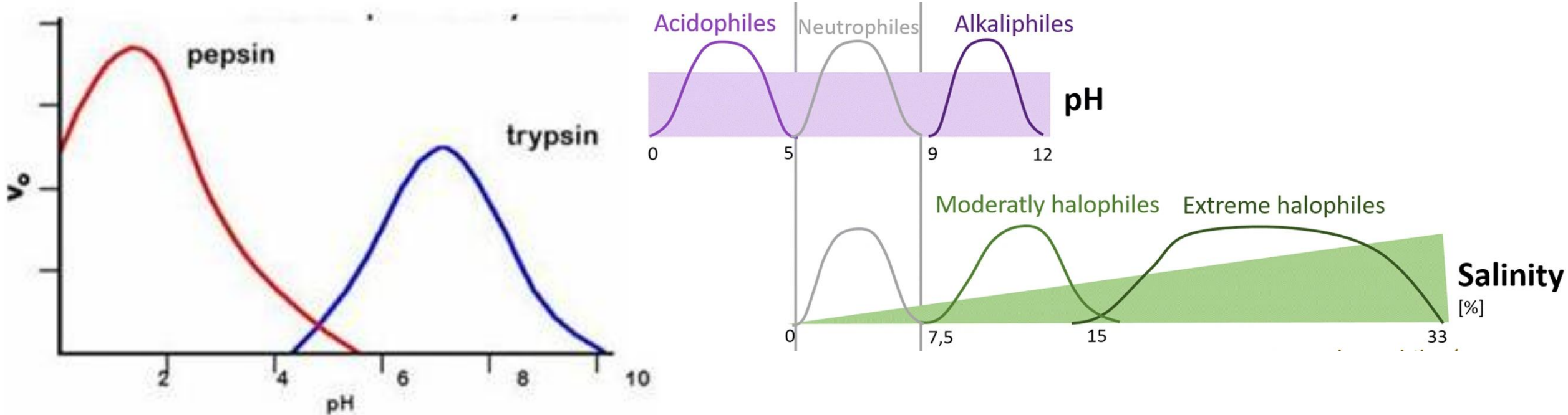


Παράγοντες ρύθμισης της ενζυμικής ενεργότητας

1. pH
2. Θερμοκρασία
3. Πρωτεόλυση (ενεργοποίηση, αποικοδόμηση)
4. Φωσφορυλίωση
5. Αντιστρεπτοί αναστολείς (συναγωνιστικοί, μη συναγωνιστικοί, ασυναγώνιστοι, μικτοί)
6. Αλλοστερικοί ενεργοποιητές/αναστολείς
7. Μη αντιστρεπτοί αναστολείς

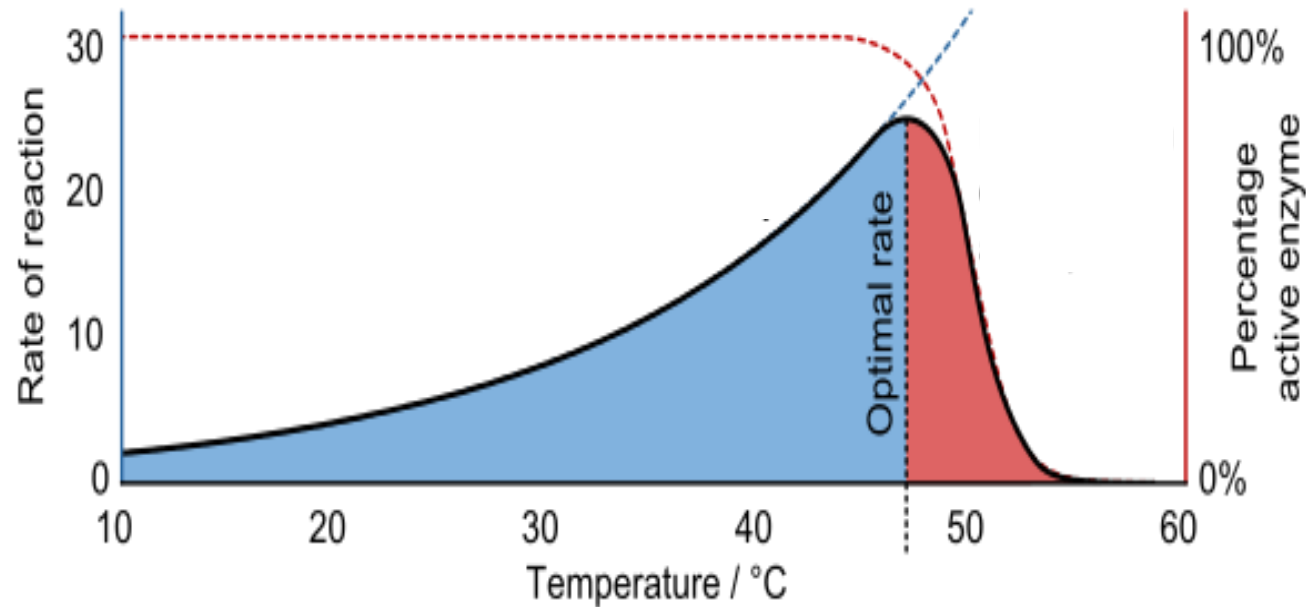
Μάκης Ζωιδάκης
Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας
izoidakis@biol.uoa.gr

Επίδραση του pH και άλλων ιόντων

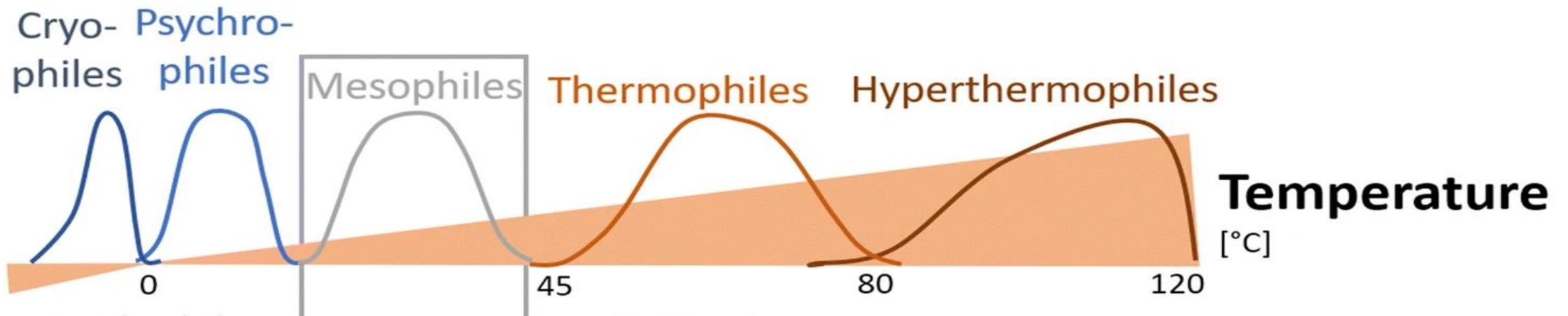


Κάθε ένζυμο έχει συγκεκριμένο εύρος τιμών pH όπου είναι ενεργό
Γιατί μειώνεται η καταλυτική ικανότητα των ενζύμων όταν αλλάζει το pH;
Πως επηρεάζει η συγκέντρωση ανόργανων ιόντων την καταλυτική ενεργότητα των ενζύμων;

