Štruktúra, funkcia a biosyntéza závislá od niklu

enzýmy

Abstrakt Niklové enzýmy prítomné v archeách, baktériách, rastlinách a primitívnych eukaryotoch sú rozdelené na redox a neredox enzýmy a hrajú kľúčové funkcie v rôzne metabolické procesy, ako napríklad energetický metabolizmus a virulencia. Oni katalyzujú rôzne reakcie využitím aktívnych miest rôznej zložitosti, ako napr mononukleárny nikel v Ni-superoxiddismutáze, glyoxyláze I a acireduktóne dioxygenáza, dvojjadrový nikel v ureáze, heteronukleárne metalokupiny v [NiFe] -uhličitan deoxidáza, acetyl-CoA dekarbonyláza / syntáza a [NiFe] -hydrogenáza a ešte zložitejšie kofaktory v metyl-CoM reduktáza a laktát racemáza. Prítomnosť metaloenzýmov v bunke vyžaduje prísnu reguláciu homeostázy kovov, aby sa zachovala vhodnú intracelulárnu koncentráciu niklu, pričom sa zabráni jeho toxicite. Ako biosyntéza a inzercia niklovo aktívnych miest často vyžaduje špecifické a prepracované cesty dozrievania, ktoré umožňujú dodanie správneho kovu a zabudované do cieľového enzýmu. V tejto recenzii je fylogenetická distribúcia niklových enzýmov bude stručne opísaná. Ich trojrozmerné Bude sa diskutovať o štruktúrach, ako aj o zložitosti ich aktívnych miest. V z hľadiska najnovších poznatkov o týchto enzýmoch sa bude osobitná pozornosť venovať biosyntéza ich aktívnych miest a aktivácia apo-enzýmov niklom.

ÚVOD

Na začiatku života bolo prostredie vysoko

redukčné, s anoxickou atmosférou bohatou na plyny ako

H2, CO a CO2 a horúce oceány dobre vybavené prechodom

kovy ako Fe (II) a Ni (II) .1 Aby bolo možné

na uspokojenie týchto počiatočných životných podmienok je najviac nikel

pravdepodobne vystupuje ako kľúčový hráč vo vývoji katalyzátora.

Je pozoruhodné, že jeho úloha bola nevyhnutná ako kovového kofaktora v EÚ

metabolizmus metanogénnej archy. 2 „Nikelný hladomor“

teória bola navrhnutá tak, aby hrala ústrednú rolu v

evolúcia: 3 koreluje s veľkou oxidačnou udalosťou (GEO)

s drastickým znížením toku niklu v oceánoch,

v dôsledku ochladenia vrchného plášťa a

znížená erupcia ultramafických hornín bohatých na nikel, ktoré

by hladovali veľkú oceánsku mikrobiálnu komunitu,

metanogény.4 Ich pokles ponechal priestor pre

množenie ďalších mikroorganizmov, najmä oceánskych

sinice, ktoré nevyžadovali toľko niklu. Toto

viesť k zvýšenej produkcii O2 prostredníctvom fotosyntézy,

súčasne so znížením koncentrácie metánu.

Vzhľad kyslíka v atmosfére 2,4 miliardy

pred rokmi mal dramatický dopad na metabolický vývoj

a mnoho enzymatických reakčných ciest používaných anaeróbnymi

metabolizmus za redukčných podmienok boli nahradené

aeróbnymi.5 Výsledkom bola segregácia

mikroorganizmy závislé od oxidácie H2 a / alebo CO a

Cesty znižovania CO2 k anoxickým výklenkom, napríklad k oceánu

alebo dno jazera, zažívacie ústrojenstvo zvierat a vulkanické

blato.6 K dnešnému dňu má iba deväť enzýmov závislých od niklu

boli identifikované v archaeách, baktériách, rastlinách a primitívach

eukaryoty, vrátane [NiFe] -uhličitanooxiddehydrogenázy

(CODH), acetyl-CoA dekarbonyláza / syntáza (ACS),

[NiFe] -hydrogenáza, metyl-CoM reduktáza (MCR), ureáza,

Ni-superoxiddismutáza (NiSOD), laktátová racemáza

(LarA), glyoxylázy I (Glxl) a acireduktóndioxygenázy

(ARD; obrázok 1) .7 Naopak, niklový enzým nebol

nájdené u druhov cicavcov.8 Napriek ich nedostatku však

sú často nevyhnutné a hrajú kľúčové funkcie v rôznych metabolických procesoch

procesy, ako je energetický metabolizmus a virulencia,

a fungujú buď ako redox alebo neredox enzýmy

--------------------------------------------------------------------------------------------------------- Výhodou niklu ako katalytického centra je

na základe svojej flexibilnej koordinačnej geometrie, ktorá umožňuje

rôzne biologické funkcie. Okrem toho v redoxných enzýmoch

kovové prostredie je rozhodujúce pri úprave jeho redoxu

potenciál a nikel je teda schopný prechádzať niekoľkými

oxidačno-redukčné stavy a katalyzovať reakcie, ktoré trvajú dlhšie

1,5 V, zatiaľ čo v neredoxických enzýmoch sa Ni (II) používa ako a

Lewisova kyselina.

Prítomnosť metaloenzýmov v organizmoch

vyžaduje prísnu reguláciu kovovej homeostázy

kritické pre bunky, aby sa udržali správne

intracelulárna koncentrácia základných kovov

pričom sa zabráni toxicite spôsobenej nadmerným množstvom.

9 Zap

na jednej strane, ak je koncentrácia príliš nízka,

bunka bude trpieť inaktiváciou podstatného

enzýmy. Na druhej strane nefyziologický kov

vysoké intracelulárne koncentrácie môžu viesť

k nahradeniu natívneho kovu, ktorý zase

môže mať za následok inaktiváciu alebo katalytickú tvorbu

vysoko toxických reaktívnych druhov kyslíka. V prípade

nikel, súčasná úroveň v prírodnom prostredí je

všeobecne v nanomolárnom rozmedzí s výnimkou

konkrétnych výklenkov. Preto je jeho zachytávanie kritické

krok a vyžaduje prísne kontrolovaný a vysoko efektívny

importné systémy.10 Po získaní správny kov bude

byť dodávané a inkorporované do cieľových enzýmov

prostredníctvom špecializovaných proteínových komplexov obsahujúcich nikel

chaperóny a doplnkové proteíny. Tieto proteíny sa zúčastňujú

v dodávke niklu, zostave metalocentra alebo

kofaktorová syntéza.

