενώ τα υδρόφιλα αμινοξέα περιορίζονται εντός του αυλού, αλλά και στις περιοχές της πρωτεΐνης εκτός της μεμβράνης. Στην εικόνα παρουσιάζεται ένα κανάλι ιόντων καλίου που αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες και το οποίο διαθέτει μία επικράτεια με α -έλικες που

διαπερνούν τη μεμβράνη (γκρίζα περιοχή) και μια επικράτεια αποτελούμενη κυρίως από β-πτυχωτά φύλλα εκτός της μεμβράνης. Αν δούμε το κανάλι αυτό από πάνω προς τα κάτω μπορούμε να δούμε τον υδρόφοβο αυλό στο εσωτερικό του. Αν παρατηρήσετε προσεκτικά στο κέντρο της δομής του αυλού φαίνεται μια κουκίδα που είναι το ιόν του καλίου. Με διακεκομμένες γραμμές είναι οι περιοχές τις πρωτεΐνης που δεν μπόρεσε να επιλυθεί η δομή τους. Η δομή είναι διαθέσιμη στην βάση PDB (<https://www.rcsb.org/3d-view/2WLL/1>)

3.6 Ανακύκλωση πρωτεϊνών.

Οι πρωτεΐνες ενός κυττάρου έχουν την τάση να γερνάνε καθώς με τον καιρό συσσωρεύουν μη επιδιορθούμενες τροποποιήσεις όπως για παράδειγμα η οξείδωση. Αυτές οι αλλαγές οδηγούν σταδιακά στην αλλαγή της δομής τους αλλά και την απώλεια τη λειτουργικότητάς τους. Για αυτό τα κύτταρα έχουν ένα μηχανισμό ανακύκλωσης των πρωτεϊνών που στοχεύει τις δυσλειτουργικές και κακώς αναδιπλωμένες πρωτεΐνες προς καταστροφή. Προς καταστροφή μπορούν να οδηγηθούν ακόμα και λειτουργικές πρωτεΐνες όταν το κύτταρο παρουσία κάποιου ειδικού σήματος πρέπει να τις βγάλει εκτός λειτουργίας. Ο μηχανισμός της ανακύκλωσης βασίζεται στη συνεργασία λιγασών ουμπικουϊτίνης και ενός πρωτεολυτικού συμπλόκου που ονομάζεται **πρωτεάσωμα**. Ο μηχανισμός αυτός ανακύκλωσης των πρωτεϊνών είναι τόσο σημαντικός που η δυσλειτουργία του μπορεί να οδηγήσει σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αυτοάνοσα νοσήματα και καρκίνο.

Οι πρωτεΐνες που στοχεύονται προς καταστροφή αναγνωρίζονται από μία τρεις λιγάσες ουμπικουϊτίνης που ονομάζονται λιγάσες E1, E2 και E3. Η λιγάση E1 ενεργοποιεί την ουμπικουϊτίνη και τη μεταφέρει στην E2, η οποία σε συνεργασία με την E3 μεταφέρουν την ουμπικουϊτίνη σε πρωτεΐνες που αναγνωρίζονται ειδικά από την E3. Οι σημασμένες με την ουμπικουϊτίνη πρωτεΐνες οδηγούνται στο πρωτεάσωμα το οποίο αποδιατάσει την πρωτεΐνη και την κόβει σε πεπτίδια. Τα πεπτίδια μπορούν στη να διασπαστούν σε αμινοξέα τα οποία και είναι πάλι διαθέσιμα για την παραγωγή νέων πρωτεϊνών.



Εικόνα 3.16 Ανακύκλωση των πρωτεϊνών από το σύστημα λιγασών ουμπικουϊτίνης και πρωτεασώματος. Οι πρωτεΐνες που είναι κατεστραμμένες ή δεν χρειάζονται πια σημαίνονται

με μόρια ουμπικουΐτινης που προστίθενται από της λιγάσες ουμπικουΐτινης. Το κάθε μόριο ουμπικουΐτινης ενεργοποιείται από τη λιγάση E1, μεταφορτώνεται στην E2 και από την E2 σε συνεργασία με την E3 στο ειδικό υπόστρωμα-πρωτεΐνη. Η πρωτεΐνη που έχει σημειωθεί με τις ουμπικουΐτινες περνάει από το πρωτεάσωμα για να διασπαστεί σε πεπτίδια. Το πρωτεάσωμα που φαίνεται στα δεξιά της εικόνας είναι ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλοκο που αποτελείται από ρυθμιστικές υπομονάδες (μπλε) που ρυθμίζουν την είσοδο στο σύμπλοκο, μια υπομονάδα (μοβ) που αποδιατάσσει τις πρωτεΐνες με τη χρήση ενέργειας από ATP και της κατακερματίζει σε πεπτίδια στον πυρήνα του (κίτρινο και κόκκινο) στον οποίο υπάρχουν 3 πρωτεάσες που έχουν διαφορετικές προτιμήσεις στην αμινοξική σύσταση των πεπτιδίων.