

ISPITIVANJA INHIBICIJE DIPEPTIDIL PEPTIDAZE III METALNIM DIKATIONIMA

međunarodni znanstveno-stručni skup
18 RUŽIČKINI DANI
 DANAS ZNANOST – SUTRA INDUSTRIJA
 16. – 18. rujna 2020. | Vukovar, Hrvatska

Antonia Matic¹, Zrinka Karačić¹, Antonija Tomić¹,
 Hrvoje Brkić², Sanja Tomić¹

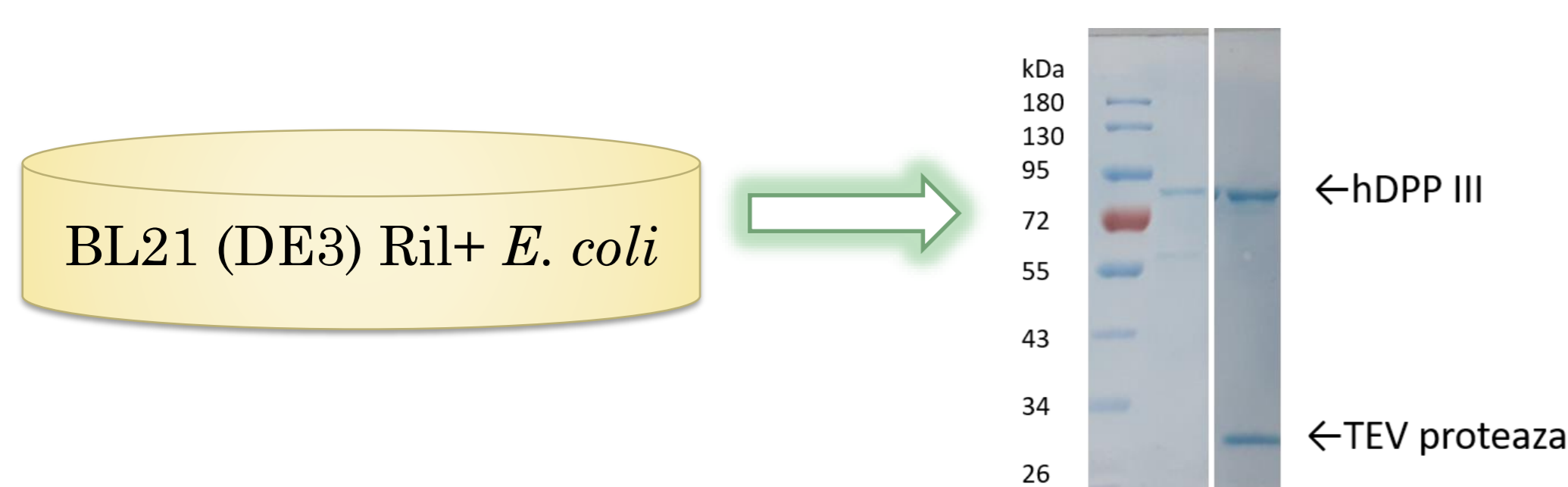
¹ Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb, Hrvatska

² Faculty of Medicine, J. J. Strossmayer University of Osijek,
 J. Huttlera 4, 31 000 Osijek, Hrvatska

