



$$U_1 = k_1[A][B]$$

$$U_2 = k_2[C][D]$$

$$\text{Σταθερά ισορροπίας } K_c = k_1/k_2$$

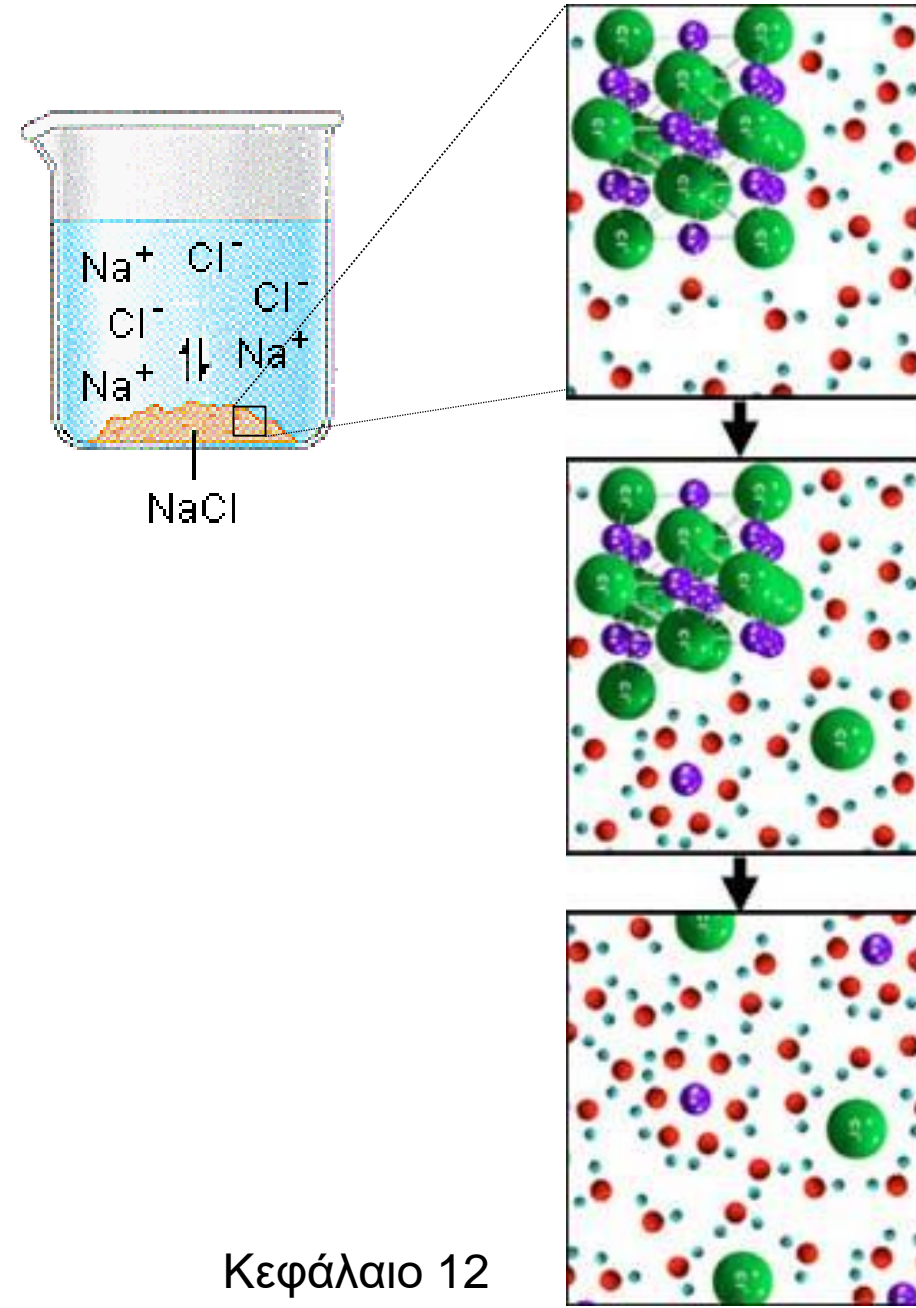
Αρχικά [C] και [D] μηδέν ή ελάχιστες άρα
 $k_2[C][D] = U_2$ ελάχιστη

αλλά

[A] και [B] μέγιστες ή μεγάλες άρα $k_1[A][B] = U_1$
μέγιστη

Διαλύματα

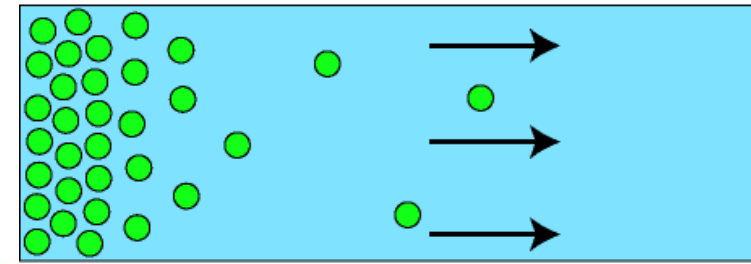
Εάν τα μόρια (ή ιόντα) δεν διαλυθούν, δεν θα έρθουν σε επαφή με τα άλλα μόρια στο διάλυμα και δεν θα αντιδράσουν



Διάχυση και επίδραση στην ταχύτητα

Η διάχυση αναφέρεται στη διαδικασία κατά την οποία τα μόρια μεταφέρονται ως συνέπεια της τυχαίας κίνησής τους λόγω κινητικής ενέργειας

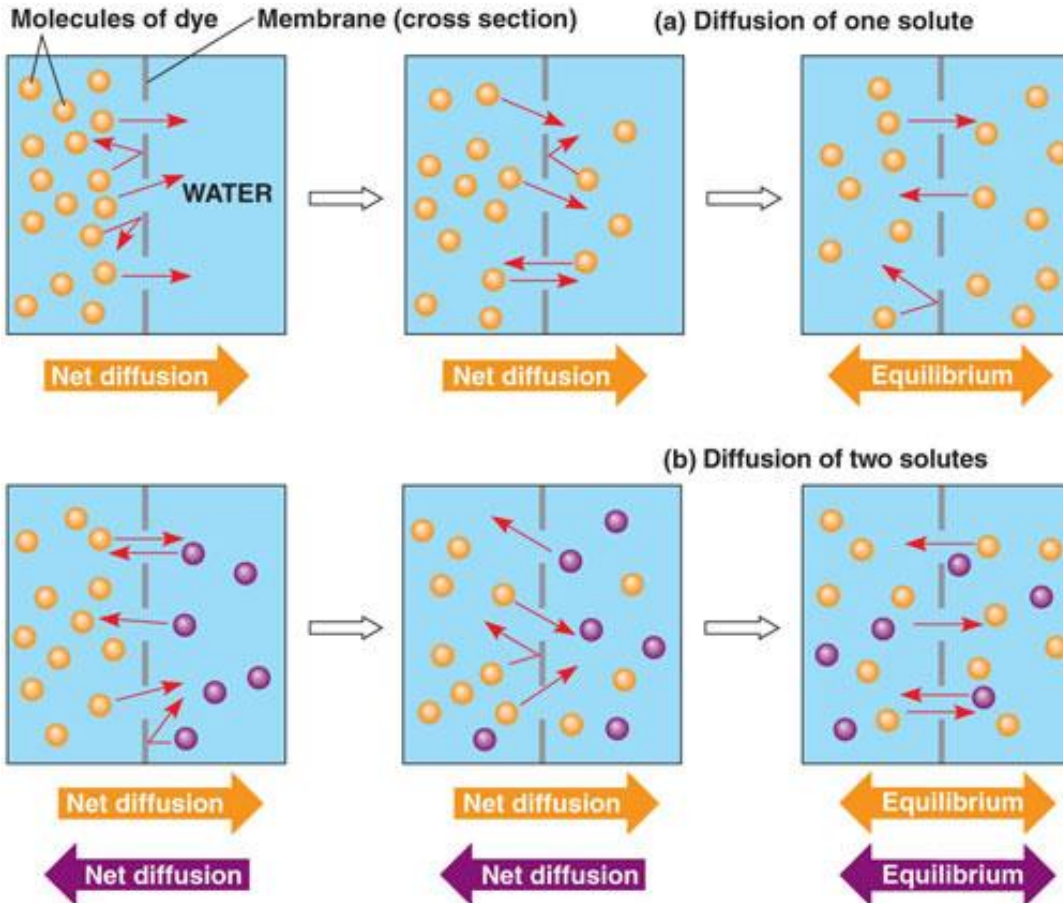
Diffusion



high concentration → low concentration

● solute

Solute transport is from the left to the right; movement of the solutes is due to the concentration gradient (dC/dx).



Εάν τα **μόρια** (πορτοκαλί σφαίρες) δεν περάσουν την ημιπερατή μεμβράνη δεν έρθουν σε επαφή και δεν θα αντιδράσουν με τα **μόρια** στο εσωτερικό (μωβ σφαίρες) και αντίστοιχα τα μόρια στο εσωτερικό

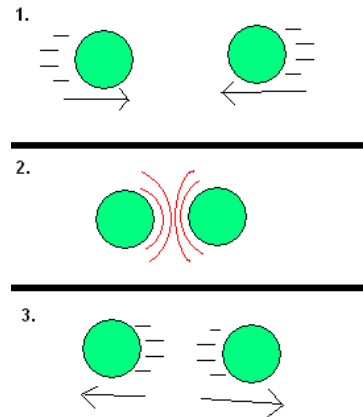
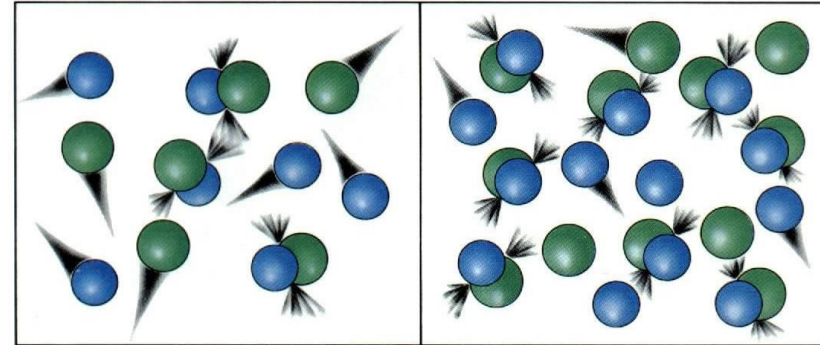
Στοιχεία χημικής κινητικής

Η μελέτη της χημικής κινητική εκτιμά σε μία χημική αντίδραση αν θα γίνει ή όχι η αντίδραση

Παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό της αντίδρασης

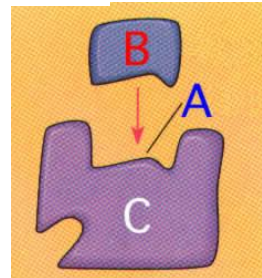
Συγκέντρωση

(Οι σφαίρες μπορεί να συμβολίζουν οτιδήποτε αντιδρά -ενδιάμεσα προϊόντα)

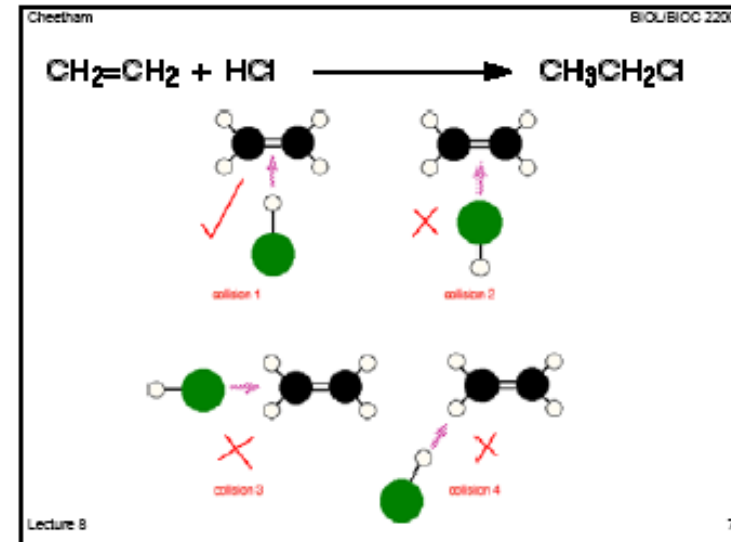


Θερμοκρασία

(αύξηση ταχύτητας)



Καταλύτες



Τρόποι μείωσης ταχύτητας αντιδράσεις σε οργανισμούς

Τρόποι έλεγχου

- **Θερμοκρασία**

αλλαγή της θερμοκρασίας - όπου είναι εφικτό

- **Συγκέντρωση**

υπάρχουν μηχανισμοί διατήρησης χαμηλής συγκέντρωσης ενός αντιδρώντος – διατηρώντας τα αντιδρώντα σε ξεχωριστά μέρη

- **Καταλύτης**

κατά κύριο λόγο ο ποιο διαδεδομένος τρόπος ελέγχου – διατηρώντας τον καταλύτη ανενεργό ή απόντα

The rate law – χρόνος ημίσειας ζωής $t_{1/2}$, για μία αντίδραση

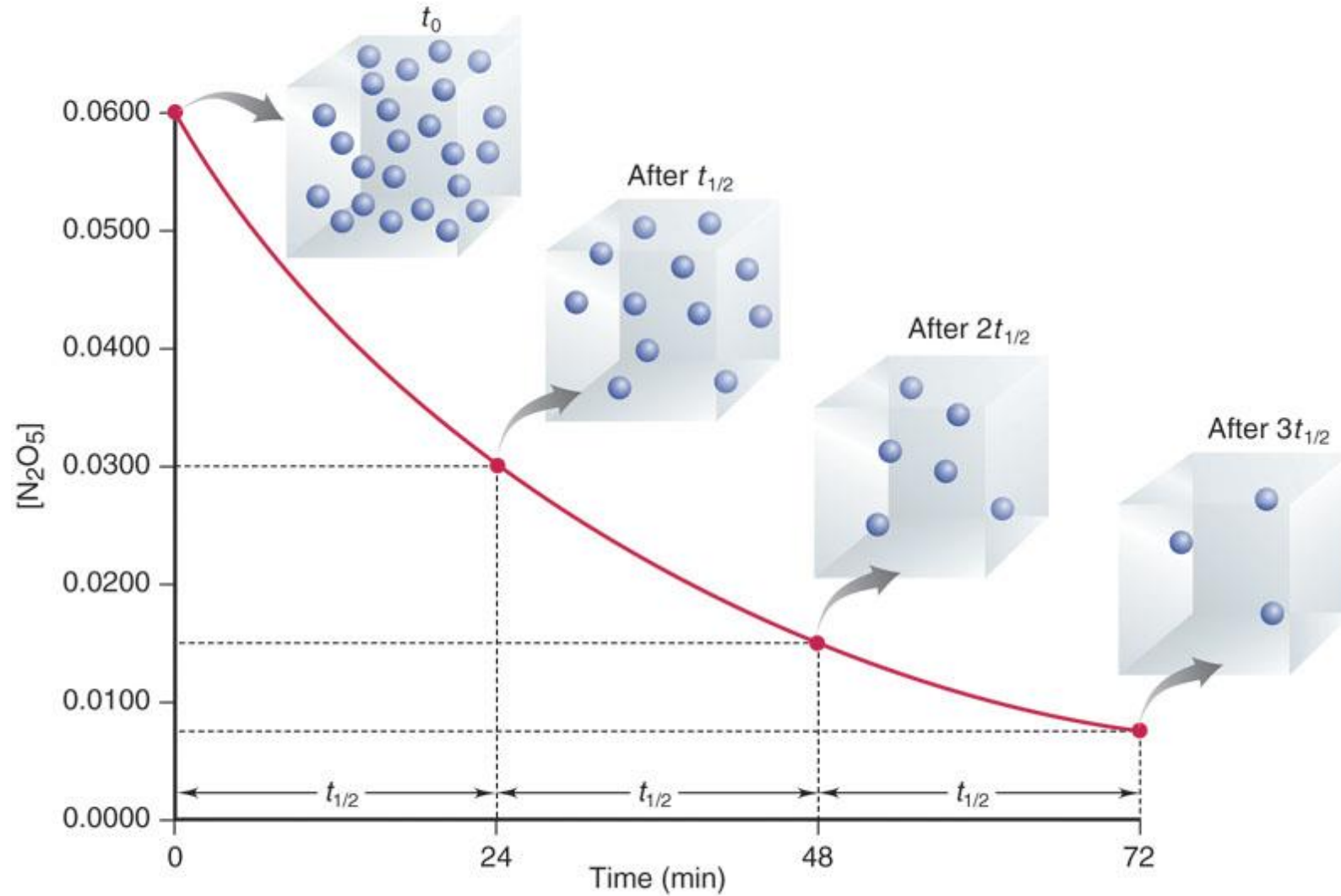


TABLE 13.1

Rate Laws and Rate Constants

Reaction	Rate law*	Temperature, K	Rate constant
Gas phase			
$\text{H}_2 + \text{I}_2 \longrightarrow 2 \text{HI}$	$k[\text{H}_2][\text{I}_2]$	500	$4.3 \times 10^{-7} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
		600	4.4×10^{-4}
		700	6.3×10^{-2}
		800	2.6
$2 \text{HI} \longrightarrow \text{H}_2 + \text{I}_2$	$k[\text{HI}]^2$	500	$6.4 \times 10^{-9} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
		600	9.7×10^{-6}
		700	1.8×10^{-3}
		800	9.7×10^{-2}
$2 \text{N}_2\text{O}_5 \longrightarrow 4 \text{NO}_2 + \text{O}_2$	$k[\text{N}_2\text{O}_5]$	298	$3.7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$
		318	5.1×10^{-4}
		328	1.7×10^{-3}
		338	5.2×10^{-3}
$2 \text{N}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{N}_2 + \text{O}_2$	$k[\text{N}_2\text{O}]$	1000	0.76 s^{-1}
		1050	3.4
$2 \text{NO}_2 \longrightarrow 2 \text{NO} + \text{O}_2$	$k[\text{NO}_2]^2$	573	$0.54 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
$\text{C}_2\text{H}_6 \longrightarrow 2 \text{CH}_3$	$k[\text{C}_2\text{H}_6]$	973	$5.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
cyclopropane \longrightarrow propene	$k[\text{cyclopropane}]$	773	$6.7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
Aqueous solution			
$\text{H}^+ + \text{OH}^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	$k[\text{H}^+][\text{OH}^-]$	298	$1.5 \times 10^{11} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
$\text{CH}_3\text{Br} + \text{OH}^- \longrightarrow \text{CH}_3\text{OH} + \text{Br}^-$	$k[\text{CH}_3\text{Br}][\text{OH}^-]$	298	$2.8 \times 10^{-4} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	$k[\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}][\text{H}^+]$	298	$1.8 \times 10^{-4} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$

*For the rate of consumption or formation of the substance in bold type in the reaction column.

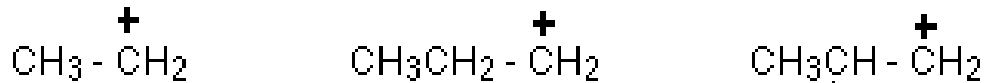
Ένα ένζυμο **δεν μπορεί να μεταβάλει** τους νόμους της
θερμοδυναμικής

άρα δεν μπορεί να μεταβάλει την ισορροπία μιας χημικής αντίδρασης
δηλαδή την K_a

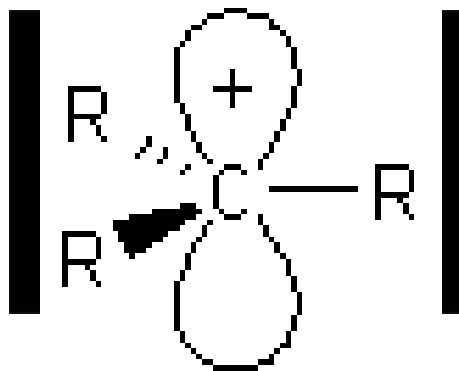
αλλά μπορεί να επιταχύνουν τον χρόνο που φτάνουν σε ισορροπία
χημικής αντίδρασης κατά **10^6-10^{17}** φορές

μπορεί όμως **σταθεροποιώντας τις μεταβατικές καταστάσεις**
να μειώσει την **ενέργεια ενεργοποίησης**
άρα να επιταχύνει τον χρόνο αποκατάστασης της ισορροπίας

Ενδιάμεσα προϊόντα του άνθρακα = μεταβατικές καταστάσεις

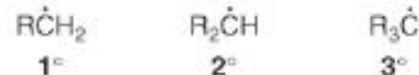


Το καρβοκατιόν έχει ένα sp^2 υβριδικό τροχιακό με ένα τριγωνικό επίπεδο μοριακό σχήμα.



