

••• КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ ••• BRIEF COMMUNICATIONS •••

УДК: [577.122.34+57.052+577.151.042]

Теоретичний аналіз термінової регуляції активності аргініносукцинатсинтази людини (ASS1) при накопиченні продуктів гемолізу

Т.В.Баранник, К.В.Авдєєва

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
tbarannik@karazin.ua*

В умовах гемолізу і накопичення у плазмі крові вільного гему швидкість синтезу аргініну стає одним з основних факторів, які визначають ефективність релаксації судин. У зв'язку з цим був проведений аналіз потенційних сайтів зв'язування гему з ключовим ферментом синтезу аргініну – аргініносукцинатсинтазою людини (ASS1, КФ 6.3.4.5). За результатами молекулярного докінгу до білку ASS1 (програма PatchDock) найбільш вірогідним є зв'язування гему з порожниною активного центру ферменту через сайти взаємодії з субстратами, аспартатом (Asp124) і цитруліном (Ser189), і через сайт зв'язування АТФ (ділянка Ser12-Thr17). Більшість амінокислотних залишків (19 з 26), передбачених у оточенні заліза гему, є полярними, але серед них відсутні цистеїни, у тому числі сайт нитрозилювання Cys132. Серед гідрофобних залишків слід відзначити Leu160, що був виявлений як потенційний сайт зв'язування гему не тільки при аналізі структури, але й при аналізі послідовності білку (програма HemeBIND). Гем може також приєднуватись до Ser180 або Thr174, що є сайтами фосфорилування. Показана висока вірогідність поступового зв'язування у активному центрі двох або трьох молекул гему, що, вочевидь, буде викликати повне інгібування ASS1 за рахунок блокування доступу субстратам реакції. За умов заповнення гемом порожнини активного центру подальше зв'язування гему може здійснюватися амінокислотними залишками, задіяними у олігомерізації ферменту, у тому числі Cys337, який передбачений (програма COPA) як редокс-активний.

Ключові слова: *аргініносукцинатсинтаза, окислення цистеїну, докінг, зв'язування гему.*

Theoretical analysis of the short-term regulation of human argininosuccinate synthase (ASS1) activity under hemolysis products accumulation

T.V.Barannik, K.V.Avdieieva

Under hemolysis and free heme accumulation in blood plasma the velocity of arginine synthesis becomes one of the main factors determining the effectiveness of vessels relaxation. Therefore the analysis of putative sites of heme binding with key enzyme of arginine synthesis, human argininosuccinate synthase (ASS1, EC 6.3.4.5), was held. According to results of molecular docking to ASS1 protein (PatchDock tool) the most probable was heme binding to the cavity of enzyme active center through the sites of interaction with substrates, aspartate (Asp124) and citrulline (Ser189), and through ATP binding site (region Ser12-Thr17). The majority of residues (19 of 26), predicted in heme iron neighborhood, were polar but no cysteines were revealed among them including the site of nitrosylation Cys132. Among hydrophobic residues Leu160 should be noted as discovered to be the putative site of heme binding not only by structure analysis but also by protein sequence analysis (HemeBIND tool). The heme could also attach to Ser180 or Thr174 that were phosphorylation sites. The high probability of consequent binding of two or three heme molecules in active center was shown, that would obviously cause total inhibition of ASS1 by blocking of access to substrates of reaction. After heme filled the cavity of active center the further heme binding could be provided by amino acid residues involved in enzyme oligomerization including Cys337 predicted (COPA tool) as redox-active residue.