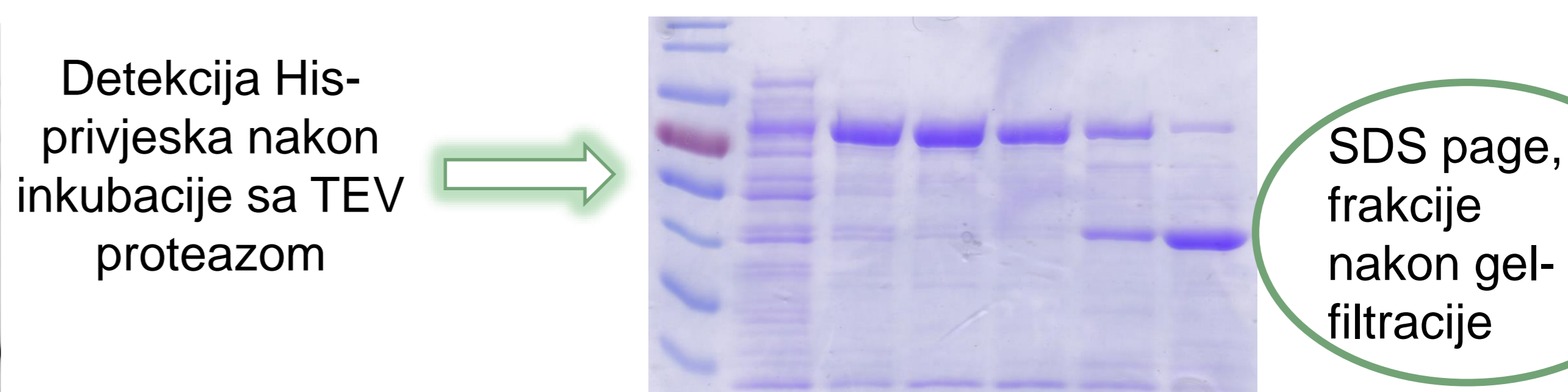


Dipeptidil peptidaza (DPP) III je egzopeptidaza ovisna o cinku čiji su motivi, "HEXXGH" i "EEXR(K)AE(D)" odgovorni za vezanje iona metala u aktivno mjesto enzima.¹ Peptidaznu aktivnost ljudske dipeptidil peptidaze III (hDPP III) inhibira suvišak iona cinka.¹ Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaje različitih koncentracija metalnih dikationa: Zn²⁺, Mn²⁺, Co²⁺ i Cu²⁺ na aktivnost hDPP III, te identificirati inhibitorско vezno mjesto metala. Postojanje inhibitornog veznog mjesta metala pretpostavljeno je na temelju strukturne sličnosti aktivnog mjesta hDPP III i termolizina kod kojeg je već dokazano vezanje drugog iona metala u neposrednoj blizini katalitički aktivnog iona (PDB: 1LND), te opaženog smanjenja aktivnosti hDPP III pri višim koncentracijama cinka.

