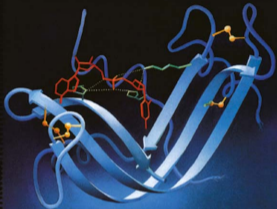


Ι.Γ. ΓΕΩΡΓΑΤΣΟΣ • Τ.Α. ΓΙΟΥΨΑΝΗΣ • Δ.Α. ΚΥΡΙΑΚΙΔΗΣ



Ενζυμολογία

 ΕΚΔΟΣΕΙΣ
ΖΗΤΗ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

Κάθε γνήσιο αντίτυπο φέρει την υπογραφή των συγγραφέων

Η εικόνα του εξωφύλλου είναι από το βιβλίο “Βιοχημεία” των O. Voet και S.G. Voet. Απεικονίζει τη δομή της RNase S απο σκώτι βοδιού. Το μη-υδρολυμένο δινουκλεοτίδιο UrcA είναι συνδεδεμένο με το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Η RNase S είναι μια δραστική μορφή της RNase A της οποίας έχει υδρολυθεί ο πεπτιδικός δεσμός μεταξύ του 20^{ου} και 21^{ου} αμινοξέος.

ISBN 960-431-748-2

© Copyright: Ι.Γ. Γεωργιάτσος - Τ.Α. Γιουψάνης - Δ.Α. Κυριακίδης, Εκδόσεις Ζήτη, Νοέμβριος 2001, Θεσσαλονίκη

Το παρόν έργο πνευματικής ιδιοκτησίας προστατεύεται κατά τις διατάξεις του Ελληνικού νόμου (Ν.2121/1993 όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει σήμερα) και τις διεθνείς συμβάσεις περί πνευματικής ιδιοκτησίας. Απαγορεύεται απολύτως η άνευ γραπτής άδειας του εκδότη κατά οποιοδήποτε τρόπο ή μέσο αντιγραφή, φωτοανατύπωση και εν γένει αναπαραγωγή, εκμίσθωση ή δανεισμός, μετάφραση, διασκευή, αναμετάδοση στο κοινό σε οποιαδήποτε μορφή (ηλεκτρονική, μηχανική ή άλλη) και η εν γένει εκμετάλλευση του συνόλου ή μέρους του έργου.



Φωτοστοιχειοθεσία
Εκτύπωση

Π. ΖΗΤΗ & ΣΙΑ ΟΕ

180 γλμ Θεσ/νίκης-Περαίας
Τ.Θ. 171 • Νέοι Επιβάτες Θεσσαλονίκης • Τ.Κ. 570 19
Τηλ.: 03920-72.222 (5 γραμ.) - Fax: 03920-72.229
e-mail: info@ziti.gr

Βιβλιοπωλείο

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΖΗΤΗ

Αρμενοπούλου 27 • 546 35 Θεσσαλονίκη
Τηλ. 0310-203.720, Fax 0310-211.305
e-mail: sales@ziti.gr

www.ziti.gr

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Πριν 25 χρόνια περίπου ένας από μας (Ι.Γ.Γ.) δημοσίευσε την πρώτη Ενζυμολογία για την εξυπηρέτηση ενός ομώνυμου εξαμηνιαίου μαθήματος στο Πανεπιστήμιο των Πατρών. Ακολούθησαν δύο εκδόσεις εκείνου του βιβλίου, η τελευταία το 1991. Το βιβλίο που έχει στα χέρια του ο αναγνώστης αποτελεί εξέλιξη εκείνου του βιβλίου.

Στο διάστημα αυτό οι γνώσεις μας για τα ένζυμα αυξήθηκαν εντυπωσιακά. Δημοσιεύτηκαν πολλές δομές ενζύμων, κλωνοποιήθηκαν πολλά από τα αντιστοιχα γονίδια και έγινε καλύτερα γνωστή η ρύθμιση των ενζύμων. Μελετήθηκε η αλληλεπίδραση τους με υποστρώματα ή τροποποιητές και έγιναν ευρύτερα γνωστές πολλές από τις εφαρμογές τους. Με την ανακάλυψη βιοκαταλυτών που δεν είναι μόνον πρωτεΐνες, αλλά και ριβονουκλεϊνικά οξέα (ριβόζυμα), έπεσε ακόμα ένα δόγμα την τελευταία εικοσαετία. Στο κεφάλαιο 18 εκτίθενται οι γνώσεις που έχουμε σήμερα σχετικά με τα ριβόζυμα.

Όλα τα κεφάλαια εκσυγχρονίστηκαν στην έκταση που απαιτούν οι εξελίξεις της επιστήμης αλλά και τον περιορισμό στην ύλη που πρέπει να έχει ένα βιβλίο που εξυπηρετεί ένα εξαμηνιαίο μάθημα. Με ιδιαίτερη χαρά δάσκαλος και μαθητές παραδίδουν το βιβλίο αυτό στην κριτική των φοιτητών τους.

Θεσσαλονίκη, Νοέμβριος 2001

*Ι.Γ. Γεωργιάτσος
Τ.Α. Γιουψάνης
Δ.Α. Κυριακίδης*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1^ο κεφάλαιο	
Ιστορική αναδρομή	9
2^ο κεφάλαιο	
Ονομασία και κατάταξη των ενζύμων.....	13
3^ο κεφάλαιο	
Δομή των ενζύμων.....	23
Εύρεση της αμινοξικής ακολουθίας των ενζύμων	31
4^ο κεφάλαιο	
Φύση και προσδιορισμός των ενζυμικών αντιδράσεων	35
Κριτήρια ενζυμικών αντιδράσεων.....	35
Ποσοτικός προσδιορισμός των ενζύμων.....	39
Μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού ενζυμικών αντιδράσεων.....	43
5^ο κεφάλαιο	
Καθαρισμός και απομόνωση των ενζύμων	49
Κριτήρια καθαρισμού και απομόνωσης των ενζύμων.....	49
Εκλογή μεθόδου προσδιορισμού της δράσης των ενζύμων.....	51
Πηγή ενζύμου	51
Εκχύλιση των ενζύμων.....	53
Μέθοδοι καθαρισμού των ενζύμων.....	56
Πρωτόκολλο καθαρισμού.....	66
Καθαρισμός ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών	67

6^ο κεφάλαιο

Ενζυμομηχανική	71
-----------------------------	-----------

7^ο κεφάλαιο

Ενεργητική των ενζυμικών αντιδράσεων	75
Θερμοδυναμική	75
Ομοιοπολική κατάλυση	76
Οξέος-βάσης και οξειδοαναγωγική κατάλυση	77
Κατάλυση με μεταλλικά ιόντα	79
Προσεγγιστική κατάλυση	80
Πώς δουλεύουν τα ένζυμα.....	80

8^ο κεφάλαιο

Ενζυμικές αντιδράσεις και μηχανισμοί τους	83
Αντιδράσεις οξειδοαναγωγής.....	84
Αντιδράσεις μεταφοράς ομάδων.....	94
Αντιδράσεις υδρόλυσης.....	105
Αντιδράσεις λυασών	111
Αντιδράσεις ισομερίωσης	115
Συνθετικές αντιδράσεις.....	115

9^ο κεφάλαιο

Ένζυμα μεταβολισμού νουκλεϊνικών οξέων	117
Νουκλεολυτικά ένζυμα	117
Εξειδικευμένες νουκλεάσες.....	118
Ένζυμα υδρόλυσης του RNA	119
Λιγάσες του DNA	121
Ελικάσες του DNA	121
Τοποϊσομεράσες.....	122
Πολυμεράσες του DNA.....	123
Τελομεράσες.....	125
Αντίστροφη τρانشκριπτάση	127
Ρεπλικάσες.....	128
RNA πολυμεράσες.....	128

10^ο κεφάλαιο

Πολλαπλές μορφές ενζύμων - Ισοένζυμα	131
Πρακτικές εφαρμογές της ανάλυσης των ισοενζύμων	134
Μη ισοενζυμικές μοριακές μορφές των ενζύμων	134

11^ο κεφάλαιο

Κινητική ενζυμικών αντιδράσεων	137
Επίδραση της συγκέντρωσης του υποστρώματος στην ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων	137
Επίδραση του pH στην ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων	149
Επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων	153
Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου στην ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων	154
Ενζυμικές αντιδράσεις με περισσότερα από ένα υποστρώματα	156

12^ο κεφάλαιο

Αναστολείς και ενεργοποιητές ενζυμικών αντιδράσεων	161
Αναστολείς	161
Ενεργοποιητές	171

13^ο κεφάλαιο

Το σύμπλοκο ενζύμου - υποστρώματος	177
Το ενεργό κέντρο	184

14^ο κεφάλαιο

Αλλοστερικά φαινόμενα	189
Αρνητική συνέργεια και αντιδραστικότητα των μισών κέντρων	201
Η βιολογική σημασία των αλλοστερικών φαινομένων	201

15^ο κεφάλαιο

Η εξειδίκευση των ενζύμων	207
Η στερεοεξειδίκευση των ενζύμων	210

16^ο κεφάλαιο

Ρυθμιστικοί μηχανισμοί βιοσύνθεσης ενζύμων	215
Μεταβολική μηχανική και ένζυμα	216

Ρυθμιστικοί μηχανισμοί ενζύμων	217
Μεταφορά και κυτταρική εντόπιση πρωτεϊνών	217
Επαγωγή της βιοσύνθεσης ενζύμων	217
Η λακτόζη ως πηγή ενέργειας στο βακτήριο <i>E. coli</i>	218
Έλεγχος βιοσύνθεσης ενζύμων από μεταβολίτες	221
Επαγωγή ενζύμων από το υπόστρωμα	222
Καταστολή ενζύμων από το προϊόν	223
Η δράση της γλυκόζης στην επαγωγή οπερονίων	224
Ρύθμιση της βιοσύνθεσης ενζύμων από ορμόνες	224
17^ο κεφάλαιο	
Ρύθμιση της δράσης των ενζύμων με ομοιοπολική τροποποίηση	
της δομής τους	227
Περιορισμένη πρωτεόλυση ζυμογόνων	227
Φωσφορυλίωση και αποφωσφορυλίωση ενζύμων	231
Φωσφατάσες φωσφοπρωτεϊνών	238
Άλλες αμφίδρομες ομοιοπολικές τροποποιήσεις της δομής των ενζύμων, εκτός από φωσφορυλίωση	240
18^ο κεφάλαιο	
RNA με καταλυτικές ιδιότητες	243
Δομή RNA και καταλυτική δράση	243
Αυτο-κοπτόμενα (self-splicing) μόρια RNA	244
Άλλα αυτοκαταλυτικά μόρια RNA	246
Ριβονουκλεοπρωτεϊνικά ένζυμα	247
19^ο κεφάλαιο	
Ένζυμα με βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον	249
A. Θερμοάαντοχα ένζυμα	249
B. Ένζυμα σε μη συμβατά μέσα	251
Βιβλιογραφία	255
Ευρετήριο	257

