

L-Asparaginazy widziane okiem krystalografa

Mariusz Jaskólski

Zakład Krystalografii, Wydział Chemii UAM, Poznań

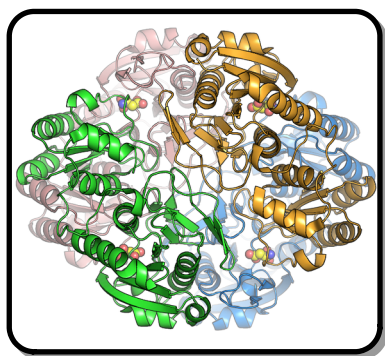
mariuszj@amu.edu.pl

Reakcja asparaginazowa należy do pierwszych aktywności enzymatycznych opisanych przez biochemików. Polega ona na rozkładzie L-asparaginy (L-Asn) do L-asparaginanu (L-Asp) z wydzielaniem amoniaku. Przypadkowe skojarzenie tej reakcji z aktywnością przeciwbiałaczkową doprowadziło do zastosowania asparaginaz bakteryjnych, w tym EcAII z *E. coli*, w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) oraz do usilnych prób ustalenia struktury i mechanizmu EcAII. Dzięki krystalografii, sukces został osiągnięty w 1993 r. i wiązał się z zaproponowaniem mechanizmu reakcji [1], w którym kluczową rolę odgrywa nukleofilowa reszta Thr89. Mechanizm ten został ostatnio podważony, a do roli reszty nukleofilowej zaproponowano Thr12.

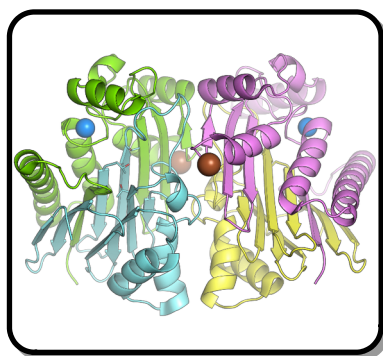
W roku 2000 odkryto strukturę krystaliczną zupełnie nowej asparaginazy, charakterystycznej dla roślin [2], choć badane białko (EcAIII) pochodziło z *E. coli*. EcAIII jest Ntn hydrolazą, co oznacza, że reszta nukleofilowa (Thr179) zostaje uwolniona na N-końcu podjednostki β podczas autoproteolizy (na podjednostki α/β) pierwotnego łańcucha białkowego. Koncepcja aktywacji grupy nukleofilowej OH reszty Thr179 przez jej wolną grupę aminową może budzić wątpliwości, dlatego poszukuje się alternatywnych reszt nukleofilowych, takich jak Thr230.

Niedawno odkryto strukturę krystaliczną kolejnej asparaginazy [3], reprezentowanej przez enzym ReAV z bakterii symbiotycznej *Rhizobium etli*. ReAV jest metaloproteiną, choć związany w niej cynk nie ma roli katalitycznej. Do roli nukleofila pretendują dwie reszty seryny, Ser48 i Ser80, obie zaangażowane w tandemy S-K.

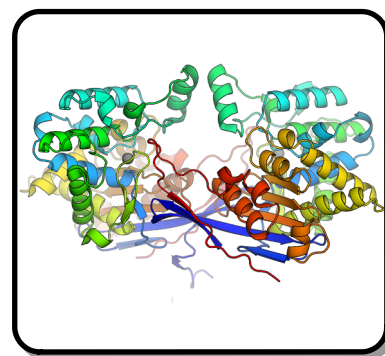
Znamy więc obecnie trzy odrębne Klasy asparaginaz, lecz w każdej Klasie istnieje dwuznaczność co do natury reszty nukleofilowej. Krystalografia i tu przychodzi z pomocą dzięki metodzie korelacji strukturalnych Bürgiego. Jeśli kompleks reagentów zbadano w wielu strukturach krystalicznych, można spodziewać się, że ich wzajemna konfiguracja zacznie układać się na optymalnej ścieżce reakcji. Dzięki bogatym zasobom strukturalnym w PDB, analizę taką przeprowadzono dla każdej Klasy asparaginaz, rozważając w każdym przypadku obie alternatywy reszty nukleofilowej. Geometria ataku na grupę amidową L-Asn jednoznacznie wskazuje w każdym przypadku właściwą resztę nukleofilową, mianowicie Thr12 w Klasie 1, Thr179 w Klasie 2 i Ser48 w Klasie 3.



EcAII



EcAIII



ReAV

Projekt finansowany przez grant NCN 2020/37/B/NZ1/03250.

[1] A.L. Swain, M. Jaskolski, D. Housset, J.K.M. Rao, A. Wlodawer (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 1474.

[2] D. Borek, M. Jaskolski (2000) *Acta Cryst. D* **56**, 1505.

[3] J.I. Loch, B. Imiolczyk, J. Sliwiak, A. Wantuch, M. Bejger, M. Gilski, M. Jaskolski (2021) *Nature Commun.* **12**, 6717.