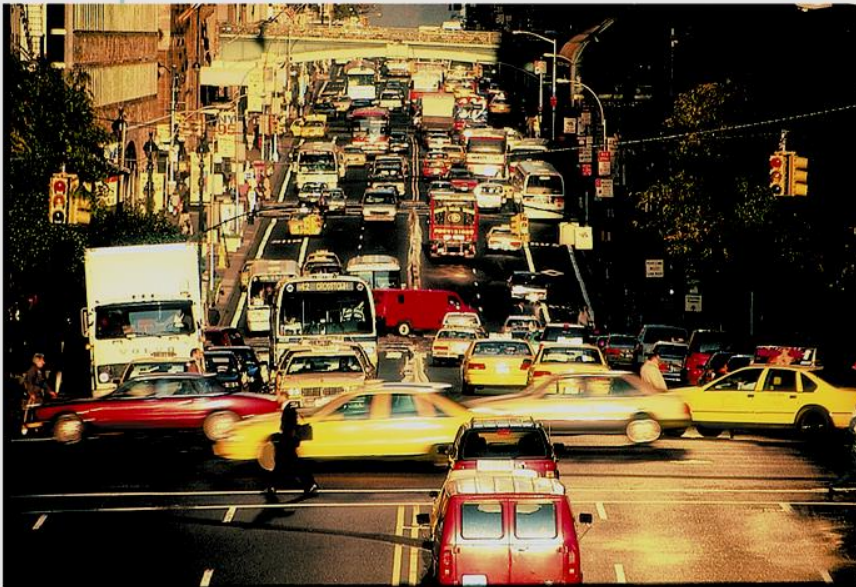
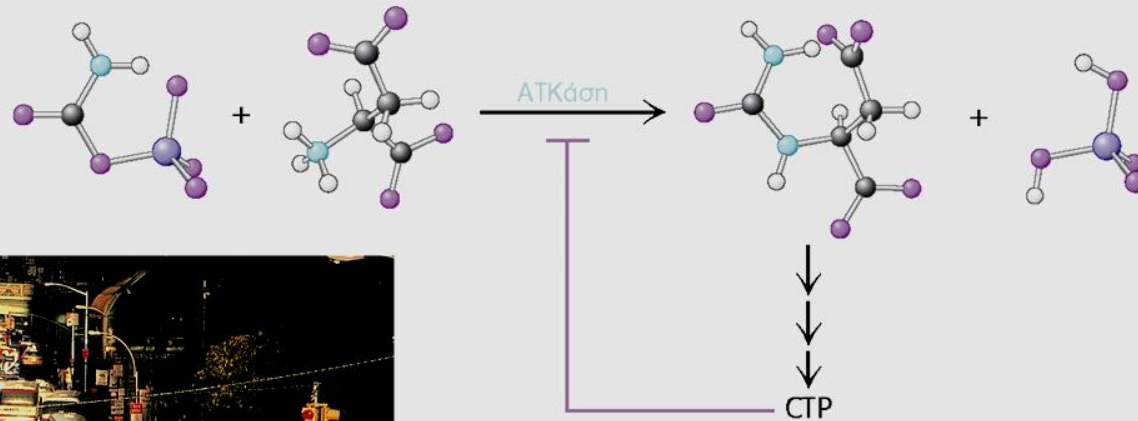


Στρατηγικές ρύθμισης: ένζυμα και αιμοσφαιρίνη



Οι μεταβολικές πορείες, όπως η κυκλοφοριακή κίνηση, ρέουν πιο αποτελεσματικά όταν ρυθμίζονται από σήματα. Η CTP, το τελικό προϊόν μιας πορείας πολλών βημάτων, ελέγχει τη ροή μέσω της πορείας αναστέλλοντας το καθοριστικό βήμα που καταλύεται από την ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση (ΑΤΚάση). [(Αριστερά) Richard Berenholtz/The Stock Market.]

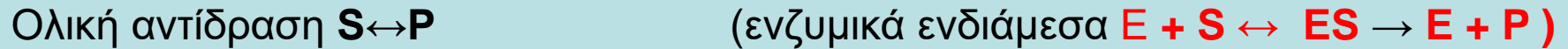
VIDEO

1 Inner Life Of A Cell

Ρύθμιση δράσης ένζυμων

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

παράδειγμα



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 κάποια 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 **στερεοδιάταξης** (τεταρτοταγής δομή): η δραστηριότητα σε μια θέση επηρεάζει την δραστηριότητα σε μια άλλη θέση

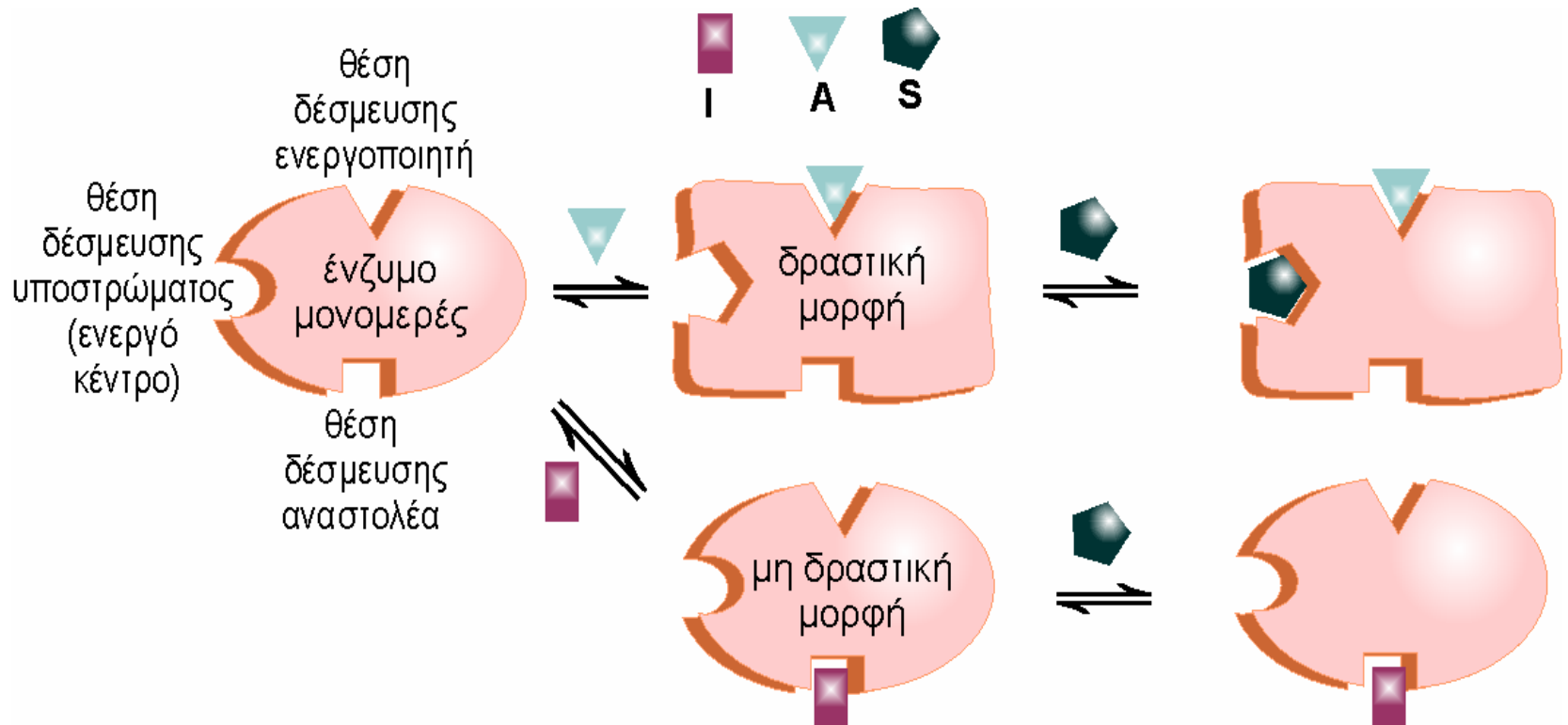
Ισοένζυμα - πολλαπλές μορφές ενζύμων- ένωση με μικρά σηματοδοτικά μόρια
Καταλύουν την ίδια αντίδραση διαφέρουν ελαφρώς στην **στερεοδιάταξη** στην k_{cat} και K_m όπως και ιδιότητες ρύθμισης. Βρίσκονται σε ξεχωριστό ιστό ή όργανο ή στάδιο ανάπτυξης

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

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

ΑΛΛΟΣΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

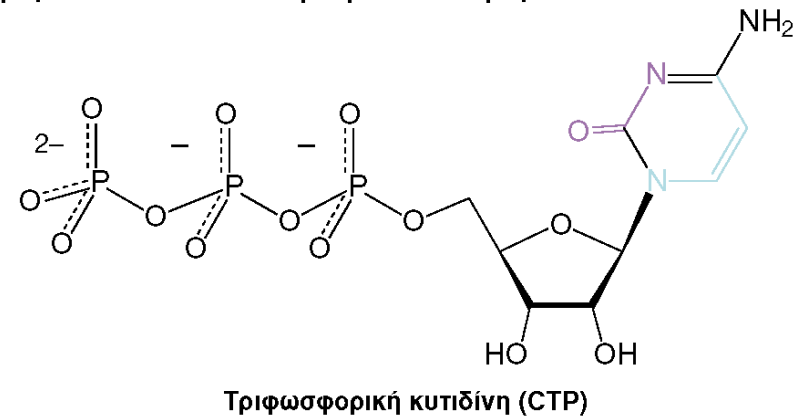
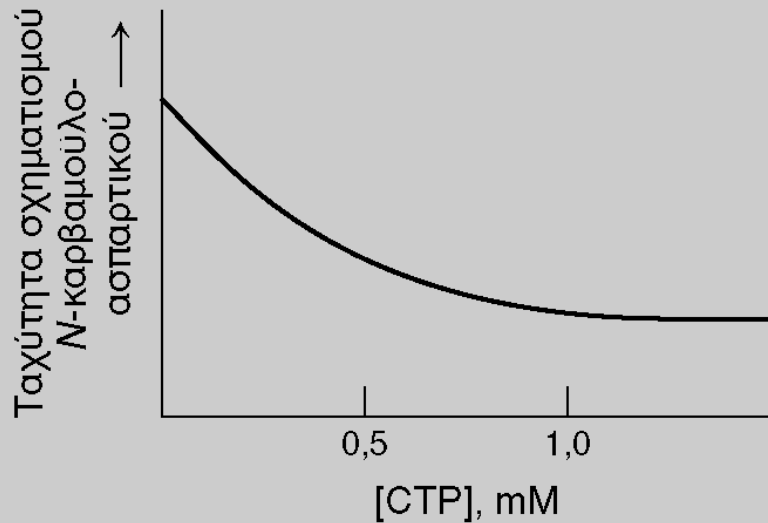
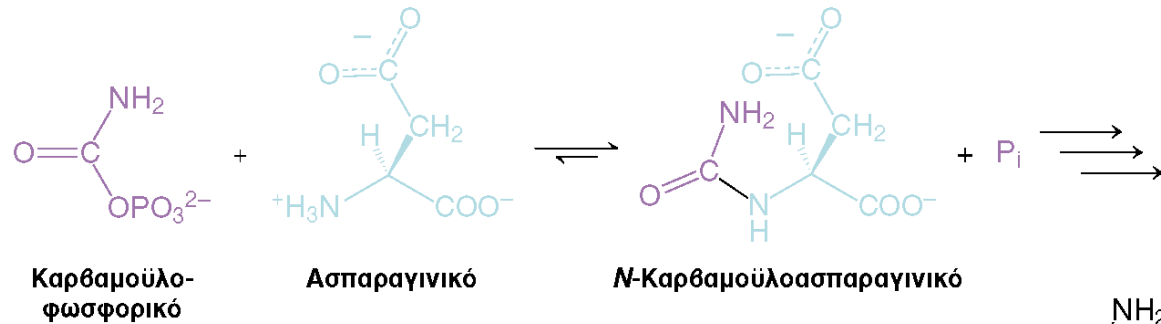
Οι αλλοστερικές πρωτεΐνες δεσμεύονται σε θέσεις διαφορετικές, και πιθανώς απομακρυσμένες από το ενεργό κέντρο του ενζύμου οι οποίες ονομάζονται αλλοστερικές θέσεις



VIDEO

2,3 ENZYME FUNCTION& INHIBITION

Παράδειγμα Ασπαραγινικής ΤρανσΚαρβαμοϋλάσης (ΑΤΚάση)



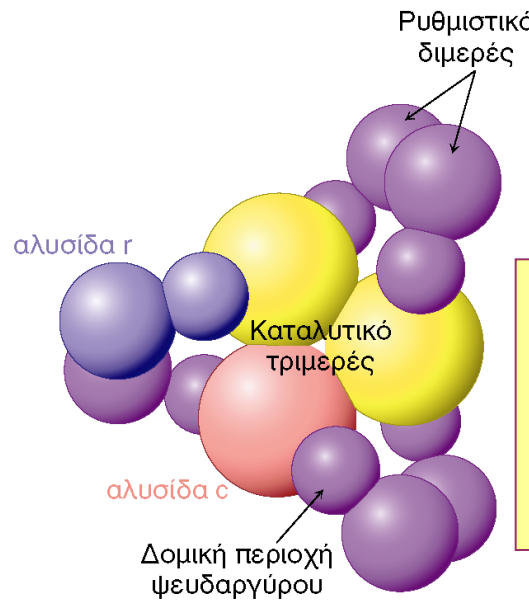
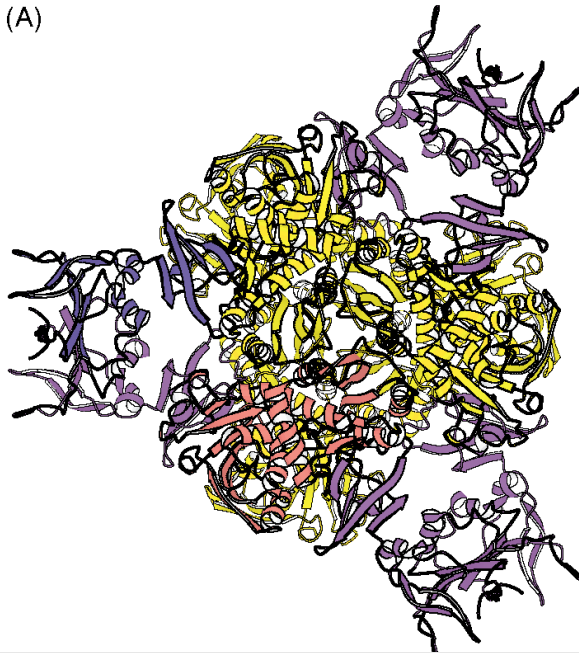
Το τελικό προϊόν της μεταβολικής πορείας, (3-4 βήματα μετά την αρχική καταλυμένη Αντίδραση) αναστέλλει την αρχική αντίδραση Προϊόν βήμα 5 αναστέλλει βήμα 1

ΕΙΚΟΝΑ 10.2 Η CTP αναστέλλει την ΑΤΚάση. Η τριφωσφορική κυτιδίνη, ένα τελικό προϊόν της πορείας σύνθεσης των πυριμιδινών, αναστέλλει την ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση παρά το γεγονός ότι έχει μικρή δομική ομοιότητα με τα αντιδρώντα ή τα προϊόντα.

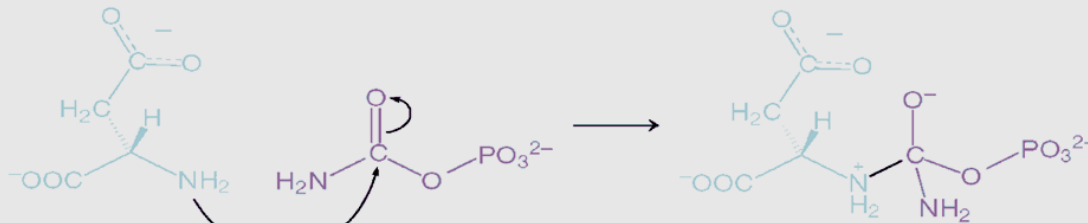
Όχι μόνο ελέγχεται η δραστηριότητα του ενζύμου αλλά ανάλογα το μόριο αναστολέα ελέγχονται 2, 3...5 συνεχόμενες αντιδράσεις

Το ένζυμο αποτελείται από υπομονάδες **καταλυτικές** και **ρυθμιστικές**

(A)

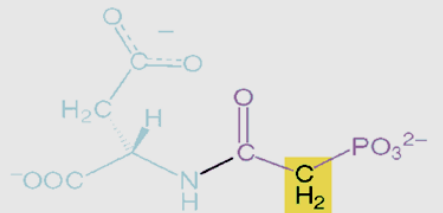


Χρησιμοποιώντας σαν εργαλείο το PALA (συναγωνιστικός αναστολέας, μιμείται το υπόστρωμα και δεν μεταβολίζεται) μπορούμε να μελετήσουμε την λειτουργία του ενζύμου



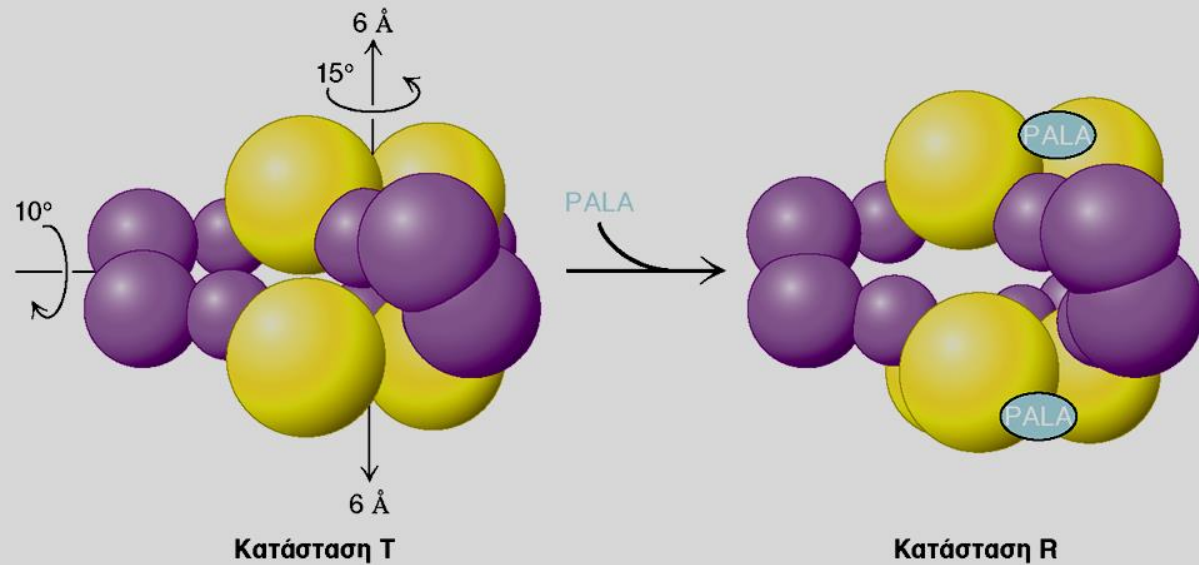
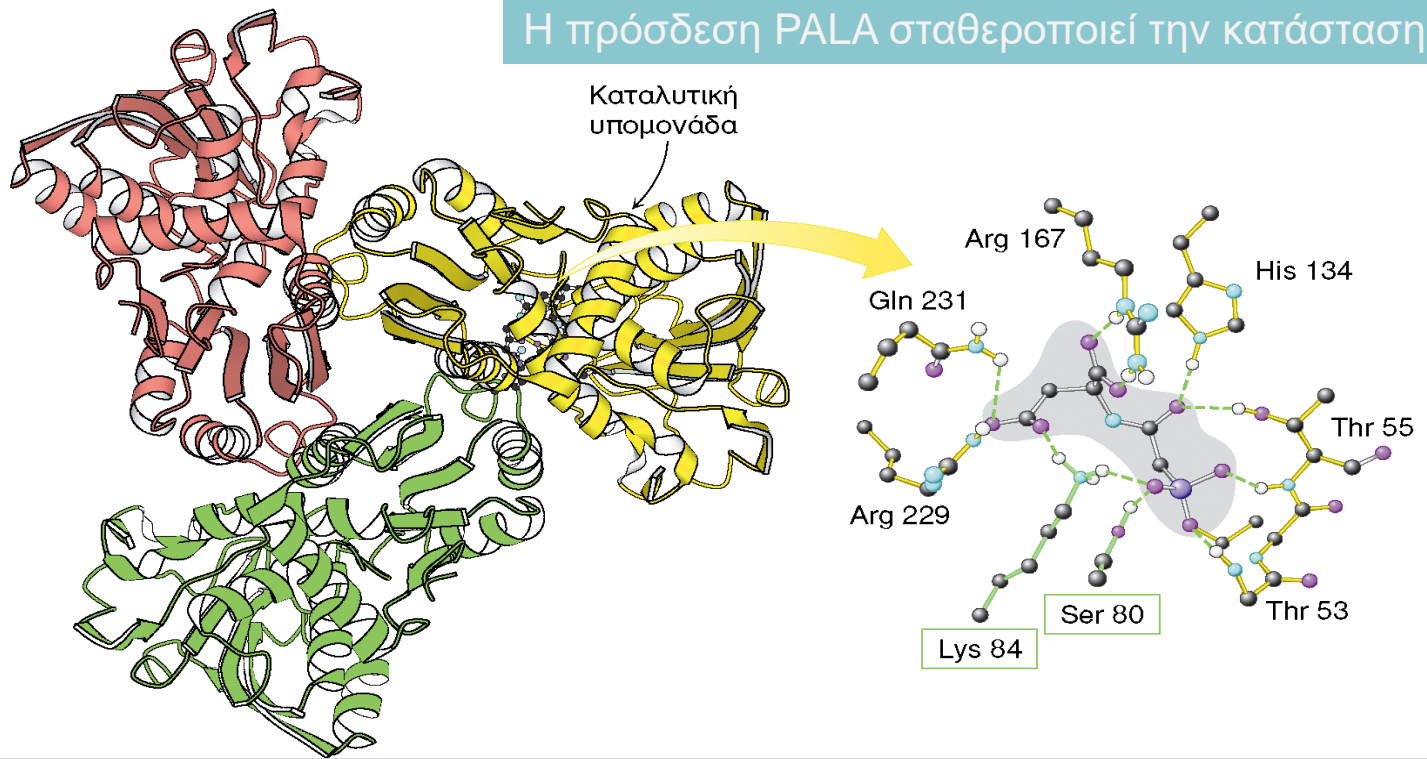
Προσδεμένα υποστρώματα

Ενδιάμεσο αντίδρασης



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

ΕΙΚΟΝΑ 10.6 PALA, ένα ανάλογο δύο υποστρωμάτων. (Επάνω) Η πυρηνοφιλική επίθεση από την αμινική ομάδα του ασπαραγινικού στο καρβονυλικό άτομο άνθρακα του καρβαμοϋλοσφωρικού παράγει ένα ενδιάμεσο στην πορεία σχηματισμού του *N*-καρβαμοϋλοσφωρικού. (Κάτω) Το *N*-(φωσφονο-ακετυλο)-L-ασπαραγινικό (PALA) είναι ένα ανάλογο του ενδιάμεσου της αντίδρασης και ένας ισχυρός συναγωνιστικός αναστολέας της ασπαραγινικής τρανσκαρβαμοϋλάσης.

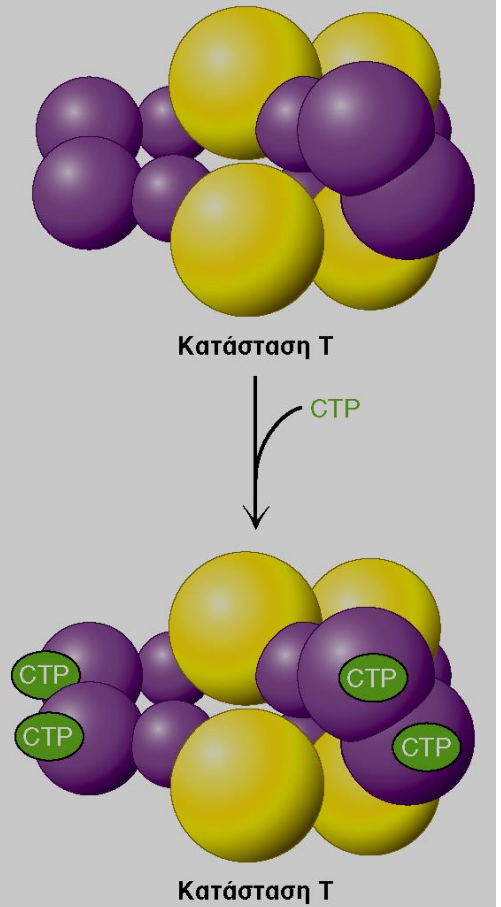


ΕΙΚΟΝΑ 10.8 Η μετάβαση από την κατάσταση T στην κατάσταση R στην ΑΤΚάση. Η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση υπάρχει σε δύο στερεοδιατάξεις: μια συμπαγή και σχετικά ανενεργό μορφή η οποία ονομάζεται τεταμένη κατάσταση (T) και μια εκτεταμένη μορφή που ονομάζεται χαλαρωμένη κατάσταση (R). Η πρόσδεση του PALA σταθεροποιεί την κατάσταση R.

