



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
UNIVERSITY OF CRETE

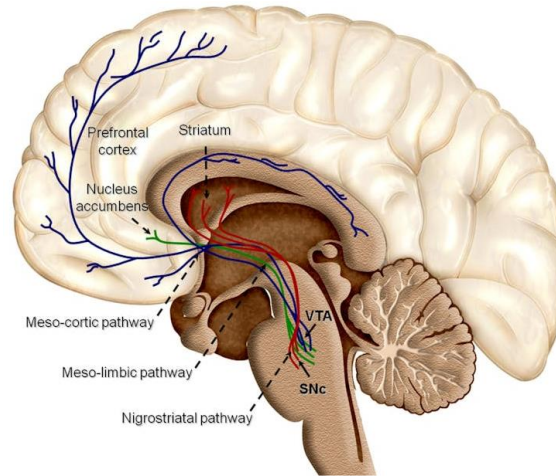
Εύρεση και μελέτη μεταβολικού μονοπατιού ντοπαμίνης

Πρωτεϊνική Μηχανική-1^ο Σεμινάριο
20.03.2026

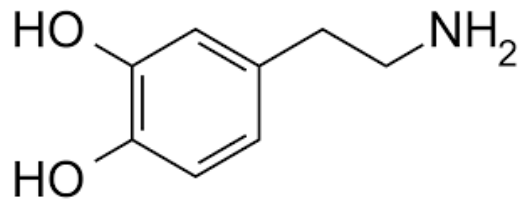
Διβάρης Παναγιώτης (Α.Μ. 1281)
Μανασσάκη Ελένη (Α.Μ. 1301)
Πατούνη Τατιάνα (Α.Μ. 1295)

Ντοπαμίνη

- Νευροδιαβιβαστής που συντίθεται στο κεντρικό και περιφερειακό νευρικό σύστημα
- Συντίθεται από την Τυροσίνη



- Η ντοπαμινεργική δυσλειτουργία εμπλέκεται σε πολλές διαταραχές (σχιζοφρένεια, διαταραχές διάθεσης, OCD, ADHD, σύνδρομο Τουρέτ, Πάρκινσον, Χάντινγκτον, εξαρτήσεις)



- Κεντρικό ρόλο στη διάθεση, στον ύπνο, στην προσοχή, στη μάθηση, στη συμπεριφορά, στον έλεγχο ναυτίας και εμετού και στην επεξεργασία του πόνου
- Έλεγχος κίνησης, συναισθημάτων και γνωστικής λειτουργίας



Εφαρμογές Ντοπαμίνης

Κλινικά

- Χορήγηση ως αγγειοσυσταλτικό και ινότροπο φάρμακο
- Αντιμετώπιση υπότασης, καριογενούς σοκ, καρδιακής ανεπάρκειας

Ερευνητικά

- Αποσαφήνιση της λειτουργίας του νευρικού συστήματος
- Κατανόηση νευρολογικών δυσλειτουργιών
- Σχεδιασμός φαρμάκων
- Συσχέτιση με αντικαρκινική θεραπεία

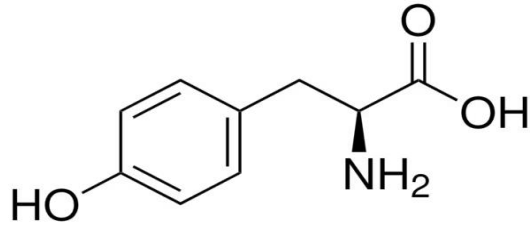
Βιοαισθητήρες

- Υψηλή ευαισθησία και χαμηλό κόστος
- Βιοδείκτες σε νευρολογικές και ψυχιατρικές ασθένειες

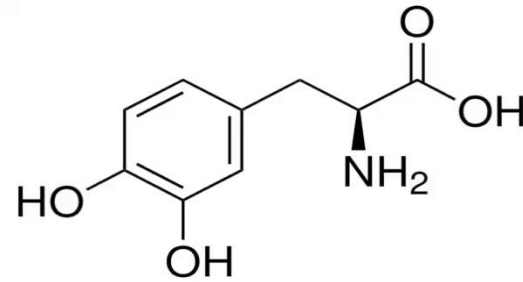
Νανοτεχνολογία

- Επικάλυψη επιφανειών με τροποποιήσεις χημικά
- Βιοϊατρικά υλικά με αντιβακτηριακή δράση
- Συστήματα χορήγησης φαρμάκων
- Νανοσωματίδια PDA για κατάλυση

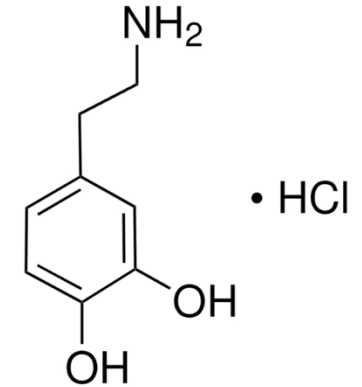
Ανάγκη σύνθεσης



L-Tyrosine
CAS: 60-18-4
Sigma
25 g
64.80 €

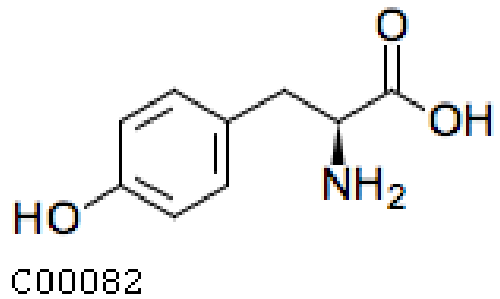


3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine
CAS: 59-92-7
Sigma
25 g
335 €

