

Практикум 1. Рутol

Для выполнения практической работы был предложен белок с PDB ID [5KPG](#). Это структура павин-N-метилтрансферазы, - фермента, выделенного из растения *Thalictrum flavum* (рис. 1) - в комплексе с S-аденозилгомоцистеином при pH 7. Белок принадлежит семейству S-аденозилметионин (SAM)-зависимых N-метилтрансфераз (NMT) и играет решающую роль в биосинтезе бензилизохинолиновых алкалоидов (BIA). Последние могут быть использованы для производства обезболивающих, противокашлевых и даже противораковых соединений (например, морфин и кодеин), что обуславливает интерес к данной теме [1].



Рис 1.
Thalictrum flavum, общий вид

Метилирование вторичных и третичных аминов происходит на нескольких этапах синтеза BIA, при этом каждое превращение обычно катализируется специфическими членами семейства NMT (рис. 2). PavNMT осуществляет реакцию на субстратах с павиновым каркасом. Вообще говоря, N-метилтрансфераза не абсолютно специфична к вышеуказанному субстрату: это фермент с субстратным предпочтением (+)-павина, но также активен и в случаях с (R,S)-стилопином, (R,S)-скулерином, (R,S)-тетрагидропальматином, (R,S)-тетрагидропапаверином и (S)-ретикулин. Нет активности с (R)-ретикулином (PubMed: 27573242). В присутствии рацемической смеси тетрагидропапаверина (ТГП) одна молекула (S)-ТГП связывается продуктивно, а рядом с ней непродуктивно связывается одна молекула (R)-ТГП. (R)-ТНР может ингибировать высвобождение продуктов фермента при добавлении в реакцию более высоких концентраций рацемического субстрата[2].

В базах данных можно найти информацию о структуре апофермента, а также фермента, связанного с S-аденозилметионином (SAM) [3], S-аденозилгомоцистеином (SAH,

исследуемая здесь структура)] [4], S- и R-диметоксифенилметилдиметокситетрагидроизохинолином (S9T [5] и R9T [6]).

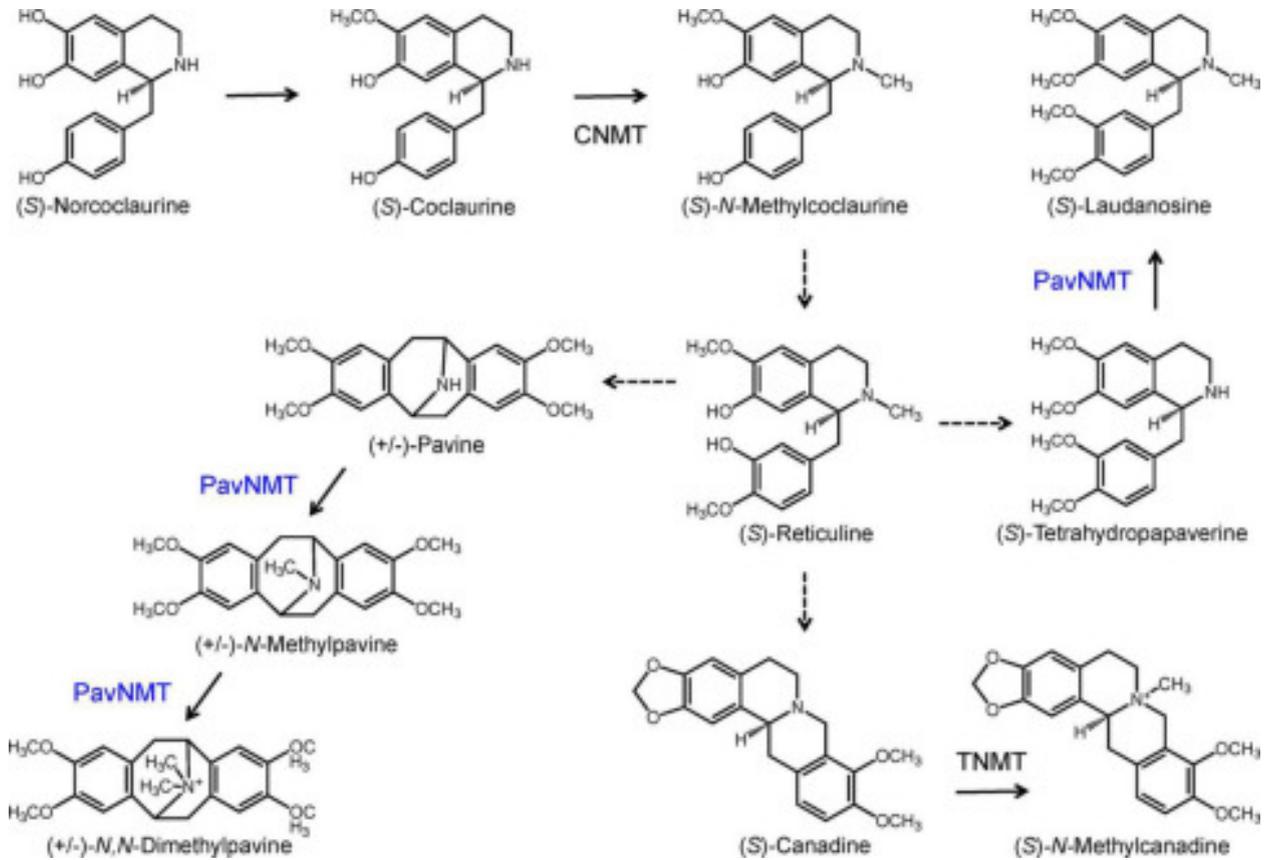


Рис 2.
Реакции, катализируемые NMT в биосинтезе BIA.

