



Ελληνική Δημοκρατία
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Ηπείρου

Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 3: Εξερεύνηση των πρωτεϊνών

Γεώργιος Παπαδόπουλος



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων

Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 3: Εξερεύνηση των πρωτεϊνών

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





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

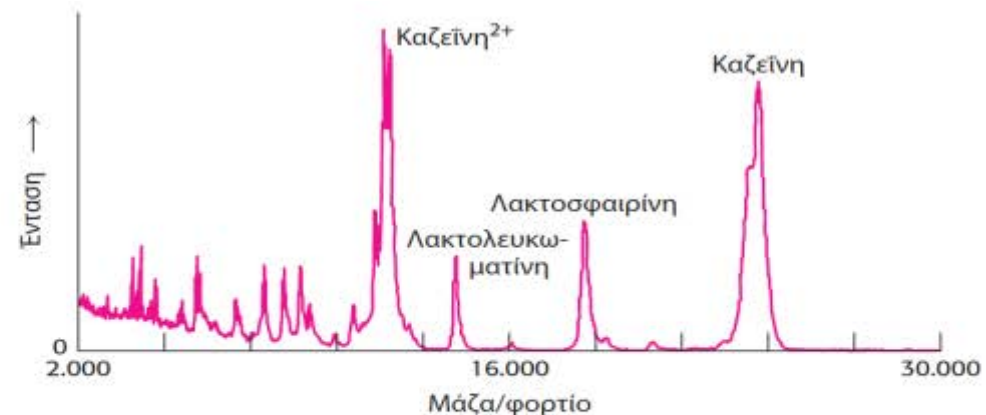


ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

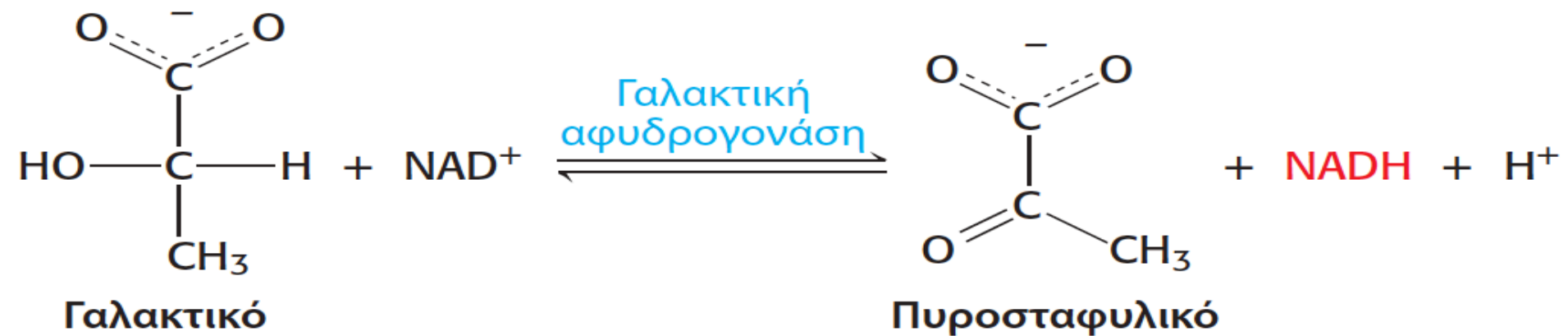
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

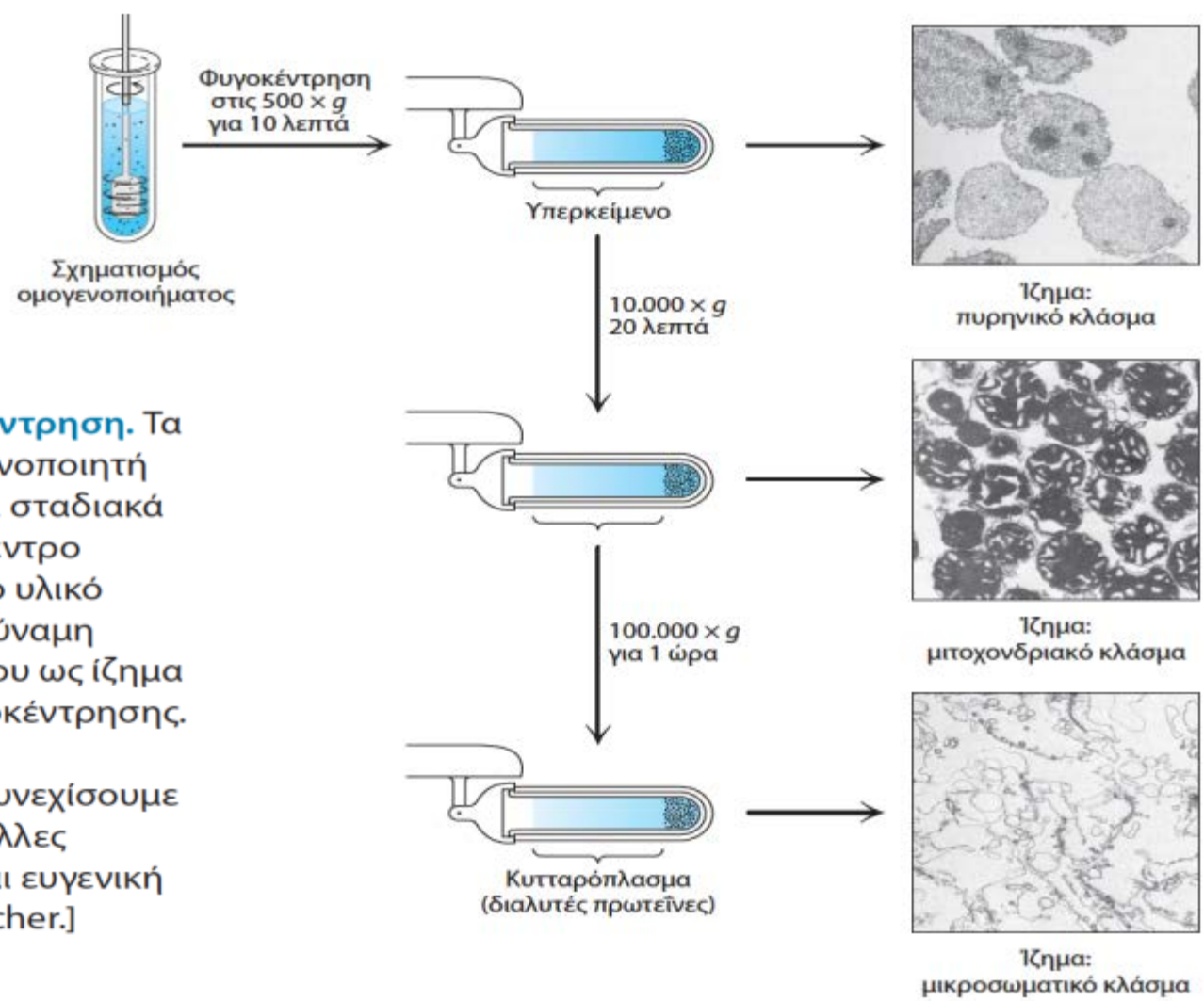


ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

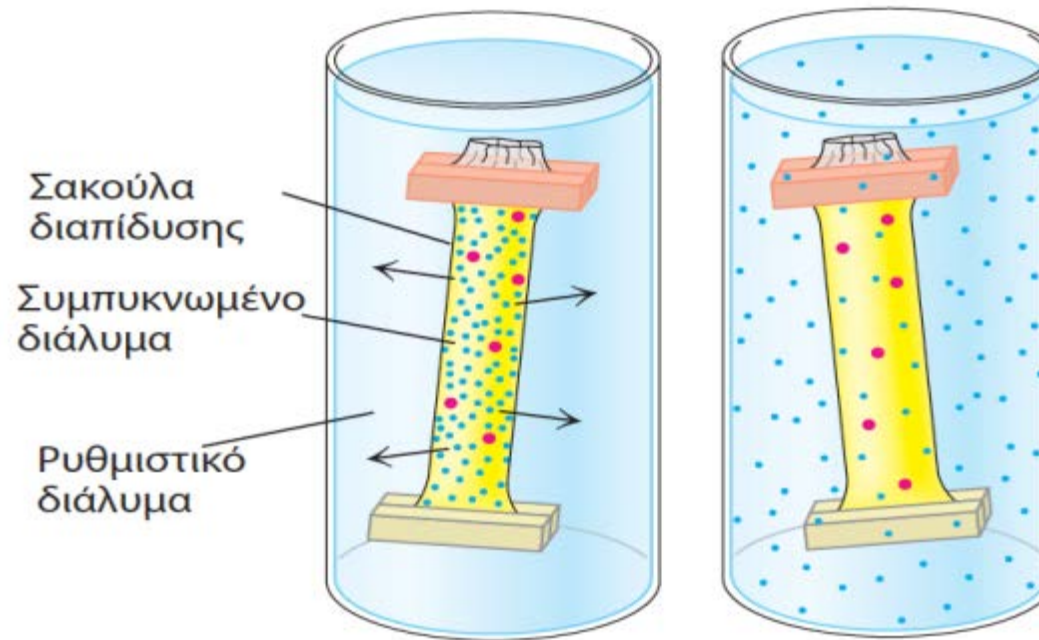


Το γάλα, η πηγή τροφής όλων των θηλαστικών αποτελείται εν μέρει από μια ποικιλία πρωτεϊνών. Η μελέτη των πρωτεϊνών του γάλακτος που βλέπουμε στο σχήμα έγινε με την τεχνική φασματομετρίας μάζας MALDI-TOF, που διαχωρίζει τα μόρια βάσει του λόγου της μάζας προς το φορτίο τους. [(Αριστερά) Okea/istockphoto.com. (Δεξιά) ευγενική προσφορά Brian Chait.]



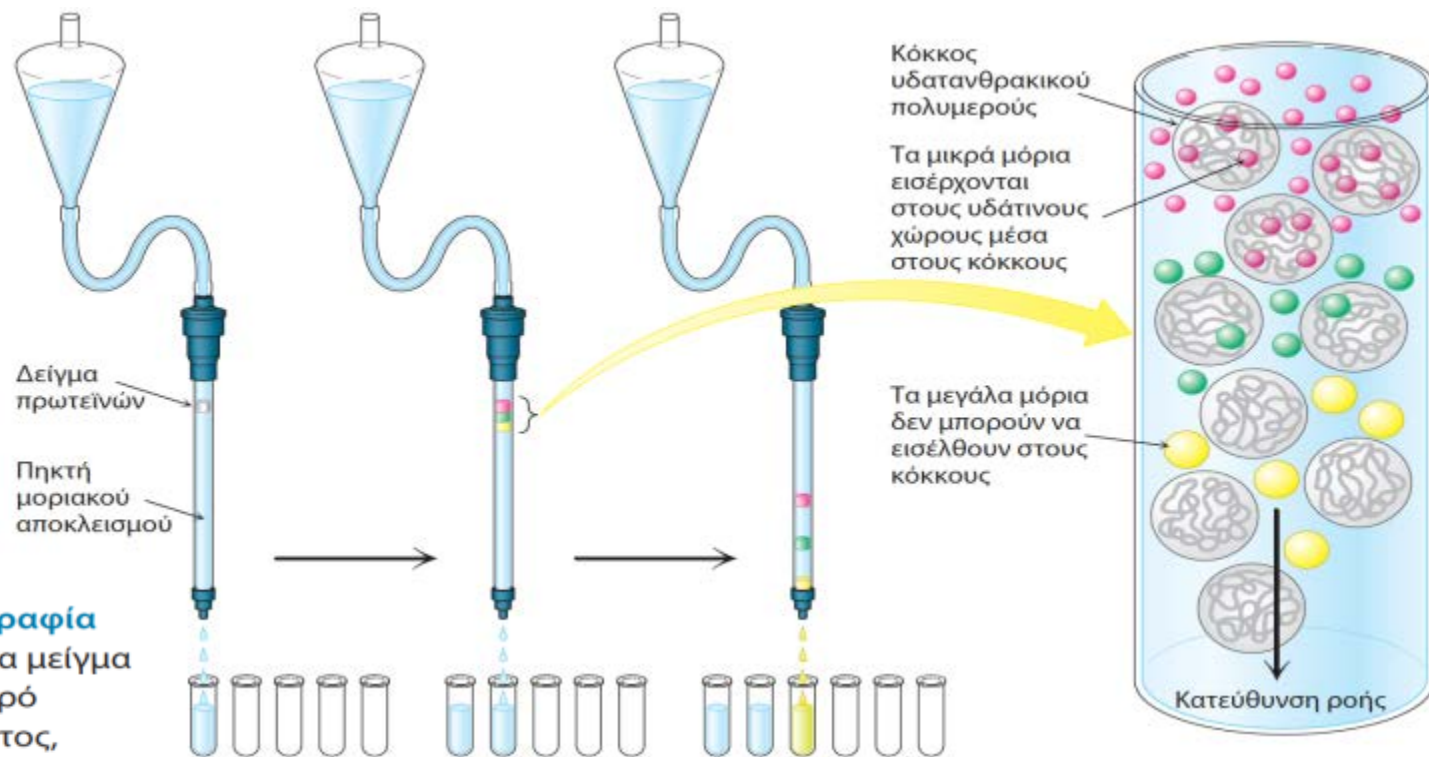


ΕΙΚΟΝΑ 3.1 Διαφορική φυγοκέντρηση. Τα κύτταρα διαλύονται στον ομογενοποιητή και το ομογενοποίημα υπόκειται σταδιακά σε συνεχώς αυξανόμενη φυγόκεντρο δύναμη. Όσο πυκνότερο είναι το υλικό τόσο μικρότερη φυγόκεντρος δύναμη απαιτείται για την καταβύθισή του ως ίζημα στον πυθμένα του σωλήνα φυγοκέντρησης. Διαχωρίζοντας τα κλάσματα της φυγοκέντρησης μπορούμε να συνεχίσουμε τον καθαρισμό των μορίων με άλλες μεθόδους. [Οι φωτογραφίες είναι ευγενική προσφορά των Dr. S. και B. Fleischer.]

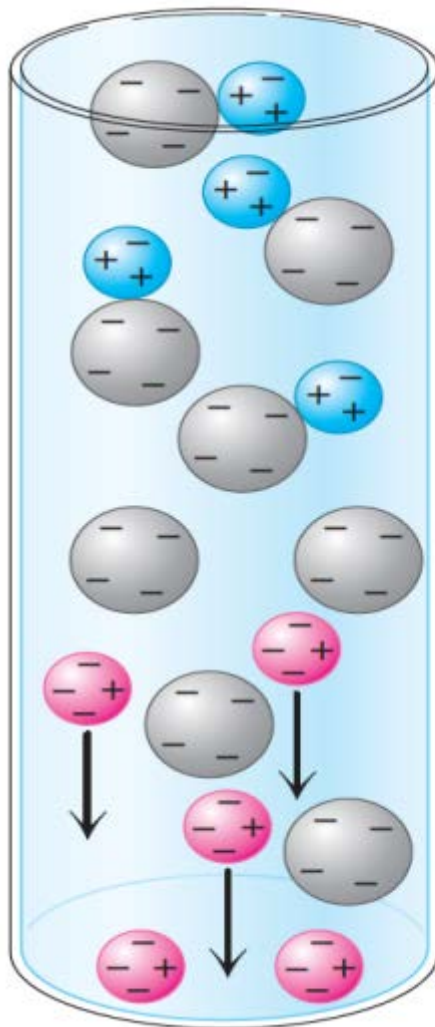


Η διαπίδωση στην αρχή Η διαπίδωση σε ισορροπία

ΕΙΚΟΝΑ 3.2 Διαπίδωση. Τα μόρια της πρωτεΐνης (κόκκινα) παραμένουν μέσα στη σακούλα διαπίδωσης, ενώ τα μικρά μόρια (μπλε) διαχέονται κατά την κατεύθυνση της βαθμίδωσης συγκέντρωσής τους, προς το διάλυμα που περιβάλλει τη μεμβράνη.



ΕΙΚΟΝΑ 3.3 Χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή. Ένα μείγμα πρωτεϊνών, σε πολύ μικρό συγκριτικά όγκο δείγματος, τοποθετείται σε στήλη με πορώδεις κόκκους. Οι μεγάλες πρωτεΐνες εμφανίζονται στην έξοδο της στήλης πριν από τις μικρές πρωτεΐνες διότι δεν μπορούν να εισχωρήσουν στο εσωτερικό των κόκκων του υλικού.



Μια θετικά φορτισμένη πρωτεΐνη δεσμεύεται σε κόκκους με αρνητικό φορτίο

Μια αρνητικά φορτισμένη πρωτεΐνη περνά με απλή ροή

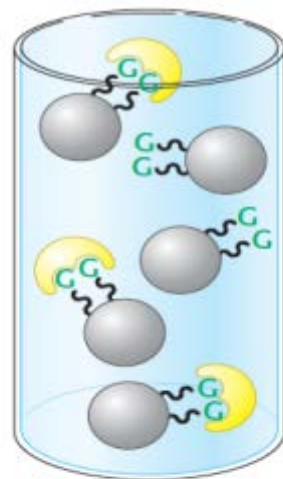
ΕΙΚΟΝΑ 3.4 Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής. Με την τεχνική αυτή οι πρωτεΐνες διαχωρίζονται κυρίως βάσει του καθαρού φορτίου τους.



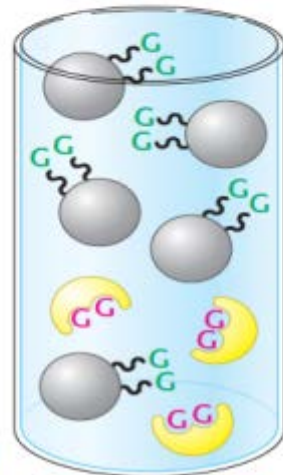
ΕΙΚΟΝΑ 3.5 Χρωματογραφία συγγένειας.

Στο παράδειγμα, η κονκαναβαλίνη Α (που φαίνεται κίτρινη) διαχωρίζεται λόγω συγγένειας με τη γλυκόζη (G) που βρίσκεται ομοιοπολικά δεσμευμένη στη στερεά φάση της στήλης.

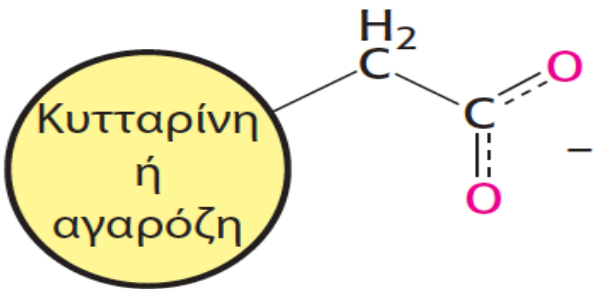
Μια πρωτεΐνη που δεσμεύει γλυκόζη συνδέεται στην ομοιοπολικά συνδεόμενη γλυκόζη (G) των κόκκων



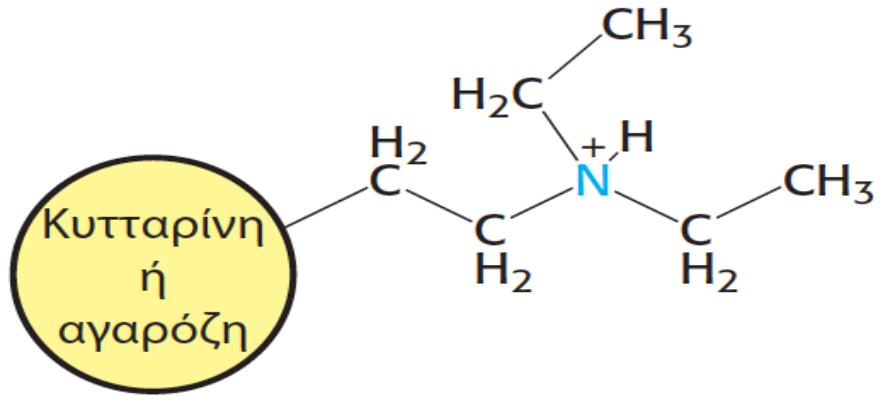
Προσθήκη γλυκόζης (G)



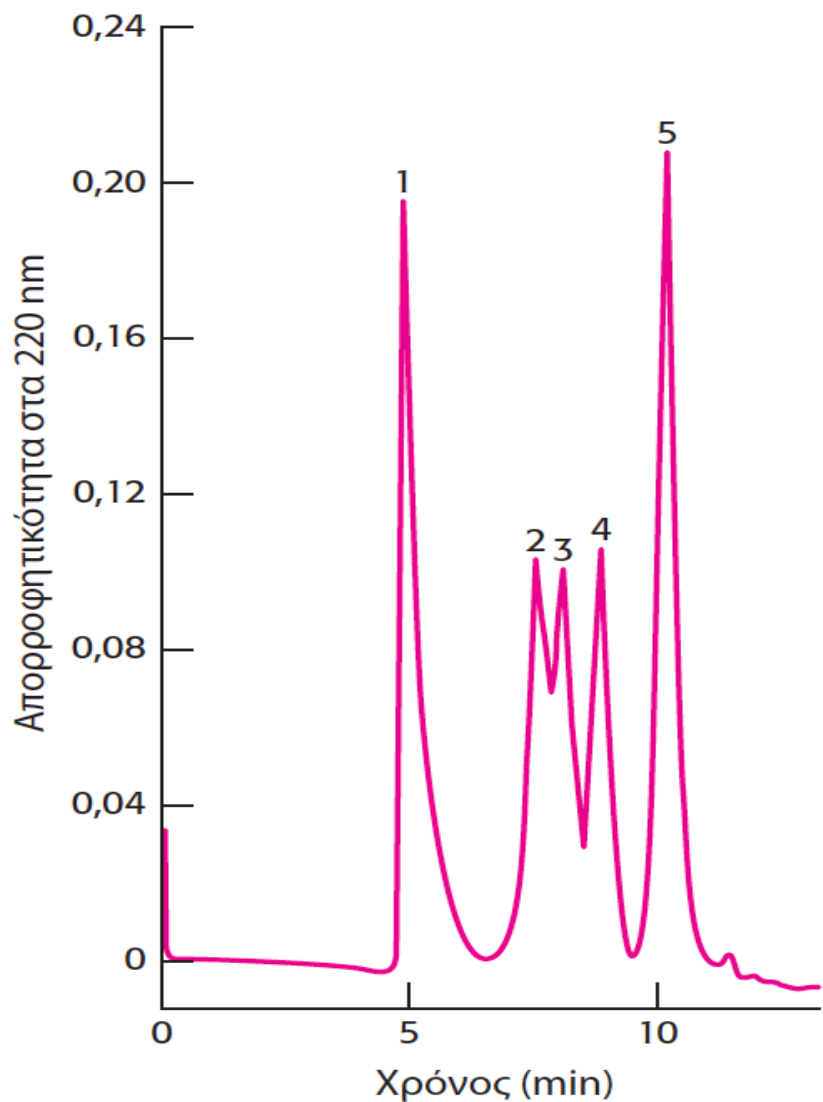
Προσθέτοντας διάλυμα γλυκόζης απελευθερώνονται οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν γλυκόζη



