

Κεφάλαιο 2

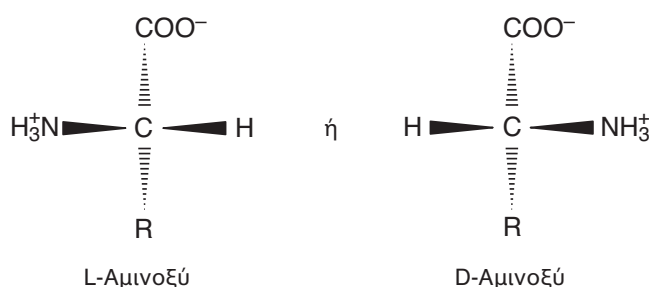
ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Κάθε κατηγορία βιομορίων επιτελεί τις δικές της εξειδικευμένες λειτουργίες. Τα νουκλεϊκά οξέα αποτελούν αποθήκες γενετικών πληροφοριών και διαδραματίζουν πολλαπλούς ρόλους στην έκφραση αυτών των πληροφοριών. Τα μεμβρανικά λιπίδια σχηματίζουν τον σκελετό των μεμβρανών και λειτουργούν ως φραγμοί διάχυσης ανάμεσα στο εσωτερικό των κυττάρων και το περιβάλλον τους, καθώς και ανάμεσα στα διάφορα κυτταρικά οργανίδια.

Οι πρωτεΐνες, ωστόσο, είναι απαραίτητες για όλες ανεξαιρέτως τις κυτταρικές λειτουργίες. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες συνδέονται με τις ινώδεις πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση του σχήματος των κυττάρων και της δομής των ιστών, οι πρωτεΐνες που δεσμεύονται στο DNA (DNA-binding proteins) ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση, ενώ και ο μεταβολισμός εξαρτάται από ενζυμικές πρωτεΐνες που καταλύουν χημικές αντιδράσεις και από μεταφορικές πρωτεΐνες που μετακινούν μεταβολικά ενδιάμεσα και θρεπτικά συστατικά διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών. Το παρόν κεφάλαιο πραγματεύεται τα 20 αμινοξέα που απαντώνται στις πρωτεΐνες και περιγράφει την ομοιοπολική δομή των πρωτεϊνών, καθώς και τους τρόπους με τους οποίους οι μη ομοιοπολικές δυνάμεις αναδιπλώνουν τις πρωτεΐνες, προσδίδοντάς τους το τρισδιάστατο σχήμα που απαιτείται για τις βιολογικές τους λειτουργίες.

ΤΑ ΑМИΝΟΞΕΑ ΕΙΝΑΙ ΔΙΠΟΛΙΚΑ ΙΟΝΤΑ

Όλα τα αμινοξέα αποτελούνται από μια α -καρβοξυλομάδα και μια α -αμινομάδα, ένα άτομο υδρογόνου και μια μεταβλητή πλευρική ομάδα R (“residue” ή «κατάλοιπο»), όλα εκ των οποίων συνδέονται με έναν **α -άνθρακα**. Αυτή η δομή σχηματίζει δύο οπτικά ισομερή:

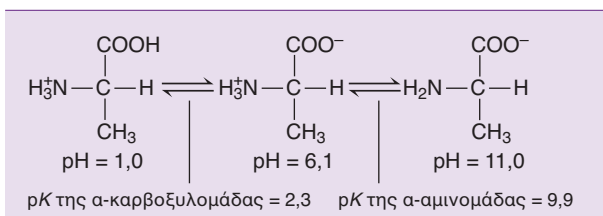


Στις πρωτεΐνες απαντώνται μόνο L-αμινοξέα. Τα D-αμινοξέα είναι σπάνια στη φύση, αν και απαντώνται σε μερικά βακτηριακά προϊόντα.

Το pK της α -καρβοξυλομάδας είναι περίπου 2,0, ενώ το pK της α -αμινομάδας είναι μεταξύ 9 και 10. Η κατάσταση πρωτονίωσης διαφέρει ανάλογα με το pH (Εικόνα 2.1). Σε pH μικρότερο από το pK της καρβοξυλομάδας, το αμινοξύ βρίσκεται κυρίως σε μορφή κατιόντος. Σε pH μεγαλύτερο από το pK της αμινομάδας, το αμινοξύ βρίσκεται κυρίως σε μορφή ανιόντος. Σε pH ανάμεσα στις δύο τιμές του pK , το αμινοξύ βρίσκεται σε μορφή **διπολικού ιόντος (Zwitterion ή αμφιτεριόν)**, δηλαδή φέρει τόσο θετικό όσο και αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο. Ως ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point, pI) ορίζεται η τιμή του pH στην οποία ο αριθμός των θετικών φορτίων ισούται με τον αριθμό των αρνητικών φορτίων. Για ένα απλό αμινοξύ όπως π.χ. η αλανίνη, το pI είναι ο μέσος όρος των τιμών του pK των δύο ιοντιζόμενων ομάδων. Προσέξτε ότι σε αντίθεση με το pK που χαρακτηρίζει κάθε μία μεμονωμένη ιοντιζόμενη ομάδα, το pI είναι ένα χαρακτηριστικό ολόκληρου του μορίου.

Οι τιμές του pK των ιοντιζόμενων ομάδων αποκαλύπτονται μέσω προσθήκης μιας ισχυρής βάσης σε όξινο διάλυμα ενός αμινοξέος ή μέσω προσθήκης ενός ισχυρού οξέος σε ένα αλκαλικό διάλυμα. Κάθε ιοντιζόμενη ομάδα σταθεροποιεί το pH σε τιμές κοντά στο pK της, επειδή απελευθερώνει πρωτόνια όταν το pH στο περιβάλλον της αυξάνεται και απορροφά πρωτόνια όταν το pH μειώνεται. Η **καμπύλη τιτλοδότησης (titration curve)** που παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.2 έχει δύο επίπεδα τμήματα που αντιστοιχούν στις τιμές του pK των δύο ιοντιζόμενων ομάδων.

Οι καμπύλες τιτλοδότησης των αμινοξέων που διαθέτουν μία επιπρόσθετη ιοντιζόμενη ομάδα στην πλευρική ομάδα παρουσιάζουν τρεις αντί για δύο περιοχές ρύθμισης του pH. Το pI των όξινων αμινοξέων είναι ο μέσος όρος των τιμών του pK των δύο όξινων ομάδων, ενώ το pI των βασικών αμινοξέων είναι ο μέσος όρος των τιμών του pK των δύο βασικών ομάδων (Εικόνα 2.3).

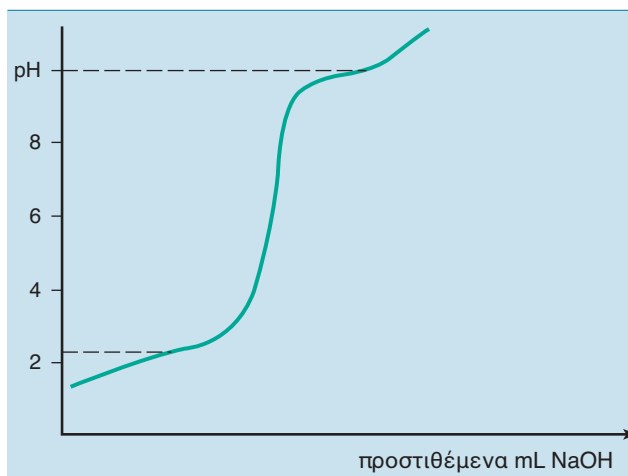


ΕΙΚΟΝΑ 2.1 Καταστάσεις πρωτονίωσης του αμινοξέος αλανίνη. Το διπολικό ιόν αποτελεί την κυρίαρχη μορφή σε τιμές pH από 2,3 έως 9,9.

ΟΙ ΠΛΕΥΡΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΕ ΠΟΛΛΕΣ ΜΗ ΟΜΟΙΟΠΟΛΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Τα 20 αμινοξέα μπορούν να ομαδοποιηθούν σε λίγες κύριες ομάδες (**Εικόνα 2.4**). Οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων συμμετέχουν σε μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών, ενώ μερικές πλευρικές ομάδες συμμετέχουν στη δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών:

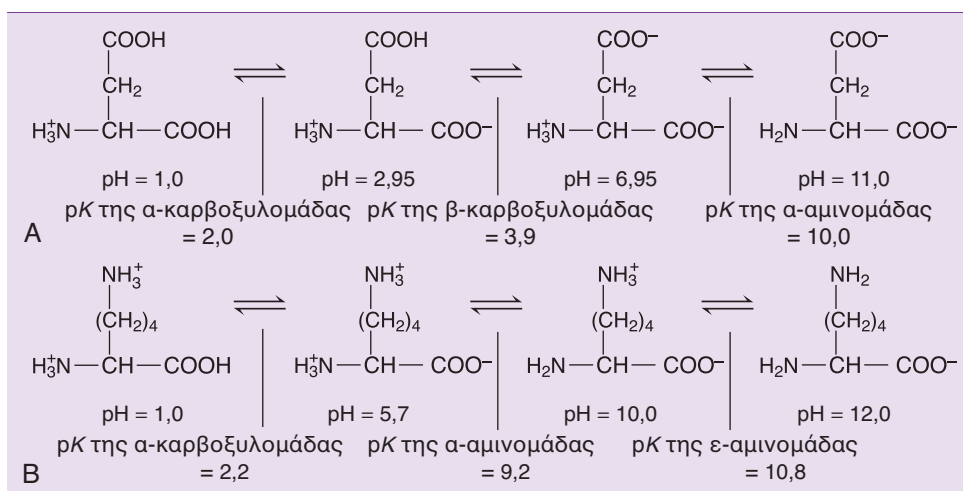
- Μικρά αμινοξέα:** Η γλυκίνη και η αλανίνη καταλαμβάνουν μικρό χώρο. Ειδικότερα, η γλυκίνη απαντάται στις θέσεις όπου δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες χρειάζεται να συμπλησιάσουν.
- Αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας:** Η βαλίνη, η λευκίνη και η ισολευκίνη διαθέτουν υδρόφοβες πλευρικές ομάδες.
- Υδροξυ-αμινοξέα:** Η σερίνη και η θρεονίνη συμμετέχουν στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου με την υδροξυλομάδα τους. Επίσης, συμμετέχουν στη δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών με υδατάνθρακες και φωσφορικές ομάδες.
- Θειούχα αμινοξέα:** Η κυστεΐνη και η μεθειονίνη είναι αρκετά υδρόφοβες, παρόλο που η κυστεΐνη συμπερι-



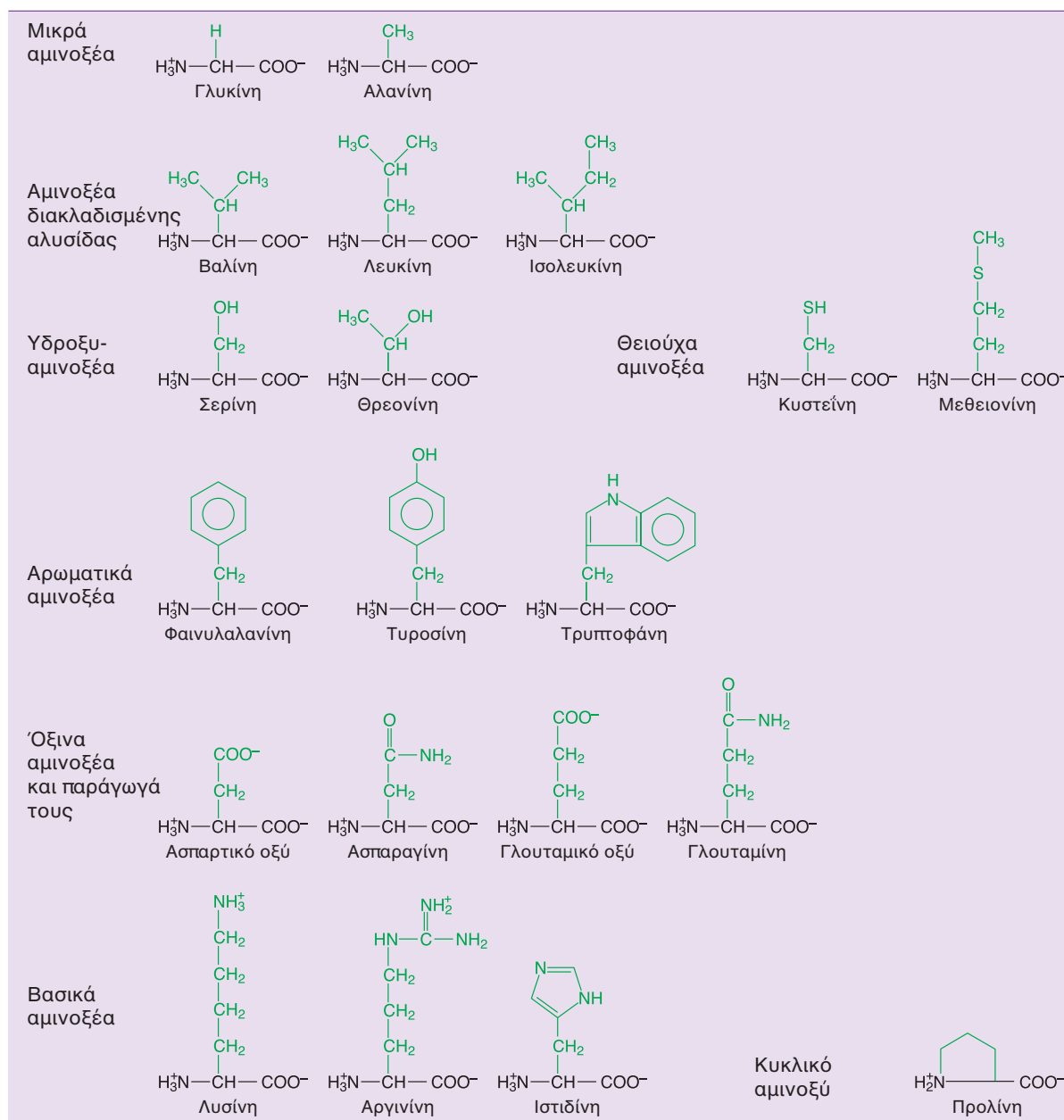
ΕΙΚΟΝΑ 2.2 Καμπύλη τιτλοδότησης του αμινοξέος αλανίνη. Τα δύο επίπεδα τμήματα της καμπύλης είναι αποτέλεσμα της ρυθμιστικής ικανότητας της καρβοξυλομάδας (σε pH 2,3) και της αμινομάδας (σε pH 9,9).