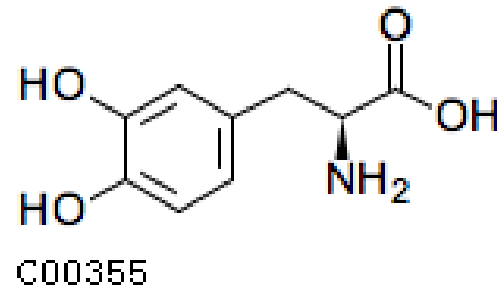
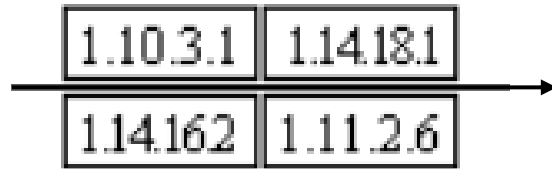


Dopamine hydrochloride
CAS: 62-31-7
Sigma
25 g
154 €

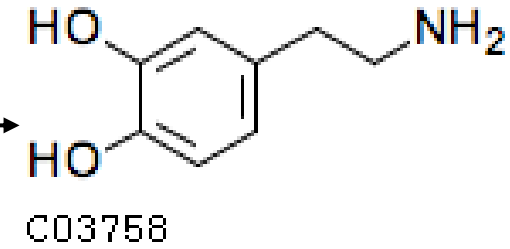
Tyrosine metabolism



L-Tyrosine



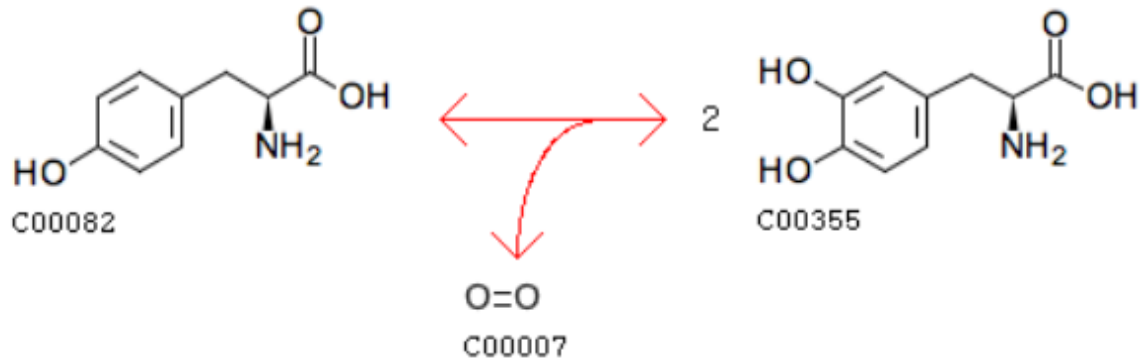
L-DOPA



Dopamine



Polyphenol Oxidase [EC:[1.10.3.1](#)]



1. -Οξειδοαναγωγάσες

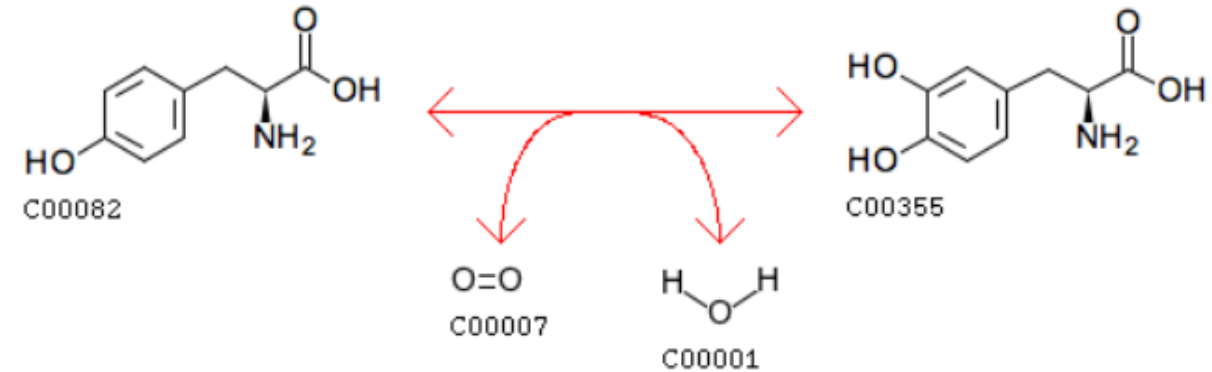
1.10 -Δράση στις διφαινόλες και συσχετιζόμενες ουσίες ως δότες

1.10.3 -Με οξυγόνο ως δέκτης

1.10.3.1 -Οξειδάση πολυφαινόλης

- **Συμπαράγοντες:** Cu²⁺
- Δέσμευση 2 ιόντων χαλκού ανά υπομονάδα
- Type III copper protein

Tyrosinase [EC:[1.14.18.1](#)]



1. - Οξειδοαναγωγάσες

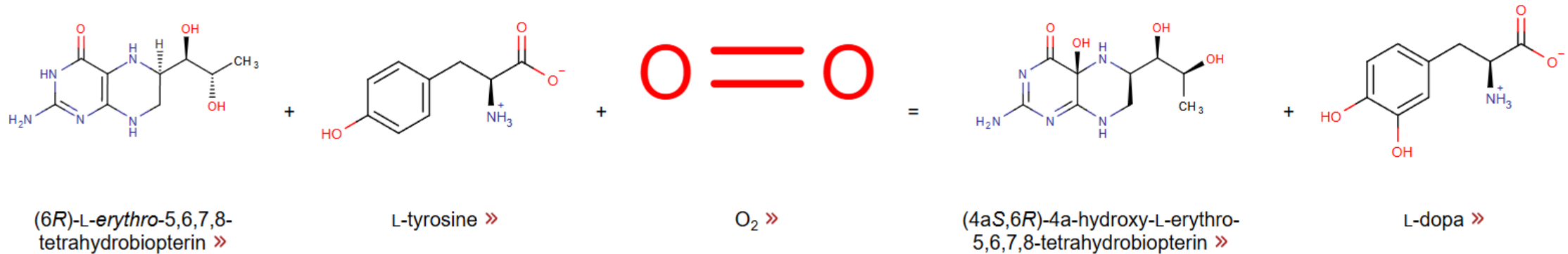
1.14 -Δράση σε ζεύγη δοτών, με ενσωμάτωση ή αναγωγή μοριακού οξυγόνου

