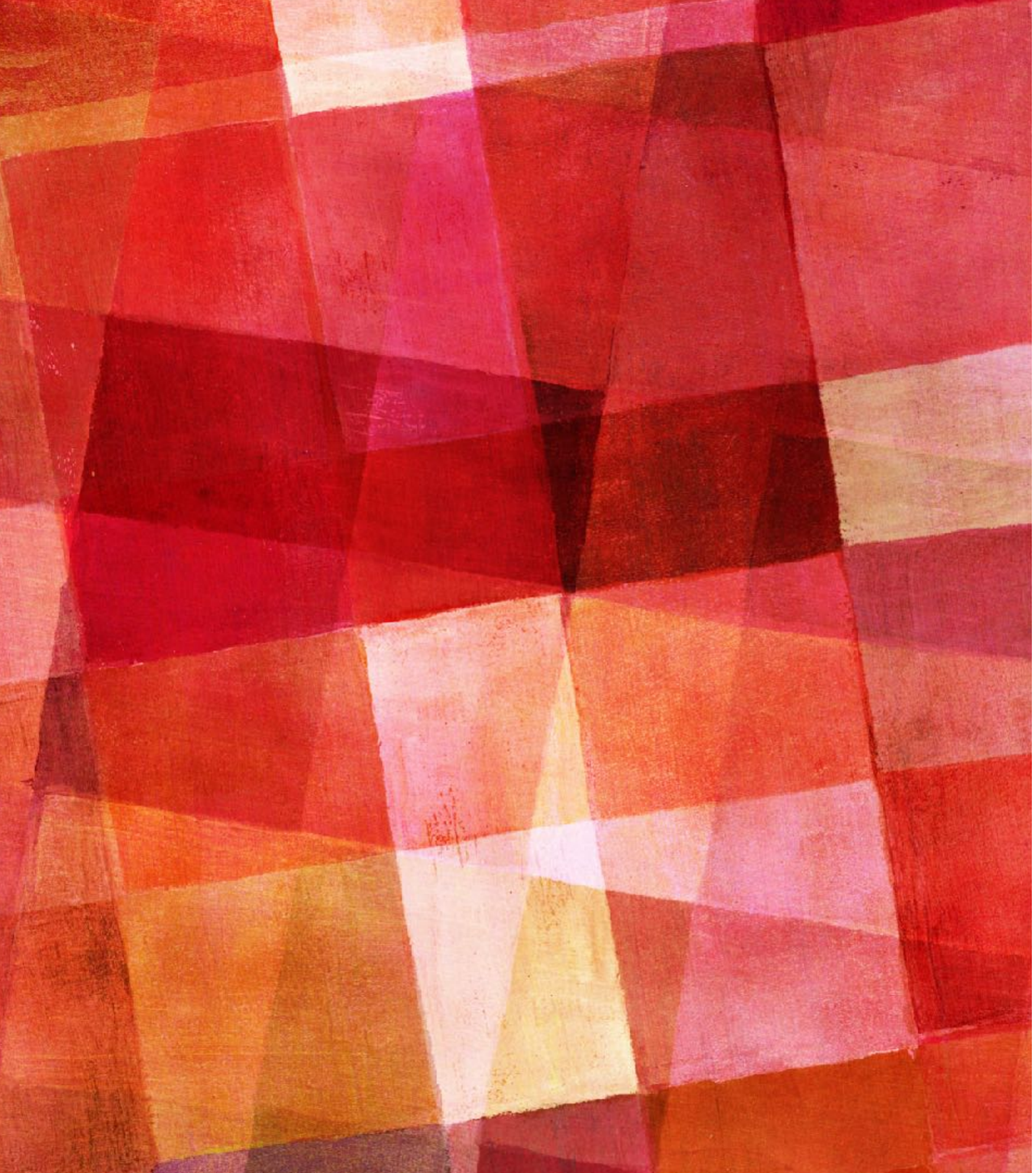
ΕΝΖΥΜΑ

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ

Επιμέλεια: Γεώργιος Ιατρόπουλος MSc in Bioinformatics



ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ

- Πώς γίνονται οι χημικές αντιδράσεις στα κύτταρα;
- Ποια είναι τα εργαλεία του μεταβολισμού;
- Πώς λειτουργούν οι μοριακοί μηχανισμοί των κυττάρων;
- Γιατί η ζωή αναπτύσσεται μέσα σε συγκεκριμένα όρια περιβαλλοντικών συνθηκών;
- Ποια η σχέση ενζύμων και ασθενειών;
- Πώς χρησιμοποιούνται τα ένζυμα ως στόχοι αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση παθογόνων μικροοργανισμών;

ΕΝΟΤΗΤΕΣ

- Καταλύτες - Ένζυμα - Ορισμοί.
- Δομή των ενζύμων.
- Λειτουργικές περιοχές των ενζύμων.
- Μηχανισμός δράσης των ενζύμων.
- Ιδιότητες των ενζύμων.
- Είδη ενζύμων.
- Ονοματολογία.
- Καταστολή των ενζύμων.
- Ένζυμα, μεταλλάξεις και γενετικές ασθένειες.
- Ένζυμα και Εξέλιξη.
- Δραστηριότητες: PDB Protein Data Bank

ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ – ΕΝΖΥΜΑ – ΟΡΙΣΜΟΙ

ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ - ΕΝΖΥΜΑ - ΟΡΙΣΜΟΙ

- Οι **καταλύτες** είναι χημικές ουσίες που επιταχύνουν την ταχύτητα μιας χημικής αντίδρασης, μεταβάλλοντας την ενέργεια ενεργοποίησής της, χωρίς όμως να μεταβάλλονται οι ίδιοι.
- Η παραπάνω διαδικασία ονομάζεται **κατάλυση**.
- **Ένζυμα** λέγονται οι **Βιολογικοί Καταλύτες**, οι οποίοι είναι ειδικοί για μια αντίδραση του μεταβολισμού.

ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ - ΕΝΖΥΜΑ - ΟΡΙΣΜΟΙ

- **Υπόστρωμα** είναι τα αντιδρώντα μιας **Ενζυμικής αντίδρασης**, με τα οποία το **Ένζυμο** σχηματίζει μια ασταθή **Ενδιάμεση Ένωση**, η οποία θα μετατραπεί στα **Προϊόντα** της αντίδρασης.
- Όταν οι αντιδράσεις γίνονται με τη βοήθεια των **Ενζύμων** καταλήγουν γρηγορότερα στη **Χημική Ισορροπία**.
- Η θέση της χημικής ισορροπίας μιας αντίδρασης δεν μεταβάλλεται με την επίδραση του ενζύμου στο μηχανισμό της.

ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

- Τα ένζυμα έχουν **πρωτεϊνική** σύσταση.
- **Συνένζυμα:** Μερικά ένζυμα χρειάζονται μικρά οργανικά ή ανόργανα μόρια ως βοηθούς για να εκδηλωθεί η δράση τους.
- **Αποένζυμο:** Είναι το πρωτεϊνικό μέρος ενός ενζύμου που χρησιμοποιεί συνένζυμα.
- **Ολοένζυμο:** Είναι το αποένζυμο μαζί με τα συνένζυμά του.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

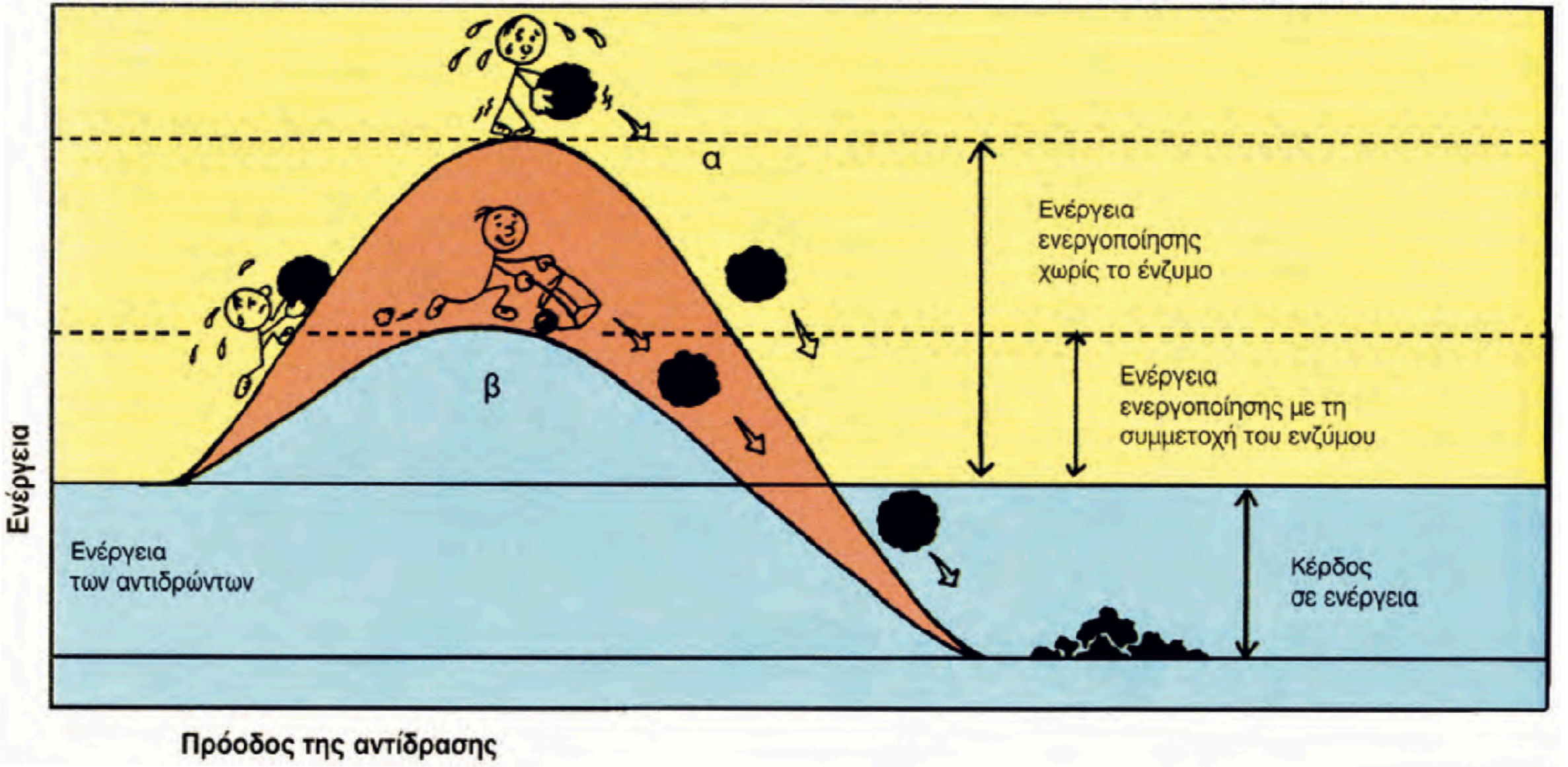
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

- **Πρωτεϊνικό Υπόβαθρο:** Τα μέρη του πρωτεϊνικού μορίου του ενζύμου, τα οποία υποστηρίζουν τη στερεοδιαμόρφωση των υπόλοιπων λειτουργικών περιοχών.
- **Ενεργό Κέντρο:** Είναι η περιοχή του ενζύμου στην οποία εισέρχονται τα υποστρώματα. Τα ενεργά κέντρα των ενζύμων είναι αυστηρά εξειδικευμένα στο να υποδέχονται συγκεκριμένα υποστρώματα και να προσαρμόζονται στη γεωμετρία τους. Μετά την σύνδεση του ενεργού κέντρου με τα υποστρώματα δημιουργείται το ενδιάμεσο ασταθές σύμπλοκο ενζύμου – υποστρωμάτων.
- **Ενεργό κέντρο = θέσεις δεσμεύσης + θέση κατάλυσης**
- **Θέσεις Αλλοστερικής Ρύθμισης:** Είναι περιοχές δέσμευσης του πρωτεϊνικού μορίου του ενζύμου, διαφορετικές από το ενεργό κέντρο, στις οποίες δεσμεύονται μόρια που είναι ικανά να ρυθμίσουν την δραστικότητα του ενζύμου (παρεμπόδιση, ή ενεργοποίηση).

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

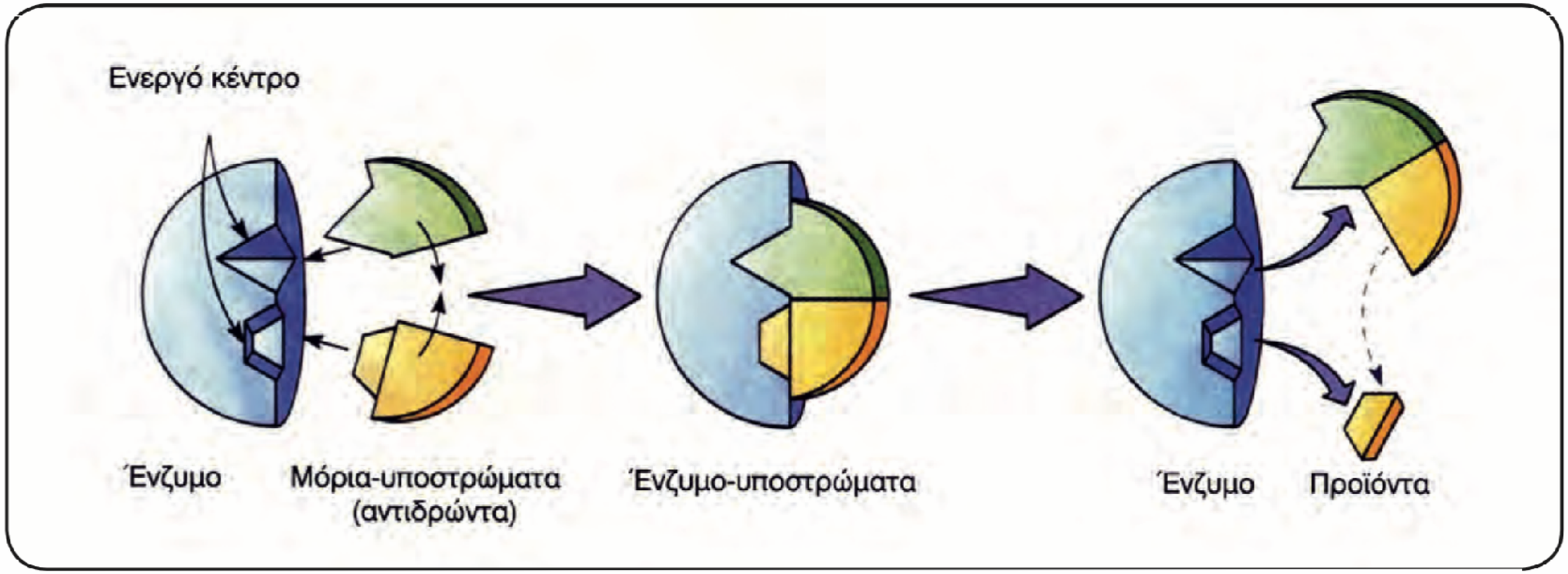
- **Ενέργεια Ενεργοποίησης** είναι η ενέργεια που απαιτεί μια χημική αντίδραση για να προχωρήσει.
- Τα ένζυμα επιταχύνουν τις χημικές αντιδράσεις μειώνοντας την **ενέργεια ενεργοποίησης** τους.
- Η δράση των ενζύμων εξασφαλίζει την επιβίωση των κυττάρων, διότι δεν αντέχουν μεγάλες ποσότητες ενέργειας ενεργοποίησης για τις αντιδράσεις του μεταβολισμού τους, ούτε θα άντεχαν οι αντιδράσεις αυτές να γίνονταν αργά.
- Επιτάχυνση αντιδράσεων ως **10^8 φορές**. 1 λεπτό ενζυμικής αντίδρασης = 32 μήνες αντίδρασης χωρίς ένζυμο!



