

2

Μόρια και μεμβράνες

2.1 Τα μόρια των κυττάρων 52

2.2 Τα ένζυμα ως βιολογικοί καταλύτες 72

2.3 Κυτταρικές μεμβράνες 82

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ

Η αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων στον χώρο 69

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ

Η δομή των κυτταρικών μεμβρανών 86

Τα κύτταρα αποτελούν ιδιαίτερα πολύπλοκες και ανομοιογενείς δομές, ικανές όχι μόνο για αυτοδιπλασιασμό –που αποτελεί τη βασική προϋπόθεση για την ύπαρξη ζωής– αλλά και για τη διεκπεραίωση πλήθους εξειδικευμένων λειτουργιών στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Παρ’ όλα αυτά, τα κύτταρα υπόκεινται στους ίδιους φυσικούς και χημικούς νόμους που καθορίζουν και τη συμπεριφορά των μη ζωντανών συστημάτων. Συνεπώς η σύγχρονη κυτταρική βιολογία αποσκοπεί στην κατανόηση των κυτταρικών διεργασιών σε επίπεδο χημικών αντιδράσεων και φυσικών μεταβολών.

Στο κεφάλαιο αυτό εξετάζονται η χημική σύσταση των κυττάρων και οι ιδιότητες των μορίων, που τελικά ευθύνονται για όλες τις κυτταρικές λειτουργίες. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στις πρωτεΐνες, εξαιτίας των ποικίλων ρόλων τους στο εσωτερικό του κυττάρου. Σε αυτούς συμπεριλαμβάνονται η ενζυμική τους δράση, η δυνατότητά τους δηλαδή να καταλύουν σχεδόν όλες τις βιολογικές αντιδράσεις, καθώς και η συμμετοχή τους στη συγκρότηση των κυτταρικών μεμβρανών. Οι μεμβράνες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη δομή και στη λειτουργία του κυττάρου, καθώς αποτελούν φραγμούς που οριοθετούν διακριτά διαμερίσματα. Για παράδειγμα, η κυτταροπλασματική μεμβράνη διαχωρίζει το περιεχόμενο του κυττάρου από το εξωτερικό περιβάλλον, ενώ η πυρηνική μεμβράνη διαχωρίζει το περιεχόμενο του πυρήνα από το κυτταρόπλασμα. Οι μεμβράνες αποτελούνται από λιπίδια και πρωτεΐνες και δεν είναι διαπερατές από τα περισσότερα υδατοδιαλυτά μόρια. Συγκεκριμένες πρωτεΐνες που βρίσκονται ενσωματωμένες στη λιπιδική διπλοστιβάδα διεκπεραιώνουν την εκλεκτική μεταφορά μορίων διά μέσου αυτής.

2.1 Τα μόρια των κυττάρων

Μαθησιακοί στόχοι

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της ενότητας αυτής θα πρέπει να είστε σε θέση:

- Να εξηγήσετε τις ιδιότητες των διαφόρων τύπων χημικών δεσμών.
- Να αποδώσετε διαγραμματικά τη δομή ενός απλού υδρογονάνθρακα.
- Να συγκρίνετε τη δομή των λιπαρών οξέων, των φωσφολιπιδίων και των στεροειδών ορμονών.
- Να περιγράψετε τις δομικές διαφορές μεταξύ του DNA και του RNA.
- Να συνοψίσετε τις ιδιότητες των διαφόρων ομάδων αμινοξέων.
- Να εξηγήσετε τον ρόλο των μη ομοιοπολικών δεσμών στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών.

Τα κύτταρα αποτελούνται από νερό, ανόργανα ιόντα και (οργανικά) μόρια που περιέχουν άνθρακα. Οι δομές και οι ιδιότητες αυτών των στοιχείων καθορίζουν όλες τις πτυχές της συμπεριφοράς των κυττάρων. Γι' αυτό, στο πρώτο μέρος αυτής της ενότητας εξετάζεται η φύση των χημικών δεσμών που είναι υπεύθυνοι για τον σχηματισμό μορίων και για τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Στη συνέχεια, εξετάζονται οι δομές και οι λειτουργίες των οργανικών μορίων, που είναι τα σημαντικότερα συστατικά του κυττάρου. Οι περισσότερες από αυτές τις οργανικές ενώσεις ανήκουν σε μία από τις τέσσερις ομάδες μορίων: υδατάνθρακες, λιπίδια, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα. Οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα και οι περισσότεροι υδατάνθρακες (πολυσακχαρίτες) είναι μακρομόρια τα οποία προκύπτουν από τη σύνδεση (πολυμερισμό) εκατοντάδων ή χιλιάδων πρόδρομων μορίων μικρού μοριακού βάρους: αμινοξέων, νουκλεοτιδίων και απλών σακχάρων αντίστοιχα. Αυτά τα μακρομόρια αποτελούν το 80-90% της άνυδρης μάζας των περισσότερων κυττάρων. Τα λιπίδια είναι το άλλο κύριο συστατικό των κυττάρων. Η υπόλοιπη κυτταρική μάζα συνίσταται από μια ποικιλία οργανικών μορίων, όπου περιλαμβάνονται και οι πρόδρομες ενώσεις των μακρομορίων. Έτσι, η κατανόηση της βασικής χημείας των κυττάρων ανάγεται στην κατανόηση της δομής και της λειτουργίας τεσσάρων βασικών ομάδων οργανικών μορίων.

Χημικοί δεσμοί

Οι **ομοιοπολικοί δεσμοί** (covalent bonds) αναπτύσσονται όταν δύο άτομα πλησιάζουν και μοιράζονται ένα κοινό ζεύγος ηλεκτρονίων (**Εικόνα 2.1**). Αποτελούν τις ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των ατόμων. Συγκρατώντας κοντά τα άτομα, προκαλούν τον σχηματισμό μορίων. Για παράδειγμα, το μεθάνιο (CH_4) σχηματίζεται όταν τέσσερα άτομα υδρογόνου μοιράζονται ηλεκτρόνια με ένα άτομο άνθρακα (**Εικόνα 2.1A**). Ο αριθμός των ομοιοπολικών δεσμών που μπορεί να σχηματίσει ένα άτομο

► Οι ομοιοπολικοί δεσμοί σχηματίζονται μέσω κοινής συνεισφοράς ηλεκτρονίων.

► Οι πολικοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ ατόμων που έλκουν τα ηλεκτρόνια με διαφορετική ισχύ.

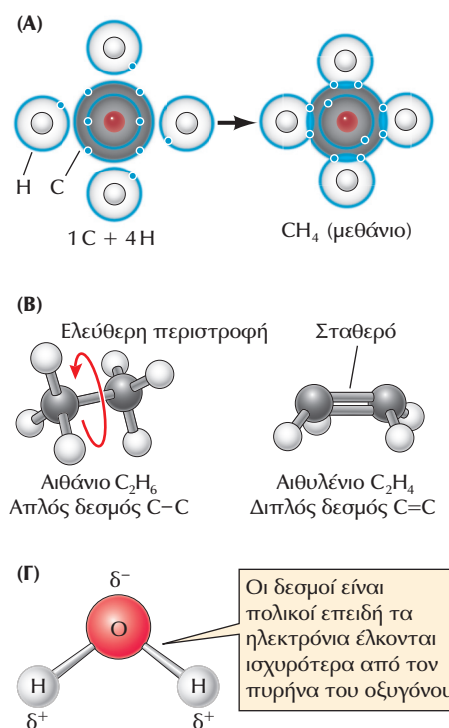
καθορίζεται από τον αριθμό των ελεύθερων ηλεκτρονίων στην εξωτερική του στιβάδα (δηλαδή το σθένος του). Ο άνθρακας έχει τέσσερα ελεύθερα ηλεκτρόνια, ενώ το υδρογόνο έχει ένα. Έτσι ο άνθρακας μπορεί να σχηματίσει ομοιοπολικούς δεσμούς με τέσσερα άτομα υδρογόνου. Το οξυγόνο και το άζωτο, τα άλλα δύο ιδιαίτερα σημαντικά για τους ζωντανούς οργανισμούς άτομα, έχουν δύο και τρία ελεύθερα ηλεκτρόνια αντίστοιχα.

Οι περισσότεροι ομοιοπολικοί δεσμοί είναι **απλοί δεσμοί** (single bonds), στους οποίους δύο άτομα μοιράζονται ένα μόνο ζεύγος ηλεκτρονίων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ωστόσο, τα άτομα μοιράζονται δύο ζεύγη ηλεκτρονίων, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός **διπλού δεσμού** (double bond, **Εικόνα 2.1B**). Για παράδειγμα, τα άτομα

άνθρακα μπορούν να σχηματίσουν απλούς (C-C) ή διπλούς (C=C) δεσμούς μεταξύ τους. Οι διπλοί δεσμοί είναι ισχυρότεροι από τους απλούς δεσμούς και διαφέρουν σημαντικά ως προς τις επιδράσεις τους στη δομή των μορίων. Τα άτομα μπορούν να περιστρέφονται ελεύθερα γύρω από έναν απλό δεσμό, αλλά όχι γύρω από έναν διπλό δεσμό. Η ακαμψία των διπλών δεσμών μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη δομή πολλών μακρομορίων των κυττάρων.

Οι ομοιοπολικοί δεσμοί διαφέρουν επίσης στην πολικότητα, η οποία εξαρτάται από το πόσο ισχυρά έλκονται τα ηλεκτρόνια από τους πυρήνες των ατόμων που συμμετέχουν στον δεσμό (**Εικόνα 2.1Γ**). Ένας ομοιοπολικός δεσμός μεταξύ δύο ατόμων του ίδιου στοιχείου (για παράδειγμα, ένας δεσμός C-C) είναι **μη πολικός** (nonpolar), επειδή δύο ίδιοι πυρήνες έλκουν τα ηλεκτρόνια εξίσου. Οι δεσμοί μεταξύ άνθρακα και υδρογόνου είναι επίσης μη πολικοί, επειδή οι πυρήνες άνθρακα και υδρογόνου έλκουν τα ηλεκτρόνια με παρόμοια ισχύ και έτσι αυτά μοιράζονται εξίσου μεταξύ των δύο ατόμων. Ωστόσο, οι πυρήνες άλλων ατόμων διαφέρουν σημαντικά ως προς την **ηλεκτραρνητικότητα** (electronegativity), δηλαδή την ισχύ με την οποία έλκουν τα ηλεκτρόνια. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ ατόμων που διαφέρουν ως προς την ηλεκτραρνητικότητα είναι **πολικοί** (polar), επειδή τα κοινά ηλεκτρόνια κατανέμονται άνισα. Το νερό, που είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς είναι το πιο άφθονο μόριο στα κύτταρα, αντιπροσωπεύοντας το 70% ή και περισσότερο της συνολικής κυτταρικής μάζας, αποτελεί ένα σημαντικό παράδειγμα μορίου με πολικούς δεσμούς. Όταν το οξυγόνο συνδέεται με το υδρογόνο, τα ηλεκτρόνια βρίσκονται πλησιέστερα στον πυρήνα του οξυγόνου, γιατί αυτό είναι πιο ηλεκτραρνητικό. Κατά συνέπεια το νερό είναι ένα πολικό μόριο, στο οποίο τα δύο άτομα υδρογόνου έχουν ένα ελαφρώς θετικό φορτίο και το οξυγόνο ένα ελαφρώς αρνητικό φορτίο.

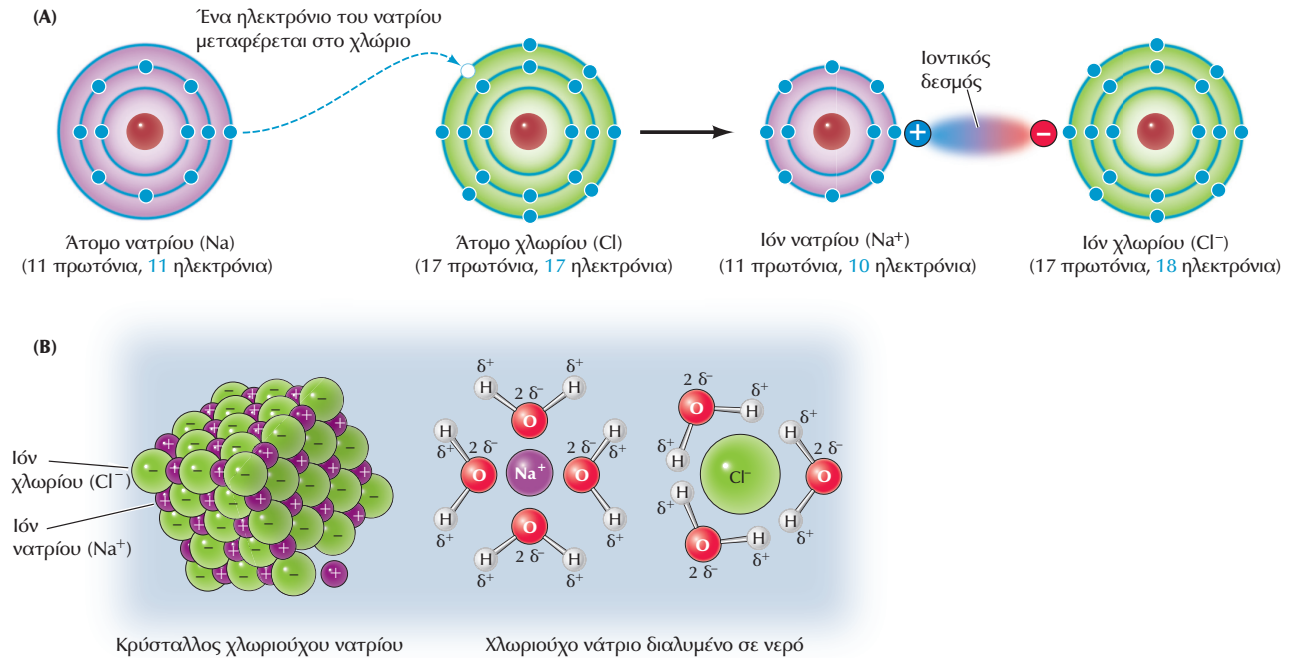
Έντονες διαφορές στην ηλεκτραρνητικότητα οδηγούν στον σχηματισμό **ιοντικών δεσμών** (ionic bonds), στους οποίους τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στον έναν πυρήνα αντί να μοιράζονται μεταξύ των δύο ατόμων (**Εικόνα 2.2Α**). Για παράδειγμα, τα άτομα νατρίου (Na) δίνουν ηλεκτρόνια σε άτομα χλωρίου (Cl) που είναι πολύ πιο ηλεκτραρνητικά και έτσι σχηματίζεται το χλωριούχο νάτριο (NaCl), το οποίο αποτελείται από τα φορτισμένα ιόντα Na^+ και Cl^- . Τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα ονομάζονται **ανιόντα** (anions), ενώ τα θετικά φορτισμένα ονομάζονται **κατιόντα** (cations). Τα ιόντα συνδέονται με έναν ιοντικό δεσμό που προκύπτει από την έλξη των αντίθετα φορτισμένων ατόμων. Τα μόρια στα οποία τα ιόντα ενώνονται με ιοντικούς δεσμούς ονομάζονται άλατα. Όταν τα άλατα βρίσκονται σε στερεή μορφή, για παράδειγμα στους κρυστάλλους του χλωριούχου νατρίου, η ισχύς των ιοντικών δεσμών είναι παρόμοια με αυτή των ομοιοπολικών δεσμών. Ωστόσο, σε υδατικά διαλύματα τα άλατα διασπώνται σε μεμονωμένα ανιόντα και κατιόντα, επειδή τα



ΕΙΚΟΝΑ 2.1 Ομοιοπολικοί δεσμοί.

(A) Οι ομοιοπολικοί δεσμοί σχηματίζονται με την κατανομή ηλεκτρονίων μεταξύ δύο ατόμων, όπως μεταξύ του άνθρακα και του υδρογόνου. (B) Τα άτομα μπορούν να περιστρέφονται γύρω από απλούς δεσμούς, αλλά όχι γύρω από διπλούς δεσμούς. (Γ) Οι πολικοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ ατόμων που έλκουν τα ηλεκτρόνια με διαφορετική ισχύ. Το νερό είναι ένα παράδειγμα πολικού μορίου, με ένα στοιχειώδες αρνητικό φορτίο (δ^-) στο άτομο οξυγόνου και ένα στοιχειώδες θετικό φορτίο (δ^+) σε καθένα από τα άτομα υδρογόνου.

► Οι ιοντικοί δεσμοί προκύπτουν από την έλξη μεταξύ φορτισμένων ιόντων.



ΕΙΚΟΝΑ 2.2 Ιοντικοί δεσμοί. (A) Τα άτομα νατρίου (Na) προσφέρουν ηλεκτρόνια σε άτομα χλωρίου (Cl), με αποτέλεσμα να σχηματίζονται φορτισμένα ιόντα Na^+ και Cl^- , τα οποία συγκρατούνται μέσω της έλξης των αντίθετων φορτίων. (B) Τα ιόντα συγκρατούνται σταθερά σε στέρεους κρυστάλλους αλάτων, αλλά διαχωρίζονται σε υδατικά διαλύματα επειδή αλληλεπιδρούν με το νερό, που είναι πολικό.

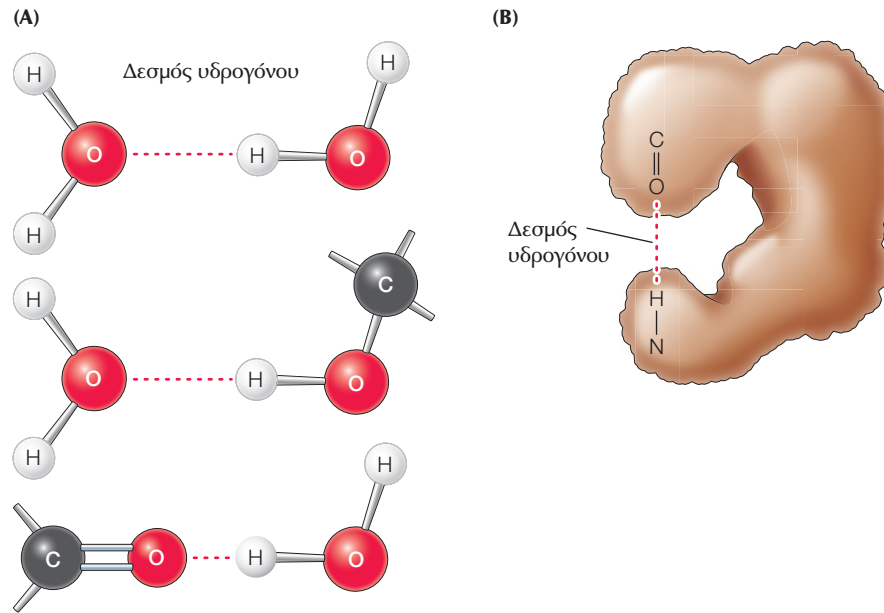
ιόντα αλληλεπιδρούν με το νερό (**Εικόνα 2.2B**). Σε υδατικά διαλύματα, η ισχύς των ιοντικών δεσμών είναι περίπου είκοσι φορές μικρότερη από αυτήν των ομοιοπολικών δεσμών. Διάφορα ανόργανα ιόντα, όπως αυτά του νατρίου (Na^+), του καλίου (K^+), του μαγνησίου (Mg^{2+}), του ασβεστίου (Ca^{2+}), του χλωρίου (Cl^-), το ορθοφωσφορικό (HPO_4^{2-}) και το διττανθρακικό (HCO_3^-), διαδραματίζουν σημαντικούς ρόλους στα κύτταρα.

Τα πολικά μόρια μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους μέσω **δεσμών υδρογόνου**, ενός είδους μη ομοιοπολικού δεσμού που σχηματίζεται μεταξύ ενός θετικά φορτισμένου υδρογόνου και ενός αρνητικά φορτισμένου αζώτου ή οξυγόνου (**Εικόνα 2.3**). Για παράδειγμα, τα μόρια του νερού μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους ή με άλλα πολικά μόρια. Επιπλέον, δεσμοί υδρογόνου μπορούν να σχηματιστούν μεταξύ διαφορετικών οργανικών μορίων ή μεταξύ διαφορετικών σημείων ενός μεγάλου μορίου, για παράδειγμα μιας πρωτεΐνης. Οι δεσμοί υδρογόνου είναι περίπου πενήντα φορές ασθενέστεροι από τους ομοιοπολικούς δεσμούς, διαδραματίζουν όμως σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της δομής πολλών μακρομορίων (συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων), καθώς και στη ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων εντός των κυττάρων.

► Οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ πολικών μορίων.

► Τα μη πολικά μόρια αλληλεπιδρούν περισσότερο μεταξύ τους και λιγότερο με το νερό.

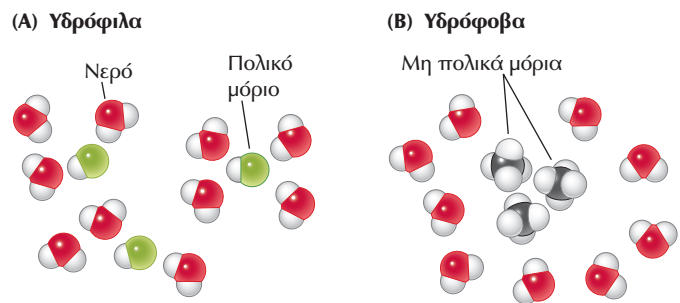
Η πολική φύση του νερού είναι υπεύθυνη και για το τρίτο είδος μη ομοιοπολικών δεσμών που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στα κύτταρα: τις **υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις** (hydrophobic interactions, **Εικόνα 2.4**). Τα ιόντα και τα πολικά μόρια είναι **υδρόφιλα** (hydrophilic), δηλαδή διαλύονται εύκολα στο νερό. Αντιθέτως, τα μη πολικά μόρια, τα οποία δεν μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το νερό, είναι **υδρόφοβα** (hydrophobic), δηλαδή ελάχιστα διαλυτά



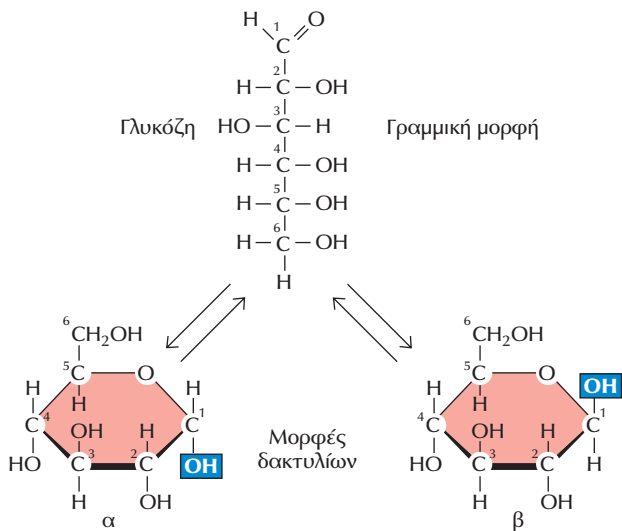
ΕΙΚΟΝΑ 2.3 Δεσμοί υδρογόνου. (Α) Τα μόρια νερού σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, καθώς και με άλλα πολικά μόρια. (Β) Οι δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ οργανικών πολικών μορίων, για παράδειγμα μεταξύ αμινοξέων που βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

σε υδατικά περιβάλλοντα. Κατά συνέπεια τα μη πολικά μόρια τείνουν να ελαχιστοποιούν την επαφή τους με το νερό αλληλεπιδρώντας με άλλα υδρόφοβα μόρια. Αν και αυτές οι αλληλεπιδράσεις αναφέρονται συχνά ως υδρόφοβοι δεσμοί, στην πραγματικότητα προκύπτουν από την απουσία σχηματισμού υδρογονικών ή ιοντικών δεσμών με τον πολικό διαλύτη (νερό). Για παράδειγμα, οι ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ ατόμων άνθρακα και υδρογόνου είναι μη πολικοί, συνεπώς μόρια που περιέχουν μόνο άνθρακα και υδρογόνο είναι αδιάλυτα στο υδατικό περιβάλλον του κυττάρου και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Τέτοιες υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών. Επίσης, έχουν ως συνέπεια, σε υδατικά διαλύματα, τα φωσφολιπίδια να διευθετούνται κατά τρόπο ώστε να σχηματίζονται φωσφολιπιδικές διπλοστιβάδες οι οποίες αποτελούν τη βασική δομή των βιολογικών μεμβρανών.

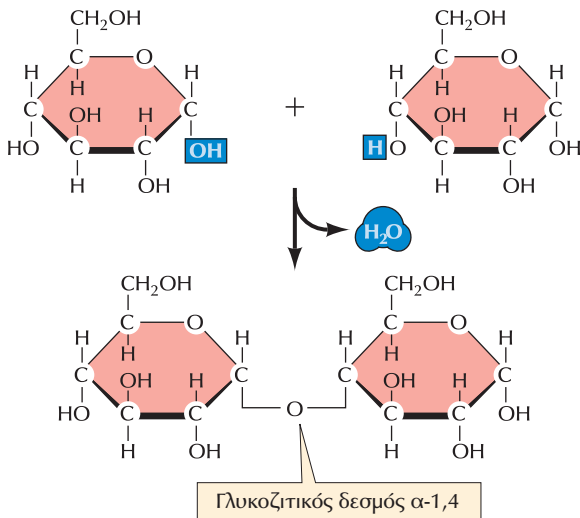
Ο τέταρτος τύπος μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, **οι αλληλεπιδράσεις van der Waals** (van der Waals interactions), προκύπτει όταν δύο οποιαδήποτε άτομα βρίσκονται κοντά το ένα με το άλλο. Οφείλονται σε αυξομειούμενα ηλεκτρικά φορτία που δημιουργούνται λόγω της εγγύτητας των μορίων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις είναι παροδικές και η ισχύς τους είναι κάτω από τη μισή αυτής των δεσμών υδρογόνου. Αν και οι αλληλεπιδράσεις van der Waals συναντώνται τόσο σε πολικά όσο και σε μη πολικά



ΕΙΚΟΝΑ 2.4 Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. (Α) Τα πολικά μόρια είναι εύκολα διαλυτά στο νερό (υδρόφιλα). (Β) Τα μη πολικά μόρια είναι ελάχιστα διαλυτά στο νερό (υδρόφοβα) και αλληλεπιδρούν ελάχιστα με το νερό και περισσότερο μεταξύ τους.



ΕΙΚΟΝΑ 2.5 Δομή της γλυκόζης. Η γλυκόζη είναι μια απλή εξόζη. Μπορεί να κυκλοποιηθεί και να σχηματίσει έναν δακτύλιο με δύο εναλλακτικές μορφές (τις α και β), ανάλογα με τη διαμόρφωση του άνθρακα 1.



ΕΙΚΟΝΑ 2.6 Σχηματισμός γλυκοζιτικού δεσμού. Δύο απλά σάκχαρα συνδέονται μέσω μιας αντίδρασης αφυδάτωσης (μιας αντίδρασης κατά την οποία αφαιρούνται μόρια νερού). Στο παράδειγμα που παρουσιάζεται εδώ, δύο μόρια γλυκόζης σε α-στεreoχημική διάταξη συνδέονται με έναν δεσμό μεταξύ των ατόμων άνθρακα 1 και 4, ο οποίος γι' αυτόν τον λόγο ονομάζεται γλυκοζιτικός δεσμός α-1,4.

μόρια, δεν είναι γενικά σημαντικές στα πολικά μόρια λόγω της ισχυρότερης επίδρασης των ιοντικών και των υδρογονικών δεσμών. Ωστόσο, το άθροισμα πολλών αλληλεπιδράσεων van der Waals μπορεί να ενισχύσει τη σύνδεση μεγάλων, μη πολικών μορίων.

Υδατάνθρακες

Στους **υδατάνθρακες** (carbohydrates) περιλαμβάνονται απλά σάκχαρα και πολυσακχαρίτες. Αυτά τα απλά σάκχαρα, για παράδειγμα η γλυκόζη, αποτελούν τα βασικά θρεπτικά συστατικά των κυττάρων. Όπως θα συζητηθεί στο Κεφάλαιο 3, η αποικοδόμησή τους αποτελεί πηγή κυτταρικής ενέργειας και παρέχει το αρχικό υλικό για τη σύνθεση άλλων κυτταρικών συστατικών. Οι πολυσακχαρίτες αποτελούν μια μορφή αποθήκευσης σακχάρων και χρησιμεύουν ως δομικά στοιχεία του κυττάρου. Επιπρόσθετα, οι πολυσακχαρίτες καθώς και μικρότερα υδατανθρακικά πολυμερή λειτουργούν ως μοριακά σήματα σε μια ποικιλία διαδικασιών κυτταρικής αναγνώρισης, συμπεριλαμβανομένων της επαφής γειτονικών κυττάρων και της μεταφοράς πρωτεϊνών προς τον κατάλληλο ενδοκυτταρικό προορισμό.

