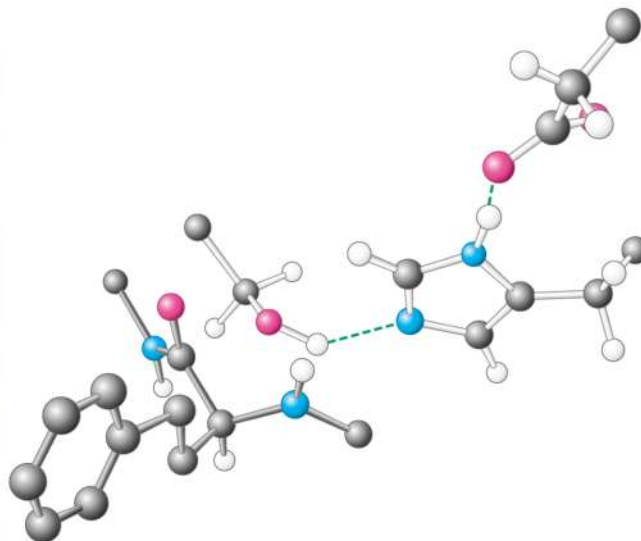


Βιοχημεία I

Κεφάλαιο 9

Στρατηγικές κατάλυσης



Στρατηγικές κατάλυσης από 4 τάξεις ενζύμων:

- Σερινοπρωτεάσες
- Ανθρακικές ανυδράσες
- Περιοριστικές ενδονουκλεάσες
- Μυοσίνες

Επεξηγεί την χρήση στρατηγικών για να λυθεί ένα διαφορετικό πρόβλημα

9.0 Εισαγωγή

Μερικές βασικές αρχές της κατάλυσης χρησιμοποιούνται από πολλά ένζυμα:

- Ομοιοπολική κατάλυση
το ενεργό κέντρο πρέπει να έχει μια δραστική ομάδα (π.χ. ένα ισχυρό πυρηνόφιλο)
- Γενική οξεοβασική κατάλυση
ένα μόριο παίζει τον ρόλο του δότη ή δέκτη πρωτονίων

9.0 Εισαγωγή

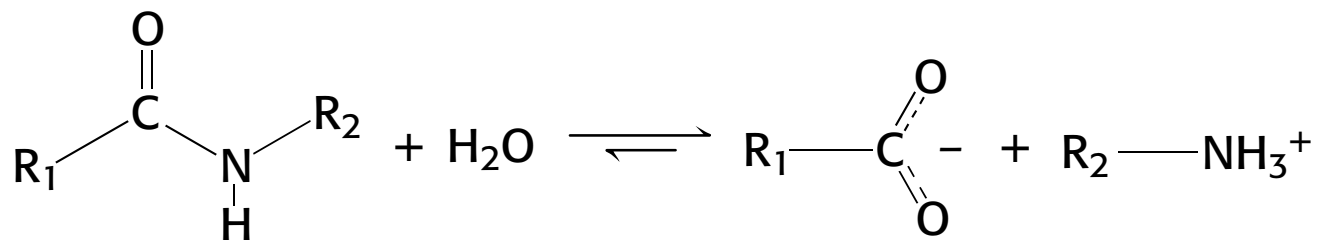
Μερικές βασικές αρχές της κατάλυσης χρησιμοποιούνται από πολλά ένζυμα:

- Κατάλυση με προσέγγιση
πρόσδεση δύο υποστρωμάτων μαζί σε μια μοναδική επιφάνεια πρόσδεσης
- Κατάλυση μέσω ιόντος μετάλλου
μπορεί να α) διευκολύνει τον σχηματισμό πυρηνόφιλων
β) λειτουργήσει σαν μια ηλεκτρονιόφιλη οντότητα
γ) λειτουργήσει σαν μια γέφυρα μεταξύ E και S (αυξάνοντας την ενέργεια πρόσδεσης/σωστή γεωμετρία)

9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

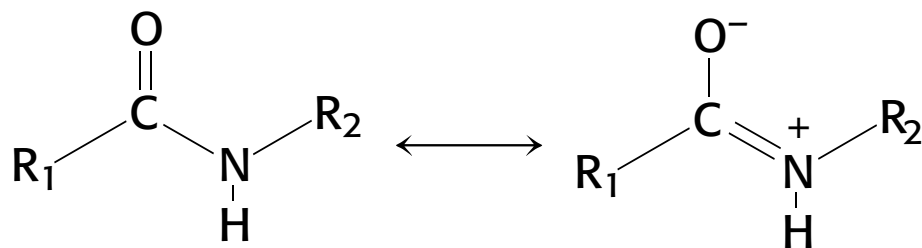
Υδρόλυση του πεπτιδικού δεσμού

Σε ουδέτερο pH και απουσία καταλύτη



10 έως 1000 χρόνια

Γιατί;

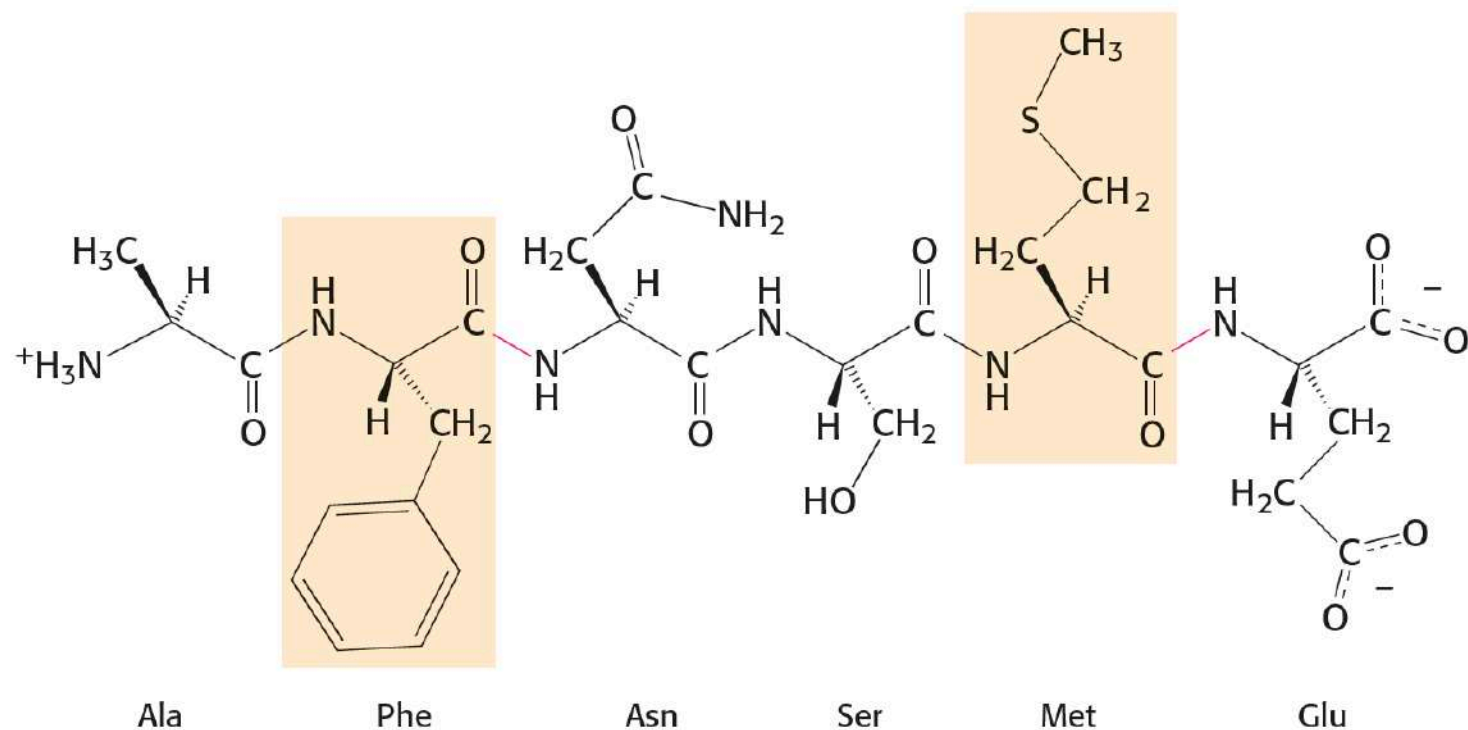


χαρακτήρα διπλού δεσμού



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

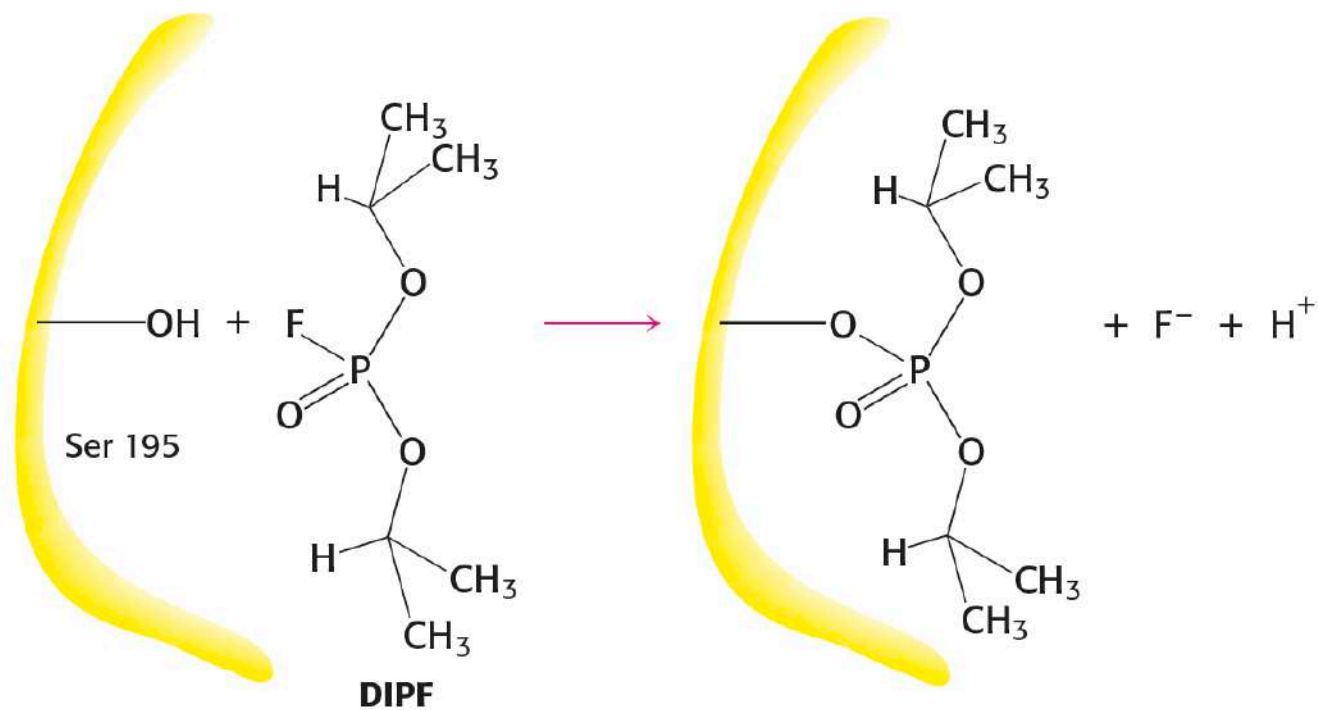
Η χυμοθρυψίνη διασπά επιλεκτικά πεπτιδικούς δεσμούς



- καρβοξυλική πλευρά
- Αρωματικά ή μεγάλα υδροφοβα αμινοξέα (Trp, Tyr, Phe, Met)
- Ομοιοπολική κατάλυση

9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Η χυμοθρυψίνη διασπά επιλεκτικά πεπτιδικούς δεσμούς



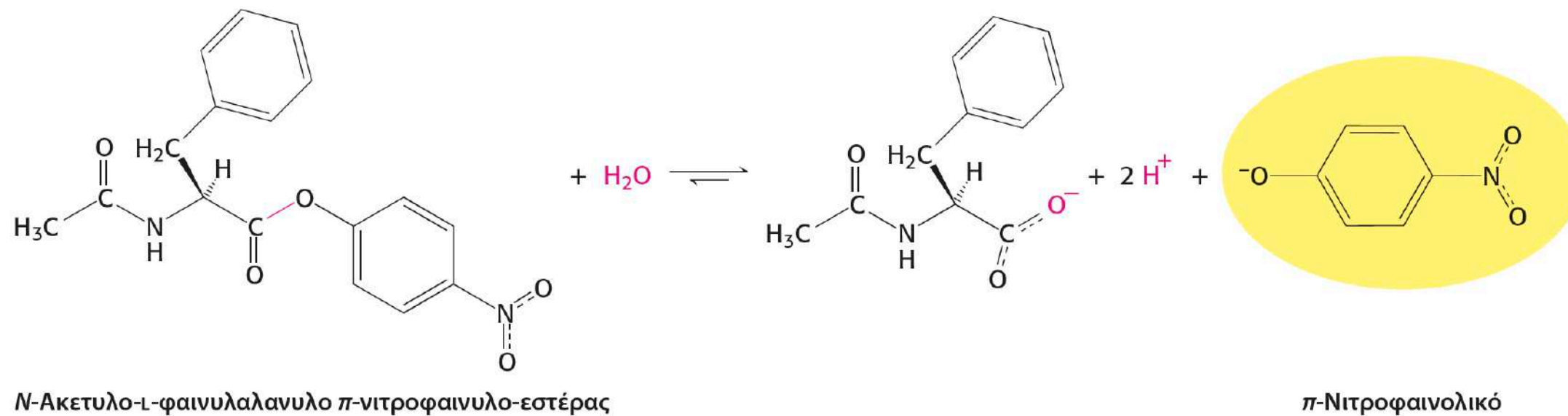
- Δραστικό κατάλοιπο Ser195
- Πειράματα με χρήση του μη αντιστρεπτού αναστολέα DIPF
- 28 πιθανά κατάλοιπα Ser, μόνο ένα αντιδρά

Πως ξέρουμε ότι αντιδρά μόνο ένα;

9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Κινητική κατάλυση της χυμοθρυψίνης