**Καρβοξυμεθυλο-
(CM) ομάδα**
(ιοντισμένη μορφή)



**Διαιθυλο-αμινοαιθυλο-
(DEAE) ομάδα**
(πρωτονιωμένη μορφή)

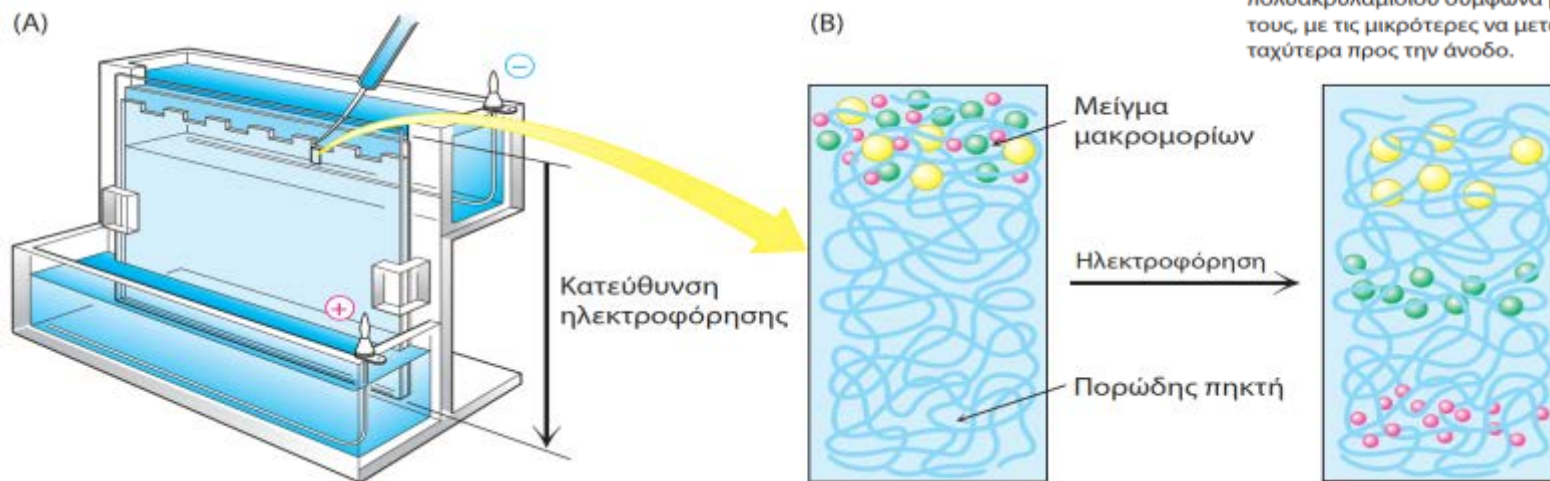


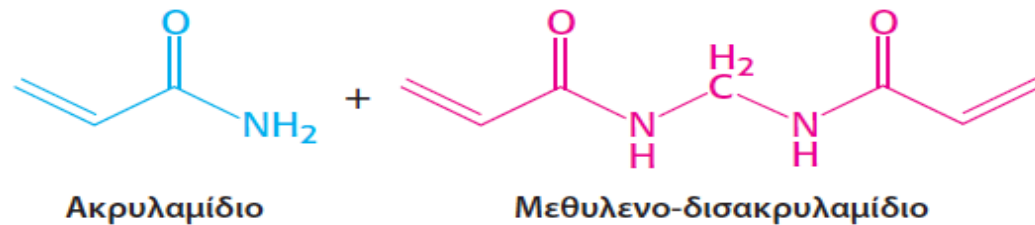
ΕΙΚΟΝΑ 3.6 Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC). Η διήθηση σε πηκτή με την τεχνική HPLC έχει μεγάλη διαχωριστική ικανότητα και μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε με ακρίβεια τις πρωτεΐνες: (1) θυρεοσφαιρίνη (669 kd), (2) καταλάση (232 kd), (3) βόεια λευκωματίνη ορού (67 kd), (4) ωλευκωματίνη (43 kd) και ριβονουκλεάση (13.4 kd). [Κατά K.J. Wilson and T.D. Schlabach, In *Current Protocols in Molecular Biology*, vol. 2, suppl. 41, F. M. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, Eds. (Wiley, 1998), p.10.14.1.]



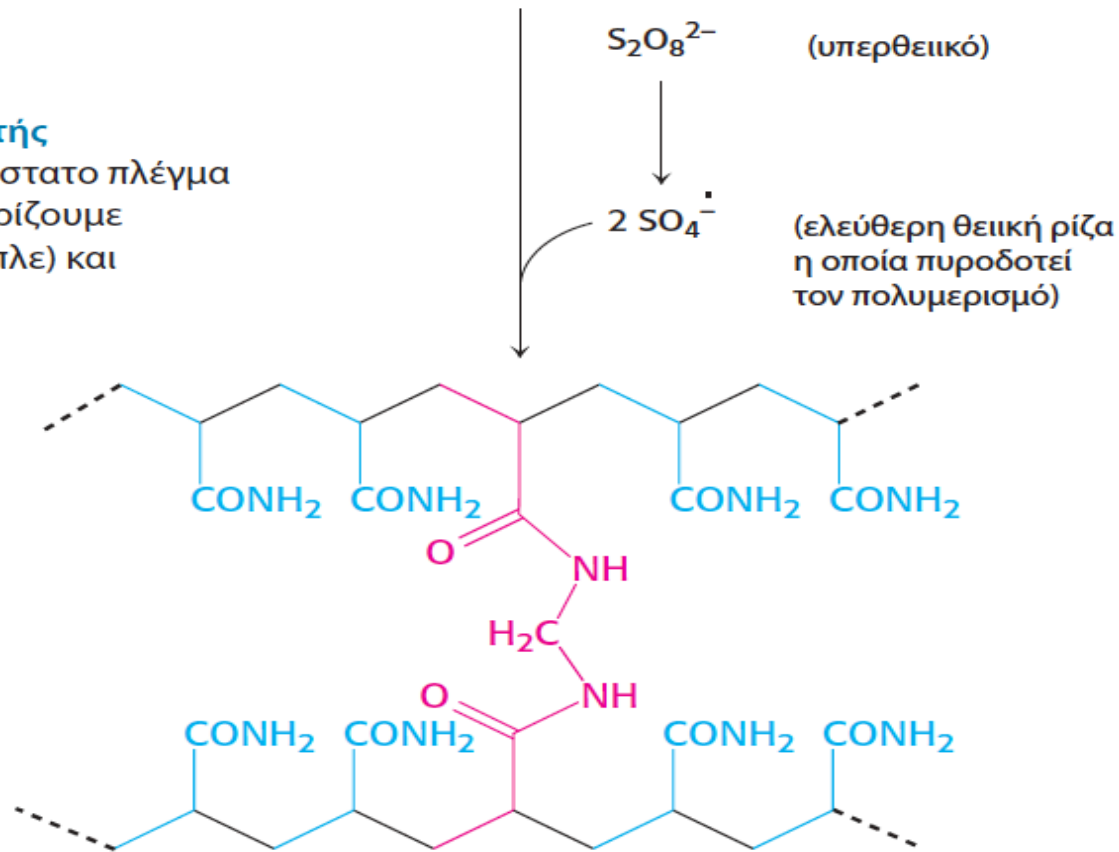
ΕΙΚΟΝΑ 3.7 Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου.

(Α) Μια συσκευή ηλεκτροφόρησης σε πηκτή. Η ηλεκτροφόρηση γίνεται σε αρκετά δείγματα συγχρόνως σε μια επίπεδη πηκτή πολυακρυλαμιδίου, ενώ τα μείγματα των πρωτεϊνών τοποθετούνται στις εσοχές που δημιουργήθηκαν στην άνω πηκτή με τη χρήση ενός σιφωνίου ακρίβειας μικρολίτρων. Μετά την τοποθέτηση του καλύμματος της συσκευής συνδέεται το σύστημα στο ηλεκτρικό ρεύμα. Το ρεύμα περνώντας μέσα από την πηκτή αναγκάζει το σύμπλοκο πρωτεΐνης-SDS (sodium dodecyl sulfate = δωδεκακυλο-θειικό νάτριο) που έχει αρνητικό φορτίο να μετακινηθεί προς την άνοδο που βρίσκεται στο κάτω μέρος της συσκευής. (Β) Οι πρωτεΐνες διαχωρίζονται μέσω της πορώδους πηκτής πολυακρυλαμιδίου σύμφωνα με το μέγεθός τους, με τις μικρότερες να μετακινούνται ταχύτερα προς την άνοδο.



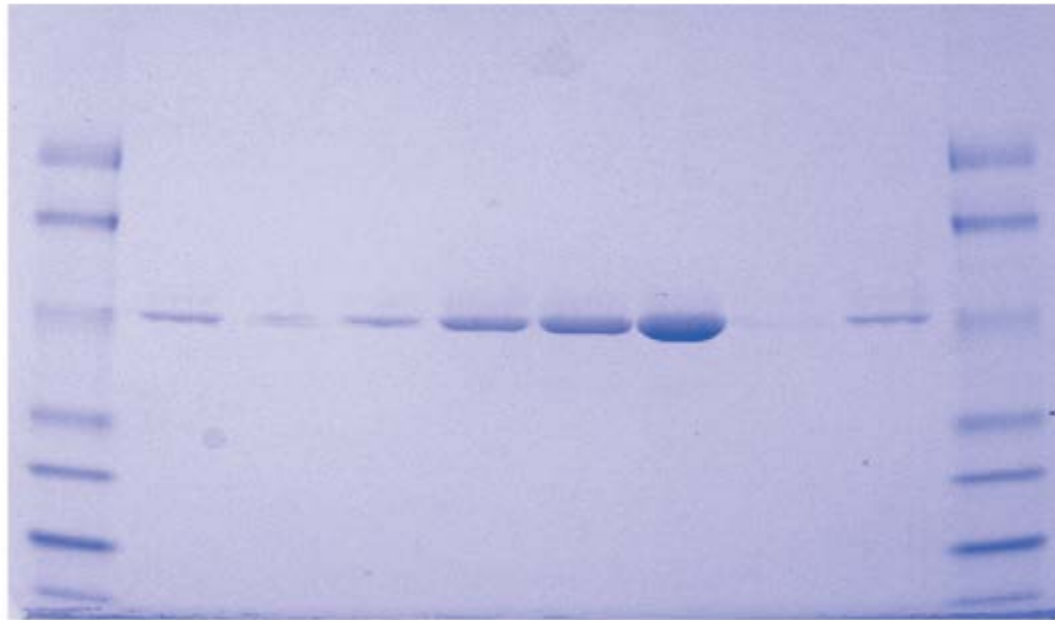


ΕΙΚΟΝΑ 3.8 Σχηματισμός πηκτής πολυακρυλαμιδίου. Ένα τριδιάστατο πλέγμα σχηματίζεται όταν συν-πολυμερίζουμε ενεργοποιημένο μονομερές (μπλε) και διασυνδετή (κόκκινο).

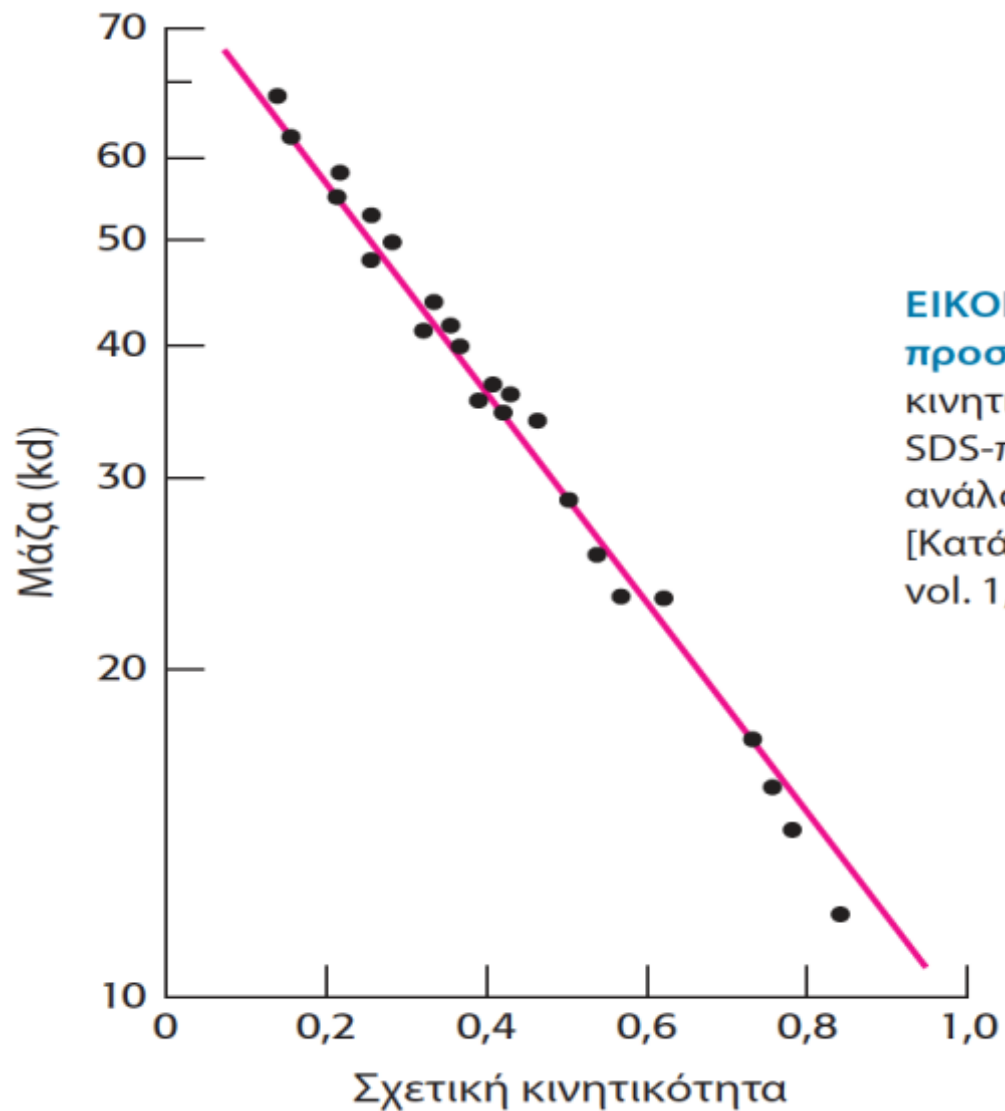




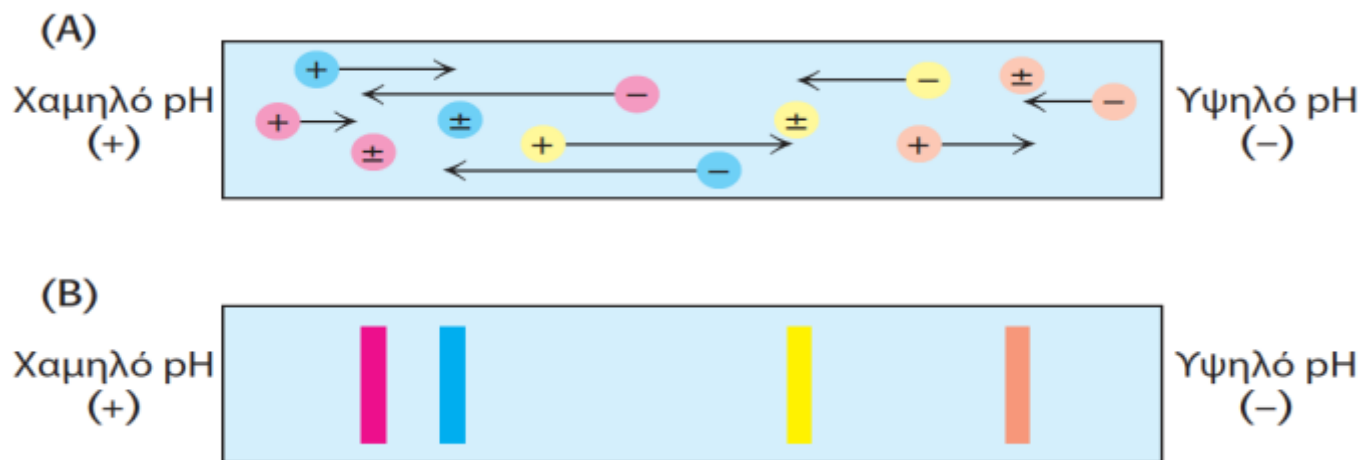
**Δωδεκακυλο-θειικό νάτριο
(SDS)**



ΕΙΚΟΝΑ 3.9 Χρώση των πρωτεϊνών μετά την ηλεκτροφόρηση. Οι πρωτεΐνες που διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμιδίου μπορούν να εμφανιστούν με χρώση με κυανούν του Coomassie. [Ευγενική προσφορά Kodak Scientific Imaging Systems.]

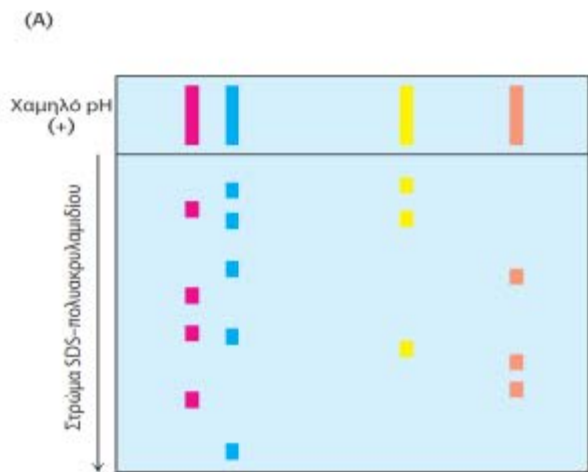


ΕΙΚΟΝΑ 3.10 Η ηλεκτροφόρηση μπορεί να προσδιορίσει τη μάζα των πρωτεϊνών. Η κινητικότητα πολλών πρωτεϊνών σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμίδιου είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τον λογάριθμο της μάζας τους. [Κατά K. Weber and M. Osborn, *The Proteins*, vol. 1, 3^d ed. (Academic Press, 1975), p. 179.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.11 Η αρχή της ισοηλεκτρικής

εστίασης. Στην πηκτική διαμορφώνεται πρώτα μια βαθμίδωση pH και μετά τοποθετείται το δείγμα. (A) Μετά την τοποθέτηση του δείγματος το ηλεκτρικό ρεύμα θα οδηγήσει τις πρωτεΐνες στο ισοηλεκτρικό σημείο τους όπου και θα εστιαστούν διότι εκεί δεν έχουν φορτίο. (B) Οι πρωτεΐνες σχηματίζουν ζώνες οι οποίες μπορούν να αποκοπούν και να χρησιμοποιηθούν για άλλα πειράματα.



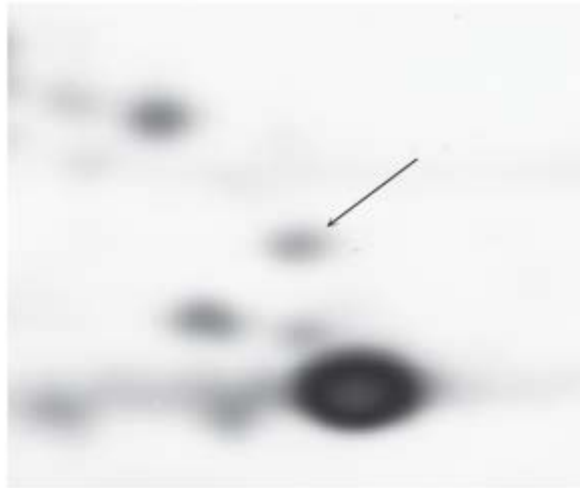
ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, ΠΕΙ



ΕΙΚΟΝΑ 3.12 Ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων σε πηκτή. (A) Ένα πρωτεϊνικό δείγμα διαχωρίζεται αρχικά στην οριζόντια κατεύθυνση, ανάλογα με το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών που περιέχει, όπως περιγράφεται στην Εικόνα 3.11. Η πηκτή τοποθετείται στη συνέχεια επάνω σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμιδίου και ηλεκτροφορεύεται κατακόρυφα, οπότε πρωτεΐνες με το ίδιο ισοηλεκτρικό σημείο αλλά διαφορετική μάζα θα διαχωριστούν τώρα βάσει της μάζας τους. (B) Οι πρωτεΐνες της *E. coli*, όταν διαχωριστούν με ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων, δίνουν αποτύπωμα από χίλιες τουλάχιστον διαφορετικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες διαχωρίστηκαν όπως περιγράψαμε, δηλαδή πρώτα στην οριζόντια κατεύθυνση σύμφωνα με το ισοηλεκτρικό τους σημείο και στη συνέχεια στην κατακόρυφη κατεύθυνση ανάλογα με τη μάζα τους. [B. Ευγενική προσφορά Dr. Patrick H. O'Farrell.]

