

МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ ИНГИБИРОВАНИЯ ПЕНИЦИЛЛИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ЦЕФТРИАКСОНОМ

Кривицкая А.В., Хренова М.Г.¹

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Ленинские Горы, 1

Бактериальная резистентность к β -лактамным антибиотикам неуклонно растет. В клинической практике известны случаи выявления резистентности РВР2 из штаммов возбудителя гонореи *Neisseria gonorrhoeae* к цефалоспориновым антибиотикам. Терапия гонореи на сегодняшний день заключается в ингибировании пенициллин-связывающих белков 2 (РВР2) антибиотиком цефтриаксоном.

За возникновение резистентности отвечают мутации в гене *penA*, кодирующем РВР2 *N. gonorrhoeae*. Резистентность растет в ряду РВР2 из дикого штамма FA19 и из мутантных 35/02 и H041 за счет появления новых мутаций. В 35/02 за рост резистентности ответственны три мутации, – I312M, V316T и G545S; в H041, – A311V, V316P, T483S. Мутации в 311, 312 и 316 остатках связаны с изменением положения каталитической пары Ser310 и Lys313. Мутация G545S изменяет положение субстрата в активном центре. Для РВР2 известны константы эффективности ферментов (k_2/K_s). Для FA19 из литературы известны индивидуальные параметры реакции: константа ацилирования (k_2) и константа связывания (K_s). Но для мутантных форм определить эти параметры экспериментально не представляется возможным, ввиду слабого сродства к антибиотику. Таким образом, на данный момент неизвестно, за счет чего именно достигается рост резистентности: снижения сродства РВР2 к антибиотику, снижения скорости ацилирования или изменений в обоих этих процессах.

В работе выполнено молекулярное моделирование механизма реакции ингибирования РВР2 из штаммов FA19, 35/02 и H041 антибиотиком цефтриаксоном. Показано, что изменение положения субстрата в активном центре фермента ввиду мутации G545S отражается в формировании оксианионного центра и, как следствие, высоте энергетического барьера нуклеофильной атаки. Проанализированы молекулярно-динамические траектории фермент-субстратных комплексов, в частности электронно-плотными дескрипторами идентифицированы структуры как реакционные и нереакционные. Показано, что доля реакционных структур падает с ростом резистентности. Просканирована поверхность свободной энергии Гиббса, построены энергетические профили каждой стадии реакции до образования комплекса ацил-фермента. Установлено, что механизм реакции в мутантных РВР2 и из штамма дикого типа отличаются. Разрыв связи C–N и отрыв фрагмента антибиотика происходит последовательно в белке из штамма дикого типа и одновременно в мутантных белках. Новое положение субстрата в каталитическом кармане также влечет за собой изменение сродства к антибиотику. Анализ конформационных изменений петли β_3 - β_4 , показал, что с ростом резистентности сродство РВР2 к цефтриаксону понижается.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 18-74-10056).