

Щербинин Д.С., Веселовский А.В., Рубцова М.Ю., Григоренко В.Г., Упоров И.В., Егоров А.М. ФГБУ ИБМХ, Москва; МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТОЧЕЧНЫХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ПОЛОЖЕНИЯХ 182 И 39 НА ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬ БЕТА-ЛАКТАМАЗ ТЕМ ТИПА МЕТОДАМИ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Цель: исследование методами молекулярной динамики влияния аминокислотных замен в положениях 182 и 39 на конформационную подвижность и термостабильность бета-лактамаз ТЕМ типа, обуславливающих устойчивость бактерий к бета-лактамным антибиотикам.

Материалы и методы: в работе исследованы бета-лактамазы ТЕМ-1 (дикий тип), ТЕМ-32 (замены М69I, М182T) и ТЕМ-72 (замены Q39K, М182T, G238S, E240K). Для форм ТЕМ-32 и ТЕМ-72 проводили дополнительные модификации с введением обратной замены исследуемых остатков (Т182М и К39Q). Расчеты молекулярной динамики проводились при помощи пакета программ gromacs-5.1 в явно заданном растворителе (ТIP3P) на траектории 25 нс при температуре 300 и 400К, с использованием силового поля amber99-SB. Анализ полученных траекторий проводился при помощи программ пакета gromacs-5.1, VMD-1.9.1 и метода главных компонент (РСА).

Результаты: было проведено сопоставление поведения бета-лактамаз разных субтипов (ТЕМ-1, ТЕМ-32 и ТЕМ-72) с искусственными формами ферментов, в которых были проведены обратные мутации аминокислотных остатков в положениях 182 и 39. Результаты РСА показали, что в ходе динамики при повышенной температуре происходит смещение скользящего типа альфа-субдоменов относительно бета-листового субдомена. Для бета-лактамазы ТЕМ-72 стабилизирующий эффект наблюдался для замен Met182Thr и Gln39Lys, причем он был наиболее выраженным для замены Met182Thr. Было выявлено, что в ряде случаев введение единичной замены М182Т или совместной замены М69I и М182Т приводит к снижению подвижности остатков, образующих активный центр фермента, что согласуется с литературными данными о стабилизирующем эффекте замены М182Т и сохранении активности ферментов при повышенных температурах.

Выводы: Методами молекулярной динамики был показан стабилизирующий эффект мутации М182Т, более выраженный для бета-лактамазы ТЕМ-72.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-14-00014