

АННОТАЦИЯ

Научно-квалификационной работы Варфоломеевой Ларисы Александровны на тему «Структурное исследование трехъядерного медного центра тиоцианатдегидрогеназы» (06.06.01 Биологические науки, 1.5.4 Биохимия)

Настоящая работа была посвящена исследованию структуры трехъядерного медного центра тиоцианатдегидрогеназы (TcDH) методами рентгеноструктурного анализа (РСА) и ЭПР-спектроскопии. На первом этапе работы были проведены эксперименты по получению кристаллов TcDH высокого качества для исследования архитектуры медного центра с использованием двух подходов: точечный мутагенез остатков на поверхности глобулы у trTcDH из бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus* Arh1 и поиск гомологичных ферментов у других организмов. В итоге, была решена структура холоформы гомологичного фермента pmTcDH из бактерии *Pelomicrobium methylotrophicum* с атомным разрешением, что позволило охарактеризовать детали строения и перестройки в медном центре фермента при изменении конформации с высокой достоверностью.

Впервые в настоящей работе были получены структуры комплексов pmTcDH с ингибиторами, тиомочевинной и селеноцианатом, которые позволили предположить модель связывания субстрата, тиоцианата, в активном центре фермента.

На основании структуры апоформы pmTcDH сделано заключение, что субъединицы в гомодимере фермента функционируют независимо друг от друга. Также показана возможность встраивания всех трех ионов меди в активный центр апоформы pmTcDH при настаивании кристалла ионами меди (II) и (I).

Установлена роль остатка F436, участвующего во взаимодействиях, важных для закрытия/открытия субстратного канала в активный центр фермента. В настоящей работе также показали, что замена одного из координирующих гистидинов H447Q не приводит к полной потери способности связывать соответствующий ион меди в активном центре фермента. В рамках работы были установлены одиннадцать пространственных структур фермента.

В настоящей работе методом ЭПР-спектроскопии в X- и Q-диапазонах было охарактеризовано состояние ионов меди в активном центре фермента дикого типа и с заменами остатков – лигандов ионов меди. Также было показано восстановление ионов меди трехъядерного центра фермента при инкубации с субстратом тиоцианатом и ингибитором селеноцианатом, но не с тиомочевинной. На основании спектральных и структурных данных для каждого из трех ионов меди активного центра предположили возможные степени окисления.

Данные, полученные в настоящей работе, позволили предположить первые стадии ферментативной реакции тиоцианатдегидрогеназы.