V tomto prehľade je fylogenetická distribúcia nienzymov

budú najskôr predstavené. Ich trojrozmerné

štruktúr, ako aj zložitosti ich aktívnych miest

sa bude diskutovať a osobitný dôraz sa bude klásť na

biosyntéza aktívnych miest a niklová aktivácia apoenzýmov.

Podrobnosti reakčných mechanizmov budú

vylúčený, ako aj popis absorpcie niklu,

odtok niklu a regulačné systémy.

2 | VÝSKYT A

BIOLOGICKÁ RELEVANCE

Väčšina niklových enzýmov sa podieľa na spracovaní plynu,

buď ako substráty alebo ako konečné produkty reakcie

(CO, CO2, H2, amoniak, O2 a CH4), okrem GlxI I a

LarA. Delia sa na anaeróbne a aeróbne

enzýmy v závislosti od ich metabolických dôsledkov.

Organizmus využívajúci Ni sa preskupuje do archea, baktérií a

niektoré eukaryoty a vlastnia jeden alebo viac niklov

enzýmy (tabuľka 1). Všetky enzýmy okrem MCR sa nachádzajú v

baktérie, [NiFe] -H2áza a ureáza sú najrozšírenejšie,

zatiaľ čo ostatné vykazujú obmedzenú mozaiku

distribúcia. [NiFe] -H2áza je tiež najrozšírenejšia

Ni-enzým v Archeai.

2.1 | Redoxné enzýmy

H2ázy boli klasifikované do troch fylogeneticky

nesúvisiace triedy, založené na kovovom zložení ich

aktívne miesto: [Fe] -, [FeFe] - a [NiFe] -H2ázy.6 Posledné dve uvedené

typy reverzne katalyzujú oxidáciu molekulárnych

vodík na protóny a elektróny. Vodík môže mať

dvojitá rola, buď ako zdroj energie, alebo ako konečný produkt

odstrániť prípadný prebytok redukčných ekvivalentov.

[NiFe] -H2ázy, ktoré sa nachádzajú v baktériách a archaeách, boli

klasifikované do štyroch hlavných skupín v závislosti od ich funkcie.

Skupina 1 obsahuje absorpciu H2 spojenú s membránou

hydrogenázy; rozpustné absorpčné hydrogenázy a senzorické

hydrogenázy tvoria skupinu 2; heteromultimérna cytoplazmatická

hydrogenázy nesúce redukovateľný kofaktor

(F420 alebo NAD (P)) sa nachádzajú v skupine 3 a poslednej skupine

pozostáva z hydrogenáz šetriacich energiu.

------------------------------------------------------------------------------------------------------

11

Oxid uhoľnatý dehydrogenáza (CODH) hrá ústrednú úlohu

úloha v metabolizme uhlíka v anaeróbnych mikroorganizmoch,

reverznou katalýzou oxidácie CO na CO2

na rôzne metabolické účely.12 V smere

CO oxidáciu, monofunkčný CODH používajú rôzne

karboxydotrofická archaea a baktérie na výrobu energie.

V smere znižovania CO2 môže byť CODH

spojený s acetyl-SCoA syntázou za vzniku buď

Komplex CODH / ACS v anaeróbnych baktériách alebo v acetyl-

Multienýmový komplex CoA dekarbonyláza / syntáza (ACDS)

v Archea.13 Komplex katalyzuje syntézu

acetyl-CoA z koenzýmu A kondenzovaného s CO (odvodený

redukciou CO2 katalyzovanou CODH) a metylom

skupina, odvodená od korininoidu / proteínu Fe – S Co (III) -

FeSP. CODH a ACS hrajú dôležitú úlohu v EÚ

Dráha Wood – Ljungdahl (WL), jedna zo šiestich uhlíkových fixácií

cesty známe na Zemi. Táto cesta sa nachádza v

acetogény na úsporu energie a autotrofný uhlík

asimilácia, s acetátom ako konečným produktom. V

metanogénna archaea, používa sa iba na fixáciu CO2, zatiaľ čo úspora energie sa dosahuje metanogenézou, čo je termodynamicky priaznivejšie. WL dráha môže pôsobiť aj opačne (v oxidačnom smere) na výrobu redukčnej energie z oxidácie organických zlúčeniny, ilustrované kondenzáciou oxidácie octanu na H2 a CO2, na redukciu síranu v baktérie redukujúce síran. Cesta WL sa skladá z dvoch vetvy, definované ako metyl (alebo východná) a karbonylová skupina (alebo západné) pobočky. Aj keď jeho celková schéma je zakonzervovaná, bakteriálna a archaálna metylová vetva zahŕňajú rôzne kofaktory, nosiče C1 a enzýmy karbonylová vetva je bežná vo všetkých mikroorganizmoch. V metylová vetva, jedna molekula CO2 podlieha šiestemu elektrónu redukcia, čím sa získa kondenzovaná metylová skupina s CoA a CO pochádzajúcimi zo zníženia CO2 v roku 2006; karbonylovú vetvu, aby vytvoril acetyl-CoA, kľúčovú molekulu v metabolizme bielkovín, sacharidov a lipidov.13 ACS môže tiež nájsť ako nezávislý monofunkčný enzým v karboxydotrofoch. MCR je prísne obmedzené na Archaea a hrá zohráva dôležitú úlohu v metabolizme uhlíka a je kľúčovým enzýmom pri biologickej tvorbe metánu.14 Tento enzým katalyzuje redukcia metyl-S-koenzýmu M (CH3-S-CoM) o koenzým B (CoB), čím sa získa metán, čo je posledný krok metanogénneho metabolizmu Archea. Tieto prísne anaeróbne mikroorganizmy schopné rásť na octane, metanole, mravčan alebo CO2 a H2 sú zodpovedné za viac ako 90% metánu prítomného na zemi.15 SOD sa objavil s nárastom hladín O2 v atmosfére asi pred 2 miliardami rokov. Jeho úlohou je chrániť biologické systémy pred oxidačným poškodením spôsobeným aniónové radikály superoxidu (O2 - ), vedľajší produkt kyslíka metabolizmus.16 Enzým katalyzuje dismutáciu superoxidové anióny na peroxid vodíka a kyslík (Stôl 1). Jeho aktívne miesto sa môže skladať z rôznych kovy. Najbežnejšie sú tvorené buď a dvojjadrové centrum Cu – Zn alebo mononukleárne Fe alebo Mn atóm. Objav NiSOD v roku 1996 u druhov Streptomyces pre komunitu prekvapením, pretože Ni (II) je jediný stabilný oxidačný stav vo vodnom prostredí a nemôže katalyzujú disproporcionáciu superoxidu vo vod riešenie.17 Úpravy potrebné na použitie tohto kovu ako katalytické centrum malo za následok jedinečný vznik tohto enzým, ktorý nemá sekvenčnú homológiu s druhým SOD. NiSOD sa bežne vyskytuje v siniciach, ktoré ako prví produkovali kyslík a sú tiež kódované v niektoré morské eukaryoty, vďaka čomu je NiSOD najhojnejší SOD v moderných oceánoch.18

