



Βιοχημεία Τροφίμων

Ενότητα 1^η

Ένζυμα: Μηχανισμός Δράσης

Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Αναπληρωτής Καθηγητής

Ένζυμα: Δραστικοί Καταλύτες Υψηλής Εξειδίκευσης

Τα ένζυμα καταλύουν τη μετατροπή μιας ή περισσοτέρων ουσιών (**υποστρώματα**) σε μια ή περισσότερες ενώσεις (**προϊόντα**) και αυξάνουν την ταχύτητα των αντίστοιχων μη-καταλυόμενων αντιδράσεων κατά ένα παράγοντα 10^6 κατ' ελάχιστο.

Όπως όλοι οι καταλύτες, τα ένζυμα ούτε καταναλώνονται, ούτε υφίστανται μόνιμες αλλαγές ως συνέπεια της συμμετοχής τους σε αντιδράσεις.

Επιπρόσθετα της υψηλής αποδοτικότητας, τα ένζυμα επιδεικνύουν και εξαιρετικά μεγάλη εξειδίκευση. Τα ένζυμα είναι εξειδικευμένα για αμφότερα τον τύπο της καταλυόμενης αντίδρασης και το υπόστρωμα, ή μια κατηγορία στενά συσχετιζόμενων υποστρωμάτων.

Τα ένζυμα είναι επίσης στερεοεξειδικευμένοι καταλύτες και συνήθως καταλύουν αντιδράσεις συγκεκριμένων στερεοϊσομερών μιας ένωσης, όπως π.χ. D- αλλά όχι L-σάκχαρα, D- αλλά όχι L-αμινοξέα κτλ.

Επίσης, εφόσον τα ένζυμα δεσμεύουν το υπόστρωμα σε τουλάχιστον «τρία σημεία σύνδεσης», μπορούν να μετατρέψουν μια μη-χειρόμορφη σε χειρόμορφη ένωση.

Ένζυμα: Κατάταξη Σύμφωνα με τον Τύπο της Αντίδρασης και τον Μηχανισμό

Τα κοινά ονόματα των περισσότερων ενζύμων προέρχονται από το πιο διακριτό χαρακτηριστικό τους: την ικανότητά τους να καταλύουν μια συγκεκριμένη χημική αντίδραση.

Γενικά, το όνομα ενός ενζύμου αποτελείται από έναν όρο, ο οποίος προσδιορίζει τον τύπο της καταλυόμενης αντίδρασης, ακολουθούμενο από την κατάληξη *-άση*. Για παράδειγμα, οι πρωτεάσες υδρολύουν πρωτεΐνες, οι δεϋδρογονάσες αφαιρούν άτομα H, κτλ.

Αυτού του είδους η ονομασία όμως μπορεί να επιφέρει αμφισβητήσεις και σύγχυση. Έτσι, η Διεθνής Ένωση Βιοχημικών (International Union of Biochemists – IUB) ανέπτυξε ένα πολύπλοκο αλλά αδιαμφισβήτητο σύστημα ονοματολογίας των ενζύμων.

Στο σύστημα IUB κάθε ένζυμο έχει ένα μοναδικό όνομα και κωδικό αριθμό που αντιπροσωπεύει τον τύπο της καταλυόμενης αντίδρασης και το υπόστρωμα που εμπλέκεται.

Ένζυμα: Κατάταξη Σύμφωνα με τον Τύπο της Αντίδρασης και τον Μηχανισμό

Με αυτόν τον τρόπο τα ένζυμα κατατάσσονται σε έξι κλάσεις, από τις οποίες η καθεμία περιλαμβάνει αρκετές υποκλάσεις. Για παράδειγμα, το ένζυμο που ονομάζεται κοινώς «εξοκινάση» ορίζεται ως «ATP: D-hexose-6-phosphotransferase E.C. 2.7.1.1».

Αυτό ταυτοποιεί την εξοκινάση ως:

- ☐ μέλος της κλάσης 2 (τρανσφεράσες)
- ☐ υποκλάση 7 (μεταφορά μιας φωσφορυλομάδας)
- ☐ υπο-υποκλάση 1 (ο φωσφορυλ- αποδέκτης είναι αλκοόλη).

Ο όρος «hexose-6» υποδεικνύει ότι η αλκοολομάδα που φωσφορυλιώνεται είναι στον C-6 της εξόζης.

Οι Έξι Τάξεις των Ενζύμων κατά IUB και οι Αντιδράσεις που Καταλύουν

Οξειδοοξειδοκτάσες (oxidoreductases): Είναι ένζυμα τα οποία οξειδώνουν ή ανάγουν υποστρώματα, με μεταφορά ηλεκτρονίων ή υδρογόνου, ή με την προσθήκη οξυγόνου.

Τρανσφεράσες (transferases): Είναι ένζυμα τα οποία αφαιρούν ομάδες (εκτός του H) από υποστρώματα και τις μεταφέρουν σε υποστρώματα – λήπτες (εκτός του νερού).

Υδρολάσες (hydrolases): Είναι ένζυμα τα οποία έχουν το νερό ως δεύτερο υπόστρωμα. Το νερό συμμετέχει στη διάσπαση ομοιοπολικών δεσμών, όπως των πεπτιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες, των γλυκοζιτικών δεσμών στους υδατάνθρακες και των εστερικών δεσμών στα λίπη.

Λυάσες (lyases): Είναι ένζυμα τα οποία αφαιρούν ομάδες από τα υποστρώματα (όχι μέσω υδρόλυσης) και δημιουργούν προϊόντα με διπλούς δεσμούς, ή αντιθέτως, κάνουν προσθήκη σε διπλούς δεσμούς.

Οι Έξι Τάξεις των Ενζύμων κατά IUB και οι Αντιδράσεις που Καταλύουν

Ισομεράσες (*isomerases*): Είναι ένζυμα που προκαλούν αναδιάρθρωση μιας ή περισσοτέρων ομάδων πάνω στα υποστρώματα χωρίς να μεταβάλλουν την ατομική σύσταση του προϊόντος.

