

Усик В.А.

СТРУКТУРНАЯ НЕУСТОЙЧИВОСТЬ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИГАНДОВ НА IDH1 ЧЕЛОВЕКА

Научный руководитель: д-р биол. наук Хрусталёв В.В.

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Фермент изоцитритдегидрогеназа 1 (IDH1) обладает разными сайтами связывания, способными переходить в неустойчивое состояние. Структурная неустойчивость бывает двух типов. Первый, когда происходит переход одной конформации в другую. И второй, когда структура перестает быть заметной при рентгенологическом методе исследования вследствие способности формировать множество энергетически близких конформаций.

Цель: определить структурную устойчивость сайтов связывания IDH1.

Материалы и методы. Для анализа использовались 96 3D цепей фермента изоцитратдегидрогеназы-1. Данные по белкам были взяты с сайта Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). С помощью алгоритма PentUnFOLD 2D были проанализированы структуры белков на предмет наличия в них структурно неустойчивых фрагментов. С помощью алгоритма USSA определена вторичная структура белков. Обзор сайтов связывания проводился на основе сайта UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Результаты и их обсуждение. Белок IDH1 имеет в своем составе 414 аминокислотных остатков. Он имеет сайты связывания с изоцитратом, НАДФ, ионами металлов. Сайты связывания фермента с НАДФ включают аминокислотные остатки в положениях T75-T77, R82, K260, G310-H315, N328. Из них к переходу в неструктурированное состояние склонны только R82 и K260. Ион металла (Mn^{2+} или Mg^{2+}) и аллостерические ингибиторы связываются на противоположных сторонах активного сайта N271-G286 ($\alpha 10$). В этом фрагменте к переходу в неструктурированное способны участки N271-Y272 и Q277-S280. Альфа-спираль ($\alpha 10$) является подверженной к переходам в состояние петли согласно PentUnFOLD 2D. Действительно, в открытой, неактивной форме IDH1 регуляторный сегмент принимает петлевую конформацию и выпячивается в сайт связывания изоцитрата. Боковая цепь Asp279 занимает сайт связывания изоцитрата и образует водородные связи с Ser94. Изоцитрат разрывает водородные связи между этими остатками и позволяет Asp279 хелатировать ион металла в конфигурации активного фермента с образованием альфа-спирали. После завершения катализа и высвобождения продукта α -кетоглутарата и НАДФН+ фермент может либо перезагрузить НАДФ и изоцитрат для продолжения каталитической реакции, либо снова изменить свою конформацию на открытую, неактивную форму. Переход закрытой формы в открытую мог происходить двумя путями: 1) регуляторный сегмент сам инициирует действие раскручивания для изменения конформации α -спирали в конформацию петли, которая запускает общее конформационное изменение; 2) взаимодействия между остатками в задней щели вызывают конформационные изменения больших и малых доменов одной и той же субъединицы и закрытие задней щели. Сайт связывания фермента с субстратом включает T77, S94-R100, R109, R132, K212, из которых только T77 не склонен к переходу в неструктурированное состояние. Особый интерес представляет положение Arg132, миссенс-мутация на His в котором приводит к новой форме каталитической активности IDH1: фермент превращает α -KG в онкометаболит 2-гидроксиглутарат, который способствует развитию глиобластом. Шарнирная точка представляет собой область остатков A134-A141, которая образует петлю, соединяющую малый домен и домен застежки. Эта область демонстрирует повышенную лабильность.

Выводы: аминокислотные остатки A134-A141 и N271-G286 обладают высокой степенью структурной неустойчивости. Остатки R82 и K260 склонны к переходу в неструктурированное состояние. Только сайт T77 связывания фермента с субстратом не склонен к переходу в неструктурированное состояние.