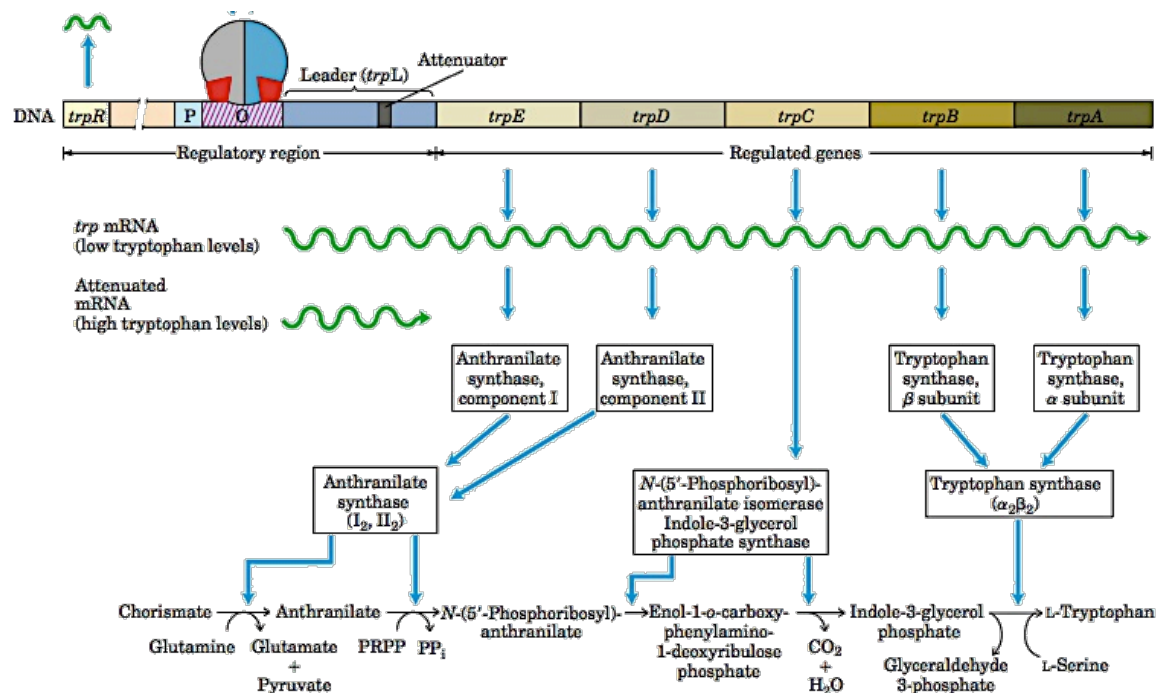


TRIPTOFAN SINTAZA

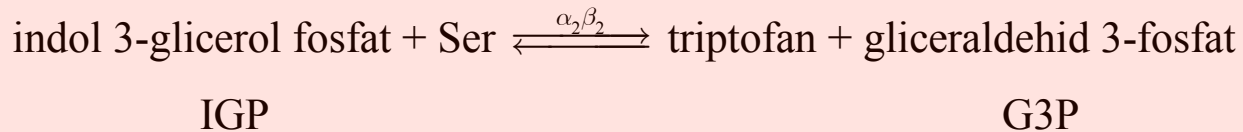
- triptofan pomemben za preživetje
- bakterije, glive, rastline
- sesalci s prehrano

- sinteza triptofana v petih stopnjah
- operon Trp
- encim triptofan sintaza zadnji dve stopnji