Όταν ο ισομερισμός δημιουργείται από ενδομοριακή μεταφορά ομάδας, τότε τα ένζυμα ονομάζονται μιουτάσες (*mutases*). Όταν οι ισομεράσες καταλύουν αναστροφή ασύμμετρων ομάδων ονομάζονται ρακεμάσες (*racemases*) ή επιμεράσες (*epimerases*), αναλόγως αν το υπόστρωμα περιέχει ένα ή περισσότερα κέντρα ασυμμετρίας.

Λιγκάσες (*ligases*): Είναι ένζυμα που καταλύουν ομοιοπολική σύνδεση δύο μορίων, συνδυασμένη με τη διάσπαση ενός πυροφωσφορικού δεσμού σε μόρια όπως το ATP (*adenosine triphosphate*). Οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα τριγλυκερίδια συντίθενται από ειδικές λιγκάσες.

The enzyme classes

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	○ - Reduction equivalent $A_{red} + B_{ox} \rightleftharpoons A_{ox} + B_{red}$	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	$A-B + C \rightleftharpoons A + B-C$	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	$A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	$A + B \rightleftharpoons A-B$	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	$A \rightleftharpoons Iso-A$	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	$B + A + XTP \rightleftharpoons A-B + XDP$	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

Προσθετικές Ομάδες, Συμπαράγοντες και Συνένζυμα

Πολλά ένζυμα περιέχουν μικρά μόρια μη-πρωτεϊνικής φύσεως και μεταλλικά ιόντα, τα οποία συμμετέχουν απ' ευθείας στη δέσμευση του υποστρώματος ή την κατάλυση.

Τα μόρια αυτά ονομάζονται προσθετικές ομάδες (prosthetic groups), συμπαράγοντες (cofactors) ή συνένζυμα (coenzymes).

Η παρουσία αυτών των μορίων επεκτείνει το εύρος των ικανοτήτων των ενζύμων πέρα απ' αυτό το οποίο οφείλεται στον περιορισμένο αριθμό των λειτουργικών ομάδων πάνω στις πεπτιδικές αλυσίδες.

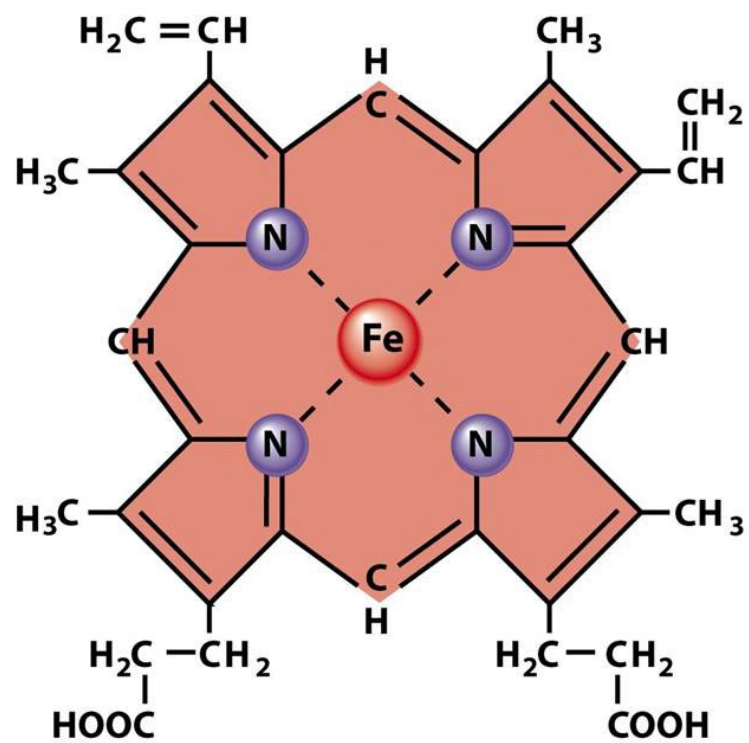
Προσθετικές Ομάδες, Συμπαράγοντες και Συνένζυμα

Προσθετικές ομάδες

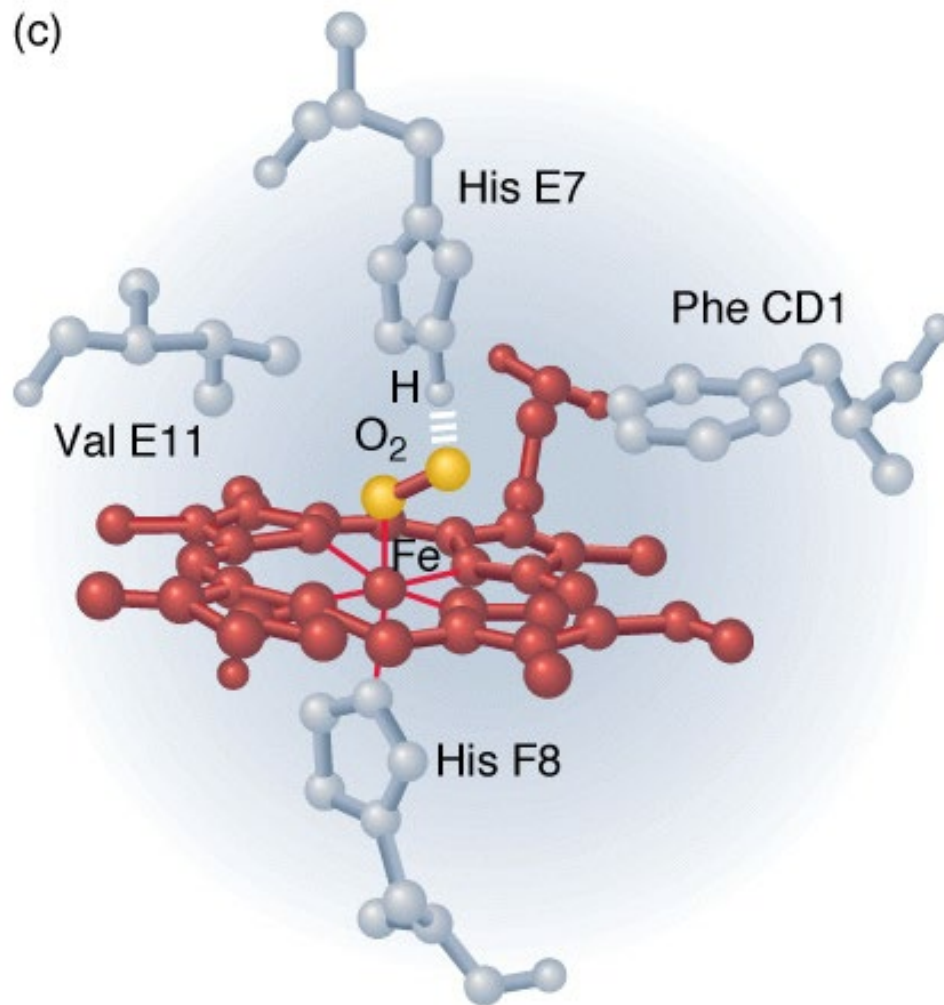
Οι προσθετικές ομάδες ξεχωρίζουν από τη σταθερή ενσωμάτωσή τους πάνω στη δομή της πρωτεΐνης με ομοιοπολικούς ή μη-ομοιοπολικούς δεσμούς. Παραδείγματα αποτελούν η φωσφορική πυριδοξάλη, η πυροφωσφορική θειαμίνη, η βιοτίνη και τα μεταλλικά ιόντα του Co, Cu, Mg, Mn, Se και Zn.

