

A 3D ribbon diagram of a protein structure, rendered in white against a black background. The structure is complex, with multiple alpha-helices and beta-sheets. A semi-transparent grey rectangular box is overlaid on the center of the image, containing the title and authors' names in magenta text.

Factors de coagulació

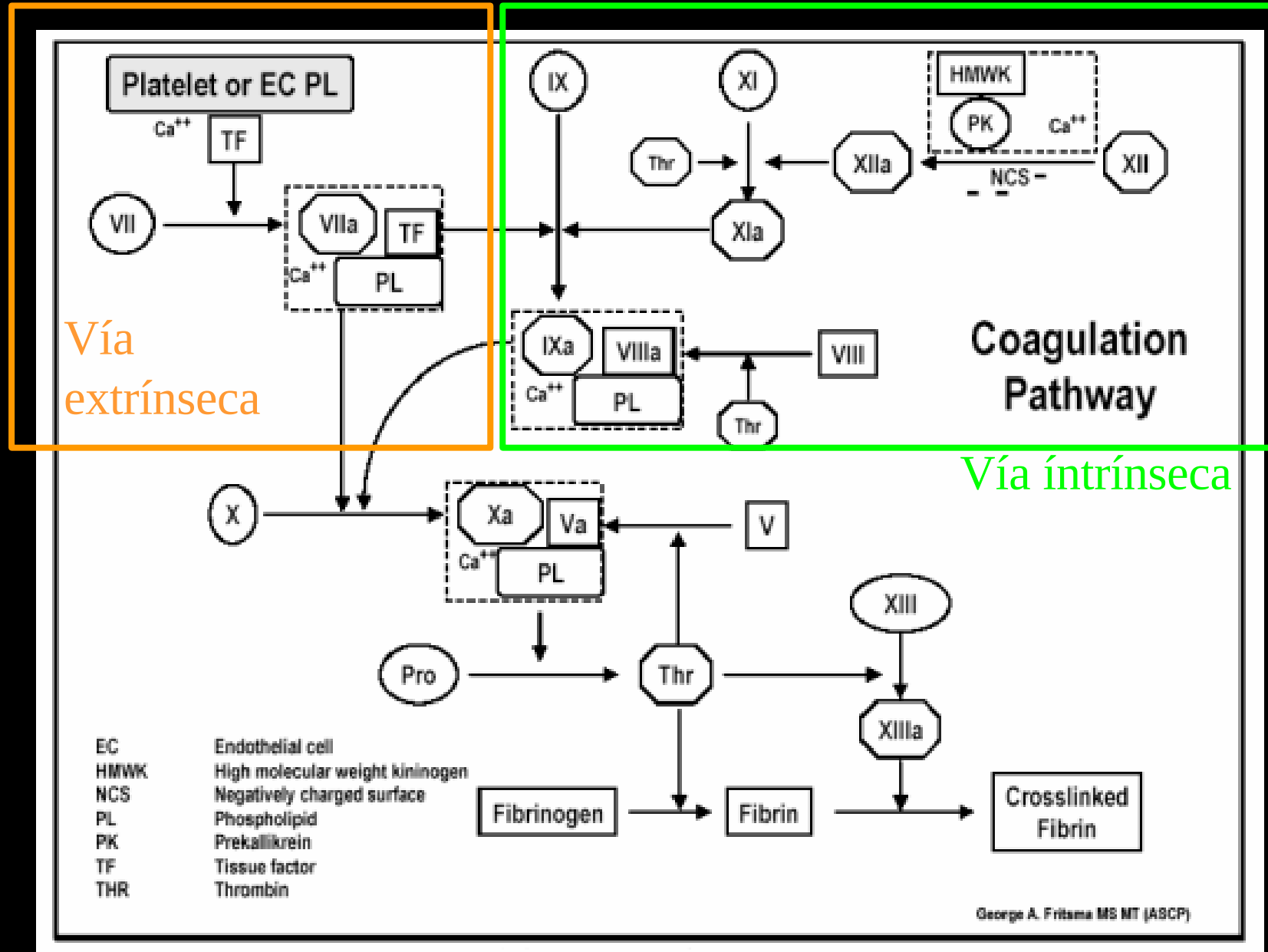
Laia Fernàndez

Ana Galván

Montse Grau

Luz Martínez

FISIOLOGIA: CASCADA DE LA COAGULACIÓ



Grups

**Depenents de
vitamina K**

Cofactors

**Activadors
del sistema
de contacte**

**Fibrino –
formació**

Factors

**II, VII,
IX i X**

IV, V i VIII

**XI, XII,
prekalqueïna
i kininogen**

**Fibrinogen i
XIII**

Sinònims

FI → fibrinogen

FII → protrombina

FIII → factor tissular

FIV → calcio

FV → proacelerina

FVII → proconvertina

FVIII → factor antihemofílic

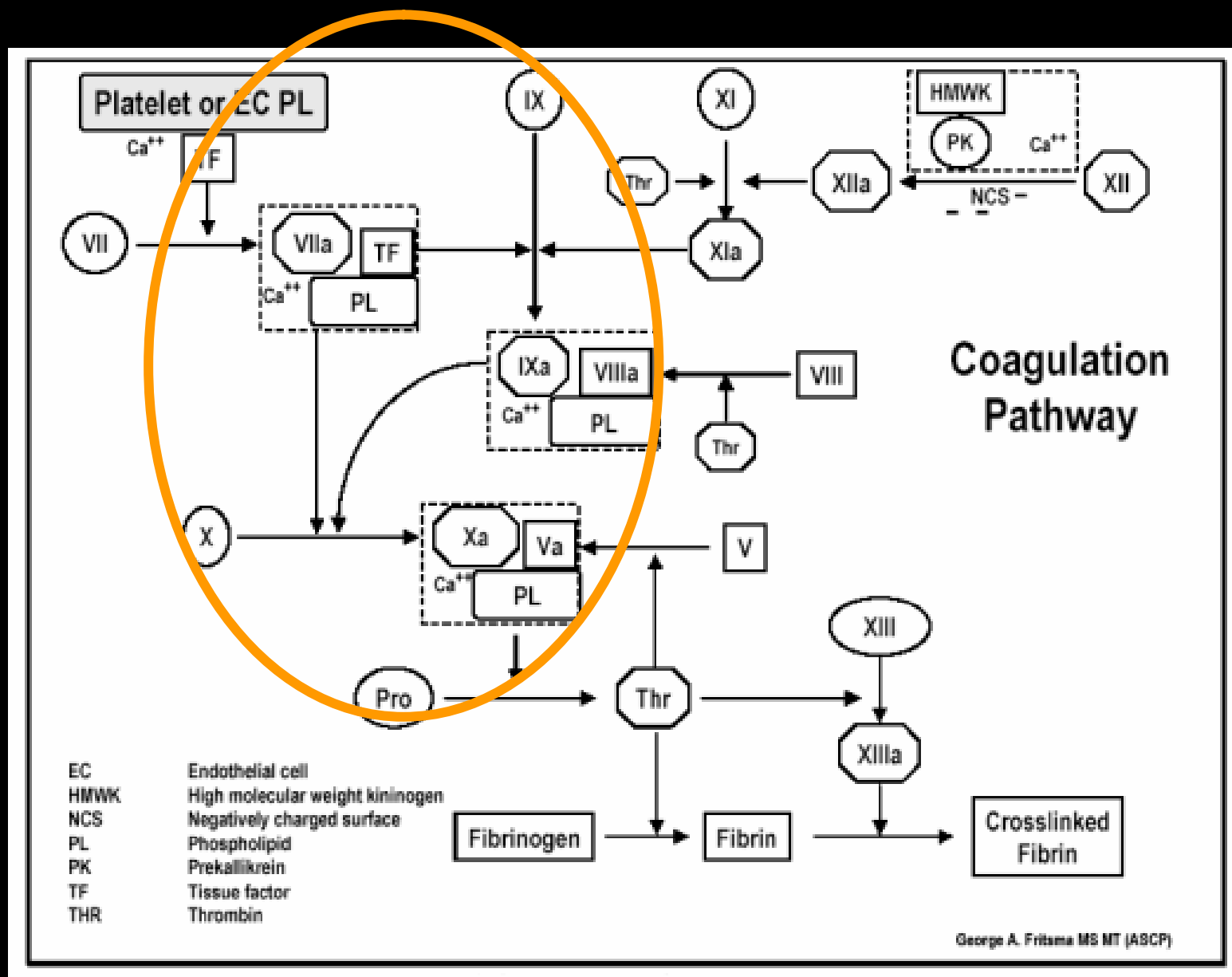
**FIX → component
tromboplastínic del plasma**

**FXI → antecedent tromboplastínic
del plasma**

**FXIII → factor estabilitzador de
la fibrina**

CLASSIFICACIÓ ESTRUCTURAL

Class	Fold	Superfamily	Family	Protein
All beta protein	Trypsin-like serine proteases	Trypsin-like serine proteases	Eukaryotic proteases	Factor VII, IX, X Protein C Thrombin
Small proteins	Gla-domain	Gla-domain	Gla-domain	Factor VII, IX, X, XIV proteinC prothrombin
Small proteins	Knottins	EGF/laminin	EGF-type modules	Factor VII, IX, X Prothrombin
Small proteins	Kringle-like	Kringle-like	Kringle modules	Prothrombin



Introducció: factors VII, IX i X

Síntesi hepàtica com a precursors de cadena única (60KDa aprox)

Tall proteolític que el divideix en dues cadenes:

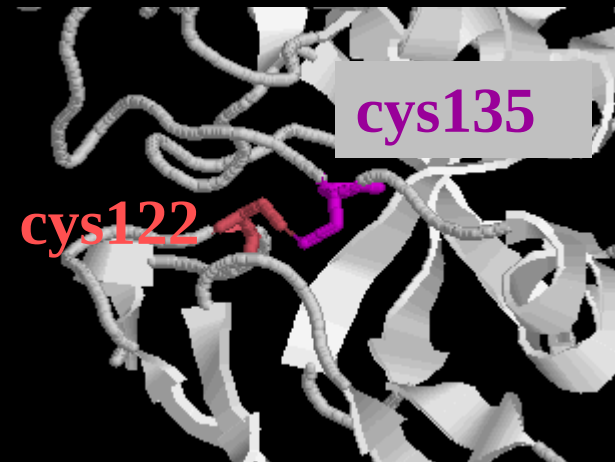
- Cadena lleugera (GLA + EGF1 + EGF2)
- Cadena pesada (Domini serin-proteasa)

Unió de les dues cadenes de forma covalent (pont ss cys135 - cys 122)

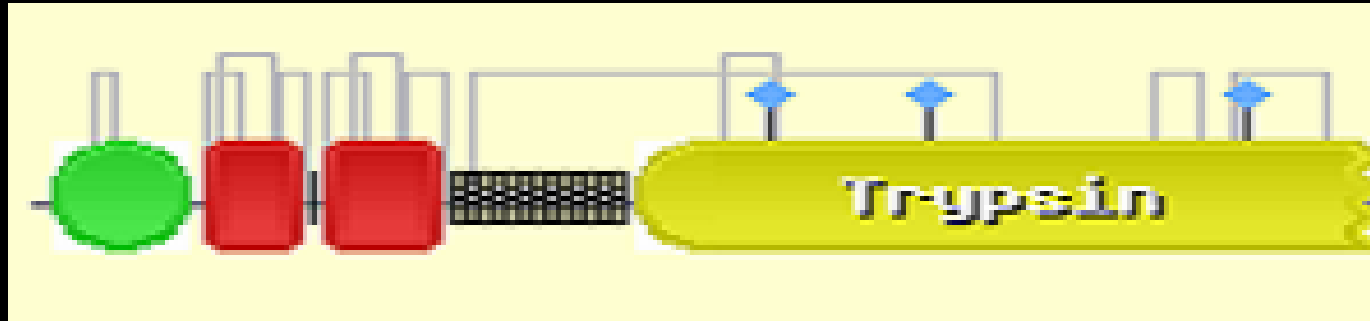
Vitamina-K depenents

VII → Aquest tall causa l'activació del zimogen + FT

IX i X → Necessiten un altre tall per alliberar el pèptid d'activació + cofactors



Introducció factors VII, IX i X



Trypsin → **Domini serin-proteasa:** domini catalític

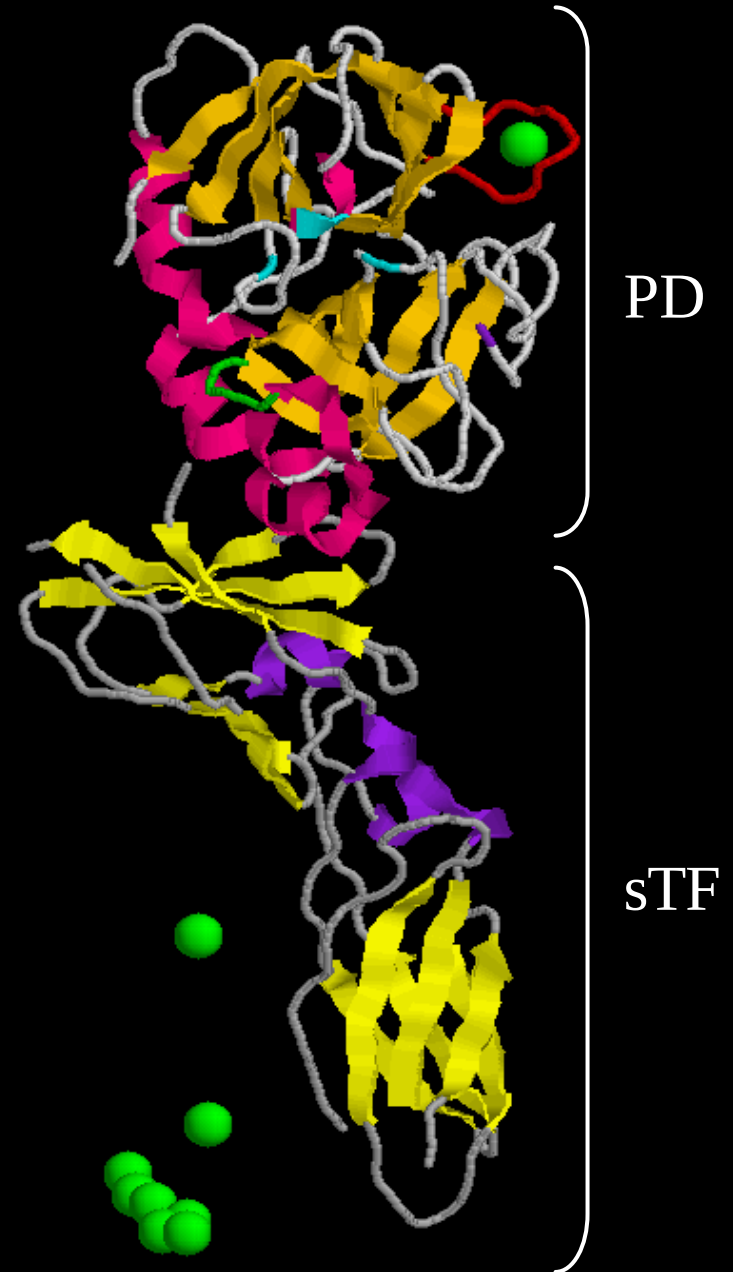
GLA → **Domini Gla:** regió rica en àc. glutàmics que tenen modificacions postranslacionals en les que es formen àcids γ -carboxiglutàmics (Gla) mitjançant l'enzim γ -carboxilasa (que utilitza un derivat de la vit K com a cofactor)

EGF → **Domini EGF:** intervenen en el reconeixement del substrat i en la unió a Calci.

El factor tissular

El factor tissular és una glicoproteïna de transmembrana que és secretada per les plaquetes en el moment del dany.

Consta d'una regió intracel·lular, una transmembrana i una extracel·lular formada per dos dominis immunoglobulin-like



La interacció amb el factor tissular

La interacció del factor VII amb el factor tissular es produeix per tres regions:

- sTF-Gla
- sTF-EGF1
- sTF-PD

Les principals interaccions són de tipus hidrofòbic.



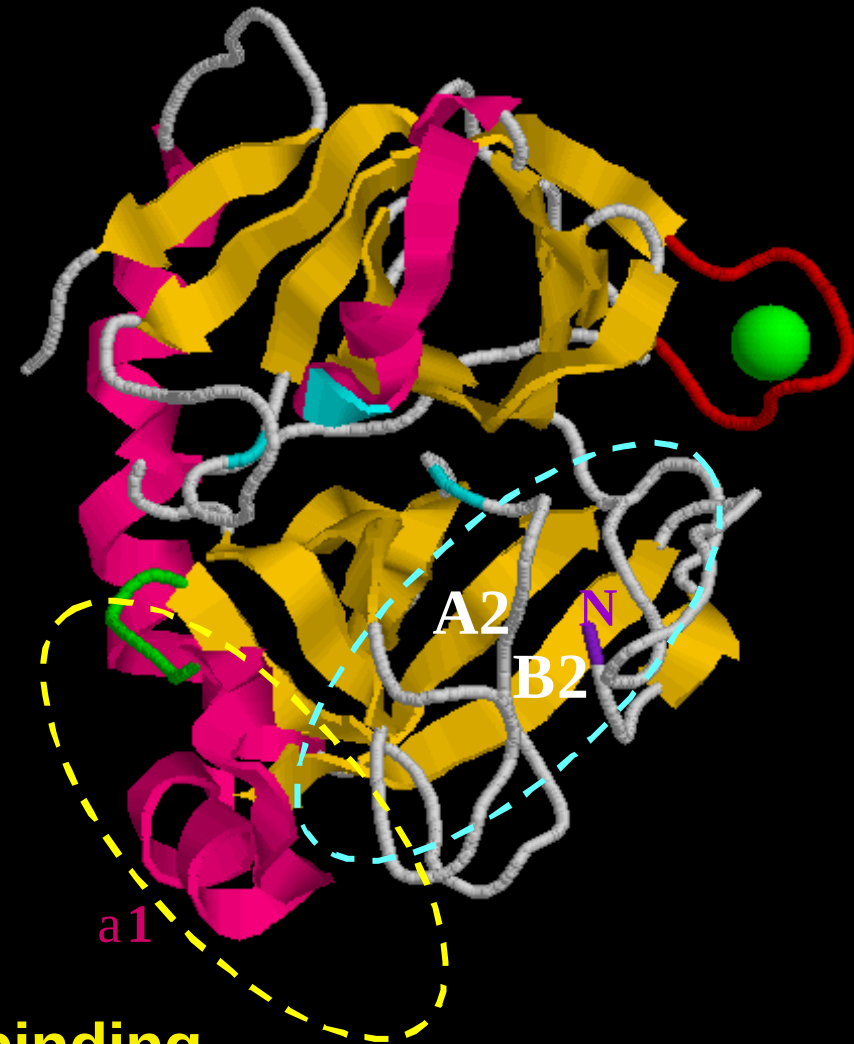
Factor VII

Reregistration of β -strand A2 and B2

És necessari un canvi entre les fulles A2 i B2 del 2n barril per tal que es produeixi la completa activació del domini proteasa.