Ο βασικός χημικός τύπος αυτών των απλών σακχάρων –τα οποία ονομάζονται και **μονοσακχαρίτες** (monosaccharides)– είναι $(\text{CH}_2\text{O})_n$, από τον οποίο προκύπτει η ονομασία υδατάνθρακας (H_2O = «υδατο-» και C = «άνθρακας»). Η γλυκόζη ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), το απλούστερο σάκχαρο με έξι άνθρακες ($n = 6$), έχει ιδιαίτερη σημασία για τα κύτταρα, καθώς αποτελεί την κύρια πηγή κυτταρικής ενέργειας (**Εικόνα 2.5**). Άλλα απλά σάκχαρα φέρουν τρία έως επτά άτομα άνθρακα, με συχνότερα εκείνα που έχουν τρία ή πέντε άτομα άνθρακα. Τα σάκχαρα με πέντε ή περισσότερα άτομα άνθρακα κυκλοποιούνται προκειμένου να σχηματιστούν δακτυλιοειδείς δομές, οι οποίες αποτελούν τις κυρίαρχες δομές αυτού του είδους μορίων στο εσωτερικό των κυττάρων. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.5, τα κυκλοποιημένα σάκχαρα υιοθετούν δύο εναλλακτικές μορφές (οι οποίες ονομάζονται α ή β), ανάλογα με τη στεreoχημεία του άνθρακα στη θέση 1 (άνθρακας 1).

Οι μονοσακχαρίτες συνενώνονται με αντιδράσεις αφυδάτωσης, κατά τις οποίες απομακρύνεται ένα μόριο H_2O και τα σάκχαρα συνδέονται μέσω

ενός **γλυκοζιτικού δεσμού** (glycosidic bond – **Εικόνα 2.6**). Αν συνενωθεί ένας μικρός αριθμός σακχάρων, το πολυμερές που προκύπτει ονομάζεται **ολιγοσακχαρίτης** (oligosaccharide). Στην περίπτωση που συμμετέχει ένας μεγάλος αριθμός σακχάρων (εκατοντάδες ή χιλιάδες), τα πολυμερή που προκύπτουν ονομάζονται **πολυσακχαρίτες** (polysaccharides).

Δύο κοινοί πολυσακχαρίτες –το **γλυκογόνο** (glycogen) και το **άμυλο** (starch)– λειτουργούν στα ζωικά και στα φυτικά κύτταρα, αντίστοιχα, ως δεξαμενές υδατανθράκων που προορίζονται να χρησιμοποιηθούν ως πηγή ενέργειας. Τόσο το γλυκογόνο όσο και το άμυλο αποτελούνται αποκλειστικά από μόρια γλυκόζης με στερεοχημεία τύπου α (**Εικόνα 2.7**). Ο κύριος δεσμός συνδέει τον άνθρακα 1 μιας γλυκόζης με τον άνθρακα 4 μιας άλλης. Επιπλέον, τόσο το γλυκογόνο όσο και ένας τύπος αμύλου (η αμυλοπηκτίνη) περιλαμβάνουν και ορισμένους δεσμούς α-1,6, στους οποίους ο άνθρακας 1 μιας γλυκόζης συνδέεται με τον άνθρακα 6 μιας άλλης. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.7, αυτοί οι δεσμοί οδηγούν στον σχηματισμό διακλαδώσεων που προκύπτουν από τη σύνδεση δύο μεμονωμένων αλυσίδων α-1,4. Τέτοιου είδους διακλαδώσεις υπάρχουν στο γλυκογόνο και στην αμυλοπηκτίνη, ενώ μια άλλη μορφή αμύλου (η αμυλόζη) είναι μη διακλαδισμένο μόριο.

Συνεπώς οι δομές του γλυκογόνου και του αμύλου είναι παρόμοιες, όπως είναι άλλωστε και η λειτουργία τους: η αποθήκευση γλυκόζης. Η **κυτταρίνη** (cellulose), από την άλλη, έχει έναν πολύ ιδιαίτερο ρόλο, καθώς αποτελεί κύριο δομικό συστατικό του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος. Παρ' όλα αυτά, και η κυτταρίνη αποτελείται αποκλειστικά από μόρια γλυκόζης. Όμως, οι μονάδες γλυκόζης στην κυτταρίνη έχουν στερεοχημεία τύπου β και όχι α, και η κυτταρίνη είναι ένας μη διακλαδισμένος πολυσακχαρίτης (βλ. Εικόνα 2.7). Η σύνδεση των μορίων γλυκόζης μέσω δεσμών β-1,4 και όχι α-1,4 οδηγεί στη δημιουργία επιμήκων αλυσίδων, οι οποίες στοιβάζονται η μία δίπλα στην άλλη με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ινιδίων μεγάλης μηχανικής ισχύος. Στα ζώα, το μόριο που είναι αντίστοιχο με την κυτταρίνη είναι η **χιτίνη** (chitin), ένας πολυσακχαρίτης ο οποίος αποτελείται από τροποποιημένα κατάλοιπα γλυκόζης συνδεδεμένα με δεσμούς β και σχηματίζει τους εξωσκελετούς των καρκινοειδών και των εντόμων.

Εκτός από τον ρόλο τους στην αποθήκευση ενέργειας και στην κυτταρική δομή, οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες είναι σημαντικοί και στη μεταγωγή πληροφοριών. Για παράδειγμα, οι ολιγοσακχαρίτες βρίσκονται συχνά συνδεδεμένοι σε πρωτεΐνες, όπου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρωτεϊνική αναδίπλωση και χρησιμεύουν ως μόρια-σήματα που είναι απαραίτητα για τη μεταφορά των πρωτεϊνών στην επιφάνεια του κυττάρου ή στα διάφορα υποκυτταρικά οργανίδια. Επίσης, οι ολιγοσακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες λειτουργούν ως μόρια-σήματα στην επιφάνεια των κυττάρων, συμβάλλοντας στην κυτταρική αναγνώριση και στη διακυτταρική επικοινωνία σε ιστούς πολυκύτταρων οργανισμών.

Λιπίδια

Τα **λιπίδια** (lipids) έχουν τρεις κύριους ρόλους στο κύτταρο. Πρώτον, αποτελούν μια σημαντική μορφή αποθήκευσης ενέργειας. Δεύτερον, είναι τα βασικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τη βιολογία του κυττάρου. Τρίτον, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική σηματοδότηση, τόσο ως στεροειδείς ορμόνες (π.χ. οιστρογόνα και τεστοστερόνη) όσο και ως

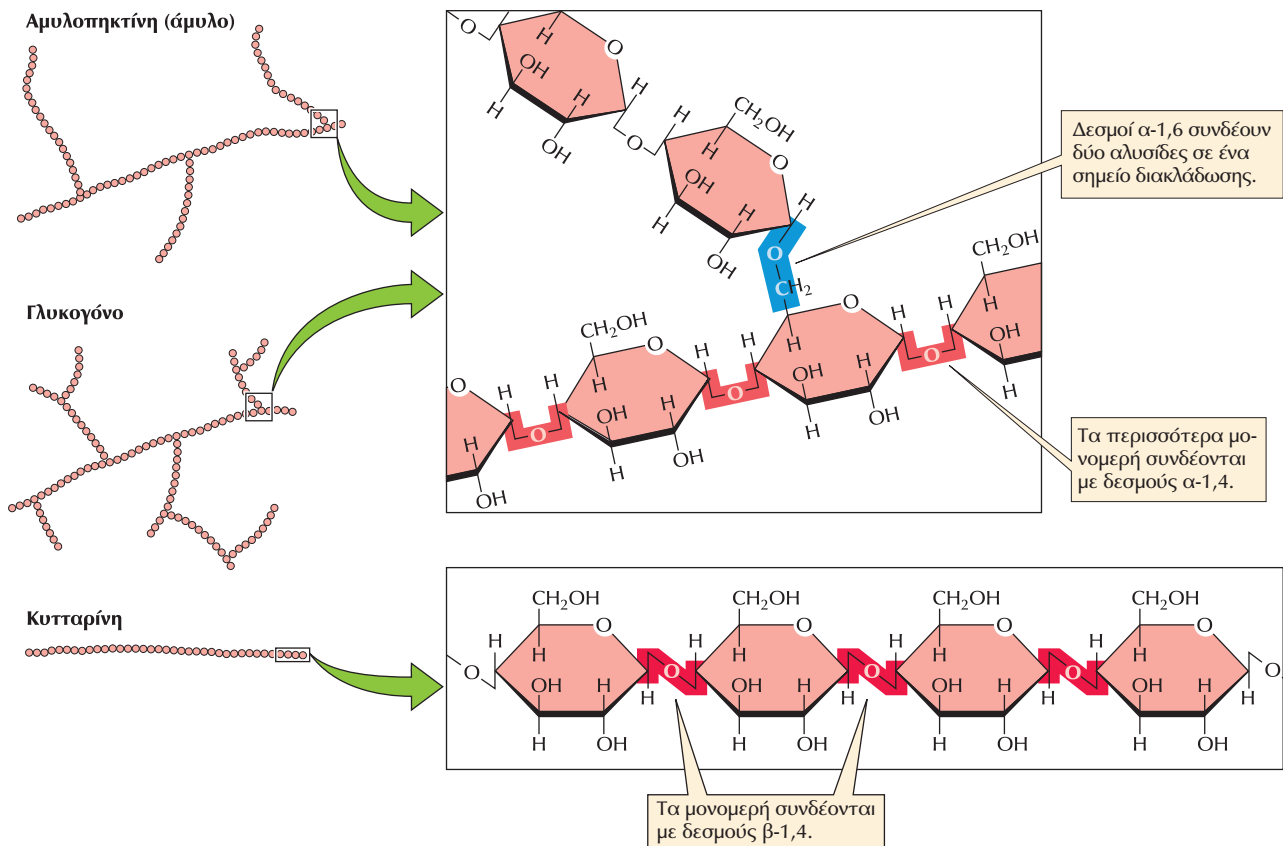
► Τα απλά σάκχαρα είναι τα κύρια θρεπτικά συστατικά των κυττάρων.

► Οι πολυσακχαρίτες λειτουργούν ως αποθήκες σακχάρων, αλλά και ως δομικά συστατικά του κυττάρου.

ANIMATION 2.1

Σχηματισμός δεσμού. Ο πολυμερισμός σακχάρων, αμινοξέων και νουκλεοτιδίων για τον σχηματισμό πολυσακχαριτών, πολυπεπτιδίων και νουκλεϊκών οξέων, αντίστοιχα, πραγματοποιείται μέσω ομοιοπολικών δεσμών.





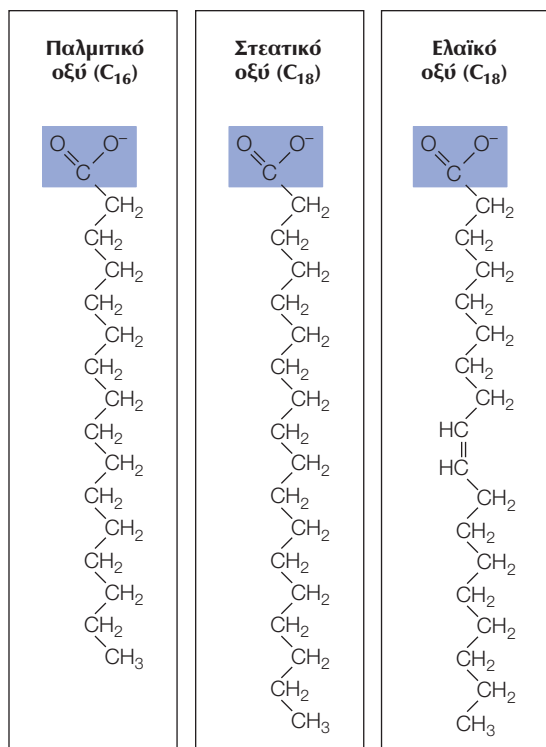
ΕΙΚΟΝΑ 2.7 Δομή πολυσακχαριτών. Οι πολυσακχαρίτες είναι μακρομόρια που αποτελούνται από εκατοντάδες ή χιλιάδες απλά σάκχαρα. Το άμυλο, το γλυκογόνο και η κυτταρίνη αποτελούνται εξ ολοκλήρου από μόρια γλυκόζης, τα οποία συνδέονται με γλυκοζιτικούς δεσμούς α-1,4 στο άμυλο και στο γλυκογόνο ενώ με δεσμούς β-1,4 στην κυτταρίνη. Μια μορφή άμυλου, η αμυλοπηκτίνη, και το γλυκογόνο περιέχουν επίσης ορισμένους δεσμούς α-1,6, οι οποίοι χρησιμεύουν ως σημεία διακλάδωσης συνδέοντας δύο ξεχωριστές αλυσίδες α-1,4.

σηματοδοτικά μόρια που διαβιβάζουν μηνύματα από επιφανειακούς κυτταρικούς υποδοχείς σε στόχους στο εσωτερικό του κυττάρου.

Τα απλούστερα λιπίδια είναι τα **λιπαρά οξέα** (fatty acids), τα οποία αποτελούνται από μεγάλες υδρογονανθρακικές αλυσίδες. Τις περισσότερες φορές, αυτές οι αλυσίδες περιέχουν 16 έως 18 άτομα άνθρακα, με μία καρβοξυλική ομάδα (COO^-) στο ένα άκρο (**Εικόνα 2.8**). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα περιέχουν έναν ή περισσότερους διπλούς δεσμούς μεταξύ ατόμων άνθρακα. Στα κορεσμένα λιπαρά οξέα, όλα τα άτομα άνθρακα συνδέονται με τον μέγιστο δυνατό αριθμό ατόμων υδρογόνου. Οι μακρές υδρογονανθρακικές αλυσίδες των λιπαρών οξέων περιέχουν μόνο μη πολικούς δεσμούς C-H, οι οποίοι δεν έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδράσουν με το νερό. Η υδρόφοβη φύση αυτών των αλυσίδων λιπαρών οξέων είναι υπεύθυνη, τις περισσότερες φορές, για τη συμπεριφορά των πολύπλοκων λιπιδίων, κυρίως κατά τον σχηματισμό των βιολογικών μεμβρανών.

► Τα λιπίδια διαθέτουν μακρές, υδρόφοβες αλυσίδες που αποτελούνται από λιπαρά οξέα.

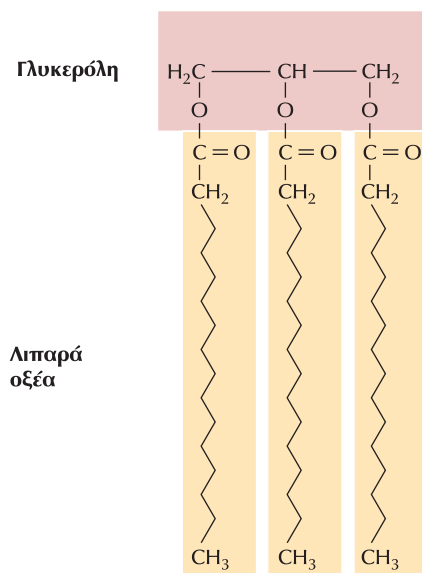
Τα λιπαρά οξέα αποθηκεύονται στη μορφή **λιπών** (fats), τα οποία ονομάζονται **τριακυλογλυκερόλες** (triacylglycerols) ή τριγλυκερίδια (triglycerides) και αποτελούνται από τρία λιπαρά οξέα συνδεδεμένα με ένα μόριο γλυκερόλης (**Εικόνα 2.9**). Οι τριακυλογλυκερόλες



ΕΙΚΟΝΑ 2.8 Δομή λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα αποτελούνται από μακρές υδρογονανθρακικές αλυσίδες οι οποίες καταλήγουν σε μια καρβοξυλική ομάδα (COO⁻). Το παλμιτικό και το στεατικό οξύ είναι κορεσμένα λιπαρά οξέα με 16 και 18 άτομα άνθρακα αντίστοιχα. Το ελαϊκό οξύ είναι ένα ακόρεστο λιπαρό οξύ με 18 άτομα άνθρακα, το οποίο περιέχει έναν διπλό δεσμό μεταξύ των ατόμων άνθρακα 9 και 10. Επισημαίνεται ότι ο διπλός δεσμός προκαλεί κάμψη της υδρογονανθρακικής αλυσίδας.

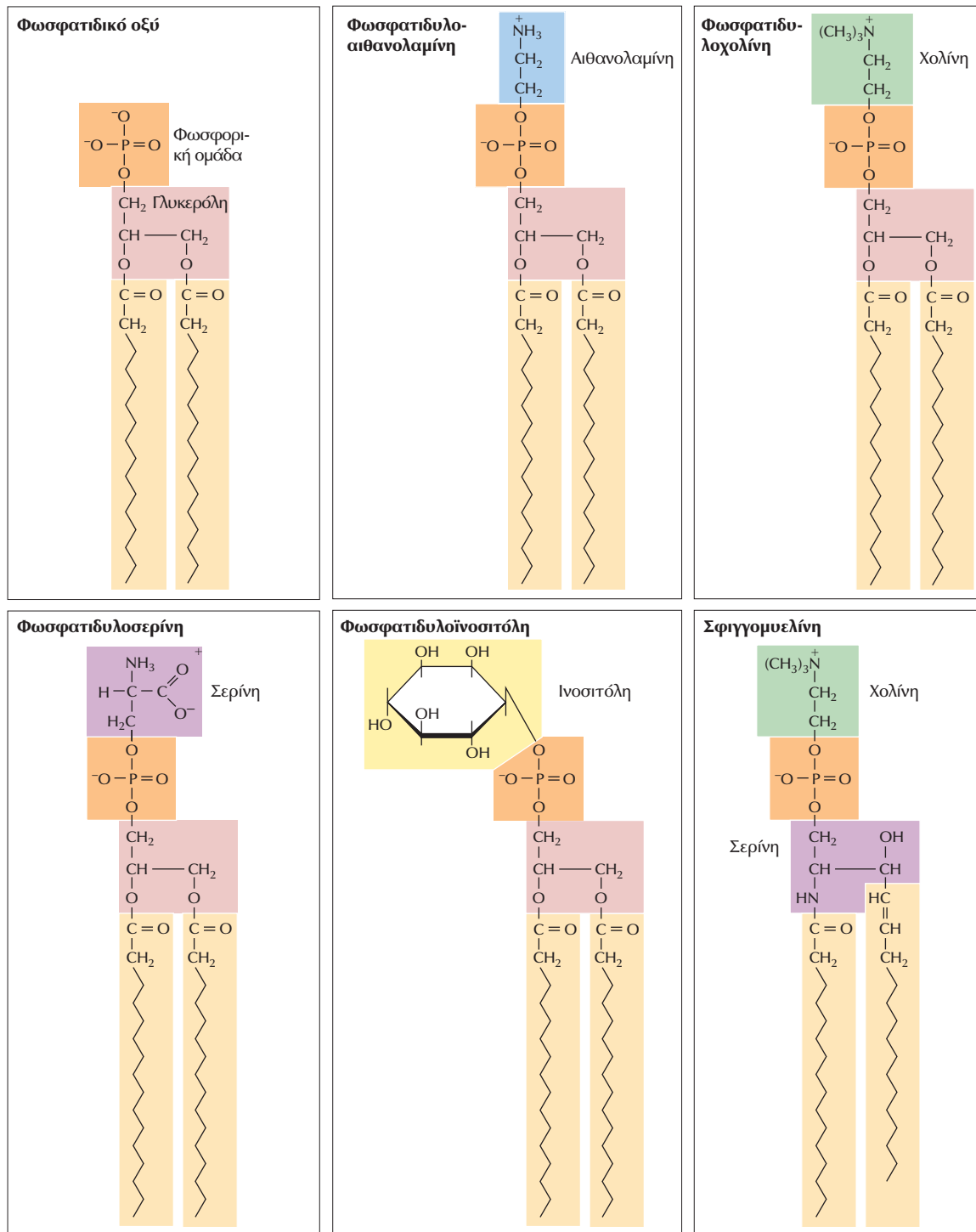
μούμενου υλικού. Γι' αυτόν τον λόγο, τα λίπη επιτρέπουν την αποθήκευση ενέργειας σε μάζα (βάρος) σώματος που αντιστοιχεί σε λιγότερη από το μισό εκείνης που θα απαιτούσε η αποθήκευση του ίδιου ποσού ενέργειας σε υδατάνθρακες. Πρόκειται για μια παράμετρο ιδιαίτερης σημασίας για τα ζώα, εξαιτίας της κινητικότητάς τους.

Τα **φωσφολιπίδια** (phospholipids) είναι τα βασικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών και αποτελούνται από δύο λιπαρά οξέα συνδεδεμένα σε μια πολική ακραία κεφαλή (**Εικόνα 2.10**). Στα **φωσφολιπίδια γλυκερόλης** (glycerol phospholipids), τα δύο λιπαρά οξέα βρίσκονται συνδεδεμένα σε άτομα άνθρακα της γλυκερόλης, όπως συμβαίνει και στις τριακυλογλυκερόλες. Το τρίτο άτομο άνθρακα της γλυκερόλης όμως συνδέεται με μια φωσφορική ομάδα, η οποία με τη σειρά της είναι συχνά συνδεδεμένη με ένα άλλο μικρό πολικό μόριο, όπως είναι η χολίνη, η σερίνη, η ινοσιτόλη ή η αιθανολαμίνη. Η **σφιγγομυελίνη** (sphingomyelin), το μόνο φωσφολιπίδιο των κυτταρικών μεμβρανών που δεν περιέχει γλυκερόλη, φέρει δύο υδατανθρακικές αλυσίδες συνδεδεμένες σε μια πολική κεφαλή που περιέχει σερίνη αντί γλυκερόλης. Όλα τα φωσφολιπίδια φέρουν υδρόφοβες ουρές, που αποτελούνται από τις δύο



ΕΙΚΟΝΑ 2.9 Δομή τριακυλογλυκερόλης. Οι τριακυλογλυκερόλες (λίπη) περιέχουν τρία λιπαρά οξέα συνδεδεμένα σε γλυκερόλη. Σε αυτό το παράδειγμα, και τα τρία λιπαρά οξέα είναι μόρια παλμιτικού οξέος, αν και οι τριακυλογλυκερόλες περιέχουν συχνά μείγμα διαφορετικών λιπαρών οξέων.

είναι αδιάλυτες στο νερό και εξαιτίας αυτού συσσωρεύονται με τη μορφή σταγονιδίων λίπους στο κυτταρόπλασμα. Όποτε χρειαστεί, αποικοδομούνται και συμμετέχουν σε αντιδράσεις που παράγουν ενέργεια (βλ. Κεφάλαιο 3). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα λίπη αποτελούν αποτελεσματικότερη μορφή αποθήκευσης ενέργειας από τους υδατάνθρακες, καθώς απελευθερώνουν περισσότερη από τη διπλάσια ενέργεια ανά βάρος αποικοδο-



ΕΙΚΟΝΑ 2.10 Δομή φωσφολιπιδίων. Τα φωσφολιπίδια γλυκερόλης περιέχουν δύο λιπαρά οξέα συνδεδεμένα σε γλυκερόλη. Τα λιπαρά οξέα μπορεί να διαφέρουν μεταξύ τους. Το τρίτο άτομο άνθρακα της γλυκερόλης συνδέεται με μια φωσφορική ομάδα (σχηματίζοντας φωσφατιδικό οξύ), το οποίο με τη σειρά του συχνά συνδέεται με ένα άλλο μικρό πολικό μόριο (σχηματίζοντας φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοσερίνη ή φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη). Στη σφιγγομυελίνη, δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες συνδέονται με μια πολική κεφαλή που αποτελείται από σερίνη αντί γλυκερόλης.

υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και υδρόφιλες κεφαλές, που συνίστανται από τη φωσφορική ομάδα και τις πολικές της προσθήκες. Συνεπώς τα φωσφολιπίδια είναι **αμφιπαθή** (amphipathic) μόρια, μερικώς διαλυτά και μερικώς αδιάλυτα στο νερό. Αυτή η ιδιότητα των φωσφολιπιδίων είναι η βάση για τον σχηματισμό των βιολογικών μεμβρανών, όπως θα συζητηθεί παρακάτω σε αυτό το κεφάλαιο.

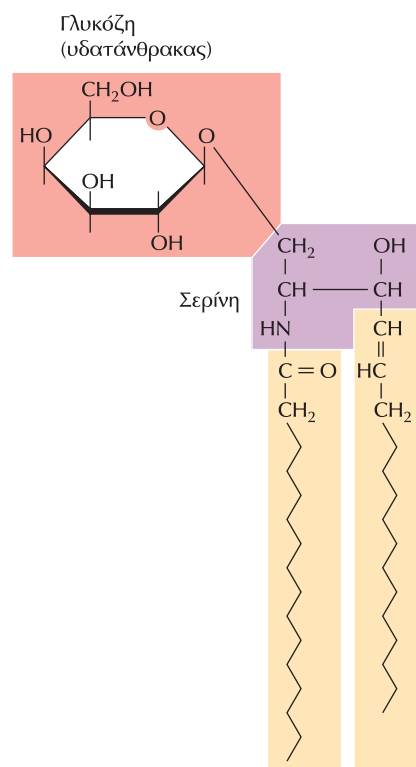
Εκτός από φωσφολιπίδια, πολλές κυτταρικές μεμβράνες περιέχουν **γλυκολιπίδια** (glycolipids) και **χοληστερόλη** (cholesterol). Τα γλυκολιπίδια αποτελούνται από δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες συνδεδεμένες σε πολικές κεφαλές, οι οποίες περιέχουν υδατάνθρακες (**Εικόνα 2.11**). Είναι επομένως αμφιπαθή μόρια που μοιάζουν με τα φωσφολιπίδια. Αντίθετα, η χοληστερόλη αποτελείται από τέσσερις υδρογονανθρακικούς δακτυλίους αντί γραμμικών υδρογονανθρακικών αλυσίδων (**Εικόνα 2.12**). Οι υδρογονανθρακικοί δακτύλιοι είναι ισχυρά υδρόφοβοι, αλλά η υδροξυλική (OH) ομάδα που βρίσκεται στο ένα άκρο της χοληστερόλης είναι ασθενώς υδρόφιλη, με αποτέλεσμα η χοληστερόλη να είναι επίσης αμφιπαθής.

Εκτός του ρόλου τους ως συστατικών των κυτταρικών μεμβρανών, τα λιπίδια λειτουργούν και ως μόρια σηματοδότησης, τόσο στο εσωτερικό των κυττάρων όσο και μεταξύ αυτών. Οι **στεροειδείς ορμόνες** (steroid hormones), όπως τα οιστρογόνα και η τεστοστερόνη, είναι παράγωγα χοληστερόλης (βλ. Εικόνα 2.12). Αυτές οι ορμόνες ανήκουν σε μια ποικιλόμορφη ομάδα χημικών αγγελιαφόρων. Όλα τα μόρια της κατηγορίας αυτής περιέχουν τέσσερις υδρογονανθρακικούς δακτυλίους στους οποίους είναι συνδεδεμένες διαφορετικές λειτουργικές ομάδες. Παράγωγα των φωσφολιπιδίων χρησιμεύουν επίσης ως αγγελιαφόρα μόρια στο εσωτερικό των κυττάρων, μεταβιβάζοντας μηνύματα από κυτταρικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου σε ενδοκυτταρικούς στόχους που ρυθμίζουν ένα μεγάλο εύρος κυτταρικών διεργασιών, όπως είναι η κυτταρική ανάπτυξη, η κίνηση, η επιβίωση και η διαφοροποίηση (βλ. Κεφάλαιο 17).