φέρεται και σαν ασθενές οξύ. Στις πρωτεΐνες, η σουλφυδρυλομάδα (-SH) της κυστεΐνης μπορεί να συμμετέχει στη δημιουργία ενός ομοιοπολικού δισουλφιδικού δεσμού με την πλευρική ομάδα κάποιου άλλου μορίου κυστεΐνης.

- Αρωματικά αμινοξέα:** Η φαινυλαλανίνη, η τυροσίνη και η τρυπτοφάνη είναι υδρόφοβες, παρόλο που οι πλευρικές ομάδες της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης μπορούν να συμμετέχουν στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Η υδροξυλομάδα της τυροσίνης μπορεί να συμμετέχει στη δημιουργία ενός ομοιοπολικού δεσμού με μια φωσφορική ομάδα.
- Όξινα αμινοξέα:** Το γλουταμικό και το ασπαρτικό οξύ διαθέτουν στην πλευρική τους ομάδα μια καρβοξυλο-



ΕΙΚΟΝΑ 2.3 Επικρατούσες καταστάσεις ιονισμού των αμινοξέων ασπαρτικό οξύ (A) και λυσίνη (B) σε διαφορετικές τιμές pH. Τα ισοηλεκτρικά σημεία του ασπαρτικού οξέος και της λυσίνης είναι 2,95 και 10,0, αντίστοιχα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.4 Δομές των αμινοξέων που συμμετέχουν στις πρωτεΐνες.

μάδα που αποκτά αρνητικό φορτίο όταν το pH ισούται με 7. Οι αντίστοιχες πλευρικές ομάδες της ασπαραγίνης και της γλουταμίνης περιέχουν από μία καρβονυλομάδα και μία αμιδομάδα που δεν είναι όξινες αλλά συμμετέχουν στη δημιουργία ισχυρών δεσμών υδρογόνου. Στις γλυκοπρωτεΐνες, το σημείο σύνδεσης του υδατάνθρακα είναι η ασπαραγίνη.

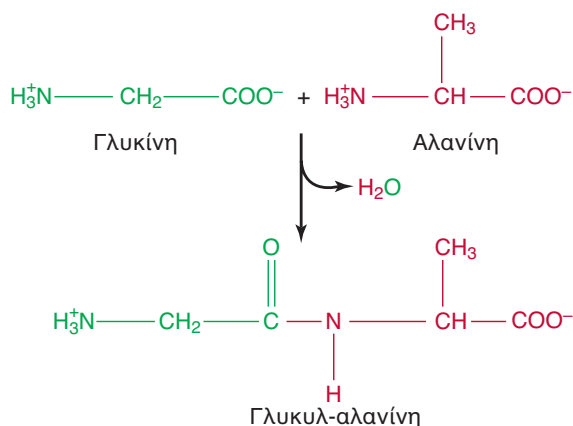
- 7. Βασικά αμινοξέα:** Η λυσίνη, η αργινίνη και η ιστιδίνη έχουν θετικό φορτίο στην πλευρική ομάδα, αν και το pK της πλευρικής ομάδας της ιστιδίνης είναι αρκετά χαμηλό.
- 8. Προλίνη:** Πρόκειται για ένα αμινοξύ που διαφέρει

από τα υπόλοιπα, αφού το άζωτό του προσδένεται σε μια δακτυλιοειδή δομή ως δευτερεύουσα αμινομάδα. Επειδή η προλίνη είναι άκαμπτη και γωνιώδης, συνήθως σχηματίζει μια καμπή στο πολυπεπίδιο.

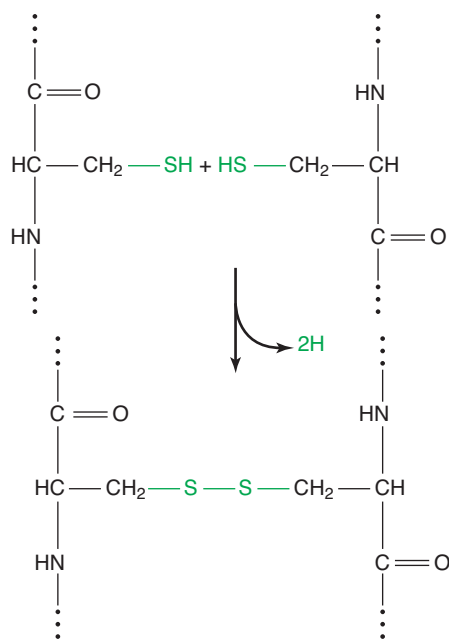
Στον **Πίνακα 2.1**, συνοψίζονται οι τιμές του pK των ιοντιζόμενων ομάδων που περιέχονται σε αμινοξέα και πρωτεΐνες. Τα περισσότερα αρνητικά φορτία των πρωτεϊνών οφείλονται στις πλευρικές ομάδες του γλουταμικού και του ασπαρτικού οξέος, και τα περισσότερα θετικά φορτία προέρχονται από τις πλευρικές ομάδες της λυσίνης και της αργινίνης.

ΟΙ ΠΕΠΤΙΔΙΚΟΙ ΔΕΣΜΟΙ ΚΑΙ ΟΙ ΔΙΣΟΥΛΦΙΔΙΚΟΙ ΔΕΣΜΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΡΩΤΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Τα αμινοξέα που απαντώνται στα πολυπεπίδια ενώνονται μεταξύ τους με **πεπτιδικούς δεσμούς**. Κάθε **διπεπτίδιο** σχηματίζεται από την αντίδραση ανάμεσα στην α-καρβοξυλομάδα ενός αμινοξέος και την α-αμινομάδα κάποιου άλλου αμινοξέος. Με την προσθήκη περισσότερων αμινοξέων προκύπτουν **ολιγοπεπίδια** και τελικά **πολυπεπίδια** (Εικόνα 2.5). Κάθε πεπτίδιο έχει ένα ελεύθερο **αμινοτελικό άκρο** (N-τελικό), που κατά συνθήκη γράφεται στα αριστερά, και ένα ελεύθερο **καρβοξυτελικό άκρο** (C-τελικό) που γράφεται στα δεξιά. Ο πεπτιδικός δεσμός δεν είναι ιοντιζόμενος, αλλά μπορεί να συμμετέχει στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Αυτός είναι ο λόγος που τα πεπίδια και οι πρωτεΐνες τείνουν να είναι υδατοδιαλυτά.

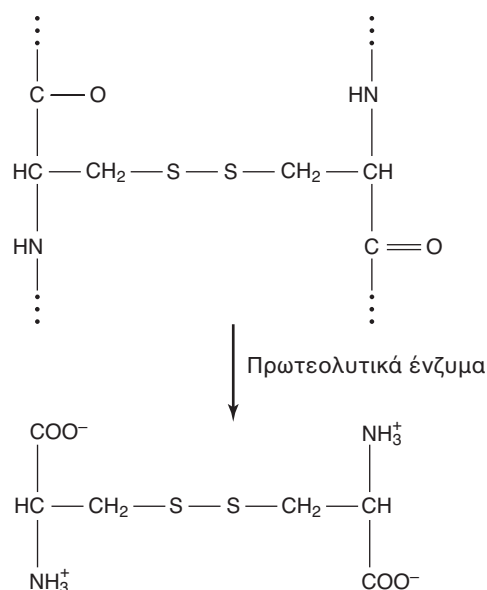


Πολλές πρωτεΐνες περιέχουν **δισουλφιδικούς δεσμούς** ανάμεσα στις πλευρικές ομάδες των κατάλοιπων κυστεΐνης τους. Ο σχηματισμός του δισουλφιδικού δεσμού είναι μια οξειδωτική διαδικασία, στην οποία υδρογόνο μεταφέρεται σε ένα μόριο αποδέκτη:



Ο δισουλφιδικός δεσμός μπορεί να δημιουργηθεί ανάμεσα σε δύο μόρια κυστεΐνης του ίδιου πολυπεπτιδίου (ενδομοριακός δεσμός) ή διαφορετικών πολυπεπτιδίων (διαμοριακός δεσμός). Η αντίδραση αυτή λαμβάνει χώρα στο ενδοπλασματικό δίκτυο – ΕΔ (ER), όπου υποβάλλονται σε επεξεργασία οι εκκρινόμενες πρωτεΐνες και οι μεμβρανικές πρωτεΐνες. Κατά συνέπεια, *οι περισσότερες εκκρινόμενες πρωτεΐνες και μεμβρανικές πρωτεΐνες έχουν δισουλφιδικούς δεσμούς*. Οι περισσότερες κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, που δεν διέρχονται από το ΕΔ, δεν έχουν δισουλφιδικούς δεσμούς.

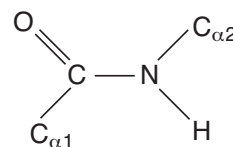
Η ενζυμική αποικοδόμηση των πρωτεϊνών που περιέχουν δισουλφίδια οδηγεί στον σχηματισμό του αμινοξέος **κυστίνη**:



Η ομοιοπολική δομή έκαστης πρωτεΐνης, όπως καθορίζεται από την αλληλουχία των αμινοξέων της και τις θέσεις των δισουλφιδικών δεσμών, ονομάζεται **πρωτοταγής δομή**.

ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΑΝΑΔΙΠΛΩΘΟΥΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΧΗΜΑΤΑ

Ο πεπτιδικός δεσμός γράφεται κατά συνθήκη σαν απλός δεσμός, με τέσσερις υποκαταστάτες που συνδέονται με τον άνθρακα και το άζωτο του δεσμού:



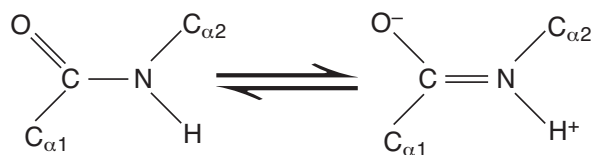
Ο απλός δεσμός C-N, όπως και ο απλός δεσμός C-C, θα έπρεπε να επιτρέπει την ελεύθερη περιστροφή. Το τριγωνικό επίπεδο που σχηματίζεται από το τμήμα O = C – C_{α1} θα έπρεπε να έχει τη δυνατότητα περιστροφής έξω από το επίπεδο που σχηματίζεται από το τμήμα C_{α2} – N – H. Στην

Πίνακας 2.1 Τιμές του pK των Πλευρικών Ομάδων Μερικών Αμινοξέων *

Αμινοξύ	Πλευρική Ομάδα		pK
	Πρωτονιωμένη Μορφή	Αποπρωτονιωμένη Μορφή	
Γλουταμικό οξύ	$-(CH_2)_2-COOH$	$-(CH_2)_2-COO^-$	4,3
Ασπαρτικό οξύ	$-CH_2-COOH$	$-CH_2-COO^-$	3,9
Κυστεΐνη	$-CH_2-SH$	$-CH_2-S^-$	8,3
Τυροσίνη	$-CH_2-C_6H_4-OH$	$-CH_2-C_6H_4-O^-$	10,1
Λυσίνη	$-(CH_2)_4-NH_3^+$	$-(CH_2)_4-NH_2$	10,8
Αργινίνη	$-(CH_2)_3-NH-C(=NH_2^+)-NH_2$	$-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-NH_2$	12,5
Ιστιδίνη	$-CH_2-ImH^+$	$-CH_2-Im$	6,0
α -Καρβοξυλομάδα (ελεύθερο αμινοξύ)			1-8-2,4
α -Αμινομάδα (ελεύθερο αμινοξύ)			$\approx 9,0-10,0$
Τελική καρβοξυλομάδα (πεπτιδίο)			$\approx 3,0-4,5$
Τελική αμινομάδα (πεπτιδίο)			$\approx 7,5-9,0$

* Στις πρωτεΐνες, οι τιμές του pK των πλευρικών ομάδων μπορεί να διαφέρουν περισσότερο από μια μονάδα του pH συγκριτικά με εκείνες των ελεύθερων αμινοξέων.

πραγματικότητα, ωστόσο, ο πεπτιδικός δεσμός είναι ένα υβρίδιο δύο δομών συντονισμού (μεσομερών):

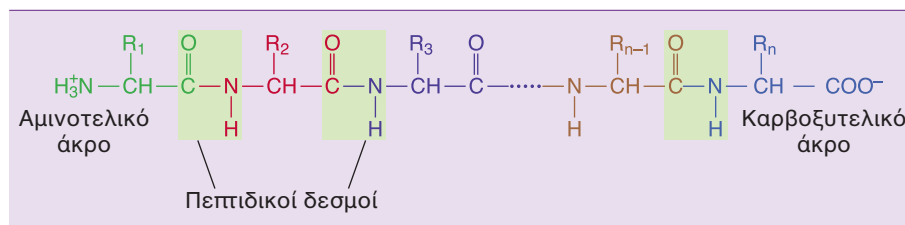


Η «πραγματική» δομή του βρίσκεται ανάμεσα σε αυτά τα δύο άκρα. Κατά συνέπεια, όπως στους διπλούς δεσμούς $C=C$ (βλ. Κεφάλαια 12 και 25), ο πεπτιδικός δεσμός δεν περιστρέφεται. Οι τέσσερις υποκαταστάτες του είναι ακινητοποιημένοι στον χώρο, με τους δύο α -άνθρακες σε στερεοδιάταξη *trans*, ο ένας απέναντι στον άλλον.

Οι άλλοι δύο δεσμοί του πολυπεπτιδικού σκελετού, εκείνοι που σχηματίζονται από τον α -άνθρακα, είναι αμιγείς απλοί δεσμοί και εμφανίζουν την αναμενόμενη ελευθερία περιστροφικών κινήσεων. Η περιστροφή γύρω από τον δεσμό μεταξύ α ζώτου και α -άνθρακα μετρείται με τη γωνία

ϕ , ενώ η περιστροφή γύρω από τον δεσμό μεταξύ άνθρακα του πεπτιδικού δεσμού και α -άνθρακα μετρείται με τη γωνία ψ (Εικόνα 2.6). Αυτή η ελευθερία περιστροφικών κινήσεων προσδίδει ευλυγισία στα πολυπεπίδια και τα καθιστά ικανά να σχηματίζουν αγκύλες σχήματος U και σπείρες.