Ελεύθερες ρίζες άνθρακα

Classification of carbon radicals



The trigonal planar geometry of a carbon radical

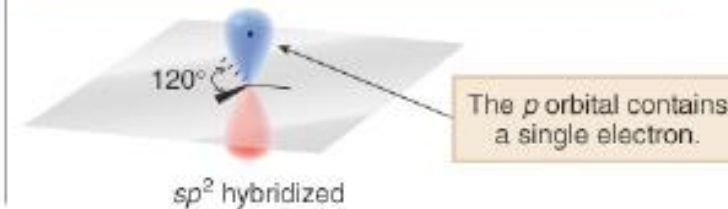
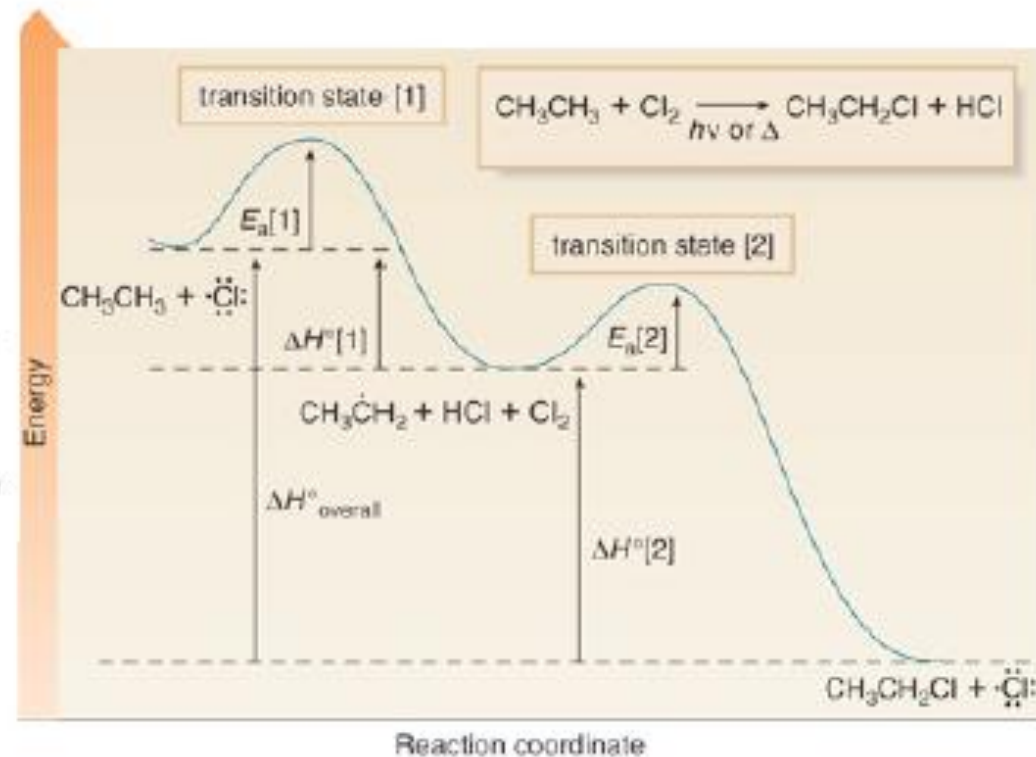
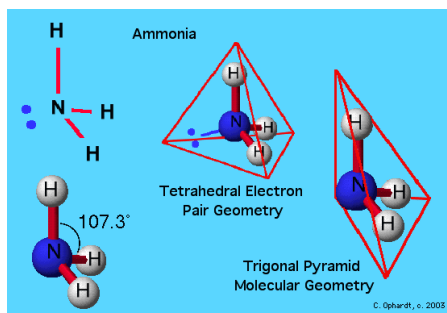


Figure 13.4 Energy diagram for the propagation steps in the chlorination of ethane

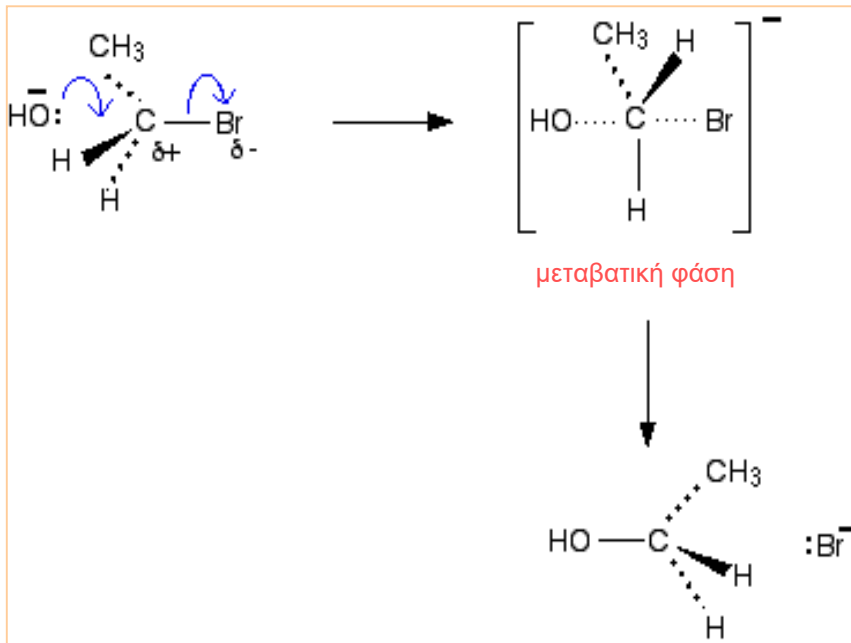
- Because radical halogenation consists of two propagation steps, the energy diagram has two energy barriers.
- The first step is rate-determining because its transition state is at higher energy.
- The reaction is exothermic because $\Delta H^\circ_{\text{overall}}$ is negative.



Καρβανιόν είναι ένα ανιόν στο οποίο ο άνθρακας έχει ένα ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων και ασκεί αρνητικό φορτίο κανονικά και τριγωνική γεωμετρική πυραμίδα.



Πυρηνόφιλοι και Ηλεκτρονιόφιλοι μηχανισμοί



"SN" σημαίνει νουκλεόφιλο (δότης e⁻)

Τα βελάκια συμβολίζουν που πηγαίνουν τα ηλεκτρόνια. Ορίστε ο μηχανισμός για την αλκαλική υδρόλυση του μεθυλικού βρωμίου από ανιόν υδροξυλίου.

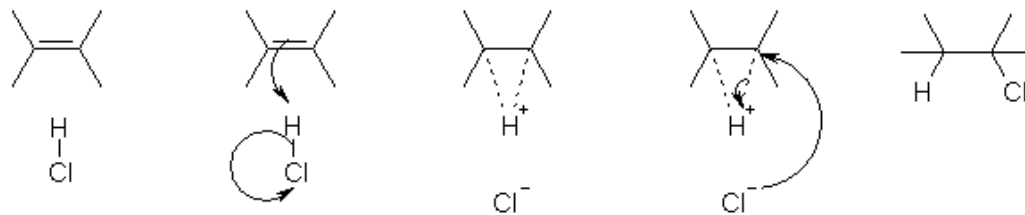
Τα πυρηνόφιλα είναι χημικά είδη που είναι πλούσια σε ηλεκτρόνια (ίσως έχουν μονά ζευγάρια) και αναζητούν θετικό φορτίο (ο πυρήνας να είναι +). Για παράδειγμα, μπορεί να είναι ανιόντα ή το δ-άκρο ενός πολικού μορίου.

OH⁻ , H₂O και ROH.

SH⁻ , H₂S και RSH.

NH₃ , RNH₂ , R₂NH , R₃N και R=NR.

Το αντίθετο από ένα πυρηνόφιλο είναι ένα ηλεκτρονιόφιλο, το οποίο έχει έλλειμμα ηλεκτρονίων και γι' αυτό ψάχνει αρνητικό φορτίο (π.χ. π δεσμούς). Αυτά μπορεί να είναι κατιόντα ή το δ⁺άκρο ενός πολικού μορίου. H⁺, NO₂⁺.



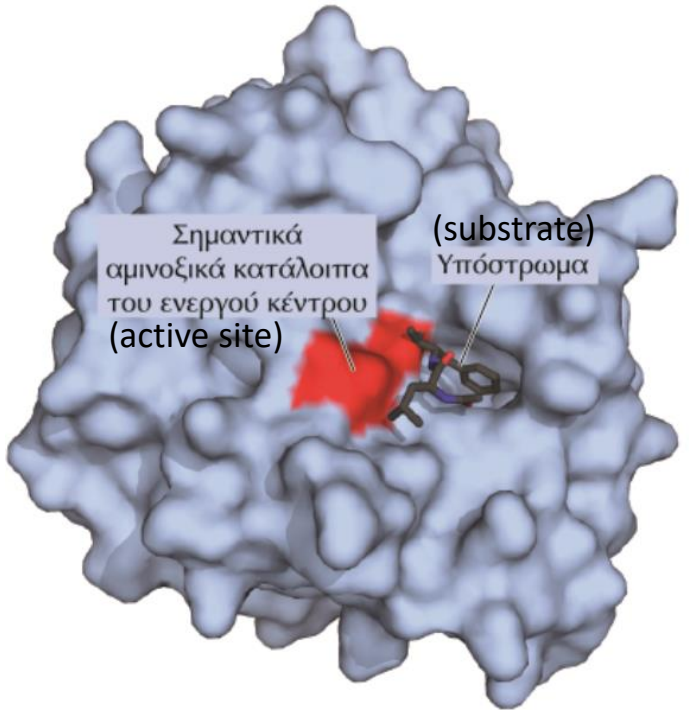
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Ένζυμα

Αποένζυμο + συμπαραγοντας = ολοένζυμο.

η Βασική λειτουργία των ζωντανών οργανισμών είναι η αυτοαντιγραφή. Αυτό απαιτεί παραγωγή ενέργειας και χημικών ουσιών (από αντιδράσεις) αποτελεσματικά και επιλεκτικά

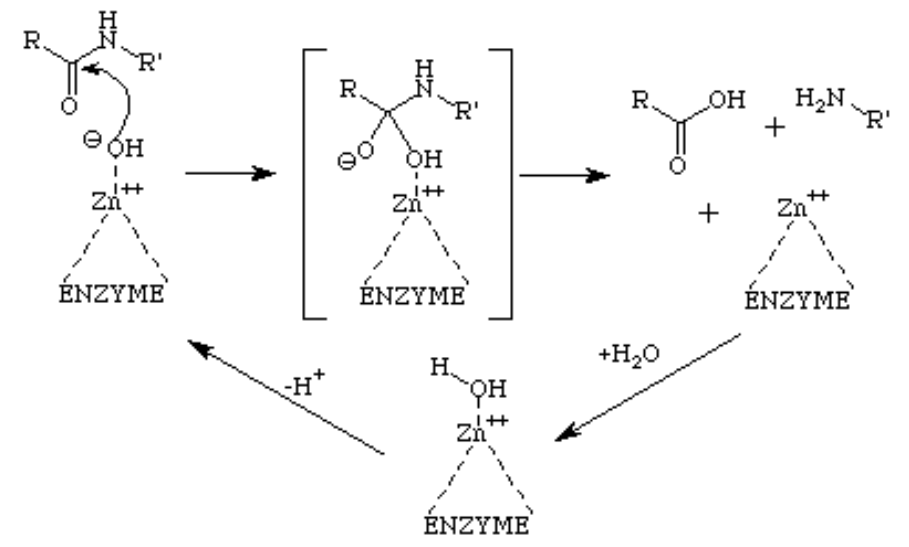
Αποένζυμο ή αποπρωτεΐνη
πρωτεϊνικό μέρος χωρίς το συνένζυμο που είναι απαραίτητο για την κατάλυση

συμπαραγοντας (συνένζυμο) είναι οποιαδήποτε ουσία που χρειάζεται να είναι παρόν ώστε ένα ένζυμο (αποένζυμο) να καταλύσει μία αντίδραση. Συνένζυμο μπορεί να είναι ένα ión μετάλλου ή οργανικό μόριο (coenzyme) ή ένας συνδυασμός και των δύο (οι περισσότερες ή λιγότερες κοινές ουσίες όπως το νερό δεν περιλαμβάνονται)



Όταν το συνένζυμο είναι ισχυρά συνδεδεμένο με το ένζυμο ονομάζεται **προσθετική ομάδα**

τα περισσότερα ένζυμα είναι πρωτεΐνες εκτός από μερικές κατηγορίες καταλυτικών μορίων RNA καταλυτική ενεργότητα βασίζεται στην ακεραιότητα της φυσικής πρωτεΐνης (φυσική διαμόρφωση)



Περίπτωση όπου ο ψευδάργυρος δρα ως συνένζυμο για το ένζυμο ACE

Συνένζυμα

Πολλά συνένζυμα και προσθετικές ομάδες σχετίζονται ή περιέχουν στο μόριό τους **νουκλεοτίδια** ή/και **βιταμίνες**.

Γι' αυτό οι **βιταμίνες** είναι απαραίτητα συστατικά της τροφής (και όχι τρόφιμα), τα οποία **δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός**, είναι αναγκαία σε πολύ μικρή ποσότητα και έχουν σημαντική βιολογική δράση.

Η δράση αυτή έγκειται στο να **διατηρούν** την κανονική πορεία των **φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού**.

Δηλαδή, αν δε ληφθεί με την **τροφή** η αναγκαία ποσότητα βιταμινών, δε θα συνθέσει ο οργανισμός τα αντίστοιχα **συνένζυμα**, δεν θα μπορέσουν να δράσουν τα αντίστοιχα ένζυμα και **κάποιες αντιδράσεις** που θα έπρεπε να γίνουν στον οργανισμό δεν θα γίνουν καθόλου ή όχι στον αναγκαίο βαθμό.

Αυτό θα έχει σαν αποτέλεσμα τη διαταραχή της κανονικής λειτουργίας του οργανισμού, η δε κλινική εικόνα των διαφόρων προβλημάτων που εκδηλώνονται είναι αυτό που ονομάζουμε **ασθένειες**.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6-2

Μερικά Συνένζυμα που Λειτουργούν ως Μεταβατικοί Φορείς Ειδικών Ατόμων ή Λειτουργικών Ομάδων

Συνένζυμο	Παραδείγματα μεταφερόμενων χημικών ομάδων	Διατροφική πρόδρομη ουσία των θηλαστικών
Βιοκυτίνη	CO ₂	Βιοτίνη
Συνένζυμο Α	Ακυλομάδες	Παντοθενικό οξύ και άλλες ενώσεις
5'-Δεοξαδενοσυλοκοβαλαμίνη (συνένζυμο B ₁₂)	Άτομα Η και αλκυλομάδες	Βιταμίνη B ₁₂
Φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο	Ηλεκτρόνια	Ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B ₂)
Λιποϊκό	Ηλεκτρόνια και ακυλομάδες	Μη απαραίτητο στη διατροφή
Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο	Ιόντα υδριδίου (:H ⁻)	Νικοτινικό οξύ (νιασίνη)
Φωσφορική πυριδοξάλη	Αμινομάδες	Πυριδοξίνη (βιταμίνη B ₆)
Τετραϋδροφυλλικό	Μονοανθρακικές ομάδες	Φυλλικό
Πυροφωσφορική θειαμίνη	Αλδεύδες	Θειαμίνη (βιταμίνη B ₁)

Σημείωση: Η δομή και ο τρόπος λειτουργίας αυτών των συνενζύμων περιγράφονται στο Μέρος II.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6-1

Μερικά Ανόργανα Ιόντα που Μπορούν να Λειτουργούν ως Συμπαράγοντες για τα Ένζυμα

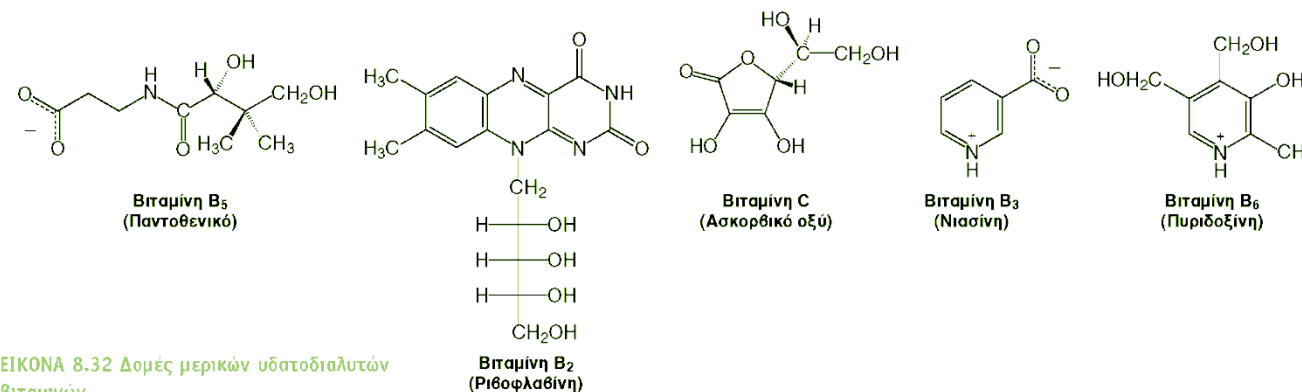
Ιόντα	Ένζυμα
Cu ²⁺	Οξειδάση κυτοχρώματος (κυτοχρωμική οξειδάση)
Fe ²⁺ ή Fe ³⁺	Οξειδάση κυτοχρώματος, καταλάση, υπεροξειδάση
K ⁺	Πυροσταφυλική κινάση
Mg ²⁺	Εξοκινάση, φωσφατάση 6-φωσφορικής γλυκόζης (γλυκόζη-6-φωσφατάση), πυροσταφυλική κινάση
Mn ²⁺	Αργινάση, αναγωγή ριβονουκλεοτιδίων (ριβονουκλεοτιδική αναγωγή)
Mo	Δινιτρογενάση
Ni ²⁺	Ουρεάση
Zn ²⁺	Καρβονική ανυδράση, αλκοολική δεϋδρογονάση/αφυδρογονάση, καρβοξυπεπτιδάσες Α και Β

Τα συνένζυμα και οι προσθετικές ομάδες, συμμετέχουν στην αντίδραση και **υφίστανται χημικές μεταβολές** (δηλαδή, δεν είναι καταλύτες).

Αποκαθίστανται στην αρχική κατάστασή τους με μια δεύτερη αντίδραση, με διαφορετικό τρόπο στα συνένζυμα απ' ό,τι στις προσθετικές ομάδες.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.9 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες

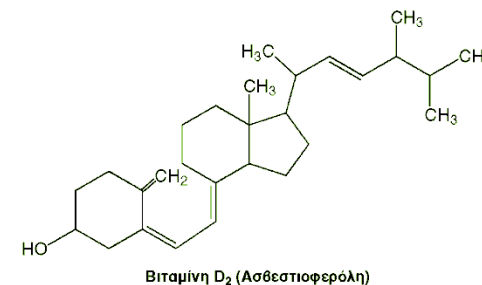
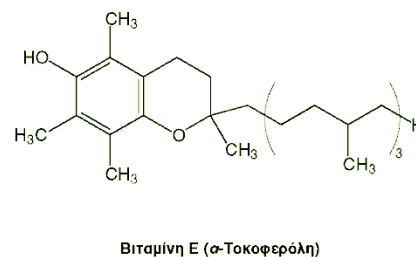
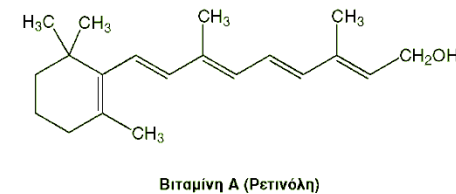
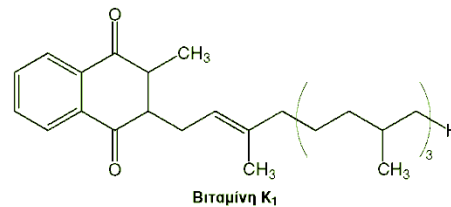
Βιταμίνη	Συνένζυμο	Χαρακτηριστικός τύπος αντίδρασης	Συνέπειες της έλλειψης
B ₁ (Θειαμίνη)	Πυροφωσφορική θειαμίνη	Μεταφορά αλδεϋδης	Μπέρι μπέρι (απώλεια βάρους, καρδιακά προβλήματα, νευρική δυσλειτουργία)
B ₂ (Ριβοφλαβίνη)	Φλαβινο-αδενο-δινουκλεοτίδιο (FAD)	Οξειδωση-αναγωγή	Χηληκραιίες και γωνιώδες κολλέγχυμα (αλλοιώσεις του στόματος), δερματίτιδα
B ₆ (Πυριδοξίνη)	Φωσφορική πυριδοξάλη	Μεταφορά ομάδας σε ή από αμινοξέα	Κατάθλιψη, σύγχυση, σπασμοί
Νικοτινικό οξύ (νιασίνη)	Νικοτιναμιδο-αδενο-δινουκλεοτίδιο (NAD ⁺)	Οξειδωση-αναγωγή	Πελάγρα (δερματίτιδα, κατάθλιψη, διάρροια)
Παντοθενικό οξύ Βιοτίνη	Συνένζυμο A Σύμπλοκα βιοτίνης-λυσίνης (βιοκυτίνη)	Μεταφορά ακετυλικής ομάδας Καρβοξυλίωση που εξαρτάται από την ATP και μεταφορά καρβοξυλικής ομάδας	Υπέρταση Εξανθήματα γύρω από τα φρύδια, μυϊκός πόνος, κόπωση (σπάνια)
Φυλλικό οξύ	Τετραϋδροφυλλικό	Μεταφορά συστατικών ενός άνθρακα, σύνθεση θιμίνης	Αναιμία, ελαττώματα του νευρικού σωλήνα στην ανάπτυξη
B ₁₂	5'-Δεοξαδενοσυλοκοβαλαμίνη	Μεταφορά μεθυλικών ομάδων, ενδομοριακές ανακατατάξεις	Αναιμία, μεγαλοβλαστική αναιμία, οξέωση μεθυλομπλονικού
C (ασκορβικό οξύ)		Αντιοξειδωτικό	Σκορβούτο (πρησμένα και αιμορραγούντα ούλα, υποδερμικές αιμορραγίες)



ΕΙΚΟΝΑ 8.32 Δομές μερικών υδατοδιαλυτών βιταμινών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.10 Λιποδιαλυτές Βιταμίνες.