Μελέτη της κινητικής χρησιμοποιώντας ένα ανάλογο υποστρώματος

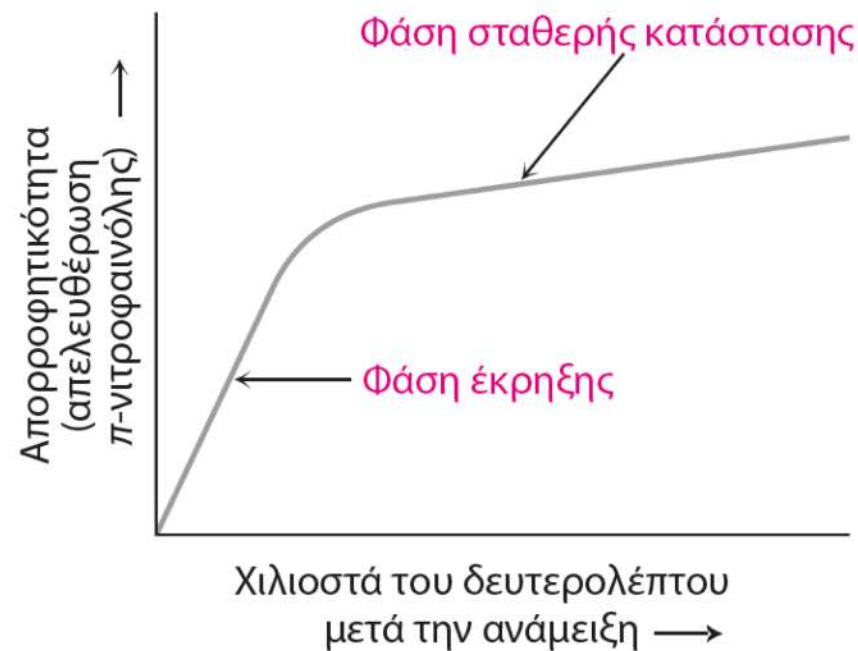


9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Κινητική κατάλυση της χυμοθρυψίνης

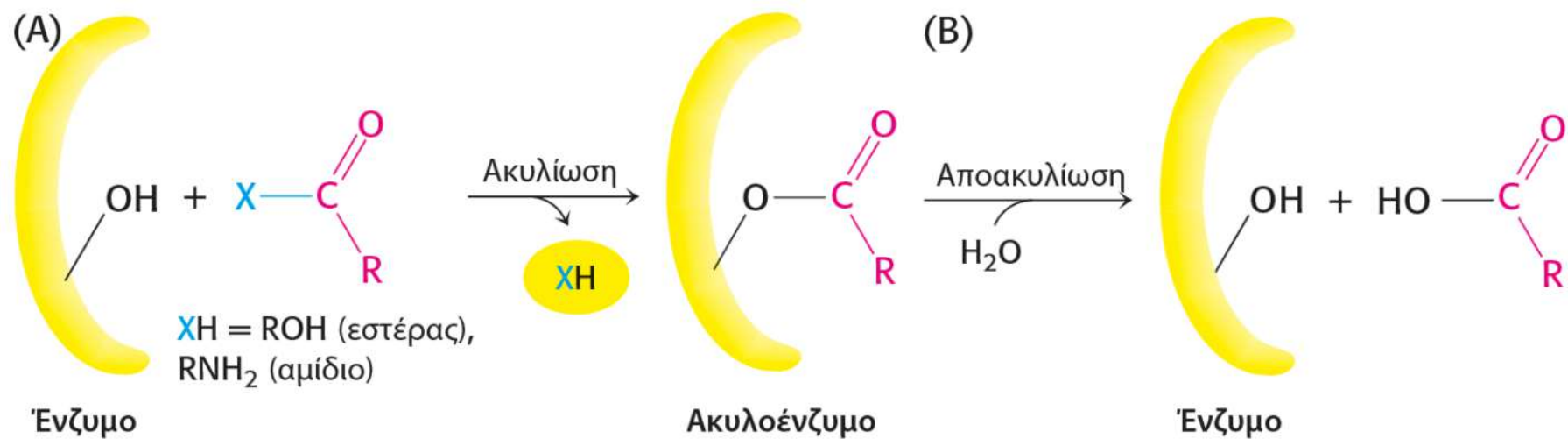
Υποδηλώνει τις δύο φάσεις της υδρόλυσης

- Γρήγορο και αργό στάδιο
- Φάση έκρηξης (γρήγορο)
- Φάση σταθερής ταχύτητας (αργό)



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Κινητική κατάλυση της χυμοθρυψίνης



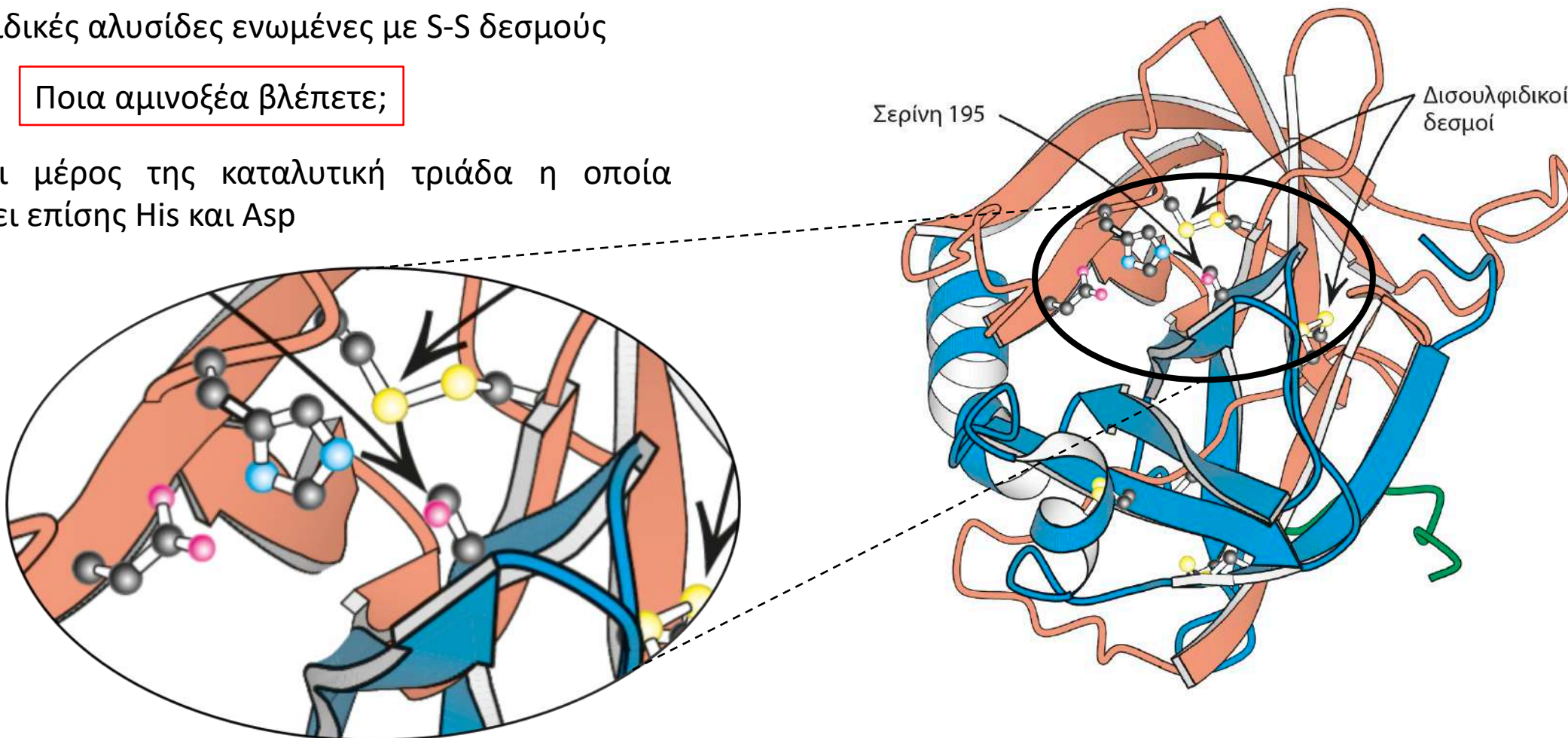
Μπορείτε να εξηγήσετε τι δύο φάσης σύμφωνα με αυτό;

9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

3 πολυπεπτιδικές αλυσίδες ενωμένες με S-S δεσμούς

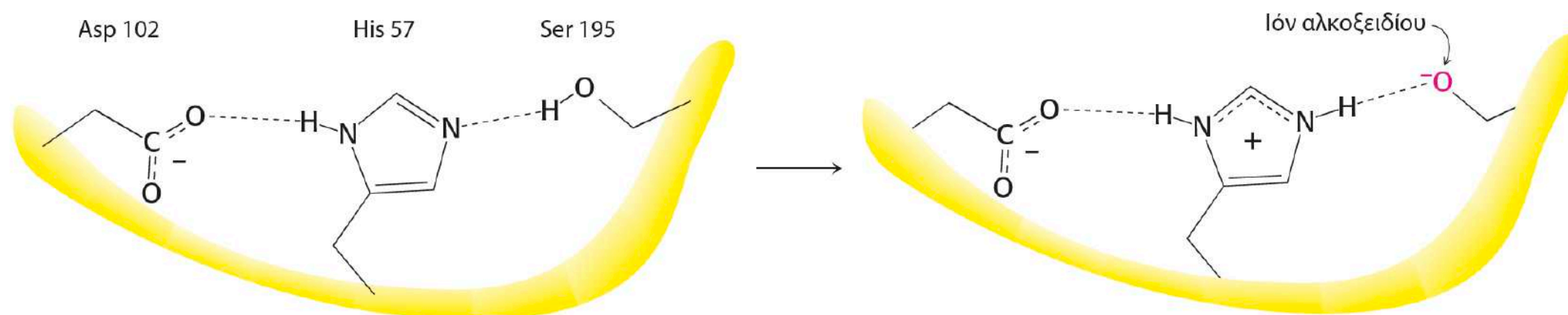
Ποια αμινοξέα βλέπετε;

Η Ser είναι μέρος της καταλυτικής τριάδα η οποία περιλαμβάνει επίσης His και Asp



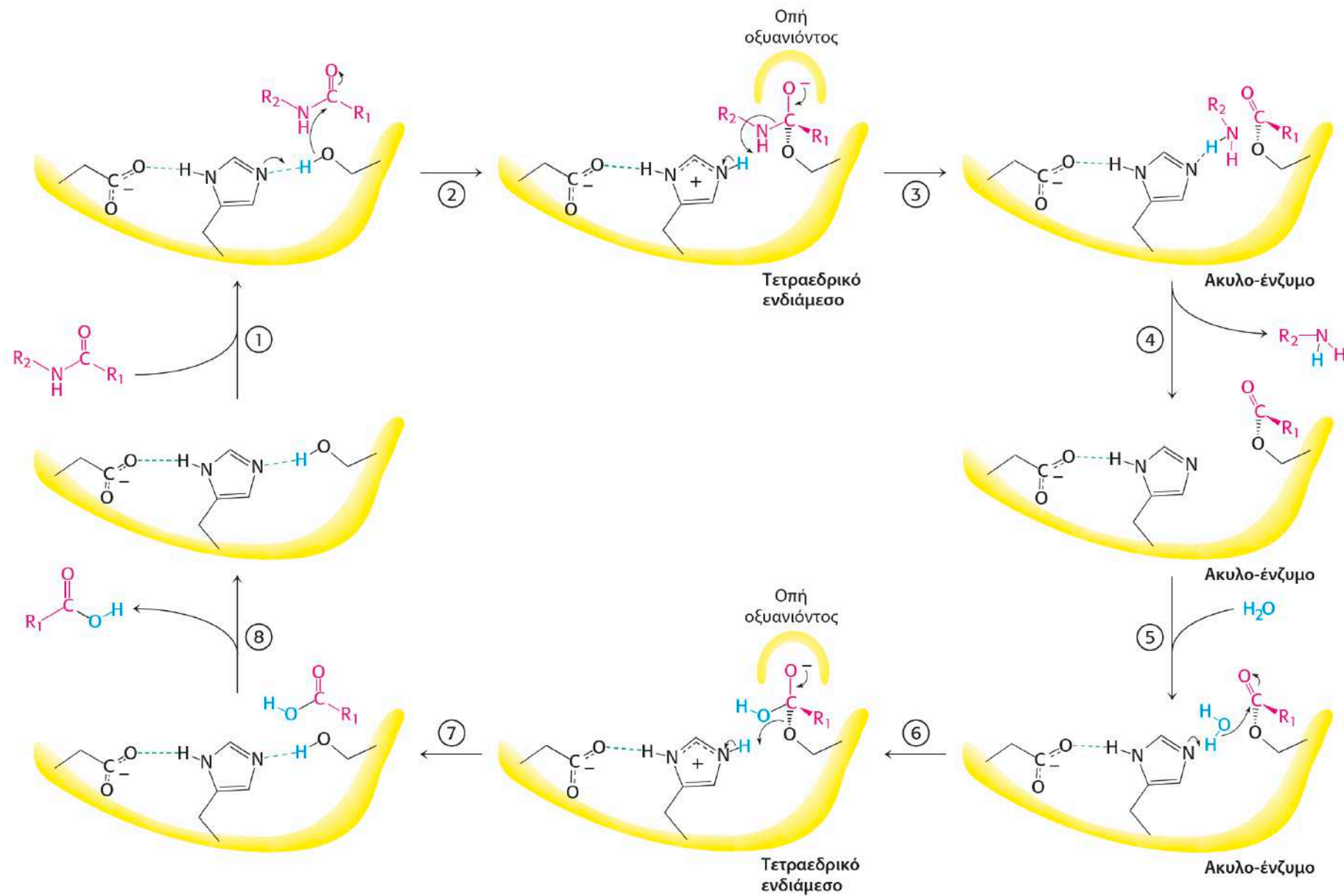
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Η καταλυτική τριάδα



9.1

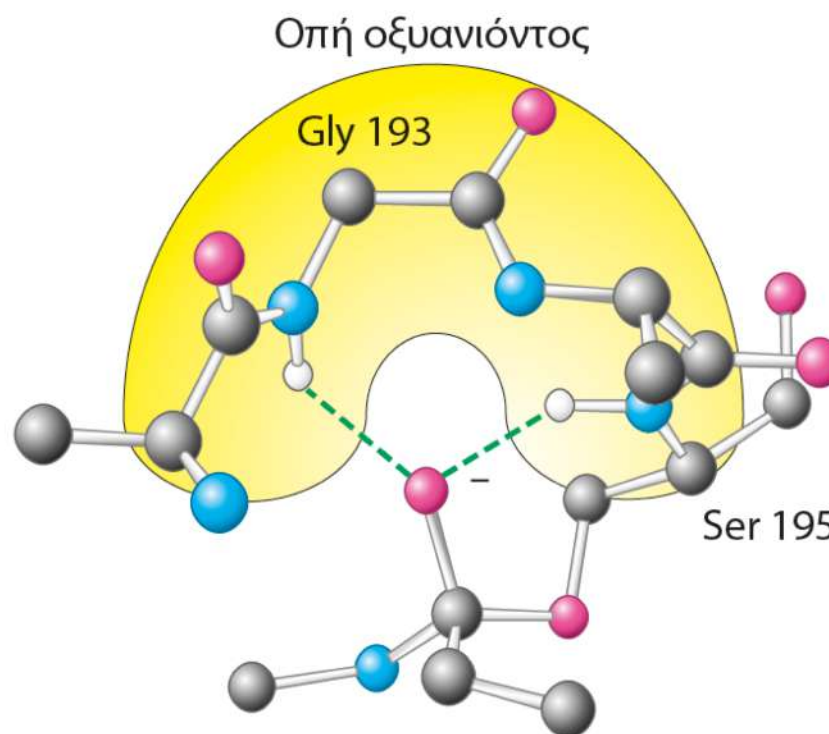
Μηχανισμός υδρόλυσης



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Οπή οξυανιόντος

Πως γίνεται η σταθεροποίηση;



