

СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПИРОФОСФАТАЗЫ *OGATAEA PARAPOLYMORPHA*

Безпалай Е.Ю.,^а Родина Е.В.,^а Курилова С.А.,^б Воробьева Н.Н.^б

^а*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, e-mail: bezpalaya.katya@gmail.com*

^б*НИИ ФХБ МГУ имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1*

Митохондриальная изоформа неорганической пирофосфатазы (РРА2) у дрожжей и человека играет важную роль в аэробном метаболизме [1]. Структура митохондриальных пирофосфатаз пока не решена экспериментально. Настоящая работа направлена на решение актуальной биохимической задачи: выяснения структурных особенностей фермента для понимания принципов его функционирования и регуляции.

Основным объектом данной работы является митохондриальная пирофосфатаза дрожжей *Ogataea parapolymorpha* (OpPPA2), имеющая высокую схожесть с ферментом человека. Биохимические и структурные исследования показывают, что динамическое поведение OpPPA2 может играть важную роль в регуляции ее активности. Гомологичным моделированием была получена пространственная структура этого фермента и проведена симуляция молекулярной динамики. Согласно ее результатам, субъединицы димера в растворе принимают различные конформации. Установлено, что диссоциация димера OpPPA2 на мономеры сопровождается значительным снижением каталитической активности. Симуляция молекулярной динамики мономера и димера OpPPA2 позволила предположить путь передачи информации из межсубъединичного интерфейса в активный центр. Также структурный анализ позволил найти возможные сайты связывания недавно обнаруженных аллостерических активаторов фермента, NADH и АТР, в молекуле фермента. Однако выдвинутые предположения нуждаются в экспериментальном подтверждении.

С этой целью предполагается использовать ЯМР спектроскопию. Этот метод позволит решить структуру фермента, охарактеризовать его динамические свойства, а также экспериментально определить сайты связывания найденных эффекторов. Получение белка, который можно исследовать с помощью ЯМР, состоит из нескольких стадий изотопного мечения. К настоящему моменту мы получили генно-инженерную культуру клеток *E. coli*, адаптированную к росту в D₂O и экспрессирующую OpPPA2, а также образец белка, меченный ¹⁵N и частично меченный дейтерием.

Таким образом, результаты расчетной и биохимической части нашей работы позволили выдвинуть предположения о возможных путях регуляции активности OpPPA2 и структурных особенностях ее работы. Эти предположения планируется проверить с помощью метода ЯМР.

Литература

1. Kennedy H., Haack T.B., Hartill V., et al. Sudden Cardiac Death Due to Deficiency of the Mitochondrial Inorganic Pyrophosphatase PPA2 // *Am J Hum Genet.* 2016. Vol. 99(3). P. 674-682.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 23-24-00177.