

## ПОИСК И ТЕСТИРОВАНИЕ ВЫСОКОАФФИННЫХ ЛИГАНДОВ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ ИНУЛИНАЗЫ

Холявка М.Г., Кондратьев М.С.<sup>1</sup>, Аргюхов В.Г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет», Россия, 394006 Воронеж, Университетская пл. 1, тел. +7 (473)2208586, факс: +7 (473)2208755, e-mail: [holyavka@rambler.ru](mailto:holyavka@rambler.ru)

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, Россия, 142290 Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, д.3, тел. +7-4967-739404, e-mail: [ma-ko@bk.ru](mailto:ma-ko@bk.ru)

Инулиназа (2,1-β-D-фруктан-фруктаногидролаза, КФ 3.2.1.7) расщепляет инулин и другие фруктосодержащие полимеры до фруктозы, которая является источником углерода и энергии для растений и микроорганизмов. Целью работы был поиск методами компьютерного моделирования высокоаффинных лигандов для иммобилизации инулиназы, тестирование их эффективности на предмет связывания с белком. В качестве модели фермента, ставшей мишенью для докинга, в банке данных Protein Data Bank была выбрана структура инулиназы из *Aspergillus ficuum* (код 3SC7). Важно отметить, что эта инулиназа была кристаллизована вместе с некоторыми органическими лигандами, в том числе с D-маннозой, которая, по данным литературы, является активатором фермента. Известное местоположение этого сахара на поверхности фермента дало нам возможность прокалибровать выбранный пакет для докинга (Autodock VINA) на вполне конкретном примере комплекса маннозы и инулиназы.

Изученный нами набор лигандов представлял собой как относительно простые сахара (активаторы, ингибиторы, продукты ферментативного катализа), так и высокомолекулярные соединения, гликопротеины, пролино-фениланиновый пептид, полилактат, кофеин, а также полимеры – используемые и предлагаемые нами матрицы для иммобилизации фермента. Каждый из лигандов в расчете докинга имел максимальную конформационную свободу: допускалось вращение функциональных групп вокруг всех одинарных связей. Заряды на молекуле лиганда расставлялись автоматически – в пакете MGLTools 1.5.6.rc3. На основе сравнительного анализа энергий и мест связывания лигандов, а также литературных данных о строении каталитического центра инулиназы, были сделаны предположения о локализации и механизмах взаимодействия уже используемых и предлагаемых нами матриц для иммобилизации с молекулой фермента. На моделях фермента инулиназы, лигандов и фрагментах матриц для иммобилизации были определены аффинности связывания и на основании этого сделаны выводы о перспективности экспериментального тестирования некоторых из соединений в качестве иммобилизационных агентов для инулиназы. Основным кандидатом на роль такого агента выступают гликопротеины, для которых предлагается дополнительное включение остатка цистеина – с целью создания конструкций с дисульфидными «якорями» к подложке.