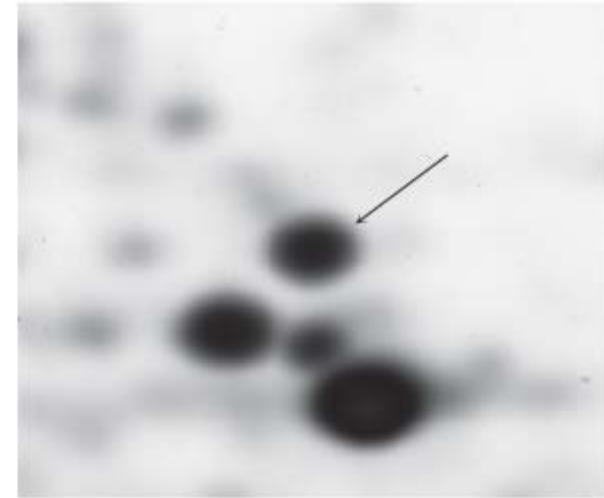


(A)



Φυσιολογικός βλεννογόνος του παχέος εντέρου

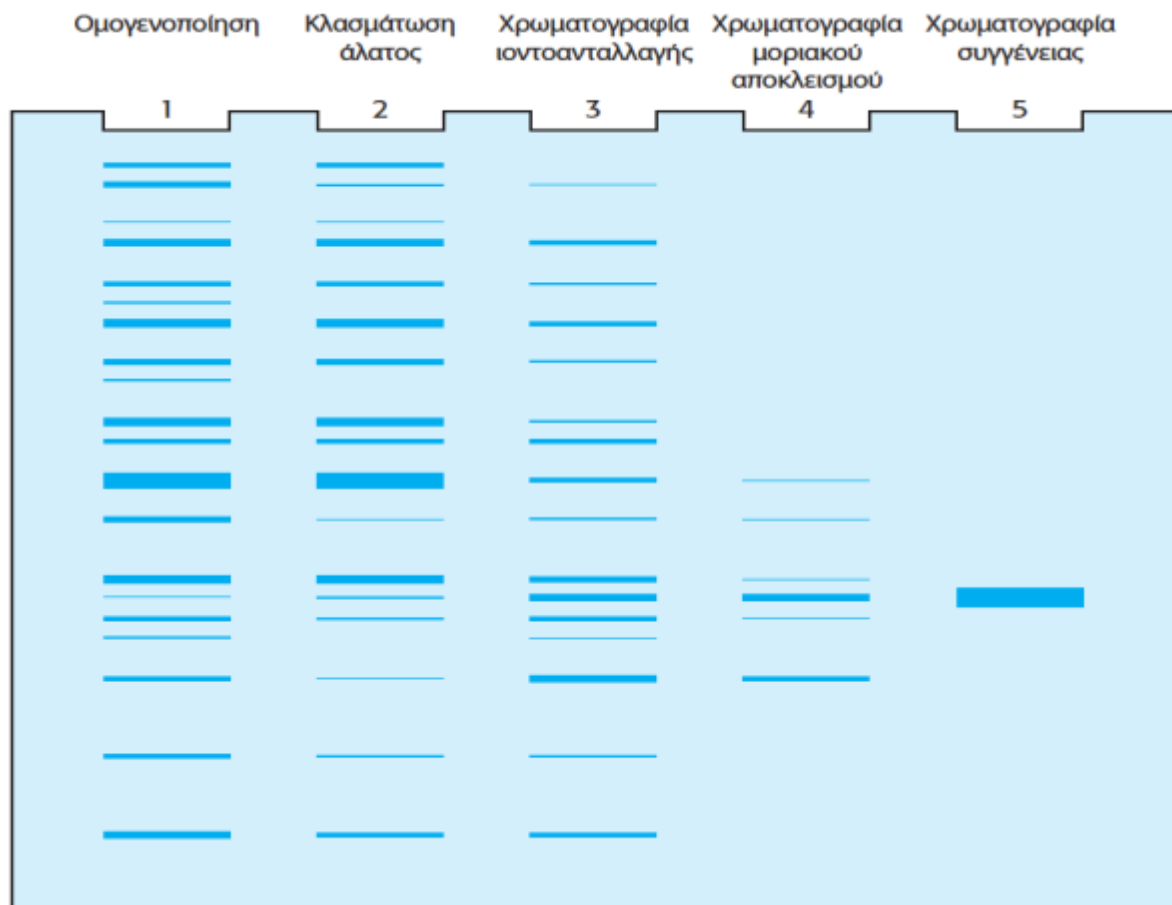
(B)



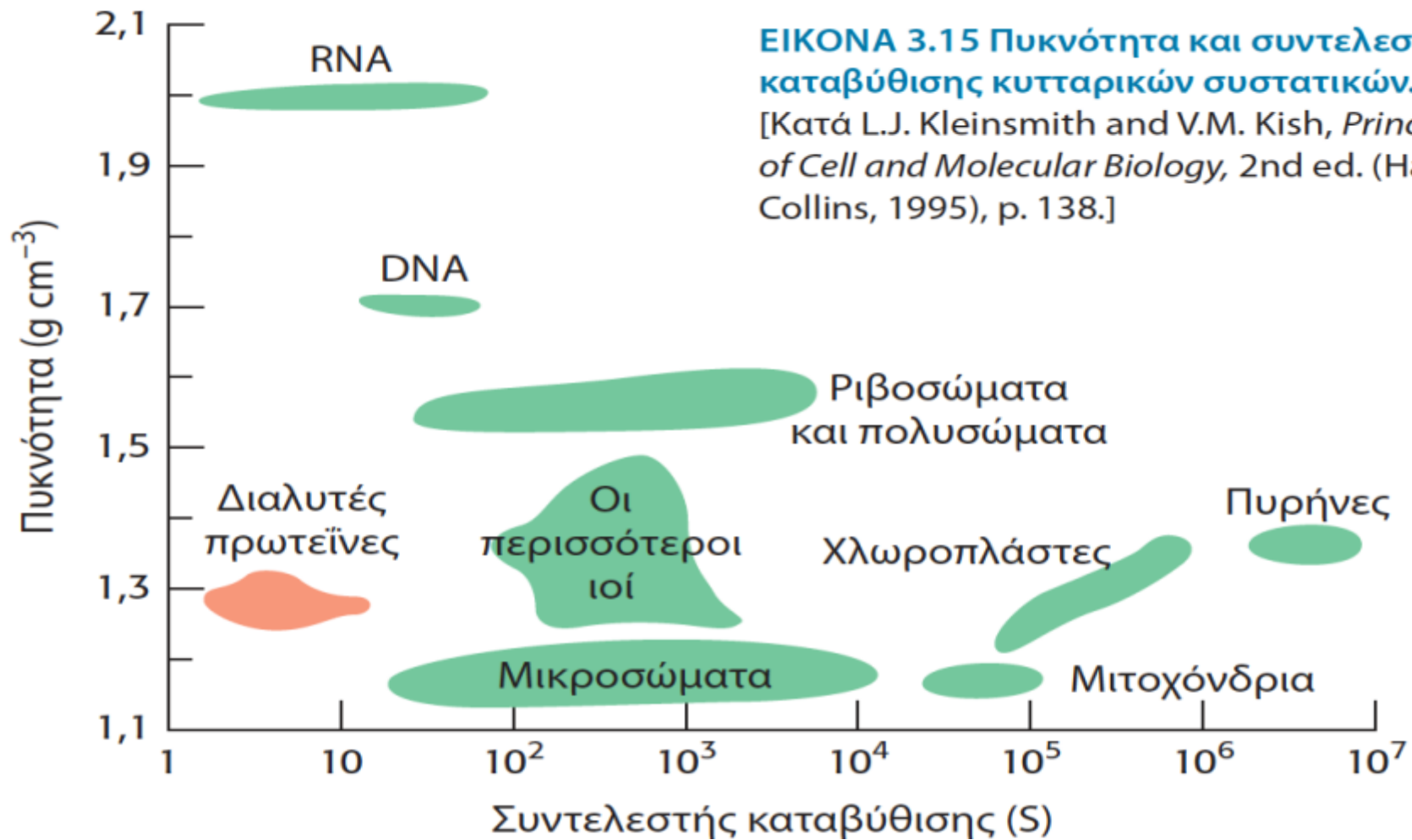
Όγκος του παχέος εντέρου

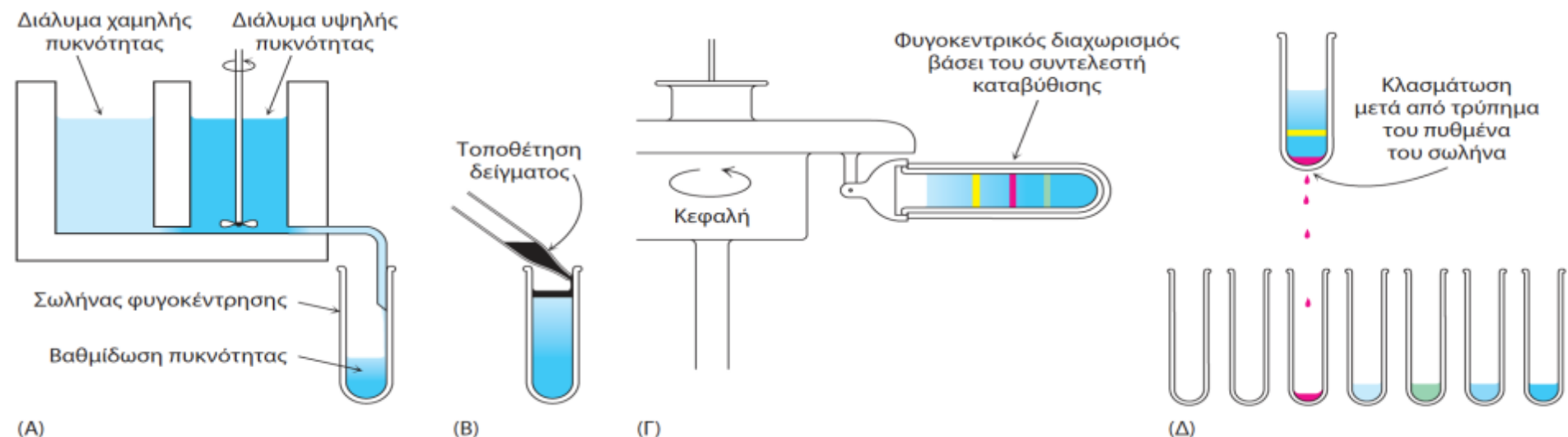
ΕΙΚΟΝΑ 3.13 Αλλαγές στα επίπεδα πρωτεϊνών όπως ανιχνεύονται με ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων.

Δείγματα από φυσιολογικό βλεννογόνο του παχέος εντέρου και από όγκο του παχέος εντέρου από το ίδιο άτομο υποβλήθηκαν σε ανάλυση μέσω ηλεκτροφόρησης δύο διαστάσεων. Στα τμήματα της πηκτής που παρουσιάζονται, εμφανίζονται πολλές αλλαγές στις εντάσεις συγκεκριμένων σημείων, συμπεριλαμβανομένης μιας εντυπωσιακής αύξησης στα επίπεδα της πρωτεΐνης που δείχνεται με ένα βέλος και αντιστοιχεί στο ένζυμο αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης. [Ευγενική προσφορά Lin Quinsong. © 2010, The American Society for Biochemistry and Molecular Biology.]



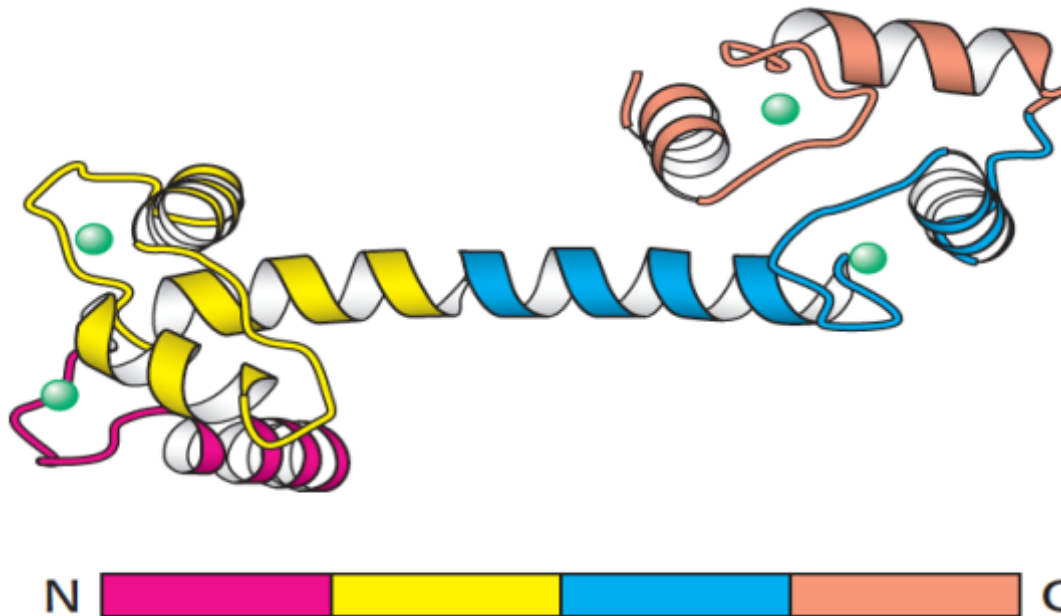
ΕΙΚΟΝΑ 3.14 Ηλεκτροφορητική ανάλυση του καθαρισμού μιας πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα του καθαρισμού της υποθετικής πρωτεΐνης που αναλύθηκε στον Πίνακα 3.1 ελέγχονται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμιδίου. Κάθε διαδρομή περιέχει 50 μg δείγματος. Η αποτελεσματικότητα του καθαρισμού αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η ζώνη της πρωτεΐνης που καθαρίστηκε είναι πιο εμφανής σε σχέση με τις άλλες ζώνες.



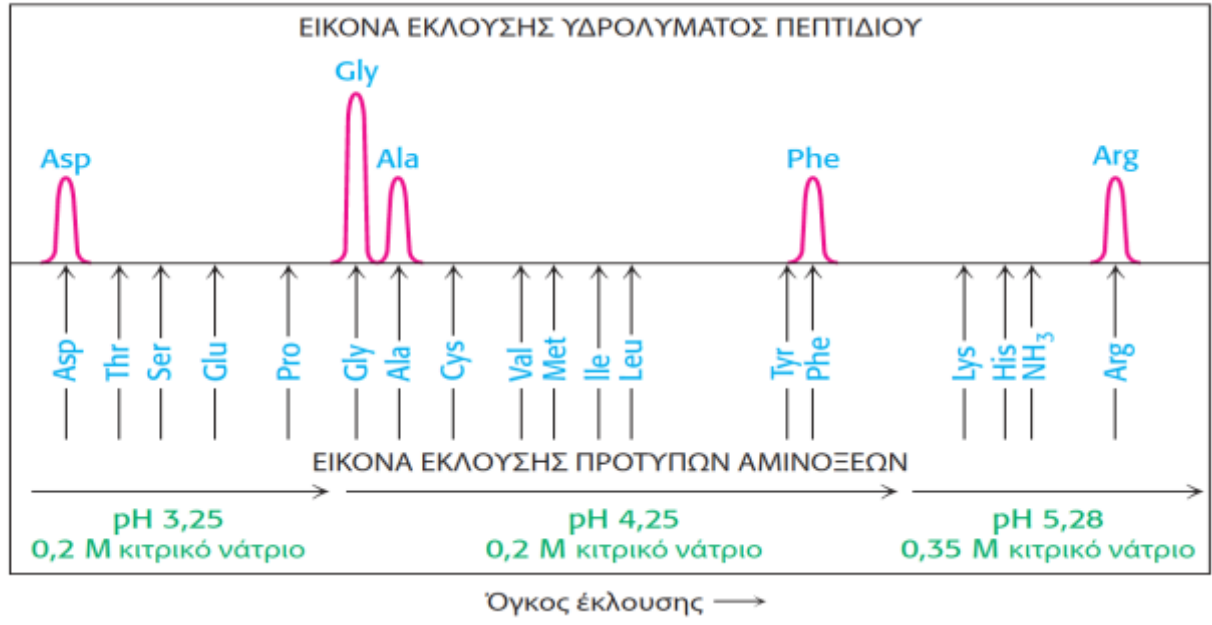


ΕΙΚΟΝΑ 3.16 Φυγοκέντρηση σε ζώνες.

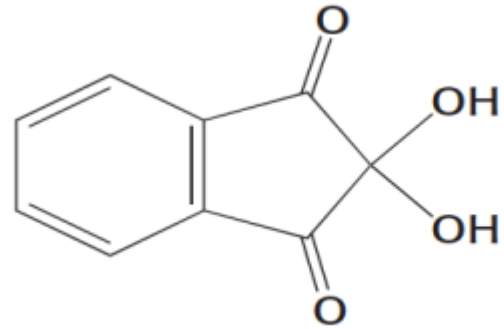
Τα στάδια στη φυγοκέντρηση αυτή είναι τα εξής: (Α) σχηματισμός μιας βαθμίδωσης πυκνότητας, (Β) τοποθέτηση του δείγματος επάνω στη βαθμίδωση, (Γ) τοποθέτηση του σωλήνα σε κεφαλή φυγοκέντρου με εκπτυσσόμενους σωλήνες και φυγοκέντρηση, (Δ) συλλογή των κλασμάτων. [Κατά D. Freifelder, *Physical Biochemistry*, 2nd ed. (W.H. Freeman and Company, 1982), p. 397.]



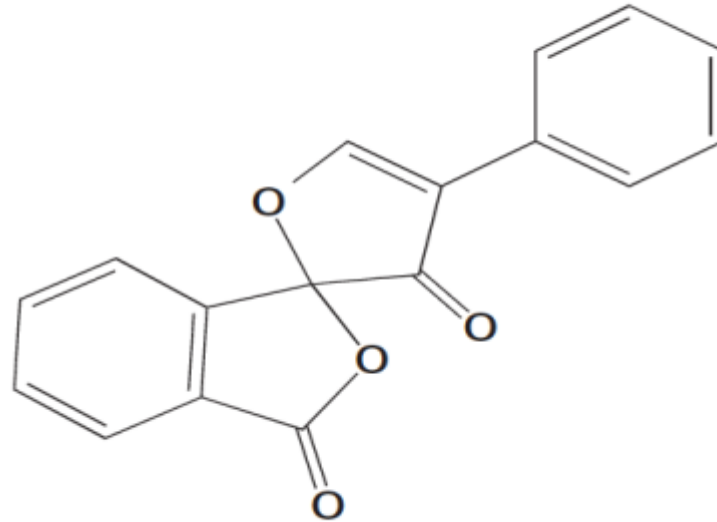
ΕΙΚΟΝΑ 3.17 Επαναλαμβανόμενα μοτίβα σε μια πρωτεϊνική αλυσίδα. Η ασβεστοτροποποιητίνη, ένας αισθητήρας ασβεστίου, περιέχει τέσσερις παρόμοιες μονάδες (που φαίνονται με κόκκινο, κίτρινο, μπλε και πορτοκαλί), σε μία μόνο πολυπεπτιδική αλυσίδα. Προσέξτε ότι η κάθε μονάδα προσδένει ένα ιόν ασβεστίου (που φαίνεται με πράσινο). [Σχεδιασμένο από 1CLL.pdb.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.18 Προσδιορισμός της σύστασης αμινοξέων. Τα αμινοξέα που περιέχονται σε υδρόλυμα πεπτιδίου μπορούν να διαχωριστούν με χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής σε ρητίνη σουλφονιωμένου πολυστυρολίου (όπως η Dowex-50). Για την έκλουση των αμινοξέων χρησιμοποιούνται ρυθμιστικά διαλύματα με βαθμίδωση pH (στην περίπτωση της εικόνας χρησιμοποιήθηκε κίτρικό νάτριο). Η ποσότητα του κάθε αμινοξέος καθορίζεται από την απορροφητικότητά του. Το ασπαραγινικό, που έχει όξινη πλευρική αλυσίδα, εμφανίζεται πρώτο, ενώ η αργινίνη, που έχει βασική πλευρική αλυσίδα, εμφανίζεται τελευταία. Το αρχικό πεπτίδιο αποτελείται από τα εξής κατάλοιπα αμινοξέων: ένα ασπαραγινικό, δύο γλυκίνες, μία αλανίνη, μία φαινυλαλανίνη και μία αργινίνη.