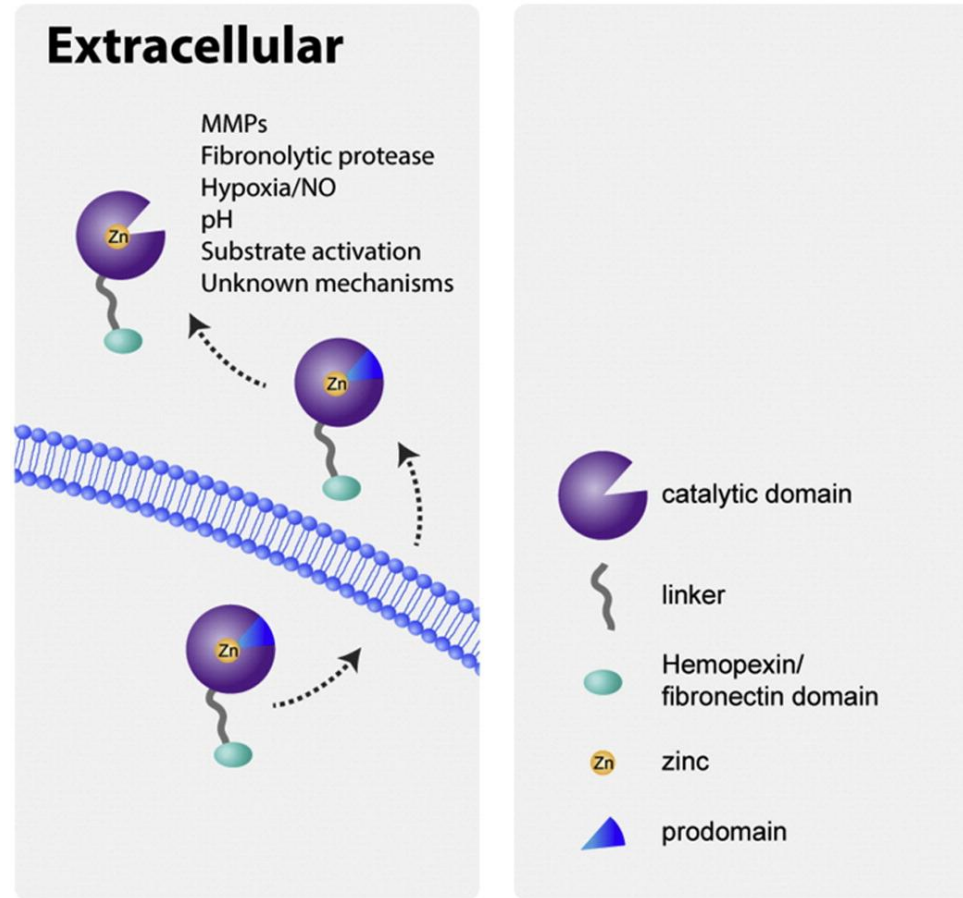
Επίδραση της θερμοκρασίας



Κάθε ένζυμο έχει συγκεκριμένη θερμοκρασία βέλτιστης καταλυτικής απόδοσης
Γιατί αυξάνεται η ταχύτητα της αντίδρασης όταν αυξάνει η θερμοκρασία;
Γιατί μειώνεται απότομα η ταχύτητα όταν αυξηθεί πέρα από ένα όριο η θερμοκρασία;

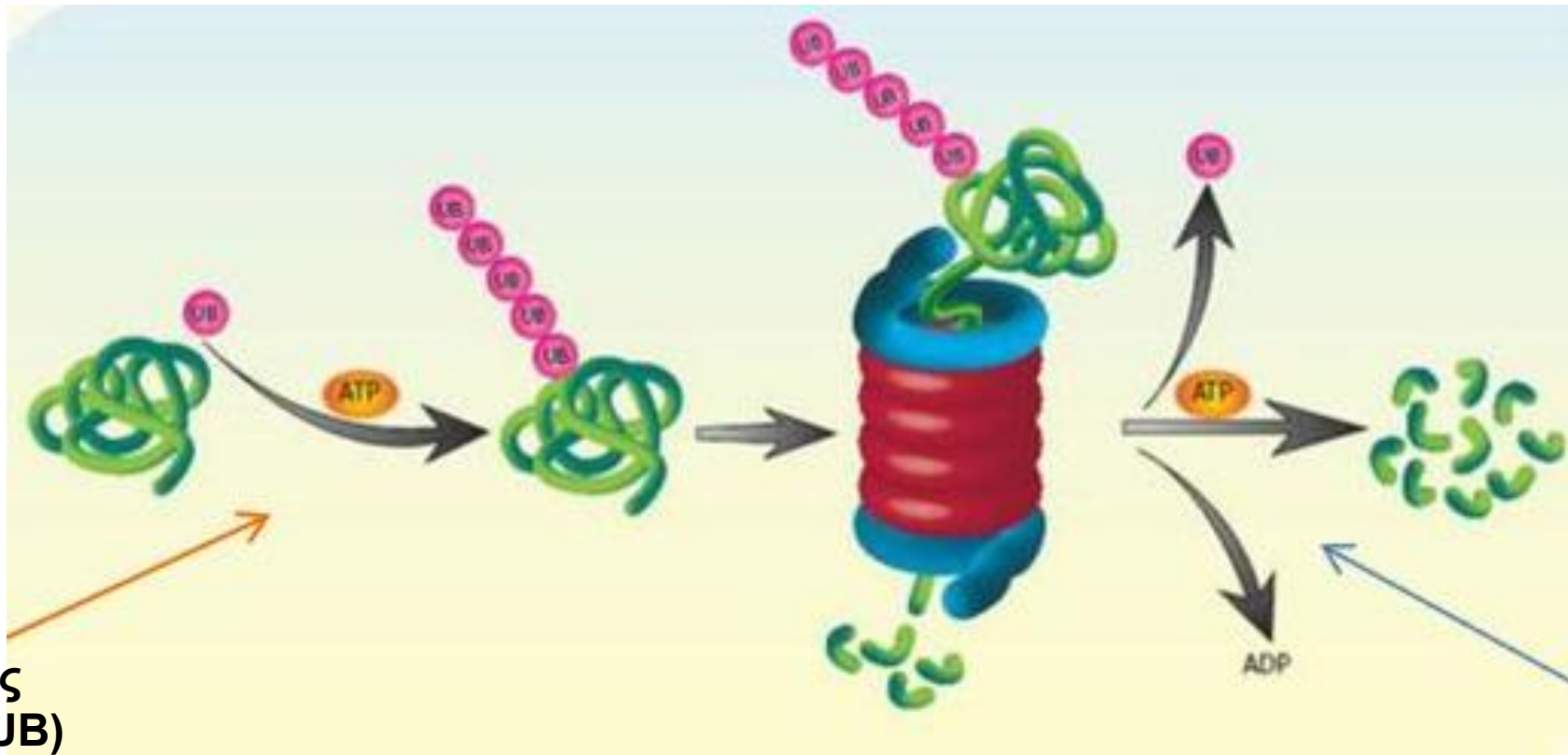


Πρωτεολυτική ενεργοποίηση ενζύμων



Μη αντιστρεπτή ενεργοποίηση Μεταλλοπρωτεϊνών μετά την έκκριση στον εξωκυττάριο χώρο

