## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Οι φωσφορυλάσες των α-γλυκανών είναι αποικοδομητικά ένζυμα των πολυγλυκανών και απαντώνται στο ζωικό και στο φυτικό βασίλειο. Οι πολυσακχαρίτες με τη μορφή αμύλου και γλυκογόνου αποτελούν κύριες αποθήκες ενέργειας πολλών οργανισμών.

Το γλυκογόνο, μια άμεσα κινητοποιούμενη μορφή αποθήκευσης της γλυκόζης εντοπίζεται στο ήπαρ και στους σκελετικούς μύες. Ο ελεγχόμενος μεταβολισμός του στο ήπαρ και η απελευθέρωση γλυκόζης ρυθμίζουν τη διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Η φωσφορυλάση του γλυκογόνου (*GP*) καταλύει το πρώτο στάδιο της ενδοκυτταρικής αποικοδόμησης του γλυκογόνου και βρίσκεται στο κέντρο του κατευθυνόμενου από τη δομή σχεδιασμού ενώσεων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη φαρμακευτική αντιμετώπιση του ΣΔ2. Στο πλαίσιο της διατριβής μελετήθηκαν ενώσεις που στοχεύουν τα περιφερειακά κέντρα της *GP*. Με κινητικές μελέτες προσδιορίστηκε η βιοδραστικότητα και η σταθερά αναστολής τους (*Ki*), ενώ η δομική βάση της αναστολής τους αποκαλύφθηκε από την κρυσταλλογραφική μελέτη των ενζυμικών συμπλόκων των αναστολέων. Η πρώτη ομάδα αναστολέων που αξιολογήθηκε η ανασταλτική δράση τους στη *GP* ήταν μια συλλογή 75 πολυφαινολικών ενώσεων, που περιλάμβανε φλαβονοειδή και ανθοκυανίνες. Η βαικαλεΐνη βρέθηκε να είναι η πλέον βιοδραστική με τιμή *Ki* 5,3 *μΜ* και προσδέθηκε στο κέντρο αναστολής του ενζύμου. Η πελαργονιδίνη, που ανήκει στην κατηγορία των ανθοκυανιδινών, βρέθηκε προσδεδεμένη στο κέντρο πρόσδεσης κερσετίνης της *GP* με τιμή *Ki* 31,8 *μΜ*. Από τους αναστολείς που μελετήθηκαν και προσδέθηκαν στο αλλοστερικό κέντρο του ενζύμου, ο πλέον ισχυρός ήταν ο ***G02*** με τιμή *Ki* 5,8 *μΜ*. Η δεύτερη ομάδα αναστολέων που αξιολογήθηκε η ανασταλτική τους δράση στη *GP* ήταν μια συλλογή 10 πολυαρωματικών ενώσεων. Ο πιο ισχυρός αναστολέας ήταν ο***PA7*** (*Ki* = 7,87 *μΜ*) και βρέθηκε ότι προσδένεται στο νέο αλλοστερικό κέντρο της *GP*.

Τo άμυλο που παράγεται από τα ανώτερα φυτά λειτουργεί ως θέση αποθήκευσης υδατανθράκων και είναι σημαντική διατροφική πηγή ενέργειας για τον άνθρωπο. Συντίθεται μέσα σε εξειδικευμένα υποκυτταρικά οργανίδια στα φυτικά κύτταρα που ονομάζονται πλαστίδια και η φωσφορολυτική αποικοδόμηση του καταλύεται από τις φωσφορυλάσες του αμύλου (*SP*). Μέχρι σήμερα λίγα είναι γνωστά για τις πλαστιδιακές φωσφορυλάσες του αμύλου (*Pho1*). Στο πλαίσιο της διατριβής διεξήχθη βιοχημική ανάλυση της *Pho1* από το φυτό Solanum tuberosum (*stPho1*) και προσδιορίστηκε η κρυσταλλική δομή της *stPho1ΔL78*, μια μορφή της *stPho1* η οποία αποτελείται από δύο επικράτειες που έχουν προκύψει μετά από πρωτεόλυση ενός πεπτιδίου μήκους περίπου 65 καταλοίπων (*L78*) που βρίσκεται στο κέντρο της πρωτοταγούς δομής της *stPho1*. Οι κινητικές μελέτες αποκάλυψαν ότι η *stPho1ΔL78* είναι 1,5 φορές πιο ενεργή από την *stPho1*, ενώ παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια για το γλυκογόνο, την α-*D*-γλυκόζη, την καφεΐνη και τη β-κυκλοδεξτρίνη από το φυσικό ένζυμο. Η κρυσταλλική δομή της *stPho1ΔL78* προσδιορίστηκε σε ευκρίνεια 2.2 *Å*, αποκαλύπτοντας ομοιότητες και διαφορές με το ομόλογο ένζυμο των θηλαστικών, που σχετίζονται με τις διαφορετικές εξελικτικές οδούς των φωσφορυλασών των φυτών και των ζωικών οργανισμών. Το καταλυτικό κέντρο και το νέο αλλοστερικό κέντρο είναι συντηρημένα ανάμεσα στα δύο ένζυμα. Ωστόσο, εντοπίζονται διαφορές στο κέντρο αναστολής, στο κέντρο αποθήκευσης του γλυκογόνου, στο αλλοστερικό κέντρο και στο κέντρο κερσετίνης. Η πρόσδεση στην *stPho1* της α-*D*-γλυκόζη, της καφεΐνης και της β-κυκλοδεξτρίνης μελετήθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-*Χ* και αποκάλυψε σημαντικές διαφορές με το ομόλογο ένζυμο των θηλαστικών. Καθώς η *stPho1* καταλύει τόσο τη σύνθεση όσο και την αποικοδόμηση του αμύλου, οι κινητικές μελέτες και οι κρυσταλλικές δομές υπέδειξαν ότι η κατεύθυνση της αντίδρασης, μετά την πρωτεολυτική απομάκρυνση της περιοχής *L78*, είναι προς την αποικοδόμηση του αμύλου. Αυτή είναι η πρώτη φορά που πραγματοποιείται λεπτομερής βιοχημικός και δομικός χαρακτηρισμός μίας φωσφορυλάσης από φυτό και μπορεί να αποτελέσει το σημείο εκκίνησης για περαιτέρω μελέτες στις φυτικές φωσφορυλάσες.