



Ελληνική Δημοκρατία  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Ηπείρου

# Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 6: Ένζυμα, αναστολείς, μηχανισμοί  
δράσης

Γεώργιος Παπαδόπουλος



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων

## Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 6: Ένζυμα, αναστολείς, μηχανισμοί δράσης

Γεώργιος Παπαδόπουλος

Καθηγητής

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



# Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





# Χρηματοδότηση

- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «**Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση**» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο ΤΕΙ Ηπείρου**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.



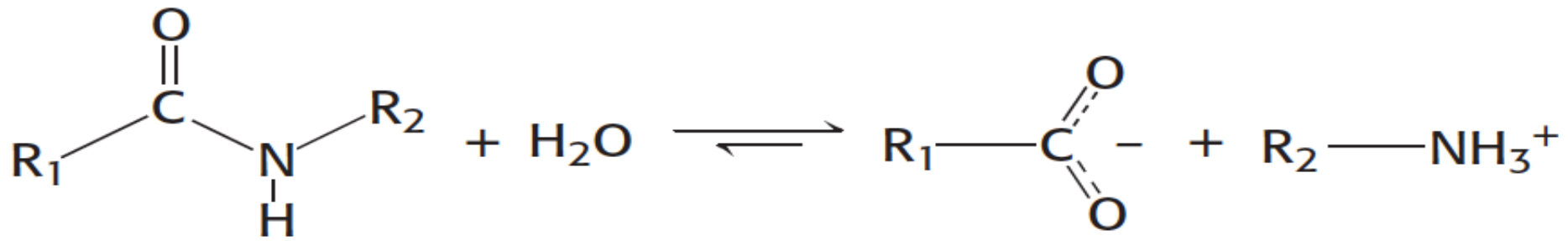
Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

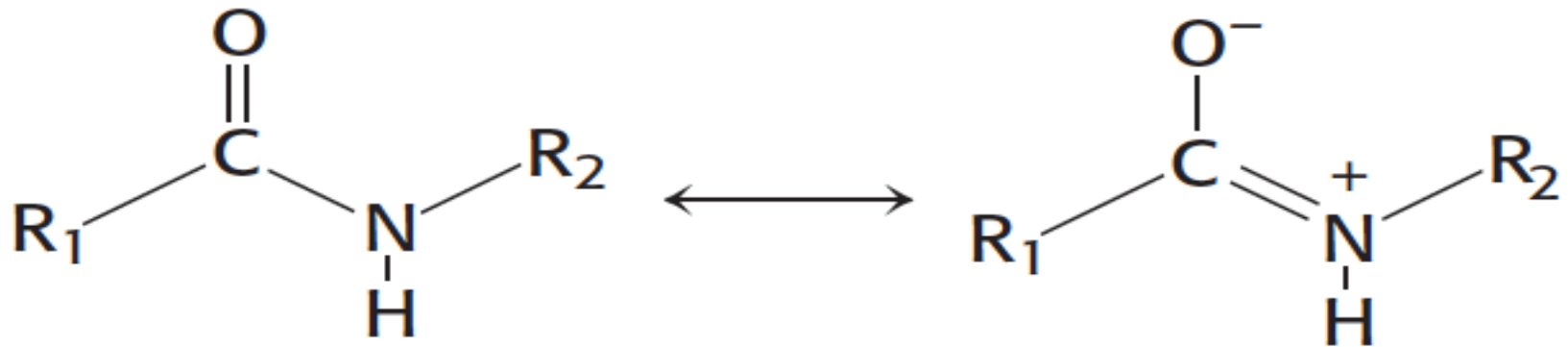


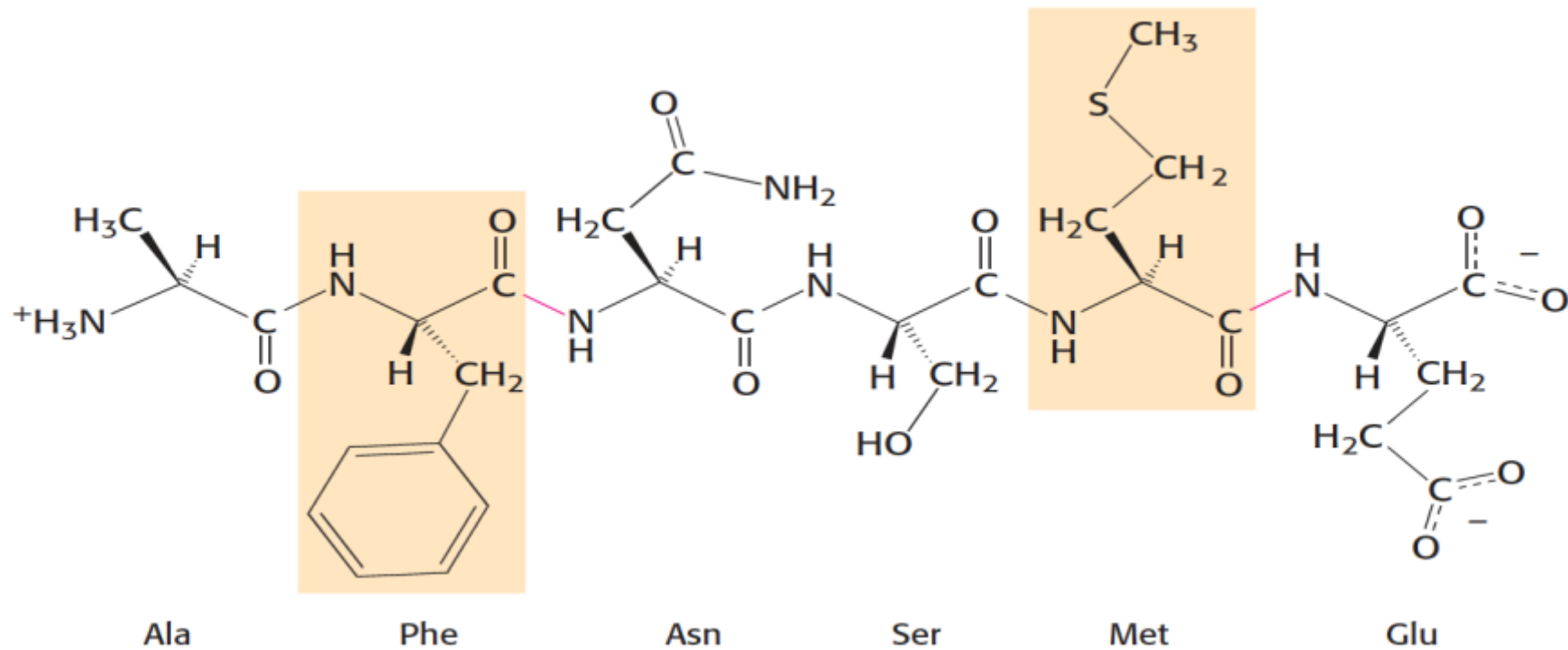
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



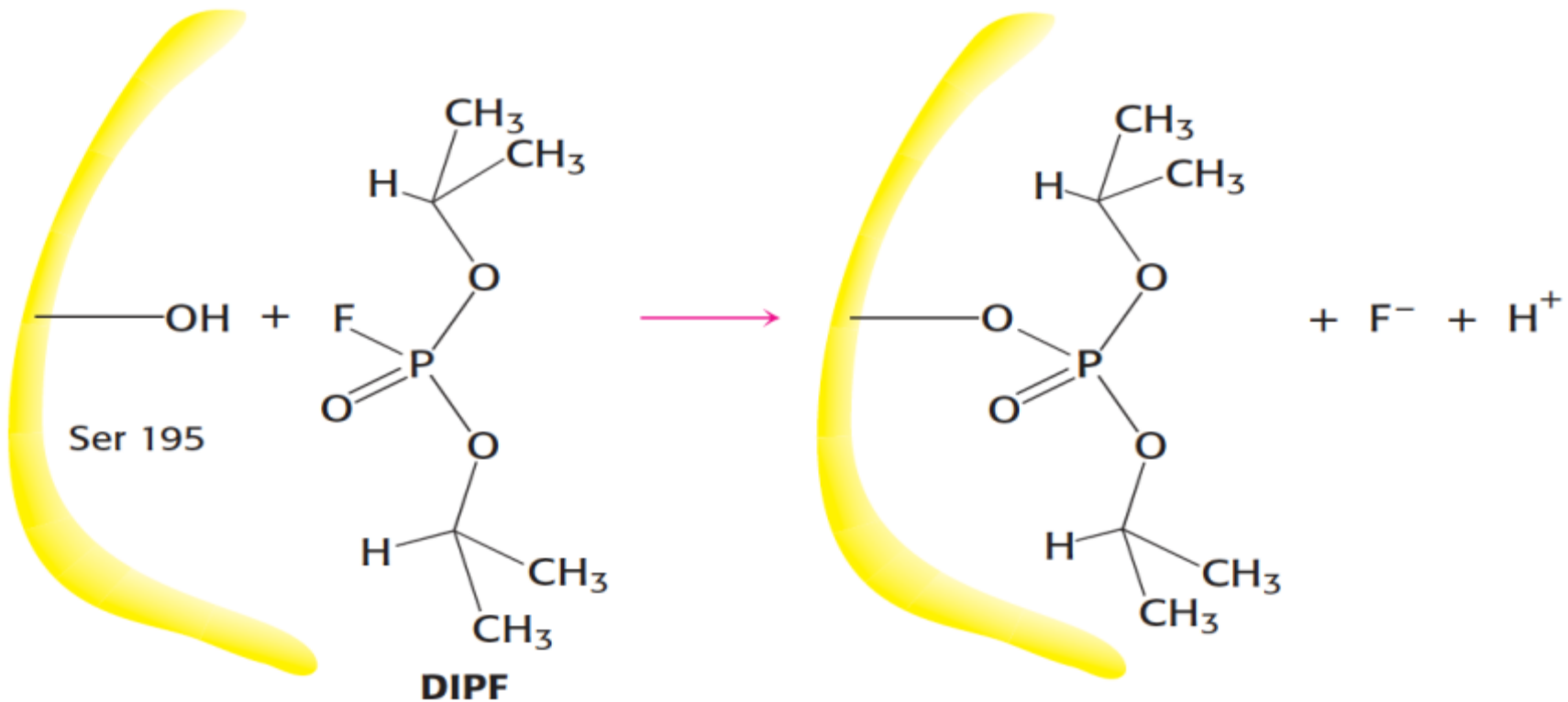






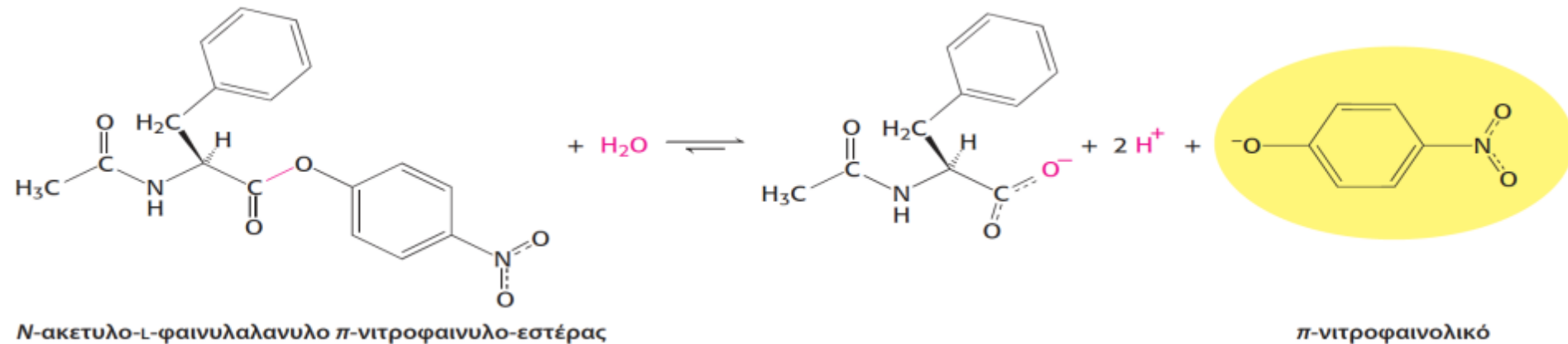
**Εικόνα 9.1 Εξειδίκευση της χυμοθρυψίνης.**

Η χυμοθρυψίνη διασπά πρωτεΐνες στην καρβοξυλική πλευρά αρωματικών ή μεγάλων υδρόφοβων αμινοξέων (σκιασμένα με πορτοκαλί). Οι δεσμοί που πιθανώς διασπώνται δείχνονται με κόκκινο.



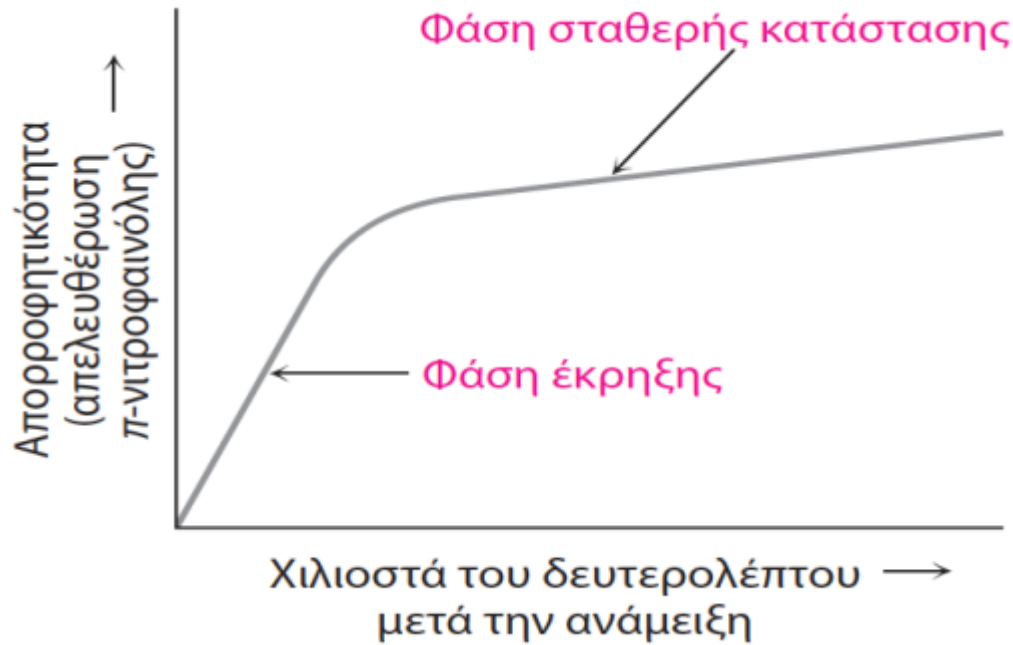
**Εικόνα 9.2** Μια ασυνήθιστα δραστική σερίνη της χυμοθρυψίνης. Η χυμοθρυψίνη απενεργοποιείται κατόπιν επεξεργασίας με διισοπροπυλοφωσφορικό (DIFP), το οποίο αντιδρά με τη σερίνη 195 ανάμεσα στα 28 πιθανά κατάλοιπα σερίνης.



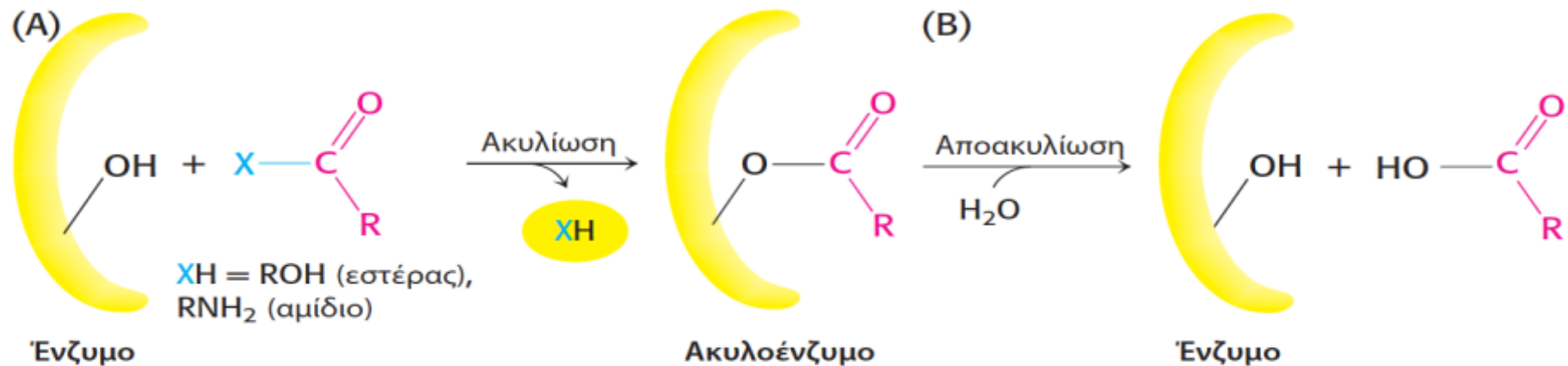


### Εικόνα 9.3 Χρωμογόνο υπόστρωμα.

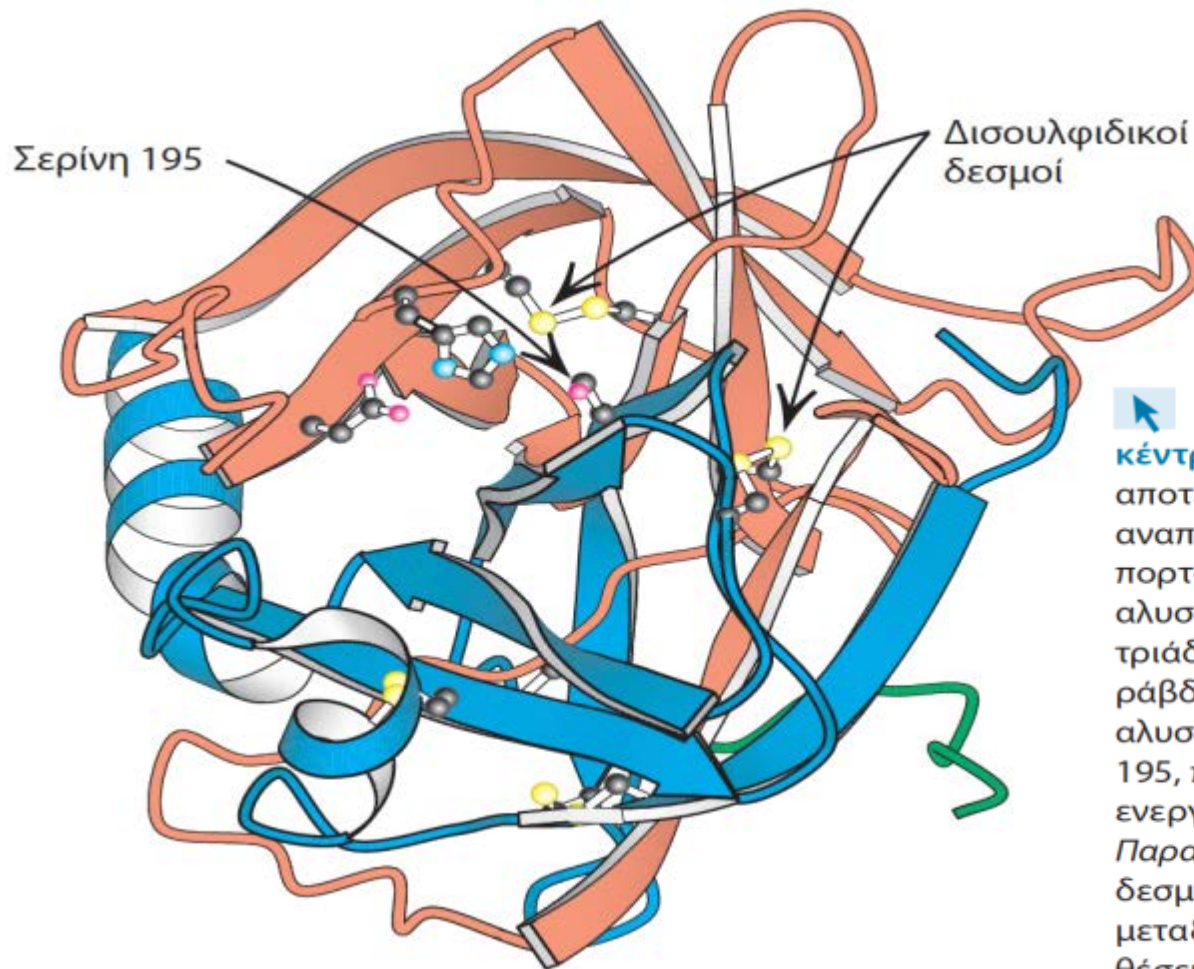
Ο *N*-ακετυλο-*L*-φαινυλαλανυλο-*π*-νιτροφαινυλο-εστέρας παράγει ένα έγχρωμο προϊόν, το *π*-νιτροφαινολικό, όταν διασπάται από τη χυμοθρυψίνη. Το *π*-νιτροφαινολικό σχηματίζεται από την αποπρωτονίωση της *π*-νιτροφαινόλης σε pH 7.



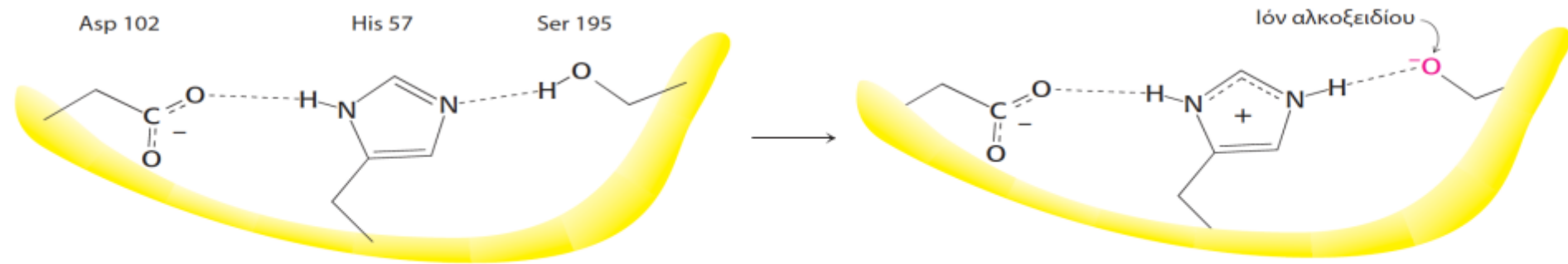
**Εικόνα 9.4 Κινητική της κατάλυσης της χυμοθρυψίνης.** Είναι εμφανείς δύο φάσεις στη διάσπαση του *N*-ακετυλο-*L*-φαινυλαλανυλο-*π*-νιτροφαινυλο-εστέρα από τη χυμοθρυψίνη: μια φάση ταχείας έκρηξης (προ-σταθερής κατάστασης) και μια φάση σταθερής κατάστασης.