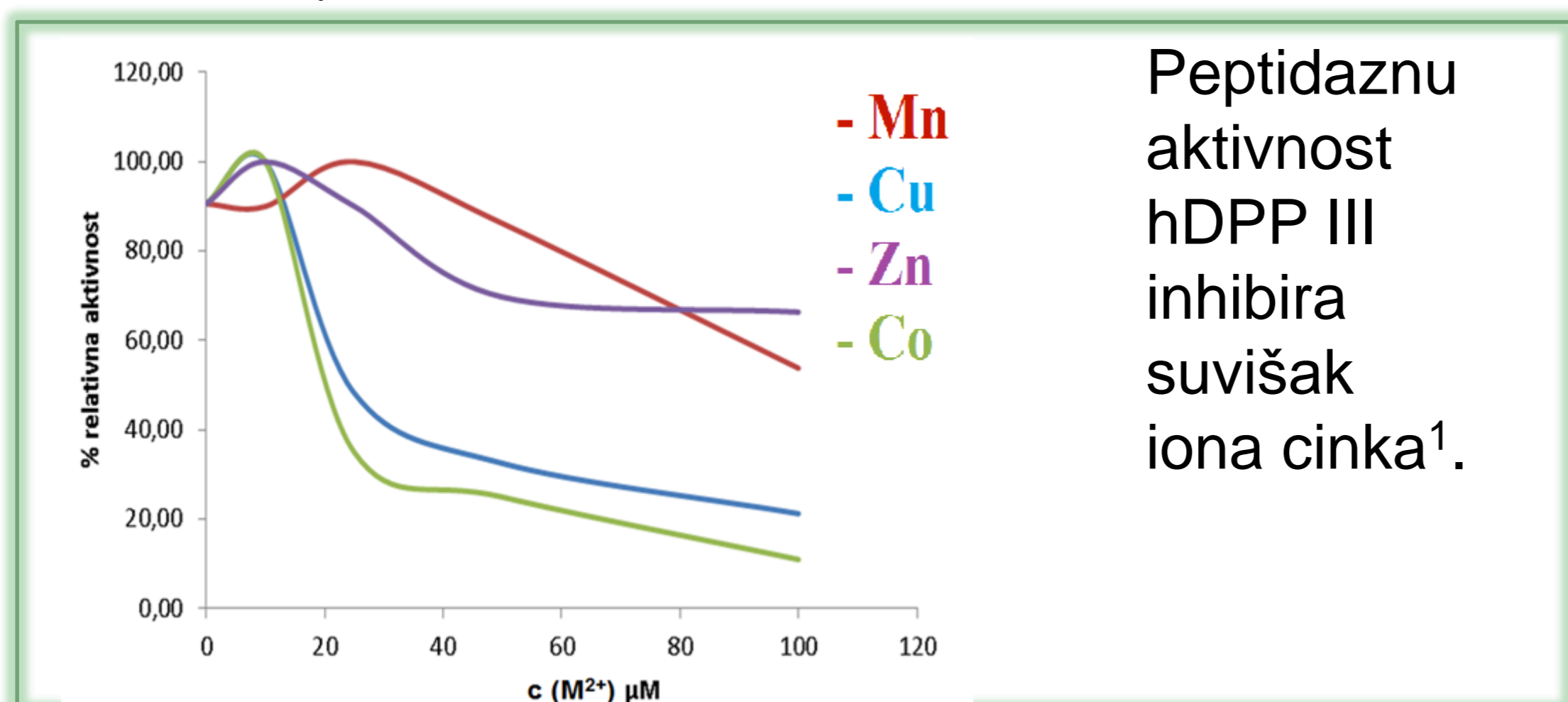
Ekspresija proteina



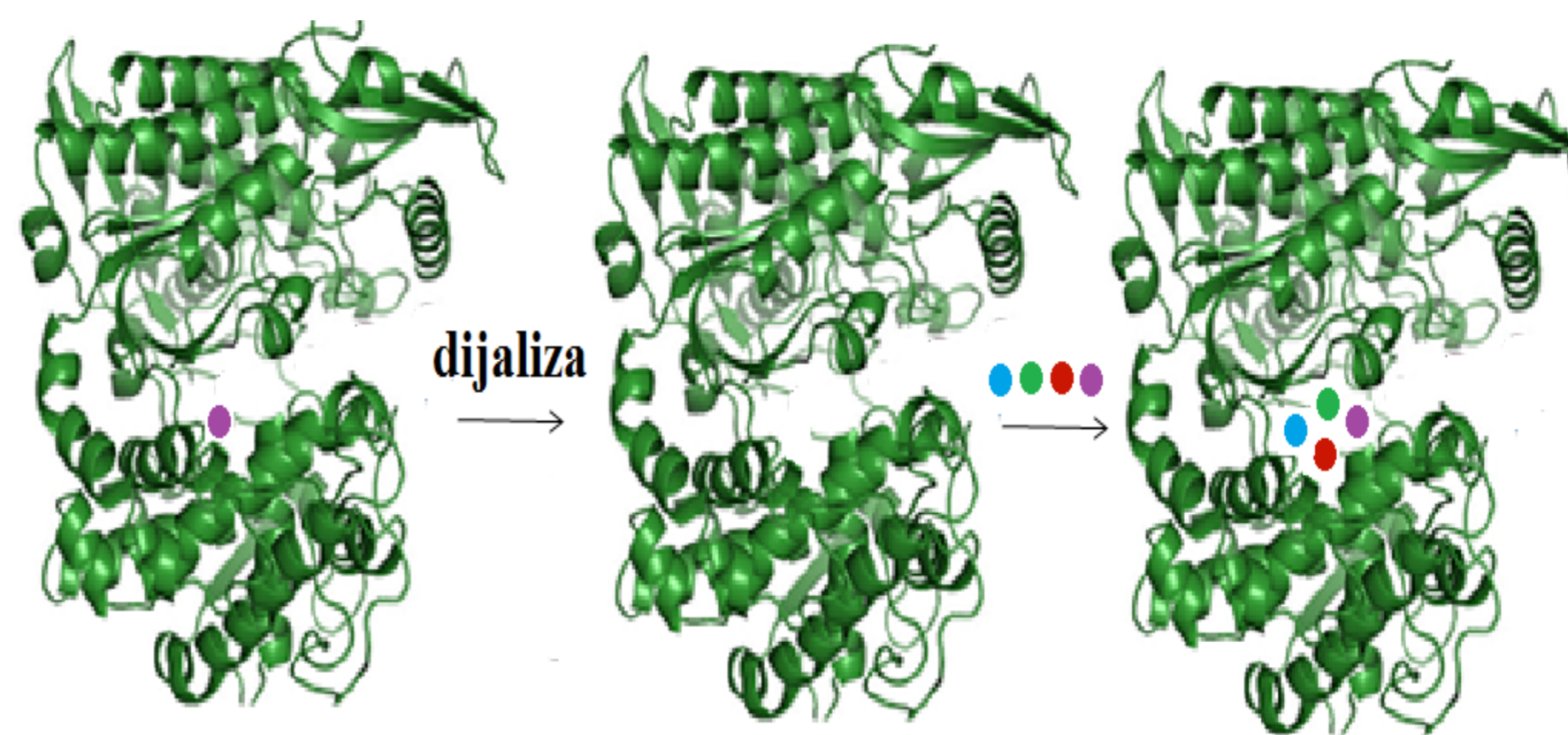
Uklanjanje His-privjeska nakon afinitetne kromatografije



Utjecaj metalnih dikationa na aktivnost hDPP III.