Τα μέταλλα είναι οι πιο κοινές προσθετικές ομάδες. Περίπου το 1/3 των ενζύμων που περιέχουν σταθερά συνδεδεμένα μεταλλικά ιόντα ονομάζονται **«μεταλλοένζυμα»**. Τα μεταλλικά ιόντα που συμμετέχουν σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής συμπλέκονται κυρίως από προσθετικές ομάδες, όπως η αίμη.

Τα μέταλλα μπορούν να διευκολύνουν και τη δέσμευση ή τον προσανατολισμό των υποστρωμάτων, το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών με ενδιάμεσα αντίδρασης ή την αλληλεπίδραση με υποστρώματα για να τα καταστήσουν περισσότερο πυρηνόφιλα ή ηλεκτρονιόφιλα.



(c)



Προσθετικές Ομάδες, Συμπαράγοντες και Συνένζυμα

Συμπαράγοντες – Αντιστρεπτή σύνδεση με ένζυμο ή υπόστρωμα

Οι συμπαράγοντες εξυπηρετούν λειτουργίες παρόμοιες με αυτές των προσθετικών ομάδων, αλλά συνδέονται μ' ένα μεταβατικό, διαστάσιμο τρόπο είτε με το ένζυμο, είτε με το υπόστρωμα.

Εν αντιθέσει με τις σταθερά συνδεδεμένες προσθετικές ομάδες, οι συμπαράγοντες πρέπει να είναι παρόντες στο μέσο γύρω από το ένζυμο, για να υπάρξει κατάλυση. Οι πιο κοινοί συμπαράγοντες είναι επίσης τα μεταλλικά ιόντα.

Τα ένζυμα που απαιτούν μεταλλικό ιόν ως συμπαράγοντα ονομάζονται «ένζυμα ενεργοποιημένα μέσω μετάλλων» (metal-activated enzymes), για να διαχωρίζονται από τα μεταλλοένζυμα, στα οποία το μεταλλικό ιόν είναι προσθετική ομάδα.

Προσθετικές Ομάδες, Συμπαράγοντες και Συνένζυμα

Συνένζυμα

Τα συνένζυμα λειτουργούν ως ανακυκλώσιμα οχήματα – ή αντιδραστήρια μεταφοράς ομάδων – που μεταφέρουν υποστρώματα από το σημείο δημιουργίας στο σημείο χρησιμοποίησης.

Επίσης, η σύνδεση με το συνένζυμο σταθεροποιεί τα υποστρώματα, όπως π.χ. τα άτομα υδρογόνου, που είναι ασταθή σ' ένα περιβάλλον, όπως αυτό μέσα σ' ένα κύτταρο.

Στις ομάδες που μπορεί να μεταφέρονται από τα συνένζυμα συμπεριλαμβάνονται οι μεθυλομάδες, οι ακυλομάδες και οι ολιγοσακχαρίτες.

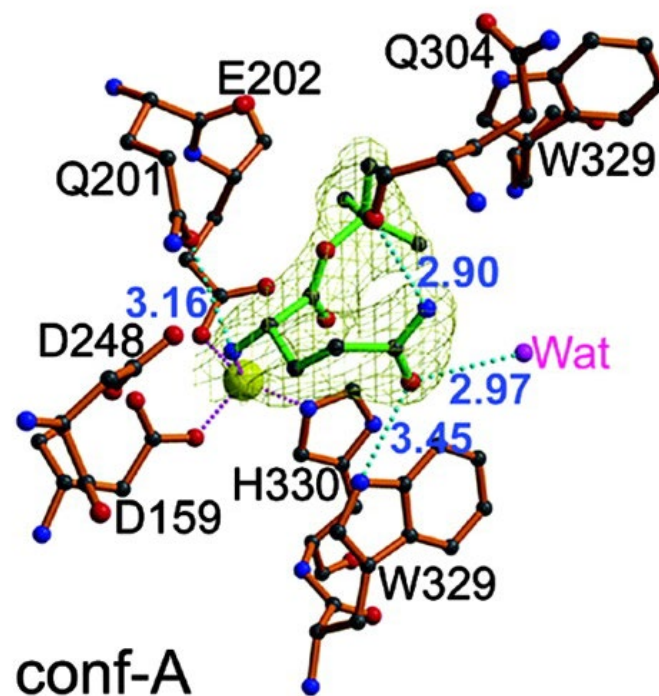
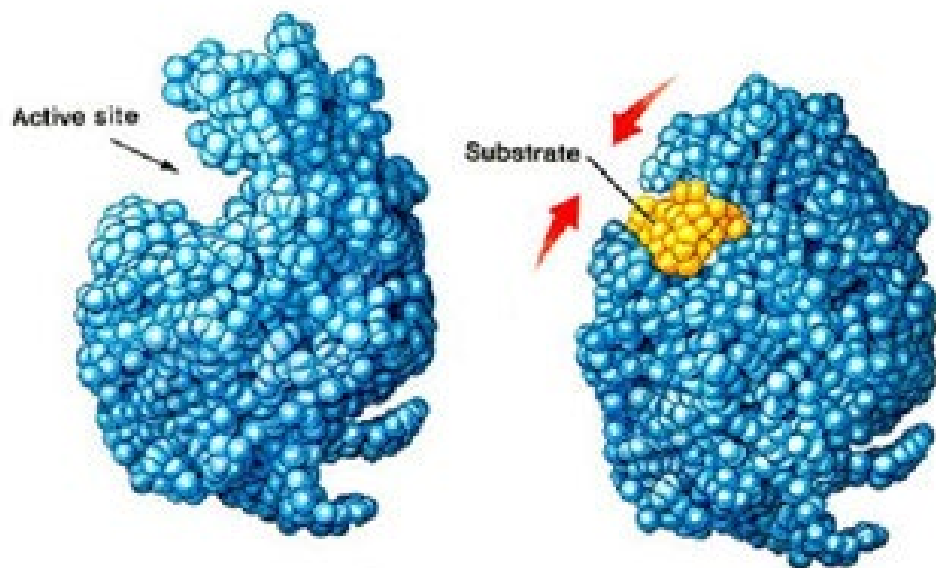
Κατάλυση στο Ενεργό Κέντρο