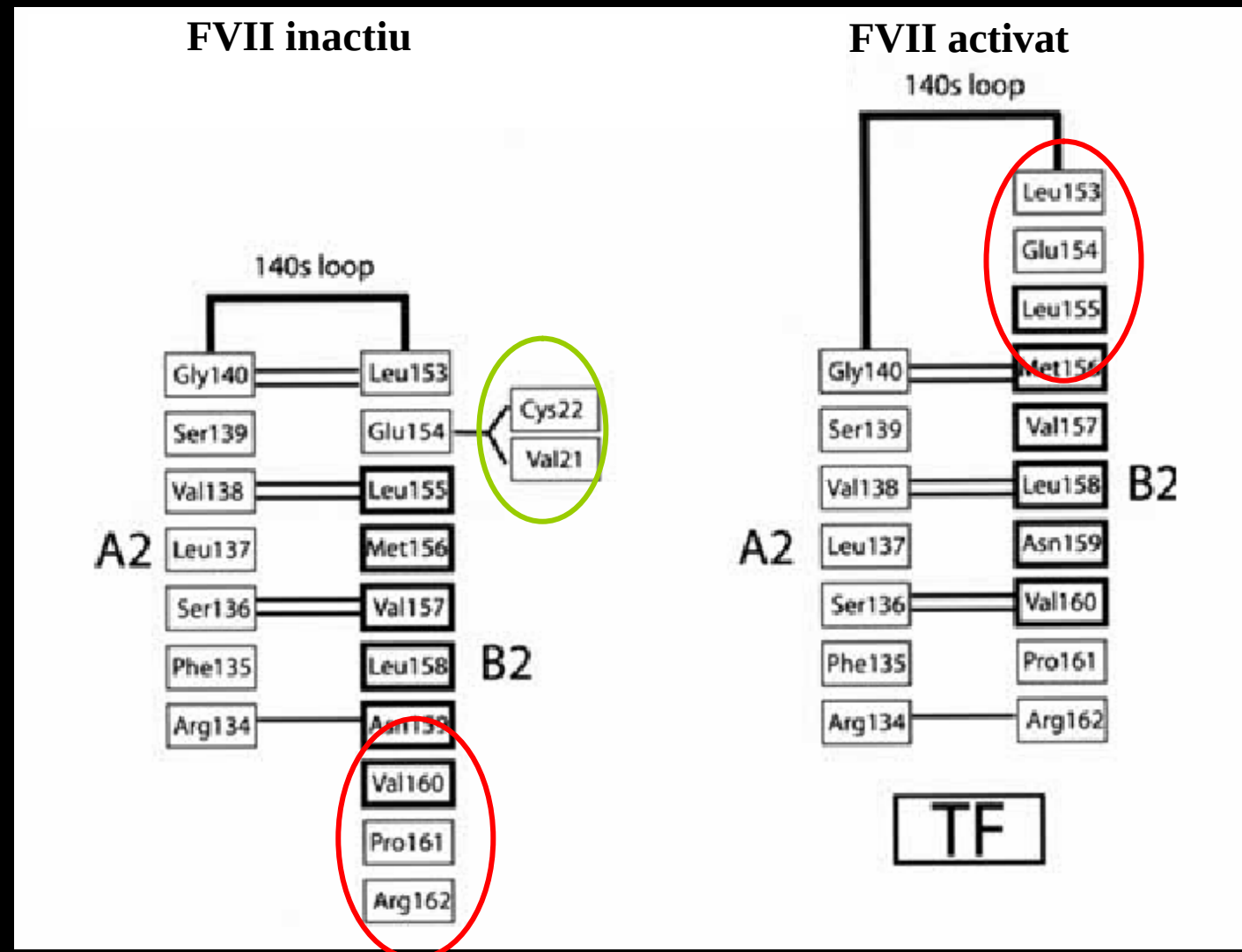
-Aquest canvi permetrà:

- L'unió al Factor tissular (TF)
- Inserció del N-terminal dins la butxaca hidrofòbica



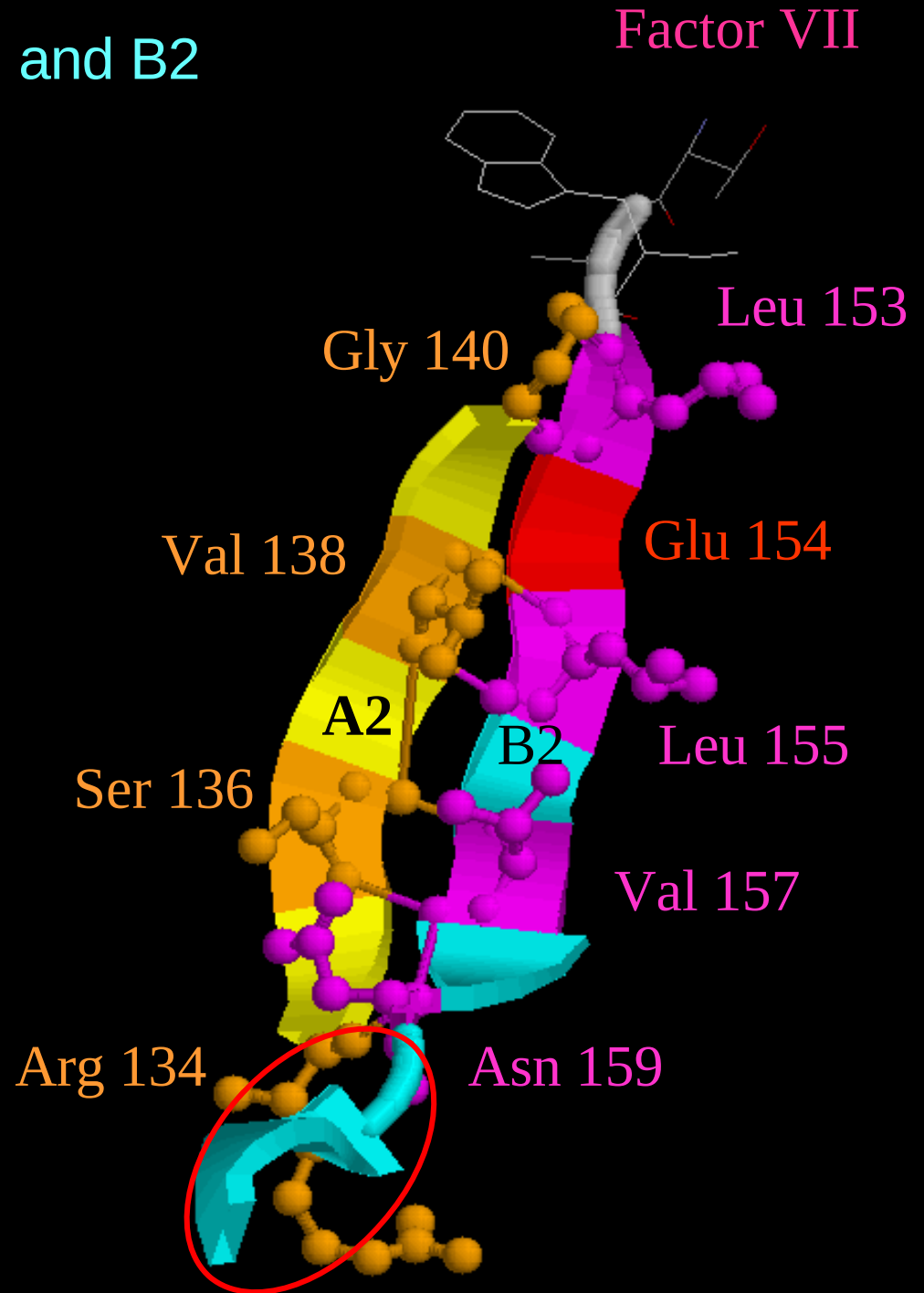
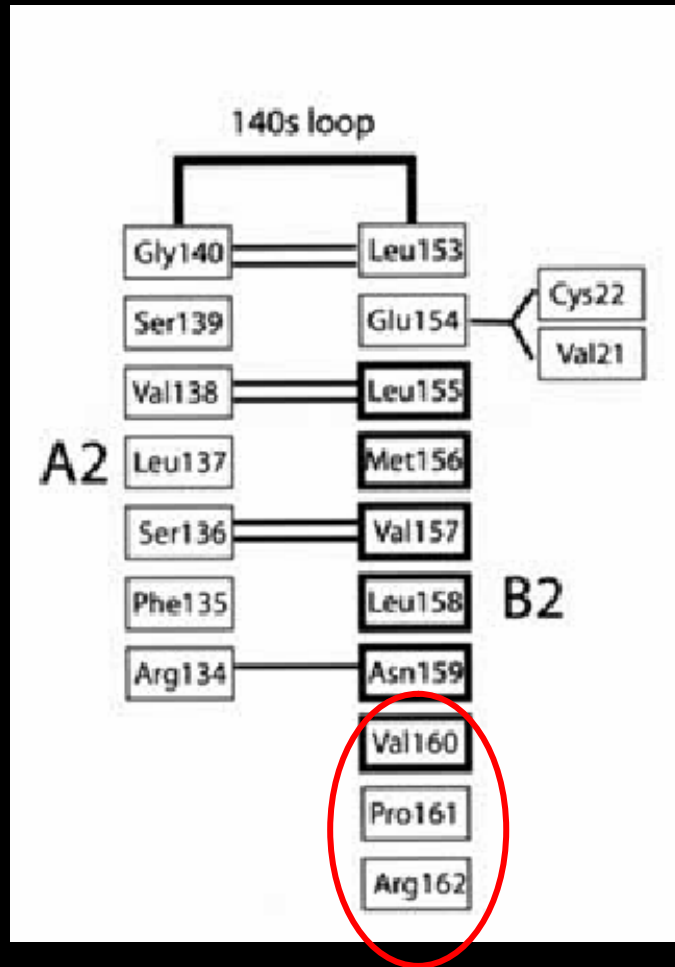
**TF-binding
region**

Reregistration of β -strand A2 and B2



Reregistration of β -strand A2 and B2

FVII zimògen

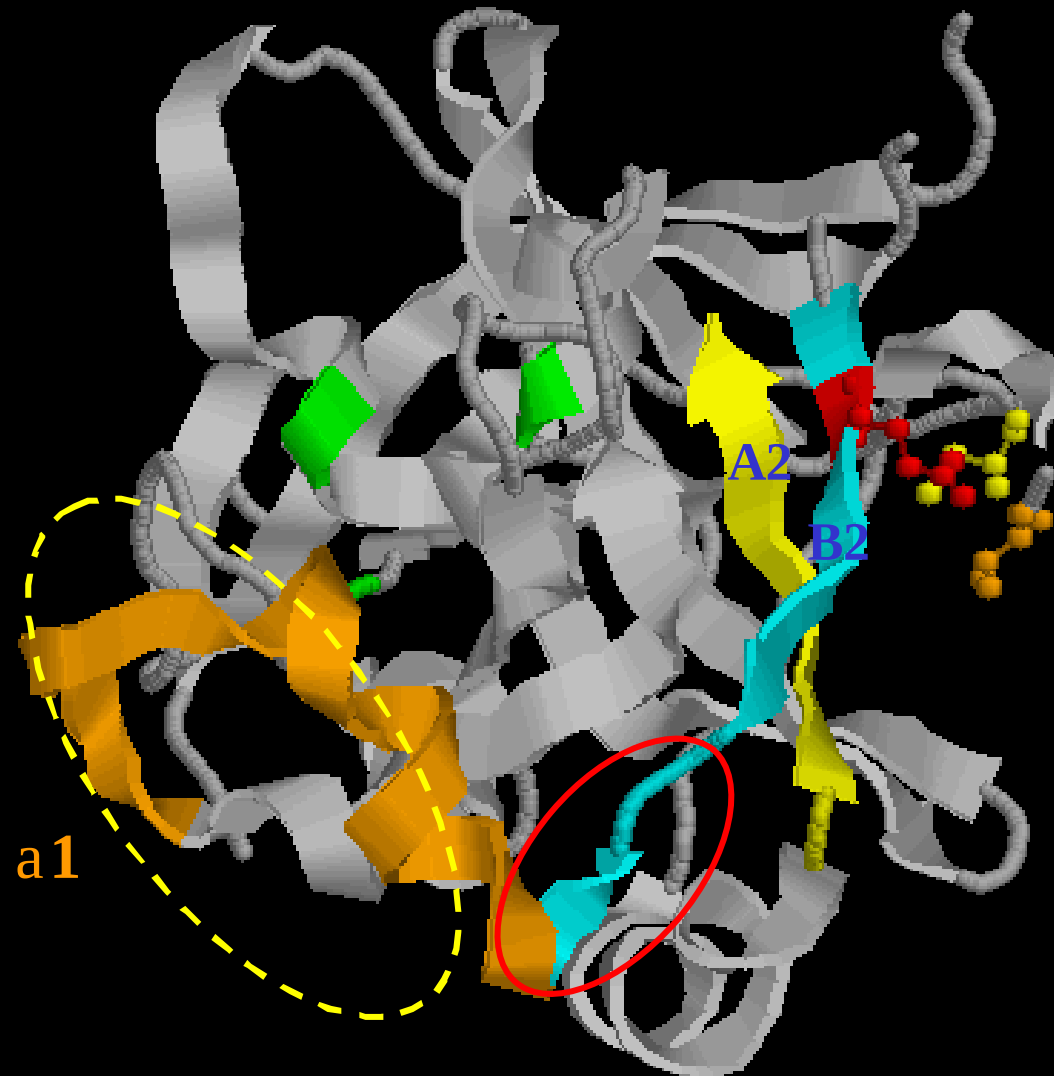


Reregistration of β -strand A2 and B2

Unió del factor tissular

Augmenten els residus de l'hèlix α , que dificulta l'unió del factor tissular

TF-binding region

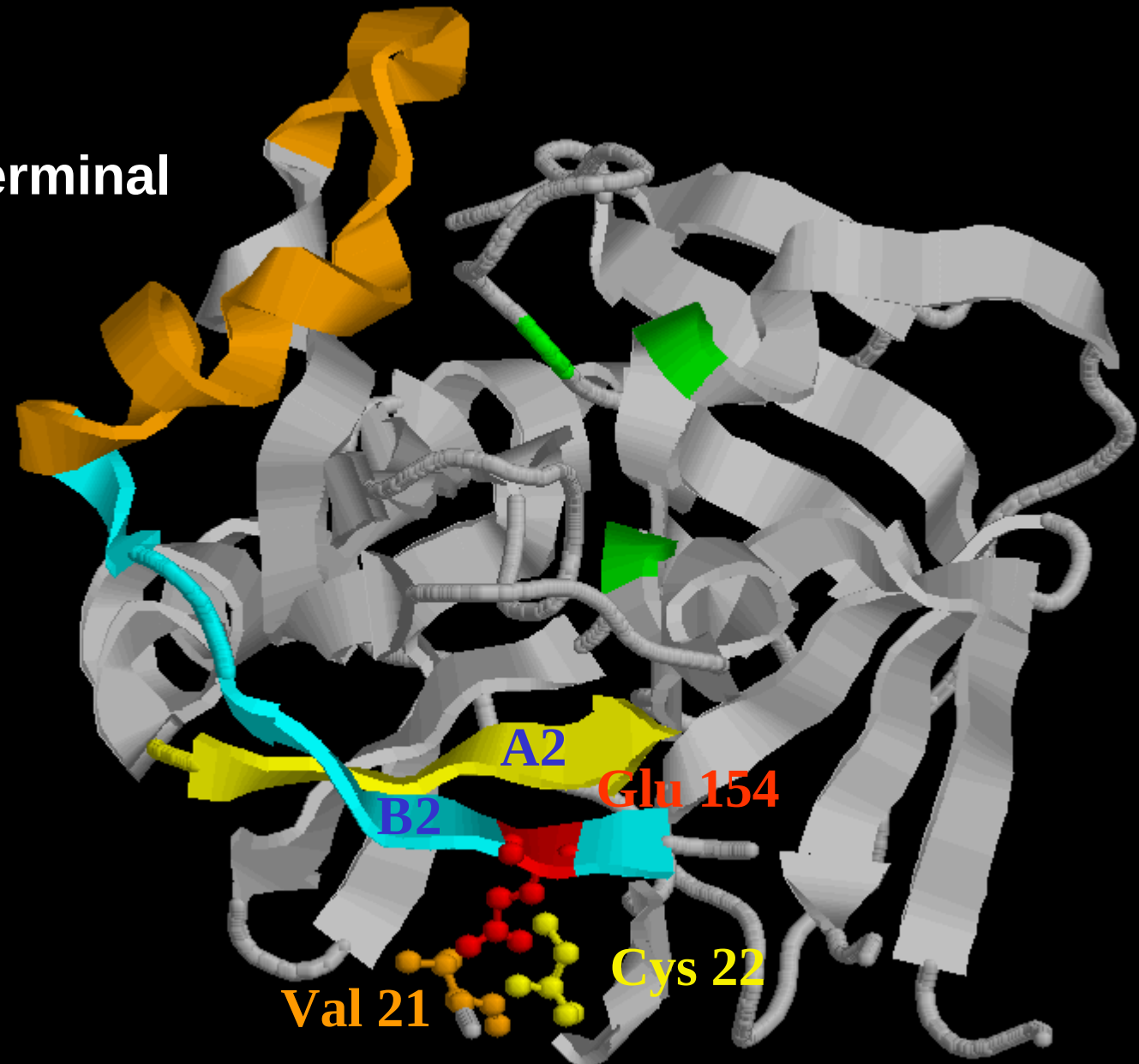


Reregistration of β -strand A2 and B2

Factor VII

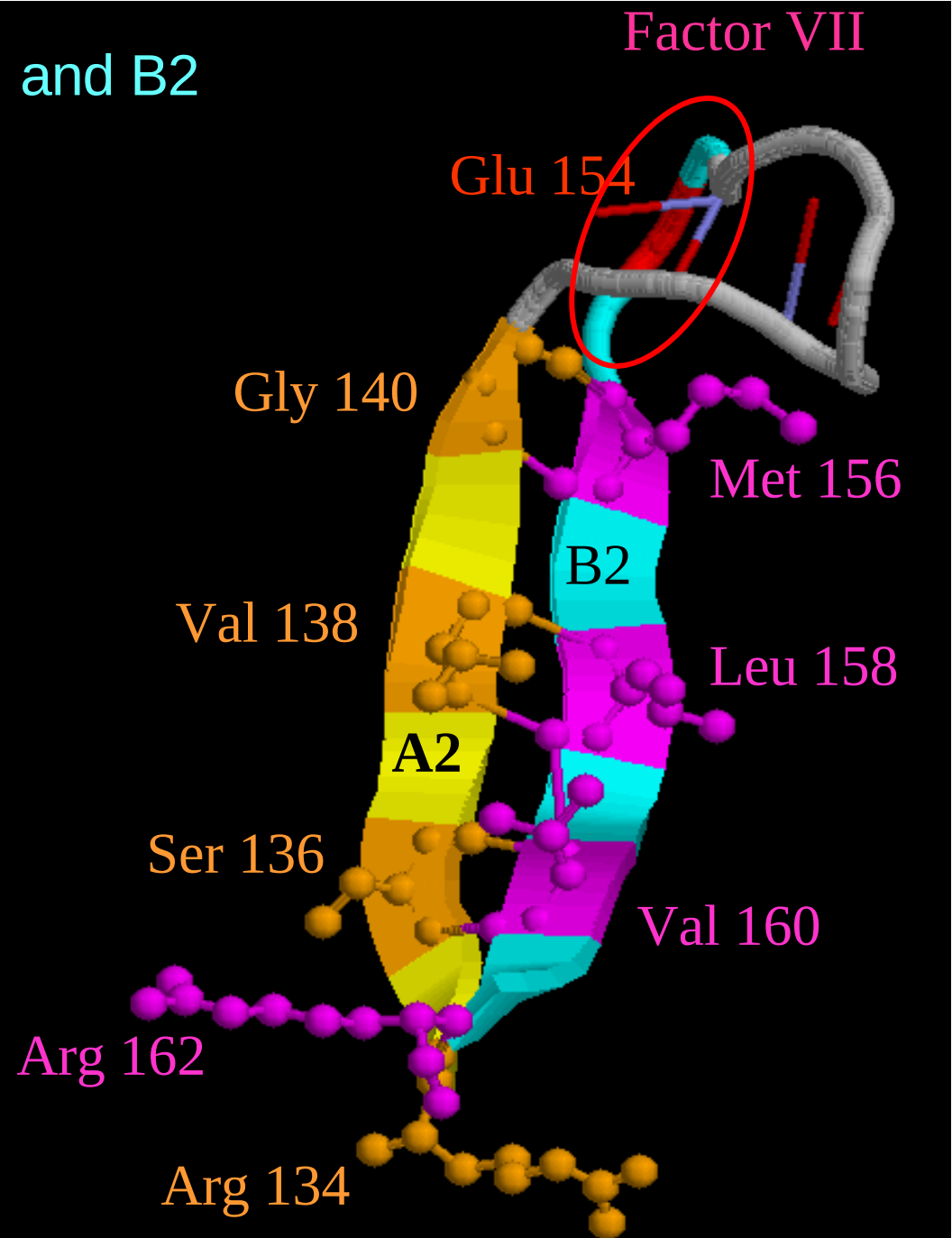
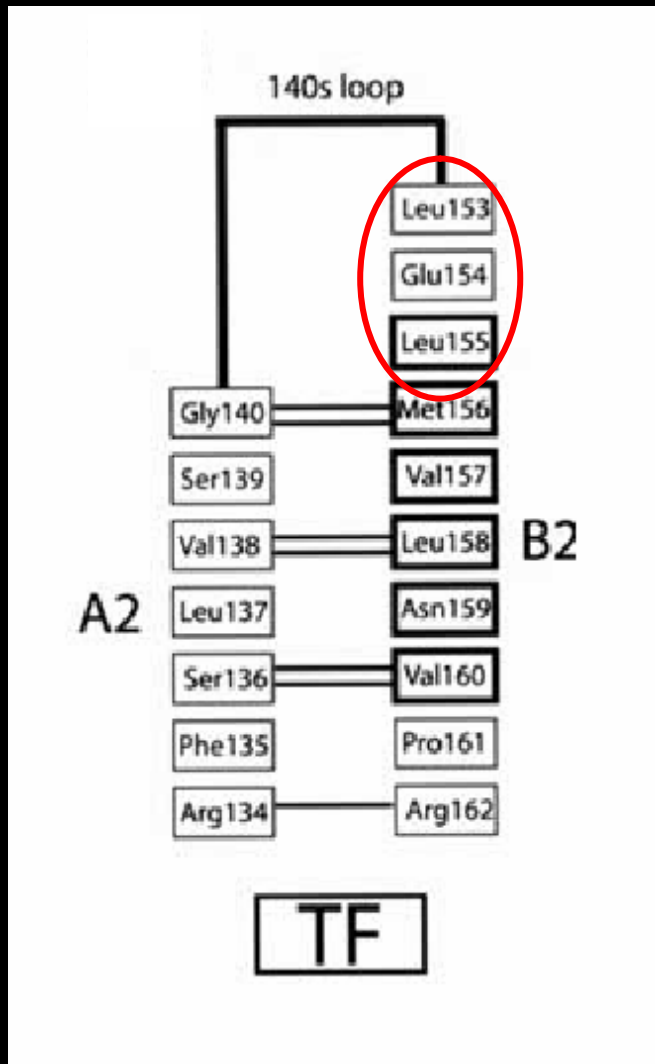
**Inserció del N-terminal
dins la butxaca
hidrofòbica**