2.2 | Nonredox enzýmy

Močovina bola prvým príkladom, ako nikel mohol byť použitý ako

enzýmový kofaktor.19 Tento enzým sa nachádza v množstve

organizmy vrátane rastlín, húb, rias, archea a baktérií

a katalyzuje hydrolýzu močoviny za vzniku amoniaku

a karbamát. Ten sa spontánne rozkladá na

TABUĽKA 1 Výskyt Ni-enzýmov a kompilácia rôznych katalytických reakcií

Výskyt Enzýmová reakcia

Redoxné enzýmy

Baktérie [NiFe] -hydrogenázy, Archaea H2 $ 2H + + 2e−

CO-dehydrogenázové baktérie, Archaea CO + H2O $ CO2 + 2H + + 2e−

Baktérie acetyl-SCoA syntázy, Archaea CO + CoA-S + + CH3-CO3 + FeSP $ CH3C (O) -S-CoA + co + FeSP

Metyl-SCoM reduktáza Archaea CH3-SCoM + CoBSH $ CH4 + CoBS-SCoM

Baktérie superoxiddismutázy

Marine Eukaryota 2 O2

Acireduktóndioxygenáza sa podieľa na metioníne

záchranná cesta. Počas tejto cesty 50-

metyltioadenozín sa premieňa na acireduktón, ktorý

sa môže použiť ako substrát na generovanie dvoch rôznych produktov.

23 Tento enzým je jedinečný tým, že vykazuje dva odlišné

reaktivity v závislosti od povahy prítomného kovu

na aktívnej stránke. 7 Keď je ARD nabitý Fe, vytvára a

prekurzor ketokyseliny, ktorý sa môže recyklovať späť na metionín.

Ak je namiesto toho aktívne centrum Ni, katalyzuje ARD an

mimo cesty, ktorá prevádza acireduktón na formiát,

oxid uhoľnatý a kyselina metyltiomaslová.

---------------------------------------------------------------------------------------------------

v druhom prípade je pravdepodobne zahrnutý enzým

regulačné a / alebo signalizačné funkcie. Táto duálna chémia

ARD bol pôvodne objavený v baktérii Klebsiella

oxytoca.24 Táto aktivita bola potvrdená in vitro pre

cicavec Mus musculus 25 a človek ARD. Avšak

je nepravdepodobné, že NiARD hrá biologicky významnú úlohu

v eukaryotoch.26 Zatiaľ čo sa používa forma obsahujúca Fe

Fe (II) na aktiváciu dioxygénu na oxidáciu substrátu

redoxnou chémiou (oxidačné štiepenie C1 C2

väzba) sa Ni (II) používa ako Lewisova kyselina na aktiváciu substrátu

smerom k reakcii s O2 (štiepenie C1 C2 a

Väzby C2 C3). Fylogenetická distribúcia Nidependent

ARD je ťažké odhadnúť už z povahy

fyziologický kov sa nedá ľahko určiť.

LarA, ktorá bola nedávno identifikovaná ako deviaty známy závislý na nikom

enzým, katalyzuje vzájomnú premenu

medzi izomérmi kyseliny L- a D-mliečnej. Jediná charakterizovaná

enzým je ten, ktorý sa nachádza v druhoch Lactobacillus,

kde môže pôsobiť ako záchranný enzým v stresových podmienkach

na zabezpečenie produkcie D-laktátu.27

D-laktát je všeobecne

produkovaný D-laktátdehydrogenázou a je to

podstatná zložka peptidoglykánu bunkovej steny v

Lactobacillus. Odvtedy boli identifikované gény larA

v iných baktériách a niektorých archaeách, hoci aj majú

neboli jednoznačne identifikované ako enzýmy závislé od Ni.

-------------------------------------------------------------------------------------------------------

3 | CELKOVÉ ŠTRUKTÚRY

Röntgenové štruktúry deviatich doteraz opísaných Ni-enzýmov

boli vyriešené (obrázok 2).

Prvé štruktúry dvoch CODH boli vyriešené v roku

2001, 28, 29, ktorá odhaľuje, že monofunkčné enzýmy sú

homodiméry (obrázok 2a). Každý monomér sa skladá z

tri rôzne domény známe ako N-terminálna skrutkovica

doménu a dva centrálne a C-terminálne α / β (Rossmannlike)

domén. Homodimér obsahuje päť metalokusov:

dva jedinečné klastre [Ni-4Fe-4S] tvoriace

aktívne stránky (menovite C-klaster), dva [4Fe-4S] klastre

(menovite B-klaster) a jeden intermolekulárny [4Fe-4S] klaster

(konkrétne D-klaster). Neskôr sa röntgenová štruktúra

bifunkčný enzým ACS / CODH z Moorella thermoacetica

bolo vyriešené.30,31 V tomto prípade bola α2β2 tetramérna

proteín je tvorený dvoma CODH β-podjednotkami v strede

a jednu ACS a-podjednotku na každom konci. Podjednotka ACS

obsahuje tri rôzne domény: N-terminál

zodpovedný za interakciu ACS s

CODH, centrálna doména a C-terminálna doména,

ktorý obsahuje aktívne miesto s názvom A-klaster. The

celý komplex ACS-CODH môže prijať otvorené alebo uzavreté

štát vykazujúci významné konformačné zmeny

(Obrázok 2b). Iba otvorená forma obsahuje aktívny dvojjadr

Ni miesto.30,32 Ďalej bifunkčný enzým

obsahuje rozsiahlu dutinovú sieť spájajúcu

aktívne miesta hydrofóbnymi kanálmi umožňujúcimi difúziu

CO produkovaný CODH do aktívneho miesta ACS. Na toto

na základe toho má jemne riadený vtokový mechanizmus tunela

takýmto spôsobom regulovať efektívny CO

zároveň nedochádza k difúzii vo vnútri enzýmu

----------------------------------------------------------------------------------------------

uvoľnenie tohto toxického plynu do bunky.

