

*Ю.А. Бондарь, Е.Г. Ясевич*

## **САЙТЫ СВЯЗЫВАНИЯ ИОНОВ ХЛОРА БАКТЕРИАЛЬНЫМИ БЕЛКАМИ**

*Научные руководители: канд. биол. наук, доц. В. В. Хрусталёв,*

*ассист. В. В. Побойнев*

*Кафедра общей химии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*Y. A. Bondar, K. G. Yasevich*

## **BINDING SITES OF CHLORIDE IONS IN BACTERIAL PROTEINS**

*Tutors: PhD, Associate Professor V.V. Khrustalev, MD V.V. Poboinev*

*Department of General Chemistry,*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** В статье рассмотрены особенности контактов каждого аминокислотного остатка белков *Escherichiacoli* с хлорид-ионами. Только остатки аргинина достоверно чаще связывают ионы  $Cl^-$  функциональными группами боковых цепей. Анализ вторичной структуры белков *Escherichiacoli* показал, что наиболее часто хлорид-ион связывается с мотивом  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж.

**Ключевые слова:** хлор, сайты связывания, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*.

**Resume.** In this article we described the types of contacts of each amino acid residue in proteins of *Escherichia coli* with chloride ions. Only residues of arginine significantly more frequently bind  $Cl^-$  ions with their functional groups from side chains. Analysis of the secondary structure of *Escherichia coli* proteins showed that most often chloride ions are bound by the  $\beta$ -coil- $\beta$  structure.

**Keywords:** chlorine, binding sites, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*.

**Актуальность.** Хлорид-ион является важнейшим анионом во всех живых организмах. Известно большое количество трёхмерных структур белков, полученных методом рентгеноструктурного анализа, в кристаллах которых находятся хлорид-ионы. Тем не менее, работы о специфике связывания хлорид-ионов с белками остаются немногочисленными. Сложности в интерпретации структурных данных связаны с тем, что хлорид-ион представляет собой основание Льюиса, а не кислоту, как катионы металлов, координационные сферы для которых легко описываются многими компьютерными алгоритмами [1]. Известным фактом является то, что хлорид-ионы предпочитают связываться с боковой цепью аргинина в большей степени, чем с боковой цепью лизина, а также то, что часто в этот процесс включаются атомы азота из основной цепи белка [2]. В настоящем исследовании использованы белки микроорганизмов с низкой (*Staphylococcus aureus*), средней (*Escherichiacoli*) и высокой (*Mycobacterium tuberculosis*) GC-насыщенностью геномов, что должно повысить репрезентативность выборки.

**Цель:** выявить наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки, входящие в состав сайтов связывания хлора белками *Escherichiacoli*, а также линейные мотивы вторичной структуры, в которых эти остатки находятся. Определить наиболее часто встречающиеся мотивы вторичной структуры для связывания хлорид-иона в белках *Escherichiacoli*. Сравнить полученные данные с аналогичными имеющимися по белкам *Mycobacterium tuberculosis* и *Staphylococcus aureus*.

### **Задачи:**

1. Собрать выборку негомологичных белков *Escherichiacoli*, содержащих хлорид-ионы.

2. Провести протонирование 3D структур белков *insilico*.

3. Анализ аминокислотного состава и линейных мотивов вторичной структуры данных белков и определение процентного соотношения аминокислотных остатков, связывающих ионы хлора.

**Материал и методы.** Из банка данных 3D структур белков (PDB: ProteinDataBank) была получена информация о структуре белков *Escherichiacoli*, содержащих хлорид-ионы. После этого выборка была очищена от гомологичных белков с помощью алгоритма DecreaseRedundancy. Финальная выборка включает 184 белка. На следующем этапе данные белки были протонированы (алгоритм HADD)[3]. С помощью оригинального алгоритма на основе MSExcel на каждой структуре были выявлены аминокислотные остатки, расположенные на расстоянии до 5 Ангстрем от хлорид-иона. Для каждого такого остатка определяли, какой именно атом наиболее близок к хлорид-иону. Вторичную структуру белков определяли при помощи алгоритма DSSP. На основе оригинального алгоритма были определены мотивы вторичной структуры, с которыми наиболее часто контактирует хлорид-ион. Достоверность различий в вероятности связывания с помощью t-теста для относительных величин.

**Результаты и их обсуждения.** Несколько аминокислотных остатков встречаются в сайтах связывания хлорид-ионов достоверно чаще, чем в участках белков *Escherichiacoli*, не взаимодействующих с этими ионами: аргинин, лизин, серин, аспарагин, глутамин, гистидин, фенилаланин, тирозин, триптофан. Остатки перечислены в порядке убывания их частоты встречаемости в сайтах связывания хлорид-ионов.

Если же перечислить их в порядке убывания степени перераспределённости, то ряд будет выглядеть иначе: аргинин, гистидин, триптофан, аспарагин, глутамин, лизин, фенилаланин, тирозин.

В свою очередь, в белках *Mycobacteriumtuberculosis* и *Staphylococcus aureus* четкую предпочтительность к связыванию проявляют аргинин и аспарагин. Данные аминокислотные остатки связывают хлорид-ионы атомами положительно заряженной боковой цепи.

При дальнейшем анализе вторичной структуры белков *Escherichiacoli* было выявлено, что аминокислотные остатки из мотивов  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль,  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж и  $\alpha$ -спираль-петля- $\alpha$ -спираль связывают хлорид-ионы достоверно чаще, чем должны были бы, в изученных 184 белках *Escherichiacoli*. Наиболее перераспределённым мотивом при этом является  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль, а наиболее часто встречающимся –  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж.

В белках *Mycobacteriumtuberculosis* наиболее часто хлорид-ион связывается со следующими мотивами вторичной структуры:  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль,  $\alpha$ -спираль-петля- $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж.

Что касается белков *Staphylococcus aureus*, то хлорид-ион также, как и в белках *Mycobacteriumtuberculosis*, предпочтительно связывается с мотивами  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль,  $\alpha$ -спираль-петля- $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж.

### **Выводы:**

- 1 Аргинин —аминокислотный остаток, который наиболее часто связывается с хлорид-ионом в белках изученных бактерий.
- 2 Аргинин связывает хлорид-ион атомами положительно заряженной боковой цепи, а именно гуанидиновым фрагментом молекулы.
- 3 Мотив  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль является наиболее часто встречающимся при связывании хлоридов в белках *Mycobacteriumtuberculosis* и *Staphylococcus aureus*.
- 4 В белках *Escherichiacoli*, помимо мотива  $\beta$ -тяж-петля- $\alpha$ -спираль, достоверно чаще встречается мотив  $\beta$ -тяж-петля- $\beta$ -тяж.

### **Литература**

1. Khrustalev, V.V. Magnesium and manganese binding sites on proteins have the same predominant motif of secondary structure / V.V. Khrustalev, E.V. Barkovsky, T.A. Khrustaleva // Journal of Theoretical Biology. – 2016. – Vol. – 395. – P. 174-185.
2. Carugo, O. Buried chloride stereochemistry in the Protein Data Bank / O. Carugo // BMC Structural Biology. – 2014. – Vol. 14. – N. 19.
3. Li, Y..HAAD: a quick algorithm for accurate prediction of hydrogen atoms in protein structures / Y. Li, A. Roy, Y. Zhang // PLoS One. – 2009. – Vol. 4. – e6701.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