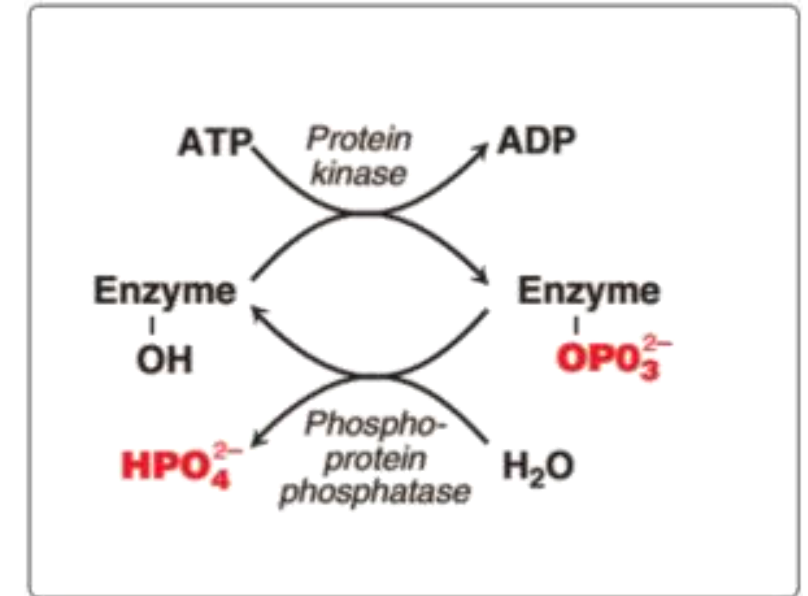
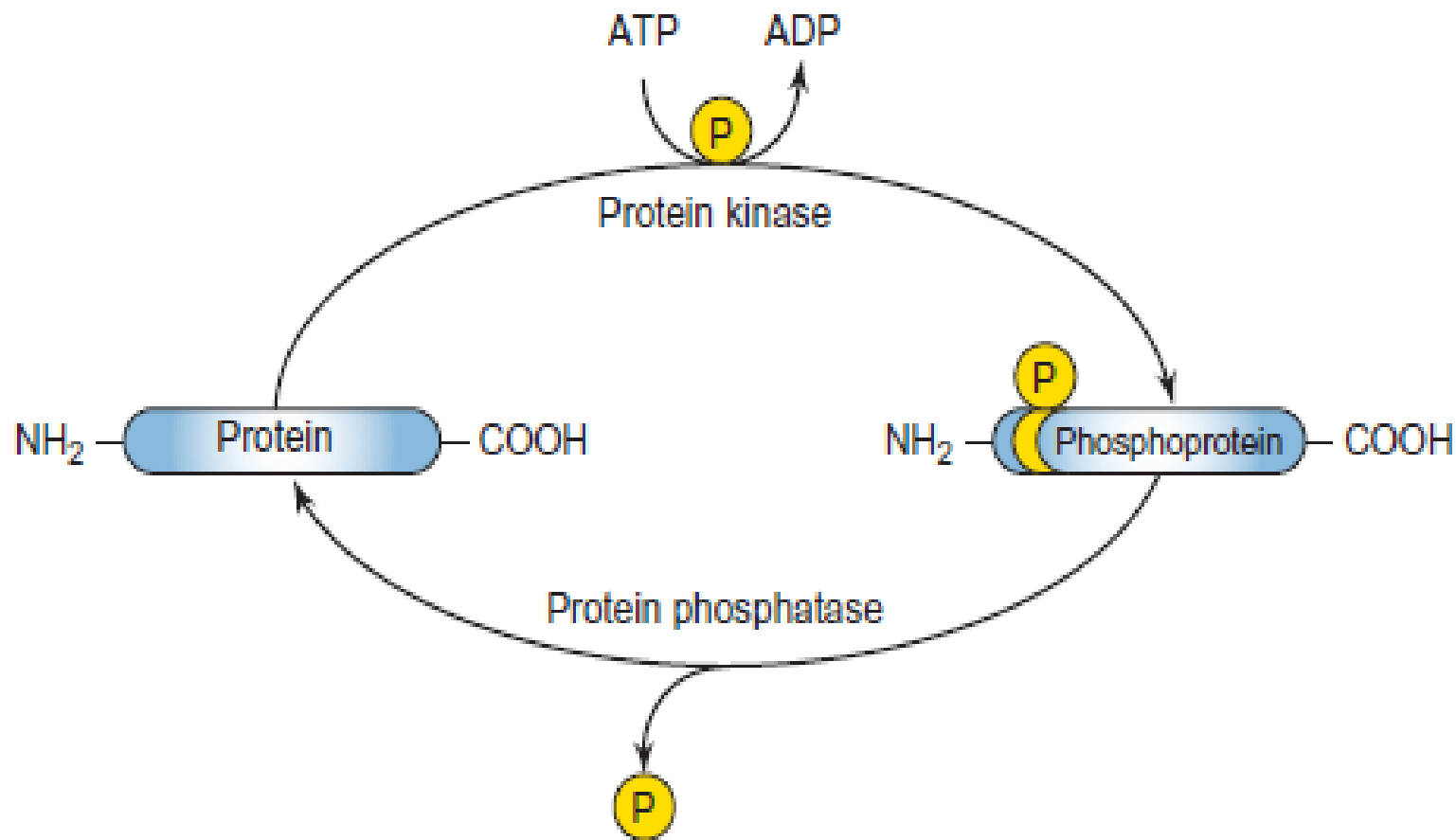
Πρωτεολυτική αποικοδόμηση ενζύμων/πρωτεϊνών



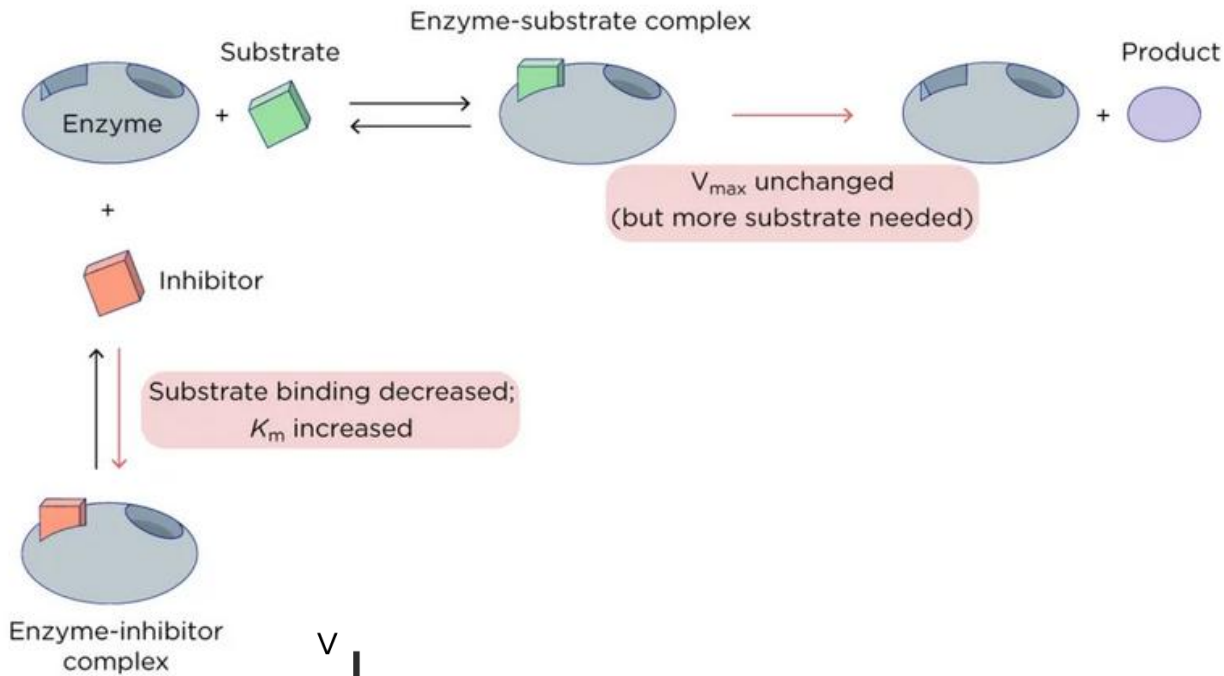
Προσθήκη
ουβικουιλίνης
(ubiquitine, UB)