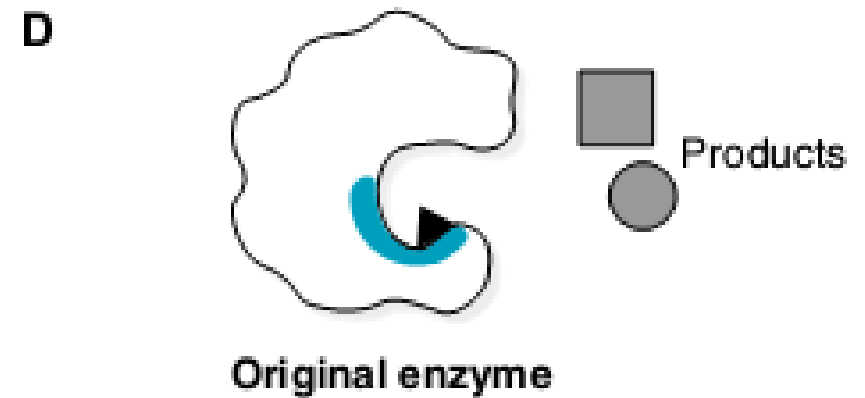
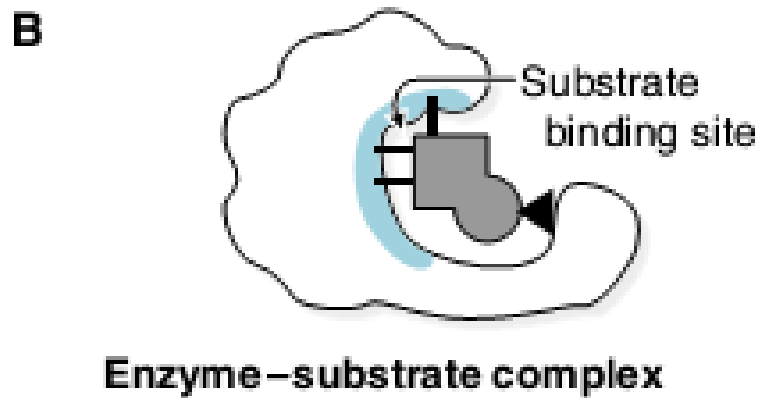
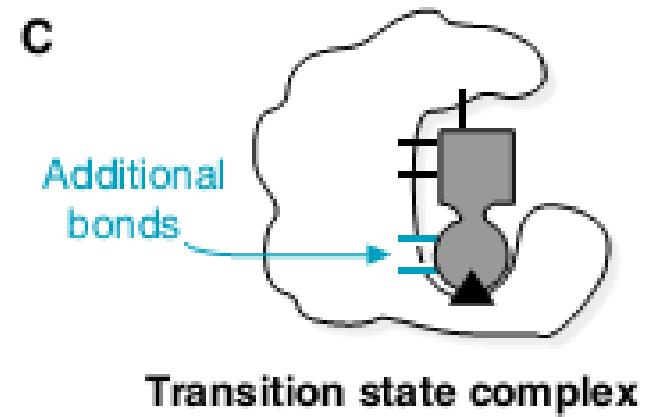
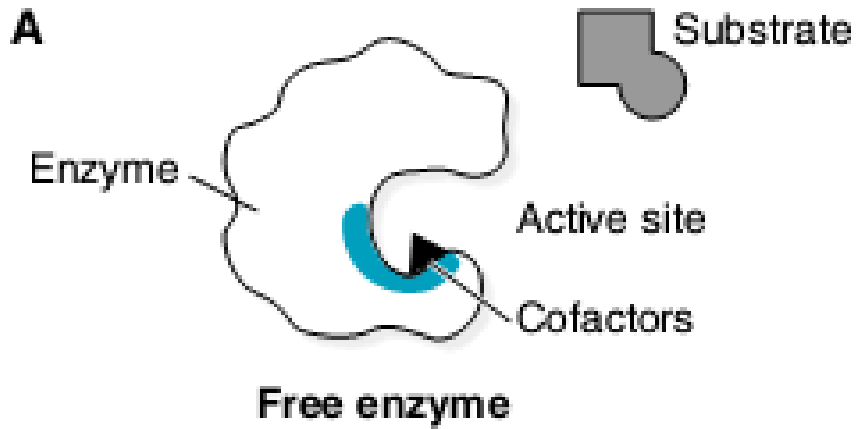
Η εξαιρετικά μεγάλη εξειδίκευση υποστρώματος και η υψηλή καταλυτική αποδοτικότητα των ενζύμων αντανακλά την ύπαρξη ενός περιβάλλοντος που είναι εκλεκτικά προσαρμοσμένο για μία και μόνη αντίδραση.