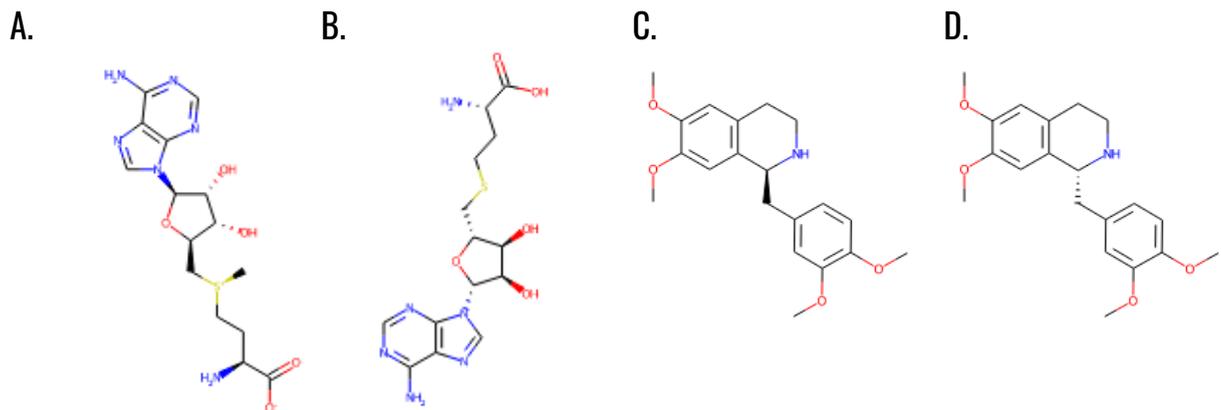


Рис 3.
Лиганды, структуры соединений павин-N-метилтрансферазы с которыми известны.
A. SAM (cofactor-like); B. SAH (cofactor); C. S9T; D. R9T.

Положение лиганда относительно субъединицы фермента, полярные и пи-связи его удерживающие, а также окружение показаны на изображениях ниже (рис. 4).