Πρωτεολυτική
αποικοδόμηση
από το
πρωτεάσωμα

Η Φωσφορυλίωση είναι μια αντιστρεπτή ομοιοπολική τροποποίηση και επιτρέπει την ρύθμιση της δραστηριότητας ενζύμων

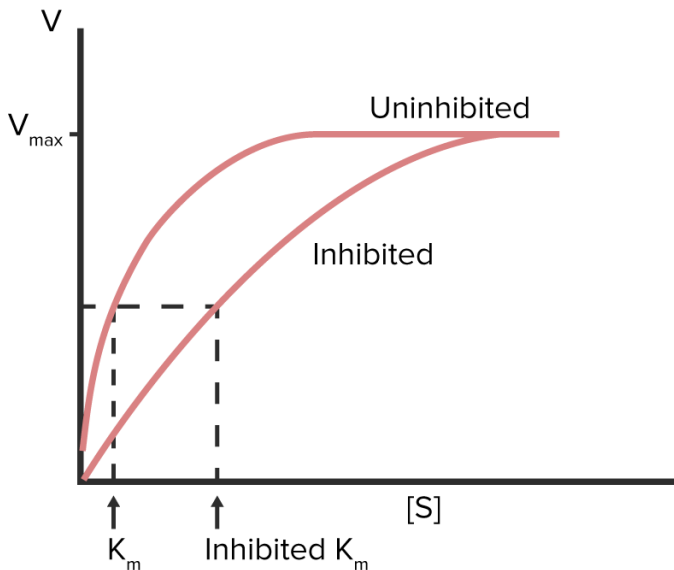


Αντιστρεπτοί συναγωνιστικοί (competitive) αναστολείς

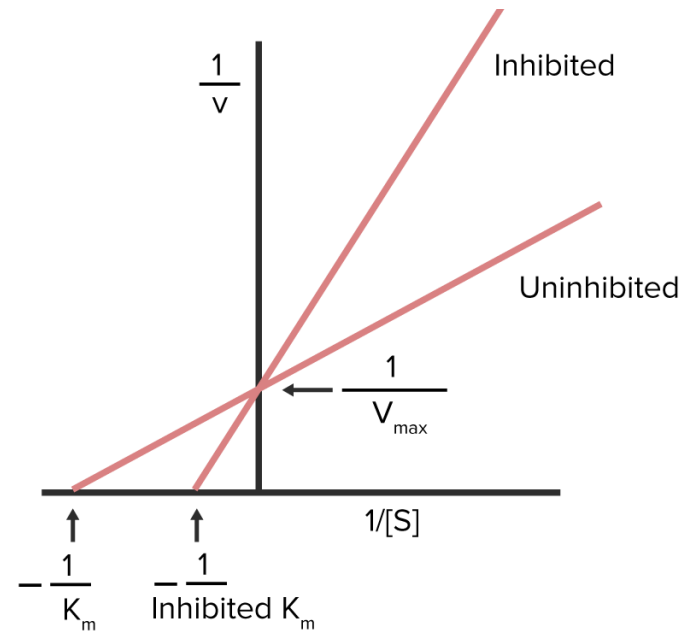


Προσδένονται στο ενεργό κέντρο του ελεύθερου ενζύμου.

Συναγωνίζονται το υπόστρωμα για πρόσδεση στο ένζυμο οπότε όταν έχουμε μεγάλη συγκέντρωση υποστρώματος είναι δυνατόν να ξεπεραστεί η αναστολή της καταλυτικής δράσης του ενζύμου.



Michaelis-Menten
Competitive Inhibition

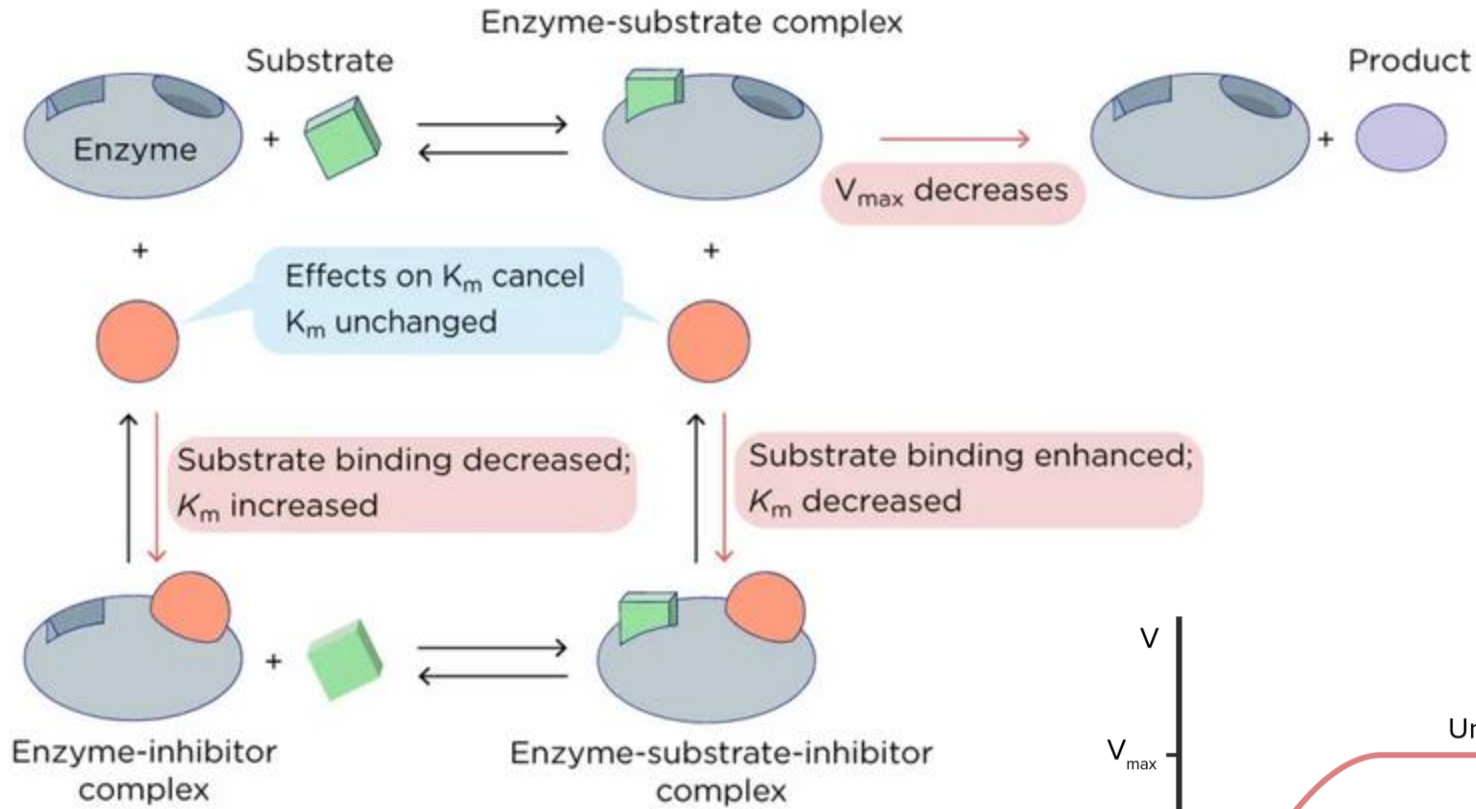


Lineweaver-Burke
Competitive Inhibition

V_{max} δεν επηρεάζεται.
 K_m αυξάνει. Τι σημαίνει αυτή η αύξηση;

