DOI: 10.17117/na.2015.11.04.205

Поступила (Received): 24.11.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.11.04.205.pdf>**Кожикина О.М.****Оценка степени схожести первичных структур
глюкоамилаз из различных продуцентов****Kozhokina O.M.****Estimation of degree of resemblance of primary
structures of glucoamylase from different producents**

С помощью программы Gene Bee на основе результатов секвенирования осуществлено сравнение первичных структур глюкоамилаз из *Aspergillus awamori* и *Saccharomyces cerevisiae*. Получена оценка степени их гомологичности; подтверждена вероятность участия остатков Asp, Glu, Trp в катализе реакции гидролиза крахмала

Ключевые слова: глюкоамилаза, первичная структура, сравнительный анализ, гомологичность

It has carried out comparison of the primary structure of glucoamylases from *Aspergillus awamori* and *Saccharomyces cerevisiae* with use of programme Gene Bee on the basis of sequencing. It has obtained estimation of the degree of homology, it has confirmed probability of participation of Asp, Glu, Trp residues in the catalysis of hydrolysis of starch

Key words: glucoamylase, primary structure, comparative analysis, homology

Кожикина Оксана Михайловна

Кандидат биологических наук, ассистент
Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н. Бурденко
г. Воронеж, ул. Студенческая, 10

Kozhokina Oksana Mikhailovna

Candidate of Biological Sciences, Assistant
Voronezh state medical university named N.N.
Burdenko
Voronezh, Student st., 10

Исследование свойств глюкоамилаз различного происхождения приобретает особую значимость в связи с применением их в различных отраслях промышленности в роли биокатализаторов. Поиск путей регулирования биокаталитической активности ферментов неразрывно связан с расшифровкой закономерностей и молекулярного механизма катализа реакции гидролиза субстрата. Для решения данной задачи, наряду с определением функциональных свойств энзимов, необходимо проведение их структурного анализа.

Для выявления константных областей аминокислотных последовательностей ферментов с помощью программы Gene Bee (<http://www.genebee.msu.ru/genebee.html>) осуществлено сравнение сиквенсов субъединицы глюкоамилазы из *Aspergillus awamori* X100 и молекулы глюкоамилазы из *Saccharomyces cerevisiae*, размещенных в INTERNET National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) и Protein Brookhaven Database (<http://www.rcsb.org>).

Сравнительный анализ первичных структур глюкоамилаз из *Asp. awamori* и *S. cerevisiae* показал их гомологичность на 13,1%. Наиболее часто на протяжении рассматриваемых полипептидных цепей наблюдаются корреляции одиночных гомологичных остатков; встречаемость гомологичных дуплетов и триплетов гораздо ниже (табл.1).

Таблица 1. Частота встречаемости гомологичных аминокислотных остатков в первичных структурах глюкоамилаз из *Aspergillus awamori* и *Saccharomyces cerevisiae*

Аминокислота	Частота встречаемости	Аминокислота	Частота встречаемости
аланин	11	Триптофан	4
валин	8	Аспарагин	-
лейцин	4	Глутамин	2
изолейцин	-	Серин	47
глицин	5	Треонин	36
пролин	12	Лизин	1
цистеин	2	Аргинин	-
метионин	-	Гистидин	-
аспартат	8	глутамат	7
фенилаланин	-	Тирозин	2

Из таблицы видно, что основное количество гомологичных звеньев представлено остатками Ser и Thr. Данные аминокислоты являются гидроксилсодержащими и ответственны за активное взаимодействие белковой макромолекулы с молекулами воды, обеспечивая хорошую растворимость фермента. Кроме того, Ser и Thr способны к образованию эфиров фосфорной и органических кислот и служат местом присоединения углеводных компонентов в гликопротеидах [1, 3].

Наличие значительного числа гомологичных остатков Asp и Glu, а также Trp позволяет предположить участие данных аминокислот в катализе реакции гидролиза крахмала, осуществляемом глюкоамилазами как плесневого, так и дрожжевого происхождения [1, 3].