1.14.18 -Με μια άλλη ένωση ως έναν δότη και την ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου στον άλλο δότη

1.14.18.1 -Τυροσινάση

- **Συμπαράγοντες:** Cu²⁺
- Δέσμευση 2 ιόντων χαλκού ανά υπομονάδα
- Type III copper protein
- Ενεργοποίηση με δέσμευση μοριακού O₂

Tyrosine 3-monooxygenase [EC:1.14.16.2]



1. -Οξειδωαναγωγάσες

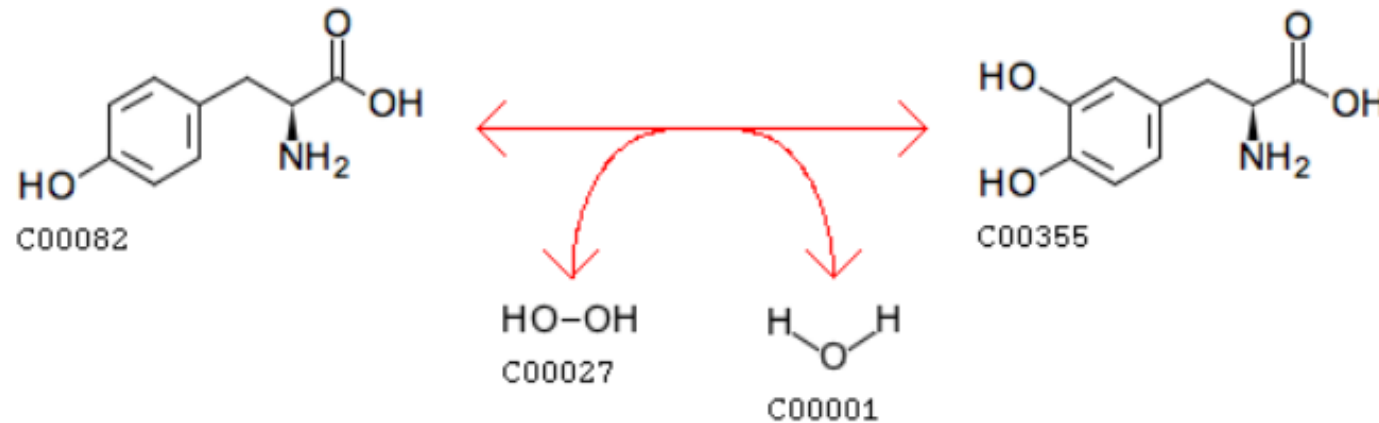
1.14 - Δράση σε ζεύγη δοτών, με ενσωμάτωση ή αναγωγή μοριακού οξυγόνου

1.14.16 - Με την ανηγμένη πτεριδίνη ως έναν δότη και την ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου στον άλλο δότη

1.14.16.2 -3-Μονοοξυγενάση της τυροσίνης

- **Συμπαράγοντες:** Fe²⁺ στο ενεργό κέντρο
- Τετραϋδροβιοπτερίνη (BH₄)
- Ενεργοποίηση με φωσφορυλίωση

L-tyrosine peroxygenase [EC:1.11.2.6]



1. - Οξειδοαναγωγές

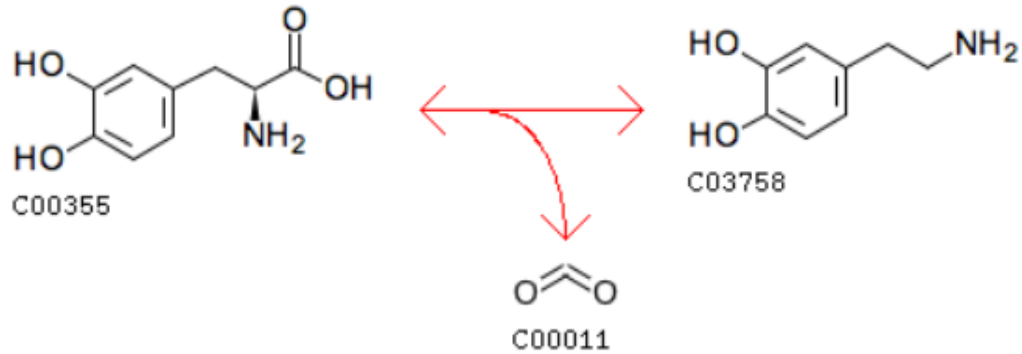
1.11 - Δράση σε υπεροξείδιο ως δέκτης

1.11.2 - Περοξυγενάσες

1.11.2.6 - Περοξυγενάση της L-τυροσίνης

- **Συμπαράγοντες:** Αιμοσφαιρίνη β
- Απενεργοποίηση παρουσία H_2O_2
- Παρουσία L-τυροσίνης δεν απενεργοποιείται

Tyrosine decarboxylase [EC:4.1.1.25]