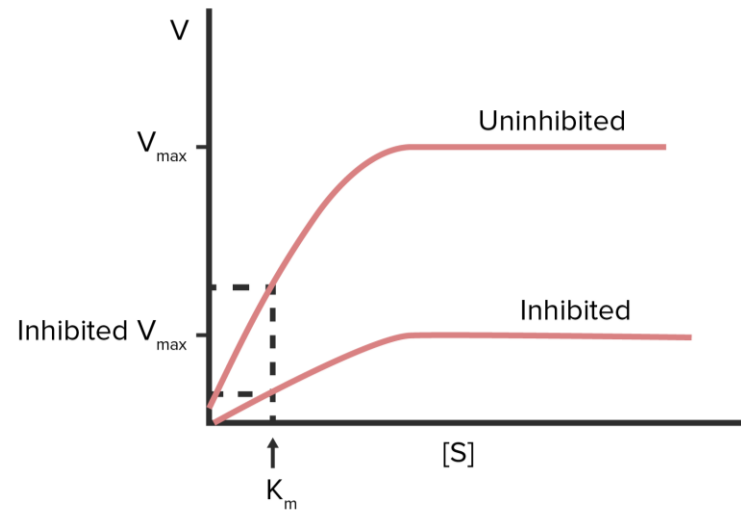
Αντιστρεπτοί μη συναγωνιστικοί αναστολείς

Καθαρή μη συναγωνιστική αναστολή (pure non-competitive inhibition)

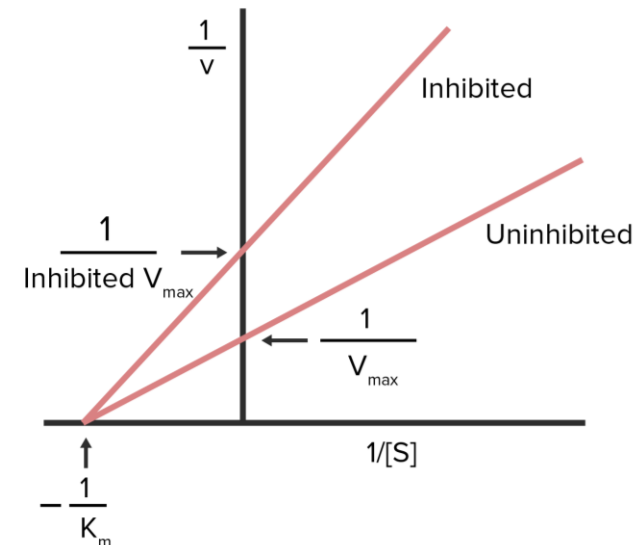


Προσδένονται στο ελεύθερο ένζυμο και στο σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος.
Δεν προσδένονται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου.
Δεν επηρεάζουν την πρόσδεση του υποστρώματος στο ένζυμο.

V_{max} μειώνεται.
 K_m δεν επηρεάζεται.



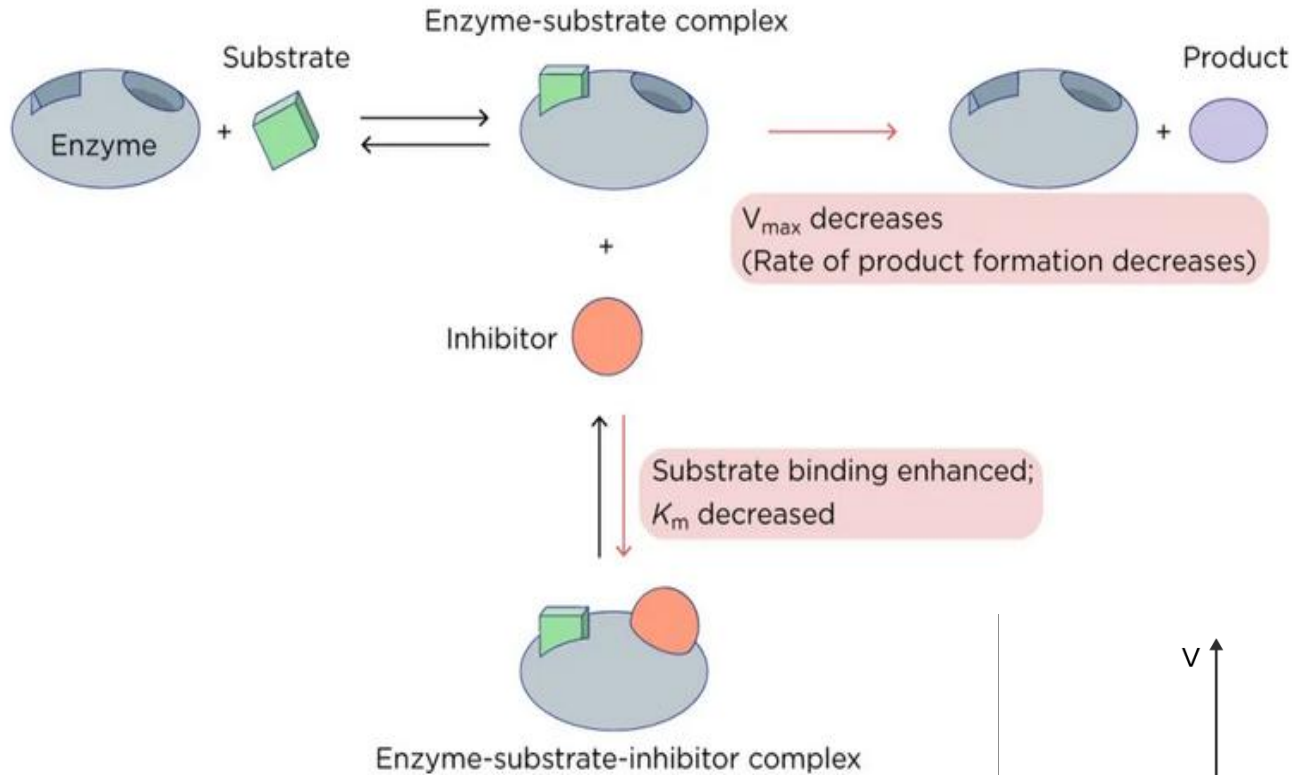
Michaelis-Menten
Non-competitive Inhibition



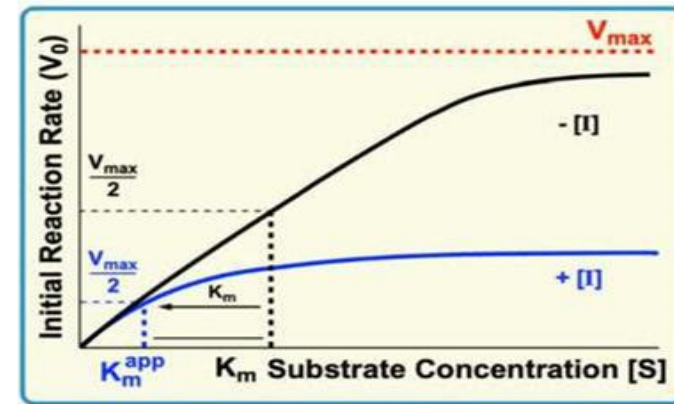
Lineweaver-Burke
Non-competitive Inhibition

Αντιστρεπτοί ασυναγώνιστοι αναστολείς

Ασυναγώνιστοι αναστολείς (un-competitive inhibition)

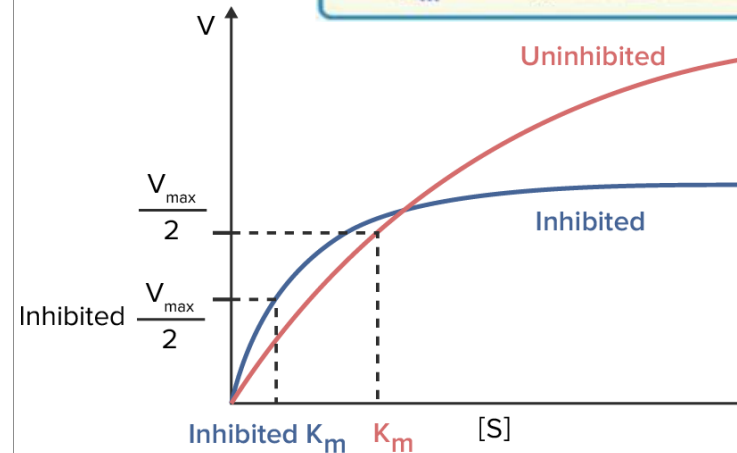


Προσδένονται μόνο στο σύμπλοκο
Ενζύμου-Υποστρώματος
Φαινομενικά «αυξάνουν» την πρόσδεση
του υποστρώματος στο ένζυμο.

