

5. Conformația tridimensională a proteinelor

5.1. Legătura peptidică

Legătura peptidică, plană și rigidă, cu puține excepții, prezintă o conformație trans, astfel încât atomii de carbon α succesivi sunt situați pe părțile opuse ale grupării peptidice care îi unește. Conformația cis este cu aproximativ 8 kcal/mol mai puțin stabilă decât cea trans. Această diferență de energie este mai mică în legăturile peptidice urmate de resturi de prolină și de aceea, circa 10% din resturile de prolină din proteine sunt implicate într-o astfel de legătură în conformație cis.

Scheletul unei proteine poate fi privit ca secvența legăturilor peptidice plane și rigide legate între ele (Figura 3.16).

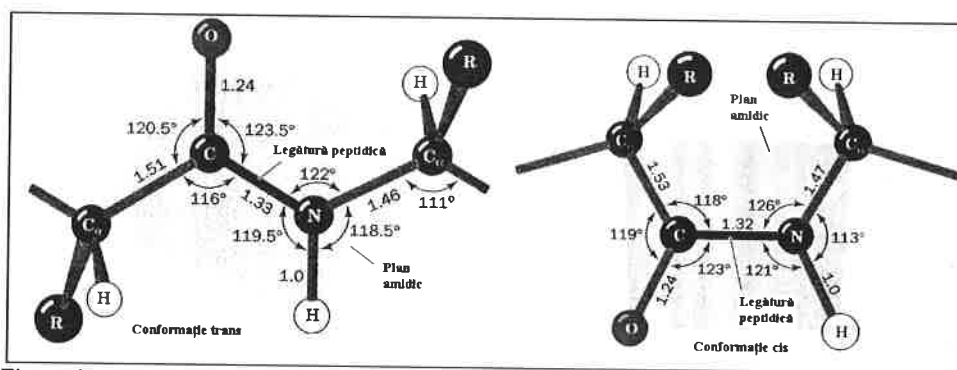


Figura 3.16. Conformațiile trans și cis ale legăturii peptidice

Caracterul parțial de dublă legătură al unității peptidice se datorează delocalizării electronilor π în cadrul sistemului reprezentat de oxigenul și carbonul carbonilic și atomul de azot iminic. În consecință, atomii implicați în legătura peptidică împreună cu atomii de carbon α ai aminoacizilor care participă la formarea acesteia, se găsesc în același plan (Figura 3.17).

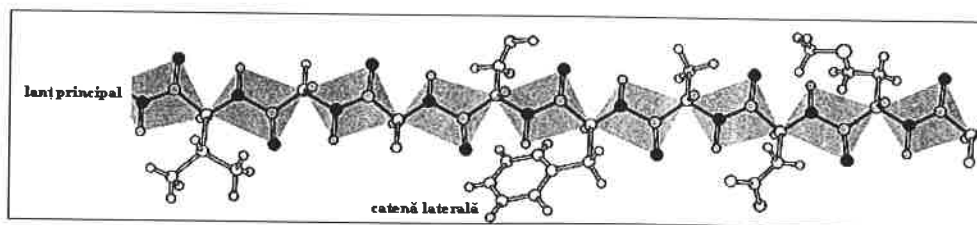


Figura 3.17. Conformația extinsă a unui lanț polipeptidic

Ca urmare, mărimile geometrice ce definesc conformația scheletului catenei polipeptidice sunt unghiurile formate de legăturile covalente simple care leagă fiecare $C\alpha$ de grupările peptidice plane adiacente. Acestea sunt unghiurile de torsiune sau diedrale referitoare la legăturile dintre $C\alpha - N$ (unghiul ϕ) și $C\alpha - C$ (unghiul ψ) corespunzătoare fiecărui rest de aminoacid (Figura 3.18). În principiu, unghiurile ϕ și ψ pot lua valori între -180° și $+180^\circ$, astfel încât toate conformațiile posibile ale catenei polipeptidice pot fi descrise de aceste unghiuri conformaționale. Prin convenție, conformația în care $\phi=0^\circ$ și $\psi=0^\circ$ este cea în care legăturile peptidice consecutive sunt coplanare. Variațiile pozitive ale unghiurilor ϕ și ψ corespund rotației în jurul acelor de ceasornic.

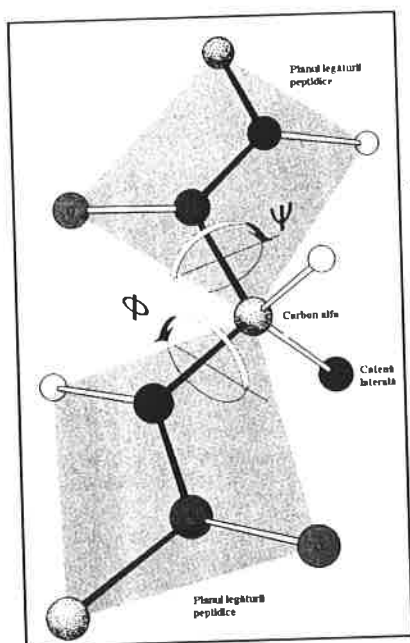


Figura 3.18. Unghiurile de torsiune ale fiecărei catene polipeptidice

Experimentele cu peptide model au dovedit că multe combinații ale unghiurilor ϕ și ψ nu sunt posibile datorită coliziunilor sterice dintre atomii implicați în legătura peptidică, pe de o parte, și aceștia și grupările laterale ale aminoacizilor, pe de altă parte. Informațiile de acest tip sunt furnizate de diagrama Ramachandran (Figura 3.19).

Glicina, singurul aminoacid care nu conține nici un atom de carbon la nivelul catenei laterale, permite existența mult mai multor valori posibile pentru unghiurile ϕ și ψ . Diagrama Ramachandran referitoare la resturile de glicină dintr-o catenă polipeptidică dovedește acest plus de permisivitate (Figura 3.20). De aceea acest aminoacid se găsește în locurile unde catena polipeptidică face o întoarcere în scurt.

În schimb, prolina este aminoacidul cu cele mai multe constrângeri conformaționale, datorită catenei sale laterale ciclice.

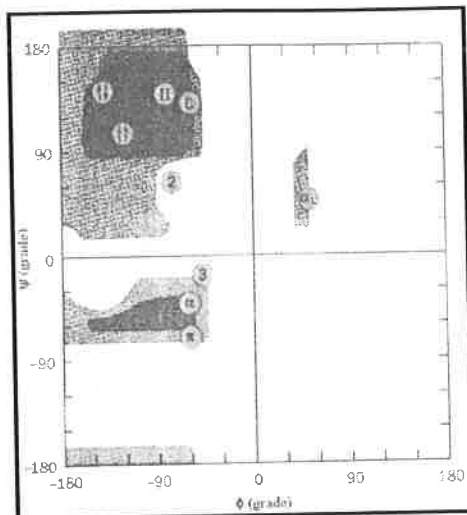


Figura 3.19. Diagrama Ramachandran ce arată valorile unghiurilor ϕ și ψ permise din punct de vedere steric pentru poli-L-alanină.