Νουκλεϊκά οξέα

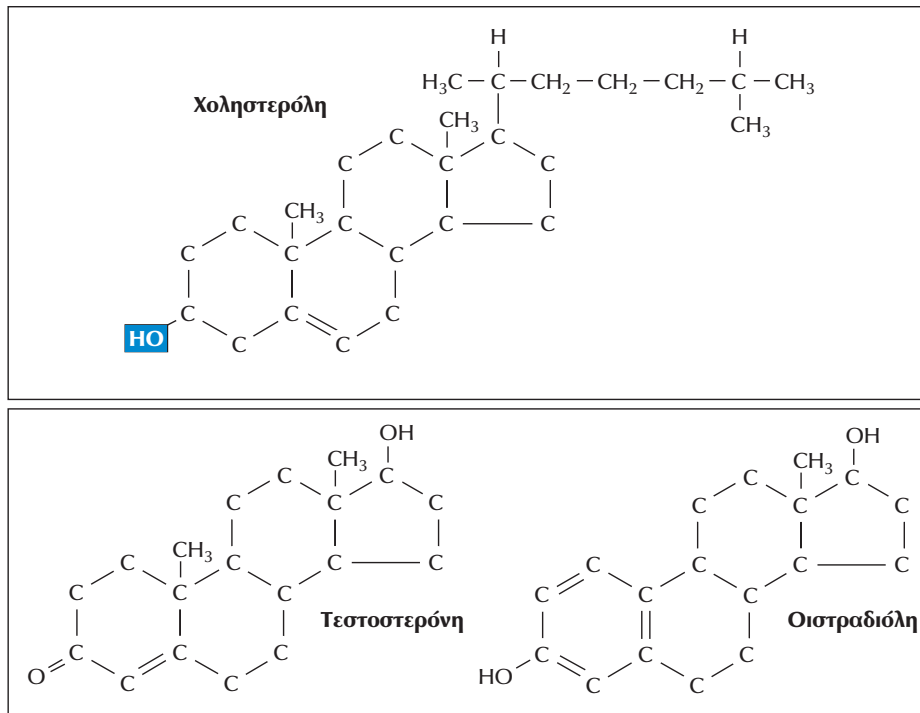
Τα νουκλεϊκά οξέα –DNA και RNA– είναι τα κατεξοχήν πληροφοριακά μόρια του κυττάρου. Το **δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ** (DNA, Deoxyribonucleic Acid) έχει μοναδικές ιδιότητες, αφού είναι το γενετικό υλικό, το οποίο στα ευκαρυωτικά κύτταρα εντοπίζεται στον πυρήνα. Διαφορετικά είδη **ριβονουκλεϊκού οξέος** (RNA, Ribonucleic Acid) συμμετέχουν σε ένα πλήθος κυτταρικών δραστηριοτήτων. Το **αγγελιαφόρο RNA** (mRNA, messenger RNA) μεταφέρει πληροφορίες από το DNA στα ριβοσώματα, όπου χρησιμεύει ως υπόστρωμα για την πρωτεϊνοσύνθεση. Δύο άλλα είδη RNA, το **ριβωσωμικό RNA** (rRNA, ribosomal RNA) και το **μεταφορικό RNA** (tRNA, transfer RNA), συμμετέχουν στην πρωτεϊνοσύνθεση. Υπάρχουν και άλλα είδη RNA, τα οποία συμμετέχουν στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και στην επεξεργασία και μεταφορά τόσο μορίων RNA όσο και πρωτεϊνών. Εκτός από τη δράση του ως πληροφοριακού μορίου, το RNA έχει επίσης την ικανότητα να καταλύει έναν αριθμό χημικών αντιδράσεων. Στα κύτταρα των σύγχρονων οργανισμών, αυτές οι αντιδράσεις σχετίζονται τόσο με την πρωτεϊνοσύνθεση όσο και με τις διαδικασίες ωρίμανσης και αποικοδόμησης του RNA.

Το DNA και το RNA είναι πολυμερή **νουκλεοτιδίων** (nucleotides), τα οποία αποτελούνται από βάσεις **πουρίνης** (purine) και



ΕΙΚΟΝΑ 2.11 Δομή γλυκολιπιδίων. Δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες συνδέονται σε μια πολική κεφαλή από σερίνη που περιέχει και υδατάνθρακες (π.χ. γλυκόζη).

► Τα νουκλεϊκά οξέα είναι τα μόρια του κυττάρου στα οποία αποθηκεύεται η γενετική πληροφορία.

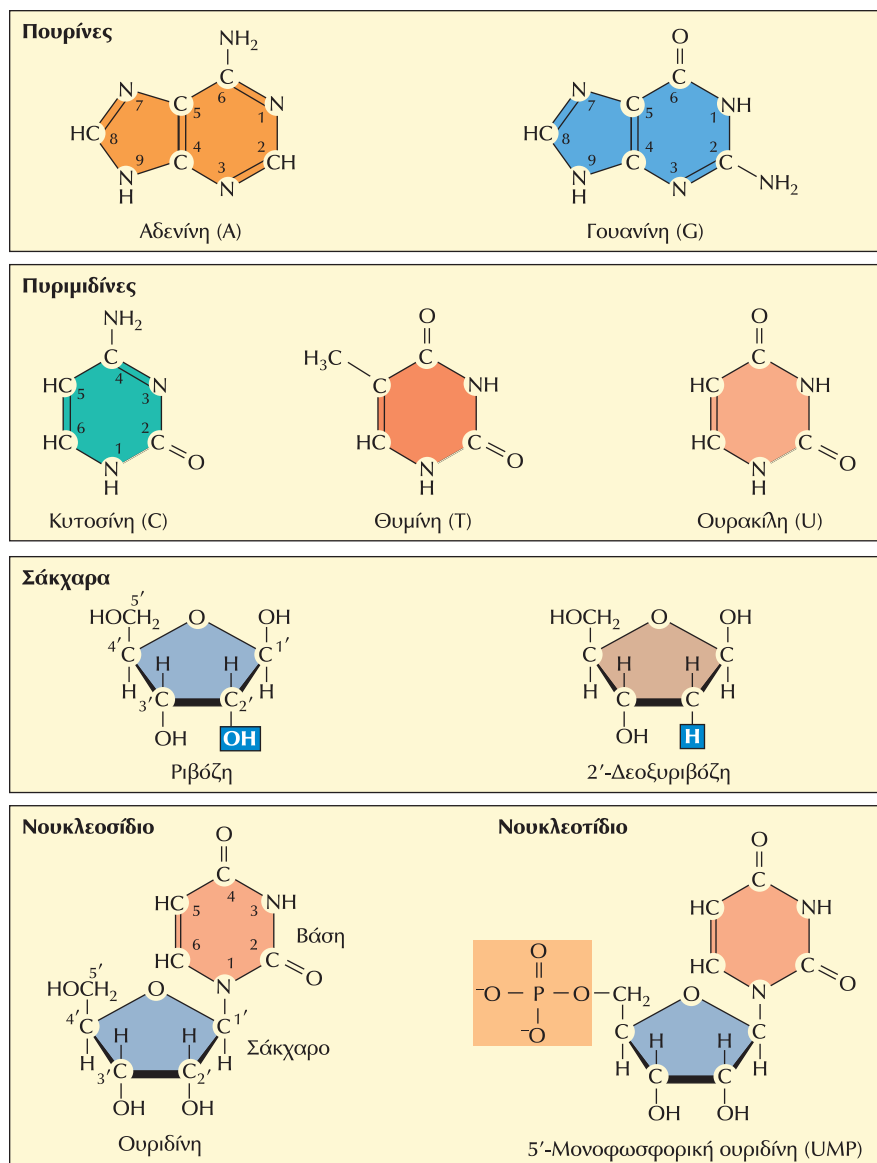


ΕΙΚΟΝΑ 2.12 Χοληστερόλη και στεροειδείς ορμόνες. Η χοληστερόλη, ένα σημαντικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών, είναι αμφιπαθές μόριο λόγω της πολικής υδροξυλικής του ομάδας. Η χοληστερόλη αποτελεί επίσης πρόδρομη μορφή στεροειδών ορμονών, όπως της τεστοστερόνης και της οιστραδιόλης (ενός τύπου οιστρογόνου). Τα άτομα υδρογόνου που βρίσκονται συνδεδεμένα στους άνθρακες του δακτυλίου δε φαίνονται σε αυτή την εικόνα.

πυριμιδίνης (pyrimidine) συνδεδεμένες με φωσφορυλιωμένα σάκχαρα (**Εικόνα 2.13**). Το DNA περιέχει δύο πουρίνες, την **αδενίνη** (adenine) και τη **γουανίνη** (guanine), και δύο πυριμιδίνες, την **κυτοσίνη** (cytosine) και τη **θυμίνη** (thymine). Το RNA περιέχει επίσης αδενίνη, γουανίνη και κυτοσίνη, αλλά αντί θυμίνης έχει **ουρακίλη** (uracil). Οι βάσεις συνδέονται σε σάκχαρα, τη **2'-δεοξυριβόζη** (2'-deoxyribose) για το DNA ή τη **ριβόζη** (ribose) για το RNA, και σχηματίζουν **νουκλεοσίδια** (nucleosides). Τα νουκλεοτίδια περιέχουν επιπλέον μία ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες συνδεδεμένες στον 5' άνθρακα των νουκλεοσιδικών σακχάρων.

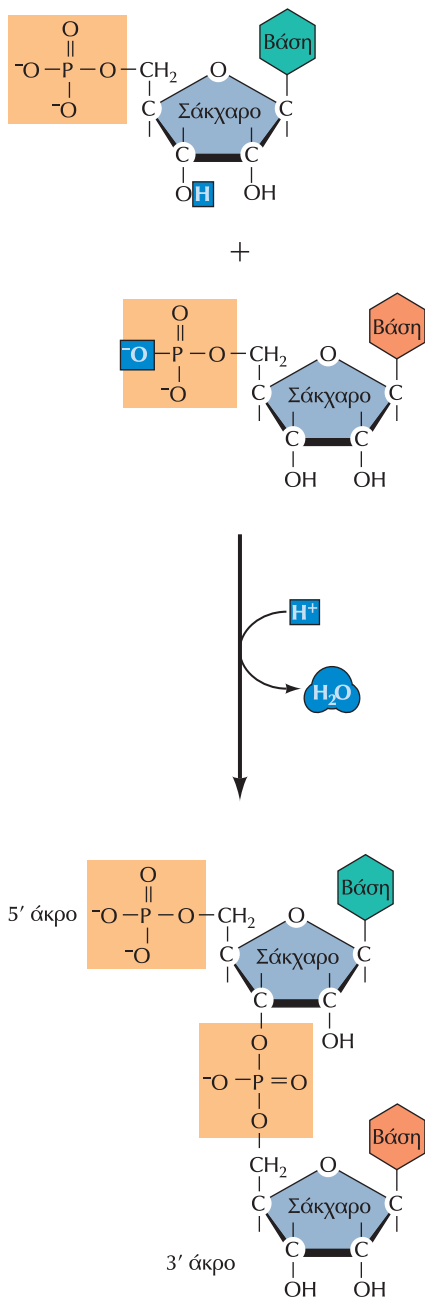
Ο πολυμερισμός των νουκλεοτιδίων προκειμένου να σχηματιστούν νουκλεϊκά οξέα περιλαμβάνει τη δημιουργία **φωσφοδιεστερικών δεσμών** (phosphodiester bonds) μεταξύ της 5' φωσφορικής ομάδας ενός νουκλεοτιδίου και του 3' υδροξυλίου ενός άλλου (**Εικόνα 2.14**). Τα **ολιγονουκλεοτίδια** (oligonucleotides) είναι μικρά πολυμερή τα οποία περιέχουν λίγα μόνο νουκλεοτίδια. Τα μεγάλα **πολυνουκλεοτίδια** (polynucleotides), τα οποία συνιστούν το RNA και το DNA του κυττάρου, είναι δυνατόν να περιέχουν χιλιάδες ή εκατομμύρια νουκλεοτίδια αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι κάθε νουκλεοτιδική αλυσίδα έχει μια συγκεκριμένη κατεύθυνση, με το ένα άκρο της αλυσίδας να καταλήγει σε μια 5' φωσφορική ομάδα και το άλλο σε μια 3' υδροξυλική ομάδα. Τα πολυνουκλεοτίδια συντίθενται πάντα με κατεύθυνση 5' προς 3', με ένα ελεύθερο νουκλεοτίδιο να προστίθεται στην 3' OH ομάδα μιας νεοσυντιθέμενης αλυσίδας. Κατά σύμβαση, η αλληλουχία των βάσεων στο DNA ή στο RNA σημειώνεται επίσης με κατεύθυνση 5' προς 3'.

Οι πληροφορίες του DNA και του RNA διαβιβάζονται μέσω της αλληλουχίας των βάσεων στην πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα. Το DNA είναι ένα δίκλωνο μόριο που αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές



ΕΙΚΟΝΑ 2.13 Συστατικά νουκλεϊκών οξέων. Τα νουκλεϊκά οξέα περιέχουν βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης που συνδέονται με φωσφορυλιωμένα σάκχαρα. Μια βάση νουκλεϊκού οξέος συνδεδεμένη με ένα σάκχαρο μόνο αποτελεί ένα νουκλεοσίδιο. Τα νουκλεοτίδια περιέχουν επιπλέον μία ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες.

αλυσίδες με αντίθετες κατευθύνσεις (απέναντι από το 5' άκρο της μίας βρίσκεται το 3' άκρο της άλλης – βλ. Κεφάλαιο 4). Οι βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό του μορίου και οι δύο αλυσίδες συνδέονται μέσω δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ ζευγών συμπληρωματικών βάσεων – η γουανίνη ζευγαρώνει με την κυτοσίνη και η αδενίνη με τη θυμίνη (**Εικόνα 2.15**). Άμεση συνέπεια αυτής της συμπληρωματικότητας των βάσεων είναι ότι μία αλυσίδα DNA (ή RNA) μπορεί να λειτουργήσει ως μήτρα για τη σύνθεση της συμπληρωματικής της αλυσίδας. Συνεπώς τα νουκλεϊκά οξέα έχουν τη μοναδική ικανότητα να καθοδηγούν τον διπλασιασμό τους, γεγονός που έχει θεμελιώδη σημασία για τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από γενιά σε γενιά. Η πληροφορία που κωδικοποιείται από το DNA και το RNA καθοδηγεί τη σύνθεση συγκεκριμένων πρωτεϊνών, οι οποίες ελέγχουν την πλειοψηφία των κυτταρικών δραστηριοτήτων.



ΕΙΚΟΝΑ 2.14 Πολυμερισμός νουκλεοτιδίων. Τα νουκλεοτίδια συνδέονται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ της 3' υδροξυλικής ομάδας ενός νουκλεοτιδίου και της 5' φωσφορικής ομάδας ενός άλλου. Σε κάθε πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα το 5' άκρο καταλήγει σε μια φωσφορική ομάδα, ενώ το 3' άκρο καταλήγει σε μια υδροξυλική ομάδα.

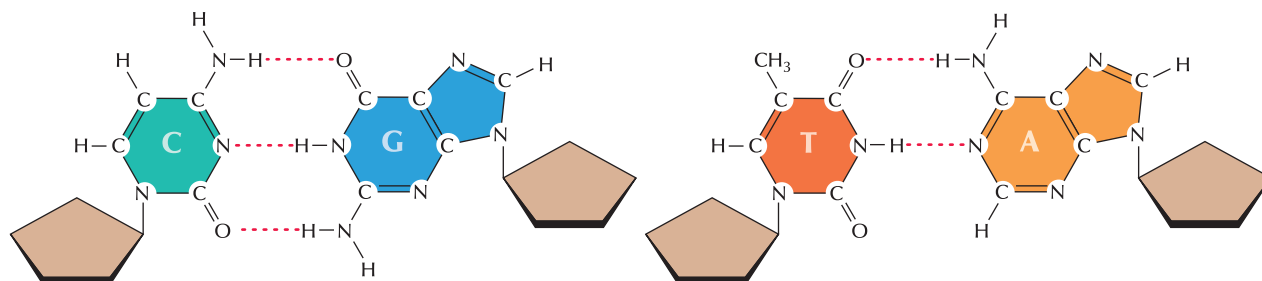
Τα νουκλεοτίδια δεν είναι σημαντικά μόνο ως δομικά τμήματα των νουκλεϊκών οξέων, αλλά διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο και σε άλλες κυτταρικές διεργασίες. Το σημαντικότερο ίσως παράδειγμα είναι το μόριο της 5'-τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), το οποίο αποτελεί την κύρια μορφή χημικής ενέργειας στα κύτταρα. Άλλα νουκλεοτίδια δρουν με παρόμοιο τρόπο ως φορείς είτε ενέργειας είτε δραστικών χημικών ομάδων σε μια μεγάλη ποικιλία μεταβολικών αντιδράσεων. Επιπλέον, ορισμένα νουκλεοτίδια (π.χ. το κυκλικό AMP) αποτελούν σημαντικά μόρια σηματοδότησης των κυττάρων (βλ. Κεφάλαιο 17).

Πρωτεΐνες

Ενώ τα νουκλεϊκά οξέα φέρουν τις γενετικές πληροφορίες του κυττάρου, ο βασικός ρόλος των **πρωτεϊνών** (proteins) είναι να εκτελούν τις εργασίες που καθορίζονται από αυτές τις πληροφορίες. Οι πρωτεΐνες είναι τα πιο ποικιλόμορφα μακρομόρια. Κάθε κύτταρο περιέχει χιλιάδες διαφορετικές πρωτεΐνες, οι οποίες διεκπεραιώνουν μια μεγάλη ποικιλία λειτουργιών. Στους ρόλους των πρωτεϊνών περιλαμβάνονται η συμμετοχή τους στη συγκρότηση της δομής των κυττάρων και των ιστών, η μεταφορά μικρών μορίων (π.χ. η μεταφορά γλυκόζης και άλλων θρεπτικών συστατικών), η μεταβίβαση πληροφοριών μεταξύ των κυττάρων (π.χ. πολυπεπτιδικές ορμόνες) και η προστασία του οργανισμού από μολύνσεις (π.χ. αντισώματα). Η κυριότερη όμως ιδιότητα των πρωτεϊνών είναι η ικανότητά τους να δρουν ως ένζυμα, τα οποία, όπως περιγράφεται στην επόμενη ενότητα, καταλύουν σχεδόν όλες τις χημικές αντιδράσεις στα βιολογικά συστήματα. Κατά συνέπεια οι πρωτεΐνες ρυθμίζουν ουσιαστικά όλες τις κυτταρικές διεργασίες. Η κεντρική σημασία των πρωτεϊνών στη βιολογική χημεία καταδεικνύεται από το όνομά τους, το οποίο προέρχεται από την ελληνική λέξη «πρώτειος», που σημαίνει αυτόν που κατέχει την πρώτη θέση.

Οι πρωτεΐνες είναι πολυμερή που συντίθενται από 20 διαφορετικά **αμινοξέα** (amino acids). Κάθε αμινοξύ αποτελείται από ένα άτομο άνθρακα (που ονομάζεται α-άνθρακας) και συνδέεται με μια καρβοξυλική ομάδα (COO⁻), μια αμινομάδα (NH₃⁺), ένα άτομο υδρογόνου και μια χαρακτηριστική πλευρική ομάδα (**Εικόνα 2.16**). Οι συγκεκριμένες χημικές ιδιότητες των διαφορετικών αμινοξικών πλευρικών αλυσίδων καθορίζουν τον ρόλο κάθε αμινοξέος στην πρωτεϊνική δομή και λειτουργία.

Τα αμινοξέα μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις μεγάλες ομάδες με βάση τις ιδιότητες των πλευρικών τους αλυσίδων (**Εικόνα 2.17**). Δέκα αμινοξέα έχουν μη πολικές πλευρικές αλυσίδες οι οποίες δεν αλληλεπιδρούν με το νερό. Η γλυκίνη είναι το απλούστερο αμινοξύ, με την πλευρική της ομάδα να αποτελείται μόνο από ένα άτομο υδρογόνου. Τα αμινοξέα αλανίνη, βαλίνη, λευκίνη και ισολευκίνη φέρουν υδρογονανθρακικές πλευρικές αλυσίδες που έχουν μέχρι τέσσερα άτομα άνθρακα. Οι πλευρικές



ΕΙΚΟΝΑ 2.15 Ζευγάρισμα μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων νουκλεϊκών οξέων. Η δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ βάσεων σε αντίθετες αλυσίδες DNA οδηγεί σε επιλεκτική σύζευξη της κυτοσίνης (C) με τη γουανίνη (G) και της θυμίνης (T) με την αδενίνη (A).

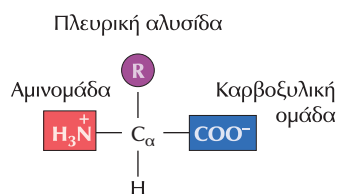
αλυσίδες αυτών των αμινοξέων είναι υδρόφοβες και γι' αυτόν τον λόγο τείνουν να εντοπίζονται στο εσωτερικό των πρωτεϊνών ή ενσωματωμένες σε μεμβράνες, όπου δεν έρχονται σε επαφή με το νερό. Ομοίως η φαινυλαλανίνη και η τρυπτοφάνη φέρουν έντονα υδρόφοβες υδρογονανθρακικές πλευρικές αλυσίδες που περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους. Επίσης, η προλίνη φέρει μια υδρογονανθρακική πλευρική αλυσίδα, αλλά η πλευρική της αλυσίδα συνδέεται επιπλέον και στο άζωτο της αμινομάδας εκτός από τον α-άνθρακα, σχηματίζοντας μια κυκλική δομή. Οι πλευρικές αλυσίδες δύο αμινοξέων, της κυστεΐνης και της μεθειονίνης, περιέχουν άτομα θείου. Η μεθειονίνη είναι αρκετά υδρόφοβη, ενώ η κυστεΐνη είναι λιγότερο υδρόφοβη εξαιτίας της σουλφυδρυλικής (SH) ομάδας που περιέχει. Όπως θα συζητηθεί παρακάτω, η σουλφυδρυλική ομάδα της κυστεΐνης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρωτεϊνική δομή, καθώς προσφέρει τη δυνατότητα σχηματισμού δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων δύο καταλοίπων κυστεΐνης.

► Οι ιδιότητες των αμινοξέων καθορίζονται από τις διακριτές πλευρικές τους αλυσίδες.

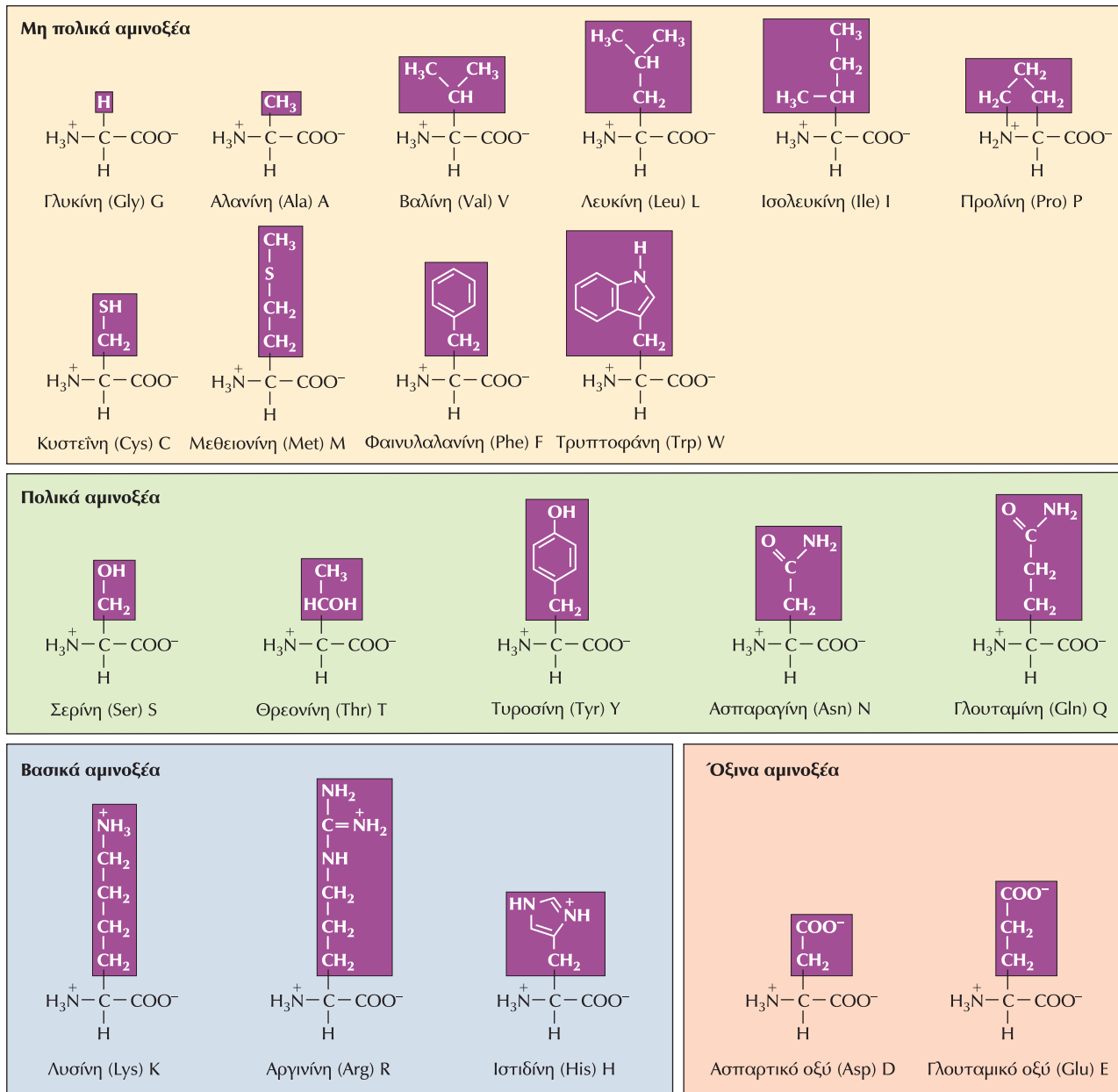
Πέντε αμινοξέα έχουν μη φορτισμένες αλλά πολικές πλευρικές αλυσίδες. Πρόκειται για τη σερίνη, τη θρεονίνη και την τυροσίνη, οι οποίες περιέχουν υδροξυλικές ομάδες στις πλευρικές τους αλυσίδες, καθώς και για την ασπαραγίνη και τη γλουταμίνη, οι οποίες φέρουν πολικές αμιδικές ($O=C-NH_2$) ομάδες. Επειδή οι πολικές πλευρικές αλυσίδες αυτών των αμινοξέων μπορούν και δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με το νερό, τα αμινοξέα αυτά είναι υδρόφιλα και συνήθως εντοπίζονται στην εξωτερική επιφάνεια των πρωτεϊνών.

Τα αμινοξέα λυσίνη, αργινίνη και ιστιδίνη έχουν πλευρικές αλυσίδες με φορτισμένες βασικές ομάδες (βασικές ονομάζονται οι ουσίες οι οποίες σε υδατικά διαλύματα παρέχουν ιόντα OH^-). Η λυσίνη και η αργινίνη είναι ισχυρά βασικά αμινοξέα και οι πλευρικές τους αλυσίδες είναι θετικά φορτισμένες στο εσωτερικό του κυττάρου. Συνεπώς είναι ιδιαίτερα υδρόφιλες και βρίσκονται σε επαφή με το νερό στην επιφάνεια των πρωτεϊνών. Η ιστιδίνη μπορεί να είναι είτε μη φορτισμένη είτε θετικά φορτισμένη σε φυσιολογικό pH, με αποτέλεσμα συχνά να διαδραματίζει ενεργό ρόλο σε ενζυμικές αντιδράσεις που σχετίζονται με ανταλλαγή ιόντων υδρογόνου, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Τέλος, δύο αμινοξέα, το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμικό οξύ, φέρουν όξινες πλευρικές αλυσίδες οι οποίες καταλήγουν σε καρβοξυλικές ομάδες (τα οξέα σε υδατικά διαλύματα παρέχουν ιόντα H^+). Αυτά τα



ΕΙΚΟΝΑ 2.16 Δομή αμινοξέων. Κάθε αμινοξύ αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο άνθρακα (τον α-άνθρακα) συνδεδεμένο με ένα άτομο υδρογόνου, μια καρβοξυλική ομάδα, μια αμινομάδα και μια συγκεκριμένη πλευρική αλυσίδα (συμβολίζεται με R). Σε φυσιολογικό pH, τόσο η καρβοξυλική ομάδα όσο και η αμινομάδα ιονίζονται, όπως φαίνεται στην εικόνα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.17 Τα αμινοξέα. Για κάθε αμινοξύ υποδεικνύεται η αντίστοιχη συντομογραφία με τρία γράμματα (π.χ. Gly) και με ένα γράμμα (π.χ. G). Τα αμινοξέα κατατάσσονται σε τέσσερις ομάδες, σύμφωνα με τις ιδιότητες των πλευρικών τους αλυσίδων: μη πολικά, πολικά, βασικά και όξινα.