Βιταμίνη	Λειτουργία	Έλλειψη
A	Ρόλοι στην όραση, ανάπτυξη, αναπαραγωγή	Νυκταλωπία, βλάβη του κερατοειδούς χιτώνα, βλάβη του αναπνευστικού και του γαστρεντερικού σωλήνα
D	Ρύθμιση του μεταβολισμού του ασβεστίου και του φωσφόρου	Ραχίτιδα (παιδιά): σκελετικές παραμορφώσεις, βλάβη στην ανάπτυξη Οστεομαλάκυνση (ενήλικοι): μαλακά, εύκαμπτα οστά
E	Αντιοξειδωτικό	Αναστολή της παραγωγής σπέρματος, αλλοιώσεις στους μυς και στα νεύρα (σπάνια)
K	Πήξη του αίματος	Υποδερμική αιμορραγία



ΕΙΚΟΝΑ 8.35 Δομές μερικών λιποδιαλυτών βιταμινών.

Όλα τα ένζυμα ανήκουν σε έξι κατηγορίες ανάλογα με τον τύπο της αντίδρασης που καταλύουν

ΠΙΝΑΚΑΣ 6-3

Διεθνής Ταξινόμηση των Ενζύμων

Αριθμός κατηγορίας	Όνομα κατηγορίας	Τύπος καταλυόμενης αντίδρασης
1	Οξειδοαναγωγάσες	Μεταφορά ηλεκτρονίων (ιόντα υδριδίου ή άτομα H)
2	Τρανσφεράσες	Αντιδράσεις μεταφοράς ομάδων
3	Υδρολάσες	Αντιδράσεις υδρόλυσης (μεταφορά λειτουργικών ομάδων στο νερό)
4	Λυάσες	Διάσπαση C–C, C–O και C–N, ή άλλων δεσμών με απάλειψη, αφήνοντας διπλούς δεσμούς ή δακτυλίους, ή προσθήκη ομάδων σε διπλούς δεσμούς
5	Ισομεράσες	Μεταφορά ομάδων μέσα σε μόρια για την απόδοση ισομερών μορφών
6	Λιγάσες	Δημιουργία δεσμών C–C, C–S και C–N με αντιδράσεις συμπύκνωσης συζευγμένες με τη διάσπαση του ATP ή παρόμοιου συμπαραγόντα

Ένζυμα- Κατάταξη και Ονομασία

Κωδικ. αριθμός	Συστηματική ονομασία	Συνιστώμενη ονομασία	Αντίδραση που Καταλύουν
1.	Οξειδορεδουκτάσες (οξειδωση-αναγωγή)		
1.1.	Δρουν σε ομάδες δότες =CH-OH		
1.1.1.	Έχουν αποδέκτη το NAD(P)		
1.1.1.1	Αλκοόλη : NAD οξειδορεδουκτάση	Αφυδρογονάση αλκοόλης	αλκοόλη + NAD \rightleftharpoons αλδεΐδη ή κετόνη + NADH
1.1.3.	Έχουν αποδέκτη το οξυγόνο		
1.1.3.4		Οξειδάση γλυκόζης	β -D-γλυκόζη + O ₂ \rightleftharpoons D-γλυκονο-δ-λακτόζη + H ₂ O ₂

Κάθε ένζυμο, εκτός από τη συστηματική και **κοινή ονομασία** του έχει και έναν **κωδικό αριθμό**, που αποτελείται από τέσσερις επιμέρους αριθμούς, παράδειγμα, το ένζυμο (γαλακτική αφυδρογονάση) που καταλύει την αντίδραση μετατροπής του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό, κατά την αντίδραση



πυροσταφυλικό οξύ + NADH

γαλακτική αφυδρογονάση



γαλακτικό οξύ + NAD⁺

έχει τον εξής κωδικό αριθμό : 1.1.1.27, επειδή

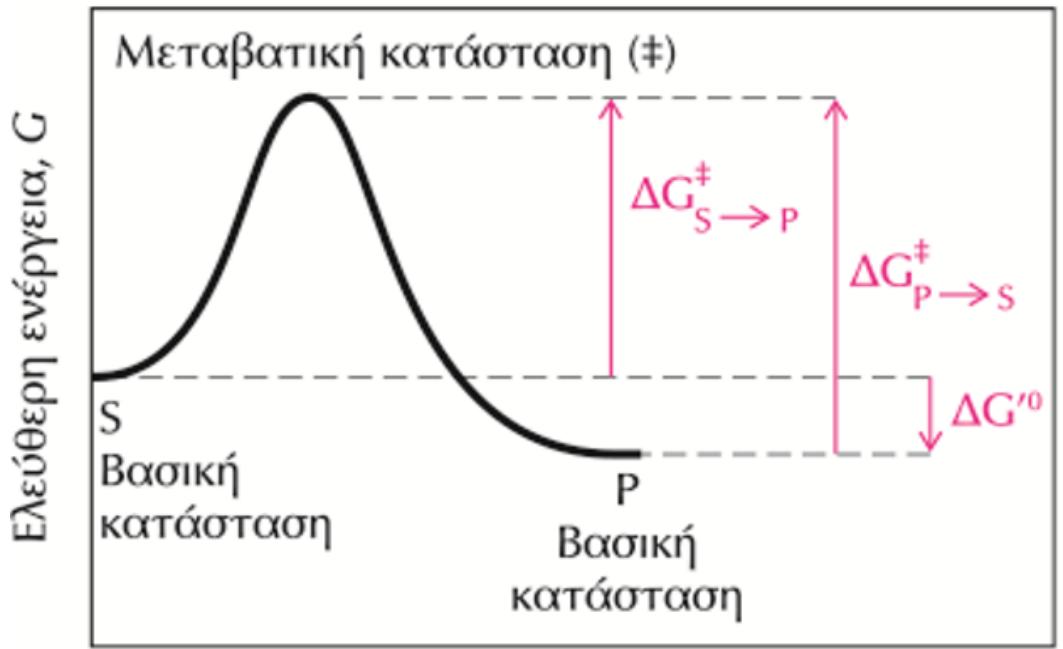
1. Είναι οξειδοαναγωγή

1.1. Δρα σε =CH-OH (δότης H)

1.1.1. Δέκτης του H είναι το NAD⁺ και

1.1.1.27. σαν υπόστρωμα το γαλακτικό οξύ, έχει αύξοντα αριθμό 27, στο σύνολο των υποστρωμάτων της αφυδρογονάσης.

Ενέργεια ενεργοποίησης και μεταβατικές καταστάσεις



Εξέλιξη αντίδρασης

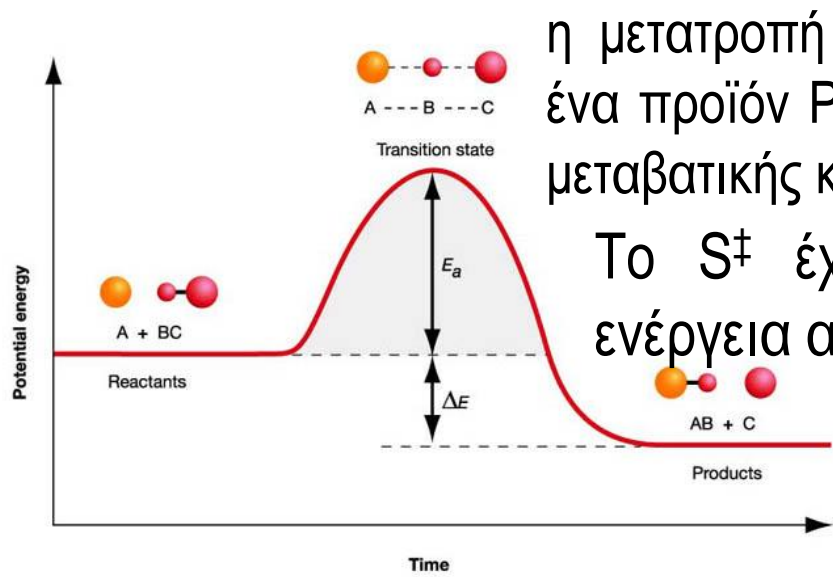
Η διαφορά της ελεύθερης ενέργειας μεταξύ της μεταβατικής κατάστασης και του υποστρώματος καλείται ελεύθερη ενέργεια ενεργοποίησης κατά Gibbs

ενέργεια ενεργοποίησης ΔG^\ddagger

για την αντίδραση $S \rightarrow P$ και $P \rightarrow S$

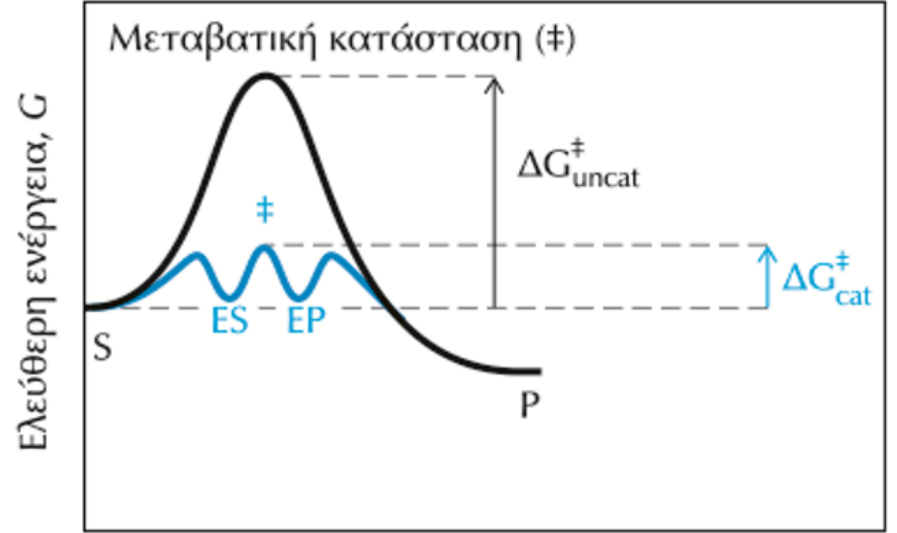
S=Substrate P=Product

Βιοχημική πρότυπη μεταβολή ελεύθερης ενέργειας $\Delta G'^0$



η μετατροπή ενός υποστρώματος S σε ένα προϊόν P λαμβάνει χώρα μέσω μιας μεταβατικής κατάστασης S^\ddagger .

Το S^\ddagger έχει υψηλότερη ελεύθερη ενέργεια από ότι το S ή το P

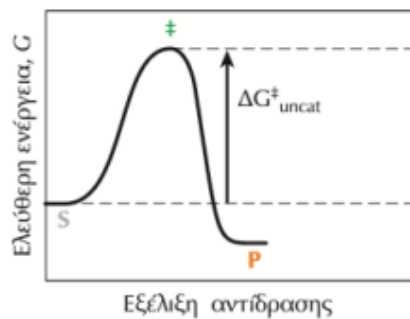
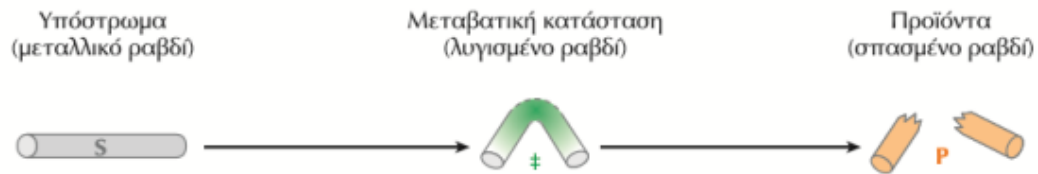


Εξέλιξη αντίδρασης

ενέργεια ενεργοποίησης $\Delta G^\ddagger_{uncat}$ και ΔG^\ddagger_{cat} χωρίς και με καταλύτη

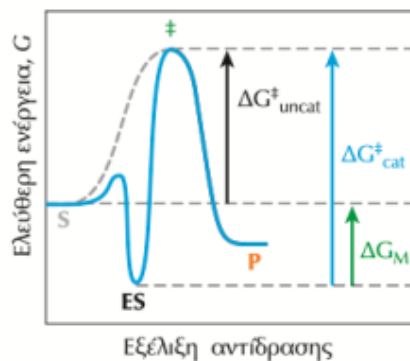
ασθενείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενζύμου & του Υποστρώματος βελτιστοποιούν στην μεταβατική κατάσταση

(α) Χωρίς ένζυμο



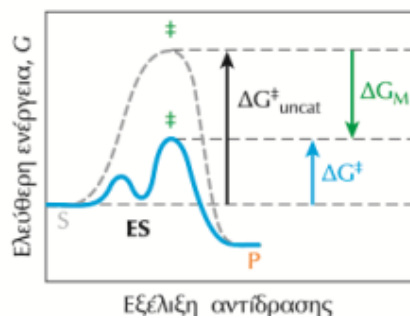
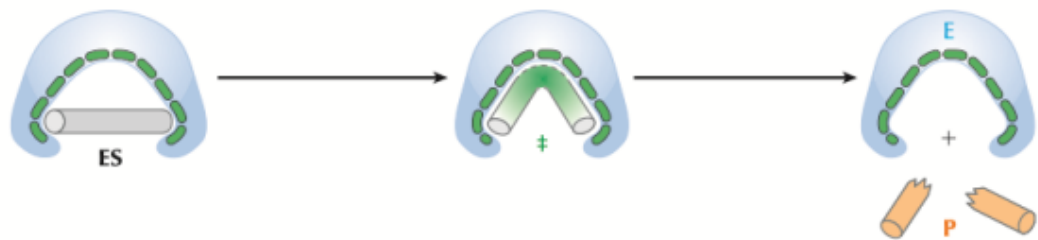
η ενέργεια που προέρχεται από την αλληλεπίδραση ενζύμου-υποστρώματος καλείτε **ενέργεια πρόσδεσης (binding energy) ΔG_B**

(β) Ένζυμο συμπληρωματικό με το υπόστρωμα



Πολλαπλοί ασθενής δεσμοί μεταξύ ενζύμου-υποστρώματος συντελούν στην ενέργεια πρόσδεσης που συνεισφέρει τόσο στην εξειδίκευση όσο και στην κατάλυση

(γ) Ένζυμο συμπληρωματικό με την μεταβατική κατάσταση



το ενεργό κέντρο δεν είναι συμπληρωματικό με αυτό καθαυτό το υπόστρωμα αλλά με τις μεταβατικές καταστάσεις τις οποίες διέρχεται το υπόστρωμα

Table 6-5 Some Rate Enhancements Enzymes

Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

οι αλληλεπιδράσεις μπορούν να βοηθούν την πρόσδεση του υποστρώματος αλλά αν δεν είναι σωστά σχεδιασμένες (προσαρμοσμένες) δεν βοηθούν την αντίδραση. Εάν οι αλληλεπιδράσεις είναι προσαρμοσμένες με ενδιάμεσα μεταβατικά στάδια της αντίδρασης τότε χαμηλώνουν αισθητά την ελεύθερη ενέργεια ενεργοποίησης

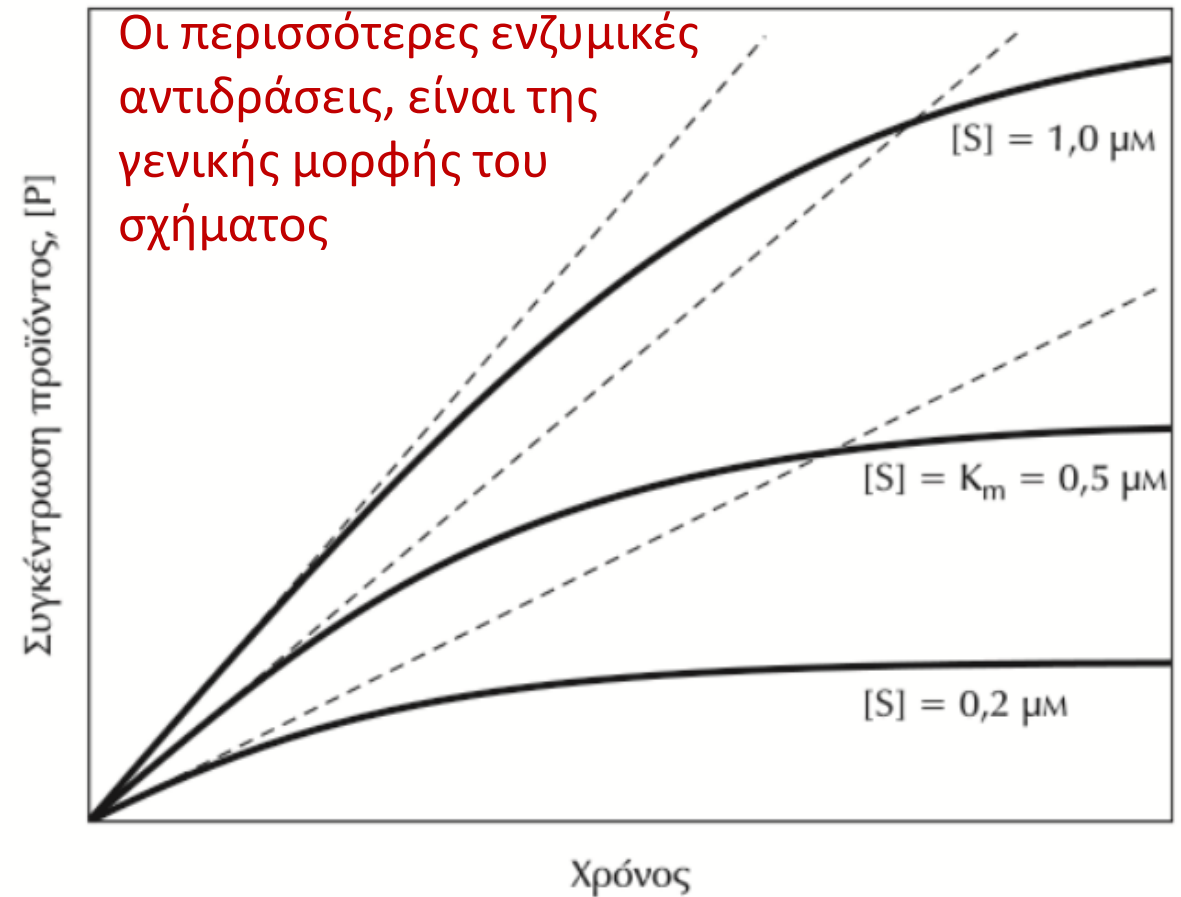
Κινητική ενζύμων και Μηχανισμοί

Μορφή καμπύλης παραγωγής προϊόντος συναρτήση του βαθμού προόδου της αντίδρασης (χρόνος)

Η ταχύτητα μειώνεται συναρτήσει του χρόνου !

αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι :

- τα προϊόντα της αντίδρασης αναστέλλουν το ένζυμο
- ο βαθμός κορεσμού του ενζύμου από το υπόστρωμα μειώνεται πιθανώς λόγω μείωσης της συγκέντρωσης του υποστρώματος συναρτήσεως του βαθμού προόδου της αντίδρασης
- η αντίστροφη πορεία της αντίδρασης γίνεται σε μεγαλύτερο βαθμό λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης των προϊόντων κλπ.



ΕΙΚΟΝΑ 6-10 Αρχικές ταχύτητες αντιδράσεων καταλυόμενων από ένζυμα. Ένα θεωρητικό ένζυμο που καταλύει την αντίδραση $S \rightleftharpoons P$ βρίσκεται σε επαρκή συγκέντρωση για την κατάλυση της αντίδρασης με μέγιστη ταχύτητα, $V_{\max} = 1 \mu\text{M}/\text{min}$. Η σταθερά Michaelis-Menten, K_m (εξηγείται στο κείμενο), είναι $0,5 \mu\text{M}$. Απεικονίζονται οι καμπύλες εξέλιξης της αντίδρασης για συγκεντρώσεις του υποστρώματος στην K_m , πάνω και κάτω από την K_m . Η ταχύτητα μιας ενζυμικά καταλυόμενης αντίδρασης μειώνεται καθώς το υπόστρωμα μετατρέπεται σε προϊόν. Μια εφαπτομένη σε κάθε καμπύλη που λαμβάνεται όταν $t = 0$ ορίζει την αρχική ταχύτητα, V_0 κάθε αντίδρασης.

