Анализ влияния растворителей на динамику структуры NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы с использованием различных силовых полей

Научный руководитель – Деева Анна Андреевна

Пахтусов Дмитрий Сергеевич

Студент (бакалавр)

Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия

E-mail: pahtusovdima6@gmail.com

Ферментативная система, состоящая из бактериальной люциферазы (BLuc) и NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы (Red) может применяться в качестве экспресс-метода для обнаружения загрязняющих веществ, таких как нефтепродукты, в объектах окружающей среды. BLuc катализирует биOLUMИнесцентную реакцию, а Red предоставляет необходимый для нее субстрат. В результате совместной работы двух ферментов наблюдается непрерывное свечение, по изменению которого можно судить об уровне загрязнения исследуемой пробы. Ранее при анализе совместной работы BLuc-Red вязких средах было обнаружено, что эффективность работы биферментной системы в значительной степени определяется активностью Red [1]. Таким образом, для применения данной тест-системы требуется изучение того, как различные растворители влияют на структуру и динамику NAD(P)H:FMN-оксидоредуктазы.

В данной работе проводился сравнительный анализ силовых полей GROMOS96 54a7 и CHARMM36 при моделировании Red в присутствии растворителей, используемых для анализа содержания нефтепродуктов в почве, с помощью метода классической (полно-атомной) молекулярной динамики, реализуемого в программном пакете GROMACS 2022.4. Структура Red была взята из белкового банка данных (PDB ID: 1VFR), молекулы лигандов были удалены перед моделированием. Для моделирования было подготовлено четыре системы: (1) содержащая белок, молекулы воды и ионы Na⁺, и белок в водном растворе (2) ацетона, (3) ДМСО и (4) Этанол (с массовой долей 10%). Для каждой из систем было выполнено по три независимых запуска молекулярной динамики длительностью 100 нс.

В ходе моделирования в силовом поле GROMOS96 54a7 наблюдалась агрегация молекул ДМСО с белком, в результате чего подвижность структуры значительно снизилась по сравнению с результатами, полученными в воде, водном растворе ацетона и этанола. При моделировании в силовом поле CHARMM36 изменилась динамика некоторых аминокислотных остатков в составе гибкого домена (от 90 до 134 и от 197 до 205 а.е.) в присутствии растворителей. Этот участок структуры образует сайт связывания для одного из субстратов Red – NAD(P)H. Поскольку активный центр фермента сформирован из остатков, расположенных на разных субъединицах гомодимера Red, была проведена сравнительная оценка водородных связей между субъединицами; однако никаких существенных различий обнаружено не было.

Таким образом, наличие различных растворителей в реакционной смеси изменяет динамику функционально-важных участков Red, а также может повлиять на его специфичность к субстратам, что требует дополнительной проверки. Это важно учитывать при оптимизации реакционной смеси для биотестирования.

Источники и литература

- 1) Sutormin O. S. et al. Coupling of NAD (P) H: FMN-oxidoreductase and luciferase from luminous bacteria in a viscous medium: Finding the weakest link in the chain //Photochemistry and Photobiology. – 2024. – Т. 100. – №. 2. – С. 465-476.