

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

Διάλεξη 1 - Εισαγωγή

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

Π. Ζουμπουλάκης
Καθηγητής

Τρόπος διεξαγωγής μαθήματος

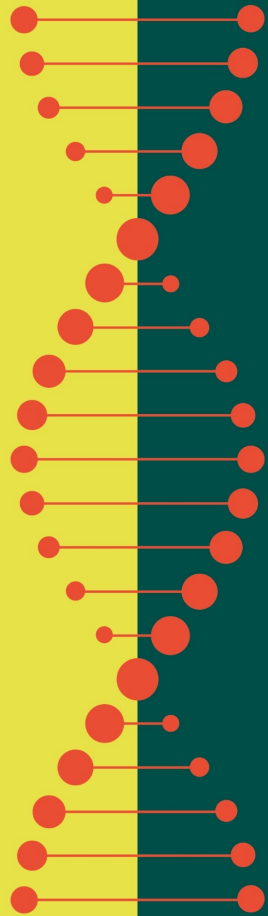
- Συμπληρωματικές βιντεοσκοπημένες διαλέξεις στο e-class (Μικρής διάρκειας – περισσότερες διαλέξεις).
- Να είστε συγχρονισμένοι με το e-class για ανακοινώσεις.
- Μπορείτε να επικοινωνείτε με TEAMS/e-class μήνυμα/e-mail.

Dean R. Appling, Spencer J. Anthony-Cahill, Christopher K. Mathews

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

Αρχές και εφαρμογές

Επιμέλεια: Ιωάννης Καπόλος, Παναγιώτης Ζουμπουλάκης, Γεωργία Μηράλιου
Μετάφραση: Δημήτρης Κιούσης, Νίκος Λεοντίδης, Νίκη Σόρογκα



ΚΡΙΤΙΚΗ

Βιοχημεία

Αρχές και εφαρμογές

Dean R. Appling

Spencer J. Anthony-Cahill

Christopher K. Mathews

ΚΡΙΤΙΚΗ

© 2024 Εκδόσεις Κριτική

Περιεχόμενα

A ΜΕΡΟΣ: ΔΟΜΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

- Βασικά χαρακτηριστικά των βιομορίων. Αμινοξέα, Πρωτεΐνες (δομές, ιδιότητες), Ένζυμα
Χρήση ελεύθερων υπολογιστικών εργαλείων για τη μελέτη της δομής πρωτεϊνών.
- Απομόνωση, παραλαβή πρωτεϊνών και προσδιορισμός της δομής τους.
- Πολυσακχαρίτες (κύριες κατηγορίες, βιοσυνθετικές οδοί και βιοδραστικότητα, παραδείγματα)
- Λιπίδια (κύριες κατηγορίες, βιοσυνθετικές οδοί και βιοδραστικότητα, παραδείγματα)

B ΜΕΡΟΣ: ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

- Βασικές αρχές του μεταβολισμού, σύνδεση αναβολισμού και καταβολισμού.
- Γλυκόλυση , Γλυκονεογένεση
- Κύκλος κιτρικού οξέος, Οξειδωτική φωσφορυλίωση
- Οδός φωσφορικών πεντοζών
- Καταβολισμός των Λιπαρών Οξέων
- Οξείδωση Αμινοξέων και Παραγωγή Ουρίας
- Φωτοσύνθεση
- Βιοσύνθεση λιπιδίων , Βιοσύνθεση αμινοξέων
- Μεταβολική/Ορμονική ρύθμιση

Βιοχημεία

- Στόχος είναι η κατανόηση της χημικής βάσης όλων των διεργασιών της ζωής.
- Όλες οι βιοεπιστήμες προϋποθέτουν την κατανόηση της γλώσσας της χημείας.
- Αποτελεί κλάδο της βιολογίας και της χημείας.
- Οι μεμονωμένες αντιδράσεις εκτός κυττάρου είναι **απλούστευση** που δεν ισχύει στο κύτταρο όπου πραγματοποιείται ένα συντονισμένο σύστημα από εκατοντάδες ή χιλιάδες αντιδράσεις που λαμβάνουν την ίδια στιγμή στον ίδιο χώρο.

Οι απαρχές της βιοχημείας

Η αρχή ίσως έγινε ~8000 χρόνια πριν με τη ζύμωση του μούστου σε κρασί

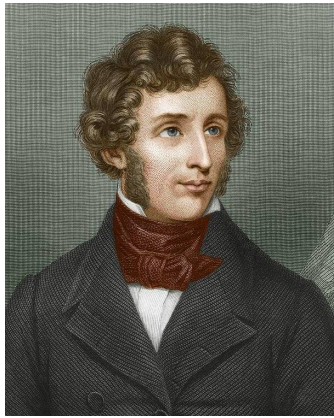


EIKONA 1.1

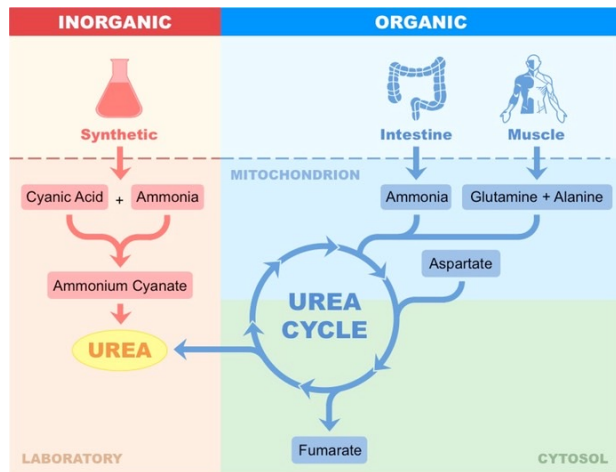
Μια αρχαία εφαρμογή της βιοχημείας. Η οينوποιία στην Αίγυπτο γύρω στα 1500 π.Χ.

Τους τελευταίους 3 αιώνες καθιερώθηκε ως επιστήμη

Οι απαρχές της βιοχημείας



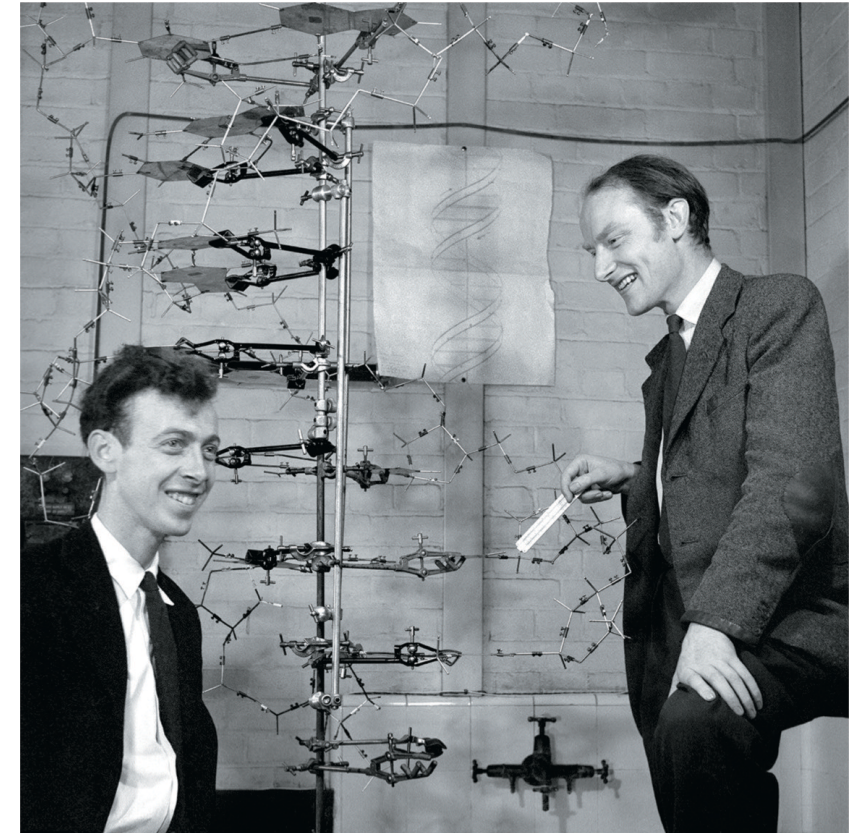
Friedrich Wohler (1800-1882)



- Επικρατούσα αντίληψη ότι οι ουσίες μέσα στους οργανισμούς ήταν **ποιοτικά διαφορετικές** από εκείνες μέσα στην άψυχη ύλη. Φράγμα μεταξύ ζώντων και μη ζώντων οργανισμών.
- **Βιταλισμός** (ζωτικοκρατία): Η ζώση και η άψυχη ύλη είναι θεμελιωδώς διαφορετικές. Οι βιολογικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα μόνο υπό την επίδραση μιας **μυστηριώδους ζωτικής δύναμης** και όχι με φυσικές και χημικές διαδικασίες.
- Το 1828 ο **Wohler** απέδειξε ότι η ουρία (βιολογικής προέλευσης ουσία) μπορεί να παρασκευαστεί στο εργαστήριο από την ανόργανη ένωση του κυανικού αμμωνίου.
- «Πρέπει να σας ενημερώσω ότι μπορώ να παρασκευάσω ουρία χωρίς να χρειαζομαι νεφρό ή κάποιο ζώο ούτε άνθρωπο ή σκύλο.»
- Το δόγμα του βιταλισμού καταρρίφθηκε το 1897 από τους **Eduard και Hans Buchner** που ανακάλυψαν ότι **εκχυλίσματα από διασπασμένα και νεκρά κύτταρα ζύμης μπορούσαν να ζυμώσουν τα σάκχαρα σε αιθανόλη.**

Οι απαρχές της βιοχημείας

- Ένζυμα, βιολογικοί καταλύτες εξειδικευμένοι για κάθε βιοχημική αντίδραση.
- Επινοήθηκε το 1878. Προέρχεται από την ελληνική λέξη «ένζυμος» που σημαίνει ζυμωτός/με μαγιά.
- Το 1926 ο **James Sumner** έδειξε ότι ένα ένζυμο από φασόλια (ουρεάση) **μπορεί να κρυσταλλωθεί** όπως οποιαδήποτε οργανική ένωση και ότι αποτελείται εξολοκλήρου από πρωτεΐνη. → Τέλος του βιταλισμού.
- Έκφραση γονιδίων που ελέγχουν τη σύνθεση των εμπλεκόμενων ενζύμων.
- Ο **Gregor Mendel** (~1850) είχε προτείνει την έννοια του γονιδίου ως μονάδα κληρονομικής πληροφορίας. Το 1900 κυτταρικοί βιολόγοι συνειδητοποίησαν ότι τα γονίδια βρίσκονται σε χρωμοσώματα που αποτελούνται από πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα.
- Ο **Friedrich Miescher** το 1869 ανακάλυψε τα νουκλεϊκά οξέα.
- Το 1953 ο **J. Watson και F. Crick** ανακάλυψαν τη δομή της διπλής έλικας του DNA, τον πρωταρχικό φορέα της γενετικής πληροφορίας.



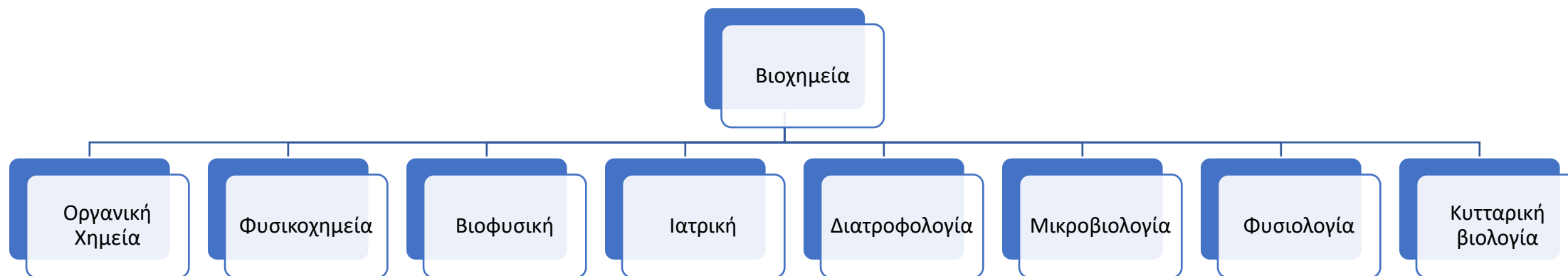
- 1985**
 - Ηλεκτροφόρηση παλλόμενου πεδίου
 - Διαγονιδιακά ζώα
 - Ενίσχυση του DNA: αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
- 1980**
 - Αυτοματοποιημένη σύνθεση ολιγονουκλεοτιδίων
 - Κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση κλωνοποιημένων γονιδίων
 - Αυτοματοποιημένη εύρεση της αλληλουχίας πρωτεΐνης σε μικροκλίμακα
 - Ταχύς προσδιορισμός της αλληλουχίας DNA
 - Μονοκλωνικά αντισώματα
- 1975**
 - Αποτύπωμα Southern
 - Διδιάστατη ηλεκτροφόρηση γέλης
 - Κλωνοποίηση γονιδίων
- 1970**
 - Χαρτογράφηση περιορισμού κλασμάτων μορίων DNA
 - Ταχείες μέθοδοι για την κινητική των ενζύμων
- 1965**
 - Υγρή χρωματογραφία υψηλής επίδοσης
 - Ηλεκτροφόρηση γέλης πολυακρυλαμιδίου
 - Υβριδισμός σε διάλυμα των νουκλεϊκών οξέων
- 1960**
 - Καθορισμός πρωτεϊνικής δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων X
 - Φυγοκέντρηση σε βαθμίδωση ζώνης
 - Φυγοκέντρηση σε βαθμίδωση πυκνότητας
 - Απαριθμητής υγρού σπινθηρισμού
- 1955**
 - Πρώτος καθορισμός αλληλουχίας αμινοξέων πρωτεΐνης
 - Περίθλαση ακτίνων X ινών DNA
- 1950**
- 1945**
 - Χρήση ραδιοϊσοτοπικών ιχνηθετών για την αποσαφήνιση αντιδράσεων

- 2015**
 - Κρυο-ηλεκτρονική μικροσκοπία
 - Τεχνολογία CRISPR-Cas9
- 2010**
 - Συνθετική βιολογία
 - Ανάλυση αλληλουχίας RNA
 - Ανοσοκατακρήμνιση χρωματίνης/ προσδιορισμός αλληλουχίας
 - Πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα
 - Ανάλυση αλληλουχίας DNA δεύτερης γενιάς
- 2005**
 - Πρωτεϊνική ανάλυση με φασματομετρία μάζας
- 2000**
 - Επέκταση γενετικού κώδικα
 - Ανάλυση γονιδίων σε μικροσυστοιχίες
 - Δυναμική ενός μορίου
- 1995**
 - Στοχευμένη καταστολή γονιδίου
 - *In vivo* NMR
 - Μικροσκοπία ατομικών δυνάμεων
- 1990**
 - Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης σήραγγας

ΕΙΚΟΝΑ 1.3

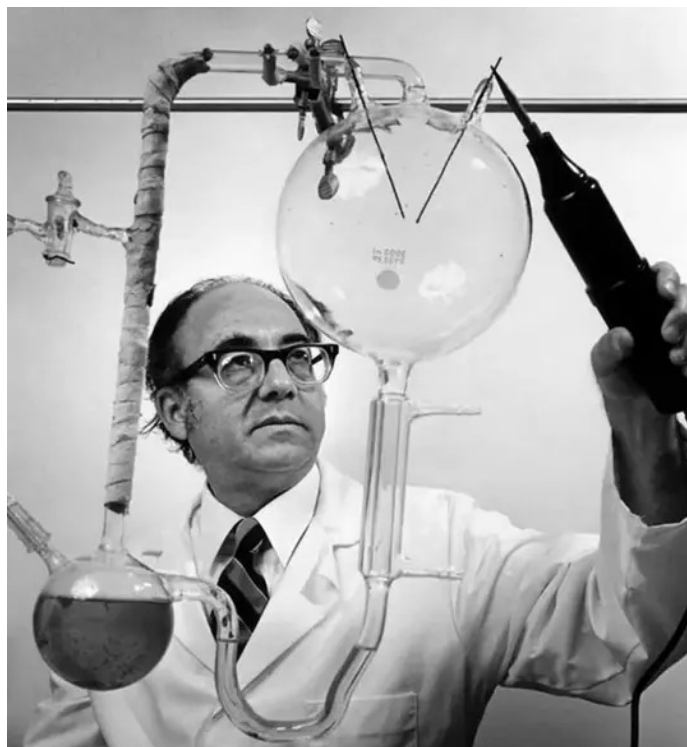
Η σύγχρονη ιστορία της βιοχημείας βάσει της εφαρμογής καινούργιων ερευνητικών τεχνικών. Το χρονολόγιο ξεκινά με τη χρήση των ραδιοϊσοτόπων ως βιοχημικών αντιδραστηρίων, αμέσως μετά τον Β' Παγκόσμιο Πόλεμο.

Βιοχημεία: Διαθεματική επιστήμη



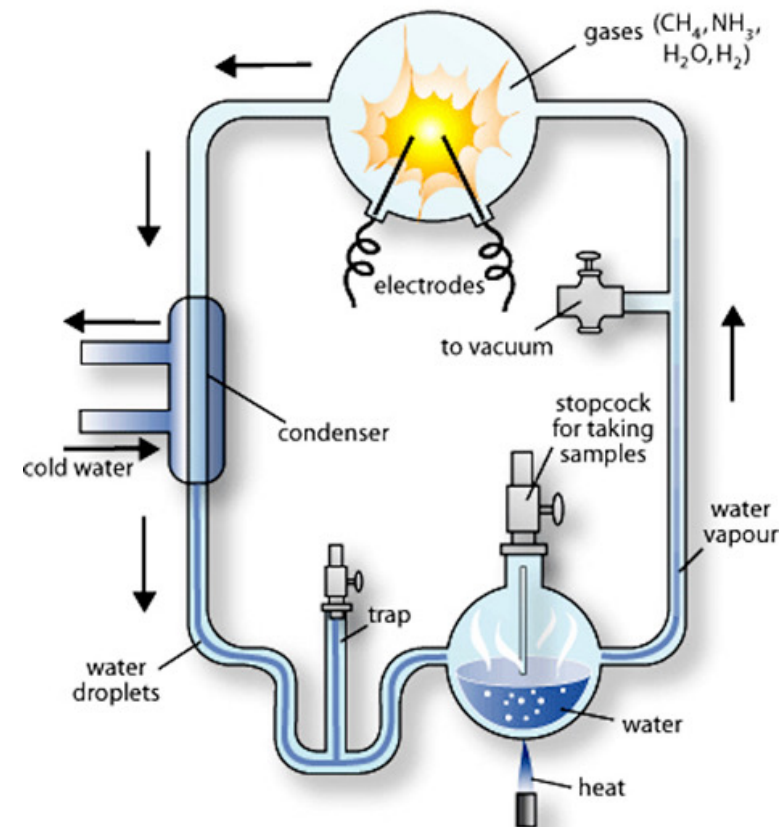
Προέλευση βιομορίων και κυττάρων

Πως σχηματίστηκαν στη Γη τα περίπλοκα χημικά μόρια που σχετίζονται με τα ζωντανά συστήματα;
Ο S. Miller το 1953 επιβεβαίωσε την υπόθεση ότι **οι βιολογικές ενώσεις θα μπορούσαν να έχουν παραχθεί αβιοτικά.**

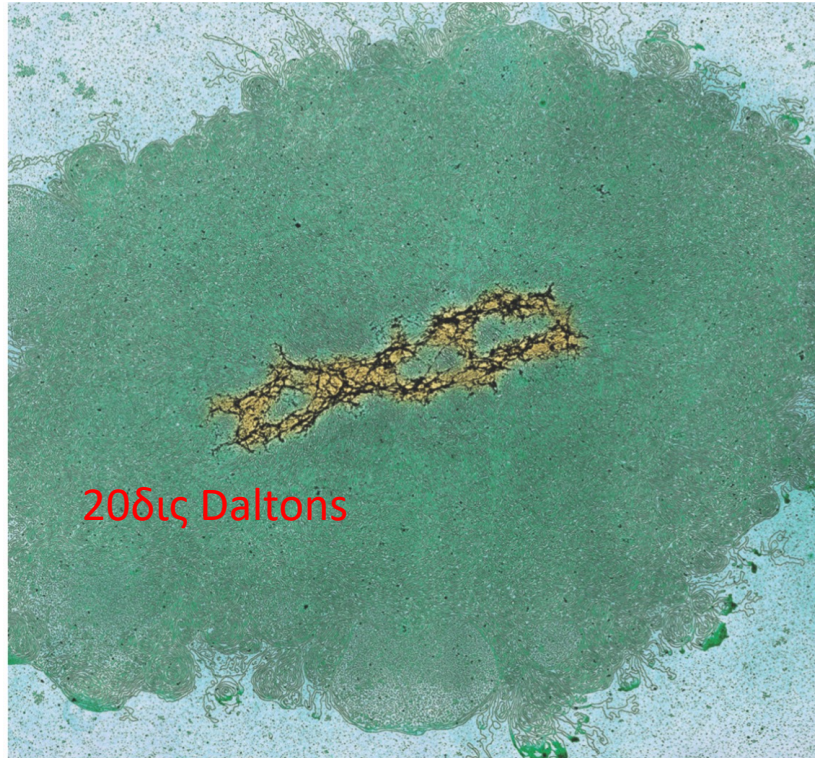


[Stanley Miller](#)

- Αρχέγονη σούπα στους ωκεανούς
- Έντονα αναγωγικό περιβάλλον λόγω απουσίας οξυγόνου από την ατμόσφαιρα
- Ευνοούνται αντιδράσεις σύνθεσης
- Ενέργεια από αστραπές ή ηφαιστειακές εκρήξεις



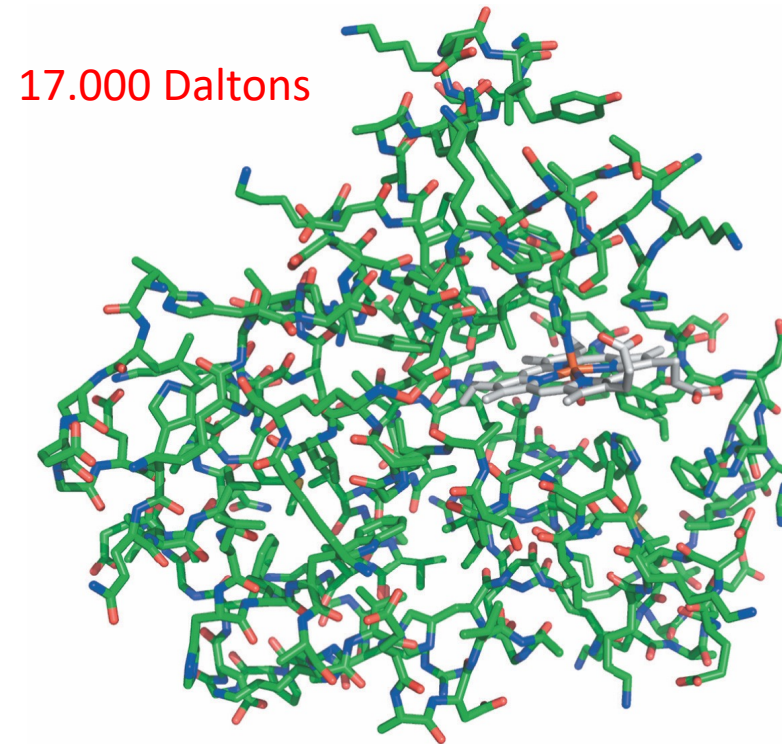
Πολυπλοκότητα και μέγεθος βιολογικών μορίων



20δς Daltons

ΕΙΚΟΝΑ 1.5

Τμήμα του DNA ενός ανθρώπινου χρωμοσώματος. Οι περισσότερες χρωμοσωμικές πρωτεΐνες έχουν απομακρυνθεί σε αυτή την ενισχυμένη με χρώμα ηλεκτρονιομικρογραφία, αφήνοντας μόνο ένα πρωτεϊνικό «σκελετικό» από το οποίο αναδύονται μεγάλοι βρόχοι του DNA.

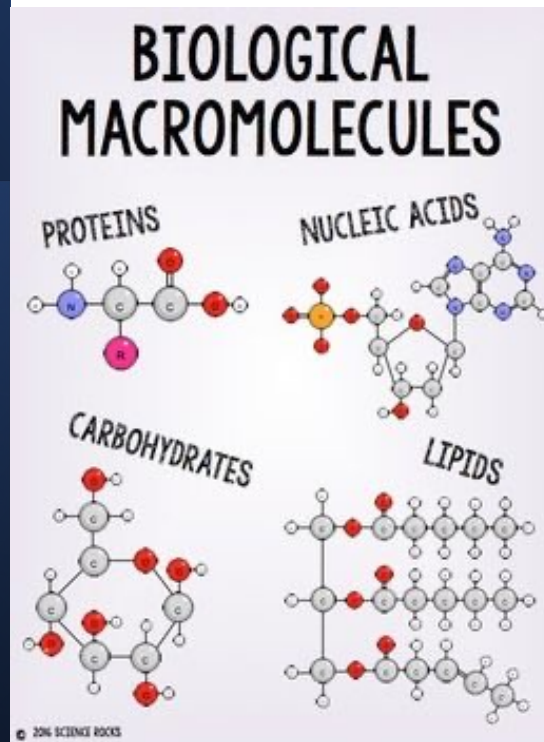


17.000 Daltons

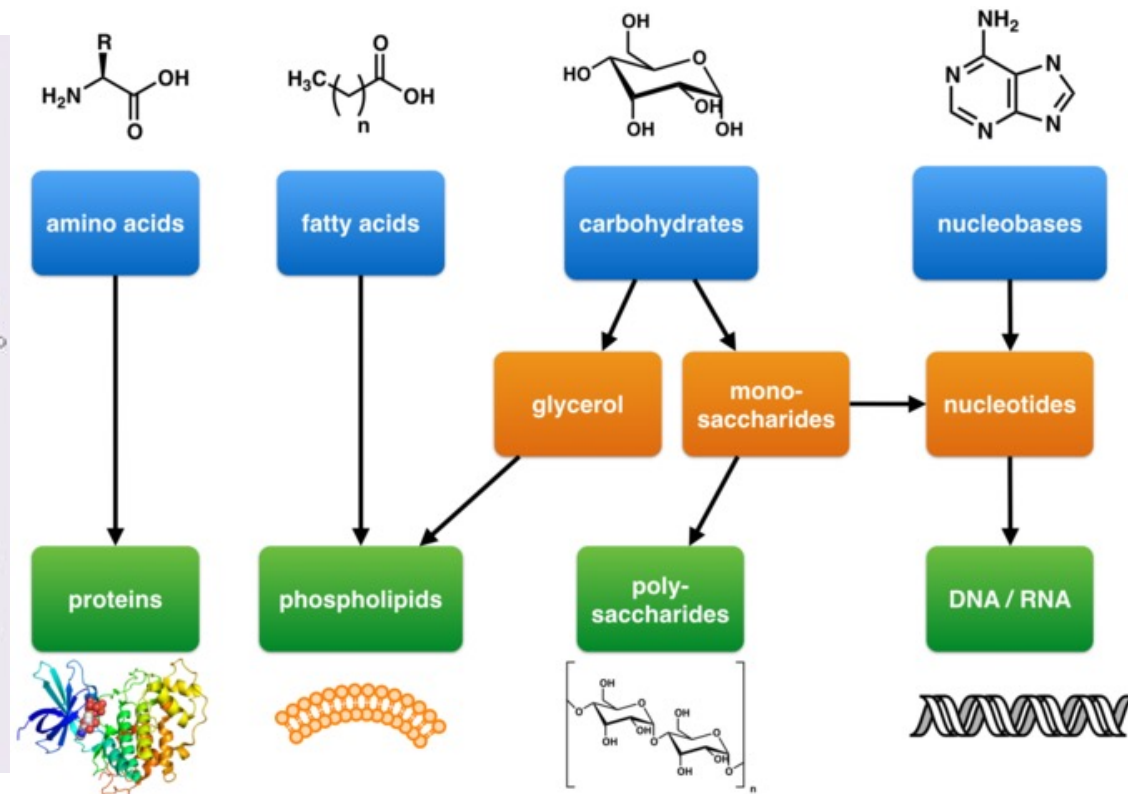
ΕΙΚΟΝΑ 1.6

Η τριδιάστατη δομή της μυοσφαιρίνης. Αυτό το μοντέλο ράβδων που έχει δημιουργηθεί μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή παρουσιάζει υπό μορφή ράβδων τη μυοσφαιρίνη μιας φάλαινας φυσητήρα. Πρόκειται για την πρώτη πρωτεΐνη της οποίας η δομή αποκαλύφθηκε με τη χρήση περίθλασης ακτίνων Χ. Αποτελεί, επομένως, την πρώτη ένδειξη που είχαμε για την πολυπλοκότητα και την εξειδίκευση των τριδιάστατων δομών των πρωτεϊνών. Protein Data Bank (PDB) ID: 1mbn.

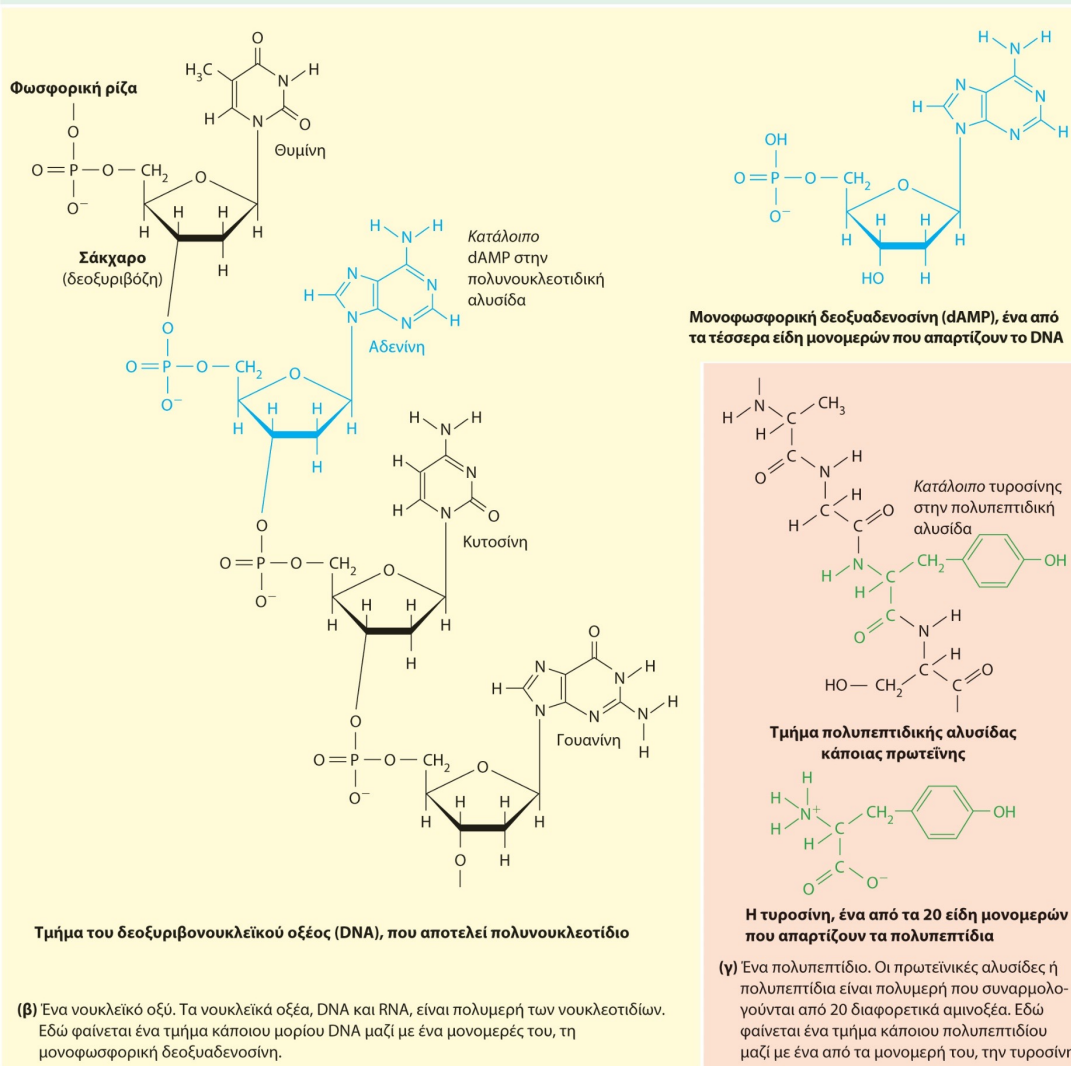
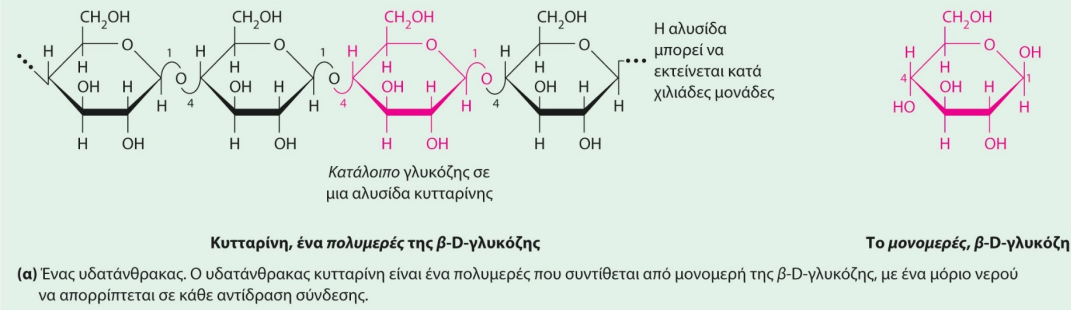
Βιομόρια και Βιοπολυμερή



Από τα μονομερή στα πολυμερή

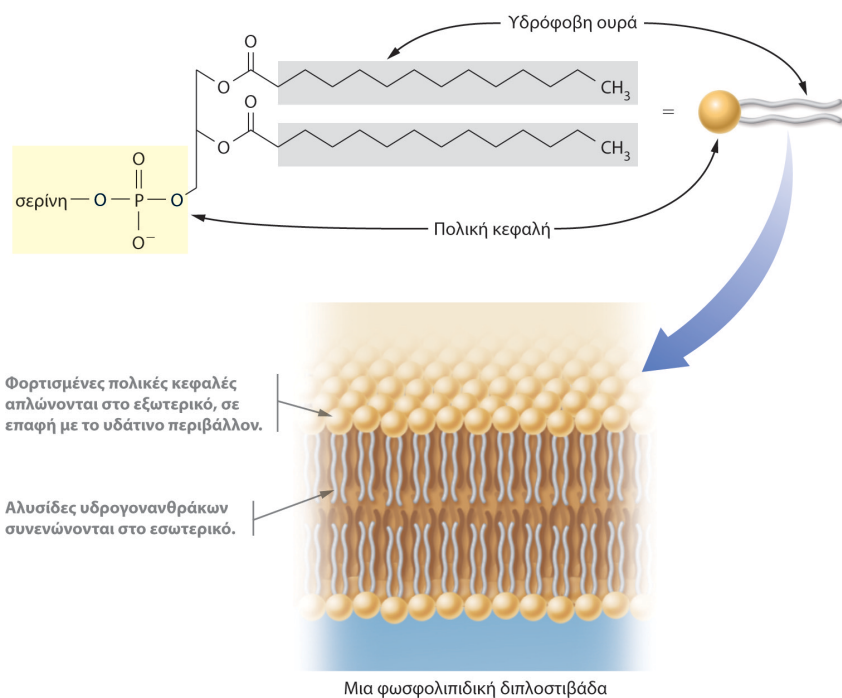


Βιομόρια και Βιοπολυμερή



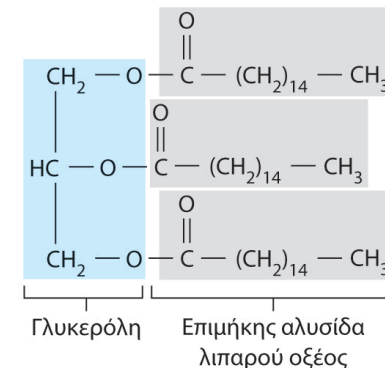
ΕΙΚΟΝΑ 1.7
Παραδείγματα βιολογικών πολυμερών ή βιοπολυμερών.

Λιπίδια και μεμβράνες

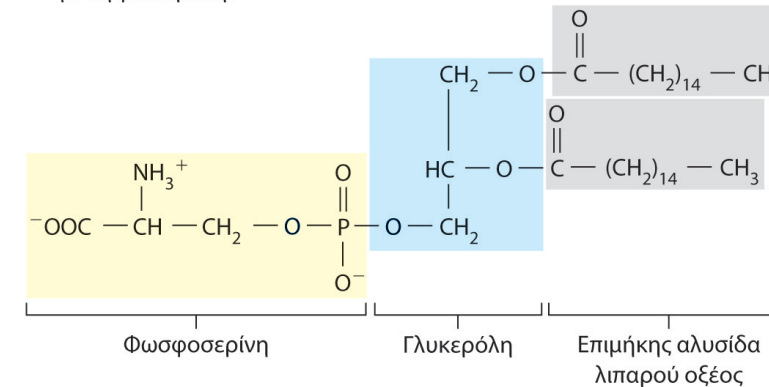


ΕΙΚΟΝΑ 1.9
 Ο σχηματισμός μιας φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας. Οι δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων σε κάθε μόριο φωσφολιπιδίου συνενώνονται στο εσωτερικό, ενώ οι φορτισμένες πολικές κεφαλές απλώνονται στο εξωτερικό, σε επαφή με το υδάτινο περιβάλλον. Αν και η εικόνα δείχνει μια διδιάστατη δομή, η διπλοστιβάδα αποτελεί ένα φύλλο, το οποίο εκτείνεται σε τρεις διαστάσεις. Εδώ, η φωσφορική πολική κεφαλή συνδέεται με το αμινοξύ σερίνη. Μπορούν να συνδεθούν και άλλα υποκατάστατα πέρα από τη σερίνη, όπως θα συζητήσουμε στο Κεφάλαιο 10.

Αμφιπαθή ή αμφίφυλα μόρια



(α) Μια τριακυλογλυκερόλη. Σε αυτό το παράδειγμα, τρία μόρια ενός C₁₆ κορεσμένου λιπαρού οξέος, του *παλμιτικού οξέος*, εστεροποιούνται με τη γλυκερόλη.



(β) Ένα φωσφολιπίδιο (*φωσφατιδυλοσερίνη*)



(γ) Η χοληστερόλη, μια στερόλη

ΕΙΚΟΝΑ 1.8
 Δομές τυπικών λιπιδίων.

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ζωντανών συστημάτων

Οι **7 πυλώνες της ζωής** του Daniel Koshland (1920-2007)

1^{ος} πυλώνας: Οργανωμένο πρόγραμμα για τη συγκρότηση και αναπαραγωγή του οργανισμού (πληροφορίες στο DNA).

2^{ος} πυλώνας: Αυτοσχεδιασμός – ικανότητα του προγράμματος να μεταλλάσσεται ώστε να ευνοηθεί η επιβίωση καθώς το περιβάλλον μεταβάλλεται (με το πέρασμα γενεών).

3^{ος} πυλώνας: Διαμερισματοποίηση ενός οργανισμού ώστε να διαχωρίζεται από το περιβάλλον (π.χ. με μεμβράνες) για την πραγματοποίηση διαφορετικών αντιδράσεων του προγράμματος. Πχ καταμερισμός εργασίας στη βασική λειτουργική ομάδα του κυττάρου.

4^{ος} πυλώνας: Ενέργεια (πχ από τον ήλιο για τους φωτοσυνθετικούς). Αντιδράσεις που αποδίδουν και αντιδράσεις που καταναλώνουν ενέργεια.

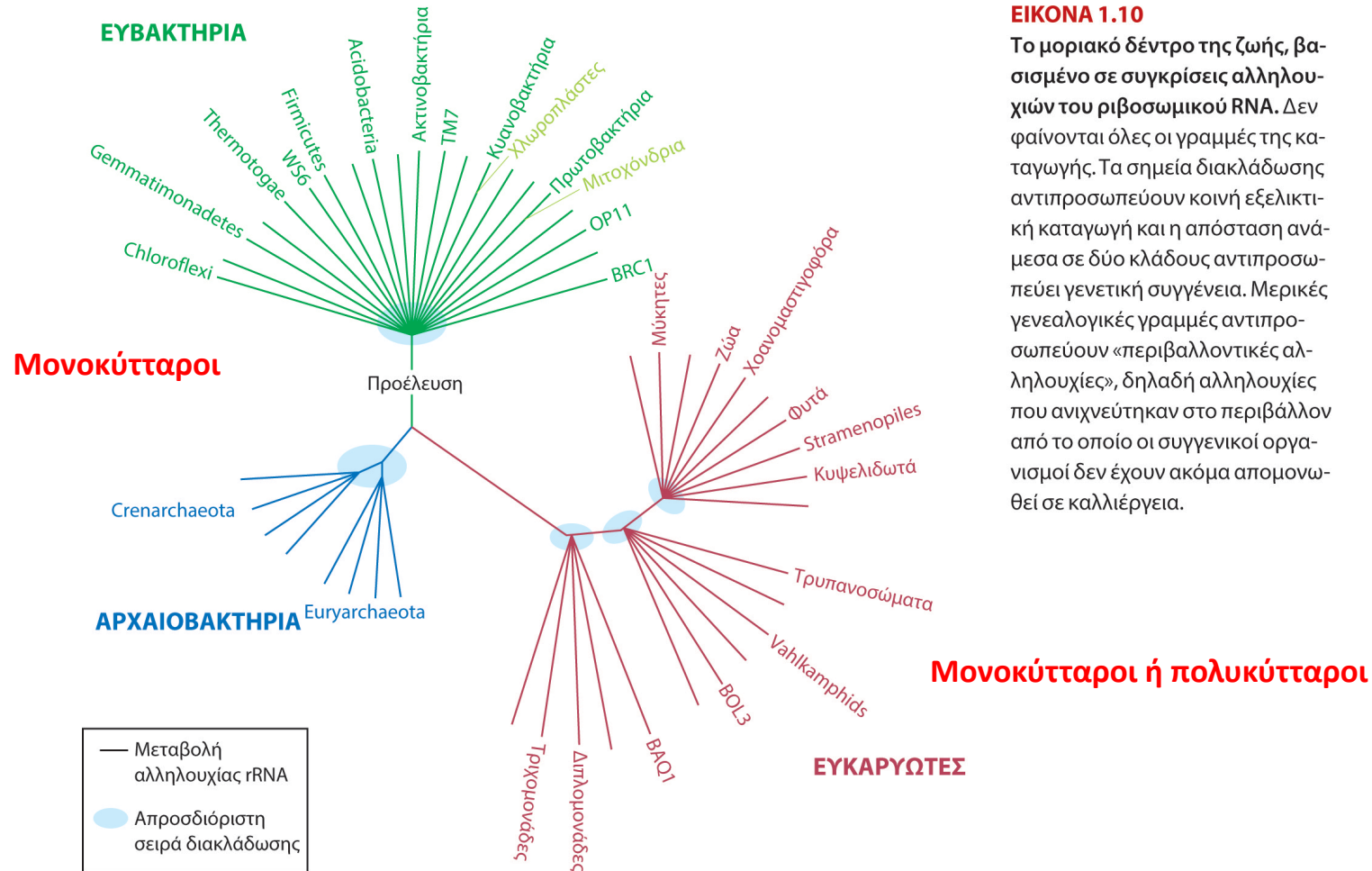
5^{ος} πυλώνας: Αναγέννηση (ικανότητα αντιστάθμισης της αναπόφευκτης φθοράς) πχ αποδόμηση πρωτεϊνών.

6^{ος} πυλώνας: προσαρμοστικότητα (ανταπόκριση στις περιβαλλοντικές μεταβολές). Πείνα όταν τα αποθέματα θρεπτικών συστατικών μειωθούν.

7^{ος} πυλώνας: Απομόνωση των μεταβολικών οδών ακόμα και αν λαμβάνουν χώρα στο ίδιο διαμέρισμα ενός κυττάρου. Διαφορετικοί δρόμοι για το ίδιο μεταβολικό προϊόν (π.χ. γλυκόζη στο ήπαρ).

Κύτταρο: Μονάδα βιολογικής οργάνωσης

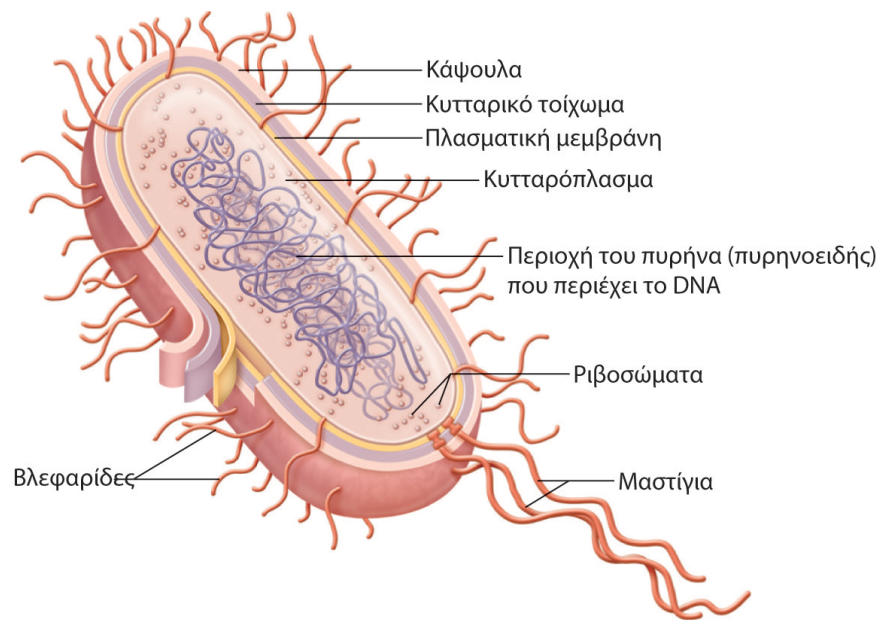
Τάξεις οργανισμών βάσει κυτταρικών δομών



EIKONA 1.10

Το μοριακό δέντρο της ζωής, βασισμένο σε συγκρίσεις αλληλουχιών του ριβοσωμικού RNA. Δεν φαίνονται όλες οι γραμμές της καταγωγής. Τα σημεία διακλάδωσης αντιπροσωπεύουν κοινή εξελικτική καταγωγή και η απόσταση ανάμεσα σε δύο κλάδους αντιπροσωπεύει γενετική συγγένεια. Μερικές γενεαλογικές γραμμές αντιπροσωπεύουν «περιβαλλοντικές αλληλουχίες», δηλαδή αλληλουχίες που ανιχνεύτηκαν στο περιβάλλον από το οποίο οι συγγενικοί οργανισμοί δεν έχουν ακόμα απομονωθεί σε καλλιέργεια.

Προκαρυωτικά κύτταρα & οργανισμοί

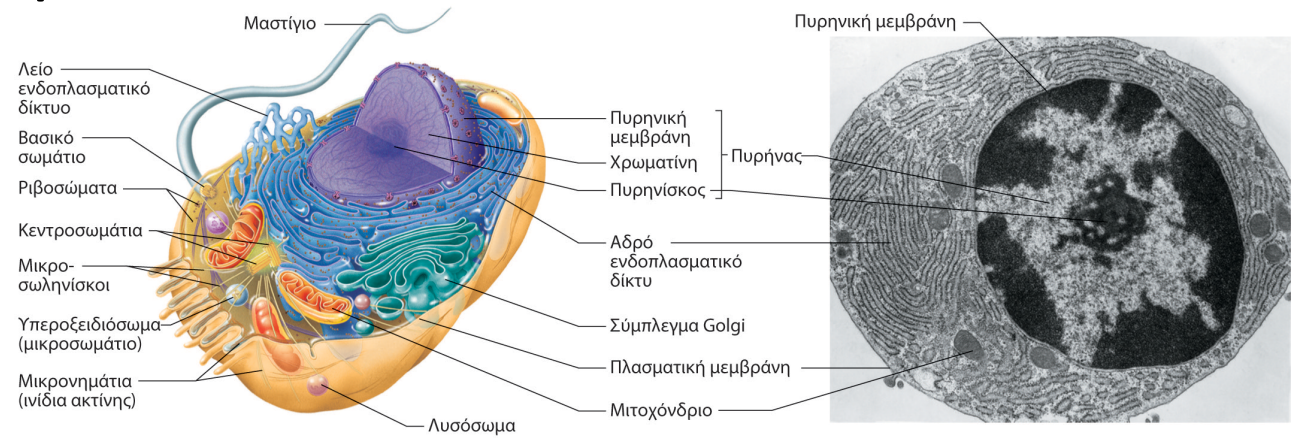


(α) Σχηματική αναπαράσταση ενός αντιπροσωπευτικού βακτηριακού κυττάρου. Το μόριο του DNA το οποίο απαρτίζει το περισσότερο γενετικό υλικό είναι περιελιγμένο σε μια περιοχή που ονομάζεται πυρηνοειδής, η οποία μοιράζεται το ρευστό εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα) με τα ριβοσώματα (τα οποία συνθέτουν πρωτεΐνες), άλλα σωματίδια και μια μεγάλη ποικιλία διαλυμένων μορίων. Το κύτταρο περικλείεται από μια πλασματική μεμβράνη, εξωτερικά της οποίας συνήθως υπάρχει ένα αρκετά άκαμπτο κυτταρικό τοίχωμα. Πολλά βακτήρια έχουν επίσης μια ζελατινοειδή εξωτερική κάψουλα. Από την επιφάνεια μπορεί να προβάλλουν βλεφαρίδες, οι οποίες προσκολλούν το κύτταρο σε άλλα κύτταρα ή επιφάνειες, και ένα ή περισσότερα μαστίγια, τα οποία παρέχουν τη δυνατότητα στο κύτταρο να κολυμπάει μέσα σε υγρό περιβάλλον.

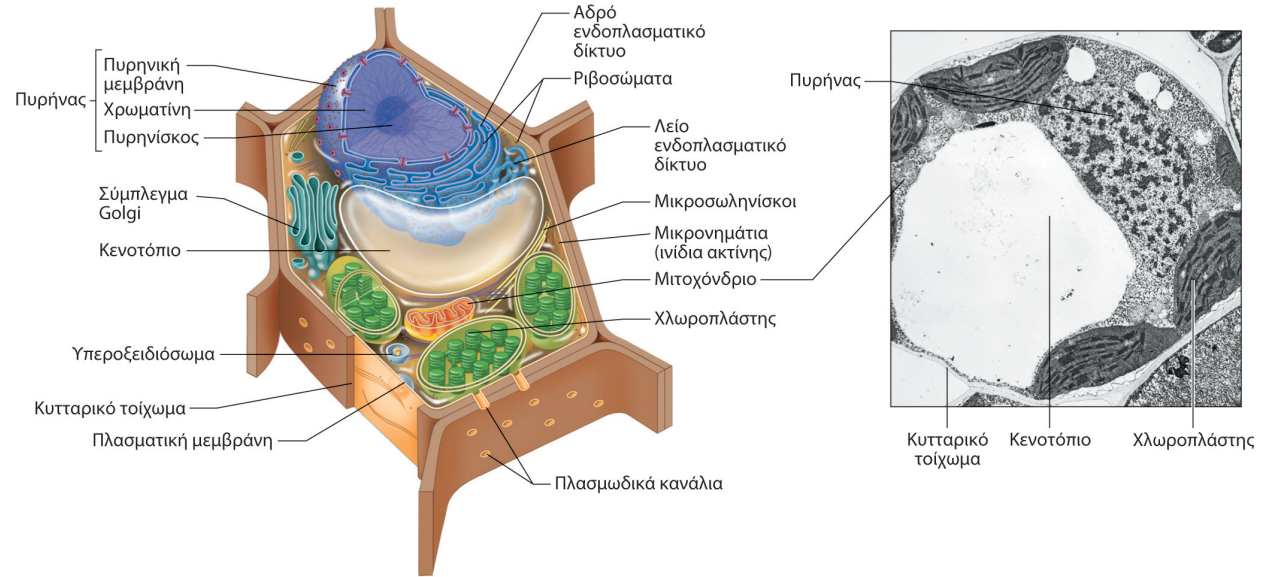


(β) Ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης του *Salmonella*: ένα ραβδόμορφο, αρνητικό κατά Gram εντεροβακτήριο το οποίο προκαλεί τυφοειδή πυρετό, παράτυφο και ασθένειες που προέρχονται από τις τροφές.

Ευκαρυωτικά κύτταρα

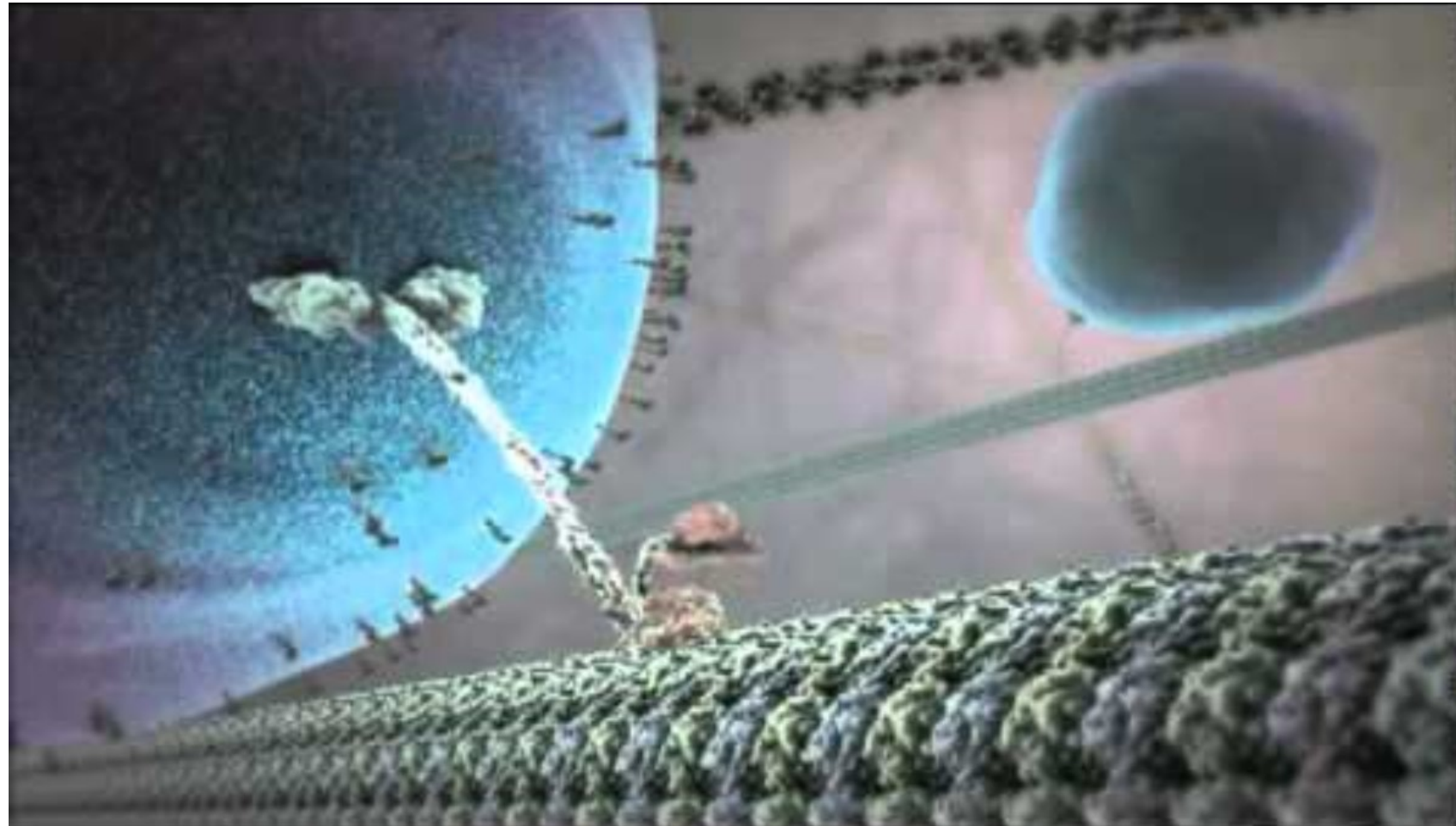


(α) **Τυπικό ζωικό κύτταρο.** Η συνοδευτική φωτογραφία αποτελεί ηλεκτρονιομικρογραφία μικροσκοπίας ενός αντιπροσωπευτικού ζωικού κυττάρου, ενός λευκού αιμοσφαιρίου.



(β) **Τυπικό φυτικό κύτταρο.** Η συνοδευτική φωτογραφία αποτελεί ηλεκτρονιομικρογραφία ενός αντιπροσωπευτικού φυτικού κυττάρου, του φλέω του λειμνίου (*Phleum pratense*).

0:10 Αιμοφόρο αγγείο
0:18 Πρωτεΐνες προσκόλλησης/καντερίνες
0:44 Νήματα ακτίνης
0:53 Πολυμερισμός ινών ακτίνης
1:07 Πολυμερισμός μικροσωληνίσκων
1:12 Αποπολυμερισμός μικροσωληνίσκων
1:15 Μοριακές πρωτεΐνες (κινεσίνη/δυνείνη)
1:28 Κεντροσωμάτια (Κεντριόλια)
1:36 Πυρηνική εξαγωγή RNA μέσω πυρηνικών πόρων
1:48 Μετάφραση
1:57 Μετα-μεταφραστική μεταφορά στα μιτοχόνδρια
1:59 Συν-μεταφραστική μεταφορά στο ενδοπλασματικό δίκτυο
2:11 Μοριακές πρωτεΐνες (κινεσίνη/δυνείνη)
2:17 Σύμπλεγμα Golgi
2:22 Εκκριτική διαδικασία (Εξωκύττωση)
2:30 Ίνες κολλαγόνου & εξωκυττάρια ουσία + διαμεμβρανικές πρωτεΐνες
2:47 Λευκό αιμοσφαίριο



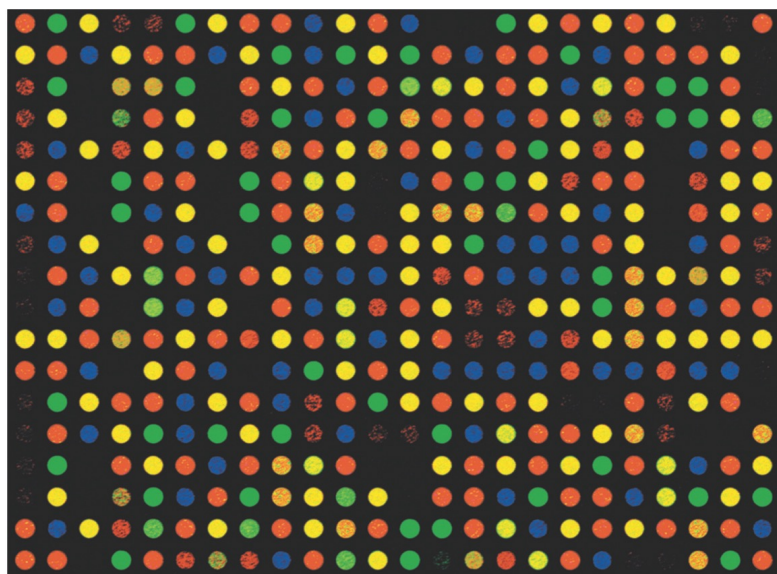
<https://www.youtube.com/watch?v=wJyUtbn0O5Y&t=5s>

Βιοχημεία και η εποχή της πληροφορίας

21.000 γονίδια κωδικοποιούν >100.000 πρωτεΐνες

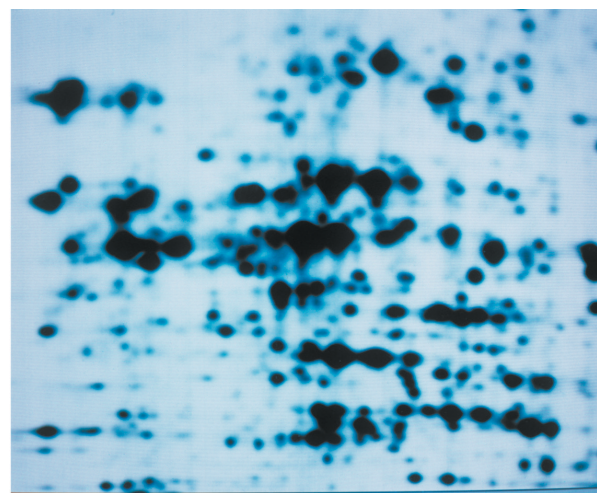
Δυσκολία ενοποίησης δεδομένων μέσω μεμονωμένων αντιδράσεων και μεταβολικών διαδρομών.

Βιοπληροφορική!



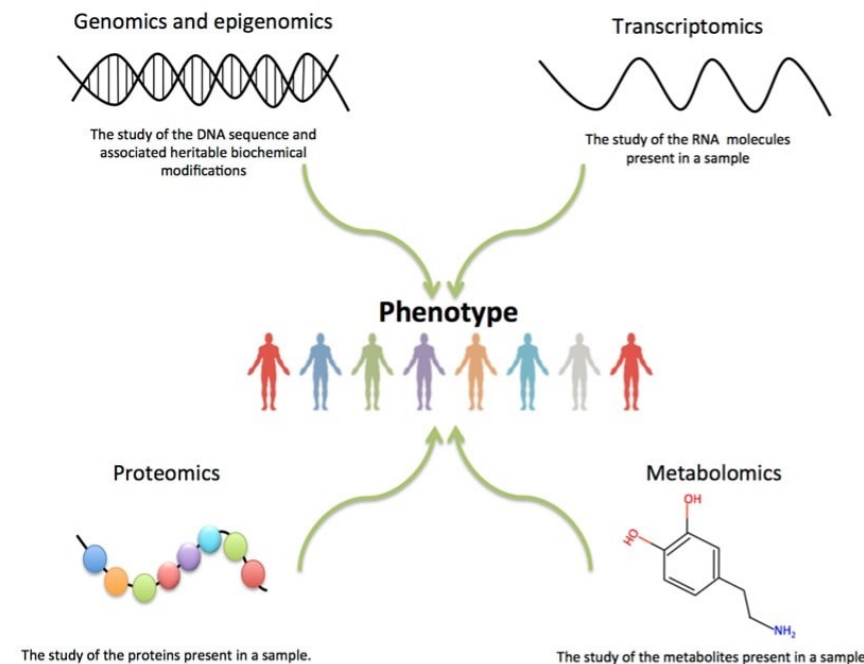
ΕΙΚΟΝΑ 1.13

Μια μικροσυστοιχία DNA. Σε αυτό το πείραμα έχει χρησιμοποιηθεί το σύστημα ανίχνευσης MICROMAX, 2 μg ανθρώπινου αγγελιαφόρου RNA από φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα που υπέστησαν ανόπτηση με ακινητοποιημένα cDNA αντιπροσωπεύοντας 2400 ανθρώπινα γονίδια. Οι εντάσεις των κηλίδων και τα χρώματα δείχνουν την αφθονία ενός συγκεκριμένου γονιδίου – συγκεκριμένου mRNA (για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο κείμενο και στο Κεφάλαιο 24).

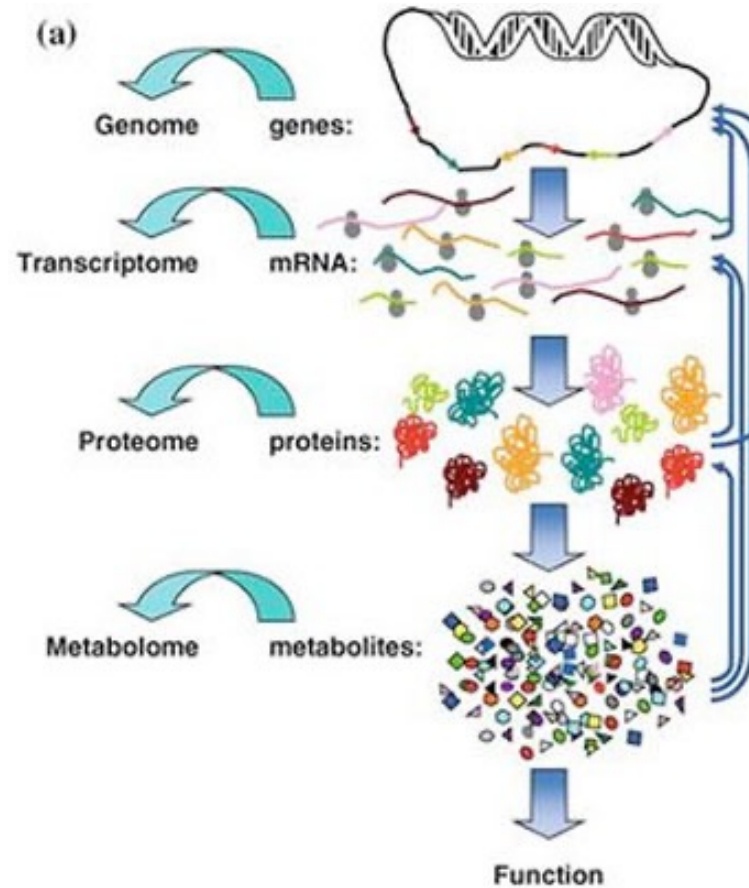


ΕΙΚΟΝΑ 1.14

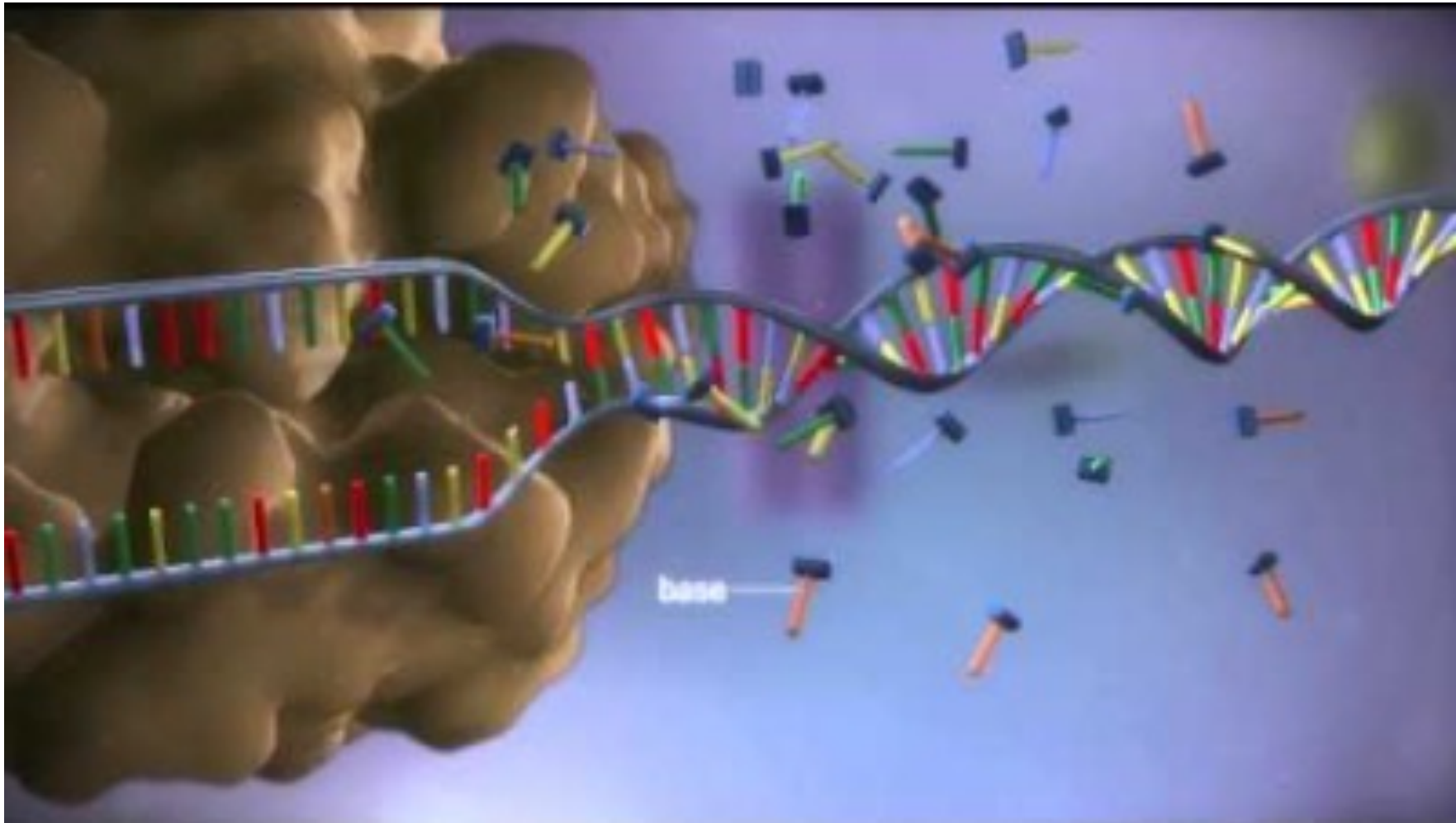
Παρουσίαση του πρωτεώματος με διδιάστατη ηλεκτροφόρηση γέλης. Ένα εκχύλισμα από όλες τις πρωτεΐνες ενός κυττάρου ή ιστού απλώνεται στη μία γωνία μιας πλάκας από υλικό σε μορφή γέλης και οι πρωτεΐνες διαλύονται κατά μήκος της μίας ακμής της πηκτής με *ισοηλεκτρική εστίαση*, η οποία διαχωρίζει τις πρωτεΐνες με βάση τη σχετική οξύτητα (οριζόντια πάνω στο σχήμα). Η γέλη περιστρέφεται κατά 90 μοίρες και ο διαχωρισμός συνεχίζεται με την ηλεκτροφόρηση γέλης μετουσιωμένου πολυακρυλαμίδου (Κεφάλαιο 2), η οποία διαχωρίζει τις πρωτεΐνες με βάση το μοριακό βάρος. Ακολουθεί χρώση με ένα ευαίσθητο αντιδραστήριο αργύρου. Στο παράδειγμα που παρουσιάζεται, περισσότερες από 1500 πρωτεΐνες ανιχνεύθηκαν σε ένα εκχύλισμα κυττάρων ζύμης.



Από το γονίδιο στους μεταβολίτες



Από το γονίδιο στην πρωτεΐνη



Η μελέτη της χημείας των διεργασιών της ζωής

