

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-168

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ ДИНАМИКИ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОЕНАЗЫ I SACCHAROMYCE CEREVIAE В СИСТЕМАХ С ДМСО И ДИЗЕЛЬНЫМ ТОПЛИВОМ^{*}

STRUCTURAL DYNAMICS OF ALCOHOL DEHYDROGENASE I FROM SACCHAROMYCES CEREVIAE IN DMSO AND DIESEL FUEL SYSTEMS

А. С. Колян¹, А. А. Деева^{1,2}

¹Сибирский федеральный университет, Красноярск

²Сургутский государственный университет

A. S. Kolyan¹, A. A. Deeva^{1,2}

¹Siberian Federal University, Krasnoyarsk

²Surgut State University

✉ kolyanani98@gmail.com

Аннотация

Алкогольдегидрогеназа I (АДГ I) дрожжей может быть использована в составе ферментативных тест-систем для экологического мониторинга как индикатор загрязнений среди компонентами дизельного топлива. В настоящей работе использовался метод молекулярной динамики для анализа влияния этих соединений и ДМСО на структурную динамику АДГ I.

Abstract

Yeast alcohol dehydrogenase I (ADH I) can be used as a part of enzymatic test systems for environmental monitoring, serving as an indicator of contamination by diesel fuel-derived compounds. In this study, molecular dynamics simulations were conducted to investigate the effects of these compounds, along with DMSO, on the structural dynamics of ADH I.

Алкогольдегидрогеназа I (АДГ I) дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) катализирует обратимую окисительно-восстановительную реакцию с участием ацетальдегида и NAD(P)Н. Благодаря способности эффективно обеспечивать взаимопревращение NAD(P)Н и NAD(P) + этот белок используется в составе сопряженных ферментативных цепей при разработке биотестов. Наиболее известна триферментная система АДГ I + оксидоредуктаза + люцифераза, применяемая для анализа различных сред, включая почву. В настоящее время ведется разработка методики определения нефтепродуктов в почвах с использованием этой триферментной системы, где экстракция проб осуществляется с применением диметилсульфоксида (ДМСО).

Для повышения надежности биотестов необходимо учитывать влияние исследуемых веществ на каждый фермент системы. АДГ I представляет особый интерес, так как является металлопротеином с тетрамерной структурой, чувствительной к изменениям молекулярного окружения. Перспективным подходом к анализу таких эффектов является использование методов молекулярной динамики (МД), позволяющих оценить конформационные изменения отдельных участков белка.

Учет ионов металлов в структуре белков представляет собой отдельную и важную задачу при моделировании МД. Каждая из субъединиц АДГ I содержит два центра координации ионов цинка: каталитический и структурный. Каталитический ион Zn²⁺ находится в классической тетраэдрической координации с остатками Cys43, His66 и Cys153, а также Thr45 или Glu67 в зависимости от конформации субъединицы («открытая» или «закрытая»). Структурный ион цинка участвует в стабилизации глобальной структуры и координируется остатками Cys90, Cys100, Cys103 и Cys111. Для адекватного описания координационного центра в МД были задействованы модифицированные параметры силового поля для вышеуказанных аминокислотных остатков [1, 2].

Моделирование проводилось в программном пакете GROMACS 2024.5 с использованием силового поля AMBER99SB-ILDN и модели воды TIP3P. Исследуемый белок (PDB ID: 6W5Z) помещали в модельный бокс с водой, 10%-м раствором ДМСО или смесью воды, 10%-м ДМСО и 1,8 % компонентов дизельного топлива. Температура моделирования составляла 300 К, давление — 1 атм, длительность — 100 нс; для каждой системы выполнялось три независимых запуска.

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-14-20030).

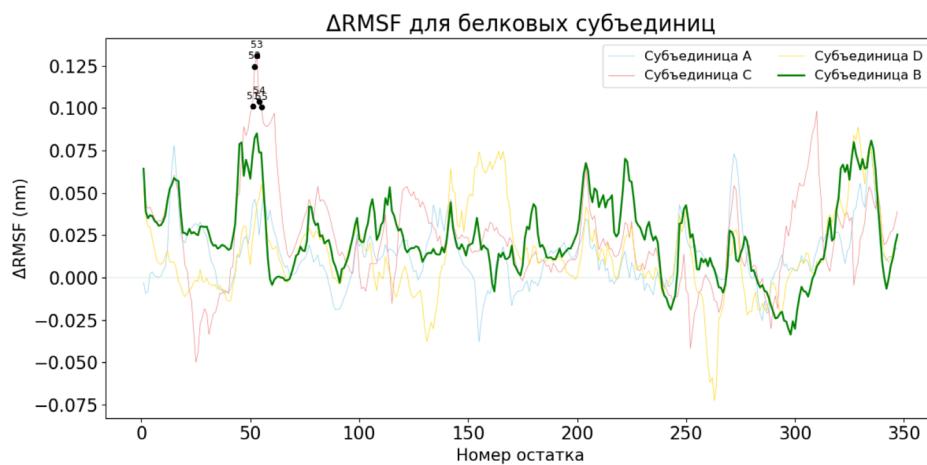
© А. С. Колян, А. А. Деева, 2025

Для оценки влияния растворителя рассчитывали параметры, характеризующие стабильность структуры (см. таблицу). Показано, что добавление ДМСО существенно не влияет на структуру: изменения RMSD, Rg и SASA минимальны, что указывает на сохранение компактности структуры белка.

Среднеквадратичное отклонение (RMSD), радиус гирации (Rg) и площадь поверхности, доступная растворителю (SASA) АДГ I. Средние значения \pm стандартное отклонение ($n = 3$)

Растворитель	Rg, нм	RMSD, нм	SASA, нм ²
Вода	$2,81 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01$	$525,2 \pm 8,1$
Раствор ДМСО	$2,82 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,04$	$534,5 \pm 12,3$
Раствор ДМСО и дизельного топлива	$3,34 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,03$	$535,1 \pm 7,9$

Однако добавление дизеля в систему приводит к увеличению радиуса гирации на $5,2 \pm 0,2$ Å, что может свидетельствовать о частичном нарушении упаковки гидрофобных участков. Отсутствие значимых изменений в значении SASA (Δ SASA = 0,6 нм²) позволяет исключить глобальное разворачивание белка. Анализ Δ RMSF выявил стабильную динамику цепей белка во всех условиях, однако в растворе с ДМСО цепь С демонстрировала повышенную гибкость в области активного центра (см. рисунок). Это может повлиять на связывание субстрата или кофермента и требует дальнейшего изучения.



Изменение среднеквадратичных флюктуаций (Δ RMSF) С α -атомов основной цепи в системе «вода + ДМСО» по сравнению с системой в воде без примесей

Таким образом, моделирование выявило повышение локальной подвижности отдельных участков АДГ I, что может отражаться на активности фермента и должно учитываться при создании биосенсоров.

Литература

1. Macchiagodena M. et al. Upgraded AMBER force field for zinc-binding residues and ligands for predicting structural properties and binding affinities in zinc-proteins // ACS omega. 2020. Vol. 5, No. 25. P. 15301–15310.
2. Macchiagodena M. et al. Upgrading and validation of the AMBER force field for histidine and cysteine zinc (II)-binding residues in sites with four protein ligands // J. Chem Inf. Model. 2019. Vol. 59, No. 9. P. 3803–3816.