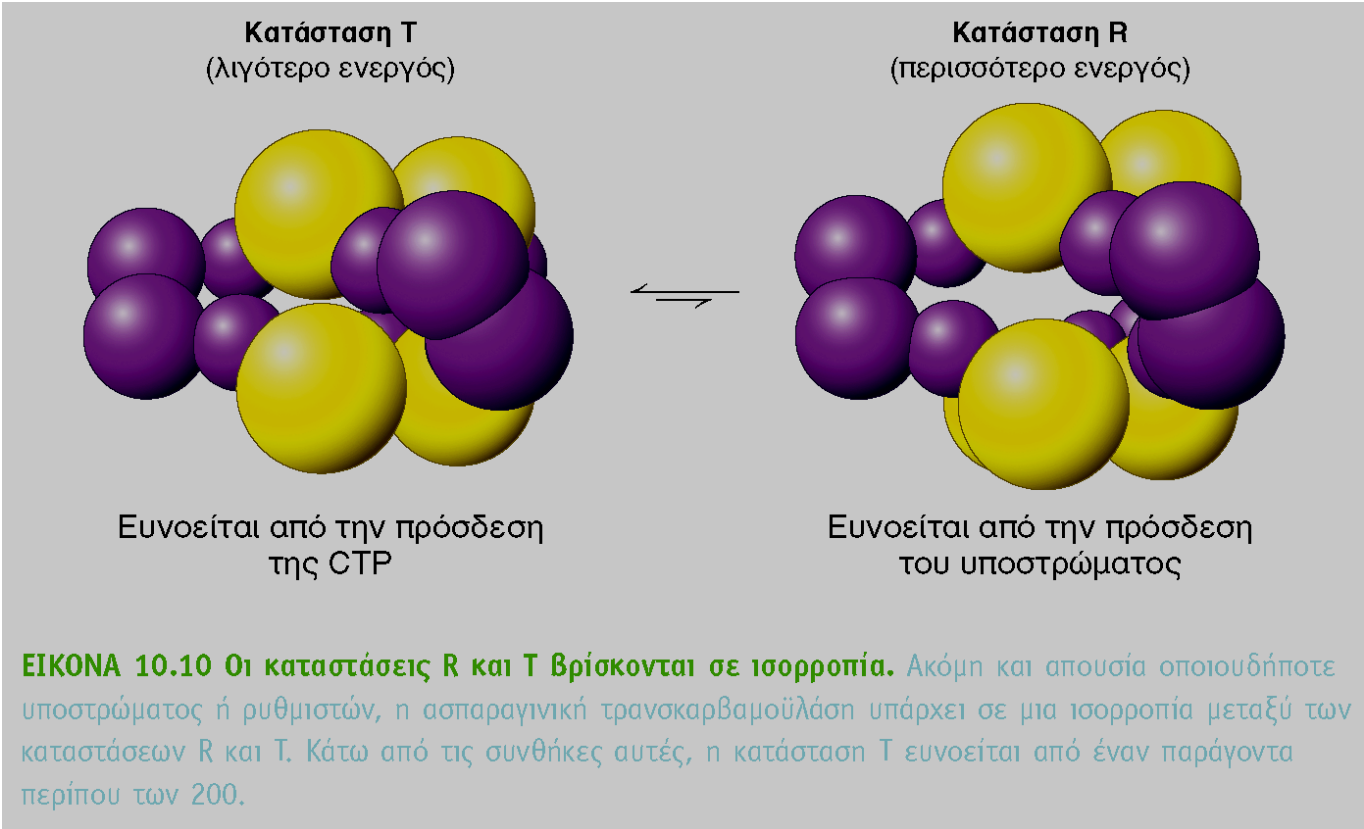
Αντίστοιχα και η μορφή T ελέγχεται με πρόσδεση του CTP (προϊόν 5 βήματα αργότερα) μακριά από το ενεργό κέντρο

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

Το CTP ενώνεται 50Å μακριά από το ενεργό κέντρο και είναι αναστολέας



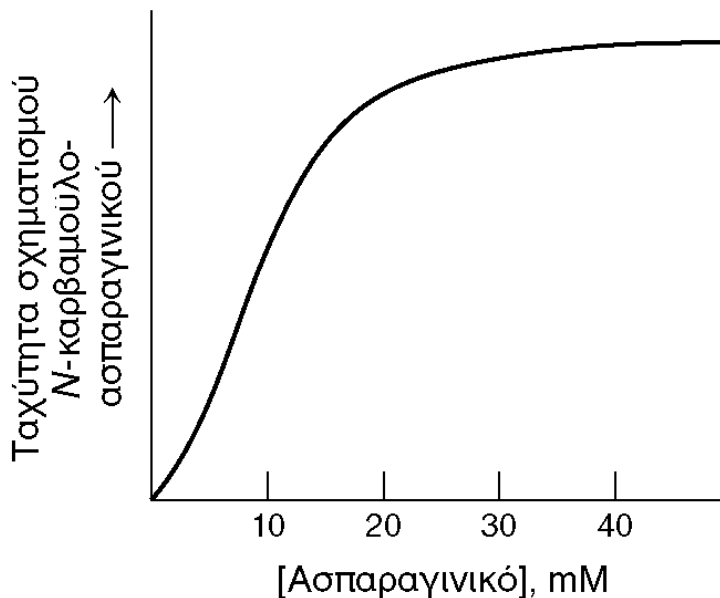
ΕΙΚΟΝΑ 10.9 Η CTP σταθεροποιεί την κατάσταση T. Η πρόσδεση της CTP στη ρυθμιστική υπομονάδα της ασπαραγινικής τρανσκαρβαμοϋλάσης σταθεροποιεί την κατάσταση T.



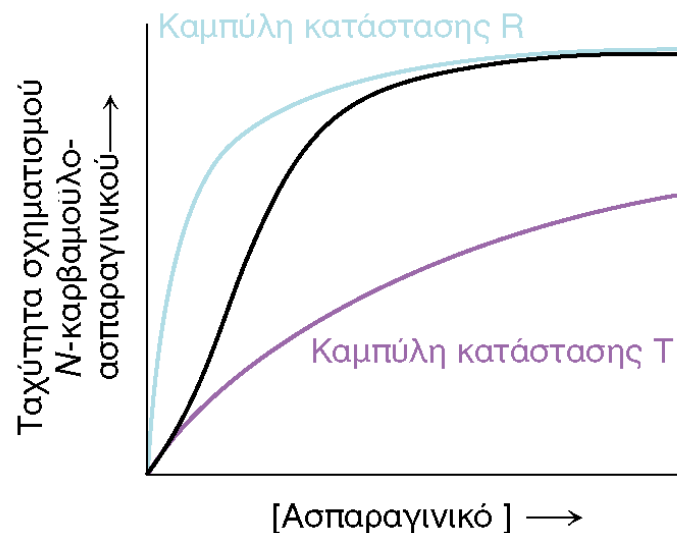
ΕΙΚΟΝΑ 10.10 Οι καταστάσεις R και T βρίσκονται σε ισορροπία. Ακόμη και απουσία οποιουδήποτε υποστρώματος ή ρυθμιστών, η ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση υπάρχει σε μια ισορροπία μεταξύ των καταστάσεων R και T. Κάτω από τις συνθήκες αυτές, η κατάσταση T ευνοείται από έναν παράγοντα περίπου των 200.

Ονομάζεται *εναρμονισμένος μηχανισμός αλλοστερικής ρύθμισης* (αλλαγές στο ενζυμο όλες ή καμία)

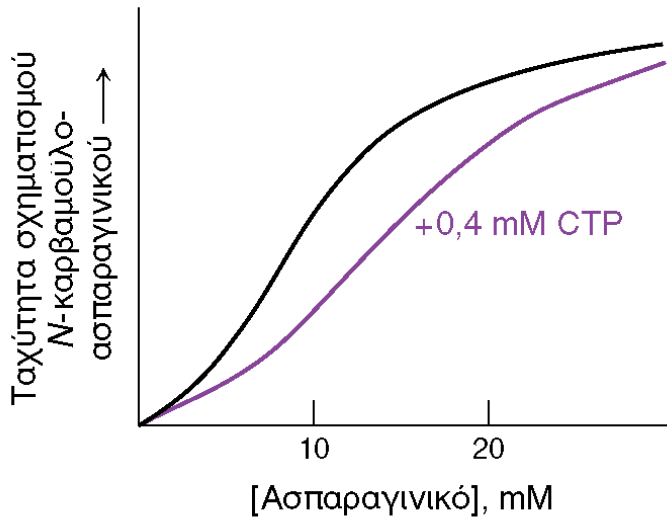
Τα ένζυμα που ελέγχονται αλλοστερικά δεν ακολουθούν Michaelis-Menten καμπύλη



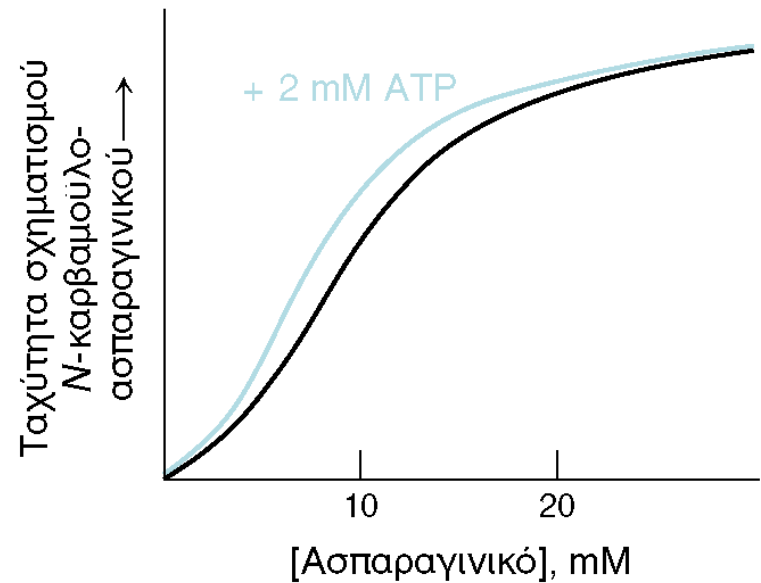
ΕΙΚΟΝΑ 10.11 Η ΑΤΚάση εμφανίζει σιγμοειδή κινητική. Ένα διάγραμμα του σχηματισμού προϊόντος έναντι της συγκέντρωσης του υποστρώματος παράγει μια σιγμοειδή καμπύλη διότι η πρόσδεση του υποστρώματος σε ένα ενεργό κέντρο ευνοεί τη μετατροπή ολόκληρου του ενζύμου στην κατάσταση R, αυξάνοντας τη δραστηριότητα στα άλλα ενεργά κέντρα. Έτσι, τα ενεργά κέντρα δείχνουν συνεργειακότητα.



ΕΙΚΟΝΑ 10.12 Η Βάση για τη σιγμοειδή καμπύλη. Η παραγωγή της σιγμοειδούς καμπύλης από την ιδιότητα της συνεργειακότητας μπορεί να γίνει κατανοητή αν φανταστούμε ένα αλλοστερικό ένζυμο ως ένα μείγμα δύο ενζύμων που ακολουθούν την κινητική Michaelis-Menten, ένα με υψηλή τιμή K_M η οποία αντιστοιχεί στην κατάσταση T και ένα άλλο με χαμηλή τιμή K_M η οποία αντιστοιχεί στην κατάσταση R. Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του υποστρώματος, η ισορροπία μετακινείται από την κατάσταση T στην R, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την απότομη αύξηση της δραστηριότητας σε σχέση με τη συγκέντρωση του υποστρώματος.



ΕΙΚΟΝΑ 10.13 Επίδραση της CTP στην κινητική της ΑΤΚάσης. Η τριφωσφορική κυτιδίνη (CTP) σταθεροποιεί την κατάσταση T της ασπαραγινικής τρανσκαρβαμοϋλάσης, δυσκολεύοντας την πρόσδεση του υποστρώματος έτσι ώστε να μετατραπεί το ένζυμο στην κατάσταση R. Ως αποτέλεσμα, η καμπύλη μετακινείται προς τα δεξιά, όπως δείχνεται με κόκκινο.



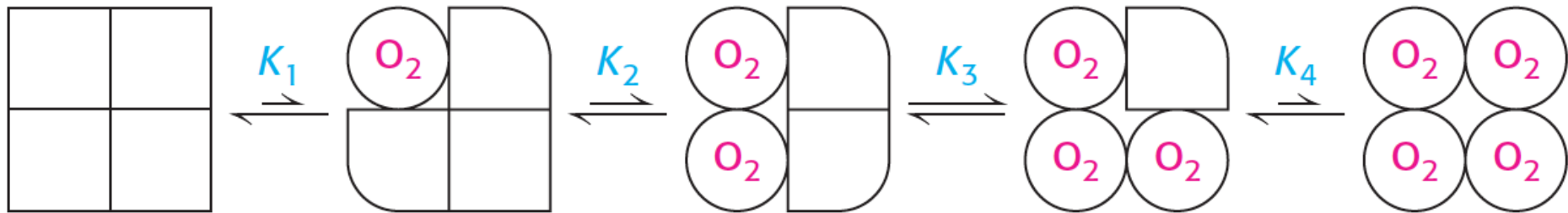
ΕΙΚΟΝΑ 10.14 Επίδραση της ATP στην κινητική της ΑΤΚάσης. Η ATP είναι ένας αλλοστερικός ενεργοποιητής της ασπαραγινικής τρανσκαρβαμοϋλάσης διότι σταθεροποιεί την κατάσταση R, διευκολύνοντας την πρόσδεση του υποστρώματος, όπως δείχνεται με μπλε.

Εισάγοντας και ένα δεύτερο μόριο **ρυθμιστή (ενεργοποιητή)** ελέγχουμε τα επίπεδα ενεργού-ανενεργού ενζύμου

Τελικό αποτέλεσμα: Το πόσο θα προχωρήσει η αντίδραση εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις δυο ουσιών στο διάλυμα.
 Το ποίες θα ουσίες αυτές εξαρτάται από τις ανάγκες του οργανισμού (προϊόντα, αντιδρώντα αντίδρασης άλλη σημαντική ένωση)

Το εναρμονισμένο μοντέλο έχει T και R καταστάσεις, αλλά υπάρχει και το μοντέλο **ακολουθίας** που μπορεί να εξήγησει φυσιολογικές βιοχημικές καταστάσεις

το μοντέλο **ακολουθίας** προτείνει διαδοχικές αλλαγές



ΕΙΚΟΝΑ 10.16 Απλό μοντέλο ακολουθίας για ένα τετραμερές αλλοστερικό ένζυμο. Η πρόσδεση ενός προσδέτη (L) σε μια υπομονάδα αλλάζει τη στερεοδιάταξη αυτής της συγκεκριμένης υπομονάδας από τη μορφή T (τετράγωνο) στη μορφή R (κύκλος). Η μετάβαση αυτή επηρεάζει τη συγγένεια των άλλων υπομονάδων για τον προσδέτη.

Η σημαντική διαφορά είναι ότι αντίθετα με το εναρμονισμένο μοντέλο εδώ η πρόσδεση του υποστρώματος σε ένα ενεργό κέντρο επηρεάζει (ελαττώνει) επηρεάζει τα γειτονικά ενεργά κέντρα (αρνητικά ή θετικά)

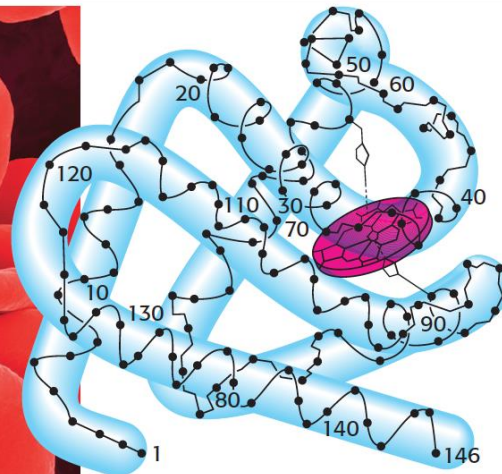
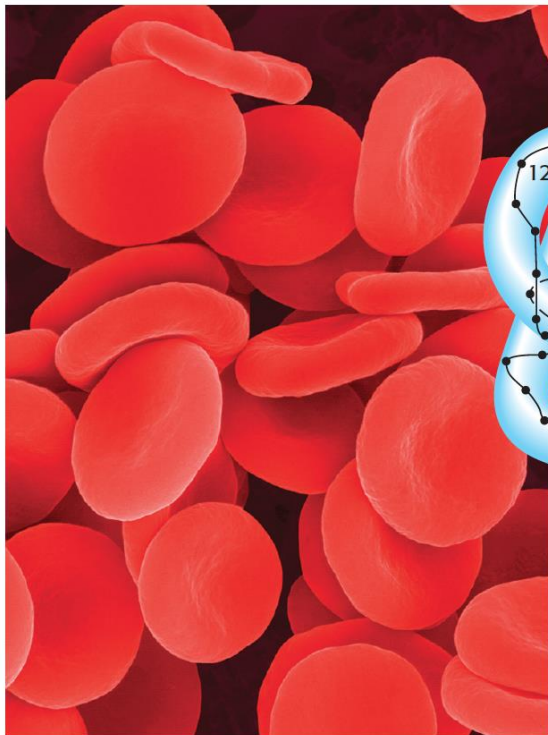
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (ΑΜΦ)

ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ: Hb, είναι τετραμερής πρωτεΐνη.

ΜΕΤΑΠΤΩΣΗ ΑΠΟ $T \rightleftharpoons R$

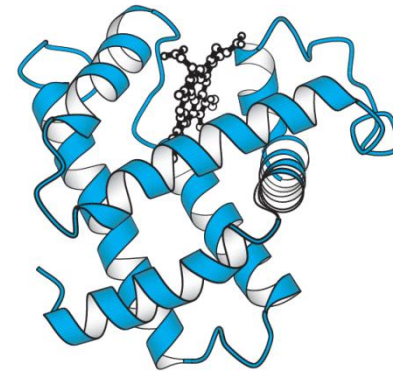
ΔΕΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ \rightleftharpoons **ΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ**

(Σταθερότητα, χαμηλή συγγένεια για $O_2 \rightleftharpoons$ Εύκαμπτη, υψηλή συγγένεια για O_2)



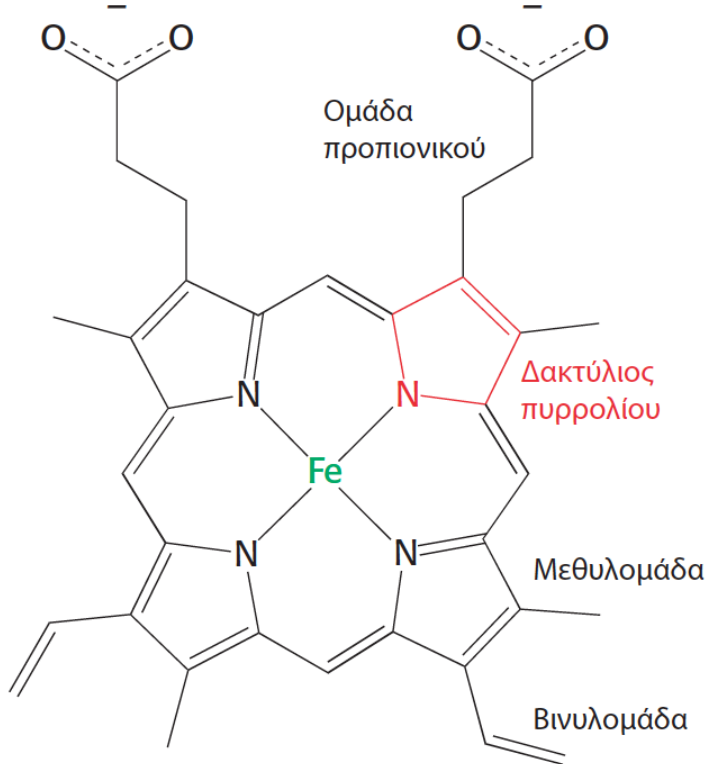
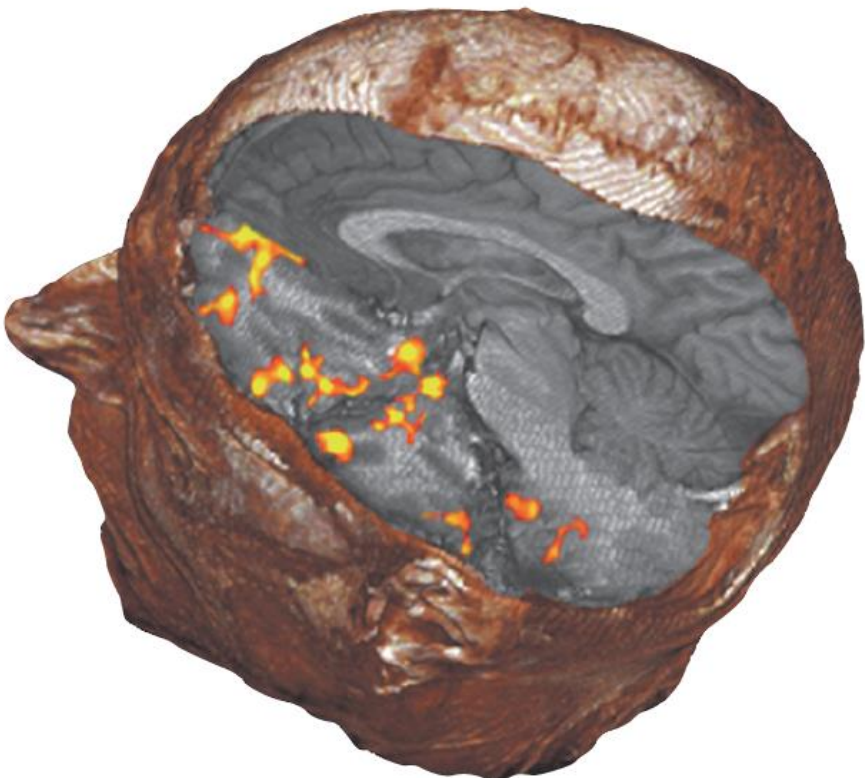
Η αλυσίδα β της αιμοσφαιρίνης

Στην κυκλοφορία του αίματος, τα ερυθροκύτταρα μεταφέρουν οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς, όπου η ζήτηση είναι μεγάλη. Η αιμοσφαιρίνη, η πρωτεΐνη που δίνει το κόκκινο χρώμα στο αίμα, είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του οξυγόνου μέσω των τεσσάρων υπομονάδων της, που περιέχουν αίμη. Η αιμοσφαιρίνη ήταν μια από τις πρώτες πρωτεΐνες της οποίας προσδιορίστηκε η δομή· σε αυτή την εικόνα, σχεδιασμένη με το χέρι, φαίνεται η αναδίπλωση μιας απομονωμένης υπομονάδας. [Αριστερά, Dr. Dennis Kunkel/Visuals Unlimited.]



Μυοσφαιρίνη

Εικόνα 7.1 Δομή της μυοσφαιρίνης. Παρατηρήστε ότι η μυοσφαιρίνη αποτελείται από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα, η οποία σχηματίζεται από α -έλικες που συνδέονται με στροφές με τη θέση δέσμευσης οξυγόνου. [Σχεδιασμένο από 1MBD.pdb].



Αίμη
(Fe-πρωτοπορφυρίνη IX)

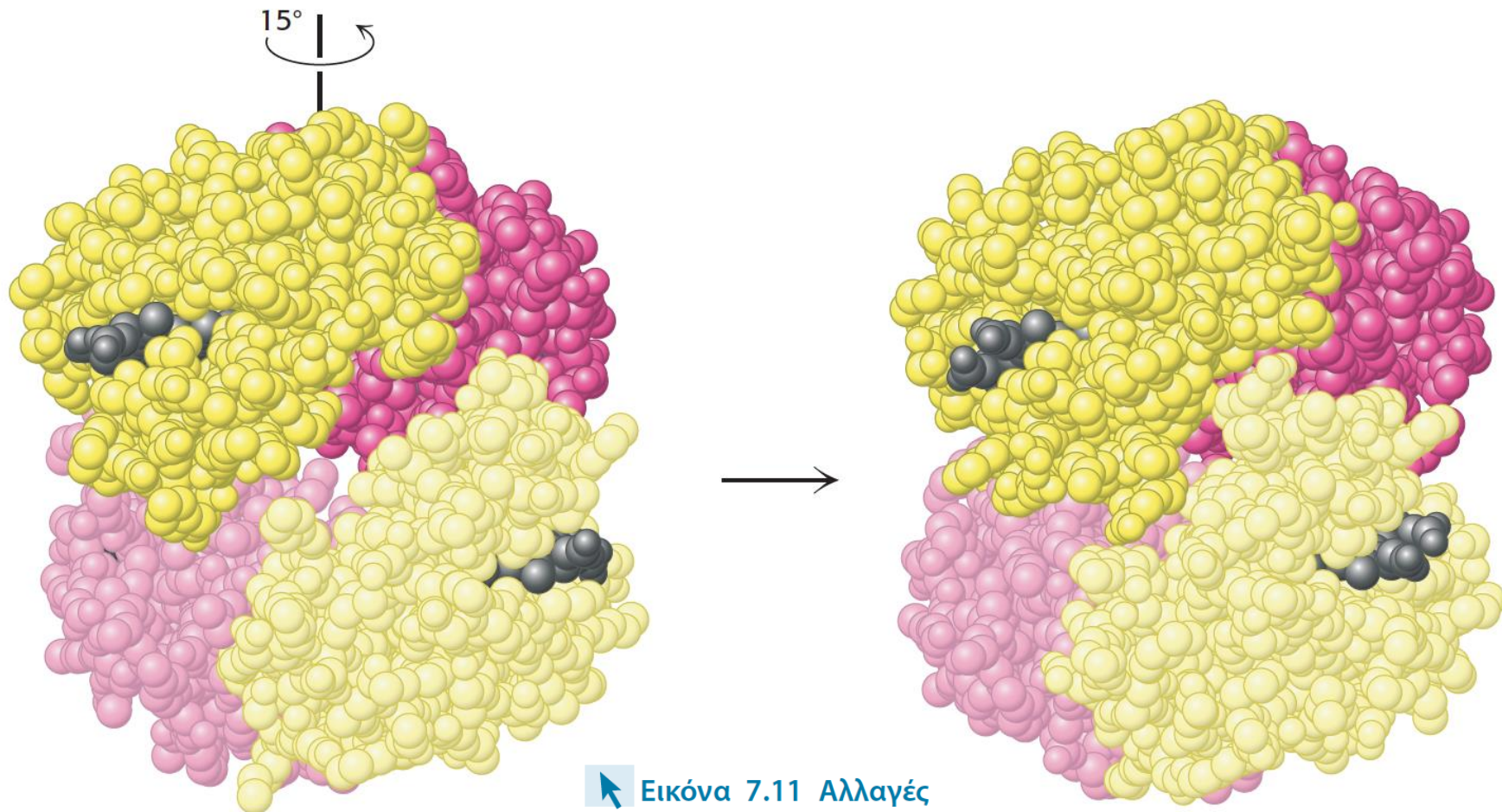
Εικόνα 7.3 Απεικόνιση λειτουργικού μαγνητικού συντονισμού του εγκεφάλου.

Μια απεικόνιση λειτουργικού μαγνητικού συντονισμού αποκαλύπτει την απόκριση του εγκεφάλου στις οσμογόνους ουσίες. Τα φωτεινά σημεία δείχνουν περιοχές του εγκεφάλου που έχουν ενεργοποιηθεί από οσμογόνους ουσίες. [Από N. Sobel et al., *J. Neurophysiol.* 83(2000):537-551· ευγενική προσφορά Dr. Noam Sobel.]