Το **ενεργό κέντρο (active site)**, όπως ορίζεται, είναι αυτό το περιβάλλον, το οποίο γενικά λαμβάνει μορφή σχισμής ή θύλακα (κοιλότητα). Το τρισδιάστατο ενεργό κέντρο προστατεύει τα υποστρώματα από το διαλύτη και διευκολύνει την κατάλυση.

Τα υποστρώματα προσδένονται (δεσμεύονται) στο ενεργό κέντρο σε μια περιοχή συμπληρωματική ενός τμήματος του υποστρώματος, η οποία δεν υπόκειται σε χημική μεταβολή κατά τη διάρκεια της αντίδρασης.

Ταυτόχρονα, τα τμήματα του υποστρώματος που θα υποστούν χημική αλλαγή ευθυγραμμίζονται με τις λειτουργικές ομάδες των πεπτιδικών αμινοακύλ κατάλοιπων (aminoacyl residues).





Θερμοδυναμικό Μοντέλο Κατάλυσης

Ο καταλύτης είναι μια ουσία που αυξάνει την ταχύτητα μιας χημικής αντίδρασης, ενώ η ίδια παραμένει ανέπαφη στο τέλος της αντίδρασης. Σε θερμοδυναμικούς όρους, η κατάλυση μιας αντίδρασης επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης της **ενέργειας ενεργοποίησης** (activation energy – E_a).

Ως ενέργεια ενεργοποίησης ορίζεται η διαφορά της ελεύθερης ενέργειας μεταξύ των αντιδρώντων και του ενεργοποιημένου συμπλόκου (μεταβατικής κατάστασης) της αντίδρασης.

Η μείωση στην ενέργεια ενεργοποίησης μπορεί να επιτευχθεί είτε με σταθεροποίηση (και συνεπώς μείωση της ελεύθερης ενέργειας της μεταβατικής κατάστασης) από τον καταλύτη, είτε με τη δημιουργία από τον καταλύτη μιας εναλλακτικής οδού της αντίδρασης, με χαμηλότερη ενέργεια.

Θερμοδυναμικό Μοντέλο Κατάλυσης

Τα ένζυμα δρουν με το να δεσμεύουν το υπόστρωμα αντιστρεπτά στο ενεργό τους κέντρο και ακολούθως να διενεργούν τη βιοχημική αντίδραση χρησιμοποιώντας τα αμινοακύλ κατάλοιπα της πεπτιδικής αλυσίδας στο ενεργό κέντρο.

Συχνά, οι ενζυμικώς καταλυόμενες αντιδράσεις περιλαμβάνουν περισσότερα του ενός βήματα και συμπεριλαμβάνουν ένα ή περισσότερα ενδιάμεσα. Ένα ενδιάμεσο ενζύμου – υποστρώματος (ES) δημιουργείται όταν δεσμεύεται το υπόστρωμα στο ενεργό κέντρο και μετατρέπεται ακολούθως σε ένα σύμπλοκο ενζύμου – προϊόντος (EP) άμεσα, ή μέσω ενός ή περισσότερων ενδιάμεσων.

Η σημαντικότερη θεώρηση σ' αυτόν τον μηχανισμό είναι η σταθεροποίηση της μεταβατικής κατάστασης. Η εξαιρετική καταλυτική ικανότητα των ενζύμων εξηγείται από το γεγονός ότι η αντίδραση λαμβάνει χώρα ενώ το υπόστρωμα είναι δεσμευμένο στο ενεργό κέντρο.

Θερμοδυναμικό Μοντέλο Κατάλυσης

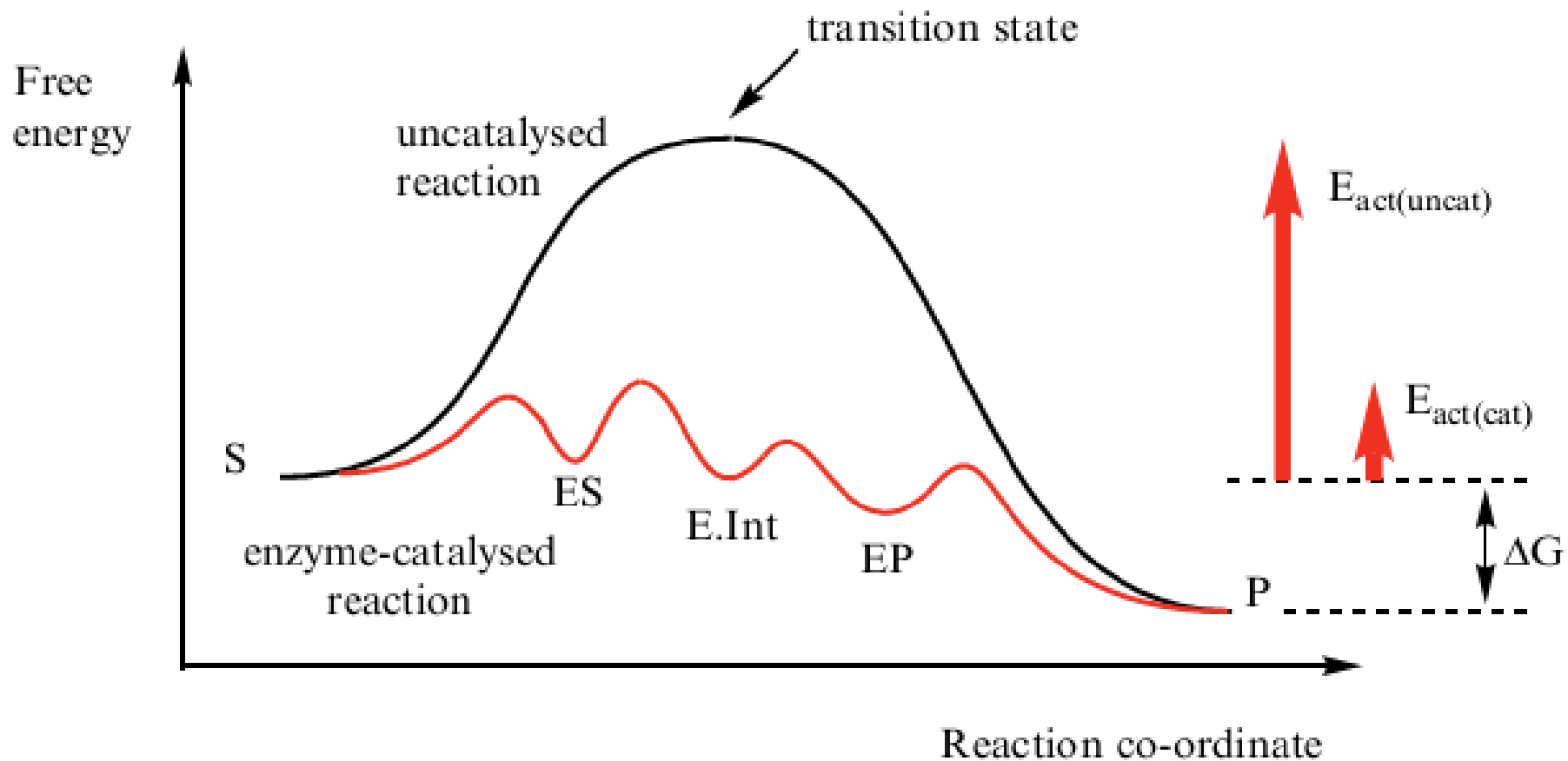
Μια απλή ενζυμική αντίδραση μπορεί ν' αποδοθεί ως εξής:



Όπου E, S και P είναι το ένζυμο, το υπόστρωμα και το προϊόν. Τα ES και EP αναπαριστούν τα μεταβατικά σύμπλοκα του ενζύμου με το υπόστρωμα και το προϊόν, αντίστοιχα.

Οι καταλυτικές λειτουργικές ομάδες ενός ενζύμου μπορούν να σχηματίσουν μεταβατικό ομοιοπολικό δεσμό μ' ένα υπόστρωμα και να το ενεργοποιήσουν, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Επίσης, μπορεί να υπάρξει και μεταβατική μεταφορά μιας ομάδας από το υπόστρωμα στο ένζυμο.

Αυτές οι ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ενζύμων και των υποστρωμάτων χαμηλώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης (και συνεπώς επιταχύνουν την αντίδραση), με το να εξασφαλίζουν μια εναλλακτική, χαμηλότερης ενέργειας οδό αντίδρασης.



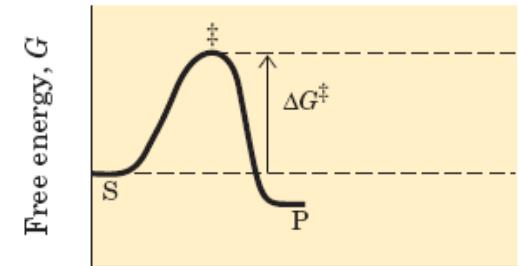
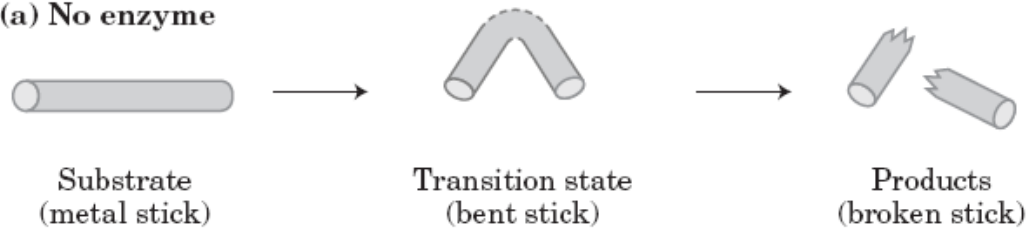
Θερμοδυναμικό Μοντέλο Κατάλυσης

Ένα μεγάλο μέρος της καταλυτικής ισχύος των ενζύμων προέρχεται από την ελεύθερη ενέργεια που απελευθερώνεται από το σχηματισμό πολλών ασθενών δεσμών και αλληλοεπιδράσεων μεταξύ του ενζύμου και του υποστρώματος.

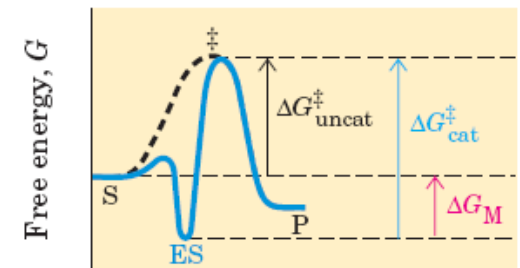
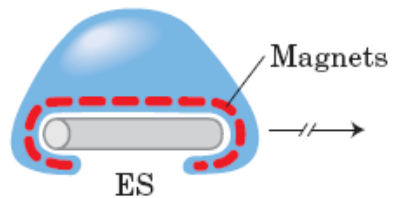
Η κάθε ασθενής αλληλοεπίδραση στο σύμπλοκο ES συνοδεύεται από απελευθέρωση μια μικρής ποσότητας ενέργειας, η οποία προσδίδει στην αλληλοεπίδραση μια κάποιου βαθμού σταθερότητα. Αυτή η ενέργεια δέσμευσης συνεισφέρει σε αμφότερες την εξειδίκευση και την κατάλυση.

Οι ασθενείς αλληλοεπιδράσεις βελτιστοποιούνται στην μεταβατική κατάσταση της αντίδρασης. Τα ενεργά κέντρα των ενζύμων είναι συμπληρωματικά όχι των υποστρωμάτων αυτών καθαυτών, αλλά των μεταβατικών καταστάσεων, μέσω των οποίων τα υποστρώματα μετατρέπονται σε προϊόντα κατά την ενζυμική αντίδραση.

