

АНАЛИЗ 3D-СТРУКТУРЫ БЕЛКА СЕМЕЙСТВА МАРЕГ ИЗ ШТАММА ДИКОГО ТИПА БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SUBSP. *AURANTIACA*

К. С. Бондарева

BKristinaSav@yandex.ru;

Научный руководитель – Е. Г. Веремеенко, кандидат биологических наук, доцент

Целью исследования являлся анализ 3D-структуры белка семейства МАРЕГ штамма дикого типа бактерий *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162. В ходе проведенного 3D-моделирования и последующего молекулярного докинга были определены ключевые аминокислотные остатки белка, принимающие участие в связывании глутатиона и взаимодействии мономеров при образовании ферментативно активной тримерной формы.

Ключевые слова: активные сайты МАРЕГ; глутатион-трансфераза; простогландин-Е-синтаза 1; молекулярный докинг.

Белки семейства МАРЕГ (от англ. «Membrane associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism») в большинстве своем являются интегральными трансмембранными белками. На основании своей ферментативной активности они относятся к классу глутатион-трансфераз и обнаружены в клетках всех живых организмов. МАРЕГ задействованы в метаболизме производных арахидоновой кислоты, а также биотрансформации и детоксикации электрофильных субстратов при участии восстановленной формы глутатиона. В условиях *in vivo* функционально активной является гомотримерная форма белка. Каждый из мономеров состоит из четырех трансмембранных α -спиралей, обеспечивающих закрепление в мембране и взаимодействие соседних мономеров друг с другом [1]. Способность к биотрансформации и детоксикации электрофильных субстратов может обуславливать потенциальное участие белков группы МАРЕГ в метаболизме феназиновых соединений в клетках бактерий-продуцентов. Известно, что бактерии рода *Pseudomonas* являются одними из наиболее распространенных продуцентов антибиотиков феназинового ряда. Несмотря на интенсивные исследования, вопрос о механизмах устойчивости продуцентов к собственным феназинам остается открытым.

С использованием сервиса I-TASSER [2] на основании аминокислотной последовательности белка, закодированного в геноме продуцентов феназинов *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* В-162 (дикий тип), было построено несколько вариантов 3D-моделей структуры белка семейства МАРЕГ. Дальнейший выбор наиболее оптимальной

структуры осуществляли на основании следующих параметров I-TASSER: референсный белок 3dww был выбран на основании параметра TM-score. Данный параметр отражает выравнивание нашей модели белка относительно всех белков в библиотеке PDB. Чем выше показатель TM-score, тем более вероятно, что предложенный аналог из PDB и исследуемый белок будет выполнять схожие функции. Учитывался также показатель RMSD^a, отражающий среднеквадратичное отклонение атомных позиций, которые структурно выровнены по показателю TM-align. Поэтому берется нижний показатель RMSD^a среди предложенных белков-аналогов. Также обращалось внимание на параметры IDEN^a и Cov, основанные на TM-align. Отобранный таким образом белок-референс также относится к классу глутатион-трансфераз и является простагландин-Е-синтазой 1, функционирующей в виде гомотримера. Это митохондриальный белок человека.

Согласно данным литературных источников, активные сайты связывания глутатиона у референсной формы локализованы в положении R50 и Y96, что совпадает с локализацией аналогичных сайтов у некоторых изученных в этом отношении прокариотических организмов. На основании данных проведенного нами молекулярного докинга было установлено, что ключевыми сайтами связывания глутатиона у штамма В-162 выступают аминокислотные остатки R50, Y100, S109. Как известно, белки MAPEG активны в форме тримера, то же самое можно предсказать и для бактериальной формы MAPEG из штамма В-162. Можно отметить, что GSSG локализован в белковом «кармане» (рис. 1).

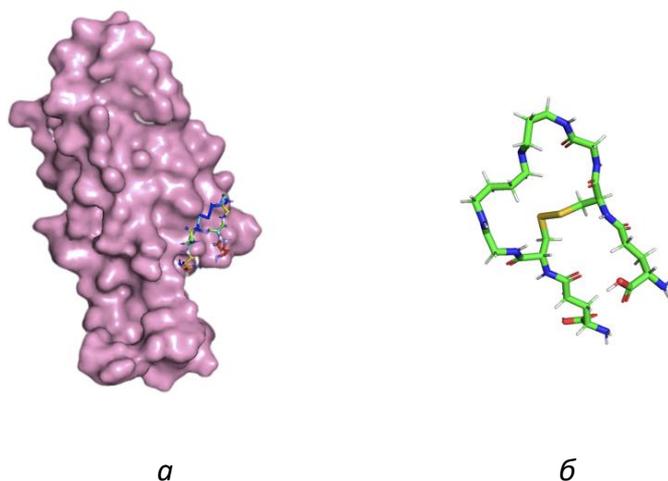


Рис. 1. Локализация GSSG в белковом «кармане»:

а) Вариант положения лиганда относительно белка; б) Модель лиганда окисленного глутатиона

Ещё одним ключевым аминокислотным остатком МАРЕГ является R113 [3]. Этот аминокислотный остаток консервативен и необходим для взаимодействия мономеров друг с другом и стабилизации всего тримерного комплекса. У МАРЕГ штамма В-162 аналогичная аминокислота расположена в позиции 108. Такое положение указывает на то, что потенциально данный аминокислотный остаток также может принимать участие в формировании тримерной активной формы (рис. 2).