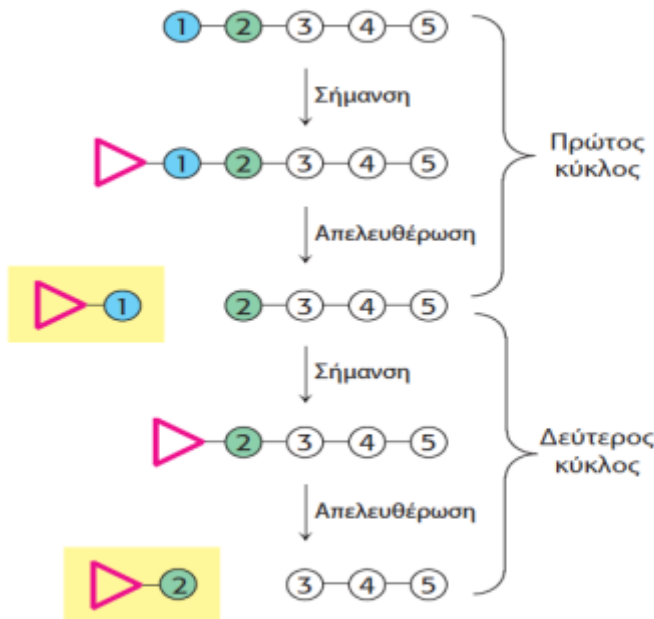
Νινυδρίνη



Φθορεσκαμίνη

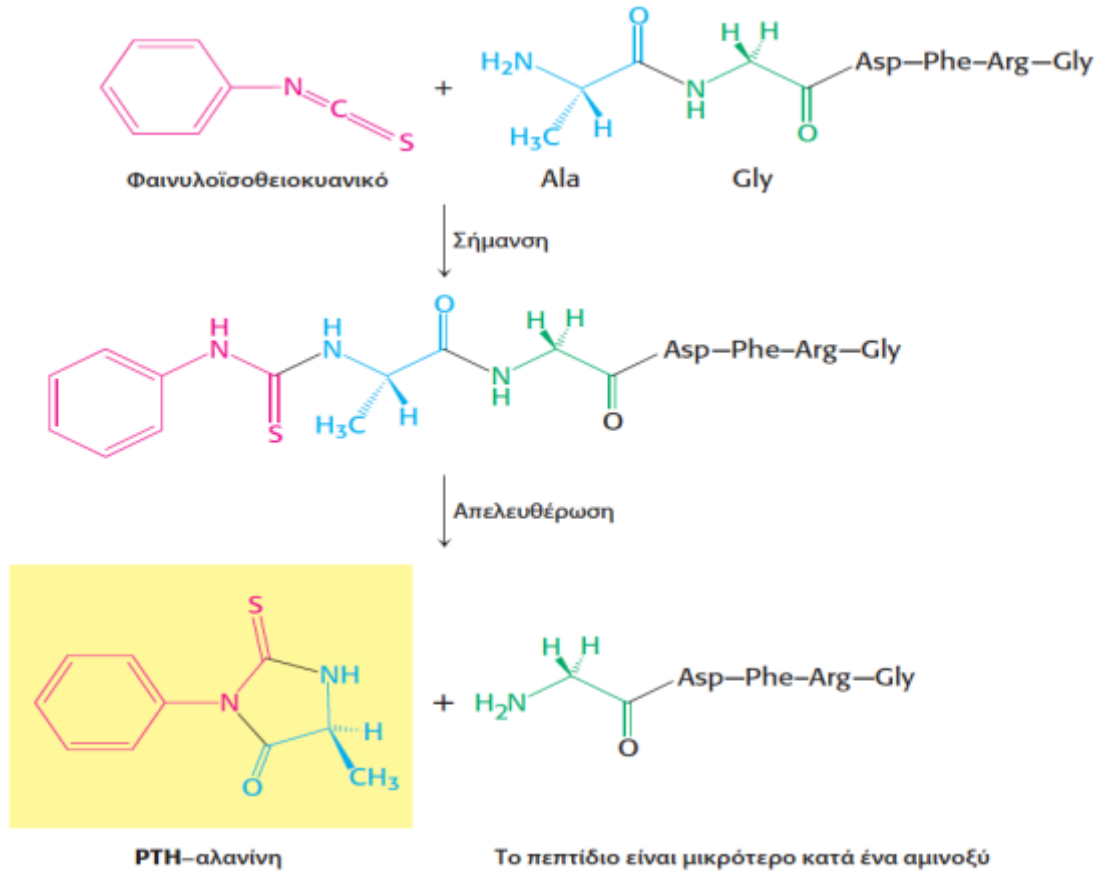


ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ EDMAN



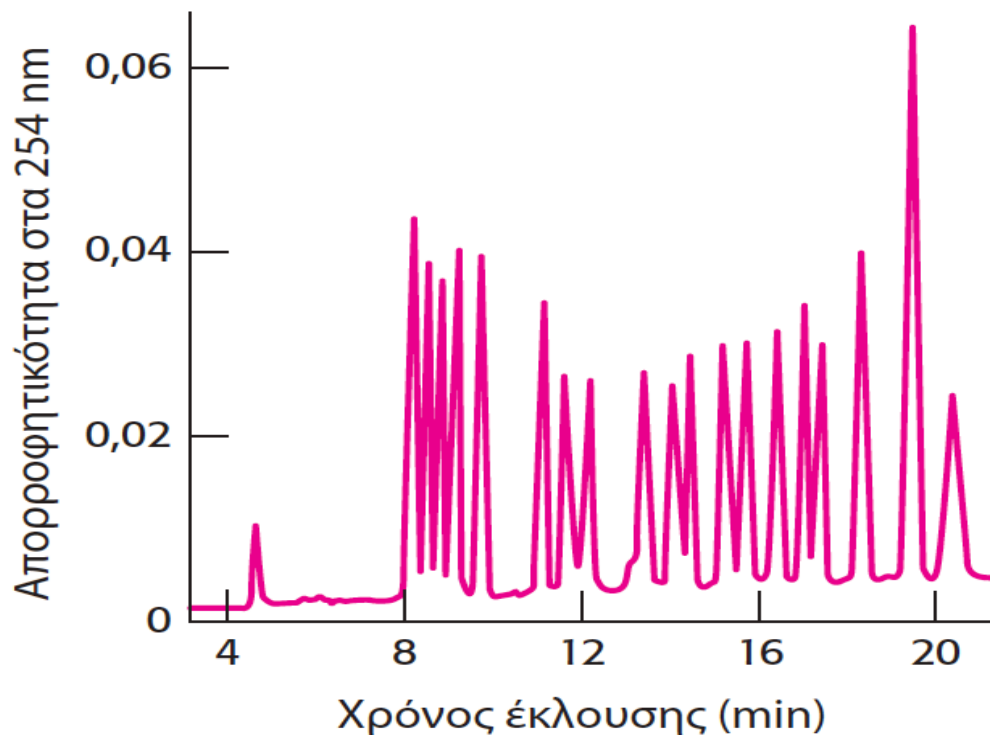
ΕΙΚΟΝΑ 3.19 Αποικοδόμηση Edman.

Το σημασμένο αμινο-τελικό κατάλοιπο (PTH-αλανίνη στον πρώτο κύκλο) μπορεί να απελευθερωθεί χωρίς να υδρολυθεί το υπόλοιπο πεπτιδί. Επομένως, το νέο αμινο-τελικό κατάλοιπο του πεπτιδίου (Gly-Asp-Phe-Arg-Gly) μπορεί να προσδιοριστεί σε έναν δεύτερο ανάλογο κύκλο. Με άλλους τρεις κύκλους αποικοδόμησης Edman καθορίζεται η πλήρης αλληλουχία του αρχικού πεπτιδίου.

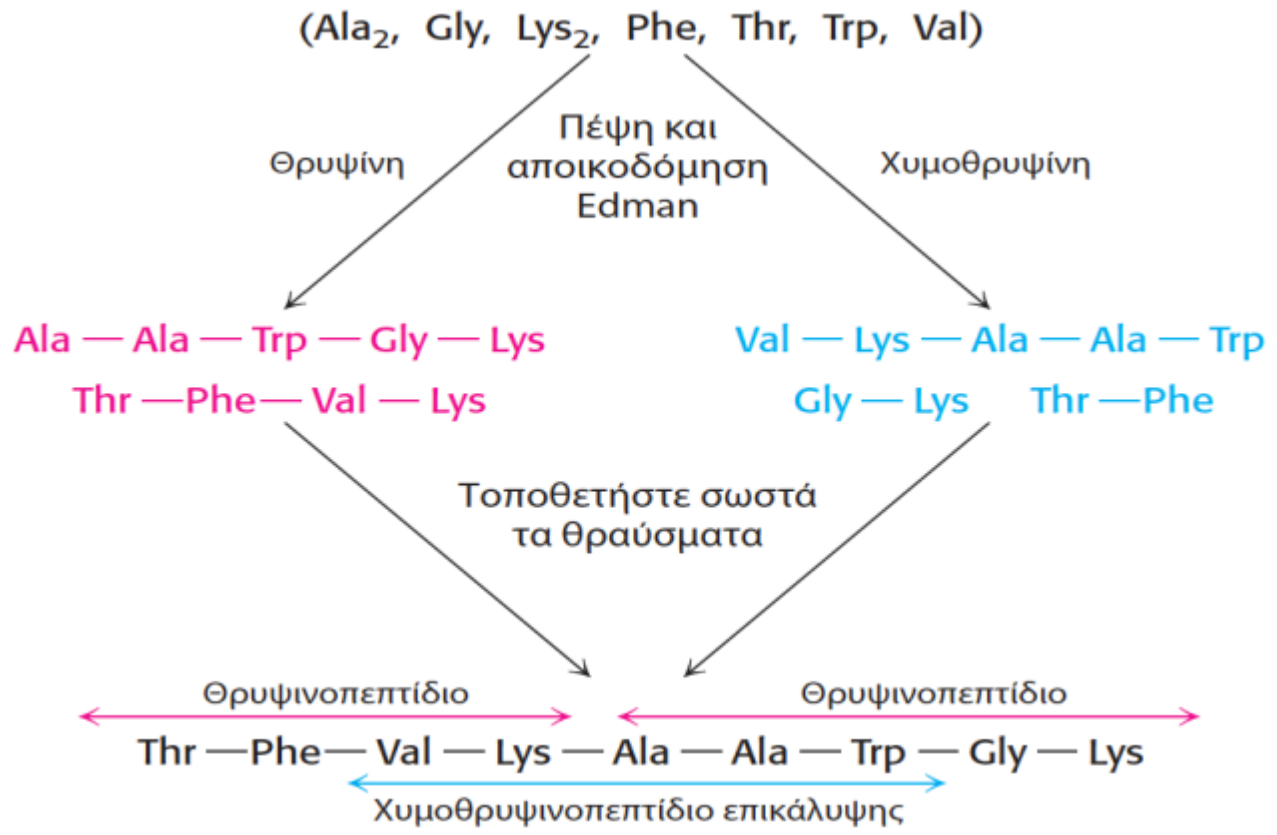


PTH-αλανίνη

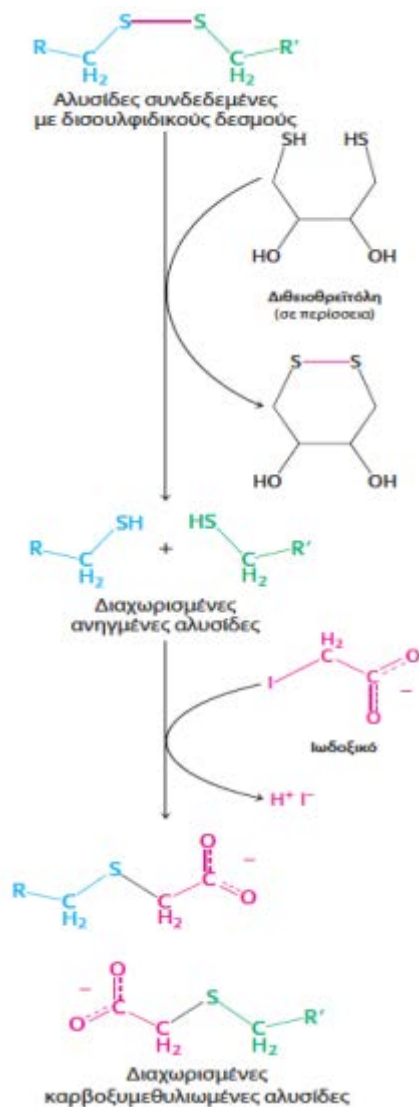
Το πεπτιδί είναι μικρότερο κατά ένα αμινοξύ



ΕΙΚΟΝΑ 3.20 Διαχωρισμός των ΡΤΗ-αμινοξέων. Τα ΡΤΗ-αμινοξέα μπορούν εύκολα να διαχωριστούν με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (ΗΡΛC). Σε αυτή την εικόνα έκλουσης των ΡΤΗ-αμινοξέων με ΗΡΛC φαίνεται πόσο καλά διαχωρίζεται το μείγμα στα επιμέρους ΡΤΗ-αμινοξέα. Ένα άγνωστο αμινοξύ μπορεί να καθοριστεί, με τη μέθοδο αυτή, αν συγκρίνουμε τον χρόνο έκλουσής του με τους χρόνους γνωστών πρότυπων αμινοξέων.



ΕΙΚΟΝΑ 3.21 Πεπτίδια επικάλυψης. Η διάσπαση με χυμοθρυψίνη δίνει ένα πεπτίδιο που επικαλύπτει εν μέρει δύο πεπτίδια θρυψίνης και έτσι μπορούμε να αποφασίσουμε για τη σειρά τους.

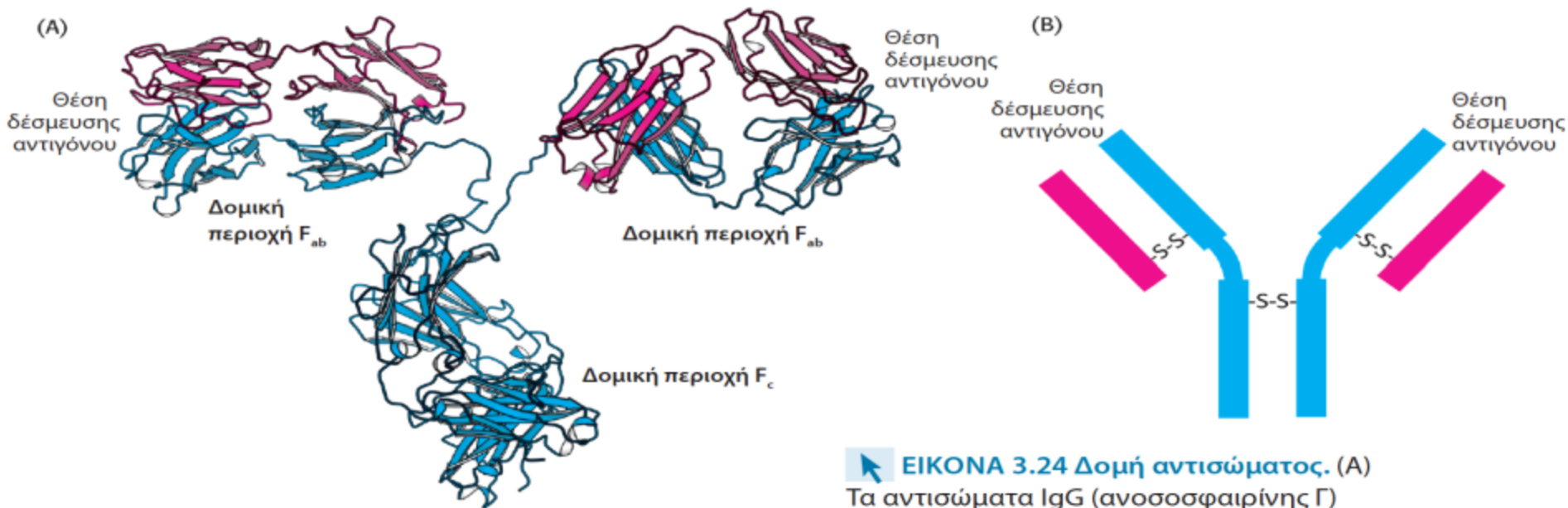


ΕΙΚΟΝΑ 3.22 Αναγωγή δισουλφιδικών δεσμών. Τα πολυπεπίδια που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς μπορούν να διαχωριστούν με αναγωγή των δεσμών αυτών με το αντιδραστήριο διθειοθρεϊτόλη. Η αναγωγή πρέπει να ακολουθηθεί από αλκυλίωση για να αποφευχθεί η επανένωση των σουλφυδρυλικών ομάδων.

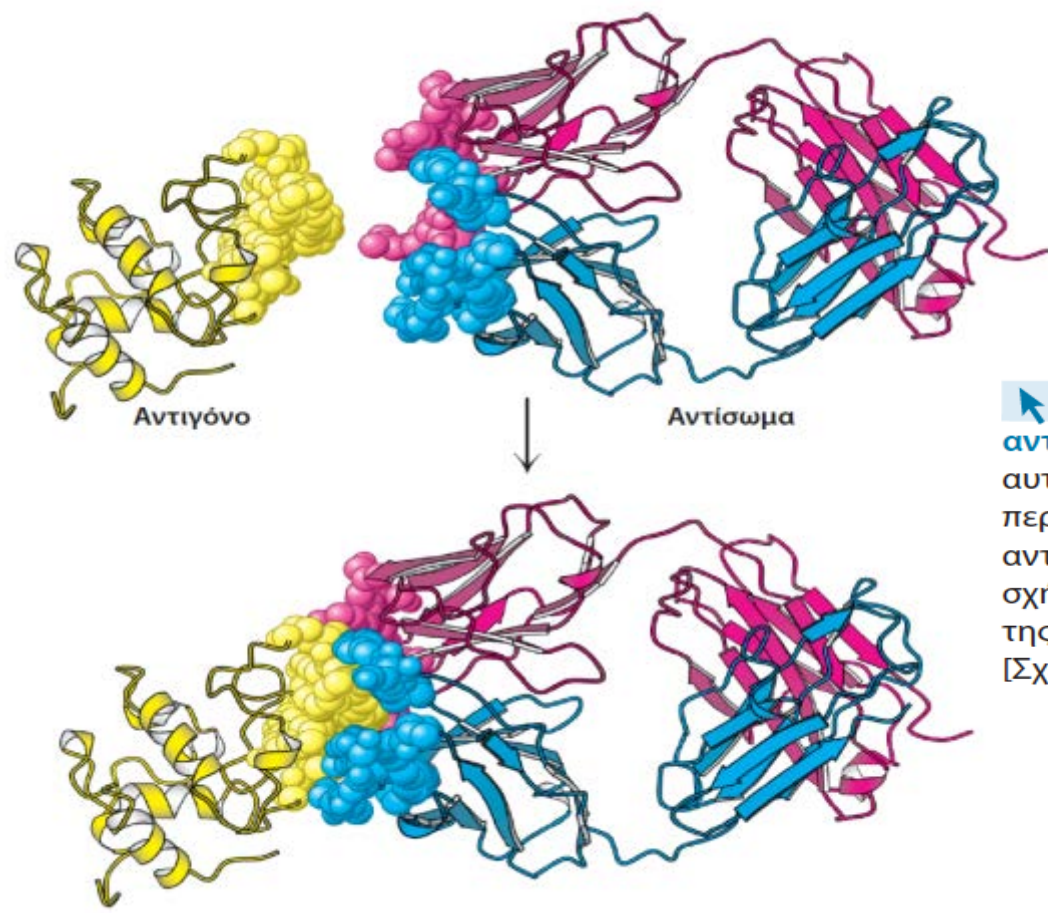


Αλληλουχία DNA	GGG	TTC	TTG	GGA	GCA	GCA	GGA	AGC	ACT	ATG	GGC	GCA
Αλληλουχία αμινοξέων	Gly	Phe	Leu	Gly	Ala	Ala	Gly	Ser	Thr	Met	Gly	Ala

ΕΙΚΟΝΑ 3.23 Η αλληλουχία αμινοξέων είναι προϊόν της αλληλουχίας του DNA. Η πλήρης αλληλουχία νουκλεοτιδίων του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV-1) που είναι το αίτιο του συνδρόμου της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (acquired immune deficiency syndrome, AIDS) έγινε γνωστή μέσα σε έναν χρόνο μετά την απομόνωση του ιού. Εδώ φαίνεται ένα τμήμα της αλληλουχίας DNA που καθορίστηκε από το γονιδίωμα RNA του ιού. Μαζί φαίνεται η αντίστοιχη αλληλουχία αμινοξέων που είναι προϊόν της γνώσης μας για τον γενετικό κώδικα.



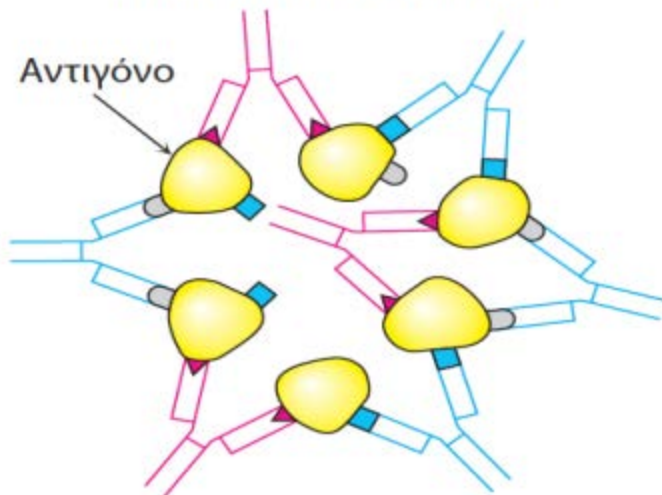
ΕΙΚΟΝΑ 3.24 Δομή αντισώματος. (A) Τα αντισώματα IgG (ανοσοσφαιρίνης Γ) αποτελούνται από τέσσερις αλυσίδες, δύο βαριές αλυσίδες (μπλε) και δύο ελαφριές αλυσίδες (κόκκινες), που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η βαριά και η ελαφριά αλυσίδα ενώνονται και δίνουν τη δομική περιοχή F_{ab} που έχει τις θέσεις δέσμευσης αντιγόνου στα άκρα της. Οι δύο βαριές αλυσίδες σχηματίζουν τη δομική περιοχή F_c . Παρατηρήστε ότι οι δομικές περιοχές F_{ab} ενώνονται με τη δομική περιοχή F_c με εύκαμπτες αρθρώσεις. (B) Το μόριο IgG σε πιο σχηματική μορφή [Σχεδιασμένο από 1IGT.pdb.]



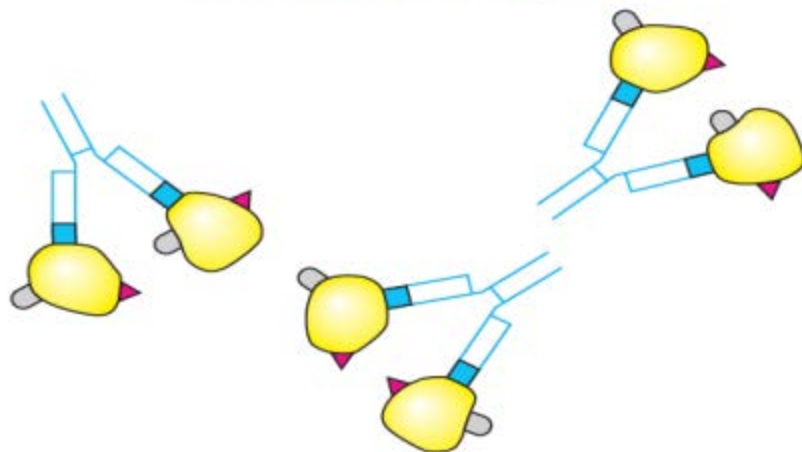
ΕΙΚΟΝΑ 3.25 Αλληλεπιδράσεις αντιγόνου-αντισώματος. Μια πρωτεΐνη-αντιγόνο, στην περίπτωση αυτή η λυσοζύμη, δεσμεύεται στο ένα άκρο της δομικής περιοχής F_{ab} ενός αντισώματος. Προσέξτε ότι το άκρο του αντισώματος και του αντιγόνου έχουν συμπληρωματικό σχήμα, επιτρέποντας την κάλυψη ενός μεγάλου τμήματος της επιφάνειας και των δύο μορίων μετά τη δέσμευση. [Σχεδιασμένο από 3HFL.pdb.]