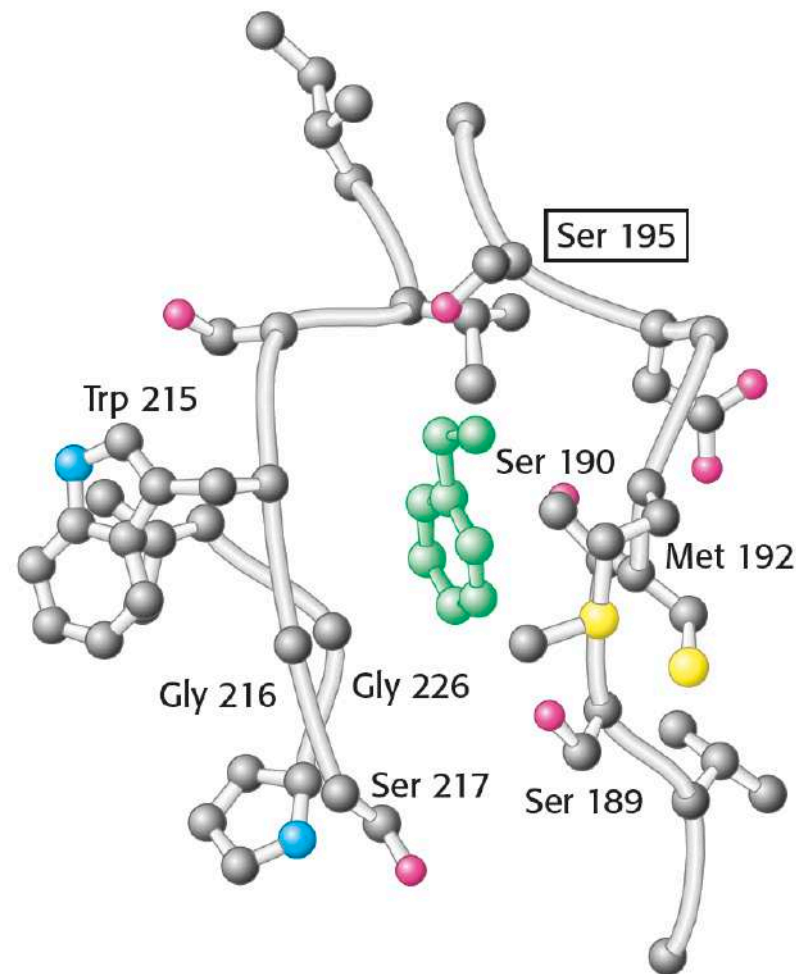
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Προτίμηση για την διάσπαση πεπτιδικών δεσμών

- Θήκη εξειδίκευσης της χυμοθρυψίνης (S_1)

Τι περιμένουμε να βρούμε εκεί;

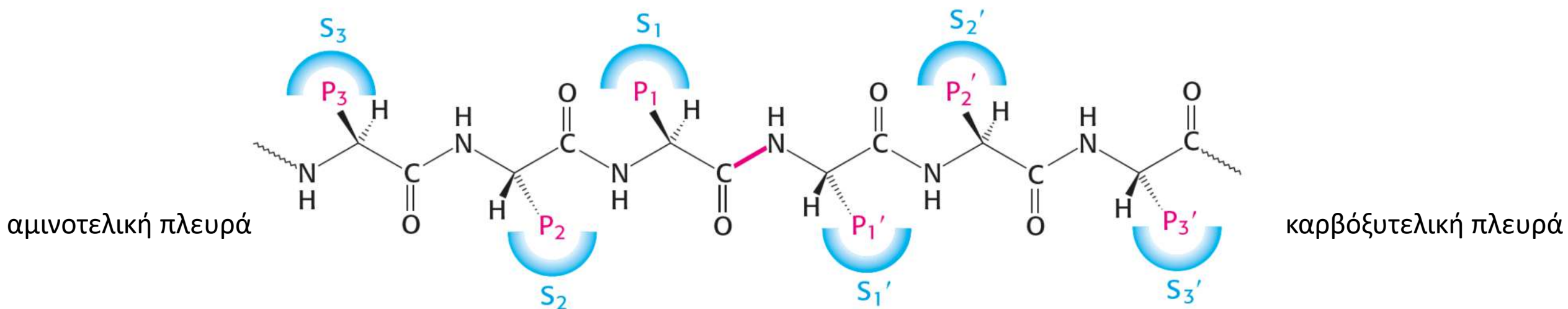
- Η θήκη στην εικόνα είναι επενδυμένη με υδρόφοβα αμινοξέα, ευνοώντας την πρόσδεση καταλοίπων με μακριές υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες (π.χ. **Phe**)



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Προτίμηση για την διάσπαση πεπτιδικών δεσμών

Ονοματολογία εξειδίκευσης για αλληλεπίδραση πρωτεάσης-υποστρώματος



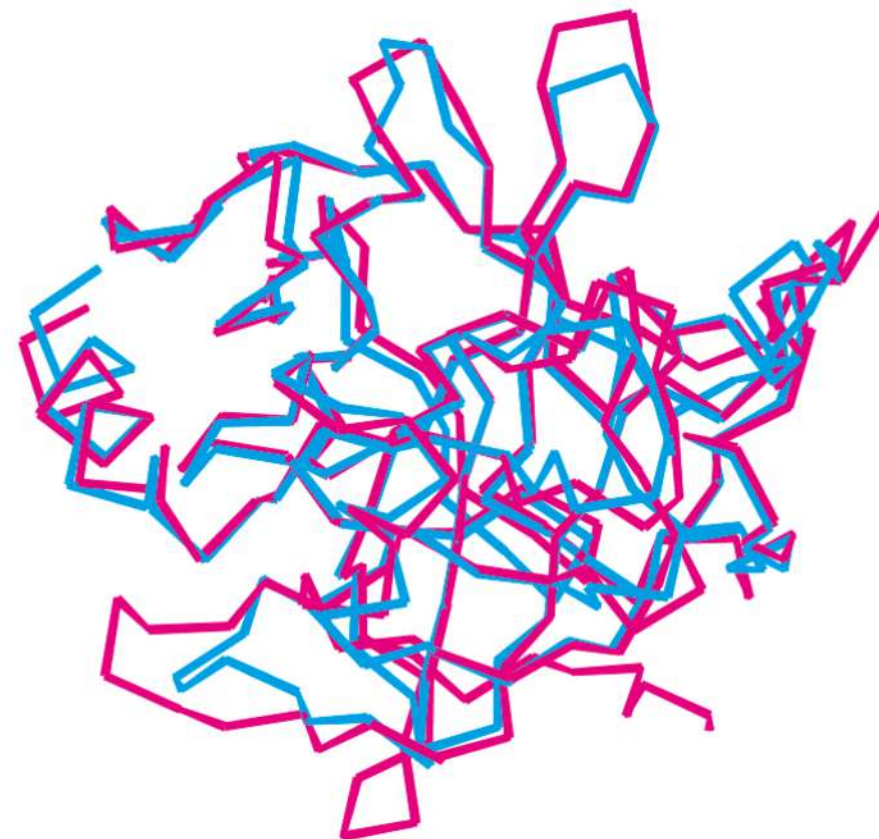
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Καταλυτικές τριάδες απαντούν και σε άλλα υδρολυτικά ένζυμα

Δομική ομοιότητα της θρυψίνης και χυμοθρυψίνης

Πολύ διαφορετική εξειδίκευση υποστρώματος

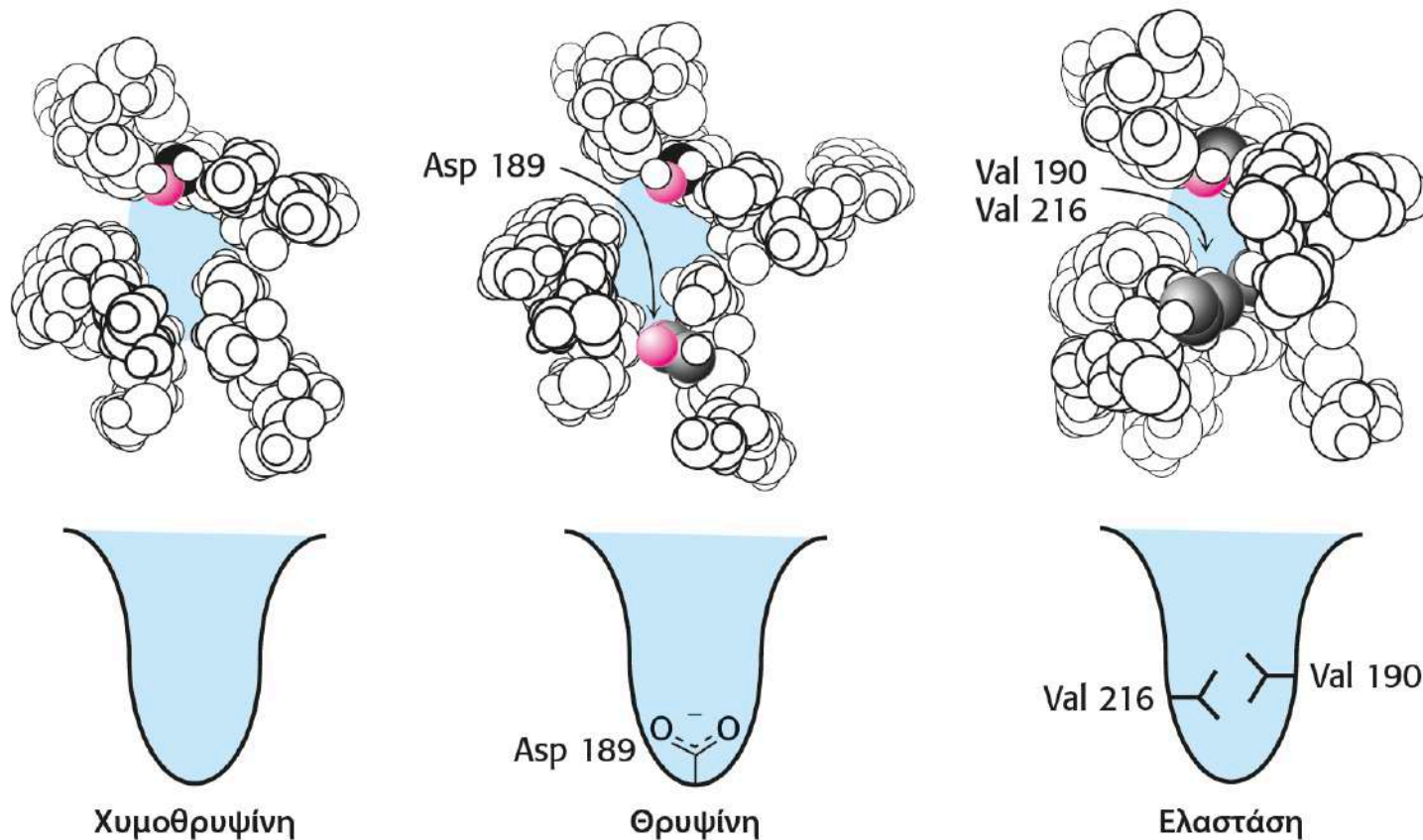
- Χυμοθρυψίνη (μακριά μη πολική πλευρική αλυσίδα)
- Θρυψίνη (μακριές θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες, π.χ. Arg, Lys)
- Ελαστάση (μικρές πλευρικές αλυσίδες, π.χ. Ala, Ser)



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Οι θήκες S1 της χυμοθρυψίνης, της θρυψίνης και της ελαστάσης

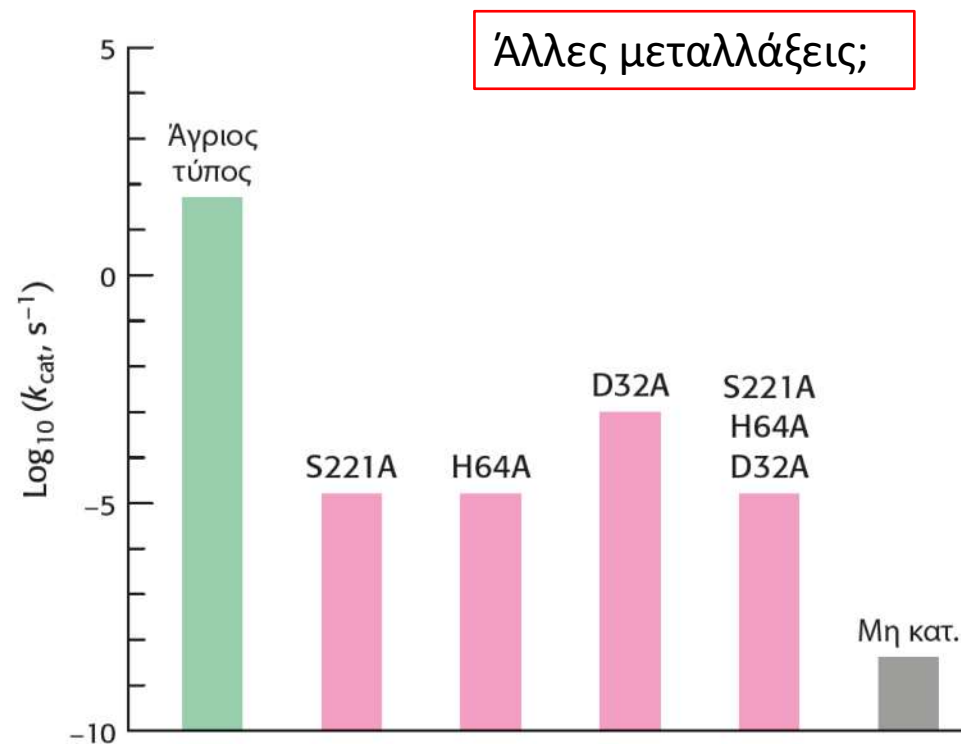
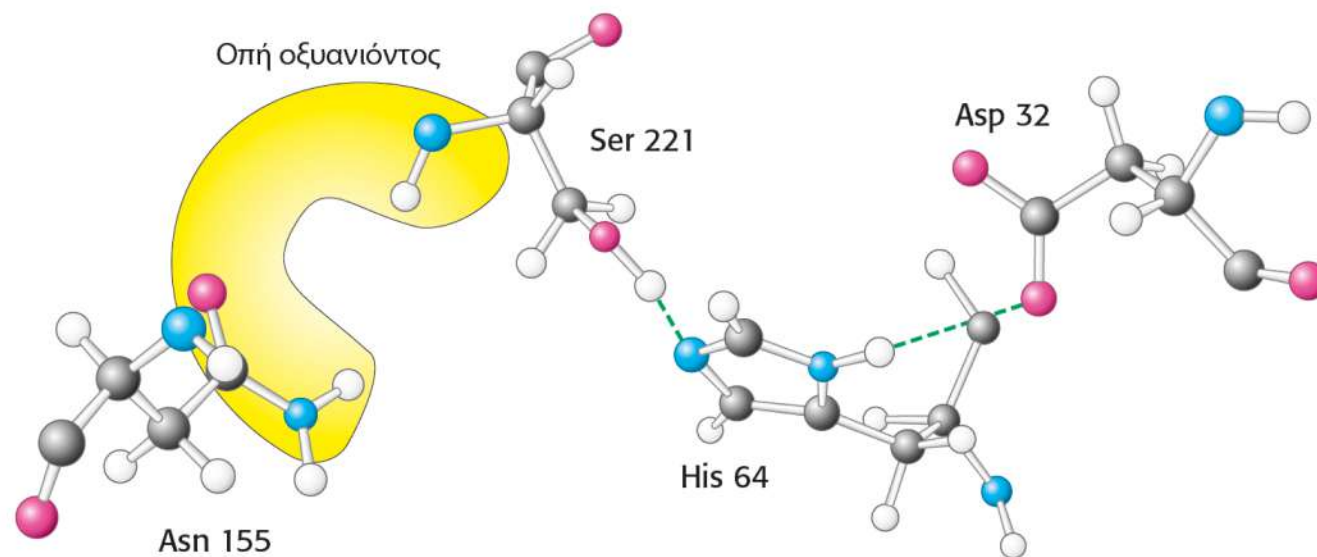
Ορισμένα κατάλοιπα παίζουν καθοριστικό ρόλο στον προσδιορισμό της εξειδίκευσης αυτών των ενζύμων