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Διεργασίες που σήμερα γνωρίζουμε ότι οφείλονται σε ένζυμα ήταν γνωστές από τους αρχαίους χρόνους ακόμα. Η παρασκευή τυριού, η δημιουργία κρασιού και ξιδιού καθώς και η ζύμωση του ψωμιού είναι γνώσεις της αρχαιότητας που συνεχίζουν ακόμη και σήμερα να εξυπηρετούν την ανθρωπότητα. Το 1783 ο Spallanzani παρατήρησε ότι το κρέας ρευστοποιείται από το γαστρικό υγρό του γερακιού, ενώ το 1787 ο Fabroni όρισε τη ζύμωση ως αποικοδόμηση μιας ουσίας από μία άλλη ουσία. Το 1814 ο Kirchhoff παρατήρησε ότι μία ουσία του σιταριού μπορεί να μετατρέψει το άμυλο σε σάκχαρο και δεξτρίνες. Η πρώτη περίπτωση ενζυμικής αντίδρασης που δημοσιεύθηκε είναι η διάσπαση του αμύλου από την αμυλάση. Το 1833 οι Payen και Persoz δημοσίευσαν ότι όταν πρόσθεταν αλκοόλη σ' εκχύλισμα βύνης, έπαιρναν ένα άμορφο ίζημα, που όταν το ξαναδιέλυαν ήταν σε θέση να διασπά το άμυλο. Τη δραστική ουσία του παρασκευάσματος, που σήμερα γνωρίζουμε ότι είναι η αμυλάση, οι δύο πιο πάνω ερευνητές ονόμασαν **διαστάση**. Το 1836 ο Schwans παρασκεύασε πεψίνη από το στομάχι χοίρων και στα αμέσως επόμενα έτη μεγάλα ονόματα της Χημείας και Φυσιολογίας, όπως οι Wöhler, Liebig, Berthelot και Claude Bernard, ασχολήθηκαν με τη μελέτη ουσιών βιολογικής προέλευσης που ήταν σε θέση να μετατρέπουν άλλες ενώσεις, πάλι βιολογικής προέλευσης.

Η διαίσθηση του Berzelius ήταν εκείνη που έβαλε την ενζυμολογία στο σωστό δρόμο. Το 1837 ο Berzelius δημοσίευσε ότι στους ζωντανούς οργανισμούς γίνονταν χιλιάδες **καταλυτικές** διεργασίες, που είχαν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πολλών χημικών ενώσεων. Το 1871, ο Pasteur έδειξε ότι η ζύμη, που από το 1837 κιάλας είχε αποδειχθεί από τους Gagniard-Latour, Schwann και Kunzig ότι ήταν ζωντανός οργανισμός, ήταν απαραίτητη για την αλκοολική ζύμωση. Ο Pasteur μάλιστα ονόμασε τη ζύμη, καθώς και τα βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ “οργανωμένα φυράματα”. Τα “οργανωμένα φυράματα”, κατά τον

Pasteur πάντα, δεν μπορούσαν να δράσουν έξω από τους οργανισμούς που τα δημιουργούσαν. Τα πειράματα του Pasteur απόδειξαν πόσο λαθεμένη ήταν η άποψη του Liebig, που δυστυχώς την υποστήριζε μέχρι το 1870, ότι δηλαδή η ζύμωση ήταν αποτέλεσμα καθαρά χημικών φαινομένων και οφειλόταν στην αστάθεια διαφόρων ουσιών από την επίδραση του αέρα στις αζωτούχες ενώσεις φυσικών χυμών. Ο Buchner το 1897 απόδειξε την ορθότητα των απόψεων του Pasteur, στη διαμάχη Liebig-Pasteur, μια και πέτυχε αλκοολική ζύμωση με εκχύλισμα ζύμης που δεν περιείχε ακέραια κύτταρα. Βέβαια και ο Pasteur δεν είχε δίκαιο, τουλάχιστον αναφορικά με την άποψή του για “οργανωμένα φυράματα”.

Ο όρος ένζυμο προτάθηκε το 1878 από τον Kuhne που έτσι ήθελε να δηλώσει ότι η ουσία που προκαλεί ζύμωση βρίσκεται “εν ζύμη”. Το 1894 ο Emil Fischer άρχισε μια σειρά από έρευνες που οδήγησαν στην ανακάλυψη της εξειδίκευσης των ενζύμων. Το 1897, ο Bertrand ανακάλυψε ότι, προκειμένου να δράσουν ορισμένα ένζυμα, απαιτούσαν την παρουσία χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεων, που μπορούσαν ν’ απομακρυνθούν από το παρασκεύασμα με διαπίδυση και τα ονόμασε “συνένζυμα”.

Η άποψη για την ύπαρξη του συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος προτάθηκε για πρώτη φορά το 1902 από τον Brown και τον Henri και εδραιώθηκε θεωρητικά από τους Michaelis και Menten το 1913. Οι Briggs και Haldane το 1924 επέκτειναν και γενίκευσαν τη θεωρία Michaelis-Menten.

Μέχρι την εποχή αυτή κανείς δεν ήταν βέβαιος για τη φύση των ενζύμων. Άλλοι πίστευαν ότι τα ένζυμα ήταν ουσίες ή και μίγματα ουσιών, χωρίς να γνωρίζουν τη φύση τους, κι άλλοι πίστευαν ότι ήταν απλές ιδιότητες που βρίσκονταν πάνω σε ορισμένους φορείς. Προκειμένου να δώσει απάντηση στο ερώτημα αυτό, ο Willstätter άρχισε το 1920 το σοβαρό καθαρισμό των ενζύμων. Δυστυχώς όμως, μετά από ορισμένα στάδια καθαρισμού δεν μπορούσε ν’ ανιχνεύσει οποιαδήποτε ουσία στο παρασκεύασμά του, μολονότι ανίχνευε ενζυμική δράση. Έτσι, είχε κι αυτός την τάση να πιστεύει ότι τα ένζυμα ήταν μάλλον ιδιότητες παρά ουσίες, ή το πολύ-πολύ κολλοειδή υλικά ενωμένα με μία χημικά δραστητική ομάδα. Σήμερα γνωρίζουμε ότι η αποτυχία του Willstätter οφειλόταν στη μικρή ευαισθησία των αναλυτικών μεθόδων που ο ερευνητής αυτός είχε τότε στη διάθεσή του. Η κρυστάλλωση του πρώτου ενζύμου, της ουριάσης, το 1926 από τον Sumner έπεσε σαν βόμβα στο βιοχημικό κόσμο της εποχής εκείνης. Ο Willstätter και άλλοι βιοχημικοί απόρριψαν το κατόρθωμα του Sumner και πίστευαν ότι είχε απομονώσει τον πρωτεϊνικό “φορέα” του ενζύμου. Το 1930 όμως ο Northrop απομόνωσε πεψίνη και την επόμενη δεκαετία οι Northrop και Kunitz κρυστάλλωσαν ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων, που όλα ήταν πρωτεΐνες.

Μέχρι την εποχή εκείνη σοβαρή δουλειά γινόταν μόνο στα ένζυμα της πέψης και της ζύμωσης. Μόνο λίγο πριν από το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο άρχισε η εντατική μελέτη των ενδοκυττάρων ενζύμων, που είναι τα πιο πολλά, αλλά και τα πιο σημαντικά μια και βοήθησαν στην εξιχνίαση πολλών βιοχημικών μηχανισμών μέσα στα κύτταρα.

Το 1960-61 ο Monod και Jacob προσδιόρισαν τους γενετικούς μηχανισμούς σύνθεσης των πρωτεϊνών και εξήγησαν με μαθηματικές εξισώσεις το αλλοστερικό φαινόμενο. Το 1966 επιτυγχάνεται η ακινητοποίηση ενζύμων από τους Ιάπωνες Chibota και Tonabe. Το 1968 ανακαλύπτονται τα ένζυμα περιορισμού που τόσο μεγάλη ώθηση έδωσαν στην Μοριακή Βιολογία και Βιοτεχνολογία. Το 1969 συντίθεται για πρώτη φορά ένζυμο. Στις αρχές του 1980 ο Sidney Altman και ο Thomas Cech ανακάλυψαν την ύπαρξη μορίων RNA με καταλυτικές ιδιότητες. Έτσι έπεσε ακόμα ένα δόγμα ότι δηλαδή όλοι οι βιοκαταλύτες είναι πρωτεΐνες. Συνεπώς με τον όρο ένζυμο εννοούμε τα βιολογικά μακρομόρια που παρουσιάζουν καταλυτική δράση αν και σ' αυτό το βιβλίο, όταν αναφερόμαστε σε ένζυμα, θα εννοούμε τους πρωτεϊνικής φύσης βιοκαταλύτες. Στο Κεφ. 18 θα εξετάσουμε και τους μη πρωτεϊνικούς καταλύτες.

Η επιστήμη της Ενζυμολογίας, όπως θα δούμε, έχει κάνει καταπληκτικές προόδους τα τελευταία 50 χρόνια, κυρίως λόγω της εφαρμογής της κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ στη διερεύνηση δομών και της ανάπτυξης διαφόρων τύπων φασματοφωτομετρίας για τη μελέτη κινητικών παραμέτρων. Μεγάλη ώθηση στη μελέτη της δομής και της κινητικής των ενζυμικών αντιδράσεων δόθηκε επίσης από την άμεση διάθεση στο εμπόριο κατάλληλα επισημασμένων ενώσεων και υποστρωμάτων. Η γνώση μας σχετικά με τους μηχανισμούς των ενζυμικών αντιδράσεων αυξάνει καθημερινά. Τα ένζυμα αποτέλεσαν μοχλούς ανάπτυξης νέων επιστημονικών κλάδων, όπως η *γενετική μηχανική του DNA*, η *πρωτεϊνική μηχανική*, η *ενζυμομηχανική* και η *μεταβολική μηχανική*. Η συνεχιζόμενη μελέτη των ενζύμων ίσως οδηγήσει στη ανάπτυξη *υπερκαταλυτών* για τη βιομηχανία, στην απομάκρυνση τοξικών ουσιών από ρυπογόνα απόβλητα, σε φάρμακα για θεραπεία ασθενειών κ.ά. Πολλές αρρώστιες είναι αποτέλεσμα της έλλειψης ενζύμων ή παρουσίας ελαττωματικών ενζύμων. Η έρευνα στην περιοχή αυτή σύντομα θα μας δώσει τη δυνατότητα διόρθωσης ανωμαλιών ή ακόμα και δημιουργίας υποκατάστατων αυτών των τόσο χρήσιμων μορίων.

Ο Πίνακας 1.1 δείχνει επιλεκτικά μερικά από τα πλέον σημαντικά ευρήματα στο πεδίο της Ενζυμολογίας.

Τα καταλυτικά αντισώματα που έχουν τη δυνατότητα να καταλύουν εξειδικευμένες αντιδράσεις, μπορεί να θεωρηθούν ως ένζυμα αν και όλες οι αντιδράσεις που καταλύουν δεν παρουσιάζουν βιολογικό ενδιαφέρον.

Πίνακας 1.1. Σύντομο ιστορικό σημαντικών ανακαλύψεων στην Ενζυμολογία.

