

УДК 577.322.24

Биоинформационно-структурный подход к поиску новых оксидаз D-аминокислот

Д. Л. Атрошенко^{1,2}, Д. И. Головина¹, Е. П. Сергеев¹, М. Д. Шеломов¹, А. Г. Ельченинов²,
И. В. Кубланов^{1,2}, Т. А. Чубарь¹, А. А. Пометун^{1,2}, С. С. Савин¹, В. И. Тишков^{1,2*}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет,
Москва, 119991 Россия

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,
Москва, 119071 Россия

*E-mail: vitishkov@gmail.com

Поступила в редакцию 22.08.2022

Принята к печати 29.09.2022

DOI:

РЕФЕРАТ Оксидаза D-аминокислот (DAAO, КФ 1.4.3.3) играет важную роль в жизни и прокариот, и эукариот – как низших (дрожжи и грибы), так и высших (млекопитающие). В геномах архей гены DAAO пока не найдены. При этом даже внутри одной группы организмов (бактерии, дрожжи и грибы, млекопитающие) DAAO характеризуются очень низкой гомологией аминокислотных последовательностей. Особенно это выражено у бактериальных DAAO. Высокая вариабельность первичных структур DAAO сильно ограничивает поиск генов новых ферментов в известных геномах. В результате многие гены DAAO (если не большинство) остаются или неаннотированными, или неправильно аннотированными. Нами предложен подход, в котором биоинформатические методы в сочетании с анализом общей структуры и структуры активного центра используются для подтверждения того, что найденный ген кодирует именно оксидазу D-аминокислот и предсказания возможного типа ее субстратной специфичности. С помощью поиска по гомологии получают набор кандидатных последовательностей, проводят моделирование третичной структуры отобранных ферментов и сравнивают их с экспериментальными и модельными структурами известных DAAO. Показана эффективность предложенного подхода для дискриминации DAAO и глицинооксидаз. С использованием этого подхода в шести штаммах экстремофильных бактерий найдены гены новых DAAO, и впервые в мире один ген идентифицирован в геноме галофильных архей. Предварительные эксперименты подтвердили предсказанную специфичность DAAO из *Natronosporangium hydrolyticum* АСРА39 в отношении D-Leu и D-Phe.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА оксидаза D-аминокислот, первичная структура, третичная структура, моделирование, AlphaFold 2, глицинооксидаза.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ DAAO – оксидаза D-аминокислот; GOX – глицинооксидаза.

ВВЕДЕНИЕ

Любая клетка представляет собой сложнейшую мультиферментную систему открытого типа, причем в зависимости от сложности и специфики состояния функционирования организма один и тот же фермент может выполнять разную физиологическую роль. Ярким примером является оксидаза D-аминокислот (DAAO, КФ 1.4.3.3). В бактериях, дрожжах и микроскопических грибах основная роль этого фермента сводится к утилизации экзогенных D-аминокислот (в первую очередь D-Ala) [1, 2]. У высших эукариот – позвоночных и особенно у млекопитающих, основная роль DAAO

заключается в поддержании определенного уровня D-аминокислот, которые являются регуляторами важнейших процессов, в первую очередь нервной деятельности. Например, снижение уровня D-Ser в спинномозговой жидкости за счет повышенной активности DAAO ассоциировано с шизофренией [3, 4]. При болезнях Альцгеймера и Паркинсона в нервных тканях наблюдается повышение уровня D-Ala [4, 5]. Поэтому актуальным представляется поиск эффективных и специфичных ингибиторов DAAO человека. Оксидаза D-аминокислот также широко используется на практике [6–9]. Например, DAAO из дрожжей *Trigonopsis variabilis* используется