4. -Λυάσες

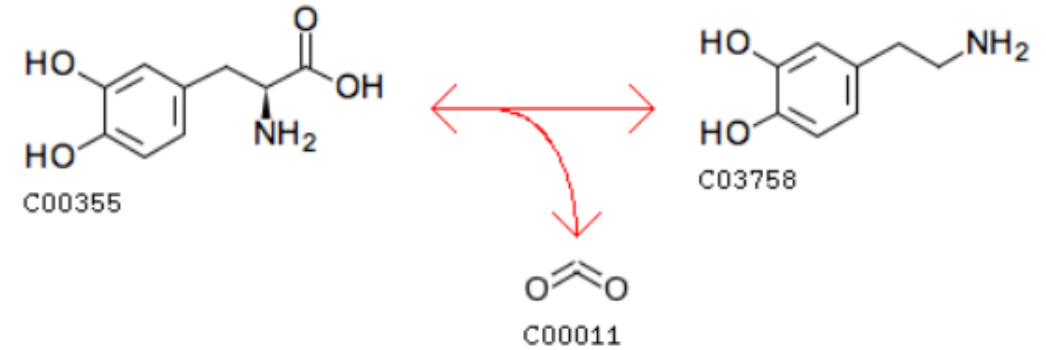
4.1 -Άνθρακα-άνθρακα λυάσες

4.1.1 -Καρβόξυ-λυάσες

4.1.1.25 -Αποκαρβοξυλάση της τυρόσίνης

- **Συμπαράγοντες:** Φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)

Aromatic-L-amino-acid decarboxylase [EC:4.1.1.28]



4. - Λυάσες

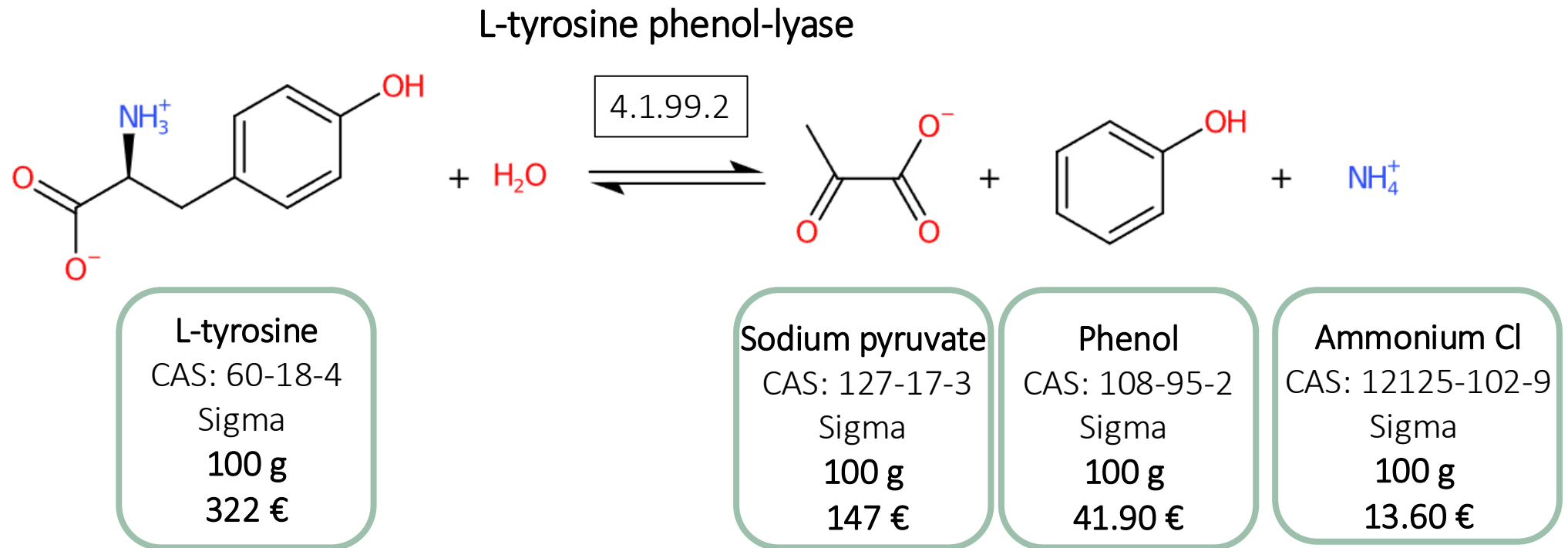
4.1 -Άνθρακα-άνθρακα λυάσες

4.1.1 -Καρβόξυ-λυάσες

4.1.1.28 -Αποκαρβοξυλάση αρωματικών L-αμινοξέων

- **Συμπαράγοντες:** Φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)
- Δρα και σε αρωματικά L-αμινοξέα (τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη, τυροσίνη)

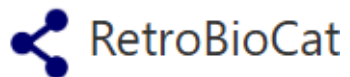
Σύνθεση L-Τυροσίνης



- Συμπαράγοντας: Φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)
- Συνθήκες: pH=8.5, T=40 °C (Συνεχής τροφοδότηση υποστρωμάτων για 22h)
- Απόδοση: 94% (Σε 30h)
- Συγκεντρώσεις: 2.2 M phenol, 2.4 M sodium pyruvate