Χρόνος	Ερευνητές	Επιστημονικό επίτευγμα
1833	Payen, Persoz	Παρατηρούν ενζυμική δράση στο δοκιμαστικό σωλήνα
1878	Kuhne	Εισάγει τον όρο ένζυμο (εν ζύμη)
1897	Buchner	Απόδειξη ότι τα ένζυμα δρουν και έξω από κύτταρα
1898	Duclaux	Εισάγει την ονοματολογία των ενζύμων
1890	Fischer	Προτείνει μοντέλο «κλειδί-κλειδαριάς»
1913	Michaelis και Menten	Μαθηματικό μοντέλο κινητικής ενζυμικών αντιδράσεων
1920	Willstätter	Το πρώτο καθαρό ένζυμο
1926	Sumner	Πρώτη κρυστάλλωση ενζύμου (ουριάση) - Απόδειξη πρωτεϊνικής φύσης ενζύμων
1941	Beadle και Tatum	Αντιστοιχία ενός γονιδίου προς ένα ένζυμο
1948	Pauling	Θεωρία μεταβατικής κατάστασης ενζύμων
1951	Pauling, Corey	Ανακάλυψη της α-έλικας και του β-ελάσματος στη δομή ενζύμων
1953	Sanger	Πρώτη ανάλυση αλληλουχίας αμινοξέων σε πρωτεΐνη (ινσουλίνη)
1961	Perutz, Kendrew	Δομή της μυοσφαιρίνης με ακτίνες-X
1961	Monod, Changeaux και Jacob	Ανακάλυψη αλλοστερισμού
1986	Cech, Altman	Καταλυτικά RNA-Ριβόζυμα
1986	Lerner, Schultz	Καταλυτικά αντισώματα

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι οι μέρες δόξας της Ενζυμολογίας δεν είναι πίσω μας, αλλά μπροστά μας.

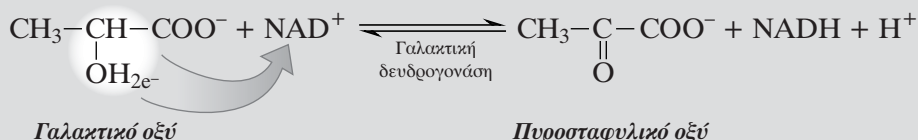
ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Στα ένζυμα δίδονται ονόματα που μας επιτρέπουν να τα ταξινομούμε. Η επιστημονική εταιρεία που είναι υπεύθυνη για την ονοματολογία και κατάταξη των ενζύμων είναι η Διεθνής Ένωση Βιοχημείας η οποία έχει συγκροτήσει μια Επιτροπή για την Ονομασία και Κατάταξη των Ενζύμων, που κατά περιόδους δημοσιεύει ενημερωτικά άρθρα σχετικά με την Ονοματολογία των Ενζύμων. Σύμφωνα με την επιτροπή αυτήν υπάρχουν τρεις αποδεκτοί τρόποι για να αναφερθεί κάποιος σε ένα ένζυμο: ο *κωδικός αριθμός EC*, το *συστηματικό όνομα* και το *κοινό όνομα*. Ο αριθμός EC (Enzyme Commission) δίδεται με βάση μια συστηματική μέθοδο κατάταξης των ενζύμων. Αποτελείται πάντα από τα γράμματα EC που ακολουθούνται από τέσσερις αριθμούς χωρισμένους με τελείες. Για παράδειγμα, EC 1.1.1.1 αντιπροσωπεύει την αλκοολική δεϋδρογονάση. Ο πρώτος αριθμός αναφέρεται στην κατηγορία του ενζύμου όπως θα τη δούμε πάρα κάτω. Η πληροφορία αυτή δείχνει το γενικό τύπο της αντίδρασης που καταλύει το ένζυμο. Ο δεύτερος αριθμός δείχνει την υποκατηγορία του ενζύμου. Ο τρίτος αριθμός δείχνει την υποκατηγορία της υποκατηγορίας. Θα πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι οι υποκατηγορίες δείχνουν διαφορετικά ένζυμα στις διάφορες κατηγορίες. Ο τελευταίος αριθμός είναι ο αριθμός σειράς του ενζύμου που αναφέρεται σε ένα μοναδικό χαρακτηριστικό του ενζύμου.

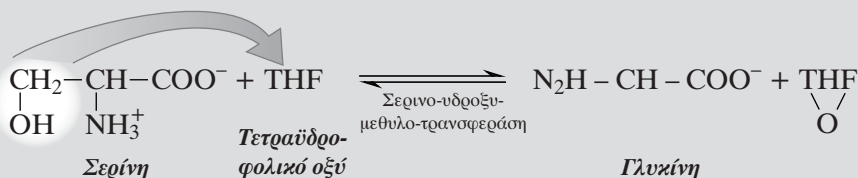
Τα συστηματικά ονόματα αποτελούνται από δύο μέρη. Το ένα είναι το όνομα του υποστρώματος, και στην περίπτωση διμοριακών αντιδράσεων, τα ονόματα των υποστρωμάτων μ' ένα δίστιγμο μεταξύ τους. Εάν τυχόν χρειάζονται περισσότερες πληροφορίες για το χαρακτηρισμό του ενζύμου, τις βάζουμε σε παρένθεση στο τέλος της συστηματικής ονομασίας. Το άλλο μέρος, που καταλήγει σε **-αση**, αναφέρεται στη φύση της αντίδρασης που καταλύεται από το ένζυμο. Τα κοινά ονόματα μοιάζουν πολύ με τα συστηματικά, αλλά περιέχουν

1. Οξειδοαναγωγάσες

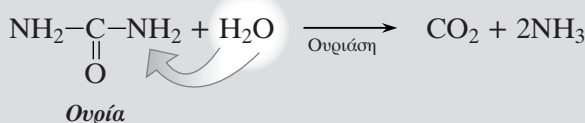
Καταλύουν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, όπως:

**2. Τρανσφεράσες**

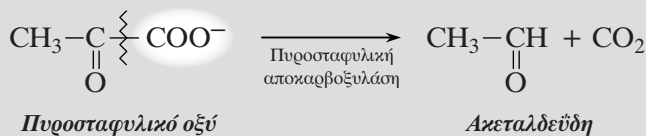
Καταλύουν μεταφορά ομάδων όπως:

**3. Υδρολάσες**

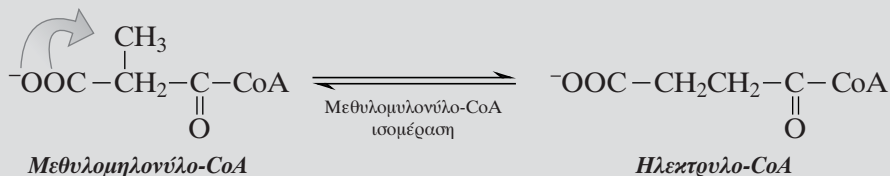
Καταλύουν διάσπαση δεσμών με παρεμβολή νερού, όπως:

**4. Λυάσες**

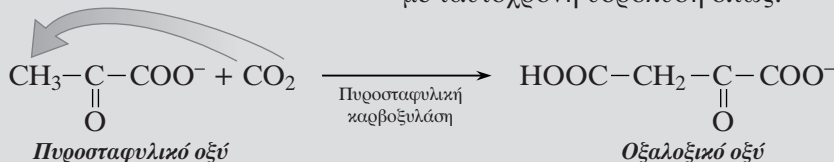
Καταλύουν διάσπαση δεσμών χωρίς την παρεμβολή νερού, όπως:

**5. Ισομεράσες**

Καταλύουν αντιδράσεις ισομερίωσης όπως:

**6. Λιγάσες**

Καταλύουν το σχηματισμό δεσμών, με ταυτόχρονη υδρόλυση όπως:



Σχ. 2.1. Παραδείγματα των έξι κυρίων κατηγοριών των ενζύμων.

πολύ λιγότερη λεπτομέρεια και τις απόλυτα απαραίτητες πληροφορίες, για να μπορούμε να συνεννοούμαστε. Ορισμένα πρωτεολυτικά ένζυμα κρατούν την κατάληξη **-ινη** αντί της **-ασης** για καθαρά ιστορικούς λόγους. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις, όπως είπαμε η κατάληξη **-αση** ακολουθεί την ονομασία της αντίδρασης που καταλύει το ένζυμο. Στον πίνακα 2.1 δίνονται παραδείγματα κοινής και συστηματικής ονομασίας ορισμένων ενζύμων.

Όσον αφορά την κατάταξη των ενζύμων η αρμόδια επιτροπή της Διεθνούς Ένωσης Βιοχημείας κατέταξε τα ένζυμα σε 6 μεγάλες κατηγορίες, που κάθε μία υποδιαιρείται σε ομάδες, αυτές δε σε υποομάδες κ.ο.κ. Ανάλογα με την κατηγορία, την ομάδα κ.λπ., που ανήκει κάθε ένζυμο, προσδιορίζεται από τον κωδικό του αριθμό.

Πίνακας 2.1. Κοινή και συστηματική ονομασία ορισμένων ενζύμων

Κοινή ονομασία	Συστηματική ονομασία
Γαλακτική δεϋδρογονάση	Οξειδοαναγωγή των γαλακτικού: NAD
Καταλάση	Οξειδοαγωγή των υπεροξειδίου: υπεροξειδίου του υδρογόνου
Γαλακτική 2-μονοοξυγονάση	2-Οξειδοαναγωγή των L-γαλακτικού: οξυγόνου (αποκαρβοξυλίωση)
Φωσφορυλάση	α-Γλυκοσυλτρανσφεράση των 1,4 α-D-γλυκάνης: ορθοφωσφορικού
Αμινοτρανσφεράση ή τρανσαμινάση της αλανίνης	Αμινοτρανσφεράση των L-αλανίνης: 2-οξογλουταρικού
Εξοκινάση	6-Φωσφοτρανσφεράση των ATP: D-εξόζης
Αλκαλική φωσφατάση	Φωσφοϋδρολάση ορθοφωσφορικών μονοεστέρων (αλκαλικό βέλτιστο)
Όξινη φωσφατάση	Φωσφοϋδρολάση ορθοφωσφορικών μονοεστέρων (όξινο βέλτιστο)
Αποκαρβοξυλάση του οξαλικού	Καρβοξυ-λυάση του οξαλοξικού
Ταντομεράση του οξαλοξικού	Κετο-ενολ-ισομεράση του οξαλοξικού
Συνθετάση της γλουταθειώνης	Λιγάση των γ-L-γλουταμυλ-L-κυστεΐνης-γλυκίνης (δημιουργία ADP)

1. Οξειδοαναγωγάσες (ή οξειδοοεδουκτάσες)

