

Комлач И.А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ

Научный руководитель: магистр мед. наук, ассист. Побойнев В.В.

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Одной из серьёзных и актуальных проблем в настоящее время в медицине являются внутрибольничные инфекции, возбудители которых обычно имеют повышенную устойчивость к антибиотикам. Бактериальная резистентность является растущей проблемой во всём мире, и, по прогнозам всемирной организации здравоохранения, без разработки новых и более эффективных методов лечения смертность может возрасти до 10 миллионов к 2050 году. Одними из возбудителей внутрибольничных инфекций являются бактерии родов *Klebsiella* и *Staphylococcus*. Бактерии этих родов вызывают различные заболевания, а их резистентность к антибиотикам с каждым годом возрастает. Известно, что при обработке антибиотиками эти бактерии переходят в состояние биоплёнки, в котором их устойчивость значительно повышается. Поэтому, поиск способов борьбы с биоплёнками является актуальным на настоящий момент. Поскольку цистеиновые протеазы демонстрируют антимикробную активность в отношении широкого спектра бактерий, нами проведён детальный анализ стабильности вторичной структуры белков этого семейства с дальнейшей целью разработки новых антибактериальных препаратов.

Цель: определение структурной стабильности цистеиновых протеаз и их активных центров с целью дальнейшей разработки новых антибактериальных препаратов.

Материалы и методы. Информация об аминокислотной последовательности цистеиновых протеаз была взята из банка данных белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank. Всего было отобрано 8 структур (PDB ID: 5EF4, 1X9Y, 2P7U, 3BWK, 5EZQ, 3BPF, 3MOR, 1GCB). Изучение вторичной структуры исследуемых белков осуществлялось с помощью алгоритма DSSP. Для визуализации и наглядного изучения пространственных структур белков использовалась компьютерная графическая программа RasMol. Определение структурной стабильности активного центра ферментов проводилось с помощью сервера PentUnFOLD.

Результаты и их обсуждение. С помощью алгоритма PentUnFOLD 3D установлено, что изученные цистеиновые протеазы характеризуются нестабильной вторичной структурой: от 61 до 77% аминокислотных остатков способны к структурным переходам. Активный центр цистеиновых протеаз сформирован тремя аминокислотными остатками: цистеином, гистидином и аспарагином. Цистеин активного центра всех изученных ферментов, за исключением цистеиновой протеазы блеомицин (PDB ID: 1GCB), входит в состав нестабильного N-конца альфа-спирали. N-конец альфа-спирали, в состав которой входит цистеин активного центра, определяется как нестабильный двумя версиями алгоритма PentUnFOLD (2D и 3D). Гистидин активного центра имеет разный уровень стабильности: у четырёх ферментов он располагается на N-конце бета-тяжа, который может переходить в петлю или полностью неструктурированное состояние, у одного фермента гистидин входит в состав койла, который также может переходить в полностью неструктурированное состояние, у двух ферментов гистидин принадлежит упорядоченному бета-тяжу согласно 3D версии алгоритма PentUnFOLD. У одного фермента, фальципаина-3 (PDB ID: 3BWK), гистидин активного центра находится на стабильном N-конце бета-тяжа. Аспарагин активного центра у изученных ферментов входит в состав петли, которая определяется как нестабильная 3D версией алгоритма PentUnFOLD, и только у фермента с PDB ID 1X9Y входит в состав стабильной петли.

Выводы: таким образом, активный центр изученных цистеиновых протеаз сформирован элементами вторичной структуры, которые могут подвергаться структурным переходам, что видимо необходимо в процессе связывания данных ферментов с их лигандами.