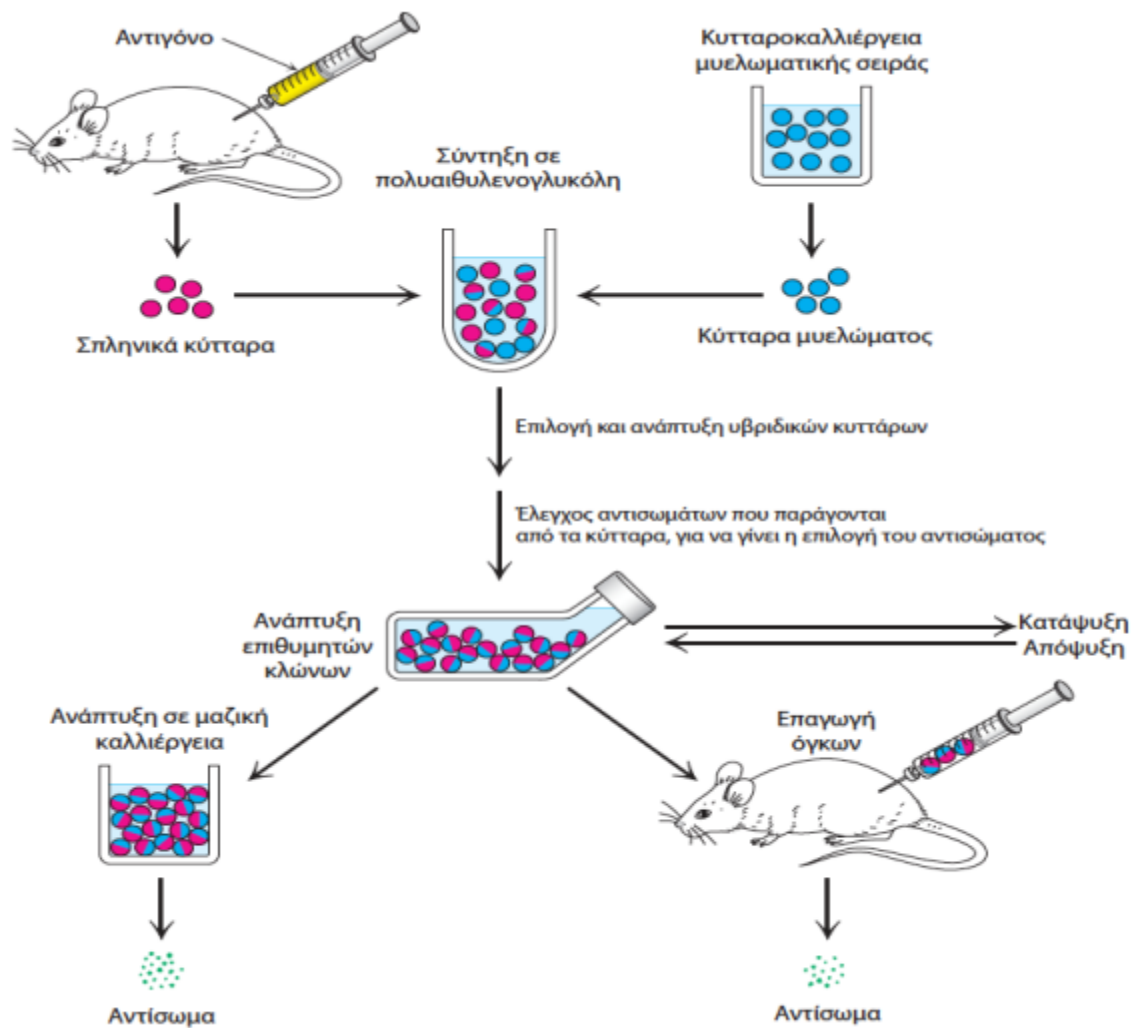
Πολυκλωνικά αντισώματα



Μονοκλωνικά αντισώματα



ΕΙΚΟΝΑ 3.26 Πολυκλωνικά και μονοκλωνικά αντισώματα. Τα περισσότερα αντιγόνα έχουν αρκετούς επιτόπους. Τα πολυκλωνικά αντισώματα είναι ετερογενή μείγματα αντισωμάτων, το κάθε ένα ειδικό για έναν από τους επιτόπους ενός αντιγόνου. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι όλα ίδια και παράγονται από κλώνους ενός μοναδικού αρχικού κυττάρου-παραγωγού. Αναγνωρίζουν έναν συγκεκριμένο επίτοπο. [Κατά R.A. Goldsby, T.J. Kindt, and B.A. Osborne, *Kuby Immunology*, 4th ed. (W.H. Freeman and Company, 2000) p. 154.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.27 Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων. Τα υβριδικα κτταρα δημιουργούνται από τη σύντηξη κυττάρων που παράγουν αντισώματα και κυττάρων μυελώματος. Τα υβριδικά κτταρα αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται σε υλικό επιλογής. Τελικά ελέγχονται για να επιλεγούν εκείνα που παράγουν αντισώματα της ειδικότητας που επιθυμούμε. [Κατά C. Milstein, *Monoclonal antibodies*, © 1980 by Scientific American, Inc. All rights reserved.]

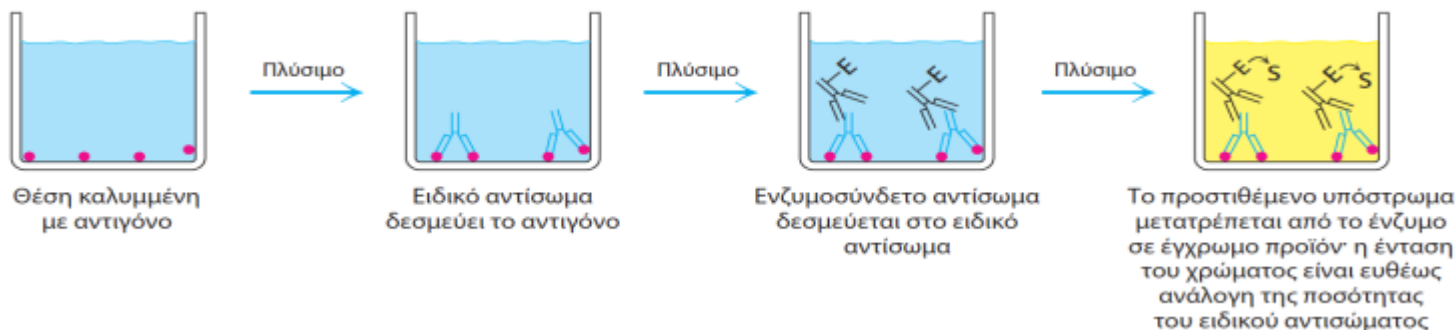


ΕΙΚΟΝΑ 3.28 Φωτομικρογραφία φθορισμού ενός αναπτυσσόμενου εμβρύου *Drosophila*. Το έμβρυο έχει χρωματιστεί με φθορίζον μονοκλωνικό αντίσωμα για την πρωτεΐνη του γονιδίου *engrailed*, που είναι μια πρωτεΐνη η οποία προσδέεται στο DNA. Το γονίδιο είναι απαραίτητο για τον καθορισμό του σχεδιασμού του σώματος. [Ευγενική προσφορά Dr. Niram Patel και Dr. Corey Goodman.]

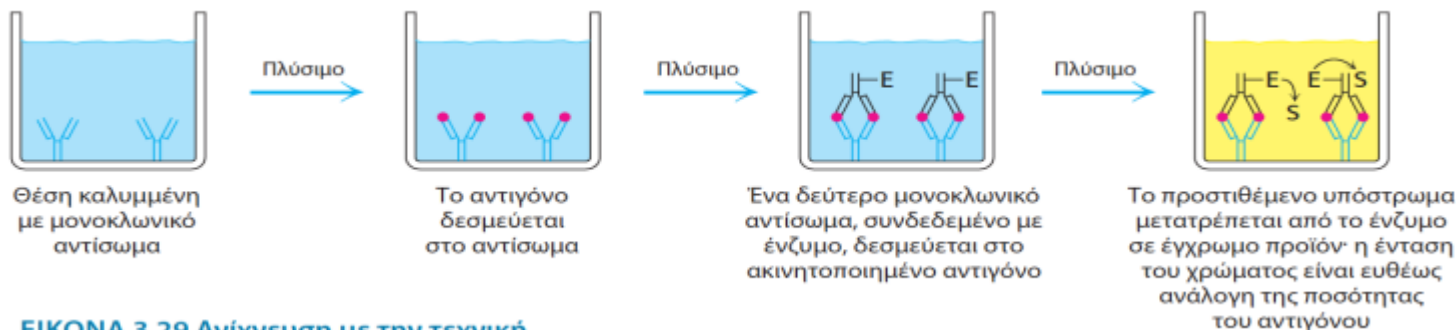




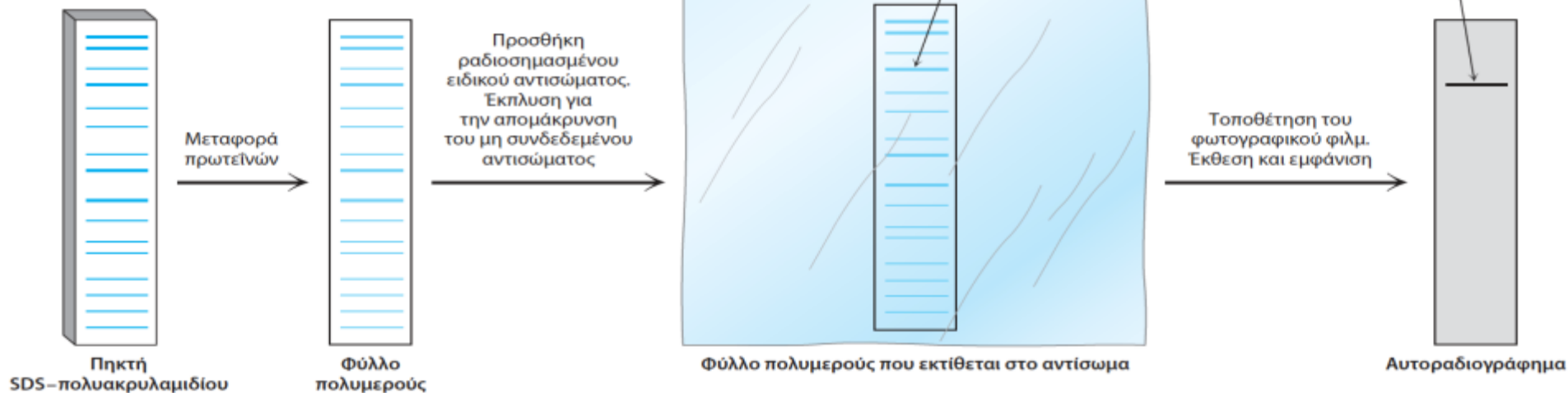
(A) Έμμεση ELISA



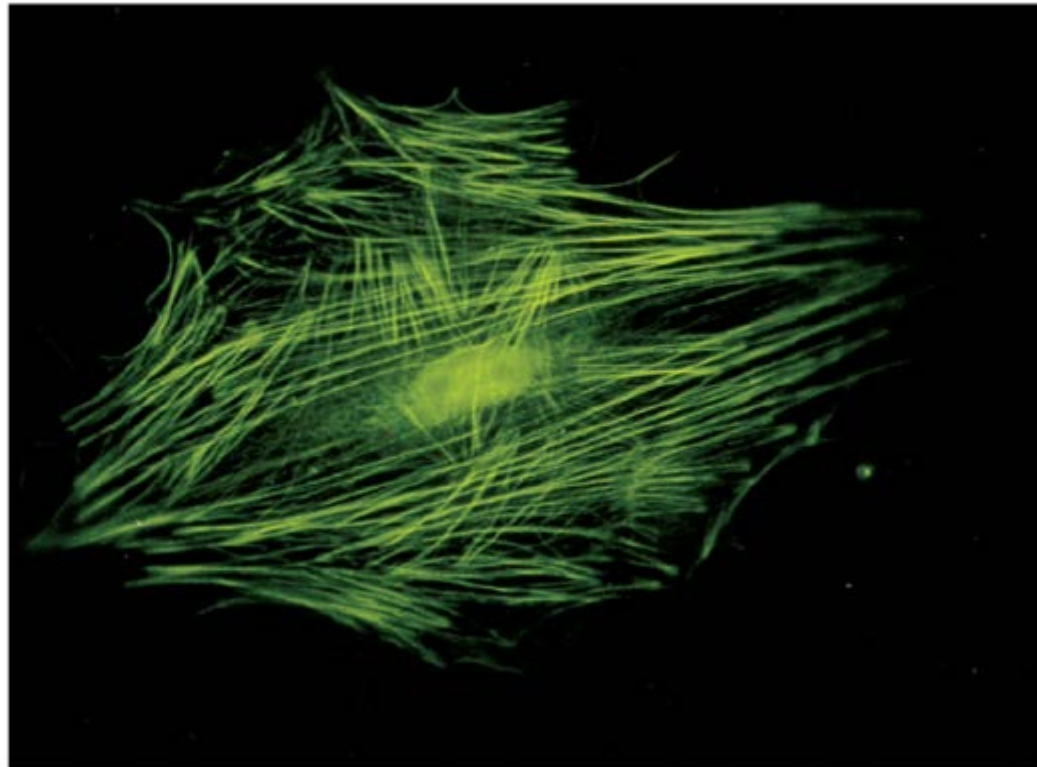
(B) Διπλή ELISA



ΕΙΚΟΝΑ 3.29 Ανίχνευση με την τεχνική έμμεσης ELISA και διπλής ELISA. (A) Στην έμμεση ELISA, το χρώμα οφείλεται στην ύπαρξη του αντισώματος που αναγνωρίζει ένα ειδικό αντιγόνο. (B) Στη διπλή (sandwich) ELISA, η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου. [Κατά R.A. Goldsby, T.J. Kindt, and B.A. Osborne, *Kuby Immunology*, 4th ed. (W.H. Freeman and Company, 2000), p. 162.]



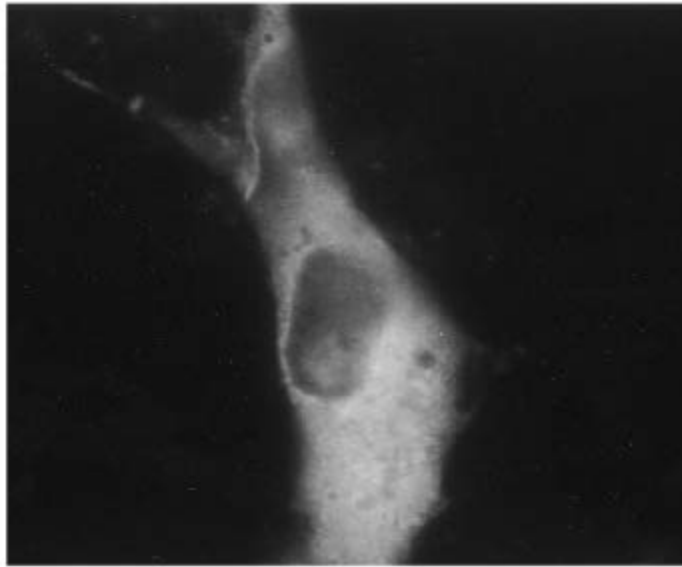
ΕΙΚΟΝΑ 3.30 Αποτύπωση western. Οι πρωτεΐνες που διαχωρίστηκαν σε μια πηκτή SDS-πολυακρυλαμιδίου μεταφέρονται σε μεμβράνη πολυμερούς και σημαίνονται με ραδιενεργό αντίσωμα. Η πρωτεΐνη επάνω στην οποία δεσμεύεται το αντίσωμα εμφανίζεται σαν μια ζώνη στο αυτοραδιογράφημα.



ΕΙΚΟΝΑ 3.31 Τα νημάτια της ακτίνης. Τα νημάτια της ακτίνης, στη φωτομικρογραφία φθορισμού του κυττάρου, έχουν εμφανιστεί λόγω χρώσης με ένα αντίσωμα ειδικό για την πρωτεΐνη. [Ευγενική προσφορά Dr. Ηλία Λαζαρίδη.]



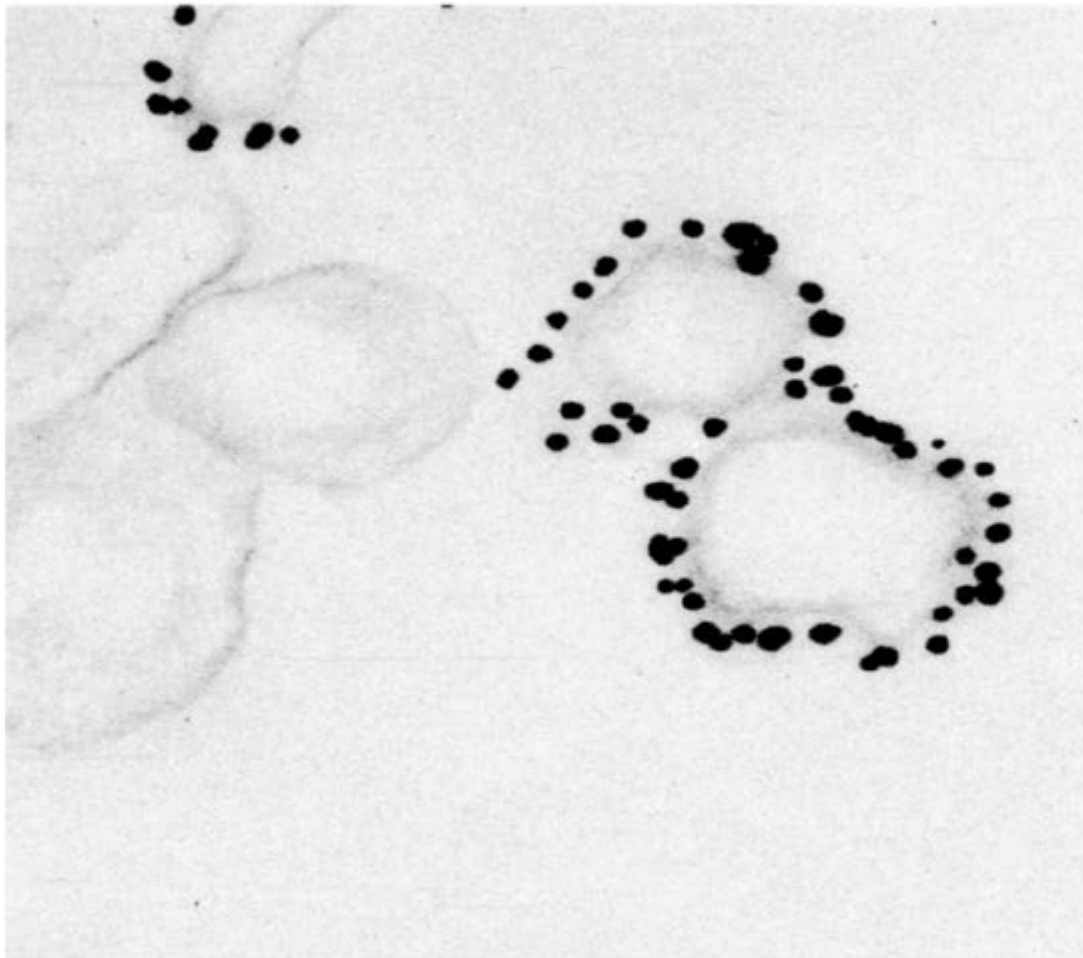
(A)



(B)



ΕΙΚΟΝΑ 3.32 Πυρηνική εντόπιση ενός υποδοχέα στεροειδών. (A) Ο υποδοχέας γίνεται ορατός διότι έχει προστεθεί σε αυτόν πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη. Στις συνθήκες αυτές βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των καλλιεργούμενων κυττάρων. (B) Όταν προσθέσουμε στο καλλιεργητικό υλικό των κυττάρων κορτικοστερόνη (γλυκοκορτικοειδές στεροειδές) ο υποδοχέας μετακινείται στον πυρήνα. [Ευγενική προσφορά Dr. William B. Pratt.]

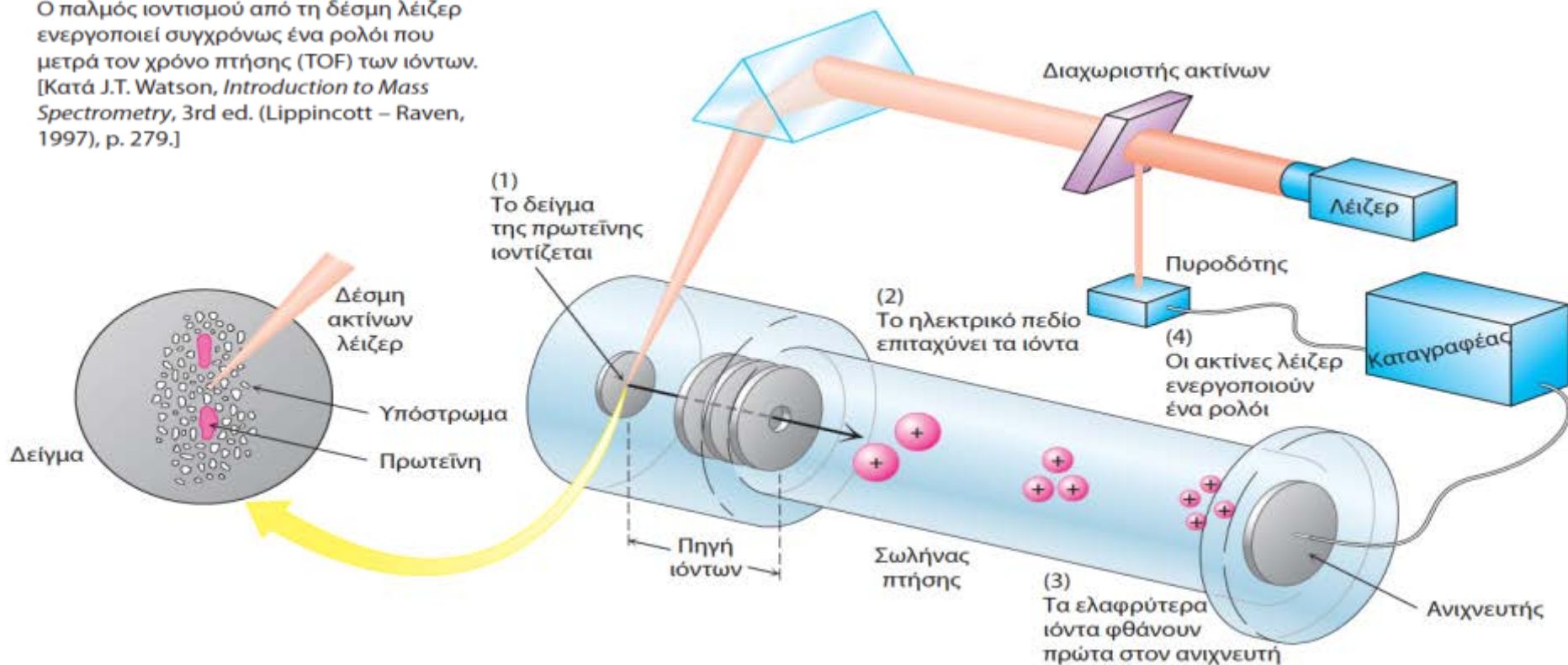


ΕΙΚΟΝΑ 3.33 Ανοσοκυτταροχημεία με το ηλεκτρονιοακό μικροσκόπιο. Τα αδιαφανή σωματίδια (διαμέτρου 150 Å, ή 15 nm) στην ηλεκτρονιομικρογραφία αυτή είναι συσσωματώματα ατόμων χρυσού συνδεδεμένων σε μόρια αντισώματος. Αυτά τα μεμβρανικά κυστίδια στις συνάψεις των νευρώνων περιέχουν μια πρωτεΐνη-διάυλο που αναγνωρίζεται από το συγκεκριμένο αντίσωμα. [Ευγενική προσφορά Dr. Peter Sargent.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.34 Φασματομετρία μάζας MALDI-TOF.