Εναλλακτικά συνθετικά μονοπάτια

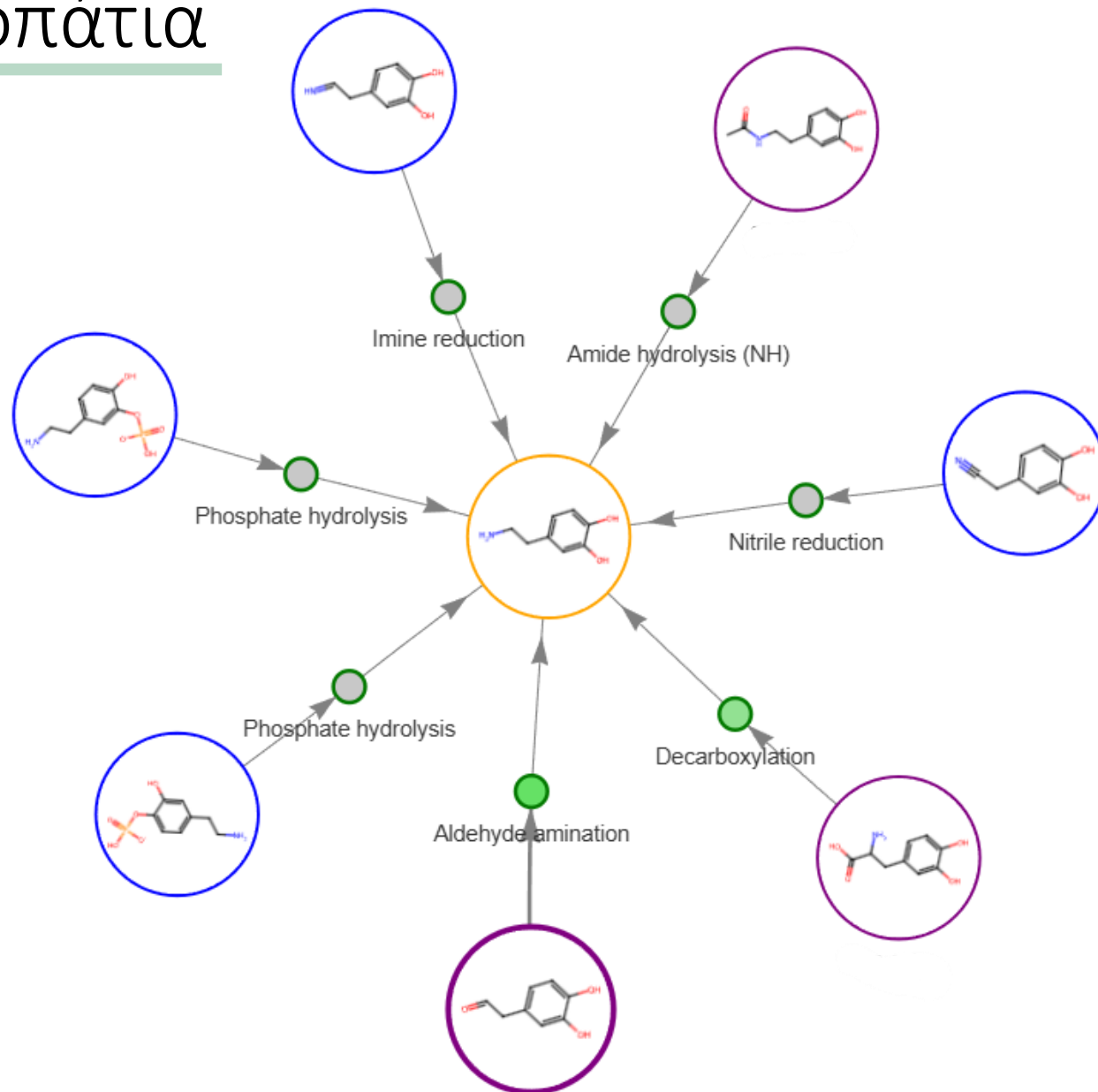


Κριτήρια επιλογής

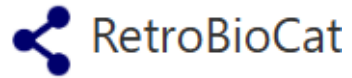
- Κόστος
- Αριθμό βημάτων σύνθεσης
- Ανάγκη συμπαραγόντα ή συνενζύμου
- Απόδοση εκάστοτε αντίδρασης μονοπατιού
- Δυνατότητα πραγματοποίησης αντιδράσεων σε μεγάλη κλίμακα (scale up)

Επιλογή Αποκαρβοξυλίωσης

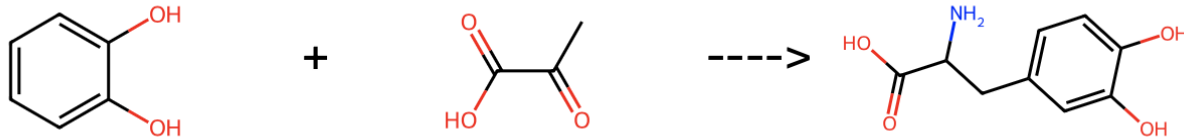
- Complexity change: - 0.34
- Φθηνή πρώτη ύλη
- Αντίδραση 2 βημάτων