Τα ένζυμα επιταχύνουν τις αντιδράσεις ελαττώνοντας την ενέργεια ενεργοποίησης. Σύγκριση της ενέργειας ενεργοποίησης αντίδρασης: (α) απουσία ενζύμου και (β) παρουσία ενζύμου.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

- Γίνεται προσανατολισμός των μορίων των υποστρωμάτων στις θέσεις δεσμεύσεις του ενεργού κέντρου του ενζύμου. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται από το μοντέλο **κλειδί – κλειδαριά** και νεότερα από το μοντέλο της **δυναμικής στερεοχημικής προσαρμογής**. Σύμφωνα με το δεύτερο μοντέλο το ενεργό κέντρο των ενζύμων αποκτά σχήμα συμπληρωματικό του σχήματος του υποστρώματος μόνο μετά την πρόσδεση του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο
- Η **σύνδεση** των υποστρωμάτων με το ένζυμο, στη **θέση κατάλυσης** του ενεργού κέντρου, έχει σαν αποτέλεσμα να **χαλαρώνουν** οι **δεσμοί** των αντιδρώντων. Αυτό **μειώνει** την **ενέργεια ενεργοποίησης** της αντίδρασης, διότι οι δεσμοί των υποστρωμάτων σπάνε ευκολότερα, το οποίο είναι προϋπόθεση για το σχηματισμό των δεσμών των προϊόντων.



Τρόπος δράσης των ενζύμων.

*Ο όρος **ένζυμο** (enzyme) καθιερώθηκε από το **Φ. Κίνε** (F. Kühne) το 1878, για να δηλώσει τις δραστικές ουσίες που βρίσκονται μέσα στα κύτταρα των ζυμών (μονοκύτταροι μύκητες). Προήλθε από τις ελληνικές λέξεις **εν** και **ζύμη**. Τυπικά, ένα ένζυμο αυξάνει την ταχύτητα μιας αντίδρασης από ένα εκατομμύριο (10^6) έως και ένα τρισεκατομμύριο (10^{12}) φορές. Κάτι αντίστοιχο θα ήταν η μείωση του χρόνου ζωής από 100 χρόνια σε ένα μόνο δευτερόλεπτο.*

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

- Η καταλυτική δράση τους καθορίζεται από την τριτοταγή δομή του **αποενζύμου** και χάνεται με την μετουσίωση. Γι' αυτό η δράση των ενζύμων επηρεάζεται από παράγοντες όπως είναι: το **pH** και η **θερμοκρασία**.
- Δρουν πολύ γρήγορα. (Αριθμός μορίων ανά λεπτό)
- Παραμένουν αναλλοίωτα, εκτός αν καταστραφούν από το κύτταρο. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλές φορές αφού δεν αλλοιώνονται από τις αντιδράσεις στο μηχανισμό των οποίων παρεμβαίνουν.
- Εμφανίζουν υψηλό βαθμό εξειδίκευσης. Ένα ένζυμο καταλύει μία μόνο αντίδραση, η μία σειρά πολύ συγγενικών αντιδράσεων.

ΕΙΔΗ ΕΝΖΥΜΩΝ

ΕΙΔΗ ΕΝΖΥΜΩΝ

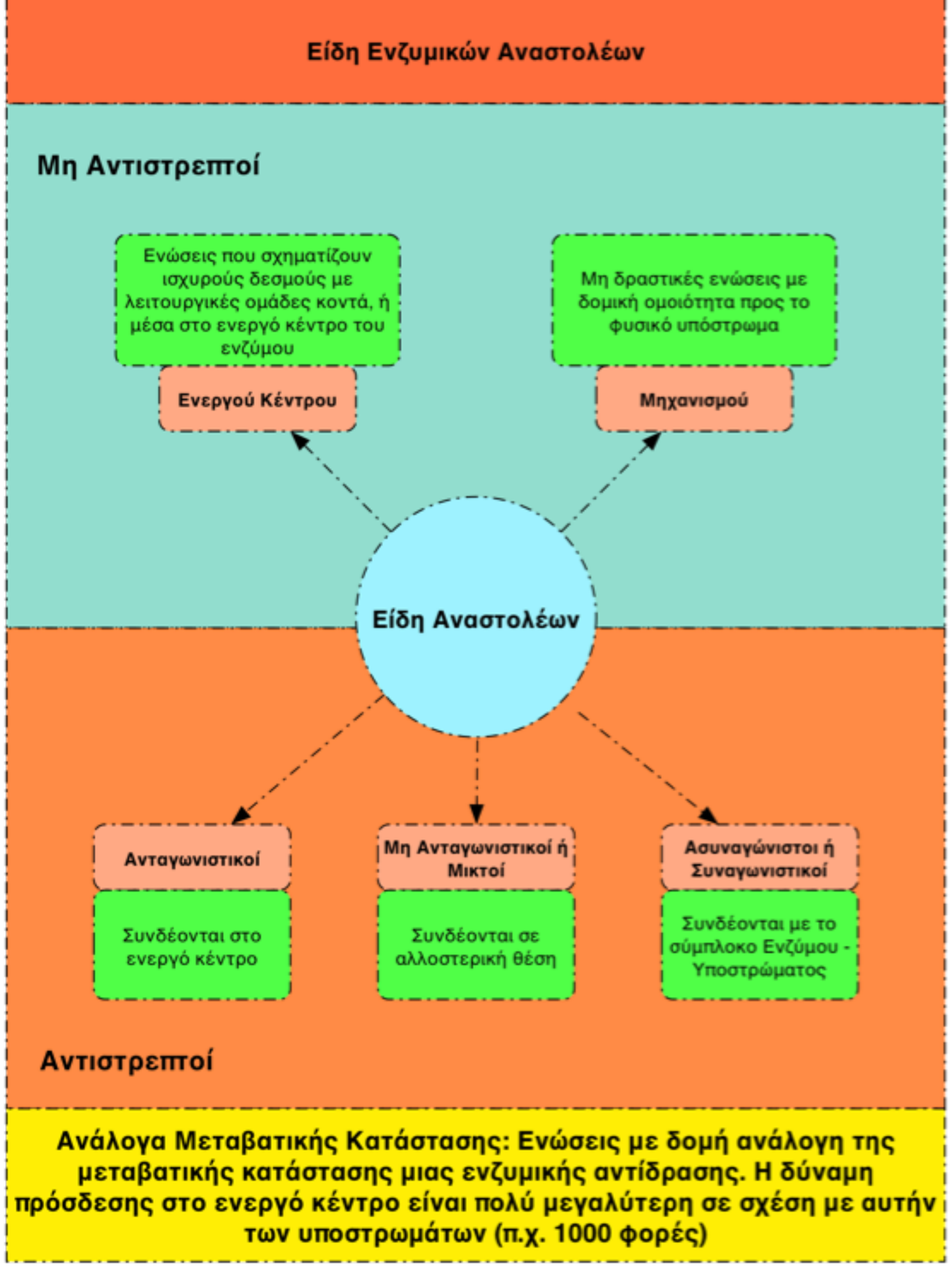
- Τα ένζυμα χωρίζονται σε κατηγορίες ανάλογα με το **που** δρουν.
- **Ενδοκυτταρικά ένζυμα:** Δρουν μέσα στο κύτταρο, είτε ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα, ή συνδεδεμένα σε μεμβράνες.
- **Εξωκυτταρικά ένζυμα:** Δρουν μέσα σε κοιλότητες οργάνων.

