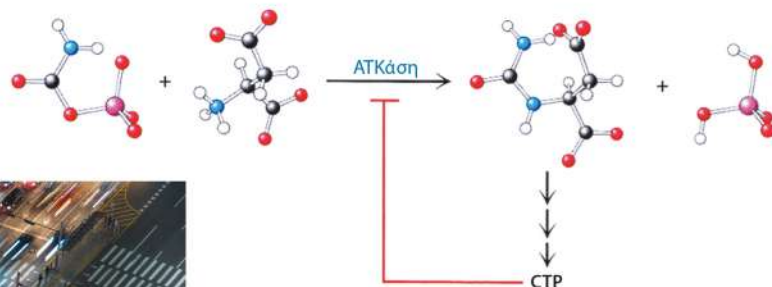


Βιοχημεία I

Κεφάλαιο 10

Στρατηγικές ρύθμισης



Η δραστηκότητα των ενζύμων πρέπει να ρυθμίζεται έτσι ώστε να λειτουργούν στον κατάλληλο χρόνο και τόπο.

Η ρύθμιση αυτή είναι θεμελιώδης για των συντονισμό του ευρέος φάσματος βιοχημικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα οποιαδήποτε στιγμή σε έναν οργανισμό.





10.0 Εισαγωγή

Η ενζυμική δραστηριότητα ρυθμίζεται με 5 κύριους τρόπους:

1. Αλλοστερικός έλεγχος

- Πρωτεΐνες που περιέχουν ξεχωριστές ρυθμιστικές θέσεις και πολλαπλές λειτουργικές θέσεις
- Η πρόσδεση μικρών σηματοδοτικών μορίων σε θέσεις ρύθμισης ελέγχει την δραστηριότητα
- Οι αλλοστερικές πρωτεΐνες έχουν την ιδιότητα της συνεργειακότητας
- π.χ. Ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση (ΑΤΚάση)

2. Πολλαπλές μορφές ενζύμου

- Ισοένζυμα, είναι ομόλογα ένζυμα ενός οργανισμού τα οποία καταλύουν την ίδια αντίδραση
- Διαφέρουν ελαφρώς στην δομή και πιο πολύ στις τιμές K_M και V_{max} , καθώς και στις ρυθμιστικές ιδιότητες



10.0 Εισαγωγή

3. Αντιστρεπτή ομοιοπολική τροποποίηση

- Οι καταλυτικές ιδιότητες πολλών ενζύμων μεταβάλλονται αξιοσημείωτα από την ομοιοπολική πρόσδεση μιας τροποποιητικής ομάδας, συνήθως φωσφορικής
- Οι αντιδράσεις αυτές καταλύονται από πρωτεϊνικές κινάσες (χρησιμοποιούν ATP)

4. Πρωτεολυτική ενεργοποίηση

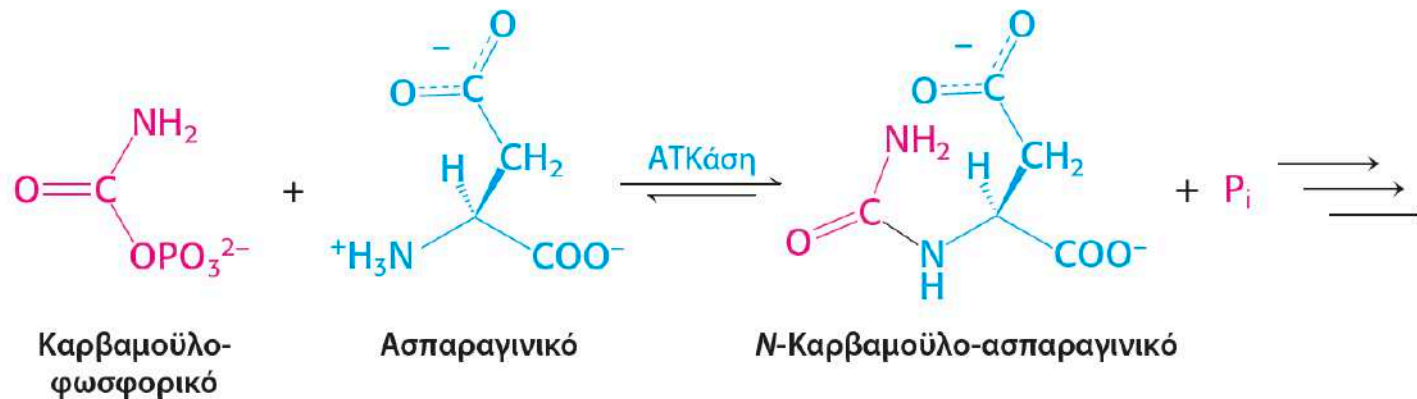
- Μη αντιστρεπτή μετατροπή ενός ανενεργού ενζύμου σε ενεργό
- Τα ένζυμα ενεργοποιούνται με υδρόλυση μερικών ή ακόμα και ενός πεπτιδικού δεσμού ανενεργών προδρόμων που ονομάζονται ζυμογόνα ή προένζυμα

5. Έλεγχος της ποσότητας του ενζύμου

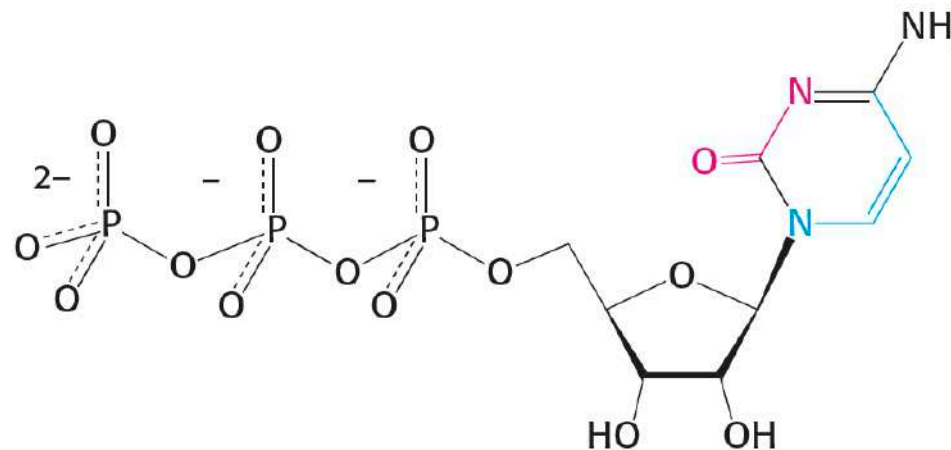
- Η ενζυμική δραστηριότητα μπορεί να ρυθμιστεί με την ποσότητα του ενζύμου που είναι παρούσα
- Ο τρόπος ρύθμισης λαμβάνει χώρα σε επίπεδο μεταγραφής

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Αντίδραση ΑΤΚάσης



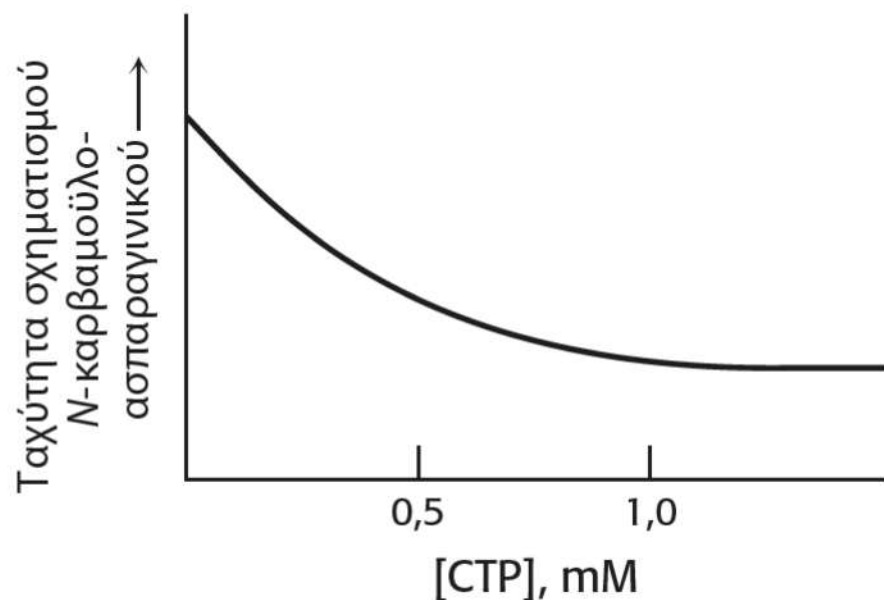
Καταλύει το πρώτο βήμα της βιοσύνθεσης των πυριμιδινών



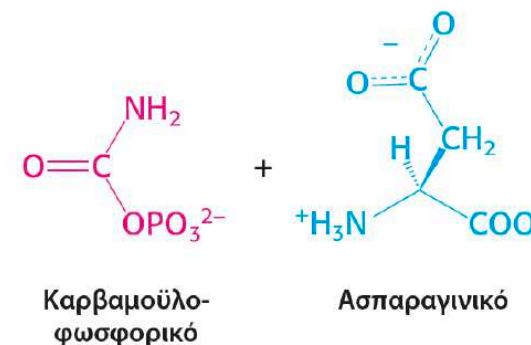
Τριφωσφορική κυτιδίνη (CTP)

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

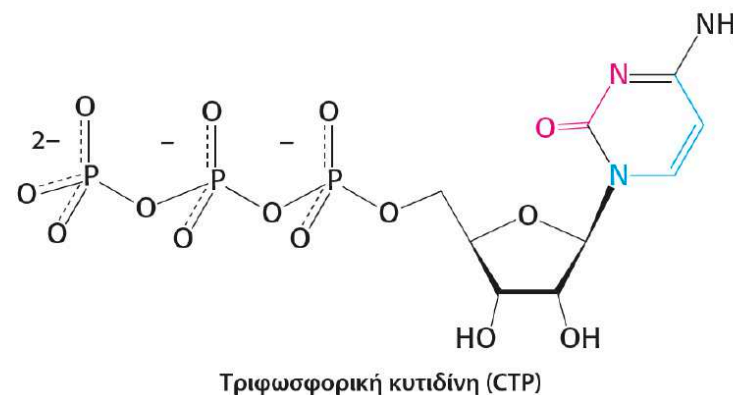
Ανατροφοδοτική αναστολή



Υποστρώματα:



Αναστολέας:

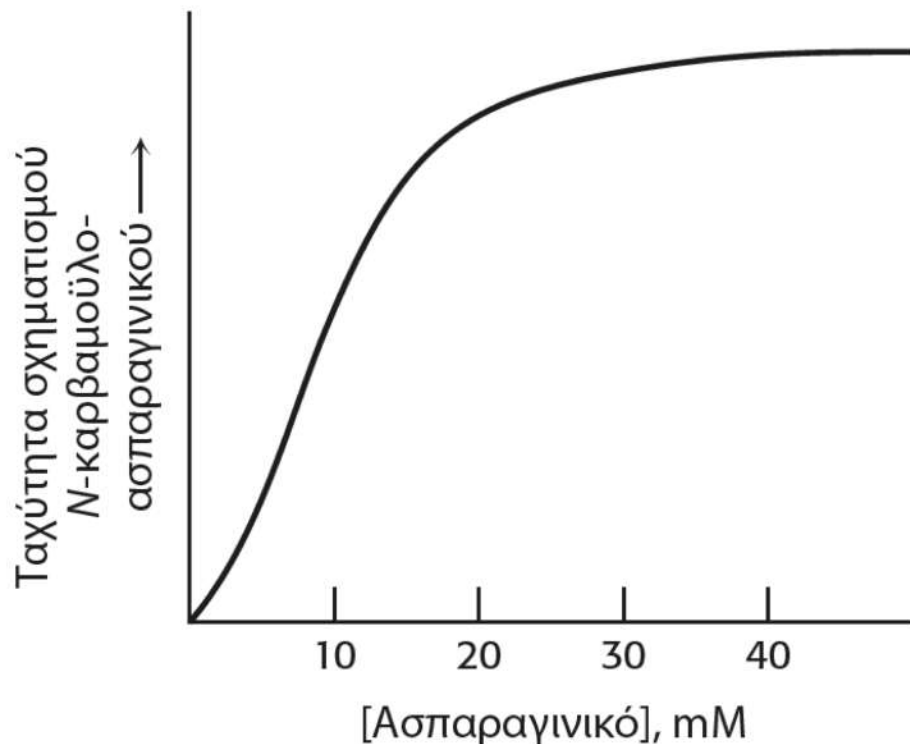


Μοιάζει με τα
υποστρώματα;

Αλλοστερικός αναστολέας

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Τα ένζυμα που ρυθμίζονται αλλοστερικά δεν ακολουθούν την κινητική MM

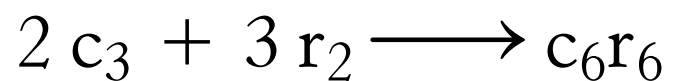
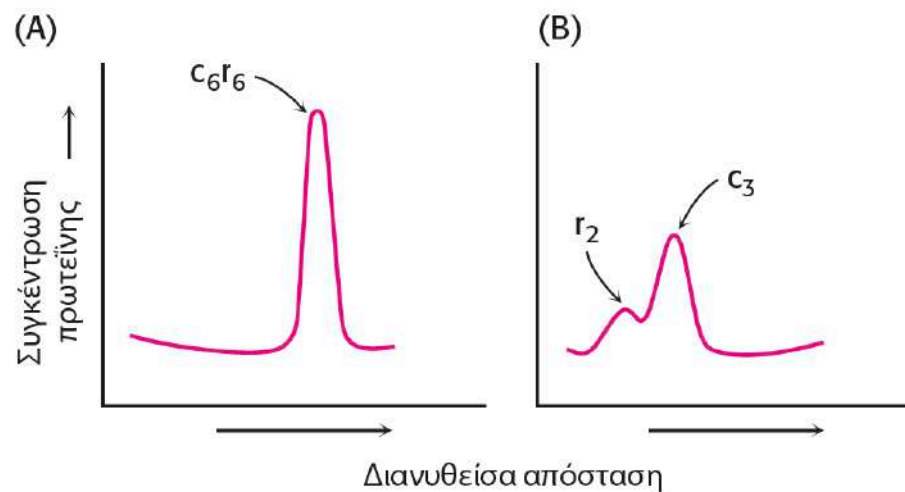
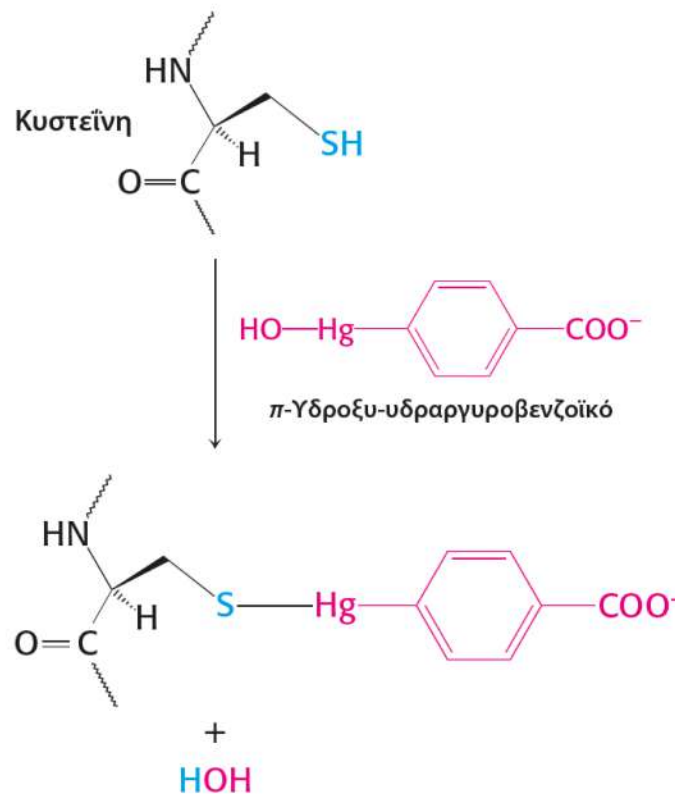


Πως ερμηνεύετε το διάγραμμα;

Η πρόσδεση του υποστρώματος σε ένα ενεργό κέντρο αυξάνει τη δραστηριότητα στα άλλα ενεργά κέντρα

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Η ΑΤΚάση απαρτίζεται από καταλυτικές και ρυθμιστικές υπομονάδες



Καταλυτική υπομονάδα (c_3)

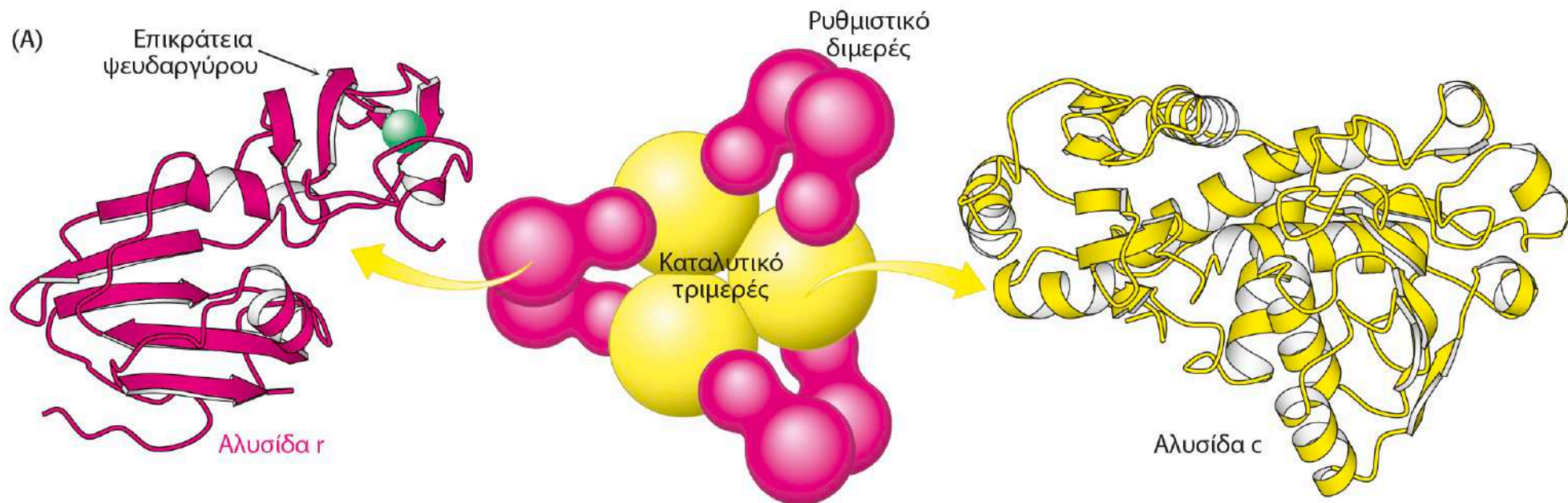
- Καταλύει
- Ακολουθεί την κινητική MM
- Δεν επηρεάζεται από CTP

Ρυθμιστική υπομονάδα (r_2)

- Προσδένει CTP
- Δεν καταλύει

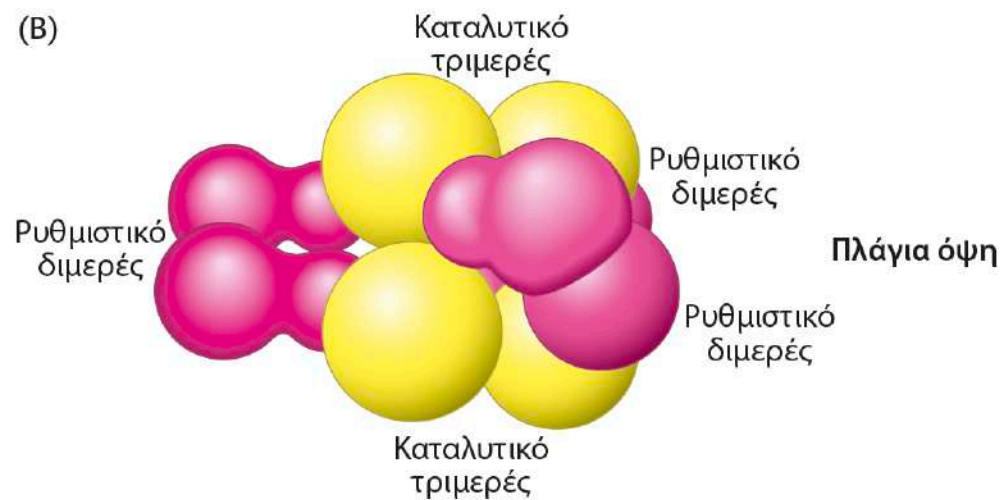
10.1

Η δομή της ΑΤΚάσης



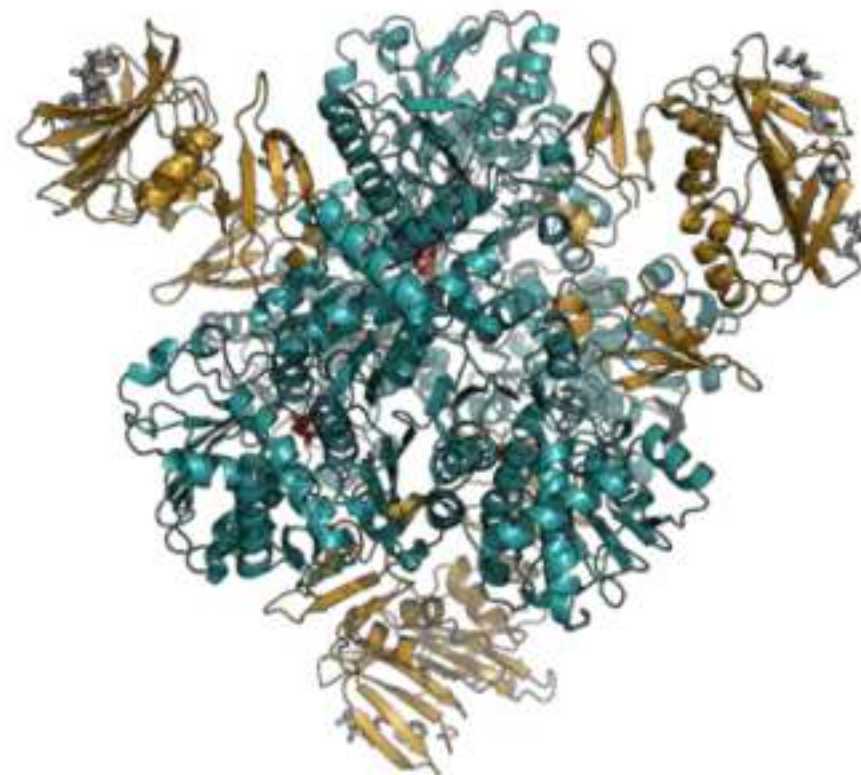
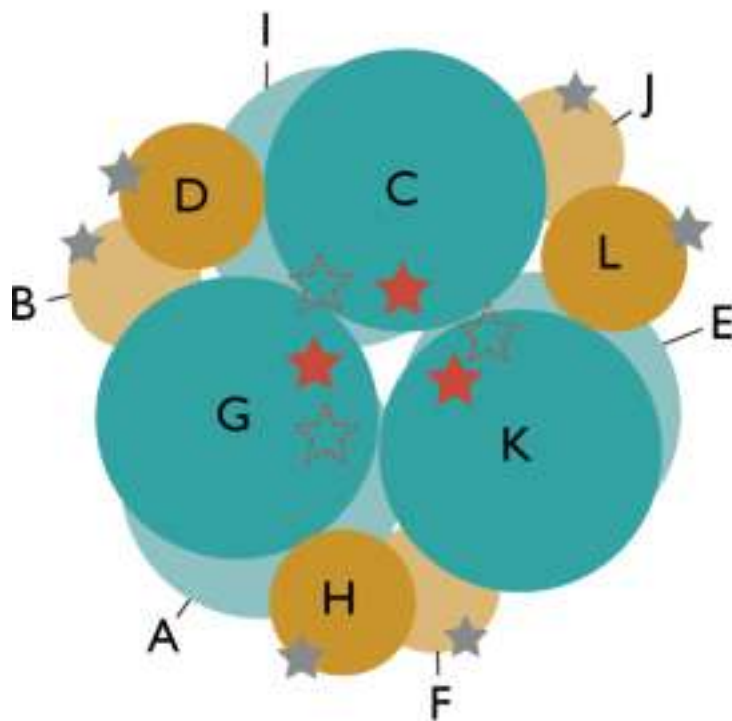
Αλληλεπιδράσεις:

- Κάθε r μέσα σε ένα ρυθμιστικό διμερές, αλληλεπιδρά με ένα c μέσα σε ένα καταλυτικό τριμερές
- Η αλυσίδα c κάνει μια επαφή με μια επικράτεια στην r η οποία σταθεροποιείται από ένα ιόν Zn προσδεμένο σε 4 Cys



10.1

Η δομή της ΑΤΚάσης



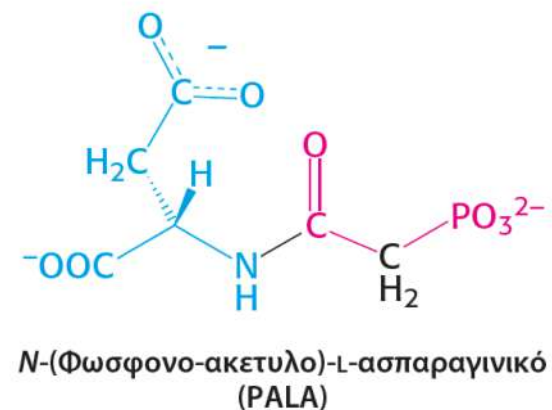
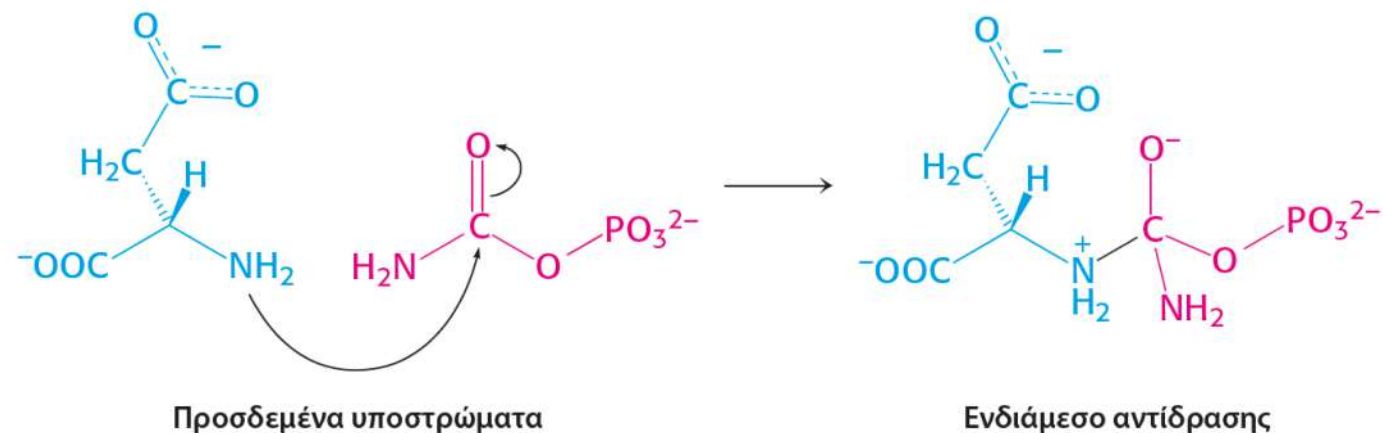
10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμυλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Πως θα εντοπίσουμε και στην συνέχεια θα μελετήσουμε τα ενεργά κέντρο της ΑΤΚάσης;

Τι χρησιμοποιούμε;

PALA, ένα ανάλογο δύο υποστρωμάτων

Τι είναι το PALA;

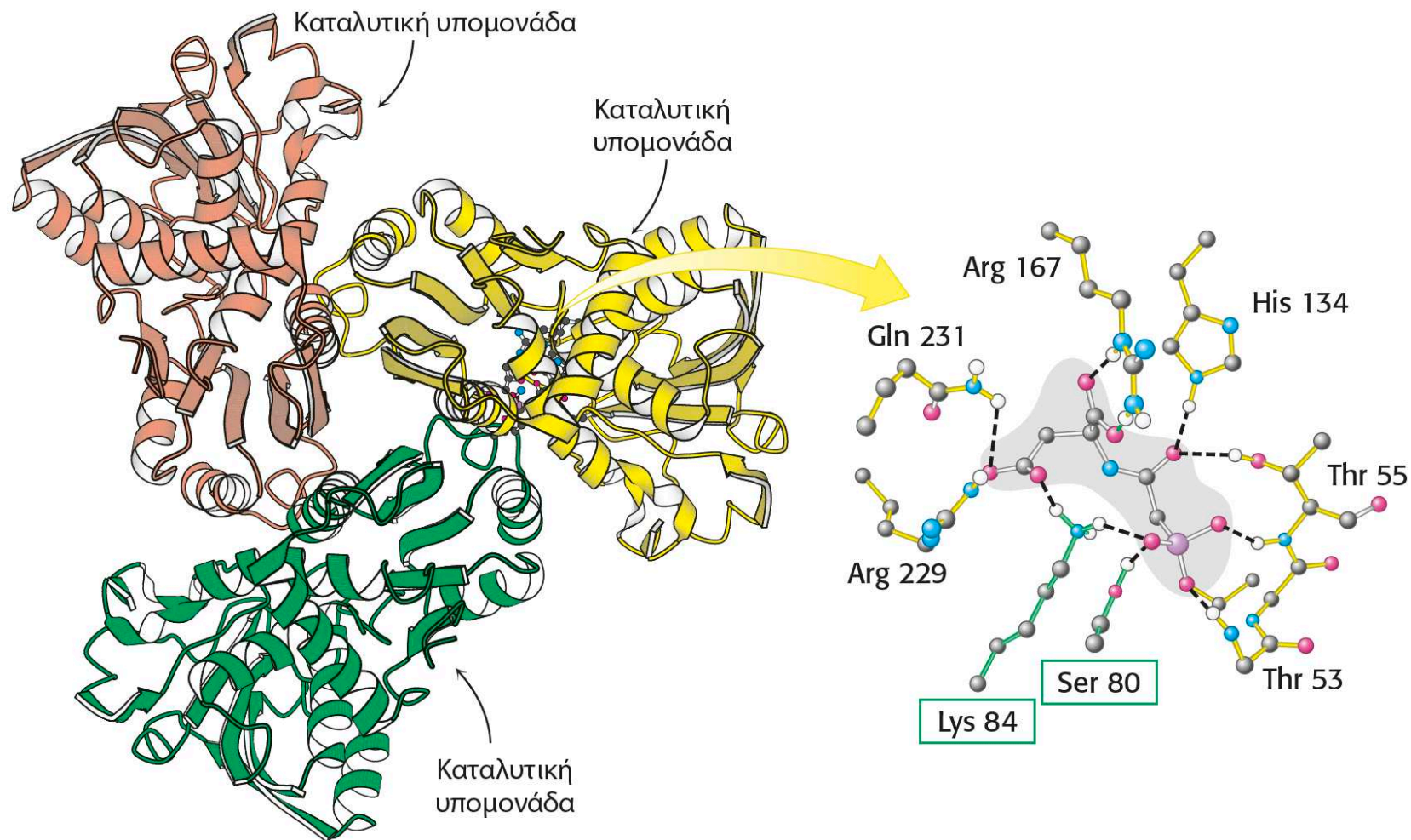


10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Το ενεργό κέντρο της ΑΤΚάσης

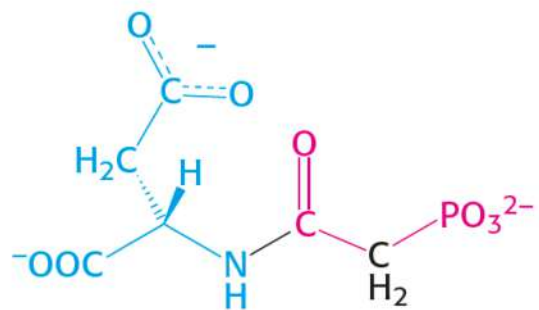
Κάθε καταλυτικό τριμερές

- Τρία ενεργά κέντρα
- Στα όρια μεταξύ αλυσίδων c

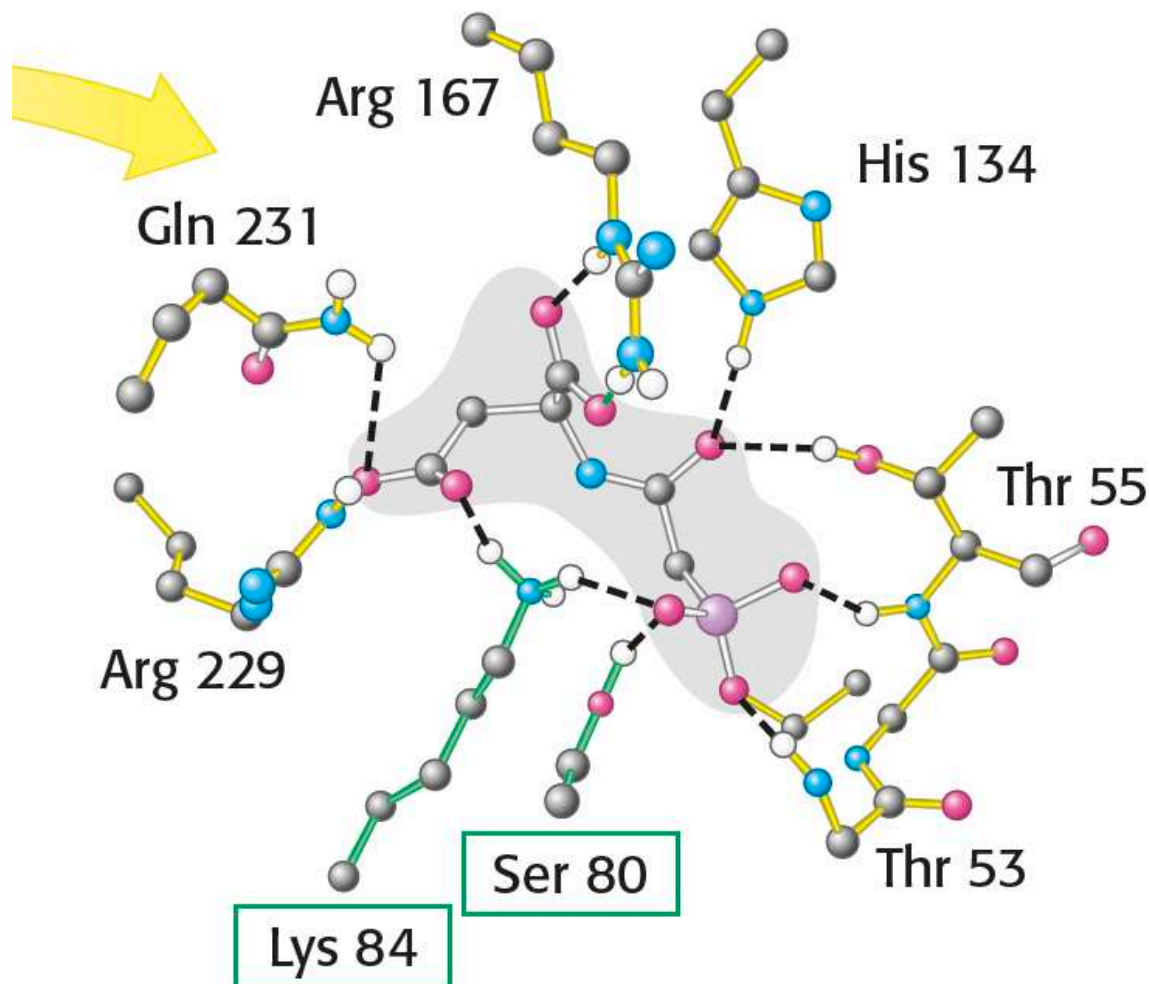


10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμυλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Το ενεργό κέντρο της ΑΤΚάσης

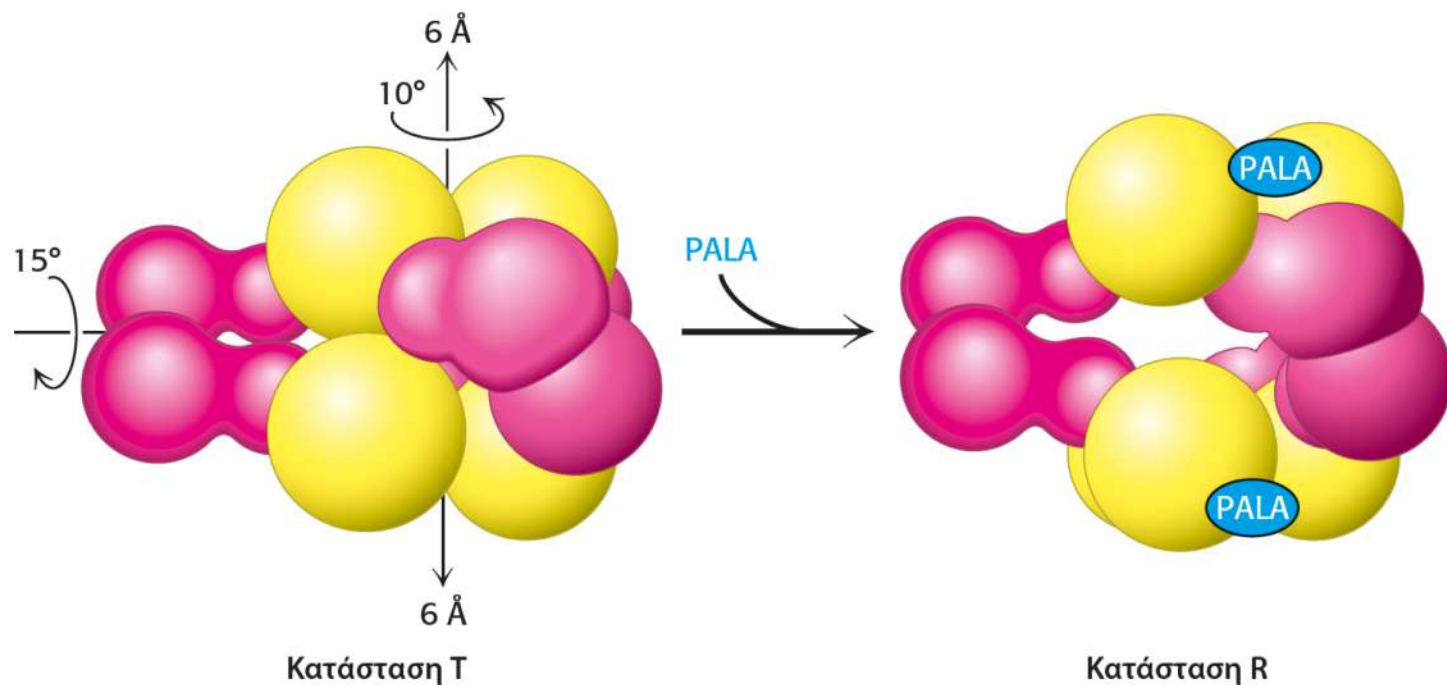


N-(Φωσφονο-ακετυλο)-L-ασπαραγινικό (PALA)



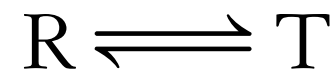
10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Οι καταστάσεις T (tense) και R (relaxed)



Σταθεροποιείται παρουσία S
(εδώ τον ρόλο αυτό έχει το PALA)

Ισορροπία



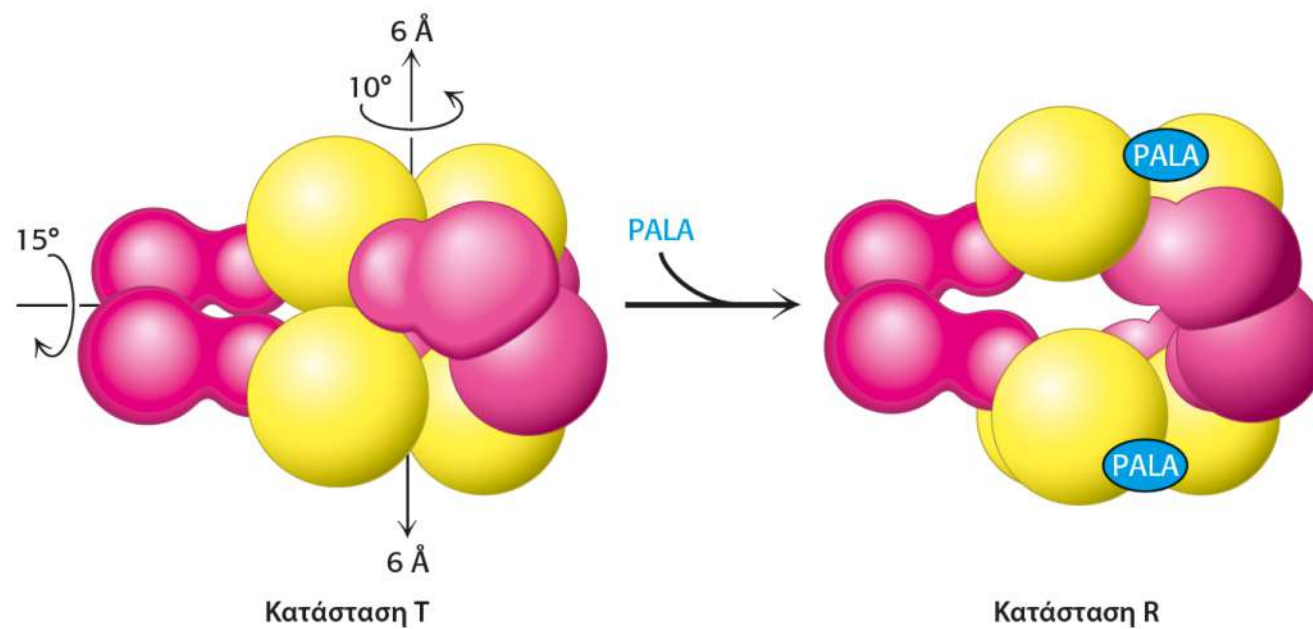
Αλλοστερική σταθερά

$$L = \frac{T}{R} \quad \text{Απουσία υποστρώματος, } L = 100 \text{ έως } 1000$$

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Η προσθήκη επιπλέον υποστρώματος έχει δύο αποτελέσματα:

1. Κάθε μόριο E να έχει τουλάχιστον ένα μόριο S
2. Αυξάνει το μέσο όρο των μορίων S ανά E



10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

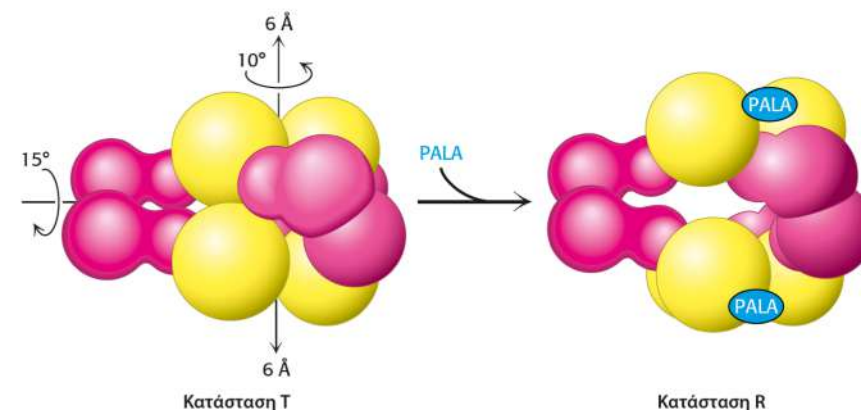
Άρα η παρουσία επιπρόσθετου S θα αυξήσει το κλάσμα των μορίων του E που βρίσκονται στο R, διότι η θέση ισορροπίας εξαρτάται από τον αριθμό των ενεργό κέντρων που έχουν καταληφθεί από το S