Η **fMRI** ανιχνεύει μια αύξηση στα επίπεδα οξυγονομένης αιμοσφαιρίνης -> Άρα και δραστηριότητας του εγκεφάλου (χαρτογράφηση περιοχών αισθητικών επεξεργασίας σημάτων)

VIDEO

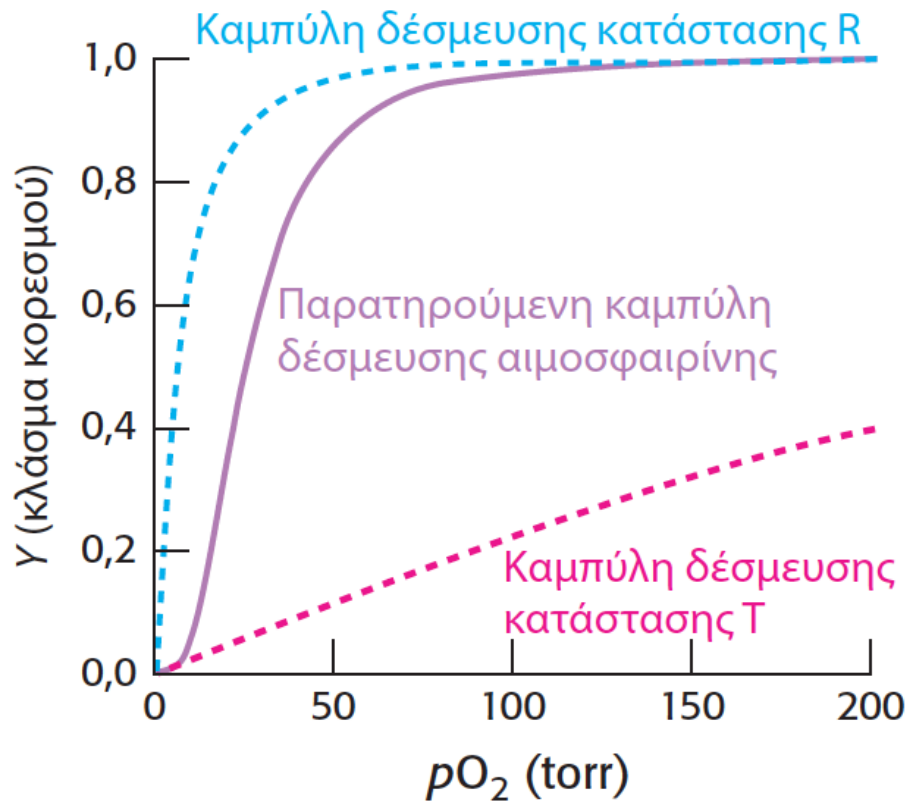
4 Oxygen Transport



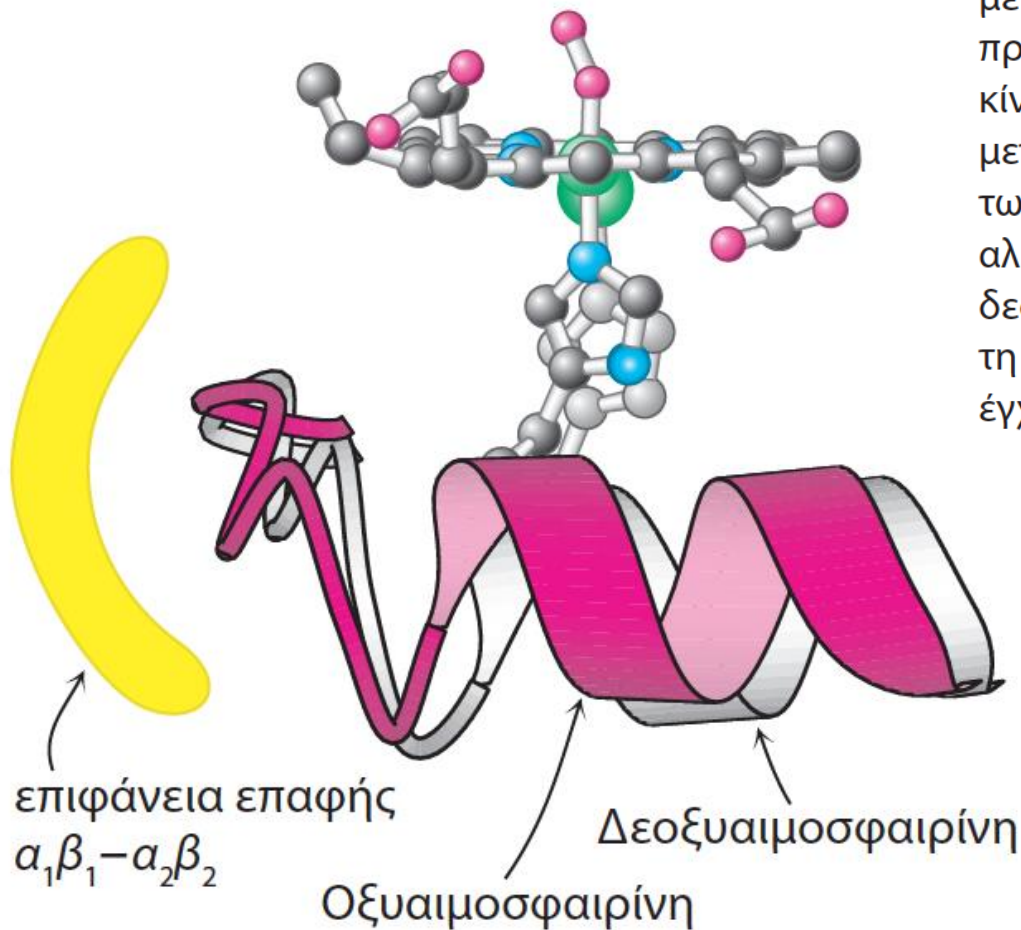
Δεοξυαιμοσφαιρίνη

Εικόνα 7.11 Αλλαγές στην τεταρτοταγή δομή κατά τη δέσμευση του οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Παρατηρήστε ότι κατά την οξυγόνωση, το ένα διμερές $\alpha\beta$ μετατοπίζεται σε σχέση με το άλλο κατά μία περιστροφή 15° . [Σχεδιασμένο από 1A3N.pdb and 1LFQ.pdb.]

Οξυαιμοσφαιρίνη

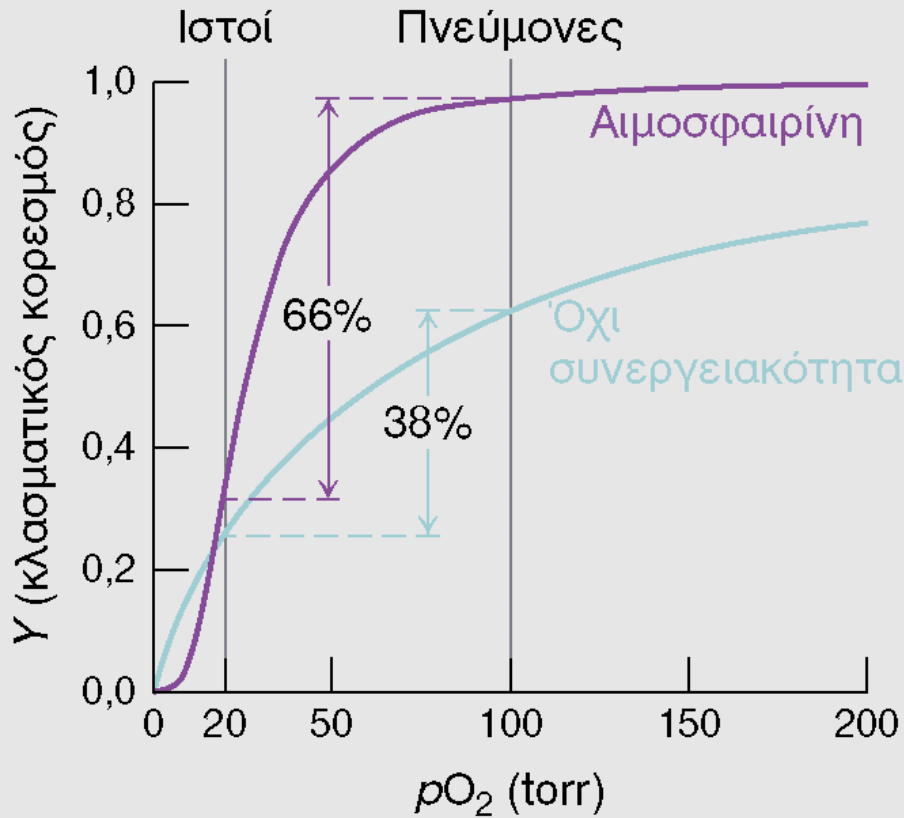


Εικόνα 7.13 Μετάβαση από T σε R. Η παρατηρούμενη καμπύλη δέσμευσης για την αιμοσφαιρίνη μπορεί να θεωρηθεί ως ένας συνδυασμός των καμπυλών δέσμευσης που θα παρατηρούνταν εάν όλα τα μόρια παρέμεναν στην κατάσταση T ή όλα τα μόρια ήταν στην κατάσταση R. Αυτή η σιγμοειδής καμπύλη παρατηρείται διότι καθώς δεσμεύονται τα μόρια οξυγόνου, τα μόρια μεταβαίνουν από την κατάσταση T στην κατάσταση R.



Εικόνα 7.15 Αλλαγές στερεοδιάταξης στην αιμοσφαιρίνη. Η κίνηση του ιόντος σιδήρου κατά την οξυγόνωση, φέρνει το συνδεδεμένο με τον σίδηρο κατάλοιπο της ιστοιδίνης προς τον δακτύλιο πορφυρίνης. Η σχετική κίνηση της α -έλικας που περιέχει ιστοιδίνη μεταβάλλει την επιφάνεια επαφής μεταξύ των διμερών $\alpha\beta$, υποκινώντας άλλες δομικές αλλαγές. Για λόγους σύγκρισης, η δομή της δεοξυαιμοσφαιρίνης φαίνεται γκρι πίσω από τη δομή της οξυαιμοσφαιρίνης, που είναι έγχρωμη.

Αιμοσφαιρίνη (ΑΜΦ) ένα παράδειγμα συνεργειακού μοντέλου ρύθμισης (συνδυασμός των δυο μοντέλων)

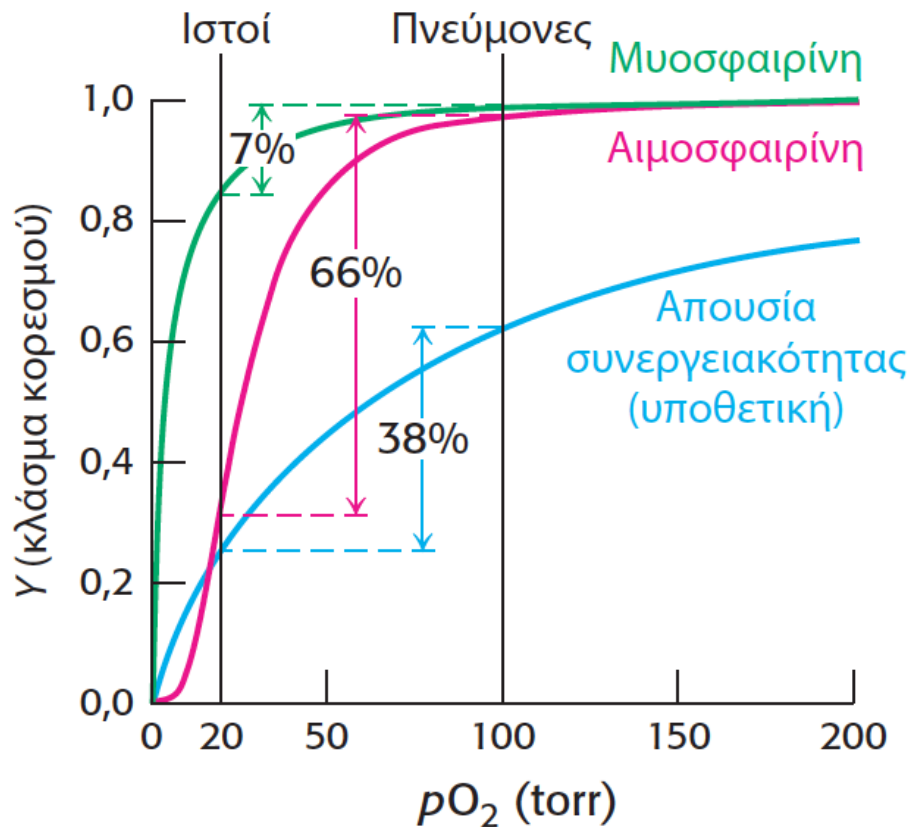


ΕΙΚΟΝΑ 10.17 Η συνεργειακότητα αυξάνει τη μεταφορά του οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Λόγω της συνεργειακότητας μεταξύ των θέσεων πρόσδεσης του O_2 , η αιμοσφαιρίνη μεταφέρει περισσότερο O_2 στους ιστούς από ό,τι θα έκανε μια μη συνεργειακή πρωτεΐνη (pO_2 , μερική πίεση του οξυγόνου.)

Στους πνεύμονες έχουμε pO_2 περίπου ίσο με 100 torr (συγκέντρωση)
Στους ιστούς έχουμε pO_2 περίπου ίσο με 20 torr (συγκέντρωση)

Σύμφωνα με τα παραπάνω και την K (σταθερά) της αντίδρασης, εάν έχουμε A δεοξυαιμοσφαιρίνη O_2 οξυγόνο τότε AO_2 Οξυαιμοσφαιρίνη $A + O_2 \leftrightarrow AO_2$
Όσο η αιμοσφαιρίνη κινείται προς τους ιστούς τόσο το O_2 μειώνεται τόσο η αντίδραση πάει προς τα αριστερά
Καλό σύστημα αλλά **όχι ικανοποιητικό** αποδίδει μονό το 38% του οξυγόνου (63%-25%=38%)

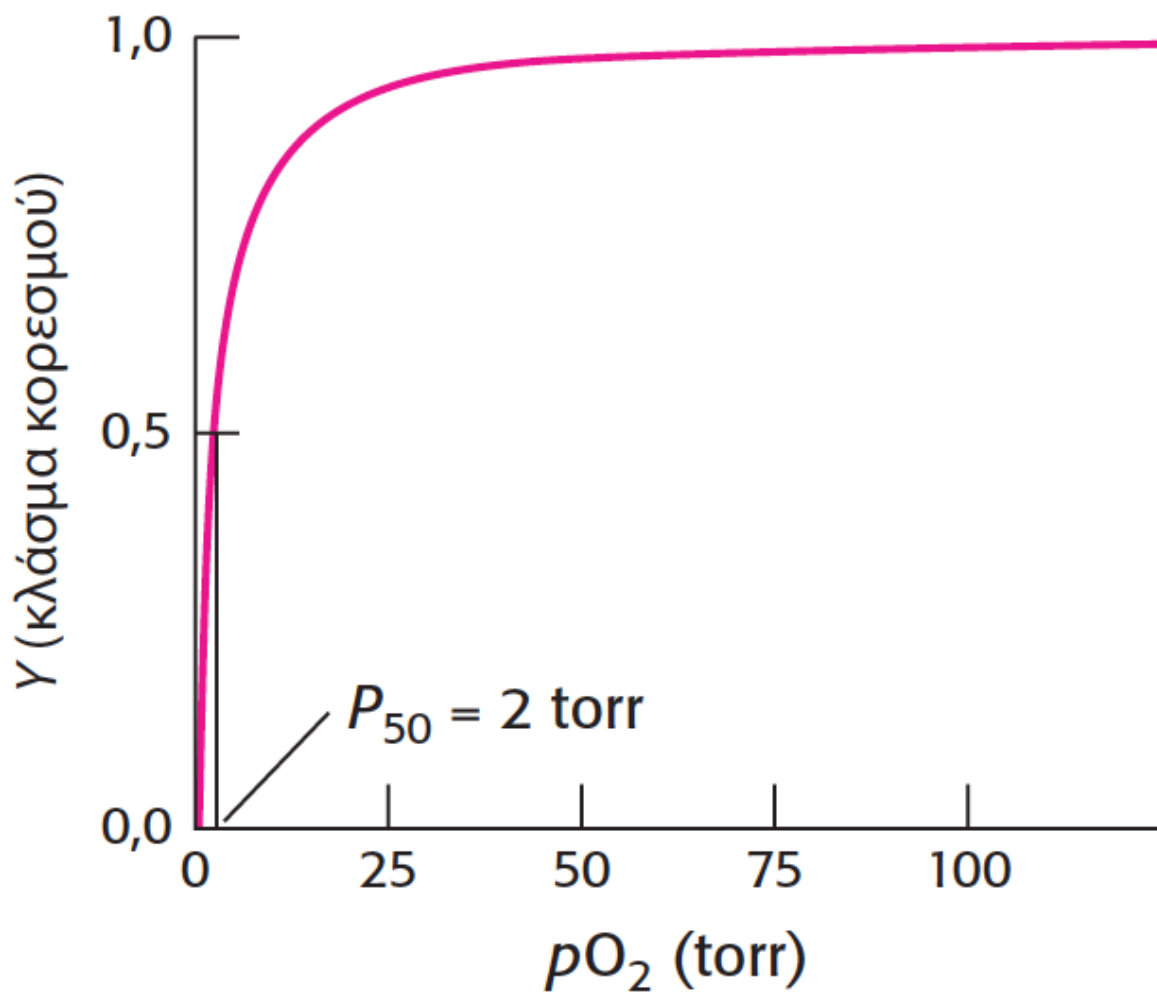
Αυτό που συμβαίνει είναι απόδοση 68% !
Μπορεί να συμβεί όταν η K αλλάζει ανάλογα τις συνθήκες



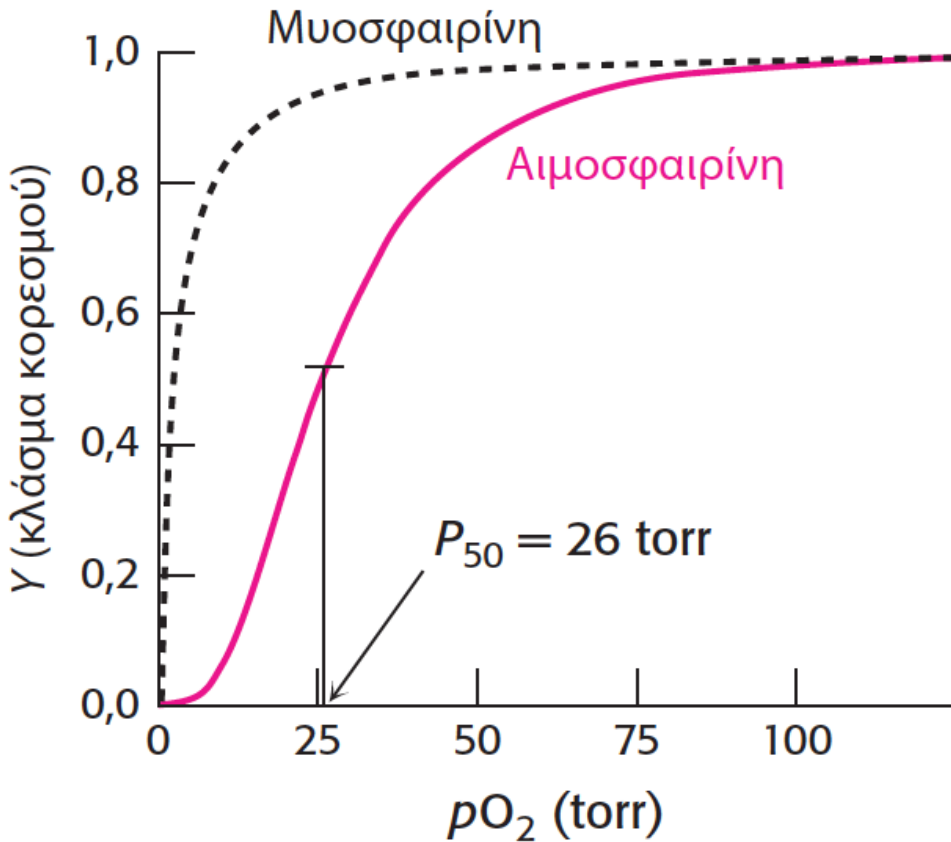
Εικόνα 7.9 Η συνεργειακότητα αυξάνει την παροχή οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Λόγω της συνεργειακότητας μεταξύ των θέσεων δέσμευσης O_2 , η αιμοσφαιρίνη παρέχει περισσότερο O_2 στους ιστούς απ' ό,τι θα έκανε η μυοσφαιρίνη ή οποιαδήποτε άλλη μη συνεργειακή πρωτεΐνη, ακόμη και μία με βέλτιστη συγγένεια για O_2 .

VIDEO

5 Difference Between Hemoglobin and Myoglobin



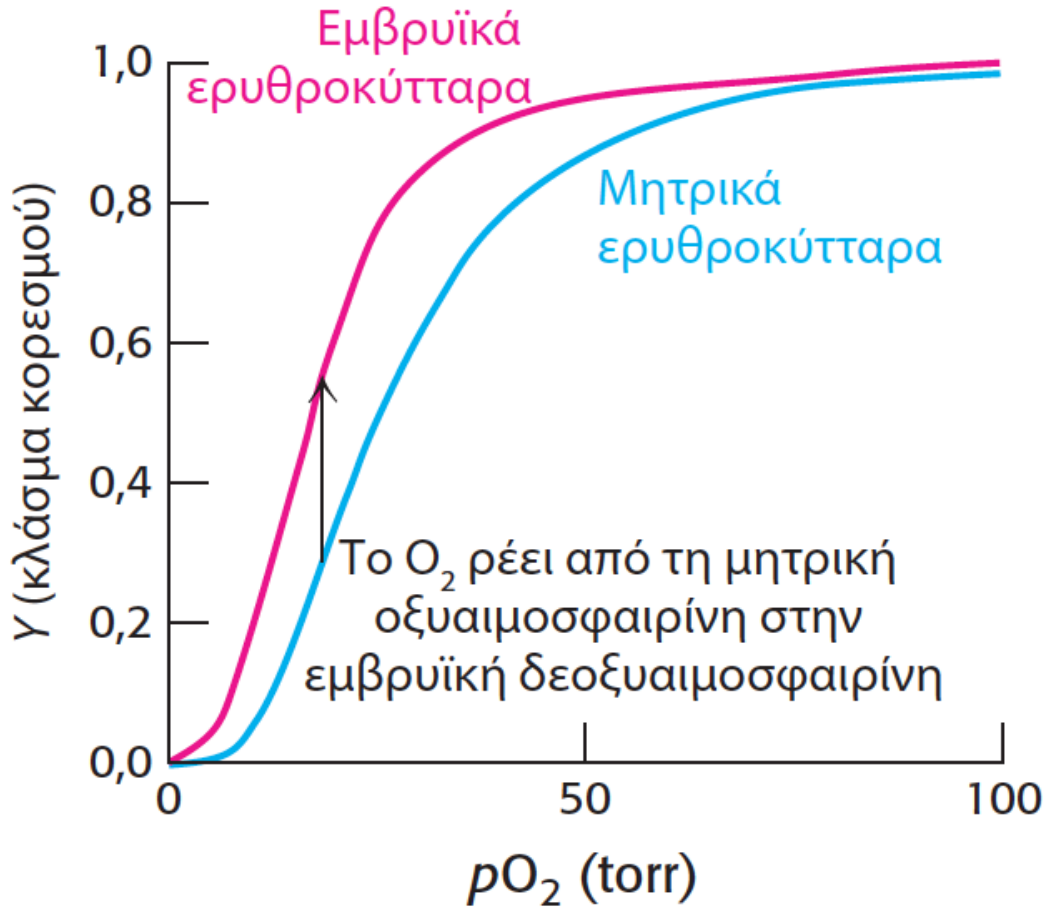
Εικόνα 7.7 Δέσμευση οξυγόνου από τη μυοσφαιρίνη. Όταν η μερική πίεση του οξυγόνου είναι 2 torr, τα μισά μόρια της μυοσφαιρίνης έχουν δεσμευμένο οξυγόνο.



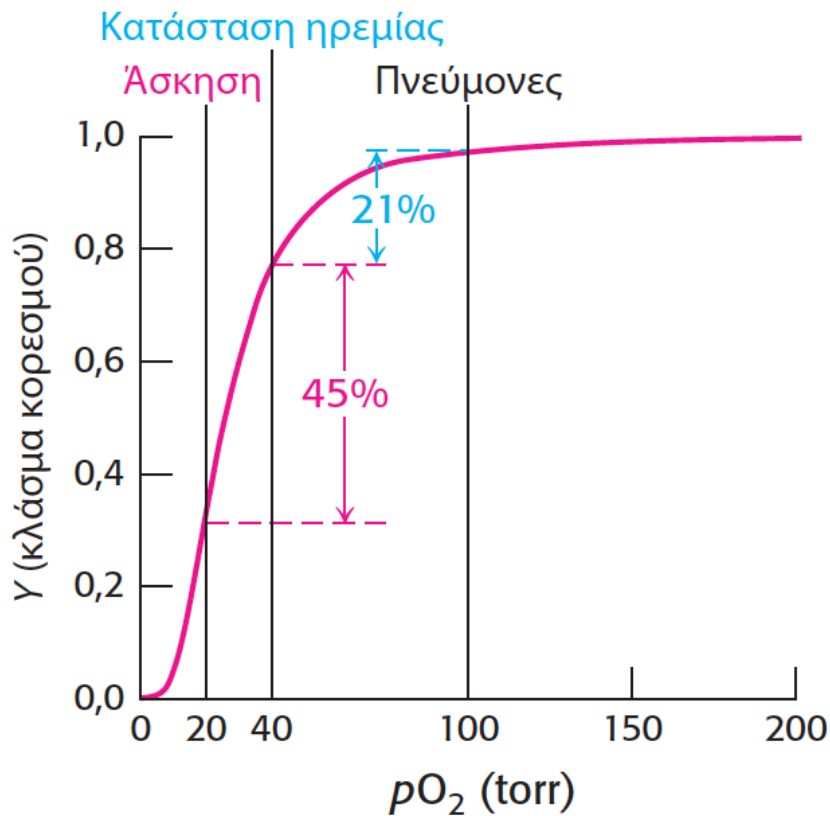
Εικόνα 7.8 Δέσμευση οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη. Αυτή η καμπύλη, που αποκτήθηκε με πειραματικές μετρήσεις αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα, μοιάζει κάπως με «S», δείχνοντας ότι σε κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης υπάρχουν ξεχωριστές αλλά αλληλεπιδρώσες θέσεις δέσμευσης οξυγόνου. Για την αιμοσφαιρίνη, ο ημι-κορεσμός είναι στα 26 torr. Για λόγους σύγκρισης, η καμπύλη δέσμευσης για τη μυοσφαιρίνη απεικονίζεται ως διακεκομμένη μαύρη γραμμή.