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΕΝΖΥΜΩΝ

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΕΝΖΥΜΩΝ

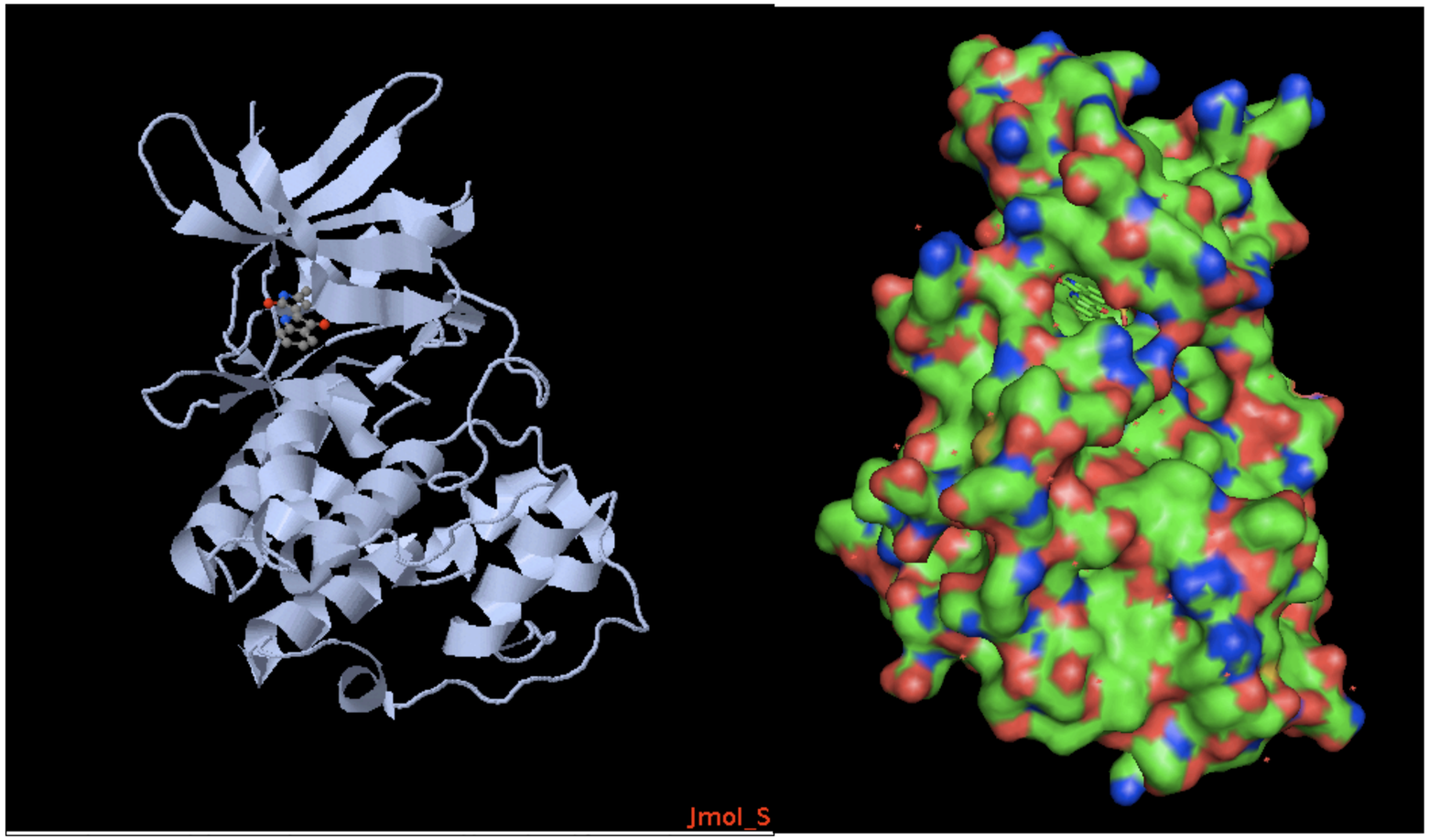
- Με βάση το **υπόστρωμα: -άση**
- Με βάση την **αντίδραση** που καταλύουν.

ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΕΝΖΥΜΩΝ



ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΕΝΖΥΜΩΝ

- **Αντιβιοτικά**: Είναι αντιμικροβιακές ουσίες που παράγονται από βακτήρια, μύκητες, ή φυτά.
- Λειτουργούν **αναστέλλοντας** κάποια **ενζυμική αντίδραση** του μεταβολισμού των μικροβίων.
- Συνεπώς τα αντιβιοτικά λειτουργούν σαν **καταλυτικά δηλητήρια**, τα οποία αναστέλλουν, η απενεργοποιούν τα **ένζυμα στόχους**.
- **Αντι-ιικά φάρμακα**: Είναι ουσίες που αναστέλλουν την λειτουργία των ενζύμων των κυττάρων, ώστε να καθυστερήσουν τον πολλαπλασιασμό των ιών.