Συνεργιακότητα: συνεργασία υπομονάδων

Ομότροπα φαινόμενα: επιδράσεις υποστρωμάτων σε αλλοστερικά ένζυμα

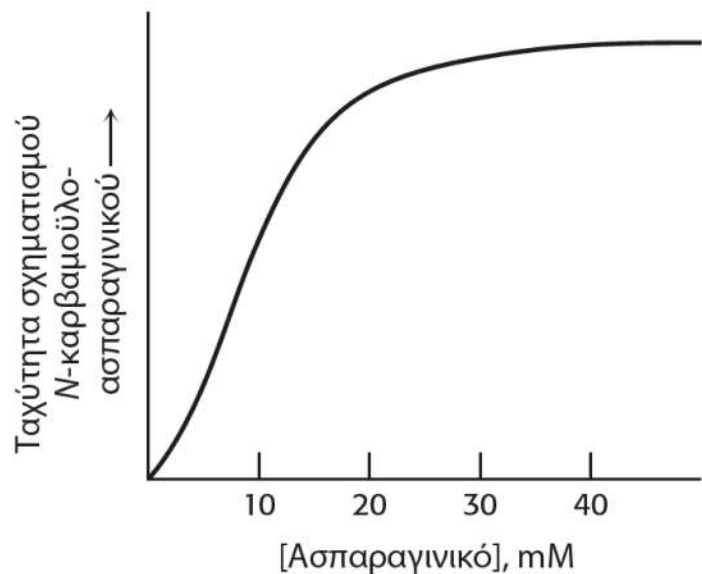
Εναρμονισμένο μοντέλο: αλλαγές στο ένζυμο είναι «όλες ή καμία», επηρεάζονται εξίσου όλες οι καταλυτικές θέσεις

Μοντέλο ακολουθίας: η σύνδεση ενός προσδέτη μπορεί να επηρεάσει γειτονικές θέσεις και όχι όλων των υπομονάδων

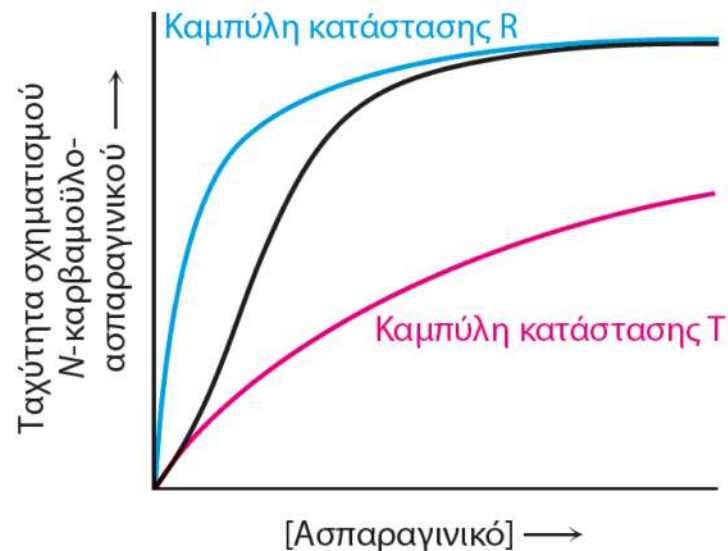


10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Τα ένζυμα που ρυθμίζονται αλλοστερικά (όπως και η ΑΤΚάση) δεν ακολουθούν την κινητική ΜΜ



Εμφανίζουν μια σιγμοειδή καμπύλη



Η βάση για την σιγμοειδή καμπύλη

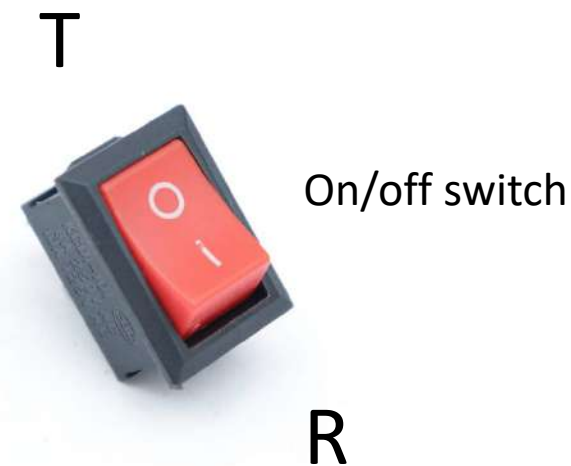
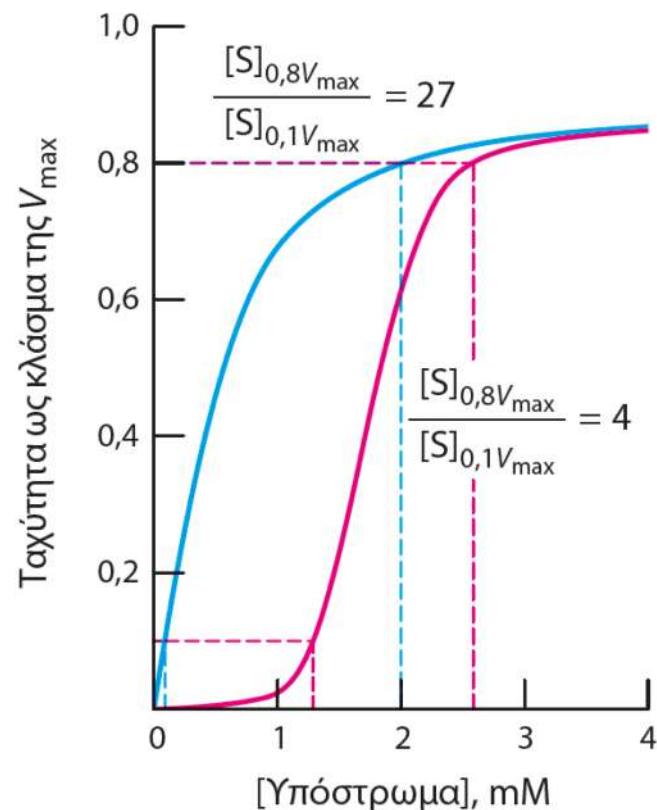
K_M

10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Τα αλλοστερικά ένζυμα εμφανίζουν φαινόμενα ουδού

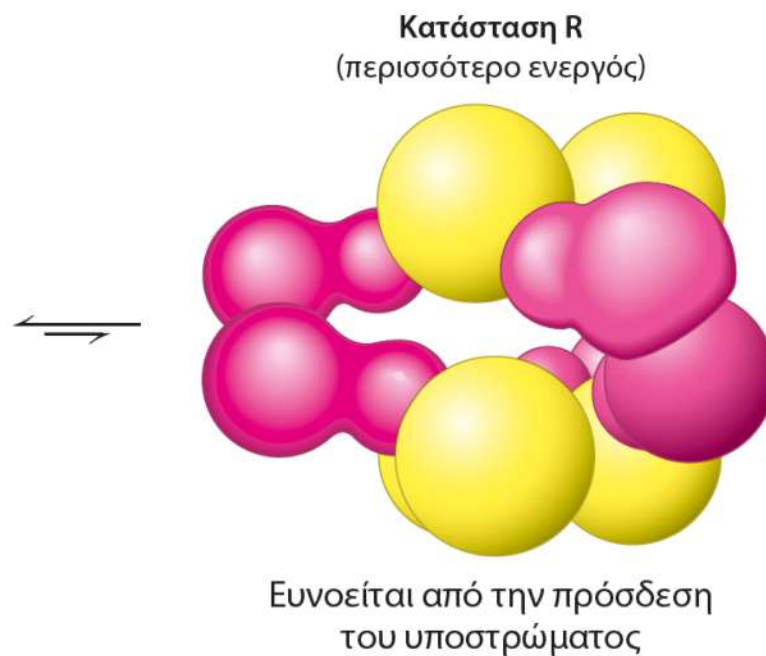
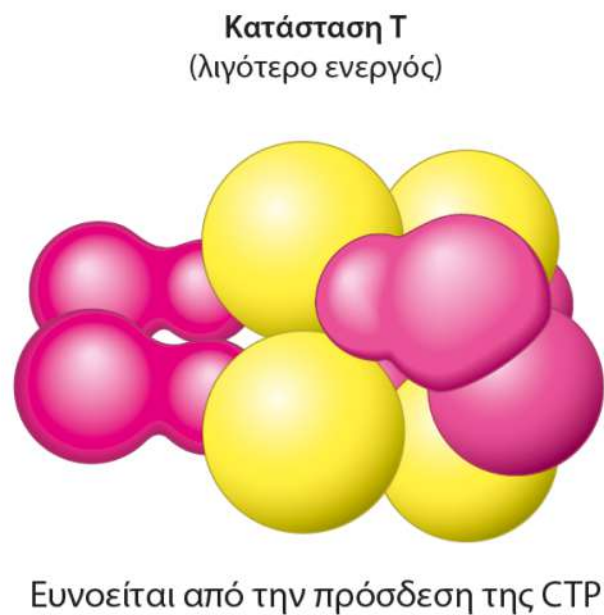
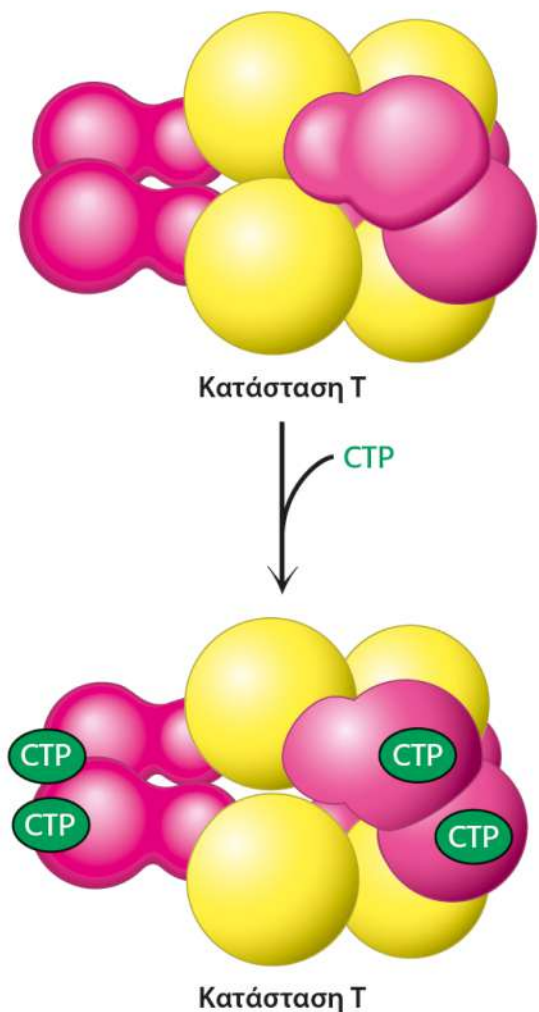
Η δραστικότητα αυτών των ενζύμων είναι πιο ευαίσθητη σε αλλαγές της $[S]$ κοντά στην K_M σε σχέση με τα ΜΜ ένζυμα για την ίδια V_{max}

Η ευαισθησία αυτή ονομάζεται φαινόμενο ουδού: πολύ χαμηλή ενζυμική δραστικότητα κάτω από μία συγκεκριμένη $[S]$, ενώ όταν επιτευχθεί αυτή η συγκέντρωση, η ενζυμική δραστικότητα αυξάνεται ραγδαία



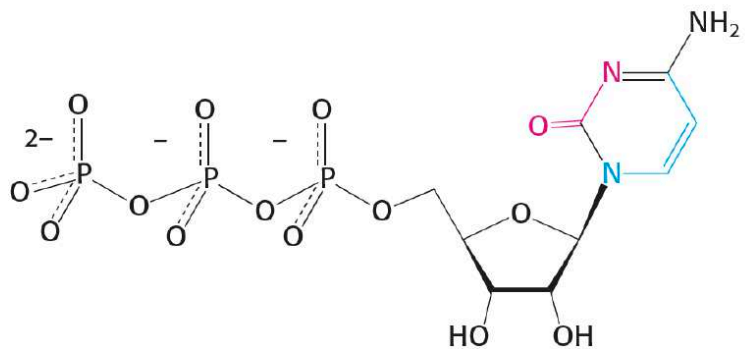
10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

Αλλοστερικοί ρυθμιστές αλλάζουν την ισορροπία της μετάβασης από την T σε R

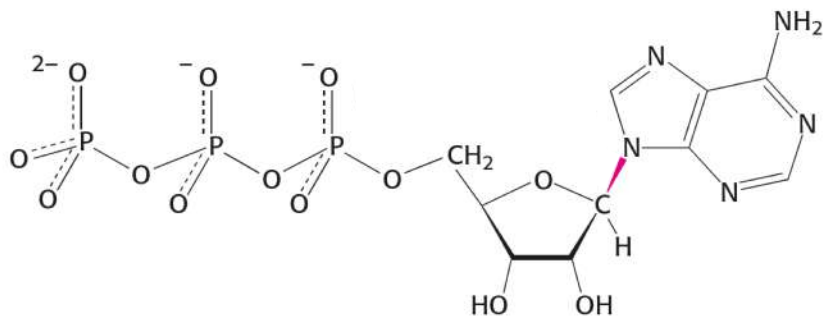


10.1 Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από το τελικό προϊόν της πορείας της

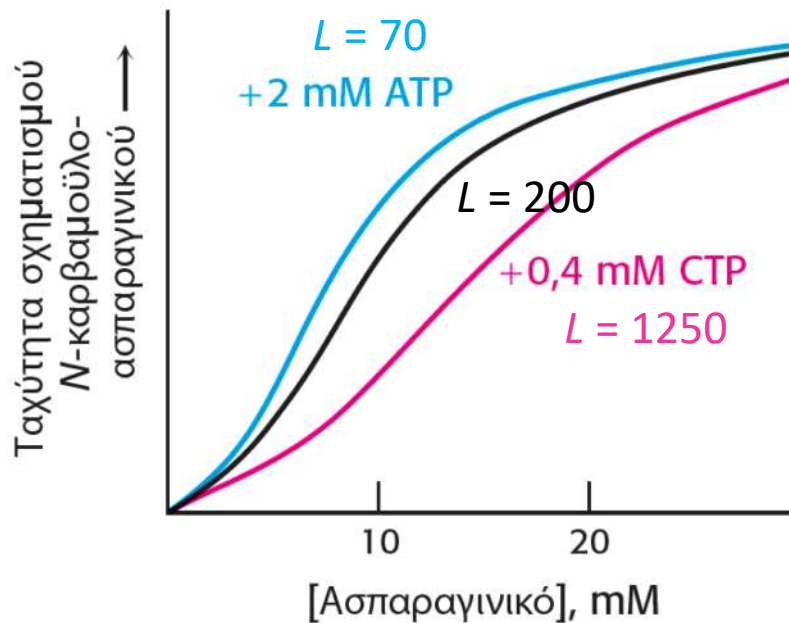
Επίδραση αλλοστερικών ρυθμιστών (ATP και CTP) στην κινητική της ΑΤΚάσης



Τριφωσφορική κυτιδίνη (CTP)



Ένα νουκλεοτίδιο
(5'-τριφωσφορική αδενοσίνη [5'-ATP])



Ετερότροπα φαινόμενα: επιδράσεις των μορίων που δεν είναι υποστρωμάτων σε αλλοστερικά ένζυμα

7.1 Η δέσμευση οξυγόνου στα άτομα σιδήρου στην αίμη

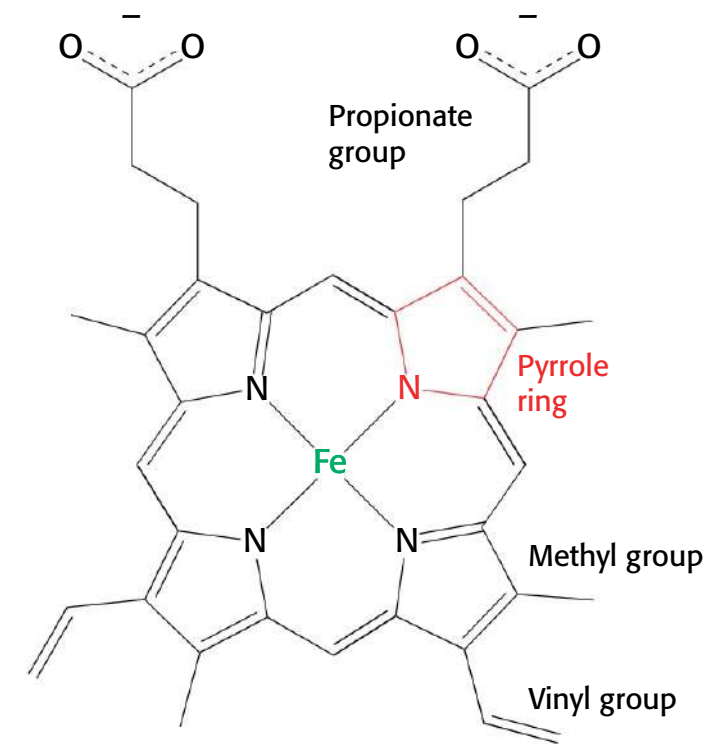
Ο αλλοστερικός έλεγχος είναι μια ιδιότητα που ΔΕΝ περιορίζεται στα ένζυμα

Οι βασικές αρχές παρουσιάζονται το ίδιο καλά και από κάποιες άλλες πρωτεΐνες

Εδώ θα δούμε...

Αιμοσφαιρίνη: πρωτεΐνη μεταφοράς οξυγόνου

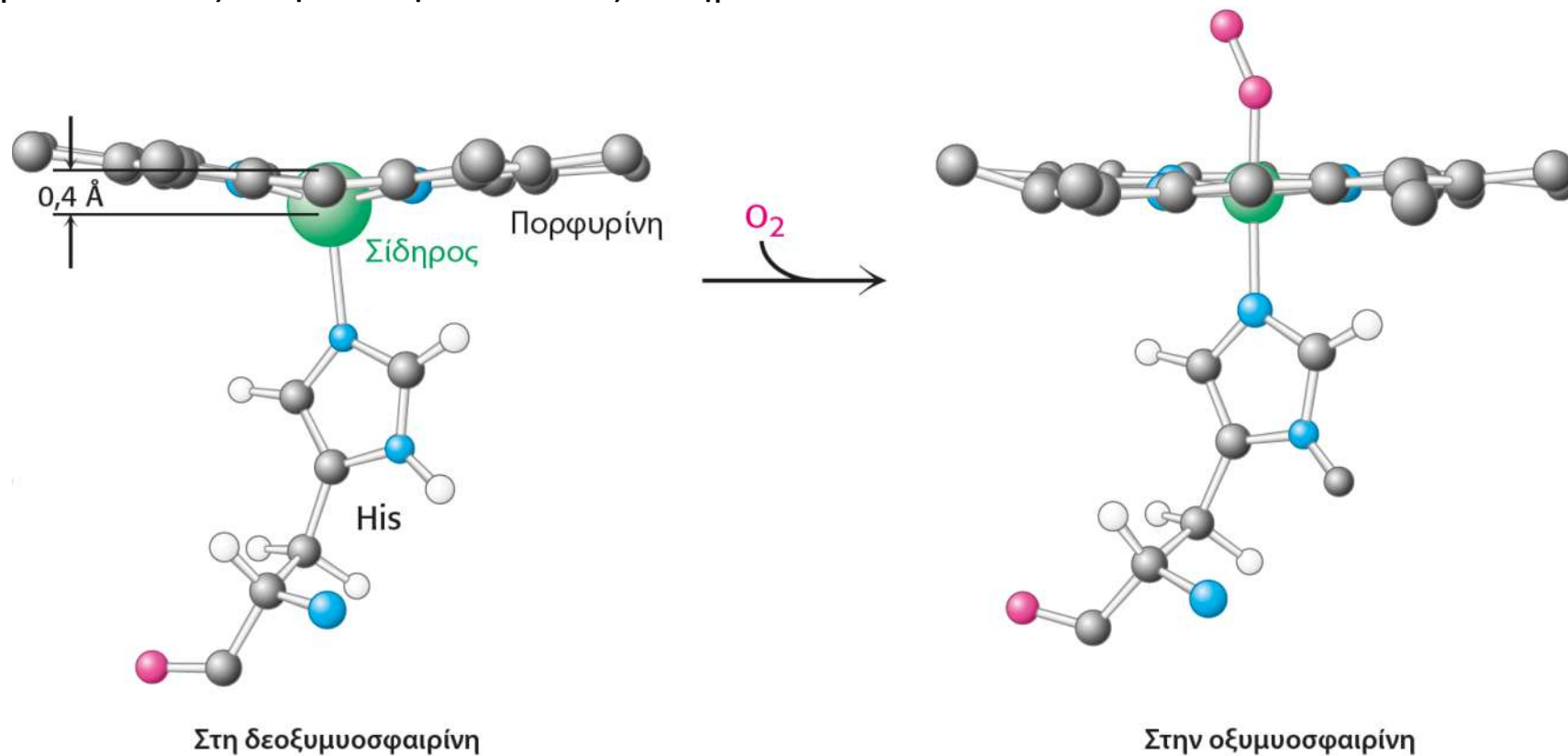
Δεσμεύει O_2 παρουσία της αίμης (μιας προσθετικής ομάδας που αποτελείται από πρωτοπορφυρίνη IX και από ένα κεντρικό άτομο σιδήρου)