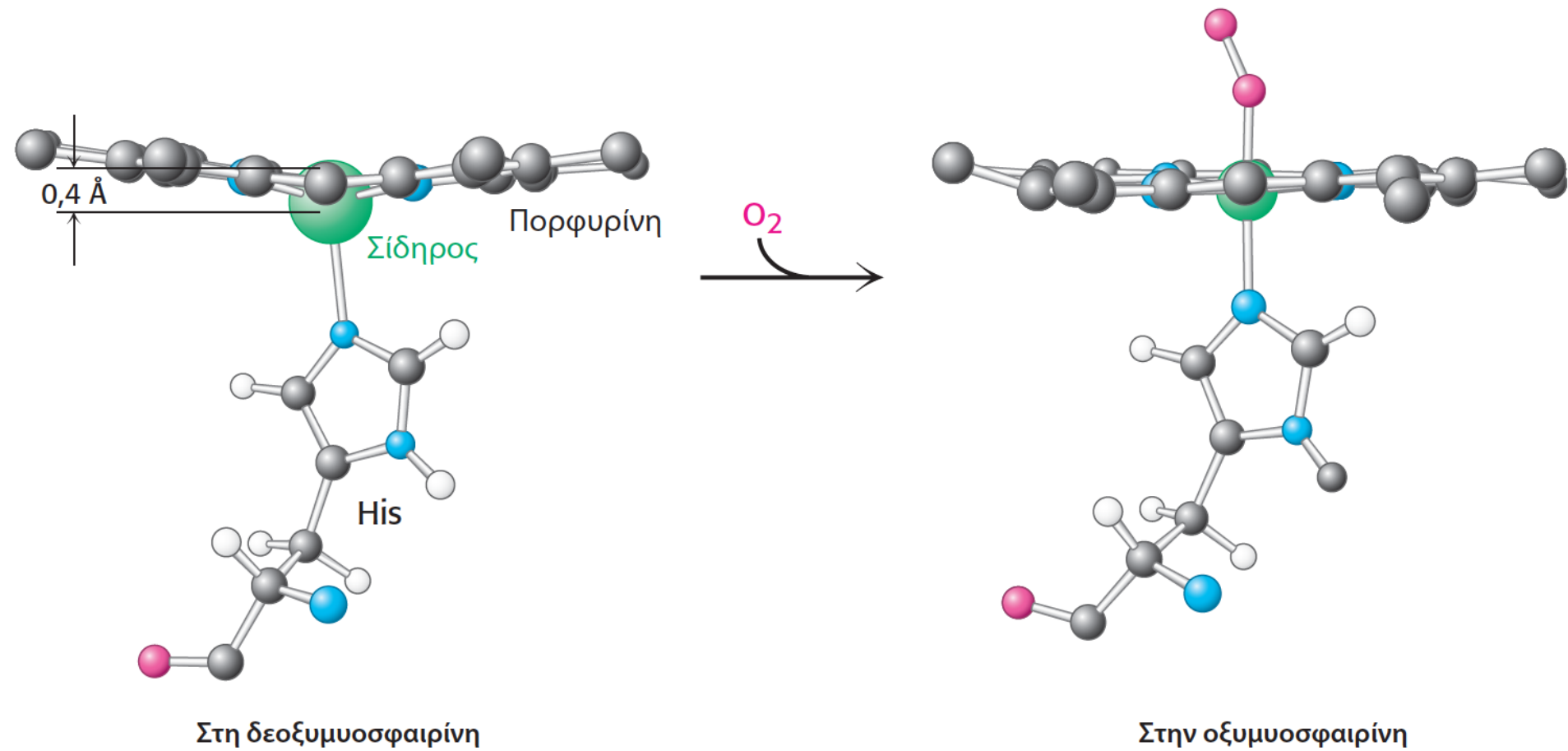
Η εμβρυϊκή ΑΜΦ χρειάζεται να προσδένει O_2 ισχυρότερα από μητρική για να ρέει το O_2 προς το βρέφος. Επιτυγχάνεται με αντικατάσταση του αμινοξέος που προσδένει την BPG



Εικόνα 7.18 Συγγένεια οξυγόνου των εμβρυϊκών ερυθροκυττάρων. Τα εμβρυϊκά ερυθροκύτταρα έχουν υψηλότερη συγγένεια για το οξυγόνο απ' ό,τι έχουν τα μητρικά ερυθροκύτταρα, διότι η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη δεν δεσμεύει 2,3-BPG τόσο καλά όσο η μητρική αιμοσφαιρίνη.

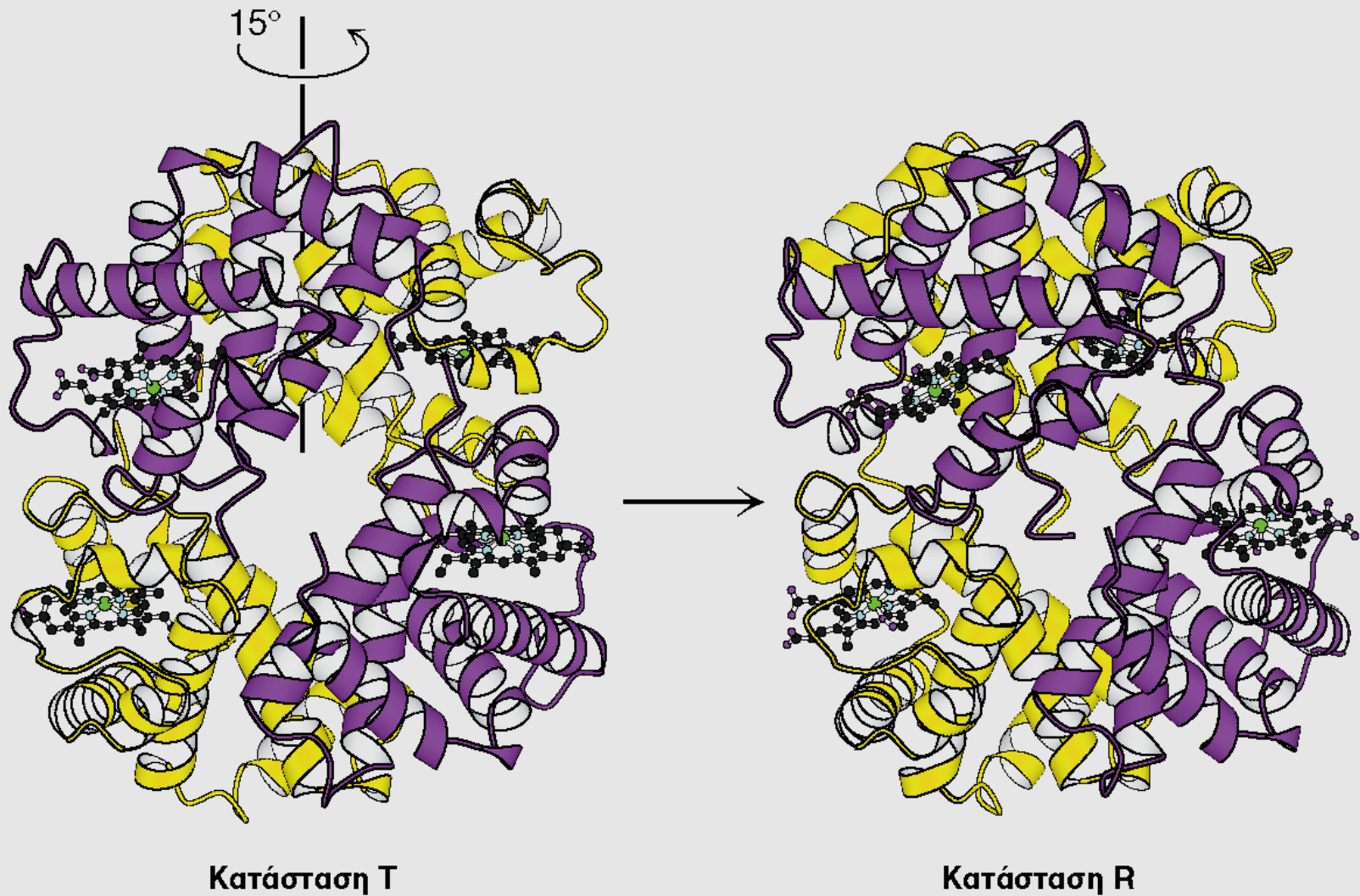


Εικόνα 7.10 Απόκριση στην άσκηση. Η πτώση στη συγκέντρωση του οξυγόνου από τα 40 torr στους μυς σε ηρεμία στα 20 torr στους ασκούμενους ιστούς αντιστοιχεί στο μέρος της παρατηρούμενης καμπύλης δέσμευσης οξυγόνου με τη μεγαλύτερη κλίση. Όπως φαίνεται εδώ, η αιμοσφαιρίνη είναι πολύ αποτελεσματική στο να προμηθεύει οξυγόνο στους ασκούμενους ιστούς.



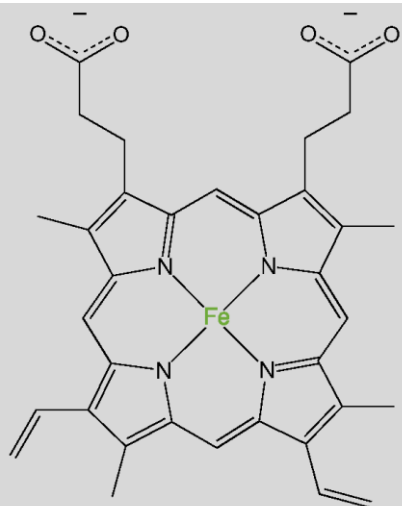
Εικόνα 7.2 Η δέσμευση του οξυγόνου αλλάζει τη θέση του ιόντος σιδήρου.

Στη δεοξυμοσφαιρίνη, το ιόν σιδήρου κείται ελαφρώς έξω από το επίπεδο της πορφυρίνης της αίμης (αριστερά), αλλά με την οξυγόνωση μετακινείται επάνω στο επίπεδο της αίμης (δεξιά).

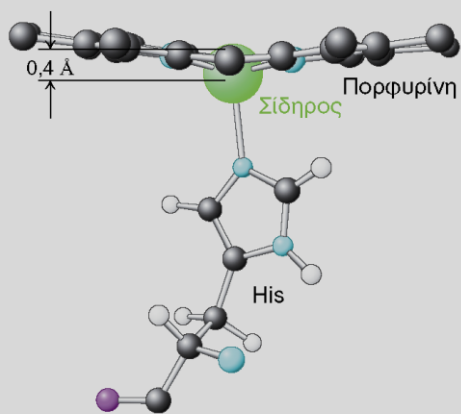


ΕΙΚΟΝΑ 10.21 Μετάβαση από την κατάσταση T στην κατάσταση R στην αιμοσφαιρίνη. Με την οξυγόνωση, ένα ζεύγος υπομονάδων *αβ* μετακινείται σε σχέση με το άλλο με μια περιστροφή 15°.

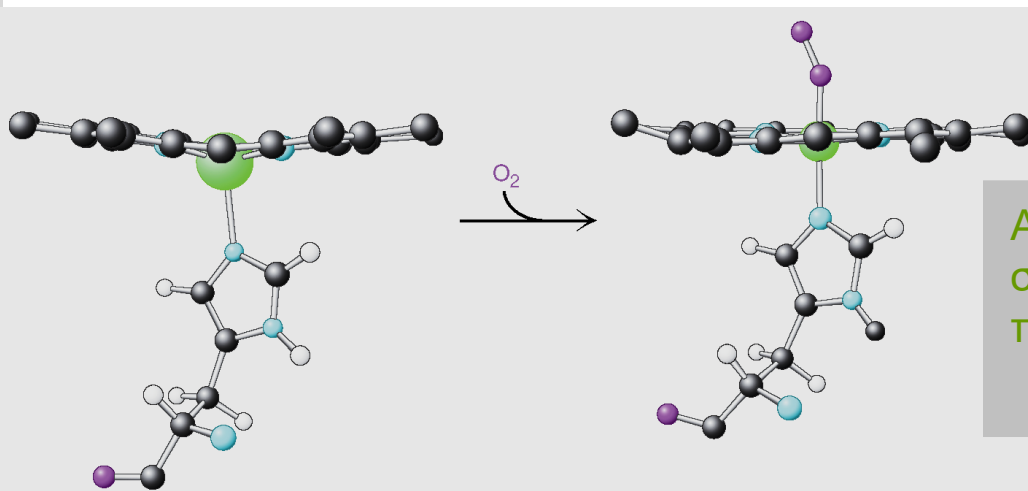
Προσθήκη O_2 αφαιρεί δυο ηλεκτρόνια από τον σίδηρο και μειώνει τον όγκο του (εξωτερικά τροχιακά)



Αίμη
(Fe-πρωτοπορφυρίνη IX)



ΕΙΚΟΝΑ 10.18 Η θέση του σιδήρου στη δεοξυαιμοσφαιρίνη. Το ιόν σιδήρου βρίσκεται λίγο έξω από το επίπεδο της πορφυρίνης στην αίμη.

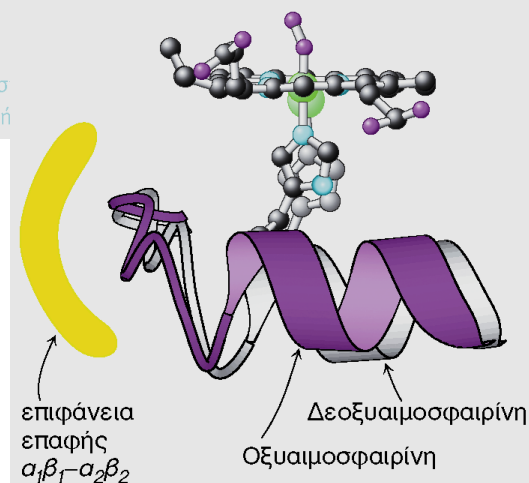


ΕΙΚΟΝΑ 10.19 Η πρόσδεση του οξυγόνου προκαλεί δομικές αλλαγές. Με την οξυγόνωση σιδήρου μετακινείται μέσα στο επίπεδο της αίμης. Η ιστιδίνη τραβιέται μαζί με το ιόν σιδή

Αυτό φέρνει αλλαγές στον δακτύλιο της πορφυρίνης

Η δομική μεταβολή του σιδήρου μεταβιβάζεται απευθείας στις άλλες υπομονάδες

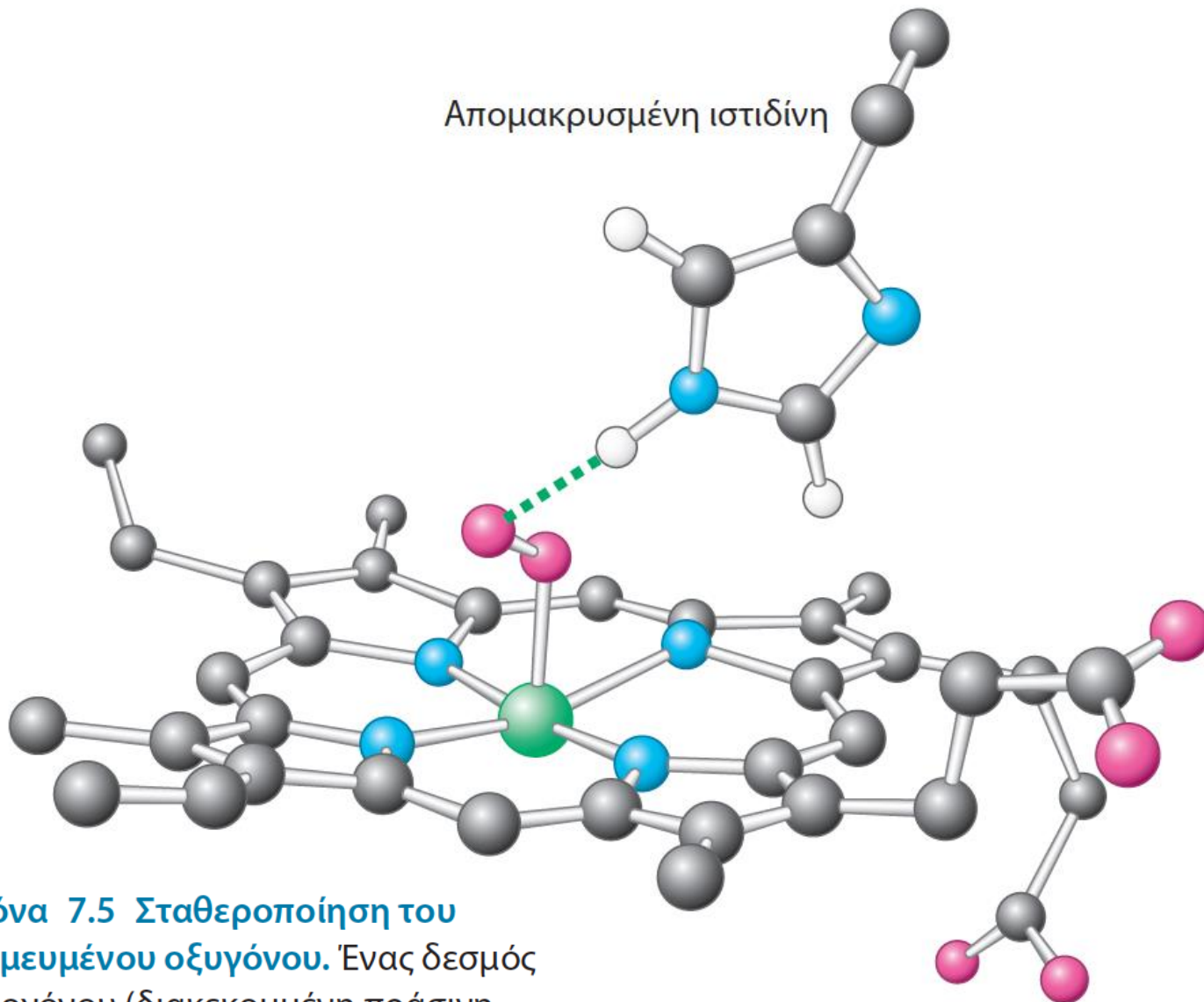
Όταν τρία O_2 έχουν ενωθεί η εναπομένουσα μονάδα, προσδένει το O_2 20 φορές ισχυρότερα από ότι η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη προσδένει το πρώτο



επιφάνεια επαφής $\alpha_1\beta_1-\alpha_2\beta_2$

Δεοξυαιμοσφαιρίνη
Οξυαιμοσφαιρίνη

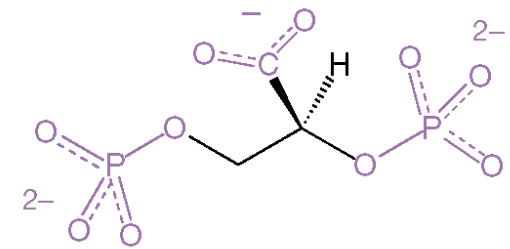
ΕΙΚΟΝΑ 10.22 Αλλαγές στερεοδιάταξης στην αιμοσφαιρίνη. Η μετακίνηση του ιόντος σιδήρου με την οξυγόνωση φέρνει το κατάλοιπο ιστιδίνης που είναι συνδεδεμένο με τον σίδηρο προς τον πορφυρινικό δακτύλιο. Η αντίστοιχη μετακίνηση της α -έλικας που περιέχει ιστιδίνη μεταβάλλει την επιφάνεια επαφής μεταξύ των ζευγών $\alpha\beta$, προκαλώντας άλλες δομικές αλλαγές. Για σύγκριση, η δομή της δεοξυαιμοσφαιρίνης δείχνεται (γκρι) πίσω από τη δομή της οξυαιμοσφαιρίνης (κόκκινο).



Εικόνα 7.5 Σταθεροποίηση του δεσμευμένου οξυγόνου. Ένας δεσμός υδρογόνου (διακεκομμένη πράσινη γραμμή) που προσφέρεται από την απομακρυσμένη ιστιδίνη στο δεσμευμένο μόριο οξυγόνου βοηθά στη σταθεροποίηση της οξυμοσφαιρίνης.

Η απομονωμένη και καθαρισμένη ΑΜΦ από αίμα βρέθηκε να έχει **πολύ μεγαλύτερη συγγενικά** με το οξυγόνο

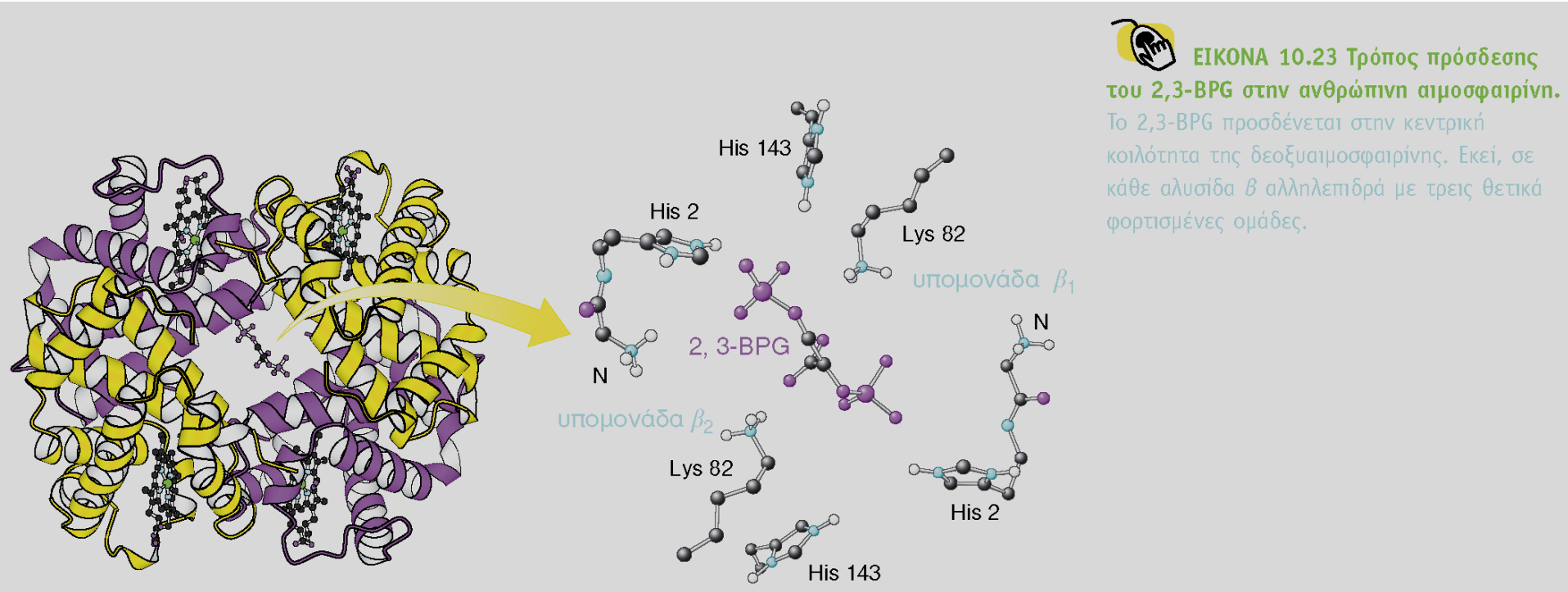
βρέθηκε όταν απομονώθηκε καθαρή αιμοσφαιρίνη
βρίσκεται σε συγκέντρωση ~ 2mM ίδια με την ΑΜΦ



2,3-Διφωσφογλυκερικό
(2,3-BPG)

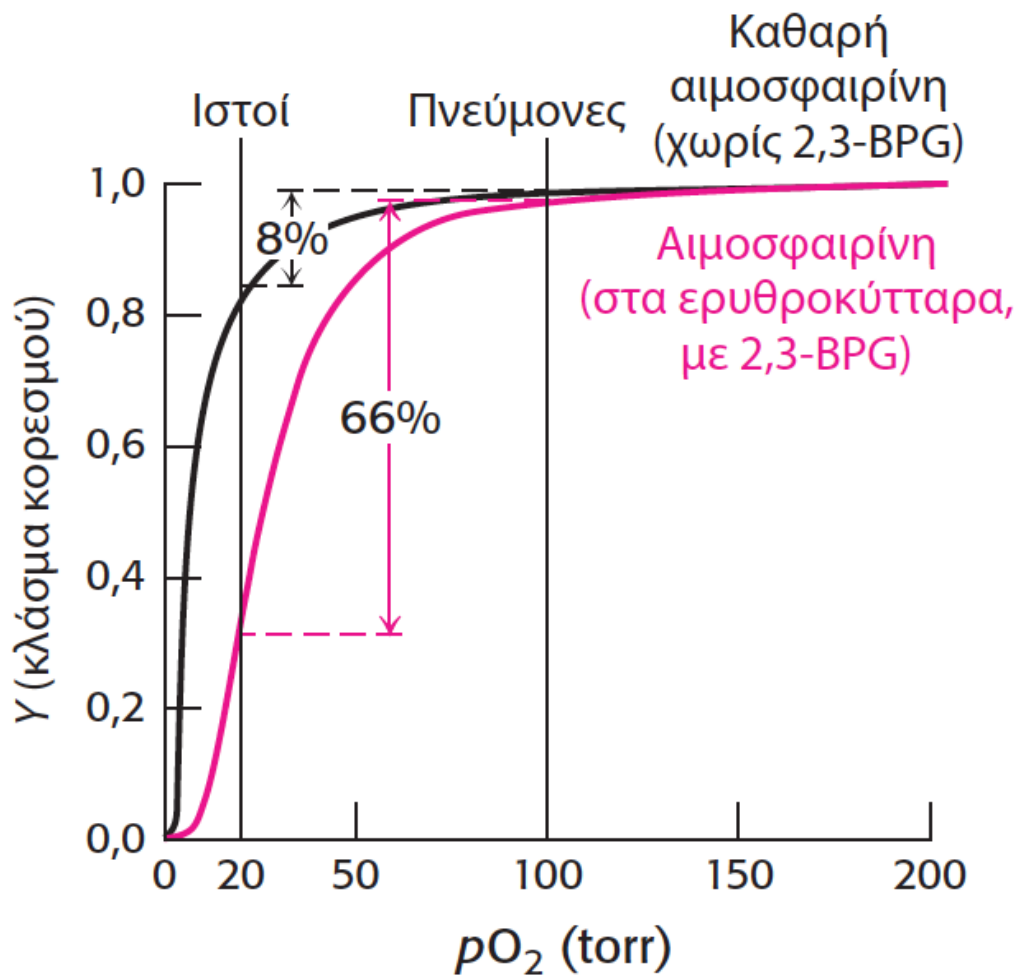
Χωρίς την BPG η ΑΜΦ θα ήταν ένας ισχυρός προσδέτης O_2 αλλά και εξαιρετικά **μη ικανός μεταφορέας** O_2