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

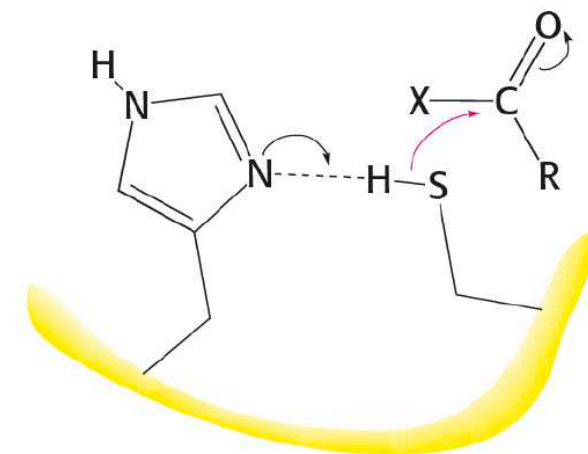
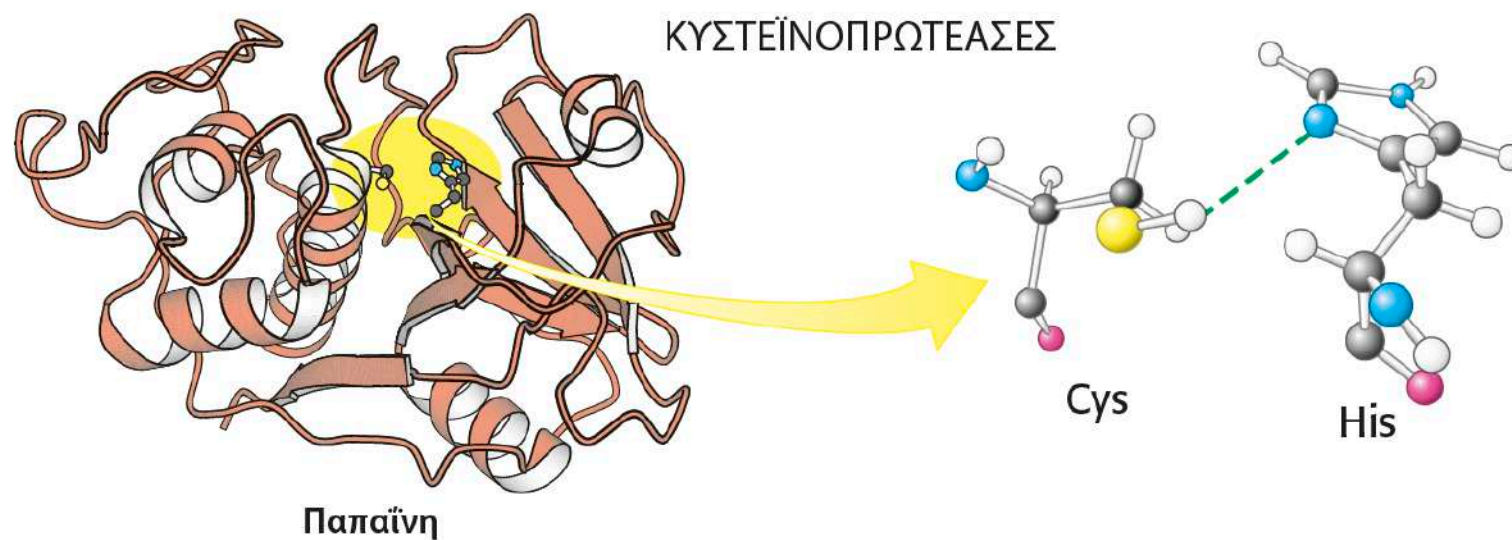
Η λειτουργία της καταλυτικής τριάδας έχει αναλυθεί με μεταλλαξιγένεση σε συγκεκριμένη θέση

Καταλυτική τριάδα και οπή οξυανιόντος της σουμπιλισίνης



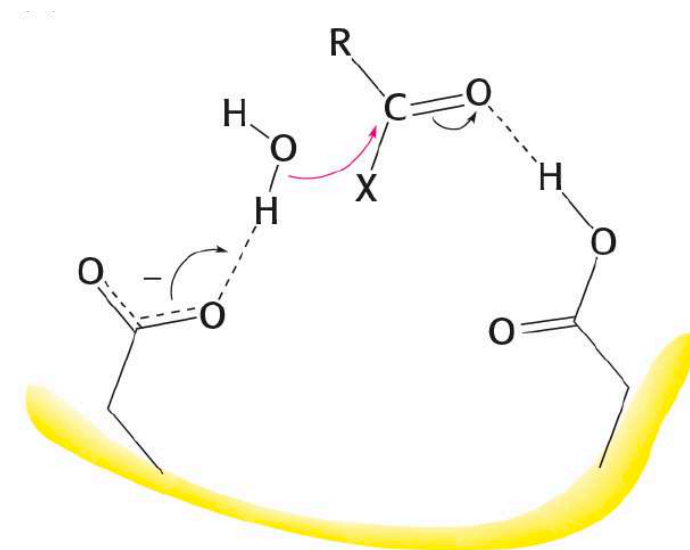
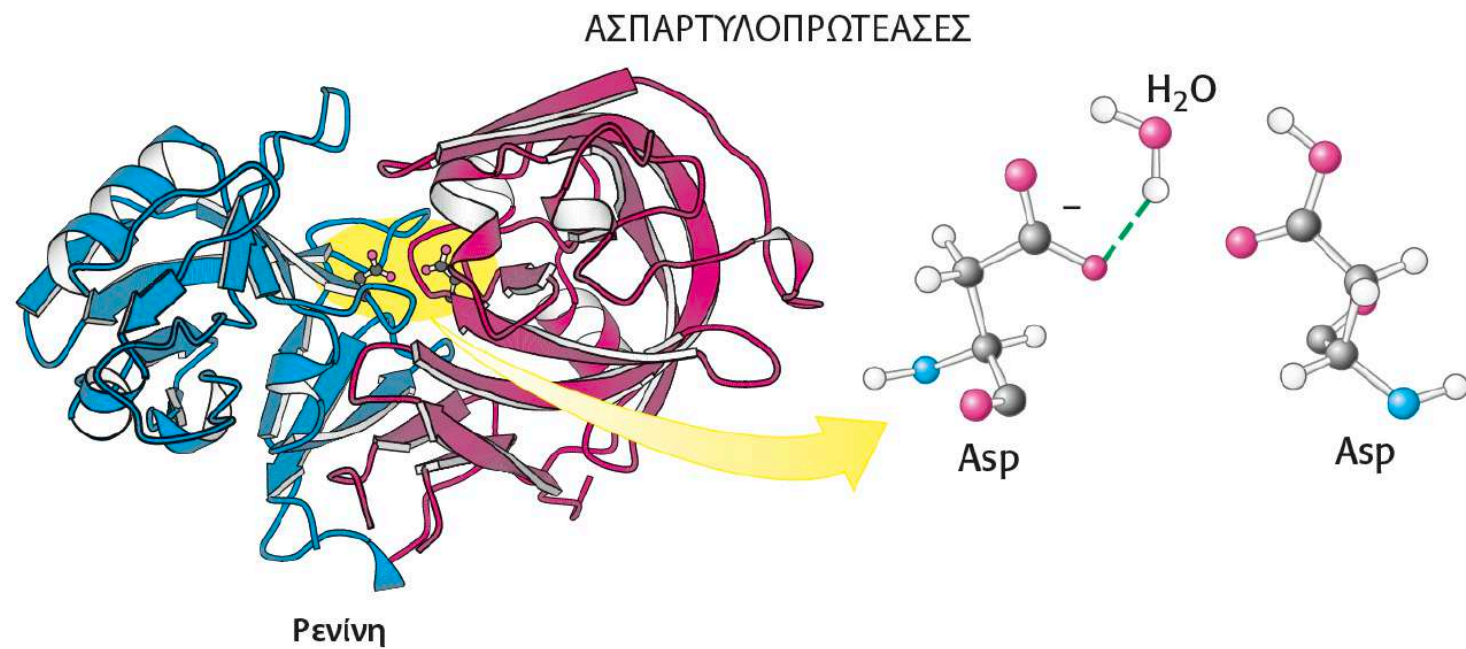
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Τρεις άλλες τάξεις πρωτεασών



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

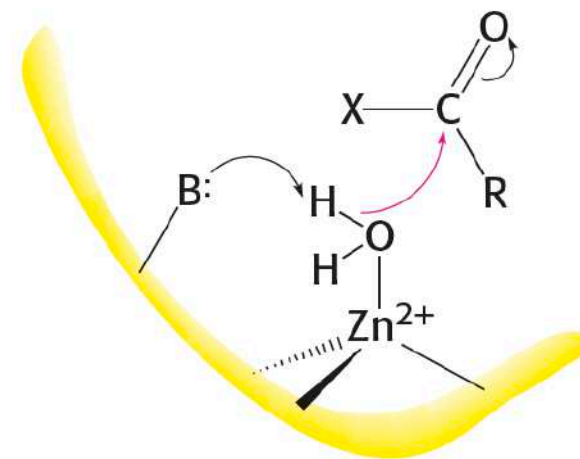
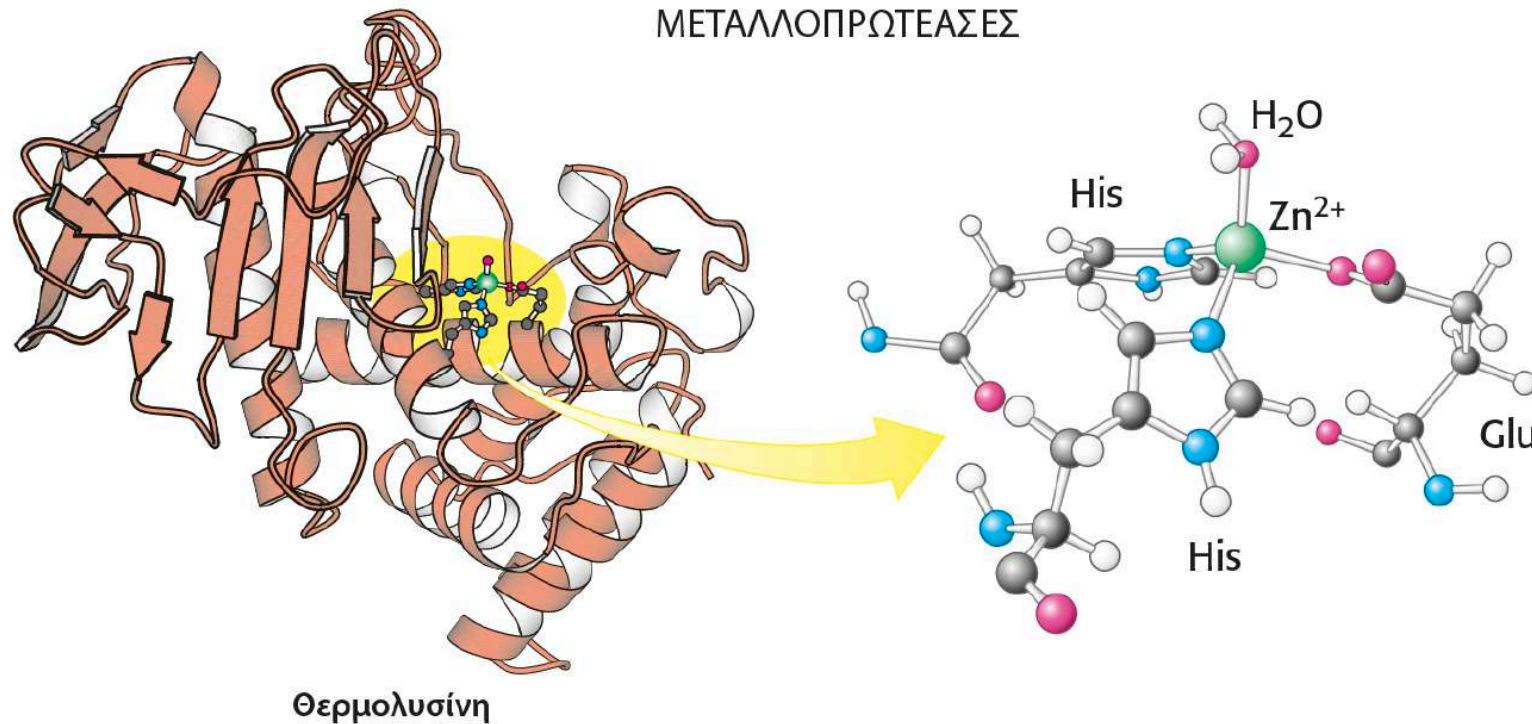
Τρεις άλλες τάξεις πρωτεασών