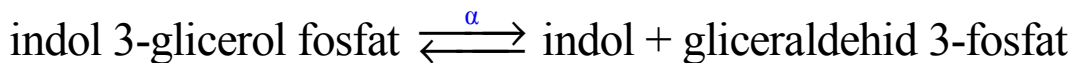


Triptofan sintaza- lastnosti

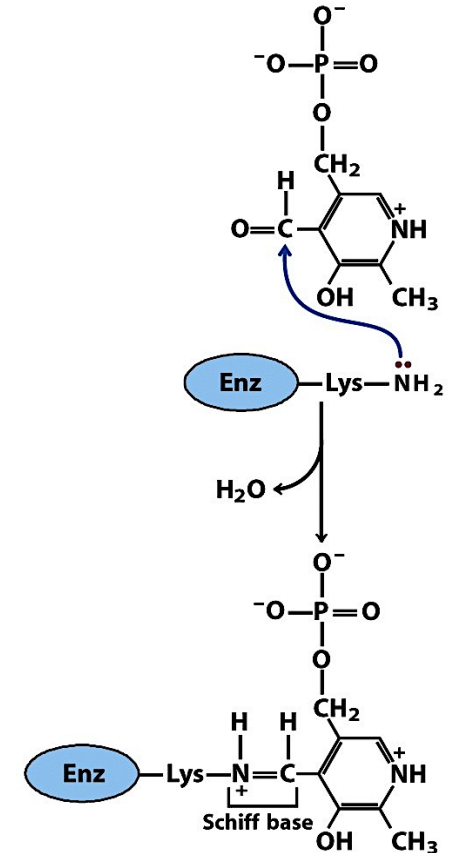
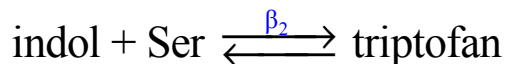
- 150 kDa
- tetramerni bifunkcionalni encim
- linearna ureditev podenot $\alpha\beta\beta\alpha$
- prostetska skupina piridoksal fosfat-PLP (β -podenota)
- PLP se na Lys encima veže preko Schiffove baze (interni aldimin)