Πώς επηρεάζει η 2,3-BPG την ΑΜΦ

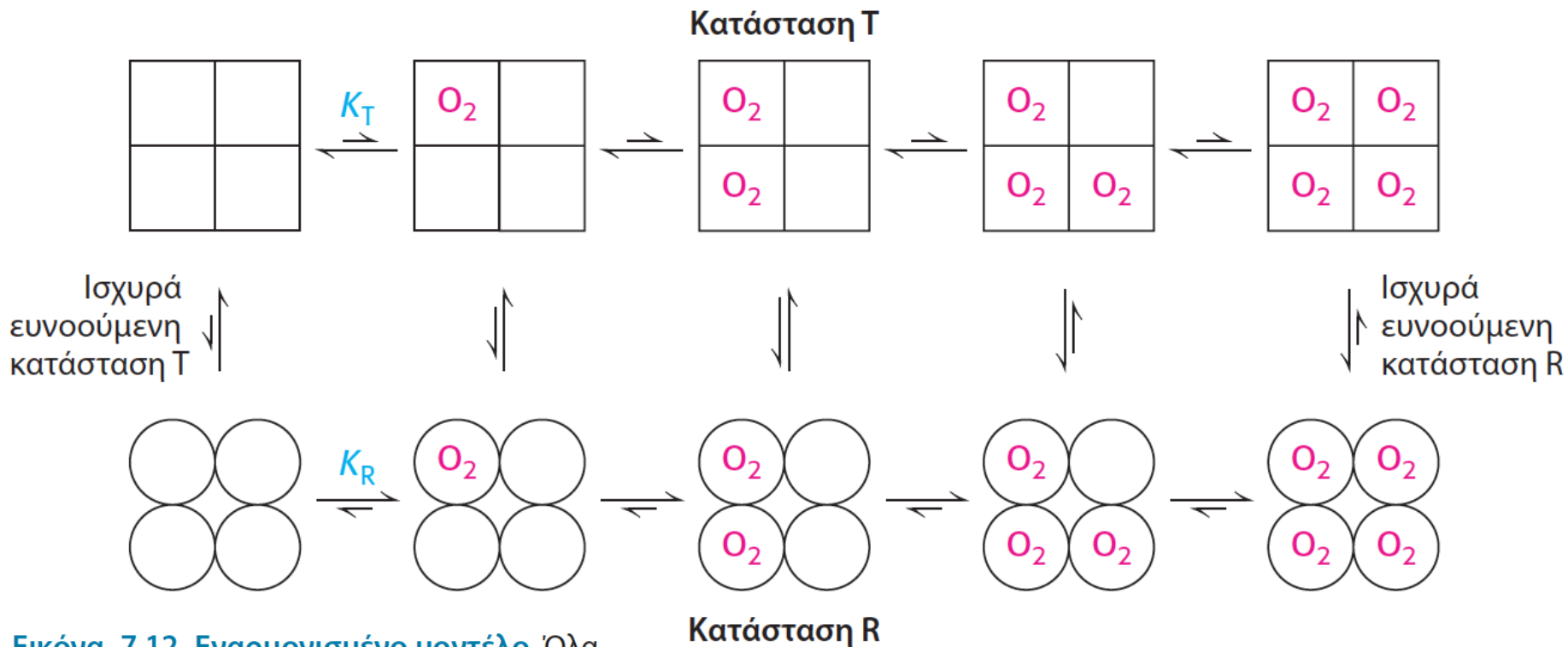


Η Κ της αντίδρασης πρόσδεσης O_2 μπορεί να μειωθεί με την ένωση της 2,3-BPG στην ΑΜΦ

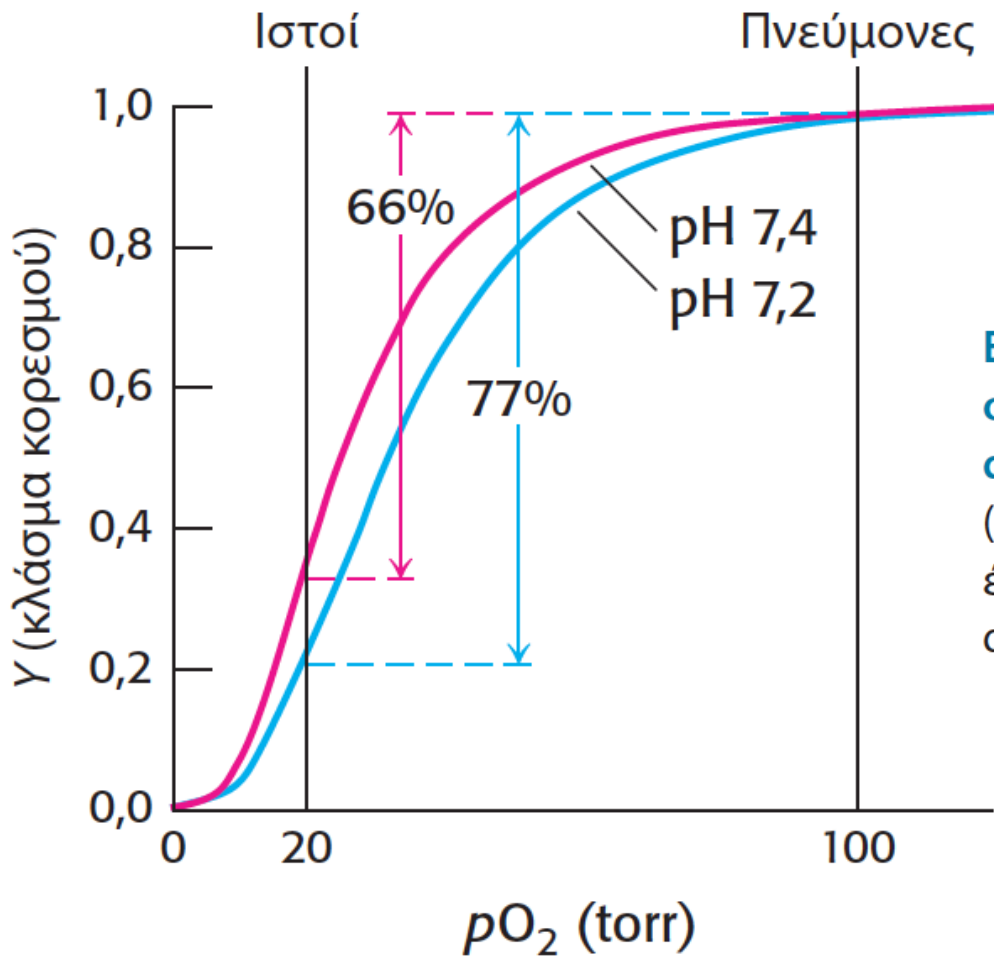
Σε υψηλά υψόμετρα δεν υπάρχει αρκετό O_2 για να «κορεστεί» η ΑΜΦ και να αλλάξει στερεοδιάταξη (T→R) οπότε απαιτείται η ΑΜΦ



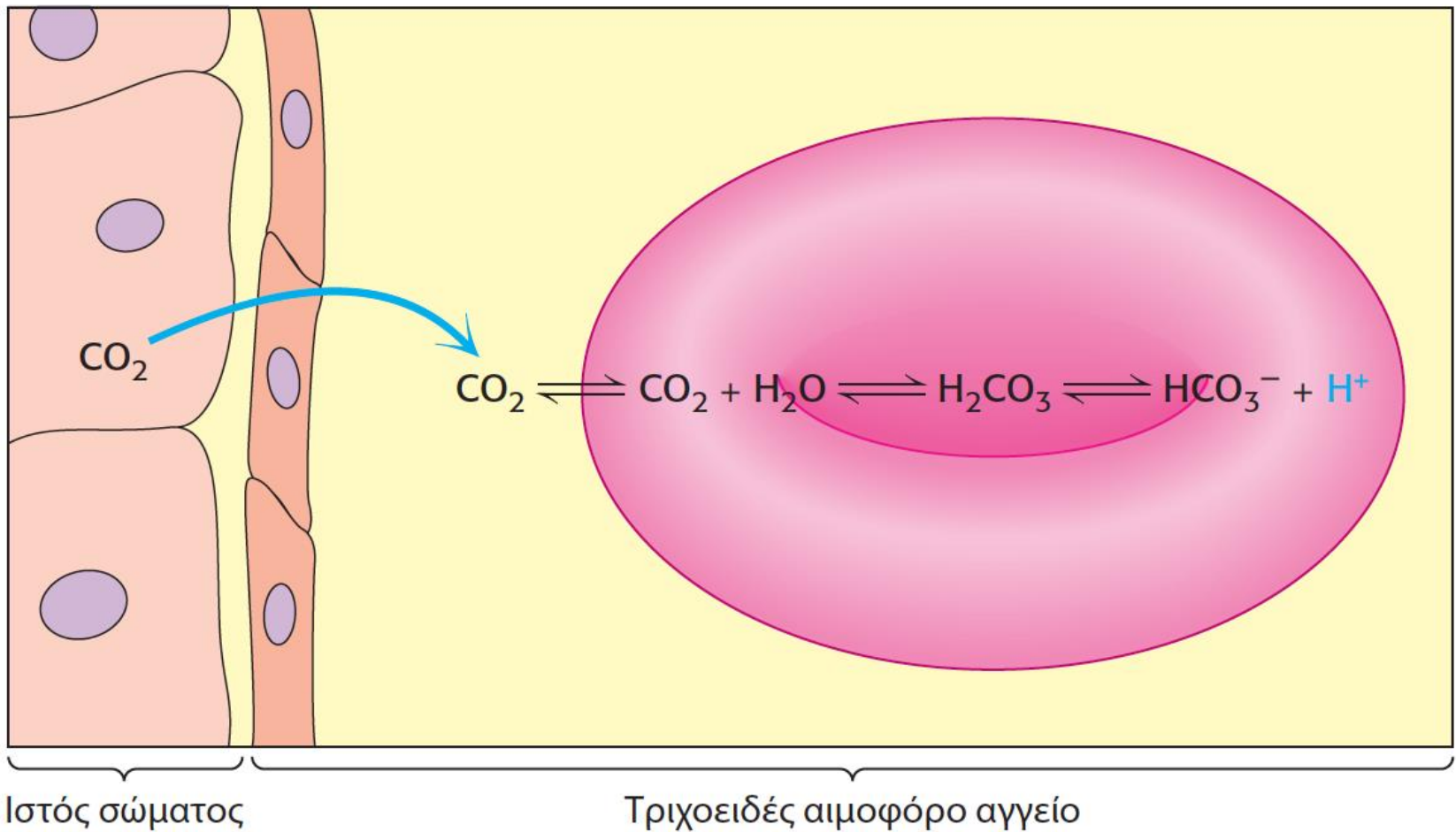
Εικόνα 7.16 Δέσμευση οξυγόνου από καθαρή αιμοσφαιρίνη σε σύγκριση με την αιμοσφαιρίνη των ερυθροκυττάρων. Η καθαρή αιμοσφαιρίνη προσδένει πιο ισχυρά το οξυγόνο απ' ό,τι η αιμοσφαιρίνη στα ερυθροκύτταρα. Αυτή η διαφορά οφείλεται στην παρουσία του 2,3-διφωσφογλυκερικού (2,3-BPG) στα ερυθροκύτταρα.



Εικόνα 7.12 Εναρμονισμένο μοντέλο. Όλα τα μόρια υπάρχουν είτε στην κατάσταση T είτε στην κατάσταση R. Σε κάθε επίπεδο φόρτωσης με οξυγόνο υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των καταστάσεων T και R. Η ισορροπία μετατοπίζεται από την ισχυρά ευνοούμενη κατάσταση T, όταν κανένα μόριο οξυγόνου δεν είναι δεσμευμένο, στην ισχυρά ευνοούμενη κατάσταση R, όταν η αιμοσφαιρίνη είναι πλήρως φορτωμένη με οξυγόνο. Η κατάσταση R έχει μεγαλύτερη συγγένεια για οξυγόνο απ' ό,τι έχει η κατάσταση T.

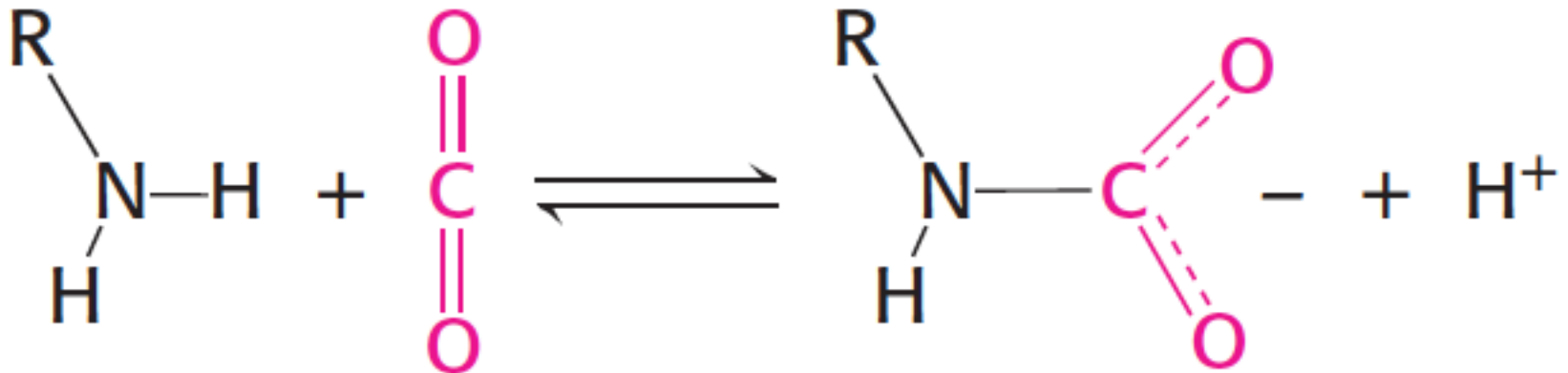


Εικόνα 7.19 Η επίδραση του pH στη συγγένεια δέσμευσης οξυγόνου της αιμοσφαιρίνης. Η ελάττωση του pH από 7,4 (κόκκινη καμπύλη) σε 7,2 (μπλε καμπύλη) έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση O₂ από την οξυαιμοσφαιρίνη.



Εικόνα 7.21 Διοξείδιο του άνθρακα και pH. Το διοξείδιο του άνθρακα στους ιστούς διαχέεται μέσα στα ερυθροκύτταρα. Μέσα στα ερυθροκύτταρα, το διοξείδιο του άνθρακα αντιδρά με το νερό για να σχηματιστεί ανθρακικό οξύ, σε μια αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο ανθρακική ανυδράση. Το ανθρακικό οξύ δίσταται για να σχηματιστεί HCO_3^- , και H^+ , με αποτέλεσμα μια πτώση του pH μέσα στα ερυθροκύτταρα.

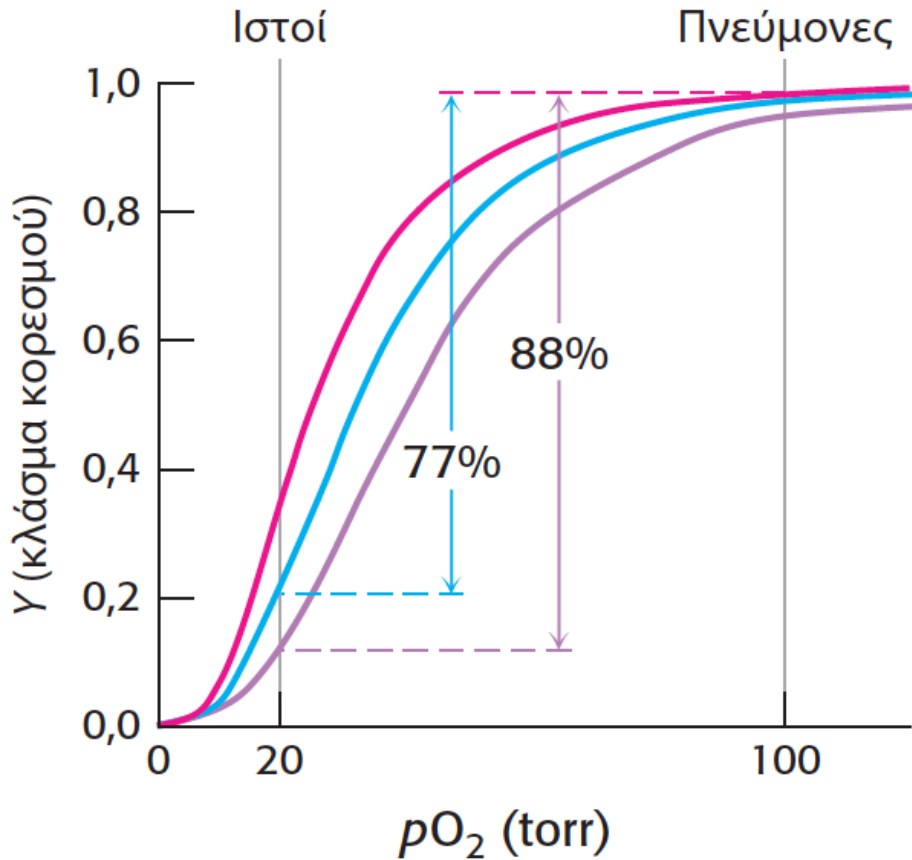
ΤΟ CO₂ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΕΙ ΤΗ ΔΕΟΞΥ-ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΜΕ ΤΟ ΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΜΙΝΟ-ΤΕΛΙΚΗ ΟΜΑΔΑ ΓΙΑ ΝΑ ΣΧΗΜΑΤΙΣΤΟΥΝ ΚΑΡΒΑΜΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ



Καρβαμικό

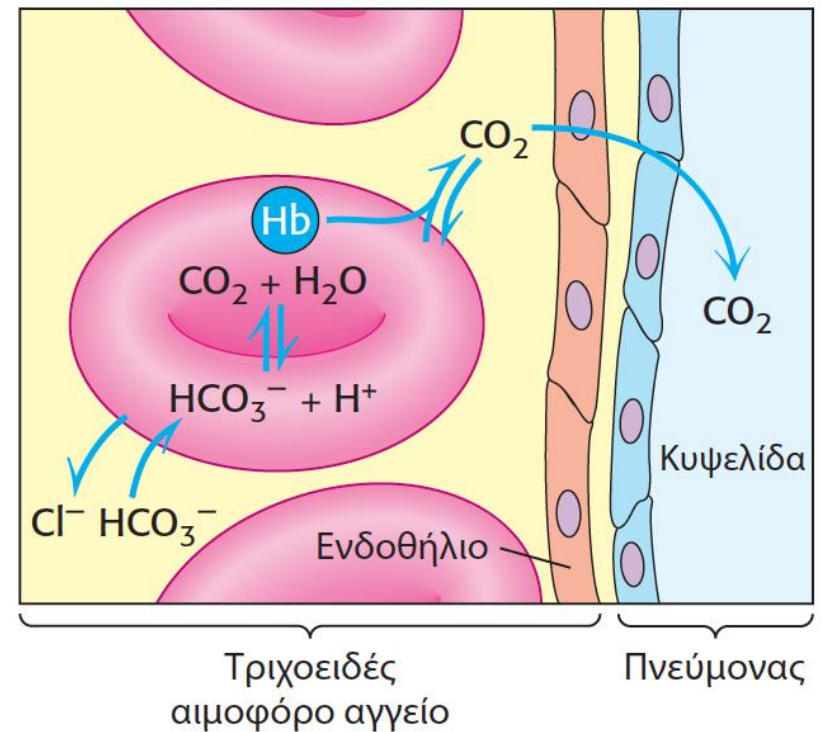
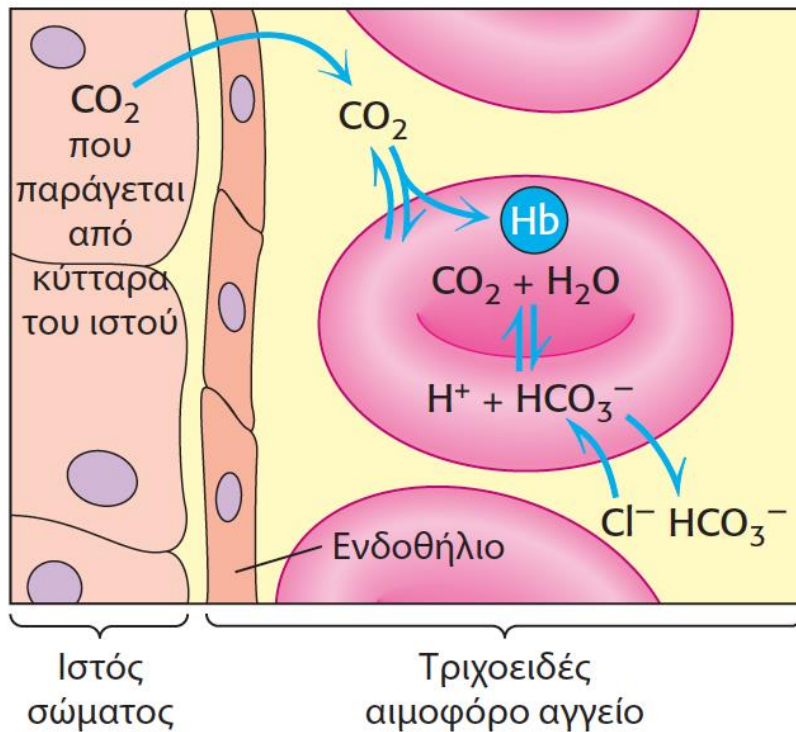
ΠΑΡΟΥΣΙΑ CO₂ ΣΕ ΜΕΡΙΚΗ ΠΙΕΣΗ 40torr, pH=7,2
Η ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΤΟΥ O₂ ΠΟΥ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΝΕΤΑΙ
ΠΛΗΣΙΑΖΕΙ ΤΟ 90% ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

- pH 7,4, καθόλου CO₂
- pH 7,2, καθόλου CO₂
- pH 7,2, 40 torr CO₂



Ένα επιπλέον στάδιο ελέγχου είναι και η ποσότητα CO₂ το οποίο επηρεάζει το pH το οποίο επηρεάζει την σύνδεση το O₂ αλλά και ενώνεται με την δεοξυαιμοσφαιρίνη και έτσι ελευθερώνει επιπλέον οξυγόνο

Εικόνα 7.22 Επιδράσεις του διοξειδίου του άνθρακα. Η παρουσία του διοξειδίου του άνθρακα ελαττώνει τη συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για οξυγόνο, ακόμη και πέρα από την επίδραση που οφείλεται στο pH, έχοντας ως αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς.



Εικόνα 7.23 Μεταφορά διοξειδίου του άνθρακα από τους ιστούς στους πνεύμονες.

Το περισσότερο διοξείδιο του άνθρακα μεταφέρεται στους πνεύμονες με τη μορφή HCO₃⁻ που παράγεται στα ερυθροκύτταρα και στη συνέχεια απελευθερώνεται στο πλάσμα του αίματος. Μια μικρότερη ποσότητα μεταφέρεται από την αιμοσφαιρίνη στη μορφή ενός δεσμευμένου καρβामικού.

ΠΕΡΙΛΗΠΤΙΚΑ

Στις πνευμονικές κυψελίδες η αιμοσφαιρίνη «απαλλαγμένη» από το διοξείδιο του άνθρακα, ξανασυνδέεται με το οξυγόνο (οξυαιμοσφαιρίνη) και ο κύκλος επαναλαμβάνεται.



Η **μυοσφαιρίνη** είναι μια σχετικά μικρή πρωτεΐνη που αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 153 αμινοξέων. Στο μόριο της περιέχει σίδηρο και την προσθετική ομάδα της αίμης παρόμοια με αυτή της αιμοσφαιρίνης. **Αποστολή της είναι να συνδέεται με το οξυγόνο το οποίο μεταφέρει στους σκελετικούς μύες και τις λείες μυϊκές ίνες, διαμέσου των μυϊκών κυττάρων.**

ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

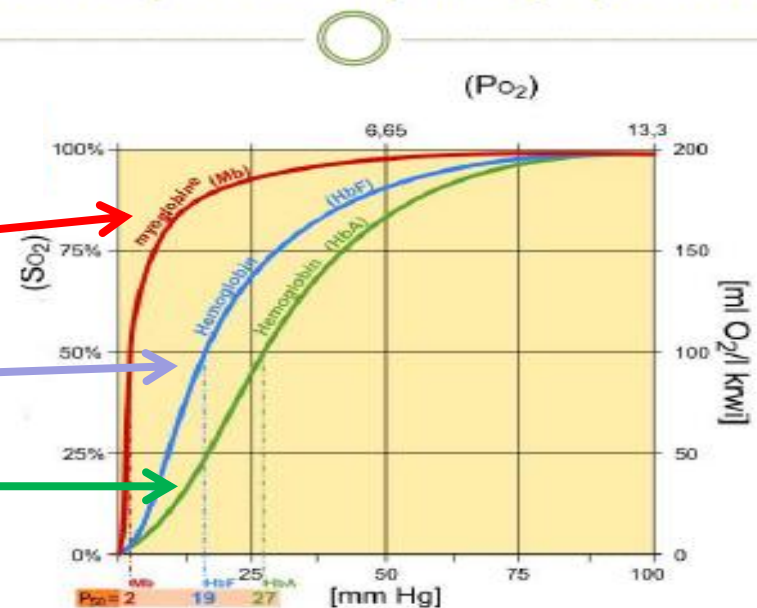
ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

Με τη βοήθεια της αιμοσφαιρίνης (στη μορφή της οξυαιμοσφαιρίνης: λαμπερό κόκκινο χρώμα) το οξυγόνο μεταφέρεται στα τριχοειδή, όπου αποδεσμεύεται από αυτή και διαχέεται προς τα κύτταρα

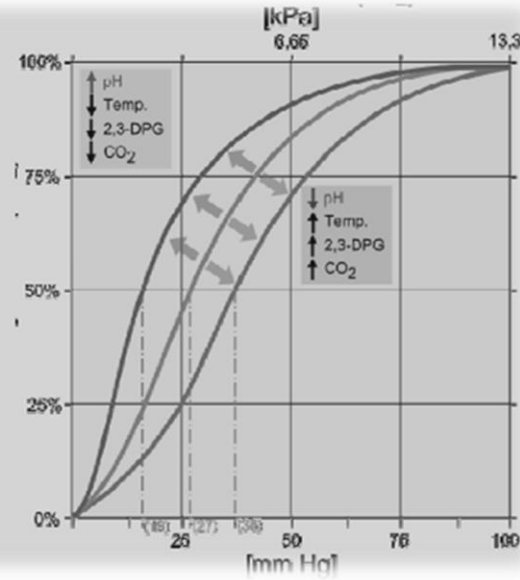
Αμέσως μετά, δεσμεύεται ένα μέρος του CO₂ (από μεταβολισμό κυττάρων: σκούρο κόκκινο χρώμα) το υπόλοιπο διαλύεται στο πλάσμα (όξινα ανθρακικά ανιόντα) μεταφέρεται και με τις δύο μορφές στους πνεύμονες και αποβάλλεται ως CO₂

Αποτελεσματικότητα οξυγόνωσης

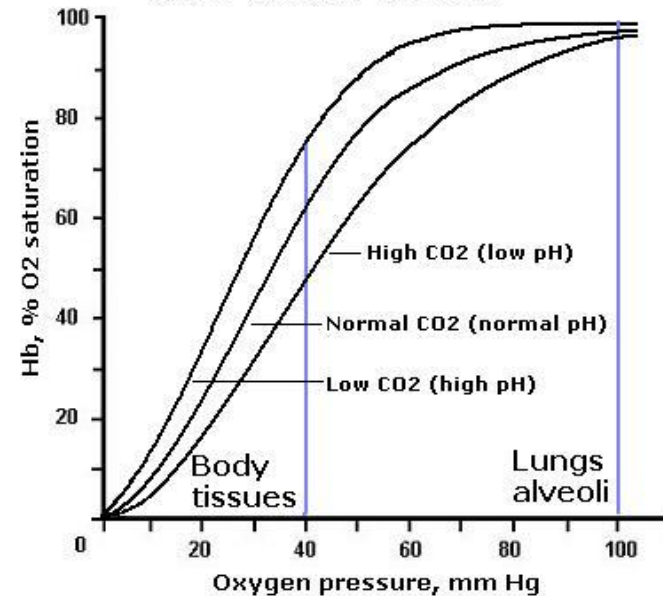


Η πρόσδεση του οξυγόνου εξαρτάται από:

- pH
- CO₂
- Θερμοκρασία
- Διφωσφογλυκερικό (BPG ή DPG)



Bohr effect curves



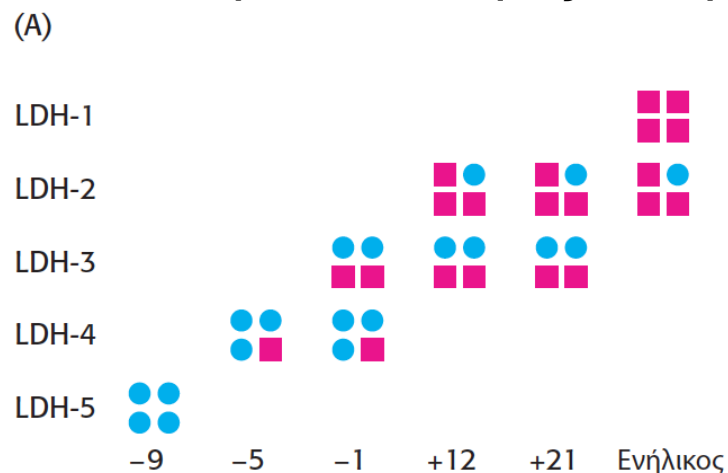
VIDEO

12 Dog's Blood Saves Cat's Life

ΙΣΟΕΝΖΥΜΑ

Καταλύουν την ίδια αντίδραση

Είναι προϊόντα διαφορετικών γονιδίων-Διαφέρουν στην αλληλουχία των αμινοξέων
Βρίσκονται συνήθως σε διαφορετικό ιστό ή σε διαφορετικό στάδιο της ανάπτυξης



Το M₄ δρα καλύτερα σε αναερόβιο περιβάλλον ενώ το H₄ σε αερόβιο περιβάλλον

Η ανάγκες αυτές αλλάζουν κατά την ανάπτυξη ή κατά τον ιστό

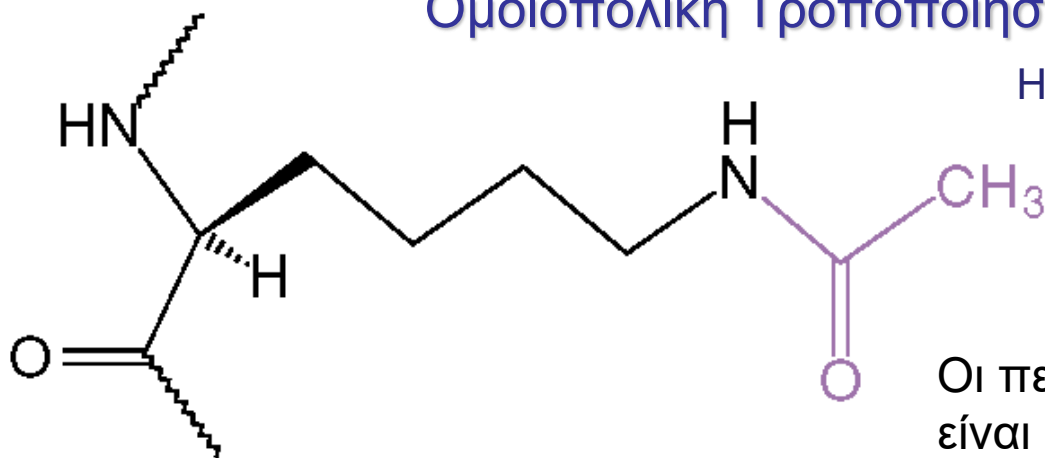
Τα ισοένζυμα εξηγούν και εν μέρει την ανάγκη ιντρονίων και εξόνων με τη σύνθεση διαφορετικών καταλυτικών και ρυθμιστικών υπομονάδων

Εικόνα 10.16 Τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης. (A) Το προφίλ του ισοενζύμου της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) από καρδιά επίμυος αλλάζει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Το ισοένζυμο H αναπαριστάται με τετράγωνα και το ισοένζυμο M με κύκλους. Οι αρνητικοί και οι θετικοί αριθμοί υποδηλώνουν αντίστοιχα τις ημέρες πριν και μετά τη γέννηση. (B) Η ποσότητα του ισοενζύμου της LDH ποικίλλει ανάλογα με τον ιστό. [(A) Κατά W.-H. Li, *Molecular Evolution* (Sinauer, 1997), p. 283. (B) Κατά K. Urich, *Comparative Animal Biochemistry* (Springer Verlag, 1990), p. 542.]

