

АННОТАЦИЯ

научно-квалификационной работы Соловьевой Анастасии Юрьевны на тему «Активация и изучение каталитических свойств тиоцианатдегидрогеназы из галоалкалофильной бактерии *Thiokalivibrio paradoxus*»

(06.06.01 Биологические науки, 1.5.4 Биохимия)

Лишь для некоторых медь-содержащих ферментов были изучены процессы встраивания ионов меди в активный центр и выявлены металлошапероны, которые принимают участие в этом процессе. В настоящей работе был впервые изучен процесс встраивания ионов меди недавно охарактеризованного медь-содержащего фермента – тиоцианатдегидрогеназы (ТсДН) из галоалкалофильной бактерии *Thiokalivibrio paradoxus*. Было постулировано, что 2 иона меди встраиваются в активный центр в степени окисления +2, а один ион меди – в степени окисления +1. Из структурных данных, мы предполагаем, что именно Cu_3 находится в восстановленном состоянии. Также были определены константы диссоциации комплекса ТсДН-Сu - $1,9 \pm 0,5$ мкМ и $7,0 \pm 2,2$ нМ.

Для активированного ТсДН были установлены наиболее эффективные конкурентные ингибиторы - это продукт реакции цианат (CNO^-), аналог переходного состояния тиомочевина, а также лиганды иона меди амитрол и цианид (CN^-), которые, как было показано методом QM/MM (квантовая механика / молекулярная механика), образуют координационные связи с ионами Cu_2 и Cu_3 активного центра фермента, препятствуя продуктивному связыванию субстрата.

На следующем этапе работы был охарактеризован потенциальный металлошаперон, участвующий во встраивании меди в ТсДН в клетке, CopC. Периплазматический CopC является димером, связывающий ион Cu^{2+} на субъединицу с константой диссоциации комплекса $1,80 \pm 0,36$ мкМ. Сайт связывания ионов Cu^{2+} имеет строение «гистидиновой скобки», характерное для белков семейства CopC. Было показано, что CopC способен переносить ион Cu^{2+} в активный центр ТсДН и активировать фермент. Еще для одного белка - MRP, для которого мы также предполагаем функцию металлошаперона ТсДН в клетке, была охарактеризована медь-связывающая способность. Периплазматический домен MRP связывает 3 иона Cu^{2+} на субъединицу с константой диссоциации комплекса $8,9 \pm 1,1$ мкМ.

На заключительном этапе работы были охарактеризованы два потенциальных акцептора электронов в реакции окисления тиоцианата одноклеточные цитохромы с – C552 и C546/556. Оба цитохрома с способны принимать электроны от ТсДН в реакции *in vitro*.