

СПЕЦИФИЧНОСТЬ АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ АДФ ПЕЧЕНОЧНОЙ И МЫШЕЧНОЙ ФОСФОФРУКТОКИНАЗ КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА

Хрусталёв В.В., Лелевич С.В., Барковский Е.В.

Белорусский государственный медицинский университет
Гродненский государственный медицинский университет

Фосфофруктокиназа – один из трех ключевых ферментов гликолиза. Этот фермент катализирует АТФ-зависимое фосфорилирование фруктозо-6-фосфата. В результате реакции образуются фруктозо-1,6-дифосфат и АДФ. Известно, что для данного фермента характерна сложная система аллостерической регуляции. Считается, что одним из аллостерических активаторов фосфофруктокиназы является АДФ. Однако возможный аллостерический сайт связывания АДФ был идентифицирован лишь в 2011 году [1]. Этот сайт расположен в центре каждого из четырех доменов фосфофруктокиназы. Следует уточнить, что на сегодняшний день в базе данных PDB (Protein Data Bank: www.pdb.org) находятся сведения о трехмерном строении только одной фосфофруктокиназы хордовых – мышечной фосфофруктокиназы кролика. Предположительный аллостерический сайт связывания АДФ был идентифицирован исключительно на этом ферменте. Один из файлов (3O8N) с результатами рентгеноструктурного анализа содержит в качестве лигандов три молекулы АДФ и три фосфат-иона (на каждый домен). Второй файл (3O8L) содержит две молекулы АТФ, одну молекулу АДФ и три фосфат-иона. Авторы, получившие эти данные, предположили, что один из трех сайтов связывания нуклеотидов специфичен именно для АДФ, но не для АТФ [1].

Целью настоящей работы явилось выяснение того, сохраняется ли специфичность связывания АДФ сайтом, расположенным в центре домена мышечных и печеночных фосфофруктокиназ человека и крысы.

В качестве материала для исследования был использован файл 3O8L из базы данных PDB, а также аминокислотные последовательности мышечных и печеночных фосфофруктокиназ человека и крысы (NP_001160158; AAN94212.1; NP_002617.3;

NP_037322.1). На основании данных из файла 3O8L, который служил в качестве шаблона, и аминокислотных последовательностей были смоделированы трехмерные структуры гомологичных ферментов крысы и человека.

Для моделирования третичных структур был использован сервер «Swiss Model» [2], режим работы – автоматический.

Для «докинга» таких лигандов, как АДФ и АТФ, с полученными трехмерными структурами фосфофруктокиназ использовался DockingServer [3]. В качестве потенциального сайта для связывания сервер автоматически выбирал центр белка. Для каждой пары «белок-лиганд» сервер проводил по десять попыток получения комплекса. В каждом эксперименте определялась свободная энергия связывания. Для всех десяти попыток нами вычислялась средняя энергия связывания. Для мышечной фосфофруктокиназы кролика средняя свободная энергия связывания с АДФ составила $-6,165$ ккал/моль; с АТФ – $-5,217$ ккал/моль. Для мышечной фосфофруктокиназы человека: с АДФ – $-6,016$ ккал/моль; с АТФ – $-4,413$ ккал/моль. Для мышечной фосфофруктокиназы крысы: с АДФ – $-6,011$ ккал/моль; с АТФ – $-5,375$ ккал/моль. Для печеночной фосфофруктокиназы человека: с АДФ – $-5,637$ ккал/моль; с АТФ – $-3,623$ ккал/моль. Для печеночной фосфофруктокиназы крысы: с АДФ – $-5,724$ ккал/моль; с АТФ – $-5,255$ ккал/моль. Разность между энергией связывания АДФ и АТФ достоверна ($P = 0,018$). Этот факт говорит о том, что для центральной полости фосфофруктокиназы действительно характерна специфичность в связывании АДФ. Эта специфичность сохраняется как среди мышечных ферментов, так и среди печеночных, несмотря на то, что степень сходства аминокислотных последовательностей мышечной и печеночной фосфофруктокиназ человека равна 69,7%.

Интересно отметить, что численные значения средней свободной энергии связывания АДФ выше для мышечных ферментов, чем для печеночных. Разброс таких значений для связывания АДФ относительно невелик: $0,154$ ккал/моль для мышечных ферментов и $0,087$ ккал/моль для печеночных. Разброс для средних свободных энергий связывания АТФ гораздо больше: $0,962$ ккал/моль для мышечных и $1,632$ ккал/моль для

печеночных. Эти сведения также свидетельствуют о том, что предположительный аллостерический сайт связывания АДФ обладает специфичностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. The Crystal Structures of Eukaryotic Phosphofructokinases from Baker's Yeast and Rabbit Skeletal Muscle / Banaszak K. et al. // J. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 407. – P.284–297.
2. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modeling / Arnold K., et al. // Bioinformatics. – 2006. – Vol.22. – P.195-201.
3. Bikadi, Z. [Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock](#) / Z. Bikadi, E. Hazai // J. Cheminf. – 2009. – Vol.1. – P. 15.

ВНУТРИУТРОБНАЯ ИНФЕКЦИЯ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Цырульникова Е.В., Лашкевич Е.Л.

Гомельский государственный медицинский университет

Актуальность. Проблема невынашивания беременности одна из наиболее сложных в современном акушерстве. В Республике Беларусь частота преждевременных родов составляет 4-5% [1]. Недоношенные дети наиболее подвержены неблагоприятным факторам, в том числе и риску развития внутриутробной инфекции (ВУИ). ВУИ определяют уровень младенческой смертности. У детей, перенёсших тяжёлые формы врождённой инфекции, развиваются тяжелые нарушения здоровья, нередко приводящие к инвалидизации и снижению качества жизни в целом.[2]

Цель исследования – проанализировать частоту и факторы риска внутриутробной инфекции у недоношенных новорождённых.

Материалы и методы. Нами ретроспективно проанализированы 144 истории развития новорождённых и истории родов их матерей, родоразрешенных в сроке гестации от 25 до 34 недель в У «Гомельская областная клиническая больница» в 2011 году. Изучали частоту внутриутробной инфекции, её формы и факторы, способствующие развитию ВУИ. Анализ полученных результатов проведен с использованием вариационной