

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЧЕТВЕРТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ГЛЮКОАМИЛАЗЫ С ПОМОЩЬЮ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Долгих И.И., Ангарита Лорес К.Э., Ковалева Т.А., Кожокина О.М., Битюцкая Л.А.

Воронежский государственный университет, Россия, 394026, г Воронеж, 89081468527,
dolgih_igor@yahoo.com

Исследование четвертичной структуры гидролитических ферментов приобретает особую значимость в связи с широким применением гидролаз в промышленности, аналитической практике, медицине. Поэтому нами были исследованы особенности надмолекулярной организации фермента глюкоамилазы из плесневого гриба *Aspergillus awamori*. Каталитическую активность глюкоамилазы определяли глюкозооксидазным методом. Содержание белка в исследуемых препаратах измеряли методом Лоури. При изучении четвертичной структуры фермента использовали раствор додецилсульфата натрия (10^{-5} моль/л). Разделение субъединиц проводили методом гель-хроматографии на сефадексе G-200 с дальнейшим определением их молекулярной массы по формуле (1).

Для изучения стехиометрии взаимодействия субъединиц воспользовались сервисом Gramm-X и применили программы Maestro 9.6 и Mole 2. Методом гель-хроматографии установлено, что глюкоамилаза имеет четвертичную структуру, состоящую из двух идентичных субъединиц с молекулярной массой 53,6 кДа, обладающих такой же каталитической активностью как и димерная молекула фермента. Из литературы известно, что посттрансляционное сворачивание простых белков, обладающих незначительной молекулярной массой, отвечающее механизму нуклеации и роста происходит по принципу “все или ничего”. Однако процесс формирования четвертичной структуры белков, обладающих значительной молекулярной массой (более 100 аминокислотных остатков) обычно характеризуется наличием промежуточного кинетического состояния. В этой связи для исследования процесса ассоциации субъединиц глюкоамилазы мы воспользовались бесплатным сервисом по молекулярному моделированию Gramm-X. Полученные модели изучались с помощью программ Maestro 9.6, Mole 2.

Показано, что в 4 из 10 случаев рассмотренных взаимодействий процесс ассоциации происходит с объединением полостей активного центра двух глобул. В 5 случаях полости остаются независимыми и сохраняют форму, как у свободного фермента. Обнаружено, что небольшие полости, расположенные в месте взаимодействия глобул, изменяют свой объем и форму. Выявлены аминокислотные остатки, которые участвуют во взаимодействии двух субъединиц при образовании димерной молекулы энзима. При моделировании взаимодействия четырех глобул получено такое же изменение внутренней структуры, как и при взаимодействии двух глобул. При взаимодействии двух димеров может происходить вытягивание полости активных центров ферментов одного из димеров, которая может достигать $\sim 9400\text{Å}^3$.

$M = 6,698 - 0,987/V_e/V_0$ где V_e – объем выхода V_0 – внешний объем колонки (1)