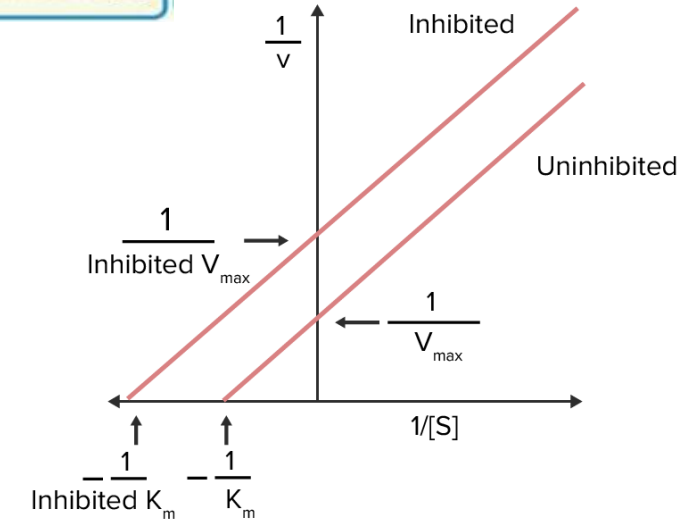


V_{max} μειώνεται.
 K_m μειώνεται.

Βρείτε το λάθος στο ένα διάγραμμα MM



Michaelis-Menten
Uncompetitive Inhibition



Lineweaver-Burke
Uncompetitive Inhibition

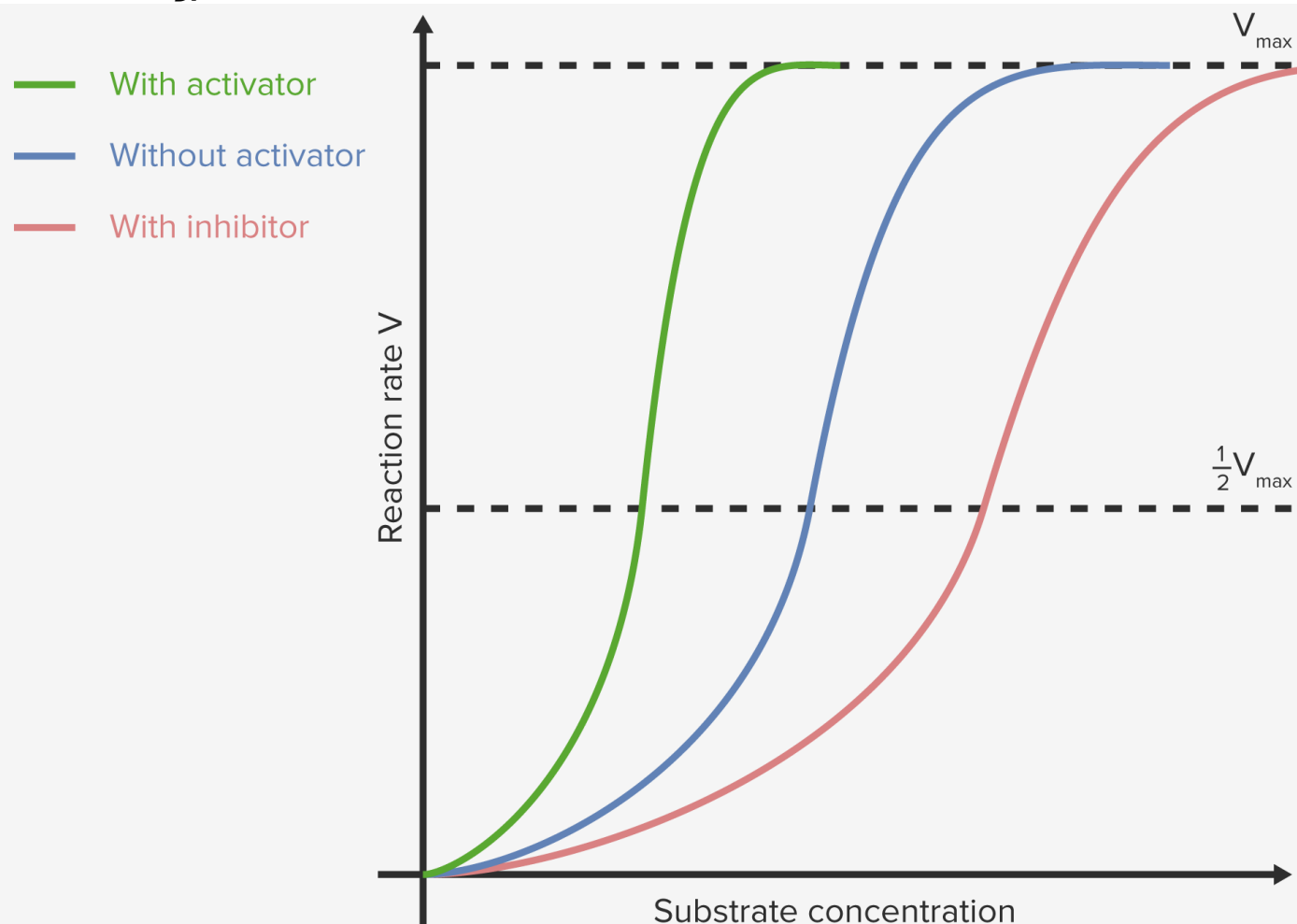
Αλλοστερικά Ένζυμα

Αποτελούνται από περισσότερες από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα (υπομονάδα) και κάθε υπομονάδα έχει μια θέση πρόσδεσης για το υπόστρωμα, καθώς και μια ξεχωριστή θέση δέσμευσης για αλλοστερικούς ρυθμιστές (ενεργοποιητές ή αναστολείς).

Η αλληλεπίδραση ενός αλλοστερικού ενζύμου με ρυθμιστές μεταβάλλει την διαμόρφωση των υπομονάδων του και κατά συνέπεια την κινητική του συμπεριφορά

Τα αλλοστερικά ένζυμα συνήθως καταλύουν κομβικές αντιδράσεις του μεταβολισμού οι οποίες πρέπει να ρυθμίζονται με μεγάλη ακρίβεια