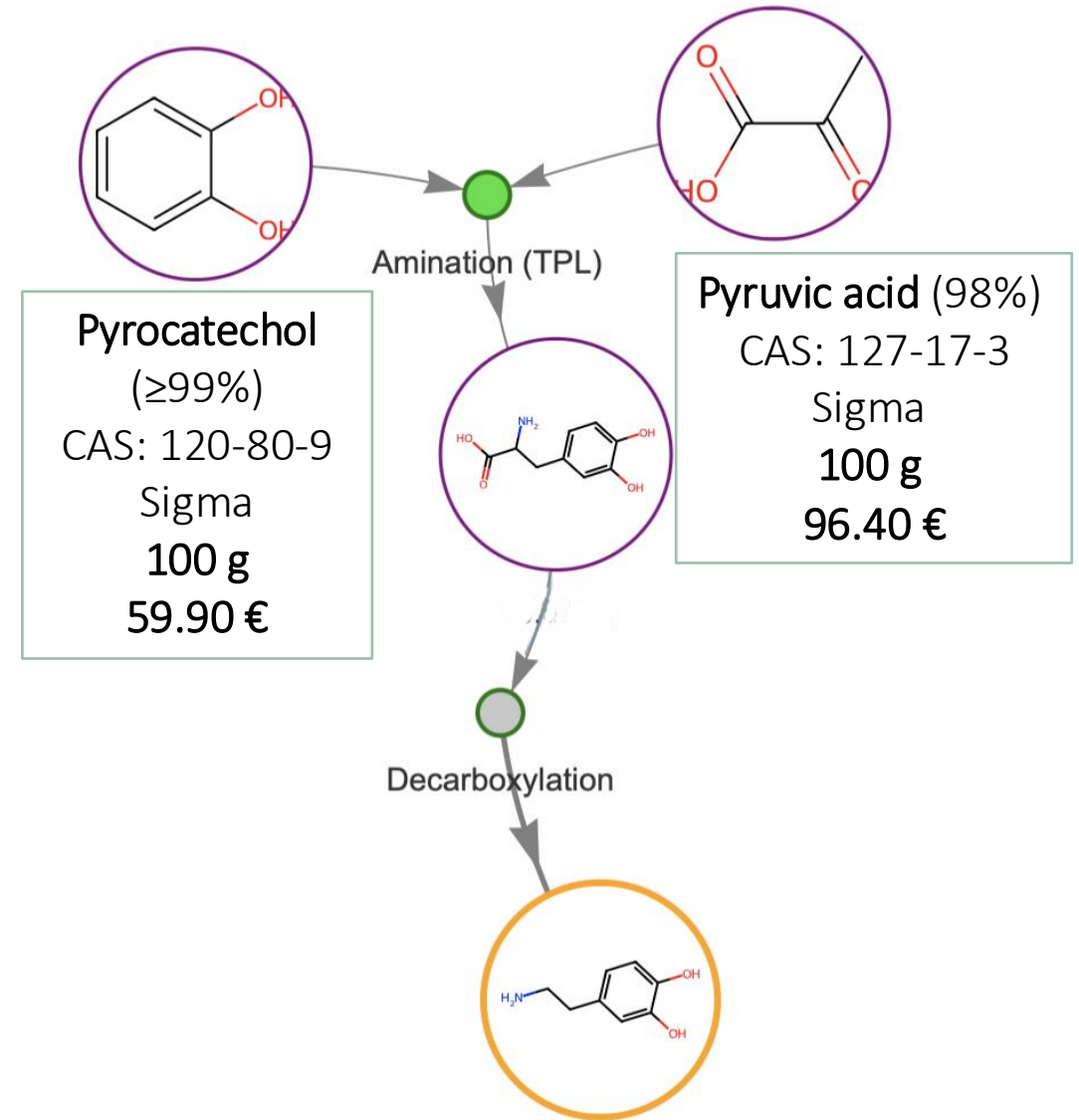
Εναλλακτικό συνθετικό μονοπάτι



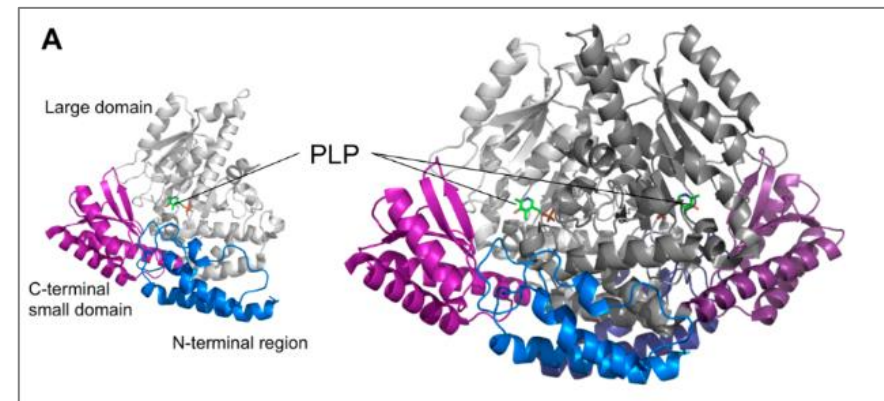
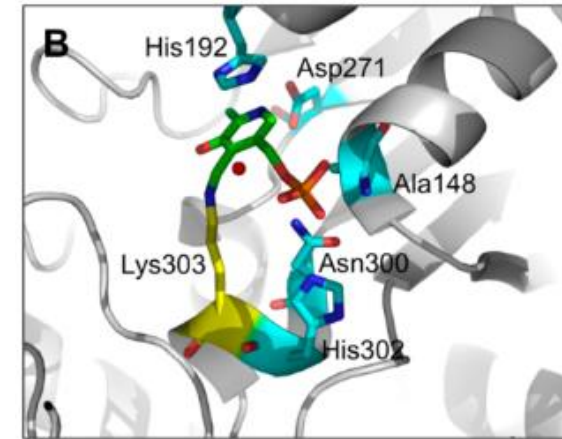
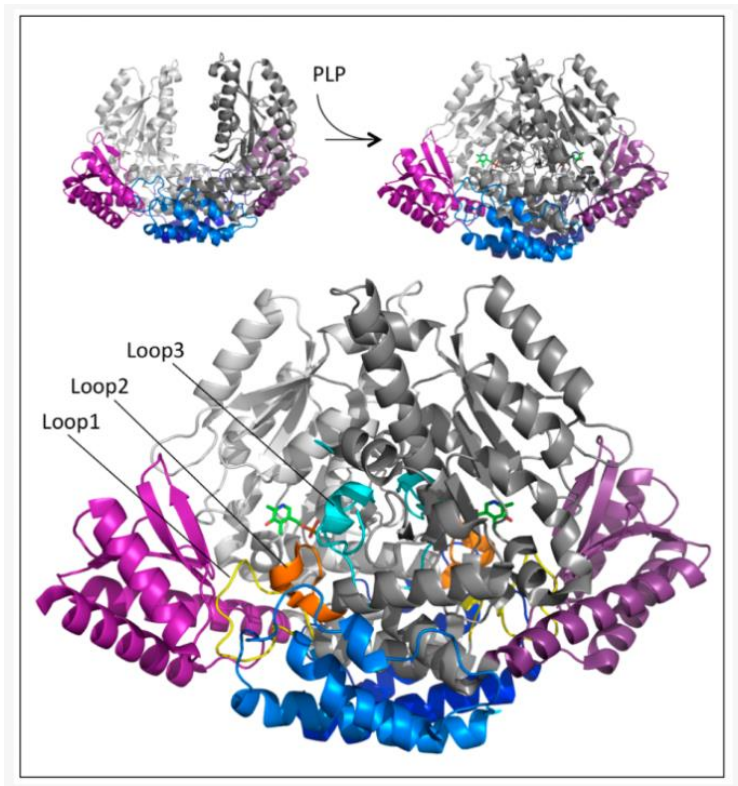
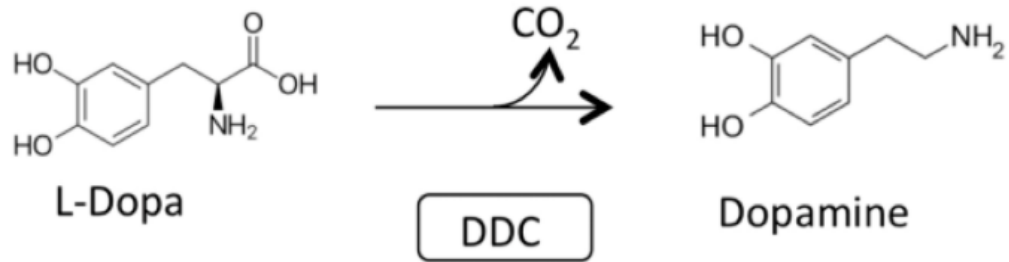
Tyrosine - Phenol Lyase