9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

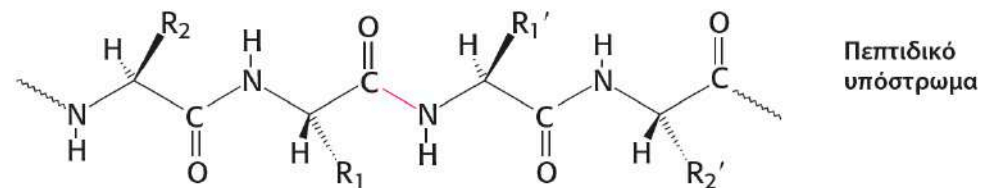
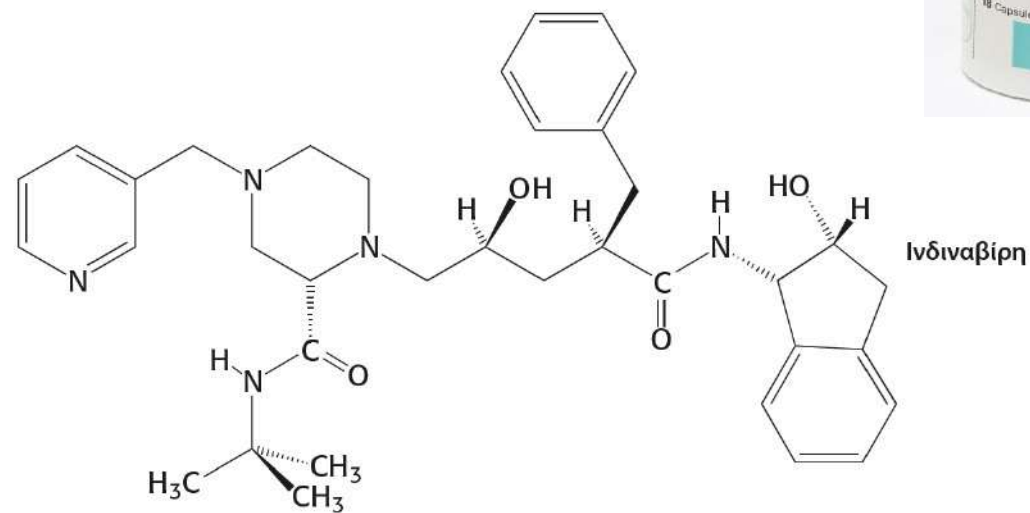
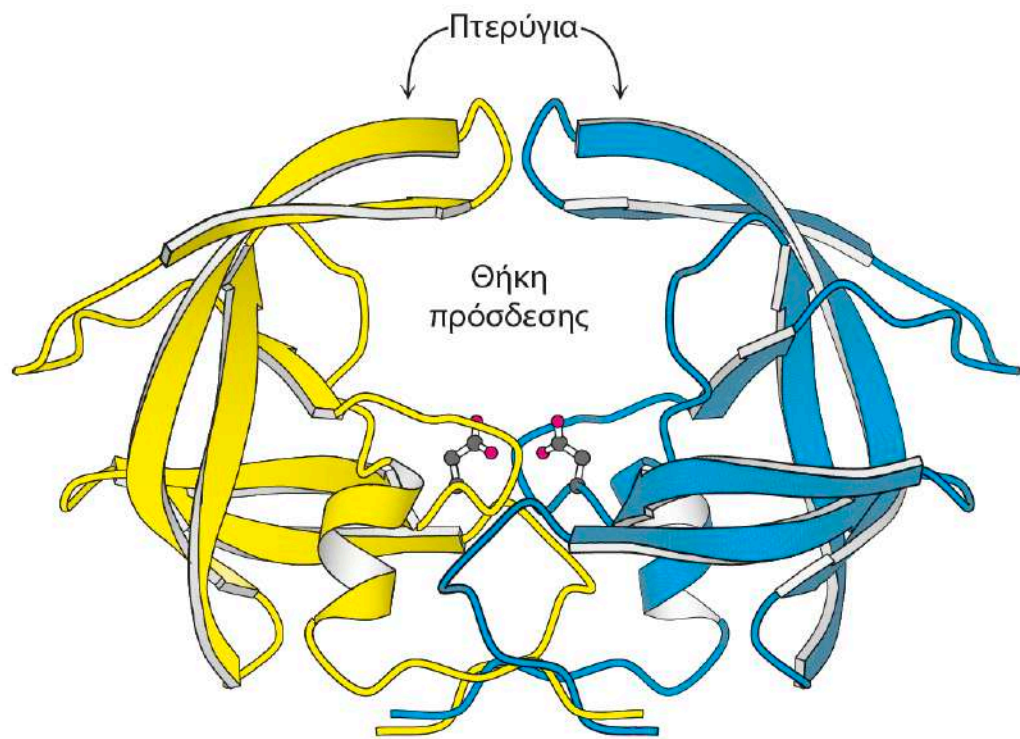
Τρεις άλλες τάξεις πρωτεασών

ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΑΣΕΣ



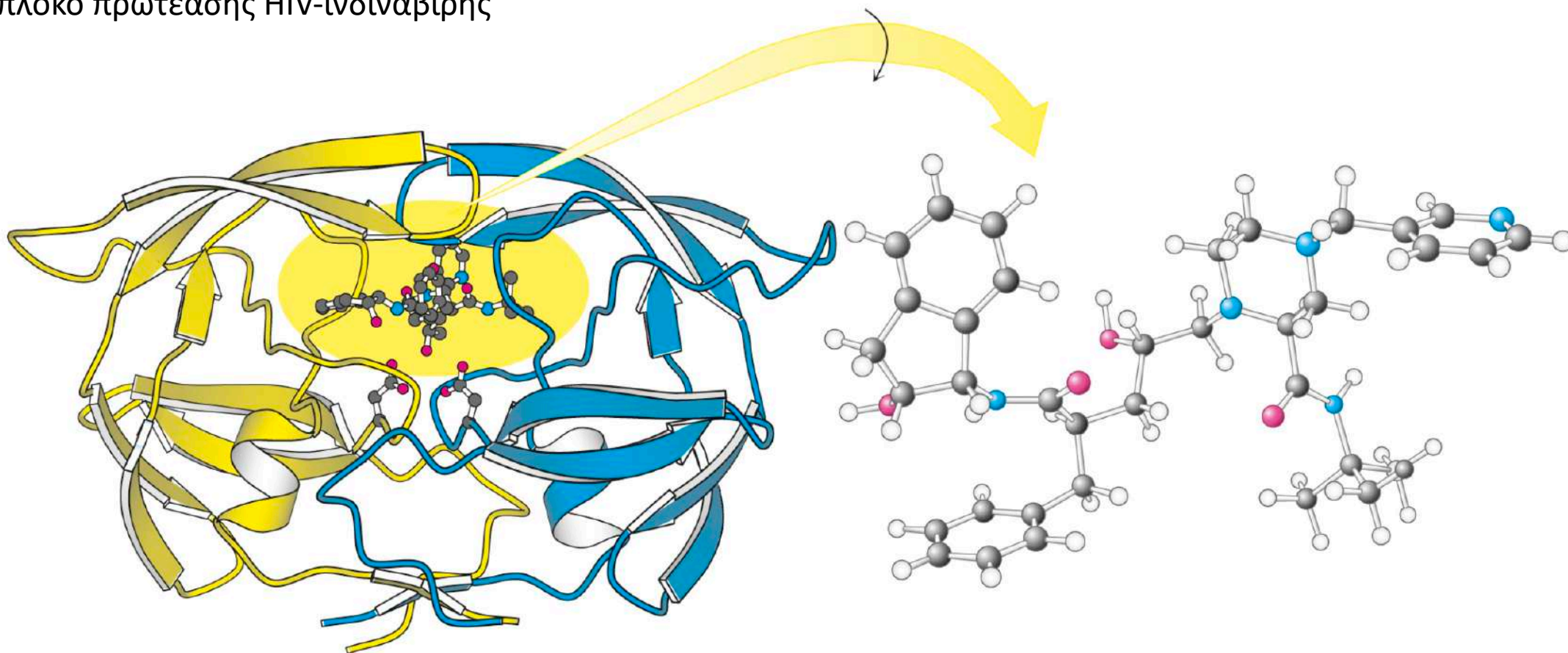
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Η πρωτεάση του HIV (διασπά τις ιικές πρωτεΐνες στην ενεργό μορφή τους)



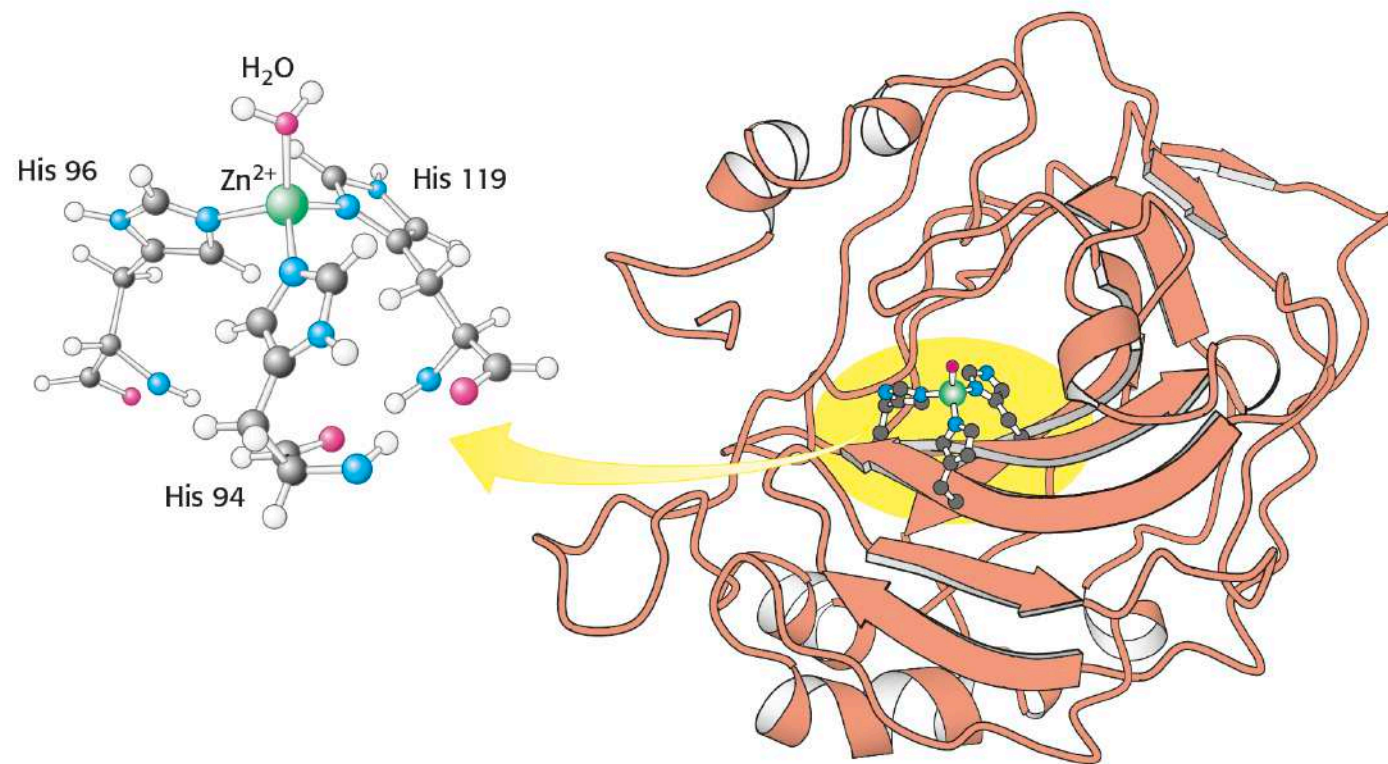
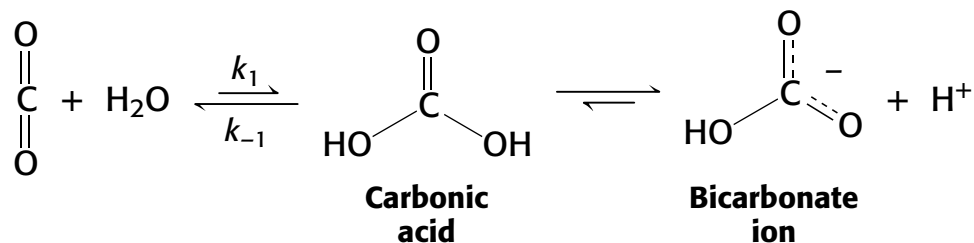
9.1 Οι πρωτεάσες διευκολύνουν μια θεμελιωδώς δύσκολη αντίδραση