Els ponts d'H no
permeten la
inserció de l'Ile 16
dins la butxaca
hidrofòbica



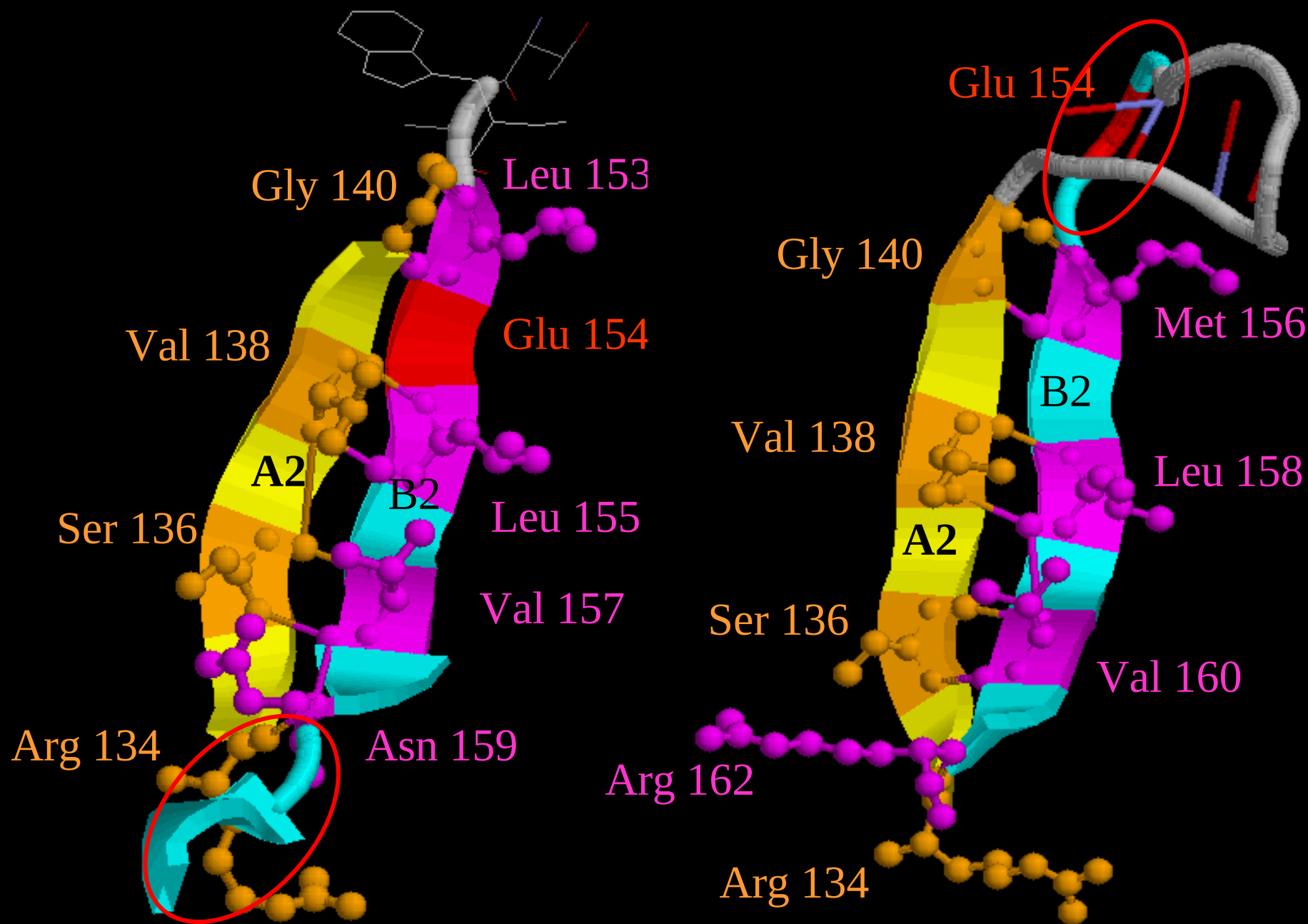
Reregistration of β -strand A2 and B2

FVIIa



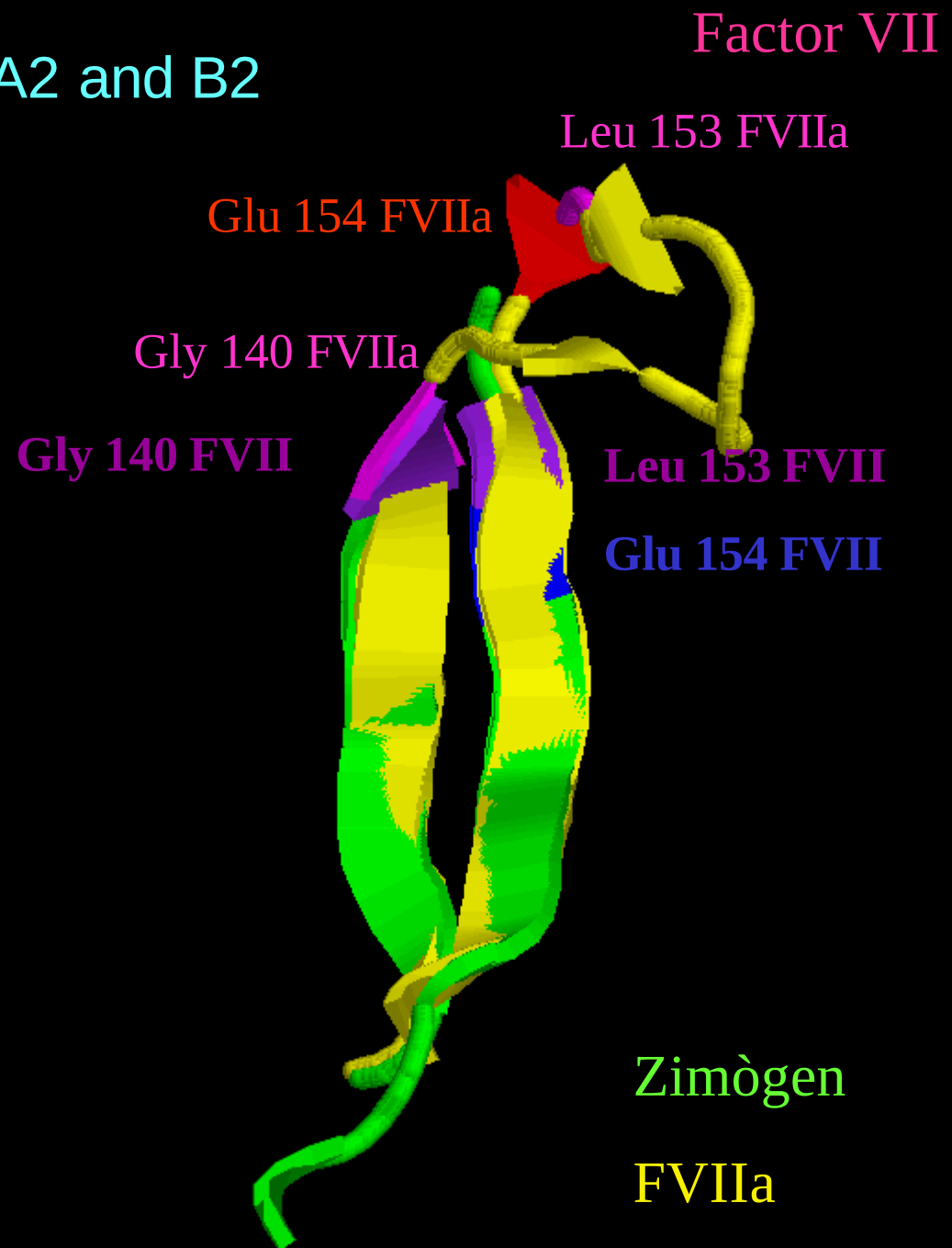
Reregistration of β -strand A2 and B2

Factor VII



Reregistration of β -strand A2 and B2

Superposició zimògen
i FVIIa

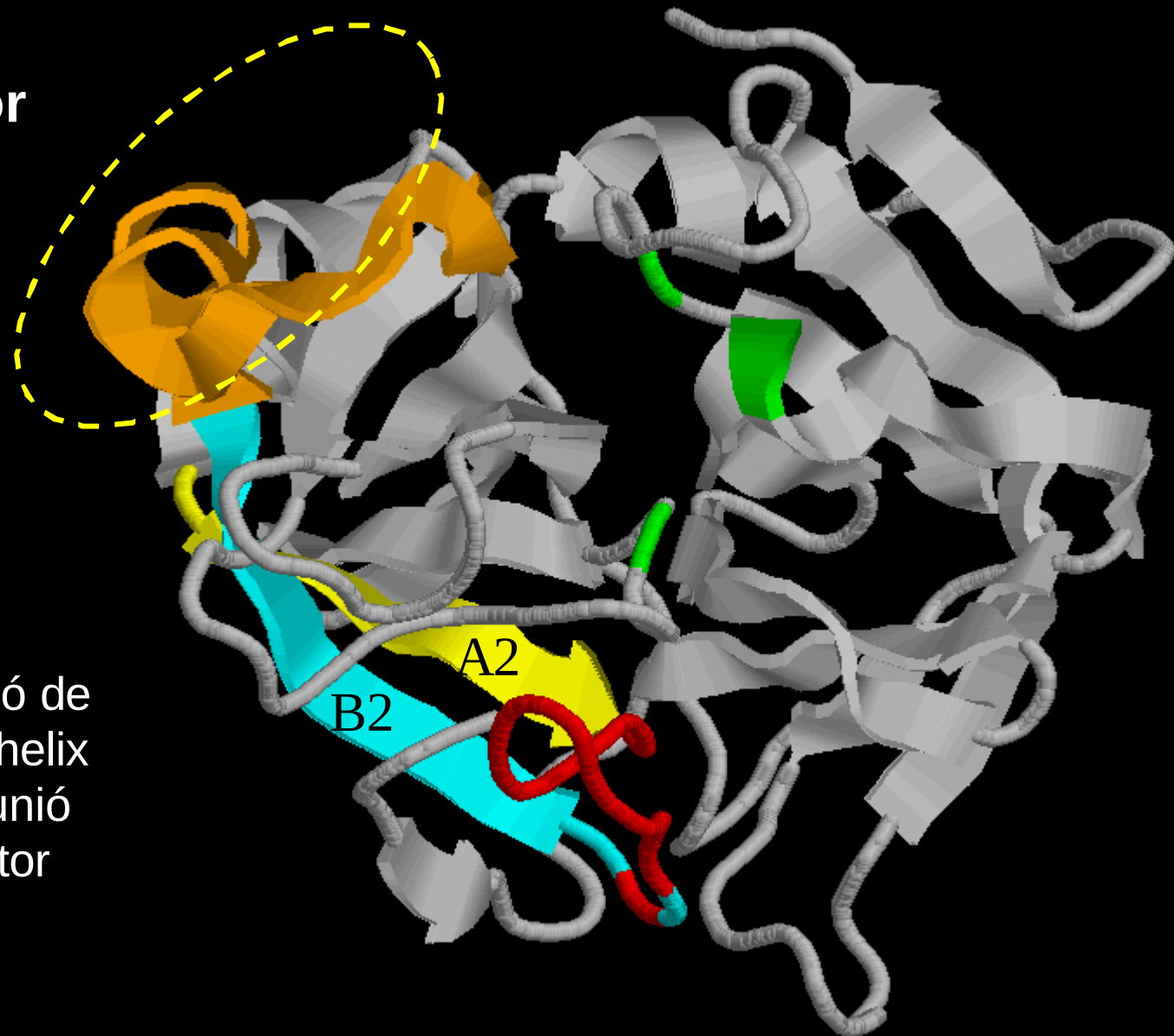


Reregistration of β -strand A2 and B2

Unió del factor
tissular

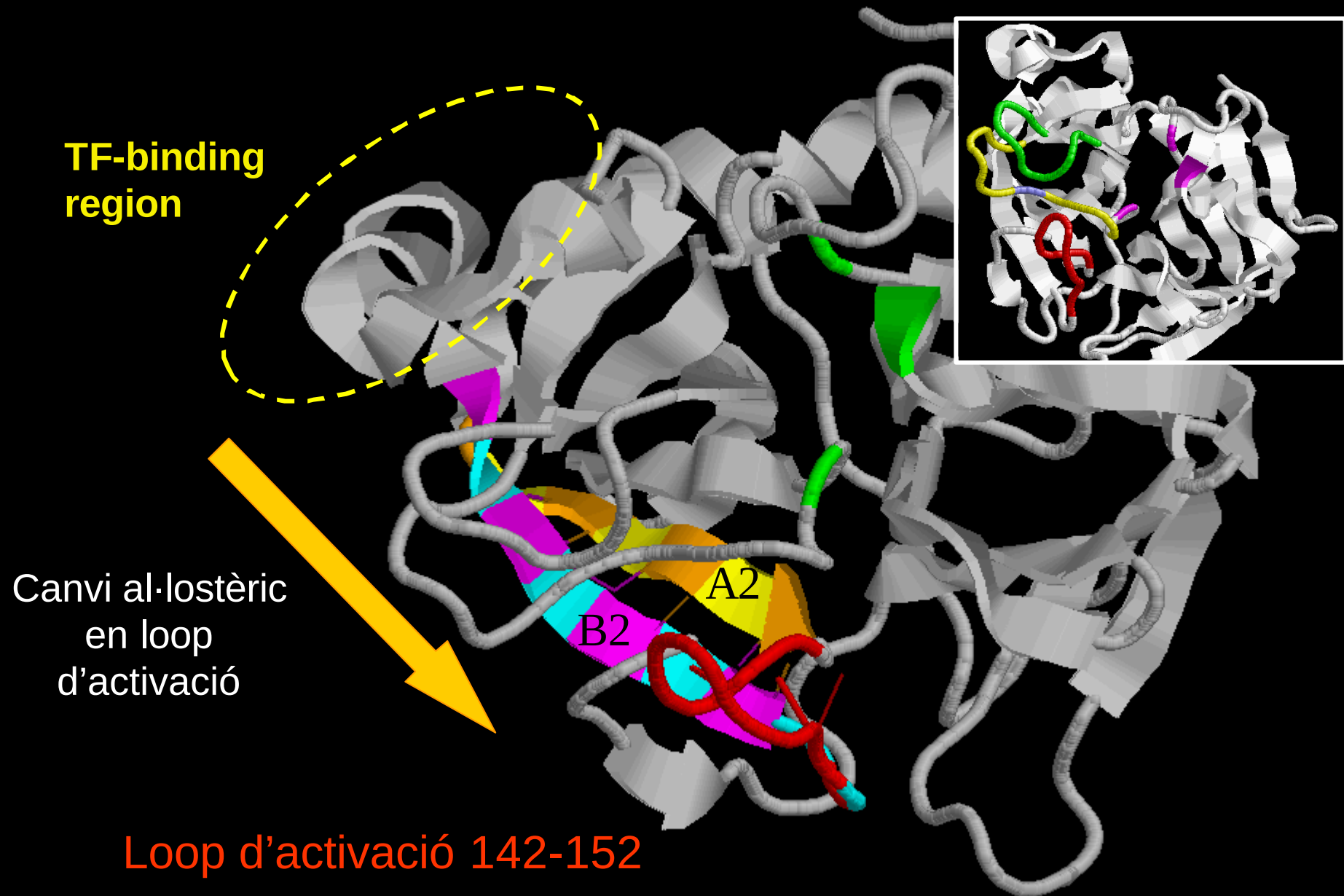
TF-binding
region

La disminució de
residus en l'helix
afavoreix l'unió
amb el factor
tissular



Factor VII

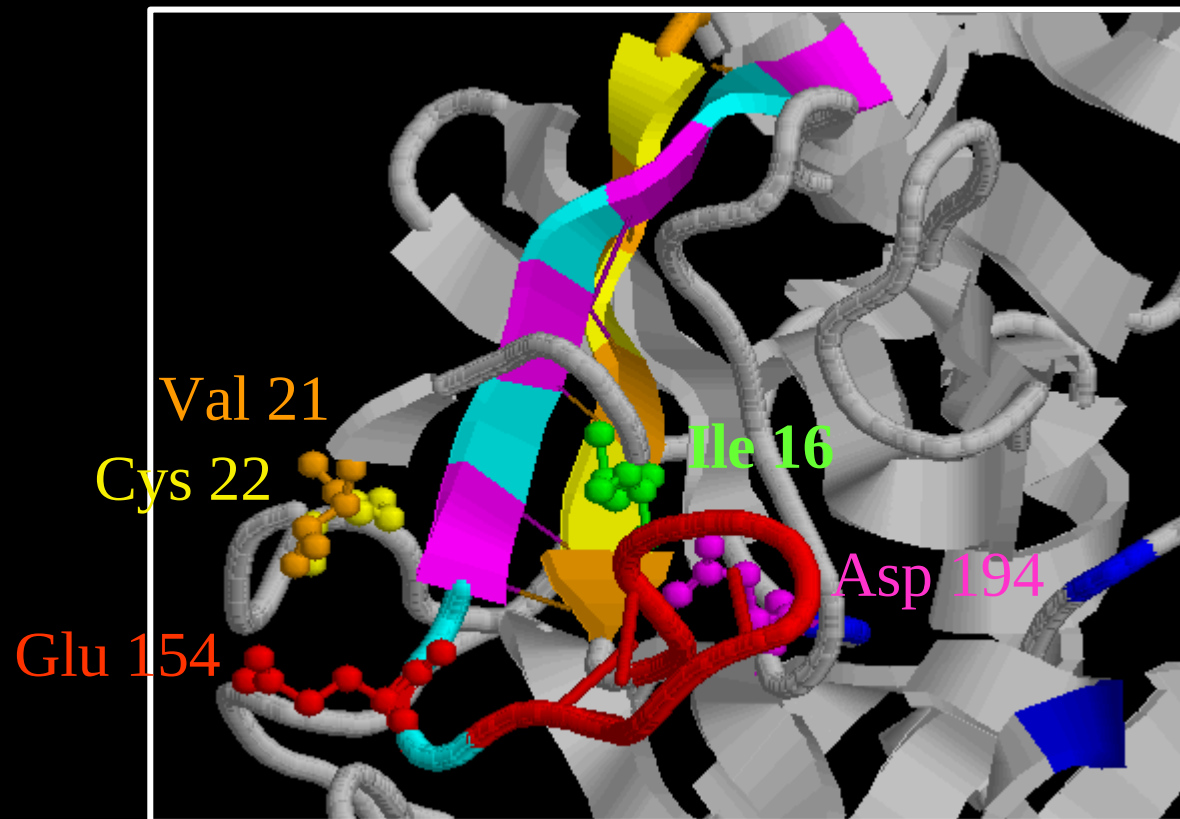
Reregistration of β -strand A2 and B2



Reregistration of β -strand A2 and B2

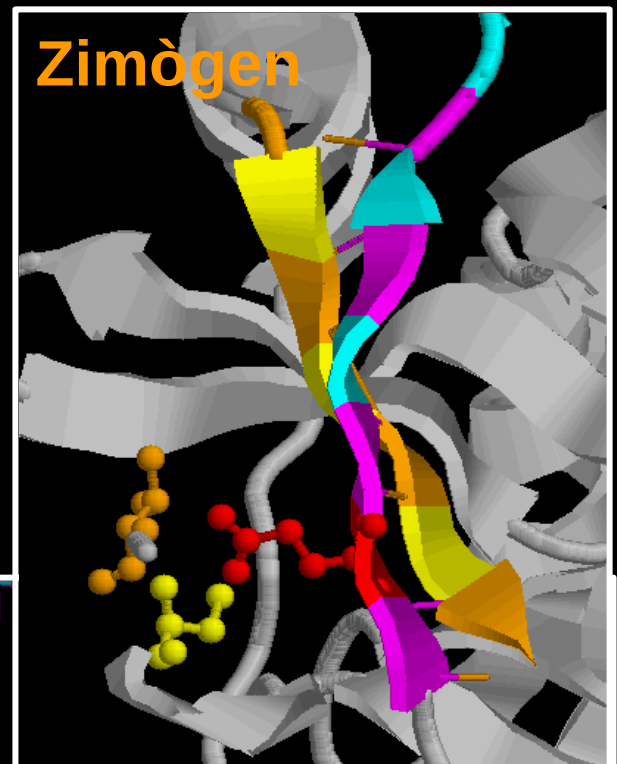
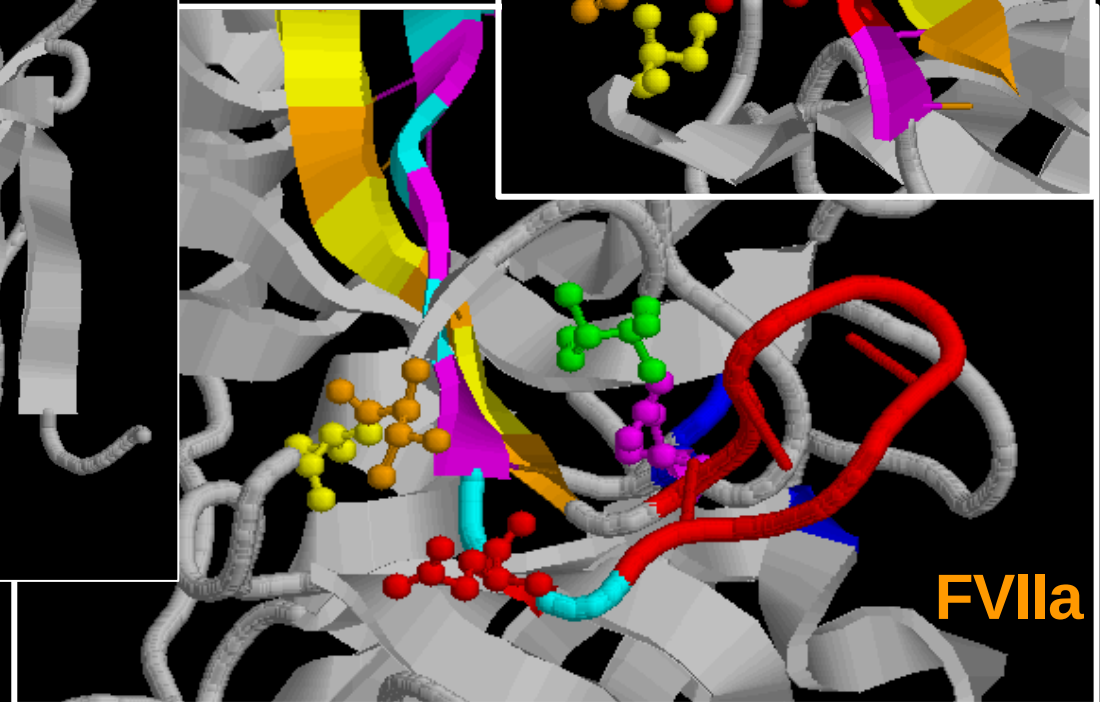
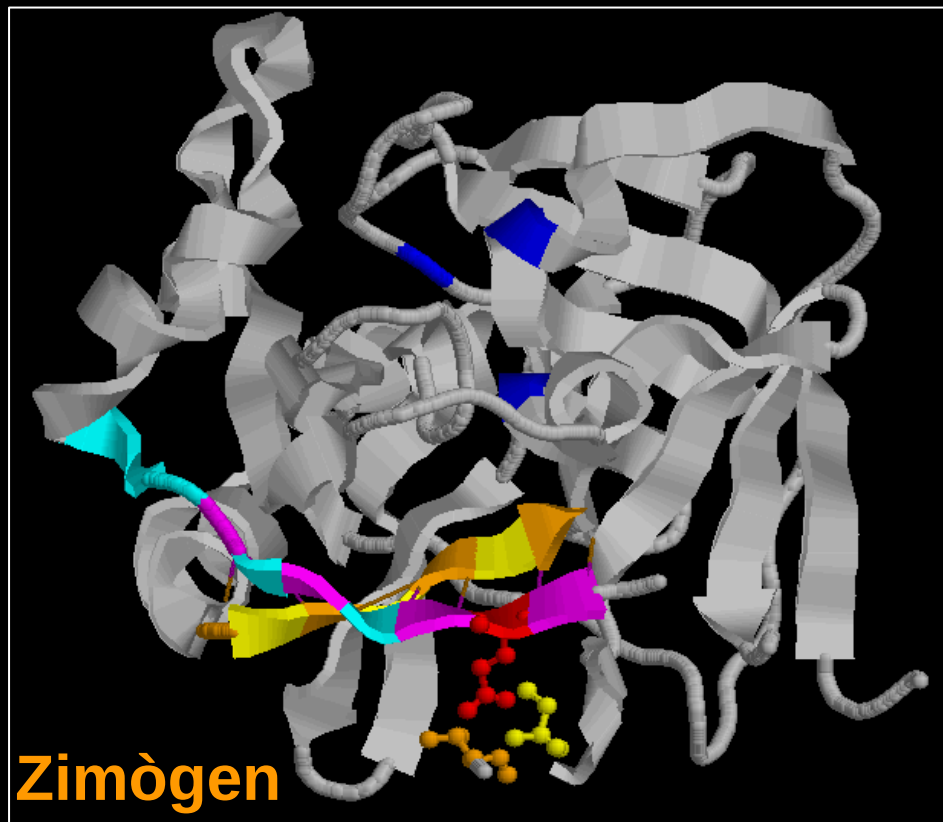
Inserció del N-terminal dins la butxaca hidrofòbica