Key words: *argininosuccinate synthase, cysteine oxidation, docking, heme binding.*

Теоретический анализ срочной регуляции активности аргининосукцинатсинтазы человека (ASS1) при накоплении продуктов гемолиза

Т.В.Баранник, Е.В.Авдеева

В условиях гемолиза и накопления в плазме крови свободного гема скорость синтеза аргинина становится одним из основных факторов, которые определяют эффективность релаксации сосудов. В

связи с этим был проведен анализ потенциальных сайтов связывания гема с ключевым ферментом синтеза аргинина – аргининсукцинатсинтазой человека (ASS1, КФ 6.3.4.5). Согласно результатам молекулярного докинга к белку ASS1 (программа PatchDock) наиболее вероятным является связывание гема с полостью активного центра фермента через сайты взаимодействия с субстратами, аспартатом (Asp124) и цитруллином (Ser189), и через сайт связывания АТФ (участок Ser12-Thr17). Большинство аминокислотных остатков, предсказанных в окружении железа гема (19 из 26), являются полярными, однако среди них отсутствуют цистеины, в том числе сайт нитрозилирования Cys132. Среди гидрофобных остатков следует отметить Leu160, который был выявлен как потенциальный сайт связывания гема не только при анализе структуры, но и при анализе последовательности белка (программа HemeBIND). Гем может также присоединяться к Ser180 или Thr174, которые являются сайтами фосфорилирования. Показана высокая вероятность последовательного связывания в активном центре двух или трех молекул гема, что, очевидно, будет вызывать полное ингибирование ASS1 за счет блокирования доступа субстратам реакции. В условиях заполнения гемом полости активного центра дальнейшее связывание гема может осуществляться аминокислотными остатками, задействованными в олигомеризации фермента, в том числе Cys337, который предсказан (программа COPA) как редокс-активный.

Ключевые слова: аргининсукцинатсинтаза, окисление цистеина, докинг, связывание гема.

Вступ

Аргініносукцинатсинтаза (ASS1; КФ 6.3.4.5) каталізує першу, ключову, реакцію синтезу аргініну в тканинах ссавців – утворення аргініносукцинату з L-цитруліну та L-аспартату (Haines et al., 2011).

В умовах гемолізу і виходу у плазму крові гемоглобіну і гему, як продукту його деградації, концентрація монооксиду нітрогену (NO), до якого гем проявляє високу спорідненість, значно знижується (Hanssen et al., 2012). Потрапляння до плазми еритроцитарної аргінази знижує й концентрацію субстрату NO-синтазної реакції – аргініну (Omodeo-Sale et al., 2010), тому швидкість синтезу аргініну в умовах гемолізу в значній мірі визначає ефективність релаксації судин.

Гем має прооксидантні властивості і може підвищувати чутливість ендотеліальних клітин до пошкодження активними формами кисню, викликати активацію запалення у ендотеліальних клітинах *in vitro* та *in vivo* (Chiabrando et al., 2014). З іншого боку, вільний гем розглядається як компонент редокс-регуляції через його вплив на конформацію білків з гем-регуляторними мотивами (HRM, heme regulatory motifs) Cys-Pro або Pro-Cys, серед яких є ферменти, транскрипційні фактори, іонні канали (Zhang, Guarente, 1995).

До теперішнього часу взаємодія ASS1 з гемом і вплив гемолізу на активність ферменту у тканинах ссавців не досліджувались. У зв'язку з цим набуває актуальності вивчення механізмів термінової регуляції синтезу аргініну за умов накопичення гему. Основна увага в даній роботі була приділена дослідженню локалізації ділянок зв'язування гему відносно активного центру ферменту, а також відносно сайтів фосфорилування і нитрозилування.

Матеріали і методи дослідження

Послідовності у форматі *.fasta і анотації білків були завантажені з серверу UniProt (<http://www.uniprot.org/>). Пошук гомологів і парне вирівнювання проводили у онлайн сервісі BLASTP (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>; Altschul et al., 1990). Множинне вирівнювання проводили через онлайн сервіс Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>; Sievers et al., 2011).

Дані про сайти фосфорилування отримували зі спеціалізованого ресурсу PhosphoSitePlus (<http://www.phosphosite.org/>). Інформацію про залишки цистеїну, які можуть бути модифіковані, отримували з бази даних RedoxDB (<http://biocomputer.bio.cuhk.edu.hk/RedoxDB/>; Sun et al., 2012). За допомогою серверу HemeBIND (<http://mleg.cse.sc.edu/hemeBIND/>; Liu, Hu, 2011) послідовність білку аналізували на амінокислотні залишки, схильні до зв'язування гему.