Αίμη

7.1 Η δέσμευση οξυγόνου στα άτομα σιδήρου στην αίμη

Η δέσμευση του οξυγόνου αλλάζει την θέση του ιόντος σιδήρου



7.1 Η δέσμευση οξυγόνου στα άτομα σιδήρου στην αίμη

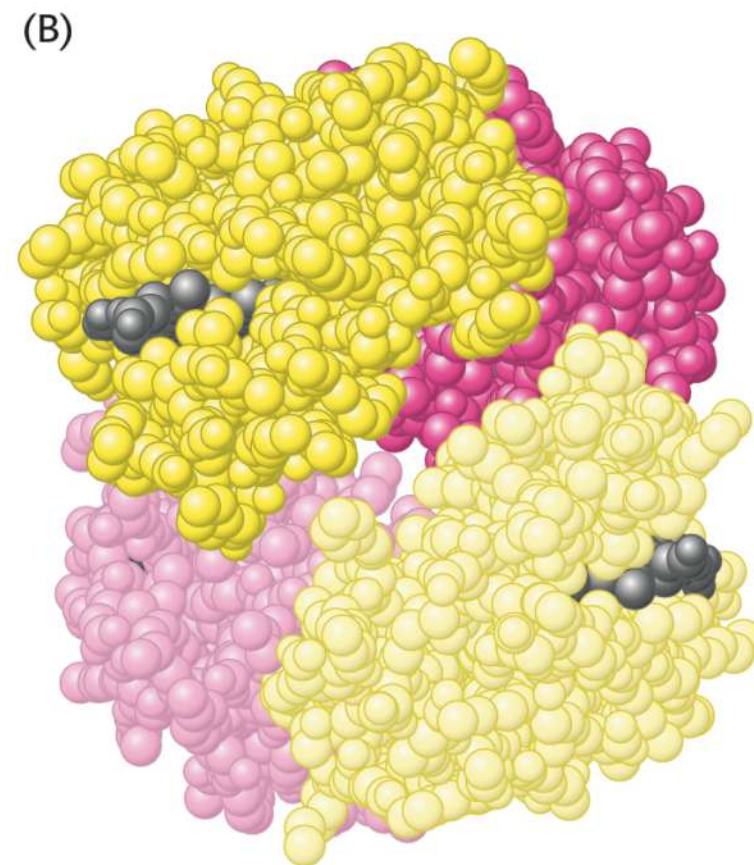
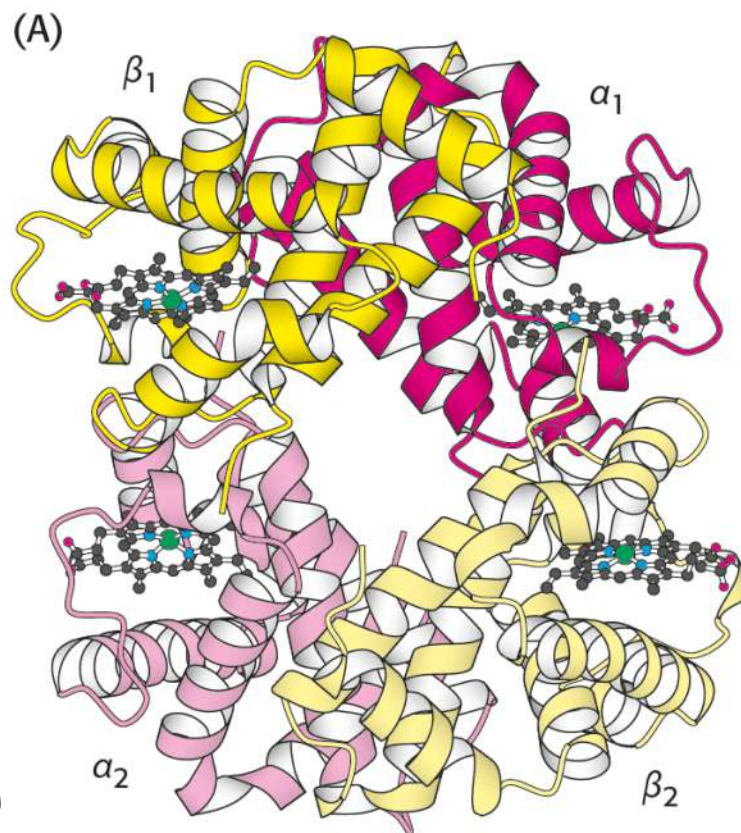
Η ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη

Απαρτίζεται από 4 αλυσίδες:

- δύο πανομοιότυπες α
- δύο πανομοιότυπες β

Λειτουργεί σαν ζεύγος διμερών $\alpha\beta$

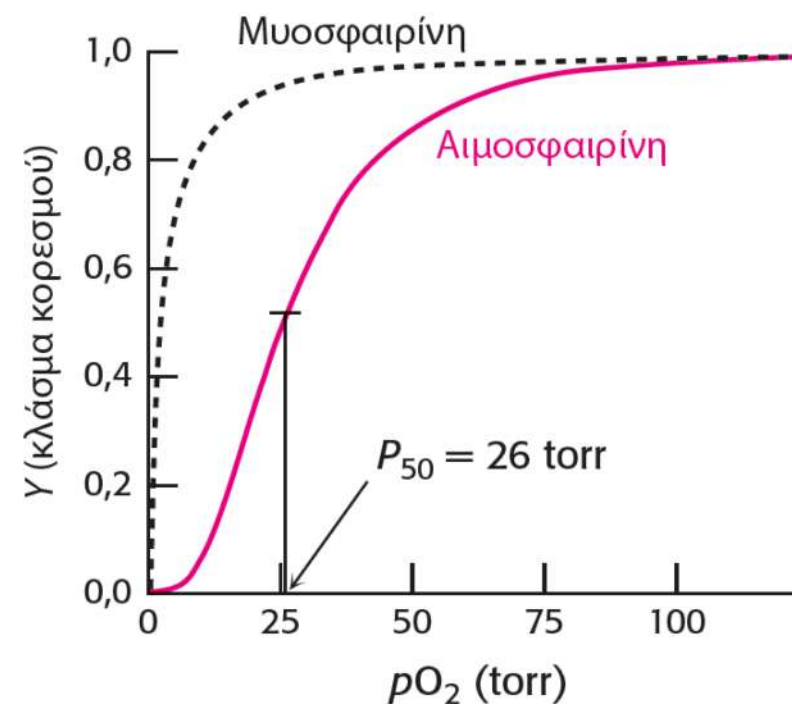
Το τετραμερές της αιμοσφαιρίνης που αναφέρεται ως αιμοσφαιρίνη Α (HbA)



7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Καμπύλη δέσμευσης οξυγόνου

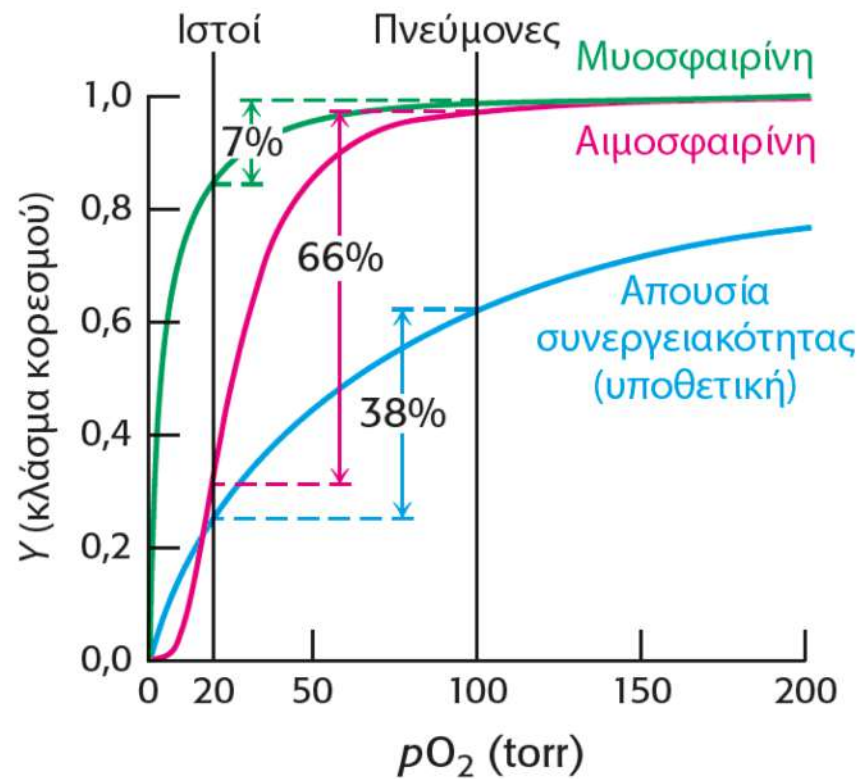
- Γραφική παράσταση κλάσματος κορεσμού σε συνάρτηση με την συγκέντρωση του οξυγόνου
- Το Y είναι από 0 (όλες οι θέσεις άδειες) σε 1 (όλες οι θέσεις γεμάτες)
- Το X είναι η μερική πίεση O_2 (torr)
- P_{50} είναι ο ημικορεσμός των θέσεων δέσμευσης



7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Η συνεργειακότητα αυξάνει την παροχή O_2 από την αιμοσφαιρίνη

- Συνεργειακότητα μεταξύ των θέσεων δέσμευσης O_2
- Συνεργειακή απελευθέρωση του O_2
- Η αιμοσφαιρίνη παρέχει περισσότερο O_2 στους ιστούς από ότι θα έκανε η μυοσφαιρίνη ή οποιαδήποτε άλλη μη συνεργειακή πρωτεΐνη
- **Μυοσφαιρίνη**: μεγάλη συγγένεια με O_2
- **Αιμοσφαιρίνη**: συνεργειακότητα
- **Υποθετική πρωτεΐνη**: μικρότερη συγγένεια με το O_2

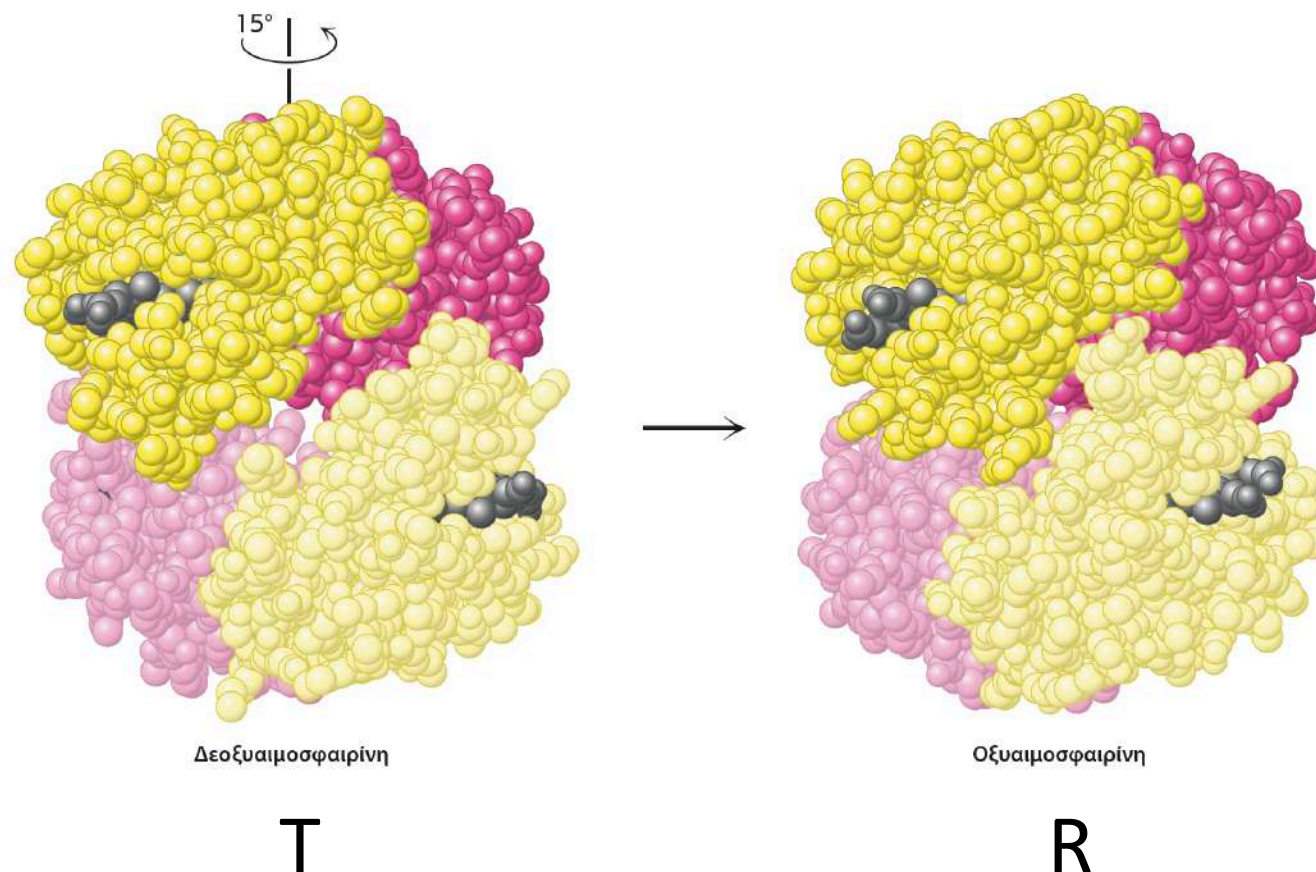


7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Αλλαγές στην τεταρτοταγή δομή κατά τη δέσμευση του O_2 από την αιμοσφαιρίνη

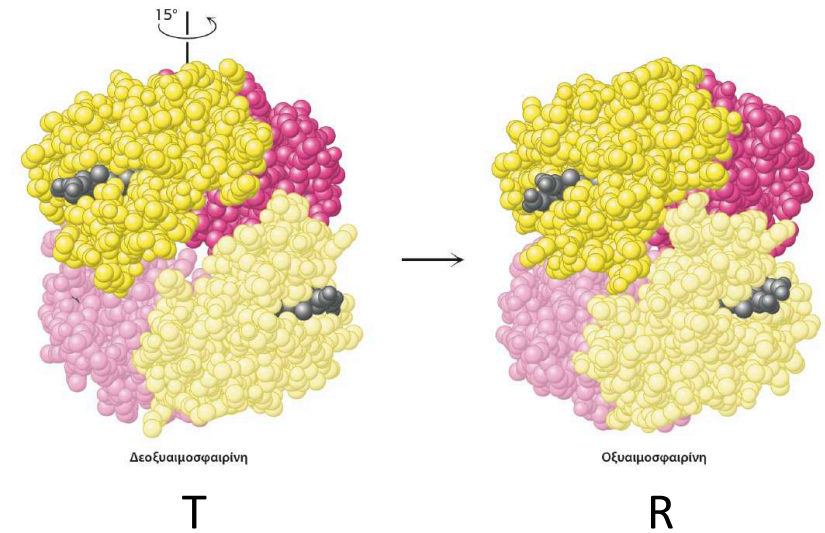
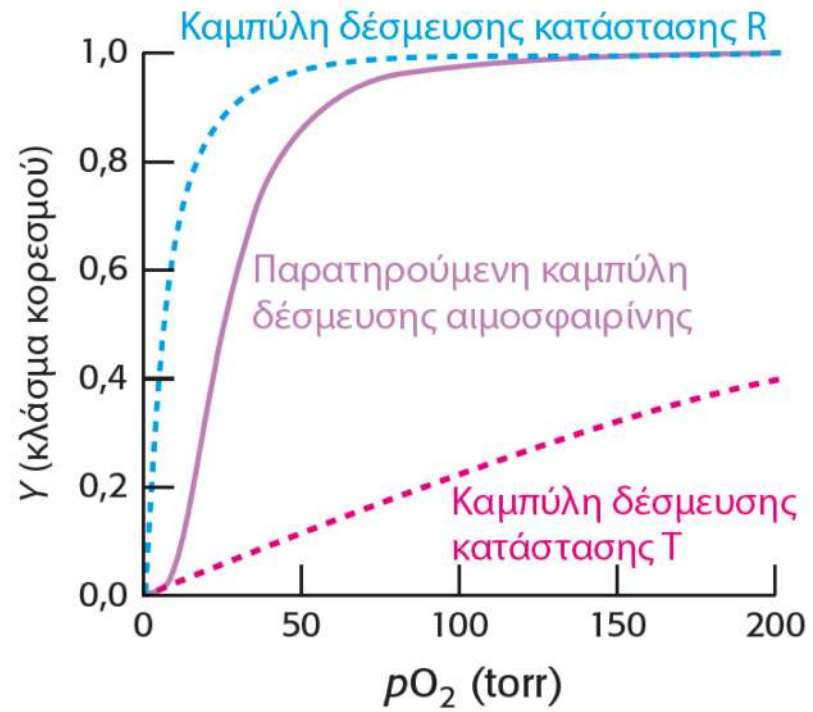
Τα διμερή $\alpha_1\beta_1$ και $\alpha_2\beta_2$ περιστρέφονται περίπου 15° μεταξύ τους

Προκαλώντας την μετάβαση του τετραμερούς της αιμοσφαιρίνης από την T στην R, η δέσμευση του O_2 στην μία θέση αυξάνει την συγγένεια δέσμευσης στις άλλες



7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Μετάβαση από T σε R

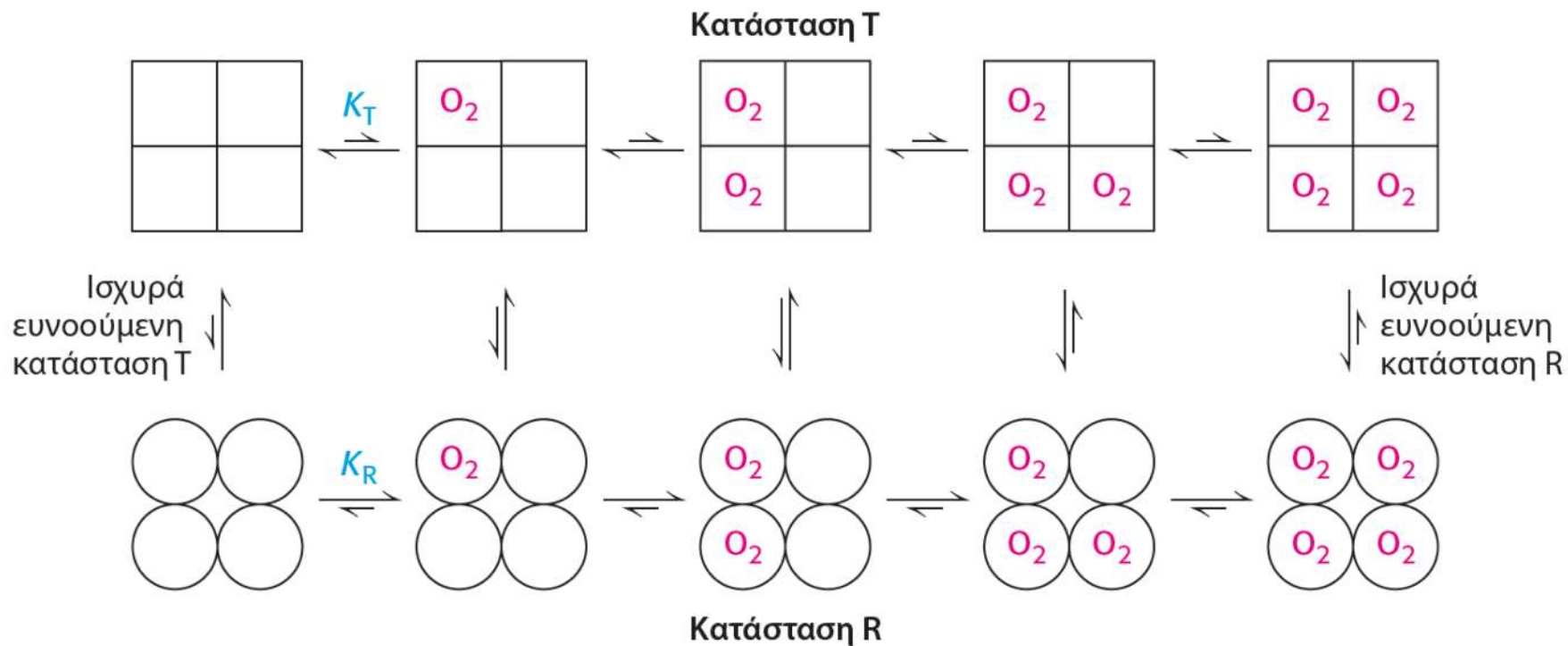


7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Μοντέλα συνεργειακότητας της αιμοσφαιρίνης

Εναρμονισμένο μοντέλο

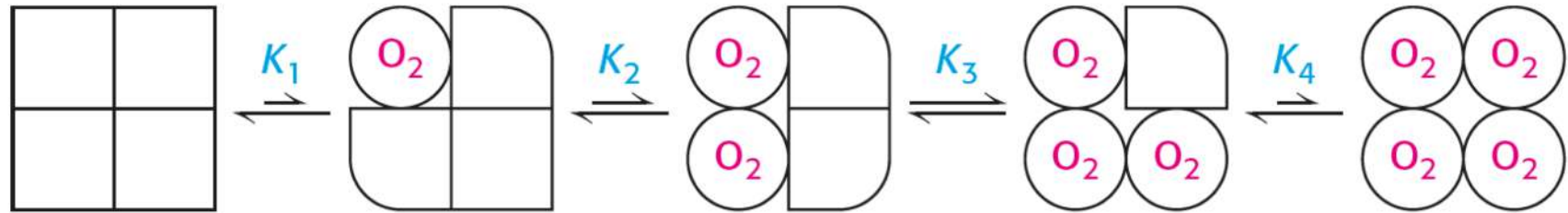
- Όλα τα μόρια υπάρχουν είτε σε T είτε σε R
- Η ισορροπία μετατοπίζεται καθώς μόρια O_2 προσδένονται



