**Сравнение ферментов фотоактивируемых аденилатциклаз из Beggiatoa и Oscillatoria acuminata методами молекулярного моделирования**

*Курышкина М.С., Кулакова А.М., Немухин А.В.*

*Аспиртант 1 г.о.*

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*Химический факультет, Москва, Россия*

*E–mail: mariia.kuryshkina@chemistry.msu.ru*

Сенсорные фоторецепторы лежат в основе светозависимых адаптивных механизмов живых существ. Используемые в оптогенетике сенсорные фоторецепторы - генетически закодированные инструменты тонкого и обратимого управления клеточными процессами. В частности, инструментом контроля концентрации циклического аденозинмонофосфата (cAMP) , аллостерического эффектора протеинкиназ и ионных каналов, может быть оптогенетическая система на основе фотоактивируемой аденилатциклазы (PAC), катализирующей реакцию превращения аденозинтрифосфота (ATP) в cAMP. Особенно интересен PAC из Beggiatoa (bPAC) ввиду значительного повышения скорости ферментативной реакции при фотовозбуждении (в 300 раз) по сравнению с гомологичными ферментами других организмов - для Oscillatoria acuminata (OaPAC) скорость возрастает не более чем в 20 раз. Целью данной работы являлось сравнение ферментов bPAC и OaPAC методами молекулярного моделирования.

В качестве основы для получения полноатомных моделей ферментов bPAC и OaPAC в неосвещённом (D)/освещённом (L) состояниях были выбраны структуры 5M2A/5MBD и 4YUT/5X4T соответственно из банка данных Protein Data Bank. bPAC и OaPAC - гомодимеры, мономеры (A и B) которых состоят из фоторецепторного (BLUF) и каталитического (АС) доменов и перемычки. Для систем была проведена молекулярная динамика (МД) с использованием программного пакета NAMD. Все расчеты проводились в каноническом ансамбле NPT (p = 1 атм, T = 298 К). Для белков использовалось силовое поле CHARMM36, для FMN – CGenFF, молекул воды – TIP3P. Шаг интегрирования составил 1 фс, продолжительность траекторий - 1 мс.

Согласно результатам анализа молекулярно-динамических траекторий, при переходе из D в L состояния структура становится более закрытой, как в случае bPAC, так и в случае OaPAC. Однако исходя из результатов динамического сетевого анализа можно выделить следующие различия. При разбиении на кластеры по алгоритму Гирвана-Ньюмана, bPAC и OaPAC, представимые в качестве связанных графов, в D состоянии были разбиты на семь и девять кластеров соответственно, в L состоянии - на девять кластеров каждый. Для bPAC как в D, так и в Lтсостояниях разбиения симметричны и соответствуют доменной структуре белка. Для OaPAC разбиение несимметрично, на каталитические домены приходится большее число кластеров, из чего можно сделать вывод о меньшей связности данной структуры по сравнению с bPAC. Для определения возможного пути аллостерической регуляции фермента при фотовозбуждении важно выявить аминокислотные остатки, являющиеся “связующими” между кластерами BLUF и АС доменов и перемычки. Для bPAC/OaPAC в D состоянии можно выделить следующие подобные “связующие” аминокислотные остатки: Y7-L75, T72-H120/ Y6-L74, D72-R120 - между кластерами BLUF домена и перемычки, K125\*-N265/ K124\*-R263, Y125\*-Y265 - между кластерами перемычки и АС домена. При переходе в L состояние для bPAC также можно выделить “связующие” аминокислотные остатки между кластерами перемычки и АС домена - K125-K263\*, Y126\*-N265, N257-P146, в то время как для OaPAC “связующие” аминокислотные остатки между кластерами перемычки и АС домена выявлены не были.

Стоит отметить большую “связность” bPAC, что может быть причиной более высокого повышения активности по сравнению с OaPAC при фотовозбуждении.