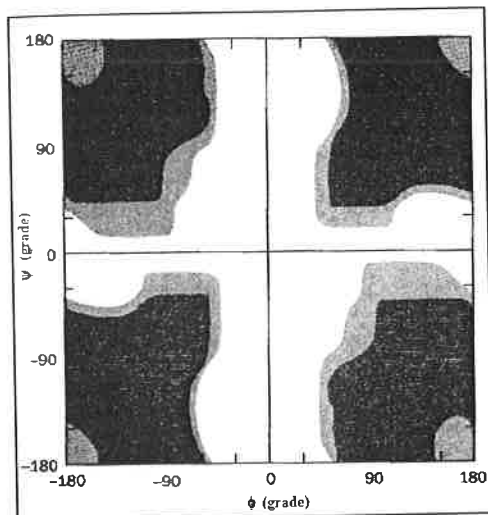


Figura 3.20. Diagrama Ramachandran pentru resturile de glicină dintr-un lanț polipeptidic.

5.2. Structura secundară a proteinelor

Structura secundară a unei proteine poate fi definită drept conformația locală a scheletului catenei polipeptidice.

Pauling și Corey, doi clasici ai chimiei proteinelor, au postulat un principiu structural important, conform căruia, în proteine trebuie să se formeze numărul maxim posibil de legături de hidrogen între grupările carbonil și imino din cadrul legăturilor peptidice de la nivelul catenei polipeptidice.

Modelele de pliere a scheletului catenei polipeptidice sunt: helixul, structurile β pliate, care sunt structuri repetitive și buclele (bends, loops sau turns), care sunt structuri nerepetitive.

Proteinele ce pot adopta, în soluție, o serie de conformații au o structură dezordonată („random coil”).

5.2.1. Helixul

Prin rotirea cu același unghi în jurul fiecărui atom de carbon α , catena polipeptidică adoptă o conformație helicală. Helixul poate fi caracterizat prin:

- numărul de unități de aminoacizi per tur de spiră (n);
- pasul spirei (p), care este proiecția unui tur de spiră complet pe axa helixului;
- creșterea helixului pentru fiecare rest de aminoacid (d); $d=p/n$.

Helixurile pot fi de dreapta sau de stânga, deci prezintă chiralitate. De asemenea, trebuie să prezinte unghiuri ϕ și ψ , care să se găsească în regiunile permissive ale diagramei Ramachandran.

Structura α helix este un aranjament rigid al catenei polipeptidice, care prezintă simultan unghiuri conformaționale permissive și numărul maxim de legături de hidrogen între unitățile peptidice. A fost descoperită de Pauling în 1951. În cazul polipeptidelor alcătuite din α -aminoacizi din seria sterică L, α helixul este de dreapta și este caracterizat de $n=3,6$ resturi de aminoacizi per tur de spirală, $p=5,4$ Å, $d=1,5$ Å și unghiurile de torsiune $\phi=-57^\circ$ și $\psi=-47^\circ$. Legăturile de hidrogen se formează între oxigenul carbonilic al aminoacidului n și hidrogenul iminic al aminoacidului $n+4$, ceea ce conduce la o distanță $N\cdots O$ de 2,8 Å care este aproape de optimul necesar pentru formarea legăturii de hidrogen (2,55-2,77 Å). Între atomii implicați în legătura peptidică se stabilesc și interacții van de Waals, pe lângă cele de hidrogen, ceea ce explică stabilitatea remarcabilă a acestui tip de structură secundară.

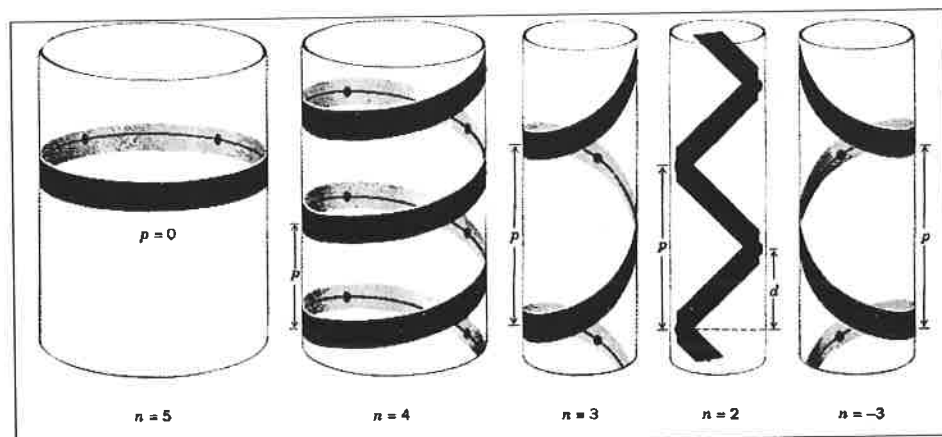


Figura 3.21. Exemple de helixuri. Helixul de dreapta și stânga sunt definite cu valori n pozitive, respectiv negative.

Teoretic, se pot forma și α helixuri de stânga, dar acestea nu au fost detectate până acum în proteine.

Catenele laterale R ale aminoacizilor sunt orientate spre exteriorul cilindrului delimitat de α helix, pentru a evita împiedicările sterice rezultate în urma interacției cu scheletul catenei polipeptidice sau cu alte resturi.

Peptidele cu cel puțin 13 resturi de aminoacizi își asumă spontan, în apă, această conformație. Deși diferența între stabilitatea termodinamică a structurii α helix și cea complet nepliată, dezordonată, numită „random coil”, este mică, poli-L-alanina adoptă o conformație helicală în soluții apoase.

ilitate. De
regiunile
re prezintă
e hidrogen
ipeptidelor
caracterizat
de torsiune
arbonilic al
a o distanță
egăturii de
stabilesc și
stabilitatea



pozitive,

nu au fost

exteriorul
ate în urma

an, în apă,
structurii α
ică, poli-L-

O proprietate importantă ce decurge din regularitatea acestui tip de structură secundară, care se aplică și altora este cooperativitatea în pliere. După ce s-a format un singur tur de spiră, adăugarea succesivă a resturilor următoare de aminoacizi se face mult mai rapid. Având în vedere restricțiile sterice, unghiul ϕ este aproximativ corect pentru fiecare rest adăugat, iar pentru unghiul ψ se ajunge la conformația corectă prin formarea legăturii de hidrogen dintre oxigenul carbonilic și hidrogenul dintr-o grupare imino a unei legături peptidice deja fixată într-o conformație helicală.

Glicina dezorganizează acest tip de structură secundară, probabil datorită entropiei crescute a lanțului polipeptidic conferite de posibilitățile conformaționale ale unghiurilor ϕ și ψ pentru resturile glicil. Prolina dezorganizează α helixul, datorită valorilor restrictive ale unghiurilor ϕ și ψ , care fac ca helixul să se torsiuneze. De regulă, resturile proline se găsesc la sfârșitul helixurilor. Toți ceilalți aminoacizi se pot integra în acest element de structură secundară, putând să-l stabilizeze sau să-l destabilizeze. În general, aminoacizii cu catene laterale ce prezintă constante dielectrice mici, stabilizează α helixul, pentru că favorizează formarea legăturilor de hidrogen dintre unitățile peptidice.

