

КОНФОРМАЦИОННАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ – ВАЖНОЕ ЗВЕНО В ПАТОГЕНЕЗЕ ВИТИЛИГО

Телегина Т.А.^{1,2}, Вечтомова Ю.Л.¹, Борзова В.А.¹, Буглак А.А.²

¹ *Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

² *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

С целью установления механизмов нарушения меланогенеза при витилиго и проверки гипотезы, согласно которой избыток птеринов при витилиго может приводить к нарушению функционирования фенилаланингидроксилазы – фермента начальной стадии меланогенеза, было исследовано влияние процессов автоокисления и фотоокисления кофермента тетрагидробиоптерина (Н₄Бип) [1, 2] на активность и конформацию фенилаланингидроксилазы (ФАГ).

ФАГ катализирует превращение субстрата L-фенилаланина в L-тирозин с участием кофермента Н₄Бип и молекулярного кислорода и является очень лабильным ферментом со сложной системой аллостерической регуляции активности как субстратом, так и коферментом. Исследование методом УФ флуоресцентной триптофановой спектроскопии позволило нам предположить, что происходит изменение конформации вторичной структуры белковой молекулы ФАГ за счёт взаимодействия с избытком Н₄Бип. Дальнейшие исследования ФАГ методом кругового дихроизма подтвердили переход α -спиральной структуры белка в β -складчатую структуру. Анализ методом ИК-спектроскопии в формате FTIR-ATR позволил заключить, что фермент имеет, в основном, β -складчатую структуру с антипараллельными β -слоями с характеристическим пиком 1627 см⁻¹. Присутствие антипараллельных β -слоев указывало на возникновение белок-белковых взаимодействий, приводящих к агрегации белка. Методом DLS изучали агрегацию ФАГ в присутствии субстрата или в присутствии субстрата и кофермента. Показано присутствие агрегатов с гидродинамическим радиусом 5146 нм, что свидетельствует о нестабильности конформации фермента.

В целом, рассматривая данные по флуоресцентной спектроскопии, КД спектроскопии, ИК-спектроскопии и DLS-анализу, можно заключить, что фермент фенилаланингидроксилаза является конформационно нестабильным белком и нестабильность конформации ФАГ является, очевидно, важным компонентом патогенеза витилиго. Среди факторов, изменяющих конформацию ФАГ, значительная роль, по-видимому, может принадлежать избытку тетрагидробиоптерина, присутствующему при витилиго в 3-5-кратном избытке.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-73-10029.

Библиографические ссылки

1. Telegina T.A., Lyudnikova T.A., Buglak A.A. et. al. Transformation of 6-tetrahydrobiopterin in aqueous solutions under UV-irradiation. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2018. Vol. 354. P. 155-162.
2. Телегина Т.А., Вечтомова Ю.Л., Крицкий М.С. и др. Фотоокисление тетрагидробиоптерина как основа фототерапии витилиго. // Опт. и спектр. 2022. Т. 130. Вып. 5. С. 761–767.