

Auto-asamblarea entitatilor biologice alcatuite din subunitati proteice

Procesul de formare spontana a ansamblurilor macromoleculare poarta denumirea de autoasamblare. Autoasamblarea unei serii de structuri subcelulare ca ,filamentele musculare si de colagen , a ribozomilor , virusilor este bine cunoscuta. Exista variante ale procesului de asamblare , care opereaza in cazul unor structuri mai complexe , o asamblare secventiala , in care inglobarea componentilor respecta o ordine precisa , sau , asamblare dirijata , care este asistata de interventia unor proteine care nu intra in alcatuirea structurii finale. Subansamblurile care , ele insele , au o oarecare complexitate , se realizeaza prin autoasamblare secventiala : inglobarea unui nou tip de component fiind conditionata intotdeauna de incheierea etapei anterioare . Probabil energia rezultata prin asocieri in etapa precedenta este folosita pentru a cobori bariera de energie care ar exista , astfel , in calea formarii complexului urmator. Natura secventiala a cailor de realizare a celor trei subansambluri este garantata de proprietatile structurale ale intermediarilor insasi , obtinandu-se astfel o forma perfectionata de autoasamblare. S-a ajuns la concluzia ca elementele care deosebesc organismele intre ele sunt proteine specifice pe care organismul si le poate sintetiza. Putem anticipa ca bagajul ereditar al organismului trebuie sa contina tocmai informatiile asupra modului in care sa fie constituite proteinele specifice. Pentru aceasta este suficient sa se specifice ordinea aminoacizilor in lanturile liniare proteice intrucat aceasta ordine determina structura si functia proteinei.

Structura macromoleculor biologice comporta patru nivele de organizare

Vom cerceta macromoleculele individuale , facand o prezentare a factorilor , care , in conditiile existente in celula , determina structura tridimensionala nativa a acestora. Dintre cele doua categorii de macromolecule informationale , acizii nucleici si proteinele , cele din urma ofera obiectul de studiu cel mai interesant , intrucat mecanismele moleculare prin care se materializeaza informatia genetica in proteina functionala , sunt bine determinate. Principiile care se desprind din studiul acestor mecanisme , au o valabilitate generala. Ele stau la baza intelegerii relatiei dintre structura si functiile acizilor nucleici , precum si a proprietatilor entitatilor biologice superioare.

O trasatura comuna a tuturor macromoleculor o reprezinta faptul ca ambele sunt polimeri liniari , neramificati. Individualitatea chimica a macro-moleculor se realizeaza prin legaturi covalente. Acestea sunt cele mai tari interactiuni pe care le intalnim in studiul structurilor biologice. Structura covalenta impune o limita fundamentala asupra structurii finale a macromoleculor , prin specificarea numarului , tipului si succesiunii unitatilor monomerice constituinte.

Pe de alta parte , descrierea mai completa a structurii prin care se specifica si orientarea grupurilor chimice care sunt capabile sa execute rotatii in jurul unor legaturi chimice , constituie conformatia moleculei. Referindu-ne la unitatile monomeric care intra in alcatuirea proteinelor si a acizilor nucleici , structura lor chimica este cunoscuta la rezolutia atomica.

Lantul polimerilor biologici sunt sintetizati in celula. Se poate presupune ca in lantul proaspat sintetizat , relatia spatiala dintre diferitele sale regiuni este intamplatoare. Aceasta conformatie dezordonata poarta numele de ghem haotic.

Polimerii biologici adopta in urma optimizarii tuturor interactiunilor la care participa unitatile monometrice si mediul , o conformatie finala stabila , unic delimitata de catre structura sa covalenta si mediul apos al celulei. Aceasta poarta numele de conformatie nativa.

Structura polimerilor biologici se analizeaza la urmatoarele patru nivele de organizare , de o complexitate ascendenta:

a)Structura primara care reprezinta structura covalenta a polimerului biologic. Avand in vedere faptul ca structura unitatilor monomerice constituente este cunoscuta , pentru a defini structura primara a polimerului biologic este suficient a indica secventa unitatilor monomerice. In cazul proteinelor se indica succesiunea aminoacizilor incepand , in mod conventional , cu terminalul amino liber , specificant totodata pozitia eventualelor punti disulfidice realizate de aminoacizii precum cisteina.

b)Structura secundara se refera la conformatia locala a polimerului care se realizeaza pe baza de interactiuni intre vecini apropiati.