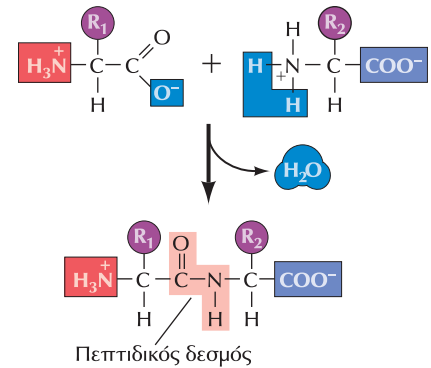
αμινοξέα είναι αρνητικά φορτισμένα στο εσωτερικό του κυττάρου και γι' αυτόν τον λόγο αναφέρονται ως ασπαρτικό και γλουταμικό οξύ. Όπως τα βασικά αμινοξέα, έτσι και τα αμινοξέα αυτά είναι ισχυρά υδρόφιλα και συνήθως εντοπίζονται στην επιφάνεια των πρωτεϊνών.

Τα αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους με **πεπτιδικούς δεσμούς** (peptide bonds) ανάμεσα στην α-καρβοξυλική ομάδα ενός αμινοξέος και την α-αμινομάδα ενός δεύτερου (**Εικόνα 2.18**). Τα **πολυπεπτίδια** (polypeptides) είναι γραμμικά πολυμερή που περιέχουν συνήθως εκατοντάδες ή χιλιάδες αμινοξέα. Κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα έχει δύο διακριτά άκρα, το ένα από τα οποία καταλήγει σε μια α-αμινομάδα (αμινοτελικό, ή N, άκρο) και το άλλο σε μια α-καρβοξυλική ομάδα (καρβοξυτελικό, ή C,

άκρο). Τα πολυπεπτίδια συντίθενται από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο και η αλληλουχία των αμινοξέων σε ένα πολυπεπτίδιο σημειώνεται (κατά σύμβαση) με την ίδια σειρά.

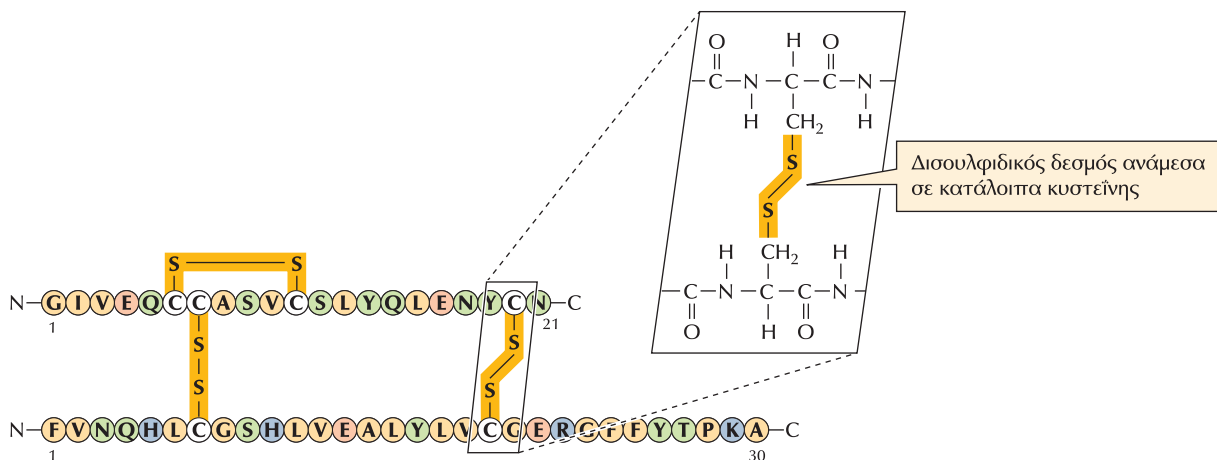
Το κύριο χαρακτηριστικό των πρωτεϊνών είναι ότι πρόκειται για πολυπεπτίδια με συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων. Το 1953, ο Frederick Sanger ήταν ο πρώτος που ταυτοποίησε την πλήρη αμινοξική αλληλουχία μιας πρωτεΐνης-ορμόνης, της ινσουλίνης. Όπως διαπιστώθηκε, η ινσουλίνη αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, που είναι συνδεδεμένες με δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ κυστεϊνών (**Εικόνα 2.19**). Το σημαντικότερο συμπέρασμα από το πείραμα του Sanger ήταν ότι κάθε πρωτεΐνη αποτελείται από μια συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων. Σήμερα, οι πρωτεϊνικές αλληλουχίες μπορούν πλέον να προσδιοριστούν από τις αντίστοιχες αλληλουχίες του mRNA. Περισσότερες από 100.000 αλληλουχίες πρωτεϊνών έχουν ταυτοποιηθεί με τον τρόπο αυτό. Καθεμία από αυτές αποτελείται από μια μοναδική αλληλουχία αμινοξέων, η οποία καθορίζεται από τη σειρά των νουκλεοτιδίων σε ένα γονίδιο (βλ. Κεφάλαιο 4).

Η αμινοξική αλληλουχία μιας πρωτεΐνης αποτελεί το πρώτο επίπεδο οργάνωσης μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Αντί να έχουν τη μορφή εκτεταμένων αλυσίδων αμινοξέων, οι πρωτεΐνες υιοθετούν διακριτές τρισδιάστατες διαμορφώσεις, οι οποίες είναι καθοριστικές για τη λειτουργία τους. Αυτές οι τρισδιάστατες διαμορφώσεις των πρωτεϊνών είναι το αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συστατικών τους αμινοξέων. Συνεπώς το σχήμα μιας πρωτεΐνης καθορίζεται από την αμινοξική της αλληλουχία. Πρώτος το απέδειξε πειραματικά ο Christian Anfinsen. Στο πλαίσιο αυτών των πειραμάτων αποδιατάχθηκε η τριτοταγής δομή των πρωτεϊνών με κατάλληλες κατεργασίες, όπως η θέρμανση, οι οποίες διασπούν μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται μετουσίωση (**Εικόνα 2.20**). Ωστόσο, έπειτα από επώαση σε ηπιότερες συνθήκες, τέτοιου είδους μετουσιωμένες πρωτεΐνες συχνά επανέρχονταν αυθόρμητα στη φυσιολογική τους

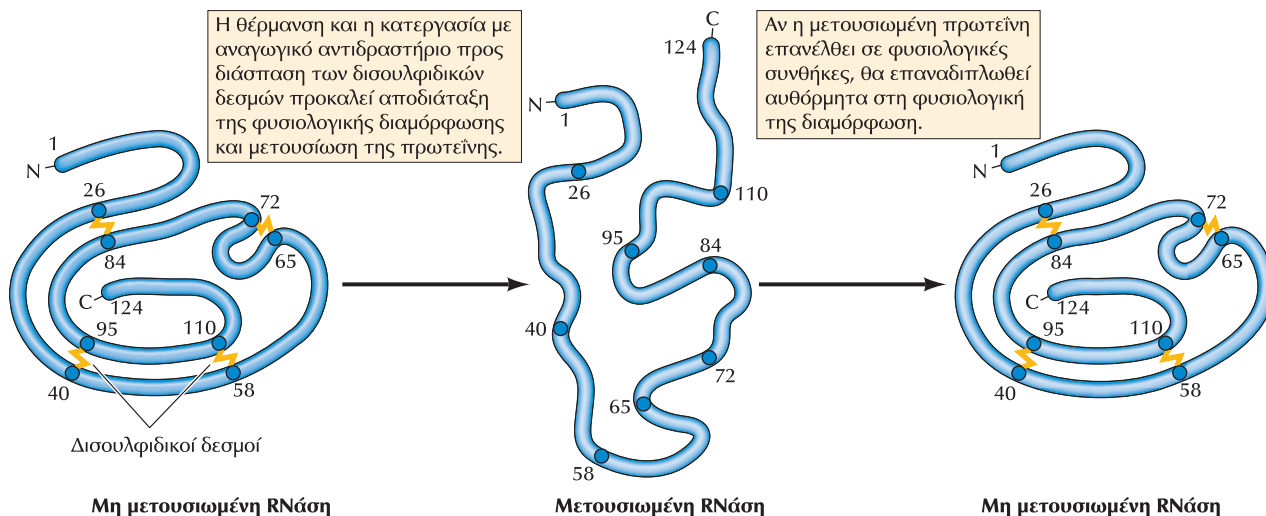


ΕΙΚΟΝΑ 2.18 Δημιουργία ενός πεπτιδικού δεσμού. Η καρβοξυλική ομάδα του ενός αμινοξέου συνδέεται με την αμινομάδα του επόμενου αμινοξέου.

► Οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται σε διακριτές τρισδιάστατες δομές.



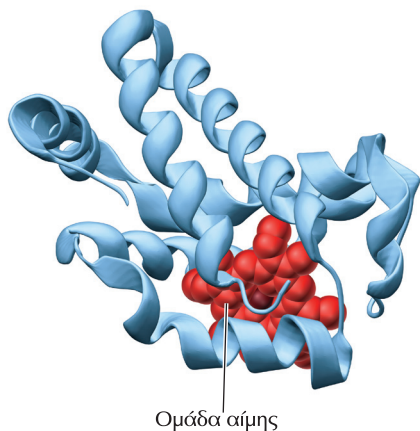
ΕΙΚΟΝΑ 2.19 Αμινοξική αλληλουχία ινσουλίνης. Η ινσουλίνη αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, μία με 21 και μία με 30 αμινοξέα (τα αμινοξέα υποδεικνύονται με συντομογραφία ενός γράμματος). Οι πλευρικές αλυσίδες τριών ζευγών κυστεϊνών συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς, δύο από τους οποίους συνδέουν τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες.



ΕΙΚΟΝΑ 2.20 Πρωτεϊνική μετουσίωση και επαναδίπλωση. Η ριβονουκλεάση (RNάση) είναι μια πρωτεΐνη με 124 αμινοξέα (υποδεικνύονται με αριθμούς). Η πρωτεΐνη υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι αναδιπλωμένη σε μια διαμόρφωση η οποία περιλαμβάνει τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς (υποδεικνύονται ως ζεύγη κύκλων που αντιστοιχούν στα μόρια κυστεΐνης).

διαμόρφωση, υποδεικνύοντας ότι η διαμόρφωση αυτή καθοριζόταν άμεσα από την αμινοξική αλληλουχία (βλ. Πείραμα-σταθμό).

Η τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών τις περισσότερες φορές αναλύεται με **κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ** (X-ray crystallography), μια τεχνική υψηλής αναλυτικής ικανότητας η οποία μπορεί να καθορίσει τη διάταξη των μεμονωμένων ατόμων σε ένα μόριο. Μια δέσμη ακτίνων Χ προσπίπτει σε κρυστάλλους της



ΕΙΚΟΝΑ 2.21 Τρισδιάστατη δομή μυοσφαιρίνης. Η μυοσφαιρίνη είναι μια πρωτεΐνη 153 αμινοξέων που εμπλέκεται στη μεταφορά οξυγόνου. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται γύρω από μια ομάδα αίμης, η οποία χρησιμεύει ως περιοχή σύνδεσης του οξυγόνου.

υπό ανάλυση πρωτεΐνης και η περίθλασή τους ανιχνεύεται με φιλμ ειδικό για ακτίνες Χ. Κατά την πρόσπτωσή τους στον πρωτεϊνικό κρύσταλλο, οι ακτίνες Χ σκεδάζονται με χαρακτηριστικό τρόπο, ο οποίος καθορίζεται από τη διάταξη των ατόμων στο μόριο. Η δομή του μορίου μπορεί συνεπώς να προσδιοριστεί από το αποτύπωμα των σκεδασμένων ακτίνων Χ πάνω στο φιλμ (διάγραμμα περίθλασης).

Το 1958, ο Jon Kendrew ήταν ο πρώτος που καθόρισε την τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης, της μυοσφαιρίνης, η οποία είναι μια σχετικά μικρή πρωτεΐνη με 153 αμινοξέα (**Εικόνα 2.21**). Έκτοτε έχει ταυτοποιηθεί η τρισδιάστατη δομή περισσότερων από 100.000 πρωτεϊνών. Οι περισσότερες πρωτεΐνες, όπως άλλωστε και η μυοσφαιρίνη, έχουν σφαιρικό σχήμα με πολυπεπτιδικές αλυσίδες που αναδιπλώνονται σε συμπαγείς δομές, παρόλο που ορισμένες (όπως οι δομικές πρωτεΐνες συνδετικών ιστών) είναι επιμήκη ινώδη μόρια. Η ανάλυση της τρισδιάστατης δομής αυτών των πρωτεϊνών αποκάλυψε αρκετές βασικές αρχές οι οποίες καθορίζουν την πρωτεϊνική αναδίπλωση στον χώρο. Εντούτοις, επειδή η πρωτεϊνική δομή είναι τόσο πολύπλοκη, η πρόβλεψη της τρισδιάστατης δομής μιας πρωτεΐνης αποκλειστικά από την αμινοξική της αλληλουχία είναι επί του παρόντος ανέφικτη.

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ

Η αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων στον χώρο

Reductive Cleavage of Disulfide Bridges in Ribonuclease

Michael Sela, Frederick H. White, Jr., and Christian B. Anfinsen
National Institutes of Health, Bethesda, MD

Science, Volume 125, 1957, pages 691-692

Ποιες πληροφορίες απαιτούνται για τον προσδιορισμό του τρόπου αναδίπλωσης των πρωτεϊνών;

Οι λειτουργικές πρωτεΐνες είναι δομικά πολύ πιο πολύπλοκες απ' ό,τι οι απλές γραμμικές αλυσίδες αμινοξέων. Ο σχηματισμός ενεργών ενζύμων ή άλλων πρωτεϊνών απαιτεί την αναδίπλωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων σε συγκεκριμένες τρισδιάστατες διαμορφώσεις. Αυτή η διαφορά μεταξύ πρωτεϊνών και πολυπεπτιδικών αλυσίδων εγείρει σημαντικά ερωτήματα σχετικά με την κατανόηση της πρωτεϊνικής δομής και λειτουργίας. Πώς γίνεται η επιλογή της σωστής πρωτεϊνικής διαμόρφωσης ανάμεσα στις πολλές πιθανές δομές που θα μπορούσε να υιοθετήσει ένα πολυπεπτιδίο; Ποια είναι η φύση της πληροφορίας που κατευθύνει την πρωτεϊνική αναδίπλωση;

Κλασικά πειράματα που πραγματοποιήσε ο Christian Anfinsen και οι συνεργάτες του έδωσαν πειστικές απαντήσεις στα ερωτήματα αυτά. Μελετώντας το ένζυμο ριβονουκλεάση, ο Anfinsen και οι συνεργάτες του κατάφεραν να αποδείξουν ότι οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες έχουν την ικανότητα να επανέρχονται αυθόρμητα σε μια λειτουργική διαμόρφωση. Συνεπώς όλες οι πληροφορίες που απαιτούνται για τον καθορισμό της σωστής τρισδιάστατης δομής μιας πρωτεΐνης περιέχονται στην πρωτοταγή αμινοξική της αλληλουχία. Μια σειρά τέτοιων πειραμάτων οδήγησε τον Anfinsen στο συμπέρασμα ότι η εγγενής τρισδιάστατη δομή μιας πρω-

τεΐνης αντιστοιχεί στη θερμοδυναμικά σταθερότερη της διαμόρφωση, όπως αυτή καθορίζεται από τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα συστατικά της αμινοξέα. Οι πρώτες παρατηρήσεις που οδήγησαν στη διατύπωση αυτής της θεμελιώδους αρχής δημοσιεύθηκαν το 1957 σε αυτό το άρθρο των Christian Anfinsen, Michael Sela και Frederick White Jr.

Η αυθόρμητη επαναδίπλωση της ριβονουκλεάσης

Η πρωτεΐνη που μελετούσαν οι Sela, White και Anfinsen ήταν η βόεια ριβονουκλεάση, μια μικρή πρωτεΐνη 124 αμινοξέων η οποία περιέχει τέσσερις δισουλφιδικούς (S-S) δεσμούς μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων των κυστεϊνών. Η ενζυμική ενεργότητα της ριβονουκλεάσης μπορούσε να προσδιοριστεί μέσω της ικανότητάς της να αποικοδομεί το RNA σε νουκλεοτιδία. Έτσι ήταν διαθέσιμη η μέθοδος αξιολόγησης της λειτουργίας της φυσιολογικής πρωτεΐνης. Αυτή η ενζυμική ενεργότητα χανόταν εντελώς όταν η ριβονουκλεάση υποβαλλόταν σε κατεργασίες οι οποίες διασπούσαν όχι μόνο τους μη ομοιοπολικούς δεσμούς (π.χ. δεσμούς υδρογόνου) αλλά και τους δισουλφιδικούς δεσμούς μέσω αναγωγής τους προς σουλφυδρυλικές (SH) ομάδες. Συνεπώς η μετουσιωμένη πρωτεΐνη παρουσίαζε μια τυχαία αδρανή διαμόρφωση.

Οι Sela, White και Anfinsen έκαναν την καθοριστικής σημασίας παρατήρηση ότι η ενζυμική ενεργότητα επανέρχεται όταν η μετουσιωμένη πρωτεΐνη επωαστεί σε συνθήκες που επιτρέπουν την αναδιάταξη της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και την αποκατάσταση των δισουλφιδικών δεσμών. Σε αυτά τα πειράματα απομακρύνθηκαν οι παράγοντες που προκαλούν μετουσίωση και το ανενεργό ένζυμο παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου σε φυσιολογικό ρυθμιστικό διάλυμα παρουσία O_2 . Αυτή η διαδικασία οδήγησε σε οξειδωση των σουλφυδρυλικών ομάδων και αποκατάσταση των δισουλφιδικών δεσμών. Κατόπιν, το ένζυμο επανέκτησε την καταλυτική του ενεργότητα, γεγονός που υποδεικνύει ότι είχε υιοθετήσει τη φυσιολογική του διαμόρφωση (βλ. εικόνα). Καθώς δεν ήταν παρόντα άλλα κυτταρικά συστατικά, όλη η απαιτούμενη πληροφορία για τη σωστή αναδίπλωση

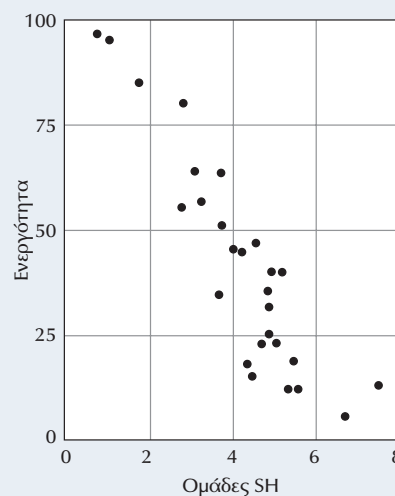


Christian B. Anfinsen. (Ευγενική προσφορά: National Library of Medicine.)

της πρωτεΐνης φάνηκε να εμπεριέχεται στην πρωτοταγή αμινοξική αλληλουχία της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Οι τρισδιάστατες διαμορφώσεις καθορίζονται από τις αλληλουχίες αμινοξέων

Περαιτέρω πειράματα καθόρισαν τις συνθήκες κάτω από τις οποίες η μετουσιωμένη ριβονουκλεάση ανακάμει πλήρως τη φυσιολογική της δομή και την ενζυμική της ενεργότητα, θέτοντας τις βάσεις για τη «θερμοδυναμική υπόθεση» σχετικά με την πρωτεϊνική αναδίπλωση. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η εγγενής τρισδιάστατη



Σύνοψη των αποτελεσμάτων των πειραμάτων αναδιάταξης. Η ενζυμική ενεργότητα της ριβονουκλεάσης απεικονίζεται γραφικά ως συνάρτηση του αριθμού των σουλφυδρυλικών ομάδων (SH) που υπάρχουν στο μόριο μετά από ποικίλες κατεργασίες. Ο σχηματισμός ομάδων SH αντιστοιχεί σε απώλεια δισουλφιδικών δεσμών. Η ενεργότητα εκφράζεται ως επί τοις εκατό ενεργότητα του μη μετουσιωμένου ενζύμου.

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ (συνέχεια)

δομή μιας πρωτεΐνης αντιστοιχεί στη θερμοδυναμικά σταθερότερη κατάσταση υπό φυσιολογικές συνθήκες. Η θερμοδυναμική σταθερότητα ελέγχεται από τις αλληλεπιδράσεις των αμινοξέων, με αποτέλεσμα η τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών να καθορίζεται άμεσα από την πρωτοταγή αμινοξική τους αλληλουχία. Καθώς η σειρά των νουκλεοτιδίων στο DNA καθορίζει την αμινοξική αλληλουχία του πολυπεπτιδίου, προκύπτει το συμπέρασμα

ότι η νουκλεοτιδική αλληλουχία ενός γονιδίου περιέχει όλες τις πληροφορίες που απαιτούνται για τον καθορισμό της τρισδιάστατης δομής της πρωτεΐνης.

Παρόλο που τα πειράματα του Anfinsen έθεσαν τη θερμοδυναμική βάση της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης, η κατανόηση του μηχανισμού αυτής της διαδικασίας παραμένει βασικός στόχος της σύγχρονης έρευνας. Η πρωτεϊνική αναδίπλωση είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία, γι' αυτό και δεν μπορούμε ακόμη να προβλέψουμε την τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης απευθείας από την αμινοξική της αλληλουχία. Θα πρέπει επίσης να

τονιστεί ότι η αυθόρμητη αναδίπλωση των πρωτεϊνών *in vitro* είναι πολύ πιο αργή από την πρωτεϊνική αναδίπλωση μέσα στο κύτταρο, η οποία συχνά υποβοηθείται από ένζυμα (βλ. Κεφάλαιο 10). Συνεπώς η αποσαφήνιση του μηχανισμού της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης παραμένει μία από τις κυριότερες ερευνητικές προκλήσεις στη βιολογική χημεία.

Ερώτηση: Γιατί σε αυτό το πείραμα ήταν σημαντικό να μελετηθεί ένα ένζυμο με εύκολα ανιχνεύσιμη δραστηριότητα;

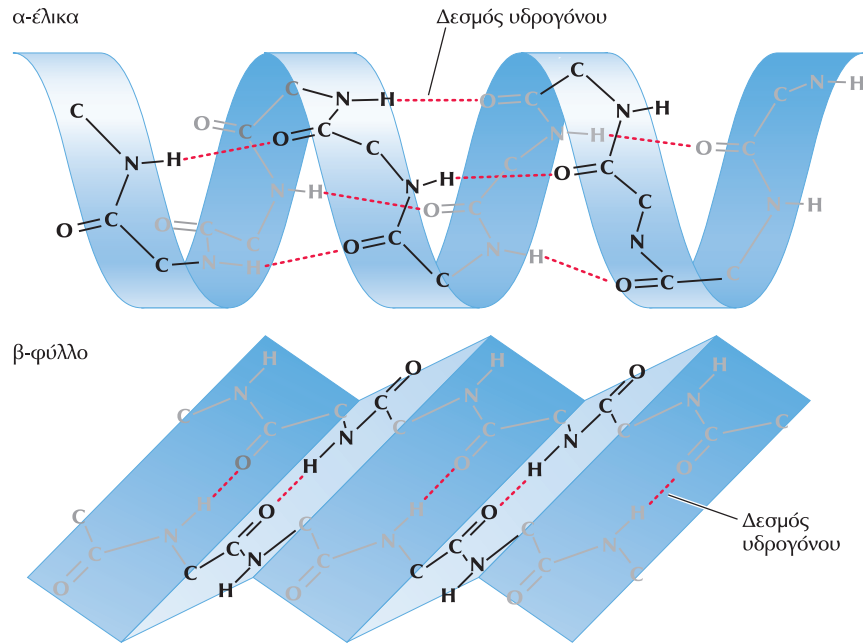
► Η δευτεροταγής δομή των πρωτεϊνών προκύπτει μέσω της δημιουργίας δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ομάδων CO και NH των πεπτιδικών δεσμών.

Σε γενικές γραμμές, η πρωτεϊνική δομή μπορεί να περιγραφεί σε τέσσερα επίπεδα. **Πρωτοταγής δομή** (primary structure) μιας πρωτεΐνης ονομάζεται η αλληλουχία των αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Η τοπική διαμόρφωση επιμέρους τμημάτων της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, δηλαδή η κανονική διάταξη στον χώρο αμινοξέων σε συγκεκριμένες περιοχές του πολυπεπτιδικού κορμού, συνιστά τη **δευτεροταγή δομή** (secondary structure). Οι συνηθέστεροι τύποι δευτεροταγούς δομής προτάθηκαν για πρώτη φορά από τους Linus Pauling

και Robert Corey το 1951 και είναι η **α-έλικα** (α helix) και το **β-φύλλο** (β sheet). Και τα δύο αυτά είδη δευτεροταγούς δομής χαρακτηρίζονται από τον σχηματισμό σταθερών δεσμών υδρογόνου μεταξύ συγκεκριμένων ομάδων CO και NH του πολυπεπτιδικού σκελετού. Μια α-έλικα σχηματίζεται όταν μια περιοχή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας περιελίσσεται γύρω από τον εαυτό της. Σε αυτή τη διαμόρφωση, η ομάδα CO (καρβονυλική) ενός πεπτιδικού δεσμού σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με την ομάδα NH ενός άλλου πεπτιδικού δεσμού της ίδιας πρωτεϊνικής αλυσίδας, ο οποίος βρίσκεται τέσσερα αμινοξέα καθοδικά (**Εικόνα 2.22**). Αντίθετα, ένα β-φύλλο σχηματίζεται όταν δύο τμήματα μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο με δεσμούς υδρογόνου ανάμεσά τους. Τέτοια β-φύλλα είναι δυνατόν να σχηματιστούν μεταξύ πολλών τμημάτων (κλώνων) της ίδιας ή διαφορετικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων, τα οποία μπορεί να έχουν τον ίδιο ή αντίθετο μεταξύ τους προσανατολισμό (να είναι παράλληλα ή αντιπαράλληλα).

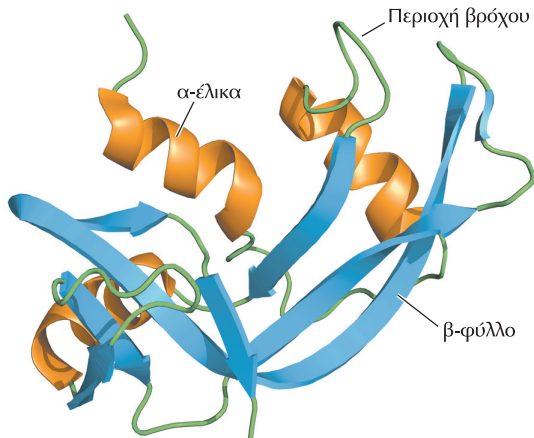
Η συνολική αναδίπλωση μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας η οποία προκύπτει από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών ομάδων αμινοξέων που βρίσκονται σε διαφορετικές περιοχές της πρωτοταγούς ακολουθίας της αλυσίδας ονομάζεται **τριτοταγής δομή** (tertiary structure). Οι βασικές μονάδες της τριτοταγούς δομής ονομάζονται **επικράτειες** (domains). Οι επικράτειες συνιστούν τρισδιάστατες δομές οι οποίες προκύπτουν από την αναδίπλωση περίπου 50-200 αμινοξέων (**Εικόνα 2.23**). Στις περισσότερες πρωτεΐνες, α-έλικες και β-φύλλα συνδέονται μεταξύ τους με περιοχές βρόχου της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και αναδιπλώνονται σχηματίζοντας σφαιρικού σχήματος επικράτειες. Μικρές πρωτεΐνες, όπως η ριβονουκλεάση και η μυοσφαιρίνη, αποτελούνται από μία μόνο επικράτεια, ενώ μεγαλύτερες πρωτεΐνες, όπως η β-γλυκουρονιδάση, είναι δυνατόν να περιέχουν διάφορες επικράτειες, οι οποίες συχνά σχετίζονται με διακριτές λειτουργίες.

