



ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤ' ΕΞΑΜΗΝΟΥ

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων
Τ.Ε.Ι. Αθήνας

Μάθημα 9^ο
Ενζυμική Βιοτεχνολογία

Διδάσκων

Δρ. Ιωάννης Δρίκος

Απόφοιτος Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων (ΠΙ)

Απόφοιτος Βιολογίας, ΑΠΘ

Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

Ειδ. Παιδιατρικής

email: johndrikos@yahoo.com, idrikos@teiath.gr



Τα ένζυμα είναι ένα ιδιαίτερο είδος καταλύτη αφού έχουν βιολογική προέλευση και για αυτό το λόγο ονομάζονται βιοκαταλύτες και κυρίως μία μοναδική εξειδίκευση για το υπόστρωμα ή τα υποστρώματα αλλά και για το είδος της αντίδρασης που καταλύουν.

Όλα τα ένζυμα που έχουν απομονωθεί έχει αποδειχθεί πως είναι πρωτεΐνες και η γενικά αποδεκτή άποψη είναι πως η δράση ενός ενζύμου είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη πρωτεϊνική φύση.

Σε σύγκριση λοιπόν με τους υπόλοιπους καταλύτες τα ένζυμα υπερτερούν λόγω:

- της μεγάλης δραστητικότητάς τους
- της ικανότητάς τους να επιταχύνουν τις άλλες αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχουν πολύ περισσότερο από τους άλλους καταλύτες
- της υψηλής εξειδίκευσής τους ως προς το υπόστρωμα

Τα ένζυμα επιταχύνουν τις αντιδράσεις που καταλύουν τουλάχιστον κατά ένα εκατομμύριο φορές.

Τα ένζυμα κατατάσσονται σε 6 γενικές ομάδες σύμφωνα με την ταξινόμηση της επιτροπής για τα Ένζυμα της Διεθνούς Ένωσης Βιοχημείας και αυτές είναι:

1. Οξειδοαναγωγάσες, που καταλύουν τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις
2. Τρανσφεράσες, που καταλύουν αντιδράσεις μεταφοράς ομάδων
3. Υδρολάσες, που καταλύουν υδρολυτικές αντιδράσεις
4. Λυάσες, που καταλύουν την προσθήκη ή αφαίρεση ομάδων σε διπλούς δεσμούς
5. Ισομεράσες, που καταλύουν ισομεριώσεις
6. Λιγάσες, που καταλύουν τη συμπύκνωση δύο μορίων με τη σύγχρονη διάσπαση ενός πυροφωσφορικού δεσμού

Ιστορική αναδρομή

Στα δύο επικά ποιήματα του Ομήρου, Οδύσσεια και Ιλιάδα που χρονολογούνται γύρω στο 700 Π.Χ. αναφέρεται η χρήση ενός “κάτι” που εμείς τώρα το γνωρίζουμε σαν ένζυμο το οποίο συμμετέχει στην παραγωγή τυριών.

Μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '50, επήλθε ραγδαία ανάπτυξη στην ενζυμική τεχνολογία και ιδιαίτερα στην τεχνολογία παραγωγής μικροβιακών ενζύμων.

- ✓ Η σημαντική ανάπτυξη των υγρών καλλιέργειών μικροοργανισμών που κυρίως συνδέθηκε με τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο.
- ✓ Η βασική γνώση της φύσης και των ιδιοτήτων των ενζύμων.
- ✓ Τα περισσότερα ένζυμα βιομηχανικής σημασίας μπορούσαν να παραχθούν από λίγους μικροοργανισμούς.

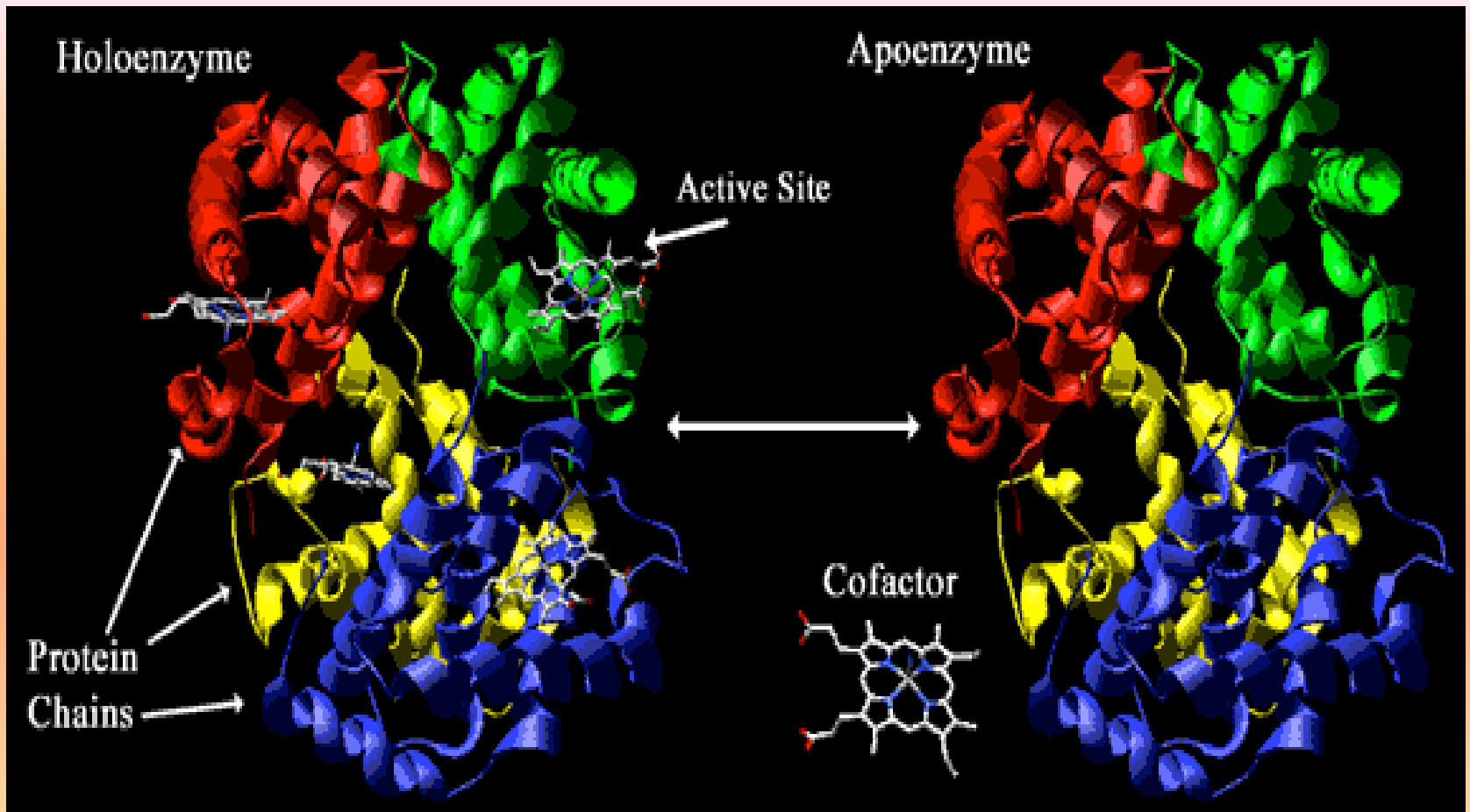
Τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες που παράγονται από ζώντα κύτταρα

Μικροοργανισμός	Ένζυμο
<i>Bacillus licheniformis</i>	α-αμυλάση
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	α-αμυλάση
<i>Bacillus coagulans</i>	Ξυλοζο(γλυκοζο)-ισομεράση
<i>Streptomyces olivaceus</i>	Ξυλοζο(γλυκοζο)-ισομεράση
<i>Microbacterium arborescens</i>	Ξυλοζο(γλυκοζο)-ισομεράση
<i>Actinoplanes missouriensis</i>	Ξυλοζο(γλυκοζο)-ισομεράση
<i>Bacillus licheniformis</i>	Αλκαλική πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Bacillus subtilis</i>	Αλκαλική πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Ουδέτερη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Bacillus subtilis</i>	Ουδέτερη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Aspergillus niger</i>	Γλυκοαμυλάση (εξωκυττ.)
<i>Aspergillus niger</i>	Όξινη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Mucor miehei</i>	Όξινη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Mucor pusillus</i>	Όξινη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Endothica parasitica</i>	Όξινη πρωτεάση (εξωκυττ.)
<i>Aspergillus niger</i>	Πηκτινάση, β-γλουκανάση, κυτταρινάσες (εξωκυττ.)
<i>Bacillus subtilis</i>	Πηκτινάση, β-γλουκανάση, κυτταρινάσες (εξωκυττ.)

Τα ένζυμα ως βιοκαταλύτες και ο τρόπος δράσης τους

Η καταλυτική δράση των ενζύμων μπορεί να εκδηλωθεί παρουσία πάρα πολύ μικρών ποσοτήτων και αυτό συμβαίνει λόγω της προσέγγισης των ουσιών που αντιδρούν με τη βοήθεια ενζύμου.

- ✓ Δέσμευση του συνενζύμου ή της προσθετικής ομάδας από το ένζυμο για να ενισχυθούν οι δραστικές μονάδες του ενεργού κέντρου.
- ✓ Δέσμευση του υποστρώματος με ομοιοπολικούς δεσμούς ή δεσμούς άλλης φύσης.
- ✓ Οι αλληλεπιδράσεις αυτές προκαλούν ανακατανομή ηλεκτρονίων στο ενεργό κέντρο και στη συνέχεια στο ένζυμο.
- ✓ Έτσι, αλλάζει η χωροδιάταξη του πρωτεϊνικού τμήματος του ενζύμου με τη σύνδεσή του με το υπόστρωμα και αναπτύσσονται τάσεις στο μόριό του με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η αντίδραση.



Ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων

Τα ένζυμα αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι του ανθρώπινου οργανισμού και συμβάλλουν στη λειτουργία του μεταβολισμού ρυθμίζοντάς τον με δύο βασικούς τρόπους.

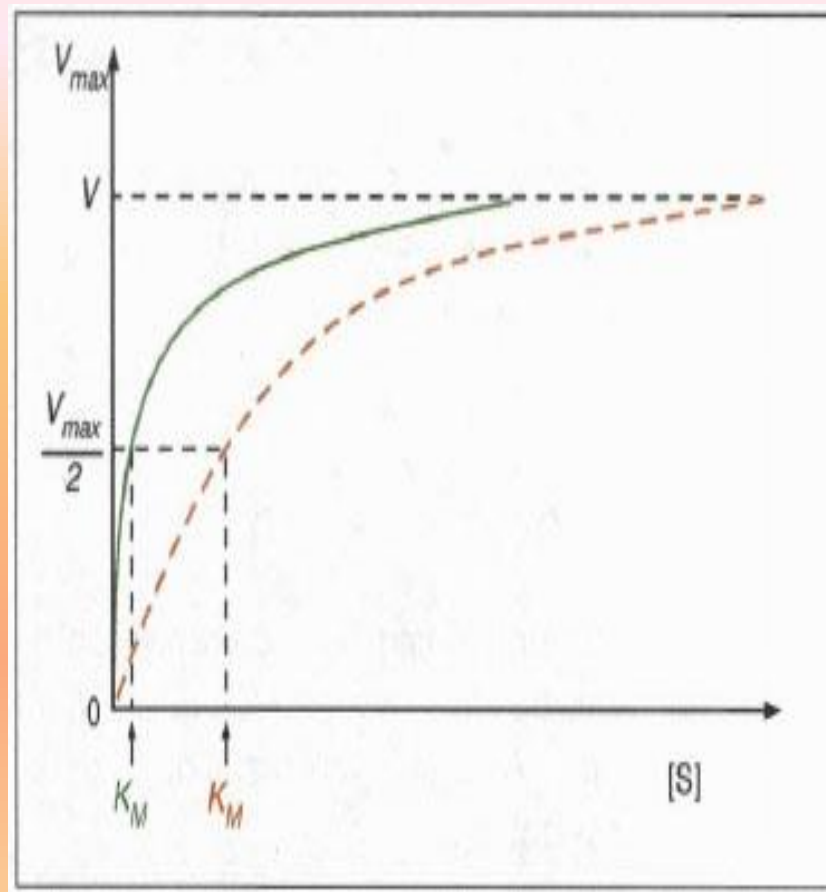
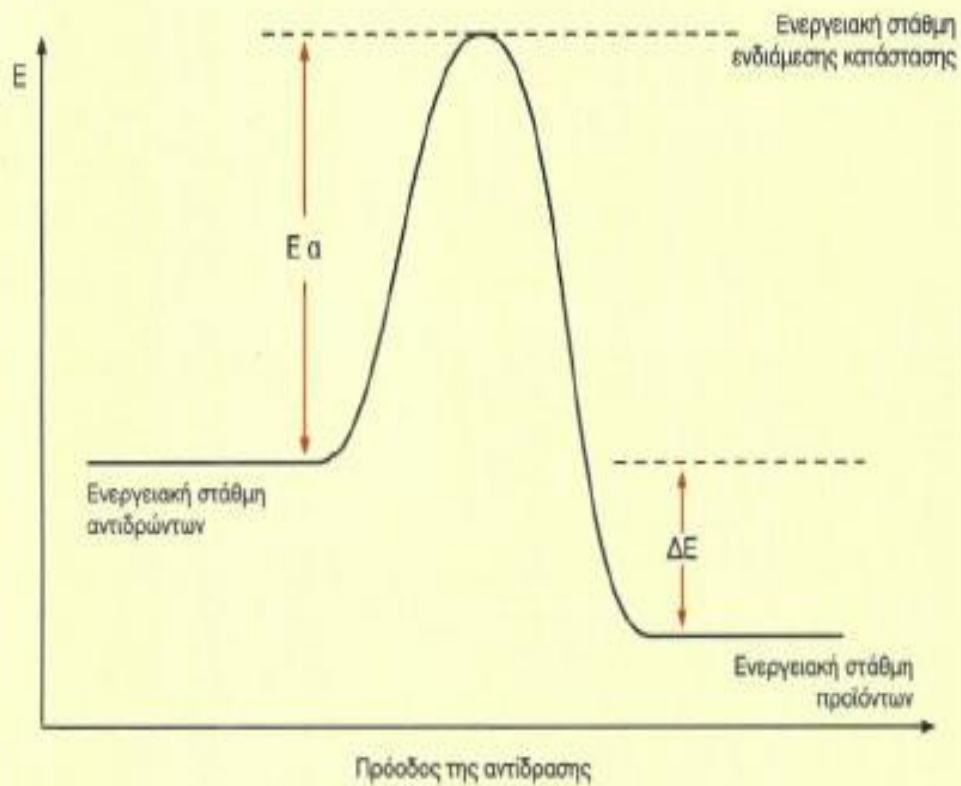
- ✓ Με κατάλληλη ρύθμιση της συγκέντρωσης των ενζύμων
- ✓ Με ρύθμιση της δραστηριότητας, ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση των ενζύμων έτσι ώστε να μετατρέπονται από αδρανή σε ενεργή μορφή και αντίστροφα. Αυτό γίνεται με ομοιοπολική ή αλλοστερική τροποποίηση της δομής του ενζύμου, με περιορισμένη πρωτεόλυση των ζυμογόνων και με τα ισοένζυμα.

Παράγοντες που επηρεάζουν την ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων είναι:

- ✓ το pH,
- ✓ η θερμοκρασία,
- ✓ η συγκέντρωση του ενζύμου,
- ✓ η συγκέντρωση του υποστρώματος.

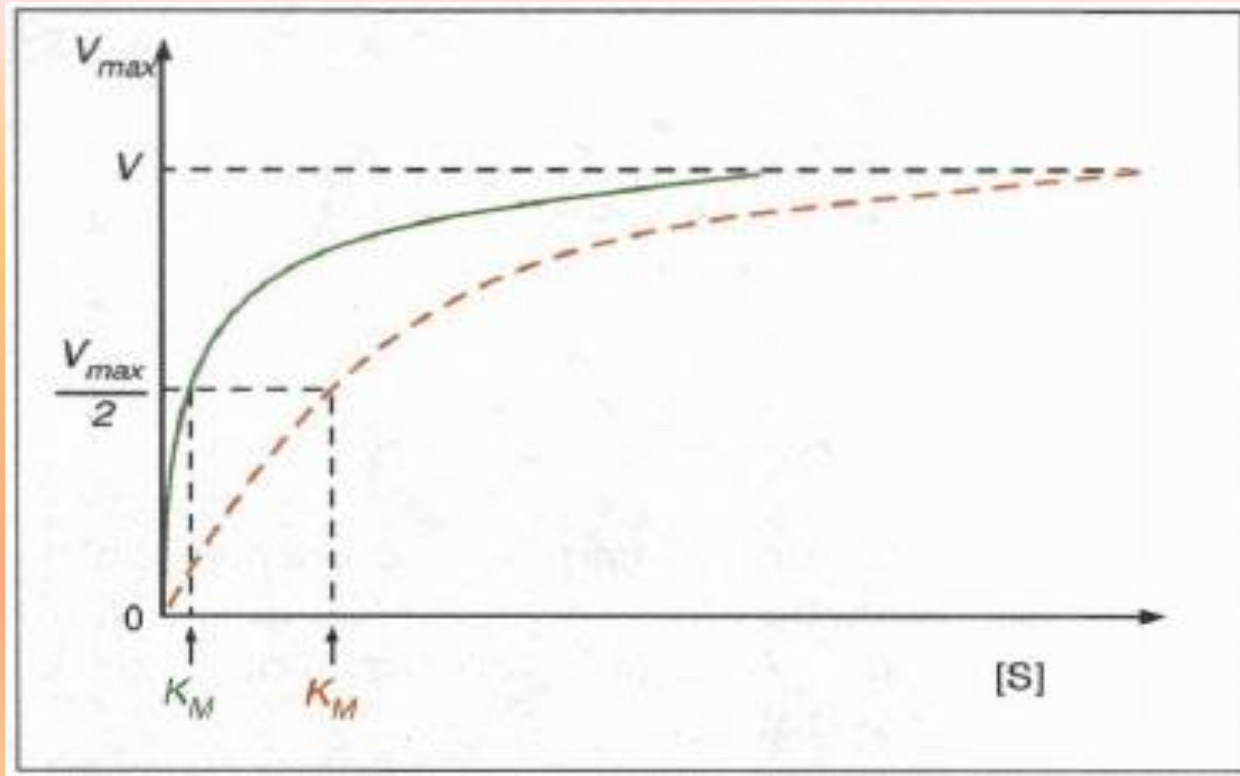
Ενζυμική κινητική



Αναστολείς ενζύμων

- ✓ Η ενεργότητά ενός ενζύμου μπορεί να μειωθεί με τη δράση ορισμένων ουσιών που καλούνται **αναστολείς**.
- ✓ Η δράση ενός αναστολέα μπορεί να είναι **είτε μόνιμη είτε αντιστρεπτή**.
- ✓ **Στην περίπτωση που η δράση του αναστολέα είναι μόνιμη**, τότε, ακόμα και αν αφαιρεθεί ο αναστολέας, το ένζυμο δεν είναι σε θέση να επανακτήσει την ενεργότητά του.
- ✓ **Στην περίπτωση που ο αναστολέας δρα αντιστρεπτά**, τότε, εάν αφαιρεθεί, το ένζυμο επανακτά την ενεργότητά του.
- ✓ Υπάρχουν διάφοροι τύποι αντιστρεπτής αναστολής, δύο όμως είναι οι πιο σημαντικοί: η **συναγωνιστική** και η **μη-συναγωνιστική αναστολή**.

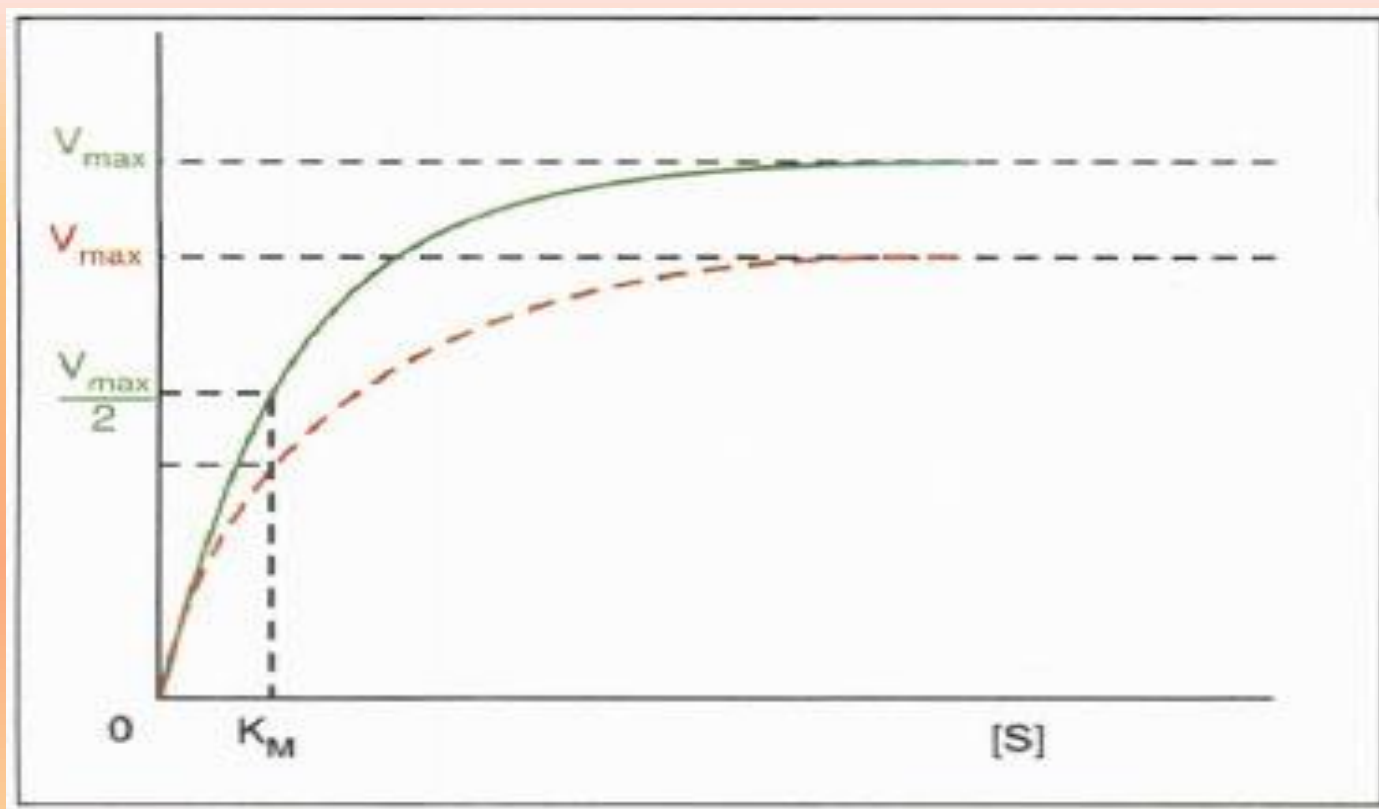
Ο συναγωνιστικός αναστολέας προσδένεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και εμποδίζει την πρόσδεση του υποστρώματος.



Η έκταση της συναγωνιστικής αναστολής εξαρτάται από:

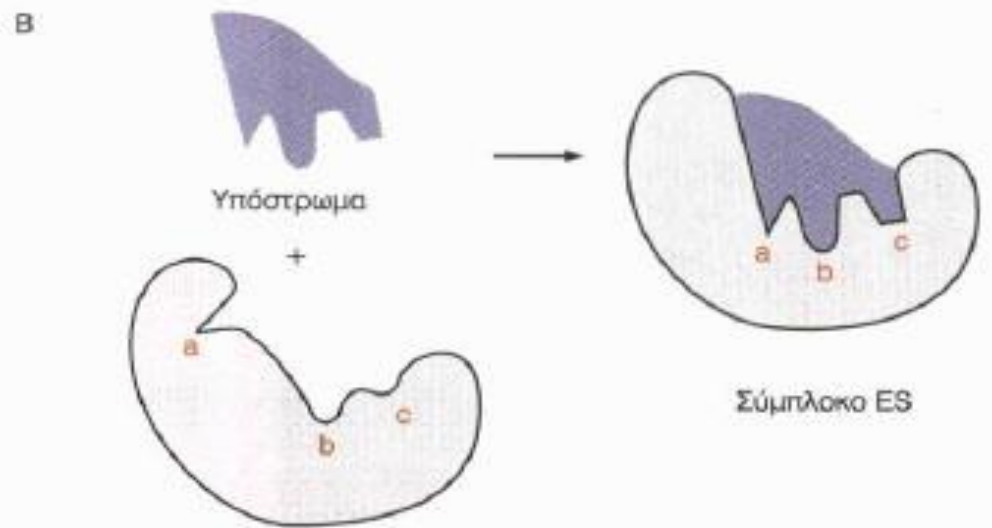
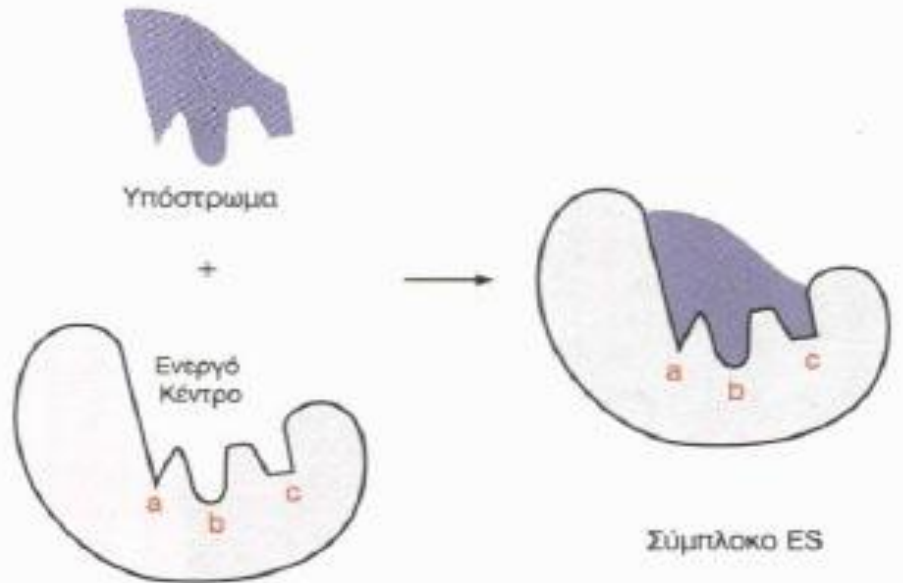
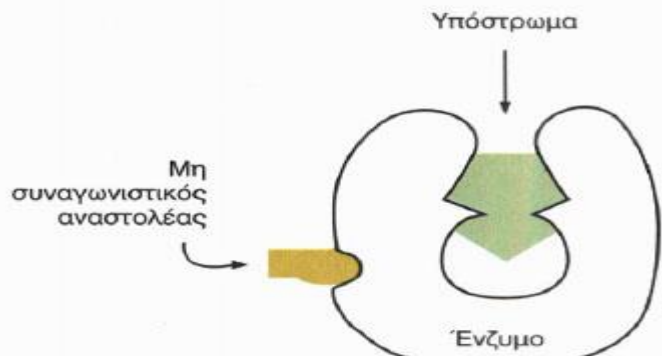
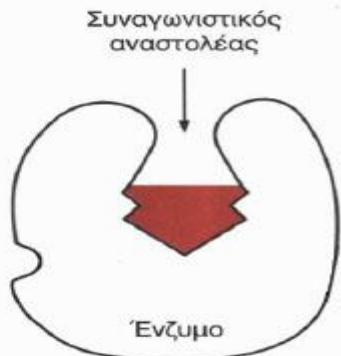
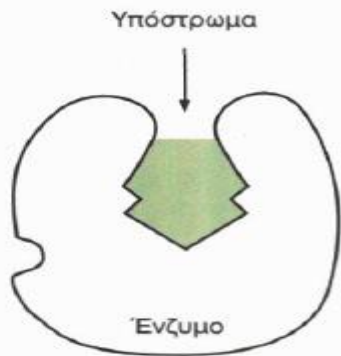
- ✓ τη συγκέντρωση του υποστρώματος,
- ✓ τη συγκέντρωση του αναστολέα,
- ✓ τη συγγένεια του ενζύμου ως προς το υπόστρωμα και ως προς τον αναστολέα.

Ο μη-συναγωνιστικός αναστολέας προσδένεται σε περιοχή του ενζύμου διαφορετική από το ενεργό κέντρο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να τροποποιείται η τρισδιάστατη δομή του ενζύμου



Η έκταση της μη-συναγωνιστικής αναστολής εξαρτάται από:

- ✓ τη συγκέντρωση του αναστολέα,
- ✓ τη συγγένεια του ενζύμου ως προς τον αναστολέα.



Χρήσεις των ενζύμων

Τα ένζυμα στα νέα-βιολογικά απορρυπαντικά

- ✓ Τα ένζυμα είναι εξειδικευμένα και οι ιδιότητές τους χρησιμοποιούνται στα πλυντήρια ρούχων και πιάτων.
- ✓ Οι πρωτεάσες διασπούν επιλεκτικά τις πρωτεϊνικές αλυσίδες και οι λιπάσες επιτίθενται στις αλυσίδες των λιπών, ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες πλύσης.
- ✓ Στα ένζυμα κυρίως αποδίδονται τα άριστα αποτελέσματα που λαμβάνουμε από τα σύγχρονα απορρυπαντικά σε χαμηλές θερμοκρασίες.
- ✓ Εάν κάποια βακτήρια, που συνήθως υπάρχουν στους μικροοργανισμούς, βρουν τα σωστά θρεπτικά υλικά και διατηρηθούν στις συνθήκες που αυτά προτιμούν, μπορούν να παράγουν ένζυμα απορρυπαντικών ως μεταβολικά προϊόντα.

Τα ένζυμα στην παρασκευή του ψωμιού

- ✓ Τα ένζυμα δρουν σ'ένα από τα βιοπολυμερή που υπάρχουν στο αλεύρι ή μερικές φορές σε συνδυασμό αυτών.
- ✓ Οι αμυλάσες διασπούν το άμυλο, χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ζαχάρων, για τη ζύμωση της μαγιάς και για την καθυστέρηση αναδιάταξης του αμύλου στην ψίχα του ψωμιού.
- ✓ Οι πρωτεάσες χρησιμοποιούνται για την ελάττωση του χρόνου ανάμειξης και για την αλλαγή κάποιων ιδιοτήτων των ζυμαριών.
- ✓ Το αλεύρι που προέρχεται από το σιτάρι περιέχει μεγάλη ποικιλία ενζύμων όπως α- και β-αμυλάσες, πρωτεάσες, φωσφατάσες κ.α.

Τα ένζυμα στη βιομηχανία

Τα ένζυμα λόγω των χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο από το χώρο της βιομηχανίας και ιδιαιτέρως από τη βιομηχανία των τροφίμων.

Ενδεικτικά κάποια από τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν είναι τα εξής:

- ***Εξειδίκευση***, που επιτρέπει τον έλεγχο των προϊόντων και την αύξηση της απόδοσης, αφού με αυτόν τον τρόπο η παραγωγή παραπροϊόντων είναι σημαντικά μικρότερη.
- ***Ήπιες συνθήκες αντίδρασης που αυτόματα αυτό συνεπάγει οικονομία*** στην κατανάλωση ενέργειας και μικρότερες απαιτήσεις στις εγκαταστάσεις.
- ***Αισθητά μικρότερο κόστος*** επεξεργασίας αποβλήτων.

Συγκεκριμένα λοιπόν στις βιομηχανίες χρησιμοποιούνται:

- ✓ Αμυλάσες με βάση το καλαμπόκι στην ζαχαροποιία
- ✓ Πηκτινάσες στη βιομηχανία παραγωγής χυμών φρούτων
- ✓ Ρενίνες στην τυροκομία
- ✓ Λιπάσες στη βελτίωση της γεύσης τροφών σκύλων, με μερική απολίπωση του ζωικού λίπους που χρησιμοποιείται.

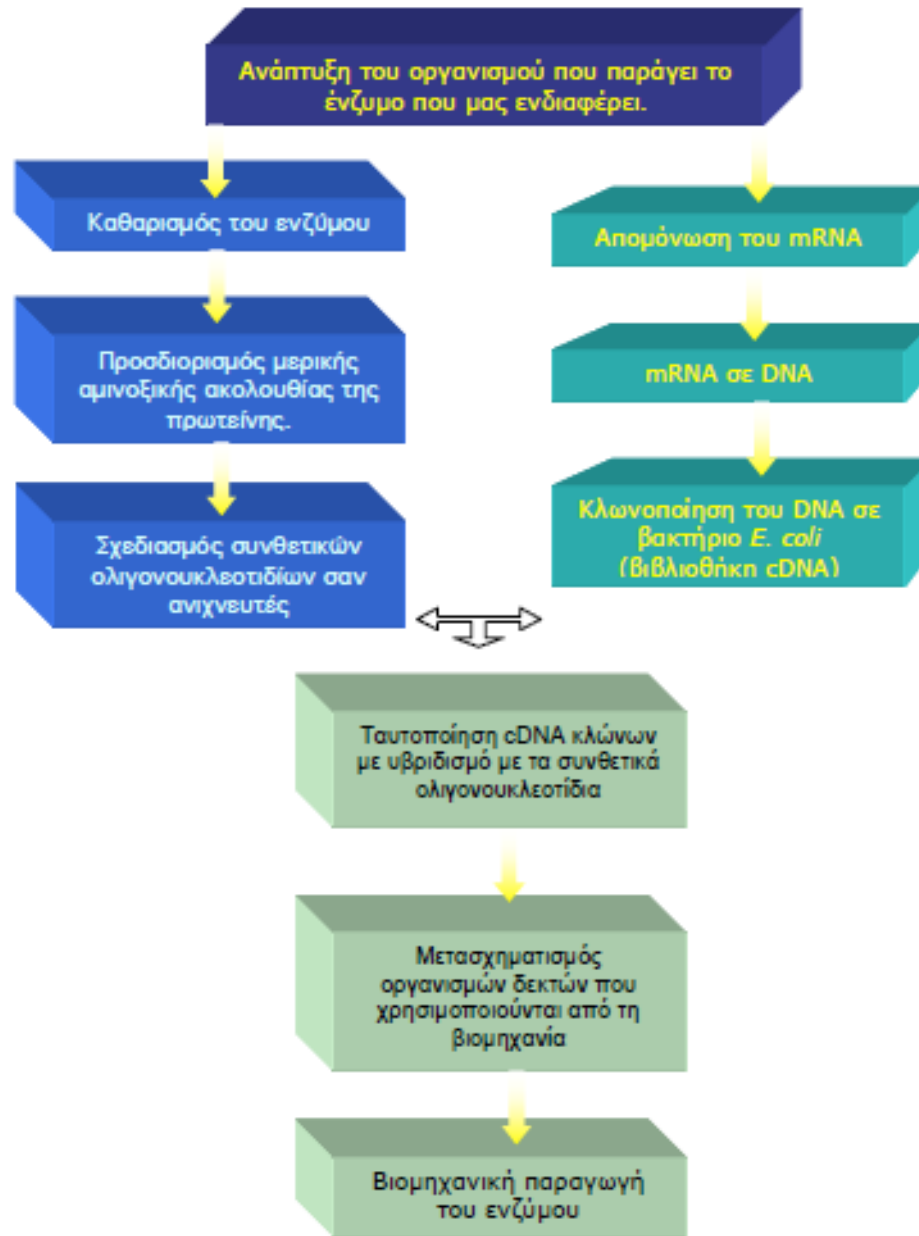
Λιπάσες

- ✓ Οι λιπάσες είναι κάποια από τα πλέον διαδεδομένα υδρολυτικά ένζυμα που μπορούν να ληφθούν από φυτά, ζώα και μικροοργανισμούς σε μεγάλες ποσότητες.
- ✓ Επειδή είναι ιδιαίτερος ευπροσάρμοστοι ως βιοκαταλύτες κατέχουν σήμερα εξέχοντα ρόλο στην ταχεία ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας.
- ✓ Συγκεκριμένα χρησιμοποιούνται για την ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου των υγρών βιομηχανικών αποβλήτων με δύο τρόπους.
- ✓ Είτε επί τόπου με την καλλιέργεια του επιθυμητού μικροοργανισμού στο μέσο με ένα κατάλληλο υπόστρωμα.

Πλεονεκτήματα της χρήσης βιομηχανικών ενζύμων

- ✓ Υψηλή ποιότητα προϊόντων
- ✓ Χαμηλά ποσά παραπροϊόντων
- ✓ Απλούστερη διαδικασία καθαρισμού του τελικού προϊόντος
- ✓ Μη τοξικότητα του ένζυμου
- ✓ Βιοανακύκλωση των ενζύμων με σημαντικά περιβαλλοντολογικά πλεονεκτήματα
- ✓ Εύκολη και φτηνή παραγωγή ενζύμων σε μεγάλες ποσότητες απο μικροοργανισμούς
- ✓ Σημαντική μείωση μέχρι εξάλειψη της ανάγκης για χημική επεξεργασία που απαιτεί ειδικά ανθεκτικά υλικά, άρα οικολογική και φιλική προς το περιβάλλον

Πρωτεϊνική μηχανική ενζύμων



Τροποποίηση – βελτίωση ενζύμων

Οι στόχοι του σχεδιασμού και παρασκευής μετασχηματισμένων ενζύμων είναι οι παρακάτω:

- Αύξηση της ενεργότητας των ενζύμων
- Βελτίωση της σταθερότητας
- Δυνατότητα δράσης των ενζύμων σε διαφορετικά περιβάλλοντα
- Αλλαγή του βελτίστου pH και θερμοκρασίας
- Αλλαγή της εξειδίκευσης του ενζύμου έτσι ώστε να μπορεί να καταλύσει διαφορετικές αντιδράσεις
- Αύξηση της απόδοσης της αντίδρασης

Μαζική παραγωγή ενζύμων

- ✓ Μολονότι ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων που χρησιμοποιούνται στην ενζυμική τεχνολογία προέρχεται από φυτικές ή ζωικές πηγές, είναι εύλογο ότι η μελλοντική ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας θα βασισθεί σχεδόν αποκλειστικά στα ένζυμα μικροβιακής προέλευσης.
- ✓ Οι μικροοργανισμοί λοιπόν είναι ιδανικά κυτταρικά εργοστάσια για παραγωγή ενζύμων βιοτεχνολογικού ενδιαφέροντος.