Εξήγηση της Κινητικής των ενζυμικών αντιδράσεων

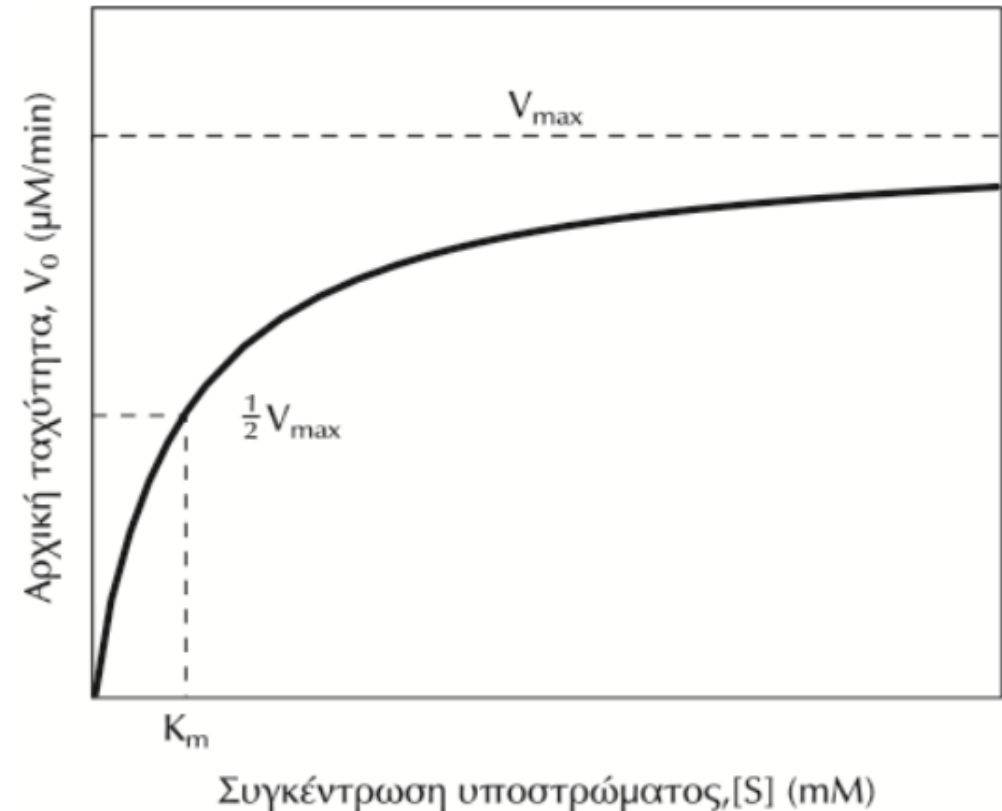
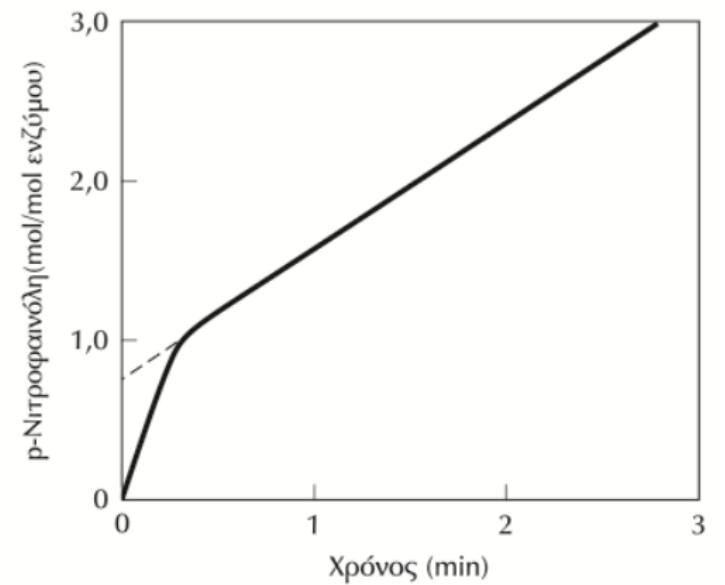
το ένζυμο δημιουργεί αρχικά ένα σύμπλοκο ES μια προσταθερή κατάσταση ισοροπία $E+S$ με το ES , το οποίο διασπάται στη συνέχεια σε ένζυμο στα προϊόντα της αντίδρασης (P)



σταθερές ταχύτητας, με διαστάσεις $M^{-1} sec^{-1}$ για την k_1 και sec^{-1} για τις k_2 και k_{-1} . Συνήθως k_1, k_{-1} είναι πολύ μεγαλύτερες του k_2 . Συχνά αναφέρεται και ως k_{cat}

Άρα η ταχύτητα εξαρτάται (πραγματικά) από την συγκέντρωση του ES

Το 1913, οι Michaelis - Menten απέδωσαν με μαθηματικό τρόπο το μηχανισμό δράσης των ενζύμων, στηριζόμενοι στην ιδέα της δημιουργίας του ενδιάμεσου συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος



Κινητική ενζύμων/ενζυμική κινητική

Στην χημική ταχύτητα αντιδράσεων ισχύει: $S \rightarrow P$ με ταχύτητα $V_1 = k_1[S]$

αύξηση (συγκέντρωση) του αντιδρώντος (S) → αυξάνει ο ρυθμός παραγωγής του προϊόντος (P)

Η πράξη δεν επιβεβαιώνει το παραπάνω στις ενζυμικές αντιδράσεις

Στις ενζυμικές αντιδράσεις ακολουθείται κινητική κορεσμού.

Σε χαμηλές [S],

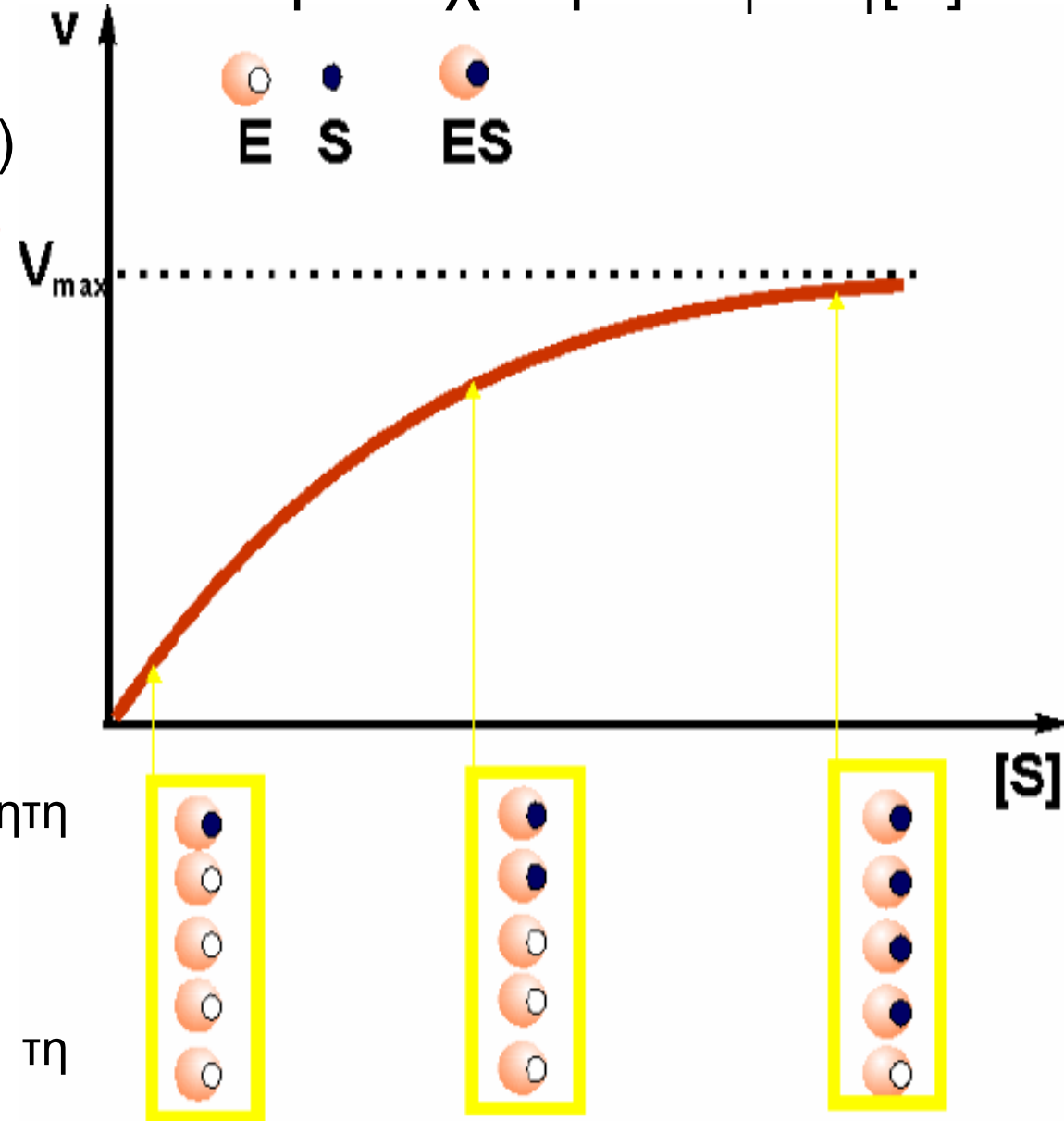
η V εξαρτάται τόσο από τη $[S]$ όσο και από την $[E]$

Από μία τιμή [S] και μετά

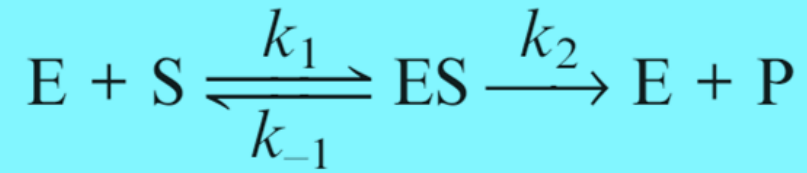
(όταν το E έχει κορεσθεί από το S) η v είναι ανεξάρτητη από τη $[S]$ και εξαρτάται μόνο από την $[E]$

Δηλαδή, σε υψηλές τιμές [S],

το E έχει κορεσθεί από το S και η v έχει αποκτήσει τη μέγιστη τιμή της: το V_{max}



Η υπόθεση της σταθερής κατάστασης διευκολύνει την περιγραφή της ενζυμικής κινητικής



Σταθερά Michaelis:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Επειδή έχουμε αποδεικτεί ότι k_{-1} είναι πολύ μεγαλύτερη της k_2

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}$$

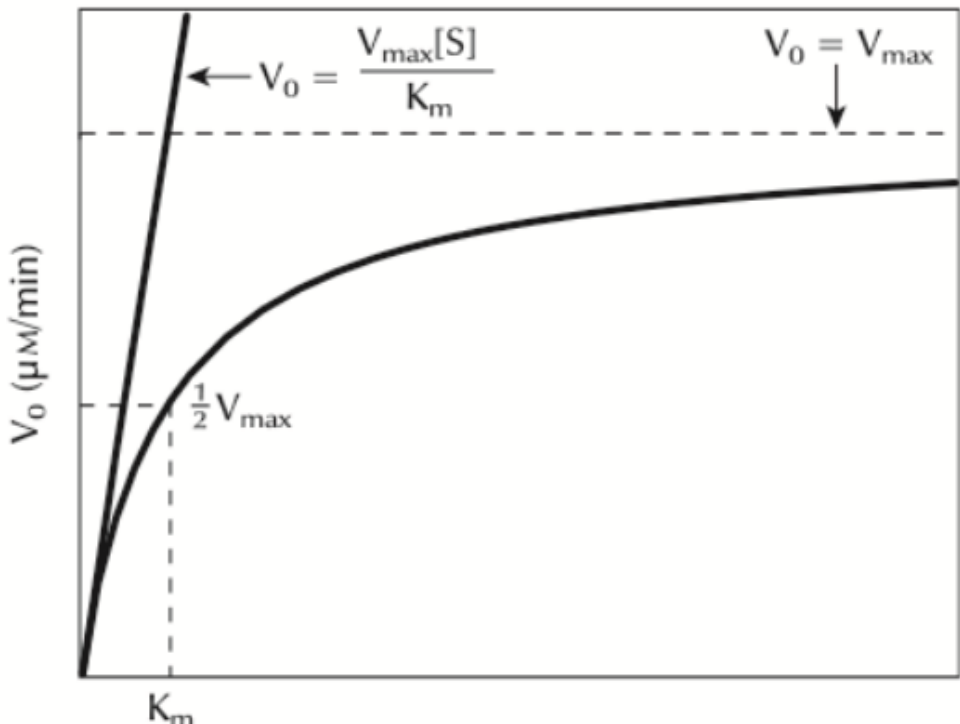
$$K_M = [E] [S] / [ES]$$

Η σταθερής κατάστασης διευκολύνει την περιγραφή της ενζυμικής κινητικής

□ Η εξίσωση Michaelis-Menten:

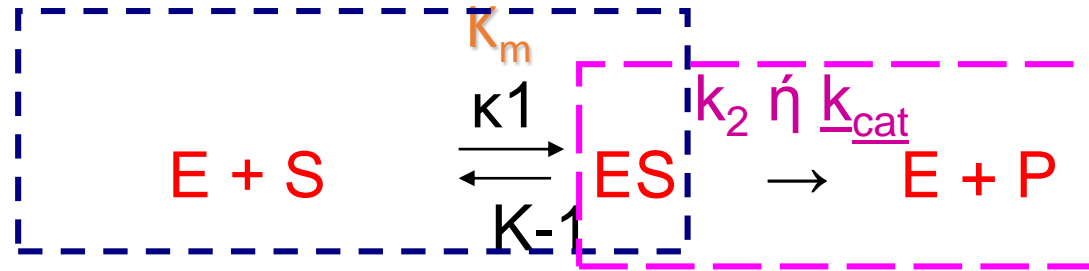
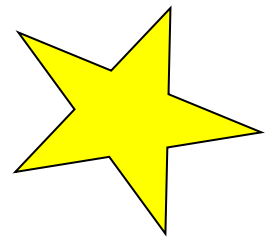
$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

- Σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος, όταν η $[S]$ είναι πολύ μικρότερη από την K_M , $V_0 = (V_{\max}/K_M)[S]$, δηλαδή η ταχύτητα είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του υποστρώματος.
- Σε υψηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος, όταν η $[S]$ είναι πολύ μεγαλύτερη από την K_M , $V_0 = V_{\max}$, δηλαδή η ταχύτητα είναι μέγιστη, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του υποστρώματος.



ΕΙΚΟΝΑ 6-12 Εξάρτηση της αρχικής ταχύτητας από τη συγκέντρωση του υποστρώματος. Αυτό το διάγραμμα δείχνει τις κινητικές παραμέτρους που καθορίζουν τα όρια της καμπύλης σε υψηλή και χαμηλή $[S]$. Σε χαμηλή $[S]$, $K_m \gg [S]$, ο όρος $[S]$ στον παρονομαστή της εξίσωσης Michaelis-Menten (Εξίσωση 6-9) είναι αμελητέος. Η εξίσωση απλοποιείται σε $V_0 = V_{\max}[S]/K_m$ και η V_0 είναι γραμμική συνάρτηση της $[S]$ όπως δεικνύεται εδώ. Σε υψηλή $[S]$, όπου $[S] \gg K_m$ ο όρος K_m στον παρονομαστή είναι αμελητέος και η εξίσωση απλοποιείται σε $V_0 = V_{\max}$. Αυτό είναι συμβατό με το plateau που παρατηρείται σε υψηλή $[S]$. Συνεπώς η εξίσωση Michaelis-Menten συμφωνεί με την παρατηρούμενη εξάρτηση της V_0 από την $[S]$ και το σχήμα της καμπύλης καθορίζεται από τους όρους V_{\max}/K_m σε χαμηλή $[S]$ και V_{\max} σε υψηλή $[S]$.

Σημασία και επίδραση της K_m και της k_{cat} στην κατάλυση



Φυσική σημασία της K_m σταθερά διάστασης του συμπλόκου ES $K_M = [E][S]/[ES]$
Η τιμή K_m είναι σταθερή για ένα ένζυμο με ένα ορισμένο υπόστρωμα κάτω από καθορισμένες συνθήκες pH, θερμοκρασίας και ιοντικής ισχύος κυμαίνεται σε τιμές 10^{-1} με 10^{-7} M

Φυσική σημασία της k_{cat} (ταχύτητα αντίδρασης)

$k_{cat} = V_{max}/[E_t]$ η k_{cat} αντιστοιχεί στο μέγιστο αριθμό moles υποστρώματος που μπορούν να μετατραπούν σε προϊόν ανά mole ενζύμου ανά μονάδα χρόνου σε συνθήκες ενζυμικού κορεσμού, αντιπροσωπεύει δηλαδή τη μοριακή ενεργότητα του ενζύμου και εκφράζεται σε sec^{-1} .

Η k_{cat} ισούται με την k_2 όταν $[S] \gg K_m$ και έχει τιμές που κυμαίνονται ανάμεσα στο $1-10^7$

Οι τιμές k_{cat} και V_{max} είναι σημαντικά χαρακτηριστικά του ενζύμου

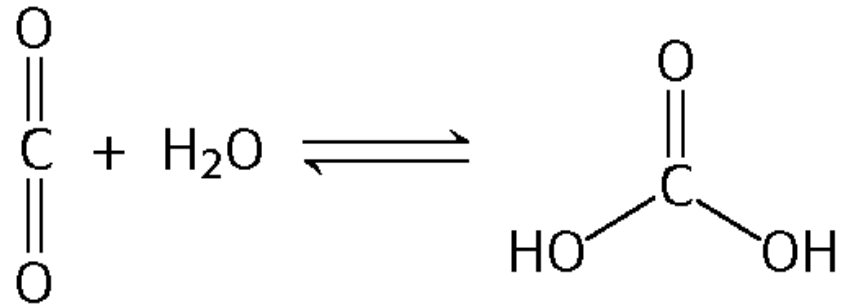
- Η μέγιστη ταχύτητα, V_{max} , αποκαλύπτει τον αριθμό μετατροπής (turnover number) ενός ενζύμου, ο οποίος είναι ο αριθμός των μορίων του υποστρώματος που μετατρέπονται σε προϊόν ανά μονάδα χρόνου από ένα μόριο ενζύμου, όταν το ένζυμο είναι πλήρως κορεσμένο με υπόστρωμα.
- Η μέγιστη ταχύτητα, V_{max} , ισούται με την κινητική σταθερά k_2 , η οποία ονομάζεται και k_{cat} .

ΠΙΝΑΚΑΣ 6-5

Μερικά Παραδείγματα Ενίσχυσης της Ταχύτητας που Επάγουν τα Ένζυμα

Κυκλοφιλίνη	10^5
Καρβονική ανυδράση	10^7
Ισομεράση φωσφορικών τριοζών	10^9
Καρβοξυπεπτιδάση A	10^{11}
Φωσφογλυκομουτάση	10^{12}
Ηλεκτρυλο-CoA τρανσφεράση	10^{13}
Ουρεάση	10^{14}
Μονοφωσφορική αποκαρβοξυλάση οροτιδίνης	10^{17}

ΕΝΖΥΜΑ είναι ισχυροί καταλύτες ανθρακική ανυδράση (μεταφορά του CO₂ από τους ιστούς στο αίμα χωρίς το ένζυμο αυτό δεν θα ήταν πλήρης)



μπορεί να ενυδατώνει 10⁶ μόρια CO₂ ανά δευτερόλεπτο

Η αντίδραση που καταλύεται είναι **10⁷ φορές ταχύτερη** από εκείνη που δεν καταλύεται

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1 Αύξηση ταχύτητας από επιλεγμένα ένζυμα

Ένζυμο	Μη ενζυμική ημιζωή	Μη καταλυόμενη ταχύτητα (k _{un} s ⁻¹)	Καταλυόμενη ταχύτητα (k _{cat} s ⁻¹)	Αύξηση ταχύτητας (k _{cat} s ⁻¹ /k _{un} s ⁻¹)
Αποκαρβοξυλάση της OMP	78.000.000 χρόνια	2,8 χ 10 ⁻¹⁶	39	1,4 χ 10 ¹⁷
Σταφυλοκοκκική νουκλεάση	130.000 χρόνια	1,7 χ 10 ⁻¹³	95	5,6 χ 10 ¹⁴
νουκλεοζιτάση της AMP	69.000 χρόνια	1,0 χ 10 ⁻¹¹	60	6,0 χ 10 ¹²
Καρβοξυπεπτιδάση A	7,3 χρόνια	3,0 χ 10 ⁻⁹	578	1,9 χ 10 ¹¹
Ισομεράση των κετοστεροειδών	7 εβδομάδες	1,7 χ 10 ⁻⁷	66.000	3,9 χ 10 ¹¹
Ισομεράση των φωσφορικών τριοζών	1,9 ημέρες	4,3 χ 10 ⁻⁶	4.300	1,0 χ 10 ⁹
Μουτάση του χορισμικού	7,4 ώρες	2,6 χ 10 ⁻⁵	50	1,9 χ 10 ⁶
Ανθρακική ανυδράση	5 δευτερόλεπτα	1,3 χ 10 ⁻¹	1 χ 10 ⁶	7,7 χ 10 ⁶

Συντομογραφίες: OMP, μονοφωσφορική οροτιδίνη, AMP, μονοφωσφορική αδενοσίνη.

Πηγή: Κατά A. Radzicka and R. Wolenden. Science 267:90-93, 1995.

Οι τιμές K_M , k_{cat} και V_{max} είναι σημαντικά χαρακτηριστικά του ενζύμου

- ❑ Για τα περισσότερα ένζυμα, η K_M έχει τιμές μεταξύ 10^{-1} και 10^{-7} M.
- ❑ Η τιμή K_M για ένα ένζυμο εξαρτάται από το συγκεκριμένο υπόστρωμα, καθώς επίσης και από περιβαλλοντικές συνθήκες όπως π.χ. το pH, η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς.
- ❑ Η σταθερά Michaelis, K_M , ισούται με τη συγκέντρωση του υποστρώματος όπου τα μισά από τα ενεργά κέντρα έχουν καταληφθεί.
- ❑ Έτσι, η K_M παρέχει ένα μέτρο της συγκέντρωσης του υποστρώματος που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί σημαντική κατάλυση.