- 1.1. Δρουν σε ομάδα CHOH του δότη
 - 1.1.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
 - 1.1.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.1.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.1.4. Με δισουλφίδιο ως αποδέκτη
 - 1.1.5. Με κάποια κίνηση ή συγγενή ένωση ως αποδέκτη
 - 1.1.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.2. Δρουν σε αλδεΐδομάδα ή κετονομάδα του δότη
 - 1.2.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
 - 1.2.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.2.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.2.4. Με δισουλφιδική ένωση ως αποδέκτη
 - 1.2.7. Με σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως αποδέκτη
 - 1.2.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.3. Δρουν σε ομάδα CH-CH του δότη
 - 1.3.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
 - 1.3.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.3.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.3.5. Με κάποια κίνηση ή συγγενή ένωση ως αποδέκτη
 - 1.3.7. Με σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως αποδέκτη
 - 1.3.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.4. Δρουν σε ομάδα CH-NH_2 του δότη
 - 1.4.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
 - 1.4.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.4.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.4.4. Με δισουλφιδική ένωση ως αποδέκτη
 - 1.4.7. Με σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως αποδέκτη
 - 1.4.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.5. Δρουν σε ομάδα CH-NH του δότη
 - 1.5.1. Με αποδέκτη NAD^+ ή NADP^+
 - 1.5.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.5.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.6. Δρουν στο NADH ή NADPH
 - 1.6.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
 - 1.6.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.6.4. Με δισουλφιδική ένωση ως αποδέκτη

- 1.6.5. Με κάποια κινόνη ή συγγενή ένωση ως αποδέκτη
- 1.6.6. Με αζωτούχο ομάδα ως αποδέκτη
- 1.6.8. Με κάποια φλαβίνη ως αποδέκτη
- 1.6.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.7. Δρουν σε άλλες αζωτούχες ενώσεις ως δότες
 - 1.7.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.7.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.7.7. Με σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως αποδέκτη
 - 1.7.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.8. Δρουν σε θειούχες ομάδες των δοτών
 - 1.8.1. Με NAD^+ ή $NADP^+$ ως αποδέκτη
 - 1.8.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.8.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.8.4. Με δισουλφιδική ένωση ως αποδέκτη
 - 1.8.5. Με κινόνη ή συγγενή ένωση ως αποδέκτη
 - 1.8.7. Με σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως αποδέκτη
 - 1.8.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.9. Δρουν στην ομάδα της αίμης ως δότη
 - 1.9.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.9.6. Με αζωτούχο ομάδα ως αποδέκτη
 - 1.9.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.10. Δρουν σε διφαινόλες ή συγγενείς ενώσεις ως δότες
 - 1.10.1. Με NAD^+ ή $NADP^+$ ως αποδέκτη
 - 1.10.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
 - 1.10.3. Με O_2 ως αποδέκτη
 - 1.10.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.11. Δρουν στο H_2O_2 ως δότη
 - 1.11.1. Με H_2O_2 ως αποδέκτη
- 1.12. Δρουν στο υδρογόνο ως δότη
 - 1.12.1. Με NAD^+ ή $NADP^+$ ως αποδέκτη
 - 1.12.2. Με κάποιο κυτόχρωμα ως αποδέκτη
- 1.13. Δρουν σε ένα δότη μ' ενσωμάτωση μοριακού οξυγόνου (οξυγονάσες)
 - 1.13.11. Μ' ενσωμάτωση δύο ατόμων οξυγόνου
 - 1.13.12. Μ' ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
 - 1.13.99. Διάφορα (απαιτούν παραπέρα χαρακτηρισμό)
- 1.14. Δρουν σε ζεύγος από δότες μ' ενσωμάτωση μοριακού οξυγόνου
 - 1.14.11. Με α-κετογλουταρικό ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου

- οξυγόνου σε καθένα από τους δύο δότες
- 1.14.12. Με NADH ή NADPH ως ένα δότη και ενσωμάτωση δύο ατόμων οξυγόνου σε ένα δότη
- 1.14.13. Με NADH ή NADPH ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.14.14. Με αναγμένη φλαβίνη ή φλαβινοπρωτεΐνη ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.14.15. Με αναγμένη σιδηροθειούχο πρωτεΐνη ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.14.16. Με αναγμένη περιδίνη ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.14.18. Με κάποια άλλη ένωση ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.14.99. Με κάποια άλλη ένωση ως ένα δότη και ενσωμάτωση ενός ατόμου οξυγόνου
- 1.15. Δρουν σε ρίζες υπεροξειδίων ως αποδέκτη
- 1.16. Οξειδώνουν μεταλλικά ιόντα
- 1.16.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
- 1.16.3. Με O_2 ως αποδέκτη
- 1.17. Δρουν σε ομάδες $-\text{CH}_2-$
- 1.17.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
- 1.17.3. Με O_2 ως αποδέκτη
- 1.17.4. Με δισουλφιδική ένωση ως αποδέκτη
- 1.17.99. Με άλλους αποδέκτες
- 1.18. Δρουν σε αναγμένη φερροδοξίνη ως δότη
- 1.18.1. Με NAD^+ ή NADP^+ ως αποδέκτη
- 1.18.6. Με N_2 ως αποδέκτη
- 1.19. Δρουν σε αναγμένη φλαβοδοξίνη ως δότη
- 1.19.6. Με N_2 ως αποδέκτη
- 1.19.7. Άλλες οξειδοαναγωγάσες

2. Τρανσφεράσες

- 2.1. Μεταφέρουν μονοανθρακικές ομάδες
- 2.1.1. Μεθυλτρανσφεράση
- 2.1.2. Υδροξυμεθυλ-, φορμυλο- και συγγενείς τρανσφεράσες
- 2.1.3. Καρβοξυλ- και καρβαμοϋλτρανσφεράσες
- 2.1.4. Αμιδινοτρανσφεράσες (τρανσαμιδινάσες)

- 2.2. Μεταφέρουν αλδεϋδικές και κετονικές ομάδες
 - 2.2.1. Τρανσκετολάσες και τρανσαλδολάσες
- 2.3. Μεταφέρουν ακυλομάδες (ακυλτρανσφεράσες)
 - 2.3.1. Ακυλτρανσφεράσες
 - 2.3.2. Αμινοακυλτρανσφεράσες
- 2.4. Μεταφέρουν γλυκοσυλομάδες (γλυκοσυλτρανσφεράσες)
 - 2.4.1. Εξοζυλτρανσφεράσες
 - 2.4.2. Πεντοζυλτρανσφεράσες
 - 2.4.99. Μεταφέρουν άλλες γλυκοσυλομάδες
- 2.5. Μεταφέρουν αλκυλ- ή αρυλομάδες εκτός από μεθυλομάδες
- 2.6. Μεταφέρουν αζωτούχες ομάδες
 - 2.6.1. Αμινοτρανσφεράσες (τρανσαμινάσες)
 - 2.6.3. Οξιμινοτρανσφεράσες
 - 2.6.99. Μεταφέρουν άλλες αζωτούχες ομάδες
- 2.7. Μεταφέρουν φωσφορικές ομάδες (εκεί που ο δότης φωσφορικών είναι ATP ονομάζονται **κινάσες**)
 - 2.7.1. Φωσφοτρανσφεράσες με αλκοολική ομάδα ως αποδέκτη
 - 2.7.2. Φωσφοτρανσφεράσες με καρβοξυλομάδα ως αποδέκτη
 - 2.7.3. Φωσφοτρανσφεράσες με αζωτούχο ομάδα ως αποδέκτη
 - 2.7.4. Φωσφοτρανσφεράσες με φωσφορική ομάδα ως αποδέκτη
 - 2.7.6. Διφωσφοτρανσφεράσες
 - 2.7.8. Τρανσφεράσες για άλλες υποκαταστημένες φωσφορικές ομάδες
 - 2.7.9. Φωσφοτρανσφεράσες με ζεύγος αποδεκτών
- 2.8. Μεταφέρουν ομάδες που περιέχουν θείο
 - 2.8.1. Θειοτρανσφεράσες (μεταφέρουν άτομα θείου)
 - 2.8.2. Σουλφοτρανσφεράσες (μεταφέρουν θειικές ομάδες)
 - 2.8.3. Τρανσφεράσες συνενζύμου A

3. Υδρολάσες

- 3.1. Δρουν σε εστερικούς δεσμούς
 - 3.1.1. Υδρολάσες καρβοξυλεστέρων
 - 3.1.2. Υδρολάσες θειεστέρων
 - 3.1.3. Υδρολάσες φωσφορικών μονοεστέρων
 - 3.1.4. Υδρολάσες φωσφορικών διεστέρων
 - 3.1.5. Υδρολάσες τριφωσφορικών μονοεστέρων
 - 3.1.6. Υδρολάσες θειικών εστέρων
 - 3.1.7. Υδρολάσες διφωσφορικών μονοεστέρων

- 3.1.11. Εξωδεοξυριβονουκλεάσες που παράγουν 5' -φωσφομονοεστέρες
- 3.1.13. Εξωριβονουκλεάσες που παράγουν 5' -φωσφομονοεστέρες
- 3.1.14. Εξωριβονουκλεάσες που παράγουν φωσφομονοεστέρες εκτός από 5'
- 3.1.15. Εξωνουκλεάσες που δρουν τόσο σε ριβο- όσο και σε δεοξυριβονουκλείνικά οξέα και παράγουν 5' -φωσφομονοεστέρες
- 3.1.16. Εξωνουκλεάσες που δρουν τόσο σε ριβο- όσο και σε δεοξυριβονουκλείνικά οξέα και παράγουν φωσφομονοεστέρες εκτός από 5'
- 3.1.21. Ενδοδεοξυριβονουκλεάσες που παράγουν 5' -φωσφομονοεστέρες
- 3.1.22. Ενδοδεοξυριβονουκλεάσες που παράγουν φωσφομονοεστέρες εκτός από 5'
- 3.1.25. Ενδοδεοξυριβονουκλεάσες με εξειδίκευση απέναντι σε τροποποιημένες βάσεις
- 3.1.26. Ενδοριβονουκλεάσες που παράγουν 5' -φωσφομονοεστέρες
- 3.1.27. Ενδοριβονουκλεάσες που παράγουν φωσφομονοεστέρες εκτός από 5'
- 3.1.30. Ενδονουκλεάσες που δρουν τόσο σε ριβο- όσο και σε δεοξυριβονουκλείνικά οξέα
- 3.2. Δρουν σε γλυκοσυλ- ενώσεις
 - 3.2.1. Υδρολύουν Ο-γλυκοσυλ- ενώσεις
 - 3.2.2. Υδρολύουν Ν-γλυκοσυλ- ενώσεις
 - 3.2.3. Υδρολύουν S-γλυκοσυλ- ενώσεις
- 3.3. Δρουν σε αιθερικούς δεσμούς
 - 3.3.1. Υδρολάσες θειαιθέρων
 - 3.3.2. Υδρολάσες αιθέρων
- 3.4. Δρουν σε πεπτιδικούς δεσμούς
 - 3.4.11. Υδρολάσες α-αμινοακυλ-πεπτιδίων
 - 3.4.13. Υδρολάσες διπεπτιδίων
 - 3.4.14. Υδρολάσες διπεπτιδυλπεπτιδίων
 - 3.4.15. Υδρολάσες πεπτιδυλδιπεπτιδίων
 - 3.4.16. Καρβοξυπεπτιδάσες σερίνης
 - 3.4.17. Μεταλλο-καρβοξυπεπτιδάσες
 - 3.4.18. Καρβοξυπεπτιδάσες κυστεΐνης
 - 3.4.19. Ωμέγα πεπτιδάσες
 - 3.4.21. Πρωτεΐνάσες σερίνης
 - 3.4.22. Πρωτεΐνάσες κυστεΐνης
 - 3.4.23. Πρωτεΐνάσες ασπαραγινικού
 - 3.4.24. Μεταλλοπρωτεΐνάσες