Structura α helix prezintă un moment de dipol, pentru că toate legăturile de hidrogen sunt orientate în aceeași direcție și sunt paralele cu axa structurii.

Aceasta este un helix $3,6_{13}$, adică conține 3,6 resturi de aminoacizi per tur de spiră și 13 atomi, inclusiv atomul de hidrogen implicat în formarea legăturii de hidrogen (Figura 3.22). Alte structuri helicale posibile sunt: $2,2_7$, 3_{10} și $4,4_{16}$. Helixul $2,2_7$ numit și panglică („ribbon”) nu a fost observat în natură niciodată. Helixul de dreapta 3_{10} este mai subțire și mai alungit decât cel α și a fost observat ocazional în proteine, făcând legătura între o structură α helix și o porțiune adiacentă a catenei polipeptidice. Helixul π ($4,4_{16}$) a fost observat rar în proteine, la capătul C-terminal, și este mai scurt și mai lat comparativ cu α helixul (Figura 3.23).

Conținutul proteinelor în α helix variază de la 0 la 100%. De exemplu, mioglobina are o astfel de structură secundară în proporție de 75-80%, pe când chimotripsina nu o prezintă de loc.

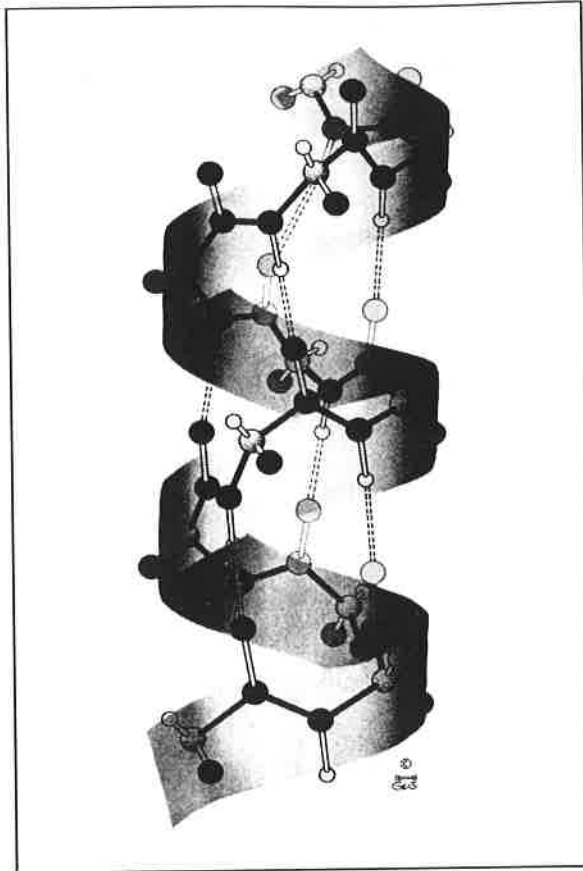


Figura 3.22. Structura unui α -helix de dreapta

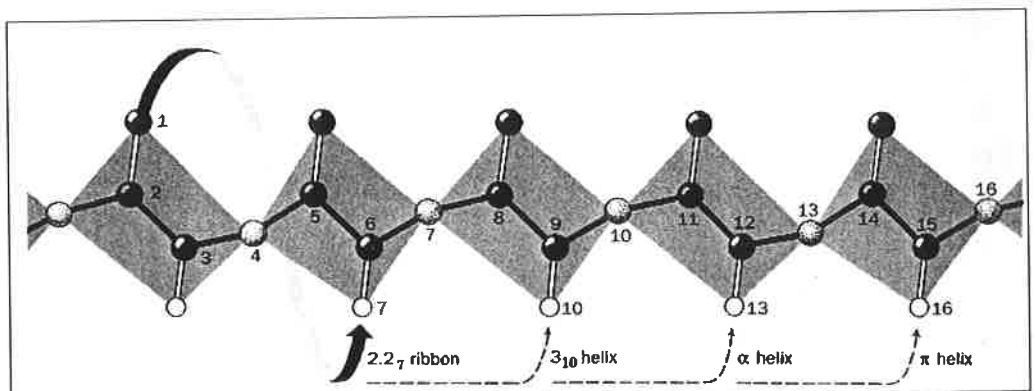


Figura 3.23. Reprezentarea schematică a diferitelor tipuri de helix

5.2.2. Structura β pliată

Acest element de structură secundară (numit β pentru că a fost descoperit după α helix) este stabilizat prin legături de hidrogen ce se formează între lanțuri polipeptidice învecinate. Și în acest caz, unghiurile φ și ψ se găsesc în regiunea

permisivă a diagramei Ramachandran și este utilizată capacitatea maximă de formare a legăturilor de hidrogen.

O catenă polipeptidică β pliată, este numită catenă β și este aproape complet extinsă. Ca urmare, distanța axială între aminoacizii vecini este de 3,5 Å, în contrast cu 1,5 Å pentru α helix.

În conformația β legăturile de hidrogen se pot forma intracatenar sau între catene polipeptidice adiacente. Structura β pliată poate exista în două variante:

- a) antiparalelă, în care lanțurile polipeptidice învecinate au polaritate opusă, iar legăturile de hidrogen formate sunt paralele;
- b) paralelă, în care catenele sunt orientate în aceeași direcție, iar punțile de hidrogen constituite sunt concurente.

Catenele laterale ale aminoacizilor sunt orientate de o parte și de alta a lanțului polipeptidic. Structura β pliată se prezintă ca o foaie de hârtie împăturită în evantai (Figura 3.24).

În anumite situații există limitări referitoare la tipul de aminoacizi care pot participa la formarea β structurii. Atunci când catenele β sunt foarte aproape una de alta într-o proteină, cum este cazul fibroinei din mătase și al proteinei din pânza de păianjen, au un conținut foarte ridicat de resturi de glicină și alanină, care prezintă radicalii R cei mai mici. Acești aminoacizi sunt preponderenți la nivelul unei mari părți din secvența proteică.

Structura β pliată antiparalelă apare în proteine fibrilare de tipul fibroinei (care este o β keratină), produsă de viermele de mătase, dar se găsește și în aproximativ 80% din proteinele globulare analizate până în prezent. În multe cazuri, întreaga proteină conține numai β structură. La nivelul proteinelor globulare, acest motiv structural constă din 2 până la 15 catene polipeptidice (media fiind 6). Catenele β au până la 15 resturi de aminoacizi, prezentând în medie 6 resturi. De exemplu, lectina concanavalina A prezintă șase catene β antiparalele. Arareori se întâlnește o structură β paralelă cu mai puțin de 5 lanțuri, ceea ce sugerează că aceasta este mai puțin stabilă comparativ cu cea antiparalelă.