Οι σφαιρικές πρωτεΐνες έχουν συμπαγή σχήματα. Οι περισσότερες είναι υδατοδιαλυτές, αλλά μερικές είναι ενσωματωμένες σε κυτταρικές μεμβράνες ή σχηματίζουν υπερμοριακά σύμπλοκα, όπως π.χ. τα ριβοσώματα. Στις σφαιρικές πρωτεΐνες συγκαταλέγονται η αιμοσφαιρίνη και η μυοσφαιρίνη (βλ. Κεφάλαιο 3), τα ένζυμα (βλ. Κεφάλαιο 4), οι μεμβρανικές πρωτεΐνες (βλ. Κεφάλαιο 12) και οι πρωτεΐνες του πλάσματος (βλ. Κεφάλαιο 17). Οι ινώδεις πρωτεΐνες είναι επιμήκεις και νηματοειδείς, και κατά το πλείστον εξυπηρετούν δομικές λειτουργίες. Στις ινώδεις πρωτεΐνες συγκαταλέγονται οι κερατίνες των τριχών, της επιδερμίδας και των νυχιών (βλ. Κεφάλαιο 13), καθώς και το κολλαγόνο και η ελαστίνη της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (βλ. Κεφάλαιο 14).



ΕΙΚΟΝΑ 2.5 Δομή των πολυπεπτιδίων. Προσέξτε την πολικότητα της αλυσίδας, με την ελεύθερη αμινομάδα στο ένα άκρο της αλυσίδας και την ελεύθερη καρβοξυλομάδα στο άλλο άκρο.

Η α -ΕΛΙΚΑ ΚΑΙ Η β -ΠΤΥΧΩΤΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΣΥΝΗΘΕΣΤΕΡΕΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΕΙΣ ΔΟΜΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Δευτεροταγής δομή ονομάζεται η κανονική, περιοδικά επαναλαμβανόμενη διάταξη που προκύπτει όταν όλες οι γωνίες ϕ του πολυπεπτιδίου είναι ίσες μεταξύ τους και όλες οι γωνίες ψ είναι ίσες μεταξύ τους. Μόνο λίγες δευτεροταγείς δομές είναι εφικτές από πλευράς ενεργειακής σταθερότητας.

Στη **α -έλικα (α -helix - Εικόνα 2.7)**, ο πολυπεπτιδικός σκελετός σχηματίζει μια δεξιόστροφη σπείρα. Αυτό σημαίνει ότι όταν ο αντίχειρας του δεξιού χεριού στρέφεται προς τα κάτω παράλληλα προς τον κεντρικό άξονα της έλικας, τα δάκτυλα που είναι σε κάμψη περιγράφουν τη φορά ελίκωσης του πολυπεπτιδίου. Τα σπειρώματα των βιδών και των μπουλονιών είναι επίσης δεξιόστροφα. Η α -έλικα είναι πολύ συμπαγής. Κάθε πλήρης στροφή περιέχει 3,6 αμινοξικά κατάλοιπα και κάθε αμινοξύ αντιστοιχεί σε 1,5 μονάδες angstrom ($\text{\AA}$) του κεντρικού άξονα της έλικας. ($1 \text{ \AA} = 10^{-1} \text{ nm} = 10^{-4} \text{ }\mu\text{m} = 10^{-7} \text{ mm}$). Άρα, μία πλήρης στροφή αντιστοιχεί σε $3,6 \times 1,5 = 5,4 \text{ \AA}$ ή $0,54 \text{ nm}$.

Το σχήμα της α -έλικας διατηρείται μέσω πολλαπλών δεσμών υδρογόνου ανάμεσα στους πεπτιδικούς δεσμούς. Κάθε ομάδα C=O ενός πεπτιδικού δεσμού συνδέεται μέσω δεσμών υδρογόνου με την ομάδα N-H του πεπτιδικού δεσμού που προηγείται κατά τέσσερα αμινοξικά κατάλοιπα στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Όλες οι ομάδες C=O και N-H της κύριας πολυπεπτιδικής αλυσίδας σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου. Τα N, H και O σχηματίζουν μια σχεδόν ευθεία γραμμή, που είναι η πιο ενεργειακά συμφέρουσα διάταξη για τους δεσμούς υδρογόνου.

Οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων κατευθύνονται προς τα έξω, μακριά από τον κεντρικό άξονα της έλικας. Οι πλευρικές ομάδες μπορεί να σταθεροποιούν ή να αποσταθεροποιούν την έλικα, αλλά δεν είναι απαραίτητες για τον σχηματισμό της. Η προλίνη είναι υπερβολικά άκαμπτη και δεν είναι συμβατή με την α -έλικα, ενώ η γλυκίνη είναι υπερβολικά εύκαμπτη. Η γλυκίνη μπορεί να λάβει πολλές εναλλακτικές χωροδιατάξεις οι οποίες είναι ενεργειακά πιο συμφέρουσες από την α -έλικα.

Η **β -πτυχωτή επιφάνεια (β -pleated sheet) ή β -φύλλο (Εικόνα 2.8)** είναι πολύ λιγότερο συμπαγής από την α -έλικα, με έκαστο αμινοξύ να αντιστοιχεί σε $3,5 \text{ \AA}$. Σε αυτή την εκτεταμένη δομή, οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται

ανάμεσα στις ομάδες C=O και N-H των πεπτιδικών δεσμών παρακείμενων πολυπεπτιδίων. Οι αλληλεπιδράσεις αλυσίδες μπορούν να διαταχθούν είτε παράλληλα ή αντιπαράλληλα και μπορεί να ανήκουν είτε σε διαφορετικά πολυπεπτιδία ή σε διαφορετικά τμήματα του ίδιου πολυπεπτιδίου. Όταν συμμετέχουν περισσότερα από δύο πολυπεπτιδία, σχηματίζονται δομές που μοιάζουν με κουβέρτα. Η α -έλικα και η β -πτυχωτή επιφάνεια απαντώνται τόσο στις ινώδεις όσο και στις σφαιρικές πρωτεΐνες.

ΟΙ ΣΦΑΙΡΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΕΝΑΝ ΥΔΡΟΦΟΒΟ ΠΥΡΗΝΑ

Οι σφαιρικές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται ώστε να αποκτήσουν μια συμπαγή **τριτοταγή δομή**. Τα τμήματα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας που σχηματίζουν κάθε δευτεροταγή δομή είναι συνήθως βραχεία, με το καθένα να μην υπερβαίνει τα 30 αμινοξέα. Τα τμήματα αυτά εναλλάσσονται με ακανόνιστα αναδιπλωμένες αλληλουχίες (Εικόνα 2.9). Σε αντίθεση με την α -έλικα και τη β -πτυχωτή επιφάνεια, που σχηματίζονται μέσω δεσμών υδρογόνου, οι **τριτοταγείς δομές σχηματίζονται κυρίως χάρη σε υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε πλευρικές ομάδες αμινοξέων**. Αυτές οι πλευρικές ομάδες σχηματίζουν έναν υδρόφοβο πυρήνα. Μερικά πολυπεπτιδία αναδιπλώνονται σχηματίζοντας δύο ή περισσότερες σφαιρικές δομές που συνδέονται μεταξύ τους μέσω πιο εύκαμπτων και εκτεταμένων τμημάτων του πολυπεπτιδίου. Στις περιπτώσεις αυτές λέμε ότι η πρωτεΐνη σχηματίζει πολλαπλές σφαιρικές **αυτοτελείς δομικές περιοχές ή επικράτειες (domains)**.

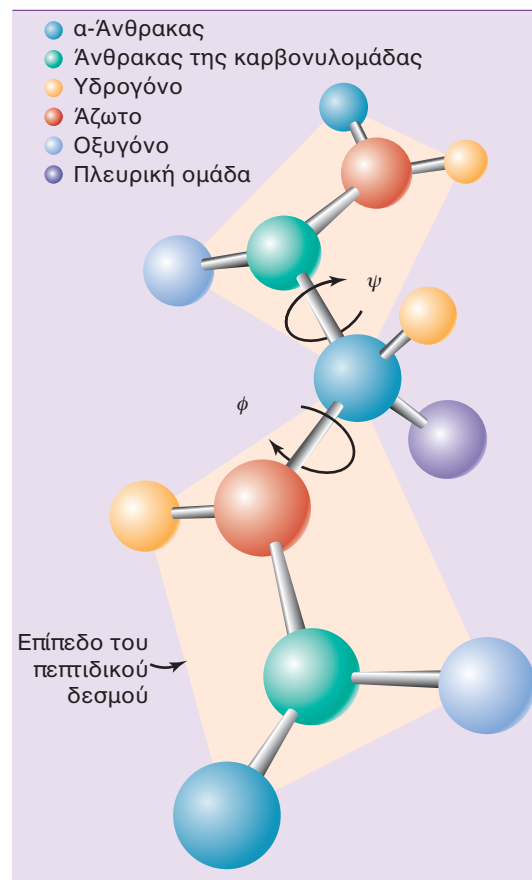
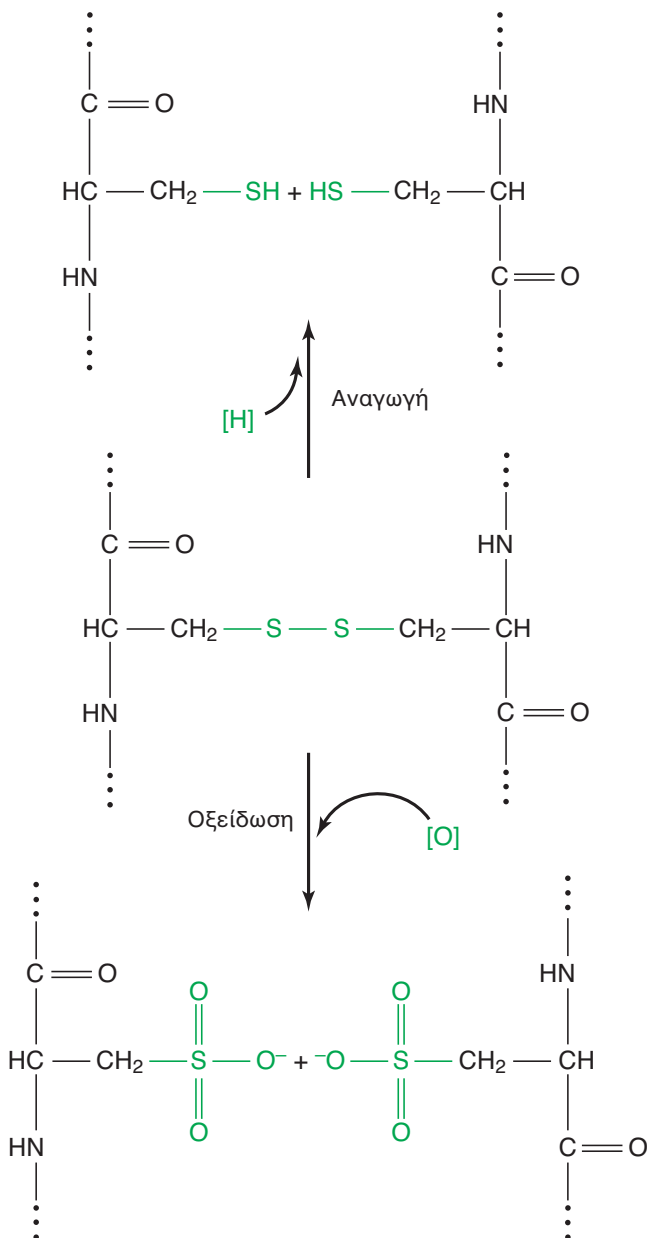
Ως **τεταρτοταγείς δομές** ορίζονται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών πολυπεπτιδίων (**υπομονάδων**). Κατά συνέπεια, τεταρτοταγή δομή διαθέτουν μόνο οι πρωτεΐνες που αποτελούνται από δύο ή περισσότερα πολυπεπτιδία. Σε μερικές από αυτές τις πρωτεΐνες οι υπομονάδες συγκρατούνται στη θέση τους αποκλειστικά μέσω μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, αλλά κάποιες άλλες διαθέτουν διαμοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς.

Οι **γλυκοπρωτεΐνες** περιέχουν ομοιοπολικά συνδεδεμένους υδατάνθρακες και οι **φωσφοπρωτεΐνες** περιέχουν ομοιοπολικά συνδεδεμένα φωσφορικά. Στις πρωτεΐνες μπορούν να συνδεθούν και άλλα μη πεπτιδικά στοιχεία, μέσω είτε ομοιοπολικών ή μη ομοιοπολικών δεσμών. Τα

στοιχεία αυτά ονομάζονται **προσθετικές ομάδες** (Εικόνα 2.10). Πολλά ένζυμα περιέχουν προσθετικές ομάδες που συμμετέχουν ως συνένζυμα στην ενζυμική κατάλυση.