- 3.4.99. Πρωτεϊνάσες άγνωστου καταλυτικού μηχανισμού
- 3.5. Δρουν σε δεσμούς άνθρακα - αζώτου, εκτός του πεπτιδικού
 - 3.5.1. Δρουν σε γραμμικά αμίδια
 - 3.5.2. Δρουν σε κυκλικά αμίδια
 - 3.5.3. Δρουν σε γραμμικές αμιδίνες
 - 3.5.4. Δρουν σε κυκλικές αμιδίνες
 - 3.5.5. Δρουν σε νιτρίλια
 - 3.5.99. Δρουν σε άλλες ενώσεις
- 3.6. Δρουν σε ανυδρίτες οξέων
 - 3.6.1. Δρουν σε ανυδρίτες που περιέχουν φωσφορυλομάδα
 - 3.6.2. Δρουν σε ανυδρίτες που περιέχουν σουλφονυλομάδα
- 3.7. Δρουν σε δεσμούς άνθρακα - άνθρακα
 - 3.7.1. Δρουν σε κετονικές ενώσεις
- 3.8. Δρουν σε δεσμούς αλογόνων
 - 3.8.1. Δρουν σε C-αλογονούχους ενώσεις
 - 3.8.2. Δρουν σε P-αλογονούχους ενώσεις
- 3.9. Δρουν σε δεσμούς φωσφόρου - αζώτου
- 3.10. Δρουν σε δεσμούς άνθρακα - θείου
- 3.11. Δρουν σε δεσμούς άνθρακα - φωσφόρου

4. Λυάσες

- 4.1. Λυάσες άνθρακα - άνθρακα
 - 4.1.1. Καρβοξυ-λυάσες
 - 4.1.2. Αλδεΰδο-λυάσες
 - 4.1.3. Κετοξυ-λυάσες
 - 4.1.99. Άλλες λυάσες άνθρακα - άνθρακα
- 4.2. Λυάσες άνθρακα - οξυγόνου
 - 4.2.1. Υδρο-λυάσες
 - 4.2.2. Δρουν σε πολυσαχαρίτες
 - 4.2.99. Άλλες λυάσες άνθρακα - οξυγόνου
- 4.3. Λυάσες άνθρακα - αζώτου
 - 4.3.1. Αμμωνιο-λυάσες
 - 4.3.2. Αμιδινο-λυάσες
- 4.4. Λυάσες άνθρακα - θείου
- 4.5. Λυάσες άνθρακα - αλογόνου
- 4.6. Λυάσες φωσφόρου - οξυγόνου
- 4.99. Άλλες λυάσες

5. Ισομεράσεις

5.1. Ρακεμάσεις και επιμεράσεις

- 5.1.1. Δρουν σε αμινοξέα και παράγωγα
- 5.1.2. Δρουν σε υδροξυοξέα και παράγωγα
- 5.1.3. Δρουν σε υδατάνθρακες και παράγωγα
- 5.1.99. Δρουν σε άλλες ενώσεις

5.2. *cis-trans*-Ισομεράσεις

5.3. Ενδομοριακές οξειδοαναγωγάσεις

- 5.3.1. Μετατρέπουν αλδόζες σε κετόζες και αντίστροφα
- 5.3.2. Μετατρέπουν κετο- σε ενολομάδες και αντίστροφα
- 5.3.3. Μεταθέτουν δεσμούς C=C
- 5.3.4. Μεταθέτουν δεσμούς S-S
- 5.3.99. Άλλες ενδομοριακές οξειδοαναγωγάσεις

5.4. Ενδομοριακές τρανσφεράσεις

- 5.4.1. Μεταφέρουν ακυλομάδες
- 5.4.2. Μεταφέρουν φωσφορυλομάδες
- 5.4.3. Μεταφέρουν αμινομάδες
- 5.4.99. Μεταφέρουν άλλες ομάδες

5.5. Ενδομοριακές λυάσεις

5.99. Άλλες ισομεράσεις

6. Λιγάσεις (συνθετάσεις)

6.1. Δημιουργούν δεσμούς άνθρακα - οξυγόνου

- 6.1.1. Λιγάσεις αμινοακυλο-t-RNA και συγγενών ενώσεων

6.2. Δημιουργούν δεσμούς άνθρακα - θείου

- 6.2.1. Λιγάσεις οξέων - θειολών

6.3. Δημιουργούν δεσμούς άνθρακα - αζώτου

- 6.3.1. Λιγάσεις οξέων - αμμωνίας (συνθετάσεις αμιδίων)
- 6.3.2. Λιγάσεις οξέων - αμινοξέων (συνθετάσεις πεπτιδίων)
- 6.3.3. Κυκλο-λιγάσεις
- 6.3.4. Άλλες λιγάσεις άνθρακα - αζώτου
- 6.3.5. Λιγάσεις άνθρακα - αζώτου με γλουταμίνη ως δότη αμιδο-N

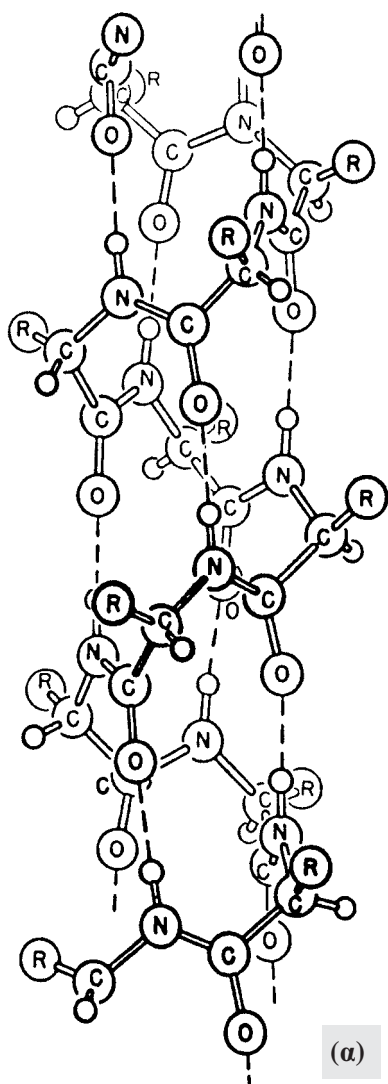
6.4. Δημιουργούν δεσμούς άνθρακα - άνθρακα

6.5. Δημιουργούν δεσμούς φωσφορικών εστέρων

ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

Τα ένζυμα παρουσιάζουν τις ίδιες βασικές δομές όπως και οι υπόλοιπες πρωτεΐνες και ως εκ τούτου ο αναγνώστης παραπέμπεται σε βιβλία Βιοχημείας ή σε ειδικές μονογραφίες αναφορικά με τις δομές των πρωτεϊνών. Περιληπτικά όμως τα ένζυμα παρουσιάζουν τα ακόλουθα δομικά επίπεδα:

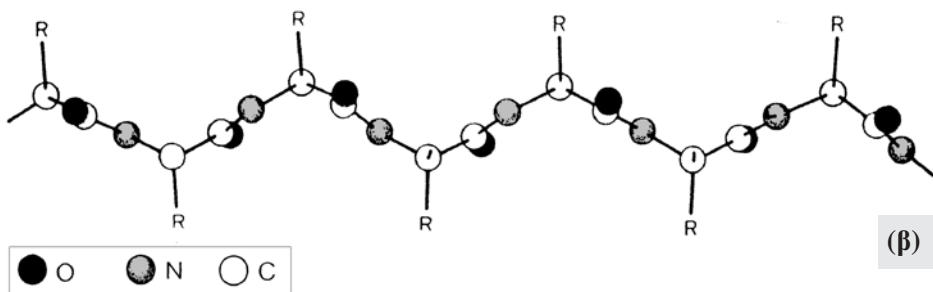
- 1. Πρωτοταγή δομή.** Όλα τα μόρια δηλαδή ενός συγκεκριμένου ενζύμου, έχουν την ίδια ακριβώς αλληλουχία αμινοξέων στις πεπτιδικές τους αλυσίδες, η οποία καθορίζεται γενετικά. Όταν δύο ή περισσότερα ένζυμα και γενικά πρωτεΐνες μοιάζουν σημαντικά ως προς την πρωτοταγή τους δομή, λέμε ότι είναι ομόλογα μεταξύ τους.
- 2. Δευτεροταγή δομή.** Σε όλες τις πρωτεΐνες, και ως εκ τούτου και στα ένζυμα, η ραχοκοκκαλιά (σκελετός) των πεπτιδικών αλυσίδων, δηλαδή η επαναλαμβανόμενη ομάδα ατόμων μεταξύ του α ατόμου άνθρακα ενός αμινοξέος και του α ατόμου άνθρακα του γειτονικού αμινοξέος, τα οποία καθορίζουν τον πεπτιδικό δεσμό, παίρνουν μια από δύο βασικές διατάξεις στο χώρο. Η μια είναι η **α-έλικα** και η άλλη το **β-πτυχωτό φύλλο**.
- 3. Τριτοταγή δομή.** Η πιο σημαντική δομή μιας πρωτεΐνης, από λειτουργικής σκοπιάς (όταν αποτελείται από μια μόνο πεπτιδική αλυσίδα), είναι η τριτοταγής της διαμόρφωση, δηλαδή ο τρόπος με τον οποίο η πεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται στο χώρο. Η σπουδαιότητα αυτής της διαμόρφωσης οφείλεται στο γεγονός ότι η ενεργός περιοχή μιας λειτουργικής πρωτεΐνης, και συγκεκριμένα το ενεργό κέντρο των ενζύμων, προκύπτει μετά την αναδίπλωση της αντίστοιχης πεπτιδικής αλυσίδας, όπου ομάδες R απομακρυσμένων αμινοξέων πλησιάζουν στο χώρο προκειμένου να συγκροτήσουν την καταλυτική περιοχή του ενζύμου. α-Έλικες και β-πτυχωτά φύλλα συνδέονται μεταξύ τους με αλληλουχίες αμινοξέων άλλοτε άλλου μήκους οι οποίες παίρ-



