

УДК 577.325.6

## Структурные и функциональные исследования полифункционального фермента дестабилазы

*Е.В. Марьин<sup>1</sup>, В.И. Борщевский<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

Дестабилаза, выделенная из слюнного секрета медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*), является представителем семейства лизоцимов, который, однако, резко отличается от известных семейств лизоцимов. Предыдущие исследования показали, что она имеет не только классическую мурамидазную активность, но и катализирует расщепление изопептидной связи [1,2], предотвращая образование тромбов. Так же была оптимизирована эукариотическая экспрессионная система, позволившая наработку достаточного для кристаллизации количества белка [4]. Компьютерное моделирование [3], проведённое ранее, указывает возможное положение центров изопептидазной и мурамидазной активности в Ser29, Lys38 и Glu14, Asp26 соответственно, однако отсутствие структуры дестабилазы и функциональных тестов до сих пор не позволяло подтвердить или опровергнуть эту информацию.

В данном выступлении мы докладываем о результатах функциональных тестов дестабилазы при помощи анализа термического сдвига кривой плавления (TSA). Более того, методом рентгеноструктурного анализа нами была получена структура дестабилазы. Анализ структуры показывает положение активного центра мурамидазной активности, подтверждённое методом TSA.

В будущем мы планируем рост кристаллов с субстратом для изопептидазной активности для обнаружения центра изопептидазной активности.

### Литература

1. Baskova I.P. Destabilase, the novel isopeptidase with thrombolytic activity / I. P. Baskova, G. I. Nikonov // Blood Coagul. Fibrinolysis – 1991. – Т. 2– 167–172с.
2. Zavalova L.L. Destabilase from the medicinal leech is a representative of a novel family of lysozymes / L. L. Zavalova, I. P. Baskova, S. A. Lukyanov, A. V. Sass, E. V. Snezhkov, S. B. Akopov, I. I. Artamonova, V. S. Archipova, V. A. Nesmeyanov, D. G. Kozlov, S. V. Benevolensky, V. I. Kiseleva, A. M. Poverenny, E. D. Sverdlov // Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol. – 2000. – Т. 1478 – № 1– 69–77с.
3. Zavalova L.L. Catalytic sites of medicinal leech enzyme destabilase-lysozyme (mlDL): Structure-function relationship / L. L. Zavalova, N. V. Antipova, Y. I. Fadeeva, M. S. Pavlyukov, N. V. Pletneva, V. Z. Pletnev, I. P. Baskova // Russ. J. Bioorganic Chem. – 2012. – Т. 38 – № 2– 198–202с.
4. Manuvera V.A. Generation of recombinant destabilase-lysozyme from medicinal leeches in three different expression systems / V. A. Manuvera, A. S. Kurdyumov, K. A. Filonova, V. N. Lazarev // Protein Expr. Purif. – 2015. – Т. 116– 50–58с.