

Характеристика сайтов замен аминокислот и 3D моделей ферментов, гены которых используются в MLST менингококков

¹РНПЦ Эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Менингококк – генетически пластичная бактерия, популяция которой изменяет свои характеристики, приводя к развитию новых гипервирулентных штаммов.

Цель – на основании анализа результатов секвенирования 7 фрагментов генов «домашнего хозяйства» менингококка, выявленных в Республике Беларусь, оценить аминокислотную изменчивость в кодируемых ими белках и установить их локализацию на примере их 3D моделей.

Материалы и методы исследования. Секвенировали 7 фрагментов «генов домашнего хозяйства» у 60 изолятов менингококка: *abcZ* (ABC-переносчик), *adk* (аденилатциклаза), *aroE* (шикимат-дегидрогеназа), *fumC* (фумарат-гидратаза), *gdh* (глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа), *pdhC* (пируват-дегидрогеназа), *pgm* (фосфоглюкомутаза). Исследование проводили в рамках мультилокусного сиквенс-типирования, «золотого стандарта» для характеристики генетической структуры популяции менингококка. Переводили нуклеотидную последовательность в аминокислотную онлайн (<https://web.expasy.org/translate/>). Для поиска описанных гомологов и сравнительного моделирования 3D-структур белков использовали сервис MODELLER: энергозависимый трансляционный белок, фумарат-гидратазу, пируват-дегидрогеназу *Escherichia coli*; аденилаткиназу *Photobacterium profundum*; шикимат-дегидрогеназу *Vibrio cholerae*; глюкозо-6-фосфат-1 дегидрогеназу человека; фосфоглюкомутазу *Burkholderia thailandensis*. Просмотр и редактирование 3D модели белка осуществляли в программе UCSF Chimera. Аннотацию проводили на онлайн ресурсе UniProt (IDP0A9W3, Q6LTE1, Q9KVT3, P05042, P11413, Q2SYG4, P0AFG8).

Результаты. Секвенированный фрагмент ABC-переносчика менингококка (положения 88–231 на модели) наиболее гомологичен с энергозависимым трансляционным белком EttA. В его 3D-структуре описан домен arm (95–139), который, вероятно, способствует взаимодействию белка с рибосомальным протеином L1. Все аминокислотные замены лежат в пределах домена arm.

В области фрагмента аденилаткиназы (положения 48–202) в 3D-структуре описаны сайты связывания АМФ; АТФ; Zn^{2+} . Периферические домены NМbind и LID перемещаются во время катализа. Аминокислотная замена приходится на фрагмент, который при построении 3D-модели формирует изгиб вторичной структуры, и не является сайтом связывания.

В области фрагмента шикимат-дегидрогеназы (положения 109-217) в 3D-структуре описаны сайты связывания шикимата, акцептора H^+ , НАДФ. Аминокислотная замена в 1 из 43 положений приходится на сайт связывания НАДФ ($^{51}N \leftrightarrow R$), которая, возможно, может влиять на функциональную активность фермента. 41,9% замен аминокислот располагались на α -спирали, а 11,6% на β -складчатости.

В области фрагмента фумарат-гидратазы (положения 266-419) в 3D-структуре описаны сайты связывания субстрата, донора/акцептора H^+ , 2 активных сайта, важных для катализа, замен в которых не обнаружено. Однако описана замена в 315-м положении глутамата на глутамин, которая не влияет на значение сродства фермента к S-малату или фумарату, в то время как каталитическая эффективность снижается. Во всех вариантах белка, формируемых аллелями *fumC* белорусской популяции менингококка в этом положении отмечено наличие глутамата.

В области фрагмента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (положения 220-382) в 3D-структуре описаны сайты связывания субстрата, акцептора H^+ , НАДФ. В области фрагмента пируват-дегидрогеназы (положения 702-861) и фосфоглюкомутазы (251-400) описаны сайты связывания Mg^{2+} (PdhC) и Zn^{2+} (Pgm) соответственно. Положения аминокислотных замен трех фрагментов не приходятся на эти сайты.

Заключение. На основании биоинформационного анализа лишь у 2 фрагментов белков выявлено наличие аминокислотных замен в функционально значимых положениях. В ABC-переносчике (ген *abcZ*) в области агт-домена расположены аминокислотные замены в 10 положениях, что, вероятно, может приводить к изменению сродства белка к лиганду. В сайте связывания НАДФ шикимат-дегидрогеназы (ген *aroE*) располагается одна аминокислотная замена ($^{51}N \leftrightarrow R$). Высокая консервативность аденилатциклазы (ген *adk*), единственная аминокислотная замена $^{154}P \leftrightarrow A$ которой приходится на фрагмент, не являющийся сайтом связывания, свидетельствует о важности выполняемых функций. Выявленные сайты мутаций во фрагментах отдельных генов MLST и их комбинаций могут быть основой адаптационных изменений популяции патогена, приводящих к повышению/снижению инвазивности, клональному распространению сиквенс-типов и кло-

нальных комплексов, равно как и резистентности бактерий к противомикробным средствам.