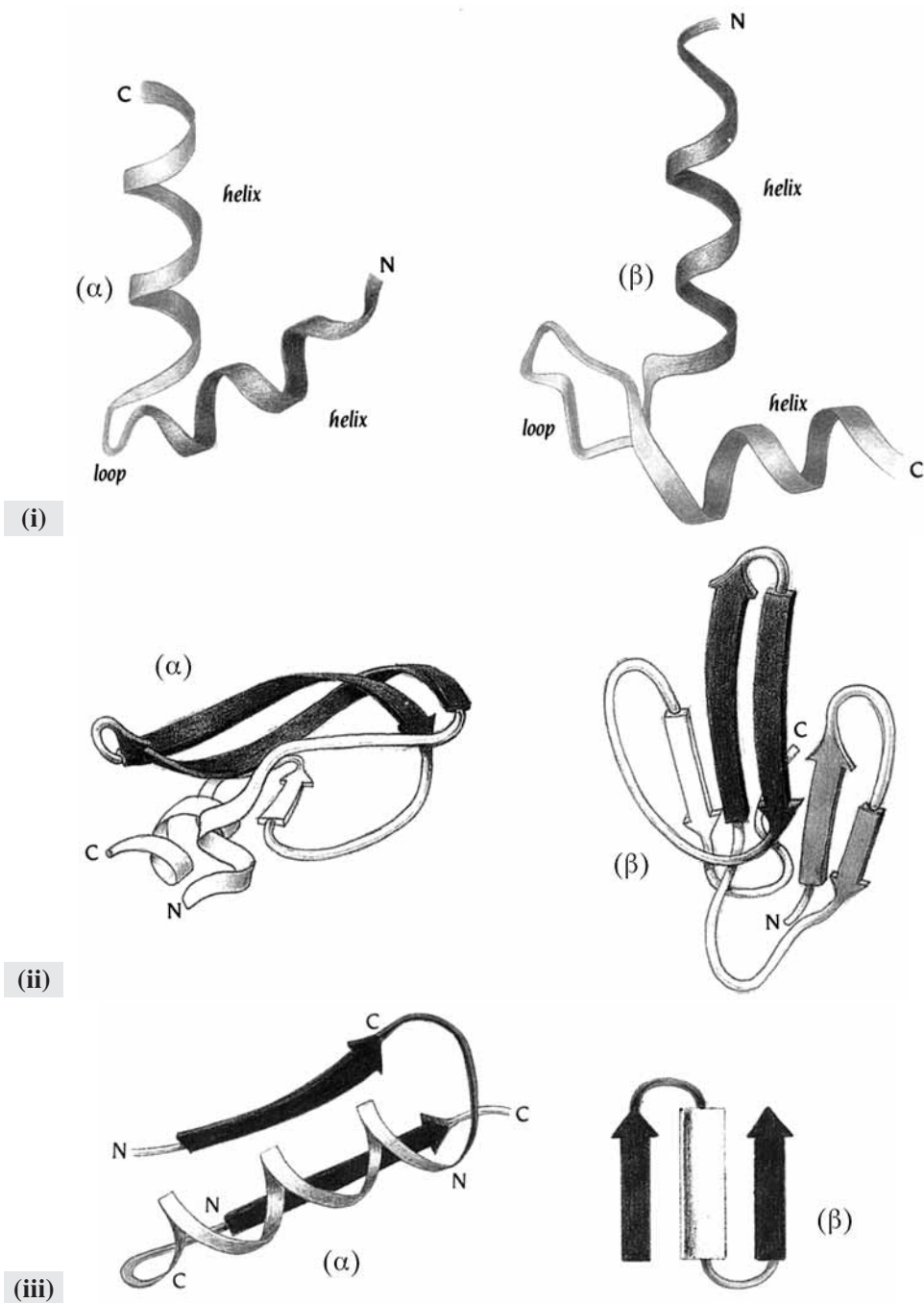
νουν **τυχαίες διαμορφώσεις** στο χώρο και δημιουργούν ένα μικρό, σχετικά, αριθμό **δομικών μοτίβων**, τα οποία με τη σειρά τους μπορούν και δημιουργούν συγκεκριμένες **δομικές περιοχές** (domains). Για να γίνουμε πιο σαφείς, όταν δύο α -έλικες ενώνονται μεταξύ τους μέσω μιας περιοχής τυχαίας διαμόρφωσης, προκύπτει το μοτίβο της **έλικας-στροφής-έλικας**. Όταν πάλι ένα β -πτυχωτό φύλλο ακολουθεί αμέσως ένα άλλο β -πτυχωτό φύλλο σε αντιπαράλληλη διάταξη (δηλαδή η αμινοπρος καρβοξυ-τελική κατεύθυνση στα δύο φύλλα είναι αντίθετη), προκύπτει μία **β -φουρκέτα**. Όταν πάλι δύο παράλληλα β -πτυχωτά φύλλα ενώνονται μεταξύ τους με μια α -έλικα προκύπτει ένα **β - α - β μοτίβο**.

Όσον αφορά τον ορισμό μιας δομικής περιοχής (domain), μπορούμε να πούμε ότι είναι η περιοχή εκείνη της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, που μπορεί και αναδιπλώνεται σε σταθερή τριτοταγή διαμόρφωση ανεξάρτητα από το υπόλοιπο μόριο. Οι δομικές περιοχές εκείνες που απαντούμε πιο συχνά στα ένζυμα είναι οι **α/β** και οι **αντιπαράλληλες β δομές**.

Οι α/β δομές αποτελούνται από ένα κεντρικό πυρήνα β -πτυχωτών φύλλων που

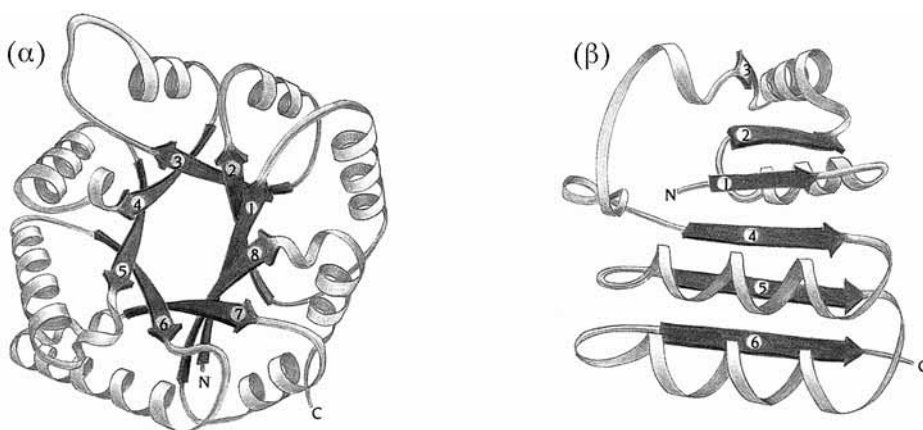


Σχ. 3.1. Δευτεροταγείς δομές πρωτεϊνών (α) α -έλικα (β) β -πτυχωτό φύλλο [1].



Σχ. 3.2. Απλά πρωτεϊνικά μοτίβα
 (i) έλικα-στροφή-έλικα, (ii) β-φουρκέτα, (iii) β-α-β μοτίβο [44].

είτε περιβάλλεται από α -έλικες και είναι γνωστή ως **βαρέλι TIM** από το ένζυμο ισομεράση της φωσφορικής τριόζης (σχήμα 3.3α), είτε γειτονεύει με α -έλικες και στις δυο πλευρές του. Το βαρέλι TIM πάντα έχει κάποια ενζυμική δράση και το βρίσκουμε σε πολλά ένζυμα με τελείως διαφορετικές πρωτοταγείς δομές και με τελείως διαφορετικές καταλυτικές δράσεις. Έτσι, εκτός από την ισομεράση της φωσφορικής τριόζης, η περιοχή αυτή απαντάται και στην κινάση του πυροσταφυλικού οξέος, σε μια αμυλάση, στη συνθάση της τρυπτοφάνης, σε οξειδοαναγωγικά ένζυμα και αλλού. Η δεύτερη διαμόρφωση της α/β δομής (σχήμα 3.3β), αποτελεί συνήθως την περιοχή δέσμευσης συνενζύμου στις δεϋδρογονάσες.

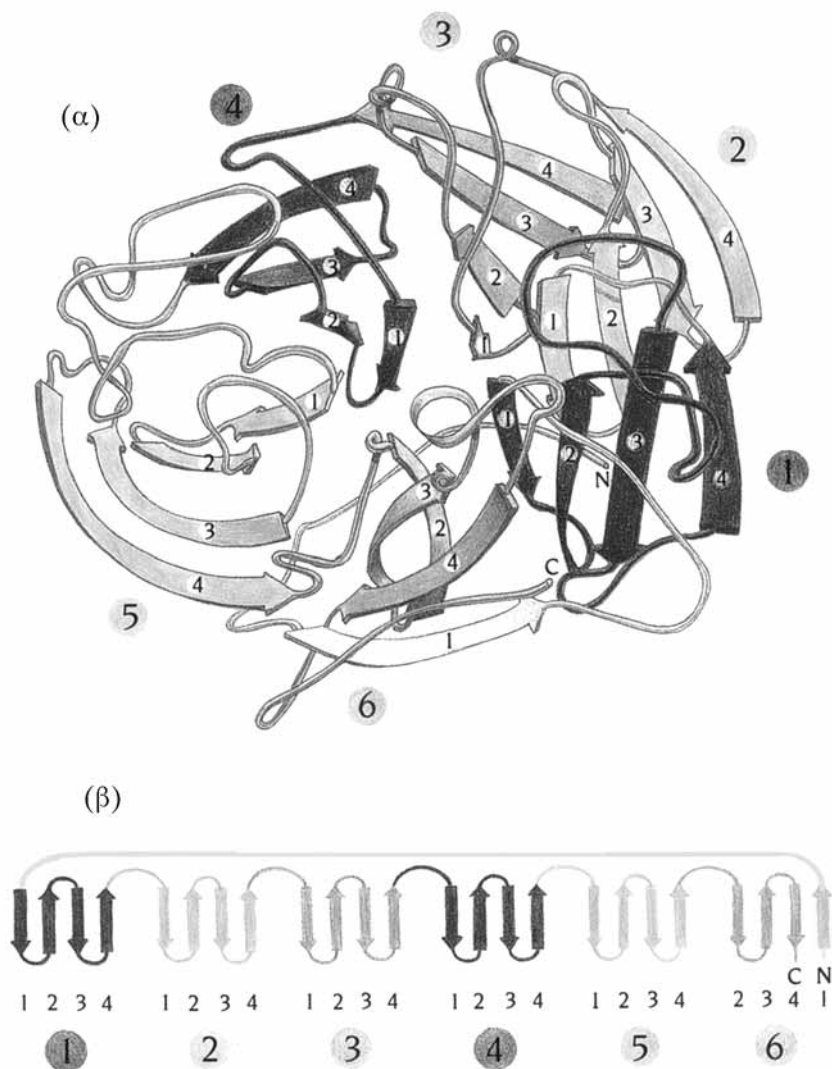


Σχ. 3.3. Οι δυο βασικές διατάξεις της α/β περιοχής. (α) βαρέλι TIM (β) β - α - β μοτίβα συνδεδεμένα έτσι ώστε οι β δομές να είναι παράλληλες [44].

Τις αντιπαράλληλες β -δομές θα τις βρούμε σε ένα μεγάλο εύρος πρωτεϊνών συμπεριλαμβανομένων βεβαίως και των ενζύμων (σχήμα 3.4).

