

Механизмы влияния осмолитов на биолюминесцентную реакцию бактерий

Научный руководитель – Немцева Елена Владимировна

Суковатый Л.А.¹, Лисица А.Е.²

1 - Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия, *E-mail: suk-lev@yandex.ru*; 2 - Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия, *E-mail: ALisitsa@sfu-kras.ru*

Осмолиты - это низкомолекулярные соединения, которые синтезируют и накапливают клетки для защиты от неблагоприятных внешних факторов (температуры, давления, рН и т.д.). Известно, что присутствие ряда осмолитов вызывает, помимо нормализации осмотического давления цитоплазмы, увеличение стабильности структуры белков и сохранение их биологической активности. Но эффект осмолитов на биохимические процессы еще не до конца изучен. Целью данной работы было выявить механизмы влияния глицерина и сахарозы на биолюминесцентную реакцию, катализируемую бактериальной люциферазой с помощью методов молекулярной динамики (МД). Были описаны эффекты, производимые осмолитами на структурные и динамические свойства фермента.

Для расчета МД была использована кристаллическая структура бактериальной люциферазы *V. harveyi* (PDB ID: 3FGC). Подготовка систем, релаксация и вычисление МД люциферазы в окружении молекул воды в присутствии молекул сахарозы и глицерина (10, 20, 30, 40 вес.%) в течение 40 нс были проведены с помощью программного пакета GROMACS 5.1.4. и силового поля CHARMM36.

Была проанализирована плотность пространственного распределения молекул осмолитов вблизи поверхности люциферазы и установлено, что молекулы сахарозы в течение всего времени МД остаются у входа в активный центр, не проникая внутрь. В то же время глицерин, обладая меньшим размером, имеет возможность войти в активный центр фермента, а при высоких концентрациях присутствует там постоянно. Это может объяснять причины снижения квантового выхода биолюминесцентной реакции, наблюдающегося при высоких концентрациях глицерина [1].

Также было установлено изменение конформации боковых цепей аминокислотных остатков, отвечающих за связывание одного из субстратов люциферазы - восстановленного флавина. Получено, что с ростом концентрации сахарозы боковая цепь α Glu175 принимает единственную конформацию (mt-10, согласно библиотеке ротамеров С. Ловелла), которая соответствует связанному комплексу люциферазы с флавином.

При этом в отсутствие сахарозы часть времени моделирования боковая цепь α Glu175 может принимать вторую (известную из рентгеноструктурных данных) конформацию, при которой невозможно связывание субстрата в активном центре белка. Таким образом, можно предположить, что в присутствии сахарозы формируется конформация активного центра с более высокой каталитической активностью, что хорошо согласуется с экспериментально наблюдаемыми эффектами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90118, а так же РФФИ и Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-44-243002.

Источники и литература

- 1) Суковатый Л. А. и др. Влияние осмолитов на биолюминесцентную реакцию бактерий: структурно-динамические аспекты // Биофизика, Т. 65. 2020. No. 6. С. 1135-1141.