α -podenota katalizira

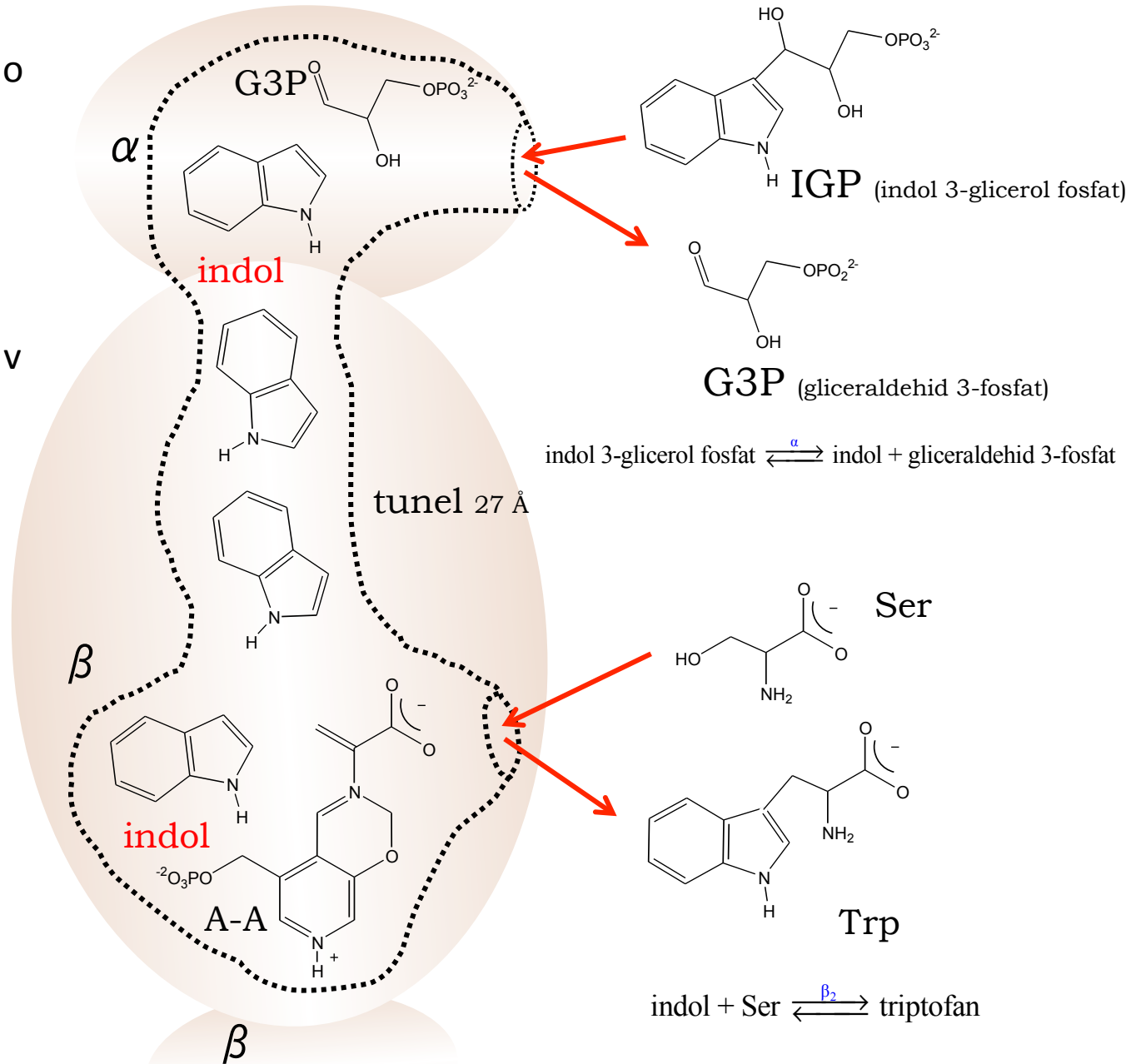


β -podenota katalizira



Triptofan sintaza - podenote

- α in β podenote linearno organizirane
- aktivni center obeh podenot povezan s tunelom
- encim lahko oddisocira v α in $\beta\beta \rightarrow$ aktivnosti se ohranijo, hitrost se \downarrow
- v α -podenoti nastali indol se preko tunela prenese v β -podenoto
- veže se na aminoakrilatni intermediat E(A-A)
- reakciji se izvajata v fazah \rightarrow recipročne alosterične interakcije