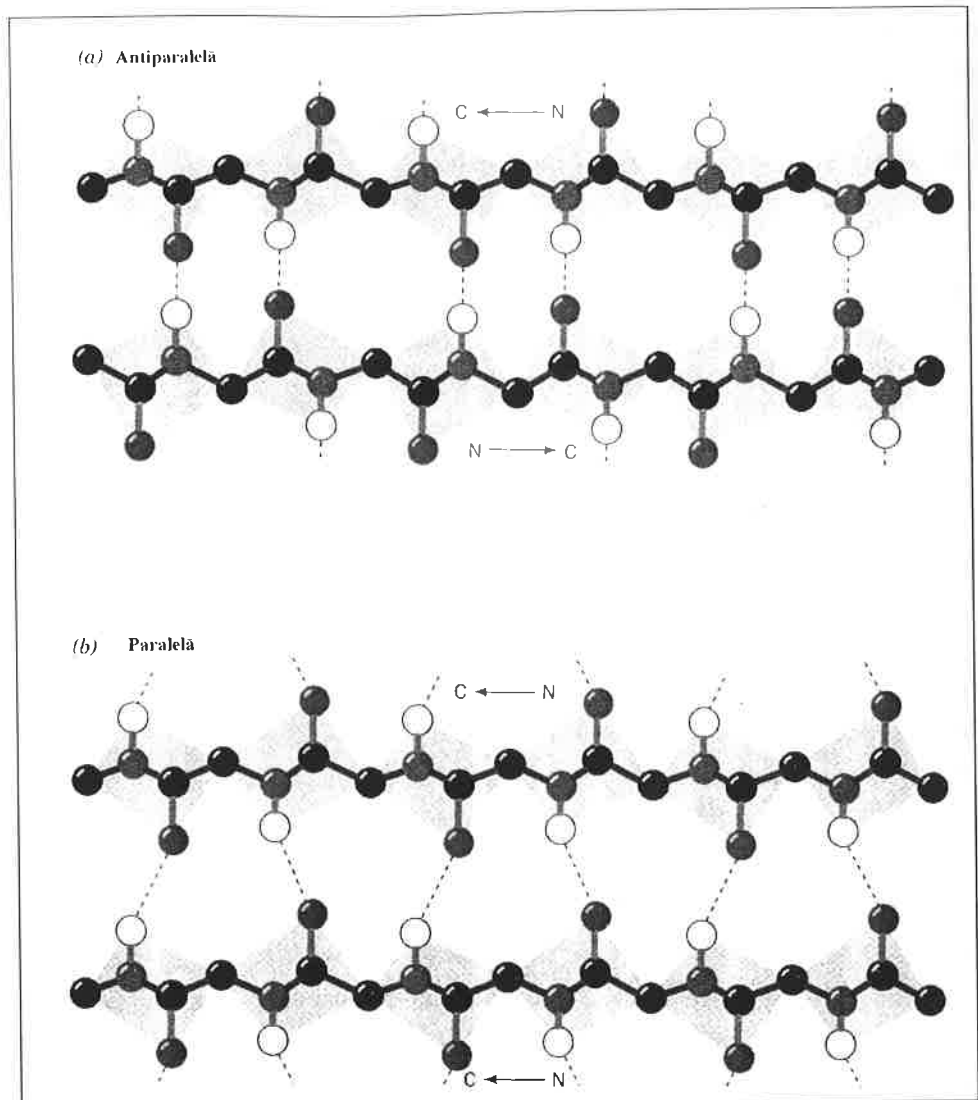


Figura 3.24. Formarea legăturilor de hidrogen în structuri β pliate

Este posibil ca aceasta să se datoreze distorsionării legăturilor de hidrogen comparativ cu cele din structura paralelă. De asemenea, în unele proteine, se întâlnesc și β structuri mixte paralelă-antiparalelă.

5.2.3. Structurile nerepetitive

Structurile secundare repetitive reprezentate de α helix și structură β pliată reprezintă circa jumătate dintr-o proteină globulară medie, restul fiind reprezentat de segmente polipeptidice nerepetitive care formează o conformație de buclă („coil”

sau „loop conformation”). Totuși, aceste structuri nu sunt mai puțin ordonate decât cele repetitive.

În proteine, porțiunile de catenă polipeptidică cu o anumită structură secundară repetitivă sunt legate cu fragmente care schimbă brusc direcția, numite „reverse turns” sau „ β bends” (numite așa pentru că de cele mai multe ori fac legătura între două structuri β antiparalele), care se găsesc în general la suprafața proteinelor. Acestea se mai cunosc și sub denumirea de bucle în formă de ac de păr („hairpin bends”).

Caracteristica esențială a acestor structuri este că sunt alcătuite din patru aminoacizi și că oxigenul carbonilic al restului de aminoacid n din prima legătură peptidică a acestui motiv formează o legătură de hidrogen cu hidrogenul iminic $n+4$ al celei de-a treia legături peptidice (ultima). Conformațiile acestor elemente de structură secundară variază în funcție de secvența în aminoacizi. S-a constatat că glicina și prolina se găsesc frecvent în β „bends”, datorită rolului de „balama flexibilă” a glicinei între regiuni de lanț polipeptidic, pe de o parte, și al restricțiilor conformaționale impuse de prolina pe de alta. La ora actuală, se apreciază că secvențele care conțin prolina contribuie la constituirea β „bends”. Este probabil ca formarea acestor structuri secundare nerepetitive în stadiile inițiale ale plierii proteinelor să determine asamblarea cooperativă a elementelor de β structură. Există două tipuri de structură β „bends”, care diferă prin valorile unghiurilor de torsiune:

$$\text{Tipul I cu : } \varphi_2 = 60^\circ, \psi_2 = -30^\circ \\ \varphi_3 = 90^\circ, \psi_3 = 0^\circ$$

$$\text{Tipul II cu: } \varphi_2 = 60^\circ, \psi_2 = 120^\circ \\ \varphi_3 = 90^\circ, \psi_3 = 0^\circ$$

Tipul I este considerat o formă distorsionată de helix 3_{10} , iar tipul II prezintă adeseori glicina în poziția 3. De asemenea, în ambele tipuri de β „bends”, al doilea rest de aminoacid este frecvent prolina.

Aproape toate proteinele cu mai mult de 60 de resturi de aminoacizi conțin elemente curbe alcătuite din 6 până la 16 unități constitutive, numite bucle Ω („ Ω loops”, pentru că au forma literei grecești omega), care pot conține β „bends” și care constituie entități globulare compacte, ale căror cavități sunt ocupate de catenele laterale ale aminoacizilor constituenți. Acestea se găsesc de regulă la suprafața proteinelor și probabil au rol în recunoașterea biologică.

Multe proteine prezintă regiuni dezordonate, care pot fi reprezentate de secvențe ce conțin aminoacizi cu radical ionizat la pH fiziologic, sau de capetele N-

și C-terminale, care sunt caracterizate de posibilitatea de a se mișca liber în soluție. Adeseori, aceste segmente polipeptidice au rol funcțional, respectiv, pot lega o moleculă specifică. Astfel, ele au o structură dezorganizată în absența ligandului și una organizată în prezența acestuia. Această flexibilitate asigură posibilitatea proteinei de a-și exercita funcția biologică.