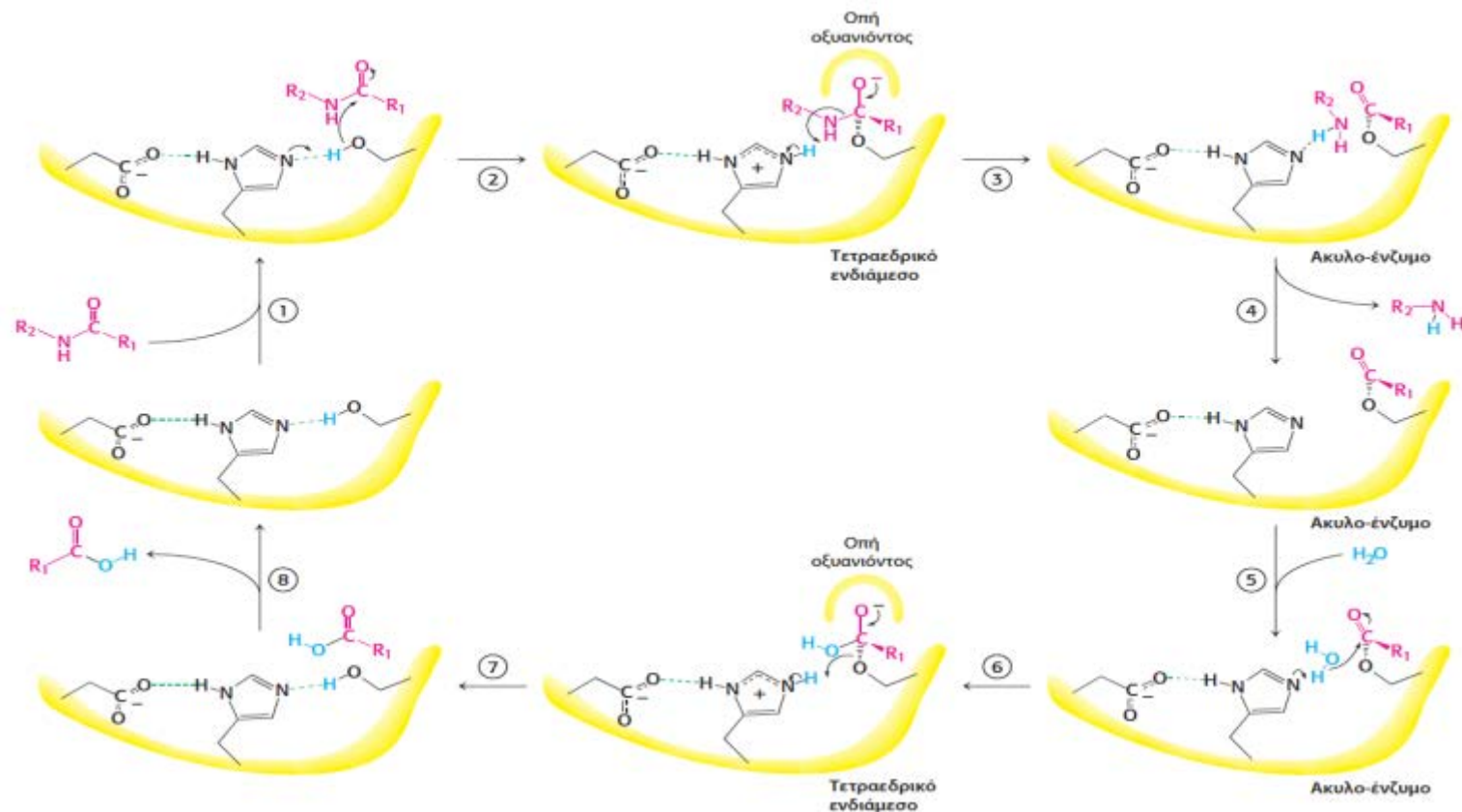
**Εικόνα 9.5 Ομοιοπολική κατάλυση.** Η υδρόλυση από τη χυμοθρυψίνη λαμβάνει χώρα σε δύο φάσεις: (A) ακυλίωση για να σχηματιστεί το ενδιάμεσο του ακυλοενζύμου ακολουθούμενη από (B) αποακυλίωση για να αναπαραχθεί το ελεύθερο ένζυμο.



**Εικόνα 9.6** Θέση του ενεργού κέντρου της χυμοθρυψίνης. Η χυμοθρυψίνη αποτελείται από τρεις αλυσίδες που αναπαρίστανται με μορφή κορδέλας με πορτοκαλί, μπλε και πράσινο. Οι πλευρικές αλυσίδες των καταλοίπων της καταλυτικής τριάδας παριστάνονται με σφαίρες και ράβδους. Παρατηρήστε αυτές τις πλευρικές αλυσίδες, συμπεριλαμβανομένης της σερίνης 195, που είναι ευθυγραμμισμένες στο ενεργό κέντρο στο επάνω ήμισυ της δομής. Παρατηρήστε επίσης δύο δισουλφιδικούς δεσμούς μέσα στην ίδια αλυσίδα και δύο μεταξύ διαφορετικών αλυσίδων σε ποικίλες θέσεις σε όλο το μόριο [Σχεδιασμένο από 1GCT.pdb].



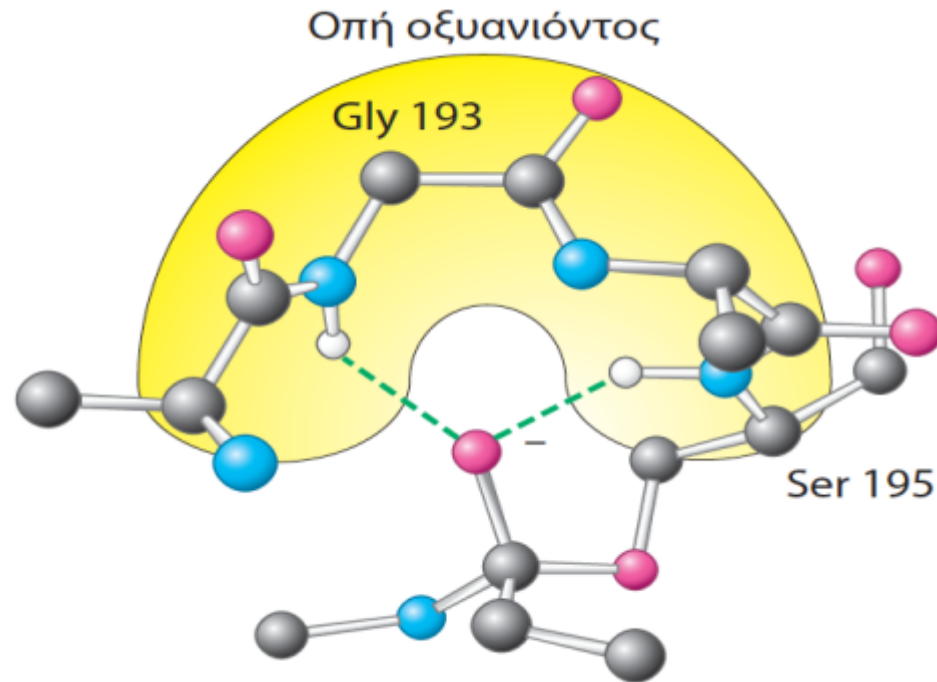
**Εικόνα 9.7 Η καταλυτική τριάδα.** Η καταλυτική τριάδα, στα αριστερά, μετατρέπει τη σερίνη 195 σε ένα ισχυρό πυρηνόφιλο, όπως φαίνεται στα δεξιά.



**Εικόνα 9.8 Υδρόλυση πεπτιδίου από τη χυμοθρυψίνη.** Ο μηχανισμός υδρόλυσης πεπτιδίων

δείχνει εμφανώς τις αρχές της ομοιοπολικής και οξειοβασικής κατάλυσης. Η αντίδραση προχωρεί σε οκτώ βήματα: (1) πρόσδεση υποστρώματος, (2) πυρηνόφιλη προσβολή της σερίνης στην πεπτιδική καρβονυλική ομάδα, (3) κατάρρευση του τετραεδρικού ενδιάμεσου, (4) απελευθέρωση του αμινικού συστατικού, (5) πρόσδεση νερού, (6) πυρηνόφιλη προσβολή του νερού στο ενδιάμεσο ακυλο-ένζυμο, (7) κατάρρευση του τετραεδρικού ενδιάμεσου και (8) απελευθέρωση του συστατικού καρβοξυλικού οξέος. Οι διακεκομμένες πράσινες γραμμές αντιπροσωπεύουν δεσμούς υδρογόνου.

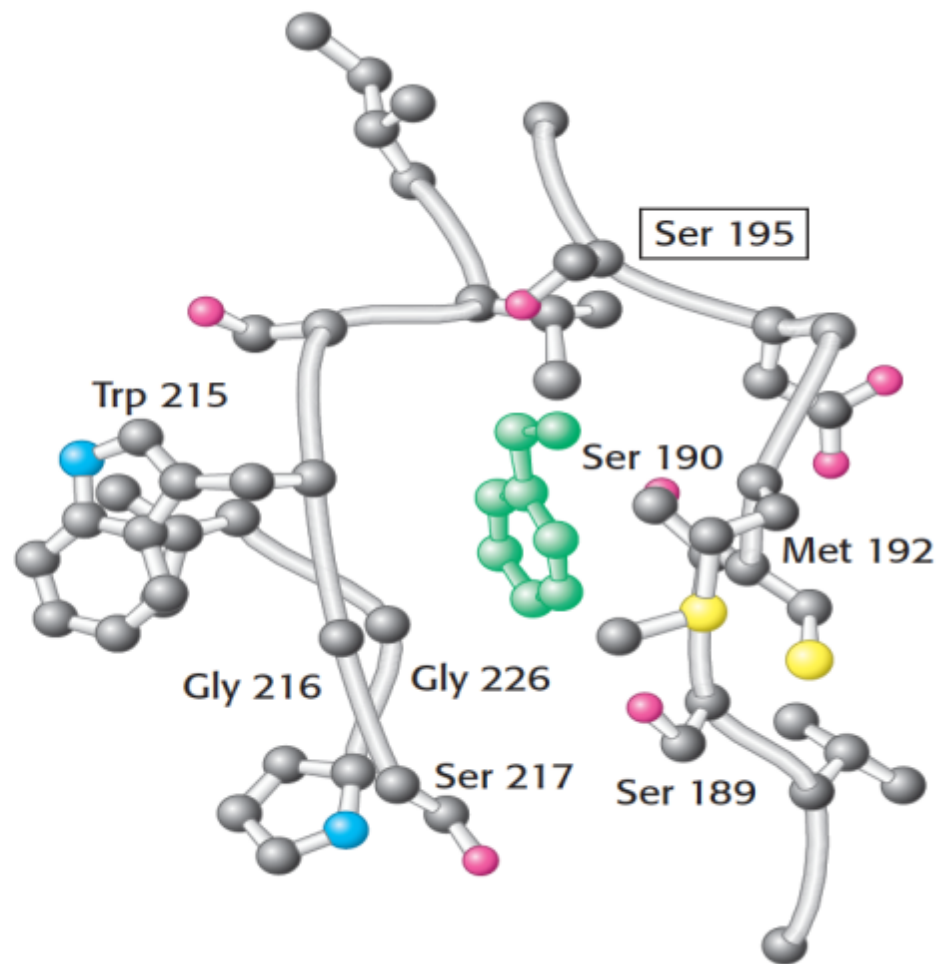




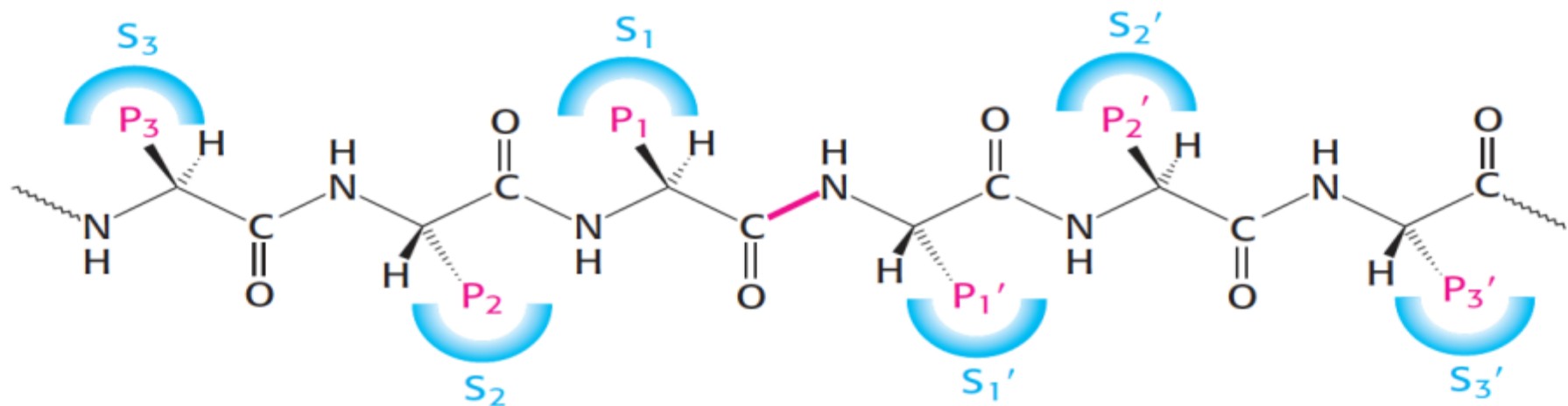
**Εικόνα 9.9 Η οπή οξυανιόντος.** Η δομή σταθεροποιεί το τετραεδρικό ενδιάμεσο της αντίδρασης της χυμοθρυψίνης. Παρατηρήστε ότι οι δεσμοί υδρογόνου (υποδεικνύονται με πράσινο) ενώνουν τις ομάδες NH του πεπτιδίου με το αρνητικά φορτισμένο άτομο οξυγόνου του ενδιαμέσου.



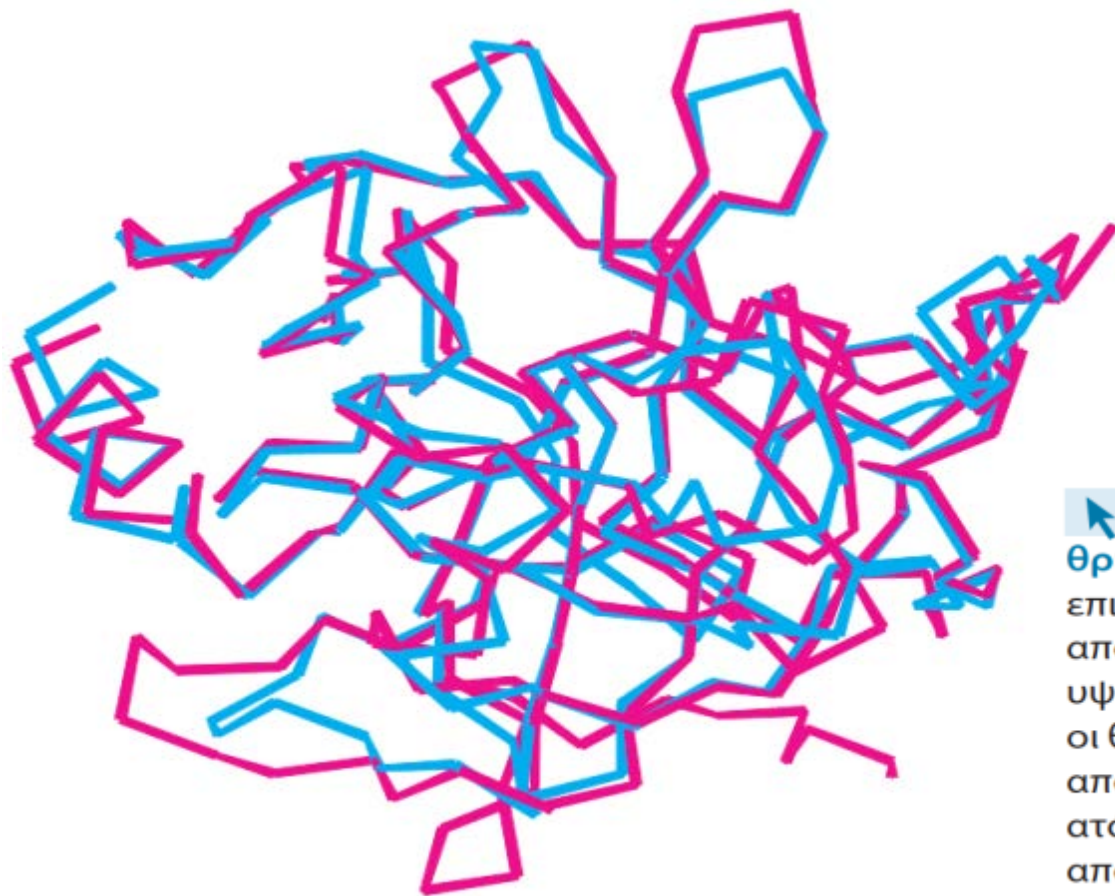
**Εικόνα 9.10 Θήκη εξειδίκευσης της χυμοθρυψίνης.** Παρατηρήστε ότι αυτή η θήκη είναι βαθιά και επενδεδυμένη με υδρόφοβα κατάλοιπα, ευνοώντας την πρόσδεση καταλοίπων με μακριές υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες, όπως η φαινυλαλανίνη (με πράσινο). Επίσης παρατηρήστε ότι το κατάλοιπο σερίνης (σερίνη 195) του ενεργού κέντρου είναι τοποθετημένο για να διασπάσει τον πεπτιδικό σκελετό μεταξύ του καταλοίπου που είναι προσδεμένο στη θήκη και του επόμενου καταλοίπου στην αλληλουχία. Παρουσιάζονται τα σημαντικά αμινοξέα τα οποία απαρτίζουν τη θέση πρόσδεσης.



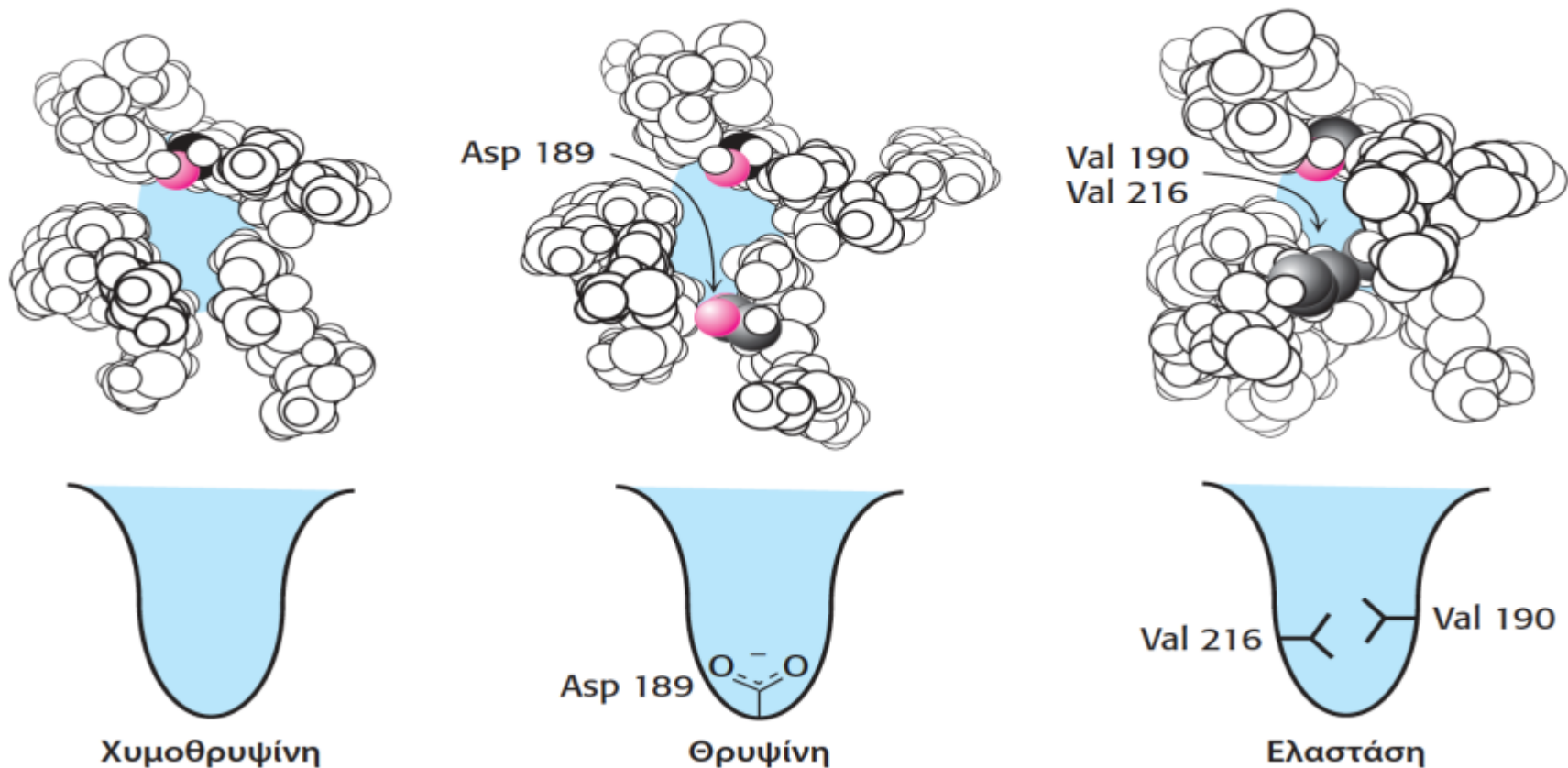




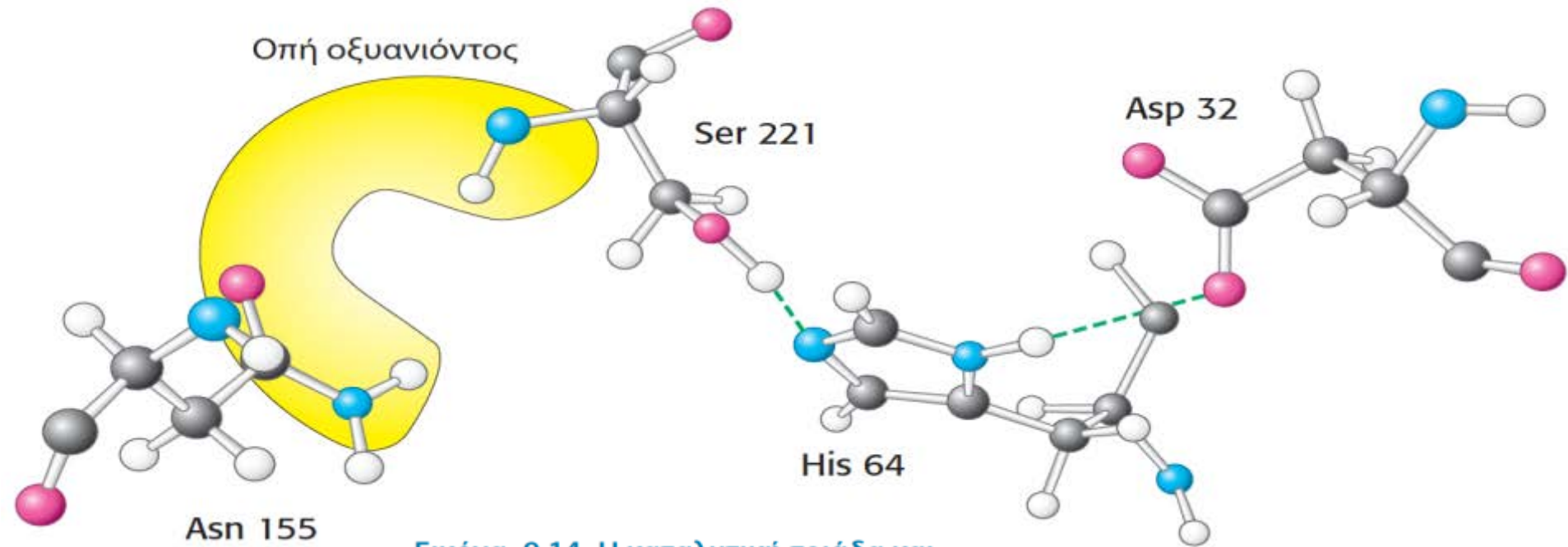
**Εικόνα 9.11 Ονοματολογία εξειδίκευσης για αλληλεπιδράσεις πρωτεάσης-υποστρώματος.** Οι δυνητικές περιοχές αλληλεπίδρασης του υποστρώματος με το ένζυμο ορίζονται ως P (φαίνονται με κόκκινο) και οι αντίστοιχες περιοχές πρόσδεσης επάνω στο ένζυμο ορίζονται ως S. Σημείο αναφοράς είναι ο δεσμός που διασπάται (υποδεικνύεται επίσης με κόκκινο).