Файли просторових структур білків для ASS1 людини PDB ID: 2NZ2, яка містить ділянку білку 1-412 (розподільча здатність 2,4 Å), і для ферменту бактерії *Thermus thermophilus* PDB ID: 1J1Z (розподільча здатність 2,1 Å) були завантажені у форматі *.pdb з Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). Структура молекули була візуалізована та проаналізована за допомогою комп'ютерних програм Swiss-PdbViewer 4.1.0 (<http://spdbv.vital-it.ch>) та PyMOL (<https://www.pymol.org/>; The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3, Schrödinger, LLC).

Файл зі структурою аналізували на цистеїни, схильні до окислення за допомогою онлайн програми COPA (<http://copa.calstatela.edu/>; Sanchez et al., 2008). Структурне вирівнювання

проводилось у онлайн програмі TMAAlign (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/TM-align/>). Результати вирівнювання представлені у вигляді RMSD (root mean square deviation) у ангстремах (відстані між α -карбонами поліпептидних ланцюгів) і кількості TM-балів. Молекулярний докінг проводився на сервері PatchDock (<http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/>) з лімітом 1,5 Å для докінгу білку з лігандом (Schneidman-Duhovny et al., 2005). Аналізували перші 20 найкращих (за кількістю сумарних балів) моделей зв'язування. Структурний файл молекули гему (*.pdb) був завантажений з серверу PubChem (<http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/HEM>).

Результати і обговорення

Аналіз консервативності цистеїнів та їх впливу на структуру білку

Білок людини ASS1 має одну ізоформу, яка складається з 412 амінокислот (NP_000041). Сайти зв'язування субстратів та сайти фосфорилування вказані у табл. 1.

Таблиця 1.

Функціональні ділянки білку ASS1 за даними Uniprot (ID: P00966)

Опис	Позиції у послідовності
Зв'язування АТФ	Ala36, ділянка Ala10–Ser18, ділянка Ser115-Asn123
Зв'язування цитруліну	Tyr87, Ser92, Asn123, Arg127, Ser180, Ser189, Glu270, Tyr282
Зв'язування аспартату	Thr119, Asn123, Asp124
Сайти фосфорилування	Tyr87, Tyr113, Ser180, Thr219

На цей час у базі PDB є дані лише про структуру ASS1 людини та гомологу ферменту у *Thermus thermophilus*. Послідовність бактеріального ферменту (білок argG, Uniprot ID: P59846) має 53% ідентичності з послідовністю ASS1 людини та 95% збіг по довжині (386 проти 412 амінокислот). Слід зазначити, що у бактеріальному білку повністю відсутні залишки цистеїну (рис. 1), при тому що у тварин більшість цистеїнів абсолютно консервативні.

Query	7	VVLAYSGGLDTS	C	ILVWLKEQ-GYDVIA	LANIGQKEDFEEARKKALKLGAKKVFI	EDVS	65
		+VLAYSGGLDTS	L	WLKE +VIA+ A+IGQ E+ EEAR+KAL+ GA K D+			
Sbjct	3	IVLAYSGGLDTS	L	LKWLKETRAEVIAFTADIGQGEVEEAREKALRTGASKAIALDLK			62
Query	66	REFVVEFIWPAIQSSALYEDRYLLGTS	L	ARPC	LARKQVEIAQREGAKYVSHGATGKGNDQ	125	
		EFV +F++P +++ A+YE YLLGTS+ARP	L	IA+ V IA+ EGA+ ++HGATGKGNDQ			
Sbjct	63	EEFVRDFVFPMMRAGAVYEGYLLGTS	L	ARPL	LAKHLVRIAE EEGAEIAIHGATGKGNDQ	122	
Query	126	VRFELSC	Y	SLAPQIKVIAPWRMPEFYNRFKGRNDLMEYAKQHGIP	PIPVTPKNPWSMDENL	185	
		VRFEL+ Y+L P IKVIAPWR E+ F+GR +++ YA+ HGIP+PVT + P+SMD NL					
Sbjct	123	VRFELTA	Y	ALKPDIKVIAPWR--EW--SFQGRKEMIA	YAEAHGIPVPVTEKPYSDANL	178	
Query	306	VRKIKQGLGLKFAELVYTGFWHSPE	C	EFVRHC	IAKSQERVEGKVQVSVLKGQVYILGRES	365	
		V + L K+AELVY GFW++PE E ++			V G ++ + KG VY++GR++		
Sbjct	294	VLHQRDMLSPKYAELVYGFYAPEREALQAY	F	FDHVARSVTGVARLKLKLYKGNVYVGRKA		353	
Query	366	PLSLYNEELVSMNVQGDYEPTDATGFININSLRLK				400	
		P SLY ++LVS + G Y+ DA GFI I +LRL+					
Sbjct	354	PKSLYRQDLVSFDEAGGYDQKDAEGFIKIQLRLR				388	