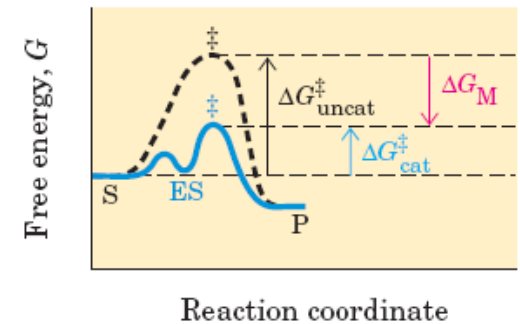
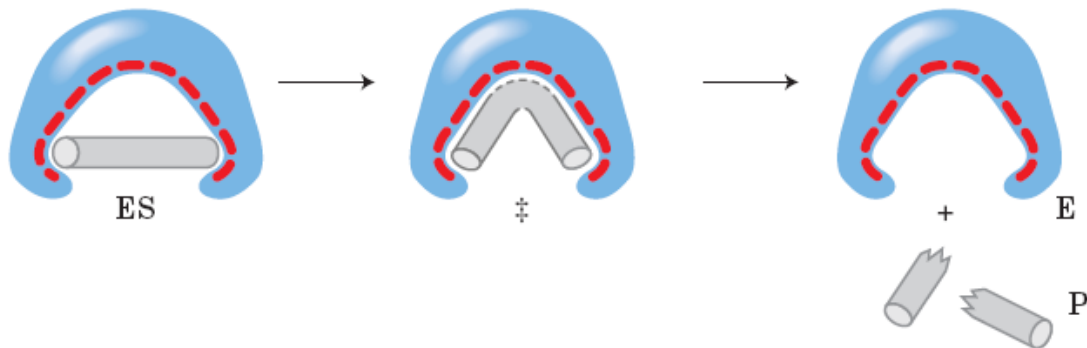
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state



Καταλυτικοί Μηχανισμοί των Ενζύμων

Κατάλυση μέσω εγγύτητας (catalysis by proximity)

Οι αντιδράσεις μεταξύ μορίων προϋποθέτουν την εγγύτητα έτσι ώστε να δημιουργηθούν οι δεσμοί. Όσο μεγαλύτερη η συγκέντρωσή τους, τόσο περισσότερες οι ενεργές συγκρούσεις και συνεπώς ανάλογα υψηλότερη και η ταχύτητα αντίδρασης.

Όταν ένα ένζυμο δεσμεύει μόρια υποστρώματος στο ενεργό του κέντρο, δημιουργεί μια περιοχή όπου τοπικά υπάρχει υψηλή συγκέντρωση υποστρώματος.

Επίσης, αυτό το περιβάλλον λειτουργεί έτσι ώστε να προσανατολιστούν χωρικά τα μόρια υποστρώματος σε μια ιδανική θέση για τις κατάλληλες αλληλεπιδράσεις.

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας τουλάχιστον κατά ένα παράγοντα 10^3 .

Καταλυτικοί Μηχανισμοί των Ενζύμων

Κατάλυση οξέως - βάσεως (acid – base catalysis)

Οι λειτουργικές ομάδες των αμινοακυλ – πλευρικών αλυσίδων και, όπου υπάρχουν, των προσθετικών ομάδων, που μπορούν να ιονιστούν, συνεισφέρουν στην κατάλυση δρώντας ως οξέα ή βάσεις.

Η κατάλυση οξέως – βάσεως μπορεί να είναι εξειδικευμένη ή γενική. Με τον όρο «εξειδικευμένη» εννοούνται μόνο ιόντα H_3O^+ ή OH^- .

Σε αντιδράσεις *εξειδικευμένης κατάλυσης οξέως – βάσεως*, η ταχύτητα της αντίδρασης εξαρτάται από τις αλλαγές στη συγκέντρωση των ιόντων H_3O^+ , ανεξάρτητα από την ύπαρξη άλλων οξέων (δότες πρωτονίων) ή βάσεων (λήπτες πρωτονίων) στο διάλυμα ή στο ενεργό κέντρο.

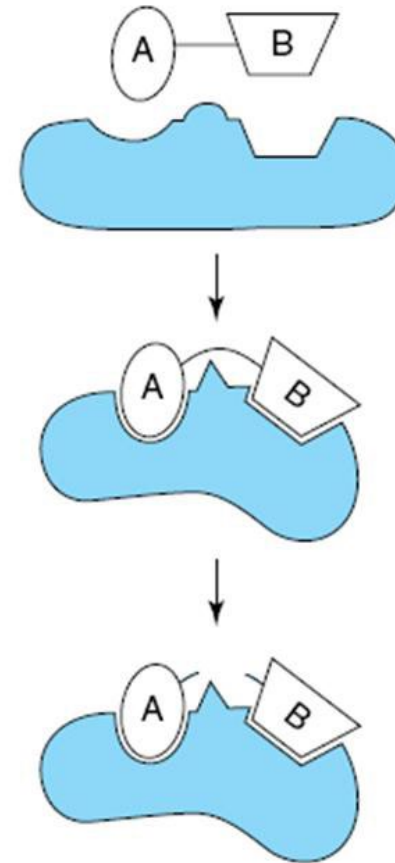
Οι αντιδράσεις των οποίων οι ταχύτητες μεταβάλλονται από την παρουσία όλων των οξέων ή βάσεων υπόκεινται σε *γενική κατάλυση οξέως – βάσεως*.

Καταλυτικοί Μηχανισμοί των Ενζύμων

Κατάλυση μέσω υπερέκτασης (strain)

Τα ένζυμα που καταλύουν λυτικές αντιδράσεις (λυάσεις) όπου εμπλέκεται διάσπαση ομοιοπολικού δεσμού, προσδένουν το υπόστρωμα με μια διαμόρφωση μη-ευνοϊκή για τον δεσμό που πρόκειται να διασπαστεί.

Αυτό δημιουργεί μια υπερέκταση (τέντωμα) του δεσμού κι έτσι ο δεσμός διαστρεβλώνεται και αποδυναμώνεται, με συνέπεια να καθίσταται πιο ευάλωτος στη διάσπαση.