Štandardnou [NiFe] -hydrogenázou sú heterodiméry

veľkej podjednotky hostiacej aktívnu stránku a malej

podjednotka, ktorá viaže klastre FeS potrebné na prenos elektrónov.

Spoločný znak medzi všetkými dostupnými röntgenovými štruktúrami

je vysoko zakopaná poloha aktívneho miesta, ktorá

znamená prítomnosť hydrofóbnych tunelov pre

prístup / uvoľnenie dihydrogénu, ako aj protónové dráhy v

ALFANO A CAVAZZA 1075

prídavok k elektrónovým relé.11 Archetypová **štruktúr**a

[NiFe] -hydrogenáza z Desulfovibrio gigas (obrázok 2c)

odhalila prítomnosť troch klastrov FeS s jedným proximálnym

a jeden distálny [Fe4S4] klaster a medián [Fe3S4]

klaster.33 Malá podjednotka sa skladá z dvoch domén:

Doména I má záhyb podobný flavodoxínu obsahujúci proximálnu časť

klaster a doména II viažu stredné a distálne

Klastre FeS. Doména II nie je prítomná v niektorých NiFe-hydrogenázach.

Veľká podjednotka má päť domén s

aktívne miesta medzi dvoma doménami α / ß I a II.

dve podjednotky majú rozsiahle kontaktné rozhranie s

asi 3 500 Å2. Variácie sa nachádzajú v [NiFeSe] -

hydrogenáza, ktorá má namiesto mediánu [Fe4S4]

[Fe3S4] cluster34 a v O2-tolerantných enzýmoch, ktoré majú a

modifikovaný proximálny klaster zodpovedajúci stredu [Fe4S3].

35 Tento heterodimérny prototyp je často súčasťou

proteínové komplexy a interaguje s rôznymi redox

partneri.

**Kryštálová štruktúra** MCR z Methanothermobacter

marburgensis, odhaľuje hexamér usporiadaný ako a

dimér heterotrimérov (αβΥ) 2 (obrázok 2d) .36 Enzým

obsahuje dve priestorovo oddelené aktívne stránky, a to

koenzým F430, jeden v každej podjednotke a. Röntgenové štruktúry

odhalili, že koenzýmy F430, M a B a

heterodisulfid CoM S S CoB sú zaliate vo vnútri a

úzky kanál 50 Å, od povrchu proteínu k

zakopané aktívne miesto.37 Zvyšky z rôznych podjednotiek sa tvoria

kanál ukazujúci, že jeden trimér αβΥ nemôže byť tvorený

aktívna katalytická jednotka. Tento enzým predstavuje schopnosť

podstúpiť niekoľko neobvyklých posttranslačných modifikácií aminokyselín

nachádza sa v blízkosti aktívneho miesta v podjednotke McrA,

hlavne metylácia cysteínu, histidínu, arginínu a glutamínu

zvyšky katalyzované S-adenozyl-L-metionínom

(SAM) závislé N- a S-metyltransferázy.38 Tieto

posttranslačné úpravy môžu slúžiť ako dôležité

faktory na zvýšenie stability enzýmov.

**Kvartérna štruktúra** NiSOD je exkluzívna pre

rodina SOD.39 S každou tvorí homo-hexamér

podjednotka prijímajúca záhyb zväzku štyroch skrutkovíc (obrázok 2e).

7/8 N-terminálne zvyšky zrelého proteínu tvoria a

„Hák“ vyčnievajúci zo zväzku 4-špirály na chelatáciu

Ni aktívne centrum. Topológia biologickej jednotky existuje

šesť nezávislých aktívnych stránok, ktoré neinteragujú

spolu. Je zaujímavé, že 14 aminokyselín na

N-koniec sa spracuje do zrelej a aktívnej formy

117 aminokyselín opúšťajúcich histidín koordinujúci Ni

ako prvý zvyšok (obrázok 1).

V súčasnej dobe asi 50 rôznych štruktúr ureáz

boli uložené v Protein Data Bank, väčšina z

baktérie.40 Medzi nimi aj najreprezentatívnejší proteín

architektúra zodpovedá triméru trimérov (αβΥ) 3 palce

ktorý α podjednotka ukrýva v sebe katalytické centrum, čím sa vytvára

celkový počet troch aktívnych miest na biologickú jednotku

(Obrázok 2f) .20 V prípade iných bakteriálnych ureáz kvartérne

**štruktúr**a zodpovedá triméru (αβ) 3, v ktorom

β podjednotka je fúzia β a Υ podjednotiek. V prípade H. pylori,

enzým je tetramér trimérov (αβ) 3 obsahujúcich

12 aktívnych webov. V rastlinách fúzia troch α, β a

Υ podjednotky tvoria jednu α podjednotku organizovanú ako dimér

homotrimérov (α3) 2. Napriek variabilným kvartérnym štruktúram

sekundárne a terciárne **štruktúr**y všetkých ureáz

sú si veľmi podobné. Podjednotky α pozostávajú z hlavne TIM

doménu a doménu p-listu sú umiestnené podjednotky p

na vonkajšom povrchu orezávača a sú hlavne zložené

β-listov a y podjednotky pozostávajú z domén

obsahujúce ako α-helixy, tak β-listy. Čo je dôležité,

α podjednotky majú vysoko konzervovaný flexibilný helix-turnhelix

motív lemujúci aktívne miesto, navrhoval byť

podieľa na modulácii substrátov a výrobkov

difúzia do a z aktívneho miesta41 (obrázky 1 a 2).

Vnútorná nestabilita LarA obmedzila dostupné možnosti

znalosť štruktúry a funkcie enzýmov. Odkedy

2014, štúdie vykonané o racemizácii laktátu v

L. plantarum27 a najmä na stanovenie kryštálu

Štruktúra

holo-LarA v roku 2015,42 výrazne priniesli

nové informácie o tomto enzýme, najmä jeho

identifikácia ako enzýmu niklu. Prekvapivo však

nikel je pre činnosť, kov nevyhnutne potrebný

ľahko sa oddeľuje od enzýmu. Stanovenie

Štruktúra LarA v komplexe s fyziologickým kovom

bolo možné len vďaka uvedenému prídavku siričitanu

stabilizovať LarA a spomaliť spontánny únik Ni.

