

**Вычислительный метод поиска термочувствительных участков структуры глобулярных белков****Научный руководитель – Петухов Михаил Геннадьевич***Колчина Н.В.<sup>1</sup>, Афанасьева А.С.<sup>1</sup>*

1 - Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, Санкт-Петербург, Россия

Биокатализаторы природного происхождения имеют ряд преимуществ перед химическими катализаторами, таких как более высокая скорость реакции, регио- и стереоселективность продуктов реакции, отсутствие посторонних примесей. Поскольку для эффективности многих промышленных процессов требуются высокотемпературные условия, повышение термостабильности является ключевым вопросом в практическом применении ферментов. Стратегия ненаправленного мутагенеза проявила неэффективность в отношении некоторых белков, таких как, например, пероксидазы, и является трудо- и времязатратным методом [1]. Таким образом, разработка вычислительных методов предсказания термочувствительных участков белков является теоретически и практически важной задачей.

В рамках данной работы нами разработан алгоритм и соответствующее программное обеспечение для расчета изменения конформационной стабильности белка ( $\Delta\Delta G$ ) при всех возможных точечных заменах аминокислотных остатков в его пространственной структуре. Величины  $\Delta\Delta G$  рассчитывались с помощью алгоритма MERSi (пакет программ ICM-Pro), который позволяет предсказать эффект мутаций на стабильность белка, как разность между свободной энергией сворачивания мутантных и диких форм белков,  $\Delta\Delta G$  [2]. При этом учитываются основные физические составляющие свободной энергии белка, такие как Ван-дер-Ваальсовы и электростатические взаимодействия, образование водородных связей, гидратация, энтропийный вклад, а также константы, учитывающие свободные энергии развернутых и неправильно свернутых состояний, которые получены эмпирическим путем с использованием большого набора экспериментальных данных.

Для проверки работы алгоритма были выбраны два небольших глобулярных белка - барназа *B. amyloliquefaciens* (PDB:1A2P) и микрококковая нуклеаза *S. aureus* (PDB:1STN), для которых в литературе имеется большое количество экспериментальных данных по влиянию различных аминокислотных замен на стабильность белка. Было проанализировано 606 экспериментальных мутаций, соответствующих условиям теоретических расчетов. В результате были определены термочувствительные участки исследуемых белков, стандартное отклонение для барназы составило 1.13 ккал/моль ( $R=0.53$ ) и для нуклеазы 1.28 ккал/моль ( $R=0.66$ ). Полученные результаты показывают применимость метода для поиска термочувствительных участков белков, которые позволяют с помощью минимального количества точечных замен получать термостабильные аналоги промышленно важных ферментов.

**Благодарности**

Выражаем благодарность научному руководителю д.ф.-м.н. Михаилу Геннадьевичу Петухову.

**Источники и литература**

- 1) Kim S.J. et al. The development of a thermostable CiP (Coprinus cinereus peroxidase) through in silico design // Biotechnol. Prog. 2010. Vol. 26. N 4. P. 1038-1046.

- 2) Bordner A.J., Abagyan R.A. Large-scale prediction of protein geometry and stability changes for arbitrary single point mutations // Proteins. 2004. Vol. 57. N 2. P. 400-413.