Καθοριστικός παράγοντας για τη δημιουργία της τριτοταγούς δομής είναι ο εντοπισμός των υδρόφοβων αμινοξέων στο εσωτερικό μιας πρωτεΐνης και των υδρόφιλων αμινοξέων στην επιφάνειά της, όπου και αλληλεπιδρούν με το νερό. Συνεπώς το εσωτερικό των αναδιπλωμένων πρωτεϊνών αποτελείται κυρίως από υδρόφοβα αμινοξέα διατεταγμένα σε α-έλικες και β-φύλλα. Αυτές οι δευτεροταγείς διαμορφώσεις εντοπίζονται στον υδρόφοβο πυρήνα των πρωτεϊνών, καθώς ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου εξουδετερώνει

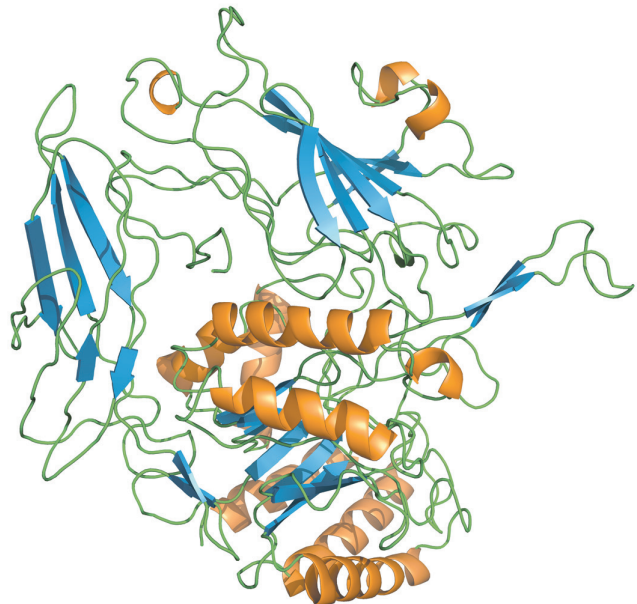


ΕΙΚΟΝΑ 2.22 Δευτεροταγής δομή πρωτεϊνών. Οι πιο κοινοί τύποι δευτεροταγούς δομής είναι η α-έλικα και το β-φύλλο. Στην α-έλικα αναπτύσσονται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ομάδων CO και NH πεπτιδικών δεσμών που βρίσκονται σε απόσταση τεσσάρων αμινοξέων ο ένας από τον άλλο. Σε ένα β-φύλλο, οι δεσμοί υδρογόνου συνδέουν δύο τμήματα μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας που βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο. Δε σημειώνονται οι πλευρικές αμινοξικές αλυσίδες.

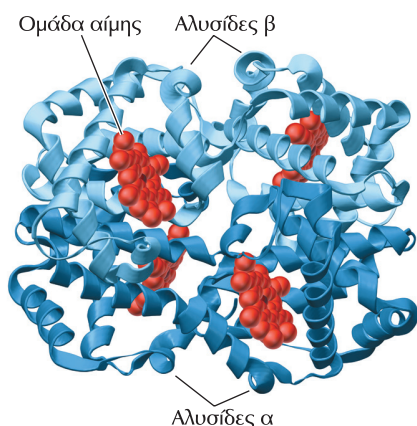
Ριβονουκλεάση



β-γλυκουρονιδάση



ΕΙΚΟΝΑ 2.23 Τριτοταγής δομή. Η αναδίπλωση περιοχών με δευτεροταγή δομή α-έλικας και β-φύλλου οι οποίες συνδέονται με βρόχους οδηγεί στον σχηματισμό της τριτοταγούς δομής της πρωτεΐνης. Σε αυτή τη σχηματική απεικόνιση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας σε μορφή κορδέλας, οι α-έλικες παρουσιάζονται ως σπειράματα και τα β-φύλλα ως πεπλατυσμένα βέλη. Η ριβονουκλεάση και η β-γλυκουρονιδάση αποτελούν παραδείγματα πρωτεϊνών με μία και τρεις επικράτειες αντίστοιχα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.24 Τεταρτοταγής δομή αιμοσφαιρίνης. Η αιμοσφαιρίνη αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, καθεμία από τις οποίες συνδέεται με μια ομάδα αίμης. Οι δύο αλυσίδες α και οι δύο αλυσίδες β είναι πανομοιότυπες.

► Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων δημιουργούν την τριτοταγή και την τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών.

τον πολικό χαρακτήρα των ομάδων CO και NH του πολυπεπτιδικού σκελετού. Οι περιοχές των βρόχων που συνδέουν στοιχεία της δευτεροταγούς δομής εντοπίζονται στην επιφάνεια των αναδιπλωμένων πρωτεϊνών, όπου τα πολικά συστατικά των πεπτιδικών δεσμών αναπτύσσουν δεσμούς υδρογόνου με το νερό ή με τις πολικές πλευρικές αλυσίδες των υδρόφιλων αμινοξέων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων πολικών αμινοξέων (δεσμοί υδρογόνου και ιοντικοί δεσμοί) στην επιφάνεια των πρωτεϊνών διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη δημιουργία και στη σταθερότητα της τριτοταγούς δομής. Επιπρόσθετα, οι ομοιοπολικοί δισουλφιδικοί δεσμοί μεταξύ σουλφυδρυλικών ομάδων κυστεϊνών σταθεροποιούν τις αναδιπλωμένες στον χώρο δομές πολλών μεμβρανικών ή εκκρινόμενων πρωτεϊνών.

Το τέταρτο επίπεδο της πρωτεϊνικής διαμόρφωσης, η **τεταρτοταγής δομή** (quaternary structure), σχετίζεται με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων σε πρωτεΐνες που αποτελούνται από περισσότερα του ενός πολυπεπτίδια. Η αιμοσφαιρίνη, για παράδειγμα, απαρτίζεται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες οι οποίες συγκρατούνται μεταξύ τους με τους ίδιους τύπους αλληλεπιδράσεων που σταθεροποιούν και την τριτοταγή της διαμόρφωση (**Εικόνα 2.24**).

Συνεπώς τα διακριτά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των 20 διαφορετικών αμινοξέων είναι εκείνα που οδηγούν στην αξιοσημείωτη ποικιλία των τρισδιάστατων διαμορφώσεων των αναδιπλωμένων πρωτεϊνών. Επομένως οι πρωτεΐνες αποτελούν ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο και ετερογενές σύνολο μακρομορίων, το οποίο είναι ανάλογο της μεγάλης ποικιλίας των λειτουργιών που επιτελούν στην κυτταρική βιολογία.

2.2 Τα ένζυμα ως βιολογικοί καταλύτες

Μαθησιακοί στόχοι

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της ενότητας αυτής θα πρέπει να είστε σε θέση:

- Να εξηγήσετε με ποιο τρόπο τα ένζυμα επηρεάζουν την κινητική των χημικών αντιδράσεων χωρίς να μεταβάλλουν την ισορροπία μεταξύ αντιδρώντων και προϊόντων.
- Να συνοψίσετε τους μηχανισμούς της ενζυμικής κατάλυσης.
- Να διακρίνετε τα ένζυμα από τα συνένζυμα.
- Να εξηγήσετε γιατί η ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων είναι σημαντική για τη λειτουργία των κυττάρων.

Ένας βασικός ρόλος των πρωτεϊνών είναι να λειτουργούν ως ένζυμα-καταλύτες τα οποία αυξάνουν την ταχύτητα σχεδόν όλων των χημικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στο εσωτερικό των κυττάρων. Αν και κάποιες βιολογικές αντιδράσεις καταλύονται από μόρια RNA, οι πιο πολλές καταλύονται από ένζυμα. Απουσία ενζυμικών καταλυτών, οι περισσότερες αντιδράσεις είναι τόσο βραδείες, που δε θα μπορούσαν

να πραγματοποιηθούν στις ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης που είναι συμβατές με τη ζωή. Τα ένζυμα αυξάνουν την ταχύτητα αυτών των αντιδράσεων τουλάχιστον ένα εκατομμύριο φορές, με αποτέλεσμα αντιδράσεις που απουσία κατάλυσης θα χρειάζονταν χρόνια για να ολοκληρωθούν να μπορούν να πραγματοποιηθούν σε κλάσματα του δευτερολέπτου αν καταλυθούν από το κατάλληλο ένζυμο. Τα κύτταρα περιέχουν εκατοντάδες διαφορετικά ένζυμα και οι ενεργότητές τους καθορίζουν ποιες από τις πολλές δυνητικές χημικές αντιδράσεις λαμβάνουν τελικά χώρα στο εσωτερικό του κυττάρου.

Η καταλυτική ενεργότητα των ενζύμων

Όπως όλοι οι άλλοι καταλύτες, έτσι και τα **ένζυμα** (enzymes) χαρακτηρίζονται από δύο θεμελιώδεις ιδιότητες. Πρώτον, αυξάνουν την ταχύτητα των χημικών αντιδράσεων χωρίς τα ίδια να καταναλώνονται ή να υφίστανται μόνιμη μεταβολή από την αντίδραση. Δεύτερον, αυξάνουν την ταχύτητα της αντίδρασης χωρίς να τροποποιούν τη χημική ισορροπία ανάμεσα στα αντιδρώντα και τα προϊόντα.

Αυτές οι αρχές της ενζυμικής κατάλυσης επεξηγούνται στο παρακάτω παράδειγμα, όπου ένα μόριο πάνω στο οποίο επιδρά ένα ένζυμο –το **υπόστρωμα** (S, Substrate)– μετατρέπεται σε ένα **προϊόν** (P, Product) λόγω της αντίδρασης. Απουσία του ενζύμου, η αντίδραση θα μπορούσε να γραφτεί ως εξής:



Η χημική ισορροπία ανάμεσα στο S και το P καθορίζεται από τους νόμους της θερμοδυναμικής (Κεφάλαιο 3) και αντιπροσωπεύεται από τη σχέση των ταχυτήτων των δύο κατευθύνσεων της αντίδρασης ($S \rightarrow P$ και $P \rightarrow S$ αντίστοιχα). Παρουσία του κατάλληλου ενζύμου, η μετατροπή του S σε P επιταχύνεται, αλλά η ισορροπία ανάμεσα στο S και το P παραμένει αμετάβλητη. Κατά συνέπεια το ένζυμο πρέπει να επιταχύνει εξίσου και τις δύο κατευθύνσεις της αντίδρασης. Η αντίδραση μπορεί να γραφτεί ως εξής:



Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι το ένζυμο (E) δεν τροποποιείται από την αντίδραση, οπότε η χημική ισορροπία παραμένει αμετάβλητη και καθορίζεται αποκλειστικά από τις θερμοδυναμικές ιδιότητες του S και του P.

Η επίδραση του ενζύμου σε μια τέτοια αντίδραση γίνεται πιο κατανοητή από τις ενεργειακές μεταβολές που πρέπει να λάβουν χώρα κατά τη μετατροπή του S σε P (**Εικόνα 2.25**). Η ισορροπία της αντίδρασης καθορίζεται από τις τελικές ενεργειακές καταστάσεις του S και του P, οι οποίες δεν επηρεάζονται από την ενζυμική κατάλυση. Προκειμένου όμως να πραγματοποιηθεί η αντίδραση, πρέπει το υπόστρωμα αρχικά να μεταβεί σε μια κατάσταση υψηλότερης ενέργειας, που ονομάζεται **μεταβατική κατάσταση** (transition state). Η ενέργεια που απαιτείται για να φτάσει το υπόστρωμα στη μεταβατική κατάσταση –η **ενέργεια ενεργοποίησης** (activation energy)– αποτελεί φραγμό στην εξέλιξη της αντίδρασης, περιορίζοντας την ταχύτητά της. Τα ένζυμα (και άλλοι καταλύτες) λειτουργούν μειώνοντας την ενέργεια ενεργοποίησης και αυξάνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την ταχύτητα της αντίδρασης. Η αύξηση της ταχύτητας είναι ίδια και προς τις δύο κατευθύνσεις της αντίδρασης, αφού η μεταβατική κατάσταση είναι κοινή και για τις δύο.

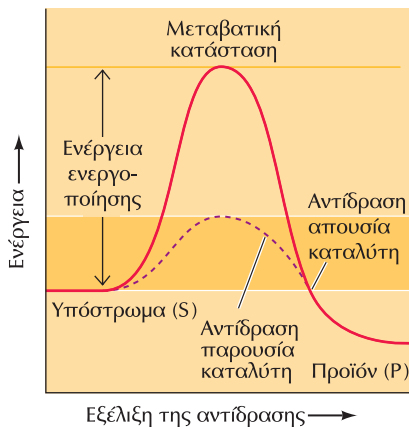
ANIMATION 2.2

Καταλύτες και ενέργεια ενεργοποίησης. Σε μια χημική αντίδραση, το ένζυμο μειώνει την ποσότητα ενέργειας που απαιτείται προκειμένου να φτάσει η αντίδραση στη μεταβατική κατάσταση, επιτρέποντάς της να εξελιχθεί με μεγαλύτερη ταχύτητα.



► Τα ένζυμα αυξάνουν την ταχύτητα των χημικών αντιδράσεων χωρίς να μεταβάλλουν την ισορροπία τους.

► Τα υποστρώματα προσδένονται στα ενεργά κέντρα των ενζύμων.



ΕΙΚΟΝΑ 2.25 Ενεργειακά διαγράμματα για αντιδράσεις παρουσία και απουσία καταλύτη.

Η αντίδραση που απεικονίζεται είναι η απλή μετατροπή του S στο προϊόν P. Επειδή η τελική ενεργειακή κατάσταση του P είναι χαμηλότερη από εκείνη του S, η αντίδραση έχει κατεύθυνση από αριστερά προς τα δεξιά. Προκειμένου όμως να πραγματοποιηθεί η αντίδραση, το S πρέπει να διέλθει από μια μεταβατική κατάσταση υψηλής ενέργειας. Η ενέργεια που απαιτείται για να φτάσει στη μεταβατική κατάσταση (η ενέργεια ενεργοποίησης) συνιστά έναν φραγμό στην εξέλιξη της αντίδρασης και κατά συνέπεια καθορίζει την ταχύτητα με την οποία διεξάγεται η αντίδραση. Παρουσία ενός καταλύτη (π.χ. ενός ενζύμου), η ενέργεια ενεργοποίησης μειώνεται και η αντίδραση πραγματοποιείται με μεγαλύτερη ταχύτητα.

► Στο ενεργό κέντρο των ενζύμων τα υποστρώματα πλησιάζουν μεταξύ τους.

Η καταλυτική ενεργότητα των ενζύμων συνίσταται στη σύνδεσή τους με τα υποστρώματά τους, ώστε να σχηματιστεί ένα σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος (ES). Το υπόστρωμα συνδέεται με μια συγκεκριμένη περιοχή του ενζύμου, που ονομάζεται **ενεργό κέντρο** (active site). Ενώ είναι συνδεδεμένο στο ενεργό κέντρο, το υπόστρωμα μετατρέπεται στο προϊόν της αντίδρασης, το οποίο στη συνέχεια απελευθερώνεται από το ένζυμο. Η καταλυόμενη από το ένζυμο αντίδραση μπορεί συνεπώς να γραφτεί ως εξής:



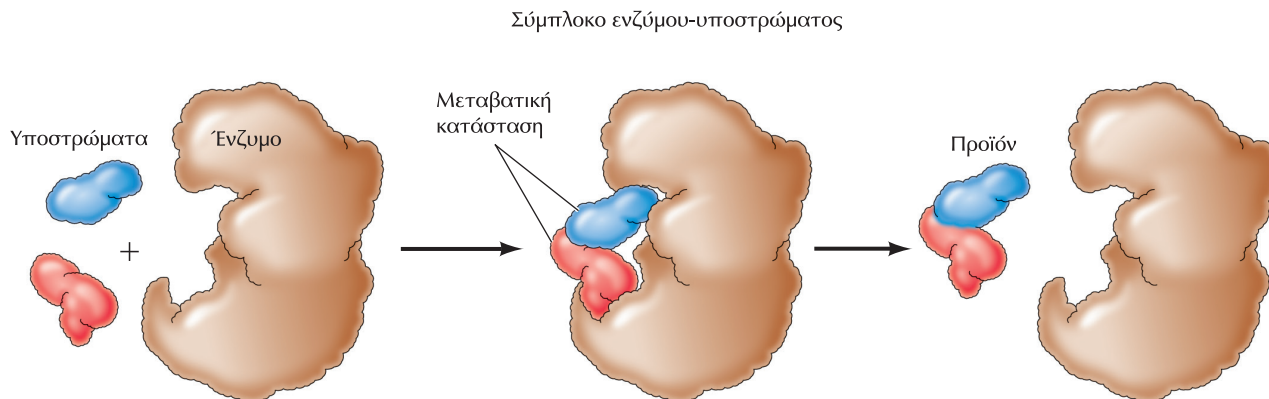
Παρατηρήστε ότι το E παραμένει αμετάβλητο και στις δύο πλευρές της αντίδρασης, με αποτέλεσμα να μην επηρεάζεται η ισορροπία της αντίδρασης. Ωστόσο, το ένζυμο παρέχει μια επιφάνεια στην οποία η αντίδραση μετατροπής του S σε P πραγματοποιείται με μεγαλύτερη ευκολία. Αυτό είναι αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στο ένζυμο και το υπόστρωμα, οι οποίες μειώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης και ευνοούν τον σχηματισμό της μεταβατικής κατάστασης.

Μηχανισμοί ενζυμικής κατάλυσης

Η σύνδεση ενός υποστρώματος στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου είναι μια πολύ εκλεκτική αλληλεπίδραση. Τα ενεργά κέντρα μοιάζουν με σχισμές ή αύλακες στην επιφάνεια ενός ενζύμου και συνήθως αποτελούνται από αμινοξέα που προέρχονται από διαφορετικά σημεία της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, τα οποία όμως γειτνιάζουν στην τριτοταγή δομή της αναδιπλωμένης πρωτεΐνης. Τα υποστρώματα αρχικά συνδέονται στο ενεργό κέντρο με μη ομοιοπολικούς δεσμούς, συμπεριλαμβανομένων δεσμών υδρογόνου, ιοντικών δεσμών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Μετά τη σύνδεση του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, διάφοροι μηχανισμοί μπορεί να επιταχύνουν τη μετατροπή του στα προϊόντα της αντίδρασης.

Αν και το απλό παράδειγμα που περιγράφηκε παραπάνω αναφερόταν σε ένα μόνο μόριο υποστρώματος, οι περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις περιλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε δύο ή περισσότερα υποστρώματα. Για παράδειγμα, ο σχηματισμός ενός πεπτιδικού δεσμού περιλαμβάνει τη σύνδεση δύο αμινοξέων. Η σύνδεση δύο ή περισσότερων υποστρωμάτων στο ενεργό κέντρο με την κατάλληλη θέση και προσανατολισμό οδηγεί σε επιτάχυνση αντιδράσεων αυτού του τύπου (**Εικόνα 2.26**). Το ένζυμο παρέχει μια μήτρα πάνω στην οποία τα αντιδρώντα έρχονται σε επαφή και προσανατολίζονται με τρόπο που ευνοεί την αλληλεπίδρασή τους και τον σχηματισμό της μεταβατικής κατάστασης.

Τα ένζυμα μπορούν επίσης να επιταχύνουν τις αντιδράσεις, προκαλώντας στα υποστρώματά τους δομικές μεταβολές οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία διαμορφώσεων που προσεγγίζουν τη μεταβατική κατάσταση. Οι διαμορφώσεις τόσο του ενζύμου όσο και του υποστρώματος τροποποιούνται κατά τη μεταξί τους σύνδεση. Με αυτή τη διαδικασία, που είναι γνωστή ως **επαγόμενη προσαρμογή** (induced fit – **Εικόνα 2.27**),



ΕΙΚΟΝΑ 2.26 Ενζυμική κατάλυση μιας αντίδρασης ανάμεσα σε δύο υποστρώματα. Το ένζυμο παρέχει μια μήτρα επάνω στην οποία τα δύο υποστρώματα έρχονται στην κατάλληλη θέση και με τον κατάλληλο προσανατολισμό, ώστε να αντιδράσουν μεταξύ τους.

προκαλείται η εξασθένηση σημαντικών δεσμών, και η διαμόρφωση του υποστρώματος τροποποιείται κατά τρόπο ώστε να προσεγγίζει περισσότερο τη μεταβατική κατάσταση. Επιπρόσθετα, η μεταβατική κατάσταση σταθεροποιείται από τη στενή σύνδεση του υποστρώματος με το ένζυμο, προκαλώντας μείωση της απαιτούμενης ενέργειας ενεργοποίησης.

Πολλά ένζυμα, εκτός από το να επιτρέπουν την προσέγγιση πολλών διαφορετικών υποστρωμάτων και να προκαλούν μεταβολές στη διαμόρφωσή τους, συμμετέχουν άμεσα στη διαδικασία κατάλυσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συγκεκριμένες πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων στο ενεργό κέντρο των ενζύμων μπορούν να αντιδρούν με το υπόστρωμα και να σχηματίζουν δεσμούς με ενδιάμεσα προϊόντα της αντίδρασης. Τα όξινα και τα βασικά αμινοξέα συχνά εμπλέκονται σε αυτούς τους μηχανισμούς κατάλυσης, με χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτό της χυμοτρυψίνης, που περιγράφεται στη συνέχεια.

Η χυμοτρυψίνη είναι μέλος μιας οικογένειας ενζύμων (των πρωτεασών σερίνης) που πέπτουν πρωτεΐνες καταλύοντας την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών. Η αντίδραση μπορεί να γραφτεί ως εξής:



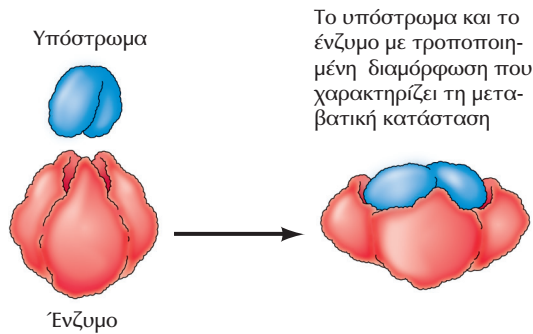
Τα διάφορα ένζυμα της οικογένειας των πρωτεασών σερίνης (όπου περιλαμβάνονται η χυμοτρυψίνη, η τρυψίνη, η ελαστάση και η θρομβίνη) έχουν διαφορετική εκλεκτικότητα για τα υποστρώματα: διασπών εκλεκτικά πεπτιδικούς δεσμούς γειτονικούς με διαφορετικά αμινοξέα. Για παράδειγμα, ενώ η χυμοτρυψίνη διασπά πεπτιδικούς δεσμούς που έπονται υδρόφοβων αμινοξέων, όπως είναι η τρυπτοφάνη και η φαινυλαλανίνη, η τρυψίνη διασπά δεσμούς που ακολουθούν βασικά αμινοξέα, όπως είναι η λυσίνη και η αργινίνη. Όλες οι πρωτεάσες σερίνης όμως είναι παρόμοιες σε δομή και χρησιμοποιούν τον ίδιο μηχανισμό κατάλυσης. Τα ενεργά κέντρα αυτών των ενζύμων περιέχουν τρία σημαντικά αμινοξέα –σερίνη, ιστιδίνη και ασπαρτικό οξύ– τα οποία κατευθύνουν την υδρόλυση του πεπτιδικού δεσμού. Μάλιστα τα ένζυμα αυτά ονομάζονται πρωτεάσες σερίνης εξαιτίας του κεντρικού ρόλου του καταλοίπου σερίνης.

ANIMATION 2.3

Αντιδράσεις καταλύομενες από ένζυμα. Σε αυτό το παράδειγμα, ένα ένζυμο παρέχει τη μήτρα πάνω στην οποία τα αντιδρώντα έρχονται σε επαφή και προσανατολίζονται με τρόπο που ευνοεί την αλληλεπίδρασή τους.



► Τα ένζυμα αλλάζουν τη διαμόρφωση των υποστρωμάτων τους και μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς με ενδιάμεσα προϊόντα των αντιδράσεων που καταλύουν.

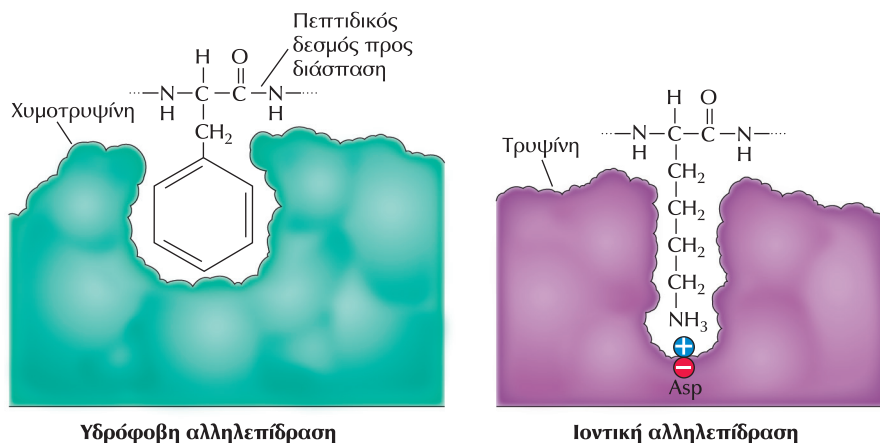


ΕΙΚΟΝΑ 2.27 Επαγόμενη προσαρμογή.

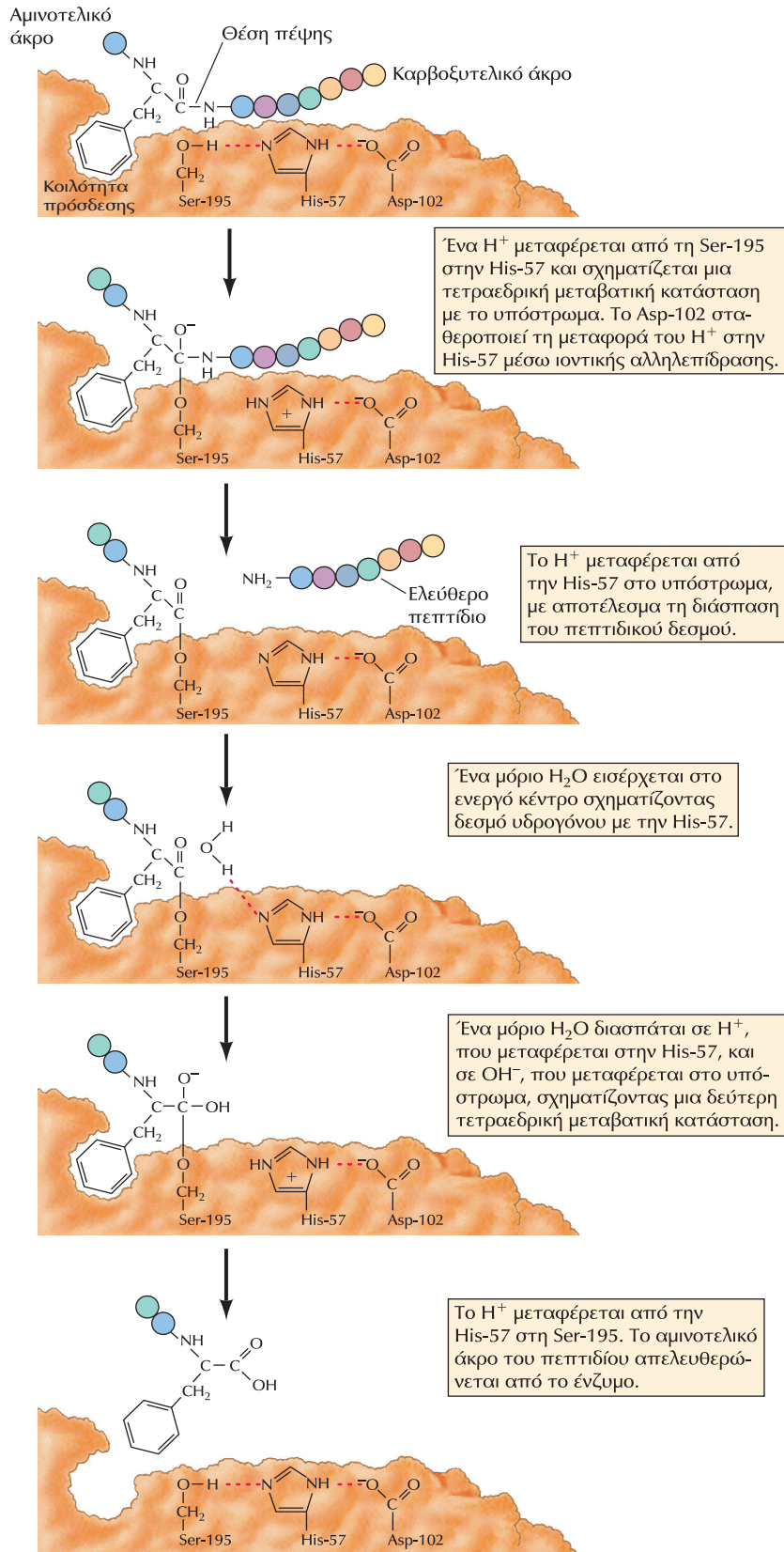
Η πρόσδεση του υποστρώματος στο ένζυμο επηρεάζει τη διαμόρφωση και των δύο, φέρνοντας το υπόστρωμα πιο κοντά στη μεταβατική κατάσταση, γεγονός που διευκολύνει την πραγματοποίηση της αντίδρασης.