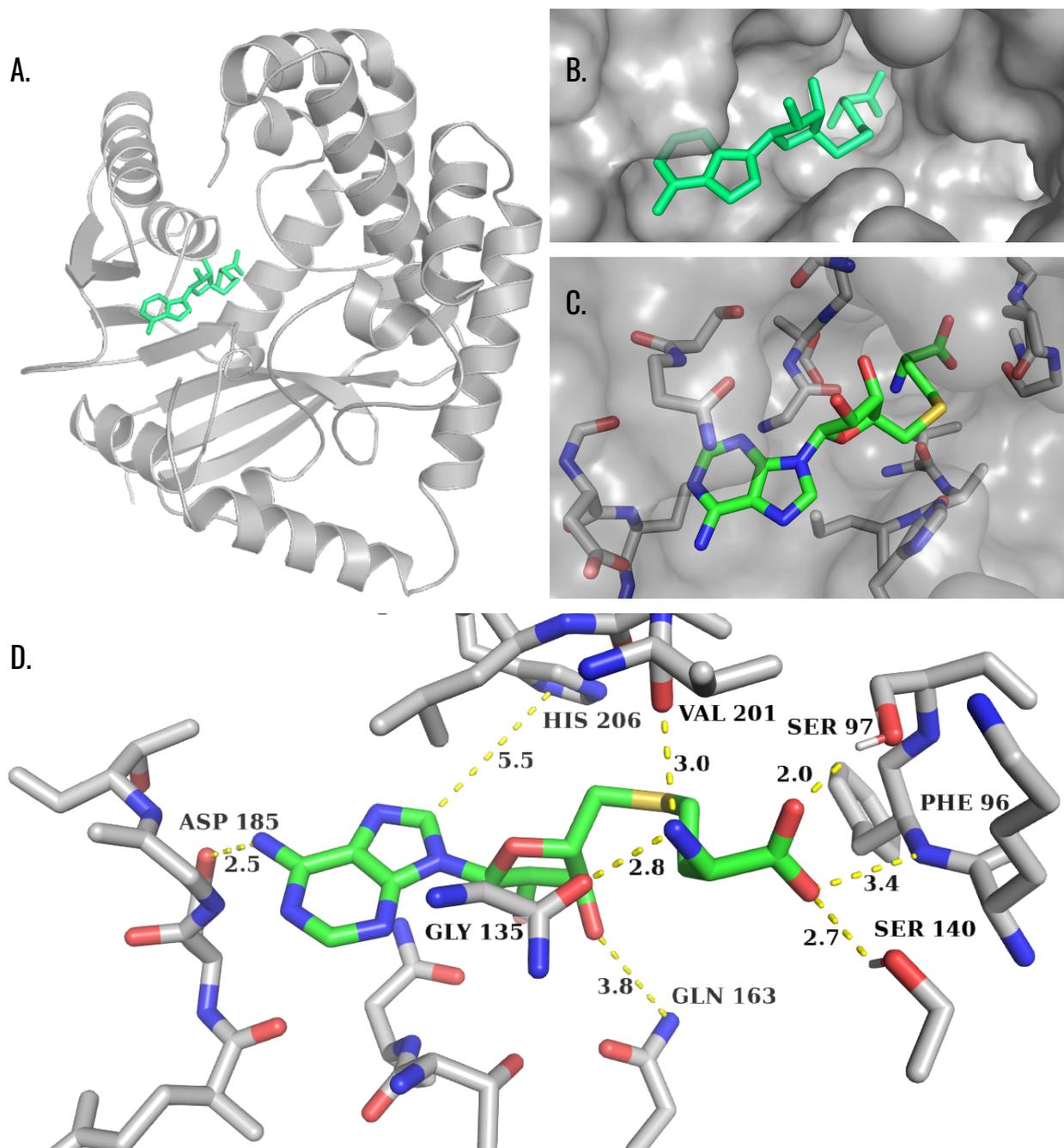


Рис 4.

Соединение павин-N-метилтрансферазы с кофактором SAH.

Цветовые обозначения: на изображениях А и В апофермент показан светло-серым, кофактор - зеленым; на С и D применена стандартная поэлементная окраска PyMol, желтым пунктиром показаны направления полярных и пи-контактов лиганд-фермент.

А. Структура фермент-кофактор, общий вид.

В. Апоферментное окружение лиганда.

С. Апоферментное окружение лиганда, показаны боковые цепи аминокислотных остатков.

Д. Полярные и пи-контакты комплекса лиганд-фермент с указанием расстояний атом-атом и атом-центр ароматического кольца и вовлеченных в их образование аминокислотных остатков.

Помимо этого, за пределами активного центра есть участок концентрирования ароматических остатков, где можно увидеть стекинг-взаимодействия, а также пи-связи (включая пи-катионные взаимодействия) (рис. 5). Вероятно, данные связи поддерживают структуру внутри субъединицы.

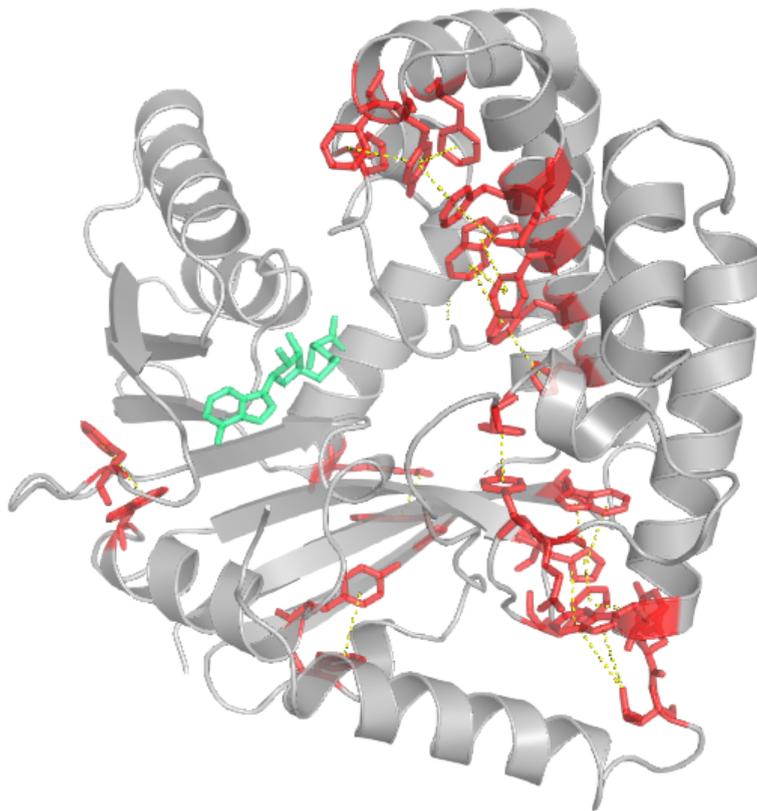


Рис 5.

Богатый ароматическими аминокислотными остатками участок павин-N-метилтрансферазы.

Апофермент показан светло-серым, кофактор - зеленым, вовлеченные в пи-связи остатки выделены красным, а сами эти связи обозначенные желтым пунктиром.

Изображения, приведенные на рисунках 4 и 5 выполнены в рамках данной работы средствами PyMol.

Список литературы:

- [1] [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)35621-0/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)35621-0/fulltext)
- [2] <https://www.uniprot.org/uniprot/C3SBW0>
- [3] <https://www.rcsb.org/structure/5koc>
- [4] <https://www.rcsb.org/structure/5kpg>
- [5] <https://www.rcsb.org/structure/5KOK>