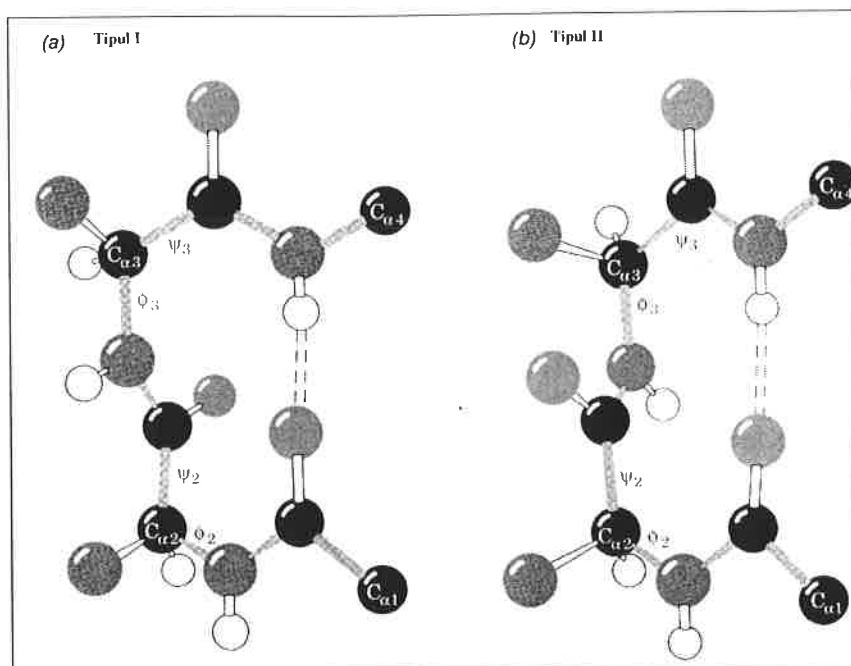


Figura 3.25. Tipuri de β „bends”

5.3. Structura terțiară

Din punct de vedere al conformației spațiale, proteinele pot fi globulare sau fibrilare. Proteinele fibrilare prezintă secvențe repetitive sau pseudorepetitive, care sunt răspunzătoare pentru conformația lor regulată, pe când cele globulare nu au o asemenea caracteristică a structurii primare. O structură primară unică determină o structură tridimensională unică care se formează prin plierea în spațiu a unei proteine.

Structura terțiară a unei proteine este aranjamentul tridimensional realizat prin plierea elementelor de structură secundară și interacțiile dintre catenele laterale ale aminoacizilor constituenți. Unitatea constitutivă a structurii terțiare este reprezentată de domeniu, care conține combinații de elemente de structură secundară, este alcătuit din circa 50-200 de resturi de aminocizi și prezintă un diametru de aproximativ 25 Å. Domeniile sunt unități independente din punct de

vedere structural și au caracteristicile unei proteine globulare mici. Proteinele de mici dimensiuni pot avea unul, două sau trei domenii. În schimb, titina, care este o proteină enormă din mușchi, de 3000 kilodaltoni, prezintă 260 de domenii. În cele mai multe proteine, catena polipeptidică se pliază pentru a forma un domeniu, după care trece printr-o regiune flexibilă, de tip „balama” și apoi se organizează următorul domeniu. Chiar când o proteină este alcătuită dintr-un singur domeniu, acesta conține adesea doi lobi între care se găsește o fosă. Multe proteine, de exemplu hemoglobina, constau din subunități de mărimea domeniilor globulare ale unor proteine de dimensiuni mici.

Domeniile structurale ale proteinelor sunt adeseori codificate de o singură secvență codantă de ADN, adică de un exon al unei gene de la eucariote. Domeniile de acest tip pot servi ca module mobile din punct de vedere evolutiv, care apar în noi proteine și se multiplică în timpul evoluției. Astfel, de exemplu, domenii structurale din imunoglobuline se găsesc nu numai în anticorpi ci și într-o serie de proteine de suprafață ale celulelor. La interfața dintre domenii se găsesc în principal aminoacizi nepolari, dar se formează și un număr mic de legături de hidrogen. Centrul catalitic activ al enzimelor este localizat de regulă la interfața dintre domenii. În timpul actului catalitic pot avea loc mișcări ale domeniilor și reorganizări ale legăturilor de hidrogen de la nivelul interfețelor. De asemenea, situsurile de legare a unor molecule mici, de tipul nicotinamid adenin dinucleotidului (NAD^+), se găsesc între două domenii ale unei proteine ce prezintă mai multe astfel de unități, ceea ce înseamnă că la acest proces participă grupări ale aminoacizilor prezenți în ambele domenii.

Prin studii de difracție cu raze X pe proteine cristalizate, s-a putut determina structura tridimensională a multor proteine și s-a observat că, în toate acestea, apar combinații de elemente de structură secundară cu aranjamente geometrice specifice, care se numesc superstructuri secundare sau motive.

Cele mai des întâlnite motive structurale sunt: helix-loop-helix, hairpin β , β - α - β .

În figura 3.26 sunt prezentate două variante ale motivului **helix-loop-helix**. În acest caz, două segmente α sunt legate printr-o regiune loop de lungime variabilă. Varianta (a) se întâlnește în proteinele ce se leagă la ADN (unul din segmentele helicale interacționează cu acidul nucleic) iar varianta (b) este asociată cu proteinele ce leagă calciu (un cation divalent de calciu se ancorează în mijlocul regiunii loop).

Motivul **hairpin β** prezintă două catene β , legate printr-o buclă de lungime variabilă, care pot fi antiparalele (Figura 3.27a) sau paralele (Figurile 3.27 b și c).

Conexiunea dintre catenele β se poate face spre dreapta (Figura 3.27 b), ceea ce se întâlnește mai frecvent, sau spre stânga (Figura 3.27 c).

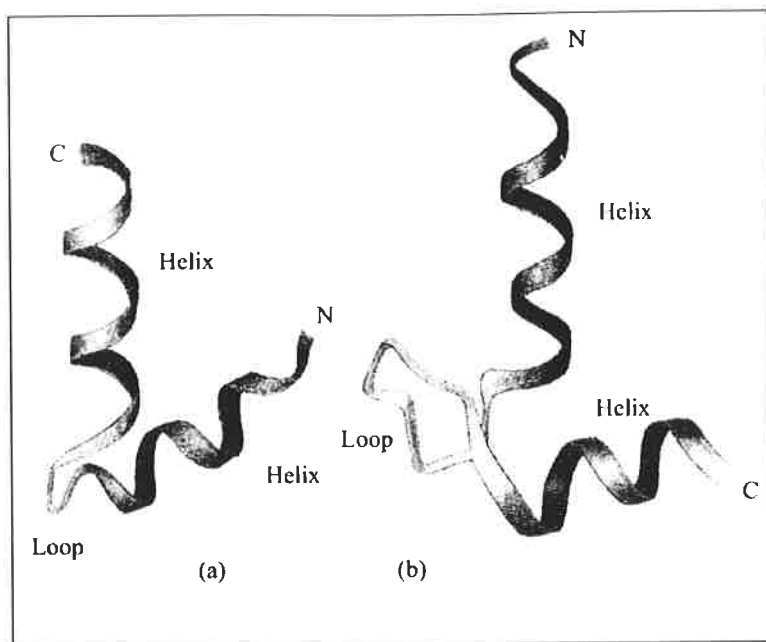


Figura 3.26. Variante ale motivului helix-loop-helix

Al treilea motiv, β - α - β , este constituit din două catene β paralele, legate spre dreapta cu un α helix (Figura 3.28).