Ni (II) sa viaže na proteín prostredníctvom Ni-kliešťového nukleotidu

(NPN), kovalentne naviazaný na proteín tvorbou tioamidu

s lyzínovým zvyškom. LarA vlastní 18 ß-vlákien

a 16 α-helixov usporiadaných do nového záhybu zloženého z

dve domény spojené dvoma pántmi (obrázok 2g).

Uzavreté konformačné štíty

nikel z rozpúšťadla vďaka tesnej blízkosti

N- a C-koncov. Výsledkom je otvorená konformácia

pri strate nikelnatého iónu v dôsledku ľahkej dostupnosti

aktívne miesto do rozpúšťadla. To znamená, že prístup

substrátu do katalytického centra musí byť rýchly

vyhnúť sa deaktivácii enzýmov a že LarA je najpravdepodobnejšia

schopný dynamicky prepínať medzi otvoreným a zatvoreným

konformácie.

Štruktúra Glx I z E. coli je homodimér

s celkovým zložením podobným ľudskému enzýmu.

Každá podjednotka je zložená z dvoch domén zmiešaných -ß listov.

Dimér obsahuje dva antiparalelné monoméry s

dve nezávislé kovové aktívne miesta v oblúku-ß

hárky na rozhraní stmievača (obrázok 2h). Röntgenové štruktúry

enzýmu v jeho apo-forme alebo v komplexe s

séria dvojmocných kovov priniesla kľúčové informácie o

význam geometrie kovovej koordinácie v

katalytický mechanizmus.43 Najmä aktívne formy

E. coli a ľudský GlxI viažu Ni (II), respektíve Zn (II),

prijatie oktaedrickej geometrie. Naproti tomu

Enzým E. coli viaže Zn (II) v trigonálnom bipyramide

geometria vedúca k neaktívnej forme, podporujúca

potreba oktaedrického prostredia na podporu katalýzy

nezávisle od kovovej podstaty. Hlavný

štrukturálne rozdiely medzi týmito dvoma triedami glyoxaláz

je absencia dlhého N-koncového ramena v

Ni-enzýmy a delécie v ďalších troch oblastiach. Najmä

absencia rezíduí 73–87 má dramatický priebeh

dopad na aktivačný profil kovu.44

Prvá molekulárna **štruktúra** ARD bola vyriešená z

NMR údaje o enzýme z K. oxytoca.45 Tento enzým

patrí do štruktúrnej nadčeleďe kupinovej skupiny

funkčne rozmanité proteíny s konzervovaným

záhyb ß-hlavne (známy ako motív cupin; obrázok 2i). Veľa

ďalšie nehémové železo-závislé oxygenázy zdieľajú

motív cupin. Ni (II) - a Fe (II) -formy ARD majú

sa ukázalo, že je chromatograficky oddelené, čo naznačuje

že v závislosti od viazaného kovu môže enzým

prijať rôzne konformácie.23 Najľahšie pozorovateľné

štrukturálny rozdiel medzi týmito dvoma formami je

prítomnosť neusporiadanejšej špirály na vrchu ß-hlavne

vo forme viazanej na Fe (II), čo významne vykresľuje aktívne miesto

prístupnejšie pre rozpúšťadlá. Na opačnej strane je znak

pohyb dvoch skrutkovíc vyvoláva drastické nové usporiadanie.

Tento jav sa označuje ako štrukturálny

spínač entropie s neusporiadaným C-koncom a an

nariadil N-koniec vo forme Fe, zatiaľ čo naopak

stav sa pozoruje v Ni-forme.45 Aj keď pôvod

tieto konformačné zmeny nie sú zrejmé, kov

je pravdepodobné, že príroda vyvolá inú selektivitu pri katalýze

dve odlišné reakcie.

---------------------------------------------------------------------------------------------------------

4 | AKTÍVNE STRÁNKY

Proteínové prostredie má na prechod veľký vplyv

kovy prítomné v aktívnych miestach metaloenzýmu. Obzvlášť,

vystavenie rozpúšťadlu, ako aj povaha darcu

ligandy zapojené do koordinácie kovov silne určujú

chemické vlastnosti kovových aktívnych centier. Proteín

lešenie má ochranný účinok proti oxidačnému poškodeniu

v anaeróbnych enzýmoch, kde je často aktívne miesto

lokalizované v zakopanej polohe s nízkym prístupom k rozpúšťadlu.

To implikuje existenciu vyhradených kanálov

riadenie difúzie výrobkov a substrátov, špecifické

protónové kanály a zhluky FeS ako elektrónové relé

medzi aktívnym miestom a fyziologickým partnerom (partnermi)

(ako v prípade CODH, ACS, hydrogenázy, MCR;

Obrázok 3). Lokálne povaha koordinačných ligandov

riadi redoxné vlastnosti kovu úpravou

redox potenciály potrebné pre biologické procesy a do

umožňujúci prístup k rôznym oxidačno-redukčným stavom zapojeným počas roku 2006

katalýza. Za účelom uspokojenia tohto dopytu, S-donor bohatý

ligandové prostredie je uprednostňované v redoxných enzýmoch. Naproti tomu

v neredoxových enzýmoch, kde Ni (II) pôsobí ako Lewis

kyslý katalyzátor, O / N-donorové ligandy sú privilegované. Bielkoviny

pri charakterizácii zohrala rozhodujúcu úlohu kryštalografia

aktívneho centra Ni-enzýmov.