El desplaçament de la fulla B2 no permet la formació de ponts d'H entre la Val i la Cys i el Glu



Reregistration of β -strand A2 and B2

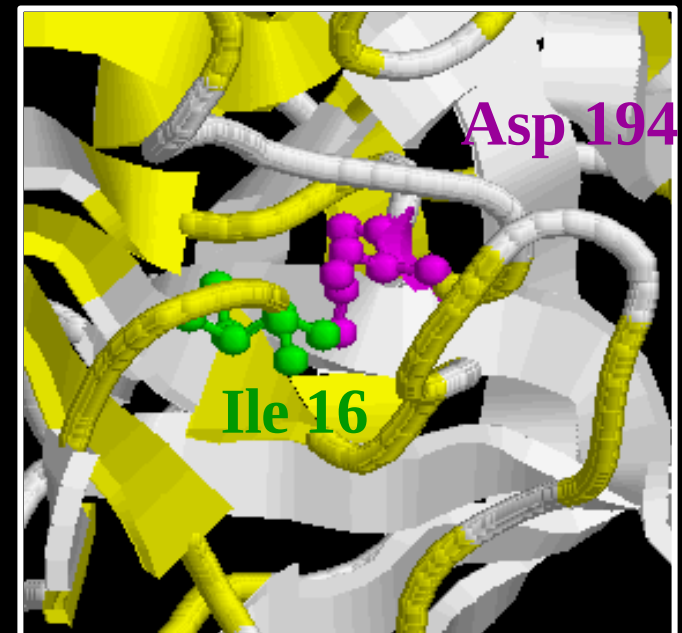
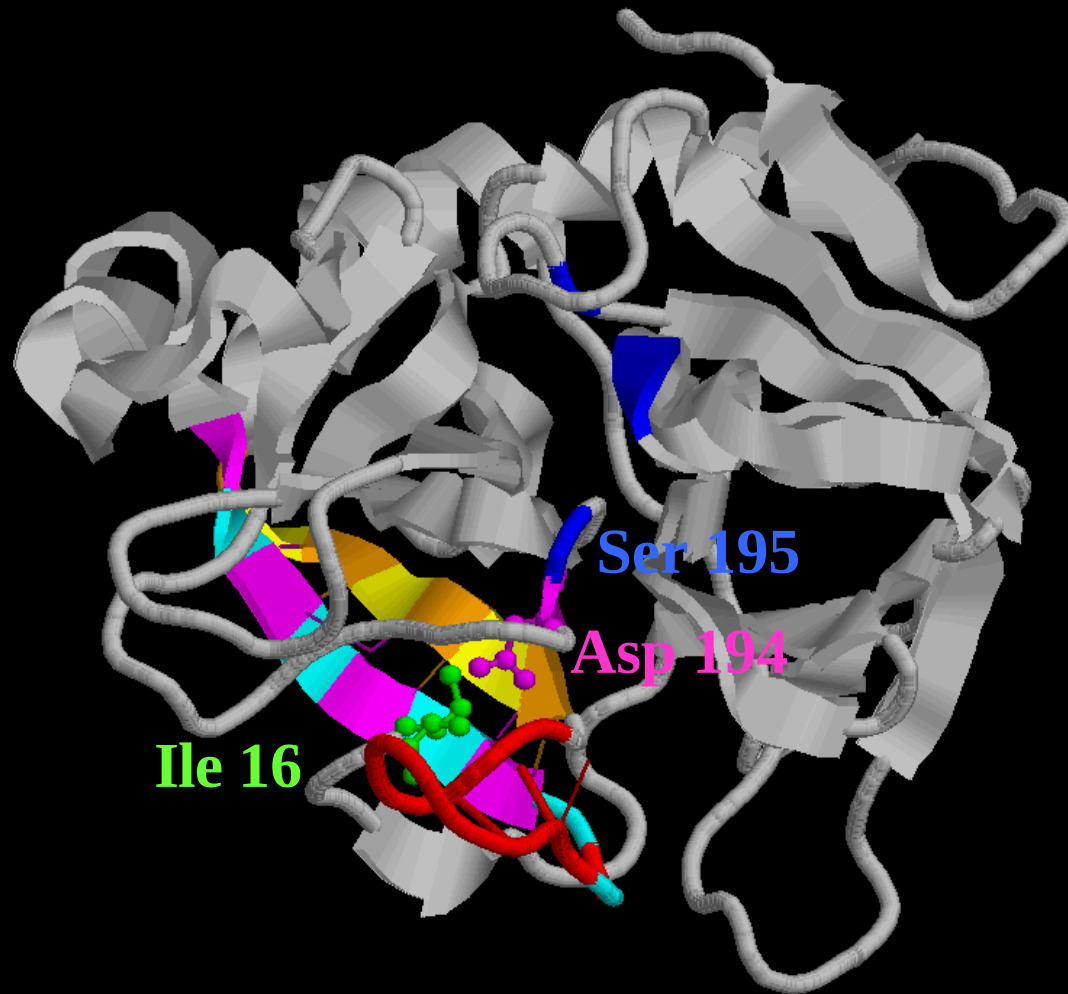
Inserció del N-terminal dins
la butxaca hidrofòbica



Reregistration of β -strand A2 and B2

Inserció del N-terminal dins
la butxaca hidrofòbica

Factor VII

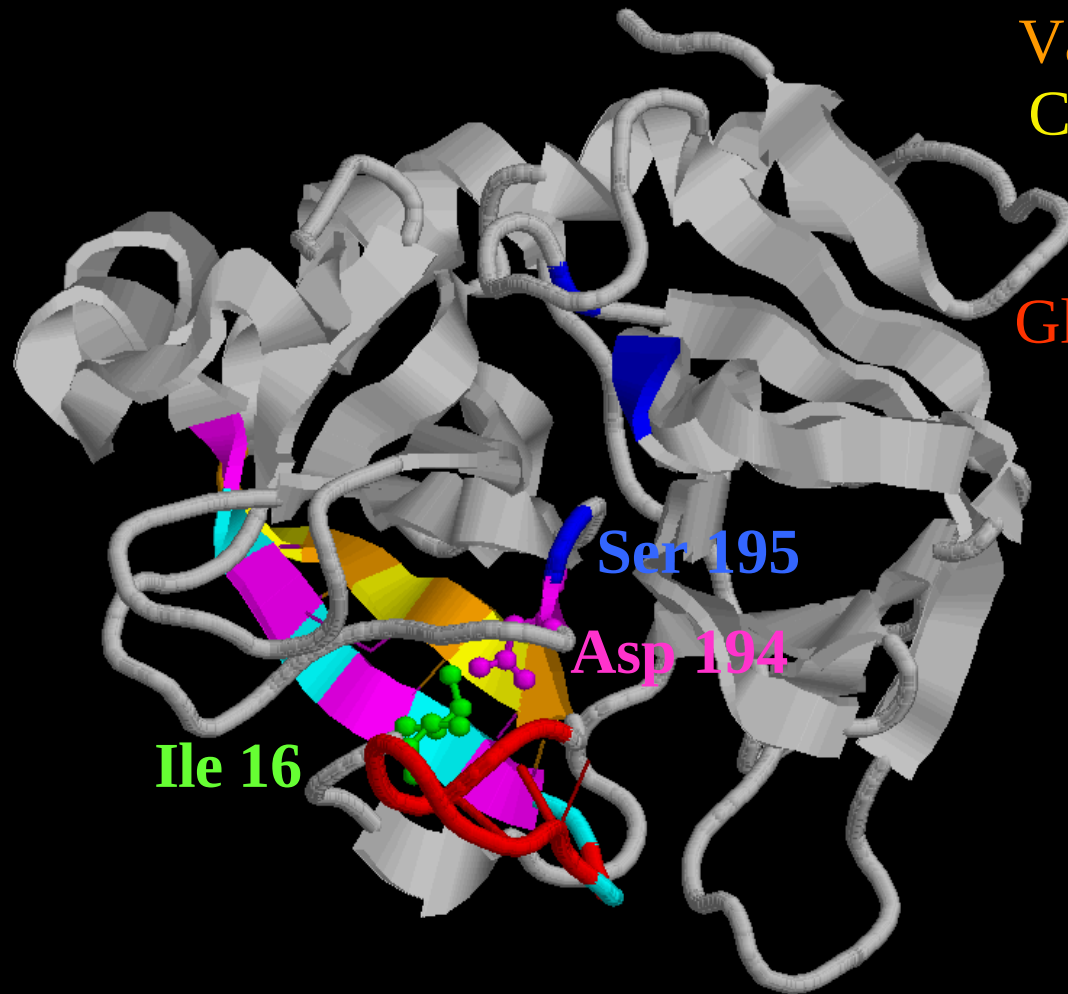


aa hidrofòbics

Reregistration of β -strand A2 and B2

Inserció del N-terminal dins
la butxaca hidrofòbica

Factor VII



Val 21

Cys 22

Glu 154

Ile 16

Asp 194

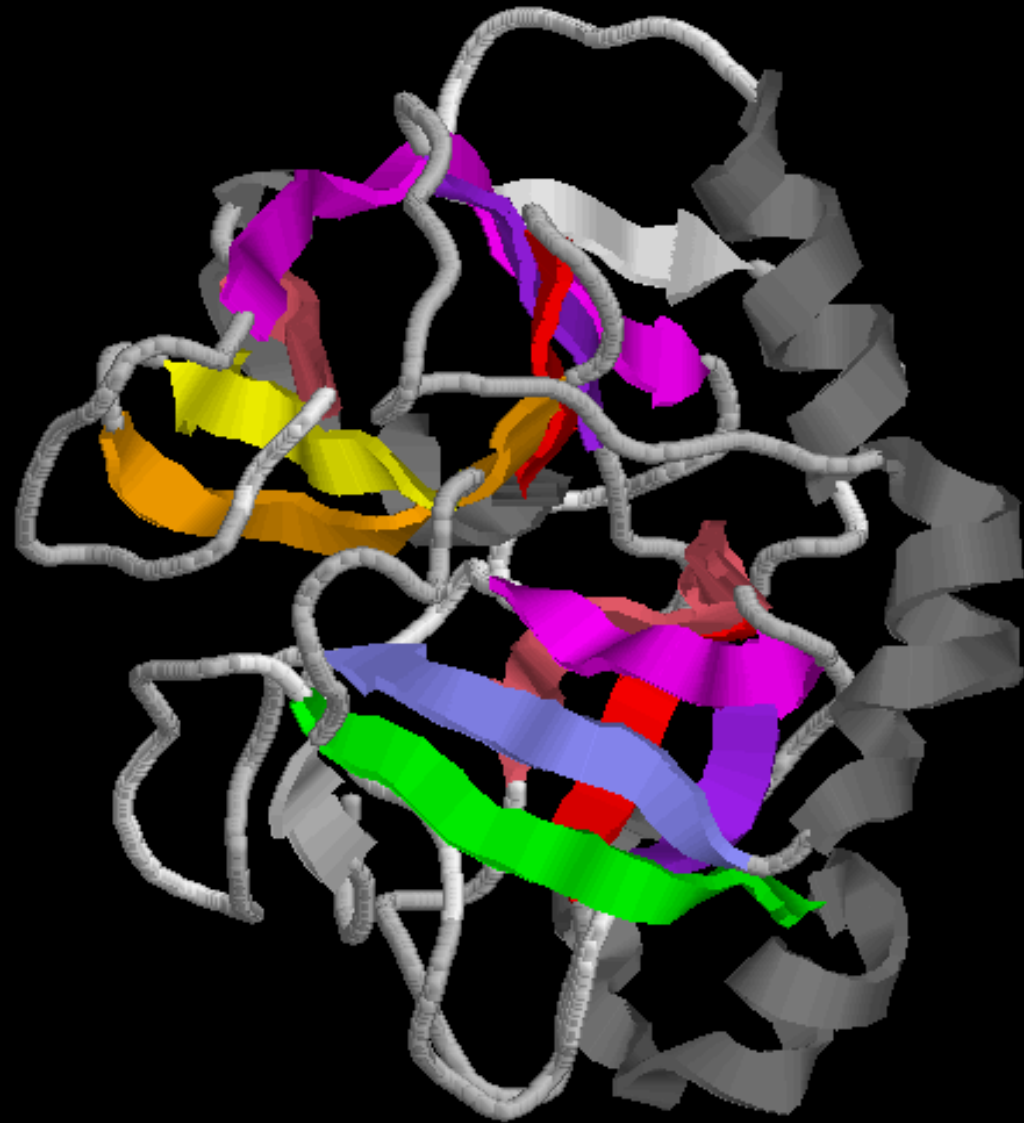
Ile 16 forma un pont
salí amb l'Asp 194



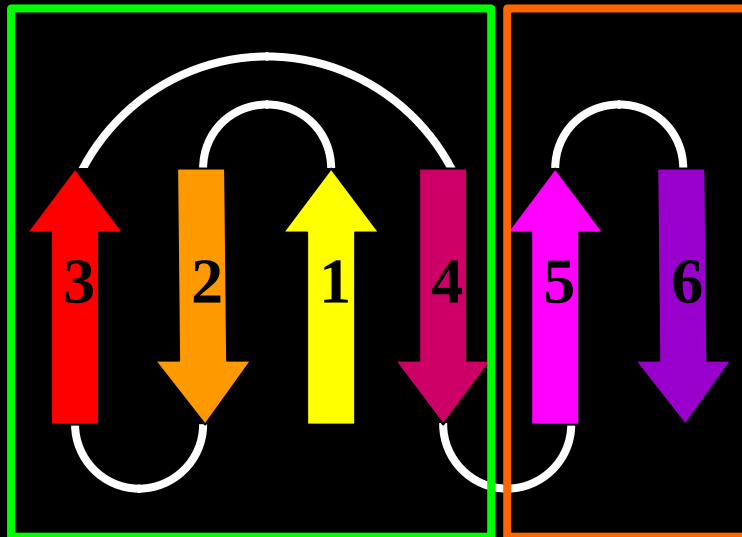
Condiciona l'oxiaxion
hole per catàlisi

Estructura del domini serin proteasa

- All b
(2 barrils)

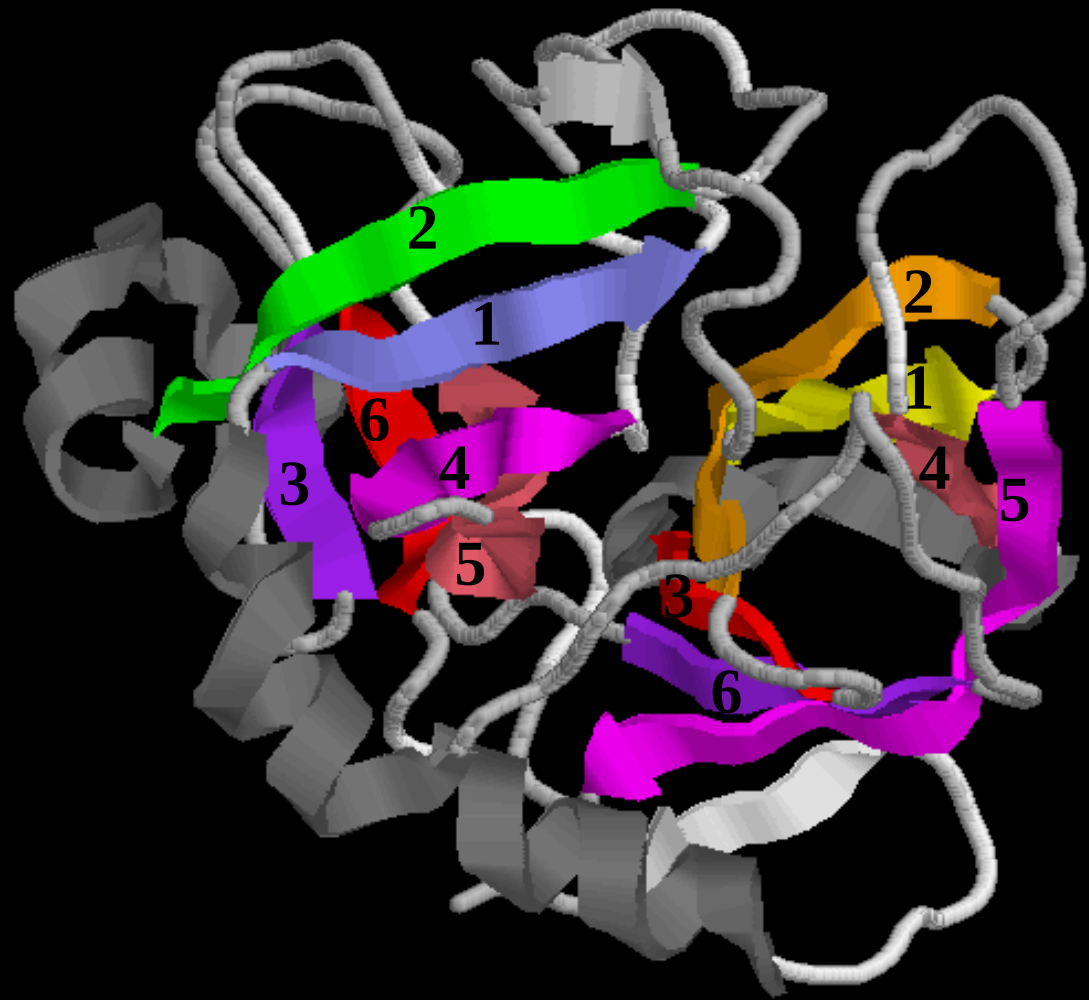
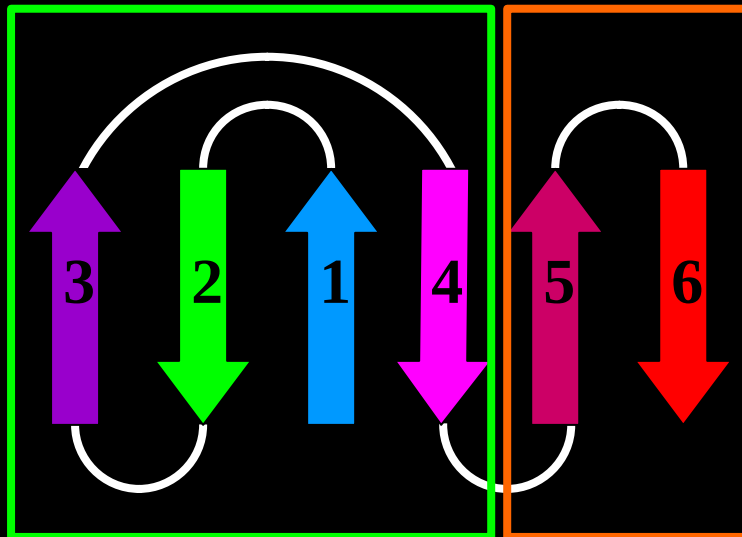