În α keratină se întâlnește motivul α - α , în care două α helixuri cu polaritate diferită sunt legate direct (Figura 3.29).

În funcție de polaritatea lor, aminoacizii au o distribuție spațială diferită. Astfel, aminoacizii nepolari se găsesc în principal în interiorul proteinelor, fără să aibă contact cu solventul apos. Totuși, în unele cazuri, aceștia sunt prezenți și la suprafața externă, unde sunt aglomerați în regiuni hidrofobe, care constituie situsuri de interacție cu alte proteine sau lipide de la nivelul membranelor. Cei ionizați la pH fiziologic se găsesc în principal la suprafața proteinelor și interacționează cu solventul apos. Dacă aceștia se găsesc în interiorul proteinei, au o funcție bine definită, participând, de exemplu, la cataliza enzimatică sau la legarea unui ion metalic. În sfârșit, aminoacizii polari dar neionizați la pH fiziologic se găsesc distribuiți atât la suprafața proteinelor cât și în interiorul acestora, unde participă la formarea legăturilor de hidrogen cu alte grupări din interiorul acestora.

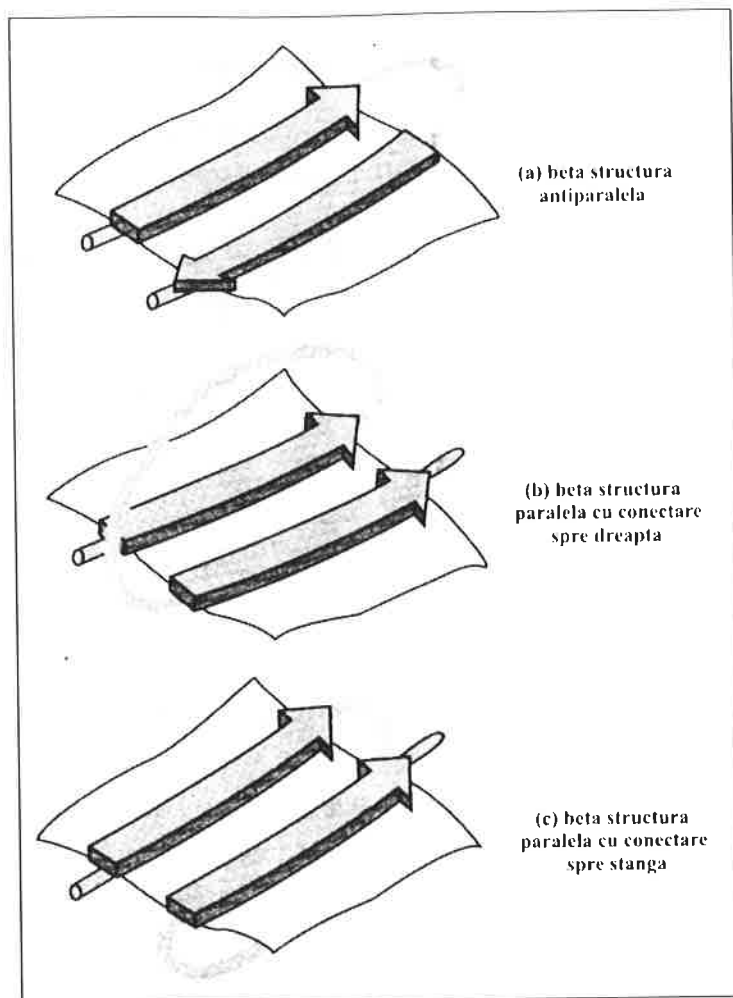


Figura 3.27. Motivul hairpin β

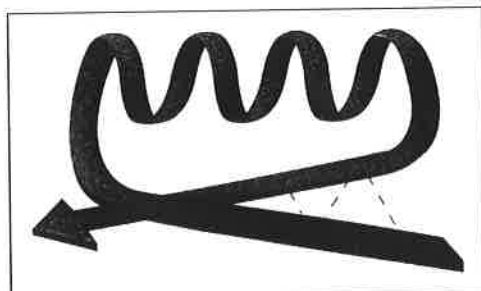


Figura 3.28. Motivul $\beta\beta$

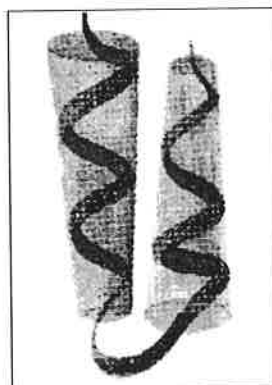


Figura 3.29. Motivul $\alpha\alpha$ din unele proteine

5.3.1. Forțele ce stabilizează structura terțiară

În urma plierii în spațiu a catenelor polipeptidice, resturile de aminoacizi aflate la distanță mare în cadrul structurii primare, devin învecinate iar catenele lor laterale interacționează. Tipurile de interacții care se pot stabili sunt:

Legături disulfurice, care sunt legături covalente, stabilite între resturi de cisteină apropiate în urma organizării spațiale a proteinei. Acestea stabilizează structura tridimensională a catenelor polipeptidice.

Interacții electrostatice ce se realizează prin interacții ionice (punțile saline) și prin interacții dipol-dipol. Interacțiile ionice se stabilesc între radicali ai aminoacizilor de semn contrar. Exemple de astfel de perechi de ioni sunt: Glu \cdots Lys sau Asp \cdots Arg. Radicalii ionizați ai aminoacizilor, fiind expuși la exteriorul moleculei proteice, sunt solvatați de moleculele de apă. Perechile de ioni de semn contrar care se găsesc mascate în miezul proteinelor globulare, contribuie însă la stabilizarea structurii terțiare, deși contribuția acestor interacții la stabilizarea structurii tridimensionale este mică.

Interacțiile dipol-dipol, care apar în dipoli induși și/sau permanenți ai unor molecule neutre din punct de vedere electric, sunt cunoscute sub denumirea de forțe van der Waals. Datorită faptului că grupările carbonil și imino ale legăturilor peptidice sunt dipoli permanenți, pe lângă legăturile de hidrogen, datorită câmpurilor electrice reziduale acestea interacționează și prin forțe van der Waals. De asemenea, dipolii permanenți induc un moment de dipol în grupări vecine, ceea ce determină apariția unor forțe de atracție. Aceste interacții sunt mult mai slabe decât cele ionice, variază cu r^{-3} , astfel încât diminuează cu creșterea distanței. De altfel, orice moleculă neutră din punct de vedere electric are un moment de dipol mic rezultat din mișcarea rapidă a electronilor. Acest moment de dipol tranzitoriu polarizează electronii din grupările învecinate generând un moment de dipol (Figura 3.30 c) care determină atragerea grupărilor una de către cealaltă. Acestea sunt forțe de dispersie London, care sunt extrem de slabe (energia de asociere este proporțională cu r^{-6}). Numărul mare de contacte interatomice în proteine fac ca forțele London să influențeze major conformația acestora. În miezul proteic cu constantă dielectrică scăzută, interacțiile dipol-dipol influențază semnificativ plierea proteinelor.