Εικόνα 9.12 Δομική ομοιότητα της θρυψίνης και της χυμοθρυψίνης. Μια επικάλυψη της δομής της θρυψίνης (μπλε) από τη χυμοθρυψίνη (κόκκινο) δείχνει τον υψηλό βαθμό ομοιότητας. Φαίνονται μόνο οι θέσεις των ατόμων  $\alpha$ -άνθρακα. Η μέση απόκλιση στη θέση μεταξύ των αντίστοιχων ατόμων  $\alpha$ -άνθρακα είναι 1,7 Å. [Σχεδιασμένο από 5PTR.pdb και 1GCT.pdb.].



**Εικόνα 9.13 Οι θήκες S1 της χυμοθρυψίνης, της θρυψίνης και της ελαστάσης.** Ορισμένα κατάλοιπα παίζουν καθοριστικό ρόλο στον προσδιορισμό της εξειδίκευσης αυτών των ενζύμων. Οι πλευρικές αλυσίδες των καταλοίπων αυτών, καθώς και εκείνων της σερίνης του ενεργού κέντρου, εμφανίζονται έγχρωμες.

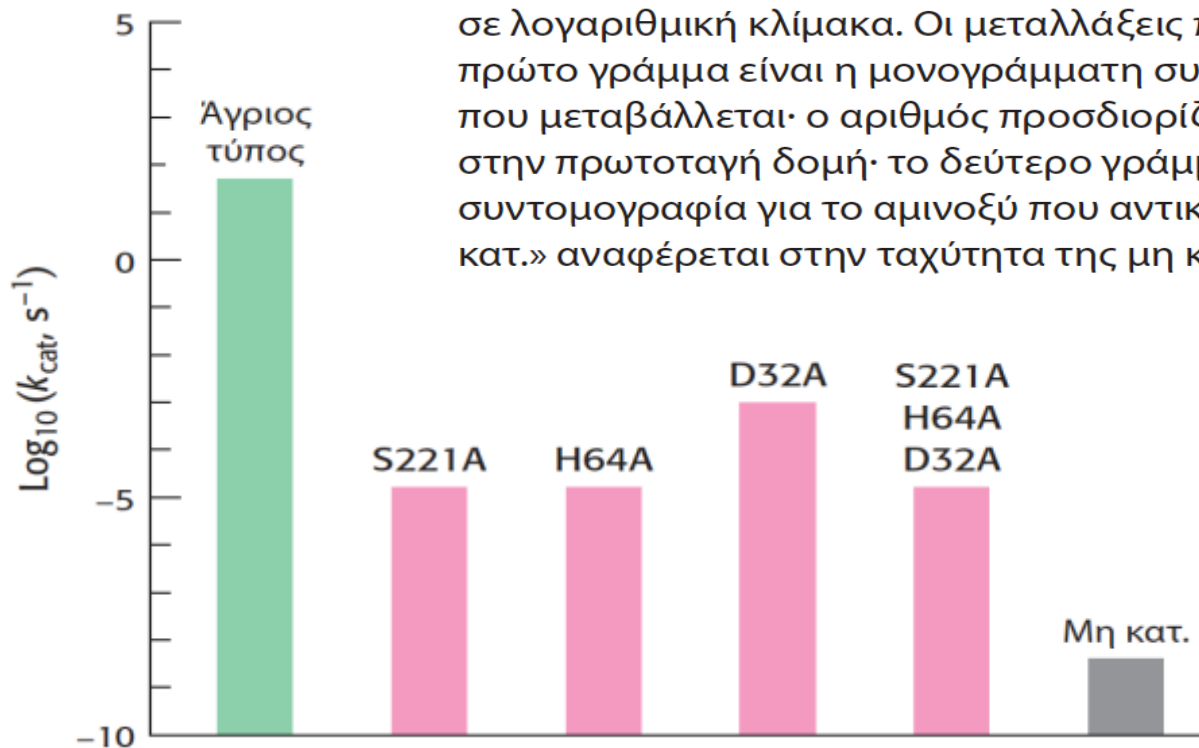


**Εικόνα 9.14** Η καταλυτική τριάδα και η οπή οξυανιόντος της συμπτυλισίνης. Παρατηρήστε τις δύο ομάδες NH του ενζύμου (τόσο στον κορμό όσο και στην πλευρική αλυσίδα της Asn 155) που είναι τοποθετημένες στην οπή οξυανιόντος. Οι ομάδες NH θα σταθεροποιήσουν το αρνητικό φορτίο το οποίο αναπτύσσεται επάνω στον πεπτιδικό δεσμό που προσβάλλεται από την πυρηνόφιλη σερίνη 221 της καταλυτικής τριάδας.

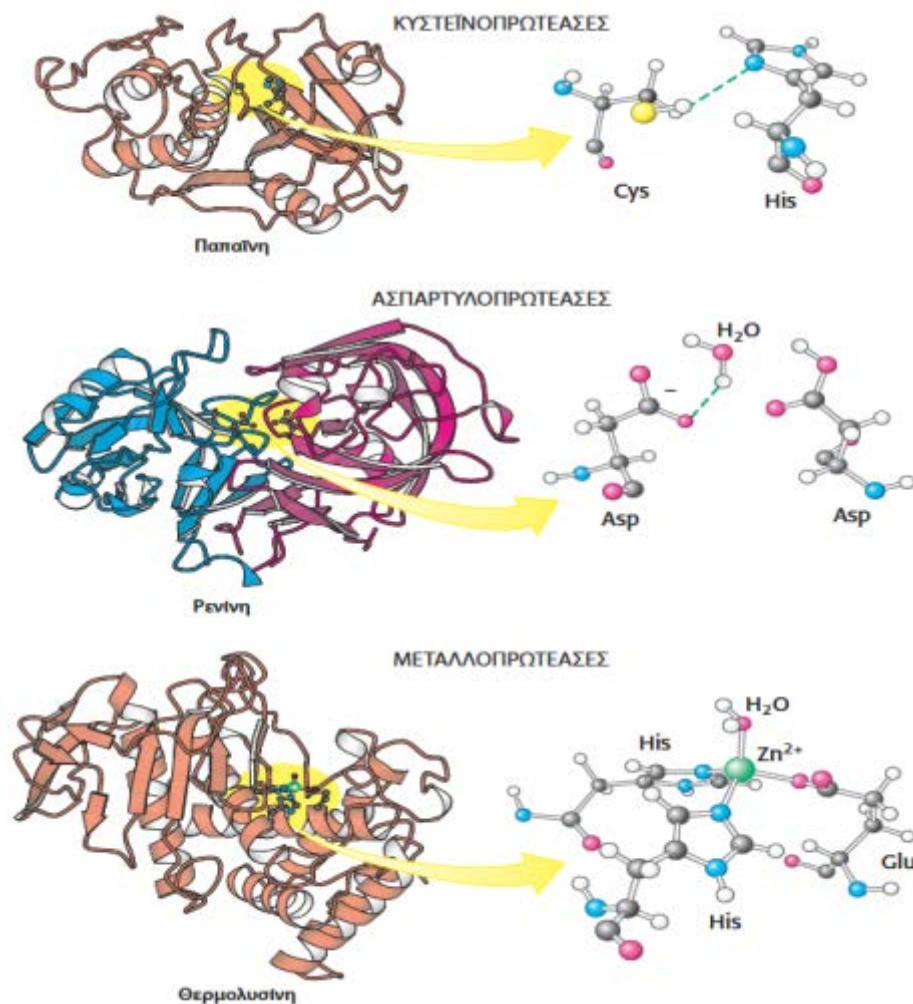


## Εικόνα 9.15 Μεταλλαξιγένεση σε συγκεκριμένη θέση της σουμπτιλίσινης.

Τα κατάλοιπα της καταλυτικής τριάδας μεταλλάχθηκαν σε αλανίνη και μετρήθηκε η δραστικότητα του μεταλλαγμένου ενζύμου. Μεταλλάξεις σε οποιοδήποτε συστατικό της καταλυτικής τριάδας προξενούν εντυπωσιακή απώλεια της ενζυμικής δραστικότητας. Επισημαίνεται ότι η δραστικότητα φαίνεται σε λογαριθμική κλίμακα. Οι μεταλλάξεις προσδιορίζονται ως εξής: το πρώτο γράμμα είναι η μονογράμματη συντομογραφία για το αμινοξύ που μεταβάλλεται· ο αριθμός προσδιορίζει τη θέση του καταλοίπου στην πρωτοταγή δομή· το δεύτερο γράμμα είναι η μονογράμματη συντομογραφία για το αμινοξύ που αντικαθιστά το αρχικό. Το «Μη κατ.» αναφέρεται στην ταχύτητα της μη καταλυόμενης αντίδρασης.



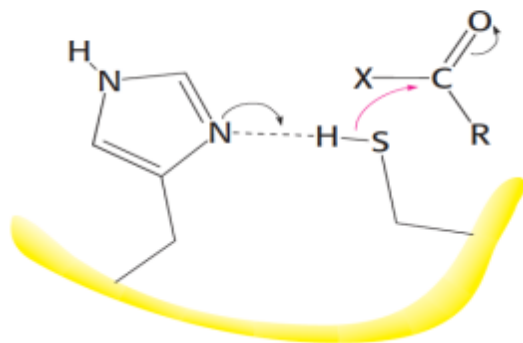




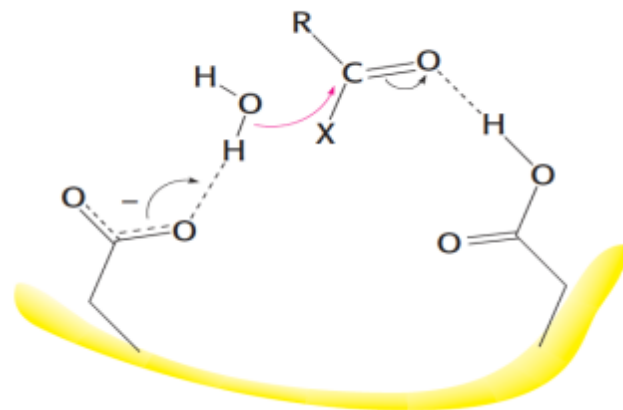
**Εικόνα 9.16** Τρεις τάξεις πρωτεασών και τα ενεργά κέντρα τους. Αυτά τα παραδείγματα μιας κυστεΐνοπρωτεάσης, μιας ασπαρτυλοπρωτεάσης και μιας μεταλλοπρωτεάσης χρησιμοποιούν αντίστοιχα, ως πυρηνόφιλο, ένα κατάλοιπο κυστεΐνης ενεργοποιημένο από ιστιδίνη, ένα μόριο ύδατος ενεργοποιημένο από ασπαραγινικό, και ένα μόριο ύδατος ενεργοποιημένο από μέταλλο. Τα δύο ημίσεια της ρενίνης είναι με μπλε και με κόκκινο για να τονιστεί η κατά προσέγγιση συμμετρία δευτέρας τάξεως των ασπαρτυλοπρωτεασών. Παρατηρήστε πόσο διαφορετικά είναι τα ενεργά κέντρα παρά την ομοιότητα στην αντίδραση που καταλύουν. [Σχεδιασμένο από 1PPN.pdb, 1HRN.pdb, 1LND.pdb.]



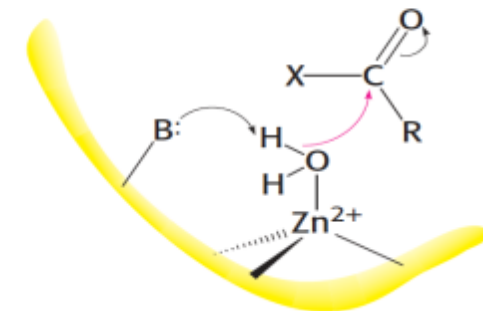
(Α) ΚΥΣΤΕΪΝΟΠΡΩΤΕΑΣΕΣ



(Β) ΑΣΠΑΡΤΥΛΟΠΡΩΤΕΑΣΕΣ



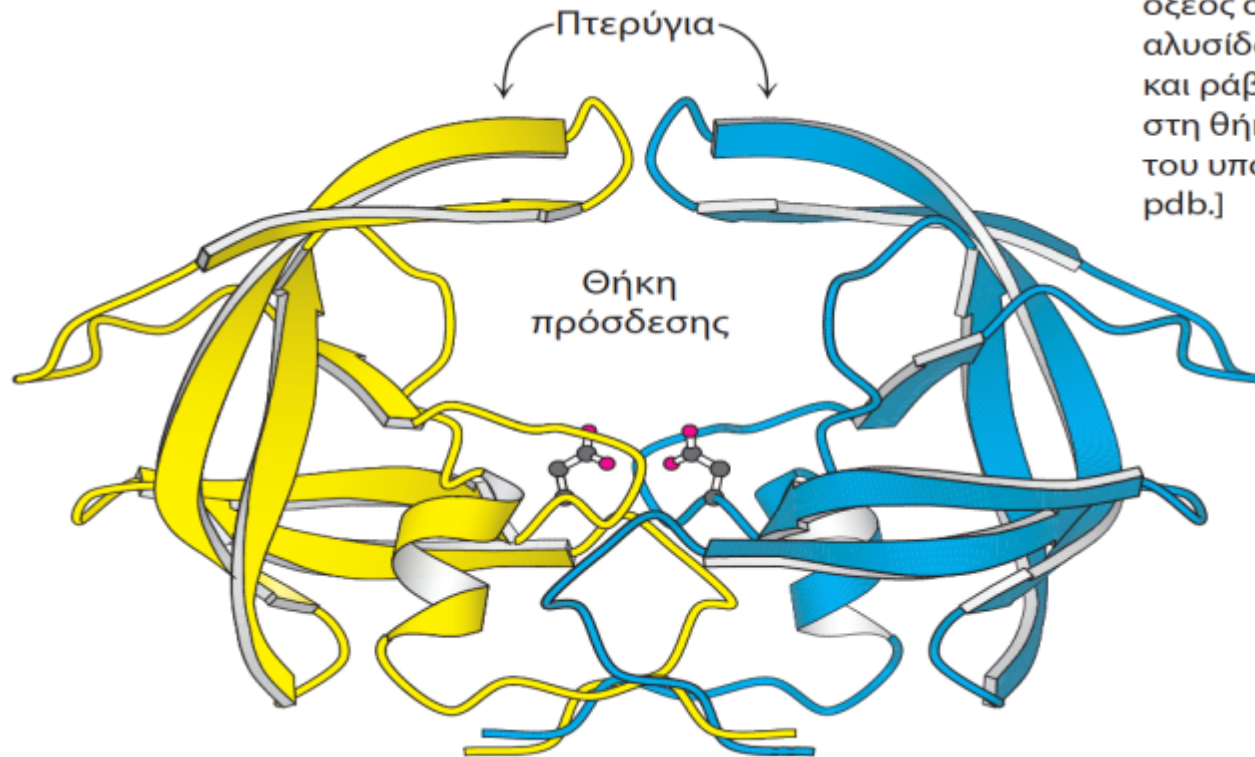
(Γ) ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΕΣ



**Εικόνα 9.17 Οι στρατηγικές ενεργοποίησης των τριών τάξεων των πρωτεασών.** Η καρβονυλική ομάδα του πεπτιδίου προσβάλλεται από (Α) μια κυστεΐνη ενεργοποιημένη από ιστιδίνη, στις κυστεΐνοπρωτεάσες· (Β) ένα μόριο ύδατος ενεργοποιημένο από ασπαραγινικό, στις ασπαρτυλοπρωτεάσες και (Γ) ένα μόριο ύδατος ενεργοποιημένο από μέταλλο, στις μεταλλοπρωτεάσες. Για τις μεταλλοπρωτεάσες, το γράμμα Β αντιπροσωπεύει μια βάση (συχνά το γλουταμινικό) η οποία βοηθά στην αποπρωτονίωση του δεσμευμένου στο μέταλλο μορίου ύδατος.



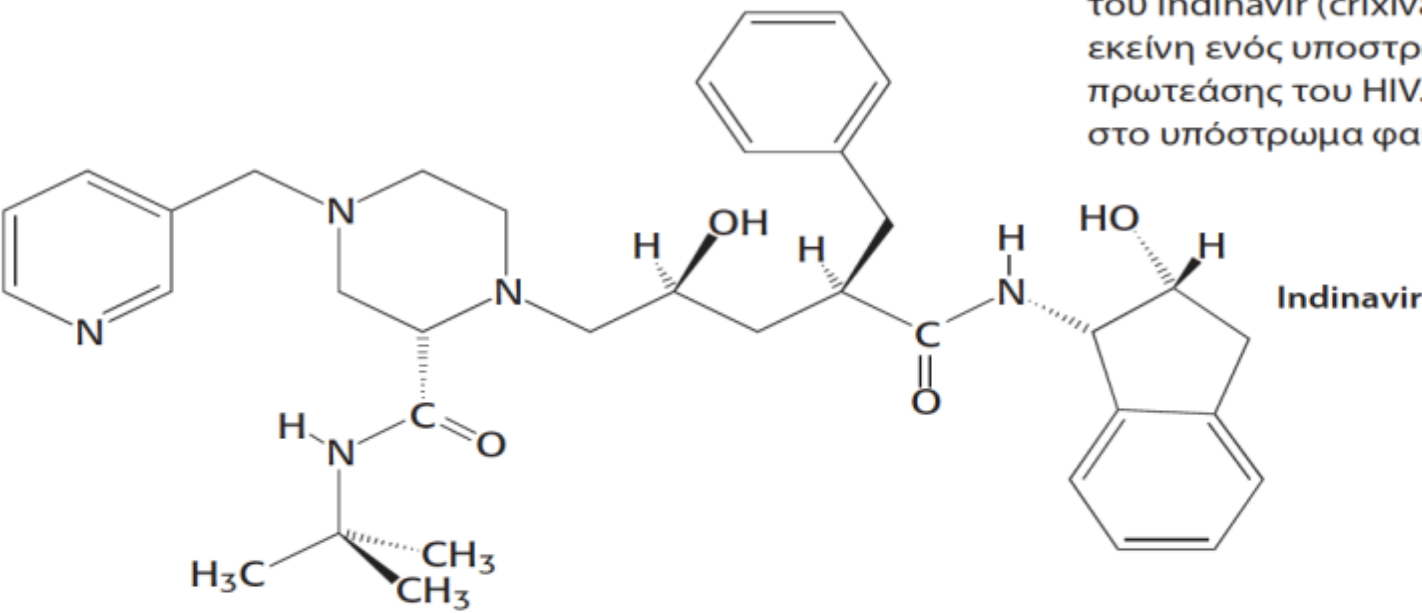
➡ **Εικόνα 9.18 Η πρωτεάση του HIV, μια διμερής ασπαρτυλοπρωτεάση.** Η πρωτεάση είναι ένα διμερές πανομοιότυπων υπομονάδων, που φαίνονται με μπλε και κίτρινο, η κάθε μία από τις οποίες απαρτίζεται από 99 αμινοξέα. Παρατηρήστε τα δύο κατάλοιπα του ασπαραγινικού οξέος στο ενεργό κέντρο, ένα από κάθε αλυσίδα, τα οποία δείχνονται ως σφαίρες και ράβδοι. Τα πτερύγια θα κλείσουν επάνω στη θήκη πρόσδεσης μετά την πρόσδεση του υποστρώματος. [Σχεδιασμένο από 3PHV. pdb.]



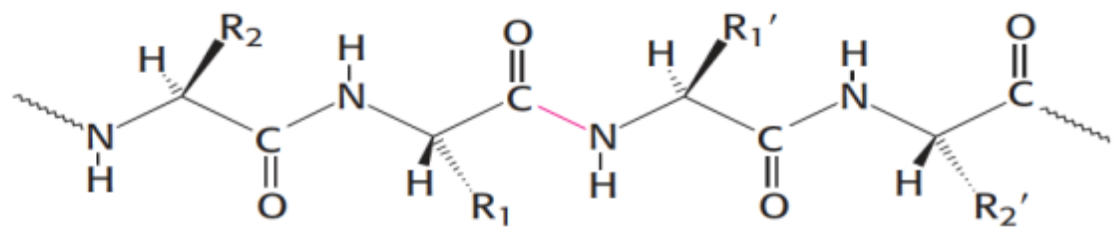




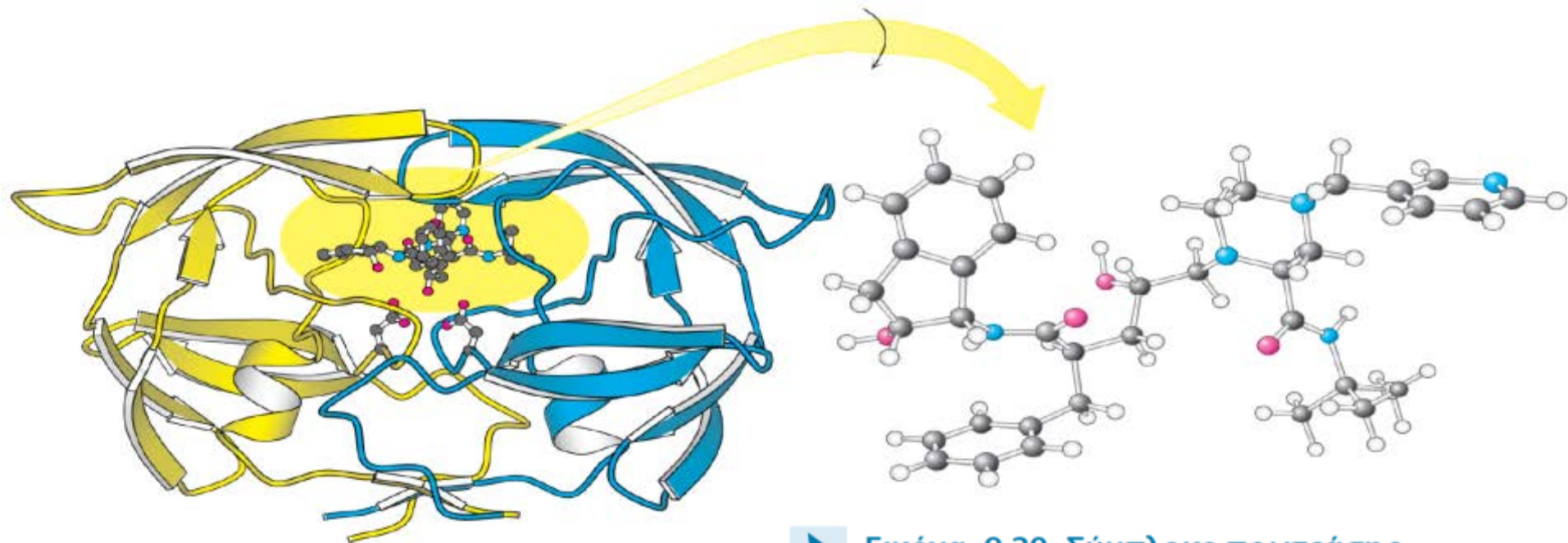
**Εικόνα 9.19 Indinavir, ένας αναστολέας πρωτεάσης του HIV.** Φαίνεται η δομή του indinavir (crixivan) σε σύγκριση με εκείνη ενός υποστρώματος πεπτιδίου της πρωτεάσης του HIV. Ο δεσμός που διασπάται στο υπόστρωμα φαίνεται με κόκκινο.