- Μπορείτε να εντοπίσετε το ενεργό κέντρο του παραπάνω ενζύμου και το μόριο του αναστολέα του;

ΕΝΖΥΜΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΕΝΖΥΜΑ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

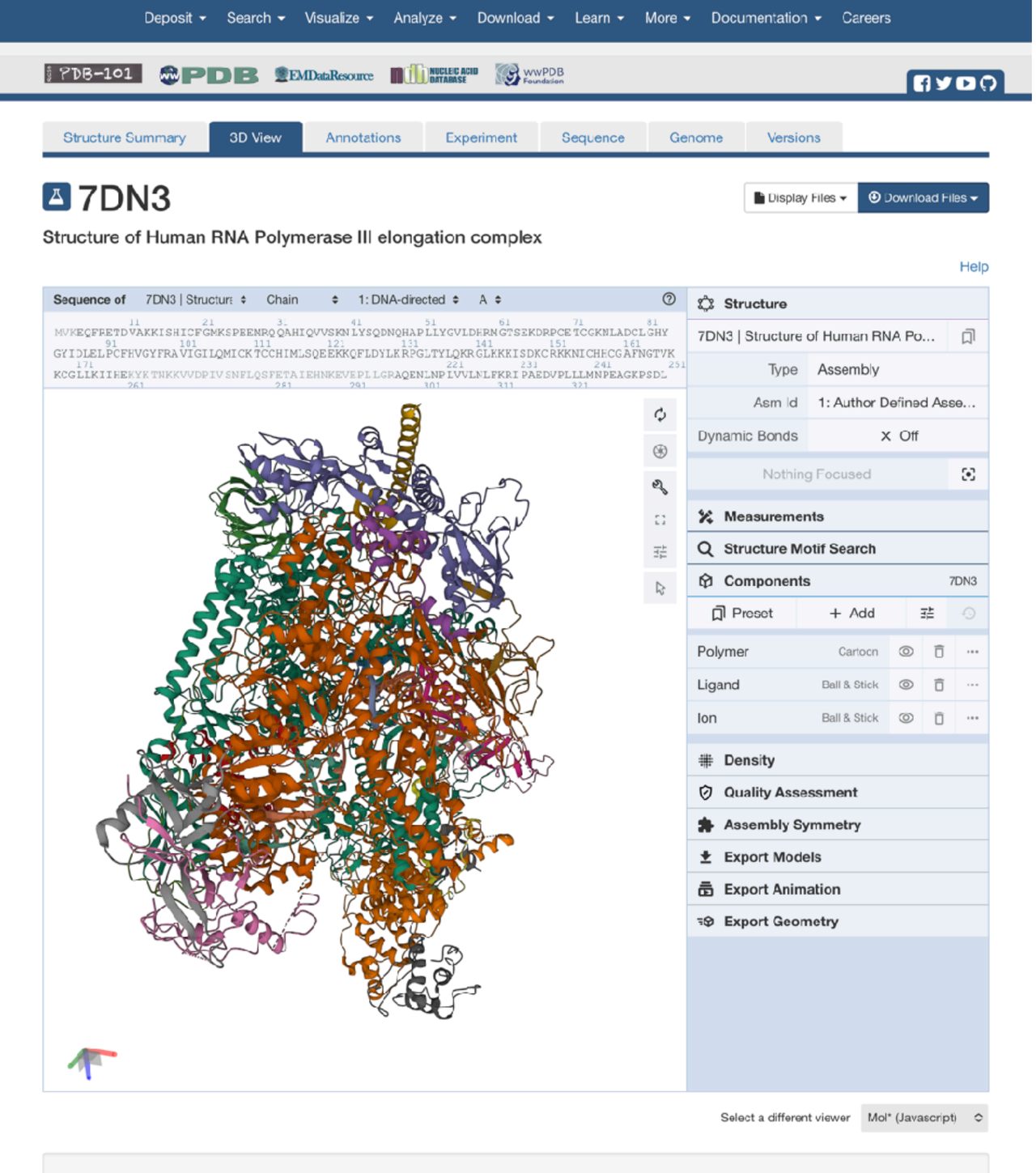
- Η στερεοδιάταξη, άρα και η λειτουργία των ενζύμων καθορίζεται από την αλληλουχία των αμινοξέων των πολυπεπτιδικών τους αλυσίδων (πρωτοταγής δομή).
- Η πρωτοταγής δομή των πολυπεπτιδικών αλυσίδων των ενζύμων βρίσκεται κωδικοποιημένη στα εξώνια των αντίστοιχων γονιδίων.
- Τυχόν κληρονομήσιμες μεταλλάξεις, ακόμα και ενός μόνο αμινοξέως, κοντά ή μέσα σε περιοχές του ενεργού κέντρου, ή σε αλλοστερικές περιοχές, θα οδηγήσουν σε δυσλειτουργία του ενζύμου και **μεταβολική** διαταραχή, συνεπώς σε **Γενετική Ασθένεια**.
- Κληρονομήσιμες μεταλλάξεις που αφορούν το πρωτεϊνικό υπόβαθρο του ενζύμου και δεν επηρεάζουν άμεσα τη στερεοδιαμόρφωση του ενεργού κέντρου, ή των θέσεων αλλοστερικής ρύθμισης, οδηγούν σε **ουδέτερες μεταλλάξεις**. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν παρουσιάζεται σοβαρή δυσλειτουργία του ενζύμου.