7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Μοντέλα συνεργειακότητας της αιμοσφαιρίνης

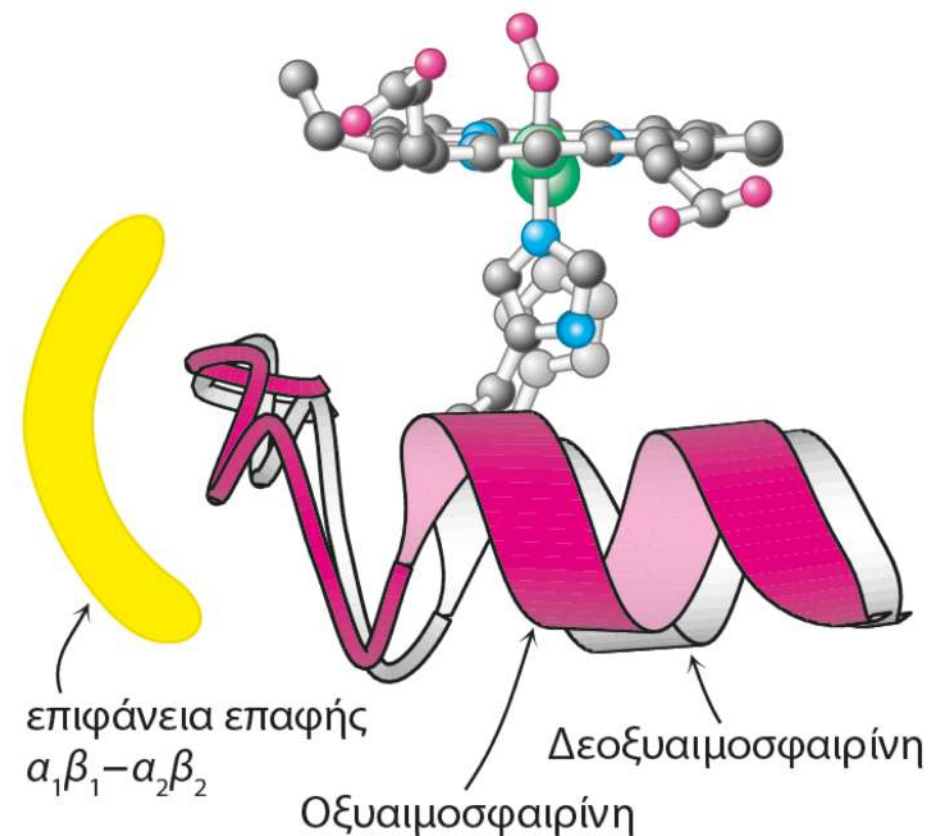
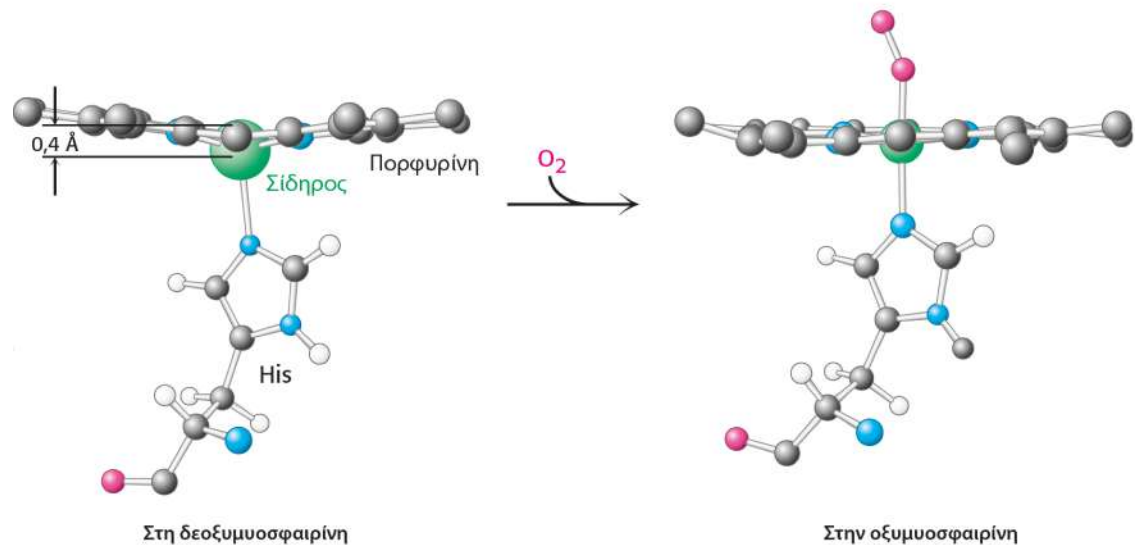
Μοντέλο ακολουθίας



- Η δέσμευση ενός O_2 αλλάζει την στερεοδιάταξη της υπομονάδας στην οποία προσδένεται
- Αυτή η αλλαγή στερεοδιάταξης επάγει αλλαγές στις γειτονικές υπομονάδες που αυξάνουν την συγγένεια τους για το πρόσδεμα

7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Δομικές αλλαγές στις ομάδες της αίμης μεταβιβάζονται στην επιφάνεια επαφής $\alpha_1\beta_1 - \alpha_2\beta_2$

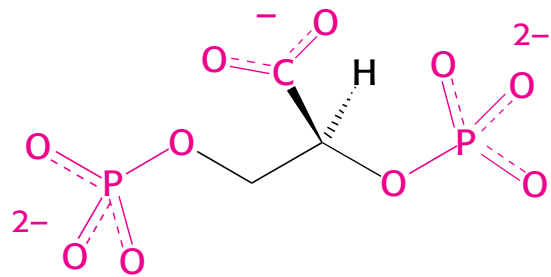


Η αλλαγή στην θέση του καρβοξυτελικού άκρου της έλικας ευνοεί την μετάβαση από T σε R

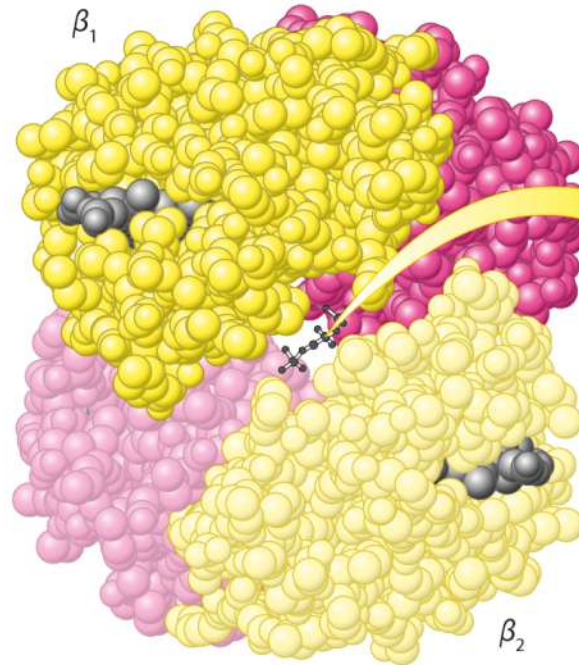
Η δομική μεταβολή στο ιόν σιδήρου στην μία υπομονάδα μεταβιβάζεται απευθείας στις άλλες

7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

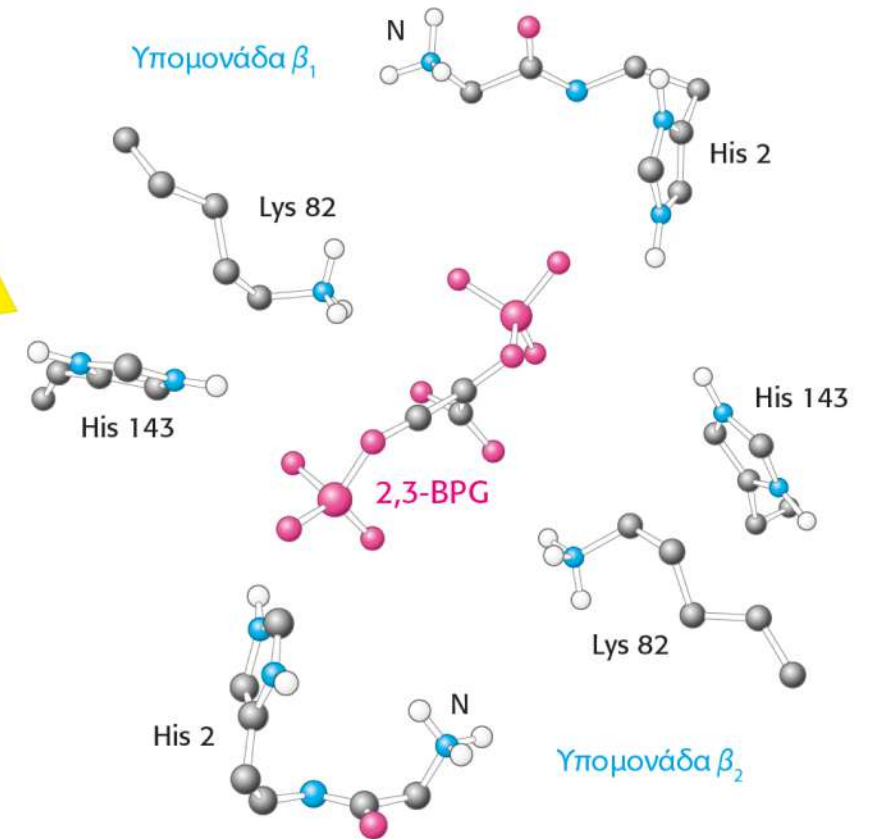
Το 2,3-BPG στα ερυθροκύτταρα είναι ζωτικής σημασίας για τον καθορισμό της συγγένειας της αιμοσφαιρίνης για το O₂



2,3-διφωσφογλυκερικό
(2,3-BPG)



Σταθεροποιεί την κατάσταση T



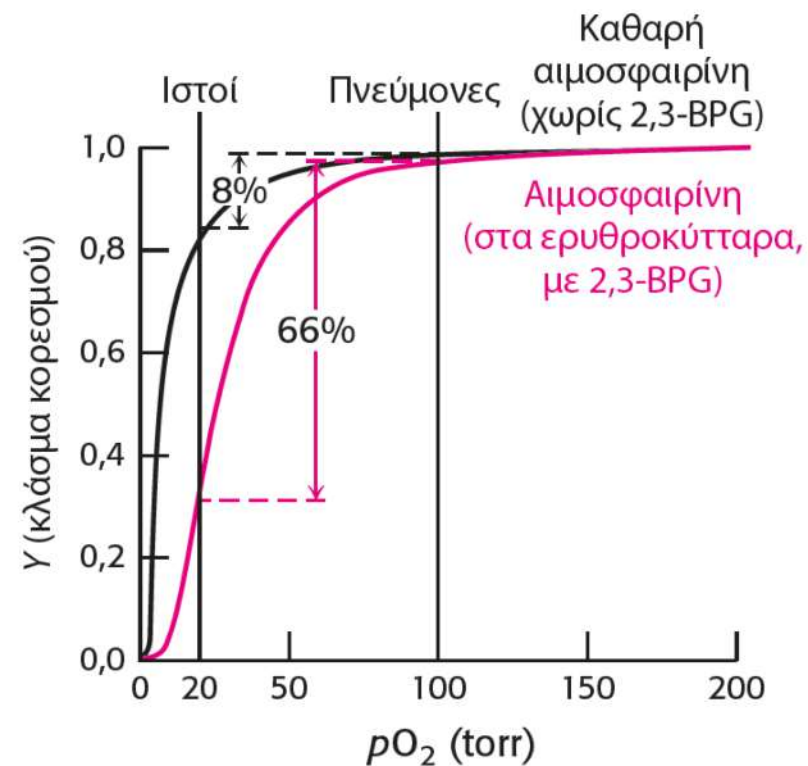
7.2 Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το οξυγόνο συνεργειακά

Δέσμευση O_2 από καθαρή αιμοσφαιρίνη σε σύγκριση με την αιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων

Στα ερυθροκύτταρα υπάρχει σε περίπου ίδιες συγκεντρώσεις με την αιμοσφαιρίνη (~2mM)

Χωρίς το 2,3-BPG η αιμοσφαιρίνη θα ήταν πολύ αναποτελεσματικός μεταφορέας O_2

Απελευθερώνοντας μόνο το 8% του φορτίου της στους ιστούς





10.2 Τα ισοένζυμα παρέχουν ένα ειδικό τρόπο ρύθμισης σε ξεχωριστούς ιστούς και αναπτυξιακά στάδια

Τα ισοένζυμα είναι ένζυμα που διαφέρουν στην αλληλουχία των αμινοξέων αλλά καταλύουν την ίδια αντίδραση

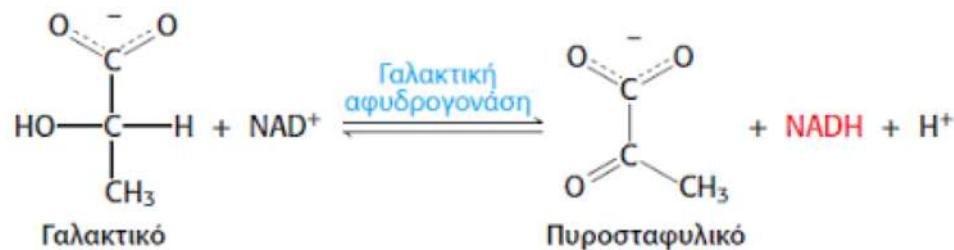
- διαφορετική K_M
- ή αποκρίνονται διαφορετικά σε ρυθμιστικά μόρια

Η ύπαρξη ισοενζύμων επιτρέπει των ακριβή συντονισμό της ρύθμισης του μεταβολισμού για να αντιμετωπιστούν οι ανάγκες ενός δεδομένου ιστού ή αναπτυξιακού σταδίου

Ισομορφή είναι ο γενικός όρος που χρησιμοποιείται όταν η υπό συζήτηση πρωτεΐνη που δεν είναι ένζυμο

10.2 Τα ισοένζυμα παρέχουν ένα ειδικό τρόπο ρύθμισης σε ξεχωριστούς ιστούς και αναπτυξιακά στάδια

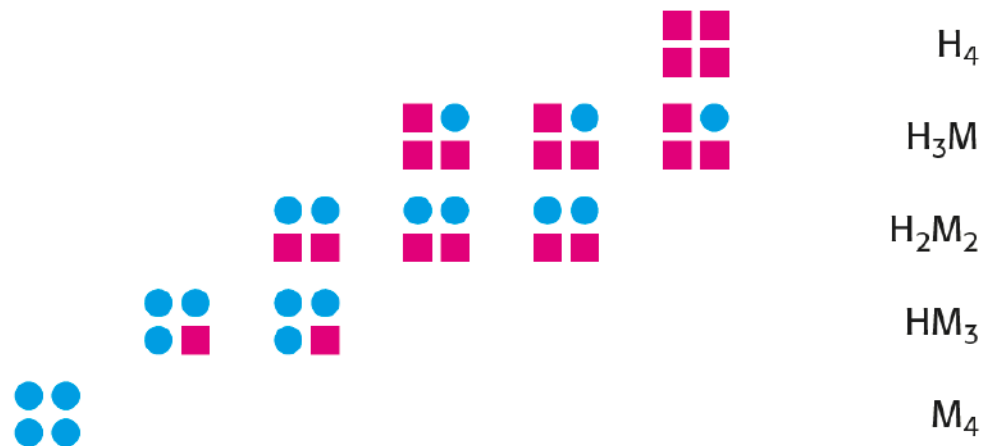
Τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)



Ο άνθρωπος έχει δυο ισοενζυμικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες

Ισοένζυμο H ■
 Ισοένζυμο M ●

} 75% ίδια αλληλουχία



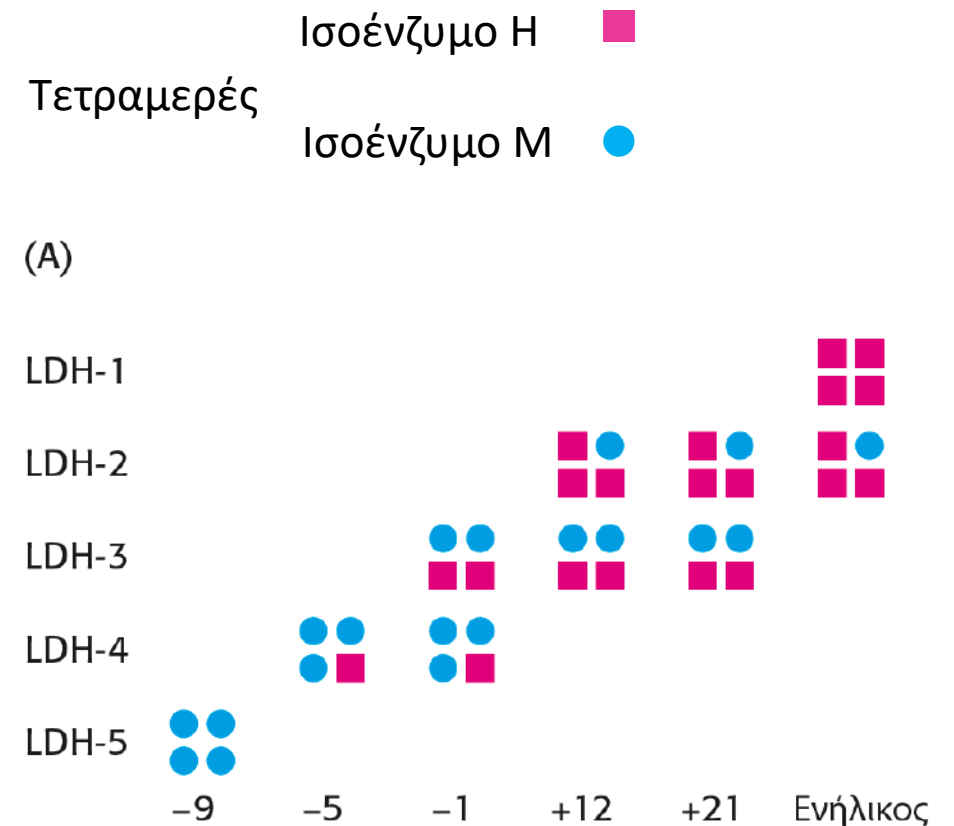
Κάθε λειτουργικό ένζυμο είναι **τετραμερές**

- Το H₄ (που βρέθηκε στην καρδιά) έχει μεγαλύτερη συγγένεια με το υπόστρωμα από ότι έχει το M₄
 - Υψηλά επίπεδα πυροσταφυλικού αναστέλλουν αλλοστερικά το H₄ αλλά όχι το M₄
- } οι συνδυασμοί;

10.2 Τα ισοένζυμα παρέχουν ένα ειδικό τρόπο ρύθμισης σε ξεχωριστούς ιστούς και αναπτυξιακά στάδια

Τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)

- Το M_4 έχει την βέλτιστη λειτουργία του στο αναερόβιο περιβάλλον (μυς)
- Το H_4 λειτουργεί βέλτιστα στο αερόβιο περιβάλλον (καρδιά)
- Οι αναλογίες των ισοενζύμων μεταβάλλονται κατά την πορεία της ανάπτυξης της καρδιάς



Προφίλ του LDH από καρδιά επίμυος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης

10.2 Τα ισοένζυμα παρέχουν ένα ειδικό τρόπο ρύθμισης σε ξεχωριστούς ιστούς και αναπτυξιακά στάδια

Τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)

Η ποσότητα των ισοενζύμων της LDH ποικίλλει ανάλογα με τον ιστό

(B)	Καρδιά	Νεφρός	Ερυθρο- κύτταρα	Εγκέφαλος	Λευκο- κύτταρα	Μυς	Ήπαρ
H ₄	■	■	■	■	■	—	—
H ₃ M	■	■	■	■	■	—	—
H ₂ M ₂	—	■	—	■	■	■	—
HM ₃	—	—	—	—	■	—	—
M ₄	—	—	—	—	—	■	■

Η εμφάνιση μερικών ισοενζύμων στο αίμα είναι σημάδι καταστροφής του ιστού.