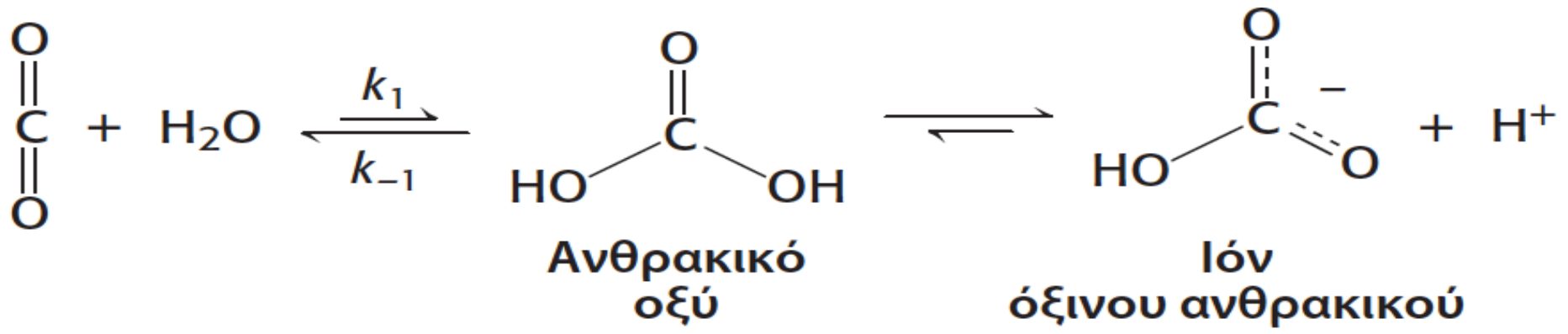
Indinavir

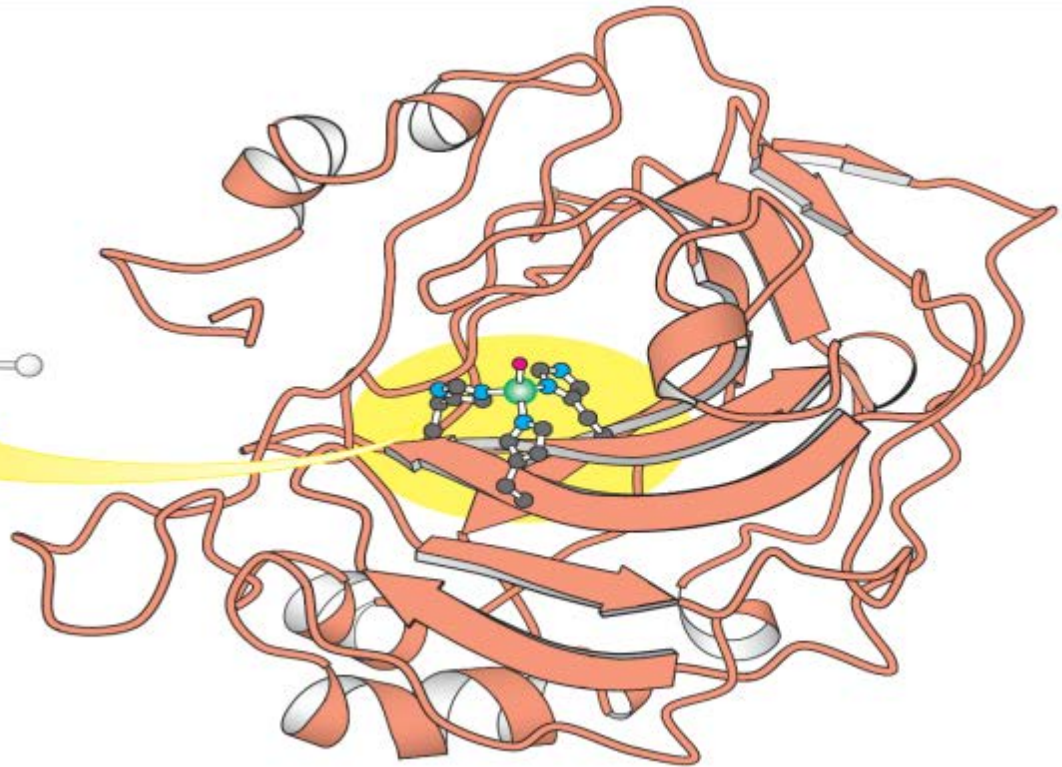
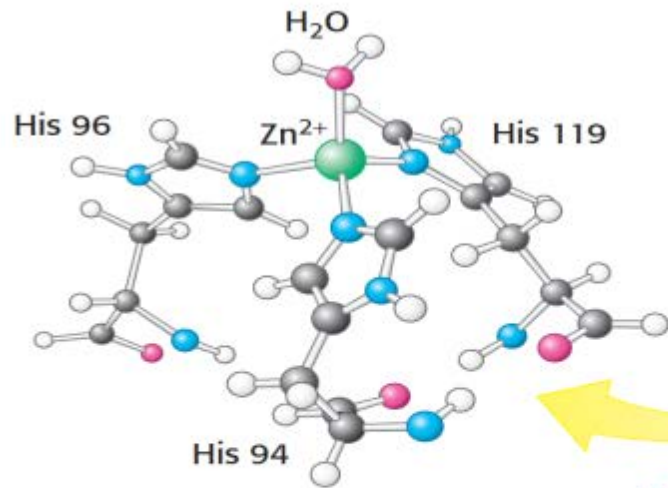


Πεπτιδικό  
υπόστρωμα

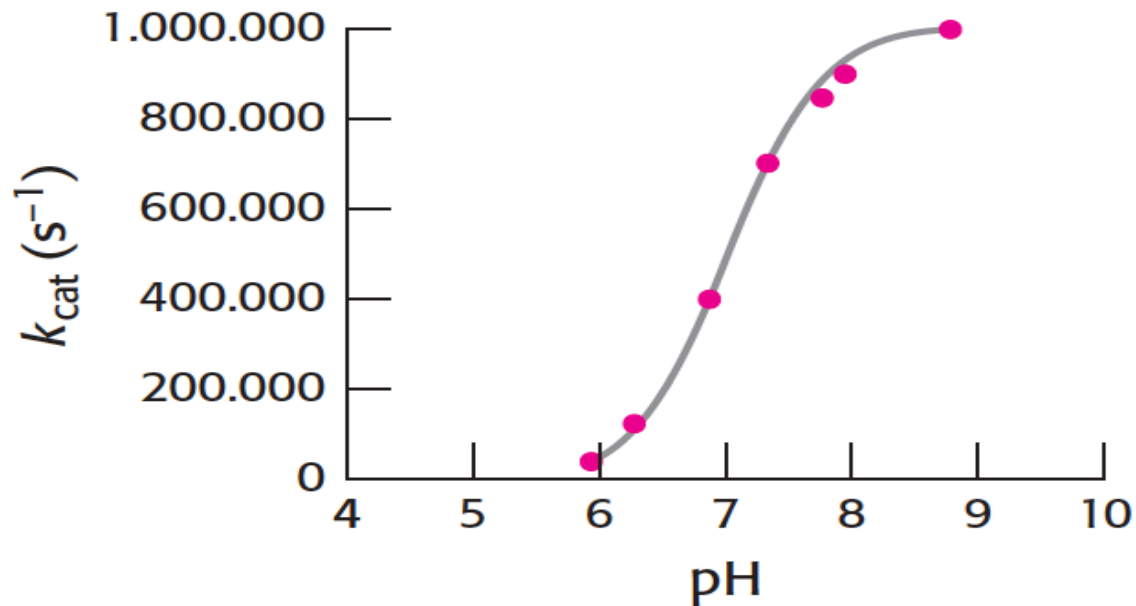


**Εικόνα 9.20 Σύμπλοκο πρωτεάσης HIV-indinavir.** (Αριστερά) Η πρωτεάση του HIV φαίνεται με τον αναστολέα indinavir προσδεμένο στο ενεργό κέντρο. Παρατηρήστε τη συμμετρία δευτέρας τάξεως στη δομή του ενζύμου. (Δεξιά) Το φάρμακο έχει περιστραφεί για να αποκαλύψει την κατά προσέγγιση στερεοδιάταξη με συμμετρία δευτέρας τάξεως. [Σχεδιασμένο από 1HSH.pdb.]



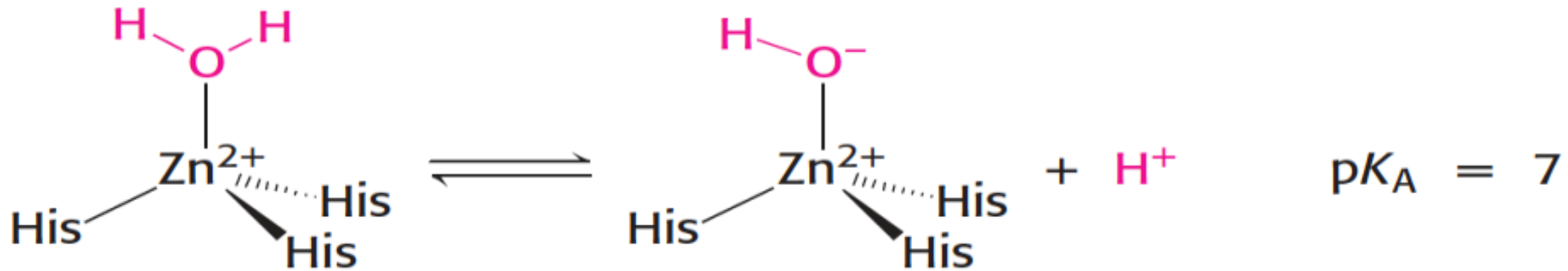


**Εικόνα 9.21** Η δομή της ανθρώπινης ανθρακικής ανυδράσης II και η θέση του ψευδαργύρου. (Αριστερά) Παρατηρήστε ότι ο ψευδάργυρος είναι προσδεμένος στους ιμιδαζολικούς δακτυλίους τριών καταλοίπων ιστιδίνης, καθώς και σε ένα μόριο ύδατος. (Δεξιά) Παρατηρήστε τη θέση του ψευδαργύρου σε μια σχισμή κοντά στο κέντρο του ενζύμου. [Σχεδιασμένο από 1CA2.pdb.]



**Εικόνα 9.22 Η επίδραση του pH στη δραστηριότητα της ανθρακικής ανυδράσης.**

Αλλαγές στο pH μεταβάλλουν την ταχύτητα της ενυδάτωσης του διοξειδίου του άνθρακα από την ανθρακική ανυδράση II. Το ένζυμο έχει τη μέγιστη δραστηριότητα σε υψηλό pH.



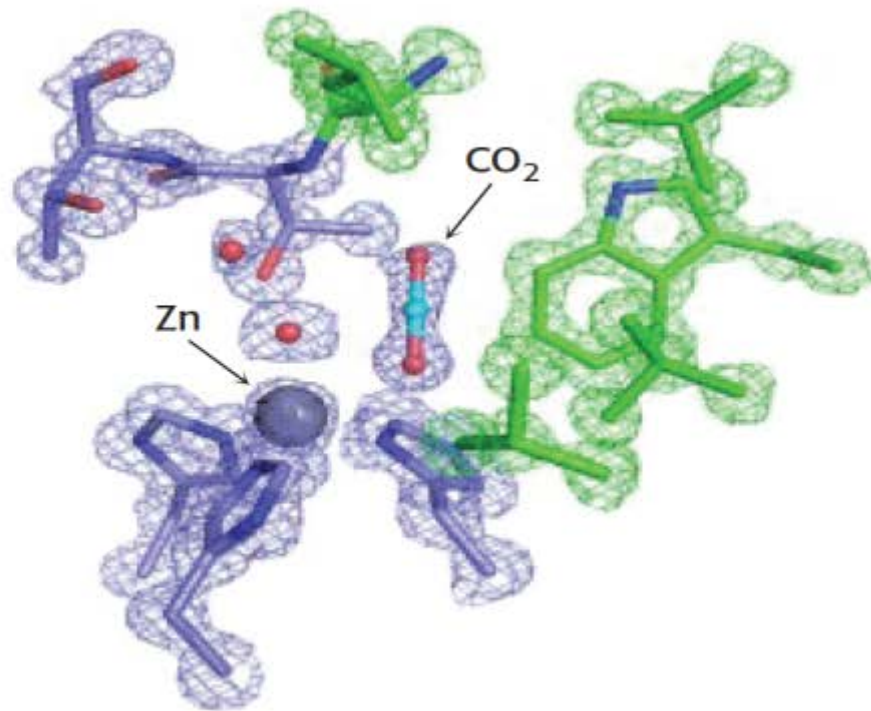
**Εικόνα 9.23 Το  $\text{p}K_a$  νερού προσδεμένου στον ψευδάργυρο.** Η πρόσδεση στον ψευδάργυρο ελαττώνει το  $\text{p}K_a$  του νερού από 15,7 σε 7.

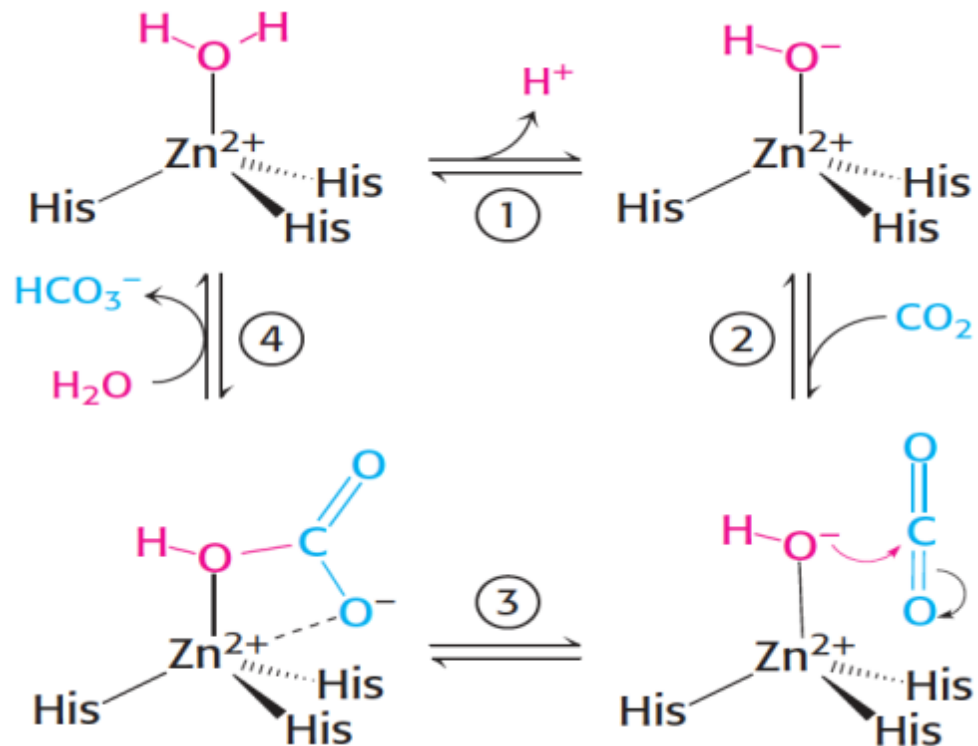




### Εικόνα 9.24 Θέση πρόσδεσης του διοξειδίου

**του άνθρακα.** Κρύσταλλοι της ανθρακικής ανυδράσης εκτέθηκαν σε αέριο διοξείδιο του άνθρακα σε υψηλή πίεση και χαμηλή θερμοκρασία, και έγινε συλλογή δεδομένων περίθλασης με ακτίνες Χ. Η πυκνότητα των ηλεκτρονίων για το διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο φαίνεται σαφώς δίπλα στον ψευδάργυρο και στο προσδεμένο σε αυτόν μόριο ύδατος, αποκαλύπτει τη θέση πρόσδεσης του διοξειδίου του άνθρακα. [Από J. F. Domsic, B. S. Anvaru, C. U. Kim, S. M. Gruner, M. Agbandje-McKenna, D. N. Silverman, and R. McKenna, *J. Biol. Chem.* 283:30766-30771, 2008.]





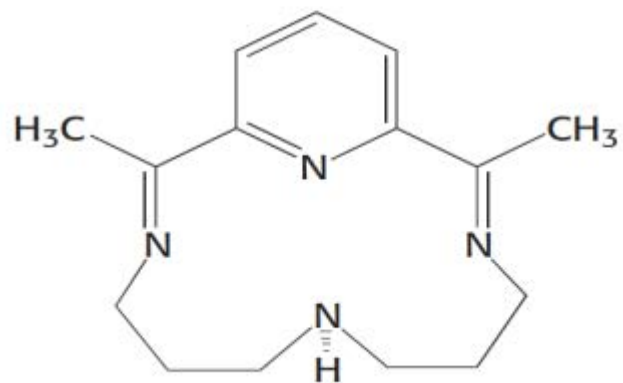
**Εικόνα 9.25 Ο μηχανισμός της ανθρακικής ανυδράσης.** Ο μηχανισμός του προσδεμένου σε ψευδάργυρο υδροξυλίου για την ενυδάτωση του διοξειδίου του άνθρακα αποκαλύπτει μια πτυχή της κατάλυσης μέσω ιόντος μετάλλου. Η αντίδραση προχωρά σε τέσσερα βήματα: (1) αποπρωτονίωση του νερού· (2) πρόσδεση διοξειδίου του άνθρακα· (3) πυρηνόφιλη προσβολή από υδροξύλιο στο διοξείδιο του άνθρακα· και (4) αντικατάσταση του όξινου ανθρακικού ιόντος από το νερό.



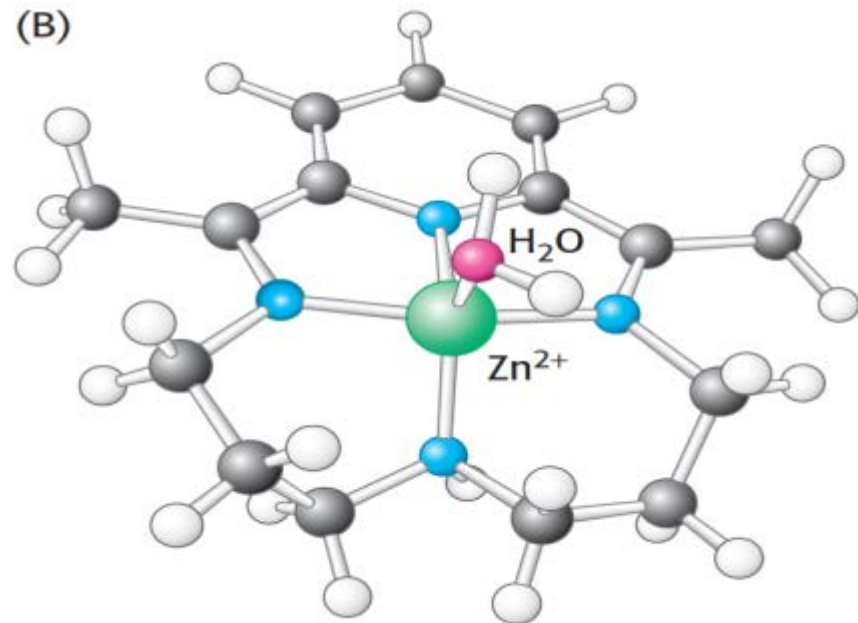


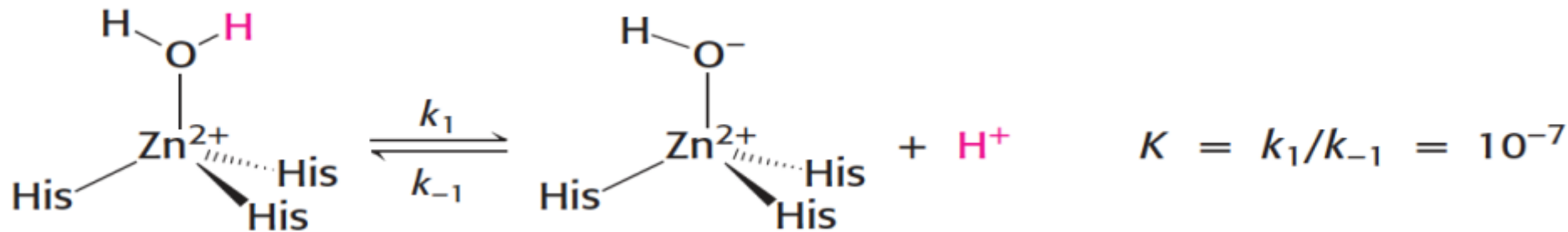
**Εικόνα 9.26 Ένα πρότυπο σύστημα συνθετικού αναλόγου για την ανθρακική ανυδράση.** (A) Μια οργανική ένωση, ικανή να προσδένει ψευδάργυρο, συντέθηκε ως μοντέλο για την ανθρακική ανυδράση. Κάτω από κατάλληλες συνθήκες το σύμπλοκο ψευδαργύρου αυτού του προσδέτη επιταχύνει την ενυδάτωση του διοξειδίου του άνθρακα περισσότερο από 100 φορές. (B) Η δομή του υποτιθέμενου ενεργού συμπλόκου, όπου ο ψευδάργυρος συνδέεται στο πρόσδεμα και σε ένα μόριο ύδατος.