Legăturile de hidrogen iau naștere între un rest cu o grupare donor slab acidă (D-H) și un alt rest cu un atom acceptor (A), care conține o pereche de electroni neparticipanți. În sistemele biologice, A poate fi C, N și S. Legăturile de hidrogen sunt mai puternice decât cele van der Waals, dar mai slabe decât punțile

saline și legăturile covalente (Figura 3.31). Astfel de legături se pot forma între resturile Ser...Ser, Asn...Ser, Gln...Cys, etc.

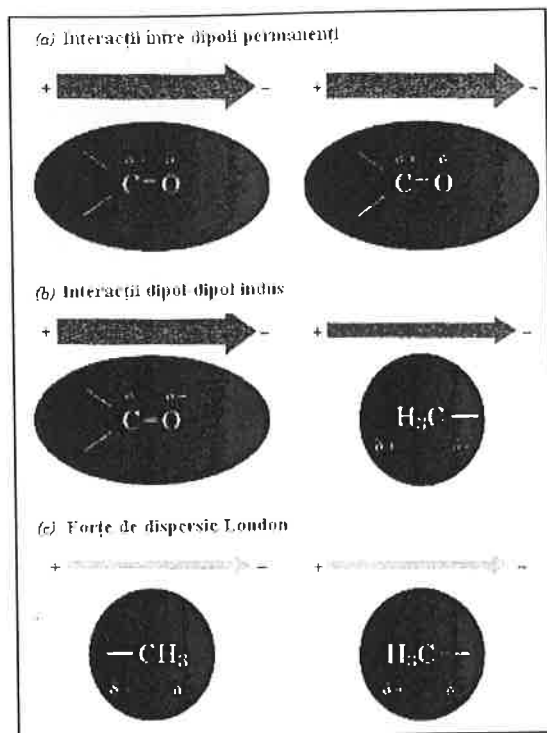


Figura 3.30. Interacțiile dipol-dipol. Intensitatea dipolului este reprezentată de grosimea săgeții (a) Interacții dipol-dipol (b) Interacții dipol-dipol indus (c) Forțe de dispersie London

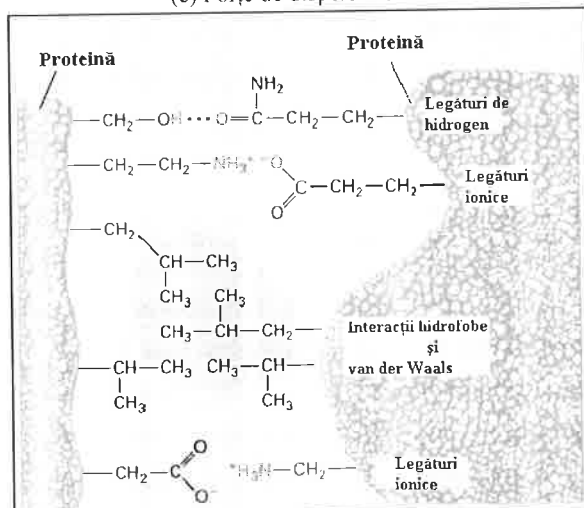


Figura 3.31. Tipuri de interacții care stabilizează structura tridimensională a proteinelor

În proteine, multe legături de hidrogen sunt membre ale unei rețele în care fiecare donator interacționează cu acceptori multipli și fiecare acceptor formează legături de hidrogen cu mai mulți donori. Legăturile de hidrogen interne din proteine se formează astfel încât ia naștere numărul lor maxim posibil. În solvenți apoși, proteinele complet nepliate formează legături de hidrogen cu moleculele de apă.

Legăturile de hidrogen interne constituie o bază structurală pentru plierea catenelor polipeptidice.

Forțele hidrofobe sunt cele ce determină substanțele nepolare să își minimizeze contactul cu apa și moleculele amfipatice (cu o parte polară și una apolară) să formeze micle în soluții apoase. Datorită faptului că proteinele nepolare sunt departe de contactul cu moleculele de apă, interacțiile hidrofobe sunt importante pentru structura proteinelor.

Deși aceste forțe sunt mai slabe și decât forțele van der Waals, în ansamblurile moleculare care implică un număr mare de contacte nepolare, ele constituie o reală forță și influențează major plierea proteinelor în conformația nativă.

În interiorul moleculelor proteice, catenele laterale ale aminoacizilor sunt împachetate foarte strâns. Eventualele fose existente sunt umplute cu molecule de apă. Densitatea de împachetare (raportul dintre volumul învelișurilor van der Waals ale atomilor dintr-o regiune și volumul total al regiunii) în interiorul proteinelor globulare este de aproximativ 0,75. Această valoare este de același ordin de mărime cu cea corespunzătoare cristalelor moleculare formate de molecule organice mici. De aceea s-a tras concluzia că interiorul unei proteine este asemănător cu un cristal molecular, bine împachetat. Totuși, regiunile cu multe legături de hidrogen sunt împachetate mai lax.

5.4. Structura cuaternară a proteinelor

Deși multe proteine globulare funcționează ca monomeri, în sistemele biologice există un număr imens de exemple de ansambluri proteice complexe.

Structura cuaternară a proteinelor reprezintă asocierea ordonată a subunităților globulare pentru a forma un agregat funcțional. Aceasta implică două tipuri de ansambluri proteice:

Primul tip, în care subunitățile sunt, din punct de vedere structural, foarte diferite, iar organizarea lor spațială depinde de natura specifică a interacțiilor dintre

subunitățile diferite. În general, aceste ansambluri prezintă forme geometrice foarte neregulate.

Al doilea tip, în care agregatele moleculare sunt alcătuite din copii multiple ale unuia sau mai multor tipuri de subunități diferite. Datorită recurenței interacțiilor structurale specifice dintre subunități, asemenea agregate formează, în general, aranjamente regulate din punct de vedere geometric.

Proteinele alcătuite din subunități identice se numesc oligomere, iar subunitățile respective se numesc protomeri. Un protomer poate fi constituit dintr-un singur lanț polipeptidic sau din mai multe lanțuri diferite. Astfel, hemoglobina, care este alcătuită din două catene polipeptidice de α -globină și două de β -globină ($\alpha_2\beta_2$), poate fi considerată un dimer alcătuit din doi protomeri $\alpha\beta$.

Legăturile care se stabilesc între subunitățile dintre ambele tipuri de ansambluri proteice sunt: hidrofobe, de hidrogen și uneori sub formă de punți disulfurice.

Având în vedere că proteinele sunt compuși fundamental asimetrici (pentru că sunt alcătuite numai din L-aminoacizi), este evident că cel mai simplu model de structură cuaternară este formarea agregatelor liniare (Figura 3.32 a, b). Formarea unor asemenea agregate se realizează în urma repetiției unui singur tip de interacție structurală specifică dintre unitățile identice, adiacente ale ansamblului.

O altă modalitate de aranjare pentru acest nivel de organizare a proteinelor este simetria ciclică sau rotațională. În urma asocierii subunităților rezultă structuri plate (Figura 3.33 a-e) sau poliedrale (Figura 3.33 f, g). Moleculele simetrice cu structură plată sunt de regulă dimeri sau trimeri. Agregatele mai mari, sunt în general poliedrice, ceea ce dovedește existența mai multor tipuri de interacții intermoleculare între subunitățile. De asemenea, acestea încorporează un număr fix de copii ale unei subunități, spre deosebire de agregatele liniare și cu simetrie helicală.