Ορίζουμε ως $[S]_{0.5}$ την συγκέντρωση υποστρώματος στην οποία $v = V_{max}/2$

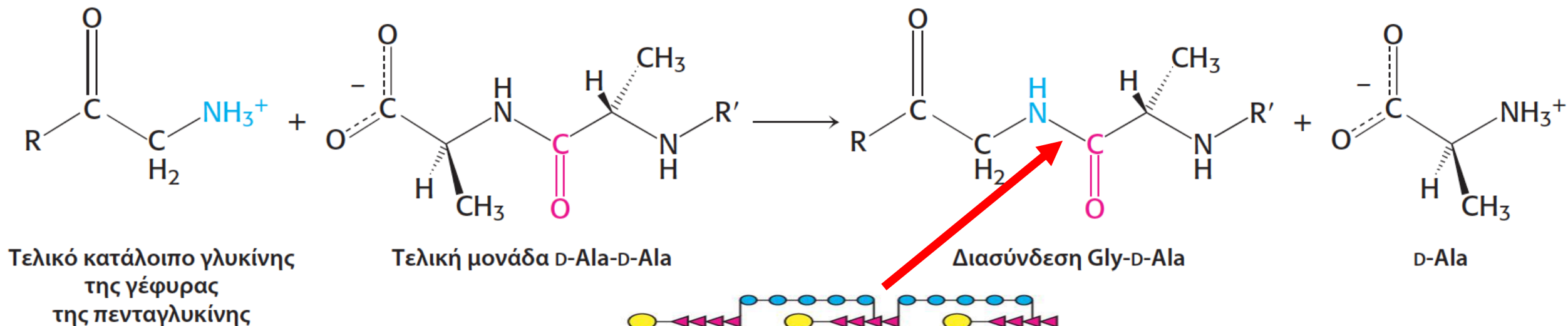


Μη αντιστρεπτοί αναστολείς, Αναστολείς αυτοκτονίας

Προσδένονται συνήθως στο ενεργό κέντρο του ενζύμου με ομοιοπολικό δεσμό και το απενεργοποιούν μόνιμα

Η πενικιλίνη αναστέλλει μη αντιστρεπτά την τρανσπεπτιδάση των γλυκοπεπτιδίων που είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του πεπτιδογλυκανίου του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος

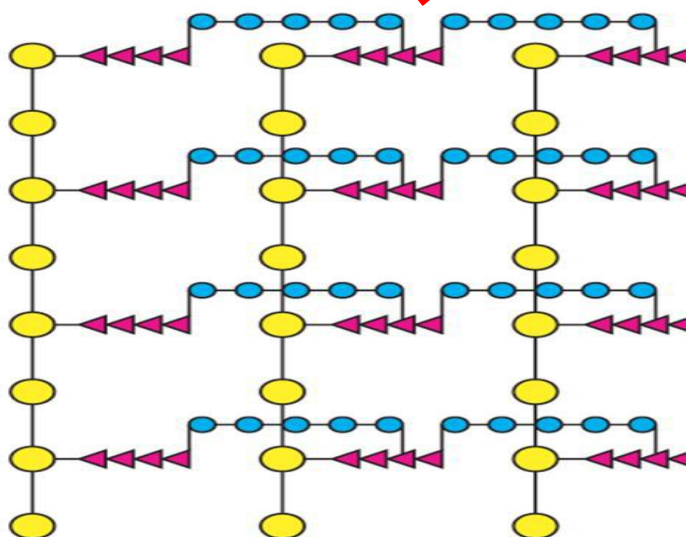
Η αντίδραση του ενζύμου είναι η ακόλουθη