Ένα ένζυμο μπορεί να αναδιπλώνεται σε μια μόνο δομική περιοχή, όπως είναι λ.χ. η ισομεράση της φωσφορικής τριόζης. Υπάρχουν όμως και ένζυμα με περισσότερες από μια δομικές περιοχές, άλλες από τις οποίες είναι καταλυτικά δραστικές και άλλες όχι. Όσα ένζυμα αποτελούνται από δυο βαρέλια TIM, έχουν βέβαια και δυο ενζυμικές δράσεις.

Ένα ενδιαφέρον φαινόμενο στο οποίο πρέπει να αναφερθούμε είναι ότι η αμινοξική αλληλουχία πολλών ενζύμων συντηρείται σε σημαντική έκταση σε όλο το εύρος των ζωντανών οργανισμών, σε αντίθεση με άλλα ένζυμα όπου τέτοια ομολογία δεν παρατηρείται. Π.χ. η δεϋδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεϋδης του βακτηρίου *Escherichia coli* και του ανθρώπου δείχνουν ομολογία 65% σε μια αλληλουχία 332 αμινοξέων. Την ίδια περίπου ομολογία



Σχ. 3.4. Υπομονάδα του ενζύμου νευραμινιδάση που απαντάται στο περίβλημα του ιού της γρίπης και αποτελείται από 6 παρόμοια μοτίβα [44].

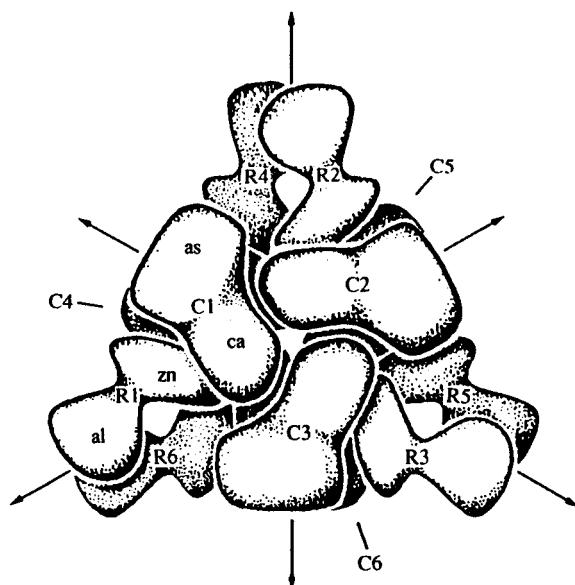
(61%) παρουσιάζει και η δεϋδρογονάση της αλκοόλης στα πιο πάνω είδη, σε μια αλληλουχία 370 αμινοξέων. Η ερμηνεία που δίδεται στο φαινόμενο αυτό είναι ότι τα ένζυμα αυτά αποτελούν συστατικά πολυενζυμικών συστημάτων, όπου το κάθε ένζυμο πρέπει να αλληλεπιδρά με έναν αριθμό συγκεκριμένων ενζύμων ή και άλλων πρωτεϊνών. Αυτό σημαίνει ότι στην επιφάνεια του κάθε ενζύ-

μου πρέπει να υπάρχουν συγκεκριμένες περιοχές που αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένες περιοχές γειτονικών ενζύμων. Αν τροποποιηθούν κατά την εξέλιξη αυτές οι περιοχές με αντικατάσταση αμινοξέων λόγω μεταλλάξεων, δεν θα γίνουν οι απαραίτητες αλληλεπιδράσεις και το όλο πολυενζυμικό σύστημα θα καταρρεύσει.

4. Τεταρτοταγή δομή. Η τεταρτοταγής διαμόρφωση της δομής των πρωτεϊνών αναφέρεται στη διάταξη που παίρνουν στο χώρο οι πεπτιδικές αλυσίδες, στην περίπτωση που η πρωτεΐνη αποτελείται από περισσότερες από μία αλυσίδες.

Στο σχήμα 3.5 απεικονίζεται η τεταρτοταγής δομή της τρανσκαρβαμοϋλάσης του ασπαραγινικού οξέος από *E. coli*. Το ένζυμο αυτό καταλύει τη σύνθεση L=ουρείδοηλεκτρικού οξέος από φωσφορικό καρβαμίδιο και L-ασπαραγινικό οξύ. Αποτελείται από δύο καταλυτικά τριμερή και τρία ρυθμιστικά-διμερή. Οι καταλυτικές υπομονάδες έχουν περιοχές δέσμησης των υποστρωμάτων ενώ οι ρυθμιστικές περιέχουν και ένα άτομο ψευδαργύρου.

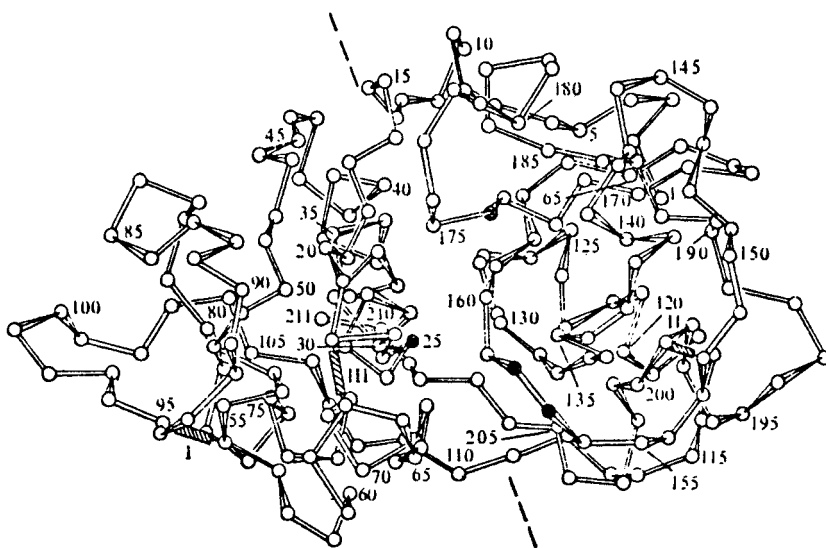
Πρέπει να σημειώσουμε ότι όλες οι δομές που αναφέραμε μέχρι τώρα είναι σημαντικές για τις καταλυτικές ιδιότητες των ενζύμων. Και αυτό, γιατί τα ενεργά, και άλλα κέντρα δέσμησης προσδετών στα ενζυμικά μόρια, πρέπει να δια-



Σχ. 3.5. Τεταρτοταγής δομή της τρανσκαρβαμοϋλάσης του ασπαραγινικού οξέος. C-καταλυτικά τριμερή, R-ρυθμιστικά διμερή [29].

τηρούν ανέπαφες τις δομές τους προκειμένου να εκτελέσουν το ρόλο τους. Όπως θα δούμε σε άλλα κεφάλαια τα κέντρα αυτά αποτελούνται από τις ομάδες R διαφόρων αμινοξέων που βρίσκονται σε στενή γειτονία το ένα με τ' άλλο, αλλ' όχι απαραίτητα ως προς την πρωτοταγή δομή. Π.χ. το ενεργό κέντρο ενός ενζύμου μπορεί ν' αποτελείται από το 15ο, 67ο και 195ο αμινοξύ, τα οποία μολονότι είναι φανερό ότι βρίσκονται μακριά το ένα από τ' άλλο ως προς την πρωτοταγή δομή, εν τούτοις μπορεί να βρεθούν πολύ κοντά το ένα στο άλλο από τις αναδιπλώσεις της τριτοταγούς διαμόρφωσης.

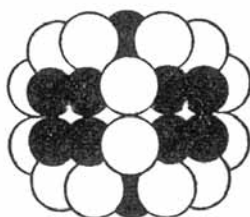
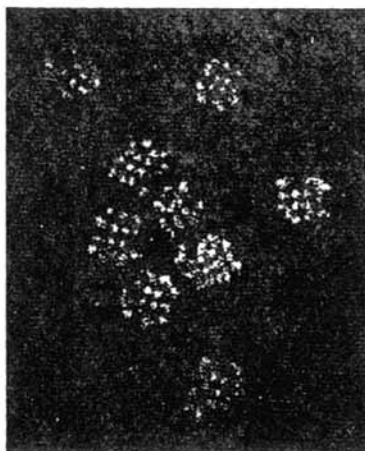
Στο σχήμα 3.6 απεικονίζονται οι αναδιπλώσεις του κορμού του μορίου του πρωτεολυτικού ενζύμου παπαΐνης που στο ενεργό του κέντρο συμμετέχουν η κυστεΐνη -25, η ιστιδίνη -158 και το ασπαραγινικό οξύ -174.



Σχ. 3.6. Απεικόνιση της τριτοταγούς διαμόρφωσης του μορίου της παπαΐνης. Οι κύκλοι είναι τα α- άτομα άνθρακα των 211 αμινοξέων [3].

Τέλος, το ανώτερο επίπεδο οργάνωσης στη δομή των ενζύμων είναι η **πεμπτοταγής** διαμόρφωση. Αυτή αφορά στις σχέσεις στο χώρο που εμφανίζουν τα μεμονωμένα ένζυμα στα **πολυενζυμικά συστήματα**. Η δομή των μακρομοριακών αυτών συμπλόκων σταθεροποιείται από δευτερεύοντες δεσμούς, έτσι ώστε η σχετική θέση των επιμέρους ενζύμων να παραμένει σταθερή. Ένα τέτοιο παράδειγμα πολυενζυμικού συστήματος είναι το σύμπλοκο της δεϋδρογονάσης του πυροσταφυλικού οξέος που αποτελείται από τα εξής επιμέρους ένζυμα: τη δεϋδρογονάση του πυροσταφυλικού οξέος, την τρανσακετυλάση του

διυδρολιποϊκού και τη δεϋδρογονάση του διυδρολιποϊκού οξέος. Το πολυενζυμικό αυτό σύμπλοκο από τα *E. coli* έχει μοριακό βάρος 4.600.000 αποτελείται από 60 πεπτιδικές αλυσίδες και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρουσιάζει πολυεδρική δομή διαμέτρου 300 Angstrom περίπου (σχήμα 3.7). Μέσα στα ίδια πλαίσια της πεμπτοταγούς δομής θα έπρεπε ίσως να κατατάξουμε και τα **μεταβολόνια**. Πρόκειται για μια πολύ χαλαρή σύνδεση ενζύμων που έχουν σχέση με μια συγκεκριμένη μεταβολική οδό, η οποία λειτουργεί μέσα σε ένα μόνο κυτταρικό διαμέρισμα. Κατά μία ακραία άποψη όλα τα ένζυμα όλων σχεδόν των μεταβολικών οδών (γλυκόλυση, κύκλος Krebs, σύνθεση DNA, RNA, γλυκογόνου κ.ά.) είναι οργανωμένα σε μεταβολόνια. Η οργάνωση ενζύμων σε πολυενζυμικά συστήματα και μεταβολόνια προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Πετυχαίνουν μια “συραγγοποίηση” (tunneling) των υποστρωμάτων έτσι ώστε να μην είναι απαραίτητη η αύξηση της συγκέντρωσης των ενδιάμεσων προϊόντων μιας μεταβολικής οδού, προκειμένου να δημιουργηθούν μεγάλα ποσά από το τελικό προϊόν.