Рис. 1. Фрагмент вирівнювання амінокислотних послідовностей аргініносукцинат-синтази людини (P00966, Query) та бактерії *T. thermophilus* (P59846, Subject) у програмі NCBI BLAST. Виділені залишки цистеїну у послідовності білку людини, які відсутні у білку бактерії.

При парному вирівнюванні на позиціях, які відповідають цистеїну у ASS1 людини, у бактеріальному білку розташовані залишки гідрофобних ізолейцину, лейцину і аланіну, полярного тирозину і позитивно зарядженого аргініну. Однак структурне вирівнювання мономерів білків 2N2Z:A (ASS1) проти 1J1Z:A (argG) виявило значну схожість цих структур (RMSD=1,13Å, TM-score=0,93699). У ділянках з цистеїнами не встановлено значних розбіжностей укладання. Очевидно, консервативність цистеїну у ферменті ссавців зумовлена більш його функціональним,

ніж структурним значенням. Цистеїн у складі ASS1 не бере участі в утворенні дисульфідних містків, тому його взаємодія з гемом є можливою, в тому числі у складі мотиву Pro96-Cys97, що потенційно може виявитись гем-регуляторним (Zang et al., 1995).

У послідовності білку ASS1 людини присутні 5 цистеїнів, з яких згідно з аналізом у програмі SwissProtViewer, Cys337 розташований найближче до поверхні молекули й передбачений інструментом COPA як схильний до окиснення. Інші цистеїни (Cys19, Cys97, Cys132, Cys331) менш доступні і, за винятком Cys331, знаходяться на відстані менше 6Å від активного центру ферменту. За даними RedoxDB Cys132 піддається нітрозилуванню (S-nitrosylation) та може інгібувати фермент унаслідок конформаційних перебудов, що показано експериментально (Hao et al., 2004). У разі значного синтезу NO це може працювати як петля оборотного зв'язку, яка дозволяє попередити надлишкову продукцію субстрату для NO-синтази. Але нітрозилування не може розглядатись як ефективний механізм термінової регуляції ASS1 в умовах накопичення вільного гему і зниження рівню NO при гемолізі.

Аналіз локалізації потенційних гем-зв'язувальних ділянок

На цей момент немає експериментальних даних про зв'язування гему з ASS1, тому було проведено моделювання цієї взаємодії.

Аналіз послідовності ASS1 (програма HemeBIND) передбачив 10 потенційних сайтів для зв'язування гему: Ala10, Tyr11, Val114, Leu160, Lys234, Val235, Phe251, Leu254, Leu290, Leu374, з яких лише Lys234 та Leu374 розташовані на поверхні білку. Серед цих сайтів не виявлено амінокислот поблизу активного центру, але слід відмітити амінокислоту Val114, репозиціонування якої може призвести до конформаційної перебудови та інактивації ферменту (Karlberg et al., 2008).

Аналіз результатів молекулярного докінгу гему до білку ASS1 (табл. 2) виявив переважно зв'язування гему з ділянкою порожнини, де розташовані центр взаємодії ферменту з субстратами аспаратом, цитруліном і сайт зв'язування АТФ.

