

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНЦЕПЦИИ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ВОДОРОДНОГО СВЯЗЫВАНИЯ В МОЛЕКУЛЯРНОМ КОНСТРУИРОВАНИИ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ЛИПАЗЫ

Кондратьев М.С., Кабанов А.В., Комаров В.М.

Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН, Россия  
142290, г. Пущино, ул. Институтская, 3, тел. 8(4967)73-94-04  
E-mail: ma-ko@bk.ru

В процессе хозяйственной деятельности человека постоянно образуются различные формы загрязнителей липидной природы, которые весьма трудно поддаются естественному разложению. В природе, однако, можно найти примеры живых систем с фермент-липазами, эффективно расщепляющими жиры. Одним из таких привлекательных продуцентов липаз является бактерия *Bacillus subtilis*. Выделенные из неё ферменты могут быть определенным образом модифицированы, расширяя диапазоном их термодинамической стабильности без существенной потери исходной активности.

Данная работа посвящена теоретическому анализу путей направленного точечного мутагенеза бактериальной липазы LipA для улучшения ее термостабильных характеристик. В качестве основы для этих изысканий послужила концепция альтернативного водородного связывания [Khechinashvili N.N et al, 2006, 2007], разработанная в лаборатории Структуры и динамики биомолекулярных систем Института биофизики клетки РАН, которая предлагает один из нетривиальных, но достаточно эффективно работающих механизмов повышения термостабильности малых глобулярных белков. На ее базе с помощью современных методов теоретической протеомики нами были проанализированы, прежде всего, особенности сеток водородных связей мезофильных и термофильных гомологов данного белка. На поверхности молекулы фермента были выявлены области аминокислот с различной лабильностью водородных связей. Далее, в исходной липазе LipA были предложены варианты аминокислотных замен значительно улучшающих динамику «переключений» альтернативных водородных связей на поверхности белка и не затрагивающих структуру его активного центра.

Для полученного набора модификаций этой липазы при помощи пакета GROMACS на GPU Nvidia были рассчитаны траектории молекулярной динамики с учетом эффектов среды. Это позволило оценить динамическое поведение замененных остатков и их окружения, а также выделить модификации белков с сохраняющейся, в целом, пространственной структурой. Последующая оптимизация геометрии этих молекул и оценка энергии водородных связей при помощи квантово-химического полуэмпирического метода PM6 и процедур MOZYME и PM6-DH2 из программного пакета MORAC2009 дала возможность уже более детально оценить структурные и термодинамические особенности макромолекул и, таким образом, выделить наиболее перспективный в экспериментальном плане вариант липазы.

По нашему мнению, модифицированный таким образом фермент может найти активное применение в современных технологиях очистки загрязнений липидной природы.