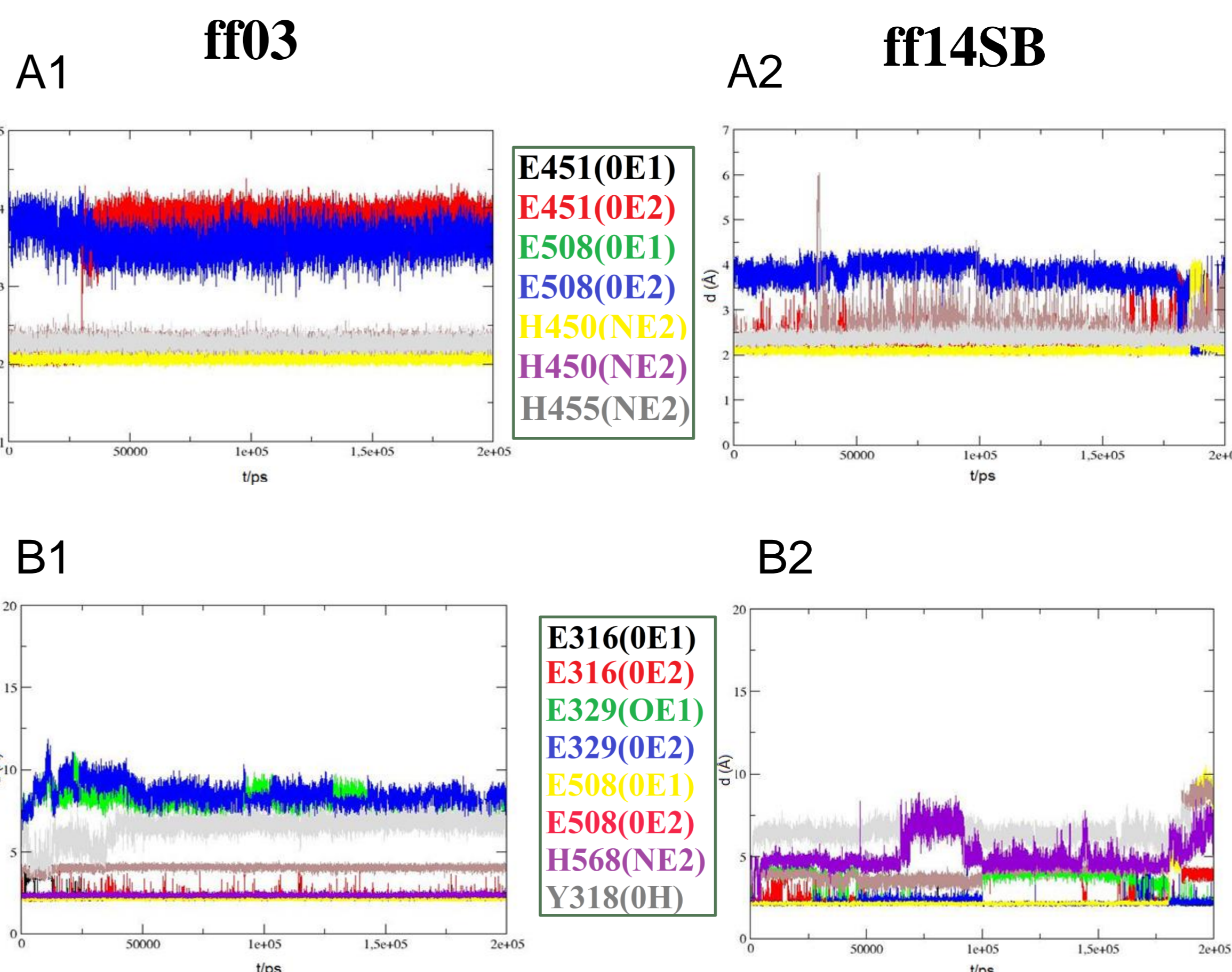
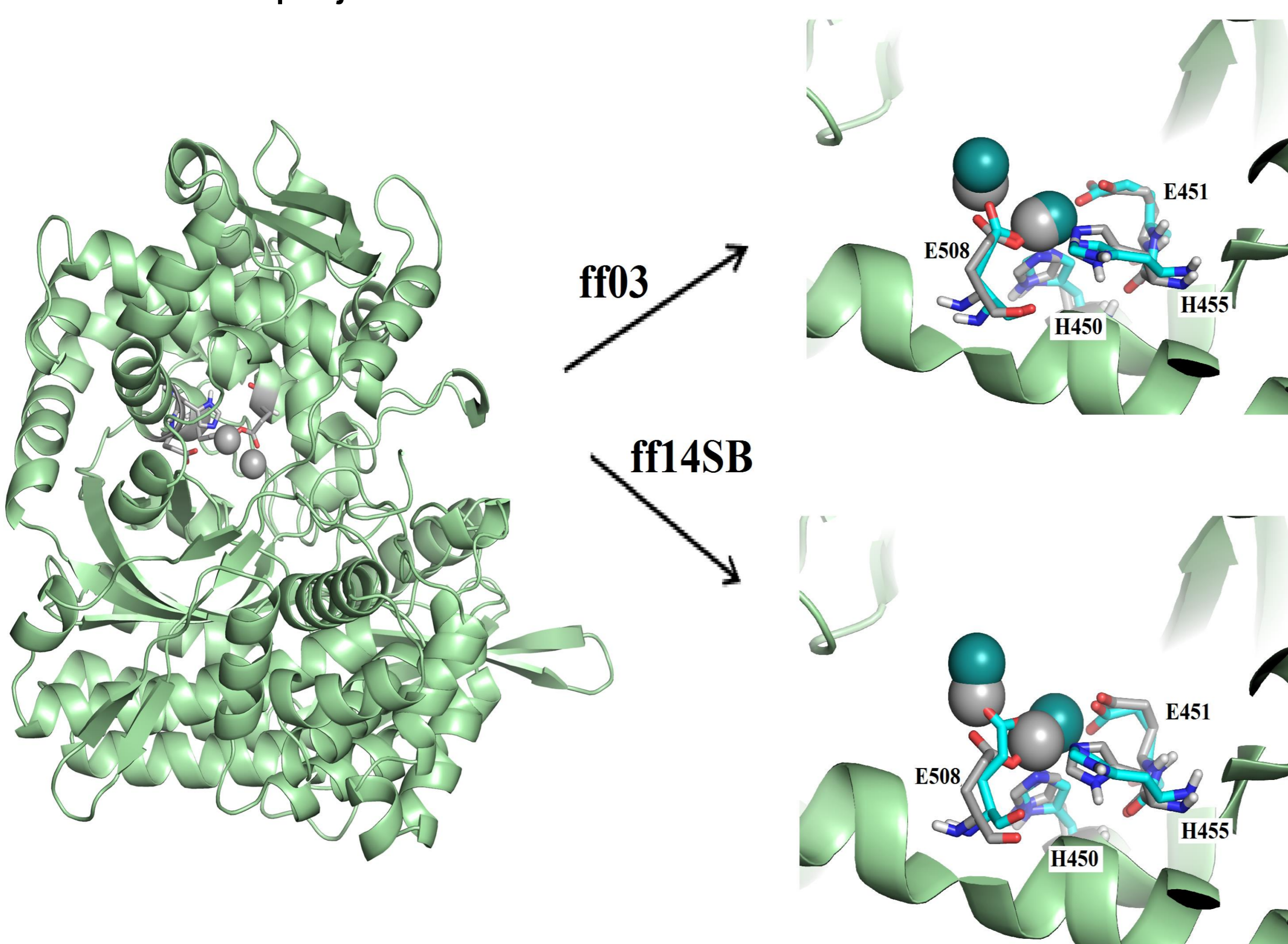
Budući eksperimenti



HR-ICP-MS (masena spektroskopija visoke rezolucije s induktivno spregnutom plazmom) → određuje se koncentracija metala u holoenzimu tj. broj iona metala prema molekuli proteina.

Vezanje drugog iona metala u tzv. 'inhibitorsko vezno mjesto metala' smješteno neposredno uz katalitički aktivno mjesto enzima, opaženo je u kristalografskim strukturama triju o cinku ovisnih enzima: karboksipeptidazi A, termolizinu i LpxC.¹

MD simulacije hDPP III (pdb: 5EHH) ff03 i ff14SB poljima sila.



Prikaz udaljenosti iona cinka od aminokiselina (d (Å)) u vremenu od 200 ns.

A1 i A2 za ion cinka u 'aktivnom' veznom mjestu

B1 i B2 za ion cinka u 'inhibitorskom' veznom mjestu

Literatura:

1. K.M. Fukasawa, J. Hirose, T. Hata, Bio.Biophys Acta.1804 (2010), 2063-2069.
2. W. N. Lipscomb, N. Sträter, Chem. Rev. 96 (1996), 2375-2434.



Acknowledgements: This work has been fully supported by Croatian Science Foundation under the project IP-2018-01-2936