π.χ αύξηση στα επίπεδα του H₄ στον ορό σε σχέση με το H₃M είναι ένδειξη ότι ένα έμφραγμα του μυοκαρδίου ή καρδιακή προσβολή έχει καταστρέψει μυϊκά κύτταρα της καρδιάς, οδηγώντας στην απελευθέρωση κυτταρικών ουσιών

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

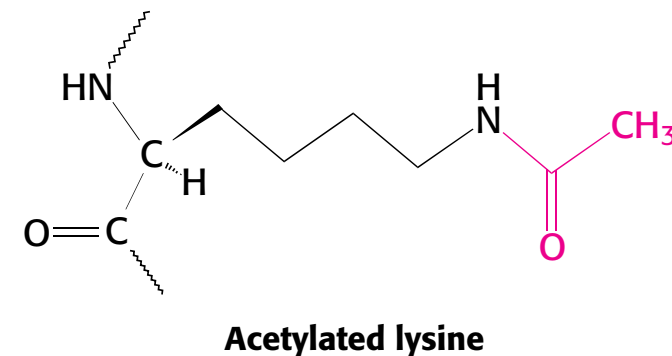
Η δραστηριότητα ενός ενζύμου ή άλλης πρωτεΐνη μπορεί να τροποποιηθεί από την ομοιοπολική ένωση με ένα άλλο μόριο

Το μόριο-δότης παρέχει την λειτουργικής ομάδας που προσκολλάται

Οι περισσότερες ομοιοπολικές τροποποιήσεις είναι αντιστρεπτές

Π.χ. οι ιστόνες-πρωτεΐνες που είναι συσκευασμένες μαζί με το DNA στα χρωμοσώματα

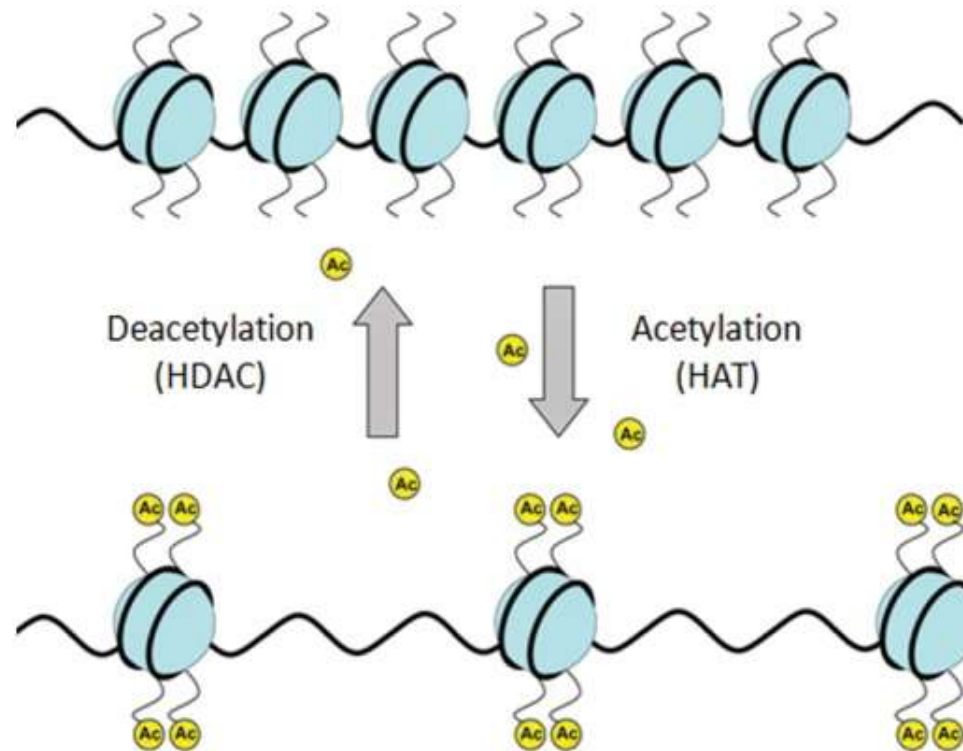
- ακετυλιώνονται και αποκετυλιώνονται σε μεγάλο βαθμό στα κατάλοιπα Lys



10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

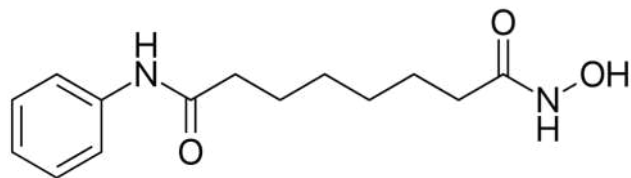
Π.χ. οι ιστόνες-πρωτεΐνες που είναι συσκευασμένες μαζί με το DNA στα χρωμοσώματα

- Οι πιο ακετυλιωμένες ιστόνες είναι συνδεδεμένες με γονίδια που μεταγράφονται ενεργά
- Από τα σημαντικότερα μέσα ρύθμισης: στα κύτταρα των θηλαστικών >2000 διαφορετικές πρωτεΐνες ρυθμίζονται με ακετυλίωση
- Τα ίδια ένζυμα (HDAC, HAT) ρυθμίζονται με φωσφορυλίωση (ομοιοπολική τροποποίηση)

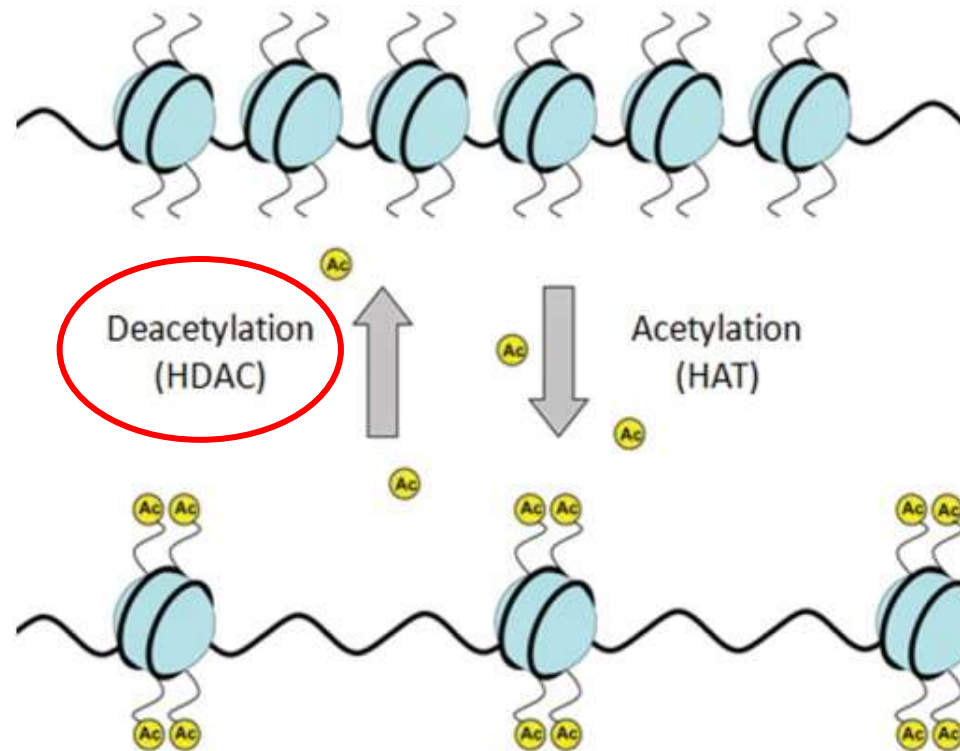


10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Αναστολέας της HDAC – Αντικαρκινικό φάρμακο (Λέμφωμα)



Βορινοστάτη
(vorinostat)



10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

ΠΙΝΑΚΑΣ 10.1 Κοινές ομοιοπολικές τροποποιήσεις της πρωτεϊνικής δραστηριότητας.

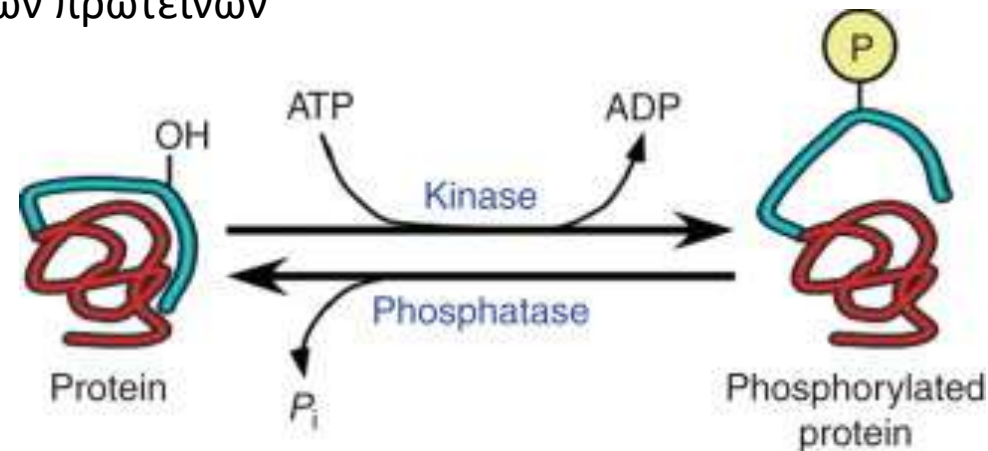
<i>Τροποποίηση</i>	<i>Μόριο δότης</i>	<i>Παράδειγμα τροποποιημένης πρωτεΐνης</i>	<i>Λειτουργία της πρωτεΐνης</i>
Φωσφορυλίωση	ATP	Φωσφορυλάση του γλυκογόνου	Ομοιοστασία γλυκόζης, μεταγωγή ενέργειας
Ακετυλίωση	Ακετυλο-CoA	Ιστόνες	Πακετάρισμα DNA, μεταγραφή
Μυριστοϋλίωση	Μυριστοϋλο-CoA	Src	Μεταγωγή σήματος
ADP-ριβοζυλίωση	NAD	RNA πολυμεράση	Μεταγραφή
Φαρνεσυλίωση	Πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο	Ras	Μεταγωγή σήματος
γ-Καρβοξυλίωση	HCO ₃ ⁻	Θρομβίνη	Πήξη αίματος
Θειίωση	3'-Φωσφοαδενοσίνη-5'-φωσφοθειικό	Ινωδογόνο	Σχηματισμός θρόμβου αίματος
Ουβικιτίνωση	Ουβικιτίνη	Κυκλίνη	Έλεγχος του κυτταρικού κύκλου

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Οι κινάσες και οι φωσφατάσες ελέγχουν την έκταση της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών

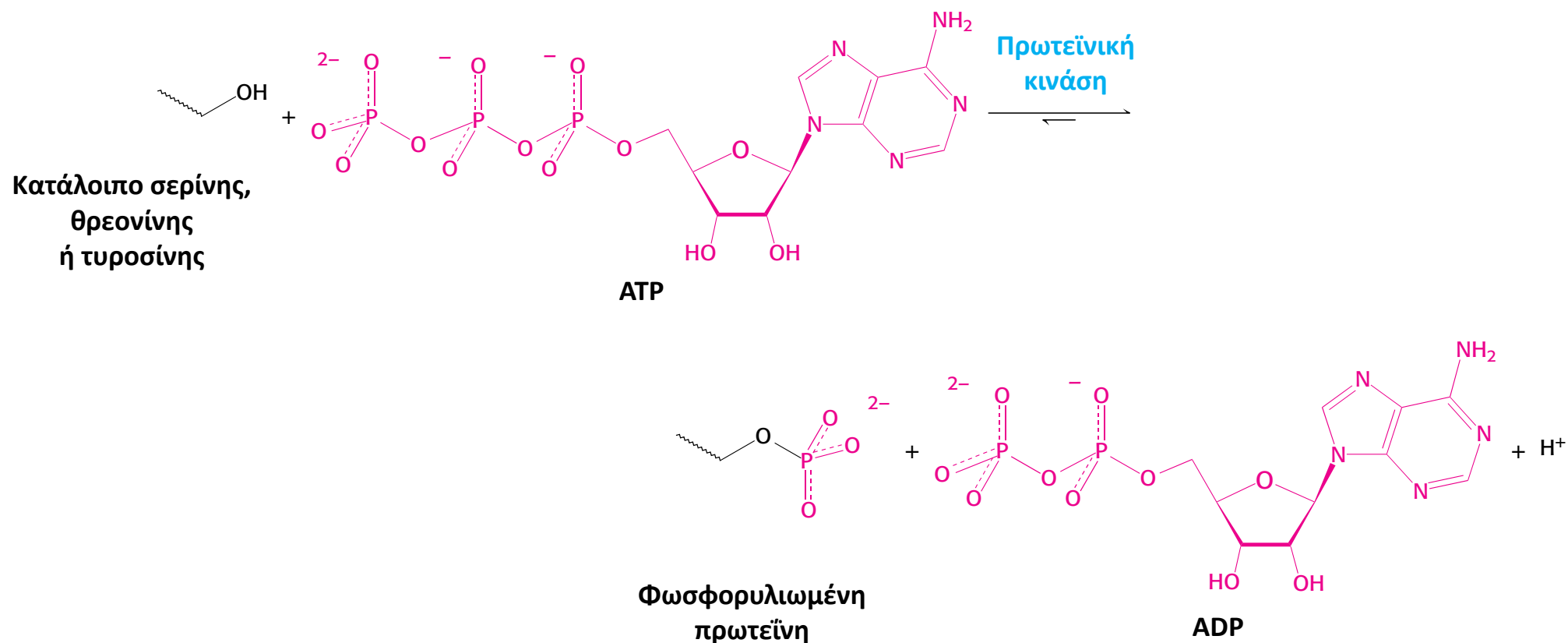
Χαρακτηριστικά...

- Η φωσφορυλίωση χρησιμοποιείται ως ένας μηχανισμός ρύθμισης σχεδόν σε κάθε μεταβολική διεργασία στα ευκαρυωτικά κύτταρα
- Τα ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις φωσφορυλίωσης ονομάζονται πρωτεϊνικές **κινάσες**
- **ΑΤΡ**, ο πιο κοινός δότης φωσφορικών ομάδων
- Η τελική (γ) φωσφορική ομάδα της ΑΤΡ μεταφέρεται σε ειδικό αμινοξύ της πρωτεΐνης



10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Οι κινάσες στην φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών



10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Οι πρωτεϊνικές κινάσες διαφέρουν στο βαθμό εξειδίκευσης

- Εξειδικευμένες πρωτεϊνικές κινάσες φωσφορυλιώνουν μια μοναδική πρωτεΐνη (ή αρκετές με στενή σχέση)
- Πολυλειτουργικές πρωτεϊνικές κινάσες τροποποιούν πολλούς διαφορετικούς στόχους (αναγνωρίζει συγγενικές αλληλουχίες)

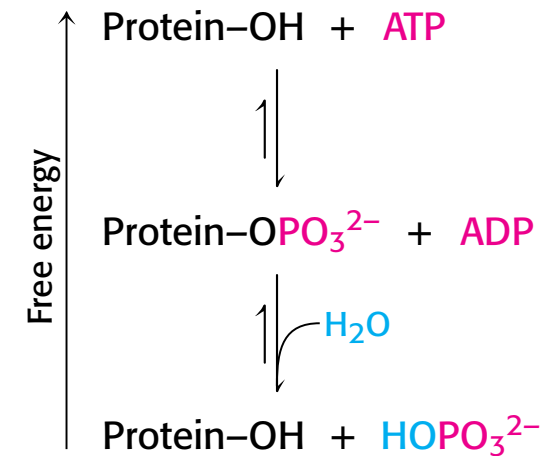
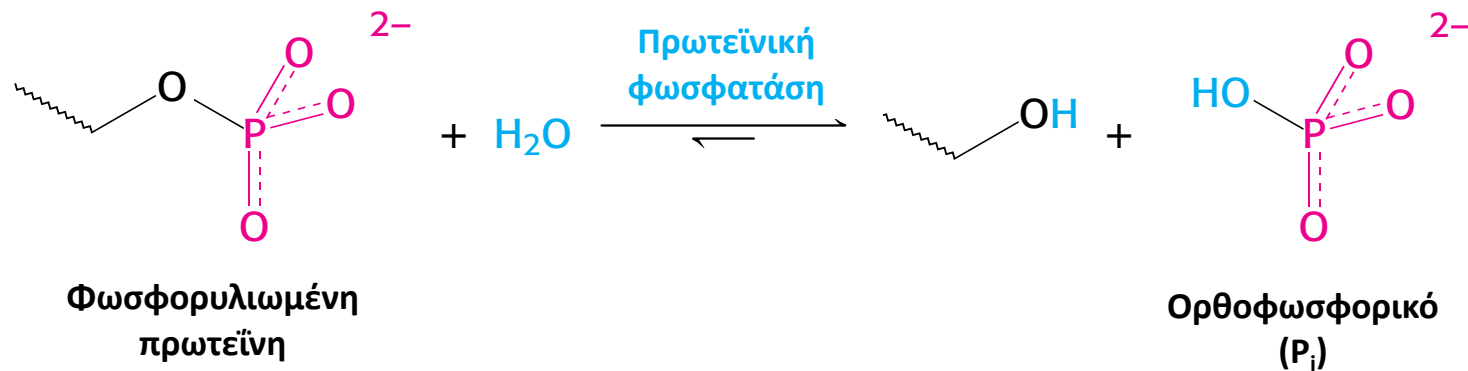
π.χ. Arg-Arg-**X-Ser**-Z ή Arg-Arg-**X-Thr**-Z

X: μικρό κατάλοιπο

Z: μεγάλο υδρόφοβο

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Οι **φωσφατάσες** αντιστρέφουν τα αποτελέσματα των κινασών καταλύοντας την αφαίρεση των φωσφορικών ομάδων





10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Η φωσφορυλίωση είναι ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό μέσο ρύθμισης της δραστηριότητας των πρωτεϊνών-στόχων

Γιατί είναι τόσο πολύτιμη;

1. Η ελεύθερη ενέργεια της φωσφορυλίωσης είναι μεγάλη (παρέχετε ενέργεια που η κατανάλωση της επιτρέπει αλλαγή στην ισορροπία στερεοδιάταξης)
2. Μια φωσφορική ομάδα προσφέρει δυο αρνητικά φορτία σε μια πρωτεΐνη (αλλαγή στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, δομικές αλλαγές)
3. Μια φωσφορική ομάδα σχηματίζει 3 ή περισσότερους δεσμούς υδρογόνου



10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Η φωσφορυλίωση είναι ένα εξαιρετικά αποτελεσματικό μέσο ρύθμισης της δραστηριότητάς των πρωτεϊνών-στόχων

Γιατί είναι τόσο πολύτιμη;

4. Η φωσφορυλίωση/αποφωσφορυλίωση λαμβάνουν χώρα σε λιγότερο από ένα δευτερόλεπτο ή σε διάστημα ωρών
5. Η φωσφορυλίωση συχνά προκαλεί αποτέλεσμα υψηλής ενίσχυσης (μια ενεργοποιημένη κινάση φωσφορυλιώνει πολλές πρωτεΐνες-στόχους)
6. Το ATP είναι νόμισμα ενέργειας του κυττάρου. Η χρησιμοποίησή του συνδέει την ενεργειακή κατάσταση του κυττάρου με την ρύθμιση του μεταβολισμού

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Τι οδηγεί στην ενεργοποίηση μιας κινάσης;

ΠΙΝΑΚΑΣ 10.2 Παραδείγματα κινάσων σερίνης και θρεονίνης και τα ενεργοποιητικά σήματά τους.

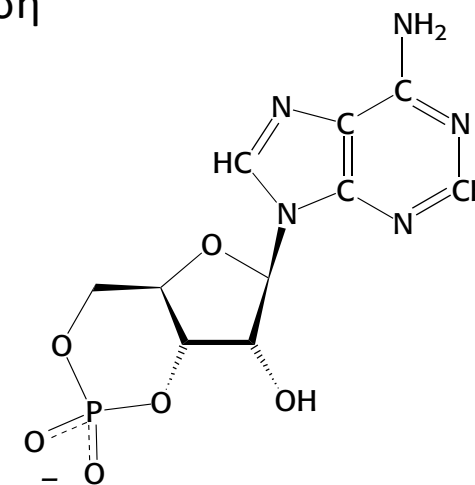
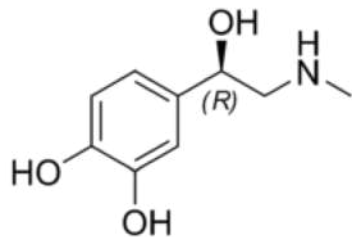
Σήμα	Ένζυμο
Κυκλικά νουκλεοτίδια	Πρωτεϊνική κινάση εξαρτώμενη από την κυκλική AMP Πρωτεϊνική κινάση εξαρτώμενη από την κυκλική GMP
Ca ²⁺ και ασβεστοτροποποιητίνη	Πρωτεϊνική κινάση Ca ²⁺ -ασβεστοτροποποιητίνης Κινάση της φωσφορυλάσης ή κινάση της συνθάσης του γλυκογόνου 2
AMP	Κινάση ενεργοποιούμενη από AMP
Διακυλογλυκερόλη	Πρωτεϊνική κινάση C
Μεταβολικά ενδιάμεσα και άλλοι "τοπικοί" τελεστές	Πολλά ειδικά ένζυμα-στόχοι, όπως η κινάση της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης και η κινάση της αφυδρογονάσης των κετοξέων με διακλαδισμένες αλυσίδες

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Η πρωτεϊνική κινάση A (PKA) βοηθά τα ζώα να αντιμετωπίζουν καταστάσεις στρες

«πάλη ή διαφυγή» (καταστάσεις στρες)  Οι μυς προετοιμάζονται για δράση

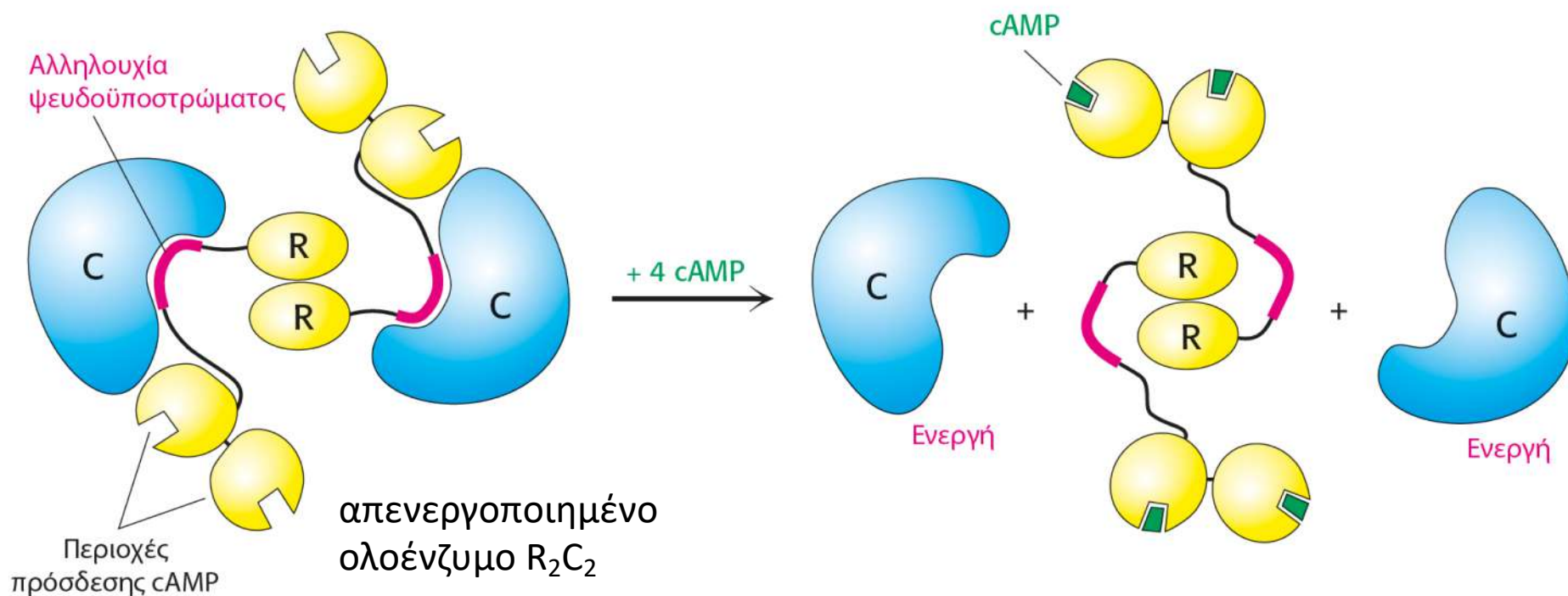
Η (ορμόνη επινεφρίνη) αδρεναλίνη δίνει το έναυσμα για το σχηματισμό της cAMP:



Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη
(cAMP)

10.3 Η ομοιοπολική τροποποίηση είναι ένα μέσο ρύθμισης της ενζυμικής δραστηριότητας

Η κυκλική AMP ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A (PKA) μεταβάλλοντας την τεταρτοταγή δομή της



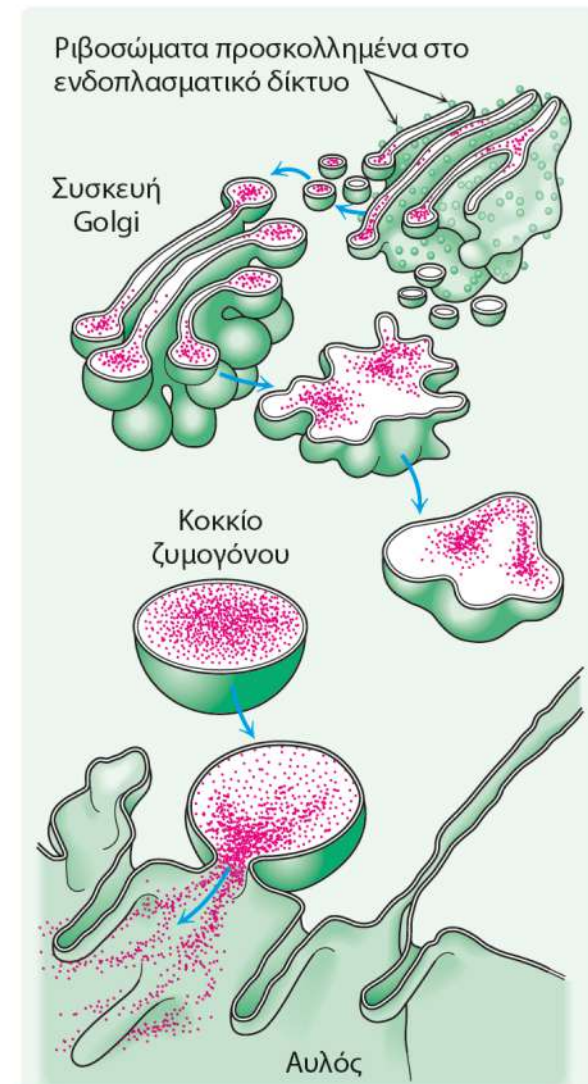
Καλό παράδειγμα της ολοκλήρωσης της αλλοστερικής ρύθμισης και της φωσφορυλίωσης

10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Το ανενεργό πρόδρομο ονομάζεται ζυμογόνο ή προένζυμο

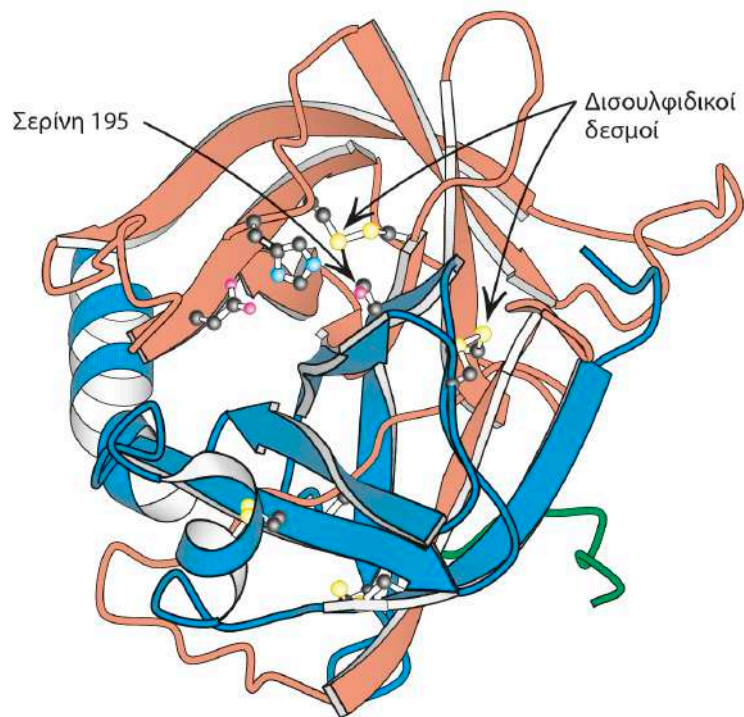
ΠΙΝΑΚΑΣ 10.3 Γαστρικά και παγκρεατικά ζυμογόνα.

Θέση σύνθεσης	Ζυμογόνο	Ενεργό ένζυμο
Στόμαχος	Πεψινογόνο	Πεψίνη
Πάγκρεας	Χυμοθρυψινογόνο	Χυμοθρυψίνη
Πάγκρεας	Θρυψινογόνο	Θρυψίνη
Πάγκρεας	Προκαρβοξυπεπτιδάση	Καρβοξυπεπτιδάση
Πάγκρεας	Προελαστάση	Ελαστάση



10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Το χυμοθρυψινογόνο ενεργοποιείται από την εξειδικευμένη διάσπαση ενός πεπτιδικού δεσμού



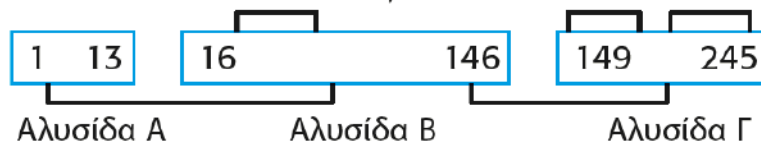
Χυμοθρυψινογόνο
(ανενεργό)



Χυμοθρυψίνη π
(ενεργός)

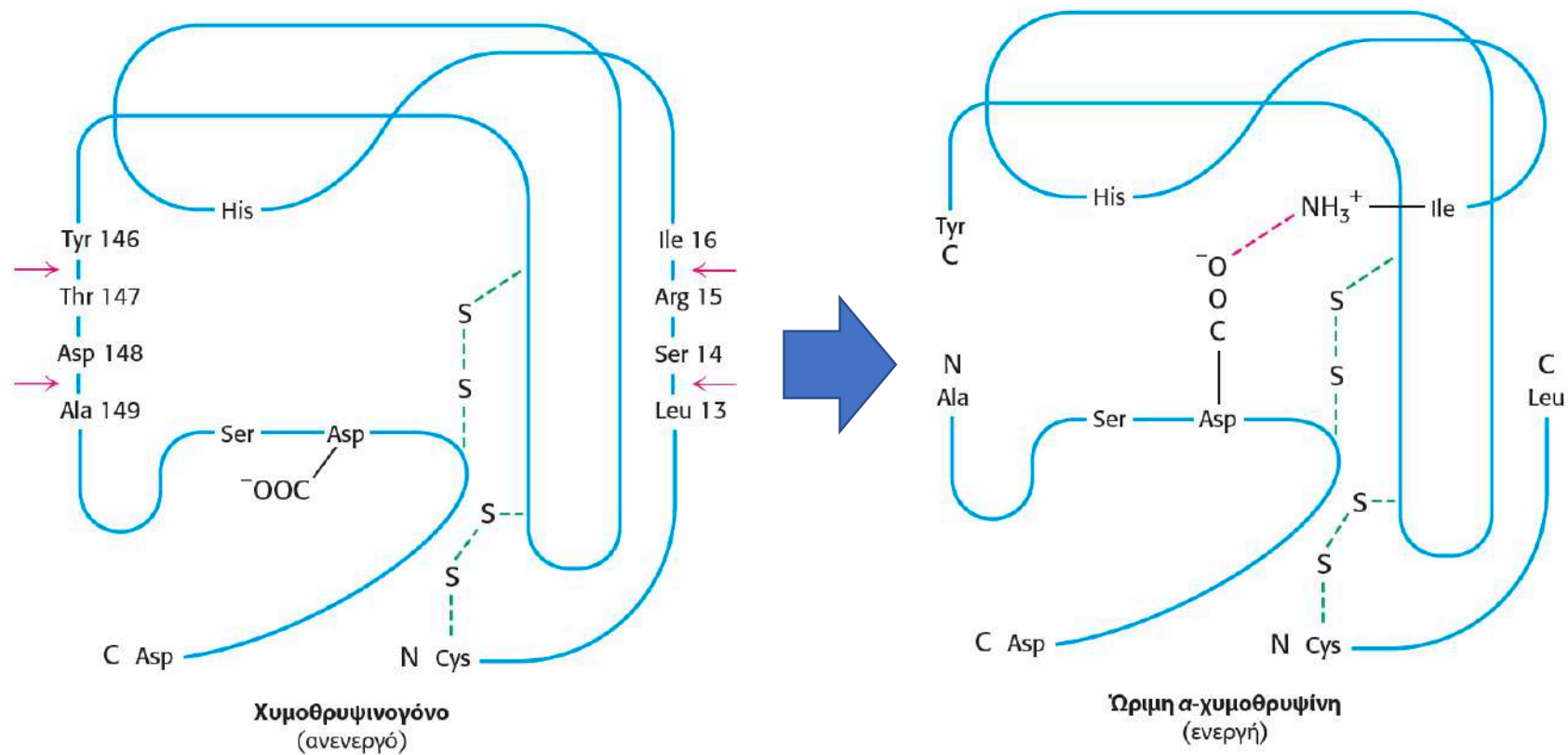


Χυμοθρυψίνη α
(ενεργός)



10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Πως η διάσπαση ενός πεπτιδικού δεσμού ενεργοποιεί το ζυμογόνο;

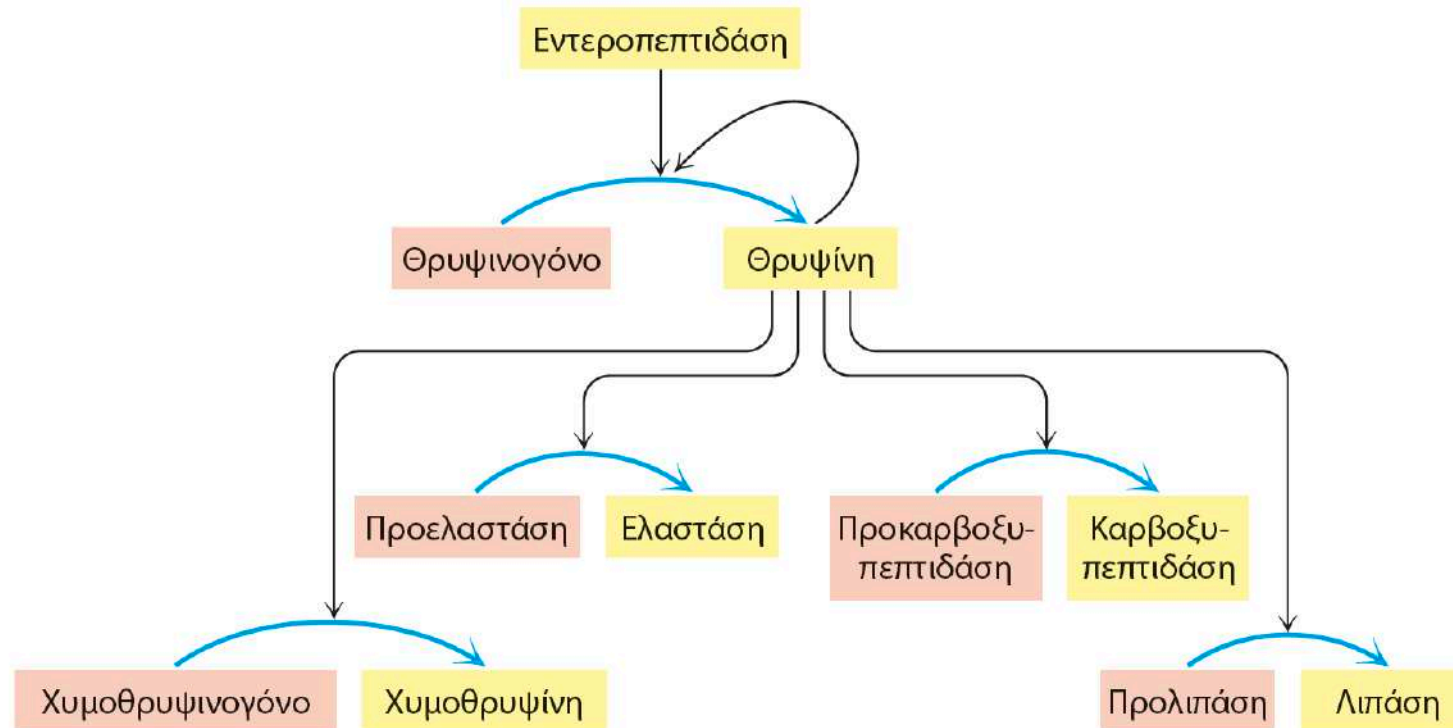


Βασικές αλλαγές της στερεοδιάταξης

- Σχηματισμός μια θέσης πρόσδεσης υποστρώματος
- Η οπή του οξυανιόντος στο ζυμογόνο δεν είναι πλήρως διαμορφωμένη

10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

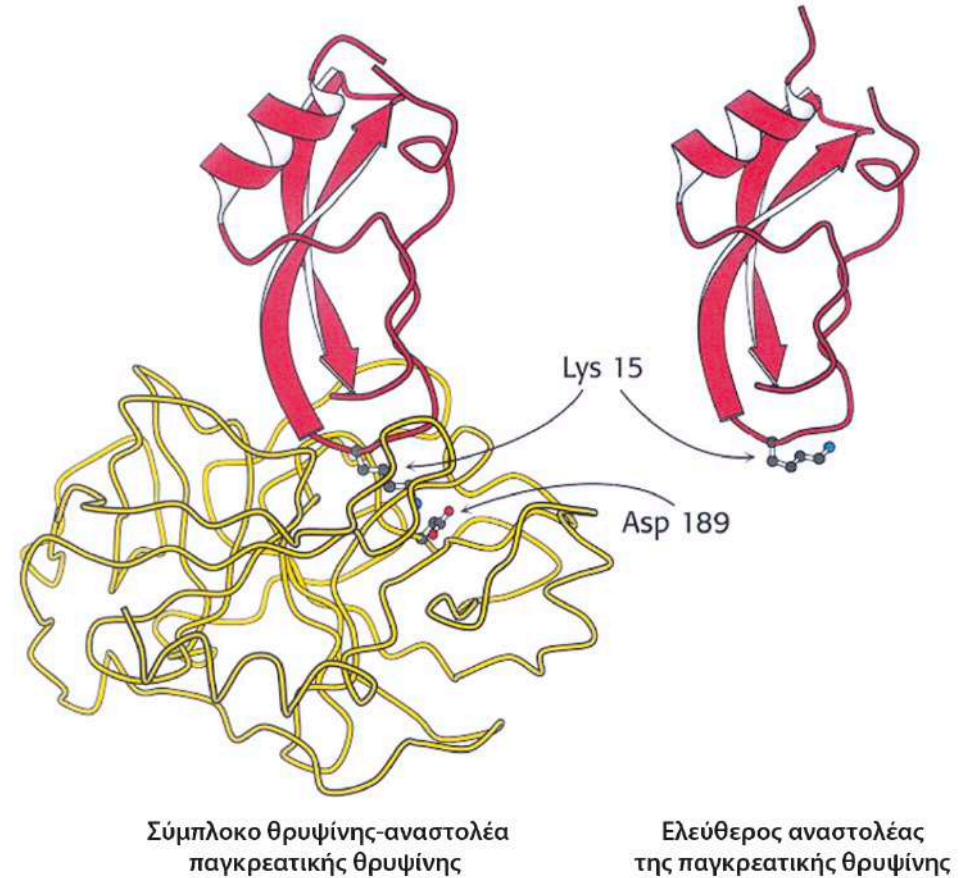
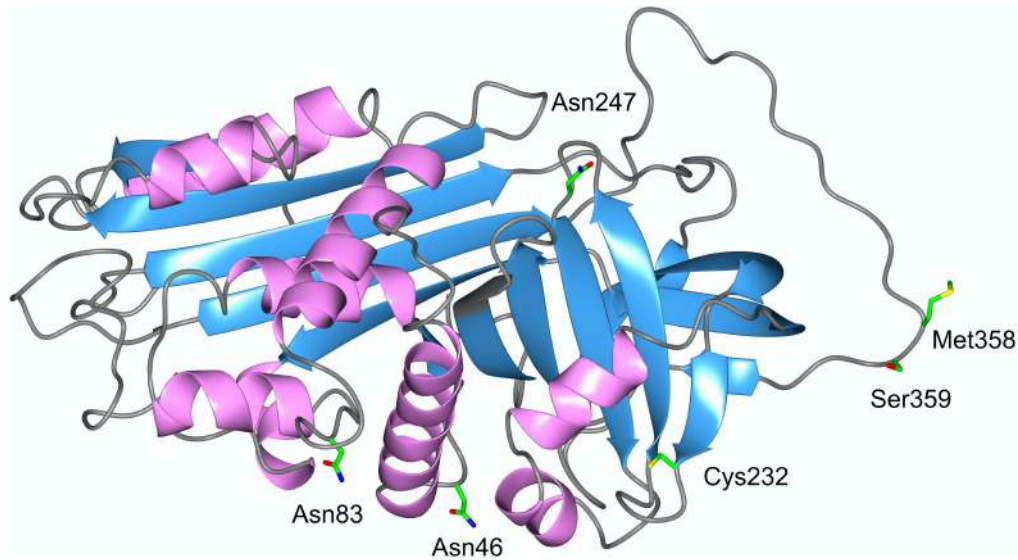
Η παραγωγή της θρυψίνης από το θρυψινογόνο οδηγεί στην ενεργοποίηση άλλων ζυμογόνων



10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

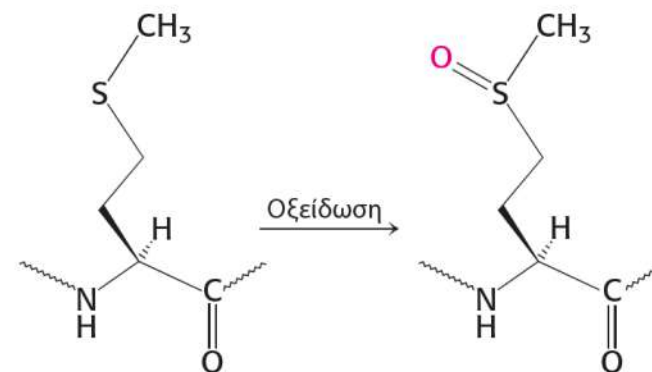
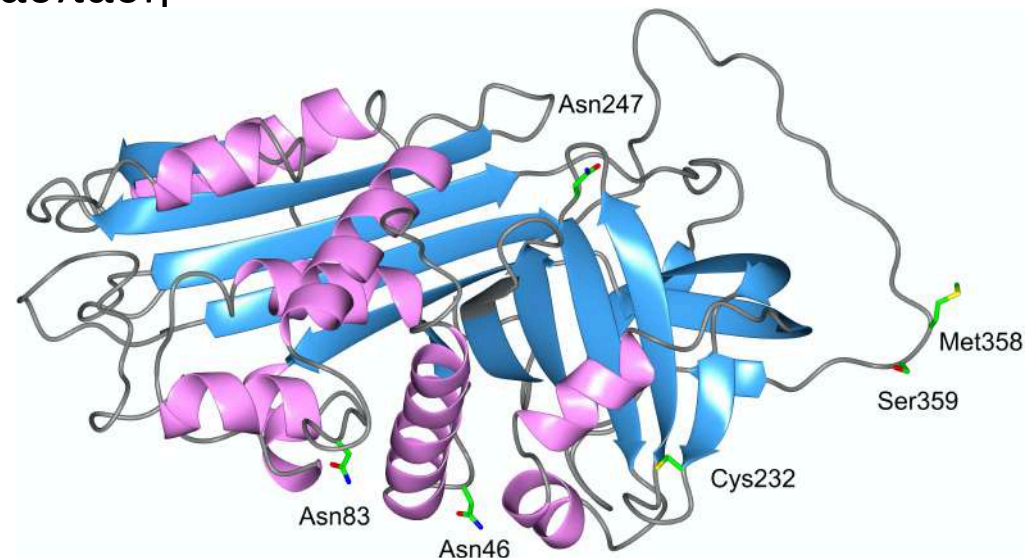
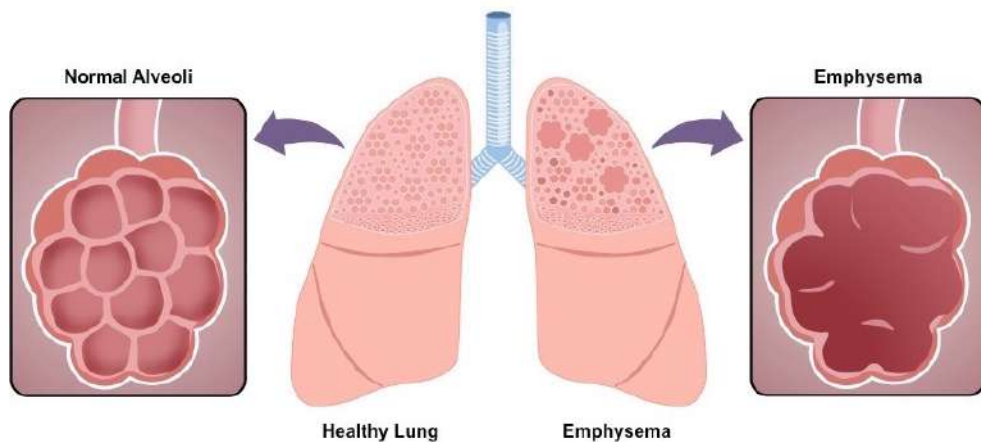
Μερικά πρωτεολυτικά ένζυμα έχουν ειδικούς αναστολείς