Σύμπλοκο πρωτεάσης HIV-ινδιναβίρης



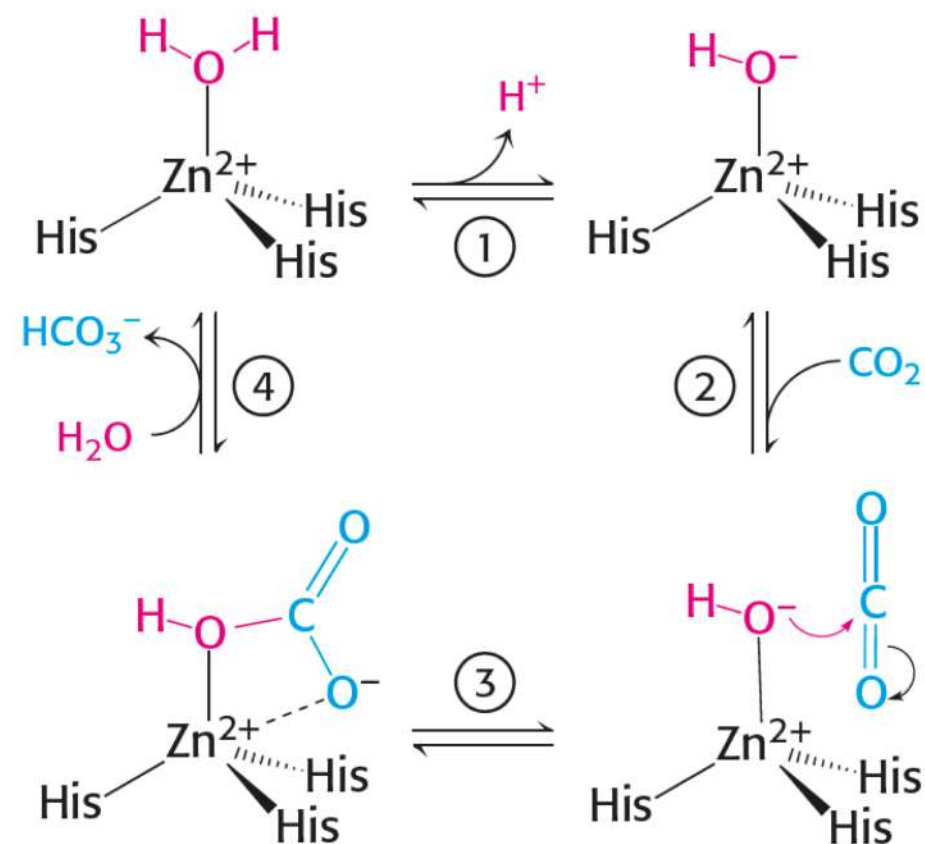
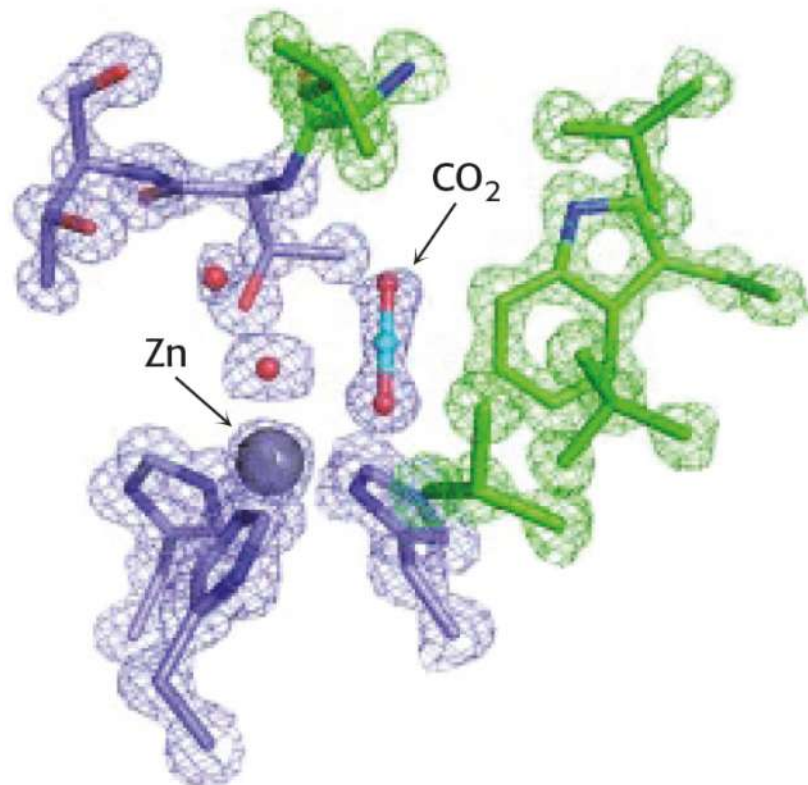
9.2 Οι ανθρακικές ανυδράσεις κάνουν μια γρήγορη αντίδραση γρηγορότερη

Η ανθρακική ανυδράση περιέχει ένα προσδεμένο Zn^{2+} απαραίτητο για την καταλυτική δραστηριότητα



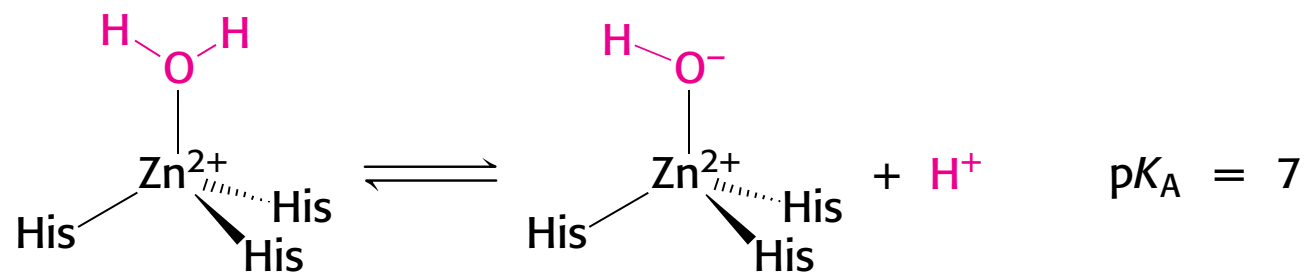
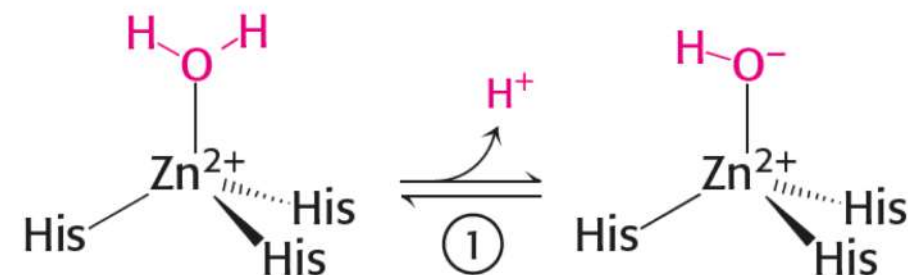
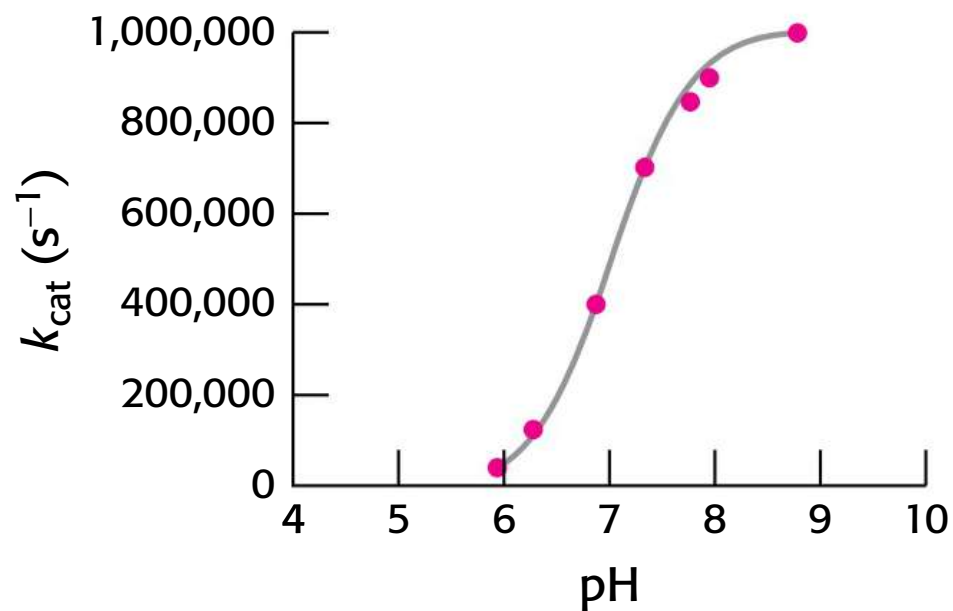
9.2 Οι ανθρακικές ανυδράσεις κάνουν μια γρήγορη αντίδραση γρηγορότερη

Θέση πρόσδεσης του CO_2 και μηχανισμός ανθρακικής ανύδρασης



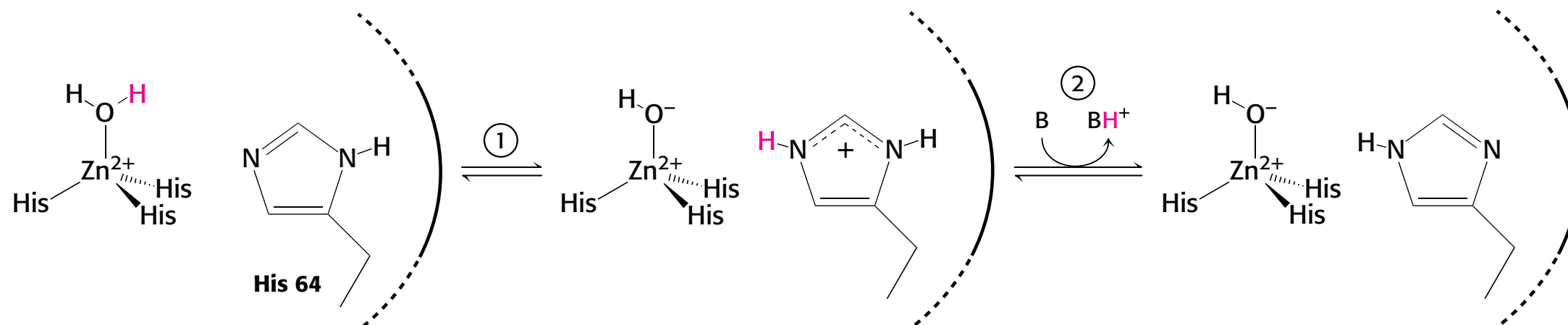
9.2 Οι ανθρακικές ανυδράσεις κάνουν μια γρήγορη αντίδραση γρηγορότερη

Επίδραση του pH στην δραστικότητα της ανθρακικής ανύδρασης



9.2 Οι ανθρακικές ανυδράσεις κάνουν μια γρήγορη αντίδραση γρηγορότερη

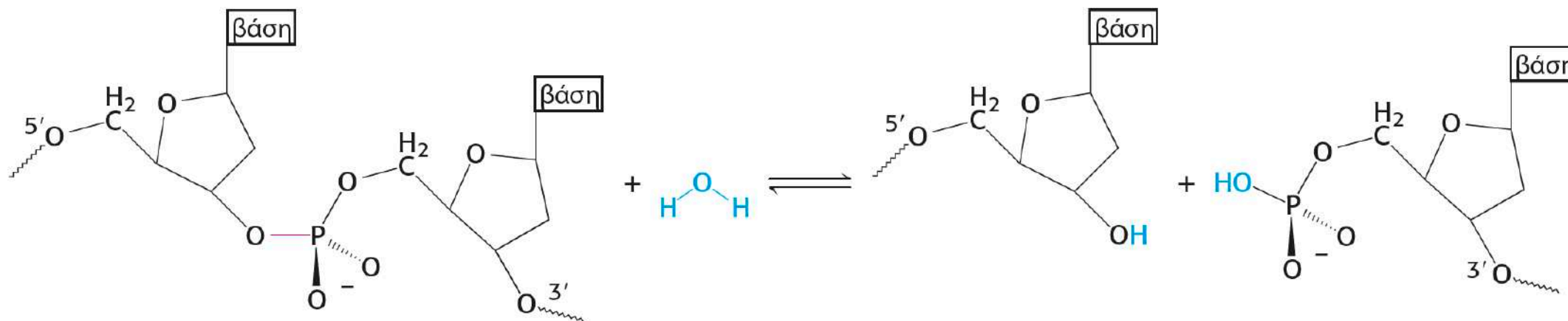
Η ανθρακική ανυδράση II έχει αναπτύξει ένα σύστημα μεταφοράς πρωτονίων



Η καταλυτική λειτουργία αυξήθηκε μέσω της εξέλιξης μια συσκευής για τον έλεγχο της μεταφοράς πρωτονίων από και προς το ενεργό κέντρο!

9.3 Τα περιοριστικά ένζυμα καταλύουν πολύ εξειδικευμένες αντιδράσεις διάσπασης του DNA

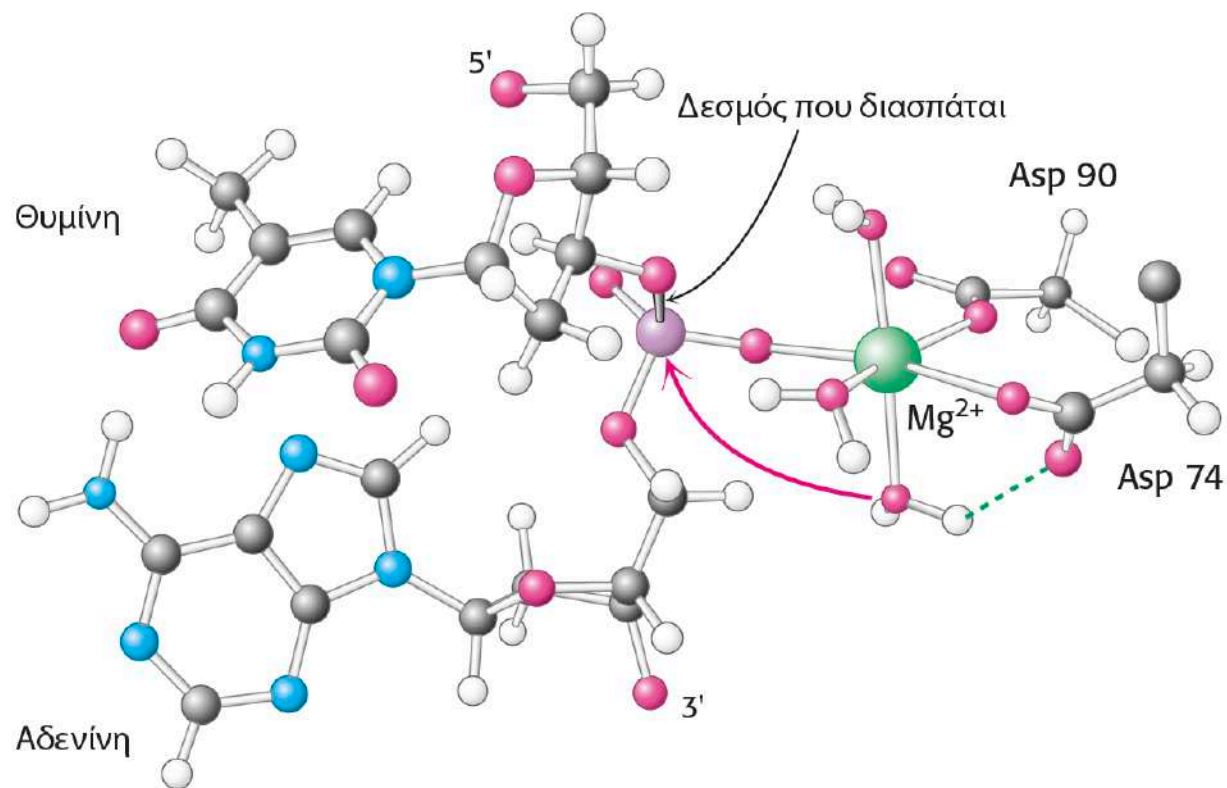
Υδρόλυση ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού



9.3 Τα περιοριστικά ένζυμα καταλύουν πολύ εξειδικευμένες αντιδράσεις διάσπασης του DNA