και το καρβοξυτελικό άκρο του υποστρώματος απελευθερώνεται από το ένζυμο. Ωστόσο, το αμινοτελικό άκρο του πεπτιδίου παραμένει συνδεδεμένο στη σερίνη και απελευθερώνεται όταν ένα μόριο νερού (το δεύτερο υπόστρωμα) εισέρχεται στο ενεργό κέντρο και αντιστρέφει τις προηγούμενες αντιδράσεις. Έτσι το πεπτίδιο αποδεσμεύεται από το ένζυμο και η αντίδραση ολοκληρώνεται.

Από το παράδειγμα αυτό καθίστανται προφανή διάφορα χαρακτηριστικά της ενζυμικής κατάλυσης: η εκλεκτικότητα των αλληλεπιδράσεων ενζύμου-υποστρώματος, η τοποθέτηση διαφόρων μορίων υποστρωμάτων στο ενεργό κέντρο και η εμπλοκή καταλοίπων του ενεργού κέντρου στον σχηματισμό και στη σταθεροποίηση της μεταβατικής κατάστασης. Οι αντιδράσεις που καταλύουν τα εκατοντάδες ένζυμα που δρουν στα κύτταρα διαφέρουν αισθητά, οι αρχές λειτουργίας τους όμως είναι κοινές.



ΕΙΚΟΝΑ 2.28 Σύνδεση του υποστρώματος από τις πρωτεάσες σερίνης. Το αμινοξύ που γειτνιάζει στον πεπτιδικό δεσμό που πρόκειται να διασπαστεί εισέρχεται σε μια κοιλότητα στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Στη χυμοτροψίνη, στην κοιλότητα αυτή συνδέονται υδρόφοβα αμινοξέα. Η αντίστοιχη εσοχή στην τρυψίνη περιέχει ένα αρνητικά φορτισμένο κατάλοιπο ασπαρτικού οξέος, στο οποίο δεσμεύονται βασικά αμινοξέα μέσω ιοντικής αλληλεπίδρασης.



ΕΙΚΟΝΑ 2.29 Καταλυτικός μηχανισμός της χυμοτρυψίνης. Μία σερίνη, μία ιστιδίνη και ένα ασπαρτικό στο ενεργό κέντρο (τα αμινοξέα Ser-195, His-57 και Asp-102) διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην κατάλυση.

Συνένζυμα

Τα ενεργά κέντρα πολλών ενζύμων συνδέονται όχι μόνο με τα υποστρώματά τους αλλά και με άλλα μικρά μόρια τα οποία συμμετέχουν στην κατάλυση. Οι **προσθετικές ομάδες** (prosthetic groups) είναι μικρά μόρια συνδεδεμένα με πρωτεΐνες, στις οποίες επιτελούν σημαντικές λειτουργίες. Για παράδειγμα, το οξυγόνο που μεταφέρεται από τη μυοσφαιρίνη και την αιμοσφαιρίνη είναι συζευγμένο με την αίμη, μια προσθετική ομάδα αυτών των πρωτεϊνών. Σε πολλές περιπτώσεις, ιόντα μετάλλων (όπως ο ψευδάργυρος ή ο σίδηρος) συζεύγνυνται με ένζυμα και έχουν κεντρικούς ρόλους στη διαδικασία της κατάλυσης. Επίσης, διάφορες οργανικές ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους συμμετέχουν σε συγκεκριμένα είδη ενζυμικών αντιδράσεων. Αυτά τα μόρια ονομάζονται **συνένζυμα** (coenzymes), επειδή λειτουργούν μαζί με τα ένζυμα για να αυξήσουν τις ταχύτητες των αντιδράσεων. Σε αντίθεση με τα υποστρώματα, τα συνένζυμα δεν υφίστανται μόνιμη τροποποίηση από τις αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχουν. Αντίθετα, ανακυκλώνονται και μπορούν να λάβουν μέρος σε πολλαπλές ενζυμικές αντιδράσεις.

Τα συνένζυμα λειτουργούν ως μεταφορείς διαφορετικών τύπων χημικών ομάδων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα συνενζύμου είναι το **δινουκλεοτίδιο νικοτιναμιδίου-αδενίνης** (NAD^+ , Nicotinamide Adenine Dinucleotide), το οποίο λειτουργεί ως μεταφορέας ηλεκτρονίων σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής (**Εικόνα 2.30**). Το NAD^+ μπορεί να δεχτεί ένα ιόν υδρογόνου (H^+) και δύο ηλεκτρόνια (e^-) από ένα υπόστρωμα, σχηματίζοντας NADH . Το NADH μπορεί στη συνέχεια να αποδώσει τα ηλεκτρόνια αυτά σε ένα δεύτερο υπόστρωμα και να επανασηματιστεί NAD^+ . Συνεπώς το NADH μεταφέρει ηλεκτρόνια από το πρώτο υπόστρωμα (το οποίο οξειδώνεται) στο δεύτερο υπόστρωμα (το οποίο ανάγεται).

► Τα συνένζυμα μεταφέρουν χημικές ενώσεις μεταξύ των υποστρωμάτων τους.

Ορισμένα άλλα συνένζυμα λειτουργούν και ως μεταφορείς ηλεκτρονίων, ενώ άλλα εμπλέκονται στη μεταφορά πληθώρας χημικών ομάδων (π.χ. καρβοξυλομάδων και ακυλομάδων – **Πίνακας 2.1**). Ένα συνένζυμο μπορεί να λειτουργεί μαζί με περισσότερα από ένα ένζυμα, προκειμένου να καταλύσει τη μεταφορά συγκεκριμένων χημικών ομάδων σε ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων. Πολλά συνένζυμα

σχετίζονται άμεσα με βιταμίνες, οι οποίες συχνά αποτελούν τμήμα ή και ολόκληρη τη δομή ενός συνενζύμου. Οι βιταμίνες δεν είναι αναγκαίες σε βακτήρια όπως η *E. coli*, ενώ αποτελούν απαραίτητο συστατικό της διατροφής των ανθρώπων και άλλων ανώτερων ζώων, τα οποία έχουν χάσει την ικανότητα σύνθεσης αυτών των ενώσεων.

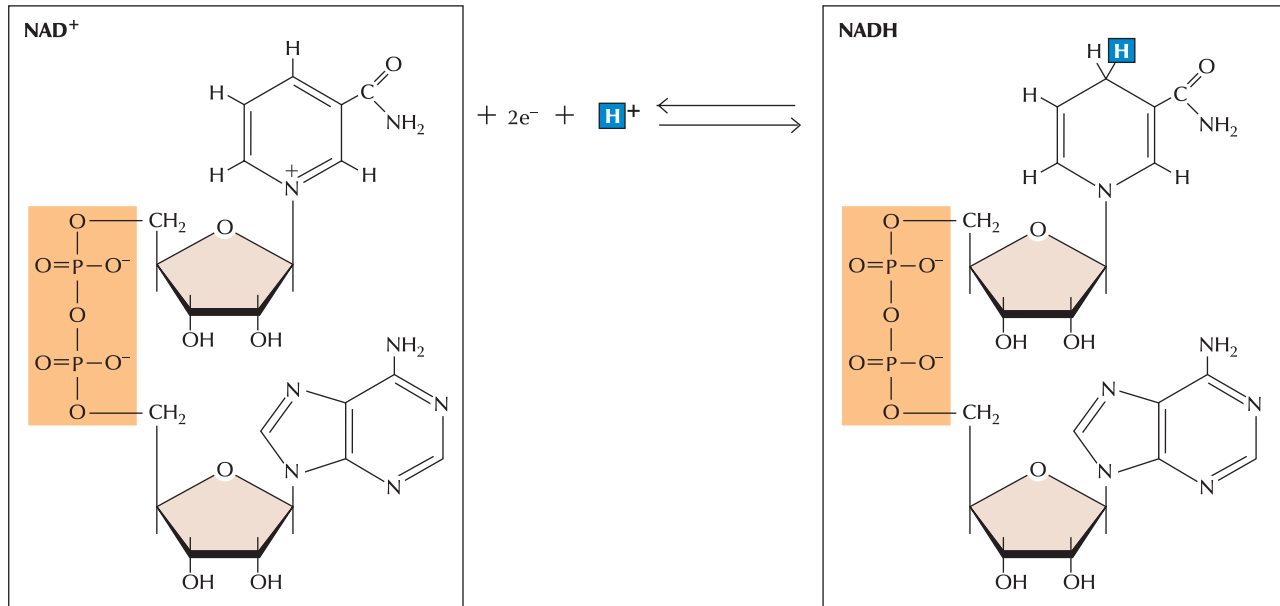
Ρύθμιση της ενζυμικής ενεργότητας

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των περισσότερων ενζύμων είναι ότι η ενεργότητά τους δεν είναι σταθερή. Αυτό σημαίνει ότι η ενζυμική ενεργότητα μπορεί να ρυθμίζεται με τέτοιο τρόπο ώστε να εξασφαλίζει την απόκρισή τους στις φυσιολογικές ανάγκες που ενδέχεται να προκύψουν κατά τη ζωή του κυττάρου.

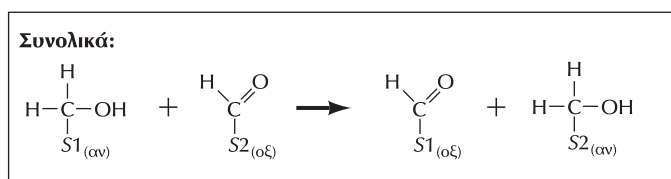
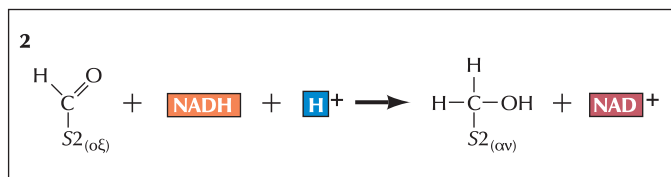
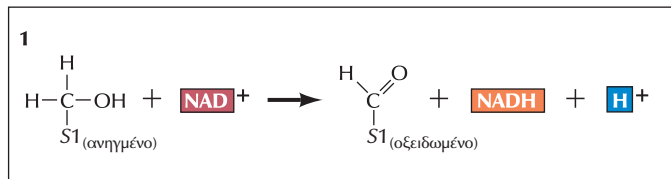
ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1 Παραδείγματα συνενζύμων και βιταμινών

Συνένζυμο	Σχετιζόμενη βιταμίνη	Χημική αντίδραση
NAD^+ , NADP^+	Νιασίνη	Οξείδωση-αναγωγή
FAD	Ριβοφλαβίνη (B_2)	Οξείδωση-αναγωγή
Πυροφωσφορική θειαμίνη	Θειαμίνη (B_1)	Μεταφορά αλδεϋδικής ομάδας
Συνένζυμο A	Παντοθενικό οξύ	Μεταφορά ακυλομάδας
Τετραϋδροφολικό οξύ	Φολικό οξύ	Μεταφορά ομάδων με ένα άτομο άνθρακα
Φωσφορική πυριδοξάλη	Πυριδοξάλη (B_6)	Τρανσαμίνωση
Βιοτίνη	Βιοτίνη	Καρβοξυλίωση

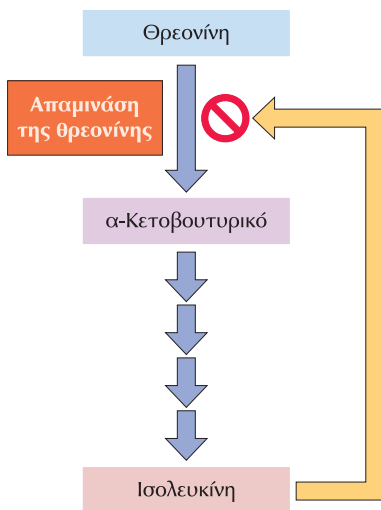
(A)



(B)



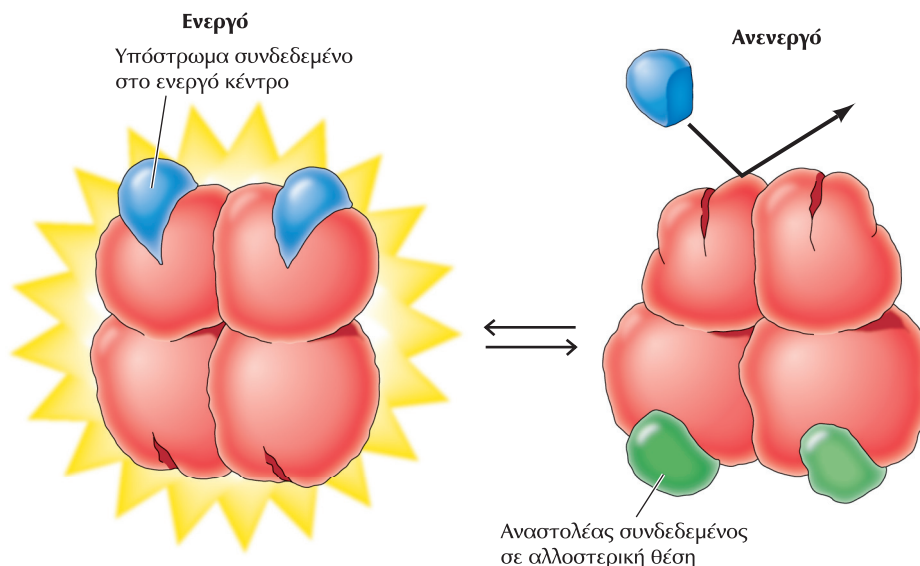
ΕΙΚΟΝΑ 2.30 Ο ρόλος του NAD⁺ σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. (A) Το δινουκλεοτίδιο νικοτιναμιδίου-αδενίνης (NAD⁺) λειτουργεί ως φορέας ηλεκτρονίων (e⁻) σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, προσλαμβάνοντας ηλεκτρόνια προκειμένου να σχηματιστεί NADH. (B) Για παράδειγμα, το NAD⁺ μπορεί να δεχτεί ηλεκτρόνια από ένα υπόστρωμα (S1), προκειμένου να συντεθούν οξειδωμένο S1 και NADH. Το NADH που σχηματίζεται σε αυτή την αντίδραση μπορεί να μεταφέρει τα ηλεκτρόνια του σε ένα δεύτερο υπόστρωμα (S2), που οδηγεί στη σύνθεση ανηγμένου S2 και στην αναγέννηση του NAD⁺. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μεταφορά των ηλεκτρονίων (που μεταφέρονται από το NADH) από το S1 (το οποίο οξειδώνεται) στο S2 (το οποίο ανάγεται).



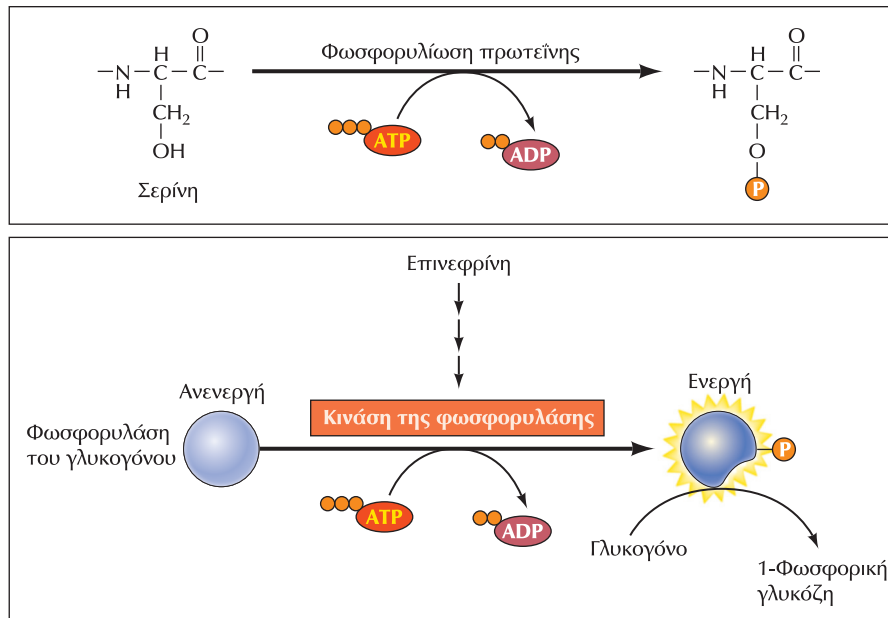
ΕΙΚΟΝΑ 2.31 Αρνητική ανάδραση. Το πρώτο βήμα στη μετατροπή της θρεονίνης σε ισολευκίνη καταλύεται από το ένζυμο απαμινάση της θρεονίνης. Η ενεργότητα αυτού του ενζύμου αναστέλλεται από την ισολευκίνη, το τελικό προϊόν του μονοπατιού.

Ένας συνήθης μηχανισμός ενζυμικής ρύθμισης είναι η **αρνητική ανάδραση** (feedback inhibition), κατά την οποία ένα προϊόν του μεταβολικού μονοπατιού αναστέλλει την ενεργότητα ενός ενζύμου που εμπλέκεται στη σύνθεσή του. Για παράδειγμα, το αμινοξύ ισολευκίνη συντίθεται μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που ξεκινούν από το αμινοξύ θρεονίνη (**Εικόνα 2.31**). Η πρώτη από αυτές τις αντιδράσεις καταλύεται από το ένζυμο απαμινάση της θρεονίνης, το οποίο αναστέλλεται από την ισολευκίνη, το τελικό προϊόν της σειράς αντιδράσεων. Συνεπώς επαρκής ποσότητα ισολευκίνης στο κύτταρο αναστέλλει την απαμινάση της θρεονίνης, παρεμποδίζοντας περαιτέρω σύνθεση της ισολευκίνης. Αν η συγκέντρωση της ισολευκίνης μειωθεί, η αρνητική ανάδραση περιορίζεται, η απαμινάση της θρεονίνης παύει να αναστέλλεται και συντίθεται πρόσθετη ισολευκίνη. Ρυθμίζοντας την ενεργότητα της απαμινάσης της θρεονίνης, το κύτταρο συνθέτει την αναγκαία ποσότητα ισολευκίνης, αλλά αποφεύγει τη σπατάλη ενέργειας για τη σύνθεση περισσότερης ισολευκίνης από όση χρειάζεται.

Η αρνητική ανάδραση είναι ένα παράδειγμα **αλλοστερικής ρύθμισης** (allosteric regulation) στο οποίο η ενζυμική ενεργότητα ελέγχεται από τη σύνδεση μικρών μορίων σε ρυθμιστικές περιοχές του ενζύμου (**Εικόνα 2.32**). Ο όρος «αλλοστερική ρύθμιση» προκύπτει από το γεγονός ότι τα ρυθμιστικά μόρια δε συνδέονται στην καταλυτική περιοχή αλλά σε άλλη καθορισμένη περιοχή της πρωτεΐνης (η λέξη «αλλοστερικός» είναι σύνθετη από τις ελληνικές



ΕΙΚΟΝΑ 2.32 Αλλοστερική ρύθμιση. Σε αυτό το παράδειγμα, η ενζυμική ενεργότητα αναστέλλεται από τη σύνδεση ενός ρυθμιστικού μορίου σε μια αλλοστερική θέση. Απουσία του αναστολέα, το υπόστρωμα συνδέεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και η αντίδραση ολοκληρώνεται. Ο αναστολέας προκαλεί μια δομική μετατροπή στο ένζυμο που αναστέλλει τη δέσμευση του υποστρώματος. Τα περισσότερα αλλοστερικά ένζυμα συνίστανται από διάφορες υπομονάδες.



ΕΙΚΟΝΑ 2.33 Φωσφορυλίωση πρωτεϊνών. Μερικά ένζυμα ρυθμίζονται με την προσθήκη φωσφορικών ομάδων στις υδροξυλομάδες των πλευρικών αλυσίδων καταλοίπων σερίνης (όπως φαίνεται εδώ), θρεονίνης ή τυροσίνης. Για παράδειγμα, το ένζυμο φωσφορυλάση του γλυκογόνου, το οποίο καταλύει τη μετατροπή του γλυκογόνου σε 1-φωσφορική γλυκόζη, ενεργοποιείται με φωσφορυλίωση που λαμβάνει χώρα μετά από σύνδεση επινεφρίνης στα μυϊκά κύτταρα.

λέξεις «άλλος» και «στερεό»). Σύνδεση των ρυθμιστικών μορίων επιφέρει μεταβολή της διαμόρφωσης της πρωτεΐνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση της μορφής του ενεργού κέντρου και της καταλυτικής ενεργότητας του ενζύμου. Στην περίπτωση της απαμινάσης της θρεονίνης, η σύνδεση του ρυθμιστικού μορίου (της ισολευκίνης) αναστέλλει την ενζυμική ενεργότητα. Σε άλλες περιπτώσεις, τα ρυθμιστικά μόρια δρουν ως ενεργοποιητές, διεγείροντας τα ένζυμα-στόχους αντί να τα αναστέλλουν.

Οι ενεργότητες των ενζύμων μπορεί επίσης να ρυθμίζονται από τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλες πρωτεΐνες και από ομοιοπολικές τροποποιήσεις, όπως είναι η προσθήκη φωσφορικών ομάδων σε κατάλοιπα σερίνης, θρεονίνης ή τυροσίνης. Η **φωσφορυλίωση** (phosphorylation) είναι ένας ιδιαίτερα συνηθής μηχανισμός ρύθμισης της ενεργότητας πολλών ενζύμων. Η προσθήκη φωσφορικών ομάδων (οι οποίες είναι αρνητικά φορτισμένες) αλλάζει τη διαμόρφωση του ενζύμου και είτε διεγείρει είτε αναστέλλει την ενεργότητά του (**Εικόνα 2.33**). Για παράδειγμα, τα μυοκύτταρα αποκρίνονται στην επινεφρίνη (αδρεναλίνη) διασπώντας γλυκογόνο σε γλυκόζη και παρέχουν με αυτόν τον τρόπο μια πηγή ενέργειας για πρόσθετη μυϊκή δραστηριότητα. Η διάσπαση του γλυκογόνου καταλύεται από το ένζυμο φωσφορυλάση του γλυκογόνου, το οποίο ενεργοποιείται με φωσφορυλίωση μετά από σύνδεση της επινεφρίνης σε υποδοχέα στην επιφάνεια του μυϊκού κυττάρου. Η φωσφορυλίωση πρωτεϊνών διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στον έλεγχο όχι μόνο μεταβολικών αντιδράσεων αλλά και πολλών άλλων κυτταρικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένων της κυτταρικής ανάπτυξης και της διαφοροποίησης.

► Πολλά ένζυμα ρυθμίζονται μέσω ομοιοπολικών τροποποιήσεων, για παράδειγμα μέσω φωσφορυλίωσης.

► Η πρόσδεση μικρών μορίων μπορεί να αλλάξει το σχήμα των πρωτεϊνών και να επηρεάσει τη λειτουργία των ενζύμων.

2.3 Κυτταρικές μεμβράνες

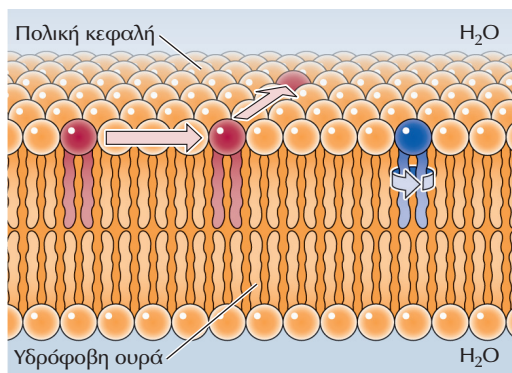
Μαθησιακοί στόχοι

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της ενότητας αυτής θα πρέπει να είστε σε θέση:

- Να κατανοήσετε τον ρόλο των υδρόφοβων και των υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων στον σχηματισμό των λιπιδικών διπλοστιβάδων.
- Να εξηγήσετε τη διαφορά μεταξύ ενσωματωμένων και περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών.
- Να διακρίνετε τα μόρια που μπορούν να διαχέονται μέσω των λιπιδικών διπλοστιβάδων από εκείνα που χρειάζονται πρωτεΐνες-μεταφορείς προκειμένου να διασχίσουν τη μεμβράνη.

Η δομή και η λειτουργία των κυττάρων σχετίζονται άμεσα με την ύπαρξη μεμβρανών, οι οποίες δε διαχωρίζουν απλώς το εσωτερικό του κυττάρου από το περιβάλλον του, αλλά οριοθετούν και τα εσωτερικά διαμερίσματα των ευκαρυωτικών κυττάρων, όπως είναι ο πυρήνας και τα κυτταροπλασματικά οργανίδια. Ο σχηματισμός βιολογικών μεμβρανών βασίζεται στις ιδιότητες των λιπιδίων. Όλες οι κυτταρικές μεμβράνες παρουσιάζουν κοινή δομική οργάνωση: διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων με ενσωματωμένες πρωτεΐνες. Αυτές οι μεμβρανικές πρωτεΐνες ευθύνονται για πολλές εξειδικευμένες λειτουργίες. Ορισμένες δρουν ως υποδοχείς που επιτρέπουν στο κύτταρο να ανταποκρίνεται σε εξωτερικά ερεθίσματα, κάποιες ευθύνονται για την επιλεκτική μεταφορά μορίων μέσω της μεμβράνης, ενώ άλλες συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων και στην

οξειδωτική φωσφορυλίωση. Επιπρόσθετα, οι μεμβρανικές πρωτεΐνες ελέγχουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων στους πολυκύτταρους οργανισμούς. Συνεπώς η κοινή δομική οργάνωση των μεμβρανών υποστηρίζει μια ποικιλία βιολογικών διαδικασιών και εξειδικευμένων μεμβρανικών λειτουργιών, οι οποίες θα συζητηθούν λεπτομερώς στα επόμενα κεφάλαια.



ΕΙΚΟΝΑ 2.34 Φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα. Τα φωσφολιπίδια σχηματίζουν αυθόρμητα διπλοστιβάδες, με τις πολικές τους κεφαλές εκτεθειμένες στο νερό και τις υδρόφοβες ουρές τους κρυμμένες στο εσωτερικό της μεμβράνης. Κάθε μεμονωμένο φωσφολιπίδιο μπορεί να περιστρέφεται και να μετακινείται πλευρικά στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας.

► Η φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα είναι η βασική δομή των κυτταρικών μεμβρανών.

Μεμβρανικά λιπίδια

Θεμελιώδεις δομικές μονάδες όλων των κυτταρικών μεμβρανών είναι τα φωσφολιπίδια. Τα φωσφολιπίδια είναι αμφιπαθή μόρια, τα οποία αποτελούνται από δύο υδρόφοβες αλυσίδες λιπαρών οξέων που είναι συνδεδεμένες σε μια υδρόφιλη κεφαλή μέσω μιας φωσφορικής ομάδας (βλ. Εικόνα 2.10). Καθώς οι ουρές των λιπαρών οξέων δεν είναι υδατοδιαλυτές, τα φωσφολιπίδια σχηματίζουν αυθόρμητα διπλοστιβάδες σε υδατικά διαλύματα, με τις υδρόφοβες ουρές κρυμμένες στο εσωτερικό της μεμβράνης και τις πολικές κεφαλές εκτεθειμένες στις δύο πλευρές της, σε επαφή με το νερό (**Εικόνα 2.34**). Αυτές οι **φωσφολιπιδικές διπλοστιβάδες** (phospholipid bilayers) δημιουργούν έναν σταθερό φραγμό μεταξύ δύο υδατικών διαμερισμάτων και αντιπροσωπεύουν τη βασική δομή όλων των βιολογικών μεμβρανών.