ΕΝΖΥΜΑ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ

ΕΝΖΥΜΑ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ

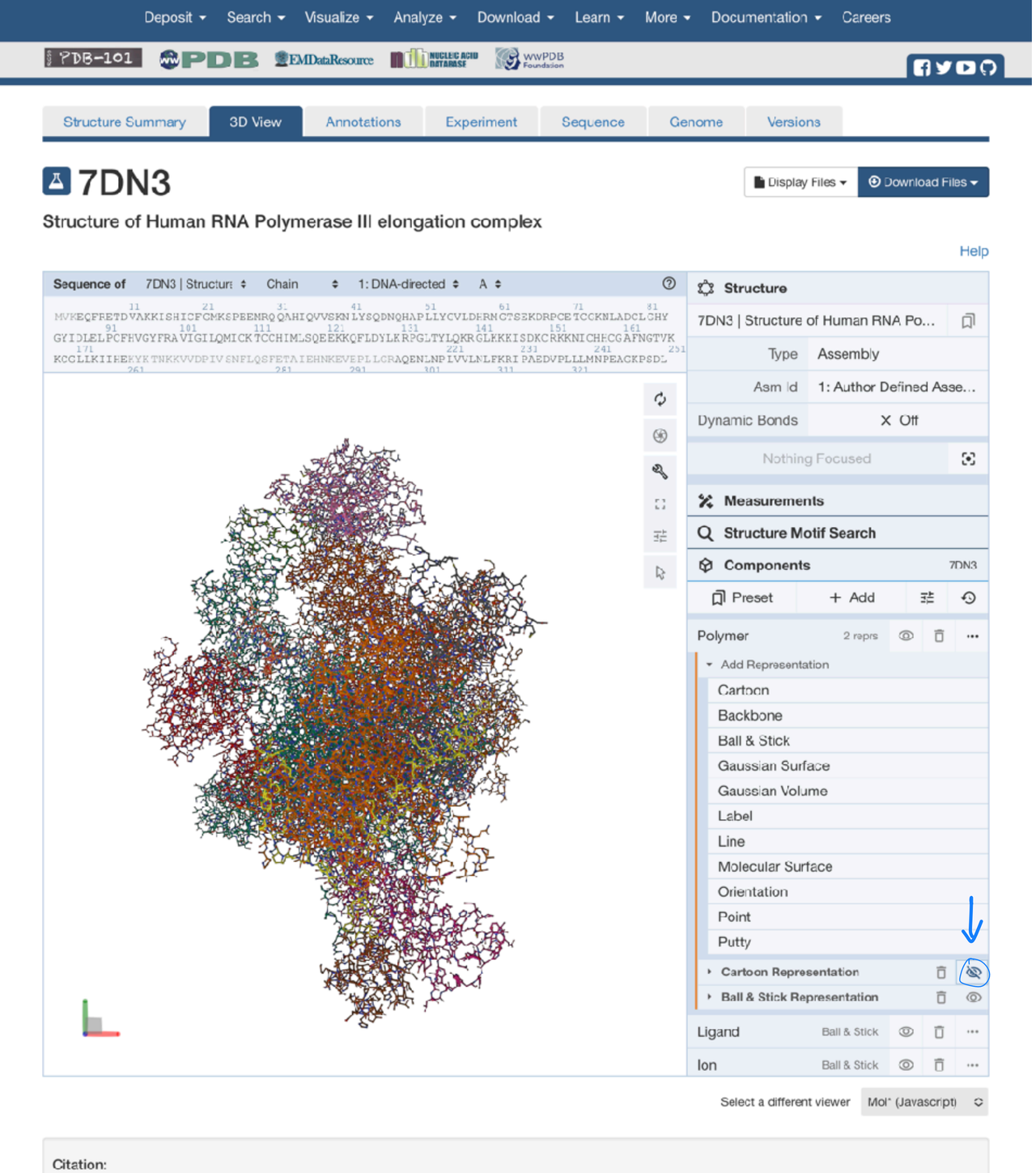
- Τα ένζυμα που αφορούν το βασικό μεταβολισμό του κυττάρου, π.χ. ένζυμα της **Γλυκόλυσης**, του **Κύκλου του Κιτρικού Οξέος (Krebs)**, της **Οξειδωτικής Φωσφορυλίωσης**, ή άλλα **Μιτοχονδριακά ένζυμα**, δεν μπορούν να εμφανίζουν λειτουργικές διαφοροποιήσεις στους διάφορους οργανισμούς.
- Ελάχιστες μεταλλάξεις σε αυτά τα ένζυμα γίνονται αποδεκτές από τη **Φυσική Επιλογή**, δηλαδή δεν οδηγούν στο θάνατο.
- Τα γονίδια που κωδικοποιούν τέτοια ένζυμα λέγονται **Συντηρητικά.**
- Τα Συντηρητικά γονίδια είναι κατάλληλοι **μοριακοί δείκτες** για τη μελέτη της εξέλιξης των διαφόρων οργανισμών. Διαφορές της τάξης του 2-3% στη νουκλεοτιδική αλληλουχία, υποδεικνύει διαφορετικά είδη, μέσα στο ίδιο γένος.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ:
PROTEIN DATA BANK (PDB)



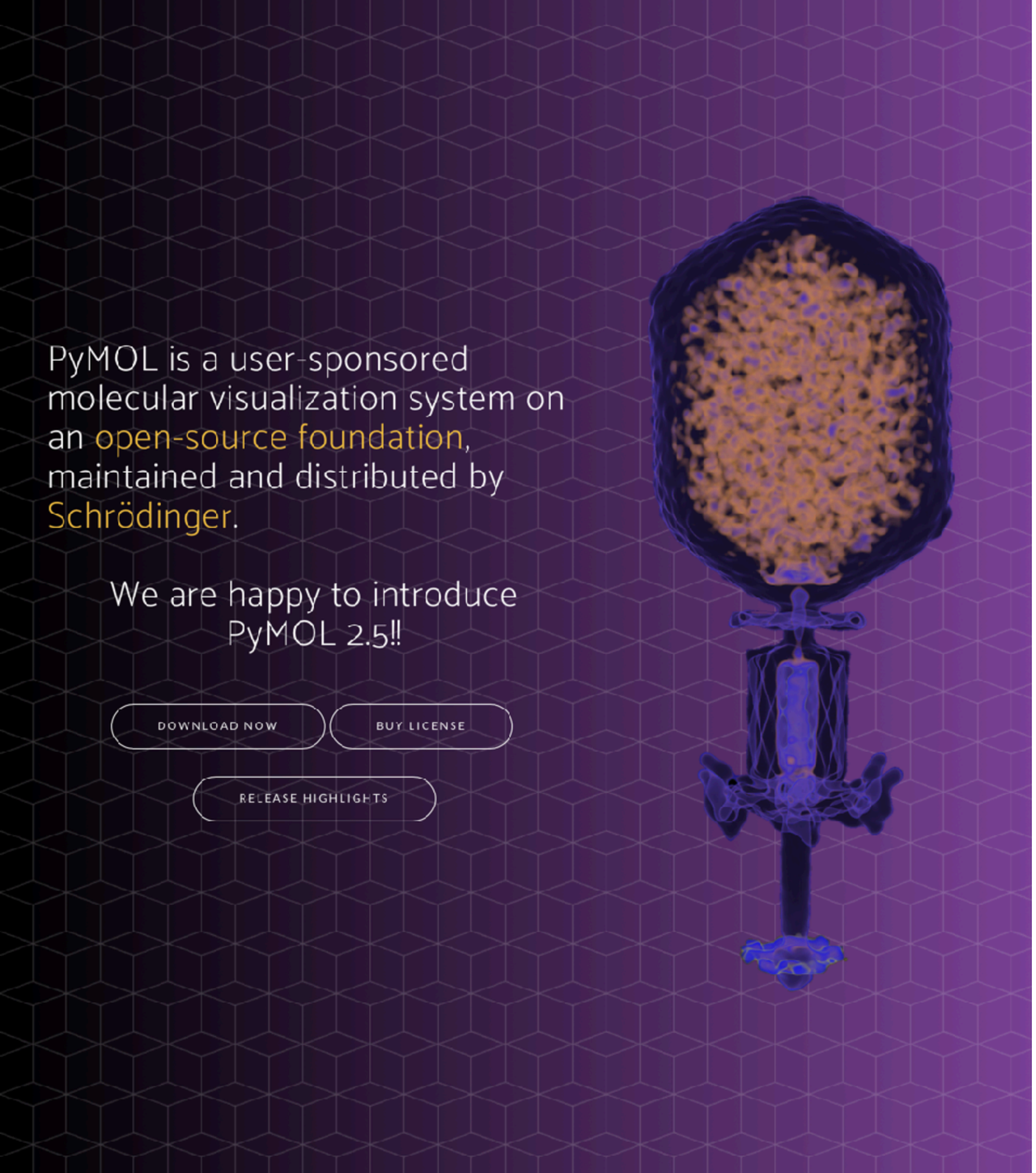
ΟΔΗΓΙΕΣ PDB

- Πλοηγούμαστε στον ιστότοπο: rcsb.org
- Χρησιμοποιούμε έναν όρο στο πεδίο της αναζήτησης: π.χ. Human RNA polymerase III.
- Σε ένα αποτέλεσμα κάνουμε κλικ στο κουτάκι 3D view
- Στην απεικόνιση cartoon που θα προκύψει μπορούμε να κάνουμε zoom in και zoom out με το ποντίκι καθώς και να περιστρέψουμε το μόριο. Ακριβώς πάνω από την απεικόνιση βλέπουμε και την πρωτοταγή δομή του μορίου.
- Ζητάμε από τους μαθητές να αναγνωρίσουν σχήματα της δευτεροταγούς δομής, δηλαδή α έλικες και πτυχωτές μορφές, κάνοντας σύνδεση με το πρώτο κεφάλαιο της ύλης.
- Επιλέγοντας ένα από τα αμινοξέα της πρωτοταγούς δομής, πλοηγούμαστε στην αντίστοιχη περιοχή της απεικόνισης. Στη συνέχεια μπορούμε να κάνουμε zoom out με το ποντίκι.