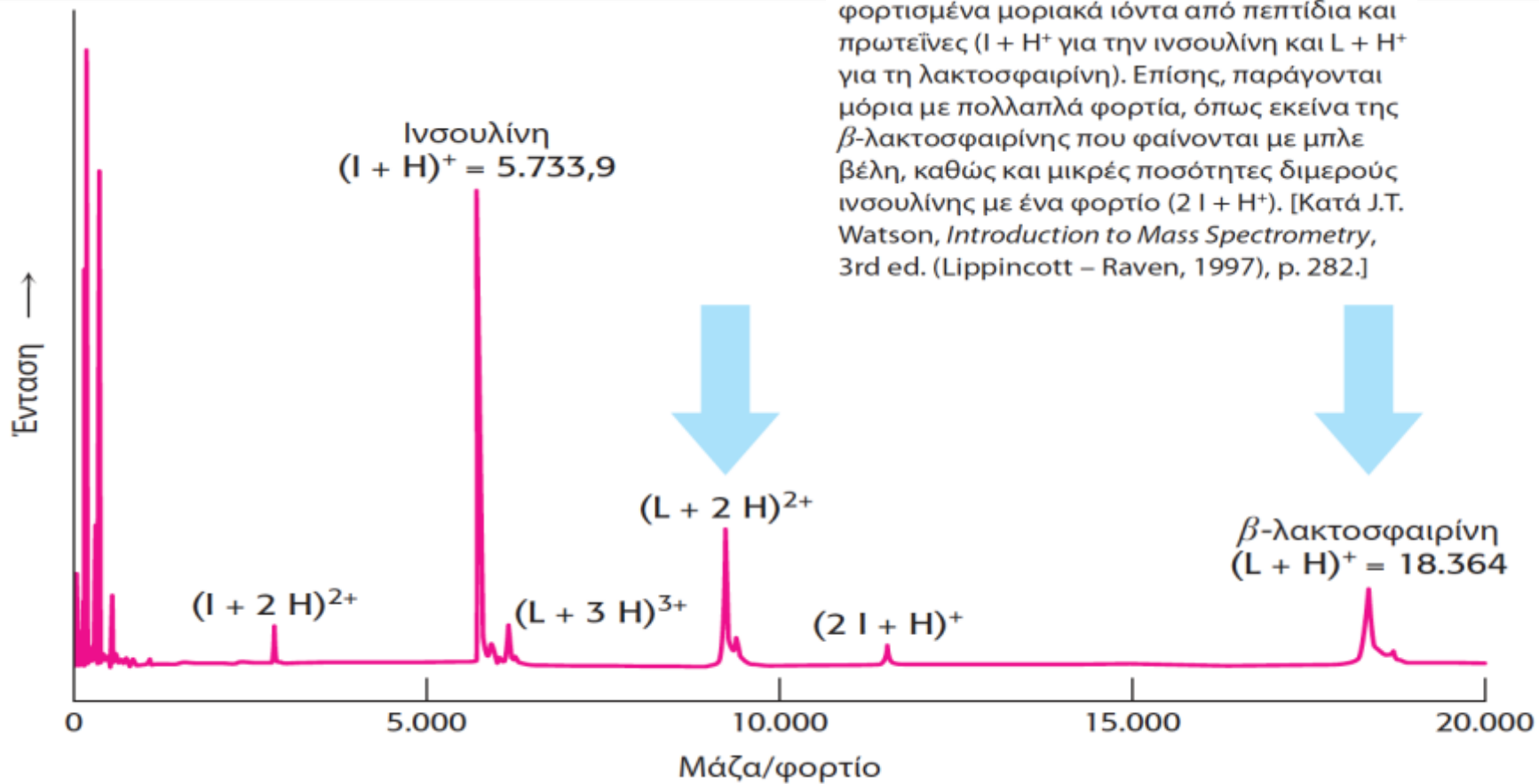
(1) Το πρωτεϊνικό δείγμα ενσωματωμένο σε κατάλληλη μήτρα ιοντίζεται με δέσμη ακτίνων λέιζερ. (2) Ένα ηλεκτρικό πεδίο επιταχύνει προς τον ανιχνευτή τα ιόντα που δημιουργούνται στον σωλήνα πτήσης. (3) Τα ελαφρύτερα ιόντα φθάνουν πρώτα. (4) Ο παλμός ιοντισμού από τη δέσμη λέιζερ ενεργοποιεί συγχρόνως ένα ρολόι που μετρά τον χρόνο πτήσης (TOF) των ιόντων. [Κατά J.T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3rd ed. (Lippincott – Raven, 1997), p. 279.]





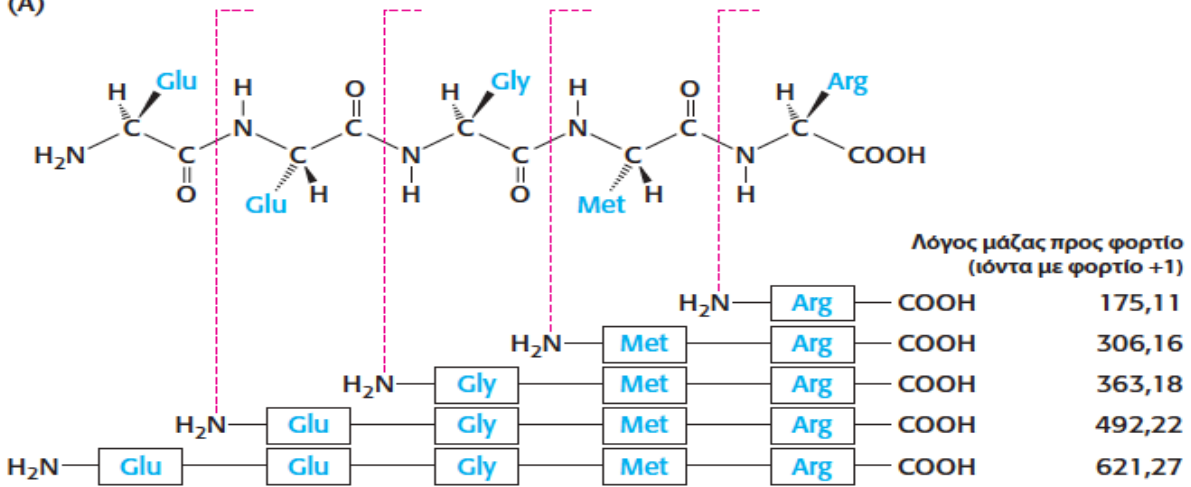
ΕΙΚΟΝΑ 3.35 Φάσμα μάζας MALDI-TOF της ινσουλίνης και της β-λακτοσφαιρίνης.

Μείγμα ινσουλίνης (I) και β-λακτοσφαιρίνης (L), 5 pmol από την κάθε μία, ιοντίζεται με MALDI, που παράγει κυρίως μονήρη φορτισμένα μοριακά ιόντα από πεπτίδια και πρωτεΐνες ($I + H^+$ για την ινσουλίνη και $L + H^+$ για τη λακτοσφαιρίνη). Επίσης, παράγονται μόρια με πολλαπλά φορτία, όπως εκείνα της β-λακτοσφαιρίνης που φαίνονται με μπλε βέλη, καθώς και μικρές ποσότητες διμερούς ινσουλίνης με ένα φορτίο ($2 I + H^+$). [Κατά J.T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, 3rd ed. (Lippincott – Raven, 1997), p. 282.]

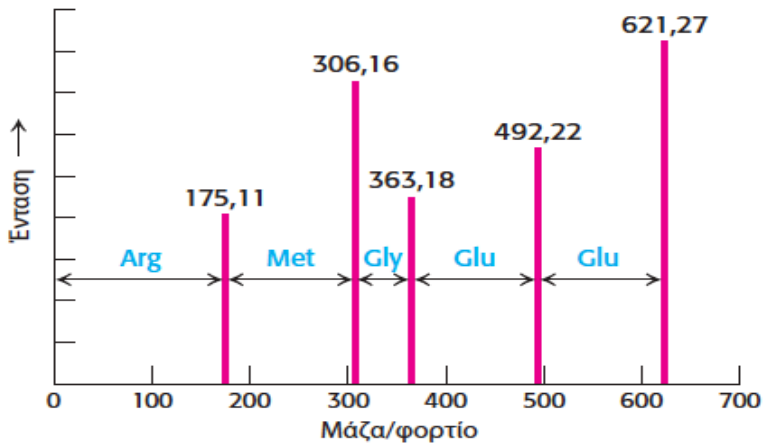




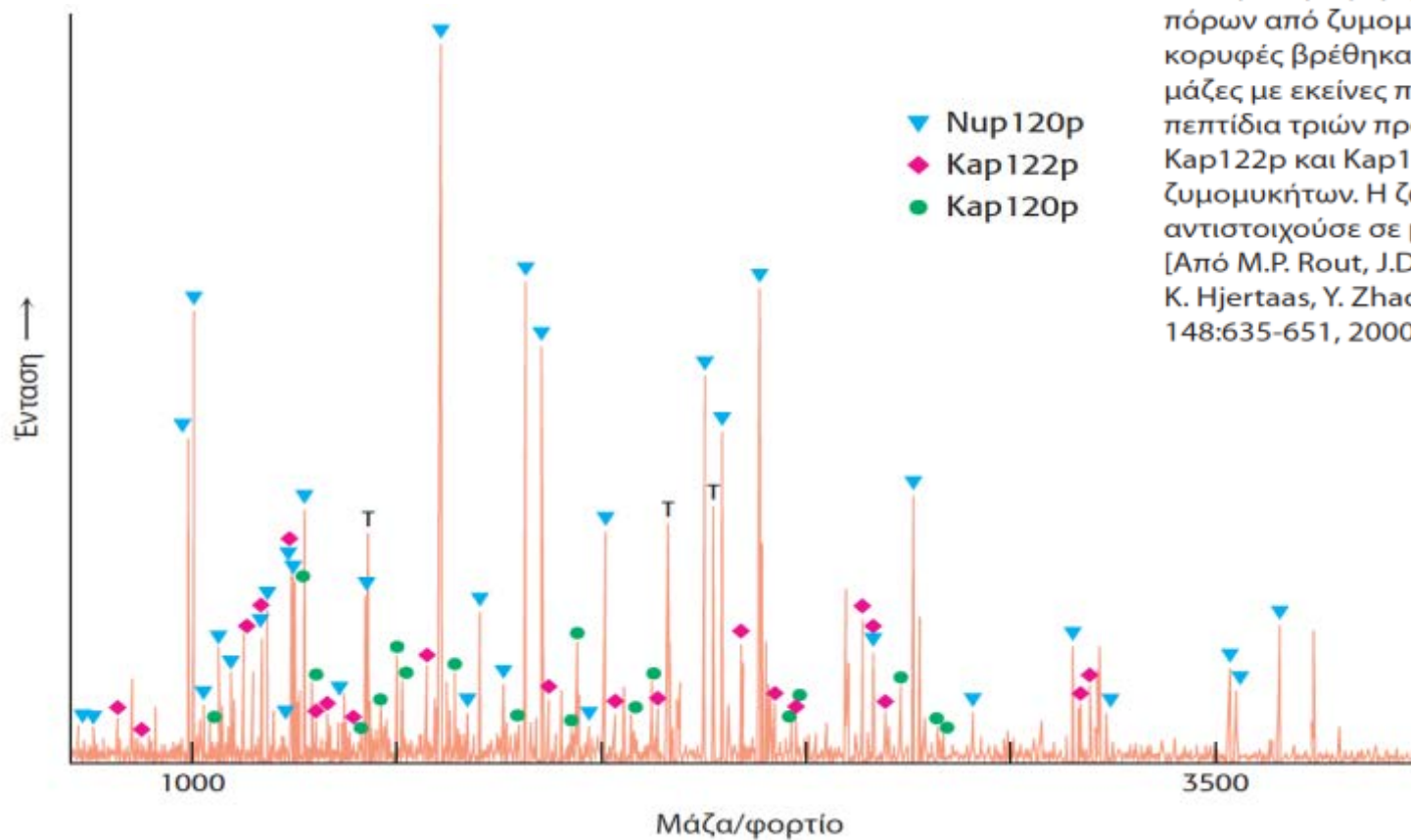
(A)



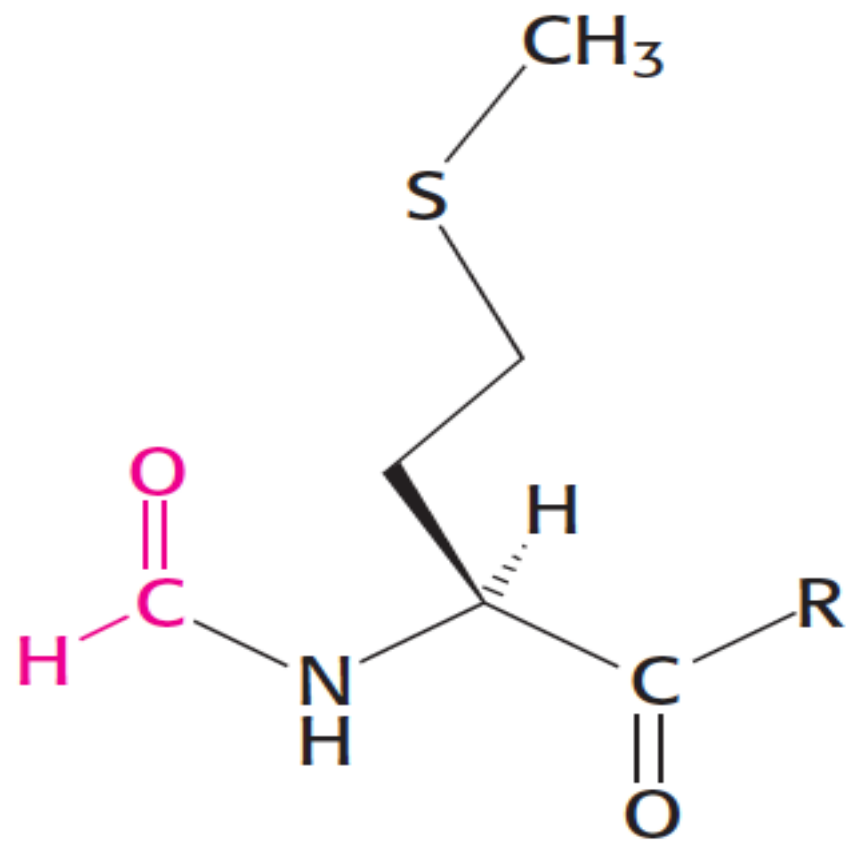
(B)



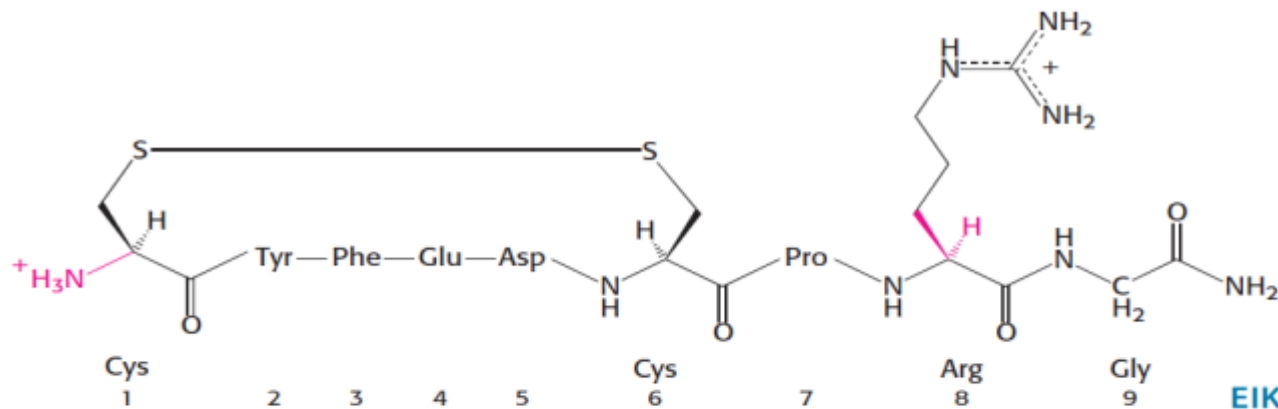
ΕΙΚΟΝΑ 3.36 Αλληλουχία πεπτιδίων με επάλληλη φασματομετρία μάζας. (A) Μέσα στον φασματομετρητή μάζας, τα εισαγόμενα πεπτίδια μπορούν να θραυσματοποιηθούν με βομβαρδισμό με αδρανή αέρια ιόντα ώστε να προκύψει μια οικογένεια προϊόντων ιόντων από τα οποία έχουν απομακρυνθεί ένα ή περισσότερα αμινοξέα από το ένα άκρο. Όπως φαίνεται εδώ, ιοντίζεται το καρβοξυλικό άκρο του διασπασμένου πεπτιδικού δεσμού. (B) Τα προκύπτοντα ιόντα αναλύονται από έναν δεύτερο φασματομετρητή μάζας. Οι διαφορές μάζας μεταξύ των κορυφών καταδεικνύουν την αλληλουχία των αμινοξέων στο πρόδρομο ιόν. [Κατά H. Steen and M. Mann, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 5:699-711, 2004.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.37 Πρωτεωμική ανάλυση με φασματομετρία μάζας. Αυτό το φάσμα μάζας έχει προκύψει με ανάλυση μιας θρυψινοποιημένης πρωτεϊνικής ζώνης μετά από ηλεκτροφόρηση δείγματος πυρηνικών πόρων από ζυμομύκητες. Πολλές από τις κορυφές βρέθηκαν να έχουν ταυτόσημες μάζες με εκείνες που προβλέπονταν για πεπτίδια τριών πρωτεϊνών (Nup120p, Kap122p και Kap120p) του γονιδιώματος των ζυμομυκήτων. Η ζώνη στην ηλεκτροφόρηση αντιστοιχούσε σε μοριακό βάρος 100 kd. [Από M.P. Rout, J.D. Aitchison, A. Suprpto, K. Hjertaas, Y. Zhao and B.T. Chait. *J. Cell Biol.* 148:635-651, 2000.]



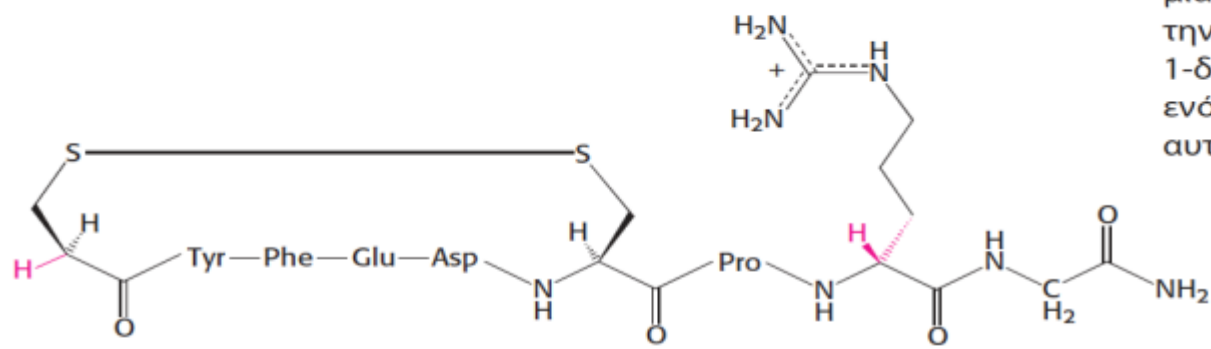
Πεπτίδιο fMet



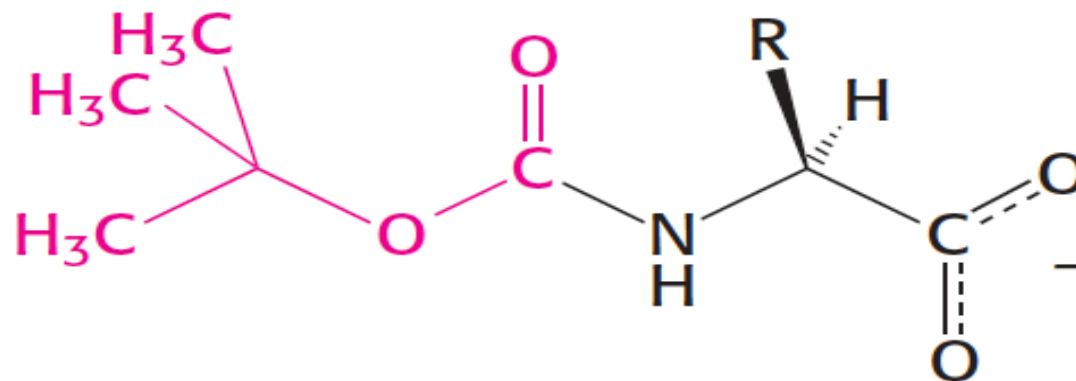
(A) 8-Αργινο-αγγειοπρεσίνη (αντιδιουρητική ορμόνη, ADH)

ΕΙΚΟΝΑ 3.38 Αγγειοπρεσίνη και ένα συνθετικό ανάλογο αγγειοπρεσίνης.