4,1 | Cysteínové prostredie CODH, ACS a [NiFe] -H2áza majú spoločné dvojjadrové jadro Aktívne miesto Ni – Ni / Fe koordinované s proteínom cez jeden alebo niekoľko cysteínových zvyškov s premosťovacou pozíciou pre substrát / produkt / medziväzbu v CODH a [NiFe] -H2áza (obrázok 3). Tieto tri enzýmy sú definované ako predposledný univerzálny spoločný predok (LUCA) enzýmy, ktorých aktívne miesta vykazujú štrukturálne príbuznosti s prírodnými katalyzátormi sulfidov kovov.46 Určenie prvej kryštálovej štruktúry a [NiFe] -H2áza a charakterizácia jej aktívneho miesta v Rok 1995 mal značný vplyv na vedeckú komunitu. 33 Najskôr štruktúra odhalila povahu dvojjadra Aktívne miesto NiFe. Po druhé, mapa elektrónovej hustoty odhalila existenciu troch terminálne viazaných diatomických ligandy k Fe. Zo štúdií FTIR boli priradení k jeden CO a dva CN-ligandy. 47 Ni je koordinovaný s proteínu prostredníctvom dvoch CXXC motívov. Dva cysteíntioláty (jeden z každého motívu) mostík Fe a Ni, zatiaľ čo dva ďalšie cysteíntioláty terminálne viažu Ni. V [NiFeSe] - hydrogenázy, je nahradený jeden z terminálnych cysteínov seleno-cysteínom. Koordinačná sféra Fe je doplnené tromi dvojatómovými ligandmi, pričom zostáva k dispozícii Miesto premostenia Ni – Fe na viazanie substrátu. Väzba aktívneho miesta podporuje Fe na CO a CN- ligandy 1078 ALFANO A CAVAZZA nízko-redoxný stav kovového iónu, čo ho robí relatívne mäkká Lewisova kyselina, ktorá uprednostňuje jej väzbu na mäkkú Lewisovu bázu H−, pravdepodobný krok katalýzy. Počas katalýzy nikel podlieha redoxnému prechodu z Ni (II) na Ni (III) .11 Röntgenová **štruktúra** CODH odhalila jedinečnú povahu aktívneho miesta koordinovaný skreslený [NiFe3S4] kubán k mononukleárnemu miestu Fe (Fe1) (obrázok 3) .29 Proteín poskytuje terminálny cysteíntiolátový ligand ako Ni, tak Fe1 a histidínový ligand k Fe1. Koordinácia Ni je doplnený dvoma anorganickými S z klastra a labilná poloha, v ktorej je substrát / produkt (CO alebo CO2) sa viaže, zatiaľ čo sa molekula vody viaže na kryštál Fe1.28 štruktúry ACS / CODH odhalili podstatu aktívne miesto (A-klaster) ACS.30 Toto dvojjadrové miesto pozostáva proximálneho Ni (Nip), ktorý je katalytickým centrom, spojený s klastrom [4Fe-4S] prostredníctvom premosťujúceho cysteínu

tiolát. Nip je premostená na distálny Ni (Nid) pomocou dvoch ďalších cysteín tioláty. Nestabilná pozícia je tu väzba substrátu a / alebo medziproduktov. Pokiaľ ide o Nid, jeho koordináciu udržiavajú dva tioláty a dva amidové skupiny v hlavnom reťazci (jedna z Gly a druhá z Cys) z neobvyklého Cys-Gly-Cys motívu, v štvorcovom planárnom tvare S2N2 geometria. Predpokladá sa, že Nid nebude zapojený do redoxnej chémie a zostať v stave Ni (II). Má Bolo navrhnuté, že bude mať úlohu buď ako podporný ligand stabilizovať proximálny nikel v málo valentnom redoxe úrovni alebo na vytvorenie otvoreného miesta na katalyzátore kov vďaka svojej vlastnosti otvorenia hemilabilného krúžku.48,49 Nip na druhej strane predstavuje rôzne oxidačné stavy počas katalýzy. Identifikácia NiSOD ako redoxného enzýmu vyzdvihla úlohu proteínového prostredia Ni centrum podporuje obidva oxidačný stav Ni (III) a nižšie potenciál dvojice Ni (III) / (II) o viac ako 2 V. väzbové miesto pre kov je v skutočnosti tvorené N-koncom „Nihook“ ktorý koordinuje Ni ión cez tiolát a amidátové skupiny cysteínu 2, tiolátová skupina cysteínu 6 a amínové a imidazolové skupiny histidínu 1.16 Záväzná koordinácia niklu sa mení podľa oxidačný stav kovu, prechod z pyramídového geometria pre oxidovaný stav Ni (III) na štvorcový planárny N2S2 geometria pre redukovaný Ni (II), stratu apikálu donor imidazolu (obrázok 3). Zatiaľ čo tiolát a imidazol ligandy sú rozhodujúce pre udržanie redoxu iónov niklu štáte je úloha zmiešanej amín-amidátovej koordinácie predmet rôznych štúdií.50–52 Niekoľko modelov NiSOD boli syntetizované peptidy a komplexy, v ktorých ligandy N-donora sa menili od prírodnej zmesi amínové / amidátové prostredie na bis-amidátové, vedúce výlučne na katalyticky neaktívne druhy. Jeden dôvod by sa považovalo za bis-amidátové komplexy reaktívnejšie voči spoločnosti O2. Teda zmiešaný amín / amidát na zvýšenie odporu by bola nevyhnutná koordinácia smerom k substrátom a produktom reakcie.

4,2 | Prostredie bohaté na histidíny Prostredia bohaté na histidíny sa nachádzajú v troch neredoxoch enzýmy, menovite ureáza, ARD a GlxI, kde je nikel v oxidačnom stave Ni (II) (obrázok 3). V prípade ureázy je aktívnym miestom dvojjadrové stredom, pričom dva ióny niklu sú priestorovo oddelené 3,5–3,7 Å, premostený karbamylovaným lyzínovým zvyškom a koordinované dvoma zvyškami histidínu.20 Molekuly vody vyplniť zostávajúce koordinačné pozície, čím sa získa a pentakoordinovaný skreslený štvorcový pyramídový základ geometria (Ni1), zatiaľ čo druhý nikel (Ni2) je navyše viazaný na aspartát, výsledkom čoho je hexacoordinated skreslená oktaedrická geometria. Nedávno röntgenová štruktúra

ureázy v komplexe s jej substrátom bol

vyriešené, čo ukazuje, že sa močovina viaže v premosťovacej polohe

medzi dvoma miestami Ni.53

V GlxI zahŕňa koordinácia niklu histidín a

kyselinu glutámovú každého monoméru a tiež dve vody

molekuly na dokončenie požadovanej oktaedrickej geometrie

pre katalýzu. V ARD je ligand charakterizovaný spektroskopicky

a štúdie mutagenézy navrhli osemsten

koordinačná geometria pre oba kovy

tromi histidínmi a jednou kyselinou glutámovou ako možnými darcami

doplnené o dve ďalšie vody.43

4,3 | Kofaktory obsahujúce Ni

V metanogénoch sa vyvinuli jedinečné kofaktory, ktoré

sú obmedzené na túto skupinu archaeí. V MCR, nikel

sa ukázalo, že je zložkou s nízkou molekulovou hmotnosťou

kofaktor (F430) identifikovaný ako derivát tetrapyrolu

známy ako korfín (obrázok 3) .37 Toto je najviac redukovaných

komplex tetrapyrol-kov nachádzajúci sa v prírode. Meno

kofaktor vychádza z absorpčného pásma presne pri

430 nm, v oxidačnom stave Ni (II). Stav Ni (I) je tiež

zúčastňujúce sa na katalýze, z čoho vyplýva, že prísna kontrola nad

pre svoju funkčnosť je potrebný kovovo-redoxný stav. The

F430 nie je kovalentne viazaný na proteín. Prsteň z

kofaktor F430 chelatuje ión niklu a jeho koordináciu

je dokončený prostredníctvom axiálneho glutamínu 147 na opačnej strane

strane v porovnaní s kanálom. Trans to the other,

pre substrát a produkt je k dispozícii voľné miesto

viazanie.