(A) Το προφίλ του ισοενζύμου της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) από καρδιά επίμυος αλλάζει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Το ισοένζυμο H αναπαριστάται με τετράγωνα και το ισοένζυμο M με κύκλους. Οι αρνητικοί και οι θετικοί αριθμοί υποδηλώνουν αντίστοιχα τις ημέρες πριν και μετά τη γέννηση. (B) Η ποσότητα του ισοενζύμου της LDH ποικίλλει ανάλογα με τον ιστό. [(A) Κατά W.-H. Li, *Molecular Evolution* (Sinauer, 1997), p. 283. (B) Κατά K. Urich, *Comparative Animal Biochemistry* (Springer Verlag, 1990), p. 542.]

Ομοιοπολική Τροποποίηση Ενζύμων

Η μεγάλη διαφορά με το προηγούμενο



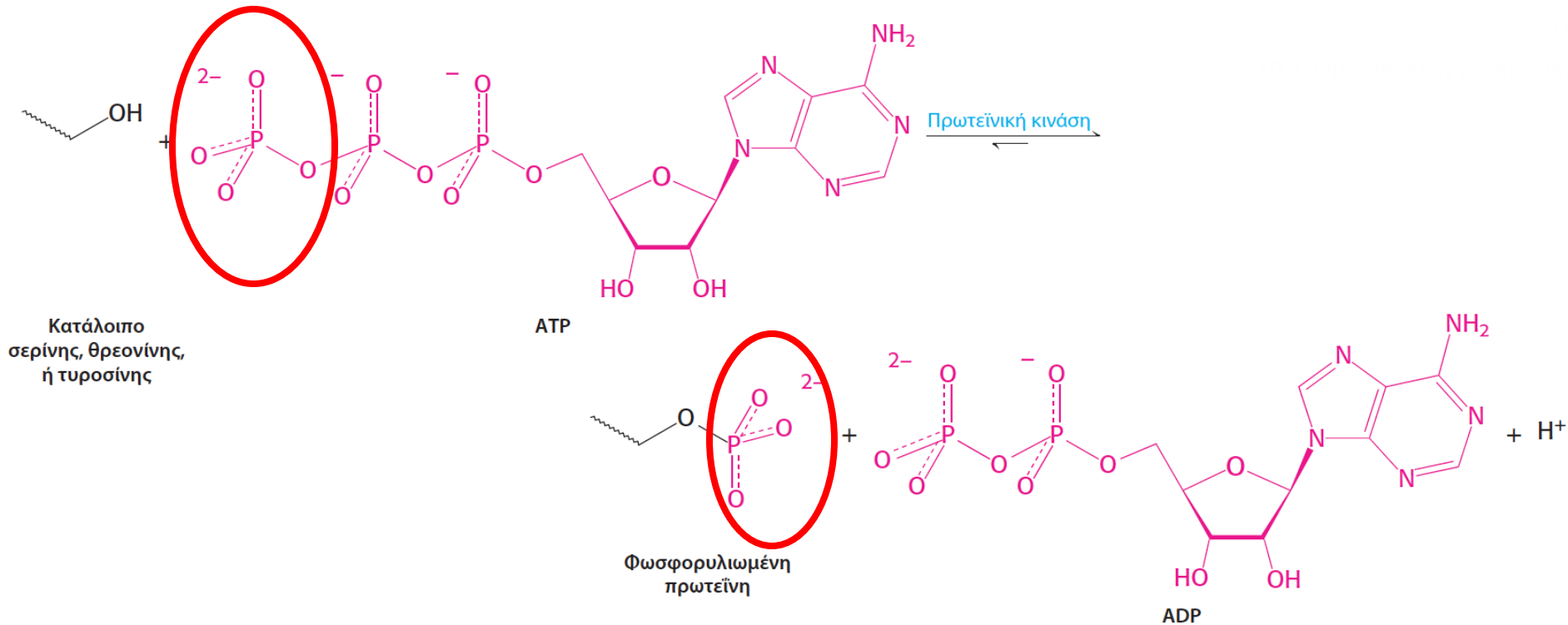
Ακετυλιωμένη λυσίνη

Οι περισσότερες ακετυλιωμένες λυσίνες είναι συνδεδεμένες με γονίδια που μεταγράφονται ενεργά

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
Θεικίωση	3'-Φωσφαδενοσίνη-5'-φωσφοθειικό	Ινωδογόνο	Σχηματισμός θρόμβου αίματος
Ουβικιτίνωση	Ουβικιτίνη	Κυκλίνη	Έλεγχος του κυτταρικού κύκλου

**ΚΙΝΑΣΕΣ και ΦΩΣΦΑΤΑΣΕΣ =>
ΕΛΕΓΧΟΥΝ ΤΗΝ ΕΚΤΑΣΗ ΤΗΣ
ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ**

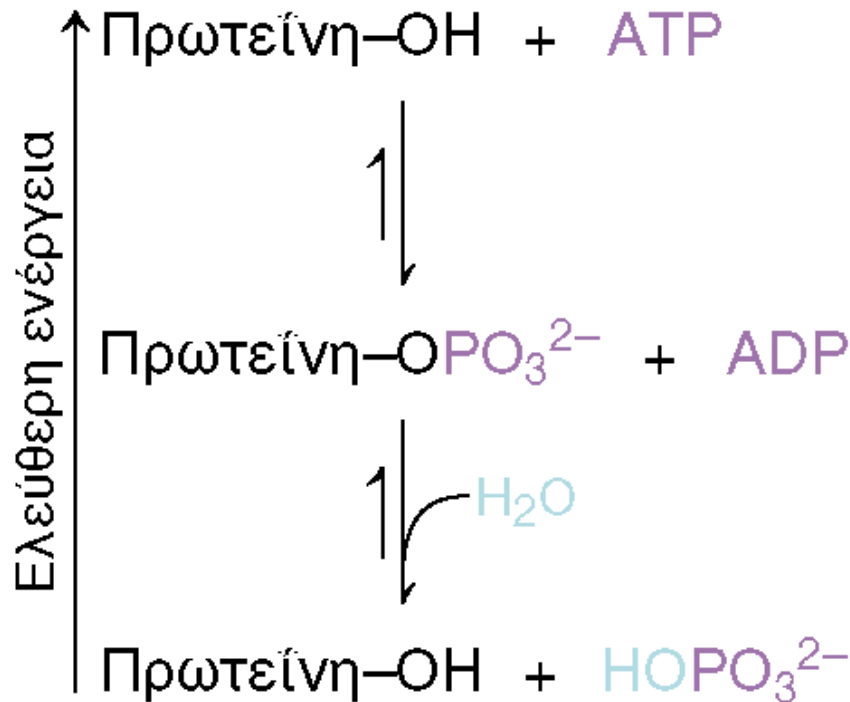
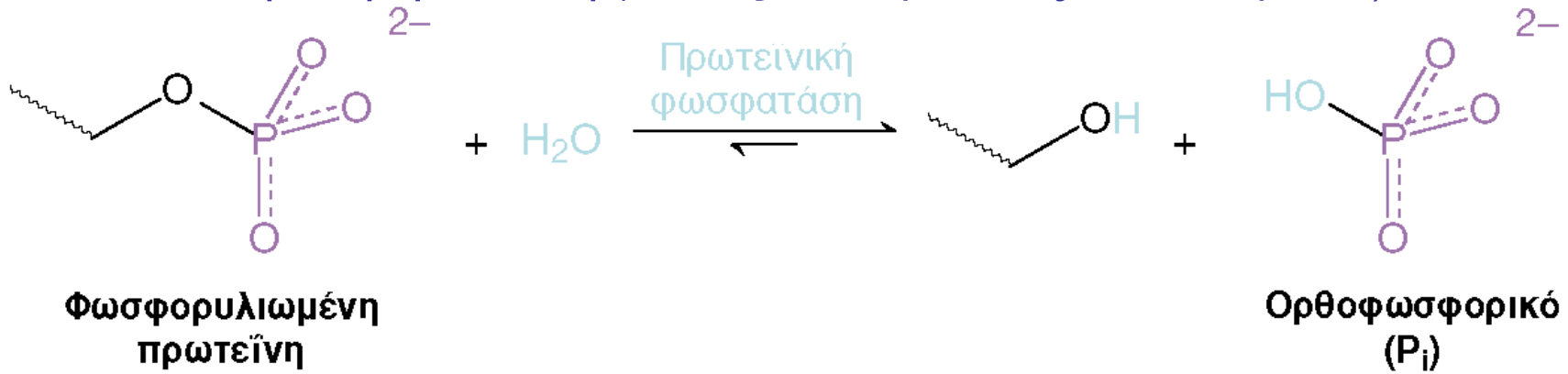


**ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ-ΔΕΚΤΗΣ=>
ΥΔΡΟΞΥΛΟΜΑΔΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΤΑΙ ΣΤΗ ΠΛΕΥΡΙΚΗ
ΑΛΥΣΙΔΑ ΕΝΟΣ ΑΠΟ ΤΑ 3 ΑΜΙΝΟΞΕΑ (Ser-Thr, Tyr)**

VIDEO

6 Cell signalling- kinases & phosphorylation

Ομοιοπολική Τροποποίηση Ενζύμων φωσφορυλίωση (κινάσες 550 πρωτεΐνες στον άνθρωπο)

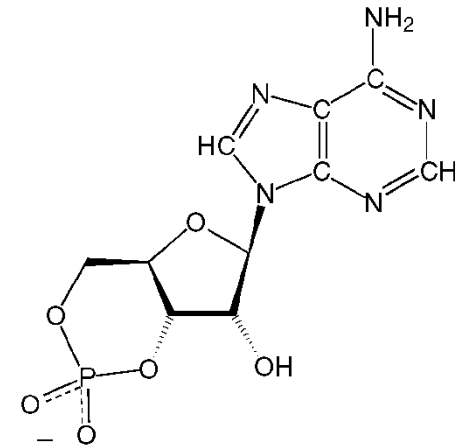


Συνδέει **ATP** το οποίο είναι σημαντικό «ενεργειακό νόμισμα του κυττάρου» με τον έλεγχο των ενζύμων

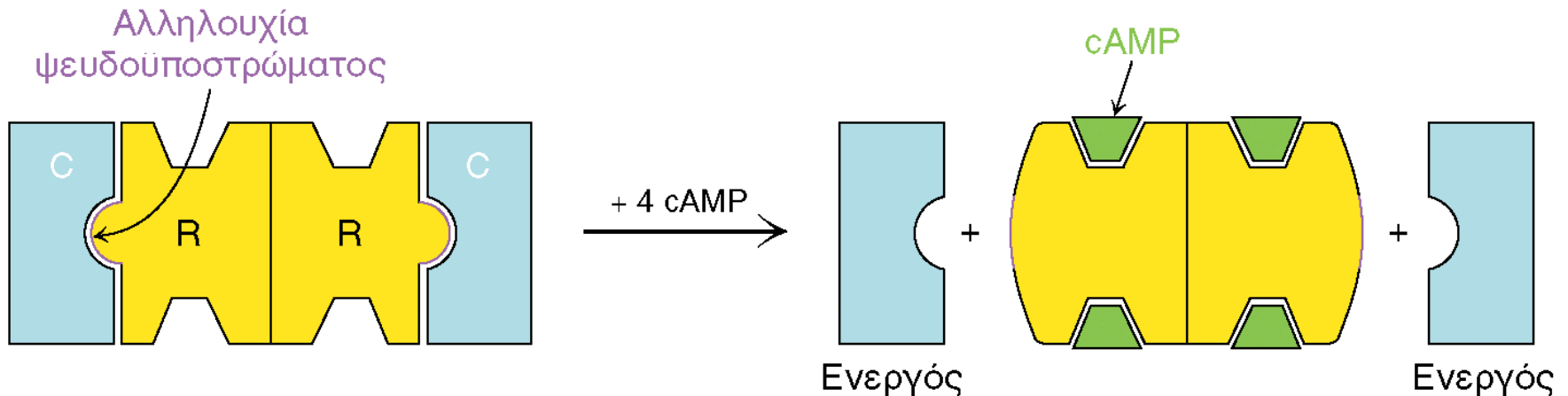
PKA Παράδειγμα ελέγχου ενεργοποίησης κινάσης
Μόριο ενεργοποιητής cAMP (πολύ κοινό μόριο ενεργοποιητής κυτταρικών μηχανισμών)
(όλοι οι μηχανισμοί απαιτούν αλλαγή συγκέντρωσης ενός μικρού μορίου)

Υπόστρωμα Arg-Arg-Ser-Ala-Ile
ψευδοϋπόστρωμα Arg-Arg-Ala-Ala-Ile
υπάρχει στην αλληλουχία του R

Κατανόηση των μηχανισμών επιτρέπει σχεδιασμό και ανάπτυξη φαρμάκων για θεραπεία ασθενειών

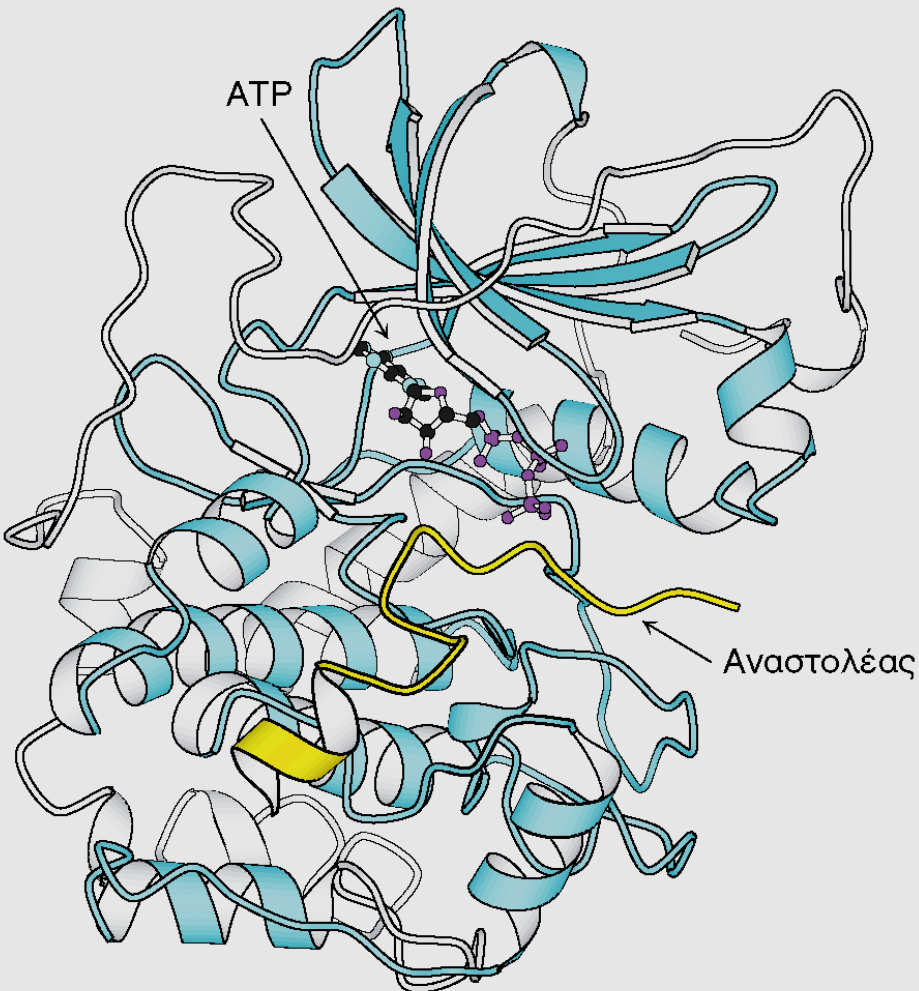
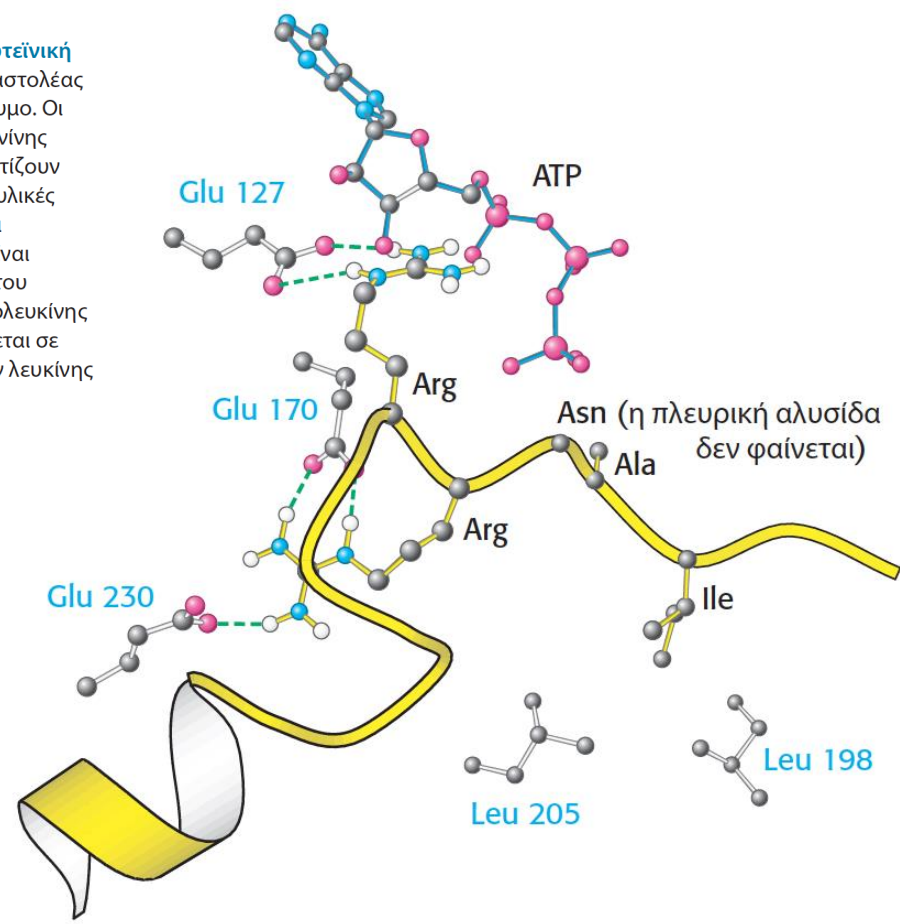


Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη



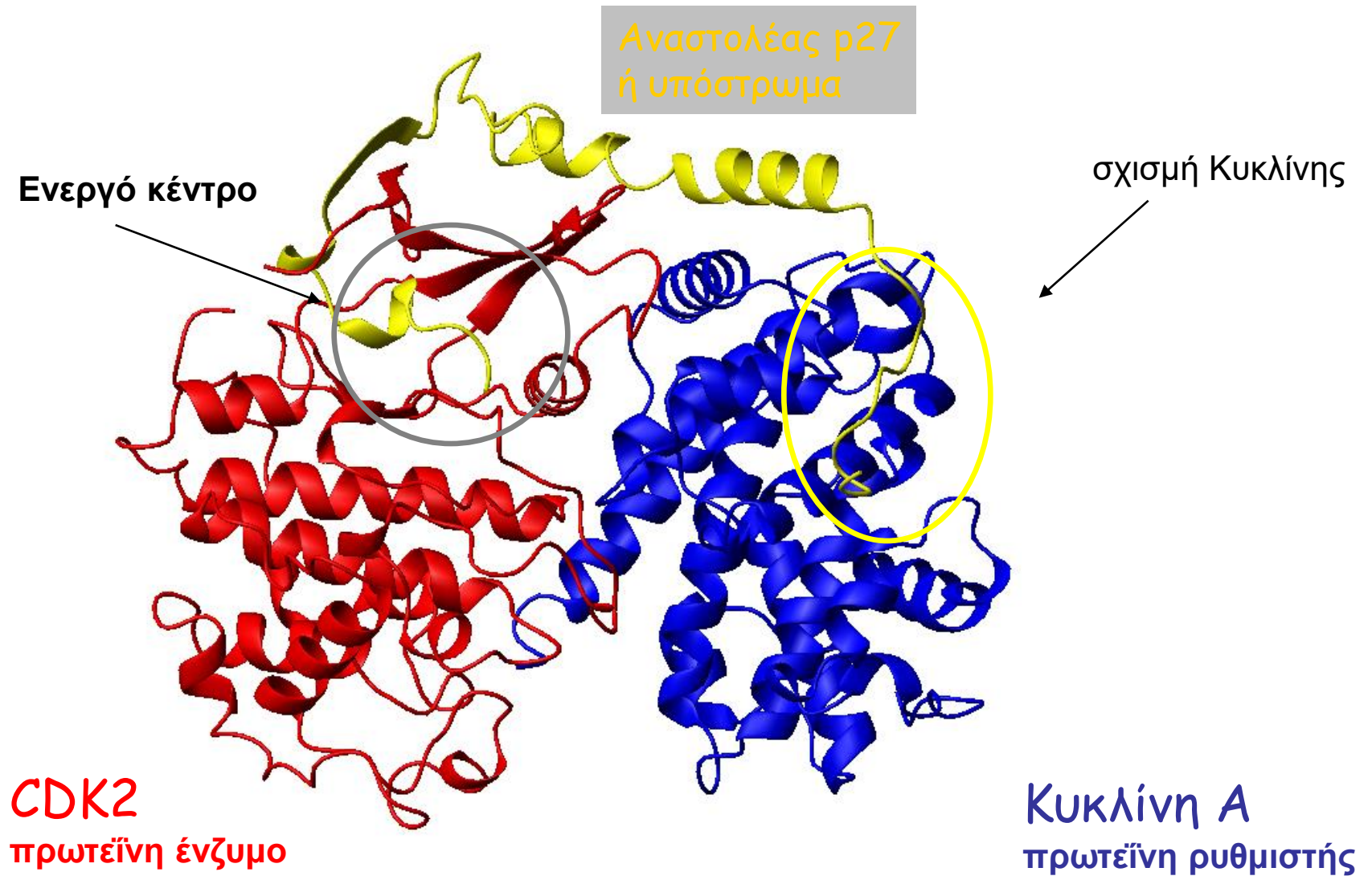
ΕΙΚΟΝΑ 10.28 Ρύθμιση της πρωτεϊνικής κινάσης A. Η πρόσδεση τεσσάρων μορίων cAMP ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A με το να διαχωρίζει το απενεργοποιημένο ολοένζυμο (R_2C_2) σε μια ρυθμιστική υπομονάδα (R_2) και δύο ενεργές καταλυτικές υπομονάδες (C).

Εικόνα 10.19 Πρόσδεση του ψευδοϋποστρώματος στην πρωτεϊνική κινάση A. Παρατηρήστε ότι ο αναστολέας έχει πολλαπλές επαφές με το ένζυμο. Οι δύο πλευρικές αλυσίδες της αργινίνης του ψευδοϋποστρώματος σχηματίζουν γέφυρες άλατος με τρεις καρβοξυλικές ομάδες γλουταμικών. Επίσης, οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις είναι σημαντικές για την αναγνώριση του υποστρώματος. Το κατάλοιπο ισολευκίνης του ψευδοϋποστρώματος βρίσκεται σε επαφή με ένα ζεύγος καταλοίπων λευκίνης του ενζύμου.