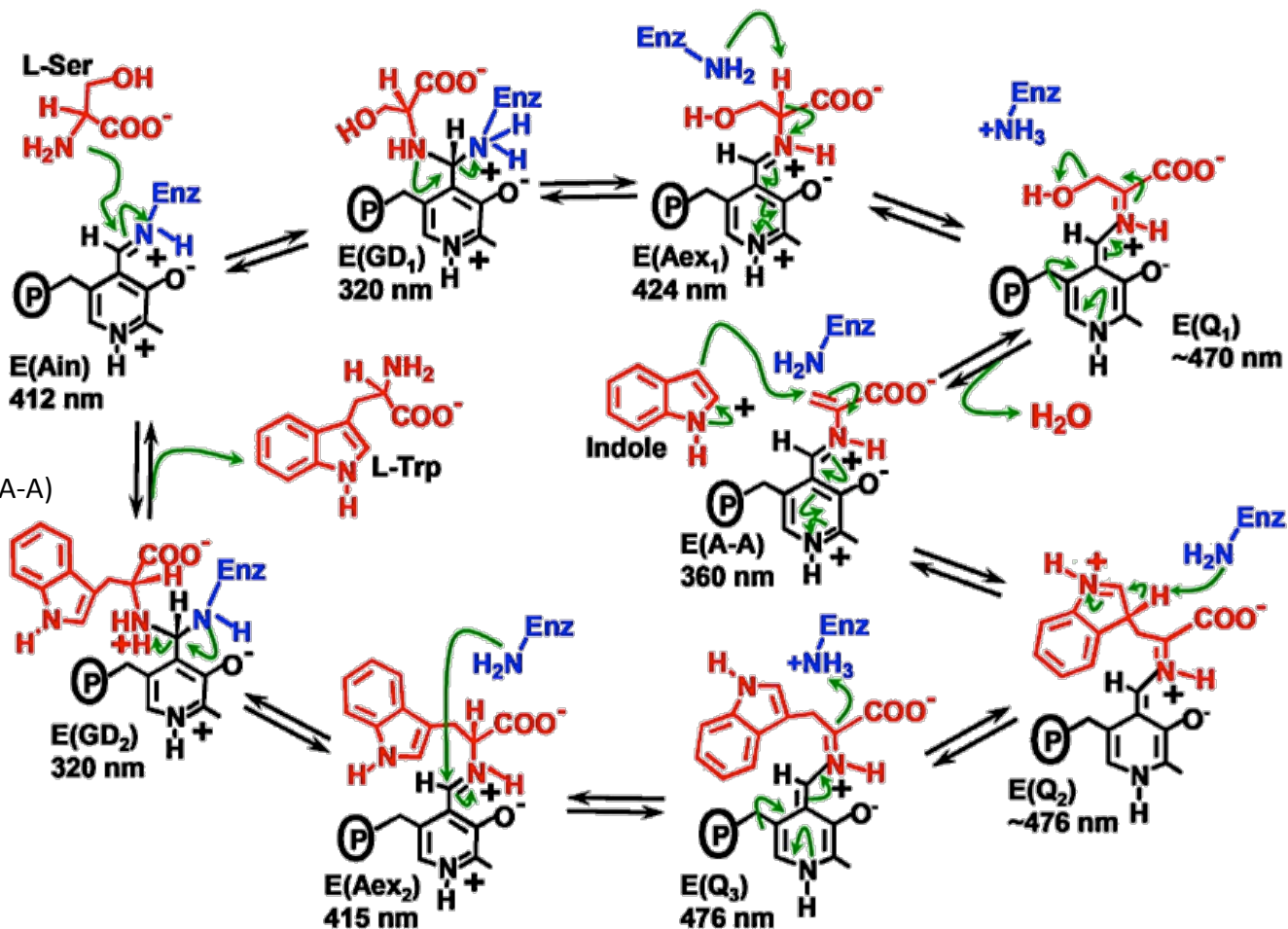


Triptofan sintaza – mehanizem reakcije

FAZA 1

- Ser
- E(Ain) interni aldimin (PLP-Lys)
- ↓ nukleofilni napad Ser
- E(GD₁) gem diamin intermedijat
- ↓ transaminacijska reakcija
- E(Aex₁) Ser eksterni aldimin
- ↓ deprotonacija
- E(Q₁) L-Ser quinonoidni intermedijat
- ↓ eliminacija β-hidroksilne sk.
- E(A-A) α-aminoakrilatni intermedijat

α podenota



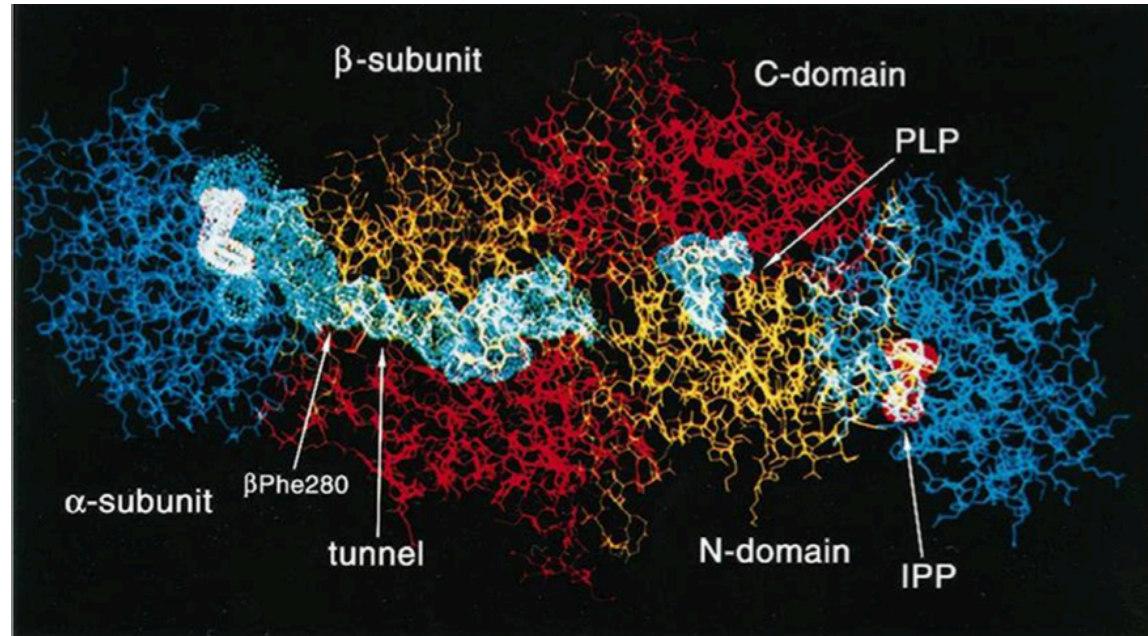
FAZA 2

- transfer indola
- ↓ nukleofilni napad indola na E(A-A)
- E(Q₂) L-Trp quinonoidni intermedijat
- ↓ ekstrakcija protona
- E(Q₃) L-Trp quinonoidni intermedijat
- ↓ protonacija
- E(Aex₂) Trp eksterni aldimin
- ↓ transaminacija
- E(GD₂) gem diamin intermedijat
- ↓ sprostitvev Trp
- E(Ain) interni aldimin