Η ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΞΑΛΕΙΦΕΤΑΙ ΕΑΝ ΑΠΟΔΙΟΡΓΑΝΩΘΕΙ Η ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΔΟΜΗ ΤΟΥΣ

Οι πεπτιδικοί δεσμοί μπορούν να διασπαστούν εάν θερμανθούν παρουσία ισχυρού οξέος ή βάσης. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα (πρωτεάσες) επιτυγχάνουν το ίδιο αλλά με ήπιο τρόπο, όπως συμβαίνει κατά την πέψη των πρωτεϊνών στον στόμαχο και στο έντερο. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί διασπώνται υπό την επίδραση αναγωγικών ή οξειδωτικών παραγόντων:

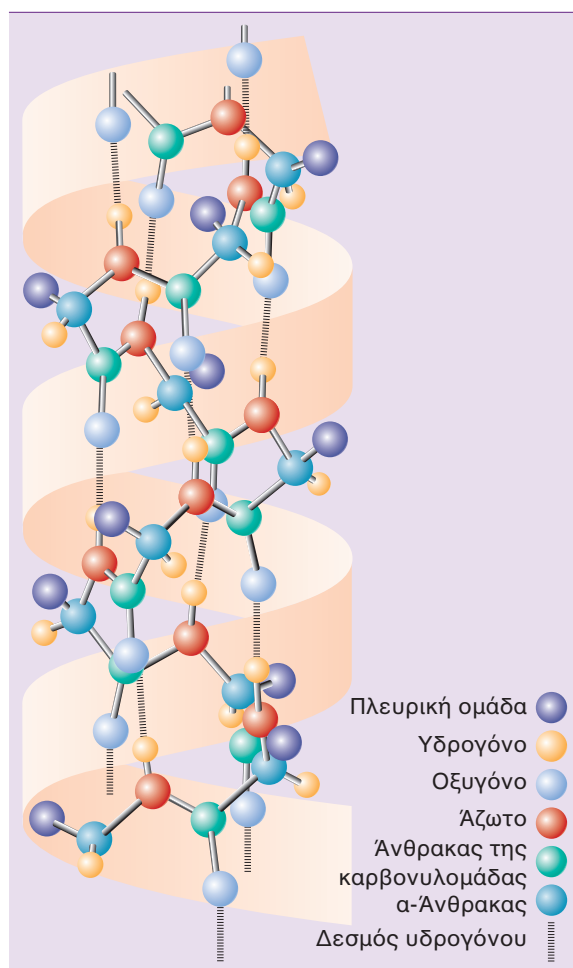


ΕΙΚΟΝΑ 2.6 Γεωμετρία του πεπτιδικού δεσμού. Οι γωνίες φ και ψ είναι μεταβλητές.

Οι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις εντός των πρωτεϊνών είναι τόσο αδύναμες που η *ανώτερου επιπέδου δομή τους μπορεί να αποδιοργανωθεί μέσω θέρμανσης*. Μέσα σε λίγα λεπτά μετά τη θέρμανση πάνω από μια συγκεκριμένη θερμοκρασία (συνήθως μεταξύ 50°C και 80°C) η ανώτερου επιπέδου δομή τους μετατρέπεται σε ένα μπερδεμένο κουβάρι. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **μετουσίωση (αποδιάταξη) λόγω θέρμανσης**.

Η μετουσίωση καταργεί τις φυσιολογικές ιδιότητες της πρωτεΐνης. Με άλλα λόγια, *οι βιολογικές ιδιότητες των πρωτεϊνών προϋποθέτουν την ακεραιότητα των ανώτερου επιπέδου δομών*. Επίσης, οι φυσικές ιδιότητες των πρωτεϊνών αλλάζουν δραματικά με τη μετουσίωση. Για παράδειγμα, η υδατοδιαλυτότητα καταργείται, επειδή οι μετουσιωμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες περιπλέκονται με μη αντιστρεπτό τρόπο. Γενικά, *η μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι μη αναστρέψιμη*. Ένα βρασμένο αυγό δεν μετατρέπεται ξανά σε ωμό εάν αφεθεί σε χαμηλή θερμοκρασία.

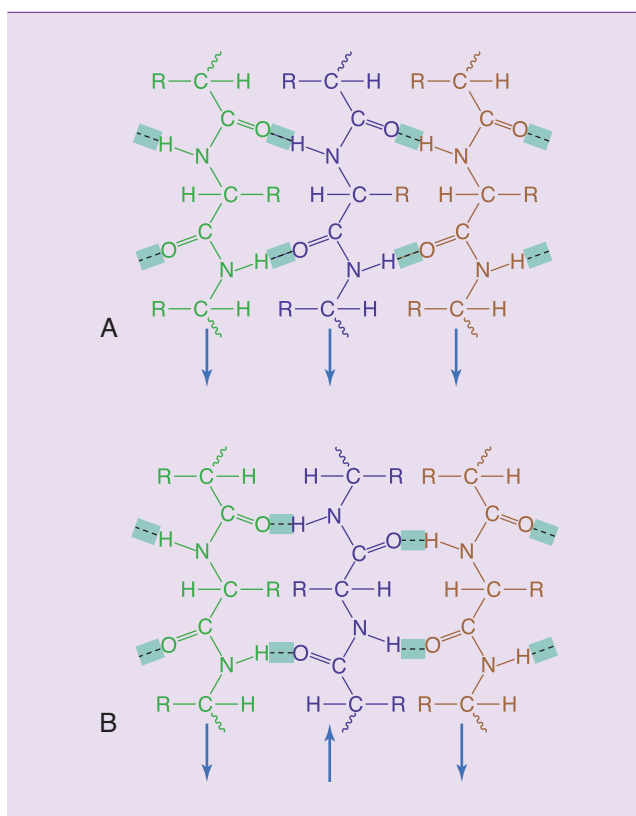
Οι πρωτεΐνες μπορούν να μετουσιωθούν όχι μόνο μέσω θέρμανσης αλλά από οτιδήποτε διαταράσσει τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις. Οι **απορρυπαντικές ουσίες** και οι **οργανικοί διαλύτες** μετουσιώνουν τις πρωτεΐνες δια-



ΕΙΚΟΝΑ 2.7 Δομή της α-έλικας.

ταράσσοντας τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Ως μη πολικές ενώσεις, εισχωρούν ανάμεσα στις πλευρικές ομάδες των υδρόφωβων αμινοξέων. Τα ισχυρά **οξέα** και **βάσεις** μετουσιώνουν τις πρωτεΐνες μεταβάλλοντας το φορτίο τους. Υπό την επίδραση ενός ισχυρού οξέος, η πρωτεΐνη χάνει τα αρνητικά της φορτία, ενώ υπό την επίδραση μιας ισχυρής βάσης, χάνει τα θετικά της φορτία. Αυτό στερεί από την πρωτεΐνη τις ενδομοριακές γέφυρες άλατος. Οι υψηλές συγκεντρώσεις μικρών υδρόφιλων μορίων που εμφανίζουν μεγάλη τάση να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου, όπως π.χ. η ουρία, μπορούν επίσης να μετουσιώσουν τις πρωτεΐνες. Αυτό το επιτυγχάνουν διασπώντας τους δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στα μόρια νερού. Έτσι, περιορίζεται ο βαθμός στον οποίο τα μόρια νερού αναγκάζονται να λάβουν μία θερμοδυναμικά μη ευνοϊκή, «καθορισμένη» διάταξη σε μια διεπιφάνεια νερού-μη πολικής ένωσης, αποδυναμώνοντας έτσι τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις εντός της πρωτεΐνης.

Τα **ιόντα βαρέων μετάλλων** (μολύβδου, καδμίου, υδραργύρου) μπορούν να μετουσιώσουν τις πρωτεΐνες συνδεδεμένα με τις καρβοξυλομάδες και, ακόμη περισσότερο, με τις σουλφυδρυλομάδες των πρωτεϊνών. Η χημική τους συγγένεια με τις λειτουργικές ομάδες των πρωτεϊνών είναι



ΕΙΚΟΝΑ 2.8 Δομή των β-πτυχωτών επιφανειών. Α. Παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. Β. Αντιπαράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια. Τα βέλη υποδεικνύουν την κατεύθυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

μια από τις αιτίες της τοξικότητας των βαρέων μετάλλων.

Η ευθραυστότητα της ζωής είναι απογοητευτική. Μία αύξηση της θερμοκρασίας κατά 6°C μπορεί να αποβεί μοιραία, ενώ το pH του αίματος δεν πρέπει ποτέ να ελαττωθεί κάτω από 7,0 ή να αυξηθεί πάνω από 7,7 για οποιοδήποτε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από μια στιγμή. Αυτές οι φαινομενικά ήπιες μεταβολές του εσωτερικού περιβάλλοντος του οργανισμού δεν προκαλούν διάσπαση των ομοιοπολικών δεσμών, αλλά *διαταράσσουν τις μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις*. Οι ζωντανοί οργανισμοί χρειάστηκε να αναπτύξουν ομοιοστατικούς μηχανισμούς για τη διατήρηση του εσωτερικού τους περιβάλλοντος σταθερού εξαιτίας αυτής της ευπάθειας των μη ομοιοπολικών δεσμών των δομών ανώτερου επιπέδου.

Η ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΞΑΡΤΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟ pH ΚΑΙ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΟΥ ΑΛΑΤΟΣ

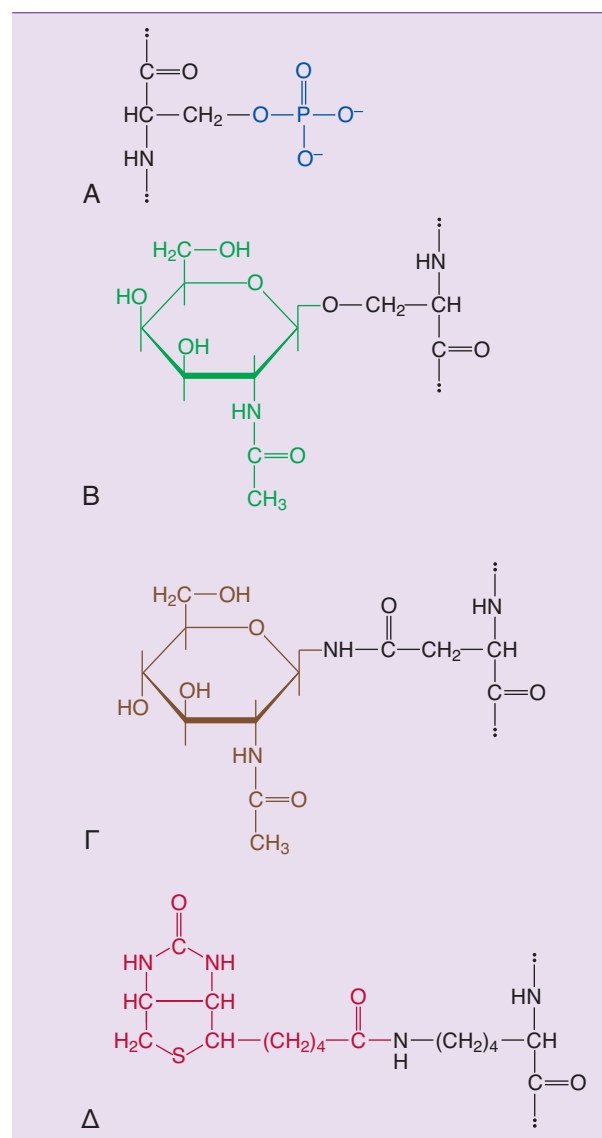
Σε αντίθεση με τις ινώδεις πρωτεΐνες, οι περισσότερες σφαιρικές πρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτές. Η διαλυτότητα



ΕΙΚΟΝΑ 2.9 Διατάξεις πρωτεϊνικών σφαιρικών επικρατειών που περιέχουν τόσο δομές με μορφή α-έλικας (σπείρα) όσο και δομές με μορφή β-πτυχωτής επιφάνειας (βέλος). Αυτά τα βραχεία τμήματα της δευτεροταγούς δομής χωρίζονται το ένα από το άλλο με μη ελικοειδή μέρη.

τά τους επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των αλάτων. Η αύξηση της συγκέντρωσης των αλάτων από 0% σε 1% ή περισσότερο αυξάνει τη διαλυτότητά τους, επειδή τα ιόντα άλατος εξουδετερώνουν τα ηλεκτρικά φορτία που φέρουν οι πρωτεΐνες, αμβλύνοντας έτσι την ηλεκτροστατική έλξη ανάμεσα στα παρακείμενα πρωτεϊνικά μόρια (**Εικόνα 2.11, Α και Β**). Οι πολύ υψηλές συγκεντρώσεις άλατος, όμως, προκαλούν κατακρήμνιση των πρωτεϊνών επειδή τα περισσότερα μόρια νερού καταλήγουν να δεσμευτούν από τις σφαίρες ενυδάτωσης (hydration shells) των ιόντων άλατος.

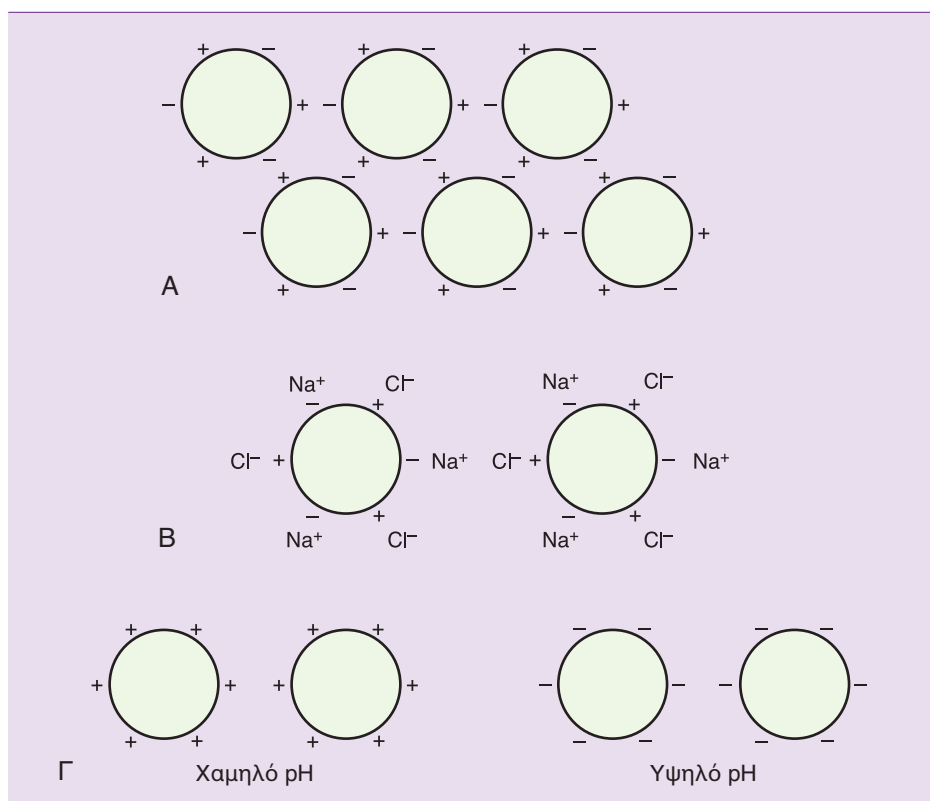
Η προσθήκη ενός αναμίξιμου με νερό οργανικού διαλύτη (π.χ. αιθανόλης) μπορεί να προκαλέσει κατακρήμνιση των πρωτεϊνών, επειδή ο οργανικός διαλύτης ανταγωνί-



ΕΙΚΟΝΑ 2.10 Παραδείγματα μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων των πρωτεϊνών. Α. Ένα κατάλοιπο φωσφοσερίνης. Εκτός από τη σερίνη, φωσφορικούς δεσμούς στις πρωτεΐνες μπορούν επίσης να σχηματίσουν η θρεονίνη και η τυροσίνη. Β. Ένα κατάλοιπο Ν-ακετυλογαλακτοζαμίνης συνδεδεμένο με μια πλευρική ομάδα σερίνης. Στις γλυκοπρωτεΐνες, η σερίνη και η θρεονίνη σχηματίζουν Ο-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Γ. Ένα κατάλοιπο Ν-ακετυλογαλακτοζαμίνης συνδεδεμένο με μια πλευρική ομάδα ασπαραγίνης μέσω ενός Ν-γλυκοζιτικού δεσμού. Δ. Μερικά ένζυμα περιέχουν μια ομοιοπολική συνδεδεμένη προσθετική ομάδα. Λειτουργώντας ως συνένζυμο (βλ. Κεφάλαιο 5), η προσθετική ομάδα συμμετέχει στην ενζυμική αντίδραση. Στο παρόν παράδειγμα παρουσιάζεται η βιοτίνη, που συνδέεται ομοιοπολικά με μια πλευρική ομάδα λυσίνης.

