

Определение характеристических колебательных движений нуклеофильной группы в активных центрах Ntn-гидролаз**Научный руководитель – Кирилин Евгений Михайлович****Кузнеченкова Екатерина Юрьевна***Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: e.kuznechenkova02@mail.ru

Ntn-гидролазы - суперсемейство ферментов, расщепляющих пептидную связь в соединениях различной природы. Для этих белков характерно наличие на N-конце аминокислотного остатка, обладающего нуклеофильными свойствами (треонина, серина или цистеина), который образует активный центр фермента [4]. Специфическое положение нуклеофильного остатка в активном центре может оказывать влияние на его динамические характеристики в процессе каталитической реакции. Особенный интерес представляет собой поиск локализованных высокочастотных колебаний каталитических остатков [3,5]: так, для лактатдегидрогеназы показано существование высокочастотных колебательных мод в активном центре фермента [1]. В данном исследовании рассмотрены колебательные характеристики атомов активного центра нескольких представителей Ntn-гидролаз, которые могут оказывать влияние на ферментативную активность.

В качестве объектов исследования выбраны представители разных подклассов Ntn-гидролаз: пенициллин G ацилазы из *Escherichia coli* и *Alcaligenes faecalis* (PDB:1GM9, 3K3W), аспартилглюкозаминидаза (PDB:1APY) и керамидаза (PDB:6MNM) человека, ацилаза глутарил-7-аминоцефалоспоровой кислоты *Pseudomonas sp.* (PDB:1OR0). Для пенициллинацилаз характерна высокая степень сходства, тогда как остальные ферменты значительно отличаются как последовательностью, так и расположением элементов вторичной структуры. Таким образом, для моделирования колебаний были выбраны достаточно далекие структуры, чтобы уменьшить влияние аналогичного расположения атомов друг относительно друга на характер мод. Использовали метод моделирования, реализованный в пакете bio3d для R, который подразумевает анализ нормальных мод [2] с расчётом для каждого атома (All-atom Normal Mode Analysis), расчеты проводили на основе структур комплексов ферментов с субстратами (бензилпенициллином, аспартилглюкозамином, C8 керамидом(d17:1/8:0) и глутарил-7-аминоцефалоспоровой кислотой). Проведенное исследование позволило определить моды, соответствующие наибольшей амплитуде колебаний нуклеофильного атома активного центра - кислорода гидроксигруппы серина пенициллинацилаз и ацилазы глутарил-7-аминоцефалоспоровой кислоты, кислорода гидроксигруппы треонина аспартилглюкозаминидазы, серы тиольной группы цистеина керамидазы. Обнаружено наличие одинаковых колебаний в направлении пептидной связи субстрата, как для структурно близких, так и далеких ферментов. На следующем этапе мы планируем исследовать возможное влияние обнаруженных колебаний на каталитические свойства рассмотренных белков.

Источники и литература

- 1) Chalopin, Y., Piazza, F., Mayboroda, S. et al. Universality of fold-encoded localized vibrations in enzymes. *Sci Rep* 9, 12835 (2019)

- 2) David A. Case. Normal mode analysis of protein dynamics. *Current Opinion in Structural Biology*. Volume 4, Issue 2, 1994, Pages 285-290
- 3) Lee-Wei Yang, Ivet Bahar. Coupling between Catalytic Site and Collective Dynamics: A Requirement for Mechanochemical Activity of Enzymes. *Structure*, Volume 13, Issue 6, 2005, 893-904
- 4) Oinonen C, Rouvinen J. Structural comparison of Ntn-hydrolases. *Protein Sci.* 2000;9(12):2329-2337
- 5) Pratul K. Agarwal. Role of Protein Dynamics in Reaction Rate Enhancement by Enzymes. *Journal of the American Chemical Society* 2005 127 (43), 15248-15256