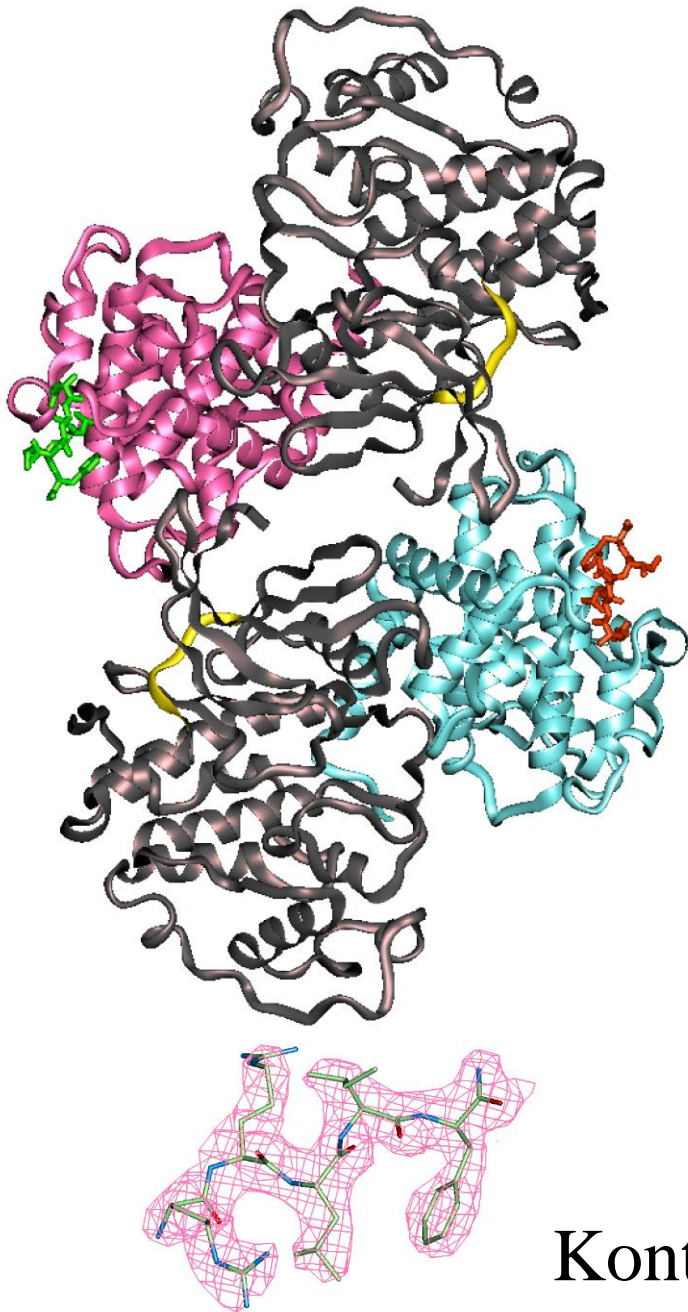


ΕΙΚΟΝΑ 10.29 Η πρωτεϊνική κινάση A προσδεμένη σε έναν αναστολέα. Τριδιάστατη δομή ενός συμπλόκου της καταλυτικής υπομονάδας της πρωτεϊνικής κινάσης A και ενός αναστολέα που φέρει μια αλληλουχία ψευδοϋποστρώματος. Ο αναστολέας (κίτρινο) προσδέεται σε μια σχισμή μεταξύ των δομικών περιοχών του ενζύμου. Η προσδεμένη ATP γειτνιάζει με το ενεργό κέντρο.

Ενεργοποίηση μετά από ένωση με πρωτεΐνη ρυθμιστή



Αναστολείς της κυκλίνης A



Modifications at position:	Sequence	IC ₅₀ (μM)	
		Competitive cyclin A binding	CDK2/cyclin A kinase activity
1	Ac - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>p</i> -F-Phe -NH ₂	2.0	12
	H - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	0.53	7.2
	H - Arg - Cit - Leu - Ile - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	0.59	0.52
	H - Cit - Cit - Leu - Ile - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂ *	21	37
2	H - Arg - Arg - Leu - Ala - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	0.73	8.1
	H - Arg - Cit - Leu - Ala - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	2.6	24
	H - Arg - Gln - Leu - Ile - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	24	8.3
	H - Arg - Cit - Leu - Ile - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	0.59	0.52
3	H - His - Ala - Lys - Arg - Arg - Leu - Ile - Phe -NH ₂	0.05	0.14
	H - His - Ala - Lys - Arg - Arg - Ala - Ile - Phe -NH ₂	1.5	> 50
4	H - Cit - Cit - Leu - Ile - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂ *	21	37
	H - Cit - Cit - Leu - Ala - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	79	12
	H - Cit - Cit - Leu - Asn - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	19	37
	H - Arg - Arg - Leu - Ile - Phe -NH ₂ *	0.68	7.7
	H - Arg - Arg - Leu - ----- Phe -NH ₂	8.1	> 50
	H - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	0.53	7.2
	H - Arg - Arg - Leu - ----- (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	19	50
5	Ac - Arg - Arg - Leu - Asn - Phe -NH ₂	12	> 50
	Ac - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>p</i> -F-Phe) -NH ₂	2.0	12
	Ac - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>m</i> -Cl-Phe) -NH ₂ *	5.6	31
	Ac - Arg - Arg - Leu - Asn - (<i>p</i> -Cl-Phe) -NH ₂	1.8	13

Kontopidis, G; et al. Structure (Dec 2003)

VIDEO

7,8 Cell cycle & division

Ενεργοποίηση με πρωτεολυτική διάσπαση

Ανενεργό ενζυμο => Ζυμογόνο (ή προενζυμο)

Αναδιπλωμένες μορφές ανενεργές έως τη διάσπαση ενός ή μερικών ειδικών πεπτιδικών δεσμών

Σημαντική διαφορά με τα προηγούμενα

Η ενεργοποίηση συμβαίνει μόνο μια φορά στην ζωή του ενζύμου

Δεν απαιτείται άλλο ένζυμο ή ATP για να ενεργοποιηθούν

ΠΙΝΑΚΑΣ 10.3 Γαστρικά και παγκρεατικά ζυμογόνα.

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

Παραδείγματα από βιολογικές λειτουργίες

Ένζυμα της πέψης (μεγάλη ποσότητα υποστρώματος)

Πήξη του αίματος (γρήγορη απόκριση-κλείσιμο τραύματος)

ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ (το κύριο συστατικό του δέρματος από το διαλυτό πρόδρομο *προκολλαγόνο*)

Αναπτυξιακές διεργασίες (αποικοδόμηση μήτρα θηλαστικών μετά τοκετό)

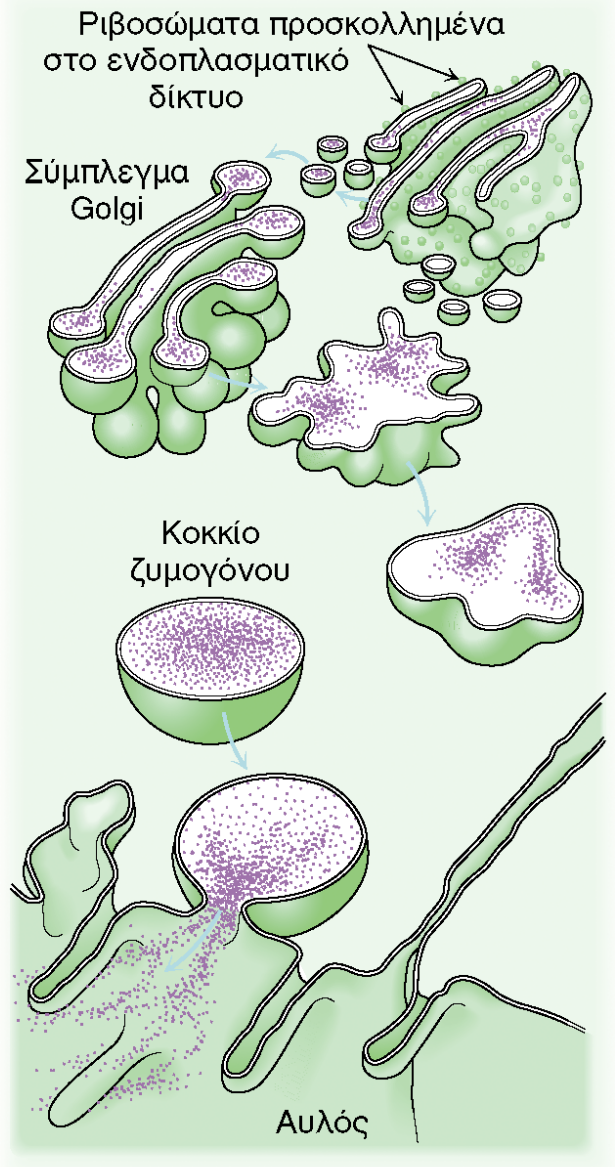
Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση (*προκασπάσεις*)

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!

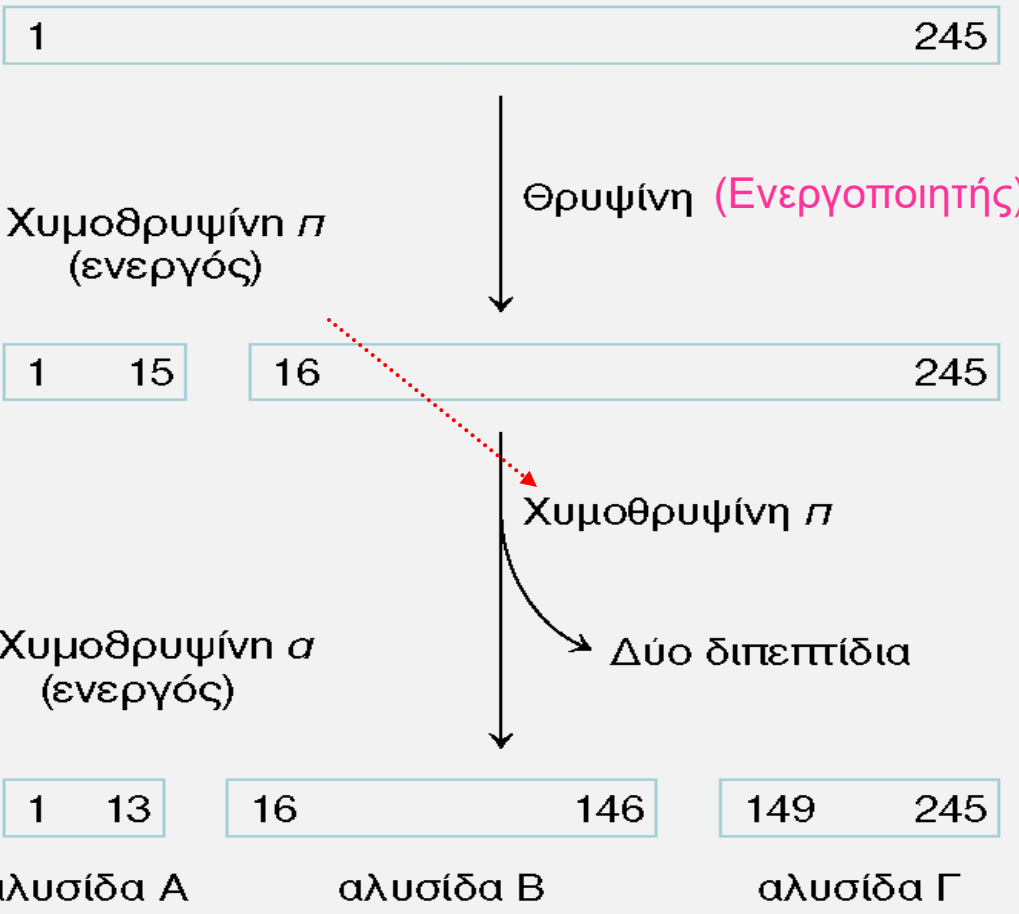
Βλέπουμε πως βιοχημικά χαρακτηριστικά αντικατοπτρίζουν και καθορίζουν φυσιολογικά και βιολογικά χαρακτηριστικά

Εξειδικευμένη διάσπαση πεπτιδίου δεσμού



ΕΙΚΟΝΑ 10.31 Έκκριση ζυμογόνων από ένα εξωκρινές κύτταρο του παγκρέατος.

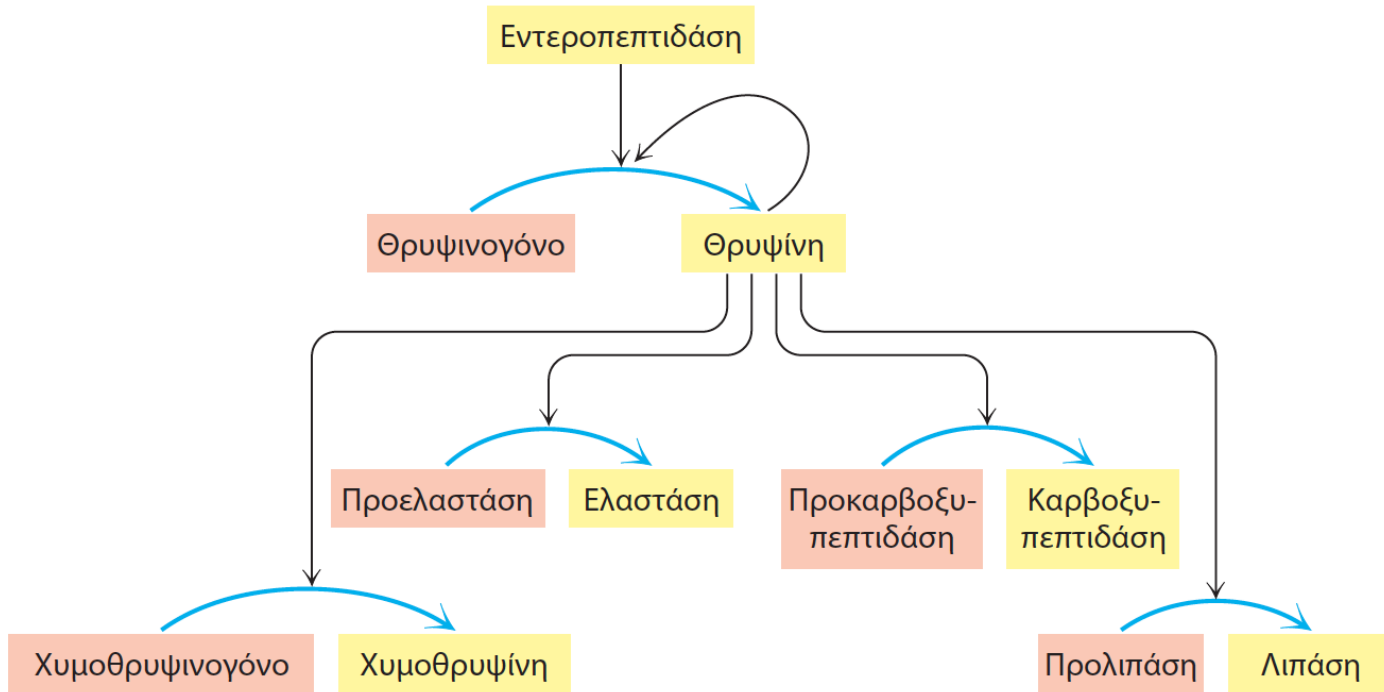
Χυμοθρυψινογόνο (ανενεργό)



ΕΙΚΟΝΑ 10.32 Πρωτεολυτική ενεργοποίηση του χυμοθρυψινογόνου. Οι τρεις αλυσίδες της χυμοθρυψίνης α είναι ενωμένες με δύο εσωτερικούς δισουλφιδικούς δεσμούς (Α σε Β, και Β σε Γ).

Θρυψίνη ο κοινός ενεργοποιητής αρκετών πρωτεολυτικών ενζύμων

πέψη πρωτεϊνών στο δωδεκαδάκτυλο απαιτεί ταυτόχρονη ενεργοποίηση πολλών πρωτεολυτικών ενζύμων (λιπάση, διαφορετικές πεπτιδάσες)



Εικόνα 10.23 Ενεργοποίηση ζυμογόνου από πρωτεολυτική διάσπαση. Η

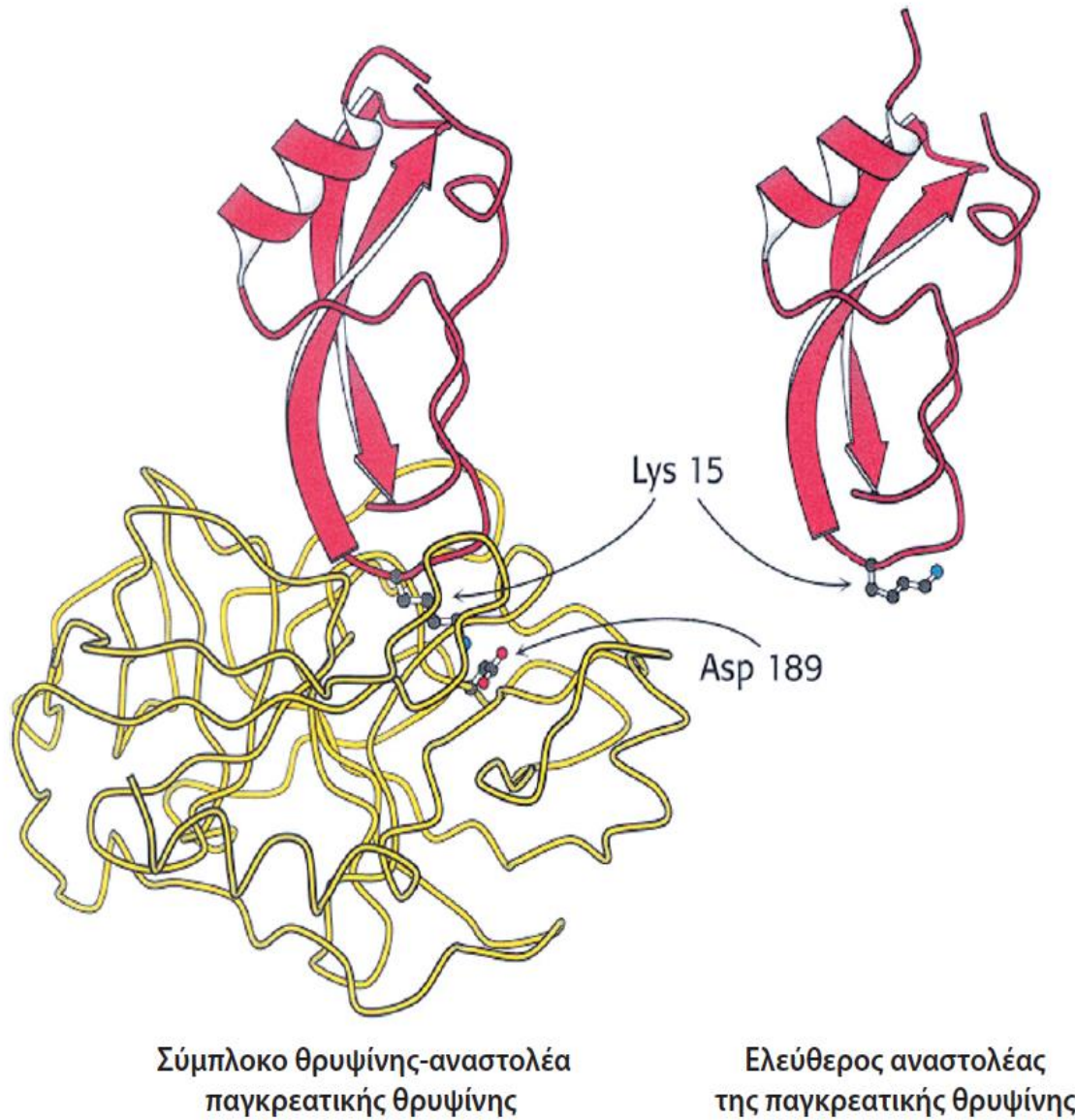
εντεροπεπτιδάση αρχίζει την ενεργοποίηση των παγκρεατικών ζυμογόνων με την ενεργοποίηση της θρυψίνης, η οποία στη συνέχεια ενεργοποιεί άλλα ζυμογόνα. Τα ενεργά ένζυμα φαίνονται με κίτρινο, τα ζυμογόνα με πορτοκαλί.

Μερικά πρωτεολυτικά ενζυμα έχουν ειδικούς αναστολείς

Η σταθερά διάστασης $K_d = 1/K$ για την σύνδεση είναι 0,1pM
Ο αναστολέας είναι εάν πολύ καλό ανάλογο του υποστρώματος αλλά με ημιζωή μερικών μηνών

Γιατί υπάρχει ο αναστολέας;

Ένα επιπλέον μέτρο προστασίας Μόρια θρυψίνης που έχουν ενεργοποιηθεί στο πάγκρεας θα μπορούσαν να καταστρέψουν σοβαρά αυτούς τους ιστούς (νέκρωση) ή αιμορραγία από ενεργοποίηση της ελαστάσης



Σύμπλοκο θρυψίνης-αναστολέα παγκρεατικής θρυψίνης

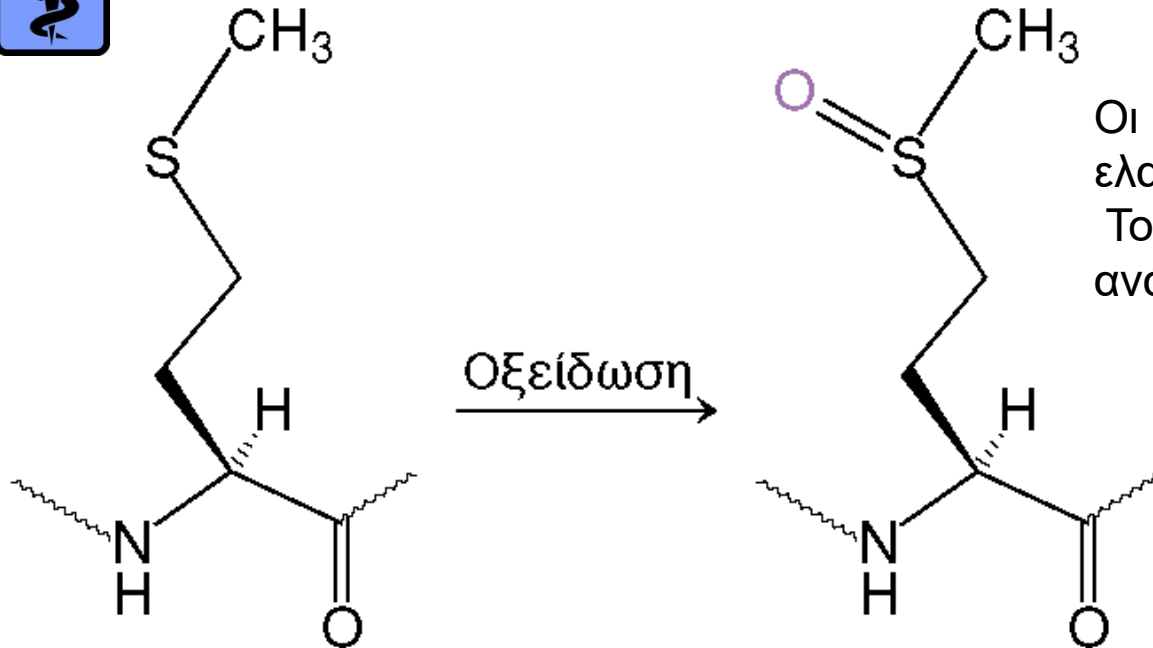
Ελεύθερος αναστολέας της παγκρεατικής θρυψίνης

Εικόνα 10.24 Αλληλεπίδραση της θρυψίνης με τον αναστολέα της. Δομή του συμπλόκου της θρυψίνης (κίτρινο) με τον αναστολέα της παγκρεατικής θρυψίνης (κόκκινο). Παρατηρήστε ότι η λυσίνη 15 του αναστολέα εισδύει στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Εκεί σχηματίζει μια γέφυρα άλατος με το ασπαραγινικό 189 στο ενεργό κέντρο. Παρατηρήστε επίσης ότι ο προσδεμένος και ο ελεύθερος αναστολέας έχουν σχεδόν πανομοιότυπη δομή. [Σχεδιασμένο από 1BPI.pdb.]

