

**Изучение эффективности гидролиза полиглутаминовых субстратов
субъединицами 20S протеасомы****Научный руководитель – Бачева Анна Владимировна****Морозов Александр Александрович***Студент (специалист)*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия*E-mail: a.a.morozov.fbb@yandex.ru*

В клетках эукариот и большинства архей за направленный гидролиз неправильно фолдированных, поврежденных или отработанных белков отвечает убиквитин-протеасомная система, и ее центральный протеолитический фермент - протеасома. Протеасома представляет собой мультисубъединичный белковый комплекс, состоящий из центральной части, 20S протеасомы, и регуляторных субчастиц. Различают конститутивные и иммуно 20S протеасомы. Сборка иммуно протеасом начинается в ответ на воздействие провоспалительных цитокинов, например γ -интерферона. Её основная функция - генерация пептидов для передачи комплексу МНС I. Каталитическими являются субъединицы $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 5$, а также $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ в иммунопротеасоме, имеющие различную субстратную специфичность: $\beta 1$ - каспазную, $\beta 1i$ - химотрипсин-подобную, $\beta 2/\beta 2i$ - трипсин-подобную, $\beta 5/\beta 5i$ - химотрипсин-подобную. Существуют противоречивые данные о способности эукариотической протеасомы справляться с гидролизом поли-глутаминовых последовательностей в белках. Низкая протеолитическая активность протеасомы по отношению к указанным последовательностям может приводить к таким нейродегенеративным заболеваниям, как болезнь Хантингтона. Изучив структурные данные о строении карманов связывания в активных центрах β -субъединиц, представленные в статье [1], мы предположили, что именно субъединица $\beta 1$ должна гидролизовать поли-Q участки с наибольшей продуктивностью, хотя участие других субъединиц также возможно.

Цель данной работы - сравнить эффективность протекания гидролиза полиглутаминовых субстратов в различных субъединицах протеасомы.

В программе AutoDockVina 1.1.2 был выполнен докинг субстрата Dabcyl-KQ5GD-EDANS в активные центры каталитических субъединиц протеасомы, структуры взяты из базы данных PDB (PDB ID конститутивной протеасомы: 3UNE, иммунопротеасомы: 3UNH). Структура лиганда нарисована в программе MarvinSketch v16.12.19. В качестве результатов для каждой из субъединиц получены pdb-файлы, содержащие различные варианты расположения субстрата в активном центре, которые были проанализированы с помощью программы PyMol V2.0.0. Для сравнения теоретических и экспериментальных данных был изучен гидролиз субстратов Dabcyl-KQ5GD-EDANS, Dabcyl-KQ10GD-EDANS образцами конститутивной и иммунопротеасомы, полученных соответственно из мозга и селезёнки *Mus musculus*. За ходом гидролиза следили по увеличению сигнала флуоресценции. Продукты гидролиза проанализированы с помощью хромато-масс-спектрометрии. Сопоставление полученных теоретических и экспериментальных данных позволяет говорить о преимущественном гидролизе олигоглутамин-содержащих пептидов бета-субъединицами с гидрофильными карманами связывания.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-04-01261

Источники и литература

- 1) Huber, E., Basler, M., Schwab, R., Heinemeyer, W., Kirk, C., Groettrup, M., Groll, M. Immuno- and Constitutive Proteasome Crystal Structures Reveal Differences in Substrate and Inhibitor Specificity // Cell. 2012, №148, p. 727–738.