Μπλε: γέφυρες πενταγλυκίνης

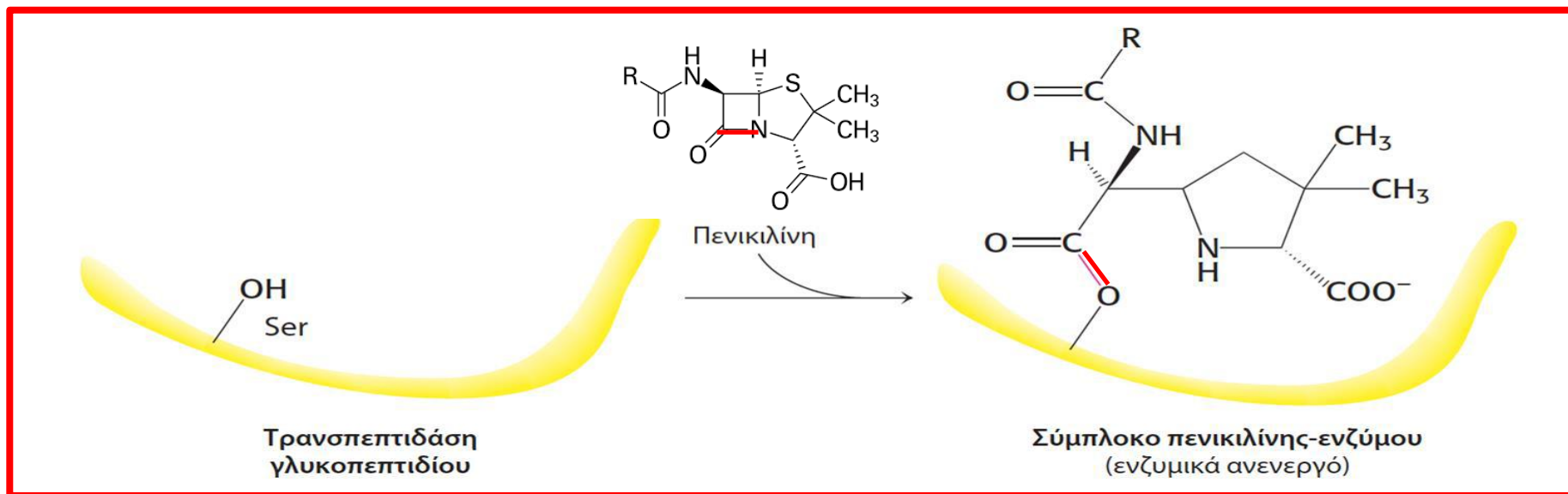
Μωβ: Τετραπεπτιδία L και D αμινοξέων

Κίτρινο: Σάκχαρα

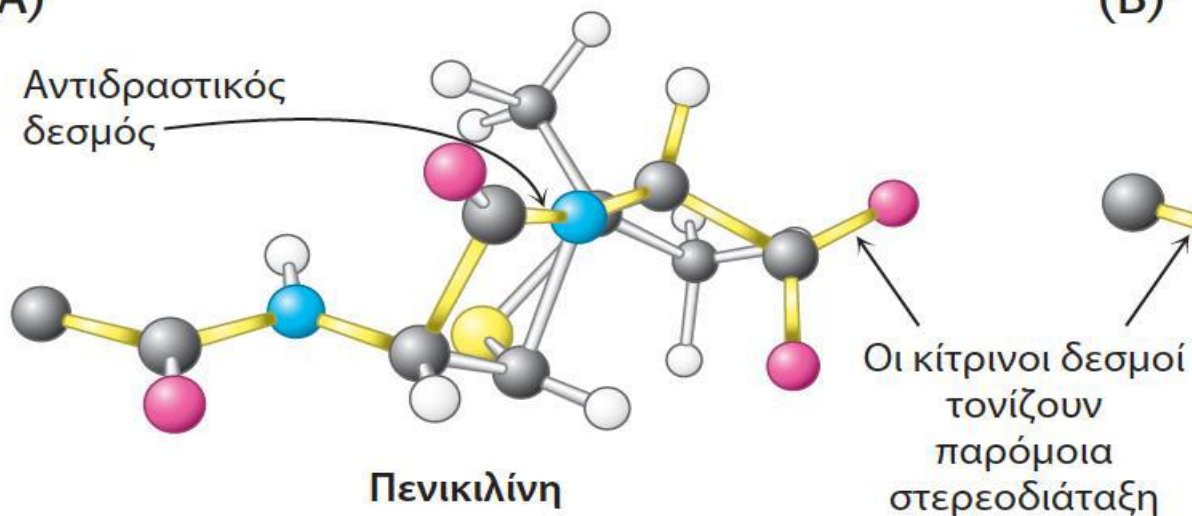


Μη αντιστρεπτοί αναστολείς, Αναστολείς αυτοκτονίας

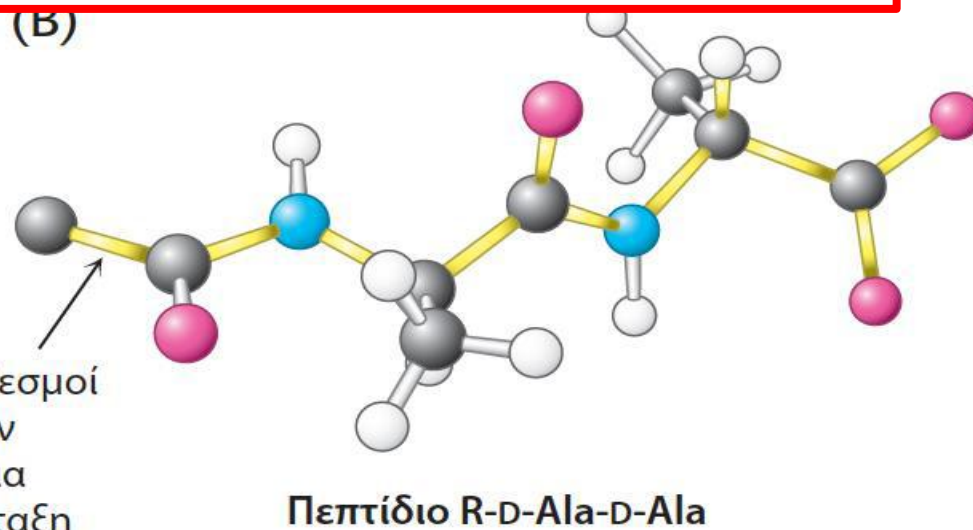
Η πενικιλίνη αναστέλλει μη αντιστρεπτά την τρανσπεπτιδάση των γλυκοπεπτιδίων σχηματίζοντας ένα σταθερό ομοιοπολικό δεσμό με την πλευρική αλυσίδα μιας Σερίνης που παίζει καίριο ρόλο στην κατάλυση της αντίδρασης. Έχει παρόμοια δομή με το υπόστρωμα του ενζύμου.



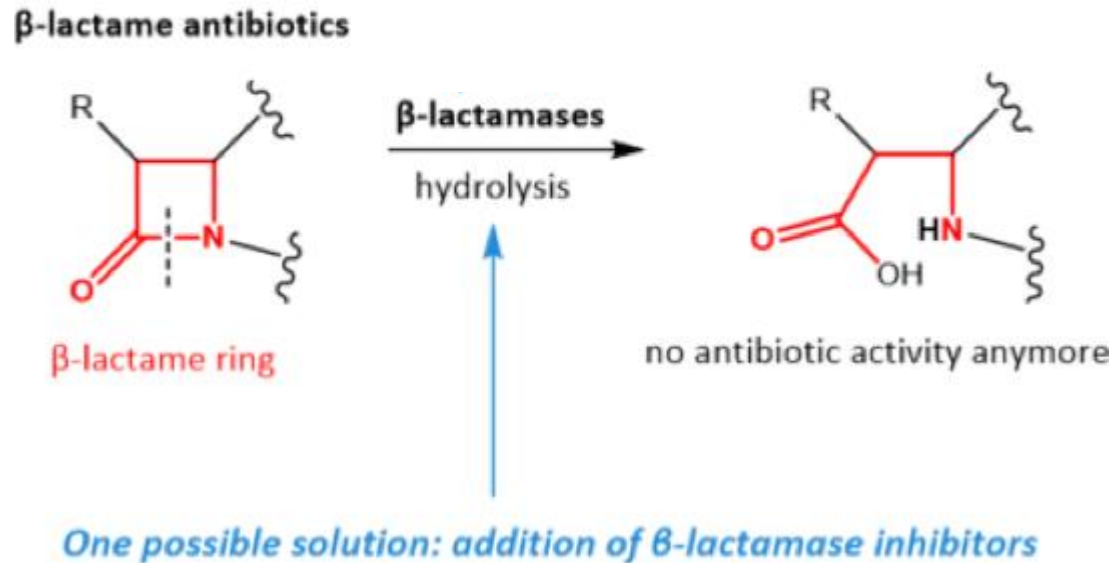
(A)



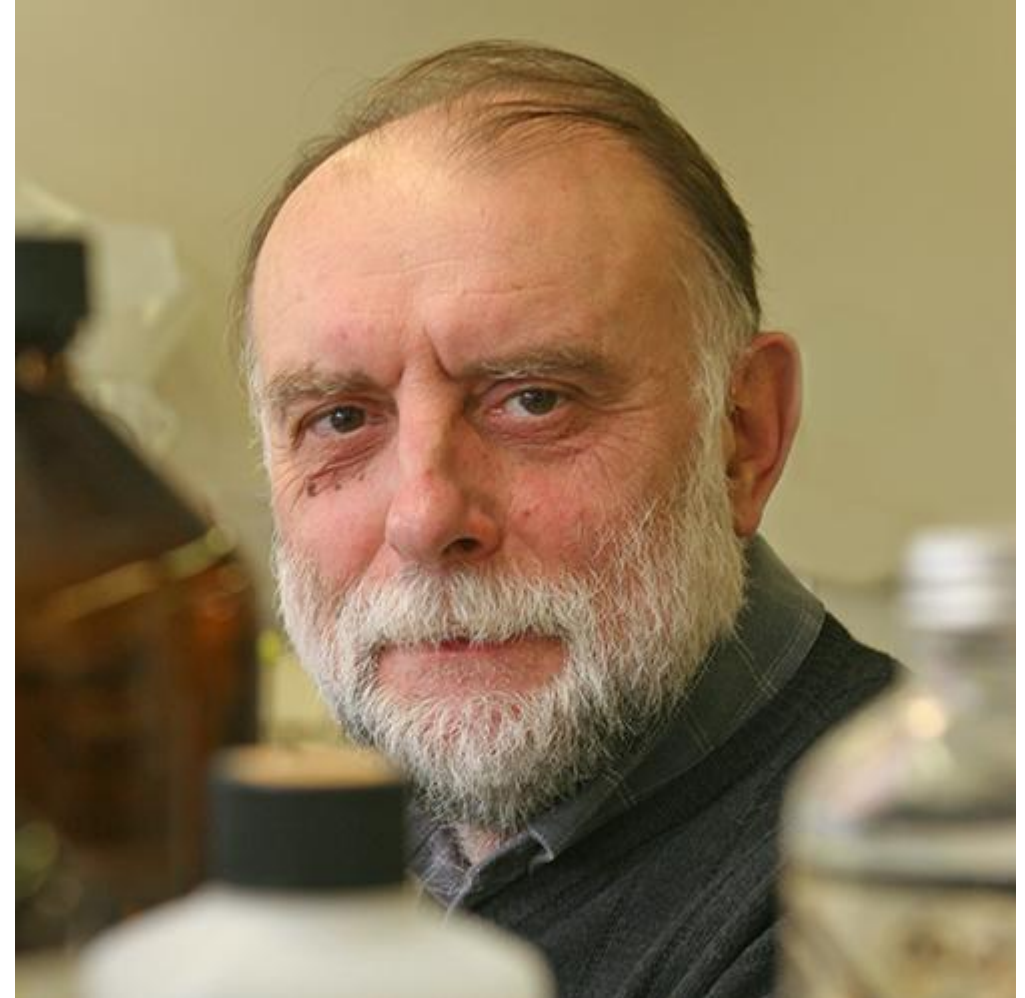
(B)



Οι β-Λακταμάσες ευθύνονται για την εμφάνιση ανθεκτικότητας στην πενικιλίνη



Frère JM, Sauvage E, Kerff F.
From "An Enzyme Able to Destroy Penicillin" to Carbapenemases: 70 Years of Beta-lactamase Misbehaviour.
Curr Drug Targets. 2016;17(9):974-82.



Jean-Marie Frère
Καθηγητής Ενζυμολογίας
Πανεπιστήμιο Λιέγης