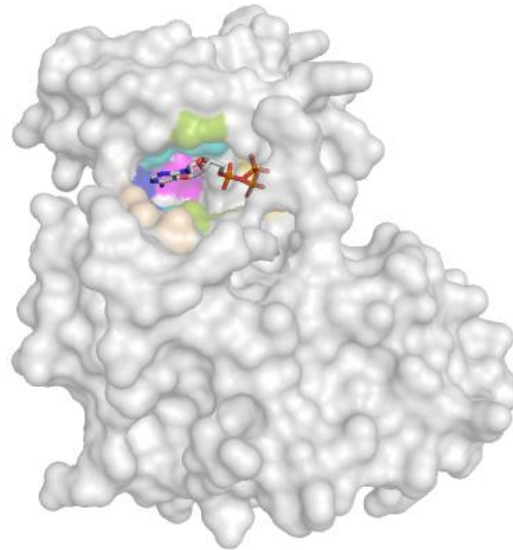
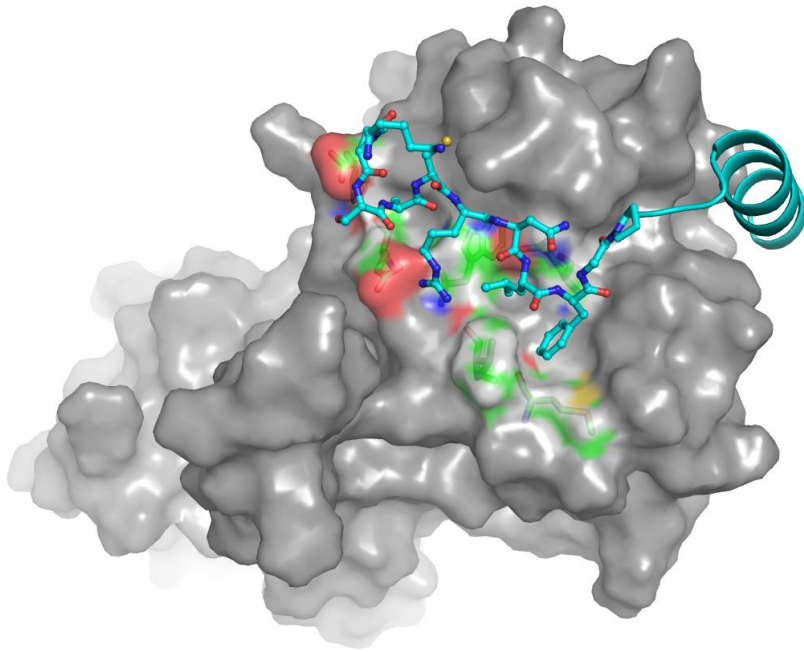
ΠΙΝΑΚΑΣ 6-8

Ένζυμα για τα οποία ο λόγος k_{cat}/K_M πλησιάζει το Όριο Ελεγχόμενης Διάχυσης (10^8 έως 10^9 $M^{-1}S^{-1}$)

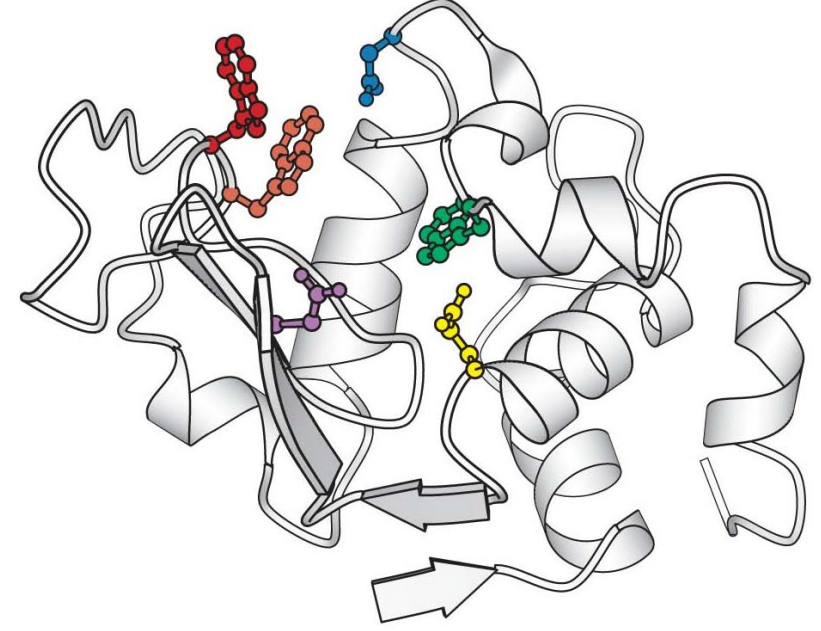
Ένζυμο	Υπόστρωμα	k_{cat} (S^{-1})	K_M (M)	k_{cat}/K_M ($M^{-1}S^{-1}$)
Ακετυλοχολινεστεράση	Ακετυλοχολίνη	$1,4 \times 10^4$	9×10^{-5}	$1,6 \times 10^8$
Καρβονική ανυδράση	CO ₂	1×10^6	$1,2 \times 10^{-2}$	$8,3 \times 10^7$
	HCO ₃ ⁻	4×10^5	$2,6 \times 10^{-2}$	$1,5 \times 10^7$
Καταλάση	H ₂ O ₂	4×10^7	$1,1 \times 10^0$	4×10^7
Κροτονάση	Κροτονυλο-CoA	$5,7 \times 10^3$	2×10^{-5}	$2,8 \times 10^8$
Φουμαράση	Φουμαρικό	8×10^2	5×10^{-6}	$1,6 \times 10^8$
	Μηλικό	9×10^2	$2,5 \times 10^{-5}$	$3,6 \times 10^7$
β-Λακταμάση	Βενζυλοπενικιλίνη	$2,0 \times 10^3$	2×10^{-5}	1×10^8

Το μεγαλύτερο μέρος της καταλυτικής ισχύος των ενζύμων πηγάζει από το ότι φέρνουν τα υποστρώματά τους κοντά σε ευνοϊκό προσανατολισμό για να προάγουν το σχηματισμό των μεταβατικών καταστάσεων μέσα σε σύμπλοκα ενζύμου-υποστρώματος (ES)

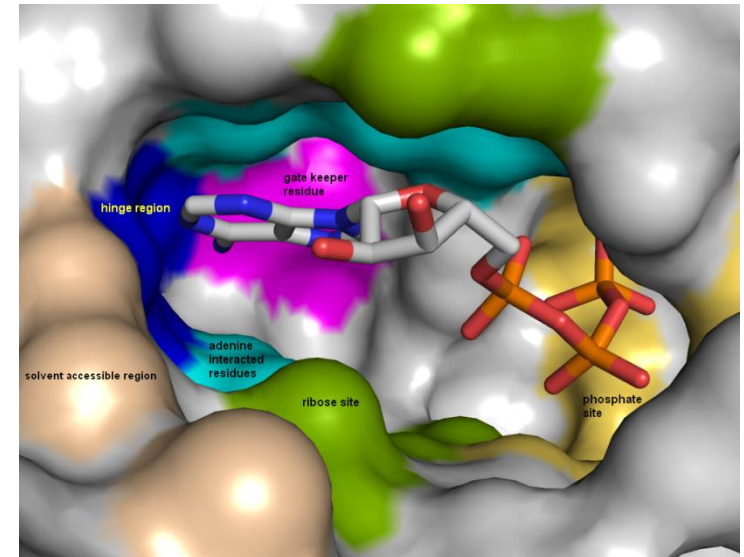
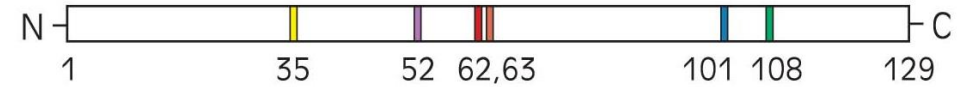
ενεργό κέντρο: μια τριδιάστατη εσοχή που σχηματίζεται από ομάδες που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές μιας γραμμικής αλληλουχίας αμινοξέων



A



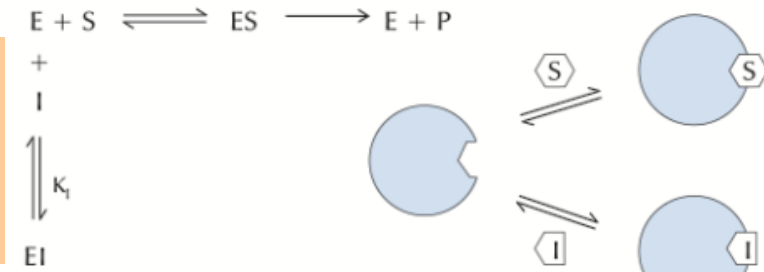
B



γενικότερα Αναστολείς Παρεμποδιστές (με εφαρμογές στα φάρμακα)

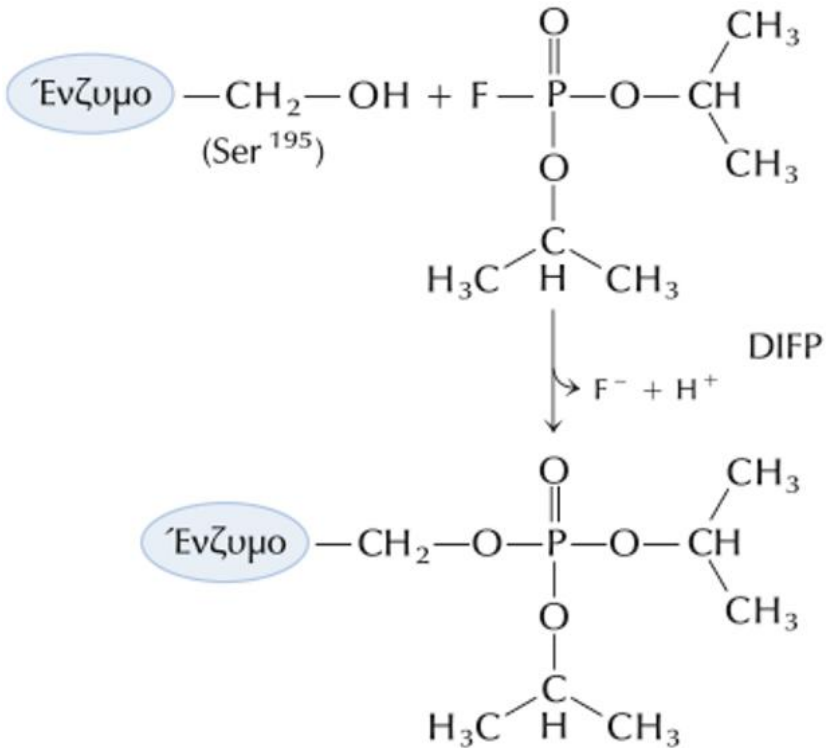
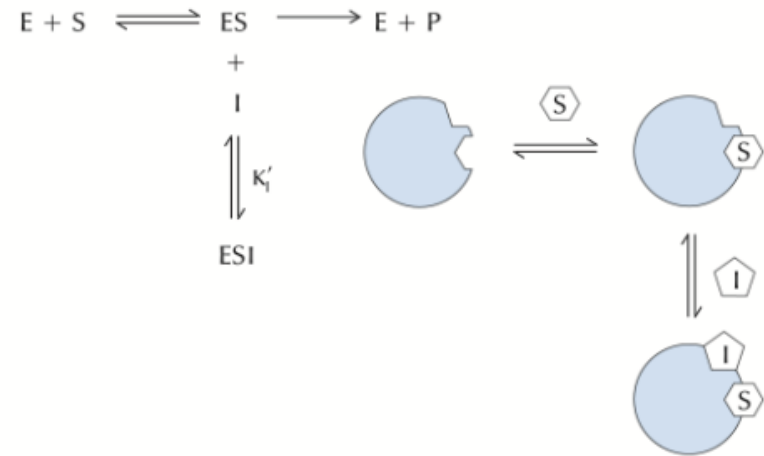
α) Συναγωνιστικός (ανταγωνιστικός παρεμποδιστής) αναστολέας. Μόριο με παρόμοιο σχήμα και χημεία με το υπόστρωμα συναγωνίζεται για το ενεργό κέντρο του ενζύμου & αποτελεσματικά μειώνει την συγκέντρωση των διαθέσιμων ενζύμων. Συνήθως είναι αναστρέψιμο

(α) Συναγωνιστική αναστολή (competitive)



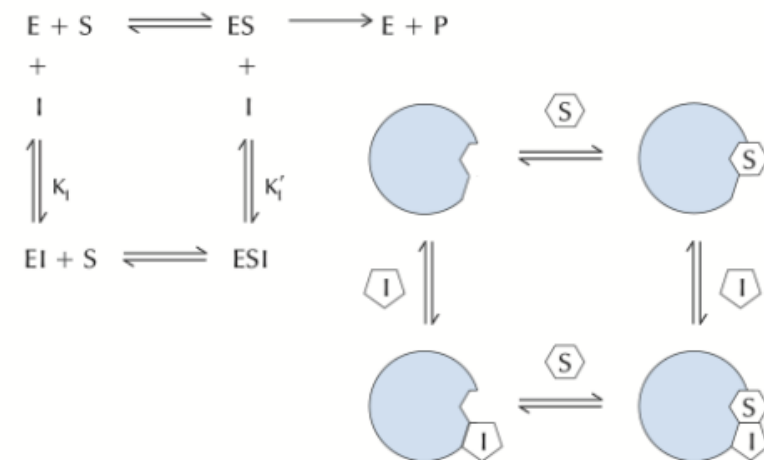
Β) Ασυναγώνιστος αναστολέας ένα μόριο που προσδέεται μόνο παρουσία του υποστρώματος (σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος)

(β) Ασυναγωνιστική αναστολή (uncompetitive)

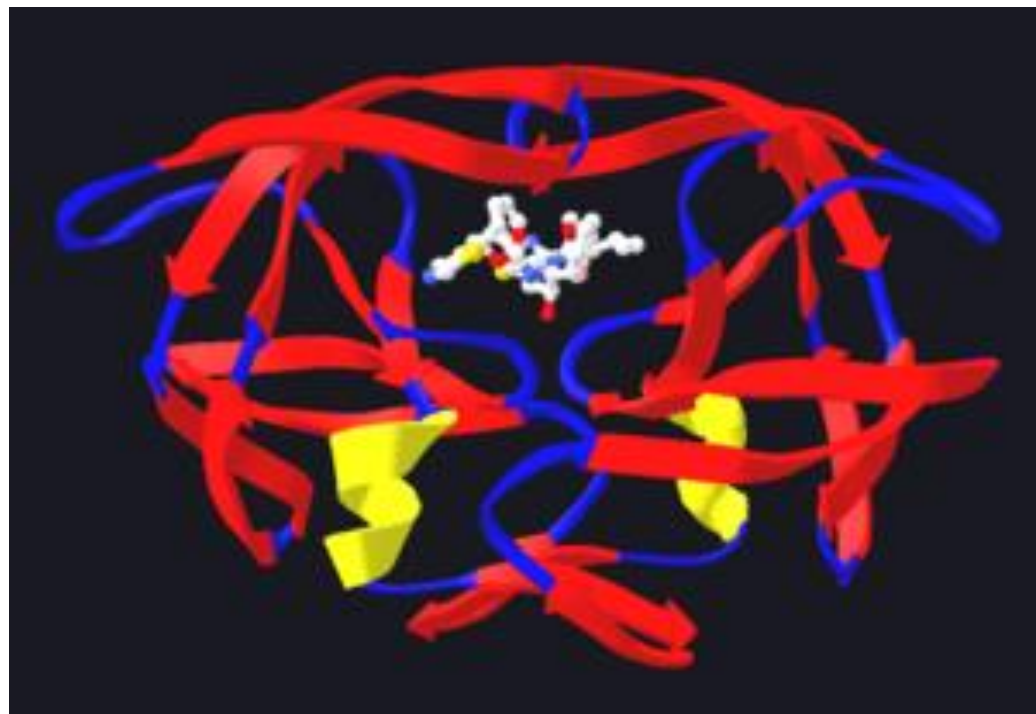


γ) Μικτός/Μη συναγωνιστικός αναστολέας ένα μόριο που εμποδίζει την πρόσδεση του υποστρώματος και προσδέεται ή και όχι στο ίδιο σημείο του ενζύμου με το υπόστρωμα

(γ) Μικτή (mixed) αναστολή

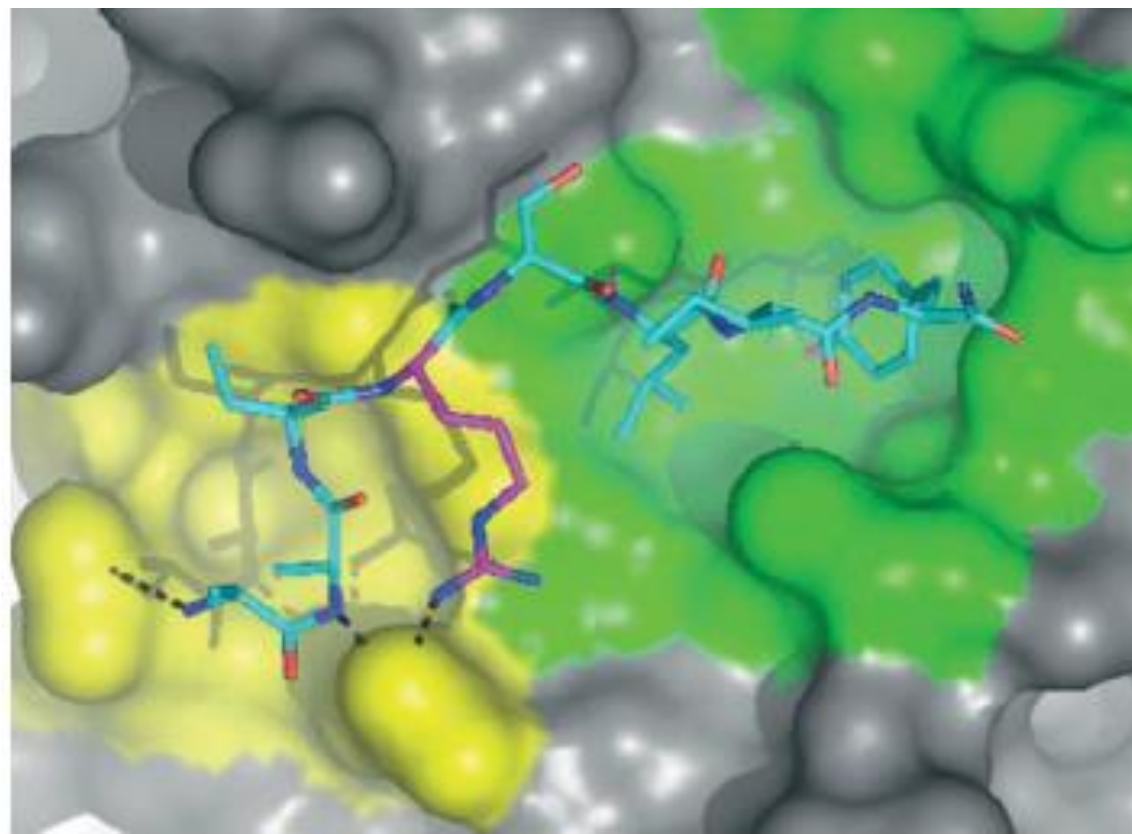


Μη αντιστρεπτοί αναστολείς (irreversible) προσδέονται ομοιοπολικά ή καταστρέφουν μια λειτουργική ομάδα ενός ενζύμου



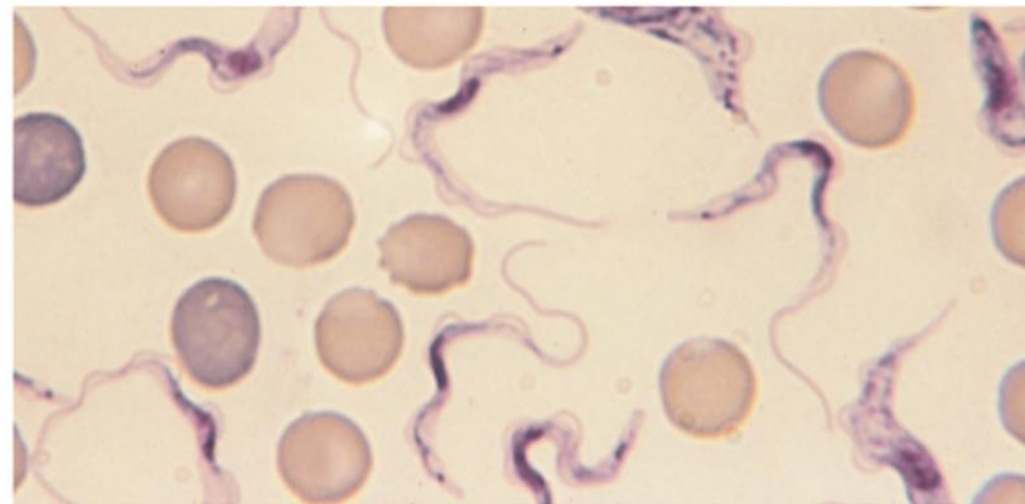
Η HIV πρωτεάση σε ένα σύμπλοκο με τον παρεμποδιστή της [ritonavir](#). Η δομή της πρωτεάσης (κόκκινες, μπλε & κίτρινες) ταινίες, ενώ ο παρεμποδιστής σαν τη μικρότερη δομή στο κέντρο που αποτελείται από μπάλες και μπαστούνια

σχεδιαστικές αρχές εφαρμοσμένες σε παρεμποδιστές της κυκλίνης A2.

