

Abstrakt

Hydrolasy závislé na zinku patří do třídy metaloenzymů, které obsahují zinečnaté kationty katalyzující hydrolytické reakce. Strukturní studie těchto enzymů jsou prováděny za účelem získání detailních informací o povaze jejich trojrozměrné struktury, organizaci domén a štěpení jejich přirozených substrátů. Tato práce popisuje strukturní charakteristiku dvou různých metalohydrolas 1) lidské histondeacetylasy 6 (HDAC6) a 2) glutamátcarboxypeptidasy II (GCPII) s využitím odlišné sady biofyzikálních technik.

HDAC6 je strukturně unikátní vícedoménový enzym složený z nestrukturovaných a globulárních domén. Reguluje množství buněčných procesů odštěpováním acetylové skupiny z postranních řetězců lysinů vyskytujících se v cílových proteinech. Je známo, že HDAC6 deacetyluje substráty odlišné od histonů jako je tubulin, Hsp90, cortactin a peroxiredoxiny. Vzhledem k jeho strukturní komplexnosti jsou dostupné strukturní informace o HDAC6 omezeny pouze na jeho globulární domény. V této studii byl použit komplexní metodický přístup založený na integraci experimentálních dat získaných několika ortogonálními biofyzikálními technikami, který umožnil tvorbu strukturního modelu HDAC6 v roztoku. Získaný model ukazuje, že díky svým nestrukturovaným oblastem HDAC6 může zaujímat více konformací a v roztoku se pravděpodobně vyskytuje několik jeho konformačních variant současně. Model dále objasňuje potenciál HDAC6 vytvářet oligomery díky přítomnosti N-terminální domény vázající mikrotubuly (MBD).

Glutamátcarboxypeptidasa II (GCPII) je membránově vázaný metaloenzym, který obsahuje v aktivním místě dva zinečnaté ionty. Nadměrná exprese GCPII v určitých tkáních je spojena s výskytem neurologických poruch a rakovinou prostaty. Současný biomedicínální výzkum v této oblasti je proto zaměřen na vývoj inhibitorů vysoce specifických pro GCPII. Tyto inhibitory obvykle obsahují funkční skupinu vázající zinek (ZBG), která interaguje se zinečnatými ionty přítomnými v aktivním místě GCPII. Tato práce uvádí strukturní srovnání sulfonamidových inhibitorů s inhibitory na bázi fosforu, ve kterých obě funkční skupiny slouží jako ZBG. Uveřejněné studie uvádějí, že sloučeniny na bázi sulfonamidů mají 1000krát slabší inhibiční účinek ve srovnání s

inhibitory na bázi fosforu, nicméně detailní vysvětlení tohoto jevu nebylo zatím podáno. Abychom detailně porozuměli vzájemným interakcím mezi enzymem a inhibitorem, vyřešili jsme ve vysokém rozlišení trojrozměrnou strukturu sulfonamidového inhibitoru v komplexu s GCPII. Srovnání trojrozměrných struktur sulfonamidového inhibitoru s inhibitory na bázi fosforu odhalilo atypický vazebný vzorec sulfonamidu, ve kterém jeden atom kyslíku koordinuje katalytický atom zinku, zatímco druhý kyslík interaguje s molekulou vody v aktivním místě. Sloučeniny na bázi fosforu přímo koordinují ionty zinku v aktivním místě, nahrazují molekulu vody, čímž napodobují přechodový stav hydrolytické reakce. Naše studie potvrzuje, že sulfonamidová skupina je slabší ZBG než skupiny na bázi fosforu, a vysvětluje tak pozorované nízké inhibiční účinky sulfonamidového inhibitoru v kombinaci s GCPII.