Анализ аминокислотного состава глюкоамилаз различного происхождения показал высокую устойчивость фермента из *Asp. awamori* к органическим растворителям, одна субъединица которого содержит 27,15% остатков с алкильными боковыми цепями (Ala, Val, Leu, Ile, Met); для молекулы глюкоамилазы из *S. cerevisiae* данная величина составляет лишь 17,65%. Большое количество остатков Ser и Thr (для субъединицы молекулы глюкоамилазы из *Asp. awamori* 14% и 12% соответственно, для целой молекулы из *S. cerevisiae* – 25,7% и 25,32%) обеспечивает гилратацию белковой глобулы вследствие образования системы водородных связей.

Таблица 2. Аминокислотный состав глюкоамилаз из *Aspergillus awamori* и *Saccharomyces cerevisiae*

Аминокислота	Aspergillus awamori (субъединица)		Saccharomyces cerevisiae	
	количество	% от общего числа	количество	% от общего числа
аланин	59	9,59	85	6,33
валин	39	6,34	94	7
лейцин	43	7	22	1,64
изолейцин	25	4,07	32	2,38
глицин	47	7,64	43	3,2
пролин	24	3,9	141	10,5
цистеин	9	1,46	20	1,49
метионин	1	0,16	4	0,3
гистидин	5	0,81	5	0,37
фенилаланин	21	3,41	14	1,04
тирозин	27	4,39	22	1,64
триптофан	19	3,09	8	0,6
аспарагин	21	3,41	35	2,61
глутамин	17	2,76	19	1,41
серин	86	13,98	345	25,69
треонин	73	11,87	340	25,32
лизин	12	1,95	30	2,23
аргинин	18	2,93	1	0,07
аспартат	44	7,15	14	1,04
глутамат	25	4,07	69	5,14
Общее число	615		1343	

Из таблицы 2 видно, что в состав субъединицы молекулы глюкоамилазы из *Asp. awamori* входят 9 остатков цистеина, SH-группы которых образуют 3 дисульфидных мостика и свободную тиольную группу в каталитическом домене и 1 S-S связь в крахмалсвязывающем участке. В молекуле энзима из *S. cerevisiae* имеется 20 Cys (по 10 на каждую субъединицу). Однако, возможно не все остатки Cys участвуют в образовании дисульфидных связей. Вероятно, число S-S мостиков в расчете на одну субъединицу составляет не более трех [2]. Обнаружено, что количество остатков Asp, Glu в молекуле глюкоамилазы из *Asp. awamori* в 4 раза превышает данную величину для фермента дрожжевого происхождения.

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлена гомологичность первичных структур глюкоамилаз из *Asp. awamori* и *S. cerevisiae* на ~13%. Обнаружена высокая степень корреляции одиночных аминокислотных остатков. Выявлено, что основное количество гомологичных звеньев представлено остатками Ser и Thr, обеспечивающих хорошую гидратацию ферментов и служащих местами присоединения углеводных компонентов в гликопротеидах. Наличие значительного числа гомологичных остатков Asp и Glu, а также Trp позволяет предположить участие данных аминокислот в катализе реакции гидролиза крахмала, осуществляемом глюкоамилазами как плесневого, так и дрожжевого происхождения.

Список используемых источников:

1. Кантор Ч. Биофизическая химия. М.: Мир, 1984. Т. 1. 336 с.
2. Попов Е.М. Структурно-функциональная организация белков. М.: Наука, 1992. 358 с.
3. Шерман С.А. Конформационный анализ и установление пространственной структуры белковых молекул. Минск: Наука и техника, 1989. 240 с.

© 2015, Кожокина О.М.

*Оценка степени схожести первичных структур
глюкоамилаз из различных продуцентов*

© 2015, Kozhokina O.M.

*Estimation of degree of resemblance of primary
structures of glucoamylase from different
producers*