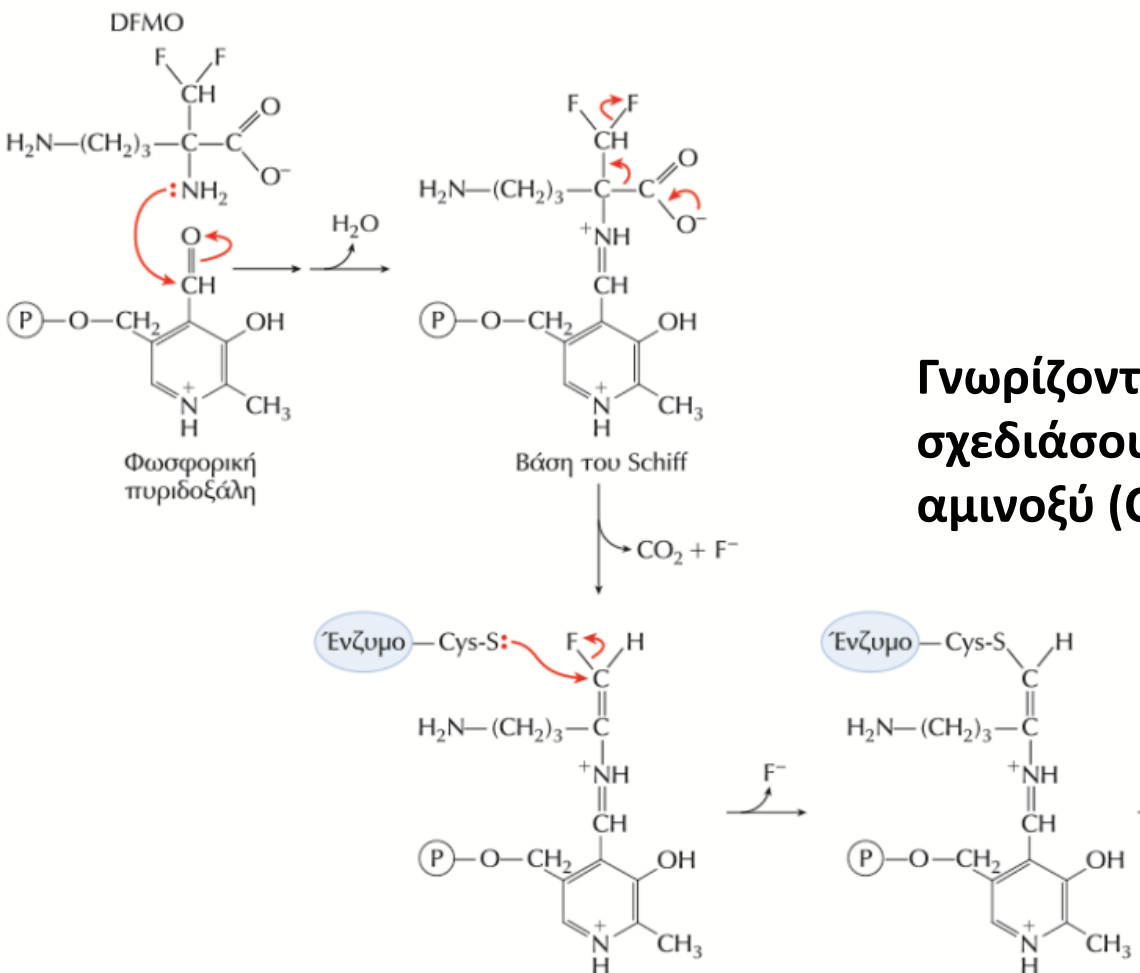


Θεραπεία της αφρικανικής ασθένειας του ύπνου με ένα βιοχημικό Δούρειο ίππο

Τα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα όπως τα τρυπανοσώματα απαιτούν μεγάλες ποσότητες σπερμιδίνης οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη συσκευασία του DNA. Το πρώτο βήμα για τη σύνθεση του καταλύτη από την αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης (AO)



ΕΙΚΟΝΑ 1 *Trypanosoma brucei rhodesiense*, ένα από αρκετά τρυπανοσώματα που προκαλούν Αφρικανική νόσο του ύπνου. Πηγή: John Mansfield, University of



ΕΙΚΟΝΑ 3 Αναστολή της αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης από την DFMO.

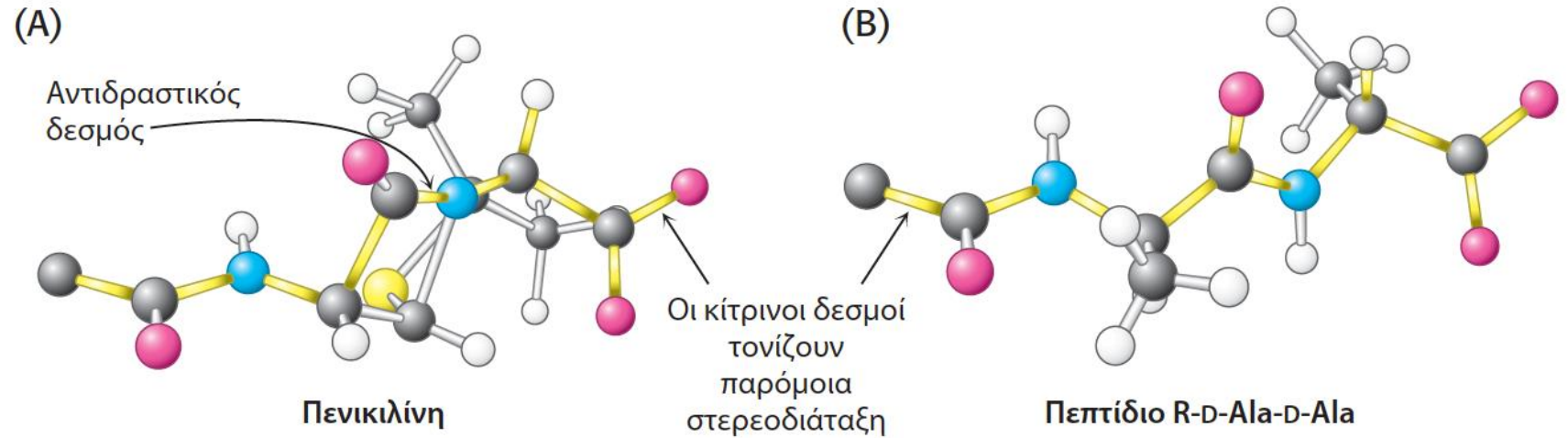
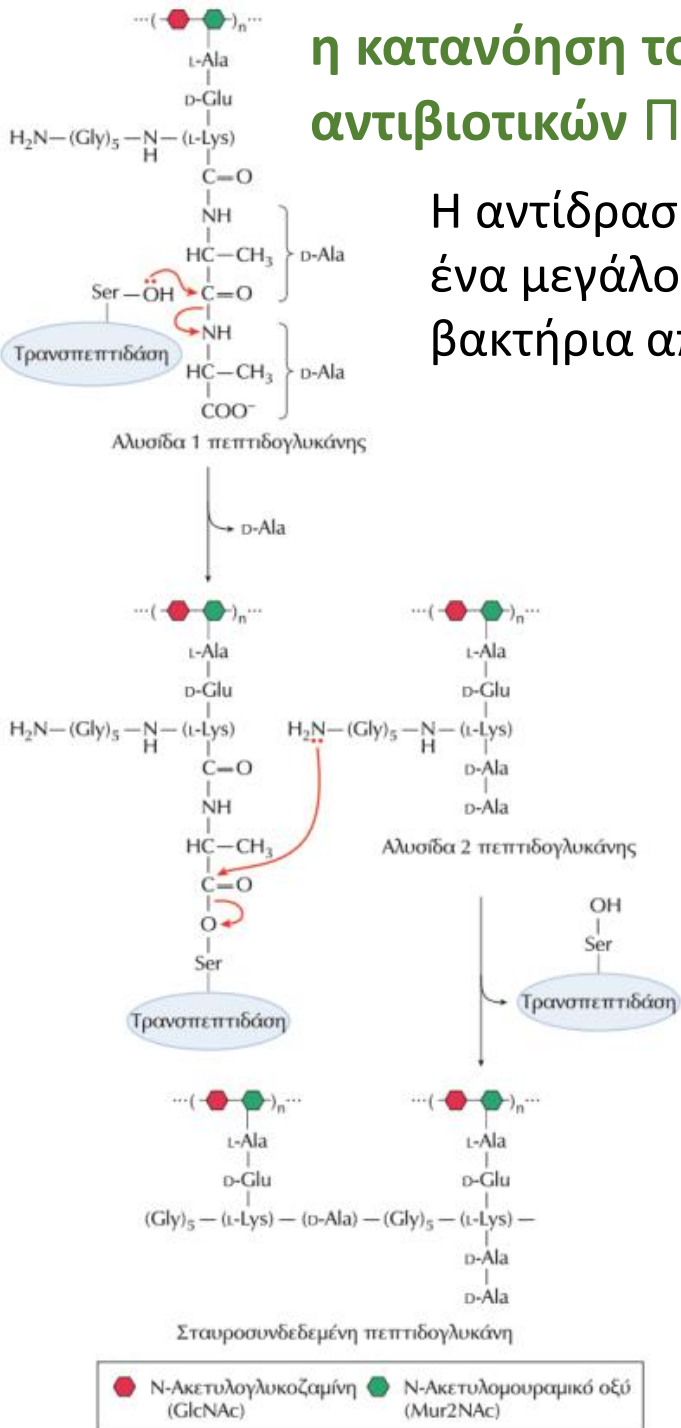
Γνωρίζοντας το μηχανισμό και το ίδιο το ένζυμο μπορούμε να σχεδιάσουμε ένα μόριο που να ενώνεται ομοιοπολικά και να σε αμινοξύ (Cys) της πρωτεΐνης (ένζυμο)

στα θηλαστικά το ένζυμο AO αντικαθίσταται γρήγορα (μικρό χρόνο ημίσειας ζωής) και δεν επηρεάζεται όσο στα παράσιτα το ένζυμο αντικαθίσταται με αργούς ρυθμούς

η κατανόηση του μηχανισμού δράσης των ενζύμων οδηγεί στην παραγωγή χρήσιμων αντιβιοτικών

Παράδειγμα πενικιλίνης

Η αντίδραση της τρανσπεπτιδάσης συνδέει δυο μόρια πεπτιδογλυκάνης για να κατασκευάσει ένα μεγάλο πολυμερές συστατικό του άκαμπτου κυτταρικού τοιχώματος που προστατεύει τα βακτήρια από την ωσμωτική λύση

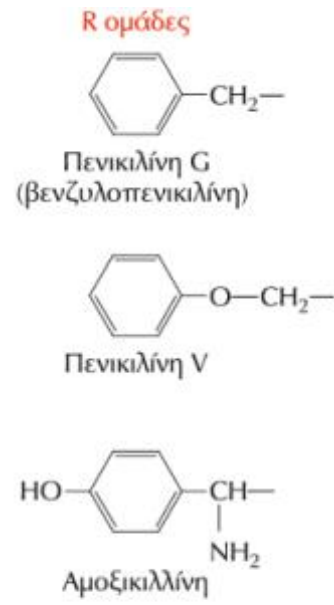
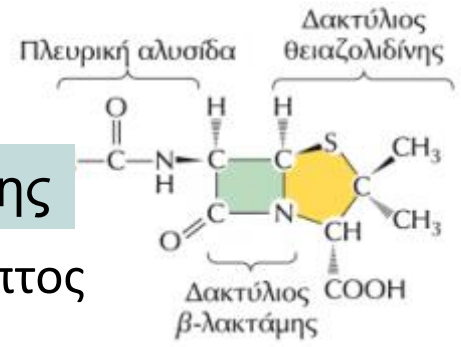


Η παραπάνω αντίδραση αναστέλλεται από την **πενικιλίνη** (και σχετικές ενώσεις) έχουν την ικανότητα πρόσδεσης στο ενεργό κέντρο της τρανσπεπτιδάσης μέσω ενός τμήματος που μιμείται μία διαμόρφωση D-Ala-D-Ala της πεπτιδογλυκάνης

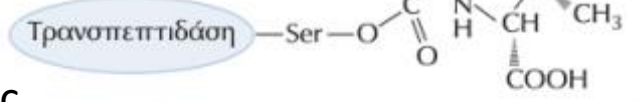
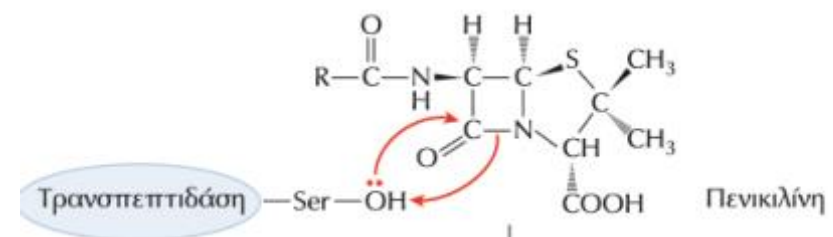
Το πρώτο αντιβιοτικό που ανακαλύφθηκε και αναστέλλει την ανάπτυξη των βακτηρίων αναστέλλοντας την δημιουργία κυτταρικού τοιχώματος

Παράδειγμα πενικιλίνης

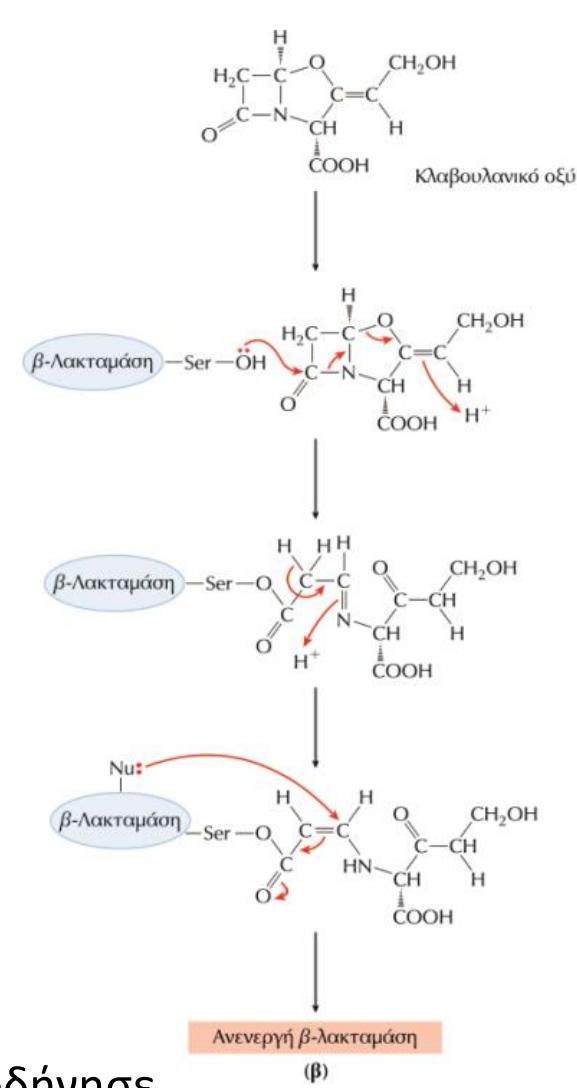
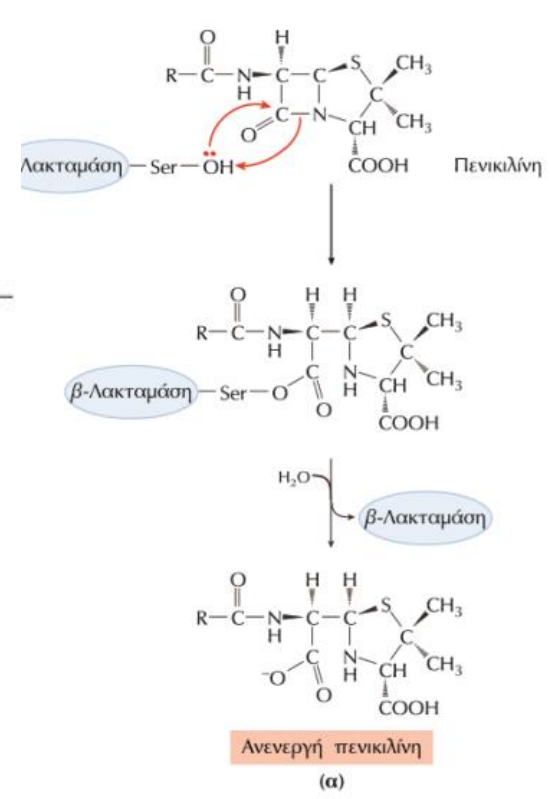
είναι ένας μη αντιστρέπτος αναστολέας της τρανσπεπτιδάσης που ενώνεται ομοιοπολικά στο ενεργό κέντρο της



Γενική δομή πενικιλινών (α)



Σταθερά σχηματισμένο παράγωγο, ανενεργός τρανσπεπτιδάση (β)



Η έντονη χρήση της πενικιλίνης οδήγησε στην εξέλιξη στελεχών παθογόνων βακτηρίων που εκφράζουν β-λακτάμες (αντοχή στα αντιβιοτικά) τα οποία διασπούν τα αντιβιοτικά της β-λακτάμης. Τα γονίδια αυτά έχουν εξαπλωθεί ταχέως τους βακτηριακούς πληθυσμούς κάτω από την επιλεκτική πίεση

η βιοχημεία/ανακάλυψη φαρμάκων έχει απαντήσει με την ανάπτυξη ενός κλαβουλανικού οξέος-απενεργοποιητή αυτοκτονίας το οποίο με την ίδια λογική όπως η πενικιλίνη στρέφεται κατά της β-λακτάμης

Ρύθμιση δράσης ένζυμων

Τί θα συνέβαινε στην περίπτωση που το ένζυμο ερχόταν σε επαφή με το υπόστρωμα χωρίς έλεγχο;

παράδειγμα

Ολική αντίδραση $S \leftrightarrow P$

(ενζυμικά ενδιάμεσα $E + S \leftrightarrow ES \rightarrow E + P$)

Το ένζυμο μόνο επιταχύνει την αντίδραση αρά με ένα K (σταθερά αντίδρασης) = 10

Το S θα καταναλώνονταν πολύ γρήγορα (ένζυμο) μέχρι

$$[P]/[S]=K=10$$

άρα $P = 10$ εάν $S=1$ αντίδρασης.

Οι ανάγκες το οργανισμού για $[P]$ μπορεί να είναι 100 ή άλλη στιγμή 2 πώς αυτό επιτυγχάνεται;

Πρέπει να σταματήσει η αντίδραση !