β podenota

Triptofan sintaza - tuneliranje

- Eksperimentalni podatki so pokazali, da v raztopini ni prostega indola
- struktura encima *Salmonelle*
 - E(Ain) oblike
 - IGP analog
 - IPP (α -mesto)
- prikaz tuneliranja
- odprta konformacija obeh, α in β podenot
- katalitska mesta



Triptofan sintaza $\alpha_2\beta_2$

IPP substratni analog (indol-3-propanol fosfat)

PLP piridoksal fosfat

α -podenota modra

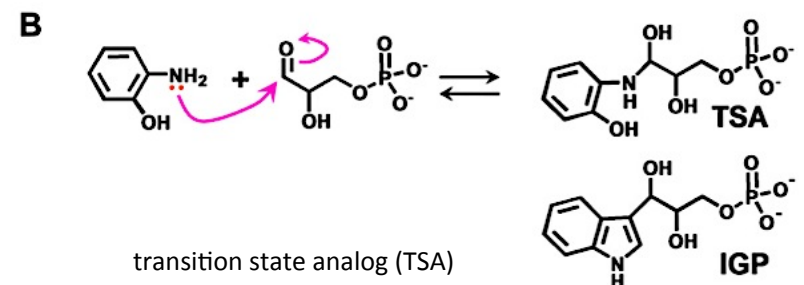
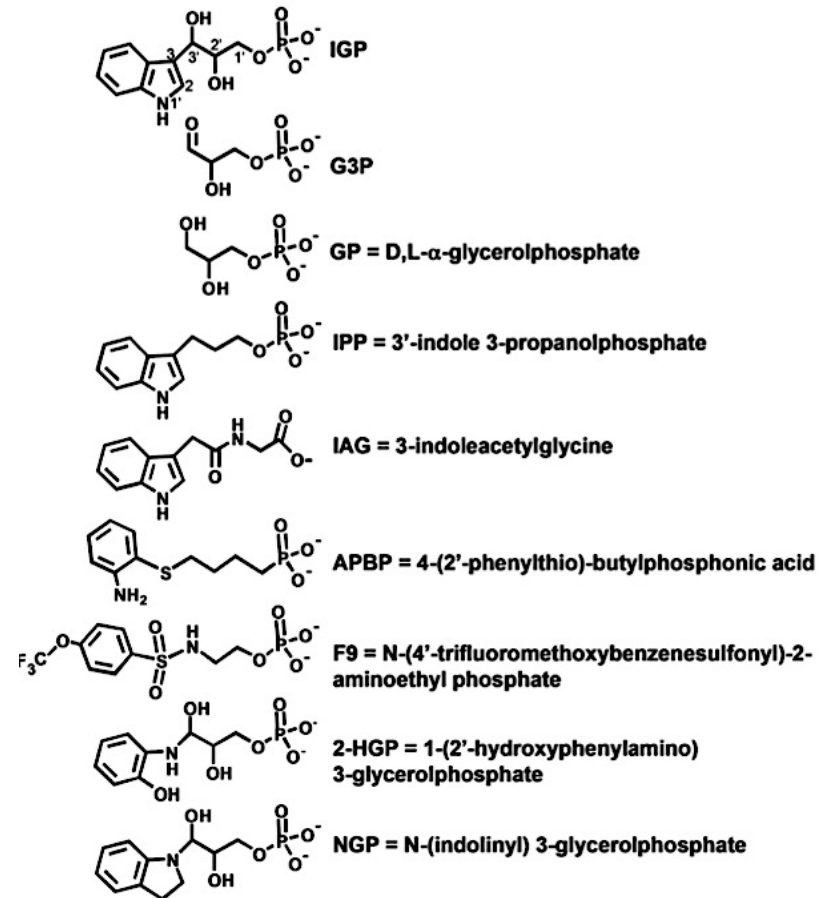
C domena β -podenote rdeče

