

## 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 methylophilum* 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.