νίζεται τις πρωτεΐνες για το διαθέσιμο νερό. Σε αντίθεση με τη μετουσίωση, η κατακρήμνιση είναι αναστρέψιμη και δεν καταργεί μόνιμα τις βιολογικές ιδιότητες της πρωτεΐνης.

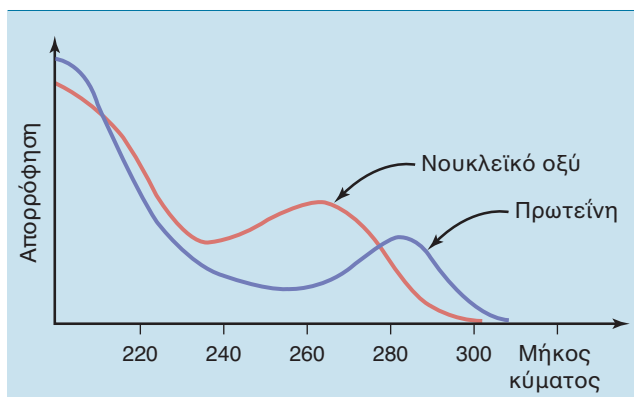
ΕΙΚΟΝΑ 2.11 Επιδράσεις των αλάτων και του pH στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Α. Πρωτεΐνη σε αποσταγμένο νερό. Οι δεσμοί άλατος ανάμεσα στα πρωτεϊνικά μόρια προκαλούν την κατακρήμνιση αυτών των μορίων. Η πρωτεΐνη καθίσταται αδιάλυτη. Β. Πρωτεΐνη σε διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl) 5%. Τα ιόντα άλατος συνδέονται με τα επιφανειακά φορτία των πρωτεϊνικών μορίων, αποτρέποντας έτσι τον σχηματισμό διαμοριακών δεσμών άλατος. Γ. Η επίδραση του pH στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Ο σχηματισμός διαμοριακών δεσμών άλατος ευνοείται στο ισοηλεκτρικό σημείο. Σε τιμές του pH πολύ υψηλότερες ή χαμηλότερες από το pI, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μόρια είναι κυρίως απωθητικές.



Η τιμή του pH είναι εξίσου σημαντική. Όταν το pH είναι ίσο με το pI της πρωτεΐνης, η πρωτεΐνη φέρει ίσο αριθμό θετικών και αρνητικών φορτίων. Έτσι μεγιστοποιούνται οι ευκαιρίες για τον σχηματισμό διαμοριακών δεσμών άλατος, οι οποίοι συγκολλούν τα πρωτεϊνικά μόρια μεταξύ τους, δημιουργώντας αδιάλυτα συσσωματώματα ή κρυστάλλους (Εικόνα 2.11, Α και Γ). Άρα, η διαλυτότητα των πρωτεϊνών είναι ελάχιστη στο ισοηλεκτρικό τους σημείο.

ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΑΠΟΡΡΟΦΟΥΝ ΤΗΝ ΥΠΕΡΙΩΔΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

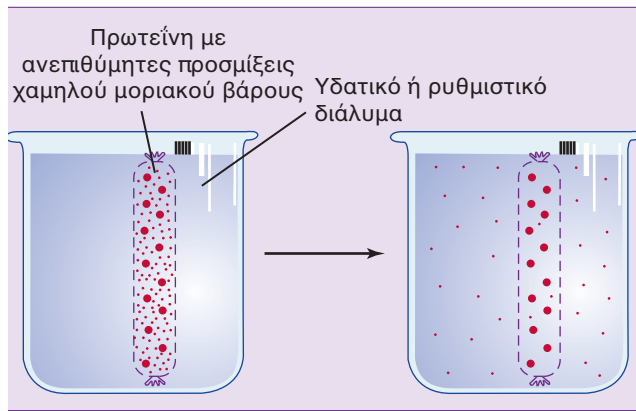
Οι πρωτεΐνες δεν απορροφούν το ορατό φως. Για τον λόγο αυτό είναι άχρωμες, εκτός εάν περιέχουν μια έγχρωμη προσθετική ομάδα, όπως π.χ. η ομάδα αίμης στην αιμοσφαιρίνη ή ο συμπαράγοντας ρετινάλη στην οπτική χρωστική ροδοψίνη. Αντίθετα, οι πρωτεΐνες απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία, με δύο μέγιστα απορρόφησης. Το ένα μέγιστο απορρόφησης παρατηρείται στα 190 nm και οφείλεται στους πεπτιδικούς δεσμούς. Το δεύτερο μέγιστο απορρόφησης παρατηρείται στα 280 nm και οφείλεται στις αρωματικές πλευρικές ομάδες των αμινοξέων. Το μέγιστο των 280 nm είναι πιο χρήσιμο στην εργαστηριακή πρακτική, επειδή είναι σχετικά ειδικό για τις πρωτεΐνες. Τα νουκλεϊκά οξέα ωστόσο εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης στα 260 nm, που συμπίπτει εν μέρει με το πρωτεϊνικό μέγιστο των 280 nm (Εικόνα 2.12).



ΕΙΚΟΝΑ 2.12 Τυπικά φάσματα απορρόφησης των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων. Το μέγιστο της απορρόφησης των πρωτεϊνών εμφανίζεται στα 280 nm και οφείλεται στις αρωματικές πλευρικές ομάδες της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης. Το μέγιστο της απορρόφησης των νουκλεϊκών οξέων εμφανίζεται στα 260 nm και οφείλεται στον αρωματικό χαρακτήρα των βάσεων πουρίνης και πυριμιδίνης.

ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΥΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΦΟΡΤΙΟ Ή ΤΟ ΜΟΡΙΑΚΟ ΤΟΥΣ ΒΑΡΟΣ

Η **διαπίδυση (dialysis)** χρησιμοποιείται στο εργαστήριο για τον διαχωρισμό των πρωτεϊνών από τα άλατα και άλλες μικρές ανεπιθύμητες προσμίξεις. Η πρωτεΐνη τοποθετεί-



ΕΙΚΟΝΑ 2.13 Χρήση της διαπίδυσης στον καθαρισμό πρωτεϊνών. Μόνο μικρά μόρια και ανόργανα ιόντα μπορούν να διέλθουν μέσα από την πορώδη μεμβράνη.

ται μέσα σε έναν μικρό σάκο από πορώδες σελοφάν (συνθετική ημιδιαπερατή μεμβράνη) (Εικόνα 2.13). Οι πόροι επιτρέπουν στα άλατα και στα μικρά μόρια να διαχυθούν προς τα έξω, αλλά οι μεγάλες πρωτεΐνες συγκρατούνται μέσα στον σάκο. Η αιμοκάθαρση των νεφροπαθών βασίζεται στην ίδια αρχή (Κλινικό Παράδειγμα 2.1).

Η **ηλεκτροφόρηση** διαχωρίζει τις πρωτεΐνες με βάση τον λόγο του φορτίου προς τη μάζα τους, ανάλογα με την κίνησή τους υπό την επίδραση ενός ηλεκτρικού πεδίου. Σε τιμές του pH πάνω από το pI της, η πρωτεΐνη φέρει κυρίως αρνητικά φορτία και μετακινείται προς την άνοδο. Σε τιμές του pH κάτω από το pI της, η πρωτεΐνη φέρει κυρίως θετικά φορτία και μετακινείται προς την κάθοδο. Εάν το pH είναι ίσο με το pI, το καθαρό φορτίο είναι μηδενικό και η πρωτεΐνη παραμένει ακίνητη.

Η ηλεκτροφόρηση σε ταινίες οξικής κυτταρίνης, πήκτωμα αμύλου και άλλα υποστρώματα αποτελεί την καθιερωμένη μέθοδο διαχωρισμού των πρωτεϊνών του πλάσματος και ανίχνευσης των παθολογικών πρωτεϊνών στο κλινικό εργαστήριο (Εικόνα 2.14, Α). Όταν μία δομικά ανώμαλη πρωτεΐνη διαφέρει από την αντίστοιχη φυσιολογική λόγω αντικατάστασης ενός αμινοξέος, η **ηλεκτροφορητική κινητικότητα μεταβάλλεται μόνο εάν αλλάζει το συνολικό της φορτίο**. Για παράδειγμα, εάν ένα κατάλοιπο γλουταμικού οξέος αντικατασταθεί από ασπαρτικό οξύ, η ηλεκτροφορητική κινητικότητα παραμένει ίδια, επειδή αυτά τα δύο αμινοξέα φέρουν το ίδιο φορτίο. Ωστόσο, εάν το γλουταμικό οξύ αντικατασταθεί από ένα μη φορτισμένο αμινοξύ, όπως π.χ. από βαλίνη, ένα ηλεκτρικό φορτίο απομακρύνεται και οι δύο πρωτεΐνες μπορούν να διαχωριστούν μέσω ηλεκτροφόρησης.

Η ηλεκτροφόρηση μπορεί να πραγματοποιηθεί σε πήκτωμα διασταυρωμένου πολυακρυλαμιδίου ή αгарόζης που παρεμποδίζει τη μετακίνηση των μεγάλων μορίων. Εάν το pH είναι τέτοιο ώστε όλες οι πρωτεΐνες να μετακινούνται προς τον ίδιο πόλο, τα μόρια διαχωρίζονται κυρίως με βάση το

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 2.1: Αιμοκάθαρση

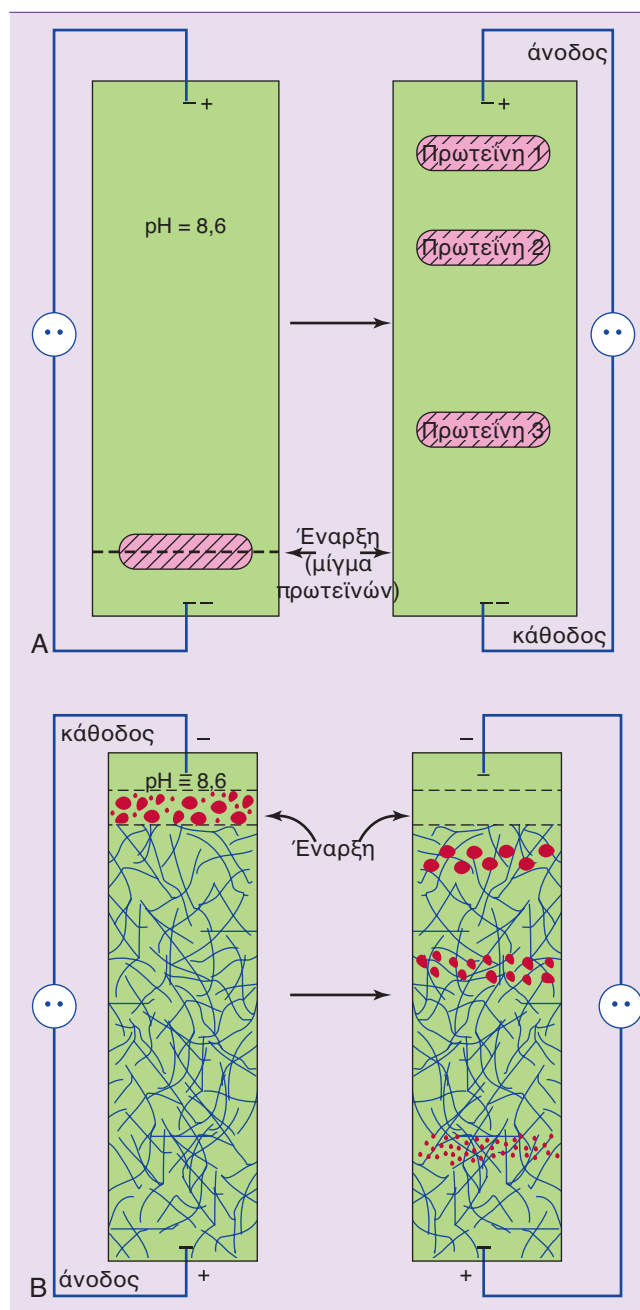
Τα αιμοκύτταρα (αιμοσφαίρια) καταλαμβάνουν το 40% έως 50% του όγκου του αίματος. Το υγρό στοιχείο που απομένει ονομάζεται πλάσμα και είναι ένα διάλυμα που περιέχει ανόργανα ιόντα και πρωτεΐνες σε συγκεντρώσεις 0,9% και 7% αντίστοιχα, καθώς και θρεπτικά συστατικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις, όπως π.χ. γλυκόζη σε συγκέντρωση 0,1%. Περιέχονται επίσης υδατοδιαλυτά παραπροϊόντα του μεταβολισμού, όπως π.χ. η ουρία (που περιέχει άζωτο από τη διάσπαση των πρωτεϊνών) και το ουρικό οξύ (από τα πουρινικά νουκλεοτίδια), αλλά οι συγκεντρώσεις τους είναι χαμηλές επειδή απομακρύνονται συνέχεια από τους νεφρούς. Στους ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, αυτά τα παραπροϊόντα συσσωρεύονται και φτάνουν σε επικίνδυνα επίπεδα.