Таблиця 2.

Вибрані результати молекулярного докінгу гему до ASS1 (2NZ2) у програмі PatchDOCK (сайти зв'язування гему проаналізовані за допомогою Swiss-PdbViewer)

Мо-дель	Передбачені сайти зв'язування гему (амінокислоти на відстані 3-6Å від атому заліза у молекулі гему)	Бали (Scores)	Площа контакту
1	Gly14, Leu15, Asp16, Arg157, Leu160, Met161, Lys176, Asn177, Trp179, Ser180	6050	721.50
2	Ser12, Thr17, Glu42, Arg95, Asp124, Ser180, Met181, Asp182, Glu183	6008	787.00
3	Ser12, Gly14, Leu15, Glu42, Lys176, Trp179, Ser180, Met181, Asp182, Glu183, Ser189	5994	680.30
4	Gly14, Leu15, Asp16, Arg157, Asn158, Leu160, Met161, Lys176, Asn177, Trp179, Ser180	5990	734.70
5	Ser12, Gly14, Lys176, Trp179, Ser180, Met181, Asp182, Glu183	5988	708.10
6	Ser12, Gly14, Leu15, Asp16, Thr17, Gly117, Arg157, Lys176, Trp179, Ser180, Met181	5932	733.90
7	Gly14, Leu15, Asp16, Thr17, Arg157, Leu160, Met161, Lys176, Trp179, Ser180	5874	765.30
8	Ser12, Thr17, Glu42, Arg95, Ser180, Met181, Asp182, Glu183	5846	773.50
9	Ser12, Gly13, Gly14, Leu15, Glu42, Lys50, Pro172, Thr174, Lys176	5760	727.50

Візуалізація та аналіз моделей докінгу виявив загалом 26 амінокислотних залишків на відстані менше 6Å від атому заліза молекули гему (табл. 2): 8 на N-кінці (Ser12, Gly13, Gly14, Leu15, Asp16, Thr17, Glu42, Lys50) і 18 – у центральній частині молекули (Arg95, Gly117, Asp124, Trp145, Arg157, Asn158, Leu160, Met161, Pro172, Thr174, Lys176, Asn177, Trp179, Ser180, Met181, Asp182, Glu183, Ser189).

Більшість з цих залишків (19 з 26) є полярними, 9 – заряджені при нейтральних рН, серед неполярних – лейцин, триптофан, метіонін та пролін. Особливо треба відмітити контакт гему з Asp124 та Ser189, які входять до складу активного центру.

В моделі 2, наприклад, гем приєднується безпосередньо до ділянки активного центру ASS1, яка зв'язує субстрати аспарат (рис. 2, Asp501) і цитрулін (Cis502). Поряд з гемом виявились також залишки, які зв'язують АТФ (Ala10, Ser12, Thr17). Враховуючи ці результати, можна припустити, що взаємодія гему з ферментом ASS1 може привести до інактивації ферменту шляхом закриття доступу до активного центру субстратам або запобігання вивільнення продукту.

Треба відмітити, що ані за результатами аналізу послідовності, ані за даними докінгу, цистеїн не виявлений серед потенційних сайтів зв'язування Fe^{2+} , але може зв'язатись з боковими ланцюгами гему. Cys19 розташовується у безпосередній близькості від центру зв'язування АТФ (Ala10), а залишок Arg95 (модель 2 та 8, табл. 2) у оточенні гему є сусіднім до мотиву Pro96-Cys97 та досить близько розташовується від Ser92, який пов'язує субстрат цитрулін.

В умовах значного накопичення вільного гему (збільшення концентрації з мікромолярних до мілімолярних) можливо множинне поступове зв'язування декількох молекул, тому були перевірені три раунди зв'язування для виявлення інших потенційних сайтів взаємодії з гемом (рис. 3).