- Αναστολέας της παγκρεατικής θρυψίνης
- Αντιθρυψίνη α_1



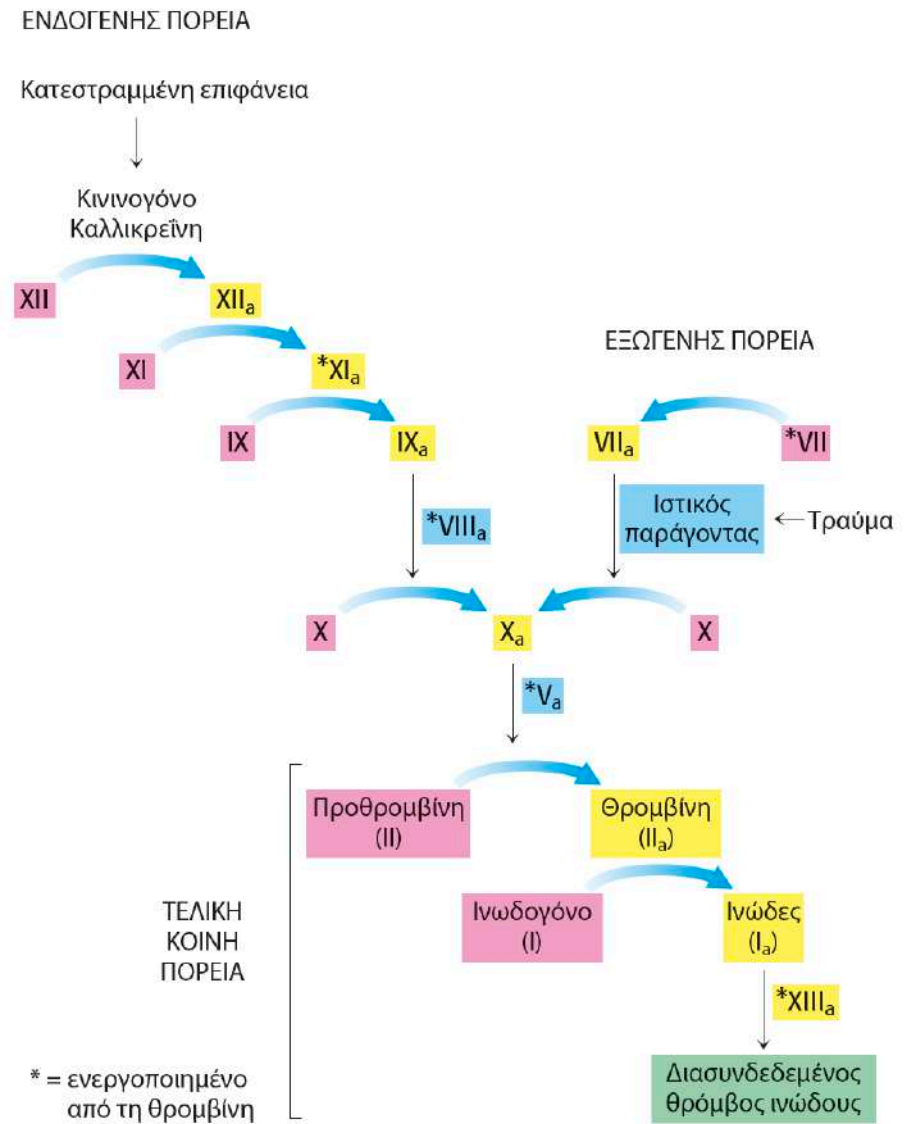
10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) ή πνευμονικο εμφύσημα



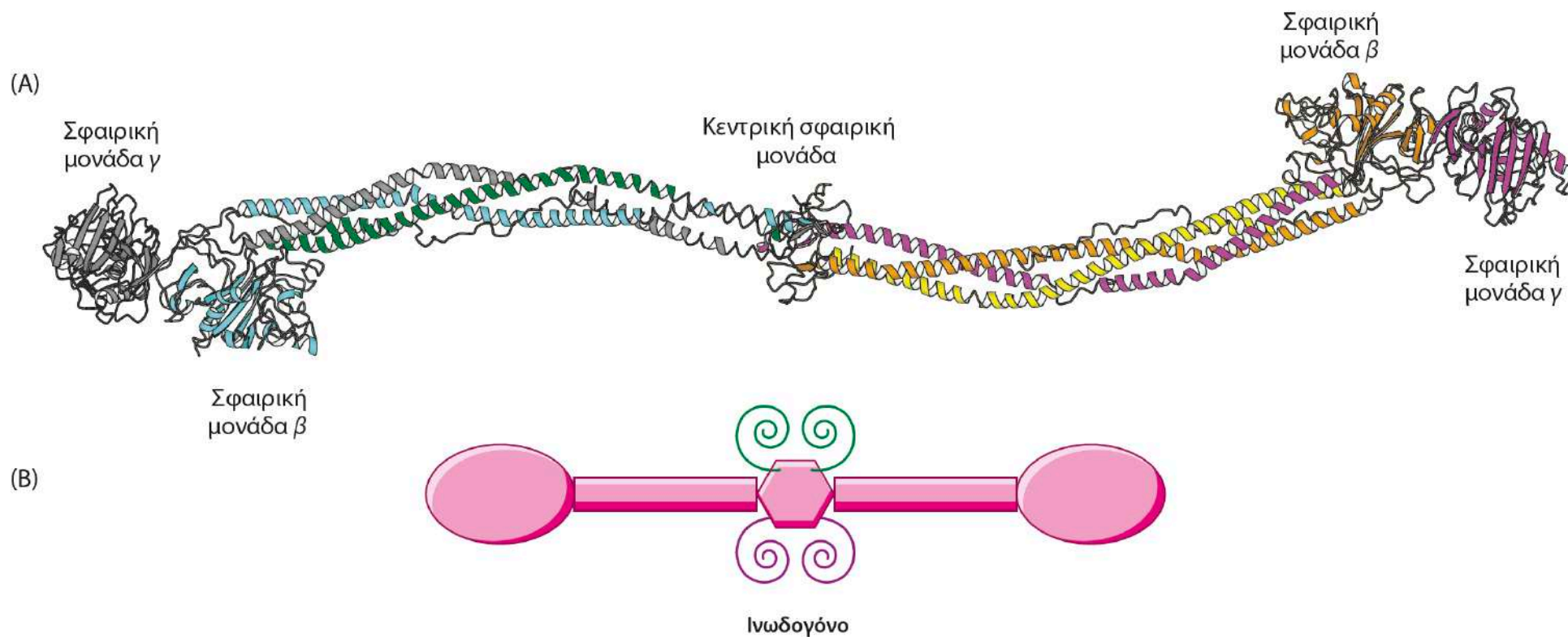
10.4

Η πήξη του αίματος πραγματοποιείται από ένα καταρράκτη ενεργοποιήσεων ζυμογόνων



10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

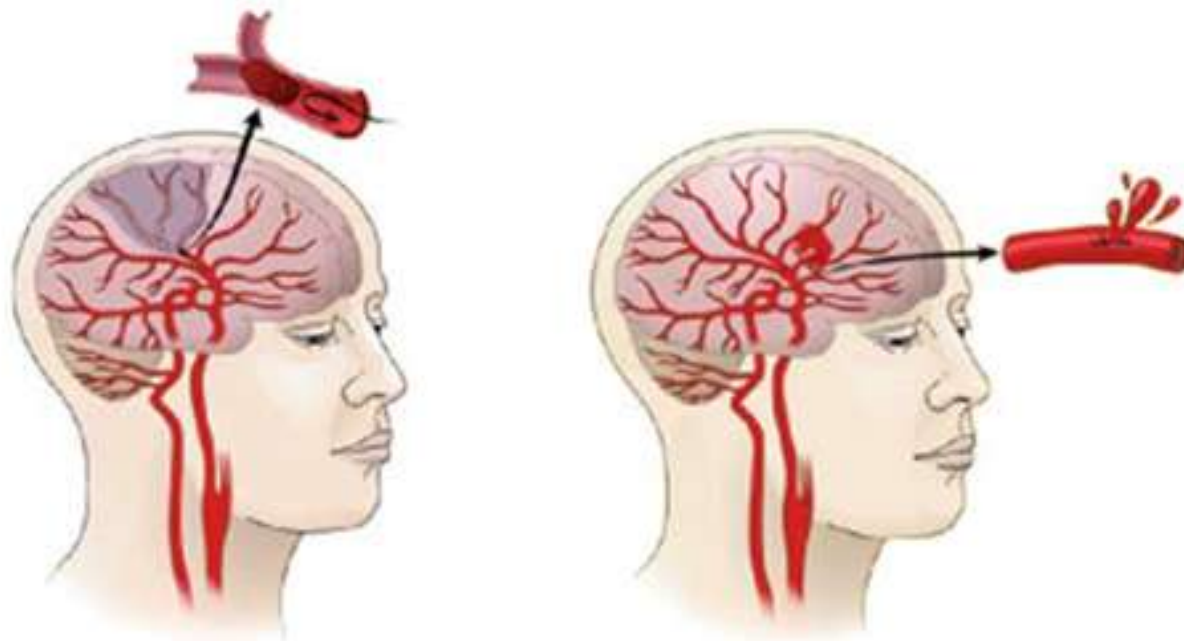
Το ινωδογόνο μετατρέπεται από την θρομβίνη σε ένα θρόμβο ινώδους



10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Μεταξύ της αιμορραγίας και της θρόμβωσης υπάρχει μια λεπτή γραμμή, ο σχηματισμός θρόμβων αίματος στα αιμοφόρα αγγεία.

- πρέπει να σχηματίζονται γρήγορα
- αλλά και να παραμένουν περιορισμένη στην περιοχή του τραύματος



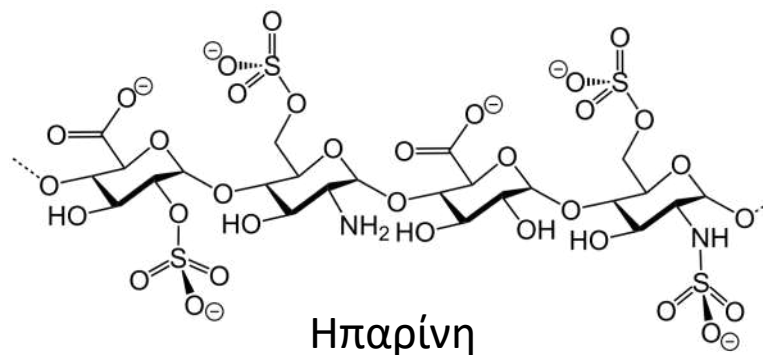
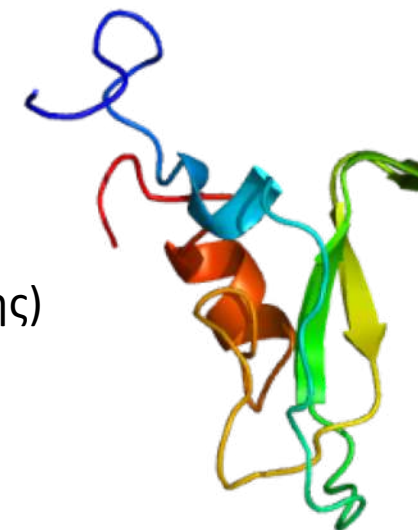
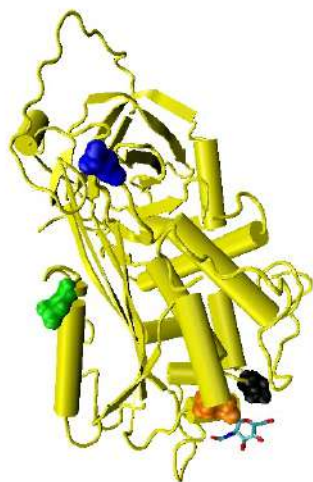
10.4 Πολλά ένζυμα ενεργοποιούνται από ειδική πρωτεολυτική διάσπαση

Η διεργασία της πήξης του αίματος πρέπει να ρυθμίζεται επακριβώς

TFPI – Αναστολέας της πορείας του ιστικού παράγοντα (αναστέλλει την ενεργοποίηση της θρομβίνης)

Αντιθρομβίνη III

- Αναστολέας πρωτεασών της οικογένειας σερπινών
- Σχηματισμός μη αντιστρεπτού συμπλόκου με την θρομβίνη
- Ενίσχυση της ανασταλτικής της δράσης από την ηπαρίνη



Άσκηση 1

Ας υποθέσουμε ότι έχετε ένα διμερές αλλοστερικό ένζυμο το οποίο ακολουθεί τον εναρμονισμένο μηχανισμό.

Ποια από τα παρακάτω αληθεύουν:

- a) Η ισορροπία μεταξύ της κατάστασης T και της κατάστασης R ευνοεί την κατάσταση T
- b) Το ένζυμο μπορεί να υπάρχει με την μορφή RR
- c) Το ένζυμο μπορεί να υπάρχει με την μορφή RT
- d) Η μορφή RR του ενζύμου είναι πιο δραστική

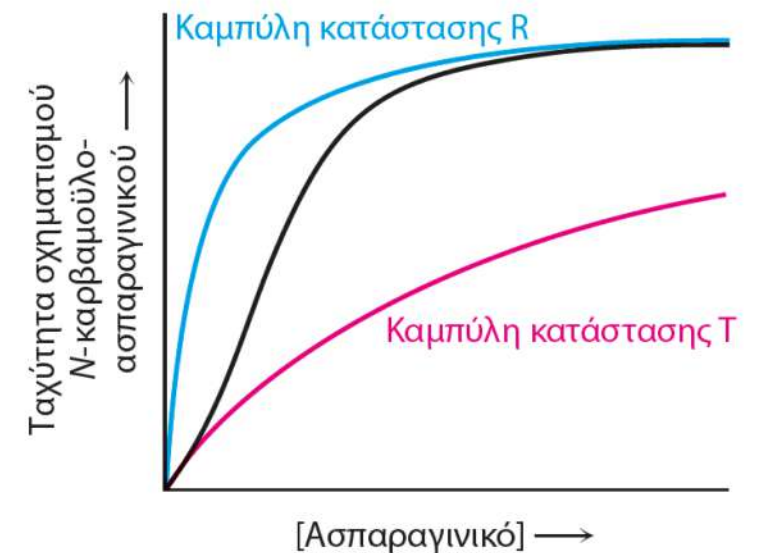
Άσκηση 2

Ποια θα ήταν η επίπτωση μιας μετάλλαξης σε ένα αλλοστερικό ένζυμο η οποία θα είχε ως αποτέλεσμα η αναλογία T/R να είναι 0;

Άσκηση 3

Ένα αλλοστερικό ένζυμο που ακολουθεί τον εναρμονισμένο μηχανισμό απουσία υποστρώματος έχει μια αναλογία $T/R=300$. Υποθέστε ότι μία μετάλλαξη ανέστρεψε την αναλογία.

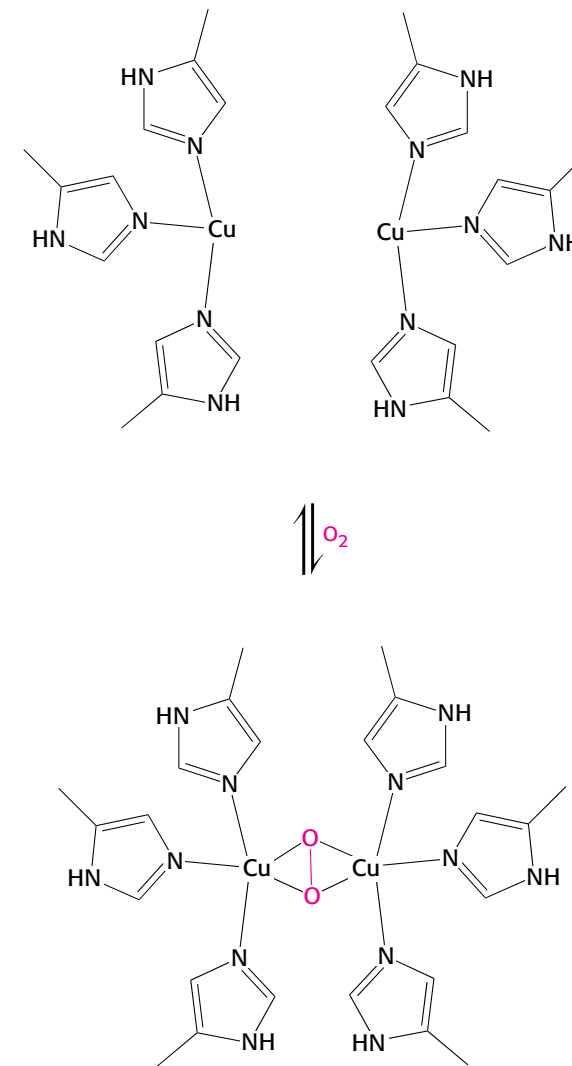
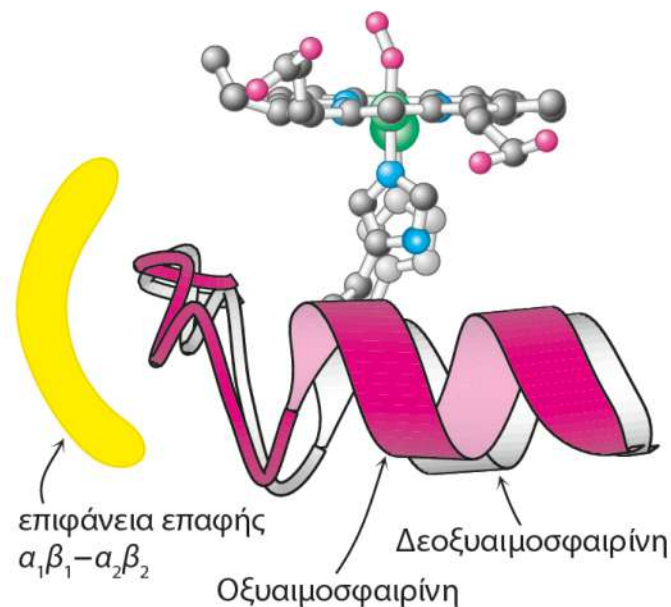
Πως μπορεί αυτή η μετάλλαξη να επηρεάσει την σχέση μεταξύ της ταχύτητας της αντίδρασης και της συγκέντρωσης του υποστρώματος;



Άσκηση 4

Τα αρθρόποδα, όπως οι αστακοί, έχουν φορείς O_2 αρκετά διαφορετικούς από την αιμοσφαιρίνη. Οι θέσεις δέσμευσης του O_2 δεν περιέχουν αίμη αλλά βασίζονται σε δύο ιόντα χαλκού. Οι δομικές αλλαγές που συνοδεύουν τη δέσμευση του O_2 δείχνονται στο σχήμα.

Πως μπορούν αυτές οι αλλαγές να διευκολύνουν τη συνεργειακή δέσμευση του O_2 ;





Άσκηση 5

- | | | | |
|----|-----------------------|-----|---|
| 6 | a) ΑΤΚαση | 1. | Πρωτεϊνική φωσφορυλίωση |
| 7 | b) Κατάσταση T | 2. | Ενεργοποιεί μια συγκεκριμένη κινάση |
| 9 | c) Κατάσταση R | 3. | Προένζυμο |
| 5 | d) Φωσφορυλίωση | 4. | Ενεργοποιεί την θρυψίνη |
| 1 | e) Κινάση | 5. | Κοινή ομοιοπολική τροποποίηση |
| 10 | f) Φωσφατάση | 6. | Αναστέλλεται από την CTP |
| 2 | g) cAMP | 7. | Λιγότερο ενεργός κατάσταση ενός αλλοστερικού ενζύμου |
| 3 | h) Ζυμογόνο | 8. | Σχηματίζει ινώδες |
| 4 | i) Εντεροπεπτιδάση | 9. | Περισσότερο ενεργός κατάσταση ενός αλλοστερικού ενζύμου |
| 8 | j) Ιστικός παράγοντας | 10. | Αφαιρεί φωσφορικές ομάδες |

Άσκηση 6

Η αντιθρομβίνη III σχηματίζει ένα μη αντιστρεπτό σύμπλοκο με την θρομβίνη και όχι με την προθρομβίνη. Ποια είναι η πιθανότερη εξήγηση για τη διαφορά αυτή στην αντιδραστικότητα;

Άσκηση 7

Μια φαρμακευτική εταιρία θέλει να παρασκευάσει, με μέθοδο ανασυνδυασμένου DNA, μια τροποποιημένη αντιθρυψίνη α_1 η οποία θα είναι πιο ανθεκτική στην οξείδωση. Ποιο αμινοξύ της προτείνετε να αντικαταστήσει;

