СРАВНЕНИЕ ФОТОАКТИВИРУЕМЫХ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗ ИЗ BEGGIATOA И OSCILLATORIA ACUMINATA

Курышкина М.С., Кулакова А.М., Немухин А.В.

Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
mariia.kuryshkina@chemistry.msu.ru

Циклический аденозинмонофосфат (cAMP) - аллостерический эффектор протеинкиназ. Протеинкиназы, фосфорилируют эффекторные белки, изменяя их активность. Таким образом, контроль концентрации cAMP позволяет осуществить настройку биологических процессов. Инструментом контроля концентрации может быть оптогенетическая система на основе фотоактивируемой аденилатциклазы (PAC), катализирующей реакцию превращения аденозинтрифосфота (ATP) в cAMP. Особенно интересен PAC из Beggiatoa (bPAC) ввиду значительного повышения скорости ферментативной реакции при фотовозбуждении (в 300 раз), в то время как для других организмов, в частности для Oscillatoria acuminata (OaPAC), скорость возрастает не более чем в 20 раз. Целью данной работы являлось сравнение ферментов bPAC и OaPAC методами молекулярного моделирования.

В качестве основы для получения полноатомных моделей апо-форм ферментов bPAC и OaPAC были выбраны структуры 5M2A и 4YUT из банка данных Protein Data Bank. bPAC и OaPAC - гомодимеры, мономеры (A и B) которых состоят из фоторецепторного (BLUF) и каталитического (AC) доменов и перемычки. Для систем была проведена молекулярная динамика (МД) с использованием программного пакета NAMD. Все расчеты проводились в каноническом ансамбле NPT (p = 1 атм, T = 298 K). Для белков использовалось силовое поле CHARMM36, для FMN – CGenFF, молекул воды – TIP3P. Шаг интегрирования составил 1 фс, продолжительность траекторий - 200 нс. Далее МД траектории были проанализированы с использованием динамического сетевого анализа. bPAC и OaPAC, представимые в качестве связанных графов, были разбиты на восемь кластеров по алгоритму Гирвана-Ньюмана.

Для bPAC два кластера соответствуют BLUF доменам, четыре - AC доменам и два - перемычке. Для определения возможного пути аллостерической регуляции фермента при фотовозбуждении важно выявить аминокислотные остатки, являющиеся “связующими” между кластерами BLUF и AC доменов и перемычки. Так, для bPAC: LEU75 (A)-GLU124 (A), CYS76(A) - ASN136(A), TYR7(B) - LEU75(B) - “связующие” аминокислотные остатки между кластерами BLUF доменов и перемычки, ARG130(A)-GLU194(A), LYS125(A) - MET264(B), PRO128(A) - LYS263(B) - между кластерами перемычки и AC доменов. Для OaPAC разбиение на кластеры отличается: два кластера соответствуют BLUF доменам, пять - AC доменам и один - перемычке. В качестве “связующих” аминокислот OaPAC можно выделить следующие: SER78(A)-ILE134(A), LEU74(B) - GLU123(B) - между кластерами BLUF доменов и перемычек, GLU170(A)-ARG144(B) - между кластерами перемычек и AC доменов.

Стоит отметить большую “связность” bPAC, что может быть причиной более высокого повышения активности по сравнению с другими ферментами при фотовозбуждении.