In cazul structurii secundare se indica regiuni in care unitatile monomerice succesive alcatuiesc structuri tridimensionale periodice , regulate. Polimerii liniari de tip "cap-la-coada" alcatuiti din subunitati monomerice asimetrice , ca proteinele si acizii nucleici , singurul tip posibil de structura este helixul. Forma extrinseca a polimerilor biologici este de asemenea un caz particular de helix.

c)Structura terciara descrie aranjamentul tridimensional precis al monomerilor si reprezinta , de obicei , o unitate structurala compacta , indivizibila. Chiar daca lantul polipeptidic nu are regiuni cu structura secundara regulata , este posibil ca el sa adopte o structura terciara compacta , bine definita. Cunoasterea conformatiei a macromoleculelor biologice este fundamentala in studierea mecanismelor lor de functionare.

d)Structura cuaternara reprezinta asocierea necovalenta a unui numar de unitati de structura terciara.

ORGANIZAREA ANSAMBLURILOR MACROMOLECULARE

Principii generale

In acest subtitlu vom examina proprietatile unor structuri de tipul enzimelor oligomerice si a complexelor multienzimatice , a filamentelor musculare de actina si miozina , sau a invelisurilor virusilor. Toate aceste structuri reprezinta ansambluri necovalente de proteine ce preponderenta structurale , modele de ansambluri mai complexe , la care participa alaturi de proteine si alti componentii celulari : acizi nucleici , glucide , lipide.

Constructia entitatilor biologice de acest tip se realizeaza cu respectarea urmatoarelor principii generale :

a)Ansamblurile macromoleculare sunt alcatuite din subunitati , de obicei identice.

b)structurile formate sunt cele mai stabile din punct de vedere termodinamic. Acesta inseamna ca procesul de autoasamblare decurge spontan.

c)Informatia privind modul de asamblare a subunitatilor este continuta , de regula , in structura subunitatii insasi.

PRINCIPIUL AUTOASAMBLARII

Stabilirea maxima a structurilor alcatuite din subunitati identice se realizeaza atunci cand subunitatile ocupa in structura pozitii echivalente. Aceasta proprietate elementara se datoreaza faptului ca in aceste conditii se formeaza numar maxim de contacte (interactiuni) care se repeta intr-o maniera sistematica. Procesul de autoasamblare este asemanator cresterii unui cristal. Ca si etapele ulterioare biosintezei proteinei , procesul autoasamblarii este controlat termodinamic. Toate aceste etape se inscriu in tendinta sistemului spre adoptarea unei stari de stabilitate termodinamica maxima. Informatia necesara procesului de autoasamblare este continuta in structura subunitatii si mediul apos , de compozitie bine definita , al celulei. Informatia din prima categorie este reprezentata de dispunerea spatiala specializata a gruparilor capabile sa realizeze contacte , care este dictata de structura primara a macromoleculii , deci de informatia genetica. Autoasamblarea se incadreaza in fenomenul de recunoastere moleculara.

Principiul autoasamblarii a fost demonstrat in cazul enzimelor , fibrelor musculare , colagenului , flagelei bacteriei particulelor submitocondriale, ribozomilor , nucleohistonelor. De exemplu , daca fibra musculara este tratata cu o solutie de KCl de tarie ionica ridicata , filamentele musculare "groase" , de miozina , se depolimerizeaza si pot fi extrase sub forma unei solutii limpezi de macromoleculi. Daca taria ionica este redusa prin diluarea solutiei cu apa , filamentele de miozina se refac prin autoasamblare. Autoasamblarea filamentelor musculare "subtiri" , de actina , proteina globulara cu masa moleculara 4500 , poate fi , de asemenea realizata. Polimerizarea poate fi urmarita folosind tehnici de birefringenta , de imprastiere a luminii sau de microscopie electronica.

Specificitatea asocierii poate fi demonstrata elegant pornind de la un amestec de enzime oligomerice dissociate. La ajustarea conditiilor de mediu , structura cuaternara este recunoscuta in paralel de catre toate enzimele , demonstrand interventia proceselor de recunoastere moleculara in autoasamblare.