(A)

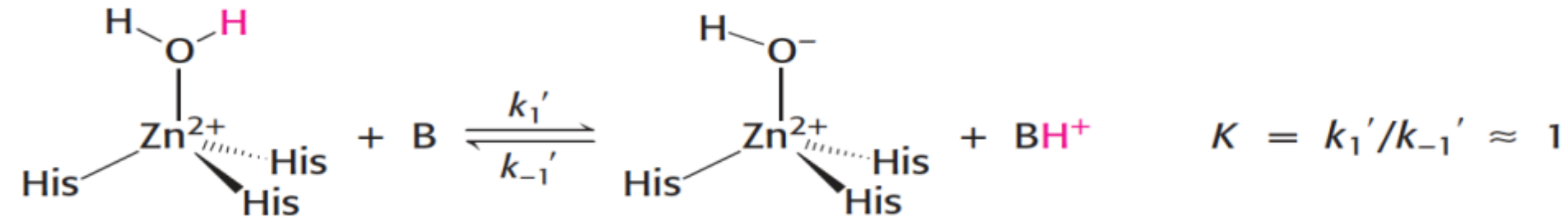


(B)





**Εικόνα 9.27 Κινητική της αποπρωτονίωσης του νερού.** Η κινητική της αποπρωτονίωσης και της πρωτονίωσης του προσδεμένου στον ψευδάργυρο μορίου ύδατος στην ανθρακική ανυδράση.



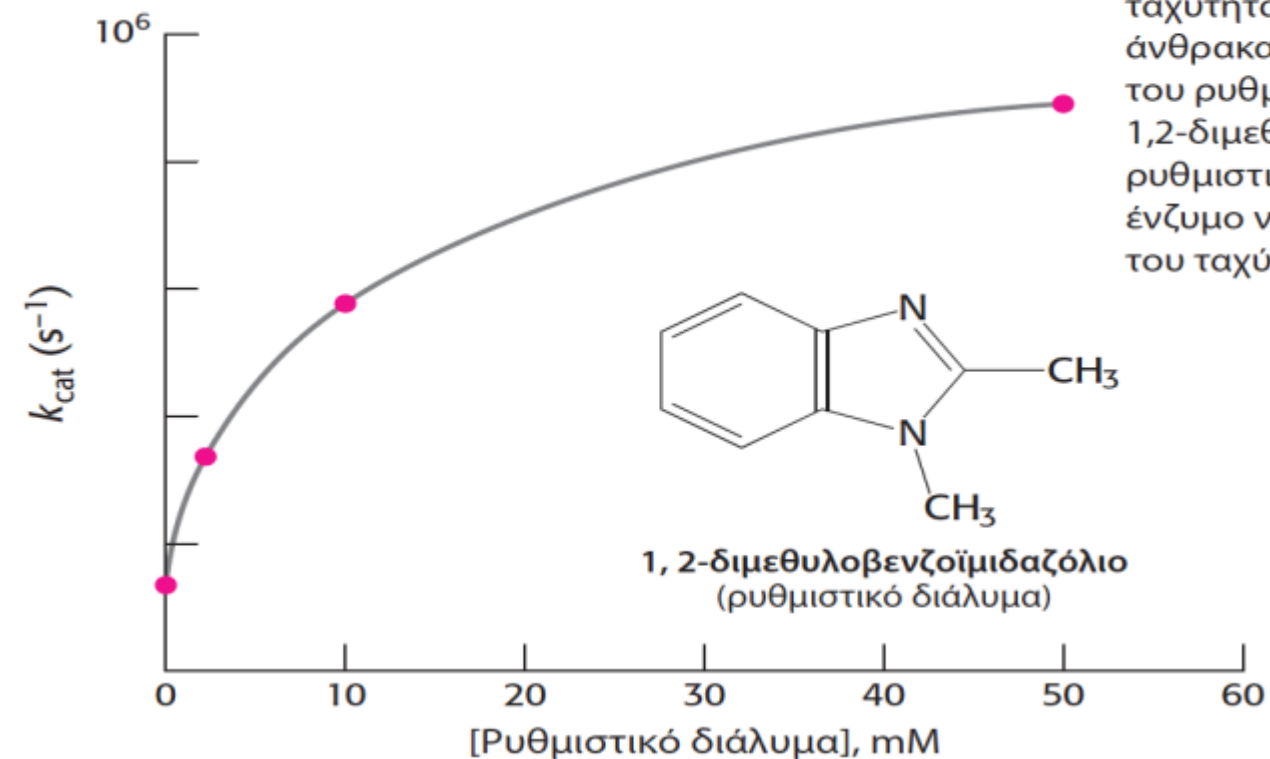
### Εικόνα 9.28 Η επίδραση του ρυθμιστικού διαλύματος στην αποπρωτονίωση. Η

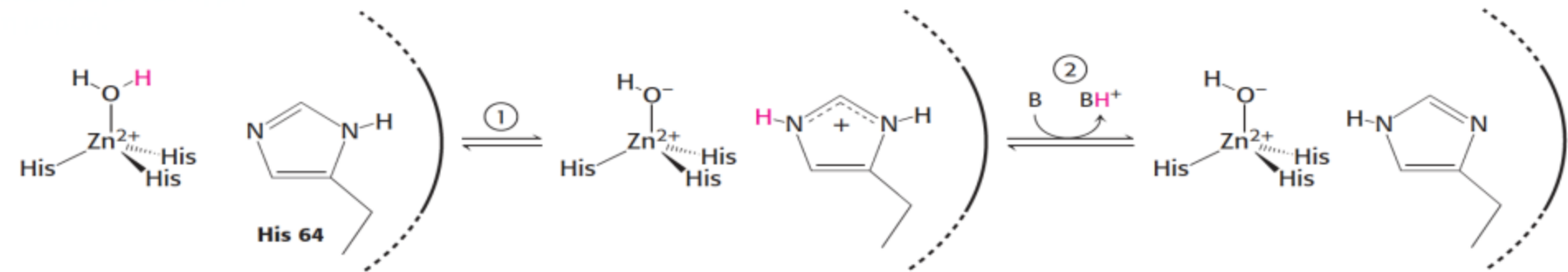
αποπρωτονίωση του μορίου ύδατος που είναι προσδεμένο στον ψευδάργυρο της ανθρακικής ανυδράσης υποβοηθείται από το συστατικό B του ρυθμιστικού διαλύματος.



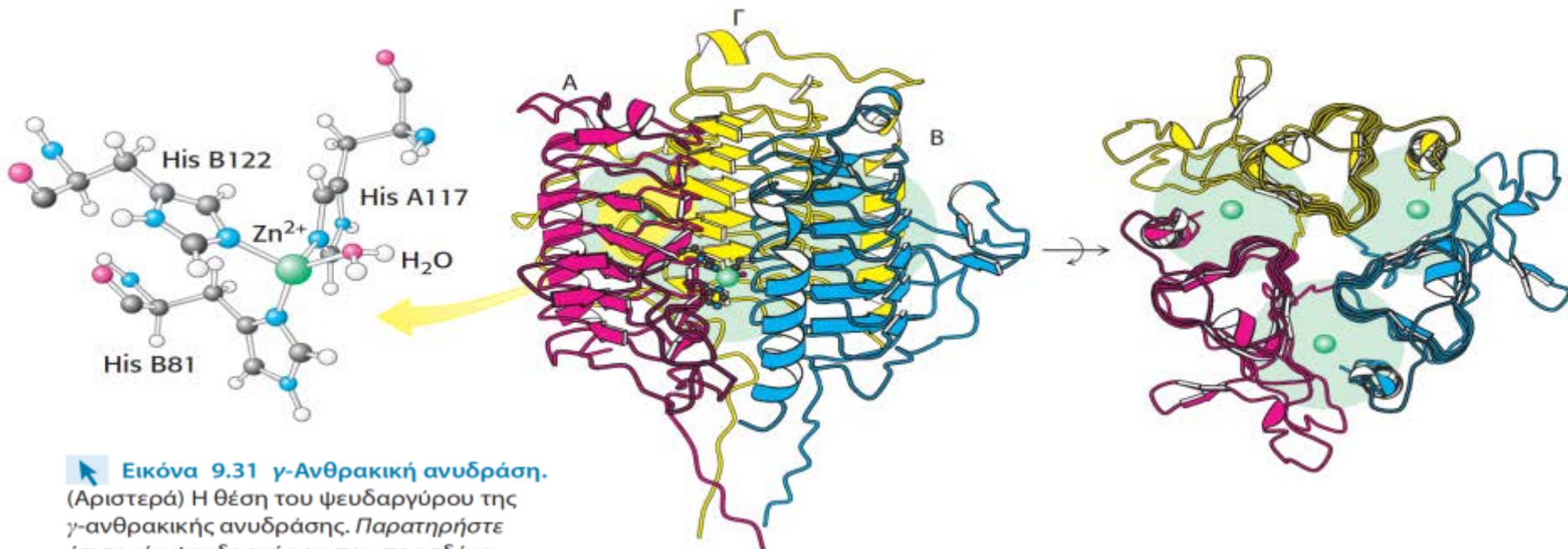
**Εικόνα 9.29** Η επίδραση της συγκέντρωσης του ρυθμιστικού διαλύματος στην ταχύτητα ενυδάτωσης του διοξειδίου του άνθρακα. Η

ταχύτητα ενυδάτωσης του διοξειδίου του άνθρακα αυξάνεται με τη συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος 1,2-διμεθυλοβενζοϊμιδαζολίου. Το ρυθμιστικό διάλυμα δίνει τη δυνατότητα στο ένζυμο να αναπτύξει τις μεγάλες καταλυτικές του ταχύτητες.



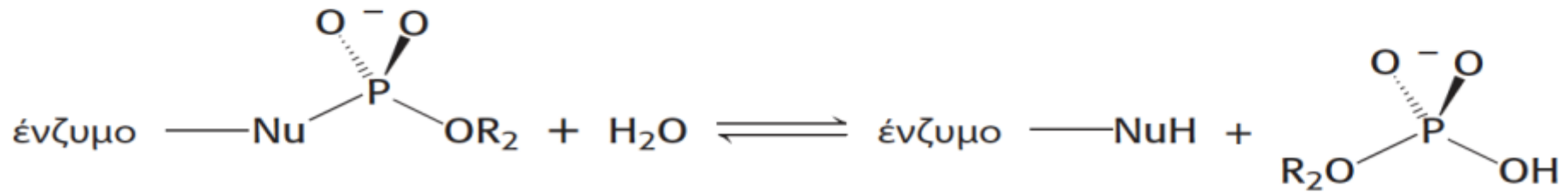
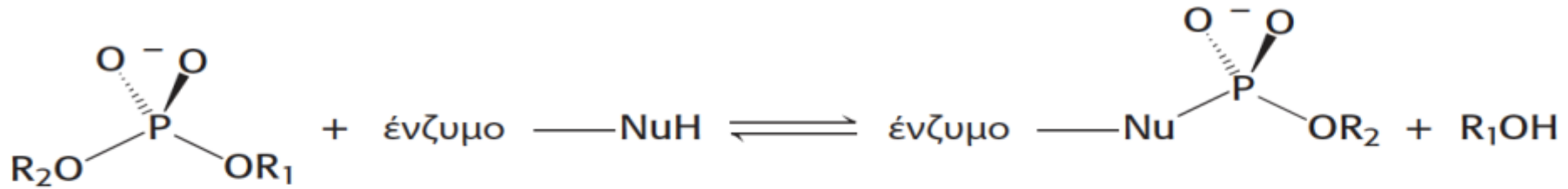


**Εικόνα 9.30 Σύστημα μεταφοράς πρωτονίων της ιστιδίνης.** (1) Η ιστιδίνη 64 αφαιρεί ένα πρωτόνιο από το μόριο ύδατος που είναι προσδεμένο στον ψευδάργυρο, παράγοντας ένα πυρηνόφιλο ιόν υδροξυλίου και μια πρωτονιωμένη ιστιδίνη. (2) Το ρυθμιστικό διάλυμα (B) αφαιρεί ένα πρωτόνιο από την ιστιδίνη, αναπαράγοντας τη μη πρωτονιωμένη μορφή.



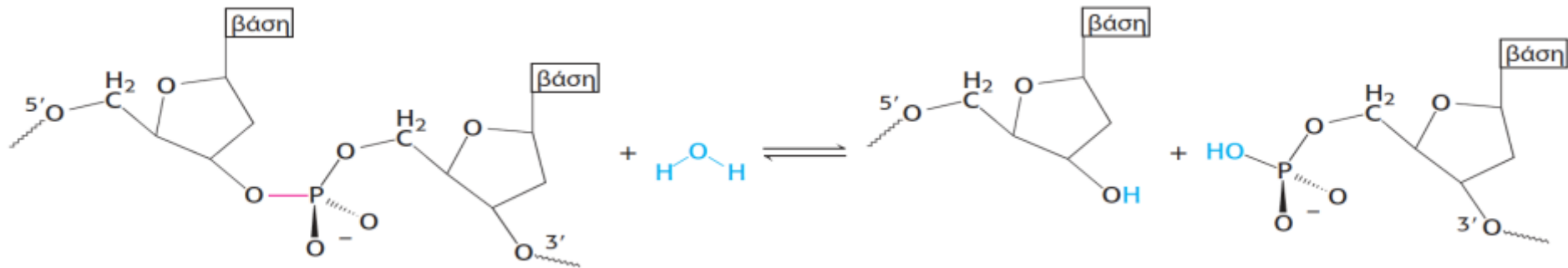
### Εικόνα 9.31 $\gamma$ -Ανθρακική ανυδράση.

(Αριστερά) Η θέση του ψευδαργύρου της  $\gamma$ -ανθρακικής ανυδράσης. Παρατηρήστε ότι το ιόν ψευδαργύρου που προσδένει νερό είναι προσδεμένο σε τρία κατάλοιπα ιστοιδίνης. (Μέσον) Η τριμερής δομή της πρωτεΐνης (οι αλυσίδες έχουν επισημανθεί ως Α, Β, και  $\Gamma$ ). Κάθε αλυσίδα αποτελείται κυρίως από μία αριστερόστροφη  $\beta$ -έλικα. (Δεξιά) Η πρωτεΐνη έχει περιστραφεί για να λάβουμε μια εικόνα από επάνω προς τα κάτω, η οποία τονίζει τη συμμετρία τρίτης τάξεως. Παρατηρήστε τις θέσεις του ψευδαργύρου (πράσινο) στις επιφάνειες επαφής μεταξύ των αλυσίδων. [Σχεδιασμένο από 1THJ.pdb.]

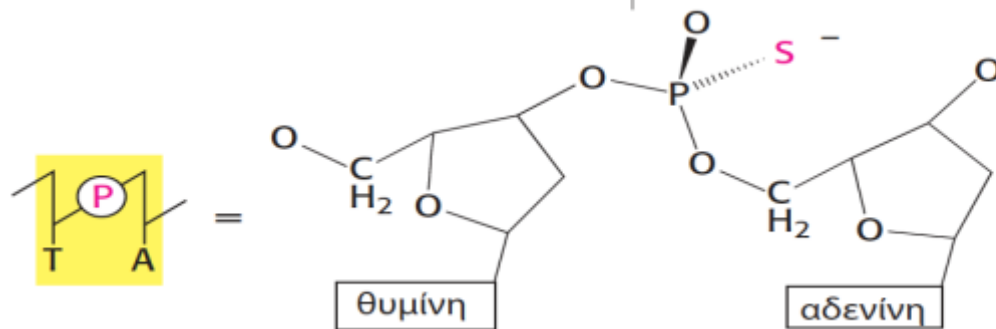
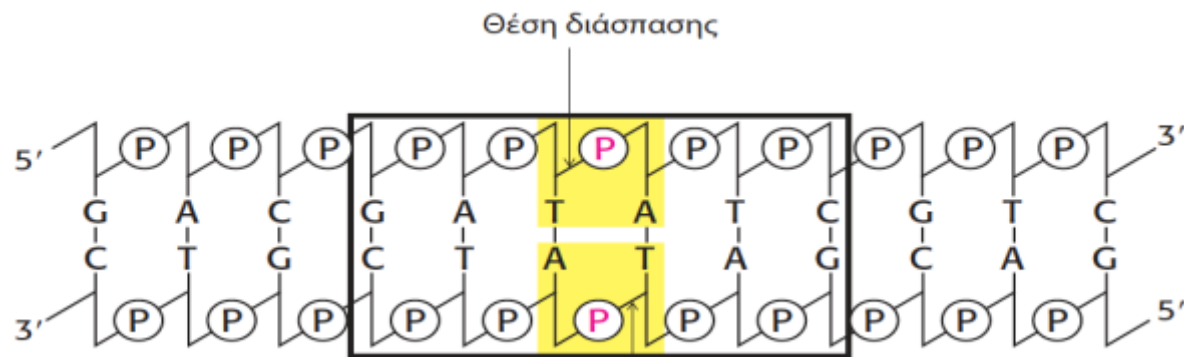






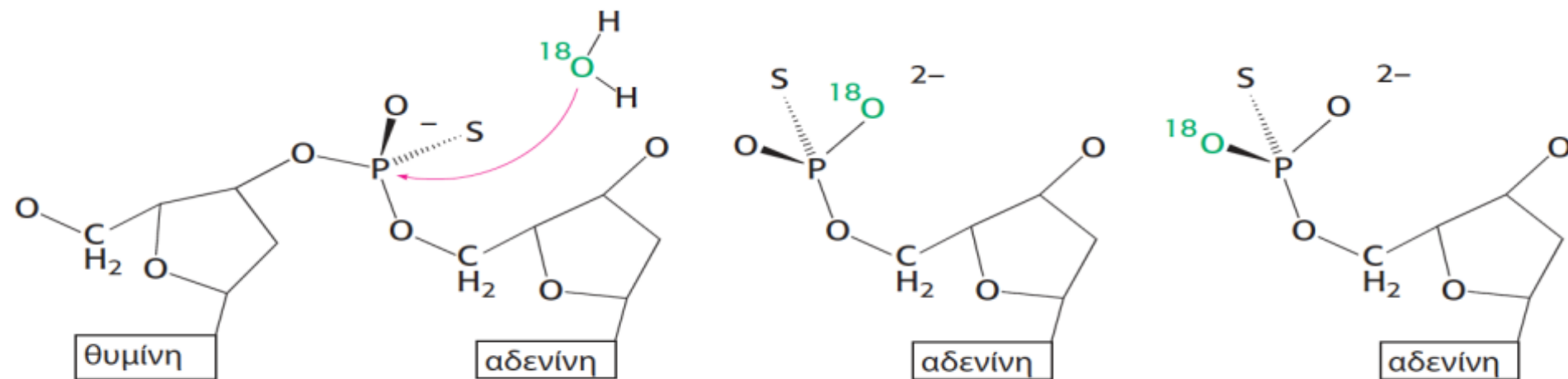


**Εικόνα 9.32 Υδρόλυση ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού.** Όλα τα περιοριστικά ένζυμα καταλύουν την υδρόλυση των φωσφοδιεστερικών δεσμών του DNA, αφήνοντας μια φωσφορική ομάδα προσκολλημένη στο 5'-άκρο. Ο δεσμός που διασπάται φαίνεται με κόκκινο.



### Εικόνα 9.33 Σήμανση με φωσφοροθειικά.

Τα φωσφοροθειικά, ομάδες στις οποίες ένα από τα μη γεφυρωτικά άτομα οξυγόνου έχει αντικατασταθεί από ένα άτομο θείου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να σημάνουν ειδικές θέσεις στον κορμό του DNA προκειμένου να προσδιοριστεί η ολική στερεοχημική πορεία της αντίδρασης εκτόπισης. Εδώ, το φωσφοροθειικό βρίσκεται σε θέσεις που μπορούν να διασπαστούν από την ενδονουκλεάση *EcoRV*.

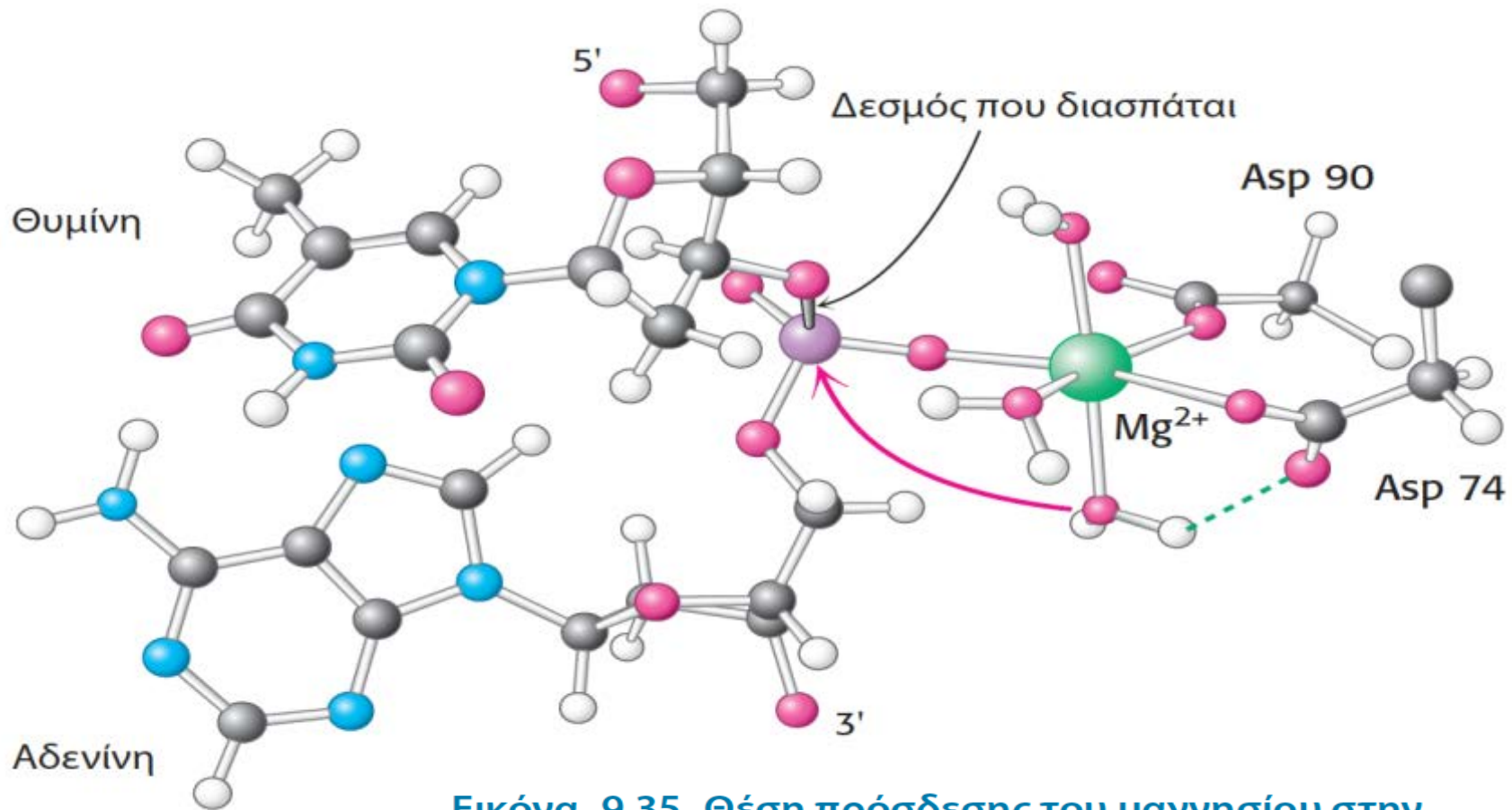


### Εικόνα 9.34 Στερεοχημεία του

**διασπασμένου DNA.** Η διάσπαση του DNA από την ενδονουκλεάση *EcoRV* έχει ως αποτέλεσμα μια ολική αντιστροφή της στερεοχημικής διαμόρφωσης στο άτομο του φωσφόρου, όπως φαίνεται από τη στερεοχημεία του ατόμου του φωσφόρου που είναι προσδεμένο σε ένα γεφυρωτικό άτομο οξυγόνου, ένα  $^{16}\text{O}$ , ένα  $^{18}\text{O}$  και ένα άτομο θείου. Αυτή η διαμόρφωση υποδηλώνει σαφώς ότι η υδρόλυση λαμβάνει χώρα από την απευθείας επίθεση του νερού στο άτομο του φωσφόρου.