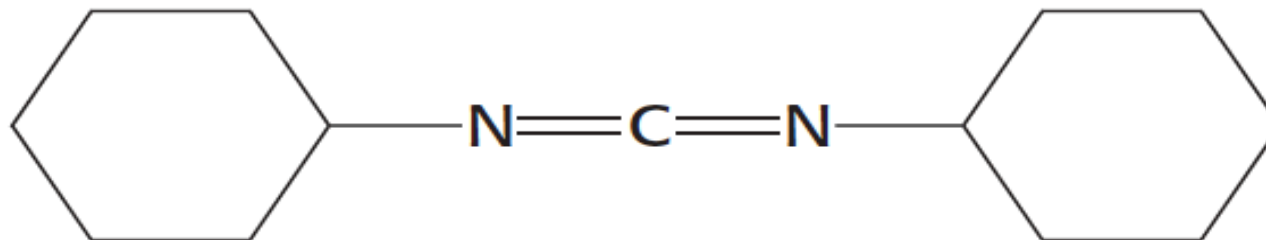
Συντακτικοί τύποι της (A) αγγειοπρεσίνης, μιας πεπτιδικής ορμόνης που ενεργοποιεί την επαναρρόφηση του νερού, και (B) της 1-δεσαμινο-8-D-αργινο-αγγειοπρεσίνης, ενός πιο σταθερού συνθετικού αναλόγου αυτής της αντιδιουρητικής ορμόνης.



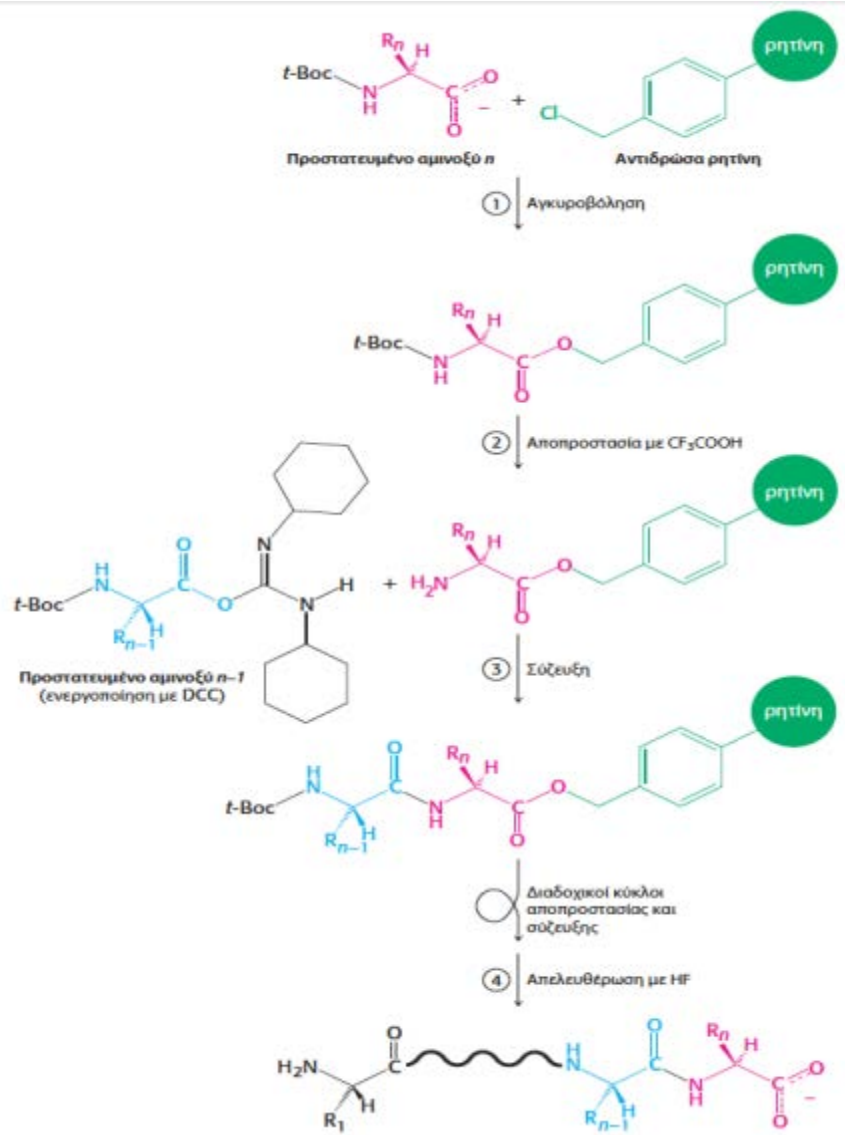
(B) 1-Δεσαμινο-8-D-αργινο-αγγειοπρεσίνη



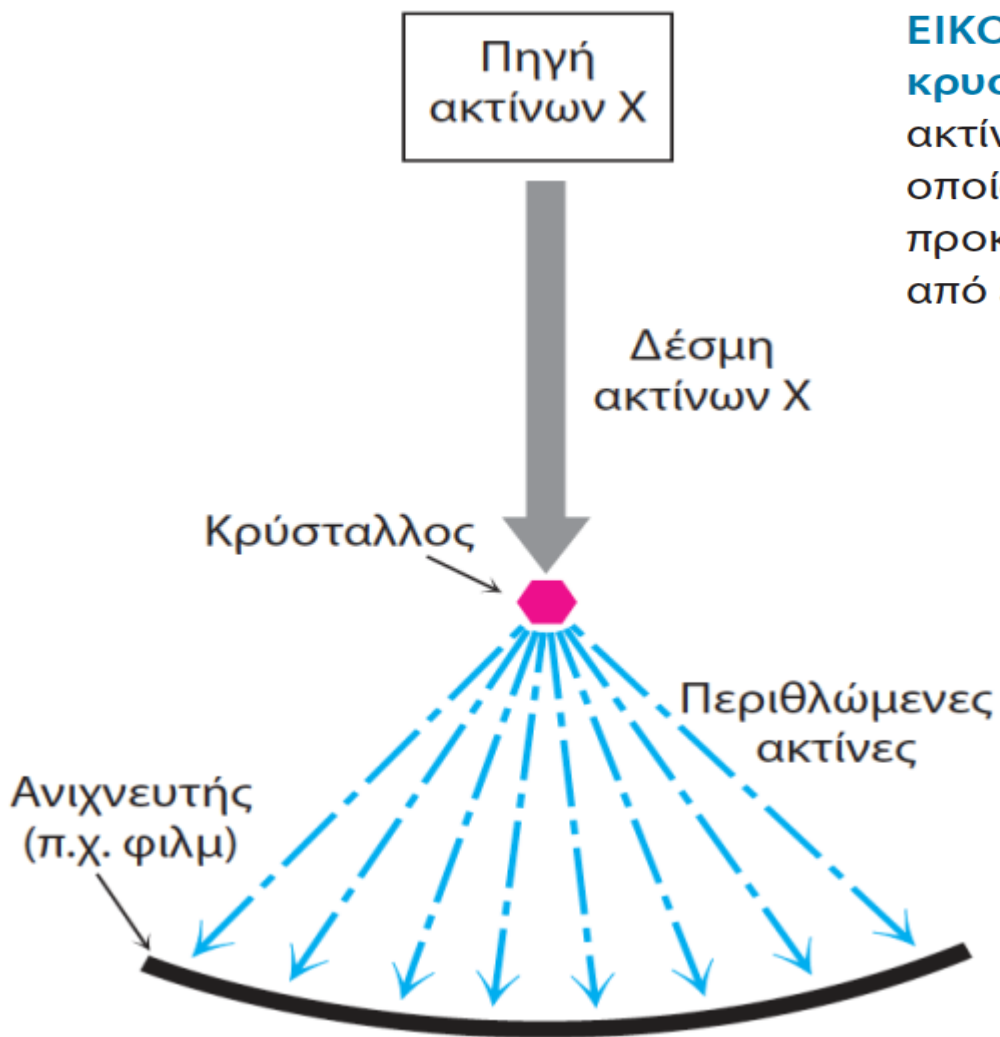
***t*-Βουτυλοξυκαρβονυλο-αμινοξύ
(*t*-Boc-αμινοξύ)**



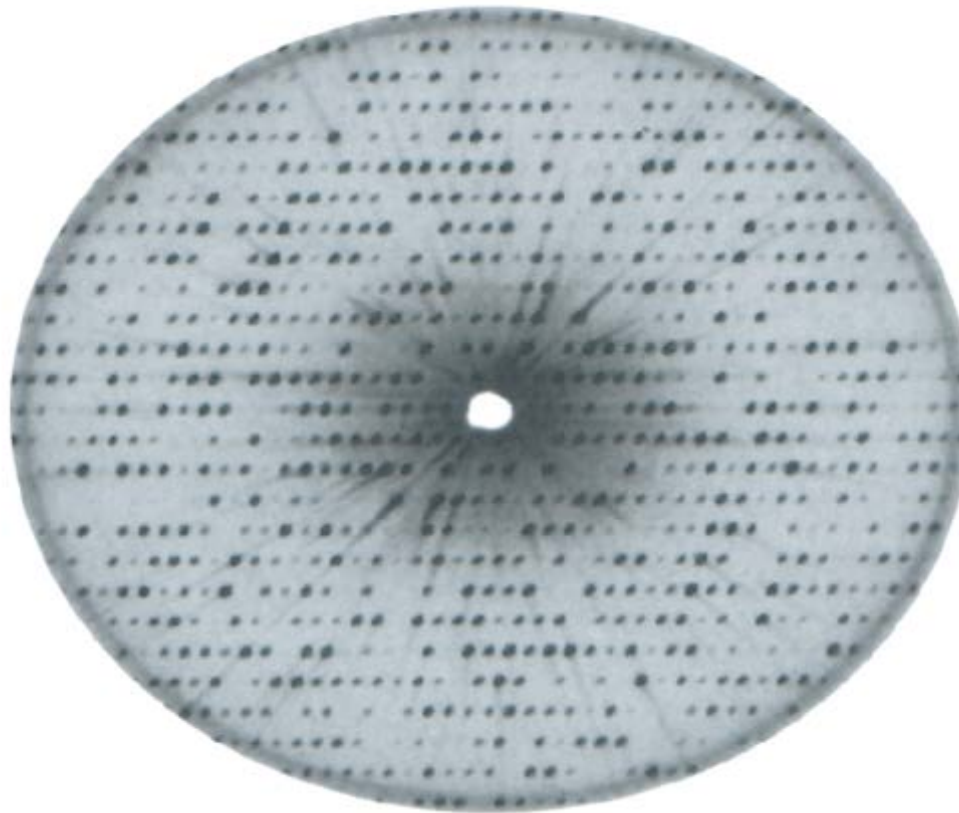
**Δικυκλοεξυλο-καρβοδιιμίδιο
(DCC)**



ΕΙΚΟΝΑ 3.39 Πεπτιδική σύνθεση στερεάς φάσης. Η σειρά των σταδίων στη σύνθεση στερεάς φάσης είναι: (1) δέσμευση του καρβοξυ-τελικού αμινοξέος σε στερεά ρητίνη, (2) αποπροστασία του αμινο-τελικού άκρου, και (3) σύζευξη της ελεύθερης αμινομάδας με την ενεργοποιημένη μέσω DCC καρβοξυλομάδα του επόμενου αμινοξέος. Τα στάδια 2 και 3 επαναλαμβάνονται μετά από κάθε προσθήκη αμινοξέος. Τελικά, στο στάδιο (4) όλο το πεπτίδιο απελευθερώνεται από τη ρητίνη.

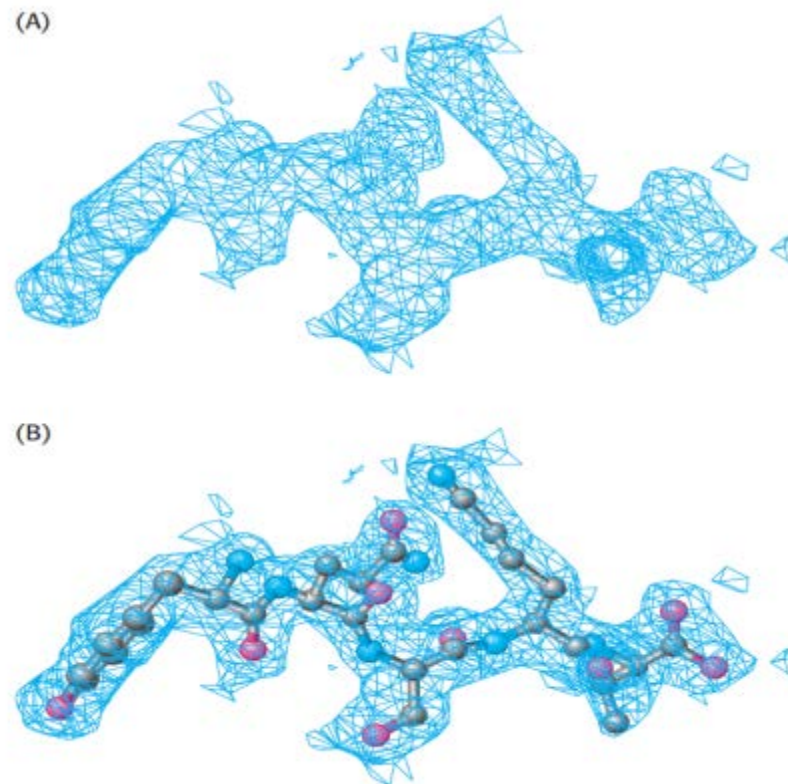


ΕΙΚΟΝΑ 3.40 Ένα πείραμα κρυσταλλογραφίας με ακτίνες Χ. Μια πηγή ακτίνων Χ παράγει την αντίστοιχη δέσμη, η οποία περιθλάται από έναν κρύσταλλο. Το προκύπτον σχήμα περίθλασης συλλέγεται από έναν ανιχνευτή.

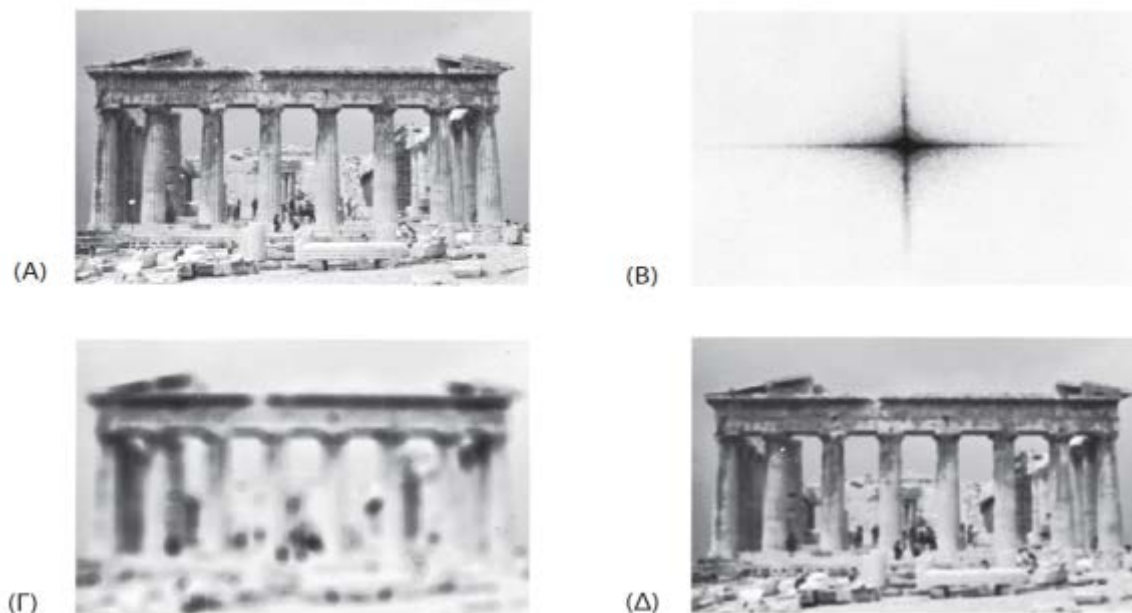


ΕΙΚΟΝΑ 3.41 Περιθλασίγραμμα ακτίνων

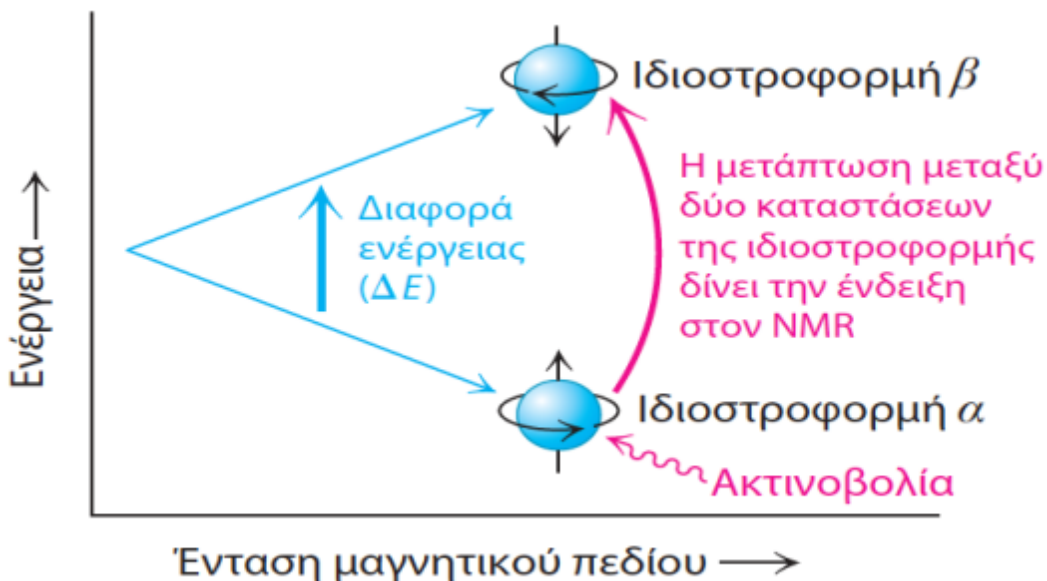
Χ. Φωτογραφία περιθλασιγράμματος για κρυστάλλους μιοσφαιρίνης που υπόκεινται σε μεταπτωτική κίνηση. [Mel Pollinger/Fran Heyl Associates.]



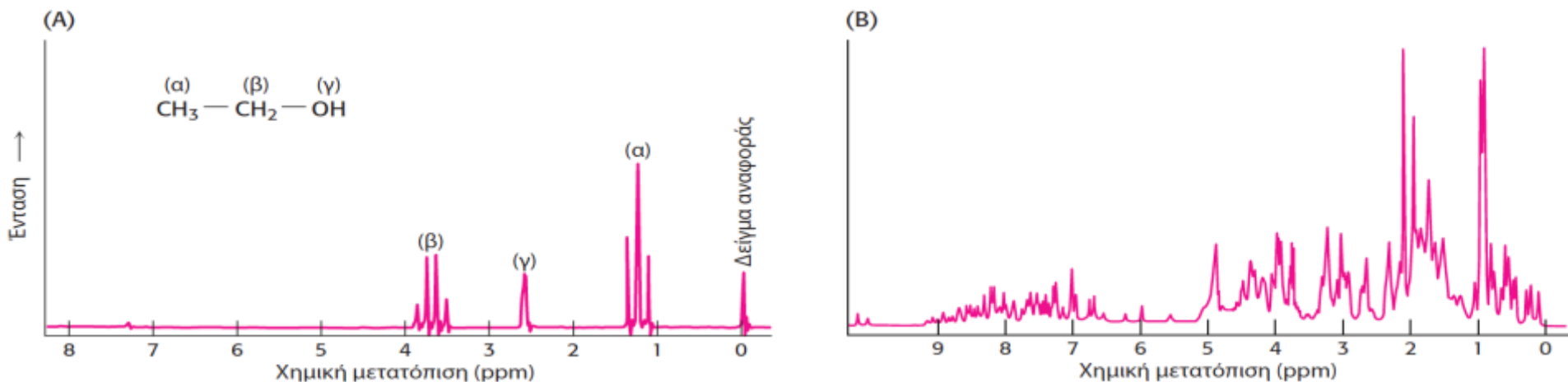
ΕΙΚΟΝΑ 3.42 Ερμηνεία ενός χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας. (A) Τμήμα ενός χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας το οποίο σχεδιάζεται ως τριδιάστατος χάρτης με ισούψεις γραμμές, όπου οι περιοχές μέσα στον διαφαινόμενο «κλωβό» αντιπροσωπεύουν τις περιοχές της πιο υψηλής ηλεκτρονιακής πυκνότητας. (B) Επάνω στον χάρτη αυτό χτίζεται ένα προσομοίωμα της πρωτεΐνης ώστε να μεγιστοποιηθεί η τοποθέτηση των ατόμων εκεί όπου η πυκνότητα είναι μέγιστη. [Σχεδιασμένο από 1FCH-pdb.]



ΕΙΚΟΝΑ 3.43 Η διακριτική ικανότητα επηρεάζει την ποιότητα της εικόνας. Οι επιπτώσεις της διακριτικής ικανότητας στην ποιότητα της ανασύστασης μιας εικόνας φαίνονται εδώ σε αναλογία προς την περίθλαση των ακτίνων Χ: (Α) Μια φωτογραφία του Παρθενώνα· (Β) οπτική περίθλαση του Παρθενώνα· (Γ + Δ) φωτογραφίες ανασύστασης βάσει του (Β). Η καλύτερη ποιότητα του Δ οφείλεται στο ότι χρησιμοποιήθηκαν περισσότερα στοιχεία στο Δ απ' ό,τι στο Γ [Ευγενική προσφορά (Α) Dr. Thomas Steitz και (Β) Dr. David DeRosier.]



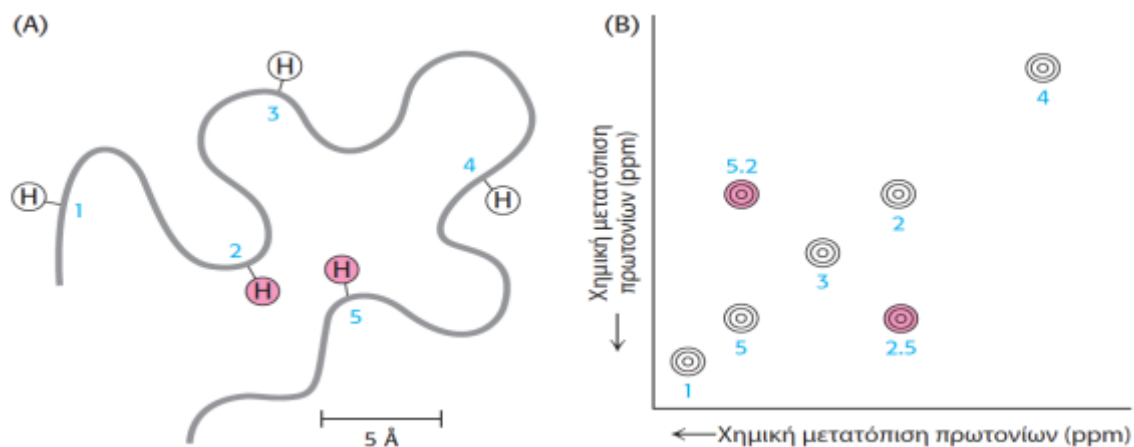
ΕΙΚΟΝΑ 3.44 Η βασική θεώρηση της φασματοσκοπίας NMR. Η ενέργεια των δύο προσανατολισμών του πυρήνα με τιμή ιδιοστροφορμής 1/2 (όπως ^{31}P και ^1H) εξαρτάται από την ένταση του μαγνητικού πεδίου που εφαρμόζεται. Η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που εκπέμπεται στην κατάλληλη συχνότητα επάγει τη μετάπτωση από το κάτω επίπεδο στο επάνω.