Πρακτικά αυτό συμβαίνει εάν δεν λειτουργήσει το ένζυμο

Άρα ελέγχοντας την δραστικότητα του ενζύμου οι οργανισμοί μπορούν να ελέγχουν την συγκέντρωση των ουσιών

(όταν οι χημικές αντιδράσεις δεν γίνονται από μόνες τους γρήγορα)

Έλεγχος δραστηριότητας ενζύμων

(διαφορετικοί τρόποι ρύθμισης ανάλογα με την ανάγκη)

Αλλοστερικός έλεγχος - ένωση με μικρά σηματοδοτικά μόρια
Αλλαγές στην **στεreoδιάταξης**: η δραστηριότητα σε μια θέση επηρεάζει την δραστηριότητα σε μια άλλη θέση

Ισοένζυμα - πολλαπλές μορφές ενζύμων- ένωση με μικρά σηματοδοτικά μόρια
Καταλύουν την ίδια αντίδραση διαφέρουν ελαφρώς στην **στεreoδιάταξη** στην k_{cat} και K_m όπως και ιδιότητες ρύθμισης. Βρίσκονται σε ξεχωριστό ιστό ή όργανο ή στάδιο ανάπτυξης

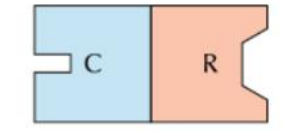
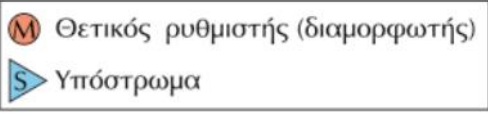
Αντιστρεπτή ομοιοπολική τροποποίηση – πρόσδεση τροποποιητικής ομάδας
Αλλαγές στην **στεreoδιάταξης** που ενεργοποιεί ή αδρανοποιεί το ένζυμο

Πρωτεολυτική ενεργοποίηση – αλλαγή πρωτοταγούς δομής → αλλαγή στην **στεreoδιάταξη** → ενεργοποίηση ενζύμου

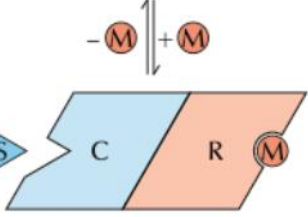
Έλεγχος Ποσότητας Ενζύμου– μείωση ποσότητας ενζύμου → μείωση ή μηδενική παραγωγή προϊόντων

Ρυθμιστικά ένζυμα

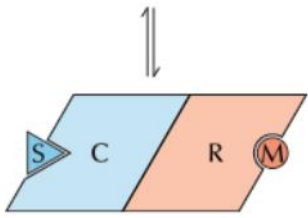
τα ρυθμιστικά ένζυμα **αυξάνει/ελαττώνουν** την καταλυτική την ενεργότητα τους σε απάντηση από συγκεκριμένα σήματα. Τα **αλλοστερικά ένζυμα** δρουν με αντιστρεπτή μη ομοιοπολική πρόσδεση των ρυθμιστικών ενώσεων που καλούνται **αλλοστερικοί ρυθμιστές ή Διαμορφωτές ή αλλοστερικοί τελεστές** κάποια ένζυμα διεγείρονται ή αναστέλλονται με την πρόσδεση σε διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες



Λιγότερο ενεργό ένζυμο



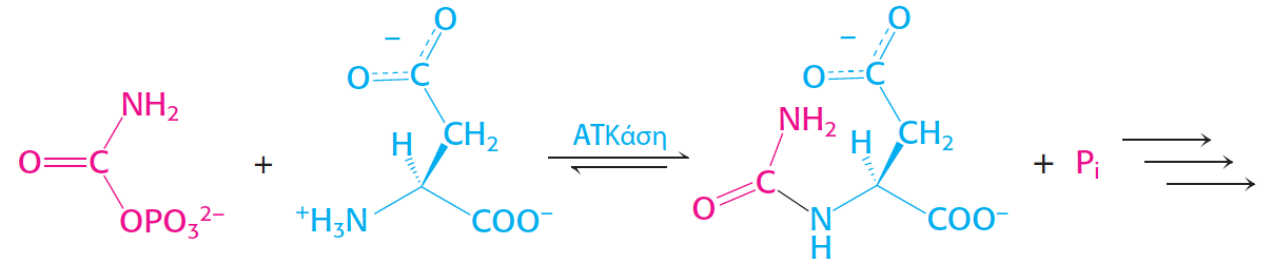
Περισσότερο ενεργό ένζυμο



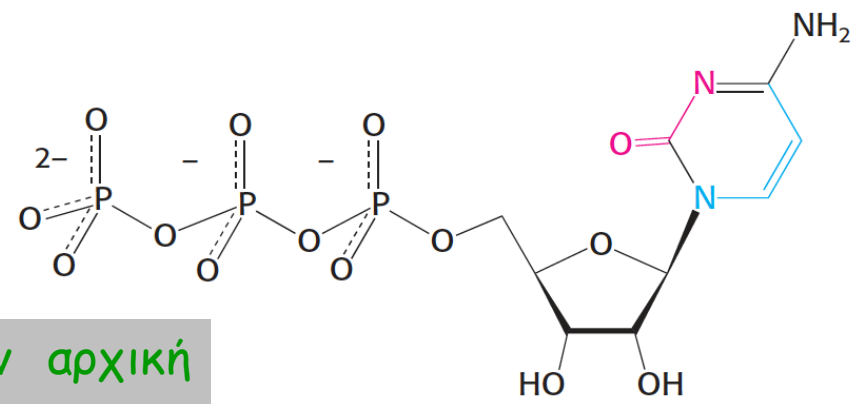
Ενεργό σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος

Ο **ρυθμιστής** ενώνεται στην **ρυθμιστική** της πρωτεΐνης & το **υπόστρωμα** στην **καταλυτική υπομονάδα**

Παράδειγμα ασπαραγινικής τρασκαρβαμοϋλάσης (ΑΒΛ)



Καρβαμοϋλο-φωσφορικό + Ασπαραγινικό $\xrightarrow{\text{ATKάση}}$ N-Καρβαμοϋλοασπαραγινικό + P_i



Τριφωσφορική κυτιδίνη (CTP)

Όχι μόνο ελέγχεται η δραστηριότητα του ενζύμου αλλά ανάλογα το μόριο αναστολέα ελέγχονται 2, 3...5 συνεχόμενες αντιδράσεις

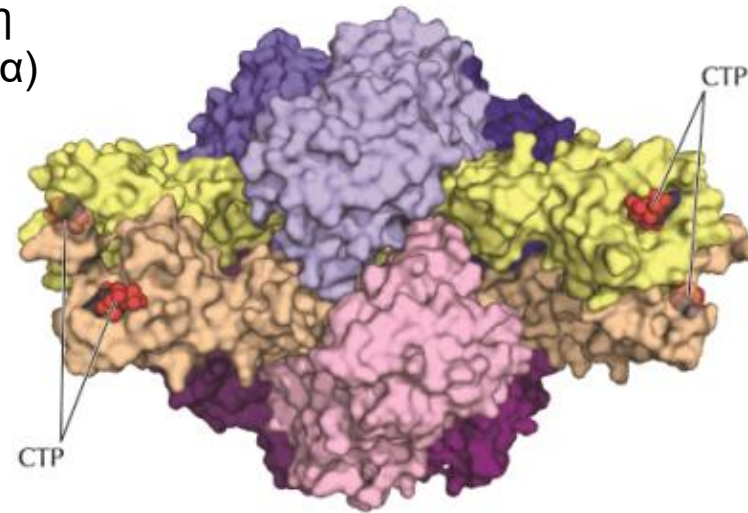
Το τελικό προϊόν (CTP) της μεταβολικής πορείας (5 βήματα από την αρχική αντίδραση) αναστέλλει την αρχική αντίδραση βήμα 5 αναστέλλει βήμα 1

Το ένζυμο (ABΛ) αποτελείται από υπομονάδες **καταλυτικές** και **ρυθμιστικές** 2 **καταλυτικά** **τριμερή**

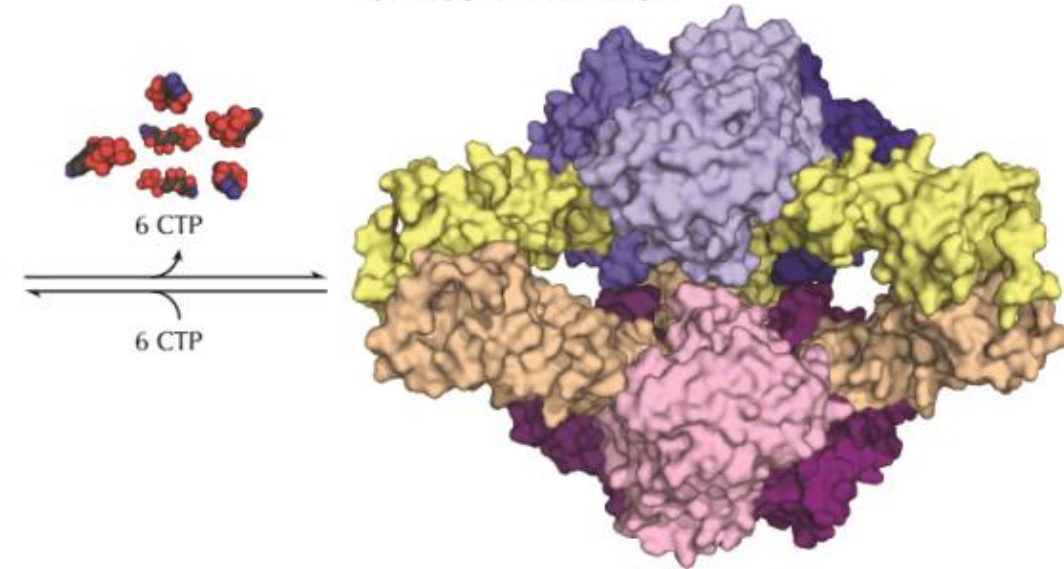
απουσία υποστρώματος όλα τα μόρια του ενζύμου βρίσκονται στην κατάσταση T.
Τα περισσότερα αλλοστερικά ένζυμα σχέση $L = T / R$ παίρνει τιμές 10^2 έως 10^3

Το ένζυμο είναι σε μια ισορροπία μεταξύ κατάστασης T (tense) και R (relaxed)

(α) Ανενεργός κατάσταση T



(β) Ενεργός κατάσταση R



η μορφή T ελέγχεται με πρόσδεση του **CTP** (προϊόν 5 βήματα αργότερα) μακριά από το ενεργό κέντρο

Το **CTP** ενώνεται 50\AA μακριά από το ενεργό κέντρο και είναι αναστολέας

Αντίστοιχα η μορφή R ελέγχεται με πρόσδεση των **υποστρωμάτων**

Τελικά έχουμε δυο μορφές του ενζύμου σε ισορροπία ανάλογα με τις συνθήκες (απαιτήσεις του κυττάρου του οργανισμού)

Οι κινητικές ιδιότητες των αλλοστερικών ενζύμων αποκλίνουν από τη συμπεριφορά Michael-Mendel

Επειδή το ένζυμο δεν ακολουθεί κινητικά τη σχέση υπερβολής Michael-Mendel αντί για αυτό συχνά το σύμβολο $S_{0,5}$ $K_{0,5}$ χρησιμοποιείται για να παραστεί στη συγκέντρωση του υποστρώματος που την ταχύτητα ίση με $1/2 V_{max}$

στην πρώτη καμπύλη βλέπουμε τις σιγμοειδής καμπύλη ενός ομότροπου ενζύμου παρόμοια με αυτή της αιμοσφαιρίνης

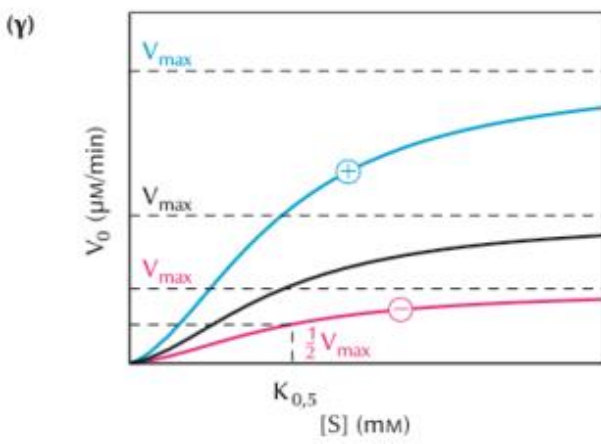
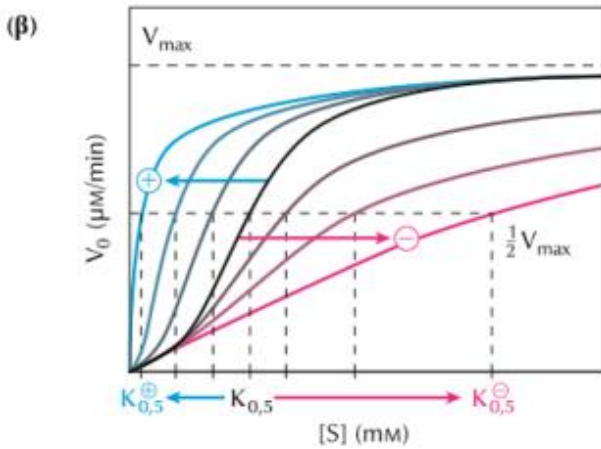
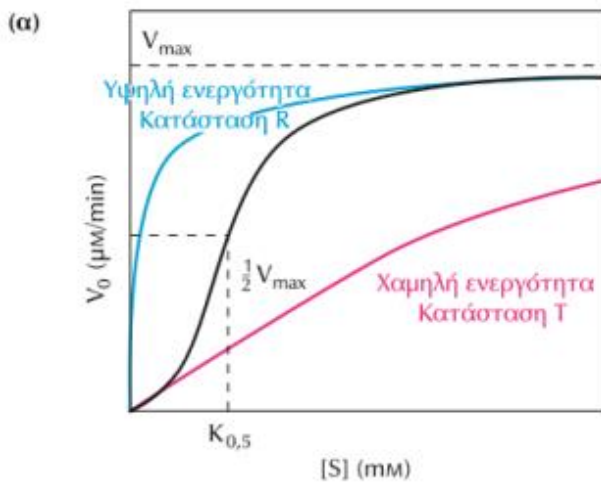
η σιγμοειδής καμπύλη: το ένζυμο ATCάση βρίσκεται κυρίως σε **ανενεργό κατάσταση T** αυτό καθορίζεται από την χαμηλή συγκέντρωση του υποστρώματος ή/και από την υψηλή συγκέντρωση του **αρνητικού ρυθμιστή (αναστολέα)**

οι καμπύλες **T** και **R** έχουν σχεδιαστεί με διαφορετικό χρώμα (**φούξια** και **γαλάζιο** αντίστοιχα) οι καμπύλες αυτές μπορεί να αλλάξουν ανάλογα τη συγκέντρωση ενός θετικού **ATP** ή ενός αρνητικού ρυθμιστή όπως το **ACP**.

Στο ένζυμο η $K_{0,5}$ αλλάζει χωρίς να αλλάξει the V_{max} .

Ο άξονας X περιγράφει ταυτόχρονα την αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσης δυο διαφορετικών συστατικών

ένα σπανιότερος τύπος ρύθμισης στο οποίο V_{max} αλλάζει ενώ η $K_{0,5}$ παραμένει σχεδόν σταθερή



Ομοιοπολική Τροποποίηση Ενζύμων

Η μεγάλη διαφορά με το προηγούμενο όλοι η ποσότητα του τροποποιημένου ένζυμου μένει πλήρως ανενεργό ή ενεργό

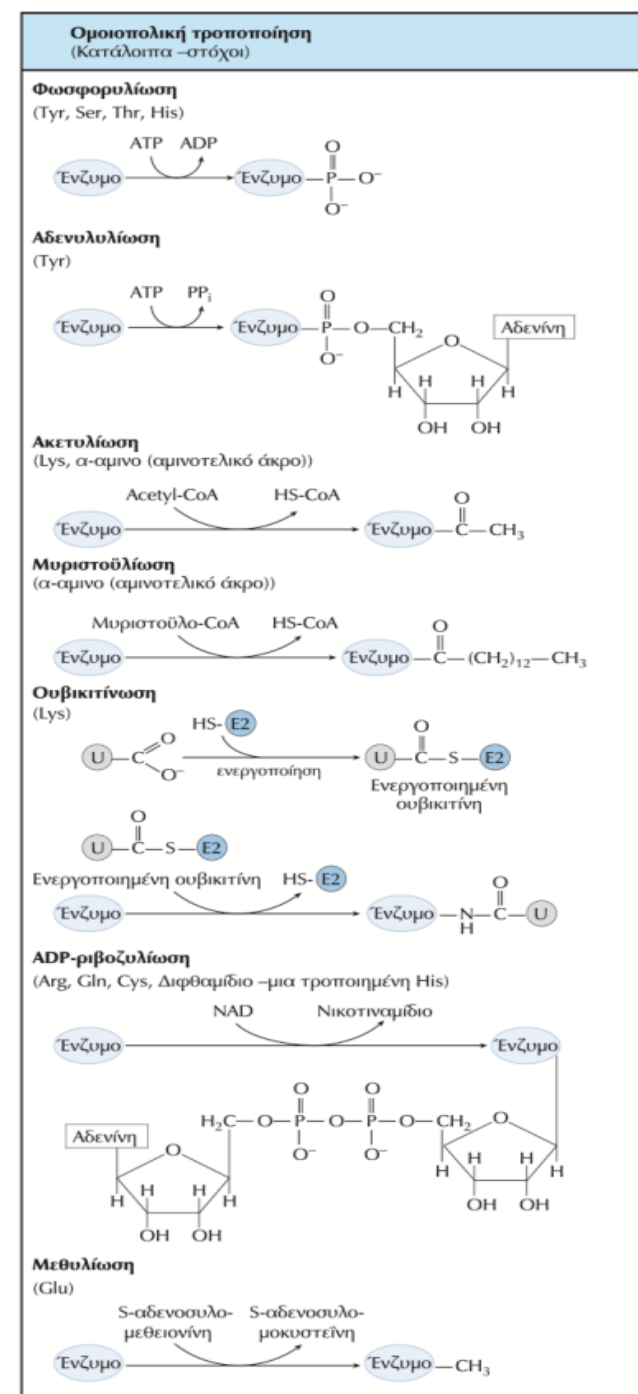
συχνά αυτές οι ομάδες (PO_3 , $\text{CH}_3\text{CO}-$) συνδέονται και αφαιρούνται από με τη δράση ξεχωριστών ενζύμων (*ρυθμιστικά ένζυμα*)

η φωσφορυλίωση είναι το πιο κοινό είδος ρυθμιστικής τροποποιήσεως υπολόγισε το ένα τρίτο όλων των πρωτεϊνών ενός ευκαρυωτικού κυττάρου είναι φωσφορυλιωμένες

η ακετυλίωση είναι μία κοινή τροποποίηση σε περίπου το 80% των διαλυτών πρωτεϊνών στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (κυρίως σε ομάδες $-\text{NH}_2$)

Επίσης ως τροποποιητές χρησιμοποιούνται ολόκληρες πρωτεΐνες SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) συνδέονται και ρυθμίζουν ευκαρυωτικές πυρινικές πρωτεΐνες

μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα τροποποίηση είναι η ADP-ριβοζυλίωση η τοξίνη διφθερίτιδας και της χολέρας είναι ένζυμα που καταλύουν την ADP-ριβοζυλίωσης και απενεργοποίηση κυτταρικών ενζύμων/πρωτεϊνών



Ενεργοποίηση με πρωτεολυτική διάσπαση

Ανενεργό ενζυμο – ζυμογόνο (ή προενζυμο)

Σημαντική διαφορά με τα προηγούμενα
Η ενεργοποίηση συμβαίνει μόνο μια φορά στην ζωή του ενζύμου

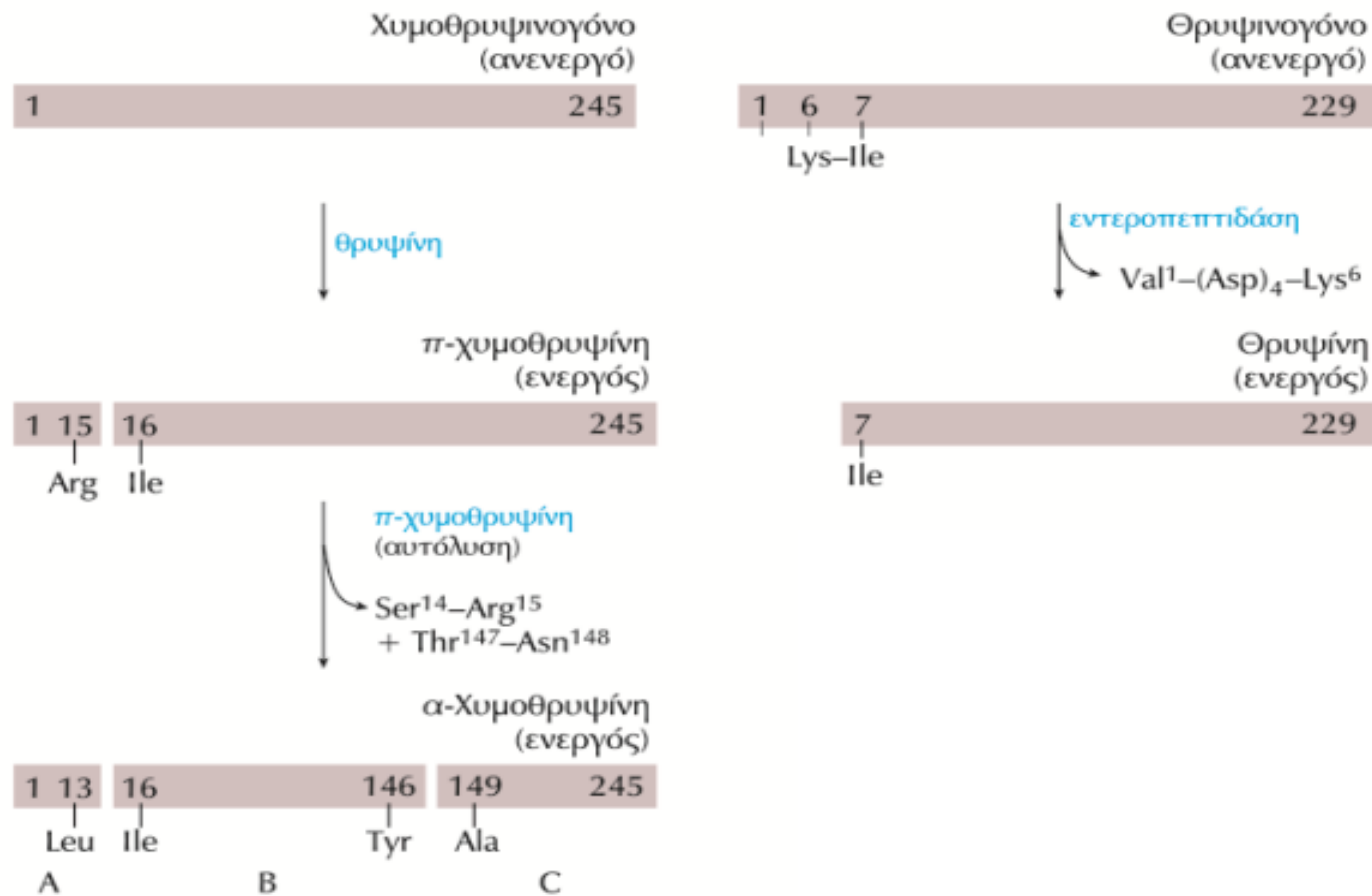
Δεν απαιτείται ATP για να ενεργοποιηθούν

Χαρακτηριστικό αυτών των ενζύμων είναι ότι η αλλαγή συμβαίνει μια φορά στην ζωή του ενζύμου.