Mapa topològic del domini proteasa



Greek key

b hairpin

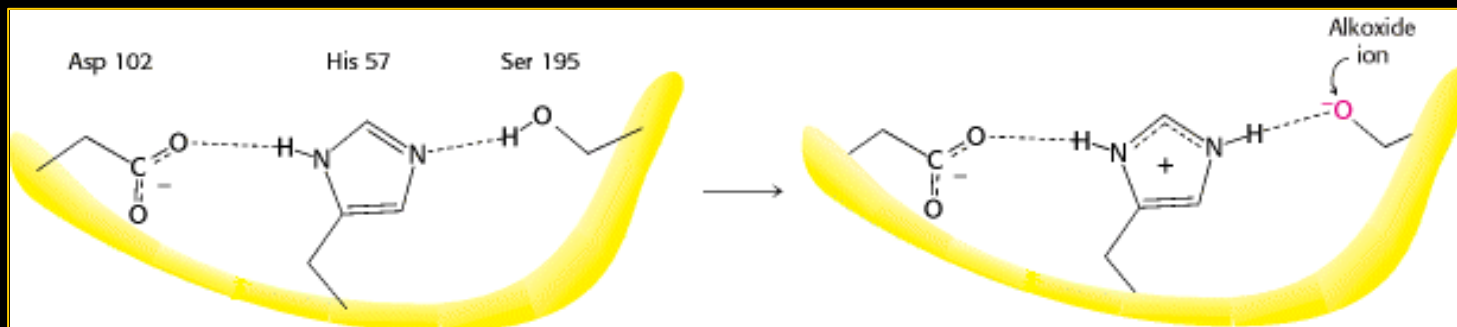
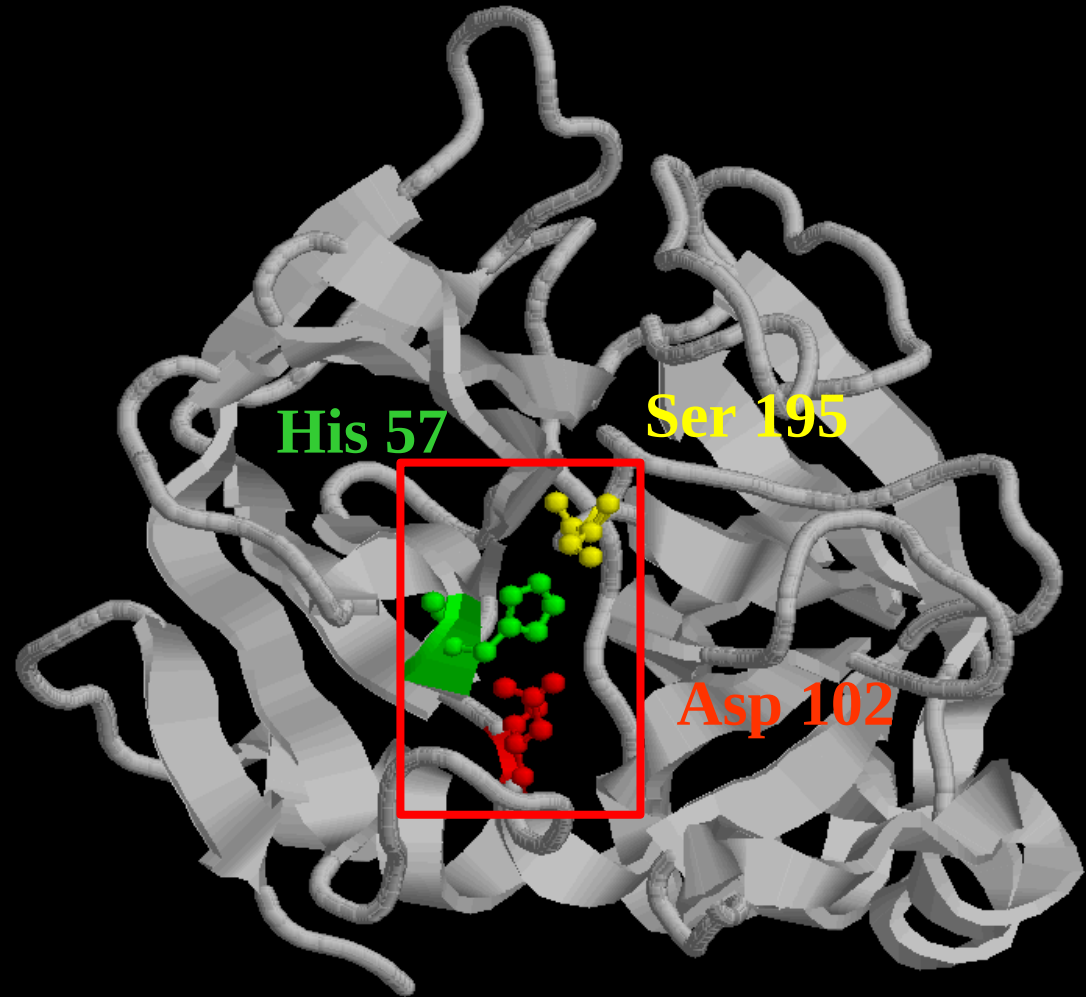


Proteolisi

Serin-proteases

Triada catalítica

- Formada per:
 - Asp 102
 - His 57
 - Ser 195
- Enllaç d'H entre imidazol de His 57 i grup hidroxil de Ser 195.
- Polarització OH $\rightarrow$ formació d'ió alkòxid (O^-)
- Serina $\rightarrow$ potent nucleòfil



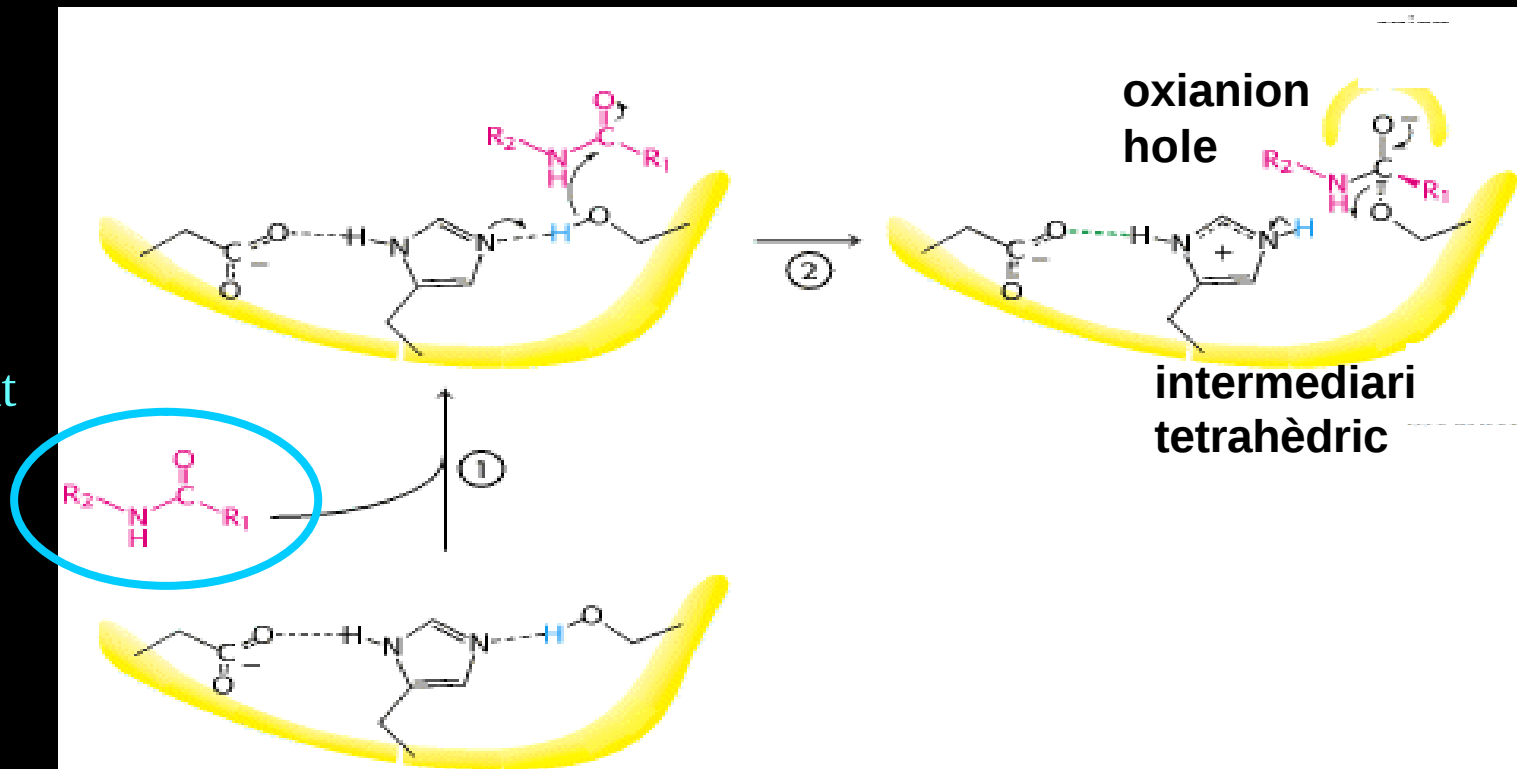
Proteolisi

Serin-proteases

1) Formació de l'intermediari tetrahèdic

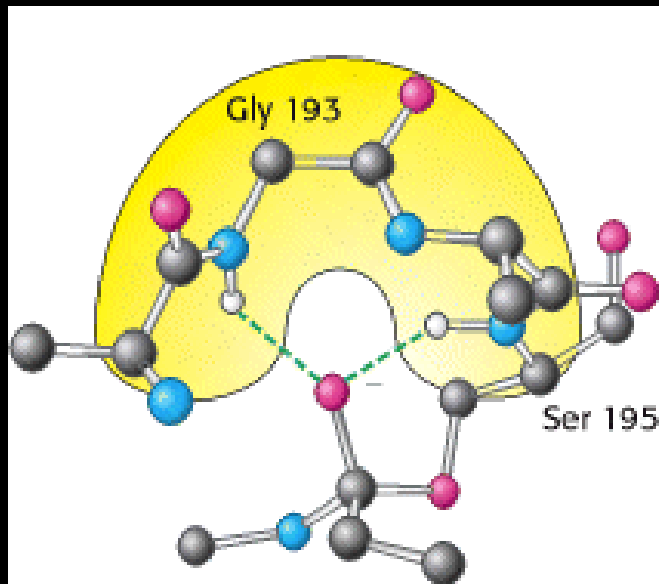
- Unió del C₁ del substrat al OH de la Ser 195
- Atac nucleòfil de la Ser → canvi de geometria del C₁, de planar triangular a **tetrahèdrica**
- La càrrega negativa de l'O s'estabilitza mitjançant interaccions amb NH de l'**oxianion hole**

Substrat

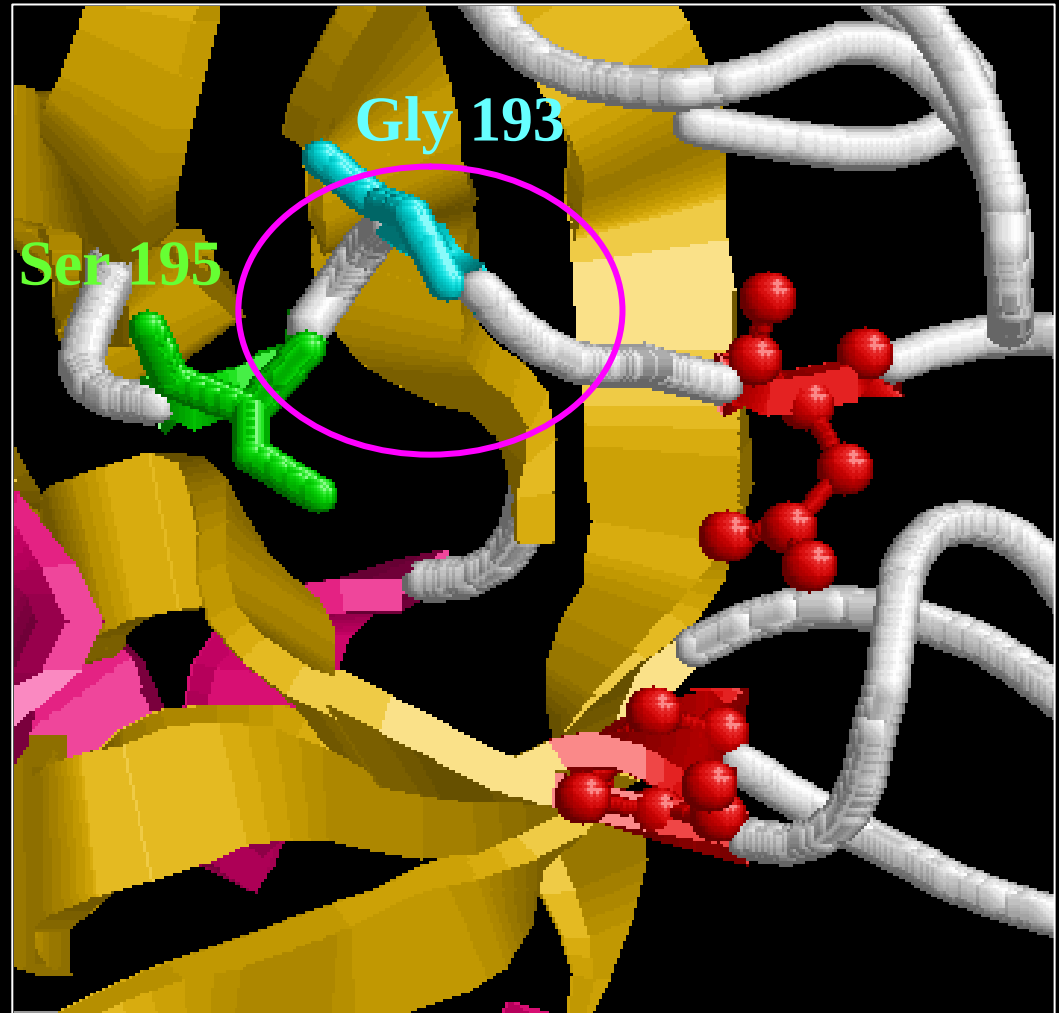


L'oxianion hole

Ponts d'hidrogen uneixen grups NH (de l'enzim) amb l'oxigen carregat negativament del substrat.



----- ponts d'hidrogen



2) Formació de l'acil enzim

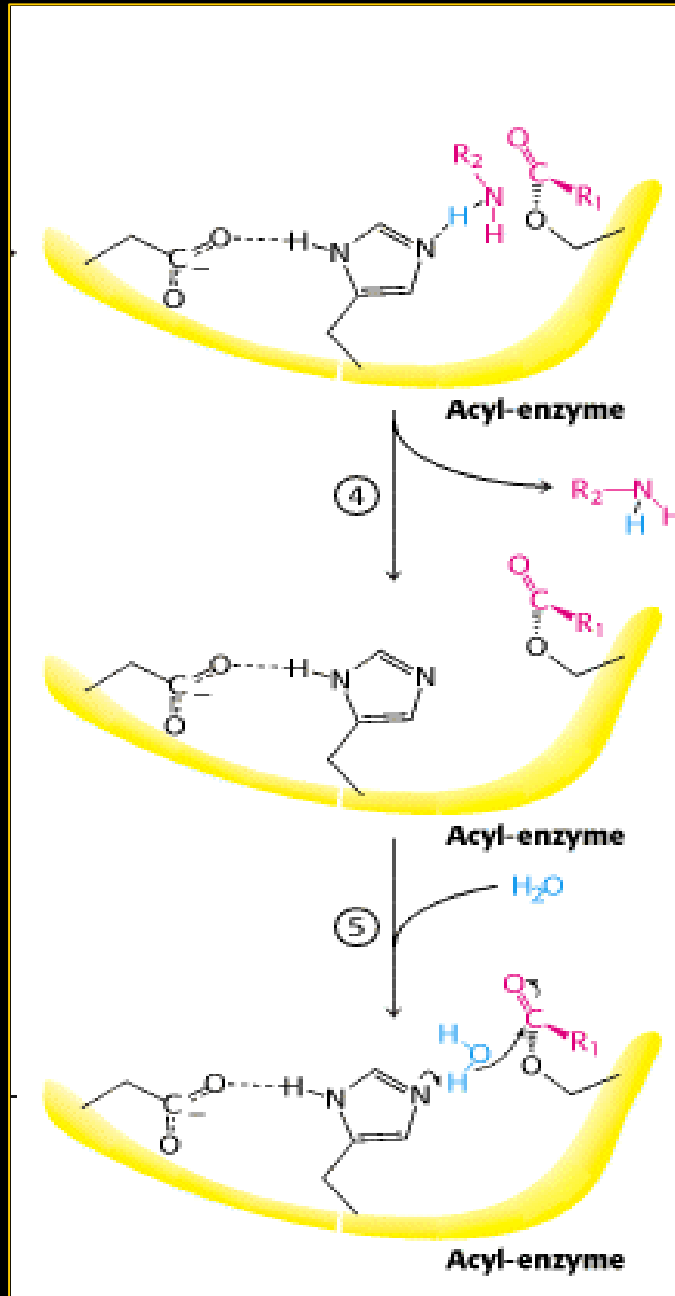
- L'intermediari tetrahèdric dona lloc a l'acil enzim.

- Aquest pas és facilitat per la transferència d'un protó de la His (carregada +) al grup NH format pel trencament de l'enllaç peptídic

- Sortida de l'amina

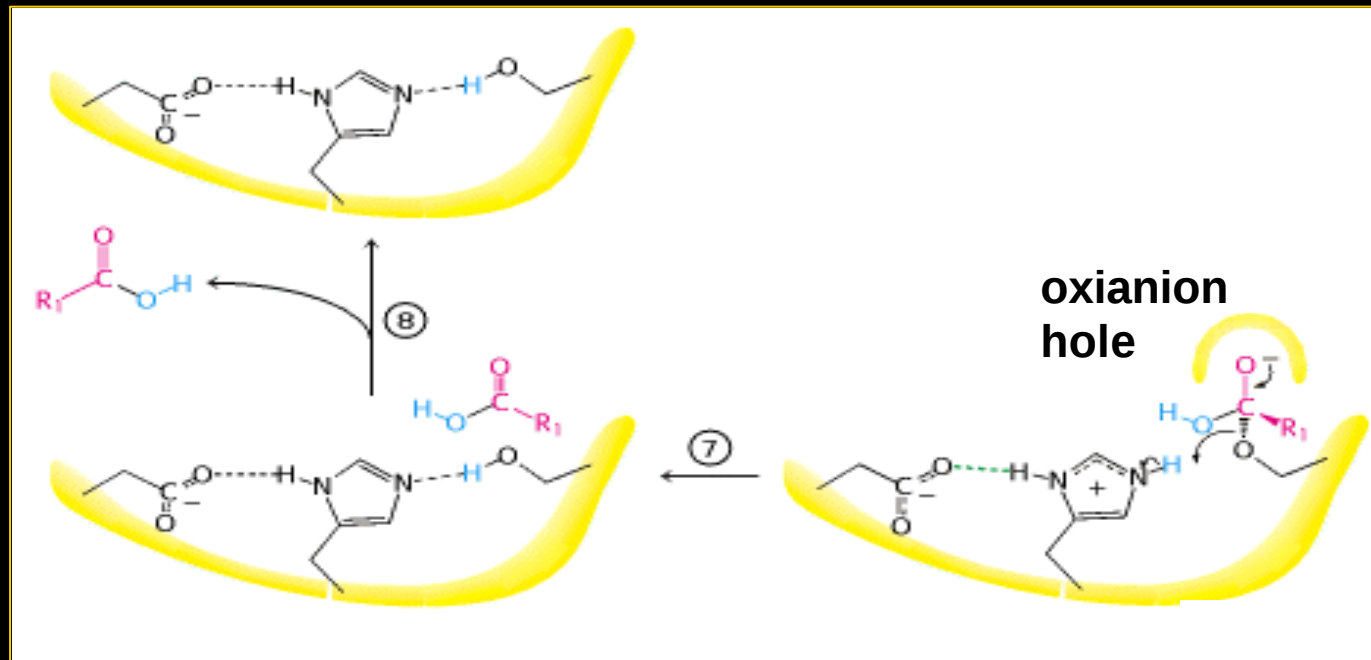
- Substitució per una molècula d'aigua

- La molècula d'H₂O ataca el carbonil



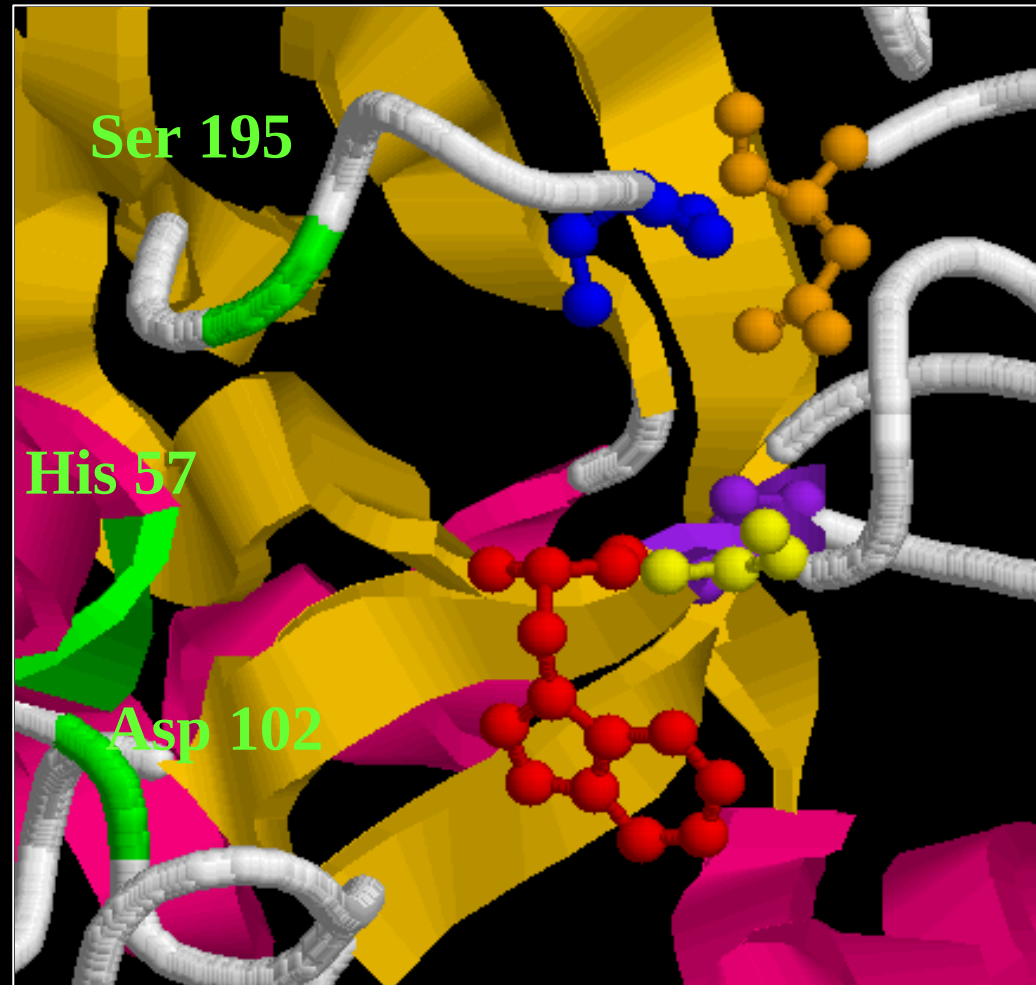
3) Final de la reacció

- La His capta un protó i es forma de nou un intermediari tetrahèdic
- Hi ha un trencament que dóna lloc a la formació d'un àcid carboxílic
- Finalment, l'alliberament d'aquest àcid carboxílic prepara l'enzim per a catalitzar una nova hidròlisi



