

**Полная структура каталитической триады гидролаз может быть  
реконструирована из данных о взаиморасположении только остовов ее  
остатков**

**Научный руководитель – Злобин Александр Сергеевич**

***Фроленкова Марина Олеговна***

*Студент (специалист)*

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

*E-mail: frolenkovamar@yandex.ru*

Гидролазы представляют собой группу структурно и функционально разнообразных ферментов, обладающих общей способностью катализировать гидролиз ковалентных связей. Эта способность обусловлена строением активных центров различного состава. Большинство гидролаз используют каталитическую триаду, состоящую из Ser, His и Asp, формирующих активный сайт при правильном расположении трех остатков.

Гидролазы образуют крупнейший и наиболее важный сегмент рынка промышленных ферментов, где они используются в моющих средствах, пищевой промышленности, в качестве биокатализаторов в органическом синтезе и в качестве терапевтических средств. Список потенциальных практических применений активно расширяется, так как их каталитическая активность может быть спроектирована для конкретных применений [1].

Это происходит с использованием современных вычислительных методов, с помощью которых можно достичь изменения специфичности, стабильности или других свойств существующих ферментов [2-5]. Однако для удовлетворения потребностей промышленности и медицины одной модификации белков недостаточно, и de novo дизайн каталитических функций рассматривается как важный шаг вперед [6]. Этот шаг, однако, ограничен подходом, реализованным в протоколе разработки фермента Rosetta3 [7]. Базовая процедура de novo дизайна начинается с определения теозима - набора атомов в их соответствующих координатах, имитирующих решающий этап ферментативного процесса. После того как теозим сконструирован, необходимо получить подходящий скаффолд для размещения его остатков либо путем поиска в пространстве известных структур, либо путем построения его с нуля. Алгоритм поиска, реализованный в Rosetta Match, довольно медленный, поскольку он сканирует через ротамерные библиотеки боковых цепей желаемых остатков активного сайта.

Ранее мы предложили сверхбыстрый алгоритм поиска, основанный на подборе подходящей взаимной ориентации остовов остатков каталитического центра [8]. Мы показали, что эта идея правомерна для каталитических триад протеаз: знание взаиморасположения остовов триады позволяет однозначно восстановить всю ее структуру. Мы задались вопросом, насколько эта находка генерализуема. В данной работе мы распространяем данную идею на все триадные архитектуры всех гидролаз. Мы обнаружили, что найденные ранее закономерности сохраняются и в более общем случае. Таким образом, мы показали, что разработанный ранее метод поиска подходящего под превращение в активный центр региона в структуре белка может быть корректно применен для широкого круга задач дизайна гидролазной функции.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова [9].

### Источники и литература

- 1) López-Otín, C., Bond, J.S.: Proteases: multifunctional enzymes in life and disease. *J. Biol. Chem.* 283, 30433–30437 (2008).
- 2) Leis, J.P., Cameron, C.E.: Engineering proteases with altered specificity. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5, 403–408 (1994).
- 3) Lau, Y.-T.K., Baytshtok, V., Howard, T.A., Fiala, B.M., Johnson, J.M., Carter, L.P., Baker, D., Lima, C.D., Bahl, C.D.: Discovery and engineering of enhanced SUMO protease enzymes. *J. Biol. Chem.* 293, 13224–13233 (2018).
- 4) Chowdhury, R., Maranas, C.D.: From directed evolution to computational enzyme engineering—A review. *AIChE J.* 66, (2020).
- 5) Vaissier Welborn, V., Head-Gordon, T.: Computational Design of Synthetic Enzymes. *Chem. Rev.* 119, 6613–6630 (2019).
- 6) Mokrushina, Y.A., Golovin, A.V., Smirnov, I.V., Chatziefthimiou, S.D., Stepanova, A.V., Bobik, T.V., Zalevsky, A.O., Zlobin, A.S., Konovalov, K.A., Terekhov, S.S., Stepanov, A.V., Pipiya, S.O., Shamborant, O.G., Round, E., Belogurov, A.A., Jr, Bourenkov, G., Makarov, A.A., Wilmanns, M., Xie, J., Blackburn, G.M., Gabibov, A.G., Lerner, R.A.: Multiscale computation delivers organophosphorus reactivity and stereoselectivity to immunoglobulin scavengers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 22841–22848 (2020).
- 7) Richter, F., Leaver-Fay, A., Khare, S.D., Bjelic, S., Baker, D.: De novo enzyme design using Rosetta3. *PLoS One.* 6, e19230 (2011).
- 8) Zlobin A., Ermidis AP., Maslova V., Belyaeva J., Golovin A. (2021) Exploiting Structural Constraints of Proteolytic Catalytic Triads for Fast Supercomputer Scaffold Probing in Enzyme Design Studies. In: Voevodin V., Sobolev S. (eds) Supercomputing. RuSCDays 2021. Communications in Computer and Information Science, vol 1510. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-92864-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-92864-3_5)
- 9) Voevodin, V. V., Antonov, A. S., Nikitenko, D. A., Shvets, P. A., Sobolev, S. I., Sidorov, I. Y., Stefanov, K. S., Voevodin, V. V., & Zhumatiy, S. A. (2019). Supercomputer Lomonosov-2: Large Scale, Deep Monitoring and Fine Analytics for the User Community. *Supercomputing Frontiers and Innovations*, 6(2), 4–11. <https://doi.org/10.14529/jsfi190201>