

КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ КАРБОГИДРАЗ

Ковалева Т.А., Холявка М.Г., Кожокина О.М., Битюцкая Л.А., Трофимова О.Д.

Россия, 394006 г. Воронеж, Университетская площадь 1.

Проведено сравнение пространственных структур макромолекул некоторых карбогидраз: глюкоамилаз из *Aspergillus awamori* и *Saccharomycopsis fibuligera*. Построены модели белковых глобул ферментов с указанием положения функционально-значимых групп в полости активного центра. Материалы РСА были получены из базы данных <http://www.RCSB.org/pdb>.

С помощью программы MolScript на основе данных РСА получена объемная модель третичной структуры макромолекулы глюкоамилазы из *A. awamori* X100. Показано, что активный центр фермента расположен в сквозной полости (1.5 нм), ограниченной следующими аминокислотными остатками: Leu58, Leu130, Leu177, Leu319, Trp178, Trp417, Phe187. С одной стороны активного центра глюкоамилазы сосредоточены Asp55 и Glu179, а с противоположной – Glu400, карбоксильные группы которых осуществляют гидролиз α-1,4-гликозидных связей крахмала. В состав активного центра фермента из *S. fibuligera* входит остаток Glu456, являющийся аналогом Glu400 в молекуле глюкоамилазы из *A. awamori*. Микроокружение активного центра образуют Gly467, Gly353, Ala468, Tyr63.

Изучение пространственных моделей субъединиц молекул глюкоамилазы из *A. awamori* и *S. fibuligera* позволило выявить следующие черты сходства третичной структуры этих ферментов: 1) аналогичную плотную упаковку гидрофобного ядра; 2) положение активного центра в полости (щели), наличие в ней молекул воды; 3) участие в каталитическом акте карбоксильной группы Glu. Подобные результаты могут свидетельствовать о сходстве в механизмах катализа реакции гидролиза крахмала, осуществляемой изучаемыми ферментами.

Исследование надмолекулярного уровня организации глюкоамилаз показало, что молекулы имели в своем составе 2 тождественные субъединицы с молекулярными массами 53,6 кДа.

Таким образом, компьютерное моделирование структуры сложных олигомерных ферментов в сочетании с методами ИК-спектроскопии, энзиматическими методами анализа, ионообменной и гель-хроматографией позволяет дать более корректную трактовку результатов исследования структурно-функциональных свойств карбогидраз и способствует выявлению молекулярных механизмов реакции гидролиза полимерных субстратов.