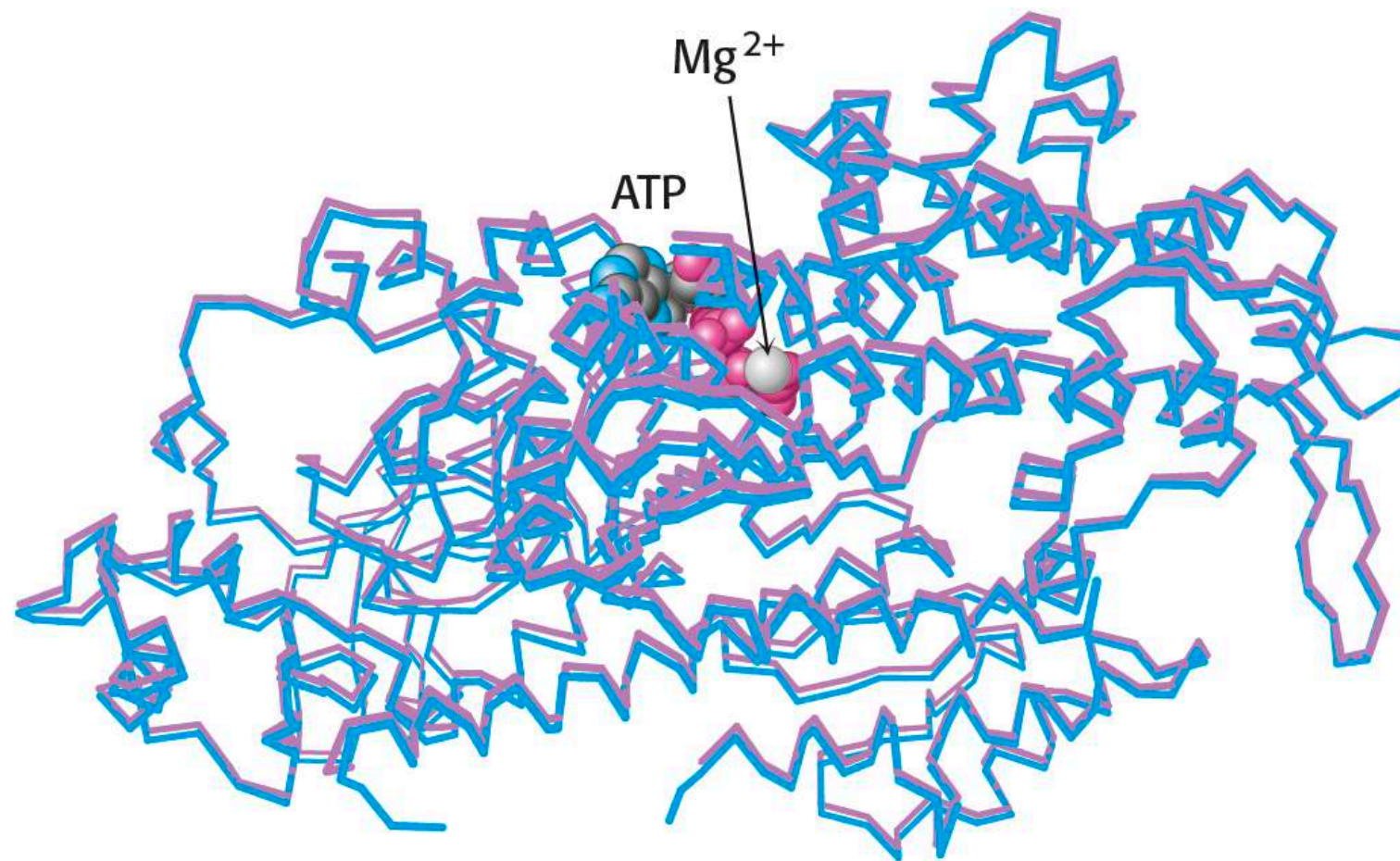
Το Mg^{2+} βοηθά στην ενεργοποίηση του ύδατος και το τοποθετεί έτσι ώστε να μπορεί να επιτεθεί στην φωσφορική ομάδα

Πως το βλέπουμε αυτό;



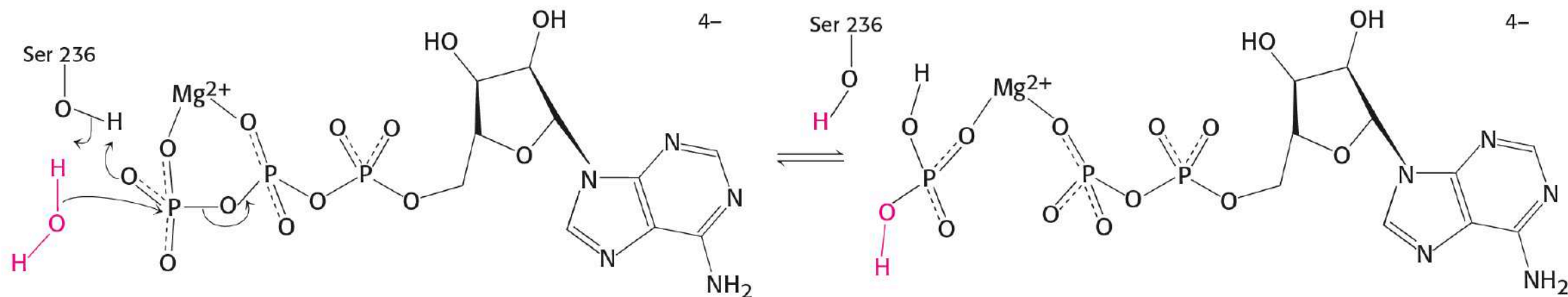
9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο

Δομή συμπλόκου μυοσίνης-ATP



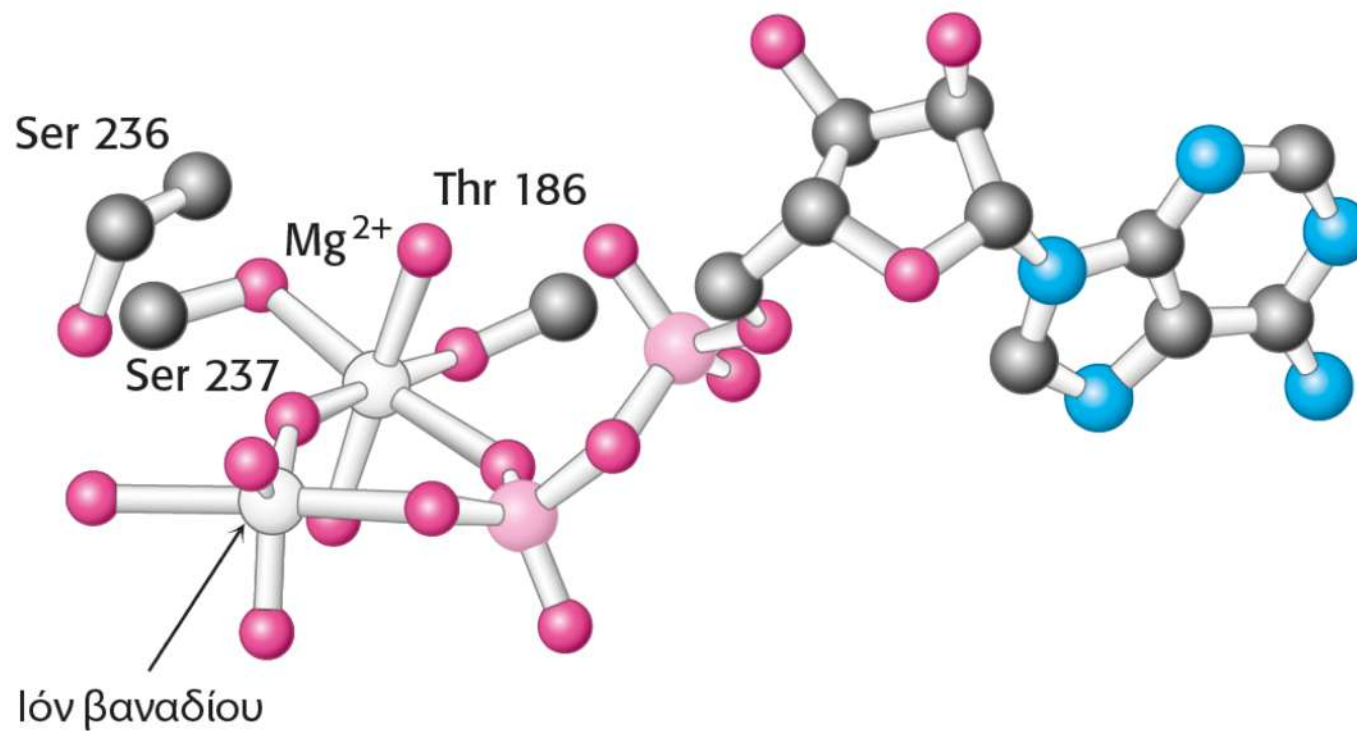
9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο

Διευκολύνοντας την επίθεση του H_2O



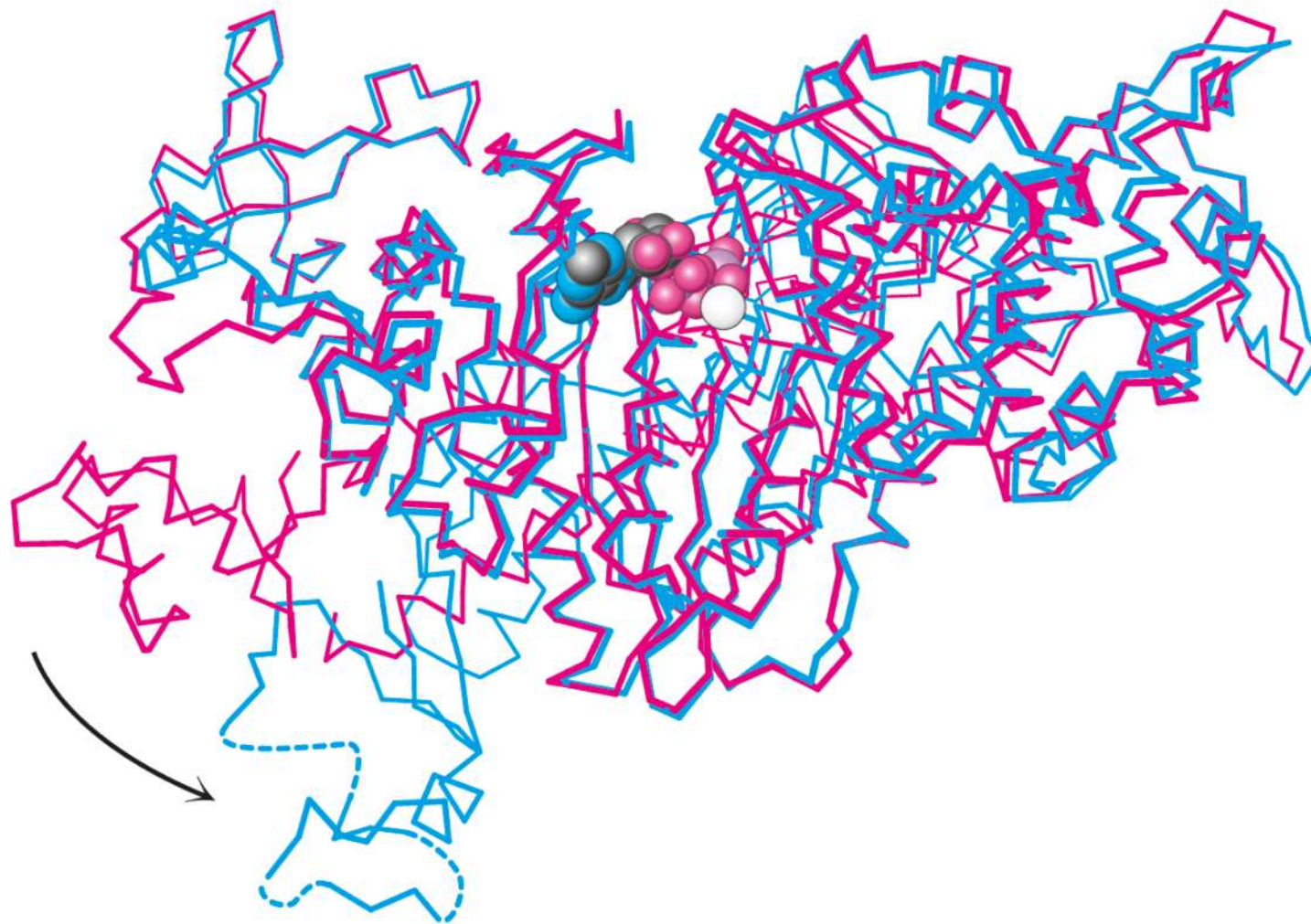
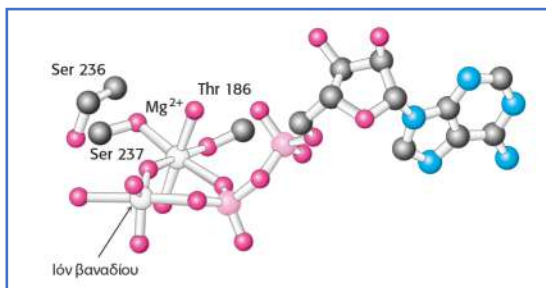
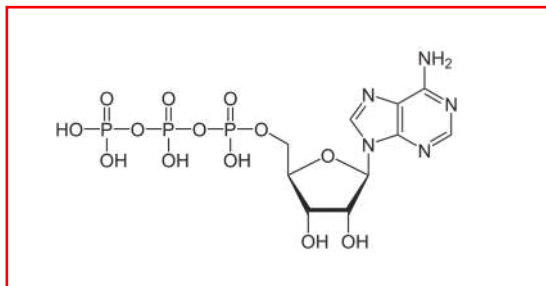
9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο

Ανάλογο της μεταβατικής κατάστασης



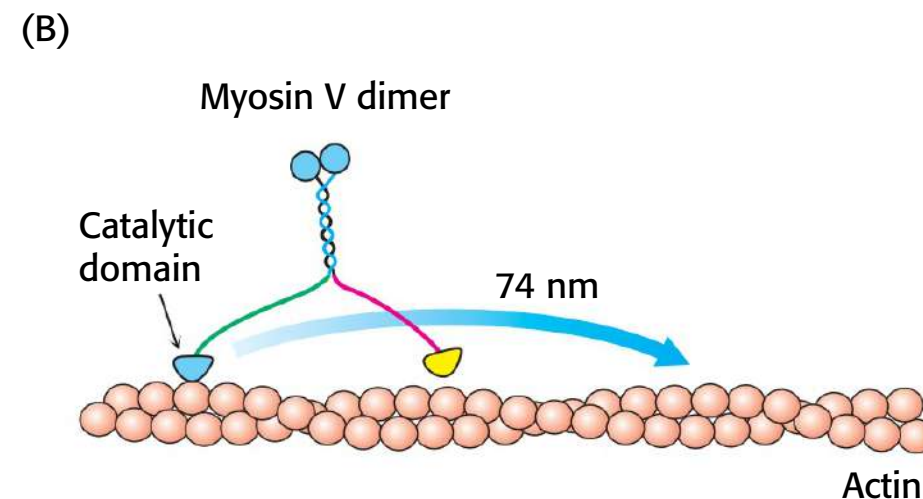
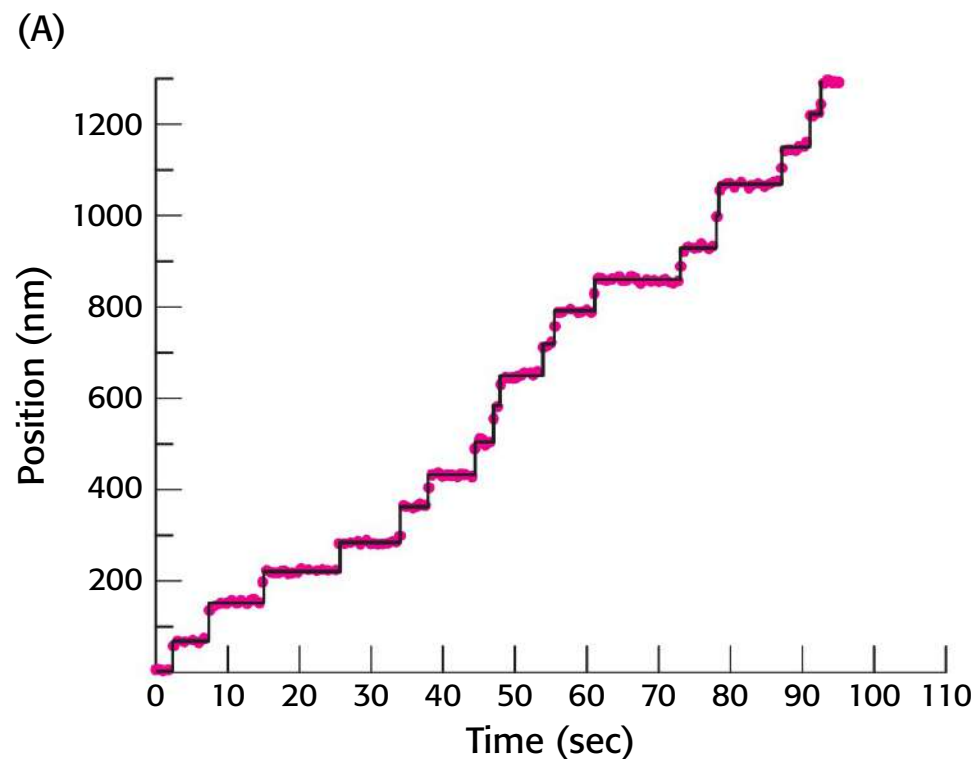
9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο

Αλλαγές στερεοδιάταξης

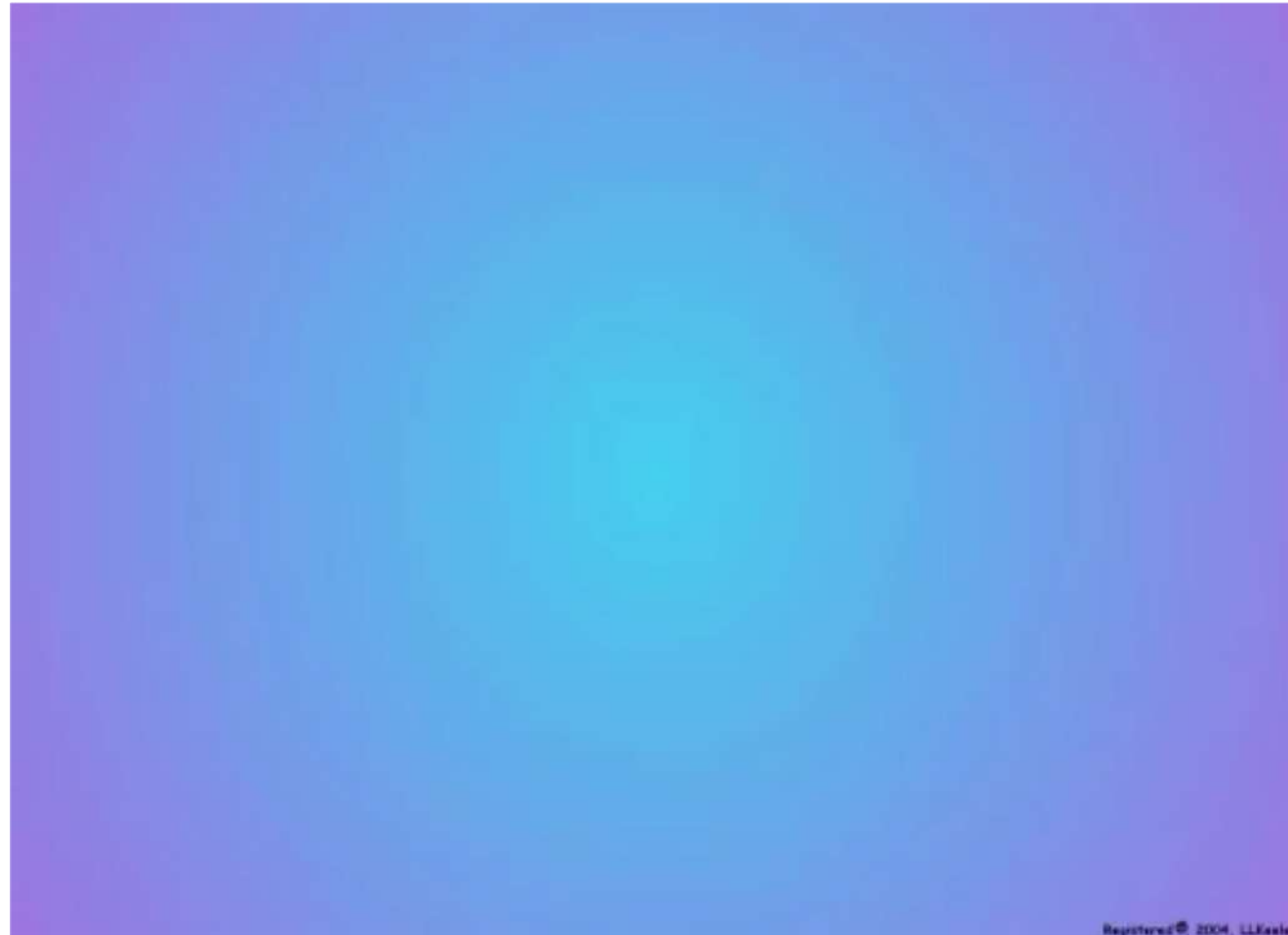


9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο

Κίνηση ενός διμερούς μορίου



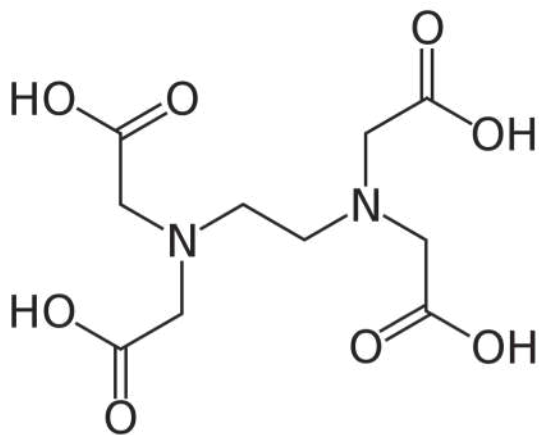
9.4 Οι μυοσίνες χρησιμοποιούν αλλαγές στην στερεοδιάταξη του ενζύμου για να συζεύξουν την υδρόλυση της ATP με μηχανικό έργο



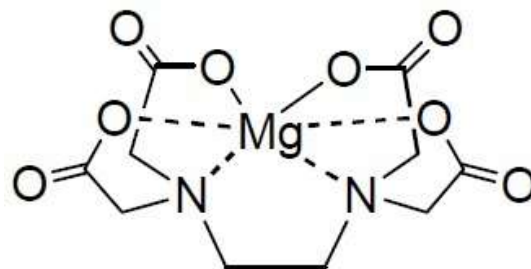
Registered © 2004, L.L. Kealey

Σημαντικό μόριο

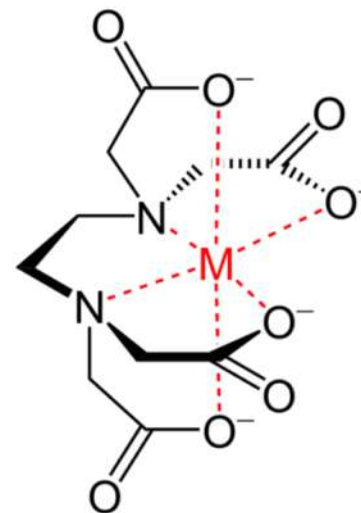
Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ



Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)



Mg(II)-EDTA



Metals-EDTA
complexes



Άσκηση 1

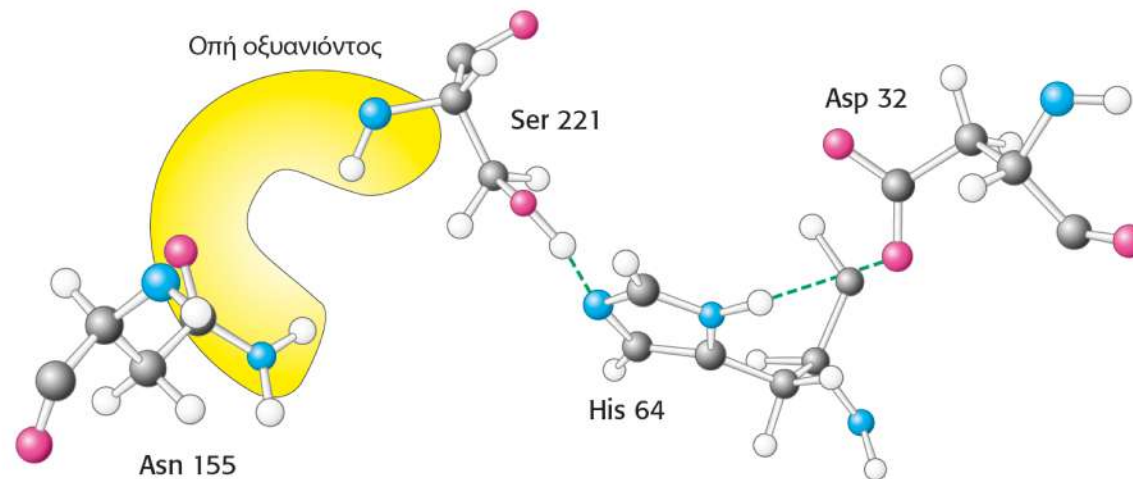
Ας πάρουμε τα υποστρώματα:

Phe-Ala-Gln-Phe-X

A

Phe-Ala-His-Phe-X

B

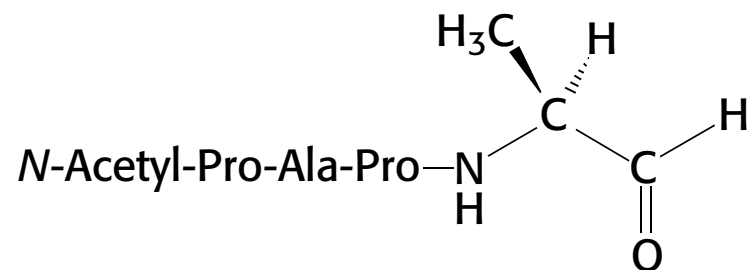


- Αυτά τα υποστρώματα διασπώνται μεταξύ Phe και X από την φυσική σουμπλιτίνη (WT) με την ίδια ταχύτητα
- Η μετάλλαξη της His64 σε Ala διασπά το υπόστρωμα B περισσότερο από 1000 φορές σε σχέση με το A.

Γιατί; Προτείνετε μία εξήγηση.

Άσκηση 2

Η ελαστάση αναστέλλεται εξειδικευμένα από ένα παράγωγο αλδεϋδης ενός από τα υποστρώματά της

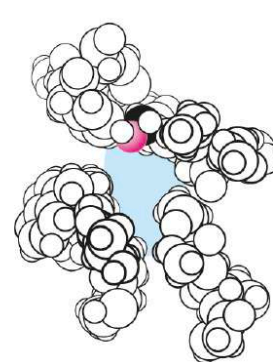
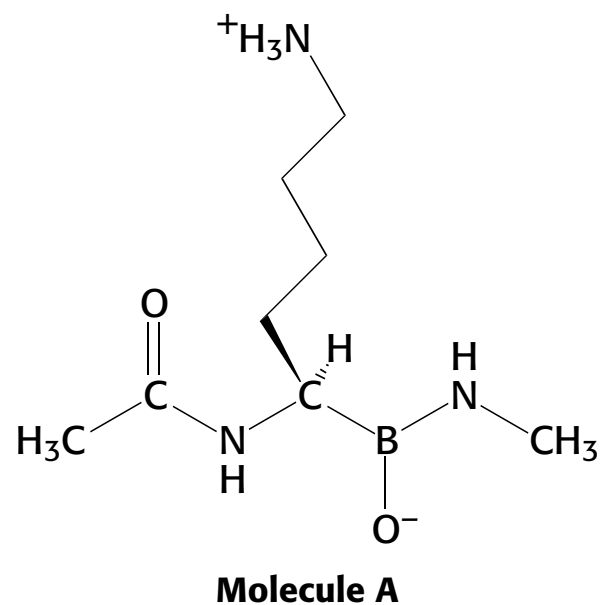


- Ποιο κατάλοιπο στο ενεργό κέντρο της ελαστάσης είναι πιο πιθανό να σχηματίσει ένα ομοιοπολικό δεσμό με την αλδεϋδη αυτή;
- Τι θα σχηματιστεί;

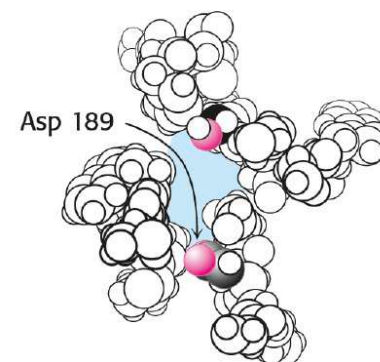


Άσκηση 3

Ποιο ένζυμο (αυτού του κεφαλαίου) αναστέλλει το μόριο A πιο αποτελεσματικά και γιατί;

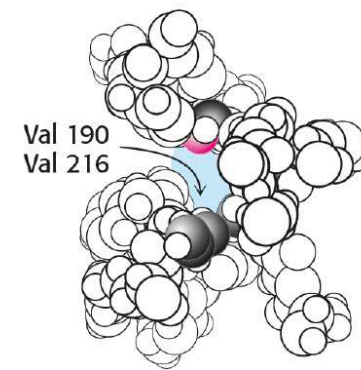


Χυμοθρυψίνη



Asp 189

Θρυψίνη



Val 216

Val 190

Ελαστάση

Άσκηση 4

Έχουμε την χυμοθρυψίνη με την μετάλλαξη S189D (βρίσκεται στον πυθμένα της θήκης εξειδίκευσης).

Τι αποτέλεσμα θα προβλέπαμε;

- Χυμοθρυψίνη (μακριά μη πολική πλευρική αλυσίδα)
- Θρυψίνη (μακριές θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες, π.χ. Arg, Lys)