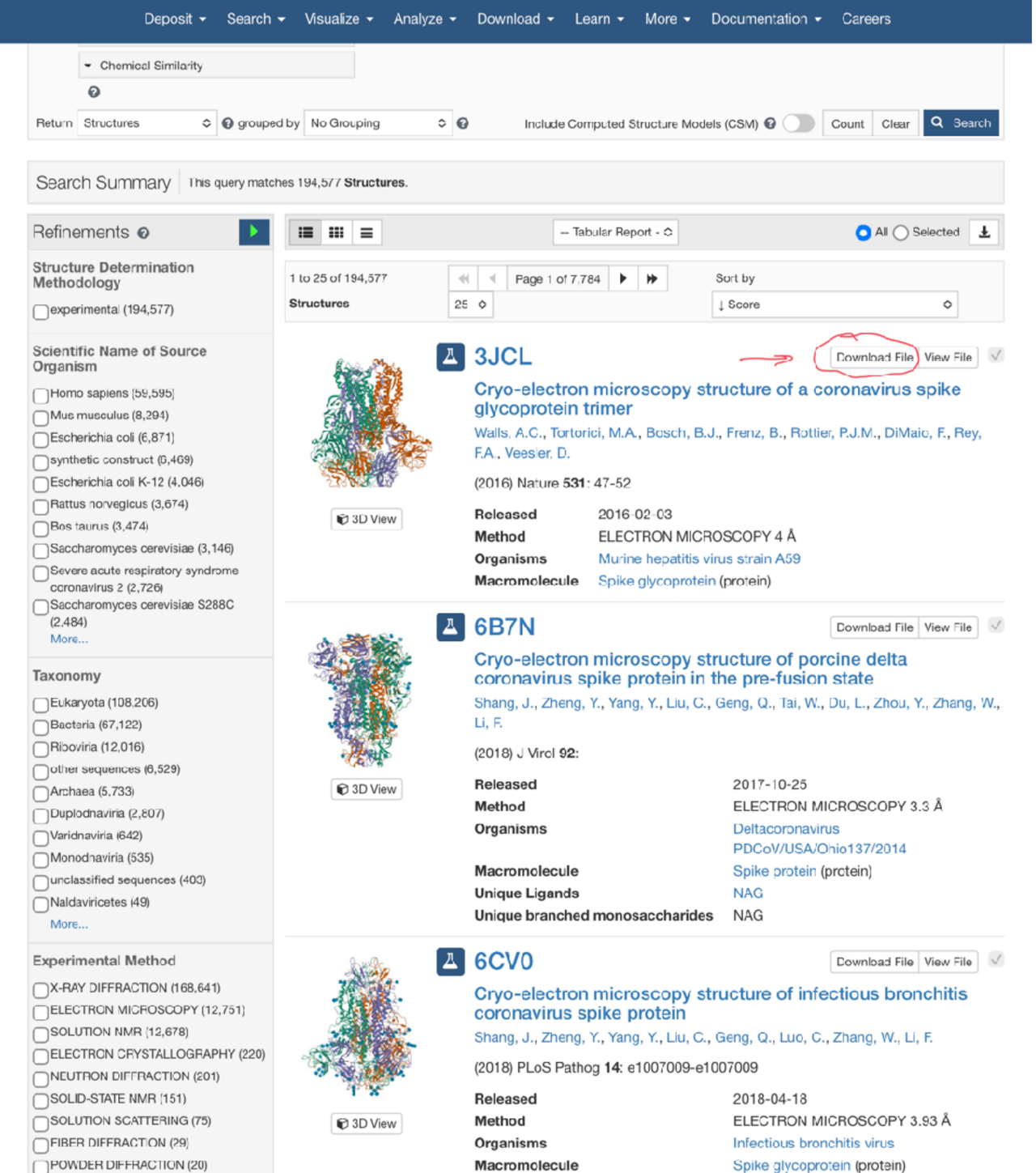
ΟΔΗΓΙΕΣ PDB

- Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε διάφορους τύπους απεικονίσεων χρησιμοποιώντας το μενού με το όνομα Polymer, κάνοντας κλικ στο εικονίδιο actions (3 κουκίδες ...).
- Προσθέτουμε κάποια απεικόνιση με την επιλογή Add Representation.
- Επιλέγουμε την απεικόνιση που θέλουμε να δούμε ενεργοποιώντας, ή απενεργοποιώντας τις διάφορες απεικονίσεις στο τέλος της λίστας.
- Στην εικόνα αριστερά έχουμε δημιουργήσει δύο απεικονίσεις. Η πρώτη, cartoon representation, είναι απενεργοποιημένη, ενώ η δεύτερη, ball & stick είναι ενεργή. Επισημαίνεται ότι η απεικόνιση cartoon για το ίδιο μόριο, φαίνεται στην προηγούμενη σελίδα της παρουσίασης.
- Με τον παραπάνω τρόπο μπορούμε να επιθεωρήσουμε την τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης με διαφορετικές απεικονίσεις.