Destul de frecvent, se observă și aranjamente helicale ale subunităților moleculare identice (Figura 3.32 c, d). Agregatele moleculare helicale sunt, în general, asociate cu structurile ce au proprietatea de autoasamblare și se întâlnesc în învelișul proteic al virusurilor filamentoase, unde formează un container cilindric în care este adăpostit acidul nucleic viral (Figura 3.34). Datorită faptului că învelișul este rezultatul interacției a numeroase copii ale aceleiași proteine, acest aranjament reprezintă o utilizare foarte eficientă a informației conținute în acidul nucleic viral (Figura 3.34).

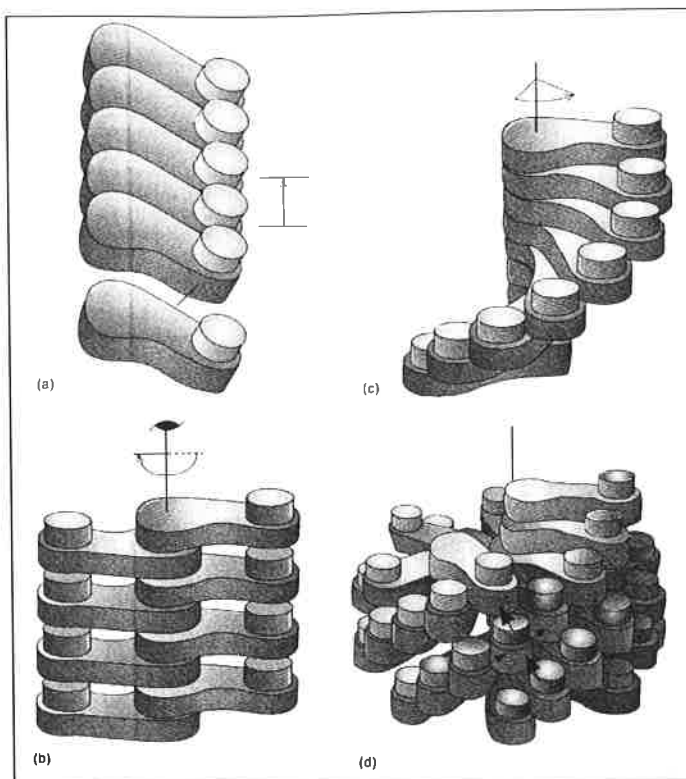


Figura 3.32. Agregate proteice cu structură cuaternară liniară sau helicală

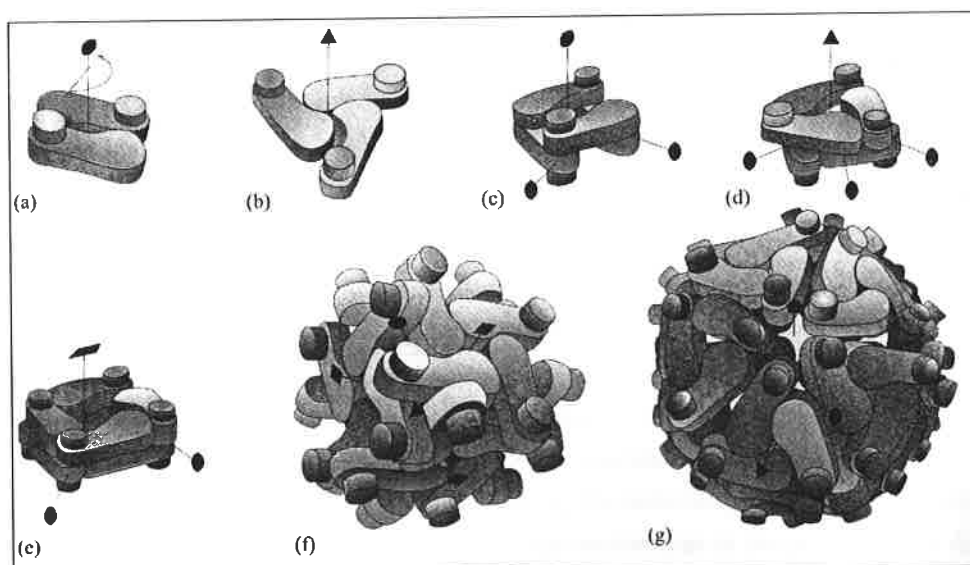


Figura 3.33. Tipuri de structuri cuaternare cu simetrie rotațională și poliedrică

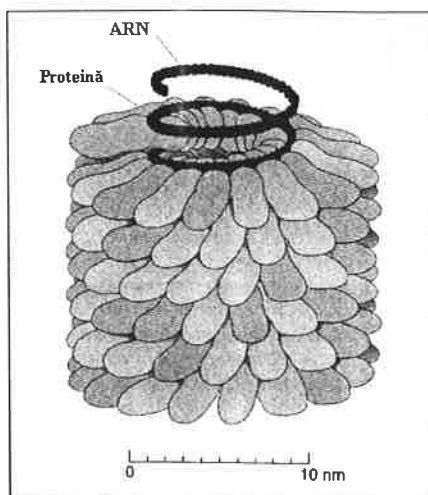


Figura 3.34. Structura nucleocapsidei virusului mozaicului tutunului

Structurile cuaternare helicale și poliedrice joacă un rol central în autoasamblarea structurilor biologice de dimensiuni foarte mari pornind de la subunități identice. Stabilizarea acestora se realizează atunci când toate subunitățile interacționează în mod similar din punct de vedere geometric, precum ionii într-un cristal

de sare. Interacțiunile din cadrul structurii cuaternare nu sunt simetrice sau echivalente chiar dacă au loc între subunități identice. Cel mai simplu tip de neechivalență se înregistrează la unele contacte între dimeri, unde catenele laterale ale unor aminoacizi individuali situate în apropierea axei de simetrie sunt forțate să adopte poziții diferite pentru a evita unele suprapuneri sterice.

Formarea agregatelor din subunități are consecințe funcționale foarte importante. Interacțiunile de la nivelul suprafețelor de contact permit o modalitate de comunicare între subunitățile individuale. Evenimentul produs atunci când o subunitate din agregat interacționează cu un ligand sau un substrat se propagă și la nivelul celorlalte subunități. Asemenea interacții constituie baza fenomenului de cooperativitate în sistemele biochimice și permit o serie de mecanisme de control pentru reglarea proceselor biochimice.

6. Corelații între structura primară și conformația unei proteine

Structurile secundară și terțiară sunt determinate de structura primară, ceea ce este o confirmare a faptului că conformația pliată nativă este structura cea mai stabilă ce se poate forma. Pornind de la aceasta, teoretic este posibil să se realizeze anticiparea structurii proteinei pornindu-se de la secvența de aminoacizi. Practic, acest tip de predicție, rămâne un deziderat încă greu de atins. La ora actuală, având în vedere că un număr mare de proteine conțin un număr mic de tipuri de domenii, este posibil să se prezică structura unora, folosind informațiile acumulate din studiile de difracție cu raze X ale proteinelor înrudite.