Η καθιερωμένη μέθοδος θεραπευτικής αντιμετώπισης αυτών των ασθενών είναι η αιμοκάθαρση. Στη μέθοδο αυτή, το αίμα του ασθενή διέρχεται από φίλτρα, όπου έρχεται σε επαφή με ημιδιαπερατές μεμβράνες. Οι πόροι των μεμβρανών αυτών είναι αρκετά μεγάλοι ώστε να επιτρέπουν τη διέλευση και απομάκρυνση των παραπροϊόντων του μεταβολισμού με χαμηλό μοριακό βάρος (καθώς επίσης των αλάτων και των θρεπτικών συστατικών), ενώ οι πρωτεΐνες του πλάσματος και τα κύτταρα του αίματος παραμένουν εντός της αιματικής κυκλοφορίας. Το διάλυμα της αιμοκάθαρσης με το οποίο ανταλλάσει ουσίες το αίμα δεν αποτελείται από αποσταγμένο νερό (γεγονός που θα οδηγούσε σε μήνυση για ιατρική αμέλεια), αλλά περιέχει θρεπτικά συστατικά και ανόργανα ιόντα σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις.

μοριακό τους βάρος και όχι με βάση τον λόγο του φορτίου προς τη μάζα τους (Εικόνα 2.14, Β).

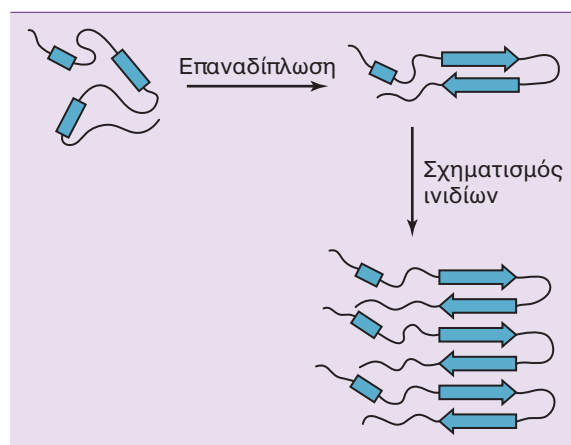
ΤΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΚΑΛΕΣΟΥΝ ΝΟΣΟ

Κατά κανόνα, οι πρωτεΐνες που έχουν απολέσει τη φυσιολογική χωροδιάταξή τους διασπώνται από πρωτεάσες, είτε μέσα στα κύτταρα ή έξω από αυτά. Μερικές φορές, ωστόσο, οι πρωτεΐνες με λανθασμένη αναδίπλωση διατάσσονται σε ινίδια που είναι δύσκολο να διασπαστούν. Σε αυτές τις περιπτώσεις εμφανίζεται μια τυπική μορφολογία. Μια σφαιρική πρωτεΐνη που στη φυσιολογική της κατάσταση διαθέτει μια κάπως εύκαμπτη ανώτερου επιπέδου δομή, αυτόματα επαναδιπλώνεται μεταπίπτοντας σε μια κατάσταση με υψηλή περιεκτικότητα σε β-πτυχωτές επιφάνειες. Μερικές φορές, περιοχές α-έλικας αναδιατάσσονται σε β-πτυχωτές επιφάνειες. Σε αντίθεση με την α-έλικα, που είναι αποκλειστικά ενδομοριακή, η β-πτυχωτή επιφάνεια μπορεί να σχηματίσει εκτεταμένες δομές που περιλαμβάνουν δύο ή περισσότερα πολυπεπίδια. Κατά συνέπεια, αυτές οι επαναδιπλωμένες πρωτεΐνες είναι επιρρεπείς στη συσσωμάτωση, σχηματίζοντας ινιδώδεις δομές, οι οποίες περιέχουν μικρού μήκους περιοχές β-πτυχωτής επιφάνειας που διατρέχουν κάθετα τον



ΕΙΚΟΝΑ 2.14 Διαχωρισμός πρωτεϊνών μέσω ηλεκτροφόρησης. Α. Οι πρωτεΐνες διαχωρίζονται με βάση το καθαρό τους φορτίο πάνω σε μια εμποτισμένη ταινία οξικής κυτταρίνης. Εάν χρησιμοποιείται αλκαλικό pH, όπως στο παρόν παράδειγμα, οι πρωτεΐνες φορτίζονται αρνητικά και μετακινούνται προς την άνοδο. Β. Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου. Αν και τα μικρά μόρια μπορούν να μετακινηθούν εντός του ηλεκτρικού πεδίου, τα μεγαλύτερα «καθλώνονται» στο πήκτωμα. Εάν το pH είναι κατάλληλο, η μέθοδος αυτή διαχωρίζει τις πρωτεΐνες με βάση το μοριακό βάρος και όχι το φορτίο.

άξονα του ινιδίου (Εικόνα 2.15). Το ινιδώδες υλικό αυτό ονομάζεται **αμυλοειδές**, επειδή οι ιστολογικές χρωστικές του ιδιότητες μοιάζουν με εκείνες του αμύλου.



ΕΙΚΟΝΑ 2.15 Σχηματισμός αμυλοειδούς από μια σφαιρική πρωτεΐνη. Πολλές φορές, η α-ελικοειδής δομή (παράλληλογράμμο) καταργείται και αντικαθίσταται από β-πτυχωτή δομή (βέλη).

Αν και το αμυλοειδές δεν είναι πολύ τοξικό και δεν διεγείρει καμία ανοσολογική αντίδραση, μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα όργανα όπου εναποτίθεται. Οι εναποθέσεις αμυλοειδούς ευθύνονται για περίπου 20 διαφορετικά νοσήματα. Στα κλασικά περιστατικά, το αμυλοειδές σχηματίζεται από μια εκκρινόμενη πρωτεΐνη και συσσωρεύεται στον εξωκυττάριο χώρο.

Αρκετές πρωτεΐνες του ανθρώπινου οργανισμού είναι επιρρεπείς στο να σχηματίζουν αμυλοειδές (Πίνακας 2.2). Μία από αυτές είναι η **τρανσθυρετίνη**, μια πρωτεΐνη του πλάσματος που λειτουργεί ως φορέας των θυρεοειδικών ορμονών και τη ρετινόλης στην αιματική κυκλοφορία (βλ. Κεφάλαιο 17). Το προερχόμενο από την τρανσθυρετίνη αμυλοειδές εναποτίθεται στην καρδιά, τα αιμοφόρα αγγεία και τα νεφρά, και αποτελεί συχνό τυχαίο νεκροτομικό εύρημα στα άτομα που αποβιώνουν μετά την ηλικία των 80 ετών. Στα σοβαρά περιστατικά, όμως, το αμυλοειδές προκαλεί βλάβη στα όργανα. Η καρδιακή αμυλοειδωση μπορεί να προκαλέσει καρδιακή ανεπάρκεια και αρρυθμίες και αποτελεί συχνή αιτία αιφνίδιου θανάτου στους υπερήλικες.

Μερικές δομικά φυσιολογικές πρωτεΐνες προκαλούν αμυλοειδωση όταν παράγονται σε υπερβολικές ποσότητες. Η συχνότερη κατάσταση αυτού του τύπου οφείλεται στη χρόνια υπερπαραγωγή ελαφρών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών από έναν κλώνο παθολογικών πλασματοκυττάρων. Αυτό παρατηρείται σε πολλά κατά τα άλλα υγιή ηλικιωμένα άτομα (βλ. Κεφάλαιο 18). Το αμυλοειδές μπορεί να εναποτεθεί σε οποιοδήποτε οργανικό σύστημα εκτός από τον εγκέφαλο και να επιφέρει ένα ευρύ φάσμα κλινικών επιπτώσεων. Μια παρόμοια κατάσταση παρατηρείται με την πρωτεΐνη **αμυλοειδές Α του ορού** [serum amyloid A (SAA) protein], που υπό φυσιολογικές συνθήκες συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος. Η παραγωγή της SAA αυξάνεται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, μερικές

Πίνακας 2.2 Μερικές Μορφές Αμυλοείδωσης

Τύπος	Υπεύθυνη Πρωτεΐνη	Σημεία Εναπόθεσης	Αιτία
Σχετιζόμενη με την τρανσθυρετίνη («γεροντική») αμυλοείδωση	Τρανσθυρετίνη	Καρδιά, νεφροί, αναπνευστική οδός	Μεγάλη ηλικία
Αμυλοείδωση AL (πρωτοπαθής)	Ελαφρές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών	Σε όλα τα συστήματα (με εξαίρεση τον εγκέφαλο), ενίοτε κατά τόπους	Πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες (βλ. Κεφάλαιο 18)
Αμυλοείδωση AA (δευτεροπαθής)	Αμυλοειδές A του ορού	Σε όλα τα συστήματα (με εξαίρεση τον εγκέφαλο)	Χρόνια φλεγμονή
Αμυλοείδωση της αιμοκάθαρσης	β_2 -μικροσφαιρίνη	Οστά, αρθρώσεις	Αιμοκάθαρση
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Αμυλοειδές πολυπεπτίδιο των νησιδίων	Παγκρεατικά νησίδια	Υπερέκκριση
Μετωποκροταφική άνοια	Πρωτεΐνη tau	Εγκέφαλος	Σχετιζόμενη με την ηλικία ή κληρονομική μετάλλαξη
Νόσος Parkinson	α -συνουκλείνη	Μέλαινα ουσία	Σχετιζόμενη με την ηλικία
Νόσος Alzheimer	Πρόδρομη πρωτεΐνη του β -αμυλοειδούς	Εγκέφαλος	Σχετιζόμενη με την ηλικία, κληρονομική μετάλλαξη ή σύνδρομο Down

φορές ακόμα και κατά 100 φορές πάνω από το φυσιολογικό. Στις χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους, η SAA μπορεί να σχηματίζει αμυλοειδές στον σπλήνα και αλλού. Επίσης, διευκολύνει τον σχηματισμό του αμυλοειδούς από άλλες πρωτεΐνες, επειδή προσδένεται στενά στα ινίδια αμυλοειδούς, επιταχύνοντας έτσι τον σχηματισμό τους ή δυσχεραίνοντας τη διάσπασή τους.

Στα προχωρημένα στάδια του διαβήτη τύπου 2, ένα μικρό πολυπεπτίδιο (37 αμινοξέα) γνωστό ως **αμυλίνη** ή **αμυλοειδές πολυπεπτίδιο των νησιδίων** (islet amyloid polypeptide - IAPP) σχηματίζει αμυλοειδές στα νησίδια του Langerhans. Η αμυλίνη είναι μια ορμόνη που απελευθερώνεται από τα β -κύτταρα του παγκρέατος μαζί με ινσουλίνη. Πιθανώς λόγω χρόνιας υπερέκκρισης στα αρχικά στάδια του διαβήτη τύπου 2, η αμυλίνη τελικά εναποτίθεται ως αμυλοειδές στα νησίδια του Langerhans. Θεωρείται ότι συμβάλλει στην «εξάντληση» των β -κυττάρων στα όψιμα στάδια της νόσου.

Αμυλοείδωση μπορεί να προκληθεί από μια δομικά ανώμαλη πρωτεΐνη. Για παράδειγμα, η φυσιολογική τρανσθυρετίνη σχηματίζει αμυλοειδές στα όψιμα στάδια της ζωής. Ωστόσο, μερικά άτομα γεννιούνται με μια σημειακή μετάλλαξη που οδηγεί στην παραγωγή μιας δομικά ανώμαλης τρανσθυρετίνης, ένα αμινοξύ της οποίας έχει αντικατασταθεί. Έχουν περιγραφεί περισσότερες από 80 τέτοιες μεταλλάξεις, που στην πλειονότητά τους είναι αμυλοειδογόνες. Οι φορείς τέτοιων μεταλλάξεων εμφανίζουν αμυλοείδωση που οδηγεί στον θάνατο κατά τη δεύτερη έως έκτη δεκαετία της ζωής.

Μία ακόμη κατάσταση που μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε αμυλοείδωση είναι η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια που απαιτεί αιμοκάθαρση. Στην περίπτωση αυτή ευθύνεται η **β_2 -μικροσφαιρίνη**, μια μικρή πρωτεΐνη της κυτταρικής επιφάνειας που συμμετέχει στις ανοσολογικές αντιδράσεις. Σε κάποιο βαθμό, η β_2 -μικροσφαιρίνη φυσιολογικά αποκολλάται από τα κύτταρα και μπορεί να ανιχνευτεί στο πλάσμα του αίματος. Καθώς είναι μικρή και υδατοδιαλυτή, καθαίρεται κυρίως από τους νεφρούς. Ωστόσο, η απομάκρυνσή της μέσω αιμοκάθαρσης δεν επαρκεί, οπότε τα επίπεδά της μπορούν να αυξηθούν κατά 50 φορές στους ασθενείς που υποβάλλονται σε χρόνια αιμοκάθαρση. Υπό αυτές τις συνθήκες, η β_2 -μικροσφαιρίνη εναποτίθεται ως αμυλοειδές στα οστά και τις αρθρώσεις, προκαλώντας μια επώδυνη μορφή αρθρίτιδας.

ΟΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΙ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ

Πολλές μορφές αμυλοείδωσης φείδονται του κεντρικού νευρικού συστήματος, επειδή τα αμυλοειδή που σχηματίζονται έξω από τον εγκέφαλο δεν διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Ωστόσο, μπορεί να προκληθούν **νευροεκφυλιστικές** νόσοι από συσσωματώματα λανθασμένα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών τα οποία σχηματίζονται εντός του εγκεφάλου.

Ένα παράδειγμα είναι η **πρωτεΐνη tau**, που σταθερο-

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 2.2: Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία γεροντικής άνοιας, προσβάλλοντας περίπου το 25% των ατόμων ηλικίας άνω των 75 ετών. Στα νεκροτομικά ευρήματα περιλαμβάνονται οι **γεροντικές (αμυλοειδικές) πλάκες**, που αποτελούνται από **β-αμυλοειδές** (amyloid-beta - Αβ) στον εξωκυττάριο χώρο, και εκφυλιζόμενοι νευράξονες που είναι γνωστοί ως **νευροϊνιδιακά τολύπια**, τα οποία είναι γεμάτα με συσσωματώματα από την υπερβολικά φωσφορυλιωμένη **πρωτεΐνη tau**.