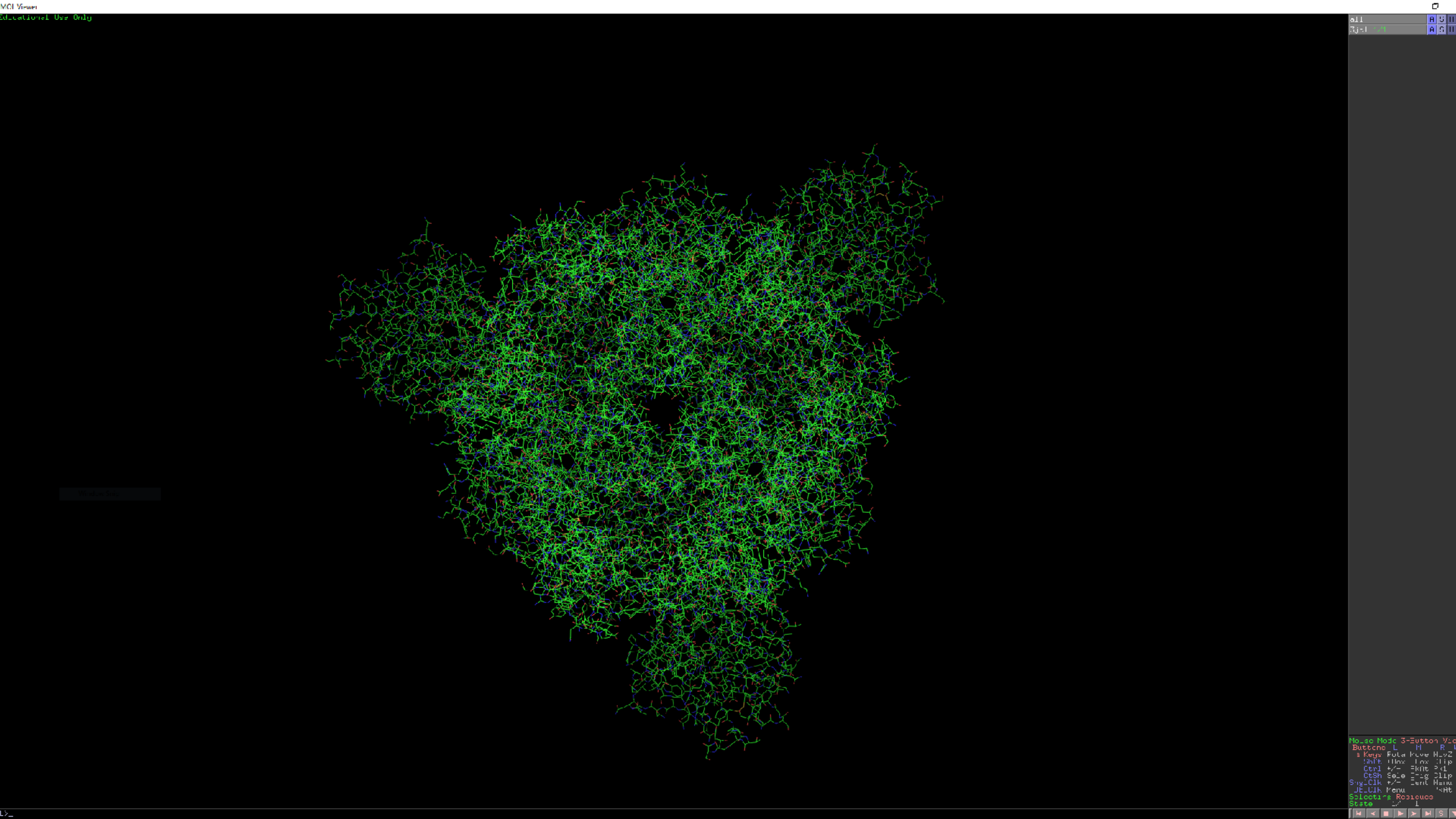
ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΜΕΣΩ ΑΡΧΕΙΟΥ ΜΕ PYMOL

- Πλοηγούμαστε στη διεύθυνση: pymol.org
- Επιλέγουμε την επιλογή για αγορά άδειας και δημιουργούμε μια δωρεάν άδεια για εκπαιδευτικούς. Όσον αφορά το όνομα του σχολείου που υπηρετούμε καθώς και το όνομα της τάξης μας, καθώς και τον αριθμό της, χρησιμοποιήστε ότι στοιχεία θέλετε.
- Θα λάβουμε ένα e-mail στο οποίο θα υπάρχει ένας σύνδεσμος ένα όνομα χρήστη και ένας κωδικός. Χρησιμοποιώντας αυτά τα στοιχεία θα λάβουμε ένα αρχείο εγκατάστασης του προγράμματος για εκπαιδευτικούς. Κατά την εγκατάσταση καλό είναι να επιλέξουμε όλους τους τύπους αρχείων που αναγνωρίζει το πρόγραμμα.



ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΜΕΣΩ ΑΡΧΕΙΟΥ ΜΕ PYMOL

- Αναζητούμε ένα πρωτεϊνικό μόριο στο PDB. Π.χ. Coronavirus spike protein
- Σε ένα από τα αποτελέσματα πατάμε το κουμπί "download file" και λαμβάνουμε ένα αρχείο τύπου cif.gz το οποίο αποσυμπιέζουμε και έχουμε το αρχείο cif. (Crystallography, Information Framework)
- Κάνουμε διπλό κλικ στο αρχείο cif και ανοίγει με το pymol. Αν τα windows ρωτούν με ποιο πρόγραμμα να ανοίξουν το αρχείο, πρέπει να το εντοπίσουμε μέσω του menu "How do you want to open this .cif file? -> More apps -> Look for another app on this PC -> PyMOL -> PyMOL -> PyMOL.exe
- Το pymol Μας επιτρέπει πλειάδα απεικονίσεων, είτε χρησιμοποιώντας το ποντίκι, είτε μέσω χρήσιμων μενού. Για περισσότερα μπορείτε να συμβουλευτείτε τις οδηγίες που προσφέρει η εταιρεία αμέσως μετά την εγκατάσταση του προγράμματος.


VCL Viewer
Educational Use Only
all
Mouse Mode 3-Button Vi
Buttons L M R
Keys Rotate Move Move
Shift Move Zoom Clip
Ctrl +/- Skin Pick
CtSh Scale Zoom Clip
Sym_Clk +/- Zoom Menu
Jt_Clk Menu Shift
Selecting Residues
State 1

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Πώς λέγονται τα αντιδρώντα μιας ενζυμικής αντίδρασης;
2. Να αναφέρετε τις κυρίες λειτουργικές περιοχές του ενζύμου.
3. 0.5 mmol ενζύμου καταλύουν τη διάσπαση 1000 mol μιας πεωτεΐνης. Πόσα mol ενζύμου θα πάρουμε μετά το πέρας της αντίδρασης; Να αναφέρετε μία πιθανή ονομασία για το ένζυμο.
4. Στο γονίδιο που κωδικοποιεί ένα ένζυμο γίνεται μία αντικατάσταση βάσης. Μετά την μετάλλαξη παρατηρείται μείωση στην δραστικότητα του ενζύμου. Είναι αυτή η μετάλλαξη σιωπηλή; Με δεδομένο ότι δεν έγινε αλλαγή αμινοξέος μέσα στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, να δώσετε δύο εξηγήσεις για την μείωση της δραστικότητας του ενζύμου.
5. Μία αντίδραση γίνεται με ταχύτητα 1 mol/s στον σωλήνα Α και με ταχύτητα 10^6 mol/s στον σωλήνα Β. Σε ποιον σωλήνα γίνεται ενζυμικά;

ΠΡΟΤΑΣΗ ΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑ

- Το AIDS οφείλεται συνήθως στον ιό HIV. Για να καταφέρει ο ιός HIV να εκτελέσει τον κύκλο της ζωής του, χρειάζεται ένα ένζυμο που λέγεται αντίστροφη μεταγραφάση, το οποίο μετατρέπει το RNA του ιού σε δίκλωνο DNA. Με βάση τα παραπάνω, τι χαρακτηριστική ιδιότητα θα μπορούσε να έχει να έχει ένα πιθανό αντιικό φάρμακο κατά του HIV; Πόσο τοξικό θα περιμένατε να είναι ένα τέτοιο φάρμακο για τον ανθρώπινο οργανισμό; Πώς θα κάνατε τη σχετική μελέτη σε θεωρητικό επίπεδο;

ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ!