

Aktiveringsvolym och strukturell omorganisation under konformationsutbyte i β -fosfoglukomutas-komplex med övergångstillståndsanaloger

Hilya Nadhira Iman (hi6388im-s@student.lu.se)

Ordning övergår naturligt till oordning, och levande varelser befinner sig i en ständig kamp mot denna tendens. Ett av de sätt biologiska system uppnår ordning är genom att utnyttja fosfoesterbindningen, som är en anmärkningsvärt stabil kemisk binding och kan hålla i miljontals år. Biologin manipulerar dessa extremt starka bindningar för att lagra energi och driva annars ogynnsamma reaktioner. Detta uppnås med hjälp av enzymer, proteiner (biologiska byggstenar bestående av aminosyror) som hjälper till att driva kemiska reaktioner.

Enzymer hjälper reaktioner att ske genom flera strategier, till exempel genom att orientera atomer korrekt, öka reaktiviteten hos specifika atomer eller stabilisera tillstånd med hög energi. De är flexibla och dynamiska strukturer som expanderar, kontraherar och rör sig för att utföra sin funktion. Enzymer existerar i många olika konformationer och växlar ständigt mellan dem. Att studera rörelserna hos dessa enzymer är en viktig del av att förstå hur de fungerar.

Här undersöker vi β -fosfoglukomutas, ett enzym som bryter en fosfoesterbindning vid en specifik position på en socker-molekyl och återskapar denna bindning vid en annan position, vilket kallas fosforyl-överföringsreaktion. Exakt hur β -fosfoglukomutas fungerar är fortfarande oklart. För att reaktionen ska kunna ske måste sockret frigöras i en intermediär form och återigen bindas av enzymet. Frigörandet av liganden (ligand är ett generellt begrepp för en molekyl som binder till ett enzym) har inte studerats mycket, eftersom enzymstudier oftast fokuserar på ligandbindningen snarare än frigörandet av en ligand.

Vår studies syfte är att observera de strukturella förändringar som sker i β -fosfoglukomutas och som möjliggör det för enzymet att "sparka ut" den intermediära sockermolekylen från reaktionscentret. Kärnmagnetisk resonans är en metod som används för att observera ett enzyms dynamiska processer medan det rör sig i lösning, precis som det skulle göra inuti cellen. Eftersom varje atomkärna är en liten magnet kan vi detektera deras signaler genom att placera dem i ett mycket starkt magnetfält. Sedan skickas specifika pulser till dessa atomkärnor och vi kan lyssna på vad de svarar, vilket ger oss information på atomnivå.

Vi har fångat enzymet i ett tillstånd som efterliknar det energimässigt högsta steget i fosforyl-överföringsreaktionen. Genom att komprimera enzymet med höga tryck kunde vi mäta volymförändringen mellan två tillstånd i detta reaktionssteg och identifiera vilka specifika regioner av enzymet som är involverade. Vi observerade en volymförändring motsvarande ungefär två vattenmolekyler, vilket kan vara kopplat till den rörelse som utlöser frigörandet av liganden. Vi observerade också en partiell öppning av reaktionscentret, som är begravt inuti enzymet. Detta ger oss ytterligare en pusselbit i arbetet med att avslöja mekanismen hos β -fosfoglukomutas.

Även om β -fosfoglukomutas är ett specifikt system är fosfoesterkemi central för många biologiska processer, däribland DNA-metabolism och cellulär signalering. Dessa fynd förbättrar vår förståelse av hur fosfoenzymer fungerar. Dessutom är det vi har observerat sannolikt relevant för den generella mekanismen för frisättning av ligander, ett viktigt steg i alla enzymatiska processer och protein-ligand-interaktioner. I framtiden kan denna kunskap bidra till att vägleda utvecklingen av nya enzymer och läkemedel.