Καταλυτικοί Μηχανισμοί των Ενζύμων

Ομοιοπολική κατάλυση (covalent catalysis)

Η διεργασία της *ομοιοπολικής κατάλυσης* εμπλέκει το σχηματισμό ομοιοπολικού δεσμού μεταξύ του ενζύμου και ενός ή περισσότερων υποστρωμάτων. Τότε, το τροποποιημένο ένζυμο μετατρέπεται σε αντιδραστήριο.

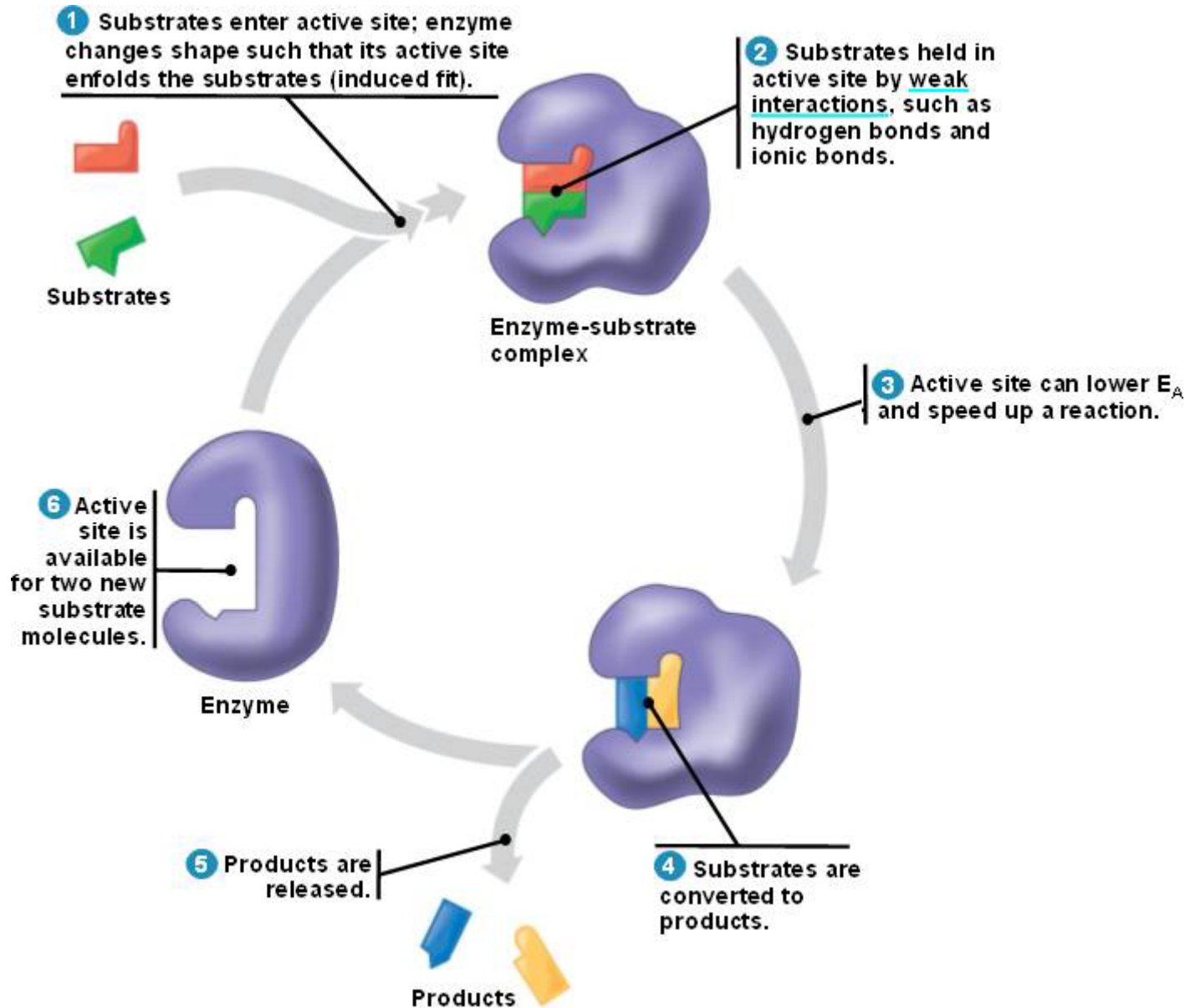
Η ομοιοπολική κατάλυση εισάγει μια νέα οδό αντίδρασης, η οποία ενεργειακά είναι πιο ευνοϊκή – και επομένως ταχύτερη – απ' ότι η οδός της αντίδρασης σ' ένα ομοιογενές διάλυμα.

Εντούτοις, η τροποποίηση του ενζύμου είναι προσωρινή. Με την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το ένζυμο επιστρέφει στην αρχική, μη-τροποποιημένη μορφή του κι έτσι ο ρόλος του παραμένει καθαρά καταλυτικός.

Τα Υποστρώματα Επάγουν Μεταβολές στη Διαμόρφωση των Ένζυμων

Το μοντέλο της **επαγμένης εφαρμογής (induced fit)** του Koshland δηλώνει ότι όταν τα υποστρώματα προσεγγίζουν και προσδένονται σ' ένα ένζυμο, επάγουν μια δομική μεταβολή ανάλογη μ' αυτήν που προκαλεί το χέρι (υπόστρωμα) στο γάντι (ένζυμο).

Ένα επακόλουθο είναι ότι το ένζυμο επάγει αντίστροφες μεταβολές στο υπόστρωμα, δίνοντας έτσι ενέργεια κατά την πρόσδεση για να διευκολύνει τη μετατροπή του υποστρώματος σε προϊόντα.



Βιβλιογραφία

Bugg T. (2004) Enzymes are wonderful catalysts. In “*Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry*”, 2nd ed., Blackwell Publ.

Rodwell V.W., Kennelly P.J. (2003) Enzymes: mechanism of action. In “*Harper’s Illustrated Biochemistry*”, 26th ed., Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., McGraw-Hill.