Το Αβ σχηματίζεται μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης της **πρόδρομης** πρωτεΐνης του β-αμυλοειδούς (β-amyloid precursor protein - APP), μιας μεμβρανικής πρωτεΐνης που διασχίζει τη λιπιδική διπλοστοιβάδα της πλασματικής μεμβράνης μέσω μιας α-έλικας. Μετά την αρχική διάσπαση που καταλύεται από την πρωτεάση **β-σεκρετάση**, μία άλλη πρωτεάση που ονομάζεται **γ-σεκρετάση** διασπά το υπόλοιπο πολυπεπτίδιο εντός της λιπιδικής διπλοστοιβάδας της πλασματικής μεμβράνης, δημιουργώντας ένα ενδοκυττάριο κλάσμα και το εξωκυττάριο Αβ (**Εικόνα 2.16**). Η διάσπαση μέσω της γ-σεκρετάσης δεν είναι ακριβής και μπορούν να σχηματιστούν εξωκυττάρια πολυπεπτίδια με 40 ή 42 αμινοξέα. Το Αβ-42 αποτελεί λιγότερο από το 10% του προϊόντος, αλλά αυτή η μορφή είναι πολύ πιο αμυλοειδογόνος από το Αβ-40. Το Αβ-42 αναδιπλώνεται σε μια μορφή που περιέχει μια παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια που σχηματίζεται από δύο τμήματα των 10 έως 12 αμινοξέων

έκαστο. Αυτή η δομή πολυμερίζεται σε ινίδια αμυλοειδούς, σχηματίζοντας τις γεροντικές πλάκες.

Τα μικρά συσσωματώματα του Αβ ενδέχεται να διαταράξουν τις μεμβράνες και συνεπώς είναι τοξικά για τους νευρώνες. Μέσω αδιευκρίνιστων μηχανισμών, φαίνεται ότι το Αβ προκαλεί την ανώμαλη φωσφορυλίωση και συσσωμάτωση της πρωτεΐνης tau στους νευράξονες.

Η σοβαρότητα της νόσου σχετίζεται περισσότερο με τα νευροϊνιδιακά τολύπια παρά με τις γεροντικές πλάκες, αλλά η νοσογόνος διεργασία φαίνεται ότι πυροδοτείται από το Αβ. Η APP κωδικοποιείται από ένα γονίδιο στο χρωμόσωμα 21, που στους ασθενείς με σύνδρομο Down υπάρχει σε τρία αντίγραφα αντί των φυσιολογικών δύο. Πολλοί ασθενείς με σύνδρομο Down εμφανίζουν νόσο Alzheimer πριν την ηλικία των 50 ετών, πιθανώς λόγω υπερπαραγωγής της APP. Η νόσος Alzheimer πρώιμης έναρξης μπορεί να κληρονομείται κατά τον **αυτοσωματικό** επικρατή χαρακτήρα λόγω σημειακών μεταλλάξεων είτε στην APP ή σε υπομονάδες του συμπλόκου της γ-σεκρετάσης. Πολλές από αυτές τις μεταλλάξεις οδηγούν σε υπερπαραγωγή του Αβ-42. Τα νέα φάρμακα που αναστέλλουν τη β-σεκρετάση ή μετατοπίζουν την ειδικότητα διάσπασης της γ-σεκρετάσης ώστε το σχηματιζόμενο πεπτίδιο να διαφέρει από το Αβ-42 βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο και η νόσος Alzheimer παραμένει ανίατη.

ποιεί τους μικροσωληνίσκους των νευραξόνων. Η χημική της συγγένεια με τους μικροσωληνίσκους ρυθμίζεται μέσω αναστρέψιμης φωσφορυλίωσης των πλευρικών ομάδων σερίνης και θρεονίνης. Σε αρκετές νευροεκφυλιστικές νόσους, συμπεριλαμβανομένης της **νόσου Alzheimer** και της **μετωποκροταφικής άνοιας**, η υπερβολικά φωσφορυλιωμένη («υπερφωσφορυλιωμένη») πρωτεΐνη tau σχηματίζει νηματοειδή συσσωματώματα στους νευράξονες, προκαλώντας τελικά την καταστροφή τους. Μερικά άτομα γεννιούνται με μια δομικά ανώμαλη πρωτεΐνη tau, που είναι πιο επιρρεπής στην ανώμαλη φωσφορυλίωση, αποκολλάται ευκολότερα από τους μικροσωληνίσκους ή είναι πιο επιρρεπής στη συσσωμάτωση αφού έχει φωσφορυλιωθεί και αποκολληθεί από τους μικροσωληνίσκους. Οι περισσότεροι από αυτούς τους ασθενείς εμφανίζουν μια κληρονομική μορφή μετωποκροταφικής άνοιας με παρκινσονισμό.

Το **β-αμυλοειδές** είναι η πιο χαρακτηριστική πρωτεΐνη που συσσωρεύεται στη νόσο Alzheimer (**Κλινικό Παράδειγμα 2.2**). Σχηματίζεται από μια μεμβρανική πρωτεΐνη μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης (**Εικόνα 2.16**).

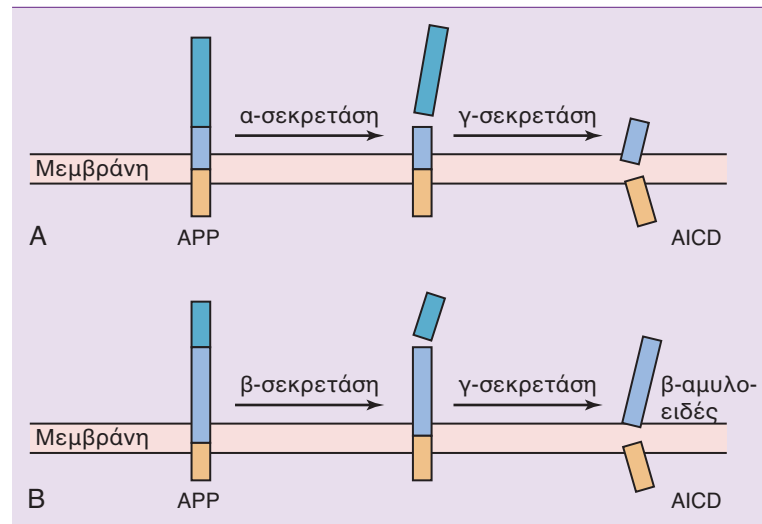
Μια άλλη πρωτεΐνη που μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα είναι η **α-συνουκλεΐνη**, μια μικρή (140 αμινοξέα), ασταθώς αναδιπλωμένη, σχετιζόμενη με τη μεμβράνη ενδοκυττάρια πρωτεΐνη, η οποία μπορεί να συσσωματωθεί σχηματίζοντας κυτταροπλασματικά κοκκία που ονομάζονται **σωμάτια Lewy**. Οι περισσότεροι ασθενείς με **νόσο Parkinson** παρουσιάζουν σωμάτια Lewy στους πάσχοντες

ντοπαμινεργικούς νευρώνες τους. Η νόσος Parkinson είναι μια κινητική διαταραχή που εκδηλώνεται με τρόμο, βραδύτητα στις κινήσεις και μυϊκή δυσκαμψία. Αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη νευροεκφυλιστική νόσο μετά τη νόσο Alzheimer, προσβάλλοντας το 1% έως 3% των ατόμων ηλικίας άνω των 65 ετών.

Τα άτομα που γεννιούνται με δομικά ανώμαλες παραλλαγές της α-συνουκλεΐνης ή που υπερπαραγάγουν δομικά φυσιολογική α-συνουκλεΐνη λόγω διπλασιασμού ή τριπλασιασμού του αντίστοιχου γονιδίου μπορεί να αναπτύξουν μορφές της νόσου Parkinson με πρώιμη έναρξη. Στον εγκέφαλο μερικών ασθενών με άνοια έχουν βρεθεί εκτεταμένες εναποθέσεις α-συνουκλεΐνης, αλλά και οι ασθενείς με νόσο Parkinson εμφανίζουν άνοια όταν η νόσος επεκταθεί και σε άλλους νευρώνες πέραν από τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες της μέλαινας ουσίας.

Η ΑΝΘΘΑΣΜΕΝΗ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΛΟΤΙΚΗ

Ένας ασυνήθιστος τύπος νευροεκφυλιστικής νόσου οφείλεται σε συσσωματώματα της **πρωτεΐνης prion** (prion protein - PrP). Η φυσιολογική κυτταρική πρωτεΐνη prion (cellular prion protein, **PrP^c**) είναι μια πρωτεΐνη που αθρο-νεί στο νευρικό σύστημα, όπου προσδένεται στην επιφάνεια



ΕΙΚΟΝΑ 2.16 Αποδόμηση της προδρομίου πρωτεΐνης του β-αμυλοειδούς (APP). **A.** Η διάσπαση μέσω της α-σεκρετάσης και κατόπιν μέσω της γ-σεκρετάσης παράγει μόνο ακίνδυνα προϊόντα. **B.** Η διάσπαση μέσω της β-σεκρετάσης και κατόπιν μέσω της γ-σεκρετάσης παράγει β-αμυλοειδές. Στη νόσο Alzheimer το β-αμυλοειδές πολυμερίζεται σε συσσωματώματα και τελικά σχηματίζει αδιάλυτα ινίδια. AICD (β-amyloid precursor protein intracellular domain) = ενδοκυττάρια επικράτεια της πρόδρομης πρωτεΐνης του β-αμυλοειδούς.

νεια των νευρώνων μέσω μιας ομοιοπολικά συνδεδεμένης άγκυρας γλυκοζυλο-φωσφατιδυλινωσιστόλης, η οποία είναι ενσωματωμένη στη λιπιδική διπλοστοιβάδα της πλασματικής μεμβράνης (βλ. Κεφάλαιο 12). Μικρότερες ποσότητες υπάρχουν και σε άλλα όργανα, στο αίμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Λίγα είναι γνωστά σε σχέση με τον φυσιολογικό της ρόλο, αν και τα ποντίκια με στοχευμένη απενεργοποίηση του ενδογενούς γονιδίου της PrP^c παρουσιάζουν ήπιας έως μέτριας βαρύτητας νευρολογικές διαταραχές. Το αμινοτελικό ήμισυ της πρωτεΐνης έχει εύκαμπτη δομή που μπορεί να λάβει πολλές διαφορετικές χωροδιατάξεις. Η εύκαμπτη αυτή θεωρείται ότι δίνει στην PrP^c τη δυνατότητα να αλληλεπιδρά με ένα ευρύ φάσμα άλλων πρωτεϊνών.

Η νόσος **Creutzfeldt-Jakob** (Creutzfeldt-Jakob disease – CJD) είναι μια σπάνια νόσος (η επίπτωσή της είναι ένα περιστατικό ανά εκατομμύριο ανά έτος) των ατόμων μέσης και μεγάλης ηλικίας, στους οποίους η έκπτωση των νοητικών λειτουργιών εξελίσσεται μέχρι το θάνατο μέσα σε εβδομάδες ή μήνες. Στη νεκροτομή ο εγκέφαλος παρουσιάζει πολυάριθμα κενोटόπια που τον κάνουν να μοιάζει με Ελβετικό τυρί ή σπόγγο. Έτσι, αυτός ο τύπος νόσου χαρακτηρίζεται ως **σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια**.

Η CJD εμφανίζεται όταν η φυσιολογική PrP^c επαναδιπλώνεται σχηματίζοντας την ανώμαλη PrP^{Sc} (το Sc αντιστοιχεί στον όρο “scrapie” που περιγράφει την αντίστοιχη τρομώδη νόσο του προβάτου). Αυτή η μεταβολή της χωροδιάταξης είναι ένα εξαιρετικά σπάνιο γεγονός. Ωστόσο, αφού σχηματιστεί, η PrP^{Sc} μπορεί να σχηματίσει τοξικά συσσωματώματα με άλλα μόρια της PrP^{Sc}. Το σημαντικότερο είναι

ότι η PrP^{Sc} αλληλεπιδρά με την PrP^c, αναγκάζοντάς τη να επαναδιπλωθεί σε PrP^{Sc}. Εάν αυτό συμβεί στην επιφάνεια των νευρώνων που εκφράζουν την PrP, μπορεί να προκαλέσει καταστροφή των νευρώνων. Η διαδικασία εξελίσσεται σε αλυσιδωτή αντίδραση, στην οποία μια μικρή ποσότητα (ίσως ακόμη και ένα μόνο μόριο) της PrP^{Sc} πυροδοτεί μια χιονοστιβάδα πρωτεϊνικής επαναδίπλωσης που οδηγεί σε ταχέως εξελισσόμενη νόσο.

Τα περισσότερα περιστατικά της CJD είναι σποραδικά, αλλά μερικά κληρονομούνται κατά τον αυτοσωματικό επικρατή χαρακτήρα. Οι γονείς φέρουν ένα αντίγραφο του μεταλλαγμένου γονιδίου που κωδικοποιεί μια δομικά ανώμαλη PrP στην οποία έχει αντικατασταθεί ένα αμινοξύ. Αυτή η δομική ανωμαλία αυξάνει την πιθανότητα η PrP να επαναδιπλωθεί σχηματίζοντας μια επιρρεπή στη συσσωμάτωση μορφή.

Ο παθογενετικός μηχανισμός της CJD συνεπάγεται ότι η νόσος μπορεί να μεταδοθεί από άτομο σε άτομο εάν η ανώμαλα αναδιπλωμένη πρωτεΐνη prion από έναν ασθενή εισέλθει στον οργανισμό ενός άλλου ατόμου. Αυτό συμβαίνει μόνο σε ασυνήθιστες περιπτώσεις, όπως π.χ. μετά από μετάγγιση αίματος ή μεταμόσχευση ιστών. Οι παθολογοανατόμοι γνωρίζουν ότι πρέπει να είναι ιδιαίτερα προσεκτικοί όταν διατέμνουν τον εγκέφαλο ενός ασθενή που κατέληξε από CJD.