Ανεστραμμένο

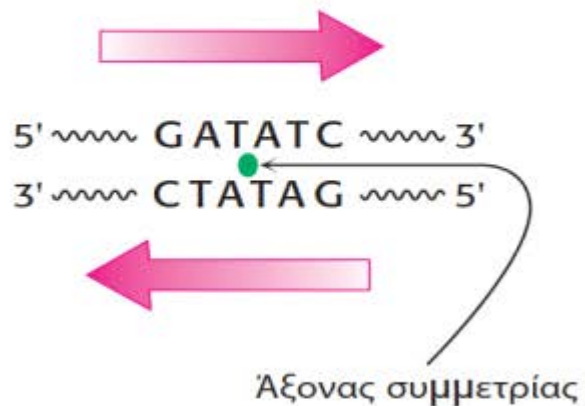
Μη ανεστραμμένο  
(δεν έχει παρατηρηθεί)



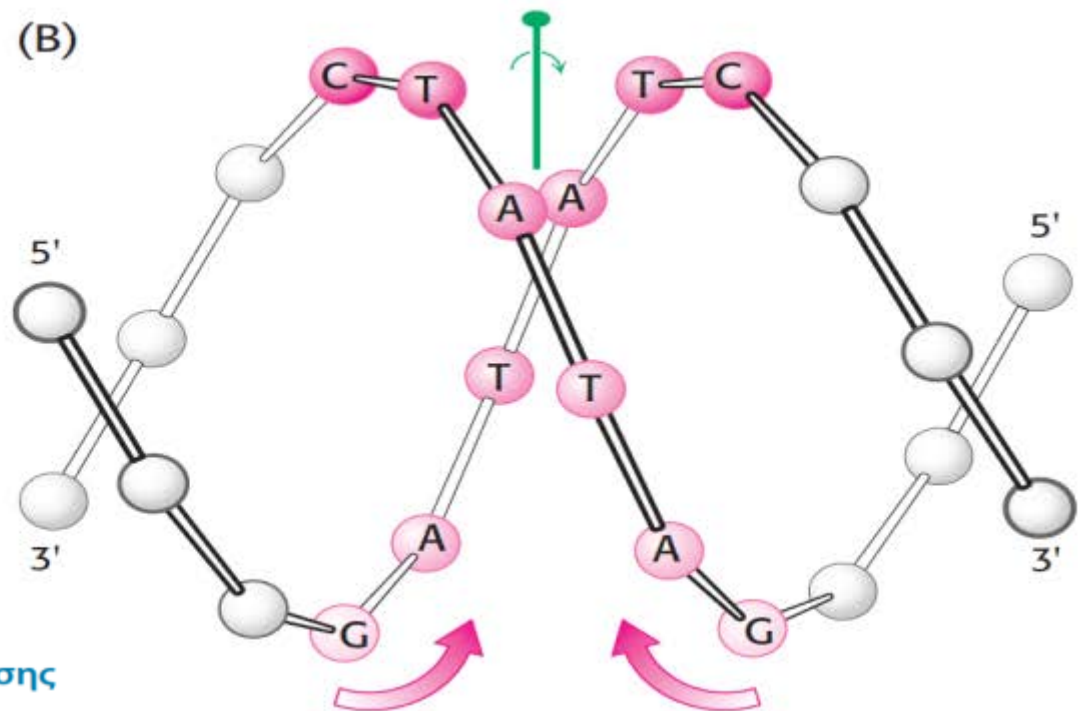
**Εικόνα 9.35** Θέση πρόσδεσης του μαγνησίου στην ενδονουκλεάση *EcoRV*. Το ιόν μαγνησίου βοηθά στην ενεργοποίηση του νερού και το τοποθετεί έτσι ώστε να μπορεί να επιτεθεί στο άτομο φωσφόρου.



(A)



(B)

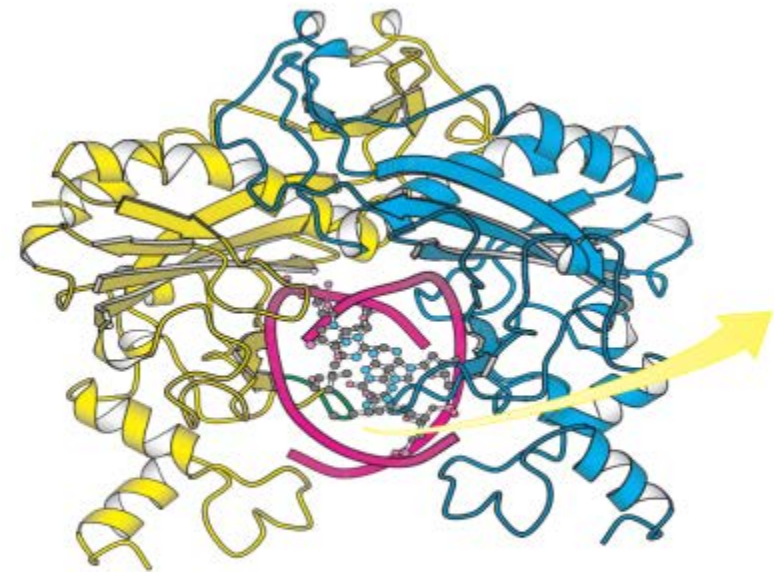


**Εικόνα 9.36** Δομή της θέσης αναγνώρισης της ενδονουκλεάσης *EcoRV*. (A) Η αλληλουχία της θέσης αναγνώρισης, είναι συμμετρική γύρω από τον άξονα περιστροφής, ο οποίος φαίνεται με πράσινο. (B) Η αντεστραμμένη επανάληψη μέσα στην αλληλουχία αναγνώρισης της *EcoRV* (και των περισσότερων άλλων περιοριστικών ενδονουκλεασών) προικίζει τη θέση DNA με περιστροφική συμμετρία δευτέρας τάξεως.

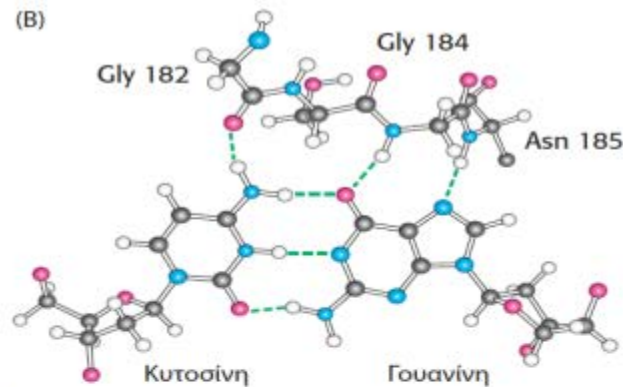




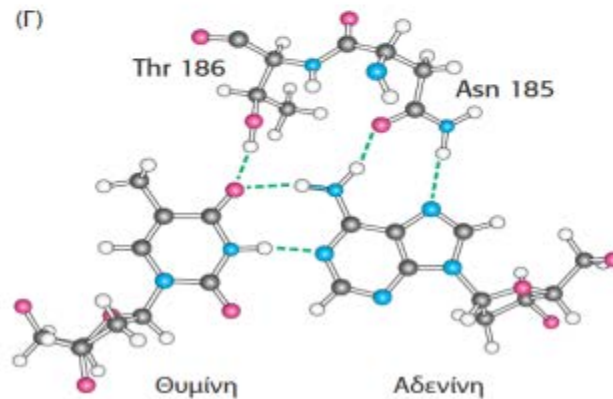
(Α)



(Β)

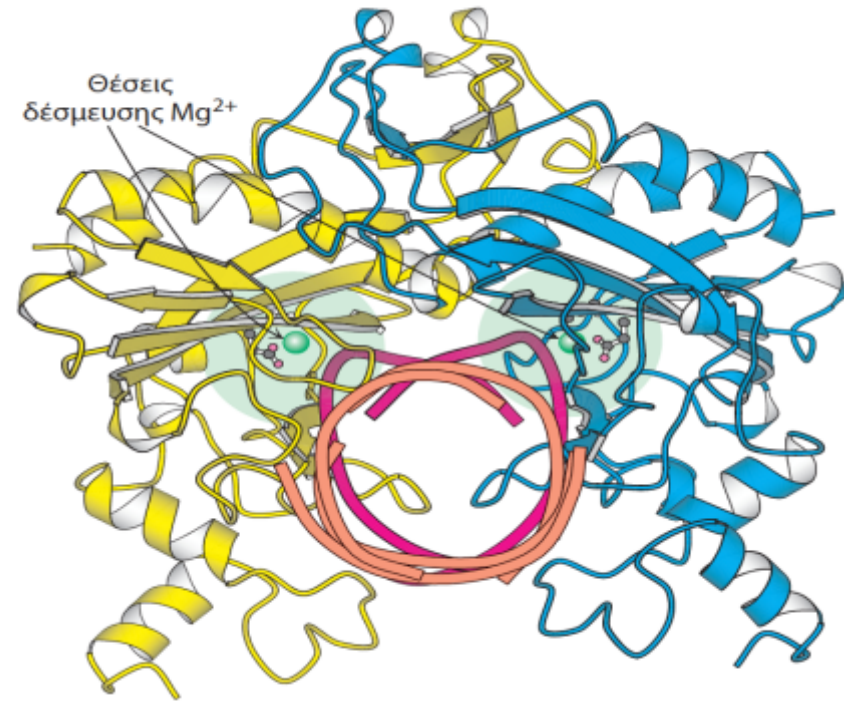
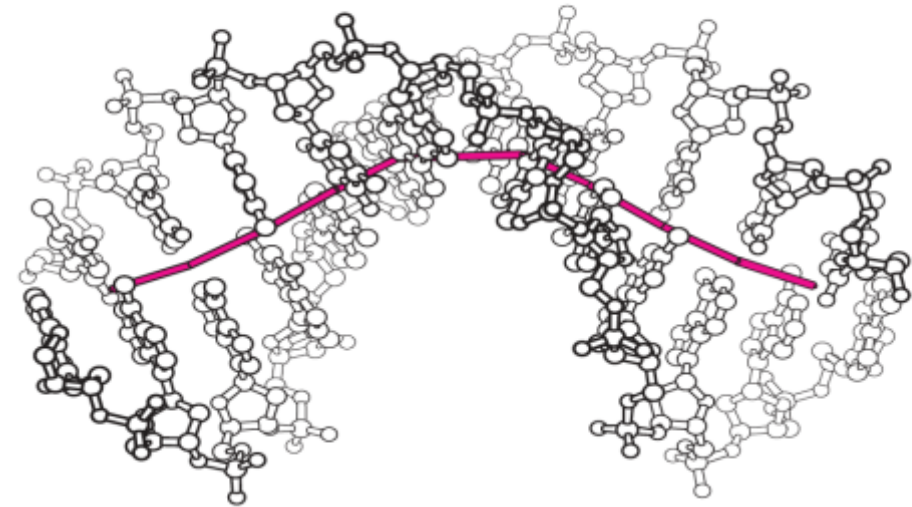


(Γ)



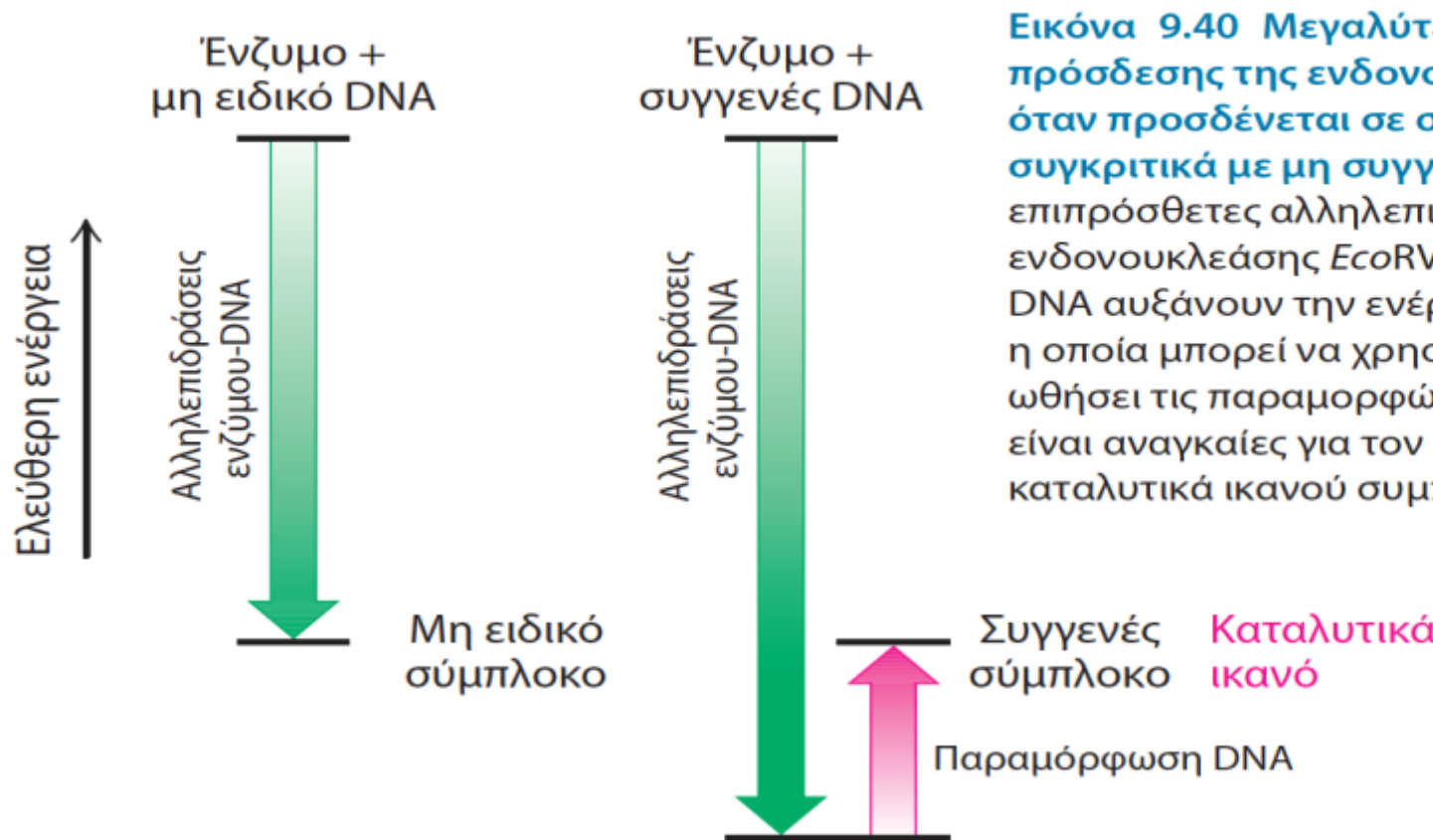
### Εικόνα 9.37 Η *EcoRV* αγκαλιάζει ένα μόριο DNA

(Α) Αυτή η όψη της δομής της ενδονουκλεάσης *EcoRV* προσδεμένης σε ένα θραύσμα συγγενούς DNA ακολουθεί τον άξονα της έλικας του DNA. Οι δύο πρωτεϊνικές υπομονάδες είναι με κίτρινο και μπλε και ο σκελετός του DNA με κόκκινο. Παρατηρήστε ότι ο άξονας συμμετρίας δευτέρας τάξεως του διμερούς ενζύμου και του DNA συμπίπτουν. Μία από τις θηλιές που προσδένουν το DNA (πράσινο) της ενδονουκλεάσης *EcoRV* φαίνεται να αλληλεπιδρά με τα ζεύγη βάσεων της θέσης πρόσδεσης του συγγενούς DNA. Κατάλοιπα σημαντικών αμινοξέων φαίνονται να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με (Β) ένα ζεύγος βάσεων GC και (Γ) ένα ζεύγος βάσεων AT. [Σχεδιασμένο από 1RVB.pdb.]



**Εικόνα 9.38 Παραμόρφωση της θέσης αναγνώρισης.** Το DNA παριστάνεται ως ένα μοντέλο με σφαίρες και ράβδους. Ο άξονας της έλικας του DNA (φαίνεται με κόκκινο) παραμορφώνεται σημαντικά με την πρόσδεση στο ένζυμο. Για τη μορφή B του DNA, ο άξονας είναι ευθύς (δεν φαίνεται).



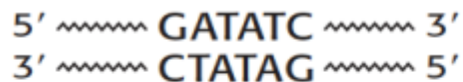


**Εικόνα 9.40 Μεγαλύτερη ενέργεια πρόσδεσης της ενδονουκλεάσης *EcoRV* όταν προσδέεται σε συγγενές DNA συγκριτικά με μη συγγενές DNA.** Οι επιπρόσθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ενδονουκλεάσης *EcoRV* και του συγγενούς DNA αυξάνουν την ενέργεια πρόσδεσης, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ωθήσει τις παραμορφώσεις του DNA που είναι αναγκαίες για τον σχηματισμό ενός καταλυτικά ικανού συμπλόκου.



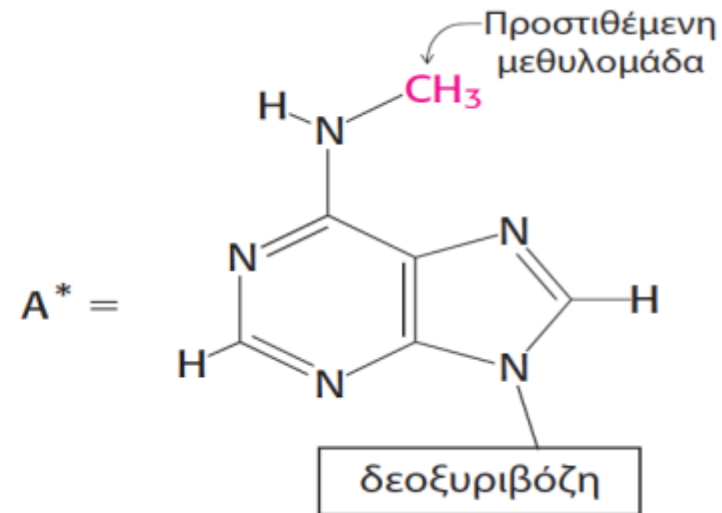
Διασπώμενο

Μη διασπώμενο



### Εικόνα 9.41 Προστασία με μεθυλίωση.

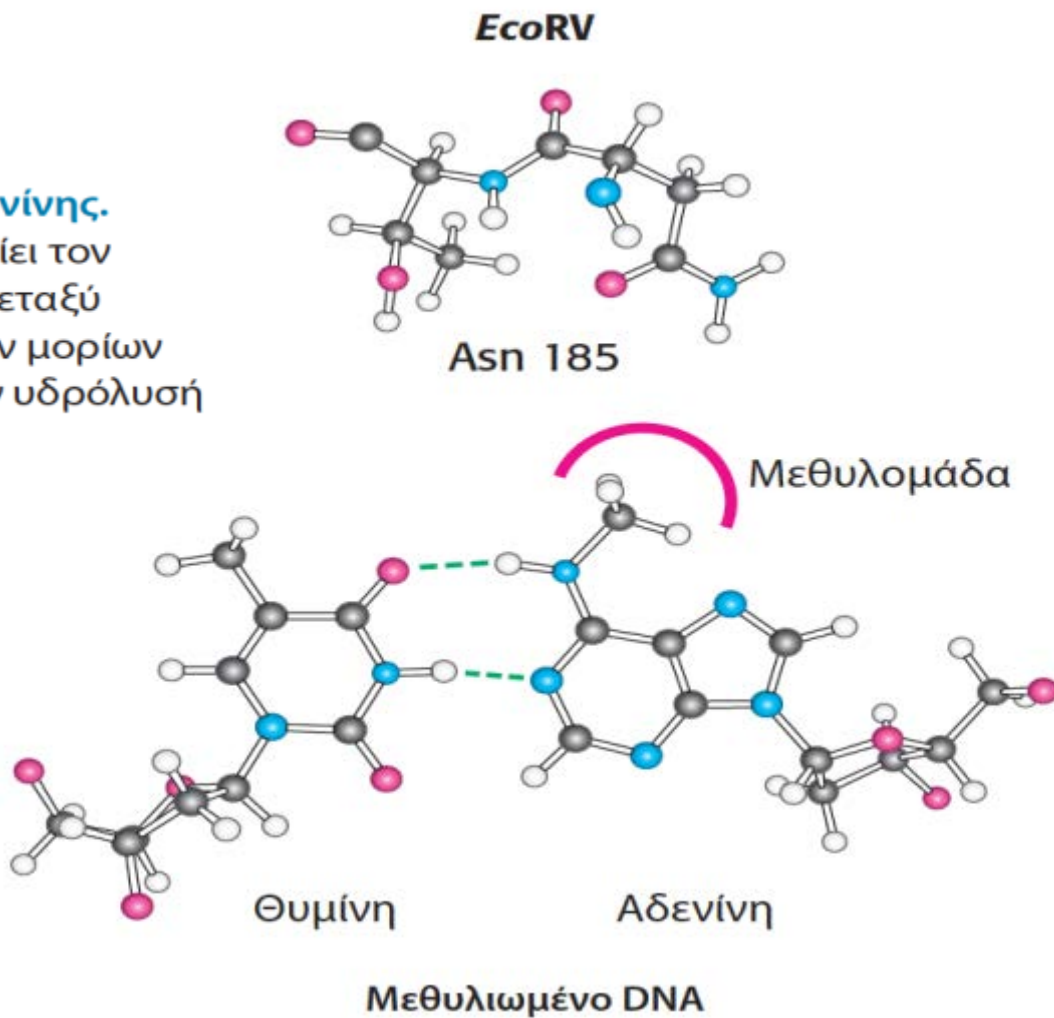
Η αλληλουχία αναγνώρισης για την ενδονουκλεάση *EcoRV* (αριστερά) και οι θέσεις μεθυλίωσης (δεξιά) στο DNA, που προστατεύεται από την καταλυτική δράση του ενζύμου.

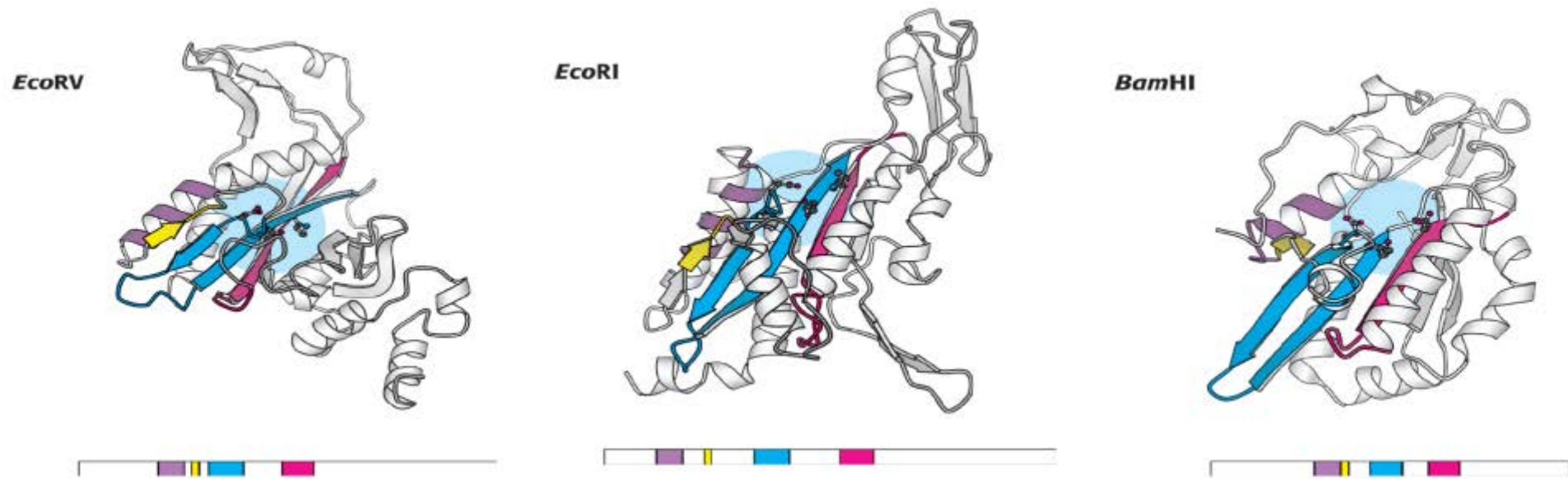




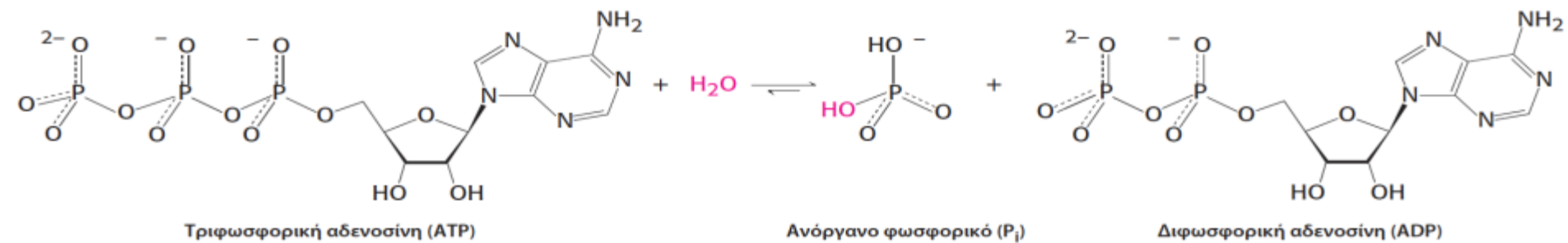
### Εικόνα 9.42 Μεθυλίωση της αδενίνης.

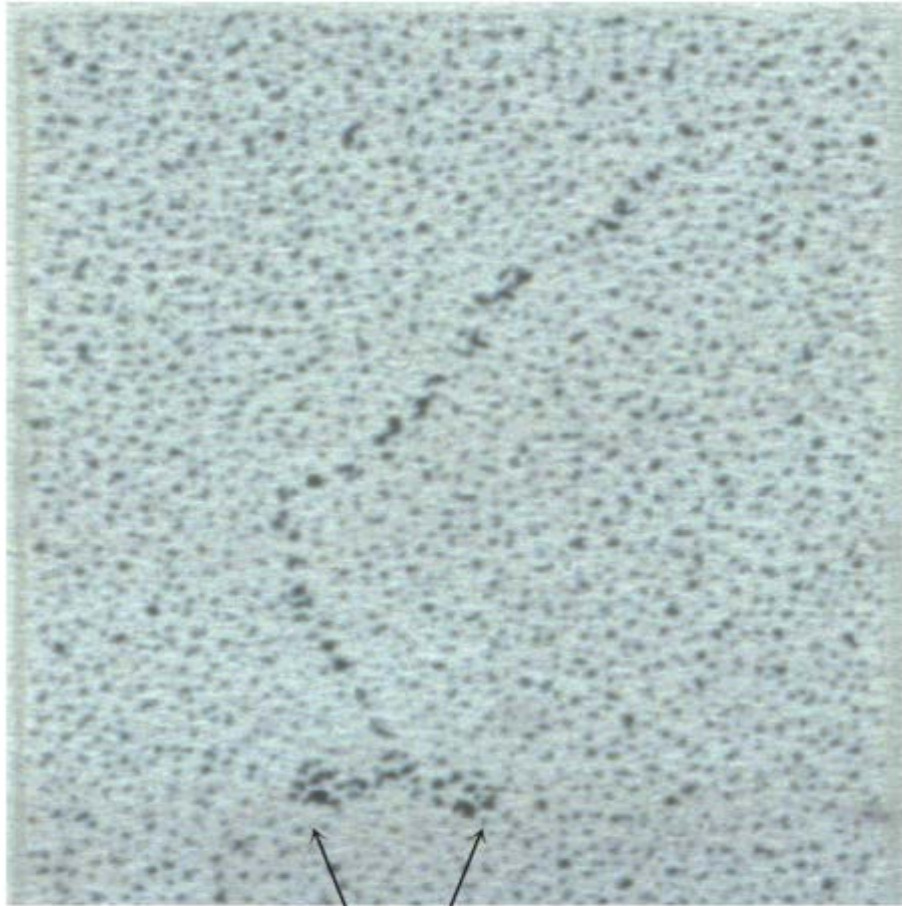
Η μεθυλίωση της αδενίνης αποκλείει τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ της ενδονουκλεάσης *EcoRV* και των μορίων συγγενούς DNA, εμποδίζοντας την υδρόλυσή τους.





**Εικόνα 9.43 Ένας συντηρημένος δομικός πυρήνας στα περιοριστικά ένζυμα τύπου II.** Τα μοντέλα παρουσιάζουν ένα μεμονωμένο μονομερές από κάθε ενζυμικό διμερές. Οι τέσσερις έγχρωμες θέσεις αναπαριστούν διατηρημένα δομικά στοιχεία, στα οποία περιλαμβάνεται και το ενεργό κέντρο (με μπλε). Παρατηρήστε ότι αυτά τα στοιχεία έχουν παραπλήσιες δομές στα διάφορα ένζυμα. Η θέση των αλληλουχιών των αμινοξέων, οι οποίες σχηματίζουν αυτά τα στοιχεία, μέσα στο σύνολο κάθε αλληλουχίας παρουσιάζονται σχηματικά κάτω από κάθε δομή. [Σχεδιασμένο από 1BHM.pdb.]

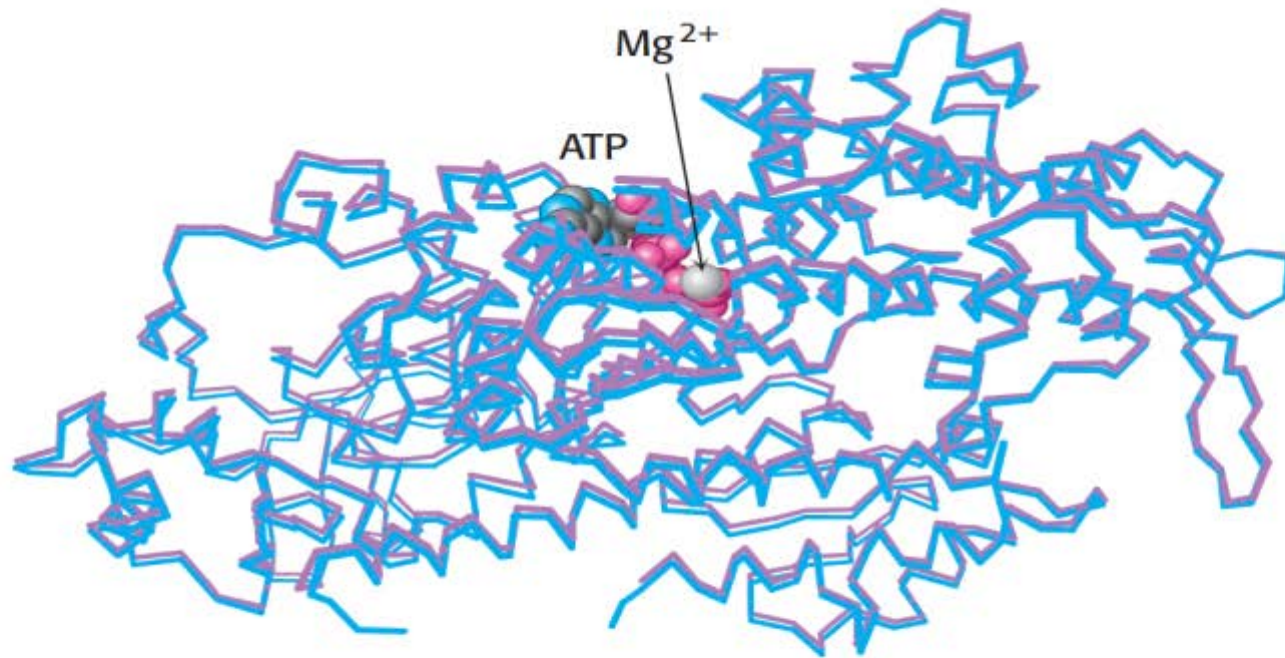




**Εικόνα 9.44 Επιμήκης δομή της μυϊκής μυοσίνης.** Ηλεκτρονιομικρογραφία που δείχνει τη μυοσίνη από μυ θηλαστικών. Αυτή η διμερής πρωτεΐνη έχει επιμήκη δομή με δύο σφαιρικές περιοχές ΑΤΡάσης για κάθε διμερές. [Ευγενική προσφορά Dr. Paula Flicker, Dr. Theo Walliman και Dr. Peter Vibert.]

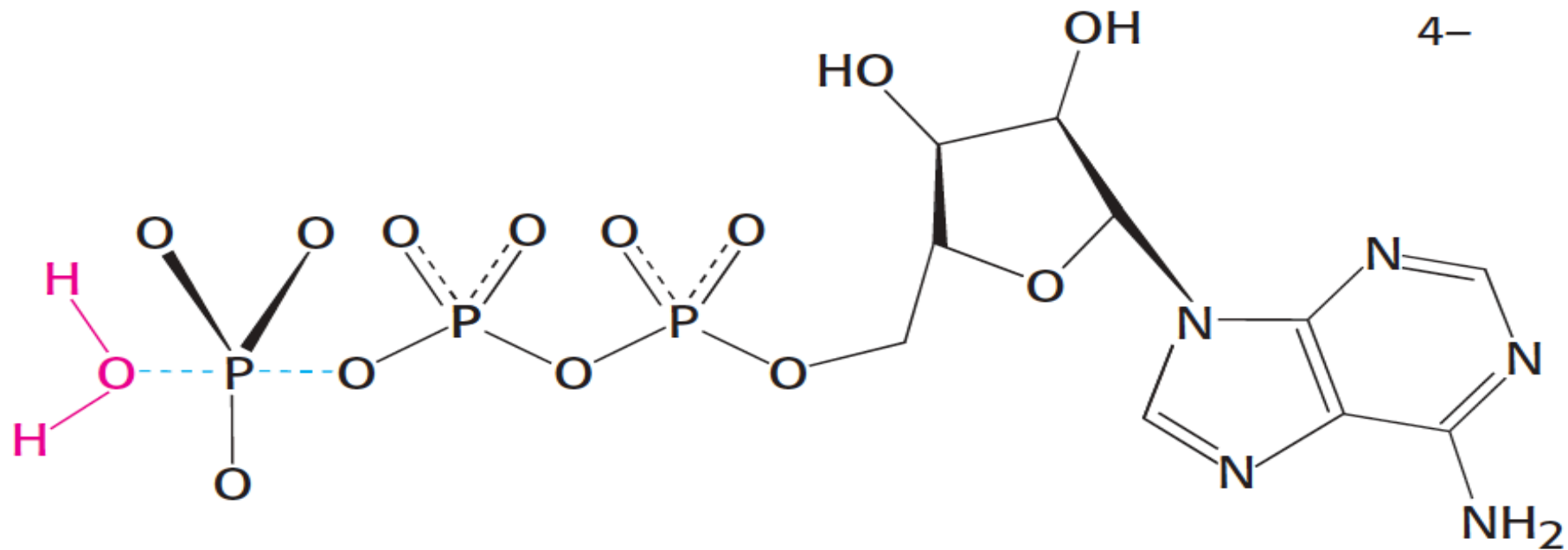
Σφαιρικές δομικές περιοχές ΑΤΡάσης

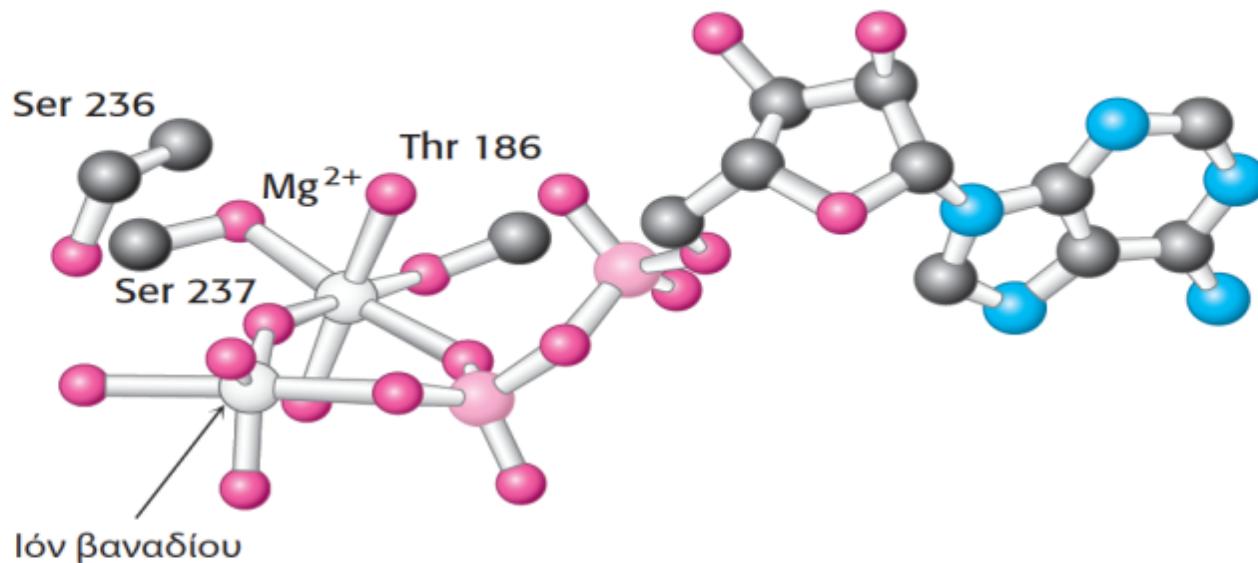




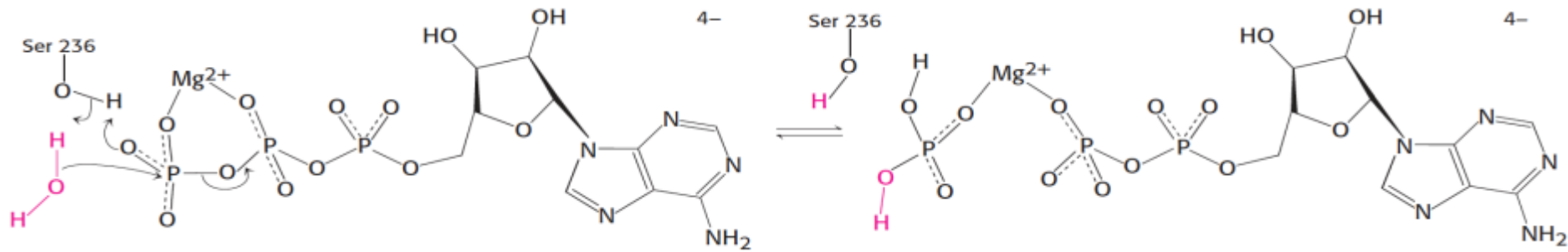
**Εικόνα 9.45 Δομή του συμπλόκου μυοσίνης – ATP.** Μια επικάλυψη των δομών των περιοχών ATPάσης της μυοσίνης από το *Dictyostelium discoideum* χωρίς συνδεδεμένα προσδέματα (μπλε) και το σύμπλοκο αυτής της πρωτεΐνης με προσδεμένα ATP και μαγνήσιο (κόκκινο). Παρατηρήστε ότι οι δύο δομές είναι μεταξύ τους εξαιρετικά όμοιες. [Σχεδιασμένο από 1FMV.pdb.]



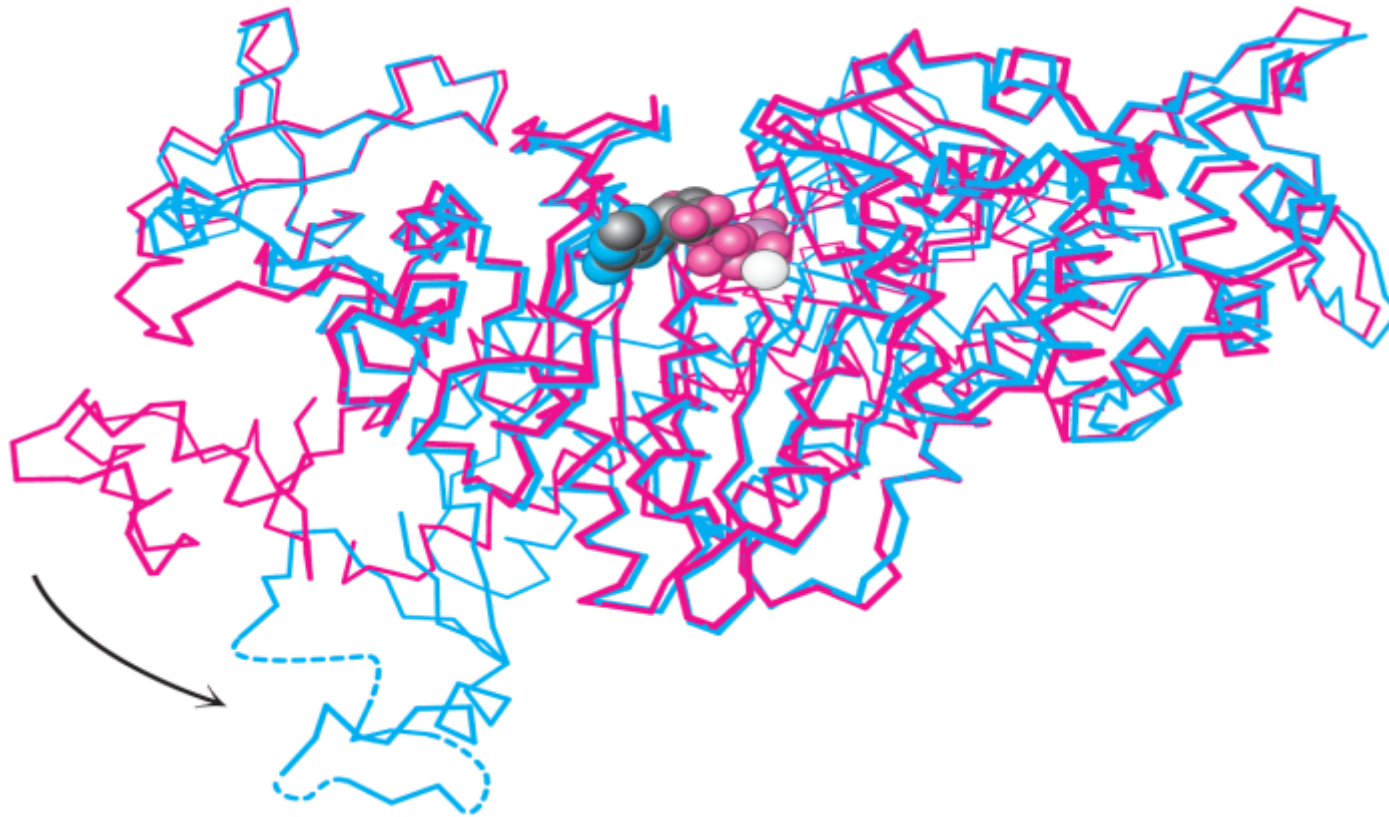




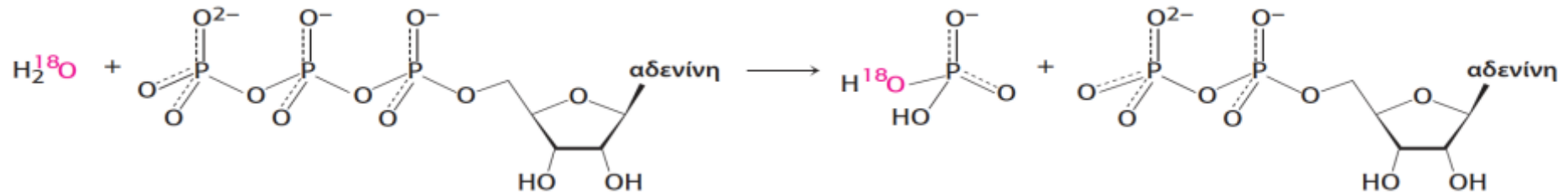
**Εικόνα 9.46** Ανάλογο μεταβατικής κατάστασης της ΑΤΡάσης της μυοσίνης. Φαίνεται η δομή του αναλόγου της μεταβατικής κατάστασης που σχηματίζεται από την επεξεργασία της περιοχής ΑΤΡάσης της μυοσίνης με ADP και βαναδική ομάδα ( $\text{VO}_4^{3-}$ ) παρουσία μαγνησίου. Παρατηρήστε ότι το ιόν βαναδίου συντονίζεται με πέντε άτομα οξυγόνου συμπεριλαμβανομένου ενός από την ADP. Φαίνονται οι θέσεις των δύο καταλοίπων που προσδένουν μαγνήσιο, καθώς επίσης της Ser 236, ενός καταλοίπου το οποίο φαίνεται ότι παίζει άμεσο ρόλο στην κατάλυση. [Σχεδιασμένο από 1VOM.pdb.]

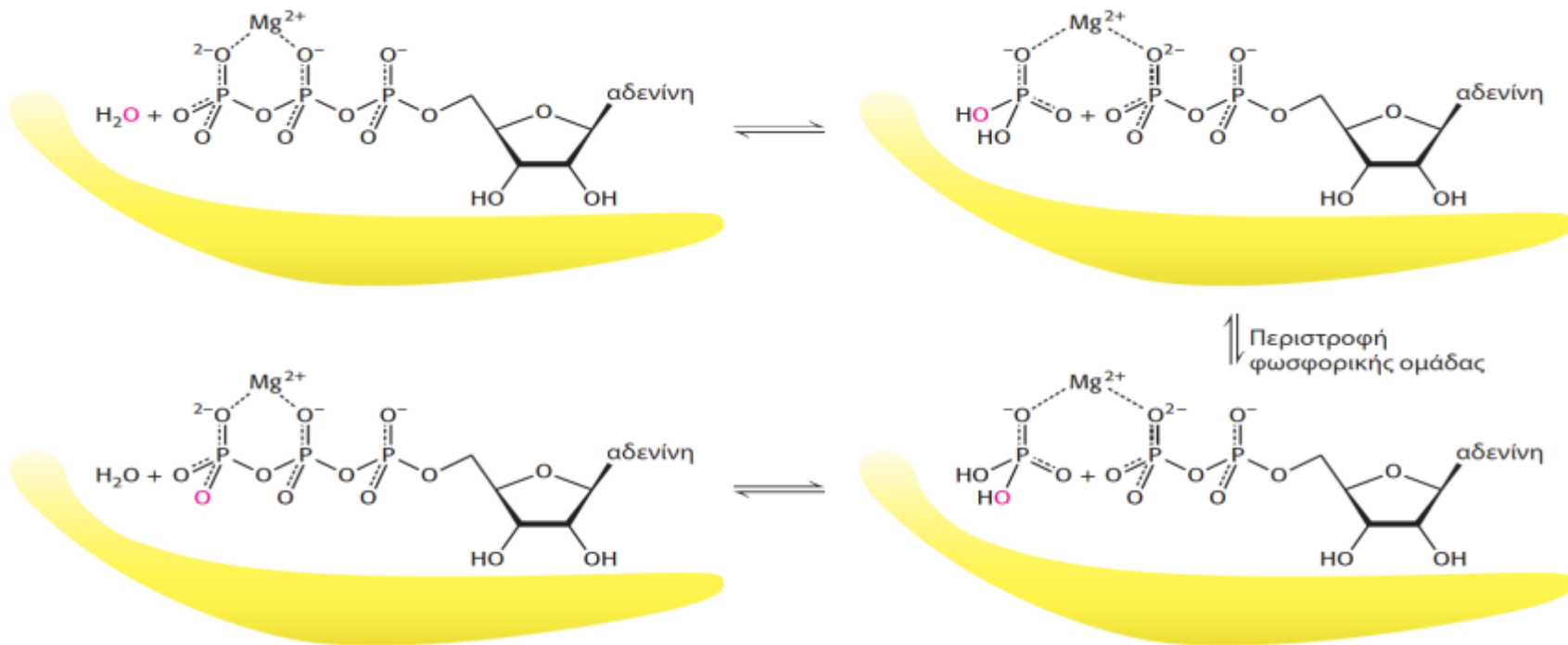


**Εικόνα 9.47 Διευκολύνοντας την επίθεση του νερού.** Το μόριο ύδατος που επιτίθεται στη  $\gamma$ -φωσφορική ομάδα της ATP αποπρωτονιώνεται από την υδροξυλομάδα της Ser 236, η οποία με τη σειρά της αποπρωτονιώνεται από ένα άτομο οξυγόνου της  $\gamma$ -φωσφορυλομάδας, με αποτέλεσμα να σχηματιστεί το προϊόν  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ .




**Εικόνα 9.48** Αλλαγές στερεοδιάταξης της μυοσίνης. Μια σύγκριση των συνολικών δομών της δομικής περιοχής της ATPάσης της μυοσίνης με προσδεμένη ATP (με κόκκινο) και εκείνης με το ανάλογο μεταβατικής κατάστασης ADP-βαναδικό (με μπλε). Παρατηρήστε τη μεγάλη αλλαγή στερεοδιάταξης του καρβοξυ-τελικού άκρου της περιοχής, της οποίας μερικά μέρη μετακινούνται μέχρι και 25 Å. [Σχεδιασμένο από 1FMW.pdb και 1VOM.pdb.]

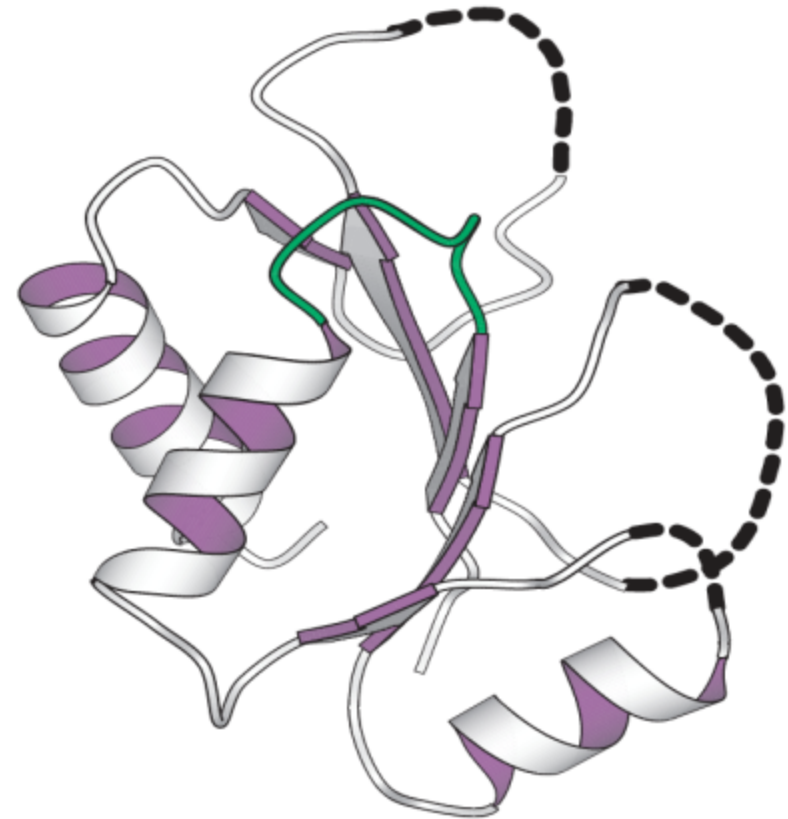




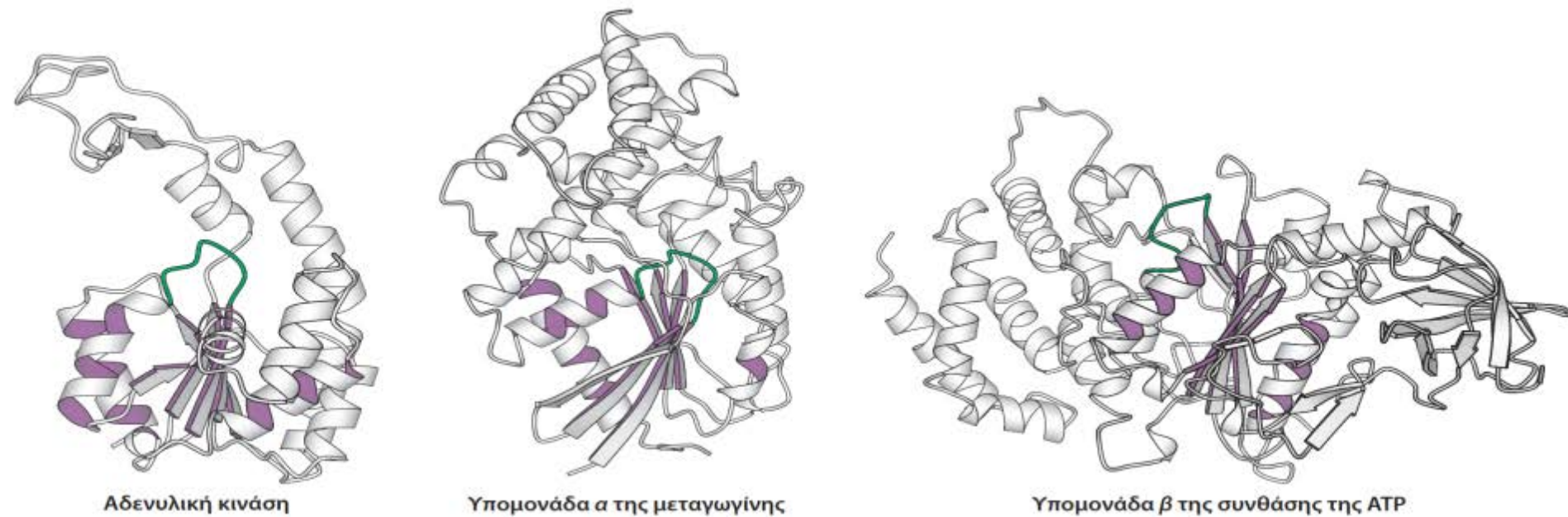
**Εικόνα 9.49 Αντιστρεπτή υδρόλυση της ATP μέσα στο ενεργό κέντρο της μυοσίνης.** Για τη μυοσίνη, περισσότερα από ένα άτομα οξυγόνου ενσωματώνονται στο ανόργανο φωσφορικό. Τα άτομα οξυγόνου ενσωματώνονται σε κύκλους υδρόλυσης της ATP σε ADP και ανόργανο φωσφορικό, περιστροφή φωσφορικής ομάδας μέσα στο ενεργό κέντρο της μυοσίνης και επανασηματισμό της ATP που περιέχει τώρα οξυγόνο από το νερό.



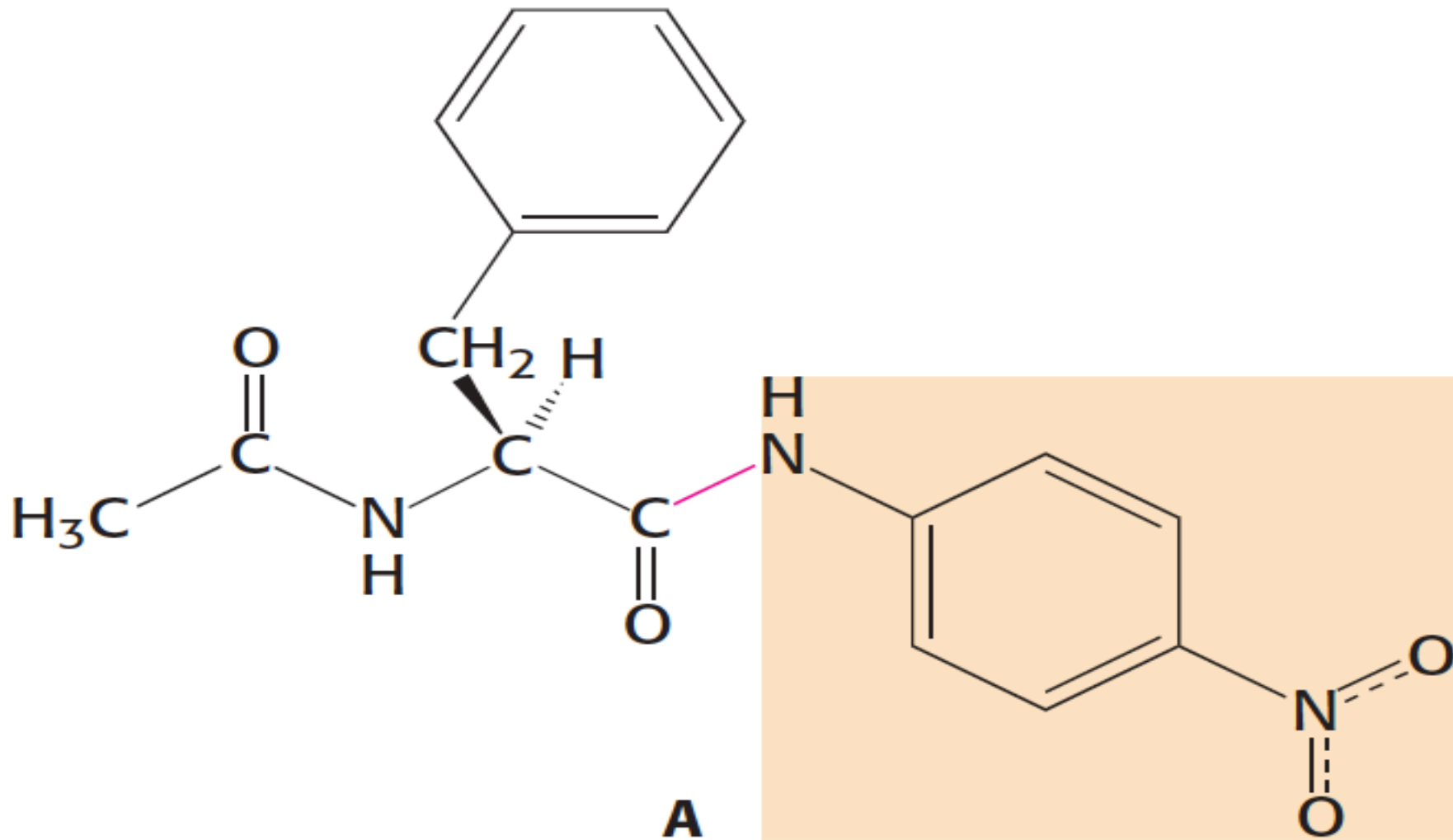
 **Εικόνα 9.50** Η κεντρική δομική περιοχή των κινασών NMP. Παρατηρήστε ότι η θηλιά P φαίνεται με πράσινο. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την υπόλοιπη δομή της πρωτεΐνης. [Σχεδιασμένο από 1GKY.pdb]

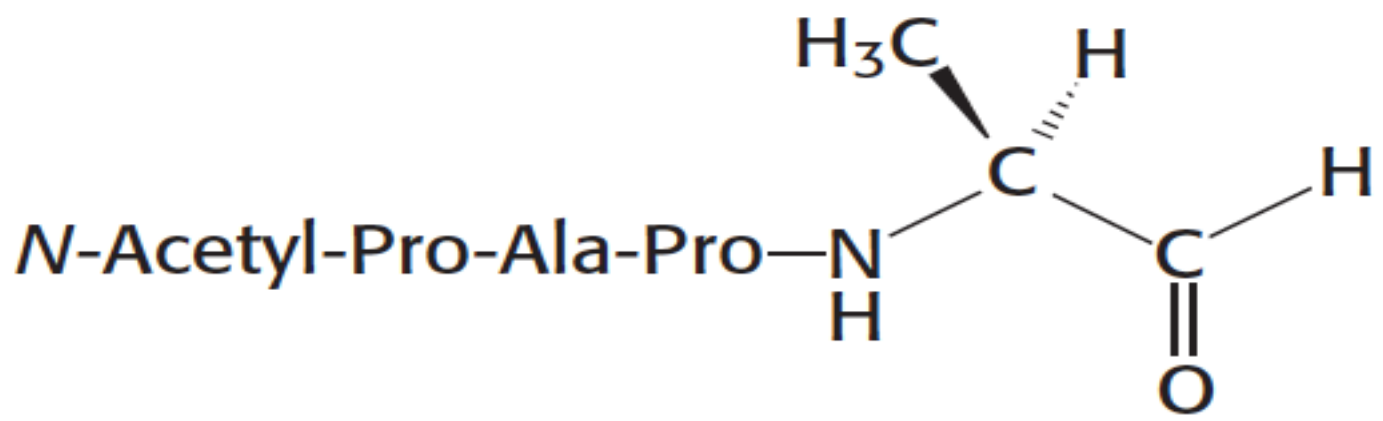


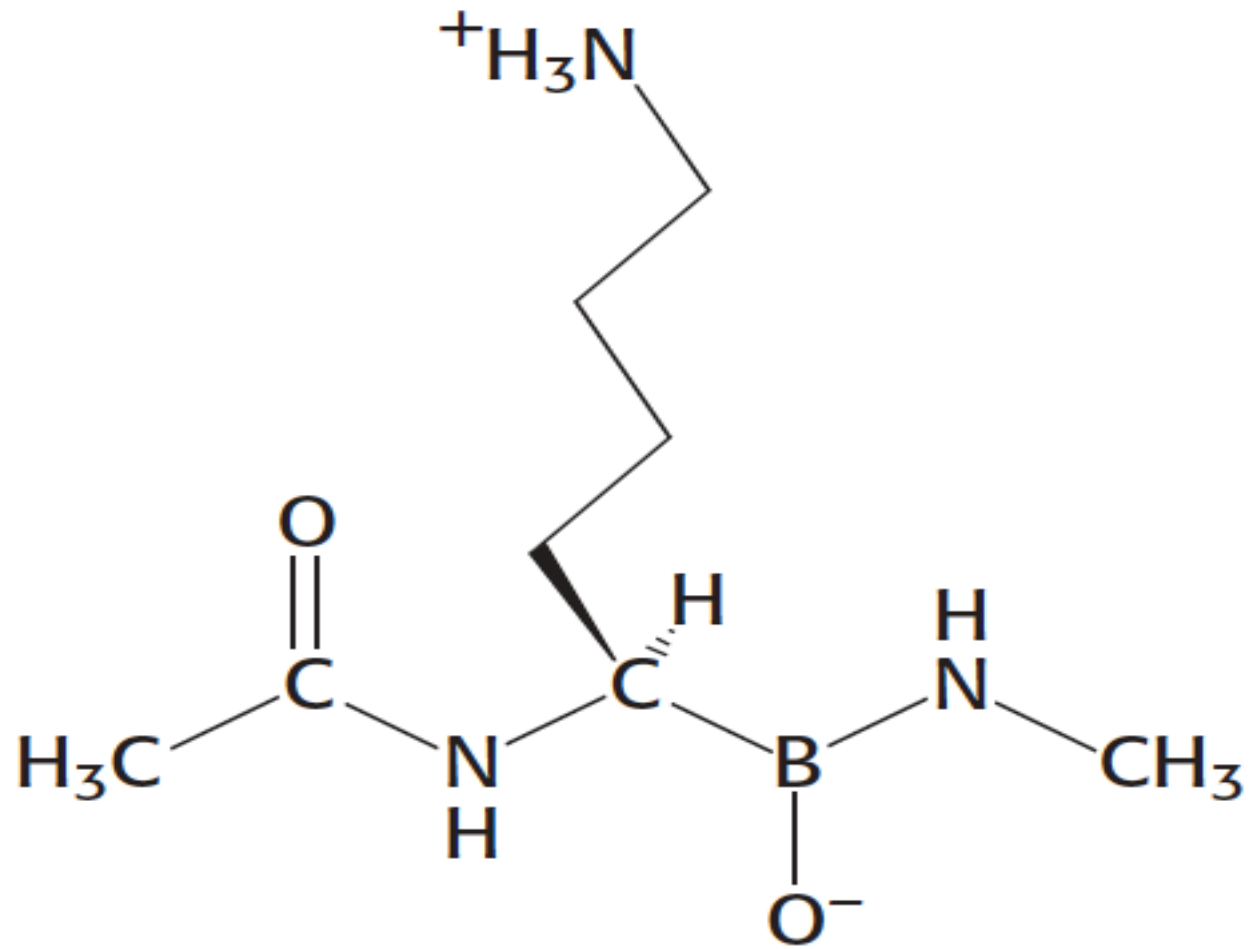




**Εικόνα 9.51** Τρεις πρωτεΐνες που περιέχουν δομικές περιοχές NTPάσης με θηλιά P. Παρατηρήστε τις συντηρημένες δομικές περιοχές με τις εσωτερικές επιφάνειες των κορδελών που φαίνονται με πορφυρό χρώμα και τις θηλιές P με πράσινο χρώμα. [Σχεδιασμένο από 4AKE.pdb, 1TND.pdb, 1BMF.pdb.]







**Μόριο Α**



# Βιβλιογραφία

1. Jeremy M Berg, John L Tymoczko, Lubert Stryer, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 5<sup>η</sup> έκδοση, Α τόμος, Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2004. Βλέπε και διαδικτυακό τόπο του βιβλίου [www.whfreeman.com/Berg7e/](http://www.whfreeman.com/Berg7e/)
2. Διαμαντίδη Γρ., ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 3<sup>η</sup> έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 2007/2010.
3. Campbell NA, Reece JB. *Βιολογία*, τόμος Ι. 8<sup>η</sup> έκδοση, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2010.
4. Γ. Μουρκίδη, Γεωργική Χημεία, Θεσσαλονίκη, 1971. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
5. Geoffrey [Zubay](#), William [Parson](#), Diane E. [Vance](#). Αρχές βιοχημείας, [ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης](#), Αθήνα 1999. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
6. David L. [Nelson](#), Michael M. [Cox](#). *Lehninger*, Principles of Biochemistry (υπάρχει και μεταφρασμένη ελληνική έκδοση) Βασικές αρχές βιοχημείας. Μεταφραστές: Κ.Ε. [Σταματόπουλος](#), Α.Ν. [Χατζηδημητρίου](#). Επιμελητής: Α.Γ. [Παπαβασιλείου](#). [ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης](#), Αθήνα, 2007. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
7. Mathews D, van Holde KE. BIOCHEMISTRY, 3<sup>rd</sup> edition, Benjamin Cummings, Menlo Park, 2003. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
8. John Clark, Robert ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ. Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 1992, 2<sup>η</sup> εκτύπωση, 2001. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
9. ΙΓ Γεωργιάτσου, Δ. Κυριακίδης, Τ. Γιουψάνης, κ.ά. Εργαστηριακές Ασκήσεις Βιοχημείας. Εκδόσεις Ζήτη. Θεσσαλονίκη, 2004. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
10. Οδηγός μελέτης του μαθήματος (φυλλάδιο που χορηγείται στη διάλεξη).



# Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη Δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.





# Σημείωμα Αναφοράς

Παπαδόπουλος, Γ. Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας.  
Τεχνολογικό Ίδρυμα Ηπείρου. Διαθέσιμο από:  
<http://eclass.teiep.gr/courses/TEXG119/>







# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά Δημιουργού-Μη Εμπορική Χρήση-Όχι Παράγωγα Έργα 4.0 Διεθνές [1] ή μεταγενέστερη. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, Διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.el>



# Τέλος Ενότητας

Επεξεργασία: Αντώνιος Σακελλάριος  
Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΒΟΝΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ





# Τέλος Ενότητας

Ένζυμα, αναστολείς, μηχανισμοί δράσης



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ  
2007-2013  
Πρόγραμμα για τη ανάπτυξη  
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