Ο αναστολέας της παγκρεατικής θρυψίνης δεν είναι μοναδικός

Αναστολέας της ελασάσης
(αντιθρυψίνη α1), προστατεύει
τους ιστούς από την ελασάση
(σκοπός καταστροφή βακτηριδίων
στους πνεύμονες)

Γενετικές ανωμαλίες **Lys53Glu** της αντιθρυψίνης α1
(πρωτεΐνη τύπου Z) οδηγούν σε μείωση της έκκρισης
από το ήπαρ, με αποτέλεσμα η περίσσεια ελασάσης
καταστρέφει τις ελαστικές ίνες στα κυψελιδικά
τοιχώματα των πνευμόνων (κλινικά ονομάζεται
εμφύσημα)



Οι κυψελίδες γίνονται λιγότερο
ελαστικές και χωράνε λιγότερο αέρα.
Το κάπνισμα αυξάνει την πιθανότητα
ανάπτυξης **εμφυσηματος**

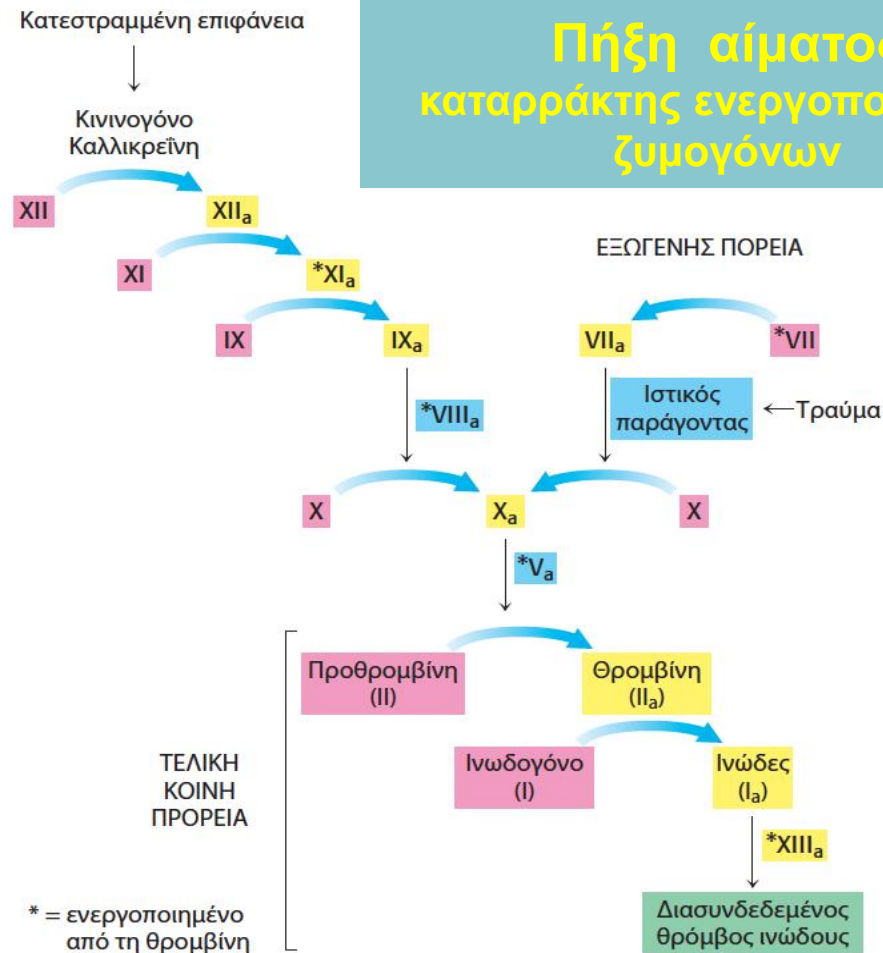
Αιτία: ο καπνός οξειδώνει την
Met 358 του αναστολέα και
παρεμποδίζει την πρόσδεση του
στην ελασάση

**ΕΙΚΟΝΑ 10.36 Οξειδωση της μεθειονίνης σε
σουλφοξειδίο.**

VIDEO

9 Patient Engagement Video- COPD

Πήξη αίματος καταρράκτης ενεργοποιήσεων ζυμογόνων



Ενεργοποίηση ενζύμων από ένζυμο
Τελική ενίσχυση κατά 10.000 φορές σε
τέσσερα βήματα
10.000 ένζυμα θα
χρησιζόταν 10.000 ενεργοποιητές
στο ίδιο σημείο τώρα έχουμε μόνο ένα
ένζυμο
**Αποτέλεσμα γρήγορη απόκριση (στο
τραύμα)**

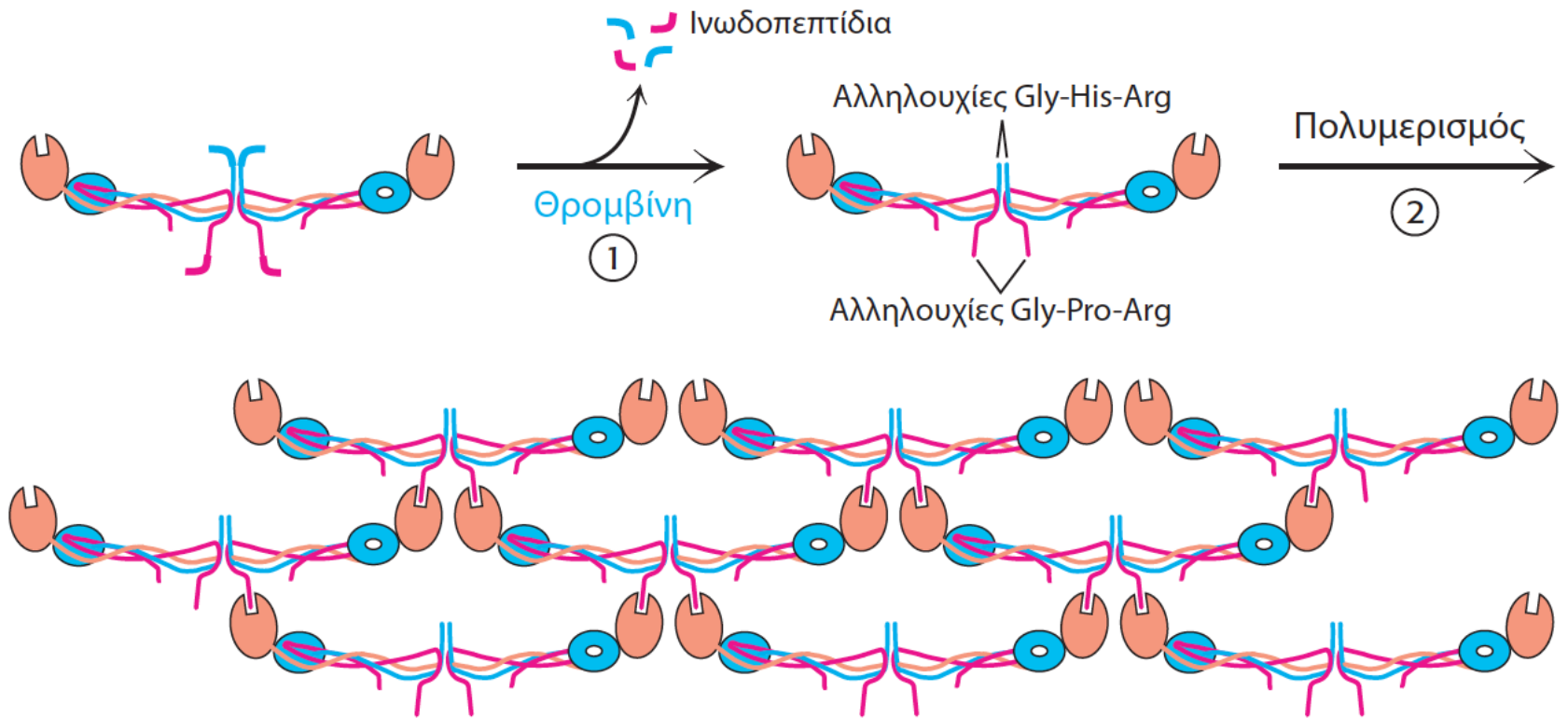
Εικόνα 10.26 Καταρράκτης της πήξης του αίματος. Σχηματίζεται ένας θρόμβος ινώδους από τη συνεργασία της ενδογενούς, της εξωγενούς και της τελικής κοινής πορείας. Η ενδογενής πορεία αρχίζει με την ενεργοποίηση του παράγοντα XII (παράγοντας Hageman), από την επαφή με ανώμαλες επιφάνειες που δημιουργούνται από την κάκωση. Το έναυσμα για την εξωγενή πορεία δίνεται από το τραύμα, το οποίο απελευθερώνει τον ιστικό παράγοντα (TF). Ο TF σχηματίζει ένα σύμπλοκο με τον παράγοντα VII, το οποίο εκκινεί τον καταρράκτη ενεργοποίησης της θρομβίνης. Η ανενεργός μορφή των παραγόντων της πήξης φαίνεται με κόκκινα ενεργοποιημένα τους ισοδύναμα (με τον δείκτη 'a') είναι κίτρινα. Οι διεγερτικές πρωτεΐνες που δεν είναι οι ίδιες ένζυμα υποδεικνύονται με μπλε πλαίσια. Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό αυτής της πορείας είναι ότι η ενεργοποιημένη μορφή ενός παράγοντα πήξης καταλύει την ενεργοποίηση του επόμενου παράγοντα.

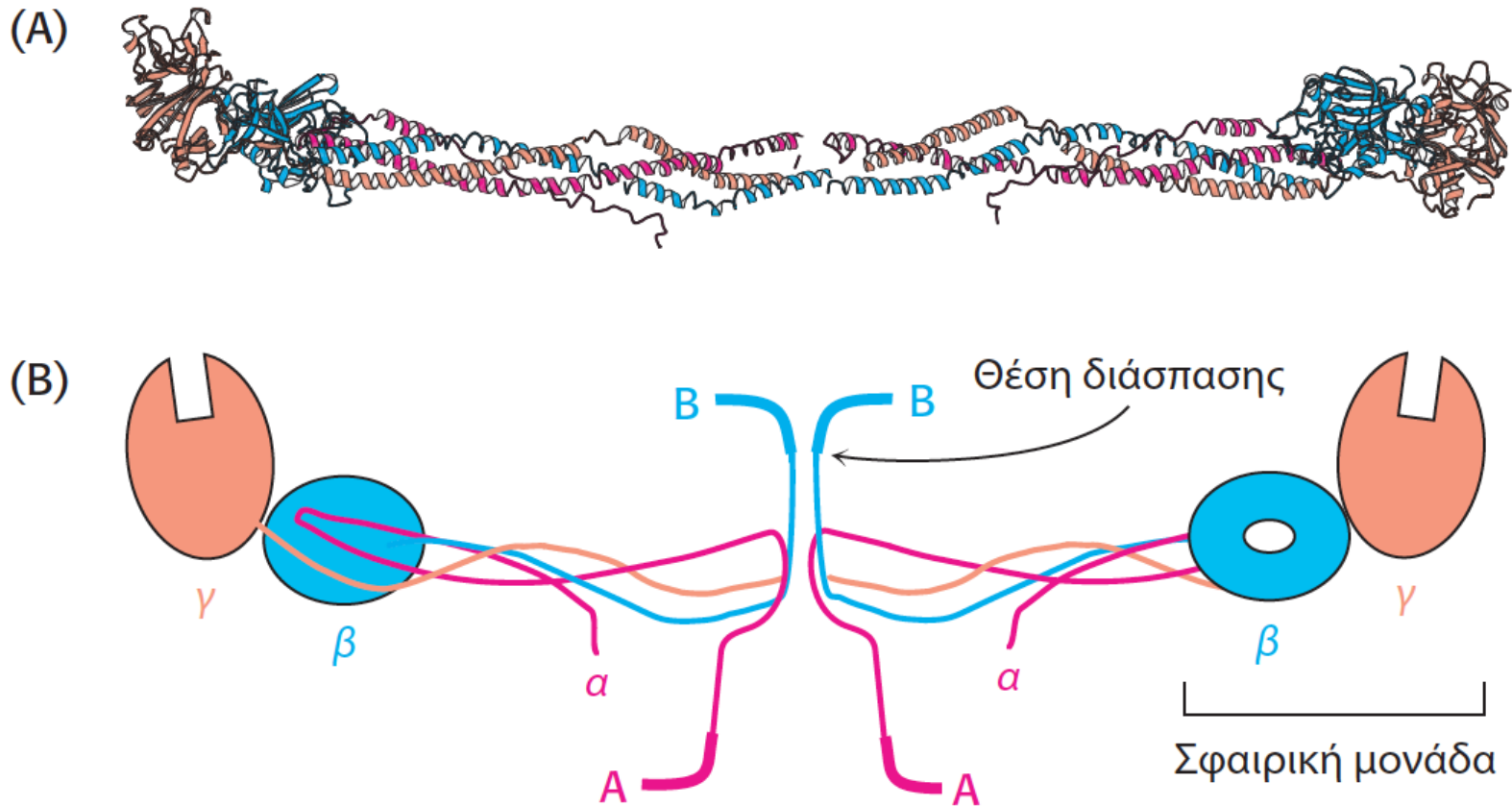
Η ενεργοποίηση του καταρράκτη ενζύμων είναι
Ενδογενής
(ενδοθηλιακή στιβάδα αιμοφόρα αγγεία)
ή εξωγενής
(τραυματισμένος ιστός)

VIDEO

10 Cloat

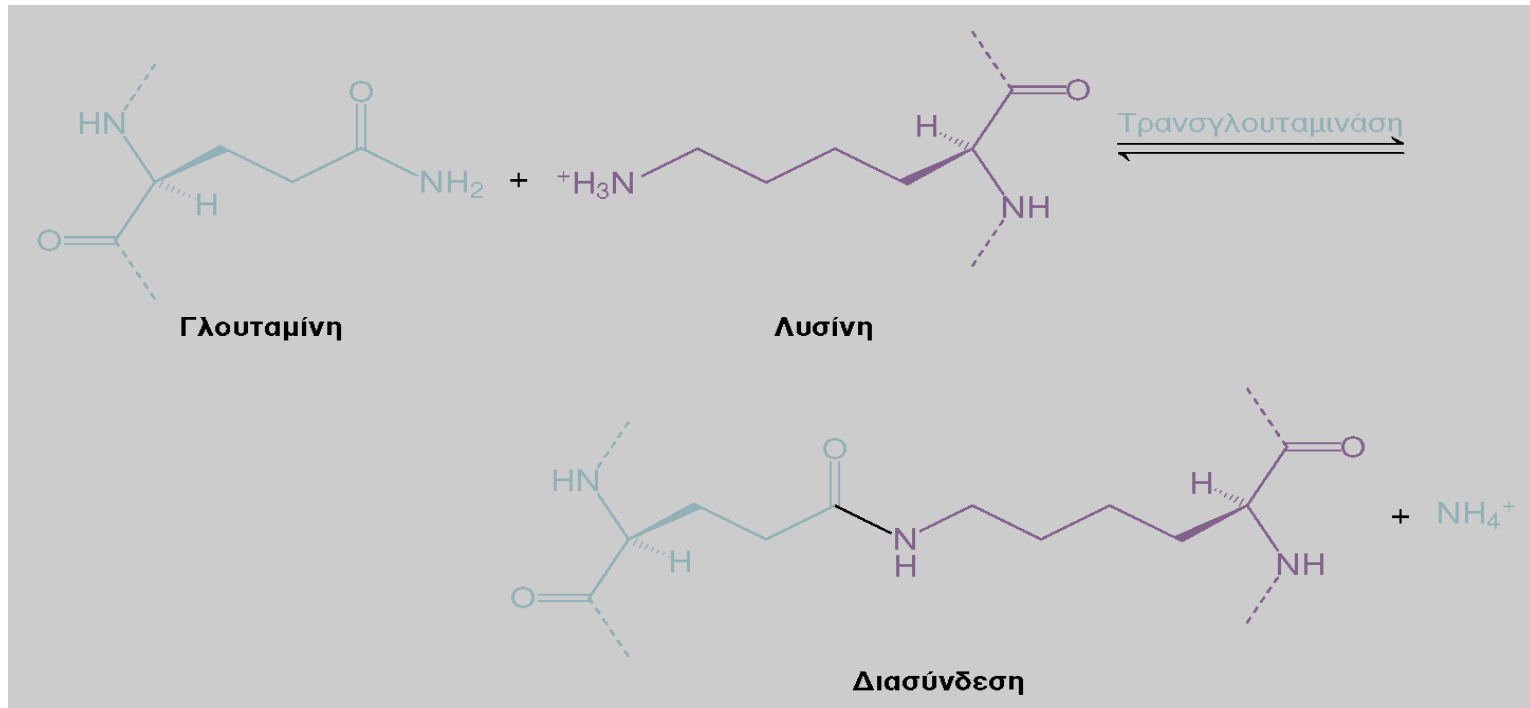
Το ινωδογόνο μετατρέπεται σε **θρόμβο** (ένζυμο **θρομβίνη**)





Εικόνα 10.27 Δομή ενός μορίου ινωδογόνου. (A) Διάγραμμα κορδέλας. Οι δύο περιοχές ράβδου είναι ελικοειδή σπειράματα α -έλικας, ενωμένα σε κάθε άκρο με μια σφαιρική περιοχή. Η δομή της κεντρικής σφαιρικής περιοχής δεν έχει προσδιοριστεί. (B) Σχηματική αναπαράσταση που δείχνει τις θέσεις των ινωδοπεπτιδίων A και B. [Το A σχεδιασμένο από 1DEQ.pdb.]

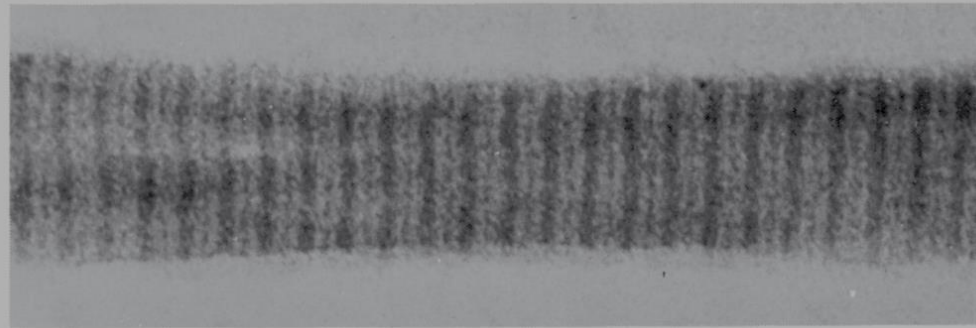
Τελευταίο βήμα οι γειτονικές αλυσίδες ενώνονται ομοιοπολικά



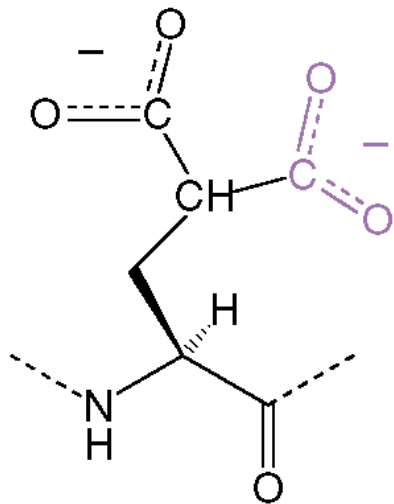
Θρόμβος

ΕΙΚΟΝΑ 10.39 Ηλεκτρονιομικρογραφία

ινώδους. Το διάστημα των 23 nm κατά μήκος του άξονα του ινώδους είναι το μισό μήκος ενός μορίου ινωδογόνου. [Ευγενική προσφορά Dr. Henry Slayter.]



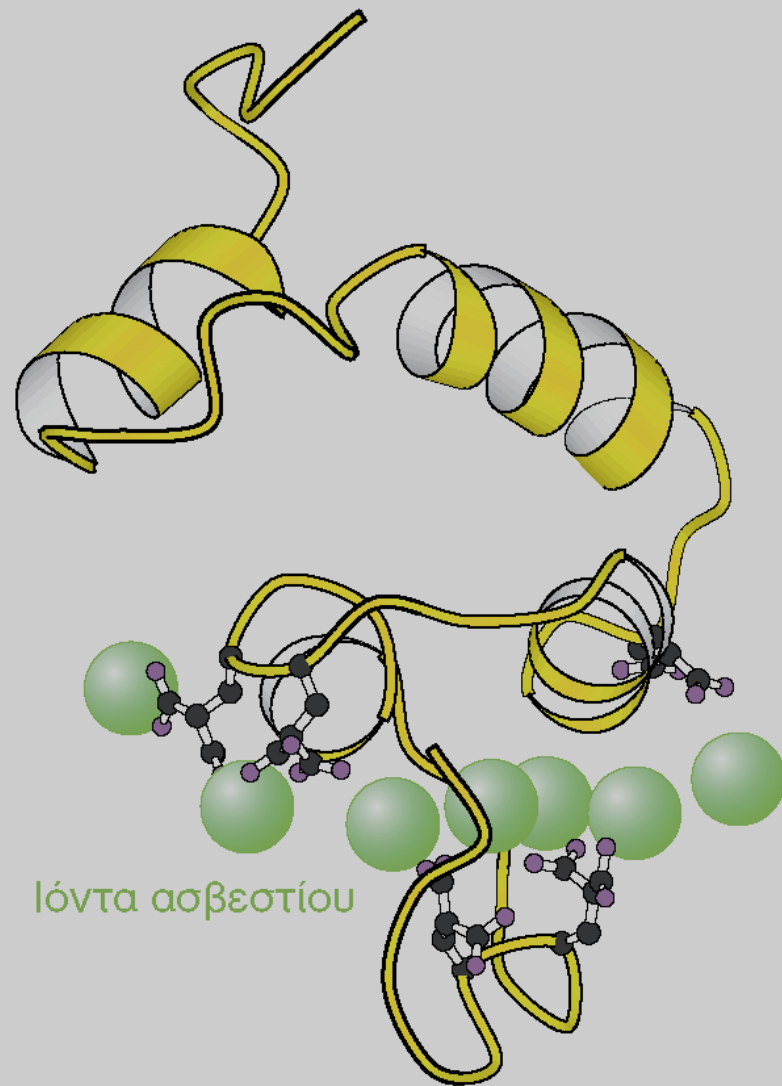
Η μη φυσιολογική **προθρομβίνη** (Πθρ) έχει τα ίδια αμινοξέα με την φυσιολογική (ανάλυση αμινοξέων δεν δείχνει διαφορές)
Η φυσιολογική έχει καρβοξυγλουταμινικού (κργλ) αντί για γλουταμινικό



Κατάλοιπο γ -καρβοξυγλουταμινικού

Για την σύνθεση καρβοξυγλουταμινικού χρειάζεται **βιταμίνη K**

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)



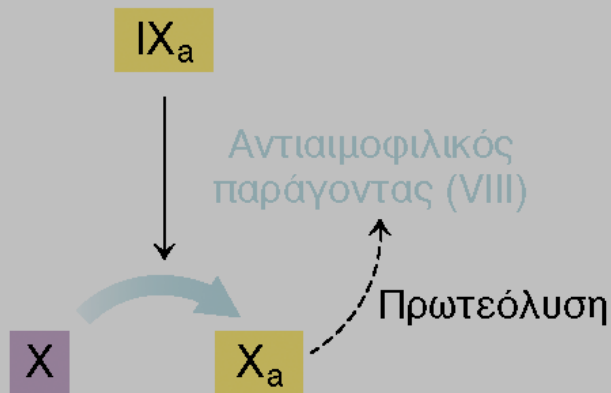
ΕΙΚΟΝΑ 10.43 Η περιοχή πρόσδεσης ασβεστίου της προθρομβίνης. Η προθρομβίνη προσδένει το ασβέστιο με το τροποποιημένο γ -καρβοξυγλουταμινικό οξύ.

Πολλοί μηχανισμοί και βιοχημικοί παράγοντες ανακαλύφθηκαν από παθολογικές καταστάσεις



Η αιμοφιλία αποκάλυψε ένα πρώιμο βήμα στην πήξη (παράγοντας VIII)

Στην κλασική αιμοφιλία ο παράγοντας VIII απουσιάζει ή έχει μειωμένη δραστικότητα



ΕΙΚΟΝΑ 10.44 Δράση του αντιαιμοφιλικού παράγοντα. Ο αντιαιμοφιλικός παράγοντας (VIII) διεγείρει την ενεργοποίηση του παράγοντα X από τον παράγοντα IX_a. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η δραστικότητα του παράγοντα VIII αυξάνεται αξιοσημείωτα με περιορισμένη πρωτεόλυση από τη θρομβίνη και τον παράγοντα X_a. Αυτή η θετική επανατροφοδότηση ενισχύει το σήμα της πήξης και επιταχύνει τον σχηματισμό του θρόμβου αφού έχει φθάσει στο ανώτατο όριο.

Στο παρελθόν οι αιμοφιλικοί νοσηλεύονταν με μεταγγίσεις πλάσματος (μολύνσεις AIDS, ηπατίτιδα)
Σήμερα ο παράγοντας VIII προέρχεται από ανασυνδεδεμένο DNA του που εκφράζεται σε κυτταροκαλλιέργειες

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

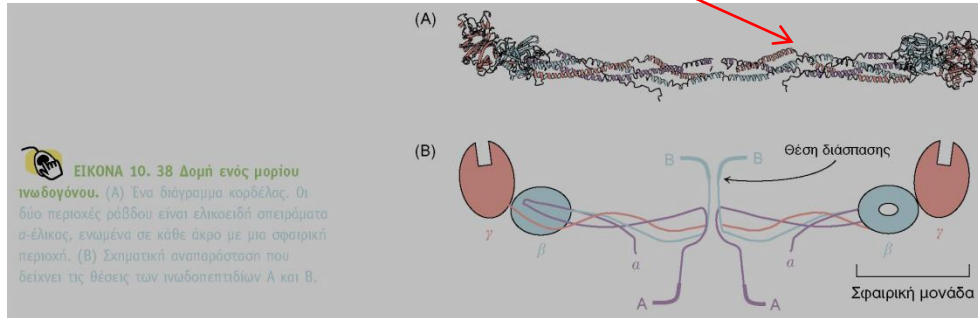
Η θρομβίνη ενεργοποιεί τον σχηματισμό του ινώδους και συγχρόνως δίνει το έναυσμα για απενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης

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

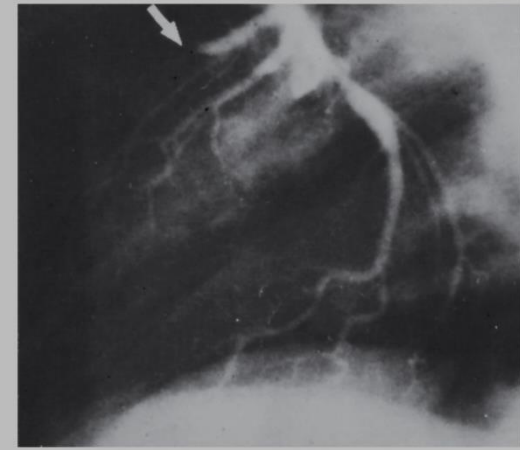
Οι θρόμβοι δεν είναι μόνιμες δομές πρέπει (είναι σχεδιασμένοι) να διαλύονται (μετά την αποκατάσταση των κατεστραμμένων ιστών)

Το ινώδες διαχωρίζεται από την πλασμίνη

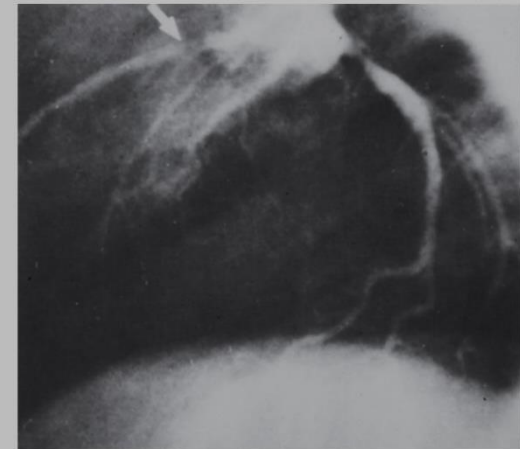
Υδρολύει πεπτιδικούς δεσμούς στην τρίτη έλικα της συνδετικής ράβδου



(A)



(B)



Η πλασμίνη σχηματίζεται από πρωτεολυτική υδρόλυση του **πλασμινογόνου**
Ανενεργό πρόδρομο με μεγάλη συγγένεια με τους θρόμβους ινώδους

Η μετατροπή επιτελείται από τον **ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (TPA)**

Αλλά υπάρχει και επιπλέον βήμα έλεγχου

Ο TPA όταν είναι συνδεδεμένος με τους θρόμβους ινώδους γρήγορα ενεργοποιεί το πλασμινογόνο αντίθετα ενεργοποιεί πολύ αργά το ελεύθερο

Ανακαλύπτοντας τον μοριακό μηχανισμό και τους ενζυμικούς παράγοντες μπόρεσε να βρεθεί θεραπεία για την **καρδιακή προσβολή (διάλυση θρόμβων)**

ΕΙΚΟΝΑ 10.47 Το αποτέλεσμα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου. Ο TPA οδηγεί στη διάλυση των θρόμβων του αίματος, όπως φαίνεται από τις εικόνες με ακτίνες X των στεφανιαίων αγγείων (Α) πριν και (Β) ώρες μετά τη χορήγηση του TPA. Η θέση του θρόμβου σημειώνεται με το βέλος στο μέρος Α. [Κατά F. Van de Werf, P. A. Ludbrook, S. R. Bergmann, A. J. Tiefenbrunn, K. A. A Fox, H. De Geest, M. Verstraete, D. Collen, και B. E. Sobel. *New Engl. J. Med.* 310(1984):609.]

VIDEO

11 tPA