

Поиск сайта связывания эффекторов неорганической пирофосфатазы семейства I (PPase) из *Mycobacterium tuberculosis* (Mt-PPase) с помощью ЯМР спектроскопии и структурной биоинформатики.

Роцин Константин Дмитриевич

Студент (бакалавр)

Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина, Москва, Россия

E-mail: engineinsock@gmail.com

PPases семейства I являются важным объектом для изучения в биохимии и молекулярной биологии. Несмотря на это, в литературе представлено мало данных об их структурных особенностях. Mt-PPase является потенциальной мишенью для разработки противотуберкулезных соединений [1]. Ранее нами были обнаружены эффекторы Mt-PPase: АТФ, метиленбисфосфонат (PCP) и яблочная кислота (малат) [2]. Однако их сайт связывания не был известен до настоящего момента.

Наша цель: найти сайты связывания эффекторов Mt-PPase, оценить консервативность сайтов связывания лигандов в ряду PPases семейства I. Наше исследование состоит из двух частей: биоинформатики и ЯМР-спектроскопии.

В первой части мы использовали инструменты биоинформатики (Zebra2, Mustguseal) для кластеризации PPases семейства I. По результатам кластеризации Mt-PPase попала в обособленный кластер (249 белков). В один из других кластеров (1546 белков) входит хорошо изученная PPase из *E. coli* (Ec-PPase), которая по своим свойствам сильно отличается от Mt-PPase [3]. Анализ 3D структур Mt-PPase и Ec-PPase показал, что семейноспецифичные положения, обнаруженные с помощью Zebra2, играют важную роль в особенностях свойств Mt-PPase.

Во второй части мы решили найти аминокислотные остатки, которые формируют сайты связывания эффекторов в Mt-PPase с помощью титрования белка лигандами и детекции их взаимодействия с помощью ЯМР. Мы оттитровали ^{15}N , ^2D изотопно-меченную Mt-PPase АТФ, PCP и малатом; сняли спектры ЯМР полученных комплексов белок-лиганд. С помощью отнесения и анализа ЯМР-спектров мы выявили аминокислотные остатки, участвующие в связывании лигандов. Сравнив полученные данные биоинформатического анализа и ЯМР титрования мы обнаружили гипотетические сайты связывания, специфичные для подсемейства Mt-PPase. Расположение данных сайтов связывания в олигомере Mt-PPase показано на рисунке.

Полученные данные могут играть важную роль в понимании механизма функционирования Mt-PPase и описанного нами подсемейства Mt-PPase. Результаты исследования могут быть использованы для создания селективных модуляторов активности Mt-PPase рациональным дизайном.

Источники и литература

- 1) Vijayan M. Structural biology of mycobacterial proteins: the Bangalore effort. // Tuberculosis (Edinb). 2005. №85(5-6). p. 357-66.
- 2) Rodina, E., L. Vainonen, et al. (2008). "Metal cofactors play a dual role in *Mycobacterium tuberculosis* inorganic pyrophosphatase." Biochemistry (Moscow) 73(8): 897-905.
- 3) Romanov R. S. et al. Effect of structure variations in the inter-subunit contact zone on the activity and allosteric regulation of inorganic pyrophosphatase from *Mycobacterium tuberculosis* //Biochemistry (Moscow). 2020. №.85(3). p. 326-333.

Иллюстрации

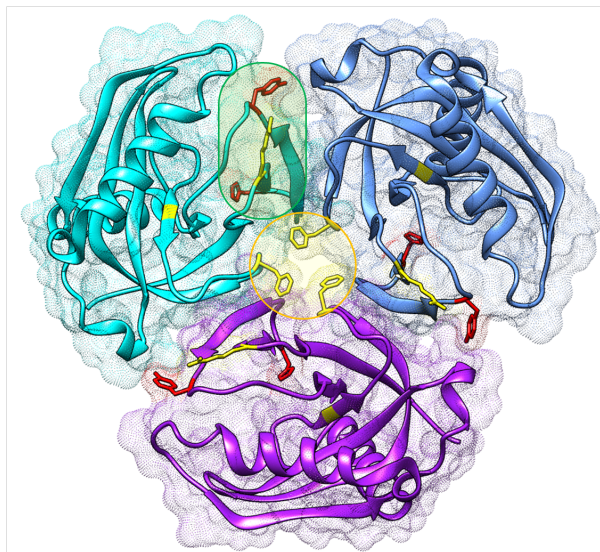


Рис. : Кристаллическая структура гексамера Mt-PPase, pdb id: 4z71. Три мономера из одного тримера, второй тример не показан. Основная цепь изображена лентой. Поверхность отображена точками. Каждый мономер выделен отдельным цветом. Семейноспецифичные остатки взаимодействующие с лигандами отображены стержнями и выделены цветом. В капсулах представлены сайты связывания эффекторов Mt-PPase.