N domena β -podenote rumena

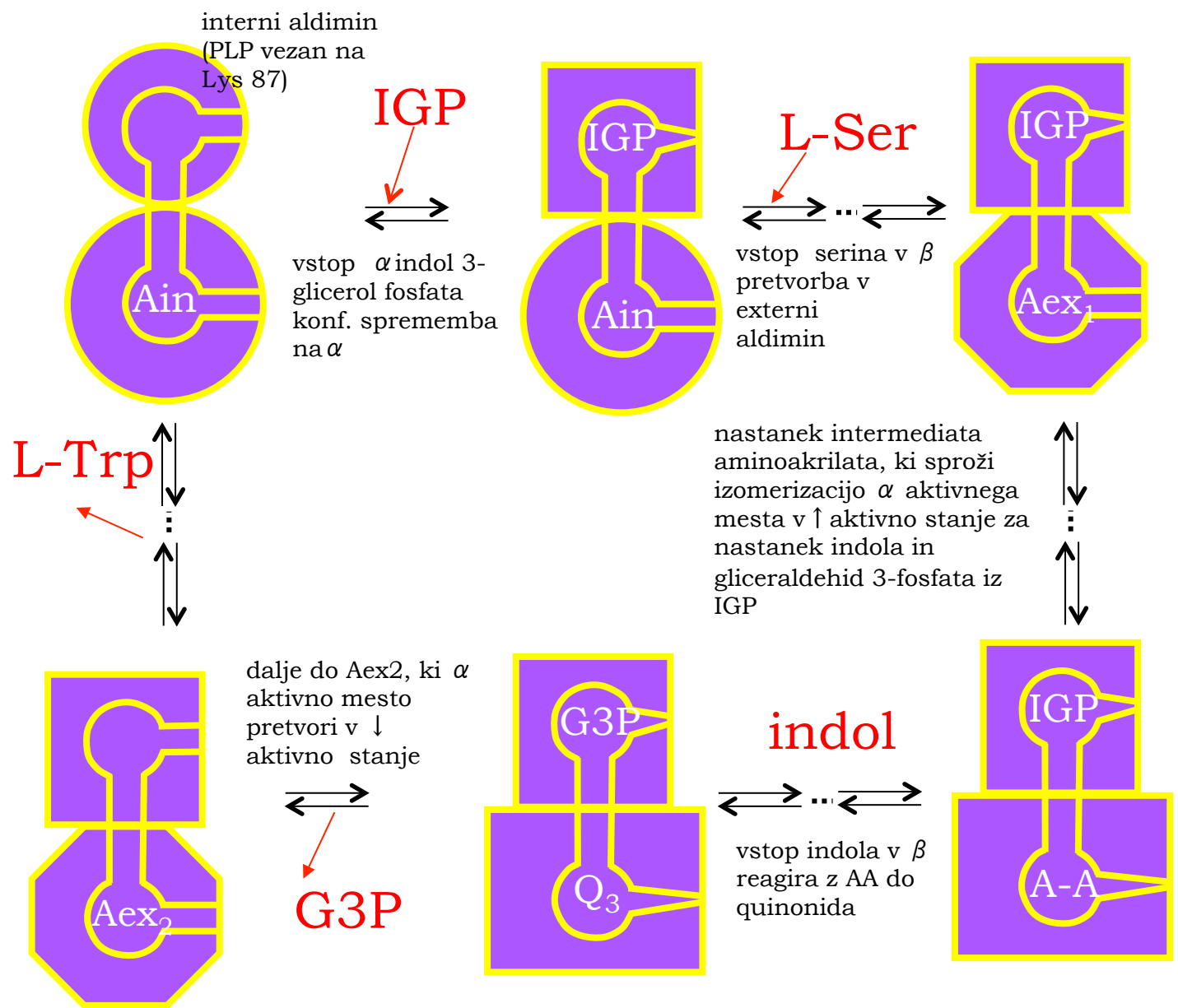
Triptofan sintaza – eksperimentalno delo

- kristalne strukture
 - odprte oblike
 - zaprte oblike (težje)
- točkovne mutageneze
 - katere ak so katalitične
 - katere ak so regulatorne (alosterija)
- sinteza analogov S, P, S[#] in meritve hitre kinetike:
 - spremljali konformacijske spremembe
 - α -podenota se z vezavo S preklaplja iz odprte v zaprto obliko
 - vezava analoga indola na E(A-A) na β -mestu je močno inhibirana z vezavo analoga S na α -mestu

A ligands for investigating allosteric interactions at the α -site



Triptofan sintaza – konform. prehodi odprta/zaprta oblika



Triptofan sintaza – katalitično kolo

- katalitično kolo shematsko povzema dogajanje:
 - preplet vezave ligandov
 - reakcije
 - alosterično signaliziranje
- rumeni in rdeči trikotniki so različna kemijska stanja β -katalitičnega cikla
- zeleno in roza, po velikosti so proporcionalni relativni aktivnosti α in β podenote za vsako kemijsko stanje

