**Характеристика митохондриальной неорганической пирофосфатазы**

***Безпалая Е.Ю.,1 Родина Е.В.1***

*Студентка, 5 курс специалитета*

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

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* [*bezpalaya.katya@gmail.com*](mailto:ivanov@yandex.ru)

Мутации в гене *ppa2*, кодирующем митохондриальную неорганическую пирофосфатазу (мит.PPаза), у человека приводят к летальным кардиопатологиям [1]. Однако этот фермент остается практически не охарактеризованным. Выяснение структурно-функциональных особенностей фермента для понимания причин нарушения клеточной функции при его мутациях является актуальной биохимической задачей.

В задачи настоящей работы входило исследование фермента, имеющего высокую сиквенсную гомологию с человеческим белком, - митохондриальной пирофосфатазы из дрожжей *Hansenula polymorpha* (Hp-митРРаза), а именно, поиск его клеточных эффекторов и структурная характеристика белка.

В то время как для цитоплазматических РРаз и бактериальных ферментов описано несколько природных ингибиторов и активаторов [2, 3], про митохондриальные РРазы такая информация отсутствует. Нами было обнаружено, что каталитическая активность Hp-митРРазы значительно снижается при добавлении таких клеточных метаболитов, как аргинин, орнитин или малонат, и повышается в присутствии NADH или АТP. Поскольку соотношения ATP/ADP и NADH/NAD+ являются мерой метаболического состояния клетки, то обнаруженное влияние этих природных эффекторов может служить способом регуляции активности митРРазы в клетке.

Ранее было показано, что Hp-митРРаза образует в растворе гомодимер. Мы показали, что основная каталитическая активность представлена димерной формой, в то время как мономер существенно менее активен. Таким образом, влияние разнообразных факторов на олигомерное равновесие белка также может служить путем регуляции работы митРРазы.

В рамках работы получена модель пространственной структуры Hp-митРРазы. Молекулярный докинг обнаруженных эффекторов в модель димерного фермента позволил обнаружить потенциальные сайты связывания молекул в нескольких ключевых позициях: на поверхности белка, в его межсубъединичном интерфейсе и активном центре. Для выяснения возможных причин наблюдаемых различий в каталитической активности мономерного и димерного ферментов проведена симуляция молекулярной динамики для этих форм. В результате анализа полученных данных мы обнаружили возможный путь передачи информации от остатков межсубъединичного интерфейса R58 и W59 к ключевому остатку активного центра Y100 Hp-митРРазы. Эти данные будут использованы для изучения особенностей работы фермента и механизма влияния найденных эффекторов.

*Работа частично финансируется из средств гранта РНФ № 23-24-00177.*

**Литература**

1. Kennedy H., Haack T.B., Hartill V., et al. Sudden Cardiac Death Due to Deficiency of the Mitochondrial Inorganic Pyrophosphatase PPA2 // Am J Hum Genet. 2016. Vol. 99(3). P. 674-682.

2. Baykov A. A., Cooperman B. S., Goldman A., Lahti R. Cytoplasmic Inorganic Pyrophosphatase // Progress in Molecular and Subcellular Biology. 1999. Vol. 23. P. 127–150.

3. Н.Н. Воробьева, С.А. Курилова, В.А. Анашкин, Е.В. Родина. Фруктозо-1-фосфат — ингибитор неорганической пирофосфатазы *Escherichia coli* // Биохимия. 2017. Том 82, вып. 8. с. 1232–1236.