ΕΙΚΟΝΑ 3.45 Μονοδιάστατα φάσματα

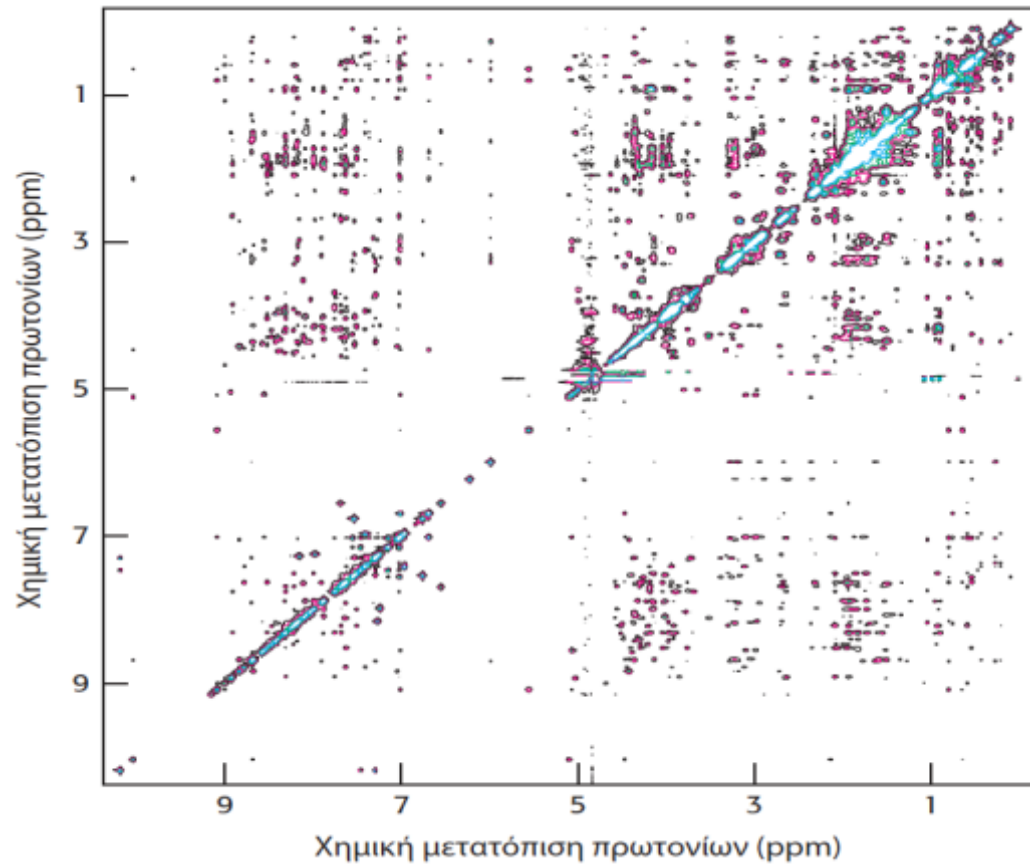
NMR. (A) Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της αιθανόλης ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) παρουσιάζει σαφή διαχωρισμό των χημικών μετατοπίσεων των υδρογόνων.

(B) Το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ για το θραύσμα μιας πρωτεΐνης 55 αμινοξέων που συμμετέχει στη συρραφή του RNA εμφανίζει μια πιο πολύπλοκη εικόνα. Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός κορυφών και πολλές από αυτές αλληλεπικαλύπτονται. [(A) Κατά C. Branden and J. Tooze, *Introduction to Protein Structure* (Garland, 1991), p. 280. (B) Ευγενική προσφορά Dr. Barbara Amann, Dr. Wesley McDermott.]

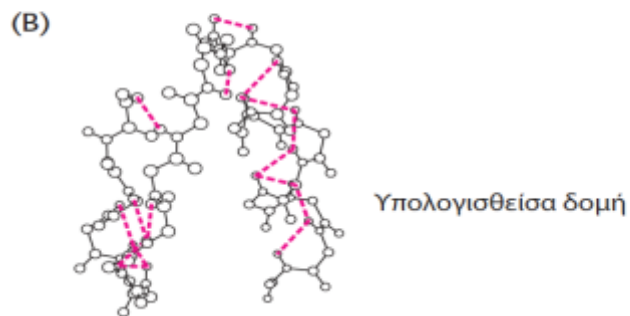
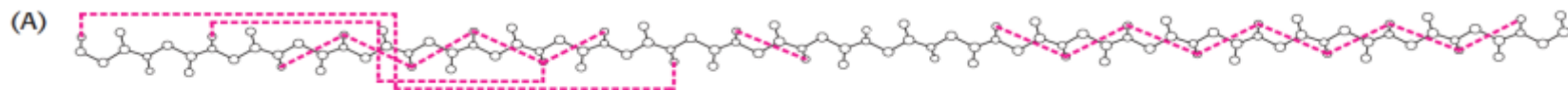


ΕΙΚΟΝΑ 3.46 Το πυρηνικό φαινόμενο

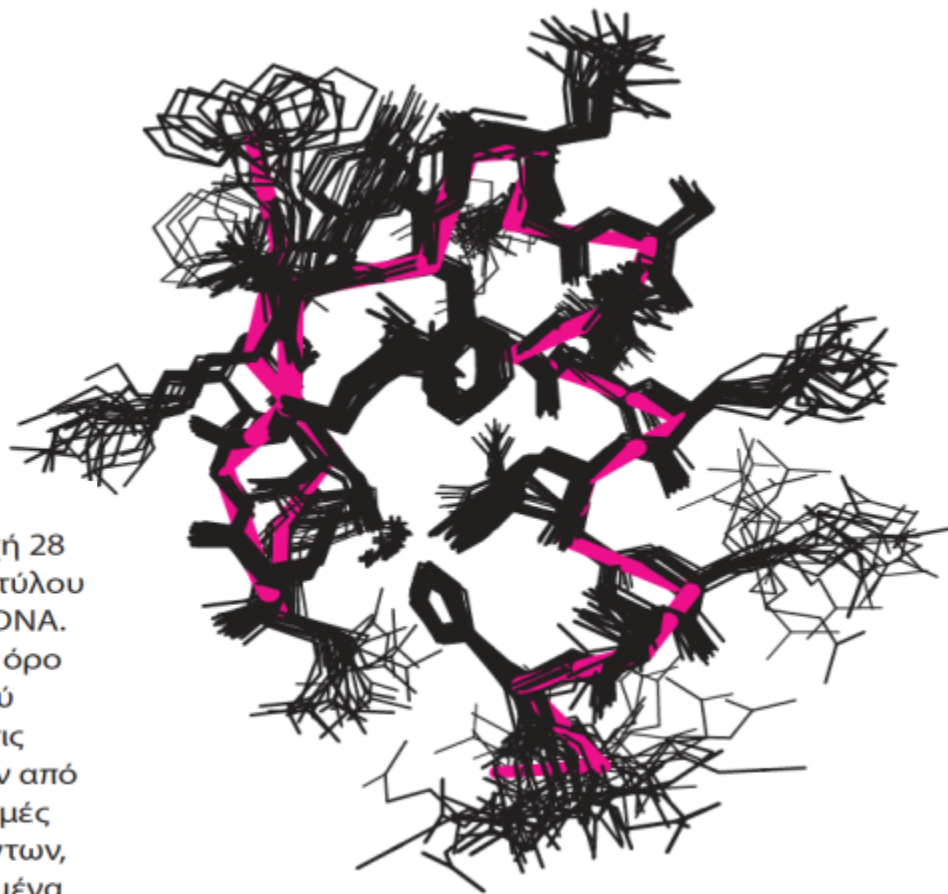
Overhauser. Το πυρηνικό φαινόμενο Overhauser (NOE) ταυτοποιεί ζεύγη πρωτονίων που βρίσκονται το ένα κοντά στο άλλο. (Α) Σχηματική απεικόνιση μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας που χαρακτηρίζει πέντε συγκεκριμένα πρωτόνια. Τα πρωτόνια 2 και 5 βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο (~4 Å απόσταση), ενώ τα άλλα πρωτόνια είναι σε μεγαλύτερη απόσταση το ένα από το άλλο. (Β) Ένα υπεραπλουστευμένο φάσμα NOESY. Τα πρωτόνια που είδαμε στο μέρος Α εμφανίζονται ως οι πέντε κορυφές που σχηματίζουν μια διαγώνιο γραμμή. Οι άλλες δύο κορυφές, συμμετρικά επάνω και κάτω από τη διαγώνιο, αποκαλύπτουν ότι τα πρωτόνια 2 και 5 βρίσκονται κοντά το ένα στο άλλο.



ΕΙΚΟΝΑ 3.47 Ανιχνεύοντας μικρές αποστάσεις μεταξύ πρωτονίων. Φάσμα NOESY για τη δομική περιοχή της πρωτεΐνης της συρραφής RNA (55 αμινοξέα). Κάθε κορυφή που βλέπουμε εκτός της διαγωνίου αντιπροσωπεύει μια κοντινή απόσταση μεταξύ δύο πρωτονίων. Το φάσμα αυτό αποκαλύπτει εκατοντάδες τέτοιες κοντινές αποστάσεις μεταξύ πρωτονίων, που μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε για να καθορίσουμε την τριδιάστατη δομή αυτής της δομικής περιοχής. [Ευγενική προσφορά Dr. Barbara Amann και Dr. Wesley McDermott.]

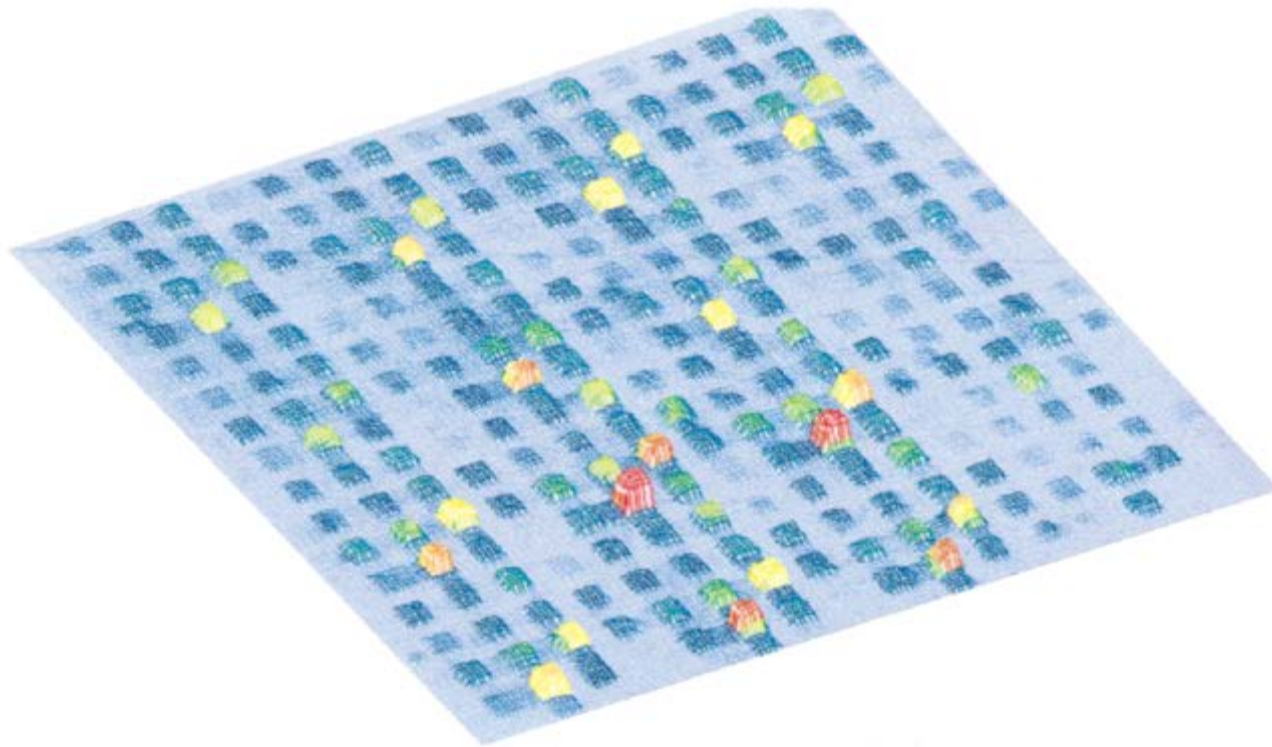


ΕΙΚΟΝΑ 3.48 Δομές που υπολογίζονται με βάση τους περιορισμούς των φασμάτων NMR. (A) Οι παρατηρήσεις NOESY δείχνουν ότι τα πρωτόνια (που συνδέονται με διακεκομμένες κόκκινες γραμμές) βρίσκονται το ένα κοντά στο άλλο. (B) Η τριδιάστατη δομή που υπολογίστηκε ώστε τα συγκεκριμένα ζεύγη πρωτονίων να βρίσκονται το ένα κοντά στο άλλο.

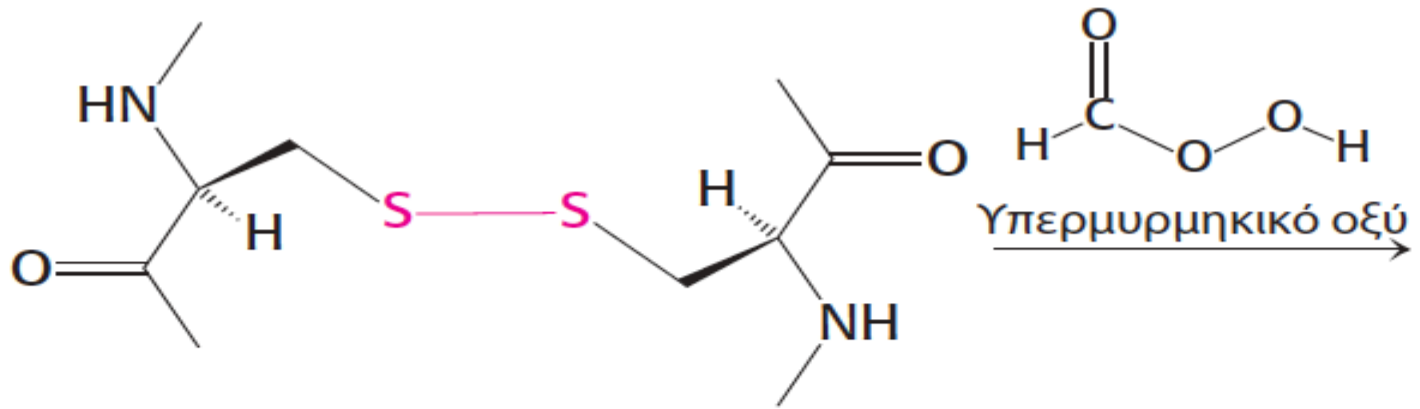


ΕΙΚΟΝΑ 3.49 Μια οικογένεια δομών.

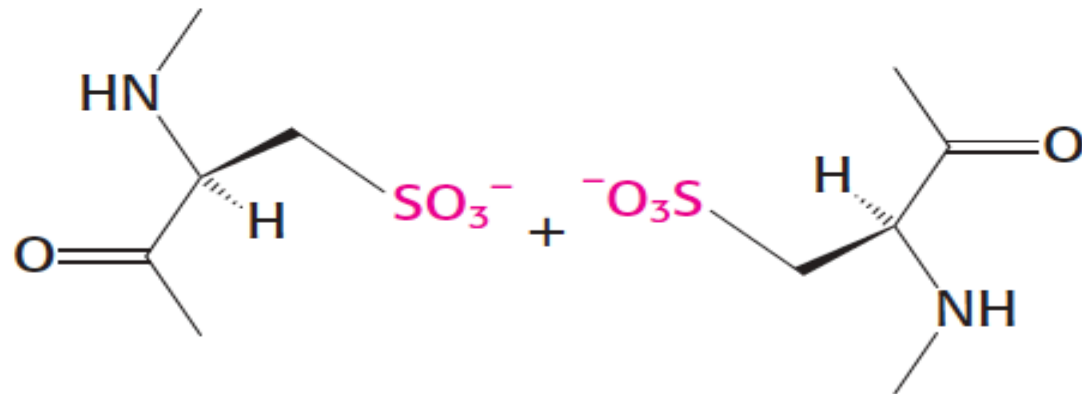
Σύνολο 25 δομών για μια δομική περιοχή 28 αμινοξέων που ανήκει σε πρωτεΐνη δακτύλου ψευδαργύρου η οποία δεσμεύεται στο DNA. Η κόκκινη γραμμή απεικονίζει τον μέσο όρο των θέσεων του πολυπεπτιδικού κορμού της πρωτεΐνης. Κάθε δομή ταιριάζει με τις περιοριστικές συνθήκες που προέκυψαν από τα πειράματα NMR. Οι διαφορές στις δομές οφείλονται σε συνδυασμό δύο παραγόντων, όπως οι ατέλειες στα πειραματικά δεδομένα και η δυναμική φύση των πρωτεϊνών σε διάλυμα. [Ευγενική προσφορά Dr. Barbara Amann.]



Σάρωση φθορισμού συστοιχίας 1024 πεπτιδίων σε επιφάνεια $1,6 \text{ cm}^2$. Κάθε σύνθεση καλύπτει ένα τετράγωνο πλευράς 400 μm . Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα σημασμένο με φθορίζουσα ουσία προστίθεται στο πλακίδιο για να προσδιοριστούν τα πεπτίδια που αναγνωρίζονται. Το ύψος και το χρώμα είναι ενδεικτικά της έντασης φθορισμού. [Κατά S.P.A. Fodor et al., *Science* 251(1991):767.]



Κυστίνη



Κυστεϊκό οξύ



Πίνακας 3.1 Ποσοτικοποίηση του πρωτοκόλλου καθαρισμού μιας υποθετικής πρωτεΐνης

Στάδιο	Ολική πρωτεΐνη (mg)	Ολική δραστηριότητα (μονάδες)	Ειδική δραστηριότητα (μονάδες mg ⁻¹)	Απόδοση (%)	Επίπεδο καθαρισμού
Ομογενοποίηση	15.000	150.000	10	100	1
Κλασμάτωση άλατος	4.600	138.000	30	92	3
Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής	1.278	115.500	90	77	9
Χρωματογραφία διήθησης σε πηκτή	68,8	75.000	1.100	50	110
Χρωματογραφία συγγένειας	1,75	52.500	30.000	35	3.000

**Πίνακας 3.2** Οι τιμές S και τα μοριακά βάρη πρότυπων πρωτεϊνών

Πρωτεΐνη	Τιμή S (μονάδες Svedberg)	Μοριακό βάρος
Παγκρεατικός αναστολέας θρυψίνης	1	6.520
Κυτόχρωμα c	1,83	12.310
Ριβονουκλεάση A	1,78	13.690
Μυοσφαιρίνη	1,97	17.800
Θρυψίνη	2,5	23.200
Ανθρακική ανυδράση	3,23	28.800
Κονκαναβαλίνη A	3,8	51.260
Μηλική αφυδρογονάση	5,76	74.900
Γαλακτική αφυδρογονάση	7,54	146.200

[Από T. Creighton, *Proteins*, 2nd ed. (W. H. Freeman and Company, 1993), Table 7.1.]



Πίνακας 3.3 Εξειδικευμένες διασπάσεις πολυπεπτιδίων

Αντιδραστήριο

Θέση διάσπασης

Χημική διάσπαση

Βρωμιούχο κυάνιο

Καρβοξυ-τελικό άκρο μεθειονίνης

Ο-Ιωδοσοβενζοϊκό

Καρβοξυ-τελικό άκρο θρυπτοφάνης

Υδροξυλαμίνη

Δεσμοί ασπαραγίνης-γλυκίνης

2-Νιτρο-5-θειοκυανοβενζοϊκό

Αμινο-τελικό άκρο κυστεΐνης

Ενζυμική διάσπαση

Θρυψίνη

Καρβοξυ-τελικό άκρο λυσίνης και αργινίνης

Κλωστριπαΐνη

Καρβοξυ-τελικό άκρο αργινίνης

Σταφυλοκοκκική πρωτεάση

Καρβοξυ-τελικό άκρο ασπαραγινικού και γλουταμινικού (του τελευταίου μόνο υπό ορισμένες συνθήκες)

Θρομβίνη

Καρβοξυ-τελικό άκρο αργινίνης

Χυμοθρυψίνη

Καρβοξυ-τελικό άκρο τυροσίνης, θρυπτοφάνης, φαινυλαλανίνης, λευκίνης και μεθειονίνης

Καρβοξυπεπτιδάση Α

Αμινο-τελικό άκρο του C-τελικού αμινοξέος (εκτός από αργινίνη, λυσίνη ή προλίνη)



Πίνακας 3.4 Βιολογικά σημαντικοί πυρήνες που δίνουν σήμα NMR

Πυρήνας	Φυσική αφθονία (% κατά μάζα του στοιχείου)
^1H	99,984
^2H	0,016
^{13}C	1,108
^{14}N	99,635
^{15}N	0,365
^{17}O	0,037
^{23}Na	100,0
^{25}Mg	10,05
^{31}P	100,0
^{35}Cl	75,4
^{39}K	93,1



Βιβλιογραφία

1. Jeremy M Berg, John L Tymoczko, Lubert Stryer, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 5^η έκδοση, Α τόμος, Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2004. Βλέπε και διαδικτυακό τόπο του βιβλίου www.whfreeman.com/Berg7e/
2. Διαμαντίδη Γρ., ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 3^η έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 2007/2010.
3. Campbell NA, Reece JB. *Βιολογία*, τόμος Ι. 8^η 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, 3rd edition, Benjamin Cummings, Menlo Park, 2003. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
8. John Clark, Robert ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ. Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 1992, 2^η 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

Εξερεύνηση των πρωτεϊνών

