**Моделирование механизма ацилирования глутамата в активном центре фермента N-ацетилглутаматсинтазы**

***Блинова А.Р.,1 Кулакова А.М.,1 Григоренко Б.Л.,1 Немухин А.В.1,2***

*Студент, 6 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия*

*E-mail: lady.buka-zluka2016@yandex.ru*

N-ацетилглутаматсинтазы представляют собой семейство ферментов, катализирующих реакцию N-ацилирования глутамата, в которых донором ацетильной группы служит ацетилкофермент А. Их принято разделять на “бактериальные” – гексамерные макромолекулы, характерные для прокариот и растений, и “животные” – тетрамерные белки животных и грибов, к которым также относятся бифункциональные N-ацетилглутаматсинтазы/киназы бактерий. Несмотря на то, что N-ацетилглутамат является важным метаболитом, выступающим в роли промежуточного продукта в цепи линейного биосинтеза аргинина и необходимого активатора карбамилфосфатсинтазы в орнитиновом цикле, достоверный механизм его образования не был установлен, хотя и предполагался ранее [1]. Изучение механизма обозначенной ферментативной реакции представляет не только фундаментальный интерес, но и практический, так как из-за высокой степени различия в структурах человеческой и бактериальной N-ацетилглутаматсинтаз белок может служить таргетом в терапии туберкулеза.

Для NAGS из *Neisseria gonorrhoeae* (PDB ID 3B8G) на основании кристаллографических данных и классической молекулярной динамики с силовым полем CHARMM найден канонический для ацетил-КоА мотив узнавания в виде последовательности Gln364-Glu365-Gly366-Gly367-Tyr368-Gly369, а также установлено нехарактерное для семейства NAGS дополнительное связывание ацетил-КоА киназным доменом другого мономерного звена посредством водородной связи конечной фосфатной группы ацетил-КоА с Arg134, Arg151 и Lys152. Обнаружена реакционноспособная конформация глутамата, зафиксированная водородными связями между α-карбоксильной группой молекулы и гуанидиновой группой Arg316 и ее γ-карбоксильной группой и гуанидиновой группой Arg416 или Arg425.

Механизм реакции путем прямой SN2-атаки был установлен с помощью комбинированного метода квантовой механики/молекулярной механики (КМ/ММ) и молекулярной динамики с КМ/ММ потенциалами (КМ/ММ-МД) с добавлением смещающего потенциала методом зонтичной выборки (umbrella sampling). В расчетах квантовой части использовали неограниченный метод теории функционала плотности: функционал PBE0 с дисперсионной поправкой D3 и базис 6-31G\*\*. Молекулярно-механическую часть описывали с помощью силового поля CHARMM. Построение профиля свободной энергии реакции осуществлялось методами анализа взвешенных гистограмм (WHAM) и зонтичного интегрирования (UI).

Для петли, на которой расположен обнаруженный оксианионный центр, найден каноничный структурный мотив среди бактериальных NAGS, что позволяет предположить единство установленного механизма для всех ферментов подгруппы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-13-00012).*

**Литература**

1. Shi D., Sagar V., Jin Z., Yu X., Caldovic L., Morizono H., Allewell N.M., Tuchman M. The crystal structure of N-acetyl-L-glutamate synthase from Neisseria gonorrhoeae provides insights into mechanisms of catalysis and regulation // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 7176-84.