V LpLarA, deriváte mononukleotidu kyseliny nikotínovej

s dvoma pridanými tiokarboxylátovými skupinami, z ktorých jedna je

tvorí tioamid s lyzínom 184, je prítomný v

aktívne miesto a nazýva sa nikel-kliešťový nukleotid (NPN) 42

(Obrázok 3). Komplexy kliešťov nie sú v chémii nové

ale je to pozoruhodne jediný príklad takejto molekuly

v enzýme. Nikel je viazaný v zdeformovanej rovine

usporiadanie na NPN kofaktor cez prostredie ligandu SCS

na báze pyridínium-3,5-bistiokarboxylovej kyseliny

mononukleotid kyseliny. Kofaktor je kovalentne viazaný

proteín cez tioamidovú väzbu s lyzínovým zvyškom

a niklovú koordinačnú sféru dotvára histidín

200. Stabilná väzba Ni C v pokojovej / stabilnej

stav tohto enzýmu je neočakávaný. Skutočne, v iných Nicontaining

enzýmy, väzby Ni C boli iba

pozorované ako reakčné medziprodukty.18 Táto koordinácia je

je nevyhnutné na zabezpečenie stability kovu v

zložité. V skutočnosti sa zdá, že prechod medzi

otvorená a uzavretá konformácia je spôsobená skreslením

- koordinácia a posunutie kliešťa NPN

His200.

5 | METALLOCENTRUM

BIOSYNTÉZA

V cele musí byť nikel správne dodaný a zabudovaný

na požadované aktívne enzýmové miesta. Tieto procesy

často vyžadujú zložitý tím príslušenstva

bielkoviny a ich biosyntéza je spoločná

komplexné metalokupry enzýmy. Doplnenie

Prebytok Ni (II) do mikrobiálnych kultúr môže často kompenzovať

pre nedostatok ich vyhradených doplnkových proteínov, vedúcich

na čiastočne aktivované enzýmy. Naznačuje to dozrievanie

proces môže fungovať spontánne, ale nie prostredníctvom

plne efektívny proces. Navyše, vzhľadom na nízke

hladiny niklu prítomné v bunke, proces dozrievania

je nevyhnutný a funguje dobre organizovaným spôsobom v

priestor a čas. Zatiaľ čo sa niklové chaperóny podieľali na

biogenéza niekoľkých aktívnych miest bola dôkladne vykonaná

charakterizované, pochopenie ich úlohy na molekulárnej

úroveň v krokoch dodania niklu zostáva objasniť.

V skutočnosti sú tieto štúdie veľmi zložité

modularita vlastností viažucich nikel a alosterická

regulácie vyvolané interakciami proteín / proteín alebo

interakcie proteín / kov. V ďalšej časti je dozrievanie

dráhy ureázy, H2ase, LarA, MCR, CODH,

a ACS. Pokiaľ ide o ďalšie enzýmy,

málo sa vie o biosyntéze ich aktívnych miest.

Všetky popísané dozrievacie stroje majú spoločné

prítomnosť faktora zrenia hydrolyzujúceho NTP,

patriace do triedy SIMIBI NTPáz, 54 a

proteín bohatý na histidín (HRP) a prípadne ďalší

niklové chaperóny.18 NTPázy môžu potenciálne hrať reguláciu

úlohu ovplyvnením interakcie partnerov v proteíne

komplexy alebo afinita nikelnatých iónov, zatiaľ čo HRP sú často

popísané ako zásobné proteíny.

5.1 | Ureáza

Ureáza sa najskôr vyrába v apo-forme, ktorá potom

je potrebné aktivovať prostredníctvom dvoch hlavných krokov: karbamylácia lyzínu

a zavedenie niklu do aktívneho miesta.20

Vzhľadom na zakopanú polohu tohto miesta v apoproteíne,

výskyt modifikácie skladania proteínu

predpovedá, že umožní vloženie niklu. Navyše k

tri enzýmové podjednotky, kóduje klaster génu ureázy

štyri doplnkové proteíny: UreD / H, UreE, UreF a UreG,

podieľa sa na dodávke niklu a dozrievaní ureázy. The

zrenie ureázy závisí od hydrolýzy GTP

katalyzovaná GTPázou UreG závislou na nikle, 80 a

vyžaduje vytvorenie komplexu UreFGH-Urease.

Na druhej strane je UreE opísaný ako metallochaperon

ktorý poskytuje Ni (II) enzýmu, 81,82 via

jeho interakcia s UreG. Je zaujímavé, že UreG bol

identifikovaný ako proteín s vnútornou poruchou (IDP),

s veľmi nízkou aktivitou GTPázy, ktorá sa výrazne zvyšuje

tvorbou komplexu.80 Komplex UreH2F2G2 má

boli izolované a kryštalizované, 83 odhaľujúce existenciu

vodný tunel pochádzajúci z miesta viažuceho Ni

UreG umiestnený na rozhraní stmievača, ktorý prechádza

UreF a výstupom z UreD / H84, aby sa konečne získal Ni (II) do

aktívne miesto ureázy, ako to podporujú štrukturálne modely.

Vzhľadom na najnovšie výsledky bol postulovaný model

pre celkovú dráhu dozrievania ureázy v

počas ktorého bola úloha konformačných zmien v UreG počas

je zvýraznená hydrolyzácia GTP / väzba partnera

(Obrázok 6) .85 V tomto scenári je komplex UreH2F2G2

destabilizovaný väzbou GTP, čo spôsobí uvoľnenie UreG2

a umožnenie jeho interakcie s Ni-UreE2 za vzniku Ni-

(UreEG) 2 komplex. Prevod Ni (II) z UreE do UreG

nasleduje komplexná disociácia a väzba ureázy

Komplex (UreHF) 2 potom bude interagovať s

Ni- (UreG) 2. Následná GTP hydrolýza indukuje konformačné

zmeny podporujúce uvoľňovanie niklu z

UreG na apo-ureázu, prostredníctvom UreH a UreF. TheGDP-UreG2

potom sa radšej viaže na (UreHF) 2 a regeneruje

UreH2F2G2.