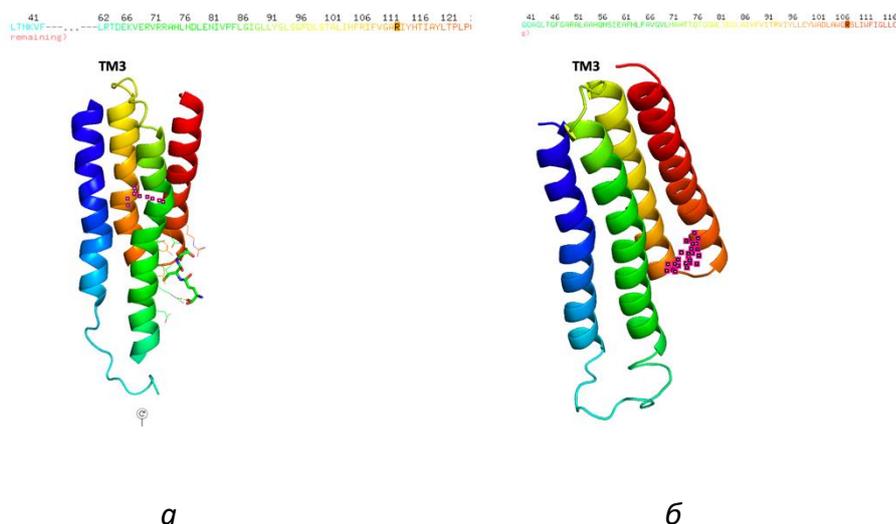


Рис. 2. Сравнение положений активного сайта, ответственного за стабилизацию гомотримерного комплекса:
 а) MGST1 эукариот; б) МАРЕГ из штамма дикого типа
 ТМ3 – трансмембранная цепь 3

Известно, что для нормального функционирования МАРЕГ, в частности MGST1, необходимо взаимодействие трансмембранных доменов (ТМ) 2 и 3 между собой с последующим образованием тримерного комплекса [2]. За такого рода взаимодействия отвечают фенилаланины. У эукариотических белков они располагаются в позициях F85, F106, F109. При анализе структуры бактериальной МАРЕГ штамма В-162 фенилаланины были обнаружены в позициях 65 и 89. Обе позиции также локализованы в пределах ТМ2 и ТМ3 и потенциально могут служить для тех же целей (рис. 3).

В каталитическом домене эукариотического белка МАРЕГ находятся два ключевых аминокислотных остатка Н75 и Е80 [4]. Данные аминокислотные остатки отвечают за взаимодействия между мономерами. У МАРЕГ из штамма В-162 аналогичные аминокислоты присутствуют в 55 и 60 позициях соответственно. Несмотря на то, что данные позиции не совпадают с аналогичными показателями в референсных формах, они, тем не менее локализованы в пределах ТМ2 и потенциально могут выполнять те же функции (рис. 4).

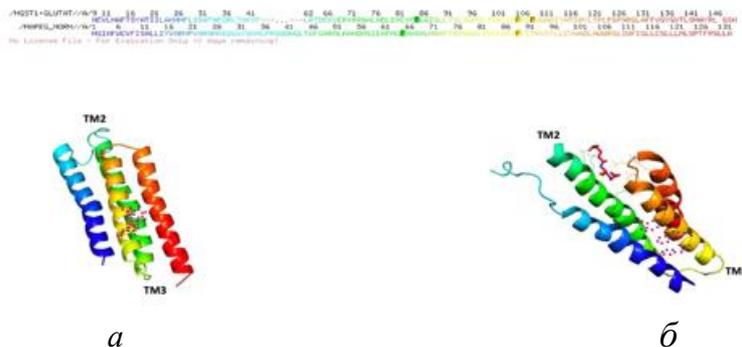


Рис. 3. Поиск консервативных активных (TM2-TM3) сайтов в белка штамма дикого типа:

а) MAPEG из штамма дикого типа; б) MGST1 эукариот TM2 – трансмембранная цепь 2, TM3 – трансмембранная цепь 3

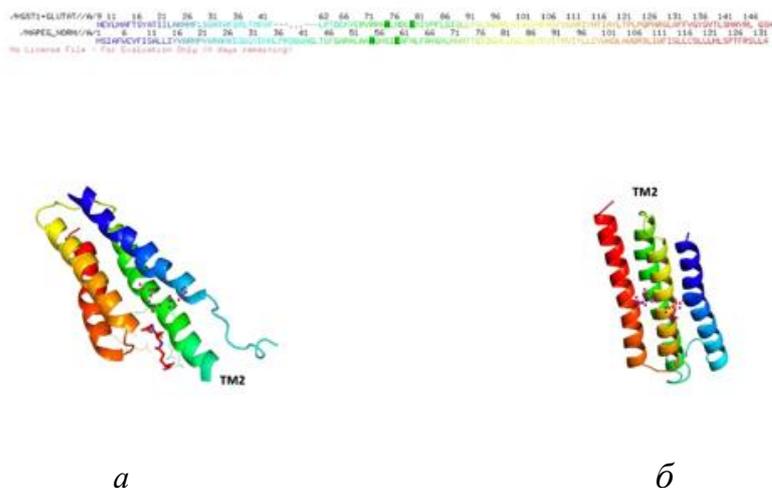


Рис. 4. Поиск каталитического домена в белке штамма дикого типа относительно белка эукариот:

а) MAPEG из штамма дикого типа; б) MGST1 эукариот TM2 – трансмембранная цепь 2

Библиографические ссылки

1. Glutathione transferases in bacteria / N. Allocati [et al.] // FEBS Journal. 2009. № 276. P. 58–75.
2. Zhanggroup [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://zhanggroup.org/I-TASSER/>. – Дата доступа: 11.05.2023.
3. Structural basis for detoxification and oxidative stress protection in membranes / P. J. Holm [et al.] // J. Mol. Biol. 2006. № 360. P. 934–945.
4. Hans, H. The structure of membrane associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism as determined by electron crystallography / H. Hans, C. Jegerschold // Current Opinion in Structural Biology. 2007. № 17. P. 396–404.