La butxaca S1

- Dóna especificitat de substrat
- S'hi uneixen cadenes laterals llargues i positivament carregades de residus com l'arginina o la lisina.
- La unió de la cadena lateral de l'aa adequat posiciona l'enllaç peptídic a hidrolitzar en el lloc actiu de l'enzim



Asp 189 Gly 216

Ser 190 Gly 226

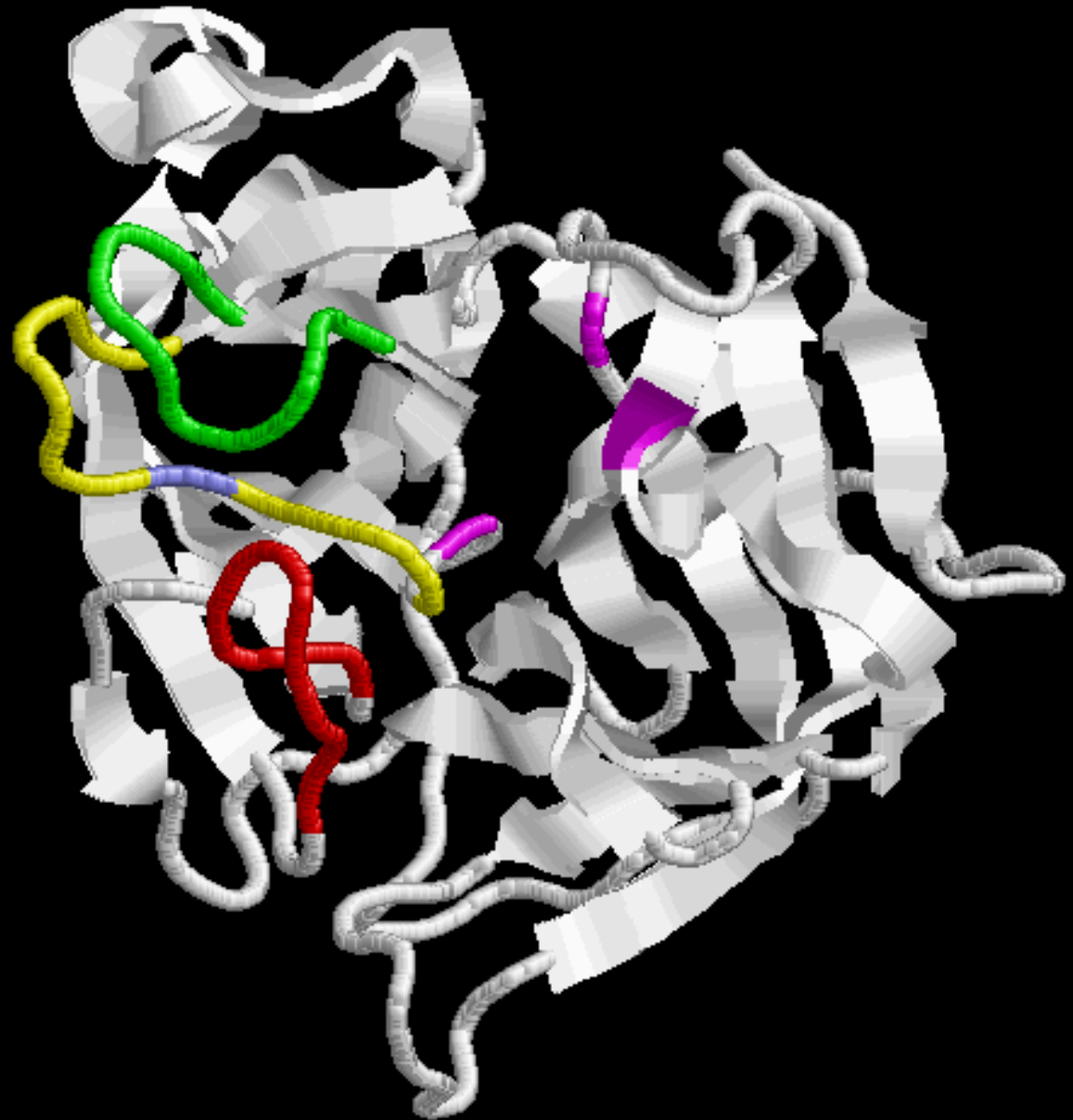
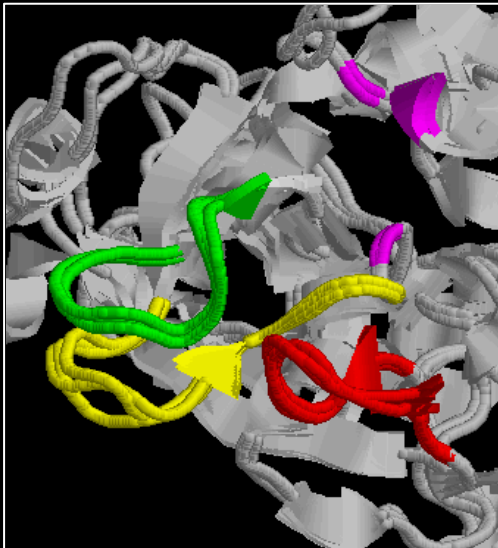
Trp 215

Loops d'activació

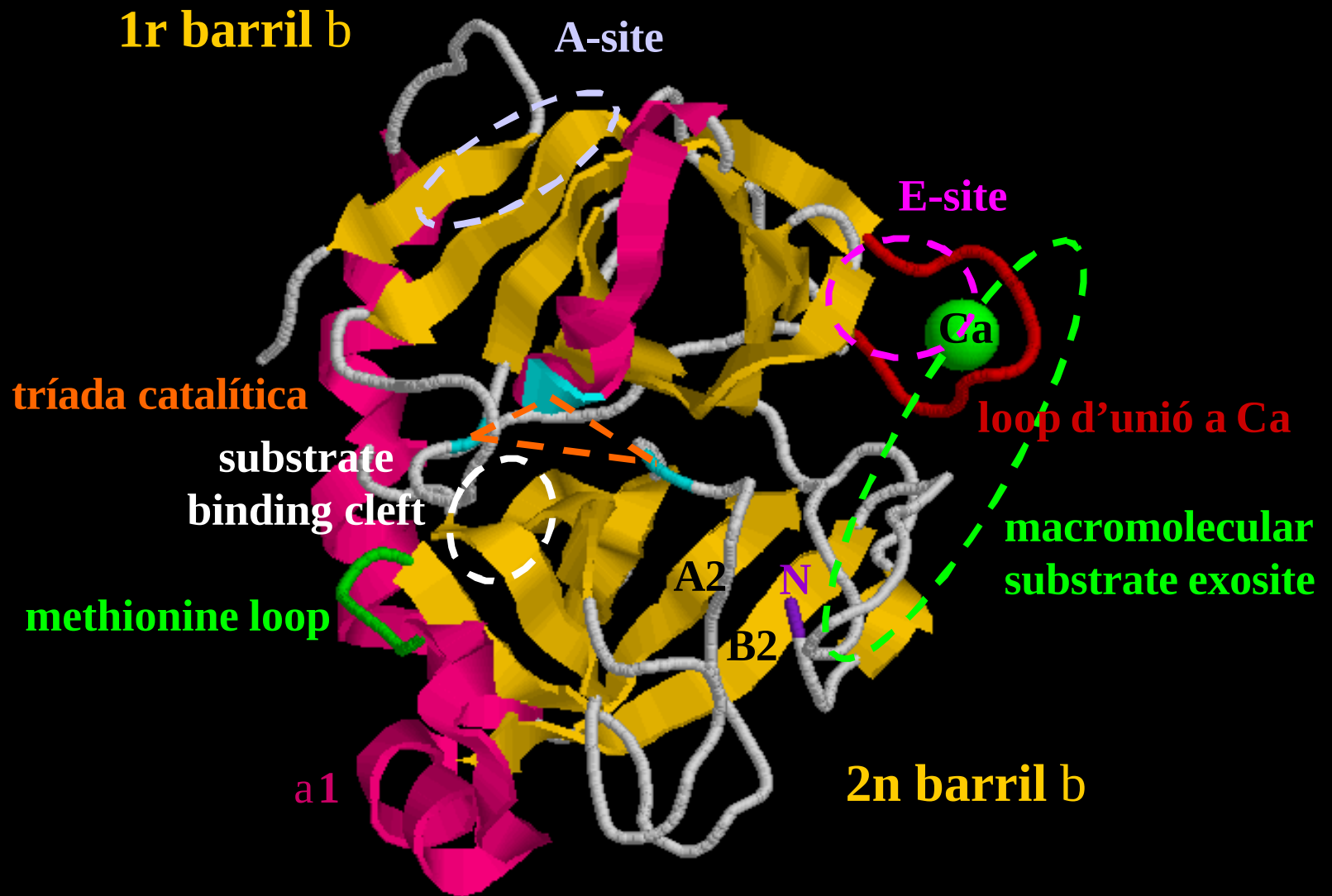
Tres loops d'activació:

- 184-193
- 215- 224
- 142-152

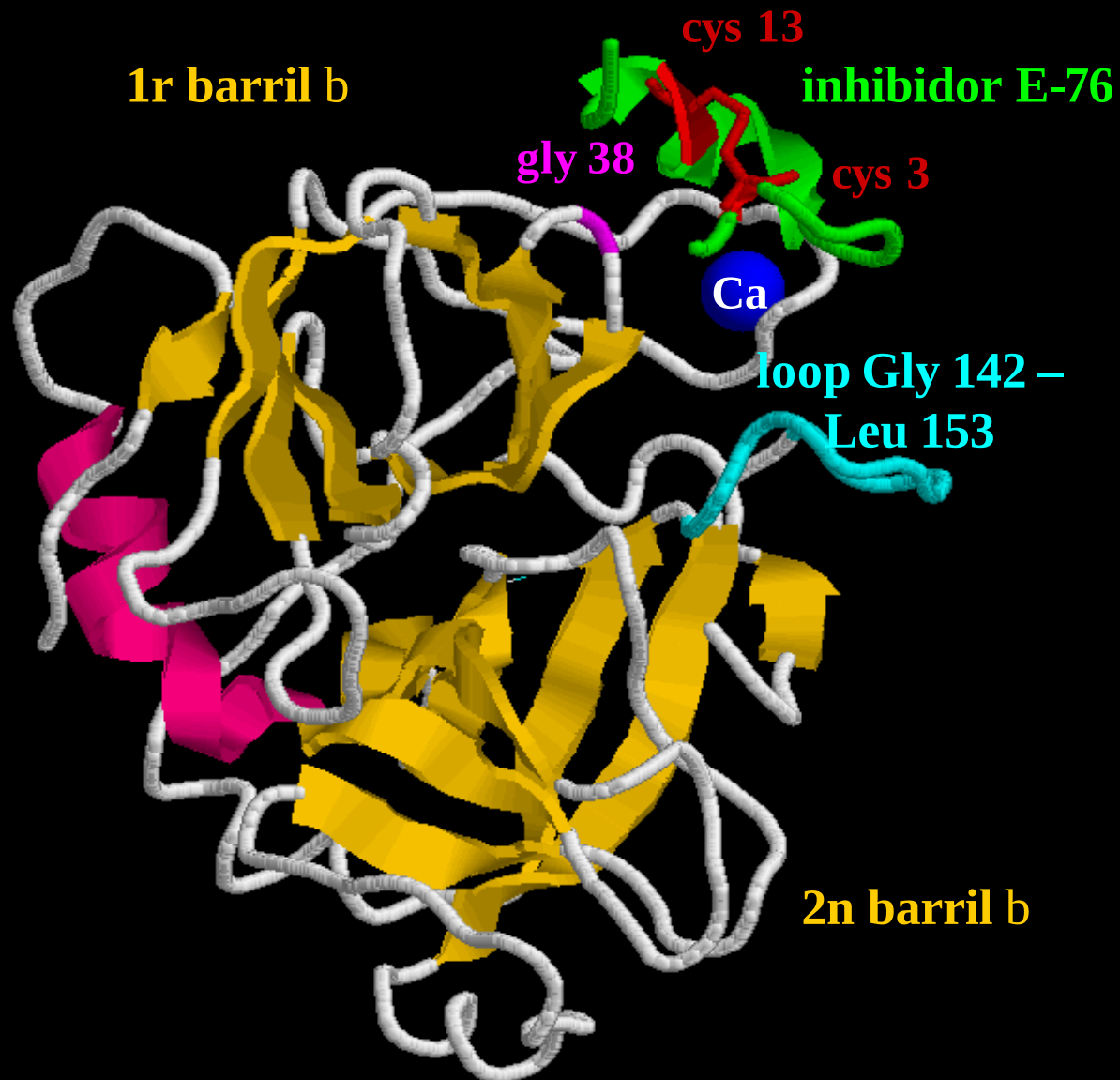
Pateixen canvis conformacionals formant el “substrate-binding cleft”



Subdominis del domini proteasa



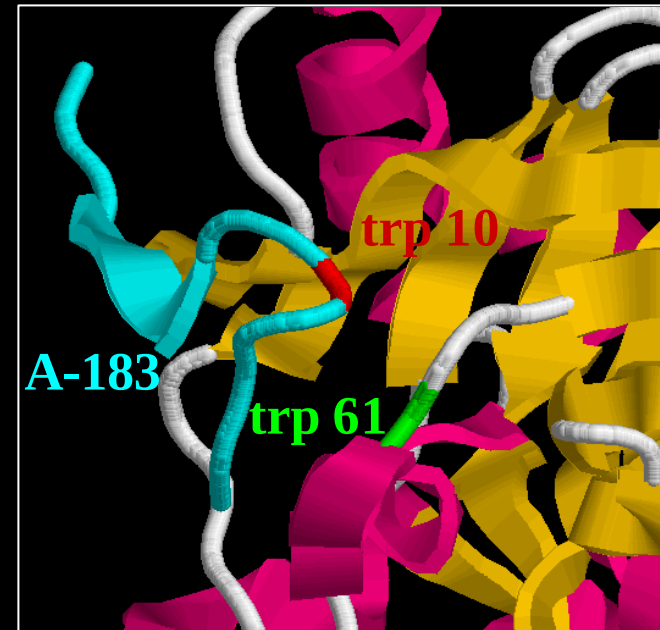
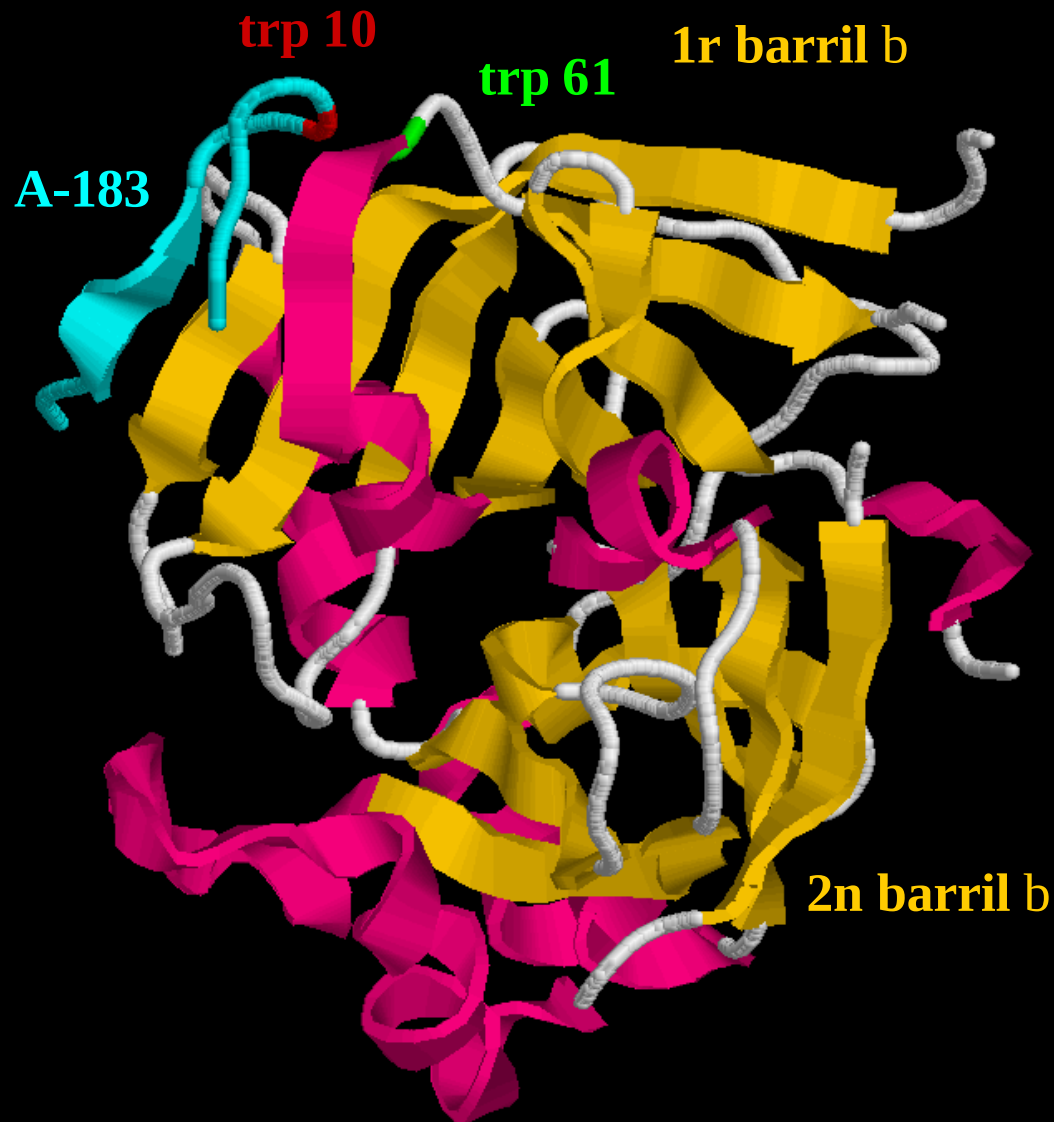
E-site: unió a l'inhibidor E-76



- E-site → superfície còncava entre el loop d'unió a Ca i la Gly 38

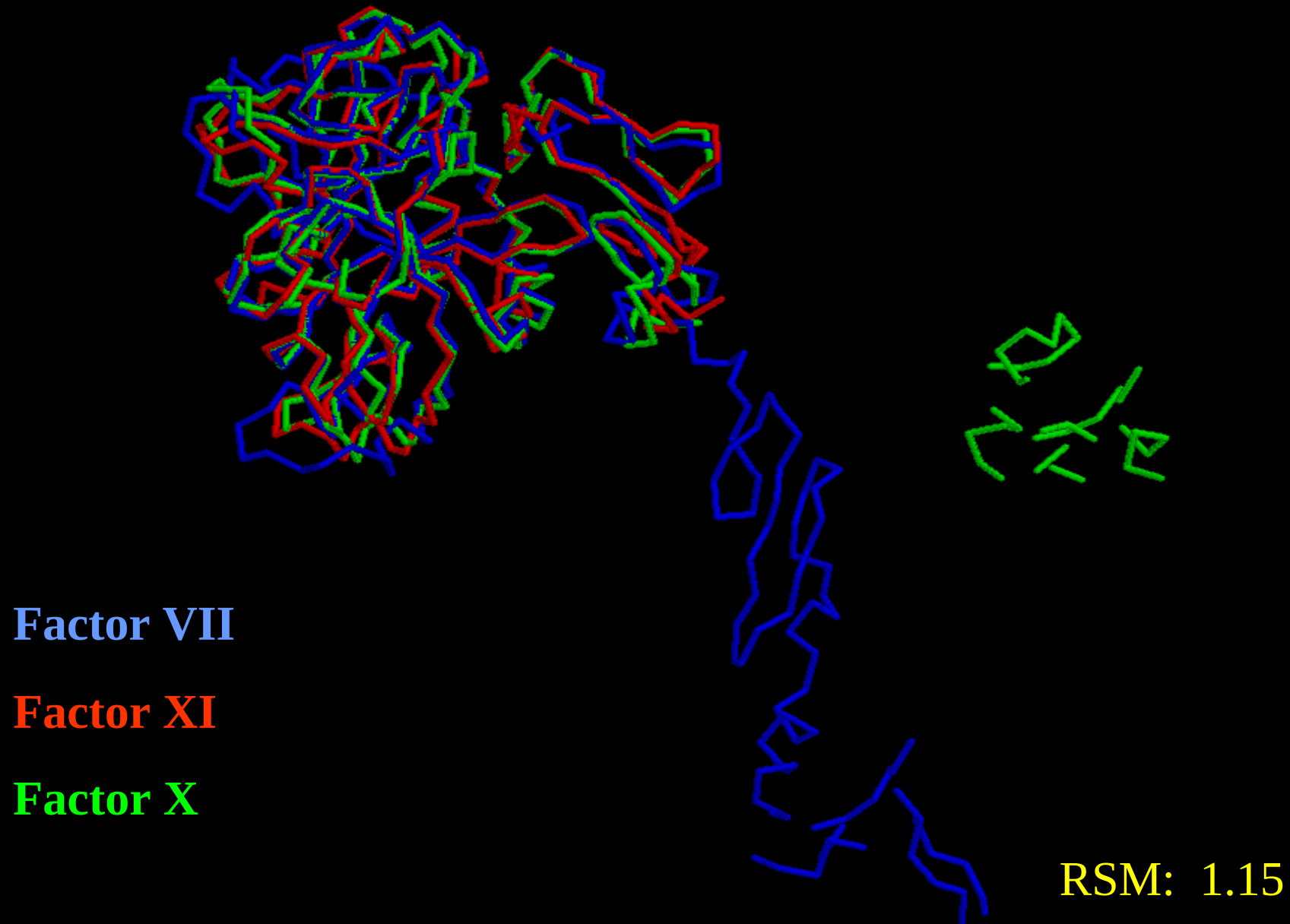
- l'inhibidor provoca canvis en el loop Gly 142-Leu 153 → es comprometen les interaccions d'aquest domini amb el substrat