Аналіз виявив, що навіть у присутності субстратів дві або три молекули гему можуть бути поступово зв'язані у порожнині активного центру. Лише при наявності у цій порожнині мінімум двох молекул було передбачене приєднання наступної молекули гему у інших ділянках, у тому числі тих, що необхідні для утворення олігомеру – поруч з Cys331 і Cys337, розташованими на поверхні білку (рис. 3). Можна припустити, що зв'язування однієї молекули гему буде недостатньо для блокування субстратів або продуктів у активному центрі, але 2–3 молекули можуть викликати повне інгібування ферменту. У приєднанні гему можуть взяти участь атоми сульфору метіоніну або цистеїну, атоми кисню і нітрогену полярних амінокислот, які за певних умов здатні утворити з гемом ковалентні зв'язки, що буде ускладнювати подальшу дисоціацію гему.

Аналіз впливу гему на сайти фосфорилування

За даними UniProt у білку ASS1 є 5 сайтів фосфорилування: Ser180 та Ser328, Thr219, Tyr113 і Tyr87. Фосфорилування призводить до інгібування активності ферменту (Karlberg et al., 2008). Спеціалізований сервер Phosphosite, який містить дані про сайти ковалентних модифікацій білків з урахуванням 4-х гомологів (людини, миші, щура і бика), вказує 22 залишки ASS1, що можуть бути фосфорильованими. Найбільш доказаними мішенями фосфорилування з п'ятьма та більше експериментальними підтвердженнями є 8 залишків: Tyr133, Ser134, Tyr163, Thr174, Ser180, Thr219, Tyr322, Tyr383, ще 14 мають від 1 до 4 підтверджень: Tyr29, Tyr34, Tyr83, Tyr87, Ser92; Tyr113, Thr119, Ser131, Tyr151, Tyr291, Ser328, Ser352, Tyr359, Tyr402. Слід відмітити, що сайти фосфорилування Ser180 та Thr174 виявлені серед потенційних мішеней гему (табл. 2).

Враховуючи дані про пряму взаємодію ферменту з ARAF (Yuryev, Wennogle, 2003), фосфорилування ферменту може відбуватись за участю цієї кінази. Відомо, що ARAF належить до родини RAF кіназ та бере участь у регуляції багатьох біологічних процесів, в тому числі регуляції клітинного росту та диференціюванні. Крім того, аргініносукцинатсинтаза є мішенню протеїнкінази А (Corbin et al., 2008), яка активується при стресі. Блокування гемом сайтів взаємодії з протеїнкіназами, вочевидь, запобігає ковалентній модифікації даних залишків, але зв'язування гему зможе викликати зміну конформації і так імітувати інгібуючий вплив фосфорилування.

Таким чином, в умовах значного гемолізу та пошкодження гемопротеїнів збільшується вірогідність інгібування ключового ферменту синтезу аргініну аргініносукцинатсинтази через зв'язування однієї або декількох молекул гему у ділянці активного центру ферменту, прямої модифікації сайтів фосфорилування, а також через порушення олігомеризації білку.

Список літератури

- Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. Basic local alignment search tool // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol.215. – P. 403–410.
- Chiabrando D., Vinchi F., Fiorito V. et al. Heme in pathophysiology: a matter of scavenging, metabolism and trafficking across cell membranes // Front. Pharmacol. – 2014. – Vol.5, article 61.
- Corbin K.D., Pendleton L.C., Solomonson L.P., Eichler D.C. Phosphorylation of argininosuccinate synthase by protein kinase A // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2008. – Vol.377, no. 4. – P. 1042–1046.
- Haines R.J., Pendleton L.C., Eichler D.C. Argininosuccinate synthase: at the center of arginine metabolism // Int. J. Biochem. Mol. Biol. – 2011. – Vol.2, no. 1. – P. 8–23.