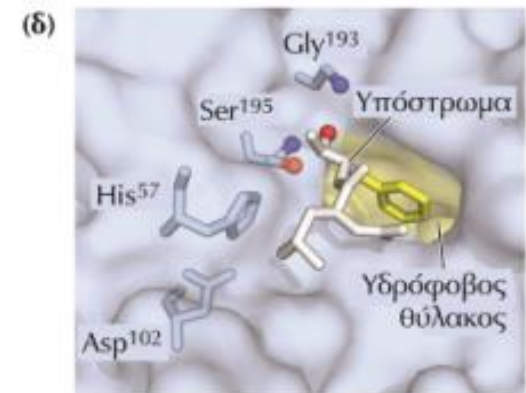
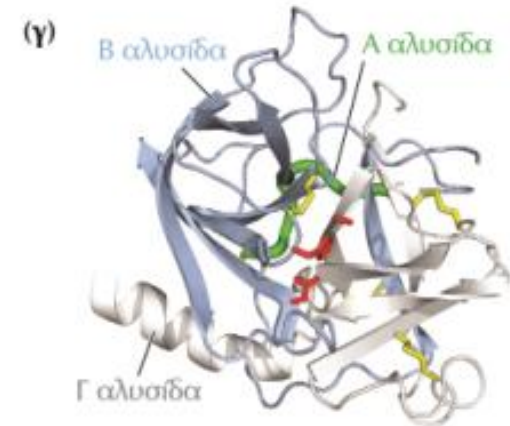
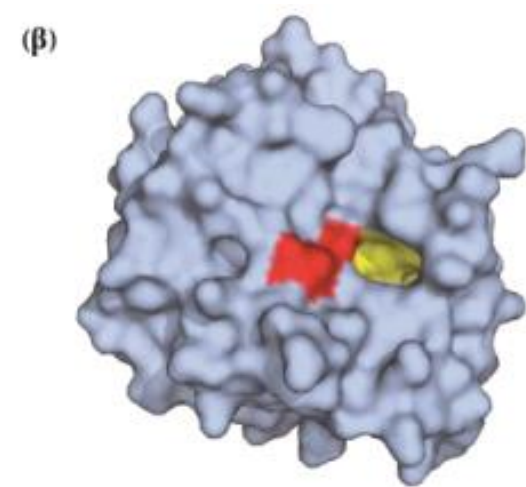
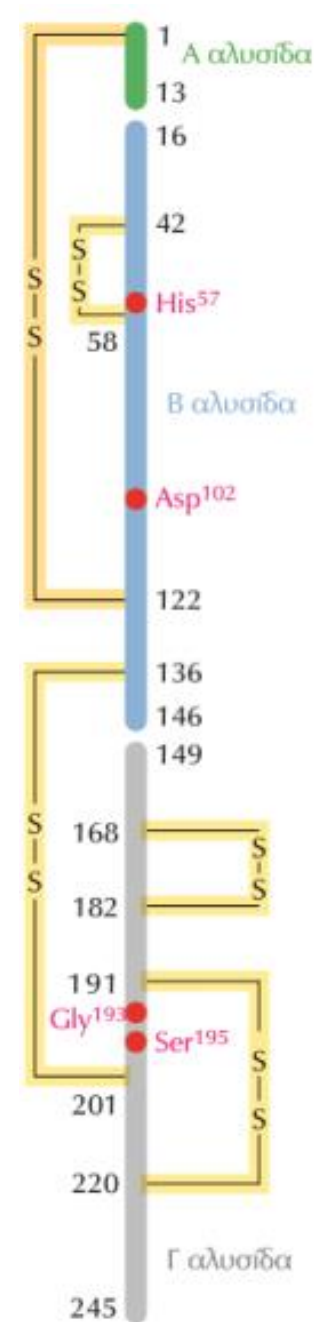
Χαρακτηριστικό όλων των παραπάνω φυσιολογικών διεργασιών είναι συμβαίνουν μια φορά **και δεν είναι αντιστρεπτές!**

Βλέπουμε πως βιοχημικά χαρακτηριστικά αντικατοπτρίζουν και καθορίζουν φυσιολογικά και βιολογικά χαρακτηριστικά

μηχανισμός της χυμοθρυψίνης επιταχύνει την υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών κατά 10^9



πέψη πρωτεϊνών στο δωδεκαδάκτυλο απαιτεί ταυτόχρονη ενεργοποίηση μεγάλης ποσότητας πρωτεολυτικών ένζυμων (λιπάση, διαφορετικές πεπτιδάσες)



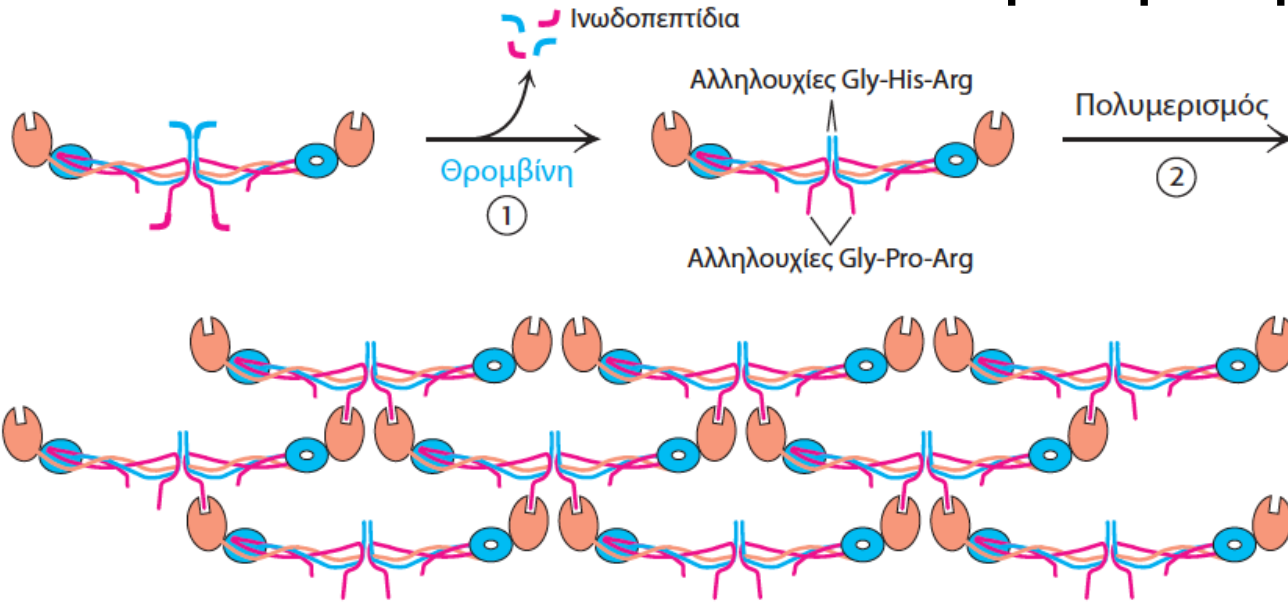
Θρυψίνη ο κοινός ενεργοποιητής αρκετών πρωτεολυτικών ενζύμων

ένας καταρράκτης ζημιογόνων που ενεργοποιούνται με πρωτεόλυση οδηγεί στην πήξη του αίματος

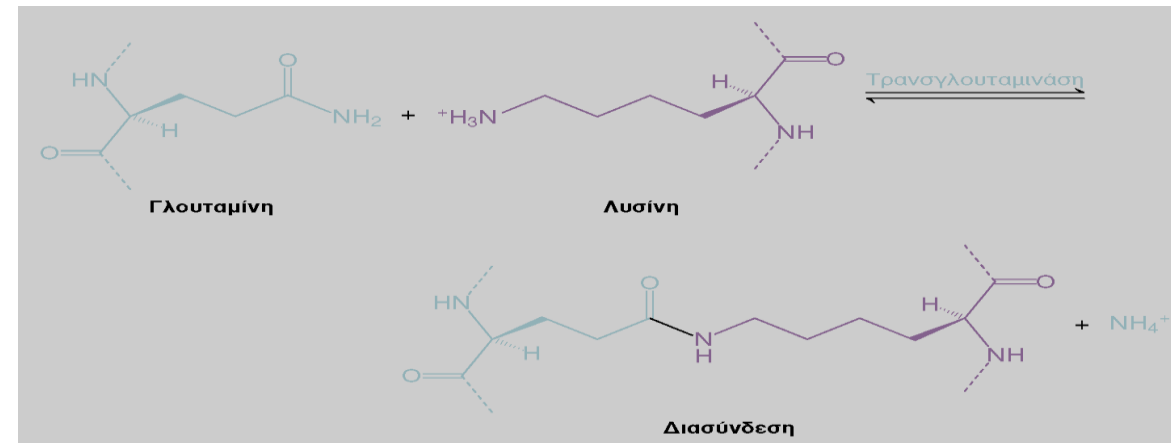
η διαδικασία είναι ένα παράδειγμα ενός **ρυθμιστικού καταρράκτη** μηχανισμού που επιτρέπει μία πολύ ευαίσθητη απόκριση & ενίσχυση ενός μοριακού σήματος (τύπος ρύθμισης βιοχημικών μηχανισμών)

Ενεργοποίηση ενζύμων από ένζυμο: Εάν 1 ένζυμο ενεργοποιεί 10 σε τέσσερα βήματα 10.000 ένζυμα θα ενεργοποιηθούν... θα χρειαζόταν 10.000 ενεργοποιητές στο ίδιο σημείο τώρα έχουμε μόνο ένα ένζυμο **Αποτέλεσμα γρήγορη απόκριση στο τραύμα και 10 σημεία ελέγχου**

Το ινωδογόνο μετατρέπεται σε **θρόμβο** (ένζυμο **θρομβίνη**)



Τελευταίο βήμα οι γειτονικές αλυσίδες ενώνονται ομοιοπολικά με τον παράγοντα XIIIa

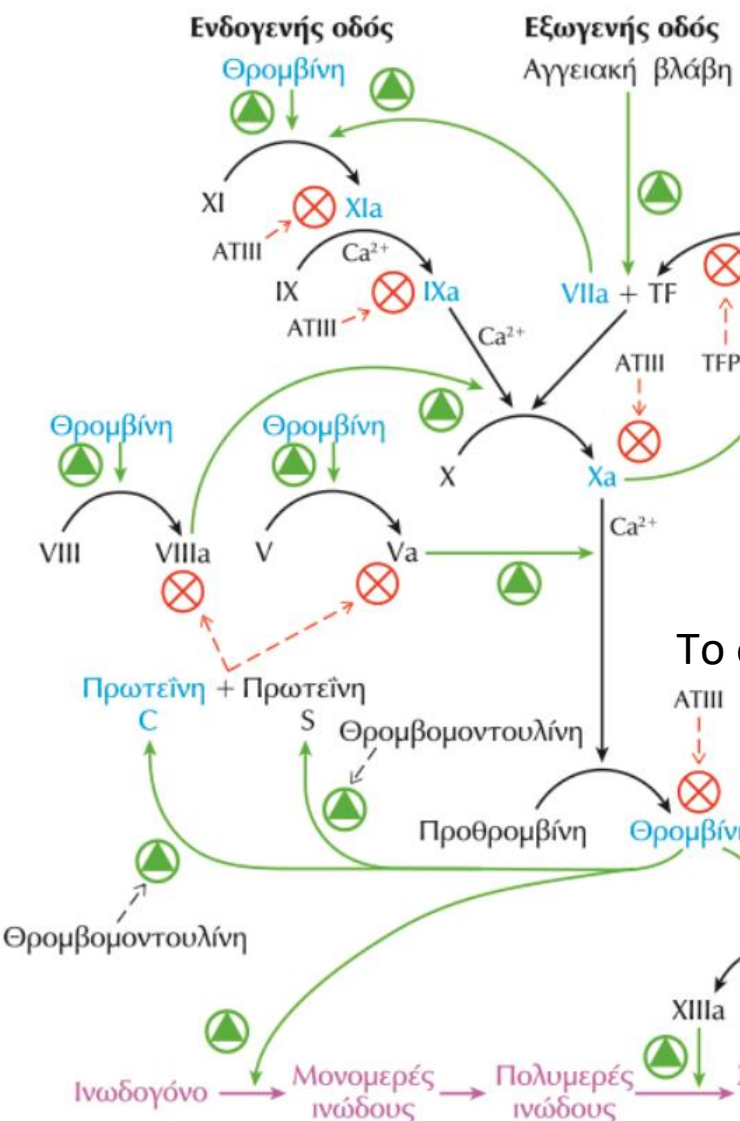


Ο θρόμβος αποτελείται από συσσωματώματα **αιμοπεταλίων** που συνδέονται με σταυροσυνδεδεμένο **ινώδες** τα οποία θα σχηματιστούν από το αρχικό ινωδογόνο του πλάσματος που αποτελείται από δυο **α, β και γ** υπομονάδες

Η ενεργοποίηση του καταρράκτη ενζύμων

Ενδογενής (ενδοθηλιακή στιβάδα) ή εξωγενής (τραυματισμένος ιστός)

ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων αρχίζει την αλληλεπίδραση τους με το κολλαγόνο και οδηγεί στην εμφάνιση σηματοδοτικών μορίων όπως οι θρομβοξάνες



Ιστική βλάβη εκθέτει το πλάσμα του αίματος στον **TF** (ιστικό παράγοντα) δημιουργώντας σύμπλοκο έναρξης μεταξύ TF και παράγοντα **VIIa** (πάντα παρών σε ελάχιστες ποσότητες) οδηγούν στην ενεργοποίηση του παράγοντα **X** σε **Xa** διασπώντας την προθρομβίνη σχηματίζοντας θρομβίνη η οποία στη συνέχεια διασπά το ινωδογόνο και σχηματίζει το θρόμβο.

Το σύμπλοκο VIIa-TF απενεργοποιείται ταχέως από την πρωτεΐνη αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (**TFPI**) μετά από αυτό ο σχηματισμός του Xa διατηρείται μέσω της ενεργοποίησης στην συστατικών της ενδογενούς οδού από τον παράγοντα **IX** που μετατρέπεται σε παράγοντα **Ixa** και της Θρομβίνης

Οι ηπαρίνες (θεικοι πολυσακχαρίτες) λειτουργούν ως αντιπηκτικά αυξάνοντας τη συνέχεια της συγγένεια του παράγοντα ATIII για τον παράγοντα Xa. Τέλος η ασπιρίνη είναι αποτελεσματική ως αντιπηκτικό αναστέλλει το ένζυμο κυκλοοξονάση η οποία απαιτείται για την παραγωγή των θρομβοξάνων

Η πορεία της πήξης πρέπει να ρυθμίζεται επακριβώς

Μεταξύ αιμορραγίας και θρόμβωσης υπάρχει μικρή απόσταση

Ο σχηματισμός θρόμβου πρέπει να περιοριστεί μόνο στο σημείο του τραύματος

Οι παράγοντες πήξης έχουν μικρή διάρκεια ζωής και αραιώνονται από το αίμα

οι παράγοντες Va και VIIIa πέπτονται από την πρωτεΐνη C η οποία ενεργοποιείται από την δράση της **θρομβίνης**

Η θρομβίνη έτσι έχει διπλή λειτουργία

Η θρομβίνη ενεργοποιεί τον σχηματισμό του ινώδους και συγχρόνως δίνει το έναυσμα για απενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης

Πολύ συχνά μια πορεία ξεκινά συγχρόνως και την αντίθετη πορεία που αποκαθιστά την αρχική κατάσταση.

Τελικό στάδιο έλεγχος και ενεργοποίηση της προθρομβίνης

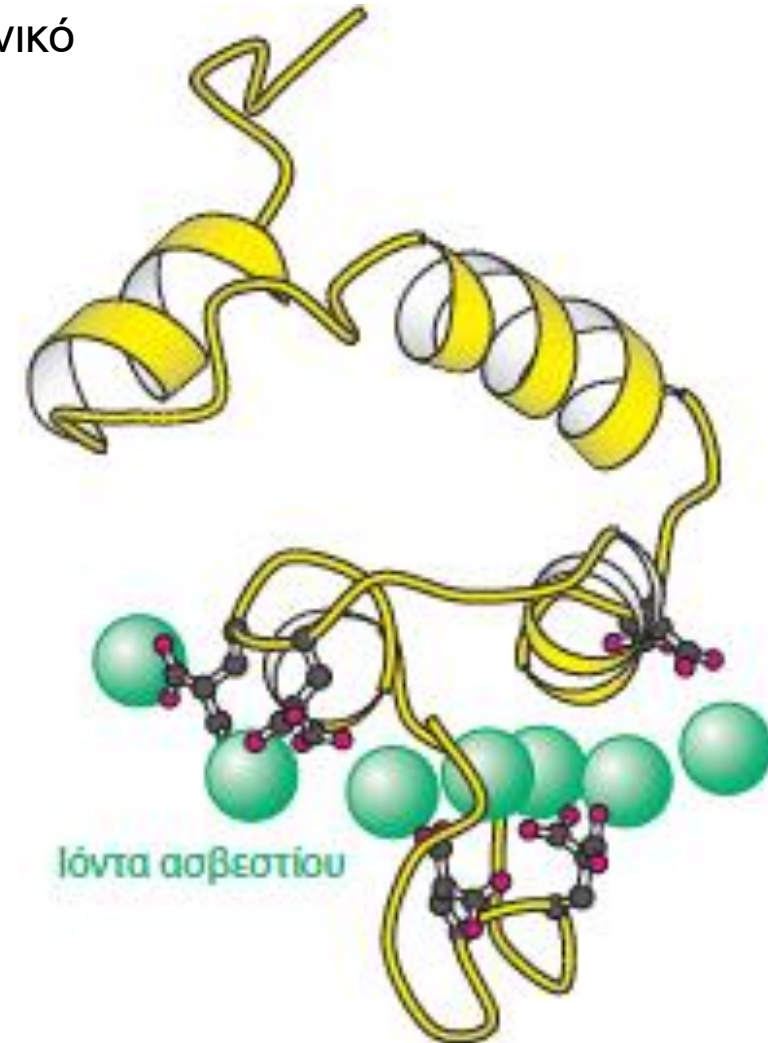
Η πρωτεΐνη αποτελείται από τέσσερις δομικές περιοχές με την περιοχή *gla* πλούσια σε **γ-καρβόξυγλουταμινικό** ιδιαίτερης σημασίας

Η μη φυσιολογική **προθρομβίνη** (Πθρ) έχει τα ίδια αμινοξέα με την φυσιολογική (ανάλυση αμινοξέων δεν δείχνει διαφορές)

Η φυσιολογική έχει καρβοξυγλουταμινικού (κργλ) αντί για γλουταμινικό

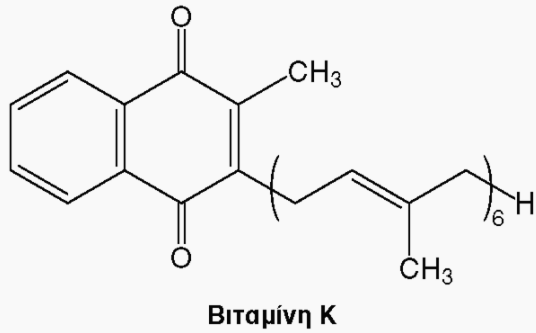
Για την σύνθεση καρβοξυγλουταμινικού χρειάζεται **βιταμίνη Κ**

Το **κργλ προσδένει Ca^{2+}** τα οποία ακινητοποιούν την Πθρ στα Φωσφολιπίδια από τις μεμβράνες των αιμοπεταλίων και έτσι βρίσκεται κοντά στις δυο πρωτεΐνες της πήξης (που την μετατρέπουν σε θρομβίνη)



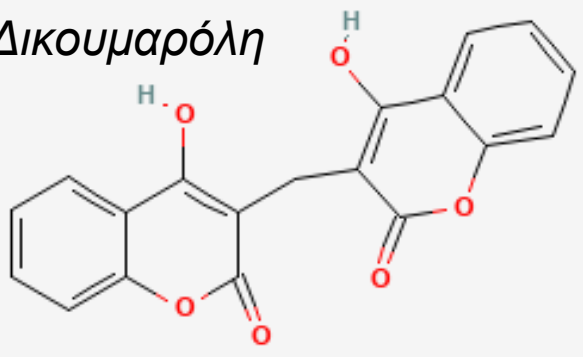
Έλεγχος της Πήξης του αίματος

Η βιταμίνη K λαμβάνει μέρος στο τελευταίο στάδιο σχηματισμού της **προθρομβίνης**



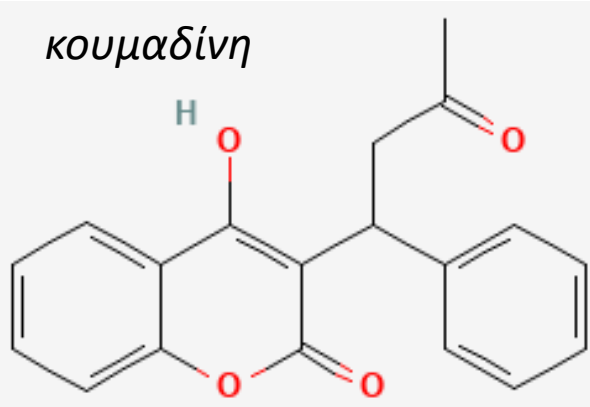
Δικουμαρόλη μιμείται την δομή της βιταμίνης K παράγεται από μύκητα που μεγαλώνει στο τριφύλλι

Δικουμαρόλη



θανατηφόρος αιμορραγική ασθένεια στα βοοειδή (αλλά και κλινικά ως αντιπηκτικό)

κουμαδίνη



Η δικουμαρόλη και η βαρφαρίνη (κουμαδίνη) σχηματίζει μη φυσιολογική ΠΘρ βοήθησαν στην μελέτη του μηχανισμού πήξης