Στη διάρκεια της δεκαετίας του '80, όταν τα βοοειδή στη Βρετανία τρέφονταν με κρέας και οστά που είχαν θερμανθεί πλημμελώς και προέρχονταν από πτώματα προβάτων, πολλά βοοειδή εμφάνισαν το βόειο αντίστοιχο της CJD και της scrapie. Η νόσος αυτή έγινε γνωστή ως **σπογγώδης**

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 2.3: Νόσος Kuru

Στη διάρκεια της δεκαετίας του '50, το υγειονομικό προσωπικό σε μια απομακρυσμένη περιοχή της Παπούα Νέα Γουϊνέα διαπίστωσε την παρουσία μιας θανατηφόρου νόσου που προσέβαλε ενήλικες γυναίκες και έφηβες της τοπικής φυλής Φόρε (Fore). Η νόσος έγινε γνωστή ως *kuru*, που στην τοπική διάλεκτο σημαίνει «τρεμούλα». Οι πάσχοντες εμφάνιζαν τρόμο, αδυναμία βάδισης και μερικές φορές ψυχοναγκαστικό γέλιο, ενώ κατέληγαν μέσα σε 1 έτος από την έναρξη των συμπτωμάτων. Σύντομα διαπιστώθηκε η ομοιότητα των παθολογοανατομικών ευρημάτων του εγκεφάλου με τα αντίστοιχα ευρήματα της μεταδοτικής νόσου *scrapie* των προβάτων, αλλά η προέλευση της νόσου εξακολουθούσε να αποτελεί μυστήριο. Τελικά, αποδείχθηκε η μεταδοτικότητά της σε πρωτεύοντα θηλαστικά που δεν ανήκαν στο ανθρώπινο είδος. Σε αντίθεση με τους ιούς, ο λοιμώδης παράγοντας δεν περιείχε νουκλεϊκό οξύ. Έτσι, επινοήθηκε ο όρος “prion” (**proteinaceous infectious particle**, πρωτεϊνικό λοιμώδες σωματίδιο) για αυτό το καινοφανές παθογόνο.

Οι Φόρε είχαν υιοθετήσει ένα έθιμο κανιβαλισμού στα πλαίσια ενός τελετουργικού της ταφής των νεκρών κατά τα πρώτα έτη του εικοστού αιώνα: τιμούσαν τους νεκρούς τρώγοντάς τους. Η νόσος *kuru* μεταδόθηκε μέσω αυτής της πρακτικής. Στην πραγματικότητα, η κύρια οδός μετάδοσης δεν ήταν μέσω της πεπτικής οδού. Όπως οι άλ-

λες πρωτεΐνες, οι prions καταστρέφονται από τα ένζυμα του στομάχου και του εντέρου, και οι ακέραιες πρωτεΐνες δεν απορροφώνται ευχερώς. Κατά πάσα πιθανότητα οι ενήλικες γυναίκες και οι έφηβες μολύνθηκαν κατά την προετοιμασία των γευμάτων μέσω μικρών λύσεων της συνέχειας του δέρματος. Η νόσος *kuru* ήταν σπάνια σε περιοχές όπου τα πτώματα ψήνονταν σε καυτές πέτρες πριν τεμαχισθούν. Οι prions χάνουν τη μολυσματικότητά τους μετά από έντονη θέρμανση γιατί, όπως οι άλλες πρωτεΐνες, υπόκεινται σε μετουσίωση λόγω θέρμανσης.

Κατά πάσα πιθανότητα, η επιδημία της νόσου *kuru* ξεκίνησε από ένα άτομο που είχε καταλήξει λόγω σποραδικής ή κληρονομικής CJD. Οι prions αυτού του ατόμου μεταδόθηκαν στα άτομα που κατανάλωσαν το πτώμα του ή, το πιθανότερο, σε αυτούς που το μαγείρεψαν, και στη συνέχεια στην επόμενη ομάδα μαγείρων και καταναλωτών. Η νόσος *kuru* μεταδόθηκε στους κανίβαλους με τον ίδιο τρόπο που η παραλλαγή της CJD μεταδόθηκε στους Βρετανούς που εκτέθηκαν στο κρέας βοοειδών τα οποία είχαν προσβληθεί από τη νόσο των τρελών αγελάδων. Και στις δύο περιπτώσεις, η νόσος πυροδοτείται όταν λίγα μόρια της PrP^{Sc} εισέρχονται στον οργανισμό και στη συνέχεια επάγουν την επαναδίπλωση της PrP^C του ίδιου του οργανισμού σχηματίζοντας την PrP^{Sc} που προκαλεί τη νόσο.

εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών ή «νόσος των τρελών αγελάδων». Μεταξύ 1986 και 2014, 177 άτομα στη Βρετανία και 51 σε άλλες χώρες εμφάνισαν το ανθρώπινο αντίστοιχο, που ονομάζεται **παραλλαγή της νόσου Creutzfeldt-Jakob** (variant CJD – vCJD), μετά την κατανάλωση κρέατος από μολυσμένα βοοειδή. Το Κλινικό Παράδειγμα 2.3 περιγράφει τη νόσο *kuru*, τη φυσιολογικά μεταδιδόμενη σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των ανθρώπων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες συντίθενται από 20 διαφορετικά αμινοξέα που ενώνονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Η ομοιοπολική δομή έκαστης πρωτεΐνης, που καθορίζεται από την αλληλουχία των αμινοξέων, τους δισουλφιδικούς και άλλους ομοιοπολικούς δεσμούς, ονομάζεται **πρωτοταγής δομή**.

Οι ανώτερου επιπέδου δομές σχηματίζονται από μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις. Οι κανονικές, επαναλαμβανόμενες δομές, όπως η α -έλικα και η β -πτυχωτή επιφάνεια, ονομάζονται **δευτεροταγείς δομές**. Σταθεροποιούνται μέσω δεσμών υδρογόνου ανάμεσα στους πεπτιδικούς δεσμούς. Η **τριτοταγής δομή** είναι η γενική μορφολογία των σφαιρικών πρωτεϊνών μετά την αναδίπλωσή τους. Σταθεροποιείται κυρίως μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων ανάμεσα σε πλευρικές ομάδες αμινοξέων. Μερικές πρωτεΐνες αποτελούνται από δύο ή περισσότερα πολυπεπίδια (υπομονάδες). Η χημική σύσταση και οι αλληλεπιδράσεις των υπομονάδων τους καθορίζουν την **τεταρτοταγή δομή** των πρωτεϊνών.

Μερικές πρωτεΐνες είναι επιρρεπείς στη λανθασμένη αναδίπλωση, σχηματίζοντας αδιάλυτα συσσωματώματα με υψηλή περιεκτικότητα σε β -πτυχωτές επιφάνειες. Οι πρωτεϊνικές εναποθέσεις αυτού του είδους, που είναι γνωστές ως αμυλοειδές, συσσωρεύονται στους ηλικιωμένους και στους πάσχοντες από συγκεκριμένες νόσους. Στον εγκέφαλο, οι λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες προκαλούν νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως τη νόσο Alzheimer και τη νόσο Parkinson. Η πρωτεΐνη prion, εφόσον περιέλθει σε κατάσταση λανθασμένης αναδίπλωσης, μπορεί να τροποποιήσει το σχήμα άλλων μορίων της πρωτεΐνης prion ώστε να λάβουν και αυτά την παθογόνο χωροδιάταξη, οδηγώντας έτσι σε ταχέως εξελισσόμενες νόσους που μπορούν να μεταδοθούν σαν λοιμώξεις.

Προτεινόμενη Βιβλιογραφία

- Allsop, D., & Mayes, J. (2014). Amyloid β -peptide and Alzheimer's disease. *Essays in Biochemistry*, 56, 99–110.
- Blancas-Mejía, L. M., & Ramirez-Alvarado, M. (2013). Systemic amyloidosis. *Annual Review of Biochemistry*, 82, 745–774.
- Broom, H. R., Rumpf, J. A. O., & Meiering, E. M. (2014). Many roads lead to Rome? Multiple modes of Cu, Zn superoxide dismutase destabilization, misfolding and aggregation in amyotrophic lateral sclerosis. *Essays in Biochemistry*, 56, 149–165.
- Buxbaum, E. (2015). *Fundamentals of protein structure and function*. New York: Springer.
- Chiesa, R. (2015). The elusive role of the prion protein and the mechanism of toxicity in prion disease. *PLoS Pathogens*, 11(5), e1004547.

- Costanzo, M., & Zurzolo, C. (2013). The cell biology of prion-like spread of protein aggregates: Mechanisms and implication in neurodegeneration. *Biochemical Journal*, 452, 1–17.
- Diack, A. B., Head, M. W., McCutcheon, S., Boyle, A., Knight, R., Ironside, J. W., et al. (2014). Variant CJD. 18 years of research and surveillance. *Prion*, 8, 286–295.
- Goedert, M. (2015). Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A β , tau, and α -synuclein. *Science*, 349, 601–609.
- Jucker, M., & Walker, L. C. (2013). Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature*, 501, 45–51.
- Knowles, T. P. J., Vendruscolo, M., & Dobson, C. M. (2014). The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15, 384–396.
- Ma, J., & Wang, F. (2014). Prion disease and the “protein-only hypothesis.” *Essays in Biochemistry*, 56, 181–191.
- Serpell, L. (2014). Amyloid structure. *Essays in Biochemistry*, 56, 1–10.
- Stoppini, M., & Bellotti, V. (2015). Systemic amyloidosis: Lessons from β_2 -microglobulin. *The Journal of Biological Chemistry*, 290, 9951–9958.
- Walker, L. C., & Jucker, M. (2015). Neurodegenerative diseases: Expanding the prion concept. *Annual Review of Neuroscience*, 38, 87–103.
- Wang, J. Z., Gao, X., & Wang, Z. H. (2014). The physiology and pathology of microtubule-associated protein tau. *Essays in Biochemistry*, 56, 111–123.
- Williamson, M. (2011). *How proteins work*. New York: Garland Science.
- Yu, S., & Chan, P. (2014). Role of α -synuclein in neurodegeneration: Implications for the pathogenesis of Parkinson's disease. *Essays in Biochemistry*, 56, 125–135.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

- Το στοιχείο μιας υδατοδιαλυτής σφαιρικής πρωτεΐνης με τις περισσότερες πιθανότητες να εντοπίζεται στο κέντρο του μορίου παρά στην επιφάνειά του είναι
 - Μια πλευρική ομάδα γλουταμικού οξέος
 - Μια πλευρική ομάδα ιστιδίνης
 - Μια πλευρική ομάδα φαινυλαλανίνης
 - Μια φωσφορική ομάδα ομοιοπολικά συνδεδεμένη με μια πλευρική ομάδα σερίνης
 - Ένας ολιγοσακχαρίτης ομοιοπολικά συνδεδεμένος με μια πλευρική ομάδα αργινίνης
- Η παρακάτω δομή είναι ένα ολιγοπεπτίδιο στο οποίο έχει προστεθεί ένα ακετύλιο στο αμινοτελικό του άκρο και ένα αμίδιο στο καρβοξυτελικό του άκρο, καθιστώντας τις τελικές ομάδες μη ιοντιζόμενες. Το pI του ολιγοπεπτιδίου είναι κοντά στο

Ακετυλ - Αλανίνη - Γλουταμικό οξύ - Ιστιδίνη - Σερίνη - Λυσίνη - Γλυκίνη - αμίδιο

 - 4,3
 - 5,1
 - 6,0
 - 7,5
 - 10,8
- Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στο πλάσμα του ανθρώπινου αίματος είναι περίπου 7%. Οι τιμές του pK αυτών οι πρωτεΐνες του πλάσματος είναι κοντά στο 4 έως 5. Στον δοκιμαστικό σωλήνα οι πρωτεΐνες αυτές θα σχηματίσουν ένα αδιάλυτο καθίζημα μετά από όλες τις ακόλουθες επεξεργασίες εκτός από
 - Βρασμό του ορού για 5 λεπτά
 - Προσθήκη χλωριούχου νατρίου σε συγκέντρωση 35%
 - Ρύθμιση του pH στο 4,5
 - Βρασμό του ορού με υδροχλωρικό οξύ 6 N για 10 ώρες
 - Ανάμειξη ενός όγκου πλάσματος με δύο όγκους καθαρής αλκοόλης
- Ένας γενετιστής επιθυμεί να δημιουργήσει αθλητές με αυξημένη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα, προκειμένου να βελτιωθεί η προσφορά οξυγόνου στους μύες. Για να το επιτύχει αυτό, η υδατοδιαλυτότητα της αιμοσφαιρίνης πρέπει να αυξηθεί. Ποιες από τις ακόλουθες αλλαγές στα αμινοξέα της επιφάνειας του μορίου της αιμοσφαιρίνης είναι πιθανότερο να αυξήσει την υδατοδιαλυτότητά της;
 - Αργινίνη → Λυσίνη
 - Λευκίνη → Φαινυλαλανίνη
 - Γλουταμίνη → Σερίνη
 - Αλανίνη → Ασπαραγίνη
 - Σερίνη → Αλανίνη
- Η μνήμη της γιαγιάς σας φθίνει ολοένα και περισσότερο στη διάρκεια των 2 τελευταίων ετών. Την προηγούμενη εβδομάδα χάθηκε καθώς επέστρεφε από το παντοπωλείο που βρίσκεται λίγα τετράγωνα πιο κάτω. Μια αγωγή που ίσως θα μπορούσε να τη βοηθήσει θα περιελάμβανε ένα φάρμακο που
 - Ελαττώνει τη σύνθεση της τρανσθυρετίνης
 - Ελαττώνει τον σχηματισμό των ανοσοσφαιρινών
 - Αναστέλλει τη δράση της β-σεκρετάσης
 - Ελαττώνει τον σχηματισμό της α-συνουκλεΐνης
 - Προσθέτει φωσφορικές ομάδες στην πρωτεΐνη tau
- Γιορτάζετε μαζί με τον παππού σας τα εκατοστά γενέθλιά του, όταν αυτός σας ενημερώνει ότι ο γιατρός του τον προειδοποίησε πως η καρδιά του έχει αρχίσει να «κουράζεται». Η πιθανότερη αιτία αυτής της διαταραχής είναι μια λανθασμένα αναδιπλωμένη μορφή
 - Αμυλοειδούς Α του ορού
 - β_2 -μικροσφαιρίνης
 - β-αμυλοειδούς
 - Πρωτεΐνης prion
 - Τρανσθυρετίνης