- Hanssen S.J., van de Poll M.C., Houben A.J. et al. Hemolysis compromises nitric oxide-dependent vasodilatory responses in patients undergoing major cardiovascular surgery // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2012. – Vol.60, no. 4. – P. 255–261.
- Hao G., Xie L., Gross S.S. Argininosuccinate synthetase is reversibly inactivated by S-nitrosylation in vitro and in vivo // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol.279, no. 35. – P. 36192–36200.
- Karlberg T., Collins R., van den Berg S. et al. Structure of human argininosuccinate synthetase // *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* – 2008. – Vol.64, pt. 3. – P. 279–286.
- Liu R., Hu J. HemeBIND: a novel method for heme binding residue prediction by combining structural and sequence information // *BMC Bioinformatics.* – 2011. – Vol.12. – P.207.
- Omodeo-Sale F., Cortelezzi L., Vommaro Z. et al. Dysregulation of L-arginine metabolism and bioavailability associated to free plasma heme // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2010. – Vol.299. – P. 148–154.
- Sanchez R., Riddle M., Woo J., Momand J. A. Prediction of reversibly oxidized protein cysteine thiols using protein structure properties // *Protein Sci.* – 2008. – Vol.17, no. 3. – P. 473–481.
- Schneidman-Duhovny D., Inbar Y., Nussinov R., Wolfson H.J. PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking // *Nucl. Acids. Res.* – 2005. – Vol.33. – P. W363–W367.
- Sievers F., Wilm A., Dineen D. et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega // *Mol. Syst. Biol.* – 2011. – Vol.7. – P.539.
- Sun M., Wang Y., Cheng H. et al. RedoxDB – a curated database of experimentally verified protein redox modification // *Bioinformatics.* – 2012. – Vol.28, no. 19. – P. 2551–2552.
- Yuryev A., Wennogle L.P. Novel RAF kinase protein-protein interactions found by an exhaustive yeast two-hybrid analysis // *Genomics.* – 2003. – Vol.81, no. 2. – P. 112–125.
- Zhang L., Guarente L. Heme binds to a short sequence that serves a regulatory function in diverse proteins // *EMBO J.* – 1995. – Vol.14. – P. 313–320.