Τα λιπίδια αποτελούν περίπου το 50% της μάζας των περισσότερων κυτταρικών μεμβρανών, αν και αυτό το ποσοστό διαφέρει ανάλογα με τον τύπο της μεμβράνης. Οι

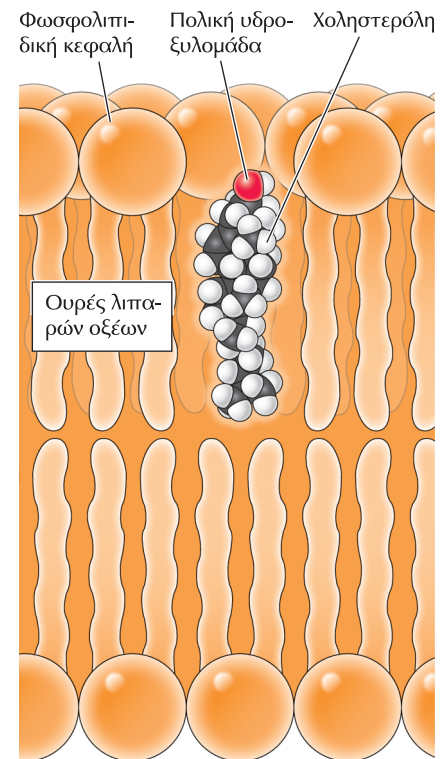
κυτταροπλασματικές μεμβράνες, για παράδειγμα, αποτελούνται κατά προσέγγιση από 50% λιπίδια και 50% πρωτεΐνες. Η εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, από την άλλη, περιέχει ένα ασυνήθιστα υψηλό ποσοστό (περίπου 75%) πρωτεΐνης, γεγονός που υποδεικνύει την αφθονία των πρωτεϊνικών συμπλόκων που συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων και στην οξειδωτική φωσφορυλίωση. Ποικιλία παρουσιάζει και η λιπιδική σύσταση διαφορετικών κυτταρικών μεμβρανών. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη της *E. coli* αποτελείται κυρίως από το φωσφολιπίδιο φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη. Οι κυτταροπλασματικές μεμβράνες των ζωικών κυττάρων είναι πιο σύνθετες και περιέχουν κυρίως πέντε φωσφολιπίδια: φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοσερίνη, φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη και σφιγγομυελίνη. Οι κυτταροπλασματικές μεμβράνες περιέχουν επίσης γλυκολιπίδια, ενώ οι μεμβράνες των ευκαρυωτικών κυττάρων περιέχουν σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης και παρεμφερών με αυτή ενώσεων. Γενικά, στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες των ζωικών κυττάρων η χοληστερόλη αντιπροσωπεύει περίπου το 50% του συνόλου των λιπιδίων.

Μια σημαντική ιδιότητα των λιπιδικών διπλοστιβάδων είναι ότι συμπεριφέρονται ως δισδιάστατα ρευστά, στο εσωτερικό των οποίων τα μεμονωμένα μόρια (λιπίδια και πρωτεΐνες) είναι ελεύθερα να περιστρέφονται και να μετακινούνται πλευρικά στο επίπεδο της μεμβράνης (βλ. Εικόνα 2.34). Αυτού του είδους η ρευστότητα αποτελεί βασική ιδιότητα των μεμβρανών και καθορίζεται τόσο από τη θερμοκρασία όσο και από τη λιπιδική σύσταση. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ κοντότερων αλυσίδων λιπαρών οξέων είναι ασθενέστερες από εκείνες μεταξύ μακρύτερων αλυσίδων και αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι μεμβράνες που περιέχουν λιπιδικές αλυσίδες μικρότερου μήκους να είναι λιγότερο δύσκαμπτες και να διατηρούνται σε ρευστή κατάσταση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Επίσης, η παρουσία λιπιδίων που περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα αυξάνει τη ρευστότητα της μεμβράνης, καθώς η ύπαρξη διπλών δεσμών προκαλεί κάμψη των αλυσίδων των λιπαρών οξέων (βλ. Εικόνα 2.8), η οποία με τη σειρά της αποτρέπει το «στενό» πακετάρισμά τους.

Εξαιτίας της δομής του υδρογονανθρακικού της δακτυλίου (βλ. Εικόνα 2.12), η χοληστερόλη έχει ξεχωριστό ρόλο στον καθορισμό της μεμβρανικής ρευστότητας. Τα μόρια της χοληστερόλης διατάσσονται στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας, με τις πολικές υδροξυλικές τους ομάδες να γειτνιάζουν με τις υδρόφιλες κεφαλές των φωσφολιπιδίων (Εικόνα 2.35). Συνεπώς οι άκαμπτοι υδρογονανθρακικοί δακτύλιοι της χοληστερόλης αλληλεπιδρούν με τις πλησιέστερες στις φωσφολιπιδικές κεφαλές περιοχές των λιπιδικών αλυσίδων. Αυτή η αλληλεπίδραση μειώνει την κινητικότητα των εξωτερικών τμημάτων των λιπιδικών αλυσίδων, καθιστώντας το συγκεκριμένο τμήμα της μεμβράνης πιο δύσκαμπτο. Από την άλλη πλευρά, η ύπαρξη της χοληστερόλης επηρεάζει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιπιδικών αλυσίδων, διατηρώντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη μεμβρανική ρευστότητα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.

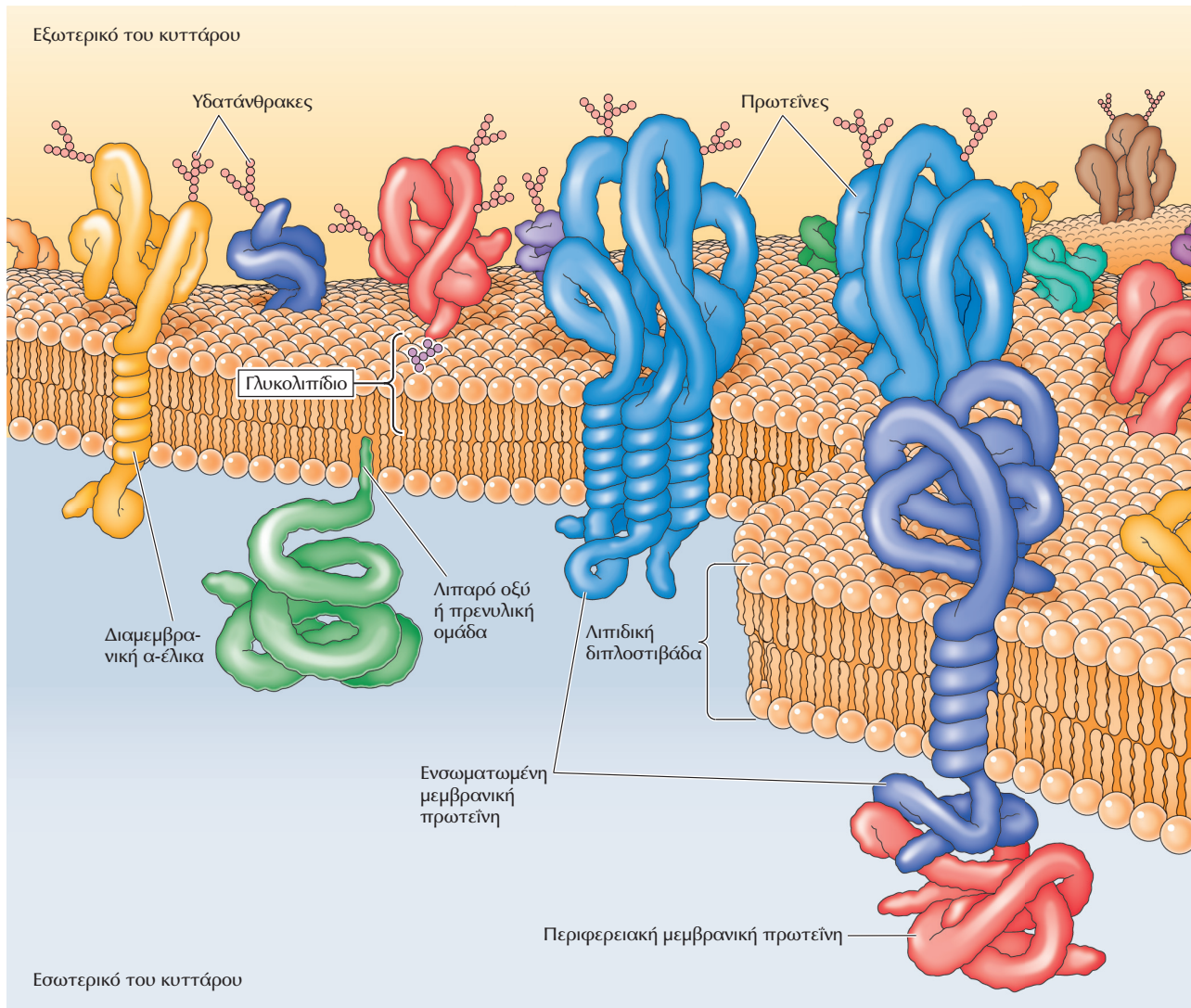
Μεμβρανικές πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες είναι το άλλο βασικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών, αποτελώντας το 25-75% της μάζας των διαφόρων μεμβρανών του κυττάρου. Σύμφωνα με το μοντέλο της μεμβρανικής δομής που χρησιμοποιείται σήμερα και προτάθηκε από τους Jonathan Singer και Garth Nicolson το 1972, η μεμβράνη είναι ένα ρευστό μωσαϊκό (fluid mosaic) στο οποίο οι πρωτεΐνες βρίσκονται στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας (**μοντέλο ρευστού**



ΕΙΚΟΝΑ 2.35 Εισαγωγή χοληστερόλης σε μια μεμβράνη. Η χοληστερόλη εισέρχεται στη μεμβράνη με το πολικό της υδροξύλιο κοντά στις πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων.

μωσαϊκού, fluid mosaic model – **Εικόνα 2.36**). Ενώ τα φωσφολιπίδια αποτελούν το θεμελιώδες δομικό στοιχείο των μεμβρανών, οι μεμβρανικές πρωτεΐνες ευθύνονται για τις εξειδικευμένες λειτουργίες των διαφορετικών μεμβρανών του κυττάρου. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες, με βάση τον τρόπο σύνδεσής τους με τη μεμβράνη, κατατάσσονται σε δύο γενικές ομάδες. Οι **ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες**



ΕΙΚΟΝΑ 2.36 Μοντέλο ρευστού μωσαϊκού μεμβρανικής δομής. Οι βιολογικές μεμβράνες αποτελούνται από πρωτεΐνες που βρίσκονται στο εσωτερικό μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας. Οι ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες εντοπίζονται στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας, συνήθως μέσω περιοχών 20 έως 25 υδρόφοβων αμινοξέων με δομή α-έλικας. Ορισμένες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες διατρέχουν τη μεμβράνη μόνο μία φορά, ενώ άλλες έχουν πολλαπλές περιοχές μέσα στη μεμβράνη. Επιπλέον, κάποιες πρωτεΐνες προσδένονται στη μεμβράνη μέσω λιπιδίων τα οποία συνδέονται με ομοιοπολικούς δεσμούς στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Αυτές οι πρωτεΐνες προσδένονται στην εξωκυτταρική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μέσω γλυκολιπιδίων και στην πλευρά του κυτταροδιαλύματος μέσω λιπαρών οξέων ή πρενυλικών ομάδων (για τις δομές βλ. Κεφάλαιο 10). Οι περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες δε βρίσκονται στο εσωτερικό της μεμβράνης, αλλά συνδέονται με αυτή μέσω αλληλεπιδράσεων με ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες ή με φωσφολιπίδια.

(integral membrane proteins) είναι ενσωματωμένες στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Οι **περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες** (peripheral membrane proteins) δεν είναι ενσωματωμένες στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας, αλλά σχετίζονται έμμεσα με τη μεμβράνη, συνήθως μέσω αλληλεπιδράσεων με ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες.

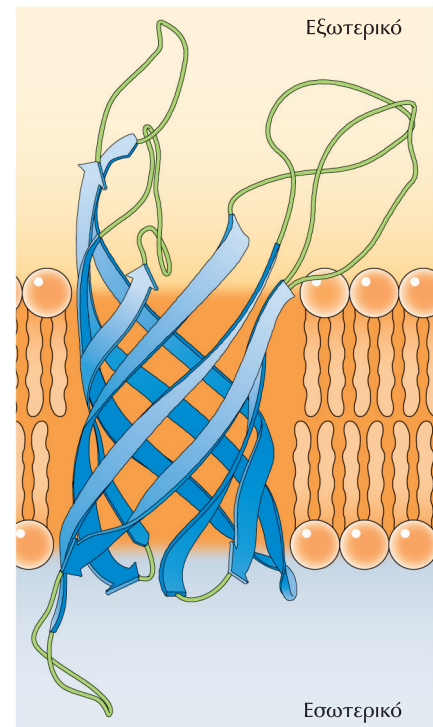
Οι περισσότερες ενσωματωμένες πρωτεΐνες, οι οποίες ονομάζονται **διαμεμβρανικές πρωτεΐνες** (transmembrane proteins), διατρέχουν τη λιπιδική διπλοστιβάδα, ενώ τμήματά τους προεξέχουν και στις δύο πλευρές της μεμβράνης. Τα τμήματα αυτών των πρωτεϊνών που βρίσκονται μέσα στη μεμβράνη παρουσιάζουν συνήθως περιοχές 20 έως 25 μη πολικών αμινοξέων με δομή α-έλικας. Οι υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες αυτών των αμινοξέων αλληλεπιδρούν με τις λιπιδικές αλυσίδες των μεμβρανικών λιπιδίων. Η δημιουργία της α-έλικας εξουδετερώνει τον πολικό χαρακτήρα των πεπτιδικών δεσμών, όπως και κατά την πρωτεϊνική αναδίπλωση που περιγράφηκε νωρίτερα σε αυτό το κεφάλαιο. Η μόνη διαφορετική πρωτεϊνική δομή που έχει βρεθεί να διαπερνά τις λιπιδικές διπλοστιβάδες είναι το **β-βαρέλι** (β-barrel), το οποίο σχηματίζεται μετά από αναδίπλωση β-φύλλων σε μια δομή που μοιάζει με βαρέλι. Η δομή αυτή εντοπίζεται σε ορισμένες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες βακτηρίων, χλωροπλαστών και μιτοχονδρίων (**Εικόνα 2.37**). Όπως τα φωσφολιπίδια, έτσι και οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες είναι αμφιπαθή μόρια, με τα υδρόφιλα τμήματά τους να βρίσκονται εκτεθειμένα στο υδατικό περιβάλλον στις δύο πλευρές της μεμβράνης. Ορισμένες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες διασχίζουν τη μεμβράνη μόνο μία φορά, ενώ άλλες διαθέτουν πολλαπλές περιοχές που διαπερνούν τη μεμβράνη. Οι περισσότερες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες των ευκαρυωτικών κυτταροπλασματικών μεμβρανών έχουν τροποποιηθεί χημικά μέσω της προσθήκης υδατανθράκων, οι οποίοι βρίσκονται εκτεθειμένοι στην επιφάνεια του κυττάρου και μπορούν να συμμετέχουν σε διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις.

Οι πρωτεΐνες μπορούν επίσης να συγκρατούνται αγκυροβολημένες στη μεμβράνη μέσω λιπιδίων που συνδέονται ομοιοπολικά στην πολυπεπτιδική αλυσίδα (βλ. Κεφάλαιο 10). Συγκεκριμένες λιπιδικές τροποποιήσεις κρατούν συνδεδεμένες τις πρωτεΐνες αυτές στην εσωτερική ή στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Οι πρωτεΐνες είναι δυνατόν να συνδέονται με την πλευρά της μεμβράνης που βρίσκεται προς το κυτταροδιάλυμα μέσω προσθήκης ενός λιπαρού οξέος με 14 άνθρακες (του μυριστικού οξέος) στο αμινοτελικό τους άκρο ή μέσω προσθήκης, στις πλευρικές αλυσίδες των κυστεϊνών, ενός λιπαρού οξέος με 16 άνθρακες (του παλμιτικού οξέος) ή πρενυλικών ομάδων με 15 ή 20 άνθρακες. Εναλλακτικά, οι πρωτεΐνες συνδέονται στην εξωκυτταρική πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μέσω προσθήκης γλυκολιπιδίων στο καρβοξυτελικό τους άκρο.

► Μεμονωμένα μόρια μπορούν να διασχίζουν τις λιπιδικές διπλοστιβάδες.

► Οι πρωτεΐνες που ενσωματώνονται στη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα είναι υπεύθυνες για συγκεκριμένες λειτουργίες της μεμβράνης.

► Στις περισσότερες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, τα τμήματα που διατρέχουν τη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα σχηματίζουν α-έλικες οι οποίες αποτελούνται από μη πολικά αμινοξέα.



ΕΙΚΟΝΑ 2.37 Δομή β-βαρελιού. Ορισμένες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες διαπερνούν τη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα ως β-φύλλα αναδιπλωμένα σε μια δομή που μοιάζει με βαρέλι.

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ

Η δομή των κυτταρικών μεμβρανών

The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes

S. J. Singer and Garth L. Nicolson
University of California at San Diego
and the Salk Institute for Biological Sciences, La Jolla, CA
Science, Volume 175, 1972, pages 720-731

Πρώιμα μοντέλα της δομής της μεμβράνης

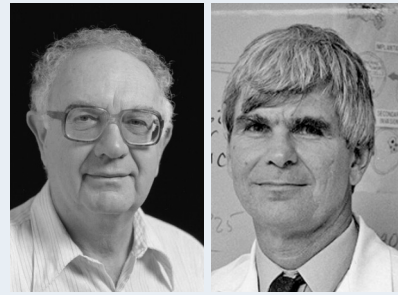
Οι κυτταρικές μεμβράνες διαδραματίζουν πολλαπλούς και ουσιαστικούς ρόλους στη ζωή του κυττάρου, επειδή χρησιμεύουν για την οριοθέτηση τόσο των υποκυτταρικών οργανιδίων των ευκαρυωτικών κυττάρων όσο και του ίδιου του κυττάρου, απομονώνοντας το περιεχόμενό του από το εξωτερικό περιβάλλον. Η κατανόηση της δομής και της οργάνωσης των κυτταρικών μεμβρανών ήταν συνεπώς ένα καθοριστικό βήμα στην αποσαφήνιση της μοριακής βάσης της κυτταρικής συμπεριφοράς. Κατά τη δεκαετία του 1960 ήταν γνωστό ότι οι κυτταρικές μεμβράνες αποτελούνται από πρωτεΐνες και λιπίδια, αλλά δεν ήταν σαφής ο τρόπος οργάνωσης των μορίων αυτών. Επιπλέον, υπήρχε μεγάλη διακύμανση στη σύσταση διαφορετικών κυτταρικών μεμβρανών σε πρωτεΐνες και λιπίδια. Αυτό το γεγονός οδήγησε ορισμένους ερευνητές στην υπόθεση ότι οι μεμβράνες διαφορετικών κυτταρικών τύπων ίσως δεν παρουσιάζουν κοινή δομική οργάνωση.

Αντίθετα, οι Jonathan Singer και Garth Nicolson προσέγγισαν το ζήτημα της κατανόησης της μεμβρανικής δομής με την παραδοχή ότι οι ίδιες γενικές αρχές θα πρέπει να περιγράφουν την οργάνωση των λιπιδίων και των πρωτεϊνών σε όλες τις κυτταρικές μεμβράνες. Εφαρμόζοντας βασικές αρχές της θερμοδυναμικής και ενσωμα-

τώνοντας μια ποικιλία πειραματικών δεδομένων, οδηγήθηκαν στη διατύπωση του μοντέλου του ρευστού μωσαϊκού. Το μοντέλο αυτό άντεξε στον χρόνο και αποτέλεσε τη δομική βάση για την κατανόηση των διαφορετικών λειτουργιών των μεμβρανών στην κυτταρική βιολογία.

Θέματα θερμοδυναμικής

Για τη διαμόρφωση του μοντέλου του ρευστού μωσαϊκού οι Singer και Nicolson βασίστηκαν κυρίως στους νόμους της θερμοδυναμικής και κατέληξαν στο λογικό συμπέρασμα ότι η συνολική δομή των μεμβρανών θα έπρεπε να καθορίζεται από έναν συνδυασμό υδρόφοβων και υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις θεωρούνταν καθοριστικές για την οργάνωση των φωσφολιπιδικών διπλοστιβάδων και οι Singer και Nicolson υπέθεσαν ότι παρόμοιες αλληλεπιδράσεις θα ελέγχουν και την οργάνωση των μεμβρανικών πρωτεϊνών. Γι' αυτόν τον λόγο διατύπωσαν την άποψη ότι τα μη πολικά αμινοξέα θα πρέπει να βρίσκονται απομονωμένα στο εσωτερικό της μεμβράνης, όπως οι αλυσίδες λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, ενώ οι πολικές ομάδες των πρωτεϊνών θα πρέπει να είναι εκτεθειμένες στο υδατικό περιβάλλον. Αυτές οι απόψεις αμφισβήτησαν έντονα ένα προηγούμενο μοντέλο για τη μεμβρανική δομή, σύμφωνα με το οποίο η δομή των μεμβρανών σχηματιζόταν από μια εσωτερική λιπιδική διπλοστιβάδα τοποθετημένη μεταξύ δύο πρωτεϊνικών στιβάδων.



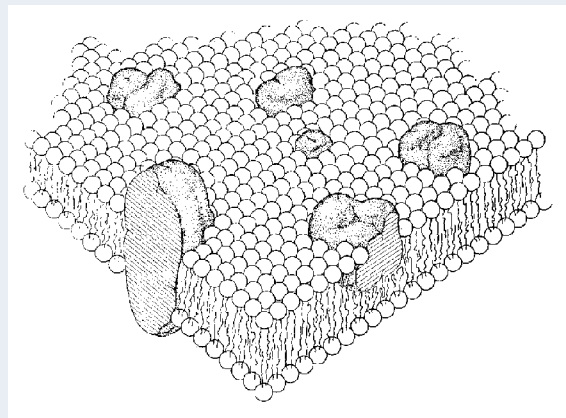
S. J. Singer. (Ευγενική προσφορά: S. J. Singer.)

Garth L. Nicolson. (Ευγενική προσφορά: Garth L. Nicolson.)

Οι Singer και Nicolson, αντίθετα, πρότειναν μια δομή που μοιάζει με μωσαϊκό, στην οποία σφαιρικού σχήματος ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες βρίσκονται εξ ολοκλήρου μέσα σε μια φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα (βλ. εικόνα). Οι πρωτεΐνες, όπως και τα φωσφολιπίδια, θεωρήθηκαν ότι είναι αμφιπαθείς, με τις μη πολικές περιοχές στο εσωτερικό της λιπιδικής διπλοστιβάδας και τις πολικές περιοχές εκτεθειμένες στο υδατικό περιβάλλον. Η λιπιδική διπλοστιβάδα θεωρήθηκε ότι αποτελεί το δομικό υπόστρωμα της μεμβράνης μέσα στο οποίο βρίσκονται ενσωματωμένες οι μεμβρανικές πρωτεΐνες.

Πειραματικά δεδομένα

Πολλά πειραματικά δεδομένα ενίσχυσαν το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού. Καταρχήν, η παρατήρηση των μεμβρανών με ηλεκτρονική μικροσκοπία μετά από τεμαχισμό υπό ψύξη παρείχε άμεσες αποδείξεις σχετικά



Το μοντέλο μωσαϊκού λιπιδίων-σφαιρικών πρωτεϊνών. Οι σφαιρικές πρωτεΐνες βρίσκονται κατανεμημένες σε ένα στρώμα φωσφολιπιδίων.

ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ (συνέχεια)

με την ενσωμάτωση των πρωτεϊνών στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Επίσης, όπως προβλεπόταν από το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού, οι πρωτεΐνες βρέθηκαν να κατανέμονται τυχαία στο επίπεδο της μεμβράνης μετά από χρώση της επιφάνειας των κυττάρων. Τέλος, όπως περιγράφεται στο Κεφάλαιο 15, τα πειράματα των Larry Frye και Michael Edidin απέδειξαν ότι οι πρωτεΐνες μπορούν να μετακινούνται πλευρικά μέσα στη μεμβράνη. Επομένως πολλές πειραματικές προσεγγίσεις παρέιχαν ενδείξεις ότι οι μεμβρανικές πρωτεΐνες βρίσκονται μέσα στη λιπιδική διπλοστιβάδα και μπορούν

να κινηθούν πλευρικά μέσω αυτής, υποστηρίζοντας ισχυρά το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού για τη δομή της μεμβράνης.

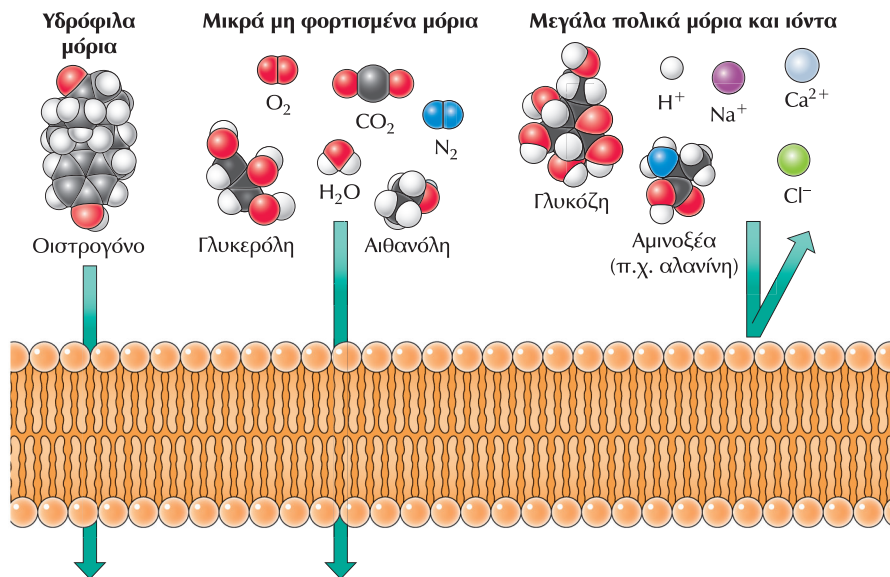
Νεότερα πειραματικά δεδομένα υποστήριξαν περαιτέρω το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού των Singer και Nicolson, το οποίο συνεχίζει να αποτελεί τη βάση για την κατανόηση της δομής των κυτταρικών μεμβρανών. Με δεδομένους τους ποικίλους ρόλους των μεμβρανών στη βιολογία του κυττάρου, το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού είναι θεμελιώδες για την κατανόηση σχεδόν όλων των εκδηλώσεων της κυτταρικής συμπεριφοράς, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται φαινόμενα τόσο διαφορετικά μεταξύ τους, όπως ο μεταβολισμός της

ενέργειας, η δράση των ορμονών και η μετάδοση πληροφοριών μεταξύ νευρικών κυττάρων στη σύναψη. Έχοντας αρχικά βασιστεί στις θερμοδυναμικές ιδιότητες των λιπιδίων και των πρωτεϊνών, οι Singer και Nicolson ανέπτυξαν ένα μοντέλο μεμβρανικής δομής, το οποίο έχει επηρεάσει όλους τους τομείς της κυτταρικής βιολογίας.

Ερώτηση: Με ποιο τρόπο η ταυτοποίηση των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών υπέδειξε ότι οι μεμβράνες δεν αποτελούνται από μια εσωτερική λιπιδική διπλοστιβάδα τοποθετημένη μεταξύ δύο πρωτεϊνικών στιβάδων, αλλά ότι ισχύει το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού;

Μεταφορά μέσω κυτταρικών μεμβρανών

Η επιλεκτική διαπερατότητα των βιολογικών μεμβρανών σε μικρά μόρια επιτρέπει στο κύτταρο να ελέγχει και να διατηρεί την ενδοκυτταρική του σύσταση. Μόνο μικρά μη φορτισμένα μόρια μπορούν να διαχέονται ελεύθερα μέσω των φωσfolιπιδικών διπλοστιβάδων (**Εικόνα 2.38**). Μικρά μη πολικά μόρια, όπως το O_2 , είναι διαλυτά στη λιπιδική διπλοστιβάδα και συνεπώς μπορούν εύκολα να διασχίσουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Μικρά μη φορτισμένα πολικά μόρια, όπως το H_2O , μπορούν επίσης να διαχέονται μέσω των μεμβρανών, αλλά δε συμβαίνει το ίδιο με μεγαλύτερα μη φορτισμένα πολικά μόρια, όπως η γλυκόζη.



ΕΙΚΟΝΑ 2.38 Διαπερατότητα φωσfolιπιδικών διπλοστιβάδων. Αέρια, υδρόφοβα και μικρά μη φορτισμένα μόρια μπορούν να διαχέονται ελεύθερα μέσω μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας. Εντούτοις, η διπλοστιβάδα δεν είναι διαπερατή σε μεγαλύτερα πολικά μόρια (όπως η γλυκόζη και τα αμινοξέα) καθώς και σε ιόντα.

Φορτισμένα μόρια, όπως τα ιόντα, ανεξάρτητα από το μέγεθός τους, δεν είναι δυνατόν να διαχυθούν μέσω της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας. Ακόμη και τα πολύ μικρά ιόντα H^+ δεν μπορούν να διαπεράσουν μια λιπιδική διπλοστιβάδα με ελεύθερη διάχυση.