Ribozomul si nucleosomul sunt complexe nucleo-proteice. Ribozomul procariotelor (eucariotelor) este alcatuit din 55 (70) proteine diferite , in cate un singur exemplar si 3 (4) tipuri de rARN , masa moleculara a ansamblului ridicandu-se la 2,7 (4,5) milioane. Ansamblul ribozomului se desfasoara spontan. Ribozomul poate fi reconstituit in vitro , cu conditia sa fie prezenti toti componentii. Ca si in cazurile de mai sus , autoasamblarea este promovata de complementaritatea structurilor , bine definite , ale subunitatilor proteice si de rARN , sub aspectul legaturilor de hidrogen si a interactiunilor hidrofobe. Autoasamblarea decurge intr-o ordine precisa , in sensul ca anumite proteine se combina cu rARN inainte de interactiunea cu celelalte. De asemenea , in asamblare se manifesta cooperativitatea , in sensul ca aditia anumitor proteine la particula in crestere faciliteaza legea urmatoare. Din cele 55 de proteine ale ribozomilor procariot a fost studiata structura primara a aproximativ 33 dintre ele. Este interesant ca proteinele ribozomale din specii diferite nu au secvente omoloage , demonstrand ca ele nu au o origine evolutionara comuna. Cu toate acestea , evolutia acestor proteine manifesta convergenta la nivelul functiei lor : ribozomii asamblati pornind de la componentii provenind de la specii diferite sunt functionali. Este evident ca acesti componentii trebuie sa aiba structuri secundare si tertiare foarte asemanatoare.

Studiul virusilor a completat cunostintele noastre privind procesul de autoasamblare. In unele situatii , mecanismul simplu de asociere prezentat mai sus este neadecvat. Este vorba de cazurile in care produsul polimerizarii trebuie sa aiba o marime finita , bine definita , sau o arhitectura mai complexa. De exemplu , lungimea virusului cilindric mozaicului tutunului este controlata de lungimea moleculei de ARN a virusului , care ia parte la procesul de asamblare. Realizarea structurii virusului T4 consta dintr-o serie de linii de subasamblare , cu participarea unor enzime si proteine specializate , care nu fac parte din structura finala. Acest proces ilustreaza faptul ca asamblarea structurilor de o complexitate mai mare necesita controlul suplimentar exercitat de produsii altor gene.

Structurile tuturor constituintilor ansamblului precum si cele ale moleculelor care isi dau concursul la realizarea structurilor sunt , la origine , codificate genetic. Scurgerea informatiei de-a lungul acestui parcurs este unidirectionala , in acord cu "dogma centrala " a

biofizicii moleculare. La fiecare etapa a acestui parcurs , materializarea informatiei in structura implica procese de recunoastere moleculara.

ORGANIZAREA SUPRAMOLECULARA A MATERIEI VII

Problema generala a organizarii materiei vii include biosinteza multitudinii de componentii moleculari si asamblarea acestor molecule in structuri ordonate formand organitele , celulele si , in ultima instanta , intreg organismul. Ambele aspecte sunt de importanta fundamentala , dar biosinteza , fiind o problema predominant biochimica , nu ne vom referi in continuare decat la formarea de structuri organizate de componentii moleculari existenti. Aceasta problema a “constructiei ” materiei vii din “caramizi” si “accesorii” macromoleculare se refera in mod evident nu numai la procesele morfogenetice dintr-un organism actual , ci si la etapa de inceput a aparitiei vietii : trecerea de la evolutia chimica a materiei , la primele stadii ale biogenezei.

Achizitia fundamentala pentru rezolvarea acestei probleme este intelegere faptului ca asamblarea moleculelor biopolimerice in structuri de nivel superior este un proces de “ autoasamblare” , care decurge in tendinta fiecarei molecule de a ajunge in pozitia corespunzatoare minimului de energie libera , posibil in conditiile date . Ansamblurile moleculare tind sa se gaseasca in starea cu energie minima compatibila cu “ constrangerile ” , adica cu barierele energetice existente in sistem . Tocmai ansamblul acestor constrangeri defineste caracterul disipativ al structurii .

Trebuie retinut faptul ca autoasamblarea lipidelor si a proteinelor pe baza efectului hidrofob permite ca structurile astfel formate sa fie cvasifluide si deformabile , deoarece intre molecule nu se exercita forte de atractie care sa le tina in pozitii rigid determinate.

Bibliografie :

- PROF. DOC. DR. TUDOR PORUMB “Elemente de biofizica moleculara”
- LECTOR UNIV. D. G. MARGINEANU “Biofizica”