Представлено: Т.П.Бондаренко / Presented by: T.P.Bondarenko

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 19.03.2017

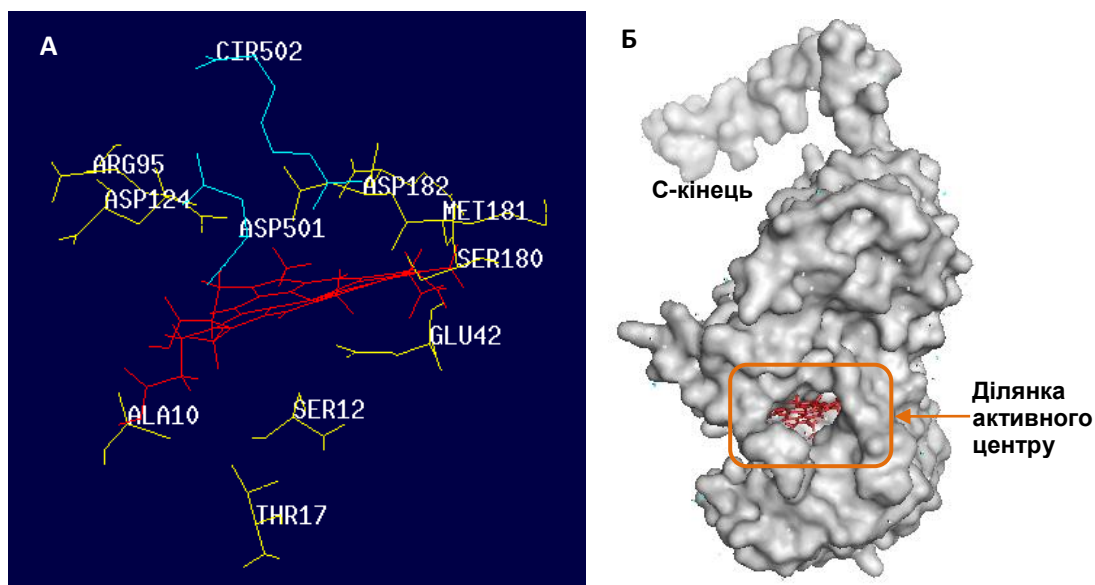


Рис. 2. Варіант докінгу гему до білку ASS1 людини у програмі PatchDOCK (модель 2).
 А – оточення гему при зв'язуванні у активному центрі ASS1 (червоний колір – гем, жовтий колір – амінокислотні залишки білку на відстані 3Å від атому заліза гему, блакитний колір – субстрати аспартат ASP501 і цитрулін CIR502, візуалізація і аналіз у програмі Swiss-PdbViewer). Б – повна модель комплексу білку ASS1 з гемом (червоний колір) у порожнині активного центру (візуалізація у програмі PyMol).

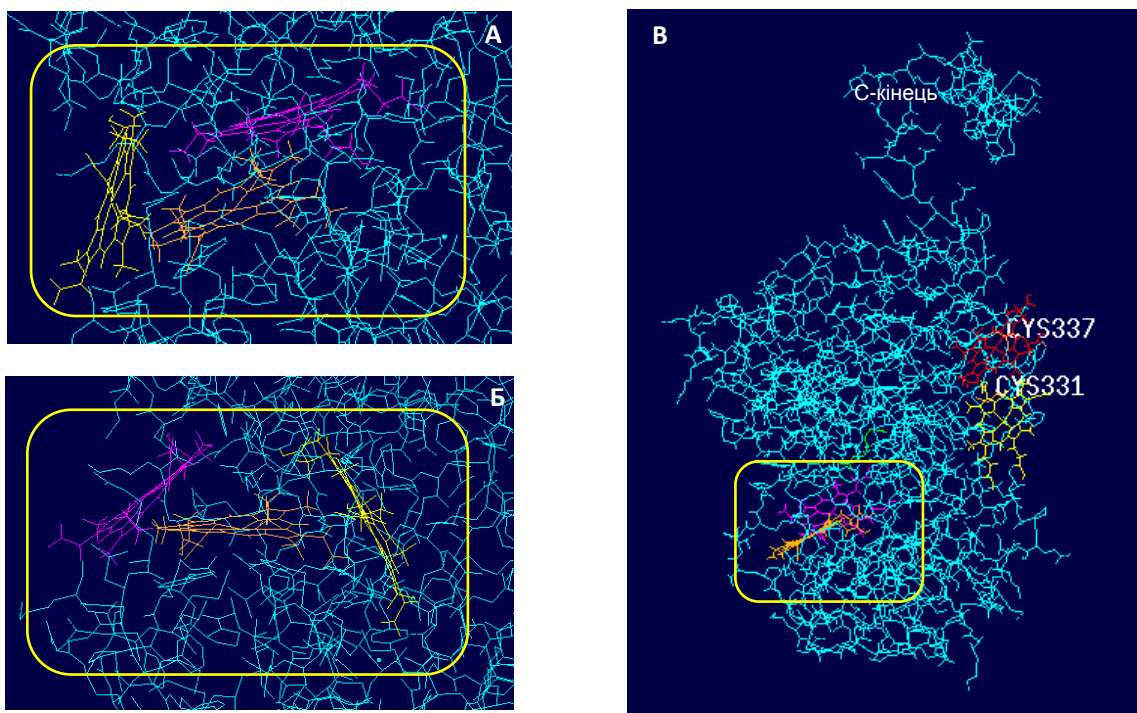


Рис. 3. Варіанти поступового докінгу трьох молекул гему до білку ASS1 людини у програмі PatchDOCK.

А, Б – варіанти докінгу трьох молекул гему до активного центру (першій раунд докінгу – помаранчевий колір, другий – рожевий, третій – жовтий). Виділено ділянку активного центру ферменту (візуалізація у програмі Swiss-PdbViewer). В – зв'язування двох молекул гему до активного центру (першій раунд докінгу – помаранчевий колір, другий – рожевий) і третьої – до ділянки з Cys331 або Cys337, яка задіяна у олігомеризації (жовтий або червоний колір, візуалізація у програмі Swiss-PdbViewer).