A-site: unió a l'inhibidor A-183

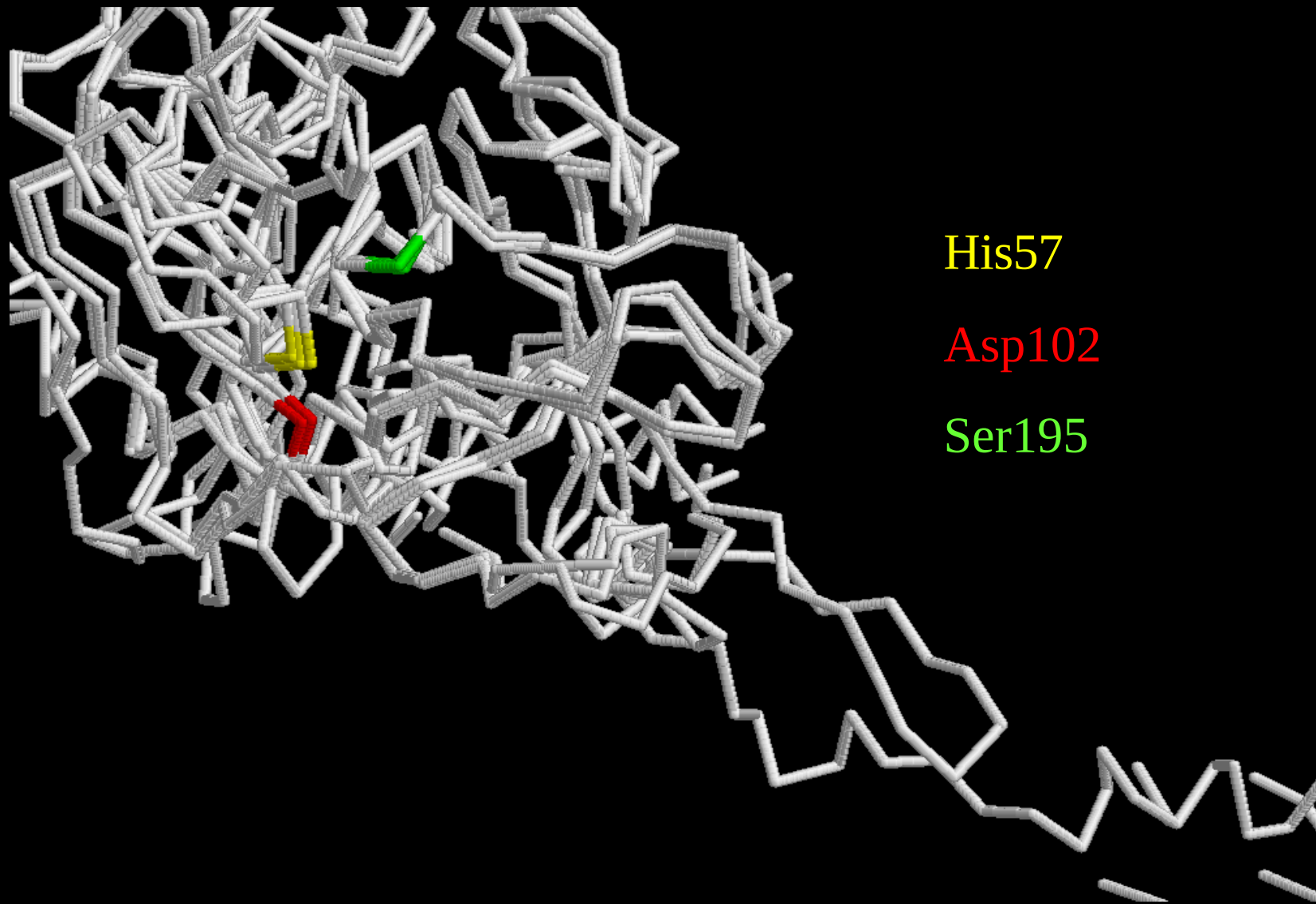


- A-183 provoca canvis conformacionals en el 1er barril
- Trp61 es desplaça uns 5Å i la seva posició és ocupada per la Trp10 de l'inhibidor

Superposició dels factors de coagulació VII, IX i X



Conservació estructural de la tríada catalítica



Unió a calci del domini serin proteasa

Loop d'unió a Ca

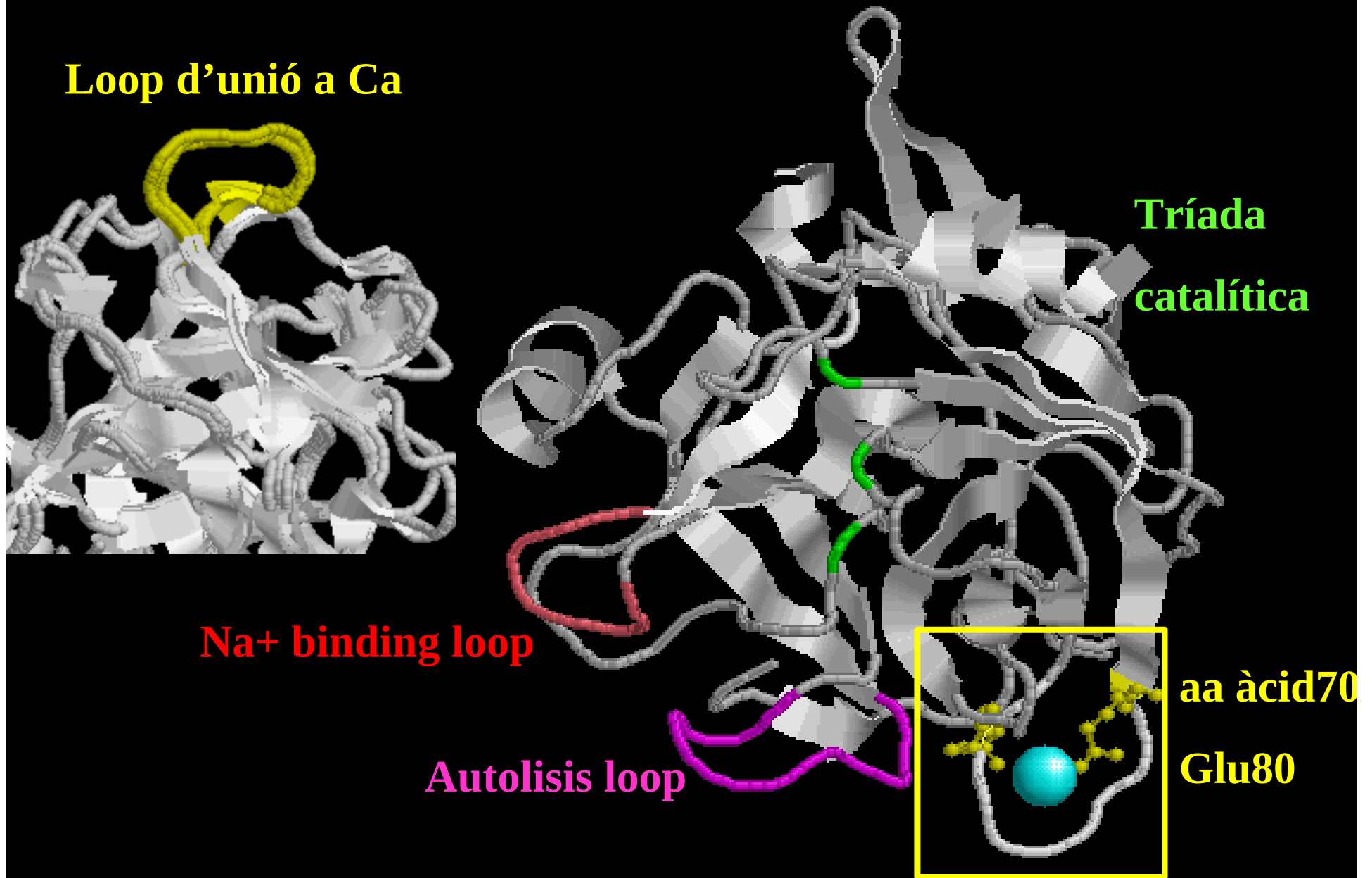
Tríada
catalítica

Na⁺ binding loop

Autolysis loop

aa àcid70

Glu80



CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

FactorVII IVGGKVC PKGEC PWQV LLLV-NGAQLCGGTLINTIWVVSAAHCFDKIKNWRNLI AVLGEH
 FactorIX VVGGEDAKPGQFPWQVVLNG-KVDAFCGGSIVNEKWI VTAHCVETGVKIT---VVAGEH
 FactorX IVGGQECKDGEC PWQALLINEENEGFCGGTILSEFYILTAAHCLYQAKRFK---VRVGDR
 .*** . * .*** .* ***... ..**** *

FactorVII DLSEHDGDEQSR RVAQVIIPSTYVPGT--TNHDIALLR LHQPVVLT DHVVPLCLPERTFS
 FactorIX NIEETEHTEQKRN VIRIIPHHNYNAAINKYNHDIA LLELDEPLVLNSYVTPIC IADKEYT
 FactorX NTEQEEGGEAVHEVEVVIKHNRFTKET--YDFDIAVLRLKTPITFRMNVAPACLPERDWA
 . . * . * .* . ***.* * *. * * * . . .

FactorVII ERTLAFVRFSLVSGWGQLLD RGATALELMVLNVPRLMTQDCLQQSRKVGDS P NITEYMFC
 FactorIX N-IFLKFGSGYVSGWGRV FHKGRSALVLQYLRVPLVDRATCLRSTKFT-----IYNMFC
 FactorX ESTLMTQKTGIVSGFGR THEKGRQSTR LKMLEVPYVDRNSCKLSSSFI-----ITQNMFC
 *** * . * . * * * . * . * ***

FactorVII AGYSDGSKDSCKGDSGGPHATHYRG TWYLTGIVSWGQGCATVGHFGVYTRVSQYIEWLQK
 FactotIX AGFHEGGRDSCQGD SGGPHVTEVEGTSFLTGIISWGCECAMKGKYG IYTKVSRYVNWIKE
 FactorX AGYDTKQIDACQGD SGGPHVTRFKDTYFVTGIVSWGEGCARKGKYG IYTKVTAFLKWIDR
 . *.*** * * ..****.*** ** *.***. . . *

FactorVII LMRSEPRPGVLLRAPFP-----
 FactorIX KTKLT-----
 FactorX SMKTRGLPKAKSHAPEVITSSPLK

Asp102 His57 Ser195

El loop methionine



Factor VII → loop metionina
168-182

En absència de Factor
Tissular aquest loop “tapa” el
lloc actiu de l’enzim i s’uneix
a l’Ile16 i així pot inserir-se a
la butxaca hidrofòbica

FactorVII	ERTLAFVRFSLVSGWGQLLDRGATALELMVLNVPRMLTQDCLQQSRKVGDSPNITEYMFC
FactorIX	N-IFLKFGSGYVSGWGRVFHKGRSALVLQYLRVPLVDRATCLRSTKFT-----YNNMFC
FactorX	ESTLMTQKTGIVSGFGRTHEKGRQSTRCLKMLEVPYVDRNSCKLSSSF-----TQNMFC
	*** * . . * . * * * . * . ***

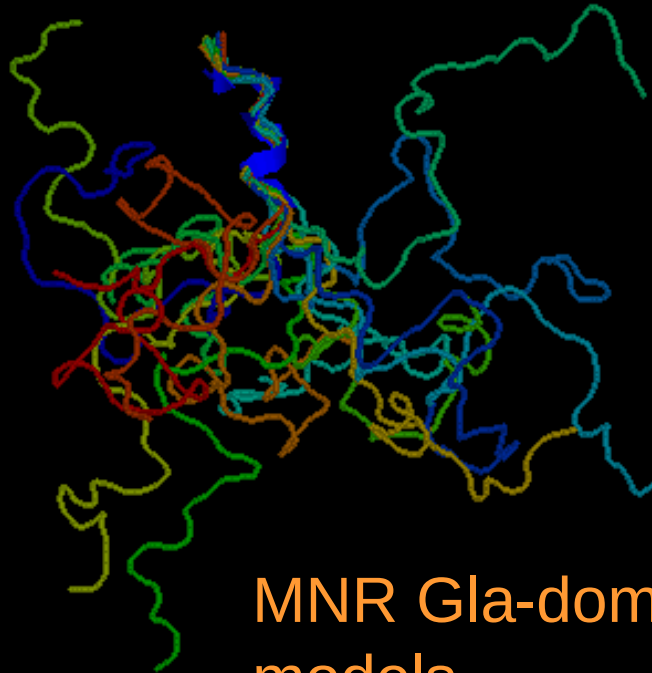
GLA domain. Característiques

Domini d'uns 40aa (aprox) ric en àc. γ -carboxiglutàmic (carboxilasa)

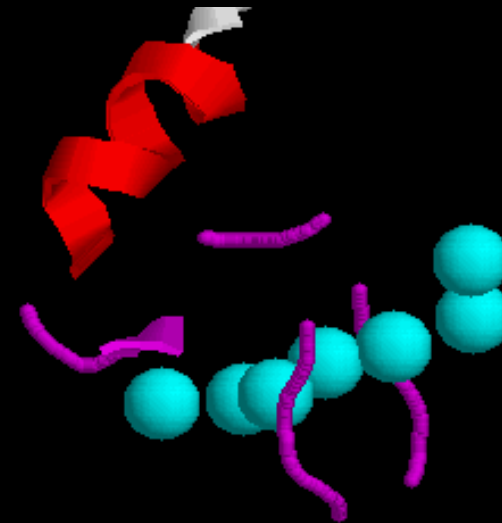
Permet la unió a Ca^{++}

```
GLA_VII  -ANAFLEELRPGSLERECKEEQCSFEEAREIFKDAERTKLFWISY--
GLA_X    -ANSFLEEMKKGHLERECMEETCSYEEAREVFEEDSDKTNE-----
GLA_IX   YNSGKLEEFVQGNLERECMEEEKCSFEEAREVFENTERTTTEFWKQYVD
          ***      *  *****  **  **,*****,*   ...*
```

Importants per la unió a
membrana (fosfatidilserina)



MNR Gla-domain IX 15
models



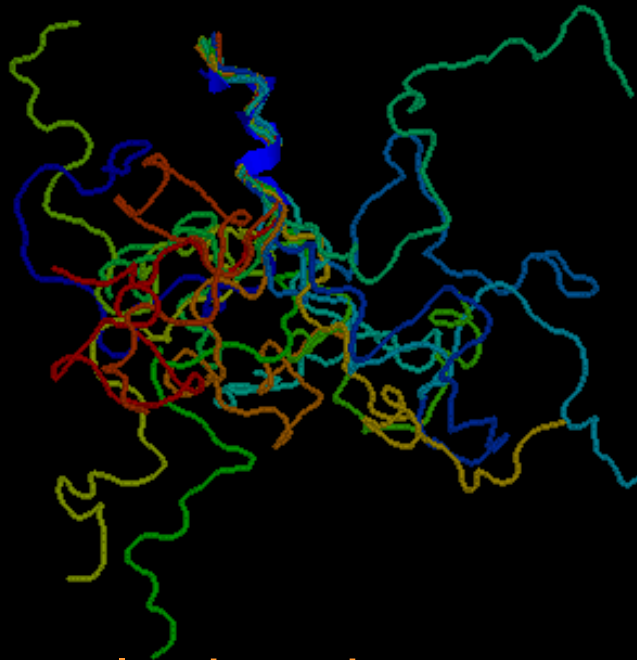
GLA domain. Característiques

Domini d'uns 40aa (aprox) ric en àc. γ -carboxiglutàmic (carboxilasa)

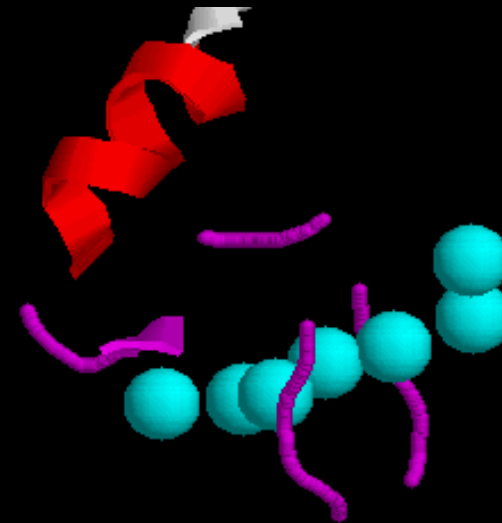
Permet la unió a Ca^{++}

```
GLA_VII  -ANAFLEELRPGSLERECKEEQCSFEEAREIFKDAERTKLFWISY--
GLA_X    -ANSFLEEMKKGHLERECMEETCSYEEAREVFEEDSDKTNE-----
GLA_IX    YNSGKLEEFVQGNLERECMEEKCSFEEAREVFENTERTTEFWKQYVD
          ***      *  ****  **  **,*****.*  ...*
```

Cisteïnes molt conservades
responsables de la formació de
pont ss



MNR Gla-domain IX 15
models



Domini Gla i Ca^{2+}

- 7 Ca^{++} units al domini GLA
- Unió Ca^{2+} / GLA → Força cadenes laterals de residus hidrofòbics cap a medi aquós



Unió a membrana de les plaquetes (ambient hidrofòbic)

Phe4 Val8



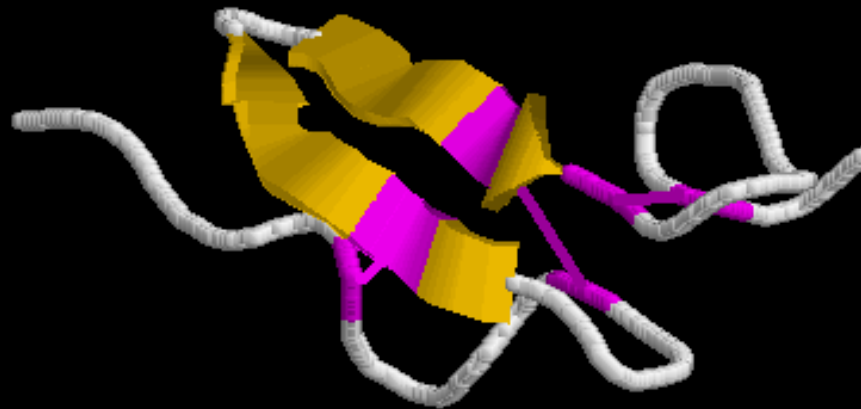
FactorX_rabbit	VLARTR	ANS-FLEELKKGNLERECMEENC	SYEEALEVFEDREKTNEE	WNKYVDGDQCES
FactorX_human	ILARVT	ANS-FLEEMKKGHLERECMEET	CSYEEAREVFEDSDKTNEE	WNKYKDGDCET
FactorX_bovin	VLQRAR	ANS-FLEEVKQGNLERECLEE	ACSLEEAREVFEDAEQTDEE	WSKYKDGDCQEG
FactorX_chick	FLERTK	ANS-FLEEMKQGNIERECNEE	ERCSKEEAREAFEDNEKTEE	WNIYVDGDQCSS
FactorVII_human	VLHRRR	ANA-FLEELRPGSLERECKEE	QCSFEEAREIFKDAERTKLE	WISYSDGDQCAS
FactorVII_bovin	-----	ANG-FLEELLPGSLERECREEL	CSFEEAHEIFRNEERTRQE	WVSyndGDQCAS
FactorVII_rabbit	VLRRQR	ANS-FLEELRPGSLERECKEE	ELCSFEEAREVFQSTERTKQE	WITYNDGDQCAS
FactorIX_human	ILNRPK	EYNSGKLEEFVQGNLERECMEE	KCSFEEAREVFENTERTTE	EWKQYVDGDQCES
FactorIX_bovin	-----	YNSGKLEEFVRGNLERECKEE	KCSFEEAREVFENTEKTTE	EWKQYVDGDQCES
		* *** * .***** ** ** *** * * ..* * * *****		

Leu5

hidrofòbics (canvi permès)

EGF1. Característiques

- Domini d'uns 50aa
- Imp: 3 ponts ss → conservació de proteïnes
- Funció → interacció amb prot
- Unit a Ca^{2+} (regió N-term)



EGF1_VII	SDGDQ C ASSP C QNGGS C KDQLQSYI C F C LPAFEGRN C ETHKDD
EGF1_X	-DGDQ C ETSP C QNQGK C KDGLGEYT C T C LEGFEGKN C ELF---
EGF1_IX	-DGDQ C ESNP C LNGGS C KDDINSYE C W C PFGEFEGKN C EL----
	***** * . * * * * * * * . * * * *** * *

EGF1. Características

- Domini d'uns 50aa
- Imp: 3 ponts ss → conservació de proteïnes
- Funció → interacció amb prot
- Unit a Ca^{2+}

Asn57 conservat → intervén en el plegament del domini

Arg79 → imp interacció VII - TF



```

EGF1_VII      SDGDQCASSPCQNGSCKDQLQSYICFCLPAFEGRICETHKDD
EGF1_X        -DGDQCETSPCQNGKCKDGLGEYTCTCLEGFEGKICELF---
EGF1_IX       -DGDQCESNPCINGSCKDDINSYECWCPFGEFKICEL---
               * * * * *

```

EGF1. Característiques

- Domini d'uns 50aa
- Imp: 3 ponts ss → conservació de proteïnes
- Funció → interacció amb prot
- Unit a Ca^{2+}



Ser52 i Ser60 o-glicosilades



Relació funcional amb VII i IX ???