Σχ. 3.7. Ηλεκτρονική φωτογραφία του πολυενζυμικού συστήματος δεϋδρογονάσης του πυροσταφυλικού οξέος (επάνω) και μοντέλο του ίδιου ενζύμου (κάτω) [1].

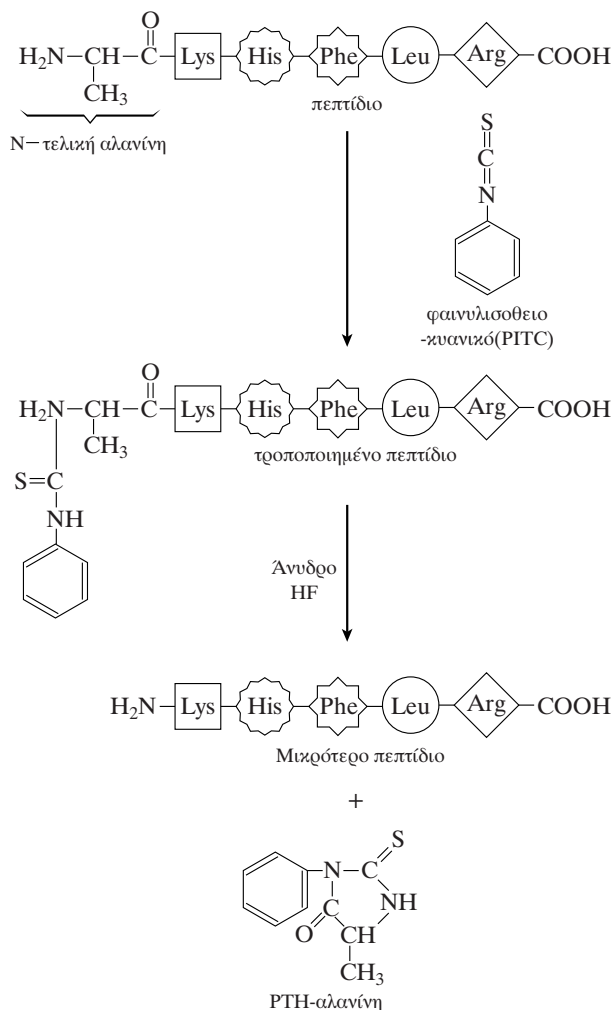
Κλείνοντας την περιληπτική και πολύ σύντομη αυτή περιγραφή της δομής των ενζύμων μπορούμε να πούμε τα εξής:

1. Ένζυμα και γενικά πρωτεΐνες με ομόλογες αλληλουχίες αμινοξέων, έχουν παρόμοιες τριτοταγείς διαμορφώσεις.
2. Μια συγκεκριμένη καταλυτική δράση δεν είναι απαραίτητο να εδράζεται σε μια συγκεκριμένη δομική περιοχή.
3. Μια συγκεκριμένη δομική περιοχή δεν είναι απαραίτητο να έχει μια μόνο καταλυτική δράση.
4. Υπάρχουν δομικές περιοχές που δεσμεύουν συγκεκριμένα υποστρώματα, και ως εκ τούτου μπορούμε να υποπτευθούμε την καταλυτική δράση του αντίστοιχου ενζύμου. (Π.χ. οι NAD^+ -δεϋδρογονάσες δεσμεύουν το συνένζυμο σε μια αντιπαράλληλη β δομή).

Εύρεση της αμινοξικής ακολουθίας των ενζύμων

Η σύσταση της πρωτεΐνης προσδιορίζεται με ανάλυση των αμινοξέων της έπειτα συνήθως από οξίνη υδρόλυση. Από την ανάλυση υπολογίζονται πρώτα τα μοριακά ποσοστά των αμινοξέων της πρωτεΐνης και στη συνέχεια, βάσει του γνωστού μοριακού βάρους της πρωτεΐνης, μπορεί να προσδιορισθεί ο αριθμός των **συγκεκριμένων** αμινοξέων ανά μόριο πρωτεΐνης. Η σύσταση των αμινοξέων της πρωτεΐνης βοηθά στην εύρεση της κατάλληλης στρατηγικής για τον προσδιορισμό της αμινοξικής ακολουθίας. Το αμινοξικό περιεχόμενο ενός υδρολύματος πολυπεπτιδίου μπορεί να προσδιορισθεί σήμερα ποσοτικά με τη χρήση ενός αυτοματοποιημένου αμινοξικού αναλυτή.

Υπάρχουν πολλές αποτελεσματικές μέθοδοι με τις οποίες μπορούν να ταυτοποιηθούν οι ακραίες ομάδες ενός πολυπεπτιδίου. Στην πιο χρήσιμη μέθοδο ταυτοποίησης N-τελικού αμινοξέος, την αποικοδόμηση κατά Edman, το φαινυλισοθειοκυανικό (PITC, αντιδραστήριο Edman) αντιδρά με τις N-τελικές αμινομάδες των πρωτεϊνών κάτω από ήπιες αλκαλικές συνθήκες, για να δώσει φαινυλθειοκαρβαμυλο (PTC) παράγωγα (σχήμα 3.8). Αυτά τα παράγωγα κατεργάζονται με άνυδρο υδροφθορικό οξύ, που κόβει το N-τελικό αμινοξύ ως θειαζολινονο-παράγωγο, αλλά δεν υδρολύει τους άλλους πεπτιδικούς δεσμούς. Έτσι, η αποικοδόμηση κατά Edman απελευθερώνει το N-τελικό αμινοξύ, αλλά αφήνει άθικτη την υπόλοιπη πολυπεπτιδική αλυσίδα. Το θειαζολινονο-αμινοξύ εκχυλίζεται επιλεκτικά με έναν οργανικό διαλύτη και μετατρέπεται στο πιο σταθερό φαινυλθειοϋδαντοϊνο- (PTH) παράγωγο με κατεργασία με διάλυμα οξέος. Το PTH αμινοξύ μπορεί να ταυτοποιηθεί όταν συγκριθεί με γνωστά αμι-



Σχ. 3.8. Αντιδράσεις αποικοδόμησης κατά Edman [37].

νοξέα χρησιμοποιώντας TLC, ηλεκτροφόρηση, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ή αέριο-υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών.

Η πιο σημαντική διαφορά μεταξύ της αποικοδόμησης κατά Edman και των άλλων μεθόδων ταυτοποίησης N-τελικών αμινοξέων είναι ότι μπορεί να προσδιορισθεί η αμινοξική ακολουθία μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας από το N-τελικό άκρο προς το εσωτερικό της αλυσίδας υποβάλλοντας το πολυπεπτίδιο σε επαναλαμβανόμενους κύκλους αποικοδόμησης κατά Edman και, μετά από κάθε κύκλο, ταυτοποιώντας το μόλις απελευθερωμένο PTH-αμινοξύ. Αυτή η τε-

χνική έχει αυτοματοποιηθεί εξοικονομώντας έτσι πολύ χρόνο και υλικά.

Δεν υπάρχει αξιόπιστη χημική διαδικασία αντίστοιχη με την αποικοδόμηση κατά Edman για την ανάλυση ακολουθίας από το C-τελικό άκρο του πολυπεπτιδίου. Αυτό όμως μπορεί να γίνει ενζυμικά χρησιμοποιώντας εξωπεπτιδάσες (ένζυμα που κόβουν ένα τελικό αμινοξύ από ένα πολυπεπτιδίο). Μια τάξη εξωπεπτιδασών, οι καρβοξυπεπτιδάσες, καταλύουν την υδρόλυση του C-τελικού αμινοξέος των πολυπεπτιδίων. Οι καρβοξυπεπτιδάσες, όπως όλα τα ένζυμα, είναι πολύ εξειδικευμένες για τις αντιδράσεις που καταλύουν. Ο δεύτερος τύπος εξωπεπτιδασών, οι αμινοπεπτιδάσες, διαδοχικά κόβουν αμινοξέα από το N-τελικό άκρο του πολυπεπτιδίου και έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των N-τελικών ακολουθιών.

Το επόμενο βήμα στην ανάλυση της αμινοξικής ακολουθίας είναι να διασπαστούν οι δισουλφιδικοί δεσμοί μεταξύ των κυστεϊνών. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί μπορούν να κοπούν οξειδωτικά με υπερφορμικό οξύ ή αναγωγικά με μερκαπτάνες.

Η αποικοδόμηση κατά Edman μπορεί και ταυτοποιεί με ακρίβεια την αλληλουχία πεπτιδίου μέχρι 70 περίπου αμινοξέα. Δεν μπορεί δηλαδή να ταυτοποιήσει με μιας την αμινοξική αλληλουχία μιας ολόκληρης πρωτεΐνης που περιέχει λίγες ή πολλές εκατοντάδες αμινοξέων. Γι' αυτό και η πρωτεΐνη πρέπει σε πρώτη φάση να αποικοδομηθεί σε πεπτίδια μεγέθους τέτοιου που το καθένα να μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέθοδο Edman. Αυτό πετυχαίνεται με περιορισμένη όξινη υδρόλυση, με την οποία προκύπτουν πεπτίδια τυχαίου μεγέθους ή με ενζυμική υδρόλυση χρησιμοποιώντας εξειδικευμένα πρωτεολυτικά ένζυμα, έτσι ώστε να γνωρίζουμε τη φύση του N- ή του C-τελικού αμινοξέος, ή ακόμα και με κυανοβρωμίδιο, το οποίο, όπως αναφέραμε πιο πάνω, διασπά την πεπτιδική αλυσίδα δίπλα από μεθειονίνες. Ακολουθεί ο διαχωρισμός των πεπτιδίων που προκύπτουν, συνήθως με HPLC.

Με γνωστή την ακολουθία των επιμέρους πεπτιδίων, αυτό που απομένει είναι να διευκρινισθεί η σειρά με την οποία αυτά συνδέονται στο αρχικό πολυπεπτιδίο. Αυτό γίνεται με σύγκριση των αμινοξικών ακολουθιών μιας ομάδας πεπτιδικών τμημάτων με αυτές μιας δεύτερης ομάδας των οποίων οι περιοχές εξειδικευμένου κοψίματος επικαλύπτουν αυτές της πρώτης ομάδας (σχήμα 3.9).

Το τελικό στάδιο στην ανάλυση αμινοξικής ακολουθίας είναι να προσδιορισθούν οι θέσεις των δισουλφιδικών δεσμών (αν υπάρχουν). Αυτό γίνεται με διάσπαση ενός δείγματος της φυσικής πρωτεΐνης, με τους δισουλφιδικούς της δεσμούς άθικτους, έτσι ώστε να προκύψουν ζεύγη πεπτιδικών τμημάτων, το καθένα από τα οποία θα περιέχει μία κυστεΐνη, που είναι ενωμένα με δισουλφιδικό δεσμό.