- Απόδοση: 95 % σε 5 h
- Συγκεντρώσεις: 70 mM Pyrocatechol, 140 mM Pyruvic acid
- Εκλεκτικότητα: 99 % ee S
- Συνθήκες: pH 8, 25 °C, in water
- Συμπαράγοντας: PLP



Aromatic-L-amino-acid decarboxylase



Aromatic-L-amino-acid decarboxylase

οργανισμός	υπόστρωμα	Km (mM)	Kcat (s ⁻¹)	Kcat/Km (s ⁻¹ mM ⁻¹)
Homo sapiens	L-DOPA	0.11	7.6	69.1
Mus musculus	L-DPA	0.10	7.0	70.0
Sus scrofa	L-DOPA	0.07	4.3	61.4
Harmonia axyridis	L-DOPA	2.32	10435.90	4482.77

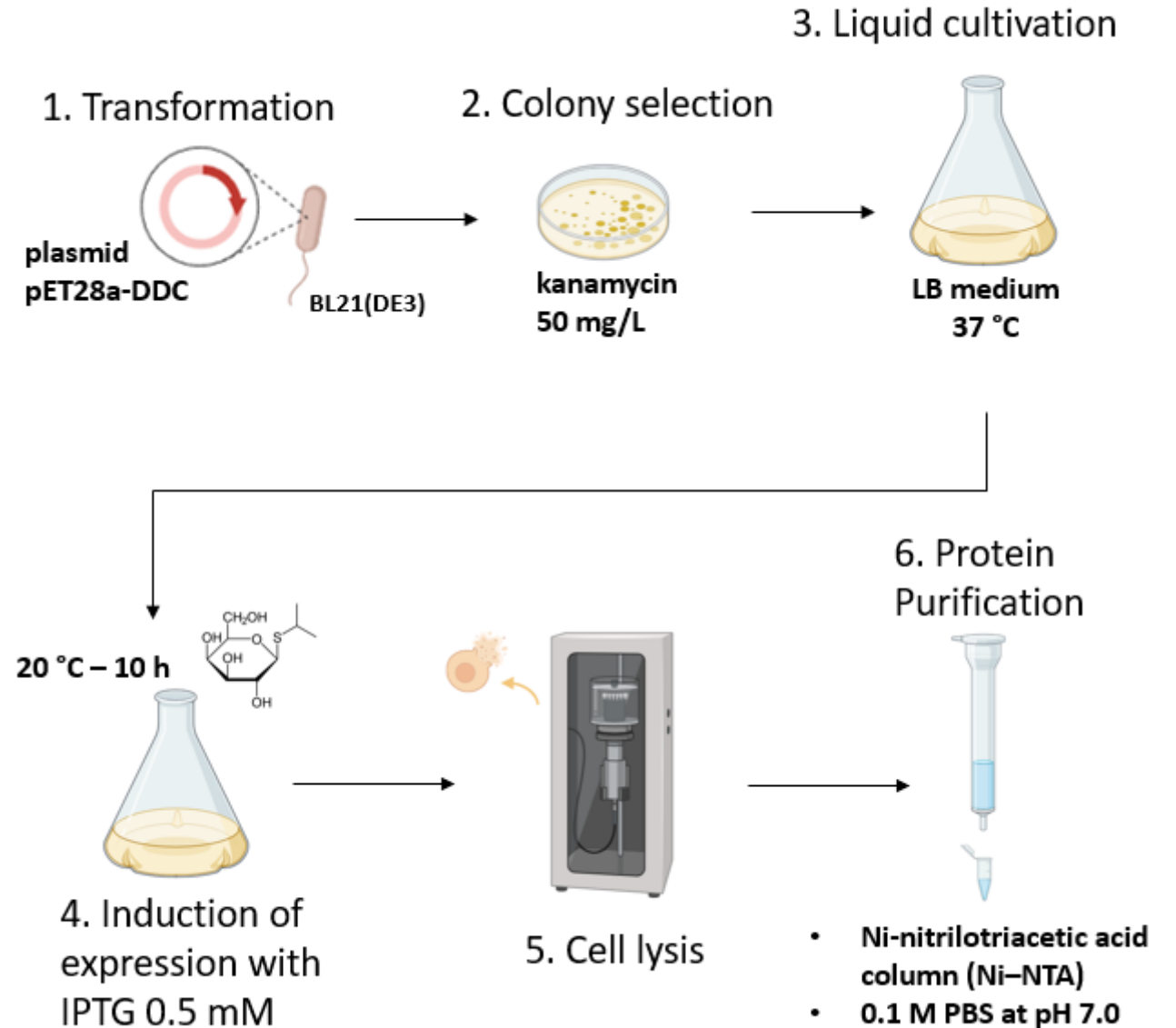
Gao, Siyuan, et al. "Characterization and Application of a Recombinant Dopa Decarboxylase from Harmonia Axyridis for the Efficient Biosynthesis of Dopamine." *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 41, 23 Dec. 2021, pp. 449–456, <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2021.12.006>.