5,2 | [NiFe] -hydrogenáza

Biosyntéza [Ni Fe] -hydrogenázy dvojjadrovej

active site je viackrokový proces, s tromi po sebe nasledujúcimi

udalosti: (i) Biosyntéza a inzercia centra Fe (CN) 2CO

nasledované (ii) dodávkou niklu a nakoniec (iii)

odstránenie C-koncového konca (CTT) veľkej podjednotky

(LSU) na uzamknutie aktívneho miesta na danom mieste (obrázok 4) .55 Raz

spracované, zrelá LSU sa asociuje s malou podjednotkou

(SSU) a v prípade membránovo viazaného a periplazmatického

enzýmy, sa zrelá dimérna forma exportuje

prostredníctvom systému Twin-Arginine Translocation (TAT). O

najmenej šesť prísne konzervovaných doplnkových proteínov je

potrebné, konkrétne HypABCDEF, 56 pre biosyntézu aktívneho miesta,

okrem nájdeného niklu chaperone SlyD

v niektorých mikroorganizmoch57 a špecifickej proteáze

štiepením CTT (HyCI v E. coli). Podrobne LSU je

dozrievalo podľa nasledujúcich krokov. Najprv,

HypEF sprostredkováva tvorbu centra Fe (CN) 2CO

v zhode s HypCD. HypC sa predpokladá, že sa koordinuje

Fe (CN) 2CO skupina cez Cys2 spolu s Cys41

HypD a priamo komunikovať s predchodcom LSU.

Po tomto kroku nasleduje vloženie tohto centra Fe

do proteínu.

K inzercii Ni dochádza prostredníctvom NTP-dependentného

mechanizmus sprostredkovaný NTPázou závislou od Ni / Zn

HypB, 58 niklový chaperón HypA, 59 a v niektorých prípadoch

SlyD. U H. pylori sa tiež prijímajú HypA a HypB

5,4 | Acetyl koenzým A syntáza Málo sa vie o dozrievaní ACS a o tom, ako je vytvorený a vložený zvláštny A-klaster. Ako pre CODH a [NiFe] -H2áza, zdá sa, že je do nej vložený nikel druhým krokom v biosyntéze enzýmov. Nedávno Ukázalo sa, že ATPáza AcsF je zahrnutá v aktívnom mieste biogenéza.79 Spočiatku dve hlavné skupiny proteínov CooC boli identifikované v závislosti od ich genómového kontextu: skupina „podobná CooC“, umiestnená v monofunkcii CODH operóny a skupina „AcsF-like“, nájdené v ACS / CODH operóny (alebo génové klastre). Štúdia AcsF z C. hydrogenoformans odhalil, že tento enzým je skutočne špecificky potrebný na aktiváciu ACS a nemôžu byť nahradené proteínmi CooC. Vo svetle z týchto výsledkov vyplýva rozdelenie do dvoch odlišných tried CooC a AcsF zúčastňujúce sa na dozrievaní CODH a ACS, treba brať do úvahy. Komplex AcsF / ACS formácie bolo navrhnuté na vyvolanie vytvorenia najmenej jedno vysokoafinitné väzbové miesto pre Ni (obrázok 5b).

5.5Laktátová racemáza

Medzi zhlukom génov lar je zodpovedný LarB

biosyntéza pyridínia mononukleotidu 3,5-biskarboxylovej kyseliny

(P2CMN) katalyzáciou karboxylácie

adenín-dinukleotid kyseliny nikotínovej (NaAD) .86 Následne

LarE prevádza P2CMN na pyridínium

Mononukleotid kyseliny 3,5-biskarboxylovej (P2TMN) prostredníctvom dvoch

reakcie na prenos síry a LarC poskytuje niklu

generovať aktívnu formu kliešťového kofaktora, ktorý bude

naviazať na LarA.87,88 LarE patrí do PP-slučky

pyrofosfatázovej rodiny a má dve nezávislé

domény: N-terminálna doména obsahujúca konzervované

Motív PPG slučky SGGXDS a C-koncová doména ktorá

nie je spoločný pre žiadneho člena tejto ATPázy typu N.

rodina, odhaľujúca dvojitú funkciu pre LarE. Enzým

katalyzuje AMPyláciu pyridíniumkarboxylu

skupín nasledovaný prenosom síry cez konzervované skupiny

cysteín 176 prítomný v C-koncovej časti proteínu

ako donor síry na premenu P2CMN na P2TMN. Toto

vďaka odhodlaniu sa nedávno dokázala hypotéza

kryštálových štruktúr LarE z

L. plantarum a jeho mutant C176A v apo-forme

a v komplexe s koenzýmom A (CoA) .87 To in vitro

Štúdia odhalila zásadnú úlohu Cys176 ako katalyzátora

miesto pre inzerciu síry, ako aj úlohu CoA

persulfilde v regenerácii aktívneho LarE, hoci

fyziologický význam tohto mechanizmu cyklovania

zostáva nejasný. Nakoniec by LarC vložil priamo

niklu do neúplného ligandu kliešťa, stále viazaného na

LarE, podpora tvorby nikel-kliešťa

nukleotid, ktorý by sa potom preniesol do LarA

(Obrázok 7a) .89 LarC vytvára dve väzby S Ni a je zvláštne

stabilná väzba C Ni. Na rozdiel od druhého niklu

pomocné proteíny, je to jediný príklad schopný katalyzovať

tvorba väzby C Ni vložením

kov na organickú molekulu prostredníctvom CTP-dependentného

cyklometalácia, indukujúca možnú konformačnú

úprava. Zo sekvencie LarC, z oblasti bohatej na His, nie

nevyhnutné pre činnosť LarC, bol označený ako možný

skladovanie niklu. Štruktúra C-terminálu

doména bola vyriešená v prítomnosti alebo neprítomnosti CTP,

umožňujúce identifikáciu zvláštneho väzbového miesta, ktoré

nezodpovedá žiadnej známej väzbe na nukleotidy

motív.90 Ako však súvisí hydrolýza CTP

vloženie niklu ešte zostáva preskúmať.