EGF1_VII	SDGDQ C AS P C QNG S C KDQLQSYI C F CLPAFEGRN C ETHKDD
EGF1_X	-DGDQ C ET S P C QNG K C KDGLGEYT C T CLEGFEGKN C ELF---
EGF1_IX	-DGDQ C ES N P C LNG S C KDDINSYE C W CPFGFEGKN C EL----
	***** * . * * * * * * * . * * * * * * * *

EGF2. Característiques

- Domini d'uns 50aa
- Imp: 3 ponts ss → conservació de proteïnes
- Funció → interacció amb prot ? i unió a membrana (molt poc estudiat)
- No està unit a Ca^{2+}



EGF2_VII	---ICVNEGGCEQYCS DHTGTRKSCRCHEGYSL LADGVSC TPTVEYPCGKIPILE
EGF2_X	TRKLCSLDNGDCDQFCH E-EQNSVVCS CARGYTLADNGKAC IPTG-----
EGF2_IX	--VTCKIKNGRCEQFC KNSADNKVVCS CTDGYRLAEDQKSCEPAV-----
	★ ** ★.★.★ . ★ ★ ** * .★ *.

Cerca d'homologia mitjançant Psi-blast en swissprot del FX

Sequences producing significant alignments:			Score (bits)	E Value
FA10_HUMAN	(P00742)	COAGULATION FACTOR X PRECURSOR (EC 3.4.21.6)...	959	0.0
FA10_RABIT	(O19045)	COAGULATION FACTOR X PRECURSOR (EC 3.4.21.6)...	692	0.0
FA10_BOVIN	(P00743)	COAGULATION FACTOR X PRECURSOR (EC 3.4.21.6)...	690	0.0
FA10_CHICK	(P25155)	COAGULATION FACTOR X PRECURSOR (EC 3.4.21.6)...	511	e-144
FA10_TROCA	(P81428)	COAGULATION FACTOR X (EC 3.4.21.6) (TROCARIN...	408	e-113
FA9_HUMAN	(P00740)	COAGULATION FACTOR IX PRECURSOR (EC 3.4.21.22...	376	e-104
FA9_MOUSE	(P16294)	COAGULATION FACTOR IX PRECURSOR (EC 3.4.21.22...	374	e-103
FA9_CANFA	(P19540)	COAGULATION FACTOR IX PRECURSOR (EC 3.4.21.22...	373	e-103
FA9_BOVIN	(P00741)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTM...	337	3e-92
FA7_HUMAN	(P08709)	COAGULATION FACTOR VII PRECURSOR (EC 3.4.21.2...	336	9e-92
FA7_RABIT	(P98139)	COAGULATION FACTOR VII PRECURSOR (EC 3.4.21.2...	328	1e-89
FA7_MOUSE	(P70375)	COAGULATION FACTOR VII PRECURSOR (EC 3.4.21.2...	323	6e-88
PRTC_BOVIN	(P00745)	VITAMIN-K DEPENDENT PROTEIN C PRECURSOR (EC ...	312	1e-84
FA7_BOVIN	(P22457)	COAGULATION FACTOR VII (EC 3.4.21.21) (SERUM ...	308	2e-83
PRTC_MOUSE	(P33587)	VITAMIN-K DEPENDENT PROTEIN C PRECURSOR (EC ...	306	7e-83
PRTC_RAT	(P31394)	VITAMIN-K DEPENDENT PROTEIN C PRECURSOR (EC 3....	304	2e-82
PRTC_HUMAN	(P04070)	VITAMIN-K DEPENDENT PROTEIN C PRECURSOR (EC ...	295	2e-79
PRTC_RABIT	(Q28661)	VITAMIN-K DEPENDENT PROTEIN C PRECURSOR (EC ...	294	4e-79
FA9_RABIT	(P16292)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTM...	210	6e-54
FA9_RAT	(P16296)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTMAS FA	207	5e-53
FA9_CAVPO	(P16295)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTM...	204	3e-52
FA9_PIG	(P16293)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTMAS FA	199	1e-50
FA9_SHEEP	(P16291)	COAGULATION FACTOR IX (EC 3.4.21.22) (CHRISTM...	183	9e-46
THRB_HUMAN	(P00734)	PROTHROMBIN PRECURSOR (EC 3.4.21.5) (COAGULA...	163	6e-40
THRB_MOUSE	(P19221)	PROTHROMBIN PRECURSOR (EC 3.4.21.5).	163	7e-40
PRTZ_BOVIN	(P00744)	VITAMIN K-DEPENDENT PROTEIN Z.	161	3e-39
THRB_BOVIN	(P00735)	PROTHROMBIN PRECURSOR (EC 3.4.21.5).	158	2e-38
THRB_RAT	(P18292)	PROTHROMBIN PRECURSOR (EC 3.4.21.5).	158	2e-38
PRTZ_HUMAN	(P22891)	VITAMIN K-DEPENDENT PROTEIN Z PRECURSOR.	149	1e-35
TRY3_RAT	(P08426)	TRYPSIN III, CATIONIC PRECURSOR (EC 3.4.21.4) ...	147	5e-35
TRY4_RAT	(P12788)	TRYPSIN IV PRECURSOR (EC 3.4.21.4) (PRETRYPSIN...	146	7e-35
TRY2_SALSA	(P35032)	TRYPSIN II PRECURSOR (EC 3.4.21.4) (FRAGMENT).	143	9e-34
TRY4_ANOGA	(P35038)	TRYPSIN 4 PRECURSOR (EC 3.4.21.4).	142	2e-33
TRY7_ANOGA	(P35041)	TRYPSIN 7 PRECURSOR (EC 3.4.21.4).	138	2e-32

FactorX_human	MANPLHLVLLGAALAGLLLLSGSSVFISRRANDVLARTRRANSFLEELKKGNLERECMEE
FactorX_rabbit	MGRPLHLVLLSASLAGLLLLGESLFIRREQANNILARVTRANSFLEEMKKGHLERECMEE
FactorX_bovin	MAGLLHLVLLSTALGGLLRPAGSVFLPRDQAHVLRQARRANSFLEEVKQGNLERECLEE
FactorX_chick	MAGRLLLLLLCAALPDELRAEGGVFIKKESADKFLERTKRANSFLEEMKQGNIERECNEE
Trypsin_salsa	-----
Trypsin_anoga	-----
Trypsin_xenla	-----
Trypsin_drome	-----

FactorX_human	NCSYEEALEVFEDREKTNEFW
FactorX_rabbit	TCSYEEAREVFEDSDKTNEFW
FactorX_bovin	ACSLEEAREVFEDAEQTDEFW
FactorX_chick	RCSKEEAREAFEDNEKTEEFW
Trypsin_salsa	-----
Trypsin_anoga	-----
Trypsin_xenla	-----
Trypsin_drome	-----

FactorX_human	CEPVTRKLCSLDNGGCDQFCK
FactorX_rabbit	CELFTTRKLCSLDNGDCDQFCH
FactorX_bovin	CEFSTREICSLDNGGCDQFCR
FactorX_chick	CEFVIPKYCKINNGDCEQFCS
Trypsin_salsa	-----
Trypsin_anoga	-----
Trypsin_xenla	-----
Trypsin_drome	-----

FactorX_human	GRWRR--SPATNSSEGPPEAP
FactorX_rabbit	ERRKRSVAQATSSSGEAPDSI
FactorX_bovin	GRSRR---WAIHTSEDALDAS
FactorX_chick	KRIKR---SVILPTNSNTNAT
Trypsin_salsa	-----
Trypsin_anoga	-----MSNKITILLAV
Trypsin_xenla	-----
Trypsin_drome	-----

FactorX_human	LVRIVGGQDCRDGECWPQALLVNEENEGFCGGTILSEYHVLTAAHCLHQAQKRFKVRVGDR
FactorX_rabbit	LTRIVGGQECKDGECPWQALLINEENEGFCGGTILSEFYILTAACHLYQAQKRFKVRVGDR
FactorX_bovin	VVRIVGGRDCAEGECPWQALLVNEENEGFCGGTILNEFYVLTAAHCLHQAQKRFKVRVGDR
FactorX_chick	DTRIVGGDECRPGECWPQAVLINEKEEFCCGGTILNEDFILTAAHCINQSKEIKVVVGEV
Trypsin_salsa	--KIVGGYECKAYSQPHQVSLN--SGYHFCGGSLVNENWVWSAAHCYQS--RVEVRLGEH
Trypsin_anoga	NHRIVGGFEIDVAETPYQVSLQR--SKRHICGGSVLSGKWILTAHCTDGSQPESLTVRLG
Trypsin_xenla	--KIVGGFTCAKNAVPHYQVSLN--AGYHFCGGSLINSQWVWSAAHCYKS--RIQVRLGEH
Trypsin_drome	--RIVGGSATTISSFPWQISLQR--SGSHSCGGSIIYSSNVIVTAAHCLQSVSASVLQIRAG
	.**** * * * ***.. ...**** ..

FactorX_human	DTEHEEGNEETHEVEVVVKHNRVFKETYDFDIAVLRRLKTPITFRNVAPACLPQKDWAES
FactorX_rabbit	NTEQEEGGEAVHEVEVVIKHNRFTKETYDFDIAVLRRLKTPITFRNVAPACLPERDWAES
FactorX_bovin	NTEQEEGNEMAHEVENTVKHSRFVKETYDFDIAVLRRLKTPITFRNVAPACLPKDWAEA
FactorX_chick	DREKEEHSETHTTAEKIFVHSKYIAETYDNDIALIKLKEPIQFSEYVVPACLPQADFAANE
Trypsin_salsa	NIQVTEGSEQFISSSRVIRHPNYSSYNIDNDIMLIKLSKPATLNTYVQPVALP-----TS
Trypsin_anoga	SSRHASGG-SVIHVARIVQHPDYDQETIDYDYSLLELESVLTFSNKVQPIITLPEQ---DE
Trypsin_xenla	NIALNEGTEQFIDSQKVIKHPNYSNRNLDNDIMLIKLSTTARLSANIQSVPLP-----SA
Trypsin_drome	SSYWSSGG-VTFSVSSFKNHEGYNANTMVNDIVIikingALTFSSTIKAIGLAS-----S
	* . . * *

FactorX_human	TLMAQKTGIVSGFGRTHEMGRLS-TTLKMLEVPHYVDRNSCKRSSS---FTITQNMFCAGY
FactorX_rabbit	TLMTQKTGIVSGFGRTHEKGRQS-TRLKMLEVPHYVDRNSCKLSSS---FIITQNMFCAGY
FactorX_bovin	TLMTQKTGIVSGFGRTHEKGRLS-STLKMLEVPHYVDRSTCKLSSS---FTITPNMFCAGY
FactorX_chick	VLMNQKSGMVSGFGREFEAGRLS-KRLKVLEVPHYVDRSTCKQSTN---FAITENMFCAGY
Trypsin_salsa	CAPAGTMCTVSGWGNTMSSTADK-NKLQCLNIPILSYSDCNNSYP---GMITNAMFCAGY
Trypsin_anoga	AVEDGIMTIVSGWGSTKSAIESN-AILRAANVPTVNQDECNQAYHKS-EGITERMLCAGY
Trypsin_xenla	CASAGTNCLISGWGNTLSSGTNYPDLLQCLNAPILTDSQCSNSYP---GEITKNMFCAGF
Trypsin_drome	NPANGAAGSVSGWGTLSSYGSSSIPSQLQYVNVNIVSQSCASSTYGYGSQIRSTMICAAA
	.** * * . * * * ***

FactorX_human	DARPEDACQGDSCGGPHVTRFRDITYFVTGIVSWGEGCARKGKFGVYTKVSNFLKWIEKSMR
FactorX_rabbit	DTKQEDACQGDSCGGPHVTRFKDITYFVTGIVSWGEGCARKGKYGIYTKVTAFLKWIDRSMK
FactorX_bovin	DTQPEDACQGDSCGGPHVTRFKDITYFVTGIVSWGEGCARKGKFGVYTKVSNFLKWIDKIMK
FactorX_chick	ETEQKDACQGDSCGGPHVTRYKDITYFVTGIVSWGEGCARKGKYGVYTKLSRFLRWVRTVMR
Trypsin_salsa	LEGGKDSQGDSCGGPVVCNG----ELQGVVSWGYGCAEPGNPGVYAKVCIFNDWLTSTMA
Trypsin_anoga	QGGKDACQGDSCGGPLVAED----KLIGVVSWGAGCAQPGYPGVYARVAVVRDWIRETCG
Trypsin_xenla	LAGGKDSQGDSCGGPVVCNG----QLQGVVSWGYGCAQRNYPGVYTKVCFVWTWIIQSTIS
Trypsin_drome	S--GKDACQGDSCGGPLVSGG----VLVGVVSWGYGCAYSNYPGVYADVAALRSWVISNA-
	* ***** * * **** *** * * *

Bibliografia

Perera L, Darden T, Pedersen L; Probing the Structural Changes in the light chain of human coagulation factor VIIa due to tissue factor association;biophysical Journal July 99; volumen 77:99-113

Lin Chen, Chandrashekhara Mantihody, Likui Yang, Alireza R. Rezaire; Zymogenic and enzymatic properties of the 70-80 loop mutants of factor X/Xa; Protein Science 2004;13:431-442

Fabrice Thiege, Ghislaine Cherel, Oliver D.Christopher; Role of the Gla and First Epidermal Growth Factor-like Domains of Factor X in the Prothrombinase and Tissue Factor/Factor VIIa Complexes;The journal of biological Chemistry 2003; vol.278

Eigenbrot C, Kirchhofer D, Dennis M et.al; The factor VII zymogen structure reveals reregistration of beta strands during activation; Elsevier science 2001; vol.9:627-636

Ashton AW, Boehm MK,Johnson DJ, Kemball-Cook, Perkins SJ; the solution structure of human coagulation factor VIIa in its complex with tissue factor is similar to free factor VIIa: a study of a heterodimeric receptor-ligand complex by X-ray and neutron scattering and computational modeling;

Eigenbrot C. Structure, function and activation of coagulation factor VII. Current Protein and Peptide Science, 2002, 3, 287-299

Craig D. Dickinson, Curtis R Kelly and Wolfram Ruf. Identification of surface residues mediating tissue factor binding catalytic function of the serine protease factor VIIa. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol 93, pp 14379 – 14384, December 1996

Pike A, Brzozowski A, Roberts A, Olsen O; Structure of human factor VIIa and its implications for the triggering of blood coagulation, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol 96, pp. 8925 – 8930, August 1999

Owenius R, Österlund M, Svensson M, Lindgren M, Persson E; Spin fluorescent probing of the binding interface between tissue factor VIIa at multiple sites; Biophysical Journal, vol 81, October 2001

Venkatesvarin D, Perera L, Darden T, Pedersen L; Structure and dynamics of zymogen human blood coagulation factor X, Biophys J, March 2002

1-. Di cual/es de esta(s) afirmación(es) son correctas:

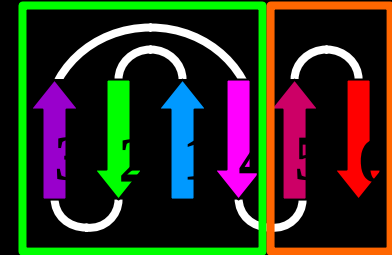
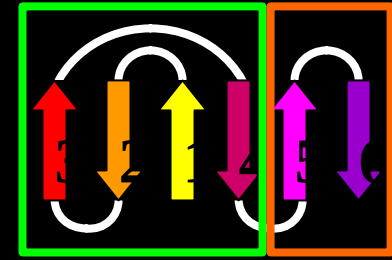
- a) Los factores de coagulación pertenecen a una familia muy homogenia de proteínas, donde todas ellas tienen un dominio catalítico serin proteasa
- b) Los factores de coagulación se clasifican en SCOP dependiendo del dominio que se tome como referencia. Si se coge el dominio serin proteasa estas proteínas se clasifican en α | β
- c) Las dos anteriores son correctas.
- d) Los factores de coagulación VII, XI y X están formados por un dominio Gla que une calcio, dos dominios EGF-like y un dominio serin-proteasa, que es el dominio catalítico
- e) Todas las anteriores son correctas.

2-. Di cuales de estas afirmaciones son ciertas:

- a) Los factores VII, IX y X presentan una gran homología estructural, pero únicamente debido al dominio serin proteasa.
- b) Al realizar un psi-blast utilizando como query la secuencia del factorX humana encontramos homología con la trypsin de anopheles y al alinear estas secuencias vemos que se debe a la conservación de la cadena ligera.
- c) Los factores de coagulación surgen en la evolución con los mamíferos
- d) Existe una gran homología entre el factor de coagulación X humano y el factor X de pollo, esto demuestra una gran conservación de estos factores a través de la evolución
- e) La homología entre las serin proteasas es escasa y solo se observa una gran conservación en los amino ácidos de la triada.

3-. Pel que fa al mapa topològic del domini proteasa de les serin proteases digues quina és l'afirmació certa:

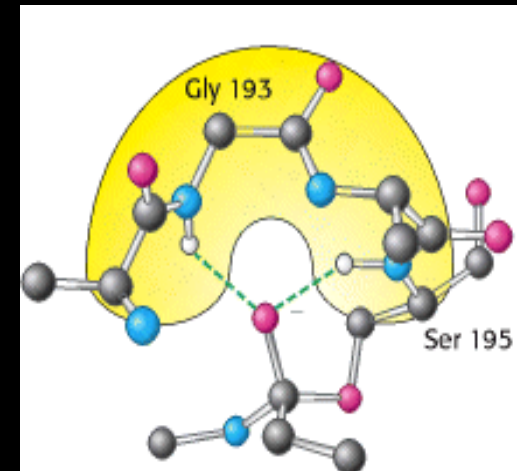
- a) Els dos barrils són beta hairpin
- b) Es tracta d'un domini tot alfa
- c) Els dos barrils són greek-key + beta hairpin
- d) Els dos barrils són greek-key
- e) Cap de les anteriors



greek key beta hairpin

4-. Digues quines afirmacions sobre l'oxianion hole són certes:

- a) Apareix dues vegades en la reacció de proteolisi
- b) Hi participa la Gly 193
- c) Les dues anteriors són certes
- d) Ponts d'hidrogen uneixen grups NH (de l'enzim) amb l'oxigen carregat negativament del substrat i així s'estabilitza aquesta càrrega negativa
- e) Totes les anteriors



----- ponts d'hidrogen

5-. Quin(s) d'aquest(s) element(s) NO forma(en) part del domini proteasa de les serin proteases?

- a) A-site
- b) Substrate binding cleft
- c) Methionine loop
- d) Regió altament lipofílica
- e) E-site

6-. Respecte el factor tisular, senyala la/les afirmacio/ns correcte/s:

- El factor tisular és una glicoproteïna de membrana
- Les principals interaccions entre el factor tisular i el factor VII són de tipus hidrofòbic
- Les dues anteriors
- El factor tisular es troba constitutivament expressat en la superfície de les plaquetes
- Totes les anteriors

7-. Senyala la resposta correcta respecte la reregistration del F VII:

1. És necessària per la inserció del extrem N-terminal dins d'una butxaca hidrofòbica
2. És important per la interacció amb el factor tissular
3. En forma de zimògen, el Glu interacciona mitjançant ponts d'hidrògen amb una Cys i una Val pròximes al extrem N-terminal
4. L'augment de residus en l'helix alfa afavoreix l'unió amb el factor tissular

- a) 1, 2 i 3
- b) 1 i 3
- c) 2 i 4
- d) 4
- e) 1, 2, 3 i 4

8-. Señala las respuestas correctas

1-El dominio Gla de los factores de coagulación VII,IX,X es rico en residuos de ácido glutámico que serán modificados por la enzima carboxilasa en ácidos gamma-carboxiglutámicos

2-El dominio Gla, a diferencia de los dominios EGF no contiene ningún puente disulfuro

3-Cuando se une el calcio al dominio Gla, se produce un cambio conformacional que permite que el factor de coagulación se una a la membrana de las plaquetas

4-En presencia de calcio, los residuos Phe4, Val8,Leu5 del factor X, forman un cluster hidrofóbico en el interior de la molécula.

a)1,2,3

b)1,3

c)2,4

d)4

e)1,2,3

9-. Señala las respuestas correctas

- a) Las posiciones de las cisteínas involucradas en la formación de los tres puentes disulfuros del dominio EGF están conservadas en los factores de coagulación VII,X,IX
- b) La mutación de la asparagina 57 del dominio EGF1 disminuye la secreción del factor desde los hepatocitos debido a un plegamiento incorrecto
- c) El dominio EGF2 no está unido a Calcio
- d) Existen dos serinas en el dominio EGF1 que son susceptibles a ser o-glicosiladas
- e) Todas las anteriores son correctas

10-. Señala las respuestas correctas

- a) El loop de unión a Calcio del dominio serin proteasa es un loop ácido
- b) Los factores de coagulación VII,IX,X tienen el residuo glutámico de la posición 80 conservado
- c) Las dos anteriores son correctas
- d) El factor VII tiene un loop metionina que en ausencia del factor tisular permite que la proteína sea activa
- e) Todas las anteriores son correctas

10-. Señala las respuestas correctas

a-El loop de unión a Calcio del dominio serin proteasa es un loop ácido

b-Los factores de coagulación VII,IX,X tienen el residuo glutámico de la posición 80 conservado

c-Las dos anteriores son correctas

d-El factor VII tiene un loop metionina que en ausencia del factor tisular permite que la proteína sea activa

e-Todas las anteriores son correctas

Respostes

1 $\rightarrow$ d

2 $\rightarrow$ d

3 $\rightarrow$ c

4 $\rightarrow$ e

5 $\rightarrow$ d

6 $\rightarrow$ c

7 $\rightarrow$ a

8 $\rightarrow$ b

9 $\rightarrow$ e

10 $\rightarrow$ c