Montioli R, Borri Voltattorni C. Aromatic amino acid decarboxylase deficiency: The added value of biochemistry. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3146. doi:10.3390/ijms22063146

Christensen et al., 2003. *Kinetic characterization of aromatic L-amino acid decarboxylases in mammals and plants*. J Biol Chem.

Harmonia axyridis

- ❖ Βέλτιστο pH: 7.5
- ❖ Βέλτιστη θερμοκρασία: 45°C
- ❖ Υπόστρωμα: L-DOPA
- ❖ Σύστημα έκφρασης: *E.coli*



Amino acid sequence

>haxr:123679005 K01593 aromatic-L-amino-acid/L-tryptophan
decarboxylase [EC:4.1.1.28 4.1.1.105] | (RefSeq) aromatic-L-
amino-acid decarboxylase-like isoform X1 (A)

**MDEMEANQFRDFGKAMIDYVANYLENIRERRVLPTVEPGYLRPLLPSEAPQKPD TWQEVM
ADIEKVIMPGVTHWHSPKFHAYFPTANSYPAIVADILSDGIACIGFSWIASPACTELEVV
MMDWLGKMI GLPEEFLACSGGKGGGVIQGTASEATLVALLGAKARAIHHVKKEHPDWKDA
DIAEKL VGYTSSQSHSSVERAGLLGGVKLRGLPTDESNRLRGDTLERAIKEDREAGLI PF
YVVATL GTTSSCTFDNLEEIGPVCNVNKVWLHIDAAYAGAAFTCPEYRYLMKGVEMADSF
DFNPHK WMLVTFDCSAMWLKDPNWLVD A FNVDPLYLKHDQQGSAPDYRHWQIQ LGRRFRA
LKIWFV LRLYGVENIQKHIRKQIGLAH HFEELVKSDDRFEVTEEVLMGLVCFRLK GQSNE
VNERLL KRINARGTIHLVPSKIREMYFLRMAVCSRLTEKEDMDLTWKEVRESADDILGE**

nucleotide sequence

>haxr:123679005 K01593 aromatic-L-amino-acid/L-tryptophan
decarboxylase [EC:4.1.1.28 4.1.1.105] | (RefSeq) aromatic-
L-amino-acid decarboxylase-like isoform X1 (N)

atggatgagatggaggctaatacagtttagggacttcggaaaggcga tga tagactacgtc
gccaatta tctggagaata taagggagaggcgggttttgcctactgtagaaccagggtat
ttacgtcctctacttcccagtgaggcacctcaaaaacctgacacatggcaagaagtatg
gctgacattgaaaaagtcattatgcctggagttacacactggcattcaccaaagtttcat
gcatat tttcctactgccaactcctatcctgctattgtagcagata tttctcagtgatggt
attgcttgcacggtttttcatggatcgcaagtcccgcttgcaccgaactcgaagtcgtg
atgatggactggttgggaaaaatgataaggtctcccagaggaattcctcgcttgttcaggg
ggtaaggggggcggtgtaataccaggggactgagtgagctacgctagttgccttgcctt
ggagccaaagcacgtgccattcatcatgtgaaaaagaacaccagattggaaagatgcc
gata tagccgagaaattggtgggatacacttctagtcaaagtcattcttcggttgaacga
gctggtcttcttgggtggtgtaagttaagaggtctaccacagacgaatcaaaccgacta
cgaggggacactttagaaagggcaatcaaggaggatagagaagctggccttattcattt
tacgttgtcggcactctgggaacaacctcatcctgcacctttgacaaccttgaagagatc
ggtcccgtgtgtaatgtaacaagggtgtggctccacatcgacgcccgttacgcaggcgca
gccttcacttgtcccaggtacaggtatctgatgaagggcgtagagatggccgattccttt
gactttaaccgcacaaatggatggttggtcacatttgactggtctgcaatgtggcttaa
gaccccaactggctcgtggaatgccttcaatgtagaccctctctacttgaaacacgaccaa
caaggctcagcaccggattacagacactggcagattcagctcggccgtagggttcagagct
ctcaagatttggtttgtcttgagactgtacggagtcgagaacatccagaagcata tacgg
aagcagattgggcttgcacatcatttcgaagaattggtcaagtcggacgatagggttcgag
gtaactgaggaggtgcttatagggttgggtgtgcttcaggctaaagggccagtcgaacgaa
gtcaacgaacgacttttgaagaggatcaacgcgaggggtaccatacatttggttcctct
aagataagagaaatgtacttttgagaaatggctgtagctctagggttaactgagaaggaa
gacatggatttaacatggaaagaagtacgggaaatctgctgatgata ttttgggagagtag

ProtParam & SoluProt

Theoretical pI	5.66
Molecular weight	54281.28 Da
Extinction coefficients (280nm)	87360 M ⁻¹ cm ⁻¹
Instability index	44.82 unstable



Protein	Solubility
haxr:123679005	0.807



Η αλληλουχία μπορεί να εκφραστεί με διαλυτό τρόπο σε *E.coli*

Ευχαριστούμε για την προσοχή σας!