Παρόλο που τα ιόντα και τα περισσότερα πολικά μόρια δεν μπορούν να διαχυθούν μέσω μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας, πολλά από αυτά τα μόρια (όπως η γλυκόζη) έχουν την ικανότητα να διασχίζουν κυτταρικές

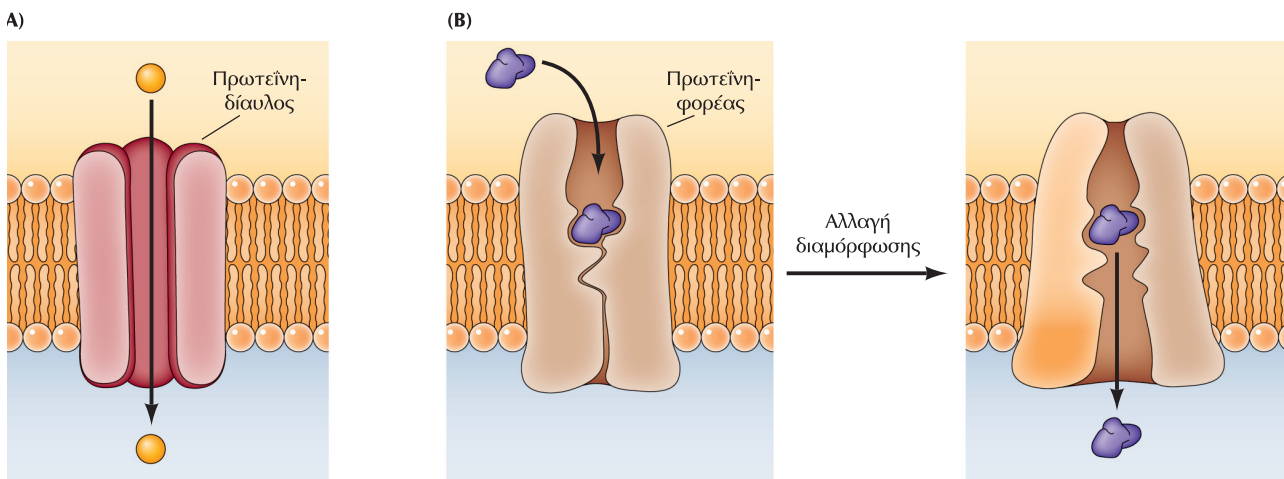
► Οι φωσφολιπιδικές διπλοστιβάδες είναι διαπερατές μόνο από μικρά μη φορτισμένα μόρια.

► Η διέλευση από τις μεμβράνες των περισσότερων μορίων γίνεται με τη συμμετοχή πρωτεϊνών-μεταφορέων.

► Οι πρωτεΐνες-διάυλοι σχηματίζουν ανοικτούς πόρους στη μεμβράνη, ενώ οι πρωτεΐνες-φορείς δεσμεύουν επιλεκτικά τα μόρια που μεταφέρουν.

μεμβράνες εξαιτίας της δράσης συγκεκριμένων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, οι οποίες δρουν ως μεταφορείς. Τέτοιες πρωτεΐνες καθορίζουν την επιλεκτική διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών και κατά συνέπεια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μεμβρανική λειτουργία. Οι πρωτεΐνες-μεταφορείς περιέχουν πολλαπλές διαμεμβρανικές περιοχές, οι οποίες σχηματίζουν μια δίοδο μέσα στη λιπιδική διπλοστιβάδα, επιτρέποντας σε πολικά ή φορτισμένα μόρια να διαπεράσουν τη μεμβράνη μέσω ενός πρωτεϊνικού πόρου, χωρίς να αλληλεπιδρούν με τις υδρόφοβες αλυσίδες των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων.

Υπάρχουν δύο γενικές κατηγορίες μεμβρανικών πρωτεϊνών-μεταφορέων (**Εικόνα 2.39**). Οι **πρωτεΐνες-διάυλοι** (channel proteins) δημιουργούν ανοικτούς πόρους στο εσωτερικό της μεμβράνης, επιτρέποντας την ελεύθερη διέλευση οποιουδήποτε μορίου έχει το κατάλληλο μέγεθος. Οι διάυλοι ιόντων, για παράδειγμα, επιτρέπουν τη δίοδο ανόργανων ιόντων, όπως είναι τα ιόντα Na^+ , K^+ , Ca^{2+} και Cl^- , μέσω της μεμβράνης. Οι πόροι που δημιουργούνται από αυτές τις πρωτεΐνες-διάυλους δεν είναι μονίμως ανοικτοί. Αντίθετα, μπορούν επιλεκτικά να ανοίγουν και να κλείνουν ως απόκριση σε εξωκυτταρικά ερεθίσματα, επιτρέποντας στο κύτταρο να ελέγχει τη μετακίνηση των ιόντων μέσω της μεμβράνης. Τέτοιου τύπου ρυθμιζόμενοι διάυλοι ιόντων είναι ιδιαίτερα καλά μελετημέ-



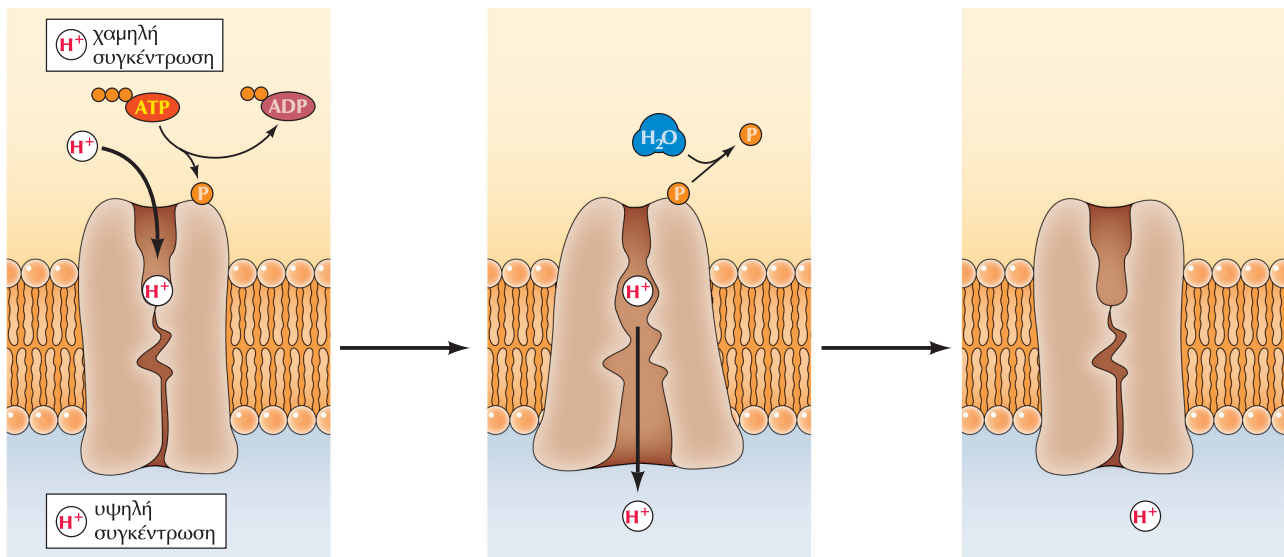
ΕΙΚΟΝΑ 2.39 Πρωτεΐνες-διάυλοι και πρωτεΐνες-φορείς. (A) Οι πρωτεΐνες-διάυλοι σχηματίζουν πόρους, μέσω των οποίων μόρια κατάλληλου μεγέθους (π.χ. ιόντα) μπορούν να διαπερνούν τη μεμβράνη. (B) Μικρά μόρια που πρόκειται να μεταφερθούν προσδένονται επιλεκτικά σε πρωτεΐνες-φορείς, οι οποίες στη συνέχεια υφίστανται αλλαγές διαμόρφωσης, με τελικό αποτέλεσμα την απελευθέρωση των μορίων στην άλλη πλευρά της μεμβράνης.

νοι στην περίπτωση των νευρικών και μυϊκών κυττάρων, όπου συμμετέχουν στη μετάδοση των ηλεκτροχημικών μηνυμάτων.

Σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες-διαύλους, οι **πρωτεΐνες-φορείς** (carrier proteins) δεσμεύουν και μεταφέρουν επιλεκτικά μικρά μόρια, όπως γλυκόζη. Αντί να σχηματίζουν ανοικτούς διαύλους, οι πρωτεΐνες-φορείς δρουν ως ένζυμα, προκειμένου να διευκολύνουν τη διέλευση συγκεκριμένων μορίων μέσω των μεμβρανών. Ειδικότερα, οι πρωτεΐνες-φορείς δεσμεύουν συγκεκριμένα μόρια και στη συνέχεια υφίστανται αλλαγές διαμόρφωσης, οι οποίες προκαλούν τη διάνοιξη πόρων. Μέσω των πόρων αυτών το μόριο που πρόκειται να μεταφερθεί μπορεί να διασχίσει τη μεμβράνη και να αποδεσμευθεί στην άλλη πλευρά.

Όπως έχει ήδη περιγραφεί, τα μόρια που μεταφέρονται είτε μέσω πρωτεϊνών-διαύλων είτε μέσω πρωτεϊνών-φορέων διαπερνούν τη μεμβράνη προς την κατεύθυνση που ευνοείται ενεργειακά, όπως καθορίζεται από τη διαβάθμιση της συγκέντρωσης των μορίων αυτών και την ηλεκτροχημική διαβάθμιση. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως **παθητική μεταφορά** (passive transport). Οι πρωτεΐνες-φορείς όμως παρέχουν και έναν μηχανισμό με τον οποίο οι ενεργειακές μεταβολές που σχετίζονται με τη μεταφορά μορίων μέσω της μεμβράνης είναι δυνατόν να συζευχθούν με την κατανάλωση ή την παραγωγή άλλων μορφών μεταβολικής ενέργειας, ακριβώς όπως οι ενζυμικές αντιδράσεις μπορούν να συζευχθούν με την υδρόλυση ή τη σύνθεση ATP. Για παράδειγμα, τα μόρια μπορούν να μετακινηθούν μέσω της μεμβράνης προς μια ενεργειακά μη ευνοϊκή κατεύθυνση (π.χ. αντίθετα προς τη διαβάθμιση συγκέντρωσής τους) όταν η μεταφορά τους προς αυτή την κατεύθυνση είναι συζευγμένη με την υδρόλυση ATP, που χρησιμεύει ως πηγή ενέργειας. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **ενεργός μεταφορά** (active transport – **Εικόνα 2.40**). Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες μπορούν συνεπώς να χρησιμοποιούν την ελεύθερη ενέργεια που είναι αποθηκευμένη ως ATP, προκειμένου να ρυθμίζουν την ενδοκυτταρική σύσταση.

► Κατά την ενεργό μεταφορά χρησιμοποιείται ενέργεια που προέρχεται από την υδρόλυση ATP για τη μεταφορά μορίων προς μια ενεργειακά μη ευνοϊκή κατεύθυνση.



ΕΙΚΟΝΑ 2.40 Μοντέλο ενεργού μεταφοράς. Η ενέργεια που απελευθερώνεται από την υδρόλυση του ATP χρησιμοποιείται για τη μεταφορά των H^+ σε κατεύθυνση αντίθετη της ηλεκτροχημικής διαβάθμισης (από χαμηλή προς υψηλότερη συγκέντρωση H^+). Η δέσμευση των H^+ συνοδεύεται από φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης-φορέα, η οποία επάγει μια αλλαγή διαμόρφωσης που προωθεί τη μεταφορά των H^+ αντίθετα με την ηλεκτροχημική διαβάθμιση. Η απελευθέρωση των H^+ και η επακόλουθη υδρόλυση της δεσμευμένης φωσφορικής ομάδας αποκαθιστά την αρχική διαμόρφωση του μεταφορέα.

Πρόβλημα ανάλυσης δεδομένων

2.1 Επίδραση ενός αναγωγικού παράγοντα στην πρωτεϊνική δομή

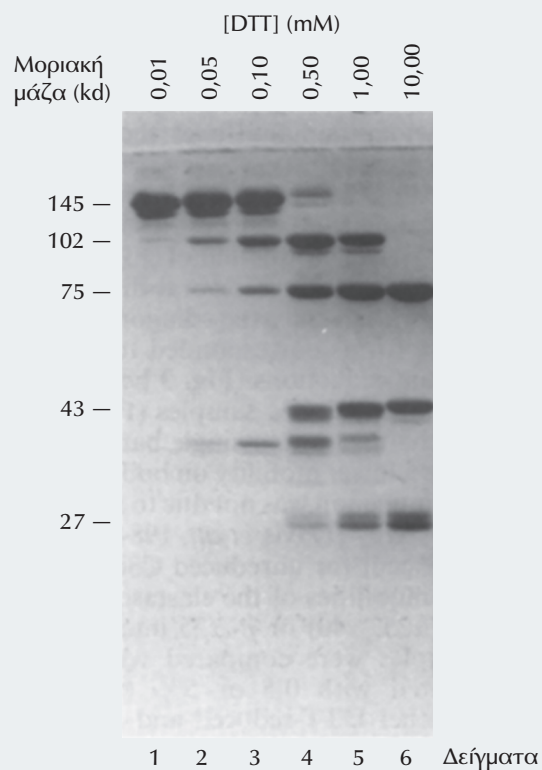
Πηγή: Janatova, J. 1986. Detection of disulphide bonds and localization of interchain linkages in the third (C3) and the fourth (C4) components of human complement. *Biochem. J.* 233: 819-825.

Πείραμα

Το πείραμα αυτό σχεδιάστηκε προκειμένου να αναλυθεί η δομή ενός συστατικού του συστήματος του συμπληρώματος (της πρωτεΐνης C3c), που ενέχεται στην ανοσολογική απόκριση εναντίον μικροοργανισμών. Καθαρισμένη πρωτεΐνη C3c (με μοριακό βάρος 145 kd) επώαστηκε παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων του αναγωγικού παράγοντα διθειοθρεϊτόλη (DTT) και μετά υποβλήθηκε σε ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα SDS-πολυακρυλαμιδίου. Το SDS διασπά τους μη ομοιοπολικούς δεσμούς και τα πολυπεπίδια διαχωρίζονται κατά την ηλεκτροφόρηση με βάση το μέγεθός τους (το μοριακό τους βάρος). Το πήκτωμα χρωματίστηκε με Coomassie Brilliant Blue, που χρησιμοποιείται για τη χρώση πρωτεϊνών. Στην εικόνα φαίνονται οι ζώνες (τα πολυπεπίδια) που προκύπτουν με διαδοχικά αυξανόμενη συγκέντρωση DTT.

Ερωτήσεις

1. Από πόσα πολυπεπίδια αποτελείται το συστατικό του συμπληρώματος C3c; Με τη βοήθεια της εικόνας υπολογίστε τα μοριακά τους βάρη.
2. Τι εξυπηρετεί στο πλαίσιο αυτού του πειράματος η επεξεργασία με DTT;
3. Τι είδους δεσμοί συγκρατούν τα πολυπεπίδια μεταξύ τους;
4. Πώς σχετίζεται η ζώνη μοριακής μάζας 102 kd με τα πολυπεπίδια του C3c;



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

2.1 Στον σχηματισμό των μορίων των κυττάρων και στις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις συμμετέχουν ομοιοπολικοί δεσμοί και τέσσερις τύποι μη ομοιοπολικών δεσμών. Τα συστατικά των βιολογικών συστημάτων ανήκουν σε τέσσερις μόνο κατηγορίες οργανικών ενώσεων: τους υδατάνθρακες, τα λιπίδια, τα νουκλεϊκά οξέα και τις πρωτεΐνες. Οι υδατάνθρακες, συμπεριλαμβανομένων των απλών σακχάρων και των πολυσακχαριτών, είναι τα κύρια θρεπτικά συστατικά των κυττάρων, ενώ επίσης χρησιμεύουν ως δομικά συστατικά και λειτουργούν ως μοριακά σήματα στη διαδικασία της διακυτταρικής αναγνώρισης. Τα λιπίδια είναι τα κύρια συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Τα νουκλεϊκά οξέα είναι τα μόρια στα οποία αποθηκεύονται οι πληροφορίες. Οι πρωτεΐνες είναι πολυμερή στη σύσταση των οποίων συμμετέχουν είκοσι διαφορετικά αμινοξέα. Συνιστούν την πιο ετερογενή ομάδα βιολογικών μακρομορίων και είναι υπεύθυνες για τις περισσότερες κυτταρικές λειτουργίες.

Ερωτήσεις

1. Ποια χαρακτηριστικά του νερού συμβάλλουν στη λειτουργία του ως του πιο άφθονου μορίου στα κύτταρα;
 2. Παρόλο που τόσο το γλυκογόνο όσο και η κυτταρίνη αποτελούνται από μονομερή γλυκόζης, είναι ουσίες χημικά διακριτές. Σε τι διαφέρουν και πώς επηρεάζει αυτό τη λειτουργία τους μέσα στα κύτταρα;
 3. Ποια χαρακτηριστικά των υδατανθράκων επηρεάζουν τη διαλυτότητά τους στο νερό; Πώς συγκρίνονται με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των λιπαρών οξέων;
 4. Γιατί σε υδατικά περιβάλλοντα τα τριγλυκερίδια σχηματίζουν αδιάλυτα σταγονίδια, ενώ τα φωσφολιπίδια σχηματίζουν διπλοστιβάδες;
 5. Ποιες άλλες σημαντικές λειτουργίες έχουν τα νουκλεοτίδια στα κύτταρα, εκτός από τον ρόλο τους ως δομικών στοιχείων των νουκλεϊκών οξέων;
 6. Η αντικατάσταση μιας αργινίνης από μία λυσίνη ή από μία φαινυλαλανίνη θα περιμένατε να έχει πιο δραστικές επιπτώσεις στη δομή κάποιας πρωτεΐνης;
 7. Ποια πειραματικά δεδομένα απέδειξαν ότι η αναδίπλωση των πρωτεϊνών καθορίζεται από την αμινοξική τους αλληλουχία;
 8. Ποιοι είναι οι ρόλοι των διαφόρων τύπων χημικών δεσμών στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών;
-

2.2 Σχεδόν όλες οι χημικές αντιδράσεις εντός των κυττάρων καταλύονται από ένζυμα, τα οποία δρουν φέρνοντας κοντά τα υποστρώματα, αλλάζοντας τη διαμόρφωσή τους, ώστε να προσεγγίζουν τη μεταβατική κατάσταση, και σχηματίζοντας δεσμούς με τα ενδιάμεσα προϊόντα των αντιδράσεων. Τα συνένζυμα είναι μικρά μόρια που λειτουργούν σε συνδυασμό με τα ένζυμα και μεταφέρουν χημικές ομάδες μεταξύ των υποστρωμάτων. Η δραστικότητα των ενζύμων μπορεί να ρυθμίζεται με την πρόσδεση σε αυτά μικρών μορίων, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με άλλες πρωτεΐνες, αλλά και μέσω ομοιοπολικών τροποποιήσεων της πολυπεπτιδικής τους αλυσίδας, ώστε να καλύπτονται με τον βέλτιστο τρόπο οι ανάγκες του κυττάρου.

Ερωτήσεις

1. Το ενεργό κέντρο της θρυψίνης περιέχει ένα κατάλοιπο ασπαρτικού οξέος. Πώς θα επηρέαζε την ειδικότητα της θρυψίνης ως προς την επιλογή του υποστρώματος η αλλαγή αυτού του αμινοξέος σε λυσίνη;
 2. Ποιο είναι το χαρακτηριστικό της ιστιδίνης που της επιτρέπει να συμμετέχει σε ενζυμικές αντιδράσεις οι οποίες περιλαμβάνουν ανταλλαγή ιόντων υδρογόνου;
 3. Ποια αμινοξέα θα περιμένατε να βρείτε στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου που καταλύει τον σχηματισμό γλυκοζιτικού δεσμού μεταξύ δύο καταλοίπων γλυκόζης;
 4. Πώς συμμετέχει το NADH στις αντιδράσεις οξειδωσης και αναγωγής;
 5. Πολλά κυτταρικά ένζυμα ρυθμίζονται προσδένοντας μη ομοιοπολικά GTP και GDP, με το ένζυμο να είναι ενεργό όταν είναι προσδεδεμένο σε GTP, αλλά ανενεργό όταν είναι προσδεδεμένο σε GDP. Ποιες είναι οι διαφορές ανάμεσα σε αυτά τα νουκλεοτίδια και πώς μπορούν να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των ενζύμων;
 6. Σε πολλά ένζυμα που ενεργοποιούνται με φωσφορυλίωση ενός καταλοίπου σερίνης, η αντικατάσταση αυτού του αμινοξέος με ασπαρτικό οξύ οδηγεί στη συνεχή, μη ρυθμιζόμενη δράση τους. Ποια χαρακτηριστικά της σερίνης, της φωσφοσερίνης και του ασπαρτικού οξέος εξηγούν αυτό το φαινόμενο;
-

2.3 Η φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα είναι η βασική δομή των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες περιέχουν επίσης γλυκολιπίδια και, στα ευκαρυωτικά κύτταρα, χοληστερόλη ή άλλες συγγενείς ενώσεις. Οι πρωτεΐνες μπορούν είτε να ενσωματωθούν στη λιπιδική διπλοστιβάδα είτε να προσδεθούν έμμεσα στη μεμβράνη, μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών. Ορισμένες πρωτεΐνες διατρέχουν τη διπλοστιβάδα με τμήματά τους να προεξέχουν και από τις δύο πλευρές της μεμβράνης, ενώ άλλες είναι αγκυροβολημένες στη μία πλευρά της μεμβράνης. Οι λιπιδικές διπλοστιβάδες είναι διαπερατές μόνο από μικρά, μη φορτισμένα μόρια. Τα ιόντα και τα περισσότερα πολικά μόρια διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες μέσω της δράσης συγκεκριμένων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, οι οποίες δρουν ως μεταφορείς και η λειτουργία τους μπορεί να είναι συζευγμένη με τη σύνθεση ή την υδρόλυση ATP.

Ερωτήσεις

1. Περιγράψτε τις υδρόφοβες και τις υδρόφιλες αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στον σχηματισμό μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας.
2. Γιατί στις περισσότερες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες τα τμήματά τους που βρίσκονται μέσα στη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα σχηματίζουν α-έλικες;
3. Αναφέρετε τρία αμινοξέα που δε θα περιμένατε να εντοπίσετε σε μια διαμεμβρανική α-έλικα.
4. Πώς διαφέρουν οι πρωτεΐνες-φορείς από τις πρωτεΐνες-διαύλους;
5. Ποια είναι η διαφορά μεταξύ της ενεργού και της παθητικής μεταφοράς;
6. Με ποιο τρόπο θα περιμένατε να διαπερνούν την κυτταροπλασματική μεμβράνη τα νουκλεοσίδια;

Βιβλιογραφικές αναφορές και προτάσεις για περαιτέρω μελέτη

(Σε κάθε ενότητα τα βασικά άρθρα ανασκόπησης υποδεικνύονται με έντονα γράμματα.)

2.1 Τα μόρια των κυττάρων

Dill, K. A., and J. L. MacCallum. 2012. *The protein-folding problem, 50 years on. Science* 338: 1042-1046.

Anfinsen, C. B. 1973. Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 181: 223-230.

Berg, J. M., J. L. Tymoczko, G. J. Gatto, Jr. and L. Stryer. 2015. *Biochemistry*. 8th ed. New York: W. H. Freeman.

Branden, C. and J. Tooze. 1999. *Introduction to Protein Structure*. 2nd ed. New York: Garland.

Braselmann, E., J. L. Chaney and P. L. Clark. 2013. Folding the proteome. *Trends Biochem. Sci.* 38: 337-344. [R]

Kendrew, J. C. 1961. The three-dimensional structure of a protein molecule. *Sci. Am.* 205(6): 96-111. [R]

Nelson, D. L. and M. M. Cox. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th ed. New York: W. H. Freeman.

Pauling, L., R. B. Corey, and H. R. Branson. 1951. The structure of proteins: Two hydrogen bonded configurations of the polypeptide chain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37: 205-211.

Petsko, G. A. and D. Ringe. 2003. *Protein Structure and Function*. Sunderland, Mass.: Sinauer.

Sanger, F. 1988. Sequences, sequences, and sequences. *Ann. Rev. Biochem.* 57: 1-28. [R]

Tanford, C. 1978. The hydrophobic effect and the organization of living matter. *Science* 200: 1012-1018. [R]

2.2 Τα ένζυμα ως βιολογικοί καταλύτες

Changeux, J.-P. 2013. *50 years of allosteric interactions: the twists and turns of the models. Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 14: 819-829.

Koshland, D. E. 1984. *Control of enzyme activity and metabolic pathways. Trends Biochem. Sci.* 9: 155-159.

Fersht, A. 1999. *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*. New York: W. H. Freeman.

Laskowski, R. A., F. Gerick and J. M. Thornton. 2009. The structural basis of allosteric regulation in proteins. *FEBS Letters*. 583: 1692-1698. [R]

Lienhard, G. E. 1973. Enzymatic catalysis and transition-state theory. *Science* 180: 149-154. [R]

Lipscomb, W. N. 1983. Structure and catalysis of enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* 52: 17-34. [R]

Monod, J., J.-P. Changeux and F. Jacob. 1963. Allosteric proteins and cellular control systems. *J. Mol. Biol.* 6: 306-329.

Narlikar, G. J. and D. Herschlag. 1997. Mechanistic aspects of enzymatic catalysis: Lessons from comparison of RNA and protein enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* 66: 19-59. [R]

Neurath, H. 1984. Evolution of proteolytic enzymes. *Science* 224: 350-357. [R]

Petsko, G. A. and D. Ringe. 2003. *Protein Structure and Function*. Sunderland, Mass: Sinauer.

Saleh, T. and C. G. Kalodimos. 2017. Enzymes at work are enzymes in motion. *Science* 355: 247-248. [R]

Schramm, V. L. 1998. Enzymatic transition states and transition state analog design. *Ann. Rev. Biochem.* 67: 693-720. [R]

2.3 Κυτταρικές μεμβράνες

Singer, S. J., and G. L. Nicolson. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175: 720-731.

Bretscher, M. 1985. The molecules of the cell membrane. *Sci. Am.* 253(4): 100-108. [R]

Dowham, W. 1997. Molecular basis for membrane phospholipid diversity: Why are there so many lipids? *Ann. Rev. Biochem.* 66: 199-212. [R]

Englund, P. T. 1993. The structure and biosynthesis of glycosyl phosphatidylinositol

protein anchors. *Ann. Rev. Biochem.* 62: 121-138. [R]

Farazi, T. A., G. Waksman and J. I. Gordon. 2001. The biology and enzymology of protein N-myristoylation. *J. Biol. Chem.* 276: 39501-39504. [R]

Lacapere, J.-J., E. Pebay-Peyroula, J.-M. Neumann and C. Etchebest. 2007. Determining membrane protein structures: still a challenge! *Trends Biochem. Sci.* 32: 259-270. [R],

Singer, S. J. 1990. The structure and insertion of integral proteins in membranes. *Ann. Rev. Cell Biol.* 6: 247-296. [R]

Tamm, L. K., A. Arora and J. H. Kleinschmidt. 2001. Structure and assembly of b-barrel membrane proteins. *J. Biol. Chem.* 276: 32399-32402. [R]

Towler, D. A., J. I. Gordon, S. P. Adams and L. Glaser. 1988. The biology and enzymology of eukaryotic protein acylation. *Ann. Rev. Biochem.* 57: 69-99. [R]

White, S. H., A. S. Ladokhin, S. Jayasinghe and K. Hristova. 2001. How membranes

shape protein structure. *J. Biol. Chem.* 276: 32395-32398. [R]

Zhang, F. L. and P. J. Casey. 1996. Protein prenylation: Molecular mechanisms and functional consequences. *Ann. Rev. Biochem.* 65: 241-269. [R]

Διαδίκτυακοί σύνδεσμοι

The Biology Project: Biochemistry

<http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html>

Εκπαιδευτικό υλικό για τη βιοχημεία και τον μεταβολισμό.

Mathmol Library

<http://www.nyu.edu/pages/mathmol/library/>

Μια βιβλιοθήκη μοριακών μοντέλων.

ExPASy Molecular Biology Server

<http://swissmodel.expasy.org/course/text/chapter4.htm>

Μια εικονογραφημένη παρουσίαση πρωτεϊνικών δομών.

ExPASy Bioinformatics Resource Portal: Proteomics

<http://www.expasy.org/proteomics/>

Σύνδεσμοι για μεθόδους πρωτεϊνικών αναλύσεων.